



刘杏忠

南开大学教授、中国科学院微生物研究所兼职研究员，中国菌物学会戴芳澜杰出成就奖获得者。现任国际菌物学会执委和中国植物病理学会副理事长。主要从事真菌进化生物学及微生物组稳态研究。

肠道真菌研究进展

刘佳[#], 陈月[#], 肖惠文, 刘杏忠^{*}

南开大学生命科学学院, 天津 300071

摘要: 真菌菌群是肠道菌群的重要组成部分, 在肠道微生态稳态的维持和宿主的免疫调节中发挥重要作用。肠道真菌失调通常和肠道疾病甚至肠道外疾病有关。本文就肠道真菌的定殖与组成、真菌菌群对肠道微生态的调控、菌群失调促进疾病的发展机制、基于肠道真菌的治疗策略和肠道真菌的鉴定分析方法等方面的进展进行了综述和展望, 旨在系统认识肠道真菌调节宿主健康和促进疾病发生的机制, 为相关疾病的诊断和治疗提供重要参考。

关键词: 肠道微生物; 真菌菌群; 微生态; 失调; 治疗

[引用本文]

刘佳, 陈月, 肖惠文, 刘杏忠, 2023. 肠道真菌研究进展. 菌物学报, 42(1): 26-37

Liu J, Chen Y, Xiao HW, Liu XZ, 2023. Research progress of gut mycobiota. Mycosystema, 42(1): 26-37

Research progress of gut mycobiota

LIU Jia[#], CHEN Yue[#], XIAO Huiwen, LIU Xingzhong^{*}

College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China

Abstract: As a vital component of the gut microbiota, mycobiota is involved in the maintenance of the intestinal microecosystem homeostasis and regulation of host immunity. Dysbiosis of the gut mycobiota has been well-documented to be associated with both intestinal diseases and extra-intestinal diseases. In this paper, the research progresses on gut mycobiota are summarized with regard to the composition and colonization, mechanisms associated with intestinal microecosystem, dysbiosis and disease development, and therapeutic approaches as well as

*Corresponding author. E-mail: liuxz@nankai.edu.cn

[#]Co-first author

Received: 2022-10-20; Accepted: 2022-11-07

methodologies of mycobiota analysis, aiming at providing comprehensive understanding of gut mycobiota in regulating host health and promoting disease occurrence, and delivering reference for clinical therapeutical applications.

Keywords: gut microbiota; mycobiota; microecosystem; dysbiosis; therapeutics

肠道为各种微生物群落的生长和增殖提供了理想的栖息地, 这些微生物包括细菌、真菌和古生菌等, 统称为肠道菌群(Li *et al.* 2018; Li *et al.* 2019)。肠道菌群是一个密集而多样的生态系统, 参与许多生理过程包括疾病的发生。过去几十年的大多研究都集中于肠道细菌的鉴定分析(Qin *et al.* 2010; Huffnagle & Noverr 2013), 而真菌的研究技术较为落后。相较于细菌细胞, 真菌细胞大而复杂并有许多独特的代谢通路(Richard & Sokol 2019), 在维持肠道微生态稳态和响应宿主免疫应答等方面发挥着重要的作用, 因此真菌菌群在肠道菌群中的作用逐渐被发现和重视起来。

随着高通量测序等技术的发展, 越来越多的肠道真菌被检测鉴定出来, 近年来的研究发现肠道真菌菌群的稳态是影响宿主健康的一个关键因素, 与肠道细菌相似, 真菌菌群的失调会导致宿主的免疫失调从而引发疾病(Dollive *et al.* 2013; Findley *et al.* 2013)。本文总结了肠道真菌的研究进展及研究方法, 包括肠道真菌的组成与定殖、肠道真菌与宿主的免疫互作和与细菌的相互作用、真菌菌群失调促进疾病发展的机制以及肠道真菌的治疗应用。

1 肠道真菌的组成与定殖

与肠道细菌相比, 真菌菌群在肠道微生物中占比较低, 只占肠道微生物总数的 0.1%左右(Qin *et al.* 2010; Arumugam *et al.* 2011; Underhill & Lliev 2014)。目前已报道的肠道内真菌主要属于子囊菌门 Ascomycota、担子菌门 Basidiomycota 和接合菌门 Zygomycetes (Hallen-Adams *et al.* 2015; Nash *et al.* 2017), 其中丰度最高的 10 个属分

别是念珠菌属 *Candida*、酵母菌属 *Saccharomyces*、青霉菌属 *Penicillium*、曲霉属 *Aspergillus*、隐球菌属 *Cryptococcus*、马拉色菌属 *Malassezia*、枝孢属 *Cladosporium*、半乳糖霉菌属 *Galactomyces*、德巴利酵母属 *Debaryomyces* 和丝孢酵母属 *Trichosporon* (Suhr & Hallen-Adams 2015; Hallen-Adams & Suhr 2017) (表 1)。

随着真菌研究技术的发展, 我们对肠道真菌的定殖有了初步的认识。通过对初代胎粪的检测发现肠道真菌在新生儿出生后便开始定殖于肠道, 这些真菌主要是念珠菌属、酵母菌属和枝孢属(Willis *et al.* 2019)。生命的早期是决定真菌菌群定殖和组成的重要时期, 主要影响因素包括分娩方式和母乳等(Wu *et al.* 2021)。第一, 母亲的分娩方式会影响新生儿肠道的真菌组成。自然出生的婴儿容易从母亲的生殖道中获得真菌(如念珠菌属), 而剖腹产出生的婴儿则从产妇皮肤和周围环境中获得真菌(如马拉色菌属) (Jones *et al.* 2019)。第二是婴幼儿喂养方式。母乳被认定是早期真菌定殖的主要来源之一, 通过真菌 DNA 检测发现母乳中真菌细胞数量高达 3.5×10^5 个/mL, 大约是细菌数量的 1/3。马拉色菌属、念珠菌属和酵母菌属是母乳优势菌属的同时也是婴儿肠道中的主要菌群(Richard & Sokol 2019)。第三, 肠道真菌的组成会随年龄的增长而变化。出生 10 d 到 3 个月期间, 汉斯德巴氏酵母菌 *Debaryomyces hansenii* 和胶红酵母 *Rhodotorula mucilaginosa* 是优势菌株, 生长到 1-2 岁时酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 成为了数量最多的菌株。10 d 到 3 个月的婴儿体内可检测到帚状曲霉 *Aspergillus penicillioides*, 但在 1-2 岁婴儿体内检测不到该种真菌(Schei

