

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2026.04.015

✦ 临床医学研究 ✦

基于宏基因组测序分析喂养方式对婴儿肠道菌群动态变化的影响

林艳¹, 陆美勤², 孔婉宁¹

(复旦大学附属金山医院, 1. 儿科; 2. 医务部, 上海 201508)

【摘要】目的: 探究通过宏基因组测序分析喂养方式对婴儿肠道菌群动态变化的影响。**方法:** 选取产科分娩的 60 名正常足月新生儿为研究对象, 根据其喂养方式分成两组: 母乳喂养组 ($n=23$) 与奶粉喂养组 ($n=37$)。分别提取其粪便总 DNA, 并通过高通量测序平台进行测序和分析, 比较喂养方式的改变对婴儿肠道菌群早期建立及动态变化的影响。**结果:** 奶粉喂养组和母乳喂养组肠道菌群的 Alpha 多样性、Beta 多样性差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。在 3 月龄和 12 月龄, 相较于奶粉喂养组, 母乳喂养组肠道厚壁菌门 C (firmicutes C) 相对丰度较高; 在 3 月龄时, 相较于奶粉喂养组, 母乳喂养组肠道韦荣球菌属 (Veillonella) 相对丰度较高 ($P<0.05$); 在不同月龄时, 两组婴儿肠道菌群的各优势菌种相对丰度均无统计学差异 ($P>0.05$)。**结论:** 喂养方式对婴儿肠道菌群的演变发育有一定影响, 其中母乳喂养更有利于婴儿肠道中高丰度菌群的建立, 有助于其肠道菌群的正常发育。

【关键词】 喂养方式; 肠道菌群; 宏基因组测序; 婴儿

【中图分类号】 R378.2 **【文献标志码】** A

Effects of feeding methods on dynamic changes of intestinal flora in infants based on metagenomics sequencing

LIN Yan¹, LU Mei-qin², KONG Wan-ning¹

(1. Department of Pediatrics; 2. Department of Medical Affairs, Jinshan Hospital of Fudan University, Shanghai 201508, China)

【Abstract】Objective: To analyze the effects of feeding methods on dynamic changes of intestinal flora in infants by metagenomics sequencing. **Methods:** A total of 60 normal full-term neonates delivered in Obstetrics Department were enrolled. According to different feeding methods, they were divided into breastfeeding group ($n=23$) and formula feeding group ($n=37$). The total fecal DNA was extracted, and it was sequenced and analyzed by high-throughput sequencing platform. The effects of different feeding methods on establishment and development of intestinal flora in infants were compared. **Results:** There was no significant difference in Alpha diversity and Beta diversity of intestinal flora between formula feeding group and breastfeeding group ($P>0.05$). At 3 and 12 months of age, compared with formula feeding group, relative abundance of Firmicutes C was higher in breastfeeding group ($P<0.05$). At 3 months of age, compared with formula feeding group, relative abundance of Veillonella was higher in breastfeeding group ($P<0.05$). At different ages, there was no significant difference in relative abundance of different dominant bacteria at species level between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion:** Feeding methods have certain effects on evolution and development of intestinal flora in infants. Among them, breastfeeding is more conducive to the establishment of high-abundance intestinal flora and normal development of intestinal flora.

【Key words】 Feeding method; Intestinal flora; Metagenomics sequencing; Infant

肠道菌群在改善机体营养状况、调节机体免疫和维持宿主健康等方面发挥重要作用, 一旦机体发生肠道菌群失调, 肠道内环境稳态便会遭到破坏, 进而导致相关疾病的发生^[1-3]。对于婴儿而言, 生命早期是其肠道菌群构建和发育的重要时期, 对其生

长发育和免疫功能均可产生显著影响, 同时也会影响后期过敏性疾病的发生^[4]。有报道^[5-6]表明, 作为全球“四大顽疾”之一, 过敏性疾病好发于儿童, 且该病病程与年龄增长有关, 因而早期的干预十分重要。因此, 早期构建正常、稳定的肠道微生态有助于

