

· 临床研究 ·

新诊断2型糖尿病合并高尿酸血症患者的临床特征及肠道菌群变化

陈柔柔, 李娜, 赫荣波, 邹婧, 刘青, 张颖, 刘煜*

南京医科大学附属逸夫医院内分泌科, 江苏 南京 211100

[摘要] 目的:通过对2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)合并高尿酸血症(hyperuricemia, HUA)患者的临床特征及肠道菌群组成分析,旨在为该疾病的预防及微生态治疗提供新依据。方法:纳入103例单纯新诊断T2DM患者,98例T2DM合并HUA患者。按照入排条件,选取年龄及性别匹配的新诊断T2DM合并HUA患者(DMUA组)及单纯新诊断T2DM患者(T2DM组),同期纳入年龄及性别匹配的HUA患者(HUA组)及健康志愿者(Control组)。收集所有研究对象的临床资料及生化检测结果,通过卡方检验、方差分析、Tukey-HSD检验及Wilcoxon秩和检验法进行分析。并分别采集4组研究对象的粪便标本,用16S rRNA高通量测序方法检测4组研究对象的肠道菌群,并用生物信息学进行分析。结果:①临床特征比较:DMUA组患者的低密度脂蛋白水平较T2DM病程>5年组显著升高,同时总胆固醇、甘油三酯、胰岛素、C肽水平、动脉硬化指数及脂肪肝发生率较单纯新诊断T2DM组显著升高。此外,与T2DM组相比其发病年龄更早,但其糖化血红蛋白显著降低。与T2DM组、HUA组及Control组相比,DMUA组高密度脂蛋白显著降低而甘油三酯明显升高;与T2DM组、HUA组相比,DMUA组动脉硬化指数显著升高。②肠道菌群分析:DMUA组 α 多样性指数比Control组显著降低。DMUA组与Control组及HUA组相比 β 多样性存在明显差异。在菌群丰度分析中,DMUA组与HUA组相比,f_Prevotellaceae和g_Megamonas显著增加,而p_Bacteroidetes、c_Bacteroidia、o_Bacteroidales、f_Bacteroidaceae、g_Bacteroides、f_tannerellaceae和g_Parabacteroides明显减少。DMUA组与Control组相比,c_Clostridia、o_Clostridiales、f_Peptostreptococcaceae、g_Romboutsia显著减少。结论:新诊断T2DM合并HUA组与长病程的T2DM合并HUA组及单纯新诊断T2DM组相比,更易出现脂代谢异常。DMUA组的肠道菌群结构与T2DM组、HUA组及Control组存在差异,可能与新诊断T2DM合并HUA患者疾病的发生发展存在一定的联系。

[关键词] 2型糖尿病;高尿酸血症;肠道菌群;16S rRNA

[中图分类号] R587.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2022)08-1125-09

doi:10.7655/NYDXBNS20220812

The study of clinical features and gut microbiome of newly diagnosed type 2 diabetes patients with hyperuricemia

CHEN Rourou, LI Na, HE Rongbo, ZOU Jing, LIU Qing, ZHANG Ying, LIU Yu*

Department of Endocrinology and Metabolism, Sir Run Run Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 211100, China

[Abstract] **Objective:** The study aims to provide new targets for the prevention and treatment of newly diagnosed T2DM with HUA by analyzing the clinical features and the gut microbiome. **Methods:** A total of 103 patients with newly diagnosed T2DM and 98 patients with T2DM with HUA were included. According to the admission conditions, age- and gender-matched newly diagnosed T2DM patients with HUA (DMUA group) and newly diagnosed T2DM patients (T2DM group) were selected, and age- and gender-matched hyperuricemia patients (HUA group) and healthy volunteers (Control group) were included at the same time. The clinical data and biochemical test results were recorded. The data were analyzed by chi-square test, analysis of variance, Tukey-HSD Test and Wilcoxon rank sum test method. Stool samples of 4 groups were collected and sequenced by 16S rRNA high-throughput sequencing method and all the data were finally analyzed by bioinformatics. **Results:** ①Comparison of clinical features: CHO, TG, AI were higher in DMUA than T2DM group, LDL in DMUA was only higher than the T2DM group with a history of more than 5 years. DMUA group were younger

[基金项目] 国家自然科学基金(81770778)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: drliuyu@njmu.edu.cn

and had a greater prevalence of fatty liver than T2DM group, but HbA1c in DMUA was lower than T2DM group. Compared with the T2DM group, HUA group and the Control group, the DMUA group had a significant decrease in high-density lipoprotein and a significant increase in triglycerides. And compared with the T2DM group and HUA group, the arteriosclerosis index of DMUA groups was significantly increased. ②The gut microbiome analysis: The α diversity index of the DMUA group was significantly lower than that of the Control group. There was a significant difference in β diversity between the DMUA group, Control group and the HUA group. In the analysis of bacteria abundance, compared with the HUA group, f_Prevotellaceae and g_Megamonas were significantly increased in the DMUA group, while p_Bacteroidetes, c_Bacteroidia, o_Bacteroidales, f_Bacteroidaceae, g_Bacteroides, f_Tannerellaceae and g_Parabacteroides were significantly decreased. Compared with the Control group, c_clostridia, o_clostridiales, f_Peptostreptococcaceae and g_Romboutsia were significantly decreased in the DMUA group. **Conclusion:** Compared with long-course T2DM with HUA and newly diagnosed T2DM alone, the group with newly diagnosed T2DM with HUA is more likely to have abnormal lipid metabolism. The gut microbiome of the DMUA group is different from that of the T2DM group, HUA group or Control group, which may be related to the occurrence and development of T2DM and HUA.

