

การสุ่มเมนดีเลียน: จากกระบวนการสุ่มโดยธรรมชาติ สู่รูปแบบงานวิจัยที่ทันสมัย

ณัฐ นาเอก ก.บ. (บริบาลเภสัชกรรม), MSc, PhD (Clinical Epidemiology)*

บทคัดย่อ

การสุ่มเมนดีเลียน (Mendelian Randomisation, MR) เป็นการประยุกต์ใช้กฎข้อที่สองของเมนเดล ซึ่งกล่าวว่า การถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมหนึ่ง ๆ จากพ่อแม่ไปสู่ลูก เป็นไปแบบสุ่ม ไม่ขึ้นกับลักษณะทางพันธุกรรมอื่น ๆ ส่งผลให้มีการนำกฎดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาวิจัยเพื่อลดผลที่เกิดจากตัวแปรกวน (confounder) และสาเหตุย้อนทิศ (reverse causation) อันเป็นข้อจำกัดที่สำคัญของการศึกษาเชิงสังเกต (observational study) โดยใน MR จะศึกษาลักษณะพันธุกรรมในระดับ SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) กล่าวคือ จะใช้ SNPs เป็นตัวแทนของ exposure เพื่อทดสอบหาความสัมพันธ์กับผลลัพธ์ (outcome) ที่สนใจ ซึ่งผลจากความก้าวหน้าของวิทยาการทางการแพทย์ในปัจจุบัน ส่งผลให้มีการพัฒนาเครื่องตรวจ SNPs (SNPs-chip) ที่มีราคาถูกลงและมีประสิทธิภาพสูง ทำให้มีการบ่งชี้ SNPs ที่สัมพันธ์กับลักษณะแสดงออก (traits) มากมาย ส่งผลให้การศึกษาในรูปแบบ MR ได้รับความนิยมมากขึ้นในช่วงสิบปีที่ผ่านมา

บทความนี้จะกล่าวถึงที่มาและความสำคัญของ MR หลักการของการศึกษาในรูปแบบ MR เปรียบเทียบกับการสุ่มที่มีการควบคุม (Randomised Controlled Trials, RCTs) รวมถึงสมมติฐานที่สำคัญ นอกจากนี้ยังสรุปวิธีการวิเคราะห์ MR ในปัจจุบันและข้อจำกัดที่สำคัญของงานวิจัยรูปแบบดังกล่าว ทั้งนี้เพื่อให้บุคลากรทางการแพทย์สามารถอ่านบทความวิจัยในรูปแบบ MR ได้อย่างมั่นใจและมีความเข้าใจในเบื้องต้นมากขึ้น

คำสำคัญ : การสุ่มเมนดีเลียน การศึกษาเชิงสังเกต การสุ่มที่มีการควบคุม ตัวแปรกวน สาเหตุย้อนทิศ

*สาขาวิชาบริบาลเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ : ณัฐ นาเอก E-mail : nat.na@up.ac.th

วันที่รับเรื่อง : 26 พฤษภาคม 2563 วันที่ส่งแก้ไข : 30 มิถุนายน 2563 วันที่ตีพิมพ์ : 12 พฤศจิกายน 2563

MENDELIAN RANDOMISATION (MR) : FROM A NATURALLY RANDOMISED PROCESS TO A TRENDY RESEARCH DESIGN

Nat Na-Ek, PharmD (Pharm Care), MSc, PhD (Clinical Epidemiology)*

ABSTRACT

Mendelian Randomisation (MR) is an application of Mendel's second law in which genotype of one trait from parents is passed on to their offspring randomly and independent on other traits (i.e., the law of independent assortment). This principle, ideally, makes MR less prone to confounder and reverse causality, compared with a traditional observational design. In MR, single nucleotide polymorphisms (SNPs) are used as a proxy of exposure, and then their association with an outcome of interest is examined. Due to the advancement of human genomic area, SNPs-chip used for the detection of SNPs becomes relatively cheap and more efficiency and this lead to the increase in the popularity of MR study design over the last decade.

In this article, the background and the key principle of MR in comparison with randomised controlled trials (RCTs) is described. Moreover, the current methodology used in MR along with the main caveats of MR design is illustrated. The aim of this article is to help health care professionals gain more confidence and basic understanding when they come across the articles about MR.

KEYWORDS

Mendelian randomisation, Observational study, Randomised controlled trials, Confounder, Reverse causation

*Division of Pharmaceutical Care, School of Pharmaceutical Sciences, University of Phayao

Corresponding Author : Nat Na-Ek E-mail : nat.na@up.ac.th

Accepted date : 26 May 2020 Revise date : 30 June 2020 Publish date : 12 November 2020

บทนำ

การศึกษาว่า ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ (biomarkers) ไตเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อการป้องกันและรักษาโรคนั้น โดยทั่วไปจะใช้การศึกษาเชิงสังเกตเพื่อทดสอบความสัมพันธ์ระหว่าง ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพกับโรคก่อนในเบื้องต้น ซึ่งหากพบว่ามีความสัมพันธ์ที่ชัดเจนและให้ผลที่คล้ายคลึงกันในทุกการศึกษา ก็จะนำไปสู่การพัฒนาและการทดลองทางคลินิกต่อไป อย่างไรก็ตาม ผลของการศึกษาเชิงสังเกตอาจเป็นผลมาจากตัวแปรกวนและสาเหตุย้อนทิศ (reverse causality confounder) ส่งผลให้ผลลัพธ์ที่ได้ขาดความตรง (validity) และหลายครั้งก็นำไปสู่ความล้มเหลวในการทดลองทางคลินิก ก่อให้เกิดความสูญเสียทั้งเวลาและเม็ดเงินที่บริษัทยาลงทุนไปอย่างมหาศาล และเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ยาใหม่มีราคาแพง เนื่องจากการชดเชยความสูญเสียที่เกิดกับบริษัทยาจากการศึกษาทางคลินิกที่ล้มเหลวไปในก่อนหน้านี้ ขอยกตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของการศึกษาเชิงสังเกตที่เป็นผลมาจากตัวแปรกวนและสาเหตุย้อนทิศ ดังนี้

กรณีศึกษา HDL-C กับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (Coronary heart disease, CHD)

ในอดีตที่ผ่านมาผลการศึกษาเชิงสังเกตต่างให้ข้อมูลที่สอดคล้องไปในทิศทางเดียวกันว่าระดับ High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) ที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจที่ลดลง¹⁻² แต่ผลจากงานวิจัยในรูปแบบ RCTs ของยาที่เพิ่มระดับ HDL-C ในเลือด เช่น ยาในกลุ่ม Niacin และ Cholesteryl ester transfer protein (CETP) inhibitors กลับชี้ให้เห็นว่าการเพิ่มระดับ HDL-C ในเลือดไม่ได้มีผลลดความเสี่ยงต่อการเกิด CHD แต่อย่างใด เช่น การศึกษา

AIM-HIGH (extended-release niacin),³ HPS2-THRIVE (extended-release niacin + laropiprant),⁴ dal-OUTCOME (dalcitrapib)⁵ และ ACCELERATE (evacetrapib)⁶ สำหรับการศึกษา REVEAL ที่แม้จะแสดงให้เห็นว่ายา anacetrapib สามารถลดเหตุการณ์สำคัญต่อหลอดเลือดหัวใจ (major coronary events) ได้ดีกว่ายาหลอก⁷ แต่มีผู้ตั้งข้อสังเกตว่าผลดังกล่าวน่าจะเป็นผลจากการที่ยาลดระดับ Apolipoprotein-B (ApoB) มากกว่าผลต่อ HDL-C ดังนั้นหลักฐานจาก RCTs แสดงให้เห็นว่า ผลจากการศึกษาเชิงสังเกตอาจชี้ไปในทางที่ผิดได้

ผลจากการศึกษาในรูปแบบสุ่มเมนตีเลียน ซึ่งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีนส์ที่ควบคุมการสังเคราะห์ HDL-C (แทนการใช้ระดับ HDL-C ในเลือดโดยตรง) กับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจชี้ให้เห็นว่า HDL-C ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ⁸⁻¹⁰ จึงมีความสอดคล้องกับผลของ RCTs ส่งผลให้การศึกษาในรูปแบบสุ่มเมนตีเลียนได้รับความสนใจมากขึ้น

การสุ่มเมนตีเลียนคืออะไร

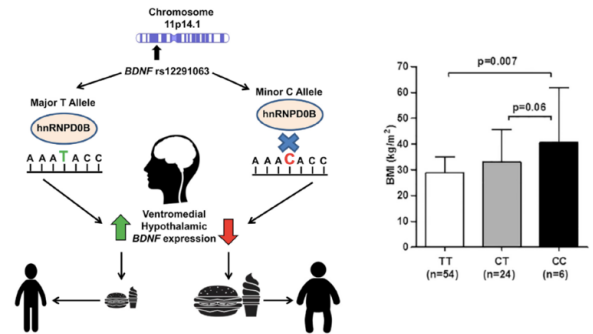
Mendelian Randomisation (MR) เป็นการใช้อลักษณะทางพันธุกรรมหรือจีโนไทป์ (genotype) เพื่อเป็นเครื่องมือหาความสัมพันธ์เชิงสาเหตุ (causal relationship) ระหว่างการสัมผัสปัจจัย (exposure) และผลลัพธ์ที่สนใจ ดังที่ได้กล่าวไปข้างต้นว่า การศึกษาเชิงสังเกตมีข้อจำกัดในเรื่องตัวแปรกวนและสาเหตุย้อนทิศที่ไม่สามารถทำให้หมดไปได้ ในขณะที่การศึกษารูปแบบสุ่มที่มีการควบคุมก็มีค่าใช้จ่ายสูงมากและอาจใช้ระยะเวลาศึกษายาวนาน รวมทั้งการสัมผัสปัจจัยบางชนิดก็ไม่สามารถทดลองทางคลินิกได้ เนื่องจากข้อจำกัดด้านจริยธรรม เช่น

การตีเมสุรา การสุมบุหรี การเพิ่มระดับไขมันในเลือด การเพิ่มความดันโลหิต เป็นต้น ดังนั้นการใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมของมนุษย์จึงเป็นทางเลือกทดแทนที่น่าสนใจ

หน่วยทางพันธุกรรมที่ถูกลำมาศึกษาในงานวิจัยรูปแบบสุมเมนต์ิเลียน เรียกว่า Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs อ่านว่า ‘สนิปส์’) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสบนนิวคลีโอไทด์หนึ่งหน่วย ณ ตำแหน่งเฉพาะบนโครโมโซม โดยตามนิยามแล้ว SNPs จะต้องเป็นปรากฏการณ์ที่พบได้บ่อยอย่างน้อยร้อยละ 1 ของประชากรทั้งหมดในกลุ่มเดียวกัน หมายความว่า ในประชากรกลุ่มเดียวกัน 100 คน จะต้องมียังน้อย 1 คนที่มีลำดับเบสหนึ่งตำแหน่งบนสายนิวคลีโอไทด์ ณ ตำแหน่งจำเพาะนั้น ๆ แตกต่างไปจากคนอื่น¹¹

