



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2021.04.002

<http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2021.04.002>

· 综述与讲座 ·

炎症性肠病患者的肠道真菌改变及其致病机制探讨

潘丽雅 阮冰

【摘要】 炎症性肠病 (IBD) 是一类以肠道慢性炎症为特征的疾病, 包括克罗恩病 (CD) 和溃疡性结肠炎 (UC), 其发病率在全球呈上升趋势。IBD 的病因尚未完全明确, 相关研究主要集中于遗传学、宿主免疫反应、肠道菌群和环境因素等方面。近年来, 随着测序技术的发展, 越来越多的研究提示, 肠道真菌可能在 IBD 的发生发展中发挥多方面作用。本文主要对 IBD 患者的肠道真菌改变及其作用机制进行综述。

【关键词】 炎症性肠病; 肠道菌群; 真菌

【中图分类号】 R574 **【文献标识码】** A

炎症性肠病 (IBD) 是一类以肠道慢性炎症为特征的疾病, 包括克罗恩病 (CD) 和溃疡性结肠炎 (UC), 其发病率在全球呈上升趋势。IBD 的病因尚未完全明确, 病因学探究主要在遗传学、宿主免疫反应、肠道菌群和环境因素等方面。受测序技术的限制, 过去有关肠道菌群的研究更多地集中在细菌方面。近年来, 随着宏基因组、18S rRNA 和真菌内部转录间隔区 (ITS) 扩增子测序技术的发展, 许多研究提示, 肠道真菌可能在 IBD 的发生发展中发挥多方面作用。本文主要对 IBD 患者的肠道真菌改变及其作用机制进行综述。

一、IBD 患者的肠道真菌改变

在 IBD 疾病背景下, 肠道慢性炎症长期存在。多项研究表明, 多个真菌分类群发生了改变。两项来自美国的研究通过 16S 和 ITS2 高通量测序来分析儿童 IBD 患者粪便样本中的肠道真菌, 结果表明, 念珠菌属的丰度相比健康对照者有所增加^[1-2]。另一项法国更大样本的研究入组 235 例 IBD 患者和 38 名健康对照者, 应用 16S 和 ITS2 测序技术在门水平上检测到担子菌门和子囊菌门的比值上升^[3]。担子菌门和子囊菌门之间具有较强的负相关性, 疾病活动期时担子菌门丰度增加, 而子囊菌门丰度减少。在种的水平上, 子囊

菌门下的白色念珠菌相对丰度增加。采用定量聚合酶链反应 (PCR) 方法测定 IBD 患者肠道白色念珠菌的绝对数量, 发现与对照组相比并无改变, 说明在肠道慢性炎症的环境下, 子囊菌门下其他种类真菌减少, 而白色念珠菌仍能正常定植。该项研究还发现, 酿酒酵母与白色念珠菌的丰度呈负相关, 或许提示它们在 IBD 发生过程中存在一定的竞争关系。

肠道真菌的丰度变化不仅体现在粪便样本, 也可见于病变肠道黏膜^[4]。限制性马拉色菌是一种常见于皮肤和肠道黏膜的真菌, 在胱天蛋白酶募集域蛋白 9^{S12N} (CARD9^{S12N}) 多态性的 CD 患者中, 限制性马拉色菌能够恶化其肠道炎症, 提示 CARD9 相关信号通路对于机体感知限制性马拉色菌起重要作用。

上述研究的纳入人群与中国人群存在较大差异, 而日本的一项小样本研究则在人种选择上与中国较为接近^[5]。该研究入组了 18 例 UC 患者、20 例 CD 患者和 20 例健康对照者, 测序结果表明, 在 IBD 缓解期, 子囊菌门和担子菌门的丰度比值并无改变, 与 Nilsson 等^[3]研究结果一致; 但有趣的是, 与 UC 组及健康对照组比较, CD 组的念珠菌属丰度明显增加, 提示 CD 患者的肠道环境可能更适合真菌定植。

二、真菌作为 IBD 生物标志物的可能性

通过检测靶向可疑真菌来诊断 IBD 或许可行。近年研究发现, 抗酿酒酵母抗体 (ASCA) 可用作 IBD 诊断的重要血清学标志物, ASCA 靶向的是酿酒酵母细胞壁抗原上的甘露糖- α 1,3-甘露糖表位, 但白色念

基金项目: 973 国家重点基础研究发展计划项目 (2013CB531401); 国家人类遗传资源共享服务平台项目 (2005DKA21300)