[Key words] type 2 diabetes; hyperuricemia; the gut microbiome; 16S rRNA

[J Nanjing Med Univ, 2022, 42(08): 1125-1132, 1141]

高尿酸血症(hyperuricemia, HUA)是因嘌呤代谢紊乱而使尿酸生成过多和(或)排泄减少导致的一种代谢性临床综合征^[1]。HUA与2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)、代谢综合征、高血压、心血管疾病、慢性肾病、痛风等密切相关,是这些疾病发生发展的独立危险因素^[2-6]。研究表明^[7]尿酸水平的升高可直接或间接导致空腹血糖水平的升高,且尿酸水平可能与T2DM的早期发病机制密切相关。糖尿病患者常伴有肾脏血流量减少,使肾小球缺氧,并使乳酸的生成增加,进而与尿酸竞争性排泄,从而导致尿酸的排泄减少。此外,糖尿病患者中多数伴有肥胖症、脂代谢障碍、胰岛素抵抗等,均会影响尿酸代谢。因此,糖尿病与HUA可能存在共同的发病基础。

肠道微生态作为人体中最大的微生态系统,被认为是调节宿主代谢的一个重要器官,存在于人体肠道的大量微生物被称为肠道菌群。现有研究显示^[8],肠道菌群组成变化与多种疾病均具有相关性,包括HUA、糖尿病、代谢综合征、肾脏病、冠心病和肿瘤等。

本研究主要通过对不同病程的T2DM合并HUA的临床特征进行分析,并进一步分析T2DM合并HUA的肠道菌群结果特点,探究T2DM合并HUA的发生发展是否与肠道菌群的组成改变相关,旨在为新诊断T2DM合并HUA的微生态治疗提供新的理论依据。

1 对象和方法

1.1 对象

本研究随机纳入2019年7月—2020年7月在南

京医科大学附属逸夫医院内分泌科及健康管理中心就诊的18~80岁患者,包括单纯新诊断T2DM患者103例和T2DM合并HUA患者98例。T2DM合并HUA患者中,新诊断的患者29例,病程1~5年的患者27例,病程>5年的患者42例。从新诊断T2DM合并HUA组及单纯新诊断T2DM组中各选取年龄及性别匹配的患者,纳入9例新诊断T2DM合并HUA的患者(DMUA组),8例单纯新诊断T2DM的患者(T2DM组),并同期收集年龄及性别匹配的8例HUA患者(HUA组)及8例健康志愿者(Control组),分别采集粪便标本。并同时收集所有研究对象的一般资料、实验室检查结果。本研究方案经南京医科大学附属逸夫医院伦理委员会批准(No2017-SR-001.S2)。

入组标准:①单纯HUA患者:年龄18~80岁;参照《2013高尿酸血症和痛风治疗的中国专家共识》,正常饮食状态的非同日2次的空腹水平所检测出的血尿酸值:男性血尿酸的水平 $\geq 420 \mu\text{mol/L}$,女性血尿酸的水平 $\geq 360 \mu\text{mol/L}$;未用降尿酸药物。②单纯新诊断T2DM患者:年龄18~80岁;参照《中国2型糖尿病防治指南2017年版》的糖尿病诊断标准;新诊断的2型糖尿病患者,即12个月内诊断为2型糖尿病患者(WHO标准,1999年);未用任何药物,包括降糖及调脂药物等。③新诊断T2DM合并HUA患者:同时满足①和②的入组标准。④T2DM合并HUA患者:年龄18~80岁;参照《中国2型糖尿病防治指南2017年版》的糖尿病诊断标准;正常饮食状态的非同日2次的空腹水平所检测出的血尿酸值:2次的血清尿酸水平男性 $\geq 420 \mu\text{mol/L}$,女性 $\geq 360 \mu\text{mol/L}$ 。T2DM病程<1年的患者无用药史;病史1~5年的患

者仅单用二甲双胍;病史>5年的患者为单用二甲双胍或二甲双胍联合基础胰岛素,未用降尿酸、调脂药物及利尿剂等。

健康对照组:年龄18~80岁;血糖正常,无糖尿病家族史;正常嘌呤饮食状态下,尿酸正常;近3个月内未服用微生态制剂或抗生素;近1个月内无腹泻及其他胃肠道的疾病史,无胃肠道手术史;无长期服用药物史。

排除标准:近3个月内服用微生态制剂或抗生素者;有腹泻及其他胃肠道的疾病史;长期酗酒、大量进食动物内脏及海产品等习惯的患者;严重心脑血管、肝肾功能障碍;1型或其他类型糖尿病;长期使用的药物不符合入组标准。

1.2 方法

1.2.1 一般资料及样本收集

患者临床信息采集主要通过随访问卷、医院信息系统等多种途径获取患者的基本信息、临床检验结果和临床特征。采集研究对象清晨排便后的新鲜粪便标本约5g,置于密闭无菌粪便采集盒内,分别编号。所有粪便采集盒的管壁及管帽上均标注患者的姓名、编码等基本信息(油性笔做好标记),并于30min内迅速储存于-80℃低温冰箱中,避免反复冻溶。

