·科研论著·

早产儿和足月儿母乳外泌体 miRNA 差异表达的研究

王银妃[1,2]，殷勤[1]，曾思洁[1]，孙蕾[1]，严琴慧[1]，盛晓静[1]

1. 南京医科大学第二附属医院儿童保健科，江苏 南京　210009；2. 浙江省绍兴市人民医院小儿内科，浙江 绍兴　312000

摘　要：目的　初步评估母乳外泌体 miRNA 在早产儿和足月儿母乳中的差异表达，利用生物信息学分析调控途径，为早产儿生长发育和相关疾病防治提供指导和科学依据。**方法**　2020 年 8 月—2021 年 6 月在南京医科大学第二附属医院儿童保健科收集 13 例早产母乳喂养儿（早产组）和 9 例足月母乳喂养儿（足月组）的母乳样本，提取母乳中的外泌体，对外泌体 miRNA 进行高通量测序，分析两组母乳外泌体 miRNA 表达谱；筛选早产组和足月组母乳差异表达的外泌体 miRNA；用生物学功能软件进行 GO 及 KEGG 分析。**结果**　母乳外泌体 miRNA 表达丰富，hsa-let-7b-5p、hsa-let-7g-5p、hsa-miR-148a-3p、hsa-miR-22-3p、hsa-miR-99a-5p、hsa-miR-200、hsa-miR-146b-5p、hsa-miR-26a-5p 等 miRNA 在早产组和足月组母乳中均相对高表达。与足月组母乳相比，早产组母乳有 7 个上调（差异倍数对数值分别是 2.803、2.714、1.632、2.360、1.350、3.387、2.137），5 个下调（差异倍数对数值分别是－2.553、－2.197、－2.771、－1.395、－1.136，$P<0.05$），其中差异表达的 miRNA 中早产儿母乳组下调的 miR-29b（$P=0.001$）、上调的 miR-133a-3p（$P=0.004$）与炎症相关，上调的 miR-126-5p（$P=0.021$）、miR-126-3p（$P=0.041$）与脂质代谢相关。KEGG 通路分析显示脂肪酸生物合成通路显著富集，miR-7-5p、miR-29b-3p 和 miR-100-5p 在脂肪酸合成通路发挥作用。**结论**　早产儿与足月儿母亲的母乳外泌体 miRNA 含量丰富且存在显著差异，早产儿母亲母乳中差异表达的 miRNA 可能与炎症相关，并通过脂肪酸生物合成通路促进早产儿的生长和发育。

关键词：　母乳；微小核糖核酸；早产儿；外泌体

中图分类号：R722.6　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1008-6579(2024)04-0377-07　　doi:10.11852/zgetbjzz2023-0390

Differences in exosome miRNAs in human breast milk between preterm and full-term infants

WANG Yinfei[1,2], YIN Qin[1], ZENG Sijie[1], SUN Lei[1], YAN Qinhui[1], SHENG Xiaojing[1]

1. Department of Child Health Care, The Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210009, China; 2. Department of Pediatric Medicine, Shaoxing People's Hospital, Shaoxing, Zhejiang 312000, China

Corresponding author: SHENG Xiaojing, E-mail: xjsheng2009@163.com

Abstract: Objective　To evaluate the differential miRNA expression of breast milk exosome in premature and full-term groups, and to analyze the regulatory pathways by bioinformatics, so as to provide guidance and scientific basis for the growth and development of premature infants and the prevention and treatment of related diseases. **Methods**　From August 2020 to June 2021, breast milk samples from 13 premature (premate group) and 9 full-term infants (full-term group) in the Department of Child Health Care of the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University were collected to extract exosomes. The miRNAs of two groups of breast milk exosomes were sequenced by high-throughput sequencing. According to the sequencing results, miRNA expression profiles of milk exosome were analyzed. Biological function software was used to carry out GO and KEGG pathway analysis of differential miRNA. **Results**　The expression of miRNA in human milk exosomes was rich, especially hsa-miR-148a-3p, hsa-let-7b-5p, hsa-let-7g-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-200, hsa-miR-146b-5p and hsa-miR-26a-5p were relatively high expressed in preterm group and full-term group. Differential expression analysis showed that compared with full-term infant breast milk, 7 miRNAs were up-regulated ($\log_2|\text{fold change}|=2.803$, 2.714, 1.632, 2.360, 1.350, 3.387, 2.137, respectively), and 5 miRNAs were down-regulated ($\log_2|\text{fold change}|=-2.553$, -2.197, -2.771, -1.395, -1.136, respectively) ($|\text{fold change}|>2$, $P<0.05$) in breast milk for preterm infants. In these differential expressed miRNAs, down-regulated miR-29b ($P=0.001$) and up-regulated miR-133a-3p ($P=0.004$) were associated with inflammation, and up-regulated miR-126-5p ($P=0.021$) and

