

血液代谢物与心力衰竭因果关系的孟德尔随机化研究

李泽莹¹, 许童¹, 金珊¹, 王成燕¹, 庞丽娟^{1,2}

1. 石河子大学第一附属医院病理科 / 国家卫生健康委中亚高发病防治重点实验室 / 石河子大学医学院病理学系 / 新疆地方与民族高发病教育部重点实验室, 新疆 石河子 832099;
2. 广东医科大学附属湛江中心人民医院病理科, 广东 湛江 524037

摘要:目的 采用两样本孟德尔随机化方法评估血液代谢物和心力衰竭风险之间的潜在因果关系。方法 利用一项包含 486 种血液代谢物的全基因组关联研究为暴露因素, 选择与血液代谢物独立相关的显著 SNP 作为工具变量。心力衰竭数据来源于心力衰竭治疗靶点的分子流行病学研究联盟的全基因组关联研究。通过逆方差加权法、MR-Egger 回归法、加权中位数法分析两者的潜在因果关系, 利用 MR-Egger 回归截距、Cochran Q 检验、MR-PRESSO 和留一法进行敏感性分析。结果 共筛选到 7 516 个与血液代谢物相关的 SNPs 作为工具变量, 通过逆方差加权法分析结果显示, 泛酸和心力衰竭有关 ($OR=1.29$, $95\%CI: 1.03 \sim 1.63$, $P=0.029$), 敏感性分析保证了结果稳健。结论 本研究提示泛酸与心力衰竭发病风险呈正向因果关系, 这可能为心力衰竭的发病机制和药物靶点提供新见解。

关键词: 血液代谢物; 心力衰竭; 孟德尔随机化; 因果推断; 泛酸

中图分类号: R541.6 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2024)07-1320-05

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202311513

A Mendelian randomized study on the causal relationship between blood metabolites and heart failure

LI Ze-ying*, XU Tong, JIN Shan, WANG Cheng-yan, PANG Li-juan

*NHC Key Laboratory of Prevention and Treatment of Central Asia High Incidence Diseases (First Affiliated Hospital, School of Medicine, Shihezi University)/Department of Pathology and Key Laboratory for Xinjiang Endemic and Ethnic Diseases, Shihezi University School of Medicine, Shihezi, Xinjiang 832099, China

Abstract: Objective To evaluate the potential causal relationship between blood metabolites and the risk of heart failure by two-sample Mendelian randomization. **Methods** Based on a genome-wide association study containing 486 blood metabolites, single nucleotide polymorphisms (SNPs) independently associated with blood metabolites was selected as instrumental variables. The heart failure data were derived from the Genome-Wide Association Study of the Molecular Epidemiology Research Consortium for Therapeutic Targets in Heart Failure. The potential causal relationship between them was analyzed by inverse variance weighting method, MR-Egger regression method, and weighted median method, and the sensitivity analysis was performed using MR-Egger regression intercept, Cochran Q test, MR-PRESSO, and leave-one-out method. **Results** In total 7 516 SNP associated with blood metabolites were selected as instrumental variables. The results of inverse variance weighting analysis showed that pantothenic acid was associated with heart failure ($OR=1.29$, $95\%CI: 1.03-1.63$). Sensitivity analysis results indicated that the results were robust. **Conclusion** This study suggests that there is a positive causal relationship between pantothenic acid and the risk of heart failure, which may provide new insights into the pathogenesis and drug targets of heart failure.