1.2.2 粪便16S rRNA基因测序

粪便样本基因组DNA的提取采用SDS方法,并进一步使用琼脂糖凝胶电泳法检测DNA纯度及浓度,随后将适量的样品放置在离心管中,用无菌水稀释样品至1ng/ μ L。选择所需进行测序的区域,采用带Barcode特异性引物,16S V3-V4区的引物为341F: CCTAYGGGRBGCASCAG; 806R: GGAC-TACNNGGGTATCT AAT,进一步对细菌的16S rDNA V3-V4区进行PCR扩增。根据PCR产物浓度进一步进行等浓度的混样,并充分混合均匀,选取1 \times TAE浓度2%琼脂糖胶电泳进行纯化PCR的产物,主带大小选择在450~550bp之间的序列,并予割胶回收目标条带。文库的构建采用美国Illumina公司的TruSeq DNA PCR-Free Library Preparation Kit建库试剂盒。经过Qubit的定量及文库检测后,将构建好的符合后续测序要求的文库用NovaSeq6000进一步行上机测序。测序所获得的信息通过优化序列区分样本后进行OTU聚类和物种的分类分析。

1.2.3 OTU聚类和物种分类分析

α 多样性分析:主要用于分析组内微生物群落的多样性^[9]。本研究采用了chao1指数、PD_whole_tree

指数、goods_coverage指数和ACE指数进行统计。

β 多样性分析:基于Weighted Unifrac距离以及Unweighted Unifrac距离可进行PCoA(Principal Coordinates Analysis)分析^[10],选择贡献率最大的主坐标的组合作图后进行展示。若样本距离越接近,则表示物种的组成结构越相似。

OTU差异显著性分析:LDA EffectSize(LEfSe)作为发现和解释高维度的生物标识分析工具之一^[11],可在组与组间寻找出组间的差异显著物种,本研究用LDA值柱状分布图及进化分支图来显示。

1.3 统计学方法

采用SPSS23.0的统计学软件对本实验的数据进行统计分析。对正态分布计量资料的数据采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)描述,两组间比较用独立 t 检验计算,两组以上用方差分析,对于方差不齐的数据采用Wilcoxon秩和检验,组间两两比较采用Tukey-HSD检验。通过Qimme软件分析Beta多样性。分组样品的物种组成、群落结构进行差异显著性检验采用的是 T -test、LEfSe、MetaStat等统计学分析方法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床特征比较

比较98例T2DM合并HUA患者不同糖尿病病程(病程<1年、1~5年和>5年)的临床特征,结果显示,不同病程患者的年龄、低密度脂蛋白、并发症发生率差异有统计学意义($P < 0.05$)。新诊断T2DM合并HUA组(病程<1年)比病程大于5年组的低密度脂蛋白显著升高($P < 0.05$),年龄及并发症发病率显著降低($P < 0.05$,表1)。

比较新诊断T2DM合并HUA与单纯新诊断T2DM患者的临床特征,结果显示新诊断T2DM合并HUA组的糖化血红蛋白水平显著降低($P < 0.05$),而总胆固醇、甘油三酯、胰岛素、C肽水平、血清尿酸、空腹葡萄糖、动脉硬化指数及脂肪肝发生率显著升高($P < 0.05$,表2)。

2.2 DMUA组与T2DM组、HUA组及Control组的肠道菌群分析

2.2.1 临床资料比较

4组研究对象的年龄、性别、体重指数(BMI)、转氨酶无明显差异($P > 0.05$)。DMUA组与T2DM组、HUA组及Control组相比,高密度脂蛋白降低,甘油三酯显著增高($P < 0.05$)。DMUA组与T2DM组、HUA组相比,其动脉硬化指数亦明显升高($P <$

表1 不同病程T2DM合并HUA的一般情况及临床资料比较分析

Table 1 General clinical data of patients with T2DM complicated with HUA in different stages (n=98)

变量名	<1年	1~5年	>5年	χ^2/F 值	P值
性别(男/女)	24/5	24/3	29/13	4.272	0.118
年龄(岁)	42.69 ± 15.21	44.11 ± 13.48	57.69 ± 15.10 [#]	11.400	<0.001
BMI(kg/m ²)	26.83 ± 3.66	25.95 ± 3.99	26.92 ± 4.18	0.538	0.586
总胆固醇(mmol/L)	5.22 ± 1.07	4.62 ± 1.08	4.77 ± 1.29	1.973	0.145
甘油三酯(mmol/L)	5.51 ± 6.01	3.24 ± 3.40	3.55 ± 2.61	2.606	0.079
高密度脂蛋白(mmol/L)	1.18 ± 0.75	0.98 ± 0.33	0.97 ± 0.25	1.883	0.158
低密度脂蛋白(mmol/L)	3.92 ± 2.59	3.06 ± 1.08	2.80 ± 0.95 [*]	4.024	0.021
动脉硬化指数	5.22 ± 2.65	4.76 ± 1.50	3.94 ± 1.42	2.291	0.111
糖化血红蛋白(%)	8.10 ± 2.64	8.24 ± 2.83	8.30 ± 1.69	0.064	0.938
空腹葡萄糖(mmol/L)	10.08 ± 5.62	8.85 ± 4.27	8.83 ± 2.96	0.882	0.417
胰岛素(pmol/L)	71.85 ± 48.79	57.45 ± 39.96	71.33 ± 98.15	0.381	0.685
C肽(ng/mL)	2.65 ± 1.55	2.25 ± 1.13	2.21 ± 1.51	0.798	0.454
血清尿酸(μ mol/L)	485.60 ± 94.00	464.40 ± 45.50	470.70 ± 57.40	0.740	0.480
并发症[n(%)]	3(10.3)	9(33.3)	21(50.0) [*]	12.080	0.002
高血压[n(%)]	13(44.8)	16(59.2)	23(54.8)	1.255	0.534
脂肪肝[n(%)]	20(69.0)	18(66.7)	28(66.7)	0.049	0.976

