

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20240130-00052

收稿日期: 2024-01-30

本文编辑: 万玉立

大型队列研究

中国成年人 BMI 与血浆氨基酸和酰基肉碱水平关联的观察性和孟德尔随机化研究

程思¹ 巫婷¹ 余灿清^{1,2,3} 孙点剑^{1,2,3} 裴培² 杜怀东⁴ 陈君石⁵ 陈铮鸣⁴ 庞元捷^{1,2,3} 吕筠^{1,2,3,6} 李立明^{1,2,3} 代表中国慢性病前瞻性研究项目协作组

¹ 北京大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系 100191; ² 北京大学公众健康与重大疫情防控战略研究中心 100191; ³ 重大疾病流行病学教育部重点实验室(北京大学); ⁴ 牛津大学临床与流行病学研究中心纳菲尔德人群健康系, 牛津 OX3 7LF; ⁵ 国家食品安全风险评估中心, 北京 100022; ⁶ 血管稳态与重构全国重点实验室 100191

通信作者: 李立明, Email: lmleeph@vip.163.com

【摘要】目的 探讨中国成年人 BMI 与血浆氨基酸和酰基肉碱水平的关联。**方法** 基于中国慢性病前瞻性研究(CKB)第一次重复调查中 2 182 名具有靶向质谱代谢组检测的研究对象, 采用多元线性回归模型和限制性立方样条模型分析 BMI 与血浆 20 种氨基酸和 40 种酰基肉碱的线性和非线性关联, 并识别 BMI 相关的代谢通路。以 BMI 的遗传风险评分作为工具变量, 采用单样本孟德尔随机化(MR)分析进一步探索 BMI 与 20 种氨基酸和 40 种酰基肉碱的潜在因果关联, 并使用 MR-Egger 法检验水平多效性。**结果** 观察性分析结果显示, BMI 与 3 种支链氨基酸(异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸)、2 种芳香族氨基酸(苯丙氨酸和酪氨酸)、3 种其他氨基酸(半胱氨酸、谷氨酸、赖氨酸)以及 7 种酰基肉碱(C3、C4、C5、C10、C10:1、C14 和 C16)的血浆水平升高相关, 与天冬酰胺、丝氨酸和甘氨酸水平降低相关。通路分析发现 7 个与 BMI 相关的代谢通路(错误发现率校正后 $P < 0.05$), 包括支链氨基酸和芳香族氨基酸的生物合成、谷胱甘肽代谢等。BMI 与亮氨酸、缬氨酸和苏氨酸呈非线性关联, BMI 与其他氨基酸和酰基肉碱均呈线性关联。单样本 MR 分析发现 BMI 与酪氨酸和 4 种酰基肉碱【C5-DC (C6-OH)、C5-M-DC、C12-DC 和 C14】水平升高相关, 其中酪氨酸和酰基肉碱 C14 在观察性分析 [$\beta(95\%CI)$ 分别为 0.057 (0.044~0.070) 和 0.018 (0.005~0.032)] 和单样本 MR 分析 [$\beta(95\%CI)$ 分别为 0.102 (0.035~0.169) 和 0.104 (0.036~0.173)] 中均与 BMI 呈显著正相关。经检验, 本研究的 MR 分析满足工具变量的 3 个核心假设。**结论** 中国成年人 BMI 与血浆 11 种氨基酸和 7 种酰基肉碱水平相关, 涉及支链氨基酸和芳香族氨基酸代谢、脂肪酸代谢和氧化应激等多种途径, BMI 与酪氨酸和酰基肉碱 C14 可能存在因果关联。

【关键词】 体质指数; 氨基酸; 酰基肉碱; 孟德尔随机化

基金项目: 国家自然科学基金(82304223, 82192901, 82192904, 82192900, 81973125); 国家重点研发计划项目(2023YFC3606302); 中国香港 Kadoorie Charitable 基金

An observational and Mendelian randomization study of the associations of body mass index with plasma amino acids and acylcarnitines in Chinese adults

Cheng Si¹, Wu Ting¹, Yu Canqing^{1,2,3}, Sun Dianjianyi^{1,2,3}, Pei Pei², Du Huaidong⁴, Chen Junshi⁵, Chen Zhengming⁴, Pang Yuanjie^{1,2,3}, Lyu Jun^{1,2,3,6}, Li Liming^{1,2,3}, for the China Kadoorie Biobank Collaborative Group

¹Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China; ²Peking University Center for Public Health and Epidemic Preparedness & Response, Beijing 100191, China; ³Key Laboratory of Epidemiology of Major Diseases (Peking University), Ministry of Education, Beijing 100191, China; ⁴Clinical Trial Service Unit and Epidemiological Studies Unit, Nuffield Department of Population Health, University of Oxford, Oxford OX3 7LF, United Kingdom; ⁵China National

Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100022, China; ⁶State Key Laboratory of Vascular Homeostasis and Remodeling, Peking University, Beijing 100191, China

Corresponding author: Li Liming, Email: lmleph@vip.163.com

【Abstract】 Objective To explore the relationship between BMI and levels of plasma amino acids and acylcarnitines in Chinese adults. **Methods** Based on 2 182 individuals with targeted mass spectrometry metabolomic measurements from the first resurvey of the China Kadoorie Biobank (CKB), we assessed the linear and nonlinear associations between BMI and plasma levels of 20 amino acids and 40 acylcarnitines using linear regression models and restricted cubic spline models, and identified BMI-related metabolic pathways. We conducted one-sample Mendelian randomization (MR) with BMI genetic risk scores as the instrumental variable further to explore the potential causal relationships between BMI and 20 amino acids and 40 acylcarnitines, and tested for horizontal pleiotropy using the MR-Egger method. **Results** Observational analyses found that BMI was associated with increased plasma levels of 3 branched-chain amino acids (isoleucine, leucine, and valine), 2 aromatic amino acids (phenylalanine and tyrosine), 3 other amino acids (cysteine, glutamate, lysine), and 7 acylcarnitines (C3, C4, C5, C10, C10:1, C14, and C16), and with decreased circulating levels of asparagine, serine, and glycine. Pathway analysis identified 7 BMI-related metabolic pathways (false discovery rate corrected $P < 0.05$), including branched-chain amino acids and aromatic amino acids biosynthesis, glutathione metabolism, etc. BMI showed a nonlinear relationship with leucine, valine, and threonine, and a linear relationship with other amino acids and acylcarnitines. One-sample MR analyses revealed that BMI was associated with elevated levels of tyrosine and 4 acylcarnitines [C5-DC (C6-OH), C5-M-DC, C12-DC, and C14], with tyrosine and acylcarnitine C14 positively correlated with BMI in both observational [the β -values(95% CIs) were 0.057 (0.044~0.070) and 0.018 (0.005~0.032), respectively] and One-sample MR analyses [the β -values(95% CIs) were 0.102 (0.035~0.169) and 0.104 (0.036~0.173), respectively]. The MR analyses of the current study satisfied the 3 core assumptions of instrumental variable. **Conclusions** BMI was associated with circulating 11 amino acids and 7 acylcarnitines in Chinese adults, involving several pathways such as branched-chain amino acid and aromatic amino acid metabolism, fatty acid metabolism, and oxidative stress. There may be a causal relationship between BMI and tyrosine and acylcarnitine C14.

