

EPAS1和2型糖尿病：一项双样本孟德尔随机化研究

龙若兰*, 李连新, 岳仁宋

成都中医药大学附属医院, 四川 成都

收稿日期: 2024年12月23日; 录用日期: 2025年1月27日; 发布日期: 2025年2月12日

摘 要

目的: 采用两样本孟德尔随机化分析法, 探讨EPAS1与2型糖尿病(T2DM)的因果关联, 以期为T2DM的防治提供新思路。方法: 利用全基因组关联研究(GWAS)的数据, 将EPAS1作为暴露因素, 以T2DM为结局变量, 进行孟德尔随机化分析。本研究以逆方差加权(IVW)法作为主要的MR分析手段, 将单核苷酸多态性(SNP)的因果效应估计进行汇总合并, 同时结合MR-Egger回归、加权中位数、加权模式作为补充方法分析二者之间的潜在因果关联。利用Cochran's Q检验、MR-Egger回归截距、留一法进行敏感性分析。结果: IVW分析结果显示, EPAS1与T2DM之间存在显著的正向因果关联(OR: 1.055, 95% CI: 1.044~1.067, $P = 6.96e-22$)。敏感性分析显示不存在多效性, 但异质性显著, 结果相对可靠。结论: EPAS1与T2DM之间存在显著的正向因果关联, 但需进行进一步验证。

关键词

EPAS1, T2DM, 孟德尔随机化

EPAS1 and Type 2 Diabetes Mellitus: A Two-Sample Mendelian Randomization Study

Ruolan Long*, Lianxin Li, Rensong Yue

Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

Received: Dec. 23rd, 2024; accepted: Jan. 27th, 2025; published: Feb. 12th, 2025

*第一作者。

文章引用: 龙若兰, 李连新, 岳仁宋. EPAS1 和 2 型糖尿病: 一项双样本孟德尔随机化研究[J]. 亚洲急诊医学病例研究, 2025, 13(1): 25-32. DOI: 10.12677/acrem.2025.131005

Abstract

Aim: To explore the cause-and-effect relationship between EPAS1 and Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM), a two-sample Mendelian randomization analysis was used to provide new ideas for the prevention and treatment of T2DM. **Method:** Using data from the Genome-Wide Association Study (GWAS), mendelian randomization analysis was performed with EPAS1 as an exposure factor and T2DM as an outcome variable. In this paper, Inverse Variance Weighting (IVW) was used as the primary analysis method to pool and combine the causal effect estimates of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), and MR-Egger regression, weighted median, and weighted model were used as supplementary methods to analyze the potential causal association between the two. Cochran's Q test, MR-Egger regression intercept, and leave-one-out method were used for sensitivity analysis. **Results:** IVW analysis showed that EPAS1 and T2DM had a significant positive causal relationship (OR: 1.055, 95% CI: 1.044~1.067, $P = 6.96 \times 10^{-22}$). Sensitivity analysis showed no pleiotropy but significant heterogeneity, and the results were relatively reliable. **Conclusion:** EPAS1 and T2DM have a significant positive causal relationship, but further verification is needed.

Keywords

EPAS1, T2DM, Mendelian Randomization

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

根据国际糖尿病联盟发布的数据, 2021 年全球糖尿病患病率为 10.5%, 到 2045 年将上升至 12.2%, 患病人数可达 7.8 亿人[1]。2 型糖尿病(Type 2 Diabetes Mellitus, T2DM)作为内科常见疾病, 往往累及多个器官、系统, 后期并发症严重, 且与其他内科重大疾病关系密切, 给患者家庭带来沉重的经济负担。我国作为发展中国家, 预计较发达国家糖尿病患病率相对增幅更加显著, 寻找 T2DM 相关患病因素并进行积极预防, 对于缓解未来 T2DM 带来的严重医疗卫生挑战具有重大意义。

目前认为 T2DM 发病原因与遗传、生活方式密切相关。多个研究提示藏族人群 T2DM 患病率明显低于其他民族, Peng 等人的研究报告, 根据 WHO 标准比较不同标准糖尿病患病率汇总估计值, 藏族最低, 四者分别为 7.5%、11.9%、14.6%和 9.3% [2]。拉萨地区藏族成年人群初筛糖尿病标化患病率为 4.6% [3], 远低于全国平均患病率, 其原因或与其独特的高原遗传性适应及饮食生活背景相关。

