

## 专论与综述

## 肠道微生物在孤独症谱系障碍中的作用机制及治疗策略

许勇豪<sup>1</sup>, 吴梓萌<sup>1</sup>, 邱树涛<sup>1</sup>, 许宁宁<sup>2</sup>, 陈容平<sup>\*3</sup>

1 南方医科大学, 广东 广州 510515

2 广州医科大学附属第一医院健康体检科, 广东 广州 510120

3 南方医科大学珠江医院内分泌代谢科, 广东 广州 510280

许勇豪, 吴梓萌, 邱树涛, 许宁宁, 陈容平. 肠道微生物在孤独症谱系障碍中的作用机制及治疗策略[J]. 微生物学通报, 2024, 51(7): 2337-2352.

XU Yonghao, WU Zimeng, QIU Shutao, XU Ningning, CHEN Rongping. Gut microbiota-targeted therapeutic strategies for autism spectrum disorders[J]. Microbiology China, 2024, 51(7): 2337-2352.

**摘要:** 肠道微生物在孤独症谱系障碍(autism spectrum disorders, ASD)中的作用正受到越来越多的关注, 并可能成为未来 ASD 治疗的一个重要方向。研究表明, ASD 患者的肠道微生物群落与健康人存在差异, 包括菌群相对丰度和多样性等方面。这些微生物可通过微生物-肠-脑轴的多种途径影响神经系统的发育和功能, 进而影响 ASD 患者的行为和认知能力。因此, 调节肠道微生物群可能是一种有效的 ASD 治疗方法。目前已有研究探讨了利用益生菌、粪菌移植等方法治疗 ASD 的效果并取得了初步的进展, 但仍需要更多的研究来确定最佳的治疗策略、长期疗效和安全性。

**关键词:** 肠道微生物; 孤独症谱系障碍; 微生物-肠-脑轴; 治疗方法

## Gut microbiota-targeted therapeutic strategies for autism spectrum disorders

XU Yonghao<sup>1</sup>, WU Zimeng<sup>1</sup>, QIU Shutao<sup>1</sup>, XU Ningning<sup>2</sup>, CHEN Rongping<sup>\*3</sup>

1 Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China

2 Department of Health Examination, The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, Guangdong, China

3 Department of Endocrinology and Metabolism, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510280, Guangdong, China

**Abstract:** The role of gut microbiota in autism spectrum disorders (ASD) is receiving

资助项目: 国家自然科学基金(82100860)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82100860).

\*Corresponding author. E-mail: 62782333@163.com

Received: 2023-09-24; Accepted: 2023-12-18; Published online: 2024-01-25

increasing attention and may become an important direction for ASD treatment in the future. Studies have shown that the gut microbiota in ASD patients is different from that in healthy people in terms of microbial relative abundance, diversity and so forth. These microorganisms can influence the development and function of the nervous system via multiple pathways along the microbiota-gut-brain axis, which affects the behaviors and cognitive abilities of ASD patients. Therefore, modulating the gut microbiota may be an effective therapy for ASD. Researchers have explored the efficacy of probiotics, fecal microbiota transplantation, and other therapies for ASD and have made preliminary progress. However, studies remain to be carried out to determine the optimal therapeutic strategies with long-term efficacy and high safety.

**Keywords:** gut microbiota; autism spectrum disorders; microbiota-gut-brain axis; therapy

孤独症谱系障碍(autism spectrum disorders, ASD)是一组包括孤独症(autistic disorder, AD)、阿斯伯格综合征(Asperger syndrome, AS)等在内<sup>[1]</sup>,以社会交往与交流障碍、重复刻板行为及兴趣或活动范围狭隘为核心特征的神经发育障碍性疾病<sup>[2]</sup>。流行病学研究显示,ASD 是一种由遗传和环境因素共同作用而形成的复杂疾病<sup>[3]</sup>。目前,平均每 100 名儿童中就有 1 人被诊断为 ASD,且 ASD 患病率的估计值随着时间的推移而增加<sup>[4]</sup>。值得注意的是,有高达 48.67%的患者出现腹痛、腹泻、便秘和胃食管反流等胃肠道并发症,提示胃肠道及寄生于其中的微生物在 ASD 发病和发展中的重要作用<sup>[5]</sup>。然而,目前并无治愈 ASD 的特效药物和方法,给患者家庭和社会卫生健康事业带来极大的负担<sup>[6]</sup>。因此,ASD 患者的生活质量需要得到社会更多的关注,ASD 的疾病干预和治疗方案也亟待完善。

近年来,肠道微生物因其重要临床意义而引起微生物学家和医学研究人员的关注,并为 ASD 病理及治疗策略的研究提供新思路。大量研究发现,肠道微生物可能通过微生物-肠-脑轴(microbiota-gut-brain axis)直接或间接地作用于人体代谢过程、免疫系统及神经系统,影响 ASD 的发生和发展<sup>[7-8]</sup>。服用益生菌、粪菌移植等以肠道微生物为靶点的肠道微生物疗法也已成为

治疗 ASD 的潜在方法<sup>[9-10]</sup>。本文将分析肠道微生物在 ASD 中的作用,并对肠道微生物疗法治疗 ASD 的研究进展进行综述,以期为进一步研究提供参考。

## 1 ASD 患者的肠道微生物群

人类微生物群是指在人体内部和表面生活的包括细菌、古细菌、真菌和病毒在内的微生物群落<sup>[11]</sup>。其中,大多数微生物都寄生于胃肠道,构成了庞大且活跃的肠道微生物群。据估计,人体肠道有大约 100 万亿个细菌,其基因总数约为人体自身基因数目的 150 倍,因此肠道微生物组又被称为人体的“第二基因组”<sup>[12]</sup>。

肠道微生物群组成及功能稳态的维持对人体健康至关重要。研究表明,人体肠道微生物群在出生后定殖,其组成受个体健康、年龄、地域和遗传等多种因素影响,并存在较大异质性<sup>[13-14]</sup>。在功能上,它们不仅能够消化食物、影响机体代谢,还能抑制病原体入侵、调节免疫系统而影响胃肠道、心血管、神经系统等功能状态<sup>[12,15]</sup>。在正常情况下,肠道微生物群通过宿主与微生物、微生物与微生物的相互作用维持其组成和功能的稳态。然而,一旦这种稳态受到破坏,就可能影响宿主正常生理功能从而引发各种疾病。

随着肠道微生物和肠-脑轴研究的深入,研

究人员发现肠道微生物在神经系统疾病中起着至关重要的作用。另外,越来越多的证据表明,ASD 患者肠道微生物群与其胃肠道和神经行为症状之间存在密切联系。研究显示,ASD 患者肠道菌群失调会引起胃肠道症状,且胃肠道症状与 ASD 严重程度相关<sup>[16-17]</sup>。2019 年,Sharon 等<sup>[18]</sup>将 ASD 患者肠道微生物群移植至无菌小鼠体内后小鼠出现 ASD 样症状,表明肠道菌群与 ASD 间存在关联。相较于正常发育的动物或人体,研究人员在 ASD 动物模型和 ASD 患者中均观察到不同程度的肠道菌群组成变化,提示肠道菌群稳态失调在 ASD 的发生和发展中发挥着至关重要的作用<sup>[8,19-21]</sup>。然而 ASD 患者肠道菌群多样性、相对丰度的变化及确切的组成尚无一致的结论,仍有待更大规模的研究。具体而言,有 3 项来自同一实验室的研究表明 ASD 患者肠道微生物群  $\alpha$  多样性显著下降,但另有数项研究表明 ASD 患者肠道微生物群  $\alpha$  多样性增加或无明显变化<sup>[22-23]</sup>。Dan 等<sup>[24]</sup>和 Wan 等<sup>[25]</sup>研究发现,ASD 患儿肠道微生物群发育滞后于同龄人,其  $\alpha$

多样性随年龄增长无明显变化。因此,不同研究中对肠道微生物群  $\alpha$  多样性得出的不同结论可能是受试者年龄差异引起,且 ASD 患儿肠道微生物群发育异常的发现再次佐证了 ASD 患者肠道微生物失调的观点。具体到门类上,相较于健康个体,ASD 患者的肠道菌群普遍存在拟杆菌门(*Bacteroidetes*)与厚壁菌门(*Firmicutes*)比例的失调<sup>[11,26-28]</sup>。在属或种的分类上,ASD 患者的肠道菌群也出现了不同程度的异常。大多数研究认为,拟杆菌属(*Bacteroides*)、梭菌属(*Clostridium*)等的相对丰度增加,而双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、普雷沃氏菌属(*Prevotella*)等的相对丰度下降<sup>[22-23,28]</sup>。另外,在真菌群落中,有研究表明 ASD 患儿和健康儿童在酵母菌属(*Saccharomyces*)和曲霉菌属(*Aspergillus*)上存在差异<sup>[29]</sup>,而念珠菌属(*Candida*)的相对丰度异常还可能影响 ASD 患者的免疫功能和胃肠道症状<sup>[26]</sup>。此外,还有研究发现 ASD 患儿的 DNA 病毒组结构与正常儿童存在差异<sup>[30]</sup>,肠道病毒组与人体免疫功能的相互作用不容忽视(图 1)。