【Keywords】 Body mass index; Amino acids; Acylcarnitines; Mendelian randomization

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (82304223, 82192901, 82192904, 82192900, 81973125); National Key R&D Program of China (2023YFC3606302); Kadoorie Charitable Foundation in Hong Kong

超重/肥胖是危害我国居民健康的重要公共卫生问题^[1]。调查显示,我国成年人的超重/肥胖率(BMI \geq 24.00 kg/m²)从2004年的31.1%上升至2018年的51.2%,2010-2018年超重/肥胖率年均增长2.3%^[2]。超重/肥胖与多种慢性病(包括心脑血管疾病、糖尿病、慢性肾脏病、恶性肿瘤等)发病风险增加相关^[3]。代谢组学研究可以发现与肥胖相关的代谢改变,有助于增加对肥胖相关疾病病因机制的理解,指导肥胖及其相关疾病生物标志物筛选,评价干预效果与指导精准预防,促进人群健康^[4]。

氨基酸和酰基肉碱是与人体能量代谢相关的代谢物^[5-6]。研究发现,与体重正常的人群相比,肥胖成年人血浆内的多种氨基酸和酰基肉碱水平具有显著差异,包括支链氨基酸(BCAA)、芳香族氨基酸(AAA)和不同碳链长度的酰基肉碱^[7]。然而,既往研究大多在欧美人群中展开,基于中国人群的研究较少,且样本量相对较小^[8-10]。此外,既往研究多为横断面或病例对照研究设计,在因果推断方面存在局限。使用孟德尔随机化(MR)分析,以遗传变异为工具变量,可以避免混杂与反向

因果导致的偏倚，有望推断 BMI 与代谢物的因果关联^[11]。

本研究基于中国慢性病前瞻性研究（CKB）2 182 名健康成年人代谢组检测数据，采用观察性分析和 MR 分析，旨在分析中国成年人 BMI 与血浆氨基酸和酰基肉碱水平的关联，并对与肥胖相关的代谢特征和通路进行探讨。

对象与方法

1、研究对象：CKB 项目于 2004-2008 年在全国 10 个项目地区（5 个城市和 5 个农村）开展基线调查，包括问卷调查、体格测量和血标本采集，共有 512 724 名 30~79 岁的研究对象签署知情同意书并具有完整的基线调查数据，本研究通过伦理委员会审查（批准文号：005/2004），项目详细信息见文献^[12-13]。

CKB 项目使用针对中国汉族人群定制设计的芯片（Affymetrix Axiom[®] CKB array），对 10 万余研究对象在基线调查采集的血样进行了全基因组基因分型，测定由华大基因完成。纳入分型测定的研究对象主要包括随访期间新发的慢性阻塞性肺疾病（COPD）病例、心血管疾病病例和匹配对照（约 3 万名）以及在 CKB 项目中随机抽取的研究对象（约 7 万名），详见文献^[14]。完成分型测定后，CKB 项目团队对数据统一进行位点质控和样本质控，并参照千人基因组计划东亚人群数据进行基因填补，经质控和填补后，最终得到 100 706 名研究对象、12 479 万个遗传位点的基因分型数据^[14]。

基线调查完成后，立即在 10 个项目地区开展第一次重复调查。在参与 CKB 第一次重复调查的 19 786 名调查对象中，根据以下 4 条纳入标准选择研究对象进行代谢组检测：①第一次重复调查采集血标本时，空腹时间 ≥ 8 h；②具有全基因组基因分型数据；③在基线调查和第一次重复调查时，自报未患心脑血管疾病、糖尿病和恶性肿瘤，未服用降压药、降脂药、心脑血管疾病药物和糖尿病药物；④截至 2017 年 12 月 31 日未失访。按照纳入标准，对 2 182 名研究对象在第一次重复调查采集的空腹血浆进行了靶向质谱代谢组检测，全部纳入本研究进行分析。

2、暴露与协变量评价：第一次重复调查时，由统一培训的调查员对研究对象进行体格检查，使用统一提供的特制身高仪和 TANITA TBF-300GS 体质构成分析仪分别测量身高和体重，BMI(kg/m²)的计算方式为体重(kg)除以身高(m)的平方。研究涉及的协变量为第一次重复调查问卷收集的一般人口学特征和生活方式信息，包括年龄、性别、地区、文化程度、家庭年收入、吸烟状况、饮酒状况、自评健康状况、新鲜蔬菜摄入频率、新鲜水果摄入频率、红肉摄入频率和总体力活动水平等。体力活动水平由 2011 年《体力活动摘要》中各项体力活动的代谢当量(MET)乘以每天从事体力活动的累计时间(h/d)得到^[15]，总体力活动水平为个体每天各项体力活动水平之和，单位为 MET·h/d，具体计算方法见文献^[16]。

3、血浆氨基酸和酰基肉碱测量：在 CKB 项目的第一次重复调查现场，调查员采用 EDTA 真空采血管采集每名研究对象的 10 ml 血标本，并记录了采血距离最近一次进食的空腹时间。靶向质谱代谢组检测由北京华大蛋白质研发中心有限公司进行，采用奥地利 Biocrates Life Sciences AG 公司研发的 MxP[®] Quant 500 Kit 代谢组检测试剂盒，靶向检测了 20 种人体内构成蛋白质的氨基酸【BCAA（亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸）、AAA（苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸）、其他氨基酸（精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸）】和 40 种丰度较高的酰基肉碱{游离（C0，无酰基侧链）、短链【C2、C3、C3:1、C3-DC（C4-OH）、C3-OH、C4、C4:1、C5、C5:1、C5:1-DC、C5-DC（C6-OH）、C5-M-DC、C5-OH（C3-DC-M）】、中链【C6（C4:1-DC）、C6:1、C7-DC、C8、C9、C10、C10:1、C10:2、C12、C12:1、C12-DC】、长链【C14、C14:1、C14:1-OH、C14:2、C14:2-OH、C16、C16:1、C16:1-OH、C16:2、C16:2-OH、C16-OH、C18、C18:1、C18:1-OH、C18:2】}，酰基肉碱的缩写中，C 表示碳原子，冒号前后的数字分别表示酰基侧链的碳原子数和双键数【如 C18:2 为十八碳二烯基肉碱（酰

