

胎便中支链脂肪酸与新生儿肠道菌群的相关性研究

陆慧佳, 李唯迪, 安丽娜, 张欣怡, 杨 烨, 张玉露, 曾欣雨, 王兴国, 韦 伟

(江南大学 食品学院 食品安全与营养协同创新中心, 江苏 无锡 214122)

摘要:旨在探究支链脂肪酸(BCFA)对新生儿肠道菌群的影响,采用气相色谱-质谱(GC-MS)对不同胎龄新生儿胎便中BCFA组成和含量进行测定,结合16S rRNA测序技术对新生儿肠道菌群组成进行分析,探究胎便中BCFA与新生儿肠道菌群的相关性。结果表明:新生儿胎便样本中共含有70种脂肪酸,其中BCFA 31种,足月儿胎便中的BCFA含量显著高于早产儿的($p < 0.05$);门水平上,变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidota)为新生儿肠道菌群的优势菌群;属水平上,男婴和女婴的优势菌群分别为乳杆菌属(*Lactobacillus*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*);BCFA含量与新生儿肠道中厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门(Actinobacteriota)、蓝藻细菌(Cyanobacteriota)、螺旋菌门(Spirochaetota)均显著相关,其中与拟杆菌门的相关性最显著($p < 0.01$)。综上,新生儿胎便中的BCFA含量与新生儿肠道菌群具有一定的相关性。

关键词:支链脂肪酸;肠道菌群;拟杆菌门;早产儿

中图分类号:Q547;R37

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2025)05-0069-06

Correlation between branched-chain fatty acids in fetal stool and neonatal gut microbiota

LU Huijia, LI Weidi, AN Lina, ZHANG Xinyi, YANG Ye, ZHANG Yulu, ZENG Xinyu, WANG Xingguo, WEI Wei

(Collaborative Innovation Center for Food Safety and Nutrition, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: In order to explore the impact of branched-chain fatty acids (BCFA) on the gut microbiota of newborns, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to measure the composition and content of BCFA in fetal stool from newborns of different gestational ages, and 16S rRNA sequencing was applied to analyze the composition of the neonatal gut microbiota. The correlation between BCFA in fetal stool and neonatal gut microbiota was explored. The results showed that 70 types of fatty acids were identified in the fetal stool samples, of which 31 were BCFA. The BCFA content in full-term infants was significantly higher than that in preterm infants ($p < 0.05$). At the phylum level, Proteobacteria, Firmicutes, and Bacteroidota were the dominant phyla in the neonatal gut microbiota. At the genus level, the dominant genera in male and female infants were *Lactobacillus* and *Pseudomonas*, respectively. The BCFA content was significantly correlated with the abundance of Firmicutes, Bacteroidota, Actinobacteriota, Cyanobacteriota, and Spirochaetota in the neonatal gut, with the most significant correlation observed with Bacteroidota ($p < 0.01$). In conclusion, the BCFA content in fetal stool is associated with the neonatal gut microbiota.

Key words: branched-chain fatty acids; gut microbiota; Bacteroidota; preterm infants

收稿日期:2024-01-31;修回日期:2024-12-06

作者简介:陆慧佳(1998),女,硕士研究生,研究方向为食品工程(E-mail) stayluhuijia@163.com。

通信作者:韦 伟,副教授(E-mail) weiw@jiangnan.edu.cn。

支链脂肪酸(BCFA)是一类在碳链骨架上含一个或多个以甲基支链为主的功能性饱和脂肪酸,通过甲基在碳骨架上位置的不同,其主要分为甲基位

于碳链倒数第二位的异构支链脂肪酸(*iso* - BCFA)和甲基位于碳链倒数第三位的反异构支链脂肪酸(*anteiso* - BCFA)^[1-2]。目前研究 BCFA 的主要饮食来源包括反刍动物乳制品、肉制品和人乳脂^[3-4]等,另外微生物细胞膜和人体分泌物中也含有 BCFA^[5-6]。BCFA 在人乳脂中的含量高达 1.5%^[7],在牛、绵羊和山羊乳脂中的含量分别为总脂肪酸的 0.5% ~ 1.0%、2.2% 和 1.5%^[8-9]。

母乳是婴幼儿最安全理想的食物,母乳中的 BCFA 对于婴幼儿尤其早产儿的肠道健康具有良好的调控作用,而早产儿胎脂中 BCFA 含量仅为足月儿的一半^[10]。婴儿坏死性小肠结肠炎患者多为胎龄不足 34 周的早产儿,这表明该疾病的发展可能与 BCFA 缺乏相关。Ran - Ressler 等^[11]研究发现,添加约 20% 的 BCFA 可以改善新生幼鼠的肠道菌群定植,降低坏死性结肠炎的发病率。同时,BCFA 与哺乳动物胃肠道中菌群存在一定联系,如 Xin 等^[12]研究发现,健康牛犊组粪便中 BCFA(*iso* - C15:0、*iso* - C16:0、*iso* - C17:0、*iso* - C18:0 等)含量显著低于腹泻牛犊组,牛犊粪便中 BCFA 的种类和含量与牛犊的肠道形态和生理功能完整性密切相关。

