

肠道微生物与病毒性肺炎的因果关系及代谢物的中介作用：孟德尔随机化研究

杜亚轩¹, 吉寒冰², 丁洁³, 白珈睿¹, 杨晓凌⁴, 郭小满¹, 杜海涛^{5*}

¹沈阳药科大学中药学院, 辽宁本溪 117004; ²山东大学齐鲁医学院公共卫生学院生物统计学系/山东大学健康医疗大数据研究院, 山东济南 250012; ³山东中医药大学药学院, 山东济南 250355; ⁴沈阳药科大学生命科学与生物制药学院, 辽宁本溪 117004; ⁵山东省中医药研究院, 山东济南 250014

[中图分类号] R511 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.2025.0428

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 杜亚轩, 吉寒冰, 丁洁, 等. 肠道微生物与病毒性肺炎的因果关系及代谢物的中介作用: 孟德尔随机化研究[J]. 解放军医学杂志, 2025, 50(11): 1398-1406.

[收稿日期] 2024-11-18 [录用日期] 2025-01-31 [上线日期] 2025-04-28

[摘要] **目的** 采用两样本和两步孟德尔随机化(MR)方法, 探讨肠道微生物与病毒性肺炎的因果关系及潜在机制, 以为病毒性肺炎的预防和治疗提供新思路。**方法** 数据均取自公开的全基因组关联分析(GWAS)汇总数据, 其中肠道微生物数据分别来自 MiBioGen 联盟和荷兰微生物组计划, 病毒性肺炎数据来自芬兰 R10 数据库, 血浆代谢组数据来自公开的 GWAS 目录库。根据预设的阈值提取工具变量, 本研究采用逆方差加权(IVW)、MR-Egger、加权中位数(WME)、加权众数(WM)和贝叶斯加权 MR(BWMR)进行 MR 分析; 通过反向 MR 分析是否存在反向关联, 并通过两步 MR 分析潜在的中介作用的血浆代谢物, 再通过一系列敏感性分析来检验结果的稳定性。**结果** 来自 MiBioGen 联盟肠道微生物 GWAS 数据的 196 个肠道微生物类群中, 共有 11 个类群与病毒性肺炎有关, 其中 4 个类群的丰度升高会增加病毒性肺炎的风险, 7 个类群的丰度升高对病毒性肺炎有保护作用。来自荷兰微生物组计划 GWAS 数据的 207 个肠道微生物类群中, 共有 10 个类群与病毒性肺炎有关, 其中 6 个类群的丰度升高会增加病毒性肺炎的风险, 4 个类群的丰度升高对病毒性肺炎有保护作用。中介分析结果显示, 污水纤细杆菌科对病毒性肺炎的因果作用($OR=0.708$, $95\%CI 0.540\sim 0.929$, $P=0.013$)在一定程度上是由 N^ε-乙酰基赖氨酸水平介导的, 中介比例为 18.4%。敏感性分析未发现存在明显的异质性或水平多效性。**结论** 特定肠道微生物与病毒性肺炎具有一定因果关系, 但在不同人群中表现出潜在差异; 污水纤细杆菌科对病毒性肺炎的保护作用可能是由 N^ε-乙酰基赖氨酸水平介导的, 靶向代谢物可能成为病毒性肺炎的潜在治疗手段。

[关键词] 肠道微生物; 病毒性肺炎; 血浆代谢物; 孟德尔随机化; 中介分析

Causal relationship between gut microbiota and viral pneumonia and the mediating role of metabolites: a Mendelian randomization study

Du Ya-Xuan¹, Ji Han-Bing², Ding Jie³, Bai Jia-Rui¹, Yang Xiao-Ling⁴, Guo Xiao-Man¹, Du Hai-Tao^{5*}

¹School of Traditional Chinese Materia Medica, ⁴College of Life Science and Biopharmaceuticals, Shenyang Pharmaceutical University, Benxi, Liaoning 117004, China

²Department of Biostatistics, School of Public Health, Qilu School of Medicine /Institute of Health Data Science, Shandong University, Jinan, Shandong 250012, China

³School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250355, China

⁵Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250014, China

*Corresponding author, E-mail: kkitdht@foxmail.com

This work was supported by the Shandong Province Traditional Chinese Medicine Science and Technology Project (Q-2023023)

[基金项目] 山东省中医药科技项目(Q-2023023)

[作者简介] 杜亚轩, 主要从事呼吸道疾病与代谢作用的相关研究

[通信作者] 杜海涛, E-mail: kkitdht@foxmail.com

[Abstract] Objective To investigate the causal relationship between gut microbiota and viral pneumonia, as well as the underlying mechanisms, using two-sample and two-step Mendelian randomization (MR) approaches, thereby providing novel insights for the prevention and treatment of viral pneumonia. **Methods** All data were obtained from publicly available genome-wide association studies (GWAS) pooled datasets, including gut microbiota data from the MiBioGen Consortium and the Netherlands Microbiome Project, viral pneumonia data from the FinnGen R10 database, and plasma metabolome data from the publicly available GWAS Catalog. Instrumental variables (IVs) were extracted according to the predefined threshold values. MR analyses were conducted using inverse variance weighting (IVW), MR-Egger, weighted median (WME), weighted mode (WM), and Bayesian-weighted Mendelian randomization (BWMR) methods. Reverse MR analysis was performed to determine whether there was a reverse association. Two-step MR analysis was used to explore the potential mediating role of plasma metabolites, and a series of sensitivity analyses were performed to test the stability of the results. **Results** Among 196 gut microbiota taxa from the MiBioGen consortium GWAS, 11 taxa were associated with viral pneumonia. An increase in the abundance of 4 taxa increased the risk of viral pneumonia, while an increase in the abundance of 7 taxa had a protective effect against viral pneumonia. Among the 207 gut microbiota taxa from the Dutch Microbiome Project GWAS data, 10 taxa were associated with viral pneumonia, with 6 risk-increasing and 4 protective taxa identified. Mediation analysis results showed that the causal effect of Defluviitaleaceae on viral pneumonia ($OR=0.708$, $95\%CI$ 0.540-0.929, $P=0.013$) was mediated to some extent by the N^6 -acetyllysine levels, with a mediation ratio of 18.4%. Sensitivity analyses did not reveal significant heterogeneity or horizontal pleiotropy. **Conclusions** Specific gut microbiota are causally associated with viral pneumonia and show potential differences across different populations; the protective effect of Defluviitaleaceae against viral pneumonia may be mediated by the N^6 -acetyllysine levels. Targeting metabolites may become a potential therapeutic approach for viral pneumonia.

