

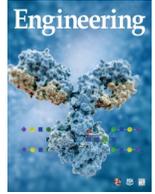


ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng



Research
Glycomedicine—Article

免疫球蛋白 G N-糖基化与代谢特征之间的双向因果关联——一项孟德尔随机化研究

孟晓妮^{a,#}, 曹维杰^{a,b,#}, 刘迪^{a,c,#}, Isinta Elijah Maranga^a, 邢薇佳^d, 侯海峰^d, 徐希柱^d, 宋曼曼^{e,*}, 王友信^{a,b,*}

^a Beijing Key Laboratory of Clinical Epidemiology, School of Public Health, Capital Medical University, Beijing 100069, China

^b Centre for Precision Health, Edith Cowan University, Perth, WA 6027, Australia

^c Centre for Biomedical Information Technology, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China

^d School of Public Health, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250117, China

^e School of Medical and Health Sciences, Edith Cowan University, Perth, WA 6027, Australia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 May 2022

Revised 7 October 2022

Accepted 9 November 2022

Available online 7 December 2022

关键词

孟德尔随机化研究

免疫球蛋白 G N-糖基化

代谢特征

数量性状位点

双向因果关联

摘要

既往研究已发现免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) N-糖基化与代谢特征之间存在关联,但对于它们之间是否存在因果关联尚有待研究。本研究使用孟德尔随机化 (Mendelian randomization, MR) 研究方法,整合全基因组关联研究 (genome-wide association studies, GWAS) 和数量性状基因座 (quantitative trait loci, QTL) 数据,探究 IgG N-糖基化与代谢特征之间的双向因果关联。在正向 MR 分析中,通过整合 IgG N-糖基-QTL 遗传变异与 GWAS 数据和代谢特征进行分析,分别发现 59 个[包括影响体质指数 (body mass index, BMI) 的 9 个 IgG N-糖基 (GP1 和 GP7 等) 和影响空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG) 的 7 个 IgG N-糖基 (GP1 和 GP5 等) 等]和 15 个[包括影响 BMI 的 5 个 IgG N-糖基 (GP2 和 GP11 等) 和影响 FPG 的 4 个 IgG N-糖基 (GP1 和 GP10 等) 等]由遗传决定的 IgG N-糖基在单样本和两样本 MR 研究与代谢特征存在因果关联 (全部 $P < 0.05$)。相应地,对整合代谢特征-QTL-遗传变异与 GWAS 结果和 IgG N-糖基进行 MR 分析的结果显示,在单样本和两样本 MR 研究中,分别发现 72 个[包括影响 GP1 的一个因果代谢特征,即高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 和 5 个影响 GP2 的因果代谢特征 (FPG、收缩压 (systolic blood pressure, SBP) 等) 和 4 个[包括影响 GP3 的一个因果代谢特征 (HDL-C) 和影响 GP9 的一个代谢特征 (HDL-C) 等]由遗传决定的代谢特征与 IgG N-糖基之间存在因果关联 (全部 $P < 0.05$)。值得注意的是,在单样本和两样本的 MR 分析中均发现了由遗传决定的高水平的 GP11 与 BMI 水平增高存在因果关联 [固定效应模型-Beta (SE): 0.106 (0.051) 和 0.010 (0.005)], 高水平的 HDL-C 与 GP9 水平降低存在因果关联 [-0.071 (0.022) 和 -0.306 (0.151)], 且这一结果在单样本和两样本的 meta 汇总分析中得到了进一步验证 [固定效应模型-Beta (95% 置信区间) 分别为: 0.0109 (0.0012, 0.0207) 和 -0.0759 (-0.1186, -0.0332)]。综上所述,本研究全面的双向 MR 分析提供了 IgG N-糖基化与代谢特征之间双向因果关联的证据,在一定程度上揭示了 IgG N-糖基化与代谢特征之间的生物学机制。

© 2022 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 引言

代谢综合征是一组普遍存在的由多因素引起的代谢紊乱性疾病,主要包括肥胖、胰岛素抵抗、血脂异常和高血

压等[1–2]。这些机体状态之间存在一定的联系,并共享潜在的调节因子、机制和通路[2]。代谢紊乱是心血管疾病、脑卒中和癌症等致死性疾病的重要风险因素[3–5]。这加剧了全球公共卫生问题,并加剧了相关致死性疾病的

* Corresponding authors.

E-mail addresses: m.song@ecu.edu.au (M. Song), wangy@ccmu.edu.cn (Y. Wang).

These authors contributed equally to this work.

2095-8099/© 2022 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

英文原文: *Engineering* 2023, 26(7): 74–88

引用本文: Xiaoni Meng, Weijie Cao, Di Liu, Isinta Maranga Elijah, Weijia Xing, Haifeng Hou, Xizhu Xu, Manshu Song, Youxin Wang. Bidirectional Causality Between Immunoglobulin G N-Glycosylation and Metabolic Traits: A Mendelian Randomization Study. *Engineering*, <https://doi.org/10.1016/j.eng.2022.11.004>

全球负担。现阶段，代谢紊乱的分子机制尚不完全清楚，因此，探索代谢特征的发病机制对于预防和干预代谢紊乱具有重要意义。

糖基化作为蛋白质重要且常见的转录后修饰形式，参与许多生理和（或）病理过程[6–8]。既往研究表明，超过一半的已知蛋白质均含糖基结构，它们能够影响蛋白质的功能[7,9]。免疫球蛋白G（immunoglobulin G, IgG）作为最常见的抗体类型，在非特异性免疫功能中起着至关重要的作用。N-糖基是非常丰富且多样化的，通常存在于与细胞和分泌的大分子结合的IgG的最外表面，可诱导IgG大分子Fc段在人体抗体免疫中的作用。N-糖基化修饰的改变会显著影响IgG的结构和功能，进而影响其免疫功能，从而导致IgG功能在促炎和抗炎状态之间转变[7,10–11]。IgG N-糖基化修饰的变化已被证明与多种代谢紊乱有关，主要包括肥胖[12]、血脂异常[13]、高血压[14]和2型糖尿病（type 2 diabetes mellitus, T2DM）[15–16]等。然而，关于IgG N-糖基化修饰的改变与代谢特征之间的因果关系尚仍有待进一步研究。

现阶段，孟德尔随机化（Mendelian randomization, MR）研究越来越多地被用于推断风险因素与疾病结局之间的因果关系。具体而言，MR研究借助各种工具变量（instrumental variables, IV）分析方法展开，其依赖于在配子形成过程中基因变异的自然的随机分配原则，从而大大降低了反向因果关联和混杂因素对结果的影响[17–19]。然而，MR方法用遗传变异作为IV通常会受到弱IV偏倚的影响，而弱IV偏倚只能解释一小部分暴露的变异[20–22]。全基因组关联研究（genome-wide association studies, GWAS）确定与定量暴露相关的遗传变异，因此提供了数量性状位点（quantitative trait loci, QTL）的信息[23–26]。整合QTL数据与GWAS分析可以提高GWAS确定控制复杂性状的遗传位点的能力，并提高解释性状变异的能力，这表明QTL遗传变异在MR研究中可以为风险因素提供高效的IV [23,26–27]。既往研究报道了基因 *B3GAT1*、*SLC9A9*、*MGAT5*、*FUT8*、*FUT6/FUT3* 和 *HNF1A* 的多态性与欧洲成年人血浆N-糖基组的变异相关[28]，这些遗传变异参与糖基转移酶的调节并在欧洲人群的IgG N-糖基化过程中发挥关键作用[29]。因此，假定在GWAS中定义IgG N-糖基-QTL IV，并将其与疾病（结局）相关的IV（遗传变异）进行整合，可以帮助阐明遗传易感性疾病的潜在分子机制，至少部分是由IgG N-糖基改变引起的。

实际上，应该指出的是，目前所有的MR方法都面临着识别中介效应和水平多效性的挑战[30–31]，前者被解释为遗传变异通过多种表型（在感兴趣的暴露途径之外）

影响目标结局的结果。假设IgG N-糖基化与代谢特征之间可能存在双向因果关联，这可能有助于基于独立致病机制或通路的双向调节。

随着糖工程技术不断发展和优化，糖基为医学科学提供了一个新的维度，即糖医学。利用糖基因组学方法能够更好地进行疾病诊断、药物发现和基于个体糖组学特征的给药，从而实现预防、预测和精准医学[32]。因此，本研究进行了一项双向MR分析，整合了代谢特征/IgG N-糖基的GWAS和IgG N-糖基-QTL/代谢-QTL数据，以评估东亚人群IgG N-糖基化与代谢特征之间的因果关系。研究进一步揭示了复杂性状的遗传易感性机制，并探索了IgG N-糖基化的调控机制。这项工作可能为针对代谢状态或疾病的糖医学发展提供一定的依据，并有助于从预测、预防和精准医学的角度促进即时的健康生活方式干预和治疗决策。

2. 材料和方法

在本研究中，采用两种MR研究方法并基于两个样本来源的数据开展研究：首先使用了单样本MR方法进行分析，其IV-暴露和IV-结局效应估计在同一样本中进行评估；其次使用了双样本MR方法进行分析，其IV-暴露和IV-结局的效应估计在不同样本中进行评估。该研究的总体设计见附录A中的图S1（a）。

2.1. 基于个体水平数据开展的单样本MR研究

2.1.1. 研究对象

本研究基于以社区为基础的横断面队列研究，研究对象来自首都医科大学宣武医院。关于研究设计和评估方法的更详细描述已在既往研究中报道[12,33]。所有研究对象均符合以下纳入标准：①年龄大于等于18岁；②近两周无用药史；③IgG N-糖基化和GWAS数据信息完整。此外，排除标准如下：若研究对象有精神疾病、传染病、恶性肿瘤、脑卒中或其他脑血管疾病史和（或）提供的资料不完整，则将其排除在本研究之外。最终，本研究共纳入536名符合上述纳入和排除标准的研究对象进行研究。每位研究对象在纳入本研究之前均需要签署书面知情同意书。本研究已获首都医科大学伦理委员会批准（批准号：2009SY16），并按照《赫尔辛基宣言》所要求的原则进行。

2.1.2. 数据收集

所有研究对象均进行了常规体检，包括人体测量指标测量和生化指标检测，详细信息已在既往已发表研究中进

行了描述[33]。血压由受过训练的护士使用标准汞柱血压计在右臂上进行测量（休息至少 5 min），包括舒张压（diastolic blood pressure, DBP）和收缩压（systolic blood pressure, SBP）。研究对象在穿着室内轻便服装且未穿鞋的状态下进行了身高、体重的测量，并根据身高和体重计算了体重指数（body mass index, BMI）。采用 EDTA 抗凝管于早晨采集经过夜禁食后的研究对象的外周血，以用于检测生化指标。根据既往研究中描述的方法对与代谢有关的生化指标进行检测，包括甘油三酯（triacylglycerol, TG）、高密度脂蛋白胆固醇（high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C）、总胆固醇（total cholesterol, TC）、低密度脂蛋白胆固醇（low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C）和空腹血糖（fasting plasma glucose, FPG）[13]。由于代谢特征指标不服从正态分布，本研究使用 z -score 归一化方法（零均值归一化）对代谢特征数据进行处理，然后用于后续分析。在这项 MR 研究中，整合了 GWAS 和 QTL 数据以评估 IgG N-糖基化与代谢特征之间的因果关系。因此，本研究涉及的代谢特征包括 BMI ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$)、SBP (mmHg, 1 mmHg = 0.133 kPa)、DBP (mmHg)、TG ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、HDL-C ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、TC ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、LDL-C ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 FPG ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)，在后续统计分析中将代谢特征指标作为连续变量进行分析。

2.1.3. IgG N-糖基检测分析

根据既往研究发表的实验检测步骤对所有研究对象的血浆样本进行了 IgG N-糖基检测[34]。简而言之，利用已预处理的 96 孔蛋白 G 提取板从所有研究对象的血浆样品中分离 IgG。将分离的 IgG 按标准实验流程进行变性处理（37 °C 孵育 18~20 h），继而酶切以获得释放的 IgG N-糖基。

然后，向每个释放的 IgG N-糖基样本中加入 2-氨基苯甲酰胺标记试剂，在 65 °C 下孵育 3 h，最后过滤获得荧光标记的 IgG N-糖基。采用亲水交互作用色谱-超高效液相色谱法对 IgG N-糖基的图谱进行分离和检测。首先，使用传统的积分算法对分离的色谱图进行自动处理；然后，对色谱图进行人工校正，确保所有分析样本的积分间隔保持一致。最后，根据峰的位置和保留时间，获得 24 个糖基峰（GP; GP1~GP24），每个糖基峰的含量以各个色谱峰面积占所有色谱峰总面积的百分比（%）表示。每个糖基峰代表的 N-糖基的具体结构已在既往研究中进行了描述[34]。为了控制实验变异性，使用批次校正和 z -score 转换方法来处理原始糖基数据，以使所有实验数据具有可比性[13,34]。

2.1.4. 基因分型和基因型插补

基于 IgG N-糖基 GWAS 数据，将 IgG N-糖基-QTL 遗传变异作为 IV，对来自北京首都医科大学宣武医院的 536 名同时具有基因数据和 IgG N-糖基数据的研究对象进行分析[33]。采用 Illumina Omni Zhonghua 芯片（Illumina, 美国）进行基因分型。按照既往研究中描述的方法进行质量控制[35]。通过 Michigan Imputation Server 使用千人基因组计划第 3 阶段的东亚人群对基因型进行插补[36]。保留具有插补质量比高于 0.30 和最小等位基因频率（minor allele frequency, MAF）高于 0.01 的单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphisms, SNP），最终保留了 7 108 659 个插补 SNP，用于后续的 IgG N-糖基-QTL 的定位分析。由于研究中不存在人群分层的问题，因此在进行 GWAS 分析时没有进行主成分校正。

