

· 临床研究 ·

肠道菌群与肾细胞癌关系的孟德尔随机化分析

郭凌宇, 种 铁

(西安交通大学第二附属医院泌尿外科, 陕西西安 710004)

Mendelian randomization analysis of the relationship between gut microbiota and renal cell carcinoma

GUO Lingyu, CHONG Tie

(Department of Urology, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China)

ABSTRACT: **Objective** To explore the correlation between gut microbiota and renal cell carcinoma (RCC) with Mendelian randomization analysis. **Methods** Data involved with genome-wide association of the gut microbiome were retrieved from MiBioGen Consortium as the exposure group data, and RCC data were obtained from the FinnGen GWAS database. Next, a rigorous Mendelian randomization analysis was conducted utilizing multiple methods, including inverse variance weighted (IVW), MR-Egger, maximum likelihood, and weighted median. Additionally, sensitivity analysis was performed to address heterogeneity and horizontal pleiotropy concerns. **Results** A total of 2564 single nucleotide polymorphisms (SNPs) from the complete gut microbiota were analyzed. IVW analysis showed that bacillus ($OR=0.780, 95\% CI: 0.614-0.991, P=0.042$) and anaerobic bacillus ($OR=0.723, 95\% CI: 0.533-0.981, P=0.037$) reduced the risk of RCC. Actinomycetes ($OR=1.302, 95\% CI: 1.015-1.672, P=0.038$), family XI ($OR=1.197, 95\% CI: 1.023-1.400, P=0.024$), coprococcus 2 genera ($OR=1.440, 95\% CI: 1.046-1.982, P=0.026$), clostridium lactate ($OR=1.732, 95\% CI: 1.254-2.392, P=0.001$) and Odoribacter ($OR=1.685, 95\% CI: 1.150-2.469, P=0.007$) were associated with an increased risk of RCC. Sensitivity analysis did not identify any abnormal SNPs, indicating the robustness and reliability of our findings. **Conclusion** There may be a cause-and-effect relationship between different types of gut microbiota and genetically predicted renal cell carcinoma, and different microbiota may be respectively associated with an increase or decrease in RCC.

KEY WORDS: renal cell carcinoma; gut microbiota; inverse variance weighted; single nucleotide polymorphism; Mendelian randomization

摘要: **目的** 采用孟德尔随机化分析探索肠道菌群组成与肾细胞癌(RCC)之间的因果关系。 **方法** 检索 MiBioGen 联盟中参与肠道微生物组全基因组关联研究者的统计数据作为暴露组数据, RCC 数据来自 FinnGen 全基因组关联研究(GWAS)数据库。采用的孟德尔随机化分析方法包括逆方差加权(IVW)、MR-Egger、最大似然和加权中位数。采用敏感性分析以解决异质性和水平多效性问题。 **结果** 对来自完整肠道菌群的 2564 个单核苷酸多态性(SNPs)进行了分析。IVW 分析显示芽孢杆菌纲($OR=0.780, 95\% CI: 0.614\sim 0.991, P=0.042$)和厌氧菌属($OR=0.723, 95\% CI: 0.533\sim 0.981, P=0.037$)与 RCC 降低存在因果关系。放线菌纲($OR=1.302, 95\% CI: 1.015\sim 1.672, P=0.038$)、Family XI 科($OR=1.197, 95\% CI: 1.023\sim 1.400, P=0.024$)、粪球菌 2 属($OR=1.440, 95\% CI: 1.046\sim 1.982, P=0.026$)、乳酸芽孢梭菌属($OR=1.732, 95\% CI: 1.254\sim 2.392, P=0.001$)和 Odoribacter 属($OR=1.685, 95\% CI: 1.150\sim 2.469, P=0.007$)则与 RCC 增加存在因果关系。敏感性分析没有发现任何异常的 SNPs, 表明本研究结果具有稳健性和可靠性。 **结论** 肠道菌群与 RCC 之间可能存在正向因果关系, 不同菌群分别与基因预测的 RCC 的增加或降低有关。

关键词: 肾细胞癌; 肠道菌群; 逆方差加权; 单核苷酸多态性; 孟德尔随机化

中图分类号: R737.11

文献标志码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1009-8291.2025.03.013

近年来,肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)的患病率以每年约 1.1% 的增长速率显著上升^[1],但其发生的确切机制仍不明确^[2],因此,寻找可以降低

RCC 患病率的干预措施至关重要。肠道微生物组是指居住在消化系统中的复杂微生物群落,可通过调控宿主的代谢、炎症和免疫反应,影响许多潜在的生物学机制,可能对癌症的发生发展产生作用^[3]。

