

孕前和孕哺期小鼠高脂饮食对子代肠道菌群的影响

许锐, 洪芳兰, 陈晓伟, 吴蕾蕾, 沈孝兵

东南大学, 公共卫生学院/环境医学工程教育部重点实验室, 江苏 南京 210009



DOI 10.11836/JEOM22062

摘要:

[背景] 近年来研究发现肠道菌群在各种慢性疾病的发生发展中起着重要的作用, 饮食是影响肠道菌群的重要因素。然而, 关于不同时期母体高脂饮食对子代肠道微生物影响的研究仍然有限。

[目的] 探讨母鼠孕前期和孕哺期高脂饮食对子代肠道微生物群的影响。

[方法] 根据孕前期和孕哺期给予的不同饮食(高脂饮食, HFD; 对照饮食, CD), 将 C57BL/6J 雌性小鼠分为四组, 分别是孕前对照饮食—孕哺期对照饮食组(CD-CD 组)、孕前对照饮食—孕哺期高脂饮食组(CD-HFD 组)、孕前高脂饮食—孕哺期对照饮食组(HFD-CD 组)、孕前高脂饮食—孕哺期高脂饮食组(HFD-HFD 组)。母鼠在喂养 6 周后与雄性小鼠同笼受孕, 将成功受孕的母鼠继续分为两组, 给予不同的饮食。子鼠出生后直接由母鼠母乳喂养, 每只母鼠仅哺乳 1 只子代小鼠, 最后每组子鼠数量为 6 只, 雌雄各半。监测记录后代小鼠体重, 比较各组体重增长差异。哺乳期结束后收集子鼠新鲜粪便, 提取粪便中细菌总 DNA, 根据细菌 16S rDNA(V3+V4) 序列设计特异性引物进行扩增, 接着基于 Illumina HiSeq 2500 平台进行测序, 利用 QIMME、USEARCH、R 软件对测序数据进行注释及操作分类单元(OTU) 分析并绘制物种丰度柱状图。 α 多样性分析中 ACE 和 Chao1 指数衡量菌群的物种丰富度, Shannon 和 Simpson 指数综合考量丰富度与均匀度; β 多样性分析中主坐标分析(PCoA) 和相似性分析(Anosim) 比较各组间菌群组成差异, 线性判别分析(LEfSe) 用于寻找对各组间差异影响较大的菌群。

[结果] 子鼠体重变化结果显示孕哺期的饮食对后代的影响更大, 整个实验周期内 HFD-CD 组体重最低。OTU 分析表明孕哺期高脂饮食降低了子鼠的 OTU 数量, α 多样性分析显示孕哺期高脂饮食降低了子代肠道菌群丰富度(ACE, $P < 0.05$; Chao1, $P < 0.05$), 而孕前高脂饮食的子鼠各 α 多样性指数无明显差异。不同时期的高脂饮食还导致了子鼠优势菌群的变化, 孕哺期高脂饮食增加了软壁菌门的丰度($P < 0.05$), 降低了拟杆菌门、 ϵ 菌门、蓝细菌门和脱铁杆菌门的丰度(均 $P < 0.05$); 在属水平上, 孕前和孕哺期高脂饮食都降低了乳杆菌属的丰度($P < 0.05$), 孕前高脂饮食增加了另支菌属的丰度($P < 0.05$); 而孕哺期高脂饮食增加了毛螺菌属、瘤胃菌属的丰度, 降低了 *Muribaculaceae* 菌属、螺杆菌属的丰度(均 $P < 0.05$)。 β 多样性分析结果显示 CD-CD 组与 HFD-CD 组菌群组成相似, CD-HFD 组与 HFD-HFD 组相似, Anosim 分析显示组间差异具有统计学意义($R=0.743$, $P < 0.01$)。LEfSe 分析表明各组中对差异影响贡献较大的有 CD-CD 组中乳杆菌属、CD-HFD 组中梭菌目、HFD-CD 组中拟杆菌门、螺杆菌属以及 HFD-HFD 组中布劳特氏菌属、瘤胃菌科、罗氏菌属等。

[结论] 研究发现不同时期的高脂饮食对子鼠菌群的影响存在差异。孕前期和孕哺期的高脂饮食都降低了子鼠乳杆菌的丰度, 但对其他肠道微生物如 *Muribaculaceae* 菌属、毛螺菌属、螺杆菌属等丰度的影响存在差异, 孕哺期饮食对塑造子代肠道微生物组的影响更大。

关键词: 孕前期; 孕哺期; 小鼠; 高脂饮食; 肠道菌群; 16SrRNA; 多样性分析

Effects of high-fat diet in pre-pregnancy and pregnancy-and-lactation periods on gut microbiota of offspring mice XU Rui, HONG Fanglan, CHEN Xiaowei, WU Leilei, SHEN Xiaobing (Key Laboratory of Environmental Medical Engineering of Ministry of Education/School of Public Health, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

Abstract:

[Background] In recent years gut microbiota has been found to play an important role in the occurrence and development of various chronic diseases, and diet is an important factor influencing gut microbiota. However, the effects of maternal high-fat diet in pre-pregnancy and pregnancy-