基侧链含 18 个碳原子和 2 个双键)】，OH 表示酰基侧链具有羟基，DC 表示酰基侧链具有羧基(二羧酸酰基肉碱)，括号表示测量值可能是两种酰基肉碱的混合物【如 C3-DC (C4-OH) 表示 C3-DC 和 C4-OH 的混合物】。氨基酸检测方法为液相色谱串联三重四极杆质谱，酰基肉碱检测方法为流动注射分析/串联质谱。在分析前，对 20 种氨基酸和 40 种酰基肉碱原始测量值先进行自然对数转换，再除以标准差进行标准化。

4、工具变量的构建：基于 96 124 名中国人(额外剔除了 COPD 病例，因 COPD 对 BMI 有影响)和 443 359 名欧洲人的遗传数据，CKB 和英国生物银行(UKB)全基因组关联研究(GWAS)的荟萃分析发现 907 个与 BMI 显著相关的独立位点($P < 5 \times 10^{-8}$ 且连锁不平衡 $r^2 < 0.2$)^[17]，其中，851 个位点在 CKB 中满足最小等位基因频率 > 0.01 且位点填补质量分数 > 0.3 的标准，用于构建 BMI 的遗传风险评分(BMI-GRS)。为避免过度拟合造成的偏倚^[18]，使用 UKB GWAS 的效应值作为外部权重，对 BMI-GRS 进行加权，作为 BMI 的工具变量，可以表示为： $BMI-GRS = \sum_i^k (\beta_i \times dosage_i)$ ，式中， i 表示构成 BMI-GRS 的第 i 个位点， k 表示构成 BMI-GRS 的总位点数(即 $k=851$)， β_i 表示 UKB GWAS 中第 i 个位点效应等位基因与 BMI 的效应值， $dosage_i$ 表示 CKB 人群中第 i 个位点的效应等位基因数量。

5、统计学分析：首先对研究人群的一般人口学特征和肥胖指标进行描述，使用方差分析比较组间差异。采用多元线性回归模型，分析 BMI 与血浆 20 种氨基酸和 40 种酰基肉碱的关联，模型调整年龄(连续型变量)、性别(男、女)、10 个项目地区(多分类变量)、文化程度(小学及以下、初中及以上)、家庭年收入($< 35\ 000$ 、 $\geq 35\ 000$ 元)、吸烟状况(从不/偶尔吸、当前吸、已戒)、饮酒状况(从不/偶尔饮、曾经每周饮、当前每周饮)、自评健康状况(良好/较好/一般、较差)、总体力活动水平(连续型变量)、新鲜蔬菜、新鲜水果和红肉摄入频率(7 d/周、1~6 d/周、 < 1 d/周)。采用限制性立方样条模型，在第 5、35、65、95 百分位数处设置 4 个节点，分析 BMI 与 20 种氨基酸和 40 种酰基肉碱的非线性关联，模型调整的协变量同多元线性回归模型。通路分析使用 MetaboAnalyst 6.0 网站(<https://www.metaboanalyst.ca/>)的“通路分析”模块^[19]。

以 BMI-GRS 为工具变量，使用单样本 MR 进一步分析 BMI 与 20 种氨基酸和 40 种酰基肉碱的潜在因果关联。MR 分析使用两阶段最小二乘法(2SLS)：第一阶段构建 BMI-GRS(自变量)与测量 BMI(因变量)的线性回归模型，调整年龄(连续型变量)、年龄平方项(考虑年龄和 BMI 的非线性关联)、性别(二分类变量)、10 个项目地区(多分类变量)、芯片类型(二分类变量)和 11 个遗传主成分(连续型变量)，得到由 BMI-GRS 预测的 BMI 拟合值。11 个遗传主成分是基于 76 719 名非近亲研究对象的基因分型数据通过主成分分析计算得到，用于调整样本的群体分层问题^[14]。第二阶段构建 BMI 拟合值(自变量)与 20 种氨基酸和 40 种酰基肉碱(因变量)的线性回归模型，模型调整的协变量与第一阶段相同，第二阶段的回归系数即为效应估计值，报告 β 及其 95%CI。使用 Cochran's Q 检验评估观察性分析与对应 MR 分析结果的异质性。

对 MR 研究的 3 个核心假设进行检验：①BMI-GRS 与 BMI 强相关：报告 2SLS 第一阶段模型中 BMI-GRS 的 F 值，根据经验， $F > 10$ 提示工具变量有效^[20]；②BMI-GRS 与混杂变量无关：使用线性回归检查 BMI-GRS 与文化程度、家庭年收入、吸烟、饮酒、自评健康状况和总体力活动水平的关联；③BMI-GRS 只通过 BMI 影响氨基酸或酰基肉碱水平：使用 MR-Egger 法评估水平多效性，若截距项接近于 0，提示不存在水平多效性^[21]。

所有统计学分析使用 R 4.0.3 软件进行。因多重检验可能造成假阳性率升高，采用 Benjamini-Hochberg 法对分析结果进行校正^[22]，以错误发现率(FDR)校正后 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1.基本特征：本研究共纳入 2 182 名研究对象，在 CKB 第一次重复调查时年龄为 (53.2 ± 9.8) 岁。女性占 65.1%，农村人群占 72.7%，总体 BMI 为 (23.08 ± 3.28) kg/m^2 。年龄 < 60 岁、女性、城

市人群、文化程度小学及以下、从不/偶尔吸烟、自评健康状况良好/较好/一般、总体力活动水平较低、每天摄入新鲜水果和每天摄入红肉人群的 BMI 较高 ($P<0.05$)。见表 1。