研究显示, 大量与能量代谢相关的基因在高海拔居民群体特异性表达[4]。同时, 藏族高海拔适应相关遗传变异主要在缺氧诱导因子 EPAS1 (又称 HIF-2 α)和 EGLN1 等基因富集。EPAS1 所在的缺氧诱导因子家族, 其激活转录涉及血管生成、葡萄糖代谢等活动[5], 与人体能量代谢关系密切, 在缺氧状态下可调节人体从需氧代谢转变为糖酵解为主的厌氧代谢[6]。根据 Peng 等人的研究, 藏族胎盘组织中 EPAS1 表达明显下调[7], 其或许与藏族群体在高原缺氧环境下为避免循环血红蛋白过度增多进而发生相关心血管事件风险的适应性改变相关。与此同时, 研究指出, 下调的 EPAS1 单倍型与藏族乳酸水平升高相关, 提示这一改变或许通过增加糖酵解、减少脂肪酸氧化为藏族糖尿病患病提供保护[8]。因此, 探索 EPAS1 暴露与 T2DM 发病率之间的相关性或可部分解释藏族 T2DM 低患病率的原因。

由于传统的观察性研究易受到混杂、反向因果关系和选择偏倚等问题的限制,孟德尔随机化研究(Mendelian Randomization, MR)是一种自然状态下的随机对照试验,遗传变异配子过程存在随机性,可减少环境及生活方式的影响,可以评估暴露因素与研究结局指标的内在因果关系。因此,本研究应用基于全基因组关联研究数据库(Genome-Wide Association Study, GWAS),采用孟德尔随机化方法,以确定 EASPI 与 T2DM 发病率之间是否存在因果关联,明确相关联系有利于进一步探索藏族群体低 T2DM 患病率的原因,以及为 T2DM 的预防提供新思路。

2. 研究设计

2.1. 核心假设

本研究拟用双样本 MR 研究明确缺氧诱导因子 EPAS1 暴露与 T2DM 发病率的因果关系,研究内容符合孟德尔随机化研究的三个基本假设:1) 假设 1:使用工具变量与暴露因素密切相关;2) 假设 2:使用工具变量独立于潜在的混杂因素;3) 假设 3:工具变量仅通过暴露因素影响结局,对结局无直接影响[9]。

2.2. 暴露及结局的数据来源

本研究将暴露因素定义为 EPAS1,将结局变量定义为 T2DM。EPAS1 和 T2DM 的 GWAS 数据均来自于 <https://www.ebi.ac.uk/gwas/>, 1) 暴露数据(EPAS1)获取:通过搜索 GWAS 目录(<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>),权衡样本量、发表年限、SNP 数量后,选取了 GWAS 数据库中的 EPAS1 数据,最终纳入暴露(EPAS1)公共可用数据集(样本量 1,028,980,欧洲人群,2024 年)[10]。2) 结局数据(T2DM)获取:通过搜索 GWAS 目录(<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>),查找欧洲人群中已发表的有关 T2DM 的全基因组关联,最终纳入结局(T2DM)公共可用数据集(样本量 67,147,欧洲人群,2024 年)[11]。

2.3. 工具变量的设置及筛选

为避免弱工具造成偏倚,本研究在分析过程中遵循以下流程:1) 筛选与 T2DM 具有全基因组显著性关联的 SNPs ($P \leq 5 \times 10^{-8}$)。2) 为获得独立的遗传工具变量,排除基因多效性对结果的影响,以千人基因组为参考模板计算 SNPs 之间的连锁不平衡,进行独立性设置。筛选 $R^2 < 0.001$,物理遗传距离 > 1000 kb 的独立 SNPs。3) 使用 F 检验评估选定的 SNPs,当 $F > 10$ 时将其视为强工具变量并在后续分析中保留。4) 使用 Two Sample MR 包中的 `harmonise-date` 函数,将暴露与结局等位基因方向协同,删除回文及不相容的 SNPs。经过严格筛选的 SNP 被用作随后孟德尔随机化分析的最终工具变量。

