

论著·临床研究

高通量测序探究流产女性及未孕女性子宫内的菌群

韩 阳^{1,2}, 朱丽红³, 骆 菲⁴, 胡雯婧⁴, 秦金红², 江 滢¹

1. 贵州医科大学贵州省普通高校病原生物学特色重点实验室, 贵阳 550025; 2. 上海交通大学基础医学院免疫学与微生物学系, 上海 200025;
3. 复旦大学附属华东医院妇科, 上海 200040; 4. 上海交通大学医学院附属国际和平妇幼保健院检验科, 上海 200030

[摘要] **目的**·探究流产女性及未孕女性的子宫中是否存在微生物菌群。**方法**·选取复旦大学附属华东医院妇科通过负压吸引刮宫术获得的 56 例自然流产女性和 39 例人工流产女性的子宫蜕膜组织, 以及通过宫腔镜手术获得的 10 例未孕女性 (排除感染) 的子宫内膜组织。选取 16S 核糖体 RNA (rRNA) 基因高可变区 V4 对 3 组样本进行高通量测序, 分析各组样本的微生物组组成, 并比较各组间菌群多样性的差异。**结果**·在流产女性的蜕膜组织及未孕女性的子宫内膜组织中均检测到了低丰度的微生物组。3 组样本中, 均以变形菌门 (Proteobacteria) 为主要优势菌门, 大肠埃希菌/志贺菌属 (*Escherichia/Shigella*) 为主要优势菌属。自然流产女性蜕膜组织的菌群多样性高于人工流产女性。**结论**·子宫内存在以变形杆菌门 (Proteobacteria) 为优势菌的低丰度菌群。自然流产女性与人工流产女性子宫菌群中的优势菌在门、科、属水平上无显著差异, 但自然流产女性子宫菌群多样性高于人工流产女性。

[关键词] 子宫微生物组; 流产; 蜕膜; 高通量测序; 16S rRNA 基因

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2019.02.011 **[中图分类号]** R446.5 **[文献标志码]** A

Analysis of uterine microbiota in abortion and non-pregnant female based on high-throughput sequencing

HAN Yang^{1,2}, ZHU Li-hong³, LUO Fei⁴, HU Wen-jing⁴, QIN Jin-hong², JIANG Yan¹

1. Key Laboratory of Medical Microbiology and Parasitology, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. Department of Microbiology and Immunology, Shanghai Jiao Tong University College of Basic Medical Sciences, Shanghai 200025, China; 3. Department of Gynecology, Huadong Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China; 4. Department of Clinical Laboratory Medicine, International Peace Maternity & Child Health Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200030, China

[Abstract] **Objective**·To explore the uterine microbiota in women undergoing abortion and non-pregnant women. **Methods**·Fifty-six women who had experienced spontaneous abortion and 39 women who had experienced artificial abortion were selected to obtain the decidual tissues by curettage vacuum aspiration, and 10 non-pregnant women (without infection) were selected to obtain the endometrial tissues through gynecological surgery from Department of Gynecology in Huadong Hospital. Three groups of samples were subjected to high-throughput sequencing based on the V4 variable region of the 16S ribosomal RNA (rRNA) gene, and the bacterial composition of each group of samples was analyzed. The diversity of uterine microbiota was compared among three groups. **Results**·Low-abundance microbiomes were detected from the decidual tissues of abortion women and the endometrial tissues of non-pregnant women. Proteobacteria was the main phylum of the three groups, and *Escherichia/Shigella* was the main genus. The diversity of uterine microbiota in spontaneous abortion group was higher than that in artificial abortion group. **Conclusion**·There is a low-abundance uterine microbiota mainly composed of Proteobacteria. The dominant bacteria at the level of phylum, family and genus has no significant difference between the spontaneous abortion group and the artificial abortion group, but there is higher flora diversity in the spontaneous abortion group than in the artificial abortion group.