Keywords: Blood metabolites; Heart failure; Mendelian randomization; Causal inference; Pantothenic acid

心力衰竭(heart failure)是一种由心脏结构和功能变化引起的心室功能障碍,中国高血压调查研究,

在 ≥ 35 岁的中国人群中,心力衰竭的患病率为 1.3%,已经成为我国慢性心血管疾病预防和治疗的重要难题^[1]。心力衰竭患者常伴有呼吸困难、运动耐量下降、全身体液滞留等症状,最终导致患者的生活质量严重下降甚至死亡^[2]。因此识别心力衰竭高风险因素并尽早实施预防性干预措施是改善心力衰竭患者预后的关键。

代谢紊乱是大多数心血管疾病的基础。代谢组学研究可以更准确地反映有机体的实际代谢状态,通过

基金项目: 国家自然科学基金(82060054); 疾病防治重点项目专题(2022A01103, 重大项目专题: 2023A214); 湛江市科技发展专项竞争性分配项目(2022A01028); 湛江中心人民医院高层次人才科研启动经费(2022A15, 2022A16)

作者简介: 李泽莹(1997—), 女, 硕士在读, 研究方向: 心血管疾病的研究

通信作者: 庞丽娟, E-mail: ocean123456@163.com

检测生物样品中的小分子物质来探索与疾病诊断和预后相关的生物标志物,目前已广泛应用于临床和实验研究^[3]。目前对心力衰竭代谢变化的研究主要集中于脂肪酸和葡萄糖代谢的变化上,却忽略了心力衰竭的其他代谢途径,全面的代谢分子研究可以为心力衰竭的发病机制提供新的视角^[4]。血液代谢物可以反应生物体对遗传或环境变化的生理状态^[5]。如果血液代谢组学可以用来了解心力衰竭的机制和进展,甚至表征疾病发生的个体差异,将对精准心脏病学大有裨益^[6]。然而目前仍然缺乏全面和系统的研究来评估血液代谢物对心力衰竭的因果影响。

孟德尔随机化(Mendelian Randomization, MR)是一种流行病学方法,它使用单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)作为暴露相关工具变量(instrumental variables, IV)来评估暴露与疾病之间的因果关系^[7]。MR分析是替代随机临床试验分析因果关系的重要方法,MR分析利用自然界中的随机分配的基因型来推断暴露对疾病的影响,从而克服了观察性研究中常见的混杂因素^[8-9]。

本研究以全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)统计数据为数据,以双样本MR分析为研究方法,评估血液代谢产物与心力衰竭之间的因果关系,选取与心力衰竭相关的候选血液代谢物,为心力衰竭的早期诊断和治疗策略提供了新思路。

1 材料与方法

1.1 研究设计 如图1所示,基于双样本MR方法,本研究旨在探究血清代谢物与心力衰竭之间的因果关系。MR基于三个主要假设:一是,遗传变异应与暴露密切相关;二是,遗传变异应与任何潜在混杂因素无关;三是,遗传变异仅通过暴露与结果相关。

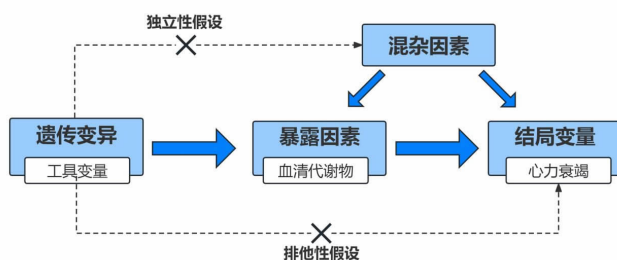


图1 MR研究设计的主要假设

Figure 1 Key assumptions in Mendelian randomization

1.2 人类血液代谢物的GWAS数据 人类血液代谢物的GWAS数据来自So-Youn Shin等人^[10]对血液代谢物进行的全基因组关联估计。该研究包括的7824名欧洲成年人,使用液相色谱和气相色谱分离结合串联质谱分析血浆或血清,最终成功获得486个血液代谢产物,其中已知代谢物309种,未知代谢物177种。

这309种已知的代谢物被进一步分为8种代谢途径,分别为碳水化合物、脂质、氨基酸、核苷酸、能量产物、辅因子和维生素、肽和外源性化合物。

1.3 心力衰竭的GWAS数据 心力衰竭的全基因组关联研究的数据来自心力衰竭治疗靶点的分子流行病学研究联盟26项研究^[11],这些数据来自于欧洲人群,包括47309名病例和930014名对照。

