·综述·

自闭症谱系障碍成因的菌肠脑轴模型研究新进展

王　芳[1]　杨广学[1,3]　郭德华[2]

自闭症谱系障碍(autism spectrum disorder,ASD),是一种生物性神经发育障碍,以社会沟通障碍、重复行为和兴趣狭窄为主要临床特征。近二十年,ASD的发病率呈指数式增长,根据美国疾控中心(Centers for Disease Control and Prevention,CDC)2014年公布的最新统计数据,ASD发病率已经高达1/68[1]。然而,ASD的致病机制至今尚未明确,病因问题成为当前及未来需要持续关注的话题。近几年,越来越多证据提示,肠道内的微生物群可以调节个体的大脑发育,并通过肠-脑轴产生行为表型,肠道微生物失调与肠脑功能反应紊乱很有可能是ASD成因的关键机制。本文旨在对菌肠脑轴模型对自闭症发生与发展的影响进行系统综述,并提出了可行的预防与治疗策略,以期为自闭症成因学和有效治疗的研究提供新的思考和参照。

1　菌肠脑轴模型概述

菌-肠-脑轴是由中枢神经系统(central nervous system,CNS)、胃肠道(gastrointestinal,GI)和肠道内数以万亿计的微生物菌群之间高度集成,相互作用、相互影响的微生态系统。研究表明,肠道菌群异常或肠脑功能反应紊乱引发包括自闭症谱系障碍在内的神经发育障碍疾病[2]。

1.1　脑-肠轴

由于肠道神经元与大脑神经元在细胞类型、神经递质及感受器方面相似[3],因此肠道也称人的“第二脑”,即肠脑,肠脑与大脑之间通过脑-肠轴(brain-gut-axis)双向互通从而进行连接,其影响机制可能通过血液系统、内分泌系统和神经系统之间的相互影响构成微生物-肠道-大脑轴(microbiome-gut-brain axis,菌肠脑轴)[4]。肠脑可以影响人的中枢神经系统,进而影响人的情感、认知和行为[5]。肠道微生物在其中扮演重要角色。ASD的发生可能与此密切相关[6]。

1.2　肠道微生物群

肠道微生物群由大约100万亿微生物组成的宏基因组构成,已知的细菌有1000多种,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”或“被遗忘的器官”[7]。肠道微生物能帮助人体消化和吸收营养物质,合成某些维生素和生物活性物质,维护人体免疫系统,抵御病源微生物的侵入[8]。

个体与其肠道微生物的联系是双向的,个体所处的环境会影响肠道微生物群的构成,而微生物群反过来又会影响个体的发展。综观人的一生,肠道微生物群并非一成不变,随着细菌的定植,肠道会发生一系列的生理变化,这些变化对维持肠内环境平衡非常重要[9]。微生物群的突变与个体环境、饮食和遗传易感性有关。肠道微生物的平衡一旦被打破,将可能导致多种肠道疾病、系统性疾病以及包括ASD在内的神经障碍类疾病[10]。

2　ASD菌肠脑轴失调的临床表现

2.1　肠道共患病与ASD

大量研究表明,ASD儿童普遍面临胃肠道问题。Bresnahan等[11]的研究发现,ASD婴幼儿的胃肠道问题比发育迟缓和健康儿童更为常见和顽固。有61%的ASD儿童同时伴有至少一种胃肠道症状[12]。不同ASD患者同时伴随胃肠道症状的比例不同,大约为9%—91%。高危婴幼儿(兄弟姐妹中有ASD幼儿)患肠道疾病的概率更高。ASD儿童在3岁前更有可能患胃肠道疾病[13]。

最常见的胃肠道疾病表现为腹泻、便秘和腹痛。有研究发现,患有ASD的儿童中有1/4伴有腹泻,1/4伴有便秘,有36.7%的ASD出现肠漏综合征,其他胃肠道异常还包括腹胀、胃肠道炎症、胃食管反流、双糖酶活性不足以及肠道神经系统异常[14]。此外,患有肠道疾病的ASD儿童体内的碳水化合物消化酶(蔗糖酶和麦芽糖酶)和己糖转运蛋白不足,容易导致碳水化合物的吸收和消化不良引发麸质过敏和面筋不耐受[15—16]。同时,研究表明94%的胃肠疾病会伴随出现精神性疾病,如情绪抑郁或焦虑,这在ASD儿童身上也极为常见[17]。大量临床实践表明,如果ASD儿童的胃肠道问题得到改善,将提高患儿的情绪、睡眠、语言和社交能力[18]。胃肠道症状可以看作是ASD患者面临的一个共病问题,但这些症状也可能指向一种更为基础的关系:肠道在自闭症谱系障碍病因学中扮演着关键的角色[19]。自闭症谱系障碍可能是由于个体肠道生态系统失调,通过脑肠轴引起脑部炎症而导致的神经发育障碍。

