



肠道微生物在孤独症中的研究进展

赵晴, 刘星吟*

南京医科大学基础医学院病原生物系, 生殖医学国家重点实验室, 江苏省现代病原重点实验室, 南京 211166

* 联系人, E-mail: xingyinliu@njmu.edu.cn

收稿日期: 2022-12-05; 接受日期: 2023-02-14; 网络版发表日期: 2023-04-26

科技部重点研发基金(批准号: 2022YFA1303900)和国家自然科学基金(批准号: 82172288)资助

摘要 肠道微生物由于物种丰富、功能多样以及群落内部、微生物与宿主的相互作用复杂, 很大一部分仍是有待解密的“黑匣子”。在人类疾病发展过程中常常可以观察到异常的肠道微生态结构, 包括物种丰度的差异及其相互之间的关联改变, 而孤独症谱系障碍患者的肠道菌群结构已被广泛报道, 这些工作共同揭示了孤独症患者肠道微生物结构与功能紊乱的现象与行为缺陷及其共患症状的关联。本文就近年来肠道菌群与孤独症的关联、机制探索以及临床应用的最新进展进行了回顾性总结, 并对未来的研究方向进行了展望。

关键词 肠道微生物, 孤独症谱系障碍, 肠-微生物-脑轴, 神经发育

孤独症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD), 又称为自闭症, 是一系列以社交障碍与重复刻板行为/兴趣狭窄为主要特征的神经发育障碍性疾病^[1]。已有研究表明, 孤独症是遗传和环境因素相互作用的结果, 但其具体病因未明。在长期共同进化过程中, 人体的肠道微生物是一个微生物种类繁多、关联错综复杂的生态系统, 总称为肠道微生态。在这样一个生态群落中, 肠道微生物发挥了不可替代的作用, 包括参与宿主肠黏膜屏障和免疫功能的塑造^[2], 提供人体必需的微生物代谢产物^[3,4], 共同抵御病原菌的入侵^[5,6]等活动, 并与宿主长期互利共存。在孤独症儿童中常常观察到与肠道微生态破坏相关的肠道共患病现象, 包括肠道炎症、腹泻、便秘、肠漏等。随着近年来多个队列研究揭示孤独症与肠道菌群的关联, 以及“微生物-肠-脑轴”(microbiota-gut-brain axis)机制在孤独症动物模型的深入研究, 孤独症与肠道微生物之间的关联也逐渐被广泛认可。

1 孤独症患者肠道微生物结构与功能紊乱

人体肠道微生态受环境、年龄、饮食、抗生素或非抗生素药物的使用、昼夜节律等各种因素影响, 肠道微生物的组成和多样性等特征会发生动态变化^[7]。大量研究报道一些病理条件下的肠道微生物群落相比健康人会表现出异常的生态结构^[8,9], 从胃肠道疾病如炎症性肠病^[10]和结直肠癌^[11], 代谢疾病如糖尿病^[12], 甚至神经系统疾病如多发性硬化症^[13]、阿尔茨海默病^[14]和抑郁症^[15,16]中, 都观察到肠道微生物态失衡, 并引起关键代谢物缺失、免疫系统紊乱和炎症反应等病理特征, 从而进一步促进了疾病的发展。

近年来, 在肠道菌群与人类疾病相关性研究中, 当前关注的层面从特定潜在影响疾病的单一细菌到引起同一功能异常的微生物群落, 以及疾病状态下群落之间相互关系的异常改变。最近五年, 多项人群队列研

引用格式: 赵晴, 刘星吟. 肠道微生物在孤独症中的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 605–615
Zhao Q, Liu X Y. Research progress of gut microbiota in autism spectrum disorder (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 605–615, doi: 10.1360/SSV-2022-0316

究报道了孤独症患者肠道微生物群落结构紊乱的特征, 而群落结构的改变往往伴随着细菌功能的改变. 健康的肠道菌群表现出高度的功能冗余, 即存在能够执行相同的重要生化功能的、多个共存的分类单元或基因组^[17]. 病理条件下的肠道菌群可能缺失某一重要功能或者表现出过度的功能激活, 并通过这些异常功能影响宿主的生理状态. 通过对果蝇、小鼠等模式生物进行菌群移植以及进一步的行为学实验验证和脑发育监测, 发现这些改变的群落结构特征在ASD发展过程中发挥作用^[18~20].

1.1 孤独症患者肠道微生物群落结构的改变

在多项报道中观察到, 孤独症患者与健康对照相比, 粪便中拟杆菌门与厚壁菌门的比例显著降低, 且表现出显著降低的细菌多样性^[21,22].

孤独症患者肠道微生物多种细菌丰度与健康儿童相比, 往往呈现显著差异(表1)^[23~27], 但由于不同地域、不同饮食条件下微生物群落的个体化, 以往的研究在标志物的识别上可重复性受限, 不同的队列研究常常观察到同一物种不同的丰度变化. 针对这一问题, 近期王娟团队^[24]的研究关注特质匹配的人群, 收集了

同质性更强的ASD与典型发育对照(typical development, TD, 指儿童达到他/她的年龄所期望的发展里程碑)队列, 用于ASD的特征识别. 他们发现了与先前研究一致的结果: 小韦荣氏球菌(*Veillonella parvula*)和鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*)在ASD组富集, 而长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*)和*Prevotella copri*在TD组富集^[28].

由于兄弟姐妹生活方式之间的相似性, 许多影响肠道菌群的因素可以得到控制. 美国的一项研究以年龄差在2岁以内、生活在相似家庭环境中、饮食相似的典型神经发育、兄弟姐妹作为对照组^[29], 使用16S rRNA测序分析所收集粪便样本, 发现在ASD队列中alpha多样性评分的差异明显高于NT队列, 而beta多样性没有显著差异, 属水平上, 凝聚桿菌(*Aggregatibacter*), 厌氧球菌(*Anaerococcus*)和颤螺菌(*Oscillospira*)在孤独症队列富集, 而卟啉单胞菌(*Porphyromonas*), 史雷克氏菌(*Slackia*), 脱硫弧菌(*Desulfovibrio*), 大肠芽孢梭菌(*Clostridium colinum*)和约氏不动杆菌(*Acinetobacter johnsonii*)在健康队列更为富集.