基金项目：南京医科大学科技发展基金（NMUB20210032）

作者简介：王银妃（1995-），女，住院医师，硕士学位，主要研究方向为儿童营养与生长发育。

通信作者：盛晓静，E-mail：xjsheng2009@163.com

miR-126-3p($P=0.041$) were associated with lipid metabolism. The fatty acid biosynthesis pathway was obviously enriched in preterm group. MiR-7-5p, miR-29b-3p and miR-100-5p played a role in the fatty acid synthesis pathway. **Conclusions** Exosomal miRNAs are rich in breast milk, and have significant differences between preterm and full-term infants' mothers. The differentially expressed miRNA in preterm infants treast milk may be related to inflammation and promote the growth and development of preterm infants through the fatty acid biosynthesis pathway.

Keywords: breast milk; miRNA; preterm infants; exosome

母乳(human breast milk)是婴儿出生后最佳的营养选择。母乳不仅给婴儿提供充足的营养,还给婴儿带来很多活性因子,在婴儿的生长发育和代谢的程序化方面起重要作用,影响婴幼儿生命早期和远期的健康[1]。这些生物活性因子包括能量平衡的调节、免疫调节等方面,如瘦素、脂联素、多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFAs)、母乳低聚糖(human milk oligosaccharides, HMOs)、益生菌等。然而,母乳中许多新的活性成分还有待于进一步研究,近年来母乳外泌体的研究备受关注。

外泌体是大约 30～100nm 的小胞外囊泡,由多种细胞产生,能够通过其内容物将信息传递给受体细胞[2]。人母乳中含有丰富的外泌体,其包含 mRNAs、microRNAs(miRNAs)、参与细胞信号传导的膜和胞质蛋白质[3],miRNAs 在 mRNA 转录后发挥重要的调控作用,参与细胞和组织的分化、增殖和凋亡,在婴儿的免疫和代谢方面起到重要作用[4-6]。虽然外泌体 miRNAs 的表达谱研究较多,但是关于足月儿和早产儿母乳外泌体 miRNA 含量的研究仍较少。对于早产儿和足月儿母乳外泌体的探究有可能为母乳在早产儿生长发育和相关疾病防治方面提供新思路。本研究将比较早产儿和足月儿母亲母乳外泌体的含量及 miRNA 表达,通过通路分析,揭示早产儿和足月儿母乳外泌体中 miRNA 的差异表达对婴儿基因表达谱的影响。

1 对象和方法

1.1 研究对象 选取 2020 年 8 月—2021 年 6 月于南京医科大学第二附属医院儿童保健科就诊的 3～6 月龄母乳喂养婴儿 22 例,其中早产儿(早产组,孕周为 28～36 周)13 例(男童 7 例,女童 6 例),足月儿(足月组,孕周≥37)9 例(男童 6 例,女童 3 例),两组间性别差异无统计学意义($P=0.283$)。本研究经南京医科大学第二附属医院伦理委员批准(【2020】KY 第 090 号),研究对象监护人均知情同意。提取母乳中的外泌体,用透射电镜和粒径分析法鉴定其存在。

1.2 实验方法

1.2.1 母乳样本采集 收集前乳母情绪良好,状态安静,采集乳汁前保证足够食物摄入。母亲在挤奶前洗净双手,煮沸消毒容器,清洁乳头和周围皮肤,取乳汁 20～30mL,－4℃冰箱保存,然后 12h 内送至实验室。取 5mL 母乳离心 10min,离心半径 15cm,4℃,2 000×g,吸去脂肪层,留中间乳清,倒掉沉淀;留取的乳清离心 30min,离心半径 15cm,4℃,12 000×g,留中间乳清,再次倒掉沉淀,过滤器过滤乳清,得到清亮乳清放置于－80℃冰箱,待提取外泌体。

1.2.2 外泌体和 RNA 提取 采用外泌体提取试剂盒(德国 Qiagen 公司)提取外泌体。具体步骤:取 2mL 乳清,加等量 XBP,多次混匀,500×g,离心半径 10cm,离心 1min,柱子置于干净管子;然后加入 10mL XWP,常温,3 000×g,离心半径 10cm,离心 5min,柱子放回干净管子;140μL XE,孵育 5min,常温 500 × g,离心半径 10cm,离心 5min,收集外泌体。使用 TRIzol 试剂(Invitrogen, Carlsbad CA, USA)从分离的外泌体中提取总 RNA,并保存于－80℃。RNA 量使用 Nanodrop 分光光度计计量,RNA 质量使用 Agilent Bionanlyser 评估。

1.2.3 RNA 测序 RNA 样品采用 Illumina HiSeq 深度测序仪(Illumina HiSeq 2500, Illumina)进行分析。使用 FASTX-Toolkit 对原始数据读取分析。每个样本中的总 miRNA 计数采用 miRBase mature microRNAs v21 作为标准量化参照。