并发症为糖尿病大血管、微血管及神经病变,合并其中一项即为阳性。与<1年组比较,^{*}P<0.05;与1~5年组比较,[#]P<0.05。

表2 新诊断T2DM合并HUA与单纯新诊断T2DM的比较分析

Table 2 Comparison of newly diagnosed T2DM patients with HUA and newly diagnosed T2DM patients

变量名	新诊断T2DM合并HUA(n=29)	新诊断单纯T2DM(n=103)	$t/z/\chi^2$ 值	P值
性别(男/女)	24/5	63/40	4.696	0.045
年龄(岁)	42.69 ± 15.21	49.86 ± 12.94	-2.172	0.030
BMI(kg/m ²)	26.83 ± 3.66	25.57 ± 3.79	-1.750	0.080
总胆固醇(mmol/L)	5.22 ± 1.07	4.69 ± 0.95	-2.443	0.015
甘油三酯(mmol/L)	5.51 ± 6.01	2.38 ± 2.33	-4.670	<0.001
高密度脂蛋白(mmol/L)	1.18 ± 0.75	1.13 ± 0.36	-1.129	0.259
低密度脂蛋白(mmol/L)	3.92 ± 2.59	3.06 ± 0.93	-1.075	0.282
动脉硬化指数	5.22 ± 2.65	3.56 ± 1.56	-3.652	<0.001
糖化血红蛋白(%)	8.10 ± 2.64	9.59 ± 2.74	-2.621	0.009
空腹葡萄糖(mmol/L)	10.08 ± 5.62	9.90 ± 3.89	-0.649	0.001
胰岛素(pmol/L)	71.85 ± 48.79	38.46 ± 36.22	-3.423	0.001
C肽(ng/ml)	2.65 ± 1.55	1.54 ± 0.89	-3.787	<0.001
血清尿酸(μ mol/L)	485.60 ± 94.00	281.30 ± 78.80	-7.948	<0.001
并发症[n(%)]	3(10.3)	11(10.7)	0.003	1.000
高血压[n(%)]	13(44.8)	28(27.2)	3.290	0.110
脂肪肝[n(%)]	20(69.0)	44(42.7)	6.241	0.020

并发症为糖尿病大血管、微血管及神经病变,合并其中一项即为阳性。

0.05,表3)。

2.2.2 基于OTU的韦恩图

4组样本共同存在的OTU有318个,而特有的OTU中,T2DM为38个,HUA为33个,DMUA为32个。在4组样本中大部分的菌落是相似的,但又同时存在各自特有的差异性菌落(图1)。

2.2.3 α 多样性分析

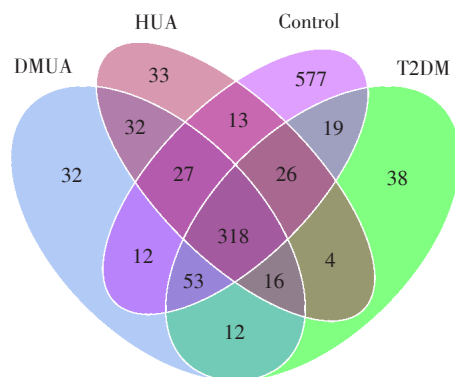
图2所示的是描述组内样本的多样性曲线,即稀释曲线(rarefaction curve),该曲线直接反映出所测序的数据量的合理性,并间接反映出其样本物种的丰富度,曲线趋于平坦时,表示所测序的数据量渐进合理。4组粪便样本细菌稀释曲线末端相对平

表3 研究对象的一般情况及临床资料比较

Table 3 General clinical data of patients

变量名	DMUA组(n=9)	T2DM组(n=8)	HUA组(n=8)	Control组(n=8)	F/ χ^2 值	P值
性别(男/女)	6/3	4/4	4/4	3/5	1.47	0.68
年龄(岁)	43.00 ± 17.70	50.25 ± 10.80	38.88 ± 9.01	41.63 ± 6.26	1.16	0.34
BMI(kg/m ²)	25.47 ± 3.26	26.01 ± 3.72	24.30 ± 1.27	22.88 ± 2.92	1.47	0.24
糖化血红蛋白(%)	8.88 ± 3.01	10.03 ± 2.70	—	—	1.24	0.32
空腹葡萄糖(mmol/L)	10.35 ± 4.84 ^{#△}	11.12 ± 3.31	4.71 ± 0.62	4.29 ± 0.75	18.61	<0.01
血清尿酸(μ mol/L)	462.41 ± 58.14 ^{*△}	265.37 ± 49.45	430.18 ± 48.68	256.53 ± 66.93	26.09	<0.01
肌酐(μ mol/L)	65.89 ± 15.66	52.38 ± 15.48	63.38 ± 10.76	64.57 ± 13.41	1.38	0.27
丙氨酸氨基转移酶(U/L)	32.60 ± 22.09	23.39 ± 15.11	29.09 ± 13.45	19.80 ± 14.55	1.07	0.38
天门冬氨酸氨基转移酶(U/L)	26.96 ± 14.29	20.53 ± 14.23	19.94 ± 7.50	19.81 ± 4.27	0.69	0.56
总胆固醇(mmol/L)	5.15 ± 1.18	4.87 ± 0.88	4.58 ± 1.22	4.24 ± 0.68	0.98	0.42
甘油三酯(mmol/L)	3.87 ± 1.38 ^{*#△}	1.91 ± 0.81	1.80 ± 0.82	1.02 ± 2.99	11.67	<0.01
高密度脂蛋白(mmol/L)	0.91 ± 0.13 ^{*#△}	1.25 ± 0.26	1.23 ± 0.15	1.37 ± 0.26	5.92	<0.01
低密度脂蛋白(mmol/L)	3.33 ± 1.12	3.24 ± 0.88	3.09 ± 1.10	2.65 ± 0.63	0.56	0.65
动脉硬化指数	4.76 ± 1.05 [#]	3.08 ± 0.95	2.96 ± 1.03	—	6.99	0.01

