

• 科研论著 •

基于孟德尔随机化分析探讨肠道菌群与孤独症谱系障碍的因果关联

肖恋¹, 李晓飞², 王磊²

1. 湖南省妇幼保健院儿童保健科, 湖南 长沙 410000; 2. 湖南省人民医院(湖南师范大学附属第一医院)康复医学科

摘要: **目的** 利用孟德尔随机化分析法探究肠道菌群与孤独症谱系障碍(ASD)的因果关联, 以期为 ASD 患者的治疗提供新的视角。**方法** 采用 MiBioGen 公共数据库的肠道菌群 GWAS 数据和 IEU Open GWAS 数据库的 ASD 相关 GWAS 数据, 根据预设的阈值提取与肠道菌群相对丰度显著相关的独立遗传位点作为工具变量(IVs)。主要采用逆方差加权法的效应指标优势比和 95% 置信区间(95% CI)对结果进行评估。使用留一法、异质性检验、水平基因多效性检验来验证结果的稳定性和可靠性。**结果** Dorea (OR = 0.811, 95% CI: 0.686 ~ 0.959), Ruminiclostridium5 (OR = 0.812, 95% CI: 0.687 ~ 0.961), RuminococcaceaeUCG005 (OR = 0.776, 95% CI: 0.670 ~ 0.898), Ruminococcus1 (OR = 0.831, 95% CI: 0.705 ~ 0.981) 和 Sutterella (OR = 0.821, 95% CI: 0.684 ~ 0.987) 丰度的升高, 可以降低 ASD 的患病风险。但是 Turicibacter 丰度的升高, 可以增加 ASD 的患病风险 (OR = 1.140, 95% CI: 1.008 ~ 1.290)。留一法分析显示结果稳定, 不存在对结果有强影响的工具变量, 且可以剔除异质性和水平基因多效性对因果效应估计产生的影响。**结论** 在肠道菌群中, Dorea、Ruminiclostridium5、RuminococcaceaeUCG005、Ruminococcus1 和 Sutterella 是 ASD 发生的保护因素, 随着菌群丰度的增加可能降低 ASD 的发病风险; Turicibacter 是 ASD 发生的危险因素, 随着菌群丰度的增加可能增加 ASD 的发病风险。

关键词: 肠道菌群; 孤独症谱系障碍; 孟德尔随机化

中图分类号: R749.94 文献标识码: A 文章编号: 1008-6579(2025)01-0027-07 doi: 10.11852/zgetbjzz2024-0638

Causal association between autism spectrum disorder and gut microbiota based on Mendelian randomization analysis

XIAO Lian¹, LI Xiaofei², WANG Lei²

1. Department of Child Health Care, Hunan Maternal and Child Health Hospital, Changsha, Hunan 410000, China; 2. Department of Rehabilitation Medicine, Hunan People's Hospital (The First Affiliated Hospital of Hunan Normal University)

Corresponding author: WANG Lei, E-mail: 1397251940@qq.com

Abstract: **Objective** To explore the causal relationship between gut microbiota (GM) and autism spectrum disorder (ASD) by Mendelian randomization, in order to provide insight for ASD treatment. **Methods** GWAS data on gut microbiota from the MiBioGen public database and GWAS data on ASD from the IEU Open GWAS database were utilized. Independent genetic loci significantly associated with the relative abundance of gut microbiota were extracted as instrumental variables (IVs) based on preset thresholds. The effect size odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) were primarily assessed using the inverse-variance weighted method. The stability and reliability of the results were verified using leave-one-out analysis, heterogeneity tests, and horizontal pleiotropy tests. **Results** Increased abundances of Dorea (OR = 0.811, 95% CI: 0.686 - 0.959), Ruminiclostridium5 (OR = 0.812, 95% CI: 0.687 - 0.961), RuminococcaceaeUCG005 (OR = 0.776, 95% CI: 0.670 - 0.898), Ruminococcus1 (OR = 0.831, 95% CI: 0.705 - 0.981), and Sutterella (OR = 0.821, 95% CI: 0.684 - 0.987) were associated with a decreased risk of ASD. However, an increase in Turicibacter abundance was associated with an increased risk of ASD (OR = 1.140, 95% CI: 1.008 - 1.290). Leave-one-out analysis showed stable results, with no strong influential IVs, and the effects of heterogeneity and horizontal pleiotropy on causal effect estimation could be excluded. **Conclusions** Among gut microbiota, Dorea, Ruminiclostridium5, RuminococcaceaeUCG005, Ruminococcus1, and Sutterella are protective factors for the occurrence of ASD, and their increased abundances may reduce the incidence of ASD. In contrast, Turicibacter is a risk factor for the occurrence of ASD, and its increased abundance may increase the incidence of ASD.

