

代谢组学在心血管代谢疾病病因研究中的应用进展

程思¹ 庞元捷¹ 吕筠^{1,2} 余灿清^{1,2} 孙点剑^{1,2} 李立明^{1,2}

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

通信作者:庞元捷,Email:ypang@bjmu.edu.cn

【摘要】 代谢组学是采用高通量组学技术对所有代谢物进行鉴定和定量的生命科学研究,近年来在心血管代谢疾病的病因研究中得到广泛应用。作为系统流行病学的一个重要组成部分,代谢组学从代谢改变的视角提供了病因探索的新思路。代谢组学的研究问题包括分析代谢物与心血管代谢疾病的关联、发现新型生物标志物和构建疾病风险预测模型等。本文从物质类别出发详细介绍代谢组学在 2 型糖尿病、心血管疾病、高血压和亚临床动脉粥样硬化病因研究中的应用进展,并提出展望。

【关键词】 代谢组学; 心血管代谢疾病; 糖尿病

基金项目:国家自然科学基金(82192901,82192904,82192900);北大医学青年科技创新培育基金(BMU2022PY014)

A metabolomic approach to investigate the etiology of cardiometabolic diseases: recent advances and applications

Cheng Si¹, Pang Yuanjie¹, Lyu Jun^{1,2}, Yu Canqing^{1,2}, Sun Dianjianyi^{1,2}, Li Liming^{1,2}

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

Corresponding author: Pang Yuanjie, Email: ypang@bjmu.edu.cn

【Abstract】 Metabolomics is a life science research that uses high-throughput omics technology to identify and quantify all metabolites and has been widely used to examine the etiology of cardiometabolic diseases in recent years. As a significant component of systemic epidemiology, metabolomics provides insights into disease etiology from the perspective of metabolic changes. Research questions of metabolomics include assessing the associations of metabolites with cardiometabolic diseases, discovering novel biomarkers, and constructing risk prediction models. This article reviews the applications of metabolomics in the etiological research on type 2 diabetes, cardiovascular disease, hypertension, and subclinical atherosclerosis, as well as recent advance and future perspectives.

【Key words】 Metabolomics; Cardiometabolic disease; Diabetes

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (82192901, 82192904, 82192900); Peking University Medicine Fund of Fostering Young Scholars' Scientific and Technological Innovation (BMU2022PY014)

一、背景

心血管代谢疾病包括冠心病(coronary heart disease, CHD)、脑卒中、高血压等心血管疾病(cardiovascular

disease, CVD)和糖尿病等代谢性疾病,在世界范围内造成沉重的疾病负担^[1]。代谢组学是利用高通量分析技术对生物体内小分子代谢物进行定性和定量研究,能同时检测生

DOI:10.3760/cma.j.cn112338-20220614-00531

收稿日期 2022-06-14 本文编辑 万玉立

引用格式:程思,庞元捷,吕筠,等.代谢组学在心血管代谢疾病病因研究中的应用进展[J].中华流行病学杂志,2023,44(1):157-164. DOI:10.3760/cma.j.cn112338-20220614-00531.

Cheng S, Pang YJ, Lyu J, et al. A metabolomic approach to investigate the etiology of cardiometabolic diseases: recent advances and applications[J]. Chin J Epidemiol, 2023, 44(1):157-164. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20220614-00531.



物样本(体液、细胞和组织等)中数百至数千种代谢中间产物与终产物,主要包括糖类、有机酸、氨基酸、脂类和酰基肉碱等。相较于针对少数代谢物的研究,代谢组学能全面描述与疾病相关的代谢特征,体现疾病复杂的代谢变化,进行病因机制探索。

近年来,代谢组学在心血管代谢疾病的病因研究中应用广泛,其主要研究问题:①全面分析代谢标志物与疾病的关联,为阐明疾病发生发展的病因和机制提供线索,可结合遗传分析方法(如孟德尔随机化)探究代谢物与疾病是否存在因果关联;②发现新型代谢标志物,探索其对心血管代谢疾病预防、早期诊断和预后评估的重要价值;③构建含代谢标志物的心血管代谢疾病风险预测模型,探究能否改善疾病风险分层和风险预测能力,评价模型的实际意义和应用价值。

代谢组学流行病学病因研究的研究设计、检测技术和统计分析方法已在既往综述中得到详细介绍^[2]。常用的检测技术包括核磁共振和质谱,质谱常与液相色谱和气相色谱等分离技术联合使用。代谢组学分析平台可分为非靶向和靶向两类:非靶向代谢组学是对样品中所有可测量代谢物进行测量,利于发现新型生物标志物;靶向代谢组学则是对一组感兴趣的代谢物进行定量测量,用于研究特定通路代谢物与疾病的关联。

解读代谢组学研究结果需要注意 3 点:①当存在样本量不足、未校正多重检验的错误发现率和模型过度拟合等情况时,结果可能受偶然性影响^[3];②需要识别研究在设计、实施和结果解读阶段存在的偏倚;③在确保研究内部真实性良好的基础上,外推研究结论需要注意年龄、性别和种族等因素可能的效应修饰作用。基于以上考虑,两阶段研究设计更能保证结果的稳健性和可重复性:第一阶段发现与疾病相关的代谢物,第二阶段在内部或外部人群中验证第一阶段发现的关联。两阶段可以使用相同的检测平台,通常为靶向检测平台,进行精确定量检测;也可以在第一阶段利用非靶向平台进行无偏分析,发现关联并提出病因假说,第二阶段利用靶向分析验证假说。

本文检索了 PubMed、Embase 和中国知网近十年基于成年人血清或血浆样本的代谢组学研究,从碳水化合物和糖代谢相关标志物、氨基酸、脂类和酰基肉碱等物质类别出发,分别介绍代谢组学在心血管、代谢疾病[包括 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)、高血压、动脉粥样硬化性疾病和出血性卒中]病因研究中的应用进展,并对代谢组学在心血管代谢疾病病因研究的应用提出展望。

二、代谢组学在 T2DM 病因研究中的应用

前瞻性代谢组学研究发现多种与 T2DM 相关的标志物,包括碳水化合物和糖代谢相关标志物、氨基酸、脂类和酰基肉碱等。代表性前瞻性研究概述见表 1。

1. 碳水化合物和糖代谢相关标志物:血糖是 T2DM 的已知危险因素,己糖(葡萄糖、甘露糖)水平与 T2DM 的强正性关联在前瞻性代谢组学研究中得到证实。一项前瞻性研

