

• 科研论著 •

孤独症谱系障碍儿童肠道菌群与食物不耐受、炎症因子和氧化应激的相关性

张洋洋¹, 李柏霖², 冯朋雅^{1,3}, 郑瑞娟¹, 李航³, 仇春静³, 赵永红¹, 李恩耀¹

1. 郑州大学第五附属医院儿童康复医学科, 河南 郑州 450000; 2. 福建中医药大学中医学院;

3. 郑州大学第五附属医院马歇尔医学研究中心

摘要: **目的** 分析孤独症谱系障碍(ASD)食物不耐受(FI)患者抗氧化酶、炎症因子、肠道屏障功能及肠道菌群的变化,探讨 ASD 儿童肠道菌群与食物不耐受程度、抗氧化酶、炎症因子和肠道屏障功能的相关性。**方法** 选取 2023 年 8 月—2024 年 6 月就诊于郑州大学第五附属医院儿童康复科且符合纳入标准 ASD 儿童 65 例。依据 FI 检测结果将 ASD 儿童分为 FI 组(35 例)及非 FI 组(N-FI, 30 例)。酶联免疫吸附试验检测血清炎症因子 IL-6、IL-1 β 和 IL-10, 抗氧化酶 SOD 和 CAT, 肠黏膜屏障 D 乳酸(D-LA)、二胺氧化酶(DAO)和闭合蛋白(Occludin)。采用 16S rRNA 高通量测序检测患者粪便中肠道菌群的分布情况。**结果** FI 组血清 IL-6、IL-1 β 、D-LA 和 DAO 水平平均高于 N-FI 组($t=2.815$ 、 2.622 、 2.878 、 2.049 , $P<0.05$), IL-10、CAT、SOD 和 Occludin 水平平均低于 N-FI 组($t=-2.335$ 、 -2.812 、 -2.526 、 -2.170 , $P<0.05$)。在属水平, FI 组 *Faecalibacterium*、*Halomona* 和 *Fusicatenibacter* 的丰度显著高于 N-FI 组, *Bifidobacterium* 和 *Bacteroides* 的丰度显著低于 N-FI 组。Pearson 相关性分析, FI 组的 ASD 患儿 *Bifidobacterium* 与蛋黄/蛋清 IgG 抗体水平呈负相关($r=0.532$); [*Ruminococcus*]_{torques_group} 与牛奶 IgG 抗体水平呈正相关($r=0.760$); FI 组 [*Eubacterium*]_{eligens_group} 与 IL-10($r=0.662$)和 SOD ($r=0.536$)呈正相关, UBA1819 与 SOD 呈正相关($r=0.574$), [*Ruminococcus*]_{torques_group} 与 DLA($r=0.692$)和 IL-1 β ($r=0.488$)呈正相关, *Bifidobacterium* 与 Occludin 呈负相关($r=-0.488$), 差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** FI 组的 ASD 患儿肠道菌群与 N-FI 组患儿之间存在差异, 且肠道菌群的丰度与 FI 抗体水平、炎症、氧化应激和肠屏障功能之间存在相关性, 可能通过靶向肠道菌群加强食物不耐受治疗, 有效改善 ASD 患儿病情。

关键词: 孤独症谱系障碍; 食物不耐受; 炎症因子; 氧化应激防御; 肠道菌群

中图分类号: R749.94 文献标识码: A 文章编号: 1008-6579(2025)01-0018-09 doi:10.11852/zgetbjzz2024-0736

Correlation of gut microbiota in children with autism spectrum disorder with food intolerance, inflammatory factors and oxidative stress

ZHANG Yangyang¹, LI Bolin², FENG Pengya^{1,3}, ZHENG Ruijuan¹, LI Hang³, QIU Chunjing³, ZHAO Yonghong¹, LI Enyao¹

1. Department of Children Rehabilitation, The Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou,

Henan, 450000, China; 2. College of Traditional Chinese Medicine, Fujian University of

Traditional Chinese Medicine; 3. Marshall Medical Research Center, The

Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University

Corresponding author: LI Enyao, E-mail: 13526676676@126.com

Abstract: **Objective** To analyze the changes in antioxidant enzymes, inflammatory cytokines, intestinal barrier function, and gut microbiota in children with autism spectrum disorder (ASD) and food intolerance (FI), in order to explore the correlation of intestinal flora with the degree of FI, antioxidant enzymes, inflammatory cytokines, and intestinal barrier function in ASD children. **Methods** A total of 65 ASD children who met the inclusion criteria and were admitted to the Children's Rehabilitation Department of the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University from August 2023 to June 2024 were selected in this study. The ASD children were divided into the FI group (35 cases) and the non-FI group (N-FI, 30 cases) based on FI test results. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect serum inflammatory cytokines interleukin (IL)-6, IL-1 β , and IL-10, antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), and intestinal mucosal barrier markers D-lactic acid (D-LA), diamine oxidase (DAO), and occludin. 16S rRNA high-throughput sequencing was used to detect the distribution of intestinal flora in patient feces. **Results** The levels of serum

基金项目: 河南省科技攻关项目(232102311068; 242102311189)

作者简介: 张洋洋(1995—), 男, 硕士研究生在读, 主要研究方向为孤独症儿童食物不耐受。

通信作者: 李恩耀, E-mail: 13526676676@126.com

IL-6, IL-1 β , D-LA, and DAO in the FI group were significantly higher than those in the N-FI group ($t=2.815, 2.622, 2.878, 2.049, P<0.05$), while the levels of IL-10, CAT, SOD, and occludin were significantly lower than those in the N-FI group ($t=-2.335, -2.812, -2.526, -2.170, P<0.05$). At the genus level, the abundances of *Faecalibacterium*, *Halomonas*, and *Fusicatenibacter* in the FI group were significantly higher than those in the N-FI group, while the abundances of *Bifidobacterium* and *Bacteroides* were significantly lower. Pearson correlation analysis showed that in the FI group, *Bifidobacterium* was negatively correlated with egg yolk/egg white IgG antibody levels ($r=0.532$); *[Ruminococcus]_torques_group* was positively correlated with milk IgG antibody levels ($r=0.760$); *[Eubacterium]_eligans_group* was positively correlated with IL-10 ($r=0.662$) and SOD ($r=0.536$), UBA1819 was positively correlated with SOD ($r=0.574$), *[Ruminococcus]_torques_group* was positively correlated with D-LA ($r=0.692$) and IL-1 β ($r=0.488$), and *Bifidobacterium* was negatively correlated with occludin ($r=-0.488, P<0.05$). **Conclusions** There are differences in intestinal flora between ASD children with FI and those without FI, and the abundance of intestinal flora is correlated with FI antibody levels, inflammation, oxidative stress, and intestinal barrier function. Targeting intestinal flora may enhance FI treatment and effectively improve the condition of ASD children.

