

中国成年人血浆酰基肉碱和胆汁酸水平与冠心病发病风险的关联研究

毋之钰¹ 宋树摇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 吕筠^{1,2,3,6} 李立明^{1,2,3} 庞元捷^{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, 北京 100191; ²北京大学公众健康与重大疫情防控战略研究中心, 北京 100191; ³重大疾病流行病学教育部重点实验室(北京大学); ⁴英国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, 北京 100191

通信作者: 庞元捷, Email: ypang@bjmu.edu.cn

【摘要】目的 探索中国成年人血浆酰基肉碱和胆汁酸水平与冠心病发病风险的关联。**方法** 中国慢性病前瞻性研究(CKB)于2004—2008年在中国10个地区开展基线调查,并于2008年7—10月开展第1次重复调查,两次调查内容均包括问卷调查、体格检查和血液样本采集。本研究基于CKB项目第1次重复调查中具有血浆靶向质谱代谢组数据的2159名研究对象数据,对代谢物浓度进行基于秩的逆正态转换后,采用Cox比例风险回归模型分析血浆中40种酰基肉碱和14种胆汁酸与冠心病发病风险的关联。同时,在两类代谢物中分别构建代谢物评分,评估不同类别代谢物与冠心病发病关联的整体效应。采用受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)评价代谢物对冠心病预测模型预测能力的提升效果。随访时间截至2018年12月31日。**结果** 研究对象年龄(53.1±9.8)岁,男性占比34.9%(754人)。随访时间(10.5±0.1)年,期间确诊新发冠心病140例。单一代谢物分析结果显示,酰基肉碱C3-OH、C5:1、C5:1-DC和去氧胆酸(DCA)与冠心病关联有统计学意义[(错误发现阳性率) FDR<0.05, HR值(95%CI)分别为1.474(1.230~1.767)、0.761(0.637~0.909)、0.773(0.650~0.918)和1.309(1.113~1.539)]。各类代谢物评分,包括短链、中链、长链酰基肉碱和初级、次级胆汁酸评分均与冠心病发病风险相关(均FDR<0.05)。与传统预测模型相比,加入DCA或四个关键代谢物的模型AUC(95%CI)由0.803(0.761~0.845)分别提高至0.812(0.772~0.852)和0.817(0.778~0.857),差异均有统计学意义(均P<0.05)。**结论** 酰基肉碱与胆汁酸水平与冠心病发病风险有关,DCA或四个关键代谢物能够提高对冠心病发病风险的预测能力。

【关键词】 冠心病; 酰基肉碱; 胆汁酸; 前瞻性队列研究

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(2023YFC3606302); 中国香港Kadoorie Charitable基金

Associations of plasma acylcarnitine and bile acid levels with coronary heart disease incidence in Chinese adults: a prospective study

Zhiyu Wu¹, Shuyao Song¹, Yu Canqing^{1,2,3}, Sun Dianjianyi^{1,2,3}, Pei Pei², Du Huaidong⁴, Chen Junshi⁵, Chen Zhengming⁴, Lv Jun^{1,2,3,6}, Li Liming^{1,2,3}, Yuanjie Pang^{1,2,3}, for the China Kadoorie Biobank (CKB) Collaborative Group.

¹Department of Epidemiology & 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, UK; 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: Yuanjie Pang, Email: ypang@bjmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To explore the associations of plasma acylcarnitine and bile acid levels with the risk of incident coronary heart disease (CHD) in Chinese adults. **Methods** The baseline survey of China Kadoorie Biobank (CKB) took place in ten areas across China during 2004-2008, and the first resurvey took place from July to October 2008, with collection of data via questionnaire, physical examination and blood samples. The current study was based on 2,159 individuals with targeted mass spectrometry metabolomic measurements from the first resurvey of CKB. The associations of acylcarnitines and bile acids with incident CHD were assessed using Cox proportional hazards regression models. Unweighted metabolites scores were constructed to assess the overall effect of acylcarnitines and bile acids on incident CHD. The impact of metabolites on the performance of CHD prediction model was evaluated with the area under the receiver operating characteristic (ROC) curve. Follow-up for CHD incidence was censored on December 31, 2018. **Results** The mean age of the participants was 53.1 ± 9.8 years and 34.9% were male (N=754). During an average of (10.5 ± 0.1) years of follow-up, 140 cases of CHD were recorded. Four metabolites including C3-OH, C5:1, C5:1-DC, and deoxycholic acid (DCA) showed significant associations with CHD incidence and the HR (95%CI) were 1.474 (1.230~1.767), 0.761 (0.637~0.909), 0.773 (0.650~0.918), and 1.309 (1.113~1.539), respectively (false discovery rate, FDR<0.05). All metabolite scores, including short-chain, medium-chain, long-chain acylcarnitines, primary bile acids, and secondary bile acids scores were associated with the risk of CHD (FDR<0.05). Compared to the traditional models, the addition of DCA or four key metabolites increased the area under the ROC curve of the predictive model from 0.803 (0.761~0.845) to 0.812 (0.772~0.852) and 0.817 (0.778~0.857), respectively ($P<0.05$). **Conclusion** Acylcarnitine and bile acid levels are associated with the risk of CHD, and DCA or four key metabolites can improve the predictive ability for CHD incidence.