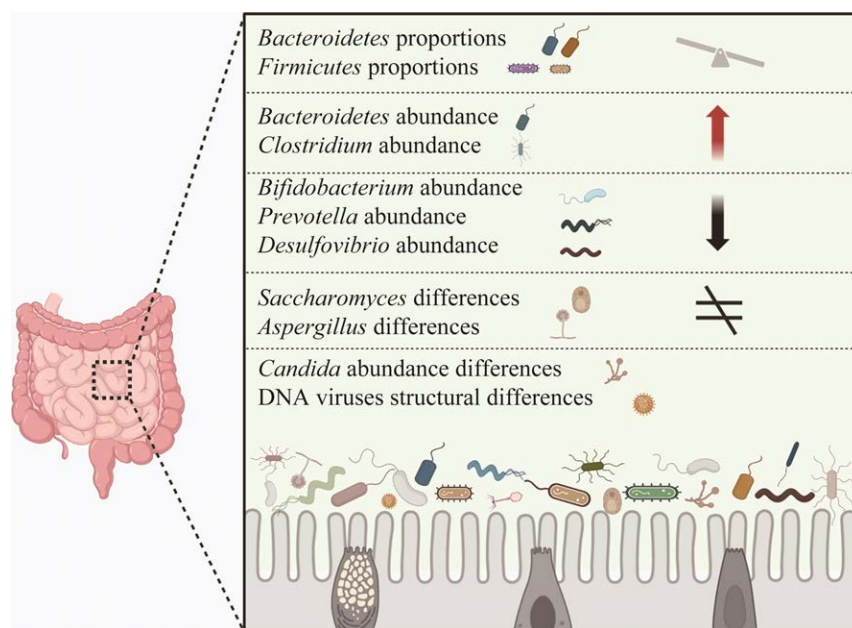


图 1 ASD 患者肠道微生物群失调示意图

Figure 1 Schematic representation of the gut dysbiosis in patients with ASD.

## 2 微生物-肠-脑轴

随着对 ASD 患者肠道菌群研究的深入, 越来越多证据表明肠道微生物稳态的失调可以通过微生物-肠-脑轴相关机制影响 ASD 患者胃肠道症状和神经行为症状, 并为微生物干预疗法提供理论基础<sup>[8,19]</sup>。微生物-肠-脑轴是基于肠道微生物、依托多种上行和下行途径, 以及联系肠道和大脑的双向交流系统, 其在人体健康和精神疾病中发挥着重要作用<sup>[31-32]</sup>。具体而言, 肠道微生物群失调影响微生物代谢产物并改变肠道微环境, 在神经系统、免疫系统和内分泌系统等综合作用下建立起肠道和大脑的联系, 最终影响大脑

的功能状态<sup>[33-34]</sup>(图 2)。

### 2.1 神经途径

连接肠道和大脑的神经通路主要有迷走神经系统和肠神经系统(enteric nervous system, ENS), 是肠道和中枢神经系统进行双向联系最直接的途径。大量研究表明, 肠道微生物作用于上述神经通路并调节神经系统的生长发育和功能状态, 最终引起个体应激反应和认知水平的改变, 影响孤独症等神经疾病的发生和发展<sup>[35-39]</sup>。

迷走神经起自脑干并接收内脏感觉和支配内脏, 是肠道和大脑之间最直接的神经通路; 并有 80%–90% 的神经纤维是传入神经, 其功能和活性受肠道调节并受肠道微生物影响<sup>[40]</sup>。例如,

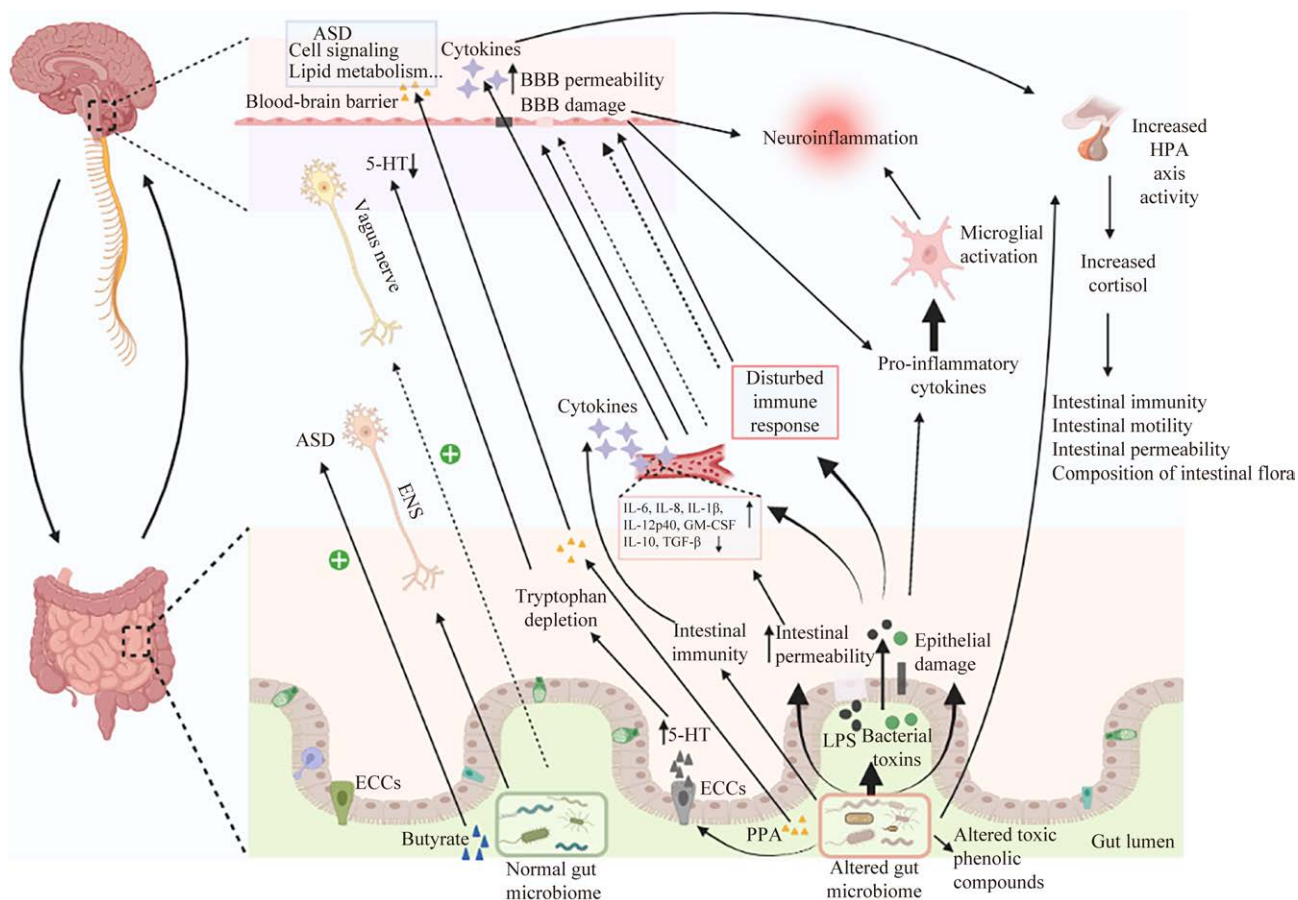


图 2 ASD 微生物-肠-脑轴机制示意图

Figure 2 Schematic representation of the microbiota-gut-brain axis in ASD.

革兰氏阴性菌的细胞壁成分脂多糖对结节神经节处的迷走神经有刺激作用<sup>[40]</sup>。动物研究表明,鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*)、罗氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)等肠道益生菌可通过迷走神经途径改善小鼠中枢神经系统状态和认知功能<sup>[41-42]</sup>。Sgritta 等<sup>[42]</sup>和 Dooling 等<sup>[43]</sup>在多种 ASD 小鼠模型中均发现,罗氏乳杆菌(*L. reuteri*)可以通过迷走神经调节并改善 ASD 小鼠的社会缺陷,且该作用与肠道功能和大脑中的催产素能、多巴胺能奖励系统有关。由此可知,迷走神经是肠道微生物群作用于肠-脑轴的重要途径,且服用益生菌干预 ASD 的作用可能是直接通过迷走神经通路实现的。

此外,被称为“第二大脑”的 ENS 对胃肠道行为的调控具有重要作用,并可通过交感神经和迷走神经与中枢神经系统联系,且其发育和功能受到与肠道微生物群相关的部分化学信号调节<sup>[37,39]</sup>。

## 2.2 免疫途径

越来越多的证据表明,免疫失调在 ASD 中起着核心作用<sup>[44]</sup>。免疫系统的发育和成熟在很大程度上依赖于肠道微生物群<sup>[45]</sup>。肠道微生物异常可以通过改变肠道屏障功能、调节外周免疫状态和影响中枢神经系统免疫细胞,最终使大脑的功能状态发生变化。

