DOI:10.12289/j.issn.2097-4345.25088

·基础研究·

Flo8 基因缺失白念珠菌甘露聚糖通过 IL-10 调控溃疡性结肠炎的机制研究

朱方舟,杨宜衡,张思雨,贾鑫明
(同济大学医学院,上海 200092)

【摘要】**目的** 探讨 *flo8* 基因缺失白念珠菌来源的甘露聚糖(*flo8*-deficient *Candida albicans*, *flo8Δ*-M)在小鼠溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)模型中的调控作用及机制。**方法** 通过热碱法提取白念珠菌甘露聚糖。构建野生型(wild type, WT)、Clec4n 基因敲除小鼠 UC 模型,在相应时间点对小鼠进行甘露聚糖灌胃操作,检测小鼠体质量、小鼠结肠长度,评估小鼠疾病活动指数,ELISA 检测结肠 IL-6、IL-10 水平。*flo8Δ*-M 刺激小鼠骨髓来源树突状细胞(bone marrow-derived dendritic cells, BMDCs),ELISA 检测上清液的 IL-10 水平,Western 印迹法检测 BMDCs 中脾脏酪氨酸激酶(spleen tyrosine kinase, Syk)的磷酸化水平,qPCR 检测 IL-10 表达水平。**结果** 体内实验表明,*flo8Δ*-M 灌胃处理组 UC 小鼠体质量、结肠长度、IL-10 水平显著增加,疾病活动指数、IL-6 水平显著降低($P<0.05$)。体外实验显示,*flo8Δ*-M 通过 Dectin-2-Syk 信号通路显著诱导 BMDCs 分泌 IL-10($P<0.05$),最后在 Clec4n 基因敲除 UC 小鼠模型中验证了 Dectin-2 的关键调控作用。**结论** *flo8* 基因缺失白念珠菌来源的甘露聚糖通过 Dectin-2-Syk 信号通路介导抗炎细胞因子 IL-10 产生,在小鼠溃疡性结肠炎模型中起保护作用。

【关键词】白念珠菌;*flo8*;甘露聚糖;溃疡性结肠炎;Dectin-2;小鼠
【中图分类号】R392 【文献标志码】A 【文章编号】2097-4345(2025)06-0804-07

Mechanism of mannan from *flo8*-deficient *Candida albicans* in regulating ulcerative colitis via interleukin-10

ZHU Fangzhou, *YANG Yiheng*, *ZHANG Siyu*, *JIA Xinming*
(School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200092, China)

【**Abstract**】**Objective** To investigate the role and mechanism of mannan derived from *flo8*-deficient *Candida albicans* (*flo8Δ*-M) in regulating ulcerative colitis (UC) in a mouse model. **Methods** Mannan from *C. albicans* was extracted using a hot alkali method. The UC models were established in both wild-type (WT) and Clec4n knockout mice (Clec4n$^{-/-}$). The mice were administered mannan via gavage at specified time points, and the weight changes, colon length and disease activity index (DAI) were monitored. The colonic levels of interleukin (IL)-6 and IL-10 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The bone marrow-derived dendritic cells (BMDCs) in the mice were stimulated with *flo8Δ*-M, and the IL-10 levels in the supernatant were quantified by ELISA. The phosphorylation of spleen tyrosine kinase (Syk) in BMDCs was assessed by Western blotting, and the IL-10 mRNA expression was determined by quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR). **Results** *In vivo* experiments demonstrated that *flo8Δ*-M gavage significantly increased the body

收稿日期:2025-03-12 **录用日期**:2025-05-13
基金项目:国家自然科学基金(82371777)
作者简介:朱方舟(2000—),女,硕士研究生,E-mail:ZhuFZ0703@163.com
通信作者:贾鑫明,E-mail:jiaxm@tongji.edu.cn

weight, colon length, and IL-10 levels, while reduced the DAI and IL-6 levels in UC mice (all $P<0.05$). *In vitro* experiments indicated that the *flo8*Δ-M significantly induced IL-10 secretion in BMDCs via the Dectin-2-Syk signaling pathway ($P<0.05$). The critical regulatory role of Dectin-2 was further validated in Clec4n knockout UC mice. **Conclusion** Mannan derived from *flo8*-deficient *C. albicans* exerts protective effects in UC mouse model by promoting anti-inflammatory cytokine IL-10 production through the Dectin-2-Syk signaling pathway.