1.4 遗传工具变量筛选 首先筛选出与血清代谢物独立相关的显著基因位点($P < 1 \times 10^{-5}$)^[12]。为去除连锁不平衡(link-age disequilibrium, LD),将IV的连锁不平衡参数 r^2 阈值设为0.001和遗传距离窗口设置为10000 kb。通过公式 $R^2(N-2)/(1-R^2)$ 计算每个SNP的F统计量,统计量 $F < 10$ 的表明潜在的弱IV偏倚,筛选 $F > 10$ 的SNP^[13]。

1.5 MR分析 使用R 4.2.1软件中运用twoSampleMR程序包进行MR分析。主要采用逆方差加权法(inverse-variance-weighted, IVW)分析血清代谢物和心力衰竭的因果关系, $P < 0.05$ 认为有意义。MR-Egger回归法、加权中位数法(weighted median, WM)作为补充分析^[14]。

1.6 敏感性分析 使用MR-Egger-intercept检验进行水平多效性。使用留一法(leave-one-out sensitivity test)评估单个SNP对因果关系的影响。计算Cochran Q统计量检测异质性($P < 0.05$)。使用MR-PRESSO方法检测异常值,去除异常值后重新分析^[15]。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 遗传工具变量筛选 根据研究工具变量的筛选标准对486种血液代谢物筛选,得到IVs的SNP数量从2到229不等。IVs的所有F统计量均大于10(最小F统计量为17.44),表明所有SNPs均可以进行MR分析。见表1。

2.2 MR分析结果 采用IVW评估486种血液代谢物和心力衰竭之间的因果关系,鉴定出12种代谢物和心力衰竭显著相关($P < 0.05$),见图2。森林图结果显示这12种代谢物包括1种核苷酸,1种辅因子和维生素,5种脂质和5种未知代谢物,见图3。为了使该因果具有一定的稳定性,结合MR-Egger、WM,去除IVW、MR-Egger和WM分析结果方向相反的血清代谢物,共筛选出7种已知的血液血清代谢物,包括肌苷($OR = 1.13$, 95%CI: 1.02 ~ 1.25, $P = 0.023$)、泛酸($OR = 1.29$, 95%CI: 1.03 ~ 1.63, $P = 0.029$)、甘氨酸脱氧胆酸钠($OR = 0.89$, 95%CI: 0.81 ~ 0.99, $P = 0.027$)、油酰基肉碱($OR = 1.40$, 95%CI: 1.04 ~ 1.90, $P = 0.029$)、十六碳二酸二甲酯($OR = 0.87$, 95%CI: 0.76 ~ 0.99, $P = 0.040$)、

肉豆蔻酸($OR=1.29, 95\%CI:1.01 \sim 1.65, P=0.043$)、1-亚油酰甘油磷酰乙醇胺 ($OR=1.29, 95\%CI: 1.03 \sim 1.63, P=0.029$)。

2.3 敏感性分析 为了使结果更具有可靠性,我们进一步进行敏感性分析。通过留一法结果最终确定泛酸的单个 SNP 对该因果关系的影响较小,见图 4。使用 MR-Egger 和 IVW 进行 Cochran Q 检验,结果显示工具变量间无异质性($P>0.05$),MR-Egger 回归截距结果检测显示无水平多效性 ($P>0.05$),MR-PRESSO 结果显示未发现异常值,见表 1。

3 讨论

本研究通过 MR 分析对血液代谢物与心力衰竭进行因果评估,通过敏感性分析排除混杂因素,最终确定了一种血清代谢物与心力衰竭之间的因果关系,结果显示泛酸可引起心力衰竭的发生风险增加。代谢组的研究可以为心血管疾病的发病机制提供重要的见解,并提供识别新的心血管疾病生物标志物的潜力^[16]。

