

孟德尔随机化分析在重症医学领域应用的研究进展

黄圣宇¹ 李嘉琪¹ 朱峰²

¹南昌大学第一附属医院烧伤整形与创面修复医学中心,江西南昌 330006; ²海军军医大学第一附属医院烧创伤中心,上海 200433

通信作者:朱峰,Email: alexzhufeng0816@vip.sina.com

【摘要】 危重症患者病情变化迅速,涉及全身多系统、多器官的病理学改变。探明机制作用的因果关系能进一步揭示疾病相关病因、治疗和预后,但在危重症领域开展传统的前瞻性研究仍受到众多限制。孟德尔随机化(MR)分析作为一种新兴的研究方法,借助遗传变异为工具变量提供因果的证据,有望在危重症疾病中提供线索。本文从MR分析的原理、MR分析与随机对照试验(RCT)的区别、MR分析在重症领域的运用和可能运用的方法4个方面,系统阐述关于MR分析在重症医学领域应用的研究进展,旨在为该领域研究提供可能的方向。

【关键词】 危重症; 孟德尔随机化分析; 脓毒症; 急性呼吸窘迫综合征

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFA0110601)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20230405-00244

Research progress of Mendelian randomization analysis in intensive care medicine

Huang Shengyu¹, Li Jiaqi¹, Zhu Feng²

¹Medical Center of Burn Plastic and Wound Repair, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi, China; ²Department of Burn, the First Affiliated Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200433, China

Corresponding author: Zhu Feng, Email: alexzhufeng0816@vip.sina.com

【Abstract】 The condition of critically ill patients changes rapidly, involving pathological changes in multiple systems and organs throughout the body. Exploring the causal relationship of mechanisms can further reveal etiology, treatment, and prognosis of diseases. However, traditional prospective studies in the field of critical care are still subject to numerous limitations. As an emerging research method, Mendelian randomization (MR) analysis uses genetic variation to provide causal evidence for instrumental variables, which is expected to provide clues in critical diseases. This article systematically describes the research progression the application of MR analysis in critical care medicine from four aspects: the principle of MR analysis, the difference between MR analysis and randomized controlled trial (RCT), the use of MR analysis in the field of critical illness, and the possible methods of application, aiming to provide possible directions for the research in this field.

【Key words】 Critical illness; Mendelian randomization analysis; Sepsis; Acute respiratory distress syndrome

Fund program: National Key Research and Development Program of China (2019YFA0110601)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20230405-00244

危重症疾病往往存在较强的异质性,这可能不仅源于原发病的多样性,更可能因为绝大多数重症监护病房(intensive care unit, ICU)患者体内的反应涉及免疫细胞、炎症细胞、凝血级联等全身多系统受累,而且对体内多个分子层面(如基因组、转录组和代谢组)均有影响^[1]。也正因为如此,加上病情危重、转变迅猛,需要关注和监测全身多器官、多系统的变化,普适的治疗方案几乎不存在。在积极查找和控制原发病的同时,往往需要以经验性治疗和对症处理作为主要手段。大量关于危重症患者各种指标变化、诊断、治疗、转归的临床研究、前临床研究、基础研究均表明,诸多分子作为效应分子、生物标志物等在病理生理过程中发挥了重要作用^[2-3]。然而,在海量的研究结果中,能够真正用于实际临床转化的微乎其微,同时存在试验成本高、证据质量低、可重复性差、结论相反的情况。因果推断是了解疾病潜在病因并实施预防和治疗的重要前提^[4]。以前瞻性研究为例,前瞻

性研究是评估暴露对结果影响最可靠的因果检验手段,其中随机对照试验(randomized controlled trial, RCT)是验证因果的“金标准”^[5];但由于受严格的实施条件、长期的随访、伦理问题、高昂的成本和干预的多效性等多方面影响^[6],在重症领域开展较大规模的临床RCT具有一定挑战性。以往研究表明,蛋白质、代谢物和其他生物标志物与危重症相关结果及预后存在显著关联^[7],但这种显著差异的因果关系非常不确定,容易受到混杂因素的影响,甚至有可能是反向因果关系,很难对体内互作网络形成清晰的认识。

孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)分析是一种流行病学中新的因果推断方法。MR分析将不受后天混杂因素影响的遗传变异作为分析暴露因素与结局之间因果关系的工具变量,从而评估某暴露因素对某结局的影响,并排除混杂因素的干扰,与RCT在人为试验设计下的随机分配相比,MR分析更具有优势,且不存在反向因果关联,因此