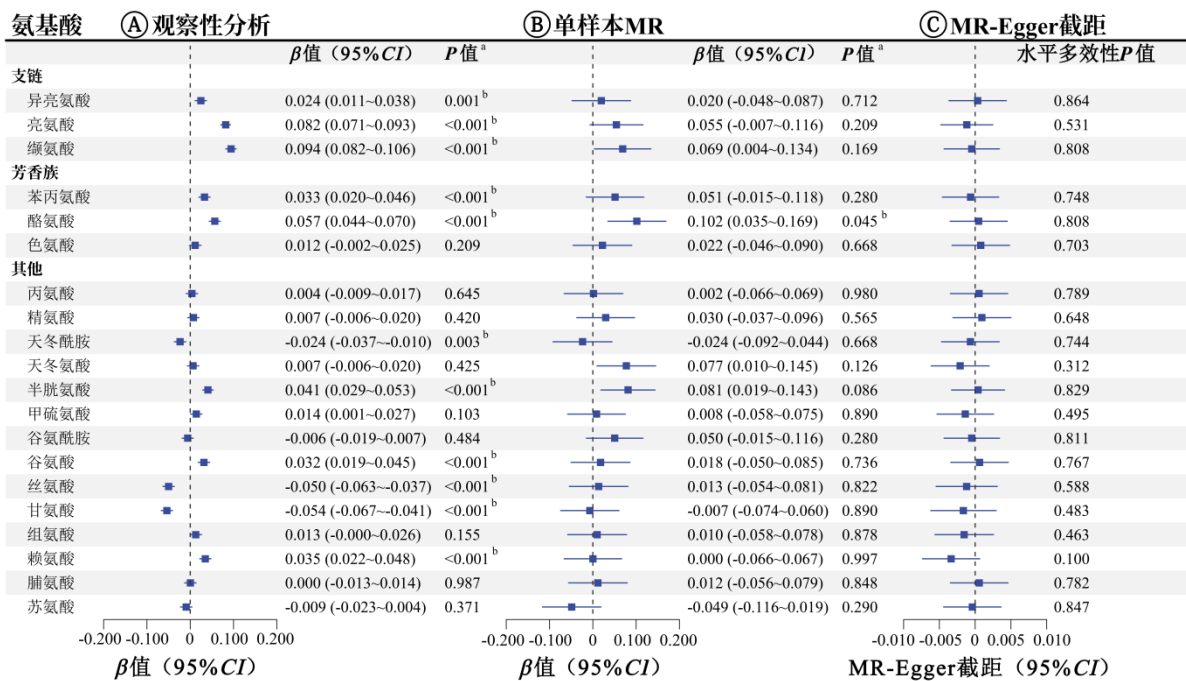
表 1 2 182 名研究对象基本特征

类 别	人数 (构成比, %)	BMI ($\bar{x}\pm s$, kg/m ²) ^a	P 值
总体	2 182 (100.0)	23.08±3.28	
年龄组 (岁)			
30~	884 (40.5)	23.53±3.12	<0.001
50~	754 (34.6)	23.17±3.18	
≥60	544 (24.9)	22.22±3.51	
性别			
男	762 (34.9)	22.84±3.15	0.002
女	1 420 (65.1)	23.21±3.34	
城乡			
农村	1 586 (72.7)	22.73±3.22	<0.001
城市	596 (27.3)	24.00±3.27	
文化程度			
小学及以下	1 360 (62.3)	23.14±3.31	<0.001
初中及以上	822 (37.7)	22.97±3.19	
家庭年收入 (元)			
<35 000	1 126 (51.6)	22.86±3.36	0.066
≥35 000	1 056 (48.4)	23.31±3.18	
吸烟状况			
从不/偶尔吸	1 574 (72.1)	23.28±3.26	<0.001
当前吸 ^b	509 (23.3)	22.51±3.32	
已戒	99 (4.6)	22.71±3.04	
饮酒状况			
从不/偶尔饮	1 849 (84.7)	23.05±3.32	0.400
曾经每周饮	47 (2.2)	22.86±2.96	
当前每周饮	286 (13.1)	23.28±3.04	
自评健康状况			0.049
良好/较好/一般	2 093 (95.9)	23.11±3.25	
较差	90 (4.1)	22.41±3.86	
总体力活动水平 (MET-h/d) ^c			
低	1 091 (50.0)	23.27±3.42	0.001
高	1 091 (50.0)	22.89±3.12	
新鲜蔬菜摄入频率 (d/周)			
<7	245 (11.2)	23.03±2.89	0.095
7	1 937 (88.8)	23.08±3.32	
新鲜水果摄入频率 (d/周)			
<7	1 847 (84.6)	23.02±3.27	<0.001

7	335 (15.4)	23.39 ± 3.22	
红肉摄入频率 (d/周)			
<7	1 828 (83.8)	23.08 ± 3.26	<0.001
7	354 (16.2)	23.09 ± 3.30	

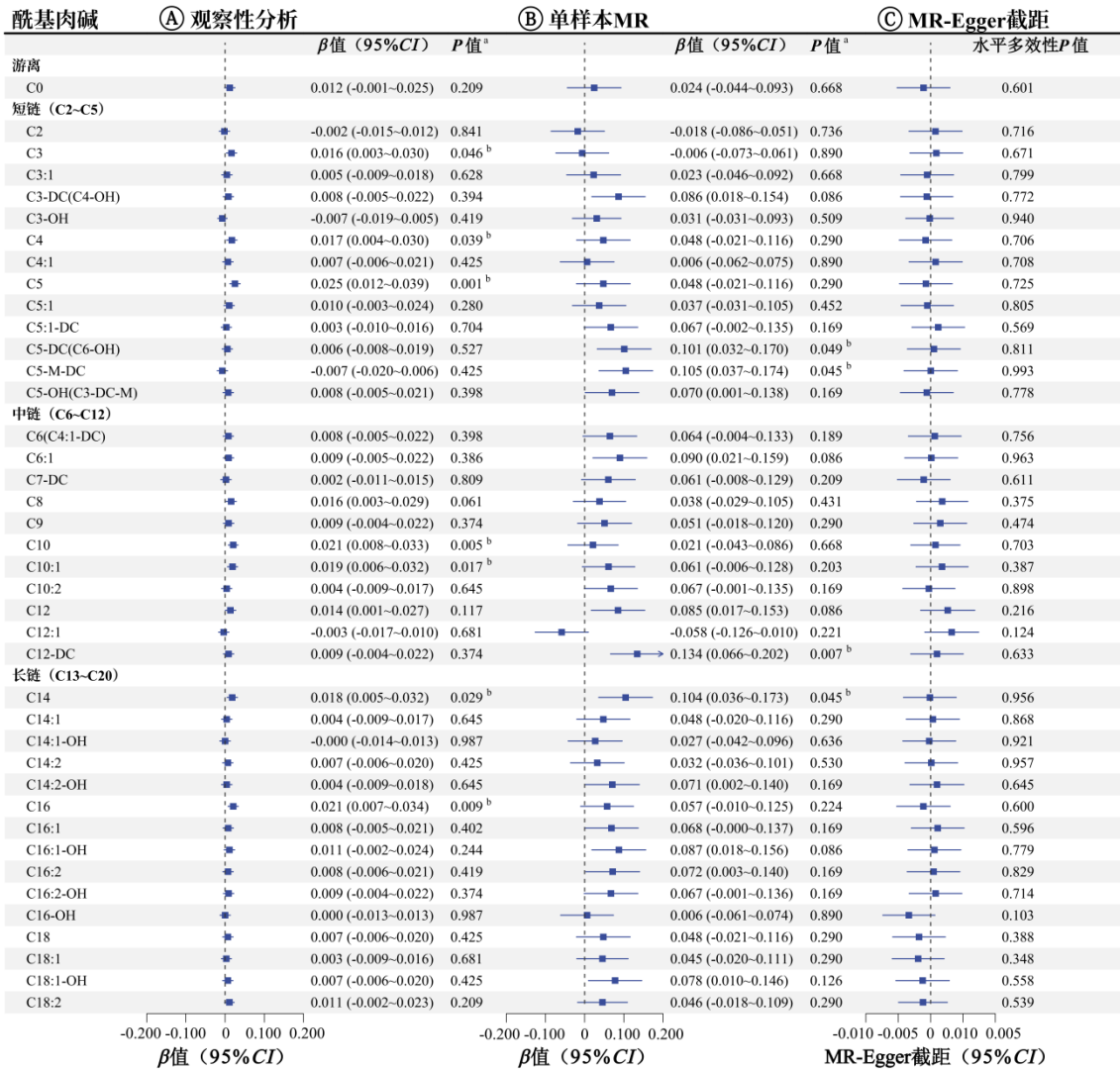
注: MET: 代谢当量; ^a除年龄、性别、城乡外, 各项结果均为调整年龄(连续型变量)、性别和 10 个项目地区后的结果; ^b因病戒烟归类为当前吸烟; ^c总体力活动水平按照按性别分层的中位数划分, 男、女性的总体力活动水平 *M* 分别为 24.86、22.36 MET-h/d。

