

DOI: 10.13376/j.cblls/2020101

文章编号: 1004-0374(2020)08-0807-09

肠道微生物与自闭症研究进展

叶 晨, 陈启仪, 李 宁*, 秦环龙

(同济大学附属第十人民医院结直肠病专科, 上海 200072)

摘 要: 自闭症是一种弥漫性中枢神经系统发育障碍性疾病, 目前缺少特效的治疗手段, 给社会和家庭带来沉重的负担。许多自闭症患儿合并有消化系统症状, 且与肠道微生态紊乱密切相关。给予肠道微生态干预后, 自闭症患儿消化系统症状得到改善, 同时沟通和社交能力也能得到提高, 因此脑-肠-菌轴在自闭症的发生发展过程中可能起到重要作用。目前有许多动物和临床研究证实益生元、益生菌及粪菌移植等生物干预方法对自闭症治疗的安全性和有效性, 但仍缺乏更高级别临床证据进一步证实其疗效。

关键词: 自闭症; 肠道微生态; 脑-肠-菌轴; 粪菌移植

中图分类号: Q983; R574; R749 **文献标志码:** A

Advances in intestinal microecology and autism

YE Chen, CHEN Qi-Yi, LI Ning*, QIN Huan-Long

(Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China)

Abstract: The autism is a kind of diffuse disorder of the central nervous system. Specific biochemical diagnostic indicators and therapeutic means are lacking, bringing families and the society heavy burden. Many children with autism have digestive symptoms, which are closely related to intestinal microecology disorder. After the intervention of intestinal microecology, the digestive symptoms, communication and social skills of some children with autism were improved. Therefore, the brain-gut-microbiota axis may play an important role in the development of autism. Nowadays, more and more animal and clinical studies have confirmed the safety and effectiveness of biological intervention methods such as prebiotics, probiotics and fecal microbiota transplantation in the treatment of autism, but there is still a lack of high-level clinical evidence to further confirm their effectiveness.

Key words: autism; intestinal microecology; brain-gut-microbiota axis; fecal microbiota transplantation

自闭症 (autism 或 autistic disorder), 也称孤独症, 是一种弥漫性中枢神经系统发育障碍性疾病^[1-2], 与阿斯伯格综合征 (Asperger syndrome)、童年瓦解性障碍 (childhood disintegrative disorder) 及其他待分类的广泛发育障碍 (pervasive developmental disorder not otherwise specified, PDDNOS) 等疾病统称为自闭症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD)^[1]。ASD 病因未明, 可能与母孕期及围生期不良因素、遗传因素、环境因素等有关^[3]。母孕期宫腔感染、孕期并发症及围生期不良因素等会增加 ASD 发病风险, 几十年来大家都认为胎儿出生时肠道内是无菌的, 但最近研究的健康婴儿胎粪样本及胎盘表明, 胎儿

在子宫内就已经暴露于母体细菌之中^[4]。ASD 的遗传学因素主要是基因突变和染色体异常, 包括点突变、基因拷贝数变异、连锁区域和 microRNAs 等, 而环境因素主要包括汞、铅等重金属污染和农药、添加剂、防腐剂、杀虫剂等化学工业品对人体的损害。ASD 起病于婴幼儿期, 以男性多见, 主要表现为不同程度的言语发育障碍、社交障碍、兴趣范围狭窄和行为方式重复刻板^[5]。约有 75% 的患者伴有明显的精神发育迟滞, 部分患儿在一般性智力落后

收稿日期: 2020-02-13; 修回日期: 2020-03-16

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81670493)

*通信作者: E-mail: liningr@sina.vip.com

的情况下具有某方面较为突出的能力。成年后, 患儿仍缺乏交往的兴趣和社交的技能, 不能建立恋爱关系和结婚。我国儿童 ASD 平均患病率达 1%, 0~14 岁的儿童患者达 300 余万, 且每年新增约 20 万, 其中男性是女性的 4~5 倍^[6]。ASD 目前缺少特异性生化诊断指标和特效的治疗手段, 需要在家庭、特殊教育学校及医疗机构中接受美术和音乐的教育训练、语言康复训练、游戏和书法心理治疗以及精神药物治疗等综合治疗^[7], 但目前疗效欠佳, 给社会和患儿家庭带来沉重的负担。

研究发现, 9%~91% 的 ASD 患者有消化系统相关症状, 包括腹胀、腹泻、便秘、嗝气以及大便异常恶臭等^[8-9]。这些患者可具有食管炎、胃炎、小肠结肠炎、双糖酶活性不足、淋巴细胞种群密度升高等病症, 其中约 1/2 伴有腹泻和便秘^[9], 他们也更容易出现烦躁、焦虑、社交退缩等问题, 而在改善了胃肠道症状后, ASD 患者病情的严重程度可有所减轻^[10]。近几年, 许多研究表明, 消化道菌群紊乱与 ASD 的发生具有一定的相关性, 并且益生菌及粪菌移植 (fecal microbiota transplantation, FMT) 等生物干预治疗对 ASD 的治疗有一定效果^[11-13], 本文综述近些年肠道微生态与 ASD 之间的相关因素与治疗方法, 以期对进一步开展相关研究提供参考。

1 自闭症人群肠道微生态变化特征

人体具有呼吸道、消化道、泌尿生殖道以及体表在内的 4 个微生态系统。其中胃肠道的细菌种类繁多、数目巨大, 占机体微生物总量的 78%。人体肠道栖息着约 10^{14} 个细菌, 是人体细胞总数的 10~20 倍, 编码的基因数量是人体自身的 300 多倍, 被称为人体的第二基因组。成人每克大便的细菌数量可以达到 10^{12} 个, 可直接反应机体肠道菌群的构成情况^[14]。按照与宿主关系, 肠道菌群主要包括: 与宿主共生的生理性细菌、与宿主共生的条件致病菌以及致病菌。依据对氧气的需求, 肠道菌群则可以分为专性厌氧菌、兼性厌氧菌以及需氧菌。肠道菌群以厌氧菌居多, 共生菌一般都是专性厌氧菌。健康成人胃肠道中 70%~90% 为拟杆菌门和厚壁菌门, 其次分别是放线菌门、变形杆菌门和疣微菌门等^[15]。肠道菌群可以通过代谢肠道不消化的膳食纤维来提供人体必要的营养素, 通过竞争营养和产生抗菌产物来抵御条件致病菌。血液中大约 70% 的物质来自于肠道, 其中 36% 的小分子物质由肠道细菌产生。肠道菌群对促进肠屏障和人体适应性免

