

doi:10.3969/j.issn.1673-6184.2024.04.002

· 论 著 ·

斑块状银屑病患者肠道真菌菌群多样性及结构的初步探讨

张双^{1,2}, 张燕¹, 吕丽璟¹, 王学良¹, 胡彩霞¹

1. 河北医科大学第四医院皮肤科, 河北 石家庄 050011; 2. 中国人民解放军联勤保障部队第九〇三医院烧伤整形科, 浙江 杭州 310000

摘要: 本文探讨了斑块状银屑病患者与健康人群肠道真菌菌群多样性和结构的差异。收集 2021 年 1 月—2021 年 12 月于河北医科大学第四医院皮肤科就诊的银屑病患者 (P 组) 及同期于河北医科大学第四医院皮肤科体检的健康对照者 (C 组) 的新鲜粪便标本。粪便经处理后采用内转录间隔区 (internal transcribed spacer, ITS) 测序方法在 Illumina NovaSeq PE250 平台测序, 使用 UPARSE 软件进行分析, 结果如下。Alpha 多样性分析结果显示, P 组真菌菌群丰度和多样性虽有小幅度升高, 但两组间无明显差异 ($P > 0.05$)。偏最小二乘法判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 结果显示, P 组与 C 组菌群结构存在显著差异。组间差异物种组成分析结果显示, 两组间丰度有显著差异的群落有 10 余种。P 组丰度较高的菌种为法夫酵母科 (Phaffomycetaceae)、鬼伞科 (Psathyrellaceae)、威克汉姆酵母菌属 (*Wickerhamomyces*)、金黄隐球酵母种 (*Papiliotrema flavescens*); C 组丰度较高的菌种为复膜孢酵母属 (*Saccharomycopsis*)、扣囊复膜孢酵母种 (*Saccharomycopsis fibuligera*)、*Cutaneotrichosporon cyanovorans*、毛孢子菌属 (*Cutaneotrichosporon*)、圆锥曲霉种 (*Aspergillus conicus*)、苏门答腊青霉种 (*Penicillium sumatraense*)、木拉科酵母种 (*Mrakia blollopis*)、丝孢毕赤氏酵母属 (*Hyphopichia*)、杜氏篮状菌种 (*Talaromyces duclauxii*)。与健康对照组相比, 斑块状银屑病患者组的肠道真菌菌群结构发生了显著变化。

关键词: 斑块状银屑病; 肠道真菌; 内转录间隔区; 测序; 菌群结构

中图分类号: R379

文献标识码: A

Diversity and composition analysis of intestinal fungal flora in plaque psoriatic patients

ZHANG Shuang^{1,2}, ZHANG Yan¹, LYU Lijing¹, WANG xueliang¹, HU Caixia¹

1. Department of Dermatology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China; 2. Department of Endocrinology, NO 903 Hospital of PLA Joint Logistic Support Force, Hangzhou 310013, Zhejiang Province, China

Abstract: This paper aimed to identify the differences in the diversity and composition of intestinal fungal flora between the plaque psoriatic patients and the healthy individuals. It obtained the fresh fecal samples from the psoriatic (P) patients and the healthy controls (C) during January 2021 to December 2021 in the dermatology clinic, the Fourth Hospital of Hebei Medical University. Fecal samples were processed and internal transcribed spacer (ITS) was sequenced using the Illumina NovaSeq PE250 platform by UPARSE

基金项目: 河北省省级科技计划资助 (2137798D)

通信作者: 张燕

Correspondence to: ZHANG Yan E-mail: 1120582978@qq.com

software. Results showed that although a slight elevation was found in the richness and diversity of the intestinal fungi for the psoriasis group, there was no statistical difference between the two groups by the alpha diversity analysis ($P > 0.05$). A significant separation was detected between P and C groups with the partial least squares discriminant analysis (PLS-DA). The species diversity analysis showed that there were more than 10 species with significant different abundance between two groups. Phaffomycetaceae, Psathyrellaceae, *Wickerhamomyces*, *Papiliotrema _flavescens* in group P, and *Saccharomycopsis*, *Saccharomycopsis fibuliger*, *Cutaneotrichosporon _cyanovorans*, *Cutaneotrichosporon*, *Aspergillus _conicus*, *Penicillium sumatraense*, *Mrakia blollopis*, *Hyphopichia*, *Talaromyces _duclauxii* in the group C, were found with higher abundance, respectively. The composition of intestinal fungal flora in the plaque psoriatic patients is significantly different compared with the healthy controls.