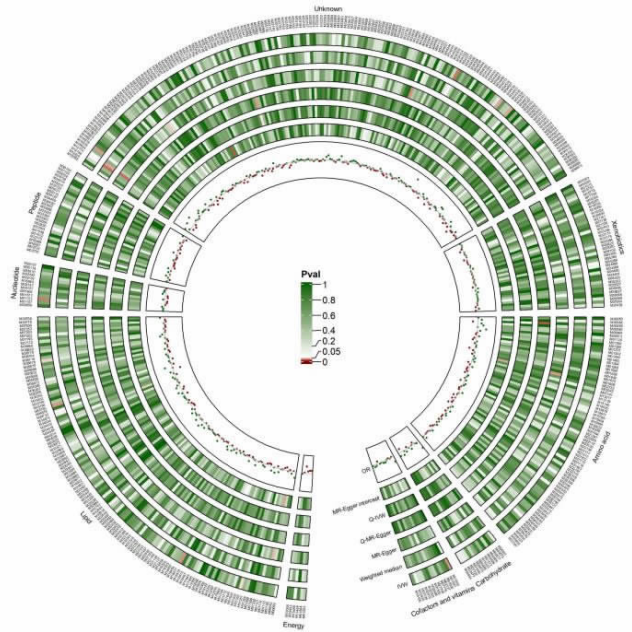


图 2 血液代谢物与心力衰竭风险之间的 IVW 结果
Figure 2 IVW results between blood metabolites and the risk of heart failure

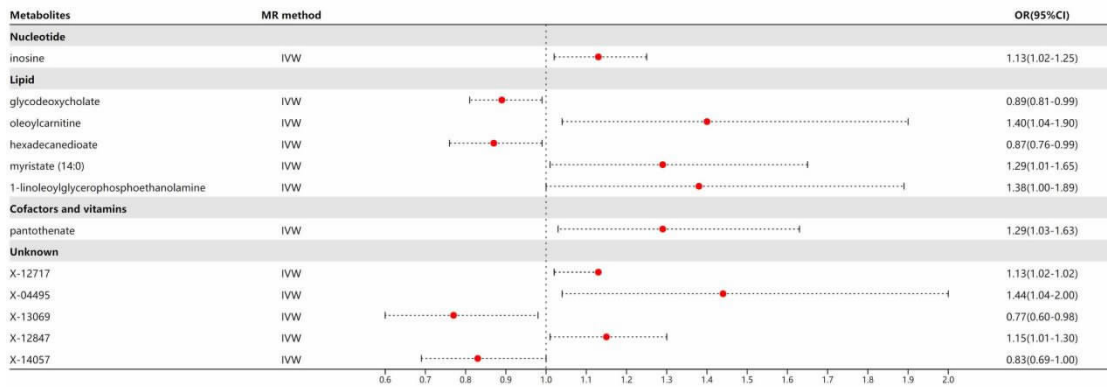
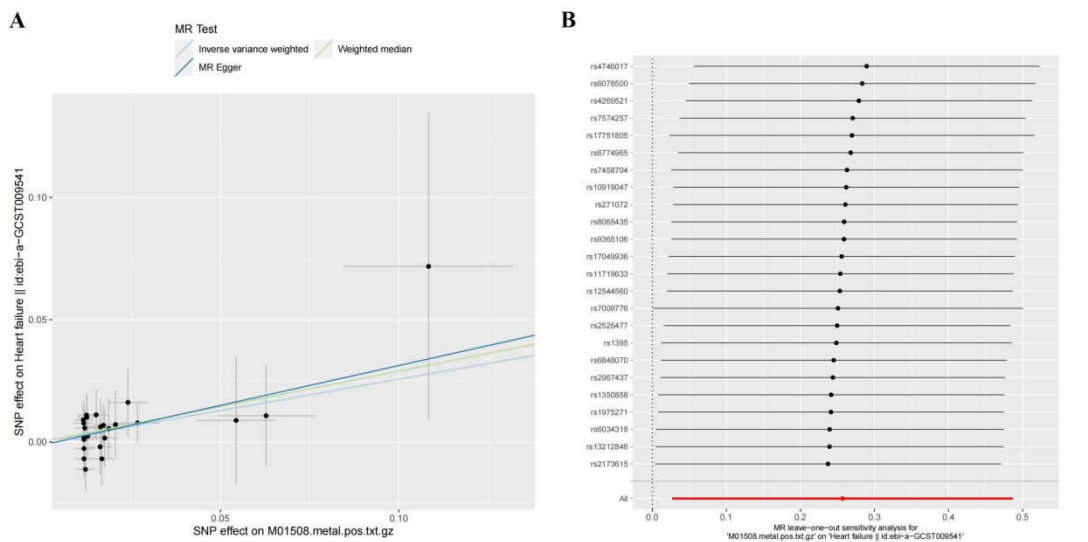


