

孕马血清促性腺激素对小鼠肠道菌群的区段差异化影响

李沅璐[#] 王泽睿[#] 高倩 金太花 许菡^{*}

临沂大学农林科学学院 临沂 276000

摘要: 孕马血清促性腺激素 (PMSG) 广泛应用于动物繁殖, 但其对动物肠道菌群的影响及调控机制还有待进一步研究。本研究旨在解析 PMSG 对小鼠 (*Mus musculus*) 肠道菌群的直接作用与肠段特异性效应。24 只雌性小鼠随机分为 PMSG 实验组 (腹腔注射 5 IU/只) 组和对照组 (腹腔注射等体积无菌生理盐水), 72 h 处理后, 每组随机挑选 3 只进行后续实验。利用离体细菌培养 (分离株 *Escherichia* sp. GMJ-1) 结合三代测序技术 (PacBio SMRT 平台), 分析小鼠大肠与小肠菌群的多样性、种水平组成及互作网络变化。结果显示, PMSG 显著提升肠道分离株最大生长速率 (提升了 47.5%)。在大肠中, PMSG 显著提高大肠菌群的物种均匀度, 驱动 Alpha 多样性显著上升; 富集了具有潜在代谢益处的菌种, 如未培养的艾森伯格菌 (*Eisenbergiella uncultured organism*) 相对丰度增加了 196 倍; 显著提升了菌群网络的内聚力指数, 核心菌种间的正相关互作占比升至 61.11%, 增加了以肠乳杆菌 (*Lactobacillus intestinalis*) 和约氏乳杆菌 (*L. johnsonii*) 为节点的正向协同关系。在小肠中, PMSG 对小肠菌群多样性影响整体不显著; 在种水平上, PMSG 引起部分核心菌种剧烈波动, 如分枝真杆菌 (*Erysipelatoclostridium ramosum*) 相对丰度下降 90%; 显著降低了小肠菌群网络鲁棒性, 核心菌种的负相关作用成为主导 (53.85%)。综上, 本研究结果表明, PMSG 可能通过直接促进和间接调控双重机制, 驱动肠道菌群呈现 “大肠生态优化-小肠网络脆化” 的区段差异化响应, 为开发动物肠段特异性的 PMSG 科学用药策略提供了一定理论依据。

关键词: 孕马血清促性腺激素; 动物肠道菌群; 肠道区段差异; 菌群网络互作

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2026) 02-230-15

Spatially heterogeneous modulation of the gut microbiome by PMSG in mice

LI Yuan-Lu[#] WANG Ze-Rui[#] GAO Qian JIN Tai-Hua XU Han^{*}

College of Agriculture and Forestry, Linyi University, Linyi 276000, China

Abstract: [Objectives] This study systematically investigated the effects of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) on the gut microbiome in mice. **[Methods]** Twenty-four female mice were randomized

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 42307543), 山东省自然科学基金项目 (No. ZR2023QD008);

***** 通信作者, E-mail: xuhan@lyu.edu.cn;

共同第一作者 李沅璐, 女, 硕士研究生; 研究方向: 动物肠道微生物; E-mail: 2637596856@qq.com;

王泽睿, 男, 本科生; 研究方向: 动物肠道微生物; E-mail: wangzerui@lyu.edu.cn.

收稿日期: 2025-04-16, 修回日期: 2025-11-04 DOI: 10.13859/j.cjz.202625071 CSTR: 32109.14.cjz.202625071

into PMSG-treated (5 IU) and control groups (the same volume of sterile normal saline). Following 3-d intervention, we isolated the dominant strain *Escherichia* sp. GMJ-1 for *in vitro* growth curve modeling (Gompertz equation), performed full-length 16S rRNA sequencing (PacBio SMRT) of large intestine and small intestine contents, calculated α -diversity indexes (Shannon/Richness/Evenness) and β -diversity index (Unweighted UniFrac PCoA) via QIIME2 with species-level annotation, constructed bacterial networks ($|r| > 0.6$, $P < 0.05$) and core bacterial networks ($|r| > 0.9$, $P < 0.01$), and analyzed topology parameters. Statistical validation was conducted by *t*-test, one-way ANOVA (Tukey's HSD), and PERMANOVA. **[Results]** The intestinal strain GMJ-1 showed significantly increased maximum growth rate under PMSG treatment (Fig. 1). In the large intestine, PMSG significantly increased the evenness of bacterial community (Fig. 2c) and drove a significant increase in alpha diversity (Fig. 2a). Even though PCoA demonstrated that intestinal segments exerted stronger influence on bacterial community structure than PMSG intervention (Fig. 3, PERMANOVA), PMSG induced the significant increase of Bacteroidetes and decrease of Proteobacteria at the phylum level (Fig. 4a) in the large intestine. Meanwhile, PMSG caused the enrichment of strains with potential metabolic benefits (Fig. 4b) in the large intestine, such as *Eisenbergiella* uncultured organism with the relative abundance increasing by 196 times. Network analysis revealed PMSG enhanced the complexity (nodes + 24%, edges + 41%) (Figs. 5a, b, Table 1) and the cohesion index (Fig. 6b) of the bacterial network in the large intestine. In addition, PMSG raised the proportion of positive correlation interactions among core bacterial species to 61.11%, increasing the positive relationship with *Lactobacillus intestinalis* and *L. johnsonii* as nodes (Figs. 7a, b). In the small intestine, the overall effects of PMSG on the diversity (Figs. 2a ~ c) and composition of the bacterial community at the phylum level (Fig. 4a) in the small intestine were not significant. At the species level, PMSG caused sharp fluctuations in some core bacterial species in the small intestine (Figs. 4c). For example, the relative abundance of *Erysipelatoclostridium ramosum* decreased by 90%. The robustness of the bacterial network in the small intestine was significantly reduced by PMSG (Fig. 6a), and the negative correlation interaction of the core bacterial species became dominant (53.85%) (Figs. 7c, d). **[Conclusion]** PMSG might drive the intestinal bacterial community to exhibit a segmental differentiated response of "being optimized in the large intestine - becoming fragile in the small intestine" through both direct promotion and indirect regulation mechanisms. This finding provides a theoretical basis for the development of scientific PMSG medication strategies tailored to animal intestinal segments.

Key words: Pregnant mare serum gonadotropin (PMSG); Animal gut microbiome; Heterogeneous modulation of intestinal segments; Bacterial network interaction

肠道菌群被誉为动物的“第二套基因组”，可以通过代谢产物交换、免疫调节和屏障保护等机制，影响动物的免疫、消化吸收等生理功能（Round et al. 2009, Sommer et al. 2017, 杨喜喜等 2023, Ma et al. 2024）。近年来，生殖激素与肠道微生态的相互作用逐渐成为研究热点。已有证据表明，雌激素、孕激素等可以通过调控宿主体内的胆汁酸代谢或黏膜免疫间接

改变其肠道菌群结构（Bui et al. 2015, Chinda et al. 2022, 封暖暖等 2023, Tang et al. 2023, 徐鹏洋等 2024）。然而，生殖医学中被广泛使用的孕马血清促性腺激素（pregnant mare serum gonadotropin, PMSG）对肠道菌群的影响与调控机制尚未被系统解析。

PMSG 具有促卵泡激素（follicle-stimulating hormone, FSH）和黄体生成素（luteinizing

hormone, LH) 的双重活性, 在动物繁殖与生产领域, PMSG 被广泛应用于诱导排卵、超数排卵 (superovulation) 及同期发情等技术中 (Murphy 1991)。在实际生产中, PMSG 的使用可以提升繁殖效率、优化生产管理及解决繁殖障碍等 (李成等 2015)。值得注意的是, 目前人类临床医学研究发现, 接受 PMSG 治疗的个体通常会伴随如腹泻或便秘的肠道功能异常, 这意味着 PMSG 可能通过未知途径干扰肠道微生态平衡 (He et al. 2021, Nagesh et al. 2024, 常博雅等 2025)。此外, 之前的研究发现, 促性腺激素受体可以在肠道中广泛表达, 与代谢密切相关 (Li et al. 2015, Shalon et al. 2023, Sulaiman et al. 2024)。因此, PMSG 可能直接作用于肠道微环境, 进而引发肠道菌群的扰动, 影响其组成与功能。然而, 目前对 PMSG 影响动物肠道菌群的研究仍存在很多空白, 比如, 缺乏对肠道菌株生长动力学直接影响的证据, 尚未明确肠道不同区段菌群响应的空间异质性, 对肠道菌群互作网络稳定性的影响也不明确。