另外, 与宿主的发育节点相对应的细菌群落发育轨迹也是目前关注的焦点. 本团队和湖南省妇幼保健

表1 人类粪便宏基因组测序结果显示ASD群体微生物种属丰度的差异

Table 1 Human fecal metagenomic sequencing revealed changes in species- and genus-level abundance in ASD groups

资料来源	ASD 样本数	TD 样本数	ASD组的微生物改变 (属水平)	ASD组的微生物改变 (种水平)
Wang等人 ^[23]	43	31	梭菌(<i>Clostridium</i>)↑ 埃格特氏菌(<i>Eggerthella</i>)↑ 克雷伯氏菌(<i>Klebsiella</i>)↑	迟缓埃格特菌(<i>Eggerthella lenta</i>)↑ 肉毒杆菌(<i>Clostridium botulinum</i>)↑ 普通拟杆菌(<i>Bacteroides vulgatus</i>)↓
Zhang等人 ^[24]	39	40	—	小韦荣氏球菌(<i>Veillonella parvula</i>)↑ 鼠李糖乳杆菌(<i>Lactobacillus rhamnosus</i>)↑ 长双歧杆菌(<i>Bifidobacterium longum</i>)↓ <i>Prevotella copri</i> ↓
Kovtun等人 ^[25]	30	20	粪球菌(<i>Coprococcus</i>)↑ 萨特氏菌(<i>Sutterella</i>)↓ <i>Barnesiella</i> ↓	<i>Coprococcus comes</i> ↑ 华德萨特菌(<i>Sutterella wadsworthensis</i>)↓ 肠道巴氏杆菌(<i>Barnesiella intestinihominis</i>)↓
Dan等人 ^[22]	30	30	拟杆菌(<i>Bacteroides</i>)↓ 普雷沃氏菌(<i>Prevotella</i>)↓ 考拉杆菌(<i>Phascolarctobacterium</i>)↓ <i>Paraprevotella</i> ↓	粪便拟杆菌(<i>Bacteroides stercoris</i>)↓ <i>Bacteroides plebeius</i> ↓ <i>Bacteroides plebeius</i> CAG:211↓
Wan等人 ^[26]	64	64	梭菌(<i>Clostridium</i>)↑ 小杆菌(<i>Dialister</i>)↑ <i>Coprobacillus</i> ↑ 粪杆菌(<i>Faecalibacterium</i>)↓	黏液真杆菌(<i>Eubacterium limosum</i>)↑ <i>Alistipes indistinctus</i> ↑ Candidate division TM7 isolate TM7c↑ 嗜链球菌(<i>Streptococcus cristatus</i>)↑ 寡发酵链球菌(<i>Streptococcus oligofermentans</i>)↑
Yap等人 ^[27]	99	51+97	—	<i>Romboutsia timonensis</i> ↑

院、山东齐鲁医院合作进行了基于16个月至19岁的大型队列(包含429名TD儿童, 773名孤独症患儿)的16S rRNA-seq测序分析, 发现ASD患儿在肠道菌群的发育过程中与健康儿童存在随着时间进程逐渐扩大的偏差^[30], 包括肠道菌群群落组成、微生物之间关系以及功能等, 突出了年龄对菌群结构的影响. 20个微生物类群在ASD和NT组之间显示出显著不同的年龄-丰度变化. 其中在大于4岁的受试者中, *Veillonella*与ASD的严重程度呈正相关, ASD组和NT组之间*Veillonella*的丰度变化与临床诊断和年龄呈显著负相关, 同时ASD组中*Veillonella*的微生物网络随年龄的变化变得更复杂, 提示早期群落关系的建立可能会影响儿童的神经发育. 最近香港中文大学黄秀娟团队^[26]通过年龄和性别匹配的队列宏基因组分析, 进一步证明与TD儿童相比, ASD儿童的肠道微生物持续发育不良. 该研究确定了五种将ASD儿童与TD儿童区分开的细菌标志物, 包括*Alistipes indistinctus*, Candidate division_TM7_isolate_TM7c, 峭链球菌(*Streptococcus cristatus*), 黏液真杆菌(*Eubacterium limosum*)和寡发酵链球菌(*Streptococcus oligofermentans*). 该研究通过相关性分析指出, ASD儿童的肠道菌群种间相互作用发生了显著变化, 在ASD儿童中观察到更强且更密集的相关网络, 而在微生物功能研究方面, 与TD儿童相比, ASD儿童与神经递质生物合成相关的微生物功能明显异常. 进一步, 通过追踪TD儿童的发育轨迹, 研究者找到26种丰度随年龄增长的细菌, 它们之间的一些关联在ASD儿童中丢失.

另外, 在真菌研究中, 一项研究对中国29名ASD儿童和31名健康儿童的粪便样本进行了内转录间隔区2(internal transcribed spacer, ITS2)测序^[31], 数据显示ASD儿童和健康儿童之间的真菌多样性和组成存在显著差异, 肠道真菌群落结构异常. ASD患者具有较低的beta多样性, 在物种水平观察到杂色曲霉(*Aspergillus versicolor*)的丰度降低, 而酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)丰度显著增加.

1.2 孤独症患者肠道微生物功能的改变

肠道微生物群具有广泛的代谢功能, 越来越多的研究报道肠道微生物通过代谢途径调控机体的代谢活动, 例如, 通过代谢产物(如毒性物质和神经递质)影响宿主的新陈代谢和生理机能^[32,33]. 本文总结了几个代

表性队列研究, 它们共同揭示了孤独症患者改变的肠道微生物关联的代谢途径(表2)^[34-48]. 例如, 本团队^[22]前期进行的孤独症患者与TD的肠道菌群结构、功能以及代谢物的分析, 并讨论了ASD患者肠道菌群、代谢物、肠道功能障碍和神经递质失调之间的联系, 这些失调的特征可能经多种途径引起患者行为和生理的异常.