DMUA组与T2DM组比较,[#] $P < 0.05$;DMUA组与HUA组比较,^{*} $P < 0.05$;DMUA组与健康人群组比较,[△] $P < 0.05$ 。



肠道菌群在Control组、T2DM组、HUA组和DMUA组中的OTU分布图。图中每个圈分别代表一个组,重叠部分代表组间共有的OTU,未重叠部分代表各组特有的OTU,并用数字显示菌群个数。

图1 OTU的韦恩图

Figure 1 Venn diagram of OTU

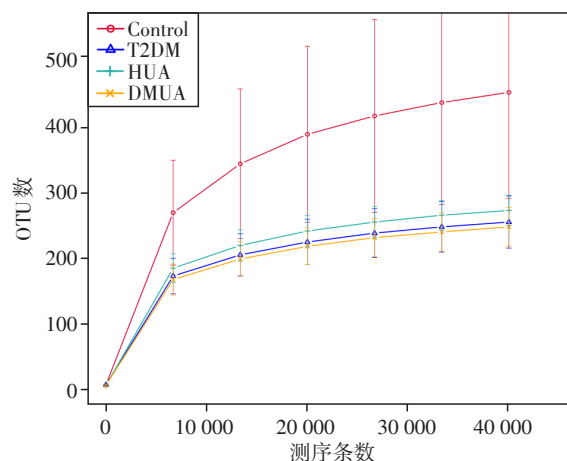


图2 OTU指数稀释曲线

Figure 2 OTU exponential dilution curve

坦,检测样本可满足后续实验。

α 多样性分析结果显示, α 多样性指数中chao1指数、ACE指数、PD_whole_tree指数及goods_coverage指数比较,DMUA组、T2DM组及HUA组与Control组相比均显著降低($P < 0.01$,图3),但DMUA组与T2DM组及HUA组相比, α 多样性指数均无明显差异。

2.2.4 β 多样性分析

基于Unweighted Unifrac距离分析显示,DMUA组较Control组和HUA组菌群结构存在显著差异(表4);另外,基于Weighted Unifrac距离分析结果表明,DMUA组较T2DM组($P=0.0024$)和HUA组($P=0.01$)均有明显差异(表4)。图4的PCoA结果表明,4组样本的离散较好,推断组间菌群结构存在显著差异。

2.2.5 肠道菌群物种组成分析

图5A显示的是各组研究对象在门分类水平的相对分布柱状图。各组丰度排名前4的物种,Control组是厚壁菌门(68.25%)、拟杆菌门(22.89%)、变形杆菌门(4.65%)、放线菌门(3.26%),T2DM组是厚壁菌门(49.98%)、拟杆菌门(38.58%)、变形杆菌门(7.68%)、放线菌门(3.30%),HUA组是拟杆菌门(46.81%)、厚壁菌门(33.28%)、变形杆菌门(12.99%)、梭杆菌门(4.74%),DMUA组是厚壁菌门(53.55%)、拟杆菌门(29.46%)、变形杆菌门(13.01%)、放线菌门(2.75%)。其中,DMUA组与HUA组相比,厚壁菌门比例显著升高,而拟杆菌门比例显著下降。