当前肠道菌群研究主要依赖二代测序技术 (如 Illumina), 但其属水平分辨率 (150~300 bp 读长) 难以精准追踪种水平波动, 如无法区分大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*) 与志贺氏菌 (*Shigella flexneri*) (Earl et al. 2018)。近年来, 以单分子实时测序为代表的三代测序技术凭借全长 16S rRNA 解析能力 (平均读长超过 10 kb) 将分辨率提升至种/株水平 (Earl et al. 2018, Li et al. 2021, Xu et al. 2022, Liu et al. 2024, 崔梦君等 2025)。这对量化 PMSG 诱导引起的肠道核心菌种变化, 精确分析肠道菌群种水平上的组成功能变化至关重要。

基于此, 本研究以小鼠 (*Mus musculus*) 为研究对象, 结合离体培养实验和第三代微生物多样性测序技术, 系统探究 PMSG 对小鼠肠道菌群的影响。通过体外培养获得小鼠肠道菌的分离株, 量化证明 PMSG 对肠道细菌生长的直接促增殖效应; 基于种水平精确解析 PMSG

处理后大肠与小肠菌群的差异化响应图谱, 结合网络拓扑分析, 揭示 PMSG 对肠道菌群互作稳定性的区段特异性调控。所得研究结果将为理解生殖激素影响动物肠道菌群提供一定的理论依据, 同时为优化 PMSG 在动物生产与治疗领域的应用提供一定的数据支持。

1 材料与方法

1.1 实验动物及其处理

选用健康无伤残未性成熟 SPF 级的小鼠 24 只 (雌性), 24~28 日龄, 体重约 13~15 g。24 只小鼠随机分为两组, PMSG 实验组 (腹腔注射 5 IU/只) 和对照组 (腹腔注射等体积无菌 0.9% 生理盐水), 每组 12 只。所有小鼠于相同环境下饲养, 自由采食灭菌标准饲料及饮用水。注射 72 h 后, 每组随机选取 3 只小鼠用颈椎脱臼法处死。用无菌剪刀和镊子取小鼠大肠 (包含盲肠、结肠和直肠) 与小肠 (包含十二指肠、空肠和回肠) 内容物, 分别置于无菌冻存管, 存放于 -80 °C 冰箱。所有动物实验操作均符合国家标准 GB/T 42011-2022 《实验动物福利通则》和 GB/T 35892-2018 《实验动物 福利伦理审查指南》等国家实验动物福利伦理的相关规定, 并经过临沂大学动物伦理委员会审核 (审批号: LYU20230508)。

1.2 代表性肠道菌株的分离与鉴定

新鲜的小鼠肠道内容物加入无菌生理盐水依次稀释为 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 梯度浓度, 分别吸取 100 μ l 涂布到 LB 固体培养基上, 37 °C 培养 24 h。挑取单菌落纯化 3 代后, 提取细菌基因组 DNA (天根生化科技有限公司), 使用通用引物 27F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') 和 1492R (5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3') 扩增 16S rRNA 基因全长序列。PCR 反应条件为: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 60 s, 共 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物经纯化后送生工生物公司进行测序, 所得序列通过 NCBI 的 BLAST 比对, 选取同源

性最高的基因序列利用 MEGA 11 软件的邻接法 (neighbor-joining) 构建系统进化树, 进化树采用 Unrooted 模式呈现, 分支上数字为进化距离, 代表每位点核苷酸替换数。

1.3 代表性肠道细菌生长曲线的测定

为了研究 PMSG 对肠道细菌的直接影响, 利用体外实验探究了 PMSG 对肠道细菌分离株生长动力学的影响, 取分离菌株 GMJ-1 的菌液 100 μl 接种于 LB 液体培养基, 分为 PMSG 实验组 (添加 PMSG, 浓度为 0.001 IU/L) 和对照组 (添加等体积无菌 0.9% 生理盐水), 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡培养 (120 r/min), 实验组和对照组各设置 3 个重复。加样完毕摇匀后取样, 作为 0 h; 后续继续取培养不同时间点 (0.5 h、1 h、2 h、3 h、4 h、5 h、6 h、8 h、10 h、12 h、16 h、24 h) 的菌液, 测定 600 nm 的吸光度值。在 Origin 2017 软件中拟合菌株的生长动态, 计算相应的最大生长速率和滞后时间。

1.4 肠道菌群多样性测序与分析

肠道内容物样本寄送到上海凌恩生物科技有限公司提取肠道微生物 DNA 和测序。为了探究肠道菌群种水平的变化, 利用引物 27F 和 1492R 扩增细菌 16S rRNA 基因的 V1 ~ V9 区。PCR 扩增条件如下: 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min, 10 $^{\circ}\text{C}$ 保藏。得到的 PCR 产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒 (艾本德国际贸易有限公司, 美国) 切胶回收 PCR 产物, Tris-HCl 洗脱。扩增后的产物通过单分子实时测序 (PacBio SMRT) 平台进行测序, 得到环状共识测序 (circular consensus sequencing, CCS) 模式的数据序列。采用 uclust algorithm 算法对 98.65% 相似水平的操作分类单元 (operational taxonomic units, OTU) 代表序列进行分类学分析, 使用 silva 数据库进行注释, 使用 Qiime2 生成各分类学水平丰度表。多样性数据分析在上海凌恩生物科技有限公司的分析平台 (<http://www.cloud.biomicroclass.com/CloudPlatform/home>)

上完成, 其中香农指数、chao 1 指数和 Pielou 指数分别表征多样性、丰富度和均匀度。

1.5 数据分析

数据以均值 $\pm$ 标准差表示。统计学分析使用 Origin 2017 软件完成: 两组间比较采用 t 检验; 多组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 事后多重比较则选用 Tukey's HSD 法, $P < 0.05$ 视为差异具有统计学意义。TBtools 进行热图呈现, 采用 R 中的 phyloseq、ape、vegan 和 ggplot2 程序包进行基于 Unweighted UniFrac 距离的 PCoA 分析和置换多元方差分析 (PERMANOVA), 并可视化样本间的差异, 基于 Spearman 相关性 ($|r| > 0.6$, $P < 0.05$) 构建菌种互作网络。计算以下拓扑参数: 节点数 (node number): 网络中菌种总数; 边数 (edge number): 菌种间显著相关性数量; 平均度 (average degree): 每个节点连接边数的平均值; 模块化指数 (modularity): 网络功能模块程度; 幂律系数 (power law coefficient): 网络无标度特性参数; 内聚力 (cohesion) 与鲁棒性 (robustness): 分别随机移除 50% 节点前后的网络连通性变化, 表征评估网络稳定性 (Liu et al. 2025)。进一步筛选相对丰度前 10 的核心菌种 (所有样本均存在的菌种即为核心菌种) 进行强相关 (基于 Spearman 相关性, $|r| > 0.9$, $P < 0.01$) 的互作网络构建, 利用 Gephi 0.9.2 进行可视化 (Weiss et al. 2016, Matsuo et al. 2021, Meslier et al. 2022)。

2 结果

2.1 PMSG 对代表性小鼠肠道分离株生长规律的影响

通过细菌分离培养与菌株纯化, 获得小鼠肠道代表性的菌株 GMJ-1, 归属于大肠埃希氏菌属 (*Escherichia*) (图 1a)。

进一步测定该菌株的生长曲线, 以探究 PMSG 对肠道细菌生长的影响。PMSG 组的平均最大生长速率为 $(0.59 \pm 0.02) \text{ h}^{-1}$, 显著高于对照组 ($t_4 = -6.92$, $P < 0.05$)。然而, 两组

的延滞时间无显著差异 ($t_4 = -2.18, P > 0.05$)