疫系统的形成至关重要, 肠道菌群与人体免疫系统的合作能够稳定人体生命的内稳态。肠道菌群平衡被破坏时可能会导致人体免疫失调, 产生肠道炎症, 引起肠道细胞通透性增大, 产生肠漏 (gut leakage), 导致大分子物质容易进入肠道, 甚至是菌群易位^[16]。这可能是多种炎症性疾病的基础, 如肠易激综合征和炎症性肠病等, 甚至也可能是某些癌症的发生机制。

1.1 自闭症人群肠道细菌的变化

有关 ASD 与肠道微生物相关的报道, 最早出自于 1998 年一位 ASD 患儿母亲, 该报道指出肠道梭菌属细菌可能是引起迟发性儿童 ASD 的重要原因^[17]。Sandler 等^[10]报道, 口服万古霉素抗肠道梭菌治疗可减轻 ASD 患儿的症状。Finegold 等^[18]研究发现一些迟发型 ASD 患者存在菌群紊乱情况, 这些患者口服抗生素后症状都有所改善。ASD 患者的肠道细菌与健康人群相比, 厚壁菌门和变形杆菌门明显增多, 拟杆菌门相对减少^[19]。过度增长的厚壁菌门细菌主要为梭状芽孢杆菌属^[20], 为正常对照组的 46 倍^[21], 其与神经毒素的产生有关, 所释放的神经毒素通过迷走神经传入中枢神经系统 (central nervous system, CNS), 可抑制神经递质释放, 进而引起 ASD 的相关行为表现^[20]。ASD 患儿粪便中共发现 25 种梭菌属细菌, 其中 9 种不存在于正常人体粪便中, 相应地也缺乏正常人体的 3 种梭菌属细菌。ASD 患儿体内破伤风梭菌浓度异常增高, 它被认为与 ASD 患者的行为紊乱具有密切关系^[18], 溶组织梭菌比例也明显偏高, 它产生的毒素可能导致肠道功能紊乱, 并经血液循环透过血脑屏障而影响大脑功能^[22]。因此, 当 ASD 患儿口服以针对梭状芽孢杆菌为主的万古霉素后, 其胃肠道症状改善, 沟通和社交能力也能得到提高, 而在停用后又出现复发, 可能是由于部分芽孢杆菌的孢子难以被消灭所致^[17]。

拟杆菌门参与调节肠黏膜细胞完整性, ASD 患者肠道中拟杆菌门的减少, 尤其是普雷沃菌属, 会增加肠道通透性和肠漏, 引起肠炎和异常行为^[23]。瘤胃球菌属、乳酸菌属和脱硫弧菌属的种类出现增多^[23-24], 其中脱硫弧菌属的丰度与 ASD 的严重程度呈正相关, 脱硫弧菌属可通过影响 ASD 患者体内硫代谢过程而致病^[23]。有相当数量的不产孢子的厌氧菌和微量需氧细菌也只存在于 ASD 患者的胃和十二指肠部位。ASD 患者还独有萨特菌属等细菌, 萨特菌属与瘤胃球菌属共同被发现在 ASD 患者粪便中明显增多, 其可抵抗胆碱, 与黏膜代谢有关, 但具体致病机制尚不明确^[25-26]。

1.2 自闭症人群肠道真菌的变化

ASD 患者肠道中的真菌也有异常改变。ASD 患儿可出现念珠菌感染相关症状,主要为白色念珠菌感染引起,可能与患者既往大量使用抗生素有关^[27]。白色念珠菌可代谢产生氨与毒素,降低肠道内碳水化合物和矿物质吸收水平,影响肠道菌群的代谢产物,包括促炎和抗炎物质的生成,引发 ASD 的相关行为。这其中包括一种类似 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 的 β -丙氨酸,它可与 GABA 进行拮抗,影响大脑正常功能。制霉菌素、氟康唑及酮康唑等抗真菌类药物也可在一定程度上改善 ASD 患者症状^[27]。因此,ASD 的发生与肠道菌群结构紊乱之间有重要的关系,ASD 患儿肠道菌群多样性及丰度均低,有害菌过多而有益菌缺少,甚至有正常人体不具有的菌群而缺少应有的菌种,而这与患儿的饮食模式无明显相关性^[28],这也进一步证明肠道菌群紊乱与 ASD 的发生发展关系密切。

1.3 自闭症人群肠道菌群代谢产物的变化

不仅肠道菌群的多样性与丰度在健康和疾病中发挥着重要作用,肠道菌群产生的代谢产物也能影响人体的生命活动,这些代谢产物也被认为是引起 ASD 的可能途径^[29]。菌群的代谢组学,是继基因组学和蛋白质组学之后新近发展起来的一门学科,是系统生物学的重要组成部分。代谢组学主要研究的是作为各种代谢路径的底物和产物的小分子代谢物。基因组学和蛋白质组学分别从基因和蛋白质层面探寻生命的活动,而实际上细胞内许多生命活动是发生在代谢物层面的,如细胞信号释放、能量传递、细胞间通信等都是受代谢物调控的。基因与蛋白质的表达紧密相连,而代谢物则更多地反映了细胞所处的环境,这又与细胞的营养状态、药物和环境污染物的作用,以及其他外界因素的影响密切相关^[30]。通过对 ASD 患儿的尿液、血清和粪便样本的分析,发现肠道菌群异常的人体内会产生异常的代谢产物,包括过量产生的短链脂肪酸 (short chain fatty acids, SCFAs)、对甲基苯酚和氨^[31-32]。丙酸是由胃肠道中与 ASD 相关的肠道细菌,如梭菌、拟杆菌、脱硫弧菌等主要生产的一种 SCFAs,它也是传统食品工业中常用的防腐剂^[33]。经过丙酸处理的大鼠会表现出行为兴趣受限、社会行为和认知功能受损,甚至会诱发先天性神经炎症反应,其他类型的 SCFAs,如乙酸也可引起类似的异常行为^[34]。在 ASD 患者血清中,肉毒碱和丙酮酸的含量也明显降低,因而 SCFAs 影响 ASD 的潜在机制可能是通过