尽管已有大量关于肠道微生物组与 RCC 关系的研究,但由于缺乏明确的证据,肠道菌群是否与 RCC 存在因果关系迄今为止仍无定论。虽然动物模型

收稿日期: 2024-07-17

修回日期: 2024-09-13

通信作者: 种铁, 教授。E-mail: chongtie@126.com

作者简介: 郭凌宇, 博士研究生。研究方向: 泌尿系肿瘤相关研究。

E-mail: guolingyu1994@163.com

和体外实验表明,通过操纵单个或少数微生物成分(如益生元或益生菌)可以降低癌症的发生风险,但由于人类个体拥有复杂的微生物群落,这些发现仍然难以直接应用于临床^[4]。肠道微生物群的复杂性提示,不同微生物类型间可能会进行相互调节。因此,进一步研究肠道微生物群的复杂性及其与人类健康相互作用的相关性至关重要^[5]。然而,建立肠道菌群与RCC之间的直接联系非常困难,本研究采用孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)分析方法,利用全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)的汇总数据来探讨肠道菌群与RCC之间的关系。

1 资料与方法

1.1 数据来源 MiBioGen 联盟进行了一项开创性的荟萃分析,在全基因组水平上深入研究了肠道微生物群的组成^[6]。包括 16S rRNA 基因测序图谱和来

自美国、加拿大、以色列、韩国、德国、丹麦、荷兰、比利时、瑞典、芬兰和英国等 16 个队列的 18 340 名个体的基因分型数据。通过对汇总数据进行仔细分析,获得了详细的微生物群分类信息,涵盖 211 个类群,隶属于 131 属、35 科、20 目、16 类和 9 门。为了确保分析的可靠性,本研究排除了未知的科和属。因此,将菌属作为菌群分类的最低分类级别。

本研究选择了 2023 年发表的 FinnGen GWAS 数据集(<https://r9.finnngen.fi/>)作为 RCC 相关信息的来源,该数据集纳入了除肾盂癌外的所有肾恶性肿瘤,涉及 2223 名 RCC 患者和 287 137 例非 RCC 患者,均为欧洲血统。该数据集提供了最全面和最广泛的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)数据,为本研究提供了坚实的数据基础^[7]。研究的暴露因素是肠道菌群,结局因素是 RCC,本研究的 MR 分析流程见图 1。

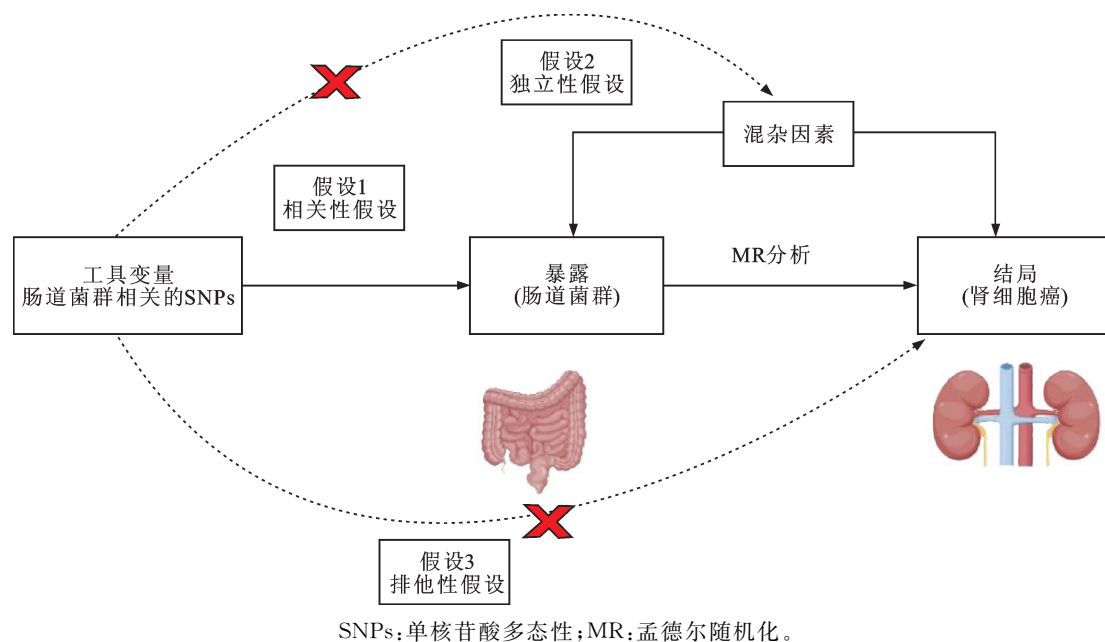


图1 肠道菌群与肾细胞癌因果关系的孟德尔随机化分析流程图

1.2 工具变量选择 为了确保工具变量(instrumental variables, IVs)的有效性,需要满足 3 个关键假设。①相关性假设要求 IVs 与暴露因素表现出很强的相关性;②独立性假设要求 IVs 不应受到混杂因素的影响;③排他性假设要求 IVs 不应该与结果相关^[8]。为避免 SNPs 数量不足,本研究选择将 $P < 1 \times 10^{-5}$ 作为截止值,并选择与特定肠道菌群类型相关的 SNPs 作为 IVs。此外,本研究为解决连锁不平衡,设置了连锁不平衡的阈值 $r^2 < 0.001$,距离为 10 000 kb^[9]。为了确保一致性,本研究排除了回文 SNPs,以避免 SNPs 在暴露和结果中的方向不一致。通过 Pheno Scanner,本研究已经对所有 SNPs 进行检索,以尽可

