

基于孟德尔随机化分析肠道菌群、血液代谢物和肥胖的因果关系

赵万霞¹,詹群璋¹,金婷²,刘玉新¹,曲崇正³,吴剑纯⁴

(1.广州中医药大学第三临床医学院,广东 广州 510405; 2.广州中医药大学第一临床医学院,广东 广州 510405;

3.广州中医药大学第三附属医院针灸推拿科,广东 广州 510378; 4.广州中医药大学第三附属医院普通外科,广东 广州 510378)

摘要:目的 采用孟德尔随机化方法探讨肠道菌群、血液代谢物和肥胖之间的因果关系。方法 使用 MiBioGen 联盟数据库中人类肠道菌群的全基因组关联分析 (genome-wide association study, GWAS) 数据作为暴露因素,英国医学研究理事会整合流行病学单元开放全基因组关联研究数据库 (MRC Integrative Epidemiology Unit Open GWAS Database, IEU openGWAS) 中肥胖数据作为结局变量,美国国家人类基因组研究所-欧洲生物信息研究所全基因组关联研究资源库 (National Human Genome Research Institute-European Bioinformatics Institute Genome-Wide Association Studies Catalog, NHGRI-EBI GWAS Catalog) 中获得 1 400 种血液代谢物作为中介,使用随机效应逆方差加权法、MR Egger 回归法、加权中位数法、加权众数法和简单众数法等 5 种方法进行两步孟德尔随机化 (two-step Mendelian randomization, TSMR) 和多变量孟德尔随机化 (multivariable Mendelian randomization, MVMR) 探索肠道菌群、血液代谢物、肥胖之间的因果关系,并对孟德尔随机化 (Mendelian randomization, MR) 结果进行敏感性分析,评估结果的稳健性。结果 7 种肠道菌群与肥胖存在因果关系,而肥胖会导致 5 种肠道菌群的变化。在两步 MR 中,霍氏真杆菌属菌群 (genus *Eubacterium hallii* group)、颤螺菌属 (genus *Oscillibacter*)、草酸杆菌属 (genus *Oxalobacter*)、萨特菌属 (genus *Sutterella*) 与肥胖存在因果关系。多变量的 MR 显示草酸杆菌属与肥胖的相关性可能由 5 α -雄烷-3 α ,17 α -二醇单硫酸酯水平介导的,介导比例为 8.504%; 萨特菌属与肥胖的相关性是由胆酸盐与腺苷-5'-单磷酸 (cholate to adenosine 5'-monophosphate, AMP) 比值介导的,介导比例为 12.135%。结论 目前的 MR 研究提供了支持草酸杆菌属、萨特菌属与肥胖以及可能潜在介导代谢物之间因果关系的证据。**关键词:**肠道菌群;肥胖;孟德尔随机化;因果效应;遗传分析

中图分类号:R574;R55

文献标志码:A

Mendelian randomization analysis of the causal relationships between gut microbiota, blood metabolites, and obesity

ZHAO Wanxia¹, ZHAN Qunzhang¹, JIN Ting², LIU Yuxin¹, QU Chongzheng³, WU Jianchun⁴

(1. Third Clinical Medical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong, China;

2. First Clinical Medical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong, China;

3. Department of Acupuncture and Tuina, The Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine,

Guangzhou 510378, Guangdong, China; 4. Department of General Surgery, The Third Affiliated Hospital

of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510378, Guangdong, China)

Abstract: Objective To utilise the Mendelian randomisation method to investigate the causal relationships between gut microbiota, blood metabolites, and obesity. **Methods** The human gut microbiota genome-wide association study (GWAS) data were obtained from the MiBioGen consortium database and utilised as exposure factors. The obesity data were obtained from the MRC Integrative Epidemiology Unit openGWAS database (IEU OpenGWAS) as outcomes. The

data on 1,400 blood metabolites were sourced from the National Human Genome Research Institute-European Bioinformatics Institute Genome-Wide Association Studies Catalog (NHGRI-EBI GWAS Catalog) as mediators. Five methods (random-effects inverse variance weighting, MR Egger regression, weighted median, weighted mode, and simple mode) were employed for two-step Mendelian randomisation (TSMR) and multivariable Mendelian randomisation (MVMR) to explore the causal relationships between gut microbiota, blood metabolites, and obesity. Sensitivity analyses were conducted to assess the robustness of the MR results. **Results** A total of seven gut microbiota taxa were identified as having a causal relationship with obesity, while obesity was found to cause changes in five gut microbiota taxa. In the TSMR analysis, the *genus Eubacterium hallii* group, *genus Oscillibacter*, *genus Oxalobacter*, and *genus Sutterella* were found to be causally associated with obesity. MVMR analysis indicated that the association between *genus Oxalobacter* and obesity may be facilitated by 5 α -androstan-3 α ,17 α -diol monosulfate levels, with a mediation proportion of 8.504%. The association between *genus Sutterella* and obesity was likely mediated by the ratio of cholic acid to adenosine 5'-monophosphate (AMP), with a mediation proportion of 12.135%. **Conclusion** Current MR studies provide evidence supporting a causal relationship between *genus Oxalobacter*, *genus Sutterella* and obesity and potentially mediating metabolites.

Key words: Gut Microbiota; Obesity; Mendelian randomization; Cause-effect; Genetic analysis

肥胖发生率逐年升高,成为威胁人们健康的一个重大问题^[1]。根据世界卫生组织统计,自1990年来,全球的肥胖人数增加了1倍多,并且青少年的肥胖人数增加了3倍。相关研究^[2]表明,肥胖会导致糖尿病^[3]、心血管疾病^[4]等慢性疾病。肠道菌群对维持人类健康有着重要的作用,与肥胖之间可能存在相关性^[5-6]。有研究显示^[7],肥胖人群中有害菌的比例会比健康人多,从而出现肠道菌群紊乱,有益菌出现相对减少,而肠道中的有益菌可以帮助我们改善消化、抵抗病原微生物、促进免疫功能等。肠道菌群中的代谢物也会对肥胖人群造成影响^[8],但两者之间的因果关系目前仍然存在争议,且对于肠道菌群与肥胖之间关系的研究大多数都是病例对照研究,在这些病例对照研究中会出现很多难以避免的混杂因素,因此,难以推断出肠道菌群和肥胖之间的因果关系。有相关的临床和动物研究表明^[9],肠道菌群可能通过调节某些生物活性代谢物的血液水平来影响肥胖,提示肠道菌群、代谢物和肥胖之间可能存在因果关系。因此,本研究的目的是进一步确定可能用于早期诊断和临床治疗靶点的潜在代谢物。

孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)是一种基于遗传变异作为工具变量的因果推断方法,通过有效控制混杂因素及反向因果偏倚,在观察性研究中实现暴露因素对疾病结局的因果效应估计。近年来,许多研究都采用MR来研究肠道菌群与各种疾病之间的因果关系,比如癌症^[10]、痴呆^[11]、心力衰竭^[12]、缺血性脑卒中^[13]等。本研究

采用MR方法来分析肠道菌群和肥胖之间存在的因果关系,探索肥胖的潜在病因,从而寻找出新的防治策略。

1 资料与方法

1.1 研究设计

本研究先进行双样本双向随机分析研究肠道菌群和肥胖之间的因果关系,再选择1400种血液代谢物进行中介分析,最后进行两步MR分析以检测潜在的中介代谢物,第一步MR分析为肠道微生物对代谢物的影响,第二步MR分析为代谢物对肥胖的影响。MR所估计的因果解释主要来源于三个假设,即单核苷酸多态性(single-nucleotide polymorphisms, SNPs)作为工具变量(instrumental variables, IVs)应该满足:①强烈预测暴露;②仅通过暴露与结果相关联;③不与暴露-结果关联的任何混杂因素相关^[14-15]。见图1。

1.2 数据来源

肠道菌群的汇总统计数据来自多种族GWAS荟萃分析,该分析探讨了宿主遗传对肠道菌群的影响,基于MiBioGen联盟(<https://mibiogen.gcc.rug.nl/>)包括来自24个队列的18340人^[15]。本研究包括211个肠道菌群组成成分(包括:131属、35科、20目、16纲、9门)的GWAS汇总数据,用于后续的MR分析^[16-17]。在IEU OpenGWAS数据库(<https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/ukb-b-15541/>)中的肥胖摘要数据包括来自欧洲血统的463010名参与者(4688

例患者和 458 322 人对照)。血液代谢物的汇总统计数据是在 GWAS 目录(<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>)上的研究登录号 GCST90199621-GCST90201020 下获得的,其中包括来自 8 299 名欧洲个体的 1 400 种血液代谢物即 1 091 种血液代谢物和 309 种代谢物比率^[18]。

1.3 统计学处理

1.3.1 工具变量提取

从 GWAS 数据库中挑选 $P < 1 \times 10^{-5}$ 的肠道菌群 SNPs^[19],从 IEU OpenGWAS 数据库中挑选 $P < 5 \times 10^{-8}$ 肥胖和血液代谢物相关的 SNPs,评估这些等位点的连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD) 阈值($r^2 < 0.001$),以确定工具变量之间的独立性。为了确保 IVs 与暴露(肠道菌群)之间的稳健性,本研究计算了每个 SNP 的 F 统计量,并排除了 $F < 10$ 的 SNPs,以避免微弱的工具偏倚^[20-21]。

1.3.2 阐明因果关系的遗传分析

采用双向 MR 分析探讨肠道菌群与肥胖之间的因果关系,传统的 MR 方法逆方差加权法用于效果估计,对于二进制结果,以标准误 $\beta \pm SE$ 值和 95% CI 的 OR 报告,检验水准取 $\alpha = 0.05$ ^[22]。采用 MR Egger 回归法^[23]、加权中位数法^[24]、加权众数法^[25]和简单众数法^[26]进行补充分析。与肥胖相关的所有 211 个肠道菌群的 MR 结果,见图 2。为了控制假阳性发现的比例,所有 IVW 结果使用错误发现率(false discovery rate, FDR)对结果进行矫正,结果以 Q 值表示。与肠道菌群相关的 MR 结果进行 FDR 校正时 Q 值设置为 0.05,为了发现更多潜在血液代谢物的关联性,与血液代谢物相关的 MR 结果进行 FDR 校正时 Q 值设置为 0.2。

1.3.3 “肠道菌群-血液代谢物-肥胖”的中介分析

采用了两种中介方法,两步孟德尔随机化(two-step Mendelian randomization, TSMR)^[27]和多变量孟德尔随机化(multivariable Mendelian randomization, MVMR)^[28]来分析肠道菌群和血液代谢物对肥胖的直接和间接影响。TSMR 假设暴露和中介之间没有相互作用。除了从单变量 MR 分析中获得的肠道菌群对肥胖(β_1)的基本效应估计值外,还计算了另外两个估计值:①中介(1 400 种血液代谢物)对肥胖(β_2)的因果效应;②暴露(主要 MR 分析中肥胖的 10 个重要分类群)对中介(α)的因果效应。最后,进行了 MVMR 作为另一种方法来验证 TSMR 中发现的代谢物的作用。在 MVMR 中,估计了暴露对结局的受控直接影响,在本研究中是指代谢物对肥胖调整菌群(β_2^*)的影响,以及菌群对肥胖调整代谢产物(β_1^*)的影响,而肠道菌群通过代谢物对肥胖的因果影响,可以使用系数乘法($\alpha \times \beta_2^*$)估计^[29]。因此,介导的比例可计算为“间接效应/总效应”($[\alpha \times \beta_2^*] / \beta_1$)。

1.3.4 敏感性分析

利用 IVW 方法的 Cochran Q 检验来评估遗传变异之间的异质性。MR-Egger 回归截距用于检测平均水平多效性。最后,采用留一法分析和 MR-多效性残差和异常值(MR-PRESSO)方法来评估异常值 SNP 是否影响因果关系^[30]。所有 MR 分析均采用 R(4.3.1)版,Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria 中进行,使用“TwoSampleMR”“tidyverse”“ggplot2”“Purrr”“data.table”和“LDlinkR”软件包。

