

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2025.01.007

肠道菌群与糖尿病肾病的因果关系

于龙庆¹ 刘福朋² 万文欣¹ 朱昱颖¹ 张梅²¹ 济宁医学院附属医院(临床医学院),² 济宁医学院附属医院内分泌遗传代谢科,济宁 272000

摘要 目的 采用孟德尔随机化分析方法,探讨肠道菌群与糖尿病肾病的因果关联。方法 应用两样本孟德尔随机化(MR)方法,基于最大的公开全基因组关联研究(GWAS)汇总数据,采用逆方差加权法(IVW)、加权中位数法(WM法)、MR-Egger回归法、MR多效性残差及异质性检测法(MR-PRESSO)进行分析。结果 在IVW方法中,拟杆菌门($OR=1.43, 95\%CI:1.17\sim1.74$),拟杆菌纲($OR=1.45, 95\%CI:1.21\sim1.74$),拟杆菌目($OR=1.45, 95\%CI:1.21\sim1.74$),铁红隐杆菌属($OR=1.16, 95\%CI:1.06\sim1.28$),链杆菌属($OR=1.31, 95\%CI:1.20\sim1.4$),毛囊梭菌属($OR=1.43, 95\%CI:1.17\sim1.76$)以及副萨特氏菌属($OR=1.27, 95\%CI:1.13\sim1.43$)与糖尿病肾病呈正相关,未检测到显著的异质性或多效性。结论 本研究发现7个肠道细菌分类群与糖尿病肾病风险增加有关,证实了肠道微生物群在DN的发病机制中起重要作用,可为糖尿病肾病的筛查和预防提供了新的潜在指标和靶点。

关键词 肠道菌群;糖尿病肾病;拟杆菌;孟德尔随机化

中图分类号:R589 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2025)02-038-05

Exploring the causal relationship between intestinal flora and diabetes nephropathy based on Mendel randomization

YU Longqing¹, LIU Fupeng², WAN Wenxin¹, ZHU Yuying¹, ZHANG Mei²¹ School of Clinical Medicine, ² Department of Endocrinology, Genetics and Metabolism,

Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272000, China)

Abstract: Objective To explore the causal relationship between intestinal flora and diabetes nephropathy by Mendelian randomized analysis. **Method** Two samples of Mendelian randomization (MR) were applied, and based on the largest publicly available genome-wide association study (GWAS) summary statistics, inverse variance weighted (IVW), weighted median (WM), MR Egger regression, Mendelian randomization pleiotropy residual sum and outlier (MR-PRESSO) were used for bidirectional Mendelian randomization (MR) analysis of the two samples. **Result** In the IVW method, phylum. Bacteroidetes ($OR=1.43, 95\%CI:1.17\sim1.74$), class. Bacteroidia ($OR=1.45, 95\%CI:1.21\sim1.74$), order. Bacteroidales ($OR=1.45, 95\%CI:1.21\sim1.74$), genus. Candidatus Soleaferrea ($OR=1.16, 95\%CI:1.06\sim1.28$), genus. Catenobacterium ($OR=1.31, 95\%CI:1.20\sim1.4$), genus. Lachnoclostridium ($OR=1.43, 95\%CI:1.17\sim1.76$), and genus. Parasutterella ($OR=1.27, 95\%CI:1.13\sim1.43$) was positively associated with diabetic nephropathy, and no significant heterogeneity or pleiotropy was detected. **Conclusion** We found that seven intestinal bacterial groups were related to the increased risk of diabetes nephropathy, which confirmed that intestinal microflora played an important role in the pathogenesis of diabetes nephropathy. Our work also provides new potential indicators and targets for the screening and prevention of DN.