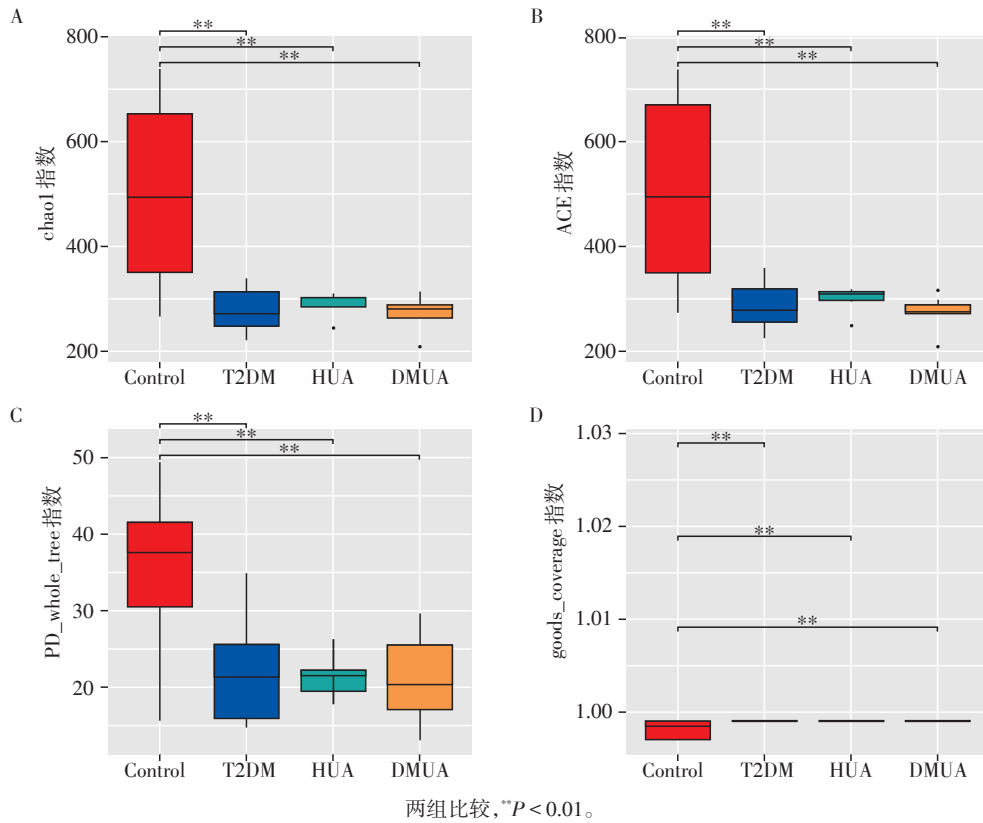


图3 各组肠道菌群α多样性指数箱式图

Figure 3 Box diagram of α diversity index of intestinal flora in each group

表4 用 Weighted Unifrac 及 Unweighted Unifrac 分析β多样性差异

Table 4 Weighted Unifrac and Unweighted Unifrac were used to analyze β diversity (P值)

组别	Weight Unifrac	Unweighted Unifrac
DMUA vs. Control	0.814 2	0.008 4
DMUA vs. HUA	0.010 0	0.008 5
DMUA vs. T2DM	0.002 4	0.875 8

在属水平上(图5B),丰度排名前4的物种,Control组是劳特氏菌属(13.83%)、拟杆菌属(12.42%)、普拉梭菌属(10.85%)、巨单胞菌属(7.62%),T2DM组是拟杆菌属(27.26%)、普拉梭菌属(14.16%)、巨单胞菌属(6.72%)、劳特氏菌属(4.36%),HUA组是拟杆菌属(37.16%)、普拉梭菌属(13.36%)、克雷伯氏菌属(8.46%)、Parabacteroides(5.59%),DMUA组是拟杆菌属(20.62%)、巨单胞菌属(17.85%)、普拉梭菌属(10.40%)、肠杆菌科未确定菌属(9.92%)。其中,DMUA组与HUA组相比,巨单胞菌属($P=0.0399$)比例升高,而拟杆菌属($P=0.00306$)和劳特氏菌属($P=0.00246$)比例降低。

2.2.6 各组间OTU差异显著性分析

DMUA组与HUA组相比(图6A、B),普雷沃氏

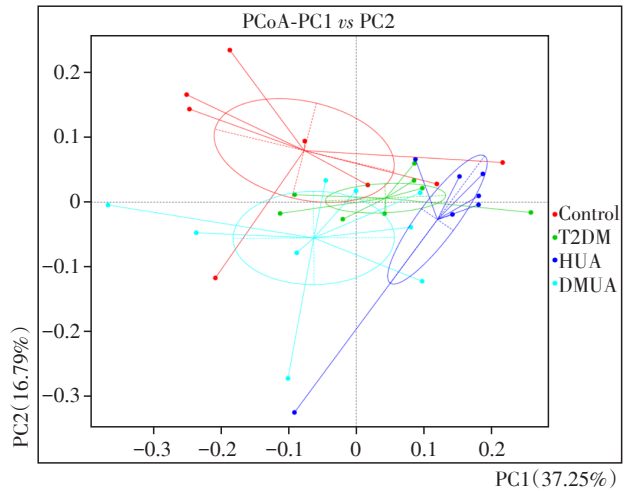


图4 基于weight unifrac距离的PCoA

Figure 4 PCoA based on weight Unifrac distance

菌科(f_Prevotellaceae)和巨单胞菌属(g_Megamonas)显著增加,而拟杆菌门(p_Bacteroidetes)、拟杆菌纲(c_Bacteroidia)、拟杆菌目(o_Bacteroidales)、拟杆菌科(f_Bacteroidaceae)、拟杆菌属(g_Bacteroides)、坦纳菌科(f_tannerellaceae)和g_Parabacteroi-