2.4. 统计学分析

我们主要采用逆方差加权法(IVW)及加权中位数法(Weighted median)进行 MR 分析,若假设成立则反映暴露因素对结局指标的影响。假设所有 SNPs 均为有效工具变量且平均水平多效性为零,在此基础上通过计算比值比(OR)与 95% CI 评估暴露因素对结局的因果影响效应;同时以 MR-Egger 回归、加权模式(Weighted mode)作为补充,以检测不同假设下关联的稳定性和可靠性。针对水平多效性分析与异质性检验,我们采用 Cochran's Q 统计量作为二次敏感性分析手段以检验工具变量的异质性[12],同时借助 MR-Egger 截距检验评估工具变量的潜在水平多效性,并使用 Pheno Scanner 检测工具变量与其他疾病之间的关联,排除工具变量的多效性[13];采用 leave-one-out 分析法分析每个 SNP 的影响。上述检验分析均使用 R 4.04 软件中 Two Sample MR 包实现,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

3. 结果

3.1. 工具变量的筛选结果

根据工具变量进行严格筛选，我们采用了 478 个 SNPs 作为 EPAS1 工具变量，所有 SNP F 均大于 10，提示均为强工具变量。

3.2. MR 结果分析

MR 分析 IVW 结果显示基因预测的 EPAS1 与 T2DM 存在潜在的正向因果关联，EPAS1 暴露增加了 T2DM 发病风险，见图 1、图 2。IVW 法(OR: 1.055, 95% CI: 1.044~1.067, $P = 6.96\text{e-}22$)、MR-Egger 回归分析(OR: 1.037, 95% CI: 1.009~1.065, $P = 8.2\text{e-}3$)、Weighted Median 法(OR: 1.052, 95% CI: 1.037~1.067, $P = 1.71\text{e-}12$)、Weighted mode 法(OR: 1.057, 95% CI: 1.018~1.097, $P = 3.81\text{e-}3$)，如表 1 所示。

Table 1. Results of Mendelian randomization analysis

表 1. 孟德尔随机化分析结果

暴露	结局	分析方法	P 值	OR 值(95% CI)
EPAS1	T2DM	MR-Egger	8.20E-03	1.037 (1.009~1.065)
		Weighted Median	1.71E-12	1.052 (1.037~1.067)
		IVM	6.96E-22	1.055 (1.044~1.067)
		Weighted mode	3.81E-03	1.057 (1.018~1.097)

3.3. 敏感性、多效性、异质性分析

MR-Egger 回归分析用于测试水平多效性，结果显示截距为 0.003, $P = 0.168$ ，表明，在 EPAS1 对 T2DM 的因果估计中，遗传多效性效应的可能性较低，从而最大限度地减少了影响分析结果的混杂偏倚的可能性。漏斗图显示所有 SNPs 分布对称，见图 3。异质性检验采用 Cochran's Q 检验、MR-Egger 检验($Q = 903.22$, $P = 7.828\text{e-}29$)和 IVW 检验($Q = 906.84$, $P = 4.554\text{e-}29$)，上述因果研究异质性较显著，可能存在于其他影响。Leave-one-out 法分析结果表明所有黑点均在一侧，见图 4，无单个 SNP 影响总体 MR 估计，结果具有稳健性。