目前,对于 BCFA 的研究主要集中在母乳、肉制品等膳食来源,但基于新生儿肠道健康的相关研究报道非常有限。因此,本文利用气相色谱 - 质谱(GC - MS)分析新生儿胎便中 BCFA 的组成和含量,并通过 16S rRNA 对新生儿胎便样本进行测序,以此检测不同胎龄新生儿肠道菌群组成,由此分析 BCFA 与新生儿肠道菌群的相关性,以期 BCFA 在调节早产儿肠道功能方面的应用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 样本与试剂

胎便样本,由无锡市妇幼保健院新生儿科提供,取样经相关家属同意,以人为实验的研究均遵守 1975 年《赫尔辛基宣言》规定的伦理标准。本研究共收集新生儿胎便样本 51 份,其中早期早产儿(28 ~ 32 周)6 份,中度早产儿(32 ~ 34 周)9 份,近足月儿(34 ~ 37 周)21 份,足月儿(>37 周)15 份。用于菌群测序的 14 份胎便样本来自未经抗生素治疗,且未患心脏病、腹泻及严重消化道畸形的新生儿,包括 1 份早产儿样本(女)和 13 份足月儿样本(7 男 6 女)。每份样本均分装 4 管,其中 3 管贴上统一标签,待送样测序,另外 1 管需尽快提取脂质,所有待测样本均储存于 -80℃ 超低温冰箱。

37 种混合脂肪酸甲酯标准品(C₄ ~ C₂₄),上海西格玛奥德里奇有限公司;13 - 甲基十四烷酸(*iso* - C15:0)、12 - 甲基十四烷酸(*anteiso* - C15:0)、15 - 甲基十六烷酸(*iso* - C17:0)、14 - 甲基十六烷酸(*anteiso* - C17:0)、异硬脂酸(*iso* - C18:0)标准品,纯度均在 98% 以上,C14:0(质量浓度 15 g/100 mL)、C15:0(质量浓度 22 g/100 mL)、C16:0(质量浓度 29 g/100 mL)、12 - 甲基十三烷酸(*iso* - C14:0,质量浓度 8 g/100 mL)、*anteiso* - C15:0(质量浓度 9 g/100 mL)、14 - 甲基十五烷酸(*iso* - C16:0,质量浓度 8 g/100 mL)和 *anteiso* - C17:0(质量浓度 9 g/100 mL)的混标溶液,瑞典马尔默 Larodan Fine Chemicals 公司;三氯甲烷、无水甲醇为分析纯,无水硫酸钠、无水碳酸钠为化学纯,上海国药集团化学试剂有限公司;乙酰氯为分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;正己烷为色谱级,上海安谱实验科技股份有限公司。

1.1.2 仪器与设备

Mettler Toledo AB104 - N 电子天平,梅特勒 - 托利多仪器(上海)有限公司;RE - 52AA 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;MixPlus 旋涡振荡仪,合肥艾本森仪器有限公司;Pegasus BT 气相色谱串联飞行时间质谱联用仪,美国力可公司;Centrifuge 5810 离心机,德国 Eppendorf 公司;SE812 型氮吹仪,上海安谱实验科技股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 胎便脂质的提取

向胎便样本中加入含 0.05% 2,6 - 二叔丁基 - 4 - 甲基苯酚的三氯甲烷 - 甲醇(体积比 2:1)溶液,超声 40 min,经 0.2 g 的硅胶柱(60 ~ 120 μm)过滤,去除悬浮在溶液表面的上皮细胞,用约 5 g 无水硫酸钠吸水,再用硅胶柱二次过滤,所得滤液使用旋转蒸发法和氮吹法除去溶剂,将提取的胎便脂质储存于 -25℃ 冰箱,备用。

1.2.2 脂肪酸组成分析

参考 Stránský 等^[13]的方法进行脂肪酸甲酯化。将脂质用三氯甲烷 - 甲醇(体积比 2:3)溶液溶解,加入乙酰氯,于 70℃ 水浴反应 60 min。再用碳酸钠溶液中和,静置分层后收集有机相,经无水硫酸钠脱水,氮吹,得到脂肪酸甲酯。用正己烷复溶,过有机尼龙滤膜后进行 GC - MS 分析。

GC 条件:DB - 5 型毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm × 0.10 μm);进样口温度 280℃;进样量 0.5 μL;升温程序为初温 150℃,保持 1 min,以 10℃/min 升至 280℃,保持 15 min;载气为高纯度氮气