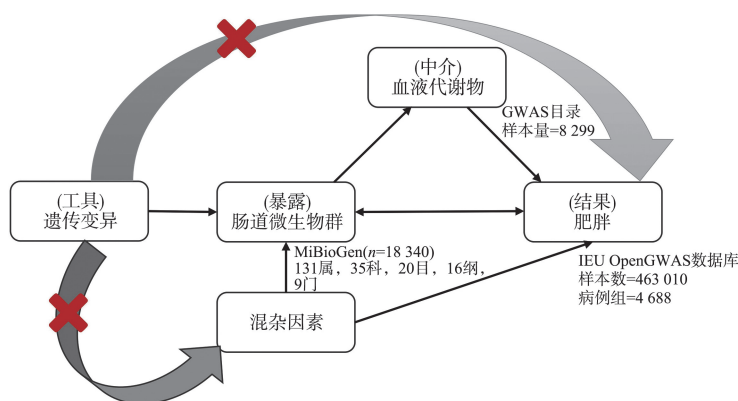


图 1 孟德尔随机化研究流程图

Figure 1 Flow chart of Mendelian randomization study

2 结果

2.1 肠道菌群与肥胖之间的因果影响

211个肠道菌群MR和肥胖的结果如图2所示。根据IVW方法,五个属与肥胖呈负向因果关系,包括艾森伯格氏菌(*genus Eisenbergiella*; OR = 0.998, 95% CI: 0.997~1.000, $P=0.029$)、霍氏真杆菌(*genus Eubacterium hallii group*; OR = 0.997, 95% CI: 0.994~1.000, $P=0.024$)、颤螺菌(*genus Oscillibacter*; OR = 0.998, 95% CI: 0.996~1.000, $P=0.017$)、瘤胃梭菌5(*genus Ruminiclostridium5*; OR = 0.997, 95% CI: 0.994~1.000, $P=0.026$)及瘤胃球菌UCG010(*genus Ruminococcaceae UCG010*; OR = 0.994, 95% CI: 0.990~0.999, $P=0.008$),提示它们可能是肥胖潜在的保护因素,且差异具有统计学意义;在这些重要的类群中,瘤胃梭菌5与和瘤胃球菌UCG010属于梭菌目,艾森伯格氏菌属和霍氏真杆菌属属于厚壁菌门,颤螺菌属属于拟杆菌门。变形菌门中两个属,草酸杆菌(*genus Oxalobacter*; OR =

1.002, 95% CI: 1.001~1.004, $P=0.008$)和萨特菌属(*genus Sutterella*; OR = 1.004, 95% CI: 1.002~1.007, $P<0.001$)与肥胖呈正向因果关系,提示它们可能是潜在的危险因素,且差异具有统计学意义。

IVW方法显示,肥胖与甲烷短杆菌属(*genus Methanobrevibacter*; OR = 0.000, 95% CI: 0.000~0.346, $P=0.031$)、瘤胃球菌科未分类群005(*genus Ruminococcaceae UCG005*; OR = 0.001, 95% CI: 0.000~0.229, $P=0.011$)成负向因果关系,且差异具有统计学意义。其中甲烷短杆菌属属于广古菌门,瘤胃球菌科未分类群005属于梭菌目。肥胖与3种肠道菌群成正向因果关系,包括短真杆菌群(*genus Eubacterium brachy group*; OR = 71 401.319, 95% CI: 3.425~1 488 713 854.438, $P=0.028$)、普雷沃氏菌属9(*genus Prevotella 9*; OR = 2 053.925, 95% CI: 3.825~1 102 870.039, $P=0.017$)及瘤胃球菌属1(*genus Ruminococcus1*; OR = 1 319.186, 95% CI: 9.746~178 557.410, $P=0.004$),且差异具有统计学意义;其中短真杆菌群和普雷沃氏菌属9属于厚壁菌门,瘤胃球菌属1属于梭菌目。具体如图3所示。