1.2.4 早产儿和足月儿母乳外泌体组间差异表达的 miRNA 分析 将各样本的 small RNA 序列与 miRNA 数据库(miRBase)比对,以 CPM(counts per milion)为单位得到 miRNA 表达量,统计表达情况,采用 Deseq2 软件分析两组表达差异,得到 P 值;Fold Change 为组间差异倍数,筛选标准为:以 $|\log_2$(倍数差异)$|>1$ 并且 $P<0.05$,对数值>1 为上调表达;而<－1 为下调,不满足前面条件的则为无显著性。

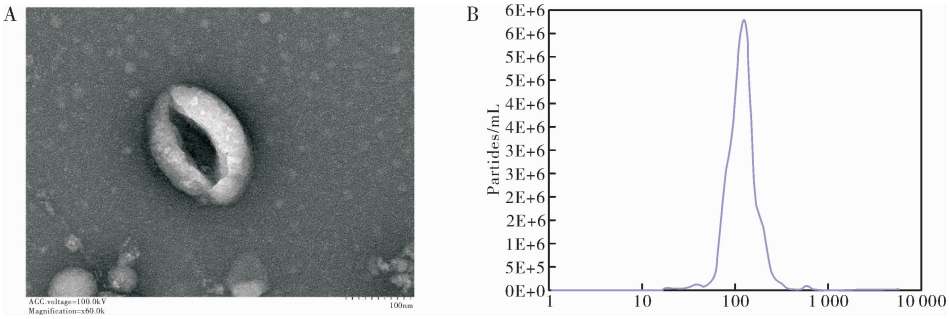
采用软件 miRanda 和 RNAhybrid,预测鉴定得到的 miRNA 靶基因。再向 Gene Ontology(GO)数据库查找靶基因功能注释,使用统计学分析,得到功能注释结果,GO 涵盖了基因的生物过程、细胞成分和分子功能。通过 DIANA 数据库,进行 KEGG 通路富集分析(Kyoto Encyclopedia of Genes and

Genomes Pathway-based Enrichment Analysis)，找到生物学途径与信号通路，从而为阐明早产儿和足月儿母亲母乳外泌体中差异表达 miRNA 的功能提供依据。

1.3　统计学方法　采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间比较采用 t 检验或方差分析。采用 R 包 DESeq2 软件 v1.10.1 版本基于表达定量结果，计算差异表达；采用 R 包 clusterProfiler 软件 2.4.2 版本使用 Fisher 精确检验进行 GO 和 KEGG 通路富集分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　母乳外泌体鉴定　母乳样本外泌体提取后使用透射电镜(Hitachi，HT-7700)进行鉴定，可见双层囊泡结构，直径范围 30～150nm。见图 1A。同时采用纳米粒径分析进行鉴定(纳米颗粒跟踪分析仪，Particle Metrix，ZetaView)，样本粒径和浓度检测结果显示平均粒径 126.8nm，颗粒浓度 1.8×10^{10} particles/mL。见图 1B。



注：A 为透射电镜观察到的母乳外泌体双层囊泡结构，B 为母乳外泌体粒径分布图。

图 1　母乳外泌体形态结构(透射电镜)和粒径分布(粒径检测)

Fig. 1　Morphological structure(transmission electron microscopy) and particle size distribution(particle size detection) of breast milk exosomes

2.2　母乳外泌体 miRNA 表达谱　用 miRDeep2 获得母乳样本中 miRNA 表达情况。足月儿和早产儿母亲母乳外泌体 miRNA 的表达情况因个体而存在差异。其中，hsa-let-7b-5p、hsa-let-7g-5p、hsa-miR-148a-3p、hsa-miR-22-3p、hsa-miR-99a-5p、hsa-miR-200、hsa-miR-146b-5p、hsa-miR-26a-5p 等 miRNA 在早产组和足月组均表现为相对高表达。

与足月组相比，早产组上调表达 miRNA 1 365 个，现已知的 miRNA 749 个；早产组下调表达 miRNA 966 个，现明确的 miRNA 195 个。根据 $|\log_2$(差异倍数)$|>1$ 且 $P<0.05$ 的条件，共筛选出 100 个有表达差异的 miRNA，其中表达上调有 47 条，表达下调 53 条。目前未知 miRNA 有 88 条；已知的有 12 条，5 条表达下调，7 条表达上调。见表 1，图 2～3。其中早产组下调的 miR-29b($P=0.001$)、上调的 miR-133a-3p($P=0.004$)与炎症相关，上调的 miR-126-5p($P=0.021$)、miR-126-3p($P=0.041$)与脂质代谢相关。