基金项目: 湖南省卫生健康委科研计划项目(B202303096080); 湖南省教育厅科学研究项目(23B20063)**作者简介:** 肖恋(1991—), 女, 主管技师, 本科学历, 主要研究为儿童神经系统疾病的康复与临床研究。**通信作者:** 王磊, E-mail: 1397251940@qq.com

Keywords: gut microbiota; autism spectrum disorder; Mendelian randomization

孤独症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD) 是儿童时期常见的一类神经发育障碍,其特征是沟通和社会互动障碍以及限制性重复行为^[1]。美国 ASD 监测网络显示 8 岁儿童 ASD 患病率为 1/36^[2],我国 2014 年 7 月—2016 年 12 月对 8 个城市 6~12 岁儿童调查显示 ASD 患病率为 0.7%^[3]。

肠道菌群 (gut microbiota, GM) 是肠道内微生物群落,对人体的健康和疾病起着重要作用^[6]。肠道菌群可通过直接和间接的信号传导维持肠道、中枢神经系统和微生物系统之间的平衡,这种复杂的相互作用通道被称为“微生物群-肠-脑轴”^[7],该理论支持肠道微生物群可能引发 ASD 患者症状的假设^[8]。ASD 患者常见腹痛、便秘和腹泻等问题^[9-10],且患者的行为问题与胃肠道紊乱的严重程度有关^[11-12],表明肠道微生物群和 ASD 之间可能存在重要关系^[13]。

孟德尔随机化 (Mendelian randomization, MR) 通过将遗传变异位点作为工具变量,其中基因在个体出生前随机分配,从而规避了混杂因素和反向因果关系的影响。因此,本研究选择两样本 MR 分析来探索肠道菌群和 ASD 之间的因果关系。

1 资料与方法

1.1 研究设计 孟德尔随机化分析用于分析肠道细菌与 ASD 之间的因果关系。本研究的总体设计如图 1 所示。为了获得可靠的结果,在进行 MR 分析时需要满足 3 个假设:1)工具变量与暴露因素(肠道菌群)之间有很强的相关性;2)工具变量与混杂因素之间没有相关性;3)工具变量只能通过暴露因素(肠道菌群)影响结果,而不能通过其他方法,即不允许水平多效性。见图 1。满足这 3 个假设的遗传变异可以作为工具变量包括在两样本 MR 分析中^[14]。

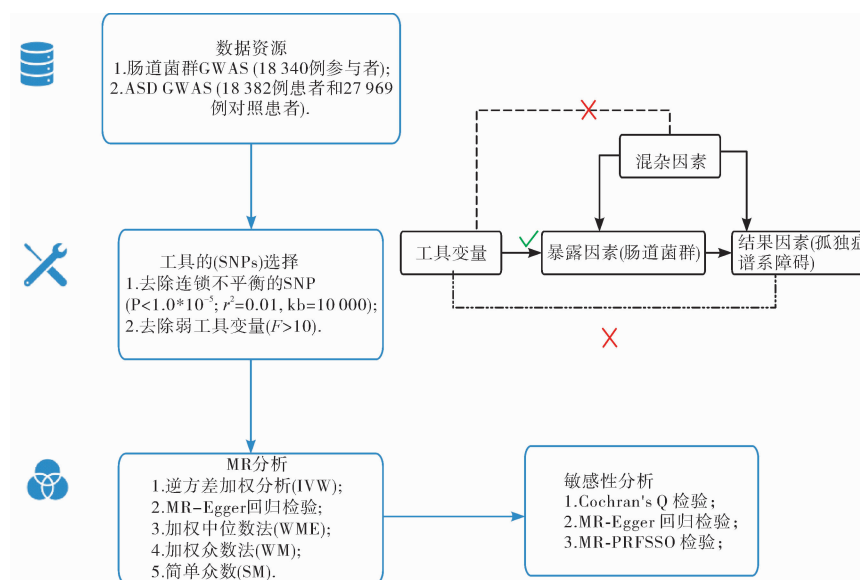


图 1 MR 分析的假设及流程图

Fig. 1 Assumptions and flow chart of MR Analysis

1.2 数据来源 肠道菌群的汇总统计数据来自 MiBioGen 联盟 (<https://mibiogen.gcc.rug.nl>) 的一项大规模 GWAS 研究^[15],该研究涉及来自 11 个国家的 18 340 名参与者(24 个队列),其中大部分具有欧洲血统($n=13\ 266$)。ASD 的 GWAS 统计数据来自 IEU Open GWAS 数据库 (<https://gwas.mrcieu.ac.uk/>) 2017 年发布的数据,患者均为欧洲血统,包含 18 382 例患者和 27 969 例对照患者,共计 9 112 386 个变异位点(SNP)。

1.3 工具变量的选择 本研究保留“属(Genus)”