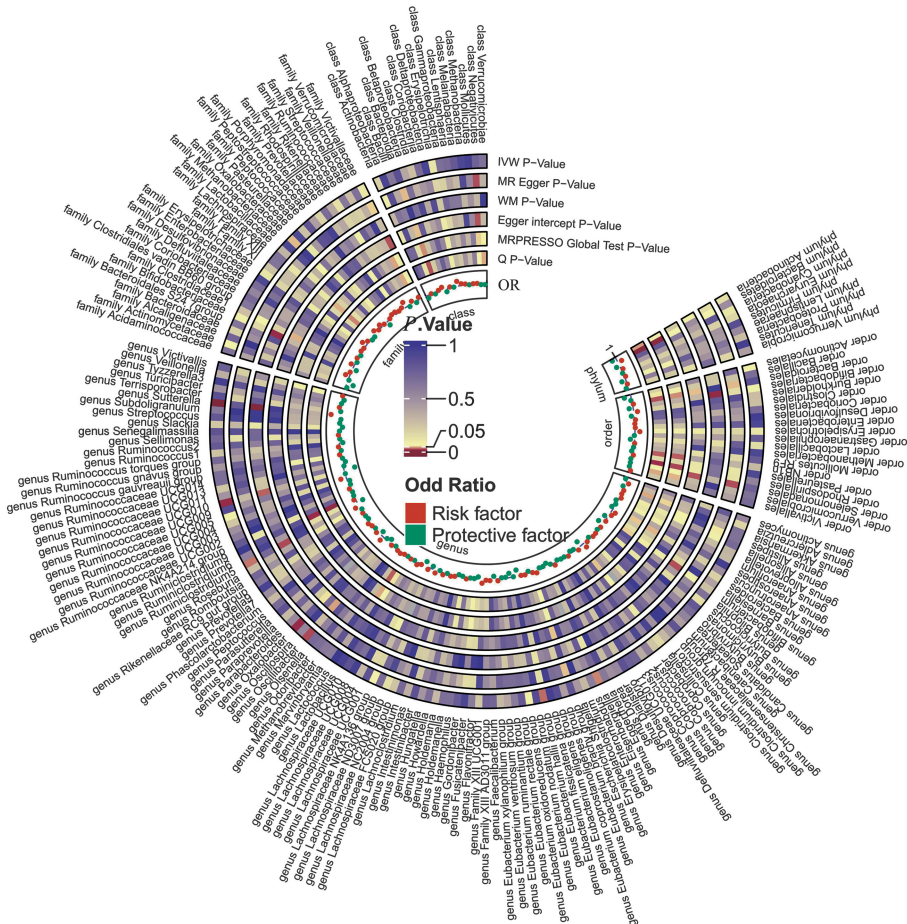


图2 211个肠道菌群和肥胖MR的P值、OR值结果

Figure 2 P-value and OR-value results of 211 gut microbiota and obesity

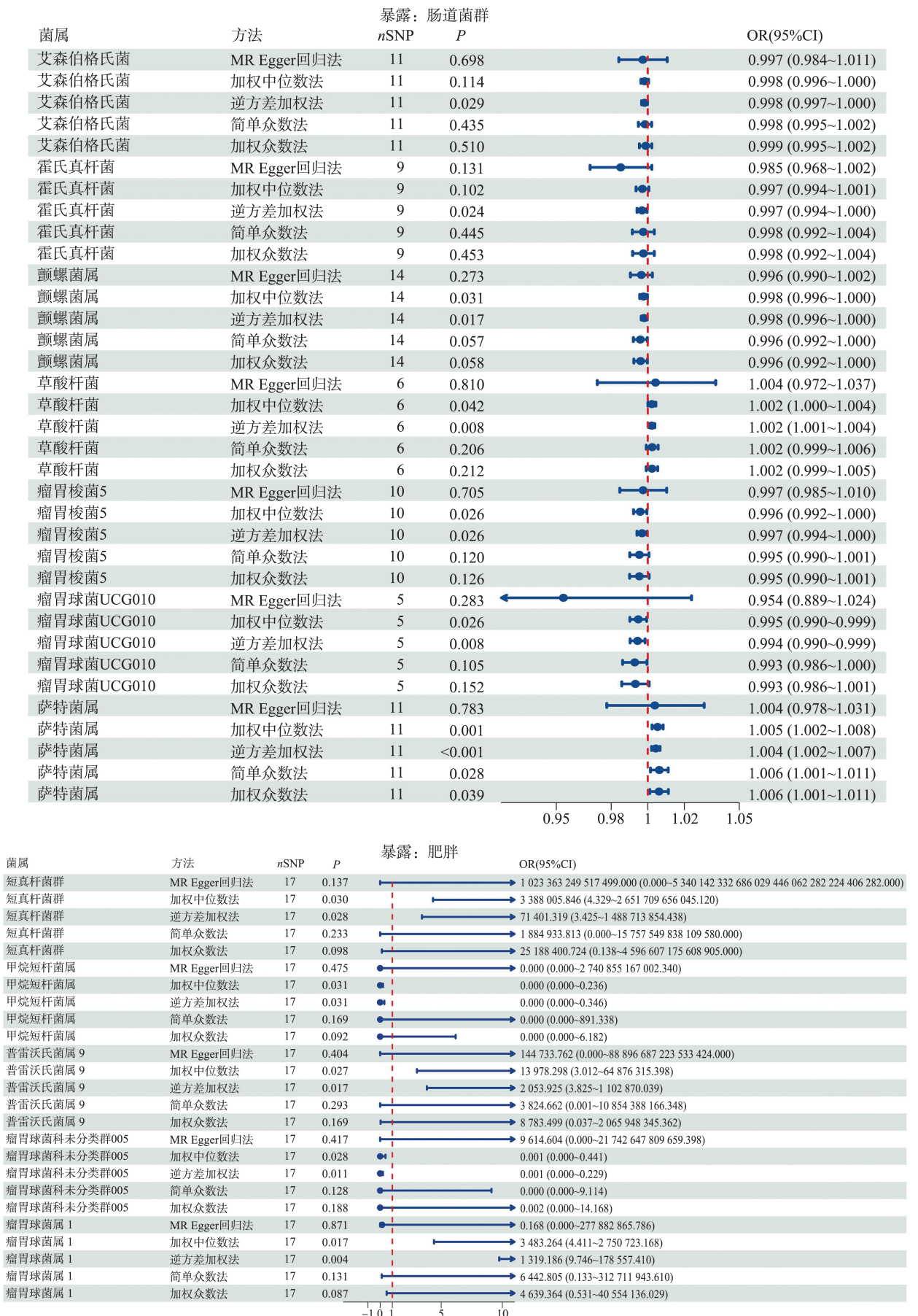


图3 孟德尔随机分析显示肠道菌群与肥胖之间存在因果关系

Figure 3 Mendelian randomization analyses show causal effects between gut microbiota and obesity

2.2 血液代谢物与肥胖因果关系的 MR 分析

在 TSMR 中(如图 4),只有 9 种血液代谢物与肥胖存在因果关系(如表 1)。10-十一烯酸(11:1n1)水平 [$OR = 0.999$, 95% CI: 0.998 ~ 1.000, $P = 0.045$]、二氢咖啡酸硫酸酯(2)水平 [$OR = 0.998$, 95% CI: 0.997 ~ 1.000, $P = 0.022$]、 5α -孕烷- 3β , 20α -二醇单硫酸酯(2) [$OR = 0.999$, 95% CI: 0.998 ~ 1.000, $P = 0.042$]和 4-羟基苯甲酸甲酯硫酸盐水平 ($OR = 0.998$, 95% CI: 0.997 ~ 1.000, $P = 0.033$)与肥胖呈负向因果关系,且差异具有统计学意义。而 X-21312($OR = 1.002$, 95% CI: 1.001 ~ 1.003,

$P < 0.001$)、 5α -雄烷- 3α , 17α -二醇单硫酸酯水平 ($OR = 1.001$, 95% CI: 1.000 ~ 1.002, $P = 0.043$)、X-25271 ($OR = 1.003$, 95% CI: 1.001 ~ 1.005, $P = 0.008$)、胆酸盐与腺苷-3', 5'-环单磷酸(cholate to adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate, cAMP)比值 ($OR = 1.001$, 95% CI: 1.000 ~ 1.003, $P = 0.039$)和胆酸盐与腺苷-5'-单磷酸(adenosine 5'-monophosphate, AMP)比值 [$OR = 1.002$, 95% CI: 1.001 ~ 1.004, $P = 0.006$]与肥胖呈正向因果关系,且差异具有统计学意义。如表 1 所示。