(99.999%),流速 1.0 mL/min。MS 条件:电子电离源;灯丝能量 70 eV;离子源温度 230 ℃;传输线温度 300 ℃;发射电流 1 mA;全扫描模式,质量扫描范围(m/z)50 ~ 450;溶剂延迟时间 160 s。以脂肪酸甲酯标准品的出峰时间进行定性,采用峰面积归一化法进行定量。

1.2.3 胎便中肠道菌群测序

胎便样本送至上海美吉生物医药科技有限公司进行检测。对样本进行 DNA 抽提,对 V3 ~ V4 可变区进行 PCR 扩增,利用 Illumina Mi Seq 平台进行高通量测序,对不同序列进行分类学分析以获得物种注释结果。对比 Silva 119 数据库,在门和属分类水平下统计每个样本的肠道菌群组成,分析新生儿肠道菌群多样性、结构组成差异等。

1.2.4 数据处理

通过 SPSS 20.0 软件对数据进行分析处理,结果以“平均值 ± 标准差”表示。通过单因素方差分析中的 Duncan 检验法进行多组间差异分析, $p < 0.05$ 表示具有统计学意义。运用皮尔逊相关系数分析相关性。

2 结果与讨论

2.1 新生儿胎便中脂肪酸的组成和含量

不同胎龄新生儿胎便的脂肪酸组成和含量见表 1。

表 1 不同胎龄新生儿胎便的脂肪酸组成和含量
Table 1 Fatty acid composition and content in fetal stool of newborns of different gestational ages %

脂肪酸	早期早产儿	中度早产儿	近足月儿	足月儿
SSFA	51.17 ± 0.53 ^a	49.34 ± 0.26 ^b	49.53 ± 0.39 ^b	47.92 ± 0.34 ^c
C12:0	1.61 ± 0.14 ^a	1.63 ± 0.10 ^a	1.52 ± 0.12 ^a	1.09 ± 0.10 ^b
C13:0	0.05 ± 0.02 ^b	0.01 ± 0.00 ^b	0.03 ± 0.00 ^b	0.13 ± 0.02 ^a
C14:0	3.21 ± 0.21 ^a	2.96 ± 0.14 ^a	3.29 ± 0.28 ^a	3.21 ± 0.17 ^a
C15:0	0.26 ± 0.05 ^b	0.31 ± 0.03 ^b	0.49 ± 0.05 ^a	0.59 ± 0.06 ^a
C16:0	24.61 ± 0.24 ^a	23.29 ± 0.28 ^a	21.96 ± 0.31 ^b	20.74 ± 0.27 ^c
C17:0	0.33 ± 0.03 ^b	0.33 ± 0.03 ^b	0.40 ± 0.03 ^b	0.71 ± 0.07 ^a
C18:0	16.79 ± 0.35 ^a	16.45 ± 0.18 ^a	16.09 ± 0.36 ^a	14.24 ± 0.29 ^a
C19:0	0.19 ± 0.03 ^a	0.14 ± 0.03 ^b	0.14 ± 0.01 ^b	0.16 ± 0.01 ^{ab}
C20:0	0.99 ± 0.08 ^b	1.59 ± 0.13 ^a	1.09 ± 0.07 ^b	0.97 ± 0.07 ^b
C21:0	0.12 ± 0.03 ^a	0.14 ± 0.02 ^a	0.12 ± 0.02 ^a	0.11 ± 0.00 ^a
C22:0	0.96 ± 0.13 ^b	0.81 ± 0.09 ^b	1.63 ± 0.12 ^a	1.52 ± 0.09 ^a
C23:0	0.39 ± 0.06 ^a	0.39 ± 0.03 ^a	0.42 ± 0.05 ^a	0.41 ± 0.05 ^a
C24:0	1.21 ± 0.12 ^c	0.92 ± 0.07 ^c	1.75 ± 0.15 ^b	2.51 ± 0.16 ^a
C25:0	0.09 ± 0.01 ^b	0.07 ± 0.02 ^b	0.11 ± 0.01 ^b	0.31 ± 0.03 ^a
C26:0	0.36 ± 0.09 ^b	0.30 ± 0.05 ^b	0.42 ± 0.05 ^b	0.76 ± 0.08 ^a
C27:0	-	-	-	0.05 ± 0.01 ^a
C28:0	-	-	0.07 ± 0.02 ^b	0.31 ± 0.05 ^a
C29:0	-	-	-	0.10 ± 0.04 ^a
MUFA	23.82 ± 0.42 ^a	20.78 ± 0.19 ^{bc}	20.01 ± 0.22 ^c	21.33 ± 0.36 ^b
C14:1n-5	0.05 ± 0.02 ^b	0.01 ± 0.00 ^b	0.06 ± 0.02 ^b	0.23 ± 0.04 ^a
C15:1n-5	0.01 ± 0.00 ^b	0.01 ± 0.00 ^b	0.05 ± 0.02 ^b	0.21 ± 0.04 ^a
C16:1n-9	3.09 ± 0.10 ^a	2.12 ± 0.09 ^b	1.81 ± 0.12 ^{bc}	1.45 ± 0.17 ^c

