

基于双向孟德尔随机化法探讨组织蛋白酶与衰弱的因果关联

杨慧, 苏士晶, 李芬

(海南医学院第二附属医院全科医学科, 海南 海口 570311)

摘要:目的 采用双向两样本孟德尔随机化(two-sample Mendelian randomization, TSMR)方法,从遗传学角度探讨9种组织蛋白酶与衰弱指数之间的因果关系,以期为未来衰弱的预防和治疗策略提供新的见解。方法 9种组织蛋白酶(B、E、F、G、H、L2、O、S和Z)的全基因组关联(genome-wide association study, GWAS)汇总数据来自一项包括3301名欧洲血统受试者的INTERVAL;衰弱指数的GWAS汇总数据来自一项包括164610名英国生物银行和10616名瑞典TwinGene受试者的荟萃分析。以方差逆加权(inverse variance weighted, IVW)作为主要方法,MR-Egger和加权中位数2种回归模型作为补充方法进行TSMR分析。采用MR-Egger截距项和MR-多效性残差和异常值(MR-pleiotropy residual sum and outliers, MR-PRESSO)分析检验水平多效性。应用MR-Egger和IVW方法中的Cochran's Q检验评估异质性。采用留一法进行敏感性分析。采用反向TSMR分析验证结果的稳健性。结果 经Bonferroni法校正的正向TSMR分析结果显示,遗传预测的血清组织蛋白酶E水平升高与较高衰弱指数之间存在因果关系($\beta=0.033$, 95%CI:0.015~0.050, $P<0.001$)。反向TSMR分析结果显示,遗传预测的衰弱指数与各种类型的组织蛋白酶之间不存在因果关系($P>0.05/3$)。MR-Egger回归模型截距项检验、MR-PRESSO Global检验和Cochran's Q检验的结果显示,筛选出的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)不存在水平多效性和异质性。基于留一法的敏感度分析结果显示,单一SNP不影响因果关联效应值的稳健性。结论 在遗传水平上,组织蛋白酶E可作为衰弱易感性的预测性生物标志物,为该疾病的基础和临床研究以及潜在的干预措施提供了新的见解。

关键词:组织蛋白酶;衰弱;孟德尔随机化;全基因组关联研究

中图分类号:R195 文献标志码:A

Study on the causal relationship between cathepsins and risk of frailty based on bidirectional two-sample Mendelian randomization

YANG Hui, SU Shijing, LI Fen

(Department of General Medicine, the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570311, Hainan, China)

Abstract: Objective To investigate the causal relationship between the nine cathepsins and frailty index at the genetic level using the bidirectional two-sample Mendelian randomization (TSMR), so as to provide new insights for future prevention and treatment strategies for frailty. **Methods** Genome-wide association study (GWAS) summary data for nine cathepsins (B, E, F, G, H, L2, O, S, and Z) were obtained from the INTERVAL study, which included 3,301 European participants, and GWAS summary data for frailty index were obtained from the meta-analyses including 164,610 UK Biobank and 10,616 Swedish TwinGene participants. TSMR analysis was conducted using inverse variance weighted (IVW) as the primary method, and two regression models, including MR-Egger and weighted median, as the supplementary. In addition, horizontal pleiotropy was tested using the MR-Egger intercept test and MR-pleiotropy residual sum and outliers (MR-PRESSO) analysis, heterogeneity was assessed by applying Cochran's Q test in MR-Egger

and IVW methods, and sensitivity analysis was performed using the “leave-one-out” method. Finally, reverse TSMR analysis was used to verify the robustness of the results. **Results** The forward TSMR analysis corrected by the Bonferroni method revealed a causal relationship between genetically predicted elevated serum cathepsin E level and higher frailty index ($\beta=0.033$, 95% CI: 0.015-0.050, $P<0.001$). The reverse TSMR analysis revealed no causal relationship between genetically predicted frailty index and various types of cathepsins ($P>0.05/3$). The MR-Egger regression model intercept term test, MR-PRESSO Global test and Cochran's Q test showed that the screened single nucleotide polymorphism (SNP) did not have horizontal pleiotropy or heterogeneity. Sensitivity analysis based on the “leave-one-out” method showed that a single SNP did not affect the robustness of the causal association effect values. **Conclusion** At the genetic level, cathepsin E could potentially serve as a predictive biomarker for susceptibility to frailty, providing new insights for basic and clinical studies of frailty and possible interventions.

Key words: Cathepsins; Frailty; Mendelian randomization; Genome-wide association study

衰弱是一种多维度、可预防的临床综合征,表现为机体的生理储备和恢复能力下降,可发生于各个年龄段,多见于老年人^[1-2]。有研究表明,衰弱与包括痴呆、跌倒和全因死亡率增加在内的多种不良健康结果有关^[3]。然而,衰弱的发病机理尚不明确,缺乏有效治疗方法。因此,寻找相关生物标志物,对衰弱的及时发现与干预,减轻患者和社会的医疗负担有重要意义^[4]。

组织蛋白酶是一组溶酶体半胱氨酸蛋白酶,参与包括蛋白质和脂质代谢、自噬、抗原呈递、细胞应激、细胞外基质降解以及溶酶体介导的细胞死亡等多种与疾病相关的细胞活动,引起了研究者的广泛关注^[5-6]。然而,组织蛋白酶与衰弱关系的基础性研究较少且存在争议^[7-9];观察性研究易受混杂因素影响,导致对实际关系的错误估计^[10]。因此,需要以可靠性更高的研究方法研究二者间的因果关系。

孟德尔随机化(mendelian randomization, MR)是一种新的流行病学方法,其利用与暴露因素相关的遗传变异作为工具变量,如单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP),推断暴露因素与疾病的潜在因果关系^[11]。由于遗传变异的分布方式与随机对照试验中的个体分配类似,因此MR方法可有效减少混杂因素、反向因果关系等对观察性研究的干扰,且相比于随机对照试验更节省时间和资源,已被广泛应用^[12-13]。本研究基于全基因组关联研究(genome wide association study, GWAS)汇总数据,采用双向两样本MR(two-sample MR, TSMR)方法分析不同类型组织蛋白酶与衰弱指数的潜在因果关系,以期为衰弱的基础和临床研究提供新见解,并为生物标志物和治疗靶点的开发提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 数据来源