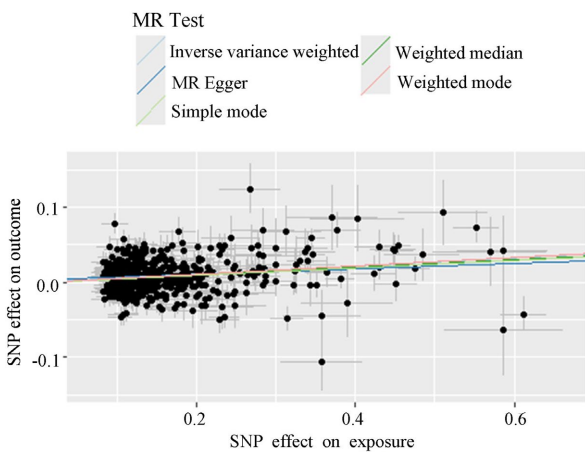


Figure 1. Scatter plot
图 1. 散点图



Figure 2. Forest plot
图 2. 森林图

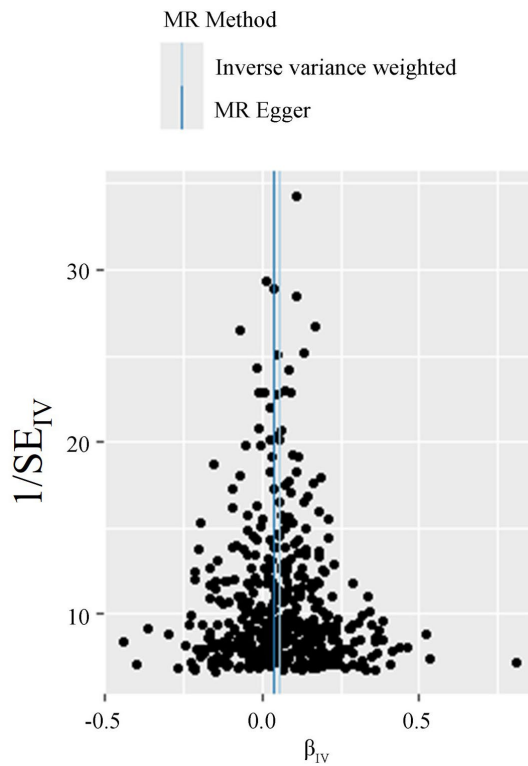


Figure 3. Funnel plot
图 3. 漏斗图

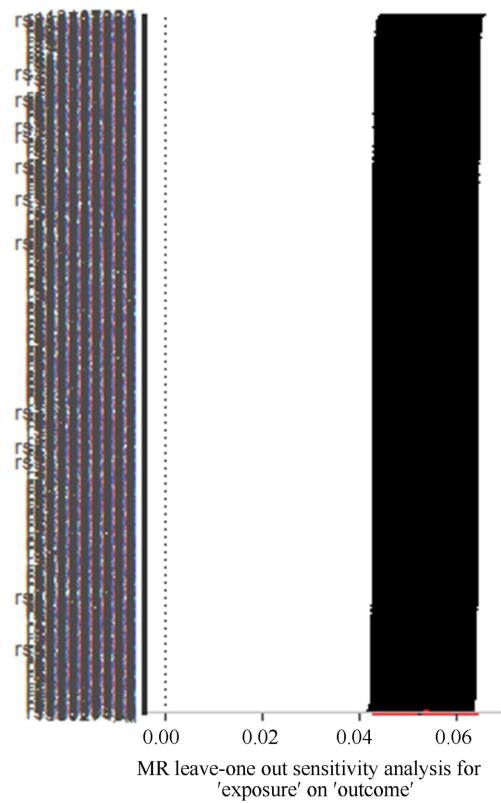


Figure 4. Leave-one-out plot
图 4. 留一图

4. 讨论

4.1. EPAS1 与 T2DM 具有潜在的正向因果关系

本研究利用两样本 MR 分析探讨 EPAS1 与 T2DM 发病风险之间的因果关联。结果表明，EPAS1 与 T2DM 存在潜在的因果关系，且为显著性正向因果关系，即 EPAS1 暴露可增加 T2DM 患病风险。结合部分研究显示藏族群体 EPAS1 表达下降，这或许可部分解释藏族群体低 T2DM 患病率的原因，或可为 T2DM 的防治提供新方向。

4.2. EPAS1 与 T2DM 的相关性

缺氧诱导因子作为机体适应缺氧状态的关键转录因子，包含 HIF-1、HIF-2、HIF-3 在内的转录复合物，其中 HIF-2 α 即为 EASPI [14]。在常氧情况下，HIF- α 被脯氨酰羟化酶结构域蛋白 1 (PHD1，又称 EGLN2)、PHD2 (EGLN1)和 PHD3 (EGLN3)以氧依赖性羟基化，进而被肿瘤抑制因子 von Hippel-Lindau (VHL)降解，避免红细胞过度生成。而在缺氧情况下，PHDs 对 HIF- α 的羟基化修饰受到抑制，进而导致 HIFs 积累，进一步激活数百个下游靶基因并诱导包括促红细胞生成、血管新生、糖酵解在内的不同的生理反应[15]。

相较于其他民族，多个研究提示藏族围绕 PHD2、EPAS1 基因表现出高选择性适应。藏族在高海拔缺氧环境适应过程中 EPAS1 基因功能表达出现弱化或发生功能突变，以获得相较于同海拔其他群体显著偏低的血红蛋白浓度，减少红细胞增多症、血浆容量减少和肺动脉高压等事件的发生风险[16][17]。但由于目前关于 HIFs 的相关研究主要聚焦于 HIF-1 α ，对于 EAPS1 的相关研究开展不多，因此对于 HIF-2 α 调

