

# 基于遗传差异与孟德尔随机化分析糖尿病肾病与糖尿病视网膜病变的因果关系及共同机制

丁国鑫<sup>1,2</sup>, 王 静<sup>1</sup>, 王 鲜<sup>2</sup>, 张 舟<sup>2</sup>, 肖 鑫<sup>1</sup>, 李英琦<sup>1</sup>

**引用:** 丁国鑫,王静,王鲜,等. 基于遗传差异与孟德尔随机化分析糖尿病肾病与糖尿病视网膜病变的因果关系及共同机制. 国际眼科杂志, 2025, 25( 11 ):1838-1847.

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(No.82260204);中华国际医学交流基金会项目(No.Z-2017-26-2302);贵州省科学技术厅项目[黔科合成果-LC[2022]038]

**作者单位:**<sup>1</sup>(550001)中国贵州省贵阳市,贵州医科大学;

<sup>2</sup>(550004)中国贵州省贵阳市,贵州医科大学附属医院眼科

**作者简介:** 丁国鑫,男,硕士研究生,研究方向:眼底及眼免疫疾病。

**通讯作者:**李英琦,男,博士研究生,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:眼底及眼免疫疾病. drliyingqi@163.com

收稿日期: 2025-06-12 修回日期: 2025-09-29

## 摘要

**目的:**探讨糖尿病肾病(DN)与糖尿病视网膜病变(DR)之间的遗传关联及潜在因果关系,结合差异基因表达分析和孟德尔随机化(MR)方法,揭示二者的共同分子机制。

**方法:**整合来自 Gene Expression Omnibus(GEO)数据库的DN和DR转录组数据进行差异基因表达分析(DEGs)。选取符合显著性标准( $\log_{2}FC > 1, P < 0.05$ )的差异基因,并通过GO和KEGG通路富集分析探讨二者共同的生物学通路。结合DN和DR的全基因组关联研究(GWAS)统计数据,采用双样本MR分析方法探讨DN和DR之间的因果关系,以DN作为暴露因素,DR作为结局变量,主要通过逆方差加权(IVW)法计算因果效应,并进行敏感性分析验证结果的稳健性。

**结果:**MR分析结果显示,DN显著增加DR的风险。IVW方法估算,非增殖性DR(NPDR)的比值比(OR)为3.23(95%CI:2.12-4.95,  $P < 0.001$ ),增殖性DR(PDR)的OR为1.10(95%CI:1.06-1.15,  $P < 0.001$ )。此外,差异基因分析鉴定出多个关键基因(如FN1、COL1A2、THBS2)。FN1和COL1A2在细胞外基质重塑和纤维化过程中发挥重要作用,导致糖尿病并发症中血管通透性改变及微血管损伤。THBS2与新生血管形成和血管稳态调控密切相关,提示其在DR中的潜在作用。通过KEGG通路富集分析,这些差异基因主要富集于糖基化终末产物(AGEs)-RAGE信号通路、细胞外基质降解、氧化应激反应等通路,这些通路与糖尿病肾病和DR的病理特征密切相关。

**结论:**本研究通过MR分析和差异基因表达分析揭示了DN与DR之间的遗传关联。差异基因表达分析和通路富集分析,揭示了这两种疾病在细胞外基质重塑、炎症反应及新生血管形成等生物学通路中的共同机制,可能成为未来治疗糖尿病并发症的新靶点,为早期诊断和靶向治疗提供了理论依据。

**关键词:**糖尿病肾病;糖尿病视网膜病变;孟德尔随机化;单核酸多样性;差异基因

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2025.11.20

## Leveraging genetic differences and Mendelian randomization to dissect the causal link and shared etiology between diabetic nephropathy and diabetic retinopathy

Ding Guoxin<sup>1,2</sup>, Wang Jing<sup>1</sup>, Wang Xian<sup>2</sup>, Zhang Zhou<sup>2</sup>, Xiao Xin<sup>1</sup>, Li Yingqi<sup>1</sup>

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (No. 82260204); Chinese International Medical Foundation (No.Z-2017-26-2302); The Science and Technology Department of Guizhou Province {Qiankehechengguo-LC [2022]038}

<sup>1</sup>Guizhou Medical University, Guiyang 550001, Guizhou Province, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

**Correspondence to:** Li Yingqi. Guizhou Medical University, Guiyang 550001, Guizhou Province, China. drliyingqi@163.com

Received:2025-06-12 Accepted:2025-09-29

## Abstract

• AIM: To investigate the genetic association and potential causal relationship between diabetic nephropathy (DN) and diabetic retinopathy (DR), and to elucidate their shared molecular mechanisms through differential gene expression analysis and Mendelian randomization (MR).

• METHODS: Transcriptomic data of DN and DR were obtained from the Gene Expression Omnibus (GEO) database and analyzed for differentially expressed genes (DEGs). Genes meeting the significance threshold ( $\log_{2}FC > 1, P < 0.05$ ) were identified, followed by Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis to explore shared biological pathways. Using genome-wide association study (GWAS) summary statistics for DN and DR, two-sample MR analysis was performed, with DN as the exposure and DR as the outcome. The causal effect was primarily estimated with the inverse - variance weighted (IVW) method, and sensitivity analyses were conducted to assess robustness.

• RESULTS: MR analysis revealed that DN significantly increased the risk of DR. IVW estimates indicated that the

odds ratio (*OR*) for non-proliferative DR (NPDR) was 3.23 (95% CI: 2.12–4.95,  $P < 0.001$ ), and the *OR* for proliferative DR (PDR) was 1.10 (95% CI: 1.06–1.15,  $P < 0.001$ ). DEG analysis identified several key genes, including FN1, COL1A2, and THBS2. FN1 and COL1A2 are involved in extracellular matrix remodeling and fibrosis, contributing to vascular permeability alterations and microvascular damage in diabetic complications. THBS2 is closely associated with angiogenesis and vascular homeostasis, suggesting its potential role in DR. KEGG enrichment analysis showed that these DEGs were mainly enriched in advanced glycation end products (AGEs)-RAGE signaling, extracellular matrix degradation, and oxidative stress pathways, all of which are highly relevant to the pathogenesis of DN and DR.

• CONCLUSION: This study demonstrates the genetic association between DN and DR using MR and DEGs analyses. The shared mechanisms, particularly involving extracellular matrix remodeling, inflammatory response, and angiogenesis, may serve as novel therapeutic targets and provide a theoretical basis for the early diagnosis and targeted treatment of diabetic complications.

• KEYWORDS: diabetic nephropathy; diabetic retinopathy; Mendelian randomization; single nucleotide polymorphism; differential gene expression

**Citation:** Ding GX, Wang J, Wang X, et al. Leveraging genetic differences and Mendelian randomization to dissect the causal link and shared etiology between diabetic nephropathy and diabetic retinopathy. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2025, 25 (11): 1838–1847.

## 0 引言

糖尿病是一种常见的慢性代谢性疾病,全球患病人数持续上升。根据国际糖尿病联盟(International Diabetes Federation, IDF)的统计,预计到2045年,全球糖尿病患者将达到7.8亿人<sup>[1]</sup>。随着糖尿病患者数量的激增,糖尿病的微血管并发症也成为导致患者死亡和致残的主要原因。其中,糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)和糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)作为最常见且最严重的微血管并发症,分别是终末期肾病和工作年龄人群致盲的主要病因<sup>[2-3]</sup>。既往研究显示DR的发生通常与视网膜缺血缺氧密切相关,在缺氧微环境下,视网膜毛细血管内皮细胞受损导致血管通透性异常,进一步加剧缺血缺氧并促进新生血管形成<sup>[4-5]</sup>;而DN则是由高血糖引起的肾小球结构和功能改变,在细胞氧化应激和炎症因子共同作用下,导致毛细血管阻塞和足细胞减少,最终引发肾功能下降<sup>[6-7]</sup>。Li等<sup>[8]</sup>对中国2型糖尿病患者微血管疾病的研究结果显示肾病、视网膜病变及任一微血管病变的患病率显著增高,其风险比达1.69(95%CI:1.46–1.95)。这一高共病率反映了肾脏与眼睛在胚胎发育、解剖结构和微血管网络方面的显著相似性<sup>[9-10]</sup>,提示二者可能通过共享的生物学机制相互影响,共同促进病程进展。

近年来,国内外已有大量研究关注DN与DR的关系。研究者研究发现DN与DR之间存在显著的共生关系,并且两者在病理机制上具有许多共同点。例如,一项研究对272例2型糖尿病患者进行分析,结果显示,DN患者中86.4%合并DR,且随着DR严重程度的增加,肾小球病变