续表 1	%			
脂肪酸	早期早产儿	中度早产儿	近足月儿	足月儿
C16:1n-7	1.36 ± 0.29 ^a	0.51 ± 0.06 ^b	0.61 ± 0.09 ^b	0.46 ± 0.09 ^b
C17:1n-7	0.19 ± 0.04 ^{ab}	0.06 ± 0.02 ^b	0.09 ± 0.02 ^b	0.29 ± 0.08 ^a
C18:1n-9	17.51 ± 0.49 ^a	16.93 ± 0.31 ^{ab}	16.20 ± 0.18 ^{bc}	15.59 ± 0.49 ^c
C18:1n-6	-	-	-	1.39 ± 0.07 ^a
C20:1n-11	0.39 ± 0.10 ^a	0.12 ± 0.02 ^b	0.09 ± 0.02 ^b	0.09 ± 0.02 ^b
C20:1n-9t	0.14 ± 0.06 ^b	0.12 ± 0.04 ^b	0.12 ± 0.02 ^b	0.32 ± 0.04 ^a
C20:1n-9c	-	-	-	0.02 ± 0.00 ^a
C22:1n-9t	0.12 ± 0.08 ^a	0.10 ± 0.02 ^a	0.09 ± 0.01 ^a	0.13 ± 0.03 ^a
C22:1n-9c	0.06 ± 0.02 ^c	0.21 ± 0.04 ^b	0.08 ± 0.02 ^c	0.40 ± 0.03 ^a
C24:1n-9t	0.76 ± 0.19 ^a	0.48 ± 0.08 ^{ab}	0.69 ± 0.06 ^a	0.34 ± 0.04 ^b
C24:1n-9c	0.14 ± 0.04 ^b	0.11 ± 0.02 ^b	0.12 ± 0.02 ^b	0.41 ± 0.04 ^a
PUFA	11.60 ± 0.29 ^c	15.99 ± 0.21 ^a	15.58 ± 0.25 ^a	13.18 ± 0.23 ^b
C18:3n-6	-	-	-	0.02 ± 0.00 ^a
C18:2n-10	-	-	-	0.04 ± 0.01 ^a
C18:2n-6	10.59 ± 0.31 ^c	15.01 ± 0.22 ^a	14.52 ± 0.26 ^a	11.60 ± 0.14 ^b
C20:4n-6	0.01 ± 0.00 ^b	0.01 ± 0.00 ^b	0.01 ± 0.00 ^b	0.05 ± 0.01 ^a
C20:3n-6	0.31 ± 0.07 ^a	0.29 ± 0.06 ^a	0.13 ± 0.03 ^b	0.11 ± 0.03 ^b
C22:5n-6	0.34 ± 0.07 ^{bc}	0.24 ± 0.05 ^c	0.60 ± 0.06 ^b	1.11 ± 0.13 ^a
C22:6n-3	0.35 ± 0.02 ^{ab}	0.44 ± 0.03 ^a	0.32 ± 0.04 ^{ab}	0.25 ± 0.05 ^b
iso-BCFA	10.99 ± 0.25 ^b	11.15 ± 0.15 ^b	11.72 ± 0.27 ^{ab}	12.53 ± 0.30 ^a
iso-C12:0	-	-	0.02 ± 0.00 ^b	0.12 ± 0.04 ^a
iso-C14:0	0.30 ± 0.03 ^c	0.53 ± 0.05 ^b	0.61 ± 0.04 ^b	1.42 ± 0.08 ^a
iso-C15:0	0.15 ± 0.02 ^c	0.27 ± 0.02 ^b	0.41 ± 0.01 ^a	0.15 ± 0.01 ^c
iso-C16:1n-6	0.09 ± 0.02 ^b	0.10 ± 0.01 ^b	0.29 ± 0.01 ^b	0.89 ± 0.11 ^a
iso-C16:0	3.39 ± 0.10 ^d	3.76 ± 0.03 ^c	4.61 ± 0.04 ^b	5.01 ± 0.06 ^a
iso-C17:0	0.01 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.00 ^b	0.06 ± 0.00 ^a
iso-C18:0	0.51 ± 0.13 ^b	0.70 ± 0.06 ^b	1.02 ± 0.09 ^a	0.92 ± 0.06 ^{ab}
iso-C20:0	1.07 ± 0.08 ^a	0.92 ± 0.12 ^{ab}	0.81 ± 0.05 ^{bc}	0.65 ± 0.05 ^c
iso-C21:0	0.05 ± 0.00 ^b	0.05 ± 0.00 ^b	0.04 ± 0.00 ^b	0.15 ± 0.01 ^a
iso-C22:0	2.29 ± 0.08 ^a	2.10 ± 0.06 ^a	1.73 ± 0.07 ^b	1.51 ± 0.14 ^b
iso-C23:0	0.04 ± 0.01 ^b	0.04 ± 0.01 ^b	0.03 ± 0.01 ^b	0.21 ± 0.02 ^a
iso-C24:0	2.11 ± 0.03 ^a	1.92 ± 0.08 ^a	1.39 ± 0.07 ^b	0.78 ± 0.14 ^c
iso-C25:0	0.04 ± 0.01 ^b	0.03 ± 0.01 ^b	0.05 ± 0.01 ^b	0.20 ± 0.02 ^a
iso-C26:0	0.94 ± 0.10 ^a	0.71 ± 0.10 ^{ab}	0.69 ± 0.10 ^{ab}	0.39 ± 0.09 ^b
iso-C27:0	-	-	-	0.07 ± 0.02 ^a
anteiso-BCFA	1.28 ± 0.10 ^d	1.77 ± 0.09 ^c	2.13 ± 0.12 ^b	3.73 ± 0.09 ^a
anteiso-C13:0	0.03 ± 0.01 ^b	0.03 ± 0.00 ^b	0.04 ± 0.01 ^b	0.10 ± 0.01 ^a
anteiso-C15:0	0.49 ± 0.07 ^c	0.77 ± 0.03 ^b	0.92 ± 0.03 ^{ab}	1.01 ± 0.07 ^a
anteiso-C17:0	0.24 ± 0.04 ^c	0.51 ± 0.04 ^b	0.63 ± 0.01 ^a	0.49 ± 0.04 ^b
anteiso-C19:0	0.03 ± 0.00 ^b	0.03 ± 0.01 ^b	0.03 ± 0.01 ^b	0.13 ± 0.01 ^a
anteiso-C21:0	0.04 ± 0.01 ^b	0.05 ± 0.02 ^b	0.04 ± 0.02 ^b	0.25 ± 0.05 ^a
anteiso-C23:0	0.19 ± 0.05 ^b	0.21 ± 0.02 ^b	0.19 ± 0.03 ^b	0.91 ± 0.05 ^a
anteiso-C25:0	0.16 ± 0.04 ^b	0.13 ± 0.03 ^b	0.19 ± 0.03 ^b	0.49 ± 0.05 ^a
anteiso-C27:0	0.10 ± 0.03 ^b	0.04 ± 0.01 ^b	0.09 ± 0.05 ^b	0.35 ± 0.06 ^a
ntBCFA				0.24 ± 0.09 ^a
4-甲基十二 烷酸	-	-	-	0.08 ± 0.05 ^a
2-甲基十六 烷酸	-	-	-	0.02 ± 0.00 ^a