【**Key words**】*Candida albicans*; *flo8*; mannan; ulcerative colitis; Dectin-2; mice

人体肠道中含有大量微生物,其中包含细菌、真菌、病毒等。肠道真菌微生物群在肠道中起重要调控作用,真菌群落不稳定会导致菌群变异及肠道疾病的发生,例如炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)[1-2]。IBD 是一种慢性、复发性肠道炎症疾病,主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)[3]。肠道免疫系统是维持肠道微环境稳态的关键因素,肠道对真菌病原体的识别和抗真菌免疫反应的启动主要由 C 型凝集素受体(C-type lectin receptor, CLRs)家族成员介导[4]。CLR 作为模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRR),其主要成员包括 dectin-1、dectin-2、dectin-3 和 mincle,这些 CLRs 可识别某些真菌细胞壁上表达的病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs),并诱导先天性和适应性免疫反应[5-6]。

白细胞介素-10(interleukin, IL-10)是一种重要的抗炎细胞因子[7-8],在维持肠道微生物-免疫平衡方面尤为重要[9],IL-10 的缺失导致肠道微生物群与免疫系统之间的平衡被打破,从而诱发过度的炎症反应并促进溃疡性结肠炎的进展[10]。

白念珠菌(*Candida albicans*)是一种常见的条件致病菌,广泛定植于人体的多个位置,包括胃肠道、女性生殖道、口腔和皮肤等黏膜表面[11]。白念珠菌细胞壁主要由多糖和蛋白质构成,其中多糖包括甘露聚糖(mannan)、β-葡聚糖(β-glucan)和几丁质(chitin)[12],这些结构成分作为典型 PAMPs,能够被宿主模式识别受体识别并激活免疫应答[13]。白念珠菌具有形态二相性,能够在酵母态和菌丝态之间转换[14]。*flo8* 是一种正向调节白念珠菌菌丝生长的转录因子[15],其基因缺失可导致白念珠菌在相应细胞外刺激后无法由酵母态向菌丝态转变。本课题组前期研究表明,相比于野生型白念珠菌,从 *flo8* 基因缺失白念珠菌提取的甘露聚糖(*flo8*Δ-M)可以通过阻断未成熟 $CD4^+CD8^+$T 细胞凋亡诱导 IL-10 产生,抑制白念珠菌诱导的胸腺萎缩[16]。基于 *flo8*Δ-M 能够显著诱导 IL-10 产生的特性,本研究推测其可能通过调节 IL-10 介导的免疫应答在溃疡性结肠炎中发挥保护作用。

因此,本课题聚焦于 *flo8* 基因缺失白念珠菌甘露聚糖 *flo8*Δ-M 对于溃疡性结肠炎的保护作用及机制研究。通过阐明 *flo8*Δ-M 的调节作用,不仅有助于拓展真菌多糖在抗炎治疗领域的应用前景,也将为溃疡性结肠炎的治疗提供新的思路和潜在的治疗靶点。

1　材料与方法

1.1　实验动物与试剂

雄性 C57BL/6 小鼠(6~8 周)购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司,Clec4n 基因敲除小鼠($Clec4n^{-/-}$)为实验室保存品系。本文所使用的小鼠均饲养在同济大学 SPF 级动物房内,所有动物实验均按照同济大学附属上海市第十人民医院动物伦理委员会批准的方案(编号:SHDSYY-2023-6263)执行。RPMI 1640 培养基购自大连美仑生物技术有限公司;胎牛血清购自美国 Gibco 公司;Prime Script™ RT Master Mix 购自日本 TaKaRa 公司;2×Universal SYBR Green Fast qPCR Mix 购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;10% SDS-PAGE 预混制胶缓冲液、Trans-Blot Turbo 5×Transfer Buffer 购自美国 Bio-Rad 公司;IL-6、IL-10 ELISA 试剂盒购自美国 Thermo Fisher 公司;硫酸葡聚糖钠盐(dextran sulfate sodium, DSS)购自上海易恩化学技术有限公司;p-Syk、Syk、GAPDH、Tubulin 抗体购自美国 CST 公司;ECL 发光液购自上海默克生命科学有限公司。

