

孕妇肠道菌群对新生儿出生体质量的影响研究



扫描二维码
查看原文

肖雪¹, 王宇琦¹, 赖晓岚¹, 钟绍涛¹, 赵翠柳¹, 刘丹¹, 李琳¹, 谭荣韶^{1*}, 杨红玲²

【摘要】 背景 新生儿出生体质量与个体健康息息相关, 低出生体质量是早期新生儿死亡的高危因素, 而巨大儿的发生不仅可增加母婴产时并发症发生风险, 还可增加个体成年后罹患各种慢性病的风险。因此, 寻找新生儿出生体质量的影响因素十分重要。**目的** 探讨孕妇肠道菌群对新生儿出生体质量的影响。**方法** 以2017年1—9月在广州市妇女儿童医疗中心出生的516例新生儿及其孕母为研究对象, 根据新生儿出生体质量将其分为低出生体质量儿组(LW组, $n=24$)、正常体质量儿组(NW组, $n=479$)、巨大儿组(OW组, $n=13$)。采集孕母的肠道菌群参数及临床实验室检测指标, 采用QIIME软件进行孕期肠道菌群组成分析和多样性分析; 采用LEfSe分析, 分别对三组孕妇肠道菌群属水平上的相对丰度进行两两比较, 识别组间具有明显差异的菌群; 通过线性模型MaAsLin进行多元分析, 以捕获各实验室检测指标与微生物属之间的相关性; 通过Boruta随机森林分类器模型分别基于实验室检测指标和肠道菌群分类操作单元(OTUs)构建新生儿出生体质量分类预测模型, 探究孕妇肠道菌群对新生儿体质量的影响。**结果** 三组孕母的肠道菌群组成分析发现, 门水平中厚壁菌门(*Firmicutes*)物种丰富度最高, 属水平里普拉梭菌(*Faecalibacterium*)明显富集, 三组间门水平的香农指数和辛普森指数比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。三组间的LEfSe分析发现: 与LW组比较, NW组链球菌(*Streptococcus*)和罗氏菌(*Roseburia*)明显富集($P<0.05$), 而芽孢杆菌(*Bacillaceae*)、萝卜属(*Raphanus*)、甲烷球形菌(*Methanospira*)、巴氏杆菌(*Barnesiellaceae*)、普雷沃氏菌(*Paraprevotella*)丰度明显降低($P<0.05$); 与NW组比较, OW组属巨单胞菌(*Megamonas*)、属粪球菌(*Coprococcus*)、韦荣氏菌(*Veillonellaceae*)、*cc-115*、梭菌(*Clostridiaceae*)、另枝杆菌(*Alistipes*)明显富集($P<0.05$), 而布劳特氏菌(*Blautia*)和伊格尔兹氏菌(*Eggerthella*)丰度明显降低($P<0.05$); 与LW组比较, OW组*Clostridiaceae*、*Alistipes*菌群明显富集($P<0.05$), 而*Barnesiellaceae*丰度明显降低($P<0.05$)。基于实验室检测指标分类器模型、肠道菌群OTUs分类器模型, 区分NW组与LW组的受试者工作特征曲线下面积(AUC)分别为0.62、0.77, 区分NW组与OW组的AUC分别为0.65、0.78。**结论** 不同出生体质量新生儿对应孕母的肠道菌群存在差异, 孕妇肠道菌群OTUs模型可区分新生儿出生体质量的大小, 孕妇肠道菌群可能是预测新生儿体质量的一个良好指标。

【关键词】 婴儿健康; 出生体重; 胃肠道微生物组; LEfSe分析; 随机森林

【中图分类号】 R 722 R 174 R 378.2 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0114

肖雪, 王宇琦, 赖晓岚, 等. 孕妇肠道菌群对新生儿出生体质量的影响研究[J]. 中国全科医学, 2022, 25(19): 2363-2370. [www.chinagp.net]

XIAO X, WANG Y Q, LAI X L, et al. Effect of maternal intestinal floras on neonatal birth weight [J]. Chinese General Practice, 2022, 25(19): 2363-2370.

Effect of Maternal Intestinal Floras on Neonatal Birth Weight XIAO Xue¹, WANG Yuqi¹, LAI Xiaolan¹, ZHONG Shaotao¹, ZHAO Cuiliu¹, LIU Dan¹, LI Lin¹, TAN Rongshao^{1*}, YANG Hongling²

1. Guangzhou Red Cross Hospital, Guangzhou 510220, China

2. Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou 510623, China

*Corresponding author: TAN Rongshao, Chief physician; E-mail: tanrongshao@126.com

【Abstract】 **Background** Birth weight is closely related to individual health. Low birth weight is a high-risk factor for early neonatal death. Macrosomia is associated with higher risk of maternal and infant complications and various chronic diseases in adulthood. Therefore, it is very important to identify the influencing factors of neonatal birth weight. **Objective** To investigate the relationship between maternal intestinal flora and neonatal birth weight. **Methods** Participants were 516 singleton mothers and their babies [24 with low birth weight (LW group), 479 with normal birth weight (NW group) and 13 with macrosomia (OW group)] delivered at term in Guangzhou Women and Children's Medical Center from January to September 2017.

基金项目: 广东省科技计划项目(2017B090904027); 中国营养学会青年人才项目(2020-51号); 广州市卫生和计划生育科技项目(2018A010015, 2021A010017)

1.510220 广东省广州市, 广州红十字会医院 2.510623 广东省广州市, 广州市妇女儿童医疗中心

*通信作者: 谭荣韶, 主任医师; E-mail: tanrongshao@126.com

本文数字出版日期: 2022-06-02



Maternal intestinal flora and clinical laboratory test parameters were collected, and the composition and diversity of intestinal flora were analyzed using QIIME. LEfSe analysis was used to compare the relative abundance of intestinal flora at the genus level of the mothers of three groups of babies to identify the flora with significant intergroup differences. MaAslin was used to assess associations of maternal laboratory test parameters and microbial genera. The Boruta was used to build models for predicting three types of neonatal birth weight using maternal laboratory test parameters and intestinal flora OTUs, to assess the association of maternal intestinal floras and neonatal birth weight. **Results** The analysis of maternal intestinal floras showed that the abundance of *Firmicutes* was the highest at the phylum level, and *Faecalibacterium* was significantly enriched at the genus level. There were no significant differences in Simpson's Diversity Index and Shannon Diversity Index at the phylum level across the maternal intestinal floras of three groups of babies ($P>0.05$). LEfSe analysis found that compared with intestinal flora of mothers of LW group, the intestinal flora of mothers of NW group showed significantly enriched *Streptococcus* and *Roseburia* ($P<0.05$), and significantly reduced abundance of *Bacillaceae*, *Raphanus*, *Methanospaera*, *Barnesiella* and *Paraprevotella* ($P<0.05$), while the intestinal flora of mothers of OW group demonstrated significantly enriched *Clostridiaceae* and *Alistipes* as well as significantly reduced abundance of *Barnesiella* ($P<0.05$). Compared with intestinal flora of mothers of NW group, the intestinal flora of mothers of OW group indicated significantly enriched *Megamonas*, *Coprococcus*, *Veillonellaceae*, *cc-115*, *Clostridiaceae* and *Alistipes*, and significantly reduced abundance of *Blautia* and *Eggerthella* ($P<0.05$). The area under ROC curve (AUC value) based on laboratory test parameter OTUs model and intestinal flora OTUs model was 0.62 and 0.77, respectively, in discriminating LW from NW, and was 0.65, and 0.78 respectively, in discriminating OW from NW. **Conclusion** Neonatal birth weight varied by the features of maternal intestinal floras. The OTUs model based on maternal intestinal flora could distinguish the neonatal birth weight. Maternal intestinal flora may be a good predictor of neonatal birth weight.

