



评述

自闭症的病因和治疗方法研究进展

段云峰^①, 吴晓丽^{①②}, 金锋^{①*}^① 中国科学院心理研究所, 心理健康重点实验室, 北京 100101;^② 中国科学院大学, 北京 100101

* 联系人, E-mail: jinfeng@psych.ac.cn

收稿日期: 2015-04-10; 接受日期: 2015-08-28

中国博士后科学基金(批准号: 2013M541072)和日本 NS BIO JAPAN 株式会社和广东新日生物科技有限公司资助项目

doi: 10.1360/N052015-0108

摘要 自闭症是一种发育障碍类疾病, 病程可持续一生, 难以逆转, 且患病率逐年升高, 已给家庭和社会造成巨大的经济和社会负担. 然而, 自闭症的病因尚未完全明晰, 缺少有效的治疗和干预方法. 自闭症是生物性疾病, 受基因和环境因素共同影响, 环境可能是主要影响因素. 自闭症儿童大脑早期发育异常可能是自闭症发病的直接诱因, 神经毒性物质、营养物质、代谢产物和神经活性物质等都可能是自闭症的病因. 一些自闭症患者存在染色体异常和基因变异, 同时, 更多的病例在胃肠道症状等其他方面也表现异常. 自闭症患者中较高比例的胃肠道异常症状与患者肠道微生物紊乱关系密切, 因此推论, 微生物、肠道与大脑构成的菌-肠-脑轴可能在自闭症的发病过程中起重要作用. 针对不同的影响因素, 目前, 已有多种干预方法, 包括生物和非生物疗法. 生物疗法包括: 抗生素、药物和饮食等, 其中, 以肠道微生物为靶点的检测与干预的自闭症疗法将是未来的趋势, 用益生菌和粪菌移植进行干预也日趋引起关注. 虽然, 这些疗法都有患者在使用, 但多数疗法并不能有效改善自闭症核心症状, 仍缺乏完整有效的安全性和有效性评估, 因此, 今后应加强系统性的控制研究, 开展针对菌-肠-脑轴的病因探索和微生物干预研究.

关键词自闭症
病因
肠道微生物
饮食
菌-肠-脑轴

自闭症(autism 或 autistic disorder)又称孤独症, 是一种具有生物基础的发育障碍类疾病, 包括一系列复杂的神经发育障碍. 最新版的美国精神疾病诊断及统计手册第五版(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-V, DSM-V)已将自闭症的核心症状归结为社交障碍, 沟通困难和有限的、重复和刻板的行为. 自闭症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD)是这类疾病的总称, 较严重的状况称为自闭症或经典自闭症谱系障碍, 其他的类型有阿

斯伯格综合征(Asperger syndrome)、儿童期分裂障碍(childhood disintegrative disorder)和非特异的广泛性发育障碍(pervasive developmental disorder not otherwise specified, PDD-NOS)等^[1]. 虽然 ASD 的特征和严重程度各异, 但在各种族和经济阶层中都会出现, 并对任何年龄段人群都可能造成影响.

不容乐观的是自闭症的患病人数在逐年增加, 据美国疾病控制与预防中心统计, 截止到 2010 年, 美国 8 岁的儿童中每 68 人中就有一人患有 ASD, 并

引用格式: 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: 820-844

Duan Y F, Wu X L, Jin F. Advance in causes and treatment of autism. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 820-844, doi: 10.1360/N052015-0108

且男性患病比例约为 1/42, 是女性的 4~5 倍^[2]. 而 2013 年的报告显示, 在 6~17 岁的孩子中每 50 个孩子中就有 1 个患有自闭症^[3], 增长趋势十分明显. 来自不同国家的统计表明, 自闭症在总人口的患病比例可达 2% 甚至更高^[1,3,4]. 在美国, 每个自闭症儿童一生的护理费用超过 320 万美元, 全国每年的花费超过 350 亿美元^[5]. 然而, 目前我国还缺乏官方的统计报告, 据世卫组织统计, 中国大陆的自闭症儿童数量约为 60~180 万人, 有学者则认为实际数量可能达到 260~800 万人^[6,7]. 自闭症已经成为儿童精神类致残的重要疾病, 随着发病率的升高, 正在并将持续给家庭和社会带来巨大的社会和经济负担.

自闭症由环境因素, 生物和遗传因素等共同作用引起^[8,9], 目前的治疗措施主要包括行为干预和药物干预^[10~13]. 然而, 到目前为止, 人们对自闭症的致病机制尚未完全阐明, 也还没有切实有效的针对核心症状的治疗方法. 本文将对近年来发现的致病因素和自闭症的治疗方法进行综述, 着重从生物学相关的致病因素和治疗方法进行综述, 特别介绍了最具前景的肠道微生物相关疗法, 以期为广大科研人员、医疗工作者和相关人员提供参考.

1 自闭症的致病因素

1.1 遗传因素

对自闭症患者的双生子和家庭成员的研究表明, 一些患者存在明显的遗传易感性. 同卵双生子之一患有自闭症, 另一个的患病几率可达 60%, 甚至 90%; 而异卵双生子则只有 5% 的患病几率, 结合自闭症的发病率, 有研究推测自闭症及类似行为特征的遗传性达 90%^[11,14]. 除此之外, 直系亲属患病率也受遗传因素影响, 自闭症患儿的兄弟姐妹患病风险会明显增加; 家庭中有一个孩子患有自闭症, 那再生一个孩子患病几率可达 5%~6%^[15~19]. 研究者还发现, 自闭症孩子的家庭成员出现较多的社交技能或重复性行为异常^[20], 以及某些情感障碍类精神疾患, 如躁郁症等^[21]. 还有理论认为两个具有重复、刻板、注重秩序和规则等超系统性(hyper-systemising)行为比较明显的人结婚后更容易生出自闭症的孩子^[22].

自闭症的遗传学因素主要集中在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^[23~25]. 具有特定遗传或染色体特征的人更容易患自闭症, 如脆性 X 染色体综合征或结节性硬化症(tuberous sclerosis)^[26~28]. 虽然, 基因是自闭症的一个风险因素, 然而, 到目前为止尚未确定自闭症基因, 仅报道了一些潜在的易感或致病基因, 如 *CNTNAP2*(contactin associated protein like-2)基因、突触蛋白基因 *SHANKs*(SH3 and multiple ankyrin repeat domains)和 *NLGN4X*(neuroligin 4, X-linked)基因等^[29~31]. 另外, 结节性硬化症基因可能与自闭症相关, 据估计, 大约在 1%~4% 的自闭症患者中能够检测到该基因异常^[32,33]. 在某些自闭症儿童体内影响大脑发育的拓扑异构酶相关基因(如 *TOP1*)发生了突变导致表达量降低^[34]. 自闭症患者表现了高度的遗传异质性, 仍不清楚这些基因是单独或组合影响自闭症的发生, 如 *NRXN1*(neurexin-1)基因是维持脊椎动物神经系统功能的细胞黏附分子和受体的一组蛋白家族基因, 可能参与了自闭症和精神分裂症的形成^[35], 然而, 大规模调查并没有发现自闭症儿童体内相应的编码序列的异常, 并且这个基因单独并不会导致自闭症, 必须与其他因子一起才可能引起自闭症^[36]. 据估计, 大约 3~12 个基因协同作用才可能导致自闭症^[11], 并且这些可疑的基因多位于第 2 号、5 号、7 号和 16 号染色体上^[37~41]. 科研人员已经构建某些神经生物学相关的基因异常的自闭症动物模型来进一步研究^[42].

尽管研究认为自闭症是一种复杂的多基因控制的遗传性疾病, 然而并没有发现确切的自闭症致病基因, 仍不清楚它们之间的联系机制^[43]. 事实上, 遗传学因素大约能够解释 10%~30% 的自闭症成因, 它的发病率逐年迅速升高明显偏离哈迪-温伯格平衡(Hardy-Weinberg Equilibrium), 提示自闭症是遗传和外部环境相互作用引起的疾病^[10]. 而环境可能更是值得我们关注的因素.

1.2 环境因素

(1) 生物异源物质/重金属. 杀虫剂、农药、添加剂和防腐剂等正常人体不存在的生物异源物质(xenobiotics)进入体内会对人体产生伤害. 某些重金属, 如砷、铅、汞、镉、铊和锰等会对人体神经系统产生毒害. 有研究发现, 重金属和生物异源物质会引起硫代谢异常, 氧化还原水平以及甲基化都会受到影响^[11,44~46].

起初,人们注意到自闭症儿童通常在发病前进行过疫苗注射^[47],并怀疑其中的防腐剂-硫柳汞(thimerosal)才是导致自闭症的罪魁祸首。但后续研究否定了这一发现^[48]。此外,疫苗中的抗体刺激蛋白和多糖与自闭症并不相关^[49]。虽然研究结果不一,但为了谨慎起见,世界卫生组织已经不再鼓励在疫苗中使用硫柳汞作为防腐剂^[50]。

值得注意的是汞对人体健康的影响并不简单。在正常情况下,人体能够将汞代谢为乙基汞(ethylmercury),大约18天内就被排出体外。然而,在体外,某些肠道微生物能够将汞甲基化或去甲基化,甲基化的汞具有神经毒性,可破坏神经系统,引起脑萎缩^[51]。历史上著名的环境污染事件“日本水俣事件”就是由于环境中的微生物将污水中的汞转化为甲基汞而引起的中毒事件。此外,用抗生素清除大鼠(*Rattus norvegicus*)肠道中的微生物后,会导致组织中汞的含量增加,并且甲基汞的比例也明显增加^[52]。因此,在研究物质的毒性时,需考虑微生物的影响,某些肠道微生物可能将本身无毒的物质转化为有毒的物质,对含汞疫苗的安全评价应考虑特定肠道微生物的代谢。

除汞外,另一种环境中常见的重金属-铅在自闭症患儿体内的含量也显著高于对照组^[53]。一项对5~16岁的55位自闭症儿童和44位对照的研究发现,重金属在自闭症患儿血液和尿液中含量更高,其中自闭症组血液中铅的含量高于对照组41%,尿液中的铅、铊、锡和钨含量分别比对照组高74%,77%,115%和44%,而血液中钙含量却比对照组低19%,并且,自闭症的严重程度与体内的重金属含量密切相关^[54]。

某些生物异源物质也可能导致自闭症。有研究通过使用致畸剂,如常用的抗痉挛(anticonvulsant)药丙戊酸钠(sodium valproate)处理怀孕的母鼠,丙戊酸钠在母鼠体内生成的丙戊酸(valproic acid, VPA)会导致后代出现类似自闭症症状的发育和行为异常,并持续到成年^[55]。目前,尚未有具体的影响机制报道,推测可能是丙戊酸通过影响叶酸代谢、组蛋白脱乙酰作用、氧化应激、突触可塑性和神经细胞凋亡导致神经系统发育异常。

(2) 怀孕。自闭症的发病时间通常是三岁以内,关键时期是出生之前、期间或出生后不久^[56],这段时

间正是幼儿生长发育的关键时期,极易受到外界环境的影响。研究发现,怀孕期间的多种影响因素都有可能影响孩子的神经系统发育,如怀孕期子宫感染和孕期并发症^[57]、接触化学物质^[46]、环境污染^[58,59]、围产期和产后健康状况^[56,60,61]等都将增高幼儿患病风险。

动物研究发现,产前应激会使母鼠脑中五羟色胺(血清素 serotonin 或 5-hydroxytryptamine, 5-HT)的含量显著升高,而它的代谢产物五羟吲哚乙酸会在后代中积累,导致后代婴儿期出现行为缺陷^[62]。在怀孕和围产期感染病毒也可导致后代患自闭症和精神分裂症的风险增加。有研究发现,给怀孕母鼠注射人流感病毒后,其产生的后代会出现缺乏探究行为和交流行为等类似自闭症的异常行为^[63]。可能产前应激在人体内也会有类似的影响。

有研究报道,父母生育孩子时的年龄越大孩子患自闭症的风险越高^[64],并且祖父母晚育也会增加第三代患自闭症的风险^[65]。最近的一项研究表明,自闭症儿童母亲的年龄显著高于对照组,且约有50%的患者曾经有过产前并发症^[66]。在怀孕期间服用药物可能增加自闭症风险,如孕期服用处方药丙戊酸和萨力多胺等^[59,67]。此外,母亲孕期接触可卡因和酒精,病毒感染以及甲状腺功能减退等都可能提高孩子患自闭症的风险^[11]。孕妇生活的环境会影响孩子,环境污染会增加自闭症的发生率,研究发现,怀孕期间以及在孩子出生后的第一年暴露于交通空气污染中高浓度的二氧化氮,PM2.5和PM10会增加孩子患自闭症的风险^[58]。因此,对自闭症的诊断和预防可能并不需要等到孩子长大,而是在孩子出生时,孕期乃至在母亲怀孕之前就应该进行后代自闭症风险评估和干预。

(3) 肠脑。肠道里的神经细胞在细胞类型、神经递质及感受器方面都与大脑极其相似,与大脑的神经细胞数量相当,比脊髓里的还多^[68],常见的5-HT、多巴胺(dopamine, DA)、谷氨酸、去甲肾上腺素、一氧化氮、阿片肽、P物质、促胃激素、促胰激素等神经递质和激素在大脑和肠神经系统都有广泛分布^[69],因此,肠道也被称为人的“第二脑”或“肠脑”^[70]。肠脑与头脑之间双向互通,它们之间通过脑-肠轴(brain-gut-axis)进行联接^[71]。肠脑能够影响中枢神经系统,进而影响人的情感,认知和行为^[69],并且肠道

微生物可能在其中具有重要作用^[72]。自闭症可能也受脑-肠轴的影响^[73]。

肠道是人体最大的消化器官,负责营养物质的消化和吸收,小分子物质能够被肠道直接吸收,某些大分子物质需要通过特定的通道或受体才能被人体吸收。自闭症患者通常伴有肠道异常,当肠道出现炎症时,会引起肠道细胞肿胀,细胞间隙变大,引起肠漏(gut leakage),导致大分子物质能够穿透肠壁进入体内,此外,严重的肠道问题可能伴随肠道的破损和溃疡,大分子物质就更容易进入肠道^[74]。

研究发现,2006~2010年,美国3~17岁的自闭症儿童患有腹泻或结肠炎的比例是正常人的7倍^[75]。最近的一项研究发现,61%的自闭症儿童同时伴有至少一种胃肠道症状,并且所有伴有消化道症状的儿童情感问题都比较严重^[76]。此外,不同群体自闭症患者同时伴随胃肠道症状的比例不同,大约为9%~91%^[77],这种巨大差异可能是由于调查过程中,自闭症患者语言和沟通障碍造成的。自闭症的胃肠道症状主要包括:淋巴结节性增生^[78]、小肠结肠炎^[79]、胃炎、食管炎^[80]、肠道通透性增加^[81]、双糖酶活性不足^[82]、淋巴细胞种群密度较高^[83,84]、异常的细胞因子^[85]和免疫球蛋白(IgG)^[86,87]等。有研究发现,患有自闭症的儿童中有1/4伴有腹泻,1/4伴有便秘,并且胃肠道炎症影响患者对营养物质的吸收^[88,89],有36.7%的自闭症儿童肠道通透性增加,而进行无酪蛋白/谷蛋白饮食控制的患者相比没有进行饮食控制的患者和对照,他们肠漏症状显著减轻^[74]。