作者简介

许锐(1997—), 男, 硕士生;
E-mail: 220193576@seu.edu.cn

通信作者

沈孝兵, E-mail: Xb.shen@seu.edu.cn

伦理审批

已获取

利益冲突

无申报

收稿日期

2022-02-23

录用日期

2022-06-30

文章编号

2095-9982(2022)08-0849-07

中图分类号

R117

文献标志码

A

►引用

许锐, 洪芳兰, 陈晓伟, 等. 孕前和孕哺期小鼠高脂饮食对子代肠道菌群的影响 [J]. 环境与职业医学, 2022, 39(8): 849-855.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM22062

Correspondence to

SHEN Xiao-bing, E-mail: Xb.shen@seu.edu.cn

Ethics approval

Obtained

Competing interests

None declared

Received

2022-02-23

Accepted

2022-06-30

► To cite

XU Rui, HONG Fanglan, CHEN Xiaowei, et al. Effects of high-fat diet in pre-pregnancy and pregnancy-and-lactation periods on gut microbiota of offspring mice[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(8): 849-855.

► Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM22062

and-lactation periods on offspring gut microbiota are still unclear.

[Objective] To investigate the effects of maternal high-fat diet in pre-pregnancy and pregnancy-and-lactation periods on gut microbiota of offspring mice.

[Methods] C57BL/6J female mice were divided into four groups according to the diet patterns (high-fat diet, HFD; control diet, CD) given before and after conception, namely the pre-pregnancy control diet and post-pregnancy control diet group (CD-CD group), the pre-pregnancy control diet and post-pregnancy high-fat diet group (CD-HFD group), the pre-pregnancy high-fat diet and post-pregnancy control diet group (HFD-CD group), and the pre-pregnancy high-fat diet and post-pregnancy high-fat diet group (HFD-HFD group). Female mice were conceived in the same cage with male mice after 6 weeks of feeding, and the successfully conceived females continued to be randomly divided into two groups receiving either high-fat or control diet, and when the offspring mice were born, they were breastfed directly by the mothers, with each mother nursing only one offspring mouse. The number of offspring mice in each group was 6, with half males and half females. The body weight of offspring mice were recorded and body weight gain was compared between the four groups. After the lactational period, fresh feces of the offspring were collected, and the fecal DNA was extracted. Specific primers were designed according to the bacterial 16S rDNA(V3+V4) sequence and then the sequencing was performed using the Illumina HiSeq 2500 platform. Species annotation and operational taxonomic unit (OTU) analysis of sequencing data were conducted using QIIME, USEARCH and R software. In alpha diversity analysis, ACE and Chao1 indices were used to evaluate species richness, Shannon and Simpson indices considered both species richness and evenness. In beta diversity analysis, principal coordinates analysis (PCoA) and analysis of similarities (Anosim analyses) were used to find the differences in composition of gut microbiota between four groups, and line discriminant analysis effect size (LefSe) was conducted to identify which specific taxa contributed to the significant differences between groups.

[Results] A greater effect of post-pregnancy diet on offspring body weight was observed, and the lowest body weight was recorded in the HFD-CD group during the whole experimental period. The results of OTU analysis showed that high-fat diet during post-pregnancy period reduced the number of OTUs in offspring mice, and the results of alpha diversity analysis showed that high-fat diet during post-pregnancy period reduced the richness of intestinal flora (ACE, $P < 0.05$; Chao1, $P < 0.05$), whereas differences in the α -diversity indices did not show statistical significance in the offspring mice with pre-pregnancy high-fat diet. The high-fat diet at different periods also led to changes in the dominant intestinal flora of the offspring. The high-fat diet during post-pregnancy period increased the abundance of *Tenericutes* ($P < 0.05$), and decreased the abundance of *Bacteroides*, *Epsilonbacteraeota*, *Cyanobacteria*, and *Deferribacteres* (all $P_s < 0.05$). At the genus level, high-fat diet during both pre-pregnancy and post-pregnancy periods decreased the abundance of *Lactobacillus* ($P < 0.05$), and high-fat diet during pre-pregnancy period increased the abundance of *Alistipes* ($P < 0.05$), while high-fat diet during post-pregnancy period increased the abundance of *Lachnospira* and *Ruminococcus*, and decreased the abundance of *Muribaculaceae* and *Helicobacter* (all $P_s < 0.05$). The results of beta diversity analysis showed that the CD-CD group had a similar flora composition to the HFD-CD group, and the CD-HFD group had a similar flora composition to the HFD-HFD group, and the results of Anosim analysis showed statistically significant differences between groups ($R=0.743$, $P < 0.01$). The LefSe analysis counted all species with an effect on the differences between groups greater than the set value, which were *Lactobacillus* in the CD-CD group, *Clostridiales* in the CD-HFD group, *Bacteroidetes* and *Helicobacters* in the HFD-CD group, and *Blautia*, *Ruminococcaceae*, and *Roseburia* in the HFD-HFD group.

[Conclusion] It is found that varied effects of high-fat diet in different periods on the flora of the offspring mice. The high-fat diet during pre-pregnancy and post-pregnancy periods could reduce the abundance of *Lactobacillus*, but show different effects on the abundance of other intestinal flora such as *Muribaculaceae*, *Lachnospiraceae*, and *Helicobacter* differed. Diet during post-pregnancy period has a greater influence on modeling the offspring gut microbiota.

