

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2026.07.007

黄榆智, 徐兰梦, 黄禹璐, 等. 母乳和配方奶喂养引起的猪肝脏代谢功能差异机制分析 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2026, 48(7): 79-90.

母乳和配方奶喂养引起的 猪肝脏代谢功能差异机制分析

黄榆智¹, 徐兰梦¹, 黄禹璐¹, 何航², 章杰¹

1. 西南大学 动物科学技术学院, 重庆 402460; 2. 重庆三峡职业学院 动物科技学院, 重庆 404155

摘要: 为探讨母乳喂养(BF)与配方奶喂养(FF)对猪肝脏代谢功能差异的影响机制, 通过 miRNA-mRNA 联合测序分析了 210 日龄 BF 和 FF 猪肝脏组织。鉴定出 48 个差异 miRNA 和 476 个差异 mRNA。差异基因主要富集于脂质代谢、氧化应激和免疫反应通路, 且相关基因在 FF 猪中的表达量显著下调($p < 0.05$); 差异 miRNA 靶基因富集于免疫、器官发育和甲状腺信号转导通路, 且通路上游 ssc-miR-216 和 ssc-miR-381-3p 表达量在 FF 猪中显著上调($p < 0.05$)。网络互作分析显示 FF 对猪肝脏神经系统的发育具有积极作用, 比如差异 miRNA 中表达量最高的 ssc-miR-218 在 FF 猪中显著降低($p < 0.05$), 而基因 *EPHA* 家族(*EPHA4*、*EPHA6*、*EPHA7*)表达量则在 FF 猪中显著升高($p < 0.05$)。

关键词: 哺乳方式; 猪; 肝脏; miRNA; mRNA

中图分类号: S813 **文献标识码:** A

文章编号: 1673-9868(2026)07-0079-12

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Mechanism of metabolic function differences in pig liver caused by breast-feeding and formula-feeding

Huang Yuzhi¹, Xu Lanmeng¹, Huang Yulu¹,
HE Hang², ZHANG Jie¹

1. College of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing 402460, China;

2. College of Animal Science and Technology, Chongqing Three Gorges Vocational College, Chongqing 404155, China

Abstract: This study aims to explore the mechanisms underlying the differences in liver metabolic functions between breast-feeding(BF) and formula-feeding(FF) pigs. Liver tissues from 210-day-old BF and

收稿日期: 2025-12-04

基金项目: 重庆市自然科学基金项目(cstc2019jcyjmsxm2342); 重庆市教委科学研究项目(KJQN202503523)。

作者简介: 黄榆智, 硕士研究生, 主要从事动物遗传育种研究。

通信作者: 章杰, 博士研究生, 副教授。

FF pigs were analyzed using miRNA-mRNA integrated sequencing. A total of 48 differentially expressed miRNAs and 476 differentially expressed mRNAs were identified. The differentially expressed genes were mainly enriched in lipid metabolism, oxidative stress, and immune response pathways, with significant downregulation in FF pigs ($p < 0.05$). The target genes of differentially expressed miRNAs were enriched in immune response, organ development, and thyroid signaling pathways, with ssc-miR-216 and ssc-miR-381-3p, located upstream of these pathways, significantly upregulated in FF pigs ($p < 0.05$). Network interaction analysis revealed that FF had a positive effect on the development of the nervous system in pig livers, for example, ssc-miR-218, which had the highest expression among differentially expressed miRNAs, was significantly downregulated in FF pigs ($p < 0.05$), while the expression of the *EPHA* gene family (*EPHA4*, *EPHA6*, *EPHA7*) was significantly upregulated in FF pigs ($p < 0.05$).

Key words: feeding pattern; pig; liver; miRNA; mRNA

母乳作为哺乳动物发育早期的黄金营养源,对新生儿代谢编程和免疫成熟具有关键作用^[1]。母乳不仅富含蛋白质、脂肪、维生素和碳水化合物等常规营养物质,还含有消化酶、免疫细胞及益生菌等活性成分,兼具营养供给、抗菌保护和免疫调节等多重功能^[2-3]。然而,在实际哺乳中普遍存在泌乳量不足以及铁和维生素 D 等营养物质缺乏的现象,影响后代的正常生长发育并增加代谢综合征风险^[4-5]。基于此,模拟母乳成分生产的配方奶应运而生,并作为一种重要的营养干预手段得以广泛使用^[6]。目前,随着集约化猪生产技术的快速发展,母猪繁殖性能不断提高,产仔数持续增加,但母猪泌乳量往往无法满足仔猪的需要,导致仔猪出现营养不良、生长缓慢,甚至死亡的情况^[7-8]。肝脏作为营养代谢的核心器官,不同来源的营养物质必定引起肝脏代谢的差异。研究显示,母乳喂养(Breast-Feeding, BF)和配方奶喂养(Formula-Feeding, FF)的仔猪相比,前者具有较优的肝脏指数^[9],而后者肝脏具有较强的脂肪合成和抗氧化能力^[10-11]。此外,早期营养干预对机体代谢编程具有持久的影响,而哺乳方式作为早期营养干预的重要组成部分,同样具有长期的代谢印记效应。比如,FF 成年猪呈现出显著的脂代谢异常,血清总胆固醇(Total Cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)及脂蛋白水平升高,肝脏脂肪沉积能力增强^[4, 12],而 BF 的白蛋白和球蛋白之比更优,提示 BF 具有较强的远期免疫应答能力^[12-13]。

RNA-seq(核糖核酸测序)技术通过高通量测序分析,精确检测基因表达水平,揭示基因表达模式的异质性,为理解基因表达调控机制提供了强有力的工具。因此,为深入解析营养—基因的互作机制,本研究采用多组学整合策略,通过对 BF 与 FF 成年猪肝脏组织进行 miRNA-mRNA 联合测序,以期系统揭示哺乳方式调控肝脏代谢功能的分子机制。

1 材料与方法

1.1 试验动物

本试验方案经西南大学动物伦理委员会批准(批准号:SWU-20143003)。

随机选取由 6 头健康荣昌母猪自然分娩的 12 头健康、体重相近(0.96 ± 0.06 kg)的 1 日龄雌性仔猪。仔猪在获得初乳后随机分为 BF 组($n=6$)和 FF 组($n=6$)。BF 组自然吸取母乳,FF 组饲喂以牛奶为基础的配方奶粉,其具体营养组成见表 1。配方奶粉需与 40 °C 温水按 1:6 的比例进行均匀混合,每天在 6:00 至 21:00 之间每小时饲喂 1 次。所有仔猪均处于相同环境中(温度: 31.5 ± 2.45 °C;湿度: $65.16\% \pm 3.93\%$),自由饮水且禁喂固体饲料,严格执行标准免疫程序。仔猪于 30 日龄断奶后继续按 NRC(2012)猪营养标准在相同的环境下进行饲喂,自由采食和饮水。