究发现葡萄糖和甘露糖分别与 T2DM 呈正相关^[12]。欧洲癌症和营养前瞻性调查(European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition, EPIC)一波茨坦(Potsdam)队列发现己糖与 T2DM 发病风险升高相关,结果在奥格斯堡地区合作健康研究(Cooperative Health Research in the Region of Augsburg, KORA)中得到验证^[6]。此外,基于地中海饮食预防临床试验(Prevención con Dieta Mediterránea, PREDIMED)的巢式病例对照代谢组学研究发现一组糖酵解、糖异生和三羧酸循环代谢物与 T2DM 发病风险升高相关,包括单磷酸己糖、丙酮酸、乳酸、丙氨酸、甘油-3 磷酸酯和异柠檬酸盐,提示相关糖代谢通路与 T2DM 病因机制存在关联^[13]。代谢组学还发现从饮食中获得的外源性糖类与 T2DM 相关。EPIC-Potsdam 队列使用非靶向代谢组学分析,发现常用作甜味剂的糖醇(甘露醇或麦芽糖醇)与 T2DM 发病风险降低相关^[14]。与之相反,社区动脉粥样硬化风险研究(Atherosclerosis Risk in Communities, ARIC)的非靶向代谢组学分析发现食品添加剂赤藓糖醇与 T2DM 发病风险升高相关^[15]。研究还发现海藻糖(一种广泛用于食品工业的天然双糖)与 T2DM 发病风险升高有关^[12,15]。

2. 氨基酸:已有研究发现并验证了 3 种支链氨基酸(branched-chain amino acid, BCAA)和 2 种芳香族氨基酸(aromatic amino acid, AAA)与 T2DM 的正性关联,提示氨基酸代谢受损可能为 T2DM 发病的潜在原因^[4,5,15]。2020 年发表的荟萃分析纳入 18 个前瞻性研究的 53 487 名成年人,结果显示,BCAA 中异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸每升高 1 个标准差,T2DM 发病风险分别升高 35%、40% 和 26%;AAA 中酪氨酸和苯丙氨酸每升高 1 个标准差,T2DM 发病风险分别升高 35% 和 18%^[16],然而,KORA 队列未发现这 5 种氨基酸与糖耐量受损(impaired glucose tolerance, IGT)的关联^[17],上述氨基酸与 T2DM 和 IGT 的关联存在差异,可能因为氨基酸代谢变化发生在 T2DM 进展后期,即从糖尿病前期至 T2DM 转变的阶段。孟德尔随机化研究提示 BCAA 与 T2DM 发病风险存在因果关联,而较高的 BCAA 水平与胰岛素抵抗可能不存在因果关联,胰岛素抵抗增加反而会驱动循环 BCAA 水平升高^[18-19]。除 BCAA 和 AAA 外,丙氨酸和谷氨酸分别与 T2DM 发病风险呈正相关^[4,5,12-13],甘氨酸、丝氨酸、谷氨酰胺和天冬酰胺分别与 T2DM 发病风险呈负相关^[4,6,15,20]。此外,弗雷明汉后代研究(Framingham Offspring Study, FHS Offspring)发现与 T2DM 发病风险升高相关的新型生物标志物 2-氨基己二酸,结果在马尔默饮食与癌症研究(Malmö Diet and Cancer Study)中得到验证,这种标志物是维持葡萄糖稳态的潜在调节剂,其浓度升高可能反映早期胰岛素抵抗的代偿性胰岛素分泌增加^[21]。

3. 脂类:代谢组学研究较多的脂类包括甘油酯、脂肪酸(fatty acid, FA)、甘油磷脂和鞘脂等。对于甘油酯,已有研究发现三酰基甘油(triacylglycerol, TAG)与 T2DM 存在关联^[5,22-23]。Rhee 等^[22]在 FHS Offspring 的 189 对 T2DM 病例和匹配对照中开展脂质组分析,发现低碳数和双键含量的

表 1 代谢组学与 2 型糖尿病的代表性前瞻性研究概述

研究人群	样本量 ^a	阳性发现
YFS(芬兰)、FINRISK-1997(芬兰)、DILGOM(芬兰)、NFBC(芬兰) ^[4]	392/11 896	①糖代谢相关:乳酸 [↑] 、甘油 ^{b↑} ;②氨基酸:异亮氨酸 ^{b↑} 、亮氨酸 ^{b↑} 、缬氨酸 [↑] 、苯丙氨酸 ^{b↑} 、酪氨酸 [↑] 、丙氨酸 [↑] 、谷氨酰胺 [↓] ;③脂类:总脂肪酸 ^{b↑} 、SFA [↑] 、MUFA ^{b↑} 、PUFA ^{b↓} 、n-6 FA ^{b↓} 、亚油酸 ^{b↓} 、脂肪酸不饱和度 [↓] 、TAG ^{b↑} 、TAG/磷酸甘油酯 ^{b↑} 、载脂蛋白 B ^{b↑} 、载脂蛋白 A1 [↓] 、载脂蛋白 B/载脂蛋白 A1 ^{b↑} 、VLDL 颗粒直径 ^{b↑} 、HDL 颗粒直径 ^{b↓} ;④其他:GlycA ^{b↑}
CKB(中国) ^[5]	882/1 645	①碳水化合物和糖代谢相关:葡萄糖 [↑] 、乳酸 [↑] ;②氨基酸:丙氨酸 [↑] 、谷氨酰胺 [↑] 、异亮氨酸 [↑] 、亮氨酸 [↑] 、缬氨酸 [↑] 、苯丙氨酸 [↑] 、酪氨酸 [↑] ;③脂类:极大 HDL 颗粒 [↓] 、大 HDL 颗粒 [↓] 、小 HDL 颗粒 [↑] 、HDL 颗粒直径 [↓] 、极大 VLDL 颗粒 [↑] 、大 VLDL 颗粒 [↑] 、中等 VLDL 颗粒 [↑] 、小 VLDL 颗粒 [↑] 、VLDL 颗粒直径 [↑] 、22:6 DHA [↓] 、n-3 FA [↓] 、n-6 FA [↑] 、18:2 亚油酸 [↑] 、MUFA [↑] 、SFA [↓] ;④其他:β-羟基丁酸 [↑] 、乙酰乙酸 [↑]
EPIC-Potsdam(德国)、KORA(德国) ^[6]	800/2 282 91/876	①碳水化合物:己糖 ^{b↑} ;②氨基酸:苯丙氨酸 [↑] 、甘氨酸 [↓] ;③脂类:二酰基磷脂酰胆碱 C32:1、C36:1、C38:3、C40:5 [↑] 、SM C16:1 [↓] 、酰基-烷基磷脂酰胆碱 C34:3、C40:6、C42:5、C44:4、C44:5 [↓] 、LPC C18:2 [↓]
EPIC(8 个欧洲国家) ^[7]	12 132/27 296	脂类:偶链 SFA(肉豆蔻酸 C14:0、棕榈酸 C16:0 和硬脂酸 C18:0) [↑] 、奇链 SFA(C15:0、C17:0) [↑] 、长链 SFA(C20:0、C22:0、C23:0 和 C24:0) [↑]
ULSAM(瑞典)、TwinGene(瑞典)、PIVUS(瑞典)、KORA(德国) ^[8]	78/1 138 122/1 630 70/970 88/855	①氨基酸和短肽:L-酪氨酸 ^{b↑} 、γ-谷氨酰亮氨酸 ^{b↑} ;②脂类:MAG(18:2) ^{b↑} 、LPC/PC(O-16:1/0:0) ^{b↓} 、SM(33:1) ^{b↓} 、SM(d18:2/18:1) ^{b↓} 、SM(34:2) ^{b↓} 、LPC(20:2) ^{b↓} 、神经酰胺磷酸乙醇胺(38:2) ^{b↓} 、PC(42:7) ^{b↓} ;③酰基肉碱:2-甲基丁酰肉碱 ^{b↑} ;④其他:皮质醇 ^{b↓} 、Barogenin ^b (二羟基胆汁酸/醇类衍生物) [↑] 、脱氧胆酸 ^{b↑}
DFTJ(中国)、JSNCD(中国) ^[9]	1 039/2 078 520/1 040	①氨基酸:丙氨酸 ^{b↑} 、苯丙氨酸 ^{b↑} 、酪氨酸 ^{b↑} ;②酰基肉碱:棕榈酰肉碱 ^{b↑}
NHAPC(中国) ^[10]	529/1 974	脂类:Cer(d18:1/18:1) [↑] 、Cer(d18:1/20:0) [↑] 、Cer(d18:1/20:1) [↑] 、Cer(d18:1/22:1) [↑] 、SM C34:0 [↑] 、SM C36:0 [↑] 、SM C38:0 [↑] 、SM C40:0 [↑] 、SM C34:1 [↑] 、SM C36:1 [↑] 、SM C42:3 [↑] 、SM(20H) C34:1 [↑] 、SM(OH) C38:3 [↑] 、己糖基神经酰胺(d18:1/20:1) [↑]
NHAPC(中国) ^[11]	507/2 103	酰基肉碱:游离肉碱 C0 [↑] 、丙二酰基肉碱 C3DC [↑] 、中链酰基肉碱(C8:1、C10、C14OH 和 C14:1OH) [↑] 、长链酰基肉碱(C16:1、C16:2、C18、C18OH、C18:1、C18:2、C20、C20:4) [↑] 、肉碱前体(3-脱羟肉碱和 3-脱氢肉碱) [↓] 、中链二羧酰基肉碱(C10DC 和 C12DC) [↓] 、C12 酰基肉碱(C12、C12OH 和 C12:1) [↓]