【Key words】 Infant health; Birth weight; Gastrointestinal microbiome; LEfSe analysis; Random forests

新生儿出生体质量不仅对其生长发育和健康状况评估具有重要意义,而且是儿童后期生长发育预测和成年期疾病预测的重要指标^[1]。新生儿出生体质量过高或者过低都会严重影响新生儿的健康,甚至影响其母亲的健康^[2]。新生儿出生体质量受多种因素影响,如母亲文化程度、新生儿性别、孕次、流产史、孕期患病、孕期被动吸烟等^[3]。已有研究表明,肠道菌群组成与体质量有密切关系^[4]。肠道菌群结构受宿主基因型、饮食、分娩方式、抗生素使用和益生菌等因素的影响,其中饮食结构是最直接且最容易控制的因素^[5]。有研究揭示,饮食、宿主能量代谢和肥胖表型之间存在明显相关性^[6]。胚胎期的环境和营养状况、遗传因素等都与新生儿出生体质量有密切联系^[7]。另一方面,管理孕期体质量是孕期保健工作的重要内容之一,孕期体质量异常对妊娠结局及母婴健康都有重要影响^[8-9]。以往研究多围绕孕妇肠道菌群与孕妇BMI、不良妊娠结局和新生儿肠道菌群的关系开展^[10-11],较少有研究关注孕妇肠道菌群与新生儿体质量的关系。因此,本研究拟探讨孕期母体肠道微生物群及代谢状态与子代出生体质量的关系,从而为通过改善孕期肠道微生态结构来降低子代健康风险提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象 以2017年1—9月在广州市妇女儿童医疗中心出生的516例新生儿及其孕母为研究对象。纳入标准:(1)孕妇无精神疾病史,能配合完成问卷调查和相关实验室检查;(2)自愿参与本研究并签署知情同意书。排除标准:(1)孕妇在过去6个月内使用

过全身抗生素、皮质酮、细胞因子、氨甲喋呤或其他免疫毒性药物、激素拮抗剂和大剂量益生菌药物;(2)孕妇患严重心血管疾病、炎症性肠病、肠易激综合征、腹腔疾病等;(3)孕妇为人类免疫缺陷病毒感染患者;(4)孕妇5年内进行过肠道手术;(5)孕妇患有由艰难梭菌或不明原因引起的慢性腹泻;(6)孕妇患有慢性便秘;(7)孕妇患有妊娠期糖尿病或妊娠期高血压;(8)孕妇在近4周内进行过常规抗生素治疗或益生菌补充。本研究经广州市妇女儿童医疗中心伦理委员会审批(伦理批件编号:2018030306)。

1.2 研究方法

1.2.1 资料收集及分组方法 在孕母至医院产检时,通过调查问卷收集其一般资料(如年龄、身高、体质量),并留取其血液、尿液及粪便样本。通过查阅医院病历系统,采集新生儿的出生医学信息。根据新生儿出生体质量,将其分为低出生体质量儿组(LW组,出生体质量 $<2\ 500\text{ g}$, $n=24$)、正常体质量儿组(NW组,出生体质量为 $2\ 500\sim 3\ 999\text{ g}$, $n=479$)、巨大儿组(OW组,出生体质量 $\geq 4\ 000\text{ g}$, $n=13$)^[12]。

1.2.2 肠道菌群检测

1.2.2.1 粪便样本采集和DNA提取 使用带稳定液的粪便采集管收集孕妇的晨起空腹粪便,采集花生米大小的新鲜便样,编号后置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。采用Qiagen公司Stool DNA提取试剂盒提取粪便DNA, DNA提取完成后行琼脂糖凝胶电泳检测DNA纯度和浓度,合格DNA用无菌水稀释至 $1\text{ ng}/\mu\text{ l}$ 。

1.2.2.2 生物学的聚合酶链反应(PCR)扩增和PCR

产物回收纯化 以稀释后的DNA为扩增模板,使用通用515F(5'-GTGYCAGCCGTA-3')和806R(5'-GGACTACNVTGGTCTAAT-3')引物扩增16S rRNA基因的V4区域,反应程序设置为:95℃预变性5min;30个循环(包括94℃,30s;60℃,30s;72℃,40s);72℃,4min,使用New England Biolabs公司的Phusion High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer进行扩增,所得PCR产物使用2%的琼脂糖凝胶进行电泳检测质量;选择主带大小为300~350bp的序列,割胶回收目标条带。产物纯化使用Thermo Scientific公司GeneJET胶回收试剂盒。

1.2.2.3 高通量测序分析肠道菌群 使用建库试剂盒进行文库的构建,构建好的文库经过Qubit定量和文库检测合格后,使用HiSeq进行上机测序。测序完成后原始数据拼接、过滤,基于有效数据进行分类操作单元(operational taxonomic units, OTUs)聚类和物种分类分析,根据OTUs聚类结果,对每个OTU的代表序列做物种注释,得到对应的物种信息和基于物种的丰度分布情况。

1.3 统计学方法 采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析,采用Adobe Illustrator CS5和R语言软件绘图。对计量资料进行正态性检验和方差齐性检验,满足正态分布和方差齐性的资料以($\bar{x} \pm s$)表示,三组间比较采用单因素方差分析。选择香农指数和辛普森指数来反映三组孕妇肠道菌群的Alpha多样性。通过分析不同样品的OUTs组成可以反映样品间的差异和距离,主坐标分析(principal coordinates analysis, PCoA)运用方差分解,将多组数据的差异反映在二维坐标图上,以观察不同样品、不同组别间微生物群落Beta多样性的分类学差异。采用LEfSe分析,分别对三组孕妇肠道菌群属水平上的相对丰度进行两两比较,识别组间具有明显差异的菌群。通过线性模型MaAsLin进行多元分析,以捕获各实验室检测指标与微生物属之间的相关性。通过Boruta随机森林分类器模型分别基于实验室检测指标和肠道菌群OTUs构建新生儿出生体质量分类预测模型,并绘制受试者工作特征(ROC)曲线,预测孕妇肠道菌群对新生儿体质量的影响。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组孕妇的基本情况及其实验室检测指标比较 三组孕妇的年龄、身高、孕前体质量、孕前BMI、孕期体质量增长及各项实验室指标比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表1~2。