图 3 血液代谢物对心力衰竭因果关系 IVW 结果的森林图
Figure 3 Forest plot for IVW results of blood metabolites on heart failure causality



注:图 A 为 MR 分析散点图;图 B 为 MR 分析留一法敏感性分析结果。

图 4 泛酸对心力衰竭 MR 分析效应结果图

A. Scatter plots for Mendelian randomization analysis; B. Leave-one-out sensitivity analysis results
Figure 4 MR analysis effect results plot of pantothenic acid and the risk of heart failure

表 1 异质性和敏感性分析结果

血液代谢物编码		血液代谢物		代谢途径		Table 1 Heterogeneity and horizontal pleiotropy	
				MR-PRESSO global 检验	MR-Egger 截距检验	Cochran Q test	
				P 值	P 值	P-IVW	P-MR-Egger
M01508	泛酸	辅因子和维生素		0.993	0.774	0.989	0.984

当心脏无法正常泵血并且不能通过身体输送足够的血液时,就会发生心力衰竭。心力衰竭最常见的危险因素是高血压、冠状动脉疾病、糖尿病、肥胖、吸烟和遗传^[17]。心脏是身体的主要能量消耗者之一,已被证明与多种循环代谢物失调的各种异常相关,例如脂质、葡萄糖、酮体、氨基酸和乳酸^[6]。然而心脏的能量代谢表现出高度的复杂性,近年来维生素因参与细胞稳态的许多基本反应而受到越来越的关注^[18]。

泛酸,又称维生素 B5,是一种水溶性维生素,广泛存在于植物和动物来源的食物中^[19]。泛酸是辅酶 A (coenzyme A, CoA) 的前体,对多种生化反应(如三羧酸循环、脂肪酸代谢或 β 氧化)至关重要^[20]。

目前关于泛酸在心力衰竭中的研究甚少。研究表明泛酸是把双刃剑。维生素 B5 作为 CoA 的前体,影响甘油三酯的合成和脂蛋白代谢,有助于亚临床动脉粥样硬化的发生和发展^[21]。Navdeep G 研究表明,在高 BMI 的 2 型糖尿病患者的血清中,泛酸的水平显著增高^[22]。而 Jung S 在一项对韩国农村地区成年人的研究发现泛酸与 C 反应蛋白呈现负相关关系^[23]。C 反应蛋白可以直接结合低密度脂蛋白,参与动脉粥样硬化中泡沫细胞的形成^[24]。一项对 429 名冠心病的病例对照研究中发现,血浆中维生素 B5 浓度与冠心病之间存在 L 形关系,患者血浆维生素 B5 浓度 <40.95 ng/ml 时,随着维生素 B5 浓度的增加,冠心病的风险显著降低;然而,在血浆维生素 B5 浓度为 ≥ 40.95 ng/ml 的受试者中,血浆维生素 B5 浓度的增加不再与冠心病风险降低相关^[25]。一项关于维生素 B5 与中国高血压成年人死亡风险的研究中发现,血浆维生素 B5 水平 (≥ 45.7 ng/mL) 与高血压死亡风险增加有关,尤其在年龄 ≥ 66.4 岁、叶酸浓度 ≥ 6.0 ng/mL 的人群中具有更强的联系^[26]。Pankaja S^[27] 的一项对健康老年人及年轻人补充复合维生素和矿物质的研究中发现,老年人血浆中维生素 B5 水平高于年轻人,这表明在健康的老年人中,维生素 B5 的吸收、代谢和相互转化发生了变化。本研究表明泛酸可能促进心力衰竭的发生发展,是否存在阈值及泛酸与心力衰竭之间复杂的关系仍有待进一步的研究。