表 1 肠道真菌的组成及分类

Table 1 Composition and classification of gut mycobiota

真菌属	代表性真菌物种	分类(门, 纲, 目, 科)	参考文献
Fungal genus	Representative species	Classification (phylum, class, order, family)	Reference
<i>Candida</i>	<i>Candida albicans</i>	Ascomycota, Saccharomycetes,	Wagner <i>et al.</i> 1997
	<i>Candida tropicalis</i>	Saccharomycetales, Incertae sedis	Wang <i>et al.</i> 2018
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ascomycota, Saccharomycetes,	Schei <i>et al.</i> 2017
	<i>Saccharomyces boulardii</i>	Saccharomycetales, Saccharomycetaceae	Castagliuolo <i>et al.</i> 1996
<i>Penicillium</i>	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>		Iliev <i>et al.</i> 2012
	<i>Penicillium</i> spp.	Ascomycota, Eurotiomycetes,	David <i>et al.</i> 2014
		Eurotiales, Aspergillaceae	Suhr <i>et al.</i> 2016
			Schei <i>et al.</i> 2017
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus penicillioides</i>	Ascomycota, Eurotiomycetes,	Lin <i>et al.</i> 2022
	<i>Aspergillus rambellii</i>	Eurotiales, Aspergillaceae	
	<i>Aspergillus kawachii</i>		
<i>Cryptococcus</i>	<i>Cryptococcus</i> spp.	Basidiomycota, Tremellomycetes,	Suhr & Hallen-Adams 2015
<i>Malassezia</i>		Tremellales, Cryptococcaceae	
	<i>Malassezia furfur</i>	Basidiomycota, Malasseziomycetes,	Jones <i>et al.</i> 2019
		Malasseziales, Malasseziaceae	Richard & Sokol 2019
			Lam <i>et al.</i> 2019
<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium</i> spp.	Ascomycota, Dothideomycetes,	Willis <i>et al.</i> 2019
<i>Galactomyces</i>		Capnodiales, Cladosporiaceae	
	<i>Galactomyces</i> spp.	Ascomycota, Saccharomycetes,	Hallen-Adams & Suhr 2017
		Saccharomycetales, Dipodascaceae	
<i>Debaryomyces</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>	Ascomycota, Saccharomycetes,	Schei <i>et al.</i> 2017
		Saccharomycetales, Saccharomycetaceae	David <i>et al.</i> 2014
			Suhr <i>et al.</i> 2016
<i>Trichosporon</i>	<i>Trichosporon asahii</i>	Ascomycota, Saccharomycetes,	Suhr & Hallen-Adams 2015
<i>Mucor</i>		Saccharomycetales, Dipodascaceae	
	<i>Mucor circinelloides</i>	Zygomycota, Mucoromycetes,	Mueller <i>et al.</i> 2019
		Mucorales, Mucoraceae	

et al. 2017)。

此外，日常的饮食习惯也会影响肠道真菌的定殖和组成，例如摄入的碳水化合物越多，粪便中念珠菌属的丰度越高，而蛋白质和脂肪酸摄入量高时粪便中念珠菌属的丰度降低(Hoffmann *et al.* 2013)。和素食者相比，肉食者肠道真菌数量要高，而且粪便中的德巴利酵母菌属和青霉菌属的丰度较高，而素食者粪便中念珠菌属和镰刀菌属 *Fusarium* 的丰度较高(David *et al.* 2014; Suhr *et al.* 2016)。总体来说，人在出生时便开始了肠道真菌菌群的定殖，一直到2岁真菌的多样性持续增加(Schei *et al.* 2017)，此后基本保持动态平衡。

2 肠道真菌调控肠道微生物生态稳态

肠道微生态是指寄生于宿主肠道内的微生物与宿主之间相互作用而共同构成的生态系统。肠道微生物和肠道粘膜免疫系统之间的相互作用构成了一种动态平衡状态，既可识别入侵的病原微生物启动免疫反应，又可实现对肠道内共生菌群的免疫耐受，维持肠道微生态的稳态(Belkaid & Harrison 2017)。肠道真菌作为肠道内重要的微生物类群，与细菌和宿主肠道粘膜免疫系统之间相互作用，在调控肠道微生物生态稳态方面发挥着重要的作用。

2.1 真菌与细菌的相互作用

真菌和细菌在肠道粘膜表面具有相似的生

态位并且能够相互作用,肠道内真菌菌群的失调会引起细菌菌群组成的变化。一项研究发现经葡聚糖硫酸钠诱导的结肠炎模型小鼠在服用抗真菌药物后结肠炎症状加剧,同时肠道内拟杆菌属 *Bacteroides*、乳杆菌属 *Lactobacillus*、哈氏菌属 *Hallella*、巴尼西拉属 *Barnesiella* 和另枝菌属 *Alistipes* 等细菌丰度升高,梭菌属 *Clostridium* 丰度降低(Qiu *et al.* 2015)。病原真菌的感染也会引起肠道细菌菌群的变化,如摄入病原真菌卷枝毛霉菌 *Mucor circinelloides* 的小鼠肠道内拟杆菌属增加,嗜粘蛋白阿克曼菌 *Akkermansia muciniphila* 减少(Mueller *et al.* 2019)。

真菌与细菌通过物理接触或分泌物直接相互作用,保护肠道免受病原菌的侵染,维持肠道微生态的稳态(Iliev & Leonardi 2017)。肠道共生真菌能够抵御多种肠道病原细菌的侵染。例如布拉氏酵母 *Saccharomyces boulardii* 所分泌的一种蛋白酶可降解艰难梭菌 *Clostridium difficile* 产生的毒素 A 和毒素 B,抵御艰难梭菌的侵染(Castagliuolo *et al.* 1996, 1999);布拉氏酵母还可识别霍乱毒素并激活环磷酸腺苷信号通路,使肠道免受霍乱弧菌 *Vibrio cholerae* 的侵染(Brandao *et al.* 1998);布拉氏酵母细胞壁的甘露糖能够与大肠杆菌 *Escherichia coli* 和鼠伤寒沙门氏菌 *Salmonella typhimurium* 相结合,阻止它们黏附到肠道上皮细胞上并随粪便排出体外(Tiago *et al.* 2012)。肠道共生细菌也可以抵御病原真菌侵染肠道。病原真菌白色念珠菌 *Candida albicans* 具有双相性(dimorphism),正常情况下呈酵母相与宿主共生不引发疾病,但当其由酵母相转为侵入性菌丝相后,会大量繁殖引起宿主感染。嗜酸乳杆菌 *Lactobacillus acidophilus*、罗伊氏乳杆菌 *Lactobacillus reuteri*、干酪乳杆菌 *Lactobacillus casei* 和动物双歧杆菌 *Bifidobacterium animalis* 这 4 种益生菌可减轻免疫缺陷小鼠和无菌小鼠肠道内白色念珠菌的定殖和感染程度

(Wagner *et al.* 1997);鼠李糖乳杆菌 *Lactobacillus rhamnosus* 产生的一种胞外多糖可抑制白色念珠菌菌丝的形成并且阻断其侵入肠道上皮细胞(Allonsius *et al.* 2017);鼠李糖乳杆菌分泌的另一种小分子 1-乙酰基- β -吡喃(1-ABC)也可阻断白色念珠菌向菌丝相转变(MacAlpine *et al.* 2021)。肠道共生真菌与细菌间的相互作用大多发生在黏膜免疫系统调节的环境中,对肠道微生态稳态的维持起到至关重要的作用,但是更明确的作用机制还需进一步探究。