9种类型组织蛋白酶(B、E、F、G、H、L2、O、S和Z)的GWAS汇总数据来自一项包括3 301名欧洲血统受试者的INTERVAL研究^[14],均有10 534 735个SNPs。衰弱指数的GWAS汇总数据来自Atkins等^[15]于2021年发表的一项包括175 226名欧洲血统受试者的荟萃分析,其中英国生物银行受试者164 610名(男80 165名,女84 445名,60~70岁,平均64岁),瑞典TwinGene受试者10 616名(男5 043名,女5 573名,41~87岁,平均58.3岁),共7 589 717个SNPs。在这项荟萃分析中,衰弱指数是一种衰弱评估工具,即通过症状、体征、实验室异常和疾病诊断等多个领域的累积缺陷量化衰弱程度。计算方法是缺陷数量除以49,取值范围为0~1,数值越高表示衰弱程度越严重。英国生物银行队列的衰弱指数为(0.129±0.075),瑞典TwinGene队列的衰弱指数为(0.121±0.080)。

1.2 方法

1.2.1 研究设计

本研究采用双向TSMR设计:首先,以9种类型组织蛋白酶为暴露因素,衰弱指数作为结局变量进行TSMR分析;其次,以衰弱指数作为暴露因素,9种类型组织蛋白酶作为结局变量进行反向TSMR分析。为获得可靠的因果效应估计值,本研究中的工具变量必须满足三个基本假设^[11]:①工具变量与暴露因素高度相关(关联性假设);②工具变量与可能影响暴露和结局的潜在混杂因素无关(独立性假设);③工具变量仅能通过暴露因素来影响结局变量(排他性假设)。见图1。

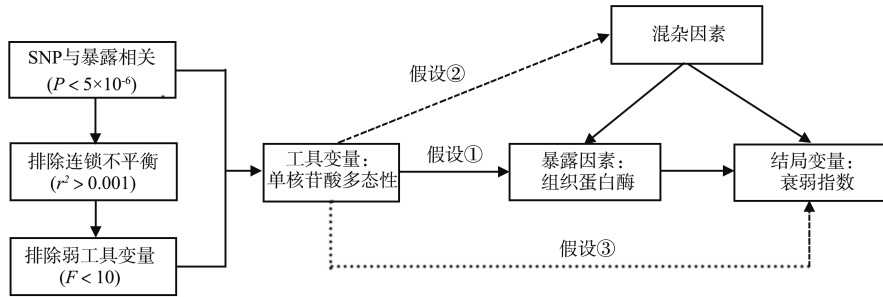


图 1 TSMR 分析示意图
Figure 1 The schematic diagram of TSMR analysis

1.2.2 工具变量的筛选

在正向 TSMR 分析中,首先以阈值为 $P < 5 \times 10^{-8}$ 进行筛选,但获得的 SNP 数量不足以进行 MR,为了后续的分析,根据相关文献[16]调整阈值为 $P < 5 \times 10^{-6}$ 。从 GWAS 汇总数据中分别选择与 9 种组织蛋白酶强相关的 SNPs 作为初选的工具变量,并删除了连锁不平衡系数 $r^2 > 0.001$ 及物理距离 $< 10\ 000$ Kb 的 SNPs,以确保 SNPs 之间的独立性。其次,在 PhenoScanner V2 数据库 (<http://www.phenoscanner.medschl.cam.ac.uk/>) 中搜索每个 SNP 的相关表型,并剔除与混杂因素(如吸烟、饮酒、体质量、体质量指数、癌症、糖尿病、冠状动脉疾病、阿尔茨海默病和抑郁症等)相关的 SNPs,以防止可能的多向效应^[17]。此外,从衰弱指数的 GWAS 汇总数据中筛选与工具变量相关的 SNPs,并使用效应等位基因频率协调合并暴露因素和结局变量的数据集,剔除存在回文结构和不相容的 SNPs。最后,使用公式 $F = [R^2 / (1 - R^2)] \times [(N - K - 1) / K]$ 计算所选 SNPs 的 F 值,其中 N 表示暴露因素的样本量, K 表示使用的遗传工具数量, R^2 表示单个遗传工具的解释方差,并剔除 F 值 < 10 易受偏倚影响的弱工具变量^[18]。在反向 TSMR 分析中,从 GWAS 汇总数据中选择与衰弱指数强相关 ($P < 5 \times 10^{-6}$) 的 SNPs 作为工具变量。其他筛选标准同正向 TSMR 分析。

1.3 统计学处理

使用 R 软件(版本 4.3.2)、TwoSampleMR(版本 0.5.7)和 MR-PRESSO(版本 1.0)等程序包进行数据提取和分析。以逆方差加权(inverse-variance weighting, IVW)为主要方法、MR-Egger 回归和加

权中位数为次要方法进行 TSMR 分析;采用 β 值及 95% 置信区间(95% confidence interval, 95% CI) 评估暴露因素与结局变量之间的因果关系^[13]。使用 MR-Egger 回归的截距项检验所有结果的水平多效性, $P < 0.05$ 被认为存在水平多效性。采用 MR 多态性残差和离群值(MR-pleiotropy residual sum and outlier, MR-PRESSO)方法筛查异常 SNPs,并通过剔除异常值以矫正水平多效性对因果效应估计值的影响。采用 IVW 和 MR-Egger 中的 Cochran's Q 检验评估 SNPs 的异质性, $P < 0.05$ 被认为存在异质性。采用留一法进行敏感性分析。由于本研究涉及多重暴露,因此采用 Bonferroni 法对检验的显著性水平进行校正,校正的公式为 $\alpha = 0.05 / N$,其中 α 为校正后检验水准, N = 暴露因素数目 \times 检验方法个数。以 $P < 0.05 / 27$ (暴露因素 9 个,检验方法 3 种)为正向 TSMR 分析结果有统计学意义,以 $P < 0.05 / 3$ (暴露因素 1 个,检验方法 3 种)为反向 TSMR 分析结果有统计学意义。

2 结果

2.1 TSMR 方法研究组织蛋白酶与衰弱指数关系的 SNPs 筛选情况

根据工具变量的筛选标准,最终纳入 7~22 个与 9 种类型组织蛋白酶相关的工具变量。在反向 TSMR 分析中,最终纳入 51 个与衰弱指数相关的工具变量。所有工具变量的 F 统计量均大于 10,表明存在弱工具变量偏倚的可能性较小。见表 1。

