

脐带血蛋白质组与婴儿早期神经发育风险的关联

莫竞娴¹,王海俊¹,刘 珏²,李 钦¹,苏 涛^{3△},计岳龙^{1△}
(1. 北京大学公共卫生学院妇幼卫生学系,北京 100191;2. 北京大学公共卫生学院流行病学与卫生统计学系,北京 100191;3. 北京市通州区妇幼保健院,北京 101100)

[摘 要] **目的:**利用前瞻性出生队列,通过高通量蛋白质组学技术,系统探讨脐带血蛋白质表达谱与婴儿早期神经心理发育的关联,识别潜在的早期生物标志物,并探索其背后的生物学机制,为在普通人群中早期识别神经发育风险、理解神经发育偏离的分子基础提供科学依据。**方法:**研究基于北京大学通州出生队列,纳入 96 例在 1 岁和 3 岁时完成《年龄与发育进程问卷(第三版)》(ages & stages questionnaires, third edition, ASQ-3)评估的儿童。根据 ASQ-3 筛查结果将其分为异常组($n = 42$)和对照组($n = 54$)。检测并分析出生时冻存的脐带血血浆样本,采用非靶向定量蛋白质组学技术进行无偏倚筛查。通过差异表达分析、主成分分析(principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)及加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)等方法,识别差异表达蛋白质,并进行基因本体论(gene ontology, GO)功能富集与京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析,计算差异倍数(fold change, FC)。统计学检验采用独立样本 t 检验,多重检验校正采用 Benjamini-Hochberg 法计算错误发现率(false discovery rate, FDR)。**结果:**蛋白质组学分析共鉴定出 8 214 个共有蛋白质,与对照组比较,在异常组中 385 个为差异表达蛋白质($P < 0.05$, $|\log_2 FC| > 0.585$),其中 189 个上调,196 个下调。PCA 和 OPLS-DA 分析显示两组样本存在系统性蛋白质表达差异。WGCNA 分析鉴定出 10 个共表达模块,其中黄色模块与 ASQ-3 异常分组显著负相关($r = -0.233$, $P = 0.024$),粉色模块与沟通维度评分显著正相关($r = 0.342$, $P = 0.003$)。富集分析表明,差异表达蛋白质及关键模块主要富集于两大功能通路:(1)遗传信息处理通路,包括核糖体、剪接体及 mRNA 加工;(2)细胞骨架组织与 Wnt 信号通路,这些通路在神经发育障碍的发病机制中具有重要生物学意义。**结论:**脐带血中遗传信息处理及细胞骨架组织与 Wnt 信号通路相关蛋白质的扰动,可能是婴儿早期神经发育筛查异常的重要分子特征;本研究为在普通人群中早期识别神经发育风险提供了潜在的外周血生物标志物组合,并为理解神经发育偏离的生物学机制提供了新视角;未来需在更大规模队列中验证这些发现,并通过功能实验阐明关键蛋白质的具体作用机制。

[关键词] 脐带血;蛋白质组学;神经发育;出生队列
[中图分类号] R174.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-167X(2026)03-0479-11
doi:10.19723/j.issn.1671-167X.2026.03.006

Association between umbilical cord blood proteome and early infant neurodevelopmental risk

MO Jingxian¹, WANG Haijun¹, LIU Jue², LI Qin¹, SU Tao^{3△}, JI Yuelong^{1△}
(1. Department of Maternal and Child Health, Peking University School of Public Health, Beijing 100191, China; 2. Department of Epidemiology and Biostatistics, Peking University School of Public Health, Beijing 100191, China; 3. Tongzhou Maternal & Child Health Hospital of Beijing, Beijing 101100, China)

ABSTRACT Objective: To systematically investigate the associations between umbilical cord blood protein expression profiles and early infant neurodevelopment using a prospective birth cohort, to identify potential early biomarkers through high-throughput proteomics, and to explore underlying biological mechanisms, thereby providing scientific evidence for early identification of neurodevelopmental risks and understanding the molecular basis of neurodevelopmental deviations in general populations. **Methods:** Based on the Peking University Birth Cohort in Tongzhou, this study enrolled 96 children who completed ages and stages questionnaires, third edition (ASQ-3) assessments at 1 and 3 years of age. Participants were classified into an abnormal group ($n = 42$) and a control group ($n = 54$) according to ASQ-3 screening results. Non-targeted quantitative proteomics was performed on cryopreserved umbilical cord blood plasma samples collected at birth. Differential expression analysis, principal component analysis (PCA), orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), and weighted gene co-

expression network analysis (WGCNA) were conducted to identify differentially expressed proteins, followed by Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) functional enrichment analyses. The fold change (FC) was calculated. Independent samples *t*-test was used for statistical comparison, with Benjamini-Hochberg method applied to calculate false discovery rate (FDR) for multiple testing correction. **Results:** Proteomic analysis identified 8 214 common proteins, among which 385 proteins were differentially expressed ($P < 0.05$, $|\log_2 FC| > 0.585$), including 189 proteins upregulated and 196 proteins downregulated in the abnormal group. PCA and OPLS-DA revealed systematic differences in protein expression patterns between the two groups. WGCNA identified 10 co-expression modules, with the yellow module showing significant negative correlation with ASQ-3 abnormal grouping ($r = -0.233$, $P = 0.024$) and the pink module positively correlating with communication domain scores ($r = 0.342$, $P = 0.003$). Enrichment analyses demonstrated that differential proteins and key modules were primarily enriched in two functional categories: (1) genetic information processing pathways, including ribosome, spliceosome, and mRNA processing; and (2) cytoskeleton organization and Wnt signaling pathways. These pathways held significant biological relevance in the pathogenesis of neurodevelopmental disorders. **Conclusion:** Perturbations in proteins associated with genetic information processing and cytoskeleton/Wnt signaling pathways in umbilical cord blood may represent important molecular characteristics of early neurodevelopmental screening abnormalities in infants. This study provides potential peripheral blood biomarker combinations for early identification of neurodevelopmental risks in general populations and offers novel insights into the biological mechanisms underlying neurodevelopmental deviations. Future research should validate these findings in larger-scale cohorts and elucidate specific functional mechanisms of key proteins through experimental studies.

KEY WORDS Umbilical cord blood; Proteomics; Neurodevelopment; Birth cohort

儿童早期神经心理发育是决定其终身认知能力、情绪调节、社会适应及学习潜能的关键基础^[1]。世界卫生组织强调,生命最初的1 000 d是大脑结构和功能发育最迅速、可塑性最强的敏感窗口期。在此阶段,任何干扰都可能对神经回路的形成产生长期甚至不可逆的影响,进而增加日后出现神经发育障碍(neurodevelopmental disorders, NDDs)的风险,如孤独症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD)、注意力缺陷多动障碍(attention deficit hyperactivity disorder, ADHD)、语言迟缓或智力发育障碍等^[2]。据全球流行病学数据显示,约10%~15%的学龄前儿童存在不同程度的发育偏离,而早期识别与干预被证实能显著改善其长期预后^[3-4]。因此,开发可在症状显现前识别高风险个体的客观、可量化工具,已成为儿科、公共卫生及发育神经科学领域的迫切需求。

目前,儿童神经发育状况的评估主要依赖标准化量表,如《年龄与发育进程问卷(第三版)》(ages & stages questionnaires, third edition, ASQ-3)。ASQ-3因其操作简便、信效度良好,被广泛用于社区筛查,能够有效识别在沟通、粗大运动、精细动作、问题解决及个人-社会五大能区存在发育迟缓风险的婴幼儿^[5-6]。然而,ASQ-3等行为量表本质上属于表型评估,无法揭示潜在的生物学机制。更重要的是,许多发育偏离在1岁前并无明显临床表现,仅靠行为观察易漏诊。因此,亟须结合分子层面的生物标志物,以提升早期预警的敏感性与特异性。