ตัวอย่างของ SNPs (รูปที่ 1) โครโมโซมคู่ที่ 11 ณ ตำแหน่ง 11p14.1 จะมียีนที่ควบคุมการสังเคราะห์โปรตีน Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) (rs12291063 เป็นตำแหน่งเฉพาะของ SNPs บนยีนดังกล่าว โดยอักษร rs ย่อมาจาก reference strand) ซึ่งพบว่าในคนทั่วไปแอลลีล (allele) ณ ตำแหน่งดังกล่าวจะมีลำดับเบสเป็น thymine (T) แต่ในบางคนจะพบว่ามียีนลำดับเบสเป็น cytosine (C) ซึ่งมีการศึกษาพบว่าการมี C-allele นี้ จะส่งผลกระทบต่อไม่ให้ transcription regulator hnRNPDOB ไปจับกับสายดีเอ็นเอบนตำแหน่งของยีนดังกล่าวจึงเกิดการยับยั้งการสังเคราะห์ BDNF ในสมองส่วน hypothalamic ซึ่งการลดลงของระดับ BDNF นี้พบว่ามีความสัมพันธ์กับโรคอ้วน โดยความแตกต่างของลำดับเบสหนึ่งตำแหน่งในลักษณะดังกล่าวพบได้มากกว่าร้อยละ 1 ของประชากรทั้งหมด จึงเรียกว่า SNPs ซึ่งเมื่อนำผู้ที่มีแอลลีล homozygous TT, heterozygous TC และ

homozygous CC ณ SNPs ดังกล่าวมาหาความสัมพันธ์กับดัชนีมวลกาย (body mass index, BMI) จะพบว่าดัชนีมวลกายมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามจำนวน C-allele ที่เพิ่มขึ้น¹²



รูปที่ 1 SNPs rs12291063 และความสัมพันธ์กับดัชนีมวลกาย (ดัดแปลงโดยได้รับอนุญาตจาก Mou Z et al. Cell Reports 2015; 13(6):1073¹²)

หลักการของการสุมเมนต์ิเลียน

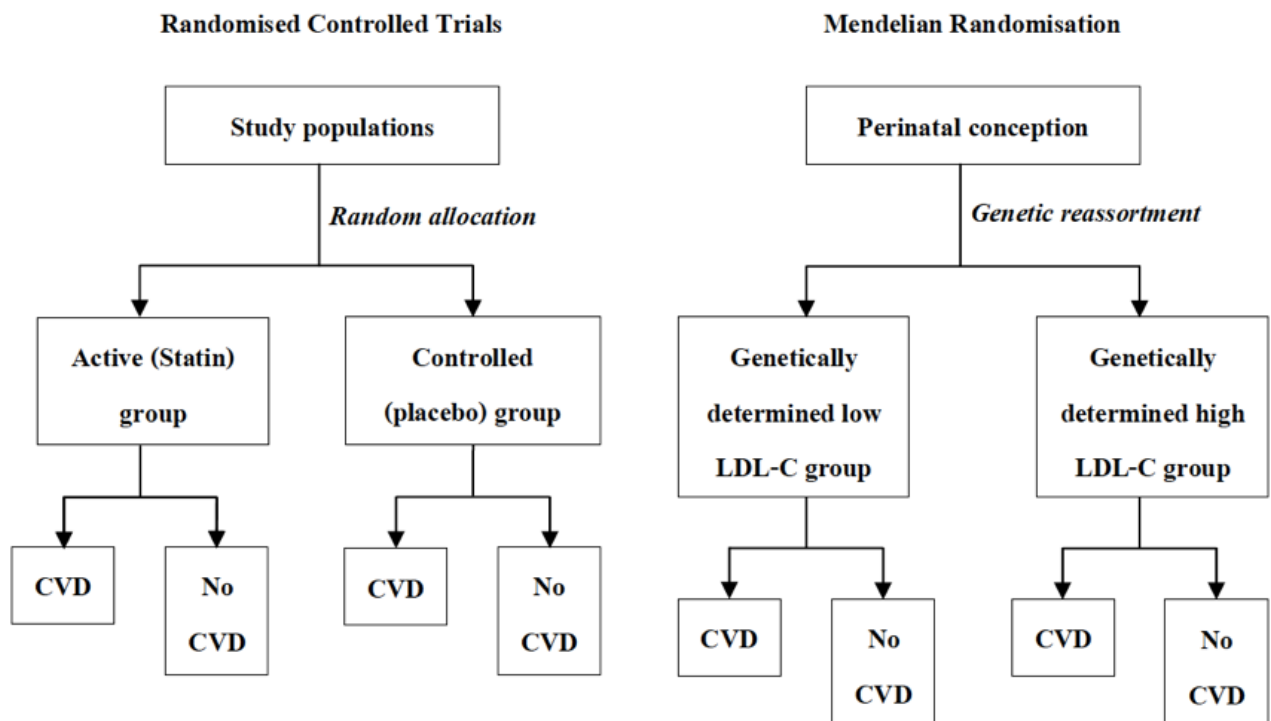
การสุมเมนต์ิเลียนเป็นการประยุกต์ใช้กฎข้อที่สองของเมนเดล (Mendel’s second law หรือ the law of independent assortment) ที่กล่าวว่า การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมหนึ่ง ๆ จากพ่อแม่ไปสู่ลูกเป็นไปอย่างสุ่ม ไม่ขึ้นกับลักษณะทางพันธุกรรมอื่น ๆ ดังนั้นจีโนไทป์ (ในที่นี้คือ SNPs) ที่เกิดจากการสุมโดยธรรมชาตินี้จึงไม่สัมพันธ์กับลักษณะ (trait) อื่น ๆ ที่อาจเป็นตัวแปรควบ นอกจากนี้จีโนไทป์ยังเป็นสิ่งที่มีความถี่ตั้งแต่เริ่มปฏิสนธิ จึงเกิดก่อนโรคหรือผลลัพธ์ที่สนใจเสมอ ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวจะช่วยป้องกันการเกิดการกวานจากสาเหตุย่อนทิสที่เป็นข้อจำกัดสำคัญอีกประการหนึ่งของงานวิจัยเชิงสังเกตได้

ความแตกต่างของการสุมเมนต์ิเลียนและการสุมที่มีการควบคุม

สมมติว่านักวิจัยต้องการศึกษาผลของยา HMGCoA reductase inhibitors (Statins)

ซึ่งลดระดับไขมัน low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) ในเลือดของผู้ป่วยต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease, CVD) หากเป็นการสุ่มที่มีการควบคุม (RCTs) จะต้องนำผู้เข้าร่วมการศึกษามาสุ่ม เช่น ใช้คอมพิวเตอร์สร้างลำดับการสุ่ม เพื่อแบ่งผู้เข้าร่วมการศึกษาออกเป็นกลุ่มที่ได้รับ Statins และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก หลังจากนั้นจึงติดตามผู้ป่วยไประยะเวลาหนึ่งเพื่อประเมินสัดส่วนของผู้ที่เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดในแต่ละกลุ่ม แล้วจึงวิเคราะห์ความสัมพันธ์ในลักษณะของความเสี่ยงสัมพัทธ์ (Relative risk, RR) ของ Statins ต่อความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและ

หลอดเลือด ในกรณีของการสุ่มเมนตีเลียนจะมีความคล้ายคลึงกับการสุ่มที่มีการควบคุมตั้ง (รูปที่ 2) เพียงแต่ขั้นตอนการสุ่มในการสุ่มเมนตีเลียนนั้นจะเป็นการสุ่มที่เกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติตั้งแต่ที่ผู้เข้าร่วมการศึกษามีการปฏิสนธิในครรภ์มารดา โดยในสถานการณ์ตัวอย่างนี้จะเป็นการสุ่มจีโนไทป์ที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ HMGCoA reductase ที่ตับ ทำให้สามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็นกลุ่มที่มีแอลลีลที่สัมพันธ์กับ LDL-C ต่ำ กับกลุ่มที่มีแอลลีลที่สัมพันธ์กับ LDL-C สูง จากนั้นจึงพิจารณาสัดส่วนของผู้ที่เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดในแต่ละกลุ่มนั่นเอง

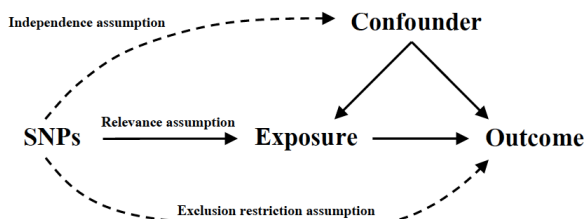


รูปที่ 2 หลักการของการศึกษาในรูปแบบสุ่มที่มีการควบคุม (ซ้าย) เปรียบเทียบกับการสุ่มเมนตีเลียน (ขวา)
(ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง¹³)

สมมติฐานของการสุ่มเมเนตลีเลียน

สมมติฐานของการสุ่มเมเนตลีเลียนเหมือนกับ Instrumental variable(IV) analysis ซึ่งมี 3 ประการ (รูปที่ 3) ได้แก่

- 1) SNPs ที่จะศึกษาต้องสัมพันธ์กับการสัมผัสปัจจัยที่สนใจ (relevance assumption)
- 2) SNPs ที่จะศึกษาต้องไม่ทำให้เกิดผลลัพธ์ผ่านกลไกอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสปัจจัยที่สนใจ (exclusion restriction assumption) เช่น หากจะศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างไขมันในเลือดกับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ SNPs ที่จะศึกษาต้องไม่ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจผ่านกลไกอื่น ๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกัน ไขมัน ทั้งนี้หากพบว่า SNPs นั้นควบคุมการสังเคราะห์สารสื่ออักเสบ (inflammatory markers) บางชนิดที่ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจได้โดยตรงด้วยแล้ว ในกรณีพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่าง SNPs กับโรคหลอดเลือดหัวใจจะทำให้ไม่สามารถระบุได้ว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวเป็นผลมาจากไขมันในเลือดหรือจาก inflammatory markers ที่ SNPs นั้นไปมีผลควบคุมร่วมด้วย สมมติฐานข้อนี้ เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า horizontal pleiotropy ดังนั้นอาจกล่าวได้อีกนัยหนึ่งว่า SNPs ที่จะศึกษาต้องไม่มี horizontal pleiotropy
- 3) SNPs ที่จะศึกษาต้องไม่สัมพันธ์กับตัวแปรกวนหรือปัจจัยอื่น ๆ (independence assumption)



รูปที่ 3 Direct acyclic graph (DAG) และสมมติฐานของการสุ่มเมเนตลีเลียน (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง¹⁴)