Keywords: autism spectrum disorder; food intolerance; inflammatory cytokines; oxidative stress; gut microbiota

孤独症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD) 是一种病因未明的以社交障碍、兴趣狭窄和刻板动作作为核心症状的神经发育障碍性疾病^[1]。据美国 2020 年孤独症发育障碍监测网络 (ADDM) 的 11 个社区统计数据, ASD 的发病率已由之前的 1/44 上升至 1/36^[2], 我国 2014 年 7 月—2016 年 12 月对 8 个城市 6~12 岁儿童调查显示, ASD 患病率约为 0.7%, 男童约是女童的 4 倍^[3]。ASD 的发病机制尚未明确, 普遍认为与遗传、免疫、环境等因素有关^[4], 目前 ASD 的治疗涉及多方面的方法, 包括行为、教育、发育和药物干预, 以及补充和替代疗法^[5], 但孤独症的治疗和康复是一个长期且复杂的过程, 对患者家庭及社会均造成很大的负担。ASD 患者家庭经济压力大, 尤其是低收入和低功能家庭, 据报道, ASD 患儿家庭康复干预治疗支出平均约 88 073.76 元/年^[6]。ASD 患者常有合并症, 同时出现食物不耐受 (food intolerance, FI) 的风险更高^[7]。与未患有 FI 的患儿相比, FI 患儿的生活质量较低^[8]。FI 在神经发育障碍性疾病中的作用逐渐受到关注, 研究发现, 伴有 FI 的 ASD 患儿其行为问题和胃肠道症状更为严重, 当避食不耐受食物以及食用无麸质/无酪蛋白饮食后, 患儿的核心症状得到一定程度的改善, 推测 FI 可能与 ASD 的发病存在相关性^[9], 然而, FI 具体的机制病因仍知之甚少。本研究以 2023 年 8 月—2024 年 6 月在门诊及病房就诊于郑州大学第五附属医院儿童康复科的 ASD 患儿作为研究对象, 分析伴有 FI 的 ASD 患儿肠道菌群与 FI 食物特异性 IgG 抗体水平、血清中的抗氧化酶、炎症因子和肠黏膜屏障指标之间的相关性。

1 对象和方法

1.1 对象 选取 2023 年 8 月—2024 年 6 月就诊于

郑州大学第五附属医院儿童康复科的 ASD 患儿, 诊断符合美国精神障碍诊断与统计手册第 5 版 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-V, DSM-5) 的诊断标准。纳入标准: 年龄 2~6 岁; 监护人充分了解课题研究内容并自愿签署知情同意书; 所检儿童采样前 1 个月无抗生素和益生菌使用史。排除标准: 合并其他精神类疾病或认知障碍者; 器质性疾病引起精神行为异常者; 合并其他诊断不明疾病者。

符合纳入和排除标准的 ASD 患儿共 65 例。平均年龄 4.85 岁, 男 50 例, 女 15 例。其中 FI 35 例, 非食物不耐受组 (N-FI) 30 例。两组受试者在年龄、性别等差异无统计学意义 ($P>0.05$)。本研究通过郑州大学第五附属医院伦理委员会审核 (批号: KY2023077)。

1.2 方法

1.2.1 孤独症评估方法 孤独症诊断观察量表第 2 版 (Autism Diagnostic Observation Schedule, ADOS) 是公认的孤独症诊断金标准, 量表总分由 2 个模块构成, 为社交反应 (social affect, SA) 和限制重复性行为 (restricted and repetitive behavior, RRB), ADOS-2 量表换算得分为 0~2 表示极少甚至、无证据诊断为孤独症, 得分 >3 有证据诊断为孤独症^[10]; 儿童自闭症评估量表 (Childhood Autism Rating Scale, CARS) 评估病情严重程度, CARS 总分 <30 为无 ASD, 总分 >30 为 ASD^[11]; 孤独症儿童行为量表 (Autism Behavior Checklist, ABC) 是目前国内常用的孤独症评估量表之一, 总分 ≥ 62 分为 ASD, 评分越高, 症状越严重^[12]。ADOS、CARS 和 ABC 量表 Cronbach's α 信度系数分别为 0.93, 0.74, 0.94, 量表信效度较好^[13-15]。

1.2.2 食物不耐受检测方法 抽取 ASD 患儿 2~3 mL 清晨空腹静脉血, 静置一段时间后, 3 000 r/min

(离心半径 $r=8.6\text{cm}$)离心 15min 后吸取血清,置于一 80°C 保存备用。采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清中 14 种不同食物特异性 IgG 抗体水平,至少 1 种 IgG 数值 $>50\text{U/mL}$ 为 FI 组,数值均 $<50\text{U/mL}$ 为 N-FI 组。检测过程由郑州大学第五附属医院检验科完成。FI 特异性 IgG 浓度分级标准:1 级:低($>50\sim 100\text{U/mL}$);2 级:高($>100\sim 200\text{U/mL}$);3 级:较高($>200\sim 300\text{U/mL}$);4 级:极高($>300\text{U/mL}$)^[16]。

1.2.3 生物化学及肠道黏膜屏障指标检测 采用上述保存的备用血清 $100\mu\text{L}$,使用 ELISA 法检测血清中炎症因子白介素(IL)-6、IL-1 β 和 IL-10,抗氧化酶 SOD 和 CAT,肠黏膜屏障 D 乳酸(D-LA)、二胺氧化酶(DAO)和闭合蛋白(Occludin)(南京建成生物有限公司),首先加入 $10\mu\text{L}$ 样品和标准品, 37°C 反应 30min,洗板,再加入辣根过氧化物酶抗体工作液, 37°C 孵育 30min 形成抗体-抗原-酶标抗体复合物,洗涤后加入显色液,然后 37°C 避光显色 10min,最后加入终止液。采用酶标仪在 450nm 波长下测定 OD 值,根据 OD 值计算样品中各指标的浓度。