的严重程度也显著增加( $P = 0.001$ )<sup>[11]</sup>。此外,也有孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)分析从遗传层面证实DR和DN之间的关联具有双向性,DR每延长1 a, DN风险增加19%( $OR = 1.19$ ),肾小球滤过率下降和蛋白尿同样显著提高DR风险,微量蛋白尿患者7 a内DR恶化风险增加2.1倍<sup>[12]</sup>。在发病机制方面,研究者深入探讨了DN和DR的共享分子通路。研究发现,高级糖基化终末产物-受体(receptor for advanced glycation end products, AGE-RAGE)轴在糖尿病中起核心作用,AGEs积累激活RAGE,引发核因子-κB(nuclear factor-κappa B, NF-κB)介导的炎症反应,导致血管通透性增加和异常血管生成<sup>[13-14]</sup>。蛋白激酶C-β(protein kinase C-β, PKC-β)过度激活可促进肾小球胶原沉积并诱导血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)过表达,加速新生血管形成<sup>[15]</sup>。此外,NADPH氧化酶4(NADPH oxidase4, NOX4)介导的氧化应激可引起视网膜Müller细胞凋亡和肾小管功能障碍<sup>[16-18]</sup>,而补体系统的异常激活也与疾病进展密切相关,研究表明DR患者血清中低补体C3和高补体C4的水平与肾功能损伤呈显著相关性( $OR = 1.041$ –1.007)<sup>[19-21]</sup>。总之,二者在生理结构和发病机制均存在共同之处。然而,尽管已有研究揭示了糖尿病微血管并发症之间的相关性,关于DN与DR之间的因果关系研究仍较为匮乏,大多数研究侧重于其相关性分析,缺乏从遗传学和分子机制角度深入探讨两者的内在联系。

基于此,本研究通过MR分析,从遗传角度探讨DN与DR之间的因果关系<sup>[22]</sup>,并结合差异基因表达分析,揭示两者可能共享的分子机制。与传统的观察性研究不同,MR方法可以有效控制混杂因素和反向因果关系,为两者之间因果关系的探索提供更加精准的证据<sup>[23]</sup>。通过这一分析,我们不仅能够更清楚地理解DN和DR的生物学关联,还能为糖尿病微血管并发症的早期诊断和靶向治疗提供新的理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** DR数据来自IEU全基因组关联研究(Genome-Wide Association Study, GWAS)数据库(gwas.mrcieu.ac.uk, ID:finn-b-DM\_RETINOPATHY)中的独立欧洲人群,DR分为非增殖性DR(nonproliferative diabetic retinopathy, NPDR)(ID:finn-b-DM\_BCKGRND\_RETINA\_NONPROLIF,病例组455例,对照组204 208例,SNP计数16 380 421)和增殖性DR(proliferative diabetic retinopathy, PDR)(ID:finn-b-DM\_RETINA\_PROLIF,病例组8 681例,对照组204 208例,SNP计数为16 380 460)。DN相关的汇总级GWAS数据(ID:ebi-a-GCST90018832),包括452 280名欧洲血统的个体(1 032例和451 248例对照),SNP计数24 190 738。肾小球滤过率的汇总数据,包括11 522例欧洲患者。糖尿病患者尿白蛋白/肌酐比值的统计数据从5 828名欧洲血统参与者的CKDGen联盟中提取。DR和DN数据于2024年6月8日访问在线2021年GWAS公开数据,见表1。为了确保研究的可重复性,本研究严格遵循数据库提供的标准和方法。

## 1.2 方法

**1.2.1 设计** 本研究采用两样本孟德尔随机化方法,探讨DN与DR之间的关系,同样采用了多变量孟德尔随机化(multivariable mendelian randomization, MVMR)分析方法。

表 1 使用的 GWAS 研究和数据库资料

疾病	样本量(例)	人群	数据网址	ID
DN	452 280	欧洲	gwas.mrcieu.ac.uk	ebi-a-GCST90018832
DR	216 666	欧洲	gwas.mrcieu.ac.uk	finn-b-DM_RETINOPATHY
NPDR	204 663	欧洲	gwas.mrcieu.ac.uk	finn-b-DM_BCKGRND_RETINA_NONPROLIF
PDR	212 889	欧洲	gwas.mrcieu.ac.uk	finn-b-DM_RETINA_PROLIF
糖尿病患者的肾小球滤过率	11 522	欧洲	gwas.mrcieu.ac.uk	ebi-a-GCST003373
尿蛋白/肌酐比值	5 828	欧洲	gwas.mrcieu.ac.uk	ieu-a-1100

MVMR 能够同时考虑多个暴露因素之间的因果关系，并通过遗传工具变量控制潜在的混杂因素。在选择 SNPs 时遵循了以下步骤：使用  $P < 5 \times 10^{-8}$  的全基因组显著性标准筛选与 DR 高度相关的 SNPs，由于暴露因素 DR 的相关 SNP 相对较少，我们选择了较宽松的阈值 ( $P < 1 \times 10^{-5}$ )<sup>[24]</sup>。此外，考虑到连锁不平衡 (linkage disequilibrium, LD) 带来的潜在偏差，设定  $LD^2 < 0.001$  和  $kb = 10\,000$  作为标准，以减少遗传变异残留的连锁不平衡带来的偏差。所有纳入的 SNPs 的  $F$  值均大于 10，表明 MR 分析不存在弱工具偏倚。为确保 DN 和 DR 之间因果关系结论的准确性。

**1.2.2 遗传工具变量的筛选** MR 研究依赖于三个基本假设<sup>[25]</sup>：(1) SNPs 与相应的暴露因素 (DN 或 DR) 显著相关 ( $P < 1 \times 10^{-5}$ )；(2) 所选工具变量 (instrumental variable, IV) 应独立于任何可能影响结果的潜在混杂因素，与混杂因素无关；(3) 所选工具变量通过暴露变量对结果产生直接影响，而不涉及其他途径，见图 1。

### 1.2.3 差异基因表达分析

**1.2.3.1 基因表达谱数据收集** 从 Gene Expression Omnibus (GEO) 数据库下载 GSE30528 (9 例 DN 者和 13 例对照) 和 GSE60436 例 (6 例 DR 患者和 3 例对照) 微阵列表达数据。

**1.2.3.2 差异基因筛选** 使用 GEO2R 在线分析工具 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>) 分别提取和差异基因表达分析选择基因。DEGs 筛查阈值为  $\log_2 FC \geq 1$ ,  $P < 0.05$ 。利用 R 软件包“complex heatmap”和“ggplot2”分别对两个数据集的差异基因可视化，生成热图和火山图。此外，使用 Venn 在线平台 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 的 Venn 图描绘 DN 和 DR 之间的重叠 DEG。

**1.2.3.3 DEGs 的功能分类与富集分析** 将上述重叠的 DEG 提交给 GO 功能富集分析，包括生物过程 (biological process, BP)、细胞成分 (cellular component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF)，并使用 R 软件包“clusterProfiler”对 KEGG 信号通路进行富集分析。选择经调整  $P < 0.05$  的富集 GO 项和 KEGG 通路。

**1.2.3.4 蛋白质-蛋白质相互作用网络构建与枢纽基因鉴定** 为了进一步探索上述得到的共同基因之间的相互作用，使用相互作用基因检索工具 (STRING) (<http://string-db.org/>) 构建 PPI 网络。最小交互作用得分高于 0.4 被认为是显著的<sup>[26-27]</sup>。随后，使用 Cytoscape 软件可视化 PPI 网络。然后，使用 Cytoscape 插件 Minimal Common Oncology Data Elements (MCODE, <http://apps.cytoscape.org/apps/MCODE>) 筛选出关键的蛋白表达分子。然后，应用 cytoHubba 插件 (<http://hub.iis.sinica.edu.tw/cytohubba/>) 中的 Maximum Clique Centrality (MCC) 算法筛选 PPI 网络中具有高连通性的枢纽基因。