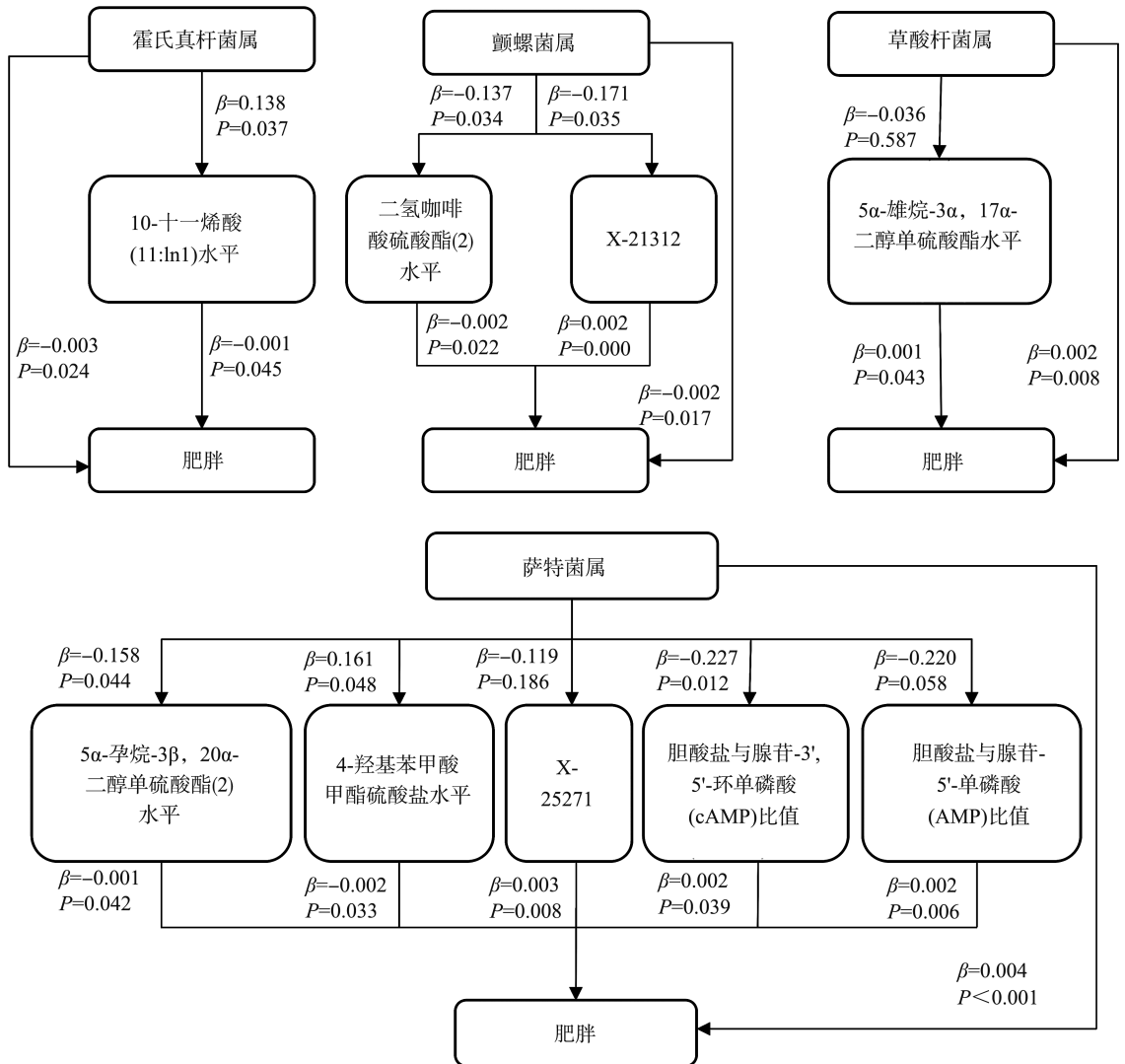


图 4 孟德尔随机化分析显示血液代谢物对肠道菌群和肥胖有因果关系

Figure 4 Mendelian randomization analyses show causal effects of blood metabolites on gut microbiota and obesity

表1 血液代谢物与肥胖因果关系的孟德尔随机化分析
Table 1 Mendelian randomization analyses of the causal effects between blood metabolites and obesity

暴露	方法	nSNP	P	截距	OR (95%CI)	Q	异质性 P值	水平多效性 P值
10-十一烯酸 (11:1n1)水平	MR Egger 回归法	10	0.011	0.003	0.997 (0.996~0.999)	7.704	0.463	
	逆方差 加权法	10	0.045		0.999 (0.998~1.000)	12.930	0.166	0.052
二氢咖啡酸 硫酸酯(2)水平	MR Egger 回归法	18	0.235	0.003	0.996 (0.989~1.003)	18.784	0.280	
	逆方差 加权法	18	0.022		0.998 (0.997~1.000)	19.564	0.297	0.427
X-21312	MR Egger 回归法	16	0.136	-0.000 1	1.003 (0.999~1.006)	14.623	0.404	
	逆方差 加权法	16	0.000		1.002 (1.001~1.003)	14.947	0.455	0.587
5 α -雄烷-3 α , 17 α -二醇单 硫酸酯水平	MR Egger 回归法	22	0.138	-0.000 1	1.001 (1.000~1.003)	13.654	0.848	
	逆方差 加权法	22	0.043		1.001 (1.000~1.002)	14.195	0.861	0.471
5 α -孕烷-3 β , 20 α -二醇单 硫酸酯(2)水平	MR Egger 回归法	22	0.151	0.000 2	0.997 (0.994~1.001)	30.805	0.058	
	逆方差 加权法	22	0.042		0.999 (0.998~1.000)	31.905	0.060	0.408
4-羟基苯甲酸 甲酯硫酸盐水平	MR Egger 回归法	11	0.831	-0.000 1	0.999 (0.989~1.009)	5.376	0.800	
	逆方差 加权法	11	0.033		0.998 (0.997~1.000)	5.398	0.863	0.886
X-25271	MR Egger 回归法	9	0.345	-0.000 3	1.006 (0.994~1.018)	9.679	0.208	
	逆方差 加权法	9	0.008		1.003 (1.001~1.005)	10.124	0.256	0.588
cAMP 比值	MR Egger 回归法	12	0.230	-0.000 4	1.005 (0.998~1.012)	10.403	0.406	
	逆方差 加权法	12	0.039		1.001 (1.000,1.003)	11.223	0.425	0.396
胆酸盐与 AMP 比值	MR Egger 回归法	10	0.590	0.000	1.002 (0.995~1.010)	5.977	0.650	
	逆方差 加权法	10	0.006		1.002 (1.001~1.004)	5.983	0.742	0.944

2.3 血液代谢物的中介分析

在与肥胖因果相关的7个分类群中,有4个类群对上述9种代谢物之间有关(如表2)。霍氏真杆菌属(OR=0.997,95%CI:0.994~1.000, $P=0.024$)是一种预防肥胖的保护性分类群,通过增加10-十一烯酸(11:1n1)水平对肥胖产生影响。颤螺菌属(OR=0.998,95%CI:0.996~1.000, $P=0.017$)是一种预防肥胖的保护性分类群,它降低了二氢咖啡酸硫酸酯(2)水平和X-21312。草酸杆菌属(OR=1.002,95%CI:1.001~1.004, $P=0.008$)是一种导致

肥胖的危险分类群,它降低了5 α -雄烷-3 α ,17 α -二醇单硫酸酯水平。萨特菌属(OR=1.004,95%CI:1.002~1.007, $P<0.001$)是一种导致肥胖的危险分类群,它降低了5 α -孕烷-3 β ,20 α -二醇单硫酸酯(2)、X-25271、cAMP比值和胆酸盐与AMP比值,增加了4-羟基苯甲酸甲酯硫酸盐水平。IVW检验Q统计量均表明没有显著的异质性($P>0.05$)。MR-Egger截距的P值介于0.218和0.878之间,表明无水平多效性。

表2 肠道菌群与血液代谢物因果关系的孟德尔随机化分析

Table 2 Mendelian randomization analyses of the causal effects between gut microbiota and blood metabolites

