

# 肠道微生物与焦虑关系的两样本孟德尔随机化研究

付进杰<sup>1,2</sup>, 秦元<sup>3,4</sup>, 肖凌勇<sup>3,4</sup>, 戴晓裔<sup>3,4</sup>

1. 天津中医药大学研究生院, 天津 301617; 2. 天津中医药大学中医学院, 天津 301617;  
3. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300380; 4. 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300380

**摘要:**目的 利用孟德尔随机化探究 211 种肠道微生物与焦虑的因果关系。方法 基于 MiBioGen 联盟和芬兰数据库中的全基因组关联研究数据集, 提取符合条件的工具变量, 以逆方差加权法为主要的孟德尔随机化分析方法, 配合 MR-Egger、Weighted median 方法进行研究。最后通过 Cochran Q 统计量、MR-Egger 回归的截距项、MR-PRESSO 以及 leave-one-out 法对结果进行验证。结果 蓝藻细菌门 ( $OR=1.103, 95\%CI: 1.001 \sim 1.215, P=0.048$ )、埃希-志贺菌属 ( $OR=1.159, 95\%CI: 1.027 \sim 1.309, P=0.017$ )、史雷克菌属 ( $OR=1.170, 95\%CI: 1.047 \sim 1.307, P=0.005$ ) 与焦虑风险呈正相关; 厚壁菌门 ( $OR=0.857, 95\%CI: 0.754 \sim 0.974, P=0.018$ )、梭菌纲 ( $OR=0.817, 95\%CI: 0.701 \sim 0.951, P=0.009$ )、梭菌目 ( $OR=0.849, 95\%CI: 0.736 \sim 0.980, P=0.025$ )、真杆菌属 ( $OR=0.861, 95\%CI: 0.748 \sim 0.993, P=0.039$ )、瘤胃球菌\_UCG004 属 ( $OR=0.886, 95\%CI: 0.789 \sim 0.994, P=0.039$ )、瘤胃球菌\_UCG011 属 ( $OR=0.919, 95\%CI: 0.854 \sim 0.989, P=0.025$ ) 与焦虑风险呈负相关。所得结果通过验证, 未发现异质性与水平多效性。结论 本研究评估了肠道微生物与焦虑潜在的因果关系, 为今后焦虑的诊断、预防与治疗等方面的相关研究提供参考。

**关键词:** 焦虑; 肠道微生物; 因果关联; 孟德尔随机化

中图分类号: R749.72 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2024)09-1537-08

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202312158

## A two-sample Mendelian randomized study on the relationship between intestinal microorganisms and anxiety

FU Jin-jie\*, QIN Yuan, XIAO Ling-yong, DAI Xiao-yu

Graduate School of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

**Abstract: Objective** To investigate the causal relationship between 211 intestinal microorganisms and anxiety by Mendelian randomization analysis. **Methods** Based on the genome-wide association study data of MiBioGen Alliance and Finnish database, the qualified instrumental variables were extracted, and the inverse variance weighting method was used as the main Mendelian randomized analysis method, combined with MR-Egger and Weighted median methods. Finally, the results were verified by Cochran's Q statistics, intercept terms of MR-Egger regression, MR-PRESSO, and leave-one-out methods. **Results** Cyanobacteria ( $OR=1.103, 95\%CI: 1.001-1.215, P=0.048$ ), *Shigella* ( $OR=1.159, 95\%CI: 1.027-1.309, P=0.017$ ), and *Slackia* ( $OR=1.170, 95\%CI: 1.047-1.307, P=0.017$ ) were positively correlated with the risk of anxiety. Firmicutes ( $OR=0.857, 95\%CI: 0.754-0.974, P=0.018$ ), Clostridium ( $OR=0.817, 95\%CI: 0.701-0.951, P=0.009$ ), Clostridium ( $OR=0.849, 95\%CI: 0.736-0.980, P=0.025$ ), *Eubacterium\_rectale\_group* ( $OR=0.861, 95\%CI: 0.748-0.993, P=0.039$ ), *Ruminococcaceae\_UCG004* ( $OR=0.886, 95\%CI: 0.789-0.994, P=0.039$ ), and *Ruminococcaceae\_UCG011* ( $OR=0.919, 95\%CI: 0.854-0.989, P=0.025$ ) were negatively correlated with anxiety risk. The results were verified and no heterogeneity and horizontal pleiotropy were found. **Conclusion** This study evaluates the potential causal relationship between intestinal microorganisms and anxiety, providing reference for the diagnosis, prevention and treatment of anxiety in the future.

**Keywords:** Anxiety; Intestinal microorganisms; Causal correlation; Mendelian randomization

焦虑是最常见的精神障碍类疾病之一, 全球范围内焦虑的终生患病率在 5% ~ 25% 之间, 特别是 2020 年, 受 COVID-19 影响, 全球焦虑患者比预估增加了

26%<sup>[1]</sup>。焦虑在严重影响患者生活质量的同时, 为人类社会带来巨大经济负担, 据全球疾病负担研究显示, 焦虑在精神类疾病负担中排名第二, 占全球疾病负担的 3.3%<sup>[2]</sup>。而且由于药物治疗逐渐产生的耐药性, 大约 20% 的患者在减轻焦虑或抑郁症状方面没有改善<sup>[3]</sup>, 可见该疾病临床治疗的需求也尚未得到解决, 因此, 十分需要一种新的方向思路, 对焦虑进行有效

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFC3500501); 天津市科技计划项目(18PTLCSY00050)

作者简介: 付进杰(2000—), 男, 硕士在读, 研究方向: 中医临床基础  
通信作者: 戴晓裔, E-mail: drdaixiaoyu@163.com

预防、正确诊断及治疗干预,从而减低全球患病率和疾病负担。

肠道微生物(gut microbiota, GM)是寄居在人体肠道中的各种细菌,是人类第二大基因组,与机体健康密切相关,并且通过肠-脑轴(gut-brain axis, GBA)实现中枢神经系统和胃肠道之间作用的双向通信<sup>[4]</sup>。有研究发现,与健康人相比,广泛性焦虑患者拟杆菌和志贺菌的丰度较高,厚壁菌丰度较低,提示 GM 可能对焦虑的发病机制或治疗具有意义<sup>[5]</sup>;也有基础研究表明 GM 会通过产生的代谢物改变大鼠脑突胶质细胞分化和髓鞘动力学,从而影响小鼠表现出焦虑行为<sup>[6]</sup>。所以 GM 菌群特征可能是焦虑患者新的诊断生物标志物及治疗靶点。然而,目前尚未有研究尝试评估 GM 在该疾病当中的特异性。因此我们可以通过 GM 谱系,分析不同 GM 对于焦虑的影响,判断其因果关系,明确危险因素与保护因素,为日后相关研究提供参考。

孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)作为一种研究方法,可有效运用已有的全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)数据结果,以单核苷酸多态性/遗传变异(single nucleotide polymorphisms, SNPs)为工具变量(instrumental variables, IVs),探索暴露因素与结局之间因果关系,可以减少混杂因素或反向因果关系造成的偏差<sup>[7]</sup>。

在本研究利用 GWAS 汇总统计 GM 各类群与焦虑的 MR 分析,以探究两者之间的潜在因果关系,确定具体菌群对疾病产生的危险与保护作用,以期使用不同分析方法为现有的研究结果提供证据支撑,为尚未明确的发病机制提供新的研究思路,也为日后对与焦虑的预防、早期诊断及治疗提供新的方向。

## 1 数据与方法

**1.1 研究设计** 基于 GM 与焦虑的 GWAS,选取满足条件的 SNPs 作为工具变量,通过双样本 MR 探究肠道微生物与焦虑之间的因果关系。该项 MR 研究满足以下三个假设:(1)选择与 GM 显著相关的 SNPs 作为 IVs;(2)所选的 IVs 与其他混杂因素无关;(3)IVs 只能通过 GM 来影响焦虑。见图 1。

**1.2 数据来源** MiBioGen 联盟贡献了 GM 的 GWAS 数据,共涉及 211 种 GM,有来自 24 各队列的 18 340 个样本,从中获得了 16Sr RNA 基因的 V3、V4-V3 和 V1-V2 片段的测序图谱和基因分型数据<sup>[8]</sup>。焦虑的 GWAS 数据源于 FinnGen (<https://r5.finnngen.fi/>),该研究使用的表型为“焦虑”定义为一类精神疾病,其特征是焦虑感或恐惧,通常伴有与焦虑相关的身体症状,会受到吸烟、饮酒、职业、家庭环境等因素影响<sup>[9]</sup>,其

诊断标准参考 ICD-10:F40-F48,ICD-9:300 [0 ~ 316 ~ 9][3 078A1309,ICD-8:300[0 ~ 2][30 0301 300[5 ~ 9][305130 680130 799,包含 20 992 名焦虑患者与 197 800 名对照者,均来源于欧洲。本研究暴露和结局的数据均为公开数据库数据,无需伦理批准。

**1.3 工具变量的选择** 我们按照以下标准对 IVs 进行筛选:(1)本研究经过全基因组显著性阈值  $P < 5 \times 10^{-8}$  对 SNPs 进行筛选,然而筛到的 SNPs 数量有限,可研究样本极少,因此我们选择以  $P < 1.0 \times 10^{-5}$  为阈值筛选与 GM 显著相关的 SNPs 作为 IVs 以获得更为全面的研究结果<sup>[10]</sup>。(2)计算 SNPs 之间的连锁不平衡,相关系数设置 clumping-distance=10 000 kb 以及 clumping- $r^2 < 0.001$ 。(3)为了排除存在潜在多效性,应用 PhenoScannerV2 (<http://www.phenoscaner.med-schl.cam.ac.uk/phenoscaner>)搜索,进一步筛查与结局表型相关的 SNPs,去除混杂因素。(4)当存在回文 SNP 时,回文 SNP 被剔除,以防止等位基因对因果关系的影响。(5)计算 IVs 与 GM 的  $F$  统计量,保留  $F$  数值大于 10 的 SNPs<sup>[11]</sup>。

**1.4 统计分析** 该研究使用逆方差加权法(inverse variance weighted, IVW)、MR-Egger、加权中位数法(weighted median, WME)和 MR-PRESSO 方法探究 GM 与焦虑之间的因果关系,以 IVW 为主要分析方法<sup>[12]</sup>,它能在有效的 IVs 当中检测出具有较强因果关系的 SNP;使用 MR-Egger 回归来对多效性进行检验,尽管与 IVW 相比它的统计效率较低,但 IVs 间存在多效性时,使用 MR-Egger 更为合适;若有 50% 的 IVs 无效时,使用 WME 来得到较为稳健的估计值。同时为了保证所得结果的稳定性,我们进行了敏感性分析。Cochran  $Q$  统计量用来检查 SNPs 之间是否存在异质性, $P < 0.05$  表明存在异质性<sup>[10]</sup>;通过 MR-Egger 回归的截距项检测是否存在水平多效性, $P < 0.05$  表明存在水平多效性<sup>[13]</sup>,其中截距项是指当暴露为 0 时,结局发生的情况,如果截距项和 0 非常接近,那么 IVW 与 MR-Egger 结果就非常接近,若截距项和 0 相差较大,则说明 IV 间存在水平多效性;如果存在水平多效性,利用 MR-PRESSO 删除显著差异的 SNPs 来校正水平多效性,以获得更加接近真实的估计值。Leave-one-out 法检查是否存在影响力较强的 SNPs<sup>[14]</sup>。本研究基于 R 软件(版本 4.3.0)进行,“TwoSampleMR”R 包(<https://mrcieu.github.io/TwoSampleMR/>)和“MRPRESSO”R 包(<https://github.com/rondolab/MR-PRESSO>)用于 MR 研究。

**1.5 反向 MR 分析** 为了排除焦虑对 GM 的反向因果影响,我们以焦虑为暴露,以 GM 为结局,进行反向 MR 分析,其方法与正向 MR 分析相同。

## 2 结果

**2.1 获取工具变量** 排除 15 种无名称的 GM, 通过对 196 种 GM 所含 2 699 个 SNPs 的筛选, 最终获得 91 个 SNPs, 包含蓝藻细菌门(Cyanobacteria)、埃希-志贺菌属(*Escherichia. Shigella*)、史雷克菌属(*Slackia*)、厚壁菌门(Firmicutes)、梭菌纲(Clostridia)、梭菌目(Clostridiales)、真杆菌属(*Eubacterium\_rectale\_group*)、瘤胃球菌\_UCG004 属(*Ruminococcaceae\_UCG004*)、瘤胃球菌\_UCG011 属(*Ruminococcaceae\_UCG011*)9 种 GM。