2.1.5. 统计分析

利用来自同一样本暴露和结局的个体水平数据，进行一系列 MR 分析，以研究 IgG N-糖基与代谢特征之间的因果关联。一项全基因组的 IgG N-糖基-QTL 研究被用于确定影响 IgG N-糖基的遗传变异。在 536 名研究对象中对 24 个 IgG N-糖基的 7 108 659 个遗传变异进行检验。在校正年龄和性别的基础上，IgG N-糖基和 SNP 分别作为因变量和自变量，通过线性回归检验每个 SNP 与 IgG N-糖基之间的相关性。然后，对代谢特征进行 GWAS 分析，同样将年龄和性别作为协变量进行校正。继而以 SNP 为自变量，以各代谢特征为因变量，通过线性回归估计各 SNP 与各代谢特征之间的相关性。本研究采用相对保守的 Bonferroni 校正来筛选 IgG N-糖基-QTL 作为 IgG N-糖基的 IV（即 $P < 1 \times 10^{-5}$ ）。既往研究表明，在样本量较小的 MR 研究中可以使用弱显著性水平（ 1×10^{-5} ）进行因果推断[37-38]。考虑基于 536 例研究对象进行 GWAS 分析，因此，本研究使用了相对宽松的标准（即 1×10^{-5} ）筛选 SNP 作为单样本正向 MR 分析中的 IV。由于许多显著的 IgG N-糖基-QTL 和代谢-QTL 之间存在高度连锁不平衡（linkage disequilibrium, LD），仅保留了每个 IgG N-糖基或代谢特征的独立 IgG N-糖基-QTL 或代谢-QTL（LD 的 $r^2 < 0.001$ ）。本研究从 LD 遗传变异中选择了 P 值最低的 SNP。此外，基于 1000 例东亚人群样本的基因组定义了 LD 代理。为了减少垂直多效性的偏倚，将 IgG N-糖基和代谢特征的候选 IV 中重叠的 SNP 去除[39]，将保留的 SNP 用作最终的 IV。本研究还估计了每个 SNP 解释的暴露方差（ $R^2 = [2 \times \text{Beta}^2 \times \text{MAF} \times (1 - \text{MAF})] / [2 \times \text{Beta}^2 \times \text{MAF} \times (1 - \text{MAF}) + \text{SE}_{\text{Beta}}^2 \times 2 \times N \times \text{MAF} \times (1 - \text{MAF})]$ [40]），并将它

们相加以计算整体 R^2 和F统计量 $[R^2 \times (N-2)/(1-R^2)]$ 。 R^2 和F统计量越高表明弱工具变量偏倚风险越低。

为了评估IgG N-糖基和代谢特征之间的双向因果关系，将逆方差加权（IVW）法的结果作为主要MR分析结果进行汇报；使用基于R包MendelianRandomization（版本0.6.0）的mr_ivw函数执行该方法。本研究利用观察到的IgG N-糖基化与代谢特征的相关性来解释由于样本重叠导致的IgG N-糖基化与代谢特征的遗传关联之间的关系。采用IVW Q检验来检验IV的异质性。若存在异质性（即 $P < 0.05$ ），则采用随机效应IVW法汇报结果；否则采用固定效应IVW法汇报结果。此外还使用加权中位数（weighted median, WM）和MR-Egger回归进行敏感性分析，以确定可能违反有效IV假设的情况。MR-Egger回归的截距可用于评价水平多效性。即MR-Egger回归截距的 P 大于0.05，表明未观察到水平多效性，则保留IVW MR方法的结果。此外，还进行了MR多效性残差和离群值分析，采用全局检验（global test）来检验水平多效性[31]（R包MR-PRESSO，版本1.0）。由于单样本MR分析中纳入了一些弱IV，研究进一步报道了MR稳健调整轮廓评分法（MR robust adjusted profile score, MR.RAPS）（R包mr.raps，版本0.2）的结果以使MR结果更稳健[41]。研究还采用留一法进行了敏感性分析，以检验可能导致因果关联产生偏倚的SNP。此外，既往研究表明炎症标志物[即C-反应蛋白（C-reactive protein, CRP）]与IgG N-糖基水平之间存在关联[42]，因此本研究进一步探究了CRP是否介导了IgG N-糖基对代谢特征以及代谢特征对IgG N-糖基的影响。该分析通过多变量MR分析实现，主要报道了IVW、WM，以及MR-Egger回归方法的结果。结果以每个基因预测的每个暴露增加的结局的Beta和标准误（standard error, SE）来表示。MR研究的功效采用mRnd[†]在线工具计算。

使用R语言（版本4.0.0）对研究数据进行清洗，并使用R语言和PLINK（版本1.9）软件进行统计分析。为了调整多重检验，采用Benjamini-Hochberg（BH）程序来控制错误发现率（false discovery rate, FDR）。当MR-Egger截距的 $P > 0.05$ ，MR-PRESSO global检验的 $P_{FDR} > 0.05$ 时，认为上述结果不存在水平多效性。

2.2. 基于汇总数据开展的两样本MR研究

2.2.1. 数据资源

两样本MR研究中使用的IgG N-糖基的GWAS数据与

上述单样本MR研究中的一致，代谢特征的汇总数据来自Biobank Japan（<http://jenger.riken.jp/en/result>；获取于2021年4月）[43]，利用上述暴露和结局的GWAS数据进行两样本MR分析。GWAS中将性别、年龄、前10个主成分和47种疾病的患病状态作为协变量。基于日本祖先人群的代谢特征的GWAS汇总统计样本量为：BMI纳入的研究对象为158 284，FPG为93 146，SBP为136 597，DBP为136 615，TG为105 597，TC为128 305，HDL-C为70 657，LDL-C为72 866。上述单样本MR研究中使用的CRP的GWAS汇总数据也基于Biobank Japan，样本量为75 391。

2.2.2. 统计分析

两样本MR中的IgG N-糖基的IV筛选与单样本MR中的IV筛选过程相似（显著性阈值为 $P < 1 \times 10^{-5}$ ）。对于每个代谢特征，在两样本MR研究中，选择了在全基因组水平的显著性阈值 $P < 5 \times 10^{-8}$ 的与代谢特征关联的SNP。两样本MR研究中IV的筛选过程与单样本MR研究相似。此外，在两样本MR分析中，应用PhenoScanner[‡]工具检查并排除与其他可能影响结局的潜在表型相关的SNP（IV）。在主要的MR分析中，使用IVW方法基于twosampleMR R软件包（版本0.5.6）评估IgG N-糖基和代谢特征之间的双向因果关系。对于IVW的两样本MR分析，不需要考虑样本重叠的问题。其他分析过程与单样本MR分析方法相同。在MR分析中使用BH程序来控制FDR。当MR-Egger截距的 $P > 0.05$ ，MR-PRESSO global检验的 $P_{FDR} > 0.05$ 时，认为上述结果不存在水平多效性。

2.3. 单样本和两样本MR分析结果的比较以及meta分析汇总

如果同一暴露与同一结局相关的单样本或两样本MR结果中有一个或两个具有统计学意义，则使用meta分析方法将单样本和两样本MR研究的IVW方法结果进行汇总（R包meta，版本4.18-2）。meta汇总的结果以Beta和其95%置信区间表示。如果存在异质性，则汇报随机效应模型的结果，否则汇报固定效应模型的结果。采用Bonferroni校正进行多重检验，meta分析显著性水平为 $P < 0.05/24$ （0.0021）。本研究也比较了在单样本和两样本的MR分析中，代谢特征与IgG N-糖基之间的因果关联同时具有统计学意义的结果。

在本研究中， P 值小于0.05被认为是潜在关联的暗示性证据。经BH方法校正的 P 值小于0.05或经Bonferroni

[†]<https://cnsngenomics.com/shiny/mRnd/>; accessed in December 2021.

[‡]<http://www.phenoscaner.medschl.cam.ac.uk/>; accessed in September 2022.

方法校正的 P 值小于0.0021被视为潜在关联的证据。所有统计分析均使用 R （版本4.0.0）和PLINK（版本1.9）软件实现。

2.4. 生物信息学分析

相关位点基因的注释信息通过在线工具g:Profiler tool[†]获取。为了对潜在的遗传变异进行功能注释，利用功能注释工具Metscape [44]对含有IgG N-糖基-QTL的基因进行功能富集分析。以潜在的基因（ $P < 0.05$ ）作为输入，使用基因符号进行富集分析，包括基因本体论（GO）和KEGG（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，京都基因与基因组百科全书）途径。

2.5. 对研究结果的解释

如附录A中的图S1（b）所示，通过双向MR分析阐述了IgG N-糖基与代谢特征之间因果关系的4种可能的情况。将筛选的SNP作为IV，双向MR分析（即正向和逆向MR分析）在IgG N-糖基和代谢特征之间没有重叠。从研究的结果中确定了4种可能的解释。

- **解释1：**一个或多个遗传变异（SNP）通过IgG N-糖基介导从而影响代谢特征。
- **解释2：**一个或多个SNP通过替代的生物学机制影响代谢特征，进而在IgG N-糖基中发挥下游作用。
- **解释3：**IgG N-糖基与代谢特征之间存在双向因果

关系，通过独立的生物途径进行调节。

• **解释4：**IgG N-糖基与代谢特征之间不存在因果关联，而IgG N-糖基与代谢特征之间的关联可能是由混杂因素造成的。

在图1中，提供了用于探索这4种解释的MR方法的概述。正向MR研究被用于评估IgG N-糖基水平是否影响代谢特征（解释1）。为了检验解释2的可靠性，进行了逆向MR分析，以评估代谢特征是否影响感兴趣的IgG N-糖基水平。 $P > 0.05$ 表示这些发现不支持解释2。如果在正向和逆向MR分析情况下，IgG N-糖基与代谢特征之间存在双向因果关系，并且全部 P 高于0.05，则将这些发现解释为支持解释3，即在正向和逆向MR中IgG N-糖基与代谢特征之间均存在显著的因果关系，并且通过不同的病理途径进行双向调节。当正向和逆向MR中的 P 均高于0.05时，将这些结果定义为支持解释4的证据。

3. 结果

3.1. IgG N-糖基与代谢特征的遗传变异特征

采用IgG N-糖基-QTL分析，对536名具有遗传变异和IgG N-糖基数据的研究对象进行SNP与IgG N-糖基的关联分析。研究对象的平均年龄为48岁（范围43~51岁），其中包括169名男性（31.53%）和367名女性（68.47%）（见附录A中的表S1）。在 $P < 1 \times 10^{-5}$ 的水平上

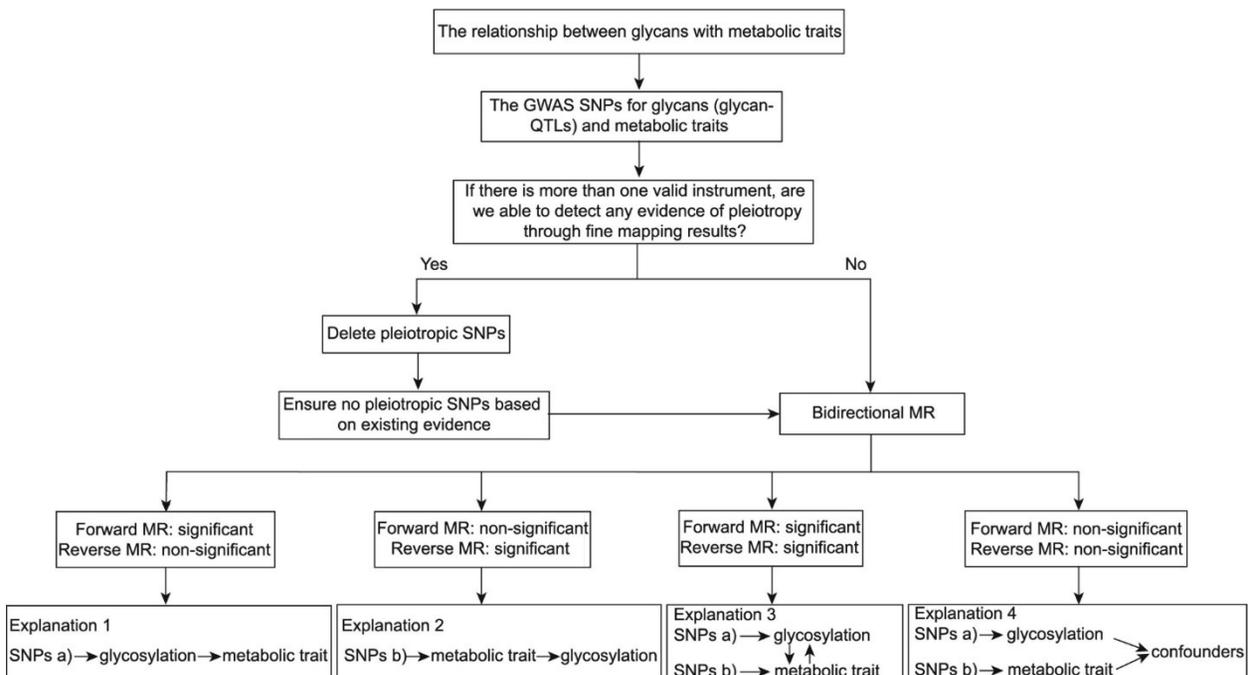


图1. 评估IgG N-糖基化与代谢特征之间因果关联的流程图。

[†] <https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/snpense>; accessed in December 2021.