在孤独症患者中常观察到兴奋/抑制神经比率失衡, 如兴奋性神经递质谷氨酸异常. 2019年, 复旦大学附属儿科医院团队^[23]观察到谷氨酸信号降低与改变的菌群特征之间的关联, ASD儿童和TD儿童的粪便宏基因组测序数据和液相色谱-质谱揭示了差异代谢物和差异菌群, 作者进一步利用关联分析确定差异代谢物的潜在来源, 发现具有谷氨酸代谢功能的*Bacteroides vulgatus*可能直接影响神经递质抑制/兴奋性失衡, 高丰度的迟缓埃格特菌(*Eggerthella lenta*)和肉毒杆菌(*Clostridium botulinum*)则与孤独症患者较低水平的芳香族化合物和较高水平的胆汁酸有关. 此外, 2019年一项发表于*Cell*的研究指出, 移植了人类ASD而非TD微生物组的无菌小鼠(germ-free, GF)表现出类似ASD的行为^[18], 同时小鼠大脑中ASD相关基因的可变剪接出现异常, 并发现维持正常行为表型中发挥关键作用的是特定的微生物群落生成的具有神经活性的代谢产物——牛磺酸和5-氨基戊酸. 孤独症患者中这些代谢物的缺失可能通过影响抑制性GABA信号转导, 破坏了兴奋与抑制性神经比率平衡. 进一步地, 牛磺酸和5-氨基戊酸处理可以使孕期BTBR模型小鼠子代的ASD样行为得到挽救, 可能由另枝菌属(*Alistipes* sp. HGB5, *Alistipes finegoldii*)和木聚糖拟杆菌(*Bacteroides xylanisolvens*)产生的牛磺酸调节神经元的兴奋性-抑制性发育开关. 值得一提的是, 代谢物的处理对4周龄以上的小鼠无效, 提示菌群在神经发育的早期阶段发挥更重要作用. 2020年, 王娟团队^[24]通过一项准配对策略揭示了ASD儿童肠道中微生物的解毒功能受损现象, 并通过对尿液代谢物的分析确认了微生物解毒受损与线粒体功能障碍和ASD严重程度有关. 受损的解毒酶主要参与谷胱甘肽生成和有机物的降解过程, 其丰度与线粒体功能指标呈负相关, 提示其功能缺失与孤独症患者线粒体功能紊乱存在联系, 并与临床评分存在关联. 作者还确认了它们作为ASD与TD之间的诊断标志物的有效性.

表 2 孤独症群体肠道微生物代谢功能的改变

Table 2 Changes in metabolic function of ASD population

代谢物	ASD组的代谢功能改变	与细菌的直接关系
谷氨酸(Glu)和γ-氨基丁酸(GABA)	Glu受体基因的突变、mRNA和蛋白质水平的修饰改变 ^[34] , Glu代谢受体(mGluR)信号转导的改变介导的突触可塑性形式的改变 ^[35] , Glu和GABA之间的兴奋/抑制神经比率失衡 ^[36]	部分细菌代谢产生Glu和GABA ^[37,38]
色氨酸(Trp)	血浆和尿液中Trp和5-HT水平降低,同时血液中5-HT水平高 ^[39,40] , 犬尿酸和吲哚衍生物水平发生改变	Trp代谢的三条途径: 5-HT、犬尿酸和吲哚衍生物途径受到肠道菌群的直接或间接控制 ^[39]
短链脂肪酸(short chain fatty acid, SCFAs)	有争议 ^[41]	菌群的代谢产物SCFAs作为组蛋白去乙酰化酶抑制剂影响宿主表观遗传 ^[42] ,并参与免疫 ^[43] 、迷走神经 ^[44] 与内分泌途径 ^[45] 来调节微生物-肠-脑的交流
胆汁酸	回肠中血浆胆汁酸水平降低和胆汁酸信号转导不足 ^[46]	胆汁酸的微生物转化 ^[47]
有毒肠菌代谢物	细菌的有毒代谢物增多	诱导ASD样行为的细菌代谢物: 4-甲基苯酚 ^[32] 、4-乙基苯基硫酸盐 ^[48] 等

鉴于许多研究都集中报道孤独症患者与TD相比具有异常的微生物群结构和代谢功能,为了探究异常的微生物群的代谢物是否导致了异常的孤独症样行为和神经发育,重庆医科大学团队^[19]在2021年的一项研究中指出,移植孤独症患者的粪便可影响无菌小鼠的色氨酸和血清素能突触代谢:色氨酸代谢途径的犬尿酸产物水平显著升高,血清素代谢产物水平降低.该结果与孤独症患者的粪便非靶向代谢组学结果一致,提示这些神经递质相关代谢物受异常的微生物群落调控.

儿童生命早期包括产前和产后的抗生素暴露,会显著增加患ASD的风险^[49,50].抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)使病原菌能够在抗生素中存活并改变其致病性和毒性,事实上,人类肠道菌群是ARGs的重要储存库.针对2~9岁共50名孤独症患者与健康儿童的宏基因组测序分析显示,孤独症患者肠道微生物群中有着不同于健康儿童的抗性基因富集^[25],而生命早期接触抗生素对菌群的塑造作用可能会影响其神经代谢潜力,改变中枢神经系统的正常功能,并影响ASD的发生发展.

2 孤独症患者的肠道微生物对行为和神经发育影响的潜在机制

肠道微生物通过免疫、神经以及代谢和内分泌途径介导了肠道与脑的双向交流.免疫途径中,肠道微生物主要通过被免疫细胞所识别,诱导特定免疫因子,如

IL-17A的产生,这些免疫因子直接塑造了肠道的免疫微环境,经循环系统作用于宿主全身.神经途径中,连接大脑和肠壁的迷走神经通过感知微生物相关信号,参与了胃肠道与中枢神经系统的交流^[51],影响认知、恐惧、焦虑等行为,反过来,迷走神经自脑传出的信号传递至肠黏膜,可以调节胃肠道稳态.而在内分泌途径中,肠道微生物群的缺失会加剧下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)系统对压力的反应并诱导焦虑样行为^[52].

多项证据表明了肠与脑之间的双向交流,例如先天发育不全的肠道会通过增强的氧化应激塑造肠道微生物群,并通过改变的微生物群影响行为表型.近期的一项研究指出,先天发育不全的肠道通过增强氧化应激塑造了与孤独症相关的肠道微生物群并影响神经发育^[53],研究人员使用丙戊酸(valproic acid, VA)诱导的ASD孕期母鼠模型,观察到子鼠存在过度的氧化应激和炎症,在出生后24小时内与健康小鼠获得相似的肠道微生物,但这样先天发育不全的肠道影响了进一步的微生物定植,并使之表现出孤独症样刻板行为,而在生命早期补充超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)可以减轻肠道的氧化应激,修复小鼠肠道菌群和改善行为表型.