**2.2 正向 MR 结果** 三种 MR 方法结果显示, IVW 结果表明 9 种 GM 与焦虑有因果关系, 其中蓝藻细菌门( $OR=1.103, 95\% CI: 1.001 \sim 1.215, P=0.048$ )、埃希-志贺菌属( $OR=1.159, 95\% CI: 1.027 \sim 1.309, P=0.017$ )、史雷克菌属( $OR=1.170, 95\% CI: 1.047 \sim 1.307, P=0.005$ )与焦虑风险呈正相关; 厚壁菌门( $OR=0.857, 95\% CI: 0.754 \sim 0.974, P=0.018$ )、梭菌纲( $OR=0.817, 95\% CI: 0.701 \sim 0.951, P=0.009$ )、梭菌目( $OR=0.849, 95\% CI: 0.736 \sim 0.980, P=0.025$ )、真杆菌属( $OR=0.861, 95\% CI: 0.748 \sim 0.993, P=0.039$ )、瘤胃球菌\_UCG004 属( $OR=0.886, 95\% CI: 0.789 \sim 0.994, P=0.039$ )、瘤胃球菌\_UCG011 属( $OR=0.919, 95\% CI:$

$0.854 \sim 0.989, P=0.025$ ) 与焦虑风险呈负相关。见表 1、图 2。

**2.3 质量控制** Cochran Q 检验显示 9 种 GM 与焦虑的 Q 检验的 P 值均大于 0.05, 表明该项研究结果涉及的 IVs 之间不存在异质性, 见表 2。MR-Egger 截距项检验显示 *egger\_intercept* 的 P 值均大于 0.05, 绘制散点图, MR-PRESSO 中 P 值 > 0.05, 表明 9 种 GM 的 SNPs 与结局焦虑间不存在水平多效性, 见图 3。Leave-one-out 法结果显示, 9 种 GM 与焦虑的因果关系不受某个强 IVs 所影响, 见图 4。

**2.4 反向 MR 结果** 反向 MR 结果显示, 焦虑与 5 个微生物类别存在因果关系。其中焦虑与 *genus Defluviitaleacea\_UCG011* ( $OR=1.172, 95\% CI: 1.034 \sim 1.329, P=0.013$ )、*family Defluviitaleaceae* ( $OR=1.163, 95\% CI: 1.027 \sim 1.317, P=0.017$ )、*genus Intestinibacter* ( $OR=1.118, 95\% CI: 1.006 \sim 1.242, P=0.038$ )、*genus Olsenella* ( $OR=1.247, 95\% CI: 1.033 \sim 1.506, P=0.022$ ) 呈正相关; 焦虑与 *genus Erysipelatoclostridium* ( $OR=0.873, 95\% CI: 0.771 \sim 0.989, P=0.033$ ) 呈负相关。经对比后发现, 本研究中的正向 MR 结果不存在反向因果关联。见图 5。

表 1 MR 分析的主要结果

Table 1 Main results of MR analysis

Exposure	Method	SNPs	Beta	$s_e$	P 值	OR 值(95%CI)
Cyanobacteria	MR-Egger	8	0.177	0.176	0.355	1.193 (0.845 ~ 1.686)
	WME	8	0.146	0.064	0.024	1.157 (1.020 ~ 1.312)
	IVW	8	0.098	0.049	0.048	1.103 (1.001 ~ 1.215)
Firmicutes	MR-Egger	14	-0.226	0.178	0.228	0.798 (0.563 ~ 1.130)
	WME	14	-0.142	0.087	0.102	0.867 (0.731 ~ 1.029)
	IVW	14	-0.154	0.065	0.018	0.857 (0.754 ~ 0.974)
Clostridia	MR-Egger	11	-0.763	0.308	0.035	0.466 (0.255 ~ 0.853)
	WME	11	-0.103	0.099	0.302	0.902 (0.742 ~ 1.097)
	IVW	11	-0.202	0.078	0.009	0.817 (0.701 ~ 0.951)
Clostridiales	MR-Egger	12	-0.789	0.276	0.017	0.454 (0.264 ~ 0.780)
	WME	12	-0.068	0.092	0.458	0.934 (0.781 ~ 1.118)
	IVW	12	-0.163	0.073	0.025	0.849 (0.736 ~ 0.980)
<i>Eubacterium_rectale_group</i>	MR-Egger	9	-0.107	0.273	0.706	0.898 (0.526 ~ 1.534)
	WME	9	-0.125	0.093	0.182	0.883 (0.735 ~ 1.060)
	IVW	9	-0.149	0.072	0.039	0.861 (0.748 ~ 0.993)
<i>Escherichia. Shigella</i>	MR-Egger	10	0.116	0.193	0.566	1.123 (0.769 ~ 1.639)
	WME	10	0.150	0.080	0.059	1.162 (0.994 ~ 1.358)
	IVW	10	0.148	0.062	0.017	1.159 (1.027 ~ 1.309)
<i>Ruminococcaceae_UCG004</i>	MR-Egger	11	-0.219	0.343	0.539	0.803 (0.410 ~ 1.573)
	WME	11	-0.147	0.074	0.047	0.863 (0.747 ~ 0.998)
	IVW	11	-0.122	0.059	0.039	0.886 (0.789 ~ 0.994)
<i>Ruminococcaceae_UCG011</i>	MR-Egger	8	-0.252	0.189	0.231	0.777 (0.536 ~ 1.126)
	WME	8	-0.041	0.048	0.392	0.960 (0.873 ~ 1.055)
	IVW	8	-0.084	0.037	0.025	0.919 (0.854 ~ 0.989)
<i>Slackia</i>	MR-Egger	6	0.012	0.368	0.975	1.012 (0.492 ~ 2.083)
	WME	6	0.152	0.073	0.038	1.164 (1.008 ~ 1.343)
	IVW	6	0.157	0.057	0.005	1.170 (1.047 ~ 1.307)

