

两样本双向孟德尔随机化分析肠道微生物与脓毒症的因果关系

缪长宏^{1,2,3} 许欣宜^{1,2,3} 肖璐^{1,2} 王瑾^{1,2,3} 吴芳颖³ 陈匡^{1,2}

¹天津中医药大学第一附属医院,天津 300381; ²国家中医针灸临床医学研究中心,天津 300381;

³天津中医药大学,天津 301617

通信作者:肖璐, Email: xljhy1987@126.com

【摘要】 目的 采用双向孟德尔随机化(MR)方法,探讨 211 种肠道微生物与脓毒症之间的因果关系。**方法** 利用微生物基因组多中心联盟(MiBioGen)肠道微生物基于全基因组关联研究(GWAS, $n=18\ 340$)数据和芬兰数据库中脓毒症 GWAS 数据($n=286\ 146$)。首先,根据预设条件筛选出与 211 个肠道微生物类群相对丰度显著相关的单核苷酸多态性(SNP)作为工具变量。主要的分析方法采用逆方差加权法,并使用效应指标优势比(OR)来评估 MR 结果。为验证结果的准确性、可靠性进行了留一法、异质性检验以及相干和不相干水平基因多效性检验。**结果** 柯林斯菌属(*Collinsella*, $OR=1.28$, 95% 可信区间(95%CI)为 1.06~1.56, $P=0.01$)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*, $OR=1.19$, 95%CI 为 1.05~1.35, $P=0.005$)丰度升高会增加脓毒症的患病风险;普雷沃菌属(*Prevotella*, $OR=0.88$, 95%CI 为 0.79~0.97, $P=0.01$)、厚壁菌门(*Firmicutes*, $OR=0.86$, 95%CI 为 0.75~0.996, $P=0.04$)的丰度升高对脓毒症发病有保护作用,并且未发现明显的异质性和不相干水平多效性。**结论** *Collinsella*、*Ruminococcus* 会增加脓毒症的发生风险,*Prevotella*、*Firmicutes* 对脓毒症的发生有保护作用。

【关键词】 孟德尔随机化; 肠道微生物; 脓毒症; 因果关系

基金项目:天津市教委科研计划项目(2021KJ144)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2023.05.003

Two-sample bidirectional Mendelian randomization analysis of the causal relationship between gut microbiota and sepsis

Miao Changhong^{1,2,3}, Xu Xinyi^{1,2,3}, Xiao Lu^{1,2}, Wang Jin^{1,2,3}, Wu Fangying³, Chen Kuang^{1,2}

¹First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300381, China; ²National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Tianjin 300381, China; ³Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Corresponding author: Xiao Lu, Email: xljhy1987@126.com

【Abstract】 Objective To delve into the causal relationship between 211 gut microbiota and sepsis employing bidirectional Mendelian randomization (MR). **Methods** The gut microbiota genome-wide association study (GWAS) data from the Microbiome Genetics Consortium (MiBioGen, $n=18\ 340$) and sepsis GWAS data from the FinnGen ($n=286\ 146$) were harnessed for this study. Initially, single nucleotide polymorphisms (SNP) significantly associated with the relative abundance of 211 gut microbiota taxa were identified as instrumental variables using predefined selection criteria. The primary analytical approach was characterized by the application of inverse variance weighting (IVW), with the effect measure represented by the odds ratio (OR) to assess the results of MR. To ensure precision and reliability, analyses were conducted, including leave-one-out analysis, heterogeneity testing, and tests for pleiotropy at both coherent and incoherent levels. **Results** The increased risk of sepsis was associated with the elevated abundance of *Collinsella* [$OR=1.28$, 95% confidence interval (95%CI) was 1.06–1.56, $P=0.01$] and *Ruminococcus* ($OR=1.19$, 95%CI was 1.05–1.35, $P=0.005$). Furthermore, a protective effect against the development of sepsis was observed in association with the increased abundance of *Prevotella* ($OR=0.88$, 95%CI was 0.79–0.97, $P=0.01$) and *Firmicutes* ($OR=0.86$, 95%CI was 0.75–0.996, $P=0.04$). No obvious heterogeneity and irrelevant level pleiotropy were detected. **Conclusion** *Collinsella* and *Ruminococcus* increase the risk of sepsis, while *Prevotella* and *Firmicutes* have protective effects against sepsis.