表 1 工具变量的筛选情况
Table 1 Screening of instrumental variables

暴露因素	SNP/个	F 统计量		
		最小值	最大值	平均值
组织蛋白酶 B	16	20.890	240.137	34.318
组织蛋白酶 E	10	20.960	24.650	21.915
组织蛋白酶 F	10	21.314	115.001	35.699
组织蛋白酶 G	10	20.992	25.468	22.821

续表

暴露因素	SNP/个	F 统计量		
		最小值	最大值	平均值
组织蛋白酶 H	11	21.221	1 098.942	126.485
组织蛋白酶 L2	11	20.850	42.550	24.684
组织蛋白酶 O	7	21.547	27.555	23.281
组织蛋白酶 S	22	20.810	421.768	39.715
组织蛋白酶 Z	11	21.172	254.612	53.458
衰弱指数	51	23.827	119.120	29.863

2.2 TSMR 方法研究组织蛋白酶与衰弱指数的因果关联

IVW 结果显示,经 Bonferroni 校正后,遗传预测的血清组织蛋白酶 E 水平升高与较高的衰弱指数之间存在因果关联 ($\beta = 0.033, 95\% CI: 0.015 \sim 0.050, P < 0.001$); 尽管 MR-Egger 回归和

加权中位数 2 种方法的检验结果无统计学意义 ($P > 0.05/27$), 但效应估计的方向与 IVW 方法的结果一致。此外, 3 种方法的分析结果均显示, 组织蛋白酶 B、F、G、H、O、S、Z 和 L2 与衰弱指数之间不存在因果关联 ($P > 0.05/27$)。见图 2、3。

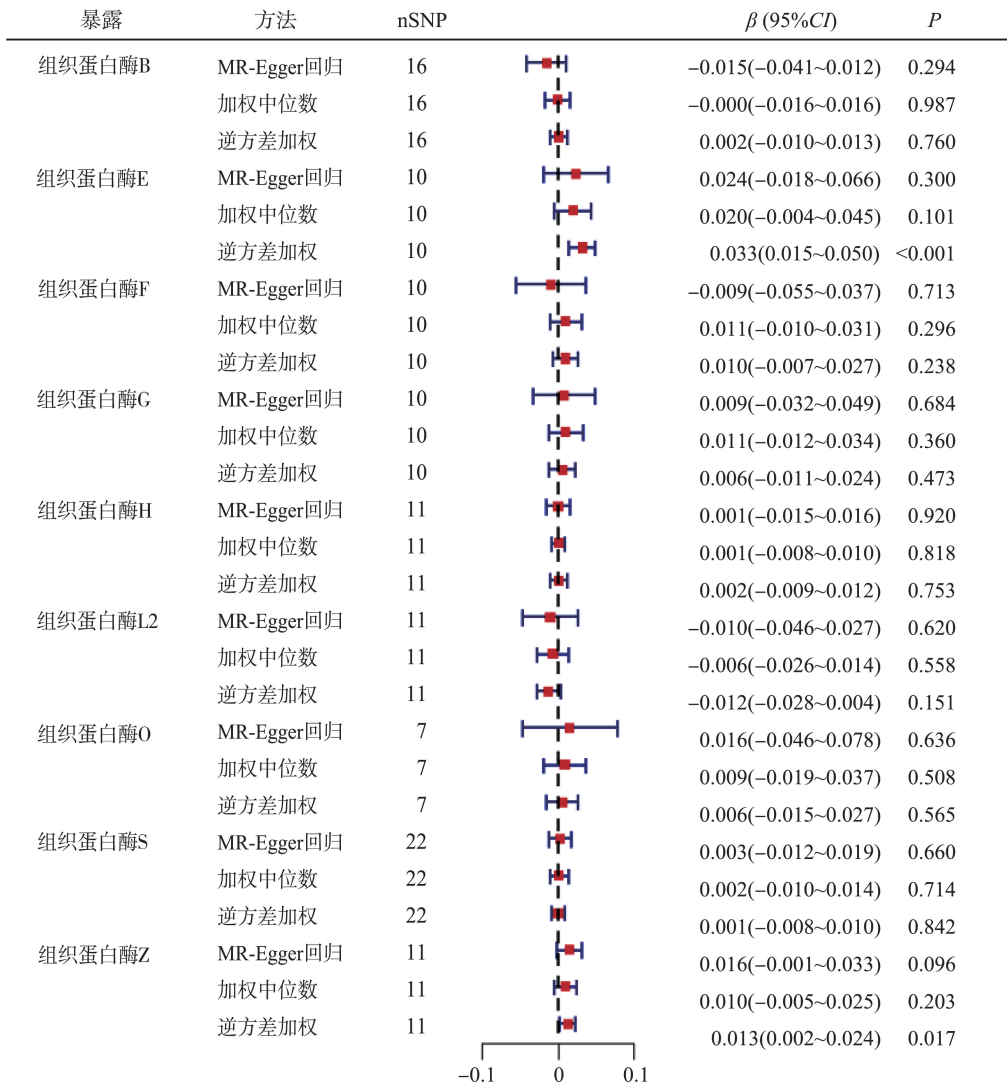


图 2 不同类型的组织蛋白酶与衰弱指数之间关联的 TSMR 分析结果的森林图

Figure 2 Forest plot of TSMR analysis results of the association between the different types of cathepsins and frailty index

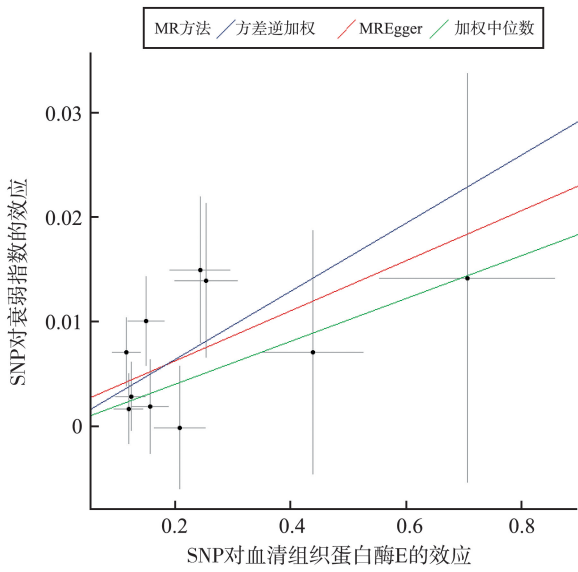


图3 组织蛋白酶E与衰弱指数之间因果关系的3种MR方法的散点图

Figure 3 Scatter plots of three MR methods for causal relationship between cathepsin E and frailty index