【Key words】 Coronary disease; Acylcarnitines; Bile acids; Prospective cohort studies

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

冠心病导致了沉重的疾病负担。近 30 年间，冠心病始终是造成全球全因死亡的主要原因^[1]。2020 年，我国城市居民中冠心病死亡率为 126.91/10 万，农村为 135.88/10 万；全国冠心病患者人数可达 1 139 万^[2]。因此，亟需探索冠心病的病因机制，探寻早期生物标志物，将关口前移，推动冠心病的一级预防。

酰基肉碱是由脂肪酸和肉碱结合产生的酯类物质，主要参与细胞内的脂肪酸 β 氧化、产生能量，进而维持细胞活动^[3]。与肠道菌群密切相关的胆汁酸同样具有调节宿主脂质代谢、葡萄糖和胰岛素代谢、能量平衡和炎症反应等功能^[4]。研究表明，在肠道菌群失调时期，可观察到酰基肉碱水平的大幅改变，提示酰基肉碱与肠道菌群代谢相关^[5]。目前已有人群研究关注酰基肉碱和胆汁酸与包括冠心病在内的心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 之间的关联，发现酰基肉碱与胆汁酸水平在健康人群和 CVD 患者中存在差异，且在肥胖和糖尿病患者中与未来 CVD 发病风险相关^[6-13]。然而，既往研究以欧美人群中的横断面研究为主，多在具有基础疾病的患者中评价两类代谢物对 CVD 二级预防的作用。尚缺乏在我国的一般人群中开展的相关研究。因此，本研究将利用中国慢性病前瞻性研究 (China Kadoorie Biobank, CKB) 中血浆代谢组学检测数据，探索酰基肉碱和胆汁酸与冠心病发病风险之间的关联。

对象与方法

一、研究对象

CKB 项目的基线调查开展于 2004—2008 年，从全国 5 个城市和 5 个农村地区招募约 51.3 万名 30~79

岁成年人，调查项目包括问卷调查、体格检查、血标本采集。所有调查对象均签署知情同意书，研究已获得北京大学生物医学伦理委员会（IRB00001052-20040）的批准^[14]。

基线调查完成后，于2008年7—10月在10个项目地区开展第1次重复调查，以居委会或行政村为单位在各个项目地区采取整群随机抽样的方法抽取19786名调查对象，调查项目与基线调查一致^[15]。随后，在参与重复调查的人群中，选择符合以下标准的调查对象进行血浆代谢组学检测：（1）第1次重复调查采血时，空腹时长≥8h；（2）基线调查时被选中参与基因组检测并具有全基因组基因分型数据^[16]；（3）基线调查和第1次重复调查时自报未患心脑血管疾病、糖尿病或恶性肿瘤，未服用降压、降糖、降脂药或心脑血管疾病药物，且两次调查之间未新发冠心病；（4）截至2017年12月31日未失访。根据以上标准筛选出研究对象2159名，并于2021年6—12月完成检测。

二、协变量与结局评估

1. 协变量信息：研究涉及的协变量信息均由统一培训的调查员或技术人员获得。通过面访式电子调查问卷，收集研究对象的一般人口学特征和生活方式信息，包括性别、年龄、城乡、文化程度、家庭年收入、吸烟、饮酒状况，体力活动水平，蔬菜、水果和红肉摄入频率。通过体格检查，收集研究对象的身高和体重等信息，计算体质指数（body mass index, BMI）。

2. 冠心病发病信息：研究对象的发病和死亡信息通过多种途径获取，包括当地的死亡和常规疾病监测系统、全民医疗保险数据库和主动定向监测。此外，CKB项目开展了对包括冠心病在内的多种慢性病新发事件的病例复核工作，由专业的心血管疾病专家检索、审查病例的相关病历记录，保障疾病监测的数据质量。发病或死因分类采用国际疾病分类（International Classification of Disease, ICD）第十版，即ICD-10。本研究关注的冠心病所对应ICD-10编码为I20-I25，随访截止日期为2018年12月31日。

三、代谢组检测

采集研究对象的10ml血样，经离心、分装后在-80℃冰箱中长期保存。委托北京华大蛋白质研发中心有限公司对血浆样本进行代谢组检测，采用MxP® Quant 500 Kit代谢组检测试剂盒（奥地利Biocrates Life Sciences AG公司），对40种酰基肉碱和14种胆汁酸的血浆浓度进行靶向质谱检测。酰基肉碱检测方法为流动注射分析/串联质谱（Flow injection analysis-tandem mass spectrometry, FIA-MS/MS），胆汁酸检测方法为液相色谱串联三重四极杆质谱（Liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS）。所检测代谢物的详细类别见表1。