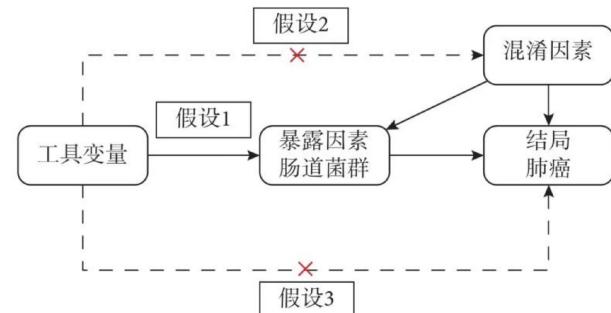


图 1 孟德尔随机化的 3 种主要假设。

**1.2.3.5 与枢纽基因相关的 miRNA 分析** NetworkAnalyst 工具 (3.0 版, <https://www.networkanalyst.ca/>) 构建枢纽基因的 miRNA-基因相互作用图谱。最后，通过 Cytoscape 软件绘制这些枢纽基因和 miRNA。

**统计学分析：**采用 R 语言，运用五种孟德尔随机化 (MR) 分析方法探究 DR 与 DN 之间的因果关系，包括逆方差加权 (inverse variance weighted, IVW)、MR Egger (mendelian randomization egger regression, MR Egger) 法、加权中位数 (weighted median, WM)、简单模式 (SimpleMode) 和加权模式 (weighted mode)。其中，IVW 作为主要分析方法，在工具变量有效且满足所有假设的前提下可提供一致无偏的估计<sup>[28]</sup>。MR Egger 和加权中位数方法用于处理潜在多效性或工具变量假设违反问题，前者基于回归框架但统计效能可能受限，后者属于非参数方法但估计精度较低<sup>[29]</sup>。为增强结果稳健性，使用随机效应 IVW 模型以考虑工具变量间的异质性，并进行了多项敏感性分析。采用 Cochran's Q 检验评估异质性，若  $P < 0.05$  则认为单核苷酸多态性 (SNPs) 之间存在显著异质性<sup>[30]</sup>；通过 MR Egger 截距项检验水平多效性，以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义；使用留一法验证以评估每个工具变量对总体估计的影响。

## 2 结果

**2.1 DN 与 DR 的 MR 敏感性分析** 图 2 显示 DN 对 DR 具有显著因果效应 (IVW:  $OR = 1.07$ , 95% CI: 1.04–1.10,  $P < 0.001$ )，MR Egger 与 WM 方法结果一致 (MR Egger:  $OR = 1.07$ , 95% CI: 1.00–1.15,  $P = 0.052$ ; WM:  $OR = 1.06$ , 95% CI: 1.02–1.10,  $P = 0.002$ )。图 3 为不同 MR 方法的森林图。Cochran's Q 检验提示无显著异质性 ( $P = 0.855$ ) 表明未见水平多效性。反向分析显示 DR 亦对 DN 存在因果效应 ( $OR = 1.48$ , 95% CI: 1.21–1.81,  $P < 0.001$ )，见图 4。散点图进一步证实二者严重程度呈正相关 (图 5)，留一法分析表明结果稳健 (图 6)。此外，GFR 和 UACR 与 DR 之间未见显著因果关系 (GFR:  $OR = 0.89$ , 95% CI: 0.46–1.73,  $P = 0.739$ ; UACR:  $OR = 1.00$ , 95% CI: 0.91–1.10,  $P = 0.995$ )。

暴露	结局	SNP 数量	方法	Cochran's Q					水平多效性		
				OR(95%CI)	P	Q	Q_df	Q_pval	Egger 截距	Sc	P
DN	NPDR	23	Inverse variance weighted	1.069 (1.035 , 1.104)	<0.001	33.66767	22	0.053079	-0.002025464	0.010936	0.854839
			MR Egger	1.075 (1.004 , 1.151)	0.052	33.61277	21	0.039849			
		22	Weighted median	1.062 (1.023 , 1.102)	0.002						
			Inverse variance weighted	3.238 (2.117 , 4.953)	<0.001	116.8178	21	2.73E-15	-0.19657	0.106739	0.080417
			MR Egger	6.369 (2.792 , 14.533)	<0.001	99.88088	20	1.32E-12			
	PDR	23	Weighted median	2.205 (1.455 , 3.340)	<0.001						
			Inverse variance weighted	1.102 (1.056 , 1.149)	<0.001	36.07345	22	0.02982	0.008218	0.014356	0.573082
		23	MR Egger	1.076 (0.984 , 1.178)	0.124	35.51914	21	0.024744			
			Weighted median	1.082 (1.027 , 1.140)	0.003						
			Inverse variance weighted	0.893 (0.460 , 1.733)	0.739	8.054526	6	0.234136	-0.00625	0.038991	0.878997
GFR	NPDR	23	MR Egger	1.202 (0.030 , 48.764)	0.926	8.013397	5	0.155499			
			Weighted median	0.932 (0.427 , 2.038)	0.861						
		7	Inverse variance weighted	0.105 (0.005 , 2.108)	0.141	2.428299	6	0.876404	0.161774	0.160955	0.360987
			MR Egger	0.000 (0.000 , 209.656)	0.259	1.418096	5	0.922324			
			Weighted median	0.158 (0.004 , 6.618)	0.333						
	PDR	7	Inverse variance weighted	0.768 (0.357 , 1.652)	0.499	6.595511	6	0.359877	0.004409	0.045174	0.926037
			MR Egger	0.623 (0.009 , 45.492)	0.837	6.582967	5	0.253548			
		7	Weighted median	0.865 (0.317 , 2.360)	0.777						
			Inverse variance weighted	1.000 (0.911 , 1.098)	0.995	12.21762	6	0.057286	0.020469	0.046693	0.679406
			MR Egger	0.883 (0.502 , 1.555)	0.685	11.76542	5	0.038147			
UACR	DR	7	Weighted median	1.005 (0.912 , 1.107)	0.923						
			Inverse variance weighted	1.087 (0.754 , 1.566)	0.656	6.83071	6	0.336787	-0.09325	0.181304	0.628933
		7	MR Egger	1.916 (0.213 , 17.228)	0.587	6.487465	5	0.261631			
			Weighted median	1.189 (0.735 , 1.922)	0.481						

图 2 DN 及相关因素与 DR 之间关系。

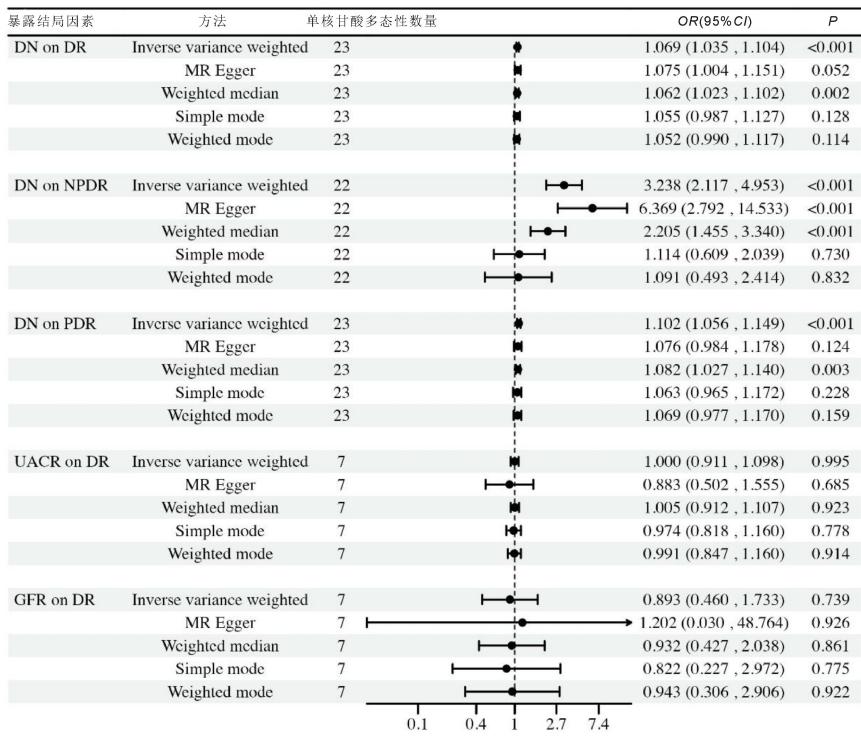


图 3 DN 及相关因素对 DR 的孟德尔随机化分析风险的影响。

**2.2 DN 和 NPDR 的孟德尔随机化敏感性分析** 在 DN 与 NPDR 的分析中同样发现显著的双向因果关系(图 2-4)。IVW 方法提示 DN 对 NPDR 存在正因果效应( $OR=3.23$ , 95% CI: 2.12–4.95,  $P<0.001$ ), MR Egger ( $OR=6.37$ , 95% CI: 2.79–14.53,  $P<0.001$ ) 及 WM ( $OR=2.20$ , 95% CI: 1.46–3.34,  $P<0.001$ ) 结果一致。Cochran's Q 检验 ( $P<0.05$ ) 提