【Key words】 Mendelian randomization; Gut microbiota; Sepsis; Causal relationship

Fund program: Tianjin Municipal Education Commission Scientific Research Program Project (2021KJ144)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2023.05.003

脓毒症是重症监护病房(intensive care unit, ICU)常见的危重症之一。*Lancet* 最新研究数据显示,全球每年因脓毒症死亡患者数占总死亡患者数的 19.7%^[1]。2018 年流行病学调查数据显示,我国每年

有 3 238 万人患脓毒症,病死率 66.7%^[2]。因其高发病率和病死率^[3],脓毒症已成为急危重症和感染病学等领域重点研究疾病之一,然而受到遗传和环境等多种因素的影响,其发病机制目前仍尚未

明确^[4]。

近年来,有研究表明,肠道菌群失调可能导致脓毒症,并对脓毒症结局产生负面影响^[5]。肠道微生物群落是一个错综复杂的生态系统,在人体中参与抵御病原体入侵、调节肠蠕动及肠道免疫等过程^[6]。维持肠道微生物的多样化和平衡状态有利于增强宿主对肠道和全身病原微生物的抵御能力^[7]。然而肠道菌群的组成复杂性、随着时间推移的波动性以及和疾病间的相互调节作用共同阻碍了当前研究的深入,肠道微生物与脓毒症之间的因果关系及具体调控机制仍有待探究^[8]。

孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)将与暴露强度相关的遗传变异作为工具变量(instrumental variable, IV),通过一个中间性状有效地避免混淆和反向因果关系,从而阐明暴露与结局的因果关系。本研究基于全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)数据进行了两样本的双向 MR 分析,以评估肠道微生物丰度是否与脓毒症存在因果关联,并采用反向 MR 验证是否存在反向因果关联。此外,本研究利用最新的条件 MR 分析(conditional MR analysis, cML-MA)模型,在排除相干与不相干水平多效性后,验证本研究得出的脓毒症与肠道微生物之间的因果关系是否稳定。

1 资料与方法

1.1 研究设计:本研究利用公开的 GWAS 汇总数据进行双样本双向 MR 分析,以此来评估 211 个类群(131 属、35 科、20 目、16 纲和 9 门)肠道微生物与脓毒症之间的因果关系。采用异质性检验、基因相干和不相干水平多效性检验等确保因果关系的稳定性。最后进行反向 MR 分析,以探究脓毒症与肠道微生物之间是否存在反向因果关系。

本研究遵循了最新的 MR 分析指南,并在 3 个基本假设下进行:①筛选出的 IV 应与暴露强相关;②IV 独立于任何潜在的混杂因素;③IV 仅可通过暴露来影响结果,而不是通过任何其他替代途径(通常被称为“无多效性”)^[9]。

1.2 数据来源:211 个不同类群肠道微生物群的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)从微生物基因组多中心联盟(Microbiome Genetics Consortium, MiBioGen)迄今为止发表的最大的肠道微生物群组成的全基因组荟萃分析中获得^[10],该研究包括来自 24 个队列的 18 340 名个体,大多数为欧洲血统($n=13\ 266$),通过靶向 16s rRNA 基因的 3 个

不同可变区域来分析微生物的组成。本研究通过进行微生物群数量性状位点(microbiome quantitative trait loci, mbQTL)映射分析,以鉴定与肠道微生物群中细菌分类群丰度水平相关遗传位点宿主的遗传变异。本研究共纳入 211 个类群(131 属、35 科、20 目、16 纲和 9 门)的 122 110 个 SNP 进行分析。脓毒症的 GWAS 摘要统计数据来自芬兰数据库(FinnGen)联盟 R7 发布的数据,包括 286 146 例芬兰受试者,共 9 967 例病例和 276 179 例对照者。以上数据均可公开获取,本研究数据来源见表 1。

表 1 肠道微生物及脓毒症的 GWAS 数据来源及基本特征

变量	GWAS ID	数据来源	人群	例数(例)
暴露因素				
肠道微生物		MiBioGen	欧洲人群	18 340
结局变量				
脓毒症	finngen_R7_AB1_SEPSIS	FinnGen	欧洲人群	286 146

注:ID 为数据库中每个疾病的代号;空白代表无此项

1.3 IV 的选择:本研究共纳入 211 个细菌类群,并获得了与全基因组显著性相关的 211 个类群的肠道微生物 SNP。首先选择 $P<1\times 10^{-5}$ 为潜在 IV,随后通过一系列质量控制流程来选择更合格的 IV。本研究排除了暴露和结果样本之间等位基因不一致的 SNP,并针对参考文献进行了较为严格的 IV 筛选,去除连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)的阈值设置为 $r^2<0.001$,设置窗口大小为 10 000 kb^[11]。本研究通过计算 F 统计量评估所选 IV 是否为弱 IV,利用 F 值 >10 说明所选 IV 不存在弱 IV 偏移,计算方法为 $F=\beta^2/I_{s_x}^2$ ^[12]。此外,本研究还应用 MR 多效性剩余总和与异常值(MR Pleiotropy RESidual Sum and Outlier, MR-PRESSO)检验来评估潜在的多效性,并通过去除异常值来消除多效性的影响。为了评估是否有任一 SNP 与脓毒症疾病结局密切相关,并尽可能消除可能存在的混杂因素,本研究还对每个 SNP 的二级表型在 PhenoScanner 网站中进行了手动检索^[13]。