较少受到传统研究设计弊端的影响^[8]。此外,危重症患者机体内环境时常发生变化,MR分析可以帮助识别内环境指标不明确的风险因素和可能造成的结局,如炎症、凝血、内分泌代谢等。

MR研究理论上能为危重症疾病提供关于病因、治疗和预后可靠的因果结论。现从MR分析的基本原理、MR分析与传统RCT的区别、MR分析在重症领域的运用和可能运用的方法4个方面,对MR研究在危重症领域的应用及其前景进行综述。

1 MR分析的基本原理

工具变量作为一个外生性因素,介入暴露因素与结局的因果推断,在流行病学研究中,工具变量与不同个体之间暴露特征的差异建立关联,通过将工具变量与结局建立关联,从而实现因果关系的推断^[9]。工具变量被要求只与暴露因素有关,而与其他因素或混杂因素无关,因此在现实世界中很难被利用。在MR研究中,遵循孟德尔遗传的遗传变异恰好符合这些要求。单核苷酸多态性是最常见的基因变异,DNA中的单个碱基对在不同群体中以明显的频率发生变化,能够用作可改变暴露的工具变量^[10]。在排除混杂因素的影响后测量遗传工具变量与结果之间的关联,如果工具变量与无直接影响的结果相关,就可以得出结论:因遗传变异引起的较高(或较低)暴露水平的随机分配与研究结果有关。由此可以合理地推断出两组之间的结局差异是由暴露因素引起的。

MR分析中筛选出的工具变量需要同时满足以下几个核心假设:①相关性假设:基因变异与研究的暴露有关;②独立性假设:基因变异与可能存在的混杂因素无关;③排除限制假设:基因变异不会直接影响结果,只能通过影响暴露因素而影响结果^[11]。大多数研究中将全基因组显著性阈值设置为 $P < 5 \times 10^{-8}$,这在很大程度上满足了相关性假设的要求^[12]。此外,目前可以通过遗传工具来检验并排除混杂因素。但如果用作工具变量的遗传变异对检查中的暴露因素以外的其他因素有影响,则可能发生多效性。多效性是指单个基因座影响多种表型的现象,这种现象在RCT中被称为干预的脱靶效应^[13]。多效性可以分为垂直多效性和水平多效性。MR分析利用了垂直多效性,即通过遗传变异影响暴露的表型,呈现出线性关系^[10]。但当一个遗传变异在不同途径与其他多个表型相关时,就会出现水平多效性,从而导致MR分析结果发生偏倚。目前已经开发了几种检测和调整多效性的方法,如MR Egger回归^[14]、MR多效性残差和与异常值(pleiotropy RESidual sum and outlier, PRESSO)检验(MR-PRESSO)^[15]及多变量MR^[16]等方法。除此之外,靠近染色体的基因座往往是一起遗传的。如果用作暴露的遗传变异与直接影响研究结果的基因存在连锁不平衡,则可能会出现混淆^[17]。

2 MR分析与RCT的区别

首先,RCT和MR分析都是利用随机化的方法来实施因果推断。RCT为评估治疗效果提供了最高水平的证据,为

了达到最大的可信度,实施过程中必须使每个个体得到干预的机会一致,即尽可能达到随机化,使个体被分配到干预组或对照组的机会一致。但这种随机性存在偏差,受实施过程中各种偏倚的影响^[18]。而在MR研究中,借助的是自然遗传随机化的理想设计。与暴露因素相关的遗传变异被用作工具变量。根据孟德尔第二遗传定律,这种变异在亲代传递给子代时就已经完成,严格按照随机的原则分配,因此可以排除结局出现前诸多混杂因素的干扰^[19]。此外,这种等位基因在群体中的分布大致是随机的,可以认为这种变异的随机分配会使得人群中产生暴露的机会也是完全随机的,因此被认为是“自然随机试验”^[20]。

MR分析得出的证据强度取决于其假设的合理性及对变量严格的筛选,但其强度低于RCT^[21]。虽然MR研究相对于观察性研究不太容易受到混杂因素和反向因果的影响,但也不能用来取代或替代RCT;相反,MR分析可以从生物学角度为RCT结果提供解释补充信息^[20]。

