

肠道微生物疗法干预孤独症谱系障碍的研究进展

钟 佳¹ 何丽云² 赵宁侠³

1.陕西中医药大学,陕西咸阳 712046;2.陕西中医药大学第一临床医学院,陕西咸阳 712046;

3.西安中医脑病医院,陕西西安 710032

[摘要] 孤独症谱系障碍(ASD)是一种复杂的神经发育疾病,发病率逐年上升。除了语言、行为和社交受损症状外,大部分患儿伴有不同程度的胃肠道症状。目前,ASD 病理机制不明,随着对肠道菌群的深入研究,发现 ASD 患儿的症状与肠道微生物密切相关。因此,调节肠道菌群成为防治 ASD 的热点之一。本文就肠道微生态对 ASD 的影响,通过肠道微生物(益生菌、益生元、粪便微生物移植)干预对“脑肠轴”的机制和作用进行综述,旨在为 ASD 的发病机制和临床治疗提供新理论基础、新思路。

[关键词] 孤独症谱系障碍;肠道微生物;益生菌;益生元;粪便微生物移植

[中图分类号] R749.94

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-7210(2024)01(c)-0068-04

DOI:10.20047/j.issn1673-7210.2024.03.13

Research progress of intestinal microbiotherapy on intervention autism spectrum disorder

ZHONG Jia¹ HE Liyun² ZHAO Ningxia³

1.Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi Province, Xianyang 712046, China; 2.the First Clinical School of Medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi Province, Xianyang 712046, China; 3.Xi'an Encephalopathy Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi Province, Xi'an 710032, China

[Abstract] Autism spectrum disorder (ASD) is a complex neurodevelopmental disorder and the prevalence has been increasing. In addition to symptoms of impaired communication, behaviors, and social interaction, most of children patients are accompanied by different degrees of gastrointestinal symptoms. At present, the pathological mechanism of ASD is still unclear, with the in-depth study of intestinal microflora, it has been found that symptoms in children patients with ASD are closely related to intestinal microbiota. Therefore, regulation of intestinal microflora have become one of the hot spots in prevention and treatment of ASD. Based on the impact of intestinal microflora on ASD, this paper reviews the mechanism and effect of “brain-gut axis” through intestinal microbial (probiotics, prebiotics, and fecal microbiota transplantation) intervention on ASD, aiming to provide new theoretical basis and new ideas for the pathogenesis and clinical treatment of ASD.

[Key words] Autism spectrum disorder; Intestinal microflora; Probiotics; Prebiotics; Fecal microbiota transplantation

孤独症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD) 是一类多起病于婴幼儿时期,以持续性的社交沟通障碍、重复刻板行为及兴趣狭窄为核心症状的神经发育障碍性疾病,危害患儿健康,同时给家庭造成了严重的经济负担^[1]。根据美国疾控中心最新筛查,8 岁儿童 ASD 患病率为 27.78%,且有逐年上升的趋势^[2]。目前, [基金项目] 陕西省中医药传承创新暨“秦药”开发重点科学研究项目(2021-01-22-001);陕西省秦创原中药创新研发项目(2022-QCYZH-008)。

[作者简介] 钟佳(1999.9-),女,陕西中医药大学第一临床医学院 2022 级中西医结合专业在读硕士研究生,主要从事中西医结合脑病研究。

[通讯作者] 赵宁侠(1974.6-),女,主任医师,西安中医脑病医院脑十一科主任,硕士生导师,主要从事神经精神系统疾病临床与康复研究。

ASD 病因高度复杂,可能与遗传、基因、环境、免疫等多种因素相关^[3]。现尚无明确的病理诊断标志物及针对 ASD 的靶向药物,治疗主要以改善症状为主,包括教育干预、行为矫正和药物治疗等。随着“脑肠轴”理论的深入研究,肠道菌群失衡可能是 ASD 潜在的发病机制之一。因此,笔者从肠道菌群出发,总结了肠道微生物疗法的作用机制及最新研究进展,旨在为临床治疗 ASD 提供参考方向。

1 ASD 与肠道菌群的联系

构建大脑和肠道微生物组之间的双向关系,称为脑-肠道-微生物组系统,其通过神经、代谢、内分泌和免疫途径进行交流^[4],又称“脑肠轴”。肠道微生物可由此影响大脑发育,造成认知、行为异常。研究表明,ASD 患儿患胃肠道疾病的可能性是正常儿童的 24 倍,