柠檬酸循环和肉碱代谢改变线粒体功能或是 ASD 相关基因的表观遗传学调控^[31]。另一种代谢物对甲基苯酚及其共轭衍生物对甲基苯酚硫酸盐在 8 岁以下 ASD 患儿尿液样本中明显升高,这被认为是 ASD 患儿的生物标志物^[32,35]。人类细胞并不产生对甲基苯酚及其衍生物,尽管当机体暴露在某些环境中时,皮肤、消化和呼吸系统会吸收少量对甲基苯酚,人体内的对甲基苯酚主要是由含有对甲基苯酚合成酶的肠道细菌所产生。肠道或环境来源的对甲基苯酚可能会加重 ASD 精神症状的严重程度和异常的肠道功能,但其中确切机制目前仍知之甚少^[36]。对血清的代谢组学分析也发现,在两组独立的 ASD 患者和对照组之间有 11 种代谢产物完全不同^[37]。不同类型的 ASD 相关代谢产物的研究表明,ASD 患者存在复杂多变的代谢过程,因而目前尚无关于 ASD 代表性的生物标志物。

2 肠道微生态影响自闭症相关机制研究

大量研究已证实,肠道菌群参与中枢神经系统与胃肠道之间的双向活动^[38-40]。胃肠道系统主要受肠神经系统 (enteric nervous system, ENS)、迷走神经、交感神经及副交感神经等协调控制,而 ENS 可独立于 CNS,单独作用于肠道,又被称为“第二脑”^[41]。ENS 和 CNS 联系密切,两者间的信息传递介质包括 5-羟色胺、多巴胺、血管活性肠肽、促肾上腺皮质激素释放因子、脑啡肽、P 物质、胆囊收缩素及一氧化氮等,研究者将内脏与 CNS 联系起来的重要的神经内分泌网络称为脑-肠轴 (brain-gut axis)^[42]。肠道菌群在脑-肠轴之中扮演着十分重要的角色,影响内分泌、免疫、ENS 及 CNS 发育和成熟,组成“脑-肠-菌轴 (brain-gut-microbiota axis)”这一新概念^[40-41]。

2.1 脑-肠-菌轴的作用机制

肠内分泌细胞通过内分泌和旁分泌方式影响 CNS 活动。内分泌方式是肠内分泌细胞释放出神经内分泌物质进入循环系统,并最终作用于下丘脑和其他相关脑区;而旁分泌方式则是神经内分泌物质通过作用于迷走神经进而影响 CNS 的活动。内分泌方式中一个重要组成部分是下丘脑-垂体-肾上腺 (hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA) 轴^[43]。当机体受到应激时,HPA 轴释放皮质醇,皮质醇能够调控肠道中免疫细胞活动和细胞因子的释放,从而影响肠道通透性和肠屏障功能,改变肠道菌群的组成。反过来,肠道菌群也能够调节 HPA 轴活动,对脑活动产生影响。

事实上,肠内分泌细胞是第一个对肠腔内的化学和机械刺激做出反应的部分,肠内分泌细胞的微绒毛上分布着大量机械敏感型离子通道,肠道内容物运动产生的剪切力使这些离子通道去极化从而激活肠内分泌细胞。因此,有学者认为,治疗某些具有神经精神改变,同时伴有胃肠功能异常的疾病时,需要联合神经精神类药物和肠道微生态的综合性治疗以进一步提高疗效^[29]。大脑可以控制神经元、免疫细胞和肠嗜铬细胞释放信号分子影响肠道菌群,也可以调节肠道的运动、酸碱度、黏蛋白和肠液的分泌,维持肠屏障功能和菌群微环境^[43]。大脑还可调控肠道通透性,使一些病原体穿过上皮细胞,形成肠漏,激活肠黏膜的免疫反应,影响肠道菌群的组成和功能。肠道菌群还可以通过产生 SCFAs 等代谢产物调节肠道感觉传入神经和 ENS 的活性,从而对大脑产生影响。中枢神经系统通过在饱食后释放的肽段直接控制肠道菌群的组成,影响营养的吸收。动物研究表明,部分社会应激因素对肠道黏液分泌、菌群组成及数量均有一定影响,大脑功能在调节脑-肠-菌轴信号中也起着重要作用^[44]。

2.2 肠道菌群潜在的作用机制

肠道菌群及其代谢产物的改变可以直接或间接调节相应的免疫和胃肠道疾病,与 ASD 这种神经发育障碍疾病有着极大的潜在相关性。许多流行病学、临床和动物研究都表明母体感染是影响 ASD 症状发展的主要因素^[45]。既往认为胎儿在母体内是无菌环境,但近期研究表明,哺乳动物胎儿在子宫发育过程中,其微生物菌群是动态的、长期存在的^[46]。有关大鼠实验证明,母亲在孕期中长期受到的精神压力会导致肠道微生物群的变化,并对其后代的主要生理系统产生影响^[43]。在阴道分娩时,由母体菌群主导的最初的菌群定植可帮助启动婴儿发育中的免疫系统并调节其免疫稳态^[47]。经阴道分娩的婴儿与经剖宫产的婴儿相比,其肠道内双歧杆菌属、大肠杆菌属、拟杆菌属和类杆菌属明显更多。经阴道分娩的婴儿与母亲的肠道菌群匹配率高达 74.4%,而经剖宫产的婴儿与母亲的肠道菌群匹配率很低^[48]。研究发现,母乳中含有多种共生细菌,是婴儿体内乳酸菌、双歧杆菌等有益菌的重要来源^[49]。因此,婴儿出生时肠道菌群紊乱有可能是因为环境或遗传因素所导致的母体微生态系统失衡。不止于此,许多人类流行病学和动物的研究也表明,母体高脂肪饮食和几种代谢条件的改变均会增加后代患神经发育和行为障碍的风险^[50]。