Keywords: pre-pregnancy; pregnancy-and-lactation period; mouse; high-fat diet; gut microbiota; 16S rRNA; analysis of diversity

肥胖是世界范围内的公共卫生难题,其发病率在发展中国家和发达国家都迅速上升,造成了重大的公共卫生挑战^[1-2]。育龄妇女的肥胖问题关系到妊娠期母体及后代健康,据估计,到2025年育龄期妇女的肥胖率将达到21%^[3]。

肠道菌群是一个复杂的动态群落,由10万亿~100万亿个微生物组成,其携带的基因约为人类基因组的100倍^[4]。作为人体中最大和最复杂的微生态系统,肠道菌群在维持机体健康和疾病发生发展中起着极其重要的作用,可通过非代谢性途径与代谢性途径影响疾病的发生与发展,与肠道菌群密切相关的疾病包括心血管疾病^[5]、肥胖^[6]、中枢神经系统疾病^[7]等。肥胖和肠道菌群的关系是近年来一个热门话题,研

究表明婴儿早期肠道内的微生物与母亲的高脂饮食摄入密切相关^[8-9],孕期母体的高脂饮食会导致胎盘炎症增加^[10]及后代肠道微生物中共生弯曲菌属丰度下降^[11],使后代出现高血压、肥胖、胰岛素抵抗等代谢性疾病的风险增加^[12-13]。然而,目前关于不同时期母体高脂饮食对子代肠道微生物影响的研究仍然有限,因此本研究拟探索母鼠围孕期的高脂饮食对子代肠道微生物群的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

3周龄雌、雄性C57BL/6J小鼠由东南大学SPF级动物实验室[合格证号:SCXK(沪)2013-0016]购买并

饲养。饲养环境温度保持在 $(22\pm 2)^{\circ}\text{C}$, 湿度 40%~70%, 12 h 光照-12 h 黑暗循环。饲养小鼠所用的高脂饲料 D12492 与对照饲料 D12450B 均购于江苏协同生物工程公司, 且经过 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照消毒。小鼠的食物和饮水充足, 保持垫料清洁, 定期更换。本实验经东南大学动物伦理委员会审查和批准, 批准号: 20190228007。

1.2 试剂与仪器

基因组 DNA 提取试剂盒 (TIANGEN, 中国), 电泳缓冲液 TBE Buffer (诺维赞, 中国), 琼脂糖 (BIOWEST, 法国), 分子标记 DNA marker (诺维赞, 中国)。Illumina HiSeq 2500 测序平台 (百迈客, 中国), 紫外分光光度计、酶标仪 (Thermo, 美国), PCR 仪、电泳仪 (ABI, 美国), 化学发光凝胶成像系统 (天能, 中国)。

1.3 实验方法

雌性小鼠经适应性喂养 1 周后随机分为两组, 每组 25 只, 一组饲喂高脂饮食 (high-fat diet, HFD), 另一组饲喂对照饮食 (control diet, CD)。第 6 周时, 以对照组体重增长率的两倍作为肥胖标准, 剔除高脂饮食组未达到肥胖标准的小鼠后, 对照饮食组和高脂饮食组小鼠各 20 只。到第 10 周, 将雌鼠和对照饮食喂养的雄性小鼠按 3:1 的比例放在笼子里受孕, 第 2 天上午 6 时于显微镜下观察到有阴栓的小鼠视为成功受孕, 并标记为妊娠期的第 1 天。将受孕成功的母鼠在孕前期接受不同饮食的基础上再次随机分成两组, 分别给予高脂饮食和对照饮食。根据这两次饮食分组, 母鼠被分为 4 组, 最终得到的孕鼠为每组 6 只。子鼠出生后由母鼠直接喂养, 定期称量体重。为防止不同母鼠所哺育的后代数量不同和潜在的混杂因素, 多余的子鼠在出生后立即被处死, 每只母鼠仅喂养 1 只子鼠, 单笼单只喂养避免交叉, 且各组内子鼠雌雄各半, 于第 21 天哺乳期结束当天, 腹部按摩小鼠, 收集子代新鲜粪便样本并储存于 -80°C 冰箱。随后处死所有子鼠。根据母鼠在孕前和孕哺期的饮食, 其所对应的子鼠为 4 组, 即孕前对照饮食—孕哺期对照饮食组 (CD-CD 组)、孕前对照饮食—孕哺期高脂饮食组 (CD-HFD 组)、孕前高脂饮食—孕哺期对照饮食组 (HFD-CD 组)、孕前高脂饮食—孕哺期高脂饮食组 (HFD-HFD 组)。

使用粪便基因组 DNA 提取试剂盒提取粪便中细菌总 DNA, 使用细菌 16S rDNA (V3+V4) 区引物 5'-ACTC-CTACGGGAGGCAGCA-3'/5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'对基因组 DNA 进行 PCR 扩增。测定产物的长度与浓度, 主带长度在正常范围内的样品可用于进一步实验。PCR 扩增后产物经过磁珠纯化、Nanodrop 定量、均一

化, 构建标准文库, 质检合格的文库于 Illumina HiSeq 2500 平台进行测序。此部分实验由北京百迈克生物科技有限公司完成。

1.3.1 操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU)

分析 用 USEARCH 10.0 软件和 QIIME 1.8.0 软件将相似度大于 97% 的测序序列归入一个 OTU, 根据 SILVA 数据库进行分类。维恩图用于展示样品间共有和特有的 OTU 数量。用 R 3.6.3 计算每个分类级别的 OTU 的注释比例, 并得到门和属水平上的样品丰度柱状图。