近年来,儿童神经心理发育的生物标志物研究

取得了显著进展,涵盖神经递质^[7-8],如脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF);脑损伤相关蛋白质^[8-9],如神经元特异性烯醇化酶、S100钙结合蛋白质B(S100 beta calcium-binding protein, S100B)、胶质纤维酸性蛋白质;炎症因子^[10-11];表观遗传修饰^[12-13],如NR3C1甲基化;神经电生理指标^[14],如脑电图和事件相关电位;以及代谢组^[15]和肠道微生物^[16]等多维度指标。以上标志物在ADHD、ASD等神经发育障碍的机制探索、风险预测和干预评估中展现出潜在价值,特别是BDNF^[8]、S100B^[8]、神经丝轻链^[17]等分子,已在特定高危人群中,如缺氧缺血性脑病、先天性心脏病患儿中被证实与不良神经发育结局相关。尽管生物标志物研究日益多元化,但仍存在若干关键局限性:(1)现有工作多基于回顾性设计或症状出现后的样本,难以捕捉神经发育偏离的最早期分子信号^[8, 18];(2)许多高潜力标志物,如脑脊液蛋白质^[18]、功能性磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, fMRI)^[19]指标,因侵入性强、成本高或操作复杂,难以在健康婴儿中推广应用;(3)研究普遍以临床诊断为终点,忽视了在普通人群中识别发育风险,如标准化筛查工具提示的风险的需求;(4)针对围产期易获取生物样本的系统性蛋白质组学探索仍十分匮乏,尤其缺乏以客观、标准化神经发育评分,如ASQ-3仅为分组依据的前瞻性关联分析。这些空白限制了生物标志物从科研发现向公共卫生实践的有效转化。

近年来,脐带血作为反映胎儿宫内生理状态的

独特生物样本,受到的关注日益增加。它不仅避免了出生后环境混杂因素的干扰,还能整合遗传、代谢、免疫及宫内环境暴露对胎儿产生的系统性生物学响应。随着高通量蛋白质组学技术的发展,研究者得以在微量样本中同时检测数十至数百种蛋白质的表达水平,从而系统性探索与神经发育相关的分子特征。已有初步研究表明,脐带血中某些炎症因子^[20],如粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)、白细胞介素-1 α (interleukin-1 alpha, IL-1 α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β)、白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)的异常表达,可能与不良神经发育结局相关。然而,目前的研究多局限于单个或少数蛋白质的验证,缺乏无偏倚的、全谱式的蛋白质组筛查。

本研究通过前瞻性出生队列设计,系统比较 1 岁和 3 岁时 ASQ-3 评分异常组与正常组婴儿的脐带血蛋白质表达谱差异,填补了“围产期分子特征-早期行为表型”关联研究的关键空白。我们利用高通量蛋白质组学技术,对出生时采集并冻存的脐带血浆样本进行无偏倚筛查,旨在系统性地识别与早期神经心理发育偏离显著相关的差异表达蛋白质,不仅避免了产后混杂因素干扰,更聚焦于可临床转化的外周血标志物。相较于依赖脑脊液或影像学 的研究,本方案具有无创、低成本、高可行性的优势,契合新生儿常规筛查流程。本研究旨在识别与早期神经发育偏离显著相关的差异表达蛋白质,探索这些蛋白质所富集的生物学通路,为理解神经发育的分子调控机制提供线索。

1 资料与方法

1.1 研究现场与对象

本研 究 所 需 资 料 主 要 来 源 于 北 京 大 学 通 州 出 生 队 列 (Peking University Birth Cohort in Tongzhou, PKUBC-T)。该队列研究由北京大学公共卫生学院 妇 幼 卫 生 学 系 与 北 京 市 通 州 区 妇 幼 保 健 院 自 2018 年 6 月 起 联 合 开 展,旨 在 追 踪 孕 产 妇 及 其 子 代 的 健 康 状 况。该 项 目 已 在 美 国 临 床 试 验 数 据 库 (ClinicalTrials. gov) 完 成 注 册 (注 册 号: NCT03814395), 并 获 得 北 京 大 学 生 物 医 学 伦 理 委 员 会 (批 准 号: IRB00001052-25132) 和 北 京 市 通 州 区 妇 幼 保 健 院 医 学 伦 理 委 员 会 (批 准 号: 2025-TZFY-022-01) 的 批 准。在 正 式 开 展 调 查 前,所 有 参 与 对 象 均 签 署 知 情 同 意 书,确 认 自 愿 参 与 本 研 究。

本研究的纳入标准:孕妇在妊娠 14 周以内于北京市通州区妇幼保健院产科门诊建立孕产档案,并

计划在该院完成分娩;过去六个月内常住于通州区,且无在分娩后迁离该区域的打算;自愿同意将其血液样本用于科学研究用途;并已签署书面知情同意书。排除标准:孕前已确诊患有高血压、自身免疫性疾病、严重感染或存在显著的肝肾功能障碍;怀有双胎妊娠;缺乏关键随访或结局相关信息者。

1.2 脐带血样本采集与处理

在 孕 妇 分 娩 过 程 中,由 经 过 专 业 培 训 的 医 护 人 员 依 照 标 准 化 操 作 规 程 采 集 脐 带 血 样 本。所 有 采 集 的 脐 带 血 样 本 均 于 采 集 后 第 一 时 间 置 于 4℃ 冰 箱 暂 存,并 在 3 000 r/min 条 件 下 离 心 10 min,以 分 离 血 浆 与 血 细 胞 成 分;分 离 后 的 组 分 分 别 装 入 冻 存 管,并 暂 存 于 -20℃ 冰 箱。项 目 组 每 月 安 排 专 人 通 过 冷 链 运 输 方 式,将 样 本 统 一 转 运 至 国 家 人 类 遗 传 资 源 保 藏 库,并 最 终 在 -80℃ 超 低 温 环 境 中 长 期 保 存。

1.3 蛋白质检测与定量

蛋白质组学分析由武汉迈维代谢生物技术有限 公 司 完 成。采 用 非 靶 向 定 量 蛋 白 质 组 学 技 术:样 本 经 十 二 烷 基 硫 酸 钠-二 硫 苏 糖 醇-三 羟 甲 基 氨 基 甲 烷 裂 解 液 裂 解、超 滤 管 酶 解 (胰 蛋 白 质 酶),肽 段 经 脱 盐 后 上 机 检 测;使 用 Orbitrap Astral 质 谱 仪 进 行 数 据 采 集,结 合 MaxQuant 软 件 进 行 蛋 白 质 鉴 定 与 无 标 记 定 量。

1.4 结局指标的评估

本 研 究 儿 童 心 理 发 育 状 况 评 估 使 用 ASQ-3 进 行。ASQ-3 是 一 种 由 主 要 照 护 者 完 成 的 标 准 化 发 育 筛 查 量 表,适 用 于 1 个 月 至 5 岁 6 个 月 月 龄 的 儿 童。该 问 卷 根 据 不 同 月 龄 段 设 计 了 相 应 的 评 估 条 目,共 包 含 30 个 问 题,覆 盖 五 个 核 心 发 育 能 区:沟 通 能 区、粗 大 运 动 能 区、精 细 动 作 能 区、问 题 解 决 能 区 以 及 个 人-社 会 行 为 能 区。所 得 各 能 区 得 分 将 与 该 年 龄 段 预 设 的 临 界 值 进 行 比 较,从 而 判 断 儿 童 在 相 应 发 育 能 区 的 表 现 是 否 处 于 正 常 预 期 范 围 内。已 有 研 究 表 明,ASQ-3 中 文 版 在 中 国 儿 童 群 体 中 具 有 良 好 的 信 度 与 效 度,适 用 于 本 土 化 发 育 监 测 与 筛 查^[5]。《ASQ-3 技 术 报 告》提 供 了 各 个 能 区 的 截 断 值^[6],将 评 价 结 果 分 为 3 种:高 于 界 值、接 近 界 值 和 低 于 界 值。本 研 究 在 子 代 1 岁 和 3 岁 两 次 进 行 ASQ-3 评 估,实 际 随 访 情 况 如 下:在 96 例 纳 入 儿 童 中,71 例 完 成 了 1 岁 评 估 (未 参 与 3 岁 评 估),11 例 完 成 了 3 岁 评 估 (未 参 与 1 岁 评 估),14 例 完 成 了 两 次 评 估。任 一 能 区 评 分 低 于 该 年 龄 段 预 设 界 值 即 判 定 为 筛 查 异 常。分 组 策 略 为 最 大 化 利 用 队 列 随 访 资 源,本 研 究 采 用“任 一 时 间 点 阳 性”原 则 定 义 ASQ-3 结 局 及 分 组:将 单 次 评 估 者 和 两 次 评 估 者 任 一 时 间 点 任 一

