

# 免疫细胞在心肌炎中的因果作用： 两样本与多变量孟德尔随机化研究

薛思杨, 姜红菊

山东中医药大学第二附属医院 心血管病科, 山东 济南 250001

**摘要:**目的 采用孟德尔随机化分析方法,探究参与心肌炎(MC)的相关免疫细胞。方法 对全基因组关联研究数据库(GWAS)进行数据挖掘,暴露因素为731种免疫细胞特征,结局因素为心肌炎。采用逆方差加权法(IVW)、MR-Egger法、Simple Mode法、加权中位数法和Weighted Mode法等回归模型进行孟德尔随机化分析。同时进行异质性检验、水平多效性分析、敏感性分析。通过逆方差加权法(IVW)对筛选出的相关免疫细胞特征进行多变量孟德尔随机化分析,以校正7种阳性免疫细胞特征对结局的影响。结果 (1)两样本孟德尔随机化IVW法结果显示:CD39 + resting Treg % resting Treg ( $OR = 1.237, 95\% CI: 1.039 \sim 1.474$ )、CD4 + CD8dim % leukocyte ( $OR = 0.737, 95\% CI: 0.543 \sim 0.100$ )、CD28 - CD8dim AC ( $OR = 0.868, 95\% CI: 0.753 \sim 0.100$ )、CD28 - CD8br AC ( $OR = 1.398, 95\% CI: 1.097 \sim 1.780$ )、CD20 on CD20 - CD38 - ( $OR = 1.295, 95\% CI: 1.012 \sim 1.659$ )、CCR2 on monocyte ( $OR = 1.010, 95\% CI: 1.000 \sim 1.208$ )、CD11b on basophil ( $OR = 0.852, 95\% CI: 0.727 \sim 0.998$ ) 7种免疫细胞特征与MC存在因果关系。(2)多变量孟德尔随机化结果显示,CD39 + resting Treg % resting Treg ( $OR = 1.228, 95\% CI: 1.059 \sim 1.423$ )、CD28 - CD8dim AC ( $OR = 0.629, 95\% CI: 0.428 \sim 0.924$ )、CCR2 on monocyte ( $OR = 0.661, 95\% CI: 0.488 \sim 0.895$ )与MC存在相关性。(3)反向孟德尔随机化结果未发现7种阳性免疫细胞特征与MC存在因果关系。结论 本研究通过遗传学手段证实了免疫细胞与MC之间的密切联系,为今后的研究提供参考。

**关键词:**孟德尔随机化;全基因组关联研究;心肌炎;免疫细胞

中图分类号:R542.21 文献标志码:A 文章编号:1003-8507(2024)10-1748-06

DOI:10.20043/j.cnki.MPM.202401296

## Immune cells and myocarditis: a two-sample and multivariate Mendelian randomization study

XUE Si-yang, JIANG Hong-ju

The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Department of Cardiology, Jinan, Shandong 250001, China

**Abstract: Objective** Using Mendelian randomization analysis to explore the immune cells involved in myocarditis (MC). **Methods** Genome-wide association study (GWAS) was used to mine the data, and the exposure factors were 731 immune cell traits, and the outcome factor was myocarditis. Regression models such as Inverse-Variance Weighted method (IVW), MR-Egger, Simple Mode, weighted median and Weighted Mode were used for Mendelian randomization analysis. At the same time, heterogeneity tests, horizontal multiple validity analyses, and sensitivity analyses were also conducted. Multivariate Mendelian randomization analysis of the relevant immune cell traits was performed by Inverse-Variance Weighted method (IVW) to correct the effect of seven positive immune cell traits on the outcome. Results (1) The results of Mendelian randomization showed that there was a causal relationship between 7 immune cell traits that include CD39 + resting Treg % resting Treg ( $OR = 1.237, 95\% CI: 1.039 - 1.474$ ), CD4 + CD8dim % leukocyte ( $OR = 0.737, 95\% CI: 0.543 - 0.100$ ), CD28 - CD8dim AC ( $OR = 0.868, 95\% CI: 0.753 - 0.100$ ), CD28 - CD8br AC ( $OR = 1.398, 95\% CI: 1.097 - 1.780$ ), CD20 on CD20 - CD38 - ( $OR = 1.295, 95\% CI: 1.012 - 1.659$ ), CCR2 on monocyte ( $OR = 1.010, 95\% CI: 1.000 - 1.208$ ), CD11b on basophil ( $OR = 0.852, 95\% CI: 0.727 - 0.998$ ) and MC. (2) The results of multivariate Mendelian randomization showed that CD39 + resting Treg % resting Treg ( $OR = 1.228, 95\% CI: 1.059 - 1.423$ ), CD28 - CD8dim AC ( $OR = 0.629, 95\% CI: 0.428 - 0.924$ ), CCR2 on monocyte ( $OR = 0.661, 95\% CI: 0.488 - 0.895$ ) were correlated with