(图 1)。表明 PMSG 能够显著改变肠道细菌的生长动力学特性。因此, PMSG 可能通过直接影响部分肠道细菌的丰度, 进而引发整个肠道菌群结构与组成的剧烈改变。基于此, 后续采用第三代微生物多样性测序技术进一步详细解析 PMSG 对肠道菌群不同区段的影响。

2.2 PMSG 对小鼠肠道菌群 Alpha 多样性的影响

Alpha 多样性可直观反映与对照组相比菌

群组成与结构的变化。PMSG 组的大肠和小肠菌群香农指数均有所升高, 且大肠的变化显著 ($t_4 = -3.94, P < 0.05$, 图 2a)。由于 Alpha 多样性取决于丰富度和均匀度, 进一步分析了二者的变化。尽管 PMSG 处理后大肠和小肠的菌群丰富度指数略有增加, 但差异均不显著(大肠 $t_4 = -1.32, P > 0.05$; 小肠 $t_4 = -0.28, P > 0.05$, 图 2b)。然而, PMSG 显著提高了大肠的均匀度指数 ($t_4 = -4.52, P < 0.05$), 而小肠的均匀度变化不显著(图 1c), 这与香农指数的趋势一致。以上结果提示, PMSG 对大肠菌群 Alpha

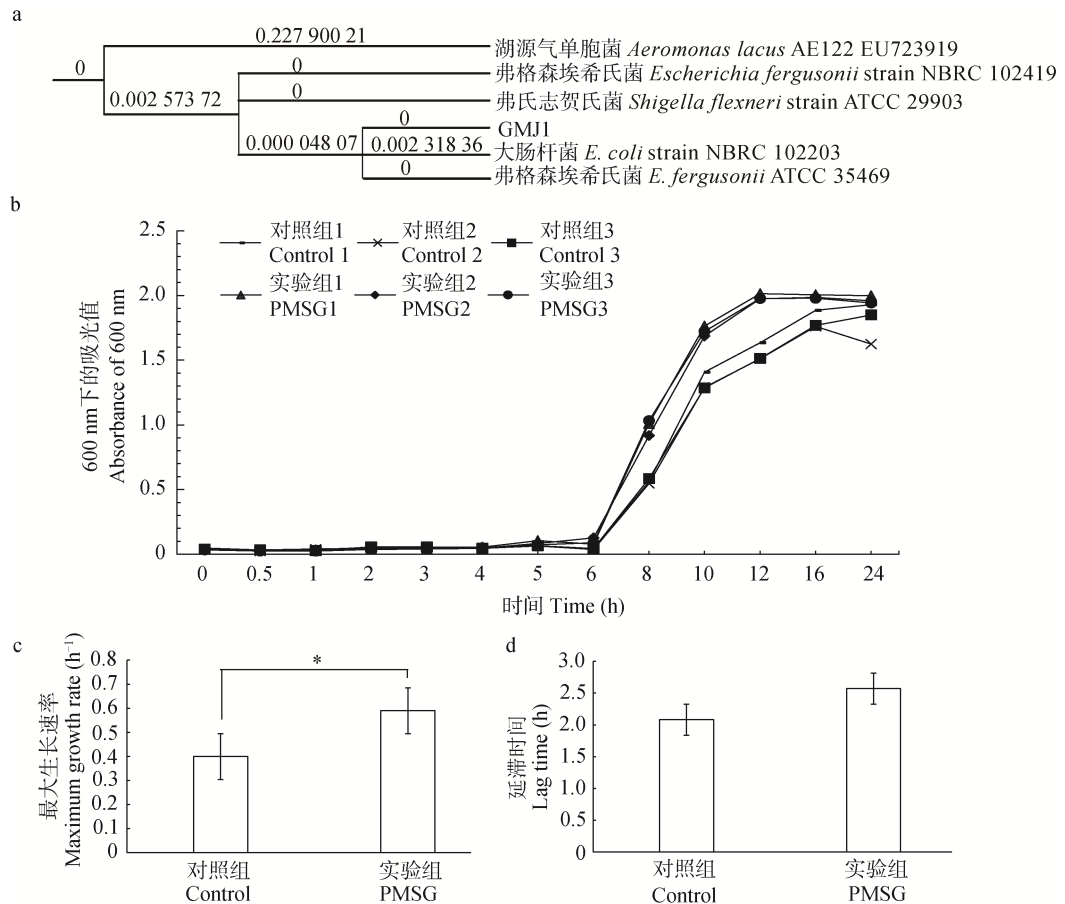


图 1 PMSG 对肠道分离株 GMJ-1 生长规律的影响

Fig. 1 Effects of PMSG on the growth of intestinal strain GMJ-1

a. MEGA 11 基于邻接法构建 GMJ-1 的系统发育树, 分支上数字是进化距离, 代表每位点核苷酸替换数, GMJ1 为本研究分离获得的菌株;
b. 不同处理组 GMJ-1 生长曲线; c. PMSG 组与对照组最大生长速率对比, * $P < 0.05$; d. PMSG 组与对照组延滞时间对比。
a. The phylogenetic tree of GMJ-1 was constructed via the neighbor-joining method in MEGA 11 based on 16S rRNA gene sequences, GMJ-1 is the strain isolated in this study. The number on the branches represents evolutionary distance, indicating the number of nucleotide substitutions per site; b. Growth curves of GMJ-1 in different groups; c. Comparison of maximum growth rates between PMSG group and control group, * $P < 0.05$; d. Comparison of lag time between PMSG group and control group.

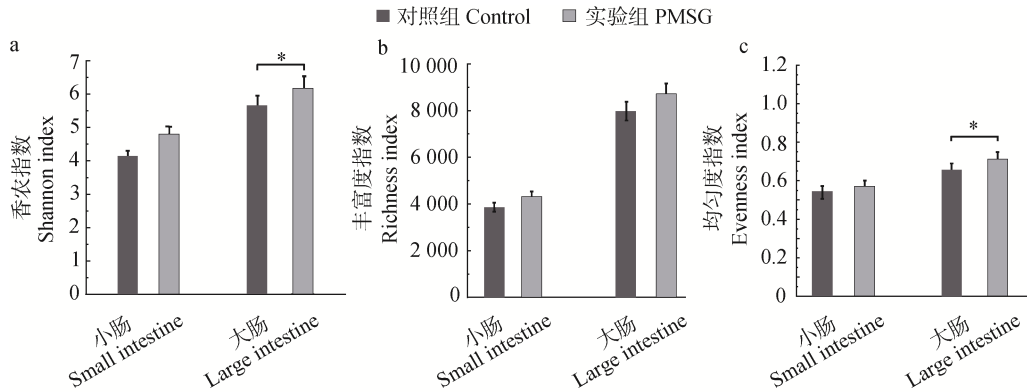


图2 肠道菌群 Alpha 多样性指数分析

Fig. 2 Alpha diversity indexes of intestinal bacterial community

a. 香农指数; b. 丰富度指数; c. 均匀度指数。* $P < 0.05$

a. Shannon index; b. Richness index; c. Evenness index. * $P < 0.05$

多样性的影响更显著, 且主要通过提高菌群的均匀度实现。

2.3 PMSG 对小鼠肠道菌群结构的影响

基于 Unweighted UniFrac 距离的 PCoA 分析 (图 3) 显示, PMSG 组和实验组中的大肠和小肠菌群结构存在显著差异 (置换多元方差分析, $R^2 = 0.38$, $P < 0.05$)。进一步分析发现, 大肠和小肠菌群分别聚类在第一主成分的两侧, 且成分得分差异显著 (置换多元方差分析, $R^2 = 0.35$, $P < 0.05$), 表明肠道部位对菌群结构影响显著。然而, PMSG 组与对照组的菌群结构无显著差异 (置换多元方差分析, $R^2 = 0.12$, $P > 0.05$), 表明 PMSG 对肠道菌群结构的影响弱于肠道部位本身。