3 MR分析在危重症相关疾病中的应用

3.1 感染与脓毒症:ICU患者往往伴随着免疫功能低下及长期多导管滞留,院感发生率较高,尤其是多重耐药菌感染,而且感染的风险会随着住院时间的延长而增加^[22]。脓毒症是由全身炎症失调和感染引起的免疫反应导致的危及生命的器官功能障碍^[23]。在我国,脓毒症在ICU中的发生率约为37.3%,90d病死率约为35.5%^[24-25]。目前针对脓毒症的治疗方法仍然是积极抗菌和器官支持,除此之外仍缺乏广受认可的治疗手段^[26]。已有较多的临床观察性研究表明脓毒症患者治疗靶点新的可能。Song等^[27]的研究表明,白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)可能在缓解脓毒症中发挥了一定作用,这种功能可以通过阻断IL-6受体实现。一项MR研究分别从两个大型样本中选取了IL-6数据和脓毒症数据,IL-6的遗传变异能起到类似于IL-6受体的阻断作用,从遗传角度验证了IL-6相关的暴露与脓毒症呈现因果关系^[28]。近年研究者在一项观察性研究中发现,血高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)水平能够反映脓毒症患者的炎症反应强度及病情严重程度^[29]。还有研究者通过中介MR研究证实,持续HDL-C水平与脓毒症28d病死率之间存在显著的负相关,其中胆固醇酯转移蛋白可能是潜在的调节中介^[30]。随着ICU患者临床数据的共享,临床患者微量元素相关遗传工具的获取更加便捷,循环中微量元素水平(如铁元素和铜元素)与感染风险的正向关系已经被普遍认可,这种关系在大量人群样本中也得到了MR分析验证^[31-32]。

3.2 急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS):ARDS是一种严重的病理状态,其特征是肺泡毛细血管损伤、肺水肿和肺泡毛细血管屏障通透性增加^[33]。作为一个重要的全球公共卫生问题,ARDS病死率可达40%,同时也是危重症患者长期机械通气的主要原因^[34-35]。目前关于ARDS的治疗仍集中于临床前研究,这与该病的异质性较强有关^[36]。有研究揭示,静脉注射甘露糖似乎可以改善脂

多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的急性肺损伤(acute lung injury, ALI)大鼠肺毛细血管通透性增加^[37]。但是这种方法在ARDS临床患者中的有效性仍有待进一步开展临床试验进行验证。而MR分析则从人基因调控的角度证实了这种可能性,甘露糖水平升高确实与ARDS的发生风险降低和生存率提高有关^[38]。这项研究可能为ARDS的预防和临床干预提供参考方向。事实上,许多易感因素[如高血糖、氧合指数(PaO₂/FiO₂)异常及序贯器官衰竭评分(sequential organ failure assessment, SOFA)升高]被认为是ARDS发病和预后的主要危险因素^[39]。已有多项MR研究探究了脓毒症形成ARDS的中间因素,借助与脓毒症强相关的遗传变异这一工具变量,进一步论证了血管生成素-2(angiotensin-2, Ang-2)和可溶性晚期糖基化终产物受体(soluble receptor for advanced glycation end product, sRAGE)在其中发挥作用^[40-41]。不仅如此,还有研究者对ARDS的全基因组关联分析(genome wide association study, GWAS)进行了汇总,使用多组学方法确定了新基因座的功能,并通过MR分析评估了114种可能与ARDS发展有因果关系的疾病或标志物,因果推断表明,合并炎症性肠病、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)和IL-10水平升高会增加ARDS的发生风险,而补充维生素D和使用血管舒张剂则会降低发生风险^[42]。

3.3 凝血功能障碍:凝血功能障碍是危重症患者中由多种原因导致出血和(或)凝血改变或紊乱的一种频发的严重并发症,也被称为“凝血病”,严重者可发展为弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC)^[43-44]。每种凝血病都有一种主要的临床表型,但患者会因疾病进展和治疗干预不同表现出不同的特征,主要原因是凝血级联系统由数种蛋白质组分构成,在全身广泛存在,并与炎症免疫、补体系统相交联,针对各项指标单独干预仍有困难^[45-46]。因此,凝血功能的调节在一定程度上取决于原有疾病。除已知的多种因素(如创伤、肝肾衰竭、大量输血等)能导致体内凝血状态改变外^[47],对可能存在的影响凝血功能的潜在疾病也需要进一步探究。近年来有MR研究表明,甲状腺功能亢进与血栓形成风险增加相关,患者促甲状腺素和游离T₄增加分别与血管性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)合成减少及增加有关^[48]。