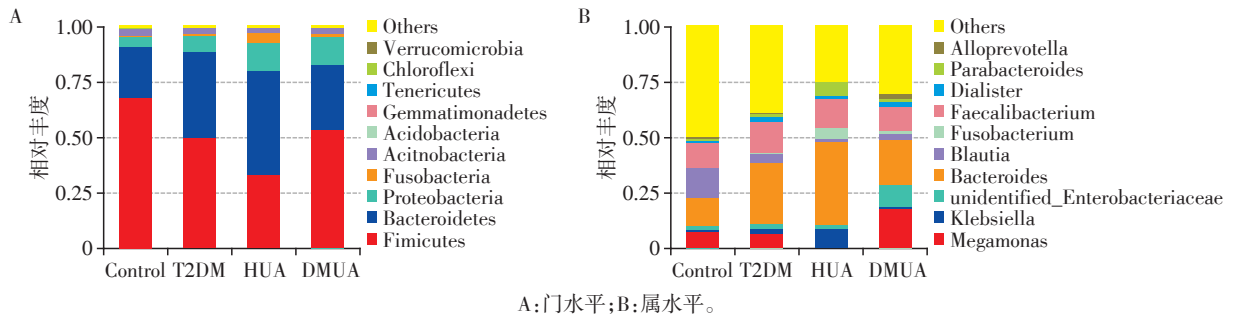


图5 门水平和属水平的相对分布情况

Figure 5 Relative distribution of phylum level and genus level

des明显减少。

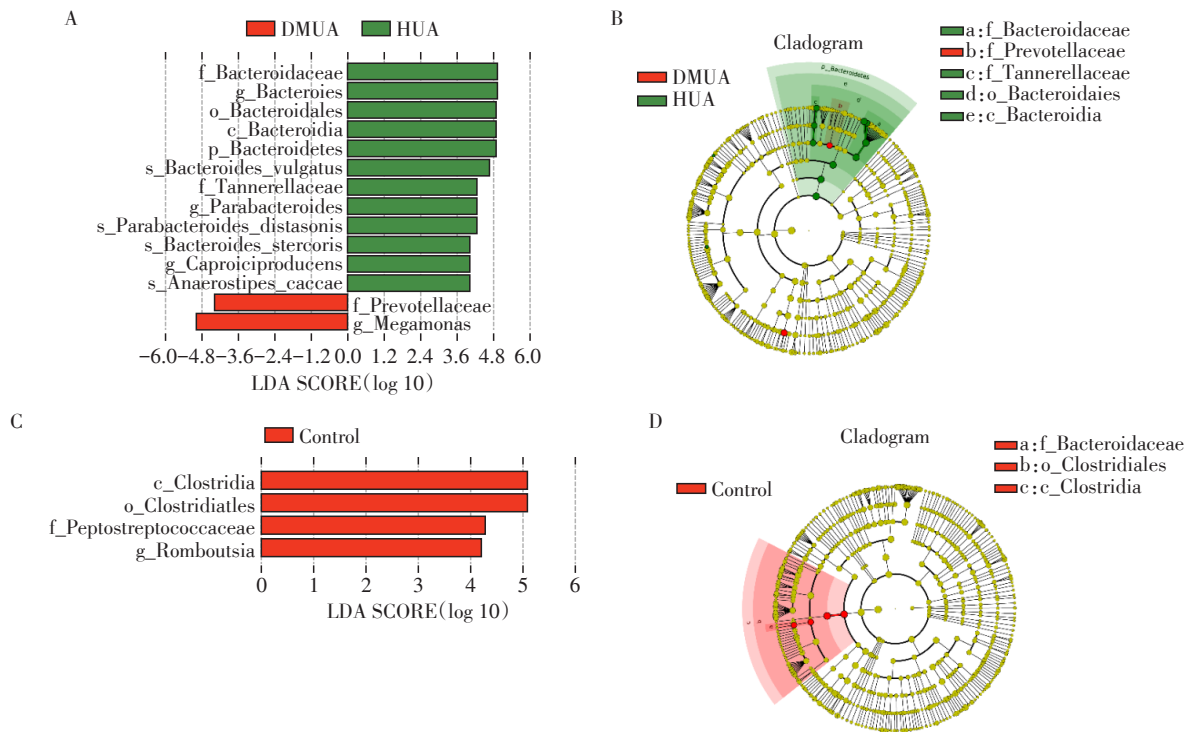
DMUA组与Control组相比(图6 C、D),梭菌纲(*c_Clostridia*)、梭菌目(*o_Clostridiales*)、消化链球菌科(*f_Peptostreptococcaceae*)、*g_Romboutsia*显著减少。

3 讨论

本研究的一般临床资料对比中显示新诊断T2DM合并HUA更容易合并脂代谢异常,并容易导致内脏脂肪堆积。现有多项研究均证实肠道菌群与糖尿病、高尿酸血症及脂代谢存在相关性^[7-8,12-14],

所以我们推断肠道菌群与新诊断T2DM合并HUA的发生发展及其脂代谢异常可能存在一定的关系。在进一步的肠道菌群分析中,DMUA组与HUA组相比,厚壁菌门、普雷沃氏菌科和巨单胞菌属显著增加,而拟杆菌(门、纲、目、科、属)、坦纳菌科和Parabacteroides菌属明显减少。DMUA组与Control组相比,其梭菌纲、梭菌目、消化链球菌科、Romboutsia菌属显著减少。

Shao等^[15]的有关痛风的粪便菌群及其代谢组学结果显示,痛风患者的拟杆菌属等一些条件致病菌的数量明显增加,且与尿酸排泄、嘌呤代谢及炎



A、C:LDA值的分布柱状图展示了不同组间丰度差异显著的物种,其长度代表的是差异物种的影响力(即LDA Score);B、D:进化分支图,由内至外辐射的圆圈代表由门至属(或种)分类的级别。不同分类级别的每个小圆圈为该水平下的一个分类,其直径大小与相对丰度呈正比。