(4) 肠道微生物。近年来的研究发现,人体携带有1~2 kg的微生物,这些微生物总数量达人体自身细胞数量的10~100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”或“被遗忘的器官”^[90~92]。肠道微生物能够帮助人体消化和吸收营养物质,通过分泌各种酶类,合成某些维生素和生物活性物质影响人体代谢、控制体重、塑造人体免疫系统以及帮助抵御病原微生物的侵入^[93~95],并且血液中大约70%的物质来自于肠道^[96],其中36%的小分子物质是由肠道微生物产生^[97]。肠道微生物的平衡对人体健康至关重要,这种平衡一旦被打破将可能导致多种疾病。

最近的研究显示,粪便中有超过90%的DNA序列来自肠道微生物,这些微生物主要属于两个门:拟

杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes),并且可以大致聚类为以拟杆菌属(*Bacteroides*)、普氏菌属(*Prevotella*)和瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)3个属的微生物为主的类型,称为肠型(enterotypes)^[98]。肠型是稳定的,几乎不受饮食等因素的影响,可用于区分个体的肠道微生物特征^[99],研究发现,自闭症儿童具有其独特的肠型,他们大多为拟杆菌属和瘤胃球菌属肠型,而缺少普氏菌属肠型^[100]。

肠道微生物可通过血液系统,内分泌系统和神经系统影响大脑和行为,它们之间相互影响构成了微生物-肠道-大脑轴(microbiome-gut-brain axis,也称菌-肠-脑轴)^[101,102]。肠道微生物不仅影响人体的生理健康,并可能通过神经化学物质的变化^[103],影响人的心理和行为^[104~106]。肠道微生物还能够影响记忆的形成^[107],因而推论,自闭症也受菌-肠-脑轴的影响。有研究发现,自闭症样小鼠(*Mus musculus*)肠道通透性增大,肠道中微生物的代谢产物能够进入血液循环系统并且可以改变宿主特定的行为^[108]。

个体的发育不仅由父母垂直传递的基因决定,还受水平传递的、定植于肠道的微生物影响。个体肠道菌群有自己的生长发育规律,婴儿出生后微生物逐渐定植,一岁左右肠道微生物趋于稳定,3岁左右与成人类似或一致^[109]。早期研究认为婴儿在母体子宫中是完全无菌的^[109],随着测序技术的发展,在胎盘中也可检测到微生物,它们有可能很早就定植在胎儿肠道中^[110]。此外,出生方式不同会导致婴儿体内定植的微生物群不同^[111],剖腹产和顺产的婴儿其肠道菌群差异显著^[112~114]。不同出生方式使婴儿接触微生物的时机和部位不同,导致肠道中微生物定植的差异。喂养方式也会导致微生物的差异,出生后采用母乳喂养与吃配方奶的婴儿的肠道微生物构成也存在显著差异^[115]。母亲直接哺乳可通过乳头和乳汁向婴儿传递有益细菌,而吃配方奶或使用奶瓶奶嘴则使婴儿无法从母亲体内获取特定的有益微生物,因此,微生物的传递被阻碍可能导致健康和大脑发育异常等一系列问题。

自闭症儿童的消化道症状可由特定的肠道微生物引起,并且肠道早期定植的微生物出现异常可能会干扰大脑发育,引起或促进后代出现自闭症症状^[116]。值得注意的是,自闭症儿童在一岁以前开始出现症状,大多数发病都是在3岁以内,这与婴儿肠道菌群

的发育过程的时间节点重叠, 推测婴儿的大脑发育需要伴随肠道微生物的正常定植而完成。所以, 自闭症可能为婴儿早期肠道微生物的发育异常导致。目前, 已经发现了一些疑似与自闭症密切相关的肠道微生物或菌群组成紊乱, 一些在正常人体内出现的细菌缺失, 或者出现了正常人体内没有的菌群, 或者各种菌群的比例发生了明显变化, 有益菌减少, 有害菌增加。

梭菌属(*Clostridium*)细菌。最初, 人们怀疑梭菌属细菌可能跟自闭症关系密切, 如破伤风梭菌(*Clostridium tetani*)、产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)以及梭状芽孢杆菌(*Clostridium botulinum* sp.)等。梭菌是肠道中的“坏菌”, 可产生酚类、对甲酚或某些吡啶衍生物等毒性物质或前体物质。研究发现, 在晚发型自闭症(late-onset/regressive autism)患者中, 肠道菌群明显紊乱, 由梭菌产生的破伤风毒素(tetanus antitoxin)的浓度异常高^[94,117,118], 肠道中梭菌和瘤胃球菌属细菌数量明显高于对照组, 自闭症儿童粪便中 25 种不同的梭菌, 有 9 种梭菌在对照组中不存在, 而对照组中有 3 种梭菌在自闭症组中也没有发现, 且自闭症儿童的消化道上游和下游的微生物发生了明显改变^[94]。然而, 这一研究主要基于细菌培养, 也不能排除饮食干预的影响。另有研究发现, 自闭症患者体内的梭状芽孢杆菌(*Clostridium botulinum*)是正常对照组的 46 倍, 梭状芽孢杆菌(*Clostridium clusters*) I 和 X I 则分别是正常对照组的 9 倍和 3.5 倍^[119]。自闭症儿童肠道中的溶组织梭菌(*Clostridium histolyticum*)比例也明显偏高, 溶组织梭菌产生的毒素可能导致肠道异常和功能紊乱, 并且还可能进入血液系统, 再透过血脑屏障影响大脑发育^[120]。

脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)和萨特菌属(*Sutterella*)细菌。除梭菌外, 最近也发现了其他可能与自闭症相关的细菌。如脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)和萨特菌属(*Sutterella*)。在自闭症儿童中, 大约 50% 的患者中存在脱硫弧菌, 其兄弟姐妹中有一部分存在, 而正常人中几乎没有^[121]。这种硫酸盐还原菌属于革兰氏阴性厌氧弧菌, 能够引起硫代谢异常, 通过检测自闭症患者的血液和尿液, 确实发现自闭症儿童血液中硫含量较低, 而尿液中硫含量较高^[122], 推测脱硫弧菌可能通过影响儿童体内的硫代谢过程引起自闭症。

美国哥伦比亚大学的研究人员发现, 有超过 1/2 的伴有胃肠功能障碍的自闭症儿童肠道中存在另一种肠道微生物——萨特菌, 而正常人中没有发现^[123]。萨特菌属于产碱菌科(*Alcaligenaceae*)可抵抗胆碱, 约占肠道中全部细菌的 1%~7%^[124,125]。然而, 目前还不清楚其影响机制。

酵母菌(Yeast)。白色念球菌(*Candida albicans*)属于酵母菌, 是引起肠炎和阴道炎的一种致病真菌^[126]。有研究认为自闭症与真菌的过度增殖有关, 制霉菌素(nystatin)、氟康唑(fluconazole)和酮康唑(ketoconazole)等抗真菌素类药物或酵母抑制剂(yeast inhibitor)可改善自闭症症状^[127]。白色念球菌能够产生一种类似γ-氨基丁酸(γ-aminobutyric acid, GABA)的β-丙氨酸^[128], 可越过血脑屏障^[129]与 GABA 进行竞争, 干扰 GABA 的正常功能^[130]。有研究发现, 自闭症患者体内β-丙氨酸显著高于正常人^[131], 可能是由于自闭症患者肠道中的白色念球菌产生了大量β-丙氨酸, 透过血脑屏障后与抑制性神经递质 GABA 进行拮抗, 导致大脑加速产生 GABA, 最终导致自闭症患者在社会交往能力方面受到抑制^[132]。

其他肠道微生物。除了上述几种微生物在自闭症患者和正常人之间存在差异, 最近的研究还发现自闭症患者肠道中的厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)的比例比正常人低^[133], 而放线菌门和变形菌门在严重自闭症患者中明显增多, 脱硫弧菌属和普通拟杆菌(*Bacteroides vulgatus*)的比例也都显著高于对照组^[134]。此外, 粪杆菌属(*Faecalibacterium*)和瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)在 PDD-NOS 患儿和健康对照儿童粪便样品中含量更多, 而喜热菌属(*Caloramator*)、八叠球菌属(*Sarcina*)和梭状芽孢杆菌属在自闭症儿童粪便中最多; 与健康对照相比, 毛螺旋菌科(Lachnospiraceae)的组成与 PDD-NOS 患儿显著不同, 特别是与自闭症儿童差异更大; 除了惰性真杆菌(*Eubacterium siraeum*)外, 真杆菌科(Eubacteriaceae)在自闭症儿童粪便中最少; 拟杆菌属和一些 *Alistipes* 和 *Akkermansia* 菌在 PDD-NOS 和自闭症患儿粪便中最高; 几乎所有确认的萨特菌科(*Sutterellaceae*)和肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)在自闭症儿童粪便中均为最多, 而与健康对照相比, 自闭症儿童粪便中双歧杆菌却明显减少^[135]。

另有研究发现, 自闭症儿童粪便中除了萨特菌

(*Sutterella* spp.) 比对照组明显增多, 伴随有功能性胃肠疾病的自闭症儿童粪便中毛圈瘤胃球菌(*Ruminococcus torques*) 相比无功能性胃肠疾病的自闭症儿童也明显增多^[136].

通过比较 3~16 岁的自闭症儿童和正常儿童(每组 20 位)的肠道菌群、肠道症状和自闭症症状, 发现自闭症儿童肠道菌群中普氏菌属(*Prevotella*)、粪球菌属(*Coprococcus*) 和未分类的韦荣球菌科(*Veillonellaceae*) 明显减少; 自闭症儿童肠道菌群多样性与自闭症症状相关性更强; 菌群整体的多样性和个体菌属丰度与自闭症相关症状相关, 而与他们的饮食模式没有相关性^[100]. 表明肠道菌群丰度与自闭症症状联系更紧密, 肠道菌群丰度低或肠道菌群紊乱可能导致自闭症.

干预研究表明, 通过调节或干预肠道微生物能够对自闭症症状有所改善. 在人类中, 严重的病毒感染会导致怀孕母亲生出患有自闭症的孩子, 来自美国的研究人员通过模拟病毒感染引起母鼠出现免疫反应, 出生的小鼠会出现自闭症样行为. 通过这样的处理构建的自闭症模型小鼠同时出现胃肠道异常症状, 主要为通透性增加, 而这种症状同样存在于一些自闭症儿童中. 研究人员用益生菌-脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*) 来处理自闭症样小鼠, 结果小鼠的肠道通透性得到明显改善, 自闭症样行为也有所改善^[108]. 不仅在动物实验中, 在自闭症儿童体内也发现了类似的结果, 在给予 10 名自闭症儿童和 9 名他们的兄弟姐妹以及 10 名对照益生菌之后, 自闭症儿童体内拟杆菌门/厚壁菌门的比例, 脱硫弧菌属和双歧杆菌属细菌的比例均得以恢复^[133]. 这几项研究既发现自闭症患者肠道菌群的不同, 又通过益生菌干预了肠道菌群, 并改善了自闭症样行为, 表明肠道菌群异常可能是引发自闭症重要原因.

肠道微生物对宿主的影响除了肠道微生物本身, 还包括肠道微生物的代谢对宿主的影响, 后续的研究除了需要检测肠道微生物的差异, 还要检测肠道微生物的代谢物的变化, 肠道的 pH、氧化还原水平、氧气、氢气、短链脂肪酸和生物活性肽的含量等都会影响肠道微生物的分布和构成^[137]. 尽管发现自闭症与肠道菌群有关, 这些研究难以排除一些干扰因素, 如种族、饮食、并发症和病人的信息反馈等^[138]. 目前, 尚不能确定肠道菌群是自闭症的发病原因还是

结果, 或者只是混淆因素, 因此, 肠道菌群的研究仍需时日.

(5) 饮食和营养. 患有自闭症的儿童通常对味道、质地和气味等感官刺激极端敏感, 并对吃的东西极其挑剔. 据估计, 有超过 90% 的自闭症儿童存在饮食问题^[139]. 有一些父母反映他们患有自闭症的孩子只吃五六种食物, 更喜欢富含脂肪、淀粉类食物、零食和加工食物, 而厌恶大多数水果、蔬菜和蛋白质^[140~142]. 然而, 父母有限的时间、繁重的工作和巨大的心理和经济压力都有可能影响孩子的饮食习惯, 目前, 还不清楚自闭症儿童的饮食特点是否受到其照料和监管人的人为影响.

婴儿时期的饮食习惯会对其身体健康状况产生持续的、长期的影响. 挑食的儿童纤维素类营养更缺乏, 而缺乏纤维素会导致胃肠道功能紊乱, 尤其是便秘^[143]. 有限的食物种类必然导致营养不良, 缺乏必需的营养和一些酶类, 会进一步降低对食物的消化吸收能力, 从而形成恶性循环. 自闭症儿童与正常儿童相比, 营养物质摄入水平要显著低很多, 骨密度也比正常孩子低^[144], 自闭症患者摄入维生素 B6, B12, 维生素 E, D 和 C; 微量元素镁、铁、锌和钙以及叶酸等严重不足, 明显低于推荐摄入量^[145]. 自闭症儿童的这种饮食特点并不是在患病之后才出现的, 往往从婴儿时期就开始并持续很长时间.

除了缺乏营养物质, 食物中的某些成分也可能引起食物不耐受或过敏. 自闭症患者的免疫球蛋白抗体, 如 IgG, IgE 和 IgA 等水平普遍偏高^[146]. 人们发现, 通过减少或杜绝某些食物能够减轻自闭症的某些症状, 严格限制食物中的酪蛋白和谷蛋白后自闭症患者症状明显改善^[147,148]. 可能由于自闭症患者本身对这些食物成分不耐受或过敏, 也有人认为这两种蛋白质在自闭症孩子体内会被分解成某些引起大脑异常的种类神经递质, 包括具有阿片活性的多肽或短的氨基酸聚合物外啡肽(exorphins), 如谷啡肽(gluteomorphins) 和 β -酪啡肽(beta-casomorphins)^[149]. 然而, 目前对其具体的机制还不是很清楚.