基金项目: 上海市医学重点专科建设计划—儿科(Zk2019A01)

作者简介: 林艳(1997—), 女, 硕士, 住院医师。E-mail: 19117293601@163.com

通讯作者: 陆美勤。E-mail: 729393248@qq.com

预防过敏性疾病的发生。研究^[7-8]显示,婴儿早期的喂养方式对其肠道内容物具有重要影响,进而对其肠道菌群的构建和发育均可产生一定影响。然而,关于不同喂养方式对婴儿肠道菌群动态变化的影响目前仍缺乏足够的循证依据。基于此,本研究旨在借助宏基因组分析手段分析喂养方式对婴儿肠道菌群动态变化的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2021年7月至2022年3月复旦大学附属金山医院产科分娩的60名正常足月新生儿为研究对象,根据其喂养方式不同分成两组:母乳喂养组

($n=23$)与奶粉喂养组($n=37$)。纳入标准:(1)胎龄达到37周及以上且不超过42周的足月新生儿;(2)出生体质量2.5 kg~4 kg者;(3)出生后未出现先天性畸形、心脏病或其他严重疾病者;(4)家属均知悉本研究并签署知情同意书。排除标准:(1)经体外受精-胚胎移植技术受孕分娩的婴儿;(2)因发生感染、新生儿高胆红素血症及使用呼吸机等需要住院治疗者;(3)分娩前1个月内使用过抗生素者;(4)对牛奶蛋白过敏或粪便质检不合格者;(5)收集粪便标本前1个月内使用抗生素或服用肠道微生态制剂者;(6)因故中途退出本研究或失访者。本研究获得医院伦理委员会审批。两组婴儿的一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 两组婴儿一般资料比较 $[\bar{x}\pm s, n(\%)]$

组别	性别		胎龄(周)	出生体质量(kg)	娩出方式		产次	
	男	女			顺产	剖宫产	头胎产	非头胎产
母乳喂养组($n=23$)	13(56.52)	10(43.48)	38.74 \pm 0.67	3.19 \pm 0.43	8(34.78)	15(65.22)	16(69.57)	7(30.43)
奶粉喂养组($n=37$)	17(45.95)	20(54.05)	39.05 \pm 0.81	3.30 \pm 0.36	7(18.92)	30(81.08)	21(56.76)	16(43.24)
χ^2/t 值	0.635		1.536	1.068	1.904		0.984	
P 值	0.426		0.130	0.290	0.168		0.321	

1.2 样品采集方法

于出生后3个月和12个月分别采集两组婴儿的粪便标本,采集前安排课题人员与受试者监护人取得联系并充分进行研究说明,之后由课题人员携带采样工具上门亲自采样,确保样本采集方法和采集时间一致。所有标本均使用统一的无菌粪便管收集,收集时选择上层4~5 g的新鲜粪便(约拇指大小),并避免触碰到衣物和粘上其他污染物,取样后分别贴上标签,依次注明性别、编号和采样时间。采样后需将样本迅速放入至液氮罐进行速冻,随后将其运输至实验室并存放于超低温冰箱(-80℃)等待后续处理。

1.3 粪便DNA提取

选用美国Omega Bio-tek公司生产的Mag-Bind Soil DNA Kit分别提取各个粪便样本的总DNA,提取过程严格参考产品说明书进行,最终每个样本得到50 μ L DNA溶液。采用荧光定量设备分别检测所得DNA溶液的浓度,并经1%的琼脂糖凝胶电泳对其纯度进行评估。所有DNA溶液的浓度需调整至适宜水平,一般不低于2.5 ng/ μ L,同时单次建库总量要求 $>0.2 \mu$ g。所有DNA样本均须实施严格检验与评估,确定无误后均放置于冰箱冷冻层(-20℃)备用。