表1 研究纳入酰基肉碱和胆汁酸的分类与简写

代谢物	类别	代谢物名称和缩写
酰基肉碱	游离肉碱	游离肉碱 C0
	短链酰基肉碱	酰基肉碱 C2、酰基肉碱 C3、酰基肉碱 C3:1、酰基肉碱 C3-DC (C4-OH)、酰基肉碱 C3-OH、酰基肉碱 C4、酰基肉碱 C4:1、酰基肉碱 C5、酰基肉碱 C5:1、酰基肉碱 C5:1-DC、酰基肉碱 C5-DC (C6-OH)、酰基肉碱 C5-M-DC、酰基肉碱 C5-OH (C3-DC-M)
	中链酰基肉碱	酰基肉碱 C6 (C4:1-DC)、酰基肉碱 C6:1、酰基肉碱 C7-DC、酰基肉碱 C8、酰基肉碱 C9、酰基肉碱 C10、酰基肉碱 C10:1、酰基肉碱 C10:2、酰基肉碱 C12、酰基肉碱 C12:1、酰基肉碱 C12-DC
	长链酰基肉碱	酰基肉碱 C14、酰基肉碱 C14:1、酰基肉碱 C14:1-OH、酰基肉碱 C14:2、酰基肉碱 C14:2-OH、酰基肉碱 C16、酰基肉碱 C16:1、酰基肉碱 C16:1-OH、酰基肉碱 C16:2、酰基肉碱 C16:2-OH、酰基肉碱 C16-OH、酰基肉碱 C18、酰基肉碱 C18:1、酰基肉碱 C18:1-OH、酰基肉碱 C18:2
胆汁酸	初级胆汁酸	胆酸 (CA)、鹅去氧胆酸 (CDCA)、甘胆酸 (GCA)、甘鹅去氧胆酸 (GCDCA)、牛磺胆酸 (TCA)、牛磺鹅去氧胆酸 (TCDCA)
	次级胆汁酸	去氧胆酸 (DCA)、甘氨去氧胆酸 (GDCA)、甘氨石胆酸 (GLCA)、甘氨石胆酸硫酸

		盐 (GLCAS)、甘氨酸去氧胆酸 (GUDCA)、牛磺去氧胆酸 (TDCA)、牛磺石胆酸 (TLCA)、牛磺鼠胆酸 (TMCA)
--	--	---

四、统计学方法

采用 R 4.1.3 软件进行统计学分析，所有分析使用双侧检验，采用 Benjamini-Hochberg 法对 P 值进行校正，以错误发现阳性率 (false discovery rate, FDR) < 0.05 为具有统计学意义。

1.描述性分析：首先描述研究人群的一般人口学和生活方式特征。连续变量以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用独立样本 t 检验进行冠心病发病或健康人群的组间比较。分类变量采用人数 (构成比) 表示，采用 χ^2 检验进行冠心病发病或健康人群的组间比较。

2.单个代谢物与冠心病发病的关联分析：在关联分析之前，采用基于秩的逆正态转换 (Rank-based inverse normal transformation, RINT) 对代谢物水平进行预处理，使其趋近正态分布。经 RINT 处理后，代谢物水平基本服从均值为 0、标准差为 1 的标准正态分布，后续分析所得的效应值即为经 RINT 转换后，代谢物浓度每增加一个标准差所对应的效应大小。采用 Cox 比例风险回归模型分析单一酰基肉碱或胆汁酸与冠心病发病之间的关联。模型以年龄为时间尺度，调整性别、年龄、城乡、吸烟和饮酒状况，估计冠心病发病的 HR 值 (95%CI)。

3.代谢物评分与冠心病发病的关联分析：随后，根据酰基肉碱和胆汁酸的不同类别构建非加权评分，分析酰基肉碱、胆汁酸与冠心病发病之间的总体效应。评分构建方法如下：(1) 根据单一代谢物的分析结果，将预处理后的代谢物水平统一转化为升高冠心病发病风险方向 (即，若某一代谢物与冠心病发病呈正向关联，则不对该代谢物作任何处理；若某一代谢物与冠心病发病呈负向关联，则取该代谢物水平的相反数)；(2) 将转化后的代谢物水平分类求和，获得各类代谢物的水平评分。同样采用 Cox 比例风险回归模型分析代谢物评分与冠心病发病之间的关联，模型设置与单一代谢物的分析相同。

4.代谢物对冠心病发病的预测能力：最后，评估酰基肉碱和胆汁酸是否能够提升传统预测模型^[17]对未来冠心病发病的预测能力。将前述分析中的显著代谢物加入传统模型，绘制受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线并计算曲线下面积 (area under curve, AUC)，采用 DeLong 检验比较加入代谢物的新模型与传统预测模型 (以下简称“传统模型”) 对冠心病发病预测的准确性。

结果

一、研究人群基本特征

1.研究人群总体特征：本研究中研究对象的基本分布特征如表 2 所示。2 159 名研究对象年龄为 (53.1±9.8) 岁，其中 34.9% 为男性，72.5% 居住于农村地区。从不吸烟者、从不饮酒者占比最多，分别为 72.1% 和 84.7%；文化程度为小学及以下者、家庭年收入 $\geq 20\ 000$ 元者占比较多，分别为 62.2% 和 75.1%；88.7% 的研究对象蔬菜摄入频率达 7 d/周，超半数研究对象的水果和红肉摄入频率为 1~6 d/周，具体占比为 53.6% 和 68.8%。研究对象的 BMI 为 (23.1±3.3) kg/m²，体型适中；体力活动水平为 (26.0±15.7) MET-h/d。

2.不同疾病结局人群基本特征：研究对象随访 (10.5±0.1) 年，累计随访 22 602.8 人年。随访期间共观察到新发冠心病病例 140 例，发病密度为 6.2/千人年。与健康人群相比，冠心病患者年龄较高、多居住于城市，家庭年收入较低、每天摄入水果占比较多、体力活动水平较低 (均 $P < 0.05$)。