表 1 配方奶营养成分组成

项目	含量	项目	含量
粗蛋白(Crude protein)	~18%	赖氨酸(Lysine)	~1.11%
粗脂肪(Crude fat)	~13%	蛋氨酸(Methionine)	~0.36%
粗纤维(Crude fiber)	~2%	氯化钠(NaCl)	~0.5%
粗灰分(Crude ash)	~8%	维生素 E (Vitamin E)	~40 mg/kg
水分(Moisture)	~9%	维生素 K3 (Vitamin K3)	~100 mg/kg
总钙(Total calcium)	~0.99%	铁(Fe)	~800 mg/kg
总磷(Total phosphorous)	~0.71%	锌(Zn)	~300 mg/kg

注: ~表示近似值, 配方奶各营养成分的实际检测值在不同批次间存在一定浮动。

1.2 样本采集与处理

在 210 日龄时, 使用真空采血管(不含抗凝剂)采集已禁食 12 h 的猪前腔静脉血液 15 mL, 静止 10 min 后 3 500 r/min 常温离心 10 min, 取上清液待测。然后, 对猪进行麻醉处理(戊巴比妥钠: 40 mg/kg), 屠宰后立即采集肝脏样本, 并将每 2 个样本合并为 1 个, 于液氮中极速冷冻后在-80 ℃保存备用。

1.3 表型测定

生长性能指标(30 日龄断奶重; 210 日龄末重)及平均日增重(Average Daily Gain, ADG)的测定, 以及肝脏代谢相关血清指标[谷丙转氨酶(Alanine Aminotransferase, ALT); 谷草转氨酶(Aspartate Aminotransferase, AST); 谷氨酰氨基转移酶(Gamma-Glutamyl Transferase, GGT); 碱性磷酸酶(Alkaline Phosphatase, ALP); TC; TG; 高密度脂蛋白(High-Density Lipoprotein, HDL); 低密度脂蛋白(Low-Density Lipoprotein, LDL)]的测定, 均来自于本团队之前基于相同个体的研究^[12, 14-15]。

1.4 RNA 提取、文库构建和测序

采用 TRIzol 法提取肝脏总 RNA, 并使用 NanoDrop 2000 和 Bioanalyzer 2100 对其质量浓度和完整性进行质检, 合格后[总 RNA 质量浓度为 872.67±115.46 ng/μL; RNA 完整性系数(RNA Integrity Number, RIN)为 8.5±0.3]用以构建文库。miRNA 文库构建流程为: 利用聚丙烯酰胺凝胶电泳(Polyacrylamide Gel Electrophoresis, PAGE)富集 18~30 nt 的 RNA, 连接到具有独特分子标识退火的腺苷酸化 3' 端接头, 然后连接 5' 端接头, 将连接产物经 PCR 反应逆转录为互补 DNA(complementary DNA, cDNA)并进行适当扩增, 在 PAGE 上获得长度为 110~130 bp 的 PCR 产物, 通过夹板寡核苷酸序列进行热变性和环化。mRNA 文库构建流程为: 利用 oligo 磁珠从总 RNA 中富集 mRNA, 并用 MGIEasy rRNA kit 去除核糖体 RNA(ribosomal RNA, rRNA), 在高温下使用二价阳离子将 mRNA 片段化, 并使用逆转录酶和随机引物将其逆转录合成第一链 cDNA, 然后使用 DNA 聚合酶 I 和核糖核酸酶 H(RNase H)与脱氧尿苷三磷酸(Deoxyuridine Triphosphate, dUTP)合成第二链 cDNA, 将 cDNA 片段与“A”碱基和测序适配器连接, 利用 PCR 富集产物, 通过夹板寡核苷酸序列进行热变性和环化反应完成文库构建。最终, 使用 Illumina HiSeq 2500 对构建的文库进行测序。

1.5 测序数据处理

对于 mRNA 测序数据, 使用 SOAPnuke 过滤原始测序序列(reads)以获得高质量的有效序列(clean reads), 比如去除接头和低质量 reads 等, 分别利用 HISAT 和 StringTie 软件将 clean reads 与猪参考基因组进行比对和组装转录本, 结合 GTF 注释文件计算基因表达量, 以每百万转录本(Transcripts Per Million, TPM)进行标准化。对于 miRNA 测序数据, 使用 SOAPnuke 去除低质量标签(tags)、具有 5' 引物污染物和 poly A 的 tags、无 3' 引物和插入片段的 tags 以及短于 15 nt 的 tags 以获得干净标签(clean tags),

然后利用 Bowtie 将 clean tags 映射到 miRbase 数据库, 允许最多 2 个碱基的错配, 同时, miRDeep2 用于鉴定新型 miRNA。

1.6 差异表达和功能富集分析

使用 DESeq2(v1. 24. 0)进行差异表达 miRNA(DEmG)和 mRNA(DEG)筛选, 标准为 $|\log_2 FC| \geq 1$ 且 $p < 0. 05$, 其中 FC 为差异倍数。然后, 利用 Targetscan、Miranda 和 miRDB 分别预测 DEmG 的靶基因并取其交集(Overlapping Target Genes, OTG)。接下来, 将 OTG 再与 DEG 取交集后使用 Cytoscape 绘制 miRNA-mRNA 互作网络图。利用 DAVID 数据库对基因进行 GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析使用, p 值采用 Benjamini 法进行校正, 以校正后 $p < 0. 05$ 为显著富集。

1.7 互作网络构建

整合 BioGrid、InWeb_IM 及 OmniPath 数据库并利用 Metascape 构建基因所对应的蛋白质互作网络, 随后采用 MCODE 算法识别出网络中高度连接的功能模块, 以挖掘出具有特定功能的分子复合体。最后, 借助 Cytoscape 对构建的互作网络进行可视化呈现。

1.8 数据分析

数据的统计分析使用 SPSS 22. 0(IBM Corporation, 2014)进行 Student's t-test, * 表示差异具有统计学意义($p < 0. 05$), 所有数据以“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 表型指标

本团队前期研究^[12, 14-15]指出, BF 和 FF 猪的 30 日龄断奶重(BF 猪为 $6. 95 \pm 0. 35$ kg, FF 猪为 $6. 61 \pm 0. 25$ kg)无差异($p > 0. 05$), 而 BF 猪的 210 日龄末重显著高于 FF 猪(BF 猪为 $80. 23 \pm 2. 56$ kg, FF 猪为 $71. 02 \pm 2. 92$ kg, $p < 0. 05$), 且其 ADG 也显著提高($p < 0. 05$)。此外, BF 和 FF 猪的血清 ALT 和 ALP 水平在 30 和 210 日龄均表现出显著差异($p < 0. 05$)。