共定义了 5661 个 IgG N-糖基-QTL SNP 和代谢-QTL SNP，并且未发现 IgG N-糖基或代谢特征的 IV 中存在重叠的 SNP。最终，1167 个 IgG N-糖基-QTL SNP 被筛选作为单样本 MR 研究中的 IgG N-糖基 IV，每个 QTL 的 R^2 和 F 统计量的均值±标准差分别为 $(4.30 \pm 0.86)\%$ 和 24.04 ± 5.15 （见附录 A 中的表 S2）。值得注意的是，在两样本 MR 分析中将 IV-暴露与 IV-结局进行匹配，单样本 MR 分析中筛选出来的 1167 个 IgG N-糖基-QTL SNP 减少至 348 个（见附录 A 中的表 S2）。在单样本 MR 研究中，使用 647 个代谢-QTL SNP 作为代谢特征的 IV，每个 QTL 的 R^2 和 F 统计量的均值±标准差分别为 $(4.49 \pm 0.98)\%$ 和 25.18 ± 5.85 （见附录 A 中的表 S3）。在两样本 MR 研究中，使用 231 个代谢-QTL SNP 作为代谢特征的 IV，每个 QTL 的 R^2 和 F 统计量的均值±标准差分别为 $(0.11 \pm 0.28)\%$ 和 106.04 ± 240.93 （见附录 A 中的表 S4）。在双向 MR 分析中，用于分析每种表型（IgG N-糖基或代谢特征）的 IgG N-糖基-QTL/代谢-QTL SNP 数量的更多信息见图 2 和附录 A 中的表 S2~S4。此外，单样本和两样本正向 MR 分析的功效率的平均值±标准差分别为 $(41.11 \pm 33.76)\%$ 和 $(21.04 \pm 19.34)\%$ 。而单样本和两样本逆向 MR 分析的功效率的平均值±标准差分别为 $(50.48 \pm 36.31)\%$ 和 $(12.29 \pm 10.00)\%$ 。更多信息请

参见附录 A 中的表 S5。在多变量 MR 分析中，QTL SNP 被用作 IgG N-糖基、代谢特征和 CRP 的 IV，详细信息在附录 A 中的表 S6 和表 S7 中呈现。

3.2. 推断潜在的正向因果关联

本研究通过双向 MR 分析评估了 IgG N-糖基与代谢特征之间的因果关联。正向 MR 分析中，本研究使用 IgG N-糖基-QTL SNP 作为 IgG N-糖基的工具变量，检验了 IgG N-糖基对代谢特征的潜在因果影响。在主要的 MR 分析（IVW 方法）结果中，观察到在单样本和两样本正向 MR 研究中，分别有 66 个和 15 个基因决定的 IgG N-糖基与代谢特征存在因果关联（所有 $P < 0.05$ ）。基于前述显著性的 MR 分析结果，单样本和两样本 MR 研究中功效率的平均值±标准差分别为 $(82.56 \pm 15.87)\%$ 和 $(71.42 \pm 15.32)\%$ （见附录 A 中的表 S5）。本研究评估了多效性偏倚，仅保留了几乎不存在多效性证据的 IgG N-糖基进行进一步研究（MR-Egger 回归的截距： $P > 0.05$ ；MR-PRESSO global 检验： $P_{FDR} > 0.05$ ）。在控制多效性偏倚后，发现在正向单样本 MR 分析中有 59 个基因决定的 IgG N-糖基与代谢特征存在因果关联（所有 $P < 0.05$ ），其中包括 9 个 IgG N-糖基（GP1、GP7、GP11 等）与 BMI 存在潜在因果关联，

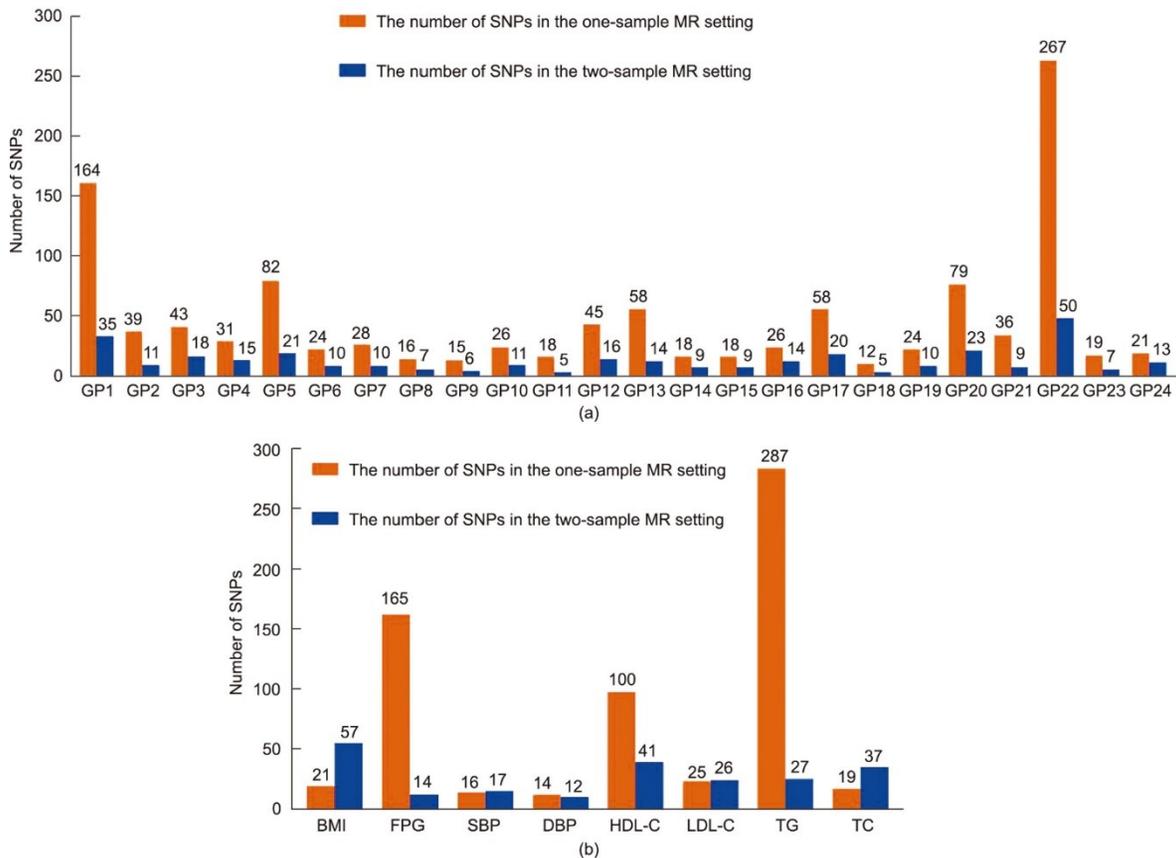


图 2. 在双向单样本和两样本 MR 分析中，每个表型进行 MR 分析纳入的 SNP 的数量。(a) 正向 MR 分析；(b) 逆向 MR 分析。

7个与FPG (GP1、GP5、GP12等)存在潜在因果关联, 6个(GP10、GP13、GP14等)与SBP存在潜在因果关联, 7个(GP2、GP12、GP13等)与DBP存在潜在因果关联, 10个(GP1、GP2、GP6等)与HDL-C存在潜在因果关联, 7个(GP3、GP4、GP12等)与LDL-C存在潜在因果关联, 7个(GP2、GP5、GP10等)与TG存在潜在因果关联, 以及6个(GP3、GP4、GP12等)与TC存在潜在因果关联[见图3(a)~(g)和附录A中的表S8~S15]。同时, 在正向两样本MR研究中, 有15个基因决定的IgG N-糖基与代谢特征存在因果关联(所有 $P < 0.05$), 其中包括5个IgG N-糖基(GP2、GP11、GP13、GP14和GP24)与BMI存在潜在因果关联, 4个(GP1、GP10、GP16和GP18)与FPG存在潜在因果关联, 两个(GP6和GP23)与SBP存在潜在因果关联, 一个(GP6)与DBP存在潜在因果关联, 一个(GP11)与LDL-C存在潜在因果关联, 一个(GP6)与TG存在潜在因果关联, 一

个(GP6)与TC存在潜在因果关联[见图3(h)和附录A中的表S8~S15]。

此外, 在进一步控制多效性偏倚和FDR后, 研究发现在正向单样本MR分析中仍有36个基因决定的IgG N-糖基与代谢特征存在因果关联($P_{FDR} < 0.05$), 其中包括4个IgG N-糖基(GP1、GP12、GP17和GP22)与BMI存在潜在因果关联, 4个(GP1、GP5、GP13和GP20)与FPG存在潜在因果关联, 三个(GP13、GP17和GP20)与SBP存在潜在因果关联, 6个(GP2、GP12、GP13、GP17、GP19和GP20)与DBP存在潜在因果关联, 4个(GP7、GP17、GP20和GP22)与HDL-C存在潜在因果关联, 5个(GP3、GP4、GP12、GP21和GP22)与LDL-C存在潜在因果关联, 5个(GP2、GP5、GP10、GP14和GP22)与TG存在潜在因果关联, 以及5个(GP3、GP4、GP12、GP21和GP22)与TC存在潜在因果关联(见表1和附录A中的表S8~S15)。在两样本MR研究中未观察到IgG N-糖

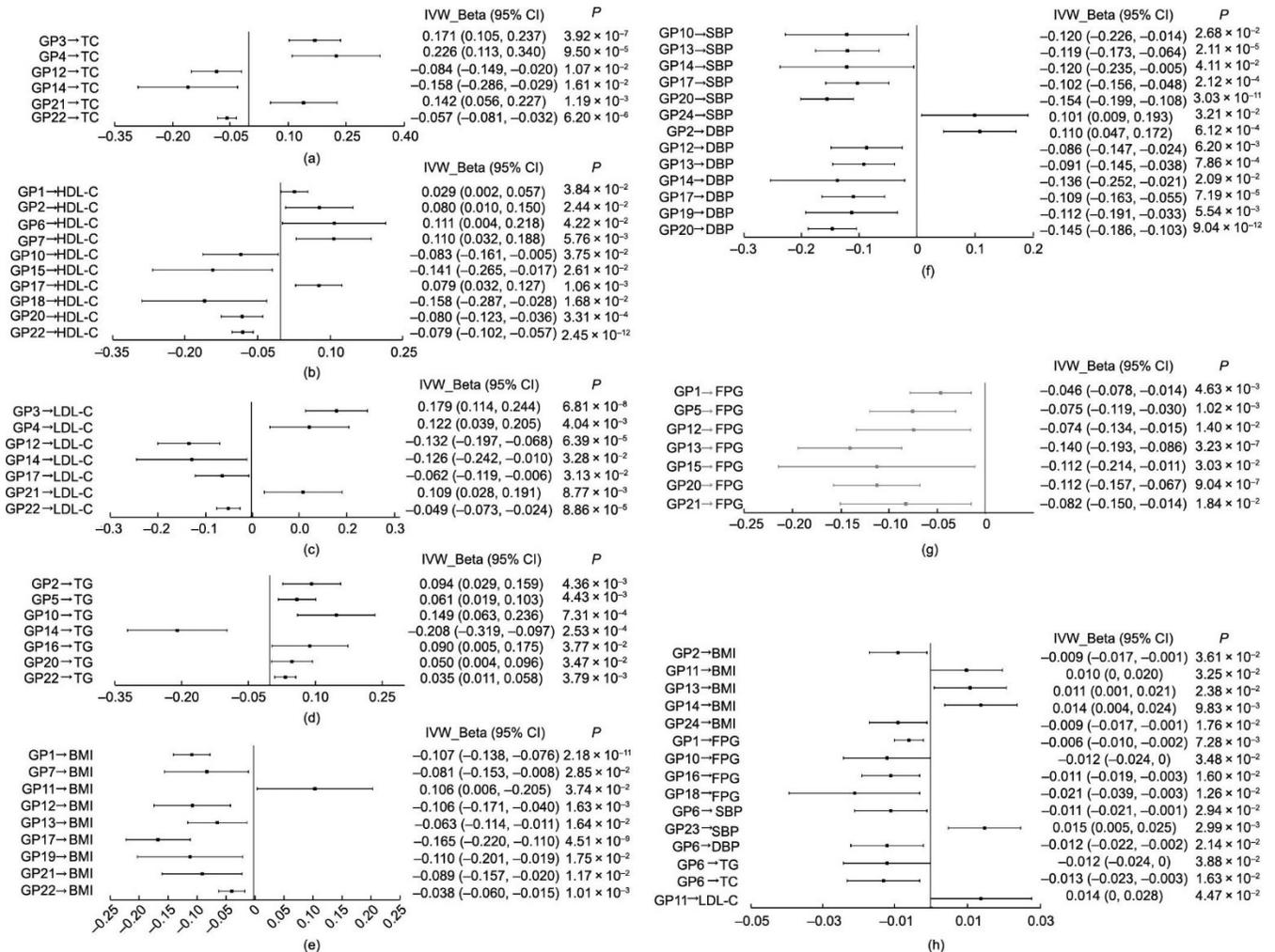


图3. 基于正向MR分析的主要结果(逆方差加权结果)评价IgG N-糖基化与代谢特征的因果关系。单样本MR分析的结果:(a)糖基与TC,(b)糖基与HDL-C,(c)糖基与LDL-C,(d)糖基与TG,(e)糖基与BMI,(f)糖基与BP,(g)糖基与FPG;两样本MR分析的结果:(h)糖基与代谢特征。 $P < 0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

基与代谢特征之间存在因果关联 ($P_{FDR} > 0.05$) (见附录A中的表S8~S15)。在单样本MR (WM方法、MR-Egger回归和MR.RAPS方法)和两样本MR分析 (WM方法和MR-Egger回归)中,效应估计值在IVW方法和基于稳健MR方法的敏感性分析之间基本一致 (见表1和附录A中的表S8~S15)。此外,在控制多效性偏倚和FDR的影响后,正向单样本多变量MR分析的结果显示,与前述单变量MR分析结果相比,与代谢特征相关的基因决定的IgG N-糖基数量从36个减少到26个 (见附录A中图S2和表S16)。研究进一步发现,与单变量MR结果相比,多变

量MR分析中发现了14个新的IgG N-糖基与代谢特征之间的因果关联,包括一个IgG N-糖基 (GP19)与BMI存在潜在因果关联,4个 (GP1、GP5、GP12和GP15)与SBP存在潜在因果关联,两个 (GP14和GP15)与DBP存在潜在因果关联,三个 (GP6、GP12和GP15)与FPG存在潜在因果关联,两个 (GP5和GP7)与TC存在潜在因果关联,一个 (GP4)与HDL-C存在潜在因果关联,以及一个 (GP5)与LDL-C存在潜在因果关联[见附录A中图S3 (a)和表S16]。与代谢特征相关的具体的IgG N-糖基的效应估计结果和更多详细信息请参见附录A中的图S3和表S16。