2.1 肠道微生物通过代谢途径影响子代神经发育

微生物主要通过产生营养代谢物(如短链脂肪酸

(short chain fatty acid, SCFAs)^[54]和神经活性代谢物(GABA、5-羟色胺、多巴胺和去甲肾上腺素等)等参与肠-脑交流的代谢途径. 2019年, Sharon等人^[18]将孤独症患者来源的肠道菌群移植给无菌小鼠, 导致无菌小鼠及后代出现孤独症样行为表型, 同时观察到小鼠大脑中ASD相关基因参与基因的可变剪接表达异常. 而引发行为学异常的关键是特定微生物及其具有神经活性的代谢产物, 部分代谢产物可显著改善ASD小鼠模型的行为学异常并调节大脑的神经兴奋性. 肠道菌群可以通过影响神经递质的合成, 调节神经系统和行为. 健康的动物也会因为肠道菌群的异常改变而增加行为缺陷的风险, 2022年, 中国农业大学郑浩团队^[55]利用蜜蜂作为模式动物, 发现蜜蜂的肠道细菌会影响大脑中的内循环代谢和基因转录. 他们发现乳杆菌(*Lactobacillus* Firm4和Firm5)主要改变了氨基酸代谢途径, 上调了与嗅觉功能和劳动分工有关的基因. *Gilliamella*定植调控了参与碳水化合物和甘油磷脂代谢途径的循环代谢产物, 并通过调控参与神经发育和突触信号传递相关的基因影响蜜蜂对社交刺激的反应. 特别的是, 该研究检测到差异可变剪接事件的蜜蜂社会行为基因与已有报道的人类ASD疾病相关的基因同源, 例如*ANK2*, *FMR1*和*SCN1A*. 通过对GABA, 5-HT和多巴胺的浓度测定, 观察到特定肠道细菌的存在足以改变神经递质浓度, 之后通过对蔗糖浓度的长鼻延伸反应的测试, 作者提出改变的神经递质水平可能与细菌诱导的嗅觉敏感性的改变有关.

2.2 肠道微生物通过免疫途径影响神经发育

多项研究指出肠与脑之间的存在炎症免疫信号转导^[56,57]. 儿童免疫系统发育离不开与菌群的互作, 而在孤独症患者中常观察到免疫失衡和相关的胃肠道症状^[58,59], 这提出一个研究方向: 孤独症患者是否更易被诱发肠道炎症? 这样的肠道炎症对孤独症发展有何影响? Huh团队前期的研究发现, 妊娠期间母体感染或免疫激活诱导了依赖于DC细胞分化的Th17所产生的IL-17, 大量的母体IL-17越过胎盘屏障, 改变了胎儿发育中的中枢神经系统, 从而导致后代的孤独症样行为表型^[20,60]. 进一步地, 最近一项研究中他们又关注了IL-17的作用方式: 孕期免疫激活诱导母体肠道菌群的变化, 而改变的菌群所介导的IL-17A的升高诱发了胎儿的大脑异常发育并引起孤独症样表型, 同时对子代造

成持久影响——CD4⁺ T细胞染色质结构改变, 优先分化为炎症效应T细胞, 使之对肠道炎症更加易感而呈现出免疫致敏(immune-primed)^[61].

微生物的结构成分会被宿主的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRR)检测到, 并引发后续反应. 基于这种识别模式, 细菌的结构物质甚至可以直接作用于神经元, 例如肠道菌群的胞壁肽(muramyl dipeptide, MDP)能穿越肠上皮与血脑屏障, 被下丘脑特定神经元中的模式识别受体Nod2识别, 降低了神经元活动, 而下丘脑抑制神经元中Nod2的激活对于适当的食欲和体温控制至关重要, 小鼠的摄食、筑巢行为和体温维持通过该通路受菌群调控, 反应的高低表现出性别和年龄依赖^[62]. 微生物可能通过这条通路影响了孤独症患者普遍存在的摄食行为障碍.

除了对小鼠的直接影响外, 妊娠期母体的肠道菌群足以改变子代的行为, 一项研究指出细菌诱导的孕期母体免疫系统激活(maternal immune activation, MIA)与ASD风险存在因果关系, 这些小鼠所产生的后代社交能力受损, 并表现出重复刻板行为, 与人类ASD症状相类似^[20]. 总的来说, 该研究提示, 如果孕期肠道微生物群富集共生分节丝状菌(segmented filamentous bacteria, SFB), 那么在孕期病理性炎症的情况下, 将促进Th17细胞的过度分化, 从而增加后代患神经发育障碍疾病的风险.

除了细菌, 真菌与宿主的交互作用的改变也被认为会改变宿主的行为^[63]. 人类和小鼠的肠黏膜中存在的一个特定的真菌群落——黏膜相关真菌(mucosa-associated fungi, MAF)促进肠道Th17细胞产生IL-22和IL-17A. IL-22保护了肠黏膜屏障的完整性, 而IL-17作用于IL-17RA⁺神经元, 影响小鼠的社交行为.

2.3 肠道微生物通过迷走神经途径影响神经发育

迷走神经在大脑和肠道微生物群之间的交流中发挥重要作用. 用罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)治疗可挽救几种ASD小鼠模型的社交缺陷, 包括孕期高脂饮食(maternal high-fat diet, MHFD)诱导的子代ASD小鼠^[64]、ASD相关基因*shank3B* KO小鼠模型、丙戊酸诱导的ASD模型小鼠、具有特发性ASD症状的BTBR小鼠和GF小鼠^[65]. 进一步地, 通过对实施了迷走神经切断术和假手术的*shank3B*^{-/-}小鼠社交缺陷情况的测量, 发现*L. reuteri*治疗是通过迷走神经途径发挥

作用——*shank3B*^{-/-}小鼠依赖社交互动诱导的突触可塑性受损, 而*L. reuteri*对迷走神经的刺激促进了催产素的释放, 进一步挽救了小鼠的社交行为缺陷。

2.4 肠道微生物通过内分泌途径影响神经发育

肠-微生物-脑轴的交互是双向的, 除了表现在改变的肠道状态通过塑造微生物群对宿主行为产生影响外, 异常的宿主大脑也会经HPA轴、迷走神经等途径塑造肠道微生物群。多项研究报道了ASD儿童的应激激素皮质醇(cortisol)水平明显低于TD儿童^[23,66], 作为一种通过HPA轴合成的与恐惧相关的激素, 它可能对肠道微生态结构产生影响。最近Rabot等人^[52]报道了肠道微生物群调控HPA系统对压力的反应, 其缺失诱导了小鼠的焦虑样行为。此外, 上皮感觉肠内分泌细胞(epithelial sensory enteroendocrine cells, EEC)可以直接感知营养和微生物刺激, 2021年, Ye等人^[67]的一项研究指出, EEC通过表面的Trpa1受体感知细菌色氨酸分解代谢产物, 激活肠胆碱能神经元以促进肠蠕动, 并激活迷走神经通路以响应微生物信号。