2. BMI 与代谢物的观察性关联: BMI 与 18 种氨基酸和酰基肉碱显著相关 (*FDR* 校正后 $P < 0.05$), 见图 1A 和图 2A。其中, BMI 与 8 种氨基酸(异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、谷氨酸和赖氨酸)和 7 种酰基肉碱(C3、C4、C5、C10、C10:1、C14 和 C16)水平升高相关, 缬氨酸和亮氨酸与 BMI 的正向关联强度较大, β 及 95%CI 分别为 0.094 (0.082~0.106) 和 0.082 (0.071~0.093); 相较于氨基酸, BMI 与 7 种酰基肉碱的关联强度较小, β 在 0.016~0.025 之间。BMI 与天冬酰胺、丝氨酸和甘氨酸水平降低相关, β 及 95%CI 分别为 -0.024 (-0.037~-0.010)、-0.050 (-0.063~-0.037) 和 -0.054 (-0.067~-0.041)。非线性检验显示, BMI 与亮氨酸、缬氨酸和苏氨酸存在非线性关联 (*FDR* 校正后均 $P < 0.05$), 见图 3。除上述 3 种氨基酸以外, BMI 与其他氨基酸以及酰基肉碱均呈线性关联 (*FDR* 校正后均 $P > 0.05$)。通路分析识别出 7 个与 BMI 显著相关的氨基酸代谢通路 (*FDR* 校正后均 $P < 0.05$), 见表 2。



注: A: 使用多元线性回归模型, 调整年龄、性别、10 个项目地区、文化程度、家庭年收入、吸烟状况、饮酒状况、自评健康状况、总体力活动水平、新鲜蔬菜摄入频率、新鲜水果摄入频率和红肉摄入频率; B: 使用 BMI 遗传风险评分作为工具变量, 模型调整年龄、年龄平方项、性别、10 个项目地区、芯片类型和 11 个遗传主成分; C: MR-Egger 分析的截距项; β 值 (95%CI) 表示测量或遗传预测的 BMI 每升高 1 kg/m², 对应氨基酸经自然对数转换的测量值除以其标准差的变化值及其 95%CI; ^a*FDR* 调整后 *P* 值; ^b $P < 0.05$

图 1 BMI 与血浆 20 种氨基酸水平的关联



注：A：使用多元线性回归模型，调整年龄、性别、10个项目地区、文化程度、家庭年收入、吸烟状况、饮酒状况、自评健康状况、总体力活动水平、新鲜蔬菜摄入频率、新鲜水果摄入频率和红肉摄入频率；B：使用BMI的遗传风险评分作为工具变量，模型调整年龄、年龄平方项、性别、10个项目地区、芯片类型和11个遗传主成分；C：MR-Egger分析的截距项； β 值 (95%CI) 表示测量或遗传预测的BMI每升高1 kg/m²，对应酰基肉碱经自然对数转换的测量值除以其标准差的变化值及其95%CI；^aFDR调整后P值；^bP<0.05

图2 BMI与血浆40种酰基肉碱的关联

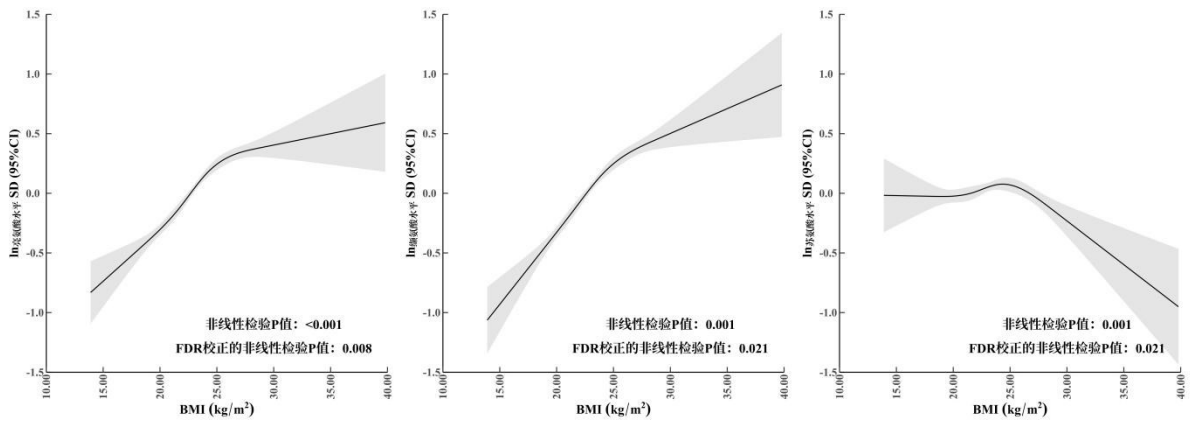


图3 BMI与3种氨基酸的非线性关联

表2 与BMI相关的18种代谢物通路分析结果

通路名称	通路代谢物总数	通路中BMI相关代谢物数目(名称)	未调整P值	FDR校正后P值
缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成	8	3(异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸)	<0.001	0.001
苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成	4	2(苯丙氨酸、酪氨酸)	<0.001	0.013
谷胱甘肽代谢	28	3(甘氨酸、谷氨酸、半胱氨酸)	0.001	0.022
苯丙氨酸代谢	8	2(苯丙氨酸、酪氨酸)	0.001	0.022
乙醛酸和二羧酸代谢	32	3(谷氨酸、丝氨酸、甘氨酸)	0.001	0.022
甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢	33	3(丝氨酸、半胱氨酸、甘氨酸)	0.002	0.022
缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解	40	3(异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸)	0.003	0.033