[Key words] gut microbiota; viral pneumonia; plasma metabolites; Mendelian randomisation; mediation analysis

病毒性肺炎是由上呼吸道感染为主并向下蔓延所致的肺部炎症；临床表现为发热、头痛、全身酸痛、干咳及肺浸润等；其病原体主要类型为流感病毒、冠状病毒，还有副流感病毒、腺病毒、巨细胞病毒、呼吸道合胞病毒、鼻病毒及某些肠道病毒等^[1]。作为社区获得性肺炎的一类，其发病具有流行性和暴发性的特点，其中新型冠状病毒感染(COVID-19)疫情是由新型冠状病毒引起的。病毒性呼吸道疾病导致的疫情频繁暴发，对公众健康构成严重威胁^[2]，但仍然缺乏特异性治疗手段。

研究显示，肺与肠道之间存在微生物、代谢产物和游离免疫细胞动态介导的密切联系，在哮喘、纤维化和细菌性感染等肺部疾病中可发挥重要作用^[3-5]；这也与中医经典藏腑理论“肺与大肠相表里”的观点相符合。肠-肺轴(gut-lung axis, GLA)强调肺与肠道健康的紧密联系，指出两者在生理和病理上均存在相互影响，而肠道微生物是GLA的核心^[4]。肠道微生物群在肺免疫和宿主防御病毒性呼吸道感染方面起关键作用；在许多疾病环境中，肠道微生物群的组成和功能变化会加重疾病的严重程度^[5-6]；但受年龄、环境、饮食模式和生活方式等混杂因素的影响，很难明确病毒性肺炎与肠道微生物的因果关系。

孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)是以遗传变异——单核苷酸多态性(single nucleotide poly-morphisms, SNPs)为工具变量(instrumental variables, IVs)，评估暴露因素与健康结局之间因果

关系的研究方法^[7]；可排除混杂因素和反向因果关系的影响，是除随机对照试验外证据质量较高的临床科研方法。MR已被广泛应用于流行病学研究中的病因推断，如通过MR分析发现肠道微生物的丰度升高与细菌性肺炎的易感性增高或降低存在因果关系^[8]。本研究基于已有的全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)和肠道微生物基因数据，采用两样本和两步MR方法，探究肠道微生物与病毒性肺炎的因果关系与潜在机制，以期为促进病毒性肺炎的诊治研究提供新思路。

1 资料与方法

1.1 研究设计 基于肠道微生物和病毒性肺炎的大型GWAS汇总数据进行两样本双向MR分析来评估肠道微生物与病毒性肺炎的因果关系。MR的3个关键假设需被满足^[9]：(1)IVs选取与暴露(肠道微生物或病毒性肺炎)紧密相关的SNPs；(2)IVs与已知影响肠道微生物和病毒性肺炎的混杂因素不相关联；(3)IVs仅通过暴露(肠道微生物或病毒性肺炎)影响结局(病毒性肺炎或肠道微生物)(附图1, <https://dx.doi.org/10.11855/j.issn.0577-7402.1870.2025.0428FJ>)。

本研究在中介孟德尔分析中采用两样本MR，分析来自MiBioGen数据库的196个肠道微生物类群及来自荷兰微生物组计划的207个肠道微生物类群与病毒性肺炎的因果关系，得出总效应值；将血浆代谢物与病毒性肺炎、肠道微生物之间因果关系相乘得出中介效应值(附图2, <https://dx.doi.org/10.11855/>

j.issn.0577-7402.1870.2025.0428FJ); 最后分析中介因素血浆代谢物在肠道微生物与病毒性肺炎之间因果关系中所占的效应比例, 计算公式为: 中介效应比例(%)=中介效应值/总效应值 $\times 100\%$ ^[10]。

1.2 数据来源 (1)从 MibioGen 数据库 (<https://mibiogen.gcc.rug.nl/>)^[11] 下载获得人类肠道微生物基因组数据集。该数据集包含从 24 个以人群为基础的研究队列中收集的 18 340 例参与者(包括欧洲、中东、东亚、美洲西班牙裔及非洲裔美国人, 超过 72% 来自欧洲)的肠道微生物基因组信息^[12]。本研究排除了 15 个未确定名称的细菌类群(3 个未知科与 12 个未知属), 最终纳入 196 个肠道微生物类群(119 属, 32 科, 20 目, 16 纲和 9 门)的基因组信息作为正向分析的暴

露因素和反向分析的结果因素^[13]。(2)来自荷兰微生物组计划的肠道微生物组 GWAS 数据^[14], 包括 7738 例参与者的 207 个肠道微生物类群作为暴露因素。(3)中介因素血浆代谢物来自一项对 1091 种血液代谢物和 309 种代谢物比值进行的 GWAS 研究^[15]。(4)病毒性肺炎的遗传数据(viral pneumonia, GWAS ID: finngen_R10_J10_VIRALPNEUMO)来自芬兰数据库 (<https://www.finngen.fi/en>) 发布的 R10 版本, 包括 3777 例病毒性肺炎患者和 344 010 例对照者的基因组信息, 均为欧洲血统, SNP 数量为 19 344 477^[16]。本次 MR 研究使用的数据均来源于免费公开数据库, 不需要额外的伦理学批准。本研究采用的 GWAS 数据汇总信息见表 1。

表 1 本次孟德尔随机化研究采用的全基因组关联研究(GWAS)数据特征

Tab.1 Characteristic of the GWAS data used in the Mendelian randomization study

研究性状	数据来源	GWAS 标识号	样本量(例)	人群
暴露因素				
196 个肠道微生物类群	MibioGen	GCST90016908-GCST90017118	18 340	混合人群
207 个肠道微生物类群	PMID: 35115690	GCST90027446-GCST90027857	7738	荷兰人
中介因素				
血浆代谢物	PMID: 36635386	GCST90199621-GCST90201020	3441~8299	欧洲人
结局因素				
病毒性肺炎	FinnGen	Finngen R10 J10 VIRALPNEUMO	347 787	欧洲人