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2018.05.022

1　华东师范大学自闭症研究中心,上海,200062;2　广西幼儿师范高等专科学校特教系;3　通讯作者
作者简介:王芳,女,博士研究生;收稿日期:2017-07-06

2.2 ASD患者肠道微生物群异常

2.2.1 ASD患者的肠道微生物:Kang等[20]的报告称,ASD患者的肠道微生物群的构成存在异常。与正常儿童相比,ASD儿童肠道微生物群中具有更多的厌氧菌。目前研究发现了疑似与自闭症谱系障碍相关的肠道微生物,主要包括梭菌属细菌(Clostridium)、脱硫弧菌属细菌(Desulfovibrio)、萨特菌属细菌(Sutterella)、酵母菌(Yeast)[21]。

梭菌属细菌可产生神经毒性物质或其前体物质,ASD儿童体内的梭状芽孢杆菌(Clostridium bolteae)是正常对照组的46倍[22]。在退行性的ASD儿童中,儿童经历过一段看似正常的早期发展阶段后,到15—30个月龄时出现明显的语言交流和/或社会技能的丧失,而后遵循典型的自闭症谱系障碍发展轨迹[23]。猜测可能是梭状芽孢杆菌在发育的关键窗口期产生毒素所致。Finegold等[24]的研究进一步支持了这一理论,万古霉素被证明是一种抑制梭状菌活性的抗生素,10例退行性ASD儿童接受了6周的口服万古霉素的治疗后,有8例儿童的神经行为症状明显改善,胃肠道症状也得到了改善。这表明,梭状芽胞杆菌可能是导致发育障碍的潜在诱因。万古霉素停用后,所有受试者的肠道和行为症状均发生了逐步回归。这种病的复发可以解释为:许多梭状芽孢菌可以转化为孢子形态,它对抗生素具有高度的抵抗力,但随后又将孢子转化为植物性的、感染的形式,并恢复毒素的生产。

除梭菌外,脱硫弧菌属和萨特菌属也可能与自闭症谱系障碍相关。大约50%的ASD儿童肠道中可检测到脱硫弧菌,脱硫弧菌可引起硫代谢异常,其代谢产物硫化氢可以直接对肠上皮细胞诱发炎症、产生细胞毒性和遗传毒性。超过50%的伴有胃肠功能障碍的ASD儿童肠道中存在萨特菌,而普通人中几乎没有[25]。萨特菌属于产碱菌科,约占肠道全部细菌的1%—7%,它能抵抗胆碱,而胆碱作为一种必须营养素,主要作用是帮助传递神经冲动,处理学习、记忆和睡眠过程,并帮助形成细胞间膜。ASD儿童的认知和睡眠障碍可能与萨特菌有关[26]。

ASD还可能与真菌的过度增殖有关。白色念球菌(Candida albicans)是酵母菌的一种,属于真菌,能引起肠炎,这种菌能产生一种类似γ-氨基丁酸(GABA)的物质—β丙氨酸,能透过血脑屏障与GABA竞争,影响GABA的正常功能。而ASD患者体内丙氨酸显著高于正常人[27]。因而,推测ASD患者肠道中的白色念球菌产生了大量丙氨酸,进入血液系统并透过血脑屏障进入大脑,与抑制性神经递质GABA进行拮抗,大脑加速产生GABA,过量的GABA使大脑在社会交往方面受到抑制从而导致自闭症谱系障碍[28]。

2.2.2 ASD患者的肠道微生物代谢:除了肠道微生物构成的不同,在ASD患者的排泄物和尿液中还发现微生物代谢产物的巨大差异。主要包括短链脂肪酸(short-chain fatty acids,SCFAs)和5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine,5-HT)。

