基于两步中介孟德尔随机化探讨 FN1 表达与 RCS 的因果关联及循环代谢物的中介作用

申圣超[1]，马建文[2*]

[1]青海大学临床医学院　青海西宁
[2]青海大学附属医院　青海西宁

【摘要】目的 探讨纤维连接蛋白 1（FN1）表达与肩袖综合征（RCS）的因果关联及循环代谢物的潜在中介作用。**方法** 整合 eQTL、循环代谢物及 GWAS 汇总数据，采用两样本 MR 和两步中介 MR 分析，以 IVW 为主要方法，辅以 MR-Egger、Weighted median 等，乘积系数法计算间接效应与中介比例。**结果** 纳入 7 个 FN1 遗传工具变量。IVW 显示遗传预测的 FN1 表达升高与 RCS 风险增加相关（OR=1.002，95%CI：1.001～1.003，*P*=0.002）。筛选出 7 种候选代谢物，N4-乙酰胞苷、Nisinate（24：6n3）及甲状腺素/牛磺胆酸比值形成 3 条方向一致的潜在中介通路，中介比例分别为 8.13%、9.34%、15.76%，但间接效应 95%CI 均跨越 0。**结论** FN1 表达升高可能增加 RCS 风险，上述 3 种代谢物可能参与其中，但中介效应尚缺乏统计学支持，需进一步验证。

【关键词】FN1；RCS；孟德尔随机化；循环代谢物；中介效应
【收稿日期】2026 年 9 月 6 日　**【出刊日期】**2026 年 10 月 8 日　**【DOI】**10.12208/j.ijcr.20260493

Exploring the causal relationship between FN1 expression and RCS and the mediating effects of circulating metabolites via two-step mediation mendelian randomization

Shengchao Shen[1], Jianwen Ma[2]*

[1]School of Clinical Medicine, Qinghai University, Xining, Qinghai
[2]Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining, Qinghai

【Abstract】Objective To investigate the causal association between fibronectin 1 (FN1) expression and rotator cuff syndrome (RCS), and to evaluate the potential mediating role of circulating metabolites. **Methods** Summary-level data from expression quantitative trait loci (eQTL), circulating metabolite genome-wide association studies (GWAS), and RCS GWAS were integrated. Two-sample Mendelian randomization (TSMR) and two-step mediation Mendelian randomization (MR) analyses were performed. The inverse variance weighted (IVW) method was used as the primary analytical approach, with MR-Egger, weighted median, and other complementary methods applied for sensitivity analyses. The product-of-coefficients method was used to estimate indirect effects and mediation proportions. **Results** Seven genetic instruments for FN1 expression were included. The IVW analysis showed that genetically predicted higher FN1 expression was associated with an increased risk of RCS (OR=1.002, 95% CI: 1.001–1.003, *P*=0.002). Seven candidate metabolites were identified, among which N4-acetylcytidine, Nisinate (24:6n3), and the thyroxine-to-taurocholate ratio formed three directionally consistent potential mediation pathways, with mediation proportions of 8.13%, 9.34%, and 15.76%, respectively. However, the 95% CIs of the indirect effects all crossed zero. **Conclusion** Genetically predicted higher FN1 expression may increase the risk of RCS. N4-acetylcytidine, Nisinate (24:6n3), and the thyroxine-to-taurocholate ratio may be involved in this association; however, the mediation effects lack statistical support and require further validation.

【Keywords】FN1; Rotator cuff syndrome; Mendelian randomization; Circulating metabolites; Mediation effect

*通讯作者：马建文

1 背景

肩袖综合征（rotator cuff syndrome, RCS）是成人肩部疼痛、活动受限及上肢功能障碍的常见肌肉骨骼疾病，病理过程涵盖肩袖肌腱退变、腱病及撕裂。研究表明，RCS 的发生发展受机械负荷、衰老及个体易感性等多因素共同影响，疾病进展可导致持续疼痛、功能下降，并增加医疗负担[1]。细胞外基质（extracellular matrix, ECM）稳态失衡是其重要病理基础[2,3]。FN1（fibronectin 1, FN1）编码纤维连接蛋白 1，是 ECM 的重要黏附性糖蛋白，参与细胞-基质相互作用、胶原纤维组装及组织修复。既往研究发现，肩袖撕裂肌腱中 FN1 表达升高，并与组织退变及异常修复相关，提示 FN1 可能参与 RCS 发生发展。然而，传统研究难以区分 FN1 表达改变是疾病原因还是继发反应，其潜在因果作用仍需进一步验证[3-5]。除局部机械损伤和 ECM 异常外，越来越多证据表明系统性代谢状态可能影响肩袖肌腱稳态。代谢综合征、体重指数及脂质代谢异常等因素与肩袖疾病风险存在潜在关联，但基因表达异常如何通过代谢改变影响肩袖病变，目前仍缺乏系统性解释[6,7]。近年来，系统性代谢状态在肌腱疾病中的作用逐渐受到关注。代谢综合征、体重指数及脂质代谢异常均可能影响肩袖疾病风险，但基因表达异常如何通过代谢改变影响 RCS 尚不明确。循环代谢物作为连接遗传调控与疾病表型的重要中间环节，可能参与炎症反应、氧化应激及 ECM 重塑过程。因此，解析 FN1 与循环代谢物之间的因果关系，有助于揭示 RCS 发生发展的潜在机制。