能排除与 RCC 相关的混杂因素(如年龄、肥胖、吸烟、饮酒等)的影响。为了评估自变量的强度,本研究使用 F 检验, $F = [(n - k^{-1})/k] \times r^2 / (1 - r^2)$ 。 $F > 10$ 的 SNPs 表示不存在显著的弱工具偏差被保留,而低于该阈值的 SNPs 则被排除。

1.3 统计学方法 本研究采用的主要分析方法为逆方差加权法 (inverse variance weighted, IVW), 辅助分析方法包括 MR-Egger 回归、简单模型、加权中位数分析 (weighted median analysis, WME) 和加权模型。IVW 法是结果判断的主要依据。WME 方法依赖于超过 50% 的 SNPs 具有可靠的 IVs 的假设。MR-Egger 方法假设所有 SNPs 都可能是不可靠的

IVs,并自动包含一个截距项。仅在进一步检查具有统计学意义的IVW结果时进行敏感性分析。在不存在异质性和多效性的情况下,IVW结果被认为是可靠的。对于二元结果,效果估计用比值比表示。

1.4 敏感性分析 敏感性分析采用异质性检验和多效性检验。采用 Cochran's Q 检验来确认自变量是否存在异质性, $P > 0.05$ 表示不存在异质性。利用 MR-多效性残差及异属性检测法(MR pleiotropy residual sum and outlier method, MR-PRESSO)和留一分析法识别和消除显示多效性或异质性的 SNPs。采用 MR Steiger 检验因果方向的准确性^[10]。

1.5 反向因果关系分析 以 RCC 为暴露因素,以本研究得出的与 RCC 存在因果关系的肠道菌群的 SNPs 为结果进行 MR 分析。

1.6 统计软件及效应值 使用 R 软件(版本 4.1.2)计算环境,以及 Two Sample MR 包(版本 0.5.6)和 MR-PRESSO 包(版本 1.0)进行 MR 分析。使用 R 软件中的“ggplot2”包创建可视化,本研究使用伪发现率(false discovery rate, FDR)方法对 P 值进行校

正,将 $P < 0.05$ 作为因果效应的证据来确定统计的显著性。

2 结果

2.1 肠道菌群与 RCC 间的因果关系 本研究对来自完整肠道菌群的 2564 个 SNPs 进行了分析,在其中的 94 个 SNPs 中得到了阳性结果并进行后续分析。通过计算每个 IVs 的 F 统计量评估其作为 IVs 的强度以排除弱 IVs。经过严格的筛选,细菌分类群在 SNPs 数量上表现出可变性,范围为 1~22。

MR 分析的肠道菌群对 RCC 影响的森林图见图 2。IVW 分析显示肠道菌群的放线菌纲、芽孢杆菌纲、Family XI 科、厌氧菌属、粪球菌 2 属、乳酸芽孢梭菌属、Odoribacter 属与 RCC 存在因果关系。在这些分类群中,放线菌纲、Family XI 科、粪球菌 2 属、乳酸芽孢梭菌属和 Odoribacter 属显示出与 RCC 的增加存在因果关联,而芽孢杆菌纲和厌氧菌属则显示出与 RCC 的降低存在因果关联(图 3)。