1.4 高通量测序和生物信息学分析

经标准Illumina TruSeq DNA文库制作程序针对所需的基因组上机文库进行构建,构建好的文库经评估合格后实施上机Illumina测序,测序平台为Illumina NovaSeq / HiSeq。采用fastp软件对测序所得原始序列开展质控,并利用FLASH软件拼接序列,以保障所得序列的质量。将初步筛选所得序列参照其引物与Index信息分别与各组样本进行匹配,同时将其中的疑问序列删除,之后针对筛出的高质量序列实施OTU划分,将原始数据与OTUs的代表序列进行比对,以确定各OTU对应的物种分类和相对丰度,并通过制作稀疏曲线评估各样本的测序深度是否达到试验要求。使用Observed-species指数、Simpson指数、Chao 1指数和Shannon指数针对两组婴儿肠道菌群的Alpha多样性进行评价和比较,并通过开展Adonis分析比较两组之间的Beta多样性。最后,针对各组中肠道菌群在不同分类水平上的具体组成和丰富度进行比较分析。

1.5 统计学分析

用SPSS 26.0统计软件进行数据分析。定量数据符合正态分布且方差齐性,以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,组间比较采取独立样本 t 检验;计数资料以 $[n(\%)]$ 表示,组间比较行独立样本 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 测序数据基本信息

从 60 例婴儿粪便样本中平均获得 49 752 341 条高质量有效 reads 序列数, 平均有效序列占比 97.59%; 平均有效序列碱基总数 7 467 120 181 bp, 平均有效序列碱基数占比 97.09% (clean Data)。本次测序覆盖度较好, 能反映出样本中大部分粪便

微生物群落的情况。

2.2 两组婴儿在不同月龄时肠道菌群的 Alpha 多样性分析

在 3 月龄和 12 月龄, 母乳喂养组、奶粉喂养组的 Observed-species 指数、Simpson 指数、Chao 1 指数和 Shannon 指数对比, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 1。