2.5 菌群和宿主基因的相互作用共同塑造了孤独症相关的行为异常

研究人员普遍认为, 包括罕见遗传变异和新生变异在内的遗传变异是ASD的主要致病因素。作为一项多病因且具有高异质性的疾病, 以往的ASD研究发现了大量与疾病风险基因, 例如*KDM5*, *Chd8*, *Cntnap2*等^[68,69]。

2019年, 本团队^[70]利用果蝇为模型, 发现孤独症风险基因之一*KDM5*的敲除会导致先天免疫信号通路的过度激活、肠道生态失调和社交行为缺陷, 使用抗生素或喂食益生菌植物乳杆菌可部分挽救失调的肠道生态结构和果蝇的行为缺陷。此外, 研究发现*KDM5*以去甲基化酶依赖的方式调控先天免疫信号通路相关的基因的表达, 维持宿主-共生细菌的稳态。2021年, Bufington等人^[71]观察到野生型小鼠的肠道细菌可以拯救*Cntnap2*^{-/-}敲除小鼠的社交缺陷, 但不能挽救其过度活跃的缺陷。该研究指出, *Cntnap2*^{-/-}小鼠的过度活跃表型由宿主遗传引起, 而社会行为表型是由肠道微生物组调节, 补充*Cntnap2*^{-/-}小鼠中缺失的*L. reuteri*可以通过增加四氢生物蝶呤水平来改善*Cntnap2*^{-/-}小鼠的社交缺陷。

Chd8^{+/-}小鼠表现出普遍的ASD样行为和胃肠道缺陷, 在构建ASD模型中被广泛应用, 但具体的机制并不清楚。2022年, 赵方庆团队^[68]报道, *Chd8*^{+/-}小鼠肠氨基酸转运蛋白表达增加, 导致更多的谷氨酰胺转运至血清与脑, 从而提升了大脑中谷氨酰胺和谷氨酸的水平, 使*Chd8*^{+/-}小鼠的兴奋/抑制神经比率异常增加并伴随ASD样行为。高水平的肠道 α -防御素使得拟杆菌属丰度降低, 而额外补充单形拟杆菌(*Bacteroides uniformis*), 减少谷氨酰胺的肠道氨基酸转运, 并逆转了ASD样行为。

总之, 上述证据支持了宿主遗传变异和肠道微生物群的相互作用导致ASD相关行为异常。

3 基于调整肠道菌群结构干预治疗孤独症的应用研究进展

大量研究报道健康的肠道微生物群对于微生态失衡有一定的调控能力, 粪菌移植(faecal microbiota transplantation, FMT)已被广泛用于多种疾病的治疗, 如慢性溃疡性结肠炎^[72]、糖尿病^[73,74]等。2017年Kang等人^[75]报道了一项小型临床试验, 一种经改进的FMT疗法对18名ASD诊断儿童的肠道微生物群组成以及ASD和胃肠道(gastrointestinal, GI)症状的影响。包括14天的口服万古霉素治疗, 然后是12~24小时的禁食和肠道清洁, 通过口服或直肠给药, 转移入高初始剂量的标准化人类肠道微生物群, 之后持续7~8周使用较低的口服剂量, 并通过每天服用胃酸抑制剂保证菌群的维持。移植后, 患者的胃肠道症状和行为学症状均得到显著改善, 且在治疗结束后8周仍维持健康状态, 表现出对孤独症儿童发育的持久正面影响。近期, 叶晨等人^[76]报道了一项328例(6.1±3.4)岁的孤独症患儿的FMT大型临床疗效分析, 回顾性收集了粪菌胶囊治疗后5年内的患者信息, 观察到明显改善的ASD样行为、粪便形态和胃肠道症状, 并显示出长期疗效和安全性。

越来越多的证据表明, 孤独症患者的粪便和血浆中显示出与菌群相关的酚类分子增多, 因此靶向微生物代谢物治疗孤独症是一项有前景的诊疗方案。在以往的研究中专注于补充有益的代谢物或者产生有益代谢物的微生物群, 而近期一项非盲1b/2a期试验选择吸附并减少有害代谢物, 研究人员在新西兰和澳大利亚招募了30名同时患有ASD和GI症状的青少年, 使用一

种名为AB-2004的球形碳吸附剂干预治疗孤独症^[77]. AB-2004吸附肠道中的酚类例, 如马尿酸、羟基苯乙酸和硫酸4-乙基苯酯(4-ethylphenyl sulfate, 4EPS)等, 其后经粪便排出, 直接降低了这些代谢物在血液中的暴露, 进而抑制这些有害物质对大脑神经活动的影响, 同时临床试验表明AB-2004在与ASD相关的多个行为数据中得到改善, 但仍需进一步的生理指标测量和双盲试验.

饮食对人体健康至关重要, 基于孤独症患者异常消化的谷蛋白和酪蛋白形成的肽可能作为潜在的内源性阿片类药物影响中枢神经系统功能, 因此在ASD治疗干预中常用的限制性饮食干预是无麸质无酪蛋白饮食(gluten-free and casein-free diets, GFCF). 然而孤独症患者阿片类肽、肽酶的量 and 活性以及肠道通透性的改变在不同研究中往往得到不一致的结果^[78], GFCF饮食的治疗干预效果可能取决于患者对谷蛋白或乳制品耐受的状态, 同时, 肠道菌群在其中发挥的潜在作用也尚待探明.

4 展望

正如本团队^[79]在*mLife*发表的观点论文指出的那

样(图1), 孕期母体以及生命早期处于压力、饮食失衡、感染、有毒环境暴露以及遗传变异, 可能会影响子代肠道微生物群的建立和发展, 并可能通过微生物-肠-脑轴在神经发育的各个关键节点引起异常变化, 增加患孤独症的风险. 需要指出是, 基因变异也可以通过调节大脑中相关的分子通路和神经环路, 直接导致与孤独症相关的行为异常. 关键的遗传变异可以塑造特定的肠道微生物群, 而饮食偏好可能会改变肠道微生物群的组成, 特定的遗传背景和肠道微生物群也可能分别影响宿主的饮食习惯, 进一步通过微生物-肠-脑交流途径影响子代神经发育.