2.3 TSMR方法研究组织蛋白酶与衰弱指数因果关联的质量控制

2.3.1 多效性和异质性检验

组织蛋白酶E对衰弱指数影响的相关MR-Egger回归模型截距项检验(截距值为0.0016, $P=0.672$)和MR-PRESSO Global检验($RSS_{Obs} = 8.718, P=0.668$)的 $P>0.05$,表明所纳入的SNPs不存在水平多效性或异常值。Cochran's Q 检验在IVW($Q = 7.096, P = 0.627$)和MR-Egger($Q = 6.903, P=0.547$)中的 P 值均 >0.05 ,表明所纳入的

SNPs间不存在异质性。漏斗图显示,与组织蛋白酶E相关的SNPs分布呈现出两侧基本对称的形状,表明应用这些SNPs作为工具变量推断因果关系受潜在混杂因素影响的可能性较小(图4)。

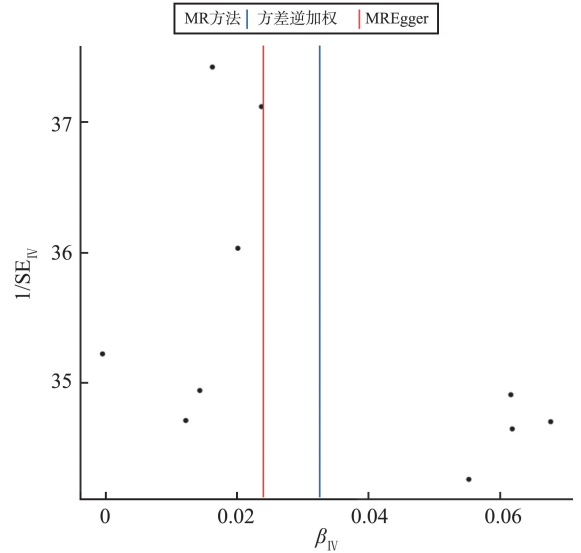


图4 组织蛋白酶E与衰弱指数之间因果关系TSMR分析的漏斗图

Figure 4 Funnel plot of the TSMR analysis for causal relationship between cathepsin E and frailty index

2.3.2 敏感性分析

应用留一法分析与组织蛋白酶E相关的SNP对总体结果的影响。结果显示,去除任意一个相关SNP后再进行分析,因果关联均不变,表明不存在对因果关联效应值有较大影响的主效SNP。见图5。

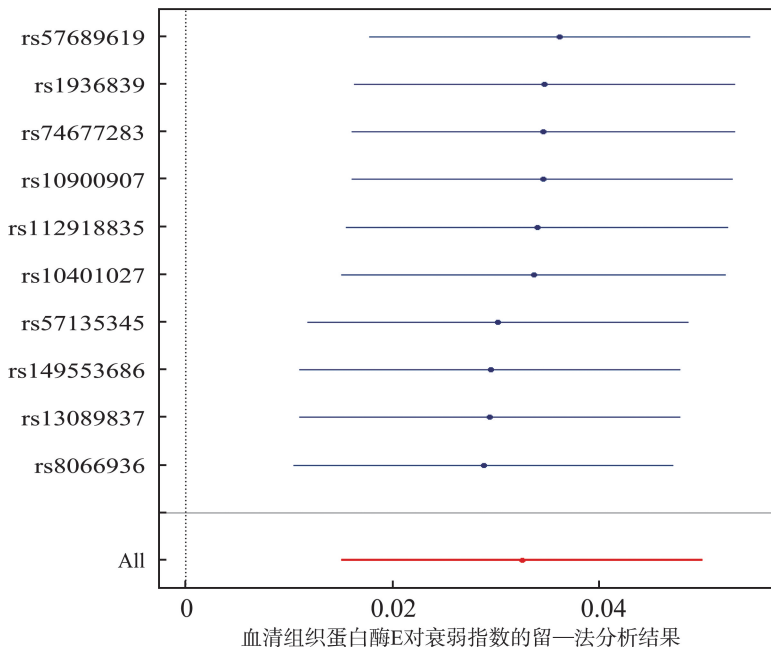


图5 组织蛋白酶E与衰弱指数因果关系的敏感性分析

Figure 5 Sensitivity analysis of the causal relationship of cathepsin E and frailty index

2.4 TSMR 方法研究衰弱指数与组织蛋白酶的因果关联

将衰弱指数作为暴露变量,以9种类型组织蛋白酶作为结局变量的反向 TSMR 分析结果显示,3种方法的检验结果差异均无统计学意义($P>0.05$ /

3),表明二者间不存在因果关系。见图6。此外,TSMR 分析结果较为稳健,不存在水平多效性和异质性,并且基于留一法的敏感性分析也没有发现对因果关联效应值有较大影响的主效 SNP。见表2,图7。