1.3 工具变量的筛选 为了保证 MR 的关键假设和充足的 IVs, 参考既往研究^[17], 选择以 $P < 1.0 \times 10^{-5}$ 为阈值, 且与病毒性肺炎密切相关的 SNPs 对数据进行筛选。为保持 SNPs 的独立性, 基于欧洲基因组样本数据进行连锁不平衡分析(linkage disequilibrium, LD), 运行相关系数设置为 $r^2 < 0.001$, kb=10 000; 为了排除潜在多效性, 通过 PhenoScannerV2 (<http://www.phenoscaner.medschl.cam.ac.uk/phenoscaner>) 筛查并去除与结局表型相关的饮酒、吸烟、体重指数和身高等相关混杂因素 SNPs; 通过计算 F 统计值评估工具变量的强度, 遗传变异在暴露中解释的方差越大, 样本量越大, 暴露对结局的因果推断就越准确。 $F > 10$ 表示不存在弱工具变量偏差, 剔除 $F \leq 10$ 的工具变量^[18]。 F 值计算公式为 $F = r^2 / (1 - r^2) \times [(n - k - 1) / k]$, r^2 为 SNP 解释的暴露方差, n 为暴露数据中样本量, k 为 SNP 的个数。 r^2 计算公式为 $r^2 = 2 \times (1 - \text{EAF}) \times \text{EAF} \times \beta^2$, 公式中 EAF 为效应等位基因频率(effect allele frequenc, EAF), β 为等位基因效应值, SE 为标准差^[19]。为了消除等位基因对结果产生偏倚影响, 通过回文序列检测删除了回文 SNP。

1.4 MR 分析 采用软件包 TwoSampleMR(0.5.6) 和 MR-PRESSO(0.1.0) 进行 MR 分析。采用逆方差加权(inverse variance weighted, IVW)为主的 MR 分析方法。

其特征是在回归中忽略截距项的存在, 使用结果方差的倒数作为拟合权重; 在工具变量不存在异质性和水平多效性的情况下, IVW 所得结果较为可靠^[20]。采用 MR-Egger^[21]、加权中位数(weighted median, WME)^[22]、加权众数(weighted mode, WM)^[23] 和贝叶斯加权孟德尔随机化(Bayesian weighted mendelian randomization, BWMR)等方法进行辅助验证。BWMR 分析作为前四种 MR 分析的补充方法, 通过处理因多效性导致的工具变量假设违反问题, 可更好地兼顾疾病或性状的多基因结构和多效性, 在一定程度上提高 MR 分析结果的稳定性和可靠性, 使得因果推断存在多效性的情况时仍能进行^[24]。本研究还采用反向 MR 分析推断正向 MR 分析有因果关系的肠道微生物与病毒性肺炎之间是否存在反向因果关系, 以排除反向因果关系的干扰, 增强分析结果的可靠性。

1.5 统计学处理 采用 R 软件(版本 4.3.3)进行统计分析。通过一系列敏感性分析来检验肠道微生物对病毒性肺炎的因果效应结果的稳定性。采用 Cochran's Q 计算工具变量间的差异^[25]。通过 MR-Egger、MR-PRESSO 进行水平多效性检验^[26]。MR-Egger 是检测水平多效性的一种方法, 当其数值为 0 时证明不存在水平多效性, $P < 0.05$ 时表示存在水平多效性^[27]。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 工具变量筛选结果 基于工具变量的筛选标准, 从来自 MiBioGen 联盟肠道微生物 GWAS 数据的 196 个肠道微生物类群获得 2087 个 SNPs; 从来自荷兰肠道微生物组计划 GWAS 数据的 207 个肠道微生物类群获得 3923 个 SNPs; 血浆代谢物获得 28 431 个 SNPs。所得 SNPs 对应的 F 统计量均 >10 , 与病毒性肺炎发病风险强相关。

2.2 肠道微生物与病毒性肺炎的因果关系 以 IVW 法作为主要参考依据, 以 $P < 0.05$ 为标准, 来自 MiBioGen 的 GWAS 数据的 196 个肠道微生物类群中, 11 个细菌类群共计 98 种可能与病毒性肺炎有关, 分别是污水纤细杆菌科 (Defluviitaleaceae)、肠杆菌科 (Enterobacteriaceae)、理化所菌科 (Rikenellaceae)、Family XI 科、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、布劳特菌属 (*Blautia*)、真杆菌属 (*Eubacterium eligens group*)、污水纤细杆菌属 (*Defluviitaleaceae UCG011*)、臭气杆菌属 (*Odoribacter*)、考拉杆菌属 (*Phascolarctobacterium*) 及萨特菌属 (*Sutterella*) (图 1); 来自荷兰肠道微生物组计划 GWAS 数据的 207 个肠道微生物类群中, 10 个细菌类群共计 86 种可能与病毒性肺炎有关, 分别是人类副萨特菌 (*Parasutterella excrementihominis*)、埃氏拟杆菌 (*Bacteroides eggertii*)、另枝菌属 *senegalensis* (*Alistipes senegalensis*)、柔嫩梭菌 (*Clostridium leptum*)、多毛假解黄酮菌 (*Pseudoflavonifractor capillosus*)、普氏栖粪杆菌 (*Faecalibacterium prausnitzii*)、混浊戴阿利斯特菌 (*Dialister invisus*)、戴阿利斯特菌属 (*Dialister*)、副萨特菌属 (*Parasutterella*) 及放线菌目 (Actinomycetales) (图 2)。

IVW 法分析结果显示, 来自 MiBioGen 的 196 个肠道微生物类群中 Family XI 科 ($OR=1.192$, 95%CI 1.042~1.363, $P=0.010$)、臭气杆菌属 ($OR=1.357$, 95%CI 1.001~1.840, $P=0.049$)、考拉杆菌属 ($OR=1.312$, 95%CI 1.001~1.719, $P=0.049$) 及萨特菌属 ($OR=1.288$, 95%CI 1.027~1.615, $P=0.028$) 的丰度升高会增加病毒性肺炎的风险; 布劳特菌属 ($OR=0.409$, 95%CI 0.211~0.795, $P=0.008$)、肠杆菌科 ($OR=0.693$, 95%CI 0.506~0.948, $P=0.022$)、理化所菌科 ($OR=0.797$, 95%CI 0.636~0.998, $P=0.048$)、污水纤细杆菌科 ($OR=0.708$, 95%CI 0.540~0.929, $P=0.013$)、双歧杆菌属 ($OR=0.815$, 95%CI 0.667~0.997, $P=0.047$)、污水纤细杆菌属 (UCG011) ($OR=0.698$, 95%CI 0.499~0.978, $P=0.037$) 及真杆菌属 ($OR=0.656$, 95%CI 0.477~0.902, $P=0.009$) 的丰度升高对病毒性肺炎具有保护作用。207 个肠道微生物类群中人类副萨特菌 ($OR=1.155$, 95%CI 1.013~1.315, $P=0.031$)、另枝菌属 *senegalensis*