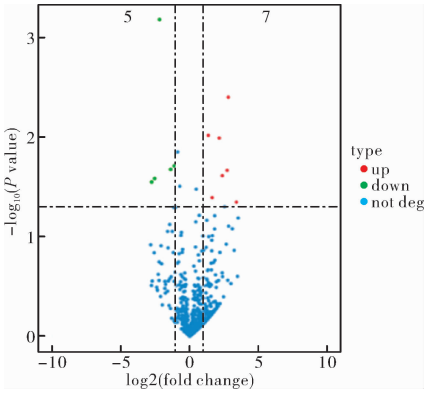
对母乳外泌体筛选的 miRNA 差异表达的基因进行初步聚类分析。见图 3。以分析相同或者相近的 miRNA 的生物学功能。共预测到差异表达 miRNA 作用的靶基因 6 638 条，其中部分基因受超过两个以上 miRNA 调控，剔除重复，共预测得到不重复靶基因 2 605 条。

表 1　早产组与足月组表达差异明显的已知 miRNA

Tab. 1　Differentially expressed miRNAs in milk exosomes

早产组中表达方向	miRNA	差异倍数对数值	P 值
下调	hsa-miR-381-3p	−2.553	0.026
下调	hsa-miR-29b-3p	−2.197	0.001
下调	hsa-miR-199a-5p	−2.771	0.028
下调	hsa-miR-100-5p	−1.395	0.021
下调	hsa-miR-196a-5p	−1.136	0.019
上调	hsa-miR-133a-3p	2.803	0.004
上调	hsa-miR-126-5p	2.714	0.021
上调	hsa-miR-126-3p	1.632	0.041
上调	hsa-miR-7156-5p	2.360	0.024
上调	hsa-miR-7-5p	1.350	0.010
上调	hsa-miR-132-3p	3.387	0.045
上调	hsa-miR-619-5p	2.137	0.010

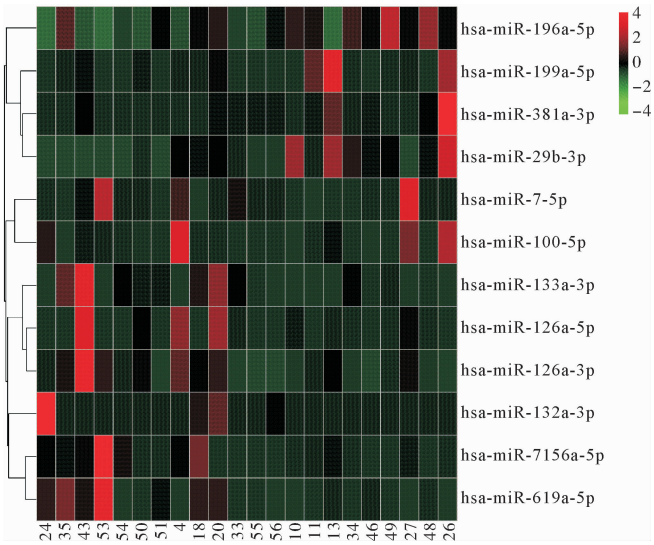
2.3　靶基因的 GO 和 KEGG 通路富集分析　GO 分析共有 693 条功能富集的数据，其中 561 条聚集在生物过程，65 条集中在分子功能，67 条集中在细胞组分。早产组与足月组差异表达的 miRNA，在分子功能方面主要富集于对 RNA 催化活性、甲基转移酶活性、核酸酶活性、tRNA 结合、核酸内切酶活



注：红色点表示早产组相对于足月组表达量上调的基因[$\log_2$(差异倍数)>1 且 $P<0.05$，绿色点表示下调基因[$\log_2$(差异倍数)<−1 且 $P<0.05$]，蓝色点表示无显著差异的基因($P>0.05$)。纵坐标表示 P 值，该值越小表示差异越显著，对应的-$\log_{10}$(P 值) 数值越大。因此，左上角和右上角的点分别表示表达水平差异非常显著的下调基因和上调基因。

图 2　早产组与足月组外泌体差异 miRNA 火山图

Fig. 2　MiRNA volcano maps of exosomal differences between preterm and full-term groups