2.4 PMSG 对小鼠肠道菌群组成的影响

无论对照组和 PMSG 组, 小鼠肠道菌群在门水平上都主要由厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和变形菌门 (Proteobacteria) 组成, 三者相对丰度总和占比高达 90% (图 4a)。相较于对照组, PMSG 组大肠内的拟杆菌门相对丰度显著增加 ($t_4 = -3.57$, $P < 0.05$), 而变形菌门相对丰度显著降低 ($t_4 = 6.22$, $P < 0.05$); 在小肠中, 拟杆菌门和变形菌门相对丰度虽有所上升, 但差异

不显著。此外, PMSG 处理导致大肠和小肠厚壁菌门相对丰度均有所降低, 但无统计学意义。综上, PMSG 对大肠菌群组成中拟杆菌门和变形菌门的影响比小肠更显著。

本研究采用第三代测序技术进行微生物多样性分析, 实现了种水平的高精度检测。因此, 进一步分析筛选出受 PMSG 影响最显著的核心菌种。在大肠中, 相对丰度增加最多的前 10 个菌种分别为 (图 4b): 果胶单胞菌 (*Monoglobus pectinilyticus*)、艰难梭菌 (*Clostridioides difficile*)、未培养利吉乳杆菌 (*Ligilactobacillus uncultured bacterium*)、甲酸脱卤杆菌 (*Dehalobacterium formicoaceticum*)、海豚气单胞菌 (*Aliarcobacter acticola*)、*Schaedlerella* sp. 000403295 (暂无标准中文译名)、芬氏别杆菌 (*Alistipes finegoldii*)、*Kineothrix* sp. 000403275 (暂无标准中文译名)、马氏拟杆菌 (*Phocaeicola massiliensis*) 和未培养艾森伯格菌 (*Eisenbergiella uncultured organism*)。其中, 未培养艾森伯格菌和马氏拟杆菌增幅最多, 分别达到 196 倍和 120 倍。相对丰度降低最显著的前 10 个菌种为: 平民拟杆菌 A (*Phocaeicola plebeius* A)、平民拟杆菌 (*P. plebeius*)、啮齿杆菌 (*Rodentibacter pneumotropicus*)、鲸豚螺杆菌 (*Helicobacter*

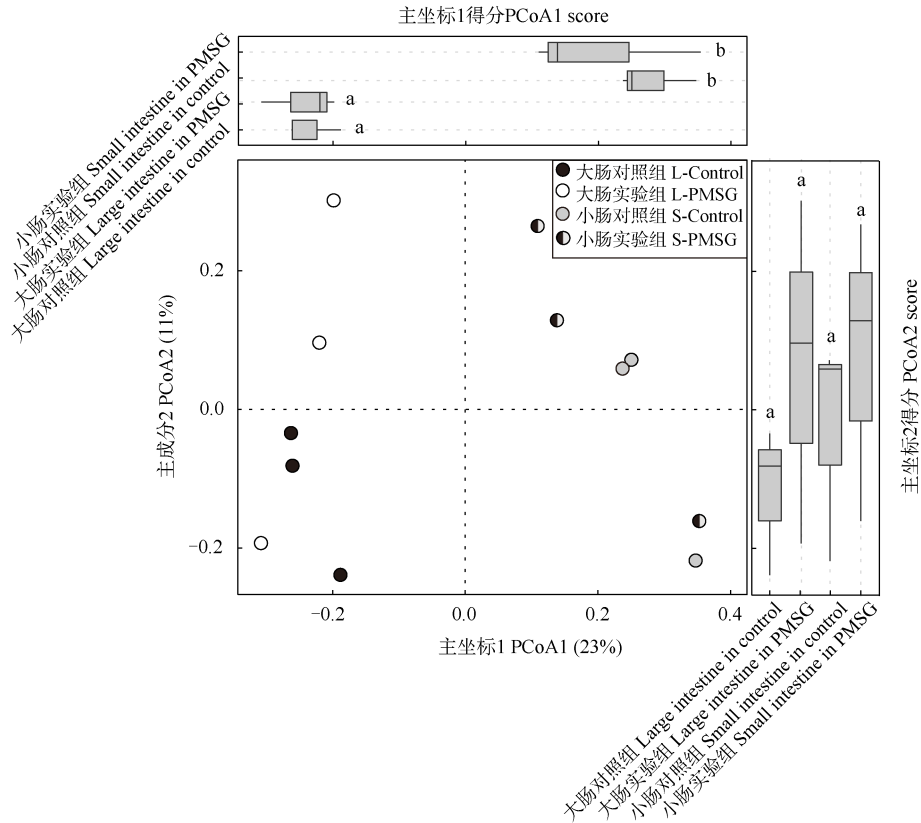


图 3 基于 Unweighted UniFrac 距离 PCoA 分析

Fig. 3 PCoA plot of unweighted UniFrac distance

展示 PMSG 实验组与对照组小鼠大肠、小肠菌群结构差异。左上和右下箱线图表示各组菌群在主坐标 1 或 2 上的得分差异；标注相同字母，说明这些组在该指标上无显著统计学差异，标注不同字母，表示组间存在显著统计学差异。中间为 PCoA 散点图。置换多元方差分析结果显示，组间整体差异显著 ($R^2 = 0.38$, $P < 0.05$)。

It shows the differences in gut microbiome structure between the PMSG group and the control group in the large intestine and small intestine of mice. The box plots in the upper left and lower right show the differences in scores of the gut microbiome in each group on PCoA 1 or 2; the same letters indicate that there is no significant statistical difference in this index among these groups, while different letters indicate a significant statistical difference between groups. The middle one is a PCoA scatter plot. PERMANOVA result presents the significant differences between groups ($R^2 = 0.38$, $P < 0.05$). L-. Large intestine; S-. Small intestine

cetorum)、鲸豚螺杆菌 B (*H. cetorum* B)、普氏拟杆菌 A (*Prevotella copri* A)、未培养 *Mailhella* 菌 (*Mailhella uncultured bacterium*)、普通变形杆菌 (*Proteus vulgaris*)、鼠螺旋菌 (*Mucispirillum schaedleri*) 和未培养螺杆菌 (*Helicobacter uncultured bacterium*)。其中，平民拟杆菌 A 和平民拟杆菌减少幅度最多，分别为 99.62% 和 99.56%。

在 小鼠 小肠 中，PMSG 处理后相对丰度增

加最多的前 10 个菌种分别为 (图 4c)：未培养利吉乳杆菌、海豚气单胞菌、马雌酚阿德勒菌 (*Adlercreutzia equolifaciens*)、粪便单胞菌 (*Faecalimonas* sp. 000209385)、铁还原红环菌 (*Rhodoferrax ferrireducens*)、啮齿粪杆菌 (*Faecalibaculum rodentium*)、藤黄拉比利丝菌 (*Labilithrix luteola*)、艰难梭菌、阿拉伯糖谢德勒菌 (*Schaedlerella arabinosiphila*) 和产甲酸马文菌 (*Marvinbryantia formatexigens*)。