图6 DMUA组与Control组、HUA组的LDA值分布柱状图和进化分支图

Figure 6 Histogram of LDA value distribution and evolutionary branching of DMUA group, Control group and HUA group

症反应相关的代谢产物也发生明显改变。痛风患者肠道菌群中存在的拟杆菌和梭状芽胞杆菌的变化,提示了肠道中主导菌群可能对原发性痛风的发生发展存在重要作用^[16]。此外,拟杆菌门、变形杆菌门和梭状芽胞杆菌类还被证实与胰岛素抵抗及糖尿病相关^[17]。在本研究中,DMUA组的拟杆菌较HUA组显著减少,同时其梭菌纲、梭菌目比Control组明显减少,因拟杆菌及梭菌与尿酸代谢及胰岛素抵抗均存在相关性,其丰度的变化有可能进一步促进新诊断T2DM合并HUA的发生与发展。

据文献报道^[18-21],劳特氏菌属产生的代谢产物可能同时影响血糖及尿酸水平。在本研究中,DMUA组与HUA组在属水平相比较,其劳特氏菌属比例显著降低,提示劳特氏菌属丰度的减少可能是参与新诊断T2DM合并HUA发生发展的相关因素。

因代谢性疾病发病早期与厚壁菌门、梭菌纲和梭菌目的丰度变化存在相关性^[22]。在本研究中,DMUA组与Control组的肠道菌群对比中,其厚壁菌门减少,梭菌纲、梭菌目显著减少,故推测DMUA组与Control组之间存在的差异菌丰度的变化可能是导致新诊断T2DM合并HUA的发病因素之一。在使用LEFSe方法的分析中未发现DMUA组与T2DM组存在明显差异菌,这可能与两组患者的病程均较短有关,因本次试验样本量较少,后续可扩大样本量进一步分析。

临床资料对比中,新诊断T2DM合并HUA组比病程>5年组的低密度脂蛋白显著升高($P=0.02$),因在入组标准的用药史中病史1~5年的患者单用二甲双胍及病史>5年的患者为单用二甲双胍或二甲双胍联合基础胰岛素,考虑二甲双胍对脂代谢存在一定的影响,且同时会受到年龄及性别等混杂因素的影响,后续可进一步增加对照组及扩大样本量对相关指标进一步分析。

综上,DMUA组所存在的肠道菌群丰度及组成的差异可能是新诊断T2DM合并HUA的发生及发展的重要影响因素之一。但由于肠道菌群复杂多样,影响菌群因素众多,本研究存在一定的局限性,仍需进一步扩大实验样本数量,可对影响的相关因素进一步细化,探索肠道菌群与新诊断T2DM合并HUA之间的深层次关系,后续可对差异菌行代谢组学分析进一步了解细胞通路、能量传递等代谢途径是否产生变化,以期探索新诊断T2DM合并HUA的诊断、预防及治疗的方法。

[参考文献]

- [1] 中华医学会内分泌学分会. 中国高尿酸血症与痛风诊疗指南(2019)[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2020, 36(1): 1-13
- [2] GLIOZZI M, MALARA N, MUSCOLI S, et al. The treatment of hyperuricemia[J]. Int J Cardiol, 2016, 213(1): 23-27
- [3] YU S, YANG H, GUO X, et al. Prevalence of hyperuricemia and its correlates in rural Northeast Chinese population: from lifestyle risk factors to metabolic comorbidities[J]. Clin Rheumatol, 2016, 35(5): 1207-1215
- [4] 倪娟, 刘康, 邬步云, 等. 新诊断2型糖尿病患者合并高尿酸血症的危险因素分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2018, 38(11): 1540-1544
- [5] 马建峰, 闵捷, 杜新丽, 等. 尿酸水平与代谢综合征多因素的相关性研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2011, 31(11): 1614-1619
- [6] YAN D, WANG J, JIANG F, et al. causal relationship between uric acid and diabetic macrovascular disease in Chinese type 2 diabetes patients: A Mendelian randomization analysis[J]. Int J Cardiol, 2016, 214: 194-199
- [7] 李华青, 周苗, 王娟, 等. 尿酸水平与初诊2型糖尿病的相关性研究[J]. 中国药物与临床, 2020, 20(7): 1169-1170
- [8] 李玉离, 肖嫩群, 谭周进. 代谢性疾病的肠道菌群相关研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2020, 28(23): 1192-1199
- [9] LI B, ZHANG X, GUO F, et al. Characterization of tetracycline resistant bacterial community in saline activated sludge using batch stress incubation with high-throughput sequencing analysis[J]. Water Res, 2013, 47(13): 4207-4216
- [10] MINCHIN P R. An evaluation of the relative robustness of techniques for ecological ordination[M]. Springer Netherlands, 1987: 187
- [11] SEGATA N, IZARD J, WALDRON L, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation[J]. Genome Biol, 2011, 12(6): R60
- [12] 江美玲. 2型糖尿病及其前期状态人群肠道菌群特征分析[D]. 广州: 南方医科大学, 2013
- [13] 欧雯欣, 吕英. 肠道菌群诱导的炎症反应与胰岛素抵抗的相关性[J]. 药品评价, 2019, 16(6): 55-58
- [14] CANI P D, JORDAN B F. Gut microbiota-mediated inflammation in obesity: a link with gastrointestinal cancer[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2018, 15(11): 671-682
- [15] SHAO T, SHAO L, LI H, et al. Combined signature of the fecal microbiome and metabolome in patients with

(下转第1141页)