示存在异质性,因此采用随机效应 IVW 分析,未见水平多效性(Egger 截距 = -0.1966,  $P=0.08$ )。散点图显示二者正相关(图 5),留一法验证结果稳健(图 6)。此外,GFR ( $OR=0.105$ , 95% CI: 0.005–2.11,  $P=0.141$ ) 和 UACR ( $OR=1.087$ , 95% CI: 0.75–1.57,  $P=0.66$ ) 与 NPDR 未见显著因果关系。

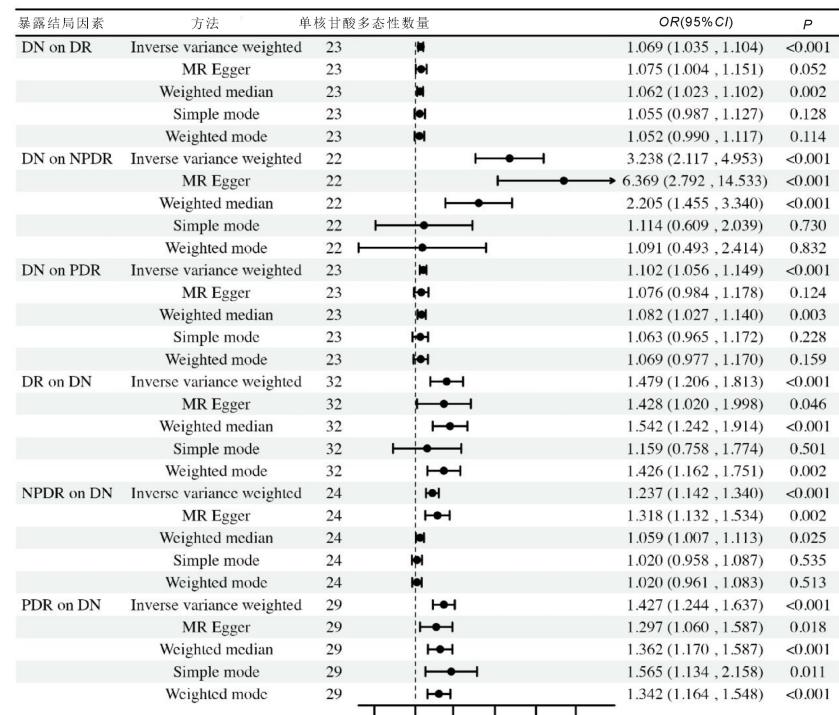


图 4 DR 与 DN 双向因果关系分析结果。

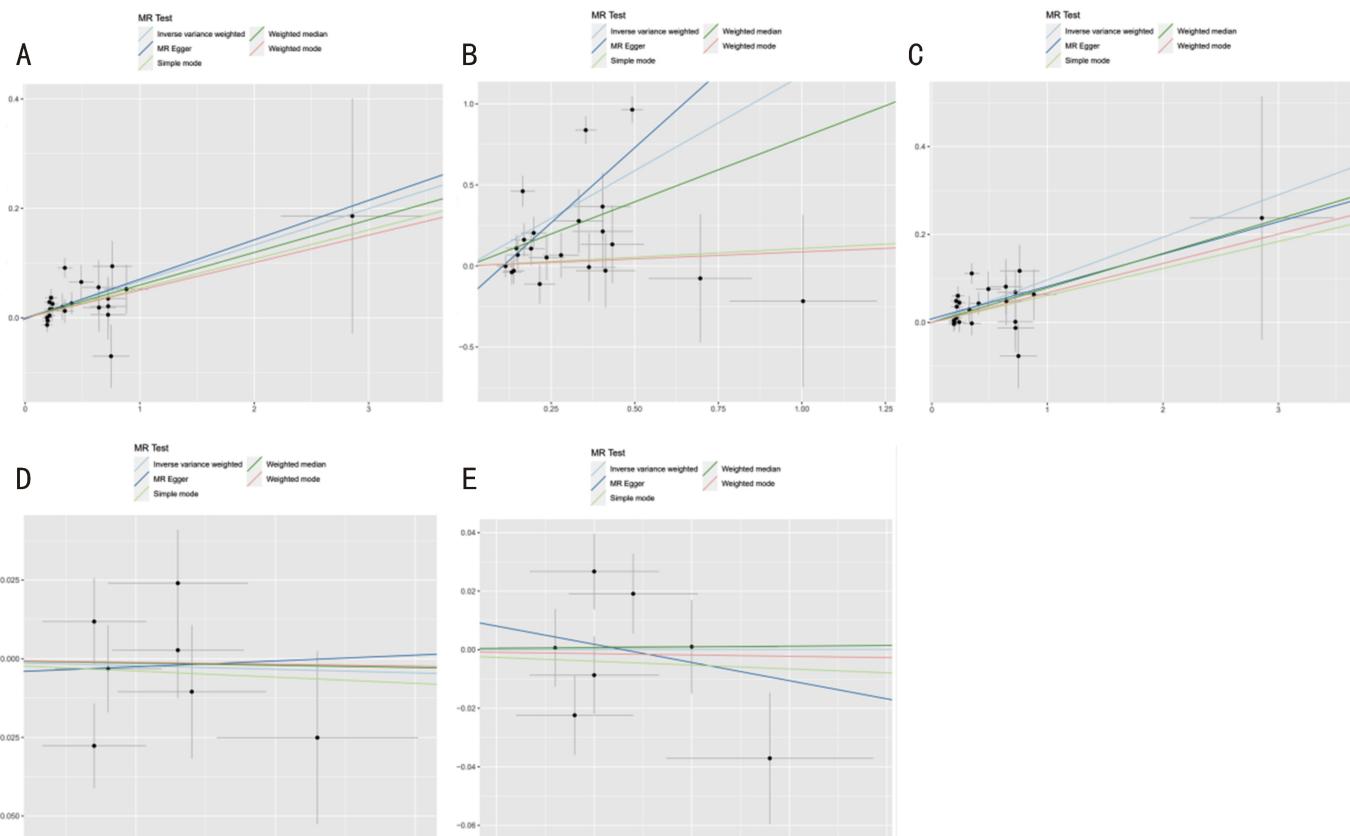


图 5 DN 相关 SNP 与 DR 各结局之间的因果关系的散点图 A:DN 与 DR 之间的因果关系,横坐标为 SNP 与 DN 的效应,纵坐标为 SNP 与 DR 的效应;B:DN 与 NPDR 之间的因果关系,坐标含义同(A);C:DN 与 PDR 之间的因果关系,坐标含义同(A);D:糖尿病患者估算肾小球滤过率(eGFR)与 DR 之间的因果关系,横纵坐标分别为 SNP 对 eGFR 和 DR 的效应值;E:糖尿病患者尿蛋白肌酐比值(UACR)与 DR 之间的因果关系,横纵坐标分别为 SNP 对 UACR 和 DR 的效应值。黑点表示每个 SNP 的效应估计值,横线为其 95% 置信区间;不同颜色的直线表示不同的 MR 估计方法(绿色:加权中位数 weighted median, 蓝色:逆方差加权 inverse variance weighted, 橙色:MR-Egger, 灰色:简单模式 simple mode, 黄色:加权模式 weighted mode)。

**2.3 DN 和 PDR 的 MR 评估和敏感性分析** 在 DN 与 PDR 的分析中(图 2-4),IVW 方法提示二者存在显著因果关系( $OR=1.10, 95\% CI: 1.06-1.15, P=7.06 \times 10^{-5}$ ),WM

结果亦一致( $OR=1.08, 95\% CI: 1.03-1.14, P=0.003$ )。Cochran's Q 检验( $P=0.0247, 0.0298$ )提示存在异质性,因而采用随机效应 IVW 分析,未见水平多效性(Egger 截