短链脂肪酸,主要是乙酸盐(AA)、丙酸盐(PPA)和丁酸盐(BA),是结肠中碳水化合物的微生物发酵的最终产物,能够降解多糖,促进营养吸收,促进肠道蠕动和保持上皮屏障的完整性,担负着控制体重,调节血脂,保持结肠健康的任务,也会影响免疫和炎症反应。但短链脂肪酸尤其是丙酸盐的累积,会对神经系统的生理机能产生广泛的影响,导致发育迟缓或癫痫[29]。在动物实验研究中,丙酸盐可能会导致神经炎症和神经皮质发育不良。这与在ASD患者身上观察到的一致,注入丙酸盐可驱使类自闭行为特征的出现[30]。研究发现,ASD患者的排泄物和血清当中短链脂肪酸的浓度偏高[31]。短链脂肪酸可以通过血—脑屏障,调节神经递质和行为,是一种毒害神经的物质。除了直接作用于大脑,丙酸盐会调节肠内5-羟色胺的分泌,降低大脑5-羟色胺和多巴胺水平,导致ASD儿童血羟基色胺过多[32]。

5-羟色胺,大多数产生于肠道,能够调节神经发育,影响社交功能和重复刻板行为。ASD儿童全血和血小板中5-羟色胺占据了30%,是自闭症谱系障碍的一个潜在生物学标记[33]。临床和临床前研究表明,肠道菌群可以影响外围和中央色氨酸和5-羟色胺水平,较高含量的5-羟色胺水平可能与肠炎有关,5-羟色胺在肠内炎症中扮演重要角色[34]。ASD儿童体内有较高含量的能够影响5-羟色胺代谢的菌种,如梭菌和乳杆菌,肠瘘现象又会使得5-羟色胺进入体循环系统,导致血液中5-羟色胺水平的提高,最终影响大脑发育[35]。

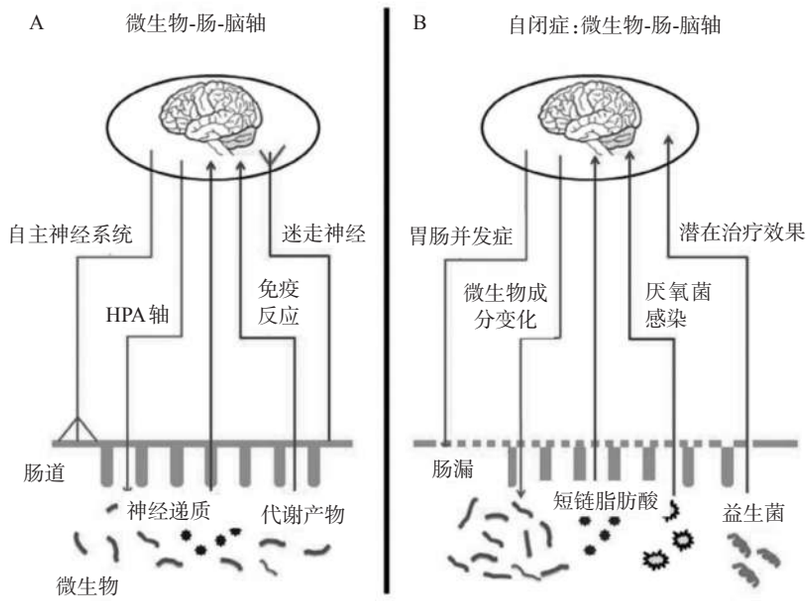
3 菌肠脑轴对ASD的作用机制

近期的多项研究明确提示,微生物-肠-脑轴的失调是自闭症谱系障碍发生和发展的潜在诱因。其作用机制可能涉及自主神经系统(autonomic nervous system,ANS)和下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamus-pituitary-adrenal axis,HPA)轴,神经内分泌,细菌生物性毒素,神经免疫和代谢系统的作用,如图1所示。

3.1 自主神经系统和HPA轴

大脑神经系统与肠道微生物的联系是双向的。大脑向肠道菌群发送信号主要通过交感神经和副交感神经,交感神经系统对肠道产生抑制作用,比如抑制肠道运动功能和减少肠道分泌[36]。在压力条件下,交感神经系统被激活,肠道上皮细胞的完整性被破坏,导致“肠漏”、肠道蠕动和分泌物改变[37]。由压力引起的肠道变化改变了细菌的栖息地,导致微生物群的组成或菌群活动的改变。下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴是另一种重要的机制,大脑对肠道菌群的构成有影响。当HPA轴被激活时,循环的皮质醇和促炎细胞因子的水平显著升高,引发肠道炎症[38]。由大脑神经系统引发的肠道通透性增加,反过来又会加剧毒性菌群侵害大脑的风险。大

图1 菌肠脑轴与自闭症谱系障碍成因[61]