危重症患者体内微循环紊乱,尤其是凝血功能障碍,极易导致血栓性疾病,其中静脉血栓栓塞(venous thromboembolism, VTE)是住院患者的常见并发症^[49]。已有队列研究证实血清vWF水平与VTE的发生风险有关^[50]。一项MR分析纳入了欧洲人群14554例VTE患者和294700例阳性对照的基因数据,并确定了21种与VTE风险相关的循环蛋白,其中就包含vWF^[51]。同时,已有一些vWF拮抗剂[肝素和卡帕珠单抗(caplacizumab)]被批准用于治疗血栓性疾病^[52]。vWF也被认为是治疗VTE的一个最有可能的靶点。除此之外,目前的MR研究也支持以纤维蛋白原(fibrinogen, Fib)、因子II和因子XI为靶点的抗凝药物对VTE的疗效,并揭示了抑制Fib和因子XI在降低缺血性中风风险,尤其是心源性栓塞风

险方面的潜在应用可能^[53]。

3.4 营养与代谢:危重症是一种高代谢状态,ICU营养不良的发生率为38%~78%,而且与不良结局相关,如感染、病死率增加和住院时间、机械通气持续时间延长^[54-55]。因此,在临床护理中,患者的营养状态受到临床医生充分的关注。但目前这种关注并不全面,对于ICU患者,基本营养素是否缺乏能得到很好的评估,也能及时通过肠内外途径补充,但体内其他营养元素尤其是微量元素的变化状态仍未获得全面监测,这主要与对微量元素在临床患者中的转归探究不明确有关^[55]。一项观察性研究表明,铁代谢生物标志物升高与严重感染甚至是脓毒症之间存在显著关联^[56],但这种关系无法在临床试验中验证;而通过MR分析则能确定高铁状态与皮肤和软组织感染及脓毒症易感性之间存在因果关系,高水平血清铁、铁蛋白及转铁蛋白饱和度与脓毒症风险增加相关^[32]。维生素D在体内广泛存在,这种微量营养素在MR研究中被证明较低的水平与肺炎的发生风险增加有关^[57]。

一项针对8种微量营养素与3种感染风险(胃肠道感染、肺炎、尿路感染)关系的MR研究表明,基因预测的血液铜水平与胃肠道感染风险密切相关,血铜水平增高可能会降低胃肠道感染的发生风险,但这项研究中除铜以外其他阳性结果,如铁和维生素D,则被认为与感染的发生风险没有明确的关联^[58]。这种差异可能与选取的人群和MR分析的检验不一致有关。目前已发表的大多数MR研究更多聚焦于生活条件下营养摄入与慢性疾病的关系^[4, 59],而关于危重症患者营养代谢状态的研究仍有待进一步深入。

4 一些可能的MR分析方法

4.1 中介MR分析:在危重症疾病中很少发现因果中介效应,更好地阐明这些特征可能会将注意力集中在更有希望的靶点上。ICU患者的临床指标往往检测频繁,而这些指标可能是将宏观风险因素与危重症疾病联系起来因果途径的重要中介。

之前已有研究表明,危重症患者早期血小板减少症与ARDS病死率有关^[60]。有研究者通过MR分析确定了血浆胰岛素样生长因子结合蛋白7(insulin-like growth factor binding protein 7, IGFBP7)是一种新的致病蛋白,该蛋白可能参与了ARDS 28 d病死率和血小板功能异常的发生机制,这将为进一步实验和临床研究提供新的方向^[39]。此外,MR分析证实,血浆sRAGE在脓毒症相关ARDS中发挥着因果中间体的作用^[40]。随后,多项前瞻性试验也验证了sRAGE预测入ICU时ARDS发展的有效性^[61-62]。除此之外,Ang-2也被证实诱导脓毒症相关ARDS中起到了因果作用^[41],但其相关治疗尚鲜见报道。

4.2 多组学MR分析:在过去的10年里,现代分子诊断技术的进步已经开始为对表观基因组、代谢组、蛋白质组和微生物组进行详尽分析提供了便利,从而可以收集越来越多个体的分子数据,为危重症患者MR研究带来了新的着手点。

有研究表明,蛋白质、代谢物及其他生物标志物与脓毒症结局之间存在显著关联^[63],但这些标志物之间的因果关

系尚不确定。MR 研究的存在有利于构建和验证多组学之间的网络关系,同时可以更好地定义危重症相关的临床亚组,增强了试验的预后和预测丰富性。2022 年,有研究者在一项 MR 分析中探究了肠道微生物组与血液代谢物之间的 58 种因果关系,发现粪便中部分菌群的相对丰度与血清中的代谢物(如三酰甘油、谷氨酸、丙氨酸等)水平降低存在因果关系^[64]。

