

[文章编号] 1671-587X(2024)05-1381-09

DOI:10.13481/j.1671-587X.20240523

## 基于肠道菌群与妊娠期糖尿病因果关联的孟德尔随机化分析

刘志飞<sup>1</sup>, 毕亚茹<sup>2</sup>, 孙成林<sup>2,3</sup>, 田肃岩<sup>1</sup>

(1. 吉林大学第一医院临床研究部, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学第一医院内分泌代谢科, 吉林 长春 130021; 3. 吉林大学第一医院临床营养科, 吉林 长春 130021)

**[摘要]** **目的:** 探讨肠道菌群与妊娠期糖尿病发病风险之间的因果关联, 阐明其作用机制。**方法:** 采用肠道菌群和妊娠期糖尿病的全基因组关联研究(GWAS)汇总数据进行两样本孟德尔随机化(MR)研究。肠道菌群数据来自MiBioGen联盟的一项GWAS, 妊娠期糖尿病数据来自FinnGen联盟R8公开数据。采用逆方差加权(IVW)法分析肠道菌群和妊娠期糖尿病之间的因果关联, 采用加权中值法和MR Egger法进行敏感性分析, 采用Cochran's Q检验、MR-PRESSO、Egger截距检验和留一法检验异质性和多效性, 采用多变量MR校正体质量指数(BMI)的影响, 采用反向MR检测是否存在反向因果关联, 采用基因本体论(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析肠道菌群影响妊娠期糖尿病的可能通路。**结果:** 4种肠道菌群与妊娠期糖尿病存在因果关联, 其中甲烷短杆菌属和广古菌门与妊娠期糖尿病发病风险呈负向因果关联, 乳酸杆菌属和拉克氏梭状芽孢杆菌属与妊娠期糖尿病发病风险呈正向因果关联; 未检测到显著异质性和水平多效性。反向MR分析未发现显著反向因果关联。在校正BMI后进行多变量MR分析, 乳酸杆菌属和广古菌门与妊娠期糖尿病风险之间有因果关联。GO功能富集分析和KEGG信号通路富集分析显示轴突发育、昼夜节律和胰岛素分泌等通路显著富集。**结论:** 4种肠道菌群与妊娠期糖尿病风险之间存在因果关联, 在校正BMI后广古菌门和乳酸杆菌属仍与妊娠期糖尿病发病风险存在因果关联。

**[关键词]** 妊娠期糖尿病; 肠道菌群; 孟德尔随机化; 富集分析; 因果关联

**[中图分类号]** R587.1 **[文献标志码]** A

## Mendelian randomization analysis based on causal relationship between gut microbiota and gestational diabetes mellitus

LIU Zhifei<sup>1</sup>, BI Yaru<sup>2</sup>, SUN Chenglin<sup>2,3</sup>, TIAN Suyan<sup>1</sup>

(1. Department of Clinical Research, First Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Department of Endocrinology and Metabolism, First Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China; 3. Department of Clinical Nutrition, First Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China)

**ABSTRACT** **Objective:** To analyze the causal relationship between gut microbiota and gestational diabetes, and to clarify its mechanism. **Methods:** Two-sample Mendelian randomization(MR) analysis was conducted by using summary data from genome-wide association study (GWAS) for gut microbiota and gestational diabetes. The GWAS data of gut microbiota were obtained from a GWAS study from the MiBioGen consortium; the GWAS data on gestational diabetes were sourced from the FinnGen consortium's

[收稿日期] 2023-11-27

[基金项目] 吉林省科技厅自然科学基金项目(YDZJ202201ZYTS121, 20230505002ZP); 吉林省卫健委科技能力提升计划项目(2023LC008)

[作者简介] 刘志飞(1999-), 男, 江西省吉安市人, 在读硕士研究生, 主要从事糖尿病和营养方面的研究。

[通信作者] 孙成林, 副教授, 主任医师, 博士研究生导师(E-mail: clsun213@163.com)

publicly available R8 dataset; inverse variance weighted (IVW) method was used as the primary method to detect the causal association between the gut microbiota and the gestational diabetes. Sensitivity analysis was performed by Weighted Median and MR Egger methods; heterogeneity and pleiotropy were detected by Cochran's Q, MR-PRESSO, Egger intercept tests and Leave-One-Out analysis; multivariable MR was used to adjust for the effect of body mass index (BMI); reverse MR was used to explore the presence of reverse causal associations; Gene Ontology (GO) functional and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) signaling enrichment analyses were used to explore the potential pathways through which gut microbiota may have impact on gestational diabetes. **Results:** Four gut microbes were found to be causally associated with gestational diabetes: the genus *Methanobrevibacter* and the phylum *Euryarchaeota* displayed negative causal relationships with the risk of gestational diabetes, while the genus *Olsenella* and genus *Lachnoclostridium* exhibited positive causal associations. No significant heterogeneity or horizontal pleiotropy was detected in the analysis. The reverse MR analysis did not reveal any causal relationship. After adjusting for BMI, the multivariable MR analysis results showed there were the causal associations between the genus *Olsenella* and the phylum *Euryarchaeota* with the risk of gestational diabetes. The GO functional and KEGG signaling pathway enrichment analyses results showed that axon development, axon production, insulin secretion and other pathways were significantly enriched. **Conclusion:** There are causal associations between four gut microbes and gestational diabetes. Among them, the significant correlations with gestational diabetes are still observed in phylum *Euryarchaeota* and genus *Olsenella* after adjusting for BMI.