食物在塑造和维持肠道微生物方面具有决定性作用. 有研究发现, 母乳中含有多种共生微生物, 是婴儿体内常见的乳酸菌和双歧杆菌等有益微生物的绝佳来源^[150,151]. 婴儿出生时, 母乳提供婴儿发育所需的各种营养物质, 以及一些保护性因子, 而配方奶

中缺乏这些物质, 尤其是母乳中的共生微生物。此外, 肠道菌群的紊乱会导致代谢异常, 细菌产生的维生素 B12、维生素 H 和维生素 K 等会严重缺乏, 也会导致明显的营养不良^[152]。

食品添加剂也可能增加儿童患自闭症的风险。人工色素、防腐剂等常用的食品添加剂对儿童的大脑发育有不利影响, 食品中的色素或苯甲酸钠等能够使 3 岁和 8~9 岁的儿童出现多动症^[153]。一项来自美国的调查显示, 从 2005~2010 年的 5 年间, 在 6~21 岁的人群中, 自闭症患者升高了 91%, 但这种升高跟汞的摄入没有关系, 而与一种食品添加剂——果葡糖浆(high fructose corn syrup, HFCS)的消费密切相关, 过多的果葡糖浆摄入会导致锌、钙、铜和磷等微量元素的摄入失衡^[154]。

(6) 代谢。自闭症患者的营养状况不仅取决于他们从食物中摄取的营养物质, 还在于自身的代谢。自闭症患者的氧化应激水平升高, 能量运输能力下降、硫酸盐化作用和解毒能力降低, 血液中存在低水平的生物素、谷胱甘肽、红细胞活性腺苷甲硫氨酸、血尿苷、血三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)、红细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NADH)、红细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)、血硫酸盐以及血色氨酸, 还存在高水平的氧化应激生物标记物和血谷氨酸^[155]。只是到目前为止还没有找到明确的自闭症的生物标记物。

氨基酸代谢。色氨酸是参与神经发育和突触发生的 5-HT、喹啉酸和犬尿酸的前体物质。喹啉酸是构成脱氢烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)的前体, 而 NAD⁺是线粒体中重要的能量载体, 是 NADH 的前体。喹啉酸和犬尿酸可影响免疫系统的活性, 色氨酸的代谢异常可能会影响这些物质的产生, 进而影响大脑的发育, 神经免疫活性和线粒体功能。研究发现, 自闭症患者的色氨酸代谢明显减少, 导致脑中 NADH 的产生减少, 影响线粒体的能量代谢, 神经细胞的发育, 轴突的生长以及神经的可塑性^[156]。从食物中摄入的色氨酸约有 99%是通过犬尿酸代谢途径(kynurenine pathway)进行再加工, 作为 5-HT 和褪黑素的主要前体, 色氨酸的代谢直接影响它们的含量^[157]。此外, 很多父母反映自闭症患儿的排泄物有樟脑球的气味(mothball-like odor), 这是粪便中吲哚

(indole) 或粪臭素(skatoles, 也称三甲基吲哚(3-methyl-indole))特有的气味^[158]。这些臭味物质是肠道中的细菌代谢色氨酸产生的, 一旦食物中的色氨酸或酪氨酸进入大肠, 就会在尿中检测到大量的吲哚苷(indican)和吲哚 3 乙酸^[159]。通过检测尿液中这些物质的含量能够间接反映自闭症患者体内氨基酸代谢水平, 可用于自闭症的筛查和检测, 但其检测准确性有待验证。

5-HT 是重要的神经递质, 可调节大脑发育, 包括细胞分裂、神经元迁移、细胞分化以及突触发生^[160]。30%~40%的自闭症儿童全血的 5-HT 水平明显升高^[161]。大脑发育过程需要大量 5-HT 来满足大脑发育, 因此, 儿童期 5-HT 的合成能力非常强, 是成年人的 2 倍, 到 5 岁逐渐降低到与成年人类似的水平, 且女孩 5-HT 合成能力比男孩下降较早, 而自闭症儿童的 5-HT 合成能力明显异常^[162]。自闭症儿童体内的 5-HT 明显增多, 大量合成的 5-HT 如果不能被及时有效地代谢掉, 反而会影响大脑的发育, 会引起下丘脑室旁核中催产素的降低, 并增加杏仁核中降血钙素相关基因多肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP), 从而影响到对自闭症儿童至关重要的社会互动行为^[163]。此外, 自闭症患者大脑中的 5-HT 转运绑定能力低于对照组, 而 DA 转运绑定能力高于对照组^[160]。5-HT 的水平可直接影响自闭症的某些症状, 如睡眠障碍和情感障碍^[164], 并且自闭症患者体内的褪黑素含量也低于对照组^[165]。

硫酸盐代谢。硫酸盐可由半胱氨酸代谢产生, 在体内参与解毒, 儿茶酚胺的失活和合成脑组织黏蛋白的硫酸盐化等多种代谢途径, 还影响血液中的神经递质、类固醇、黏多糖、酚类、氨基酸和多肽等物质的含量。通常自闭症儿童血液中的硫酸盐含量较正常人低^[166], 尿液中硫酸盐、亚硫酸盐、硫代硫酸盐比正常人高, 硫氰酸盐的含量则比正常人低^[122]。大量的硫酸盐随尿液排出体外, 而没有进入血液系统供人体利用, 可能是自闭症儿童血液中硫酸盐含量较正常人低的原因。

还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)是含有巯基的三肽, 其活性基团是半胱氨酸的巯基, 具有抗氧化和解毒作用, 可转化为氧化型谷胱甘肽(oxidized glutathione, GSSG)。GSH 一旦缺乏, 会减弱机体的抗氧化能力, 损伤机体, 多数自闭症儿童体内

GSH 的量偏低, 而 GSSG 的比例偏高, GSH/GSSG 则明显降低^[167]. 有研究发现甲基代谢和叶酸代谢过程能够影响 GSH/GSSG 的比例, 对稳定氧化还原状态至关重要, 并且能够影响自由基的清除、体内氧化还原的平衡、维持蛋白质氧化还原状态、酶的活性、细胞膜的完整性、信号转导、解毒, 以及细胞的分化和凋亡^[168].

脂肪酸代谢. 有研究发现自闭症患者血液中脂肪酸水平明显异常. 一旦脂肪酸代谢出现异常, 或摄入脂肪酸不足将会导致大脑发育异常, 增加患自闭症的风险^[169]. 脂肪酸代谢过程能够为机体提供大量能量, 并且涉及多种脂肪酸的转变, 其中, 中、短链脂肪酸不需载体可直接进入线粒体进行能量代谢, 而长链脂酰 CoA 需要肉毒碱转运才能进入线粒体参与能量代谢.

丙酸(propionic acid, PPA)是一种由肠道微生物代谢产生的短链脂肪酸(short chain fatty acid, SCFA), 在日常生活中通常被用作食物防腐剂. 有研究发现, 给大鼠注射丙酸能引起类似自闭症的社会行为障碍, 其他类型的短链脂肪酸, 如乙酸也可引起类似的行为异常^[170]. 此外, 自闭症患者血清中肉毒碱(carnitine)和丙酮酸(pyruvic acid)的含量明显降低, 而丙氨酸和氨的量明显升高^[171]. 肉毒碱在能量代谢中发挥重要作用, 线粒体的异常可能导致能量代谢异常, 而丙氨酸和氨能够影响大脑的正常工作. 通过磁共振波谱分析(magnetic resonance spectroscopy, MRS)发现, 自闭症儿童体内的能量代谢异常, 患儿血液中乳酸明显增加, 而脑中的 N-乙酰-天冬氨酸(N-acetyl-aspartate, NAA)含量明显降低, 表明自闭症儿童脑中出现神经代谢紊乱并且神经系统已经受到一定程度的损伤^[172]. 此外, 理论上认为在怀孕后期到出生后早期, 孩子需要大量的不饱和脂肪酸来维持大脑的正常发育, 然而, 有研究发现自闭症患者血液中 omega-3 多不饱和脂肪酸, 特别是二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)的量明显升高, omega-3/6 的比例也明显升高^[173], 但由于其选取的被试年龄多为 12~18 岁, 并不能很好地说明自闭症发病早期的状况, 其结果只能提示家长, 要慎重考虑, 是否给孩子补充不饱和脂肪酸.

氧化还原平衡. 自闭症患者体内的氧化水平要高于正常人, 而甲基化活动则明显比正常人少. 自闭

症的氧化还原甲基化假说(redox/methylation hypothesis)认为环境因素在遗传上敏感的个体更易引起氧化应激反应异常, 导致异常的甲基化, 引起神经系统发育延迟, 注意力缺陷和神经网络同步能力受损等^[174]. 除了自闭症孩子, 患有自闭症孩子的父母本身就代谢异常, 他们的甲基化能力和依赖 GSH 的抗氧化和解毒能力都出现了异常^[175].

S-腺苷甲硫胺酸(S-adenosylmethionine, SAM)是甲基供体, 脱去甲基后生成 S-腺苷高半胱氨酸(S-adenosylhomocysteine, SAH), SAM/SAH 的比例可以作为甲基化能力的指标, 在自闭症患儿体内, SAM 和 SAM/SAH 都显著降低, SAM/SAH 的降低引起 DNA, RNA, 蛋白质和磷脂的低甲基化(hypo-methylation), 导致基因和蛋白表达下降, 酶活性降低和膜磷脂含量减少, 进而影响正常的细胞功能^[168]. SAH 继续代谢可生成同型半胱氨酸(homocysteine)和腺苷(adenosine), 约有 1/2 的同型半胱氨酸会通过依赖叶酸的甲基化循环途径分解为胱硫醚和半胱氨酸, 而 GSH 是通过蛋氨酸转硫基途径合成的, 半胱氨酸是 GSH 合成的限制氨基酸, 因此, GSH 的合成需要足够的叶酸、蛋氨酸和 SAM 提供的半胱氨酸^[176]. 自闭症儿童体内的叶酸、蛋氨酸合成酶活性、GSH 水平明显降低, 而同型半胱氨酸和 SAH 明显升高, 且男孩体内 GSH 比女孩更低, 同型半胱氨酸比女孩更高, 这可能是男性患病率更高的一个原因^[177]. SAM 和 GSH 具有协同作用, 它们之间相互影响决定了体内的氧化还原水平, 而体内氧化还原失去平衡可能导致自闭症^[178]. 氧化还原失衡会引起活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生, ROS 在体内积累会对 DNA、RNA、蛋白质、脂质、碳水化合物等产生化学修饰和功能改变, 从而导致细胞功能出现障碍, 而 ROS 能够被谷胱甘肽过氧化物酶及谷胱甘肽还原酶等 GSH 相关的酶清除^[168]. 因此, 改变自闭症患者体内的氧化还原状态可能有助于自闭症的恢复.

(7) 过敏和自体免疫. 自闭症与免疫关系密切, 约有 60% 的自闭症患者伴有一定程度的免疫异常症状^[86,179], 并有可能作为新的治疗靶点^[180]. 研究发现自体免疫性疾病与自闭症有关, 自闭症患者家庭成员中患有自体免疫性疾病的比例明显增多, 约有 46% 的自闭症患儿家庭成员中有两名以上曾患有自体免疫性疾病, 患病人数越多则儿童患自闭症的几

率也越大^[181], 常见的自体免疫性疾病包括 I 型糖尿病、甲状腺机能低下症、乳糜泻、风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化症等。推测自闭症也是自体免疫性疾病的一种, 其他如精神分裂症、抑郁症和强迫症等心理相关疾病也都与自体免疫相关^[182,183], 并且在自闭症患者体内已检测到自体免疫相关抗体, 如神经轴突丝蛋白(neuron-axon filament protein)、胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein)和髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein)等物质的自体抗体, 可能是自体抗体和细菌抗体相互作用引起的免疫反应导致自闭症^[184,185]。此外, 一项大型研究对比了 2431 位自闭症患儿的母亲和 653 位未经选择的育龄妇女血液中脑反应性抗体的水平, 发现自闭症患者母亲体内脑反应性抗体的水平可达对照组的 4 倍, 且抗体多集中在与自闭症关系密切的额叶皮质、海马和小脑区^[186], 较高的脑反应性抗体表明自体免疫水平较高, 可能自闭症儿童的母亲的自体免疫水平会影响孩子的自体免疫状态, 进而引发自闭症。

自闭症可能还与免疫因子和精氨酸加压素(arginine vasopressin)等神经肽相关^[179], 自闭症患儿相比对照组血浆中细胞转化生长因子- β 1(transforming growth factor beta 1, TGF- β 1)和白介素-23(interleukin 23, IL-23)水平明显降低, 并且 TGF- β 1, IL-23 和白介素-17(IL-17, interleukin 17)的含量与自闭症的严重程度负相关^[187], 而热休克蛋白-70(heat shock protein 70, HSP-70)、细胞转化生长因子 β 2(transforming growth factor beta 2, TGF- β 2)、半胱天冬酶-7(caspase-7)以及干扰素- γ (interferon- γ , INF- γ)明显升高^[188]。最近的一项研究再次表明, 自闭症患者血液中 TGF- β 1 的量显著低于对照组, 自闭症与 TGF- β 1 的含量负相关^[66]。TGF- β 1 作为一种免疫抑制细胞因子是维持体内免疫内稳态的关键, 能够诱导和激活 T 细胞, 因此, TGF- β 1 在自闭症患者血液中的低含量显示体内免疫状态异常^[189]。

免疫球蛋白水平在自闭症患者体内也存在异常, 如免疫球蛋白 IgG4 在自闭症患者体内显著高于对照组, 而 IgG4 是一种类似于 IgE 的与过敏有关的抑制性单价抗体, 在慢性应激过程中发挥免疫调节作用^[190]。虽然, 在过去的 10 年里, 发现了很多与自闭症相关的免疫异常, 但还没有确切的生物标记物能够用于自闭症检测^[191]。

自闭症也有可能“与‘讲卫生’有关”。“卫生假说(the

hygiene hypothesis)”是建立在对农村和城市疾病分布差异的观察之上的普遍哮喘和过敏性疾病的病因理论^[192], 流行病学调查显示, 相对于发展中国家, 清洁环境条件较好的西方发达国家哮喘和过敏性疾病的发病率更高, 提示过于清洁的环境使儿童远离微生物和寄生虫, 人体缺少微生物和寄生虫的刺激会影响免疫系统的发育, 导致过敏和哮喘, 而微生物是其中重要的影响因素^[193~195]。值得注意的是自闭症与过敏和哮喘具有相近的发病趋势、性别偏好和城乡差异, 并且都跟免疫系统密切相关, 很可能是“太干净”导致的^[192]。其机理可能是自闭症儿童从小生活的环境过于干净, 被微生物“接种”的机会变少, 导致免疫系统刺激不足, 发育受阻碍, 引起大脑发育异常, 进而导致行为错乱、发育迟缓, 影响语言和社会交往, 最终引发自闭症。自闭症的致病因素见图 1。

2 自闭症的治疗方法

目前, 还没有治疗自闭症核心障碍的有效方法。然而, 医生、科研人员和患儿家长尝试了多种治疗方法, 积累了很多经验。常见的治疗方法有行为干预法、特殊教育法、药物治疗法、生物医学干预法以及心理干预法等, 其中, 常用的是使用高度结构化的和密集的技巧性训练来帮助儿童发展社会和语言技能的行为干预法, 如应用行为分析^[196]。此外, 还有一些有争议的治疗或干预方法, 如补充和替代疗法(complementary and alternative medicines)。其中生物相关疗法包括: 抗生素、抗真菌、抗病毒药物, 胃肠道药物, 营养补充剂疗法, 限制或特殊饮食疗法, 分泌素疗法, 螯合疗法, 高压氧疗法, 静脉注射免疫球蛋白疗法等, 其他非生物相关疗法包括: 听觉整合培训、针灸疗法、颅骨疗法、器械辅助沟通疗法、按摩和气功疗法、互动节拍器疗法、灵气疗法、自然疗法、经颅刺激疗法和瑜伽等^[196,197]。据统计, 约有 50%~70% 的自闭症患者会采用生物相关疗法, 但大多缺乏完整有效的安全性和有效性评估, 仍需更多的系统性的研究和评估^[198]。随着对人体微生物和自闭症关系研究的发展, 与之相对应的干预或治疗方法, 如食物干预、益生菌以及粪菌移植等逐步显示出其独特的安全性和有效性, 是具有广泛应用前景的生物干预方法。

2.1 药物

目前, 还没有针对自闭症的特效药. 现用的药物并非针对自闭症的核心症状, 而主要是一些抗精神病药物, 用于治疗焦虑、抑郁或强迫性精神障碍等, 用于改变 5-HT 和 DA 等神经生化系统, 并且只是针对部分自闭症症状. 其中, 利培酮(risperidone)和阿立哌唑(aripiprazole)是唯一通过美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)认证的仅可用于 5~16 岁儿童的自闭症药物, 其他选择性 5-HT 再摄取抑制剂西酞普兰(citalopram)、艾司西酞普兰(escitalopram)和氟西汀(flouxetine)等可以用于治疗自伤行为和重复行为等严重的行为问题^[199,200]. 治疗癫痫症状的抗痉挛药物和治疗注意力缺陷障碍的药物可有效地帮助自闭症患者减少冲动和多动, 抗过敏的药物赛庚啶(cyproheptadine)对自闭症症状也有所缓解^[201]. 据估计, 有 47% 的患儿使用这些药物^[202].