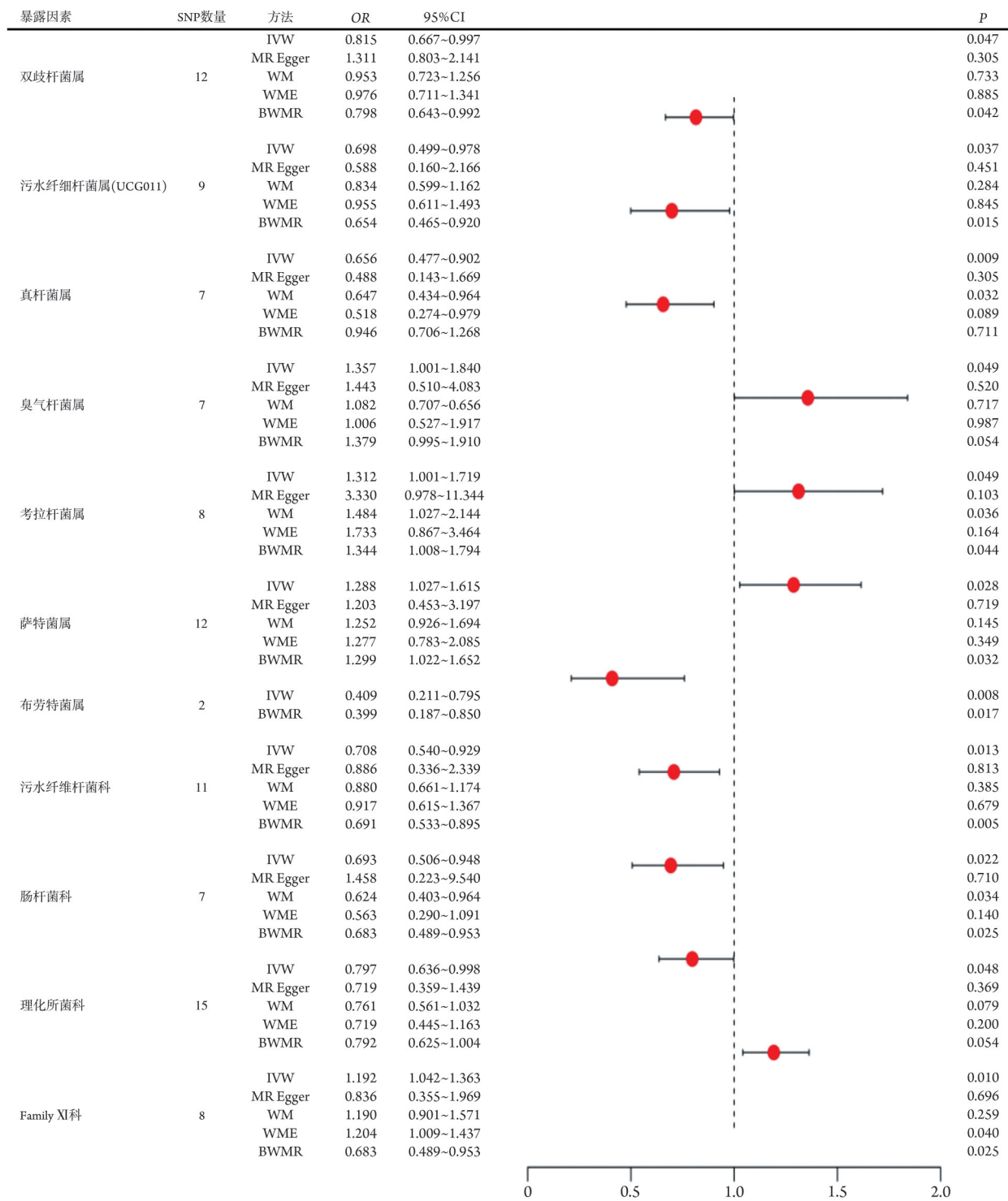
($OR=1.284$, 95%CI 1.062~1.551, $P=0.010$)、普氏栖粪杆菌 ($OR=1.258$, 95%CI 1.023~1.546, $P=0.029$)、混浊戴阿利斯特菌 ($OR=1.410$, 95%CI 1.203~1.652, $P=2.136 \times 10^{-5}$)、戴阿利斯特菌属 ($OR=1.338$, 95%CI 1.145~1.564, $P=2.538 \times 10^{-4}$) 及副萨特菌属 ($OR=1.177$, 95%CI 1.034~1.340, $P=0.014$) 的丰度升高可增加病毒性肺炎的风险; 埃氏拟杆菌 ($OR=0.858$, 95%CI 0.744~0.991, $P=0.037$)、柔嫩梭菌 ($OR=0.844$, 95%CI 0.736~0.968, $P=0.015$)、多毛假解黄酮菌 ($OR=0.875$, 95%CI 0.766~0.999, $P=0.049$) 及放线菌目 ($OR=0.745$, 95%CI 0.615~0.903, $P=0.003$) 的丰度升高对病毒性肺炎具有保护作用。通过把病毒性肺炎作为暴露因素, 两种不同类群的肠道微生物作为结果因素进行反向 MR 分析 ($P < 1 \times 10^{-5}$, r^2 为 0.001, kb 为 10 000 的筛选条件), 均未发现明显的反向因果关系。

异质性检验结果显示, 污水纤细杆菌属 (UCG011, $P=0.014$)、污水纤细杆菌科 (Defluviitaleaceae, $P=0.035$) 存在异质性, 可能与分析使用的 GWAS 数据种族、社区接触等差异影响和样本收集方法有关, 应重点关注随机效应 IVW 模型; 其余微生物类别的异质性对结果的偏倚较小 ($P > 0.05$)。MR-Egger 结果显示, 水平多效性的影响很小 ($P > 0.05$); 但 MR-PRESSO 结果显示, 污水纤细杆菌属 (Defluviitaleaceae UCG011), $P < 0.05$, 进行去除离群值的操作, 其中 rs55658617 是具有强影响力的 SNP, 去除后再次进行分析结果显示 $P > 0.05$, 故结果仍为阳性, 单个 SNP 对总体结局影响较小。布劳特菌属具有 GWAS 显著性的 SNP < 3 个, 被排除在 MR 敏感性分析之外; 放线菌目具有 GWAS 显著性的 SNP 为 3 个, 无法进行 MR-PRESSO 分析, 但具有强相关结果, 故保留。所有质量控制结果见附表 1—2 (<https://dx.doi.org/10.11855/j.issn.0577-7402.1870.2025.0428FJ>)。