肠道屏障是人体免疫的第一道防线,与人体免疫的激活和调节息息相关。肠道菌群对于维持肠道上皮屏障完整性和外周免疫调节至关重要。研究发现,ASD 患者的肠道菌群失调会引起肠道上皮屏障受损并增高肠道通透性,即出现“肠道渗漏”现象<sup>[46]</sup>。Hsiao 等<sup>[47]</sup>在 ASD 小鼠模型中发现,异硫氰酸荧光素标记葡聚糖的易位增加显示其穿过肠上皮并进入循环,说明肠道上皮完整性受到显著破坏。此外,也有研究证实,自闭症儿童患者的肠道通透性增加;而肠道通透性增加

可能允许细菌毒素、脂多糖等代谢物通过,激活免疫反应并诱导血液炎症状态<sup>[48]</sup>。此外,ASD 患者血液中部分炎症介质水平也发生不同程度的变化。例如白细胞介素-1 $\beta$ 、白细胞介素-6、白细胞介素-8、白细胞介素-12p40 和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子等促炎细胞因子增加,抗炎细胞因子白细胞介素-10 和转化生长因子 $\beta$ 减少<sup>[49]</sup>。促炎细胞因子是诱导产生自身免疫和影响 ASD 中枢神经系统免疫功能的重要因素,上述血浆中细胞因子的改变与沟通不良和社交互动行为受损密切相关<sup>[50]</sup>。具体而言,肠道通透性的改变导致毒性物质入血和细胞因子紊乱可直接或间接破坏血脑屏障。Cabanlit 等<sup>[51]</sup>在 ASD 患儿血清中检测到脑组织的自身抗体,提示自身免疫的发生并表明 ASD 患者血脑屏障通透性增加;同时受损的血脑屏障会募集更多免疫细胞,将加剧中枢神经系统的炎症。

小胶质细胞是中枢神经系统内具有免疫效应的细胞,与许多神经退行性疾病关系密切。众多研究发现,各个年龄段(4-45 岁)的 ASD 个体的脑标本中存在着持续神经炎症、小胶质细胞和星形胶质细胞的活化增加,并伴有细胞因子和趋化因子水平的异常<sup>[52]</sup>。肠道菌群在调节小胶质细胞的成熟和功能中发挥着重要作用。有研究指出,无菌小鼠的小胶质细胞显示为未成熟和畸形<sup>[51]</sup>,而进行生命早期的常规细菌定殖可以使无菌小鼠的小胶质细胞正常化<sup>[53]</sup>,进一步表明微生物在调节神经免疫活动中发挥作用。随着“肠道渗漏”发生、血脑屏障受损,肠道菌群代谢物、脂多糖可通过促炎细胞因子等免疫信号触发小胶质细胞的异常激活,最终导致 ASD 症状<sup>[54]</sup>。

综上所述,肠道微生物作为人体免疫的重要角色,纠正菌群紊乱、维持菌群稳态有助于机体免疫功能及神经功能的正常调节。因此,菌群移植、服用益生菌和饮食干预等方法利用肠道微生



物调节炎症过程、缓解免疫损伤作用,在治疗 ASD 上表现出相当大的潜力。

### 2.3 内分泌途径

肠道微生物及其代谢产物还可通过肠嗜铬细胞(enterochromaffin cells, EC cells)、下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA)等内分泌途径作用于肠-脑轴。

5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)是大脑神经突触内重要的抑制性神经递质,绝大多数存在于肠道且主要由肠嗜铬细胞分泌。因此,5-HT 可能是肠道和大脑双向联系的重要介质。研究发现,产芽孢细菌等肠道菌群可调节肠嗜铬细胞功能活性,并通过改变色氨酸和 5-HT 的代谢影响大脑的功能状态<sup>[55-56]</sup>。具体来说,肠嗜铬细胞分泌 5-HT 受色氨酸羟化酶 1 调节,而色氨酸羟化酶 1 的活性与肠道菌群产生的短链脂肪酸等小分子物质密切相关。目前,肠嗜铬细胞分泌 5-HT 影响肠-脑轴的具体机制尚未完全明确。有部分研究认为,念珠菌、链球菌等肠道菌群的增加导致肠嗜铬细胞合成分泌 5-HT 增加,导致肠道中 5-HT 的含量增加<sup>[57]</sup>。血脑屏障对 5-HT 并不通透,且肠嗜铬细胞大量合成 5-HT 导致前体色氨酸消耗过多,使大脑神经系统 5-HT 水平过低,最终可导致 ASD 相关的情绪和认知功能障碍<sup>[38,57-59]</sup>。此外,ASD 患者常出现的腹痛、便秘等胃肠道症状可能与其肠道内高水平 5-HT 产生的疼痛感知、胃肠道分泌和控制运动作用相关<sup>[58]</sup>。

目前,许多研究认为肠道菌群可与 HPA 相互作用,从而影响包括孤独症在内的精神疾病的发生和发展<sup>[60-62]</sup>。调节机体对环境因素的反应是 HPA 的主要功能。具体来说,当机体处于应激状态时,下丘脑会释放促肾上腺皮质激素释放激素,促进垂体释放促肾上腺皮质激素,最终使皮质醇水平升高,影响神经系统功能<sup>[57]</sup>。然而在

动物研究中发现,肠道微生物可上调 HPA 活性并引起应激反应和焦虑样行为<sup>[63]</sup>。此外,Wang 等<sup>[64]</sup>也发现 ASD 患儿表现出较高的皮质醇水平,而补充肠道菌群代谢产物丁酸钠有助于调节 HPA 从而改善小鼠焦虑和社交缺陷行为,提示 HPA 可能是肠道微生物作用于 ASD 的重要通路。然而,肠道微生物对 HPA 的调节机制并不明确,可能是通过影响大脑神经化学反应而实现的<sup>[63]</sup>。

### 2.4 代谢产物途径

短链脂肪酸(short-chain fatty acid, SCFA)、酚类化合物和游离氨基酸等肠道菌群代谢产物可影响宿主生理和疾病易感性<sup>[45]</sup>,在微生物-肠-脑轴中发挥着重要作用。因此,基于肠道菌群的代谢特点,益生元疗法可以影响关键代谢产物的含量,对 ASD 的发生和发展进行干预。

SCFA 是肠道菌群降解宿主不能消化的糖类物质的代谢产物,主要包括乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸和异戊酸等。研究发现,ASD 患者的丁酸盐含量降低,乙酸盐和丙酸盐水平升高<sup>[65]</sup>。部分研究发现,ASD 患儿粪便中 SCFA 的含量高于正常儿童<sup>[11]</sup>,并因此影响中枢神经系统的机制包括线粒体功能的改变和 ASD 相关基因的表观遗传调节。较高浓度的丙酸可能具有神经毒性并与 ASD 发病机制相关<sup>[66]</sup>。动物研究表明,丙酸盐可以在啮齿动物中诱发孤独症行为<sup>[67]</sup>。在关键的神经发育时期,丙酸盐暴露增加是 ASD 中观察到的大脑和行为变化的主要环境触发因素<sup>[68]</sup>。丙酸盐可以穿过肠屏障和血脑屏障并进入大脑,影响多种与 ASD 相关的生理过程,如细胞信号传导、神经递质合成和释放、自由基产生、线粒体功能、脂质代谢、免疫功能、细胞内 pH 维持,以及通过磷酸化和组蛋白乙酰化调节基因表达<sup>[68]</sup>。丁酸盐可调节线粒体功能,刺激氧化磷酸化和脂肪酸氧化,上调生理应激途径<sup>[69]</sup>。

多项研究指出,丁酸盐治疗可以调节孤独症小鼠模型中的社会行为,为基于肠道微生物的治疗策略提供依据<sup>[70-72]</sup>。在 ASD 的动物模型中,丁酸盐可以抑制组蛋白去乙酰化酶-1,通过调节弱内向整流钾通道-1<sup>[70]</sup>,抑制肠道促炎巨噬细胞功能<sup>[71]</sup>,并调节血脑屏障和肠道通透性<sup>[72]</sup>,恢复肠上皮屏障功能。Rose 等<sup>[69]</sup>通过 ASD 的淋巴母细胞样细胞系模型,证明丁酸盐对处于生理压力下的健康儿童和 ASD 患儿的细胞均具有积极作用。上述研究表明丁酸盐可以通过特定的转运蛋白/受体调节 ASD 中肠-脑轴的活性,调节免疫系统和作为组蛋白去乙酰化酶抑制剂发挥作用<sup>[73]</sup>。

此外,ASD 患者毒性酚化合物水平也有所改变。例如,有研究在小鼠模型中证明对甲酚可诱导 ASD 样症状的产生<sup>[74]</sup>。有研究指出,ASD 患儿的尿液和粪便中对甲酚及其共轭衍生物对甲酚硫酸盐的丰度增加,可能会损害体外少突胶质细胞的分化并抑制多巴胺  $\beta$ -羟化酶<sup>[20,75]</sup>。产后接触异常浓度的对甲酚和/或对甲酚硫酸盐被认为是导致孤独症儿童行为异常和认知障碍严重程度的病理生理因素<sup>[76]</sup>。