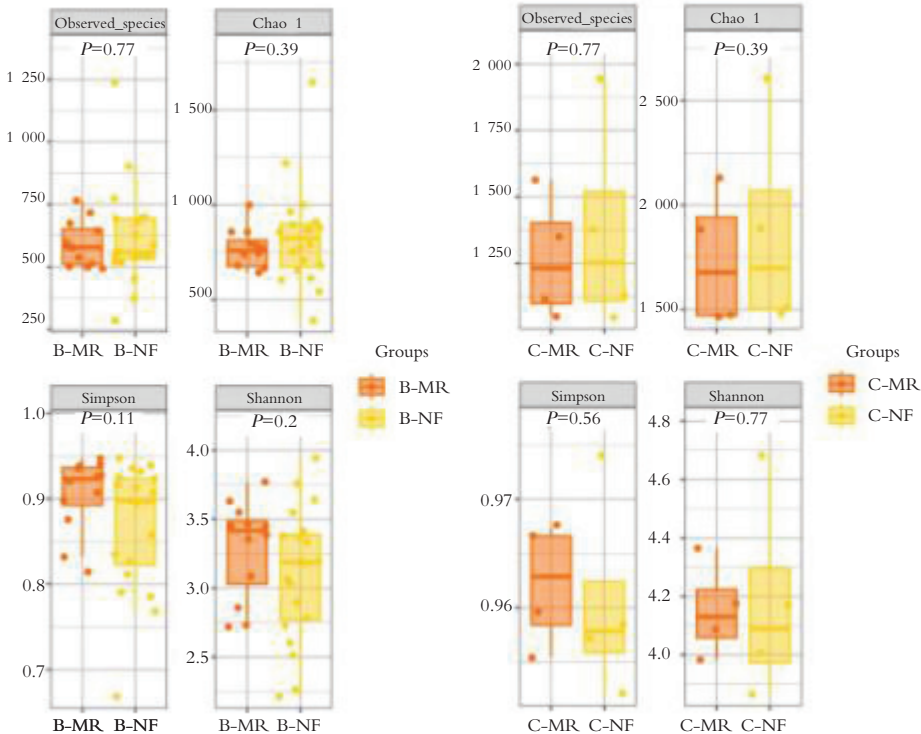


图 1 两组婴儿在不同月龄时肠道菌群的 Alpha 多样性指数比较

B-MR: 母乳喂养组 3 月龄; B-NF 表示奶粉喂养组 3 月龄; C-MR: 母乳喂养组 12 月龄; C-NF: 奶粉喂养组 12 月龄。

2.3 两组婴儿在不同月龄时肠道菌群的 Beta 多样性分析

在 3 月龄和 12 月龄, 母乳喂养组与奶粉喂养组肠道菌群的 Beta 多样性比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 两组婴儿在不同月龄时肠道菌群组间差异 Adonis 分析

组 1	组 2	SumsOfSqs	F. Model	R ² 值	P 值
3 月龄母乳喂养组	3 月龄奶粉喂养组	0.2847	0.9479	0.0306	0.497
12 月龄母乳喂养组	12 月龄奶粉喂养组	0.2084	0.8660	0.1261	0.579

2.4 两组婴儿在不同月龄时肠道菌群的菌种数量比较

在 3 月龄时, 母乳喂养组肠道独有的菌种共 1 301 个, 奶粉喂养组独有的菌种共 2 553 个, 两组

共有的菌种共 4 178 个; 在 12 月龄时, 母乳喂养组肠道独有的菌种共 1 548 个, 奶粉喂养组独有的菌种共 2 691 个, 两组共有的菌种共 4 804 个。由此可见, 两组婴儿肠道菌群的物种丰富度和多样性在一定时期内均随着月龄增加呈增加趋势, 且奶粉喂养组肠道菌群的物种丰富度和多样性均略高于母乳喂养组。

2.5 两组婴儿在不同月龄时肠道菌群门的差异

在 3 月龄和 12 月龄, 变形菌门 (proteobacteria)、厚壁菌门 (firmicutes)、放线菌门 (actinobacteria) 和拟杆菌门 (bacteroidota) 均为两组婴儿肠道菌群中相对丰度的优势菌门, 其中两组厚壁菌门 C (firmicutes C) 的相对丰度均有统计学差异 ($P < 0.05$)。见图 2。