2.3 血浆代谢物中介效应分析结果 首先, 进行血浆代谢物与病毒性肺炎的两样本 MR, 共有 46 种血浆代谢物与病毒性肺炎存在因果关系; 接着对 196 个肠道微生物类群与病毒性肺炎存在因果关系的 MR 结果与这些血浆代谢物进行两样本 MR 分析, 共得到 33 个肠道微生物类群与血浆代谢物相关的因果关系 (图 3); 这 33 种血浆代谢物在肠道微生物-病毒性肺炎因果通路中的中介效应分析结果显示, N^6 -乙酰基赖氨酸水平可能在污水纤细杆菌科与病毒性肺炎的因果关系中发挥中介作用, 中介比例为 18.4% (95%CI 0.70~36.1) (附表 3, <https://dx.doi.org/10.11855/j.issn.0577-7402.1870.2025.0428FJ>)。

3 讨 论

本研究使用 MiBioGen 联盟肠道微生物、已发表



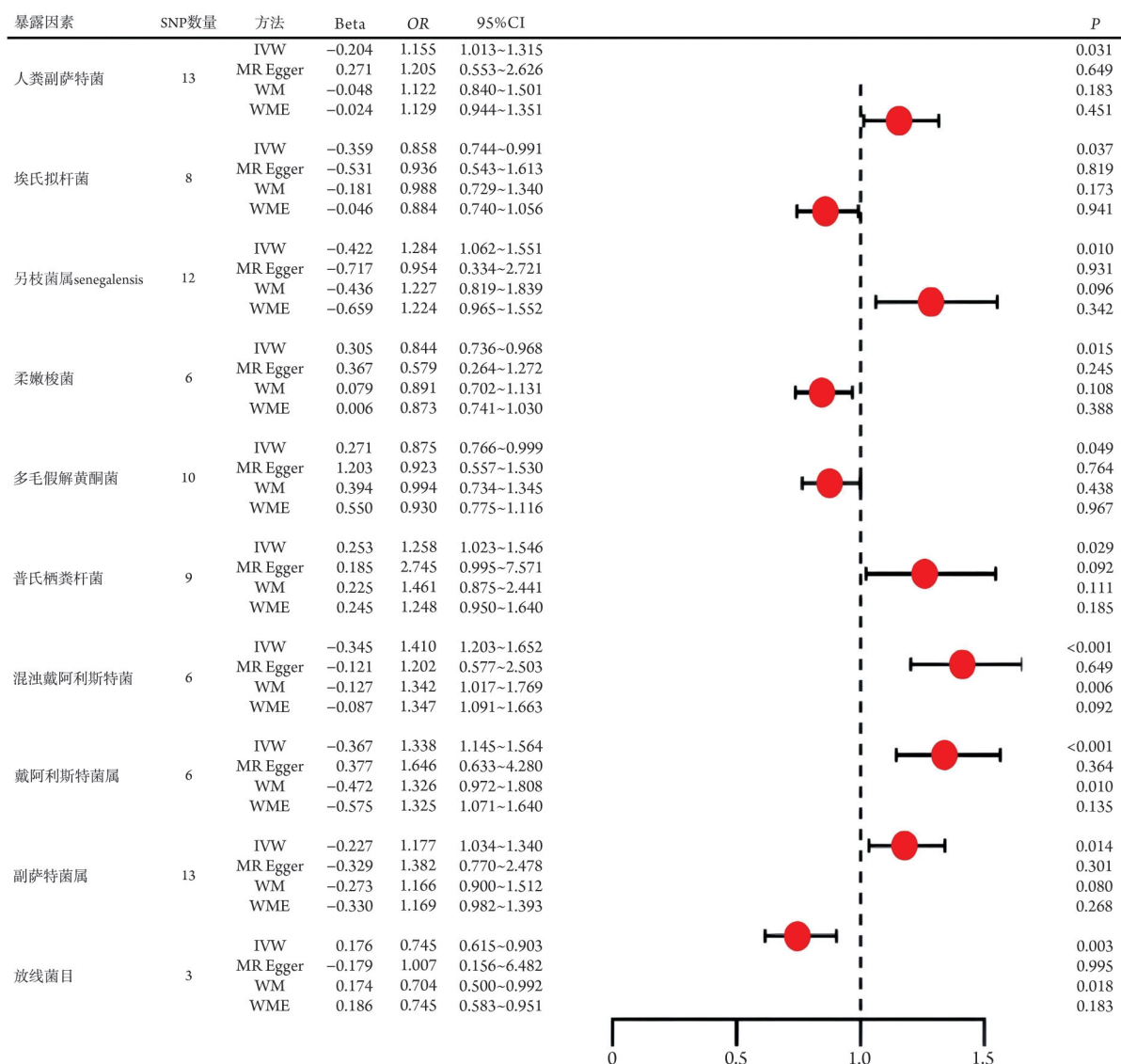
SNP. 单核苷酸多态性; IVW. 逆方差加权; MR. 孟德尔随机化; WM. 加权众数; WME. 加权中位数; BWMR. 贝叶斯加权孟德尔随机化

图1 来自MiBioGen的196个肠道微生物类群与病毒性肺炎因果关系的MR方法分析结果可视化图

Fig.1 Visualization of the analysis results of the causal relationship between 196 species groups of gut microbiota from MiBioGen and viral pneumonia by MR methods

的荷兰肠道微生物与血浆代谢物的GWAS汇总数据以及芬兰R10数据库病毒性肺炎的GWAS数据,进行两样本和两步MR分析,探究肠道微生物、血浆代谢物与病毒性肺炎之间的因果关系与潜在机制。既往相关研究主要关注肠道微生物与COVID-19的两

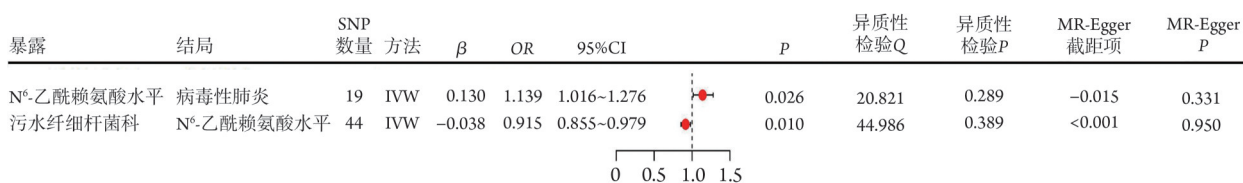
样本MR分析,如Song等^[28]通过MR分析肠道微生物与COVID-19的因果关系,但缺少反向因果的MR分析;Tian等^[29]通过双向MR分析肠道菌群与COVID-19的因果关系,但缺少对因果关系中的中介成分及中介作用机制的分析。此外,本研究选取病