1.4 统计分析:本研究采用逆方差加权法(inverse-varianceweighted, IVW)、MR-Egger 回归法、加权中位数法(weighted median, WMD)、简单众数法(simple mode, SM)和加权众数法(weighted mode, WM)5 种方法来评估不同水平的 211 个类群肠道微生物与脓毒症之间存在的因果效应。IVW 假设所有遗传变异都是有效的 IV,并利用比值法去计算每个单一 IV

的因果效应值,随后采用加权线性回归处理这些估计值以获得总体效应值。MR-Egger 回归法在 MR 分析因果效应推断的作用仍存在争议,甚至有学者认为,MR-Egger 回归法只能用于通过截距判断其是否违反核心假设的敏感性分析,在因果估计方面的统计效能很低^[14]。因此,本研究的首选因果效应估计方法为 IVW、MR-Egger、WMD、SM 和 WM 均作为主要分析方法的补充。为了更好地呈现出不同类群肠道微生物与脓毒症之间的因果关联,本研究将采用优势比(odds ratio, OR)值和 95% 可信区间(95% confidence interval, 95%CI)来呈现主要的分析结果。

此外,为了检测所得出的不同水平肠道菌群与脓毒症之间因果关系数据结果的准确性和可靠性,本研究又对所得结果进行了一系列的质量控制,包括异质性检验、敏感性分析、水平基因多效性检验。本研究首先采用 Cochrane *Q* 检验来量化 IVW 估计中 SNP 之间的异质性,若 Cochrane *Q* 的结果中 $P>0.05$,则异质性对于本研究结局的偏倚影响较小^[15]。鉴于敏感性分析被认为是 MR 研究中检验潜在混杂因素多效性的最重要环节^[16],本研究进行了敏感性分析,利用留一法来评估每个 SNP 对结果的影响;其次利用 MR-PRESSO、MR-Egger 回归以解决潜在的基因水平多效性^[17]。现有文献表明,MR-Egger 方法评估对于多效性的存在是相对稳健的,因此,采用 MR-Egger 截距来评估水平多效性($P<0.05$ 被认为存在水平多效性),若 MR-Egger 截距的 $P<0.05$,则该结果并不可靠^[18]。此外,由于传统 MR 分析的水平多效性检验方法 MR-Egger 回归以及 MR-PRESSO 虽然较合理地解决了“不相干水平多效性”的影响,但却忽视了“相干水平多效性”带来的影响,这可能导致 MR 研究的假阳性率偏高。因此,本研究利用最新的 MR 多效性评估模型 cML-MA 来控制 MR 分析的假阳性率问题^[19],通过 cML-MA 的方法在排除相干和不相干水平多效性条件下

进行因果分析,本研究将在不同类群水平上分别进行 cML-MA 分析。该方法已被证实优于其他既定方法^[20]。

本研究报告遵循 MR 研究写作规范(Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology Using MR, STROBE-MR)声明^[18]。

2 结果

2.1 两样本 MR 分析(图 1~2): 本研究利用 5 种不同 MR 分析方法,分别对 211 个类群的肠道菌群与脓毒症结局循环进行 211 次两样本的 MR 分析。不同的分析结果以 IVW 为主要结果,其他方法作为补充参考方法。

在 IVW 方法中,发现 5 个类群的肠道微生物与脓毒症存在关联,但由于 *XII* 族 AD3011 菌群的其余 4 种方法的结果与 IVW 结果方向并不一致,因此不将其纳入本研究的结局。本研究表明,柯林斯菌属(*Collinsella*, OR=1.28, 95%CI 为 1.06~1.56, $P=0.01$)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*, OR=1.19, 95%CI 为 1.05~1.35, $P=0.005$)的丰度升高会增加脓毒症的患病风险。此外,普雷沃氏菌属(*Prevotella*, OR=0.88, 95%CI 为 0.79~0.97, $P=0.01$)、厚壁菌门(*Firmicutes*, OR=0.86, 95%CI 为 0.75~0.996, $P=0.04$)丰度升高对脓毒症的发病有保护作用。尽管其余 4 种补充方法体现出的因果效果并不显著,但仍以 IVW 结果为主要参考来评估不同肠道菌群与脓毒症的因果关系。

2.2 IV: 本研究根据 IV 筛选条件,在去除连锁不平衡后,分别选取与不同类群的 211 种肠道微生物显著相关的 SNP 作为研究的暴露因素(4~26 个)。本研究纳入的 SNP 的统计量 *F* 值均 >10 ,表明本研究所采用的 IV 是可靠的,对结局的偏倚影响很小。随后,本研究对 211 个类群的肠道微生物与脓毒症结局分别进行 211 次双样本 MR 分析,具体用于 MR 分析的 SNP 见表 2。