1.3.2 α 多样性分析 α 多样性分析反映单个样品物种的丰富度和均匀度, 根据归一化的 OTU 丰度表, 用 Mothur 软件计算 4 种 α 多样性指数 (ACE、Chao1、Simpson 和 Shannon)。ACE 和 Chao1 指数衡量菌群中物种的丰富度即物种的数量, 其数值越大, 群落丰富度越高; Shannon 和 Simpson 指数是丰富度和均匀度的综合衡量指标, Shannon 指数越大, Simpson 指数越小, 表示群落多样性越高。

1.3.3 β 多样性分析 根据归一化的 OTU 丰度表, 使用 QIIME 1.8.0 软件计算 β 多样性距离。执行主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA) 以从复杂数据中获取可视化坐标, 比较不同组间微生物群的差异。利用 R 3.6.3 中 vegan 包和 ggplot2 包进行非度量多维标度分析 (non-metric multi-dimensional scaling, NMDS)。采用相似性分析 (analysis of similarities, Anosim) 对组间 β 多样性差异进行统计学检验, Anosim 分析得到的 R 值越接近 1, 表示组间差异越大, 组内差异越小。

1.3.4 组间差异分析 将用于寻找组间差异标志物的 LDA (常用对数 lg 转换) 值设定为 4, 采用线性判别分析 (line discriminant analysis effect size, LEfSe) 来估算每个物种丰度对差异效果影响的大小, 用于寻找各组间具有统计学差异的物种。

1.4 统计学分析

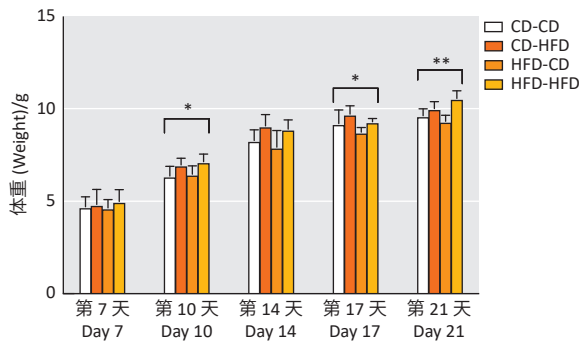
使用 SPSS 22.0 进行统计学差异分析。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。根据数据的正态性, 通过多组间的单因素方差分析或 Wilcoxon 秩和检验来比较组间差异, 组间两两比较采用 Bonferroni 法或 Kruskal-Wallis H 法。 $P < 0.05$ 时, 差异被认为有统计学意义。

2 结果

2.1 子代小鼠体重增长情况

各组子代小鼠从出生后体重平稳增长 (图 1), 四组间体重的差异在第 10 天 ($F=4.32, P < 0.05$)、第 17 天 ($F=4.67, P < 0.05$) 和第 21 天 ($F=12.30, P < 0.01$) 具有统

计学意义,事后检验对整个实验周期内孕前饮食存在差异的 CD-CD 组与 HFD-CD 组、CD-HFD 组与 HFD-HFD 组分别进行了两两比较,结果发现仅在第 21 天 CD-HFD 组与 HFD-HFD 组的体重存在差异($P<0.05$);对孕哺期饮食存在差异的 CD-CD 组与 CD-HFD 组、HFD-CD 组与 HFD-HFD 组进行两两比较发现,从第 10 天到第 21 天,HFD-CD 组与 HFD-HFD 组的差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);在第 21 天,体重最低的是 HFD-CD 组,而非 CD-CD 组($F=12.30, P<0.01$)。



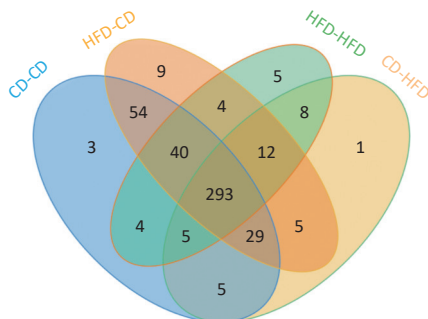
[注(Notes)] *: $P<0.05$; **: $P<0.01$ 。

图 1 子代小鼠体重的变化($n=6$)

Figure 1 Changes in body weight of offspring mice ($n=6$)

2.2 肠道菌群测序数据分析

2.2.1 菌群多样性 维恩图(图 2)展示了各组之间共有、特有的群落。四组的 OTU 总数为 477, CD-CD 组的 OTU 数为 433, CD-HFD 组的 OTU 数为 358, HFD-CD 组的 OTU 数为 446, HFD-HFD 组的 OTU 数为 371。相比孕前高脂饮食,孕哺期的高脂饮食极大降低了 OTU 的数量($P<0.01$)。



[注] 每个椭圆形代表一个组,交叉部分代表组间共有的操作分类单元数量。

[Note] Each ellipse represents one group, and the number in the overlapping portion of the ellipses represents the number of shared OTUs between the sourced groups.