4.3 药物靶向 MR 分析:绝大部分的临床药物靶点是通过体外实验和动物模型进行验证的,由于基因层面的差异,导致在人类体内可能无法很好地转化。蛋白质是大多数药物的靶点,同时也是基因组中编码的生物过程的近端效应物,因此药物靶点的蛋白质 MR 研究正逐步成为药物开发的基本工具^[65]。在 GWAS 的汇总数据集中,很容易确定编码药物蛋白靶点的基因变异,并作为药物使用的工具变量,可以在危重症相关疾病的临床试验开始前,验证人类中假定的生物标志物药物靶点。一项针对 90 种循环蛋白质的 MR 分析确定了 44 种与心脏功能衰竭相关的循环蛋白,其中 7 种被推荐为可被药用的成分,这为后续药物设计提供了新的思考^[66]。

5 展望与不足

MR 分析在危重症相关临床运用中充满前景,但并不能代替设计完善的 RCT。MR 分析目前仍存在许多局限性,认识这些局限性对于解释其结果至关重要。首先,遗传变异通常对少量个体的暴露影响很小,需要大样本量才能获得具有统计学意义的结果。其次,MR 分析的应用仅限于暴露因素有较为可靠的遗传变异工具(单核苷酸多态性),尽管在过去几年里,GWAS 的数量逐渐增加,部分临床数据相关遗传变异工具的数量也有所增加,但许多危重症相关的指标,尤其是代谢物层面,仍然缺乏可靠的工具。最后,筛选工具变量需要严格遵循 3 个假设,对于混杂因素的剔除仍依赖于以往的经验性研究。从方法学的角度来看,目前还没有明确统一的测试方法表明 MR 分析是否存在多效性和异质性^[11]。