尤其是腹痛、便秘和腹泻^[5]；可能是由于 ASD 患儿早期肠道菌群不成熟、不稳定造成的^[6]。ASD 患儿的有益菌群丰度低，有害菌群丰度高^[7]。Xu 等^[8]研究 ASD 患儿肠道微生物群丰度差异，发现嗜粘蛋白-阿克曼氏菌丰度较低。提示 ASD 儿童肠道通透性受损。Plaza-Díaz 等^[9]发现，ASD 患儿肠道中双歧杆菌丰度较低，此菌可以分泌大量的 γ -氨基丁酸(gama-aminobutyric acid, GABA)，而 GABA 与 ASD 社交和行为障碍有关。另外 ASD 患者体内梭状芽孢杆菌浓度异常增高，其能释放神经毒素，抑制神经递质释放^[10]。对甲酚是一种由特定肠道菌株产生的芳香族化合物，Bermudez-Martin 等^[11]发现，ASD 患儿体内对甲酚水平显著升高，可能导致 ASD 患儿的社交行为缺陷，对甲酚水平很可能被视为 ASD 的生物标志物。

女性在妊娠期间，肠道微生物群能调节血液中生化物质和生长因子的利用度，支持胎儿大脑的正常发育^[12]。研究表明，母亲肠道微生物群的变化可能会增加后代患 ASD 的风险^[13]。Liu 等^[14]基于一百多万新生儿研究，提出了剖宫产分娩比阴道分娩具有更高的患 ASD 风险。在婴儿期和儿童早期使用抗生素会导致微生物生态失调，使肠道菌群种类和 α 多样性降低，可能会增加 ASD 的易感性^[15]。

2 肠道微生物疗法

2.1 益生菌

益生菌被视为“活的微生物”，给予适量对健康有益^[16]。益生菌不仅可恢复人体肠道微生物群的平衡关系，还能够产生和运输神经活性物质并作用于“脑肠轴”，改善大脑功能。如短乳杆菌产生的 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、GABA，以及大肠埃希菌产生的多巴胺(dopamine, DA)^[17]。补充罗伊氏乳杆菌和植物乳杆菌已被证明可显著改善 ASD 小鼠的社交行为，同时发现拟杆菌门数量减少与刻板行为改善有关^[18-19]。Adigüzel 等^[20]研究发现，益生菌在改善丙戊酸诱导的产前 ASD 大鼠的社交互动、焦虑和重复行为及增加白细胞介素(interleukin, IL)-10 水平有效，并逆转了产前丙戊酸暴露降低的大脑前额叶皮层中的 5-HT 水平。许多种类的益生菌已被用于治疗 ASD 患儿，其中植物乳杆菌、婴儿乳杆菌和长双歧杆菌是最常用的三种益生菌^[21]。Elisa 等^[22]进行了为期 6 个月包含 8 种益生菌的干预，与安慰剂组比较，益生菌治疗组的主要结局指标孤独症诊断观察量表-校准严重度总评分显著降低，益生菌不仅对 ASD 胃肠道症状有改善，而且对适应性功能和感觉处理有积极作用。Liu 等^[23]观察了植物乳杆菌对我国台湾地区 7~15 岁 ASD 男性患儿行为的影响，结果显示植物乳杆菌可以改善患儿破坏性行为及多动、冲动相关的症

状。一项随机对照试验发现，益生菌对学龄前孤独症儿童脑电图有所改变，表现为额极 β 波段、 γ 波段区域和额叶不对称的改变^[24]。提示大脑兴奋性和抑制性神经元之间的不平衡得到了调节，从而可能改善 ASD 患儿的核心症状。益生菌混合物干预在 ASD 患儿的相关行为症状方面比单一菌株益生菌干预更加显著^[21]。这可能是由于不同益生菌通过不同途径同时起作用，以及他们的代谢物之间可能的相互作用，增强了原来的神经调节。Reichow 等^[25]发现，益生菌可能对患有 ASD 的年幼儿童的作用更显著，ASD 患儿越小，病程越短，症状越轻，早期干预越有效。