中介	暴露	方法	<i>n</i> SNP	Beta(β)±SE	<i>P</i>	截距	<i>Q</i>	异质性 <i>P</i> 值	水平多效性 <i>P</i> 值
10-十一烯酸 (11:1n1)水平	霍氏真 杆菌属	MR Egger 回归法	16	0.109±0.137	0.443	0.003	12.607	0.558	
		逆方差 加权法	16	0.138±0.066	0.037		12.667	0.628	0.811
二氢咖啡酸硫酸酯 (2)水平	颤螺 菌属	MR Egger 回归法	14	-0.101±0.236	0.676	-0.003	11.932	0.451	
		逆方差 加权法	14	-0.137±0.064	0.034		11.957	0.531	0.878
X-21312	颤螺菌属	MR Egger 回归法	14	-0.103±0.308	0.743	-0.006	15.224	0.229	
		逆方差 加权法	14	-0.171±0.081	0.035		15.291	0.290	0.823
5α-雄烷-3α,17α- 二醇单硫酸酯水平	草酸杆 菌属	MR Egger 回归法	14	0.245±0.239	0.327	-0.027	9.090	0.695	
		逆方差 加权法	14	-0.036±0.066	0.587		10.574	0.647	0.247
5α-孕烷-3β,20α- 二醇单硫酸酯(2) 水平	萨特 菌属	MR Egger 回归法	12	-0.020±0.374	0.959	-0.009	5.152	0.881	
		逆方差 加权法	12	-0.158±0.078	0.044		5.296	0.916	0.713
4-羟基苯甲酸甲酯 硫酸盐水平	萨特 菌属	MR Egger 回归法	12	-0.323±0.377	0.412	0.033	11.010	0.357	
		逆方差 加权法	12	0.161±0.082	0.048		12.913	0.299	0.218
X-25271	萨特 菌属	MR Egger 回归法	12	-0.405±0.440	0.379	0.019	10.837	0.370	
		逆方差 加权法	12	-0.119±0.090	0.186		10.837	0.457	0.521
cAMP 比值	萨特 菌属	MR Egger 回归法	12	-0.594±0.430	0.197	0.025	5.623	0.846	
		逆方差 加权法	12	-0.227±0.090	0.012		6.386	0.846	0.403
胆酸盐与 AMP 比值	萨特 菌属	MR Egger 回归法	12	-0.640±0.386	0.128	0.030	9.462	0.489	
		逆方差 加权法	12	-0.220±0.116	0.058		10.835	0.457	0.268

为了验证本研究的主要发现, FDR 校正后, 支持霍氏真杆菌属菌群、颤螺菌属、草酸杆菌属和萨特菌属对肥胖影响的证据 ($Q < 0.05$), 霍氏真杆菌属菌群和颤螺菌属都表现出一致的针对肥胖的保护作用, 草酸杆菌属和萨特菌属都表现出一致是肥胖的危险因素。肠道菌群与代谢物之间的关联均通过了 FDR 校正 ($0.1 < Q < 0.2$)。代谢物与肥胖之间 IVW 结果, 均通过多重检验校正 ($Q < 0.05$)。

采用 MVMR 来验证 TSMR 中发现的血液代

谢物的介导作用。在调整肠道菌群后, 5α-雄烷-3α, 17α-二醇单硫酸酯水平和胆酸盐与 AMP 比值可能对肥胖产生影响 ($P < 0.1$) (表 3)。草酸杆菌属与肥胖的相关性由 5α-雄烷-3α, 17α-二醇单硫酸酯水平介导, 介导比例为 8.504% ($P = 0.093$); 萨特菌属与肥胖的相关性是由胆酸盐与 AMP 比值介导, 介导的比例为 12.135% ($P = 0.062$); 调整肠道菌群后, 其余 7 种代谢物对肥胖的影响不显著。

表3 肠道菌群、血液代谢物与肥胖之间因果关系的多变量孟德尔随机化分析

Table 3 Multivariable Mendelian randomization analyses of the causal effects between gut microbiota, blood metabolites and obesity

暴露	中介	直接效应 ($\beta_1 \pm SE$)	直接效应 ($\beta_2 \pm SE$)	间接效应 ($\alpha \times \beta_2 \pm SE$)	P	介导比例 ($\alpha \times \beta_2 / \beta$) $\times 100\%$
霍氏真杆菌属	10-十一烯酸(11:1n1)水平	-0.003 \pm 0.002	-0.002 \pm 0.001	-0.000 2 \pm 0.000 1	0.094	8.723
颤螺菌属	二氢咖啡酸硫酸酯(2)水平	-0.002 \pm 0.001	-0.002 \pm 0.001	0.000 2 \pm 0.000 1	0.115	12.863
	X-21312	0.002 \pm 0.001	0.001 \pm 0.001	-0.000 2 \pm 0.000 1	0.148	15.332
草酸杆菌属	5 α -雄烷-3 α ,17 α -二醇单硫酸酯水平	0.002 \pm 0.001	0.001 \pm 0.000	0.000 1 \pm 0.0000	0.093	8.504
萨特菌属	5 α -孕烷-3 β ,20 α -二醇单硫酸酯(2)水平	0.005 \pm 0.001	-0.002 \pm 0.001	0.000 2 \pm 0.000 1	0.108	4.858
	4-羟基苯甲酸甲酯硫酸盐水平	0.005 \pm 0.001	-0.002 \pm 0.001	-0.000 4 \pm 0.000 1	0.116	7.468
	X-25271	0.004 \pm 0.001	0.003 \pm 0.001	-0.000 4 \pm 0.000 2	0.107	10.181
	cAMP 比值	0.004 \pm 0.001	0.002 \pm 0.001	-0.000 4 \pm 0.000 2	0.107	9.528
	胆酸盐与 AMP 比值	0.005 \pm 0.001	0.003 \pm 0.001	-0.000 5 \pm 0.000 2	0.062	12.135

3 讨论

本研究采用 MR 分析探索肠道菌群、血液代谢物和肥胖之间的因果关系,发现 7 种肠道菌群与肥胖存在因果关联,而肥胖的发生又与 5 种肠道菌群存在因果关联。使用 TSMR 和 MVMR 作为中介分析探讨可能的潜在机制,在 TSMR 中,发现了 10 种血液代谢物与肥胖存在因果关系。在 MVMR 中,发现在调整肠道菌群后,5 α -雄烷-3 α ,17 α -二醇单硫酸酯水平和胆酸盐与 AMP 比值的可能对肥胖产生影响。

以往的大多数研究表明萨特菌属是肥胖的危险因素,在肥胖者中的比例较高^[31-33],Yasir 等^[31]研究发现,与非肥胖者相比,法国肥胖者中萨特菌属的相对丰度比例更高,萨特菌属的促炎特性可能加剧法国肥胖者的代谢异常,而沙特阿拉伯中的肥胖者没有观察到显著差异,这与沙特阿拉伯人的饮食结构单一有关;Mbakwa 等^[34]研究报告萨特菌属在肥胖者中的比例较低,是肥胖的保护因素,可能通过抗炎、屏障保护及代谢调节途径抑制肥胖。本研究结果显示萨特菌属对肥胖具有积极的因果作用,成正相关。考虑到可能导致 MR 估计偏倚的因素,本研究对 3 种 MR 方法进行了敏感性分析,结果稳健。目前对于草酸杆菌属与肥胖之间的关系的研究有所欠缺,本研究证明草酸杆菌属是肥胖的危险因素,成