表 2 9 种 GM 与焦虑的质量控制结果

Table 2 Quality control results of 9 gut microorganisms and anxiety disorders

Exposure	Method	<i>Q</i>	<i>Q</i> <i>P</i> 值	Egger_intercept	<i>P</i> 值	MR-PRESSO <i>P</i> 值
Cyanobacteria	IVW	5.559	0.592	-0.010	0.657	0.621
Firmicutes	IVW	17.861	0.163	0.006	0.671	0.168
Clostridia	IVW	14.004	0.173	0.037	0.094	0.182
Clostridiales	IVW	16.537	0.221	0.028	0.139	0.207
<i>Eubacterium_rectale_group</i>	IVW	3.504	0.899	-0.003	0.878	0.904
<i>Escherichia_Shigella</i>	IVW	3.860	0.920	0.003	0.864	0.936
<i>Ruminococcaceae_UCG004</i>	IVW	14.172	0.165	0.008	0.779	0.197
<i>Ruminococcaceae_UCG011</i>	IVW	8.140	0.320	0.023	0.399	0.332
<i>Slackia</i>	IVW	2.766	0.736	0.015	0.711	0.770

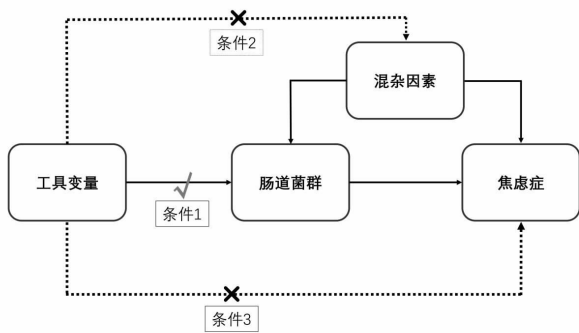


图 1 研究设计图

Figure 1 Study design diagram

### 3 讨论

本研究通过结合 MR 和敏感性分析的证据,共确

定了 9 种 GM 与焦虑之间存在因果关系。其中蓝藻细菌门、埃希-志贺菌属、史雷克菌属与结局疾病风险呈正相关,显示它们可能为焦虑疾病的危险因素;厚壁菌门、梭菌纲、梭菌目、真杆菌属、瘤胃球菌\_UCG004 属、瘤胃球菌\_UCG011 属与结局疾病风险呈负相关,显示它们可能为焦虑疾病的保护因素。

GM 群是一个十分复杂的生态系统,归纳了所有与宿主健康状况密切相关的 GM 基因组特征,也有越来越多的研究发现 GM 会影响到免疫系统、色氨酸代谢、迷走神经等多种途径,通过 GBA 对中枢神经系统发挥重要作用<sup>[15]</sup>。例如,血清素 5-羟色胺(5-HT)作为神经递质可以通过 GBA 调节情绪,其受体功能改变可以引发焦虑等情绪障碍<sup>[16]</sup>。5-HT<sub>2c</sub> 对于焦虑

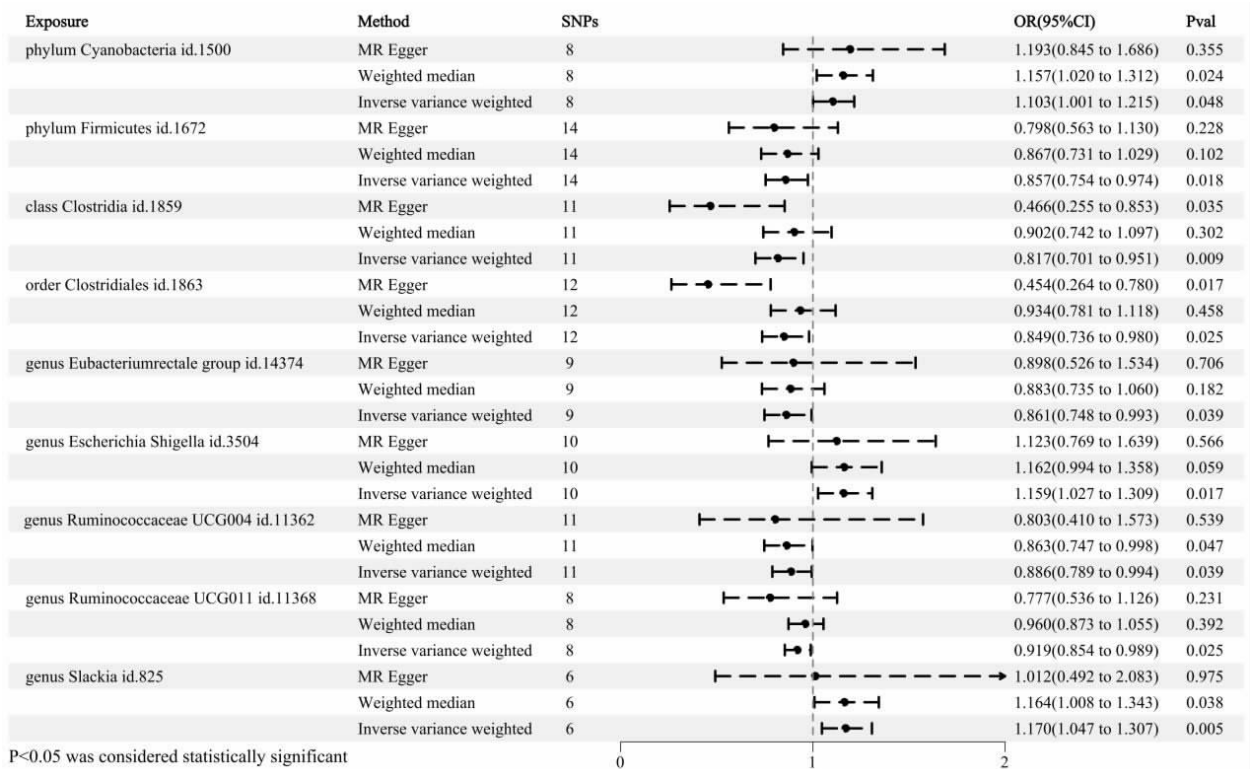
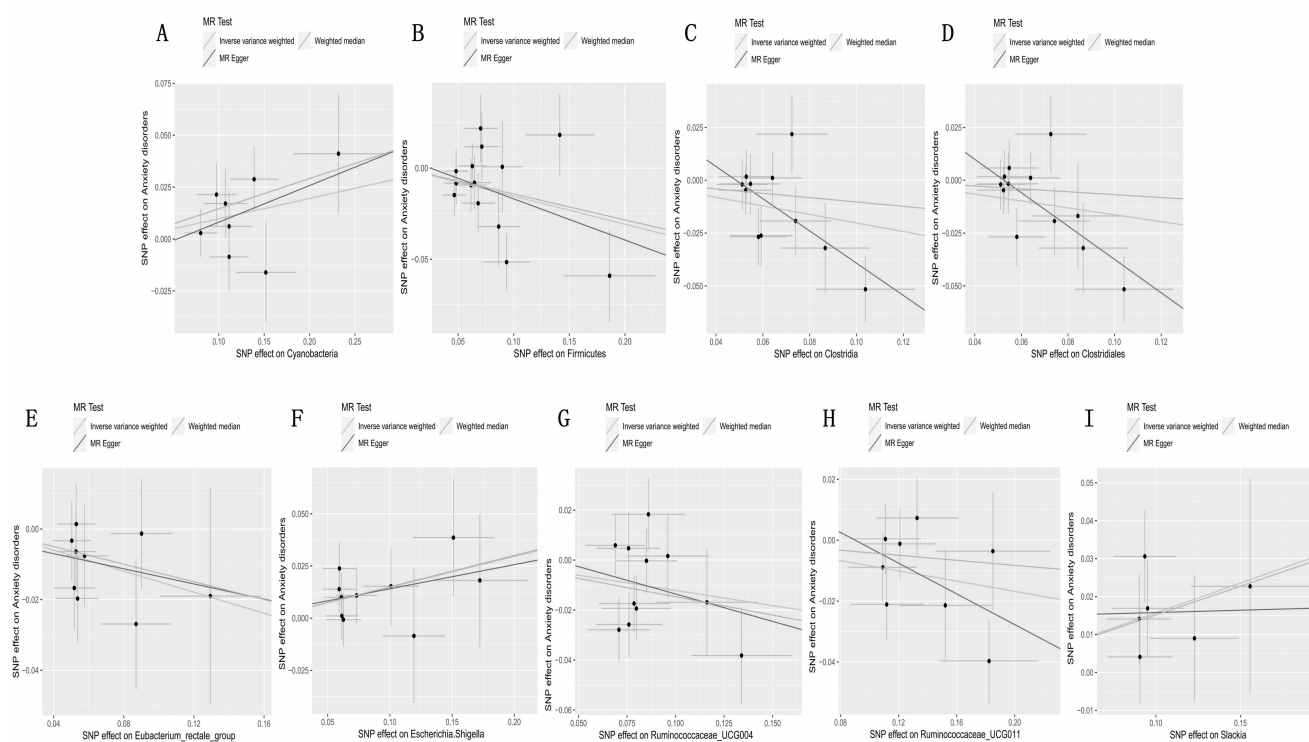