1.2.4 粪便收集及菌群检测方法 采集 ASD 儿童中段粪便约 1.0g ,置于一 80°C 冰箱保存备用。采用天根生化科技(北京)有限公司粪便基因组 DNA 提取试剂盒(DP328-02)提取 DNA。对 16S rRNA 基因的 V3-V4 区域(341F: CCTACGGGNGGCWGCAG 和 785R: GACTACHVGGGTATCTAATCC)进行扩增。对 PCR 产物进行纯化、扩增,提取扩增子并采用琼脂糖凝胶进行电泳,然后对目的片段进行切胶回收,对文库进行质检后加入到 Illumina Novaseq 6000 测序平台进行高通量并行测序,测序模式为 PE250,使用 cutadapt 软件去除序列中的引物,使用 vsearch 将双末端测序得到的成对序列进行拼接。以 97% 的相似性对序列进行聚类,相似度大于 97% 的序列将聚为同一个操作分类单元(operational taxonomic units, OTU),产生的 OTU 代表序列将用于后续物种注释,进行分类处理。使用杭州开泰生物技术有限公司生信云工具进行数据处理及分析。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行数据处理。正态分布计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,应用两独立样本 t 检验进行组间比较,非正态分布计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。使用 Kruskal-Wallis H 检验比较 FI 组和 N-FI 组中细菌的丰度差异、计数资料采用例数(%)表示,组间比较应用 χ^2 检验,FI 水平与炎症因子、氧化应

激、肠黏膜屏障和肠道菌群之间的相关性采用 Pearson 相关分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ASD 儿童食物不耐受情况 ASD 患儿中食物特异性 IgG 抗体阳性为 FI 组,FI 组不耐受食物占比前四位依次为蛋黄/蛋清(77.14%)、牛奶(65.71%)、小麦(51.43%)和西红柿(42.86%)。见表 1。

表 1 FI 组和 N-FI 组 ASD 儿童食物特异性 IgG 抗体水平
(U/mL , $\bar{x}\pm s$)

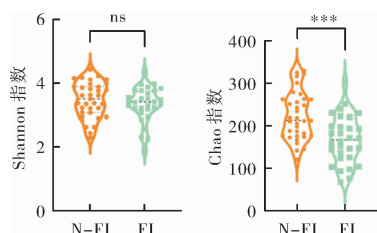
Tab. 1 Food-specific IgG antibody levels in FI and N-FI groups of children with ASD(U/mL , $\bar{x}\pm s$)

项目	FI 组抗体水平($n=35$)	N-FI 组抗体水平($n=30$)	FI 组食物阳性率(%)
IgG 总抗体水平	495.05 ± 66.30	284.64 ± 64.81	
蛋黄/蛋清	217.85 ± 202.93	31.35 ± 12.86	77.14(27/35)
牛奶	100.79 ± 116.14	29.92 ± 11.77	65.71(23/35)
小麦	77.91 ± 93.63	28.53 ± 12.73	51.43(18/35)
西红柿	68.22 ± 87.92	24.84 ± 12.28	42.86(15/35)
大米	31.51 ± 24.03	19.00 ± 8.00	22.86(8/35)
鸡肉	28.30 ± 29.38	18.52 ± 9.41	11.43(4/35)
鲑鱼	32.65 ± 42.37	18.77 ± 6.83	11.43(4/35)
玉米	32.35 ± 66.77	16.60 ± 5.68	5.71(2/35)
蟹	25.11 ± 39.78	14.00 ± 6.66	8.57(3/35)
蘑菇	26.93 ± 24.14	15.93 ± 7.30	11.43(4/35)
猪肉	27.75 ± 46.81	15.00 ± 6.43	8.57(3/35)
虾	35.22 ± 66.27	14.84 ± 5.73	14.29(5/35)
大豆	66.27 ± 70.75	23.45 ± 11.68	14.29(5/35)
牛肉	26.40 ± 42.11	14.65 ± 5.70	11.43(4/35)

2.2 FI 特异性 IgG 抗体水平与 ASD 症状严重程度相关性分析 经 Pearson 相关分析,孤独症 FI 特异性 IgG 抗体水平与 ASD 儿童的 ADOS-2 总分($r=0.401$, $P=0.038$)、ABC 总分($r=0.399$, $P=0.036$)、CARS 总分($r=0.410$, $P=0.032$)评分量表呈正相关;与 ADOS-2 量表中的 SA 得分和 RRB 得分无相关性($r=0.188$ 、 0.167 , $P>0.05$)。

2.3 孤独症 FI 组和 N-FI 组肠道菌群对比 16S rRNA 测序结果显示,在 OTU 水平,FI 组肠道菌群 Chao 指数与 N-FI 组之间具有显著差异($P=0.0004$),Shannon 指数差异无统计学意义($P>0.05$),见图 1。基于 Bray 距离矩阵进行 PCoA 分析,结果显示 FI 组与 N-FI 组 ASD 儿童肠道菌群的物种组成存在显著差异性($P=0.001$)。见图 2。

使用 Kruskal-Wallis H 检验比较 FI 组和 N-FI 组中细菌的丰度差异结果显示,在属水平,FI 组 *Faecalibacterium*($P=0.037$)、*Halomona*($P=0.002$)



注: ns 表示差异无统计学意义, *** $P < 0.001$ 。

图 1 FI 组和 N-FI 组 α 多样性分析图

Fig. 1 Analysis diagram of α diversity of FI group and N-FI group

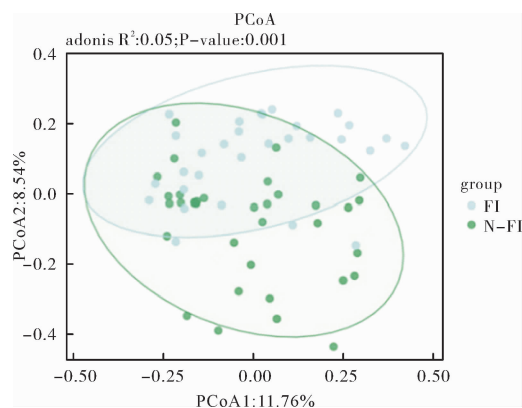


图 2 FI 组和 N-FI 组样本主成分 PCoA 分析图

Fig. 2 PCoA analysis diagram of the principal component of FI group and N-FI group samples

和 *Fusicatenibacter* ($P=0.001$) 相比于 N-FI 丰度显著提高, 但 *Bifidobacterium* ($P=0.001$) 和 *Bacteroides* ($P=0.017$) 丰度显著降低。见图 3。LEfSe 分析两组菌群各成分的丰度差异并筛选优势菌群结果发现, 在属水平, *Veillonella*、*Fusicatenibacter*、*Lachnospira*、*[Eubacterium]_eligens_group*、*Roseburia*、*Faecalibacterium* 为 FI 组的优势菌群, *Halomonas*、*Alistipes*、*Phascolarctobacterium* 在 N-FI 组中较丰富。见图 4。