表 2 冠心病患者与健康人群基本特征比较

项目	总人群 (2 159 名)	冠心病患者 (140 名)	健康人群 (2 019 名)	χ^2/t 值	P 值
年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	53.1±9.8	62.1±9.5	52.5±9.5	11.49	<0.001
性别[例 (%)]				<0.01	0.984

男	754 (34.9)	49 (35.0)	705 (34.9)		
女	1405 (65.1)	91 (65.0)	1314 (65.1)		
城乡[例 (%)]				19.49	<0.001
农村	1566 (72.5)	79 (56.4)	1487 (73.7)		
城市	593 (27.5)	61 (43.6)	532 (26.3)		
吸烟状况[例 (%)]				1.50	0.474
从不吸烟	1557 (72.1)	101 (72.1)	1456 (72.1)		
已戒烟	97 (4.5)	9 (6.4)	88 (4.4)		
当前吸烟	505 (23.4)	30 (21.4)	475 (23.5)		
饮酒状况[例 (%)]				2.00	0.367
从不饮酒	1829 (84.7)	124 (88.6)	1705 (84.4)		
已戒酒	45 (2.1)	3 (2.1)	42 (2.1)		
当前饮酒	285 (13.2)	13 (9.3)	272 (13.5)		
文化程度[例 (%)]				5.01	0.082
小学及以下	1343 (62.2)	81 (57.9)	1262 (62.5)		
初高中	745 (34.5)	50 (35.7)	695 (34.4)		
大学及以上	71 (3.3)	9 (6.4)	62 (3.1)		
家庭年收入[例 (%)]				4.18	0.041
<20 000 元	538 (24.9)	45 (32.1)	493 (24.4)		
≥20 000 元	1621 (75.1)	95 (67.9)	1526 (75.6)		
蔬菜摄入[例 (%)]				0.04	0.834
<7 d/周	243 (11.3)	15 (10.7)	228 (11.3)		
7 d/周	1916 (88.7)	125 (89.3)	1791 (88.7)		
水果摄入[例 (%)]				8.13	0.017
<1 d/周	670 (31.0)	36 (25.7)	634 (31.4)		
1~6 d/周	1157 (53.6)	71 (50.7)	1086 (53.8)		
7 d/周	332 (15.4)	33 (23.6)	299 (14.8)		
红肉摄入[例 (%)]				3.98	0.137
<1 d/周	323 (15.0)	29 (20.7)	294 (14.6)		
1~6 d/周	1485 (68.8)	91 (65.0)	1394 (69.0)		
7 d/周	351 (16.3)	20 (14.3)	331 (16.4)		
BMI (kg/m ² , $\bar{x}\pm s$)	23.1±3.3	23.1±3.8	23.1±3.2	0.07	0.942
体力活动水平 (MET-h/d, $\bar{x}\pm s$)	26.0±15.7	16.2±13.4	26.7±15.7	-7.74	<0.001

注：BMI 为体质指数

二、单一代谢物与冠心病发病的关联

1. 单一酰基肉碱与冠心病发病的关联：如图 1 所示，在全部的 40 个酰基肉碱中，13 个显示出与冠心病发病之间的关联有统计学意义（原始 $P < 0.05$ ），其中 4 个呈正向关联，9 个呈负向关联。经多重检验校正后，13 个酰基肉碱中的 3 个与冠心病发病的关联具有统计学意义（ $FDR < 0.05$ ），均为短链酰基肉碱，包括 C3-OH、C5:1 和 C5:1-DC。C3-OH 与冠心病发病风险呈正向关联，经 RINT 转换后的 C3-OH 每增加 1 个标准差，冠心病发病风险升高 47.5% [$HR = 1.474$ (95%CI: 1.230~1.767)]。C5:1 和 C5:1-DC 与冠心病发病风险呈负向关联， HR 值 (95%CI) 分别为 0.761 (0.637~0.909)、0.773 (0.650~0.918)。