2.2 三组孕妇肠道菌群组成比较

2.2.1 门水平分析 516例孕妇的肠道菌群共检测出厚壁菌门(*Firmicutes*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、广古菌门(*Euryarchaeota*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)6个主要的门,其中*Firmicutes*在三组中占绝对优势。三组孕妇在主要门水平上的菌群相对丰度比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表3。

2.2.2 Alpha多样性分析 LW组、NW组及OW组的香农指数分别为(3.45 ± 0.41)、(3.55 ± 0.36)、(3.62 ± 0.43),辛普森指数分别为(0.93 ± 0.12)、(0.95 ± 0.08)、(0.93 ± 0.13)。三组香农指数、辛普森指数比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见图1~2。

2.2.3 Beta多样性分析 基于bray-cutis距离的二维PCoA值显示,主成分1和主成分2的解釋度分别为5.33%和4.82%,三组间在菌群组成上比较,差异无统计学意义($P = 0.22$),见图3。

2.2.4 属水平分析 三组孕妇肠道菌群中平均丰度较高的9个优势菌属分别为:普拉梭菌(*Faecalibacterium*)、罗氏菌(*Roseburia*)、布劳特氏菌(*Blautia*)、拟杆菌(*Bacteroides*)、巨单胞菌(*Megamonas*)、毛螺菌

表1 三组孕妇的基本情况比较($\bar{x} \pm s$)
Table 1 General characteristic of three groups of pregnant women

组别	例数	年龄(岁)	身高(cm)	孕前期质量(kg)	孕前BMI(kg/m^2)	孕期体质量增长(kg)
LW组	24	30.5 ± 0.8	156.9 ± 1.1	50.6 ± 1.0	20.5 ± 0.5	12.7 ± 0.7
NW组	479	30.1 ± 0.2	159.7 ± 0.2	52.0 ± 0.3	20.4 ± 0.1	13.2 ± 0.2
OW组	13	31.5 ± 1.5	161.2 ± 1.4	57.2 ± 1.4	21.9 ± 0.6	17.3 ± 1.2
F值		37.54	49.23	63.83	58.95	77.63
P值		0.04	0.03	0.03	0.03	0.02

注:LW组为低出生体质量儿组(出生体质量 < 2500 g),NW组为正常体质量儿组(出生体质量为 $2500 \sim 3999$ g),OW组为巨大儿组(出生体质量 ≥ 4000 g)

表2 三组孕妇实验室检测指标比较($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Results of clinical laboratory indices of three groups of pregnant women

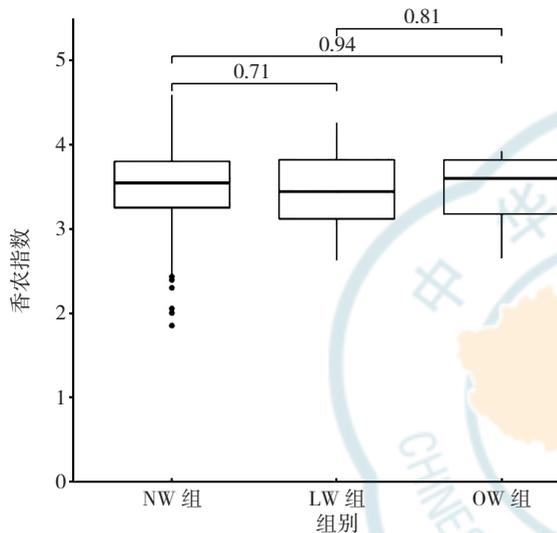
组别	例数	糖化血红蛋白(%)	红细胞比容(%)	空腹血糖(mmol/L)	红细胞计数($\times 10^{12}/L$)	血清谷氨酰转氨酶(U/L)	血红蛋白(g/L)	血浆纤维蛋白原(g/L)	中性粒细胞(%)	淋巴细胞(%)	球蛋白(g/L)	丙氨酸氨基转移酶(U/L)	血清胱抑素C(mg/L)	嗜碱性粒细胞(%)
LW组	24	5.3 ± 0.6	37.9 ± 6.3	4.7 ± 1.1	3.5 ± 1.2	35.0 ± 1.9	92.0 ± 11.7	4.0 ± 1.0	73.0 ± 11.2	22.0 ± 0.9	23.0 ± 0.6	38.0 ± 1.1	1.3 ± 1.0	1.3 ± 0.4
NW组	479	4.9 ± 0.3	41.7 ± 3.5	4.3 ± 0.6	4.2 ± 0.5	28.0 ± 0.4	114.0 ± 8.6	3.1 ± 0.3	58.0 ± 6.2	32.0 ± 0.4	28.0 ± 0.3	22.0 ± 0.4	0.9 ± 0.5	0.9 ± 0.1
OW组	13	5.5 ± 0.7	37.2 ± 6.8	4.8 ± 1.2	3.6 ± 1.1	37.0 ± 1.8	87.0 ± 13.0	3.8 ± 0.8	69.0 ± 10.4	24.0 ± 0.8	22.0 ± 0.7	43.0 ± 1.4	1.3 ± 0.9	1.4 ± 0.4
F值		365.96	285.62	168.53	194.71	170.56	406.85	263.64	553.90	342.17	229.73	646.83	335.94	224.86
P值		< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01

表3 三组孕妇肠道菌群在门水平上的菌群相对丰度比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 3 The average relative abundance of intestinal floras at the phylum level of mothers of three groups of babies divided by birth weight

组别	例数	Firmicutes	Bacteroidetes	Actinobacteria	Proteobacteria	Euryarchaeota	Verrucomicrobia	其他
LW组	24	85.52 ± 9.20	5.63 ± 0.70	5.92 ± 0.70	1.29 ± 0.20	0.11 ± 0.01	1.43 ± 0.20	0.10 ± 0.01
NW组	479	78.19 ± 8.10	13.16 ± 1.30	5.25 ± 0.60	2.13 ± 0.20	0.41 ± 0.04	0.75 ± 0.20	0.11 ± 0.01
OW组	13	78.42 ± 8.90	13.67 ± 1.70	1.93 ± 0.30	1.68 ± 0.30	0.35 ± 0.06	3.86 ± 0.50	0.09 ± 0.01
F值		12.90	14.60	9.30	10.50	8.40	13.30	5.20
P值		0.23	0.18	0.41	0.37	0.45	0.20	0.73