图 2 四组子代小鼠肠道菌群间操作分类单元维恩图

Figure 2 Venn plot of OTUs of gut microbiota in four groups of offspring mice

α 多样性分析显示,孕前高脂饮食的两组子代小鼠 Shannon 指数高, Simpson 指数低,但是组间差异无统计学意义(均 $P>0.05$),而代表肠道菌群丰富度的

ACE 和 Chao1 指数在孕哺期高脂饮食的两组中降低(均 $P<0.05$),表明孕哺期高脂饮食的后代菌群丰富度降低(表 1)。

表 1 四组子代小鼠肠道菌群 α 多样性各指数分析 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Alpha diversity analysis of gut microbiota in four groups of offspring mice ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别(Group)	ACE	Chao1	Simpson	Shannon
CD-CD	383.67 $\pm$ 21.33 ^a	392.34 $\pm$ 25.07 ^a	0.13 $\pm$ 0.07	3.36 $\pm$ 0.41
CD-HFD	342.78 $\pm$ 37.81	347.12 $\pm$ 22.19	0.08 $\pm$ 0.03	3.36 $\pm$ 0.25
HFD-CD	392.53 $\pm$ 45.95 ^b	398.09 $\pm$ 42.75 ^b	0.07 $\pm$ 0.03	3.73 $\pm$ 0.43
HFD-HFD	309.14 $\pm$ 31.80 ^{ab}	312.06 $\pm$ 31.97 ^{ab}	0.06 $\pm$ 0.02	3.67 $\pm$ 0.34
F	7.13	9.95	3.27	1.78
P	0.001	0.003	0.042	0.185

[注] 相同字母者表示两两组间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

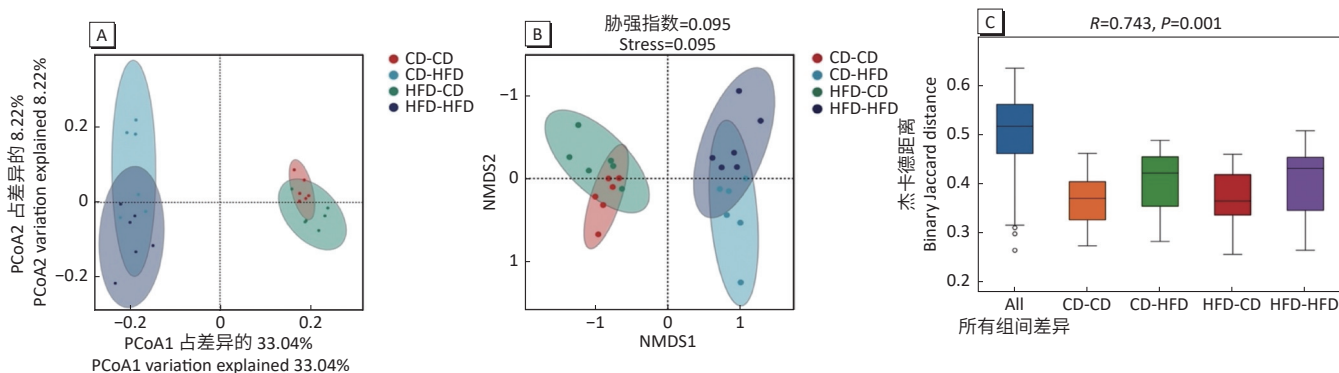
[Note] Same letters indicate a significant difference between two groups ($P<0.05$).

β 多样性分析基于样本间的距离矩阵, PCoA 分析中(图 3A), 第一主成分 PCoA1 和第二主成分 PCoA2 对区分各组的贡献度分别为 33.04%和 8.22%, 各组的距离矩阵投射到二维坐标后, CD-CD、HFD-CD 组距离相近, CD-HFD、HFD-HFD 组距离相近。NMDS 分析(图 3B)结果与 PCoA 分析结果接近, 肺强指数值为 0.095, 认为分析可靠性较高。Anosim 分析(图 3C)对 β 多样性差异进行了统计学检验, 所有组间差异上方箱图表示所有组间样品距离, $R=0.743, P=0.001$, 表明 β 多样性差异具有统计学意义。

2.2.2 子代肠道菌群结构 图 4A 显示, 在门水平上, 优势菌群主要为厚壁菌门、拟杆菌门、 ϵ 菌门、变形菌门和酸杆菌门。各组的厚壁菌门/拟杆菌门比值分别为 CD-CD 组 3.09、CD-HFD 组 5.39、HFD-CD 组 1.97、HFD-HFD 组 4.18, 差异具有统计学意义($F=3.54, P=0.033$)。HFD-CD 组中拟杆菌门($P=0.017$)、蓝细菌门($P<0.01$)、脱铁杆菌门($P<0.01$)和 ϵ 菌门($P<0.05$)的丰度比 HFD-HFD 组更高, 而软壁菌门的丰度则较低($P=0.04$); 与 CD-CD 组相比, CD-HFD 组 ϵ 菌门丰度显著下降($P=0.024$), 而 HFD-CD 组蓝细菌门丰度升高($P=0.04$)。其余组间的菌群差异不具有统计学意义。

图 4B 显示, 在属水平上, 丰度较高的菌属分别为乳杆菌属、Muribaculaceae 菌属、毛螺菌属、Lachnospiraceae_NK4A136_组、布劳特氏菌属、螺杆菌属等。孕前期和孕哺期的高脂饮食都会降低乳杆菌属的丰度。与 HFD-HFD 组相比, HFD-CD 组的 Muribaculaceae 菌属($P<0.01$)和螺杆菌属($P<0.05$)的丰度相对较高, 瘤胃菌属丰度相对较低($P<0.01$); 与 CD-CD 组相比,