Keywords: Intestinal flora; Diabetes nephropathy; Bacteroides; Mendelian randomization

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病的主要微血管并发症之一,也是终末期肾病的主要原因之一^[1]。DN 临床特征是肾小球滤过率 (GFR) 降低,血清肌酐和蛋白尿增加^[2]。细胞水平上, DN 表现出系膜细胞增殖、肥大和系膜基质扩张^[3]。代谢因素,如氧化应激、葡萄糖水平升高、肾小球高血压和炎症趋化因子,在肾细胞的肾小球损伤和 DN 中的细胞外基质沉积中起关键作用^[4]。然而, DN 发病机制所涉及的确切分子机制尚未完全阐明。因此,需要进一步地研究来探索 DN 的新诊断靶点和治疗策略。

肠道微生物群包括细菌、病毒、真菌和古细菌,具有消化食物、调节免疫系统、合成维生素、清除病原和维持肠道功能等重要作用。健康成年人的肠道微生物群主要由厚壁菌门、拟杆菌门、变形杆菌门和放线菌门组成,其中厚壁菌门和拟杆菌门占主导地位,比例约为 90%^[5]。在正常的生理环境下,肠道菌群具有相对稳定的种类和数量来保护肠黏膜屏障的结构^[6]。近年来,随着肠-肾轴概念的引入,肠道菌群在 DN 中的作用越来越受到关注。以前的研究表明, DN 患者肠道菌群的丰度和结构发生了显著变化,引起生态失调并导致肠道屏障的破坏^[7]。反过来,当肠漏形成时,功能失调的肠道菌群可能通过释放代谢物 (如脂多糖和肠源性尿毒症毒素) 诱发全身炎症、氧化应激和免疫调节紊乱^[8],并进一步加剧 DN 患者肾功能的恶化。这些发现揭示了肠道微生物群与 DN 的关联,并表明肠道菌群可能是 DN 的潜在致病因素。然而,为了探索肠道菌群是否对 DN 有影响,并进一步确定哪些细菌类群会增加 DN 的风险,仍然需要大量严格的生物医学和观察性研究。

近年来,基于全基因组关联分析 (genome-wide association studies GWAS) 的大样本的孟德尔随机化 (Mendelian randomization, MR) 研究方法广泛应用在 DN 的病因探索中,它是使用与危险因素相关的遗传变异作为工具变量 (instrumental variables IVs),推测危险因素和疾病之间的因果关系。本研究通过两样本孟德尔随机化研究方法探讨肠道菌群与 DN 之间潜在的因果关系,以期开发基于饮食或微生物组干预的 DN 个性化治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究设计

本研究采用两样本孟德尔随机化探讨肠道菌群与 DN 之间的因果关系。肠道菌群为暴露因素,结局变量为 DN。

1.2 数据来源

肠道菌群的摘要级 GWAS 数据来自 MiBioGen 联盟^[9],数据是来自 24 个队列的 18340 名欧洲人参与者中获得的。GWAS 数据可以在 <https://mibiogen.gcc.rug.nl/> 获得。这是迄今为止对肠道菌群进行的最大的全基因组荟萃分析。在去除 15 个未知细菌分类群后,获得的 GWAS 数据最终涵盖了总共 196 个分类群 (按分类学排序): 9 门、16 纲、20 目、32 科和 119 属。DN 的 GWAS 数据来自 FinnGen 研究,其中包括来自芬兰人群的 4111 例病例和 308539 名对照。FinnGen 研究是芬兰全国范围内对 9 个生物库的 GWAS 荟萃分析,与来自全国卫生登记处的纵向数字健康记录数据相关联,并根据年龄、性别、10 个主成分和基因分型批次调整遗传关联。FinnGen 研究的 GWAS 数据可在以下网址获取 <https://r9.finnngen.fi/>。

1.3 工具变量

为了获得合格的工具变量 (IVs),对单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms SNP) 进行如下质量控制: 1) 全基因组显著性阈值 ($p < 5 \times 10^{-8}$) 中包含的 SNP 数量为过于有限,这可能导致失去可能有意义的结果。使用位点范围的显著性水平 ($P < 1 \times 10^{-5}$),以选择与暴露相关的 SNP。2) 为确保与肠道菌群相关的 IVs 之间没有连锁不平衡,去除连锁不平衡 ($r^2 < 0.001$, kb = 10000kb) 以保留独立的 SNP。3) 排除回文 SNPs,确保 SNPs 对暴露的影响与对应于相等等位基因的结局的影响相匹配。4) 计算每个 SNP 的 F 统计量,并消除 $F < 10$ 的 SNP 以避免弱工具偏倚^[10]。