3. BMI与代谢物的单样本MR: 除酰基肉碱 C5-M-DC 和 C12-DC 外, 单样本MR与观察性分析结果基本一致(FDR 校正后 Cochran's Q 检验异质性均 $P > 0.05$)。单样本MR结果显示BMI与1种氨基酸和4种酰基肉碱显著相关(FDR 校正后 $P < 0.05$), 均为正向关联, 见图1B和图2B列。其中, 酪氨酸和酰基肉碱 C14 在观察性分析和单样本MR分析中均与BMI呈正相关, 单样本MR分析的关联效应值较观察性分析更强。酰基肉碱 C5-DC (C6-OH)、C5-M-DC 和 C12-DC 仅在单样本MR分析中发现与BMI的关联, 对应的观察性分析结果显示无统计学关联。

4. MR核心假设检验: ①本研究使用的BMI-GRS与测量BMI呈强关联, F 统计量为 84.87。②BMI-GRS与文化程度、家庭年收入、当前吸烟、当前饮酒、自评健康状况、总体力活动水平, 以及新鲜蔬菜摄入频率、新鲜水果摄入频率、红肉摄入频率均无统计学关联($P > 0.05$), 见表3。③MR-Egger分析显示截距均接近于0, 提示不存在水平多效性($P > 0.05$), 见图1C和图2C列。

表3 BMI的遗传风险评分(BMI-GRS)与社会学特征和生活方式因素的关联

社会学特征和生活方式因素	效应值 (95%CI)	P 值
文化程度小学及以下	0.943 (0.642~1.384)	0.765
家庭年收入 \geq 35 000 元	0.931 (0.674~1.286)	0.665
当前吸烟	1.248 (0.751~2.073)	0.392
当前每周饮酒	0.922 (0.558~1.522)	0.751
自评健康较差	1.360 (0.628~2.945)	0.435
总体力活动水平 ^a	-0.909 (-2.957~1.139)	0.384
新鲜蔬菜摄入频率 $<$ 7d/周	1.327 (0.830~2.121)	0.238
新鲜水果摄入频率 $<$ 7d/周	0.918 (0.585~1.440)	0.710
红肉摄入频率 $<$ 7d/周	0.880 (0.546~1.421)	0.602

注：^a总体力活动水平为连续变量，采用线性回归模型，效应值为 β 值；其余为二分类变量，采用 logistic 回归模型，效应值为 OR 值

讨论

通过观察性分析和单样本 MR 分析，本研究在 2 182 名健康中国成年人中发现 BMI 与血浆 11 种氨基酸和 7 种酰基肉碱水平显著改变相关，识别出可能相关的氨基酸代谢通路改变，并发现 BMI 与酪氨酸和酰基肉碱 C14 可能存在因果关联。

本研究发现 BMI 与血浆 3 种 BCAA（异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸）、2 种 AAA（苯丙氨酸、酪氨酸）、3 种其他氨基酸（半胱氨酸、谷氨酸和赖氨酸）水平升高相关，与血浆天冬酰胺、丝氨酸和甘氨酸水平降低相关。已有研究显示，肥胖者血浆 BCAA 和 AAA 水平升高，甘氨酸水平降低^[7,23]。BCAA 和 AAA 与 MS、胰岛素抵抗、糖尿病和冠心病发病风险升高相关，甘氨酸与胰岛素抵抗和糖尿病发病风险降低相关，可能解释了肥胖与心血管代谢疾病之间的潜在联系^[8,23-25]。此外，与国内外研究结果一致^[7,8,10,25-27]，本研究发现 BMI 与谷氨酸和赖氨酸呈正相关，与天冬酰胺和丝氨酸呈负相关。在中国人群中，谷氨酸与 2 型糖尿病和非酒精性脂肪肝病发病风险升高相关^[8,10]，丝氨酸与 2 型糖尿病发病风险降低相关^[10]，进一步提示肥胖相关代谢疾病的潜在机制。本研究还发现 BMI 与半胱氨酸呈正相关，既往研究证据相对较少，但与本研究结果一致，即半胱氨酸与脂肪量呈正相关，与瘦体重无关^[28]。

人体内源性酰基肉碱主要在肝脏、心肌和骨骼肌等器官和组织中分布，血浆内含量很少^[29]。因此，血浆酰基肉碱水平的变化通常反映相关器官和组织的代谢状态^[6,29]。根据碳链长度，酰基肉碱可以分为短链（C2-C5）、中链（C6-C12）和长链（C13-C20）酰基肉碱等^[6]。短链酰基肉碱与 BCAA 分解代谢有关，反映 BCAA 分解产生的相应酰基辅酶 A 中间体水平^[23,24]；而中链及长链酰基肉碱与细胞能量代谢有关，参与线粒体中脂肪酸的 β -氧化^[6,29]。血浆酰基肉碱水平升高可能提示相应代谢通路失调。在检测的 40 种酰基肉碱中，BMI 与血浆 3 种短链酰基肉碱（C3、C4、C5）、2 种中链酰基肉碱（C10、C10:1）和 2 种长链酰基肉碱（C14、C16）水平升高相关，验证了既往研究关于 BMI 与酰基肉碱 C3、C4、C5、C10 和 C16 之间存在正向关联的发现^[8,10,25,30]。