2.2 真菌与宿主免疫系统的相互作用

在健康状态下,肠道共生真菌与宿主之间是互惠或偏利共生的关系,肠道粘膜免疫系统可以允许真菌的存在,但当真菌菌群失调或病原真菌侵染时免疫系统会启动保护机制调控肠道微生态稳态。中性粒细胞、CCR2⁺Ly6C⁺单核细胞、CX3CR1⁺单核吞噬细胞、CD11b⁺CD103⁺树突细胞和自然杀伤细胞等免疫细胞组成了消灭病原真菌的第一道防线,被称为先天性免疫。免疫细胞可直接识别、吞噬和杀伤病原真菌,这种识别依赖于免疫细胞的模式识别受体,主要包括 Toll 样受体(Toll-like receptors)、C 型凝集素受体(C-type lectin receptors)和 NOD 样受体(NOD-like receptors),它们可识别不同的真菌分子,包括细胞壁上的甘露糖或甘露糖蛋白(TLR2、TLR4、Dectin-2、Mincle 和 DC-SIGN)、 β -葡聚糖(TLR2、Dectin-1 和 NKp30)以及未甲基化的 DNA (TLR9) (Conti *et al.* 2009; Puel *et al.* 2010; Gessner *et al.* 2012; Jhingran *et al.* 2015; Kashem *et al.* 2015; Speakman *et al.* 2020)。宿主的免疫系统还可以被细菌菌群激活,杀伤病原真菌。研究发现,小鼠肠道中含量丰富的多形拟杆菌 *Bacteroides thetaiotaomicron* 产生可激活宿主先天性免疫的转录因子和抗菌肽,能够抑制白色念珠菌在肠道中定殖(Fan *et al.* 2015)。

免疫系统能够识别并杀死病原真菌,同时

病原真菌也不断塑造和完善宿主的免疫系统。病原真菌入侵肠道后, 宿主便产生对特定真菌的获得性免疫, 抵抗病原真菌的第二次入侵。例如巨噬细胞和单核细胞对真菌细胞壁 β -葡聚糖等分子有记忆功能, 提升了宿主对病原真菌的免疫力(Cheng 2014; Saeed *et al.* 2014; Rizzetto *et al.* 2016); Th17 免疫细胞可在白色念珠菌和马拉色菌再次侵染时大量扩增, 从而杀死该类病原菌(Leonardi *et al.* 2018)。

肠道真菌还会影响除肠道外免疫器官的形成和免疫反应。二级淋巴器官是免疫细胞增殖的场所以及免疫应答的重要部位, 构成了机体的第二道免疫防线。在生命早期, 肠道内发挥抗原呈递作用的 $CD45^+CD103^+RALDH^+$ 树突状细胞响应白色念珠菌的刺激, 向外周淋巴结迁移, 进而促进外周淋巴结的发育和淋巴细胞的归巢(Zhang *et al.* 2016)。肠道真菌还可影响肺部免疫反应, 结肠炎模型小鼠服用抗真菌药物后, 真菌菌群的失调不仅加重了慢性结肠炎症状, 还引发气道过敏性炎症(Wheeler *et al.* 2016)。

3 肠道真菌菌群的失调与疾病

尽管肠道内共生真菌能够维持肠道微生态稳态, 但在宿主免疫力下降时, 某些条件致病真菌的过度增殖或外来病原真菌的感染, 会导致宿主肠道真菌菌群严重失调, 这不仅会引发或加重肠道疾病, 还会诱导产生肠道以外器官的疾病(Huffnagle & Noverr 2013; Fiers *et al.* 2019)。

3.1 炎症性肠病

研究表明肠道真菌菌群失调与炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)密切相关。条件致病真菌念珠菌属会在 IBD 发病期间快速繁殖, IBD 儿童患者粪便中真菌多样性低, 但念珠菌属的数量却是健康儿童的两倍, 约占粪便真菌总数的 72.9% (Chehoud *et al.* 2015)。马拉色菌属是肠道内另一类常见的条件致病真菌,

会导致 DSS 诱导的小鼠结肠炎炎症程度的加重(Lam *et al.* 2019)。克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是两种典型的炎症性肠病(Moyes & Naglik 2012), 研究发现 CD 患者的肠道粘膜和粪便中念珠菌属和马拉色菌属的丰度增加, 而 UC 患者粪便中的真菌多样性降低(Lam *et al.* 2019)。此外, 有研究表明 CD 患者肠道环境更适宜真菌的定殖, 真菌多样性/细菌多样性比值显著增加, (Kumamoto 2016; Wheeler *et al.* 2016; Sokol *et al.* 2017)。肠道真菌失调会加重疾病发展程度, 因此调节真菌菌群是 IBD 的一种潜在治疗途径, 主要是补充扣囊复膜酵母 *Saccharomycopsis fibuligera* (Iliev *et al.* 2012)、布拉氏酵母(Guslandi *et al.* 2003; Dalmasso *et al.* 2006)和酿酒酵母(Sivignon *et al.* 2015)等益生真菌以抵抗白色念珠菌或荚膜组织胞浆菌 *Histoplasma capsulatum* 的感染。

3.2 肝脏疾病

肝脏是人体最大的排毒和代谢器官, 与肠道通过门静脉连接, 和肠道内微生物存在一种双向作用关系, 影响代谢、免疫和内分泌等过程, 这种互作关系被称为“肠-肝轴”(Schnabl & Brenner 2014; Amornphimoltham *et al.* 2019)。肠道真菌会通过“肠-肝轴”参与肝病的发生发展过程(Li *et al.* 2019), 例如真菌菌群的失调会加重脂肪性肝炎(Iliev & Leonardi 2017)、酒精性肝炎(Yang *et al.* 2017)及肝硬化(Wang *et al.* 2019b)。一项酒精性肝炎的研究发现, 过度饮酒会引起肠道真菌菌群严重失调, 腐质霉属 *Humicola*、镰刀菌属和曲霉属丰度升高, 宿主死亡率增加(Yang *et al.* 2017)。与健康人群和病毒性肝硬化患者相比, 酒精性肝硬化患者的酿酒酵母甘露聚糖(ASCA)浓度明显增高, 并与死亡率高度相关(Yang *et al.* 2017)。长期喂养乙醇可促进小鼠肠道真菌的增殖并加剧真菌细胞产物如 β -葡聚糖向体循环转运, 肝脏中的 Kupffer

巨噬细胞识别 β -葡聚糖后促进 IL-1 β 的分泌, 导致肝细胞的损伤和肝炎的发生, 用抗真菌药物抑制肠道真菌的过度增殖和 β -葡聚糖的转运, 可改善乙醇诱导的肝病(Richard & Sokol 2019)。以上研究表明肠道真菌菌群失调促进了酒精性肝病的发展, 同时, 肠道真菌也可成为该类疾病的治疗靶点。