1.2　方法

1.2.1　白念珠菌甘露聚糖的提取　野生型(wild type, WT)及 *flo8* 基因缺失白念珠菌接种于与 YPD 培养基 30 ℃培养过夜。挑取菌落在 YNB 中 30 ℃振荡培养 3~4 h,收集菌体。采用热碱法提取甘露聚糖,具体步骤如下:将白色念珠菌(1 g 湿重)在 4 mL 2%(重量/体积)NaOH 溶液中混匀,100 ℃水浴加热 1 h,

收集上清液。新鲜配制的Feling试剂(A液：氢氧化钠0.1 g/mL;B液：硫酸铜0.05 g/mL)滴加到上清液中沉淀出甘露聚糖。用最小体积3 mol/L HCl溶液溶解沉淀物,随后滴加至甲醇和乙酸混合溶液(体积比8:1)中,重复上述溶解和沉淀过程3次去除蛋白污染。随后,将沉淀物溶解在5~10 mL蒸馏水中,放入透析袋(截留相对分子质量：7 000)透析24 h,收集液体冻干即得到甘露聚糖。BCA检测蛋白质水平低于0.5%,Toxin Sensor显色法LAL内毒素检测试剂盒检测内毒素浓度低于0.35 EU/mg。

1.2.2　小鼠肠炎模型的构建及甘露聚糖灌胃　小鼠平均分为两组：甘露聚糖灌胃组和对照组(H_2O灌胃),将小鼠饮用水更换为含有3%硫酸葡聚糖钠盐(dextran dulfate sodium, DDS)的饮用水,使其自由饮水,每天记录体质量变化。将从野生型白念珠菌提取的甘露聚糖(wild type *Candida albicans* mannan, WT-M)及*flo8Δ*-M溶于去离子水中,根据实验要求在适当时间点对小鼠进行灌胃,用量50 mg/kg。对照组灌胃相应体积去离子水。实验时将小鼠安乐死,取小鼠完整结肠并用标尺量取长度,表征小鼠结肠炎症程度。

1.2.3　WT及Clec4n$^{-/-}$小鼠骨髓来源树突状细胞(bone marrow-derived dendritic cells, BMDCs)的制备　从6~8周龄C57BL/6 WT及Clec4n$^{-/-}$小鼠的股骨和胫骨中收集DC,并裂解红细胞。将BMDCs置于含有GM-CSF(20 ng/mL)的RPMI 1640完全培养基培养,4 d后补液,6 d后收集细胞进行实验[17]。

1.2.4　细胞因子检测　取肠炎小鼠的结肠,匀浆后取上清液待测。使用WT-M或*flo8Δ*-M刺激BMDCs 24 h,收集细胞培养上清液待测。ELISA试剂盒检测结肠组织匀浆上清、BMDCs细胞上清液的IL-6、IL-10炎症因子水平。

1.2.5　小鼠疾病活动指数(disease activity index, DAI)评估　采用国际通用的DAI评分系统,通过体质量减轻百分比、粪便性状变化、便血情况这3个指标综合评估溃疡性结肠炎严重程度。每项指标均依据其严重程度被赋予0~4分的评分,其中体质量减轻程度(以实验起始体质量为基线计算)、粪便从正常成形到稀水样便的转变、以及从隐血阳性到肉眼可见的直肠出血,分别反映了全身性代谢障碍、肠道炎症水肿及黏膜损伤出血的进展。最终,DAI为三项评分之和,总分为0~12分,分值越高表明结肠炎病情越严重。

1.2.6　Western印迹法检测　收集细胞,加入RIPA裂解液(含蛋白酶抑制剂PMSF)混匀后冰上裂解提取细胞总蛋白,进行10% SDS-PAGE电泳,完毕后将蛋白半干法电转至PVDF膜。脱脂牛奶封闭1 h,加入一抗Syk(D3Z1E)XP、Phospho-Zap-70(Tyr319)/Syk(Tyr352)、GAPDH、Tubulin(工作浓度1:1 000)孵育过夜。16 h后PBST洗涤3遍,加入对应二抗Goat Anti-Mouse/Rabbit IgG HRP(工作浓度1:8 000)室温孵育1 h,PBST洗涤5遍,ECL发光显影。以上抗体均购自美国Cell Signaling Technology公司。