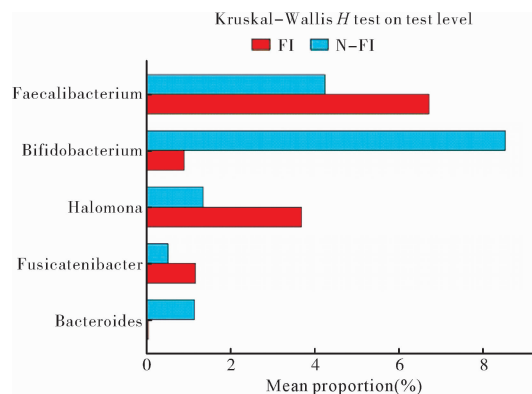


图 3 FI 组和 N-FI 组在属水平的群落丰度

Fig. 3 Community abundance of FI group and N-FI group at genus level

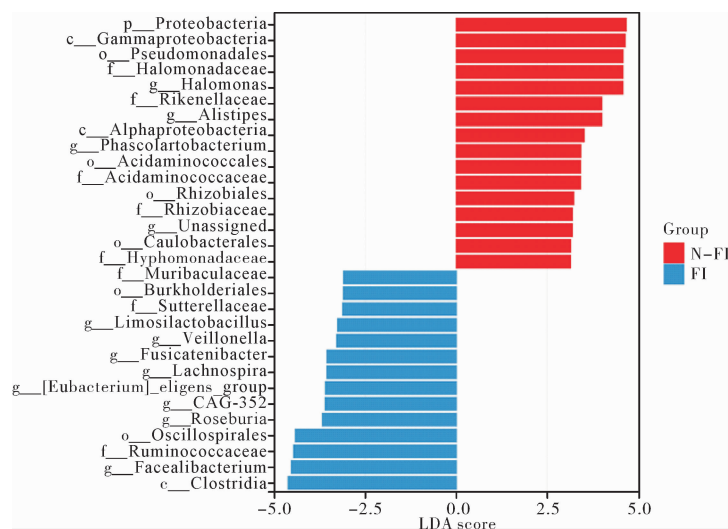


图 4 LEfSe 分析 FI 组和 N-FI 组儿童的优势菌群

Fig. 4 Dominant flora of children in FI group and N-FI group analyzed by LEfSe

2.4 FI 组和 N-FI 组 ASD 儿童血清炎症因子、氧化应激和肠黏膜屏障功能指标对比 两组血清炎症因子 IL-6、IL-1 β 和 IL-10 及抗氧化酶 CAT、SOD 水平比较, FI 组血清促炎因子 IL-6 ($P=0.011$)、IL-1 β ($P=0.018$) 水平高于 N-FI 组, IL-10 ($P=0.029$)、CAT ($P=0.012$) 和 SOD ($P=0.044$) 水平低于 N-FI

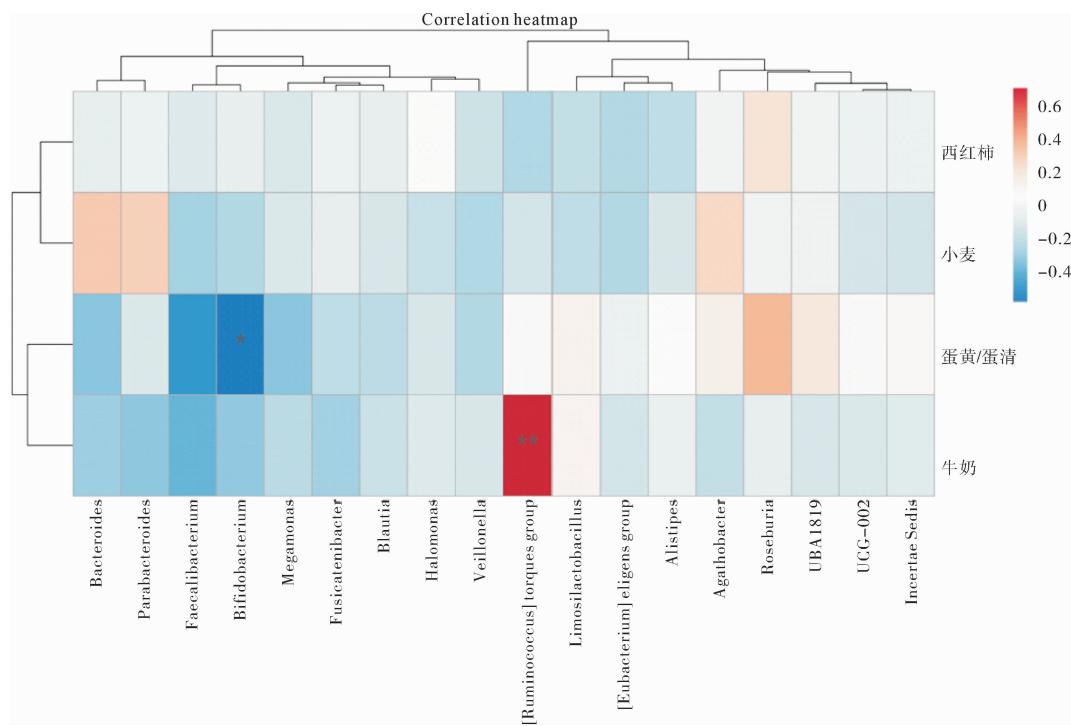
组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。两组肠黏膜屏障功能 D-LA、DAO 和 Occludin 水平比较, FI 组 D-LA ($P=0.010$) 和 DAO ($P=0.036$) 水平高于 N-FI 组, Occludin 水平低于 N-FI 组 ($P=0.033$), 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 FI 组和 N-FI 组 ASD 儿童血清 IL-6、IL-1 β 、IL-10、CAT、SOD、DLA、DAO 和 Occludin 水平比较($\bar{x} \pm s$)Tab. 2 Comparison of serum levels of IL-6, IL-1 β , IL-10, CAT, SOD, DLA, DAO and Occludin between FI and N-FI group in children with ASD($\bar{x} \pm s$)

指标	FI 组($n=35$)	N-FI 组($n=30$)	t 值	P 值
IL-6 (ng/L)	21.02 $\pm$ 5.37	17.69 $\pm$ 3.944	2.815	0.011
IL-1 β (pg/mL)	36.08 $\pm$ 7.54	31.62 $\pm$ 5.92	2.622	0.018
IL-10 (ng/mL)	396.50 $\pm$ 75.22	443.00 $\pm$ 84.48	-2.335	0.029
CAT (ng/L)	33.03 $\pm$ 5.46	37.62 $\pm$ 7.65	-2.812	0.012
SOD (pg/mL)	149.50 $\pm$ 21.41	167.00 $\pm$ 34.24	-2.526	0.044
D-LA (μ mol/L)	33.81 $\pm$ 7.10	29.21 $\pm$ 5.57	2.878	0.010
DAO (pg/mL)	181.68 $\pm$ 37.54	163.13 $\pm$ 24.54	2.049	0.036
Occludin (pg/mL)	724.30 $\pm$ 123.96	786.84 $\pm$ 105.87	-2.170	0.033