本研究存在一定的优势,首先,探讨人类血液代谢物与心力衰竭之间的因果关系,我们选择了 486 种血液代谢物作为 MR 分析的暴露因子,旨在研究导致心力衰竭的代谢特征。其次,MR 分析有效地克服了

传统观察性研究的缺陷,在很大程度上避免了反向因果关系和混杂干扰。最后,通过敏感性分析确保了结果的稳定性。

然而,这项研究有一些局限性。首先,由于血液代谢物的样本量较小,SNP 数量有限,因此本研究设定了较宽的阈值,但每个 SNP 的 F 统计量大于 10,表明没有弱工具变量偏倚,然而我们并不能排除假阳性结果的可能性。其次,本文中的所有 GWAS 数据库都来自欧洲,今后需要进一步研究以评估其在其他族裔群体中的普遍性。最后,由于本研究所使用的 GWAS 数据没有对性别、年龄等分层的数据,因此不能进一步分层研究。

总之,我们通过 MR 分析确定了泛酸与心力衰竭之间的因果关系,为泛酸对心力衰竭的进展提供了初步证据,可能为个性化监控及管理心力衰竭患者的泛酸含量提供依据。然而,目前对泛酸和心力衰竭的实验研究有限,仍需更多的研究来探索泛酸是否可以用作筛查和预防心力衰竭的临床循环生物标志物。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] 佚名.《中国心血管健康与疾病报告 2022》[J]. 中国心血管杂志, 2023, 28(4): 297-312.
Anonym. Interpretation of report on cardiovascular health and diseases in China 2022 [J]. Chinese Journal of Cardiovascular Medicine, 2023, 28(4): 297-312.
- [2] Denfeld QE, Winters-Stone K, Mudd JO, et al. The prevalence of frailty in heart failure: A systematic review and meta-analysis [J]. International Journal of Cardiology, 2017, 236: 283-289.
- [3] Zhou JT, Chen X, Chen W, et al. Comprehensive plasma metabolomic and lipidomic analyses reveal potential biomarkers for heart failure [J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2021, 476(9): 3449-3460.
- [4] Mcgarrah RW, Crown SB, Zhang GF, et al. Cardiovascular metabolomics [J]. Circulation Research, 2018, 122(9): 1238-1258.
- [5] Cheng T, Wang H, Hu YH. The causal effects of genetically determined human blood metabolites on the risk of atrial fibrillation [J]. Front Cardiovasc Med, 2023, 10: 1211458.
- [6] Xie HJ, Zhang BW, Xie MD, et al. Circulating metabolic signatures of heart failure in precision cardiology [J]. Precis Clin Med, 2023, 6(1): phad005.
- [7] Bowden J, Holmes MV. Meta-analysis and Mendelian randomization: A review [J]. Research Synthesis Methods, 2019, 10(4): 486-496.
- [8] Birney E. Mendelian randomization [J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 2022, 12(4): 121.
- [9] Sekula P, Del Greco M F, Pattaro C, et al. Mendelian randomization