注:^a病例数/总人数;^b外部验证;↑表示代谢物与 2 型糖尿病发病风险升高相关,↓表示代谢物与 2 型糖尿病发病风险降低相关

TAG 与 T2DM 发病风险升高有关,而高碳数和双键含量的 TAG 与 T2DM 发病风险降低有关。基于男性代谢综合征队列(Metabolic Syndrome in Men, METSIM)的巢式病例对照研究发现 TAG(17:1/18:1/18:2)与 T2DM 发病风险降低相关^[23]。此外,在瑞典和德国的 4 个队列的 4 593 名成年人中, Fall 等^[8]发现单酰基甘油(monoacylglycerol, MAG)(18:2)与 T2DM 发病风险升高相关。

特定类型的脂肪酸与 T2DM 的关联可能存在种族异质性。基于欧洲地区和中国人群的研究发现单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acid, MUFA)与 T2DM 发病风险升高相关,多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)中的 n-3 FA 与 T2DM 发病风险降低有关^[4,5,24]。然而,PUFA 中的 n-6 FA 和亚油酸与 T2DM 发病风险的关联在欧洲地区和中国人群中结论不一致,在芬兰 METSIM 研究和 4 个欧洲地区大型队列中呈负相关^[4,24],而在中国慢性病前瞻性研究(China Kadoorie Biobank, CKB)和新加坡华人健康研究(Singapore Chinese Health Study, SCHS)中呈正相关^[5,25]。饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA)与 T2DM 发病风险的关联也存在不一致的结果,在芬兰研究中呈正相关^[4,24],而在 CKB 中呈负相关^[5]。对特定脂肪酸的分析发现 SFA 与 T2DM 的关联因碳链原子数不同而异。基于 EPIC 8 个国家的病例队列研究发现偶链 SFA 与 T2DM 发病风险呈正相

关,而奇链 SFA 和长链 SFA 与 T2DM 发病风险呈负相关^[7]。这种关联在种族间是否具有差异有待进一步研究。

代谢组学研究还发现甘油磷脂和鞘脂与 T2DM 的关联。EPIC-Potsdam 的靶向代谢组研究发现血清二酰基磷脂酰胆碱与 T2DM 发病风险升高相关,鞘磷脂(sphingomyelin, SM) C16:1、酰基-烷基磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱(lysophosphatidylcholine, LPC) C18:2 与 T2DM 发病风险降低相关^[6];非靶向代谢组学研究发现 LPC(dm 16:0)和磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)(O-20:0/O-20:0)与 T2DM 发病风险降低相关^[14]。在这些阳性发现中,LPC(18:2)与 T2DM 的负性关联在 METSIM 和 KORA 研究中得到了验证,值得重点关注^[17,23]。KORA 研究还发现 LPC(18:2)是 IGT 的预测因子,体现糖尿病前期的代谢变化,结果在 EPIC-Potsdam 研究中得到验证^[17]。在中国人群研究中, SCHS 队列结合非靶向和靶向分析发现溶血磷脂酰肌醇(lysophosphatidylinositol, LPI)与 T2DM 发病风险呈正相关,其中 LPI 16:1 可能反映 T2DM 早期的胰岛素抵抗,有望作为中国人群的 T2DM 早期预测因子^[25-26]。中国老龄人口营养健康状况调查(Nutrition and Health of Aging Population in China, NHAPC)靶向检测了 1 974 名研究对象基线血浆中的 76 种鞘脂,发现神经酰胺、己糖基神经酰胺、羟基鞘磷脂、饱和与不饱和 SM 与 T2DM 发病风险升高相关^[10]。