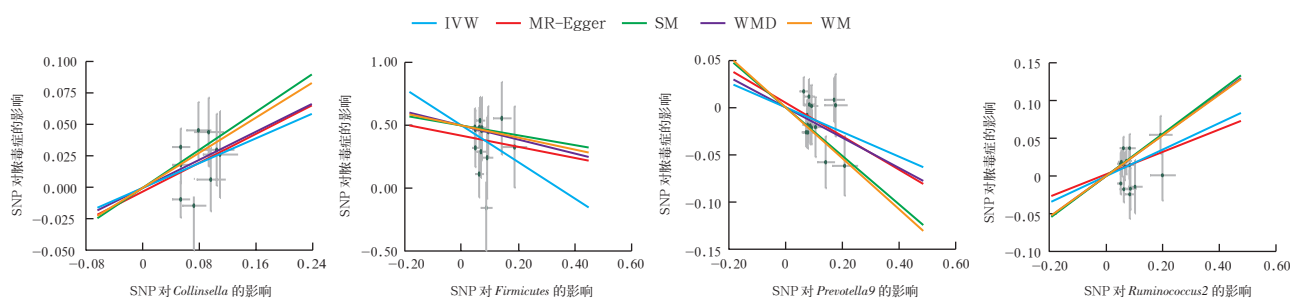
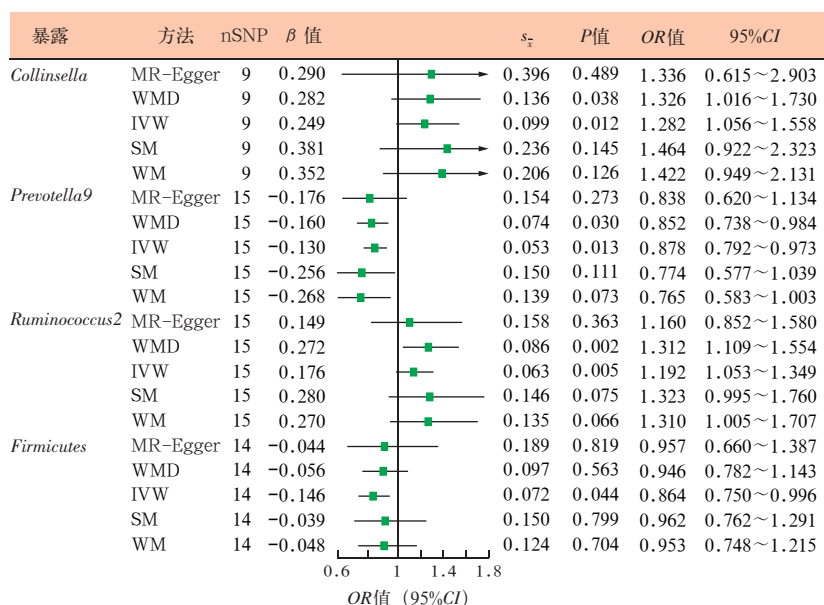


图 1 4 类肠道微生物与脓毒症 MR 5 种分析方法结果的散点图

表 2 肠道微生物用于本研究 MR 分析的 *Collinsella*、*Ruminococcus*、*Prevotella* 及 *Firmicutes* IV