孟德尔随机化（MR）以遗传变异为工具变量，可减少混杂及反向因果偏倚；结合两步中介 MR 可解析“基因—代谢物—疾病”因果链路[8,9]。本研究采用两样本 MR 及两步中介 MR，评估 FN1 与 RCS 的因果关系及循环代谢物的中介作用。

2 材料与方法

2.1 研究设计

本研究采用两样本孟德尔随机化（TSMR）及两步中介 MR 方法，先以 FN1 表达为暴露、RCS 为结局评估因果效应，再通过两步中介 MR 筛选 FN1 相关代谢物并计算间接效应与中介比例，探索潜在代谢调控通路。

2.2 数据来源

本研究整合三类遗传数据：FN1 表达源自 eQTLGen 全血 eQTL（31,684 例欧洲人，提取 cis-eQTL 为工具变量）[10]。RCS GWAS 源自 IEU OpenGWAS（ukb-b-50，463,010 例，病例 1,767）；循环代谢物 GWAS 源自 NHGRI-EBI GWAS Catalog，含 1,400 种血浆代谢组特征[11]。

2.3 遗传工具变量的选择

2.3.1 FN1 和代谢物表达工具变量的选择

选取与 FN1 表达显著相关的 cis-eQTL 作为遗传工具变量。筛选流程：以 $P<5\times10^{-8}$ 为全基因组显著性阈值筛选显著位点，经 LD clumping 去除连锁不平衡（10000kb，$r^2=0.001$）；为降低弱工具变量偏倚，计算各变异的 F 统计量，仅保留 F>10 的位点纳入后续分析。

2.4 FN1 表达、循环代谢物与 RCS 的 TSMR 分析

依次开展 FN1 表达对 RCS、FN1 表达对循环代谢物及候选代谢物对 RCS 的 TSMR 分析。采用 IVW 法为主要方法，并以 MR-Egger、Weighted median、Simple mode 和 Weighted mode 进行补充分析。RCS 为二分类结局时，将 β 值转换为 OR 及 95%CI。以 IVW 法 P<0.05 筛选候选代谢物，仅对三段关联均显著者进一步开展中介效应分析[12-14]。

2.5 两步中介 MR 分析

以 FN1—RCS 的 IVW 效应值作为总效应，即 β_total=0.001886，采用乘积系数法计算间接效应。结果识别出 3 条满足以下预设条件的潜在中介通路：FN1—代谢物、代谢物—RCS 及 FN1—RCS 三段关联均达到 P<0.05；间接效应与总效应方向一致；中介比例位于 0%–100%之间[15]。

2.6 敏感性分析

采用 Cochran’s Q 检验评估遗传工具变量间的异质性，P<0.05 提示存在显著异质性；采用 MR-Egger 截距检验评估水平多效性，P<0.05 提示可能存在定向水平多效性[16,17]。

2.7 统计分析与软件

所有数据整理和统计分析均在 R 软件（v 4.3.2）中完成。采用 TwoSampleMR 程序包（v 0.6.6）进行遗传工具变量整理、暴露与结局数据协调及 TSMR 分析，SMR 软件（v1.3.1）结合 R 语言进行共定位分析，所有统计检验均为双侧检验，以 P<0.05 作为名义统计学显著标准[18]。

3 结果

3.1 FN1 与 RCS 的因果关联

以 FN1 表达为暴露、肩袖综合征（RCS）为结局开展两样本孟德尔随机化（MR）研究，共纳入 7 个工具变量，采用逆方差加权法（IVW）作为核心分析方法。

结果显示，遗传预测的 FN1 表达升高与 RCS 发病风险上升存在显著正向关联（IVW：OR=1.002，95%CI：1.001～1.003，P=0.002）。其余四种方法均未达到统计学显著性。

3.2 FN1 与候选循环代谢物的因果关联

基于 IVW 法共筛选出 7 种候选代谢物，结合代谢物—RCS 分析结果及中介方向，最终保留 3 种潜在中介代谢物：N4-乙酰胞苷、Nisinate（24：6n3）和甲状腺素/牛磺胆酸比值。FN1 表达升高与 N4-乙酰胞苷升高相关（β=0.158，SE=0.056，P=0.005），与 Nisinate（β=-0.169，SE=0.076，P=0.026）及甲状腺素/牛磺胆酸比值（β=-0.123，SE=0.058，P=0.032）降低相关。