续表1				%
脂肪酸	早期早产儿	中度早产儿	近足月儿	足月儿
4,8-二甲基壬酸	-	-	-	0.01 ± 0.00 ^a
4,11-二甲基十二烷酸	-	-	-	0.02 ± 0.01 ^a
4,8,12-三甲基十三烷酸	-	-	-	0.11 ± 0.03 ^a
OHFA	1.14 ± 0.11 ^a	0.97 ± 0.10 ^a	1.03 ± 0.13 ^a	1.07 ± 0.11 ^a
2-羟基十六烷酸	0.64 ± 0.04 ^a	0.55 ± 0.09 ^a	0.63 ± 0.10 ^a	0.28 ± 0.05 ^b
2-羟基二十二烷酸	0.26 ± 0.07 ^a	0.20 ± 0.03 ^a	0.21 ± 0.05 ^a	0.22 ± 0.04 ^a
2-羟基二十四烷酸	0.24 ± 0.05 ^b	0.22 ± 0.03 ^b	0.19 ± 0.05 ^b	0.57 ± 0.09 ^a
BCFA	13.41 ± 0.40 ^b	13.89 ± 0.16 ^b	14.88 ± 0.41 ^b	17.57 ± 0.40 ^a

注：“-”表示未检出；同一行不同字母代表差异显著($p < 0.05$)。下同
Note: -. Not detected. Different letters in the same row indicate significant difference ($p < 0.05$). The same below

由表1可知,新生儿胎便样本中共发现70种脂肪酸,其中直链饱和脂肪酸(SSFA)18种,单不饱和脂肪酸(MUFA)14种,多不饱和脂肪酸(PUFA)7种,BCFA 31种。脂肪酸碳链长度分布在 $C_{12} \sim C_{29}$ 之间,其中偶数碳链脂肪酸较多。