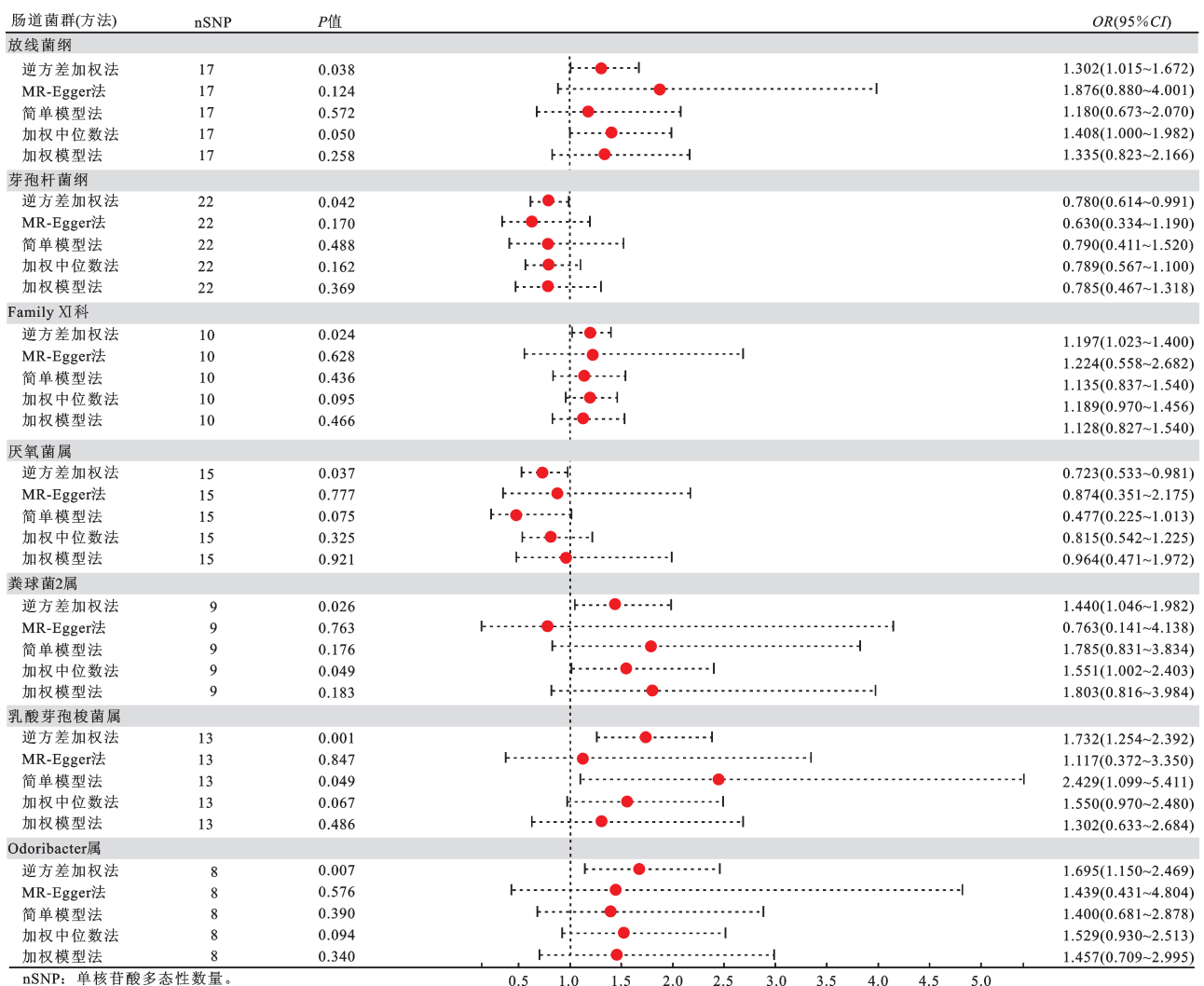


图2 肠道菌群与肾细胞癌的孟德尔随机化分析结果森林图

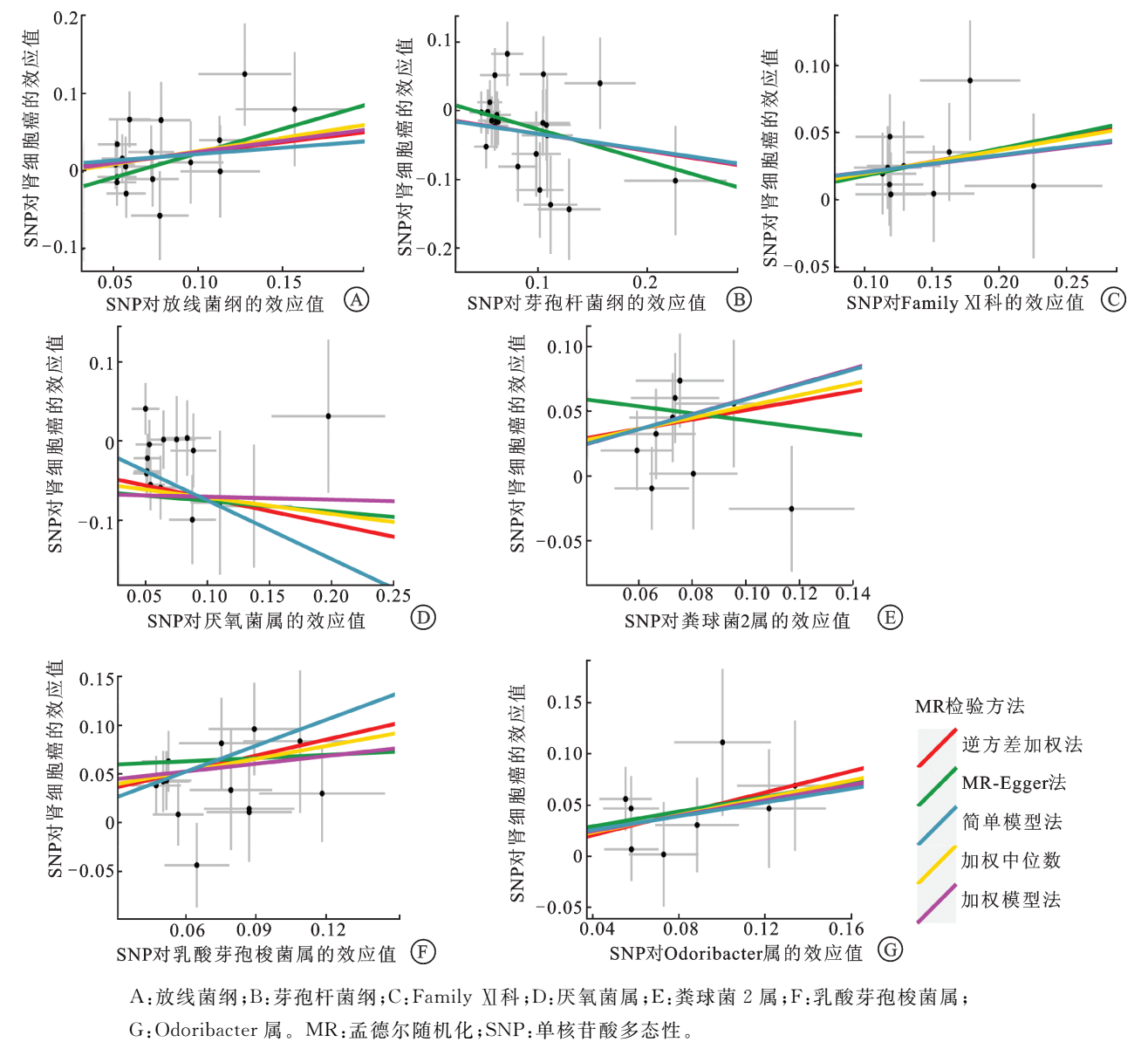


图3 不同肠道菌群与肾细胞癌的孟德尔随机化分析散点图

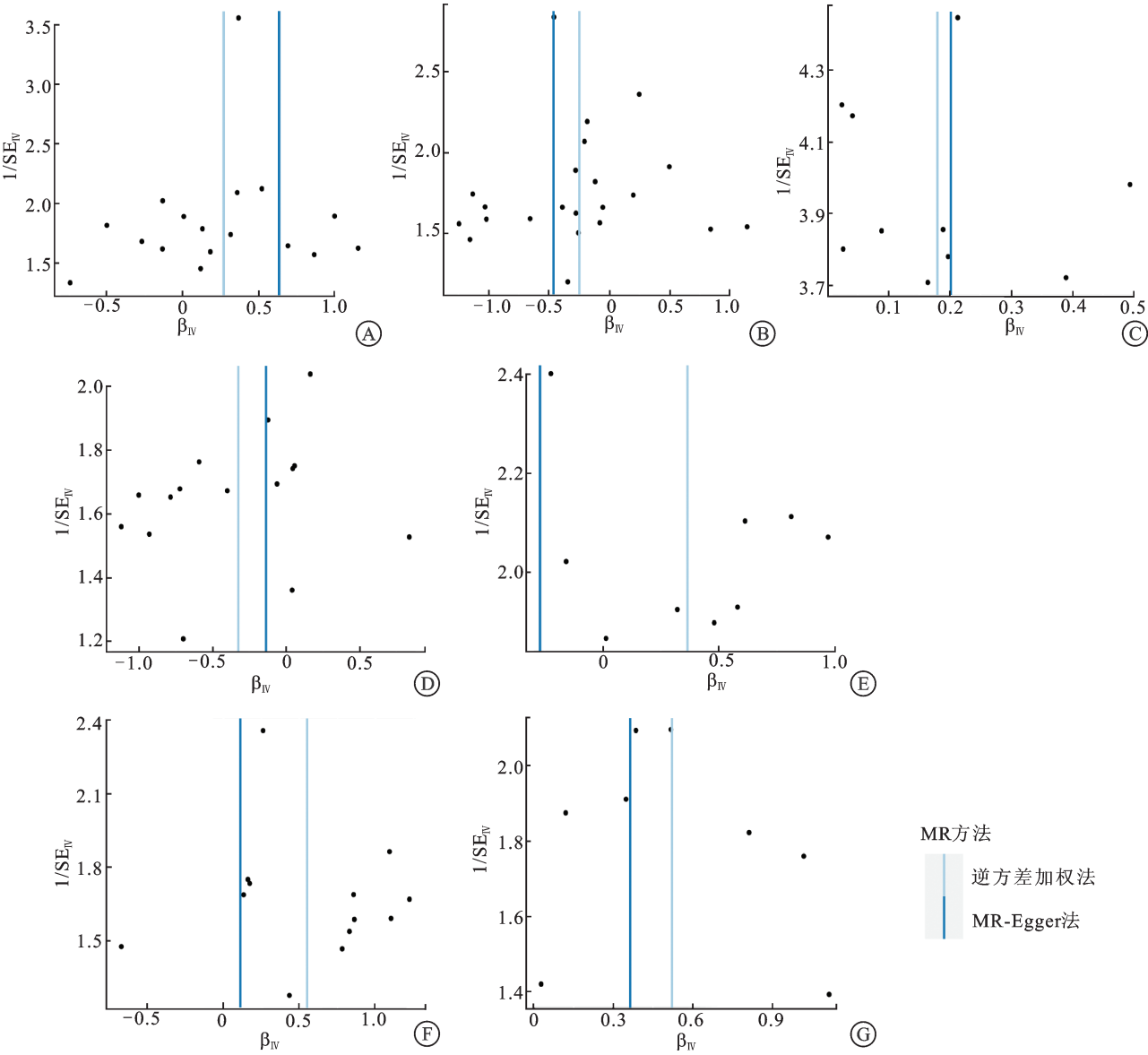
2.2 敏感性分析 采用 Cochran’s Q 检验进行敏感性分析,结果显示所有肠道菌群的 *P* 均>0.05,表明不存在异质性(表 1)。MR-PRESSO 分析 *P* 均>0.05。MR-Egger 截距的分析也未得出显著结果,表明不存在水平多效性。MR-Egger 主要用于评估水