3.3 癌症

肠道真菌失调可能是引发结肠炎相关癌症的危险因素之一(Brennan & Garrett 2016)。Card9^{-/-}模型小鼠的结肠炎发展成结肠癌的概率高于野生型小鼠, 这是由于Card9^{-/-}小鼠的巨噬细胞无法正常识别真菌表面受体而激活获得性免疫应答, 导致杀伤真菌的能力受损, 肠道真菌组成发生变化, 其中热带念珠菌 *Candida tropicalis* 的富集导致肿瘤组织中髓系抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) 积累, 抑制了免疫细胞 CD8⁺ T 和 CD4⁺ T 的活性, 促进了结肠癌的发展。用抗真菌药物氟康唑处理可减少 MDSCs 的积累, 进而抑制结肠癌的发生(Wang *et al.* 2018)。近期一项研究对1 329人(454个结肠癌患者, 350个结肠腺瘤患者和525个健康人)的粪便宏基因组数据进行荟萃分析, 发现结肠癌和结肠腺瘤患者的肠道真菌组成发生了变化, *Aspergillus rambellii* 等6种真菌丰度增加, 而 *Aspergillus kawachii* 丰度降低, 该研究为结肠癌的诊断提供了新的思路, 或许可通过检测患者粪便真菌菌群的组成对疾病发展过程做出判断(Lin *et al.* 2022); 此外, 近期也有研究表明肠道真菌失调会驱动除结肠癌外其他癌症的发展, 比如胰腺癌(Aykut *et al.* 2019; Alam *et al.* 2022)和口腔癌(Vadovics *et al.* 2022)。

4 基于肠道真菌的治疗方法

4.1 益生真菌和真菌益生元

真菌菌群作为健康肠道菌群的一部分, 失

调时会促进疾病的发生, 因此补充益生真菌可以预防或治疗疾病。布拉氏酵母菌是目前应用最广泛的一种益生真菌, 补充布拉氏酵母菌能够提高肠道粘膜内免疫球蛋白 A (IgA) 的含量, 增强免疫力; 布拉氏酵母菌可以调节肠道微生物组成, 抑制肠道运动, 改善肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的腹泻症状(Gu *et al.* 2022); 布拉氏酵母菌还可以抵御某些肠道病原细菌的侵染, 如肠出血性大肠杆菌 enterohemorrhagic *Escherichia coli*、艰难梭菌、霍乱弧菌 *Vibrio cholera* 和幽门螺杆菌 *Helicobacter pylori* (Qamar *et al.* 2001; Kelesidis & Pothoulakis 2012)。

真菌益生元也可以调节肠道菌群, 治疗疾病。酿酒酵母细胞壁的主要成分 β -葡聚糖被证实具有益生作用, 能够激活或招募中性粒细胞到肿瘤组织中杀死肿瘤细胞, 具有预防癌症(Saber *et al.* 2017)和增强免疫力(Volman *et al.* 2008)的作用。甘露聚糖作为真菌细胞壁的另一成分也可以起到益生效果, 在共生细菌失调的小鼠肠道中, 单一定殖白色念珠菌或酿酒酵母可降低小鼠的疾病易感性, 维护局部和全身免疫系统的功能, 这是因为真菌细胞壁上的甘露聚糖可对肠道进行刺激, 在功能上替代肠道有益细菌对黏膜屏障的保护作用(Jiang *et al.* 2017)。多种食药真菌活性物质具有益生作用, 如灵芝多糖和冬虫夏草多糖可改善小鼠的肠道菌群和肠道屏障完整性, 缓解肥胖和代谢紊乱(Wang *et al.* 2019a; Wu *et al.* 2019)。

4.2 工程菌

利用合成生物学技术对益生菌的基因组进行重新设计和改造, 使其能够识别疾病相关信号并表达靶向性的治疗产物。由于细菌在肠道中占比高且有成熟系统的遗传操作体系, 应用工程化细菌治疗疾病一直是研究的热点。此外, 构建工程真菌尤其是工程酵母用于疾病治疗同样是可行的。工程化改造布拉氏酵母基因

组使其分泌一种由 4 个特异性重链组成的融合抗体 ABAB, 可有效中和艰难梭菌毒素, 抵抗艰难梭菌的感染(Chen *et al.* 2020)。以酿酒酵母为底盘细胞构建的工程菌能够表达人类嘌呤能受体 P2Y2, 高效识别肠道内促炎因子胞外腺苷三磷酸(extracellular adenosine triphosphate, eATP)并分泌 ATP 降解酶对其进行分解, 可用于治疗 IBD 和其他炎症疾病(Scott *et al.* 2021)。对酿酒酵母进行改造使其能够直接利用葡萄糖产生具有免疫激活功能的代谢产物乳酸, 抑制巨噬细胞的凋亡, 调节肠道菌群, 从而改善 DSS 诱导的小鼠结肠炎, 为溃疡性结肠炎提供了一种有效且安全的治疗策略(Sun *et al.* 2021)。尽管工程真菌的研究尚处于初步阶段, 但是在疾病治疗和预防等方面已经展现出巨大的潜力。

4.3 粪菌移植

粪菌移植(fecal microbiome transplantation)是一种创新的治疗方法, 通过将健康个体的粪便微生物移植到患者肠道内, 治疗肠道菌群失调相关疾病。肠道真菌菌群是肠道微生物中具有高度免疫活性的组成部分, 极大地影响治疗效果(Li *et al.* 2019)。近期一项研究表明粪菌移植可有效治疗艰难梭菌感染, 但供体粪便中肠道真菌的组成会影响受体治疗的效果, 比如高丰度的念珠菌属会降低治疗效果(Zuo *et al.* 2018)。粪菌移植也会影响患者肠道真菌菌群的组成, 患者接受粪菌移植治疗前肠道内念珠菌属丰度高, 成功治疗后念珠菌属丰度降低(Leonardi *et al.* 2020)。因此, 分析供体肠道真菌组成可为筛选供体提供重要的参考, 并且检测患者肠道真菌组成可预测粪菌移植的治疗效果。

5 鉴定分析肠道真菌的方法

目前, 检测肠道真菌或真菌基因组的方法主要分为依赖培养的方法和不依赖培养的方法, 其中不依赖培养的方法包括扩增子测序以

及宏基因组测序等高通量测序技术、荧光原位杂交法、免疫荧光法和流式细胞术等技术(Santus *et al.* 2021)。

5.1 依赖培养的方法

传统上, 依赖培养的方法通常被用来进行肠道真菌的分离, 尽管高通量测序等新技术可以帮助我们高效地鉴定真菌, 但是依赖培养的方法可以更直观地展示真菌本身的形态、代谢产物类型及其功能特征等信息, 并且对分离得到的真菌菌株可进行进一步的体内实验。但该方法的缺陷是: (1) 培养条件不确定, 许多物种无法被分离培养。例如, 马拉色菌属在缺乏脂肪酸的培养基上无法生长(Gaitanis *et al.* 2012); 一些反刍动物胃中的真菌需要严格的厌氧环境和特定培养添加物, 如小麦秸秆等(Griffith *et al.* 2009); 肠道中细菌数量远高于真菌, 分离真菌时通常添加抗生素, 然而丰度低真菌可能就无法恢复并分离出来(Scanlan & Marchesi 2008; Hamad *et al.* 2017); (2) 培养耗时, 不适合高通量分析; (3) 形态相似的菌株即使通过显微镜观察也难以区别菌的种或属。