在 ASD 患儿尿液中还检测出 3-(3-羟苯基)-3-羟基丙酸、顺乌头酸、乙醇酸、3,4-二羟基丁酸、焦谷氨酸和红细胞酸的水平增加<sup>[20]</sup>,其中一些化合物与 ASD 有关。例如,增加的梭菌衍生代谢物 3-(3-羟苯基)-3-羟基丙酸可消耗中枢神经系统中儿茶酚胺,其减少可降低 ASD 的严重程度<sup>[77]</sup>。另外,患有孤独症的儿童尿液中色氨酸(5-HT 前体)及其降解片段的排泄量更大,这与其他神经精神疾病的相关发现相似<sup>[78]</sup>。色氨酸片段的排泄量增加与色氨酸降解增加有关,色氨酸代谢的产物,如血清素、犬尿氨酸、色胺和吲哚化合物,对肠道微生物群与肠-脑轴之间的相互作用有深远的影响<sup>[79-80]</sup>。

### 3 以肠道微生物为靶向的 ASD 治疗方法

目前,针对孤独症尚未发现明确有效的治疗手段,但近年来已有不少研究表明肠道微生物可能会通过微生物-肠-脑轴影响孤独症的发生和发展。因此,重新平衡肠道微生物群已经被认为是治疗孤独症的一种有希望的方法。以肠道微生物为靶向的治疗方法主要包括使用益生菌、益生元、粪菌移植和饮食干预等。此类治疗策略可有效改善肠道菌群的失调,以微生物为靶点并作用于神经、免疫和内分泌等通路,从而对孤独症患者产生积极的影响。虽然这些方法仍需要更多的研究和验证,但它们的出现为孤独症的治疗提供了新的思路 and 方向<sup>[81]</sup>。

#### 3.1 益生菌和益生元治疗

益生菌(probiotics)是指在肠道内能够增殖并对宿主产生有益效果的菌群<sup>[82]</sup>,如嗜酸乳杆菌、双歧杆菌等。近 10 年的研究表明,益生菌可以有效调节肠道微生物群失调<sup>[83]</sup>,并可能通过肠道微生物介导的免疫、内分泌和神经通路影响 ASD 的发生、发展。李玉勤等<sup>[84]</sup>研究发现,补充益生菌后,ASD 患儿肠道中有益细菌(双歧杆菌和乳酸杆菌)的相对丰度增加。此外,Wang 等<sup>[85]</sup>的研究证实,补充益生菌可有效改善 ASD 患儿的胃肠道症状,并发现该疗效与 SCFA 等肠道菌群代谢产物的肠-脑轴调节功能相关。ASD 患儿有明显的选择性和过度特殊的进食行为,对胃肠道症状和肠道菌群丰度有一定影响<sup>[86]</sup>。综上,益生菌可以通过增加胃肠道中有益细菌的相对丰度来改善 ASD 患儿的胃肠道症状。

Niu 等<sup>[87]</sup>将益生菌和行为疗法的联合干预与仅行为疗法进行了比较,给予 37 名 ASD 患儿应用行为分析训练和益生菌治疗,而 28 名对照组的 ASD 患儿仅接受应用行为分析训练,结果

表明,接受益生菌治疗的 ASD 患儿,其症状和行为较对照组明显改善。此外,迄今为止报告的最长的益生菌试验显示,益生菌治疗 3 个月后孤独症治疗评估量表(*autism treatment evaluation checklist*, ATEC)总评分和 ATEC 的每个子域发生了显著下降<sup>[88]</sup>(ATEC 分别从 4 个领域评估孤独症的严重程度:言语、语言、交流/社交能力/感官、认知意识/健康、生理、行为,ATEC 评分越高表明 ASD 症状越严重)。

相较于随机对照试验,上述非随机对照试验因为存在潜在的选择偏见和对混杂因素的控制不足,因此提供的证据质量较低。然而在益生菌治疗 ASD 的临床随机试验中,研究得到的结果差异较大。Santocchi 等<sup>[89]</sup>研究发现,益生菌组和安慰剂组之间的总孤独症诊断观察时间表-校准严重程度评分无显著差异。然而,与安慰剂相比,在有胃肠道症状的儿童中,益生菌治疗不仅改善了胃肠道症状,而且对适应性功能和多感觉处理也产生了积极作用,而后者是 ASD 的核心症状;在无胃肠道问题的儿童中,从基线到 6 个月,总孤独症诊断观察时间表-校准严重程度评分和社会影响严重程度评分均显著下降,说明 ASD 症状有所改善<sup>[89]</sup>。Parracho 等<sup>[90]</sup>对 ASD 进行了益生菌随机对照试验,相较于基线,益生菌治疗后破坏性反社会行为、焦虑问题和沟通障碍的行为评分显著改善,而安慰剂组未改善。

Liu 等<sup>[91]</sup>研究发现安慰剂组和植物乳杆菌 PS128 组在整体行为特征上无差异,进一步的年龄分层分析发现,在 7-12 岁接受益生菌治疗的儿童中,焦虑、注意力不集中、多动/冲动、反对/蔑视和违反规则的行为有所改善,而 13-15 岁的组别则并未从服用益生菌中获益。在 Wang 等<sup>[85]</sup>的研究中,干预组在益生菌和低聚果糖干预 30 d 后,ATEC 总评分和 ATEC 分量表得分无显著改善,而在干预 60 d 和 108 d 后进行评估,ATEC

总评分、言语/语言两种沟通得分和社交能力得分显著改善。随着干预时间的增加,补充益生菌对 ASD 患儿的治疗效果可能更为明显<sup>[92]</sup>。值得注意的是,益生菌的治疗效果似乎与菌群代谢产物、神经递质及屏障功能的调节存在密切联系<sup>[85]</sup>。

综上所述,尽管动物研究表明补充益生菌可改善小鼠的 ASD 样症状和社会行为<sup>[93-94]</sup>,但是临床研究尚处在早期阶段,研究对象少、多为单一中心的研究,并且许多设计存在严重的方法学局限,因此仍需要设计良好的大型多中心随机对照试验研究来评估益生菌对 ASD 症状的治疗效果。

益生元是不可消化的化合物(即菊粉、低聚糖),由肠道代谢,可刺激体内天然存在的有益细菌,尤其是乳酸杆菌和双歧杆菌的增加。在一项肠道模型的体外研究中,对 ASD 患儿和非自闭症儿童的粪便样本进行分析,发现益生元低聚半乳糖提高了双歧杆菌属的相对丰度<sup>[93]</sup>。虽然益生菌治疗已被证明可以缓解胃肠道症状并调节肠道菌群,但对使用益生元的 ASD 患者的研究有限,并且缺乏可靠的数据<sup>[19]</sup>。

### 3.2 粪菌移植治疗

粪菌移植(*fecal microbiota transplantation*, FMT)是一种受到广泛关注且常用的以肠道微生物为靶向的治疗策略。FMT 是将健康供体的肠道菌群提取物移植至患者的胃肠道中,以调节和重建患者肠道微生物群并治疗胃肠道和非胃肠道疾病的方法<sup>[95]</sup>。总的来说,FMT 是一种不断发展革新且安全的治疗方法,在治疗复发艰难梭菌感染等胃肠道疾病中具有一定疗效,并广泛应用于神经疾病、代谢疾病和癌症的治疗<sup>[32,96-97]</sup>。Dossaj 等<sup>[98]</sup>和 Zhang 等<sup>[99]</sup>在研究 FMT 对 ASD 的影响及疗效的系统评价中指出,FMT 能有效改善 ASD 患者的行为异常和胃肠道症状,且该



疗效可能与 FMT 后肠道微生物群的重建及微生物-肠-脑轴的作用有关。

Chen 等<sup>[100]</sup>利用母体免疫激活诱导的 ASD 小鼠模型证实 FMT 可改善小鼠孤独症样行为, 并发现 FMT 后小鼠的肠道菌群组成趋于正常化。Kang 等<sup>[10]</sup>的一项开放标签研究表明 FMT 可显著改善 ASD 患者的胃肠道症状和孤独症症状。通过微生物组学分析, Kang 的团队还发现来自供体的部分肠道微生物成功植入受试者肠道, 同时发现受试者肠道微生物多样性及关键菌群的相对丰度较 FMT 前显著增加, 提示肠道微生物群稳态的改变在 ASD 的发生与转归中发挥重要作用<sup>[10]</sup>。在完成上述研究后, Kang 等<sup>[101]</sup>对 18 位受试者继续进行为期 2 年的随访, 结果表明 FMT 对 ASD 患者胃肠道症状和孤独症症状的改善具有长期作用, 证明 FMT 治疗有胃肠道问题的 ASD 患儿具有长期安全性和有效性。此外, Li 等<sup>[102]</sup>对 40 名 3-17 岁 ASD 患者开展的一项开放标签临床试验指出, FMT 可能通过改变肠道菌群从而改善 ASD 患者的胃肠道症状和行为症状, 为 FMT 治疗 ASD 的有效性和安全性提供有效证据。