1.4 孟德尔随机化分析

本研究孟德尔随机化分析采用逆方差加权法 (inverse-variance weighted, IVW)、加权中位数法 (weighted median method, WM 法)、MR-Egger 回归法、MR 多效性残差及异质性检测法 (Mendelian randomization pleiotropy residual sum and outlier, MR-PRESSO) 等方法,只有所有 MR 方法确定的具有相同方向的暴露-结局对才被认为具有因果关系。进行 Steiger 过滤,以确保肠道微生物分类群和 DN 关联的方向性, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

1.5 异质性检验、敏感性分析、多效性分析

异质性检验,使用 Cochran's Q 统计量检验。采用 MR-Egger 回归截距项检验评估工具变量的水平多效性, $P < 0.05$ 表示存在多效性, $P > 0.05$ 表示不存在多效性。由于 MR-Egger 回归的精度和统计效率较低,进一步应用孟德尔随机化多效性残差及异质性检测法(MR-PRESSO)来检测反映多态偏差的异常值,排除异常值后,重新进行 MR 分析,并重新给出因果效应。进行“留一法”敏感性分析,以评估 MR 分析的因果关联是否由单个 IV 引起。如果逐个排除 SNP 后整体误差线没有显著变化,则结果可靠。为了控制 I 类错误,采用 Benjamini & Hochberg 法(BH 法)进行错误发现率(FDR)校正。

所有分析均采用 R 4.2.2 软件完成,肠道菌群对 DN 发病风险的因果效应表示为比值比(odds ratio, OR)和 95% 置信区间(95% confidence interval, 95% CI),为了解决多重比较问题,有统计学意义的阈值定义为 BH 法校正后 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 SNP 相关信息

通过筛选全基因组显著性阈值($P < 1 \times 10^{-5}$)、LD 测试、协调、MR-PRESSO 测试和验证 F 统计量,196 个细菌类群中的每一个都有多个 SNP(范围从 3 到 20)作为它们的代理。被 MR-PRESSO 检测为异常值的 SNP($P < 0.05$)全部删除。所有保留 SNP 的 F 统计量均超过 10,表明 IVs 与相应的细菌分类群之间具有足够的相关性。

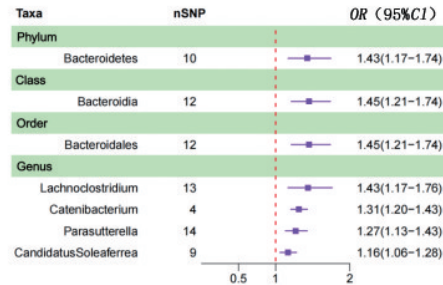
2.2 两样本孟德尔随机化分析

我们检测到 7 个细菌分类群与 DN 之间的潜在因果关系,其中,拟杆菌门($OR = 1.43, 95\% CI: 1.17 \sim 1.74$),拟杆菌纲($OR = 1.45, 95\% CI: 1.21 \sim 1.74$),拟杆菌目($OR = 1.45, 95\% CI: 1.21 \sim 1.74$),铁红隐杆菌属($OR = 1.16, 95\% CI: 1.06 \sim 1.28$),链杆菌属($OR = 1.31, 95\% CI: 1.20 \sim 1.4$),毛囊梭菌属($OR = 1.43, 95\% CI: 1.17 \sim 1.76$)以及副萨特氏菌属($OR = 1.27, 95\% CI: 1.13 \sim 1.43$)被认为与 DN 风险增加有关,图 1 显示了这 7 种肠道菌群与 DN 风险之间的因果关系。同时,所有的 196 个肠道细菌分类群均通过了 Steiger 过滤,确保了方向性的准确。

2.3 敏感性分析

MR-Egger 回归截距检验未发现水平多效性,

Cochran Q 统计量检验表明这些 SNP 的异质性低,可靠性更高,详见表 1,MR-PRESSO 全局测试表明,没有发现潜在的异常值。此外,我们使用 IVW 方法进行留一敏感性分析,从研究中排除单个 SNP 后,结果相似,表明没有单个 SNP 对总效应值产生过高的影响。