水平的肠道菌作为暴露因素观察点,因为属作为划分最详细的水平可以更好地观察到具体是哪个属目的菌群,有利于后期研究作为参考。根据 $P < 1.0 \times 10^{-5}$ 选择与肠道菌群具有显著意义 SNPs 位点^[16],设置参数($r^2=0.01$),千碱基对($kb=10\ 000$),以排除连锁不平衡的干扰^[17]。根据肠道菌群的 GWAS 数据和 ASD 的 GWAS 结果中具有相同等位基因的 SNPs 进行协同整理,使暴露和结局的效应值相对应^[18]。使用 F 统计量评估每个 SNPs 的工具变量效应,原则上选择 F 值大于 10 的 SNPs 进行后续 MR

分析^[19]。筛选出的工具变量应具备其在暴露和结局数据集中的参考等位基因、效应等位基因、效应等位基因频率、效应值(beta)、标准误(se)和 *P* 值信息。为满足第二、三假设,最后采用 MR-Egger 方法,并根据 MR-Egger 回归的截距及其 *P* 值对工具变量进行水平多效性检验^[20]。

1.4 统计学方法 本研究的 MR 分析使用了 R 的 4.3.0 版本和 0.5.8 的“TwoSampleMR”软件包进行 MR 分析。主要采用逆方差加权(inverse variance weighted, IVW)、MR-Egger 回归、加权中位数(weighted median, WME)、Weighted mode (WM)和 Simple mode (SM)5 种方法来检验肠道菌群与 ASD 之间是否存在因果关系。由于 IVW 法检验敏感度更高,当各方法结果不一致时,本研究最终采用 IVW 法的检验结果^[21]。

1.5 敏感性分析 通过敏感性分析、异质性检验、基因水平多效性检验进一步检验研究结果的稳定性和可靠性。使用 CochranQ 检验和 MR-PRESSO 的全局分析对工具变量的异质性和离群值进行检验,使用留一法(leave one out)进行敏感性分析^[22]。留一法将依次剔除一个工具变量 SNP,然后计算剩下所有 IV 的结果,当某个 MR 结果和总结果无显著统计学差异,则说明该 IV 不会对效应估计结果产生非特异性影响^[23]。Cochran Q 法用于检验工具变量的异质性,如果 *P* 值高于 0.05 且没有异质性证据,则采用固定效应 IVW 方法;如果 $P < 0.05$ 存在显著的异质性,则采用随机效应 IVW 方法^[24]。MR-Egger 法用来检验水平多效性,当 MR-Egger 截距项差异很大时,说明存在水平多效性^[20]。

2 结果

2.1 工具变量 本研究根据筛选标准,获得 10、11、14、10、12、10 个 SNP 分别与 Dorea、Ruminiclostridium5、RuminococcaceaeUCG005、Ruminococcus1、Sutterella 和 Turicibacter 属水平的肠道菌群因果关联的工具变量。*F* 统计量显示每个 SNP 的 *F* 值均大于 10,说明每个工具变量均与暴露强关联,不存在弱工具变量偏倚。

2.2 孟德尔随机化分析结果 将肠道菌群“属”水平作为暴露变量,ASD 作为结果变量,进行 MR 分析。最终研究结果共纳入 6 种“属”水平的肠道菌群与 ASD 存在因果关系。结果显示,基于 IVW 方法分析中, Dorea, Ruminiclostridium5, RuminococcaceaeUCG005, Ruminococcus1 和 Sutterella 的丰度水平与 ASD 发生风险呈负相关($OR = 0.811$,

95%CI: 0.686 ~ 0.959)、($OR = 0.812$, 95%CI: 0.687 ~ 0.961)、($OR = 0.776$, 95%CI: 0.670 ~ 0.898)、($OR = 0.831$, 95%CI: 0.705 ~ 0.981)、($OR = 0.821$, 95%CI: 0.684 ~ 0.987),但是 Turicibacter 的丰度水平与 ASD 发生风险呈正相关($OR = 1.140$, 95%CI: 1.008~1.290),结果详见图 2、表 1。图 3 显示 5 种不同分析方法中,上述六种肠道菌群的所有 Beta 值方向一致。

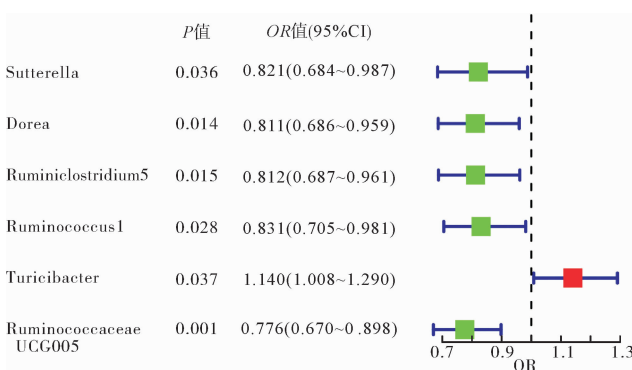


图 2 与 ASD 相关肠道菌群的森林图

Fig. 2 Forest map of intestinal flora associated with ASD

2.3 质量控制

2.3.1 敏感性分析 使用“leave one out”分析结果显示,发现纳入的各 IVs 的效应值和总效应值相近,去除任何一个 SNP,剩余的 SNP 均在同侧,范围接近总效应值,尚未发现对结果影响较大的某个 SNP,见图 4。