随着 FMT 技术的发展, 研究人员发现通过一系列自动洗涤程序处理样品后进行 FMT 能有效降低不良反应的发生率<sup>[103]</sup>, 并开始研究洗涤粪菌移植(washed fecal microbiota transplantation, WMT)治疗 ASD 的作用。Zhang 等<sup>[104]</sup>对 49 名 ASD 患儿进行回顾性研究发现 WMT 可有效改善 ASD 患儿的胃肠道症状、睡眠障碍及孤独症症状。Pan 等<sup>[105]</sup>对 42 名 ASD 患儿的研究也报告了类似的结论, 并指出 ASD 症状的改善程度与 WMT 疗程存在一定关系。另外, WMT 对未患便秘的 ASD 患儿和 WMT 后便秘症状明显改善的 ASD 患儿疗效更佳, 提示胃肠道症状的改善是 WMT 治疗 ASD 的关键环节<sup>[104]</sup>。具体而言,

WMT 对 ASD 的疗效可能与微生物-肠-脑轴的作用密切相关, 即 WMT 通过增加肠道微生物多样性并降低炎症因子水平发挥治疗作用<sup>[105]</sup>。

尽管 FMT 在 ASD 治疗中表现出可观的有效性和安全性, 但其治疗机制目前尚未明确。大部分研究认为, FMT 的疗效与肠道微生物群的重建相关, 尤其是受双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、普雷沃氏菌属(*Prevotella*)和嗜铬假单胞菌(*Seubacterium coprostanoligenes*)等关键菌群影响<sup>[10,101-102]</sup>。研究人员发现 FMT 改善 ASD 症状和肠道微生物群的同时, 还改变了患者血清代谢物的水平, 并可能与微生物-肠-脑轴作用相关<sup>[106-107]</sup>。具体而言, ASD 患儿在 FMT 后血清代谢物谱较 FMT 前与正常发育的儿童更相似, 表现为辛酸和庚酸等中链脂肪酸水平下降、烟酰胺核苷等代谢物水平上升、神经递质水平变化等<sup>[102,106-107]</sup>。

总而言之, FMT 以肠道微生物群为靶点重建肠道微生物群, 在治疗 ASD 动物试验和临床试验中均表现出较好的疗效, 是改善 ASD 患者孤独症症状和胃肠道症状的有前景的治疗策略。

### 3.3 饮食干预

饮食是影响肠道微生物的重要环境因素之一, 可有效改变肠道微生物群落并可能影响人体大脑的活动, 在 ASD 的发生和发展中可能发挥着至关重要的作用<sup>[59]</sup>。目前, 无麸质无酪蛋白饮食(gluten free casein free diet, GFCF)、生酮饮食(ketogenic diet, KD)、特定碳水化合物饮食(specific carbohydrate diet, SCD)、多不饱和脂肪酸饮食(polyunsaturated fatty acids, PUFA)、补充矿物质和维生素等饮食方法被视为 ASD 的潜在饮食干预措施和替代疗法, 并受到广泛关注<sup>[11,59,108-109]</sup>。饮食干预的可能作用主要表现在以肠道微生物为靶向改善 ASD 患者胃肠道症状, 但其确切疗效仍存在争议并有待进一步研究。其中, 无麸质

无酪蛋白饮食是在 ASD 治疗中应用最多的营养方法。有学者认为,无麸质无酪蛋白饮食是一种基于阿片类药物理论的消除性饮食方式<sup>[110]</sup>,其能影响肠道微生物的组成并可改善肠道炎症,但仍缺乏有效的证据证明其在 ASD 治疗中的疗效<sup>[11,111]</sup>。

## 4 总结与展望

ASD 是一组神经发育障碍性疾病,目前尚无特效药物和方法治愈。肠道微生物可通过微生物-肠-脑轴对 ASD 患者的胃肠道症状和神经行为症状产生影响,且以肠道微生物群为靶点的治疗已成为治疗 ASD 的潜在策略。

ASD 患者失衡的肠道微生物群会导致肠道菌群代谢物、免疫因子等物质通过血液、神经等途径进入中枢神经系统,从而影响大脑功能。大量研究发现,ASD 患者的肠道菌群在多样性和某些特定菌属相对丰度上存在明显异常。同时,ASD 患者肠道菌群生成的代谢产物也存在明显差异,如芳香族氨基酸、短链脂肪酸等。这些代谢产物可能通过微生物-肠-脑轴影响大脑的神经递质释放、神经元活动等,从而进一步影响 ASD 患者的行为和认知。

值得注意的是,基于肠道微生物的治疗已成为治疗 ASD 的潜在策略,并主要包括益生菌和粪菌移植两种方法。多项研究表明,服用益生菌可以改善 ASD 患者的部分症状,如社交交往、沟通能力等。此外,还有不少研究证明了粪菌移植治疗 ASD 的有效性。

目前,肠道微生物在 ASD 中的作用及相关应用仍然需要进一步的研究和探索。首先,未来的研究可以深入探究肠道微生物与 ASD 之间的关系,包括菌群结构、代谢物等方面,进一步解析其作用机制。其次,未来有待开展更多大样本、多中心、随机双盲的临床研究,为以肠道微生物为靶向的 ASD 治疗方法的有效性和安全性评估

提供更丰富更有效的证据。此外,肠道微生物治疗还可结合行为干预、药物治疗等其他干预手段,探索多种方法联合治疗 ASD 的可能性,提高 ASD 患者的生活质量。

## REFERENCES

- [1] JOHNSON CP, MYERS SM, American Academy of Pediatrics Council on Children with Disabilities. Identification and evaluation of children with autism spectrum disorders[J]. *Pediatrics*, 2007, 120(5): 1183-1215.
- [2] LAI MC, LOMBARDO MV, BARON-COHEN S. Autism[J]. *Lancet*, 2014, 383(9920): 896-910.
- [3] CHASTE P, LEBoyer M. Autism risk factors: genes, environment, and gene-environment interactions[J]. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 2012, 14(3): 281-292.
- [4] ZEIDAN JN, FOMBONNE E, SCORAH J, IBRAHIM A, DURKIN MS, SAXENA S, YUSUF A, SHIH A, ELSABBAGH M. Global prevalence of autism: a systematic review update[J]. *Autism Research: Official Journal of the International Society for Autism Research*, 2022, 15(5): 778-790.
- [5] WANG JY, MA B, WANG JJ, ZHANG ZY, CHEN O. Global prevalence of autism spectrum disorder and its gastrointestinal symptoms: a systematic review and meta-analysis[J]. *Frontiers in Psychiatry*, 2022, 13: 963102.
- [6] Autism spectrum disorder in under 19s: support and management[M]. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE), 2021.
- [7] CRYAN JF, O'RIORDAN KJ, SANDHU K, PETERSON V, DINAN TG. The gut microbiome in neurological disorders[J]. *The Lancet Neurology*, 2020, 19(2): 179-194.
- [8] ALHARTHI A, ALHAZMI S, ALBURAE N, BAHIELDIN A. The human gut microbiome as a potential factor in autism spectrum disorder[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(3): 1363.
- [9] NAVARRO F, LIU YY, RHOADS JM. Can probiotics benefit children with autism spectrum disorders?[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2016, 22(46): 10093-10102.