2.5 FI 特异性 IgG 抗体水平与肠道菌群相关性分析 对 FI 组和 N-FI 组间具有显著差异的前 20 种属水平肠道菌群和 FI 组占比前四的特异性 IgG 抗体水平进行 Pearson 相关性分析,结果显示 FI 组的

ASD 患儿 *Bifidobacterium* 与蛋黄/蛋清 IgG 抗体水平呈负相关($r=-0.532, P=0.023$), *[Ruminococcus]_torques_group* 与牛奶 IgG 抗体水平呈正相关($r=0.760, P=0.0002$)。见图 5。



注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图 5 FI 特异性 IgG 抗体水平与肠道菌群相关性分析

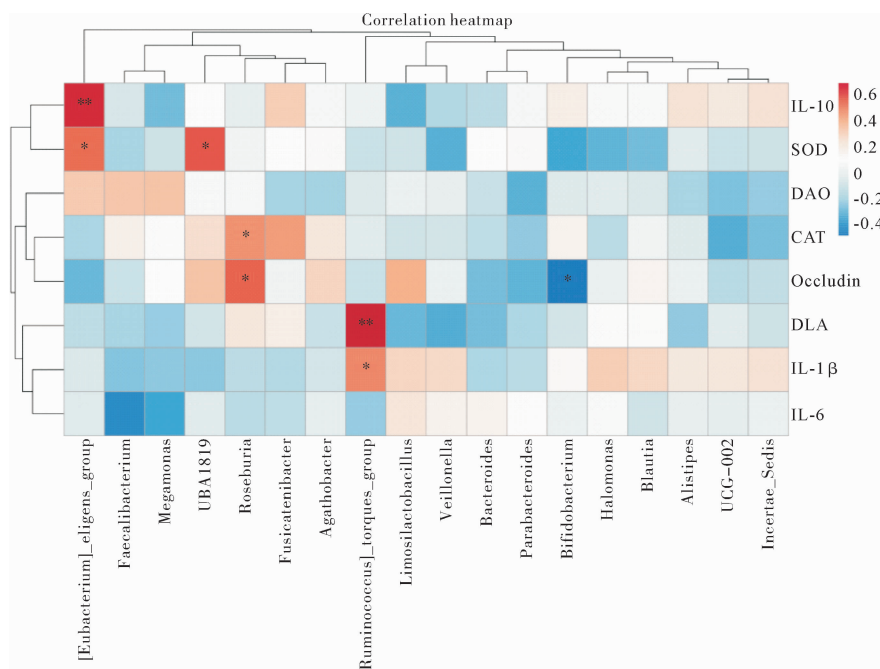
Fig. 5 Correlation analysis between the level of FI-specific IgG antibody and gut microbiota

2.6 FI 组 ASD 患儿生物化学及肠道黏膜屏障指标与肠道菌群相关性分析 Pearson 相关性分析显示, *[Eubacterium]_eligens_group* 与 IL-10 ($r=0.662, P=0.003$) 和 SOD ($r=0.536, P=0.022$) 呈正相关, UBA1819 与 SOD 呈正相关 ($r=0.574, P=0.013$), *[Ruminococcus]_torques_group* 与 DLA ($r=0.692, P=0.001$) 和 IL-1 β ($r=0.488, P=0.040$) 呈正相关, *Bifidobacterium* 与 Occludin 呈负相关 ($r=-0.488, P=0.040$), 这些结果说明肠道菌群属丰

度的变化与生物化学及肠道黏膜屏障指标的变化具有一定的相关性。见图 6。

3 讨论

ASD 是一种广泛的神发育障碍性疾病, 发病率呈逐年上升趋势, 其发病机制尚未明确。FI 在 ASD 儿童中普遍存在, 阳性率约为 89.89%^[17], ASD 儿童的 FI 发生率显著高于正常对照组或其它发育迟滞性疾病性儿童^[18]。FI 是由特异性 IgG 抗



注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 6 FI 组肠道菌群属水平与生物化学及肠道黏膜屏障指标丰度的相关性分析

Fig. 6 Correlation analysis between the level of gut microbiota and the abundance of biochemical and intestinal mucosal barrier indexes in FI group

体介导的一种过度保护的免疫反应性疾病,临床具有发病慢、无特异性等特点^[19]。研究发现,FI 会加重患者体内的免疫反应,改变肠道菌群丰度,使肠屏障功能破坏,加重病情进展^[20]。然而,之前的研究多集中在患有 FI 的 ASD 儿童与正常儿童的对比上,而忽略了 ASD 群体内部的差异。因此,本研究旨在探讨与 N-FI 患儿相比,伴有 FI 的 ASD 患儿肠道菌群与孤独症严重程度、食物不耐受、氧化应激和炎症因子的相关性,并进一步揭示 ASD 发病的潜在机制。

3.1 FI 特异性抗体水平与 ASD 的相关性分析

在 ASD 儿童中,FI 的现象较为普遍且可能与 ASD 的症状严重程度有关。既往研究发现在早期禁 ASD 敏感食物后,ABC 量表的平均总分显著下降,说明 ASD 可能与 FI 有关^[21]。郭德华^[22]研究发现 90 例参与研究的 ASD 患儿体内均有 1~25 种不同的食物过敏原特异性 IgG 水平升高,且重度 ASD 患者较轻中度 ASD 的 FI 症状更严重,说明 FI 可能在 ASD 患儿的病理生理过程中有重要作用。本研究结果显示,FI 特异性食物抗体总水平与 ADOS-2、ABC 和 CARS 量表评分均呈正相关,与高紫琳^[23]的研究结果相似,说明 FI 特异性食物抗体水平和 ASD 症状的严重程度密切相关。

3.2 FI 组 ASD 患儿肠道菌群与 FI 抗体水平关系

研究表明,ASD 儿童普遍存在肠道菌群失调的现象^[24]。肠道菌群与宿主的关系是复杂且相互依存

的,肠道菌群参与食物的消化、营养物质的吸收和免疫系统的调节。肠道菌群可通过微生物-肠-脑轴对机体代谢、免疫反应以及神经功能产生直接或间接的影响。研究发现,ASD 体内肠道菌群失调可引起 FI,且 FI 抗体水平与肠道菌群密切相关^[23]。本研究结果显示在属水平,FI 组相对于 N-FI 组,*Faecalibacterium*、*Halomona* 和 *Fusicatenibacter* 丰度显著增加,但 *Bifidobacterium* 和 *Bacteroides* 丰度显著降低。*Faecalibacterium* 可发酵食物产生过量的短链脂肪酸,如乙酸、丙酸和丁酸等,这些代谢产物在生理浓度下具有调节免疫和神经保护的作用,但含量过多时可能导致肠道上皮细胞的损伤,破坏肠道免疫屏障,从而增加肠道通透性,使更多的病原体 and 有害物质进入血液循环,并通过微生物-肠-脑轴影响脑细胞的发育^[25-26]。研究发现在 ASD 患者体内 *Halomona* 显著减少,*Bacteroides* 水平降低,并与 ASD 严重程度和神经及认知功能存在相关性^[27-28]。有学者报道,*Fusicatenibacter* 丰度增加与认知水平有关^[29]。*Bifidobacterium* 是公认的常见益生菌之一,在维持肠道健康和调节免疫系统方面发挥着重要作用,减少时可导致肠道炎症的易感性增加,使得患儿免疫功能降低,胃肠道症状的发病率增多,本研究中 *Bifidobacterium* 丰度在 FI 组显著降低,与已报道的研究结果相一致^[30]。这些结果表明伴有 FI 的 ASD 儿童存在严重的肠道微生物紊