基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(202103011004)

作者简介:薛思杨(1993—),男,硕士,住院医师,研究方向:中西医结合治疗心血管病的临床研究

通信作者:姜红菊, E-mail: yizhezaitu@163.com

MC. (3) The results of reverse Mendelian randomization did not find a causal relationship between 7 positive immune signatures and MC. Conclusion This study confirm the close relationship between immune cells and MC through genetics, which will provide a reference for future research.

**Keywords:** Mendelian randomization (MR); Genome-wide association study (GWAS); Cardiomyocytes; Immune cells

心肌炎是指心脏中各种病理性免疫过程的临床和组织学表现。免疫细胞数量和功能改变以及抗体介导的损伤通常导致急、慢性心肌炎<sup>[1]</sup>。然而在众多免疫细胞中何种免疫细胞参与心肌炎 (myocarditis, MC) 尚不清楚。近年 MC 发病率持续上升, 全球 MC 患病率从 10.2/100 000 上升至 105.6/100 000<sup>[2]</sup>。尽管 MC 已成为全球性的公共卫生问题, 但目前尚无针对心肌炎的特效药物。究其原因, 可能与对该病发病机制了解欠深入有关。因此明确 MC 的免疫相关发病机制十分必要。孟德尔随机化 (Mendelian randomization, MR) 是一种以遗传变异作为工具变量的统计模型<sup>[3]</sup>, 它能规避观察性研究带来的潜在混杂、反向因果等偏倚风险, 在一定程度上与随机对照研究相似<sup>[4]</sup>。该分析方法可用于评估暴露因素与结局因素间因果关系<sup>[5]</sup>。我们的目的是通过孟德尔随机化确定相关免疫细胞与心肌炎之间的因果关系。基于公开的遗传数据, 我们探索了 731 种免疫细胞特征与 MC 之间的因果关系。共纳入 4 种免疫标签: 中位荧光强度 (median fluorescence intensity, MFI)、相对细胞 (relative cell, RC)、绝对细胞 (absolute cell, AC) 和形态学参数 (morphological parameters, MP)。采用双向、多变量 MR 分析方法深入了解 MC 免疫相关发病机制。

## 1 资料与方法

**1.1 研究设计** 基于两样本 MR 分析, 我们评估了 731 个免疫细胞特征组与心肌炎之间的因果关系。MR 使用遗传变异来表示风险因素, 因此, 因果推理中有效的工具变量必须满足三个关键假设: (1) 关联性假设: 遗传变异与暴露直接相关。(2) 独立性假设: 遗传变异与暴露和结局之间可能存在的混杂因素无关。(3) 排他性假设: 遗传变异不通过暴露以外的途径影响结局。

**1.2 数据来源** 暴露变量为 731 种免疫细胞特征, 每个免疫细胞特征的 GWAS 汇总统计数据可从 GWAS 目录中公开获得 (GWAS ID 从 GCST90001391 到 GCST90002121)<sup>[6]</sup>。包括绝对细胞 (AC) 计数 ( $n = 118$ )、反映表面抗原水平的中位荧光强度 (MFI) ( $n = 389$ )、形态参数 [MP] ( $n = 32$ ) 和相对细胞 (RC) 计数 ( $n = 192$ )。具体来说, MFI、AC 和 RC 特征包含 B 细胞、CDCs、成熟阶段的 T 细胞、单核细胞、骨髓细胞、TBNK (T 细胞、B 细胞、自然杀伤细胞) 和 Treg 组, 而

MP 特征包含 CDC 和 TBNK 组。731 种免疫特性 GWAS 使用了来自 3 757 名撒丁岛人的数据<sup>[6]</sup>。结局变量为 MC, MC 的 GWAS 汇总统计数据来自 Sakaue 等<sup>[7]</sup>的研究。该研究对 427 911 名英国人 ( $N_{\text{case}} = 633$ ,  $N_{\text{control}} = 427\ 278$ ) 进行了 GWAS, 共包含 24 180 570 个 SNPs。暴露变量及结局数据均来源于 IEU Open GWAS project (<https://gwas.mrcieu.ac.uk/>) 数据库。为保证两样本 MR 暴露和结果之间的独立性, 避免样本重叠造成的偏倚, 暴露变量采用撒丁岛人 (意大利) 的数据, 结局变量采用英国人的数据。同时为避免群体分层带来的偏倚, 暴露与结局所包含的全部队列都来自欧洲人群。