4. 酰基肉碱:酰基肉碱的形成与FA氧化代谢有关,可以促进FA进入线粒体进行β氧化,长链酰基肉碱的循环水平升高可能反映FA的β氧化途径中断和线粒体功能障碍^[27]。此外,BCAA分解代谢也会产生特定种类的短链酰基肉碱^[28]。PREDIMED临床试验研究在CVD高风险人群中发现短链和长链酰基肉碱与T2DM发病风险呈正相关^[29]。糖尿病预防计划临床试验研究在T2DM高风险人群中发现丙酰肉碱与T2DM发病风险呈正相关^[20]。在中国人群中,NHAPC研究发现长链酰基肉碱与T2DM发病风险升高相关^[11];东风-同济队列和江苏非传染性队列的荟萃分析发现棕榈酰肉碱(一种长链酰基肉碱)与T2DM发病风险升高相关,棕榈酰肉碱有望成为中国人群的T2DM新型代谢标志物^[9]。尽管酰基肉碱与T2DM发病机制的关联尚不明确,上述发现为T2DM的病因学研究提供新的线索。

三、代谢组学在心血管疾病病因研究中的应用

前瞻性代谢组学研究发现多种与心血管疾病相关的标志物,包括碳水化合物和糖代谢相关标志物、氨基酸、脂类和酰基肉碱等,有助于深入研究CVD的发病机制(表2)。

1. 碳水化合物和糖代谢相关标志物:Mardinoglu等^[36]的研究显示,甘露糖与冠心病和心肌梗死发病风险均呈正相关。Würtz等^[30]的研究显示,乳酸和丙酮酸盐与心血管事件发生风险呈正相关。Vaarhorst等^[37]的研究显示,包含葡萄糖、柠檬酸盐、1,5-无水山梨糖醇等13个代谢物组成的评分与CHD发病风险呈正相关。除上述前瞻性研究外,早期的小样本临床试验研究发现运动负荷诱导心肌缺血和计划性心肌梗死(planned myocardial infarction)引起外周血的糖代谢相关标志物(主要包括糖酵解途径、磷酸戊糖途径、三羧

酸循环等碳水化合物)代谢失衡^[38-39]。然而,这些代谢物在CVD病因学中的作用尚不明确。

2. 氨基酸:基于核磁共振靶向代谢组学平台的前瞻性研究发现BCAA和AAA与CVD发病风险也存在关联。妇女健康研究在27 041名美国女性中发现异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸与CVD发病风险呈正相关,其中异亮氨酸和亮氨酸也与心肌梗死发病风险呈正相关^[40]。FINRISK研究发现苯丙氨酸和酪氨酸与CVD发病风险呈正相关,随后在13 441名成年人的荟萃分析中验证了苯丙氨酸与CVD发病风险的正性关联^[30]。CKB研究在4 662名中国成年人中发现异亮氨酸和亮氨酸与缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)发病风险呈正相关,但未发现BCAA与出血性脑卒中(intracerebral hemorrhage, ICH)发病风险的关联^[35]。上述证据表明BCAA分解代谢障碍可能与CVD发病风险相关,其潜在机制可能为促进血小板活化和动脉血栓生成^[41]。此外,也有研究显示,丙氨酸、精氨酸、谷氨酰胺与CVD发病风险存在正性关联^[31-32,42],组氨酸、谷氨酰胺与CVD发病风险存在负性关联^[32,35]。

3. 脂类:代谢组学研究发现胆固醇酯(cholesterol ester, CE)、甘油酯、脂蛋白亚类、脂肪酸、甘油磷脂和鞘脂与CVD发病风险的关联。甘油酯和CE是CVD的传统危险因素。Stegemann等^[43]用质谱靶向分析Bruneck研究685名成年人空腹血浆中的135种脂类,发现TAG(54:2)和CE(16:1)与CVD发病风险升高相关。MAG与TAG的合成分解代谢密切相关,Ganna等^[33]在3个瑞典队列共3 668名研究对象中采用质谱非靶向代谢组学分析,发现并验证了MAG(18:2)与CHD发病的正性关联,孟德尔随机化分析提示MAG

表2 代谢组学与心血管疾病(CVD)的代表性前瞻性研究概述

研究人群	样本量 ^a	阳性发现
FINRISK(芬兰)、 SABRE(英国)、 BWHHS(英国) ^[30]	800/7 256 573/2 622 368/3 563	①糖代谢相关:乳糖↑、丙酮酸↑;②氨基酸:苯丙氨酸 ^b ↑、酪氨酸↑;③脂类:TAG↑、VLDL颗粒↑、IDL颗粒↑、LDL颗粒↑、大HDL颗粒↓、中等LDL颗粒↓、HDL颗粒直径↓、载脂蛋白A1↓、载脂蛋白B↑、n-3 FA↓、n-6 FA ^b ↓、DHA ^b ↓、PUFA ^b ↓、MUFA ^b ↑、FA不饱和度↓;④其他:β-羟基丁酸↓、GlycA↑
KORA S4(德国)、 KORA S2(德国)、 AGES-REFINE(冰岛) ^[31]	67/1 342 112/661 87/254	①氨基酸:精氨酸 ^b ↑;②脂类:LPC(17:0) ^b ↓、LPC(18:2) ^b ↓
WHI-OS(美国)、 WHI-HT(美国)、 PREDIMED(西班牙) ^[32]	472/944 312/627 230/980	①氨基酸:谷氨酸 ^{b,c} ↑、谷氨酰胺 ^c ↓;②氧化脂类和单磷酸胞苷:C34:2羟基磷脂酰胆碱 ^{b,c} ↑、C36:4羟基磷脂酰胆碱 ^{b,c} ↑、5-羟基二十碳四烯酸 ^c ↑、15-羟基二十碳四烯酸 ^c ↑、单磷酸胞苷 ^c ↑
ULSAM(瑞典)、 TwinGene(瑞典)、 PIVUS(瑞典) ^[33]	131/1 028 282/1 670 970 ^d	脂类:LPC(18:1) ^b ↓、LPC(18:2) ^b ↓、MAG(18:2) ^b ↑、SM(28:1) ^b ↓
新加坡前瞻性研究计划(新加坡) ^[34]	152/2 627	脂类:单己糖基神经酰胺↑、长链鞘脂C16-C18↑、鞘脂18:1↑、己糖基神经酰胺(d18:1/C16:0, d18:1/C18:0, d18:2/C24:0)↑、二己糖基神经酰胺(d18:2/C16:0)↑、SM(d18:1/C16:0, d18:1/C18:0, d18:1/C24:0, d18:2/C18:0)↑
CKB(中国) ^[35]	3 196/4 662	代谢物与心肌梗死:①糖代谢相关:葡萄糖↑;②氨基酸:谷氨酰胺↓、组氨酸↓;③脂类:VLDL颗粒↑、IDL颗粒↑、LDL颗粒↑、极大HDL颗粒↓、大HDL颗粒↓、中等HDL颗粒↓、VLDL颗粒平均粒径↑、HDL颗粒平均粒径↓、载脂蛋白A1↓、载脂蛋白B↑、载脂蛋白B/载脂蛋白A1↑、总FA↑、DHA↓、MUFA↑;④其他:β-羟基丁酸↑、GlycA↑、肌酐↑、白蛋白↓(脂蛋白亚类水平与IS和心肌梗死的关联基本一致,未发现脂蛋白亚类与ICH的关联)