注:phylum. Bacteroidetes 为拟杆菌门;class. Bacteroidia 为拟杆菌纲;order. Bacteroidales 为拟杆菌目;genus. CandidatusSoleaferrea 为铁红隐杆菌属;genus. Catenibacterium 为链杆菌属;genus. Lachnoclostridium 为毛囊梭菌属;genus. Parasutterella 为副萨特氏菌属。

图 1 遗传预测的 7 种肠道菌群与 DN 之间关联的森林图

表 1 MR-Egger 回归截距检验和 Cochran Q 检验结果

菌群	Cochran Q 统计量	Q_pval	MR-Egger 回归截距	MR-egger pval
拟杆菌门	4.8433	0.8478	-0.0027	0.2429
拟杆菌纲	5.4828	0.9056	-0.0023	0.2186
拟杆菌目	5.4828	0.9056	-0.0023	0.2186
铁红隐杆菌属	2.4552	0.9638	0.0114	0.9738
链杆菌属	0.5750	0.9021	-0.1030	0.4804
毛囊梭菌属	8.9529	0.7070	0.0049	0.4990
副投菌属	5.8418	0.9517	0.0179	0.8922

3 讨论

本研究基于大规模 GWAS 汇总数据采用两样本双向 MR 方法分析了 196 种肠道菌群与 DN 发病风险的双向因果关联,结果显示拟杆菌门、拟杆菌纲、拟杆菌目、铁红隐杆菌属、链杆菌属、毛囊梭菌属以及副萨特氏菌属的丰度与 DN 风险增加有关,进一步的敏感性分析结果表明上述结果具有一致性和可靠性。

本文研究中,共确定 7 种与 DN 相关的肠道细菌分类群,其中 Bacteroidetes 与 DN 具有很强的因果关系。在既往研究中,拟杆菌作为一种专性厌氧革兰阴性菌,与慢性肾脏疾病(CKD)的严重程度

有关^[11-12]。拟杆菌有一个编码色氨酸酶-酪氨酸酚裂解酶的基因,该基因在尿毒症毒素的产生和积累中起重要作用^[12]。在小鼠肾切除术 CKD 模型中,毒素水平的积累与拟杆菌丰度增加有关^[13]。一项仅纳入中国人的研究表明,在终末期肾病患者中,存在拟杆菌的积累^[14]。拟杆菌通过产生相应的毒素(例如,硫酸吡啶酯,TMAO 等)并在血液循环中积累来引起炎症介质的释放,这些毒素和炎症介质已经被证明参与 RAAS 系统的激活^[15]、组织微环境的变化^[16]以及其他途径,最终导致肾脏损伤^[17]。

目前关于毛囊梭菌属与 DN 的关系尚不明确,在既往的研究中,有 3 项研究报告在 DN 患者肠道中毛囊梭菌属增加^[18-20],两项报告毛囊梭菌属减少^[21-22],毛囊梭菌属在继发性胆汁酸的产生中起着至关重要的作用,这些继发性胆汁酸中的大多数通过肝肠循环重新进入肝脏,其余的被排泄到粪便中。作为关键的信号分子,胆汁酸已被证实具有多种生物学功能,例如控制能量^[23]、葡萄糖^[24]和脂质代谢^[25]以及调节免疫系统^[26],这可能在 DN 的发生发展中产生作用。副萨特氏菌属是一个相对较新的属,副萨特氏菌属的丰度增加与肠道菌群失调或多样性下降有关^[27-28],菌群失调可能与许多肠道或代谢疾病有关,如炎症性肠病和肥胖^[29]。另外,最近的一项 MR 研究^[30]观察了两种肠道致病菌(志贺氏菌和弯曲杆菌)和铁红隐杆菌属对 CKD 的影响,发现铁红隐杆菌属与 CKD 风险增加有关($OR=1.071, P=0.039$)。今年的一项关于早期 CKD 患者的肠道微生物组和微生物功能的研究发现链杆菌属在粪链球菌感染的早期 CKD 患者中富集,因此可能对肾功能产生有害影响^[31],这与本文结果在某种程度上一致。本文研究可能为毛囊梭菌属、副萨特氏菌属、链杆菌属以及铁红隐杆菌属在 DN 发生发展中的作用提供遗传学上的证据。

综上,我们采用两样本 MR 方法推断肠道菌群与 DN 之间的因果关系,共确定了 7 个细菌分类群与 DN 之间存在潜在的因果关系,这可能为早期疾病诊断和 DN 的潜在治疗靶点提供有用的生物标志物,值得进一步研究论证及推广应用。

利益冲突:所有作者均申明不存在利益冲突。

参考文献:

[1] Navarro-González JF, Mora-Fernández C, Muros de Fuentes M, et

al. Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2011, 7 (6): 327-340. DOI: 10.1038/nrmeph.2011.51.