Keywords: Plaque psoriasis; Intestinal fungi; ITS; Sequencing; Flora composition

银屑病是一种多种因素参与的慢性炎症性皮肤病。流行病学调查结果显示,银屑病的发病率在全球各地呈逐年上升的趋势^[1]。近年来有研究显示,肠道菌群多样性及结构的改变可能参与了银屑病的发生及发展^[2-3]。目前,研究多仅限于使用 16S rRNA 测序技术对肠道中的细菌组成进行检测,鲜见针对银屑病患者肠道真菌多样性及结构的研究。内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)基因测序技术是对真菌的 ITS 序列进行 DNA 测序,并通过与已知真菌的 ITS 序列对比,得到样本中真菌种属信息的一种新型测序技术。本研究采用 ITS 基因测序技术,对斑块状银屑病患者及健康人群肠道真菌菌群的多样性及丰度进行分析,并对比两组人群之间菌群结构的差异,以探索银屑病发病与肠道真菌之间的关系。

1 材料和方法

1.1 筛选样本和分组

收集 2021 年 1 月—2021 年 12 月就诊于河北医科大学第四医院皮肤科并被明确诊断为斑块状银屑病患者基本资料,并分析其新鲜粪便。根据年龄和性别匹配原则,选取同期于河北医科大学第四医院皮肤科进行健康体检的健康者作为对照组。

根据纳排标准,本研究共纳入 20 例斑块状银屑病患者(银屑病组, P 组)和 10 例健康者(健康对照组, C 组)。纳入标准:①同意参与本研究,可以正常交流,配合完成标本收集工作;②年龄在 13~69 岁间;③PASI \geq 3 分;④河北省常住人口。排除标准:①胃肠道疾病或胃肠道手术史;②恶性肿瘤病史;③体股癣等真菌性疾病感染史;④近 3 个月内应用过抗菌及真菌类药物、类固醇类药物、益生菌等可能影响肠道菌群的制剂;⑤腹泻、便秘、痔疮等影响粪

便形态及清洁度的因素;⑥特定饮食习惯者;⑦产褥期、哺乳期及妊娠期患者。本研究通过河北医科大学第四医院伦理委员会批准,所有研究对象均阅读并签署了知情同意书。

1.2 标本收集

用一次性无菌粪便采集杯收集所有研究对象的新鲜粪便,留样后 30 min 内取至少 2 g 样本,分别分装到 2 mL 无菌冻存管中,每人留取 2 份样本,标注患者基本信息、粪便编号、留样日期,置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存备用。

1.3 粪便样本 DNA 提取和聚合酶链式反应扩增

根据制造商说明书使用 DNA 提取试剂盒(DNeasy[®] PowerSoil[®] Pro Kit, 美国 Qiagen)提取粪便样本 DNA,并采用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性,样本于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存备用。

使用无菌水将 DNA 样本稀释,根据 ITS1F-ITS2R 测序区域,选取相应的特异性引物序列进行扩增: ITS1F: CTTGGTCATTTAGAGGAAG-TAA; ITS2R: GCTGCGTTCTTCATCGATGC。采用 TransGen AP221-02: TransStart Fastpfu DNA Polymerase, 20 μL 反应体系进行聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增;反应条件为 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 初始变性 3 min, $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, $53\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s 共 30 个循环,最后 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min;扩增结束后使用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,并使用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit 对 PCR 产物进行纯化;最后使用 Quantus[™] Fluorometer 对 PCR 产物进行定量检测。

1.4 ITS 测序

利用 Illumina 公司(美国)的 NovaSeq PE250 平台进行测序。将 DNA 片段一端与引物碱基互

补,另一端与附近随机引物互补;将 PCR 扩增后的 DNA 扩增子线性化为单链后,加入带有荧光标记的 dNTP,每次循环只合成一个碱基;用激光扫描反应板表面,读取聚合的核苷酸种类;将“荧光基团”和“终止基团”进行化学切割,恢复 3'端黏性后继续聚合下一个核苷酸;重复上述操作,直至所有碱基合成并检测完毕,统计最终收集到的荧光信号结果,获取模板 DNA 片段序列。