**KEYWORDS** Gestational diabetes; Gut microbiota; Mendelian randomization; Enrichment analysis; Causal association

妊娠期糖尿病是指女性在妊娠期内首次出现高血糖症状,是妊娠最常见的并发症之一,全世界妊娠期糖尿病患病率高达14%<sup>[1]</sup>。多数妊娠期糖尿病患者,在分娩后糖代谢能恢复正常,但1/3的患者产后筛查发现糖尿病或葡萄糖代谢受损,约60%的妊娠期糖尿病患者最终会发展为糖尿病<sup>[2-3]</sup>。妊娠期糖尿病患者生育的后代肥胖、糖耐量异常和糖尿病风险也会增加<sup>[4]</sup>。妊娠期糖尿病对孕产妇及其后代的健康产生长期影响,对人群健康构成潜在威胁,应高度重视。

肠道菌群是指消化道内的复杂微生物群落,对机体的代谢、免疫和营养吸收有至关重要的作用。研究<sup>[2]</sup>显示:肠道菌群紊乱会影响肠道炎症反应和体内糖脂代谢,干扰胰岛素的正常功能,诱导胰岛素抵抗,诱发胰岛细胞功能受损,进而可能导致妊娠期糖尿病,但目前其具体机制尚不明确。研究<sup>[5-6]</sup>显示:肠道菌群与妊娠期糖尿病之间存在关联,妊娠期糖尿病患者肠道菌群发生明显改变。有益菌群如双歧杆菌和乳酸菌的丰度降低,而有害菌群如肠球菌及变形菌等的丰度升高。一项队列研究<sup>[7]</sup>显示:部分肠道菌群改变与妊娠期糖尿病发生风险相关,肠道菌群可作为妊娠期糖尿病早期诊

断的生物标志物。然而,评估肠道菌群与妊娠期糖尿病之间的关系容易受到环境、饮食模式和生活方式等混杂因素的影响。

孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)利用遗传变异作为暴露的工具变量来估计暴露与结局之间的因果关系,可以有效避免混杂因素的影响,消除反向因果关系的干扰。目前,该方法已被广泛应用于评估暴露和结局之间的潜在因果关联。本研究采用MiBioGen和FinnGen联盟的大样本全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)汇总数据,进行肠道菌群和妊娠期糖尿病的MR研究,探讨肠道菌群与妊娠期糖尿病之间的因果关联,为研究妊娠期糖尿病发病机制及其预防和治疗手段提供依据。

## 1 资料与方法

**1.1 数据来源** 选择与人类肠道菌群相关的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)作为工具变量,SNP来自MiBioGen联盟公开发布的GWAS数据库<sup>[8]</sup>。该数据库来自一项大规模国际合作的肠道菌群研究,包含24个队列18 340名健康受试者(欧洲血统13 266名)的16S核糖体RNA基因测序和基因型数据,共包括

211个肠道菌群分类群(131属, 35科, 20目, 16纲, 9门), 排除15个无物种名的分类群, 本研究最终纳入196个肠道菌群分类群。

妊娠期糖尿病的GWAS汇总数据来自FinnGen联盟的R8公开数据<sup>[9]</sup>, 该研究包括190 879名芬兰成年女性受试者(病例11 279例, 对照179 600名), 通过国际疾病分类(International Classification of Diseases, ICD)确保纳入病例为妊娠期糖尿病(ICD-10: O24.4, ICD-9: 6488A)患者。进行多变量MR校正使用的体质量指数(body mass index, BMI)GWAS汇总数据来自于英国生物银行, 数据从英国布里斯托大学医学研究理事会综合流行病学组(Integrative Epidemiology Unit, IEU) OpenGWAS项目中获取<sup>[10]</sup>, 样本量461 460例, GWAS ID为“ukb-b-19953”。

通过基因表达汇编(Gene Expression Omnibus, GEO)数据库下载妊娠期糖尿病数据集GSE203346<sup>[11]</sup>, 种属为Homo sapiens, 数据集内包含21例妊娠期糖尿病孕妇和20名健康孕妇的胎盘血及其胎儿脐带血样本RNA-seq测序结果。由于本研究不涉及妊娠期糖尿病子代, 因此只选择胎盘血样本测序结果进行分析。