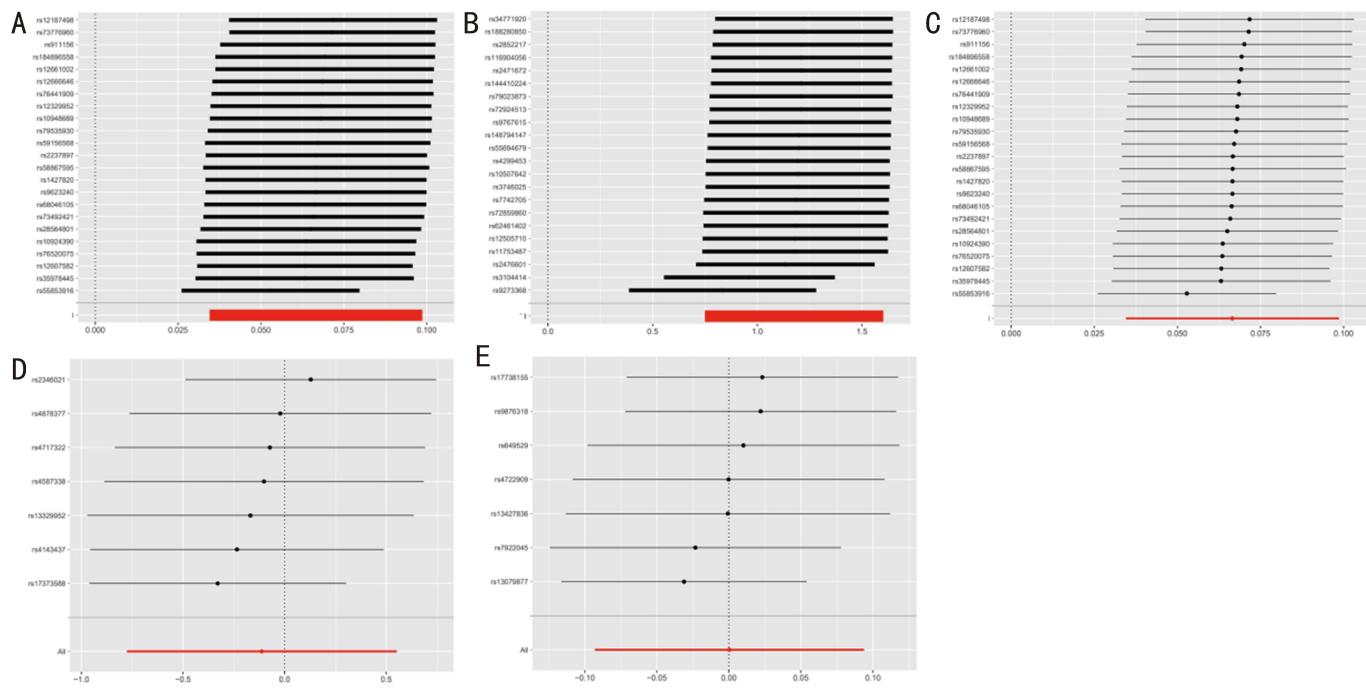


图 6 留一法敏感性分析结果 A:DN 与 DR 之间的因果关系;横坐标为因果效应估计值(*OR*),纵坐标为剔除的单个 SNP 编号。黑色横线表示 95% 置信区间,红色条表示整体效应估计;B:DN 与 NPDR 之间的因果关系,坐标含义同(A);C:DN 与 PDR 之间的因果关系,坐标含义同(A);D:糖尿病患者估算肾小球滤过率(eGFR)与 DR 之间的因果关系。横坐标为效应值变化,纵坐标为剔除的单个 SNP 编号;E:糖尿病患者尿蛋白肌酐比值(UACR)与 DR(DR)之间的因果关系,坐标含义同(D)。

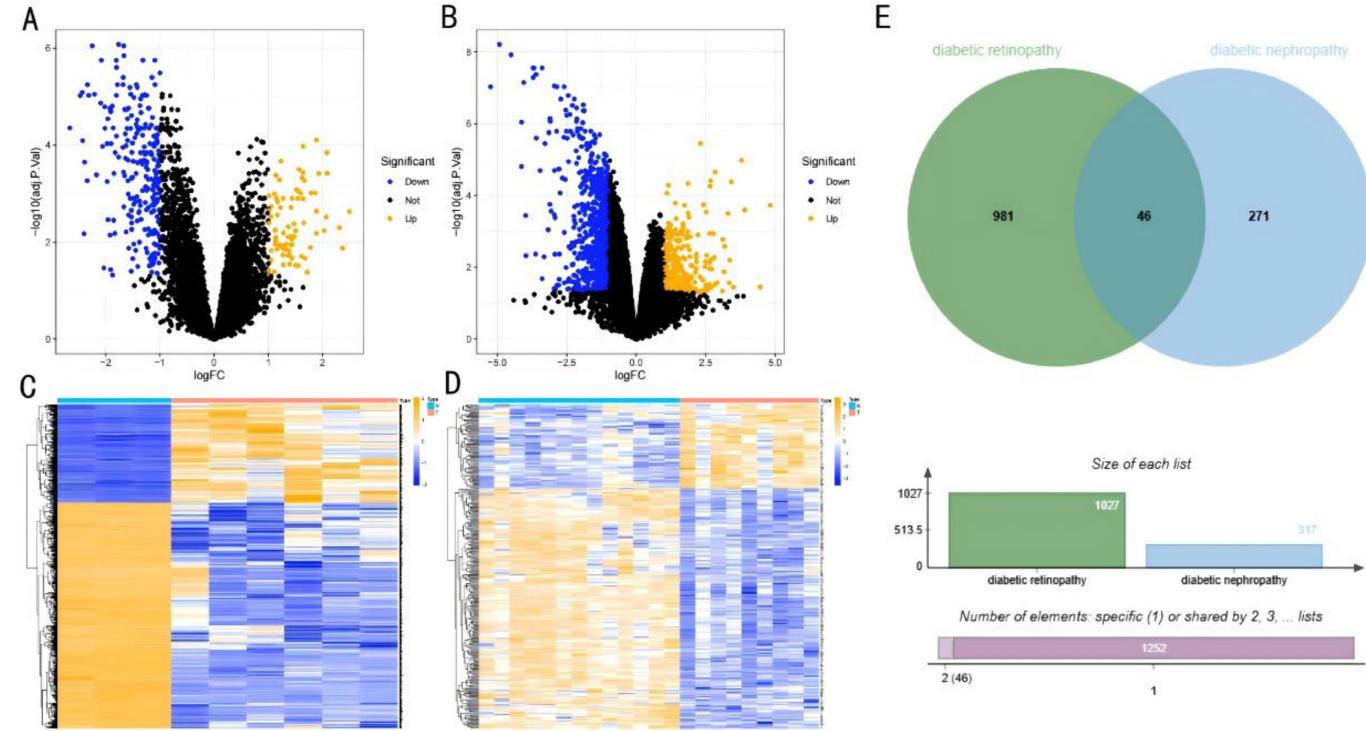


图 7 DEGs 的火山图和热图及 Venn 图 A: GSE30528 数据集的 DEGs 火山图;B: GSE60436 数据集的 DEGs 火山图;C: GSE30528 数据集的 DEGs 热图;D: GSE60436 数据集的 DEGs 热图;E: GSE30528 与 GSE60436 基因芯片 DEGs 的 Venn 图;红色代表上调 DEGs, 蓝色代表下调 DEGs, 白色表示无显著变化。

距=0.0082,  $P=0.573$ )。散点图与留一法分析进一步验证了结果的稳健性(图 5、6)。此外, GFR ( $OR=1.00, 95\% CI: 0.96-1.04, P=0.960$ ) 和 UACR ( $OR=1.12, 95\% CI: 0.77-1.62, P=0.553$ ) 与 PDR 之间未发现显著因果关系。

**2.4 DN 与 DR 中 DEGs 鉴定** 从 NCBI GEO 数据库获取 DN 的 GSE30528 和 DR 的 GSE60436 数据集, 在阈值  $P<0.05$  和  $\log_{2}FC>1.0$  下, 利用“limma”包分别鉴定出 DN 的

317 个 DEGs(82 个上调, 235 个下调) 和 DR 的 1 813 个 DEGs(838 个上调, 975 个下调)。通过火山图(图 7A、B)和热图(图 7C、D)进行可视化分析, 并绘制 Venn 图鉴定出两者共有的 46 个差异基因(图 7E)。

**2.5 GO 和 KEGG 富集分析** 利用 clusterProfiler 对 DN 和 DR 的 DEGs 进行 GO 与 KEGG 富集分析(图 8)。通过设定筛选阈值为调整后的  $P<0.05$ , 结果显示, 这些

基因主要参与跨膜受体蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶信号、转化生长因子 $\beta$ 反应、PDGF受体信号调控及细胞外基质重塑等生物过程，在细胞成分上与胶原三聚体、含胶原ECM、基底膜及分泌颗粒膜相关，在分子功能上涉及硫化合物结合、糖胺聚糖结合、ECM结构组成及细胞因子受体活性（图8A）。KEGG分析进一步揭示PI3K-Akt信号通路和ECM-受体相互作用等关键通路（图8B、C）。