[2] Fineberg D, Jandeleit-Dahm KA, Cooper ME. Diabetic nephropathy: diagnosis and treatment [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2013, 9 (12): 713-723. DOI: 10.1038/nrendo.2013.184.

[3] Schlöndorff D, Banas B. The mesangial cell revisited: no cell is an island [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20 (6): 1179-1187. DOI: 10.1681/ASN.2008050549.

[4] Kanwar YS, Wada J, Sun L, et al. Diabetic nephropathy: mechanisms of renal disease progression [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2008, 233 (1): 4-11. DOI: 10.3181/0705-MR-134.

[5] Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora [J]. *Science*, 2005, 308 (5728): 1635-1638. DOI: 10.1126/science.1110591.

[6] Lei C, Sun R, Xu G, et al. Enteric VIP-producing neurons maintain gut microbiota homeostasis through regulating epithelium fucosylation [J]. *Cell Host Microbe*, 2022, 30 (10): 1417-1434. e8. DOI: 10.1016/j.chom.2022.09.001.

[7] Linh HT, Iwata Y, Senda Y, et al. Intestinal bacterial translocation contributes to diabetic kidney disease [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2022, 33 (6): 1105-1119. DOI: 10.1681/ASN.2021060843.

[8] Zhang F, Qi L, Feng Q, et al. HIPK2 phosphorylates HDAC3 for NF- κ B acetylation to ameliorate colitis-associated colorectal carcinoma and sepsis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118 (28): e2021798118. DOI: 10.1073/pnas.2021798118.

[9] Kurilshikov A, Medina-Gomez C, Bacigalupe R, et al. Large-scale association analyses identify host factors influencing human gut microbiome composition [J]. *Nat Genet*, 2021, 53 (2): 156-165. DOI: 10.1038/s41588-020-00763-1.

[10] Burgess S, Thompson SG, CRP CHD Genetics Collaboration. Avoiding bias from weak instruments in Mendelian randomization studies [J]. *Int J Epidemiol*, 2011, 40 (3): 755-764. DOI: 10.1093/ije/dyr036.

[11] Wu R, Ruan XL, Ruan DD, et al. Differences in gut microbiota structure in patients with stages 4-5 chronic kidney disease [J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13 (9): 10056-10074.

[12] He H, Xu H, Xu J, et al. Sodium butyrate ameliorates gut microbiota dysbiosis in lupus-like mice [J]. *Front Nutr*, 2020, 7: 604283. DOI: 10.3389/fnut.2020.604283.

[13] Kikuchi M, Ueno M, Itoh Y, et al. Uremic toxin-producing gut microbiota in rats with chronic kidney disease [J]. *Nephron*, 2017, 135 (1): 51-60. DOI: 10.1159/000450619.

[14] Jiang S, Xie S, Lv D, et al. Alteration of the gut microbiota in Chinese population with chronic kidney disease [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 2870. DOI: 10.1038/s41598-017-02989-2.

[15] Jaworska K, Koper M, Ufnal M. Gut microbiota and renin-angiotensin system: a complex interplay at local and systemic levels [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2021, 321 (4): G355-G366. DOI: 10.1152/ajpgi.00099.2021.