综上所述,MR 借助遗传变异为工具变量,能有效地验证暴露因素与结局之间的因果关系,而且与传统的 RCT 相比,MR 分析严格按照随机化的原则,提供了更为简便、准确的论证,但受限于工具变量筛选严格和方法学尚未成熟,目前仍无法完全取代 RCT,仅能为 RCT 提供新的方向和着手点。在重症领域疾病异质性较强的脓毒症、ARDS 和凝血功能异常等方面,MR 分析的运用能为体内错综复杂的病理生理过程提供交联的依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Schuurman AR, Sloot PMA, Wiersinga WJ, et al. Embracing complexity in sepsis [J]. Crit Care, 2023, 27 (1): 102. DOI: 10.1186/s13054-023-04374-0.
- [2] Sanchez-Pinto LN, Luo Y, Churpek MM. Big data and data science in critical care [J]. Chest, 2018, 154 (5): 1239-1248. DOI: 10.1016/j.chest.2018.04.037.
- [3] Bulgarelli L, Deliberato RO, Johnson AEW. Prediction on critically ill patients: the role of "big data" [J]. J Crit Care, 2020, 60: 64-68. DOI: 10.1016/j.jccr.2020.07.017.
- [4] Larsson SC. Mendelian randomization as a tool for causal inference in human nutrition and metabolism [J]. Curr Opin Lipidol, 2021, 32 (1): 1-8. DOI: 10.1097/MOL.0000000000000721.
- [5] Burgess S, Butterworth A, Malarstig A, et al. Use of Mendelian randomisation to assess potential benefit of clinical intervention [J]. BMJ, 2012, 345: e7325. DOI: 10.1136/bmj.e7325.
- [6] Li JX, Li C, Huang Y, et al. Mendelian randomization analyses in ocular disease: a powerful approach to causal inference with human genetic data [J]. J Transl Med, 2022, 20 (1): 621. DOI: 10.1186/s12967-022-03822-9.
- [7] Karimi A, Shobeiri P, Kulasinghe A, et al. Novel systemic inflammation markers to predict COVID-19 prognosis [J]. Front Immunol, 2021, 12: 741061. DOI: 10.3389/fimmu.2021.741061.
- [8] Allman PH, Aban IB, Tiwari HK, et al. An introduction to Mendelian randomization with applications in neurology [J]. Mult Scler Relat Disord, 2018, 24: 72-78. DOI: 10.1016/j.msard.2018.06.017.
- [9] Burgess S, Small DS, Thompson SG. A review of instrumental variable estimators for Mendelian randomization [J]. Stat Methods Med Res, 2017, 26 (5): 2333-2355. DOI: 10.1177/0962280215597579.
- [10] Larsson SC, Michaëlsson K, Burgess S. Mendelian randomization in the bone field [J]. Bone, 2019, 126: 51-58. DOI: 10.1016/j.bone.2018.10.011.
- [11] Skrivankova VW, Richmond RC, Woolf BAR, et al. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology using Mendelian randomization: the STROBE-MR statement [J]. JAMA, 2021, 326 (16): 1614-1621. DOI: 10.1001/jama.2021.18236.
- [12] Zheng J, Baird D, Borges MC, et al. Recent developments in Mendelian randomization studies [J]. Curr Epidemiol Rep, 2017, 4 (4): 330-345. DOI: 10.1007/s40471-017-0128-6.
- [13] Benn M, Nordestgaard BG. From genome-wide association studies to Mendelian randomization: novel opportunities for understanding cardiovascular disease causality, pathogenesis, prevention, and treatment [J]. Cardiovasc Res, 2018, 114 (9): 1192-1208. DOI: 10.1093/cvr/cvy045.
- [14] Bowden J, Davey Smith G, Burgess S. Mendelian randomization with invalid instruments: effect estimation and bias detection through Egger regression [J]. Int J Epidemiol, 2015, 44 (2): 512-525. DOI: 10.1093/ije/dyv080.
- [15] Burgess S, Thompson SG. Interpreting findings from Mendelian randomization using the MR-Egger method [J]. Eur J Epidemiol, 2017, 32 (5): 377-389. DOI: 10.1007/s10654-017-0255-x.
- [16] Burgess S, Thompson SG. Multivariable Mendelian randomization: the use of pleiotropic genetic variants to estimate causal effects [J]. Am J Epidemiol, 2015, 181 (4): 251-260. DOI: 10.1093/aje/kwu283.
- [17] VanderWeele TJ, Tchetgen Tchetgen EJ, Cornelis M, et al. Methodological challenges in mendelian randomization [J]. Epidemiology, 2014, 25 (3): 427-435. DOI: 10.1097/EDE.0000000000000081.
- [18] Yarmolinsky J, Wade KH, Richmond RC, et al. Causal inference in cancer epidemiology: what is the role of Mendelian randomization? [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2018, 27 (9): 995-1010. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-17-1177.
- [19] Smith GD, Ebrahim S. 'Mendelian randomization': can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? [J]. Int J Epidemiol, 2003, 32 (1): 1-22. DOI: 10.1093/ije/dyg070.
- [20] Ference BA, Holmes MV, Smith GD. Using Mendelian randomization to improve the design of randomized trials [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2021, 11 (7): a040980. DOI: 10.1101/cshperspect.a040980.
- [21] Khasawneh LQ, Al-Mahayri ZN, Ali BR. Mendelian randomization in pharmacogenomics: the unforeseen potentials [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 150: 112952. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.112952.
- [22] Kollef MH, Torres A, Shorr AF, et al. Nosocomial infection [J]. Crit Care Med, 2021, 49 (2): 169-187. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004783.
- [23] Winter-Jensen M, Afzal S, Jess T, et al. Body mass index and risk of infections: a Mendelian randomization study of 101,447 individuals [J]. Eur J Epidemiol, 2020, 35 (4): 347-354. DOI: 10.1007/s10654-020-00630-7.
- [24] Chinese Epidemiological Study of Sepsis (CHESS) Study Investigators. The epidemiology of sepsis in Chinese ICUs: a national cross-sectional survey [J]. Crit Care Med, 2020, 48 (3): e209-e218. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004155.
- [25] China Critical Care Clinical Trials Group. Epidemiology and outcome of severe sepsis and septic shock in intensive care units in mainland China [J]. PLoS One, 2014, 9 (9): e107181. DOI: 10.1371/