รูปแบบของการศึกษาชนิดสุ่มเมเนตลีเลียน

การศึกษาในรูปแบบสุ่มเมเนตลีเลียน ปัจจุบันมี 2 วิธีที่สำคัญ คือ

1) การสุ่มเมเนตลีเลียนแบบตัวอย่างเดียว (One-sample MR): เป็นการใช้ข้อมูลจากแหล่งเดียว ซึ่งอาจเป็นการศึกษา SNPs เดียวหรือหลาย SNPs พร้อมกันก็ได้ โดยข้อมูลทางพันธุกรรมจะเป็นข้อมูลของผู้ป่วยแต่ละรายที่เข้าร่วมการศึกษา (individual level) และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง SNPs และผลลัพธ์โดยใช้แบบจำลองถดถอย (regression modeling) ทั่วไป เช่น linear regression logistic regression หรือ Cox-proportional hazard model เป็นต้น ข้อดีของการสุ่มเมเนตลีเลียนแบบตัวอย่างเดียวคือ สามารถทดสอบความสัมพันธ์ระหว่าง SNPs ที่สนใจกับปัจจัยอื่น ๆ เช่น เพศ อายุ น้ำหนักตัว เป็นต้น (เพื่อตรวจสอบ independence assumption) และยังสามารถศึกษาความสัมพันธ์ที่ไม่ได้เป็นเส้นตรง (non-linear association) ได้แต่ข้อเสียที่สำคัญ คือ การใช้ตัวอย่างเดียวมักให้อำนาจทางสถิติ (power of statistic) ที่ต่ำ ทำให้มักไม่ค่อยพบความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้การใช้ข้อมูลของผู้ป่วยเฉพาะรายมักถูกจำกัดการเข้าถึงและไม่เปิดเผยข้อมูลให้นักวิจัยทั่วไปเข้าถึงได้ (ตารางที่ 1 (1))

2) การสุ่มเมเนตลีเลียนแบบสองตัวอย่าง (Two-sample MR ; 2SMR): เป็นการใช้ข้อมูลจากสองแหล่งที่ได้มาจากการศึกษารูปแบบ Genome-wide association study (GWAS อ่านว่า จีวาส) ซึ่งเป็นการศึกษาเพื่อค้นหายีนส์ที่สัมพันธ์กับลักษณะแสดงออกต่าง ๆ โดยแหล่งข้อมูลแรกจะเป็นข้อมูลทางพันธุกรรมของการสัมผัสปัจจัยที่สนใจ และแหล่งข้อมูลที่สองจะเป็นข้อมูลทางพันธุกรรมของผลลัพธ์ที่สนใจ

โดยความสัมพันธ์ระหว่างการสัมผัสปัจจัยและผลลัพธ์ จะสามารถคำนวณได้จากการนำความสัมพันธ์ระหว่าง SNPs และการสัมผัสปัจจัย (SNPs-exposure effect) ไปหารความสัมพันธ์ระหว่าง SNPs และผลลัพธ์ (SNPs- outcome effect) เรียกว่า Wald ratio method จากนั้นสัดส่วนของผลลัพธ์ของแต่ละ SNPs จะถูกนำมารวมกันด้วย fixed effect model โดยใช้หลักการเทียบกับการวิเคราะห์อภิมาน (meta-analysis) ทั้งนี้นอกจากการใช้ fixed effect meta-analysis แล้ว ในการสุ่มเมตาเลียนแบบสองตัวอย่างอาจวิเคราะห์ความสัมพันธ์ ด้วยวิธีอื่น เช่น inverse variance weighted (IVW)

method หรือ MR-Egger ดังจะได้อธิบายต่อไป อย่างไรก็ตามข้อมูลจากทั้งสองแหล่งจะต้องนำมาจากประชากรต่างกลุ่มที่ยังมีเชื้อชาติเดียวกัน โดยในการวิเคราะห์จะใช้เพียงข้อมูลสรุปสถิติ (summary statistic) แทนข้อมูลของผู้เข้าร่วมการศึกษาแต่ละราย ทำให้การสุ่มเมตาเลียนแบบสองตัวอย่างมีข้อดีคือ ข้อมูลส่วนใหญ่จะเปิดให้นักวิจัยทั่วไปสามารถเข้าถึงได้โดยไม่มีค่าใช้จ่าย นอกจากนี้การใช้ข้อมูลต่างแหล่งกัน ยังเป็นการเพิ่มขนาดตัวอย่างทำให้มีอำนาจทางสถิติสูงกว่ารูปแบบการสุ่มเมตาเลียนแบบตัวอย่างเดียว (ตารางที่ 1 (2))

ตารางที่ 1 ลักษณะข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์รูปแบบการสุ่มเมตาเลียนแบบตัวอย่างเดียว (1)
และแบบสองตัวอย่าง (2)

(1) ข้อมูลสำหรับวิเคราะห์การสุ่มเมตาเลียนแบบตัวอย่างเดียว

ID	Age	Sex	Education	Smoking	SES	Alcohol	BMI	Fast ADH1B	Fast ADH1C
1	49	0	2	Never smoker	3	84	15.91	0	1
2	44	0	2	Former smoker	2	144	21.27	0	1
3	49	0	3	Former smoker	2	168	25.64	0	0
4	48	1	2	Current smoker	2	96	24.24	0	1
5	45	1	2	Never smoker	1	96	25.46	0	2

หมายเหตุ ข้อมูลนี้เป็นข้อมูลสมมติเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการดื่มแอลกอฮอล์ (exposure) และดัชนีมวลกาย (BMI, outcome) โดยใช้ยีนส์ ADH1B และ ADH1C ที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ alcohol dehydrogenase ซึ่งหน้าที่เปลี่ยนแอลกอฮอล์ (alcohol) เป็นแอลดีไฮด์ (aldehyde) ที่ตับ เป็นตัวแทนของปริมาณการดื่มแอลกอฮอล์ เนื่องจากในผู้ที่มี fast degrading alleles มาก เมื่อดื่มแอลกอฮอล์เข้าไป ตับจะเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นแอลดีไฮด์อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดภาวะ disulfiram เช่น ร้อนวูบวาบ หน้าแดง ความดันโลหิตตก เป็นต้น ส่งผลให้ไม่อยากดื่มแอลกอฮอล์หรือดื่มได้น้อย โดยจากตาราง (1) ตัวแปร Fast ADH1B และ Fast ADH1C คือ จำนวนของ fast degrading allele ของ SNPs บนยีนส์ ADH1B และ ADH1C ซึ่งค่า 0 คือ ไม่มี fast degrading allele ค่า 1 คือมี heterozygous fast degrading alleles (มี 1 fast degrading allele) และค่า 2 คือมี homozygous fast degrading alleles (มี 2 fast degrading alleles) โดยจากตาราง ข้อมูลของผู้เข้าร่วมการศึกษาแต่ละคน จะถูกแสดงด้วยตัวแปร ID

(2) ข้อมูลสำหรับวิเคราะห์การสุ่มเมตลิเลียนแบบสองตัวอย่าง (ข้อมูลที่แสดงได้จากการรวมสอง genetic consortia แล้ว)

SNPs	Effect allele exposure	Other allele exposure	Effect allele outcome	Other allele outcome	Beta-coefficient exposure	SE exposure	Beta-coefficient outcome	SE outcome	EAF exposure	EAF outcome
rs1000940	G	A	G	A	0.0192	0.0034	-0.0154	0.0118	0.22	0.32
rs10132280	A	C	A	C	-0.0230	0.0034	-0.0063	0.0124	0.33	0.30
rs1016287	T	C	T	C	0.0229	0.0034	0.0195	0.0121	0.32	0.27
rs10182181	A	G	A	G	-0.0307	0.0031	-0.0254	0.0158	0.50	0.53
rs10733682	A	G	A	G	0.0174	0.0031	0.0073	0.0110	0.42	0.49

หมายเหตุ Exposure ในที่นี้คือดัชนีมวลกาย (BMI) ซึ่งเป็นข้อมูลจาก GIANT consortium ส่วนผลลัพธ์ คือ โรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (Myocardial infarction, MI) ซึ่งเป็นข้อมูลจาก CARDIoGRAMplusC4D consortium โดย Beta-coefficient exposure คือ SNPs-exposure effect และ Beta-coefficient outcome คือ SNPs-outcome effect และ EAF คือ Effect allele frequency

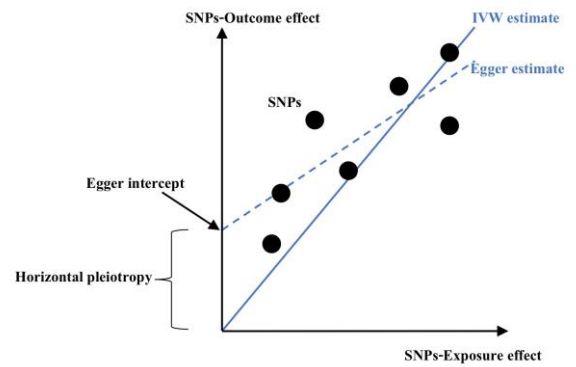
การวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นและการแปลผลงานวิจัยรูปแบบสุ่มเมตลิเลียน

การวิเคราะห์ข้อมูลของรูปแบบสุ่มเมตลิเลียนแบบสองตัวอย่าง จะใช้หลักการของการสร้างสมการเส้นตรงผ่านจุด (SNPs) แต่ละจุด เช่นเดียวกับการถดถอยเชิงเส้น (linear regression) โดยเริ่มต้นจากการสร้าง แผนภาพการกระจาย (scatter plot) ระหว่าง SNPs-exposure effect บนแกน X และ SNPs-outcome effect บนแกน Y จากนั้นจึงหาสมการเส้นตรงเพื่อสร้างเส้นตรงผ่านจุดแต่ละจุด โดยมีเงื่อนไข 2 ประการ คือ 1) จุดกำเนิดจะต้องผ่านจุด (0,0) เพื่อให้เป็นไปตามสมมติฐานข้อ 2 (exclusion restriction assumption) และ 2) เส้นตรงจะลากผ่านจุด (SNPs) โดยการถ่วงน้ำหนัก

แต่ละจุดที่ไม่เท่ากัน ซึ่งจะใช้หลักการ inverse variance weight (IVW) หรือกล่าวง่าย ๆ ว่า SNPs ใดที่มีข้อมูลที่แม่นยำสูง เช่น มีค่าผิดพลาดมาตรฐาน (standard error) ต่ำ ก็จะถูกถ่วงน้ำหนักมากและเส้นตรงก็จะมีแนวโน้มเป็นไปตาม SNPs นั้นมากกว่า SNPs ที่ข้อมูลมีความแม่นยำน้อยกว่า (มีค่าผิดพลาดมาตรฐานสูง) เมื่อได้สมการเส้นตรง ค่าความชัน (slope) ที่ได้ก็จะบอกถึงความสัมพันธ์ระหว่างการสัมผัสปัจจัยกับผลลัพธ์ที่เราสนใจ (เช่นเดียวกับ beta - coefficient ในการถดถอยเชิงเส้น) หากความชันมีค่าที่แตกต่างจากศูนย์ (0) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ก็อาจสรุปได้ว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างการสัมผัสปัจจัยกับผลลัพธ์ที่สนใจ (รูปที่ 4)

ในกรณีที่ผลลัพธ์ที่สนใจเป็นตัวแปรแบบแบ่งกลุ่มสอง (binary outcome) สามารถคำนวณ odds ratio (OR) ได้จากการ exponentiate ค่า beta-coefficient เช่นเดียวกับหลักการถดถอยโลจิสติก (logistic regression)