SNP	EA	OA	β 值	s_e	P 值	暴露	染色体	F 值	SNP	EA	OA	β 值	s_e	P 值	暴露	染色体	F 值
rs10890671	T	C	-0.054	0.012	6.52×10^{-6}	<i>Collinsella</i>	11	20.25	rs11199734	A	T	0.077	0.017	7.00×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	10	20.52
rs11597285	G	T	-0.054	0.012	9.38×10^{-6}	<i>Collinsella</i>	10	20.25	rs11685699	C	T	-0.141	0.030	2.03×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	2	22.09
rs12921100	A	T	0.056	0.013	8.23×10^{-6}	<i>Collinsella</i>	16	21.78	rs117271932	A	G	0.208	0.044	2.82×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	22	22.35
rs1496626	T	C	-0.072	0.016	6.78×10^{-6}	<i>Collinsella</i>	19	20.25	rs12648235	T	C	0.079	0.018	7.39×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	4	19.26
rs149807560	C	A	-0.104	0.024	7.10×10^{-6}	<i>Collinsella</i>	19	18.78	rs1304512	G	A	0.076	0.017	5.29×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	5	19.99
rs2103510	G	A	0.079	0.017	2.42×10^{-6}	<i>Collinsella</i>	21	21.60	rs2104588	T	C	0.106	0.024	8.13×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	10	19.51
rs2671662	C	G	-0.057	0.012	2.22×10^{-6}	<i>Collinsella</i>	17	22.56	rs2495052	A	G	0.084	0.019	8.97×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	1	19.55
rs59414781	C	G	0.067	0.015	9.15×10^{-6}	<i>Collinsella</i>	15	19.95	rs2683313	A	G	-0.073	0.015	1.69×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	8	23.68
rs62448871	C	A	-0.054	0.012	6.78×10^{-6}	<i>Collinsella</i>	7	20.25	rs4968431	G	T	0.064	0.014	8.58×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	17	20.90
rs73052258	G	A	0.093	0.020	1.72×10^{-6}	<i>Collinsella</i>	2	21.62	rs7232121	G	C	0.067	0.014	3.76×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	18	20.90
rs75672793	A	G	-0.109	0.024	6.14×10^{-6}	<i>Collinsella</i>	4	20.63	rs7237249	C	T	-0.082	0.018	8.93×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	18	20.75
rs9541268	C	A	0.096	0.020	8.79×10^{-6}	<i>Collinsella</i>	13	23.04	rs72815774	T	C	-0.176	0.039	8.78×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	2	20.37
rs112334273	G	A	0.063	0.013	9.26×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	21	23.49	rs746764	T	C	-0.092	0.019	2.04×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	20	23.45
rs12554342	G	C	-0.053	0.012	6.81×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	9	19.51	rs7976209	T	C	-0.087	0.020	7.28×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	12	18.92
rs13421739	C	G	0.094	0.018	1.95×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	2	27.27	rs9428102	A	G	-0.078	0.018	4.62×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	1	18.78
rs2273429	A	G	-0.070	0.015	9.26×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	14	21.78	rs9613013	G	A	0.092	0.020	6.10×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	22	21.16
rs2332027	G	A	-0.048	0.010	4.05×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	4	23.04	rs12406309	A	C	-0.063	0.014	9.79×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	1	20.25
rs2547978	A	G	0.047	0.011	8.57×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	5	18.26	rs12986628	C	T	0.067	0.014	2.14×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	2	22.90
rs3792064	G	A	0.090	0.018	6.75×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	2	25.00	rs1819812	G	T	0.084	0.018	5.28×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	7	21.78
rs3852931	C	T	-0.048	0.010	4.53×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	20	23.04	rs2368224	T	G	0.200	0.044	3.63×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	2	20.66
rs4750583	A	G	0.062	0.014	5.79×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	10	19.61	rs2846589	G	T	0.052	0.012	7.59×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	18	18.78
rs56199908	T	C	-0.186	0.041	8.67×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	9	20.58	rs2997412	A	G	-0.057	0.012	4.22×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	13	22.56
rs6814436	T	C	0.068	0.015	6.80×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	4	20.55	rs4400279	A	G	0.055	0.012	5.80×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	7	21.00
rs6815608	T	C	0.094	0.021	7.24×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	4	20.03	rs4799823	C	T	0.084	0.018	5.40×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	18	21.78
rs7247191	T	C	-0.071	0.016	4.73×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	19	19.69	rs55707116	C	A	0.087	0.019	8.01×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	9	20.97
rs72738886	T	C	0.087	0.019	7.68×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	5	20.97	rs58681734	A	G	0.072	0.016	4.18×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	9	20.25
rs72771021	C	T	-0.141	0.031	5.12×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	10	20.69	rs61791565	T	C	-0.052	0.012	6.79×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	4	18.78
rs7573799	C	G	-0.070	0.015	8.05×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	2	21.78	rs75140805	T	G	0.084	0.018	3.95×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	11	21.78
rs7975768	C	G	0.051	0.011	2.82×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	12	21.50	rs7635831	G	A	0.062	0.013	1.98×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	3	22.75
rs8085381	G	A	0.065	0.015	8.67×10^{-6}	<i>Firmicutes</i>	18	18.78	rs7693984	G	A	-0.103	0.024	9.42×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	4	18.42
rs10512344	C	G	0.247	0.054	3.19×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	9	20.92	rs78120384	A	G	-0.193	0.039	3.31×10^{-6}	<i>Ruminococcus2</i>	3	24.49
rs111509883	T	C	0.171	0.035	1.24×10^{-6}	<i>Prevotella9</i>	19	23.87									

注：EA 为效应等位基因，OA 为非效应等位基因， β 值代表相应的效应值， P 值用以评估与暴露是否存在强相关， F 值的大小用以评价是否存在弱 IV 偏倚



注：nSNP 为 SNP 个数

图 2 4 类肠道微生物与脓毒症 MR 5 种分析方法结果的森林图

2.3 质量控制：首先进行异质性检验，结果显示，所有实验结果 $P > 0.05$ ，表明差异无统计学意义，不需考虑异质性。其次进行了敏感性分析，MR-Egger 回归及 MR-PRESSO 结果显示 $P > 0.05$ ，提示差异无统计学意义，不相干水平多效性对本实验影响很小。最后利用 R 软件的 cML-MA 评估了肠道微生物与脓毒症 MR，cML-MA 通过引入中间因素从而减少了相关水平多效性可能对因果推断的干扰。本研究结果中不同类群与脓毒症的 cML-MA 分析结果的 P 值均 < 0.05 ，提示两者之间不存在相关水平多效性^[20]。因此，本研究的 cML-MA 分析方法消除了潜在