5.2 不依赖培养的方法

近十年来, 高通量测序技术迅速发展, 为肠道真菌的鉴定提供了一种高效的技术手段。目前, 高通量测序检测真菌的方法主要包括扩增子测序和宏基因组测序。其中, 扩增子测序使用真菌特异性引物对 rRNA 基因的 ITS 或 18S 区域进行扩增(Schoch *et al.* 2012; Yang *et al.* 2018; Frau *et al.* 2019), 类似于检测细菌的 16S 区域。这种方法的优点是有效地检测肠道中大部分真菌, 并且只需要对特定的 PCR 产物进行测序, 大大减少了测序数据量和生物信息学分析的难度, 但其扩增偏倚性的缺点可能会遗漏一些真菌的信息(Tang *et al.* 2015), 并且无法对全部真菌进行鉴定。宏基因组技术的出现为真菌检测打开了一扇新世界的大门, 它完美

地弥补了扩增子测序的缺点,不需要进行扩增就可得到样品中数百种物种的基因组信息。尽管宏基因组是一种非常强大的工具,它也有一些缺陷需要进一步解决:(1) 成本高,价格要比扩增子测序昂贵得多;(2) 所需的测序深度高,粪便样本中细菌的数量远高于真菌的数量,需要较高的测序深度以免被细菌或宿主的基因组所掩盖(Richard & Sokol 2019);(3) 生物信息分析难度高,且缺乏足够的参考基因组信息(Qin *et al.* 2010)。例如,2018年的一项关于对公开数据进行宏基因组的分析结果显示,在70个宏基因组公共数据集的39个中只鉴定出71种真菌(Donovan *et al.* 2018);此外,2015年一项关于克罗恩病儿童患者粪便的宏基因组研究,只能鉴定出5种真菌(Lewis *et al.* 2017)。

可视化观测是一类更直观的检测方法,通过对含有内容物的肠组织进行固定切片,利用真菌特异性抗体和荧光探针分别进行免疫荧光染色和荧光原位杂交,再利用共聚焦荧光显微镜观测真菌在肠道内的空间位置(Iliev *et al.* 2012; Bohm *et al.* 2017)。这类技术的优点是可提供真菌的可视化空间信息,可作为依赖培养的方法和高通量测序等方法的有效补充,但该类技术也易受到所用抗体或探针特异性的限制(Santus *et al.* 2021)。总体来说,尽管各类技术层出不穷,但扩增子测序还是肠道真菌菌群分析的首选方法。

6 肠道真菌研究的展望

肠道真菌菌群的研究是一个迅速发展的科学领域,但目前仍面临许多挑战,有许多问题仍未得到解答。近年来越来越多的研究关注于肠道真菌调节宿主的免疫系统,但主要集中于真菌感染或失调时的病理状态。事实上,健康的肠道内存在着各种各样的真菌,它们可与宿主一生共存,尽管某些条件致病真菌会导致易

感个体发生疾病,但大多数真菌-宿主之间相互作用是无致病性的(Iliev & Leonardi 2017)。所以在将来的研究中,应揭示如下2个问题:健康状态下肠道共生真菌如何介导宿主的免疫应答?肠道真菌与肠道细菌之间如何实现协同互作维持肠道微生态稳态?

肠道真菌发挥着重要的作用,这是一个不争的事实,但目前的许多研究依赖于技术的发展。关于其在疾病中的研究大多数是通过高通量测序的手段检测疾病发生过程中菌群组成的变化,但究竟是哪种真菌发挥了核心作用,产生的何种代谢物质或信号分子发挥作用的深层机制亟需解答,所以未来对肠道真菌的分析建议结合高通量测序中宏转录组、宏基因组和宏代谢组学联合分析,探究“真菌-代谢产物-宿主免疫系统”的作用途径;扩增子测序或宏基因组测序都无法区别肠道内长期定殖和短暂停留的真菌,由于真菌主要通过和宿主粘膜作用调节免疫反应,所以未来应考虑采集和分析肠道粘膜上真菌的组成变化。此外,益生菌治疗的安全问题还有待商榷,比如,布拉氏酵母真菌血症是食用益生真菌布拉氏酵母菌的一种并发症,这是一种难以治疗的感染疾病,引发较高的死亡率,目前尚无有效的治疗方法(Munoz *et al.* 2005)。

肠道真菌与疾病之间存在密切的关系,真菌菌群的失调加剧了炎症性肠炎、结肠癌甚至是肠道外疾病的发生。因此,患者的肠道真菌组成或真菌代谢产物可作为临床上预测疾病状态的标志物,甚至是判断预后的重要指标。未来可建立肠道真菌相关疾病的患者在不同疾病发展时期的粪便数据库,包括扩增子、代谢组和宏基因组等数据,作为临床诊断和疾病治疗的辅助手段。

[REFERENCES]

Alam A, Levanduski E, Denz P, *et al.* (more than 20 authors), 2022. Fungal mycobiome drives IL-33 secretion and type