表1 正向单样本MR分析中IgG N-糖基与代谢特征之间的因果关联

GPs and meta-bolic traits	Number of SNPs	IVW_Beta (SE)	IVW P_{FDR}	WM_Beta (SE)	WM P	MR.RAPS_Beta (SE)	MR.RAPS P	MR-Egger_Beta (SE)	MR-Egger P	MR-PRES-SO global test $P (P_{FDR})$
GP1→BMI	164	-0.107 (0.016)	1.40×10^{-9}	-0.116 (0.022)	1.26×10^{-7}	-0.104 (0.016)	7.52×10^{-11}	-0.146 (0.031)	2.78×10^{-6}	0.749 (0.989)
GP12→BMI	45	-0.106 (0.034)	1.01×10^{-2}	-0.107 (0.045)	1.66×10^{-2}	-0.102 (0.033)	2.03×10^{-3}	-0.046 (0.072)	5.26×10^{-1}	0.403 (0.941)
GP17→BMI	58	-0.165 (0.028)	1.73×10^{-7}	-0.190 (0.040)	1.89×10^{-6}	-0.176 (0.029)	1.23×10^{-9}	-0.101 (0.061)	9.76×10^{-2}	0.249 (0.907)
GP22→BMI	267	-0.038 (0.011)	7.02×10^{-3}	-0.045 (0.017)	9.97×10^{-3}	-0.032 (0.012)	1.06×10^{-2}	-0.016 (0.029)	5.82×10^{-1}	0.929 (0.989)
GP1→FPG	164	-0.046 (0.016)	2.40×10^{-2}	-0.063 (0.021)	2.76×10^{-3}	-0.039 (0.016)	1.18×10^{-2}	-0.078 (0.030)	9.75×10^{-3}	0.872 (0.989)
GP5→FPG	82	-0.075 (0.023)	7.02×10^{-3}	-0.083 (0.032)	8.51×10^{-3}	-0.071 (0.024)	2.37×10^{-3}	-0.076 (0.046)	9.62×10^{-2}	0.662 (0.985)
GP13→FPG	58	-0.140 (0.027)	6.89×10^{-6}	-0.139 (0.038)	2.27×10^{-4}	-0.139 (0.028)	1.11×10^{-6}	-0.132 (0.046)	3.82×10^{-3}	0.919 (0.989)
GP20→FPG	79	-0.112 (0.023)	1.58×10^{-5}	-0.117 (0.031)	1.68×10^{-4}	-0.102 (0.024)	1.77×10^{-5}	-0.144 (0.053)	6.60×10^{-3}	0.985 (0.998)
GP13→SBP	58	-0.119 (0.028)	2.89×10^{-4}	-0.108 (0.040)	7.67×10^{-3}	-0.117 (0.029)	5.15×10^{-5}	-0.179 (0.051)	4.18×10^{-4}	0.234 (0.907)
GP17→SBP	58	-0.102 (0.028)	2.03×10^{-3}	-0.084 (0.039)	2.96×10^{-2}	-0.093 (0.029)	1.35×10^{-3}	-0.073 (0.051)	1.51×10^{-1}	0.622 (0.985)
GP20→SBP	79	-0.154 (0.023)	1.45×10^{-9}	-0.144 (0.033)	1.69×10^{-5}	-0.161 (0.024)	4.53×10^{-11}	-0.170 (0.080)	3.40×10^{-2}	0.447 (0.941)
GP2→DBP	39	0.110 (0.032)	4.89×10^{-3}	0.073 (0.049)	1.36×10^{-1}	0.115 (0.036)	1.55×10^{-3}	0.105 (0.045)	2.09×10^{-2}	0.878 (0.989)
GP12→DBP	45	-0.086 (0.031)	2.98×10^{-2}	-0.089 (0.044)	4.23×10^{-2}	-0.091 (0.032)	4.57×10^{-3}	-0.010 (0.078)	9.02×10^{-1}	0.564 (0.985)
GP13→DBP	58	-0.091 (0.027)	5.80×10^{-3}	-0.078 (0.038)	3.94×10^{-2}	-0.092 (0.028)	1.17×10^{-3}	-0.085 (0.050)	8.63×10^{-2}	0.812 (0.989)
GP17→DBP	58	-0.109 (0.028)	8.63×10^{-4}	-0.097 (0.037)	9.42×10^{-3}	-0.109 (0.028)	1.03×10^{-4}	-0.073 (0.060)	2.21×10^{-1}	0.815 (0.989)
GP19→DBP	24	-0.112 (0.040)	2.80×10^{-2}	-0.131 (0.058)	2.29×10^{-2}	-0.127 (0.044)	4.31×10^{-3}	-0.202 (0.122)	9.82×10^{-2}	0.828 (0.989)
GP20→DBP	79	-0.145 (0.021)	8.68×10^{-10}	-0.149 (0.032)	4.38×10^{-6}	-0.153 (0.024)	9.64×10^{-11}	-0.142 (0.048)	3.46×10^{-3}	0.408 (0.941)
GP7→HDL-C	28	0.110 (0.040)	2.84×10^{-2}	0.131 (0.053)	1.40×10^{-2}	0.109 (0.040)	6.13×10^{-3}	0.040 (0.071)	5.73×10^{-1}	0.660 (0.985)
GP17→HDL-C	58	0.079 (0.024)	7.04×10^{-3}	0.058 (0.037)	1.18×10^{-1}	0.081 (0.028)	3.47×10^{-3}	0.074 (0.050)	1.40×10^{-1}	0.559 (0.985)
GP20→HDL-C	79	-0.080 (0.022)	2.89×10^{-3}	-0.093 (0.031)	2.96×10^{-3}	-0.085 (0.023)	2.67×10^{-4}	-0.145 (0.050)	3.77×10^{-3}	0.876 (0.989)
GP22→HDL-C	267	-0.079 (0.011)	4.70×10^{-10}	-0.074 (0.017)	7.39×10^{-6}	-0.083 (0.012)	2.65×10^{-12}	-0.082 (0.032)	1.16×10^{-2}	0.448 (0.941)
GP3→LDL-C	43	0.179 (0.033)	1.63×10^{-6}	0.178 (0.049)	2.62×10^{-4}	0.189 (0.035)	9.07×10^{-8}	0.167 (0.067)	1.31×10^{-2}	0.326 (0.907)
GP4→LDL-C	31	0.122 (0.042)	2.35×10^{-2}	0.134 (0.061)	2.68×10^{-2}	0.108 (0.045)	1.61×10^{-2}	0.019 (0.084)	8.16×10^{-1}	0.320 (0.907)
GP12→LDL-C	45	-0.132 (0.033)	8.18×10^{-4}	-0.125 (0.045)	5.49×10^{-3}	-0.138 (0.034)	5.15×10^{-5}	-0.087 (0.098)	3.73×10^{-1}	0.888 (0.989)
GP21→LDL-C	36	0.109 (0.042)	4.11×10^{-2}	0.136 (0.053)	1.04×10^{-2}	0.144 (0.037)	1.07×10^{-4}	0.229 (0.111)	3.97×10^{-2}	0.002 (0.128)
GP22→LDL-C	267	-0.049 (0.012)	1.00×10^{-3}	-0.045 (0.017)	9.49×10^{-3}	-0.048 (0.013)	1.62×10^{-4}	-0.043 (0.038)	2.56×10^{-1}	0.990 (0.998)
GP2→TG	39	0.094 (0.033)	2.40×10^{-2}	0.100 (0.049)	4.14×10^{-2}	0.089 (0.036)	1.27×10^{-2}	0.117 (0.063)	6.12×10^{-2}	0.587 (0.985)
GP5→TG	82	0.061 (0.021)	2.40×10^{-2}	0.062 (0.032)	5.41×10^{-2}	0.060 (0.023)	9.96×10^{-3}	0.083 (0.044)	5.97×10^{-2}	0.537 (0.982)
GP10→TG	26	0.149 (0.044)	5.61×10^{-3}	0.120 (0.062)	5.16×10^{-2}	0.156 (0.044)	3.48×10^{-4}	0.049 (0.145)	7.37×10^{-1}	0.355 (0.934)
GP14→TG	18	-0.208 (0.057)	2.31×10^{-3}	-0.188 (0.081)	2.02×10^{-2}	-0.227 (0.059)	1.20×10^{-4}	-0.039 (0.183)	8.30×10^{-1}	0.220 (0.907)
GP22→TG	267	0.035 (0.012)	2.27×10^{-2}	0.028 (0.016)	8.56×10^{-2}	0.053 (0.012)	8.23×10^{-6}	0.053 (0.030)	7.09×10^{-2}	0.521 (0.981)
GP3→TC	43	0.171 (0.034)	7.53×10^{-6}	0.166 (0.049)	6.75×10^{-4}	0.179 (0.035)	3.66×10^{-7}	0.142 (0.069)	4.07×10^{-2}	0.299 (0.907)
GP4→TC	31	0.226 (0.058)	1.01×10^{-3}	0.297 (0.063)	2.55×10^{-6}	0.222 (0.045)	1.08×10^{-6}	0.216 (0.113)	5.71×10^{-2}	0.365 (0.934)

GPs and meta-bolic traits	Number of SNPs	IVW_Beta (SE)	IVW P_{FDR}	WM_Beta (SE)	WM P	MR.RAPS_Beta (SE)	MR.RAPS P	MR-Egger_Beta (SE)	MR-Egger P	MR-PRESSO global test $P(P_{FDR})$
GP12→TC	45	-0.084 (0.033)	4.77×10^{-2}	-0.089 (0.046)	5.37×10^{-2}	-0.085 (0.034)	1.20×10^{-2}	-0.057 (0.060)	3.43×10^{-1}	0.533 (0.982)
GP21→TC	36	0.142 (0.044)	7.61×10^{-3}	0.179 (0.055)	1.05×10^{-3}	0.168 (0.037)	6.88×10^{-6}	0.239 (0.108)	2.75×10^{-2}	0.003 (0.144)
GP22→TC	267	-0.057 (0.013)	9.92×10^{-5}	-0.060 (0.017)	5.46×10^{-4}	-0.060 (0.013)	2.09×10^{-6}	-0.051 (0.037)	1.64×10^{-1}	0.940 (0.989)

Bold font indicates statistical significance at $P < 0.05$ based on pleiotropy bias (MR-Egger intercept: $P > 0.05$ and MR-PRESSO global test: $P_{FDR} > 0.05$); $P < 0.05$ was considered statistically significant.

P_{FDR} : adjusted for FDR using the BH method.

在单样本和两样本 MR 的 meta 分析结果中发现了 10 个 IgG N-糖基与代谢特征因果关联的潜在证据 ($P < 0.05$), 而在正向 MR 分析中仅观察到 GP23 对 SBP 存在潜在的因果影响 (GP23→SBP) ($P < 0.0021$) (见附录 A 中的表 S17)。此外, 值得注意的是, 三个 IgG N-糖基与代谢特征之间的关联在单样本和两样本正向 MR 研究中结果一致 (GP11→BMI、GP13→BMI 和 GP1→FPG) ($P < 0.05$) (表 2)。其中, meta 分析结果进一步证实了 GP11 与 BMI 之间的正向因果关联[固定效应模型-Beta (95% CI): 0.0109 (0.0012, 0.0207)] (见附录 A 中的表 S17)。在单样本和两样本正向 MR 分析中, 研究发现基因决定的 GP1 与 FPG 存在因果关联[固定效应模型-Beta (SE): -0.046 (0.016) 和 -0.006 (0.002)]; 在单样本 MR 分析中, 使用 WM 方法和 MR-Egger 回归方法分析的结果验证了这一关联[Beta (SE): -0.063 (0.021) 和 -0.078 (0.030)]; 在两样本 MR 分析中, 使用 WM 方法分析的结果也支持了这一关联[Beta (SE): -0.008 (0.003)]。此外, 对 GP1 与 FPG 之间的因果关联进行的留一分析表明, 不存在对效应估计结果产生显著影响的异常遗传变异 (见附录 A 中的图 S4 和图 S5)。

3.3. 推断潜在的逆向因果关联

基于前述的关联, 本研究进行了逆向 MR 分析, 通过

筛选代谢特征-QTL 作为代谢特征指标的工具变量, 评估了代谢特征与 IgG N-糖基水平之间的潜在因果关联。在逆向 MR 分析中, 主要的 MR 分析 (IVW 方法) 结果显示, 在单样本和两样本 MR 研究中分别定义了 82 个和 4 个基因决定的代谢特征与 IgG N-糖基存在因果关联 (所有 $P < 0.05$)。基于前述的显著性 MR 分析结果, 单样本和两样本研究中功效的平均值±标准差分别为(87.77 ± 15.32)%和(46.87 ± 9.87)% (见附录 A 中的表 S5)。在控制了多效性偏倚后 (MR-Egger 回归的截距: $P > 0.05$; MR-PRESSO global 检验: $P_{FDR} > 0.05$), 逆向单样本 MR 研究中仍有 72 个代谢特征与 IgG N-糖基之间存在因果关联 (所有 $P < 0.05$), 其中包括一个可能的因果关联的代谢特征 (HDL-C) 与 GP1 相关, 5 个与 GP2 相关 (FPG、SBP、HDL-C 等), 两个与 GP3 相关 (LDL-C 和 TC), 4 个与 GP4 相关 (FPG、LDL-C 等), 两个与 GP5 相关 (FPG 和 SBP), 5 个与 GP6 相关 (FPG、HDL-C 等), 两个与 GP7 相关 (FPG 和 DBP), 两个与 GP8 相关 (HDL-C 和 TG), 三个与 GP9 相关 (FPG、HDL-C 和 LDL-C), 两个与 GP10 相关 (FPG 和 TG), 三个与 GP11 相关 (HDL-C、LDL-C 和 TG), 4 个与 GP12 相关 (FPG、DBP 等), 4 个与 GP13 相关 (FPG、SBP 等), 4 个与 GP14 相关 (FPG、HDL-C 等), 一个与 GP15 相关 (FPG), 4 个与 GP16 相关 (FPG、TG

表 2 代谢特征与 IgG N-糖基在单样本和两样本 MR 研究中重叠的因果关联结果

Metabolic traits and GP	One-sample MR					Two-sample MR				
	Number of SNPs	IVW_Beta	IVW SE	IVW P	IVW P_{FDR}	Number of SNP	IVW_Beta	IVW SE	IVW P	IVW P_{FDR}
Forward analysis										
GP11→BMI	18	0.106	0.051	3.74×10^{-2}	1.15×10^{-1}	5	0.010	0.005	3.25×10^{-2}	5.32×10^{-1}
GP13→BMI	58	-0.063	0.026	1.64×10^{-2}	6.69×10^{-2}	14	0.011	0.005	2.38×10^{-2}	5.08×10^{-1}
GP1→FPG	164	-0.046	0.016	4.63×10^{-3}	2.40×10^{-2}	35	-0.006	0.002	7.28×10^{-3}	4.82×10^{-1}
Reverse analysis										
HDL-C→GP9	100	-0.071	0.022	1.47×10^{-3}	5.52×10^{-3}	41	-0.306	0.151	4.30×10^{-2}	9.01×10^{-1}

Bold font indicates statistical significance at $P < 0.05$ based on pleiotropy bias (MR-Egger intercept: $P > 0.05$ and MR-PRESSO global test: $P_{FDR} > 0.05$); IVW P and IVW P_{FDR} for the association between the metabolic traits and IgG N-glycans, and a value < 0.05 was considered statistically significant.