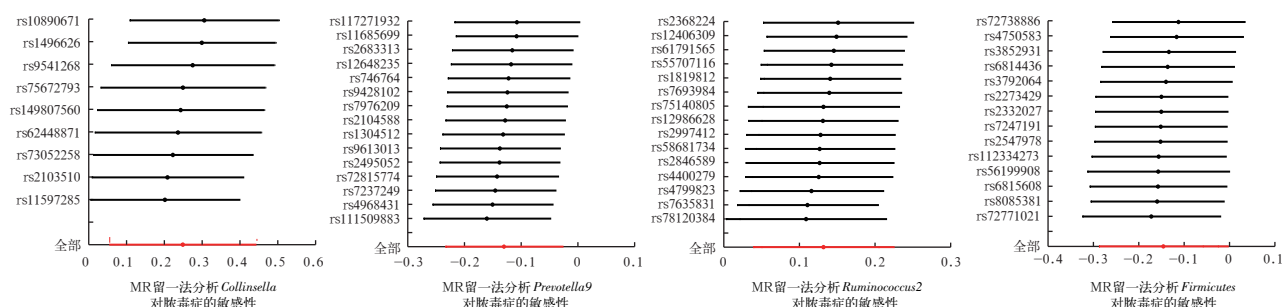


图3 4类肠道微生物与脓毒症 MR 敏感性分析的留一法图

的误导相关性,提供了更可靠的因果推断结果。本研究所有的留一法结局见图3,结果表明,单个 SNP 对总体结局影响较小,研究结果较稳定。

2.4 反向 MR 分析:为了探究不同类群的肠道菌群与脓毒症之间是否存在因果关联,本研究随后选取 *Collinsella*、*Ruminococcus*、*Prevotella*、*Firmicutes* 分别作为结局变量,脓毒症作为暴露进行了反向 MR 分析,结果显示,在利用窗口大小为 10 000 kb, $r^2=0.01$, $P<1\times 10^{-5}$ 选取 IV 时,未得出有效的 IV 用于研究。因此,本研究认为 *Collinsella*、*Ruminococcus*、*Prevotella*、*Firmicutes* 与脓毒症之间不存在反向因果关系。

3 讨论

脓毒症是由感染引起的宿主反应失调,从而导致危及生命的器官功能障碍,具有高度异质性的特征。感染、个体宿主合并症以及遗传学等因素,共同影响脓毒症在个体患者水平上的发生发展^[21]。近年来,脓毒症的免疫病理学和发病机制逐渐清晰,然而其高度异质性与综合征的复杂性阻碍了当前发病机制的深入研究及治疗标准的发展。随着在识别脓毒症特异性生物标志物和涉及的信号通路方面取得的突破,当前研究逐渐侧重于基于分子或生物标志物的脓毒症诊断和治疗^[22]。最新的研究表明,能通过差异表达基因实现脓毒症的早期识别^[23]。Xiao 等^[24]研究表明,脓毒症异质宿主反应与个体之间的基因序列有关,与炎症和线粒体功能障碍相关的 RNA 转录组学可观察到显著改变,且与来源和致病病原体无关。遗传变异可能决定了脓毒症患者的白细胞转录组和免疫抑制程度^[25]。

此外,有研究证实了宿主的遗传变异可调控肠道微生物的组成及特定菌群的丰度^[26],而维持肠道微生物平衡状态对宿主免疫反应至关重要^[27]。Kim 等^[28]研究表明,肠道菌群能,通过诱导上皮细胞产生炎症因子并增强体液反应来抵抗肠道病原

体。Lankelma 等^[29]研究表明,用广谱抗菌药物破坏肠道微菌群可减少健康成人单核细胞释放的肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 水平。肠道菌群代谢物还可以穿透上皮屏障,进入并积聚在宿主循环系统中,从而调节全身免疫反应^[30]。Schirmer 等^[31]研究表明,细胞因子反应在个体间的差异与特定的肠道菌群密切相关。*Collinsella* 和 *Ruminococcus* 被认为与炎症性肠病密切联系^[32-33],此外,有研究表明,脓症患者瘤胃球菌的丰度与血清降钙素原、内毒素和二胺氧化酶水平呈正相关^[34]。这与本研究结果相符。Chanchaoenthana 等^[35]分析了脓毒症小鼠模型与对照组小鼠粪便细菌,结果显示,对照组小鼠中 *Firmicutes* 细菌占据主导地位,提示 *Firmicutes* 在脓毒症发生过程可能是有益菌。近年来,实验表明, *Prevotella* 与机体多种慢性炎症的发生密切相关^[36],但与脓毒症发生的相关研究较少,二者之间的关系尚未明确。目前认为,早期有效的抗菌药物治疗对降低脓症患者病死率有显著影响^[37]。未来,针对有生物学意义的细菌,通过替代特定肠道菌群,或通过一些调节微生物稳态的干预措施将为危重症患者的治疗提供新的见解^[38]。