- journal.pone.0107181.
- [26] Font MD, Thyagarajan B, Khanna AK. Sepsis and septic shock: basics of diagnosis, pathophysiology and clinical decision making [J]. *Med Clin North Am*, 2020, 104 (4): 573–585. DOI: 10.1016/j.mcna.2020.02.011.
- [27] Song J, Park DW, Moon S, et al. Diagnostic and prognostic value of interleukin-6, pentraxin 3, and procalcitonin levels among sepsis and septic shock patients: a prospective controlled study according to the Sepsis-3 definitions [J]. *BMC Infect Dis*, 2019, 19 (1): 968. DOI: 10.1186/s12879-019-4618-7.
- [28] Hamilton FW, Thomas M, Arnold D, et al. Therapeutic potential of IL6R blockade for the treatment of sepsis and sepsis-related death: a Mendelian randomisation study [J]. *PLoS Med*, 2023, 20 (1): e1004174. DOI: 10.1371/journal.pmed.1004174.
- [29] Reisinger AC, Schuller M, Sourij H, et al. Impact of sepsis on high-density lipoprotein metabolism [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 9: 795460. DOI: 10.3389/fcell.2021.795460.
- [30] De Geest B, Mishra M. Impact of high-density lipoproteins on sepsis [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (21): 12965. DOI: 10.3390/ijms232112965.
- [31] Mohus RM, Flatby H, Liyanarachi KV, et al. Iron status and the risk of sepsis and severe COVID-19: a two-sample Mendelian randomization study [J]. *Sci Rep*, 2022, 12 (1): 16157. DOI: 10.1038/s41598-022-20679-6.
- [32] Hu YL, Cheng XM, Mao HY, et al. Causal effects of genetically predicted iron status on sepsis: a two-sample bidirectional Mendelian randomization study [J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 747547. DOI: 10.3389/fnut.2021.747547.
- [33] Meyer NJ, Gattinoni L, Calfee CS. Acute respiratory distress syndrome [J]. *Lancet*, 2021, 398 (10300): 622–637. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00439-6.
- [34] Wang FY, Zhou LX, Qiang XH, et al. Mesenchymal stromal cells attenuate infection-induced acute respiratory distress syndrome in animal experiments: a Meta-analysis [J]. *Cell Transplant*, 2020, 29: 963689720969186. DOI: 10.1177/0963689720969186.
- [35] 刘涉泐, 周干. 急性呼吸窘迫综合征的诊断及呼吸支持治疗进展 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2019, 26 (2): 247–250. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2019.02.029.
- [36] Xu ZH, Huang YB, Zhou JM, et al. Current status of cell-based therapies for COVID-19: evidence from mesenchymal stromal cells in sepsis and ARDS [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 738697. DOI: 10.3389/fimmu.2021.738697.
- [37] Xu XL, Xie QM, Shen YH, et al. Mannose prevents lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats [J]. *Inflamm Res*, 2008, 57 (3): 104–110. DOI: 10.1007/s00011-007-7037-y.
- [38] Wei YY, Huang H, Zhang RY, et al. Association of serum mannose with acute respiratory distress syndrome risk and survival [J]. *JAMA Netw Open*, 2021, 4 (1): e2034569. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2020.34569.
- [39] Dong XS, Zhu ZZ, Wei YY, et al. Plasma insulin-like growth factor binding protein 7 contributes causally to ARDS 28-day mortality: evidence from multistage Mendelian randomization [J]. *Chest*, 2021, 159 (3): 1007–1018. DOI: 10.1016/j.chest.2020.10.074.
- [40] Jones TK, Feng R, Kerchberger VE, et al. Plasma sRAGE acts as a genetically regulated causal intermediate in sepsis-associated acute respiratory distress syndrome [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, 201 (1): 47–56. DOI: 10.1164/rccm.201810-2033OC.
- [41] Reilly JP, Wang F, Jones TK, et al. Plasma angiotensin-2 as a potential causal marker in sepsis-associated ARDS development: evidence from Mendelian randomization and mediation analysis [J]. *Intensive Care Med*, 2018, 44 (11): 1849–1858. DOI: 10.1007/s00134-018-5328-0.
- [42] Du ML, Garcia JGN, Christie JD, et al. Integrative omics provide biological and clinical insights into acute respiratory distress syndrome [J]. *Intensive Care Med*, 2021, 47 (7): 761–771. DOI: 10.1007/s00134-021-06410-5.
- [43] Hunt BJ. Bleeding and coagulopathies in critical care [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370 (9): 847–859. DOI: 10.1056/NEJMra1208626.
- [44] Helms J, Iba T, Connors JM, et al. How to manage coagulopathies in critically ill patients [J]. *Intensive Care Med*, 2023, 49 (3): 273–290. DOI: 10.1007/s00134-023-06980-6.
- [45] 黄圣宇, 郭光华, 朱峰. 补体系统在创伤后免疫中作用的研究进展 [J]. *中华创伤杂志*, 2022, 38 (9): 857–864. DOI: 10.3760/cma.j.cn501098-20220530-00408.
- [46] 李晋, 王燕, 曾亚薇, 等. 脓毒症相关凝血功能紊乱与免疫反应相关机制的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2021, 33 (12): 1519–1523. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20201120-00723.