CD-HFD 组乳杆菌属 ($P < 0.05$) 和螺杆菌属丰度降低 ($P < 0.05$), 毛螺菌属的丰度显著升高 ($P < 0.01$), HFD-CD 组的乳杆菌属丰度降低 ($P < 0.05$), 而另枝菌属的丰度升高 ($P < 0.05$)。



[注] A: 基于 OTU 丰度的主坐标分析; B: 各组小鼠肠道菌群非度量多维标度分析; C: β 多样性相似性分析。图 A、B 中圆点代表各样本在距离坐标轴中的位置, 椭圆代表每组样本的置信椭圆, 重合度代表两组样本的相似性。

[Note] A: Principal coordinates analysis based on OTU abundance; B: Non-metric multi-dimensional scaling of gut microbiota in four groups of offspring mice; C: Analysis of similarities of β diversity. The dots in Figures A and B represent the position of samples in the distance axis, the ellipses are confidence ellipse for each group of samples, and the degree of overlap represents the similarity between two groups of samples.

图 3 四组子代小鼠肠道菌群 β 多样性分析结果 ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Figure 3 Results of beta diversity analysis of gut microbiota in four groups of offspring mice ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

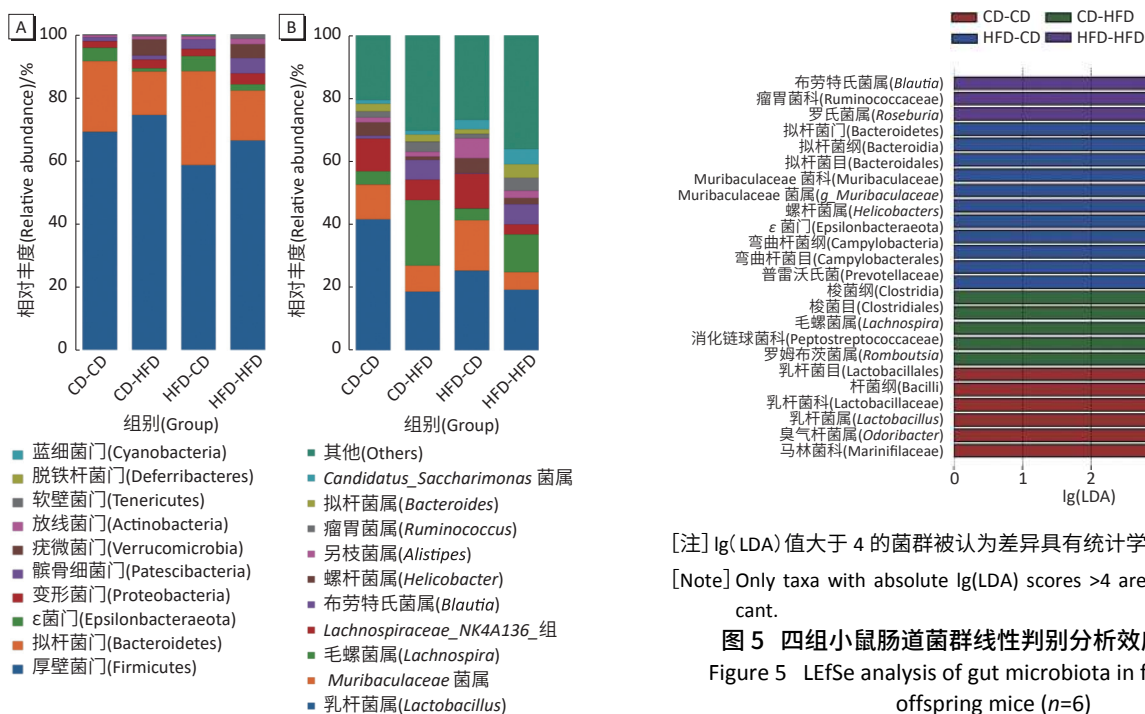


图 4 四组子代小鼠肠道菌群门(A)和属(B)水平上物种丰度柱状图 ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Figure 4 Abundance bar chart at the phylum (A) and genus (B) levels in four groups of offspring mice ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

2.2.3 组间差异 LEfSe 分析统计了对各组间差异的影响大于设定值 [$\lg(\text{LDA})=4$] 的所有物种(图 5)。CD-CD 组中乳杆菌的丰度高于另三组, CD-HFD 组中梭菌的丰度较高, HFD-CD 组中具有较高区丰度的菌为拟杆菌门、螺杆菌属, HFD-HFD 组中布劳特氏菌属、瘤胃菌科、罗氏菌属的丰度较高。

[注] $\lg(\text{LDA})$ 值大于 4 的菌群被认为差异具有统计学意义。

[Note] Only taxa with absolute $\lg(\text{LDA})$ scores >4 are considered significant.