[Key words] uterine microbiota; abortion; decidua; high-throughput sequencing; 16S rRNA gene

多年来子宫一直被认为是无菌的^[1]。不良的生殖健康结果通常与子宫内细菌的定植相关, 包括早产、绒毛膜炎^[2]、盆腔炎和子宫内膜炎^[3-4]以及流产^[5]等。但自 20 世纪 80 年代中后期以来, 一些研究^[6-9]通过对子宫内膜样本进行细菌培养分析后发现子宫内有细菌, 从而对子宫无菌的说法提出了挑战。近年来, 通过不依赖于培养的高通量测序方法^[10]对子宫内膜样本进行研究分析, 亦表明子宫

内膜有细菌存在, 提示子宫内可能有细菌的定植。

本研究基于 16S 核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA) 基因高可变区 V4 的高通量测序对取自临床的自然流产、人工流产及未孕女性的子宫组织中可能的微生物组进行分析, 旨在研究子宫中是否有微生物组, 并比较自然流产和人工流产时子宫内微生物组的异同。

[基金项目] 上海市自然科学基金 (17ZR1415900) (Natural Science Foundation of Shanghai, 17ZR1415900)。

[作者简介] 韩 阳 (1991—), 女, 硕士生; 电子信箱: hanyangvi_see@126.com。

[通信作者] 江 滢, 电子信箱: 624057523@qq.com。



1 对象与方法

1.1 研究对象

选取在复旦大学附属华东医院妇科门诊就诊的 105 例女性作为研究对象。其中包括: 10 例育龄期末孕女性, 因子宫内膜息肉、子宫内膜增厚等需行宫腔镜检查者 (排除感染); 39 例孕周在 35 ~ 60 d 之间, 超声提示正常宫内妊娠并要求行人工流产的女性; 56 例孕周在 35 ~ 60 d 之间先兆流产或难免流产的女性。入选标准: ① 年龄 <45 岁, 女性。② 3 个月内无泌尿生殖道炎症或身体其他部位感染史。③ 1 个月内无全身及阴道局部应用抗生素史。④ 3 个月内无口服避孕药等性激素或糖皮质激素应用史。⑤ 3 d 内无性生活、阴道操作及冲洗史。⑥ 无糖尿病、自身免疫性疾病等系统性疾病。所有研究对象均签署了书面知情同意书。本研究已获得复旦大学附属华东医院医学伦理委员会的批准 (伦理审查号: 2017K055)。

1.2 样本采集

对流产女性通过负压吸引刮宫术获得蜕膜组织, 对未孕女性通过宫腔镜手术获得子宫内膜组织。在手术前对患者外阴进行充分消毒。手术时负压吸引管、刮匙及活检钳等避免接触阴道壁。将采集到的样本迅速放入无菌试管内, -80℃ 冰箱内保存, 用于提取基因组 DNA。

1.3 基因组 DNA 抽提及 16S rRNA 基因高可变区 V4 的高通量测序

使用 PowerSoil® DNA 分离试剂盒 (Mo Bio Laboratories, 美国) 提取蜕膜组织及子宫内膜组织 DNA。以样本总 DNA 为模板, 使用正向引物 520F (5'-AYTGGGYD-TAAAGNG-3') 和反向引物 802R (5'-TACNVGGGTAT-CTAATCC-3') 对细菌 16S rRNA 基因的高可变区 V4 进行 PCR 扩增, 并使用 Illumina MiSeq 平台进行测序。

使用 QIIME 软件处理测序数据。将如下低质量序列进行过滤, 即长度 <150 bp 的序列, Phred 平均评分 <20 的序列, 含有模糊碱基的序列, 以及含有 > 8 bp 的单核苷酸重复的序列。使用 UCLUST 序列对比工具, 对前述获得的序列按 97% 相似度进行操作分类单位 (operational taxonomic unit, OTU) 聚类划分, 并选取每个 OTU 中丰度最高的序列作为该 OTU 的代表序列。

1.4 生物信息学分析和统计学分析

使用 QIIME 和 R 包 (v.3.2.0) 进行生物信息学分析

和测序数据的统计学分析。根据 OTU 分类鉴定结果, 获得每个样本在界、门、纲、目、科、属、种水平的具体组成和丰度。采用 GrapPad Prism 5 软件分析并作图。 α -多样性分析选择 Ace 指数、Chao1 指数、Shannon 指数、Simpson 指数; 其中 Chao1 指数和 Ace 指数体现群落丰富度 (如 OTU 的数量), Shannon 指数和 Simpson 指数体现群落均匀度 (即各成员间的丰度差异大小)。 β -多样性分析使用未加权 UniFrac 距离来研究样本中微生物群落的结构变化, 并通过主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PcoA) 进行可视化。