正相关。相关研究发现颤螺菌属通过产生短链脂肪酸等机制,在降低甘油三酯、改善肥胖相关指标中发挥潜在因果作用,提示其作为代谢疾病干预靶点的可能性^[19]。在本研究结果中,瘤胃球菌属 UCG010 与肥胖成负相关,一项关于肠道微生物群和不同类型肥胖的孟德尔随机研究中支持了这一观点,瘤胃球菌科 UCG010 通过丁酸介导的能量代谢调节、激素调控及抗炎作用,显著降低卡路里过量导致的肥胖风险,提示其作为益生菌或膳食纤维干预的潜在靶点^[35]。在本研究结果中,霍氏真杆菌属也与肥胖成负相关,在一项 3.5 岁儿童肠道菌群与 5 岁时体重指数之间关联的研究中报告,霍氏真杆菌属的高丰度可能通过短链脂肪酸生成及不饱和脂肪酸代谢途径促进能量吸收和脂肪储存,成为儿童肥胖的潜在微生物标志物^[36]。

在反向的 MR 中,相关研究发现^[37],对猪、狗、猫等多种哺乳动物肠道产甲烷菌的系统调查中,甲烷短杆菌属为常见产甲烷菌类群,其在动物肠道中的存在与代谢环境相关,甲烷短杆菌属的密度和多样性可能通过调控能量代谢网络影响宿主主体脂沉积,为理解肥胖的微生物机制提供了新视角,这与本研究结果(甲烷短杆菌属与肥胖之间呈负相关)相一致。有研究发现瘤胃球菌科未分类群 005 可以产生丁酸盐,具有抗炎和抑制肥胖的作用^[38],与本研究结果(瘤胃球菌科未分类群 005 和肥胖之间呈负相关)相一致。而目前在短真杆菌属、普雷沃氏菌

属 9 和瘤胃球菌 1 与肥胖之间的关系的文献研究尚不完善,本研究提示了短真杆菌属、普雷沃氏菌属 9 和瘤胃球菌 1 的水平可能在肥胖后有所增加。

研究结果显示,3 种肠道菌群与 6 种血液代谢物之间有关系。在既往的研究中,通过代谢外源性苯甲酸类物质生成 4-羟基苯甲酸甲酯硫酸盐水平,为靶向肠道菌群或硫酸酯化通路的治疗策略提供依据^[39],而 4-羟基苯甲酸甲酯硫酸盐水平作为肠道菌群与宿主代谢交互的标志物,其水平升高能够预测相关疾病^[40]。但关于血液代谢物对肥胖的作用方面还有所欠缺,有待进一步研究探索。本研究的意义在于为肥胖的前期预防、中期控制、后期减重方面提供新的方向和工具,①前期预防:靶向肠道菌群与代谢物稳态。通过膳食纤维与益生元干预抑制草酸杆菌属和萨特菌属定植,结合血清 5 α -雄烷-3 α ,17 α -二醇单硫酸酯水平及胆酸盐与 AMP 比值监测,建立多组学预警模型,阻断肥胖启动。②中期控制:调控肠道菌群-代谢物轴延缓肥胖进展。比如通过补充胆酸盐结合剂,提升胆酸盐与 AMP 比值,抑制萨特菌属介导的脂质合成。③后期减重:肠道菌群-代谢物重塑与体重管理。可以通过对 5 α -雄烷-3 α ,17 α -二醇单硫酸酯水平补充疗法和对胆酸盐与 AMP 比值调控,或开发合成微生物群,既能清除草酸杆菌属和萨特菌属,又能稳定代谢指标,突破传统治疗瓶颈,实现对后期顽固性肥胖的突破性减重。

本研究有一定局限性:①遗传 SNPs 的数量有限和 GWAS 摘要数据可能导致工具偏差,因为在 SNPs 过滤的严格阈值中,一些分类群被排除在 MR 分析之外;②本研究的大多数样本来自欧洲,没有覆盖大部分的种群,可能会导致种群偏倚;③肠道菌群和代谢物可能受到环境、饮食和生活方式等混杂因素的影响。如何消除所有混杂因素具有一定的挑战性,未来可使用其他方法的分析来进一步发掘肠道菌群、血液代谢物和肥胖之间的联系。

综上,本研究发现草酸杆菌属、萨特菌属与肥胖以及可能潜在介导代谢物之间的因果关系,未来可对肠道菌群通过介导代谢物影响肥胖发生发展的潜在机制进行进一步探索,这对肥胖的前期预防、中期控制、后期减重具有重要的临床意义。

参考文献:

- [1] Powell-Wiley TM, Poirier P, Burke LE, et al. Obesity and cardiovascular disease: a scientific statement from the American heart association [J]. *Circulation*, 2021, 143 (21): 984-1010.
- [2] WHO. Obesity and overweight [EB/OL]. (2024-03-01) [2024-04-20]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- [3] Wei YX, Zhan YQ, Carlsson S. Childhood adiposity and novel subtypes of diabetes in adults: a Mendelian randomisation and genome-wide genetic correlation study [J]. *Lancet Glob Health*, 2023, 11 (Suppl 1): S1. doi: 10.1016/S2214-109X(23)00086-4
- [4] Kim MS, Kim WJ, Khera AV, et al. Association between adiposity and cardiovascular outcomes: an umbrella review and meta-analysis of observational and mendelian randomization studies [J]. *Eur Heart J*, 2021, 42 (34): 3388-3403.
- [5] Aron-Wisnewsky J, Warmbrunn MV, Nieuwdorp M, et al. Metabolism and metabolic disorders and the microbiome: the intestinal microbiota associated with obesity, lipid metabolism, and metabolic health: pathophysiology and therapeutic strategies [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160 (2): 573-599.
- [6] Liu P, Zhang Y, Zhang Z, et al. Antibiotic-induced dysbiosis of the gut microbiota impairs gene expression in gut-liver axis of mice [J]. *Genes (Basel)*, 2023, 14 (7): 1423.
- [7] Asadi A, Shadab Mehr N, Mohamadi MH, et al. Obesity and gut-microbiota-brain axis: a narrative review [J]. *J Clin Lab Anal*, 2022, 36(5): e24420. doi: 10.1002/jcla.24420
- [8] Su XM, Gao YH, Yang RC. Gut microbiota-derived tryptophan metabolites maintain gut and systemic homeostasis [J]. *Cells*, 2022, 11 (15): 2296. doi: 10.3390/cells12050793
- [9] Li Y, Wang X, Zhang ZT, et al. Effect of the gut microbiome, plasma metabolome, peripheral cells, and inflammatory cytokines on obesity: a bidirectional two-sample Mendelian randomization study and mediation analysis [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1348347. doi: 10.3389/fimmu.2024.1348347
- [10] Avuthu N, Guda C. Meta-analysis of altered gut microbiota reveals microbial and metabolic biomarkers for colorectal cancer [J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10(4): e0001322. doi: 10.1128/spectrum.00013-22
- [11] Jemimah S, Chabib CMM, Hadjileontiadis L, et al. Gut microbiome dysbiosis in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2023, 18(5): e0285346. doi: 10.1371/journal.pone.0285346
- [12] Dai HJ, Hou T, Wang Q, et al. Causal relationships between the gut microbiome, blood lipids, and heart failure: a Mendelian randomization analysis [J]. *Eur J Prev*