1.5 信息处理

使用 fastp 软件对 Illumina NovaSeq 测序得到的原始双端序列数据进行质控,使用 FLASH 软件进行拼接得到最终的有效数据。

1.6 统计学处理

一般资料采用 t 检验和卡方检验来评价数据差异的显著性, $P < 0.05$ 代表差异具有统计学意义。

表 1 受试者基本信息

Tab. 1 Basic information about the subject

	P 组 ($n = 17$)	C 组 ($n = 7$)	P 值
年龄(岁)	33.37 ± 7.53	33.12 ± 8.61	$P > 0.05$
性别			
男	7	4	$P > 0.05$
女	10	3	
BMI(kg/m ²)	23.20 ± 1.55	22.91 ± 2.15	$P > 0.05$

2.2 测序质量控制

从样本中随机抽取一定数量的数据,统计其所代表的物种,并绘制稀释曲线(rarefaction curve),用来反映样本的测序数据量是否合理。当曲线趋于平坦时,则说明测序数据量合理。在遗传学研究中,便于进行分析,人为对菌种数目信息进行归类操作,并将序列按照彼此的相似性分归为多个小组,一个小组就是一个分类操作单元(operational taxonomic unit, OTU)。本文以 OTU 数量为稀释曲线纵坐标,以测序的碱基数为横坐标。通过稀释曲线可以发现除 P8 之外,其余各样本在 10 000 碱基时曲线趋于平缓,说明增加测序数据量不会增加更多的 OTU,测序深度足够,后续分析合理(见图 1)。

2.3 OTU 分析

本文利用 Venn 图更直观地展现出 P 组和 C 组共有和独有的 OTU 数目。结果显示,24 个样本共有 570 个 OTU, P 组特有 323 个 OTU, C 组特有 80 个 OTU, 两组相同的 OTU 共 167 个(见图 2A)。

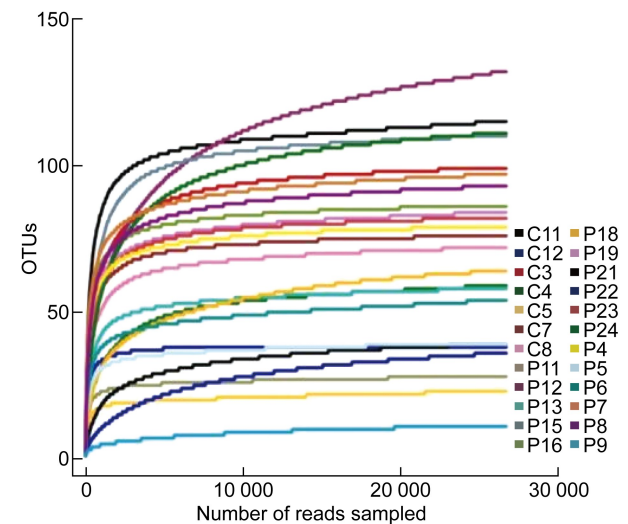
同时收集每个样本中 OTU 的丰度信息,对其在门、纲、目、科、属、种各分类水平上进行分析,生成

采用 QIIME 软件对 α 多样性及 β 多样性指数进行分析,运用 R 软件作图。

2 结果

2.1 一般资料

根据纳排标准,共有 20 例银屑病患者和 10 例健康对照者被纳入本次研究,但有 3 名患者和 3 名健康对照者因缺失 PCR 扩增结果而无法进行后续实验。最终银屑病患者组(P 组)共纳入 17 例患者,其中男性 7 例,女性 10 例;健康对照组(C 组)共纳入 7 例,其中男性 4 例,女性 3 例。对 P 组和 C 组的年龄和身体质量指数(body mass index, BMI)采用 t 检验,性别采用卡方分析,结果显示差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)(见表 1)。



每条曲线均代表一个样本。

Each curve represents a sample.