2.3.2 异质性检验和多效性检验 通过 IVW 和 MR-Egger 方法进行的异质性分析结果显示 *P* 值均 > 0.05 ,结果无统计学意义,表明无异质性对结果造成的影响。利用 MR-Egger 方法统计检验结果显示 *P* 值均 > 0.05 ,表面不存在水平多效性,且 MR-PRESSO 全局分析的结果也显示 *P* 值 > 0.05 ,见表 2。漏斗图结果显示各 SNP 作为 IVs 时散点分布基本对称,表面不存在潜在偏倚。见图 5。

3 讨论

本研究通过 MR 分析结果显示,肠道菌群中的 Dorea、Ruminiclostridium5、RuminococcaceaeUCG005、Ruminococcus1 和 Sutterella 丰度的升高,可以降低 ASD 的患病风险,而 Turicibacter 丰度的升高,可增加 ASD 的患病风险。总之,本研究通过 MR 分析显示了与 ASD 相关的特定肠道微生物群,从遗传学角度阐明了肠道微生物群在 ASD 发展中的潜在因果关系。这一发现可能有助于在未来 ASD 临床试验中

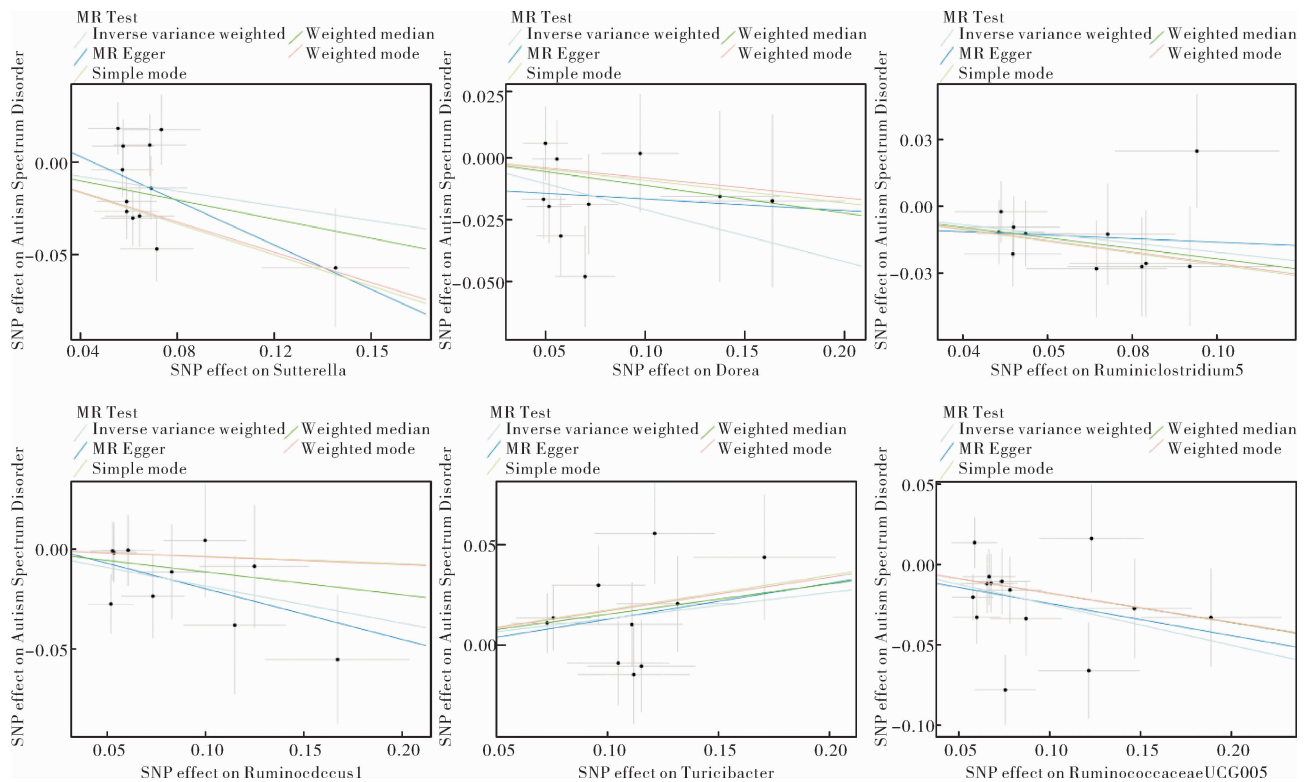


图 3 与 ASD 相关肠道菌群的散点

Fig. 3 Scattered intestinal flora associated with ASD

表 1 MR 分析的主要结果

Tab. 1 Main results of MR analysis

暴露因素	方法	工具变量(<i>n</i>)	β 值	S_e 值	<i>P</i> 值	OR 值	95%CI
Dorea	MR Egger	10	-0.047	0.236	0.849	0.955	0.601~1.517
	Weighted median	10	-0.112	0.121	0.355	0.894	0.706~1.133
	IVW	10	-0.210	0.086	0.014	0.811	0.686~0.959
	Simple mode	10	-0.091	0.182	0.628	0.913	0.640~1.303
	Weighted mode	10	-0.081	0.169	0.643	0.922	0.662~1.285
Ruminiclostridium5	MR Egger	11	-0.079	0.353	0.828	0.924	0.462~1.846
	Weighted median	11	-0.237	0.114	0.037	0.789	0.631~0.986
	IVW	11	-0.208	0.086	0.015	0.812	0.687~0.961
	Simple mode	11	-0.264	0.192	0.200	0.768	0.527~1.120