乱。Pearson 相关性分析结果进一步显示 FI 组 ASD 患儿 *Bifidobacterium* 与蛋黄/蛋清 IgG 抗体水平呈负相关, *Ruminococcus* *_torques_group* 与牛奶 IgG 抗体呈正相关, 表明肠道菌群在食物不耐受的发生中发挥了重要作用。本研究还显示 FI 组肠道屏障受损严重。大量研究发现, ASD 患者血清 Occludin 水平降低^[31-32], 血清 DAO 活性及 D-LA 含量增加^[33], 与本研究 FI 组 ASD 患儿检测结果基本相符。其中, 血清 Occludin 水平降低时, CARS 评分升高^[31], 表明这些指标可能通过引起肠道或血脑屏障通透性改变或其他未知机制影响孤独症的严重程度。

3.3 FI 组患儿肠道菌群与生化指标关系 氧化应激和炎症与多种神经系统发育障碍性疾病(包括孤独症)的发生发展密切相关^[34-35]。研究表明, 相比正常儿童, ASD 患儿外周血中氧化应激水平增高, 抗氧化水平降低^[36], 且氧化应激水平与孤独症的核心症状有关^[37]。本研究中, FI 组患者中血清 CAT 和 SOD 水平显著低于 N-FI 组, 说明伴有 FI 的 ASD 患儿体内抗氧化能力减弱。此外, 越来越多的证据表明 ASD 患者外周和中枢神经系统中广泛存在异常的免疫反应, 促炎细胞因子分泌增加与 ASD 的严重程度呈正相关^[34]。本研究结果显示, FI 组血清 IL-6 和 IL-1 β 水平高于 N-FI 组 ($P < 0.05$), IL-10、CAT 和 SOD 水平低于 N-FI 组 ($P < 0.05$), 说明 FI 的发生加重 ASD 患儿异常免疫反应。Pearson 相关分析进一步发现, 孤独症 FI 组的患儿 *Faecalibacterium* 和 *Bacteroides* 的相对丰度与血清 IL-6 水平呈正相关, *Bacteroides* 和 *Ruminococcus* 的相对丰度与 Occludin 水平呈负相关, 表明肠道菌群可能通过调节肠道屏障功能和炎症反应, 对 FI 的发生和发展产生重要影响, 但仍需进一步探讨肠道微生物群与肠道屏障功能、炎症因子之间的复杂关系, 以及这些相互作用如何影响 ASD 患儿 FI 的进程。

综上所述, 伴有 FI 的 ASD 儿童肠道菌群与炎症、氧化应激以及肠黏膜屏障功能具有相关性, 这些可能是 ASD 患者 FI 的潜在影响因素。FI 水平和 ASD 症状的严重程度密切相关, FI 可能作为评价孤独症治疗效果的潜在生物标志物, 并可针对氧化应激、免疫反应、肠道健康和微生态进行干预治疗, 从而改善 ASD 儿童的 FI 症状, 为伴有 FI 的 ASD 儿童提供更多的治疗选择。

本研究存在一些局限性: 1) ASD 儿童食物不耐受检测的样本量较少; 2) 本研究为横断面研究, 无法确定食物不耐受与孤独症儿童菌群紊乱程度的因果关系; 3) 未纳入正常儿童的食物不耐受及肠道菌群

相关结果。因此, 本研究结果可能存在一定的偏倚, 未来将进一步扩大样本数量, 开展干预性研究, 探索 ASD 儿童食物不耐受与肠道菌群及 ASD 症状严重程度具体作用关系和内在机制, 以验证和加强本研究结果的科学性和临床应用价值。

参考文献

- [1] 许勇豪, 吴梓萌, 邱树涛, 等. 肠道微生物在孤独症谱系障碍中的作用机制及治疗策略[J]. 微生物学通报, 2024, 51(7): 1-25.
Xu YH, Wu ZM, Qiu ST, et al. Gut microbiota-targeted therapeutic strategies for autism spectrum disorders[J]. Microbiol China, 2024, 51(7): 1-25. (in Chinese)
- [2] Maenner MJ, Warren Z, Williams AR, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years: Autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2020[J]. MMWR Surveill Summ, 2023, 72: 1-14.
- [3] Zhou H, Xu X, Yan W, et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder in China: A nationwide multi-center population-based study among Children aged 6 to 12 years[J]. Neurosci Bull, 2020, 36(9): 961-971.
- [4] Artık A, Kocaman O, Kara H, et al. Galectin-3 levels in school aged children with autism spectrum disorder[J]. Int J Dev Disabil. 2022, 69(5): 757-761.
- [5] Ruchika K, Meena G, Priya S. Recent advancement in interventions for autism spectrum disorder: A review[J]. J Neurorestoratology, 2023, 11(3): 100068.
- [6] 赵亚楠, 罗雅楠, 王翔宇, 等. 中国 2~6 岁孤独症儿童家庭经济直接经济负担研究[J]. 中华疾病控制杂志, 2021, 25(9): 1085-1090.
Zhao YN, Luo YN, Wang XY, et al. Research on the direct financial burden on families with 2-6 years old children having autism spectrum disorder in China[J]. Chin J Dis Control Prev, 2021, 25(9): 1085-1090. (in Chinese)
- [7] Li CY, Liu Y, Fang H, et al. Study on aberrant eating behaviors, food intolerance, and stereotyped behaviors in autism spectrum disorder [J]. Front Psychiatry, 2020, 11: 493695.
- [8] Youssef G, Kazim K, Hattawi H. Food intolerance in children with autism spectrum disorders[J]. Egypt J Ear Nose Throat Allied Sci, 2021, 22, 1-7.
- [9] 崔永虹, 戴晓红, 徐新杰, 等. 饮食干预对孤独症儿童相关症状改善的影响[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2018(2): 173-177.
Cui YH, Dai XH, Xu XJ, et al. Effect of dietary intervention on related symptoms in children with autism spectrum disorders[J]. Chin J Allergy Clin Immunol, 2018(2): 173-177. (in Chinese)
- [10] 马欢. 学龄前孤独症谱系障碍儿童的睡眠状况及其影响因素分析[D]. 长春: 吉林大学, 2024.
Ma H. Sleep status and its influencing factors in preschool children with autism spectrum disorder[D]. Changchun: Jilin University, 2024. (in Chinese)
- [11] 魏文青, 黄志芳, 余婧, 等. 学龄前孤独症谱系障碍儿童智力