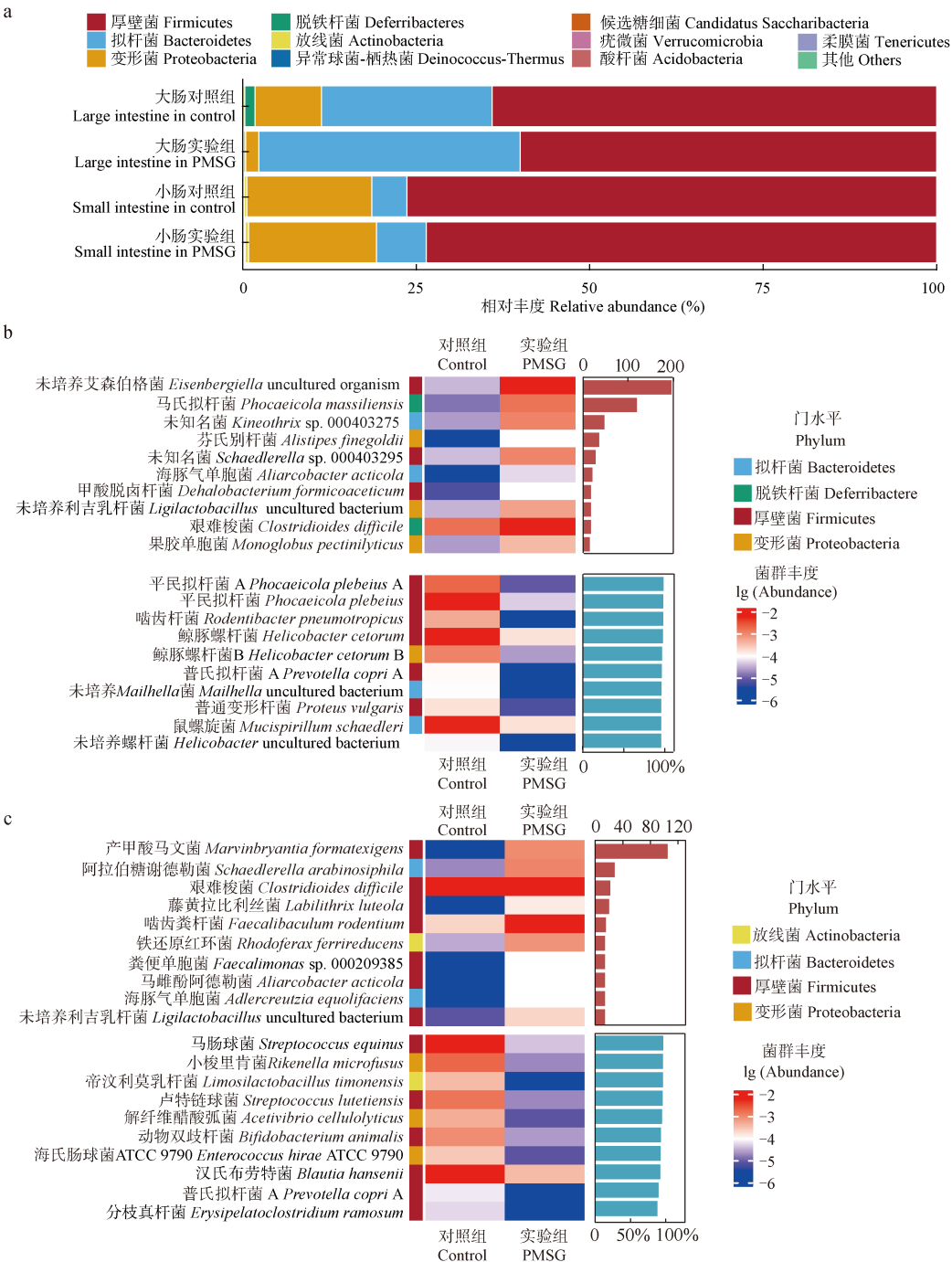


图 4 菌群组成

Fig. 4 Bacterial community composition

a. 门水平物种组成图; b. 大肠种水平核心物种丰度分析图; c. 小肠种水平核心物种丰度分析图。图 b 和 c, 左侧为丰度热图, 右侧为与对照组相比丰度的相对变化, 红色表示增加倍数[(实验组-对照组) /对照组]; 蓝色表示减少的百分比[100% (对照组-实验组) /对照组]。

a. Phylum-level composition diagram; b. Species abundance in the large intestine; c. Species abundance in the small intestine. In panels b and c, the left is the heat map, and the right is the relative change between PMSG group and control group, the red plot shows the relative increase [(PMSG-Control)/Control]; and the blue plot shows the percentage of relative decrease [100%(Control-PMSG)/Control].

其中,产甲酸马文菌和阿拉伯糖谢德勒菌增幅最大,分别为110倍和25倍。相对丰度降低最显著的前10个菌种为:马肠球菌(*Streptococcus equinus*)、小梭里肯菌(*Rikenella microfus*)、帝汶利莫乳杆菌(*Limosilactobacillus timonensis*)、卢特链球菌(*Streptococcus lutetiensis*)、解纤维醋酸弧菌(*Acetivibrio cellulolyticus*)、动物双歧杆菌(*Bifidobacterium animalis*)、海氏肠球菌 ATCC 9790 (*Enterococcus hirae* ATCC 9790)、汉氏布劳特菌(*Blautia hansenii*)、普氏拟杆菌 A 和分歧真杆菌(*Erysipelatoclostridium ramosum*)。其中,马肠球菌和小梭里肯菌减少幅度最多,分别为98.30%和97.95%。

2.5 PMSG 对小鼠肠道菌群互作的影响

基于种水平构建的小鼠肠道菌群互作网络见图5,其关键拓扑参数的分析结果见表1。在大肠中,PMSG处理组的节点数为102,边数为1884,平均度为36.9412,其数值均大于对照组(图5a, b, 表1);PMSG组的内聚力指数显著高于对照组($t_4 = -6.87, P < 0.05$),网络鲁棒性略高于对照组,但不具有显著差异($t_4 = -1.30, P > 0.05$) (图6)。这些结果表明,PMSG处理能明显增加大肠菌群的网络复杂性和稳定性,使大肠菌群的互作更密切。在小肠中,PMSG处理组的节点数为82,边数为1336,平均度为32.5854,其数值均小于对照组(图5c, d, 表1);PMSG组的网络鲁棒性显著低于对照组($t_4 = 10.64, P < 0.05$),内聚力略低于对照组,但不具有显著差异($t_4 = 1.52, P > 0.05$) (图6)。这些结果表明,PMSG处理减少了小肠菌群原有的菌群互作枢纽节点,显著降低了小肠内的细菌群落互作网络稳定性。

为解析PMSG对菌群互作的影响,基于丰度筛选出核心菌群(即相对丰度排名前10,并且在所有样本中均存在)进行网络分析(图7)。核心菌群在各组肠道菌群中均占主导地位(总丰度超过50%),这说明其丰度和网络关系的变化将对肠道菌群具有重要影响。在大肠对照组(图7a),网络包含9个强相关菌种,以负

相关为主(54.55%),其中,尿气球菌(*Aerococcus urinaeequi*)丰度最高(14.52%)。经PMSG处理后(图7b),大肠菌群网络仍维持9个关键菌种,但结构显著改变:卷曲乳杆菌(*Lactobacillus crispatus*)取代穆尔巴赫菌(*Muribaculum* sp. 002492595)成为关键节点,网络关系转为以正相关为主(61.11%);同时,PMSG处理提高了肠乳杆菌(*L. intestinalis*)、约氏乳杆菌(*L. johnsonii*)和卷曲乳杆菌的相对丰度,降低了猪链球菌(*Streptococcus hyointestinalis* A)的丰度,并增强了产酸拟杆菌(*Bacteroides acidifaciens*)与其他菌的正向协同作用。在小肠对照组(图7c),网络包含9个强相关菌种,约氏乳杆菌丰度最高(11.67%),正负相关比例平衡(各50%)。而PMSG处理后的小肠(图7d),网络关系则以负相关为主(53.85%),且穆尔巴赫菌成为新增的关键节点。新增产酸拟杆菌与乳酸菌(如约氏乳杆菌等)的负相关关系。这些结果表明,PMSG显著改变了肠道核心菌群的结构与协同关系。

3 讨论

PMSG对动物的生长发育繁殖具有重要作用,被广泛应用于动物生产和治疗。然而,其对动物肠道菌群的影响还有待进一步系统研究。本研究系统解析了PMSG对小鼠肠道特定菌生长特性、不同肠段菌群多样性和组成及互作网络的调控作用,所得结果可为了了解PMSG对动物肠道菌群的影响提供一定的数据支持。

3.1 PMSG 对肠道菌群的影响呈现明显的肠段区域化差异

本研究发现,PMSG能够提升大肠中的菌群物种分布均匀性、富集具有潜在代谢益处的菌种,促进构建稳定协同的菌群互作网络,驱动大肠菌群向更高均匀度、更强网络稳定性及潜在代谢功能优化的生态系统转变。之前的研究显示,拟杆菌门具有降解复杂多糖的能力