- [10] KANG DW, ADAMS JB, GREGORY AC, BORODY T, CHITTICK L, FASANO A, KHORUTS A, GEIS E, MALDONADO J, MCDONOUGH-MEANS S, POLLARD EL, ROUX S, SADOWSKY MJ, LIPSON KS, SULLIVAN MB, CAPORASO JG, KRAJMALNIK-BROWN R. Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study[J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 10.
- [11] SETTANNI CR, BIBBÒ S, IANIRO G, RINNINELLA E, CINTONI M, MELE MC, CAMMAROTA G, GASBARRINI A. Gastrointestinal involvement of autism spectrum disorder: focus on gut microbiota[J]. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 2021, 15(6): 599-622.
- [12] HOU KJ, WU ZX, CHEN XY, WANG JQ, ZHANG DY, XIAO CX, ZHU D, KOYA JB, WEI LY, LI JL, CHEN ZS. Microbiota in health and diseases[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2022, 7(1): 135.
- [13] SCHMIDT TSB, RAES J, BORK P. The human gut microbiome: from association to modulation[J]. *Cell*, 2018, 172(6): 1198-1215.
- [14] CHEN RP, ZHU D, YANG R, WU ZZ, XU NN, CHEN FW, ZHANG S, CHEN H, LI M, HOU KJ. Gut microbiota diversity in middle-aged and elderly patients with end-stage diabetic kidney disease[J]. *Annals of Translational Medicine*, 2022, 10(13): 750.
- [15] ADAK A, KHAN MR. An insight into gut microbiota and its functionalities[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2019, 76(3): 473-493.
- [16] ADAMS JB, JOHANSEN LJ, POWELL LD, QUIG D, RUBIN RA. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism - comparisons to typical children and correlation with autism severity[J]. *BMC Gastroenterology*, 2011, 11: 22.
- [17] KREIDER CM, MBURU S, DIZDAREVIC S, GARVAN G, ELDER JH. Exploration of relationships among clinical gastrointestinal indicators and social and sensory symptom severity in children with autism spectrum disorder[J]. *Pediatric Reports*, 2021, 13(4): 594-604.
- [18] SHARON G, CRUZ NJ, KANG DW, GANDAL MJ, WANG B, KIM YM, ZINK EM, CASEY CP, TAYLOR BC, LANE CJ, BRAMER LM, ISERN NG, HOYT DW, NOECKER C, SWEREDOSKI MJ, MORADIAN A, BORENSTEIN E, JANSSON JK, KNIGHT R, METZ TO, et al. Human gut microbiota from autism spectrum disorder promote behavioral symptoms in mice[J]. *Cell*, 2019, 177(6): 1600-1618.e17.
- [19] FATTORUSSO A, Di GENOVA L, Dell'ISOLA GB, MENCARONI E, ESPOSITO S. Autism spectrum disorders and the gut microbiota[J]. *Nutrients*, 2019, 11(3): 521.
- [20] de ANGELIS M, FRANCAVILLA R, PICCOLO M, de GIACOMO A, GOBBETTI M. Autism spectrum disorders and intestinal microbiota[J]. *Gut Microbes*, 2015, 6(3): 207-213.
- [21] KORTENIEMI J, KARLSSON L, AATSINKI A. Systematic review: Autism spectrum disorder and the gut microbiota[J]. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 2023, 148(3): 242-254.
- [22] LIU FT, LI J, WU F, ZHENG HM, PENG QL, ZHOU HW. Altered composition and function of intestinal microbiota in autism spectrum disorders: a systematic review[J]. *Translational Psychiatry*, 2019(1), 9: 43.
- [23] HO LKH, TONG VJW, SYN N, NAGARAJAN N, THAM EH, TAY SK, SHOREY S, TAMBYAH PA, LAW ECN. Gut microbiota changes in children with autism spectrum disorder: a systematic review[J]. *Gut Pathogens*, 2020, 12: 6.
- [24] DAN Z, MAO XH, LIU QS, GUO MC, ZHUANG YY, LIU Z, CHEN K, CHEN JY, XU R, TANG JM, QIN LH, GU B, LIU KJ, SU C, ZHANG FM, XIA YK, HU ZB, LIU XY. Altered gut microbial profile is associated with abnormal metabolism activity of Autism Spectrum Disorder[J]. *Gut Microbes*, 2020, 11(5): 1246-1267.
- [25] WAN YT, ZUO T, XU ZL, ZHANG F, ZHAN H, CHAN D, LEUNG TF, YEOH YK, CHAN FKL, CHAN R, NG SC. Underdevelopment of the gut microbiota and bacteria species as non-invasive markers of prediction in children with autism spectrum disorder[J]. *Gut*, 2022, 71(5): 910-918.
- [26] STRATI F, CAVALIERI D, ALBANESE D, de FELICE C, DONATI C, HAYEK J, JOUSSON O, LEONCINI S, RENZI D, CALABRÒ A, de FILIPPO C. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders[J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 24.
- [27] CORETTI L, PAPARO L, RICCIO MP, AMATO F, CUOMO M, NATALE A, BORRELLI L, CORRADO G, COMEGNA M, BUOMMINO E, CASTALDO G, BRAVACCIO C, CHIARIOTTI L, BERNI CANANI R, LEMBO F. Gut microbiota features in young children with autism spectrum disorders[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 3146.
- [28] IGLESIAS-VÁZQUEZ L, van GINKEL RIBA G, ARIJA V, CANALS J. Composition of gut microbiota in

- children with autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis[J]. *Nutrients*, 2020, 12(3): 792.
- [29] ZOU R, WANG YZ, DUAN MM, GUO M, ZHANG Q, ZHENG HJ. Dysbiosis of gut fungal microbiota in children with autism spectrum disorders[J]. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2021, 51(1): 267-275.
- [30] QU AN, DUAN BY, WANG Y, CUI ZZ, ZHANG NC, WU D. Children with autism show differences in the gut DNA virome compared to non-autistic children: a case control study[J]. *BMC Pediatrics*, 2023, 23(1): 174.
- [31] 梁晶晶, 马冰洁, 静进. 微生物-肠-脑轴在孤独症谱系障碍中作用的研究进展[J]. *教育生物学杂志*, 2020, 8(1): 74-78.
- LIANG JJ, MA BJ, JING J. Advances in roles of microbiota-gut-brain axis in autism spectrum disorder[J]. *Journal of Bio-Education*, 2020, 8(1): 74-78 (in Chinese).
- [32] 张艺, 许宁宁, 彭子翀, 陈容平. 粪菌移植通过微生物-肠-脑轴改善抑郁症的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2022, 49(2): 756-768.
- ZHANG Y, XU NN, PENG ZC, CHEN RP. Fecal microbiota transplantation to improve depression by modulating microbiota-gut-brain axis: a review[J]. *Microbiology China*, 2022, 49(2): 756-768 (in Chinese).
- [33] CHERNIKOVA MA, FLORES GD, KILROY E, LABUS JS, MAYER EA, AZIZ-ZADEH L. The brain-gut-microbiome system: pathways and implications for autism spectrum disorder[J]. *Nutrients*, 2021, 13(12): 4497.
- [34] SOCAŁA K, DOBOSZEWSKA U, SZOPA A, SEREFKO A, WŁODARCZYK M, ZIELIŃSKA A, POLESZAK E, FICHNA J, WLAŻ P. The role of microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric and neurological disorders[J]. *Pharmacological Research*, 2021, 172: 105840.
- [35] WANG Y, KASPER LH. The role of microbiome in central nervous system disorders[J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2014, 38: 1-12.
- [36] AGIRMAN G, HSIAO EY. SnapShot: the microbiota-gut-brain axis[J]. *Cell*, 2021, 184(9): 2524-2524.e1.
- [37] YU Y, ZHAO FQ. Microbiota-gut-brain axis in autism spectrum disorder[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2021, 48(9): 755-762.
- [38] KRANEVELD AD, SZKLANY K, de THEIJE CGM, GARSSSEN J. Gut-to-brain axis in autism spectrum disorders: central role for the microbiome[J]. *International Review of Neurobiology*, 2016, 131: 263-287.
- [39] MORAIS LH, SCHREIBER HL, MAZMANIAN SK. The gut microbiota-brain axis in behaviour and brain disorders[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(4): 241-255.
- [40] GENEROSO JS, GIRIDHARAN VV, LEE J, MACEDO D, BARICHELLO T. The role of the microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric disorders[J]. *Revista Brasileira De Psiquiatria*, 2021, 43(3): 293-305.
- [41] BRAVO JA, FORSYTHE P, CHEW MV, ESCARAVAGE E, SAVIGNAC HM, DINAN TG, BIENENSTOCK J, CRYAN JF. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(38): 16050-16055.
- [42] SGRITTA M, DOOLING SW, BUFFINGTON SA, MOMIN EN, FRANCIS MB, BRITTON RA, COSTA-MATTIOLI M. Mechanisms underlying microbial-mediated changes in social behavior in mouse models of autism spectrum disorder[J]. *Neuron*, 2019, 101(2): 246-259.e6.
- [43] DOOLING SW, SGRITTA M, WANG IC, DUQUE ALRF, COSTA-MATTIOLI M. The effect of *Limosilactobacillus reuteri* on social behavior is independent of the adaptive immune system[J]. *mSystems*, 2022, 7(6): e0035822.
- [44] ROBINSON-AGRAMONTE MLA, NORIS GARCÍA E, FRAGA GUERRA J, VEGA HURTADO Y, ANTONUCCI N, SEMPRÚN-HERNÁNDEZ N, SCHULTZ S, SINISCALCO D. Immune dysregulation in autism spectrum disorder: what do we know about it?[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(6): 3033.
- [45] LERNER A, NEIDHÖFER S, MATTHIAS T. The gut microbiome feelings of the brain: a perspective for non-microbiologists[J]. *Microorganisms*, 2017, 5(4): 66.
- [46] COURTY DL, ASHWOOD P, FASANO A, FUCHS G, GERAGHTY M, KAUL A, MAWE G, PATTERSON P, JONES NE. Gastrointestinal conditions in children with autism spectrum disorder: developing a research agenda[J]. *Pediatrics*, 2012, 130(Suppl 2): S160-S168.
- [47] HSIAO EY, McBRIDE SW, HSIEN S, SHARON G, HYDE ER, McCUE T, CODELLI JA, CHOW J, REISMAN SE, PETROSINO JF, PATTERSON PH,