2.2 益生元

益生元是被微生物有选择地利用并有健康益处的物质^[16]。益生元能刺激肠道中有益菌或益生菌的生长，改善肠道内环境。益生元通常与益生菌或饮食干预联合使用。Alsubaiei 等^[26]对 36 只丙酸诱发 ASD 行为的雄性小鼠开展了一项实验，喂养益生菌鼠李糖乳杆菌和益生元木犀草素 27 d 后发现，ASD 生化特征肿瘤坏死因子- α 和 IL-6 显著降低，缓解了神经炎症，改善胃肠道症状和异常行为。在一项对 26 例 ASD 患儿使用益生菌和低聚果糖干预的研究显示，治疗后 ASD 患儿的孤独症治疗评估量表和六项胃肠道症状严重程度量表评分显著降低，高血清素能状态和 DA 代谢紊乱得到了改善，揭示了益生菌联合低聚果糖干预治疗 ASD 的潜力^[7]。Grimaldi 等^[27]对 30 例 4~11 岁的 ASD 患儿进行了一项随机双盲对照试验，首次评估饮食限制和益生元联合疗法对肠道中微生物的成分、代谢活性的作用，研究发现治疗组(饮食限制和低聚半乳糖干预)的反社会行为评分明显降低，显示了饮食限制与益生元治疗之间的协同效应。

尽管动物实验已经广泛证明补充益生菌和益生元可改善小鼠的 ASD 样症状和社会行为，但部分临床试验并不支持此结果^[28]。ASD 模型小鼠是药物等手段人工诱导的，人类 ASD 的病因复杂多样，具体机制尚不明确，出于伦理原因，一些用于评估小鼠相关指标的实验不能用于人类。研究大多是通过相关问卷、量表等指标评估益生菌、益生元干预效果，缺乏可靠的实验室指标。大多数研究的样本量很小，证据总体有限，缺乏随机对照试验。目前试验中菌株种类、浓度和治疗持续时间各有差异，因此需要临床研究进一步验证并探索标准化干预方案。

2.3 粪便微生物移植(fecal microbiota transplantation, FMT)

FMT 是指将来自健康人的粪便微生物群引入患者的胃肠道中，以恢复患者肠道微生物平衡^[29]。有研究显示，ASD 患者的肠道微生物群定植可有效诱导小

鼠特征性 ASD 行为,且来自健康人的 FMT 显著改善了 ASD 小鼠的焦虑和重复性行为^[30]。FMT 处理可以恢复粪便梭状芽孢杆菌的平衡,使脑源性神经营养因子在海马体中的表达正常化^[31]。此外,FMT 还通过降低 DA 水平和调节基因 EphB6 缺陷小鼠内侧前额叶皮层兴奋/抑制失衡来改变孤独症样社会行为^[32]。Li 等^[33]开展了一项 FMT 干预 40 例 ASD 患儿的开放性研究,治疗分为 4 周的 FMT 治疗阶段和 8 周的随访观察阶段,结果显示 ASD 患儿胃肠道症状、社交行为方面等得到改善,父母的焦虑水平也下降,治疗结束后 8 周恢复到基线水平,提示需要延长 FMT 治疗;同时发现口服或直肠 FMT 给药比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。Kang 等^[34]对 18 例 ASD 患儿伴中重度胃肠道问题进行了一项开放试验,治疗方案为 FMT 联合抗生素万古霉素、奥美拉唑,研究发现胃肠道症状减少约 80%,ASD 核心症状显著改善;2 年后的随访提示,FMT 对肠道微生物群和自闭症状的作用仍在维持,证明了 FMT 的长期安全性和有效性^[35]。通过经结肠镜导管向 ASD 患儿注射洗涤后的粪便悬浮液,孤独症行为量表和儿童睡眠障碍量表评分均降低,并减少了全身炎症^[36]。FMT 后,患儿血清中的 5-HT、DA 和 GABA 浓度下降^[33],对甲酚硫酸盐水平与正常儿童相当^[37]。表明 FMT 也可以降低粪便代谢物水平。

关于剂量方面,2019 年我国 FMT 标准化研究小组建议 10 cm³ 是临床使用的基本单位^[38]。国外尚无标准菌量方案,关于 FMT 治疗 ASD 的合适菌量、疗程、给药途径和移植前是否需要预处理及预处理方式,还需大样本量的试验以进一步明确。