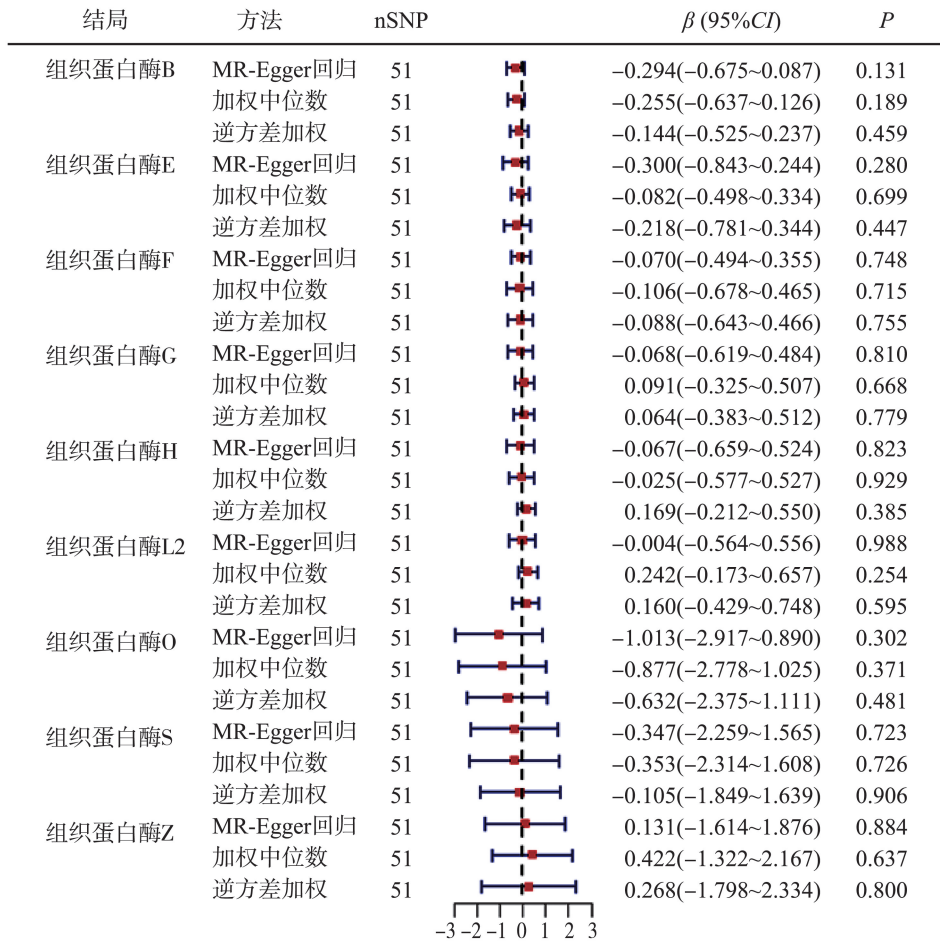


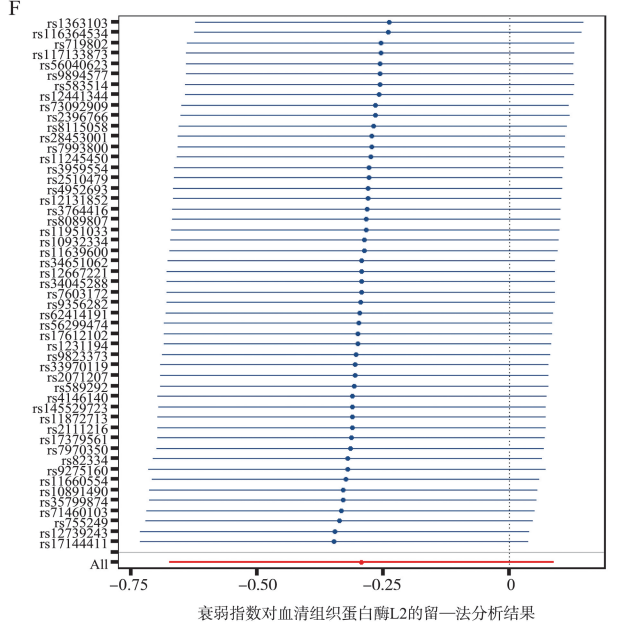
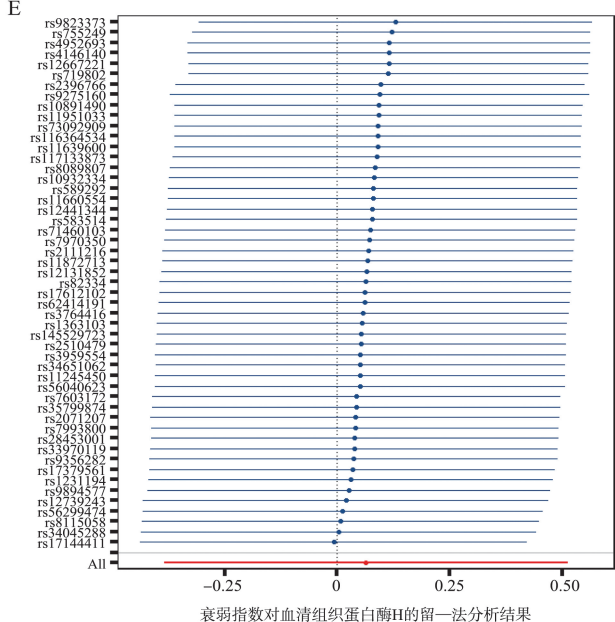
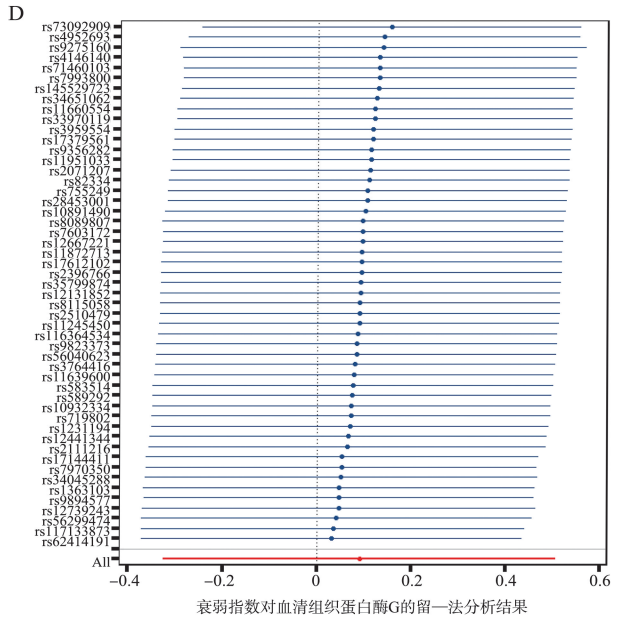
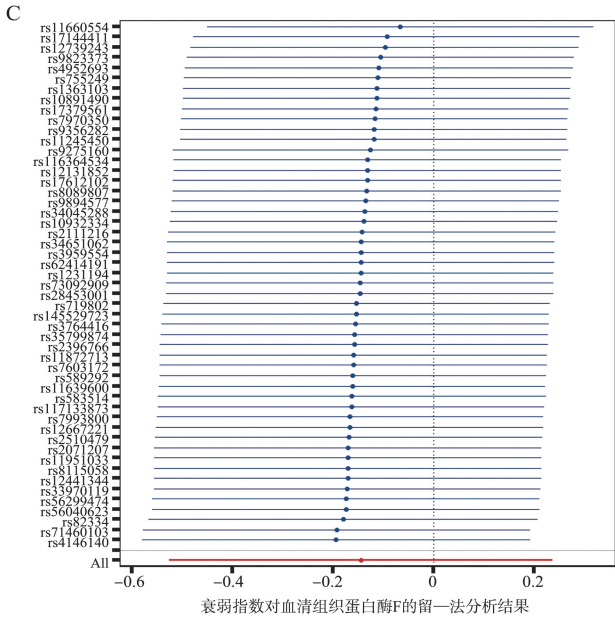
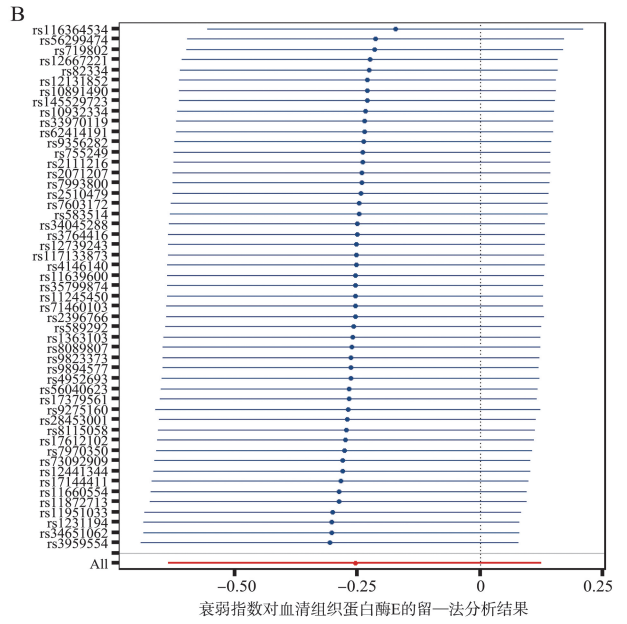
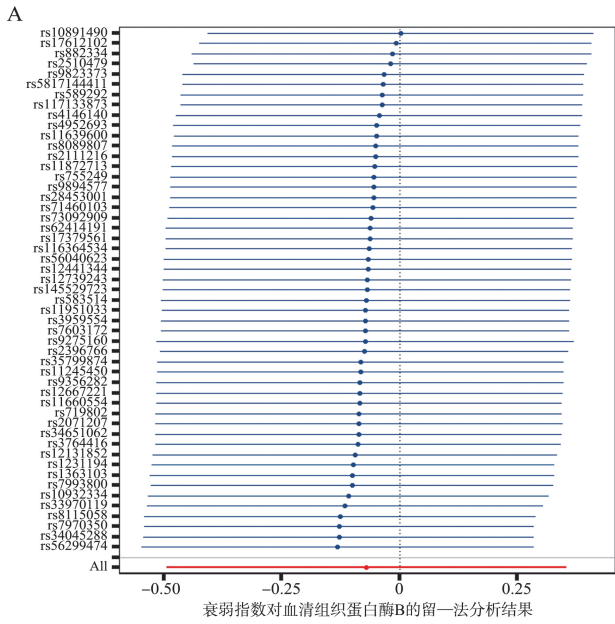
图6 衰弱指数与不同类型的组织蛋白酶之间关联的 TSMR 分析结果的森林图