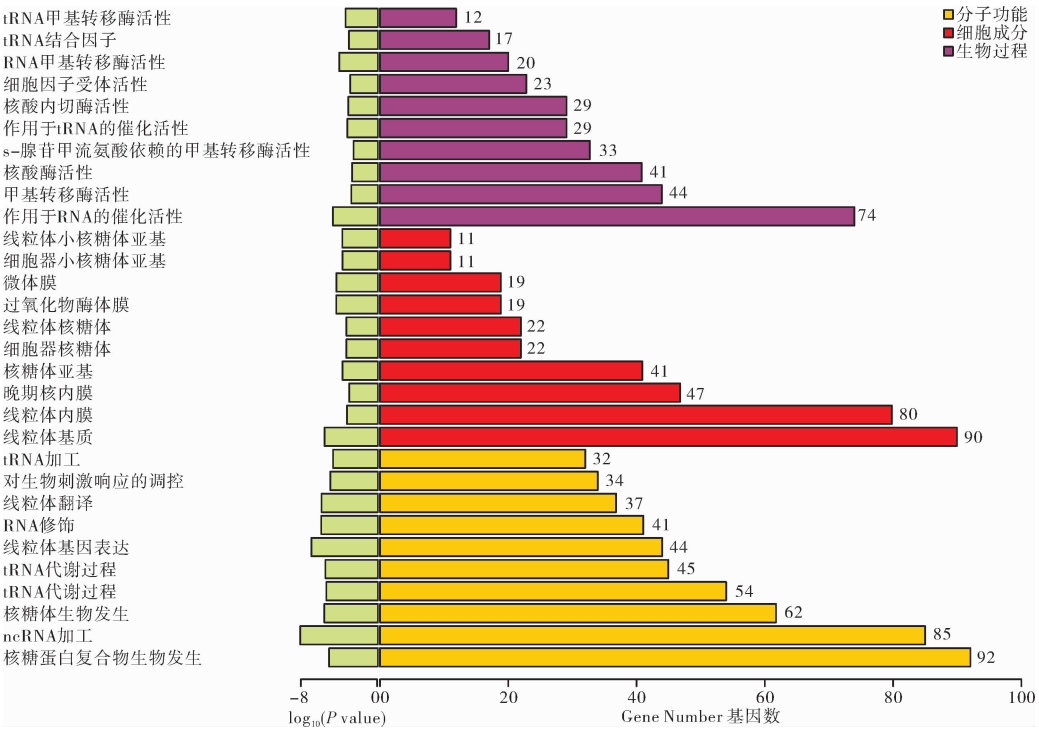
注：列表示足月组和早产组母乳样品；行表示 miRNA；颜色表示母乳中 miRNA 表达量高低。红色表示 miRNA 高表达，绿色则为低表达。

图 3　母乳外泌体差异 miRNA 聚类分析图

Fig. 3　Hierarchical clustering(HC) analysis of miRNA in breast milk exosomes

性。在生物过程方面，主要参与核糖核蛋白复合物生物起源、RNA 代谢、线粒体基因表达、线粒体的翻译等过程，在细胞组分方面主要富集于线粒体基质、线粒体内膜、核糖体亚基等。见图 4。

信号通路分析显示，KEGG 主要富集的通路有：脂肪酸生物合成通路、HIPPO 信号通路、脂肪酸代谢通路、P53 信号通路、P13K-Akt 信号通路等。最重要的途径是脂肪酸生物合成途径。见图 5。