①微生物-肠-脑轴的双向交流主要通过自主神经系统、下丘脑-垂体-肾上腺轴、神经内分泌和神经免疫途径进行。②在自闭症谱系障碍中,肠脑轴失调的表现。自闭症谱系障碍临床症状与胃肠道症状和肠道菌群的变化有关。肠道微生物群和肠道厌氧菌感染的有害代谢物可能参与到自闭症谱系障碍的发展中。菌肠脑轴的调节剂,如益生菌,在ASD患者身上显示了潜在的治疗效果。

部分ASD儿童表现出神经紧张、情绪焦虑的特征,又会通过自主神经系统和HPA轴引发各类肠道疾病。

3.2 神经内分泌系统

最近的研究表明,肠道微生物菌群的作用远不止调节肠道自身,微生物的代谢物通过血液的吸收和运输,穿过血脑屏障(blood-brain barrier,BBB),对大脑进行调节[39]。短链脂肪酸(SCFAs)是微生物-肠-脑轴的关键介质。研究发现,ASD儿童的粪便样本中所含的SCFAs水平要低得多,包括较低的丙烯酸(AA)、缬草酸(VA)和苯丙醇胺(PPA)[40]。另一方面,粪便中的SCFAs水平可能会受到多种因素的影响,如产生SCFAs的细菌数量、饮食中可溶性纤维的摄入量、运输时间、和/或药物的摄入量。Foley等[41]的研究发现,产前暴露于苯丙醇胺(PPA)会严重损害新生儿和青少年的社会行为,表明母亲的肠道菌群可能会影响后代患自闭症谱系障碍的风险。此外,研究已经证明了苯丙醇胺进入成年大鼠的脑室和周边外围引起了广泛的行为缺陷,这些行为与ASD患者的行为表现一致[42]。超丰富的苯丙醇胺可以轻易地进入血液,并通过血脑屏障。在大脑中,它可以在神经元内积累,诱导细胞内的酸化,改变神经传递的释放和神经活动。苯丙醇胺也会诱导基因表达的改变,包括与神经传递系统相关的基因表达,神经元细胞黏附分子,炎症,氧化应激,脂质代谢和线粒体功能,所有这些都与自闭症谱系障碍有关[43]。

3.3 细菌生物性毒素路径

传播的细菌衍生出的毒素,随着肠道渗透性的增加,容易导致神经毒性效应。值得关注的如酚类化合物。一些酚类化合物可能与特定的细菌有关,并有神经毒性作用[44]。多酚通过肠道菌群代谢成更简单的酚类化合物,这些酚化合物在肝脏中进一步转化,并在尿液中释放。对甲酚(p-cresol)是氨基酸酪氨酸和苯丙氨酸的代谢物,是一种酚类化合物,毒性很大,干扰机体的代谢,是自闭症的一个生物学标识[45]。对甲基苯酚的接触,除环境暴露、皮肤和呼吸系统的吸收,最广泛的来源是肠道细菌。梭状芽孢杆菌及某些特定的乳酸菌,可以通过对羟苯醋酸酯酶(p-hydroxyphenylacetate)的表达来推动酪氨酸的形成,进而产生对甲酚,从而加剧自闭症谱系障碍的严重程度和肠道功能障碍。

3.4 神经免疫和代谢系统

肠道菌群也通过调节宿主的免疫反应导致大脑紊乱。致病微生物群、细菌代谢物及其成分能够刺激肠道上皮细胞、肠道树突细胞和噬细胞的促炎细胞因子的分泌。循环细胞因子的增加与各种神经性疾病密切相关,包括自闭症谱系障碍。

大部分的ASD患者都有长期或大量使用抗生素的历史[46]。口服抗生素破坏了保护性的微生物群,导致肠道内厌氧菌的增殖,例如梭状芽孢杆菌、拟杆菌和脱硫弧菌,它们可能会促进自闭症谱系障碍症状和行为的出现,并产生一些直接影响自闭症谱系障碍病理的代谢物。例如,梭状芽胞杆菌是一种无所不在的无氧杆菌,它产生一种强有力的神经毒素,破伤风神经毒素(TeNT)。迷走神经能够运输破伤风神经毒素,并提供从肠道到大脑的路径。TeNT破坏了神经传递素的分解,从而导致了在ASD患者中观察到的常见的行为缺陷[47]。另外,一种特定的梭状芽胞的代谢产物,3-羟基苯基和3-羟基丙酸,通过在大脑中排空和耗尽儿茶酚胺引起自闭症状。这一观察支持了自闭症谱系障碍的病因和梭状芽胞菌的相关性[48]。脱硫弧菌是另一种厌氧的革兰氏阴性杆菌,研究发现,大约50%的自闭症儿童肠道中可检测到脱硫弧菌,脱硫弧菌可引起硫代谢异常,其代谢产物硫化氢可以直接对肠上皮细胞诱发炎症、产生细胞毒性和遗传毒性,也可以通过增加肠屏障通透性和促进肠道菌群易位来实现其作用[49]。