**1.2 工具变量选择** 遗传变异作为工具变量需要满足以下3个核心假设: ①遗传变异必须与暴露强相关; ②遗传变异不能与任何可能的混杂因素相关; ③遗传变异只能通过暴露与结局相关。肠道菌群工具变量的筛选采取以下标准: ①将肠道菌群SNP的全基因组显著性阈值设为 $1 \times 10^{-5}$ , 采用 $\beta^2/se^2$ 计算F统计量, 以排除弱工具变量( $F < 10$ ); ②采用千人基因组计划的欧洲样本数据<sup>[12]</sup>计算SNP之间的连锁不平衡, 保留 $R^2 < 0.001$  (clumping window size = 10 000 kb)的SNP; 当GWAS结果数据中无与暴露相关的SNP时, 选择代理SNP( $R^2 > 0.8$ ); ③去除次要等位基因频率 $\leq 0.01$ 的SNP; ④当存在回文SNP时, 采用等位基因频率信息推断出正向链等位基因; ⑤采用PhenoScanner网页工具(<http://www.phenoscanter.medschl.cam.ac.uk/>)搜索逆方差加权(inverse variance weighted, IVW)法阳性的SNP进行筛选, 排除与混杂因素相关的SNP后继续进行分析。

**1.3 MR方法** 以IVW法为主要方法进行双样本单变量MR分析, 采用MR Egger和加权中值法进行敏感性分析。IVW法汇总合并每个遗传变异对

应的Wald估计效应值, 获得暴露对结局效应的整体估计<sup>[13]</sup>。当所有遗传变异均满足工具变量核心假设时, 汇总后的效应值即为暴露对结局的因果效应值。IVW法不考虑截距项的存在, 而MR Egger法将截距项作为分析的一部分进行估计, 如果遗传变异不满足只能通过暴露与结局相关联的假设, 但满足较弱的遗传变异多效性对结局的效应独立于遗传变异对暴露因子的效应假设时, 也可以对因果效应进行估计, 其统计效能低于IVW法<sup>[13]</sup>。加权中值法对每个遗传变异的Wald估计效应值进行加权, 采用加权后的中位数作为暴露对结局的因果效应值。加权中值法允许使用无效工具变量进行分析, 只要遗传变异中至少一半有效就可以进行因果估计<sup>[13]</sup>。本研究还采用留一法逐个剔除每个SNP后, 采用剩余SNP以IVW方法重新进行分析, 观察是否存在对结局影响较大的SNP。水平多效性是指遗传变异通过暴露因素以外的其他因素来影响结局, 违反工具变量基本假设。MR Egger法的截距项可以用于判断水平多效性的存在, 如果截距项与0存在显著性差异, 则表示存在水平多效性。采用MR-PRESSO方法评估水平多效性的存在, 并识别离群值。采用Cochran's Q检验判断工具变量的效应估计值之间是否存在异质性。

肥胖可引起局部和全身低度炎症进而增加妊娠期糖尿病的发病风险, 同时可能影响肠道菌群的组成<sup>[2, 6]</sup>, 是肠道菌群和妊娠期糖尿病关联的重要混杂因素。本研究采用多变量MR分析对BMI进行校正, 进一步确保肠道菌群和妊娠期糖尿病之间因果关联的稳健性。此外将暴露和结局调换, 以妊娠期糖尿病作为暴露, 肠道菌群作为结局, 进行反向MR分析, 判断是否存在反向因果关系。

**1.4 基因本体论(Gene Ontology, GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)信号通路富集分析** 为进一步探讨肠道菌群与妊娠期糖尿病发病可能相关的作用通路, 采用变异效应预测器(variant effect predictor, VEP)网页工具(<https://useast.ensembl.org/>)将肠道菌群相关SNP映射到附近基因; 从妊娠期糖尿病数据集的相关文献中获取其差异表达基因<sup>[11]</sup>, 其中差异基因筛选标准为 $P < 0.05$ 且倍数变化(fold change, FC)的对数值( $|\log_2 FC|$ )  $> 1$ 。对肠道菌群相关基因和妊娠期糖尿病差异表达基因的共同基因采用

clusterProfiler包进行GO功能富集分析和KEGG信号通路富集分析。

采用R软件(<https://www.rproject.org/>)进行统计学分析,主要采用的R语言软件包为TwoSampleMR、clusterProfiler和MRPRESSO。

## 2 结果

**2.1 肠道菌群与妊娠期糖尿病的因果关联** 根据工具变量的筛选标准,总共2 032个SNP被用作

196个肠道菌群分类群的工具变量。所有工具变量 $F > 10$ ,表明不存在弱工具变量偏倚;采用MR-PRESSO法检验异常点,并将发现的异常点去除后再进行分析。见图1。IVW法作为显示10个肠道菌群分类群与妊娠期糖尿病存在显著关联:广古菌门、拟杆菌科、甲烷短杆菌属、丁酸单胞菌、颤杆菌属、霍华德氏菌属、龛乳杆菌属、乳杆菌属、拉克氏梭状芽孢杆菌属、拟杆菌属和类杆菌属。