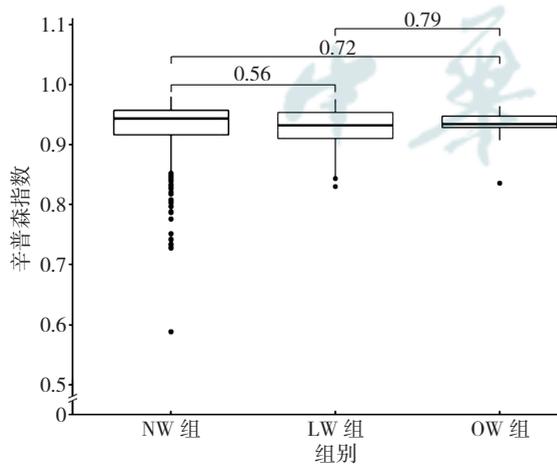
注: Firmicutes= 厚壁菌门, Bacteroidetes= 拟杆菌门, Actinobacteria= 放线菌门, Proteobacteria= 变形菌门, Euryarchaeota= 广古菌门, Verrucomicrobia= 疣微菌门



注: LW组为低出生体质量儿组(出生体质量 < 2 500 g), NW组为正常体质量儿组(出生体质量为 2 500~3 999 g), OW组为巨大儿组(出生体质量 ≥ 4 000 g); 图中数字为组间比较的 P 值

图1 三组孕妇肠道菌群 Alpha 多样性香农指数比较

Figure 1 Shannon Diversity Index measuring the alpha diversity indices of intestinal flora of mothers of three groups of babies divided by birth weight



注: 图中数字为组间比较的 P 值

图2 三组孕妇肠道菌群 Alpha 多样性辛普森指数比较

Figure 2 Simpson's Diversity Index measuring the alpha diversity indices of intestinal flora of mothers of three groups of babies divided by birth weight

(*Lachnospiraceae*+)、瘤胃球菌(*Ruminococcus*)、普雷沃氏菌(*Paraprevotella*)、链球菌(*Streptococcus*)。其中, *Faecalibacterium* 在三组中占优势, *Bacteroides* 在

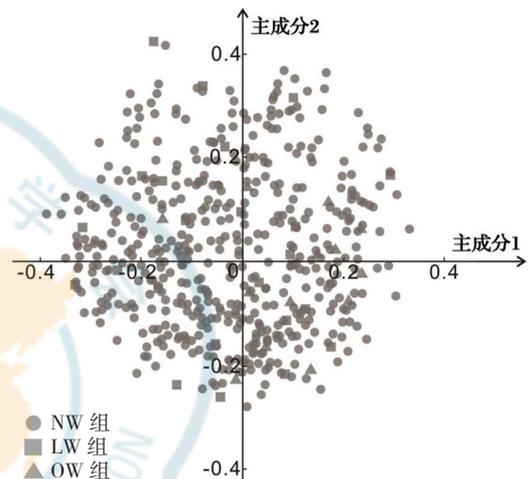


图3 三组孕妇肠道菌群的 Beta 多样性

Figure 3 Beta diversity analysis of intestinal flora of mothers of three groups of babies divided by birth weight

LW组中为第二优势菌属(占8.26%),而NW组和OW组的第二优势菌属为*Roseburia*(分别占8.71%和9.42%)。三组孕妇肠道菌群在属水平上的相对丰度比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表4。

LEfSe 分析结果显示:(1)与LW组相比,优势菌属 *Streptococcus* 和非优势菌属罗斯氏菌(*Rothia*) 在NW组明显富集($P < 0.05$),而非优势菌属芽孢杆菌(*Bacillaceae*)、萝卜属菌(*Raphanus*)、甲烷球形菌(*Methanospaera*)、巴氏杆菌(*Barnesiellaceae*)、*Paraprevotella* 的相对丰度降低($P < 0.05$);(2)与OW组相比,优势菌属 *Megamonas* 和非优势菌属粪球菌(*Coprococcus*)、*cc_115*、韦荣氏菌(*Veillonellaceae*)、梭菌(*Clostridiaceae*)、另枝杆菌(*Alistipes*) 在NW组明显降低($P < 0.05$),而优势菌属 *Blautia* 和非优势菌属伊格尔兹氏菌(*Eggerthella*) 明显富集($P < 0.05$);(3)LW组与OW组比较,非优势菌属 *Clostridiaceae*、*Alistipes* 在OW组明显富集($P < 0.05$),非优势菌属 *Barnesiellaceae* 在LW组明显富集($P < 0.05$),见图4。

2.3 孕妇肠道菌群与实验室检测指标的相关性分析结果显示,实验室检测指标与微生物属之间存在308个有统计学意义的相互关联($q \leq 0.20, P < 0.05$)。其中尿胆原与36个菌属的相对丰度密切相关,见图5。

表 4 三组孕妇肠道菌群在属水平上的相对丰度比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 4 The average relative abundance of intestinal flora at the genus level of mothers of babies divided by birth weight

组别	例数	<i>Faecalibacterium</i>	<i>Roseburia</i>	<i>Blautia</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Megamonas</i>	<i>Lachnospiraceae+</i>	<i>Ruminococcus</i>	<i>Paraprevotella</i>	<i>Streptococcus</i>	其他
LW组	24	17.82 ± 1.90	6.52 ± 0.80	6.81 ± 0.80	8.26 ± 0.90	5.36 ± 0.60	5.22 ± 0.60	5.07 ± 0.60	7.25 ± 0.70	1.89 ± 0.20	35.8 ± 3.90
NW组	479	17.39 ± 1.60	8.71 ± 0.80	7.96 ± 0.80	5.79 ± 0.60	4.35 ± 0.50	6.52 ± 0.60	5.81 ± 0.60	5.22 ± 0.50	2.75 ± 0.30	35.5 ± 3.60
OW组	13	19.56 ± 2.10	9.42 ± 1.10	5.06 ± 0.70	4.64 ± 0.70	8.41 ± 1.00	5.09 ± 0.70	5.05 ± 0.70	3.18 ± 0.60	3.93 ± 0.50	35.6 ± 4.10
F值		6.80	7.50	8.30	12.10	10.90	5.50	4.60	10.90	8.90	4.10
P值		0.66	0.53	0.45	0.22	0.34	0.74	0.80	0.36	0.43	0.82