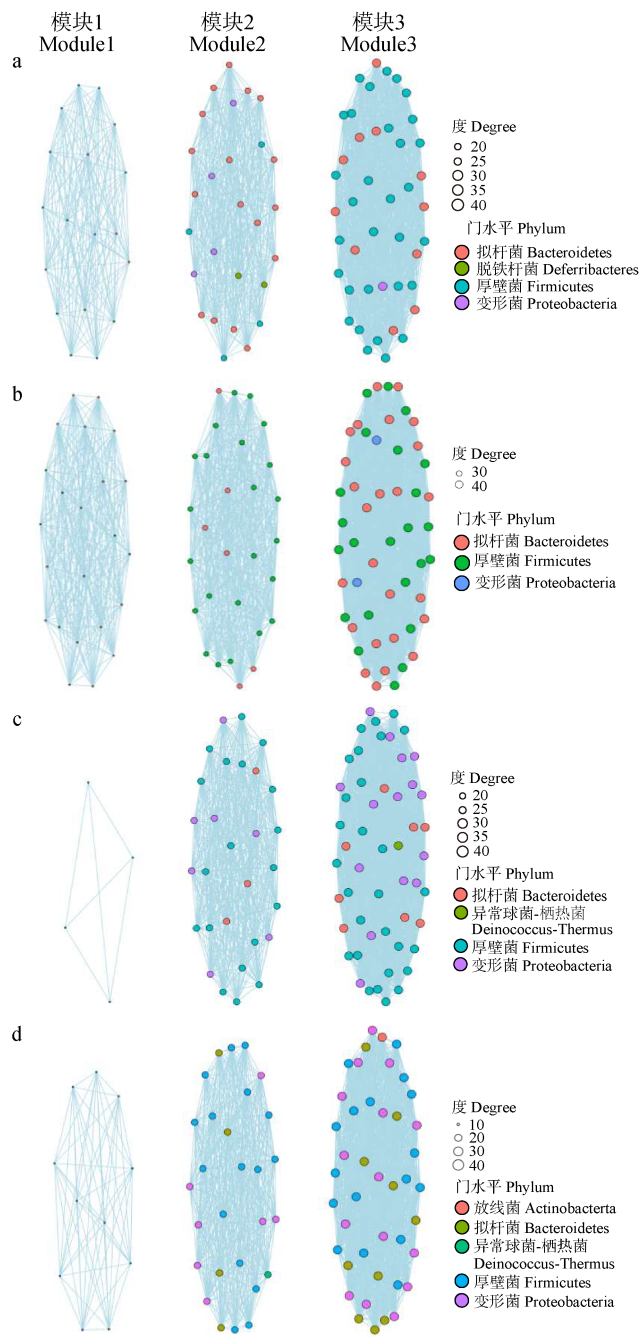


图 5 细菌群落网络分析

Fig. 5 Bacterial network analysis

a. 对照组大肠; b. MSG 组大肠; c. 对照组小肠; d. MSG 组小肠。网络中的节点颜色依据门分类, 节点尺寸代表度, 边在两个节点之间呈现相关性 ($|r| > 0.6$, $P < 0.05$), 每组图从左到右依次代表不同模块 (即网络内部连接紧密、与网络其他部分连接相对稀疏的子网络结构) 的网络互作情况。

a. Large intestine in control group; b. Large intestine in MSG group; c. Small intestine in control group; d. Small intestine in MSG group. In the network, node colors represent phylum classification; node sizes represent degree; and edges between nodes indicate correlations ($|r| > 0.6$, $P < 0.05$). Each set of panels from left to right represents the inter-module interaction networks for different modules.

表 1 网络拓扑参数统计表

Table 1 Topological parameters of the network

	节点编号 Nodes	边总数 Edges	平均度 Average degree	模块化 Modularity	幂律系数 Power law coefficient
大肠对照组 Large intestine in control group	88	1 407	31.977 2	0.514 0	1.905 7
大肠实验组 Large intestine in PMSG group	102	1 884	36.941 2	0.512 7	1.930 3
小肠对照组 Small intestine in control group	85	1 738	40.894 1	0.363 3	2.279 3
小肠实验组 Small intestine in PMSG group	82	1 336	32.585 4	0.461 4	1.986 5

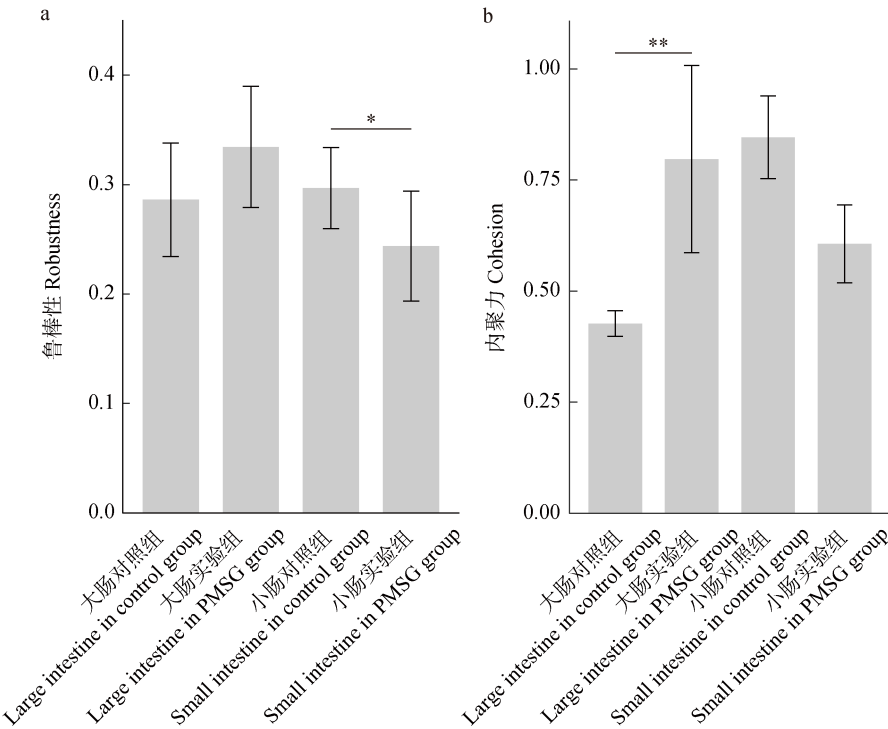


图 6 菌群网络稳定性

Fig. 6 Bacterial network stability

a. 网络鲁棒性; b. 内聚力指数。* $P < 0.05$
a. Network robustness; b. Cohesion index. * $P < 0.05$

(Zhu et al. 2023), 其相对丰度增加可能增强宿主碳水化合物的代谢潜力; 而变形菌门常被视为肠道炎症的生物标志物 (郭仕辉等 2022, Zheng et al. 2022), 相对丰度的减少表明 PMSG 可能具有一定的缓解肠道炎症的作用。在种水平 (图 4b), PMSG 处理促进了部分功能共生

菌的富集: 比如未培养艾森伯格菌 (相对丰度提高了 196 倍)。之前的研究显示, 未培养艾森伯格菌可以产生丁酸, 从而改善肠道屏障功能 (Luu et al. 2021)。此外, PMSG 还可以降低部分大肠中机会致病菌的相对丰度: 比如螺杆菌 (相对丰度下降了 96.9%)。之前的研究