3 小结

ASD 已成为危害儿童生存与健康的公共卫生问题,随着研究的挖掘,已经发现 ASD 患儿的胃肠道生理异常,如肠道通透性增加、整体微生物群改变和肠道感染。此外,肠道菌群的改变程度与胃肠道和 ASD 严重程度呈正相关。可以通过肠道微生物疗法,恢复肠道微生态平衡,干预 ASD 的发生与进展。虽然前景看好,但至今尚未明确 ASD 的发病机制与某种特定菌直接相关,当前证据也只是提示性信息,但可通过“脑肠轴”理论继续补充和完善。肠道菌群、神经递质与 ASD 行为的相互作用机制还不完整,试验缺乏长期疗效资料,研究干预并未区分 ASD 亚型,在未来,还需评估基于肠道微生物干预的治疗效果和探索潜在的作用机制,制订方案更加精准于不同分型,并追踪观察其长远效益,从而构建体系化、标准化、全面化管理方案。

利益冲突声明: 本文所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] Gordon-Lipkin E,Marvin AR,Law JK,*et al.* Anxiety and mood disorder in children with Autism spectrum disorder and ADHD [J]. *Pediatrics*,2018,141(4):e20171377.
- [2] Matthew MJ,Zachary W,Ashley WR,*et al.* Prevalence and characteristics of Autism spectrum disorder among Children aged 8 years – Autism and developmental disabilities monitoring network,11 sites,United States,2020 [J]. *MMWR Surveill Summ*,2023,72(2):1–14.
- [3] Wang L,Wang B,Wu C,*et al.* Autism spectrum disorder: neurodevelopmental risk factors,biological mechanism,and precision therapy [J]. *Int J Mol Sci*,2023,24(3):1819.
- [4] Al-Beltagi M. Autism medical comorbidities [J]. *World J Clin Pediatr*,2021,10(3):15–28.
- [5] Tartaglione AM,Villani A,Ajmone-Cat MA,*et al.* Maternal immune activation induces Autism-like changes in behavior,neuroinflammatory profile and gut microbiota in mouse offspring of both sexes [J]. *Transl Psychiatry*,2022,12(1):384.
- [6] Panisi C,Guerini FR,Abruzzo PM,*et al.* Autism spectrum disorder from the womb to adulthood:suggestions for a paradigm shift [J]. *J Pers Med*,2021,11(2):70.
- [7] Wang Y,Li N,Yang JJ,*et al.* 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]. *Pharmacol Res*,2020,157:104784.
- [8] Xu M,Xu X,Li J,*et al.* Association between gut microbiota and Autism spectrum disorder:a systematic review and meta-analysis [J]. *Front Psychiatry*,2019,10:473.
- [9] Plaza-Díaz J,Gómez-Fernández A,Chueca N,*et al.* Autism spectrum disorder with and without mental regression is associated with changes in the fecal microbiota [J]. *Nutrients*,2019,11(2):337.
- [10] West KA,Yin X,Rutherford EM,*et al.* Multi-angle meta-analysis of the gut microbiome in Autism spectrum disorder:a step toward understanding patient subgroups [J]. *Sci Rep*,2022,12(1):17034.
- [11] Bermudez-Martin P,Becker JAJ,Caramello N,*et al.* The microbial metabolite p-Cresol induces autistic-like behaviors in mice by remodeling the gut microbiota [J]. *Microbiome*,2021,9:157.
- [12] Taniya MA,Chung HJ,Al Mamun A,*et al.* Role of gut microbiome in Autism spectrum disorder and Its therapeutic regulation [J]. *Front Cell Infect Microbiol*,2022,12:915701.
- [13] Li N,Yang J,Zhang J,*et al.* Correlation of gut microbiome between ASD Children and mothers and potential biomarkers for risk assessment [J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*,2019,17(1):26–38.