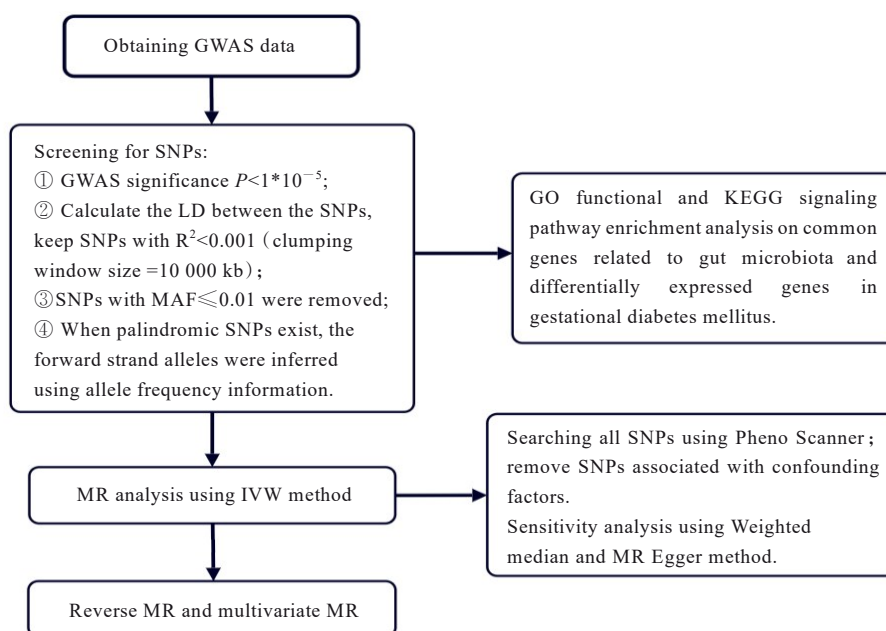


图1 肠道菌群与妊娠期糖尿病因果关联分析的流程

Fig. 1 Flow chart of analysis on causal relationship between gut microbiota and gestational diabetes mellitus

采用PhenoScanner网页工具查询上述10个肠道菌群分类群的所有SNP,发现rs72814525(丁酸单胞菌的SNP之一)和rs1530559(乳杆菌属的SNP之一)与躯干脂肪率和体脂率等因素相关。原有分析错误纳入了上述2个SNP,将其去除后采用IVW法进行分析发现:丁酸单胞菌与妊娠期糖尿病之间的无显著关联,乳杆菌属与妊娠期糖尿病之间的有显著关联。最终确定9个肠道菌群分类群与妊娠期糖尿病存在显著因果关联,其中4个肠道菌群分类群与妊娠期糖尿病存在负向因果关联,5个肠道菌群分类群与妊娠期糖尿病存在正向因果关联,见图2。采用加权中值法和MR Egger法进行敏感性分析,4种肠道菌群分类群与妊娠期糖尿病在2种及以上方法中存在因果关联,见表1。

甲烷短杆菌属丰度升高与妊娠期糖尿病风险降

低有关(IVW法:  $OR = 0.863$ ,  $P = 0.032$ ; 加权中值法:  $OR = 0.847$ ,  $P = 0.034$ )。广古菌门丰度升高与妊娠期糖尿病风险降低相关,3种方法得到的效应估计值方向一致(IVW法:  $OR = 0.908$ ,  $P = 0.018$ ; 加权中值法:  $OR = 0.899$ ,  $P = 0.047$ ; MR Egger法:  $OR = 0.618$ ,  $P = 0.023$ )。龛乳杆菌属丰度升高与妊娠期糖尿病风险升高有关(IVW法:  $OR = 1.101$ ,  $P = 0.046$ ; 加权中值法:  $OR = 1.161$ ,  $P = 0.007$ )。在IVW和加权中值法中,拉克氏梭状芽孢杆菌属与妊娠期糖尿病存在显著因果关联,其丰度升高将导致妊娠期糖尿病风险升高(IVW法:  $OR = 1.201$ ,  $P = 0.016$ ; 加权中值法:  $OR = 1.261$ ,  $P = 0.030$ )。采用留一法逐步剔除每个SNP对整体因果估计的影响,发现9种肠道菌群均存在对结局影响较大的SNP; MR Egger法的截

距项检验发现不存在显著方向性水平多效性 ( $P > 0.05$ ); 此外 MR PRESSO 检验并未发现显著水平多效性 ( $P > 0.05$ ); Cochran's Q 检验表明不存在显著异质性 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

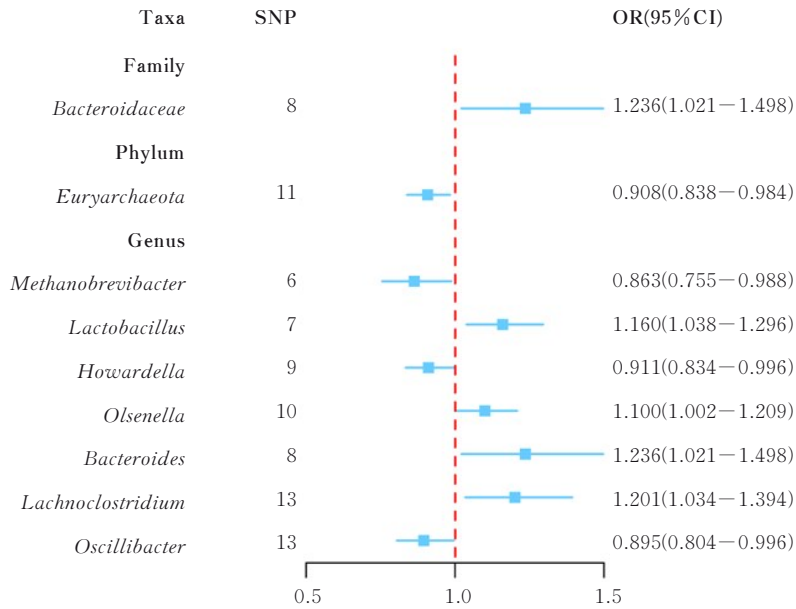


图 2 IVW 法估计的肠道菌群与妊娠期糖尿病因果效应森林图

Fig. 2 Forest chart of causal effect between gut microbiota and gestational diabetes mellitus estimated by IVW method