本研究依据现有结果认为肠道微生物与脓毒症之间存在因果关联。相比于观察性研究,本研究具有其不可替代的优势:① 利用大规模、大样本的全基因组关联研究,有利于对脓毒症的全面分析;② 基于 MR 研究,传统观察性研究中混杂因素的干扰将会被避免。本研究仍存在一定的局限性,研究对象仅局限于欧洲人群,暴露数据集即肠道菌群的最低分类水平是属,此外,与其他 MR 研究类似,本研究不能解决所有的多效性的影响,结果可能存在偏差;本研究采用了最新的 cML-MA 模型,结果虽然提示两者存在因果关联且不存在相关水平多效性,但不能完全消除相关水平多效性的影响。

综上所述,本研究利用双样本双向 MR 方法探

究不同类群肠道微生物与脓毒症的因果关系,发现 *Collinsella*、*Ruminococcus* 是脓毒症患病的危险因素; *Prevotella*、*Firmicutes* 对脓毒症的发生具有保护作用。以期为肠道微生物和脓毒症的因果关系研究提供参考,为未来脓毒症的临床治疗提供新思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study [J]. *Lancet*, 2020, 395 (10219): 200–211. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32989-7.
- [2] Weng L, Zeng XY, Yin P, et al. Sepsis-related mortality in China: a descriptive analysis [J]. *Intensive Care Med*, 2018, 44 (7): 1071–1080. DOI: 10.1007/s00134-018-5203-z.
- [3] Perner A, Cecconi M, Cronhjort M, et al. Expert statement for the management of hypovolemia in sepsis [J]. *Intensive Care Med*, 2018, 44 (6): 791–798. DOI: 10.1007/s00134-018-5177-x.
- [4] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315 (8): 801–810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [5] Haak BW, Wiersinga WJ. The role of the gut microbiota in sepsis [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2017, 2 (2): 135–143. DOI: 10.1016/S2468-1253(16)30119-4.
- [6] 田小霖, 宋玮, 夏耿红, 等. 肠内营养对神经危重症患者肠道微生态影响的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2021, 33 (11): 1393–1396. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210424-00607.
- [7] Haak BW, Prescott HC, Wiersinga WJ. Therapeutic potential of the gut microbiota in the prevention and treatment of sepsis [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2042. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02042.
- [8] Niu MW, Chen P. Crosstalk between gut microbiota and sepsis [J]. *Burns Trauma*, 2021, 9: tkab036. DOI: 10.1093/burnst/tkab036.
- [9] Hemani G, Zheng J, Elsworth B, et al. The MR-base platform supports systematic causal inference across the human phenome [J]. *Elife*, 2018, 7: e34408. DOI: 10.7554/eLife.34408.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] Feng RY, Lu MN, Xu JW, et al. Pulmonary embolism and 529 human blood metabolites: genetic correlation and two-sample Mendelian randomization study [J]. *BMC Genom Data*, 2022, 23 (1): 69. DOI: 10.1186/s12863-022-01082-6.
- [13] 赵猛, 卫斐然. 干燥综合征与抑郁症: 两样本孟德尔随机化研究 [J]. *现代医学*, 2022, 50 (12): 1584–1588. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7562.2022.12.019.
- [14] Haycock PC, Burgess S, Wade KH, et al. Best (but oft-forgotten) practices: the design, analysis, and interpretation of Mendelian randomization studies [J]. *Am J Clin Nutr*, 2016, 103 (4): 965–978. DOI: 10.3945/ajcn.115.118216.
- [15] Richmond RC, Davey Smith G. Mendelian randomization: concepts and scope [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2022, 12 (1): a040501. DOI: 10.1101/cshperspect.a040501.
- [16] Verbanck M, Chen CY, Neale B, et al. Detection of widespread horizontal pleiotropy in causal relationships inferred from Mendelian randomization between complex traits and diseases [J]. *Nat Genet*, 2018, 50 (5): 693–698. DOI: 10.1038/s41588-018-0099-7.
- [17] Burgess S, Thompson SG. Interpreting findings from Mendelian randomization using the MR-Egger method [J]. *Eur J Epidemiol*, 2017, 32 (5): 377–389. DOI: 10.1007/s10654-017-0255-x.
- [18] Skrivankova VW, Richmond RC, Woolf BAR, et al. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology using Mendelian randomization: the STROBE-MR statement [J]. *JAMA*, 2021, 326 (16): 1614–1621. DOI: 10.1001/jama.2021.18236.
- [19] Xue HR, Shen XT, Pan W. Constrained maximum likelihood-based Mendelian randomization robust to both correlated and uncorrelated pleiotropic effects [J]. *Am J Hum Genet*, 2021, 108 (7): 1251–1269. DOI: 10.1016/j.ajhg.2021.05.014.