- 2 immunity in pancreatic cancer. *Cancer Cell*, 40: 153-167 e111
- Allonsius CN, van den Broek MFL, de Boeck I, Kiekens S, Oerlemans EFM, Kiekens F, Foubert K, Vandenheuvel D, Cos P, Delputte P, Lebeer S, 2017. Interplay between *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Candida* and the involvement of exopolysaccharides. *Microbial Biotechnology*, 10: 1753-1763
- Amornphimoltham P, Yuen PST, Star RA, Leelahavanichkul A, 2019. Gut leakage of fungal-derived inflammatory mediators: part of a gut-liver-kidney axis in bacterial sepsis. *Digestive Diseases and Sciences*, 64: 2416-2428
- Arumugam M, Raes J, Pelletier E, *et al.* (more than 20 authors), 2011. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473: 174-180
- Aykut B, Pushalkar S, Chen R, *et al.* (more than 20 authors), 2019. The fungal mycobiome promotes pancreatic oncogenesis via activation of MBL. *Nature*, 574: 264-267
- Belkaid Y, Harrison OJ, 2017. Homeostatic immunity and the microbiota. *Immunity*, 46: 562-576
- Bohm L, Torsin S, Tint SH, Eckstein MT, Ludwig T, Perez JC, 2017. The yeast form of the fungus *Candida albicans* promotes persistence in the gut of gnotobiotic mice. *PLoS Pathogens*, 13: e1006699
- Brandao RL, Castro IM, Bambirra EA, Amaral SC, Fietto LG, Tropia MJ, Neves MJ, Dos Santos RG, Gomes NC, Nicoli JR, 1998. Intracellular signal triggered by cholera toxin in *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 564-568
- Brennan CA, Garrett WS, 2016. Gut microbiota, inflammation, and colorectal cancer. *Annual Review of Microbiology*, 70: 395-411
- Castagliuolo I, LaMont JT, Nikulasson ST, Pothoulakis C, 1996. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A effects in the rat ileum. *Infection and Immunity*, 64: 5225-5232
- Castagliuolo I, Riegler MF, Valenick L, LaMont JT, Pothoulakis C, 1999. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. *Infection and Immunity*, 67: 302-307
- Chehoud C, Albenberg LG, Judge C, Hoffmann C, Grunberg S, Bittinger K, Baldassano RN, Lewis JD, Bushman FD, Wu GD, 2015. Fungal signature in the gut microbiota of pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21: 1948-1956
- Chen K, Zhu Y, Zhang Y, Hamza T, Yu H, Saint FA, Galen J, Yang Z, Feng H, 2020. A probiotic yeast-based immunotherapy against *Clostridioides difficile* infection. *Science Translational Medicine*, 12: eaax4905
- Cheng SC, 2014. mTOR- and HIF-1 alpha-mediated aerobic glycolysis as metabolic basis for trained immunity. *Science*, 346: 821
- Conti HR, Shen F, Nayyar N, Stocum E, Sun JN, Lindemann MJ, Ho AW, Hai JH, Yu JJ, Jung JW, Filler SG, Masso-Welch P, Edgerton M, Gaffen SL, 2009. Th17 cells and IL-17 receptor signaling are essential for mucosal host defense against oral candidiasis. *Journal of Experimental Medicine*, 206: 299-311
- Dalmasso G, Cottrez F, Imbert V, Lagadec P, Peyron JF, Rampal P, Czerucka D, Groux H, 2006. *Saccharomyces boulardii* inhibits inflammatory bowel disease by trapping T cells in mesenteric lymph nodes. *Gastroenterology*, 131: 1812-1825
- David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, Ling AV, Devlin AS, Varma Y, Fischbach MA, Biddinger SB, Dutton RJ, Turnbaugh PJ, 2014. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505: 559-563
- Dollive S, Chen YY, Grunberg S, Bittinger K, Hoffmann C, Vandivier L, Cuff C, Lewis JD, Wu GD, Bushman FD, 2013. Fungi of the murine gut: episodic variation and proliferation during antibiotic treatment. *PLoS One*, 8: e71806
- Donovan PD, Gonzalez G, Higgins DG, Butler G, Ito K, 2018. Identification of fungi in shotgun metagenomics datasets. *PLoS One*, 13: e0192898
- Fan D, Coughlin LA, Neubauer MM, Kim J, Kim MS, Zhan X, Simms-Waldrup TR, Xie Y, Hooper LV, Koh AY, 2015. Activation of HIF-1alpha and LL-37 by commensal bacteria inhibits *Candida albicans* colonization. *Nature Medicine*, 21: 808-814
- Fiers WD, Gao IH, Iliev ID, 2019. Gut mycobiota under scrutiny: fungal symbionts or environmental transients? *Current Opinion in Microbiology*, 50: 79-86
- Findley K, Oh J, Yang J, Conlan S, Deming C, Meyer JA, Schoenfeld D, Nomicos E, Park M, Program NIHISCCS, Kong HH, Segre JA, 2013. Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. *Nature*, 498: 367-370
- Frau A, Kenny JG, Lenzi L, Campbell BJ, Ijaz UZ, Duckworth CA, Burkitt MD, Hall N, Anson J, Darby AC, Probert CSJ, 2019. DNA extraction and amplicon production strategies deeply influence the outcome of gut mycobiome studies. *Scientific Reports*, 9: 1-17
- Gaitanis G, Magiatis P, Hantschke M, Bassukas ID, Velegraki A, 2012. The *Malassezia* genus in skin and systemic diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 25: 106-141
- Gessner MA, Werner JL, Lilly LM, Nelson MP, Metz AE,

- Dunaway CW, Chan YR, Ouyang W, Brown GD, Weaver CT, Steele C, 2012. Dectin-1-dependent interleukin-22 contributes to early innate lung defense against *Aspergillus fumigatus*. *Infection and Immunity*, 80: 410-417
- Griffith GW, Ozkose E, Theodorou MK, Davies DR, 2009. Diversity of anaerobic fungal populations in cattle revealed by selective enrichment culture using different carbon sources. *Fungal Ecology*, 2: 87-97
- Gu Y, Wang C, Qin XL, Zhou BQ, Liu X, Liu TY, Xie RX, Liu JH, Wang BM, Cao HL, 2022. *Saccharomyces boulardii*, a yeast probiotic, inhibits gut motility through upregulating intestinal serotonin transporter and modulating gut microbiota. *Pharmacological Research*, 181: 106291
- Guslandi M, Giollo P, Testoni PA, 2003. A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 15: 697-698
- Hallen-Adams HE, Kachman SD, Kim J, Legge RM, Martinez I, 2015. Fungi inhabiting the healthy human gastrointestinal tract: a diverse and dynamic community. *Fungal Ecology*, 15: 9-17
- Hallen-Adams HE, Suhr MJ, 2017. Fungi in the healthy human gastrointestinal tract. *Virulence*, 8: 352-358
- Hamad I, Ranque S, Azhar EI, Yasir M, Jiman-Fatani AA, Tissot-Dupont H, Raoult D, Bittar F, 2017. Culturomics and amplicon-based metagenomic approaches for the study of fungal population in human gut microbiota. *Scientific Reports*, 7: 1-8
- Hoffmann C, Dollive S, Grunberg S, Chen J, Li H, Wu GD, Lewis JD, Bushman FD, 2013. Archaea and fungi of the human gut microbiome: correlations with diet and bacterial residents. *PLoS One*, 8: e66019
- Huffnagle GB, Noverr MC, 2013. The emerging world of the fungal microbiome. *Trends in Microbiology*, 21: 334-341
- Iliev ID, Funari VA, Taylor KD, Nguyen Q, Reyes CN, Strom SP, Brown J, Becker CA, Fleshner PR, Dubinsky M, Rotter JI, Wang HLL, McGovern DPB, Brown GD, Underhill DM, 2012. Interactions between commensal fungi and the c-type lectin receptor Dectin-1 influence colitis. *Science*, 336: 1314-1317
- Iliev ID, Leonardi I, 2017. Fungal dysbiosis: immunity and interactions at mucosal barriers. *Nature Reviews Immunology*, 17: 635-646
- Jhingran A, Kasahara S, Shepardson KM, Junecko BAF, Heung LJ, Kumasaka DK, Knoblaugh SE, Lin X, Kazmierczak BI, Reinhart TA, Cramer RA, Hohl TM, 2015. Compartment-specific and sequential role of MyD88 and CARD9 in chemokine induction and innate defense during respiratory fungal infection. *PLoS Pathogens*, 11: e1004589
- Jiang TT, Shao TY, Ang WGX, Kinder JM, Turner LH, Pham G, Whitt J, Alenghat T, Way SS, 2017. Commensal fungi recapitulate the protective benefits of intestinal bacteria. *Cell Host & Microbe*, 22(6): 809-816
- Jones L, Kumar J, Mistry A, Sankar Chittoor Mana T, Perry G, Reddy VP, Obrenovich M, 2019. The transformative possibilities of the microbiota and mycobiota for health, disease, aging, and technological innovation. *Biomedicine*, 7(2): 24
- Kashem SW, Igyarto BZ, Gerami-Nejad M, Kumamoto Y, Mohammed J, Jarrett E, Drummond RA, Zurawski SM, Zurawski G, Berman J, Iwasaki A, Brown GD, Kaplan DH, 2015. *Candida albicans* morphology and dendritic cell subsets determine T helper cell differentiation. *Immunity*, 42: 356-366
- Kelesidis T, Pothoulakis C, 2012. Efficacy and safety of the probiotic *Saccharomyces boulardii* for the prevention and therapy of gastrointestinal disorders. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 5: 111-125
- Kumamoto CA, 2016. The fungal mycobiota: small numbers, large impacts. *Cell Host & Microbe*, 19: 750-751
- Lam S, Zuo T, Ho M, Chan FKL, Chan PKS, Ng SC, 2019. Review article: fungal alterations in inflammatory bowel diseases. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 50: 1159-1171
- Leonardi I, Li X, Semon A, Li D, Doron I, Putzel G, Bar A, Prieto D, Rescigno M, McGovern DPB, Pla J, Iliev ID, 2018. CX3CR1(+) mononuclear phagocytes control immunity to intestinal fungi. *Science*, 359: 232-236
- Leonardi I, Paramsothy S, Doron I, Semon A, Kaakoush NO, Clemente JC, Faith JJ, Borody TJ, Mitchell HM, Colombel JF, Kamm MA, Iliev ID, 2020. Fungal trans-kingdom dynamics linked to responsiveness to fecal microbiota transplantation (FMT) therapy in ulcerative colitis. *Cell Host & Microbe*, 27: 823-829 e823
- Lewis JD, Chen EZ, Baldassano RN, *et al.* (more than 20 authors), 2017. Inflammation, antibiotics, and diet as environmental stressors of the gut microbiome in pediatric crohn's disease. *Cell Host & Microbe*, 22: 246-246
- Li J, Chen D, Yu B, He J, Zheng P, Mao X, Yu J, Luo J, Tian G, Huang Z, Luo Y, 2018. Fungi in gastrointestinal tracts of human and mice: from community to functions. *Microbial Ecology*, 75: 821-829
- Li XV, Leonardi I, Iliev ID, 2019. Gut mycobiota in immunity and inflammatory disease. *Immunity*, 50: 1365-1379
- Lin Y, Lau HC, Liu Y, Kang X, Wang Y, Ting NL, Kwong TN, Han J, Liu W, Liu C, She J, Wong SH, Sung JJ, Yu J, 2022. Altered mycobiota signatures and enriched