Figure 6 Forest plot of TSMR analysis results of the association between frailty index and the different types of cathepsins

表2 多效性分析和异质性检验

Table 2 Pleiotropy analysis and heterogeneity test

结局	水平多效性				异质性			
	MR-Egger 截距检验	P	MR-PRESSO Global 检验	P	IVW Cochran's Q 检验	P	MR-Egger Cochran's Q 检验	P
组织蛋白酶 B	0.0061	0.773	64.440	0.112	62.044	0.118	61.937	0.102
组织蛋白酶 E	-0.0032	0.863	48.168	0.636	46.464	0.616	46.434	0.578
组织蛋白酶 F	-0.0122	0.517	50.258	0.553	48.377	0.539	47.952	0.516
组织蛋白酶 G	0.0208	0.312	61.802	0.158	59.484	0.169	58.242	0.172
组织蛋白酶 H	-0.0044	0.844	71.590	0.053	68.911	0.059	68.856	0.052
组织蛋白酶 L2	-0.0091	0.627	49.026	0.603	47.190	0.588	46.951	0.557
组织蛋白酶 O	0.0172	0.361	50.644	0.543	48.730	0.524	47.878	0.519
组织蛋白酶 S	0.0126	0.539	61.654	0.162	59.272	0.173	58.813	0.159
组织蛋白酶 Z	0.0200	0.331	62.099	0.152	59.621	0.165	58.468	0.167