表 1 肠道菌群的敏感性分析结果

肠道菌群	Cochran’s Q 检验	MR-Egger	MR-Egger 检验	MR-PRESSO 检验	Steiger 检验
	<i>P</i> 值	截距	<i>P</i> 值	<i>P</i> 值	<i>P</i> 值
放线菌纲	0.760	−0.028	0.333	0.782	4.89×10^{-83}
芽孢杆菌纲	0.402	0.018	0.485	0.408	2.29×10^{-90}
FamilyXI科	0.945	−0.003	0.957	0.938	3.26×10^{-42}
厌氧菌属	0.705	−0.013	0.673	0.715	5.65×10^{-62}
粪球菌 2 属	0.590	0.049	0.478	0.577	5.62×10^{-41}
乳酸芽孢梭菌属	0.705	0.031	0.430	0.729	1.95×10^{-55}
Odoribacter 属	0.887	0.013	0.795	0.917	1.52×10^{-37}

MR:孟德尔随机化;PRESSO:多效性残差及异质性检测法。

平多效性,其结果在本分析中并不显著。此外,所有漏斗图均显示出对称性,进一步支持研究结果不存在异质性(图 4)。采用留一法评估结果的稳健性,去除任何 SNPs 均未显著影响研究结果,表明结果对排除个体 SNPs 具有很高的稳健性(图 5)。



A:放线菌纲;B:芽孢杆菌纲;C:Family XI 科;D:厌氧菌属;E:粪球菌 2 属;F:乳酸芽孢梭菌属;
G:Odoribacter 属。MR:孟德尔随机化。