能区评分低于该年龄段预设界值者纳入异常组,据此将儿童分为异常组(任一能区低于界值)与对照组(所有能区高于界值)。

1.5 统计学分析

研究人群基线特征比较:正态分布的连续变量以均数 $\pm$ 标准差表示,组间比较采用独立样本 t 检验或 Welch's t 检验;非正态分布连续变量以中位数和四分位数 [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示,采用 Mann-Whitney U 检验。分类变量以例数(百分比)表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验(理论频数 <5 时)。双侧 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

对蛋白质组学定量数据进行以下数据处理与分析:主成分分析(principal component analysis, PCA)用于对蛋白质组定量数据进行无监督降维,以评估样本整体分布趋势及组内离散程度。原始数据经以2为底的对数转换后进行单位方差标准化,并通过得分图可视化各组分离情况及潜在异常值。正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)作为有监督建模方法,用于增强组间差异识别能力。数据经 $\log_2$ 转换与均值中心化后构建模型,通过正交信号校正剔除与分组无关的变异,提高差异脂质筛选的特异性。OPLS-DA 模型通过7折交叉验证计算 Q^2Y 评估预测能力,并进行200次置换检验验证模型稳健性。当置换检验 $P<0.05$ 时,证实模型具有统计学意义。差异分析根据样本生物学重复情况,采用分层策略。含生物学重复样本($n\geq 2$)的组间比较,先计算差异倍数(fold change, FC),筛选 $FC\geq 1.5$ 或 $FC\leq 0.6667$ 的分子,随后进行独立样本 t 检验,并以 Benjamini-Hochberg 法校正多重检验,计算错误发现率(false discovery rate, FDR)。以 $P<0.05$ 且 $|\log_2 FC|\geq 0.585$ (即 $FC\geq 1.5$ 或 $FC\leq 0.6667$)作为显著性判断标准。无生物学重复样本的组间比较,仅依据 $|\log_2 FC|\geq 0.585$ 筛选潜在差异分子,不进行统计学显著性检验。

功能富集分析:针对显著差异表达蛋白质和脂质分别进行基因本体论(gene ontology, GO)功能富集与京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析,所有鉴定到的8214个蛋白质作为背景基因集,采用超几何检验评估显著性,并以 $P<0.05$ 为阈值判定显著富集通路,同时采用 Benjamini-Hochberg 方法校正多重检验,计算 FDR。

加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)用于构建蛋白

质或脂质的共表达网络。通过函数确定软阈值 $\beta=5$ (无标度拟合指数 $R^2>0.8$),最小模块基因数设定为50,合并高度0.15。基于标准化后的定量数据,通过 WGCNA 识别协同变化模块,计算模块特征向量(module eigenvector, ME)并与表型(ASQ-3评分)进行相关性分析($P<0.05$)。对显著关联模块内的分子进一步开展 GO 和 KEGG 富集分析,以揭示其潜在生物学功能。

所有分析均在 R 4.4.2 和迈维代谢免费在线数据分析平台(<https://cloud.metware.cn>)中完成。

2 结果

表1展示了纳入脐带血蛋白质组分析的96例儿童及其母亲的基本特征,按筛查异常结局分为对照组($n=54$)与异常组($n=42$)。两组在多数人口学及围产期变量上分布均衡。值得注意的是,喂养方式在两组间差异有统计学意义($P=0.033$):与对照组相比,异常组中母乳喂养比例较低(62.1% vs. 87.5%),而混合喂养(24.1% vs. 8.3%)和人工喂养(13.8% vs. 4.2%)比例较高。此外,出生体重在异常组显著高于对照组(3518 g vs. 3282 g, $P=0.004$)。其余变量包括母亲年龄、产次、孕前体重指数(body mass index, BMI)、文化程度、家庭年收入、妊娠期并发症、叶酸补充情况、分娩孕周及子代性别等,差异均无统计学意义。

将对照组与 ASQ-3 异常组的脐带血蛋白质组学数据进行比较分析,共鉴定出8307个蛋白质,8214个蛋白质在两组中均表达,异常组特异性表达34个蛋白质,对照组特异性表达59个蛋白质。

图1A展示了对照组与异常组样本在蛋白质表达谱上的整体分布特征,横轴为第一主成分,解释了16.83%的变异;纵轴为第二主成分,解释了7.09%的变异。两组样本在图中存在部分重叠,但有轻微分离趋势,提示两组间蛋白质表达模式存在一定差异,但整体聚类较为接近。

图1B显示对照组与异常组在预测主成分方向上表现出显著分离,且两组样本分别聚集成独立簇, ($R^2Y=0.913$, $Q^2Y=0.26$)。置换检验证实模型显著优于随机水平($P<0.001$),提示组间差异具有统计学意义,尽管预测能力($Q^2Y=0.26$)受限于小样本高维数据特征,表明两组间可能存在系统性蛋白质表达差异。预测主成分和正交主成分分别解释了1.37%和17.00%的变异,模型具有较强的分类能力,进一步支持两组在蛋白质表达水平上存在可区分的分子特征。

表 1 蛋白质组研究人群基线特征分布

Table 1 Baseline characteristics of the proteomics study population

Characteristics	Total (<i>n</i> = 96)	Control (<i>n</i> = 54)	Abnormal (<i>n</i> = 42)	<i>P</i>	Statistics
Age/years, <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)	29.0 (27.0, 31.0)	28.0 (26.8, 32.0)	30.0 (27.0, 31.0)	0.655	<i>Z</i> = 983.00
Age category, <i>n</i> (%)				0.177	–
<35 years	82 (89.1)	44 (84.6)	38 (95.0)		
≥35 years	10 (10.9)	8 (15.4)	2 (5.0)		
Parity, <i>n</i> (%)				0.833	–
Nulliparous	60 (62.5)	33 (61.1)	27 (64.3)		
Multiparous	36 (37.5)	21 (38.9)	15 (35.7)		
BMI/(kg/m ²), <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)	21.3 (19.7, 23.8)	21.3 (19.7, 23.6)	21.3 (19.7, 23.9)	0.813	<i>Z</i> = 1 048.50
BMI category, <i>n</i> (%)				0.691	χ^2 = 0.74
<18.5 kg/m ²	7 (7.4)	5 (9.3)	2 (5.0)		
≥18.5 – <22.5 kg/m ²	50 (53.2)	29 (53.7)	21 (52.5)		
≥22.5 kg/m ²	37 (39.4)	20 (37.0)	17 (42.5)		
Education level, <i>n</i> (%)				0.073	χ^2 = 5.24
High school/technical secondary	12 (16.4)	4 (10.0)	8 (24.2)		
Junior college	32 (43.8)	22 (55.0)	10 (30.3)		
Bachelor’s degree or above	29 (39.7)	14 (35.0)	15 (45.5)		
Annual household income, <i>n</i> (%)				0.899	χ^2 = 0.59
<30 000 yuan	2 (2.2)	1 (2.0)	1 (2.5)		
≥30 000 – <80 000 yuan	20 (22.0)	10 (19.6)	10 (25.0)		
≥80 000 – 15 000 yuan	29 (31.9)	16 (31.4)	13 (32.5)		
≥150 000 yuan	40 (44.0)	24 (47.1)	16 (40.0)		
Infant feeding mode, <i>n</i> (%)				0.033	χ^2 = 6.81
Artificial feeding	6 (7.8)	2 (4.2)	4 (13.8)		
Exclusive breastfeeding	60 (77.9)	42 (87.5)	18 (62.1)		
Mixed feeding	11 (14.3)	4 (8.3)	7 (24.1)		
Gestational diabetes mellitus, <i>n</i> (%)	29 (30.2)	17 (31.5)	12 (28.6)	0.825	–
Gestational hypertension, <i>n</i> (%)	3 (3.1)	3 (5.6)	0 (0.0)	0.254	–
Alcohol consumption, <i>n</i> (%)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	>0.999	χ^2 = 0.00
Smoking and/or passive smoking, <i>n</i> (%)	35 (36.5)	16 (29.6)	19 (45.2)	0.137	–
Folic acid supplementation, <i>n</i> (%)	80 (84.2)	46 (85.2)	34 (82.9)	0.783	–
Gestational age at delivery/ weeks	39.0 (38.0, 40.0)	39.0 (38.2, 40.0)	39.0 (38.0, 40.0)	0.216	<i>Z</i> = 1 296.00
Birth weight/g, $\bar{x} \pm s$	3 385.3 ± 376.7	3 282.0 ± 274.7	3 518.1 ± 446.3	0.004	<i>t</i> = –3.01
Male, <i>n</i> (%)	45 (46.9)	22 (40.7)	23 (54.8)	0.217	–