图 2 MR 分析下 GM 与焦虑之间的因果关系

Figure 2 Causal relationship between gut microbes and anxiety by MR analysis

的调节作用已被广泛认可,Neil 等人<sup>[16-17]</sup>的研究表明,蓝藻细菌门提取物作为 5-HT<sub>2c</sub> 拮抗剂显示出对于焦虑的治疗潜力。而另一种蓝藻细菌门提取物 DUQ0002I 被研究证明是能够发挥抗抑郁作用的 5-HT<sub>7R</sub> 拮抗剂,通过脑室内注射能够减少雄性小鼠的抑郁和焦虑样行为,但对雌性小鼠却未表现出任何行为变化,并且通过海马体 CA1 给予 DUQ0002I 也不足以诱导产生抗焦虑样作用<sup>[18]</sup>。有趣的是,这与我们的研究结果有所差异,本研究通过 MR 分析显示蓝藻细菌门为焦虑发病的危险因素,我们分析造成这种差异的可能有两种原因。其一,根据上述文献研究所

述,由于对 5-HT 受体的刺激,可能会诱发或是减少焦虑<sup>[17]</sup>,因此 GM 中蓝藻细菌门对于焦虑的影响作用也为双向,可能是由于蓝藻细菌门的不同化合物通过 GBA 在对 5-HT 受体发挥作用,亦或是蓝藻细菌门的化合物通过 GBA 作用于大脑不同脑区,因此会产生不同的作用结果;其二,由于其抗焦虑作用仅在雄性动物试验中被证明<sup>[18]</sup>,但根据相关研究我们知道,女性比男性更容易患抑郁症和焦虑<sup>[19]</sup>,因此该结果也可能与我们所选择数据库焦虑样本的性别比例有所关联。



注:A 蓝藻细菌门; B 厚壁菌门; C 梭菌纲; D 梭菌目; E 真杆菌属; F 埃希-志贺菌属; G 瘤胃球菌\_UCG004 属; H 瘤胃球菌\_UCG011 属; I 史雷克菌属。