作者单位: 310003 杭州, 浙江大学医学院附属第一医院传染病诊治国家重点实验室 国家感染性疾病临床医学研究中心 国家传染病医学中心

通讯作者: 阮冰, E-mail: ruanbing@zju.edu.cn

珠菌也可以表达与酿酒酵母类似的普通 β -葡聚糖表位,因此 ASCA 作为诊断工具来检测特定真菌的特异性可能不足^[1,6]。且除白色念珠菌外,其他微生物或受体也可能存在这样的表位,影响 ASCA 的结合亲和力。白色念珠菌在 IBD 患者及其健康一级亲属中的定植率分别为 44% 和 38%,明显高于健康对照组的 22%^[6]。但这种定植率升高只能说明 ASCA 抗体水平升高,不能肯定白色念珠菌的定植会直接作用于疾病活动度。另一项研究采用定量 PCR 检测方法,发现 IBD 活动期患者粪便中的酿酒酵母多于疾病缓解期患者或健康对照组,提示酿酒酵母比白色念珠菌更能影响 IBD 活动度^[7]。

CD 患者在肠道炎症的情况下真菌负荷升高,而 UC 患者的肠道真菌多样性则降低^[7]。CD 会累及末端回肠,而 UC 没有这样的病变。这种回肠末端的病理生理变化可以影响抗菌肽的抑菌作用和胆汁酸的重吸收^[7],从而促进真菌在此定植,因此 CD 患者的念珠菌属丰度高于 UC 患者。与健康对照者相比,在疾病活动期,CD 患者肠道黏膜中的真菌负荷升高 40 倍, *Dioszegia* 属和念珠菌属的多样性增加;在受炎症累及和未累及的黏膜上,光滑念珠菌和酿酒酵母菌的丰度分别有所增加^[3]。

英夫利西单抗 (IFX) 是 IBD 治疗的经典药物。一项研究对接受 IFX 治疗的 72 例 IBD 患者进行了长达 1 年的随访,发现 IFX 未响应组治疗前的肠道细菌和真菌组成与响应组有明显差异,如梭菌纲等产短链脂肪酸真菌的丰度减少,而念珠菌属等促炎真菌的丰度增加^[8],这一研究为使用肠道细菌和真菌的分类群来预测患者是否响应 IFX 治疗提供了可能性。

三、肠道真菌与体液免疫

CARD9 单核苷酸多态性是 CD 的遗传危险因素之一,CARD9 也与肠道真菌失调密切相关。CD 患者血清中的抗真菌 IgG 抗体能特异性识别白色念珠菌,还有其他抗体能识别多种酿酒酵母科真菌(包括近平滑假丝酵母菌、酿酒酵母和库德里阿兹威毕赤酵母)。近来一项研究发现,真菌的肠内定植可在肠外淋巴组织中诱导生发中心依赖性 B 淋巴细胞扩增,并产生具有保护作用的血清抗体,以抵抗播散性白色念珠菌或耳念珠菌感染^[9]。这种抗真菌 IgG 的产生依赖于固有免疫调节因子 CARD9 和 CARD9⁺ CX3CR1⁺ 巨噬细胞。在侵袭性念珠菌病患者中,CARD9 的失能突变与抗真菌 IgG 反应受损有关。这些结果揭示,肠道共生真菌通过 CARD9 依赖性途径,诱导宿主产生保护性抗真菌 IgG。IBD 患者中是否存在 CARD9 失能突变还有待进

一步研究。如存在这样的突变,当免疫抑制剂的使用增加了 IBD 患者的真菌感染风险时,补充抗真菌 IgG 或许有一定的保护作用。

四、IBD 合并艰难梭菌感染患者的肠道真菌改变

IBD 合并艰难梭菌感染的发生率逐年上升,有一些研究已注意到了艰难梭菌感染与肠道真菌的关系。有两项研究显示,艰难梭菌感染伴随着白色念珠菌的增加,减少了其他肠道内真菌物种的生存^[10-11]。艰难梭菌感染的小鼠在口服白色念珠菌后病情恶化。白色念珠菌作为一种双相真菌,根据不同的营养和环境条件,可在酵母相和菌丝相之间相互转换。目前还不清楚白色念珠菌在人类肠道中以哪种形态占据主导,但在啮齿类动物体内两种形态均可存在。体外实验中,白色念珠菌与艰难梭菌共培养可促进艰难梭菌在有氧环境中的存活与增殖^[12];反过来,艰难梭菌则通过产生对甲基苯酚阻碍白色念珠菌在酵母和菌丝之间的形态转换及生物膜的形成,来降低其毒力。白色念珠菌能与一些细菌(如大肠杆菌)在肠道黏膜形成异质生物膜,艰难梭菌可以阻止白色念珠菌的这一行为从而占据肠道,使其他菌无法定植。