图 1 稀释曲线

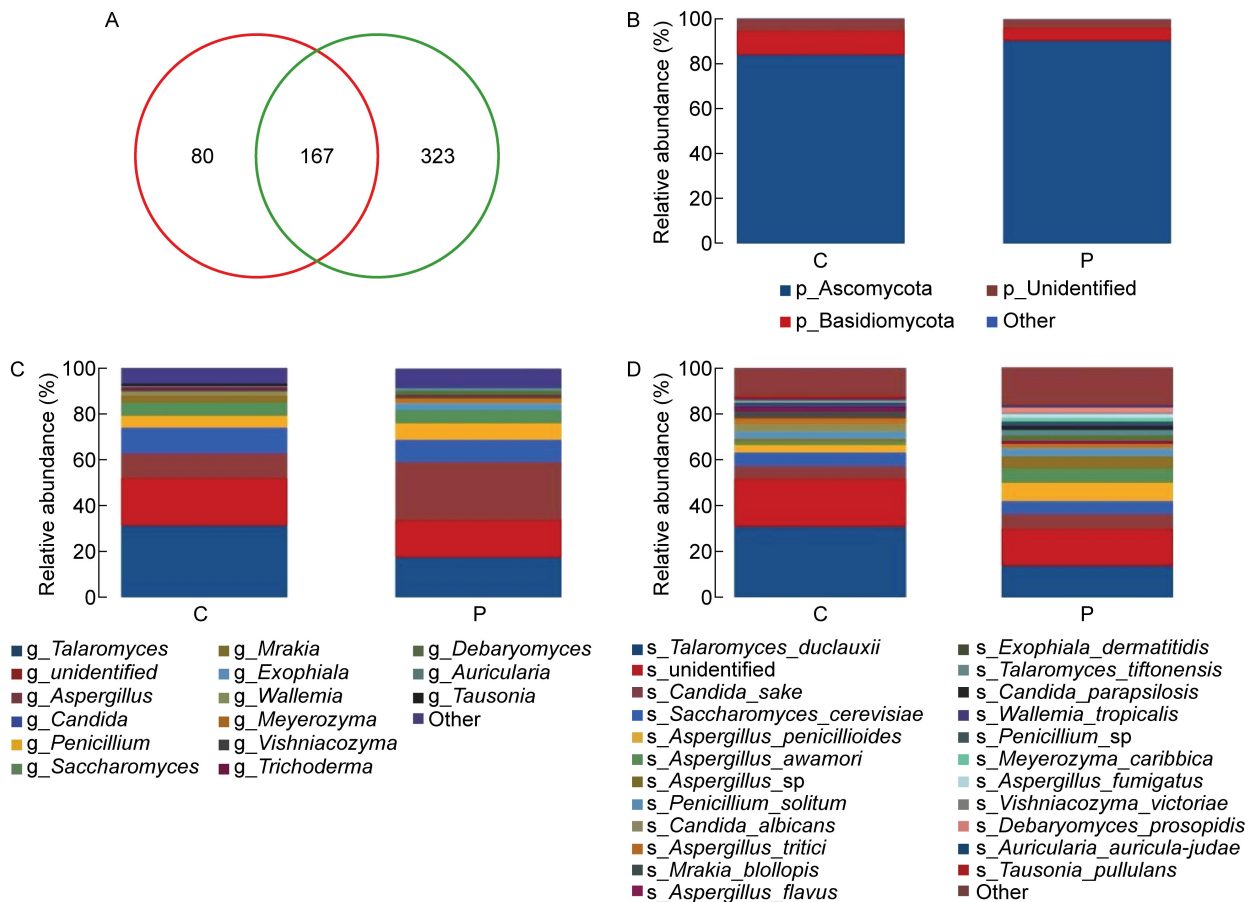
Fig. 1 Rarefaction curves

物种相对丰度柱形图,可直观地反映 P 组和 C 组间菌群结构和差异,纵坐标为相对丰度,横坐标为分组。在门水平上,两组主要的优势菌种一致,为子囊

菌门 (Ascomycota) 和担子菌门 (Basidiomycota) (见图 2B)。在属水平上, 两组主要优势菌种均为篮状菌属 (*Talaromyces*)、曲霉属 (*Aspergillus*)、念珠菌属 (*Candida*)、青霉属 (*Penicillium*)、酵母属 (*Saccharomyces*) 等 (见图 2C)。在种水平上, 两组主要优势菌种均为杜氏篮状菌 (*Talaromyces duclauxii*)、unidentified、清酒假丝酵母 (*Candida sake*)、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、帚状曲霉 (*Aspergillus penicillioides*)、泡盛曲霉 (*Aspergillus awamori*) 等 (见图 2D)。