- MAZMANIAN SK. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders[J]. *Cell*, 2013, 155(7): 1451-1463.
- [48] VIGGIANO D, IANIRO G, VANELLA G, BIBBÒ S, BRUNO G, SIMEONE G, MELE G. Gut barrier in health and disease: focus on childhood[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2015, 19(6): 1077-1085.
- [49] ASHWOOD P, KRAKOWIAK P, HERTZ-PICCIOTTO I, HANSEN R, PESSAH I, van de WATER J. Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome[J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2011, 25(1): 40-45.
- [50] ONORE C, CAREAGA M, ASHWOOD P. The role of immune dysfunction in the pathophysiology of autism[J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2012, 26(3): 383-392.
- [51] CABANLIT M, WILLS S, GOINES P, ASHWOOD P, van de WATER J. Brain-specific autoantibodies in the plasma of subjects with autistic spectrum disorder[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2007, 1107: 92-103.
- [52] LIAO XL, LIU YT, FU X, LI YM. Postmortem studies of neuroinflammation in autism spectrum disorder: a systematic review[J]. *Molecular Neurobiology*, 2020, 57(8): 3424-3438.
- [53] DIAZ HEIJTZ R, WANG SG, ANUAR F, QIAN Y, BJÖRKHOLM B, SAMUELSSON A, HIBBERD ML, FORSSBERG H, PETTERSSON S. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(7): 3047-3052.
- [54] DAVOLI-FERREIRA M, THOMSON CA, McCOY KD. Microbiota and microglia interactions in ASD[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 676255.
- [55] YANO JM, YU K, DONALDSON GP, SHASTRI GG, ANN P, MA L, NAGLER CR, ISMAGILOV RF, MAZMANIAN SK, HSIAO EY. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis[J]. *Cell*, 2015, 161(2): 264-276.
- [56] SPOHN SN, MAWE GM. Non-conventional features of peripheral serotonin signalling - the gut and beyond[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2017, 14: 412-420.
- [57] LASHERAS I, SERAL P, LATORRE E, BARROSO E, GRACIA-GARCÍA P, SANTABÁRBARA J. Microbiota and gut-brain axis dysfunction in autism spectrum disorder: evidence for functional gastrointestinal disorders[J]. *Asian Journal of Psychiatry*, 2020, 47: 101874.
- [58] SRIKANTHA P, MOHAJERI MH. The possible role of the microbiota-gut-brain-axis in autism spectrum disorder[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(9): 2115.
- [59] MEHRA A, ARORA G, SAHNI G, KAUR M, SINGH H, SINGH B, KAUR S. Gut microbiota and Autism Spectrum Disorder: from pathogenesis to potential therapeutic perspectives[J]. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 2023, 13(2): 135-149.
- [60] PURICELLI C, ROLLA R, GIGLIOTTI L, BOGGIO E, BELTRAMI E, DIANZANI U, KELLER R. The gut-brain-immune axis in autism spectrum disorders: a state-of-art report[J]. *Frontiers in Psychiatry*, 2022, 12: 755171.
- [61] CRYAN JF, DINAN TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour[J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2012, 13: 701-712.
- [62] 叶晨, 陈启仪, 李宁, 秦环龙. 肠道微生态与自闭症研究进展[J]. *生命科学*, 2020, 32(8): 807-815.
- YE C, CHEN QY, LI N, QIN HL. Advances in intestinal microecology and autism[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2020, 32(8): 807-815 (in Chinese).
- [63] CARABOTTI M, SCIROCCO A, MASELLI MA, SEVERI C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems[J]. *Annals of Gastroenterology*, 2015, 28(2): 203-209.
- [64] WANG XY, SUN ZJ, YANG T, LIN F, YE SS, YAN JY, LI TY, CHEN J. Sodium butyrate facilitates CRHR2 expression to alleviate HPA axis hyperactivity in autism-like rats induced by prenatal lipopolysaccharides through histone deacetylase inhibition[J]. *mSystems*, 2023, 8(4): e0041523.
- [65] GRIMALDI R, CELA D, SWANN JR, VULEVIC J, GIBSON GR, TZORTZIS G, COSTABILE A. *In vitro* fermentation of B-GOS: impact on faecal bacterial populations and metabolic activity in autistic and non-autistic children[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2017, 93(2): f1w233.
- [66] ALHUSAINI A, SARAWI W, MATTAR D, ABO-HAMAD A, ALMOGREN R, ALHUMAIDAN S, ALSULTAN E, ALSAIF S, HASAN I, HASSANEIN E, MAHMOUD A. Acetyl-L-carnitine and/or liposomal co-enzyme Q10 prevent propionic acid-induced

- neurotoxicity by modulating oxidative tissue injury, inflammation, and ALDH1A1-RA-RAR $\alpha$  signaling in rats[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2022, 153: 113360.
- [67] THOMAS RH, MEEKING MM, MEPHAM JR, TICHENOFF L, POSSMAYER F, LIU SY, MacFABE DF. The enteric bacterial metabolite propionic acid alters brain and plasma phospholipid molecular species: further development of a rodent model of autism spectrum disorders[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2012, 9: 153.
- [68] MACFABE DF. Short-chain fatty acid fermentation products of the gut microbiome: implications in autism spectrum disorders[J]. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 2012, 23: 23.
- [69] ROSE S, BENNURI SC, DAVIS JE, WYNNE R, SLATTERY JC, TIPPETT M, DELHEY L, MELNYK S, KAHLER SG, MacFABE DF, FRYE RE. Butyrate enhances mitochondrial function during oxidative stress in cell lines from boys with autism[J]. *Translational Psychiatry*, 2018, 8(1): 42.
- [70] HUANG H, LIU JQ, YU Y, MO LH, GE RT, ZHANG HP, LIU ZG, ZHENG PY, YANG PC. Regulation of TWIK-related potassium channel-1 (Trek1) restitutes intestinal epithelial barrier function[J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2016, 13(1): 110-118.
- [71] CHANG PV, HAO LM, OFFERMANN S, MEDZHITOV R. The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(6): 2247-2252.
- [72] BRANISTE V, AL-ASMAKH M, KOWAL C, ANUAR F, ABBASPOUR A, TÓTH M, KORECKA A, BAKOCEVIC N, NG LG, KUNDU P, GULYÁS B, HALLDIN C, HULTENBY K, NILSSON H, HEBERT H, VOLPE BT, DIAMOND B, PETTERSSON S. The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice[J]. *Science Translational Medicine*, 2014, 6(263): 263ra158.
- [73] LIU SM, LI EY, SUN ZY, FU DJ, DUAN GQ, JIANG MM, YU Y, MEI L, YANG PC, TANG YC, ZHENG PY. Altered gut microbiota and short chain fatty acids in Chinese children with autism spectrum disorder[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 287.
- [74] BERMUDEZ-MARTIN P, BECKER JAJ, CAMELLO N, FERNANDEZ SP, COSTA-CAMPOS R, CANAGUIER J, BARBOSA S, MARTINEZ-GILI L, MYRIDAKIS A, DUMAS ME, BRUNEAU A, CHERBUY C, LANGELLA P, CALLEBERT J, LAUNAY JM, CHABRY J, BARIK J, Le MERRER J, GLAICHENHAUS N, DAVIDOVIC L. The microbial metabolite p-cresol induces autistic-like behaviors in mice by remodeling the gut microbiota[J]. *Microbiome*, 2021, 9(1): 157.
- [75] PERSICO AM, NAPOLIONI V. Urinary p-cresol in autism spectrum disorder[J]. *Neurotoxicology and Teratology*, 2013, 36: 82-90.
- [76] ALABDALI A, AL-AYADHI L, EL-ANSARY A. Association of social and cognitive impairment and biomarkers in autism spectrum disorders[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2014, 11: 4.
- [77] ROMAN P, RUEDA-RUZAF A, CARDONA D, CORTES-RODRÍGUEZ A. Gut-brain axis in the executive function of autism spectrum disorder[J]. *Behavioural Pharmacology*, 2018, 29(7): 654-663.
- [78] NOTO A, FANOS V, BARBERINI L, GRAPOV D, FATTUONI C, ZAFFANELLO M, CASANOVA A, FENU G, de GIACOMO A, de ANGELIS M, MORETTI C, PAPOFF P, DITONNO R, FRANCAVILLA R. The urinary metabolomics profile of an Italian autistic children population and their unaffected siblings[J]. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 2014, 27(Suppl 2): 46-52.
- [79] SHERWIN E, DINAN TG, CRYAN JF. Recent developments in understanding the role of the gut microbiota in brain health and disease[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2018, 1420(1): 5-25.
- [80] ROTHHAMMER V, MASCANFRONI ID, BUNSE L, TAKENAKA MC, KENISON JE, MAYO L, CHAO CC, PATEL B, YAN R, BLAIN M, ALVAREZ JI, KÉBIR H, ANANDASABAPATHY N, IZQUIERDO G, JUNG S, OBHOLZER N, POCHET N, CLISH CB, PRINZ M, PRAT A, ANTEL J, et al. Type I interferons and microbial metabolites of tryptophan modulate astrocyte activity and central nervous system inflammation via the aryl hydrocarbon receptor[J]. *Nature Medicine*, 2016, 22: 586-597.
- [81] JOHNSON D, LETCHUMANAN V, THURAIRAJASINGAM S, LEE LH. A revolutionizing approach to autism spectrum disorder using the microbiome[J]. *Nutrients*, 2020, 12(7): 1983.
- [82] HILL C, GUARNER F, REID G, GIBSON GR, MERENSTEIN DJ, POT B, MORELLI L, CANANI RB, FLINT HJ, SALMINEN S, CALDER PC, SANDERS