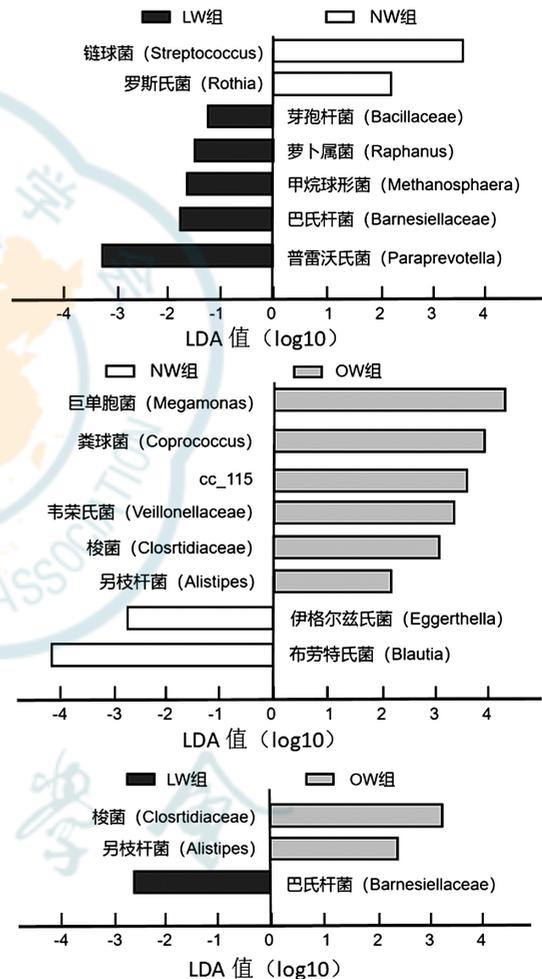
注: *Faecalibacterium*= 普拉梭菌, *Roseburia*= 罗氏菌, *Blautia*= 布劳特氏菌, *Bacteroides*= 拟杆菌, *Megamonas*= 巨单胞菌, *Lachnospiraceae+*= 毛螺菌, *Ruminococcus*= 瘤胃球菌, *Paraprevotella*= 普雷沃氏菌, *Streptococcus*= 链球菌

2.4 基于实验室检测指标和肠道菌群 OTUs 建立预测出生体质量的模型 (1) 基于实验室检测指标的分类器模型构建 ROC 曲线, 区分 NW 组与 LW 组的 AUC 为 0.62, 区分 NW 组与 OW 组的 AUC 为 0.65, 见图 6~7。(2) 基于肠道菌群 OTUs 分类器模型构建 ROC 曲线, 区分 NW 组与 LW 组的 AUC 为 0.77, 区分 NW 组与 OW 组的 AUC 为 0.78, 见图 8~9。

3 讨论

外源性和内源性因素都可能影响母体肠道微生物的构建, 如母体易受膳食、肥胖、妊娠期并发症、环境暴露、抗生素使用等病理因素的影响, 进而影响正常妊娠过程, 诱导各种妊娠并发症的发生、发展, 直接或间接影响妊娠结局, 影响新生儿体质量的同时, 也可能改变新生儿的表观基因并且遗传给子代, 当子代成年后更易诱发肥胖、心血管疾病、糖尿病及其他代谢性疾病^[13]。近年来, 肠道菌群失衡已被证实与糖尿病^[14]、高血压^[15]、过敏性哮喘^[16]、神经系统疾病^[17]等多种疾病相关。研究发现, 肠道菌群对宿主的代谢、免疫反应、生理活动等具有广泛影响^[18-19]。由于妊娠期女性的解剖结构及生理、免疫功能发生变化, 其肠道菌群也会受妊娠期特殊代谢过程的影响而发生改变^[20-21]。本研究发现, 516 例孕妇的肠道菌群主要由 *Firmicutes*、*Bacteroidetes*、*Actinobacteria*、*Proteobacteria*、*Euryarchaeota*、*Verrucomicrobia* 6 个细菌门所组成, 其中 *Firmicutes* 物种丰富度最高; 而在属水平上, 优势菌属包括 *Faecalibacterium*、*Roseburia*、*Blautia*、*Bacteroides*、*Megamonas*、*Lachnospiraceae+*、*Ruminococcus*、*Paraprevotella*、*Streptococcus* 9 种, 其中 *Faecalibacterium* 在三组中均占优势, 这与近两年同类研究结果基本一致^[22-23]。正常围产期母体的肠道微生物基本保持“动态平衡”, 但是因为孕期营养代谢需求量增加, 激素分泌水平改变, 调控血糖稳态、胰岛素敏感性, 胃肠道发生系列重构, 肠道菌群组成也发生适应性改变^[24]。另一方面, 胎儿的增长导致孕妇体内激素水平不断变化, 从而引起体内微生物寄居环境变化, 如各种微量元素、温度、湿度和 pH 等, 因此孕妇肠道菌群也会发生改变。