**1.3 工具变量选择** 与暴露因素有关的工具变量应该符合以下要求: (1) 所有工具变量应具有全基因组意义 ( $P < 5 \times 10^{-6}$  /  $P < 5 \times 10^{-8}$ ); (2) 连锁不平衡参数  $r^2 = 0.001$ , 且区域范围在 10 000 kb 内; (3)  $F$  检验挑选  $F > 10$  的工具变量, 以排除弱工具变量偏倚, 其公式为:  $F = (N - k - 1/k) \times (R^2 / 1 - R^2)$ , 其中  $N$  表示 GWAS 分析中的样本量;  $k$  表示工具变量的个数;  $R^2$  表示工具变量解释暴露因素的程度。  $R^2$  的具体计算方法如下:  $R^2 = 2 \times (1 - MAF) \times MAF \times \beta^2$ 。其中  $MAF$  表示次等位基因频率 (minor allele frequency),  $\beta$  表示 SNP 对暴露因素的效应值 (effect size)。(4) 剔除任何可能具有不相容等位基因或回文 SNP。(5) 与混杂因素相关的 SNPs 需要被排除, 本研究通过 PhenoScanner 数据库查询并剔除与混杂因素相关的 SNPs。剔除混杂因素包括营养不良, 剧烈运动, 过劳, 妊娠, 辐射暴露<sup>[8-9]</sup>。将通过筛选的 SNPs 作为本研究的工具变量。

我们通过以上标准共筛选出 7 种相关免疫细胞特征, 分别是 CD39 + resting Treg % resting Treg、CD4 + CD8dim % leukocyte、CD28 - CD8dim AC、CD28 - CD8br AC、CD20 on CD20 - CD38 -、CCR2 on monocyte、CD11b on basophil。见表 1。

**1.4 MR 分析** 单变量和多变量分析主要采用逆方差加权法 (inverse-variance weighted, IVW), 原因是 IVW 法可以在不存在多效性的条件下获得一个稳健的结果<sup>[10]</sup>。同时单变量分析使用 MR-Egger 法、Simple Mode 法、加权中位数法 (weighted median, WM) 和 Weighted Mode 法作为补充方法检测主分析的稳健性。通过逐一排除法及异常值 (MR-PRESSO) 方法进行敏感性分析。异常值法可识别和

表 1 提取 GWAS 数据库中相关数据信息

Table 1 The relevant data information was extracted from the GWAS database

变量名称	分组	年份	人群	样本量(例)	SNP 数量	GWAS ID
暴露						
CD39 + resting Treg % resting Treg	Treg	2020	欧洲	3 437	15 144 196	ebi - a - GCST90001484
CD4 + CD8dim % leukocyte	TBNK	2020	欧洲	3 668	15 198 002	ebi - a - GCST90001611
CD28 - CD8dim AC	Treg	2020	欧洲	3 408	15 135 292	ebi - a - GCST90001663
CD28 - CD8br AC	Treg	2020	欧洲	3 408	15 135 292	ebi - a - GCST90001687
CD20 on CD20 - CD38 -	B cell	2020	欧洲	3 606	15 039 196	ebi - a - GCST90001744
CCR2 on monocyte	Monocyte	2020	欧洲	3629	15 034 296	ebi - a - GCST90002008
CD11b on basophil	Myeloid cell	2020	欧洲	1 556	14 113 011	ebi - a - GCST90002096
结局						
心肌炎 MC		2021	欧洲	427 911	24 180 570	ebi - a - GCST90018882

解释可能的重要离群点,这些离群点数值会增加分析的异质性及水平多效性。逐一排除法则可探讨单个 SNP 对因果关系的影响。通过敏感性分析对每个 SNP 进行检验,以排除可能对结果产生严重影响的变量。多效性分析通过 MR - Egger 截距测试,如果  $P < 0.05$  则说明数据存在多效性。通过 IVW 和 MR - Egger 检验 Cochran's 值评估异质性, $Q - Pval < 0.1$  说明研究存在异质性。当研究存在异质性时,则采用随机效应模型进行 MR 分析。MR 分析通过 R 软件(4.3.2 版本)的“Two Sample MR”、“MRPRESSO”、“ggplot2”和“MendelianRandomization”程序包实现。