肠道菌群相关的免疫调节研究显示,约有 60% 的 ASD 患者伴有一定程度的免疫异常症状,包括进行性脑炎、脑脊液和血液中促炎细胞因子升高、脑特异性自身抗体增加以及免疫细胞功能障碍加重等^[51]。ASD 尸检脑标本中观察到的进行性脑神经炎症是由小胶质细胞过度活化、炎症细胞因子和趋化因子产生过多而导致的,其中主要为干扰素- γ 、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、IL-12p40、肿瘤坏死因子- α 和趋化因子 C-C 基序配体 (chemokine C-C motif ligand, CCL)-2 等。在循环系统中,这些炎症细胞因子水平的升高与 ASD 精神和行为症状严重程度呈正相关。ASD 患者趋化因子 CCL-2 和 CCL-5 水平的升高与高异常行为评分和更多的发育障碍有关^[52]。另一方面,ASD 患儿血浆中的转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 和 IL-23 水平明显降低,而 TGF- β 1、IL-23 和 IL-17 的水平与 ASD 病情的严重程度呈负相关^[53]。共生菌群在调节神经-免疫-内分泌系统中起着重要作用,ASD 患者的多种免疫失调可能与肠道菌群有关。ASD 患者体内已检测到自体免疫相关抗体,如神经轴突丝蛋白、胶质纤维酸性蛋白和髓鞘碱性蛋白等,这些自体抗体可能与细菌抗体相互作用引起免疫反应,从而导致 ASD 的发生。部分种类的肠道细菌可调节 T 淋巴细胞亚型的分化。在小鼠实验中,分节丝状菌在肠道的定植可以促进肠道内促炎因子 IL-17 的产生,进而引发小鼠自身免疫性疾病的症状^[54]。还有学者认为 ASD 的发生发展可能与“过敏”和“哮喘”等类似,ASD 患者从小生活的环境过于干净,接触到细菌的种类和机会较少,使机体免疫系统发育受阻,进而影响大脑发育功能。尽管许多研究认为 ASD 患者出现的免疫系统受损可能与肠道菌群有关,但目前尚不清楚 ASD 中肠道菌群改变是否以及如何导致 ASD 患者免疫异常的确切机制。

此外,还有研究报道肠道菌群影响具有重要神经发育调控效应的维生素 D 的吸收和代谢,而补充维生素 D 可改善 ASD 的核心症状^[55]。这进一步提示,肠道菌群可能通过影响维生素 D 等关键生物活性物质的吸收和代谢转化,从而参与自闭症谱系障碍的发生发展。

3 生物干预方法在自闭症中的应用

目前 ASD 的主要治疗方法是行为干预,训练 ASD 患儿社会和语言技能以期适应社会的基本活动

需要,但单一的治疗模式很难改善 ASD 的症状。近年来,50%~70%的 ASD 患者会采用生物相关疗法,包括使用抗生素^[10]、胃肠道药物、营养补充剂、限制或特殊饮食疗法等,但大多治疗方法仍缺乏完整的安全性和有效性的评估。饮食和特定的大量营养素是影响肠道微生物群组成的主要因素之一,适当的饮食可以缓解 ASD 患者心理和胃肠道症状^[56]。常用的饮食干预方法主要为无麸质/无酪蛋白饮食(gluten-free/casein-free diet, GF/CF)、特殊碳水化合物饮食(the specific carbohydrate diet, SCD)、肠道和心理综合征饮食(gut and psychology syndrome diet, GAPS)等^[56]。GF/CF 通过减少或不用含有谷蛋白和酪蛋白等易引起过敏或不耐受的食物可明显减轻 ASD 症状,因而被广泛使用^[57]。研究表明,GF/CF 饮食的 ASD 患儿腹部疼痛和肠蠕动得分明显降低,与饮食不加限制的儿童相比,其菌群丰度较高,且与粪便氨基酸之间存在显著相关性^[58]。SCD 则是严格去除麸质及淀粉,阻断与这些食物相关的有害病原菌的生长,但相关研究仍较缺乏^[59]。GAPS 是在 SCD 的基础上加上营养补充和康复训练,更侧重肠道菌群的平衡性^[19]。还有一些饮食方式如低草酸饮食、生酮饮食等也对 ASD 有一定的改善作用,但其机制都缺乏相应科学根据,也无安全性和有效性的评估。随着对人体微生物和 ASD 关系研究的发展,越来越多的研究显示益生菌以及 FMT 等治疗方法具有良好的安全性和有效性,是具有广泛应用前景的生物干预方法。国外一些小样本研究报道显示,ASD 患儿存在肠道菌群失调,口服益生菌或 FMT 能够改善 ASD 患儿症状^[11-12,22]。由于大量的文献已经证明肠道菌群在 ASD 的发病过程中发挥了重要作用,可以认为 FMT 可能是治疗 ASD 的一种有效方法。