	Weighted mode	11	-0.258	0.181	0.184	0.773	0.542~1.101
RuminococcaceaeUCG005	MR Egger	14	-0.201	0.222	0.384	0.818	0.529~1.265
	Weighted median	14	-0.183	0.098	0.062	0.833	0.687~1.009
	IVW	14	-0.254	0.075	0.001	0.776	0.670~0.898
	Simple mode	14	-0.182	0.142	0.222	0.834	0.631~1.101
	Weighted mode	14	-0.182	0.129	0.181	0.834	0.648~1.073
Ruminococcus1	MR Egger	10	-0.253	0.225	0.293	0.777	0.500~1.206
	Weighted median	10	-0.114	0.110	0.300	0.892	0.719~1.107
	IVW	10	-0.185	0.084	0.028	0.831	0.705~0.981
	Simple mode	10	-0.036	0.166	0.831	0.964	0.697~1.334
	Weighted mode	10	-0.039	0.166	0.821	0.962	0.694~1.333
Sutterella	MR Egger	12	-0.591	0.468	0.236	0.554	0.221~1.387
	Weighted median	12	-0.256	0.101	0.012	0.774	0.635~0.944
	IVW	12	-0.197	0.094	0.036	0.821	0.684~0.987
	Simple mode	12	-0.415	0.218	0.083	0.660	0.431~1.012
	Weighted mode	12	-0.404	0.231	0.108	0.668	0.425~1.050
Turicibacter	MR Egger	10	0.181	0.268	0.518	1.199	0.709~2.027
	Weighted median	10	0.153	0.085	0.074	1.165	0.985~1.377
	IVW	10	0.131	0.063	0.037	1.140	1.008~1.290
	Simple mode	10	0.174	0.149	0.272	1.190	0.889~1.593
	Weighted mode	10	0.169	0.130	0.226	1.184	0.918~1.529