## 2 结果

### 2.1 单变量 MR 分析

#### 2.1.1 CD39 + resting Treg % resting Treg 分析结果

CD39 + resting Treg % resting Treg 分析结果显示五种分析结果方向一致(表 2 和图 1),MR 分析前剔除回文 SNPrs192831774、rs4918971。异质性检验提示不存在异质性( $Q - Pval > 0.1$ ),采取固定效应模型 IVW 法分析,MR - Egger 测试无多效性  $P = 0.509$ 。逐一排除法及 MR - PRESSO 方法进行敏感性分析未发现对因果关联影响较大的 SNPs(图 2)。IVW 法结果显示 TCD39 + resting Treg % resting Treg 是 MC 的危险性因素( $OR = 1.237, 95\% CI: 1.039 \sim 1.474$ )。

#### 2.1.2 CD4 + CD8dim % leukocyte 分析结果

CD4 + CD8dim % leukocyte 分析结果显示四种分析结果方向一致(表 2 和图 1),MR 分析前剔除回文 SNPrs35290870,异质性检验提示不存在异质性( $Q - Pval > 0.1$ ),采取固定效应模型 IVW 法分析,MR - Egger 测试无多效性 0.312。逐一排除法及 MR - PRESSO 方法进行敏感性分析未发现对因果关联影响较大的 SNPs(图 2)。IVW 结果显示 CD4 + CD8dim % leukocyte 是 MC 的保护性因素( $OR = 0.737, 95\% CI: 0.543 \sim 0.999$ )。

#### 2.1.3 CD28 - CD8dim AC 分析结果

CD8dim AC 分析结果显示五种分析结果方向一致(表 2 和图 1),MR 分析前经分析无回文 SNP,异质性检验提示不存在异质性( $Q - Pval > 0.1$ ),采取固定效应模型 IVW 法分析,MR - Egger 测试无多效性  $P = 0.333$ 。逐一排除法及 MR - PRESSO 方法进行敏感性分析未发现对因果关联影响较大的 SNPs(图 2)。IVW 法结果显示 CD28 - CD8dimAC 是 MC 的保护性因素( $OR = 0.868, 95\% CI: 0.753 \sim 0.999$ )。

#### 2.1.4 CD28 - CD8br AC 分析结果

CD28 - CD8br AC 分析结果显示五种分析结果方向一致(表 2 和图 1),MR 分析前剔除回文 SNPrs1451433,异质性检验提示不存在异质性( $Q - Pval > 0.1$ ),采取固定效应模型 IVW 法分析,MR - Egger 测试无多效性  $P = 0.243$ 。逐一排除法及 MR - PRESSO 方法进行敏感性分析未发现对因果关联影响较大的 SNPs(图 2)。IVW 法结果显示 CD28 - CD8br AC 是 MC 的危险因素( $OR = 1.398, 95\% CI: 1.097 \sim 1.780$ )。

#### 2.1.5 CD20 on CD20 - CD38 - 分析结果

CD20 on CD20 - CD38 - 分析结果显示五种分析结果方向一致(表 2 和图 1),MR 分析前剔除回文 SNPrs2861007、rs572468、rs6930288、rs73015549,异质性检验提示不存在异质性( $Q - Pval > 0.1$ ),采取固定效应模型 IVW 法分析,MR - Egger 测试无多效性  $P = 0.682$ 。逐一排除法及 MR - PRESSO 方法进行敏感性分析未发现对因果关联影响较大的 SNPs(图 2)。IVW 法结果显示 CD20 on CD20 - CD38 - 是 MC 的危险因素( $OR = 1.295, 95\% CI: 1.012 \sim 1.659$ )。

#### 2.1.6 CCR2 on monocyte 分析结果

CCR2 on monocyte 分析结果显示五种分析结果方向一致(表 2 和图 1),MR 分析前剔除回文 SNPrs13060505、rs141411805,异质性检验提示不存在异质性( $Q - Pval > 0.1$ ),采取固定效应模型 IVW 法分析,MR - Egger 测试无多效性  $P = 0.953$ 。逐一排除法及 MR - PRESSO 方法进行敏感性分析未发现对因果关联影响较大的 SNPs(图 2)。IVW 法结果显示 CCR2 on

monocyte 是 MC 的危险因素 ( $OR = 1.010, 95\% CI: 1.000 \sim 1.208$ )。

**2.1.7 CD11b on basophil 分析结果** CD11b on basophil 分析结果显示五种分析结果方向一致(表 2 和图 1),MR 分析前经分析无回文 SNP,异质性检验提示不存在异质性 ( $Q - Pval > 0.1$ ),采取固定效应模型 IVW 法分析,MR - Egger 测试无多效性  $P = 0.541$ 。逐一排除法及 MR - PRESSO 方法进行敏感性分析未发现对因果关联影响较大的 SNPs(图 2)。IVW 法结