图 3 GM 与焦虑的散点图

Figure 3 Scatter plot of relationship between gut microbes and anxiety disorders

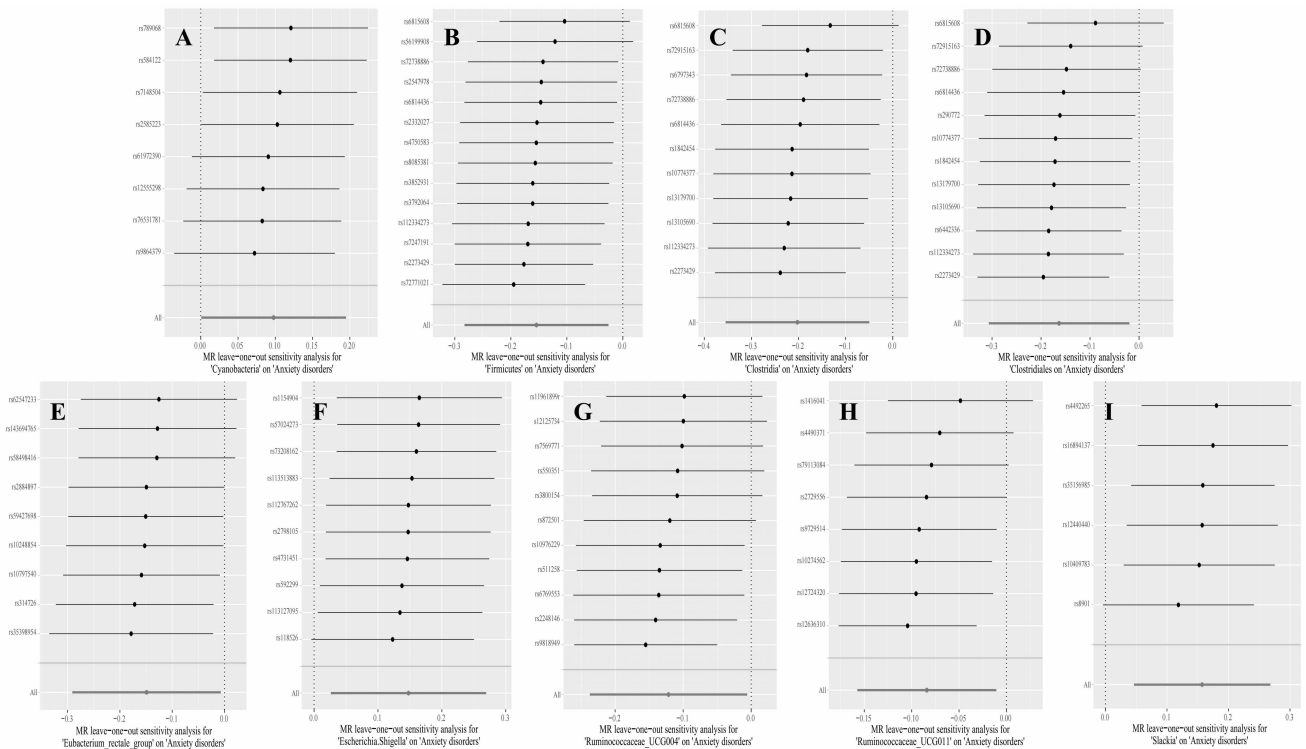
此外,本研究还发现两组对于焦虑发病可能是危险因素 GM 种群。一种为埃希-志贺菌属,这与先前的其他研究结果一致,与健康受试者相比,焦虑患者被测试出有较高丰度的埃希-志贺菌属<sup>[5,20]</sup>,并且有研究人员通过食物调节小鼠的焦虑样行为,发现过多增殖的埃希-志贺菌属会被抑制<sup>[21]</sup>。本研究通过 MR 分析佐证了上述研究结论,确定了埃希-志贺菌属与焦虑存在较强的因果关系,这为探索对于焦虑的预防与治疗都提供了更有针对性的策略。另一种存在风险关系的 GM 是史雷克菌属,该菌属此前尚未有研究对它与焦虑疾病的关系进行过探索,但有试验发现史雷克菌属与菌血症等疾病有一定相关性<sup>[22]</sup>,

这足以论证目前史雷克菌属对于人体的健康是具有一定不良影响的,但其与焦虑等精神障碍类疾病的关系及机制,还需要更进一步的探究。

正常的人类 GM 由两大门组成,即拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes),本研究结果中 5 个与焦虑疾病呈负相关的菌属都属于厚壁菌门,即梭菌纲、梭菌目、真杆菌属、瘤胃球菌\_UCG004 属、瘤胃球菌\_UCG011 属。一项统计研究分析了 GM 与神经系统疾病之间的关联证据,发现一些 GM 会增加疾病的风险,而另一些则显示出 GM 有益的证据,其中被统计到最多的有益 GM 是厚壁菌门<sup>[23]</sup>。本研究结果也显示出厚壁菌门与所属的五种 GM 菌属,对焦虑

均为保护因素。先前的研究发现,颞叶癫痫伴焦虑患者表现出较低丰度的梭菌纲和瘤胃球菌属<sup>[20]</sup>;瘤胃球菌属 *UCG014* 属和 *Eubacterium\_coprostanoligenes\_group* 的丰度与焦虑呈明显负相关<sup>[5]</sup>。上述研究均提示 GM 与焦虑相关,但因果关系尚未明确,而我们的研

究证明,厚壁菌门与所属的五种 GM 菌属可以降低患焦虑的风险,是潜在的保护因素,这能够为焦虑的发病机制与预防治疗提供新的研究思路,并从另一方面为上述相关研究结果提供证据支持。



注:A 蓝藻细菌门; B 厚壁菌门; C 梭菌纲; D 梭菌目; E 真杆菌属; F 埃希 - 志贺菌属; G 瘤胃球菌\_UCG004 属; H 瘤胃球菌\_UCG011 属; I 史克氏菌属。

图 4 GM 与焦虑的“leave-one-out”敏感性分析结果

Figure 4 Results of the leave-one-out sensitivity analysis of gut microorganisms and anxiety disorders

Outcome	Method	SNPs	OR(95%CI)	Pval
genus Defluviitaleaceae UCG011 id.11287	MR Egger	21	1.354(0.903 to 2.032)	0.159
	Weighted median	21	1.153(0.971 to 1.369)	0.105
	Inverse variance weighted	21	1.172(1.034 to 1.329)	0.013
family Defluviitaleaceae id.1924	MR Egger	22	1.388(0.930 to 2.071)	0.124
	Weighted median	22	1.142(0.967 to 1.348)	0.117
	Inverse variance weighted	22	1.163(1.027 to 1.317)	0.017
genus Intestinibacter id.11345	MR Egger	22	1.031(0.726 to 1.465)	0.866
	Weighted median	22	1.070(0.926 to 1.237)	0.357
	Inverse variance weighted	22	1.118(1.006 to 1.242)	0.038
genus Olsenella id.822	MR Egger	20	2.185(1.132 to 4.217)	0.032
	Weighted median	20	1.308(0.993 to 1.724)	0.056
	Inverse variance weighted	20	1.247(1.033 to 1.506)	0.022
genus Erysipelatoclostridium id.11381	MR Egger	22	0.909(0.602 to 1.373)	0.654
	Weighted median	22	0.946(0.796 to 1.123)	0.525
	Inverse variance weighted	22	0.873(0.771 to 0.989)	0.033

P<0.05 was considered statistically significant

图 5 MR 分析下 GM 与焦虑之间反向因果关系

Figure 5 Reverse causality between gut microbiota and anxiety by MR analysis

益生菌是一种非致病性微生物,目前已有益生菌被用作其他药物的补充剂来作为焦虑的替代疗法<sup>[24]</sup>,有研究人员通过实验证明,对小鼠使用益生菌处理,

可以恢复 GM 的组成和下丘脑 - 垂体 - 肾上腺(the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA)轴的功能<sup>[25]</sup>,而有研究证明 HPA 轴的失调也是重度抑郁和焦虑的