注:^a病例数/总人数;^b外部验证;^c内部验证;↑表示代谢物与CVD发病风险升高相关,↓表示代谢物与CVD发病风险降低相关;^d病例数未报告

(18:2)与CHD发病可能存在因果关联。

基于核磁共振代谢组学平台的研究分析了脂蛋白亚类与CVD的关联。FINRISK研究发现VLDL、IDL、LDL脂蛋白颗粒水平与心血管事件发生风险呈正相关,大HDL和中等HDL脂蛋白颗粒水平与心血管事件发生风险呈负相关,HDL脂蛋白颗粒直径与心血管事件发生风险呈负相关^[30]。CKB队列发现14种脂蛋白亚类水平与心肌梗死和IS的关联基本一致,但未发现与ICH的关联。其中VLDL和LDL脂蛋白颗粒水平与心肌梗死和IS发病风险均呈正相关,IDL脂蛋白颗粒浓度与心肌梗死发病风险呈正相关。除了小HDL,其余直径的HDL脂蛋白颗粒浓度均与心肌梗死发病风险呈负相关^[35]。

对于非酯化游离脂肪酸,Würtz等^[30]基于芬兰和英国3个前瞻性队列的研究发现MUFA与心血管事件发生风险升高有关,而PUFA中n-6 FA、二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA, 一种n-3 FA)与心血管事件发生风险降低有关。基于6个英国前瞻性队列23 518名成年人的荟萃分析支持上述结果^[44]。ARIC研究还发现十四烷二酸盐和十六烷二酸盐(两种SFA)与IS发病风险升高相关,结果在外部人群中得到验证^[45]。在中国人群中,CKB研究结果支持Würtz等^[30]的发现,但发现SFA与IS发病风险降低相关。

Ward-Caviness等^[31]的研究发现LPC(17:0)和LPC(18:2)与心肌梗死发病风险降低相关。与之一致,Ganna等^[33]的研究发现LPC(18:1)、LPC(18:2)与CHD发病风险降低相关,但孟德尔随机化研究提示上述发现可能不是因果关联。与上述两个研究结果相反,Floegel等^[46]的研究结果显示,二酰基磷脂酰胆碱和酰基-烷基磷脂酰胆碱与心肌梗死发病风险升高相关。Stegemann等^[43]的研究结果显示,磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)(36:5)与CVD发病风险呈正相关^[43],Zheng等^[47]的研究结果显示,一组包括甘油磷脂酰胆碱和甘油磷脂酰乙醇胺的LPC评分与CHD发病风险呈正相关^[47]。已有研究显示,SM和羟基鞘磷脂与CVD发病风险存在关联,其中SM 28:1与CHD发病风险降低相关^[33],羟基鞘磷脂C22:1和SM C16:0、C16:1、C24:0与心肌梗死发病风险升高相关^[46]。对于其他类型的鞘脂,基于2 627名新加坡华人的前瞻性研究发现单己糖基神经酰胺、长链鞘脂C16-C18和鞘脂18:1与心肌梗死、脑卒中和CVD死亡等主要不良心血管事件(major adverse cardiovascular events, MACE)发生风险呈正相关^[34]。Mundra等^[48]分析了5 991名CHD患者空腹血浆的342种脂类,发现单己糖基神经酰胺、鞘磷脂、磷脂酰丝氨酸与MACE发生风险升高相关,三己糖基神经酰胺与CVD死亡风险升高相关,结果在另一队列中得到部分验证,体现特定类型的神经酰胺在CVD二级预防中的预测作用。

4. 酰基肉碱:代谢组学研究发现酰基肉碱与CVD发病、复发和死亡风险有关。PREDIMED研究在980名CVD高风险人群中靶向分析28种酰基肉碱,发现短链、中链酰基肉

碱评分与CVD事件发生风险呈正相关,提示酰基肉碱相关代谢途径可能与CVD发展相关^[49]。Shah等^[50]在2 023名接受诊断性心导管插入术的疑似CHD患者中,发现长链和短链二酰基酰基肉碱均与心肌梗死发病风险或死亡风险升高相关。Rizza等^[42]在67名患有代谢性疾病或CVD的老年患者中,发现中链酰基肉碱与MACE复发呈正相关,并在弗雷明汉复发性CHD评分基础上提高了模型的预测能力。

四、代谢组学在其他心血管代谢疾病病因研究中的应用

除T2DM和CVD外,前瞻性研究还报道了高血压和亚临床动脉粥样硬化的代谢标志物。EPIC-Potsdam队列发现丝氨酸、甘氨酸和酰基烷基磷脂酰胆碱均与高血压发病风险呈负相关,二酰基磷脂酰胆碱与高血压发病风险呈正相关^[51]。基于瑞典老年人队列的纵向研究发现神经酰胺(ceramide, Cer)(d18:1, C24:0)、TAG(C16:0, C16:1)和总甘油酯与DBP变化呈正相关,胆固醇C16:0与DBP变化呈负相关^[52]。对于亚临床动脉粥样硬化,基于1 595名芬兰成年人的前瞻性研究发现酪氨酸和谷氨酰胺与颈动脉内膜中层厚度(carotid intima-media thickness, cIMT)(cIMT \geq P₉₀)或颈动脉斑块出现有关;小VLDL颗粒、IDL颗粒和LDL颗粒与高cIMT或斑块出现呈正相关,而大HDL颗粒和中等HDL颗粒呈负相关^[53]。然而,除上述前瞻性证据以外,大多数研究基于病因推断级别较低的横断面研究,且仍缺乏来自中国的前瞻性研究证据。

五、思考与展望

1. 病因机制探索:代谢组学研究可以发现与心血管代谢疾病相关的代谢变化和新型生物标志物,为探索复杂疾病的潜在病因机制提供强有力的工具。目前广泛发现并验证的代谢物具有最大潜力,例如BCAA、苯丙氨酸和特定种类的甘油酯(TAG、MAG等)可能参与T2DM和CVD共同的病理生理学机制。甘油磷脂类(PC、PE、LPC、LPI等)和鞘脂类(SM、神经酰胺等)种类繁多,相关通路和心血管代谢疾病的关联有待进一步研究验证。部分代谢物与疾病的关联可能存在人群异质性,例如PUFA和SFA与T2DM发病风险的关联在欧洲及美洲和亚洲人群中不一致。未来,对相关机制的深入研究将有助于实现疾病的精准预防。