3.3 候选代谢物与 RCS 的因果关联

在代谢物—RCSMR 分析中，较高的 N4-乙酰胞苷水平与 RCS 风险升高显著相关（β=0.001，SE<0.001，P=0.040；OR=1.001，95%CI：1.000–1.002）。相反，Nisinate（24：6n3）与 RCS 呈负向关联（β=-0.001，SE<0.001，P=0.015；OR=0.999，95%CI：0.998–1.000）。甲状腺素/牛磺胆酸比值也与 RCS 风险呈显著负向关联（β=-0.002，SE=0.001，P=0.045；OR=0.998，95%CI：0.996–1.000）。

3.4 潜在中介效应分析

两步中介 MR 识别出 3 条潜在中介通路：FN1 表达升高可能通过升高 N4-乙酰胞苷、降低 Nisinate（24：6n3）及甲状腺素/牛磺胆酸比值增加 RCS 风险，中介比例分别为 8.13%、9.34%和 15.76%（后者最高）。余 4 种候选代谢物因方向相反且中介比例为负，未达判定标准。

3.5 敏感性分析

敏感性分析结果显示，Cochran’s Q 检验均未达到统计学显著性（均 P>0.05），提示遗传工具变量间不存在明显异质性；MR-Egger 截距检验和 MR-PRESSO 全局检验亦均未达到统计学显著性（均 P>0.05），未发现水平多效性。

3.6 主要结果概述

两步中介 MR 进一步识别出 N4-乙酰胞苷、Nisinate（24：6n3）和甲状腺素/牛磺胆酸比值 3 条方向一致的潜在代谢中介通路，其中中介比例分别为 8.13%、9.34%和 15.76%。由于上述 3 条通路间接效应的 95%CI 均跨越 0，故仅将其界定为提示性中介通路。

4 讨论

本研究基于大规模 eQTL、循环代谢物 GWAS 及 RCS GWAS 汇总数据，采用两样本 MR 与两步中介 MR，系统评估 FN1 表达、循环代谢物与肩袖综合征（RCS）的因果关联。结果显示，遗传预测的 FN1 表达升高与 RCS 风险增加相关，Weighted median 与 Weighted mode 方向与 IVW 一致。进一步筛选出 N4-乙酰胞苷、Nisinate（24：6n3）及甲状腺素/牛磺胆酸比值 3 条代谢通路，中介比例分别为 8.13%、9.34%和 15.76%。

FN1 编码的纤维连接蛋白 1 是细胞外基质（ECM）重要组分，参与细胞黏附、迁移、胶原组装及组织修复。既往研究发现肩袖撕裂肌腱组织中 FN1 表达升高，与组织退变和异常修复相关。本研究从遗传因果角度支持 FN1 参与 RCS 发生发展，与既往组织表达研究一致；其机制可能为 FN1 异常升高促进 ECM 沉积和纤维化，影响胶原排列及肌腱细胞-基质信号传递，降低肌腱对机械负荷的适应能力。需注意本研究 OR 值较小，其大小受 FN1 表达遗传效应单位影响，不能直接等同于个体临床风险变化[4,5]。中介分析提示 3 条潜在通路。N4-乙酰胞苷属 RNA 修饰及核苷酸代谢相关分子，其水平变化可能反映 RNA 代谢、细胞更新及应激状态改变；FN1 升高与该分子升高相关，而后者与 RCS 风险增加相关，提示核苷酸代谢异常可能参与 FN1 相关肌腱退变，但二者直接证据有限，仍需组织代谢组学及功能实验验证[19]。FN1 表达升高可能通过降低 Nisinate（24：6n3）水平增加 RCS 风险，该代谢物可能参与长链多不饱和脂肪酸代谢，其降低可能削弱肌腱组织代谢保护作用，但具体生物学功能及组织分布尚不明确。甲状腺素/牛磺胆酸比值中介比例最高（15.76%），提示内分泌调节与胆汁酸代谢可能参与 FN1 影响 RCS 的机制，但比值变化可由任一组分改变所致，未来需分别评估二者独立作用。

本研究优势在于利用遗传工具变量降低混杂与反向因果偏倚，通过两步中介 MR 探索“基因表达—代谢变化—疾病表型”调控链路。局限性包括：FN1 表达数据来源于全血 eQTL，可能无法完全反映肌腱局部表达调控；仅纳入 7 个工具变量，可能限制多效性检验效能；3 条潜在中介通路间接效应未达显著性，且数据主要源于欧洲人群，外推需验证[10,20]。综上，本研究提示 FN1 表达升高可能增加 RCS 风险，并初步发现 3 条潜在代谢通路，未来需结合组织特异性 eQTL、靶向代谢组学及功能实验进一步验证。

参考文献

[1] YAMAMOTO A, TAKAGISHI K, OSAWA T, et al.