2 结果

2.1 蜕膜组织和子宫内膜组织微生物组多样性分析

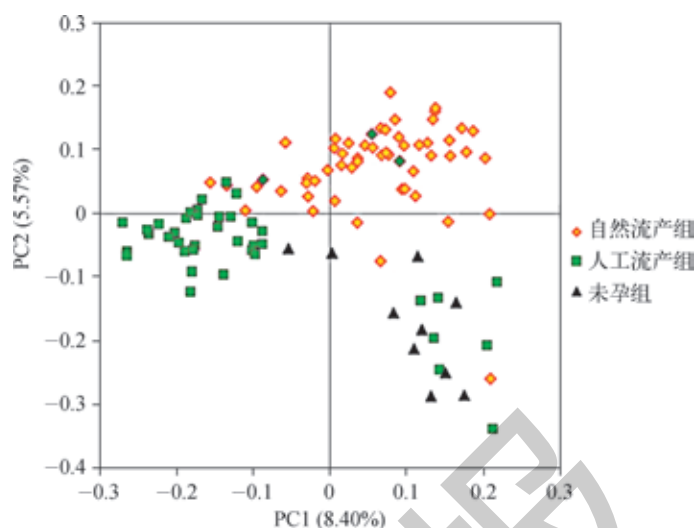
提取 56 例自然流产女性的胎膜组织、39 例人工流产女性的蜕膜组织和 10 例未孕女性的子宫内膜组织样本, 对 16S rRNA 基因高可变区 V4 进行高通量测序, 共得到 7 984 570 条序列, 每个样本的平均有效序列为 76 044 条。对有效序列进行聚类分析, 并对在 97% 相似度下的 OTUs 进行统计显示, 共得到 6 007 个 OTUs, 其中自然流产组得到 2 427 个 OTUs, 人工流产组得到 1 403 个 OTUs, 未孕组得到 2 177 个 OTUs。

对自然流产组、人工流产组和未孕组样本进行 α -多样性分析, 结果见表 1。其中 Shannon 指数的结果显示, 未孕女性子宫内膜组织中的菌群多样性较自然流产女性和人工流产女性蜕膜组织中的菌群多样性高 (未孕组 vs 自然流产组, $P=0.015\ 4$; 未孕组 vs 人工流产组, $P=0.000\ 3$)。而自然流产组的菌群多样性高于人工流产组 ($P=0.000\ 4$)。通过 PCoA 对样本间群落组成结构进行 β -多样性分析发现, 3 组样本之间 β -多样性存在一定的差异。自然流产组与人工流产组之间 β -多样性差异明显, 但未孕组因为样本数量较少且组内样本差异显著, 因此很难对其与其他 2 组进行区分 (图 1)。

表 1 自然流产组、人工流产组和未孕组的 α -多样性指数分析

Tab 1 α -diversity indexes of spontaneous abortion group, artificial abortion group and non-pregnant group

样本组	α -多样性指数			
	Ace 指数	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
自然流产组	6 778.877 3	4 821.436 0	0.842 012	0.727 440
人工流产组	6 671.208 8	4 575.003 3	0.579 494	0.830 939
未孕组	6 421.878 7	3 605.819 8	1.127 113	0.568 630