ASD与肠道微生物之间存在密切关联, 宿主本身甚至孕期母体健康的微生物结构和功能对宿主生命早期的神经发育至关重要, 并介导了正常的行为表型. 未来的研究需要基于与遗传变异相关的纵向出生队列, 并探索诸多危险因素促进疾病发展的潜在机制. 深入研究微生物对ASD的影响机制, 有助于为临床治疗提供可靠的干预靶点, 同时, 孤独症是复杂性疾病, 病因复杂, 利用多种先进方法深入揭示病因之间的相互关系, 加强各个学科交叉合作, 不但具有重要科学价值, 也对改善孤独症患者的临床症状和家庭有重要的临床和社会意义.

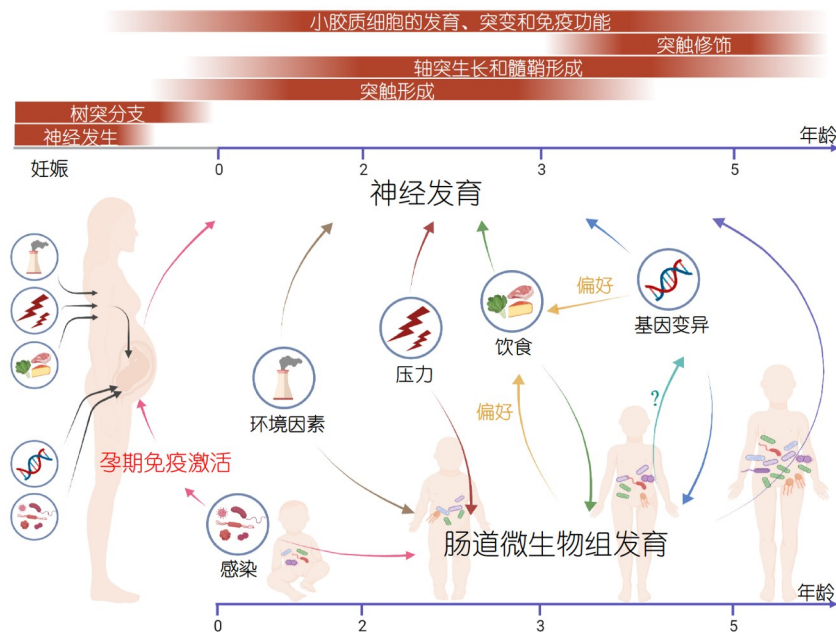


图 1 基因变异、饮食、肠道微生物群和神经发育^[79]

Figure 1 Genetic variants, diet, gut microbiota, and neurodevelopment^[79]

参考文献

- 1 Association A P. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5™, 5th ed. Arlington: American Psychiatric Publishing, Inc. 2013
- 2 Di Tommaso N, Gasbarrini A, Ponziani F R. Intestinal barrier in human health and disease. *Int J Environ Res Public Health*, 2021, 18: 12836
- 3 De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell*, 2014, 156: 84–96
- 4 Ríos-Covián D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, et al. Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Front Microbiol*, 2016, 7
- 5 Pickard J M, Zeng M Y, Caruso R, et al. Gut microbiota: role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunol Rev*, 2017, 279: 70–89
- 6 Perez-Lopez A, Behnsen J, Nuccio S P, et al. Mucosal immunity to pathogenic intestinal bacteria. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16: 135–148
- 7 Guo M, Miao M, Wang Y, et al. Developmental differences in the intestinal microbiota of Chinese 1-year-old infants and 4-year-old children. *Sci Rep*, 2020, 10: 19470
- 8 Olsson L M, Boulund F, Nilsson S, et al. Dynamics of the normal gut microbiota: a longitudinal one-year population study in Sweden. *Cell Host Microbe*, 2022, 30: 726–739.e3
- 9 Lynch S V, Pedersen O. The human intestinal microbiome in health and disease. *N Engl J Med*, 2016, 375: 2369–2379
- 10 Lee M, Chang E B. Inflammatory bowel diseases (IBD) and the microbiome—searching the crime scene for clues. *Gastroenterology*, 2021, 160: 524–537
- 11 Sobhani I, Bergsten E, Couffin S, et al. Colorectal cancer-associated microbiota contributes to oncogenic epigenetic signatures. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 24285–24295
- 12 Aw W, Fukuda S. Understanding the role of the gut ecosystem in diabetes mellitus. *J Diabetes Investig*, 2018, 9: 5–12
- 13 Tremlett H, Fadros D W, Faruqi A A, et al. Gut microbiota in early pediatric multiple sclerosis: a case-control study. *Eur J Neurol*, 2016, 23: 1308–1321
- 14 Vogt N M, Kerby R L, Dill-McFarland K A, et al. Gut microbiome alterations in Alzheimer’s disease. *Sci Rep*, 2017, 7: 13537
- 15 Jiang H, Ling Z, Zhang Y, et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun*, 2015, 48: 186–194
- 16 Mayneris-Perxachs J, Castells-Nobau A, Arnoriaga-Rodríguez M, et al. Microbiota alterations in proline metabolism impact depression. *Cell Metab*, 2022, 34: 681–701.e10
- 17 Louca S, Polz M F, Mazel F, et al. Function and functional redundancy in microbial systems. *Nat Ecol Evol*, 2018, 2: 936–943
- 18 Sharon G, Cruz N J, Kang D W, et al. Human gut microbiota from autism spectrum disorder promote behavioral symptoms in mice. *Cell*, 2019, 177: 1600–1618.e17
- 19 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. *mSystems*, 2021, 6: e01343-20
- 20 Kim S, Kim H, Yim Y S, et al. Maternal gut bacteria promote neurodevelopmental abnormalities in mouse offspring. *Nature*, 2017, 549: 528–532
- 21 Tomova A, Husarova V, Lakatosova S, et al. Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. *Physiol Behav*, 2015, 138: 179–187
- 22 Dan Z, Mao X, Liu Q, et al. Altered gut microbial profile is associated with abnormal metabolism activity of Autism Spectrum Disorder. *Gut Microbes*, 2020, 11: 1246–1267
- 23 Wang M, Wan J, Rong H, et al. Alterations in gut glutamate metabolism associated with changes in gut microbiota composition in children with autism spectrum disorder. *mSystems*, 2019, 4: e00321-18
- 24 Zhang M, Chu Y, Meng Q, et al. A quasi-paired cohort strategy reveals the impaired detoxifying function of microbes in the gut of autistic children. *Sci Adv*, 2020, 6: eaba3760
- 25 Kovtun A S, Averina O V, Alekseeva M G, et al. Antibiotic resistance genes in the gut microbiota of children with autistic spectrum disorder as possible predictors of the disease. *Microb Drug Resist*, 2020, 26: 1307–1320
- 26 Wan Y, Zuo T, Xu Z, et al. Underdevelopment of the gut microbiota and bacteria species as non-invasive markers of prediction in children with autism spectrum disorder. *Gut*, 2022, 71: 910–918