注：绿色示 $\log_{10}$(P 值)；纵坐标为富集内容；横坐标为靶基因个数。

图 4　靶基因的 GO 分析

Fig. 4　GO terms with gene count and enrichment analysis for biological processes

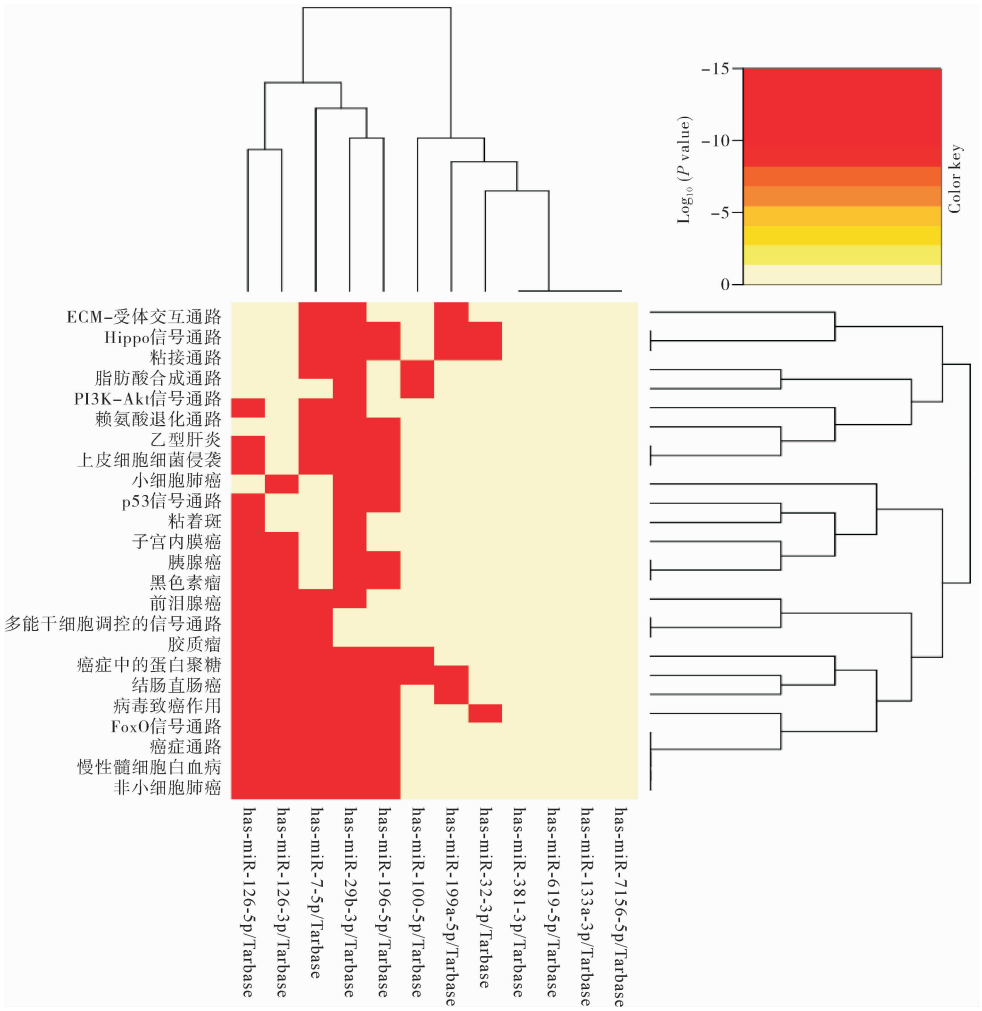


图 5　靶基因的 KEGG 通路分析

Fig. 5　KEGG pathways of the target genes of the differentially expressed miRNAs

3　讨　论

3.1　母乳外泌体中 miRNA 含量丰富　本研究对早产儿和足月儿母亲的母乳外泌体 miRNA 进行测序，验证了母乳中外泌体 miRNA 含量较高，特别是 hsa-miR-148a-3p、hsa-let-7g-5p、hsa-let-7b-5p、hsa-miR-22-3p、hsa-miR-99a-5p、hsa-miR-200、hsa-miR-146b-5p、hsa-miR-26a-5p 等。这些 miRNA 可能与新生儿生理功能发育相关，在新生儿相关疾病防治中有重要意义。miR-148a-3p、miR-146b-5p 和 miR-200 对新生儿免疫系统的发育发挥重要作用[7]。

基于最新的一项文献综述[8]，人类母乳中表达的最多的前 10 个 miRNA 或 miRNA 家族，包括 miR-148a-3p、miR-30a/d-5p、miR-22-3p、miR-146b-5p、miR-200b/c-3p 和 let-7 -5p 家族，与本研究结果一致。在包括人类在内的各种哺乳动物的乳汁中，前 10 个高表达的外泌体 miRNA 在进化上是保守的。其中，miR-148a 是外泌体中最丰富的，靶向 DNA 甲基转移酶 1（DNA methyltransferase 1，DNMT1）的 mRNA，在表观遗传调控中发挥关键作用[9-10]。miR-148a 通过 NF-κB 信号转导可能在调节免疫稳态和肠道炎症中起关键作用[11]，可降低母乳喂养儿患坏死性小肠结肠炎的风险。越来越多的研究表明，外泌体在产后母乳喂养期间，对婴儿肠道、免疫、代谢和大脑发育等至关重要[12]。

3.2　早产儿母乳外泌体中高表达的 miRNA 促进早产儿生长发育和成熟　早产儿面临着与足月出生婴儿不同的各种生理挑战。因此，对母乳的营养需求也不同。值得注意的是，有很多关于早产儿母乳和足月儿母乳之间常量营养素差异的研究，比如早产儿母乳比足月儿母乳含有更高浓度的碳水化合物、脂肪和能量，并且和胎龄有关，胎龄越小，浓度越高[13-14]。

本研究中，针对早产儿母亲母乳和足月儿母亲母乳外泌体 miRNA 进行差异表达研究，早产组显著差异表达 miRNA 共 12 条，其中 5 条下调，7 条表

达上调。早产儿母乳和足月儿母乳之间外泌体miRNA的差异可能源于乳腺上皮细胞核，或者可能由于适应环境变化改变，如突然早产。此外，早产可能会影响细胞核内miRNA的产生。产前和产后激素环境发生变化，母体激素的变化可能会影响miRNA的转录。

miR-126是一种血管生成性miRNA，主要在内皮细胞(endothelial cells, EC)中表达，对血管生成和血管组织完整性具有重要作用[15]。目前研究表明miR-126可能与乳腺中的脂质代谢有关[16]。乳腺是人体脂质的主要合成器官之一，脂类是乳汁的主要成分，为婴儿提供能量，对婴儿的生长发育很重要。提示早产儿母乳中差异表达上调的miR-126可能有助于其脂肪生成，对早产儿有功能性益处。早产儿母乳和其外泌体miRNA可能对早产儿的生长和发育成熟具有适应性功能。