4 菌肠脑轴调节的影响因素

4.1 环境

疾病发展的表观遗传模型,LEARn模型(潜在的早期生命相关调节),指出早期生活暴露于营养失衡、重金属、母亲护理不当或其他环境压力中,会改变一个人生命发展过程中相关基因的表达[50]。婴幼儿早期的影响环境是母体环境。研究发现,同胞老鼠的肠道微生物群与不同的母鼠所生的幼鼠的肠道微生物群相比,前者微生物群之间更为相似[51]。在母亲的阴道和皮肤上出现的细菌是第一个寄生在新生儿肠道的细菌。接下来,初乳会形成一部分的肠道微生物,研究发现,母乳喂养的ASD婴儿肠道菌群中,梭状芽胞杆菌和大肠杆菌的数量明显低于那些配方奶粉喂养的ASD婴儿[52]。个体所在的区域环境也是影响肠道微生物组成的重要因素。

4.2 饮食、微生物和健康

个体从饮食中获取的能量以及个体对能量的利用程度会影响肠道菌群的丰富性,进而影响人的健康状态。从低脂肪、植物多糖的饮食转变为高脂肪、高糖的饮食,在一天范围内即可改变个体微生物群落的结构,微生物组代谢的途径,以及微生物组基因的表达。因此,改变肠道微生物的活性和组成有利于个体的健康。婴儿接受的第一种益生菌是母乳中的低聚糖。与婴儿奶粉配方中的糖类不同,母乳中所含的低聚糖只部分在小肠中消化后,就到达结肠,为双歧杆菌的发展提供能量来源。另一方面,益生菌是一种微生物(细菌或酵母),存在于我们的食物(酸奶、发酵的蔬菜)中,能够减轻乳糖不耐受,增强人的免疫功能。常见的益生菌包括丙酸菌、乳酸细菌、双歧杆菌和某些酵母。研究发现,双歧杆菌、乳酸菌和链球菌的联合制剂能使ASD儿童的肠道菌群得到改善,菌群代谢产物水平发生变化,儿童的执行命令能力和注意力程度提高[53]。

5 预防和治疗策略

对微生物-肠-脑群相互作用的研究为自闭症谱系障碍的预防,改善个体行为,促进神经功能提升,以及通过调节肠道微生物群解决共病问题提供了希望。动物和临床研究都报告表明,通过实施改变肠道微生物群的疗法,个体的神经功能和行为都可能发生变化。

5.1 益生菌补充

益生菌是一组生活在肠道中的非病原微生物,如乳酸杆菌、乳酸菌、双歧杆菌和酵母等。益生菌在肠道微生物组和肠道免疫系统的调制中发挥重要作用,不仅能够促进食物的消化和营养吸收,还能改善肠道屏障功能。最近的研究已经证实,通过微生物-肠--脑轴的调节机制,益生菌可能是一种有效的治疗自闭症谱系障碍的方法[54]。在双盲、安慰剂对照、交叉设计研究的研究中,口服乳酸菌与安慰剂相比,显著增加了乳酸菌/肠道菌群的数量,减少了梭状芽胞杆菌的数量[55]。Linday等[56]还发现,布拉氏酵母菌(Saccharomyces boulardii)可能是针对自闭症谱系障碍儿童和儿童腹泻的一种潜在的治疗方法。Hsaio等[57]也提供了益生菌的有益影响的直接证据。他们发现,接受了杆菌治疗的儿童,行为异常和胃肠道缺陷问题显著减少。由此可见,益生菌补充能够改善肠道屏障的完整性,改变血清中的代谢物,成为治疗自闭症谱系障碍的一种很有前景的疗法。