注: PC1 表示尽可能最大程度解释数据变化的 PcoA, PC2 为解释余下的变化度中占比例最大的 PcoA。括号中数字代表该主成分能够解释结果的百分比。

图 1 基于未加权 Unifrac 距离的 PCoA

Fig 1 PCoA based on unweighted Unifrac distance

2.2 蜕膜组织和子宫内膜组织微生物组结构分析及比较

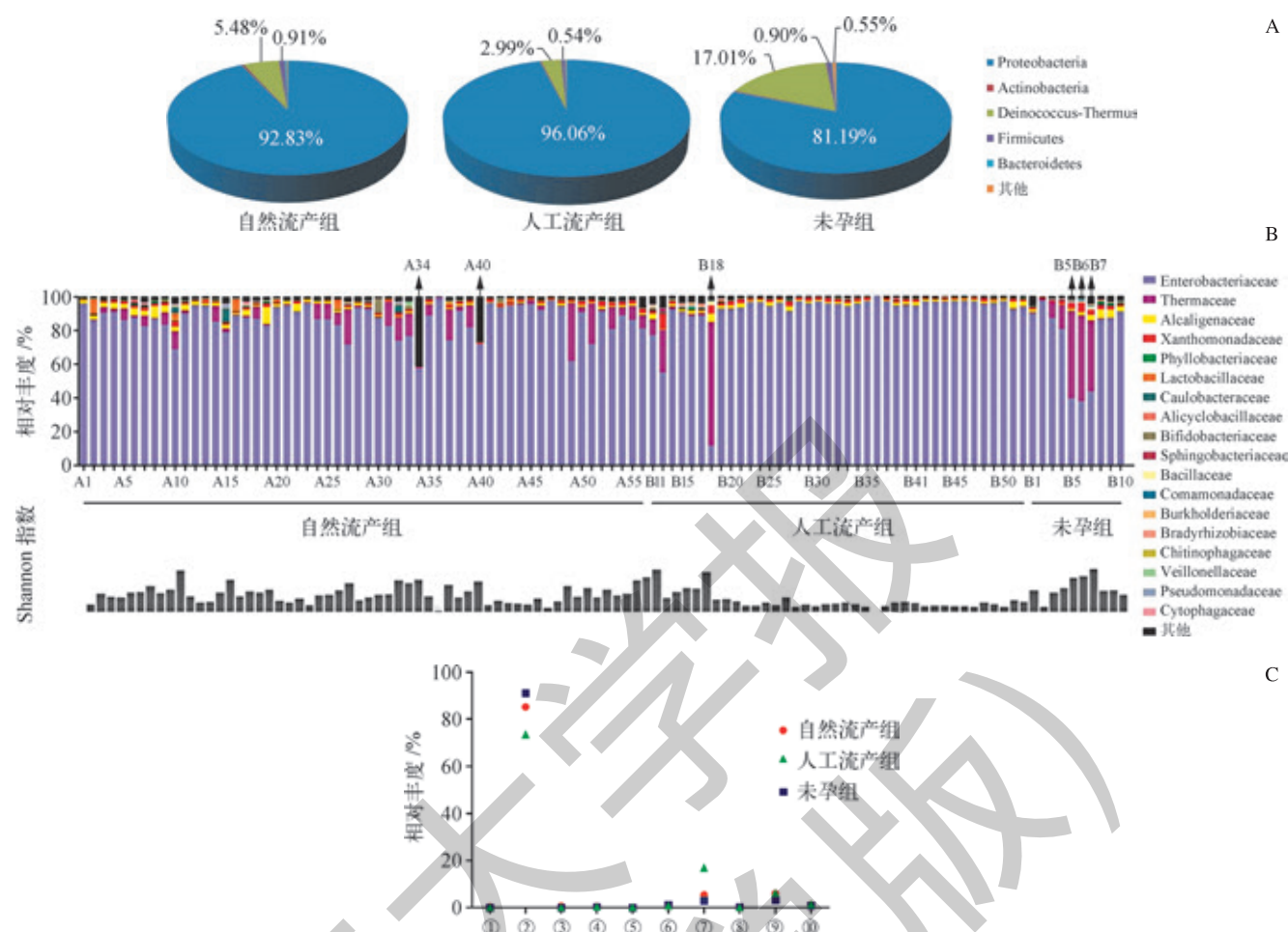
在门的水平上分析表明,在蜕膜组织和子宫内膜组织中检测到的细菌共分布于 25 个门。其中,变形菌门 (Proteobacteria) 在未孕组中占 81.19%,在自然流产组中占 92.83%,在人工流产组中占 96.06%;在 3 组中均为丰度最高的优势菌门,平均丰度为 90.03%。异常球菌-栖热菌门 (Deinococcus-Thermus) 在各组中的丰度仅次于变形菌门,在未孕组中占 17.01%,在自然流产组中占 5.48%,在人工流产组中占 2.99%。厚壁菌门 (Firmicutes) 在未孕组中占 0.90%,在自然流产组中占 0.91%,在人工流产组中占 0.54% (图 2A)。

在科的水平上分析表明,有 4 个属的相对丰度占总体的 90% 以上,其中丰度最高的为肠杆菌科 (Enterobacteriaceae),其次是栖热菌科 (Thermaceae)、产碱杆菌科 (Alcaligenaceae)、黄单胞菌科 (Xanthomonadaceae) (图 2B)。另外乳杆菌科 (Lactobacillaceae) 也可被检测到,但在子宫组织中的丰度较低,为非优势菌。

在属的水平上分析,共得到 308 个属;其中 8 个属在自然流产组、人工流产组和未孕组的相对丰度占各自总体的 92.96%、92.28%、95.80%。这 8 个属分别为大肠埃希菌/志贺菌属 (*Escherichia/Shigella*)、栖热菌属