Prevalence and risk factors of a rotator cuff tear in the general population [J]. J Shoulder Elbow Surg, 2010, 19(1): 116-120.

[2] SIADAT S M, ZAMBOULIS D E, THORPE C T, et al. Tendon Extracellular Matrix Assembly, Maintenance and Dysregulation Throughout Life [J]. Adv Exp Med Biol, 2021, 1348: 45-103.

[3] SANTORO BELANGERO P, ANTôNIO FIGUEIREDO E, COHEN C, et al. Changes in the expression of matrix extracellular genes and TGFB family members in rotator cuff tears [J]. J Orthop Res, 2018, 36(9): 2542-53.

[4] TILLANDER B, FRANZéN L, NORLIN R. Fibronectin, MMP-1 and histologic changes in rotator cuff disease [J]. J Orthop Res, 2002, 20(6): 1358-64.

[5] SCHWARZBAUER J E, DESIMONE D W. Fibronectins, their fibrillogenesis, and in vivo functions [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2011, 3(7): a005041.

[6] CAO Z, LI Q, LI Y, et al. The association of metabolic syndrome with rotator cuff tendinopathy: a two-sample Mendelian randomization study [J]. Diabetol Metab Syndr, 2023, 15(1): 211.

[7] LIU M M, CHEN X, YU C W, et al. A causal association between lipid-lowering medications and rotator cuff syndrome: a drug-targeted mendelian randomization study [J]. Front Genet, 2024, 15: 1383646.

[8] DAVEY SMITH G, HEMANI G. Mendelian randomization: genetic anchors for causal inference in epidemiological studies [J]. Hum Mol Genet, 2014, 23(R1): R89-98.

[9] ZHU Z, ZHANG F, HU H, et al. Integration of summary data from GWAS and eQTL studies predicts complex trait gene targets [J]. Nat Genet, 2016, 48(5): 481-7.

[10] VõSA U, CLARINGBOULD A, WESTRA H J, et al. Large-scale cis- and trans-eQTL analyses identify thousands of genetic loci and polygenic scores that regulate blood gene expression [J]. Nat Genet, 2021, 53(9): 1300-10.

[11] CHEN Y, LU T, PETTERSSON-KYMMER U, et al. Genomic atlas of the plasma metabolome prioritizes metabolites implicated in human diseases [J]. Nat Genet, 2023, 55(1): 44-53.

[12] BURGESS S, BUTTERWORTH A, THOMPSON S G. Mendelian randomization analysis with multiple genetic variants using summarized data [J]. Genet Epidemiol, 2013, 37(7): 658-65.

[13] BOWDEN J, DAVEY SMITH G, HAYCOCK P C, et al. Consistent Estimation in Mendelian Randomization with Some Invalid Instruments Using a Weighted Median Estimator [J]. Genet Epidemiol, 2016, 40(4): 304-14.

[14] HARTWIG F P, DAVEY SMITH G, BOWDEN J. Robust inference in summary data Mendelian randomization via the zero modal pleiotropy assumption [J]. Int J Epidemiol, 2017, 46(6): 1985-98.

[15] CARTER A R, SANDERSON E, HAMMERTON G, et al. Mendelian randomisation for mediation analysis: current methods and challenges for implementation [J]. Eur J Epidemiol, 2021, 36(5): 465-78.

[16] VERBANCK M, CHEN C Y, NEALE B, et al. Detection of widespread horizontal pleiotropy in causal relationships inferred from Mendelian randomization between complex traits and diseases [J]. Nat Genet, 2018, 50(5): 693-8.

[17] HEMANI G, TILLING K, DAVEY SMITH G. Orienting the causal relationship between imprecisely measured traits using GWAS summary data [J]. PLoS Genet, 2017, 13(11): e1007081.

[18] HEMANI G, ZHENG J, ELSWORTH B, et al. The MR-Base platform supports systematic causal inference across the human phenome [J]. Elife, 2018, 7: e34408.

[19] DUAN J, ZHANG Q, HU X, et al. N(4)-acetylcytidine is required for sustained NLRP3 inflammasome activation via HMGB1 pathway in microglia [J]. Cell Signal, 2019, 58: 44-52.

[20] BATTLE A, BROWN C D, ENGELHARDT B E, et al. Genetic effects on gene expression across human tissues [J]. Nature, 2017, 550(7675): 204-13.

版权声明：©2026 作者与开放获取期刊研究中心（OAJRC）所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。
https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

OPEN ACCESS