3.1 益生元对自闭症的治疗作用

益生元可选择性地刺激特定肠道菌群的组成和活性,它是这些菌群产生发酵作用所需要的底物,能给人体的健康带来益处,GAPS 疗法就较为推荐加入发酵食物。益生元主要有菊粉、低聚果糖、低聚半乳糖和乳果糖等^[60]。低聚糖可诱导乳酸菌、双歧杆菌等肠道益生菌的生长,并在大鼠模型中表现出神经趋化作用^[61]。低聚半乳糖可抑制人体的神经内分泌应激反应,改善情绪偏见^[62]。服用益生元同时避免使用抗生素、酒精和加工食品时,ASD 的消化道症状,特别是便秘、腹泻等均可得到明显的改善。一项随机对照双盲研究显示^[58],42 名 ASD 患

儿按 1:1 接受了为期 6 周的低聚半乳糖或安慰剂干预,结果在进行益生元干预后,ASD 患儿反社会行为出现改善,部分肠道菌群丰度增加以及粪便和尿液代谢产物得到改善。益生元可能是通过改变肠道菌群,影响“脑-肠-菌轴”,改变了 ASD 的发生发展过程,从而改善大脑、心理及胃肠功能。当益生元联合益生菌使用后,能进一步改善 ASD 患者消化道症状,且总体耐受性良好^[63]。

3.2 益生菌对自闭症的治疗作用

有学者认为益生菌在调节神经、内分泌系统以及行为表现方面比益生元更为突出^[64]。益生菌能够提高和改善与 ASD 相关的人和动物的行为和神经生理学表现。研究证明,ASD 患儿服用益生菌制剂 4 个月,其肠道中厚壁菌门显著减少,拟杆菌门/厚壁菌门的比例回归正常,双歧杆菌属和脱硫弧菌属明显减少,乳酸杆菌属明显增多^[23]。ASD 患者尿液中真菌感染的检测标志物 D-阿拉伯糖醇(D-arabitol, DA)含量显著高于正常人,在给 22 位 ASD 患儿服用嗜酸乳杆菌后,患儿尿液中 DA 的含量明显降低,其语言障碍、社交障碍和刻板行为等 ASD 症状也明显改善^[65]。还有研究表明,脆弱拟杆菌也能明显改善 ASD 的行为障碍,包括沟通障碍、刻板行为、焦虑和感觉运动行为障碍等^[66]。脆弱拟杆菌通过在肠道中产生荚膜多糖 A (polysaccharide A, PSA) 来调节人体多种代谢产物和免疫系统的发育以及功能状态^[67]。此外,还有一种自然存在于哺乳动物胃肠道中的革兰氏阳性菌,叫罗伊氏乳杆菌,它对人体有多种益处,尤其在对抗有害感染和调节人体的免疫系统时可发挥重要作用。研究人员喂饲母鼠高脂肪饮食诱导出子代社会行为障碍,这些子代肠道菌群失调、社会行为缺陷。子代肠道菌群的改变阻断了边缘多巴胺奖励系统的神经适应,罗伊氏乳杆菌可以恢复高脂饮食小鼠后代中边缘多巴胺奖励系统和社会行为,显示出特定细菌种类对社会行为调节的特异性^[68]。然而,肠道菌群调控并不能逆转重复行为,罗伊氏乳杆菌治疗对焦虑症状无明显改善,说明特异性肠道菌群对行为调节的作用有限或是肠道菌群无法调节某些不可逆改变^[68]。罗伊氏乳杆菌还可增加催产素水平,而催产素是一种在调节社会行为方面发挥关键作用的激素。用催产素直接治疗高脂饮食母鼠后代也可逆转行为和电生理方面的缺陷,与罗伊氏乳杆菌治疗效果相类似^[68]。给 20 位 3~16 岁的伴有便秘的 ASD 患儿服用 4 周的短双歧杆菌后,ASD 患儿便秘症状都得到了明显

改善,主要表现为排便频率增多、粪便硬度降低、粪尿失禁的频率降低以及腹痛症状减轻等^[69]。关于益生菌与 ASD 的研究还有很多,这些研究干预效果较为明显,甚至能改善 ASD 病症的核心症状,表现出一定程度的优势,但都存在样本量少、缺乏对照和安慰剂试验等问题。一项使用植物乳杆菌 PS128 胶囊对 ASD 儿童的随机对照双盲试验报道^[70],80 名 ASD 患儿按 1:1 随机分配为服用 PS128 胶囊组或安慰剂组,服用 4 周,通过自闭症行为检查表台湾版 (Autism Behavior Checklist-Taiwan version, ABC-T)、社会反应量表 (Social Responsiveness Scale, SRS) 和儿童行为检查表 (Child Behavior Checklist, CBCL)、Swanson, Nolan and Pelham-IV-Taiwan version (SNAP-IV) 和临床疗效提高总评 (Clinical Global Impression-improvement, CGI-I) 等问卷进行评估服用 PS128 胶囊或安慰剂前后的 ASD 病情变化。结果发现 ABC-T 可特异性地确定 ASD 症状, SRS、SNAP-IV 和 CBCL 特异性地评估与 ASD 密切相关的行为症状,植物乳杆菌 PS128 胶囊可以改善 ASD 患儿的对立或反抗行为,尤其是 7~12 岁儿童的 SNAP-IV 评分明显改善。这项研究标志着益生菌开始进入 ASD 治疗的临床新领域,益生菌对于改善 ASD 症状有巨大的潜力,但目前使用特定菌种对 ASD 整体的疗效还不能让人十分满意,且其特定作用机制也还未研究透彻,益生菌能否直接影响 ASD 患者大脑中某些区域功能从而改善 ASD 症状,或是间接通过改善肠道菌群健康状况和调整代谢产物水平进而影响 ASD 患者的大脑、心理、胃肠道情况,或者是同时起作用,这些问题亟待解决。