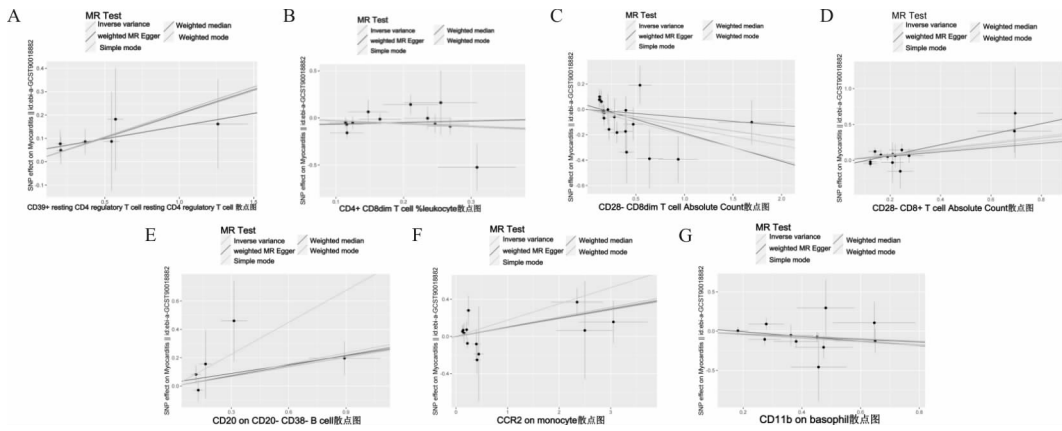
果显示 CD11b on basophil 是 MC 的保护因素 ( $OR = 0.852, 95\% CI: 0.727 \sim 0.998$ )。

本研究涉及到了多个暴露,为减少 I 型错误的概率,采用 FDR (Benjamini - Hochberg 法) 法对检验  $P$  值进行恰当校正,矫正结果 adjust  $P$  分别为 0.049, 0.049, 0.049, 0.049, 0.049, 0.049 (表 2), FDR 值均低于 0.05, 7 种免疫细胞特征均具有显著性差异。

表 2 单变量孟德尔随机化分析结果

Table 2 Results of univariate Mendelian randomization analysis

暴露	结局	分析方法	$\beta$	se	$P$	adjust $P$	OR(95% CI)
CD39 + resting Treg % resting Treg			0.213	0.090	0.017	0.049	1.237 (1.039 ~ 1.474)
CD4 + CD8dim % leukocyte			-0.306	0.155	0.049	0.049	0.737 (0.543 ~ 1.000)
CD28 - CD8dim AC			-0.142	0.072	0.048	0.049	0.868 (0.753 ~ 1.000)
CD28 - CD8br AC	MC	IVW	0.335	0.123	0.007	0.049	1.398 (1.097 ~ 1.780)
CD20 on CD20 - CD38 -			0.259	0.126	0.040	0.049	1.295 (1.012 ~ 1.659)
CCR2 on monocyte			0.095	0.048	0.049	0.049	1.010 (1.000 ~ 1.208)
CD11b on basophil			-0.161	0.081	0.047	0.049	0.852 (0.727 ~ 0.998)



注:图 A 为 CD39 + resting Treg % resting Treg、图 B 为 CD4 + CD8dim % leukocyte、图 C 为 CD28 - CD8dim AC、图 D 为 CD28 - CD8br AC、图 E 为 CD20 on CD20 - CD38 -、图 F 为 CCR2 on monocyte、图 G 为 CD11b on basophil 7 种阳性免疫细胞表型 MR 分析散点图。