- as an approach to assess causality using observational data[J]. Journal of the American Society of Nephrology, 2016, 27(11): 3253–3265.
- [10] Shin SY, Fauman EB, Petersen AK, et al. An Atlas of genetic influences on human blood metabolites[J]. Nature Genetics, 2014, 46(6): 543–550.
- [11] Shah S, Henry A, Roselli C, et al. Genome-wide association and Mendelian randomisation analysis provide insights into the pathogenesis of heart failure [J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 163.
- [12] Liu XM, Tong X, Zou YA, et al. Mendelian randomization analyses support causal relationships between blood metabolites and the gut microbiome[J]. Nature Genetics, 2022, 54(1): 52–61.
- [13] Pierce BL, Ahsan H, Vanderweele TJ. Power and instrument strength requirements for Mendelian randomization studies using multiple genetic variants [J]. International Journal of Epidemiology, 2011, 40(3): 740–752.
- [14] Gu YF, Jin QM, Hu JQ, et al. Causality of genetically determined metabolites and metabolic pathways on osteoarthritis: a two-sample mendelian randomization study[J]. Journal of Translational Medicine, 2023, 21(1): 357.
- [15] 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]. Nature Genetics, 2018, 50(5): 693–698.
- [16] Cheng SS, Shah SH, Corwin EJ, et al. Potential impact and study considerations of metabolomics in cardiovascular health and disease: a scientific statement from the American heart association [J]. Circulation. Cardiovascular Genetics, 2017, 10(2): e000032.
- [17] Baman JR, Ahmad FS. Heart failure [J]. JAMA: the Journal of the American Medical Association, 2020, 324(10): 1015.
- [18] Piquereau J, Boitard SE, Ventura-Clapier R, et al. Metabolic therapy of heart failure: is there a future for B vitamins? [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 23(1): 30.
- [19] Wan ZJ, Zheng JH, Zhu ZG, et al. Intermediate role of gut microbiota in vitamin B nutrition and its influences on human health [J]. Front Nutr, 2022, 9: 1031502.
- [20] Hrubš a M, Siatka T, Nejmanov á I, et al. Biological properties of vitamins of the B-Complex, part 1: vitamins B1, B2, B3, and B5 [J]. Nutrients, 2022, 14(3): 484.
- [21] Mitu O, Cirneala IA, Lupsan AI, et al. The effect of vitamin supplementation on subclinical atherosclerosis in patients without manifest cardiovascular diseases: never-ending hope or underestimated effect? [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2020, 25(7): 1717.
- [22] Gogna N, Krishna M, Oommen AM, et al. Investigating correlations in the altered metabolic profiles of obese and diabetic subjects in a South Indian Asian population using an NMR-based metabolomic approach [J]. Molecular BioSystems, 2015, 11(2): 595–606.
- [23] Jung S, Kim MK, Choi BY. The long-term relationship between dietary pantothenic acid (vitamin B5) intake and C-reactive protein concentration in adults aged 40 years and older [J]. Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases, 2017, 27(9): 806–816.
- [24] Blinc L, Mlinaric M, Battelino T, et al. High-Sensitivity C-Reactive protein and carotid intima media thickness as markers of subclinical inflammation and atherosclerosis in pediatric patients with hypercholesterolemia [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2020, 25(21): 5118.
- [25] Sun PF, Weng HY, Fan FF, et al. Association between plasma vitamin B5 and coronary heart disease: Results from a case-control study [J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 906232.
- [26] Hong Y, Zhou ZY, Zhang N, et al. Association between plasma Vitamin B5 levels and all-cause mortality: A nested case-control study [J]. Journal of Clinical Hypertension (Greenwich, Conn.), 2022, 24(7): 945–954.
- [27] Sharma P, Han SM, Gillies N, et al. Circulatory and urinary B-Vitamin responses to multivitamin supplement ingestion differ between older and younger adults [J]. Nutrients, 2020, 12(11): 3529.

收稿日期: 2023-11-27

读者·作者·编者

作者修稿注意事项

1. 修改稿还需终审，因此文章即使修回，仍可能退稿；
2. 请补充作者简介，包括姓名（出生年-）、性别、学历、职称、研究方向、联系方式（电话、E-mail）；
3. 要求按四要素格式撰写摘要（目的、方法、

- 结果、结论），表格应规范（三线表），文题尽量简化（<20字）；
4. 概率 P 值前应给出具体检验值，如 χ^2 值， t 值， q 值等；
5. 通信作者须注明 E-mail。