–, variables analyzed by Fisher’s exact test have no test statistic. BMI, body mass index.

基于两组样本的蛋白质表达数据进行差异分析,共鉴定出 385 个差异表达蛋白质 ($P < 0.05$, $|\log_2FC| \geq 0.585$), 其中 189 个在异常组中显著上调,196 个显著下调(图 2),其余 7 922 个蛋白质在两组间差异无统计学意义。在 FDR 最小的前 20 个差异表达蛋白质中,多数蛋白质在异常组中均有明显的下调趋势,如 INF2、B4GAT1、TRIM23 等;1 个差异蛋白质出现上调,如 GPC3。

WGCNA 分析共鉴定出 10 个蛋白质功能模块,

无标度拓扑拟合指数 $R^2 = 0.84$,未被归入任何共表达模块的蛋白质被分配至灰色模块,代表非模块化蛋白质,未纳入后续模块-性状关联分析。各模块与组别特征的相关性结果显示,黄色模块与异常组显著负相关($r = -0.233$, $P = 0.024$),表明该模块在异常组中表达水平较低,可能参与神经发育调控过程。其余模块与组别无显著关联,提示黄色模块可能是孕期暴露相关神经发育风险的关键功能单元。分析各蛋白质模块与 ASQ-3 评分各维度的相关性发现,粉色

模块与沟通维度评分呈显著正相关($r=0.342$, $P=0.003$), 提示该模块可能在促进神经心理发育中发挥积极作用。此外, 该模块与个人-社会维度评分亦

存在正相关趋势($r=0.214$, $P=0.042$), 其他模块与各评分间相关性较弱或不显著, 表明粉色模块可能是与神经发育表现密切相关的核心功能模块(图 3)。

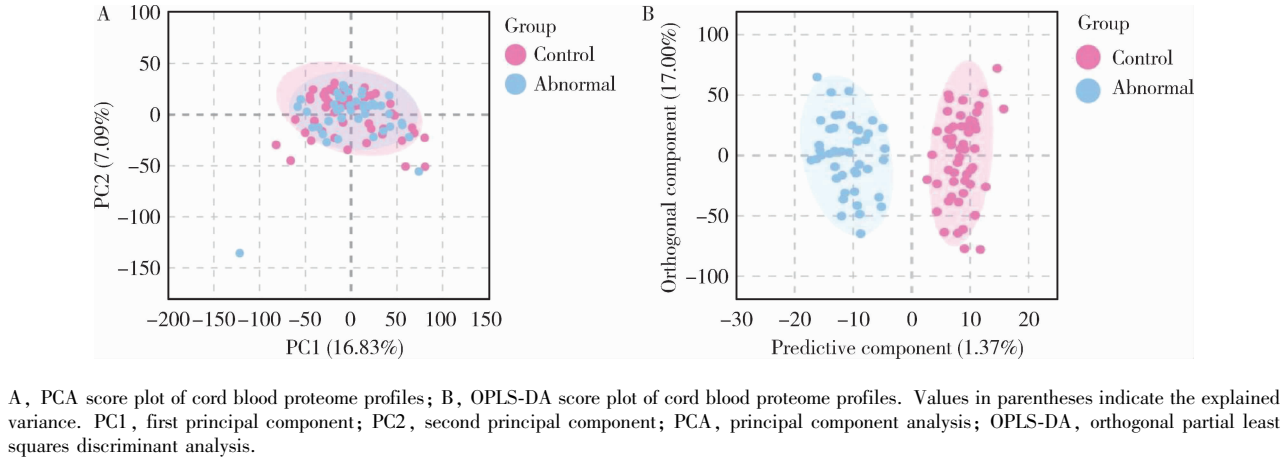


图 1 脐带血蛋白质表达谱 PCA 与 OPLS-DA 得分图
Figure 1 PCA and OPLS-DA score plots of umbilical cord blood protein expression profiles

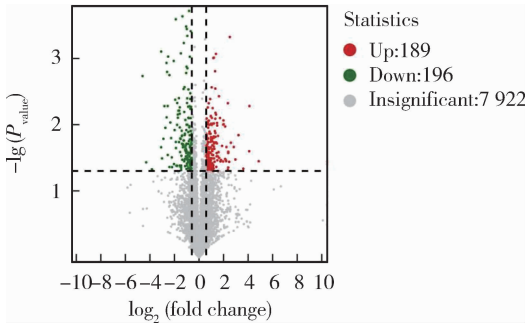


图 2 脐带血蛋白质表达差异的火山图分析
Figure 2 Volcano plot analysis showing differential protein expression profiles in cord blood

进一步对上述两个显著模块进行网络拓扑分析, 筛选出模块内连通性(k 值) 最高的前 10 个核心蛋白质。粉色模块内连通性较高的蛋白质包括 P23634 ($k=74.500$)、Q99808 ($k=74.339$) 和 P02730 ($k=73.010$); 黄色模块中连通性最强的蛋白质包括 Q9Y383 ($k=238.057$)、P08579 ($k=237.352$) 和 P62318 ($k=232.631$), 黄色模块核心蛋白质的 k 值整体高于粉色模块。

对粉色和黄色模块蛋白质信号进行富集分析, 粉色模块主要参与细胞骨架组织、铁血红素代谢、质膜转运及相关信号通路, 如 Wnt 信号通路和线粒体自噬, 其蛋白质富集于质膜和细胞连接结构; 黄色模块则显著富集于蛋白质合成与 RNA 加工相关过程, 包括翻译、mRNA 剪接和核糖体生物合成, 其组分主要定位于核仁、内质网及核糖体, 并在剪接体和 mRNA 监测等通路中显著富集(表 2)。