(*Thermus*)、短波单胞菌属 (*Brevundimonas*)、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、叶杆菌属 (*Phyllobacterium*)、*Schlegelella* 菌属、寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*)、膨胀芽孢杆菌属 (*Tumebacillus*) (图 2C)。其中大肠埃希菌/志贺菌属 (*Escherichia/Shigella*) 为子宫组织中的优势菌属,在自然流产组、人工流产组和未孕组中分别占 85.14%、73.58%、91.15%,在 3 组中的平均丰度为 83.29%。

比较组内样本间的组成可以发现,在同一组内存在明显的个体差异。在自然流产组的 56 例样本中,样本 A34、A40 以肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) (分别为 57.86% 和 71.87%) 和未注释的细菌科为优势菌 (分别为 41.28% 和 27.07%)。在人工流产组的 39 例样本中,38 例样本的优势菌为肠杆菌科 (Enterobacteriaceae),而样本 B18 的优势菌为栖热菌科 (Thermaceae, 占 72.98%)。在未孕组的 10 例样本中,与其他样本不同的是,样本 B5、B6 的第 1 优势菌为栖热菌科 (Thermaceae),占比分别为 51.78% 和 50.86%;第 2 优势菌为肠杆菌科 (Enterobacteriaceae),占比分别为 39.32% 和 37.65%。而样本 B7 的优势菌为肠杆菌科 (Enterobacteriaceae, 占 43.63%) 和栖热菌科 (Thermaceae, 占 41.85%)。



注: 图 B 中, A1 ~ A56 为自然流产组; B1 ~ B10 为未孕组; B11 ~ B52 为人工流产组 (因排除了取样后不符合入组标准的 B14、B21、B40 样本, 故样本编号不连续)。图 C 中, ① *Brevundimonas*; ② *Escherichia/Shigella*; ③ *Lactobacillus*; ④ *Phyllobacterium*; ⑤ *Schlegelella*; ⑥ *Stenotrophomonas*; ⑦ *Thermus*; ⑧ *Tumebacillus*; ⑨ 未分类的; ⑩ 其他。

图 2 在门 (A)、科 (B)、属 (C) 水平对不同女性子宫组织样本中菌群组成的分析

Fig 2 Analysis of uterine microbiome composition in women of different groups at the level of phylum (A), family (B) and genus (C)

3 讨论

虽然人们很早就发现女性阴道中含有微生物, 但子宫腔通常被认为是一种无菌器官。目前, “无菌子宫”这一观点具有较大争议^[11]。最初的研究^[12]认为从子宫内膜中分离到的微生物可能与阴道微生物的上行有关。Zervomanolakis 等^[12]将有放射性标记的白蛋白放入阴道中, 2 min 后发现标记的白蛋白上升到了子宫中。因此推测子宫中细菌的来源可能是由于子宫与阴道的解剖位置邻近及宫颈蠕动作用细菌上行导致的^[13-14]。经阴道进行辅助生殖技术或放置宫内节育器也有可能将阴道细菌带入子宫。但现在的很多报道^[8, 10, 15]认为子宫内膜确实有细菌定植。Hemsell 等^[8]使用双腔导管保护刷收集了 55 例无症状女性的子宫内膜细菌进行培养, 这种采样方法旨在最大化降低阴道污染的风险; 结果检测出 234 种细菌。即使采样时严格控制污染, 经阴道采样方法也可能存在被阴道菌

群污染的可能; 而对子宫腔直接采样可避免阴道细菌的污染, 故子宫腔直接采样无疑是最优的方法。Mitchell 等^[10]通过实时定量聚合酶链反应检测 58 例行子宫切除术患者的子宫内膜中的阴道细菌, 包括嗜性乳杆菌 (*Lactobacillus iners*)、卷曲乳杆菌 (*Lactobacillus crispatus*)、詹氏乳杆菌 (*Lactobacillus jensenii*)、阴道加德纳菌 (*Gardnerella vaginalis*)、阴道阿托波菌 (*Atopobium vaginae*)、巨型球菌属 (*Megasphaera* spp.)、普雷沃菌属 (*Prevotella* spp.)、纤毛菌属 (*Leptotrichia/Sneathia*)、细菌性阴道病相关致病菌 1 (bacterial vaginosis-associated bacteria 1, BVAB1)、BVAB2、BVAB3, 结果发现 55 例 (95%) 患者的子宫内膜中至少存在 1 个菌属。随着培养技术及测序技术的发展, 对子宫内膜微生物的研究更加深入。目前一些研究^[16-24]结果表明健康女性的子宫中存在低丰度的微生物群。在本研究中, 我们通过负压吸引刮宫术获得了自然流产和人工流产女性的蜕膜组织, 通过宫腔镜手术获得了未孕女性的