2.4 样本内复杂度分析 (Alpha 多样性)

对两组样本内 Alpha 多样性进行相关分析, 用来评估样本内物种丰度和多样性, 主要指标包括 chao 1 和 PD_whole_tree。对以上指数进行 T 检验, 发现 P 组的 chao 1 和 PD_whole_tree 指数 (74.41 ± 33.84 , 16.96 ± 6.64) 较 C 组 (72.96 ± 33.42 , 14.81 ± 5.52) 升高, P 组的 Shannon 和 Simpson 指数 (3.10 ± 1.49 , 0.70 ± 0.28) 较 C 组 (3.53 ± 1.18 , 0.80 ± 0.15) 稍有降低 ($P > 0.05$)。说明两组间差异无统计学意义 (见表 2)。



A: 韦恩图; 健康对照组 (红色), 银屑病患者组 (绿色); B~D: 门、属、种水平物种相对丰度柱状图。

A: Venn graph; healthy controls (red), psoriatic patients (green); B-D: The relative species abundance at phylum, genus, species levels.

图 2 肠道菌群物种组成

Fig. 2 Species composition of the gut microflora

表 2 两组 Alpha 多样性指数及 P 值

Tab. 2 Alpha diversity index and P value of each group

多样性指数	P 组 (M ± SD)	C 组 (M ± SD)	P 值
Chao 1	74.41 ± 33.84	72.96 ± 33.42	0.93
PD_whole_tree	16.96 ± 6.64	14.81 ± 5.52	0.48
Shannon	3.10 ± 1.49	3.53 ± 1.18	0.50
Simpson	0.70 ± 0.28	0.80 ± 0.15	0.39

注: M 为平均值 (mean), SD 为标准差 (standard deviation)。

2.5 样本间差异物种比较分析 (Beta 多样性)

2.5.1 样本距离 Heatmap 图 为了更好地显示两组样本之间的距离关系,将加权的 unifrac 样本距离矩阵用热图表现出来。X 和 Y 轴均为样本名称,样本之间的距离用不同颜色梯度表示,两样本间相似性越低,即差异性越大,格子颜色越红;相似性越高,即差异性越小,格子颜色越蓝(见图 3)。

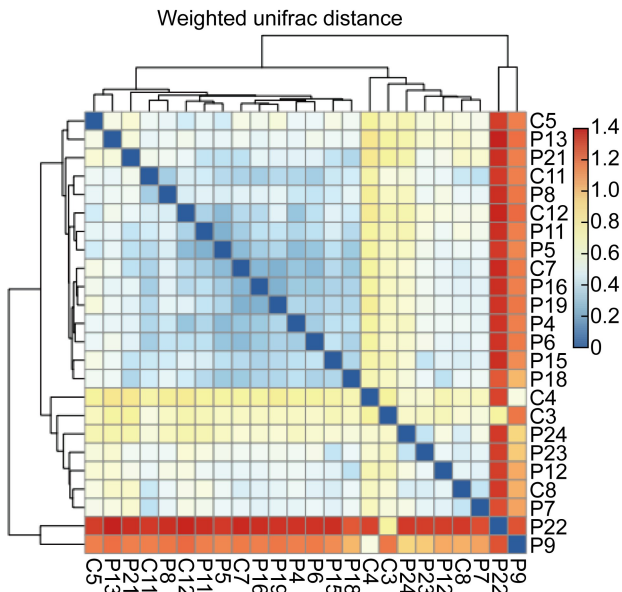


图 3 基于加权的样本距离矩阵热图
Fig. 3 Weighted unifrac distance matrix

2.5.2 偏最小二乘法判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 由于主成分分析 (principal component analysis, PCA) 对样本不进行区分,当两组样本的组间差异较小,组内差异明显时,PCA 难以区分组间差异;如果组间的差异较小,两组的样本量相差较大,样本量大的一组会起主导作用,影响最终结果,因此本文进行 PLS-DA 分析以去除上述混杂因素。

横、纵坐标分别代表对两组样本菌群组成发生偏移的疑似影响因素,C 组(红色)和 P 组(蓝色)的粪便样本各自聚集且完全分离,即 2 组菌群结构存在显著差异(见图 4)。