- 27 Yap C X, Henders A K, Alvares G A, et al. Autism-related dietary preferences mediate autism-gut microbiome associations. *Cell*, 2021, 184: 5916–5931.e17
- 28 Zhang M, Ma W, Zhang J, et al. Analysis of gut microbiota profiles and microbe-disease associations in children with autism spectrum disorders in China. *Sci Rep*, 2018, 8: 13981
- 29 David M M, Tataru C, Daniels J, et al. Children with autism and their typically developing siblings differ in amplicon sequence variants and predicted functions of stool-associated microbes. *mSystems*, 2021, 6: e00193-20
- 30 Lou M, Cao A, Jin C, et al. Deviated and early unsustainable stunted development of gut microbiota in children with autism spectrum disorder. *Gut*, 2022, 71: 1588–1599
- 31 Zou R, Wang Y, Duan M, et al. Dysbiosis of gut fungal microbiota in children with autism spectrum disorders. *J Autism Dev Disord*, 2020, 51: 267–275
- 32 Liu G, Yu Q, Tan B, et al. Gut dysbiosis impairs hippocampal plasticity and behaviors by remodeling serum metabolome. *Gut Microbes*, 2022, 14: 2104089
- 33 Gevi F, Belardo A, Zolla L. A metabolomics approach to investigate urine levels of neurotransmitters and related metabolites in autistic children. *Biochim Biophys Acta*, 2020, 1866: 165859
- 34 Montanari M, Martella G, Bonsi P, et al. Autism spectrum disorder: focus on glutamatergic neurotransmission. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 3861
- 35 Edfawy M, Guedes J R, Pereira M I, et al. Abnormal mGluR-mediated synaptic plasticity and autism-like behaviours in Gprasp2 mutant mice. *Nat Commun*, 2019, 10: 1431
- 36 Horder J, Petrinovic M M, Mendez M A, et al. Glutamate and GABA in autism spectrum disorder—a translational magnetic resonance spectroscopy study in man and rodent models. *Transl Psychiatry*, 2018, 8: 106
- 37 Yogeswara I B A, Maneerat S, Haltrich D. Glutamate decarboxylase from lactic acid bacteria—a key enzyme in GABA synthesis. *Microorganisms*, 2020, 8: 1923
- 38 Otaru N, Ye K, Mujezinovic D, et al. GABA production by human intestinal *Bacteroides* spp.: prevalence, regulation, and role in acid stress tolerance. *Front Microbiol*, 2021, 12: 656895
- 39 Agus A, Planchais J, Sokol H. Gut microbiota regulation of tryptophan metabolism in health and disease. *Cell Host Microbe*, 2018, 23: 716–724
- 40 Israelyan N, Margolis K G. Serotonin as a link between the gut-brain-microbiome axis in autism spectrum disorders. *Pharmacol Res*, 2018, 132: 1–6
- 41 Wang J, Pan J, Chen H, et al. Fecal short-chain fatty acids levels were not associated with autism spectrum disorders in Chinese children: a case-control study. *Front Neurosci*, 2019, 13: 1216
- 42 Fellows R, Varga-Weisz P. Chromatin dynamics and histone modifications in intestinal microbiota-host crosstalk. *Mol Metab*, 2020, 38: 100925
- 43 Smith P M, Howitt M R, Panikov N, et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic T_{reg} cell homeostasis. *Science*, 2013, 341: 569–573
- 44 Goswami C, Iwasaki Y, Yada T. Short-chain fatty acids suppress food intake by activating vagal afferent neurons. *J Nutr Biochem*, 2018, 57: 130–135
- 45 Petersen N, Reimann F, Bartfeld S, et al. Generation of L cells in mouse and human small intestine organoids. *Diabetes*, 2014, 63: 410–420
- 46 Golubeva A V, Joyce S A, Moloney G, et al. Microbiota-related changes in bile acid *** tryptophan metabolism are associated with gastrointestinal dysfunction in a mouse model of autism. *Ebiomedicine*, 2017, 24: 166–178
- 47 Joyce S A, Gahan C G M. Bile acid modifications at the microbe-host interface: potential for nutraceutical and pharmaceutical interventions in host health. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2016, 7: 313–333
- 48 Hsiao E Y, McBride S W, Hsien S, et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*, 2013, 155: 1451–1463
- 49 Wimberley T, Agerbo E, Pedersen C B, et al. Otitis media, antibiotics, and risk of autism spectrum disorder. *Autism Res*, 2018, 11: 1432–1440
- 50 Lee E, Cho J, Kim K Y. The association between autism spectrum disorder and pre- and postnatal antibiotic exposure in childhood—a systematic review with meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health*, 2019, 16: 4042
- 51 Bravo J A, Forsythe P, Chew M V, et al. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 16050–16055
- 52 Rabot S, Jaglin M, Daugé V, et al. Impact of the gut microbiota on the neuroendocrine and behavioural responses to stress in rodents. *Oilseeds*