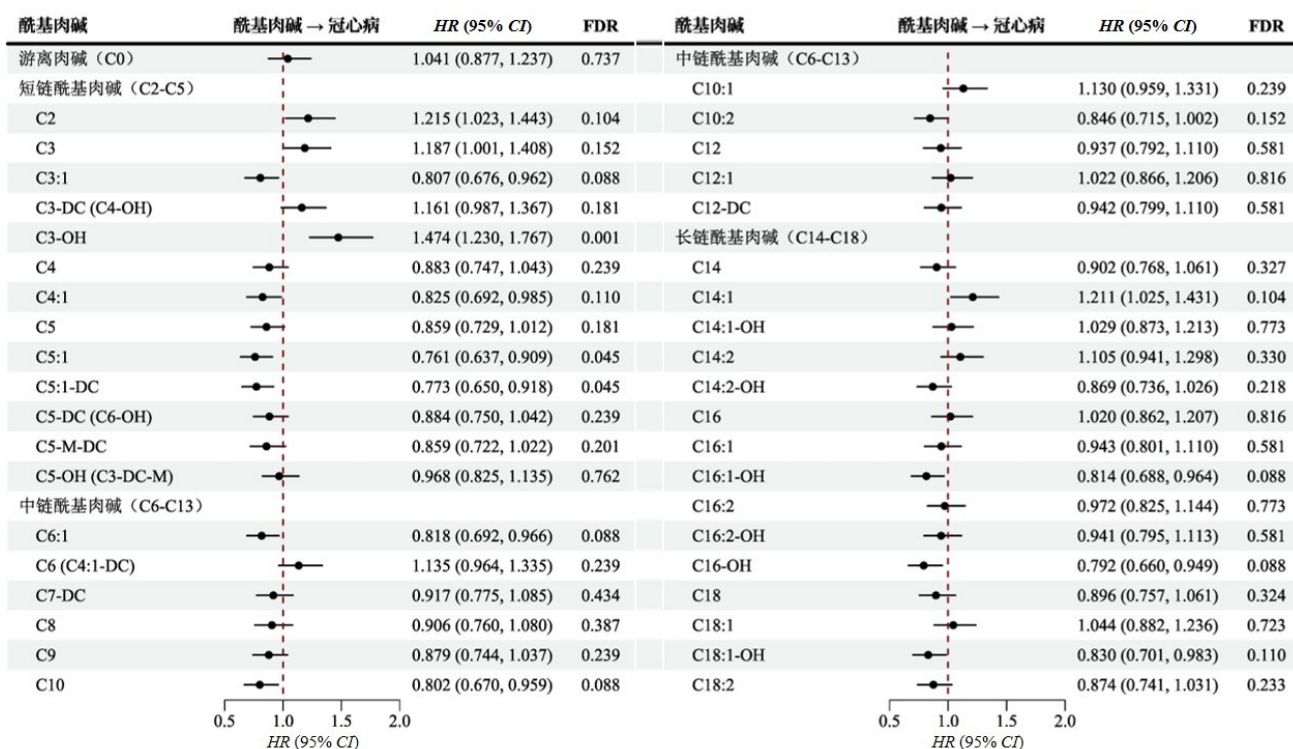


图 1 酰基肉碱与冠心病发病的关联

注：HR (95%CI) 为经 RINT 转换后代谢物浓度每升高 1 个单位，冠心病的发病风险 (95%CI)

2. 单一胆汁酸与冠心病发病的关联：如图 2 所示，在全部的 14 个胆汁酸中，2 个次级胆汁酸显示出与冠心病发病之间的关联 (原始 $P < 0.05$)，均呈正向关联。经多重检验校正后，仅 DCA 与冠心病发病的关联具有统计学意义 ($FDR < 0.05$)，HR (95%CI) 为 1.309 (1.113~1.539)。

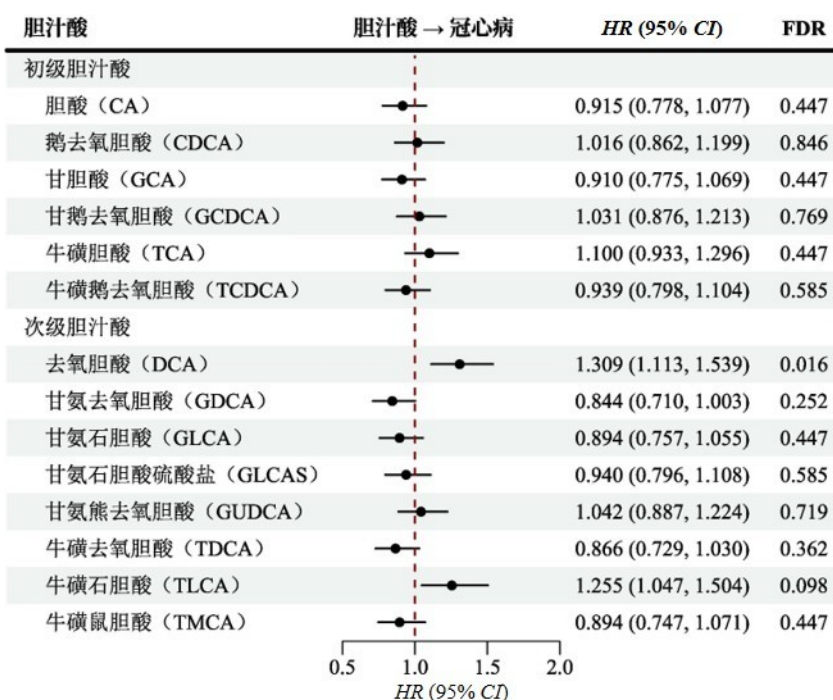


图2 胆汁酸与冠心病发病的关联

注：HR (95%CI) 为经 RINT 转换后代谢物浓度每升高 1 个单位，CHD 的发病风险 (95%CI)

三、酰基肉碱和胆汁酸评分与冠心病发病的关联

在对代谢物分类构建的评分与冠心病发病的关联分析中，各类评分与冠心病发病之间的关联均有统计学意义 (FDR < 0.05)。初级胆汁酸评分与冠心病发病关联的效应强度较高，HR (95%CI) 为 1.244 (1.108~1.398)；其余评分的效应强度相近，HR 的点估计值范围在 1.020~1.072 之间。具体结果见图 3。