5.2 饮食调整

许多环境因素会影响菌肠脑轴,尤其是个体每天的食物摄入。研究表明,食物可以影响肠道菌群的组成。例如,在母乳喂养的婴儿肠道菌群中,梭状芽胞杆菌和大肠杆菌的数量明显低于配方奶粉喂养的婴儿,膳食乳化剂也可以改变肠道微生物群的定位、成分和促炎可能性[58]。由饮食引起的微生物菌群变化可能会影响血清代谢,调节个体的大脑活动。因此,某些食物可能会恢复微生物-肠-脑轴的平衡,并对与自闭症谱系障碍相关的缺陷有治疗作用。研究发现,无谷蛋白饮食(GF,如禁食面筋)和无酪蛋白饮食(CF,如禁食牛奶)可以缓解ASD儿童的肠道炎症,提高社会性行为,同时减少了重复性行为和紧张焦虑状况[59]。除了无谷蛋白和无酪蛋白的饮食外,酮类饮食(KD)是一种高脂肪和低碳水化合物的饮食,由于能够修改复杂的社会行为和线粒体呼吸,也可能是ASD儿童的另一个有用的治疗选择[60]。

6 展望

了解肠道微生物群中复杂的跨基因组代谢相互作用,也许是破译和学习如何优化我们的肠道微生物群落以促进健康的终极挑战。掌握胃肠道菌群的潜力是彻底改变人类和动物疾病的治疗方式。新的抗生素、益生元、益生菌、甚至微生物组移植都可以取代昂贵的外科手术或药物治疗。积极地管理肠道菌群在预防医学和治疗疾病方面具有相当大的潜力。最困难的任务是分析个体与其肠道微生物组之间复杂的代谢,环境和基因组的相互作用机制。以下两方面需要关注:

首先,需要进行更加深入的研究,以确定自闭症谱系障碍患者与健康人群体内微生物成分是否有所不同,甚至可能对ASD群体的胃肠道症状进行分类。如果未来的研究证实了一种独特的自闭症谱系障碍微生物群,那么对具体的微生物群落差异的了解可能会带来针对ASD儿童临床症状和/或胃肠道功能障碍的新型治疗方法。其次,虽然研究支持将微生物-肠-脑相互作用作为治疗自闭症谱系障碍的一种疗法的可行性,但在开发和利用ASD儿童肠道微生物群的方法时,必须采取克制和谨慎的态度。使用饮食和益生菌干预,在医疗服务提供者或营养学家的指导下是适当的。然而,使用抗

微生物药物(抗生素和抗真菌药物)和粪便微生物群移植存在一定风险。为了安全开发特定的治疗方法,需要更多的关于微生物-肠-脑群相互作用的信息,进一步确定大脑-肠道-微生物组轴的特定的相关改变,并评估微生物群功能的变化,为ASD儿童提供有益的治疗结果。

参考文献

[1] Christensen DL, Baio J, Van Naarden Braun K, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years-autism and developmental disabilities monitoring network[J]. Surveillance Summaries, 2014, 65(3): 1—23.

[2] Luna RA, Savidge TC, Williams KC. The Brain-Gut-Microbiome Axis: What Role Does It Play in Autism Spectrum Disorder?[J]. Curr Dev Disord Rep, 2016, 3(1): 75—81.

[3] Furness JB. The Enteric Nervous System[M]. Hoboken: Blackwell Publishing, 2007.

[4] Shreiner AB, Kao JY, Young VB. The gut microbiome in health and in disease[J]. Curr Opin Gastroenterol, 2015, 31: 69—75.

[5] 罗佳, 金锋. 肠道菌群影响宿主行为的研究进展)[J]. 科学通报, 2014, 59: 2169—2190.

[6] Mayer EA, Padua D, Tillisch K. Altered brain-gut axis in autism: Comorbidity or causative mechanisms?[J]. Bio Essays, 2014, 36: 933-939.

[7] Zhu B, Wang X, Li L. Human gut microbiome: The second genome of human body[J]. Protein Cell, 2010, 1: 718—725.

[8] Compare D, Coccoli P, Rocco A, et al. Gut-liver axis: The impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease[J]. Nutri Metab Cardiovasc Dis, 2012, 22: 471—476.

[9] Ghaisas S, Maher J,Kanthasamy A. Gut microbiome in health and disease: Linking the microbiome - gut-brain axis and environmental factors in the pathogenesis of systemic and neurodegenerative diseases[J].Pharmacology and Therapeutics, 2015, 11: 1—37.

[10] Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, et al. The impact of the gut microbiota on human health: An integrative view [J]. Cell, 2012, 148: 1258—1270.

[11] Bresnahan M, Hornig M, Schultz AF, et al. Association of maternal report of infant and toddler gastrointestinal symptoms with autism: evidence from a prospective birth cohort [J]. JAMA Psychiatry, 2015,72(5): 466—474.

[12] Mazefsky CA, Schreiber DR, Olino TM, et al. The association between emotional and behavioral problems and gastrointestinal symptoms among children with high-functioning autism[J]. Autism, 2014, 18: 493—501.