IVW P_{FDR} : adjusted for FDR in IVW results using the BH method.

等), 5个与GP17相关 (BMI、FPG等), 5个与GP18相关 (FPG、HDL-C等), 两个与GP19相关 (BMI和TG), 三个与GP20相关 (FPG、DBP和HDL-C), 一个与GP21相关 (TG), 5个与GP22相关 (BMI、DBP等), 一个与GP23相关 (TC), 两个与GP24相关 (HDL-C、TG) [见图4 (a) ~ (g) 和附录A中的表S18~S25]。此外, 在逆向两样本MR研究中存在4个基因决定的代谢特征与IgG N-糖基相关 ($P < 0.05$), 其中包括一个可能的因果关联的代谢特征 (HDL-C) 与GP3相关, 一个 (HDL-C) 与GP9相关, 一个 (TC) 与GP16相关, 以及一个 (LDL-C) 与GP20相关[见图4 (h) 和附录A中的表S18~S25]。

此外, 进一步控制FDR后, 逆向单样本MR分析中的代谢特征与IgG N-糖基关联的数量减少至57个 ($P_{FDR} < 0.05$), 其中包括4个可能的因果关联的代谢特征 (FPG、HDL-C等) 与GP2相关, 一个 (LDL-C) 与GP3相关, 4个 (FPG、LDL-C等) 与GP4相关, 两个 (FPG和SBP)

与GP5相关, 4个 (FPG、HDL-C等) 与GP6相关, 两个 (FPG和DBP) 与GP7相关, 两个 (HDL-C和TG) 与GP8相关, 两个 (FPG和HDL-C) 与GP9相关, 一个 (TG) 与GP10相关, 两个 (HDL-C和TG) 与GP11相关, 4个 (FPG、DBP等) 与GP12相关, 4个 (FPG、SBP等) 与GP13相关, 4个 (FPG、HDL-C等) 与GP14相关, 一个 (FPG) 与GP15相关, 三个 (DBP、HDL-C和TG) 与GP16相关, 三个 (BMI、FPG和LDL-C) 与GP17相关, 5个 (FPG、HDL-C等) 与GP18相关, 一个 (TG) 与GP19相关, 三个 (FPG、DBP和HDL-C) 与GP20相关, 一个 (TG) 与GP21相关, 一个 (TG) 与GP22相关, 一个 (TC) 与GP23相关, 以及两个 (HDL-C和TG) 与GP24相关 (见附录A中的表S18~S25)。与正向两样本MR分析结果类似, 在逆向两样本MR研究中没有观察到代谢特征与IgG N-糖基之间存在因果关联 ($P_{FDR} > 0.05$) (见表3和附录A中的表S18~S25)。单样本MR中的

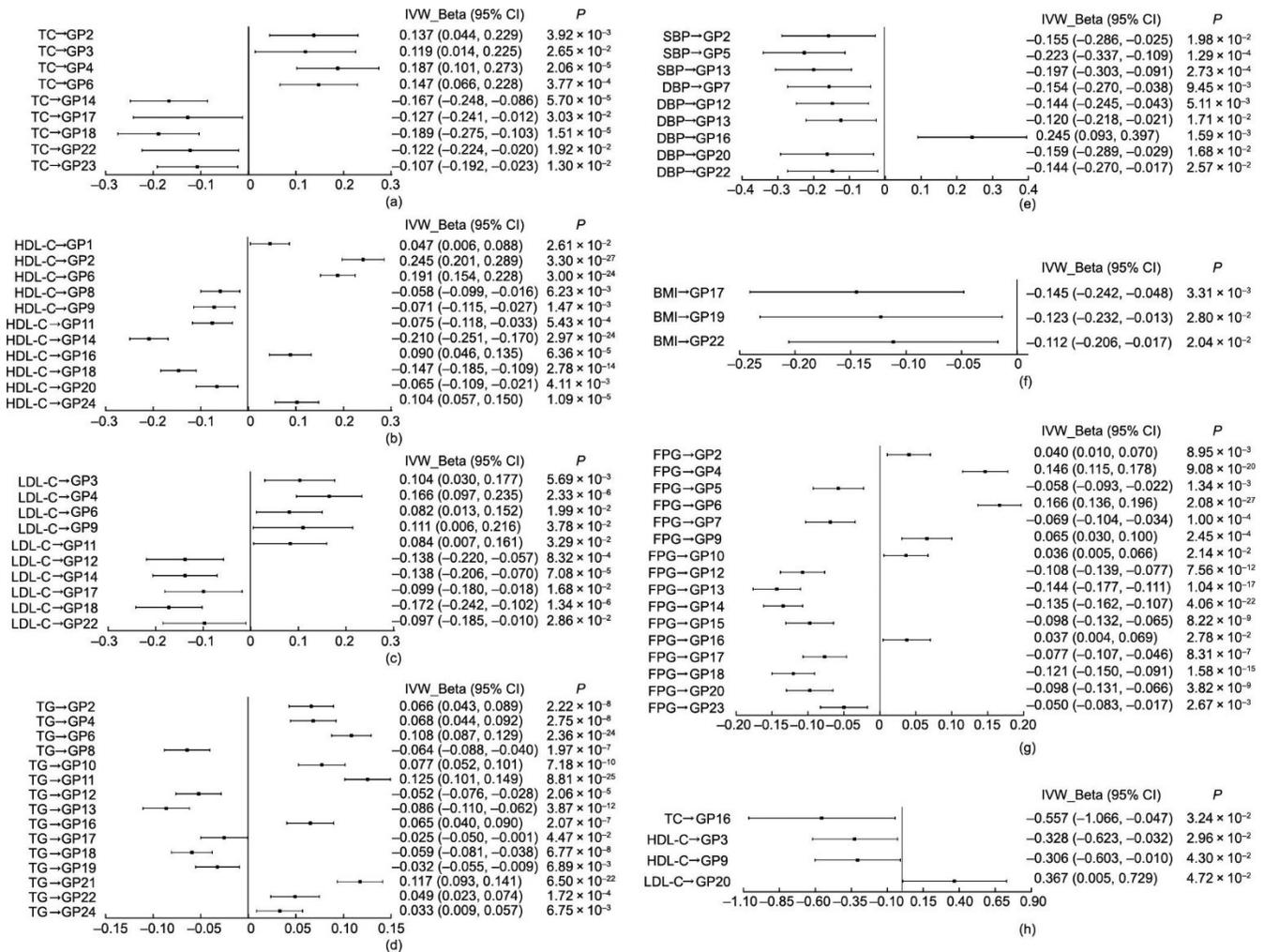


图4. 基于逆向MR估计的主要分析结果 (逆方差加权法) 评价代谢特征与IgG N-糖基的因果关联。单样本MR分析的结果: (a) TC与糖基, (b) HDL-C与糖基, (c) LDL-C与糖基, (d) TG与糖基, (e) BP与糖基, (f) BMI与糖基, (g) FPG与糖基; 两样本MR分析的结果: (h) 血脂特征与糖基。 $P < 0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