SNP. 单核苷酸多态性; IVW. 逆方差加权; MR. 孟德尔随机化; WM. 加权众数; WME. 加权中位数; BWMR. 贝叶斯加权孟德尔随机化

图2 207个肠道微生物类群与病毒性肺炎因果关系的MR方法分析结果可视化图

Fig.2 Visualization of the analysis results of the causal relationship between 207 species groups of gut microbiota and viral pneumonia by MR methods



SNP. 单核苷酸多态性; IVW. 逆方差加权; MR. 孟德尔随机化

图3 中介因素血浆代谢物介导 196个肠道微生物类群与病毒性肺炎因果关系与质量控制图

Fig.3 Mediator plasma metabolites mediate causality and quality control charts for 196 species groups of gut microbes and viral pneumonia

病毒性肺炎作为结局因素，旨在挖掘肠道微生物在病毒性肺炎发病机制中的普遍规律和特殊机制，使研究结果更具普适性，为COVID-19和其他病毒性肺炎的相关研究提供参考；采用多个肠道微生物来源样

本，进一步探讨这些肠道微生物类群在不同地域、种族的人群中的潜在差异表现。

肠道微生物失调可改变循环代谢物，引起免疫失调和全身炎症。本研究两样本和两步MR研究结

果显示, 污水纤细杆菌科对病毒性肺炎的保护作用可能是由 N6-乙酰基赖氨酸水平介导的。Jalaledine 等^[30]通过高效液相色谱—四极杆飞行时间质谱法分析发现, N6-乙酰基-L-赖氨酸是肥胖患者 COVID-19 发病机制的关键代谢产物; Vann 等^[31]发现, 人类转录调节因子 BRD4 溴结构域的乙酰赖氨酸结合是 SARS-CoV-2 病毒适应性的必要功能, 也是潜在的抗 COVID-19 靶点。蛋白质乙酰化被证明可调节炎症的多种信号通路, N6-乙酰基赖氨酸水平的改变可能通过影响病毒复制或抗炎作用等干预病毒性肺炎。通过 N6-乙酰基赖氨酸水平介导的污水纤细杆菌科对病毒性肺炎的保护作用的确切机制仍不清楚, 尚待更多的研究探索。

双歧杆菌属细菌是人体肠道微生物的核心组成, 对人体健康具有生物屏障、营养、免疫增强作用等重要生理功能。双歧杆菌属、真杆菌属、布劳特菌属、理化所菌科、多毛假解黄酮菌和普氏栖粪杆菌均能通过厌氧发酵产生短链脂肪酸, 尤其是作为结肠细胞必需能量来源的丁酸盐。双歧杆菌等益生菌产生的丁酸盐和乳酸盐通过为肠上皮细胞提供能量来诱导细胞增殖并合成黏液素, 可减少病原体对肠上皮细胞的黏附, 预防内源性继发感染^[32-33]; 假长双歧杆菌产生乙酸盐, 也可参与并加强抗病毒相关通路信号转导轴, 保护宿主免受肺部甲型流感病毒 (IAV) 的侵害^[34]。以大肠杆菌为代表的肠杆菌科可通过厌氧发酵产生乳酸等产物, 激活调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Treg), 增强抗炎作用, 形成一定的免疫耐受机制^[35]。Atarashi 等^[36]将人体肠道内的柔嫩梭菌植入 SPF 小鼠肠道内, 发现其能促进 Treg 细胞分化和扩增并释放 IL-10; 青春双歧杆菌也被证实参与 CD4⁺ T 细胞亚群辅助性 T 细胞 17 (T-helper 17, Th17) 的分化过程, 可调动其他免疫细胞干预病毒性肺炎^[37]。研究显示, 免疫细胞的激活会导致炎症因子释放, 进而影响免疫反应^[38]; 污水纤细杆菌科及污水纤细杆菌属 (UCG011) 均可通过 CD11c 对粒细胞产生介导作用, 促进其参与多种免疫应答^[39]; 其代谢产物 H₂S 在一定浓度下也可诱导促炎细胞因子的合成并激活免疫反应^[40]。Tiemblo 等^[41]发现, 埃氏拟杆菌可表达一种新的含半乳呋喃糖的脂寡糖, 具有较弱的免疫刺激特性。目前对 Family XI 科的研究仍相对匮乏, 未来可对其与病毒性肺炎的相互作用进行更多的研究。

考拉杆菌属、萨特菌属、臭气杆菌属均为厌氧革兰阴性细菌, 同样可通过代谢产生丁酸等短链脂肪酸; 上述种肠道微生物在本研究与病毒性肺炎呈正相关因果关系。研究表明, 考拉杆菌属可通过 CD38 介导抑制特定 B 细胞亚群的活化和分化^[39,42];

萨特菌属能通过分泌 IgA 蛋白酶来降解 IgA, 损害肠道抗病毒免疫反应功能^[43]; Li 等^[44]的双样本 MR 研究显示, 副萨特菌属可增加危重肺炎的风险; 臭气杆菌属是普遍存在于人类肠道的产丁酸的厌氧菌, 有研究认为, 内脏臭气杆菌可诱导 Th17 分化来保护小鼠免受结肠炎和结直肠癌^[45]。本研究的 MR 结果与既往研究结论不一致, 可为菌群与病毒性肺炎之间的相互作用提供参考, 未来可通过更具体深入的研究来探索其内在机制。

人粪副萨特菌与萨特菌属菌株关系密切^[46], 与副萨特菌属同属萨特菌科; 另枝菌属 *senegalensis* 属于理化所菌科; 混浊戴阿利斯特菌属于戴阿利斯特菌属, 是一种常见的致病菌, 可导致呼吸道感染; 真杆菌目包含柔嫩梭菌、真杆菌属、多毛假解黄酮菌和普氏栖粪杆菌。而两种不同类群的肠道微生物与病毒性肺炎因果关系的不同结果提示不同人群由于遗传背景、生活环境、饮食习惯等因素的差异, 其肠道微生物群落结构可能存在差异。本研究中, 196 种肠道微生物人群来源广泛, 饮食和生活方式多样, 使得肠道微生物种类更为丰富; 而荷兰人群相对具有更相似的生活方式和遗传背景, 其肠道微生物呈现出特定的优势类群。