[13] Buie T, Campbell DB, Fuchs GJ, et al. Evaluation, diagnosis, and treatment of gastrointestinal disorders in individuals with ASDs: a consensus report[J]. Pediatrics, 2010, 125: S1—S18 .

[14] de Magistris L, Familiari V, Pascotto A, et al. Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives[J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2010, 51: 418—424.

[15] Williams BL, Hornig M, Buie T, et al. Impaired carbohydrate digestion and transport and mucosal dysbioisis in the intestines of children with autism and gastrointestinal disturbances[J]. PLoS One, 2011,6:e24585. doi:10.1371/ journal.pone.0024585.

[16] Nikolov RN, Bearss KE, Lettinga J, et al. Gastrointestinal symptoms in a sample of children with pervasive developmental disorders[J]. Journal of Autism and Developmental Disorders,2009, 39(3): 405—413.

[17] Whitehead WE, Palsson O, Jones KR. Systematic review of the comorbidity of irritable bowel syndrome with other disorders: what are the causes and implications?[J]. Gastroenterology, 2002, 122:1140—1156.

[18] Adams JB, Johansen LJ, Powell LD, et al. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism-comparisons to typical children and correlation with autism severity[J]. BMC Gastroenterology, 2011,11:22.

[19] Ding HT, Taur Y,Walkup JT.Gut microbiota and autism: key concepts and findings[J].J Autism Dev Disord, 2017, 47:480—489.

[20] Kang DW, Park JG, Ilhan ZE, et al. Reduced incidence of Prevotella and other fermenters in intestinal microflora of autistic children[J]. PLoS One, 2013, 8(7):e68322.

[21] Rosenfeld CS. Microbiome disturbances and autism spectrum disorders[J]. Drug Metab Dispos, 2015, 43(10): 1557—1571.DO:10. 1124/dmd.115.063826.

[22] Song Y, Liu C, Finegold SM. Real-time PCR quantitation of clostridia in feces of autistic children[J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70: 6459—6465.

[23] Stefanatos GA. Regression in autistic spectrum disorders[J]. Neuropsychology Review, 2008, 18(4): 305—319.

[24] Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children[J]. Anaerobe,2010, 16(4): 444—453.

[25] Finegold SM. State of the art; microbiology in health and disease. Intestinal bacterial flora in autism[J]. Anaerobe, 2011, 17: 367—368.

[26] Benach JL, Li E, McGovern MM. A microbial association with autism[J]. MBio, 2012, 3: pii:e00019-12.

[27] Aldred S, Moore KM, Fitzgerald M, et al. Plasma amino acid levels in children with autism and their families[J]. J Autism Dev Disord, 2003, 33: 93—97.

[28] Burrus CJ. A biochemical rationale for the interaction between gastrointestinal yeast and autism[J]. Med Hypotheses, 2012, 79: 784—785.

[29] Feliz B, Witt DR, Harris BT. Propionic acidemia: a neuropathology case report and review of prior cases[J]. Arch Pathol Lab Med, 2003, 127:e325—e328.

[30] Thomas RH, Meeking MM, Mepham JR, et al. The enteric bacterial metabolite propionic acid alters brain and plasma phospholipid molecular species: further development of a rodent model of autism spectrum disorders[J]. J Neuroinflammation, 2012, 9:1—18.

[31] Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, et al. Elevated fecal short chain fatty acid and ammonia concentrations in

children with autism spectrum disorder[J]. Dig Dis Sci, 2012, 57:2096—2102.

[32] De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits[J]. Cell, 2014,156:84—96.

[33] Gabriele S, Sacco R, Persico AM. Blood serotonin levels in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur Neuropsychopharmacol, 2014, 24:919—929.

[34] Bischoff SC, Mailer R, Pabst O, et al. Role of serotonin in intestinal inflammation: knockout of serotonin reuptake transporter exacerbates 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid colitis in mice[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2009, 296:G685—G695.

[35] de Magistris L, Familiari V, Pascotto A, et al. Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives[J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr,2010, 51:418—424.

[36] Al Omran Y, Aziz Q. The brain-gut axis in health and disease[J]. Adv Exp Med Biol, 2014, 817:135—153.

[37] Zou N, Lv H, Li J, et al. Changes in brain G proteins and colonic sympathetic neural signaling in chronic-acute combined stress rat model of irritable bowel syndrome (IBS)[J]. Transl Res, 2008, 152:283—289.