2.6 组间差异物种的组成分析

LEfSe 分析用于发现 2 组样本中有显著差异的物种(即 biomaker)以及这些特征对组间差异的影响程度。本文将 LDA score 阈值设定为 3,柱状图的长度代表 biomaker 影响程度的大小。结果显示,LDA score > 3 的 biomarker 共 13 种,P 组(绿色)丰度较高的 biomarker 为法夫酵母科

(Phaffomycetaceae)、鬼伞科(Psathyrellaceae)、威克汉姆酵母菌属 (*Wickerhamomyces*)、*Papiliotrema_flavescens*;C 组(红色)丰度较高的 biomarker 为复膜孢酵母属 (*Saccharomycopsis*)、扣囊复膜酵母种 (*Saccharomycopsis_fibuligera*)、*Cutaneotrichosporon_cyanovorans*、毛孢子菌属 (*Cutaneotrichosporon*)、圆锥曲霉种 (*Aspergillus_conicus*)、苏门答腊青霉菌种 (*Penicillium_sumatraense*)、木拉科酵母种 (*Mrakia_blollopis*)、丝孢毕赤氏酵母属 (*Hyphopichia*)、杜氏篮状菌种 (*Talaromyces_duclauxii*) (见图 5)。

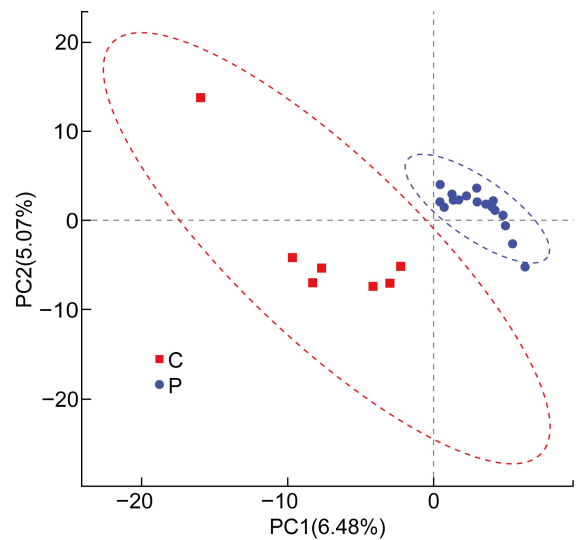


图 4 偏最小二乘法判别分析
Fig. 4 Partial least squares discriminant analysis

3 讨论

人类及动物胃肠道中存在细菌、真菌、病毒和古菌等多种微生物菌落^[4]。肠道菌群与免疫系统的各种改变相关,可以加重自身免疫和炎症免疫介导的相关疾病^[5-6]。有研究显示,肠道菌群和银屑病的发生及发展存在密切关系。前期本课题组对肠道细菌的研究结果显示,银屑病患者不仅肠道细菌结构发生了明显变化,而且还伴有肠道受损现象^[7-8]。本文利用 ITS 基因测序技术,对斑块状银屑病患者及健康者的肠道真菌菌群多样性及结构进行了比较分析。

稀释曲线结果显示,除 P8 外,其余曲线均趋于平坦,说明本实验的后续分析结果具有一定的代表性及可信性。P8 的曲线稍陡峭,不排除由该受试者取样前一天饮酒所造成。Alpha 多样性分析结果显示,银屑病患者组肠道真菌的菌群丰度和多样性与