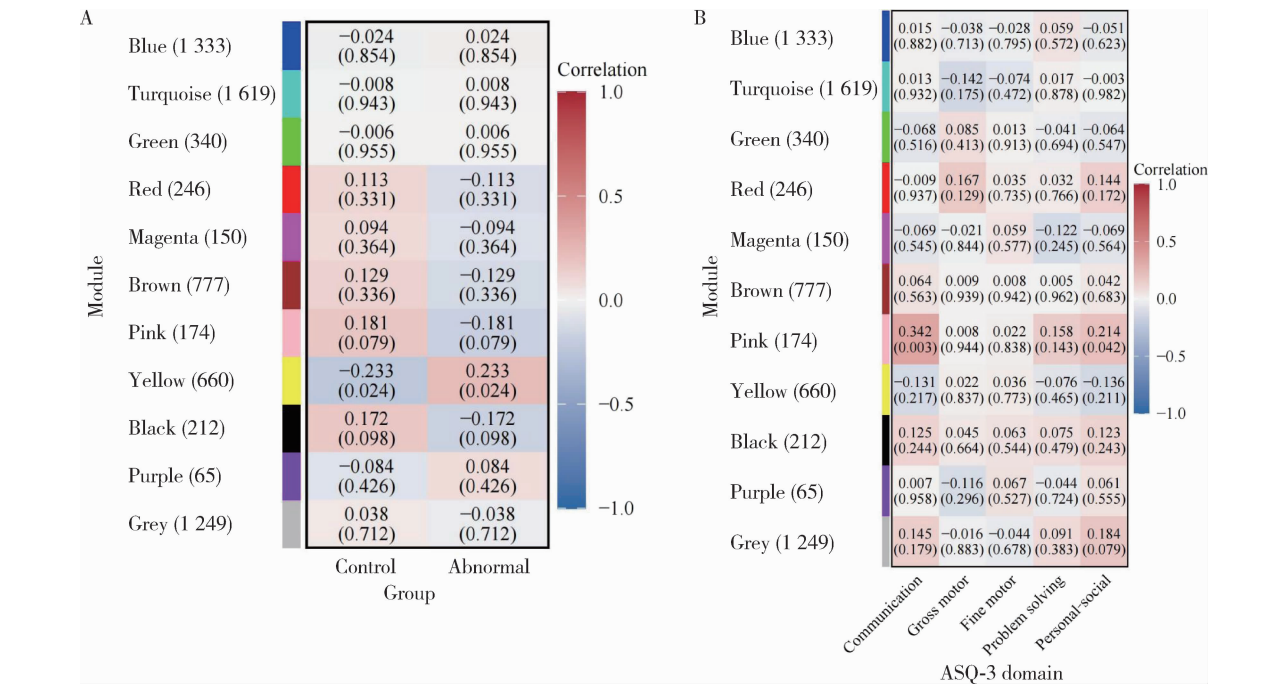
为全面呈现差异表达蛋白质的富集特征, 本研

究在 KEGG 和 GO 分析中首先采用 $P<0.05$ 作为初步筛选标准进行可视化。为进一步控制多重检验带来的假阳性风险, 将 $FDR<0.05$ 的通路列为高置信度结果, 该策略既保留了潜在的生物学信号, 又确保所强调的核心通路具有较高的统计可靠性。在 $FDR<0.05$ 的显著性水平下对 KEGG 通路富集结果进行筛选, 共鉴定出 4 条显著富集通路, 其中两条属于遗传信息处理类别, 包括剪接体和核糖体, 其 P 值与 FDR 均小于 0.001; 另两条属于人类疾病类别, 包括乙醇滥用 ($FDR<0.001$) 和系统性红斑狼疮 ($FDR=0.027$)。

对所有差异表达蛋白质进行 KEGG 通路富集分析, 结果显示, 在多个功能类别中均存在显著富集, 其中遗传信息处理类别的通路中, 包括剪接体、核糖体、mRNA 剪接、核糖体生物发生等, 提示 RNA 加工与蛋白质合成的紊乱可能是子代神经心理发育异常的核心机制。此外, 人类疾病类通路中, 新型冠状病毒肺炎 (coronavirus disease-2019, COVID-19)、乙醇滥用、系统性红斑狼疮等显著富集, 表明这些通路中的关键蛋白质可能在神经发育调控中发挥潜在作用。在细胞过程方面的肌细胞骨架和生物系统方面的中性粒细胞胞外陷阱形成亦有显著富集, 提示细胞结构与免疫反应可能受累。总体来看, 差异表达蛋白质主要参与基因表达调控、蛋白质合成及多种疾病相关通路, 提示子代神经心理发育可能受多靶点机制影响。KEGG 富集分析气泡图显示, 非同源末端连接、碱基切除修复、乙醇滥用、剪接体、核糖体等通路具有较高的富集因子

值和较小的 P 值,提示这些通路在差异表达蛋白质中富集程度高,其中乙醇滥用、剪接体、核糖体

通路不仅富集因子值较高,富集蛋白质数量也较多(图 4)。



A, correlations between WGCNA gene co-expression modules and group status; B, correlations between modules and ASQ-3 developmental domains. The left labels indicate module names (number of proteins within each module), and the labels within the heatmap represent Pearson correlation coefficients (P values). ASQ-3, ages & stages questionnaires, third edition; WGCNA, weighted gene co-expression network analysis.

图3 WGCNA 蛋白质模块相关性热图

Figure 3 Module-trait correlation heatmap of WGCNA protein modules

表2 粉色和黄色模块的富集分析

Table 2 Enrichment analysis results of significantly associated modules

Module	GO biological process	GO molecular function	GO cellular component	KEGG pathway
Pink	Cortical actin cytoskeleton organization	Spectrin binding	Spectrin-associated cytoskeleton	Mineral absorption
	Heme biosynthetic process	Calmodulin binding	Basolateral plasma membrane	Collecting duct acid secretion
	Cell cycle	Structural constituent of cytoskeleton	Integral component of plasma membrane	Mitophagy-animal
	Cellular iron ion homeostasis	Cytoskeletal anchor activity	Protein kinase CK2 complex	Porphyrin metabolism
	Iron ion homeostasis	Proton-transporting ATPase activity, rotational mechanism	Cell junction	Wnt signaling pathway
Yellow	Translation	Structural constituent of ribosome	Nucleolus	Ribosome
	mRNA splicing (via spliceosome)	DNA binding	Nuclear speck	Spliceosome
	mRNA processing	mRNA binding	Focal adhesion	COVID-19
	Cytoplasmic translation	Chromatin binding	Endoplasmic reticulum	Neutrophil extracellular trap formation
	RNA splicing	Zinc ion binding	Cytosolic large ribosomal subunit	mRNA surveillance pathway

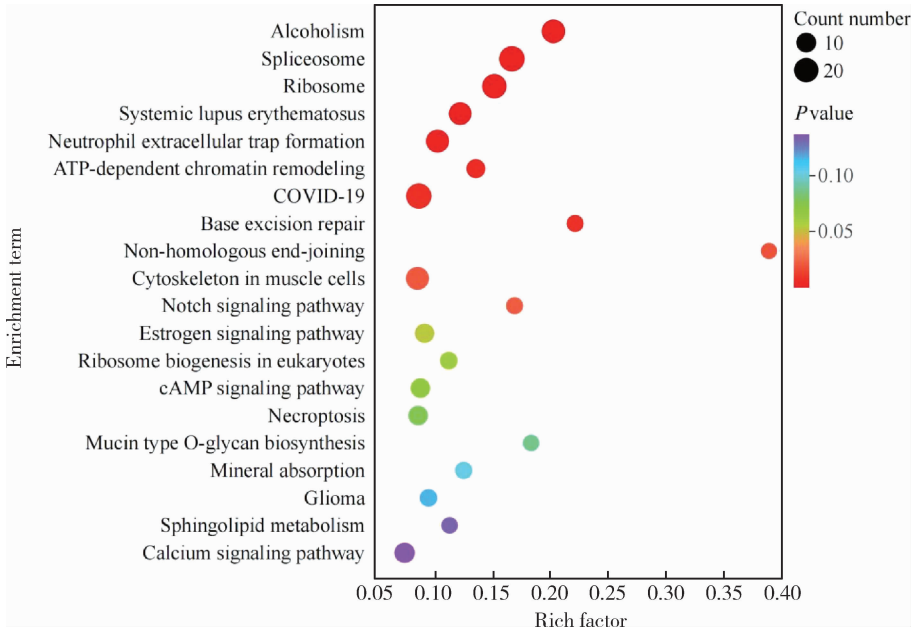
Ranked by FDR. All enrichment results are significant at FDR < 0.05. GO, gene ontology; KEGG, Kyoto encyclopedia of genes and genomes; ATPase, adenosine triphosphatase; CK2, casein kinase 2; mRNA, messenger ribonucleic acid; DNA, deoxyribonucleic acid; RNA, ribonucleic acid; COVID-19, coronavirus disease-2019; FDR, false discovery rate.