1998 年曾报道使用分泌素(secretin)来干预自闭症, 并取得了一定的效果, 但由于只有三个样本^[203], 随后的研究发现分泌素的效果并不显著, 可能存在安慰剂效应, 因此, 并没有得以推广^[204,205]. 但是, 可能这种产生于肠道的激素将人们的关注点最终引向了肠道对大脑的影响, 为自闭症的治疗带来了新的希望.

虽然, 医生会给自闭症患者开药, 但药物并不能对自闭症的核心缺陷, 即社交和沟通障碍起实质治疗作用. 这些药物的有效性也低于其他类疾病, 且都具有一定的副作用, 在儿童用药方面仍欠缺足够的临床经验^[206], 因此, 有必要限制对自闭症患者做大规模和长期药物治疗^[196].

2.2 抗生素

在发现一些自闭症的肠道症状后, 人们开始尝试使用抗生素治疗肠道症状, 并对自闭症症状也有所帮助. 一些自闭症病人口服两种广泛用于厌氧菌感染的万古霉素(vancomycin)和甲硝唑(metronidazole 或 flagyl)后都有一定的治疗效果^[207]. 其中, 万古霉素可能主要通过影响革兰氏阳性厌氧菌发挥作用, 高浓度的万古霉素还会清除艰难梭菌和大部分革兰氏阴性厌氧菌^[207].

万古霉素用于自闭症治疗时其有效性是短期的, 一旦停用后就会出现反复, 并且在治疗的每个疗程,

每次中断都会复发, 可能肠道中的某些微生物导致了自闭症症状, 如在万古霉素治疗后, 肠道中的厌氧球菌(*Anaerobic cocci*)消失了^[207]. 口服万古霉素不能进入血液系统, 几乎不被人体吸收, 而主要通过影响肠道微生物发挥作用, 停药之后出现反复可能是肠道微生物产生了孢子, 当停止使用万古霉素时, 孢子活化为细菌继续影响肠道和神经系统, 可产生孢子的梭菌属最值得怀疑.

需要注意的是, 虽然某些抗生素不能被人体吸收, 但当肠道出现炎症、溃疡等异常时, 它们也会进入血液. 此外, 万古霉素和庆大霉素(gentamycin)通常用于其他抗生素无效时的严重疾病, 被认为是对抗耐药菌的最后一道防线, 一旦错误使用很容易引起细菌耐药性. 所以, 应慎重选择此类抗生素应用于自闭症治疗.

2.3 食物

对自闭症的常规治疗通常是基于行为疗法、饮食疗法与药物治疗的组合法. 而饮食疗法相比其他疗法易于掌握, 风险和副作用相对较小, 能够与其他疗法同时使用, 所以更易被采用. 适当的饮食能够帮助患者减轻痛苦, 改善心理和胃肠道症状^[208]. 目前, 已有多种饮食干预方法和理论, 主要包括无麸质/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)、低草酸饮食(low oxalate diet)、生酮饮食(ketogenic diet)和法因戈尔德饮食(the Feingold diet)等^[208]. 某些饮食方式对自闭症有一定的改善作用, 获得了一些患者家庭的认可, 但其机制仍缺乏科学根据, 相应的研究也较欠缺, 因此, 只选取其中部分饮食干预方法加以介绍.

(1) 无麸质/无酪蛋白饮食. 自闭症儿童常伴有食物不耐受或过敏, 需要去除食谱中可能引起食物不耐受和过敏的食物. 人们发现减少或杜绝含有谷蛋白和酪蛋白的食物能够减轻自闭症症状^[209]. GF/CF 饮食干预法就是从食物中去除面粉、小麦(*Triticum aestivum*)、大麦(*Hordeum vulgare*)、燕麦(*Avena sativa*)可能含有谷蛋白的食物, 并且杜绝所有奶和奶制品, 包括牛奶、酸奶、奶酪以及奶昔等可能含有酪蛋白的食物. 有研究显示, 有超过 1/2 的父母在严格限制孩子食物中的这两种蛋白质后自闭症症

状明显改善^[210], 并且 7~9 岁的患者对食物干预的反应较为明显^[211]。一项来自丹麦的研究调查了 GF/CF 饮食对自闭症儿童的社会交往行为的影响, 经过 12 个月的饮食干预后, 采用自闭症诊断观察量表 (autism diagnostic observation schedule scale, ADOS), Gillim 自闭症评价量表 (Gillim autism rating scale, GARS) 和文兰适应行为量表 (Vineland adaptive behavior scales, VABS) 以及注意缺陷多动障碍量表-IV (attention-deficit hyperactivity disorder IV scale, ADHD-IV) 进行评估, 发现干预后 ADOS, GARS 和 ADHD-IV 的得分明显升高^[212]。此外, 对 10 个孩子连续 1 年的 GF/CF 食物干预后发现, 使用食物干预的患者发育水平要比对照组明显变好^[148]。

虽然, 已有大量相关研究显示 GF/CF 食物干预对自闭症症状具有较好的影响, 但具体作用机制仍不是很清楚^[213~215]。阿片样物质过量理论 (opioid-excess theory) 认为儿童摄入谷蛋白和酪蛋白会对其行为和发育造成的不利影响 (图 2), 或者是由于自闭症儿童对食物过敏或本身患有腹腔疾病, 在食物进入肠道时会引起胃肠道不适, 可能儿童表现出的不适应行为正是对胃肠道不适的一种反应^[148]。

这一疗法在全球非常流行, 但其作用机制仍不清楚, 且并非对所有自闭症儿童有效, 还可能引起营养不良等副作用, 因此受到一些质疑^[216]。在严格的双盲试验条件下, 对 2~16 岁的自闭症儿童连续 12 周的 GF/CF 饮食干预后, 发现 GF/CF 饮食并没有对自闭症症状显示出统计学上明显的改善, 虽然有部分患儿的父母表示有改善作用^[217]。也有综述文章系统地比较了多个相关研究, 表明目前的研究还不能充分证明这种饮食方式可以治愈自闭症^[211,213,218,219]。

(2) 特殊碳水化合物饮食。Gottschall 于 2004 年首次介绍和描述了 SCD 疗法, 其目的是缓解患者的吸收障碍症状并防止致病性肠道微生物的增长。此疗法比 GF/CF 饮食要求更严格, 不仅完全无麸质, 也无淀粉。研究者认为某些肠道微生物 (肠道病原体) 引起了胃肠道异常, 并产生一些神经毒性物质影响自闭症儿童的大脑, 而这些有害肠道病原体的生存需依赖难以消化的碳水化合物, 因此, 减少这种碳水化合物能够断绝这些有害肠道病原体的食物, “饿死”它们, 从而抑制这些有害肠道病原体产生神经毒性物质伤害大脑^[220]。

自闭症患者肠道微生物发生紊乱时, 肠道微生

物不能分解那些未消化的淀粉和多糖等大分子物质, 这些物质进入大肠内可能被有害菌加以利用生成毒性物质。SCD 疗法严格限制了所有的淀粉和多糖类, 绝大部分的酵母菌以及其他有害肠道病原体得以抑制, 进而保护肠道微生态系统, 减少肠道感染, 恢复肠道健康。同时也建议摄入单糖、酸奶、酸乳酪或益生菌等, 促进肠道中有益微生物的生长, 有助于消化功能的恢复, 改善行为、感知和语言发展^[220]。然而, 这一疗法相关的科学报道较少, 仍缺乏有效性和安全性评价。

(3) 肠道和心理综合征饮食。GAPS 疗法是由 Natasha Campbell McBride 博士发明, 并且她曾用这种疗法治疗自己患自闭症的儿子。GAPS 饮食是在 SCD 饮食的基础上制定的饮食和康复法, 用于改善多种消化系统异常和相应的心理问题^[221]。其食物构成中包括了主要的 SCD 成分, 康复训练和营养指导, 此外, GAPS 疗法还特别推荐发酵食物和家庭自制肉汤, 并给出了生活方式和排毒建议。

GAPS 疗法与 SCD 疗法依据的理论不尽相同, GAPS 更强调促进肠道菌群的平衡, 而 SCD 饮食则注重控制病原微生物。因此, 在食物类型上两者之间有所差别, 如 GAPS 饮食中包括了在 SCD 饮食中不被允许的淀粉和糖等成分, GAPS 的食物清单中还包括鱼肝油、必需脂肪酸、益生菌、维生素和微量元素等, 并特别强调了营养补充剂的作用。目前, 对这一疗法还缺乏科学验证, 也欠缺有效性和安全性评价。

(4) 营养补充剂。褪黑素 (melatonin) 是一种动物松果体产生的胺类激素, 由 5-HT 衍生而来。目前作为具有保健功能的膳食补充剂, 具有促进睡眠、调节时差、抗衰老等作用。有 50%~80% 的自闭症患者伴有睡眠障碍^[196], 并且褪黑素的水平也较正常人低^[165]。有研究将这种激素用于自闭症患者, 发现他们的睡眠状况得到改善^[222~225]。但褪黑素有潜在的副作用, 有可能引起癫痫发作^[226]。

肌肽 (carnosine) 是一种二肽氨基酸, 具有抗氧化特性。它可能会影响 GABA 受体, 具有保护神经的作用。双盲和安慰剂对照试验发现, 给自闭症患者服用左旋肌肽 8 周后, 能明显改善其语言能力, 并且自闭症症状有所减轻^[227]。

维生素 B6/Mg 联合使用能减轻自闭症症状。早期研究发现, 给自闭症患者服用维生素 B6 和镁之后, 44 个严重自闭症患者中有 15 个症状得到改善, 警觉

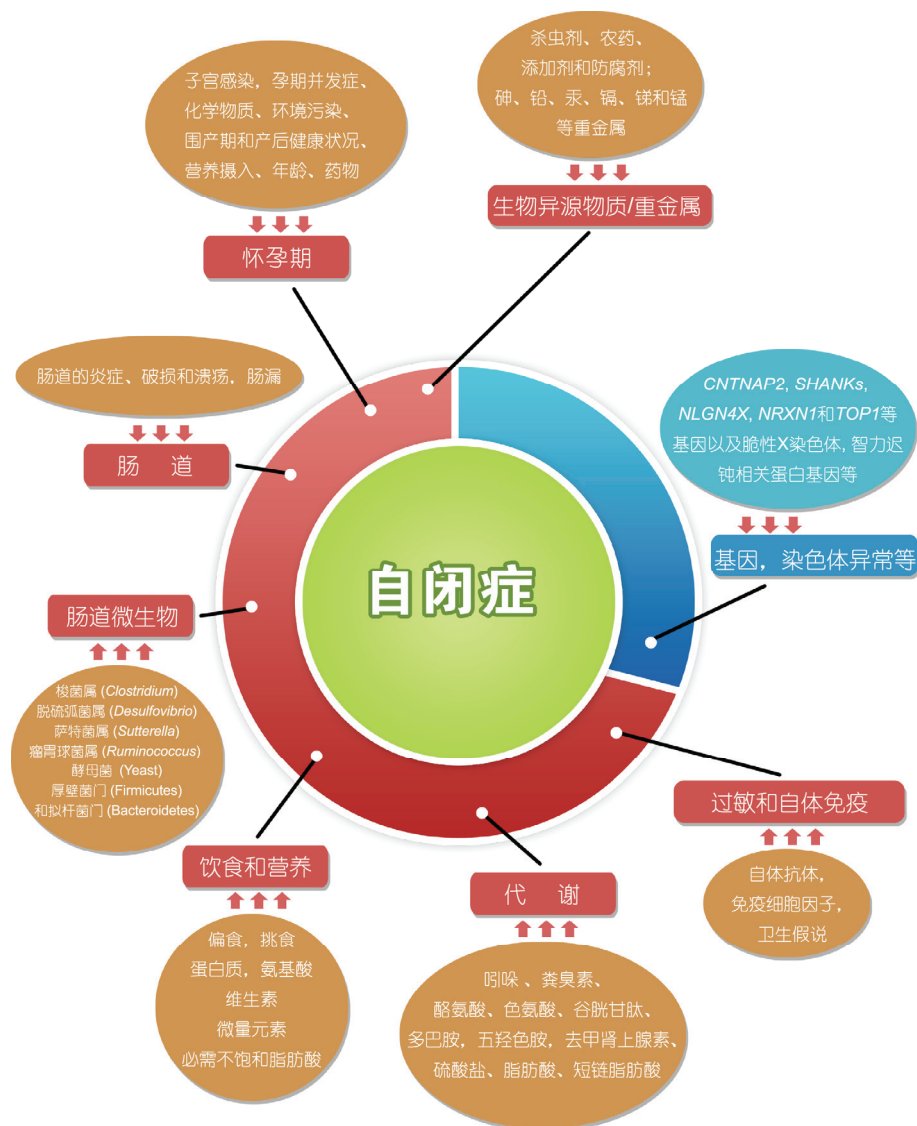


图 1 致病因素示意图

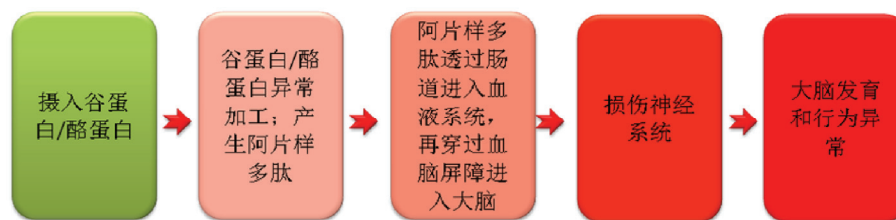


图 2 阿片样物质过量理论示意图

性有所提高, 并且爆发、消极、自残、刻板行为明显减少^[228]. 然而, 单独使用维生素 B6 或镁的改善作用并不明显, 持续两周给予自闭症患者 30 mg/kg 维生

素 B6 和 10~15 mg/kg 的镁, 与单独使用镁或维生素 B6 相比, 同时给予时自闭症症状改善明显^[229,230].