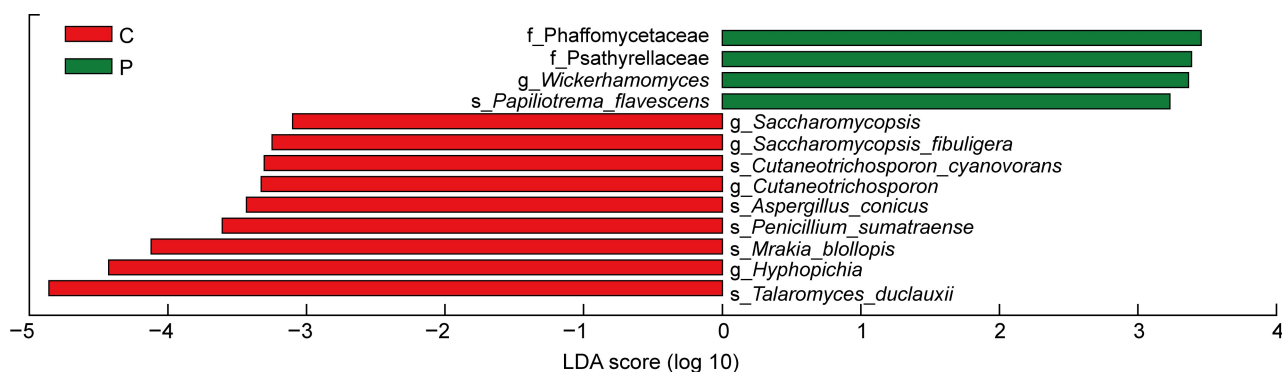


图5 LDA值分布柱状图

Fig. 5 LDA score histogram

健康对照组相比,均有小幅度升高,但无统计学差异。后续可引入更大样本量来进一步分析。Beta多样性的PLS-DA分析结果显示,两组菌群结构存在显著差异,提示肠道真菌的菌群结构及丰度可能与银屑病密切相关。考虑到个别差异会影响研究结果,后续本文进行了LEfSe分析,结果显示,法夫酵母科、鬼伞科、威克汉姆酵母菌属、*Papiliotrema flavescens* 4种菌在银屑病患者组中的丰度显著升高;复膜孢酵母属、扣囊复膜酵母种、毛孢子菌属、圆锥曲霉种、苏门答腊青霉种、木拉科酵母种、丝孢毕赤氏酵母属、杜氏篮状菌种8种菌在银屑病患者组中丰度显著降低。以上发生改变的菌群大部分属于子囊菌门,且与健康对照组相比,无论是在科水平还是属水平上,子囊菌门分类水平下的酵母菌丰度均升高。

有研究显示,T细胞不仅可影响肠道微生物的稳定性,也可受肠道微生物的调节^[9-10]。Waldman等^[11]与Elsner等^[12]的研究结果均显示,与健康对照组相比,银屑病患者肠道中念珠菌的检出率明显升高。他们推断,念珠菌属可能是银屑病的诱发因素,银屑病患者肠道内的念珠菌可以特异性地向皮肤分泌超抗原,从而诱导靶向V β -TCR的T淋巴细胞增殖,进而导致出现银屑病的皮损。另有研究显示,应用益生菌和粪便微生物移植对银屑病治疗有明显疗效^[13-14]。因此本文推测,肠道微生物与T细胞和银屑病密切相关。

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者肠道中子囊菌门为优势菌群^[15],并且其分类水平下的威克汉姆酵母菌属数量与肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的表达呈正相关。酿酒酵母也可通过抑制巨噬细胞凋亡和调节肠道菌群成为UC的有效治疗策略^[16]。另有研究发现,克罗恩

病(Crohn's disease, CD)患者肠道中的酵母菌细胞壁成分明显高于健康人群^[17],其菌壁成分可以刺激单核细胞分泌TNF- α 。因此本文推测,酵母菌可能通过促进炎症因子的分泌,从而增加肠道炎症反应。阿达木单抗为TNF- α 抑制剂,银屑病患者中也存在TNF- α 炎症因子的升高。一项银屑病合并炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的临床实验结果表明,使用阿达木单抗^[18]治疗16周后,患者的银屑病及IBD的临床症状均有明显改善。以上结论进一步提示,银屑病与IBD可能存在相近的肠道炎症反应和发病机制。

综上所述,肠道真菌菌群结构的变化与银屑病的发病相关。就其作用机制本文推测,银屑病患者肠道中显著升高的真菌一方面分泌致炎物质导致肠道炎症,另一方面通过破坏肠粘膜屏障使局部炎症向全身扩散,在皮肤上表现为银屑病的皮损。由于肠道菌群受饮食、生活习惯、种族、地理位置等多因素的影响,未来如能开展更大样本量及多中心的研究,所得结果将更具说服力。