1.2.7　RNA的提取及qPCR　使用TRIzol对BMDCs进行裂解,采用苯酚-氯仿法分离总mRNA。使用反转录试剂盒将RNA反转录为cDNA,作为模板。使用2×Universal SYBR Green Fast qPCR Mix试剂盒进行qPCR实验,以GAPDH作为内参检测相关基因的表达。以GAPDH作为内参检测相关基因表达。PCR反应条件如下。预变性,95 ℃,10 min;变性,95 ℃,5 s;60 ℃,34 s;扩增40个循环。反应完成后,根据各基因的Ct值,利用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因的相对表达量。Clec4n基因敲除小鼠鉴定:预变性94 ℃,3 min。94 ℃,10 s;65 ℃,30 s;72 ℃,1 min;扩增35个循环。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,见表1。

表1　引物序列
Tab. 1　The primer sequences

基因名称	引物序列(5′→3′)
qPCR引物	
IL-10-F	ATAACTGCACCCACTTCCCAGTC
IL-10-R	CCCAAGTAACCCTTAAAGTCCTGC
GAPDH-F	GCCTTCCGTGTTCCTACCC
GAPDH-R	TGCCTGCTTCACCACCTTC
Clec4n基因敲除小鼠鉴定引物	
Clec4n-KO-F	AGGTGAGAATTCCTGTCTCAGT
Clec4n-KO-R	ATATTTCACCCTCAGGCACCT

1.3　统计学处理

所有统计分析及图表绘制均通过GraphPad Prism软件完成。对于两组数据间的比较,采用双侧尾*t*检验(two-tailed Student's *t*-test)进行统计分析;而对于多组数据间的比较,首先通过单因素方差分析(one-way ANOVA)检验方差齐性,随后使用Tukey多重比较检验(Tukey's multiple comparisons test)评估各组间的统计学差异。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　*flo8Δ*-M对于小鼠溃疡性结肠炎具有保护作用

本课题组前期研究发现,*flo8Δ*-M能够显著诱导BMDCs产生IL-10抗炎因子,鉴于IL-10在肠道

免疫稳态中发挥不可或缺的调节作用，推测 *flo8Δ*-M 可能对溃疡性结肠炎具有潜在的作用。本研究使用含 3% DSS 饮用水诱导 C57BL/6 小鼠建立溃疡性结肠炎模型，持续诱导 7 d 后，每隔 1 d 对实验组进行 *flo8Δ*-M、WT-M 灌胃，对照组用灭菌水灌胃。监测小鼠体质量变化发现，在诱导初期（第 0~7 天）实验组与对照组呈现相似的体质量下降趋势。使用 *flo8Δ*-M 灌胃后（第 7~15 天），实验组小鼠体质量显著恢复，而对照组小鼠体质量恢复迟缓，见图 1A。初步证明，*flo8Δ*-M 能够对 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎有治疗作用。同时，WT-M 实验组与对照组小鼠体质量无显著差异，见图 1B。

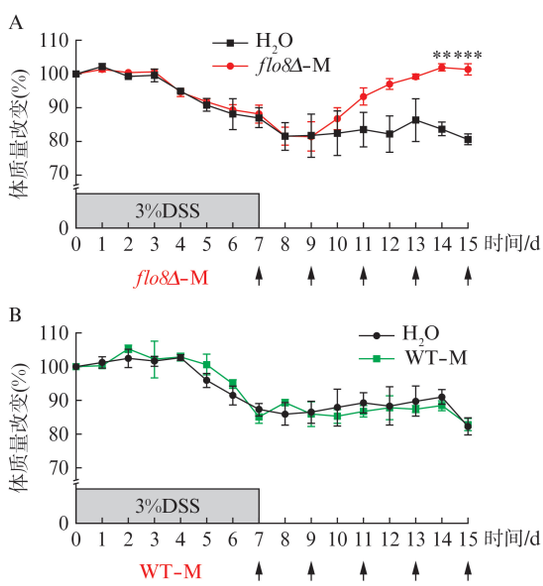

图 1　*flo8Δ*-M 及 WT-M 对 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎的调控作用

Fig. 1　Regulatory effects of *flo8Δ*-M and WT-M on DSS-induced mouse ulcerative colitis