สำหรับการตรวจสอบ horizontal pleiotropy นั้น ในกรณีของการสุ่มเมตลิเลียนตัวอย่างเดียว อาจตรวจสอบจากการหาความสัมพันธ์ระหว่าง SNPs ที่สนใจกับ mediating pathway อื่น ซึ่งไม่ขอกล่าวถึง ในบทความนี้ สำหรับการสุ่มเมตลิเลียนแบบสอง ตัวอย่างโดยทั่วไปจะใช้วิธี Egger method (ซึ่งใช้หลักการเดียวกับ Egger test เพื่อตรวจสอบความไม่สมมาตรของ funnel plot ในการวิเคราะห์ห่อถัก) และพิจารณาค่าจุดตัดแกน Y (Egger intercept) ว่ามีค่าที่แตกต่างจากศูนย์ (0) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หรือไม่ ถ้าค่าดังกล่าวแตกต่างจากศูนย์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจบ่งชี้ถึงการมี horizontal pleiotropy และผลจาก MR Egger จะน่าเชื่อถือมากกว่าผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย IVW method เนื่องจากหลักการของ MR Egger คือ จะยอมให้เส้นตรงที่ลากผ่านจุดแต่ละจุด (เป็นตัวแทนแต่ละ SNPs) ไม่จำเป็นต้องผ่านจุดตั้งต้น (จุด 0,0) เหมือนใน IVW method โดยจะยอมปล่อยให้ไป ตามแนวโน้มของข้อมูลแทน ดังนั้นหากจุดตัดแกน Y ไม่เท่ากับศูนย์ แสดงให้เห็นว่า แม้ SNPs จะไม่สัมพันธ์กับการสัมผัสปัจจัยที่สนใจ (SNPs-exposure effect เท่าศูนย์) แต่ยังคงมีความสัมพันธ์กับผลลัพธ์อยู่ (SNPs-outcome effect ไม่เท่ากับศูนย์) เป็นนัยว่า SNPs เหล่านี้สามารถทำให้เกิดผลลัพธ์ผ่านกลไกอื่น ๆ ที่นอกเหนือไปจากการสัมผัสปัจจัยที่สนใจได้นั่นเอง (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 การวิเคราะห์รูปแบบสุ่มเมตลิเลียนแบบสอง ตัวอย่างโดยวิธี IVW และ MR Egger

นอกจากนี้ ในการสุ่มเมตลิเลียนแบบสอง ตัวอย่างอาจมีการใช้วิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) อื่น ๆ เพื่อควบคุม horizontal pleiotropy เช่น ใช้การประมาณค่ามัธยฐาน (median) หรือ ค่าฐานนิยม (mode-based estimation) หรือใช้ การสุ่มเมตลิเลียนแบบพหุตัวแปร (multivariate MR) นอกจากนี้ในบางการศึกษาอาจมีการตัด SNPs ที่รู้แน่ชัดจากข้อมูลการศึกษาก่อนหน้าว่ามี horizontal pleiotropy ออกและเปรียบเทียบผลที่ได้กับผลลัพธ์หลักที่ยังไม่ได้ตัด SNPs ใด ๆ ออกไป ดังนั้น หากงานวิจัยในรูปแบบสุ่มเมตลิเลียนไม่ได้มีการกล่าวถึง horizontal pleiotropy เลย อาจส่งผลกระทบต่อความน่าเชื่อถือในการศึกษานั้นลงเป็นอย่างมาก ในการอ่านผลงานวิจัยรูปแบบสุ่มเมตลิเลียน มีแนวทางพิจารณาดังนี้ (ตารางที่ 2)

- ดังที่ได้กล่าวไปข้างต้น การอ่านผลขึ้นกับ ชนิดของผลลัพธ์ว่าเป็นข้อมูลต่อเนื่อง หรือข้อมูล แบ่งกลุ่มสองซึ่งจะอ่านผลคล้ายกับการถดถอยเชิงเส้น และการถดถอยโลจิสติก ตามลำดับ ตัวอย่างผลลัพธ์ ที่สนใจเป็นการเกิดโรคหัวใจล้มเหลว ซึ่งมีลักษณะเป็น ข้อมูลแบ่งสอง จึงแปลผลโดยใช้หลักการเดียวกันกับการถดถอยโลจิสติก (ตารางที่ 2)

- ค่า beta-coefficient (β) จะแสดงค่าผลลัพธ์ต่อการสัมผัสปัจจัยหนึ่งหน่วย เช่น ค่า Log Odds ของการเกิดโรคหัวใจล้มเหลวต่อดัชนีมวลกาย (BMI) ที่เพิ่มขึ้น 1 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) เท่ากับ 0.477 (IVW-method) และเท่ากับ 0.368 (MR-Egger) โดยพบว่าเป็นการเพิ่มขึ้นที่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p = 2.39 \times 10^{-19}$ และ 2.54×10^{-2} ตามลำดับ ($p < 0.05$)

- สามารถแปลงค่า Log Odds ของผลลัพธ์ให้เป็น odds ratio (OR) ของการเกิดผลลัพธ์ได้ โดยการ exponentiate beta - coefficient (หมายเหตุ log ในที่นี้หมายถึง natural logarithm) ในตัวอย่าง คือ $e^{0.477} = 1.61$ (IVW-method) และ $e^{0.368} = 1.44$ (MR-Egger) ส่วนช่วงความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 (95% confidence interval) คำนวณได้จาก beta-coefficient $\pm (1.96 \times SE)$ ดังนั้นช่วงความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 เมื่อวิเคราะห์โดย IVW-method จะเท่ากับ $0.477 \pm (1.96 \times 0.053) = 0.373$ ถึง 0.581 หรือค่า OR 1.45 ถึง 1.79 เมื่อวิเคราะห์โดย MR-Egger จะมีช่วงความเชื่อมั่นเท่ากับ $0.368 \pm (1.96 \times 0.162) = 0.050$ ถึง 0.686 หรือค่า OR จะมีค่าอยู่ในช่วง 1.05 ถึง 1.98 จะเห็นว่าค่าช่วงร้อยละความเชื่อมั่นที่คำนวณได้ไม่ครอบคลุมค่า null (คือ 0 ในกรณี beta-coefficient และ 1 ในกรณี OR) ซึ่งสอดคล้องกับค่า P-value ที่มีนัยสำคัญทางสถิติ

- การพิจารณาแนวโน้มของ horizontal pleiotropy จะพิจารณาจากจุดตัดแกน Y (MR-Egger intercept) และ P-value ของจุดตัดแกน Y ดังกล่าว หากค่าจุดตัดแกน Y มีค่าเข้าใกล้ศูนย์และมี P-value ที่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) จะมีโอกาสเกิด horizontal pleiotropy น้อย แต่ในกรณีที่ค่าดังกล่าวแตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเป็นหลักฐานบ่งชี้ได้ว่า SNPs ที่นำมาศึกษาเกิด

horizontal pleiotropy ทำให้ผลจาก MR-Egger น่าเชื่อถือกว่า IVW-method

- คำนวณ OR (95%CI) ของ BMI จะได้เท่ากับ 1.61 (1.45 ถึง 1.79) (IVW-method) และ 1.44 (1.05 ถึง 1.98) (MR-Egger) แปลว่า เมื่อวิเคราะห์ด้วย IVW-method ทุก ๆ 1 SD ที่เพิ่มขึ้นของ BMI (ซึ่งมาจากการระบุผ่าน 89 SNPs ไม่ได้ใช้ค่า BMI ที่วัดโดยตรง) จะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจล้มเหลว 1.61 เท่า (หรือร้อยละ 61) โดยมีค่าช่วงความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ระหว่าง 1.45 ถึง 1.79 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับ MR-Egger ก็แปลผลลักษณะเดียวกัน

- สำหรับ CAD เมื่อคำนวณ OR (95%CI) ได้เท่ากับ 1.32 (1.26 ถึง 1.37) (IVW-method) และ 1.37 (1.24 ถึง 1.52) (MR-Egger) แปลว่า เมื่อวิเคราะห์ด้วย IVW-method การเกิด CAD (ที่ระบุผ่าน 50 SNPs) จะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรค CAD 1.32 เท่า (หรือร้อยละ 32) โดยมีค่าช่วงความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ระหว่าง 1.26 ถึง 1.37 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ

- เนื่องจาก P-value ของจุดตัดแกน Y ของทั้ง BMI และ CAD มีค่าไม่แตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่ามีโอกาสเกิด horizontal pleiotropy น้อย การพิจารณาผลจะยึดผลที่วิเคราะห์โดยใช้วิธี IVW-method เป็นหลัก เนื่องจากเป็นวิธีวิเคราะห์ที่ยึดตามสมมติฐานหลักของการสุ่มเมตลิเลียน

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์การสุ่มเมตลิเลียนของปัจจัยสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคหัวใจล้มเหลว¹⁵

Exp.	unit	No. SNPs	IVW-method			MR-Egger				
			β	SE	P-value	β	SE	P-value	Intercep t	Intercept P-value
BMI	Per SD	89	0.477	0.053	2.39x10 ⁻¹⁹	0.368	0.162	2.54x10 ⁻²	0.0032	0.48
CAD	Log (odds)	50	0.274	0.023	7.55x10 ⁻³⁴	0.318	0.051	1.19x10 ⁻⁷	-0.0047	0.34

หมายเหตุ BMI; Body mass index, CAD; Coronary artery disease, Exp; Exposure, IVW; Inverse-variance weighted, No. SNPs; Number of SNPs, SD; Standard deviation, SE; Standard error

แหล่งข้อมูลสำหรับทำวิจัยรูปแบบสุ่มเมตลิเลียน

Genetic consortium (รูปพหูพจน์คือ consortia) เป็นความร่วมมือของผู้วิจัยจากแต่ละ cohort study โดยจะรวมข้อมูลทางพันธุกรรมจากแต่ละ cohort study เข้าด้วยกัน ทำให้ได้ข้อมูล

ทางพันธุกรรมของประชากรขนาดใหญ่ ซึ่งเอื้อประโยชน์ต่อการทำวิจัยในรูปแบบสุ่มเมตลิเลียนแบบสองตัวอย่าง โดยในปัจจุบันมีหลาย consortium ที่เปิดให้นักวิจัยทั่วไปสามารถเข้าถึงข้อมูลสรุปสถิติได้โดยไม่เสียค่าใช้จ่ายสรุป genetic consortium ที่มีในปัจจุบัน (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 Genetic consortium ที่เปิดให้เข้าถึงข้อมูลสรุปสถิติได้อย่างเสรี^{13-14,16}

Genetic consortium	โรคหรือลักษณะภายนอกที่ศึกษา
BCAC	มะเร็งเต้านม
AFGen	โรคหัวใจเต้นผิดจังหวะชนิดสั่นพลิ้ว (Atrial fibrillation)
CARDIoGRAMplusC4D	โรคหลอดเลือดหัวใจ (CAD) และกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (MI)
CKDGen	โรคไตเรื้อรัง (CKD)
DIAGRAM	โรคเบาหวาน
EAGLE	ลักษณะแสดงออก (phenotype) ของเด็กและทารกในครรภ์
EGG	การเจริญเติบโตในวัยเด็ก
GEFOS	โรคกระดูกพรุน
GIANT	ความสูง ดัชนีมวลกาย มวลไขมัน
GCAN	Anorexia nervosa
GLGC	ไขมันในเลือด (LDL-C, HDL-C, TG และ Total cholesterol)
HERMES	โรคหัวใจล้มเหลว
ICBP	ความดันโลหิต
IGAP	โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease)