IVW方法和基于稳健MR方法的敏感性分析以及两样本MR分析中的WM方法和MR-Egger回归等敏感性分析的

效应估计结果是基本一致的（见表3和附录A中的表S18~S25）。

表3 逆向单样本MR分析中代谢特征与IgG N-糖基之间的因果关联

Metabolic traits and GPs	Number of SNPs	IVW_Beta (SE)	IVW P_{FDR}	WM_Beta (SE)	WM P	MR.RAPS_Beta (SE)	MR.RAPS P	MR-Egger_Beta (SE)	MR-Egger P	MR-PRESSO global test P (P_{FDR})
BMI→GP17	21	-0.145 (0.049)	1.18×10^{-2}	-0.160 (0.069)	2.05×10^{-2}	-0.149 (0.051)	3.52×10^{-3}	-0.114 (0.166)	4.93×10^{-1}	0.376 (0.999)
FPG→GP2	165	0.040 (0.015)	2.77×10^{-2}	0.048 (0.023)	3.51×10^{-2}	0.051 (0.017)	2.24×10^{-3}	0.021 (0.034)	5.49×10^{-1}	0.783 (0.999)
FPG→GP4	165	0.146 (0.016)	1.58×10^{-18}	0.124 (0.022)	3.26×10^{-8}	0.155 (0.016)	$< 1.00 \times 10^{-4}$	0.159 (0.043)	1.92×10^{-4}	0.938 (0.999)
FPG→GP5	165	-0.058 (0.018)	5.14×10^{-3}	-0.070 (0.024)	3.60×10^{-3}	-0.051 (0.018)	3.89×10^{-3}	-0.010 (0.039)	7.91×10^{-1}	0.916 (0.999)
FPG→GP6	165	0.166 (0.015)	2.00×10^{-25}	0.153 (0.021)	1.85×10^{-13}	0.181 (0.015)	$< 1.00 \times 10^{-4}$	0.196 (0.047)	3.04×10^{-5}	0.809 (0.999)
FPG→GP7	165	-0.069 (0.018)	4.68×10^{-4}	-0.086 (0.024)	3.60×10^{-4}	-0.063 (0.018)	4.22×10^{-4}	-0.064 (0.037)	8.53×10^{-2}	0.744 (0.999)
FPG→GP9	165	0.065 (0.018)	1.04×10^{-3}	0.086 (0.025)	4.60×10^{-4}	0.062 (0.018)	4.51×10^{-4}	0.100 (0.044)	2.22×10^{-2}	0.427 (0.999)
FPG→GP12	165	-0.108 (0.016)	8.06×10^{-11}	-0.124 (0.024)	1.52×10^{-7}	-0.103 (0.017)	2.96×10^{-9}	-0.102 (0.042)	1.41×10^{-2}	0.928 (0.999)
FPG→GP13	165	-0.144 (0.017)	1.54×10^{-16}	-0.140 (0.024)	5.37×10^{-9}	-0.146 (0.018)	2.22×10^{-16}	-0.113 (0.056)	4.29×10^{-2}	0.948 (0.999)
FPG→GP14	165	-0.135 (0.014)	9.74×10^{-21}	-0.132 (0.021)	4.41×10^{-10}	-0.138 (0.015)	$< 1.00 \times 10^{-4}$	-0.151 (0.044)	6.55×10^{-4}	0.911 (0.999)
FPG→GP15	165	-0.098 (0.017)	7.17×10^{-8}	-0.100 (0.025)	5.07×10^{-5}	-0.107 (0.018)	1.64×10^{-9}	-0.079 (0.056)	1.57×10^{-1}	0.433 (0.999)
FPG→GP17	165	-0.077 (0.016)	5.70×10^{-6}	-0.085 (0.024)	3.60×10^{-4}	-0.072 (0.018)	4.37×10^{-5}	-0.092 (0.040)	2.01×10^{-2}	0.951 (0.999)
FPG→GP18	165	-0.121 (0.015)	2.17×10^{-14}	-0.118 (0.022)	6.20×10^{-8}	-0.123 (0.016)	5.77×10^{-15}	-0.141 (0.039)	2.97×10^{-4}	0.796 (0.999)
FPG→GP20	165	-0.098 (0.017)	3.67×10^{-8}	-0.090 (0.024)	1.74×10^{-4}	-0.091 (0.018)	3.68×10^{-7}	-0.045 (0.049)	3.57×10^{-1}	0.957 (0.999)
SBP→GP5	16	-0.223 (0.058)	5.88×10^{-4}	-0.255 (0.073)	4.75×10^{-4}	-0.232 (0.058)	5.51×10^{-5}	-0.098 (0.156)	5.30×10^{-1}	0.833 (0.999)
SBP→GP13	16	-0.197 (0.054)	1.14×10^{-3}	-0.236 (0.075)	1.57×10^{-3}	-0.198 (0.057)	5.54×10^{-4}	-0.311 (0.192)	1.05×10^{-1}	0.628 (0.999)
DBP→GP7	14	-0.154 (0.059)	2.88×10^{-2}	-0.168 (0.082)	3.92×10^{-2}	-0.143 (0.065)	2.84×10^{-2}	-0.228 (0.140)	1.03×10^{-1}	0.677 (0.999)
DBP→GP12	14	-0.144 (0.051)	1.72×10^{-2}	-0.203 (0.079)	1.01×10^{-2}	-0.142 (0.064)	2.62×10^{-2}	-0.112 (0.127)	3.79×10^{-1}	0.793 (0.999)
DBP→GP13	14	-0.120 (0.050)	4.91×10^{-2}	-0.129 (0.081)	1.12×10^{-1}	-0.122 (0.065)	6.08×10^{-2}	-0.152 (0.112)	1.73×10^{-1}	0.854 (0.999)
DBP→GP16	14	0.245 (0.078)	5.88×10^{-3}	0.280 (0.089)	1.63×10^{-3}	0.234 (0.065)	3.14×10^{-4}	0.301 (0.142)	3.43×10^{-2}	0.081 (0.999)
DBP→GP20	14	-0.159 (0.066)	4.90×10^{-2}	-0.226 (0.088)	9.90×10^{-3}	-0.178 (0.065)	5.86×10^{-3}	-0.141 (0.173)	4.17×10^{-1}	0.139 (0.999)
HDL-C→GP2	100	0.245 (0.023)	2.11×10^{-25}	0.266 (0.030)	1.99×10^{-18}	0.264 (0.023)	$< 1.00 \times 10^{-4}$	0.303 (0.066)	4.10×10^{-6}	0.879 (0.999)
HDL-C→GP6	100	0.191 (0.019)	8.23×10^{-23}	0.189 (0.028)	1.58×10^{-11}	0.218 (0.020)	$< 1.00 \times 10^{-4}$	0.251 (0.035)	4.68×10^{-13}	0.475 (0.999)
HDL-C→GP8	100	-0.058 (0.021)	2.03×10^{-2}	-0.059 (0.032)	6.03×10^{-2}	-0.058 (0.023)	1.21×10^{-2}	-0.128 (0.051)	1.28×10^{-2}	0.847 (0.999)
HDL-C→GP9	100	-0.071 (0.022)	5.52×10^{-3}	-0.074 (0.032)	1.99×10^{-2}	-0.080 (0.024)	7.60×10^{-4}	-0.051 (0.044)	2.47×10^{-1}	0.951 (0.999)
HDL-C→GP11	100	-0.075 (0.022)	2.17×10^{-3}	-0.076 (0.030)	9.99×10^{-3}	-0.067 (0.022)	2.18×10^{-3}	-0.104 (0.039)	7.87×10^{-3}	0.923 (0.999)
HDL-C→GP14	100	-0.21 (0.021)	8.23×10^{-23}	-0.227 (0.029)	3.30×10^{-15}	-0.237 (0.021)	$< 1.00 \times 10^{-4}$	-0.318 (0.052)	7.11×10^{-10}	0.134 (0.999)
HDL-C→GP16	100	0.090 (0.023)	3.13×10^{-4}	0.091 (0.032)	5.16×10^{-3}	0.097 (0.024)	3.57×10^{-5}	0.144 (0.057)	1.26×10^{-2}	0.574 (0.999)
HDL-C→GP18	100	-0.147 (0.019)	3.56×10^{-13}	-0.153 (0.029)	1.83×10^{-7}	-0.167 (0.021)	2.22×10^{-15}	-0.203 (0.038)	7.50×10^{-8}	0.671 (0.999)
HDL-C→GP20	100	-0.065 (0.023)	1.41×10^{-2}	-0.054 (0.032)	9.02×10^{-2}	-0.067 (0.024)	4.94×10^{-3}	-0.130 (0.046)	4.90×10^{-3}	0.980 (0.999)
HDL-C→GP24	100	0.104 (0.024)	6.54×10^{-5}	0.096 (0.031)	2.26×10^{-3}	0.110 (0.024)	3.79×10^{-6}	0.084 (0.051)	9.59×10^{-2}	0.978 (0.999)
LDL-C→GP3	25	0.104 (0.037)	1.88×10^{-2}	0.107 (0.056)	5.71×10^{-2}	0.110 (0.044)	1.20×10^{-2}	0.109 (0.076)	1.50×10^{-1}	0.880 (0.999)
LDL-C→GP4	25	0.166 (0.035)	1.44×10^{-5}	0.149 (0.053)	5.28×10^{-3}	0.170 (0.041)	4.26×10^{-5}	0.209 (0.084)	1.30×10^{-2}	0.872 (0.999)
LDL-C→GP12	25	-0.138 (0.041)	3.26×10^{-3}	-0.158 (0.060)	7.94×10^{-3}	-0.144 (0.044)	9.40×10^{-4}	-0.106 (0.098)	2.78×10^{-1}	0.414 (0.999)
LDL-C→GP14	25	-0.138 (0.035)	3.40×10^{-4}	-0.146 (0.050)	3.34×10^{-3}	-0.151 (0.039)	8.64×10^{-5}	-0.227 (0.151)	1.33×10^{-1}	0.895 (0.999)
LDL-C→GP17	25	-0.099 (0.041)	4.90×10^{-2}	-0.122 (0.060)	4.13×10^{-2}	-0.106 (0.044)	1.57×10^{-2}	-0.118 (0.102)	2.46×10^{-1}	0.262 (0.999)
LDL-C→GP18	25	-0.172 (0.036)	8.87×10^{-6}	-0.158 (0.052)	2.35×10^{-3}	-0.164 (0.040)	3.89×10^{-5}	-0.264 (0.080)	9.51×10^{-4}	0.701 (0.999)
TG→GP2	287	0.066 (0.012)	1.85×10^{-7}	0.065 (0.017)	1.50×10^{-4}	0.066 (0.012)	4.25×10^{-8}	0.068 (0.027)	1.21×10^{-2}	0.624 (0.999)
TG→GP4	287	0.068 (0.012)	2.20×10^{-7}	0.051 (0.016)	1.74×10^{-3}	0.080 (0.012)	8.31×10^{-12}	0.116 (0.035)	8.44×10^{-4}	0.144 (0.999)
TG→GP6	287	0.108 (0.011)	8.23×10^{-23}	0.094 (0.015)	9.57×10^{-10}	0.108 (0.011)	$< 1.00 \times 10^{-4}$	0.139 (0.029)	1.65×10^{-6}	0.380 (0.999)
TG→GP8	287	-0.064 (0.012)	1.45×10^{-6}	-0.059 (0.018)	9.23×10^{-4}	-0.075 (0.013)	4.29×10^{-9}	-0.097 (0.027)	3.37×10^{-4}	0.517 (0.999)
TG→GP10	287	0.077 (0.012)	7.26×10^{-9}	0.085 (0.017)	8.64×10^{-7}	0.076 (0.012)	4.95×10^{-10}	0.075 (0.035)	3.09×10^{-2}	0.173 (0.999)

Metabolic traits and GPs	Number of SNPs	IVW_Beta (SE)	IVW P_{FDR}	WM_Beta (SE)	WM P	MR.RAPS_Beta (SE)	MR.RAPS P	MR-Egger_Beta (SE)	MR-Egger P	MR-PRESSO global test P (P_{FDR})
TG→GP11	287	0.125 (0.012)	4.23 × 10⁻²³	0.129 (0.017)	4.76 × 10⁻¹⁴	0.120 (0.012)	< 1.00 × 10⁻⁴	0.130 (0.029)	1.03 × 10⁻⁵	0.123 (0.999)
TG→GP12	287	-0.052 (0.012)	1.10 × 10⁻⁴	-0.058 (0.017)	8.76 × 10⁻⁴	-0.043 (0.013)	6.77 × 10⁻⁴	-0.055 (0.030)	6.45 × 10 ⁻²	0.764 (0.999)
TG→GP13	287	-0.086 (0.012)	4.37 × 10⁻¹¹	-0.087 (0.017)	6.21 × 10⁻⁷	-0.084 (0.013)	5.92 × 10⁻¹¹	-0.114 (0.046)	1.25 × 10⁻²	0.990 (0.999)
TG→GP16	287	0.065 (0.013)	1.47 × 10⁻⁶	0.061 (0.018)	5.50 × 10⁻⁴	0.073 (0.013)	1.55 × 10⁻⁸	0.114 (0.033)	6.71 × 10⁻⁴	0.961 (0.999)
TG→GP18	287	-0.059 (0.011)	5.20 × 10⁻⁷	-0.062 (0.016)	6.30 × 10⁻⁵	-0.057 (0.011)	4.89 × 10⁻⁷	-0.084 (0.031)	7.11 × 10⁻³	0.772 (0.999)
TG→GP19	287	-0.032 (0.012)	2.17 × 10⁻²	-0.041 (0.017)	1.80 × 10⁻²	-0.035 (0.013)	6.63 × 10⁻³	-0.086 (0.029)	3.15 × 10⁻³	0.995 (0.999)
TG→GP21	287	0.117 (0.012)	1.39 × 10⁻²⁰	0.108 (0.018)	8.68 × 10⁻¹⁰	0.121 (0.013)	< 1.00 × 10⁻⁴	0.086 (0.027)	1.17 × 10⁻³	0.996 (0.999)
TG→GP22	287	0.049 (0.013)	7.66 × 10⁻⁴	0.048 (0.018)	6.40 × 10⁻³	0.065 (0.013)	5.47 × 10⁻⁷	0.072 (0.036)	4.68 × 10⁻²	0.776 (0.999)
TG→GP24	287	0.033 (0.012)	2.16 × 10⁻²	0.024 (0.018)	1.66 × 10 ⁻¹	0.028 (0.013)	2.96 × 10⁻²	0.011 (0.036)	7.60 × 10 ⁻¹	0.971 (0.999)
TC→GP2	19	0.137 (0.047)	1.37 × 10⁻²	0.150 (0.067)	2.46 × 10⁻²	0.135 (0.050)	6.79 × 10⁻³	0.144 (0.096)	1.34 × 10 ⁻¹	0.394 (0.999)
TC→GP4	19	0.187 (0.044)	1.10 × 10⁻⁴	0.194 (0.064)	2.52 × 10⁻³	0.187 (0.049)	1.54 × 10⁻⁴	0.273 (0.085)	1.24 × 10⁻³	0.731 (0.999)
TC→GP6	19	0.147 (0.041)	1.54 × 10⁻³	0.153 (0.057)	6.71 × 10⁻³	0.156 (0.046)	6.07 × 10⁻⁴	0.118 (0.088)	1.79 × 10 ⁻¹	0.963 (0.999)
TC→GP14	19	-0.167 (0.041)	2.88 × 10⁻⁴	-0.196 (0.059)	9.55 × 10⁻⁴	-0.172 (0.046)	1.80 × 10⁻⁴	-0.233 (0.087)	7.53 × 10⁻³	0.725 (0.999)
TC→GP18	19	-0.189 (0.044)	8.79 × 10⁻⁵	-0.182 (0.064)	4.77 × 10⁻³	-0.207 (0.048)	1.49 × 10⁻⁵	-0.233 (0.095)	1.47 × 10⁻²	0.491 (0.999)
TC→GP23	19	-0.107 (0.043)	3.90 × 10⁻²	-0.114 (0.069)	9.75 × 10 ⁻²	-0.109 (0.053)	3.85 × 10⁻²	-0.044 (0.086)	6.08 × 10 ⁻¹	0.843 (0.999)

Bold font indicates statistical significance at $P < 0.05$ based on pleiotropy bias (MR-Egger intercept: $P > 0.05$ and MR-PRESSO global test: $P_{FDR} > 0.05$); $P < 0.05$ was considered statistically significant.

P_{FDR} : adjusted for FDR using the BH method.

此外，在逆向单样本多变量MR分析中，研究发现代谢特征与IgG N-糖基因因果关联的数量从57个（即前述的单变量MR结果）减少到41个（见附录A中的表S16和图S6）。具体而言，在控制多效性偏倚和FDR的情况下，基于多变量MR方法的结果与单变量MR分析的结果相比，发现了12个新的代谢特征与IgG N-糖基的关联，包括GP7与两个代谢特征（SBP和HDL-C）的潜在因果关联结果，GP11与两个代谢特征（FPG和TC）的关联，GP12与SBP的关联，GP13与HDL-C的关联，GP14与TG的关联，GP15与两个代谢特征（SBP和HDL-C）的关联，GP17与HDL-C的关联，GP20与SBP的关联，以及GP22与FPG的关联[见附录A中的图S3（b）]。值得注意的是，在双向单样本MR分析中，基于多变量MR方法获得的IgG N-糖基与代谢特征之间的具有统计学意义的结果数量通常低于前述的单变量分析结果，但其中大部分单变量的分析结果可以在多变量分析中得到重复（见图3、图4及附录A中的图S2和图S6）。

根据单样本和两样本MR研究的meta分析结果，在逆向MR分析中发现了45个代谢特征与IgG N-糖基之间存在潜在因果关联（ $P < 0.0021$ ）（见附录A中的表S26）。值得注意的是，只有一个代谢特征与IgG N-糖基之间的因果关联在单样本和两样本逆向MR研究中是重叠的（ $P < 0.05$ ；表2）。遗传决定的HDL-C在单样本和两样本MR分

析中的结果均与GP9呈负相关[固定效应模型-Beta (SE): -0.071 (0.022) 和 -0.306 (0.151)]，并且这一结果在meta分析结果中得到了证实[固定效应模型-Beta (95% CI): -0.0759 (-0.1186, -0.0332)]（见附录A中的表S26）。

3.4. 功能信息学

虽然广泛的假设遗传变异会影响糖基化，但关于IgG N-糖基化的分子调控机制尚不完全清楚。在本研究中，IgG N-糖基-QTL SNP被注释到了553个唯一定位的基因（见附录A中的表S2和表S27）。GO富集分析旨在识别分子功能、生物过程和细胞组分通路，并提示发现的基因涉及20个GO条目（图5），如化学突触传递、跨膜转运调节、细胞连接组织、受体定位于突触以及膜电位调节等。

一些标记的基因已知能够编码糖基化转移酶，包括EXT2、GMDS、ST6GAL1、B4GALT1和UTS2，它们参与了N-糖基生物合成。附录A中的表S28中呈现的结果显示，大多数基因参与了正向调控化学突触传递、细胞组分形态发生、细胞连接组织和肌动蛋白纤维过程（分别为7.62%、7.62%、7.06%和7.25%），表明这些基因，如MCTP2、RIMS1、ITSN1、GRIN3A、DLGAP2、DLGAP1、TTN、ACTC1、ANTXR1、HOMER1、PTK2B、MYCBP2、PRKN、IFT172和PTPRD，在改变IgG糖基化修饰方面可能发挥了重要作用。需要在后续研究中进行进一步的功能实验，以揭示上述通路在IgG N-糖基化中的分子调控机