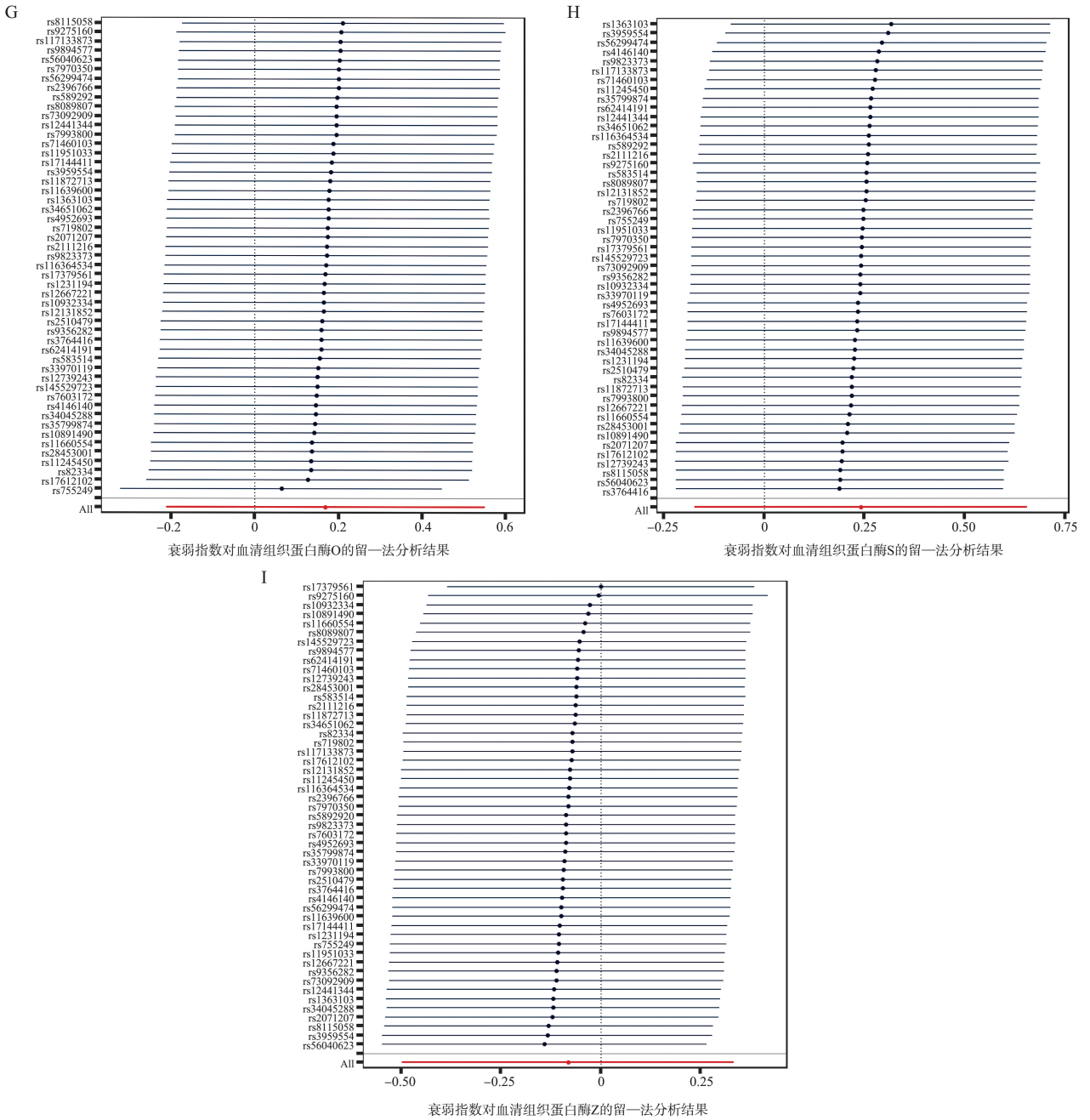


图7 衰弱指数与不同类型组织蛋白酶因果关系的敏感性分析
 A: 组织蛋白酶 B; B: 组织蛋白酶 E; C: 组织蛋白酶 F; D: 组织蛋白酶 G; E: 组织蛋白酶 H; F: 组织蛋白酶 L2; G: 组织蛋白酶 O; H: 组织蛋白酶 S; I: 组织蛋白酶 Z。

Figure 7 Sensitivity analysis of the causal relationship of frailty index and different types of cathepsins
 A: Cathepsin B; B: Cathepsin E; C: Cathepsin F; D: Cathepsin G; E: Cathepsin H; F: Cathepsin L2; G: Cathepsin O; H: Cathepsin S; I: Cathepsin Z.

3 讨论

关于组织蛋白酶与衰弱关系的研究较少。本研究首次采用双向 TSMR 方法,从遗传变异角度探讨了不同类型组织蛋白酶与衰弱指数之间的因果关系,发现高水平的血清组织蛋白酶 E 可显著增加衰弱的发病风险,而衰弱并不影响血清组织蛋白酶水

平。Bålsrud 等^[6]的观察性研究显示,血清组织蛋白酶水平与衰弱指数呈显著正相关,与本研究结果一致。但本研究可避免混杂因素的干扰,且从遗传变异角度证实了组织蛋白酶 E 与衰弱之间的因果关系,表明组织蛋白酶 E 可作为衰弱易感性的预测性生物标志物,将有助于医护和研究人员更深入地了解组织蛋白酶在衰弱发病机制中的作用。

本研究发现,衰弱风险增加与血清组织蛋白酶

E水平的升高有关,表明高水平的血清组织蛋白酶E可能是衰弱发生的驱动因素。Zeng等^[19]研究也表明,较高的血清组织蛋白酶E水平与冠状动脉粥样硬化风险增加有因果关系。组织蛋白酶E主要存在于细胞溶酶体中,与高度同源的组织蛋白酶D相比,具有较低的最适pH值和更广泛的底物特异性,在炎症反应、抗原处理、细胞凋亡、细胞内蛋白质降解和细胞信号传导中发挥重要作用^[5]。与其他类型组织蛋白酶相比,组织蛋白酶E不需要激活剂,也没有内源性抑制剂,其活性取决于溶酶体中的pH值,以及温度和蛋白质底物的可用性,较强的蛋白水解活性和促炎性^[20]。有研究表明,组织或血清中组织蛋白酶E表达上调,可通过加速基质细胞蛋白降解、诱发炎症等途径参与腹主动脉瘤、慢性阻塞性肺疾病和阿尔茨海默病等疾病的发生和发展,为组织蛋白酶E与衰弱间存在因果关系提供了依据^[21-23]。首先,血清组织蛋白酶E高表达不仅会激活一种或多种主要蛋白质降解途径,导致骨骼肌蛋白分解增加,促进骨骼肌萎缩,还可能通过影响自噬相关的细胞信号通路,间接导致骨骼肌质量下降和功能障碍^[8-9]。其次,血清组织蛋白酶E表达上调所诱发的慢性低度炎症反应可导致免疫功能下降、肥胖、肌少症以及多种慢性病等病理生理学过程促进衰弱的发生和发展^[24-26]。总之,血清组织蛋白酶E表达增加引起的蛋白质合成和分解失衡以及炎症反应可能在衰弱的发生和发展过程中起着关键作用,但确切的分子机制还需要进一步研究证实。

本研究具有以下优势。首先,利用大样本量的GWAS汇总数据,提高了统计效力。其次,本研究以IVW为主要方法,其被认为是MR分析的标准方法,不需要满足所有SNPs都是有效工具变量的假设,通过计算每个SNP的Wald比率估计值,并利用逆方差加权分析方法合并结果,提高了本研究因果关系估计的准确性。再次,本研究应用多种检测方法排除了水平多效性和异质性对结果的影响,从而证实了结论的可靠性。最后,反向TSMR分析也确保了研究结果的稳健性。

本研究仍存在一些局限性。首先,纳入的GWAS汇总数据仅限于欧洲人群,无法证明研究结果是否可以推广到其他人群;其次,即使采取措施识别和消除了工具变量的多效性和异质性,也不能排除未观察到的多效性影响结果的可能性;最后,组织蛋白酶E和衰弱的GWAS数据来自公开数据库,缺乏详细的临床信息,无法进行亚组分析以评估二者关系是否受到性别或年龄的影响。

综上所述,本研究发现血清组织蛋白酶E水平升高与较高的衰弱指数之间存在因果关系,即血清组织蛋白酶E水平越高,衰弱的风险越高,表明组织蛋白酶E可能成为衰弱的治疗靶点和潜在生物标志物,为衰弱的早期识别和干预提供了新的思路。但仍需开展进一步基础和临床研究验证结果的可靠性并阐明确切机制。

参考文献:

- [1] Veronese N, Custodero C, Cella A, et al. Prevalence of multidimensional frailty and pre-frailty in older people in different settings: a systematic review and meta-analysis [J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 72(1): 101498. doi:10.1016/j.arr.2021.101498.
- [2] Doody P, Asamane EA, Aunger JA, et al. The prevalence of frailty and pre-frailty among geriatric hospital inpatients and its association with economic prosperity and healthcare expenditure: a systematic review and meta-analysis of 467, 779 geriatric hospital inpatients [J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 80(1): 101666. doi:10.1016/j.arr.2022.101666.
- [3] Ferriolli E, Fernandes PMP. Frailty syndrome and healthcare for older adults [J]. *Sao Paulo Med J*, 2024, 142(4): e20241424. doi:10.1590/1516-3180.2024.1424.21052024.
- [4] Wang XR, Hu JJ, Wu DP. Risk factors for frailty in older adults [J]. *Medicine*, 2022, 101(34): e30169. doi:10.1097/MD.0000000000030169.
- [5] Yadati T, Houben T, Bitorina A, et al. The ins and outs of cathepsins: physiological function and role in disease management [J]. *Cells*, 2020, 9(7): 1679. doi:10.3390/cells9071679.
- [6] Bålsrud P, Ulven SM, Christensen JJ, et al. Inflammatory markers and frailty in home-dwelling elderly, a cross-sectional study [J]. *BMC Geriatr*, 2024, 24(1): 175. doi:10.1186/s12877-024-04690-2.
- [7] Gumpfer K, Sermersheim M, Zhu MX, et al. Skeletal muscle lysosomal function via cathepsin activity measurement [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1854: 35-43. doi:10.1007/7651_2017_64.
- [8] Wan Y, Piao LM, Xu SN, et al. Cathepsin S activity controls chronic stress-induced muscle atrophy and dysfunction in mice [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2023, 80(9): 254. doi:10.1007/s00018-023-04888-4.
- [9] Kim J, McKenna CF, Salvador AF, et al. Cathepsin B and muscular strength are independently associated with cognitive control [J]. *Brain Plast*, 2022, 8(1): 19-33.
- [10] Richmond RC, Davey Smith G. Mendelian randomization: concepts and scope [J]. *Cold Spring Harb Perspect*

- Med, 2022, 12(1): a040501. doi:10.1101/cshperspect.a040501.
- [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.
- [12] 常鑫, 刘世佳, 韩璐. 服用阿司匹林与子宫内膜癌发病风险的孟德尔随机化关系[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2023, 61(10): 58-62.
CHANG Xin, LIU Shijia, HAN Lu. A Mendelian randomization study of aspirin use and the risk of endometrial cancer [J]. *Journal of Shandong University (Health Sciences)*, 2023, 61(10): 58-62.
- [13] 吴彤, 杨晶玉, 林盪, 等. 基于孟德尔随机化方法探讨脂质和降脂药物与慢性阻塞性肺病的遗传关联[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2024, 62(5): 54-63.
WU Tong, YANG Jingyu, LIN Dang, et al. Genetic association of lipids and lipid-lowering drugs with chronic obstructive pulmonary disease based on Mendelian randomization [J]. *Journal of Shandong University (Health Science)*, 2024, 62(5): 54-63.
- [14] Sun BB, Maranville JC, Peters JE, et al. Genomic atlas of the human plasma proteome [J]. *Nature*, 2018, 558(7708): 73-79.
- [15] Atkins JL, Jylhävä J, Pedersen NL, et al. A genome-wide association study of the frailty index highlights brain pathways in ageing [J]. *Aging Cell*, 2021, 20(9): e13459. doi:10.1111/ace1.13459.
- [16] Li JL, Tang MB, Gao XL, et al. Mendelian randomization analyses explore the relationship between cathepsins and lung cancer [J]. *Commun Biol*, 2023, 6(1): 1019.
- [17] Kamat MA, Blackshaw JA, Young R, et al. PhenoScanner V2: an expanded tool for searching human genotype-phenotype associations [J]. *Bioinformatics*, 2019, 35(22): 4851-4853.
- [18] Zhao P, Han FY, Liang XY, et al. Causal effects of basal metabolic rate on cardiovascular disease: a bidirectional Mendelian randomization study [J]. *J Am Heart Assoc*, 2024, 13(1): e031447. doi:10.1161/JAHA.123.031447.
- [19] Zeng RQ, Zhou ZY, Liao WZ, et al. Genetic insights into the role of cathepsins in cardiovascular diseases: a Mendelian randomization study [J]. *ESC Heart Fail*, 2024, 11(5): 2707-2718.
- [20] Athauda SB, Takahashi T, Inoue H, et al. Proteolytic activity and cleavage specificity of cathepsin E at the physiological pH as examined towards the B chain of oxidized insulin [J]. *FEBS Lett*, 1991, 292(1-2): 53-56.
- [21] Xie Z, Meng J, Kong W, et al. Microglial cathepsin E plays a role in neuroinflammation and amyloid β production in Alzheimer's disease [J]. *Aging Cell*, 2022, 21(3): e13565. doi:10.1111/ace1.13565.
- [22] Cao WJ, Li MH, Li JX, et al. High expression of cathepsin E is associated with the severity of airflow limitation in patients with COPD [J]. *COPD*, 2016, 13(2): 160-166.
- [23] Kurianiuk A, Socha K, Gacko M, et al. The Relationship between the concentration of cathepsin A, D, and E and the concentration of copper and zinc, and the size of the aneurysmal enlargement in the wall of the abdominal aortic aneurysm [J]. *Ann Vasc Surg*, 2019, 55(1): 182-188.
- [24] Wan Y, Piao LM, Xu SN, et al. Cathepsin S deficiency improves muscle mass loss and dysfunction via the modulation of protein metabolism in mice under pathological stress conditions [J]. *FASEB J*, 2023, 37(8): e23086. doi:10.1096/fj.202300395RRR.
- [25] Ogasawara S, Cheng X, Inoue A, et al. Cathepsin K activity controls cardiotoxin-induced skeletal muscle repair in mice [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2017, 9: 160-175. doi:10.1002/jcsm.12248.
- [26] Celik HI, Koc F, Siyasal K, et al. Exploring the complex associations among risks of malnutrition, sarcopenia, and frailty in community-dwelling older adults [J]. *Eur Rev Aging Phys Act*, 2024, 21(1): 18. doi:10.1186/s11556-024-00354-7.

(编辑:郑潇)