- Cardiol, 2023, 30(12): 1274-1282.
- [13] Meng CJ, Deng PZ, Miao RJ, et al. Gut microbiome and risk of ischaemic stroke: a comprehensive Mendelian randomization study [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2023, 30(7): 613-620.
- [14] Liu HJ, Zhang Y, Zhang HH, et al. Effect of plasma vitamin C levels on Parkinson's disease and age at onset: a Mendelian randomization study [J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 221. doi: 10.1186/s12967-021-02892-5
- [15] Ji D, Chen WZ, Zhang L, et al. Gut microbiota, circulating cytokines and dementia: a Mendelian randomization study [J]. *J Neuroinflammation*, 2024, 21(1): 2. doi: 10.1186/s12974-023-02999-0
- [16] Fan JY, Zhou Y, Meng R, et al. Cross-talks between gut microbiota and tobacco smoking: a two-sample Mendelian randomization study [J]. *BMC Med*, 2023, 21(1): 163. doi: 10.1186/s12916-023-02863-1
- [17] Yu MZ, Shang Y, Han LL, et al. Bowel habits, obesity, intestinal microbiota and their influence on hemorrhoidal disease: a Mendelian randomization study [J]. *Clin Exp Gastroenterol*, 2024, 17: 157-164. doi: 10.2147/CEG.S450807
- [18] Chen YH, Lu TY, Pettersson-Kymmer U, et al. Genomic atlas of the plasma metabolome prioritizes metabolites implicated in human diseases [J]. *Nat Genet*, 2023, 55(1): 44-53.
- [19] Liu XM, Tong X, Zou YQ, et al. Mendelian randomization analyses support causal relationships between blood metabolites and the gut microbiome [J]. *Nat Genet*, 2022, 54(1): 52-61.
- [20] Xu SH, Liu YF, Wang Q, et al. Gut microbiota in combination with blood metabolites reveals characteristics of the disease cluster of coronary artery disease and cognitive impairment: a Mendelian randomization study [J]. *Front Immunol*, 2024, 14: 1308002. doi: 10.3389/fimmu.2023.1308002
- [21] Gagnon E, Mitchell PL, Manikpurage HD, et al. Impact of the gut microbiota and associated metabolites on cardio-metabolic traits, chronic diseases and human longevity: a Mendelian randomization study [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 60. doi: 10.1186/s12967-022-03799-5
- [22] Wang XJ, Lu CR, Li X, et al. Exploring causal effects of gut microbiota and metabolites on body fat percentage using two-sample Mendelian randomization [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2024, 26(9): 3541-3551.
- [23] Long YW, Tang LH, Zhou YY, et al. Causal relationship between gut microbiota and cancers: a two-sample Mendelian randomisation study [J]. *BMC Med*, 2023, 21(1): 66. doi: 10.1186/s12916-023-02761-6
- [24] Cui GH, Li SJ, Ye H, et al. Gut microbiome and frailty: insight from genetic correlation and mendelian randomization [J]. *Gut Microbes*, 2023, 15(2): 2282795. doi: 10.1080/19490976.2023.2282795
- [25] Li PS, Wang HY, Guo L, et al. Association between gut Microbiota and preeclampsia-eclampsia: a two-sample mendelian randomization study [J]. *BMC Med*, 2022, 20(1): 443. doi: 10.1186/s12916-022-02657-x
- [26] Zhao J, Pan X, Hao D, et al. Causal associations of gut microbiota and metabolites on sepsis: a two-sample Mendelian randomization study [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1190230. doi: 10.3389/fimmu.2023.1190230
- [27] Yao S, Han JZ, Guo J, et al. The causal relationships between gut microbiota, brain volume, and intelligence: a two-step Mendelian randomization analysis [J]. *Biol Psychiatry*, 2024, 96(6): 463-472.
- [28] Grant AJ, Burgess S. Pleiotropy robust methods for multivariable Mendelian randomization [J]. *Stat Med*, 2021, 40(26): 5813-5830.
- [29] Carter AR, Sanderson E, Hammerton G, et al. Mendelian randomisation for Mediation analysis: current methods and challenges for implementation [J]. *Eur J Epidemiol*, 2021, 36(5): 465-478.
- [30] Wu XR, Lin DH, Li Q, et al. Investigating causal associations among gut microbiota, gut microbiota-derived metabolites, and gestational diabetes mellitus: a bidirectional Mendelian randomization study [J]. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15(16): 8345-8366.
- [31] Yasir M, Angelakis E, Bibi F, et al. Comparison of the gut microbiota of people in France and Saudi Arabia [J]. *Nutr Diabetes*, 2015, 5(4): e153. doi: 10.1038/ntud.2015.3
- [32] Squillario M, Bonaretti C, Valle AL, et al. Gut-microbiota in children and adolescents with obesity: inferred functional analysis and machine-learning algorithms to classify microorganisms [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 11294. doi: 10.1038/s41598-023-36533-2
- [33] Joo M, Nam S. Adolescent gut microbiome imbalance and its association with immune response in inflammatory bowel diseases and obesity [J]. *BMC Microbiol*, 2024, 24(1): 268.
- [34] Mbakwa CA, Hermes GDA, Penders J, et al. Gut microbiota and body weight in school-aged children: the KOALA birth cohort study [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2018, 26(11): 1767-1776.
- [35] Liu SY, Li F, Cai YJ, et al. Unraveling the mystery: a Mendelian randomized exploration of gut microbiota and different types of obesity [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2024, 14: 1352109. doi: 10.3389/fcimb.2024.1352109