A：*flo8Δ*-M 实验组与对照组小鼠体质量变化图；B：WT-M 实验组与对照组小鼠体质量变化图；$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$

为进一步评估 *flo8Δ*-M 对溃疡性结肠炎的保护效应，本课题组量取了小鼠完整结肠长度。结果显示，相较于对照组，*flo8Δ*-M 灌胃组小鼠结肠长度显著恢复，且与健康小鼠（Unsti 组）的结肠长度无显著差异，见图 2A、2B。同时，*flo8Δ*-M 灌胃组小鼠 DAI 较对照组显著降低，见图 2C，提示 *flo8Δ*-M 能够有效缓解溃疡性结肠炎临床症状。

为探究 *flo8Δ*-M 对溃疡性结肠炎保护作用的机制，本研究取小鼠结肠组织通过 ELISA 实验定量分析了相关炎症因子的水平。结果显示，相比于灭菌水灌胃组，*flo8Δ*-M 灌胃后能够显著降低结肠组织中 IL-6 促炎因子的表达水平，显著诱导 IL-10 抗炎因子的产生，见图 3A、3B。由此得出结论，*flo8Δ*-M 通过诱导 IL-10 产生对溃疡性结肠炎有显著保护作用。

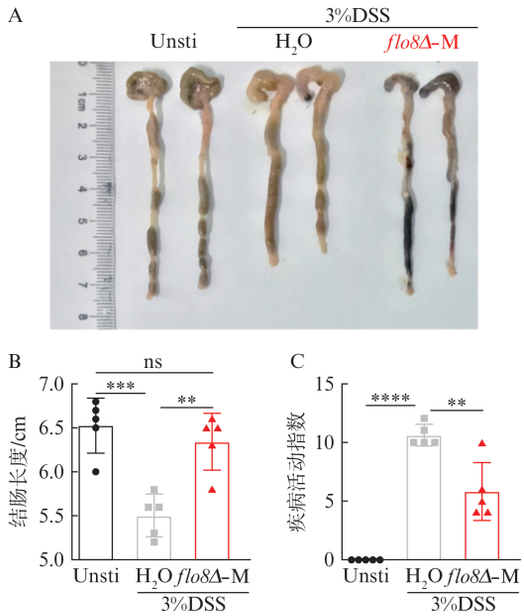

图 2　*flo8Δ*-M 显著恢复 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎导致的炎症反应

Fig. 2　*flo8Δ*-M markedly mitigates colonic inflammation in DSS-induced mice ulcerative colitis

A：小鼠结肠图片；B：小鼠结肠长度分析；C：小鼠疾病活动指数分析；$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$，$^{****}P<0.0001$，ns：$P>0.05$

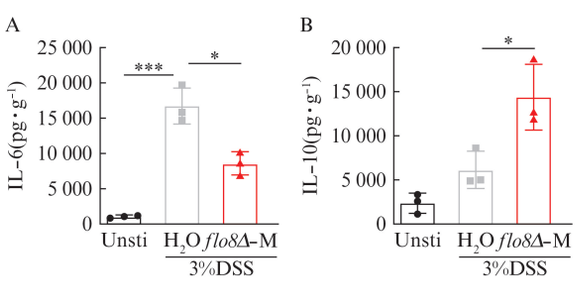

图 3　*flo8Δ*-M 显著诱导小鼠 IL-10 的产生

Fig. 3　*flo8Δ*-M significantly induces the production of IL-10 in mice

A、B：ELISA 检测小鼠结肠组织 IL-6、IL-10 水平；$^{*}P<0.05$，$^{***}P<0.001$

2.2　*flo8Δ*-M 通过 Dectin-2-Syk 信号轴诱导 BMDCs 产生 IL-10

为进一步探究 *flo8Δ*-M 对于溃疡性结肠炎保护作用的分子机制，分离小鼠 BMDCs，使用 WT-M 和 *flo8Δ*-M 分别刺激 BMDCs 0、30、60 min，Western 印迹法检测脾脏酪氨酸激酶（Syk）表达情况。结果显示，*flo8Δ*-M 能够显著诱导 Syk 的磷酸化，见图 4A，同时显著诱导 BMDCs 分泌 IL-10，并上调 IL-10 的 mRNA 表达水平，见图 4B、4C。这些结果表明，Syk 在 *flo8Δ*-M 诱导 IL-10 产生中起重要调控作用。已有许多研究报道，Dectin-2 作为 C 型凝集素受体，能够识别甘露聚