3.3 粪菌移植对自闭症的治疗作用

与使用单一菌种的益生菌不同的是, FMT 含有大约 1 000 种原产于胃肠道的细菌,几乎达到全菌种覆盖。FMT 是将健康人粪便中的菌群移植到受体的肠道中帮助其恢复正常的胃肠道菌群,已被指南推荐用于治疗难辨梭状芽孢杆菌复发感染^[71]。目前, FMT 作为一种治疗方式,也被用于治疗人体其他消化道疾病如炎症性肠病、肠易激综合征、功能性便秘、肝硬化等,神经精神系统疾病如 ASD、焦虑症、抑郁症和帕金森病,代谢性疾病如糖尿病、肥胖症、脂肪肝和高脂血症,以及免疫系统性疾病如肿瘤免疫、过敏性疾病以及慢性疲劳综合征等,且均显示出一定的临床疗效^[72]。1 700 年前,东晋葛洪在《肘后备急方》中就用粪水勾兑的“黄汤”来治疗食物中毒和严重的腹泻,现代的 FMT 通过

将健康人体的粪便经过加工处理制作成菌液或冻干粉胶囊来进行治疗^[73]。2013 年 5 月,美国食品与药物管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 将 FMT 作为研究性新药纳入监管,而 FMT 作为一种类似器官移植或输血的技术还是一种针对某种疾病治疗的药物还尚存争议。FMT 对本身消化系统疾病或是对其他系统如神经、精神、代谢等疾病的广泛研究都有一个相同的基础,就是这些疾病均有消化道症状改变,而脑-肠-菌轴可能是这些疾病共同的通路。由于 ASD 患者通常有不寻常的细菌特征和胃肠道问题,因此不难认为 FMT 具有通过平衡肠道菌群治疗此类疾病的潜力^[46,74]。研究人员将 ASD 患者的粪便移植到无菌的小鼠,小鼠子代出现了 ASD 症状,并且与接受正常人粪便的小鼠子代相比,其肠道菌群有明显差异。为了证实 FMT 对 ASD 患者也有这一作用, Kang 等^[12]最近的一项开放性研究调查了 FMT 治疗 ASD 患儿胃肠道和行为症状的安全性、耐受性和有效性。该研究经 FDA 批准,18 名 ASD 患儿中有 16 名接受了 8 周的 FMT 治疗,其胃肠道症状评估量表 (Gastrointestinal Symptom Rating Scale, GSRS)、儿童孤独症评定量表 (Childhood Autism Rating Scale, CARS)、SRS、ABC、父母总体印象评分 (Parent Global Impressions-III, PGI-III) 和适应行为量表 (Adaptive Behavior Scale, VABS) 都显示 ASD 症状明显改善,并且这些改善在治疗后至少持续了 8 周,尤其是 CARS 的评分追踪 2 年后仍能提高 50%^[12]。本中心已完成了 2 010 例 FMT 治疗肠道相关疾病,随访三年,已证明 FMT 治疗的长期安全性和耐受性^[75]。其中治疗 ASD 共 85 例,由耐酸羟丙甲纤维素胶囊外壳包装的小儿专用型粪菌冻干粉胶囊进行治疗^[75]。85 例 ASD 患儿随访 3 个月临床疗效 78.8%,1 年维持疗效 71.9%,3 年仍有疗效 60%,且超过 20% 为临床治愈。有学者提出 FMT 治疗 ASD 主要是依靠来自供体的菌群和噬菌体改变了 ASD 神经功能而达到了临床症状改善,并认为治疗 ASD 需要进一步地靶向肠道菌群治疗方法^[12]。研究中使用的标准化人体肠道微菌群的构成在很大程度上取决于供体条件,如何进一步标准化供体并提高肠道菌群的疗效,或是确定哪些细菌种类对改善 ASD 相关症状和行为表现起决定性作用,都仍需进一步的研究。

综上所述, ASD 是一种病因未明、缺乏特效治疗手段的重要疾病,小样本临床研究和动物实验均支持肠道菌群与 ASD 发病相关,而肠道菌群对

大脑功能的双向调节也说明了肠道菌群具有干预和治疗 ASD 的潜力。肠道菌群的改变可能通过微生物代谢物、免疫调节和与大脑的直接相互作用改善 ASD 症状。越来越多的动物和人类研究表明,食物疗法、益生元、益生菌以及 FMT 在改善 ASD 的症状方面具有有益的作用,因而以肠道菌群为靶点可能对 ASD 患者有巨大的治疗作用。然而,肠道菌群在人体内的作用机制仍不清楚,其代谢物的功能和作用对人体的影响仍需进一步探索。肠道菌群作为新的治疗方法目前还受到许多技术的限制,研究的样本量不足也导致无法发现特异性生化指标或生物标志物,亟需大规模随机对照研究来证实 FMT 对 ASD 的疗效。

[参 考 文 献]