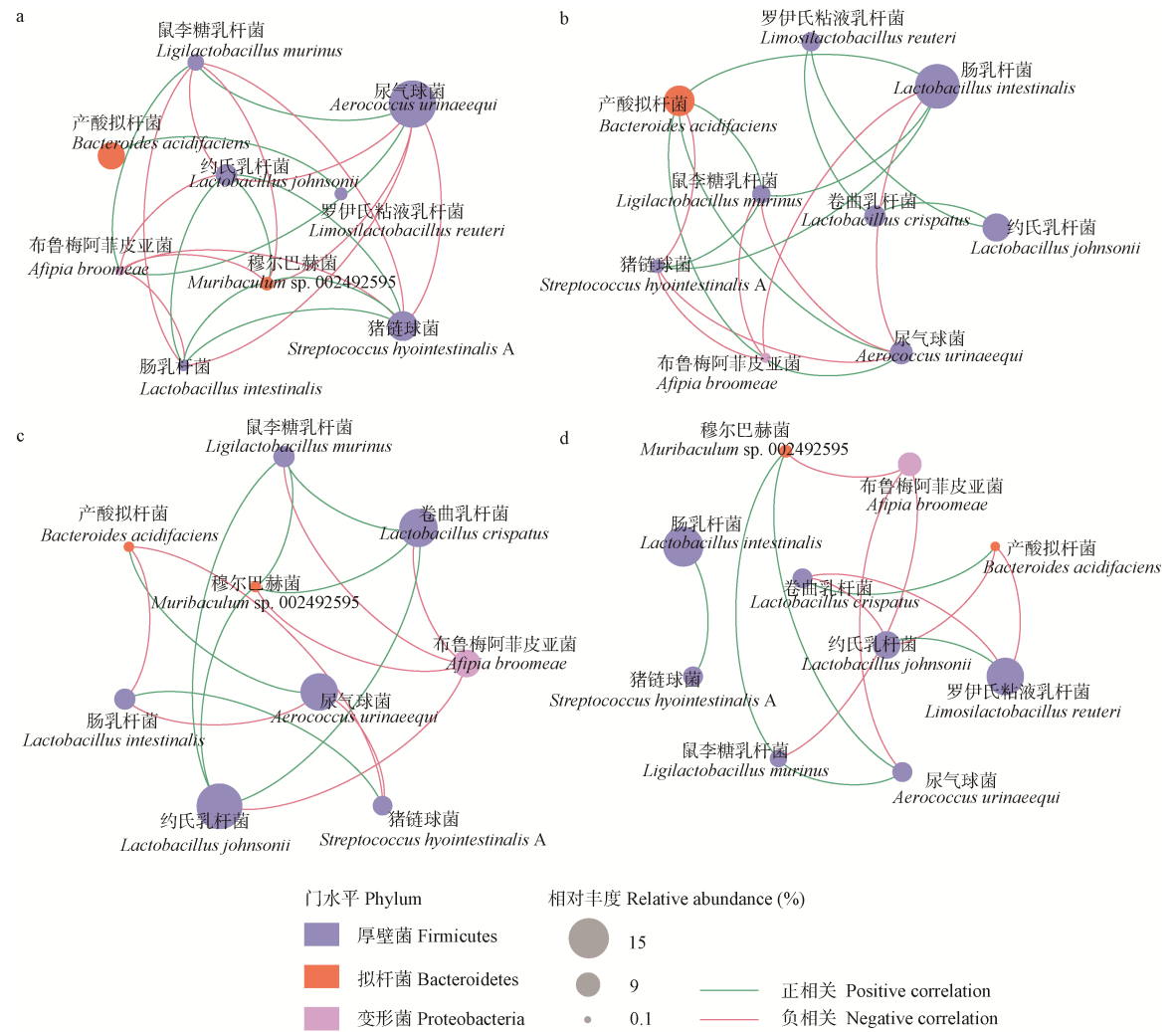


图 7 相对丰度前十的核心菌种互作关系

Fig. 7 Interaction network of top 10 core species

a. 对照组大肠菌群共现网络图; b. MSG 组大肠菌群共现网络; c. 对照组小肠菌群共现网络; d. MSG 组小肠菌群共现网络。网络中的节点颜色依据相关的门水平分类, 节点大小代表菌种的相对丰度, 边在两个节点之间呈现强相关性 ($|r| > 0.9$, $P < 0.01$, Spearman 相关)。

a. Co-occurrence network of the gut microbiome in the large intestine of control group; b. Co-occurrence network of the gut microbiome in the large intestine of MSG group; c. Co-occurrence network of the gut microbiome in the small intestine of control group; d. Co-occurrence network of the gut microbiome in the small intestine of MSG group. Node color represents phylum classification, node size corresponds to relative abundance, and edges indicate strong correlations (Spearman's $|r| > 0.9$, $P < 0.01$).

报道, 螺杆菌与肠道黏膜炎症相关 (Atherton 2006)。此外, 本研究还发现, MSG 能显著提升大肠菌群网络的复杂性和稳定性。同时, MSG 还可以提升核心菌种在大肠中的协同性, 其正相关互作占比升至 61.11% (图 7b)。卷曲乳杆菌取代穆尔巴赫菌成为菌群互作的枢

纽节点; 乳杆菌属相对丰度增加, 并且其与产酸拟杆菌形成新的正向协同关系 (图 7b)。研究显示, 乳杆菌群体的增加可抑制病原体, 维持屏障完整性 (Wang et al. 2020)。本研究中猪链球菌和螺杆菌等机会致病菌的相对丰度降低也印证了这一点。

与大肠不同, PMSG 处理对小鼠小肠菌群整体结构的影响不大, 但其菌群互作网络呈现脆弱化。本研究结果显示, PMSG 处理对小鼠菌群的多样性影响并不显著(图 2, 3), 菌群组成在门水平的变化也不明显(图 4a)。种水平(图 4c)上, PMSG 处理也会引起一些菌种相对丰度的改变, 但其变化倍数远低于大肠。值得注意的是, PMSG 显著降低了小肠菌群互作的网络复杂性(图 5, 6, 表 1)。此外, 核心菌种在小肠中的互作关系中, 负相关占比升至 53.85%(图 7d), 以益生菌间的正向协同关系消失或被负向取代。这意味着, PMSG 会加剧小肠益生菌群内部竞争, 可能削弱菌群功能协调, 影响其生态韧性(Brinker et al. 2019)。

3.2 PMSG 通过双重作用机制调控动物肠道菌群

大量研究显示, PMSG 作为促性腺激素, 具有 FSH 和 LH 双重生物活性, 其注射后通过刺激卵巢, 显著升高宿主雌激素水平(Hu et al. 2023, Thomas 2025)。而雌激素对肠道菌群间接作用的途径有三条: 作用于肠上皮细胞, 改变黏液分泌和肠道通透性, 从而影响菌群定植(Murray et al. 2023); 改变胆汁酸等代谢物的合成, 进而影响部分肠道菌的增殖(Jia et al. 2018, Li et al. 2022, Hu et al. 2023); 增强免疫屏障, 促进浆细胞分泌 IgA(Li et al. 2015, Santana-Sánchez et al. 2024), 并抑制促炎因子(如 $\text{TNF-}\alpha$)(Kim et al. 2019), 间接塑造菌群结构。然而, 值得注意的是, 本研究通过离体实验证实: PMSG 可不依赖宿主, 直接加速特定肠道细菌生长(最大生长速率提升 47.5%, 图 1d), 揭示其内源性直接调控肠道菌群的新途径。

因此, PMSG 可能通过双重的作用机制调控动物肠道菌群, 即: 通过“卵巢-雌激素-肠道”的途径改变肠道理化环境与免疫状态, 间接实现对肠道菌群的重塑; 直接作用于特定菌种生长, 引发肠道菌群的初始变化, 进而通过

菌群互作网络的放大, 实现对菌群的直接调控。

参 考 文 献

- Atherton J C. 2006. The pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastro-duodenal diseases. Annual Review of Pathology, 1: 63–97.
- Brinker P, Fontaine M C, Beukeboom L W, et al. 2019. Host, symbionts, and the microbiome: the missing tripartite interaction. Trends in Microbiology, 27(6): 480–488.
- Bui T P N, Ritari J, Boeren S, et al. 2015. Production of butyrate from lysine and the Amadori product fructoselysine by a human gut commensal. Nature Communications, 6: 10062.
- Chinda D, Takada T, Mikami T, et al. 2022. Spatial distribution of live gut microbiota and bile acid metabolism in various parts of human large intestine. Scientific Reports, 12: 3593.
- Earl J P, Adappa N D, Krol J, et al. 2018. Species-level bacterial community profiling of the healthy sinonasal microbiome using Pacific Biosciences sequencing of full-length 16S rRNA genes. Microbiome, 6(1): 190.
- He S, Li H, Yu Z H, et al. 2021. The gut microbiome and sex hormone-related diseases. Frontiers in Microbiology, 12: 711137.
- Hu S W, Ding Q Y, Zhang W, et al. 2023. Gut microbial beta-glucuronidase: a vital regulator in female estrogen metabolism. Gut Microbes, 15(1): 2236749.
- Jia W, Xie G X, Jia W P. 2018. Bile acid-microbiota crosstalk in gastrointestinal inflammation and carcinogenesis. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 15(2): 111–128.
- Kim D H, Park H J, Park H S, et al. 2019. Estrogen receptor α in T cells suppresses follicular helper T cell responses and prevents autoimmunity. Experimental & Molecular Medicine, 51(4): 1–9.
- Li M C, Wang S L, Li Y T, et al. 2022. Gut microbiota-bile acid crosstalk contributes to the rebound weight gain after calorie restriction in mice. Nature Communications, 13: 2060.
- Li Y F, Jin Y L, Zhang J M, et al. 2021. Recovery of human gut microbiota genomes with third-generation sequencing. Cell Death & Disease, 12: 569.
- Li Z R, Zhang W Z, Mulholland M W. 2015. LGR4 and its role in intestinal protection and energy metabolism. Frontiers in