子宫内膜组织, 并对 16S rRNA 高可变区 V4 进行了高通量测序。研究发现, 在蜕膜组织和子宫内膜组织中均检测到了细菌, 且菌群的多样性较低。本研究所发现的子宫内的菌群与已知的女性阴道菌群的组成有较大差异^[22, 25-26], 且优势菌亦不同, 说明本研究所发现的子宫内菌群来自阴道污染的可能性较低。

我们的结果表明 3 组样本子宫微生物组, 以变形菌门 (Proteobacteria)、异常球菌 - 栖热菌门 (Deinococcus-Thermus) 为主要优势菌门, 其中变形菌门 (Proteobacteria) 的平均丰度高达 90.03%。在科水平, 肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 和栖热菌科 (Thermaceae) 为主要优势菌科。在属水平, 大肠埃希菌 / 志贺菌属 (*Escherichia/Shigella*) 的平均丰度为 83.29%, 为主要优势菌属。类似的结果也在其他研究中报道过。Walther-António 等^[21] 和 Zhu 等^[27] 的研究发现子宫微生物组中肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 细菌占优势。另外 Collado 等^[28] 和 Antony 等^[29] 在对胎盘微生物组的研究中发现大肠埃希菌 (*Escherichia*) 为主要优势菌。目前虽然多个研究^[15, 17, 20-21] 结果均表明子宫内的确有细菌定植, 但对子宫内定植的菌群尚不清楚。Moreno 等^[15] 对胚胎移植导管尖

端的微生物进行测序后发现, 超过 50% 的研究对象的子宫内膜以乳杆菌占优势 (乳杆菌丰度 >90%), 而以非乳杆菌占优势 (乳杆菌丰度 <90% 或其他细菌丰度 >10%) 的女性可能与不良的妊娠结局相关, 包括流产和早产。另一项对胚胎移植时的子宫微生物组的研究^[17] 也发现乳杆菌是子宫中的优势菌。Verstraelen 等^[20] 的研究结果表明拟杆菌门 (Bacteroidetes) 为子宫的优势菌门。Walther-António 等^[21] 的研究结果表明, 子宫内膜癌女性患者的子宫菌群主要分布于厚壁菌门 (Firmicutes)、螺旋体门 (Spirochaetes)、放线菌门 (Actinobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、变形菌门 (Proteobacteria) 等。

本研究基于高通量测序, 在怀孕及未怀孕女性子宫中均检测到低丰度的微生物组, 且自然流产组中的菌群多样性高于人工流产组。自然流产组的菌群多样性相对较高, 或许可以说明确菌群多样性的增加与异常妊娠有一定关系。但由于目前对怀孕女性的子宫内菌群的研究报道有限, 且在本研究中缺乏对入组人群的随访数据, 因此限制了对菌群与妊娠结局关联性的进一步分析。在未来的研究中, 动物模型的建立也有助于揭示子宫内菌群组成在妊娠中的作用及可能的作用机制。