甲基化维生素 B12 作为重要的辅因子参与甲硫

氨酸的生成, 能为转甲基和转硫基提供必需的甲基供体. 半胱氨酸和谷胱甘肽具有抗氧化作用, 一旦缺乏, 将会导致机体的抗氧化能力减弱, 造成机体的损伤. 大多数自闭症儿童体内 GSH 的量偏低, 而 GSH/GSSH 明显升高^[167]. 注射甲基维生素 B12 能够明显改善自闭症患者的社会交往行为、语言能力和其他行为问题^[231]. 当给自闭症儿童使用甲基维生素 B12 持续一个月后, 血浆中 GSH 的量明显升高^[44], 遗憾的是研究中缺乏对改善行为方面的评价.

微量营养物质(micronutrients)主要包括各种微量元素和其他微量营养物质. 由于自闭症儿童常出现饮食异常, 并且常伴有肠道问题, 导致他们对食物的消化和吸收存在异常. 大部分自闭症儿童存在营养不良, 多种维生素和微量元素在自闭症儿童中普遍缺乏, 其缺乏的程度与自闭症严重程度相关^[232]. 给自闭症患儿补充维生素和微量元素, 患儿睡眠情况和肠道症状明显好转^[233], 141 位自闭症患者口服维生素和微量元素 3 个月后, 他们的营养状况和代谢水平得到明显改善, 甲基水平、谷胱甘肽、氧化水平、硫酸盐化水平、ATP、NADH 和 NADPH 等都明显升高, 并且多动和发脾气等行为与安慰剂组相比也明显减少^[155]. 另一项研究发现, 补充维生素和微量元素有助于提高自闭症儿童的营养和代谢水平, 增加体内甲基化、谷胱甘肽氧化应激、硫酸盐化作用并提高 ATP、NADH 和 NADPH 的水平^[88]. 此外, 临床研究还发现服用维生素和微量元素复合物 3~6 个月后, 自闭症患者在异常行为检查表(aberrant behavior checklist, ABC), 临床整体印象(clinical global impression, CGI)以及自我伤害方面都获得很好的改善^[234].

Omega-3 不饱和脂肪酸对大脑发育至关重要, 是组成神经膜鞘的重要物质, 也是在细胞交流和免疫调节中的必不可少的类花生酸的底物. Omega-3 不饱和脂肪酸主要包括二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)和 DHA. 自闭症患者体内缺乏 Omega-3 不饱和脂肪酸^[235], 给自闭症患者服用 EPA 和 DHA 6 周后, 与安慰剂组相比, 在刻板、多动和不当言论等方面表现良好^[236], 干预 12 周后, 多动行为明显减少, 但在异常行为方面没有显著差异^[237].

此外, 在孕前和孕早期补充叶酸能够降低患自闭症的风险^[167,238]. 其他一些营养补充剂, 如 N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)^[239]、左旋肌肽

(L-carnosine)^[227]、抗坏血酸(ascorbic acid, 维生素 C)^[240]等都有报道对自闭症症状有改善. 其他有助于大脑发育的营养物质, 如谷氨酸盐(glutamine)、低聚糖(prebiotic oligosaccharides)以及 L 精氨酸(L-arginine)等也可改善自闭症症状^[241].

2.4 益生菌

胃肠道症状和自闭症之间存在关联^[242], 但它们之间的关系还不是很明确, 因果关系仍不清楚. 可能某些未知因素或病原菌引起了胃肠道症状和自闭症, 或者两者之间相互影响, 相互促进. 已有研究证明, 改善肠道菌群健康状况能够改善自闭症症状, 自闭症儿童服用一些益生菌或吃富含益生元的发酵食物, 同时, 限制或避免能够影响肠道微生物的抗生素, 含酒精或加工食品等, 自闭症症状, 特别是便秘、腹泻、炎症肠炎或肠易激综合征等肠道症状均得到了明显改善, 推测可能微生物-肠-脑共同参与了自闭症发病^[73]. 近两年来, 越来越多的研究表明, 肠道微生物能够影响大脑发育、心理和行为^[243-248]. 因此, 通过改变肠道微生物可影响宿主的心理和行为, 从而为自闭症的治疗带来新的希望^[73].

益生菌是直接影响肠道微生物组成的活性微生物, 相比食物干预, 干预目标更明确, 干预作用更直接和有效. 富含益生菌和益生元的食物可提供大量有益细菌和促进有益菌生长的物质, 通过发酵食品或额外补充益生菌可以明显改善肠道微生物和多种消化问题, 然而, 患有自闭症的儿童经常在食物选择方面存在困难, 他们选择有限的食物种类, 难以获得足够多的益生菌和益生元. 因此, 在自闭症人群中, 通过强制和短时补充大量活性益生菌的方式可能比食物干预更有效.

一项研究给 33 名自闭症患者服用含有 5 种益生菌的胶囊和一种来自乳酸菌细胞裂解物的免疫激活剂 21 天后, 88% 的患者自闭症所有症状都有明显改善, 包括语言沟通、社会交往、感觉和认知意识以及身体健康和行为等方面, 48% 的患者腹泻症状明显减少, 52% 便秘症状明显好转^[249]. 遗憾的是这个研究中没有对被试设置纳入和排除标准和对照组. 最近, 一项来自斯洛伐克的研究表明, 给自闭症儿童每天 3 次服用含有 3 种乳酸杆菌, 2 种双歧杆菌和 1 种链球菌的益生菌产品 4 个月后, 自闭症儿童肠道中厚壁菌门显著减少, 拟杆菌/厚壁菌的比例得以恢复, 双歧杆

菌和脱硫弧菌属显著减少, 而乳酸杆菌属细菌的相对数量得以显著升高, 推测自闭症是由梭菌属和脱硫弧菌属细菌的增加导致^[133].

此外, 益生菌能够显著降低自闭症患者体内真菌数量, 明显改善自闭症症状. *L*-阿拉伯糖醇(*L*-arabitol, LA)在哺乳动物体内产生, *D*-阿拉伯糖醇(*D*-arabitol, DA)作为真菌感染的检测标志只由真菌产生, 自闭症患者尿液中 DA 含量显著高于正常人^[250]. 在给 22 位自闭症孩子服用嗜酸乳杆菌后, 尿液中 DA 的含量明显降低, 并且 DA/LA 也显著降低, 同时, 眼神交流、社会交往和反馈行为等自闭症的典型行为也明显改善.

其他种类的益生菌也可能对自闭症患者有帮助. 有研究人员用脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*)来处理自闭症样小鼠, 小鼠的肠道通透性和自闭症样行为都得到明显改善^[108]. 给 20 位 3~16 岁的伴有便秘的自闭症孩子服用 4 周的短双歧杆菌(*Bifidobacterium breve*)后, 便秘症状都得到了明显改善, 排便频率增多、粪便硬度降低、粪尿失禁的频率降低, 并且腹痛症状也减少了^[251].

虽然, 这些研究存在样本量少, 缺乏对照和安慰剂实验等问题, 但其干预效果较为明显, 甚至有些对自闭症的核心症状有所改善, 表现出明显的优势. 益生菌用于改善自闭症症状潜力巨大, 但现在还不清楚是益生菌直接影响了自闭症患者大脑中某些区域的功能, 改善了自闭症症状, 还是通过先改善肠道菌群健康状况, 得到恢复的肠道菌群进而影响自闭症的症状, 抑或同时都起作用.

无菌小鼠是研究肠道微生物作用的理想动物模型. 最近的研究发现, 无菌小鼠脑中海马区 5-HT 含量显著升高, 并且在肠道菌群恢复后 5-HT 含量也恢复正常^[252]. 无菌小鼠对压力反应更敏感, 海马和杏仁核区域的神经内分泌水平异常, 表现出焦虑水平降低(进入高架十字迷宫中的开臂端更多, 时间更长)和空间记忆丧失等^[103,107,252,253]. 无菌小鼠脑中单胺类神经递质也发生了变化, 而这种改变更多的出现在雄性个体中, 表明雄性个体比雌性个体在神经系统发育方面出现异常的发生率更高^[104,252,253]. 在人类中, 男孩比女孩发病率更高可能也是基于类似的机制. 此外, 无菌小鼠大脑中相应的基因表达也出现异常, 如脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)显著上调, 海马齿状回的 5-HT 受

体 5-HT_{1A} 子型以及杏仁核的 N-甲基-D-天门冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体 NR2B 亚基(NMDA receptor 2B subunit)都明显下调^[103]. BDNF 可维持大脑的正常发育, 5-HT 受体缺乏会引起焦虑样行为, 而 NMDA 的 NR2B 受体亚基对杏仁核的发育和正常功能至关重要, 与恐惧、情绪以及学习和记忆密切相关.

肠道菌群对正常的社交行为发育至关重要, 无菌小鼠表现出明显的社交障碍, 特别是雄性小鼠, 出现社交回避和刻板行为, 对同类兴趣降低, 对陌生个体的探究行为减少, 而一些重复的行为增加, 但当恢复肠道微生物后, 社交回避和重复行为得到了改善, 而社会认知障碍并没有变化^[254]. 自闭症儿童表现出类似的社交和沟通障碍以及重复的行为, 并且男孩发病的比例远高于女孩, 因此, 自闭症可能正是由于肠道菌群的改变导致的^[253]. 已有的研究发现, 肠道微生物能够影响大脑, 不仅包括自闭症, 还包括焦虑、抑郁和精神分裂等(图 3).

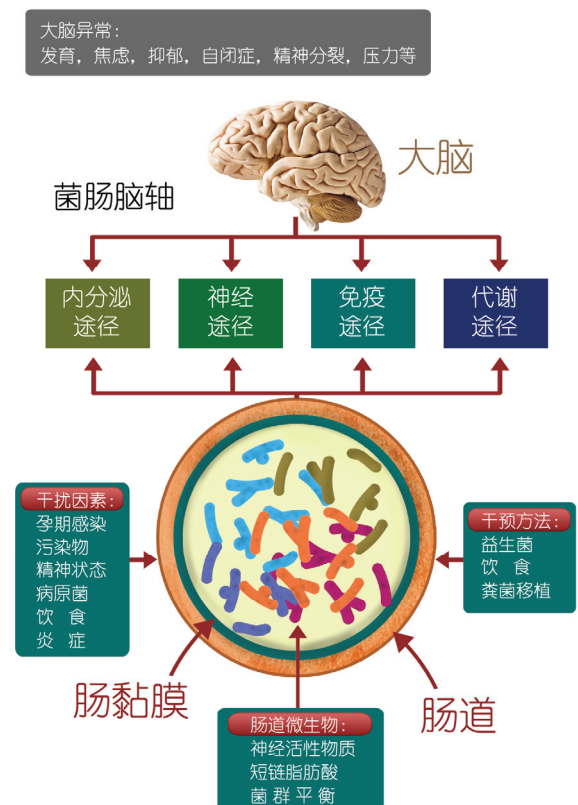


图 3 肠道微生物与大脑异常的关系示意图

2.5 粪菌移植

粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)是将健康人粪便中的菌群移植到受体人的肠道中,帮助其恢复正常的胃肠道菌群,用于治疗胃肠道及其他类型的疾病。FMT 在国外已有 50 余年的应用历史,而我国至少已经有 1700 年的应用历史,全球已有数千例患者接受 FMT 治疗^[255]。2013 年 5 月,美国 FDA 将 FMT 作为研究性新药纳入监管。目前, FMT 作为一种器官移植方式,不仅用于治疗人的胃肠道疾病,如难辨梭状芽胞杆菌感染、抗生素相关性腹泻、炎症性肠病、肠易激综合征、代谢综合征、自身免疫性肠病、肠道食物过敏等,还用于神经发育不良与神经退行性疾病^[256],并且可能对帕金森病和儿童自闭症等精神疾病具有一定疗效^[257]。目前,还缺乏 FMT 治疗自闭症的相关研究。

3 研究展望

自闭症并不是由单一因素引起的,受遗传和环境共同影响。环境污染、生物异源物质、母亲孕期的健康状况、肠道健康状况、饮食和营养等因素都可能引起自闭症。但越来越多的证据表明,肠道微生物与自闭症之间存在密切的联系,上述因素或多或少地都对肠道微生物产生影响,因此,可能肠道微生物是引发自闭症的关键因素。相应的,针对上述影响因素,出现了多种治疗方法,包括药物、食物以及一些营养补充剂等,其中益生菌是其中比较有前景的治疗方法。随着人们对肠道微生物和自闭症关系的研究深入,越来越多的针对肠道微生物的干预和治疗方法开始出现,然而,肠道微生物和自闭症之间的具体影响机制还未阐明,仍不清楚究竟是某些肠道微生物的异常还是整个肠道微生物生态系统的构成才是自闭症的诱因,仍需更多研究。

虽然,目前已经发现了一些可能跟自闭症相关的肠道微生物或菌群组成,但由于大多数肠道微生物不能通过体外培养,而潜在的能够导致自闭症的微生物可能正是不能体外培养的细菌,它们的数量也许非常少,也可能它们是黏附在肠黏膜上,在粪便中数量极少,还有可能它们主要分布在小肠中,在目前的技术条件下,还不能对它们进行完整的取样和分析。也可能自闭症是肠道微生物生态系统出现问

题导致的,并不是其中一种或几种菌导致的。当然,不同类型的自闭症以及不同严重程度的自闭症可对应不同的肠道菌群,即使发现了某些特定的菌群,也要经过类似科赫法则的严格验证过程才能得出准确的结论。通常情况下,自闭症患儿肠道状况得以改善后,自闭症症状也会随着减轻。益生菌改善自闭症症状,可能并不是通过改变肠道健康状况影响儿童的自闭症症状,而是益生菌本身产生某些神经活性物质直接影响儿童神经系统进而改善自闭症症状。益生菌的种类众多,乳酸菌、双歧杆菌和酵母菌属中都有一些菌对人体有益,但绝非所有菌种都有相同的作用,各种益生菌的作用机制也会存在差异。只有了解益生菌进入体内的实际作用,清楚地知道自身体内肠道菌群的状况,才能对症选择有效的益生菌。至今还有很多问题需要解答,肠道微生物将成为自闭症的重点方向。

每个个体拥有不同的遗传背景、菌群组成和生活环境,因此,最理想的治疗方式是根据不同个体采取个性化的治疗和干预措施。虽然已经出现了多种治疗自闭症的方法,但相关的研究却相对滞后,需要进一步研究干预方法的机理,对有效性和安全性进行科学评估。虽然某些治疗方法只能缓解特定的症状,并不能对自闭症核心症状有所帮助,但即使这样,出于提高患者生存质量,减少患者和家人负担的目的,仍需要积极主动进行治疗,并且越早进行治疗和干预越好。自闭症的发病可能在胎儿时期,甚至母亲怀孕时已经开始了,应该做到及早预防,在怀孕期间或怀孕之前,尽早咨询相关医生或专家,同时特别注意母亲怀孕前和怀孕期间的营养状况和代谢情况。孩子出生之后,也应密切注意孩子异常的啼哭,手捂肚子、拱起背部等行为,注意观察孩子的粪便、腹泻、便秘、打嗝及放屁等胃肠道异常等与肠道微生物状态直接相关的状况,从而尽可能地及早发现和降低孩子患自闭症的风险。在自闭症发病率相对较低的国家,孩子往往有更多的机会接触大自然,泥土以及动物,这些方式都是让人获得共生微生物的机会,特别值得我们思考和借鉴。此外,可能自闭症的发病率正是伴随着食品工业的发展逐年升高,传统的手工制作的婴儿食品正在被大量的方便食品、加工食品以及人工合成添加剂取代,需要引起家长们的关注。