- pathogenic *Aspergillus rambellii* are associated with colorectal cancer based on multicohort fecal metagenomic analyses. *Gastroenterology*, 163: 908-921
- MacAlpine J, Daniel-Ivad M, Liu Z, Yano J, Revie NM, Todd RT, Stogios PJ, Sanchez H, O'Meara TR, Tompkins TA, Savchenko A, Selmecki A, Veri AO, Andes DR, Fidel Jr PL, Robbins N, Nodwell J, Whitesell L, Cowen LE, 2021. A small molecule produced by *Lactobacillus* species blocks *Candida albicans* filamentation by inhibiting a DYRK1-family kinase. *Nature Communications*, 12: 1-16
- Moyes DL, Naglik JR, 2012. The mycobiome: influencing IBD severity. *Cell Host & Microbe*, 11: 551-552
- Mueller KD, Zhang H, Serrano CR, Billmyre RB, Huh EY, Wiemann P, Keller NP, Wang YF, Heitman J, Lee SC, 2019. Gastrointestinal microbiota alteration induced by *Mucor circinelloides* in a murine model. *Journal of Microbiology*, 57: 509-520
- Munoz P, Bouza E, Cuenca-Estrella M, Eiros JM, Perez MJ, Sanchez-Somolinos M, Rincon C, Hortal J, Pelaez T, 2005. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: an emerging infectious disease. *Clinical Infectious Diseases*, 40: 1625-1634
- Nash AK, Auchtung TA, Wong MC, Smith DP, Gesell JR, Ross MC, Stewart CJ, Metcalf GA, Muzny DM, Gibbs RA, Ajami NJ, Petrosino JF, 2017. The gut mycobiome of the Human Microbiome Project healthy cohort. *Microbiome*, 5: 1-13
- Puel A, Doffinger R, Natividad A, *et al.* (more than 20 authors), 2010. Autoantibodies against IL-17A, IL-17F, and IL-22 in patients with chronic mucocutaneous candidiasis and autoimmune polyendocrine syndrome type I. *Journal of Experimental Medicine*, 207: 291-297
- Qamar A, Aboudola S, Warny M, Michetti P, Pothoulakis C, LaMont JT, Kelly CP, 2001. *Saccharomyces boulardii* stimulates intestinal immunoglobulin A immune response to *Clostridium difficile* toxin A in mice. *Infection and Immunity*, 69: 2762-2765
- Qin J, Li R, Raes J, *et al.* (more than 20 authors), 2010. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464: 59-65
- Qiu XY, Zhang F, Yang X, Wu N, Jiang WW, Li X, Li XX, Liu YL, 2015. Changes in the composition of intestinal fungi and their role in mice with dextran sulfate sodium-induced colitis. *Scientific Reports*, 5: 1-12
- Richard ML, Sokol H, 2019. The gut mycobiota: insights into analysis, environmental interactions and role in gastrointestinal diseases. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 16: 331-345
- Rizzetto L, Ifrim DC, Moretti S, Tocci N, Cheng SC, Quintin J, Renga G, Oikonomou V, de Filippo C, Weil T, Blok BA, Lenucci MS, Santos MA, Romani L, Netea MG, Cavalieri D, 2016. Fungal chitin induces trained immunity in human monocytes during cross-talk of the host with *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biological Chemistry*, 291: 7961-7972
- Saber A, Alipour B, Faghfoori Z, Khosroushahi AY, 2017. Cellular and molecular effects of yeast probiotics on cancer. *Critical Reviews in Microbiology*, 43: 96-115
- Saeed S, Quintin J, Kerstens HH, *et al.* (more than 20 authors), 2014. Epigenetic programming of monocyte-to-macrophage differentiation and trained innate immunity. *Science*, 345: 1251086
- Santus W, Devlin JR, Behnsen J, 2021. Crossing kingdoms: how the mycobiota and fungal-bacterial interactions impact host health and disease. *Infection and Immunity*, 89: e00648-20
- Scanlan PD, Marchesi JR, 2008. Micro-eukaryotic diversity of the human distal gut microbiota: qualitative assessment using culture-dependent and -independent analysis of faeces. *The ISME Journal*, 2: 1183-1193
- Schei K, Avershina E, Oien T, Rudi K, Follestad T, Salamati S, Odegard RA, 2017. Early gut mycobiota and mother-offspring transfer. *Microbiome*, 5: 1-12
- Schnabl B, Brenner DA, 2014. Interactions between the intestinal microbiome and liver diseases. *Gastroenterology*, 146: 1513-1524
- Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, *et al.* (more than 20 authors), 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109: 6241-6246
- Scott BM, Gutierrez-Vazquez C, Sanmarco LM, da Silva Pereira JA, Li Z, Plasencia A, Hewson P, Cox LM, O'Brien M, Chen SK, Moraes-Vieira PM, Chang BSW, Peisajovich SG, Quintana FJ, 2021. Self-tunable engineered yeast probiotics for the treatment of inflammatory bowel disease. *Nature Medicine*, 27: 1212-1222
- Sivignon A, de Vallee A, Barnich N, Denizot J, Darcha C, Pignede G, Vandekerckove P, Darfeuille-Michaud A, 2015. *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3856 prevents colitis induced by AIEC bacteria in the transgenic mouse model mimicking Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21: 276-286
- Sokol H, Leducq V, Aschard H, Pham HP, Jegou S, Landman C, Cohen D, Liguori G, Bourrier A, Nion-Larmurier I, Cosnes J, Seksik P, Langella P, Skurnik D, Richard ML, Beaugerie L, 2017. Fungal microbiota dysbiosis in IBD. *Gut*, 66: 1039-1048