表 1 肠道菌群与妊娠期糖尿病因果效应估计

Tab. 1 Estimation of causal effect between gut microbiota and gestational diabetes mellitus

Gut microbiota	Method	$\beta$	OR (95%CI)	$P$	$P$ value of MR-PRESSO	Cochran's Q test( $P$ )
Genus <i>Methanobrevibacter</i>	IVW	-0.147	0.863(0.754–0.988)	0.032	0.288	7.354(0.196)
	Weighted median	-0.166	0.847(0.726–0.989)	0.034		
	MR Egger	-0.352	0.703(0.416–1.189)	0.259		
	MR Egger(intercept)	0.030	—	0.471		
Phylum <i>Euryarchaeota</i>	IVW	-0.096	0.908(0.838–0.984)	0.018	0.418	10.717(0.380)
	Weighted median	-0.107	0.899(0.808–0.999)	0.047		
	MR Egger	-0.482	0.618(0.438–0.870)	0.023		
	MR Egger(intercept)	0.055	—	0.050		
Genus <i>Olsenella</i>	IVW	0.096	1.101(1.002–1.209)	0.046	0.183	13.167(0.155)
	Weighted median	0.149	1.161(1.042–1.293)	0.007		
	MR Egger	0.186	1.204(0.88–1.648)	0.277		
	MR Egger(intercept)	-0.013	—	0.566		
Genus <i>Lachnoclostridium</i>	IVW	0.183	1.201(1.035–1.394)	0.016	0.560	11.194(0.512)
	Weighted median	0.232	1.261(1.023–1.555)	0.030		
	MR Egger	-0.019	0.981(0.592–1.627)	0.943		
	MR Egger(intercept)	0.014	—	0.431		

“—”: Intercept can't be used to calculate OR.

2.2 多变量和反向 MR 分析 采用多变量 MR 方法校正 BMI 后, 进一步确定了龛乳杆菌属和广古菌门与妊娠期糖尿病的因果关联, 见表 2。反向

MR 分析发现妊娠期糖尿病对肠道菌群不存在显著反向因果效应。

表2 BMI校正后肠道菌群与妊娠期糖尿病因果关联

Tab. 2 Causal correlation between gut microbiota and gestational diabetes mellitus after BMI adjustment

Gut microbiota	$\beta$	SE	OR(95%CI)	P
Genus <i>Methanobrevibacter</i>	-0.145	0.082	0.865(0.737-1.016)	0.078
Genus <i>Oscillibacter</i>	-0.091	0.070	0.912(0.796-1.047)	0.191
Phylum <i>Euryarchaeota</i>	-0.116	0.048	0.890(0.810-0.978)	0.016
Genus <i>Howardella</i>	-0.113	0.051	0.812(0.716-0.922)	0.001
Genus <i>Olsenella</i>	0.110	0.048	1.116(1.015-1.227)	0.023
Genus <i>Lactobacillus</i>	0.145	0.038	1.155(1.073-1.245)	1.293E-4
Genus <i>Lachnoclostridium</i>	0.152	0.105	1.164(0.948-1.429)	0.147
Family <i>Bacteroidaceae</i>	0.217	0.080	1.243(1.062-1.455)	0.007
Genus <i>Bacteroides</i>	0.217	0.080	1.243(1.062-1.455)	0.007

**2.3 GO功能富集分析和KEGG信号通路富集分析** 采用VEP网页工具发现肠道菌群相关基因1 979个;对妊娠期糖尿病RNA-seq数据集进行差异表达分析,1 001个基因上调,441个基因下调。肠道菌群相关基因和妊娠期糖尿病差异表达基因有531个共同基因,对其进行GO功能富集分析和KEGG信号通路富集分析。GO功能富集分析结果

显示:221个GO条目被富集,前10个条目为神经元投射发育调节、轴突生成、轴突引导、神经元投射引导和突触前组织等,见图3A。KEGG信号通路富集分析结果显示:24条通路被富集,前10条富集通路为cAMP信号通路、轴突引导、钙离子信号通道、胰岛素分泌和昼夜节律等,见图3B。