BMI 与 BCAA 和短链酰基肉碱的正向关联可能说明肥胖者 BCAA 相关代谢通路紊乱，通路分析结果支持这一结论。肥胖者 BCAA 代谢紊乱的可能机制包括白色脂肪组织炎症和内质网应激导致的 BCAA 分解代谢酶表达降低、下丘脑胰岛素信号传导破坏导致肝脏 BCAA 分解减少，以及肠道菌群产生 BCAA 增加等^[31]。值得注意的是，BCAA 水平升高进一步促进骨骼肌中脂质摄入增加和不完全氧化，导致酰基肉碱的积累和线粒体功能障碍，与胰岛素抵抗、2 型糖尿病和心血管疾病发展相关^[31]，这与本研究中 BMI 与中长链酰基肉碱水平升高相关结果一致。长链酰基肉碱是脂肪酸 β -氧化的初始代谢物，其水平积累可能说明严重的脂肪酸代谢紊乱和线粒体功能障碍。通过 MR 分析，本研究发现 BMI 与长链酰基肉碱（C14）水平升高存在潜在因果关联，为上述假说提供依据。通过

体育锻炼、饮食干预、药物或减重与代谢手术减轻体重，可改善代谢和降低循环 BCAA 水平，提示肥胖干预降低心血管代谢疾病发病风险的潜在机制^[7,31,32]。

除上述讨论的 BCAA 和 AAA 之外，通路分析还发现 BMI 与谷胱甘肽代谢、乙醛酸和二羧酸代谢以及甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢相关，其中后面两个代谢通路与既往在中国人群地发现一致^[8]。这些氨基酸代谢通路与肥胖和心血管代谢疾病发生机制的关系尚不明确，可能与氧化应激、碳水化合物和脂肪代谢紊乱相关^[33,34]。

本研究基于健康中国成年人研究 BMI 与代谢物的关联，相较于心血管代谢疾病病例对照研究设计，研究结果更能推广至一般人群；相较于国内既往的肥胖与代谢组研究，本研究样本量相对较大，对氨基酸和酰基肉碱的检测较为全面；使用 MR 分析探究 BMI 与代谢物的因果关联，并使用通路分析，对相关机制进行深入探讨。

本研究存在局限性。第一，观察性分析仍为横断面关联，对因果关联的解读需要谨慎；第二，MR 分析的 95%CI 较宽，检验功效可能存在不足，尚需更大的样本量或采用两样本 MR 分析增加功效；第三，观察性分析发现 BMI 与亮氨酸、缬氨酸和苏氨酸呈非线性关联，而单样本 MR 的 2SLS 分析方法假设暴露与结局的关联是线性的，因此，这 3 种氨基酸的 MR 分析效应值应解读为 BMI 与相应氨基酸关联的平均效应^[35]。对于非线性关联，可使用非线性 MR 分析进一步研究暴露与结局的关联形状^[36]，但本研究缺乏足够的检验功效，BMI 与亮氨酸、缬氨酸和苏氨酸的因果关联有待进一步研究验证。

综上所述，本研究在 2 182 名健康中国成年人中发现 BMI 与 11 种氨基酸和 7 种酰基肉碱相关，其中 BMI 与 1 种 AAA（酪氨酸）和 1 种长链酰基肉碱（C14）可能存在因果关联，相关机制主要包括 BCAA 和 AAA 代谢紊乱、脂肪酸代谢紊乱、线粒体功能障碍以及氧化应激等。本研究强调了肥胖相关的氨基酸和脂肪酸代谢机制，有望为理解肥胖相关疾病的机制与筛选肥胖干预的生物标志物提供研究证据。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 程思：分析数据、解释结果、论文撰写；巫婷：分析/复核数据；吕筠、孙点剑一：采集/解释数据、论文修改；余灿清：采集/解释数据、论文修改、经费支持；裴培、杜怀东：实施研究、采集数据；陈君石、陈铮鸣：项目设计、方案制定、经费支持；庞元捷：构思研究、解释数据、论文修改、经费支持；李立明：构思研究、采集/解释数据、论文修改、项目设计、方案制定、经费支持

志谢 感谢所有参加中国慢性病前瞻性研究项目的队列成员和各项目地区的现场调查队调查员。感谢项目管理委员会、国家项目办公室、牛津协作中心和 10 个项目地区办公室的工作人员

参考文献已改

- [1] Wang YF, Xue H, Sun MX, et al. Prevention and control of obesity in China[J]. Lancet Glob Health, 2019, 7(9): e1166-1167. DOI: 10.1016/s2214-109x(19)30276-1.
- [2] Wang LM, Zhou B, Zhao ZP, et al. Body-mass index and obesity in urban and rural China: findings from consecutive nationally representative surveys during 2004-18[J]. Lancet, 2021, 398(10294): 53-63. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)00798-4.
- [3] The GBD 2015 Obesity Collaborators. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years[J]. N Engl J Med, 2017, 377(1): 13-27. DOI: 10.1056/NEJMoa1614362.
- [4] Fuller H, Zhu YW, Nicholas J, et al. Metabolomic epidemiology offers insights into disease aetiology[J]. Nat Metab, 2023, 5(10): 1656-1672. DOI: 10.1038/s42255-023-00903-x.
- [5] Neinst M, Murashige D, Arany Z. Branched chain amino acids[J]. Annu Rev Physiol, 2019, 81: 139-164. DOI: 10.1146/annurev-physiol-020518-114455.