2.2 测序数据统计

如表 2 所示, 测序共获得 143. 10 Mb 原始 miRNA 序列(包含 71. 66 Mb 的 BF 猪序列和 71. 44 Mb 的 FF 猪序列)和 689. 64 Mb 原始 mRNA 序列(包含 344. 82 Mb 的 BF 猪序列和 344. 82 Mb 的 FF 猪序列), 其中, miRNA 和 mRNA 的有效序列分别为 129. 31 Mb(BF 猪为 64. 97 Mb, FF 猪为 64. 34 Mb)和 681. 70 Mb(BF 猪为 340. 85 Mb, FF 猪为 340. 84 Mb), 有效序列占比分别为 90. 36%(BF 猪为 90. 62%, FF 猪为 90. 10%)和 98. 85%(BF 猪为 98. 85%, FF 猪为 98. 85%), 碱基质量值 Q20(Phred 质量分值 ≥ 20 , 即碱基识别错误率 $\leq 1\%$)分别为 98. 67%(BF 猪为 98. 70%, FF 猪为 98. 63%)和 97. 34%(BF 猪为 97. 29%, FF 猪为 97. 40%), 与基因组的比对率分别为 93. 68%(BF 猪为 94. 64%, FF 猪为 92. 71%)和 92. 21%(BF 猪为 92. 26%, FF 猪为 92. 15%)。此外, miRNA 有效序列长度主要分布在 20~24 nt(BF 猪为 74. 58%, FF 猪为 78. 01%), 尤其是 22 nt 占比最高(BF 猪为 31. 07%, FF 猪为 34. 11%)。综上, 测序数据质量可满足后续分析。

表 2 RNA 测序数据统计分析

类型	组别	原始序列/Mb	有效序列/Mb	有效占比/%	Q20/%	比对率/%
miRNA	BF	23. 89±0. 91	21. 66±1. 33	90. 62±2. 90	98. 70±0. 10	94. 64±0. 77
	FF	23. 81±0. 35	21. 45±0. 85	90. 10±4. 40	98. 63±0. 15	92. 71±1. 69
mRNA	BF	114. 94±0. 00	113. 62±0. 06	98. 85±0. 05	97. 29±0. 78	92. 26±1. 30
	FF	114. 94±0. 00	113. 61±0. 17	98. 85±0. 14	97. 40±0. 80	92. 15±1. 03

2.3 miRNA 和 mRNA 的鉴定

如图 1a 所示, 在测序数据中共鉴定出 1 527 个 miRNA, 包括 348 个已知 miRNA 和 1 179 个新发现的 miRNA, 其中共表达 miRNA 有 1 114 个(已知 miRNA 331 个, 新发现 miRNA 783 个), 特异性表达 miRNA 有 413 个(BF 猪组 225 个, FF 猪组 188 个)。miRNA 表达量在 BF 猪组内的相关系数为 0.98, FF 猪组内的相关系数为 0.95, 两组间的相关系数为 0.93(图 1b)。此外, 前 20 个高表达 miRNA 分别占 BF 和 FF 组总表达量的 62.8%和 63%, 其中 19 个为共表达(图 1c 和 1d)。在 mRNA 层面, 共鉴定出 16 493 个已知 mRNA, 其中特异性表达的 mRNA 有 905 个(BF 猪组 413 个, FF 猪组 492 个; 图 1e)。mRNA 表达量在 BF 猪组内的相关系数为 0.98, FF 猪组内的相关系数为 0.96, 两组间的相关系数为 0.93(图 1f)。此外, 前 10 个高表达 mRNA 分别占 BF 和 FF 组总表达量的 31.35%和 28.21%, 其中共表达有 7 个(图 1g 和 1h)。