Genetic consortium	โรคหรือลักษณะภายนอกที่ศึกษา
IIBDGC	Ulcerative colitis & Crohn disease (Inflammatory Bowel Disease; IBD)
ISGC	โรคหลอดเลือดสมอง (Stroke)
MAGIC	น้ำตาลในเลือดและลักษณะต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับอินซูลิน
PGC	โรคทางจิตเวช การดื่มแอลกอฮอล์
SSGAC	การได้รับการศึกษา (educational attainment)
TGC	การสูบบุหรี่

การประยุกต์ใช้การสุ่มเมตลิเลียนทาง การแพทย์

โดยทั่วไปแล้วยีนส์แต่ละยีนส์มักควบคุมลักษณะแสดงออก (หรือโรค) มากกว่าหนึ่งลักษณะ ดังนั้นหากยาออกฤทธิ์ที่ยีนส์ใดยีนส์หนึ่ง ก็ควรมีผลต่อโรคหรืออาการไม่พึงประสงค์ใด ๆ ที่สัมพันธ์กับการแสดงออกของยีนส์นั้นด้วยเช่นกัน จากหลักการดังกล่าว ทำให้ในปัจจุบันมีการนำการศึกษาแบบสุ่มเมตลิเลียนมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ใน 3 ด้าน¹⁷ ได้แก่

1) ใช้เพื่อค้นหาเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยาใหม่และช่วยในการทำนายประสิทธิภาพของยา เช่น การค้นพบว่าในผู้ที่มีการสูญเสียการทำงาน (loss-of-function) ของยีนส์ Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK-9) จะมีระดับ LDL-C ในกระแสเลือดที่ต่ำลง นำไปสู่การพัฒนาในในกลุ่ม PCSK-9 inhibitors เพื่อลดไขมันในเลือด¹⁸ ซึ่งต่อมาพบว่า SNPs บนยีนส์ PCSK-9 ที่สัมพันธ์กับระดับ LDL-C ที่ลดลงนี้ ก็มีความสัมพันธ์กับโรคหัวใจและหลอดเลือดที่ลดลงเช่นกัน¹⁹ ให้การพัฒนาในในกลุ่มดังกล่าวได้รับความสนใจจากบริษัทยามากขึ้น หรือกรณีศึกษาของระดับ lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) ซึ่งเป็นสารดัชนีชี้วัดทางชีวภาพของการ

อักเสบ (inflammatory biomarker) ที่พบมากในแผ่นไขมัน (plaque) ที่ผนังหลอดเลือดหัวใจที่ไม่เสถียรแต่ก็ยังไม่แตกตัว จากผลการศึกษาเชิงสังเกตแสดงให้เห็นว่าระดับ Lp-PLA2 ที่เพิ่มขึ้นนี้สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของผลลัพธ์หลักต่อหัวใจและหลอดเลือด (major cardiovascular outcomes) แต่ในการศึกษารูปแบบสุ่มเมตลิเลียนที่ศึกษา SNPs บนยีนส์ PLA2G7 V279F (rs76863441) ซึ่งพบว่าสัมพันธ์กับการสังเคราะห์ Lp-PLA2 พบว่า SNPs ดังกล่าวไม่สัมพันธ์กับการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดแต่อย่างใด และในการศึกษาดังกล่าวพบว่า มีอำนาจทางสถิติสูงถึง 90%²⁰ โดยผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลการศึกษาทางคลินิกในเฟสที่ 3 ของยา darapladib ที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง Lp-LPA2 ซึ่งพบว่า ยาไม่ส่งผลต่อผลลัพธ์ต่อหัวใจและหลอดเลือด²¹⁻²²

2) ใช้เพื่อทำนายอาการไม่พึงประสงค์ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ของยา เช่น ยาในกลุ่ม HMGCoA reductase inhibitors (statins) ที่ทำให้เกิดเบาหวานชนิดที่สอง และยังมี การขยายการศึกษาไปถึงยาลดไขมันกลุ่มอื่น ๆ เช่น ezetimibe (NPC1L1 inhibitors) หรือ PCSK-9 inhibitors โดยพบว่า LDL-C ที่ลดลงจาก SNPs บนยีนส์เหล่านี้ล้วนสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2^{10,23-25}

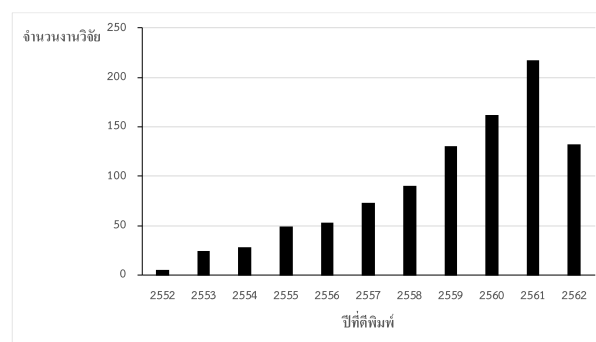
นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าการสูญเสียการทำงานของ variant (SNPs) R46L บนยีนส์ PCSK9 นอกจากจะสัมพันธ์กับระดับ LDL-C ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญแล้ว (-14.47 mg/dL, P-value 2.58×10^{-23}) ยังสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะ spina bifida ถึงเกือบ 6 เท่า (OR 5.90, P-value 2.7×10^{-4}) จึงนำไปสู่การติดตามและเฝ้าระวังการใช้ยาในกลุ่ม PCSK-9 inhibitors ในหญิงตั้งครรภ์ต่อการเกิดภาวะ neural tube defects²⁶ อย่างไรก็ตามหากเป็นอาการไม่พึงประสงค์ที่ไม่เกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ของยา การศึกษารูปแบบสุ่มเมตลิเลียนก็ไม่สามารถใช้เพื่อทำนายอาการไม่พึงประสงค์ได้

3) ใช้เพื่อหาข้อบ่งชี้ใหม่ ๆ ในยาเก่าที่ทราบกลไกการออกฤทธิ์แล้ว เช่น sildenafil เป็นยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ phosphodiesterase 5A (PDE5A) ซึ่งมีข้อบ่งชี้ในการรักษาภาวะ erectile dysfunction และ pulmonary hypertension มีการศึกษาพบว่ายีนส์ PDE5A มีความสัมพันธ์กับการกระจายตัวของไขมันในร่างกาย นำไปสู่การศึกษาทางคลินิกในเฟสที่ 4 ของในกลุ่ม PDE5A inhibitors หลายชนิดต่อประสิทธิภาพในการลดความอ้วนหรือยา denosumab ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม monoclonal antibody ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งยีนส์ TNFSF11 ซึ่งถูกรับรองให้ใช้รักษาโรคกระดูกพรุน ปัจจุบันมีการศึกษาที่ชี้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างยีนส์ดังกล่าวกับโรค inflammatory bowel disease (IBD) จึงนำไปสู่การศึกษาประสิทธิผลของยา denosumab ต่อการรักษาโรค Crohn's disease และ ulcerative colitis เป็นต้น²⁷

แนวโน้มของงานวิจัยรูปแบบสุ่มเมตลิเลียน

ในปัจจุบันการวิจัยในรูปแบบสุ่มเมตลิเลียน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการสุ่มเมตลิเลียนแบบสองตัวอย่าง

กำลังได้รับความนิยมมากขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากมีการเปิดให้เข้าถึงข้อมูลสรุปสถิติได้อย่างเสรีและไม่มีค่าใช้จ่าย รวมทั้งในการทำวิจัยก็ไม่ต้องขอจริยธรรมเพิ่มเติม (ใช้จริยธรรมร่วมกับ GWAS หลัก) ทำให้มีงานวิจัยในรูปแบบดังกล่าวเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก สถิติตั้งแต่ปี 2559 เป็นต้นมา มีงานวิจัยในรูปแบบสุ่มเมตลิเลียนที่ ถูกตีพิมพ์และมีชื่อปรากฏอยู่บนฐานข้อมูล Medline ปีละมากกว่า 100 หัวเรื่อง (รูปที่ 5) หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่า ในทุก 2 – 3 วัน จะมีงานวิจัยรูปแบบสุ่มเมตลิเลียนที่ได้รับการตีพิมพ์และบรรจุอยู่บนฐานข้อมูล Medline อย่างน้อย 1 ฉบับ



รูปที่ 5 จำนวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสุ่ม

เมตลิเลียนที่ปรากฏอยู่บนฐานข้อมูล Medline ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2552 ถึง พ.ศ.2562

หมายเหตุ สืบค้นโดยใช้ Medical Subject Heading (MeSH) “Mendelian Randomization Analysis”

ข้อควรระวังในการอ่านงานวิจัยรูปแบบสุ่มเมตลิเลียน

การอ่านวิจัยในรูปแบบสุ่มเมตลิเลียนมีข้อพึงระวังเบื้องต้นสองประการ ได้แก่ 1) การศึกษานั้นมีการรายงานอำนาจทางสถิติหรือไม่ เพื่อช่วยพิจารณาว่าผลลัพธ์จากการศึกษาดังกล่าวมีอำนาจทางสถิติเพียงพอที่จะแยกความไม่แตกต่างที่แท้จริงออกจาก type II error หรือไม่ ทั้งนี้วิธีในการเพิ่มอำนาจทางสถิติในการสุ่มเมตลิเลียน ได้แก่

การใช้การวิเคราะห์รูปแบบสุ่มเมตลิเลียนแบบสองตัวอย่าง และการใช้ polygenic scoring (กรณีที่ใช้การสุ่มเมตลิเลียนตัวอย่างเดียว) หากไม่ได้รายงานอำนาจทางสถิติ อย่างน้อยในการศึกษานั้นควรรายงาน ว่า SNPs ที่นำมาศึกษา เป็นตัวแทนของการสัมพันธ์ปัจจัยได้ดีมากน้อยเพียงใด ซึ่งส่วนใหญ่มักนำเสนอเป็นค่า correlation coefficient (R^2) ซึ่งหมายถึงสัดส่วนของความแปรปรวน (variance) ของการสัมพันธ์ปัจจัยที่ถูกอธิบายโดย SNPs ที่ใช้ในการศึกษามีค่าระหว่าง 0 (0%) ถึง 1 (100%) โดยหาก SNPs ยังมีค่า R^2 มาก ก็ยิ่งแสดงว่า SNPs เหล่านั้นเป็นตัวแทนที่ดีของการสัมพันธ์ปัจจัยมากขึ้นเท่านั้น และ 2) การศึกษานั้นมีการตรวจสอบและจัดการกับ horizontal pleiotropy หรือไม่ อย่างไร