- Endocrinology, 6: 131.
- Liu X Y, Zheng J Y, Ding J L, et al. 2024. When livestock genomes meet third-generation sequencing technology: from opportunities to applications. *Genes*, 15(2): 245.
- Liu X Z, Ding H, Zhang X X, et al. 2025. Dynamic changes in the gastrointestinal microbial communities of Gangba sheep and analysis of their functions in plant biomass degradation at high altitude. *Microbiome*, 13(1): 17.
- Luu M, Riester Z, Baldrich A, et al. 2021. Microbial short-chain fatty acids modulate CD8⁺ T cell responses and improve adoptive immunotherapy for cancer. *Nature Communications*, 12: 4077.
- Ma Z Q, Zuo T, Frey N, et al. 2024. A systematic framework for understanding the microbiome in human health and disease: from basic principles to clinical translation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9: 237.
- Matsuo Y, Komiya S, Yasumizu Y, et al. 2021. Full-length 16S rRNA gene amplicon analysis of human gut microbiota using MinION™ nanopore sequencing confers species-level resolution. *BMC Microbiology*, 21(1): 35.
- Meslier V, Quinquis B, Da Silva K, et al. 2022. Benchmarking second and third-generation sequencing platforms for microbial metagenomics. *Scientific Data*, 9: 694.
- Murphy B D, Martinuk S D. 1991. Equine chorionic gonadotropin. *Endocrine Reviews*, 12(1): 27–44.
- Murray E, Butcher J, May Kearns M, et al. 2023. Effects of pair-housing pubertal and adult male and female mice on LPS-induced age-dependent immune responses: a potential role for the gut microbiota. *Brain, Behavior, and Immunity*, 110: 297–309.
- Nagesh V K, Tran H H, Elias D, et al. 2024. Therapeutics involved in managing initial and recurrent *Clostridium difficile* infection: an updated literature review. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, 15(5): 95467.
- Round J L, Mazmanian S K. 2009. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nature Reviews Immunology*, 9(8): 600.
- Santana-Sánchez P, Vaquero-García R, Legorreta-Haquet M V, et al. 2024. Hormones and B-cell development in health and autoimmunity. *Frontiers in Immunology*, 15: 1385501.
- Shalon D, Culver R N, Grembi J A, et al. 2023. Profiling the human intestinal environment under physiological conditions. *Nature*, 617(7961): 581–591.
- Sommer F, Anderson J M, Bharti R, et al. 2017. The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease. *Nature Reviews Microbiology*, 15(10): 630–638.
- Sulaiman J E, Thompson J, Qian Y L, et al. 2024. Elucidating human gut microbiota interactions that robustly inhibit diverse *Clostridioides difficile* strains across different nutrient landscapes. *Nature Communications*, 15: 7416.
- Tang B, Tang L, Li S P, et al. 2023. Gut microbiota alters host bile acid metabolism to contribute to intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Nature Communications*, 14: 1305.
- Thomas C. 2025. Ovulation: a cellular symphony in three movements. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 174: 103634.
- Wang M, Zhang B J, Hu J L, et al. 2020. Intervention of five strains of *Lactobacillus* on obesity in mice induced by high-fat diet. *Journal of Functional Foods*, 72: 104078.
- Weiss S, Van Treuren W, Lozupone C, et al. 2016. Correlation detection strategies in microbial data sets vary widely in sensitivity and precision. *The ISME Journal*, 10(7): 1669–1681.
- Xu W, Wang Y, Wang Y H, et al. 2022. Diversity and dynamics of bacteria at the *Chrysomya megacephala* pupal stage revealed by third-generation sequencing. *Scientific Reports*, 12: 2006.
- Zheng J Y, Sun Q R, Zhang J W, et al. 2022. The role of gut microbiome in inflammatory bowel disease diagnosis and prognosis. *United European Gastroenterology Journal*, 10(10): 1091–1102.
- Zhu X Y, Li Y, Xue C X, et al. 2023. Deep-sea *Bacteroidetes* from the Mariana Trench specialize in hemicellulose and pectin degradation typically associated with terrestrial systems. *Microbiome*, 11(1): 175.
- 常博雅, 任佳, 金旭, 等. 2025. “秩边透水道”针法对卵巢低反应小鼠肠道菌群的影响. *中国针灸*, 45(6): 770–780. [Chang B Y, Ren J, Jin X, et al. 2025. Effect of “Zhibian” (BL54) toward “Shuidao” (ST28) acupuncture on gut microbiota in mice with poor ovarian response. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 45(6): 770–780.]
- 崔梦君, 王玉荣, 侯强川, 等. 2025. 基于三代测序技术高温和中

- 高温大曲真菌多样性解析及酵母菌的分离鉴定. 食品工业科技, 46(2): 175–183. [Cui M J, Wang Y R, Hou Q C, et al. 2025. Analysis of fungal diversity and isolation and identification of yeast in high-temperature and medium-high-temperature daqu using three generation sequencing technology. *Science and Technology of Food Industry*, 46(2): 175–183.]
- 封暖暖, 杨鹏程, 谭荣曾, 等. 2023. 性激素变化对小鼠肠道菌群构成的影响. 动物学杂志, 58(2): 263–276. [Feng N N, Yang P C, Tan R Z, et al. 2023. Effects of the changes of sex hormones on gut microbiota composition of experimental mice. *Chinese Journal of Zoology*, 58(2): 263–276.]
- 郭仕辉, 余永涛, 万佳宏, 等. 2022. 变形菌门与哺乳动物结肠肠道菌群失调相关研究进展. 中国微生态学杂志, 34(4): 479–484. [Guo S H, Yu Y T, Wan J H, et al. 2022. Progress in research on the relationship between Proteobacteria and the imbalance of mammalian colonic intestinal flora. *Chinese Journal of Microecology*, 34(4): 479–484.]
- 李成, 张利平, 吴建平, 等. 2015. PMSG 对甘肃高山细毛羊同期发情和繁殖率的影响. 草业科学, 32(11): 1907–1912. [Li C, Zhang L P, Wu J P, et al. 2015. Effects of PMSG on estrus synchronization and reproductive rate of Gansu Alpine fine-wool sheep. *Pratacultural Science*, 32(11): 1907–1912.]
- 徐鹏洋, 范云鹤, 吴腾, 等. 2024. 肠道菌群与胆汁酸在艰难梭菌感染中的作用及应用进展. 现代消化及介入诊疗, 29(12): 1478–1483. [Xu P Y, Fan Y H, Wu T, et al. 2024. The role and application progress of intestinal flora and bile acids in *Clostridium difficile* infection. *Modern Interventional Diagnosis and Treatment in Gastroenterology*, 29(12): 1478–1483.]
- 杨喜喜, 铁雅楠, 王志亮, 等. 2023. 不同剂量孕马血清促性腺激素超排处理对家兔卵巢组织形态和胚胎发育的影响. 动物学杂志, 58(4): 597–606. [Yang X X, Tie Y N, Wang Z L, et al. 2023. Effects of different doses of pregnant mare serum gonadotropin on ovary morphology and embryonic development in rabbits. *Chinese Journal of Zoology*, 58(4): 597–606.]