## 2.6 PPI 网络构建和枢纽基因鉴定 基于 STRING 数据库

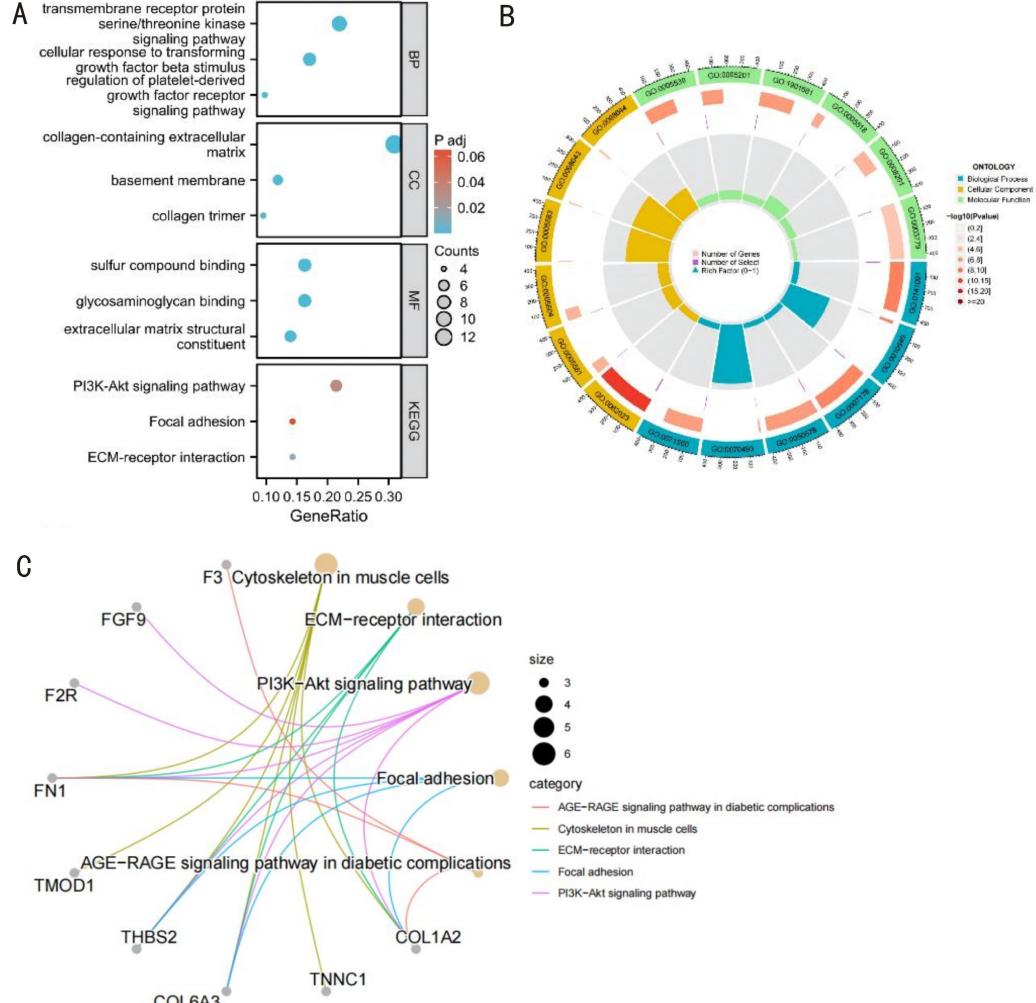


图8 DEGs的GO及KEGG富集分析结果的可视化展示 A:柱状图;B:环形图;C:网络图;气泡大小代表与每个功能项/通路相关的基因数量;气泡颜色代表校正后的P值;颜色越红,表示富集程度越高。

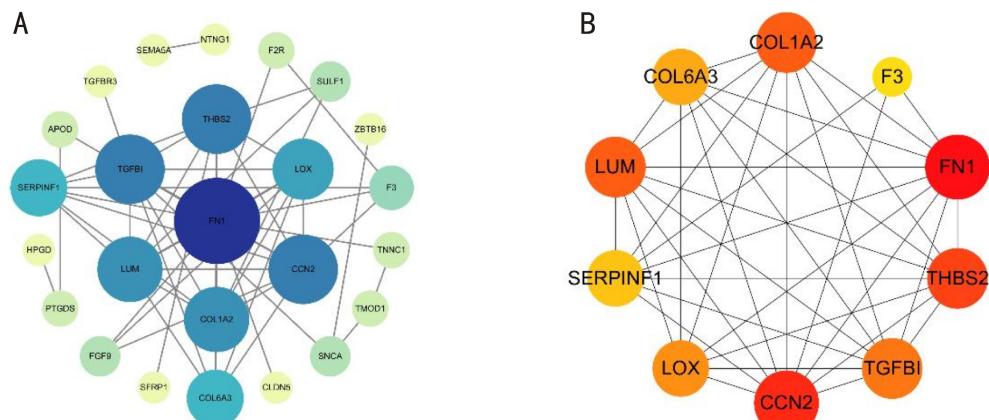


图 9 蛋白质相互作用网络 A, 经 cytoHubba 和 MCODE 分析重叠差异表达基因的 PPI 网络; B, 前 10 位枢纽基因的 PPI 网络展示

构建 DEGs 的 PPI 网络，并利用 Cytoscape 进行可视化（图 9A）。通过 cytoHubba 插件的 MCC 算法筛选出前 10 个枢纽基因：FN1、CCN2、COL1A2、THBS2、LOX、LUM、SERPINF1、TGFB1、F3 和 COL6A3（图 9B）。这些基因主要参与细胞外基质重塑、细胞黏附及信号转导等过程，其中 FN1 为关键基因，具有最多相互作用，提示其在糖尿病相关器官损伤中发挥关键作用；COL1A2 与 CCN2 也显示出较强的相互作用，进一步强调其在细胞外基质调控和纤维化中的重要性。