- ME. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic[J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2014, 11: 506-514.
- [83] MITRA S, DASH R, AL NISHAN A, HABIBA SU, MOON IS. Brain modulation by the gut microbiota: from disease to therapy[J]. Journal of Advanced Research, 2023, 53: 153-173.
- [84] 李玉勤, 孙映红, 梁亚鹏, 周凡, 杨洁, 金胜利. 益生菌联合应用行为分析法治疗儿童孤独症谱系障碍的前瞻性随机对照研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2021, 23(11): 1103-1110.
- LI YQ, SUN YH, LIANG YP, ZHOU F, YANG J, JIN SL. Effect of probiotics combined with applied behavior analysis in the treatment of children with autism spectrum disorder: a prospective randomized controlled trial[J]. Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2021, 23(11): 1103-1110 (in Chinese).
- [85] WANG Y, LI N, YANG JJ, ZHAO DM, CHEN B, ZHANG GQ, CHEN S, CAO RF, YU H, ZHAO CY, ZHAO L, GE YS, LIU Y, ZHANG LH, HU W, ZHANG L, GAI ZT. Probiotics and fructo-oligosaccharide intervention modulate the microbiota-gut brain axis to improve autism spectrum reducing also the hyper-serotonergic state and the dopamine metabolism disorder[J]. Pharmacological Research, 2020, 157: 104784.
- [86] MENSİ MM, ROGANTINI C, MARCHESI M, BORGATTI R, CHIAPPEDI M. *Lactobacillus plantarum* PS128 and other probiotics in children and adolescents with autism spectrum disorder: a real-world experience[J]. Nutrients, 2021, 13(6): 2036.
- [87] NIU MM, LI QR, ZHANG JS, WEN F, DANG WL, DUAN GQ, LI HF, RUAN WC, YANG PR, GUAN CR, TIAN HL, GAO XQ, ZHANG SB, YUAN FF, HAN Y. Characterization of intestinal microbiota and probiotics treatment in children with autism spectrum disorders in China[J]. Frontiers in Neurology, 2019, 10: 1084.
- [88] SHAABAN SY, EL GENDY YG, MEHANNA NS, EL-SENOUSY WM, EL-FEKI HSA, SAAD K, EL-ASHEER OM. The role of probiotics in children with autism spectrum disorder: a prospective, open-label study[J]. Nutritional Neuroscience, 2018, 21(9): 676-681.
- [89] SANTOCCHI E, GUIDUCCI L, PROSPERI M, CALDERONI S, GAGGINI M, APICELLA F, TANCREDI R, BILLECI L, MASTROMARINO P, GROSSI E, GASTALDELLI A, MORALES MA, MURATORI F. Effects of probiotic supplementation on gastrointestinal, sensory and core symptoms in autism spectrum disorders: a randomized controlled trial[J]. Frontiers in Psychiatry, 2020, 11: 550593.
- [90] PARRACHO HMRT, GIBSON GR, KNOTT F, BOSSCHER D, KLEEREBEZEM M, McCARTNEY AL. A double-blind, placebo-controlled, crossover-designed probiotic feeding study in children diagnosed with autistic spectrum disorders[J]. International Journal of Probiotics & Prebiotics, 2010, 5(2): 69-74.
- [91] LIU J, WAN GB, HUANG MS, AGYAPONG G, ZOU TL, ZHANG XY, LIU YW, SONG YQ, TSAI YC, KONG XJ. Probiotic therapy for treating behavioral and gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder: a systematic review of clinical trials[J]. Current Medical Science, 2019, 39(2): 173-184.
- [92] HE X, LIU WX, TANG FR, CHEN X, SONG GR. Effects of probiotics on autism spectrum disorder in children: a systematic review and meta-analysis of clinical trials[J]. Nutrients, 2023, 15(6): 1415.
- [93] MINTÁL K, TÓTH A, HORMAY E, KOVÁCS A, LÁSZLÓ K, BUFA A, MAROSVÖLGYI T, KOCSIS B, VARGA A, VIZVÁRI Z, CSERJÉSI R, PÉCZELY L, OLLMANN T, LÉNÁRD L, KARÁDI Z. Novel probiotic treatment of autism spectrum disorder associated social behavioral symptoms in two rodent models[J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 5399.
- [94] NETTLETON JE, KLANCIC T, SCHICK A, CHOO AC, CHENG N, SHEARER J, BORGLAND SL, RHO JM, REIMER RA. Prebiotic, probiotic, and synbiotic consumption alter behavioral variables and intestinal permeability and microbiota in BTBR mice[J]. Microorganisms, 2021, 9(9): 1833.
- [95] HE LN, CHEN RP, ZHANG BZ, ZHANG S, KHAN BA, ZHU D, WU ZZ, XIAO CX, CHEN BL, CHEN FW, HOU KJ. Fecal microbiota transplantation treatment of autoimmune-mediated type 1 diabetes mellitus[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 930872.
- [96] ZHANG FM, CUI BT, HE XX, NIE YQ, WU KC, FAN DM, FMT-standardization Study Group. Microbiota transplantation: concept, methodology and strategy for its modernization[J]. Protein & Cell, 2018, 9(5): 462-473.
- [97] ANTUSHEVICH H. Fecal microbiota transplantation in disease therapy[J]. Clinica Chimica Acta, 2020, 503:

- 90-98.
- [98] DOSSAJI Z, KHATTAK A, TUN KM, HSU M, BATRA K, HONG AS. Efficacy of fecal microbiota transplant on behavioral and gastrointestinal symptoms in pediatric autism: a systematic review[J]. *Microorganisms*, 2023, 11(3): 806.
- [99] ZHANG J, ZHU G, WAN L, LIANG Y, LIU XT, YAN HM, ZHANG B, YANG G. Effect of fecal microbiota transplantation in children with autism spectrum disorder: a systematic review[J]. *Frontiers in Psychiatry*, 2023, 14: 1123658.
- [100] CHEN KN, FU YS, WANG YL, LIAO LX, XU HZ, ZHANG AH, ZHANG JN, FAN LN, REN JL, FANG BS. Therapeutic effects of the *in vitro* cultured human gut microbiota as transplants on altering gut microbiota and improving symptoms associated with autism spectrum disorder[J]. *Microbial Ecology*, 2020, 80(2): 475-486.
- [101] KANG DW, ADAMS JB, COLEMAN DM, POLLARD EL, MALDONADO J, MCDONOUGH-MEANS S, CAPORASO JG, KRAJMALNIK-BROWN R. Long-term benefit of Microbiota Transfer Therapy on autism symptoms and gut microbiota[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 5821.
- [102] LI N, CHEN HY, CHENG Y, XU FH, RUAN GC, YING SH, TANG W, CHEN L, CHEN MJ, LV LL, PING Y, CHEN DF, WEI YL. Fecal microbiota transplantation relieves gastrointestinal and autism symptoms by improving the gut microbiota in an open-label study[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11: 759435.
- [103] ZHANG T, LU GC, ZHAO Z, LIU YF, SHEN Q, LI P, CHEN YY, YIN HR, WANG HQ, MARCELLA C, CUI BT, CHENG L, JI GZ, ZHANG FM. Washed microbiota transplantation vs. manual fecal microbiota transplantation: clinical findings, animal studies and *in vitro* screening[J]. *Protein & Cell*, 2020, 11(4): 251-266.
- [104] ZHANG YT, ZHANG J, PAN ZY, HE XX. Effects of washed fecal bacteria transplantation in sleep quality, stool features and autism symptomatology: a Chinese preliminary observational study[J]. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2022, 18: 1165-1173.
- [105] PAN ZY, ZHONG HJ, HUANG DN, WU LH, HE XX. Beneficial effects of repeated washed microbiota transplantation in children with autism[J]. *Frontiers in Pediatrics*, 2022, 10: 928785.
- [106] KANG DW, ADAMS JB, VARGASON T, SANTIAGO M, HAHN J, KRAJMALNIK-BROWN R. Distinct fecal and plasma metabolites in children with autism spectrum disorders and their modulation after microbiota transfer therapy[J]. *mSphere*, 2020, 5(5): e00314-e00320.
- [107] QURESHI F, ADAMS J, HANAGAN K, KANG DW, KRAJMALNIK-BROWN R, HAHN J. Multivariate analysis of fecal metabolites from children with autism spectrum disorder and gastrointestinal symptoms before and after microbiota transfer therapy[J]. *Journal of Personalized Medicine*, 2020, 10(4): 152.
- [108] SIVAMARUTHI BS, SUGANTHY N, KESIKA P, CHAIYASUT C. The role of microbiome, dietary supplements, and probiotics in autism spectrum disorder[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020, 17(8): 2647.
- [109] RISTORI MV, QUAGLIARIELLO A, REDDEL S, IANIRO G, VICARI S, GASBARRINI A, PUTIGNANI L. Autism, gastrointestinal symptoms and modulation of gut microbiota by nutritional interventions[J]. *Nutrients*, 2019, 11(11): 2812.
- [110] BASPINAR B, YARDIMCI H. Gluten-free casein-free diet for autism spectrum disorders: can it be effective in solving behavioural and gastrointestinal problems?[J]. *The Eurasian Journal of Medicine*, 2020, 52(3): 292-297.
- [111] KELLER A, RIMESTAD ML, FRIIS ROHDE J, HOLM PETERSEN B, BRUUN KORFITSSEN C, TARP S, BRICIET LAURITSEN M, HÄNDEL MN. The effect of a combined gluten- and casein-free diet on children and adolescents with autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis[J]. *Nutrients*, 2021, 13(2): 470.