对所有差异表达蛋白质进行 GO 功能富集分析,结果显示,在 3 个主要功能层级中均存在显著富集。生物层级过程中,最显著的条目包括 mRNA 剪

接、翻译、核小体组装和中间丝组织,提示差异表达蛋白质主要参与转录后调控、蛋白质合成及细胞骨架稳态维持。细胞组分方面,富集信号集中于核仁、

核斑点、核小体和剪接体复合物,表明这些蛋白质主要定位于细胞核内与基因表达调控密切相关的亚结构。分子功能层面,DNA 结合富集程度最高,其次为染色质结构组分、核糖体结构组分和双链 DNA 结合,进一步支持其在染色质组织、转录调控及翻译机器构建中的核心作用。综上,差异表达蛋白质的功能高度聚焦于 RNA 剪接、核糖体生物发生和染色质

结构调控 3 大模块,为理解子代神经心理发育异常的潜在机制提供了重要线索。GO 富集分析的气泡图显示,染色质结构成分、核小体、端粒酶 RNA 结合、端粒酶全酶复合物以及 U2 型前剪接体等 GO 条目具有较高的富集因子和较小的 FDR 值,其中染色质结构成分、核小体不仅富集因子值较高,富集蛋白质数量也较多(图 5)。



Rich factor = (differential proteins in pathway/total differential proteins) ÷ (background proteins in pathway/total background proteins). ATP, adenosine triphosphate; COVID-19, coronavirus disease-2019; cAMP, cyclic adenosine monophosphate; KEGG, Kyoto encyclopedia of genes and genomes.

图 4 差异表达蛋白质 KEGG 通路富集分析气泡图

Figure 4 Bubble plot of KEGG pathway enrichment analysis for differentially expressed proteins

3 讨论

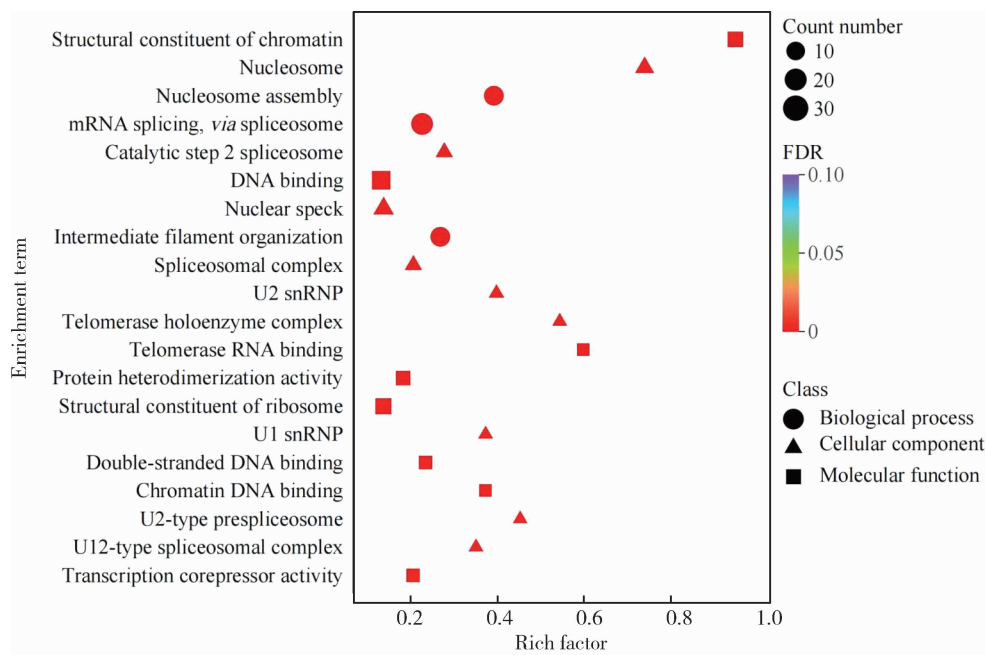
本研究对筛查异常组($n = 42$)与对照组($n = 54$)的脐带血样本进行了非靶向蛋白质组学检测。差异表达分析共鉴定出 385 个差异表达蛋白质($P < 0.05$, $|\log_2 FC| \geq 0.585$),其中在异常组中 189 个表达上调,196 个表达下调。WGCNA 识别出 10 个蛋白质共表达模块,其中黄色模块与异常分组呈显著负相关($r = -0.233$, $P = 0.024$),粉色模块与 ASQ-3 总体发育评分呈显著正相关($r = 0.342$, $P = 0.003$)。对差异表达蛋白质及这两个关键模块进行 GO 与 KEGG 功能富集分析,GO 分析结果表明这些蛋白质显著富集于多个生物学过程,主要包括遗传信息处理,主要有核糖体生物发生、mRNA 剪接与加工、翻译等;细胞骨架组织,主要有皮质肌动蛋白细胞骨架组织;以及神经元发育相关过程。GO 分析结果表示细胞组分主要定位于核仁、剪接体复合物和细胞质核糖体,分子功能以核糖体结构组分

和 RNA 结合为主。KEGG 通路分析进一步揭示,显著富集的通路包括核糖体、剪接体、RNA 转运、Wnt 信号通路、矿物质吸收以及系统性红斑狼疮。

本研究发现,脐带血中与 1 岁时 ASQ-3 筛查异常显著相关的蛋白质高度富集于两大功能模块:一是遗传信息处理通路(包括核糖体生物合成、剪接体组装及 mRNA 加工调控),二是细胞骨架组织与 Wnt 信号通路。这两类通路不仅在基础细胞生物学中扮演核心角色,更在 NDDs 的发病机制中具有坚实的遗传与临床证据支持:(1)遗传信息处理通路的完整性可能与大脑发育密切相关,近年来,越来越多的“核糖体病”和“剪接体病”被证实与 NDDs 密切相关^[21-23]。例如 Diamond-Blackfan 贫血(由 RPS19 等核糖体蛋白质基因突变引起)患者常伴有认知功能受损^[22];CHARGE 综合征(由剪接因子基因 CHD7 突变导致)则典型表现为智力障碍、孤独症样行为及感觉神经缺陷^[24];而 Richards-Rundle 综合征(由剪接体组分小核核糖核蛋白质多肽 B 和 B 突

变所致)亦以严重发育迟缓为特征^[21]。这些疾病共同揭示了一个关键原理:大脑作为高能耗、高复杂度的器官,其发育极度依赖于高效且精准的蛋白质合成与 RNA 代谢过程。尤其在围产期,即从妊娠晚期至出生后早期这一神经发生、迁移和初步环路形成的高峰期,神经前体细胞以极高速率增殖并分化为多种神经元亚型,对转录-翻译系统的保真度和输出效率提出极高要求。因此,该系统具有显著的剂量敏感性,即使关键调控蛋白质表达水平发生轻微偏移,也可能通过放大效应干扰神经干细胞池的维持、神经元命运决定的时间窗口,或新生神经元的功能成熟进程,从而在发育轨迹上产生持久性偏差^[21-22, 25-28]。(2)细胞骨架动态与 Wnt 信号通路可能参与神经元形态建成与功能整合的物理与分子结构构建。神经元的极性建立、长距离迁移、轴突发芽及树突棘的动态重塑,均高度依赖于肌动蛋白质-微管网络的精确时空调控^[29]。例如,因 *PAFAH1B1* 基因突变导致的无脑回畸形,可能与微管马达蛋白质功能受损相关,进而影响神经元从脑室区向皮层板的正常迁移^[30]。本研究鉴定出的差异表达蛋白质反向形成素 2 (inverted formin 2, INF2) 是调控肌动蛋白质聚合与线粒体动力学的关键因子,其功能异常已被报道与轴突运输障碍和神经退行性病变相关,提示其在早期神经发育中可能同样发挥重要作用^[31-34]。与此同时,Wnt 信号通路作为进化上高度保守的发育调控轴,在中枢神经系统中承担多重功