重要影响因素<sup>[26]</sup>。直肠真杆菌、瘤胃球菌属等产生短链脂肪酸丁酸盐的 GM 也被认为是对人类健康有益的微生物,可以通过抑制炎症标志物(如 IL-6、C 反应蛋白、TNF- $\alpha$ )从而起到抗炎作用<sup>[27]</sup>,同时也有研究发现 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平升高与会促进抑郁和焦虑的发展<sup>[28]</sup>。本研究以 MR 方法确定直肠真杆菌、瘤胃球菌属两类 GM 种群与焦虑存在因果关系,是疾病潜在的保护因素,可能会通过不同方式对疾病产生影响,未来可以进一步探索挖掘其与疾病关联的具体机制,或许能够成为预防或治疗焦虑新的益生菌研究方向。

但我们的研究还存在一些局限性:(1) 由于满足严格阈值( $P < 5 \times 10^{-8}$ )的 IVs 数量极少,因此采用相对宽松的阈值( $P < 1 \times 10^{-5}$ )来筛选 IVs;(2) 本研究主要分析欧洲个体,这可能会限制我们对更广泛结果的概括能力,后续还需要在其他人群中进行因果关系分析,来进一步探究 GM 与焦虑之间的关系;(3) 遗传工具的多效性可能导致效应估计的偏差,因此进行了敏感性分析,以尽可能减少它们的影响。

综上所述,本研究评估了 GM 对焦虑的潜在因果关系,发现蓝藻细菌门、埃希-志贺菌属、史雷克菌属可能为焦虑的危险因素;厚壁菌门、梭菌纲、梭菌目、真杆菌属、瘤胃球菌属、瘤胃球菌属、瘤胃球菌属可能为焦虑的保护因素。该研究结果期待为未来探究焦虑潜在的生物标志物以及治疗靶点提供参考。

**利益冲突声明** 本研究不存在任何利益冲突

## 参考文献

- [1] Anon. [1]Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic[J]. *Lancet*, 2021, 398(10312): 1700-1712.
- [2] Anon. A systematic analysis for the global burden of disease study 2019[J]. *Lancet*, 2020, 396(10258): 1204-1222.
- [3] Holtzheimer PE, Mayberg HS. Stuck in a rut: rethinking depression and its treatment[J]. *Trends in Neurosciences*, 2011, 34(1): 1-9.
- [4] Butler MI, Sandhu K, Cryan JF, et al. From isoniazid to psychobiotics: the gut microbiome as a new antidepressant target [J]. *British Journal of Hospital Medicine (London, England: 2005)*, 2019, 80(3): 139-145.
- [5] Chen YH, Bai J, Wu D, et al. Association between fecal microbiota and generalized anxiety disorder: Severity and early treatment response[J]. *Journal of Affective Disorders*, 2019, 259: 56-66.
- [6] Needham BD, Funabashi M, Adame MD, et al. A gut-derived metabolite alters brain activity and anxiety behaviour in mice[J]. *Nature*, 2022, 602(7898): 647-653.
- [7] Lawlor DA, Harbord RM, Sterne JAC, et al. Mendelian randomization: Using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology[J]. *Statistics in Medicine*, 2008, 27(8): 1133-1163.
- [8] Kurilshikov A, Medina-Gomez C, Bacigalupe R, et al. Large-scale association analyses identify host factors influencing human gut microbiome composition[J]. *Nature Genetics*, 2021, 53(2): 156-165.
- [9] Van sprang ED, Maciejewski DF, Milaneschi Y, et al. Weighing psychosocial factors in relatives for the risk of psychopathology: a study of patients with depressive and anxiety disorders and their siblings[J]. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 2023, 58 (8): 1213-1226.
- [10] Yang MY, Wan XJ, Zheng HS, et al. No evidence of a genetic causal relationship between ankylosing spondylitis and gut microbiota: a Two-Sample mendelian randomization study [J]. *Nutrients*, 2023, 15 (4): 1057.
- [11] Cao Y, Lu H, Xu W, et al. Gut microbiota and Sjögren's syndrome: a two-sample Mendelian randomization study [J]. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14: 1187906.
- [12] Lin ZT, Deng YQ, Pan W. Combining the strengths of inverse-variance weighting and Egger regression in Mendelian randomization using a mixture of regressions model [J]. *PLOS Genetics*, 2021, 17(11): e1009922.
- [13] Bowden J, Davey smith G, Burgess S. Mendelian randomization with invalid instruments: effect estimation and bias detection through Egger regression[J]. *International Journal of Epidemiology*, 2015, 44(2): 512-525.
- [14] Gronau QF, Wagenmakers EJ. Limitations of bayesian Leave-One-Out Cross-Validation for model selection [J]. *Computational Brain & Behavior*, 2019, 2(1): 1-11.
- [15] Cryan JF, O'Riordan KJ, Sandhu K, et al. The gut microbiome in neurological disorders[J]. *Lancet Neurolog*, 2020, 19(2): 179-194.
- [16] Lax NC, Ahmed KT, Ignatz CM, et al. Marine cyanobacteria-derived serotonin receptor 2C active fraction induces psychoactive behavioral effects in mice [J]. *Pharmaceutical Biology*, 2016, 54 (11): 2723-2731.
- [17] Sant'ana AB, Vilela-Costa HH, Vicente MA, et al. Role of 5-HT2C receptors of the dorsal hippocampus in the modulation of anxiety- and panic-related defensive responses in rats[J]. *Neuropharmacology*, 2019, 148: 311-319.
- [18] Lax NC, Parker SAJ, Hilton EJ, et al. Cyanobacterial extract with serotonin receptor subtype 7 (5-HT7 R) affinity modulates depression and anxiety-like behavior in mice [J]. *Synapse*, 2018, 72(11): e22059.
- [19] Kokras N, Dalla C. Preclinical sex differences in depression and antidepressant response: Implications for clinical research[J]. *Journal of Neuroscience Research*, 2017, 95(1/2): 731-736.
- [20] Wei SC, Mai YR, Hu L, et al. Altered gut microbiota in temporal lobe epilepsy with anxiety disorders [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1165787.
- [21] Tian PJ, Chen Y, Qian X, et al. *Pediococcus acidilactici* CCFM6432 mitigates chronic stress-induced anxiety and gut microbial abnormalities[J]. *Food & Function*, 2021, 12(22): 11241-11249.
- [22] Kawasuji H, Kaya H, Kawamura T, et al. Bacteremia caused by *Slackia exigua*: A report of two cases and literature review[J]. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2020, 26(1): 119-123.
- [23] Zang YN, Lai XG, Li CH, et al. The role of gut microbiota in various neurological and psychiatric Disorders-An evidence mapping based on quantified evidence [J]. *Mediators of Inflammation*, 2023, 2023: 5127157.