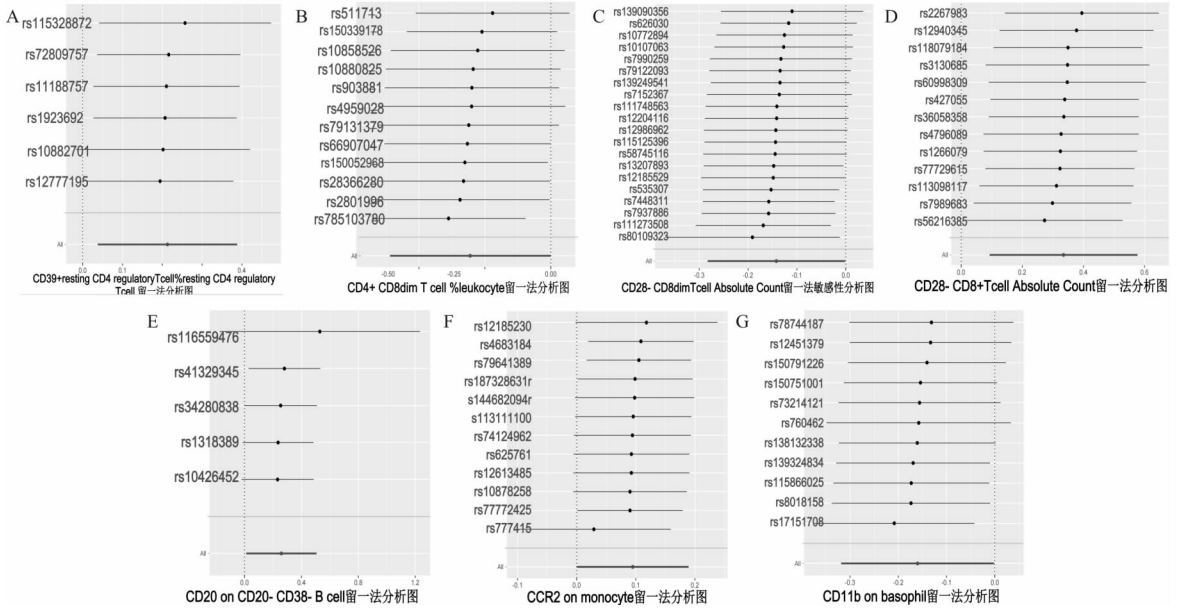
图 1 单变量 MR 分析散点图

Fig. 1 Univariate MR analysis scatter plots

**2.2 多变量 MR 分析** 作为两样本 MR 的延伸,多变量 MR 可以通过将所有暴露纳入同一模型来估计各种风险因素对结局风险的因果影响<sup>[11]</sup>。为此我们将 7 个筛选出与 MC 相关的免疫细胞特征通过多变量 MR 分析以矫正多种阳性免疫细胞特征对结局的影响。结果显示 CD39 + resting Treg % resting Treg ( $OR = 1.228, 95\% CI: 1.059 \sim 1.423$ )、CD28 - CD8dim AC ( $OR = 0.629, 95\% CI: 0.428 \sim 0.924$ )、CCR2 on monocyte ( $OR = 0.661, 95\% CI: 0.488 \sim 0.895$ ) 与 MC 存在因果关系 ( $P < 0.05$ ),提示当 7 种免疫细胞特征同时激活时,此 3 种免疫细胞特征与 MC 存在相关性。CD39 + resting Treg % resting Treg

是 MC 的危险性因素,CD28 - CD8dim AC、CCR2 on monocyte 是 MC 的保护性因素。估计 CD4 + CD8dim % leukocyte、CD28 - CD8br AC、CD20 on CD20 - CD38 -、CD11b on basophil 与 MC 结果具有统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

**2.3 反向 MR 分析** 为探讨 MC 对已筛选 7 种阳性免疫细胞特征的因果关系,采用两样本单变量进行反向 MR 分析。分析前计算 MC 每个 SNP 的  $F$  统计量均  $> 10$ 。剔除回文 SNPrs11914368、rs138644018。异质性检验提示 CD28 - CD8dim AC 存在异质性,采取固定效应模型 IVW 法分析。余不存在异质性,采用随机效应模型 IVW 法分析。逐一排除法及 MR -



注:图 A 为 CD39 + resting Treg % resting Treg,图 B 为 CD4 + CD8dim % leukocyte,图 C 为 CD28 - CD8dim AC,图 D 为 CD28 - CD8br AC,图 E 为 CD20 on CD20 - CD38 - ,图 F 为 CCR2 on monocyte,图 G 为 CD11b on basophil 7 种阳性免疫细胞表型留一法敏感性分析图。

图 2 留一法敏感性分析图

Fig. 2 Results of leave - one - out method

PRESSO 方法进行敏感性分析未发现对因果关联影响较大的 SNPs。MR - Egger 测试均无多效性。IVW 法结果显示 MC 不是已筛选 7 种阳性免疫细胞特征的影响因素,无因果关联 ( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

基于大量公开的遗传数据,我们探索了 731 种免疫细胞特征与 MC 之间的因果关系。据我们所知,这是首次探索多种免疫细胞特征与 MC 之间因果关系的 MR 分析。本研究发现,两样本 MR 研究显示 7 种免疫细胞特征与 MC 存在相关性,多变量 MR 显示当 7 种免疫细胞特征同时激活时只有 3 种免疫细胞特征与 MC 存在相关性。反向 MR 分析显示 MC 与已筛选 7 种阳性免疫细胞特征无因果关联。