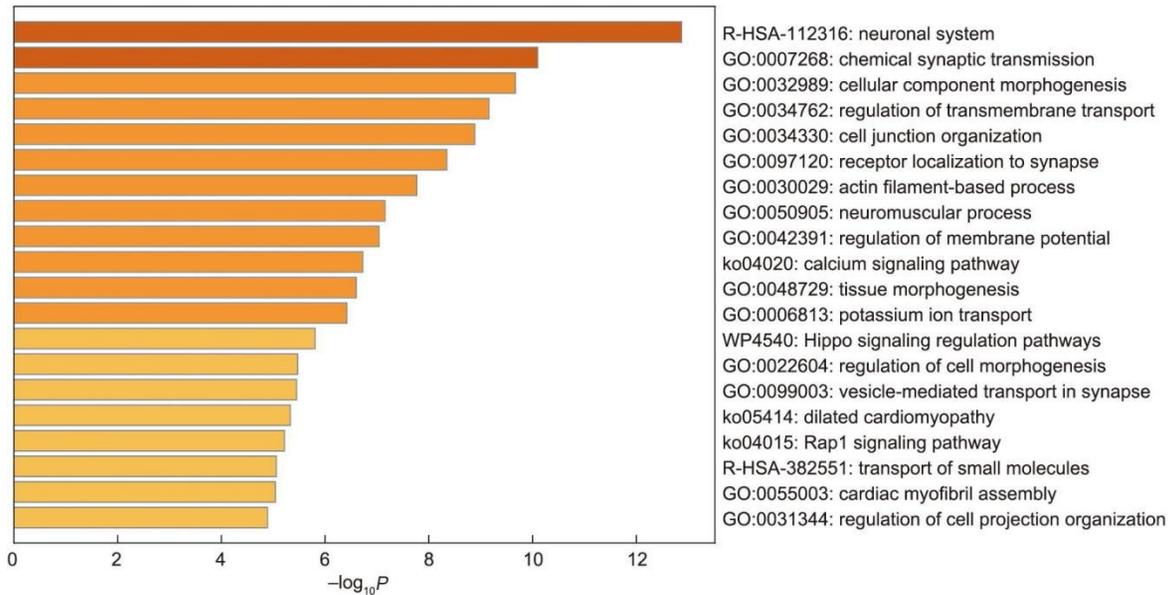


图5. GO富集分析的条目特征。

制。目前的研究可能有助于后续研究优先考虑IgG N-糖基化候选基因，以进行深入的功能性研究。

4. 讨论

本研究采用了一种新的分析框架，通过双向单样本和两样本MR分析整合GWAS和IgG N-糖基-QTL数据，揭示了东亚人群中IgG N-糖基与代谢特征之间的因果关联。实际上，单样本MR研究在样本量较小的情况下往往功效不足，这可能导致二类错误。虽然样本量较大的两样本MR研究不太可能受到前述偏倚的影响，但可能存在人群分层的问题。为了解决这些问题，本研究同时采用了单样本和两样本MR方法，全面探究了暴露与结局之间的因果关联。本研究的双向单样本和两样本MR结果得到了先前的IgG N-糖基组相关研究[33]和日本人群大规模GWAS数据[43]的支持，为IgG N-糖基与代谢特征之间的双向因果关联提供了初步证据。然而，在不同的MR分析中，每对IgG N-糖基和代谢特征之间的关系并不完全一致。在正向MR分析中，单样本MR提供了IgG N-糖基与BMI、FPG、BP和血脂特征之间潜在的因果关联证据。这一结果在两样本MR分析中得到了确认，进一步证实了IgG N-糖基与代谢特征之间的因果关系。此外，在双向单样本MR分析中，多变量MR分析结果中具有统计学意义的因果关联数量通常较单变量分析要少，但大多数关联结果是可以重复的。多变量MR分析进一步识别了一些新的代谢特征-糖基/糖基-代谢特征关联，表明炎症因子（即CRP）在IgG N-糖基和代谢特征之间的因果关联中可能起到了一定的

中介作用。

IgG的主要功能是调节系统性炎症平衡，其在多个水平上受到糖基化修饰的影响，而IgG N-糖基化修饰的改变在促炎或抗炎过程中起着关键作用[6,45]。促炎和抗炎活动的不平衡导致多个信号传导途径的激活、炎症细胞因子的产生以及细胞迁移，进而引起代谢功能紊乱[46–47]。此外，由于IgG N-糖基化修饰在信号传导中的关键作用[48]，IgG N-糖基化修饰的水平直接且客观地反映了代谢状态。既往研究显示，血浆N-糖基组可能代表人类代谢活动的改变[48]，而本研究正向的MR结果进一步证明了IgG N-糖基对代谢过程的影响可能具有因果效应。

在单样本和两样本MR分析中，逆向MR分析也发现了代谢特征与IgG N-糖基之间的因果关联具有统计学意义，这表明代谢特征也可能对IgG N-糖基化过程产生因果影响。糖基化在分子水平上反映了广泛的遗传变异和环境暴露的影响[29,49–50]。改变的IgG N-糖基化通过调节补体依赖性细胞毒性和抗体依赖性细胞毒性（antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC）在补体活化中发挥重要作用，表明改变的IgG N-糖基化可能是促炎症的分子机制的一部分[7,45]。慢性炎症是代谢功能紊乱的重要标志，可以调节代谢功能并引发代谢紊乱[51–53]。代谢紊乱涉及胰岛素抵抗、异常的脂质代谢、影响先天免疫和适应性免疫的免疫反应受损以及调节细胞因子分泌，可产生和分泌多种炎症因子，包括白细胞介素-1受体相关激酶1和肿瘤坏死因子- α [51,53]。炎症因子可能反过来调节IgG N-糖基化过程。逆向MR的研究结果表明，代谢特征可能会影响IgG N-糖基化修饰过程，进而影响IgG的免疫和炎症

功能。

研究发现,在双向单样本和两样本MR分析中,发现三对IgG N-糖基与代谢特征之间的因果关联(即GP11→BMI、GP13→BMI和GP1→FPG)和一对代谢特征与IgG N-糖基之间的因果关联(即HDL-C→GP9)均具有统计学意义。有趣的是,meta分析的结果进一步提供了IgG N-糖基与代谢特征之间可能存在双向因果关联的证据(即GP11→BMI和HDL-C→GP9)。结果显示,上述单样本MR的效应值大小通常大于两样本MR,这可能是由于单样本MR中纳入的IV数量较两样本MR更多。具体而言,在正向单样本和两样本MR分析中,发现了完全一致的证据,即高水平的IgG N-糖基(GP11)导致BMI水平升高,以及高水平的IgG N-糖基(GP1)导致FPG水平降低。在逆向单样本和两样本MR分析中,完全一致的证据显示较低水平的HDL-C导致IgG N-糖基(GP9)水平升高。IgG N-糖基含有典型的双天线复合物,即岩藻糖、半乳糖、平分型N-乙酰葡萄糖胺和唾液酸化糖,它们能够通过调节IgG的结合亲和力和来抑制或激活IgG的Fcγ受体,从而调节IgG的促炎和抗炎功能[54–55]。岩藻糖基化(GP1、GP9和GP11)和半乳糖基化(GP9和GP11)修饰在IgG的炎症过程中发挥着重要作用,高岩藻糖基化的IgG能够降低ADCC,从而使机体呈现抗炎症状态。本研究中发现的半乳糖基化和(或)核心岩藻糖基化的IgG糖基化修饰变化(GP1和GP9)与代谢特征(FPG和HDL-C)的反向关联在既往高血压[14]、T2DM[16]和血脂异常[13]与IgG N-糖基的关联研究中也得到了证实。

代谢特征组分包括BMI、FPG、BP和血脂特征,相应的机体异常状态包括肥胖、T2DM、高血压和血脂异常。这些异常状态已被证实为心脑血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)的可调控风险因素,并与CVD的风险增加相关[56]。此外,大量证据表明,IgG N-糖基的炎症功能是许多慢性疾病的危险因素,并伴随特异性的健康状态的发展,包括肥胖、高血压、T2DM、代谢综合征、血脂异常和缺血性脑卒中[12–15,42,48,57]。本研究中的正向MR研究结果证实了IgG N-糖基对代谢特征具有潜在的因果效应。相反,反向MR研究发现的代谢特征与IgG N-糖基之间的因果关联表明,IgG N-糖基很可能受到代谢特征的驱动。因此,IgG N-糖基与代谢特征之间的双向关联的效应可能归因于解释3,即IgG N-糖基化和代谢特征之间通过独立的生物学途径存在双向因果关联,进一步暗示了IgG N-糖基和代谢特征之间的相互调节和共存可能加速CVD的进展。

本研究利用全面的IgG N-糖基-QTL资源提供了关于

IgG N-糖基的遗传效应的丰富信息。除了一些已知的IgG N-糖基-QTL标记基因是调节翻译起始的糖基化酶之外,还有一些新的位点标记基因通过代谢机制而非直接参与糖基化过程。例如,INSR基因编码一种受体酪氨酸激酶家族蛋白的成员,调节葡萄糖的摄取和释放,并激活胰岛素信号传导通路[58]。此外,一些基因参与调节脂质代谢途径,如ELOVL6[非常长链脂肪酸(ELOVL)长链酶6][59]和LIPC(肝型脂肪酶C)[60]。这些新的基因在代谢紊乱中具有重要生物学意义,揭示了调节IgG N-糖基的机制,并表明特定的功能网络联系需要在体外功能研究中进行验证。

本研究中的双向MR分析结果进一步揭示了IgG N-糖基与代谢特征之间的双向因果关联,这可能有助于相关表型网络的建立。由于QTL在暴露因素上显示出稳定的效应,本研究的双向MR分析整合了GWAS和QTL数据,受到偏倚影响的可能相对较小,并且使用多个独立的QTL变异作为IV可能增加了暴露因素(即IgG N-糖基或代谢特征)方差解释的比例。然而,本研究存在一些局限性,研究结果应该谨慎解释。首先,根据欧洲人群的最新研究,人们不可避免地担心单样本MR分析中的小样本量可能会削弱IgG N-糖基化遗传关联的检测。不可否认,单样本MR和两样本MR各自具有其优势和局限性。因此,本研究同时进行了单样本和两样本MR分析以确认目前的研究结果,并发现单样本和两样本MR分析的结果互为补充,表明结果是可靠的。此外,与最近发表的研究[61–62]相比,本研究的统计功效是可接受的,在单样本和两样本的正向MR分析中的功效分别为82.56%和71.42%,在单样本和两样本的逆向MR分析中的功效分别为87.77%和46.87%。单样本MR分析中使用的IgG N-糖基-QTL SNP数量($n = 1167$)比两样本MR分析中使用的数量($n = 348$)更多,这可能导致单样本MR研究的统计功效大于两样本MR研究。其次,由于IgG N-糖基-QTL的样本量有限($n = 536$),在单样本MR分析中采用了相对宽松的阈值(即 1×10^{-5})进行IV的选择,这可能导致因果估计存在偏倚,特别是弱IV偏倚。为了减少弱IV的影响,本研究还报道了MR.RAPS的结果,以使结果更加稳健[41]。最后,本研究使用的研究数据来自北京首都医科大学宣武医院和Biobank Japan,分别是基于社区的调查和基于患者的队列研究。这些数据的选择可能导致在纳入本研究的研究对象时存在潜在的选择偏倚,可能在一定程度上会影响研究结果的准确性。

在本研究中,仅有三个代谢特征与4个IgG N-糖基之间的因果关联在单样本MR和两样本MR分析中均具有统

计学意义，并通过meta分析进一步确认了上述因果关系。单样本MR结果未能完全得到两样本MR结果的验证的现象的可能是因为两样本MR研究中的人群分层造成了偏倚估计，或者单样本MR研究中出现了假阳性结果。尽管在获得SNP-IgG N-糖基和SNP-代谢特征估计值时都基于同样的研究进行了数据分析，并调整了相同的协变量，但其他未被识别或未被测量的混杂因素仍然无法被完全排除。此外，尽管通过MR-Egger和MR-PRESSO分析评估了多效性，但残余的多效性影响仍然存在。另外，本研究仅包括东亚人群，因此人群分层对结果的影响很小。然而，本文研究结果在推广到其他种族人群时可能存在局限性。因此，有必要在多种族人群中进行更大规模的MR研究，以检验因果推断，进一步验证和重复IgG N-糖基与代谢特征之间的关联，为个性化健康监测和预防代谢相关的疾病提供支持。最后，所有MR分析都面临的挑战之一是完全消除另一种直接因果效应，即在本研究中，IgG N-糖基化和代谢特征由多样化的环境暴露和遗传变异决定。

5. 结论

总之，本研究开展的全面双向MR研究结果表明，IgG N-糖基和代谢特征之间可能存在双向因果关联。根据本研究的结果，这种因果关联可能基于独立的病理机制或途径进行双向调节。本研究中使用的全面的IgG N-糖基-QTL资源以及发现的潜在的因果代谢特征首次描述了与IgG N-糖基化调控相关的丰富细节，这可能为未来的糖医学在代谢性疾病中的发展和应用提供理论基础。需要进行大规模的基因组范围的IgG N-糖基相关遗传变异扫描，并进一步研究了解IgG N-糖基依赖的代谢物在心血管疾病发展中的分子调控机制。

致谢

感谢国家自然科学基金项目(81872682)、山东省泰山青年计划项目(tsqn20161046)、山东第一医科大学学术推广计划项目(2019RC010)、山东省高等学校青年创新科技支撑计划项目(2019KJL004)、山东第一医科大学博士科研基金资助。资助机构在研究的设计和实施以及数据的收集、管理、分析和解释中发挥了作用。

感谢所有研究对象的参与。感谢Riken group报道了汇总数据。感谢首都医科大学宣武医院全体医护人员。

Authors' contribution

Youxin Wang and Manshu Song contributed to the conception and design. Xiaomi Meng, Weijie Cao, Di Liu, Isinta Elijah Maranga, Weijia Xing, Haifeng Hou, Xizhu Xu, and Manshu Song contributed to the acquisition and analysis of the data. Xiaomi Meng, Weijie Cao, and Di Liu drafted the manuscript. All authors made important contributions to editing and critically revising the manuscript for important intellectual content. All authors have approved the final version to be published. Youxin Wang and Manshu Song guarantee this work, have full access to all of the data and take responsibility for the integrity of the data.