ข้อจำกัดของการศึกษารูปแบบสุ่มเมตลิเลียน

นอกเหนือจากประเด็นของ horizontal pleiotropy ดังที่ได้กล่าวไปข้างต้น หากพิจารณาถึงข้อจำกัดของการศึกษารูปแบบสุ่มเมตลิเลียนในแง่ความตรงภายใน (internal validity) จะพบว่าในกรณีของการสุ่มเมตลิเลียนแบบสองตัวอย่าง ซึ่งข้อมูลที่เปิดให้เข้าถึงและนำมาใช้ในการวิเคราะห์จะเป็นข้อมูลสรุปสถิติของ SNPs จึงไม่มีข้อมูลระดับบุคคล เช่น เพศ อายุ ดัชนีมวลกาย หรือพฤติกรรมสุขภาพต่าง ๆ ทำให้ไม่สามารถทดสอบสมมติฐานว่า SNPs มีความสัมพันธ์กับตัวแปรทวนหรือไม่ (independent assumption) นอกจากนี้ใน IVW และ MR Egger method ซึ่งใช้หลักการถดถอยเชิงเส้น ทำให้มีข้อจำกัดในการทดสอบความสัมพันธ์ที่ไม่เป็นเส้นตรง และเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ห่อมิมาณคุณภาพของการสุ่มเมตลิเลียนแบบสองตัวอย่างนี้จะขึ้นอยู่กับคุณภาพของแต่ละ cohort study ที่ถูก

นำมารวมใน genetic consortium²⁸ สำหรับกรณีของการสุ่มเมตลิเลียนแบบตัวอย่างเดียว มีข้อจำกัดที่สำคัญคือ ผลการศึกษา มักมีอำนาจทางสถิติต่ำ นอกจากนี้ในการวิเคราะห์ทางสถิติจะอนุมานมาตรบวกเพิ่ม (additive scale) เช่น การมี SNPs CC, CT, และ TT จะถือว่าสัมพันธ์กับการสัมพันธ์ปัจจัยในลักษณะที่เป็น 2, 1 และ 0 ตามลำดับ ซึ่งอาจไม่เป็นจริงเสมอไป

ในแง่ของข้อจำกัดด้านความตรงภายนอก (external validity หรือ generalisability) เนื่องจากการสุ่มเมตลิเลียนเป็นการใช้ข้อมูลทางพันธุกรรม ซึ่งมีความแตกต่างกันไปตามชาติพันธุ์ ดังนั้นจึงจำกัดการขยายผลไปใช้เฉพาะในกลุ่มชาติพันธุ์เดียวกับข้อมูลทางพันธุกรรมที่นำมาศึกษา ซึ่ง ณ ปัจจุบัน ข้อมูลการศึกษาส่วนใหญ่จะมาจากชาวผิวขาว (Caucasian)²⁹⁻³⁰ นอกจากนี้ ผลของลักษณะทางพันธุกรรมต่อลักษณะแสดงออก มักเป็นผลในระยะยาว ที่ร่างกายมนุษย์มักมีกลไกการปรับตัวให้ทนต่อการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น (canalisation) และมักเป็นผลเพียงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับผลที่เกิดจากการสัมพันธ์ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก³¹ เช่น ระดับ LDL-C ที่ลดลงจากการได้รับยาลดไขมัน มักลดลงมากกว่าผลจาก SNPs เป็นต้น ส่งผลให้การนำผลจากการศึกษารูปแบบสุ่มเมตลิเลียนไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกโดยตรงทำได้ยากและมีข้อจำกัด

บทสรุป

การสุ่มเมตลิเลียนเป็นรูปแบบการศึกษาที่หาความสัมพันธ์ระหว่างการสัมพันธ์ปัจจัยกับโรคหรือผลลัพธ์ที่ต้องการศึกษาโดยใช้ SNPs เป็นตัวแทนของการสัมพันธ์ปัจจัยที่สนใจ ที่ตั้งอยู่บนสมมติฐาน 3 ข้อ ได้แก่

1) SNPs นั้นต้องสัมพันธ์กับการสัมผัสปัจจัยที่สนใจ
 2) SNPs นั้นต้องไม่สัมพันธ์กับผลลัพธ์ผ่านกลไกอื่นที่ไม่ใช่การสัมผัสปัจจัยที่ต้องการศึกษา (horizontal pleiotropy) และ 3) SNPs นั้นต้องไม่สัมพันธ์กับปัจจัยอื่น ๆ โดยในปัจจุบันการสุ่มเมตลิเลียนกำลังได้รับความนิยมมากขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากมีการทำ GWAS ในหลากหลายโรคและลักษณะแสดงออก และในการวิเคราะห์ที่ใช้หลักการเดียวกับการวิเคราะห์อภิมานและการถดถอยเชิงเส้นแบบถ่วงน้ำหนัก ทำให้ง่ายต่อความเข้าใจและการแปลผล ทั้งยังเปิดให้นักวิจัยสามารถเข้าถึงข้อมูลเพื่อการทำวิจัยรูปแบบสุ่มเมตลิเลียนได้อย่างเสรีมากขึ้น นอกจากนี้การสุ่มเมตลิเลียนยังมีประโยชน์ในทางการแพทย์อย่างกว้างขวาง โดยสามารถช่วยให้ค้นหาเป้าหมายการรักษาใหม่ ๆ ช่วยประเมินประสิทธิภาพของยาใหม่ ก่อนตัดสินใจลงทุนกับการวิจัยทางคลินิก ช่วยทำนายอาการไม่พึงประสงค์ที่อาจเกิดจากยา และยังช่วยค้นหาข้อบ่งชี้ใหม่ในยาเก่าได้อีกด้วย

แม้ว่าการสุ่มเมตลิเลียนจะช่วยลดข้อจำกัดในเรื่องตัวแปรกวนและสาเหตุย่อนทิสที่เป็นข้อจำกัดสำคัญของการศึกษาเชิงสังเกตก็ตาม แต่ข้อจำกัดสำคัญของการศึกษาในรูปแบบสุ่มเมตลิเลียนที่ผู้อ่านงานวิจัยพึงตระหนักไว้เสมอ คือ หากผลการศึกษาการสุ่มเมตลิเลียนไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจสะท้อนถึงอำนาจทางสถิติที่ไม่สูงเพียงพอหรือ SNPs ที่ใช้เป็นตัวแทนของการสัมผัสปัจจัยยังไม่ดีมากนัก ในทางกลับกันหากผลการศึกษาการสุ่มเมตลิเลียนแสดงให้เห็นถึงการมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ก็อาจเป็นผลมาจาก horizontal pleiotropy ที่ไม่ได้รับการจัดการอย่างเหมาะสมได้เช่นกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ภาณุ.ดร.สุธิดา บุญสม อาจารย์ประจำสาขาวิชาพยาบาลเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา ที่ช่วยตรวจทานเนื้อหา การใช้ภาษา และการจัดรูปแบบของบทความฉบับนี้

REFERENCES

1. Lewington S, Whitlock G, Clarke R, Sherliker P, Emberson J, Halsey J, et al. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths. *Lancet*. 2007;370(9602):1829–39.
2. Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, Kaptoge S, Ray KK, Thompson A, et al. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA*. 2009;302(18):1993–2000.
3. Boden WE, Probstfield JL, Anderson T, Chaitman BR, Desvignes-Nickens P, Koprowicz K, et al. Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. *N Engl J Med*. 2011;365(24):2255–67.
4. Landray MJ, Haynes R, Hopewell JC, Parish S, Aung T, Tomson J, et al. Effects of extended-release niacin with laropiprant in high-risk patients. *N Engl J Med*. 2014;371(3):203–12.

5. Choi HY, Hafiane A, Schwertani A, Genest J. High-density lipoproteins: Biology, epidemiology, and clinical management. *Can J Cardiol.* 2017 Mar;33(3):325–33.
6. Lincoff AM, Nicholls SJ, Riesmeyer JS, Barter PJ, Brewer HB, Fox KAA, et al. Evacetrapib and cardiovascular outcomes in high-risk vascular disease. *N Engl J Med.* 2017;376(20):1933–42.
7. Chen F, Wallendszus K, Collins R, Trial C, Unit S, Kingdom U, et al. Effects of anacetrapib in patients with atherosclerotic vascular disease. *N Engl J Med.* 2017;377(13):1217–27.
8. Voight BF, Peloso GM, Orho-Melander M, Frikke-Schmidt R, Barbalic M, Jensen MK, et al. Plasma HDL cholesterol and risk of myocardial infarction: a mendelian randomisation study. *Lancet.* 2012;380(9841):572–80.
9. Holmes M V., Asselbergs FW, Palmer TM, Drenos F, Lanktree MB, Nelson CP, et al. Mendelian randomization of blood lipids for coronary heart disease. *Eur Heart J.* 2015;36(9):539–50.
10. White J, Swerdlow DI, Preiss D, Fairhurst-Hunter Z, Keating BJ, Asselbergs FW, et al. Association of lipid fractions with risks for coronary artery disease and diabetes. *JAMA Cardiol.* 2016;1(6):692–9.
11. Hebring S. Genomic and phenomic research in the 21st century. *Trends Genet.* 2019;35(1):29–41.
12. Single nucleotide polymorphism / SNP | Learn Science at Scitable [Internet]. [cited 2020 Apr 19]. Available from: <https://www.nature.com/scitable/definition/snp-295/>
13. Mou Z, Hyde TM, Lipska BK, Martinowich K, Wei P, Ong C-J, et al. Human obesity associated with an intronic SNP in the brain-derived neurotrophic factor locus. *Cell Rep.* 2015;13(6):1073–80.
14. Davies NM, Holmes M V., Davey Smith G. Reading Mendelian randomisation studies: a guide, glossary, and checklist for clinicians. *BMJ.* 2018;362:k601362.
15. Haycock PC, Burgess S, Wade KH, Bowden J, Relton C, Davey Smith G. Best (but oft-forgotten) practices: the design, analysis, and interpretation of Mendelian randomization studies. *Am J Clin Nutr.* 2016;103(4):965–78.
16. Shah S, Henry A, Roselli C, Lin H, Sveinbjörnsson G, Fatemifar G, et al. Genome-wide association study provides new insights into the genetic architecture and pathogenesis of heart failure. *bioRxiv.* 2019;682013.
17. Cardiovascular disease knowledge portal [Internet]. [cited 2020 May 22]. Available from: <http://www.broadcvdi.org/home/portalHome>

18. Bennett DA, Holmes M V. Mendelian randomisation in cardiovascular research: An introduction for clinicians. *Heart*. 2017;103(18):1400–7.
19. Tragante V, Asselbergs FW, Swerdlow DI, Palmer TM, Moore JH, de Bakker PIW, et al. Harnessing publicly available genetic data to prioritize lipid modifying therapeutic targets for prevention of coronary heart disease based on dysglycemic risk. *Hum Genet*. 2016;135(5):453–67.
20. Millwood IY, Bennett DA, Walters RG, Clarke R, Waterworth D, Johnson T, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 loss-of-function variant and risk of vascular diseases in 90,000 Chinese adults. *J Am Coll Cardiol*. 2016;67(2):230–1.
21. White HD, Held C, Stewart R, Tarka E, Brown R, Davies RY, et al. Darapladib for preventing ischemic events in stable coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2014;370(18):1702–11.
22. O'Donoghue ML, Braunwald E, White HD, Lukas MA, Tarka E, Steg PG, et al. Effect of darapladib on major coronary events after an acute coronary syndrome: the SOLID-TIMI 52 randomized clinical trial. *JAMA*. 2014;312(10):1006–15.
23. Lawlor DA. Two-sample Mendelian randomization: opportunities and challenges. *Int J Epidemiol*. 2016;45(3):908–15.
24. Schmidt AF, Swerdlow DI, Holmes M V, Patel RS, Fairhurst-Hunter Z, Lyall DM, et al. PCSK9 genetic variants and risk of type 2 diabetes: a mendelian randomisation study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017;5(2):97–105.
25. Lotta LA, Sharp SJ, Burgess S, Perry JRB, Stewart ID, Willems SM, et al. Association between low-density lipoprotein cholesterol-lowering genetic variants and risk of type 2 diabetes: a meta-analysis. *JAMA*. 2016;316(13):1383–91.
26. Swerdlow DI, Preiss D, Kuchenbaecker KB, Holmes M V, Engmann JEL, Shah T, et al. HMG-coenzyme A reductase inhibition, type 2 diabetes, and bodyweight: evidence from genetic analysis and randomised trials. *Lancet*. 2015;385(9965):351–61.
27. Jerome RN, Pulley JM, Roden DM, Shirey-Rice JK, Bastarache LA, R Bernard G, et al. Using human “experiments of nature” to predict drug safety issues: an example with PCSK9 inhibitors. *Drug Saf*. 2018;41(3):303–11.
28. Nabitrotchkin S, Peluffo AE, Rinaudo P, Yu J, Hajj R, Cohen D. Next-generation drug repurposing using human genetics and network biology. *Curr Opin Pharmacol*. 2020;51:78-92.