心肌炎是指心脏中局限性或弥漫性的病理免疫过程的临床和组织学表现。免疫细胞数量和功能的改变以及抗体介导的损伤通常见于急性和慢性心肌炎患者<sup>[1]</sup>。我们关于免疫细胞特征与心肌炎之间因果关系的研究结果证实了之前的流行病及实验室研究。既往研究表明,CD28 - CD8T 细胞群由各种功能竞争(细胞毒性和免疫抑制性)亚群组成<sup>[12]</sup>,可进一步分化为多种免疫细胞特征,分别具有免疫抑制性或细胞毒性<sup>[13]</sup>,其介导的免疫取决于特定亚群的优势,分化为免疫抑制性的 CD28 - CD8 T 细胞不产生细胞因子,没有杀伤能力<sup>[13]</sup>,限制心肌损害的发展,而分化为细胞毒性 CD28 - CD8 T 细胞亚群通过

释放颗粒酶和穿孔素特异性的杀伤病原体感染的细胞,从而清除各种病原微生物,但同时也造成心肌细胞的坏死或凋亡<sup>[11]</sup>;我们的研究表明,CD20 - CD38 上的 CD20 与 MC 风险增加显著相关,其属于 B 淋巴细胞,最近的研究也强调了 B 淋巴细胞在 MC 发展中的重要作用,B 淋巴细胞通过分泌细胞因子及抗原呈递作用导致心肌损伤<sup>[14]</sup>。此外记忆 B 淋巴细胞因富含自身抗体并且能为浆细胞的分化做好准备,参与慢性感染和自身免疫性疾病。而 CD20 是一种在 B 淋巴细胞表面的独特抗原,它被认为在调节 B 淋巴细胞增殖、分化和信号传导过程中具有重要作用<sup>[15]</sup>;我们的研究揭示了 CD39 + resting Treg % resting Treg 水平升高与 MC 风险之间的正相关性。T 细胞可分为三个亚群:辅助性 T 细胞、细胞毒性 T 细胞和 Treg 细胞。Treg 细胞对免疫系统调节、体内平衡和预防自身免疫至关重要。先前对 Treg 细胞的研究表明,在感染巨细胞病毒(CMV)的内皮细胞中观察到通过 Tregs 激活的 T 细胞受体(TCR)诱导 CD39 活性增强,继而引起胞外核苷酶的上调,局部腺苷产生的增加,产生免疫抑制和抗血栓形成的微环境,使病毒更容易进入靶细胞<sup>[16]</sup>;心肌炎的特征是心脏的炎症细胞浸润和随后的心脏功能恶化。心肌炎性细胞中单核细胞是最突出的白细胞亚群。单核细胞的一个子集表达为 CCR2,CCR2 是一种对促炎单核细胞和巨噬细胞亚群积累至关重要的受体<sup>[17]</sup>。缺乏 CCR2 的小鼠表现出心肌炎严重程度降低<sup>[18]</sup>,通过沉默心肌炎小鼠的

CCR2 表达,可减少心脏中的单核细胞浸润,改善不良的心脏重塑和心功能不全<sup>[19]</sup>。在心肌炎患者的心脏组织活检中的 CCR2 及其主要同源趋化因子配体 MCP-1(也称为 CCL2)mRNA 较正常组织分别增加了 5.4 倍和 4.6 倍证明了人类心肌炎中 CCR2 细胞的存在。

本研究通过孟德尔随机化法规避观察性研究带来的潜在混杂、反向因果等偏倚风险,评估暴露因素与结局因素间因果关系,并且采用大样本分析研究,使结果更具有说服力。但本文在分析过程中同时存在局限性,比如①MR 分析人群的 GWAS 数据为欧洲人,在应用时应考虑不同人种之间存在等位基因频率和疾病患病率的差异。②受 GWAS 数据库限制,疾病严重程度等详尽数据无法获取。③MR 分析中,每种方法都有其优点和缺点。该研究使用了 5 种基于不同假设的方法,这可能导致结果不一致,从而使研究结论模糊不清<sup>[20]</sup>。

总之,我们通过 MR 分析证明了几种免疫细胞特征与 MC 之间的因果关系,强调了免疫系统与 MC 之间相互作用的复杂模式。此外,我们的研究显著降低了混杂因素、反向因果关系和其他因素的影响。这可能为研究人员探索 MC 的生物学机制提供新的途径,为探索 MC 的特异性诊断标志物及药物治疗靶点提供早期研究基础。

**利益冲突声明** 本研究不存在任何利益冲突

## 参考文献

[1] Ammirati E, Frigerio M, Adler ED, et al. Management of acute myocarditis and chronic inflammatory cardiomyopathy: an expert consensus document [J]. *Circulation - Heart Failure*, 2020, 13(11): e007405.