参考文献

- 1 Centers for Disease Control and Prevention. Autism and developmental disabilities monitoring (ADDM) network. 2008, <http://www.cdc.gov/ncbddd/autism/addm.htm>
- 2 Baio J. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 Years-autism and developmental disabilities monitoring network, 11 Sites, United States, 2010. In: *Mmwr Surveill Summ*, Center for Disease Control and Prevention, 2014. 1–21, <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss6302a1.htm>
- 3 Blumberg S J, Bramlett M D, Kogan M D, et al. Changes in prevalence of parent-reported autism spectrum disorder in school-aged U.S. children: 2007 to 2011–2012. Centers for Disease Control of USA, 2013, <http://www.cdc.gov/nchs/data/nhsr/nhsr065.pdf>
- 4 Kim Y S, Leventhal B L, Koh Y J, et al. Prevalence of autism spectrum disorders in a total population sample. *Am J Psychiatry*, 2011, 168: 904–912
- 5 Harvard School of Public Health (HSPH). Autism has high costs to U.S. society. HSPH, 2006, <http://archive.sph.harvard.edu/press-releases/2006-releases/press04252006.html>
- 6 熊絮茸. 儿童自闭症及其综合干预. *医学与哲学*, 2013, 34: 76–78
- 7 李敬. 关于自闭症儿童状况的调研报告. 北京孤独症康复协会, 2009, <http://www.guduzheng.net/2009/6/20908.html>
- 8 郭德华, 杨广学. 环境因素与自闭症. *中国慢性病预防与控制*, 2012, 20: 599–603
- 9 Anagnostou E, Zwaigenbaum L, Szatmari P, et al. Autism spectrum disorder: advances in evidence-based practice. *CMA J*, 2014, 186: 509–519
- 10 Herbert M R, Russo J P, Yang S, et al. Autism and environmental genomics. *NeuroToxicol*, 2006, 27: 671–684
- 11 Rutter M. Aetiology of autism: findings and questions. *J Intellect Disabl Res*, 2005, 49: 231–238
- 12 Huguet G, Ey E, Bourgeron T. The genetic landscapes of autism spectrum disorders. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2013, 14: 191–213
- 13 徐大真, 侯佳. 儿童自闭症治疗技术与方法的研究进展. *消费导刊*, 2008, 12: 188–190
- 14 Rosenberg R E, Law J, Yenokyan G, et al. Characteristics and concordance of autism spectrum disorders among 277 twin pairs. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2009, 163: 907–914
- 15 Hallmayer J, Cleveland S, Torres A, et al. Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Arch Gen Psychiatry*, 2011, 68: 1095–1102
- 16 Ronald A, Happé F, Bolton P, et al. Genetic heterogeneity between the three components of the autism spectrum: a twin study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2006, 45: 691–699
- 17 Ozonoff S, Young G S, Carter A, et al. Recurrence risk for autism spectrum disorders: a Baby Siblings Research Consortium study. *Pediatrics*, 2011, 128: e488–e495
- 18 Taniai H, Nishiyama T, Miyachi T, et al. Genetic influences on the broad spectrum of autism: study of proband-ascertained twins. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2008, 147B: 844–849
- 19 Sumi S, Taniai H, Miyachi T, et al. Sibling risk of pervasive developmental disorder estimated by means of an epidemiologic survey in Nagoya, Japan. *J Hum Genet*, 2006, 51: 518–522
- 20 DiGuseppi C, Hepburn S, Davis J M, et al. Screening for autism spectrum disorders in children with Down syndrome: population prevalence and screening test characteristics. *J Dev Behav Pediatr*, 2010, 31: 181–191
- 21 Cohen D, Pichard N, Tordjman S, et al. Specific genetic disorders and autism: clinical contribution towards their identification. *J Autism Dev Disord*, 2005, 35: 103–116
- 22 Baron Cohen S. Two new theories of autism: hyper-systemising and assortative mating. *Arch Dis Child*, 2006, 91: 2–5
- 23 Murdoch J D, State M W. Recent developments in the genetics of autism spectrum disorders. *Curr Opin Genet Dev*, 2013, 23: 310–315
- 24 王美钧, 柴红燕, 桂菲, 等. 自闭症病因及候选基因研究进展. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2014, 28: 731–733
- 25 郭辉, 胡正茂, 夏昆. 孤独症的遗传病因学研究进展及基因型-表型关联研究计划. *生命科学*, 2014, 26: 571–582
- 26 Zecavati N, Spence S. Neurometabolic disorders and dysfunction in autism spectrum disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2009, 9: 129–136
- 27 Hall S S, Lightbody A A, Reiss A L, et al. Compulsive, self-injurious, and autistic behavior in children and adolescents with fragile X syndrome. *Am J Ment Retard*, 2008, 113: 44–53
- 28 State M W, Levitt P. The conundrums of understanding genetic risks for autism spectrum disorders. *Nat Neurosci*, 2011, 14: 1499–1506
- 29 Talkowski M E, Minikel E V, Gusella J F. Autism spectrum disorder genetics: diverse genes with diverse clinical outcomes. *Harvard Rev Psychiatry*, 2014, 22: 67–75
- 30 贾秋利, 林圣, 段芳玲, 等. 孤独症相关基因 *CNTNAP2* 的遗传变异分析. *中国计划生育学杂志*, 2014, 22: 76–83

- 31 Gong X H, Wang H Y. SHANK1 and autism spectrum disorders. *Sci China Life Sci*, 2015, in press
- 32 Smalley S. Autism and tuberous sclerosis. *J Autism Dev Disord*, 1998, 28: 407–414
- 33 Harrison J E, Bolton P F. Annotation: tuberous sclerosis. *J Child Psychol Psychiatry*, 1997, 38: 603–614
- 34 King I F, Yandava C N, Mabb A M, et al. Topoisomerases facilitate transcription of long genes linked to autism. *Nature*, 2013, 501: 58–62
- 35 Kirov G, Rujescu D, Ingason A, et al. Neurexin 1 (NRXN1) deletions in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 2009, 35: 851–854
- 36 Kim H G, Kishikawa S, Higgins A W, et al. Disruption of Neurexin 1 associated with autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet*, 2008, 82: 199–207
- 37 Klauck S M. Genetics of autism spectrum disorder. *Eur J Hum Genet*, 2006, 14: 714–720
- 38 Muhle R, Trentacoste S V, Rapin I. The genetics of autism. *Pediatrics*, 2004, 113: e472–e486
- 39 Rutter M. Genetic influences and autism. In: Cohen D J, Volkmar F R, eds. *Handbook of Autism and Pervasive Developmental Disorders*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, 2005. 425–452
- 40 Devlin B, Scherer S W. Genetic architecture in autism spectrum disorder. *Curr Opin Genet Dev*, 2012, 22: 229–237
- 41 Stein J L, Parikshak N N, Geschwind D H. Rare inherited variation in autism: beginning to see the forest and a few trees. *Neuron*, 2013, 77: 209–211
- 42 仇子龙, 李霄. 孤独症的神经生物学研究. *中国科学: 生命科学*, 2015, 45: 725–729
- 43 Hua Rui W M, Zhang C. The complex genetics in autism spectrum disorders. *Sci China Life Sci*, 2015, in press
- 44 James S J, Cutler P, Melnyk S, et al. Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism. *Am J Clin Nutr*, 2004, 80: 1611–1617
- 45 James S J, Melnyk S, Jernigan S, et al. Metabolic endophenotype and related genotypes are associated with oxidative stress in children with autism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2006, 141B: 947–956
- 46 Roberts E M, English P B, Grether J K, et al. Maternal residence near agricultural pesticide applications and autism spectrum disorders among children in the california central valley. *Environ Health Perspect*, 2007, 115: 1482–1489
- 47 Rutter M. Incidence of autism spectrum disorders: changes over time and their meaning. *Acta Pædiatr*, 2005, 94: 2–15
- 48 Madsen K M, Hviid A, Vestergaard M, et al. A population-based study of measles, mumps, and rubella vaccination and autism. *N Engl J Med*, 2002, 347: 1477–1482
- 49 DeStefano F, Price C S, Weintraub E S. Increasing exposure to antibody-stimulating proteins and polysaccharides in vaccines is not associated with risk of autism. *J Pediatr*, 2013, 163: 561–567
- 50 Parker S K, Schwartz B, Todd J, et al. Thimerosal-containing vaccines and autistic spectrum disorder: a critical review of published original data. *Pediatrics*, 2004, 114: 793–804
- 51 Garrecht M, Austin D W. The plausibility of a role for mercury in the etiology of autism: a cellular perspective. *Toxicol Environ Chem*, 2011, 93: 1251–1273
- 52 Rowland I R, Davies M J, Evans J G. Tissue content of mercury in rats given methylmercuric chloride orally: influence of intestinal flora. *Arch Environ Health*, 1980, 35: 155–160
- 53 Yassa H A. Autism: a form of lead and mercury toxicity. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 38: 1016–1024
- 54 Adams J, Audhya T, McDonough-Means S, et al. Toxicological status of children with autism vs. neurotypical children and the association with autism severity. *Biol Trace Elem Res*, 2013, 151: 171–180
- 55 Schneider T, Przewlocki R. Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: animal model of autism. *Neuropsychopharmacology*, 2004, 30: 80–89
- 56 Gardener H, Spiegelman D, Buka S L. Perinatal and neonatal risk factors for autism: a comprehensive meta-analysis. *Pediatrics*, 2011, 128: 344–355
- 57 Gardener H, Spiegelman D, Buka S L. Prenatal risk factors for autism: comprehensive meta-analysis. *Br J Psychiatry*, 2009, 195: 7–14
- 58 Volk H E, Lurmann F, Penfold B, et al. Traffic-related air pollution, particulate matter, and autism. *JAMA Psychiatry*, 2013, 70: 71–77
- 59 Christensen J, Grønborg T, Sørensen M, et al. Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism. *JAMA*, 2013, 309: 1696–1703
- 60 Rai D, Lee B K, Dalman C, et al. Parental depression, maternal antidepressant use during pregnancy, and risk of autism spectrum disorders: population based case-control study. *BMJ*, 2013, 346: f2059
- 61 苏媛媛. 孤独症、智力低下儿童环境危险因素的研究. 硕士学位论文. 天津: 天津医科大学, 2012
- 62 Peters D A. Prenatal stress: effects on brain biogenic amine and plasma corticosterone levels. *Pharmacol Biochem Behav*, 1982, 17: 721–725

- 63 Shi L, Fatemi S H, Sidwell R W, et al. Maternal influenza infection causes marked behavioral and pharmacological changes in the offspring. *J Neurosci*, 2003, 23: 297–302
- 64 Durkin M S, Maenner M J, Newschaffer C J, et al. Advanced parental age and the risk of autism spectrum disorder. *Am J Epidemiol*, 2008, 168: 1268–1276
- 65 Frans E M, Sandin S, Reichenberg A, et al. Autism risk across generations: a population-based study of advancing grandpaternal and paternal age. *JAMA Psychiatry*, 2013, 70: 516–521
- 66 Gohary T M E, Aziz N A E, Darweesh M, et al. Plasma level of transforming growth factor b 1 in children with autism spectrum disorder. *Egyptian J Ear Nose, Throat Allied Sci*, 2015, 16: 69–73
- 67 Strömland K, Nordin V, Miller M, et al. Autism in thalidomide embryopathy: a population study. *Dev Med Child Neurol*, 1994, 36: 351–356
- 68 Furness J B. The Enteric Nervous System. Frontmatter, in *The Enteric Nervous System*. Malden: Blackwell Publishing, 2007. i–xiii
- 69 Forsythe P, Sudo N, Dinan T, et al. Mood and gut feelings. *Brain Behav Immun*, 2010, 24: 9–16
- 70 Gershon M. *The Second Brain: A Groundbreaking New Understanding of Nervous Disorders of the Stomach and Intestine*. New York: Harper Collins Publishers, Inc., 1999
- 71 Grenham S, Clarke G, Cryan J F, et al. Brain gut microbe communication in health and disease. *Front Physiol*, 2011, 2: 1–15
- 72 Lee Y Y, Chua A S. Influence of gut microbes on the brain-gut axis. *J Neurogastroenterol Motil*, 2011, 17: 427–429
- 73 Mayer E A, Padua D, Tillisch K. Altered brain-gut axis in autism: comorbidity or causative mechanisms? *BioEssays*, 2014, 36: 933–939
- 74 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 Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2010, 51: 418–424
- 75 Schieve L A, Gonzalez V, Boulet S L, et al. Concurrent medical conditions and health care use and needs among children with learning and behavioral developmental disabilities, National Health Interview Survey, 2006–2010. *Res Dev Disabl*, 2012, 33: 467–476
- 76 Mazefsky C A, Schreiber D R, Olino T M, et al. The association between emotional and behavioral problems and gastrointestinal symptoms among children with high-functioning autism. *Autism*, 2014, 18: 493–501
- 77 Buie T, Campbell D B, Fuchs G J, et al. Evaluation, diagnosis, and treatment of gastrointestinal disorders in individuals with ASDs: a consensus report. *Pediatrics*, 2010, 125: S1–S18
- 78 Wakefield A J, Ashwood P, Limb K, et al. The significance of ileo-colonic lymphoid nodular hyperplasia in children with autistic spectrum disorder. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2005, 17: 827–836
- 79 Wakefield A J, Anthony A, Murch S H, et al. Enterocolitis in children with developmental disorders. *Am J Gastroenterol*, 2000, 95: 2285–2295
- 80 White J F. Intestinal pathophysiology in autism. *Exp Biol Med*, 2003, 228: 639–649
- 81 D'Eufemia P, Celli M, Finocchiaro R, et al. Abnormal intestinal permeability in children with autism. *Acta Paediatr*, 1996, 85: 1076–1079
- 82 Horvath K, Papadimitriou J C, Rabsztyń A, et al. Gastrointestinal abnormalities in children with autistic disorder. *J Pediatr*, 1999, 135: 559–563
- 83 Furlano R I, Anthony A, Day R, et al. Colonic CD8 and $\gamma\delta$ T-cell infiltration with epithelial damage in children with autism. *J Pediatr*, 2001, 138: 366–372
- 84 Ashwood P, Wills S, Van de Water J. The immune response in autism: a new frontier for autism research. *J Leukoc Biol*, 2006, 80: 1–15
- 85 Ashwood P, Anthony A, Torrente F, et al. Spontaneous mucosal lymphocyte cytokine profiles in children with autism and gastrointestinal symptoms: mucosal immune activation and reduced counter regulatory interleukin-10. *J Clin Immunol*, 2004, 24: 664–673
- 86 Torrente F, Ashwood P, Day R, et al. Small intestinal enteropathy with epithelial IgG and complement deposition in children with regressive autism. *Mol Psychiatry*, 2002, 7: 375–382
- 87 Ashwood P, Anthony A, Pellicer A A, et al. Intestinal lymphocyte populations in children with regressive autism: evidence for extensive mucosal immunopathology. *J Clin Immunol*, 2003, 23: 504–517
- 88 Adams J, Audhya T, McDonough Means S, et al. Effect of a vitamin/mineral supplement on children and adults with autism. *BMC Pediatr*, 2011, 11: 1–30
- 89 Wakefield A J, Puleston J M, Montgomery S M, et al. The concept of entero-colonic encephalopathy, autism and opioid receptor ligands. *Aliment Pharmacol Ther*, 2002, 16: 663–674
- 90 O'Hara A M, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep*, 2006, 7: 688–693
- 91 Zhu B, Wang X, Li L. Human gut microbiome: the second genome of human body. *Protein Cell*, 2010, 1: 718–725
- 92 Gill S R, Pop M, DeBoy R T, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, 2006, 312: 1355–1359