SSFA中,新生儿胎便中棕榈酸($C_{16:0}$)和硬脂酸($C_{18:0}$)是主要的脂肪酸,其中 $C_{16:0}$ 在总脂肪酸中占比最高。早产儿胎便中SSFA含量显著高于足月儿($p < 0.05$),其中中度早产儿和近足月儿胎便中的SSFA含量无显著差异($p > 0.05$),均显著低于早期早产儿胎便中SSFA的含量且又显著高于足月儿胎便中的($p < 0.05$)。MUFA中,新生儿胎便中含量较高的是油酸($C_{18:1n-9}$)和棕榈油酸($C_{16:1n-9}$),二者在足月儿胎便中的含量明显低于早产儿胎便中的($p < 0.05$)。PUFA中,新生儿胎便中主要是亚油酸($C_{18:2n-6}$),占总PUFA含量的88.0%~93.9%。本文检测的新生儿胎便中SSFA、MUFA、PUFA含量与Ran-Ressler等^[14]所测结果相似。

BCFA中,足月儿胎便中BCFA种类最丰富,达31种,比早产儿多7种,其中以 $iso-C_{16:0}$ 、 $iso-C_{22:0}$ 和 $iso-C_{14:0}$ 含量居多,而 $iso-C_{16:0}$ 在不同胎龄的新生儿胎便中均为含量最高的BCFA。足月儿与早产儿胎便中的BCFA含量具有显著差异($p < 0.05$),含量最高的为足月儿胎便,最低的为早期早产儿胎便,但3个阶段的早产儿胎便间BCFA含量差异不显著($p > 0.05$)。同时,新生儿胎便中BCFA以 $iso-BCFA$ 和 $anteiso-BCFA$ 类型为主,还有少量羟基脂肪酸(OHFA),且足月儿胎便中 $iso-BCFA$ 和 $anteiso-BCFA$ 含量要明显高于早产儿的($p <$

0.05),不同胎龄新生儿胎便中 $anteiso-BCFA$ 的含量都远低于 $iso-BCFA$,而早产儿和足月儿胎便中的OHFA含量差异不显著($p > 0.05$)。此外,相比早产儿,足月儿胎便中还含有5种非末端甲基BCFA(ntBCFA),这可能是由于短碳链的BCFA易被早产儿消化吸收。

2.2 新生儿肠道菌群结构组成差异分析

2.2.1 Beta多样性分析

将14份新生儿胎便样本在OTU水平下进行主成分分析(PCA),结果如图1所示。

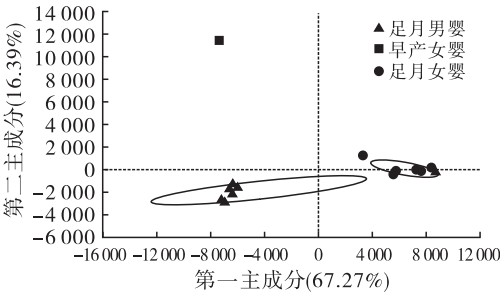
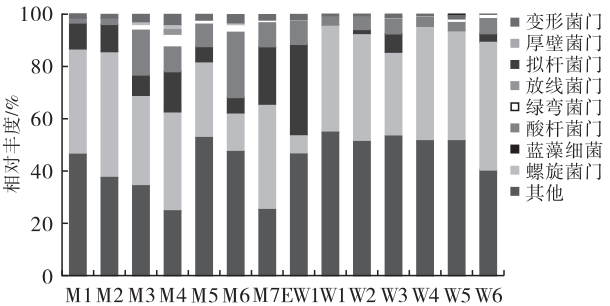


图1 新生儿胎便样本Beta多样性分析
Fig.1 Beta diversity analysis in fetal stool samples of newborns

由图1可知,同一组别的样本基本相距较近,不同组别样本则基本相距较远。14个胎便样本共可分为3组,其中足月男婴、足月女婴、早产女婴分别分布在第三象限、第一和第四象限、第二象限,较易区分,说明性别和胎龄2个因素都会对婴儿的肠道菌群组成产生影响^[15]。同时,新生儿的菌群组成也受母亲的饮食、健康状况、分娩方式等的影响^[16]。

2.2.2 门水平上新生儿肠道菌群差异分析

新生儿肠道菌群在门水平上的相对丰度如图2所示。



注:M1~M7为足月男婴;EW1为早产女婴;W1~W6为足月女婴,下同。只保留相对丰度高于0.01%的菌门

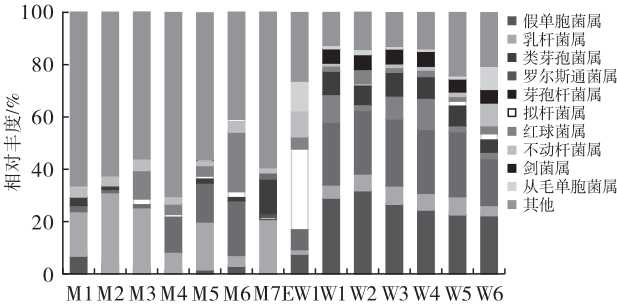
Note: M1~M7. Full-term baby boys; EW1. Premature baby girls; W1~W6. Full-term baby girls. The same below. Only phyla with relative abundance greater than 0.01% are retained

图2 新生儿门水平上的肠道菌群组成
Fig.2 Composition of gut microbiota at the phylum level in newborns