图 5 四组小鼠肠道菌群线性判别分析效应大小 ($n=6$)
Figure 5 LEfSe analysis of gut microbiota in four groups of offspring mice ($n=6$)

3 讨论

饮食是影响肠道菌群的重要因素, 越来越多的证据表明肠道菌群在肥胖的发生发展中起着重要作用^[14]。一项研究利用孕鼠摄入基因标记的粪肠球菌, 发现它可以在子代肠道中培养和分离, 表明微生物群可以在分娩之前由母体转移到后代^[15]; Olm 等^[16]对坦桑尼亚新生儿肠道菌群的研究发现, 婴儿早期的肠道微生物受母亲生活方式的影响, 且微生物的垂直传播程度随着生活方式的改变会出现相应变化。肠道菌群在亲子

代间的传递对后代肠道菌群的建立,免疫系统的发育和婴儿生长具有重要意义^[17-19]。

本研究发现在门与属水平上,各组的肠道菌群结构有一定的差异。孕哺期高脂饮食组的后代软壁菌门丰度增加,拟杆菌门、 ϵ 菌门、蓝细菌门和脱铁杆菌门丰度减少,而孕前高脂饮食增加了后代蓝细菌门的丰度,对其余细菌门的丰度无明显影响。属水平上,孕哺期高脂饮食降低了乳杆菌属、*Muribaculaceae* 菌属、螺杆菌属的丰度,增加了毛螺菌属、瘤胃菌属的丰度;而孕前期高脂饮食降低了乳杆菌的丰度,增加了另支菌属的丰度。厚壁菌门和拟杆菌门作为肠道内最大的两种微生物群落,与机体代谢密切相关,其比值在一些研究中被认为是肥胖的标志之一。拟杆菌门在降解不能被人体吸收的植物多糖中发挥重要作用,并与其他细菌一起参与人体的营养代谢,多数研究证实肥胖伴随着厚壁菌门丰度增加和拟杆菌门丰度的降低^[20-21]。本研究结果呈现出相一致的结论。疣微菌门可诱导小鼠调节性免疫,逆转代谢紊乱,并对慢性炎症介导的疾病产生积极影响^[22-23];乳杆菌作为益生菌已经被广泛用于各种膳食补充剂中,口服乳杆菌可以显著降低小鼠体重和改善胰岛素抵抗^[24]; *Muribaculaceae* 菌属是从 C57BL/6J 小鼠粪便中新分离的细菌, Lagkouvardos 等^[25]研究表明 *Muribaculaceae* 与复合碳水化合物的肠道降解有关; *Lachnospiraceae_NK4A136* 组是一种生产丁酸盐的细菌,能维持肠道屏障的完整性,与肠道渗透性呈负相关^[26]; Vacca 等^[27]发现肠道中毛螺菌科的丰度与脂质代谢紊乱、高血糖及抑郁症等存在正相关;另支菌属在临床上对机体健康有着多重作用,在结肠炎、自闭症及心血管疾病中具有保护作用,在抑郁症、脑脊髓炎等疾病中发挥着致病作用^[28]。

本研究存在一定局限性,仅对子鼠的肠道菌群进行分析,未取母鼠粪便进行测序分析,对肠道菌群的垂直传播及饮食影响无法区分,且未开展宏基因组测序。因此,后续研究将进一步深入验证母体饮食对子代肠道菌群的影响。

综上所述,本研究发现孕前期和孕哺期亲代小鼠高脂饮食会改变子代小鼠肠道微生物组的结构及菌群多样性,孕前和孕哺期的高脂饮食对子代肠道微生物组改变的影响存在差异且孕哺期饮食的影响对肠道菌群的塑造更为关键。

参考文献

- [1] NG M, FLEMING T, ROBINSON M, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013[J]. *Lancet*, 2014, 384(9945): 766-781.
- [2] SWINBURN BA, SACKS G, HALL KD, et al. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments[J]. *Lancet*, 2011, 378(9793): 804-814.
- [3] BLÜHER M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2019, 15(5): 288-298.
- [4] LEY RE, PETERSON DA, GORDON JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine[J]. *Cell*, 2006, 124(4): 837-848.
- [5] BROWN JM, HAZEN SL. Microbial modulation of cardiovascular disease[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2018, 16(3): 171-181.
- [6] MARUVADA P, LEONE V, KAPLAN LM, et al. The human microbiome and obesity: moving beyond associations[J]. *Cell Host Microbe*, 2017, 22(5): 589-599.
- [7] SHARON G, SAMPSON TR, GESCHWIND DH, et al. The central nervous system and the gut microbiome[J]. *Cell*, 2016, 167(4): 915-932.
- [8] CHU DM, ANTONY KM, MA J, et al. The early infant gut microbiome varies in association with a maternal high-fat diet[J]. *Genome Med*, 2016, 8(1): 77.
- [9] LUNDGREN SN, MADAN JC, EMOND JA, et al. Maternal diet during pregnancy is related with the infant stool microbiome in a delivery mode-dependent manner[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1): 109.
- [10] BOLTE EE, MOORSHEAD D, AAGAARD KM. Maternal and early life exposures and their potential to influence development of the microbiome[J]. *Genome Med*, 2022, 14(1): 4.
- [11] MA J, PRINCE AL, BADER D, et al. High-fat maternal diet during pregnancy persistently alters the offspring microbiome in a primate model[J]. *Nat Commun*, 2014, 5(1): 3889.
- [12] KHAN IY, DEKOU V, DOUGLAS G, et al. A high-fat diet during rat pregnancy or suckling induces cardiovascular dysfunction in adult offspring[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005, 288(1): R127-R133.
- [13] DU Q, HOSODA H, UMEKAWA T, et al. Postnatal weight gain induced by overfeeding pups and maternal high-fat diet during the lactation period modulates glucose metabolism and the production of pancreatic and gastrointestinal peptides[J]. *Peptides*, 2015, 70: 23-31.
- [14] SANMIGUEL C, GUPTA A, MAYER EA. Gut microbiome and obesity: a plausible explanation for obesity[J]. *Curr Obes Rep*, 2015, 4(2): 250-261.
- [15] CHU DM, MEYER KM, PRINCE AL, et al. Impact of maternal nutrition in pregnancy and lactation on offspring gut microbial composition and function[J]. *Gut Microbes*, 2016, 7(6): 459-470.
- [16] OLM MR, DAHAN D, CARTER MM, et al. Robust variation in infant gut microbiome assembly across a spectrum of lifestyles[J]. *Science*, 2022, 376(6598): 1220-1223.
- [17] BLANTON LV, CHARBONNEAU MR, SALIH T, et al. Gut bacteria that prevent growth impairments transmitted by microbiota from malnourished children[J]. *Science*, 2016, 351(6275): eaad3311.
- [18] CHARBONNEAU MR, O'DONNELL D, BLANTON LV, et al. Sialylated milk oligosaccharides promote microbiota-dependent growth in models of infant undernutrition[J]. *Cell*, 2016, 164(5): 859-871.
- [19] SCHWARZER M, MAKKI K, STORELLI G, et al. *Lactobacillus plantarum* strain maintains growth of infant mice during chronic undernutrition[J]. *Science*, 2016, 351(6275): 854-857.
- [20] TURNBAUGH PJ, LEY RE, MAHOWALD MA, et al. An obesity-associated