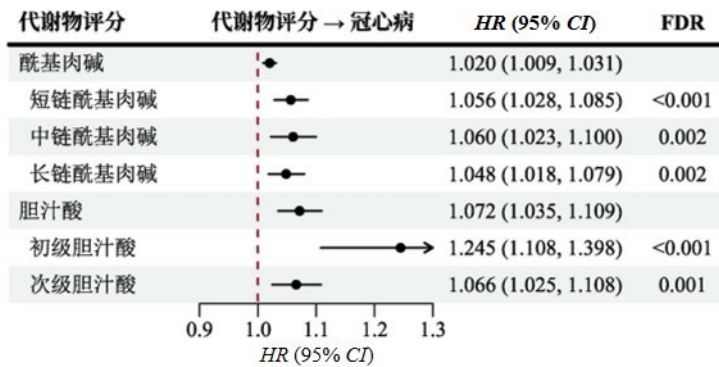


图3 代谢物评分与冠心病发病的关联

注：加粗为原始 $P < 0.05$ 的代谢物评分。HR (95%CI) 为经 RINT 转换后代谢物浓度每升高 1 个单位，冠心病的发病风险 (95%CI)

四、酰基肉碱与胆汁酸对冠心病发病风险的预测能力

将以上得到的 4 个关键代谢物 (酰基肉碱 C3-OH、C5:1、C5:1-DC 和 DCA) 和代谢物评分分别加入冠心病发病的传统预测模型中，得到的 ROC 曲线和 AUC 值如图 4 和表 3 所示。与传统模型相比，加入代谢物的模型的 AUC 值均略有增加，增加的范围为 0.003~0.015 [传统模型 AUC 值 (95%CI) 为 0.803 (0.761~0.845)]。其中，加入 DCA 的模型 AUC 值 (95%CI) 为 0.812 (0.772~0.852)，同时纳入 4 个关键代谢物的模型 AUC 值 (95%CI) 为 0.817 (0.778~0.857)，两个模型与传统模型相比，AUC 值均差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。其余代谢物模型的 AUC 值与传统模型差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

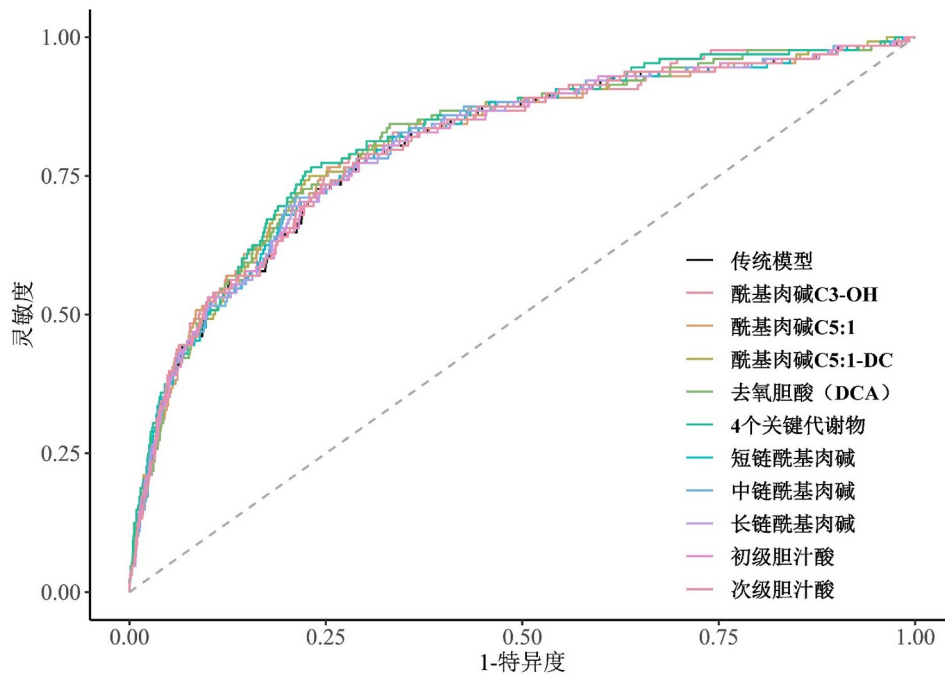


图4 酰基肉碱与胆汁酸对冠心病发病风险的预测

注：P 值为纳入代谢物的预测模型与传统模型相比，AUC 值差异的检验结果

表3 酰基肉碱与胆汁酸对冠心病风险传统预测模型的预测能力提升效果

预测模型	AUC 值 (95%CI)	模型提升	P 值
传统模型	0.803 (0.761~0.845)	-	-
酰基肉碱 C3-OH	0.810 (0.769~0.851)	0.007	0.805
酰基肉碱 C5:1	0.807 (0.765~0.849)	0.004	0.887
酰基肉碱 C5:1-DC	0.810 (0.769~0.852)	0.008	0.797
DCA	0.812 (0.772~0.852)	0.009	0.048
4 个关键代谢物	0.817 (0.778~0.857)	0.015	0.046
短链酰基肉碱	0.809 (0.767~0.850)	0.006	0.838
中链酰基肉碱	0.808 (0.767~0.850)	0.006	0.851
长链酰基肉碱	0.808 (0.766~0.849)	0.005	0.212
初级胆汁酸	0.806 (0.765~0.848)	0.003	0.909
次级胆汁酸	0.813 (0.772~0.854)	0.010	0.733

注：加粗为 P 值 < 0.05。模型提升和 P 值列分别为纳入代谢物的预测模型与传统模型相比，AUC 值的差异及差异检验结果。由于保留小数位的原因，表格中代谢物模型的 AUC 点估计值与传统模型直接相减的结果与模型提升列展示的结果不完全相同