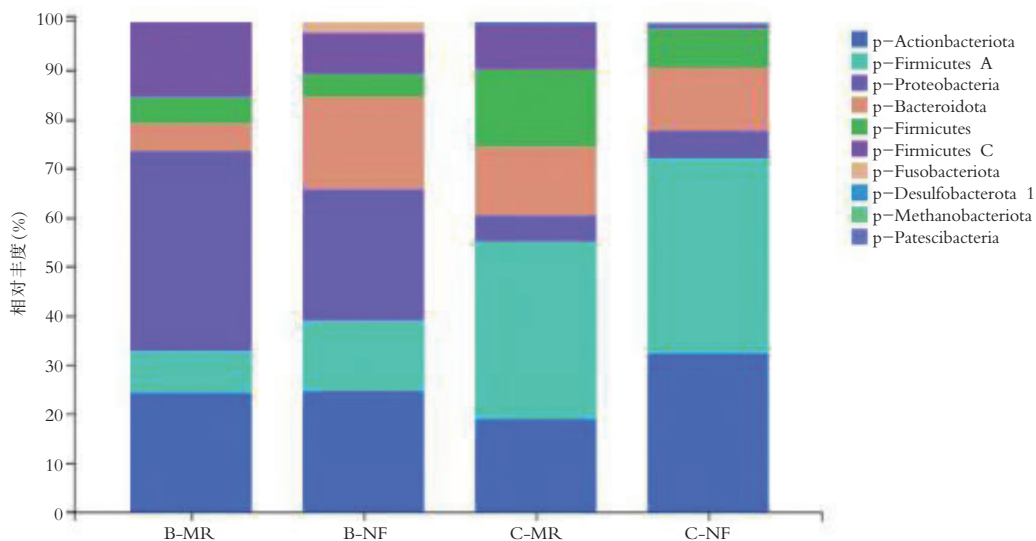


图2 两组婴儿在不同月龄时肠道菌群门水平上的相对丰度

B-MR:母乳喂养组3月龄;B-NF:奶粉喂养组3月龄;C-MR:母乳喂养组12月龄;C-NF:奶粉喂养组12月龄。

2.6 两组婴儿在不同月龄肠道菌群属水平的差异

在3月龄,两组婴儿肠道菌群中相对丰度的优势菌属涵盖了双歧杆菌属(*bifidobacterium*)、韦荣球菌属(*veillonella*)、埃希氏菌属(*escherichia*)、克雷伯氏杆菌属(*klebsiella*)和链球菌属(*streptococ-*

cus),且两组中韦荣球菌属相对丰度存在差异($P < 0.05$)。在12月龄,两组婴儿肠道菌群在属水平相对丰度的主要优势菌属包括双歧杆菌属、韦荣球菌属、链球菌属、拟杆菌属(*bacteroides*)和埃希氏菌属,但其组间均无统计学差异($P > 0.05$)。见图3。

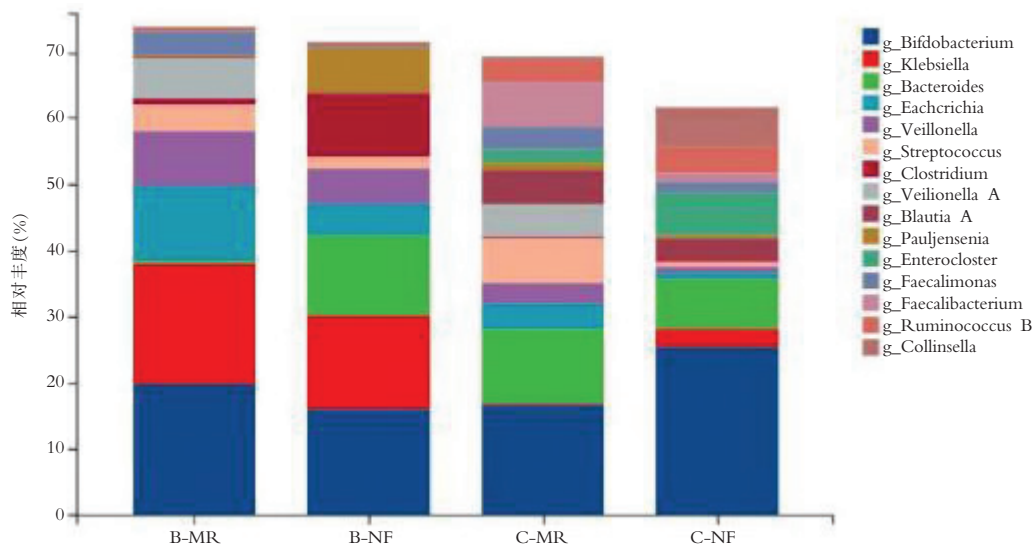


图3 两组婴儿在不同月龄时肠道菌群属水平上的相对丰度

B-MR:母乳喂养组3月龄;B-NF:奶粉喂养组3月龄;C-MR:母乳喂养组12月龄;C-NF:奶粉喂养组12月龄。

2.7 两组婴儿在不同月龄时肠道菌群种水平的差异

在3月龄,两组婴儿肠道菌群在种水平相对丰度的主要优势菌种包括 *veillonella A seminalis*、两歧双歧杆菌(*bifidobacterium bifidum*)、福氏粪单胞菌(*faecalimonas phoceensis*)、大肠杆菌(*escherichia coli*)、短双歧杆菌(*bifidobacterium breve*)和假小链双歧杆菌(*bifidobacterium pseudocatenulatum*);在