- Speakman EA, Dambuza IM, Salazar F, Brown GD, 2020. T cell antifungal immunity and the role of c-type lectin receptors. *Trends in Immunology*, 41: 61-76
- Suhr MJ, Banjara N, Hallen-Adams HE, 2016. Sequence-based methods for detecting and evaluating the human gut mycobiome. *Letters in Applied Microbiology*, 62: 209-215
- Suhr MJ, Hallen-Adams HE, 2015. The human gut mycobiome: pitfalls and potentials—a mycologist's perspective. *Mycologia*, 107: 1057-1073
- Sun S, Xu X, Liang L, Wang X, Bai X, Zhu L, He Q, Liang H, Xin X, Wang L, Lou C, Cao X, Chen X, Li B, Wang B, Zhao J, 2021. Lactic acid-producing probiotic *Saccharomyces cerevisiae* attenuates ulcerative colitis via suppressing macrophage pyroptosis and modulating gut microbiota. *Frontiers in Immunology*, 12: 777665
- Tang J, Iliev ID, Brown J, Underhill DM, Funari VA, 2015. Mycobiome: approaches to analysis of intestinal fungi. *Journal of Immunological Methods*, 421: 112-121
- Tiago FCP, Martins FS, Souza ELS, Pimenta PFP, Araujo HRC, Castro IM, Brandao RL, Nicoli JR, 2012. Adhesion to the yeast cell surface as a mechanism for trapping pathogenic bacteria by *Saccharomyces* probiotics. *Journal of Medical Microbiology*, 61: 1194-1207
- Underhill DM, Iliev LD, 2014. The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system. *Nature Reviews Immunology*, 14: 405-416
- Vadovics M, Ho J, Igaz N, *et al.* (more than 20 authors), 2022. *Candida albicans* enhances the progression of oral squamous cell carcinoma *in vitro* and *in vivo*. *mBio*, 13(1): e03144-21
- Volman JJ, Ramakers JD, Plat J, 2008. Dietary modulation of immune function by beta-glucans. *Physiology and Behavior*, 94: 276-284
- Wagner RD, Pierson C, Warner T, Dohnalek M, Farmer J, Roberts L, Hilty M, Balish E, 1997. Biotherapeutic effects of probiotic bacteria on candidiasis in immunodeficient mice. *Infection and Immunity*, 65: 4165-4172
- Wang K, Liao M, Zhou N, Bao L, Ma K, Zheng Z, Wang Y, Liu C, Wang W, Wang J, Liu SJ, Liu H, 2019a. *Parabacteroides distasonis* alleviates obesity and metabolic dysfunctions via production of succinate and secondary bile acids. *Cell Reports*, 26: 222-235, e225
- Wang TT, Fan CG, Yao AR, Xu XW, Zheng GX, You Y, Jiang CY, Zhao XQ, Hou YY, Hung MC, Lin X, 2018. The adaptor protein CARD9 protects against colon cancer by restricting mycobiota-mediated expansion of myeloid-derived suppressor cells. *Immunity*, 49: 504-514
- Wang WC, Zhai SS, Xia YY, Wang H, Ruan D, Zhou T, Zhu YW, Zhang HF, Zhang MH, Ye H, Ren WK, Yang L, 2019b. Ochratoxin A induces liver inflammation: involvement of intestinal microbiota. *Microbiome*, 7: 1-14
- Wheeler ML, Limon JJ, Bar AS, Leal CA, Gargus M, Tang J, Brown J, Funari VA, Wang HL, Crother TR, Arditì M, Underhill DM, Iliev ID, 2016. Immunological consequences of intestinal fungal dysbiosis. *Cell Host & Microbe*, 19: 865-873
- Willis KA, Purvis JH, Myers ED, Aziz MM, Karabayir I, Gomes CK, Peters BM, Akbilgic O, Talati AJ, Pierre JF, 2019. Fungi form interkingdom microbial communities in the primordial human gut that develop with gestational age. *FASEB Journal*, 33: 12825-12837
- Wu TR, Lin CS, Chang CJ, Lin TL, Martel J, Ko YF, Ojcius DM, Lu CC, Young JD, Lai HC, 2019. Gut commensal *Parabacteroides goldsteinii* plays a predominant role in the anti-obesity effects of polysaccharides isolated from *Hirsutella sinensis*. *Gut*, 68: 248-262
- Wu X, Xia Y, He F, Zhu C, Ren W, 2021. Intestinal mycobiota in health and diseases: from a disrupted equilibrium to clinical opportunities. *Microbiome*, 9: 1-18
- Yang AM, Inamine T, Hochrath K, *et al.* (more than 20 authors), 2017. Intestinal fungi contribute to development of alcoholic liver disease. *Journal of Clinical Investigation*, 127: 2829-2841
- Yang RH, Su JH, Shang JJ, Wu YY, Li Y, Bao DP, Yao YJ, 2018. Evaluation of the ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS), specifically ITS1 and ITS2, for the analysis of fungal diversity by deep sequencing. *PLoS One*, 13: e0206428
- Zhang ZD, Li JJ, Zheng WC, Zhao G, Zhang H, Wang XF, Guo YQ, Qin C, Shi Y, 2016. Peripheral lymphoid volume expansion and maintenance are controlled by gut microbiota via RALDH(+) dendritic cells. *Immunity*, 44: 330-342
- Zuo T, Wong SH, Cheung CP, Lam K, Lui R, Cheung K, Zhang F, Tang W, Ching JYL, Wu JCY, Chan PKS, Sung JJY, Yu J, Chan FKL, Ng SC, 2018. Gut fungal dysbiosis correlates with reduced efficacy of fecal microbiota transplantation in *Clostridium difficile* infection. *Nature Communications*, 9: 1-11