- impairment, social participation and depressive symptoms to the incidence of frailty in a community cohort[J]. *Journal of the American Geriatrics Society*, 2023, 71(4): 1167-1176.
- [ 12 ] Chen LK, Woo J, Assantachai P, et al. Asian working group for sarcopenia: 2019 consensus update on sarcopenia diagnosis and treatment[J]. *Journal of the American Medical Directors Association*, 2020, 21(3): 300-307.e2.
- [ 13 ] Wen X, Wang M, Jiang CM, et al. Anthropometric equation for estimation of appendicular skeletal muscle mass in Chinese adults[J]. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 2011, 20(4): 551-556.
- [ 14 ] Gong JQ, Wang GW, Wang YF, et al. Nowcasting and forecasting the care needs of the older population in China: analysis of data from the China Health and Retirement Longitudinal Study (CHARLS)[J]. *Lancet Public Health*, 2022, 7(12): e1005-e1013.
- [ 15 ] 黄庆波, 王晓华, 陈功. 10 项流调中心抑郁自评量表在中国中老年人中的信效度 [J]. *中国健康心理学杂志*, 2015, 23(7): 1036-1041.  
Huang QB, Wang XH, Chen G. Reliability and validity of 10-item CES-D among middle aged and older adults in China [J]. *China Journal of Health Psychology*, 2015, 23(7): 1036-1041.
- [ 16 ] Fenwick EK, Gupta P, Chan AWD, et al. The impact of hearing impairment on health indicators in a multiethnic population of older adults in Singapore[J]. *Innov Aging*, 2023, 7(8): igad101.
- [ 17 ] Zhu L, Zong X, Shi X, et al. Association between Intrinsic Capacity and Sarcopenia in Hospitalized Older Patients[J]. *Journal of Nutrition Health & Aging*, 2023, 27(7): 542-549.
- [ 18 ] Kim SH, Hurh K, Park Y, et al. Synergistic associations of visual and self-reported hearing acuity with low handgrip strength in older adults: a population-based cross-sectional study[J]. *BMC Geriatrics*, 2021, 21(1): 513.
- [ 19 ] Zhao IY, Parial LL, Montayre J, et al. Social engagement and depressive symptoms mediate the relationship between age-related hearing loss and cognitive status[J]. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 2023, 38(8): e5982.
- [ 20 ] 崔玉殊, 魏玥, 梁博, 等. 中国中老年人慢性共患病对肌少症发生风险的影响[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2022, 15(6): 629-637.  
Cui WS, Wei Y, Liang B, et al. Effects of chronic disease comorbidity on the risk of possible sarcopenia among Chinese middle-aged and older adults [J]. *Chinese Journal of Osteoporosis and Bone Mineral Research*, 2022, 15(6): 629-637.
- [ 21 ] Hernández-Álvarez D, Rosado-Pérez J, Gavia-García G, et al. Aging, physical exercise, telomeres, and sarcopenia: a narrative review[J]. *Biomedicine*, 2023, 11(2): 598.
- [ 22 ] Assi S, Twardzik E, Deal JA, et al. Hearing loss and physical activity among older adults in the United States [J]. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 2024, 79(1): glad186.
- [ 23 ] 张浩, 胡建伟, 赵晓慧, 等. 我国中老年人可能肌肉减少症患病情况及其影响因素[J]. *医学与社会*, 2023, 36(8): 44-48.  
Zhang H, Hu JW, Zhao XH, et al. Prevalence and influencing factors of possible sarcopenia among middle-aged and elderly People in China[J]. *Medicine and Society*, 2023, 36(8): 44-48.
- [ 24 ] 赖锦佳, 黄咏琪, 马超群, 等. 我国中老年慢性病共病人群抑郁症状发展轨迹及影响因素研究 [J]. *现代预防医学*, 2023, 50(19): 3589-3593, 3648.  
Lai JJ, Huang YQ, Ma CQ, et al. Study on the development trajectory and influencing factors of depressive symptoms in middle-aged and elderly People with chronic commorbidity in China [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2023, 50(19): 3589-3593, 3648.
- [ 25 ] 王思晗, 瞿先国, 黄诗睿. 城乡健康老龄化差异及影响因素探究[J]. *现代预防医学*, 2022, 49(21): 3951-3956.  
Wang SH, Qu XG, Huang SR. Healthy aging differences between urban and rural areas and influencing factors [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2022, 49(21): 3951-3956.
- [ 26 ] Hu X, Guo C, Liu J, et al. Bridging the digital divide: childhood social relationships and Mobile payment use among Chinese middle-aged and older adults [J]. *Journal of Applied Gerontology*, 2022, 41(12): 2469-2479.
- [ 27 ] 刘杰, 郭超. 中老年人手机支付使用现状及其影响因素研究 [J]. *调研世界*, 2021(8): 3-10.  
Liu J, Guo C. A study on the current situation and influencing factors of Mobile payment use among middle and elderly People [J]. *The World of Survey and Research*, 2021(8): 3-10.

收稿日期: 2023-11-20

(上接第 1543 页)

- [ 24 ] Clapp M, Aurora N, Herrera L, et al. Gut microbiota's effect on mental health: The gut-brain axis[J]. *Clin Pract*, 2017, 7(4): 987.
- [ 25 ] Smith CJ, Emge JR, Berzins K, et al. Probiotics normalize the gut-brain-microbiota axis in immunodeficient mice[J]. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2014, 307(8): G793-G802.
- [ 26 ] Gądek-Michalska A, Tadeusz J, Rachwalska P, et al. Cytokines, prostaglandins and nitric oxide in the regulation of stress-response systems[J]. *Pharmacological Reports*, 2013, 65(6): 1655-1662.
- [ 27 ] Mukherjee A, Lordan C, Ross RP, et al. Gut microbes from the phylogenetically diverse genus Eubacterium and their various contributions to gut health[J]. *Gut Microbes*, 2020, 12(1): 1802866.
- [ 28 ] Berk M, Williams LJ, Jacka FN, et al. So depression is an inflammatory disease, but where does the inflammation come from?[J]. *BMC Medicine*, 2013, 11: 200.

收稿日期: 2023-12-12