Compliance with ethics guidelines

Xiaomi Meng, Weijie Cao, Di Liu, Isinta Elijah Maranga, Weijia Xing, Haifeng Hou, Xizhu Xu, Manshu Song, and Youxin Wang declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.eng.2022.11.004>.

References

- [1] Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005; 365(9468):1415–28.
- [2] Bruce KD, Byrne CD. The metabolic syndrome: common origins of a multifactorial disorder. *Postgrad Med J* 2009;85(1009):614–21.
- [3] Samson SL, Garber AJ. Metabolic syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2014;43(1):1–23.
- [4] Wang X, Ping FF, Bakht S, Ling J, Hassan W. Immunometabolism features of metabolic deregulation and cancer. *J Cell Mol Med* 2019;23(2):694–701.
- [5] Li X, Li X, Lin H, Fu X, Lin W, Li M, et al. Metabolic syndrome and stroke: a meta-analysis of prospective cohort studies. *J Clin Neurosci* 2017;40:34–8.
- [6] Reily C, Stewart TJ, Renfrow MB, Novak J. Glycosylation in health and disease. *Nat Rev Nephrol* 2019;15(6):346–66.
- [7] Kolarich D, Lepenies B, Seeberger PH. Glycomics, glycoproteomics and the immune system. *Curr Opin Chem Biol* 2012;16(1–2):214–20.
- [8] Liu D, Li Q, Zhang X, Wang H, Cao W, Li D, et al. Systematic review: immunoglobulin G N-glycans as next-generation diagnostic biomarkers for common chronic diseases. *OMICS* 2019;23(12):607–14.
- [9] Kobayashi T, Ogawa K, Furukawa JI, Hanamatsu H, Hato M, Yoshinaga T, et al. Quantifying protein-specific N-glycome profiles by focused protein and immunoprecipitation glycomics. *J Proteome Res* 2019;18(8):3133–41.
- [10] Biermann MH, Griffante G, Podolska MJ, Boeltz S, Stürmer J, Muñoz LE, et al. Sweet but dangerous—the role of immunoglobulin G glycosylation in autoimmunity and inflammation. *Lupus* 2016;25(8):934–42.

- [11] Shade KC, Anthony RMJA. Antibody glycosylation and inflammation. *Antibodies* 2013;2(3):392–414.
- [12] Liu D, Li Q, Dong J, Li D, Xu X, Xing W, et al. The association between normal BMI with central adiposity and proinflammatory potential immunoglobulin G *N*-glycosylation. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2019;12:2373–85.
- [13] Liu D, Chu X, Wang H, Dong J, Ge SQ, Zhao ZY, et al. The changes of immunoglobulin G *N*-glycosylation in blood lipids and dyslipidaemia. *J Transl Med* 2018;16(1):235.
- [14] Wang Y, Klarić L, Yu X, Thaqi K, Dong J, Novokmet M, et al. The association between glycosylation of immunoglobulin G and hypertension: a multiple ethnic cross-sectional study. *Medicine* 2016;95(17):e3379.
- [15] Li X, Wang H, Russell A, Cao W, Wang X, Ge S, et al. Type 2 diabetes mellitus is associated with the immunoglobulin G *N*-glycome through putative proinflammatory mechanisms in an Australian population. *OMICS* 2019;23(12):631–9.
- [16] Lemmers RFH, Vilaj M, Urda D, Agakov F, Šimurina M, Klaric L, et al. IgG glycan patterns are associated with type 2 diabetes in independent European populations. *Biochim Biophys Acta, Gen Subj* 2017;1861(9):2240–9.
- [17] Davey Smith G, Hemani G. Mendelian randomization: genetic anchors for causal inference in epidemiological studies. *Hum Mol Genet* 2014; 23(R1): R89–98.
- [18] Didelez V, Sheehan N. Mendelian randomization as an instrumental variable approach to causal inference. *Stat Methods Med Res* 2007;16(4):309–30.
- [19] Verduijn M, Siegerink B, Jager KJ, Zoccali C, Dekker FW. Mendelian randomization: use of genetics to enable causal inference in observational studies. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25(5):1394–8.
- [20] VanderWeele TJ, Tchetgen Tchetgen EJ, Cornelis M, Kraft P. Methodological challenges in mendelian randomization. *Epidemiology* 2014;25(3):427–35.
- [21] Burgess S, Small DS, Thompson SG. A review of instrumental variable estimators for Mendelian randomization. *Stat Methods Med Res* 2017;26(5): 2333–55.
- [22] Burgess S, Thompson SG; CRP CHD Genetics Collaboration. Avoiding bias from weak instruments in Mendelian randomization studies. *Int J Epidemiol* 2011;40(3):755–64.
- [23] Xu Z, Wu C, Wei P, Pan W. A powerful framework for integrating eQTL and GWAS summary data. *Genetics* 2017;207(3):893–902.
- [24] Richardson TG, Zheng J, Davey Smith G, Timpson NJ, Gaunt TR, Relton CL, et al. Mendelian randomization analysis identifies CpG sites as putative mediators for genetic influences on cardiovascular disease risk. *Am J Hum Genet* 2017;101(4):590–602.
- [25] Ng B, White CC, Klein HU, Sieberts SK, McCabe C, Patrick E, et al. An xQTL map integrates the genetic architecture of the human brain's transcriptome and epigenome. *Nat Neurosci* 2017;20(10):1418–26.
- [26] Hannon E, Gorrie-Stone TJ, Smart MC, Burrage J, Hughes A, Bao Y, et al. Leveraging DNA-methylation quantitative-trait loci to characterize the relationship between methylomic variation, gene expression, and complex traits. *Am J Hum Genet* 2018;103(5):654–65.
- [27] Zhu Z, Zhang F, Hu H, Bakshi A, Robinson MR, Powell JE, et al. Integration of summary data from GWAS and eQTL studies predicts complex trait gene targets. *Nat Genet* 2016;48(5):481–7.
- [28] Huffman JE, Knezevic A, Vitart V, Kattla J, Adamczyk B, Novokmet M, et al. Polymorphisms in B3GAT1, SLC9A9 and MGAT5 are associated with variation within the human plasma *N*-glycome of 3533 European adults. *Hum Mol Genet* 2011;20(24):5000–11.
- [29] Klarić L, Tsepilov YA, Stanton CM, Mangino M, Sikka TT, Esko T, et al. Glycosylation of immunoglobulin G is regulated by a large network of genes pleiotropic with inflammatory diseases. *Sci Adv* 2020;6(8):eaax0301.
- [30] Hemani G, Bowden J, Davey Smith G. Evaluating the potential role of pleiotropy in Mendelian randomization studies. *Hum Mol Genet* 2018;27(R2): R195–208.
- [31] Verbanck M, Chen CY, Neale B, Do R. Detection of widespread horizontal pleiotropy in causal relationships inferred from Mendelian randomization between complex traits and diseases. *Nat Genet* 2018;50(5):693–8.
- [32] Wang W. Glycomedicine: The Current State of the Art. *Engineering*. In press.
- [33] Yu X, Wang Y, Kristic J, Dong J, Chu X, Ge S, et al. Profiling IgG *N*-glycans as potential biomarker of chronological and biological ages: a community-based study in a Han Chinese population. *Medicine* 2016;95(28):e4112.
- [34] Liu D, Xu X, Li Y, Zhang J, Zhang X, Li Q, et al. Immunoglobulin G *N*-glycan analysis by ultra-performance liquid chromatography. *J Vis Exp* 2020;(155).
- [35] Ge S, Wang Y, Song M, Li X, Yu X, Wang H, et al. Type 2 diabetes mellitus: integrative analysis of multiomics data for biomarker discovery. *OMICS* 2018; 22(7):514–23.
- [36] Das S, Forer L, Schönherr S, Sidore C, Locke AE, Kwong A, et al. Next-generation genotype imputation service and methods. *Nat Genet* 2016;48(10): 1284–7.
- [37] Jia J, Dou P, Gao M, Kong X, Li C, Liu Z, et al. Assessment of causal direction between gut microbiota-dependent metabolites and cardiometabolic health: a bidirectional Mendelian randomization analysis. *Diabetes* 2019;68(9):1747–55.
- [38] Gage SH, Jones HJ, Burgess S, Bowden J, Davey Smith G, Zammit S, et al. Assessing causality in associations between cannabis use and schizophrenia risk: a two-sample Mendelian randomization study. *Psychol Med* 2017;47(5): 971–80.
- [39] Yang Q, Sanderson E, Tilling K, Borges MC, Lawlor DA. Exploring and mitigating potential bias when genetic instrumental variables are associated with multiple non-exposure traits in Mendelian randomization. *Eur J Epidemiol* 2022;37(7):683–700.
- [40] Shim H, Chasman DI, Smith JD, Mora S, Ridker PM, Nickerson DA, et al. A multivariate genome-wide association analysis of 10 LDL subfractions, and their response to statin treatment, in 1868 Caucasians. *PLoS One* 2015;10(4): e0120758.
- [41] Zhao Q, Chen Y, Wang J, Small DS. Powerful three-sample genome-wide design and robust statistical inference in summary-data Mendelian randomization. *Int J Epidemiol* 2019;48(5):1478–92.
- [42] Liu D, Zhao Z, Wang A, Ge S, Wang H, Zhang X, et al. Ischemic stroke is associated with the pro-inflammatory potential of *N*-glycosylated immunoglobulin G. *J Neuroinflammation* 2018;15(1):123.
- [43] Kanai M, Akiyama M, Takahashi A, Matoba N, Momozawa Y, Ikeda M, et al. Genetic analysis of quantitative traits in the Japanese population links cell types to complex human diseases. *Nat Genet* 2018;50(3):390–400.
- [44] Zhou Y, Zhou B, Pache L, Chang M, Khodabakhshi AH, Tanaseichuk O, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets. *Nat Commun* 2019;10(1):1523.
- [45] Wang TT. IgG Fc glycosylation in human immunity. *Curr Top Microbiol Immunol* 2019;423:63–75.
- [46] Wieser V, Adolph TE, Grandner C, Grabherr F, Enrich B, Moser P, et al. Adipose type I interferon signalling protects against metabolic dysfunction. *Gut* 2018; 67(1):157–65.
- [47] Gudelj I, Lauc G, Pezer M. Immunoglobulin G glycosylation in aging and diseases. *Cell Immunol* 2018;333:65–79.
- [48] Lu JP, Knežević A, Wang YX, Rudan I, Campbell H, Zou ZK, et al. Screening novel biomarkers for metabolic syndrome by profiling human plasma *N*-glycans in Chinese Han and Croatian populations. *J Proteome Res* 2011;10(11): 4959–69.
- [49] Benedetti E, Pučić-Baković M, Keser T, Wahl A, Hassinen A, Yang JY, et al. Network inference from glycoproteomics data reveals new reactions in the IgG glycosylation pathway. *Nat Commun* 2017;8(1):1483.
- [50] Lauc G, Huffman JE, Pučić M, Zgaga L, Adamczyk B, Mužinić A, et al. Loci associated with *N*-glycosylation of human immunoglobulin G show pleiotropy with autoimmune diseases and haematological cancers. *PLoS Genet* 2013;9(1): e1003225.
- [51] Grandl G, HemostasisWolfrum C., stressendothelial, inflammation, and the metabolic syndrome. *Semin Immunopathol* 2018;40(2):215–24.
- [52] Rayyan Assi H, Ziv A, Dankner R. The metabolic syndrome and its components are differentially associated with chronic diseases in a high-risk population of 350 000 adults: a cross-sectional study. *Diabetes Metab Res Rev* 2019;35(4):e3121.
- [53] McCracken E, Monaghan M, Sreenivasan S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. *Clin Dermatol* 2018;36(1):14–20.
- [54] Maverakis E, Kim K, Shimoda M, Gershwin ME, Patel F, Wilken R, et al. Glycans in the immune system and The Altered Glycan Theory of Autoimmunity: a critical review. *J Autoimmun* 2015;57:1–13.
- [55] Raju TS. Terminal sugars of Fc glycans influence antibody effector functions of IgGs. *Curr Opin Immunol* 2008;20(4):471–8.
- [56] O'Donnell MJ, Xavier D, Liu L, Zhang H, Chin SL, Rao-Melacini P, et al.; the INTERSTROKE Investigators. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *Lancet* 2010;376(9735):112–23.
- [57] Kifer D, Louca P, Cvetko A, Deriš H, Cindrić A, Grallert H, et al. *N*-glycosylation of immunoglobulin G predicts incident hypertension. *J Hypertens* 2021;39(12):2527–33.
- [58] Ben Harouch S, Klar A, Falik Zaccai TC. INSR-related severe syndromic insulin resistance. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, et al., editors. *GeneReviews*[®]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993.

- [59] Matsuzaka T. Role of fatty acid elongase Elovl6 in the regulation of energy metabolism and pathophysiological significance in diabetes. *Diabetol Int* 2020; 12(1):68–73.
- [60] Liao YH, Er LK, Wu S, Ko YL, Teng MS. Functional haplotype of *LIPC* induces triglyceride-mediated suppression of HDL-C levels according to genome-wide association studies. *Genes* 2021;12(2):148.
- [61] Li GH, Ge GM, Cheung CL, Ip P, Coghill D, Wong IC. Evaluation of causality between ADHD and Parkinson's disease: Mendelian randomization study. *Eur Neuropsychopharmacol* 2020;37:49–63.
- [62] Wang K, Ding L, Yang C, Hao X, Wang C. Exploring the relationship between psychiatric traits and the risk of mouth ulcers using bi-directional mendelian randomization. *Front Genet* 2020;11:608630.