- [6] Dambrova M, Makrecka-Kuka M, Kuka J, et al. Acylcarnitines: nomenclature, biomarkers, therapeutic potential, drug targets, and clinical trials[J]. *Pharmacol Rev*, 2022, 74(3): 506-551. DOI: 10.1124/pharmrev.121.000408.
- [7] Rangel-Huerta OD, Pastor-Villaescusa B, Gil A. Are we close to defining a metabolomic signature of human obesity? A systematic review of metabolomics studies[J]. *Metabolomics*, 2019, 15(6): 93. DOI: 10.1007/s11306-019-1553-y.
- [8] Pan XF, Chen ZZ, Wang TJ, et al. Plasma metabolomic signatures of obesity and risk of type 2 diabetes[J]. *Obesity*, 2022, 30(11): 2294-2306. DOI: 10.1002/oby.23549.
- [9] Wang SM, Yang RY, Wang M, et al. Identification of serum metabolites associated with obesity and traditional risk factors for metabolic disease in Chinese adults[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2018, 28(2): 112-118. DOI: 10.1016/j.numecd.2017.09.009.
- [10] Pang YJ, Kartsonaki C, Lv J, et al. Adiposity, metabolomic biomarkers, and risk of nonalcoholic fatty liver disease: a case-cohort study[J]. *Am J Clin Nutr*, 2022, 115(3): 799-810. DOI: 10.1093/ajcn/nqab392.
- [11] Lawlor DA, Harbord RM, Sterne JA, et al. Mendelian randomization: using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology[J]. *Stat Med*, 2008, 27(8): 1133-1163. DOI: 10.1002/sim.3034.
- [12] Chen ZM, Chen JS, Collins R, et al. China Kadoorie Biobank of 0.5 million people: survey methods, baseline characteristics and long-term follow-up[J]. *Int J Epidemiol*, 2011, 40(6): 1652-1666. DOI: 10.1093/ije/dyr120.
- [13] 李立明, 吕筠, 郭彧, 等. 中国慢性病前瞻性研究: 研究方法和调查对象的基线特征[J]. *中华流行病学杂志*, 2012, 33(3): 249-255. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.03.001.
Li LM, Lv J, Guo Y, et al. The China Kadoorie Biobank: related methodology and baseline characteristics of the participants[J]. *Chin J Epidemiol*, 2012, 33(3): 249-255. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.03.001.
- [14] Walters RG, Millwood IY, Lin K, et al. Genotyping and population characteristics of the China Kadoorie Biobank[J]. *Cell Genom*, 2023, 3(8): 100361. DOI: 10.1016/j.xgen.2023.100361.
- [15] Ainsworth BE, Haskell WL, Herrmann SD, et al. 2011 compendium of physical activities: a second update of codes and MET values[J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2011, 43(8): 1575-1581. DOI: 10.1249/MSS.0b013e31821ece12.
- [16] 樊萌语, 吕筠, 郭彧, 等. 中国慢性病前瞻性研究: 10 个项目地区成人体力活动和休闲静坐时间特征差异的分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2015, 36(8): 779-785. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.08.002.
Fan MY, Lyu J, Guo Y, et al. Regional differences on patterns of physical activity and leisure sedentary time: findings from the China Kadoorie Biobank study, including a million people from 10 regions[J]. *Chin J Epidemiol*, 2015, 36(8): 779-785. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.08.002.
- [17] Fairhurst-Hunter Z, Lin K, Millwood IY, et al. Trans-ancestry meta-analysis improves performance of genetic scores for multiple adiposity-related traits in East Asian populations[J/OL]. *medRxiv*, 2022[2024-01-25]. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2022.07.05.22277254v1>.
- [18] Burgess S, Thompson SG. Use of allele scores as instrumental variables for Mendelian randomization[J]. *Int J Epidemiol*, 2013, 42(4): 1134-1144. DOI: 10.1093/ije/dyt093.
- [19] Chong J, Soufan O, Li C, et al. MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative

- metabolomics analysis[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(W1): W486-494. DOI: 10.1093/nar/gky310.
- [20] Burgess S, Thompson SG, CRP CHD Genetics Collaboration. Avoiding bias from weak instruments in Mendelian randomization studies[J]. *Int J Epidemiol*, 2011, 40(3): 755-764. DOI: 10.1093/ije/dyr036.
- [21] Burgess S, Thompson SG. Interpreting findings from Mendelian randomization using the MR-Egger method[J]. *Eur J Epidemiol*, 2017, 32(5): 377-389. DOI: 10.1007/s10654-017-0255-x.
- [22] Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing[J]. *J Roy Stat Soc: Ser B (Methodol)*, 1995, 57(1): 289-300. DOI: 10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x.
- [23] Newgard CB, An J, Bain JR, et al. A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance[J]. *Cell Metab*, 2009, 9(4): 311-326. DOI: 10.1016/j.cmet.2009.02.002.
- [24] Newgard CB. Metabolomics and metabolic diseases: where do we stand?[J]. *Cell Metab*, 2017, 25(1): 43-56. DOI: 10.1016/j.cmet.2016.09.018.
- [25] Libert DM, Nowacki AS, Natowicz MR. Metabolomic analysis of obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes: amino acid and acylcarnitine levels change along a spectrum of metabolic wellness[J]. *PeerJ*, 2018, 6: e5410. DOI: 10.7717/peerj.5410.
- [26] Cirulli ET, Guo LN, Leon Swisher C, et al. Profound perturbation of the metabolome in obesity is associated with health risk[J]. *Cell Metab*, 2019, 29(2): 488-500.e2. DOI: 10.1016/j.cmet.2018.09.022.
- [27] Yin XY, Subramanian S, Willinger CM, et al. Metabolite signatures of metabolic risk factors and their longitudinal changes[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(4): 1779-1789. DOI: 10.1210/jc.2015-2555.
- [28] Elshorbagy AK, Smith AD, Kozich V, et al. Cysteine and obesity[J]. *Obesity*, 2012, 20(3): 473-481. DOI: 10.1038/oby.2011.93.
- [29] Bene J, Hadzsiev K, Melegh B. Role of carnitine and its derivatives in the development and management of type 2 diabetes[J]. *Nutr Diabetes*, 2018, 8(1): 8. DOI: 10.1038/s41387-018-0017-1.
- [30] Mihalik SJ, Goodpaster BH, Kelley DE, et al. Increased levels of plasma acylcarnitines in obesity and type 2 diabetes and identification of a marker of glucolipotoxicity[J]. *Obesity*, 2010, 18(9): 1695-1700. DOI: 10.1038/oby.2009.510.
- [31] Yang Q, Vijayakumar A, Kahn BB. Metabolites as regulators of insulin sensitivity and metabolism[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(10): 654-672. DOI: 10.1038/s41580-018-0044-8.
- [32] Duft RG, Castro A, Bonfante ILP, et al. Metabolomics approach in the investigation of metabolic changes in obese men after 24 weeks of combined training[J]. *J Proteome Res*, 2017, 16(6): 2151-2159. DOI: 10.1021/acs.jproteome.6b00967.
- [33] Zheng J, Xiao H, Duan YH, et al. Roles of amino acid derivatives in the regulation of obesity[J]. *Food Funct*, 2021, 12(14): 6214-6225. DOI: 10.1039/d1fo00780g.
- [34] Picklo MJ, Long EK, Vomhof-Dekrey EE. Glutathionyl systems and metabolic dysfunction in obesity[J]. *Nutr Rev*, 2015, 73(12): 858-868. DOI: 10.1093/nutrit/nuv042.
- [35] Burgess S, Davies NM, Thompson SG. Instrumental variable analysis with a nonlinear exposure-outcome relationship[J]. *Epidemiology*, 2014, 25(6): 877-885. DOI: 10.1097/ede.000000000000161.
- [36] Staley JR, Burgess S. Semiparametric methods for estimation of a nonlinear exposure-outcome relationship using instrumental variables with application to Mendelian randomization[J]. *Genet Epidemiol*, 2017, 41(4): 341-352. DOI: 10.1002/gepi.22041.