- 93 Clemente J C, Ursell L K, Parfrey L W, et al. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 2012, 148: 1258–1270
- 94 Finegold S M, Molitoris D, Song Y, et al. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clin Infect Dis*, 2002, 35: S6–S16
- 95 Shreiner A B, Kao J Y, Young V B. The gut microbiome in health and in disease. *Curr Opin Gastroenterol*, 2015, 31: 69–75
- 96 Compare D, Coccoli P, Rocco A, et al. Gut-liver axis: the impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2012, 22: 471–476
- 97 Hood L. Tackling the microbiome. *Science*, 2012, 336: 1209
- 98 Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 2011, 473: 174–180
- 99 Wu G D, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, 2011, 334: 105–108
- 100 Kang D W, Park J G, Ilhan Z E, et al. Reduced incidence of prevotella and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. *PLoS One*, 2013, 8: e68322
- 101 Foster J A, McVey Neufeld K A. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends Neurosci*, 2013, 36: 305–312
- 102 Cryan J F, O'Mahony S M. The microbiome-gut-brain axis: from bowel to behavior. *Neurogastroenterol Motil*, 2011, 23: 187–192
- 103 Neufeld K M, Kang N, Bienenstock J, et al. Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterol Motil*, 2011, 23: 255–264
- 104 Heijtz R D, Wang S, Anuar F, et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 3047–3052
- 105 梁珊, 王涛, 胡旭, 等. 微生物与行为和精神疾病. *心理科学进展*, 2012, 20: 75–97
- 106 Dinan T G, Stilling R M, Stanton C, et al. Collective unconscious: how gut microbes shape human behavior. *J Psychiatr Res*, 2015, 63: 1–9
- 107 Gareau M G, Wine E, Rodrigues D M, et al. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut*, 2011, 60: 307–317
- 108 Hsiao E Y, McBride S W, Hsien S, et al. The microbiota modulates gut physiology and behavioral abnormalities associated with autism. *Cell*, 2013, 155: 1451–1463
- 109 Koenig J E, Spor A, Scalfone N, et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 4578–4585
- 110 Aagaard K, Ma J, Antony K M, et al. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*, 2014, 6: 237–265
- 111 Francis S S, Selvin S, Metayer C, et al. Mode of delivery and risk of childhood leukemia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2014, 23: 876–881
- 112 Neu J. The pre- and early postnatal microbiome: relevance to subsequent health and disease. *NeoReviews*, 2013, 14: e592–e599
- 113 Breitbart M, Haynes M, Kelley S, et al. Viral diversity and dynamics in an infant gut. *Res Microbiol*, 2008, 159: 367–373
- 114 Dominguez-Bello M G, Costello E K, Contreras M, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 11971–11975
- 115 Schwartz S, Friedberg I, Ivanov I V, et al. A metagenomic study of diet-dependent interaction between gut microbiota and host in infants reveals differences in immune response. *Genome Biol*, 2012, 13: r32
- 116 Borre Y E, O'Keeffe G W, Clarke G, et al. Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. *Trends Mol Med*, 2014, 20: 509–518
- 117 Bolte E R. Autism and clostridium tetani. *Med Hypotheses*, 1998, 51: 133–144
- 118 Song Y, Liu C, Molitoris D R, et al. *Clostridium bolteae* sp. nov., Isolated from Human Sources. *Syst Appl Microbiol*, 2003, 26: 84–89
- 119 Song Y, Liu C, Finegold S M. Real-time PCR quantitation of clostridia in feces of autistic children. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70: 6459–6465
- 120 Parracho H M, Bingham M O, Gibson G R, et al. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *J Med Microbiol*, 2005, 54: 987–991
- 121 Finegold S M. State of the art; microbiology in health and disease. Intestinal bacterial flora in autism. *Anaerobe*, 2011, 17: 367–368
- 122 Waring R H, Klovra L V. Sulphur metabolism in autism. *J Nutr Environ Med*, 2000, 10: 25–32
- 123 Finegold S M, Downes J, Summanen P H. Microbiology of regressive autism. *Anaerobe*, 2012, 18: 260–262
- 124 Williams B L, Hornig M, Parekh T, et al. Application of novel PCR-based methods for detection, quantitation, and phylogenetic characterization of sutterella species in intestinal biopsy samples from children with autism and gastrointestinal disturbances. *MBio*, 2012, 3: e00261–e00211
- 125 Benach J L, Li E, McGovern M M. A microbial association with autism. *MBio*, 2012, 3: e00019–e00012

- 126 Calderone R A, Fonzi W A. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol*, 2001, 9: 327–335
- 127 Akins R S, Angkustsiri K, Hansen R. Complementary and alternative medicine in autism: an evidence-based approach to negotiating safe and efficacious interventions with families. *Neurotherapeutics*, 2010, 7: 307–319
- 128 McCormick D A. GABA as an inhibitory neurotransmitter in human cerebral cortex. *J Neurophysiol*, 1989, 62: 1018–1027
- 129 Komura J, Tamai I, Senmaru M, et al. Brain-to-blood active transport of β -alanine across the blood-brain barrier. *FEBS Lett*, 1997, 400: 131–135
- 130 Ishiwari K, Mingote S, Correa M, et al. The GABA uptake inhibitor β -alanine reduces pilocarpine-induced tremor and increases extracellular GABA in substantia nigra pars reticulata as measured by microdialysis. *J Neurosci Methods*, 2004, 140: 39–46
- 131 Aldred S, Moore K, Fitzgerald M, et al. Plasma amino acid levels in children with autism and their families. *J Autism Dev Disord*, 2003, 33: 93–97
- 132 Burrus C J. A biochemical rationale for the interaction between gastrointestinal yeast and autism. *Med Hypotheses*, 2012, 79: 784–785
- 133 Tomova A, Husarova V, Lakatosova S, et al. Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. *Physiol Behav*, 2015, 138: 179–187
- 134 Finegold S M, Dowd S E, Gontcharova V, et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe*, 2010, 16: 444–453
- 135 Angelis M D, Piccolo M, Vannini L, et al. Fecal microbiota and metabolome of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified. *PLoS One*, 2013, 8: e76993
- 136 Wang L, Christophersen C T, Soric M J, et al. Increased abundance of *Sutterella* spp. and *Ruminococcus torques* in feces of children with autism spectrum disorder. *Mol Autism*, 2013, 4: 42
- 137 Midtvedt T. The gut: a triggering place for autism possibilities and challenges. *Microb Ecol Health Dis*, 2012, doi: 10.3402/mehd.v23i0.18982
- 138 Gondalia S V, Palombo E A, Knowles S R, et al. Molecular characterisation of gastrointestinal microbiota of children with autism (with and without gastrointestinal dysfunction) and their neurotypical Siblings. *Autism Res*, 2012, 5: 419–427
- 139 Ledford J R, Gast D L. Feeding problems in children with autism spectrum disorders: a review. *Focus Autism aOther Dev Disabl*, 2006, 21: 153–166
- 140 Sharp W G, Jaquess D L, Lukens C T. Multi-method assessment of feeding problems among children with autism spectrum disorders. *Res Autism Spectrum Disord*, 2013, 7: 56–65
- 141 Field D, Garland M, Williams K. Correlates of specific childhood feeding problems. *J Paediatr Child H*, 2003, 39: 299–304
- 142 Zimmer M, Hart L, Manning Courtney P, et al. Food variety as a predictor of nutritional status among children with autism. *J Autism Dev Disord*, 2012, 42: 549–556
- 143 Bandini L G, Anderson S E, Curtin C, et al. Food selectivity in children with autism spectrum disorders and typically developing children. *J Pediatr*, 2010, 157: 259–264
- 144 Hediger M, England L, Molloy C, et al. Reduced bone cortical thickness in boys with autism or autism spectrum disorder. *J Autism Dev Disord*, 2008, 38: 848–856
- 145 Zive M M, Nicklas T A, Busch E C, et al. Marginal vitamin and mineral intakes of young adults: the Bogalusa Heart Study. *J Adolesc Health*, 1996, 19: 39–47
- 146 Trajkovski V, Petlichkovski A, Efinska Mladenovska O, et al. Higher plasma concentration of food-specific antibodies in persons with autistic disorder in comparison to their siblings. *Focus Autism Other Dev Disabl*, 2008, 23: 176–185
- 147 Cornish E. Gluten and casein free diets in autism: a study of the effects on food choice and nutrition. *J Hum Nutr Diet*, 2002, 15: 261–269
- 148 Knivsberg A M, Reichelt K L, Høien T, et al. A randomised, controlled study of dietary intervention in autistic syndromes. *Nutr Neurosci*, 2002, 5: 251–261
- 149 Amidon G L, Lee H J. Absorption of peptide and peptidomimetic drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1994, 34: 321–341
- 150 Le Huërou-Luron I, Blat S, Boudry G. Breast- vs. formula-feeding: impacts on the digestive tract and immediate and long-term health effects. *Nutr Res Rev*, 2010, 23: 23–36
- 151 Gueimonde M, Laitinen K, Salminen S, et al. Breast milk: a source of *Bifidobacteria* for infant gut development and maturation? *Neonatology*, 2007, 92: 64–66
- 152 Kidd P M. Autism, an extreme challenge to integrative medicine. Part 1. The knowledge base. *Altern Med Rev*, 2002, 7: 292–316
- 153 McCann D, Barrett A, Cooper A, et al. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet*, 2007, 370: 1560–1567

- 154 Dufault R, Lukiw W, Crider R, et al. A macroepigenetic approach to identify factors responsible for the autism epidemic in the United States. *Clin Epigenetics*, 2012, 4: 6
- 155 Adams J B, Audhya T, McDonough Means S, et al. Nutritional and metabolic status of children with autism vs. neurotypical children, and the association with autism severity. *Nutr Metab*, 2011, 8: 34
- 156 Boccuto L, Chen C F, Pittman A, et al. Decreased tryptophan metabolism in patients with autism spectrum disorders. *Mol Autism*, 2013, 4: 1–16
- 157 Stone T W, Darlington L G. Endogenous kynurenes as targets for drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1: 609–620
- 158 Moore J G, Jessop L D, Osborne D N. Gas-chromatographic and mass-spectrometric analysis of the odor of human feces. *Gastroenterology*, 1987, 93: 1321–1329
- 159 Albro P W, Fishbein L. Determination of metabolites of tyrosine and of tryptophan and related compounds by gas-liquid chromatography. *J Chromatogr*, 1971, 55: 297–302
- 160 Nakamura K, Sekine Y, Ouchi Y, et al. Brain serotonin and dopamine transporter bindings in adults with high-functioning autism. *Arch Gen Psychiatry*, 2010, 67: 59–68
- 161 Burgess N, Sweeten T, McMahon W, et al. Hyperserotoninemia and altered immunity in autism. *J Autism Dev Disord*, 2006, 36: 697–704
- 162 Chugani D C, Muzik O, Behen M, et al. Developmental changes in brain serotonin synthesis capacity in autistic and nonautistic children. *Ann Neurol*, 1999, 45: 287–295
- 163 Yang C J, Tan H P, Du Y J. The developmental disruptions of serotonin signaling may involved in autism during early brain development. *Neuroscience*, 2014, 267: 1–10
- 164 Scott M M, Deneris E S. Making and breaking serotonin neurons and autism. *Int J Dev Neurosci*, 2005, 23: 277–285
- 165 Melke J, Goubran Botros H, Chaste P, et al. Abnormal melatonin synthesis in autism spectrum disorders. *Mol Psychiatry*, 2007, 13: 90–98
- 166 Geier D A, Kern J K, Garver C R, et al. A prospective study of transsulfuration biomarkers in autistic disorders. *Neurochem Res*, 2009, 34: 386–393
- 167 James S J, Melnyk S, Fuchs G, et al. Efficacy of methylcobalamin and folinic acid treatment on glutathione redox status in children with autism. *Am J Clin Nutr*, 2009, 89: 425–430
- 168 Frye R E, James S J. Metabolic pathology of autism in relation to redox metabolism. *Biomark Med*, 2014, 8: 321–330
- 169 Vancassel S, Durand G, Barthélémy C, et al. Plasma fatty acid levels in autistic children. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2001, 65: 1–7
- 170 Shultz S R, MacFabe D F, Ossenkopp K P, et al. Intracerebroventricular injection of propionic acid, an enteric bacterial metabolic end-product, impairs social behavior in the rat: implications for an animal model of autism. *Neuropharmacology*, 2008, 54: 901–911
- 171 Filipek P, Juranek J, Nguyen M, et al. Relative carnitine deficiency in autism. *J Autism Dev Disord*, 2004, 34: 615–623
- 172 Chugani D C, Sundram B S, Behen M, et al. Evidence of altered energy metabolism in autistic children. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 1999, 23: 635–641
- 173 Sliwinski S, Croonenberghs J, Christophe A, et al. Polyunsaturated fatty acids: do they have a role in the pathophysiology of autism? *Neuro Endocrinol Lett*, 2006, 27: 465–471
- 174 Deth R, Muratore C, Benzecry J, et al. How environmental and genetic factors combine to cause autism: a redox/methylation hypothesis. *Neurotoxicology*, 2008, 29: 190–201
- 175 Jill James S, Melnyk S, Jernigan S, et al. Abnormal transmethylation/transsulfuration metabolism and DNA hypomethylation among parents of children with autism. *J Autism Dev Disord*, 2008, 38: 1966–1975
- 176 Gruber K, Kratky C. Cobalamin-dependent Methionine Synthase. *Handbook of Metalloproteins*. Hoboken: John Wiley & Sons, Ltd, 2006. 1450–1459
- 177 Hodgson N W, Waly M I, Al-Farsi Y M, et al. Decreased glutathione and elevated hair mercury levels are associated with nutritional deficiency-based autism in Oman. *Exp Biol Med*, 2014, 239: 697–706
- 178 Kern J K, Jones A M. Evidence of toxicity, oxidative stress, and neuronal insult in autism. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*, 2006, 9: 485–499
- 179 Licinio J, Alvarado I, Wong M L. Autoimmunity in autism. *Mol Psychiatry*, 2002, 7: 375–382
- 180 Careaga M, Van de Water J, Ashwood P. Immune dysfunction in autism: a pathway to treatment. *Neurotherapeutics*, 2010, 7: 283–292
- 181 Comi A M, Zimmerman A W, Frye V H, et al. Familial clustering of autoimmune disorders and evaluation of medical risk factors in autism. *J Child Neurol*, 1999, 14: 388–394