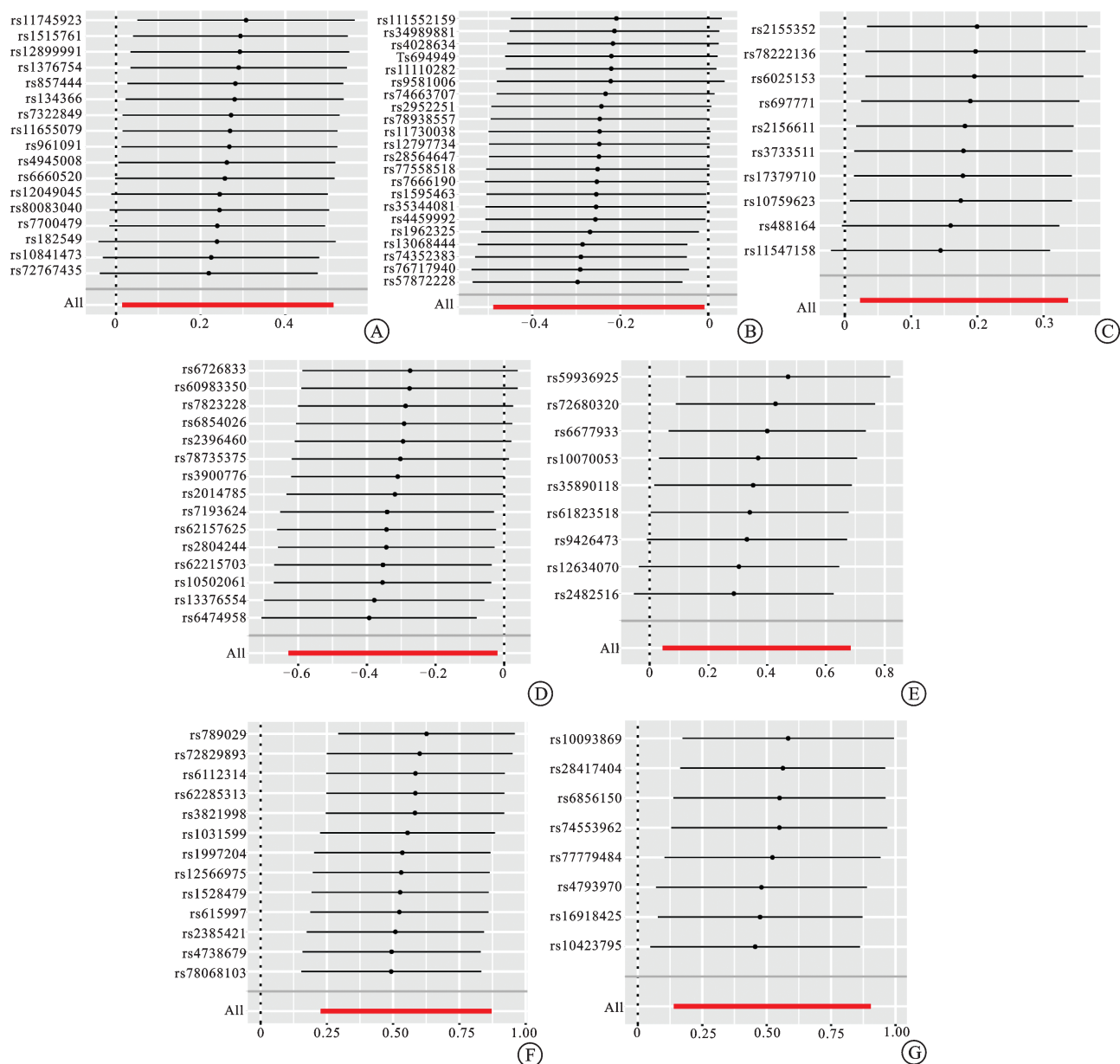
图 4 不同肠道菌群与肾细胞癌的逆方差加权法和 MR-Egger 法漏斗图

2.3 反向因果关系分析 本研究利用先前 GWAS 研究中与 RCC 相关的 SNPs 作为 IVs 进行反向因果
关系分析,结果表明 RCC 与任何被检查的肠道菌群
之间无因果关系(表 2)。

表 2 肠道菌群和肾细胞癌风险之间的孟德尔随机化分析

肠道菌群(结局)	nSNP	β	SE	P 值
放线菌纲	1	-0.051 3	0.061	0.401
芽孢杆菌纲	1	0.014 3	0.059	0.809
Family XI 科	1	0.000 2	0.136	0.999
厌氧菌属	1	-0.005 3	0.060	0.929
粪球菌 2 属	1	0.083 1	0.073	0.253
乳酸芽孢梭菌属	1	-0.008 0	0.058	0.890
Odoribacter 属	1	0.072 0	0.064	0.263

表中数据采用 Wald 比值法进行检验;nSNP:单核苷酸多态性数量。



A:放线菌纲;B:芽孢杆菌纲;C:Family XI 科;D:厌氧菌属;E:粪球菌 2 属;F:乳酸芽孢梭菌属;
G:Odoribacter 属。MR:孟德尔随机化。

图 5 不同肠道菌群与肾细胞癌的留一法敏感性分析图

3 讨论

肠道微生物群与人类多种疾病有关^[11]。随着肾-肠轴理论的提出,大量临床试验和动物实验均证实了肠道微生物组与肾脏疾病,特别是慢性肾脏疾病之间的关系^[12]。近年来,越来越多的研究关注肠道微生物群与 RCC 之间的关系^[13-14]。然而,单凭观察性研究无法确定因果关系的方向。在此背景下,本研究利用 MR 分析来探索肠道微生物群与 RCC 之间的因果关系,为肠道微生物群在 RCC 发展中的作用提供了有价值的见解。

本研究观察到芽孢杆菌纲和厌氧菌属水平升高与 RCC 降低相关($OR < 1$),而放线菌纲、Family XI

科、粪球菌 2 属、乳酸芽孢梭菌属和 Odoribacter 属则与 RCC 增加相关($OR > 1$)。这些发现突显了特定肠道菌群在 RCC 发展中的潜在影响。

目前关于肠道菌群与 RCC 之间联系的文献较少。然而,在前期研究中某些类型的菌群常被认为与炎症和疾病风险相关^[15]。例如,放线菌虽然数量较少,但在维持肠道平衡方面起着至关重要的作用。大多数放线菌有助于维持微生物平衡,某些菌株在肠道中充当益生菌,而小部分放线菌株则可能是诱发炎症的病原体。芽孢杆菌类具有多种有益特性,能作为食品发酵剂,并在生物技术生产中发挥重要作用^[16]。其他细菌如 Family XI 科的 Gemella 属与肝脏炎症性疾病有关,而粪球菌 2 属是短链脂肪酸的生产者,通

过发酵碳水化合物产生短链脂肪酸,尤其是丁酸盐,在维持代谢和免疫平衡中起着至关重要的作用^[17]。

本研究表明肠道菌群与 RCC 之间密切相关,对 RCC 具有潜在的预防和治疗价值。使用益生菌调节肠道菌群,恢复其平衡,也许可预防或延缓由于肠道菌群失调所致 RCC 的发生^[18]。将健康供体的肠道菌群移植到 RCC 患者体内,有助于恢复患者肠道菌群的正常功能,改善整体健康状态,并可能对抑制 RCC 的进展有所帮助^[19]。通过短期使用特定抗生素清除有害菌群,再重新引入有益菌群,以恢复肠道微生物生态平衡,对 RCC 的治疗产生了积极影响。此外直接补充或诱导特定肠道菌群代谢产物,如短链脂肪酸,可能通过免疫调节和抗炎作用对 RCC 产生治疗效果。