- [14] Liu KY, Teitler JO, Rajananda S, *et al.* Elective deliveries and the risk of Autism [J]. *Am J Prev Med*, 2022, 63(1): 68–76.
- [15] McDonnell L, Gilkes A, Ashworth M, *et al.* Association between antibiotics and gut microbiome dysbiosis in children: systematic review and meta-analysis [J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1–18.
- [16] Hill C, Guarner F, Reid G, *et al.* Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2014, 11(8): 506–514.
- [17] Muhammad F, Fan B, Wang R, *et al.* The molecular gut–brain axis in early brain development [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(23): 15389.
- [18] Guo M, Li R, Wang Y, *et al.* *Lactobacillus plantarum* ST-III modulates abnormal behavior and gut microbiota in a mouse model of Autism spectrum disorder [J]. *Physiol Behav*, 2022, 257: 113965.
- [19] Mintál K, Tóth A, Hormay E, *et al.* Novel probiotic treatment of Autism spectrum disorder associated social behavioral symptoms in two rodent models [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 5399.
- [20] Adıgüzel E, Çiçek B, Ünal G, *et al.* Probiotics and prebiotics alleviate behavioral deficits, inflammatory response, and gut dysbiosis in prenatal VPA-induced rodent model of Autism [J]. *Physiol Behav*, 2022, 256: 113961.
- [21] He X, Liu W, Tang F, *et al.* Effects of probiotics on Autism spectrum disorder in Children: a systematic review and meta-analysis of clinical trials [J]. *Nutrients*, 2023, 15(6): 1415.
- [22] Elisa S, Letizia G, Margherita P, *et al.* Effects of probiotic supplementation on gastrointestinal, sensory and core symptoms in Autism spectrum disorders: a randomized controlled trial [J]. *Front Psychiatry*, 2020, 11: 550593.
- [23] 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 [J]. *Nutrients*, 2019, 11(6): 820.
- [24] Billeci L, Callara AL, Guiducci L, *et al.* A randomized controlled trial into the effects of probiotics on electroencephalography in preschoolers with Autism [J]. *Autism*, 2023, 27(1): 117–132.
- [25] Reichow B, Hume K, Barton EE, *et al.* Early intensive behavioral intervention for young children with Autism spectrum disorders [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2018, 5(5): CD009260.
- [26] Alsubaiei SRM, Alfawaz HA, Almubarak AY, *et al.* Independent and combined effects of probiotics and prebiotics as supplements or food-rich diets on a propionic-acid-induced rodent model of Autism spectrum disorder [J]. *Metabolites*, 2022, 13(1): 50.
- [27] Grimaldi R, Gibson GR, Vulevic G, *et al.* A prebiotic intervention study in children with Autism spectrum disorders [J]. *Microbiome*, 2018, 6(1): 133.
- [28] Tan Q, Orsso CE, Deehan EC, *et al.* Probiotics, prebiotics, synbiotics, and fecal microbiota transplantation in the treatment of behavioral symptoms of Autism spectrum disorder: a systematic review [J]. *Autism Res*, 2021, 14(9): 1820–1836.
- [29] Cho JA, Chinnappen DJF. Targeting friend and foe: emerging therapeutics in the age of gut microbiome and disease [J]. *J Microbiol*, 2018, 56(3): 183–188.
- [30] Xiao L, Yan J, Yang T, *et al.* Fecal microbiome transplantation from Children with Autism spectrum disorder modulates tryptophan and serotonergic synapse metabolism and induces altered behaviors in germ-free mice [J]. *mSystems*, 2021, 6(2): e01343–20.
- [31] Abuaish S, Al-Otaibi NM, Aabed K, *et al.* The efficacy of fecal transplantation and bifidobacterium supplementation in ameliorating propionic acid-induced behavioral and biochemical autistic features in juvenile male rats [J]. *J Mol Neurosci*, 2022, 72(2): 372–381.
- [32] Li Y, Luo ZY, Hu YY, *et al.* The gut microbiota regulates Autism-like behavior by mediating vitamin B₆ homeostasis in EphB6-deficient mice [J]. *Microbiome*, 2020, 8(1): 120.
- [33] Li N, Chen H, Cheng Y, *et al.* Fecal microbiota transplantation relieves gastrointestinal and Autism symptoms by improving the gut microbiota in an open-label study [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 801376.
- [34] Kang DW, Adams JB, Gregory AC, *et al.* Microbiota transfer therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and Autism symptoms: an open-label study [J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 10.
- [35] Kang DW, Adams JB, Coleman DM, *et al.* Long-term benefit of microbiota transfer therapy on Autism symptoms and gut microbiota [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 5821.
- [36] Pan ZY, Zhong HJ, Huang DN, *et al.* Beneficial effects of repeated washed microbiota transplantation in Children with Autism [J]. *Front Pediatr*, 2022, 10: 928785.
- [37] Sgritta M, Dooling SW, Buffington SA, *et al.* Mechanisms underlying microbial-mediated changes in social behavior in mouse models of Autism spectrum disorder [J]. *Neuron*, 2019, 101(2): 246–259.e6.
- [38] Nanjing consensus on methodology of washed microbiota transplantation [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133(19): 2330–2332.

(收稿日期: 2023-07-12)