能,它不仅调控神经干细胞的自我更新与分化平衡,还通过非经典 Wnt/平面细胞极性通路引导轴突生长,并通过经典 Wnt/ β -连环蛋白质通路调节突触形成与可塑性^[35-36]。一些遗传学和动物模型研究已将 Wnt 通路失调与 ASD、精神分裂症及智力障碍联系起来^[37-39]。本研究中发现的 B4GAT1^[40-41] (编码糖基转移酶,可参与合成 Wnt 配体所需的糖胺聚糖链)和 TRIM23^[42-43] (一种 E3 泛素连接酶,可稳定 β -连环蛋白质并调控其核转位)的异常表达,进一步提示 Wnt 信号通路或下游转录活性可能在出生时即已受到扰动。(3)上述两大模块并非孤立存在,而是可能存在层级化的因果关系。我们推测遗传信息处理通路的初始扰动,如剪接效率下降或核糖体翻译速率改变,可能导致编码细胞骨架调控因子或 Wnt 信号通路组分的 mRNA 无法被正确加工或高效翻译,从而造成关键效应蛋白质 (如 INF2、B4GAT1、TRIM23 等) 的表达失衡。这种“上游转录-翻译缺陷 $\rightarrow$ 下游结构-信号功能障碍”的级联模型,能够合理解释为何在看似普通的新生儿群体中,仅凭脐带血蛋白质谱即可预测 1 岁时的神经发育偏离风险。换言之,围产期外周血中的分子扰动,可能反映了中枢神经系统在发育关键窗口期所经历的“隐性压力”,虽不足以确定与明显病理表型的因果关联,但可能伴随神经环路构建的偏差,进而在行为层面体现为运动、沟通或问题解决能力的轻度滞后。



mRNA, messenger ribonucleic acid; DNA, deoxyribonucleic acid; snRNP, small nuclear ribonucleoprotein; RNA, ribonucleic acid; FDR, false discovery rate; GO, gene ontology.

图5 差异表达蛋白质 GO 通路富集分析气泡图

Figure 5 Bubble plot of GO pathway enrichment analysis for differentially expressed proteins

本研究具有若干重要优势:(1)基于前瞻性出生队列设计,从妊娠期开始随访至婴儿1岁,显著增强了因果推断的可靠性;(2)选择脐带血作为生物样本,有助于减少出生后环境暴露(如营养、养育方式、感染等)带来的混杂偏倚,从而更真实地反映围产期内生物学状态对后续神经发育的潜在影响;(3)采用ASQ-3这一国际广泛验证的标准化筛查工具作为主要结局指标,其客观性和可操作性强于依赖临床主观判断的诊断分类,尤其适用于普通人群中的早期风险识别;(4)本研究应用高通量、无偏倚的蛋白质组学技术,系统性地描绘了脐带血蛋白质谱,并进一步结合差异表达分析与WGCNA,不仅识别出单个差异表达蛋白质,还揭示了功能协同的蛋白质模块及其富集的生物学通路,为理解神经发育偏离的系统性机制提供了多层次证据。

本研究也存在若干局限性:(1)样本量相对有限,尽管我们检测到了较多差异表达蛋白质($P < 0.05$, $|\log_2 FC| \geq 0.585$),但经Benjamini-Hochberg法校正多重检验后,满足 $FDR < 0.05$ 的差异表达蛋白质数量较少。这提示当前研究的统计效能可能不足以捕捉效应量较小的蛋白质变化,存在假阴性风险。蛋白质组学检测的高维度特性可能加剧多重检验校正带来的保守性问题。因此,本研究结果应被视为初步发现,需在更大规模、多中心的独立出生队列中进行验证,以提升结果的稳健性与普适性。(2)本研究将ASQ-3任一能区评分低于界值者均纳入异常组,导致异常组内部存在显著的表型异质性。异常组42例儿童中,单一能区异常者与多能区异常者并存,其潜在的生物学机制可能确实不同(如细胞骨架蛋白质可能更关联运动发育,突触相关蛋白质可能更关联认知功能)。受限于样本量,本研究未能进行能区特异性分层分析,无法评估脐带血蛋白质标志物对特定发育偏离的区分能力。WGCNA分析虽发现粉色模块与沟通能区评分、个人-社会行为能区评分的特异性关联,但这仅基于连续评分相关性,尚需在大样本、同质性队列中验证。(3)统计策略局限。差异分析采用独立样本 t 检验,未对出生体重、喂养方式等基线差异进行多变量校正。喂养方式属于产后因素,理论上不混杂脐带血蛋白质表达;出生体重虽异常组较高(3 518 g vs. 3 282 g, $P = 0.004$),但蛋白质组学发现阶段为避免过拟合,通常采用单变量筛选范式。我们倾向将出生体重视为宫内环境的早期生物学指标而非纯粹混杂,校正可能过度调整,掩盖了真实生物学效应。然而,未校正协变量确实限制因果推断严谨性,存在残余混杂

风险。本研究应定位为探索性发现,未来验证阶段将采用协方差分析或倾向性评分匹配控制这些因素,以确认蛋白质标志物的独立预测价值。(4)外周血蛋白质与神经发育关联的外推存在不确定性,脐带血作为外周血样本,其蛋白质组学改变能否直接反映中枢神经系统发育过程仍存在不确定性。血脑屏障的选择性通透使得外周血蛋白质水平与脑内微环境存在生理差异,且脐带血中差异表达蛋白质可能来源于胎盘、肝脏等其他组织,未必直接起源于神经组织。因此,观察到的蛋白质表达谱改变可能仅代表全身性生物学扰动的系统性标志,而非特异性的中枢发育异常指标。未来需结合脑脊液蛋白质组学或影像学标志物,验证外周血发现的中枢神经相关性。(5)本研究本质上属于观察性关联研究,文中所涉及的通路机制阐释主要基于生物信息学推断,缺乏实验功能验证;所提出的蛋白质标志物组合亦仅处于发现阶段,未经外部独立队列验证。因此,当前结果应严格定位为候选分子特征,旨在为后续机制研究与验证性队列研究提供可检验的假设,而非经证实的致病机制或即刻可用的临床生物标志物。

本研究基于前瞻性出生队列,探索了脐带血蛋白质组特征与婴儿1岁时神经心理发育筛查结果的潜在关联。研究发现,ASQ-3异常儿童的脐带血中,遗传信息处理通路(核糖体、剪接体及mRNA加工)与细胞骨架组织/Wnt信号通路相关蛋白质存在扰动。这一结果提示,在生命早期,上述基础生物学过程的微小失衡可能是后续神经发育偏离的重要分子前兆。本研究不仅为早期识别神经发育风险提供了潜在的外周血生物标志物提示,也为理解普通人群中神经发育障碍的异质性起源提供了新的机制视角。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明 莫竞娴:设计研究方案,收集、分析、整理数据,撰写论文;王海俊:设计研究方案;刘珏、李钦:收集、分析、整理数据;苏涛:总体把关和审定论文;计岳龙:提出研究思路,设计研究方案,总体把关和审定论文。所有作者均参与论文修改,并对最终文稿进行审读和确认。

参考文献

- [1] Bondi BC, Tassone VK, Bucsea O, et al. A systematic review of neurodevelopmental assessments in infancy and early childhood: Developing a conceptual framework, repository of measures, and clinical recommendations[J]. *Neuropsychol Rev*, 2025, 35(2): 337–353.
- [2] Karakochuk CD, Whitfield KC, Green TJ, et al. The biology of the first 1 000 days[M]. Boca Raton: CRC Press, 2017: 3–16.
- [3] Micai M, Fulceri F, Caruso A, et al. Early behavioral markers for neurodevelopmental disorders in the first 3 years of life: An overview of systematic reviews[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2020, 116: 183–201.