3.3 *早产儿母乳外泌体中差异表达的miRNA与炎症相关* 炎症与早产和新生儿疾病的发生密切相关，炎症引起表观遗传变化，特别是抑制miR-29b的表达。有研究发现，暴露于羊膜内炎症的婴儿和自然早产婴儿中静脉血miR-29b水平降低，miR-29b可能是羊膜内炎症的一种生物标志物[17]。还有研究表明，miR-29b抑制与早产儿支气管肺发育不良有关[18]。甚至早产儿成年后血液中的miR-29b是下调的，可能与早产儿成年后的2型糖尿病和神经认知障碍相关[19]。本研究中母乳外泌体中miR-29b在早产组中下调，这可能与早产儿母亲体内炎症相关，也给临床提供新的思路，补充母乳源性的miR-29b对预防早产儿支气管肺发育不良的发生和早产儿成年后的疾病有积极意义。

早产儿面临病毒和细菌感染的风险亦增加。miR-133a-3p具有抗炎作用，本研究中，早产儿乳中miR-133a-3p表达显著上调，对母乳喂养儿有保护作用，降低其感染炎症的风险。

有研究表明部分miRNAs虽然在肠组织中表达不足，但是在母乳外泌体中高表达，例如外泌体中的miR-22-3p可显著抑制早产儿坏死性小肠结肠炎的关键炎症信号分子NF-κB的活性，提示母乳外泌体可能对早产儿坏死性小肠结肠炎有预防作用[20]。此外，miRNA-22通过靶向半胱氨酸蛋白61mRNA富集区发挥强大的抗炎活性[21]，也参与代谢和免疫功能的调节[22-23]，推测miRNA-22在早产儿母乳外泌体中高表达可以促进生长和减轻炎症反应。

3.4 *早产儿母乳外泌体中miRNA通过脂肪酸合成通路影响生长发育* KEGG通路富集分析显示脂肪酸生物合成信号通路、脂肪酸代谢通路、HIPPO信号通路等显著富集。进一步的研究显示miR-7-5P、miR-29b-3p和miR-100-5p在脂肪酸合成通路发挥作用。miR-29参与SCAP/SREBP1经典的负反馈弧，从而调节脂代谢[24]。miR-7-5p通过靶向内质网脂筏相关蛋白2(endoplasmic reticulum lipid raft associated 2, ERLIN2)促进肝细胞脂质积累[25]。miR-100通过调节骨髓基质干细胞中的胰岛素样生长因子受体-1(insulin-like growth factor receptor-1, IGF1R)来调节脂质代谢[26]。

母乳是婴儿最重要的营养来源，特别对婴儿来说，是必需脂肪酸和长链多不饱和脂肪酸的良好来源，是预防糖脂代谢疾病的保护因素[27]。二十二碳六烯酸(DHA)在大脑和视网膜的灰质中含量很高，对早期视觉和认知发育有好处，还能改善心血管功能和大脑的血液供应[28]。亚油酸(LA)是母乳中的一种必需脂肪酸，可以预防过敏和感染，与婴儿视觉和认知发育密切相关[29]。研究显示母乳外泌体富含的miRNAs与脂代谢有关，而脂肪酸在生长发育过程中起重要作用，提示早产儿母乳外泌体中的miRNAs通过脂肪酸合成通路参与了生长发育的进程。

综上所述，母乳外泌体作为新型的信号交流载体，早产儿与足月儿母乳外泌体miRNA含量丰富，且存在差异表达miRNA，这些早产儿中差异表达的miRNAs可能与炎症相关，并通过脂肪酸合成通路参与了婴儿生长发育的进程，具体调控机制还需进一步研究。

参考文献

[1] Daniel O, Denis D. Perspective: The role of human breast-milk extracellular vesicles in child health and disease[J]. Adv Nutr, 2021, 12: 59-70.

[2] Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells[J]. Nat Cell Biol, 2007, 9(6): 654-659.

[3] Le Doare K, Holder B, Bassett A, et al. Mother's milk: A purposeful contribution to the development of the infant microbiota and immunity[J]. Front Immunol, 2018, 9: 361.

[4] Melnik BC, Schmitz G. MicroRNAs: Milk's epigenetic regulators[J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2017, 31(4): 427-442.

[5] Melnik BC, Schmitz G. MicroRNAs: Milk's epigenetic regulators[J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2017, 31(4): 427-442.

[6] Alsaweed M, Hepworth AR, Lefevre C, et al. Human milk microRNA and total RNA differ depending on milk fractionation[J]. J Cell Biochem, 2015, 116(10): 2397-2407.