节糖代谢机制尚不明确。葛根芩连汤对 T2DM 具有良好的临床疗效, 根据刘海云等人的研究, 葛根芩连汤在改善肥胖 T2DM 大鼠胰岛素抵抗程度的同时, 伴随葡萄糖转运蛋白(GLUT4)表达上调以及 EPAS1 表达降低[18]。Taniguchi 等人通过注射腺病毒 Cre 实现小鼠肝脏 PHD 基因缺失后, EASPI 表达增强, 同时小鼠葡萄糖及胰岛素水平偏高[19]。Brunt 团队发现, 胰腺 HIF-2 α 过度表达不会改变胰岛 β 细胞的质量及分泌功能, 相较于野生型小鼠, 葡萄糖稳态未见明显差异[20], 说明 HIF-2 α 调节糖代谢机制的靶点不在胰岛 β 细胞。然而, 在 Moon 等人的研究中发现, 肥胖大鼠胰岛 β 细胞中 HIF-2 α 表达升高, 然而敲除大鼠 HIF-2 α 表达后抑制了 Sod2、Cat 等 ROS 解毒酶的活性, 加强了 β 细胞的氧化应激以及线粒体损伤, 提示 HIF-2 α 与 T2DM 的正向因果关系或许与在 T2DM 病程中由于高血糖状态下过多活性氧产生, 使得 HIF-2 α 水平保护性升高以减少氧化应激损伤相关[21]。结合本次研究结果, 均提示调节 EPAS1 表达或许为 T2DM 防治的新靶点。

4.3. 研究的优势与局限性

本研究存在局限性: 1) 本研究统计数据均来自欧洲人群, 未涉及不同国家、地区、民族之间的基因差异, 对于效应估计结果存在影响, 尤其对于特定藏族人群低 T2DM 患病率原因解释有限, 需进一步针对性验证; 2) 虽然 MR-Egger 截距和 leave-one-out 法评估结果未显示明显多效性, 但 MR 分析结果存在显著异质性, 不能除外其他因素影响; 3) 本研究结果缺乏相关研究, 与现有部分研究结果存在不一致, 需要更加深入、全面的研究来验证这一关联。

参考文献

- [1] Sun, H., Saedi, P., Karuranga, S., Pinkepank, M., Ogurtsova, K., Duncan, B.B., *et al.* (2022) IDF Diabetes Atlas: Global, Regional and Country-Level Diabetes Prevalence Estimates for 2021 and Projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*, **183**, Article ID: 109119. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>
- [2] Peng, W., Li, K., Yan, A.F., Shi, Z., Zhang, J., Cheskin, L.J., *et al.* (2022) Prevalence, Management, and Associated Factors of Obesity, Hypertension, and Diabetes in Tibetan Population Compared with China Overall. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **19**, Article 8787. <https://doi.org/10.3390/ijerph19148787>
- [3] 张泽鑫, 罗樱樱, 刘林, 等. 拉萨地区藏族成年人群糖尿病前期及糖尿病患病率初步调查分析[J]. 中国糖尿病杂志, 2019, 27(8): 567-571.
- [4] He, C., Zhu, B., Gao, W., Wu, Q. and Zhang, C. (2024) Study on Allele Specific Expression of Long-Term Residents in High Altitude Areas. *Evolutionary Bioinformatics*, **20**, 1-6. <https://doi.org/10.1177/11769343241257344>
- [5] Missiaen, R., Lesner, N.P. and Simon, M.C. (2023) HIF: A Master Regulator of Nutrient Availability and Metabolic Cross-Talk in the Tumor Microenvironment. *The EMBO Journal*, **42**, e112067. <https://doi.org/10.15252/embj.2022112067>
- [6] Kierans, S.J. and Taylor, C.T. (2020) Regulation of Glycolysis by the Hypoxia-Inducible Factor (HIF): Implications for Cellular Physiology. *The Journal of Physiology*, **599**, 23-37. <https://doi.org/10.1113/jp280572>
- [7] Peng, Y., Cui, C., He, Y., Ouzhuluobu, Zhang, H., Yang, D., *et al.* (2017) Down-Regulation of EPAS1 Transcription and Genetic Adaptation of Tibetans to High-Altitude Hypoxia. *Molecular Biology and Evolution*, **34**, 818-830. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw280>
- [8] Ge, R., Simonson, T.S., Gordeuk, V., Prchal, J.T. and McClain, D.A. (2015) Metabolic Aspects of High-Altitude Adaptation in Tibetans. *Experimental Physiology*, **100**, 1247-1255. <https://doi.org/10.1113/ep085292>
- [9] Boehm, F.J. and Zhou, X. (2022) Statistical Methods for Mendelian Randomization in Genome-Wide Association Studies: A Review. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, **20**, 2338-2351. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.05.015>
- [10] Keaton, J.M., Kamali, Z., Xie, T., *et al.* (2024) Genome-Wide Analysis in over 1 Million Individuals of European Ancestry Yields Improved Polygenic Risk Scores for Blood Pressure Traits. *Nature Genetics*, **56**, 778-791.
- [11] Zhao, C., Ma, T., Cheng, X., Zhang, G. and Bai, Y. (2024) Genome-wide Association Study of Cardiometabolic Multimorbidity in the UK Biobank. *Clinical Genetics*, **106**, 72-81. <https://doi.org/10.1111/cge.14513>
- [12] Bowden, J., Spiller, W., Del Greco M, F., Sheehan, N., Thompson, J., Minelli, C., *et al.* (2018) Improving the Visualization, Interpretation and Analysis of Two-Sample Summary Data Mendelian Randomization via the Radial Plot and Radial