- [1] Guha M. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5 (5th edition). Reference Rev, 2014, 28: 36-7
- [2] Yuen RK, Thiruvahindrapuram B, Merico D, et al. Whole-genome sequencing of quartet families with autism spectrum disorder. Nat Med, 2015, 21: 185-91
- [3] Doernberg E, Hollander E. Neurodevelopmental disorders (ASD and ADHD): DSM-5, ICD-10, and ICD-11. CNS Spectrums, 2016, 21: 295-9
- [4] 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. Sci Rep, 2016, 6: 23129
- [5] Soke GN, Rosenberg SA, Hamman RF, et al. Prevalence of self-injurious behaviors among children with autism spectrum disorder—a population-based study. J Autism Dev Disord, 2016, 46: 3607-14
- [6] 五彩鹿自闭症研究院. 中国自闭症教育康复行业发展状况报告.III. 北京: 华夏出版社, 2019
- [7] Brondino N, Fusar-Poli L, Rocchetti M, et al. Complementary and alternative therapies for autism spectrum disorder. Evid-based Compl Alt, 2015, 2015: 258589
- [8] Buie T, Campbell DB, Fuchs GJ, et al. Evaluation, diagnosis, and treatment of gastrointestinal disorders in individuals with ASDs: a consensus report. Pediatrics, 2010, 125: S1-18
- [9] 段云峰, 吴晓丽, 金锋. 饮食对自闭症的影响研究进展. 科学通报, 2015, 60: 2845-61
- [10] Sandler RH, Finegold SM, Bolte ER, et al. Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. J Child Neurol, 2000, 15: 429-35
- [11] Strati F, Cavalieri D, Albanese D, et al. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. Microbiome, 2017, 5: 24
- [12] Kang DW, Adams JB, Gregory AC, et al. Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study. Microbiome, 2017, 5: 10
- [13] Kang DW, Adams JB, Coleman DM, et al. Long-term benefit of Microbiota Transfer Therapy on autism symptoms and gut microbiota. Sci Rep, 2019, 9: 5821
- [14] Cani PD. Human gut microbiome: hopes, threats and promises. Gut, 2018, 67: 1716-25
- [15] Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK. Gut biogeography of the bacterial microbiota. Nat Rev Microbiol, 2016, 14: 20-32
- [16] Maes M, Kubera M, Leunis JC, et al. Increased IgA and IgM responses against gut commensals in chronic depression: further evidence for increased bacterial translocation or leaky gut. J Affect Disorders, 2012, 141: 55-62
- [17] Bolte ER. Autism and *Clostridium tetani*. Med Hypotheses, 1998, 51: 133-44
- [18] Finegold SM, Molitoris D, Song Y, et al. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. Clin Infect Dis, 2002, 35: S6-S16
- [19] 段云峰, 吴晓丽, 金锋. 自闭症的病因和治疗方法研究进展. 中国科学:生命科学, 2015, 45: 820-44
- [20] Finegold SM, Summanen PH, Downes J, et al. Detection of *Clostridium perfringens* toxin genes in the gut microbiota of autistic children. Anaerobe, 2017, 45: 133-7
- [21] Song Y, Liu C, Finegold SM. Real-time PCR quantitation of clostridia in feces of autistic children. Appl Environ Microb, 2004, 70: 6459-65
- [22] Parracho HM, Bingham MO, Gibson GR, et al. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. J Med Microbiol, 2005, 54: 987-91
- [23] Tomova A, Husarova V, Lakatosova S, et al. Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. Physiol Behav, 2015, 138: 179-87
- [24] Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. Anaerobe, 2010, 16: 444-53
- [25] Finegold SM, Downes J, Summanen PH. Microbiology of regressive autism. Anaerobe, 2012, 18: 260-2
- [26] Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, et al. Increased abundance of *Sutterella* spp. and *Ruminococcus torques* in feces of children with autism spectrum disorder. Mol Autism, 2013, 4: 42
- [27] Akins RS, Angkustsiri K, Hansen RL. Complementary and alternative medicine in autism: an evidence-based approach to negotiating safe and efficacious interventions with families. Neurotherapeutics, 2010, 7: 307-19
- [28] Kang DW, Park JG, Ilhan ZE, et al. Reduced incidence of *Prevotella* and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. PLoS One, 2013, 8: e68322
- [29] Yang Y, Tian J, Yang B. Targeting gut microbiome: a novel and potential therapy for autism. Life Sci, 2018, 194: 111-9
- [30] Wishart DS. Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine. Nat Rev Drug Discov, 2016, 15: 473-84
- [31] MacFabe DF. Enteric short-chain fatty acids: microbial messengers of metabolism, mitochondria, and mind:

- implications in autism spectrum disorders. *Microb Ecol*, 2015, 26: 28177
- [32] Altieri L, Neri C, Sacco R, et al. Urinary p-cresol is elevated in small children with severe autism spectrum disorder. *Biomarkers*, 2011, 16: 252-60
- [33] MacFabe DF, Cain NE, Boon F, et al. Effects of the enteric bacterial metabolic product propionic acid on object-directed behavior, social behavior, cognition, and neuroinflammation in adolescent rats: relevance to autism spectrum disorder. *Behav Brain Res*, 2011, 217: 47-54
- [34] Shultz SR, Aziz NA, Yang L, et al. Intracerebroventricular injection of propionic acid, an enteric metabolite implicated in autism, induces social abnormalities that do not differ between seizure-prone (FAST) and seizure-resistant (SLOW) rats. *Behav Brain Res*, 2015, 278: 542-8
- [35] Gabriele S, Sacco R, Cerullo S, et al. Urinary p-cresol is elevated in young French children with autism spectrum disorder: a replication study. *Biomarkers*, 2014, 19: 463-70
- [36] Persico AM, Napolioni V. Urinary p-cresol in autism spectrum disorder. *Neurotoxicol Teratol*, 2013, 36: 82-90
- [37] Wang H, Liang S, Wang M, et al. Potential serum biomarkers from a metabolomics study of autism. *J Psychiatr Neurosci*, 2016, 41: 27-37
- [38] Wang Y, Kasper LH. The role of microbiome in central nervous system disorders. *Brain Behav Immun*, 2014, 38: 1-12
- [39] Collins SM, Bercik P. The relationship between intestinal microbiota and the central nervous system in normal gastrointestinal function and disease. *Gastroenterology*, 2009, 136: 2003-14
- [40] Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, et al. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol*, 2015, 28: 203-9
- [41] Schneider S, Wright CM, Heuckeroth RO. Unexpected roles for the second brain: enteric nervous system as master regulator of bowel function. *Annu Rev Physiol*, 2019, 81: 235-59
- [42] Dinan TG, Cryan JF. Gut-brain axis in 2016: brain-gut-microbiota axis - mood, metabolism and behaviour. *Nat Rev Gastro Hepat*, 2017, 14: 69-70
- [43] Park AJ, Collins J, Blennerhassett PA, et al. Altered colonic function and microbiota profile in a mouse model of chronic depression. *Neurogastroenterol Motil*, 2013, 25: 733-e575
- [44] Bailey MT, Dowd SE, Galley JD, et al. Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation. *Brain Behav Immun*, 2011, 25: 397-407
- [45] Zerbo O, Qian Y, Yoshida C, et al. Maternal infection during pregnancy and autism spectrum disorders. *J Autism Dev Disord*, 2015, 45: 4015-25
- [46] Younge N, McCann JR, Ballard J, et al. Fetal exposure to the maternal microbiota in humans and mice. *JCI Insight*, 2019, 4: e127806
- [47] Salzman NH. Microbiota-immune system interaction: an uneasy alliance. *Curr Opin Microbiol*, 2011, 14: 99-105
- [48] Shao Y, Forster SC, Tsaliki E, et al. Stunted microbiota and opportunistic pathogen colonization in caesarean-section birth. *Nature*, 2019, 574: 117-21
- [49] Maldonado J, Canabate F, Sempere L, et al. Human milk probiotic *Lactobacillus fermentum* CECT5716 reduces the incidence of gastrointestinal and upper respiratory tract infections in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2012, 54: 55-61
- [50] Sullivan EL, Nousen EK, Chamlou KA, et al. The impact of maternal high-fat diet consumption on neural development and behavior of offspring. *Int J Obes Suppl*, 2012, 2: S7-S13
- [51] Onore C, Careaga M, Ashwood P. The role of immune dysfunction in the pathophysiology of autism. *Brain Behav Immun*, 2012, 26: 383-92
- [52] Ashwood P, Krakowiak P, Hertz-Picciotto I, et al. Associations of impaired behaviors with elevated plasma chemokines in autism spectrum disorders. *J Neuroimmunol*, 2011, 232: 196-9
- [53] Hashim H, Abdelrahman H, Mohammed D, et al. Association between plasma levels of transforming growth factor- β 1, IL-23 and IL-17 and the severity of autism in Egyptian children. *Res Autism Spectrum Disord*, 2013, 7: 199-204
- [54] Wu HJ, Ivanov II, Darce J, et al. Gut-residing segmented filamentous bacteria drive autoimmune arthritis via T helper 17 cells. *Immunity*, 2010, 32: 815-27
- [55] Jia F, Wang B, Shan L, et al. Core symptoms of autism improved after vitamin D supplementation. *Pediatrics*, 2015, 135: e196-8
- [56] Anna K, Bozena RI. How nutritional status, diet and dietary supplements can affect autism. A review. *Rocz Panstw Zakl Hig*, 2013, 64: 1-12
- [57] Goin-Kochel RP, Mackintosh VH, Myers BJ. Parental reports on the efficacy of treatments and therapies for their children with autism spectrum disorders. *Res Autism Spectrum Disord*, 2009, 3: 528-37
- [58] Grimaldi R, Gibson GR, Vulevic J, et al. A prebiotic intervention study in children with autism spectrum disorders (ASDs). *Microbiome*, 2018, 6: 133
- [59] Gottschall E. Digestion-gut-autism connection: the specific carbohydrate diet. *Medical Veritas J Med Veritas*, 2004, 1: 261-71
- [60] Pineiro M, Asp NG, Reid G, et al. FAO technical meeting on prebiotics. *J Clin Gastroenterol*, 2008, 42: S156-9
- [61] Savignac HM, Corona G, Mills H, et al. Prebiotic feeding elevates central brain derived neurotrophic factor, N-methyl-D-aspartate receptor subunits and D-serine. *Neurochem Inter*, 2013, 63: 756-64
- [62] Schmidt K, Cowen PJ, Harmer CJ, et al. Prebiotic intake reduces the waking cortisol response and alters emotional bias in healthy volunteers. *Psychopharmacology*, 2015, 232: 1793-801
- [63] Sanctuary MR, Kain JN, Chen SY, et al. Pilot study of probiotic/colostrum supplementation on gut function in children with autism and gastrointestinal symptoms. *PLoS*

- One, 2019, 14: e0210064
- [64] Dinan TG, Cryan JF. Regulation of the stress response by the gut microbiota: implications for psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology*, 2012, 37: 1369-78
- [65] Kaluzna-Czaplinska J, Blaszczyk S. The level of arabinitol in autistic children after probiotic therapy. *Nutrition*, 2012, 28: 124-6
- [66] Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*, 2013, 155: 1451-63
- [67] Troy EB, Kasper DL. Beneficial effects of *Bacteroides fragilis* polysaccharides on the immune system. *Front Biosci*, 2010, 15: 25-34
- [68] Buffington SA, Di Prisco GV, Auchtung TA, et al. Microbial reconstitution reverses maternal diet-induced social and synaptic deficits in offspring. *Cell*, 2016, 165: 1762-75
- [69] Tabbers MM, de Milliano I, Roseboom MG, et al. Is *Bifidobacterium breve* effective in the treatment of childhood constipation? Results from a pilot study. *Nutr J*, 2011, 10: 19
- [70] Liu YW, Liong MT, Chung YE, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* PS128 on children with autism spectrum disorder in Taiwan: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrients*, 2019, 11: 820
- [71] Sbahi H, Di Palma JA. Faecal microbiota transplantation: applications and limitations in treating gastrointestinal disorders. *BMJ Open Gastroenterol*, 2016, 3: e000087
- [72] Bibbo S, Ianiro G, Gasbarrini A, et al. Fecal microbiota transplantation: past, present and future perspectives. *Minerva Gastroenterologica Dietol*, 2017, 63: 420-30
- [73] 田宏亮, 丁超, 马春联, 等. 粪菌胶囊治疗慢传输型便秘 15例临床疗效分析. *中国实用外科杂志*, 2016, 36: 430-2
- [74] Olsen I, Hicks SD. Oral microbiota and autism spectrum disorder (ASD). *J Oral Microbiol*, 2020, 12: 1702806
- [75] 李宁, 田宏亮, 陈启仪, 等. 菌群移植治疗肠道疾病2 010例疗效分析. *中华胃肠外科杂志*, 2019, 22: 861-8