参 · 考 · 文 · 献

- [1] Funkhouser LJ, Bordenstein SR. Mom knows best: the universality of maternal microbial transmission[J]. PLoS Biol, 2013, 11(8): e1001631.
- [2] Hillier SL, Nugent RP, Eschenbach DA, et al. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group[J]. N Engl J Med, 1995, 333(26): 1737-1742.
- [3] Taylor DP, Darville T, Haggerty CL. Does bacterial vaginosis cause pelvic inflammatory disease?[J]. Sex Transm Dis, 2013, 40(2): 117-122.
- [4] Hillier SL, Kiviat NB, Hawes SE, et al. Role of bacterial vaginosis-associated microorganisms in endometritis[J]. Am J Obstet Gynecol, 1996, 175(2): 435-441.
- [5] Nelson DB, Bellamy S, Nachamkin I, et al. First trimester bacterial vaginosis, individual microorganism levels, and risk of second trimester pregnancy loss among urban women[J]. Fertil Steril, 2007, 88(5): 1396-1403.
- [6] Heinonen PK, Teisala K, Punnonen R, et al. Anatomic sites of upper genital tract infection[J]. Obstet Gynecol, 1985, 66(3): 384-390.
- [7] Eschenbach DA, Rosene K, Tompkins LS, et al. Endometrial cultures obtained by a triple-lumen method from afebrile and febrile postpartum women[J]. J Infect Dis, 1986, 153(6): 1038-1045.
- [8] Hemsell DL, Obregon VL, Heard MC, et al. Endometrial bacteria in asymptomatic, nonpregnant women[J]. J Reprod Med, 1989, 34(11): 872-874.
- [9] Møller BR, Kristiansen FV, Thorsen P, et al. Sterility of the uterine cavity[J]. Acta Obstet Gyn Scan, 2011, 74(3): 394-396.
- [10] Mitchell CM, Haick A, Nkwopara E, et al. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women[J]. Am J Obstet Gynecol, 2015, 212: 611.e1-611.e9.
- [11] Perez-MunOz ME, Arrieta MC, Ramer-Tait AE, et al. A critical assessment of the "sterile womb" and "in utero colonization" hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome[J]. Microbiome, 2017, 5(1): 48.
- [12] Zervomanolakis I, Ott HW, Hadziomerovic D, et al. Physiology of upward transport in the human female genital tract[J]. Ann N Y Acad Sci, 2007, 1101: 1-20.
- [13] Hansen LK, Becher N, Bastholm S, et al. The cervical mucus plug inhibits, but does not block, the passage of ascending bacteria from the vagina during pregnancy[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2013, 93(1): 102-108.
- [14] Kunz G, Beil D, Deiniger H, et al. The uterine peristaltic pump. Normal and impeded sperm transport within the female genital tract[J]. Adv Exp Med Biol, 1997, 424: 266-267.
- [15] Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure[J]. Am J Obstet Gynecol, 2016, 215(6): 684-703.
- [16] Fang RL, Chen LX, Shu WS, et al. Barcoded sequencing reveals diverse intrauterine microbiomes in patients suffering with endometrial polyps[J]. Am J Transl Res, 2016, 8(3): 1581-1592.
- [17] Franasiak J, Werner M, Juneau C, et al. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit[J]. J Assist Reprod Gen, 2016, 33(1): 129-136.
- [18] Khan KN, Fujishita A, Masumoto H, et al. Molecular detection of intrauterine microbial colonization in women with endometriosis[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2016, 199: 69-75.
- [19] Moreno I, Franasiak JM. Endometrial microbiota: new player in town[J]. Fertil Steril, 2017, 108: 32-39.
- [20] Verstraelen H, Vilchezvargas R, Desimpel F, et al. Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene[J]. PeerJ, 2016, 4(1): e1602.
- [21] Walther-António MR, Chen J, Multinu F, et al. Potential contribution of the uterine microbiome in the development of endometrial cancer[J]. Genome Med, 2016, 8(1): 122.
- [22] Chen C, Song X, Wei W, et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases[J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 875.
- [23] Miles SM, Hardy BL, Merrell DS. Investigation of the microbiota of the reproductive tract in women undergoing a total hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy[J]. Fertil Steril, 2017, 107: 813-820.
- [24] Tao X, Franasiak JM, Zhan Y, et al. Characterizing the endometrial microbiome by analyzing the ultra-low bacteria from embryo transfer catheter tips in IVF cycles: next generation sequencing (NGS) analysis of the 16S ribosomal gene[J]. Hum Microbiome J, 2017, 3: 15-21.
- [25] Ravel J, Gajer P, Abdo Z, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108 (Suppl 1): 4680-4687.
- [26] Witkin SS, Linhares IM. Why do lactobacilli dominate the human vaginal microbiota?[J]. BJOG, 2017, 124(4): 606-611.
- [27] Zhu L, Luo F, Hu W, et al. Bacterial communities in the womb during healthy pregnancy[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 2163.
- [28] Collado MC, Rautava S, Aakko J, et al. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid[J]. Sci Rep, 2016, 6: 23129.
- [29] Antony AK, Aagaard K, Ganu RS, et al. The placenta harbors a unique microbiome[J]. Sci Transl Med, 2014, 6(237): 237ra65.

[收稿日期] 2018-10-07

[本文编辑] 崔黎明