- Regression. *International Journal of Epidemiology*, **47**, 2100. <https://doi.org/10.1093/ije/dyy265>
- [13] Burgess, S. and Thompson, S.G. (2017) Interpreting Findings from Mendelian Randomization Using the MR-Egger Method. *European Journal of Epidemiology*, **32**, 377-389. <https://doi.org/10.1007/s10654-017-0255-x>
- [14] Wu, D., Potluri, N., Lu, J., Kim, Y. and Rastinejad, F. (2015) Structural Integration in Hypoxia-Inducible Factors. *Nature*, **524**, 303-308. <https://doi.org/10.1038/nature14883>
- [15] Lee, F.S. (2024) Hypoxia Inducible Factor Pathway Proteins in High-Altitude Mammals. *Trends in Biochemical Sciences*, **49**, 79-92. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2023.11.002>
- [16] Beall, C.M., Cavalleri, G.L., Deng, L., *et al.* (2010) Natural Selection on EPAS1 (HIF2 α) Associated with Low Hemoglobin Concentration in Tibetan Highlanders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 11459-11464.
- [17] Lawrence, E.S., Gu, W., Bohlender, R.J., Anza-Ramirez, C., Cole, A.M., Yu, J.J., *et al.* (2024) Functional EPAS1/HIF2A Missense Variant Is Associated with Hematocrit in Andean Highlanders. *Science Advances*, **10**, eadj5661. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adj5661>
- [18] 刘海云, 占诗梦, 彭淑红, 等. 葛根苓连汤对肥胖 2 型糖尿病前期胰岛素抵抗伴缺氧大鼠肾组织 HIF-2 α 、EPO 及 GILUT4 表达的影响[J]. 中药药理与临床, 2024, 40(1): 3-8.
- [19] Taniguchi, C.M., Finger, E.C., Krieg, A.J., Wu, C., Diep, A.N., LaGory, E.L., *et al.* (2013) Cross-Talk between Hypoxia and Insulin Signaling through Phd3 Regulates Hepatic Glucose and Lipid Metabolism and Ameliorates Diabetes. *Nature Medicine*, **19**, 1325-1330. <https://doi.org/10.1038/nm.3294>
- [20] Brunt, J.J., Shi, S.Y., Schroer, S.A., Sivasubramaniam, T., Cai, E.P. and Woo, M. (2014) Overexpression of HIF-2 α in Pancreatic B Cells Does Not Alter Glucose Homeostasis. *Islets*, **6**, e1006075. <https://doi.org/10.1080/19382014.2015.1006075>
- [21] Moon, J., Riopel, M., Seo, J.B., Herrero-Aguayo, V., Isaac, R. and Lee, Y.S. (2022) HIF-2 α Preserves Mitochondrial Activity and Glucose Sensing in Compensating B-Cells in Obesity. *Diabetes*, **71**, 1508-1524. <https://doi.org/10.2337/db21-0736>