- [20] Zhang ZX, Li L, Hu Z, et al. The causal associations of non-alcoholic fatty liver disease with blood pressure and the mediating effects of cardiometabolic risk factors: a Mendelian randomization study [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2023, 19: S0939–4753(23)00279-X. DOI: 10.1016/j.numecd.2023.07.010.
- [21] Stanski NL, Wong HR. Prognostic and predictive enrichment in sepsis [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2020, 16 (1): 20–31. DOI: 10.1038/s41581-019-0199-3.
- [22] Zhang YY, Ning BT. Signaling pathways and intervention therapies in sepsis [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6 (1): 407. DOI: 10.1038/s41392-021-00816-9.
- [23] Lukaszewski RA, Jones HE, Gersuk VH, et al. Presymptomatic diagnosis of postoperative infection and sepsis using gene expression signatures [J]. *Intensive Care Med*, 2022, 48 (9): 1133–1143. DOI: 10.1007/s00134-022-06769-z.
- [24] Davenport EE, Burnham KL, Radhakrishnan J, et al. Genomic landscape of the individual host response and outcomes in sepsis: a prospective cohort study [J]. *Lancet Respir Med*, 2016, 4 (4): 259–271. DOI: 10.1016/S2213-2600(16)00046-1.
- [25] Xiao WZ, Mindrinos MN, Seok J, et al. A genomic storm in critically injured humans [J]. *J Exp Med*, 2011, 208 (13): 2581–2590. DOI: 10.1084/jem.20111354.
- [26] 刘雪梅, 丁佳虹, 聂超, 等. 两样本孟德尔随机化分析肠道微生物与精神分裂症的因果关系 [J]. *现代预防医学*, 2023, 50 (1): 27–32. DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202206702.
- [27] 林玲, 宋红丽. 肠道环境与粪菌移植调控肠道菌群失调影响肝纤维化转归 [J/CD]. *实用器官移植电子杂志*, 2020, 8 (5): 405–408. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2020.05.018.
- [28] Kim S, Covington A, Pamer EG. The intestinal microbiota: antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens [J]. *Immunol Rev*, 2017, 279 (1): 90–105. DOI: 10.1111/imr.12563.
- [29] Lankelma JM, Belzer C, Hoogendijk AJ, et al. Antibiotic-induced gut microbiota disruption decreases TNF- α release by mononuclear cells in healthy adults [J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2016, 7 (8): e186. DOI: 10.1038/ctg.2016.43.
- [30] 徐沿, 张卓, 蒲浩, 等. ARDS 与肠道菌群的相关性研究进展 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2022, 29 (5): 636–640. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2022.05.029.
- [31] Schirmer M, Smeekens SP, Vlamakis H, et al. Linking the human gut microbiome to inflammatory cytokine production capacity [J]. *Cell*, 2016, 167 (4): 1125–1136.e8. DOI: 10.1016/j.cell.2016.10.020.
- [32] Koch C, Amati AL, Hecker A, et al. Microbiomic analysis of intra-abdominal infections by using denaturing high-performance liquid chromatography: a prospective observational study [J]. *Surg Infect (Larchmt)*, 2017, 18 (5): 596–602. DOI: 10.1089/sur.2017.008.
- [33] Thäner R, Thäner A, Ou J, et al. Antibiotic-driven intestinal dysbiosis in pediatric short bowel syndrome is associated with persistently altered microbiome functions and gut-derived bloodstream infections [J]. *Gut Microbes*, 2021, 13 (1): 1940792. DOI: 10.1080/19490976.2021.1940792.
- [34] Yang XJ, Liu D, Ren HY, et al. Effects of sepsis and its treatment measures on intestinal flora structure in critical care patients [J]. *World J Gastroenterol*, 2021, 27 (19): 2376–2393. DOI: 10.3748/wjg.v27.i19.2376.
- [35] Chanchaonthana W, Sutnu N, Visitchanankun P, et al. Critical roles of sepsis-reshaped fecal virota in attenuating sepsis severity [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 940935. DOI: 10.3389/fimmu.2022.940935.
- [36] Iljazovic A, Amend L, Galvez EJC, et al. Modulation of inflammatory responses by gastrointestinal prevotella spp.—from associations to functional studies [J]. *Int J Med Microbiol*, 2021, 311 (2): 151472. DOI: 10.1016/j.ijmm.2021.151472.
- [37] 亢翠翠, 吴铁军, 张丽娜, 等. 血液灌流联合 CVVHDF 治疗产气荚膜梭菌血流感染致严重脓毒症——附 1 例报告 [J]. *实用检验医师杂志*, 2022, 14 (1): 106–109. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2022.01.026.
- [38] 徐若霆, 谭楚红, 尹恕, 等. 危重症患者肠道菌群变化及干预措施的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2018, 30 (11): 1099–1102. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.11.018.

(收稿日期: 2023-03-31)

(责任编辑: 邸美仙)