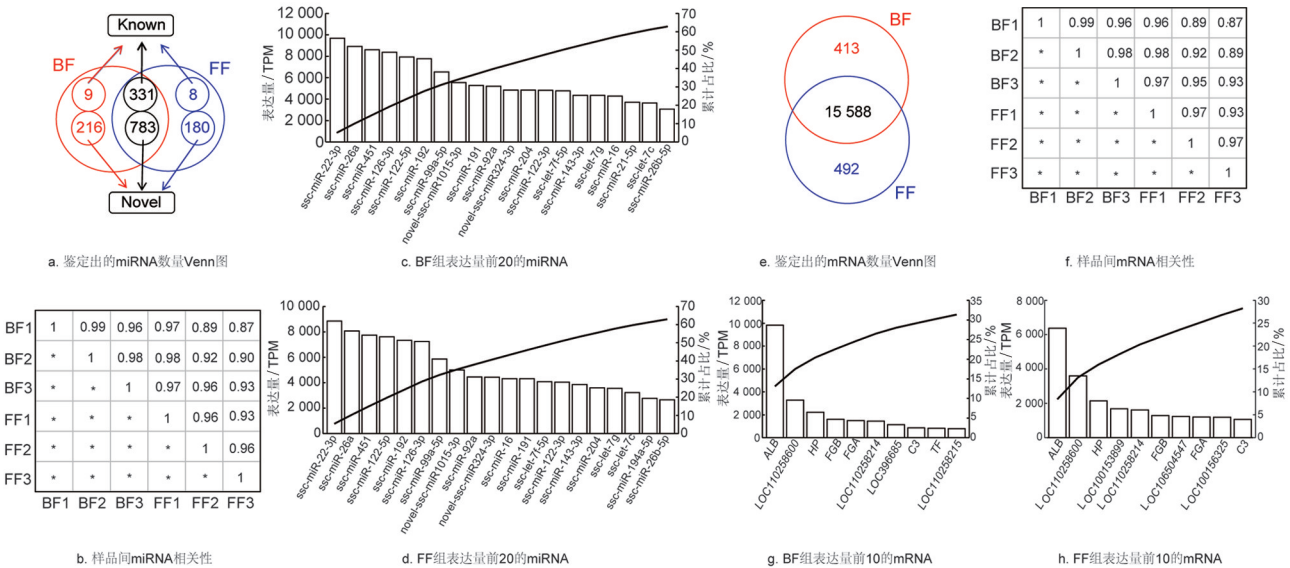


图 1 miRNA 和 mRNA 鉴定结果

2.4 mRNA 差异表达及功能富集分析

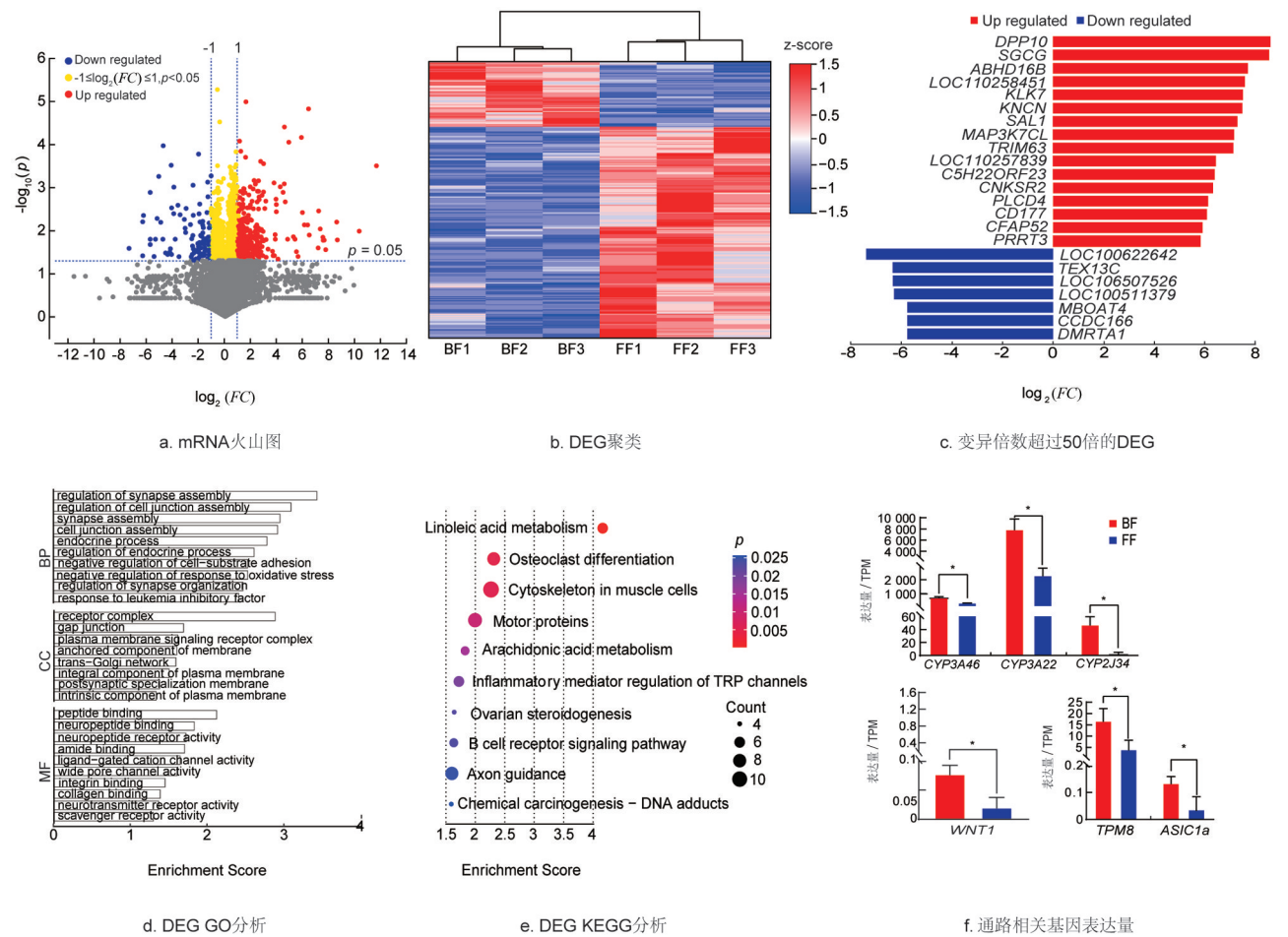
BF 和 FF 组之间差异表达分析鉴定出 476 个 DEG, 其中上调 364 个, 下调 112 个(图 2a), DEG 层级聚类分析显示所有个体根据处理聚集成独立簇群(图 2b)。其中 23 个差异倍数超过 50(图 2c)。功能富集分析揭示 DEG 主要富集于脂质代谢、氧化应激和免疫反应通路(图 2d 和图 2e), 且相关基因表达量在 BF 组显著高于 FF 组($p < 0.05$; 图 2f)。

2.5 miRNA 差异表达及功能富集分析

BF 和 FF 组之间鉴定出 48 个 DEmG, 其中 19 个上调, 29 个下调(图 3a)。DEmG 层级聚类分析同样显示所有个体根据处理聚集成独立簇群(图 3b), 其中 4 个 DEmG 变异倍数超过 5(图 3c)。DEmG 靶基因富集在免疫通路、器官发育和甲状腺信号转导通路(图 3d 和图 3e), 且通路中 ssc-miR-216 和 ssc-miR-381-3p 表达量在 FF 组显著上调(图 3f)。

2.6 互作网络分析

对 DEG 进行蛋白质互作分析构建出 5 个功能模板(图 4a), GO 功能富集分析显示, 这些模块主要富集于神经元引导、轴突导向和运动等生物学过程(图 4b)。比如, MCODE1 蛋白互作网络主要参与肽受体活性、G 蛋白偶联受体活性和神经活性配体-受体相互作用等过程(图 4c 和 4d)。



* 表示差异具有统计学意义 ($p < 0.05$), 下图同。

图 2 mRNA 差异表达及功能富集分析

2.7 ssc-miR-218 特异性分析

ssc-miR-218 在 DEmG 中的表达量最高, 且在 FF 组表达量显著降低(图 5a)。序列分析显示其种子序列在人、小鼠和牛等不同物种间高度保守(图 5b)。同时, 其靶基因 *NAV3*、*EPHA7* 和 *KLHL29* 的靶位点在猪、人、小鼠上也高度保守(图 5c–5e)。进一步分析显示, 与 BF 组相比, 其靶基因 *NAV3*、*EPHA7* 和 *KLHL29* 表达量在 FF 组显著升高(图 5f)。值得注意的是, 与 *EPHA7* 同家族的基因 *EPHA4* 和 *EPHA6* 表达量在 FF 组中也显著升高(图 5g)。

3 讨论与结论

3.1 讨论

肝脏是机体多种代谢过程的枢纽, 在能量稳态过程、氨基酸代谢、毒素和代谢物解毒以及免疫功能调节中发挥重要作用^[16]。前人研究指出, BF 可降低 ATP 周转率, 稳定肝脏能量代谢^[17], 并促进脂质代谢调节因子 N-油酰乙醇胺的生成^[18], 而 FF 则提高碱性磷酸酶水平, 增加单核细胞和嗜酸性粒细胞数量, 加重肝脏代谢负荷, 引起免疫功能异常^[9]。本团队前期研究^[14]指出, 哺乳方式对猪 30 日龄断奶重无影响, 但对 30 日龄和 210 日龄猪肝脏代谢相关的血清指标以及 210 日龄末重有显著影响, 这表明哺乳方式对肝脏代谢的影响是即时发生并持续存在的, 且这种影响最终会体现在后续生长发育表型上, 其暗示了可能存在潜在的分子调控机制差异。母乳富含 miRNA 和 mRNA 等分子, 在后代基因表达和信号传导等过程发挥积极作