[2] Golpour A, Patriki D, Hanson PJ, et al. Epidemiological impact of myocarditis [J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2021, 10(4): 603.

[3] 于天琦,徐文涛,苏雅娜,等.孟德尔随机化研究基本原理、方法和局限性[J]. *中国循证医学杂志*, 2021, 21(10): 1227-1234. Yu TQ, Xu WT, Su YN, et al. Mendelian randomization: the basic principles, methods and limitations [J]. *Chinese Journal of Evidence - Based Medicine*, 2021, 21(10): 1227-1234.

[4] CSCO生物统计学专家委员会 RWS 方法学组.孟德尔随机化模型及其规范化应用的统计学共识[J]. *中国卫生统计*, 2021, 38(3): 471-475, 480. CSCO Expert Committee on Biostatistics RWS Methodology Group. Statistical consensus on Mendelian randomization models and their normalized applications [J]. *Chinese Journal of Health Statistics*, 2021, 38(3): 471-475, 480.

[5] Richmond RC, Davey smith G. Mendelian randomization: concepts and scope [J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2022, 12(1): a040501.

[6] Orrù V, Steri M, Sidore C, et al. Complex genetic signatures in

immune cells underlie autoimmunity and inform therapy [J]. *Nature Genetics*, 2020, 52(10): 1036-1045.

[7] Sakaue S, Kanai M, Tanigawa Y, et al. A cross - population Atlas of genetic associations for 220 human phenotypes [J]. *Nature Genetics*, 2021, 53(10): 1415-1424.

[8] Lampejo T, Durkin SM, Bhatt N, et al. Acute myocarditis: aetiology, diagnosis and management [J]. *Clinical Medicine*, 2021, 21(5): e505-e510.

[9] 张文武. 急诊内科学 [M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社, 2023. Zhang WW. *Emergency internal medicine* [M]. 5th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2023.

[10] Burgess S, Thompson SG, CRP CHD Genetics Collaboration. Avoiding bias from weak instruments in Mendelian randomization studies [J]. *International Journal of Epidemiology*, 2011, 40(3): 755-764.

[11] Yao S, Zhang M, Dong SS, et al. Bidirectional two - sample Mendelian randomization analysis identifies causal associations between relative carbohydrate intake and depression [J]. *Nature Human Behaviour*, 2022, 6(11): 1569-1576.

[12] Nagata T, Koide Y. Induction of specific CD8 T cells against intracellular bacteria by CD8 T - Cell - Oriented immunization approaches [J]. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, 2010: 764542.

[13] Suciù - Foca N, Manavalan JS, Scotto L, et al. Molecular characterization of allospecific T suppressor and tolerogenic dendritic cells: review [J]. *International Immunopharmacology*, 2005, 5(1): 7-11.

[14] Cen Z, Li Y, Wei B, et al. The role of B cells in regulation of Th cell differentiation in coxsackievirus B3 - Induced acute myocarditis [J]. *Inflammation*, 2021, 44(5): 1949-1960.

[15] Pavlasova G, Mraz M. The regulation and function of CD20: an "enigma" of B - cell biology and targeted therapy [J]. *Haematologica*, 2020, 105(6): 1494-1506.

[16] Kas - Deelen AM, Bakker WW, Olinga P, et al. Cytomegalovirus infection increases the expression and activity of ecto - ATPase (CD39) and ecto - 5' nucleotidase (CD73) on endothelial cells [J]. *FEBS Letters*, 2001, 491(1-2): 21-25.

[17] Wang XP, Xie LG, Liu CY. CCR2 antagonist attenuates calcium oxalate - induced kidney oxidative stress and inflammation by regulating macrophage activation [J/OL]. *Experimental Animals*, 2024 [2024 - 04 - 09]. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/expanim/advpub/0/advpub\\_23-0113/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/expanim/advpub/0/advpub_23-0113/_article).

[18] Ma P, Liu J, Qin J, et al. Expansion of pathogenic cardiac macrophages in immune checkpoint inhibitor myocarditis [J]. *Circulation*, 2024, 149(1): 48-66.

[19] Dong JW, Lu J, Cen ZH, et al. Cardiac macrophages undergo dynamic changes after coxsackievirus B3 infection and promote the progression of myocarditis [J]. *Journal of Medical Virology*, 2023, 95(8): e29004.

[20] Weith M, Beyrer A. The next step in Mendelian randomization [J]. *eLife*, 2023, 12: e86416.

收稿日期: 2024-01-17