在本研究中, 与 NW 组和 LW 组相比, OW 组孕妇肠道菌群中富集梭菌纲和梭菌目。前期研究证明

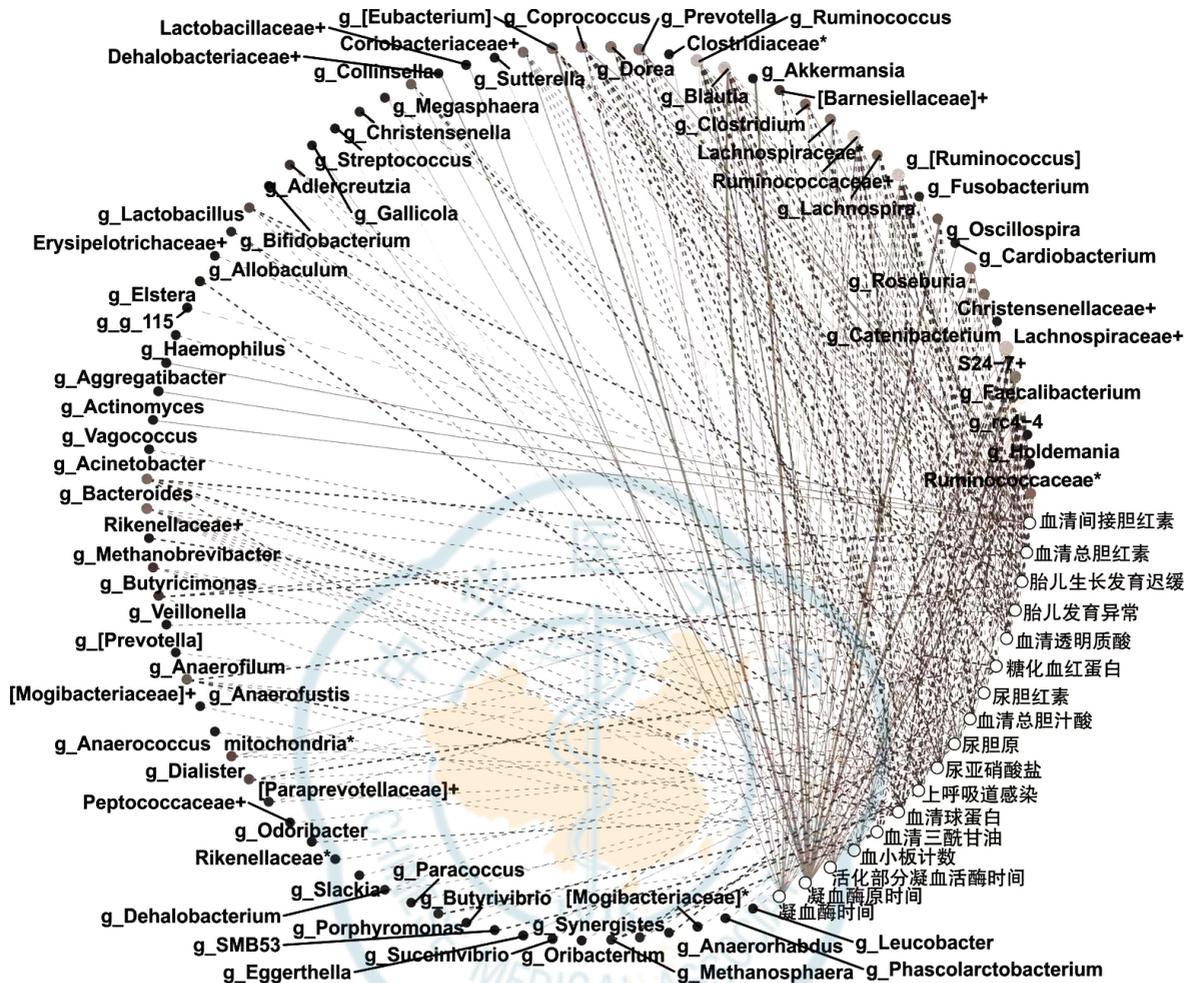


注: LDA=线性判别分析; 由于目前在菌种水平的基因库尚不完善, 部分物种暂无对应的中文名称, 对于这部分物种, 本文中仅列出其英文名称; 列出的菌属为组间两两比较具有统计学意义者

图 4 三组孕妇肠道菌群属水平上的相对丰度比较

Figure 4 Significant differences among the intestinal flora at genus level of mothers of three groups of babies divided by birth weight

Clostridiaceae 具有产生短链脂肪酸的功能^[25]。短链脂肪酸是由膳食纤维、蛋白质和多肽发酵产生的一种少于 6 个碳的羧酸, 其逃避了肠上部宿主酶的消化, 并被盲肠和结肠的微生物群代谢, 其中乙酸、丙酸和丁酸是重要的代谢产物。乙酸进入外周循环供周围组织使用。丙酸是一类葡萄糖异生剂, 具有抑制胆固醇合成的作用,



注：图中空心点为实验室检测指标，实心点为肠道菌群物种，实线表示正相关，虚线表示负相关；Lactobacillaceae= 乳酸杆菌，Eubacterium = 真杆菌，Coprococcus= 粪球菌，Prevotella= 普氏菌，Dehalobacteriaceae= 脱卤杆菌，Coriobacteriaceae= 大肠杆菌，Clostridiaceae= 梭菌，Cohwellia= 科维尔氏菌，Akkermansia= 阿克曼氏菌，Megasphaera= 巨球菌，Blautia= 布劳特氏菌，Barnesiellaceae= 巴氏杆菌，Christensenellaceae = 克里斯滕森菌，Clostridium= 梭菌，Streptococcus= 链球菌，Ruminococcus= 瘤胃球菌，Adlercreutzia= 安德克氏菌，Ruminococcaceae= 瘤胃球菌，Fusobacterium= 梭杆菌，Lactobacillus= 乳酸杆菌，Gallicola= 叶瘦菌，Lachnospira= 毛螺菌，Erysipelotrichaceae= 丹毒丝菌，Bifidobacterium = 双歧杆菌，Oscillospira= 颤螺菌，Allobaculum= 异杆菌，Cardiobacterium= 心杆菌，Elstera= 埃希菌，Roseburia= 罗氏菌，Haemophilus= 嗜血杆菌，Catenibacterium = 链状杆菌，Lachnospiraceae= 毛螺菌，Aggregatibacter= 聚集菌，Actinomyces= 放线菌，Fecalibacterium= 粪杆菌，Vagococcus= 球菌，Acinetobacter= 不动杆菌，Holdemania= 霍尔德曼氏菌，Bacteroides= 拟杆菌，Rikenellaceae= 理研菌，Methanobrevibacter= 甲烷短杆菌，Butyricimonas= 丁酸单胞菌，Veillonella= 韦荣氏球菌，Anaerofilum= 厌氧菌，Mogibacteriaceae= 艰难杆菌，Anaerofustis= 厌氧菌，Anaerococcus= 厌氧球菌，mitochondria= 线粒体，Dialister= 小杆菌，Peptococcaceae= 消化球菌，Paraprevotellaceae= 帕拉普氏菌，Odoribacter = 臭气杆菌，Paracoccus= 副球菌，Slackia= 史雷克氏菌，Dehalobacterium= 脱盐杆菌，Butyrivibrio= 丁酸弧菌，Porphyromonas= 卟啉菌，Synergistes= 互养菌，Eggerthella= 伊格尔兹氏菌，Succinivibrio= 琥珀酸弧菌，Oribacterium= 假丁酸弧菌，Anaerorhabdus= 厌氧杆菌，Leucobacter = 白杆菌，Methanosphaera= 甲烷球菌，Phascolarctobacterium= 芽孢杆菌；由于目前在菌种水平的基因库尚不完善，部分物种暂无对应中文名称；同一菌属不同亚株的中文名称相同

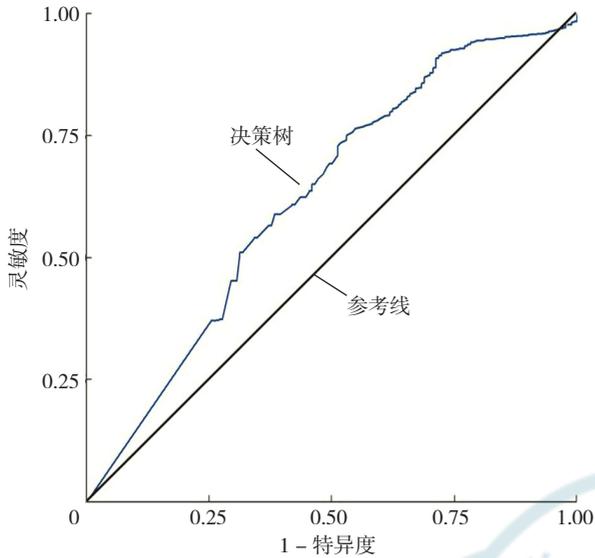
图5 孕妇实验室检测指标与肠道菌群物种的相关性网络

Figure 5 Correlation network between maternal laboratory test indices and intestinal flora species

因此很可能会降低血液血脂水平及心血管疾病的发生风险，同时短链脂肪酸被认为具有抗感染特性^[26]。这表明，分娩巨大儿的孕母体内肠道菌群可能是被产生短链脂肪酸相关的细菌的代偿机制所抑制。