由图 2 可知,新生儿肠道菌群主体有 8 个,分别为变形菌门 (Proteobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidota)、放线菌门 (Actinobacteriota)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、酸杆菌门 (Acidobacteriota)、蓝藻细菌 (Cyanobacteriota)、螺旋菌门 (Spirochaetota)。在足月儿中,变形菌门和厚壁菌门占菌群主要优势,占总数的 63% ~ 95%,变形菌门和厚壁菌门的占比情况与之前报道结果^[17-18]基本一致。与足月儿不同,早产儿肠道菌群主要由变形菌门和拟杆菌门组成,其次是放线菌门和厚壁菌门。

2.2.3 属水平上新生儿肠道菌群差异分析

新生儿肠道菌群在属水平上的相对丰度如图 3 所示。



注:只保留相对丰度排名前 10 的菌属
Note: Only the top ten bacteria genera in relative abundance are retained

图 3 新生儿属水平上的肠道菌群组成
Fig. 3 Composition of gut microbiota at the genus level in newborns

由图 3 可知,新生儿肠道菌群中排名前 10 的菌群分别为假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*)、罗尔斯通菌属 (*Ralstonia*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*)、红球菌属 (*Rhodococcus*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、剑菌属 (*Ensifer*)、从毛单胞菌属 (*Comamonas*)。新生儿肠道中部分菌群的性别差异明显 ($p < 0.05$),男婴和女婴中的优势菌属存在区别,分别为乳杆菌属和假单胞菌属。这可能是由于不同性别新生儿在母体中摄入胎脂的 BCFA 组成和含量不同,导致男婴和女婴早期的肠道菌群组成存在差异。由此推测,男婴和女婴早期肠道菌群组成的区别可能是日后发生性别相关疾病的原因。

2.3 新生儿肠道菌群和 BCFA 含量的相关性分析

通过对 14 份胎便中 4 种不同类型的 BCFA 含量和门水平上的肠道菌群相对丰度进行皮尔逊相关性分析,探讨新生儿肠道菌群和 BCFA 的相关性,结

果如表 2 所示。

表 2 新生儿胎便 BCFA 含量与新生儿肠道菌群相关性分析

菌群	相关系数				
	iso - BCFA	anteiso - BCFA	ntBCFA	OHFA	BCFA
变形菌门	0.027	0.393	-0.021	-0.098	0.178
厚壁菌门	0.598 *	0.406	-0.044	0.089	0.601 *
拟杆菌门	-0.580 *	-0.521	-0.131	-0.239	-0.706 **
放线菌门	-0.412	-0.609 *	0.239	0.431	-0.421
绿弯菌门	0.056	-0.339	0.071	-0.059	-0.127
酸杆菌门	0.008	-0.531	0.115	-0.211	-0.328
蓝藻细菌	0.310	-0.440	-0.069	0.611 *	0.125
螺旋菌门	0.059	-0.071	-0.071	-0.699 **	-0.212

注: ** 表示极显著相关 ($p < 0.01$); * 表示显著相关 ($p < 0.05$)
Note: ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

由表 2 可知,iso - BCFA 含量与厚壁菌门和拟杆菌门的相对丰度存在显著相关性,相关系数分别是 0.598 与 -0.580。anteiso - BCFA 含量只与放线菌门相对丰度存在显著负相关性。OHFA 含量分别与蓝藻细菌与螺旋菌门相对丰度存在显著正相关和极显著负相关性。厚壁菌门和拟杆菌门的相对丰度均与 BCFA 含量存在显著相关性,并且拟杆菌门相对丰度与 BCFA 含量相关性极显著。在肠道内,支链氨基酸可通过拟杆菌门完成发酵降解为支链短链脂肪酸^[19],而细菌的生长、流动性以及膜中 BCFA 含量会受到外源脂肪酸的影响,对肠道微生物的组成产生影响,进而对婴儿的免疫调节系统造成影响。

3 结 论

本文通过 GC - MS 对新生儿胎便中 BCFA 组成和含量进行分析,发现胎便中共 31 种 BCFA,以 iso - BCFA 和 anteiso - BCFA 为主。与早产儿相比,新生足月儿胎便中的 BCFA 含量更高 ($p < 0.05$)。采用 16S rRNA 测序技术对新生儿肠道微生物群结构组成分析发现:门水平上,变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门为新生儿肠道微生物群的优势菌群;属水平上,男婴和女婴的优势菌群分别为乳杆菌属和假单胞菌属。本文首次将胎便中 BCFA 含量与新生儿肠道菌群进行相关性分析,发现 BCFA 含量与新生儿肠道中厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门、蓝藻细菌、螺旋菌门均显著相关,其中 BCFA 含量与拟杆菌门的相关性最显著 ($p < 0.01$)。综上,BCFA 含量与新生儿肠道菌群具有一定相关性。该研究为 BCFA 在婴儿乳品中的应用提供了一定的理论基础。