参考文献

- [1] AlQassimi S, AlBrashdi S, Galadari H, Hashim MJ. Global burden of psoriasis-comparison of regional and global epidemiology, 1990 to 2017 [J]. Int J Dermatol, 2020, 59(5): 566-571.
- [2] Shapiro J, Cohen NA, Shalev V, Uzan A, Koren O, Maharshak N. Psoriatic patients have a distinct structural and functional fecal microbiota compared with controls [J]. Dermatol, 2019, 46(7): 595-603.
- [3] 王丽玮, 段志敏, 童建波, 曾荣, 徐浩翔, 李岷. 银屑病患者肠道菌群多样性分析: 单中心前瞻性研究[J]. 协和医学杂志, 2019, 10(3): 223-230.
- [4] Hollister EB, Gao C, Versalovic J. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and

- their effects on human health [J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(6): 1449-1458.
- [5] Jiao Y, Wu L, Huntington ND, Zhang X. Crosstalk between gut microbiota and innate immunity and its implication in autoimmune diseases [J]. *Front Immunol*. 2020, 11: 282. doi: 10.3389/fimmu.2020.00282.
- [6] Piccioni A, Cicchinelli S, Valletta F, De Luca G, Longhitano Y, Candelli M, Ojetti V, Sardeo F, Navarra S, Covino M, Franceschi F. Gut microbiota and autoimmune diseases: a charming real world together with probiotics [J]. *Curr Med Chem*, 2022, 29(18): 3147-3159.
- [7] 孟悦. 基于 16SrRNA 测序的银屑病患者肠道菌群结构的研究[D]. 河北: 河北医科大学, 2021.
- [8] 张小垒. 银屑病患者与健康人肠道菌群的比较研究[D]. 河北: 河北医科大学, 2020.
- [9] Honda K, Littman DR. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease [J]. *Nature*, 2016, 535 (7610): 75-84.
- [10] Schnell A, Huang L, Singer M, Singaraju A, Barilla RM, Regan BML, Bollhagen A, Thakore PI, Dionne D, Delorey TM, Pawlak M, Meyer Zu Horste G, Rozenblatt-Rosen O, Irizarry RA, Regev A, Kuchroo VK. Stem-like intestinal Th17 cells give rise to pathogenic effector T cells during autoimmunity [J]. *CELL*, 2021, 184 (26): 6281-6298.
- [11] Waldman A, Gilhar A, Duck L, Berdicevsky I. Incidence of *Candida* in psoriasis—a study on the fungal flora of psoriatic patients [J]. *Mycoses*, 2001, 44(3/4): 77-81.
- [12] Elsner K, Holstein J, Hilke FJ, Blumenstock G, Walker B, Schmidt S, Schaller M, Ghoreschi K, Meier K. Prevalence of *Candida* species in Psoriasis [J]. *Mycoses*, 2021, 65(2): 247-254.
- [13] Polak K, Bergler-Czop B, Szczepanek M, Wojciechowska K, Frańczak A, Kiss N. Psoriasis and gut microbiome—Current state of art [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9): 4529. doi: 10.3390/ijms22094529.
- [14] Buhaş MC, Gavrilaş LI, Candrea R. Gut Microbiota in Psoriasis [J]. *Nutrients*, 2022, 14 (14): 2970. doi: 10.3390/nu14142970.
- [15] Qiu X, Ma J, Jiao C, Mao X, Zhao X, Lu M, Wang K, Zhang H. Alterations in the mucosa-associated fungal microbiota in patients with ulcerative colitis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(64): 107577-107588. doi: 10.18632/oncotarget.22534.
- [16] 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. Lactic acid-producing probiotic *saccharomyces cerevisiae* attenuates ulcerative colitis via suppressing macrophage pyroptosis and modulating gut microbiota [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 777665. doi: 10.3389/fimmu.2021.777665.
- [17] Torres J, Petralia F, Sato T, Wang P, Telesco SE, Choung RS, Strauss R, Li XJ, Laird RM, Gutierrez RL, Porter CK, Plevy S, Princen F, Murray JA, Riddle MS, Colombel JF. Serum biomarkers identify patients who will develop inflammatory bowel diseases up to 5 years before diagnosis [J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(1): 96-104.
- [18] Piqueras M, Monfort D, Pol MA, Galter S, Modolell I, Ortiz J, Boadas J. Use of adalimumab in a patient with Crohn's disease and extensive generalised psoriasis who achieved complete remission of both conditions [J]. *Gastroenterol Hepatol*, 2013, 36(6): 396-399.

(收稿日期:2024-07-28)