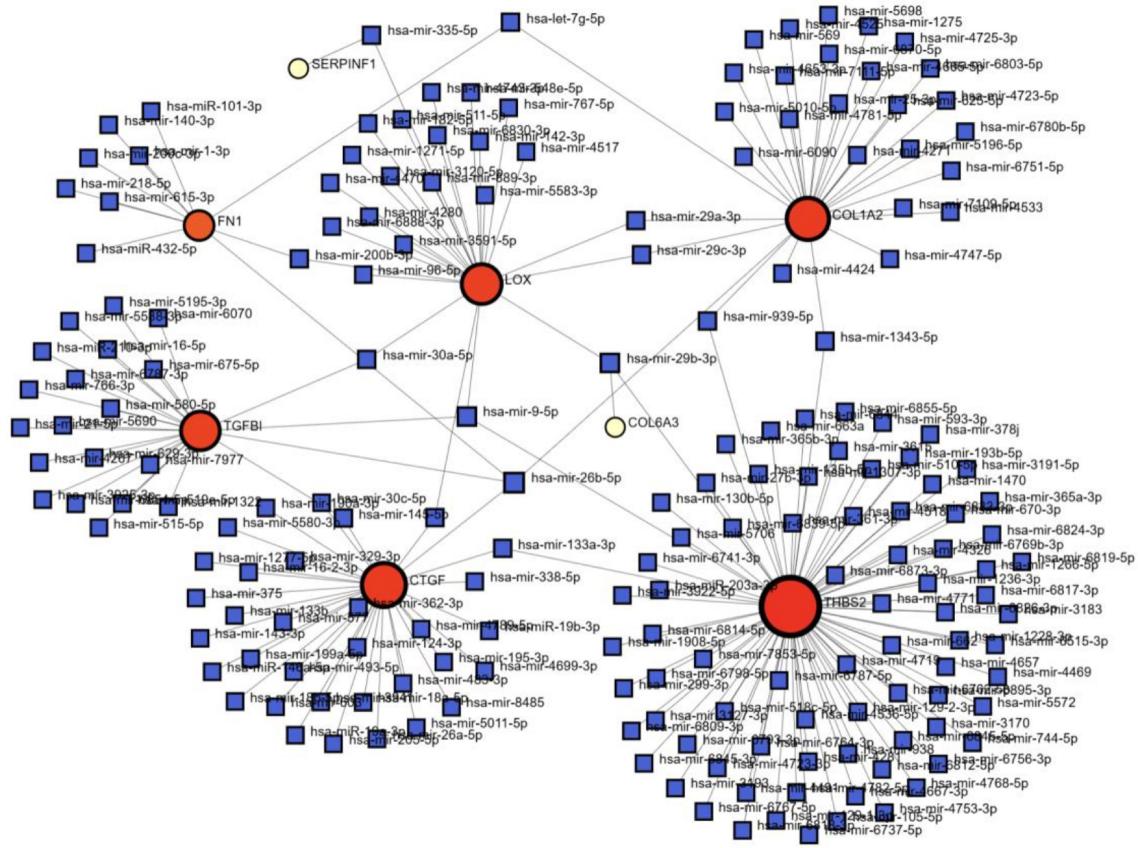


图 10 六个枢纽基因的 miRNA–基因互作网络整合图 红色圆形代表 6 个枢纽基因,蓝色方形代表与枢纽基因存在互作关系的 miRNA。

**2.7 靶点 miRNAs 预测和整合 miRNAs–Targets 网络构建**  
利用 NetworkAnalyst 构建了 miRNA–关键基因互作网络(197 个节点,207 条边)(图 10),揭示了复杂的调控关系。FN1、COL1A2、LOX 和 TGFBI 等核心基因与多个 miRNA 显著互作,其中 FN1 主要与 miR-145-5p、miR-432-5p 相关,COL1A2 与 miR-29b-3p、miR-4424 相关,LOX 与 miR-30a-5p,TGFBI 与 miR-338-3p 相关。这些 miRNA 可能通过调控核心基因在糖尿病相关的纤维化及细胞外基质重塑中发挥重要作用。

### 3 讨论

本研究基于 MR 分析和生物信息学方法,系统探讨了 DN 与 DR 之间的因果关系及其潜在分子机制。研究结果表明,DN 不仅与 DR 的总体风险显著相关,在 NPDR 和 PDR 亚型中也均存在稳健的因果关联。当 DN 与视网膜病变并存时,患者的视网膜病变风险及疾病进展显著增加。这一发现为 DN 患者发生 DR 的早期诊断提供了遗传学依据,并进一步加深了我们对糖尿病微血管并发症的理解。有学者对中国 2 型糖尿病患者的微血管并发症研究显示,DN 显著增加了 DR 的发展风险( $OR = 21.664, 95\% CI: 5.588-83.991, P < 0.001$ ),且 DN 的严重程度与 DR 的进展呈正相关<sup>[31]</sup>。Wang 等<sup>[11]</sup>研究进一步证实,DN 患者中 DR 的患病率为 86.4%,且 DR 的严重程度更高,DN 与更严重 DR 互为独立危险因素。此外,Sacchetta 等<sup>[32]</sup>研究也指出,慢性肾脏病合并 DR 的 2 型糖尿病患者更易发生其他微血管并发症,肾功能下降较快时死亡风险亦显著升高。这些研究与本研究结论一致。然而,也有一些研究对 DN 与 DR 之间的关联持不同看法。Li 等<sup>[33]</sup>通过一项

Meta 分析中指出,DN 与 DR 的联系仅限于二者都为糖尿病的微血管并发症,其相关性不足以证明因果关系,且糖尿病的微血管并发症表现具有多样性,仅凭这一点进行关联分析容易得出错误的结论。我们认为造成这种差异的原因可能是这些研究大多基于临床数据,而临床数据可能受到患者血糖控制不佳等因素的干扰。因此,这些研究的结论可能存在混杂因素或偏见。而本研究采用了 MR 方法,能够有效控制这些潜在的混杂因素,为 DN 与 DR 之间的因果关系提供了更为可靠的证据。

为进一步探讨 DN 与 DR 之间的共同分子机制,我们进行了差异基因表达分析,并识别出 46 个共同的 DEGs。GO 富集分析结果表明,这些共同 DEGs 显著富集于跨膜受体蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶信号通路、细胞外基质重塑、转化生长因子  $\beta$  刺激反应等生物过程中。这一结果表明,DN 和 DR 可能通过相似的生物途径导致组织修复和纤维化异常,特别是细胞外基质的重塑。KEGG 通路富集分析进一步揭示,PI3K-Akt 信号通路和 ECM-受体相互作用通路在糖尿病并发症中发挥关键作用。这些信号通路不仅涉及细胞增殖、凋亡和代谢调控,还与慢性炎症和纤维化过程密切相关。有研究表明,糖尿病相关的纤维化是由细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的异常沉积引起的,导致组织功能的损伤<sup>[33]</sup>。在 DN 中,肾间质纤维化是其晚期的关键代谢变化,涉及多种信号通路,如转化生长因子  $\beta$ 、MAPK 和 PI3K/Akt 等,这些通路的交互作用揭示了肾小管间质纤维化的复杂机制<sup>[34]</sup>。ECM-受体相互作用通路在细胞与 ECM 的相互作用中影响细胞的形态、迁移和生存,从而在糖尿病的慢性并发症中发挥重要作用。

用。研究显示,慢性高血糖状态下,炎症反应的持续激活会导致细胞因子和趋化因子的释放,进一步激活 PI3K/Akt 信号通路,促进炎症细胞的浸润和 ECM 的重塑<sup>[35]</sup>。ECM-受体相互作用通路的激活也促进了成纤维细胞的增殖和胶原蛋白的合成,导致肾脏和视网膜组织的纤维化<sup>[36-37]</sup>。因此,ECM 的异常重塑和纤维化是 DN 和 DR 的共同病理机制。这与我们 GO 和 KEGG 富集结果一致,进一步证明了 ECM 的异常重塑是糖尿病并发症的重要特征。

本研究通过 MR 方法从遗传学角度探讨了 DN 与 DR 之间的因果关系。有效降低了观察性研究中可能存在的偏倚和混杂因素,提供了更加有力的证据,明确了二者之间的因果关联。蛋白质互作网络分析进一步鉴定了 10 个关键枢纽基因,包括 FN1、COL1A2、TGFBI、LOX 和 THBS2。其中 FN1 作为 ECM 的重要组成成分,在组织修复和纤维化过程中扮演着关键角色。Ji 等<sup>[39]</sup> 和 Liao 等<sup>[40]</sup> 研究同样指出 FN1 可通过与多种细胞表面受体(如整合素)相互作用,参与调节细胞行为和 ECM 的动态变化,且 FN1 还能激活 PI3K/Akt 信号通路。此外,最新研究显示,FN1 在慢性疾病中可通过与整合素、合成蛋白、胶原蛋白和生长因子结合的复杂生理过程中发挥关键作用,尤其在细胞增殖、修复、血管生成中<sup>[41]</sup>。进一步的 miRNA-靶基因网络分析发现,FN1、COL1A2 等基因与多种 miRNAs(如 miR-145-5p、miR-432-5p 等)存在显著的相互作用,这些 miRNAs 可能通过调控枢纽基因影响糖尿病并发症中的纤维化和组织损伤过程。已有研究表明,miR-145-5p 能够通过调控 Smad2/Smad3 的表达,减轻肥厚性瘢痕的形成,这为理解其在 DR 中的机制提供了新的视角<sup>[42]</sup>。因此,针对这些基因及其相关信号通路的调控,可能为糖尿病并发症的治疗提供了新的理论依据。特别是对关键基因和信号通路的识别,揭示了糖尿病微血管并发症的共同机制,具有重要的临床应用价值。

本研究通过 MR 和生物信息学分析揭示了 DN 与 DR 之间的显著相关性,并从遗传和分子层面提供了新的证据,提示两者作为糖尿病微血管并发症可能具有同步性,为综合管理提供了新的思路。研究系统阐明了 ECM 重塑和纤维化在两者病程中的关键作用,并识别出 10 个枢纽基因及其与 miRNA 的复杂相互作用,为进一步探索分子机制和潜在靶向治疗提供了方向。然而,本研究仍存在局限性:MR 分析依赖于公开数据库和已知遗传变异,可能受多效性或混杂因素影响;miRNA-靶基因网络预测亦需实验验证;GWAS 数据仅涵盖欧洲人群,结果可能存在种族偏倚;此外,GEO 数据集样本量有限,即使经过严格多重检验校正,仍可能导致假阳性或假阴性。因此,未来研究需在更大规模和多种族人群中结合功能实验证和扩展这些发现,并进一步探索其临床应用潜力,从而为糖尿病并发症的个体化防治提供更加全面的策略。

**利益冲突声明:**本文不存在利益冲突。

**作者贡献声明:**丁国鑫、王静选题、数据分析与修改,初稿撰写;张舟、肖鑫文献检索,数据分析;李英琦、王鲜选题指导,论文修改及审阅。所有作者阅读并同意最终的文本。

**参考文献**

[1] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global,

regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183: 109119.