讨论

基于我国 2159 名成年人的血浆代谢组学数据，本研究发现血浆酰基肉碱 C3-OH 和去氧胆酸 (DCA) 水平与冠心病发病风险呈正向关联，酰基肉碱 C5:1、C5:1-DC 与冠心病发病风险呈负向关联；综合考虑酰基肉碱和胆汁酸的总体效应时，发现不同链长酰基肉碱和初级、次级胆汁酸均与冠心病发病风险相关；研究发现的 key 代谢物可提高传统模型对冠心病发病的预测能力。

本研究发现酰基肉碱和胆汁酸水平与冠心病发病风险之间存在关联，这一关联在既往研究中有所提及。

有欧美学者发现，相比于健康对照，CVD 患者血浆酰基肉碱或胆汁酸水平较高。例如，研究者采用横断面设计，在 47 名研究对象中观察到几种短链和中链酰基肉碱在 CVD 患者中水平较高^[6]；采用回顾性研究设计，基于 980 名对象的酰基肉碱水平构建评分，发现相比于基线时评分处于最低四分位数者，最高四分位数组的研究对象在 4.8 年后发生 CVD 的比例更高^[7]。另有美国学者在 536 名超重或肥胖的成年人中，发现 TCA、GCA 等初次胆汁酸、TDCA、GDCA 等次级胆汁酸均与动脉粥样硬化性心血管疾病未来十年发病风险相关，而 DCA、GLCA 等则与发病风险无关^[11]。然而，本研究与以上研究结果的关联方向、显著代谢物种类等不完全一致。由于这些研究均基于欧美人群开展横断面或回顾性分析，且与本研究纳入酰基肉碱种类不尽相同，因此可能导致结果之间存在差异。本研究新鉴定出 3 个冠心病相关代谢物，分别为酰基肉碱 C3-OH、C5:1、C5:1-DC，既往研究曾报道 C3-OH 与白细胞端粒长度^[18]、C5:1 与慢性肾病^[19]、妊娠期血糖^[20]有关，它们对心血管代谢性疾病的作用有待进一步探索与验证。

本研究提示循环酰基肉碱和胆汁酸是机体代谢状态的重要生物标志物。对于酰基肉碱而言，其生理功能因链长而异，如短链酰基肉碱是支链氨基酸（branched-chain amino acid, BCAA）分解代谢的产物，中链和长链酰基肉碱则参与脂肪酸 β 氧化、反映线粒体功能^[3]。本研究发现的冠心病相关酰基肉碱均为短链，可能由于其来源和所处通路与冠心病有关。短链酰基肉碱的前体物质 BCAA 与动脉粥样硬化、缺血—再灌注损伤等多种病理机制以及心肌梗死、心衰等疾病结局相关^[21,22]，两类代谢物的浓度可相互影响，共同在冠心病的发生发展中发挥作用^[23]。胆汁酸是有效的代谢和免疫信号分子，初级胆汁酸由肝脏中的胆固醇合成，随后被转运到肠道，在此被肠道微生物代谢并转化为次级胆汁酸^[4]。通过激活不同受体，胆汁酸可以调控广泛的共生代谢网络，包括葡萄糖、脂质、类固醇和外源代谢以及能量稳态等信号通路，从而影响宿主的代谢和免疫功能^[4]。法尼醇 X 受体（farnesoid X receptor, FXR）是胆汁酸受体之一，受不同种类胆汁酸的作用效果不同，如鹅去氧胆酸（CDCA，初级胆汁酸）对其激动能力最强，而次级胆汁酸 DCA 则多在 CDCA 存在下作为 FXR 的拮抗剂发挥作用^[24]。这种对受体的亲和力和作用效果不同的现象，可能是本研究中初级和次级胆汁酸与冠心病发病的关联存在差异的机制之一。

本研究具有一定的优势。第一，本研究基于一般人群的前瞻性随访资料，可评估酰基肉碱和胆汁酸在冠心病一级预防中的作用；同时，研究剔除了调查前出现疾病结局的对象，时序关系明确，有效避免患者机体代谢紊乱而对关联结果造成干扰。第二，本研究的样本量较大、随访时间长，具有更高的统计效能发现单一代谢物的长期健康效应。本研究也存在一定的局限性。第一，观察性研究的性质限制了本研究因果推断的证据等级，仍需后续的基础研究深入解析两类代谢物在冠心病发病中的作用。第二，相比于既往研究，本研究中所采取的多重校正可能较为严格。

综上所述，本研究首次在 2159 名中国成年人中，发现血浆酰基肉碱 C3-OH、C5:1、C5:1-DC 和 DCA 与冠心病发生风险存在关联，各链长酰基肉碱和各类胆汁酸的总体水平同样与冠心病发病相关。本研究提示酰基肉碱和胆汁酸可作为冠心病发病的潜在生物标志物，有望提高对冠心病发病的风险预测能力，为后续进一步探索冠心病的病理生理学机制提供了线索与基础。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 毋之钰：分析数据、解释结果、撰写文章；宋树摇：分析/复核数据；余灿清：采集/解释数据、修改文章、经费支持；孙点剑一：采集/解释数据、修改文章；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；吕筠：采集/解释数据、修改文章；李立明：采集/解释数据、项目设计、方案制定、经费支持；庞元捷：构思研究、解释数据、修改文章、经费支持

志谢 所有参加 CKB 项目的队列成员和各项目地区的现场调查队调查员。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