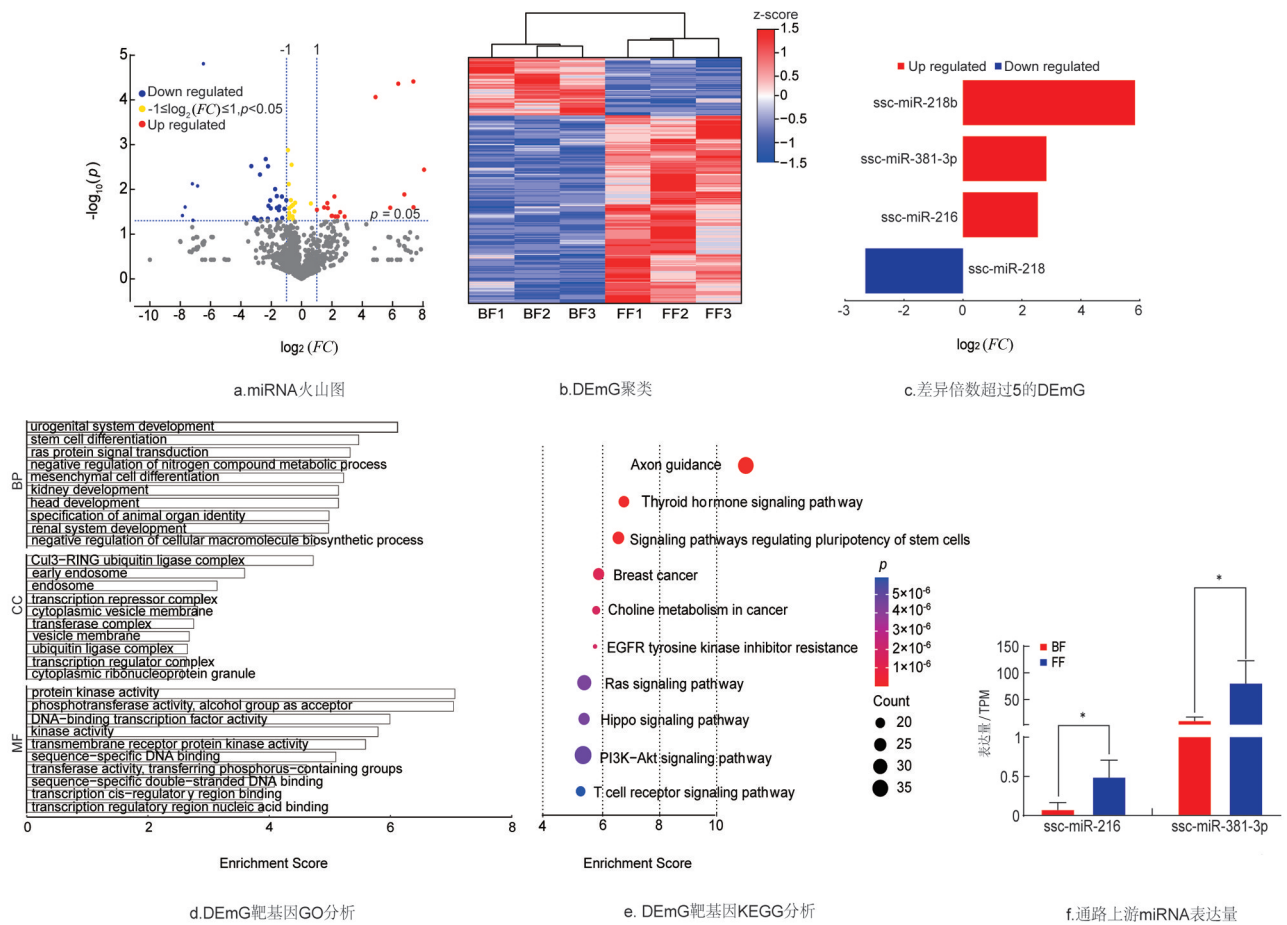


图 3 miRNA 差异表达及功能富集分析

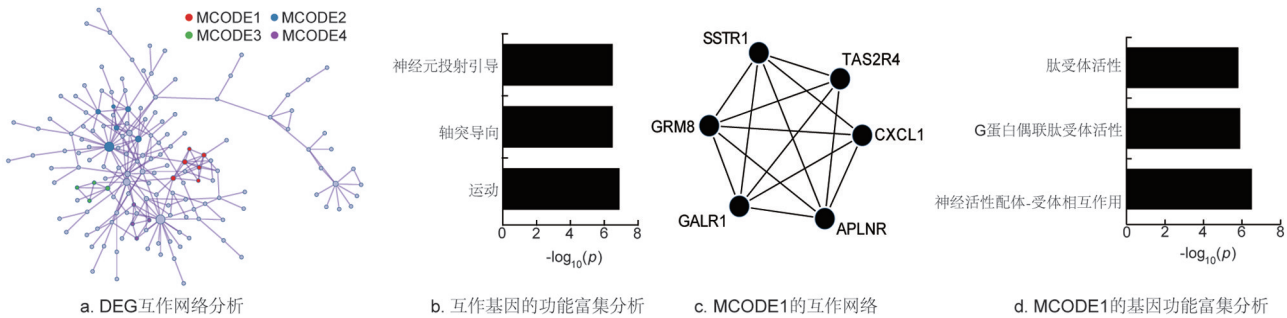


图 4 基因交互网络分析

用^[19], 比如 miR-378 通过调节胰岛素信号通路来影响肝脏糖脂代谢^[20], 而 miR-122 则可调节肝脏细胞分化、损伤和代谢稳态^[21]。Baier 等^[22] 研究指出, 后代从母乳中摄入的外泌体 miRNA(如 miR-29b)不足会引起肝脏 *KLF8* 基因表达量降低, 且该效应无法通过内源性 miRNA 合成途径补偿, 进而导致肝脏细胞增殖分化的正常进程受到影响。这表明, 早期关键生长因子的缺乏可通过破坏肝脏基因的调控网络来对机体生长发育产生不可逆的长期影响。

本研究对 210 日龄 BF 与 FF 猪肝脏进行 miRNA 和 mRNA 测序鉴定出 48 个 DEmG 和 476 个 DEG, 其中 4 个 DEmG 差异倍数超过 5, 23 个 DEG 的差异倍数超过 50, 表明这些分子在调控肝脏正常生理代谢过程中发挥着重要作用, 其异常表达及相互作用可能参与脂肪肝、肝炎、肝纤维化, 甚至肝癌等病变的发生和发展。比如, miR-218b^[23] 家族、miR-381-3p^[24] 和 miR-216^[25] 以及基因 *ABHD16B*^[26]、*MBOAT4*^[27]、*KLK7*^[28]、*CD177*^[29]、*PRRT3-AS1*^[30]、*PLCD4*^[31]、*CNKS2*^[32]、*Trim63*^[33-34] 和 *DMRTA1*^[35]。进一步