近年来,粪菌移植疗法受到关注,被认为是治疗艰难梭菌感染的一个有力手段。值得注意的是,使用粪菌移植治疗艰难梭菌感染时,粪便中存在的白色念珠菌会阻碍艰难梭菌的清除^[11]。不过这些研究仅着眼于白色念珠菌这一菌种,其他肠道内真菌在艰难梭菌感染中是否发挥作用还有待发现。进一步的研究可关注肠道真菌群在宿主病理生理方面的整体作用,以及 IBD 合并艰难梭菌感染患者的发病机制探讨。

五、IBD 患者的抗真菌治疗和真菌益生菌治疗

基于真菌谱、ASCA 和定量 PCR 分析来调解肠道真菌,是治疗 IBD 的可能途径。氟康唑作为抗真菌药物,常用于治疗免疫抑制 IBD 患者的真菌感染,如念珠菌病、念珠菌血症。一项研究入组 89 例 UC 患者,其中高真菌定植的 20 例患者使用氟康唑 4 周后,疾病活动指数比安慰剂组和益生菌 *Lacidofil*[®] 组有显著下降^[13]。另有 3 项研究结果均显示,两性霉素 B 和伊曲康唑在治疗荚膜组织胞浆菌感染时效果良好,其中两项研究结果均显示,两性霉素 B 和伊曲康唑能显著减少或彻底清除荚膜组织胞浆菌^[8,14]。另一项研究则显示,伊曲康唑可以使 67% 的 IBD 患者症状缓解,达到临床和内镜下的缓解^[15]。

调节肠道真菌,除了使用抗真菌药物消除真菌,也可使用真菌益生菌来促进肠道健康。一项研究入组

24 例正在使用美沙拉嗪的轻中度 UC 患者,每日 3 次口服 250mg 布拉氏酵母菌,4 周后有 17 例患者达到临床和内镜下的缓解^[16]。还有两项研究入组了 CD 患者,为他们补充布拉氏酵母菌,其中一项研究把 32 例处于缓解期的 CD 患者随机分成两组,一组仅服用美沙拉嗪,另一组加服布拉氏酵母菌,6 个月后采用克罗恩病活动指数(CDAI)评估病情后发现,加用真菌益生菌的一组临床复发率明显低于单用组^[17];另一项研究发现,20 例 CD 患者使用布拉氏酵母菌后,排便频次较基线水平显著减少^[18]。布拉氏酵母菌主要通过限制树突状细胞向炎症部位移动来减轻肠道局部炎症,也能诱导白细胞介素(IL)-8、干扰素(IFN)- γ 和转化生长因子(TGF)- β 的分泌及辅助性 T 淋巴细胞在淋巴结中的沉积^[19],以减少 T 淋巴细胞总数。扣囊复膜酵母是另一种酿酒酵母,一项小鼠实验发现其对 IBD 有治疗作用^[20],但其相关的临床研究还未开展。

近来研究发现,中药提取物丹皮酚和鱼腥草酸钠在葡聚糖硫酸钠诱导的白色念珠菌预定植小鼠结肠炎模型上,可通过树突细胞相关 C 型凝集素(Dectin)-1/核因子(NF)- κ B 通路与 Toll 样受体(TLR)2 和 TLR4 的协同作用,显著降低 ASCA、 β -葡聚糖和促炎细胞因子[IL-1 β 、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子(TNF)- α]水平,并提高血清和结肠组织中抗炎因子 IL-10 水平^[21-22]。鱼腥草酸钠可诱导 β -葡聚糖暴露,激发肠道巨噬细胞清除定植的白色念珠菌^[22]。

六、小结

近年来的研究显示,肠道真菌在肠道微生态平衡中发挥重要作用,IBD 患者的肠道菌群具有明显改变,念珠菌和马拉色菌在粪便和病变肠道黏膜中的丰度增加,但这种异常改变与疾病的因果关系目前尚不清楚。CARD9 位点的基因缺陷与 IBD 疾病严重程度及机体抗真菌免疫密切相关。白色念珠菌作为肠道共生菌,却在艰难梭菌感染中起重要的促进作用。抗真菌药物、真菌益生菌(布拉氏酵母菌及扣囊复膜酵母)和中药提取物(丹皮酚和鱼腥草酸钠)有望成为治疗 IBD 的新方法。目前特定真菌的研究还都聚焦于白色念珠菌和酿酒酵母上,未来的研究可尝试挖掘其他真菌的致病机制或治疗潜能,也可在细菌-真菌相互作用或肠道真菌与 IBD 患者的免疫反应方面进一步探索。