由于未经过抗生素治疗的早产儿人群比较少见,收集过程比较困难,因此本研究收集到的样本数量较少,今后的研究可收集更多样本以更深入地探究 BCFA 与人体肠道健康的相关性。

参考文献:

- [1] 王秀文, 韦伟, 王兴国, 等. 支链脂肪酸的来源与功能研究进展[J]. 中国油脂, 2018, 43(12): 88–92.
- [2] SUN W, LUO Y, WANG D H, et al. Branched chain fatty acid composition of yak milk and manure during full – lactation and half – lactation [J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2019, 150: 16–20.
- [3] 张宇, 王立娜, 张宏达, 等. 母乳、牛乳及山羊乳脂肪酸组成的差异分析[J]. 食品工业科技, 2019, 40(4): 21–26.
- [4] AGNEW M P, CRAIGIE C R, WERALUPITIYA G, et al. Comprehensive evaluation of parameters affecting one – step method for quantitative analysis of fatty acids in meat [J/OL]. Metabolites, 2019, 9(9): 189 [2024 – 01 – 31]. <https://doi.org/10.3390/metabo9090189>.
- [5] WANG L H, WANG M S, ZENG X A, et al. Temperature – mediated variations in cellular membrane fatty acid composition of *Staphylococcus aureus* in resistance to pulsed electric fields [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1858(8): 1791–1800.
- [6] TANNO H, SASSA T, SAWAI M, et al. Production of branched – chain very – long – chain fatty acids by fatty acid elongases and their tissue distribution in mammals [J/OL]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids, 2021, 1866(1): 158842 [2024 – 01 – 31]. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158842>.
- [7] EGGE H, MURAWSKI U, RYHAGE R, et al. Minor constituents of human milk IV: Analysis of the branched chain fatty acids [J]. Chem Phys Lipids, 1972, 8(1): 42–55.
- [8] BAINBRIDGE M L, CERSOSIMO L M, WRIGHT A D G, et al. Content and composition of branched – chain fatty acids in bovine milk are affected by lactation stage and breed of dairy cow [J/OL]. PLoS One, 2016, 11(3): e0150386 [2024 – 01 – 31]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150386>.
- [9] NUDDA A, CORREDDU F, CESARANI A, et al. Functional odd – and branched – chain fatty acid in sheep and goat milk and cheeses [J]. Dairy, 2021, 2(1): 79–89.
- [10] LI W, JIE L, YU R, et al. Branched – chain fatty acids in the vernix caseosa and meconium of infants born at different gestational ages [J]. Food Sci Nutr, 2021, 9(7): 3549–3555.
- [11] RAN – RESSLER R R, KHAILOVA L, ARGANBRIGHT K M, et al. Branched chain fatty acids reduce the incidence of necrotizing enterocolitis and alter gastrointestinal microbial ecology in a neonatal rat model [J/OL]. PLoS One, 2011, 6(12): e29032 [2024 – 01 – 31]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029032>.
- [12] XIN H, MA T, XU Y, et al. Characterization of fecal branched – chain fatty acid profiles and their associations with fecal microbiota in diarrheic and healthy dairy calves [J]. J Dairy Sci, 2021, 104(2): 2290–2301.
- [13] STRÁNSKY K, JURSIK T. Simple quantitative transesterification of lipids 1. Introduction [J]. Lipid, 1996, 98(2): 65–71.
- [14] RAN – RESSLER R R, DEVAPATLA S, LAWRENCE P, et al. Branched chain fatty acids are constituents of the normal healthy newborn gastrointestinal tract [J]. Pediatr Res, 2008, 64(6): 605–609.
- [15] RONAN V, YEASIN R, CLAUD E C. Childhood development and the microbiome: The intestinal microbiota in maintenance of health and development of disease during childhood development [J]. Gastroenterology, 2021, 160(2): 495–506.
- [16] ZIJLMANS M A C, KORPELA K, RIKSEN – WALRAVEN J M, et al. Maternal prenatal stress is associated with the infant intestinal microbiota [J]. Psychoneuroendocrinology, 2015, 53: 233–245.
- [17] 丁溢芳, 肖玲莉, 郭佳林, 等. 新生儿出生后三天内肠道微生态中菌群分布 [J]. 中华围产医学杂志, 2017, 20(7): 507–514.
- [18] LI Y, REN L, WANG Y, et al. The effect of breast milk microbiota on the composition of infant gut microbiota: A cohort study [J/OL]. Nutrients, 2022, 14(24): 5397 [2024 – 01 – 31]. <https://doi.org/10.3390/nu14245397>.
- [19] QIAO S, LIU C, SUN L, et al. Gut parabacteroides merdae protects against cardiovascular damage by enhancing branched – chain amino acid catabolism [J]. Nat Metab, 2022, 4(10): 1271–1286.