12月龄,两组婴儿肠道菌群在种水平相对丰度的主要优势菌种包括 *veillonella A seminalis*、两歧双歧杆菌、脆弱拟杆菌(*bacteroides fragilis*)、福氏粪单胞菌、假小链双歧杆菌和大肠杆菌。两组婴儿肠道菌群中优势菌种的相对丰度均无统计学差异($P > 0.05$)。见图4。

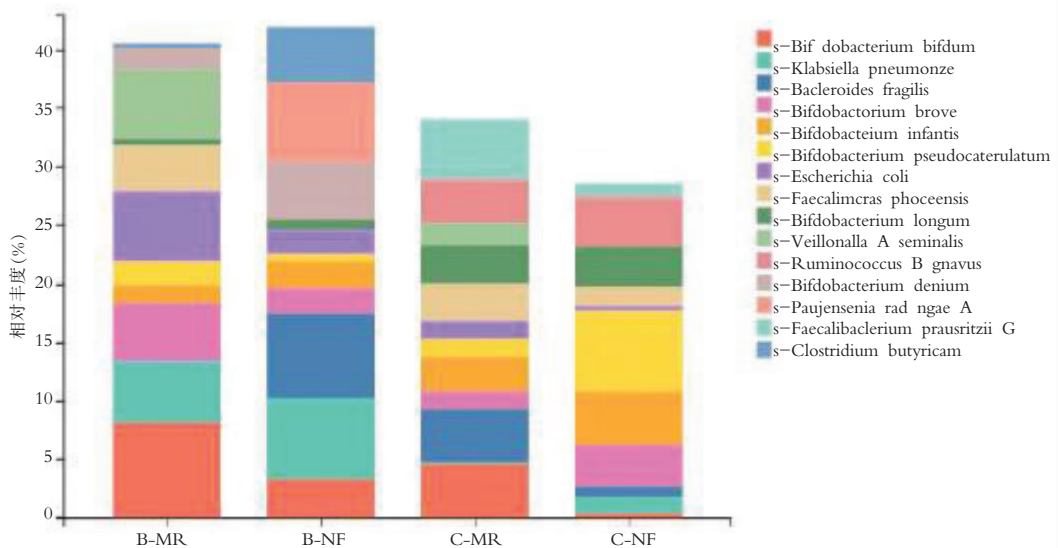


图 4 两组婴儿在不同月龄时肠道菌群种水平上的相对丰度

B-MR: 母乳喂养组 3 月龄; B-NF: 奶粉喂养组 3 月龄; C-MR: 母乳喂养组 12 月龄; C-NF: 奶粉喂养组 12 月龄。

3 讨论

母乳不仅适合于新生儿尚不成熟的消化系统进行有效吸收,还可促进其器官的顺利发育和功能完善^[9]。有报道^[10-11]显示,母乳中富含母乳低聚糖、蛋白质和生长因子等,这些物质在促进婴儿肠道菌群发育、维持肠道屏障功能和抑制有害细菌生长与定植等方面均具有积极作用。国外医疗机构和研究人员均建议针对新生儿采取纯母乳喂养,然而受到多方面因素的影响,国内纯母乳喂养率持续偏低^[12]。作为母乳的最佳替代品,配方奶粉通常能较好地提供婴儿生长发育所需的各类营养物质,但其与母乳在成分上难免存在些许差异,因而可能会影响婴儿肠道菌群的建立^[13-14]。本研究选择足月新生儿开展研究,旨在分析喂养方式对其肠道菌群动态变化的影响。

本研究显示,在 3 月龄和 12 月龄,尽管母乳喂养组和奶粉喂养组肠道菌群中菌种数量存在一定差异,但其 Alpha 多样性与 Beta 多样性差异均无统计学意义,说明喂养方式的改变并未对婴儿肠道菌群的物种多样性造成影响。赵馨等^[15]研究发现,相较于奶粉喂养,母乳喂养能有效提高婴儿肠道菌群丰富度,与本研究结果不符。其原因可能是:本研究中采集粪便标本的时间为婴儿出生后 3 个月和 12 个月,与既往研究相比时间较晚,此时婴儿肠道菌群的发育较为成熟,肠道菌群结构可能存在一定变化。另外,婴儿基础资料的差异性和测序方法的不同也可能导致研究结果存在差异。