- [1] Global burden of 288 causes of death and life expectancy decomposition in 204 countries and territories and 811 subnational locations, 1990-2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021[J]. *Lancet*, 2024, 403(10440):2100-

-
2132. DOI: 10.1016/S0140-6736(24)00367-2.
- [2] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2022 概要[J]. 中国循环杂志, 2023, 38(6):583-612. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3614.2023.06.001.
- [3] 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.
- [4] Cai J, Rimal B, Jiang C, et al. Bile acid metabolism and signaling, the microbiota, and metabolic disease[J]. *Pharmacol Ther*, 2022, 237:108238. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2022.108238.
- [5] Lloyd-Price J, Arze C, Ananthakrishnan AN, et al. Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases[J]. *Nature*, 2019, 569(7758):655-662. DOI: 10.1038/s41586-019-1237-9.
- [6] Kukhareenko A, Brito A, Kozhevnikova MV, et al. Relationship between the plasma acylcarnitine profile and cardiometabolic risk factors in adults diagnosed with cardiovascular diseases[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 507:250-256. DOI: 10.1016/j.cca.2020.04.035.
- [7] Guasch-Ferré M, Zheng Y, Ruiz-Canela M, et al. Plasma acylcarnitines and risk of cardiovascular disease: effect of Mediterranean diet interventions[J]. *Am J Clin Nutr*, 2016, 103(6):1408-1416. DOI: 10.3945/ajcn.116.130492.
- [8] Shah SH, Sun JL, Stevens RD, et al. Baseline metabolomic profiles predict cardiovascular events in patients at risk for coronary artery disease[J]. *Am Heart J*, 2012, 163(5):844-850.e1. DOI: 10.1016/j.ahj.2012.02.005.
- [9] Zhao S, Liu ML, Huang B, et al. Acetylcarnitine Is Associated With Cardiovascular Disease Risk in Type 2 Diabetes Mellitus[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12:806819. DOI: 10.3389/fendo.2021.806819.
- [10] Regan JA, Mentz RJ, Nguyen M, et al. Mitochondrial metabolites predict adverse cardiovascular events in individuals with diabetes[J]. *JCI Insight*, 2023, 8(17):e168563. DOI: 10.1172/jci.insight.168563.
- [11] Heianza Y, Xue Q, Rood J, et al. Changes in bile acid subtypes and improvements in lipid metabolism and atherosclerotic cardiovascular disease risk: the Preventing Overweight Using Novel Dietary Strategies (POUNDS Lost) trial[J]. *Am J Clin Nutr*, 2024, 119(5):1293-1300. DOI: 10.1016/j.ajcnut.2024.02.019.
- [12] Hu T, Zhang W, Han F, et al. Machine learning reveals serum myristic acid, palmitic acid and heptanoylcarnitine as biomarkers of coronary artery disease risk in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Clin Chim Acta*, 2024, 556:117852. DOI: 10.1016/j.cca.2024.117852.
- [13] Lu Q, Chen J, Jiang L, et al. Gut microbiota-derived secondary bile acids, bile acids receptor polymorphisms, and risk of cardiovascular disease in individuals with newly diagnosed type 2 diabetes: a cohort study[J]. *Am J Clin Nutr*, 2024, 119(2):324-332. DOI: 10.1016/j.ajcnut.2023.08.023.
- [14] Chen Z, Chen J, 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.
- [15] 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.
- [16] 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.
- [17] Yang X, Li J, Hu D, et al. Predicting the 10-Year Risks of Atherosclerotic Cardiovascular Disease in Chinese Population: The China-PAR Project (Prediction for ASCVD Risk in China)[J]. *Circulation*, 2016, 134(19):1430-1440. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.022367.
- [18] van der Spek A, Broer L, Draisma H, et al. Metabolomics reveals a link between homocysteine and lipid metabolism and leukocyte telomere length: the ENGAGE consortium[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):11623. DOI: 10.1038/s41598-019-47282-6.
- [19] Chen DQ, Cao G, Chen H, et al. Identification of serum metabolites associating with chronic kidney disease progression and anti-fibrotic effect of 5-methoxytryptophan[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):1476. DOI: 10.1038/s41467-019-09329-0.
- [20] Chen L, Goh XP, Bendt AK, et al. Association of acylcarnitines with maternal cardiometabolic risk factors is defined by chain length: the S-PRESTO study[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2024 :dgae255 [pii]. DOI: 10.1210/clinem/dgae255.

-
- [21] McGarrah RW, White PJ. Branched-chain amino acids in cardiovascular disease[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2023, 20(2):77-89. DOI: 10.1038/s41569-022-00760-3.
- [22] 涂哲禹, 苏丰贺, 王艺婷, 等. 急性心力衰竭代谢标志物的研究进展[J]. *中华医学杂志*, 2023, 103(1):67-70. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20220622-01368.
- [23] Gander J, Carrard J, Gallart-Ayala H, et al. Metabolic Impairment in Coronary Artery Disease: Elevated Serum Acylcarnitines Under the Spotlights[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8:792350. DOI: 10.3389/fcvm.2021.792350.
- [24] Jiao N, Baker SS, Chapa-Rodriguez A, et al. Suppressed hepatic bile acid signalling despite elevated production of primary and secondary bile acids in NAFLD[J]. *Gut*, 2018, 67(10):1881-1891. DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314307.