近期研究还发现肠道微生物相关代谢物、炎症与氧化应激标志物与心血管代谢疾病的关联,有望阐明疾病机制的新研究假说和生物学途径。三甲胺-N-氧化物(trimethylamine-N-oxide, TMAO)由膳食中的甜菜碱、胆碱和左旋肉碱经肠道微生物和肝脏转化产生。对前瞻性研究的荟萃分析发现TMAO与MACE发生风险和全因死亡风险均呈正相关,提示膳食和肠道微生物可能在CVD病因中发挥作用^[54]。基于核磁共振代谢组学平台的前瞻性研究发现慢性炎症标志物糖蛋白乙酰基(glycoprotein acetyls, GlycA)与T2DM和CVD发病风险的正性关联,并有望作为年轻人心血管代谢疾病早期风险预测的新型标志物^[4,30]。此外,妇女健康倡议(Women's Health Initiative, WHI)研究发现5种脂

类的氧化产物与 CHD 发病风险呈正相关, 结果在 PREDIMED 研究中得到验证, 提示氧化应激在 CHD 病因机制中的潜在作用^[32]。

2. 研究局限性: 代谢组学在心血管代谢疾病病因研究中具有重要的应用潜力, 然而, 目前研究还存在一定的局限性。首先, 代谢组学分析方法往往不能兼顾灵敏度、特异度、检测通量和覆盖率, 需要权衡研究的分析目的和成本, 选择合适的分析方法或者结合使用多种分析方法^[55-56]。第二, 需要制定代谢组学的样品采集、储存、处理和检测分析的标准化方案, 有利于研究的质量控制和数据共享^[56]。第三, 代谢物与高血压和亚临床动脉粥样硬化的关联尚缺乏前瞻性研究证据, 因果推断的证据强度受限。最后, 现有的代谢组学研究多集中于欧美地区, 研究发现是否能推广至中国人群仍有待研究。中国人群具有独特的心血管代谢疾病谱和危险因素, 如出血性脑卒中比例较高, T2DM 易感性较高等^[57-59]。未来, 亟需更多的中国代谢组学研究发现疾病代谢标志物, 改善疾病的预防与管理。

3. 应用前景: 代谢组学研究发现的新型生物标志物不仅有助于理解病因机制, 还有望改善疾病的风险预测, 具有公共卫生意义。目前已开发多种与心血管代谢疾病一级预防和二级预防相关的代谢物评分, 在传统危险因素模型的基础上提升了对疾病风险的区分度^[11, 37, 60]。近期研究还开发了基于血液和尿液代谢物的代谢年龄评分, 用于反映生物学年龄和衰老进程, 预测多种临床结局和死亡的风险^[61]。尽管仍需要外部验证, 代谢标志物预测模型提示代谢组学在改善疾病早期识别、改进患者风险分层和开发精准医疗工具方面具有广阔的发展前景。

代谢组学从代谢改变的视角提供了病因探索的新思路, 然而, 人体的代谢通路和慢性病的病因机制均具有复杂多变的特点。未来, 代谢组学与其他组学的整合将有助于对复杂疾病病因机制的深入理解。如, 代谢组学和基因组学的整合可以揭示生物标志物与疾病的因果关联^[62]。孟德尔随机化利用全基因组关联分析发现的代谢物遗传变异位点, 可以分析代谢物与疾病的潜在因果关联。利用孟德尔随机化分析, 已有研究分别发现 Cer (d18: 1/20: 1) 和 Cer 22: 0 升高与 T2DM 发病风险升高存在因果关联^[10, 63]。多组学的整合体现系统流行病学的思想, 多层面、多水平系统整合研究证据, 有望揭示心血管代谢疾病的复杂病因网络^[64]。

综上所述, 代谢组学可以全面评估人体代谢物与心血管代谢疾病的关联, 识别关键代谢标志物和代谢途径, 为理解疾病病因提供新的思路, 有助于促进疾病的早期预防、早期诊断、风险预测和精准医疗。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

[1] GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. *Lancet*, 2020,

396(10258): 1204-1222. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30925-9.

[2] 杭栋, 沈洪兵. 代谢组流行病学研究进展[J]. *中华流行病学杂志*, 2021, 42(7): 1148-1153. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20210413-00310.

Hang D, Shen HB. Progress in metabolomics epidemiology [J]. *Chin J Epidemiol*, 2021, 42(7): 1148-1153. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20210413-00310.

[3] Ransohoff DF. Bias as a threat to the validity of cancer molecular-marker research[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(2): 142-149. DOI:10.1038/nrc1550.

[4] Ahola-Olli AV, Mustelin L, Kalimeri M, et al. Circulating metabolites and the risk of type 2 diabetes: a prospective study of 11, 896 young adults from four Finnish cohorts [J]. *Diabetologia*, 2019, 62(12): 2298-2309. DOI: 10.1007/s00125-019-05001-w.

[5] Bragg F, Kartsonaki C, Guo Y, et al. Circulating metabolites and the development of type 2 diabetes in Chinese adults [J]. *Diabetes Care*, 2022, 45(2): 477-480. DOI: 10.2337/dc21-1415.

[6] Floegel A, Stefan N, Yu Z, et al. Identification of serum metabolites associated with risk of type 2 diabetes using a targeted metabolomic approach[J]. *Diabetes*, 2013, 62(2): 639-648. DOI: 10.2337/db12-0495.

[7] Forouhi NG, Koulman A, Sharp SJ, et al. Differences in the prospective association between individual plasma phospholipid saturated fatty acids and incident type 2 diabetes: the EPIC-InterAct case-cohort study[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2014, 2(10): 810-818. DOI: 10.1016/S2213-8587(14)70146-9.

[8] Fall T, Salihovic S, Brandmaier S, et al. Non-targeted metabolomics combined with genetic analyses identifies bile acid synthesis and phospholipid metabolism as being associated with incident type 2 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2016, 59(10): 2114-2124. DOI: 10.1007/s00125-016-4041-1.

[9] Qiu G, Zheng Y, Wang H, et al. Plasma metabolomics identified novel metabolites associated with risk of type 2 diabetes in two prospective cohorts of Chinese adults[J]. *Int J Epidemiol*, 2016, 45(5): 1507-1516. DOI: 10.1093/ije/dyw221.

[10] Yun H, Sun L, Wu Q, et al. Associations among circulating sphingolipids, β -cell function, and risk of developing type 2 diabetes: a population-based cohort study in China [J]. *PLoS Med*, 2020, 17(12): e1003451. DOI: 10.1371/journal.pmed.1003451.

[11] Sun L, Liang L, Gao X, et al. Early prediction of developing type 2 diabetes by plasma acylcarnitines: a population-based study [J]. *Diabetes Care*, 2016, 39(9): 1563-1570. DOI: 10.2337/dc16-0232.