由于特定肠道微生物对宿主免疫系统具有一定的调节作用, 故可使用益生菌作为营养干预措施, 影响病毒性肺炎的感染和预后。针对 COVID-19, 我国诊疗指南指出, 可使用肠道微生态调节剂, 维持肠道微生态平衡, 预防继发感染^[47]。Kukkonen 等^[48]发现, 孕妇在分娩前 8 周服用双歧杆菌 Bbi99 混合物, 新生儿再加服相同混合益生菌糖浆 6 个月, 益生菌组百白破疫苗特异性 IgG 抗体滴度明显高于安慰剂组; Iwabuchi 等^[49]发现, 相较于对照组, 感染流感病毒的小鼠口服双歧杆菌 BB536 可缓解肺炎症状, 抑制病毒增殖; Verstraeten 等^[50]的灌胃实验结果显示, 布劳特菌属粪杆菌 DSM33383 具有保护流感感染小鼠的作用。双歧杆菌属是公认的益生菌之一, 真杆菌属、柔嫩梭菌、布劳特菌属、理化所菌科亦是新一代的潜在有益微生物, 有望作为病毒性肺炎等呼吸道疾病的潜在治疗手段。

本研究采用 MR 分析肠道微生物与病毒性肺炎的潜在因果关系, 具有一定优势: 利用大数据下的 MiBioGen 联盟、已发表的遗传研究数据集和芬兰数据库最新的 R10 GWAS 数据中肠道微生物、血浆代谢物与病毒性肺炎的遗传数据, 提高了因果关联的统计功效, 且通过一系列的敏感性分析提高了分析结果的稳定性和可靠性, 有利于节省人力物力财力。但本研究仍存在一定的局限性: (1) 分析使用的 GWAS 数据受年龄、性别、社区接触及健康状况等

差异影响, 可能导致潜在非线性关系或分层效应引起的异质性; (2) 因为肠道微生物、血浆代谢物和病毒性肺炎的 GWAS 数据量有限, 条件阈值放宽为 $P < 1 \times 10^{-5}$, 可能存在一些未测量的不可避免的混杂因素; (3) 不同种族间存在的遗传差异使得研究结果可能不适用于其他人群。

综上所述, 本研究评估了肠道微生物与病毒性肺炎易感性的因果关系与潜在机制, 通过改变有益保护菌的多样性和组成以及代谢物的靶向治疗, 有望改善病毒性肺炎的感染与预后, 可为后续相关临床研究提供理论依据和支持。未来可使用不同地区、种族的数据样本对肠道微生物与病毒性肺炎的因果关系进行扩大验证。肠道微生物与病毒性肺炎感染的具体作用机制仍不清楚, 还需进一步探究。此外, 还可根据当前的 MR 分析结果开展针对性的微生物群调节、代谢物靶向干预的临床试验, 以验证本次分析结果显示的特定肠道微生物与代谢物调节对病毒性肺炎的预防或治疗效果, 为呼吸道疾病的临床治疗提供更直接的证据。

【参考文献】

- [1] 董娜, 岳红梅, 何瑶, 等. 新型冠状病毒奥密克戎变异株免疫逃逸的研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2023, 48(5): 621-626.
- [2] 王凡荣, 赵敏, 李小伟, 等. 儿童哮喘合并重症社区获得性肺炎不良预后的危险因素与预测模型构建[J]. 医学新知, 2024, 34(5): 508-515.
- [3] 王园, 杨懿, 任福强, 等. 肠道营养干预在中期肺癌患者中应用价值及其对生命质量影响[J]. 临床军医杂志, 2023, 51(11): 1162-1164, 1170.
- [4] Dang AT, Marsland BJ. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis [J]. *Mucosal Immunol*, 2019, 12(4): 843-850.
- [5] Sencio V, Machado MG, Trottein F. The lung-gut axis during viral respiratory infections: the impact of gut dysbiosis on secondary disease outcomes[J]. *Mucosal Immunol*, 2021, 14(2): 296-304.
- [6] 彭高强, 文颖娟, 全武宁, 等. 肠道微生物代谢产物短链脂肪酸对抑郁症的作用研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2023, 48(2): 224-230.
- [7] Zheng J, Baird D, Borges MC, *et al.* Recent developments in mendelian randomization studies[J]. *Curr Epidemiol Rep*, 2017, 4(4): 330-34.
- [8] 孔令宜, 王园园, 缪长宏, 等. 肠道微生物与细菌性肺炎易感性的因果关系: 双样本双向孟德尔随机化研究及 cML-MA 的应用[J]. 中国急救医学, 2024, 44(2): 148-155.
- [9] Davey Smith G, Hemani G. Mendelian randomization: genetic anchors for causal inference in epidemiological studies[J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(R1): R89-R98.
- [10] 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.
- [11] van der Velde KJ, Imhann F, Charbon B, *et al.* MOLGENIS research: advanced bioinformatics data software for nonbioinformaticians[J]. *Bioinformatics*, 2019, 35(6): 1076-1078.
- [12] 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.
- [13] 柴金莲, 李树栋, 李威, 等. 肠道微生物与药物相关性骨坏死: 两样本双向孟德尔随机化分析[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(27): 4325-4331.
- [14] Lopera-Maya EA, Kurilshikov A, van der Graaf A, *et al.* Effect of host genetics on the gut microbiome in 7,738 participants of the Dutch Microbiome Project[J]. *Nat Genet*, 2022, 54(2): 143-151.
- [15] Chen Y, Lu T, 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.
- [16] Wootton RE, Lawn RB, Millard LAC, *et al.* Evaluation of the causal effects between subjective wellbeing and cardiometabolic health: Mendelian randomisation study[J]. *BMJ*, 2018, 362: k3788.
- [17] Burgess S, Thompson SG, CRP CHD Genetics Collaboration. Avoiding bias from weak instruments in Mendelian randomization 16 studies[J]. *Int J Epidemiol*, 2011, 40(3): 755-764.
- [18] Pierce BL, Ahsan H, Vanderweele TJ. Power and instrument strength requirements for Mendelian randomization studies using multiple genetic variants[J]. *Int J Epidemiol*, 2011, 40(3): 740-752.
- [19] Burgess S, Dudbridge F, Thompson SG. Combining information on multiple instrumental variables in Mendelian randomization: comparison of allele score and summarized data methods[J]. *Stat Med*, 2016, 35(11): 1880-1906.
- [20] Bowden J, Davey Smith G, Burgess S. Mendelian randomization with invalid instruments: effect estimation and bias detection through Egger regression[J]. *Int J Epidemiol*, 2015, 44(2): 512-525.
- [21] Bowden J, Davey Smith G, Haycock PC, *et al.* Consistent estimation in Mendelian randomization with some invalid instruments using a weighted median estimator[J]. *Genet Epidemiol*, 2016, 40(4): 304-314.
- [22] Hartwig FP, Davey Smith G, Bowden J. Robust inference in summary data Mendelian randomization *via* the zero modal pleiotropy assumption[J]. *Int J Epidemiol*, 2017, 46(6): 1985-1998.
- [23] Burgess S, Dudbridge F, Thompson SG. Combining information on multiple instrumental variables in Mendelian randomization: comparison of allele score and summarized data methods[J]. *Stat Med*, 2016, 35(11): 1880-1906.
- [24] Burgess S, Butterworth A, Thompson SG. Mendelian randomization analysis with multiple genetic variants using summarized data[J]. *Genet Epidemiol*, 2013, 37(7): 658-665.
- [25] Bowden J, Davey Smith G, Burgess S. Mendelian randomization with invalid instruments: effect estimation and bias detection through Egger regression[J]. *Int J Epidemiol*, 2015, 44(2): 512-525.
- [26] Yin Q, Zhu L. Does co-localization analysis reinforce the results of Mendelian randomization?[J]. *Brain*, 2024, 147(1): e7-e8.
- [27] 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.
- [28] Song J, Wu Y, Yin X, *et al.* The causal links between gut microbiota and COVID-19: a Mendelian randomization study[J]. *J Med Virol*, 2023, 95(5): e28784.
- [29] Tian S, Huang W. The causal relationship between gut microbiota and COVID-19: a two-sample Mendelian randomization analysis