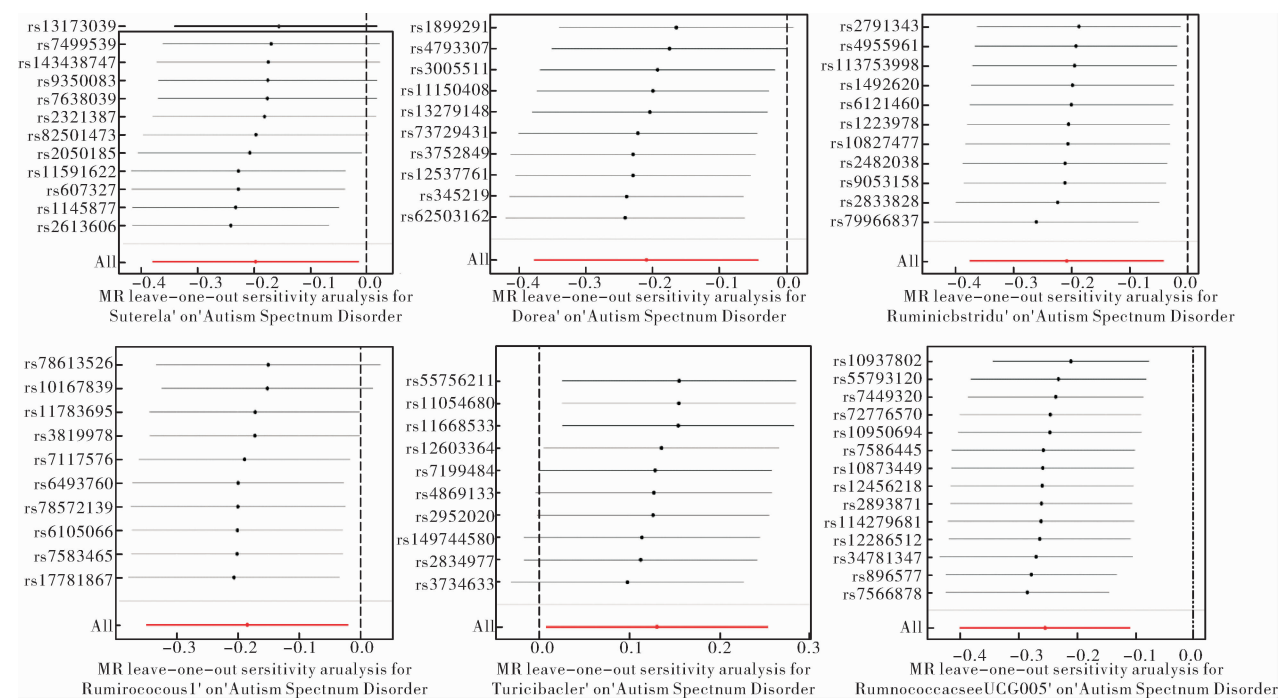


图 4 与 ASD 相关肠道菌群的敏感性分析结果

Fig. 4 Sensitivity analysis results of intestinal flora associated with ASD

表 2 与 ASD 存在因果关系的肠道菌群的质量控制结果

Tab. 2 Quality control results of intestinal flora with causal relationship to ASD

暴露因素	异质性			基因多效性		MR-PRESSO
	方法	Q 值	P 值	Egger 截距项	P 值	P 值
Dorea	MR Egger	7.110	0.525	-0.012	0.480	0.607
	IVW	7.659	0.569			
Ruminiclostridium5	MR Egger	4.568	0.870	-0.008	0.716	0.905
	IVW	4.709	0.910			
RuminococcaceaeUCG005	MR Egger	16.361	0.175	-0.005	0.803	0.274
	IVW	16.449	0.226			
Ruminococcus1	MR Egger	4.262	0.833	0.006	0.752	0.888
	IVW	4.369	0.886			
Sutterella	MR Egger	18.069	0.054	0.026	0.410	0.063
	IVW	19.405	0.054			
Turicibacter	MR Egger	7.615	0.472	-0.005	0.852	0.600
	IVW	7.652	0.570			

进行微生物干预提供支持。

据不完全统计,人体中肠道菌群包括 2 000 个不同的品系或物种,数量甚至接近 100 万亿个。其中大多数菌群对宿主有益或中性,但一些微生物对宿主可能是有害的,它们在维持宿主健康或某些疾病中发挥一定作用^[25]。人体内大多数微生物物种都存在于肠道中,它们会干扰营养物质的利用和吸收,从而影响宿主系统的稳态^[26]。肠道菌群通过分泌神经递质,包括乙酰胆碱、血清素和多巴胺,或神经活性分子,如短链脂肪酸,可以通过内分泌途径向大脑发送信号^[27-28]。值得注意的是,一些病例对照研究通过分析 ASD 患者异常的肠道微生物群组成,证实了肠道微生物群在 ASD 发病机制中的可能作用。最常见的发现是 ASD 患者中拟杆菌门与厚壁菌门比率呈下降趋势^[29-30],并且梭状芽胞杆菌丰度高于正常对照^[31],与本研究结果是一致的。ASD 患者的肠道微生物群组成存在变化,拟杆菌水平和双歧杆菌水平明显下降,同时发现 ASD 儿童的短链脂肪酸(细菌产生的代谢物)总量有所增加^[13]。本次研究结果显示的 6 种肠道菌群, Ruminiclostridium5 和 Ruminococcus1 是在本次 MR 分析中发现二者之间存在相关性,可以为后续研究起到一定的参考价值。