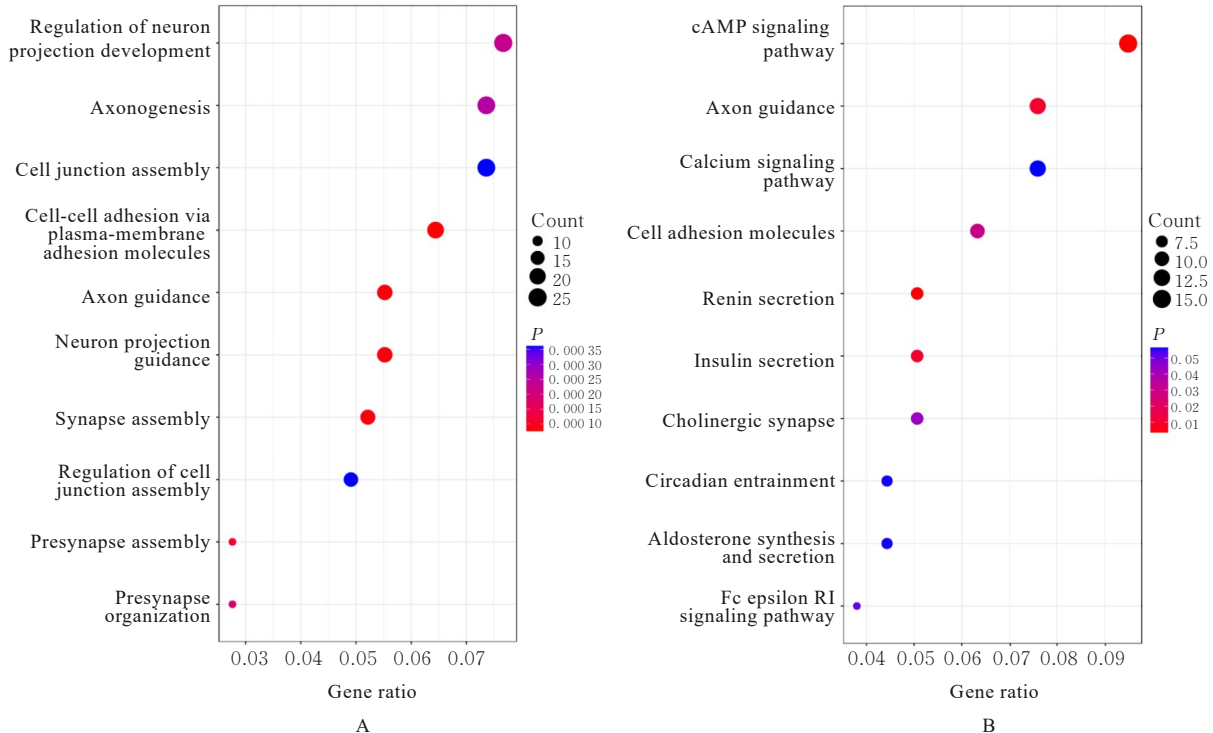


图3 GO功能富集分析和KEGG信号通路富集分析图

Fig. 3 GO functional and KEGG signaling pathway enrichment analysis diagrams

### 3 讨论

妊娠期糖尿病是妊娠期最常见的并发症之一。

妊娠期糖尿病通常是由妊娠期慢性胰岛素抵抗背景下胰岛 $\beta$ 细胞功能障碍导致。现有研究<sup>[2]</sup>显示:妊

妊娠期糖尿病发病可能与炎症、氧化应激和脂质代谢异常有关,但其具体机制尚未明确。肠道菌群对机体的免疫和代谢过程产生重要影响,肠道菌群变化在肥胖、胰岛素抵抗和慢性炎症发展中起至关重要的作用<sup>[6]</sup>。目前,多项研究<sup>[6-7, 13]</sup>结果显示:肠道菌群与妊娠期糖尿病之间存在联系,但尚无因果关联证据。MR方法采用遗传变异作为暴露的工具变量来估计暴露与结局之间的因果关系。在配子结合为受精卵时,亲代等位基因随机分配给子代,采用遗传变异作为工具变量的暴露被随机分配。受精卵形成后,遗传变异已经确定,不会受到常见混杂因素的影响,且结局在确定暴露水平后发生,因果时序关系合理。本研究基于MiBioGen和FinnGen联盟的GWAS汇总数据,对肠道菌群和妊娠期糖尿病之间的因果关系进行分析。采用多种MR方法对196种肠道菌群进行研究,结果显示:4种肠道菌群与妊娠期糖尿病的发病风险在2种及以上方法中存在因果联系,其中甲烷短杆菌属和广古菌门丰度升高与妊娠期糖尿病风险降低有关,龈乳杆菌属和拉克氏梭状芽孢杆菌属丰度升高与妊娠期糖尿病风险升高有关。采用多变量孟德尔随机化分析对BMI进行校正,进一步确定了龈乳杆菌属和广古菌门与妊娠期糖尿病存在因果关联。