- [J]. *Medicine*, 2024, 103(5): e36493.
- [30] Jalaliddine N, Hachim M, Al-Hroub H, *et al.* N6-Acetyl-L-Lysine and p-Cresol as key metabolites in the pathogenesis of COVID-19 in obese patients[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 827603.
- [31] Vann KR, Acharya A, Jang SM, *et al.* Binding of the SARS-CoV-2 envelope E protein to human BRD4 is essential for infection[J]. *Structure*, 2022, 30(9): 1224-1232.e5.
- [32] Li H, Liu X, Chen F, *et al.* Avian influenza virus subtype h9n2 affects intestinal microbiota, barrier structure injury, and inflammatory intestinal disease in the chicken ileum[J]. *Viruses*, 2018, 10(5): 270.
- [33] Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Gil-Campos M, *et al.* Mechanisms of action of probiotics[J]. *Adv Nutr*, 2019, 10(suppl 1): S49-S66.
- [34] Niu J, Cui M, Yang X, *et al.* Microbiota-derived acetate enhances host antiviral response via NLRP3[J]. *Nat Commun*, 2023, 14: 642.
- [35] Watson MJ, Vignali PDA, Mullett SJ, *et al.* Metabolic support of tumour-infiltrating regulatory T cells by lactic acid[J]. *Nature*, 2021, 591(7851): 645-651.
- [36] Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, *et al.* Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota[J]. *Nature*, 2013, 500(7461): 232-236.
- [37] Niedbala W, Besnard AG, Jiang HR, *et al.* Nitric oxide-induced regulatory T cells inhibit Th17 but not Th1 cell differentiation and function[J]. *J Immunol*, 2013, 191(1): 164-170.
- [38] Chen Y, Tang S. Gut microbiota and immune mediation: a Mendelian randomization study on granulomatosis with polyangiitis [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1296016.
- [39] Wang Q, Su X, He Y, *et al.* CD11c participates in triggering acute graft-versus-host disease during bone marrow transplantation[J]. *Immunology*, 2021, 164(1): 148-160.
- [40] Zhi L, Ang AD, Zhang H, *et al.* Hydrogen sulfide induces the synthesis of proinflammatory cytokines in human monocyte cell line U937 via the ERK-NF- κ B pathway[J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81(5): 1322-1332.
- [41] Tiemblo Martín M, Coccimiglio M, Andretta E, *et al.* The human gut *Bacteroides eggerthii* expresses a new galactofuranose-containing lipooligosaccharide with weak immunostimulatory properties[J]. *Carbohydr Polym*, 2025, 348(Pt A): 122833.
- [42] Verhoeven D, Grinwis L, Marsman C, *et al.* B-cell targeting with anti-CD38 daratumumab: implications for differentiation and memory responses[J]. *Life Sci Alliance*, 2023, 6(9): e202302214.
- [43] Kaakoush NO. *Sutterella* species, IgA-degrading bacteria in ulcerative colitis[J]. *Trends Microbiol*, 2020, 28(7): 519-522.
- [44] Li Y, Fang M, Li D, *et al.* Association of gut microbiota with critical pneumonia: a two-sample Mendelian randomization study[J]. *Medicine*, 2024, 103(42): e39677.
- [45] Xing C, Wang M, Ajibade AA, *et al.* Microbiota regulate innate immune signaling and protective immunity against cancer[J]. *Cell Host Microbe*, 2021, 29(6): 959-974.e7.
- [46] Nagai F, Morotomi M, Sakon H, *et al.* *Parasutterella excrementihominis* gen. nov., sp. nov., a member of the family *Alcaligenaceae* isolated from human faeces[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009, 59(Pt 7): 1793-1797.
- [47] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第九版) [EB/OL]. [2022-03-14]. https://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2023-01/06/content_5735343.htm.
- [48] Kukkonen K, Nieminen T, Poussa T, *et al.* Effect of probiotics on vaccine antibody responses in infancy--a randomized placebo-controlled double-blind trial[J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2006, 17(6): 416-421.
- [49] Iwabuchi N, Xiao JZ, Yaeshima T, *et al.* Oral administration of *Bifidobacterium longum* ameliorates influenza virus infection in mice[J]. *Biol Pharm Bull*, 2011, 34(8): 1352-1355.
- [50] Verstraeten S, Sencio V, Raise A, *et al.* Description of a newly isolated *Blautia faecis* strain and its benefit in mouse models of post-influenza secondary enteric and pulmonary infections[J]. *Nutrients*, 2022, 14(7): 1478.

(责任编辑: 蒋铭敏)

解放军医学杂志®