尽管肠道菌群在 ASD 发病机制中的作用尚未确定,但许多基于肠道菌群的干预研究已经开展。

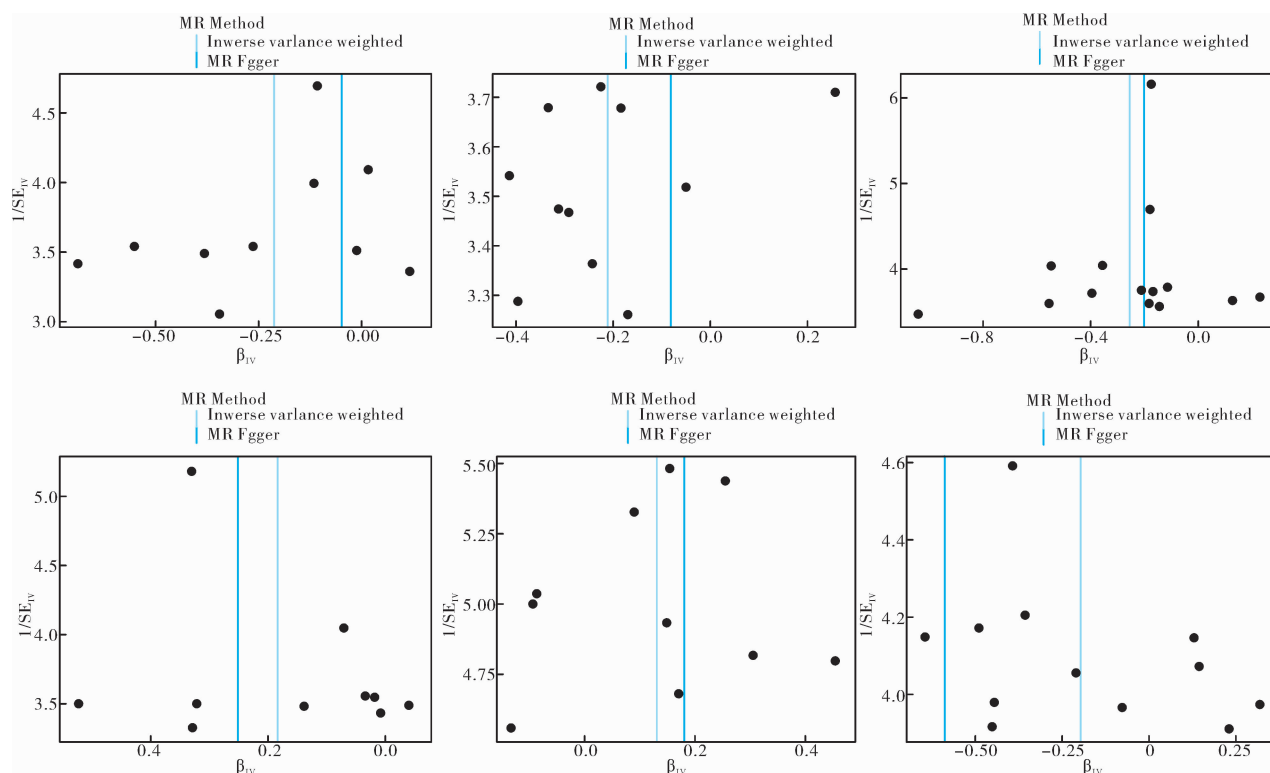


图 5 与 ASD 相关肠道菌群的漏斗图检验

Fig. 5 Funnel plot examination of intestinal flora associated with ASD

有研究通过补充维生素 A 诱导作为 ASD 生物标志物的拟杆菌门/拟杆菌目发生变化,从而降低双歧杆菌的比例^[32]。Liu 等^[33]研究表明,益生菌对患有 ASD 男童的反对/反抗行为具有有益作用。Kang 等^[34-35]还发现肠道微生物群移植改善了 ASD 儿童的胃肠道和行为症状,且证实这些效果在两年后持续存在,预计基于益生菌的干预措施可以成为未来帮助 ASD 的替代方案。

本研究的局限性:首先,本研究纳入的肠道菌群与 ASD GWAS 数据均为欧洲人群,缺乏其它地区种族人群的数据,一定程度上可能影响到其他人群的深层次分析结果;其次,MR 分析只是一种针对两种因素理论上的因果关系分析,具体作用机制还需要进一步的临床与基础研究进行探讨;最后,本研究纳入的数据库资料只是部分人群数据资料,不一定全面反应二者的因果关系,因此还需加大样本量充实数据库,使得数据更加齐全完善。

综上所述,肠道菌群中的 Dorea、Ruminiclostridium5、RuminococcaceaeUCG005、Ruminococcus1 和 Sutterella 是 ASD 的保护因素,随着菌群丰度的提高可能降低 ASD 的发病风险。而 Turicibacter 是 ASD 的危险因素,随着菌群丰度的提高可能增加 ASD 的发病风险。本研究可以为后续研究起到一定的参考价值,可能为 ASD 患者的诊

断和治疗提供新的视角。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] Zulauf LM. The Revision and 5th Edition of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5): Consequences for the diagnostic work with children and adolescents[J]. *Prax Kinderpsychol Kinderpsychiatr*, 2014, 63 (7):562-576.
- [2] Maenner MJ, Warren Z, Williams AR, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years - Autism and developmental disabilities monitoring network, 11 Sites, United States, 2020 [J]. *MMWR Surveill Summ*, 2023,72(2):1-14.
- [3] Zhou H, Xu X, Yan W, et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder in China: A nationwide multi-center population-based study among children aged 6 to 12 years[J]. *Neurosci Bull*, 2020, 36(9): 961-971.
- [4] Maenner MJ, Shaw KA, Bakian AV, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years - Autism and developmental disabilities monitoring network, 11 Sites, United States, 2018[J]. *MMWR Surveill Summ*, 2021,70(11):1-16.
- [5] Li YA, Chen ZJ, Li XD, et al. Epidemiology of autism spectrum disorders: Global burden of disease 2019 and bibliometric analysis of risk factors[J]. *Front Pediatr*, 2022,10:972809.
- [6] Sender R, Fuchs S, Milo R. Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in hu-