- Fats Crops Lipids, 2016, 23: D116
- 53 Li J, Wang H, Qing W, et al. Congenitally underdeveloped intestine drives autism-related gut microbiota and behavior. *Brain Behav Immun*, 2022, 105: 15–26
- 54 van der Hee B, Wells J M. Microbial regulation of host physiology by short-chain fatty acids. *Trends Microbiol*, 2021, 29: 700–712
- 55 Zhang Z, Mu X, Shi Y, et al. Distinct roles of honeybee gut bacteria on host metabolism and neurological processes. *Microbiol Spectr*, 2022, 10: e02438-21
- 56 Agirman G, Yu K B, Hsiao E Y. Signaling inflammation across the gut-brain axis. *Science*, 2021, 374: 1087–1092
- 57 Jacobson A, Yang D, Vella M, et al. The intestinal neuro-immune axis: crosstalk between neurons, immune cells, and microbes. *Mucosal Immunol*, 2021, 14: 555–565
- 58 Brown A S, Sourander A, Hinkka-Yli-Salomäki S, et al. Elevated maternal C-reactive protein and autism in a national birth cohort. *Mol Psychiatry*, 2014, 19: 259–264
- 59 Brodin P. Immune-microbe interactions early in life: a determinant of health and disease long term. *Science*, 2022, 376: 945–950
- 60 Choi G B, Yim Y S, Wong H, et al. The maternal interleukin-17a pathway in mice promotes autism-like phenotypes in offspring. *Science*, 2016, 351: 933–939
- 61 Kim E, Paik D, Ramirez R N, et al. Maternal gut bacteria drive intestinal inflammation in offspring with neurodevelopmental disorders by altering the chromatin landscape of CD4⁺ T cells. *Immunity*, 2022, 55: 145–158.e7
- 62 Gabanyi I, Lepousez G, Wheeler R, et al. Bacterial sensing via neuronal Nod2 regulates appetite and body temperature. *Science*, 2022, 376: eabj3986
- 63 Leonardi I, Gao I H, Lin W Y, et al. Mucosal fungi promote gut barrier function and social behavior via type 17 immunity. *Cell*, 2022, 185: 831–846.e14
- 64 Buffington S A, Di Prisco G V, Auchtung T A, et al. Microbial reconstitution reverses maternal diet-induced social and synaptic deficits in offspring. *Cell*, 2016, 165: 1762–1775
- 65 Sgritta M, Dooling S W, Buffington S A, et al. Mechanisms underlying microbial-mediated changes in social behavior in mouse models of autism spectrum disorder. *Neuron*, 2019, 101: 246–259.e6
- 66 Gao J, Zou J, Yang L, et al. Alteration of peripheral cortisol and autism spectrum disorder: A meta-analysis. *Front Psychiatry*, 2022, 13: 928188
- 67 Ye L, Bae M, Cassilly C D, et al. Enteroendocrine cells sense bacterial tryptophan catabolites to activate enteric and vagal neuronal pathways. *Cell Host Microbe*, 2021, 29: 179–196.e9
- 68 Yu Y, Zhang B, Ji P, et al. Changes to gut amino acid transporters and microbiome associated with increased E/I ratio in *Chd8*^{+/-} mouse model of ASD-like behavior. *Nat Commun*, 2022, 13: 1151
- 69 Satterstrom F K, Kosmicki J A, Wang J, et al. Large-scale exome sequencing study implicates both developmental and functional changes in the neurobiology of autism. *Cell*, 2020, 180: 568–584.e23
- 70 Chen K, Luan X, Liu Q, et al. *Drosophila* histone demethylase KDM5 regulates social behavior through immune control and gut microbiota maintenance. *Cell Host Microbe*, 2019, 25: 537–552.e8
- 71 Buffington S A, Dooling S W, Sgritta M, et al. Dissecting the contribution of host genetics and the microbiome in complex behaviors. *Cell*, 2021, 184: 1740–1756.e16
- 72 Kedia S, Virmani S, K Vuyyuru S, et al. Faecal microbiota transplantation with anti-inflammatory diet (FMT-AID) followed by anti-inflammatory diet alone is effective in inducing and maintaining remission over 1 year in mild to moderate ulcerative colitis: a randomised controlled trial. *Gut*, 2022, 71: 2401–2413
- 73 Ng S C, Xu Z, Mak J W Y, et al. Microbiota engraftment after faecal microbiota transplantation in obese subjects with type 2 diabetes: a 24-week, double-blind, randomised controlled trial. *Gut*, 2022, 71: 716–723
- 74 de Groot P, Nikolic T, Pellegrini S, et al. Faecal microbiota transplantation halts progression of human new-onset type 1 diabetes in a randomised controlled trial. *Gut*, 2021, 70: 92–105
- 75 Kang D W, Adams J B, Gregory A C, et al. Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study. *Microbiome*, 2017, 5: 10
- 76 Ye C, Chen Q Y, Ma C L, et al. Long-term outcomes of 328 patients with of autism spectrum disorder after fecal microbiota transplantation (in Chinese). *Chin J Gastrointest Surg*, 2022, 25: 798–803 [叶晨, 陈启仪, 马春联, 等. 肠道菌群移植治疗合并便秘的孤独症谱系障碍328例临床

疗效分析. 中华胃肠外科杂志, 2022, 25: 798–803]

- 77 Stewart Campbell A, Needham B D, Meyer C R, et al. Safety and target engagement of an oral small-molecule sequestrant in adolescents with autism spectrum disorder: an open-label phase 1b/2a trial. [Nat Med](#), 2022, 28: 528–534
- 78 Tarnowska K, Gruczyńska-Sękowska E, Kowalska D, et al. The opioid excess theory in autism spectrum disorders—is it worth investigating further? [Crit Rev Food Sci Nutr](#), 2021, doi: 10.1080/10408398.2021.1996329
- 79 Liu X. The interaction of gut microbiota, genetic variation, and diet in autism spectrum disorder. [mLife](#), 2022, 1: 241–244

Research progress of gut microbiota in autism spectrum disorder

ZHAO Qing & LIU XingYin

Department of Pathogen-Microbiology Division, State Key Laboratory of Reproductive Medicine, Key Laboratory of Pathogen of Jiangsu Province, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

Gut microbiota is a major unknown research area of life science due to the complexity of community structures, diverse functions, and complicated interaction between microbiota and host, a large part of intestinal microbes are still the “black boxes” to be explored. Abnormal intestinal microbiota can often be observed in human diseases, and the connection between them has been widely studied in children with autism spectrum disorder (ASD). Together, these works reveal the relationship between the dysregulation of gut microbial structure and function, behavioral defects and comorbidities in patients with autism. In this review, we summarized the latest progress of related research, mechanism exploration and clinical application of the association between gut microbiota and autism and prospected future research directions.

gut microbiota, autism spectrum disorder (ASD), gut-microbiota-brain axis, neurodevelopment

doi: [10.1360/SSV-2022-0316](https://doi.org/10.1360/SSV-2022-0316)