目前在临床上对孕期胎儿体质量干预的措施有限，难以奏效；即出生前已预知是巨大胎儿或体质量偏低的胎儿，在出生时仍然是巨大儿或低出生体质量儿；无论巨大儿或低出生体质量儿，都会影响其出生后的生长发

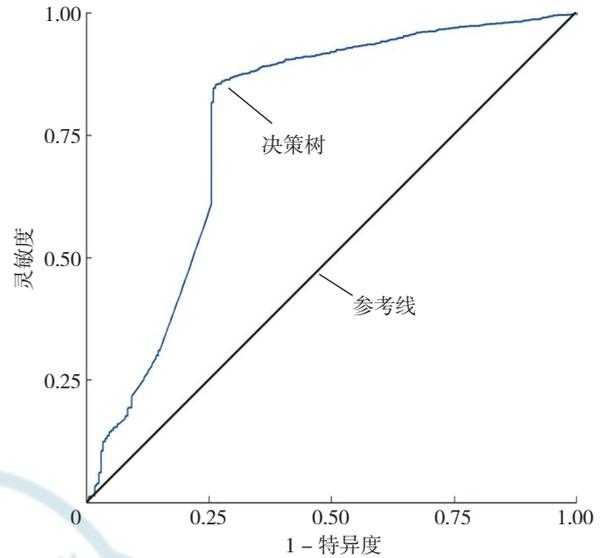
育及疾病的发生。为此，本研究还探讨了孕妇肠道菌群对新生儿体质量的影响：基于母体肠道菌群建立区分正常出生体质量孕妇与低出生体质量和巨大儿孕妇的随机森林分类模型，其ROC曲线下面积分别为0.77和0.78，表明基于肠道菌群OTUs构建的分类器模型对正常出生体质量孕妇与低出生体质量孕妇和巨大儿孕妇的区分能力比基于实验室检测指标的区分能力更强，菌群的独立预测作用高于临床实验室检测指标。研究新生儿体质量



注：ROC 曲线 = 受试者工作特征曲线

图6 基于实验室检测指标建立的区分NW组与LW组孕妇随机森林分类模型的ROC曲线

Figure 6 ROC curve of random forest classification model based on maternal blood test indices for distinguishing between babies born with normal and low weight



注：OTUs= 分类操作单元

图8 基于肠道菌群 OTUs 建立的区分NW组孕妇与LW组孕妇随机森林分类模型的ROC曲线

Figure 8 ROC curve of random forest classification model based on maternal intestinal flora OTUs for distinguishing between babies born with normal and low weight

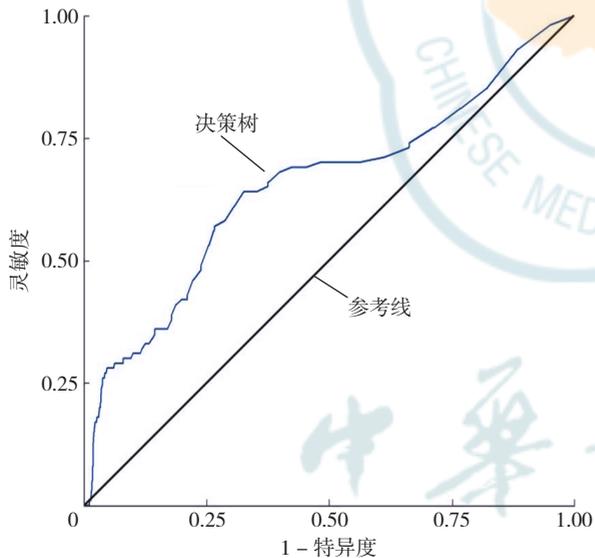


图7 基于实验室检测指标建立的区分NW组孕妇与OW组孕妇随机森林分类模型的ROC曲线

Figure 7 ROC curve of random forest classification model based on maternal blood test indices for distinguishing between a baby with normal birth weight and a macrosomia

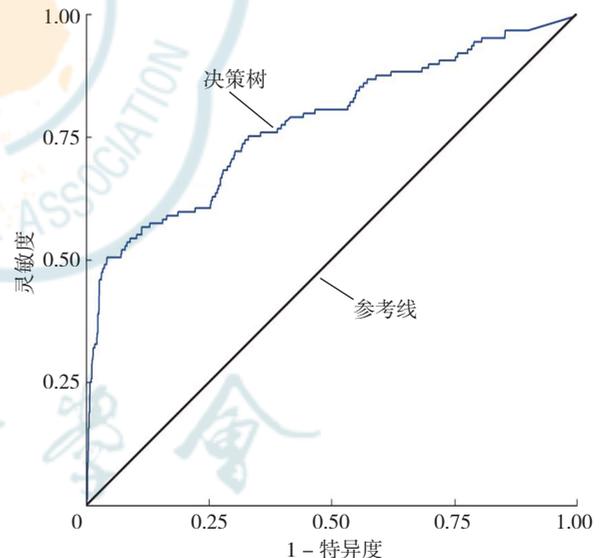


图9 基于肠道菌群 OTUs 建立的区分NW组孕妇与OW组孕妇随机森林分类模型的ROC曲线

Figure 9 ROC curve of random forest classification model based on maternal intestinal flora OTUs for distinguishing between a baby with normal birth weight and a macrosomia

的不同与孕妇的肠道菌群分布的变化来构建预测模型，找出对新生儿体质量预测有重要影响的微生物指标，可用于临床上对于巨大儿和低体质量儿出生的提前预测。根据孕妇孕期的肠道菌群变化提早干预孕妇的营养摄入，运用各种干预手段调控孕妇的肠道菌群的组成和分布，以此降低不良妊娠结局发生风险，这对于提高孕早期母婴健康和改善分娩后母婴的远期健康都具有非常高的价值，也是现代医学实现“未病先防”和个性化医疗的

新方向和途径。

作者贡献：肖雪进行文章的构思与设计，撰写论文并进行论文修订，对文章整体负责；赖晓岚、钟绍涛进行研究的实施与可行性分析；赵翠柳、刘丹、李琳进行数据收集；王宇琦、杨红玲负责数据整理、统计学处理、结果的分析与解释；谭荣韶对文章进行监督管理。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] MARINELLI M, CARSIN A E, TURNER M C, et al. Maternal