29. Lawlor DA, Harbord RM, Sterne JAC, Timpson N, Davey Smith G. Mendelian randomization: using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology. *Stat Med.* 2008;27(8):1133–63.
30. Emdin CA, Khera A V, Kathiresan S. Mendelian randomization. *JAMA.* 2017;318(19):1925–6.
31. Burgess S, Thompson SG. Mendelian randomization : methods for using genetic variants in causal estimation. Boca Raton, Florida: CRC Press; 2015.

แบบทดสอบการศึกษาต่อเนื่อง สำหรับผู้ประกอบการวิชาชีพเภสัชกรรม

รหัสกิจกรรมการศึกษาต่อเนื่อง 1011-1-000-003-11-2563

จำนวน 3.5 หน่วยกิต

วันที่รับรอง : 18 พฤศจิกายน 2563

วันที่หมดอายุ : 17 พฤศจิกายน 2564

- ต่อไปนี้เป็นข้อจำกัดที่สำคัญของการศึกษาเชิงสังเกตและ RCTs ยกเว้น
 - การศึกษาเชิงสังเกต - ตัวแปรกวน (confounder)
 - การศึกษาเชิงสังเกต - สาเหตุย้อนทิศ (reverse causation)
 - RCTs - ค่าใช้จ่ายในการศึกษาสูง
 - RCTs - ไม่สามารถศึกษา exposure หรือ intervention บางอย่างที่ขัดต่อจริยธรรมได้
 - RCTs - ไม่สามารถระบุ causality ของ exposure หรือ intervention ต่อผลลัพธ์ได้
- ข้อใดคือกฎซึ่งเป็นที่มาของการศึกษาในรูปแบบ MR
 - Law of dominance and uniformity
 - Law of segregation
 - Law of independent assortment
 - Law of natural selection
 - มีข้อถูกมากกว่า 1 ข้อ
- เครื่องมือทางพันธุกรรม (genetic instrument) ที่ใช้ในการศึกษารูปแบบ MR คืออะไร
 - SNPs
 - Alleles
 - Genes
 - RNA
 - mRNA
- เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง MR และ RCTs ข้อใดกล่าวถูกต้อง
 - MR เป็นการสุ่มโดยธรรมชาติ แต่ RCTs เป็นการสุ่มที่มนุษย์สร้างขึ้น
 - MR เป็นการสุ่มตั้งแต่กระบวนการปฏิสนธิในครรภ์ แต่ RCTs เป็นการสุ่มที่เกิดขึ้นหลังจากถูกคัดเลือกเข้าการศึกษา
 - MR เป็นการสุ่มจีโนไทป์ แต่ RCTs เป็นการสุ่มการให้ intervention
 - MR มักเป็นการศึกษาผลของการได้รับ exposure ที่ยาวนานตลอดชีวิต แต่ RCTs เป็นการศึกษาผลของ intervention ต่อผลลัพธ์ในช่วงระยะเวลาจำกัด
 - กล่าวถูกต้องทุกข้อ

5. ในการศึกษารูปแบบ MR เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่าง LDL-C กับการเกิดโรคอัลไซเมอร์โดยใช้ SNPs ที่เป็นตัวแทนของ LDL-C หากผู้วิจัยได้ตัด SNPs บนยีนส์ APOE-4 ออกไปก่อนทำการวิเคราะห์ผล เนื่องจากการศึกษาก่อนหน้าชี้ให้เห็นว่ายีนส์ดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับโรคอัลไซเมอร์โดยตรง แสดงว่าในการศึกษาดังกล่าวผู้วิจัยต้องการให้สอดคล้องกับสมมติฐานข้อใด
- Relevance assumption
 - Exclusion restriction assumption
 - Independence assumption
 - Vertical pleiotropy
 - มีข้อถูกมากกว่า 1 ข้อ
6. ข้อใดเป็นสมมติฐานที่การศึกษา MR ในรูปแบบ two-sample MR (2SMR) ไม่สามารถตรวจสอบได้เนื่องจากข้อจำกัดของลักษณะของข้อมูลที่น่ามาวิเคราะห์
- Relevance assumption
 - Exclusion restriction assumption
 - Independence assumption
 - Vertical pleiotropy
 - มีข้อถูกมากกว่า 1 ข้อ
7. ในการศึกษา MR หากผู้วิจัยเลือก SNPs ที่ไม่สัมพันธ์กับ exposure ที่สนใจมาใช้ในการศึกษา แสดงว่าผลการศึกษาดังกล่าว ไม่สอดคล้องกับสมมติฐานข้อใด
- Relevance assumption
 - Exclusion restriction assumption
 - Independence assumption
 - Vertical pleiotropy
 - มีข้อถูกมากกว่า 1 ข้อ

จากข้อมูลในตารางเป็นผลจากการวิเคราะห์ 2SMR ของปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ ต่อการเกิดโรคหัวใจล้มเหลว
(ที่มา: Shah S, et al. bioRxiv 2019) จงตอบคำถามข้อ 8-10

Trait (N.of SNPs)	Exposure units	IVW method (HF outcome)			Egger method (HF outcome)			Egger intercept	
		Beta	SE	p	Beta	SE	p	Beta	p
SBP (95)	Per mmHg increase	0.016	0.002	6.99×10^{-12}	0.023	0.008	6.01×10^{-3}	-0.0038	0.41
DBP (115)	Per mmHg increase	0.025	0.004	2.48×10^{-9}	0.035	0.014	1.35×10^{-2}	-0.0035	0.45
LDL-C (143)	Per SD increase	0.116	0.022	2.39×10^{-7}	0.104	0.037	5.23×10^{-3}	0.0009	0.68
HDL-C (167)	Per SD increase	-0.070	0.025	0.004	-0.017	0.044	0.70	-0.0030	0.14
TG (110)	Per SD increase	0.116	0.028	2.46×10^{-5}	0.120	0.046	1.08×10^{-2}	-0.0002	0.92

หมายเหตุ

- Abbreviations; BMI: Body mass index, DBP: Diastolic blood pressure, HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol, HF: Heart failure, LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol, SBP: Systolic blood pressure, SD: Standard deviation, SE: Standard error, SNPs: Single nucleotide polymorphisms, TG: Triglycerides

- สามารถคำนวณ Odds ratio (OR) ของการเกิด HF ได้โดยการ exponentiate ค่า beta-coefficient เช่น OR ของการเกิด HF ต่อ 1 SD ที่เพิ่มขึ้นของ LDL-C จะคำนวณได้เป็น $e^{0.116}$ เท่ากับ 1.12 ซึ่งแปลได้ว่า ทุก ๆ 1 SD ที่เพิ่มขึ้นของ LDL-C จะมีความเสี่ยง (หรือ odds) ต่อการเกิด HF เป็น 1.12 เท่า (หรือมี odds เพิ่มขึ้น 12%)

8. จากผลการศึกษาของ Shah และคณะ trait ใดที่ไม่สัมพันธ์กับการเกิดโรคหัวใจล้มเหลวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

- SBP
- LDL-C
- HDL-C
- ทั้ง 5 traits ล้วนสัมพันธ์กับการเกิดโรคหัวใจล้มเหลวทั้งสิ้น
- ไม่มี trait ใดใน 5 traits ที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคหัวใจล้มเหลวเลย

9. ข้อใดกล่าวถูกต้องเกี่ยวกับ horizontal pleiotropy ในการศึกษานี้

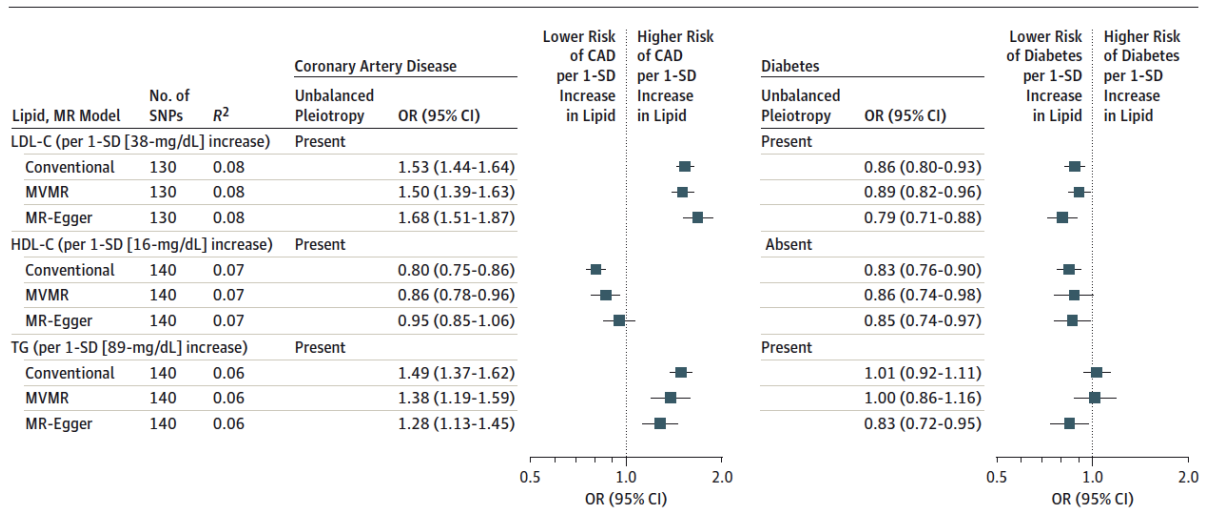
- ไม่ได้มีการตรวจสอบและจัดการกับ horizontal pleiotropy ในการศึกษานี้
- Horizontal pleiotropy พิจารณาจาก P-value ของ IVW method
- มีหลักฐานการเกิด horizontal pleiotropy ระหว่าง SNPs ที่ใช้เป็นตัวแทนของ LDL-C
- มีหลักฐานการเกิด horizontal pleiotropy ระหว่าง SNPs ที่ใช้เป็นตัวแทนของ HDL-C
- ไม่มีหลักฐานการเกิด horizontal pleiotropy ระหว่าง SNPs ที่ใช้เป็นตัวแทนของ TG

10. ข้อใดกล่าวถูกต้องเกี่ยวกับผลจากการศึกษานี้

- ผลจาก Egger method มีความน่าเชื่อถือมากกว่า IVW method
- การแปลผลของ HDL-C ควรยึดผลตาม Egger method
- HDL-C ที่เพิ่มขึ้น สัมพันธ์กับความเสี่ยง (หรือ odds) ของการเกิด HF ที่ลดลง
- SBP ที่เพิ่มขึ้น สัมพันธ์กับความเสี่ยง (หรือ odds) ของการเกิด HF ที่ลดลง
- Odds ratio ของการเกิด HF ต่อหนึ่ง SD ที่ลดลงของระดับ TG จะเท่ากับ 1.12 (IVW method) และ 1.13 (Egger method)

จากข้อมูลต่อไปนี้เป็นการวิเคราะห์ชนิด 2SMR จงใช้ตอบคำถามข้อ 11-13

(ที่มา: White J, et al. JAMA Cardiol. 2016;1(6):692-9.)