本研究针对两组婴儿在不同月龄时肠道菌群门水平差异的统计分析显示,在 3 月龄和 12 月龄,两

组婴儿肠道菌群中的优势菌门均以厚壁菌门、变形菌门、放线菌门及拟杆菌门 4 类为主,且母乳喂养组中厚壁菌门 C 的相对丰度高于奶粉喂养组,表明采取母乳喂养与应用奶粉喂养相比对于婴儿肠道菌群的组成未产生影响,但母乳喂养更有利于包括厚壁菌门在内的高丰度菌群的建立和发育。既往研究^[16]显示,变形菌门和厚壁菌门均在人体肠道菌群中占据主导地位,两类细菌在维持肠道环境稳定、保持肠道健康和调节机体生理状态方面发挥重要作用。另有相关研究^[17]表明,在新生儿体内,变形菌门和厚壁菌门均为肠道菌群的主要组成部分。因此,本研究中,相较于奶粉喂养,母乳喂养可能更有利于婴儿肠道菌群的建立和发育。

本研究显示,在 3 月龄和 12 月龄,两组婴儿肠道菌群中优势菌属均包含双歧杆菌属、韦荣球菌属、链球菌属和埃希氏菌属,且随着月龄增长,韦荣球菌属和埃希氏菌属相对丰度均呈现出下降趋势,但上述菌属在母乳喂养组的相对丰度均始终高于奶粉喂养组。提示采取母乳喂养相较于奶粉喂养对不同月龄婴儿肠道菌群在属水平上的构成和丰度均未产生明显影响,同时母乳喂养可能对肠道菌群的刺激更为温和,有助于维持肠道微生态平衡。既往研究^[18]也显示,接受母乳喂养的新生儿肠道菌群中韦荣球菌属和埃希氏菌属含量高于接受奶粉喂养者。据报道^[19],韦荣球菌属细菌可通过代谢肠道细菌发酵产生的乳酸获得所需能量,且在口腔中可预防龋齿发生。另有研究^[20]表明,在面临哮喘风险的儿童中,肠道内韦荣球菌属细菌的相对丰度有下降。因此,母乳喂养可通过将肠道内韦荣球菌属细菌的相对丰度维持在一定水平使其发挥免疫防御和维持机体健

康的作用,进而有利于肠道菌群的发育。此外,本研究中,在3月龄和12月龄,两组婴儿肠道菌群中优势菌种的相对丰度差异均未见统计学意义,说明不同喂养方式对婴儿肠道菌群中优势菌种的组成和相对数量均无影响,与既往相关研究^[21]结果存在出入,这可能与不同研究中样本收集方法和收集时间及婴儿的选取标准存在差异有关。本研究纳入的婴儿数量有限,采样时间点跨度较大,致使研究结果可能存在一定的偶然性。后续研究需增加样本容量,调整采样时间点,并控制可能的混杂因素,以便获得更加具有普适性的研究结果。