参 考 文 献

- [1] Chehoud C, Albenberg LG, Judge C, et al. Fungal Signature in the Gut Microbiota of Pediatric Patients with Inflammatory Bowel Disease[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2015, 21(8): 1948-1956.
- [2] Lewis JD, Chen EZ, Baldassano RN, et al. Inflammation, Antibiotics, and Diet as Environmental Stressors of the Gut Microbiome in Pediatric Crohn's Disease[J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 18(4): 489-500.
- [3] Nilsson RH, Ryberg M, Kristiansson E, et al. Taxonomic reliability of DNA sequences in public sequence databases: A Fungal Perspective[J]. *PLoS One*, 2006, 1(1): e59.
- [4] Limon JJ, Tang J, Li D, et al. Malassezia associated with Crohn's disease and exacerbates colitis in mouse models[J]. *Cell Host Microbe*, 2019, 25(3): 377-388. e6.
- [5] Imai T, Inoue R, Kawada Y, et al. Characterization of fungal dysbiosis in Japanese patients with inflammatory bowel disease[J]. *J Gastroenterol*, 2019, 54(2): 149-159.
- [6] Standaert-Vitse A, Sendid B, Joossens M, et al. Candida albicans colonization and ASCA in familial Crohn's disease[J]. *Am J Gastroenterol*, 2009, 104(7): 1745-1753.
- [7] Sokol H, Leducq V, Aschard H, et al. Fungal microbiota dysbiosis in IBD[J]. *Gut*, 2017, 66(6): 1039-1048.
- [8] Lee JH, Slifman NR, Gershon SK, et al. Life-threatening histoplasmosis complicating immunotherapy with tumor necrosis factor α antagonists infliximab and etanercept[J]. *Arthritis Rheum*, 2002, 46(10): 2565-2570.
- [9] Doron I, Leonardi I, Li XV, et al. Human gut mycobiota tune immunity via CARD9-dependent induction of anti-fungal IgG antibodies[J]. *Cell*, 2021, 184(4): 1017-1031. e14.
- [10] Raponi G, Visconti V, Brunetti G, et al. Clostridium difficile infection and candida colonization of the gut: is there a correlation? [J]. *Clin Infect Dis*, 2014, 59(11): 1648-1649.
- [11] Zuo T, Ng SC. The Gutmicrobiota in the pathogenesis and therapeutics of inflammatory bowel disease[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2247.
- [12] Van Leeuwen PT, van der Peet JM, Bikker FJ, et al. Interspecies interactions between clostridium difficile and candida albicans[J]. *mSphere*, 2016, 1(6): e00187-16.
- [13] Zwolinska-Wcislo M, Brzozowski T, Budak A, et al. Effect of candida colonization on human ulcerative colitis and the healing of inflammatory changes of the colon in the experimental model of colitis ulcerosa[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2009, 60(1): 107-118.
- [14] Dotson JL, Crandall W, Mousa H, et al. Presentation and outcome of histoplasmosis in pediatric inflammatory bowel disease patients treated with antitumor necrosis factor alpha therapy: A case series[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17(1): 56-61.
- [15] Samuel S, Loftus Jr EV, Sandborn WJ. The effects of itraconazole on inflammatory bowel disease activity in patients treated for histoplasmosis: letters to the editors[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2010, 32(9): 1207-1209.
- [16] Guslandi M, Giollo P, Testoni PA. A pilot trial of saccharomyces boulardii in ulcerative colitis[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2003, 15(6): 697-698.
- [17] Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, et al. Saccharomyces boulardii in maintenance treatment of Crohn's disease[J]. *Dig Dis Sci*, 2000, 45(7): 1462-1464.
- [18] Plein K, Hotz J. Therapeutic effects of saccharomyces boulardii on mild residual symptoms in a stable phase of Crohn's disease with special respect to chronic diarrhea—a pilot study[J]. *Z Gastroenterol*, 1993, 31(2): 129-134.
- [19] Ganji-Arjenaki M, Rafieian-Kopaei M. Probiotics are a good choice in remission of inflammatory bowel diseases: A meta analysis and systematic review[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(3): 2091-2103.
- [20] Iliev I D, Funari VA, Taylor KD, et al. Interactions between commensal fungi and the C-type lectin receptor Dectin-1 influence colitis[J]. *Science*, 2012, 336(6086): 1314-1317.
- [21] Ge Y, Pan M, Zhang C, et al. Paeonol alleviates dextran sodium sulfate induced colitis involving candida albicans-associated dysbiosis[J]. *Med Mycol*, 2020. [Epub ahead of print]
- [22] Ma K, Chen M, Liu J, et al. Sodium houttuynfonate attenuates dextran sulfate sodium associated colitis precolonized with candida albicans through inducing β -glucan exposure[J]. *J Leukoc Biol*, 2021. [Epub ahead of print]

(收稿日期:2021-03-06)

(本文编辑:张一冰)