- [47] Yuan S, Bruzelius M, Larsson SC. Causal effect of renal function on venous thromboembolism: a two-sample Mendelian randomization investigation [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2022, 53 (1): 43–50. DOI: 10.1007/s11239-021-02494-4.
- [48] Ellervik C, Mora S, Kuş A, et al. Effects of thyroid function on hemostasis, coagulation, and fibrinolysis: a Mendelian randomization study [J]. *Thyroid*, 2021, 31 (9): 1305–1315. DOI: 10.1089/thy.2021.0055.
- [49] Luo P, Xu JW, Cheng SQ, et al. Large-scale genetic correlation scanning and causal association between deep vein thrombosis and human blood metabolites [J]. *Sci Rep*, 2022, 12 (1): 7888. DOI: 10.1038/s41598-022-12021-x.
- [50] Takahashi M, Yamashita A, Moriguchi-Goto S, et al. Critical role of von Willebrand factor and platelet interaction in venous thromboembolism [J]. *Histol Histopathol*, 2009, 24 (11): 1391–1398. DOI: 10.14670/HH-24.1391.
- [51] Yuan S, Titova OE, Zhang K, et al. Plasma protein and venous thromboembolism: prospective cohort and mendelian randomisation analyses [J]. *Br J Haematol*, 2023, 201 (4): 783–792. DOI: 10.1111/bjh.18679.
- [52] Calabrò P, Gagnano F, Golia E, et al. von Willebrand factor and venous thromboembolism: pathogenic link and therapeutic implications [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2018, 44 (3): 249–260. DOI: 10.1055/s-0037-1605564.
- [53] Yuan S, Burgess S, Laffan M, et al. Genetically proxied inhibition of coagulation factors and risk of cardiovascular disease: a Mendelian randomization study [J]. *J Am Heart Assoc*, 2021, 10 (8): e019644. DOI: 10.1161/JAHA.120.019644.
- [54] Lew CCH, Yandell R, Fraser RJL, et al. Association between malnutrition and clinical outcomes in the intensive care unit: a systematic review [J]. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2017, 41 (5): 744–758. DOI: 10.1177/0148607115625638.
- [55] Hill A, Elke G, Weimann A. Nutrition in the intensive care unit: a narrative review [J]. *Nutrients*, 2021, 13 (8): 2851. DOI: 10.3390/nu13082851.
- [56] Liu QJ, Wu J, Zhang XF, et al. Iron homeostasis and disorders revisited in the sepsis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 165: 1–13. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.01.025.
- [57] Çolak Y, Nordestgaard BG, Afzal S. Low vitamin D and risk of bacterial pneumonias: Mendelian randomisation studies in two population-based cohorts [J]. *Thorax*, 2021, 76 (5): 468–478. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2020-215288.
- [58] Flatby HM, Ravi A, Damås JK, et al. Circulating levels of micronutrients and risk of infections: a Mendelian randomization study [J]. *BMC Med*, 2023, 21 (1): 84. DOI: 10.1186/s12916-023-02780-3.
- [59] Papadimitriou N, Dimou N, Gill D, et al. Genetically predicted circulating concentrations of micronutrients and risk of breast cancer: a Mendelian randomization study [J]. *Int J Cancer*, 2021, 148 (3): 646–653. DOI: 10.1002/ijc.33246.
- [60] Reilly JP, Christie JD. Linking genetics to ARDS pathogenesis: the role of the platelet [J]. *Chest*, 2015, 147 (3): 585–586. DOI: 10.1378/chest.14-2701.
- [61] Pranal T, Pereira B, Berthelin P, et al. Clinical and biological predictors of plasma levels of soluble RAGE in critically ill patients: secondary analysis of a prospective multicenter observational study [J]. *Dis Markers*, 2018, 2018: 7849675. DOI: 10.1155/2018/7849675.
- [62] Jabaudon M, Blondonnet R, Roszyk L, et al. Soluble forms and ligands of the receptor for advanced glycation end-products in patients with acute respiratory distress syndrome: an observational prospective study [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (8): e0135857. DOI: 10.1371/journal.pone.0135857.
- [63] 徐亚楠, 王栋, 刘欢, 等. 脓毒症患者血脂与炎症因子水平的研究 [J]. *中华危重病急救医学*, 2022, 34 (2): 127–132. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20211105-01646.
- [64] Liu XM, Tong X, Zou YQ, et al. Mendelian randomization analyses support causal relationships between blood metabolites and the gut microbiome [J]. *Nat Genet*, 2022, 54 (1): 52–61. DOI: 10.1038/s41588-021-00968-y.
- [65] Namba S, Konuma T, Wu KH, et al. A practical guideline of genomics-driven drug discovery in the era of global biobank meta-analysis [J]. *Cell Genom*, 2022, 2 (10): 100190. DOI: 10.1016/j.xgen.2022.100190.
- [66] Folkersen L, Gustafsson S, Wang Q, et al. Genomic and drug target evaluation of 90 cardiovascular proteins in 30, 931 individuals [J]. *Nat Metab*, 2020, 2 (10): 1135–1148. DOI: 10.1038/s42255-020-00287-2.