综上,不同喂养方式对婴儿肠道菌群的主要菌群结构无明显影响,其中母乳喂养有助于婴儿肠道中高丰度菌群的建立,可促进肠道菌群的正常发育。

参考文献

- [1] 周杨,周洲. 肠道菌群:从健康调控到疾病防治的新靶点[J]. 中南医学科学杂志,2025,53(4):570-575.
- [2] 钟静,吴和明,张华,等. 肠道菌群及其代谢产物与妊娠期糖尿病的关系研究进展[J]. 转化医学杂志,2024,13(3):495-498.
- [3] Quaglio AEV, Grillo TG, Oliveira ECSD, *et al.* Gut microbiota, inflammatory bowel disease and colorectal cancer[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2022, 28(30):4053-4060.
- [4] Peroni DG, Nuzzi G, Trambusti I, *et al.* Microbiome composition and its impact on the development of allergic diseases[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11:700.
- [5] Gutowska-Slesik J, Samoliński B, Krzych-Fałta E. The increase in allergic conditions based on a review of literature [J]. *Postępy Dermatologii i Alergologii*, 2023, 40(1):1-7.
- [6] Petersen C, Turvey SE. Can we prevent allergic disease? Understanding the links between the early life microbiome and allergic diseases of childhood[J]. *Current Opinion in Pediatrics*, 2020, 32(6):790-797.
- [7] Chichlowski M, Diepen JAV, Prodan A, *et al.* Early development of infant gut microbiota in relation to breastfeeding and human milk oligosaccharides[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2023, 10:1003032.
- [8] 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]. *Nutrients*, 2022, 14(24):5397.
- [9] 汪之瑛,孙嘉琪,冯罡. 母乳成分对婴幼儿健康影响的研究进展[J]. *食品科学技术学报*, 2022, 40(2):25-30.
- [10] Zhang B, Li LQ, Liu F, *et al.* Human milk oligosaccharides and infant gut microbiota: Molecular structures, utilization strategies and immune function[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 276:118738.
- [11] 李润,刘敏,祝洁,等. 基于16SrDNA扩增子测序技术分析母乳喂养对极早产儿肠道菌群的影响[J]. *成都医学院学报*, 2025, 20(3):470-473.
- [12] 冯凌燕,刘瑾,纪玉晓,等. 不同环境因素对全球母乳喂养的影响与启示[J]. *保健医学研究与实践*, 2023, 20(S2):258-261.
- [13] 陈菲,许晓林,李亚彭,等. 喂养方式对婴儿肠道短链脂肪酸与双歧杆菌的影响以及与过敏性疾病的关系[J]. *现代预防医学*, 2024, 51(22):4096-4100,4146.
- [14] 罗光月,陆韦,徐德勇,等. 不同喂养方式对牛奶蛋白过敏患儿肠道菌群的影响[J]. *中国儿童保健杂志*, 2024, 32(8):908-913.
- [15] 赵馨,李国花,张明新,等. 喂养方式对西安地区0~2个月婴儿肠道菌群的影响[J]. *中国微生态学杂志*, 2023, 35(4):380-388.
- [16] Nkosi BVZ, Padayachee T, Gront D, *et al.* Contrasting health effects of bacteroidetes and firmicutes lies in their genomes: analysis of P450s, ferredoxins, and secondary metabolite clusters[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(9):5057.
- [17] Chen Y, Lu Y, Wang T, *et al.* Changes in gut microbiota at 1-60 days in 92 preterm infants in a neonatal intensive care unit using 16S rRNA gene sequencing[J]. *Medical Science Monitor*, 2023, 29:e941560.
- [18] 袁方,胡润芳,吴良霞,等. 喂养方式对早产儿在新生儿期肠道菌群分布特征的影响[J]. *教育生物学杂志*, 2023, 11(3):200-206.
- [19] Wicaksono DP, Washio J, Abiko Y, *et al.* Nitrite production from nitrate and its link with lactate metabolism in oral *Veillonella* spp [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(20):1-9.
- [20] Patrick DM, Sbihi H, Dai DLY, *et al.* Decreasing antibiotic use, the gut microbiota, and asthma incidence in children: evidence from population-based and prospective cohort studies[J]. *The Lancet Respiratory Medicine*, 2020, 8(11):1094-1105.
- [21] Pärnänen KMM, Hultman J, Markkanen M, *et al.* Early-life formula feeding is associated with infant gut microbiota alterations and an increased antibiotic resistance load[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2022, 115(2):407-421.

(收稿日期:2025-10-28

修回日期:2025-12-15)