- [4] Gutiérrez-Ruiz K, Santoya Montes Y. Early detection of neurodevelopmental disorders as a strategy for educational inclusion in early childhood education[J]. *Int J Disabil Dev Educ*, 2025, 72(3): 523–539.
- [5] 魏梅, 卞晓燕, 姚国英, 等. 年龄与发育进程问卷中国常模及心理测量学特性研究[J]. *中华儿科杂志*, 2015, 53(12): 913–918.
- [6] Squires J, Twombly E, Bricker D, et al. ASQ-3 technical report [M]. Baltimore: Brookes Publishing, 2009: 147–175.
- [7] Juul SE, Voldal E, Comstock BA, et al. Association of high-dose erythropoietin with circulating biomarkers and neurodevelopmental outcomes among neonates with hypoxic ischemic encephalopathy: A secondary analysis of the HEAL randomized clinical trial[J]. *JAMA Netw Open*, 2023, 6(7): e2322131.
- [8] Chiperi LE, Huțanu A, Tecar C, et al. Serum markers of brain injury in pediatric patients with congenital heart defects undergoing cardiac surgery: Diagnostic and prognostic role[J]. *Clin Pract*, 2023, 13(5): 1253–1265.
- [9] Hong Q. Validation of a clinical tool to predict neurological outcomes in critically ill children—a prospective observational study: Correspondence[J]. *Indian J Pediatr*, 2026, 93(4): 444.
- [10] Essiam FAAP, Amoako M, Khanna R. Biomarkers for assessing diet-related neurocognitive deficits in children: A systematic review[J]. *Dietetics*, 2024, 3(3): 261–270.
- [11] Prendergast K, Keller C, Dowla S, et al. 4 311 inflammatory biomarkers of cognitive dysfunction in pediatric obesity: Associations between executive function, C-reactive protein, interleukin 6, and tumor necrosis factor alpha[J]. *J Clin Trans Sci*, 2020, 4(Suppl 1): 97.
- [12] Butzin-Dozier Z, Mertens AN, Tan ST, et al. Stress biomarkers and child development in young children in Bangladesh[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2024, 164: 107023.
- [13] Carpentieri V, Pascale E, Cerniglia L, et al. Methylation patterns within 5'-UTR of *DAT1* gene as a function of allelic 3'-UTR variants and their maternal or paternal origin: May these affect the psychopathological phenotypes in children? An explorative study[J]. *Neurosci Lett*, 2022, 791: 136916.
- [14] Deguire F, López-Arango G, Knoth IS, et al. EEG repetition and change detection responses in infancy predict adaptive functioning in preschool age: A longitudinal study[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 9980.
- [15] Smith AM, Donley ELR, Ney DM, et al. Metabolomic biomarkers in autism: Identification of complex dysregulations of cellular bioenergetics[J]. *Front Psychiatry*, 2023, 14: 1249578.
- [16] Mancini VO, Brook J, Hernandez C, et al. Associations between the human immune system and gut microbiome with neurodevelopment in the first 5 years of life: A systematic scoping review[J]. *Dev Psychobiol*, 2023, 65(2): e22360.
- [17] Bayoumy S, Verberk IMW, Vermunt L, et al. Neurofilament light protein as a biomarker for spinal muscular atrophy: A review and reference ranges[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2024, 62(7): 1252–1265.
- [18] Dietrick B, Molloy E, Massaro AN, et al. Plasma and cerebrospinal fluid candidate biomarkers of neonatal encephalopathy severity and neurodevelopmental outcomes[J]. *J Pediatr*, 2020, 226: 71.e5–79.e5.
- [19] Gibson BC, Claus ED, Sanguinetti J, et al. A review of functional brain differences predicting relapse in substance use disorder: Actionable targets for new methods of noninvasive brain stimulation[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2022, 141: 104821.
- [20] Moreno RJ, Rose DR, Tancredi DJ, et al. Cord blood cytokine profiles in children later diagnosed with autism spectrum disorder: Results from the prospective MARBLES study[J]. *Brain Behav Immun*, 2024, 122: 339–344.
- [21] Deutsch HM, Song Y, Li D. Spliceosome complex and neurodevelopmental disorders[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2025, 93: 102358.
- [22] Winden KD, Ruiz JF, Sahin M. Construction destruction: Contribution of dysregulated proteostasis to neurodevelopmental disorders[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2025, 90: 102934.
- [23] Parenti I, Rabaneda LG, Schoen H, et al. Neurodevelopmental disorders: From genetics to functional pathways[J]. *Trends Neurosci*, 2020, 43(8): 608–621.
- [24] Reddy NC, Majidi SP, Kong L, et al. CHARGE syndrome protein CHD7 regulates epigenomic activation of enhancers in granule cell precursors and gyrification of the cerebellum[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5702.
- [25] Tang X, Jaenisch R, Sur M. The role of GABAergic signalling in neurodevelopmental disorders[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2021, 22(5): 290–307.
- [26] Bonnet M, Roche F, Fagotto-Kaufmann C, et al. Pathogenic TRIO variants associated with neurodevelopmental disorders perturb the molecular regulation of TRIO and axon pathfinding *in vivo*[J]. *Mol Psychiatry*, 2023, 28(4): 1527–1544.
- [27] McEwan F, Glazier JD, Hager R. The impact of maternal immune activation on embryonic brain development[J]. *Front Neurosci*, 2023, 17: 1146710.
- [28] Boccazzi M, Raffaele S, Zanettin T, et al. Altered purinergic signaling in neurodevelopmental disorders: Focus on P2 receptors[J]. *Biomolecules*, 2023, 13(5): 856.
- [29] Andrews MG, Subramanian L, Salma J, et al. How mechanisms of stem cell polarity shape the human cerebral cortex[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2022, 23(12): 711–724.
- [30] Garone C, de Giorgio F, Carli S. Mitochondrial metabolism in neural stem cells and implications for neurodevelopmental and neurodegenerative diseases[J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1): 238.
- [31] Zhao Y, Zhang H, Wang H, et al. Role of formin INF2 in human diseases[J]. *Mol Biol Rep*, 2022, 49(1): 735–746.
- [32] Roos A, Weis J, Korinthenberg R, et al. Inverted formin 2-related Charcot-Marie-Tooth disease: Extension of the mutational spectrum and pathological findings in Schwann cells and axons[J]. *J Peripher Nerv Syst*, 2015, 20(1): 52–59.
- [33] Ueda H, Tran QTH, Tran LNT, et al. Characterization of cytoskeletal and structural effects of INF2 variants causing glomerulopathy and neuropathy[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 12003.
- [34] Ding Y, Lv Z, Cao W, et al. Phosphorylation of INF2 by AMPK promotes mitochondrial fission and oncogenic function in endometrial cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(1): 65.
- [35] Ramakrishna K, Nalla LV, Naresh D, et al. WNT- β catenin signaling as a potential therapeutic target for neurodegenerative diseases: Current status and future perspective[J]. *Diseases*, 2023, 11(3): 89.
- [36] Alkailani MI, Aittaleb M, Tissir F. WNT signaling at the intersection between neurogenesis and brain tumorigenesis[J]. *Front Mol Neurosci*, 2022, 15: 1017568.
- [37] Bou Najm D, Alame S, Takash Chamoun W. Unraveling the role of Wnt signaling pathway in the pathogenesis of autism spectrum disorder (ASD): A systematic review[J]. *Mol Neurobiol*, 2025, 62(4): 4971–4992.
- [38] Sahay S, Hamoud AR, Osman M, et al. Expression of WNT signaling genes in the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia[J]. *Brain Sci*, 2024, 14(7): 649.
- [39] Zhuang W, Ye T, Wang W, et al. CTNBN1 in neurodevelopmental disorders[J]. *Front Psychiatry*, 2023, 14: 1143328.
- [40] Willer T, Inamori KI, Venzke D, et al. The glucuronyltransferase B4GAT1 is required for initiation of LARGE-mediated α -dystroglycan functional glycosylation[J]. *eLife*, 2014, 3: e03941.
- [41] Praissman JL, Live DH, Wang S, et al. B4GAT1 is the priming enzyme for the LARGE-dependent functional glycosylation of α -dystroglycan[J]. *eLife*, 2014, 3: e03943.
- [42] McNab FW, Rajsbaum R, Stoye JP, et al. Tripartite-motif proteins and innate immune regulation[J]. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23(1): 46–56.
- [43] Kassel S, Yuan K, Bunnag N, et al. The TRIP12 E3 ligase induces SWI/SNF component BRG1- β -catenin interaction to promote Wnt signaling[J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 5248.

(2026-02-25 收稿)
(本文编辑:刘淑萍)