研究<sup>[14]</sup>显示:拉克氏梭状芽孢杆菌属能在肠道内将胆碱和肉碱等裂解为三甲胺(trimethylamine, TMA),TMA在肝脏内被黄素单加氧酶氧化为氧化三甲胺(trimethylamine oxide, TMAO)。多项研究<sup>[15-16]</sup>显示:TMAO与心血管疾病、代谢综合征和慢性肾脏疾病等的发生发展存在相关性,TMAO可能通过调节脂质代谢、炎症反应和能量平衡等途径影响代谢过程。研究<sup>[17]</sup>显示:血浆TMAO浓度与糖尿病发病风险呈正相关。拉克氏梭状芽孢杆菌属可能通过TMAO使妊娠期糖尿病的风险升高。甲烷短杆菌属将TMA作为生长底物进行代谢分解,能降低机体血液中TMAO浓度<sup>[18]</sup>,因此甲烷短杆菌属可能通过降低TMAO浓度进而降低妊娠期糖尿病风险。另外,研究<sup>[19]</sup>显示:龈乳杆菌属可能与不饱和脂肪酸合成相关。一项队列研究<sup>[20]</sup>显示:妊娠早期n-6脂肪酸和n-3脂肪酸水平降低,n-6/n-3比值升高。研究<sup>[21]</sup>显示:n-6/n-3脂肪酸比值升高与氧化应激反应有关,可能引起炎症和免疫反应。一项动物研究<sup>[22]</sup>显示:龈乳杆菌属丰度与炎症有关,当炎症

性高热引起宿主肠道微生物群紊乱时,龈乳杆菌属丰度升高,从而进一步加剧炎症反应。另一项动物研究<sup>[23]</sup>显示:龈乳杆菌属丰度下调可以降低组织发生炎症的可能性。炎症是妊娠期糖尿病发生发展的重要机制<sup>[2]</sup>,龈乳杆菌属可能通过影响炎症反应进而影响妊娠期糖尿病的发生。

MR分析还发现了一些有提示作用的肠道菌群。有多项研究<sup>[7, 24-26]</sup>显示:类杆菌属与妊娠期糖尿病存在关联。作为肠道优势革兰阴性菌群,类杆菌属参与脂肪和胆汁酸的新陈代谢,维持宿主的能量平衡。有研究<sup>[7]</sup>观察到妊娠期糖尿病患者中类杆菌属丰度升高。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是源自革兰阴性细菌外膜的促炎化合物,已有研究<sup>[24]</sup>显示:LPS是导致胰岛素抵抗、肥胖和糖尿病的炎症因子。类杆菌属是人体LPS的主要来源之一,内源性LPS产生并转运到靶组织后,与免疫细胞表面的mCD14和TLR4复合物结合,上调促炎细胞因子的分泌<sup>[25]</sup>,进而促进胰岛素抵抗<sup>[26]</sup>。类杆菌属可能通过LPS导致胰岛素抵抗进而促进妊娠期糖尿病的发生。

本研究GO功能富集分析结果显示:神经元投射发育调节、轴突生成和轴突引导等细胞成分和生物学过程条目被富集。KEGG信号通路富集分析结果显示:cAMP信号通路、轴突引导、胰岛素分泌和昼夜节律等相关通路被富集。昼夜节律是机体内部分节律,对于生物体内平衡至关重要。肠道菌群代谢物能影响宿主生物钟基因表达和睡眠持续时间,肠道菌群失调与睡眠碎片化和睡眠时间过短有关<sup>[27]</sup>。研究<sup>[28]</sup>显示:妊娠期糖尿病风险增加与睡眠障碍有关。肠道菌群失调可能通过影响昼夜节律进而促进妊娠期糖尿病的发生。胰岛素分泌在妊娠期糖尿病发生发展中起重要作用<sup>[2]</sup>。研究<sup>[29-30]</sup>显示:肠道菌群可以影响胰岛 $\beta$ 细胞增殖和胰岛素分泌。肠道菌群可能通过影响胰岛素分泌进而影响妊娠期糖尿病的发生发展<sup>[31]</sup>。

本研究基于GWAS汇总数据,采用MR方法检验196种肠道菌群分类群与妊娠期糖尿病之间的因果关联,避免了混杂偏倚和反向因果的影响,最终确定了各种肠道菌群与妊娠期糖尿病的关联。同时本研究存在一些局限性。首先,肠道菌群GWAS仅包含属以上的肠道菌群分类群,缺乏更具体的分类群数据;其次,本研究GWAS汇总数据主要来自于欧洲人群,限制了研究结果的外推

性;最后,本研究采用的肠道菌群GWAS未限制性,包括了男性,可能会导致因果效应估计的偏差。本研究首次结合单变量和多变量MR方法综合评估了肠道菌群与妊娠期糖尿病之间的潜在因果关系,确定了4种肠道菌群和妊娠期糖尿病的因果关系,其中2种菌群在校正BMI后与妊娠期糖尿病仍然存在关联,本研究结论为探讨肠道菌群在妊娠期糖尿病发生过程中的作用提供了依据。