[2] Tuttle KR, Bakris GL, Bilous RW, et al. Diabetic kidney disease:a report from an ADA Consensus Conference. *Diabetes Care*, 2014, 37(10): 2864-2883.

[3] Tang S, An X, Sun W, et al. Parallelism and non-parallelism in diabetic nephropathy and diabetic retinopathy. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2024, 15: 1336123.

[4] Faselis C, Katsimardou A, Imprialos K, et al. Microvascular complications of type 2 diabetes mellitus. *Curr Vasc Pharmacol*, 2020, 18(2): 117-124.

[5] Vujosevic S, Aldington SJ, Silva P, et al. Screening for diabetic retinopathy: new perspectives and challenges. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2020, 8(4): 337-347.

[6] Efiong EE, Bazireh H, Fuchs M, et al. Crosstalk of hyperglycaemia and cellular mechanisms in the pathogenesis of diabetic kidney disease. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(20): 10882.

[7] Ratan Y, Rajput A, Pareek A, et al. Comprehending the role of metabolic and hemodynamic factors alongside different signaling pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(7): 3330.

[8] Li L, Ji LN, Guo XH, et al. Prevalence of microvascular diseases among tertiary care Chinese with early versus late onset of type 2 diabetes. *J Diabetes Complications*, 2015, 29(1): 32-37.

[9] Zhu YZ, Dou ZZ, Wang WY, et al. Intravitreal injection of conbercept for diabetic macular edema complicated with diabetic nephropathy. *Int J Ophthalmol*, 2024, 17(2): 304-310.

[10] 刘竹涛, 韩贝贝, 于雯, 等. UWF-SS-OCTA 在伴糖尿病肾病的糖尿病视网膜病变中的应用. 国际眼科杂志, 2025, 25(5): 819-825.

[11] Wang Q, Cheng HM, Jiang SS, et al. The relationship between diabetic retinopathy and diabetic nephropathy in type 2 diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2024, 15: 1292412.

[12] Duan JY, Liu DW, Zhao ZH, et al. Short-term duration of diabetic retinopathy as a predictor for development of diabetic kidney disease. *J Transl Int Med*, 2023, 11(4): 449-458.

[13] Khalid M, Petroianu G, Adem A. Advanced glycation end products and diabetes mellitus: mechanisms and perspectives. *Biomolecules*, 2022, 12(4): 542.

[14] Adeshara KA, Bangar N, Diwan AG, et al. Plasma glycation adducts and various RAGE isoforms are intricately associated with oxidative stress and inflammatory markers in type 2 diabetes patients with vascular complications. *Diabetes Metab Syndr*, 2022, 16(3): 102441.

[15] Amadio M, Osera C, Lupo G, et al. Protein kinase C activation affects, via the mRNA-binding Hu-antigen R/ELAV protein, vascular endothelial growth factor expression in a pericytic/endothelial coculture model. *Mol Vis*, 2012, 18: 2153-2164.

[16] Tang X, Wang J, Abboud HE, et al. Sustained upregulation of endothelial Nox4 mediates retinal vascular pathology in type 1 diabetes. *Diabetes*, 2023, 72(1): 112-125.

[17] Thallas-Bonke V, Jha JC, Gray SP, et al. Nox-4 deletion reduces oxidative stress and injury by PKC- $\alpha$ -associated mechanisms in diabetic nephropathy. *Physiol Rep*, 2014, 2(11): e12192.

[18] Ahmad A, Nawaz MI, Siddiquei MM, et al. Apocynin ameliorates NADPH oxidase 4 (NOX4) induced oxidative damage in the hypoxic human retinal Müller cells and diabetic rat retina. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(5): 2099-2109.

[19] Wang GJ, Guo Y. Correlation of circulating complement levels with clinical characteristics of patients with diabetic retinopathy. *Int J Gen Med*, 2024, 17: 5581-5591.

[20] Wang XY, Bai J, Liu CZ, et al. The correlation between

inflammatory factors and renal function impairment in patients with proliferative diabetic retinopathy undergoing vitrectomy. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2025, 105(12):894–899.

[21] 王绪瑞, 孙洪岩, 刘丹, 等. 补体蛋白调控靶点在糖尿病视网膜病变中的作用及临床研究进展. *国际眼科杂志*, 2024, 24(3): 397–402.

[22] Larsson SC, Butterworth AS, Burgess S. Mendelian randomization for cardiovascular diseases: principles and applications. *Eur Heart J*, 2023, 44(47):4913–4924.

[23] Davey Smith G, Hemani G. Mendelian randomization: genetic anchors for causal inference in epidemiological studies. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(r1):R89–R98.

[24] Uffelmann E, Huang Q Q, Munung N S, et al. Genome-wide association studies. *Nature Reviews Methods Primers*, 2021, 1(1): 59.

[25] Nguyen K, Mitchell BD. A guide to understanding mendelian randomization studies. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2024, 76(11): 1451–1460.

[26] Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, et al. STRING v10: protein–protein interaction networks, integrated over the tree of life. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43:D447–D452.

[27] Szklarczyk D, Kirsch R, Koutrouli M, et al. The STRING database in 2023: protein–protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(D1):D638–D646.

[28] Bowden J, Del Greco M F, Minelli C, et al. A framework for the investigation of pleiotropy in two – sample summary data Mendelian randomization. *Stat Med*, 2017, 36(11):1783–1802.

[29] Lin Z, Pan I, Pan W. A practical problem with Egger regression in Mendelian randomization. *PLoS Genet*, 2022, 18(5):e1010166.

[30] Kulinskaya E, Dollinger MB, Bjørkestøl K. On the moments of Cochran's Q statistic under the null hypothesis, with application to the meta-analysis of risk difference. *Res Synth Methods*, 2011, 2(4): 254–270.

[31] Huang SY, Hu QW, Zhang ZW, et al. Risk evaluation for diabetic retinopathy in Chinese renal–biopsied type 2 diabetes mellitus patients.

*Int J Ophthalmol*, 2024, 17(7):1283–1291.

[32] Sacchetta L, Chiriacò M, Nesti L, et al. Synergistic effect of chronic kidney disease, neuropathy, and retinopathy on all – cause mortality in type 1 and type 2 diabetes; a 21–year longitudinal study. *Cardiovasc Diabetol*, 2022, 21(1):233.

[33] Li JQ, Cao YH, Liu WM, et al. Correlations among diabetic microvascular complications: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*, 2019, 9:3137.

[34] Tuleta I, Frangogiannis NG. Diabetic fibrosis. *Biochim Biophys Acta BBA Mol Basis Dis*, 2021, 1867(4):166044.

[35] Zhang Y, Jin, Kang X, et al. Signaling pathways involved in diabetic renal fibrosis. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:696542.

[36] Lee D, Seo Y, Kim YW, et al. Far-infrared radiation stimulates platelet–derived growth factor mediated skeletal muscle cell migration through extracellular matrix – integrin signaling. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2019, 23(2):141–150.

[37] Son SS, Jeong HS, Lee SW, et al. EPRS1–mediated fibroblast activation and mitochondrial dysfunction promote kidney fibrosis. *Exp Mol Med*, 2024, 56(12):2673–2689.

[38] Resnikoff HA, Miller CG, Schwarzbauer JE. Implications of fibrotic extracellular matrix in diabetic retinopathy. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2022, 247(13):1093–1102.

[39] Ji J, Chen L, Zhuang Y, et al. Fibronectin 1 inhibits the apoptosis of human trophoblasts by activating the PI3K/Akt signaling pathway. *Int J Mol Med*, 2020, 46(5):1908–1922.

[40] Liao YX, Zhang ZP, Zhao J, et al. Effects of fibronectin 1 on cell proliferation, senescence and apoptosis of human glioma cells through the PI3K/AKT signaling pathway. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(3): 1382–1396.

[41] Wang GY, Zhang YJ, Li H, et al. Enhanced wound healing function of fibronectin variants via fusing with platelet factor 4. *Int J Biol Macromol*, 2025, 312:144197.

[42] Shen WC, Wang YQ, Wang DW, et al. miR–145–5p attenuates hypertrophic scar via reducing Smad2/Smad3 expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 521(4):1042–1048.