- 结构特点及与症状严重程度的相关性[J]. 中国儿童保健杂志, 2023, 31(12): 1308-1313.
- Wei WX, Huang ZF, Yu J, et al. Correlation between the characteristics of intelligence structure and the severity of autism spectrum disorder in preschool boys and girls[J]. Chin J Child Health Care, 2023, 31(12): 1308-1313. (in Chinese)
- [12] 钱凌菲. 肠道菌群移植对孤独症患者疗效及肠道菌群的影响[D]. 保定: 河北大学, 2024.
- Qian LF. Effect of fecal microbiota transplantation on efficacy and intestinal flora in autistic patients[D]. Baoding: Hebei University, 2024. (in Chinese)
- [13] 周秉睿, 徐琼, 鲁萍, 等. 中文版《孤独症诊断观察量表》模块 1 信度和效度评价及临床应用研究[J]. 中国循证儿科杂志, 2013, 8(04): 257-261.
- Zhou BR, Xu Q, Lu P, et al. Evaluation on reliability and validity of Chinese version Autism Diagnostic Observation Schedule Module-1 and clinical application[J]. Chin J Evid Based Pediatr, 2013, 8(4): 257-261.
- [14] 卢建平, 杨志伟, 舒明耀, 等. 儿童孤独症量表评定的信度、效度分析[J]. 中国现代医学杂志, 2004, 14(13): 119-121, 123.
- Lu JP, Yang ZW, Shu MY, et al. Reliability and validity analysis of autism scale assessment in children[J]. Chinese Journal of Modern Medicine, 2004, 14(13): 119-121, 123. (in Chinese)
- [15] 杨玉凤, 王慧珊, 洪琦, 等. 儿童发育行为心理评定量表[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2016: 203-206.
- Yang YF, Wang HS, Hong Q, et al. Developmental behavioral psychological Rating Scale for children[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2016: 203-206. (in Chinese)
- [16] 蔡婷婷, 马湘婷, 戴璐璐, 等. 67 例耳鼻喉科慢性疾病儿童食物不耐受分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(11): 1865-1868, 1872.
- Cai TT, Ma XT, Dai LL, et al. An analysis of food intolerance in 67 children with otolaryngology chronic diseases[J]. Labeled Immunoassays & Clin Med, 2020, 27(11): 1865-1868, 1872. (in Chinese)
- [17] Li C, Liu Y, Fang H, et al. Study on aberrant eating behaviors, food intolerance, and stereotyped behaviors in autism spectrum disorder[J]. Front Psychiatry, 2020, 11: 493695.
- [18] Dosti D, Uzunoska Z, Knights V. Food intolerance in autism spectrum disorders[J]. Horizons-International Scientific Journal, 2023, 1(1): 62-76.
- [19] 李国慧, 黄晶, 刘姣, 等. 儿童锌缺乏与食物不耐受的相关性研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(32): 3551-3554, 3575.
- Li GH, Huang J, Liu J, et al. Study on the relationship between zinc deficiency and food intolerance in children[J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2021, 30(32): 3551-3554, 3575. (in Chinese)
- [20] 王善龙, 李三强, 李捷, 等. 食物不耐受对银屑病小鼠肠道菌群结构及病情的影响[J]. 微量元素与健康研究, 2023, 40(3): 1-4.
- Wang SL, Li SQ, Li J, et al. Effects of food intolerance on intestinal flora structure and disease of psoriasis mice[J]. Studies of Trace Elements and Health, 2023, 40(3): 1-4. (in Chinese)
- [21] 李素水, 贾美香, 孙志刚, 等. 禁食敏感食物对孤独症谱系障碍患者的临床疗效研究[J]. 国际精神病学杂志, 2015, 42(1): 23-26.
- Li SS, Jia MX, Sun ZG, et al. The clinical effects of fasting sensitive food in patients with autism spectrum disorders[J]. J International Psychiatry, 2015, 42(1): 23-26. (in Chinese)
- [22] 郭德华. 自闭症儿童生化免疫特征的探索性研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2014.
- Guo DH. Biochemical and immune characteristics of children with autism[D]. Shanghai: East China Normal University, 2014. (in Chinese)
- [23] 高紫琳. 孤独症谱系障碍儿童食物不耐受状况及相关机制的研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2023.
- Gao ZL. Food intolerance and related mechanisms in autism spectrum disorder[D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2023. (in Chinese)
- [24] Mehra A, Arora G, Sahni G, et al. Gut microbiota and autism spectrum disorder: From pathogenesis to potential therapeutic perspectives[J]. J Tradit Complement Med, 2022, 13(2): 135-149.
- [25] Agarwala S, Naik B, Ramachandra N. Mucosa-associated specific bacterial species disrupt the intestinal epithelial barrier in the autism phenome[J]. Brain Behav Immun-HL, 2021, 15, 100269.
- [26] De ICJ, Mueller NT, Alvarez QR, et al. Higher fecal short-chain fatty acid levels are associated with gut microbiome dysbiosis, obesity, hypertension and cardiometabolic disease risk factors[J]. Nutrients, 2018, 11(1): 51.
- [27] Ha S, Oh D, Lee S, et al. Altered gut microbiota in Korean children with autism spectrum disorders[J]. Nutrients, 2021; 13(10): 3300.
- [28] 张瑜, 卢红艳, 唐炜, 等. 孤独症谱系障碍儿童与健康儿童粪便肠道菌群结构及短链脂肪酸的差异性研究[J]. 中国儿童保健杂志, 2022, 30(12): 1390-1394.
- Zhang Y, Lu HY, Tang W, et al. Difference in fecal intestinal flora instructure and short chain fatty acids between children with autism spectrum disorder and healthy children[J]. Chin J Child Health Care, 2022, 30(12): 1390-1394. (in Chinese)
- [29] Li BY, He YX, Ma JF, et al. Mild cognitive impairment has similar alterations as Alzheimer's disease in gut microbiota[J]. Alzheimers Dement, 2019, 15(10): 1357-1366.
- [30] 高紫琳, 许幼仕, 邱莉, 等. 孤独症谱系障碍儿童食物不耐受与肠道菌群的关系[J]. 中国妇幼保健, 2023, 38(9): 1618-1621.
- Gao ZL, Xu YS, Qiu L, et al. Relationship between food