[38] Dinan TG, Quigley EM, Ahmed SM,et al.Hypothalamic-pituitary-gut axis dysregulation in irritable bowel syndrome: plasma cytokines as a potential biomarker?[J]. Gastroenterology,2006, 130:304—311.

[39] Clarke G, Stilling RM, Kennedy PJ, et al. Minireview: Gut microbiota: the neglected endocrine organ[J]. Mol Endocrinol, 2014, 28:1221—1238.

[40] 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. doi:10.3402/mehd.v23i0.19260.

[41] Foley KA, MacFabe DF, Vaz A, et al. Sexually dimorphic effects of prenatal exposure to propionic acid and lipopolysaccharide on social behavior in neonatal, adolescent, and adult rats: implications for autism spectrum disorders[J]. Int J Dev Neurosci, 2014, 39:68—78.

[42] El-Ansary A, Al-Ayadhi L. Relative abundance of short chain and polyunsaturated fatty acids in propionic acid-induced autistic features in rat pups as potential markers in autism[J]. Lipids Health Dis, 2014, 13:140—150.

[43] Nankova BB, Agarwal R, MacFabe DF, et al. Enteric bacterial metabolites propionic and butyric acid modulate gene expression, including CREB-dependent catecholaminergic neurotransmission, in PC12 cells-possible relevance to autism spectrum disorders[J]. PLoS One, 2014, 9:e103740.

[44] Finegold SM, Molitoris D, Song Y, et al. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism[J]. Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America,2002,35(Suppl 1), S6—S16.

[45] Noriega DB, Savelkoul HF. Immune dysregulation in autism spectrum disorder[J]. Eur J Pediatr, 2014, 173 (1): 33—43.

[46] 张仁敏,周东蕊,宋媛,等.PCR-DGGE技术分析孤独症家庭成员肠道菌群结构[J].南京晓庄学院学报,2016,6:110-114.

[47] Bolte ER. Autism and Clostridium tetani[J]. Med Hypotheses,1998, 51:133—144.

[48] Kesli R, Gokcen C, Bulug U, et al. Investigation of the relation between anaerobic bacteria genus clostridium and lateonset autism etiology in children[J]. J Immunoassay Immunochem, 2014, 35:101—109.

[49] Samsel A, Seneff S. Glyphosate, pathways to modern diseases II: celiac sprue and gluten intolerance[J]. Interdiscip. Toxicol, 2013, 6 (4): 159—184.

[50] Lahiri DK, Maloney B. The "LEARn" (Latent Early-life Associated Regulation) model integrates environmental risk factors and the developmental basis of Alzheimer's disease, and proposes remedial steps[J]. Exp Gerontol, 2010, 45: 291—296.

[51] Benson AK, Kelly SA, Legge R, et al. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107: 18933—18938.

[52] Penders J, Vink C, Driessen C, et al. Quantification of Bifidobacterium spp., Escherichia coli and Clostridium difficile in faecal samples of breast-fed and formulafed infants by real-time PCR[J]. Fems Microbiol Lett, 2005, 243:141—147.

[53] 程茜. 益生菌治疗孤独症谱系障碍的展望[J]. 中国实用儿科杂志,2017,32(2):125—128.

[54] Strati F, Cavalieri D, Albanese D, et al. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders[J]. Cell, 2017, 5:103—111.

[55] Zou N, Lv H, Li J, et al. Changes in brain G proteins and colonic sympathetic neural signaling in chronic-acute combined stress rat model of irritable bowel syndrome (IBS)[J]. Transl Res, 2008, 152:283—289.

[56] Linday LA. Saccharomyces boulardii: potential adjunctive treatment for children with autism and diarrhea[J]. J Child Neurol, 2001, 16:387.

[57] Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders[J]. Cell, 2013, 155: 1451—1463.

[58] Chassaing B, Koren O, Goodrich JK, et al. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome[J]. Nature, 2015, 519:92—96.

[59] Pennesi CM, Klein LC. Effectiveness of the gluten-free, caseinfree diet for children diagnosed with autism spectrum disorder: based on parental report[J]. Nutr Neurosci, 2012, 15:85—91.

[60] Ahn Y, Narous M, Tobias R, et al. The ketogenic diet modifies social and metabolic alterations identified in the prenatal valproic acid model of autism spectrum disorder [J]. Dev Neurosci, 2014,36:371—380.

[61] Li Q,Zhou M. The microbiota gut brain axis and its potential therapeutic role in autism spectrum disorder[J]. Neuroscience,2016,324,131—139.