[12] Peddinti G, Cobb J, Yengo L, et al. Early metabolic markers identify potential targets for the prevention of type 2 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2017, 60(9): 1740-1750. DOI: 10.1007/s00125-017-4325-0.

[13] Guasch-Ferré M, Santos JL, Martínez-González MA, et al. Glycolysis/gluconeogenesis- and tricarboxylic acid cycle-related metabolites, Mediterranean diet, and type 2 diabetes[J]. *Am J Clin Nutr*, 2020, 111(4): 835-844. DOI: 10.1093/ajcn/nqaa016.

[14] Drogan D, Dunn WB, Lin W, et al. Untargeted metabolic profiling identifies altered serum metabolites of type 2

- diabetes mellitus in a prospective, nested case control study[J]. *Clin Chem*, 2015, 61(3):487-497. DOI:10.1373/clinchem.2014.228965.
- [15] Rebholz CM, Yu B, Zheng Z, et al. Serum metabolomic profile of incident diabetes[J]. *Diabetologia*, 2018, 61(5):1046-1054. DOI:10.1007/s00125-018-4573-7.
- [16] Sun Y, Gao HY, Fan ZY, et al. Metabolomics signatures in type 2 diabetes: a systematic review and integrative analysis [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020, 105(4):1000-1008. DOI:10.1210/clinem/dgz240.
- [17] Wang-Sattler R, Yu Z, Herder C, et al. Novel biomarkers for pre-diabetes identified by metabolomics[J]. *Mol Syst Biol*, 2012, 8(1):615. DOI:10.1038/msb.2012.43.
- [18] Lotta LA, Scott RA, Sharp SJ, et al. Genetic predisposition to an impaired metabolism of the branched-chain amino acids and risk of type 2 diabetes: a mendelian randomisation analysis[J]. *PLoS Med*, 2016, 13(11):e1002179. DOI:10.1371/journal.pmed.1002179.
- [19] Mahendran Y, Jonsson A, Have CT, et al. Genetic evidence of a causal effect of insulin resistance on branched-chain amino acid levels[J]. *Diabetologia*, 2017, 60(5):873-878. DOI:10.1007/s00125-017-4222-6.
- [20] Walford GA, Ma Y, Clish C, et al. Metabolite profiles of diabetes incidence and intervention response in the diabetes prevention program[J]. *Diabetes*, 2016, 65(5):1424-1433. DOI:10.2337/db15-1063.
- [21] Wang TJ, Ngo D, Psychogios N, et al. 2-Amino adipic acid is a biomarker for diabetes risk[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(10):4309-4317. DOI:10.1172/JCI64801.
- [22] Rhee EP, Cheng S, Larson MG, et al. Lipid profiling identifies a triacylglycerol signature of insulin resistance and improves diabetes prediction in humans[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(4):1402-1411. DOI:10.1172/JCI44442.
- [23] Suviataival T, Bondia-Pons I, Yetukuri L, et al. Lipidome as a predictive tool in progression to type 2 diabetes in Finnish men[J]. *Metabolism*, 2018, 78:1-12. DOI:10.1016/j.metabol.2017.08.014.
- [24] Mahendran Y, Cederberg H, Vangipurapu J, et al. Glycerol and fatty acids in serum predict the development of hyperglycemia and type 2 diabetes in Finnish men[J]. *Diabetes Care*, 2013, 36(11):3732-3738. DOI:10.2337/dc13-0800.
- [25] Lu Y, Wang Y, Ong CN, et al. Metabolic signatures and risk of type 2 diabetes in a Chinese population: an untargeted metabolomics study using both LC-MS and GC-MS[J]. *Diabetologia*, 2016, 59(11):2349-2359. DOI:10.1007/s00125-016-4069-2.
- [26] Lu Y, Wang Y, Zou L, et al. Serum lipids in association with type 2 diabetes risk and prevalence in a Chinese population[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018, 103(2):671-680. DOI:10.1210/jc.2017-02176.
- [27] Lopaschuk GD, Ussher JR, Folmes CDL, et al. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease[J]. *Physiol Rev*, 2010, 90(1):207-258. DOI:10.1152/physrev.00015.2009.
- [28] Neinast M, Murashige D, Arany Z. Branched chain amino acids[J]. *Annu Rev Physiol*, 2019, 81:139-164. DOI:10.1146/annurev-physiol-020518-114455.
- [29] Guasch-Ferré M, Ruiz-Canela M, Li J, et al. Plasma acylcarnitines and risk of type 2 diabetes in a mediterranean population at high cardiovascular risk[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104(5):1508-1519. DOI:10.1210/jc.2018-01000.
- [30] Würtz P, Havulinna AS, Soininen P, et al. Metabolite profiling and cardiovascular event risk: a prospective study of 3 population-based cohorts[J]. *Circulation*, 2015, 131(9):774-785. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013116.
- [31] Ward-Caviness CK, Xu T, Aspelund T, et al. Improvement of myocardial infarction risk prediction via inflammation-associated metabolite biomarkers[J]. *Heart*, 2017, 103(16):1278-1285. DOI:10.1136/heartjnl-2016-310789.
- [32] Paynter NP, Balasubramanian R, Giulianini F, et al. Metabolic predictors of incident coronary heart disease in women[J]. *Circulation*, 2018, 137(8):841-853. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029468.
- [33] Ganna A, Salihovic S, Sundström J, et al. Large-scale metabolomic profiling identifies novel biomarkers for incident coronary heart disease[J/OL]. *PLoS Genet*, 2014, 10(12):e1004801. DOI:10.1371/journal.pgen.1004801.
- [34] Seah JYH, Chew WS, Torta F, et al. Plasma sphingolipids and risk of cardiovascular diseases: a large-scale lipidomic analysis[J/OL]. *Metabolomics*, 2020, 16(9):89. DOI:10.1007/s11306-020-01709-8.
- [35] Holmes MV, Millwood IY, Kartsonaki C, et al. Lipids, lipoproteins, and metabolites and risk of myocardial infarction and stroke[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 71(6):620-632. DOI:10.1016/j.jacc.2017.12.006.
- [36] Mardinoglu A, Stančáková A, Lotta LA, et al. Plasma mannose levels are associated with incident type 2 diabetes and cardiovascular disease[J]. *Cell Metab*, 2017, 26(2):281-283. DOI:10.1016/j.cmet.2017.07.006.
- [37] Vaarhorst AM, Verhoeven A, Weller CM, et al. A metabolomic profile is associated with the risk of incident coronary heart disease[J]. *Am Heart J*, 2014, 168(1):45-52.e7. DOI:10.1016/j.ahj.2014.01.019.
- [38] Sabatine MS, Liu E, Morrow DA, et al. Metabolomic identification of novel biomarkers of myocardial ischemia [J]. *Circulation*, 2005, 112(25):3868-3875. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.569137.
- [39] Lewis GD, Wei R, Liu E, et al. Metabolite profiling of blood from individuals undergoing planned myocardial infarction reveals early markers of myocardial injury[J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(10):3503-3512. DOI:10.1172/JCI35111.
- [40] Tobias DK, Lawler PR, Harada PH, et al. Circulating branched-chain amino acids and incident cardiovascular disease in a prospective cohort of US women[J/OL]. *Circ Genom Precis Med*, 2018, 11(4):e002157. DOI:10.1161/CIRCGEN.118.002157.
- [41] Xu Y, Jiang H, Li L, et al. Branched-chain amino acid catabolism promotes thrombosis risk by enhancing tropomodulin-3 propionylation in platelets[J]. *Circulation*, 2020, 142(1):49-64. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.119.043581.
- [42] Rizza S, Copetti M, Rossi C, et al. Metabolomics signature improves the prediction of cardiovascular events in elderly subjects[J]. *Atherosclerosis*, 2014, 232(2):260-264. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2013.10.029.
- [43] Stegemann C, Pechlaner R, Willeit P, et al. Lipidomics profiling and risk of cardiovascular disease in the