[7] Zhou Q, Li M, Wang X, et al. Immune-related microRNAs are abundant in breast milk exosomes[J]. Int J Biol Sci, 2012, 8(1): 118-123.
[8] Emelie A, Ahmed A, Rebecka T, et al. Breast milk microRNAs: Potential players in oral tolerance development [J]. Frontiers in Immunology, 2023, 3(14):1154211.
[9] Pan W, Zhu S, Yuan M, et al. MicroRNA-21 and microRNA-148a contribute to DNA hypomethylation in lupus CD4 + T cells by directly and indirectly targeting DNA methyltransferase 1[J]. J Immunol, 2010, 184(12): 6773-6781.
[10] Reif S, Elbaum Shiff Y, Golan-Gerstl R. Milk-derived exosomes(MDEs) have a different biological effect on normal fetal colon epithelial cells compared to colon tumor cells in a miRNA-dependent manner[J]. J Transl Med, 2019, 17(1): 325.
[11] Melnik BC, Stremmel W, Weiskirchen R, et al. Exosome-derived microRNAs of human milk and their effects on infant health and development[J]. Biomolecules, 2021, 11(6):851.
[12] Chen Z, Xie Y, Luo J, et al. Milk exosome-derived miRNAs from water buffalo are implicated in immune response and metabolism process[J]. BMC Vet Res, 2020, 16(1): 123.
[13] Bauer J, Gerss J. Longitudinal analysis of macronutrients and minerals in human milk produced by mothers of preterm infants[J]. Clin Nutr, 2011, 30(2): 215-220.
[14] Lewallen LP. Breastfeeding is important for cognitive development in term and preterm infants[J]. Evid Based Nurs, 2012,15:85-86.
[15] Yu B, Jiang Y, Wang X, et al. An integrated hypothesis for miR-126 in vascular disease[J]. Med Res Arch, 2020, 8(5):2133.
[16] Chu M, Zhao Y, Feng Y, et al. MicroRNA-126 participates in lipid metabolism in mammary epithelial cells[J]. Mol Cell Endocrinol, 2017, 454: 77-86.
[17] Pavlek L, Vudatala S, Bartlet C, et al. MiR-29b is associated with perinatal inflammation in extremely preterm infants[J]. Pediatr Res,2021, 89(4):889-893.
[18] Sugar S, Heyob K, Cheng X, et al. Perinatal inflammation alters histone 3 and histone 4 methylation patterns:Effects of miR-29b supplementation [J]. Redox Biol, 2021, 38:101783.
[19] Marttila S, Rovio S, Mishra P, et al. Adulthood blood levels of hsa-miR-29b-3p associate with preterm birth and adult metabolic and cognitive health[J]. Sci Rep, 2011, 11:9203.
[20] Wang X, Yan X, Zhang L, et al. Identification and peptidomic profiling of exosomes in preterm human milk: Insights into necrotizing enterocolitis prevention[J]. Mol Nutr Food Res, 2019, 63(13): e1801247.
[21] Lin J, Huo R, Xiao L, et al. A novel p53/microRNA-22/Cyr61 axis in synovial cells regulates inflammation in rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheumatol, 2014, 66(1): 49-59.
[22] Yang Z, Qin W, Huo J, et al. MiR-22 modulates the expression of lipogenesis-related genes and promotes hepatic steatosis in vitro[J]. FEBS Open Bio, 2021, 11(1): 322-332.
[23] Thibonnier M, Esau C, Ghosh S, et al. Metabolic and energetic benefits of microRNA-22 inhibition[J]. BMJ Open Diabetes Res Care,2020,8(1): e001478.
[24] Chu M, Zhao Y, Feng Y, et al. MicroRNA-126 participates in lipid metabolism in mammary epithelial cells[J]. Mol Cell Endocrinol,2017,454:77-86.
[25] Ru P, Guo D. MicroRNA-29 mediates a novel negative feedback loop to regulate SCAP/SREBP-1 and lipid metabolism[J]. RNA Dis,2017,4(1):e1525.
[26] Mir BA, Albrecht E, Ali A, et al. MicroRNA-100 reduced fetal bovine muscle satellite cell myogenesis and augmented intramuscular lipid deposition by modulating IGF1R[J]. Cells,2022,11(3):451.
[27] Barreiro R, Regal P, Lopez-Racamonde O, et al. Comparison of the fatty acid profile of Spanish infant formulas and Galician women breast milk[J]. J Physiol Biochem, 2018, 74(1): 127-138.
[28] Robinson DT, Martin CR. Fatty acid requirements for the preterm infant[J]. Semin Fetal Neonatal Med, 2017, 22(1): 8-14.
[29] Ferraro L, Ravo M, Nassa G, et al. Effects of oestrogen on microRNA expression in hormone-responsive breast cancer cells[J]. Horm Cancer, 2012, 3(3): 65-78.

收稿日期:2023-04-19　**修回日期**:2023-11-01　**本文编辑**:李少闻