[16] Lu Y, Yuan X, Wang M, et al. Gut microbiota influence immunotherapy responses: mechanisms and therapeutic strategies [J]. *J*

- Hematol Oncol, 2022, 15 (1) : 47. DOI: 10. 1186/s13045-022-01273-9.
- [17] Maksymiuk KM, Szudzik M, Gawryś-Kopczyńska M, et al. Trimethylamine, a gut bacteria metabolite and air pollutant, increases blood pressure and markers of kidney damage including proteinuria and KIM-1 in rats [J]. J Transl Med, 2022, 20 (1) : 470. DOI: 10. 1186/s12967-022-03687-y.
- [18] Du X, Liu J, Xue Y, et al. Alteration of gut microbial profile in patients with diabetic nephropathy [J]. Endocrine, 2021, 73 (1) : 71-84. DOI: 10. 1007/s12020-021-02721-1.
- [19] Al-Obaide MAI, Singh R, Datta P, et al. Gut microbiota-dependent trimethylamine-N-oxide and serum biomarkers in patients with T2DM and advanced CKD [J]. J Clin Med, 2017, 6 (9) : 86. DOI: 10. 3390/jcm6090086.
- [20] 冯真真, 钱磊, 赵琳, 等. 2 型糖尿病和糖尿病肾病患者肠道菌群失衡模式及功能变化的研究 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2022, 31 (2) : 203-207. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-5709. 2022. 02. 016.
- [21] 孙雅娴. 早期肾功改变的 2 型糖尿病患者肠道菌群分析研究 [D]. 大连: 大连医科大学, 2016.
- [22] 林浩, 文剑波. 肠道菌群失调与糖尿病肾病的关系研究 [J]. 实用糖尿病杂志, 2020, 16 (5) : 125-126.
- [23] Wang SP, Zhang W, Cao AZ, et al. Dietary supplementation of bile acids in Tongue Sole (*Cynoglossus semilaevis*): a promising strategy to improve hepatic health status [J]. Front Mar Sci, 2022, 9, 899768. DOI: 10. 3389/fmars. 2022. 899768.
- [24] Makki K, Brolin H, Petersen N, et al. 6 α -hydroxylated bile acids mediate TGR5 signalling to improve glucose metabolism upon dietary fiber supplementation in mice [J]. Gut, 2023, 72 (2) : 314-324. DOI: 10. 1136/gutjnl-2021-326541.
- [25] Xu J, Yao X, Li X, et al. Bile acids reduced the lipid deposition in fatty degenerated hepatocytes of Pearl Gentian Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* δ \times *Epinephelus lanceolatus* η) in vitro [J]. Front Mar Sci, 2022, 9.
- [26] Fuchs CD, Dixon ED, Hendriks T, et al. Tetrahydroxylated bile acids improve cholestatic liver and bile duct injury in the Mdr2 $^{-/-}$ mouse model of sclerosing cholangitis via immunomodulatory effects [J]. Hepatol Commun, 2022, 6 (9) : 2368-2378. DOI: 10. 1002/hep4. 1998.
- [27] Zhang C, Zhang M, Pang X, et al. Structural resilience of the gut microbiota in adult mice under high-fat dietary perturbations [J]. ISME J, 2012, 6 (10) : 1848-1857. DOI: 10. 1038/ismej. 2012. 27.
- [28] Huang C, Chen J, Wang J, et al. Dysbiosis of intestinal microbiota and decreased antimicrobial peptide level in paneth cells during hypertriglyceridemia-related acute necrotizing pancreatitis in rats [J]. Front Microbiol, 2017, 8: 776. DOI: 10. 3389/fmicb. 2017. 00776.
- [29] Carding S, Verbeke K, Vipond DT, et al. Dysbiosis of the gut microbiota in disease [J]. Microb Ecol Health Dis, 2015, 26: 26191. DOI: 10. 3402/mehd. v26. 26191.
- [30] Luo Q, Hu Y, Chen X, et al. Effects of gut microbiota and metabolites on heart failure and its risk factors: a two-sample mendelian randomization study [J]. Front Nutr, 2022, 9: 899746. DOI: 10. 3389/fnut. 2022. 899746.
- [31] Tran N, Chaidee A, Surapinit A, et al. Strongyloides stercoralis infection reduces fusicatenibacter and anaerostipes in the gut and increases bacterial amino-acid metabolism in early-stage chronic kidney disease [J]. Heliyon, 2023, 9 (9) : e19859. DOI: 10. 1016/j. heliyon. 2023. e19859.

(收稿日期 2023-12-01)

(本文编辑: 甘慧敏)