尽管本研究具有显著优势,如使用 MR 分析减少混杂因素和反向因果关系影响,并利用大样本量的数据增强统计分析能力,但仍存在一些局限性。首先,本研究利用了 MiBioGen 联盟和 FinnGen GWAS 数据库的汇总统计数据,这些数据可能存在异质性。不同研究中的参与者可能具有不同的遗传背景、环境因素和生活方式,这些差异可能影响研究结果的普适性。其次,由于本研究最小的菌群分类水平为属,本研究无法调查特定种类的肠道微生物群与 RCC 之间的潜在联系。而且,肠道菌群的数据依赖于测序技术和数据处理方法,不同技术和方法可能产生不同的结果。此外,测序深度和覆盖度的差异也可能影响肠道菌群的精确分析。肠道菌群可能通过多种途径影响 RCC 的发生和发展,研究仅揭示了其中部分途径,未能全面揭示其复杂的因果关系。此外,本研究仅确定了肠道菌群与 RCC 之间的因果关系,未来仍需进一步的研究和验证将这些发现转化为临床应用。

综上所述,本研究通过两样本 MR 分析,证实了 RCC 与肠道菌群之间的因果关系,并检测芽孢杆菌纲、厌氧菌属、放线菌纲、Family XI 科、粪球菌 2 属、乳酸芽孢梭菌属和 *Odoribacter* 属在 RCC 的发生中扮演着重要角色。此外,炎症反应在 RCC 发展中的作用和意义至关重要,进一步对 RCC 疾病过程中的炎症反应进行研究将有助于改进 RCC 的管理和治疗策略。

参考文献:

- [1] LINEHAN WM, RICKETTS CJ. The Cancer Genome Atlas of renal cell carcinoma: findings and clinical implications[J]. *Nat Rev Urol*, 2019, 16(9): 539-552.
- [2] 朱璐港, 柳建军. 肾癌免疫治疗耐药的生物学机制研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2024, 32(15): 2865-2871.
- [3] 彭梅, 黄烨, 郑莉, 等. 基于孟德尔随机化分析的肠道菌群和 17 种

癌症因果效应关系研究[J]. *军事医学*, 2024, 48(7): 530-536.

- [4] ZHOU J, LI M, CHEN Q, et al. Programmable probiotics modulate inflammation and gut microbiota for inflammatory bowel disease treatment after effective oral delivery [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 3432.
- [5] 苏黑艳·帕尔哈提, 张姣姣, 马壮, 等. 肠道微生物菌群与肥胖相关代谢性疾病的研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(10): 146-154.
- [6] 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.
- [7] KURKI MI, KARJALAINEN J, PALTA P, et al. FinnGen provides genetic insights from a well-phenotyped isolated population [J]. *Nature*, 2023, 613(7944): 508-518.
- [8] 王豪, 许韩峰, 阳源, 等. 两样本孟德尔随机化分析身体质量指数与前列腺癌发病风险的因果关系[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2024, 29(8): 723-727.
- [9] ROZE D. Causes and consequences of linkage disequilibrium among transposable elements within eukaryotic genomes [J]. *Genetics*, 2023, 224(2): iyad058.
- [10] XUE H, PAN W. Inferring causal direction between two traits in the presence of horizontal pleiotropy with GWAS summary data [J]. *PLoS Genet*, 2020, 16(11): e1009105.
- [11] 梁峰翎, 周艳, 李华桦. 肠道微生物组成与冠状动脉疾病患者对他汀类药物治疗反应及心血管事件关系研究[J]. *中国病原生物学杂志*, 2024, 19(8): 896-900.
- [12] HOBBY GP, KARADUTA O, DUSIO GF, et al. Chronic kidney disease and the gut microbiome [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2019, 316(6): F1211-F1217.
- [13] DEROSA L, ROUTY B, FIDELLE M, et al. Gut bacteria composition drives primary resistance to cancer immunotherapy in renal cell carcinoma patients [J]. *Eur Urol*, 2020, 78(2): 195-206.
- [14] DIZMAN N, HSU J, BERGEROT PG, et al. Randomized trial assessing impact of probiotic supplementation on gut microbiome and clinical outcome from targeted therapy in metastatic renal cell carcinoma [J]. *Cancer Med*, 2021, 10(1): 79-86.
- [15] ZHOU CB, ZHOU YL, FANG JY. Gut microbiota in cancer immune response and immunotherapy [J]. *Trends Cancer*, 2021, 7(7): 647-660.
- [16] TODOROV SD, IVANOVA IV, POPOV I, et al. Bacillus spore-forming probiotics: benefits with concerns? [J]. *Crit Rev Microbiol*, 2022, 48(4): 513-530.
- [17] SINGH V, LEE G, SON H, et al. Butyrate producers, "the sentinel of gut": their intestinal significance with and beyond butyrate, and prospective use as microbial therapeutics [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 1103836.
- [18] 张博彤, 李明煜, 薛源, 等. 益生菌改善老年人肠道菌群失衡相关疾病的研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(15): 350-358.
- [19] 阙秋扬, 邱松, 张文娟, 等. 肠道微生物在非小细胞肺癌免疫治疗中的作用[J]. *赣南医学院学报*, 2023, 43(8): 786-790, 808.

(编辑 郭楚君)