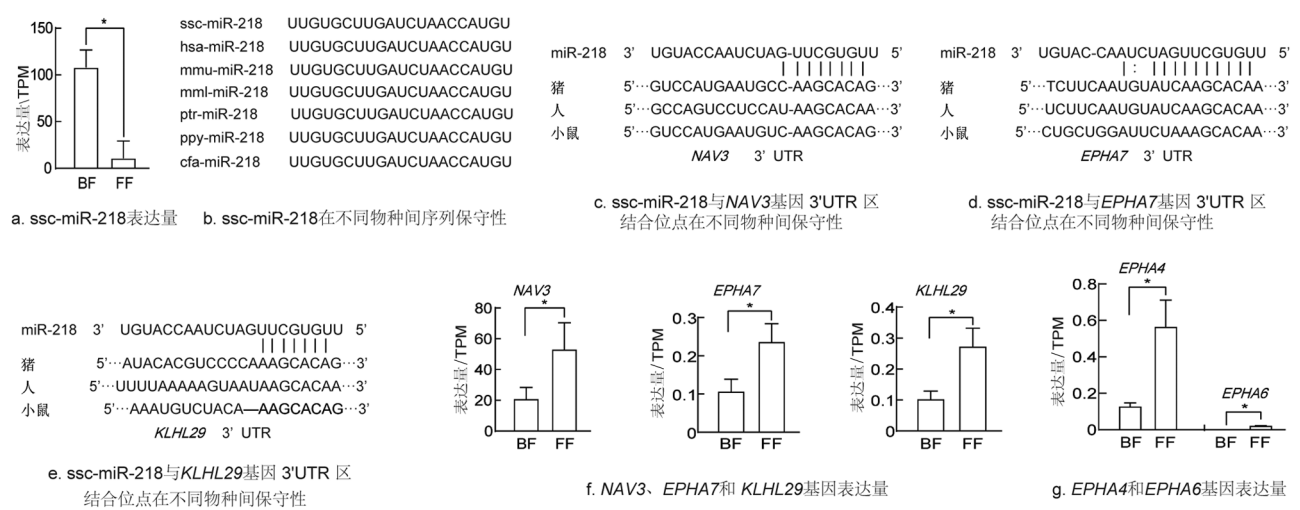


图 5 ssc-miR-218 特异性分析

分析显示 DEG 显著富集于脂质代谢、氧化应激和免疫反应通路，表明哺乳方式主要通过这些通路来影响肝脏的代谢功能。脂质代谢异常会导致肝脏积累脂肪酸和三酰甘油，引起脂肪肝并加剧胰岛素抵抗^[36]，其中基因 *CYP* 家族是胆固醇转化为胆酸的关键酶，参与胆固醇排泄和胆酸合成，影响脂肪乳化和吸收并调节胆固醇水平^[37]。本研究中，脂质代谢通路中的基因 *CYP3A46*、*CYP3A22* 和 *CYP2J34* 表达量在 FF 猪显著降低，提示 FF 猪肝脏易发生脂质代谢异常。肝脏因高度暴露于活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 而易发生氧化应激，破坏细胞内氧化还原平衡并损害肝脏功能，同时 ROS 会激活炎症反应，进而加剧氧化应激，形成恶性循环，最终导致免疫系统异常^[10]。本研究中，氧化应激通路中基因 *WNT1* 表达量在 FF 猪显著降低，其激活 Wnt/ β -连环蛋白信号通路的能力减弱，进而加剧氧化应激反应^[38]。基因 *TRPM8* 可促进巨噬细胞的抗炎和吞噬能力，有助于清除病原体等有害物质，在调控巨噬细胞的天然免疫反应中具有保护作用，对维持肝脏免疫稳态具有积极作用^[39]。基因 *ASIC1a* 具有促进巨噬细胞和小胶质细胞活化的作用^[40]。本研究中，免疫通路中的基因 *TRPM8* 和 *ASIC1a* 表达量在 FF 猪显著降低。综上，FF 猪的抗氧化能力和免疫反应易发生异常，进而引起肝脏的损伤。此外，DEmG 的靶基因则显著富集于免疫反应、肝脏发育和甲状腺信号转导通路。甲状腺激素会提高基因 *ATGL* 向脂滴的募集，以促进脂肪分解^[41]，还可上调肝脏细胞锌- α 2-糖蛋白的表达，进而正反馈地促进甲状腺激素的脂解作用^[42]。甲状腺信号转导通路的抑制会引起肝脏脂质沉积，进而可能发展形成脂肪肝甚至非酒精性脂肪性肝病 (Non-alcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD)。研究已证实 miR-216 和 miR-381-3p 均可抑制肝脏发育和甲状腺信号转导通路，且 miR-381-3p 还可抑制免疫反应。本研究中，与 BF 猪相比，FF 猪肝脏 miR-216 和 miR-381-3p 的表达显著上调，综合上述脂代谢、氧化应激以及免疫相关通路的基因表达变化，表明 FF 猪的肝脏在维持代谢稳态、抗氧化防御及免疫监视等功能上弱于 BF 猪。因此，FF 猪肝脏处于更高的代谢紊乱风险之中，长期发展可能增加其肝脏病变的发生概率。

为了挖掘出更多的信息，互作网络分析显示 DEG 对应的蛋白质显著富集于神经信号传导和功能调控的相关通路，提示哺乳方式对神经系统的发育具有重要影响。同时，在 DEmG 中发现表达量最高的是 miR-218，其靶基因 *EPHA7* 作为 EPH 受体酪氨酸激酶家族成员，在神经系统发育中发挥多效性调控作用，可促进神经元分化、引导轴突精准生长以建立正确神经连接^[43]。而且，EPHA 受体还可通过调节 Rho-GTP 酶家族成员，如 RhoA、Rac1 和 Cdc42，影响细胞骨架的动态变化，从而调节轴突的生长和导向^[42]。因此，*EPHA* 家族对神经系统发育至关重要，比如 *EPHA4* 在神经元和神经干细胞中高表达，具有调控正

常神经母细胞迁移以及空间组织和方向的作用^[44]。本研究中,与 BF 猪相比,FF 猪的 miR-218 显著降低,基因 *EPHA4*、*EPHA6* 和 *EPHA7* 表达量显著升高,说明 FF 对猪肝脏神经系统的发育具有积极意义。此外,miR-218-5p 表达降低可解除对靶基因 *ELOVL5* 的抑制,导致 *ELOVL5* 基因表达升高,进而提高肝脏合成 *n*-3 和 *n*-6 多不饱和脂肪酸的能力,而这类脂肪酸对神经系统的发育具有促进作用^[45]。除上述作用外,miR-218 在肝脏发育,比如通过靶向降低基因 *PPP1CB* 和 *PPP2R5A* 的表达来抑制胆管细胞增殖^[46],促进肝脏血窦内皮细胞增殖,进而提高肝脏再生能力^[47],并与肝脏疾病,尤其是肝癌的发生密切相关。在肝癌患者中,其血清 miR-218 水平显著低于健康人群,其低表达水平与肿瘤大小、数目、血管浸润、Edmondson 分级及 TNM 分期呈正相关关系^[48]。并且,miR-218 表达水平的下调还会引起基因 *RETc* 和 *HoxA10* 表达升高,激活 PTEN/AKT/PI3K 通路,促进肝癌细胞的增殖生长^[49-50]。再次印证了前文指出的 FF 猪肝脏更易受到损伤的结果。

综上所述,BF 猪在维持肝脏代谢稳态、抗氧化防御及免疫监视等方面表现出更强的功能基础,而 FF 猪肝脏则存在一定的功能缺陷,可能面临更高的代谢紊乱及肝脏病变风险,这主要与母乳与配方奶的组成差异相关。首先,母乳中的催乳素可抑制参与脂肪酸摄取的相关基因 *CD36* 以及脂肪酸合成相关基因 *SCD1* 表达,减少肝脏脂肪堆积^[51],且还可通过 *CD36* 通路改善肝脏脂肪变性,比如 NAFLD 患者的血清催乳素浓度通常较低^[52]。其次,母乳中的超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶可清除体内过多的自由基,减轻氧化应激对细胞的损伤^[53]。此外,母乳中的乳铁蛋白可通过结合铁离子来抑制活性氧的形成,抑制氢过氧化物转化为羟基自由基,减轻氧化应激的损害,同时具有抗菌、抗病毒等作用,有助于增强机体免疫力^[54]。最后,母乳富含的免疫球蛋白、溶菌酶、细胞因子、母体白细胞等免疫因子,提供主动和被动保护,提高仔猪免疫力^[55]。FF 则对猪肝脏神经系统的发育则有积极作用。一般来说,母乳中二十二碳六烯酸(Docosahexaenoic Acid, DHA)含量易因母体膳食中相应脂肪酸的摄入量不足而缺乏,而配方奶中为了弥补这一点,其 DHA 含量高于母乳。江晨瑜^[56]的研究证实,母乳中 DHA 等多不饱和脂肪酸的相对含量仅为 11.79%,而配方奶可达 25.90%。DHA 在神经发生和神经递质代谢调节等过程中具有关键作用^[57],能促进神经元的增殖、分化和突起延伸,增加神经元的数量和复杂性,使神经网络更加丰富和发达^[58]。此外,DHA 等 *n*-3 多不饱和脂肪酸可促进突触小泡蛋白、突触后密度蛋白等突触相关蛋白的表达,调节突触可塑性,对维持突触结构和功能的完整性具有重要意义^[58]。