- mans[J]. *Cell*, 2016,164(3):337-340.
- [7] Cho J, Park YJ, Gonzales-Portillo B, et al. Gut dysbiosis in stroke and its implications on Alzheimer's disease-like cognitive dysfunction[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2021, 27(5): 505-514.
- [8] Kraneveld AD, Szklany K, de Theije CG, et al. Gut-to-brain axis in autism spectrum disorders: Central role for the microbiome[J]. *Int Rev Neurobiol*, 2016,131:263-287.
- [9] Adams JB, Johansen LJ, Powell LD, et al. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism--comparisons to typical children and correlation with autism severity[J]. *BMC Gastroenterol*, 2011,11:22.
- [10] McElhanon BO, McCracken C, Karpen S, et al. Gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder: A meta-analysis[J]. *Pediatrics*, 2014,133(5):872-883.
- [11] Fulceri F, Morelli M, Santocchi E, et al. Gastrointestinal symptoms and behavioral problems in preschoolers with autism spectrum disorder[J]. *Dig Liver Dis*, 2016,48(3): 248-854.
- [12] Iovene MR, Bombace F, Maresca R, et al. Intestinal dysbiosis and yeast isolation in stool of subjects with autism spectrum disorders[J]. *Mycopathologia*, 2017,182(3-4): 349-363.
- [13] Ha S, Oh D, Lee S, et al. Altered gut microbiota in Korean children with autism spectrum disorders[J]. *Nutrients*, 2021,13(10):3300.
- [14] Emdin CA, Khera AV, Kathiresan S. Mendelian randomization[J]. *JAMA*, 2017,318(19):1925-1926.
- [15] 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.
- [16] Zhang Y, Zhang X, Chen D, et al. Causal associations between gut microbiome and cardiovascular disease: A Mendelian randomization study[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022,9:971376.
- [17] Jin Q, Ren F, Dai D, et al. The causality between intestinal flora and allergic diseases: Insights from a bi-directional two-sample Mendelian randomization analysis[J]. *Front Immunol*, 2023,14:1121273.
- [18] Hartwig FP, Tilling K, Davey Smith G, et al. Bias in two-sample Mendelian randomization when using heritable covariable-adjusted summary associations[J]. *Int J Epidemiol*, 2021,50(5):1639-1650.
- [19] CSCO 生物统计学专家委员会 RWS 方法学组. 孟德尔随机化模型及其规范化应用的统计学共识[J]. *中国卫生统计*, 2021,38(3):471-475,480.
- CSCO Expert Committee on Biostatistics RWS Methodology Group. Statistical consensus of Mendelian randomization model and its normalization application[J]. *Chinese health statistics*, 2021,38(3): 471-475,480. (in Chinese)
- [20] Boehm FJ, Zhou X. Statistical methods for Mendelian randomization in genome-wide association studies: A review [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2022,20:2338-2351.
- [21] Lin Z, Deng Y, Pan W. Combining the strengths of inverse-variance weighting and Egger regression in Mendelian randomization using a mixture of regressions model[J]. *PLoS Genet*, 2021,17(11):e1009922.
- [22] 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.
- [23] Gronau QF, Wagenmakers EJ. Limitations of bayesian leave-one-out cross-validation for model selection[J]. *Comput Brain Behav*, 2019,2(1):1-11.
- [24] Yuan S, Kim JH, Xu P, et al. Causal association between celiac disease and inflammatory bowel disease: A two-sample bidirectional Mendelian randomization study[J]. *Front Immunol*, 2022,13:1057253.
- [25] Zhao X, Kong M, Wang Y, et al. Nicotinamide mononucleotide improves the Alzheimer's disease by regulating intestinal microbiota[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023,670:27-35.
- [26] Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut[J]. *Science*, 2001,292(5519):1115-1118.
- [27] Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, et al. The gut-brain axis: Interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems[J]. *Ann Gastroenterol*, 2015,28(2):203-209.
- [28] Dinan TG, Stilling RM, Stanton C, et al. Collective unconscious: How gut microbes shape human behavior[J]. *J Psychiatr Res*, 2015,63:1-9.
- [29] Tomova A, Husarova V, Lakatosova S, et al. Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia[J]. *Physiol Behav*, 2015,138:179-187.
- [30] Strati F, Cavalieri D, Albanese D, et al. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders[J]. *Microbiome*, 2017,5(1):24.
- [31] Alshammari MK, AlKhulaifi MM, Al Farraj DA, et al. Incidence of Clostridium perfringens and its toxin genes in the gut of children with autism spectrum disorder[J]. *Anaerobe*, 2020,61:102114.
- [32] Liu J, Liu X, Xiong XQ, et al. Effect of vitamin A supplementation on gut microbiota in children with autism spectrum disorders - a pilot study[J]. *BMC Microbiol*, 2017,17(1):204.
- [33] Liu YW, Liong MT, Chung YE, et al. Effects of Lactobacillus plantarum PS128 on children with autism spectrum disorder in Taiwan: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Nutrients*, 2019,11(4):820.
- [34] Kang DW, Adams JB, Gregory AC, et al. Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: An open-label study[J]. *Microbiome*, 2017,5(1):10.
- [35] Kang DW, Adams JB, Coleman DM, et al. Long-term benefit of microbiota transfer therapy on autism symptoms and gut microbiota[J]. *Sci Rep*, 2019,9(1):5821.