หมายเหตุ

- Conventional คือ Inverse variance weighted (IVW) method
- Abbreviation; CAD: Coronary artery disease, CI; Confidence interval, HDL-C; High-density lipoprotein cholesterol, LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol, MVMR: Multivariate MR, OR: Odds ratio, SD: Standard deviation, SNPs: Single nucleotide polymorphisms, TG: Triglyceride

11. ข้อใดกล่าวถูกต้องเกี่ยวกับผลการศึกษาของ White และคณะ

- ก. 130 SNPs ที่ใช้เป็นตัวแทนของ LDL-C ใช้อธิบายระดับ LDL-C ได้ 8%
- ข. MVMR เป็นการทำให้ multiple adjustment ด้วย SNPs ของ LDL-C, HDL-C และ TG ซึ่งสามารถใช้จัดการกับ horizontal pleiotropy ได้กรณีที่ exposure เป็นระดับไขมันในเลือด
- ค. การมี unbalanced pleiotropy จะขัดแย้งกับสมมติฐานในข้อ exclusion restriction assumption
- ง. การศึกษานี้สามารถตรวจสอบ horizontal pleiotropy ได้โดยพิจารณาจาก Egger intercept
- จ. กล่าวถูกต้องทุกข้อ

12. จากข้อมูลการศึกษาของ White และคณะ ข้อใดกล่าวผิด

- ก. ระดับ TG ที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิด CAD ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
- ข. ระดับ HDL-C ที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับการลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
- ค. ความสัมพันธ์ของ HDL-C กับการเกิด CAD น่าเป็นผลมาจากการที่ SNPs สัมพันธ์กับการเกิดเบาหวานผ่านกลไกอื่น ๆ ร่วมกับกลไกที่ผ่าน LDL-C กับ TG
- ง. การให้ยาที่ลดระดับ LDL-C ไม่สัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน
- จ. การให้ยาที่เพิ่มระดับ HDL-C แล้วเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน อาจเป็นผลจากกลไกอื่นที่เป็นคุณสมบัติเฉพาะตัวของยานั้น ๆ โดยไม่ได้เกี่ยวข้องกับระดับไขมันในเลือด

13. จากข้อมูลการศึกษาของ White และคณะ หากจะพัฒนายาที่เป็นเป้าหมายที่มุ่งเน้นการป้องกันโรคเบาหวาน โดยพิจารณาร่วมกับความปลอดภัยต่อการเกิด CAD เป้าหมายใดน่าสนใจมากที่สุด

- ก. LDL-C
- ข. HDL-C
- ค. TG
- ง. ทุกข้อล้วนเป็นเป้าหมายที่น่าสนใจเหมือน ๆ กัน
- จ. ไม่มีข้อใดเป็นเป้าหมายที่น่าสนใจ

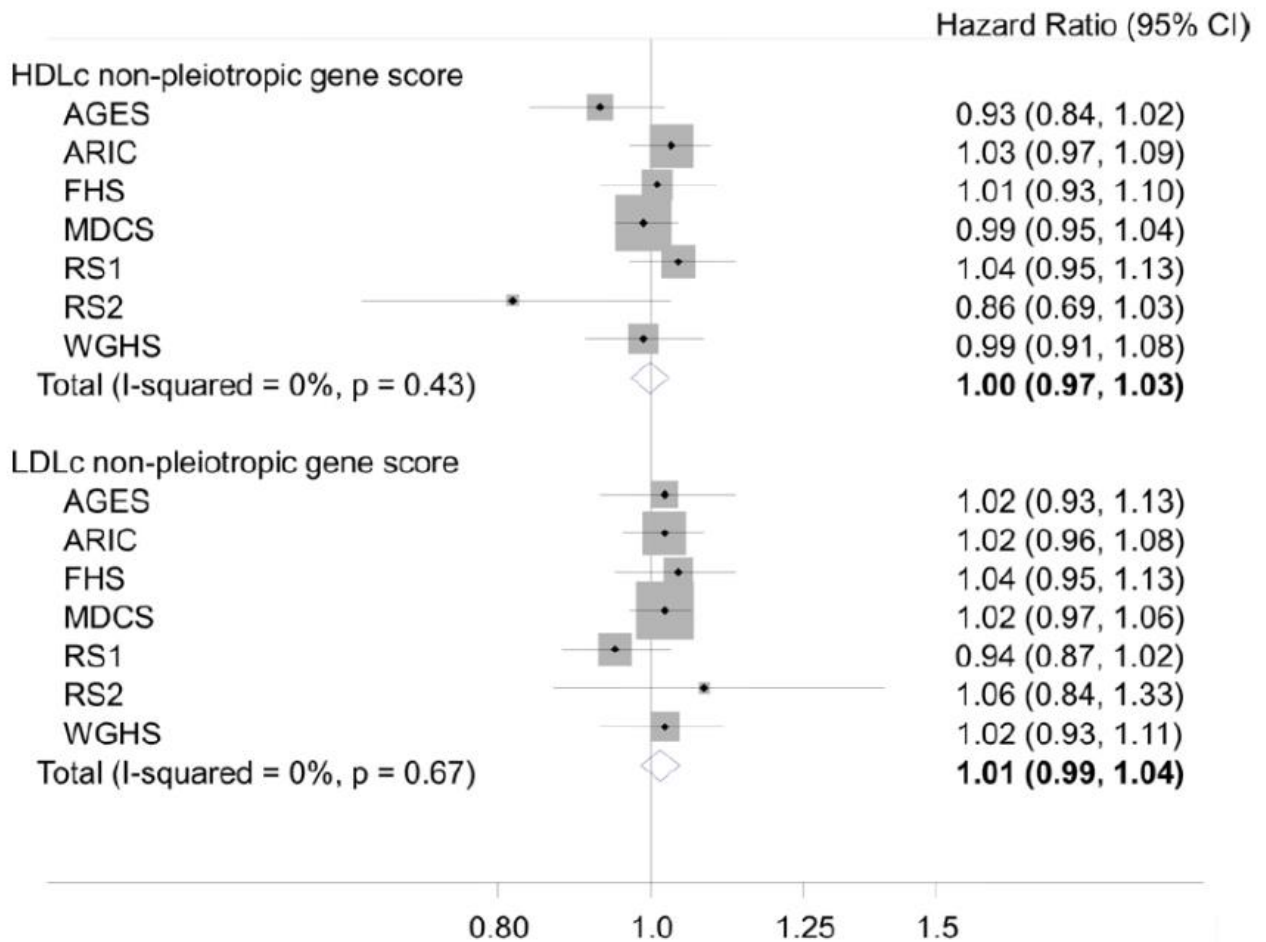
14. จากข้อมูลของการศึกษา AFGen Consortium ซึ่งประกอบด้วย 7 prospective cohorts เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างไขมันในเลือดกับการเกิดโรคหัวใจห้องบนสั่นพรีว (Atrial fibrillation, AF) (ที่มา: Norby FL, et al. PLoS One. 2016;11(3):e0151932)

	AGES (n = 2953)	ARIC (n = 8849)	FHS (n = 4126)	MDCS (n = 28,218)	RS-I (n = 4560)	RS-II (n = 1689)	WGHS (n = 14506)
Age, years	76 (5)	54 (6)	64 (13)	58 (8)	68 (8)	65 (8)	54 (7)
Men	1341 (42%)	4117 (47%)	1795 (44%)	11135 (40%)	1860 (41%)	774 (46%)	0
Height, cm	167 (9)	169 (10)	166 (10)	169 (9)	167 (9)	169 (9)	164 (6)
Current cigarette smoking	404 (13%)	2151 (24%)	613 (15%)	8076 (29%)	1074 (24%)	375 (22%)	1653 (11%)
Body mass index, kg/m ²	27 (4)	27 (5)	28 (5)	26 (4)	26 (4)	27 (4)	26 (5)
SBP, mmHg	143 (20)	118 (17)	130 (20)	141 (20)	139 (22)	143 (21)	124 (14)
DBP, mmHg	74 (10)	72 (10)	74 (10)	86 (10)	74 (11)	79 (11)	77 (9)
Hypertensive medication	2036 (64%)	2184 (25%)	1453 (35%)	4786 (17%)	1903 (42%)	452 (27%)	1886 (13%)

จากข้อมูลข้างต้น ข้อใดกล่าวถูกต้อง

- ก. การศึกษานี้วิเคราะห์โดยใช้ one-sample MR
- ข. การศึกษานี้มีอำนาจทางสถิติ (Power of statistic) สูง
- ค. นักวิจัยทั่วไปสามารถเข้าถึงข้อมูลดังกล่าวได้โดยง่าย
- ง. การศึกษานี้วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ข้อมูลสรุปสถิติ
- จ. มีข้อถูกมากกว่า 1 ข้อ

15.ต่อไปนี้เป็นผลลัพธ์ของการศึกษา AFGen Consortium (ที่มา: Norby FL, et al. PLoS One. 2016; 11(3): e0151932)



จากข้อมูลข้างต้น ข้อใดกล่าวถูกต้อง

- HDL-C และ LDL-C ไม่สัมพันธ์กับการเกิด AF
- การศึกษานี้ใช้วิธีสร้าง gene score เพื่อเพิ่มอำนาจทางสถิติ (Power of statistic)
- การศึกษานี้ลดการเกิด horizontal pleiotropy โดยการตัด SNPs บาง SNPs ออกจากการวิเคราะห์
- ผลการศึกษาที่ไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเป็นผลมาจากอำนาจทางสถิติไม่สูงพอ หรือ SNPs ที่ใช้อาจไม่สามารถอธิบาย HDL-C หรือ LDL-C ได้ดีเพียงพอ
- ถูกทุกข้อ



โรงพยาบาลเชียงใหม่ประชานุเคราะห์
Chiangrai Prochanukroh Hospital

ISSN 1906-649X ปีที่ 12 ฉบับที่ 3 เดือน ธันวาคม 2563

เชียงใหม่เวชสาร

วารสารวิชาการ โรงพยาบาลเชียงใหม่ประชานุเคราะห์ | Chiangrai Medical Journal