- prospective population-based Bruneck study[J]. *Circulation*, 2014, 129(18): 1821-1831. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.002500.
- [44] Borges MC, Schmidt AF, Jefferis B, et al. Circulating fatty acids and risk of coronary heart disease and stroke: individual participant data meta-analysis in up to 16 126 participants[J/OL]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(5): e013131. DOI:10.1161/JAHA.119.013131.
- [45] Sun D, Tiedt S, Yu B, et al. A prospective study of serum metabolites and risk of ischemic stroke[J]. *Neurology*, 2019, 92(16): e1890-1898. DOI: 10.1212/WNL.00000000000007279.
- [46] Floegel A, Kühn T, Sookthai D, et al. Serum metabolites and risk of myocardial infarction and ischemic stroke: a targeted metabolomic approach in two German prospective cohorts[J]. *Eur J Epidemiol*, 2018, 33(1): 55-66. DOI:10.1007/s10654-017-0333-0.
- [47] Zheng Y, Yu B, Alexander D, et al. Metabolomic patterns and alcohol consumption in African Americans in the Atherosclerosis Risk in Communities Study[J]. *Am J Clin Nutr*, 2014, 99(6): 1470-1478. DOI: 10.3945/ajcn.113.074070.
- [48] Mundra PA, Barlow CK, Nestel PJ, et al. Large-scale plasma lipidomic profiling identifies lipids that predict cardiovascular events in secondary prevention[J/OL]. *JCI Insight*, 2018, 3(17): e121326. DOI: 10.1172/jci.insight.121326.
- [49] 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.
- [50] 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.
- [51] Dietrich S, Floegel A, Weikert C, et al. Identification of serum metabolites associated with incident hypertension in the European prospective investigation into cancer and nutrition-potsdam study[J]. *Hypertension*, 2016, 68(2): 471-477. DOI:10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07292.
- [52] Lin YT, Salihovic S, Fall T, et al. Global plasma metabolomics to identify potential biomarkers of blood pressure progression[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(8): e227-237. DOI: 10.1161/ATVBAHA.120.314356.
- [53] Würtz P, Raiko J, Magnussen CG, et al. High-throughput quantification of circulating metabolites improves prediction of subclinical atherosclerosis[J]. *Eur Heart J*, 2012, 33(18):2307-2316. DOI:10.1093/eurheartj/ehs020.
- [54] Schiattarella GG, Sannino A, Toscano E, et al. Gut microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide as cardiovascular risk biomarker: a systematic review and dose-response meta-analysis[J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(39): 2948-2956. DOI:10.1093/eurheartj/ehx342.
- [55] Rankin NJ, Preiss D, Welsh P, et al. Applying metabolomics to cardiometabolic intervention studies and trials: past experiences and a roadmap for the future[J]. *Int J Epidemiol*, 2016, 45(5): 1351-1371. DOI: 10.1093/ije/dyw271.
- [56] Rampler E, Abiead YE, Schoeny H, et al. Recurrent topics in mass spectrometry-based metabolomics and lipidomics-standardization, coverage, and throughput[J]. *Anal Chem*, 2021, 93(1): 519-545. DOI: 10.1021/acs.analchem.0c04698.
- [57] Tsai CF, Thomas B, Sudlow CLM. Epidemiology of stroke and its subtypes in Chinese vs white populations: a systematic review[J]. *Neurology*, 2013, 81(3): 264-272. DOI:10.1212/WNL.0b013e31829bfde3.
- [58] Wulan S, Westertep K, Plasqui G. Ethnic differences in body composition and the associated metabolic profile: a comparative study between Asians and Caucasians[J]. *Maturitas*, 2010, 65(4):315-319. DOI:10.1016/j.maturitas.2009.12.012.
- [59] Ma RCW, Chan JCN. Type 2 diabetes in east Asians: similarities and differences with populations in Europe and the United States[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2013, 1281(1): 64-91. DOI:10.1111/nyas.12098.
- [60] Hilvo M, Meikle PJ, Pedersen ER, et al. Development and validation of a ceramide- and phospholipid-based cardiovascular risk estimation score for coronary artery disease patients[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(3):371-380. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz387.
- [61] 陈璐, 樊俊宁, 孙点剑, 等. 生物学年龄评价方法进展[J]. *中华流行病学杂志*, 2021, 42(9): 1683-1688. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20201210-01396.
- Chen L, Fan JN, Sun DJY, et al. Progress in research of measurements of biological age[J]. *Chin J Epidemiol*, 2021, 42(9): 1683-1688. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20201210-01396.
- [62] 庞元捷, 吕筠, 余灿清, 等. 多组学在慢性病病因学研究中的应用及其进展[J]. *中华流行病学杂志*, 2021, 42(1):1-9. DOI:10.3760/cma.j.cn112338-20201201-01370.
- Pang YJ, Lyu J, Yu CQ, et al. A multi-omics approach to investigate the etiology of non-communicable diseases: recent advance and applications[J]. *Chin J Epidemiol*, 2021, 42(1):1-9. DOI:10.3760/cma.j.cn112338-20201201-01370.
- [63] Wittenbecher C, Cuadrat R, Johnston L, et al. Dihydroceramide- and ceramide-profiling provides insights into human cardiometabolic disease etiology[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 936. DOI: 10.1038/s41467-022-28496-1.
- [64] 黄涛, 李立明. 系统流行病学[J]. *中华流行病学杂志*, 2018, 39(5):694-699. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.05.031.
- Huang T, Li LM. Systems epidemiology[J]. *Chin J Epidemiol*, 2018, 39(5): 694-699. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.05.031.