- 182 Licinio J, Wong M. The role of inflammatory mediators in the biology of major depression: central nervous system cytokines modulate the biological substrate of depressive symptoms, regulate stress-responsive systems, and contribute to neurotoxicity and neuroprotection. *Mol Psychiatry*, 1999, 4: 317–327
- 183 Cohly H H, Panja A. Immunological findings in autism. *Int Rev Neurobiol*, 2005, 71: 317–341
- 184 Singh V K, Warren R, Averett R, et al. Circulating autoantibodies to neuronal and glial filament proteins in autism. *Pediatr Neurol*, 1997, 17: 88–90
- 185 Singh V K, Warren R P, Odell J D, et al. Antibodies to myelin basic protein in children with autistic behavior. *Brain Behav Immun*, 1993, 7: 97–103
- 186 Brimberg L, Sadiq A, Gregersen P K, et al. Brain-reactive IgG correlates with autoimmunity in mothers of a child with an autism spectrum disorder. *Mol Psychiatry*, 2013, 18: 1171–1177
- 187 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 Spectr Disord*, 2013, 7: 199–204
- 188 El-Ansary A, Al-Ayadi L. Neuroinflammation in autism spectrum disorders. *J Neuroinflamm*, 2012, 9: 265
- 189 Ashwood P, Enstrom A, Krakowiak P, et al. Decreased transforming growth factor beta1 in autism: a potential link between immune dysregulation and impairment in clinical behavioral outcomes. *J Neuroimmunol*, 2008, 204: 149–153
- 190 Enstrom A, Krakowiak P, Onore C, et al. Increased IgG4 levels in children with autism disorder. *Brain Behav Immun*, 2009, 23: 389–395
- 191 Rose D, Ashwood P. Potential cytokine biomarkers in autism spectrum disorders. *Biomark Med*, 2014, 8: 1171–1181
- 192 Becker K G. Autism, asthma, inflammation, and the hygiene hypothesis. *Med Hypotheses*, 2007, 69: 731–740
- 193 McLean M H, Dieguez D, Miller L M, et al. Does the microbiota play a role in the pathogenesis of autoimmune diseases? *Gut*, 2014, 64: 332–341
- 194 Ling Z, Li Z, Liu X, et al. Altered fecal microbiota composition associated with food allergy in infants. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80: 2546–2554
- 195 C  nit M C, Matzaraki V, Tigchelaar E F, et al. Rapidly expanding knowledge on the role of the gut microbiome in health and disease. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842: 1981–1992
- 196 Lai M C, Lombardo M V, Baron-Cohen S. Autism. *Lancet*, 2014, 383: 896–910
- 197 Levy S E, Mandell D S, Schultz R T. Autism. *Lancet*, 2009, 374: 1627–1638
- 198 Anagnostou E, Hansen R. Medical treatment overview: traditional and novel psycho-pharmacological and complementary and alternative medications. *Curr Opin Pediatr*, 2011, 23: 621–627
- 199 Posey D J, Erickson C A, Stigler K A, et al. The use of selective serotonin reuptake inhibitors in autism and related disorders. *J Child Adolesc Psychopharmacol*, 2006, 16: 181–186
- 200 Research Units on Pediatric Psychopharmacology Autism Network. Risperidone treatment of autistic disorder: longer-term benefits and blinded discontinuation after 6 months. *Am J Psychiatry*, 2005, 162: 1361–1369
- 201 Akhondzadeh S, Erfani S, Mohammadi M R, et al. Cyproheptadine in the treatment of autistic disorder: a double-blind placebo-controlled trial. *J Clin Pharm Ther*, 2004, 29: 145–150
- 202 Moore M L, Eichner S F, Jones J R. Treating functional impairment of autism with selective serotonin-reuptake inhibitors. *Ann Pharmacother*, 2004, 38: 1515–1519
- 203 Horvath K, Stefanatos G, Sokolski K N, et al. Improved social and language skills after secretin administration in patients with autistic spectrum disorders. *J Assoc Acad Minor Phys*, 1998, 9: 9–15
- 204 Williams K, Wray J A, Wheeler D M. Intravenous secretin for autism spectrum disorders (ASD). *Cochrane Database Syst Rev*, 2012, 4: CD003495
- 205 Volkmar F R. Lessons from secretin. *N Engl J Med*, 1999, 341: 1842–1845
- 206 Research Units on Pediatric Psychopharmacology Autism Network. Randomized, controlled, crossover trial of methylphenidate in pervasive developmental disorders with hyperactivity. *Arch Gen Psychiatry*, 2005, 62: 1266–1274
- 207 Sandler R H, Finegold S M, Bolte E R, et al. Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. *J Child Neurol*, 2000, 15: 429–435
- 208 Kawicka A, Regulska-Ilow B. How nutritional status, diet and dietary supplements can affect autism. A review. *Rocz Panstw Zakl Hig*, 2013, 64: 1–12
- 209 Whiteley P, Shattock P, Knivsberg A M, et al. Gluten- and casein-free dietary intervention for autism spectrum conditions. *Front Hum Neurosci*, 2012, 6: 344

- 210 Goin-Kochel R P, Mackintosh V H, Myers B J. Parental reports on the efficacy of treatments and therapies for their children with autism spectrum disorders. *Res Autism Spectr Disord*, 2009, 3: 528–537
- 211 Pedersen L, Parlar S, Kvist K, et al. Data mining the ScanBrit study of a gluten- and casein-free dietary intervention for children with autism spectrum disorders: behavioural and psychometric measures of dietary response. *Nutr Neurosci*, 2013, 17: 207–213
- 212 Whiteley P, Haracopos D, Knivsberg A M, et al. The ScanBrit randomised, controlled, single-blind study of a gluten- and casein-free dietary intervention for children with autism spectrum disorders. *Nutr Neurosci*, 2010, 13: 87–100
- 213 Elder J H. The gluten-free, casein-free diet in autism: an overview with clinical implications. *Nutr Clin Pract*, 2008, 23: 583–588
- 214 Johnson C, Handen B, Zimmer M, et al. Effects of gluten free/casein free diet in young children with autism: a pilot study. *J Dev Phys Disabl*, 2011, 23: 213–225
- 215 Knivsberg A M, Reichelt K L, Høien T, et al. Effect of a dietary intervention on autistic behavior. *Focus Autism Other Dev Disabl*, 2003, 18: 248–257
- 216 Marí-Bauset S, Zazpe I, Mari-Sanchis A, et al. Evidence of the gluten-free and casein-free diet in autism spectrum disorders: a systematic review. *J Child Neurol*, 2014, 29: 1718–1727
- 217 Elder J, Shankar M, Shuster J, et al. The gluten-free, casein-free diet in autism: results of a preliminary double blind clinical trial. *J Autism Dev Disord*, 2006, 36: 413–420
- 218 Whiteley P. Nutritional management of (some) autism: a case for gluten- and casein-free diets? *Proc Nutr Soc*, 2014, 14: 1–6
- 219 Claire M, Michael F, J C S, et al. Gluten- free and casein-free diets for autistic spectrum disorder. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008, 2: CD003498
- 220 Gottschall E. Digestion-gut-autism connection: the specific carbohydrate diet. *Med Veritas*, 2004, 1: 261–271
- 221 McBride N C. Gut and psychology syndrome diet. The GAPS diet. <http://www.gapsdiet.com/Resources.html> 2003
- 222 Garstang J, Wallis M. Randomized controlled trial of melatonin for children with autistic spectrum disorders and sleep problems. *Child Care Health Dev*, 2006, 32: 585–589
- 223 Wirojanan J, Jacquemont S, Diaz R, et al. The efficacy of melatonin for sleep problems in children with autism, fragile X syndrome, or autism and fragile X syndrome. *J Clin Sleep Med*, 2009, 5: 145–150
- 224 Wasdell M B, Jan J E, Bomben M M, et al. A randomized, placebo-controlled trial of controlled release melatonin treatment of delayed sleep phase syndrome and impaired sleep maintenance in children with neurodevelopmental disabilities. *J Pineal Res*, 2008, 44: 57–64
- 225 Wright B, Sims D, Smart S, et al. Melatonin versus placebo in children with autism spectrum conditions and severe sleep problems not amenable to behaviour management strategies: a randomised controlled crossover trial. *J Autism Dev Disord*, 2011, 41: 175–184
- 226 Peled N, Shorer Z, Peled E, et al. Melatonin effect on seizures in children with severe neurologic deficit disorders. *Epilepsia*, 2001, 42: 1208–1210
- 227 Chez M G, Buchanan C P, Aimonovitch M C, et al. Double-blind, placebo-controlled study of *L*-carnosine supplementation in children with autistic spectrum disorders. *J Child Neurol*, 2002, 17: 833–837
- 228 Lelord G, Muh J P, Barthelemy C, et al. Effects of pyridoxine and magnesium on autistic symptoms-initial observations. *J Autism Dev Disord*, 1981, 11: 219–230
- 229 Martineau J, Barthelemy C, Garreau B, et al. Vitamin B6, magnesium, and combined B6-Mg: therapeutic effects in childhood autism. *Biol Psychiatry*, 1985, 20: 467–478
- 230 Nye C, Brice A. Combined vitamin B6-magnesium treatment in autism spectrum disorder. *Cochrane Database Syst Rev*, 2005, 19: CD003497
- 231 Bertoglio K, James S J, Deprey L, et al. Pilot study of the effect of methyl B12 treatment on behavioral and biomarker measures in children with autism. *J Altern Complement Med*, 2010, 16: 555–560
- 232 Adams J, Johansen L, Powell L, et al. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism—comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterol*, 2011, 11: 22
- 233 Adams J B, Holloway C. Pilot study of a moderate dose multivitamin/mineral supplement for children with autistic spectrum disorder. *J Altern Complement Med*, 2004, 10: 1033–1039
- 234 Mehl-Madrona L, Leung B, Kennedy C, et al. Micronutrients versus standard medication management in autism: a naturalistic case-control study. *J Child Adolesc Psychopharmacol*, 2010, 20: 95–103
- 235 James S, Montgomery P, Williams K. Omega-3 fatty acids supplementation for autism spectrum disorders (ASD). *Cochrane Database Syst Rev*, 2011, 11: CD007992
- 236 Amminger G P, Berger G E, Schäfer M R, et al. Omega-3 fatty acids supplementation in children with autism: a double-blind randomized,

- placebo-controlled pilot study. *Biol Psychiatry*, 2007, 61: 551–553
- 237 Bent S, Bertoglio K, Ashwood P, et al. A pilot randomized controlled trial of Omega-3 fatty acids for autism spectrum disorder. *J Autism Dev Disord*, 2011, 41: 545–554
- 238 Surén P, Roth C, Bresnahan M, et al. Association between maternal use of folic acid supplements and risk of autism spectrum disorders in children. *JAMA*, 2013, 309: 570–577
- 239 Hardan A Y, Fung L K, Libove R A, et al. A randomized controlled pilot trial of oral N-acetylcysteine in children with autism. *Biol Psychiatry*, 2012, 71: 956–961
- 240 Dolske M C, Spollen J, McKay S, et al. A preliminary trial of ascorbic acid as supplemental therapy for autism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 1993, 17: 765–774
- 241 Keunen K, van Elburg R M, van Bel F, et al. Impact of nutrition on brain development and its neuroprotective implications following preterm birth. *Pediatr Res*, 2015, 77: 148–155
- 242 Hsiao E Y. Gastrointestinal issues in autism spectrum disorder. *Harv Rev Psychiatry*, 2014, 22: 104–111
- 243 Lyte M. Microbial endocrinology: host-microbiota neuroendocrine interactions influencing brain and behavior. *Gut Microbes*, 2014, 5: 381–389
- 244 Collins S M, Surette M, Bercik P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nat Rev Micro*, 2012, 10: 735–742
- 245 Cryan J F, Dinan T G. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci*, 2012, 13: 701–712
- 246 Forsythe P, Kunze W. Voices from within: gut microbes and the CNS. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70: 55–69
- 247 Collins S M, Bercik P. The relationship between intestinal microbiota and the central nervous system in normal gastrointestinal function and disease. *Gastroenterology*, 2009, 136: 2003–2014
- 248 Dinan T G, Borre Y E, Cryan J F. Genomics of schizophrenia: time to consider the gut microbiome[quest]. *Mol Psychiatry*, 2014, 19: 1252–1257
- 249 DO R W, Roberts E, Sichel L S, et al. Improvements in gastrointestinal symptoms among children with autism spectrum disorder receiving the Delpro® probiotic and immunomodulator formulation. *Probiot Health*, 2013, 1: 102
- 250 Kałużna Czaplińska J, Błaszczyk S. The level of arabinitol in autistic children after probiotic therapy. *Nutrition*, 2012, 28: 124–126
- 251 Tabbers M M, de Milliano I, Roseboom M G, et al. Is *Bifidobacterium breve* effective in the treatment of childhood constipation? Results from a pilot study. *Nutr J*, 2011, 10: 19
- 252 Clarke G, Grenham S, Scully P, et al. The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Mol Psychiatry*, 2013, 18: 666–673
- 253 Sudo N, Chida Y, Aiba Y, et al. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol*, 2004, 558: 263–275
- 254 Desbonnet L, Clarke G, Shanahan F, et al. Microbiota is essential for social development in the mouse. *Mol Psychiatry*, 2014, 19: 146–148
- 255 张发明. 粪菌移植的概念、历史、现状和未来. *中国内镜杂志*, 2012, 18: 930–934
- 256 Aroniadis O C, Brandt L J. Fecal microbiota transplantation: past, present and future. *Curr Opin Gastroenterol*, 2013, 29: 79–84
- 257 江学良, 崔云龙, 张宗梅, 等. 粪菌移植的研究现状、存在问题与发展方向. *中华消化病与影像杂志(电子版)*, 2014, 4: 1–4

Advances in Causes and Treatment of Autism

DUAN YunFeng¹, WU XiaoLi^{1,2} & JIN Feng¹

1 Key Lab of Mental Health, Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Autism is a developmental disease, which may have a lifelong course, and the process is difficult to reverse. The cause of autism remains unclear and effective intervention and treatment have not been discovered. With increasing prevalence, autism causes huge economic burdens to the patients' families and social burdens to the society. Autism is a biological disease that is influenced by both genetic and environmental factors. Early brain dysplasia may be the direct cause for autism, and neurotoxic substances, nutrients, metabolites and neuroactive substances are the most suspicious causes. While chromosomal abnormalities and genetic variation are found in some cases of autism, more cases showed abnormalities in gastrointestinal symptoms, a higher proportion of which may be associated with the human gut microbiota. The microorganism, the intestines and the brain form the gut-brain axis, which plays an important role in autism. Accordingly, many interventions have been developed including both biological and non-biological therapies. The biological therapies involve antibiotics, medicine and diet. Among these, a therapy targeting to intestinal microbes, such as interventions via probiotics and fecal transplantation, is booming. Although some of these treatments seemed relatively effective, most of them showed limitation in alleviating core symptoms of autism. Besides, there is not enough complete evaluation for safety and effectiveness. Therefore, future research needs to be performed in systematic and case-control studies for exploring the etiology of autism.

autism, etiology, intestinal microbiota, diet, microbiome-gut-brain axis

doi: 10.1360/N052015-0108