3.2 结论

本研究针对不同哺乳方式下的 210 日龄猪肝脏进行 miRNA-mRNA 联合测序,结果显示哺乳方式对猪肝脏脂质代谢、氧化应激、免疫功能和神经调节等方面具有显著影响。与 BF 猪相比,FF 猪的肝脏脂质沉积、氧化应激与免疫反应能力存在不足,进而可能导致肝脏代谢异常和炎症损伤,但在神经系统发育方面具有一定的优势。此外,miRNA-mRNA 网络分析揭示 miR-218 与基因 *EPHA* 家族之间的信号通路可能是哺乳方式引起肝脏代谢差异的关键分子机制。综合来看,本研究为初步理解母乳与配方奶对猪肝脏不同的影响提供了潜在的分子机制解释。

参考文献:

- [1] Picáns-Leis R, Vázquez-Mosquera M E, Pereira-Hernández M, et al. Characterization of the functional component in human milk and identification of the molecular mechanisms undergoing prematurity [J]. Clinical Nutrition, 2025, 44: 178-192.
- [2] Li Xing, Zhang Xiaomei, Zhang Minghui, et al. Human milk whey proteins: constituents, influencing factors, detection methods, and comparative analysis with other sources [J]. Food Chemistry: X, 2025, 25: 102082.

- [3] Martin C, Ling P R, Blackburn G. Review of infant feeding: key features of breast milk and infant formula [J]. *Nutrients*, 2016, 8(5): 279.
- [4] Wang Lina, Zhu Chenglin. Evidence from neonatal piglets shows how infant formula and other mammalian milk shape lipid metabolism [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(6): 1831-1841.
- [5] Sun Jing, Li Yanqi, Nguyen D N, et al. Nutrient fortification of human donor milk affects intestinal function and protein metabolism in preterm pigs [J]. *The Journal of Nutrition*, 2018, 148(3): 336-347.
- [6] Stevens E E, Patrick T E, Pickler R. A history of infant feeding [J]. *Journal of Perinatal Education*, 2009, 18(2): 32-39.
- [7] NIELSEN S S, ALVAREZ J, BICOUT D J, et al. Welfare of pigs on farm [J]. *EFSA journal. European Food Safety Authority*, 2022, 20(8): e07421.
- [8] Faccin J E G, Laskoski F, Hernig L F, et al. Impact of increasing weaning age on pig performance and belly nosing prevalence in a commercial multisite production system [J]. *Journal of Animal Science*, 2020, 98(4): skaa031.
- [9] 李直. 母乳和配方乳饲喂对 SPF 仔猪生长性能、血液指标和肠道健康的影响 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2023: 23.
- [10] Allameh A, Niayesh-Mehr R, Aliarab A, et al. Oxidative stress in liver pathophysiology and disease [J]. *Antioxidants*, 2023, 12(9): 1653.
- [11] Yu Chengbing, Luo Yuxiao, Shen Cheng, et al. Effects of microbe-derived antioxidants on growth performance, hepatic oxidative stress, mitochondrial function and cell apoptosis in weaning piglets [J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2024, 15(1): 128.
- [12] 李常营, 徐兰梦, 黄榆智, 等. 哺乳方式对猪生长、血清生化、肠道微生物及代谢物的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 2024, 55(11): 5147-5158.
- [13] Rao Lin, Cai Liping, Huang Lusheng. Single-cell dynamics of liver development in postnatal pigs [J]. *Science Bulletin*, 2023, 68(21): 2583-2597.
- [14] 袁岩聪. 母乳与代乳粉对 210 日龄荣昌猪肠道微生物及代谢组的影响 [D]. 重庆: 西南大学, 2023: 19-21.
- [15] Zhang Jie, Long Xi, Liao Qinfeng, et al. Distinct gut microbiome induced by different feeding regimes in weaned piglets [J]. *Genes*, 2023, 14(1): 49.
- [16] Benić A, Mikašinović S, Wensveen F M, et al. Activation of granulocytes in response to a high protein diet leads to the formation of necrotic lesions in the liver [J]. *Metabolites*, 2023, 13(2): 153.
- [17] Carvalho E, Adams S H, Børshiem E, et al. Neonatal diet impacts liver mitochondrial bioenergetics in piglets fed formula or human milk [J]. *BMC Nutrition*, 2020, 6(1): 13.
- [18] Trinchese G, Cavaliere G, De Filippo C, et al. Human milk and donkey milk, compared to cow milk, reduce inflammatory mediators and modulate glucose and lipid metabolism, acting on mitochondrial function and oleylethanolamide levels in rat skeletal muscle [J]. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 32.
- [19] 李楠. 母乳增加肠道 miR-375-3p 的表达并靶向 YWHAB 减轻新生儿坏死性小肠结肠炎的肠道炎症坏死 [D]. 广州: 南方医科大学, 2024: 43.
- [20] Liu Wei, Cao Hongchao, Ye Cheng, et al. Hepatic miR-378 targets p110 α and controls glucose and lipid homeostasis by modulating hepatic insulin signalling [J]. *Nature Communications*, 2014, 5: 5684.
- [21] Colaianni F, Zelli V, Compagnoni C, et al. Role of circulating microRNAs in liver disease and HCC: focus on miR-122 [J]. *Genes*, 2024, 15(10): 1313.
- [22] Baier S R, Nguyen C, Xie Fang, et al. microRNAs are absorbed in biologically meaningful amounts from nutritionally relevant doses of cow milk and affect gene expression in peripheral blood mononuclear cells, HEK-293 kidney cell cultures, and mouse livers [J]. *The Journal of Nutrition*, 2014, 144(10): 1495-1500.
- [23] Wu Guanlin, Zhang Yan, Liang Bo, et al. miR-218-5p promotes hepatic lipogenesis through targeting Elovl5 in non-alco-