#### 利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

#### 作者贡献声明:

田肃岩和孙成林参与研究的整体设计,毕亚茹和刘志飞参与论文的统计学分析,刘志飞参与论文撰写。

#### [参考文献]

- [1] WANG H, LI N, CHIVISE T, et al. IDF diabetes atlas: estimation of global and regional gestational diabetes mellitus prevalence for 2021 by international association of diabetes in pregnancy study group's criteria [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183: 109050.
- [2] PLOWS J F, STANLEY J L, BAKER P N, et al. The pathophysiology of gestational diabetes mellitus [J]. *Internat J Molecul Sci*, 2018, 19(11): 3342.
- [3] PETERS R K, KJOS S L, XIANG A, et al. Long-term diabetogenic effect of single pregnancy in women with previous gestational diabetes mellitus [J]. *Lancet (London, England)*, 1996, 347(8996): 227-230.
- [4] DABELEA D, HANSON R L, LINDSAY R S, et al. Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships [J]. *Diabetes*, 2000, 49(12): 2208-2211.
- [5] BIELKA W, PRZEZAK A, PAWLIK A. The role of the gut microbiota in the pathogenesis of diabetes [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(1): 480.
- [6] IONESCU R F, ENACHE R M, CRETOIU S M, et al. Gut microbiome changes in gestational diabetes [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(21): 12839.
- [7] MEDICI DUALIB P, OGASSAVARA J, MATTAR R, et al. Gut microbiota and gestational diabetes mellitus: a systematic review [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2021, 180: 109078.
- [8] 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.
- [9] KURKI M I, KARJALAINEN J, PALTA P, et al. FinnGen provides genetic insights from a well-phenotyped isolated population [J]. *Nature*, 2023, 613(7944): 508-518.
- [10] ELSWORTH B, LYON M, ALEXANDER T, et al. The MRC IEU OpenGWAS data infrastructure [J]. *bioRxiv*, 2020.08.01.244293v1.
- [11] LU S, WANG J H, KAKONGOMA N, et al. DNA methylation and expression profiles of placenta and umbilical cord blood reveal the characteristics of gestational diabetes mellitus patients and offspring [J]. *Clin Epigenetics*, 2022, 14(1): 69.
- [12] Birney E, Soranzo N. The end of the start for population sequencing [J]. *Nature*, 2015, 526: 52-53.
- [13] BOWDEN J, HOLMES M V. Meta-analysis and Mendelian randomization: a review [J]. *Res Synth Methods*, 2019, 10(4): 486-496.
- [14] FARHAT S, HEMMATABADI M, EJTAHED H S, et al. Microbiome alterations in women with gestational diabetes mellitus and their offspring: a systematic review [J]. *Front Endocrinol*, 2022, 13: 1060488.
- [15] CAI Y Y, HUANG F Q, LAO X Z, et al. Integrated metagenomics identifies a crucial role for trimethylamine-producing *Lachnoclostridium* in promoting atherosclerosis [J]. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2022, 8(1): 11.
- [16] AL-OBAIDE M A I, 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.
- [17] ZHU W F, GREGORY J C, ORG E, et al. Gut microbial metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk [J]. *Cell*, 2016, 165(1): 111-124.
- [18] LI P Y, ZHONG C R, LI S Z, et al. Plasma concentration of trimethylamine-N-oxide and risk of gestational diabetes mellitus [J]. *Am J Clin Nutr*, 2018, 108(3): 603-610.
- [19] RAMEZANI A, NOLIN T D, BARROWS I R, et al. Gut colonization with methanogenic Archaea lowers plasma trimethylamine N-oxide concentrations in apolipoprotein E<sup>-/-</sup> mice [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 14752.
- [20] ZHAN Q T, QI X C, WENG R P, et al. Alterations of the human gut microbiota in intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 635680.
- [21] WADHWANI N S, NARANG A S, MEHENDALE S S, et al. Reduced maternal erythrocyte long chain

- polyunsaturated fatty acids exist in early pregnancy in preeclampsia[J]. *Lipids*, 2016, 51(1): 85-94.
- [22] DEVARSHI P P, GRANT R W, IKONTE C J, et al. Maternal omega-3 nutrition, placental transfer and fetal brain development in gestational diabetes and preeclampsia[J]. *Nutrients*, 2019, 11(5): 1107.
- [23] GAO Y, LIU L, LI C, et al. Study on the antipyretic and anti-inflammatory mechanism of Shuanghuanglian oral liquid based on gut microbiota-host metabolism[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 843877.
- [24] MOCANU V, RAJARUBAN S, DANG J, et al. Repeated fecal microbial transplantations and antibiotic pre-treatment are linked to improved clinical response and remission in inflammatory bowel disease: a systematic review and pooled proportion meta-analysis [J]. *J Clin Med*, 2021, 10(5): 959.
- [25] CANI P D, AMAR J, IGLESIAS M A, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance[J]. *Diabetes*, 2007, 56(7): 1761-1772.
- [26] CIESIELSKA A, MATYJEK M, KWIATKOWSKA K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(4): 1233-1261.
- [27] SHI H, KOKOEVA M V, INOUE K, et al. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(11): 3015-3025.
- [28] MATENCHUK B A, MANDHANE P J, KOZYRSKYJ A L. Sleep, circadian rhythm, and gut microbiota[J]. *Sleep Med Rev*, 2020, 53: 101340.
- [29] REUTRAKUL S, VAN CAUTER E. Interactions between sleep, circadian function, and glucose metabolism: implications for risk and severity of diabetes[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2014, 1311: 151-173.
- [30] ZHAI L X, WU J Y, LAM Y Y, et al. Gut-microbial metabolites, probiotics and their roles in type 2 diabetes[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(23): 12846.
- [31] 刘树慧, 金 健, 张锦玉. DPP-4抑制剂参与调控糖尿病肾病机制的研究进展[J]. *延边大学医学学报*, 2024, 47(1): 54-57..