- intolerance and intestinal flora in children with autism spectrum disorder[J]. *Maternal & Child Health Care of China*, 2023, 38 (9): 1618-1621. (in Chinese)
- [31] Nalbant K, Erden S, Yazar A, et al. Investigation of the relation between epithelial barrier function and autism symptom severity in children with autism spectrum Disorder[J]. *J Mol Neurosci*. 2022, 72(4): 741-747.
- [32] Bilgiç A, Ferahkaya H, Karagöz H, et al. Serum claudin-5, claudin-11, occludin, vinculin, paxillin, and beta-catenin levels in preschool children with autism spectrum disorder[J]. *Nord J Psychiatry*, 2023, 77(5): 506-511.
- [33] 段娟, 辛金鸽, 彭薇淇, 等. 基于脑-肠轴理论研究氟化物的摄入对于 VPA 小鼠孤独症样行为的影响及机制[J]. *现代消化及介入诊疗*, 2023, 28(12): 1505-1513.
- Duan J, Xin JG, Peng WQ, et al. Effects and mechanisms of fluoride intake on autism-like behaviour in VPA mice based on brain-gut axis theory[J]. *Modern Digestion & Intervention*, 2023, 28(12): 1505-1513. (in Chinese)
- [34] 刘泽慧, 邹明扬, 崔洪雨, 等. 孤独症谱系障碍中免疫系统功能失调的相关研究进展[J]. *神经损伤与功能重建*, 2020, 15 (8): 469-470, 475.
- Liu ZH, Qiu MY, Cui HY, et al. Research progress of immune system dysfunction in autism spectrum disorders[J]. *Neural Injury And Functional Reconstruction*, 2020, 15 (8): 469-470, 475. (in Chinese)
- [35] Huang H, Liang Z, Ma G, et al. Autism spectrum disorder: Pathogenesis, biomarker, and intervention therapy [J]. *Med Comm* (2020), 2024, 5(3): 497.
- [36] Bjørklund G, Meguid NA, El-bana MA, et al. Oxidative stress in autism spectrum disorder[J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57(5): 2314-2332.
- [37] Liu X, Lin J, Zhang H, et al. Oxidative stress in autism spectrum disorder- current progress of mechanisms and biomarkers[J]. *Front Psychiatry*, 2022, 13: 813304.
- 收稿日期: 2024-06-19 修回日期: 2024-10-24 本文编辑: 杨媛媛

(上接第 12 页)

- Jia MX. Blue book of rehabilitation for children with developmental disabilities in 2021[M]. Beijing: Peking University Medical Press, 2022. (in Chinese)
- [5] U. S. Government Accountability Office. The Education for All Handicapped Children Act of 1975[A/OL]. Washington DC: U. S. Government Accountability Office, 1980-9-10. <https://www.gao.gov/assets/113316.pdf>
- [6] Peter W. D. Wright, Esq. The individuals with disabilities education improvement act of 2004 [A/OL]. <http://www.wrightslaw.com/idea/idea.2004.all.pdf>.
- [7] Congress. Combating Autism Act [A/OL]. 2006. <https://www.congress.gov/bill/109th-congress/senate-bill/843/text>
- [8] Congress. Autism Cares Act of 2014 [A/OL]. (2014-08-08). <https://www.govinfo.gov/content/pkg/PLAW-113publ157/pdf/PLAW-113publ157.pdf>
- [9] McLean KJ, Hoekstra AM, Bishop L. United States Medicaid home and community-based services for people with intellectual and developmental disabilities: A scoping review [J]. *J Appl Res Intellect Disabil*, 2021, 34(3): 684-694.
- [10] UK legislation. Education Act 1981 [A/OL]. (1981-10-30). <https://www.legislation.gov.uk/ukpga/1981/60/enacted>
- [11] UK legislation. Autism Act 2009 [A/OL]. UK: The Stationery office Limited. 2009-11. https://www.legislation.gov.uk/ukpga/2009/15/pdfs/ukpga_20090015_en.pdf
- [12] Inclusion Canada. Inclusive Education [EB/OL]. (2023-01). <https://inclusioncanada.ca/education/>
- [13] 国务院办公厅. 国务院关于建立残疾儿童康复救助制度的意见 [EB/OL]. (2018-06-21) [2018-07-10]. https://www.gov.cn/zhengce/content/2018-07/10/content_5305296.htm
- [14] 国家卫生健康委. 国家卫生健康委关于印发健康儿童行动提升计划(2021—2025 年)的通知 [EB/OL]. (2021-10-29) [2024-12-08]. https://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2021-11/05/content_5649019.htm
- [15] 国务院办公厅. 国务院办公厅关于转发教育部等部门“十四五”特殊教育发展提升行动计划的通知 [EB/OL]. (2022-01-25) [2024-12-08]. https://www.gov.cn/zhengce/content/2022-01/25/content_5670341.htm.
- [16] World Health Organization. Monitoring the building blocks of health systems: A handbook of indicators and their measurement strategies [R]. Geneva: WHO, 2010.
- [17] World Health Organization. Comprehensive mental health action plan 2013—2030 [R]. Geneva: WHO, 2010.
- [18] 国家卫生健康委办公厅. 国家卫生健康委办公厅关于印发 0~6 岁儿童孤独症筛查干预服务规范(试行)的通知 [EB/OL]. (2022-08-23) [2024-12-08]. https://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2022-09/23/content_5711379.htm
- [19] 中国残疾人联合会等. 关于发展残疾人辅助性就业的意见 [残联发〔2015〕27 号] [EB/OL]. (2015-06-29) [2024-12-08]. <https://www.cdpf.org.cn/hdjl/gjflfg1/jyflplzc/61a8fa2c7fb74c7e9b9c5cd26864aeaf.htm>
- [20] 全国服务标准化技术委员会. 《就业年龄段智力、精神及重度肢体残疾人托养服务规范》(GB/T 37516-2019) [S/OL]. (2019-06-04) [2024-12-08]. <https://std.samr.gov.cn/gb/search/gbDetailed?id=8AA1F5D36E4FA8DBE05397BE0A0AB19B>
- [21] 中国残疾人联合会等. 关于印发《孤独症儿童关爱促进行动实施方案(2024—2028 年)》的通知 [EB/OL]. (2024-07-26) [2024-12-08]. <https://www.cdpf.org.cn/zwgk/zcwj/wjfb/e9e23982df5248e3b0d82d180c368996.htm>
- 收稿日期: 2024-11-15 修回日期: 2024-12-05 本文编辑: 杨媛媛