- holic fatty liver disease [J]. *Biochemical Pharmacology*, 2024, 226: 116411.
- [24] Wang Sihao, Chen Yan, Lei Guanglin, et al. Serum exosome-derived microRNA-193a-5p and miR-381-3p regulate adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase/transforming growth factor beta/Smad2/3 signaling pathway and promote fibrogenesis [J]. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 2024, 15(2): e00662.
- [25] 卢帅军, 汪芳, 张步荣, 等. 沉默 miR-216a 对四氯化碳诱导的肝纤维化模型大鼠的保护作用及机制研究 [J]. *国际消化病杂志*, 2021, 41(2): 124-128.
- [26] Narayanasamy R, Rajasekharan R, Usharani D. Molecular insights on PS-PLA1 lipase activity of human ABHD16B [J]. *Biophysical Chemistry*, 2023, 296: 106976.
- [27] Murzinski E S, Saha I, Ding Hui, et al. In search of small molecules that selectively inhibit MBOAT4 [J]. *Molecules*, 2021, 26(24): 7599.
- [28] Zieger K, Weiner J, Kunath A, et al. Ablation of kallikrein 7 (KLK7) in adipose tissue ameliorates metabolic consequences of highfat diet-induced obesity by counteracting adipose tissue inflammation in vivo [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2018, 75(4): 727-742.
- [29] Zhang Ruizhong, Su Liang, Fu Ming, et al. CD177⁺ cells produce neutrophil extracellular traps that promote biliary atresia [J]. *Journal of Hepatology*, 2022, 77(5): 1299-1310.
- [30] Zhang Wancong, Xie Xuqi, Huang Zijian, et al. The integration of single-cell sequencing, TCGA, and GEO data analysis revealed that PRRT3-AS1 is a biomarker and therapeutic target of SKCM [J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 919145.
- [31] Leung D W, Chris T, Jim B, et al. Phospholipase C delta-4 overexpression upregulates ErbB1/2 expression, Erk signaling pathway, and proliferation in MCF-7 cells [J]. *Molecular Cancer*, 3(1): 15.
- [32] Yin Lin, Xu Yalan, Mu Jie, et al. CNKSR2 interactome analysis indicates its association with the centrosome/microtubule system [J]. *Neural Regeneration Research*, 2025, 20(8): 2420-2432.
- [33] Chen Qiyan, Xie Chao, Tang Kaiyue, et al. The E3 ligase Trim63 promotes podocyte injury and proteinuria by targeting PPAR α to inhibit fatty acid oxidation [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2023, 209: 40-54.
- [34] Fan Shicheng, Gao Yue, Qu Aijuan, et al. YAP-TEAD mediates peroxisome proliferator-activated receptor α -induced hepatomegaly and liver regeneration in mice [J]. *The FASEB Journal*, 2021, 35(S1): fasebj. 2021. 35. S1. 01859.
- [35] An J, Kim D, Oh B, et al. Comprehensive characterization of viral integrations and genomic aberrations in HBV-infected intrahepatic cholangiocarcinomas [J]. *Hepatology*, 2022, 75(4): 997-1011.
- [36] Ding Haoran, Wang Jinglin, Ren Haozhen, et al. Lipometabolism and glycometabolism in liver diseases [J]. *BioMed Research International*, 2018, 2018: 1287127.
- [37] Hossam Abdelmonem B, Abdelaal N M, Anwer E K E, et al. Decoding the role of CYP450 enzymes in metabolism and disease: a comprehensive review [J]. *Biomedicines*, 2024, 12(7): 1467.
- [38] 乔雪, 朱莉, 郭艳, 等. Wnt 信号通路与线粒体功能调节及相关疾病的研究进展 [J]. *医学综述*, 2018, 24(14): 2744-2748, 2753.
- [39] Trusiano B, Tupik J D, Allen I C. Cold sensor, hot topic: TRPM8 plays a role in monocyte function and differentiation [J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2022, 112(3): 361-363.
- [40] Foster V S, Rash L D, King G F, et al. Acid-sensing ion channels: expression and function in resident and infiltrating immune cells in the central nervous system [J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2021, 15: 738043.
- [41] Grasselli E, Voci A, Demori I, et al. Triglyceride mobilization from lipid droplets sustains the anti-steatotic action of iodothyronines in cultured rat hepatocytes [J]. *Frontiers in Physiology*, 2016, 6: 418.
- [42] Simó R, Hernández C, Sáez-López C, et al. Thyroid hormone upregulates zinc- α 2-glycoprotein production in the liver but not in adipose tissue [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e85753.

- [43] Clifford M A, Athar W, Leonard C E, et al. EphA7 signaling guides cortical dendritic development and spine maturation [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(13): 4994-4999.
- [44] Rasool D, Jahani-Asl A. Master regulators of neurogenesis: the dynamic roles of Ephrin receptors across diverse cellular niches [J]. *Translational Psychiatry*, 2024, 14: 462.
- [45] Zhang Meng, Li Cuicui, Li Fang, et al. Estrogen promotes hepatic synthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids by regulating ELOVL5 at post-transcriptional level in laying hens [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(7): 1405.
- [46] Oda S, Hirabuki Y, Takeuchi T, et al. Plasma miR-218a-5p as a biomarker for acute cholestatic liver injury in rats and investigation of its pathophysiological roles [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2021, 41(10): 1537-1552.
- [47] 蒋子剑. miR-218/Slit-Robo 信号轴对肝血窦内皮细胞生物学行为及表型影响的研究 [D]. 西安: 空军军医大学, 2018: 76-78.
- [48] Yang L, Xu Q, Xie H, et al. Expression of serum miR-218 in hepatocellular carcinoma and its prognostic significance [J]. *Clinical and Translational Oncology*, 2016, 18(8): 841-847.
- [49] Sui Chengjun, Xu Feng, Shen Weifeng, et al. Overexpression of miR-218 inhibits hepatocellular carcinoma cell growth through RET [J]. *Tumor Biology*, 2015, 36(3): 1511-1518.
- [50] XIAO Z D, JIAO C Y, HUANG H T, et al. miR-218 modulate hepatocellular carcinoma cell proliferation through PTEN/AKT/PI3K Pathway and Ho_xA10 [J]. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2014, 7(7): 4039-4044.
- [51] Sethasine S, Phaloprakarn C. Relationship between breastfeeding and hepatic steatosis in women with previous gestational diabetes mellitus [J]. *International Breastfeeding Journal*, 2024, 19(1): 75.
- [52] Zhang Pengzi, Ge Zhijuan, Wang Hongdong, et al. Prolactin improves hepatic steatosis via CD36 pathway [J]. *Journal of Hepatology*, 2018, 68(6): 1247-1255.
- [53] Korchazhkina O. Effects of exclusive formula or breast milk feeding on oxidative stress in healthy preterm infants [J]. *Archives of Disease in Childhood*, 2006, 91(4): 327-329.
- [54] Xavier A M, Rai K, Hegde A M. Total antioxidant concentrations of breastmilk - an eye-opener to the negligent [J]. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 2012, 29(6): 605-611.
- [55] Hassiotou F, Geddes D T. Immune cell-mediated protection of the mammary gland and the infant during breastfeeding [J]. *Advances in Nutrition*, 2015, 6(3): 267-275.
- [56] 江晨瑜. 基于超高效超临界流体色谱-质谱的母乳极性脂检测技术及应用 [D]. 无锡: 江南大学, 2022: 61-62.
- [57] Innis S M. Human milk: maternal dietary lipids and infant development [J]. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2007, 66(3): 397-404.
- [58] Dyall S C. Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA [J]. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2015, 7: 52.

责任编辑 张枸

柳剑