- sleep duration and neonate birth weight: a population-based cohort study [J]. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 2022, 156 (3): 494-501. DOI: 10.1002/ijgo.13685.
- [2] PMSA C, KF A, JST A, et al. Prenatal maternal posttraumatic stress disorder as a risk factor for adverse birth weight and gestational age outcomes: a systematic review and meta-analysis [J]. *Journal of Affective Disorders*, 2021, 295: 530-540. DOI: 10.1016/j.jad.2021.08.079.
- [3] SIEGA-RIZ A M, VLADUTIU C J, BUTERA N M, et al. Preconception diet quality is associated with birth weight for gestational age among women in the hispanic community health study/study of latinos [J]. *Journal of the American Academy of Nutrition and Dietetics*, 2020, 121 (3): 458-466.
- [4] GOUGH E K, EDENS T J, GEUM H M, et al. Maternal fecal microbiome predicts gestational age, birth weight and neonatal growth in rural Zimbabwe [J]. *EBio Medicine*, 2021, 68 (1): 103421. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103421.
- [5] TURNBAUGH P J, LEY R E, MAHOWALD M A, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest [J]. *Nature*, 2006, 444 (7122): 1027-1031. DOI: 10.1038/nature05414.
- [6] 潘娣. 运动与饮食干预下肥胖儿童体重变化的能量平衡与失衡 [D]. 北京: 北京体育大学, 2017.
- [7] 傅秋帆, 李雅琴, 孟宪英. 沈阳肥胖新生儿的回顾性调查 [J]. *营养学报*, 1989, 11 (2): 185-187. DOI: CNKI:SUN:YYXX.0.1989-02-021.
- [8] 宋伟, 张志, 梁胜男, 等. 肥胖孕妇孕期增重及其与不良妊娠结局的关系 [J]. *中华围产医学杂志*, 2021, 24 (5): 352-359. DOI: 10.3760/cma.j.cn113903-20200821-00843. SONG W, ZHANG Z, LIANG S N, et al. Maternal weight gain during pregnancy in obese women and its relationship with adverse pregnancy outcomes [J]. *Chinese Journal of Perinatal Medicine*, 2021, 24 (5): 352-359. DOI: 10.3760/cma.j.cn113903-20200821-00843.
- [9] 冯银宏, 钱晶晶, 宋学军. 孕前体重指数、孕期体重增加与妊娠期并发症及妊娠结局的关系 [J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31 (2): 92-96.
- [10] 金玉, 齐宸, 管滔, 等. 孕期增重过多对孕妇肠道菌群及妊娠结局的影响 [J]. *中国微生态学杂志*, 2019, 31 (5): 509-511, 518. DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201905003.
- [11] 吴莎. 妊娠期糖尿病孕妇体重、肠道菌群的组成变化特点及对妊娠结局的影响 [J]. *中国医师杂志*, 2019, 21 (6): 909-911. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2019.06.026.
- [12] 谢幸, 苟文丽. *妇产科学* [M]. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [13] CHARBONNEAU M R, BLANTON L V, DIGIULIO D B, et al. A microbial perspective of human developmental biology [J]. *Nature*, 2016, 535 (7610): 48-55. DOI: 10.1038/nature18845.
- [14] VATANEN T, FRANZOSA E A, SCHWAGER R, et al. The human gut microbiome in early-onset type 1 diabetes from the TEDDY study [J]. *Nature*, 2018, 562 (7728): 589-594. DOI: 10.1038/s41586-018-0620-2.
- [15] HEIANZA Y, MA W, DIDONATO J A, et al. Long-term changes in gut microbial metabolite trimethylamine n-oxide and coronary heart disease risk [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75 (7): 763-772. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.11.060.
- [16] DU X Z, WANG L Y, WU S Y, et al. Efficacy of probiotic supplementary therapy for asthma, allergic rhinitis, and wheeze: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Allergy Asthma Proc*, 2019, 40 (4): 250-260. DOI: 10.2500/aap.2019.40.4227.
- [17] HEGELMAIER T, LEBBING M, DUSCHA A, et al. Interventional influence of the intestinal microbiome through dietary intervention and bowel cleansing might improve motor symptoms in Parkinson's disease [J]. *Cells*, 2020, 9 (2): 376. DOI: 10.3390/cells9020376.
- [18] WALUJKAR S A, KUMBHARE S V, MARATHE N P, et al. Molecular profiling of mucosal tissue associated microbiota in patients manifesting acute exacerbations and remission stage of ulcerative colitis [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2018, 34 (6): 76. DOI: 10.1007/s11274-018-2449-0.
- [19] DE PAEPE K, VERSPREET J, VERBEKE K, et al. Introducing insoluble wheat bran as a gut microbiota niche in an in vitro dynamic gut model stimulates propionate and butyrate production and induces colon region specific shifts in the luminal and mucosal microbial community [J]. *Environ Microbiol*, 2018, 20 (9): 3406-3426. DOI: 10.1111/1462-2920.14381.
- [20] SAKURAI K, KATO T, TANABE H, et al. Association between gut microbiota composition and glycoalbumin level during pregnancy in Japanese women: pilot study from Chiba Study of Mother and Child Health [J]. *J Diabetes Investig*, 2020, 11 (3): 699-706. DOI: 10.1111/jdi.13177.
- [21] SMID M C, RICKS N M, PANZER A, et al. Maternal gut microbiome biodiversity in pregnancy [J]. *Am J Perinatol*, 2018, 35 (1): 24-30. DOI: 10.1055/s-0037-1604412.
- [22] 王佩, 马良坤, 刘俊涛. 早/中孕期孕妇肠道菌群差异及其与妊娠期糖尿病的关系: 前瞻性队列研究 [J]. *协和医学杂志*, 2021, 12 (5): 721-728. WANG P, MA L K, LIU J T. Difference in gut microbiota between the first and the second trimester of pregnancy and the association of gut microbiota with gestational diabetes mellitus: a prospective cohort study [J]. *Medical Journal of Peking Union Medical College Hospital*, 2021, 12 (5): 721-728.
- [23] 张青松, 王妮, 秦家云, 等. 妊娠期便秘孕妇与健康孕妇肠道菌群差异研究 [J]. *湖北医药学院学报*, 2021, 40 (4): 407-412, 442. DOI: 10.13819/j.issn.2096-708X.2021.04.017. ZHANG Q S, WANG N, QIN J Y, et al. Study on the difference of intestinal flora between pregnant women with constipation and healthy pregnant women [J]. *Journal of Hubei University of Medicine*, 2021, 40 (4): 407-412, 442. DOI: 10.13819/j.issn.2096-708X.2021.04.017.
- [24] AVERSHINA E, STORRØ O, ØIEN T, et al. Major faecal microbiota shifts in composition and diversity with age in a geographically restricted cohort of mothers and their children [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2014, 87 (1): 280-290.
- [25] OHIRA H, TSUTSUI W, FUJIOKA Y. Are short chain fatty acids in gut microbiota defensive players for inflammation and atherosclerosis [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2017, 24 (7): 660-672. DOI: 10.5551/jat.RV17006.
- [26] MIHO M, DAISUKE N, NAKO K, et al. The dual role of short fatty acid chains in the pathogenesis of autoimmune disease models [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (2): e0173032. DOI: 10.1371/journal.pone.0173032.

(收稿日期: 2022-02-25; 修回日期: 2022-05-24)

(本文编辑: 王凤微)