- gut microbiome with increased capacity for energy harvest[J]. *Nature*, 2006, 444(7122): 1027-1031.
- [21] LEY RE, BÄCKHED F, TURNBAUGH P, et al. Obesity alters gut microbial ecology[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(31): 11070-11075.
- [22] ZHANG T, LI Q, CHENG L, et al. *Akkermansia muciniphila* is a promising probiotic[J]. *Microb Biotechnol*, 2019, 12(6): 1109-1125.
- [23] SHIN NR, LEE JC, LEE HY, et al. An increase in the *Akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice[J]. *Gut*, 2014, 63(5): 727-735.
- [24] WANG T, YAN H, LU Y, et al. Anti-obesity effect of *Lactobacillus rhamnosus* LS-8 and *Lactobacillus crustorum* MN047 on high-fat and high-fructose diet mice base on inflammatory response alleviation and gut microbiota regulation[J]. *Eur J Nutr*, 2020, 59(6): 2709-2728.
- [25] LAGKOUVARDOS I, LESKER TR, HITCH TCA, et al. Sequence and cultivation study of *Muribaculaceae* reveals novel species, host preference, and functional potential of this yet undescribed family[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 28.
- [26] HU S, WANG J, XU Y, et al. Anti-inflammation effects of fucosylated chondroitin sulphate from *Acaudina molpadioides* by altering gut microbiota in obese mice[J]. *Food Funct*, 2019, 10(3): 1736-1746.
- [27] VACCA M, CELANO G, CALABRESE FM, et al. The controversial role of human gut lachnospiraceae[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(4): 573.
- [28] PARKER BJ, WEARSCH PA, VELOO ACM, et al. The genus *Alistipes*: gut bacteria with emerging implications to inflammation, cancer, and mental health[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 906.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 丁瑾瑜)

· 告知栏 ·

喜讯: 《环境与职业医学》入选 《预防医学与卫生学高质量科技期刊分级目录》

近日,中华预防医学会在其网站公布了《预防医学与卫生学高质量科技期刊分级目录》,这是我国本领域首次开展期刊分级工作,由上海市疾病预防控制中心主办的《环境与职业医学》成功入选该目录。

为贯彻落实中国科协、中宣部、教育部、科技部联合印发的《关于深化改革培育世界一流科技期刊的意见》推动建设与世界科技强国相适应的科技期刊体系,助力我国科技期刊高质量发展,按照中国科协的统一部署,中华预防医学会依据中国科协关于“价值导向、同行评议、等效使用”等原则要求,组织建立了预防医学与卫生学高质量科技期刊评价指标体系,采取定量和定性评价相结合的方式,经过数据采集、期刊遴选、专家评议和专家评审委员会会议审核认定、公示、复审等程序,最终形成2021年度《预防医学与卫生学高质量科技期刊分级目录》,共收录期刊122种,其中中文期刊33种,外文期刊的89种。

《环境与职业医学》(*Journal of Environmental & Occupational Medicine, JEOM*)杂志,创刊于1984年,系由上海市疾病预防控制中心主办的专业性学术期刊,以刊登中文文献为主(含英文摘要),月刊。所有被录用的稿件均经过同行专家评议。纸质印刷版于每月25日出版。国际连续出版物号:ISSN 2095-9982;国内统一连续出版物号:CN 31-1879/R。杂志主页:www.jeom.org。目前杂志已被中国科学引文数据库(CSCD)源期刊、中文核心期刊(北大核心)、中国科技论文统计源期刊(科技核心)、Scopus数据库、Doaj数据库、EBSCO数据库、CABI数据库、美国剑桥科学文摘(自然科学)、美国化学文摘(CA)数据库等国内、国际著名数据库所收录。