糖并激活 Syk 及下游信号通路[18]。因此假设 Dectin-2 是识别 *flo8*Δ-M 调控 Syk 通路的关键受体。为验证这一假设,本课题组从 Clec4n 基因敲除的小鼠中分离 BMDCs(Clec4n$^{-/-}$ BMDCs)。结果显示,Dectin-2 的缺失完全阻断了 Syk 的磷酸化、IL-10 的分泌以及 IL-10 的 mRNA 表达,见图 4D~4F。综上,本研究证实,*flo8*Δ-M 通过 Dectin-2-Syk 信号通路诱导 BMDCs 产生 IL-10。

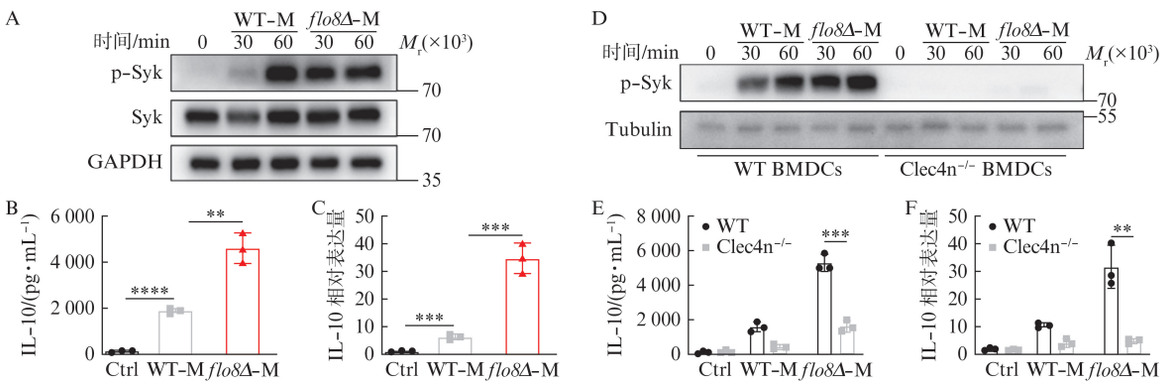

图 4　*flo8*Δ-M 通过 Dectin-2-Syk 诱导产生 IL-10

Fig. 4　*flo8*Δ-M induces IL-10 production through the Dectin-2-Syk signaling pathway

A:Western 印迹法检测 WT 小鼠 BMDCs 磷酸化 Syk 水平;B:ELISA 检测 WT 小鼠 BMDCs 的 IL-10 表达水平;C:qPCR 检测 WT 小鼠 BMDCs 的 IL-10 表达;D:Western 印迹法检测 Clec4n 基因敲除小鼠 BMDCs 细胞磷酸化 Syk 水平;E:ELISA 检测 *flo8*Δ-M 刺激 BMDCs 的 IL-10 表达水平;F:qPCR 检测 *flo8*Δ-M 刺激 BMDCs 的 IL-10 的 mRNA 表达;$^{**}P$<0.01,$^{***}P$<0.001,$^{****}P$<0.000 1

2.3　*flo8*Δ-M 通过 Dectin-2 信号通路在溃疡性结肠炎中发挥保护作用

最后为验证 Dectin-2 的关键调控作用,本研究使用 Clec4n 基因敲除小鼠(Clec4n$^{-/-}$)构建溃疡性结肠炎模型,并以 WT 小鼠为对照。在 DSS 诱导结束后使用 *flo8*Δ-M 灌胃,灭菌水灌胃作为对照组。结果表明,Dectin-2 的缺失显著阻断 *flo8*Δ-M 灌胃引起的小鼠体质量恢复,见图 5A。并且通过评估结肠长度、IL-10 产生水平、DAI,发现 Dectin-2 的缺失会导致 *flo8*Δ-M 对于溃疡性结肠炎的保护作用完全消失,见图 5B、5C、5D。综上,本研究证明 *flo8*Δ-M 通过 Dectin-2 信号通路在溃疡性结肠炎中发挥保护作用。

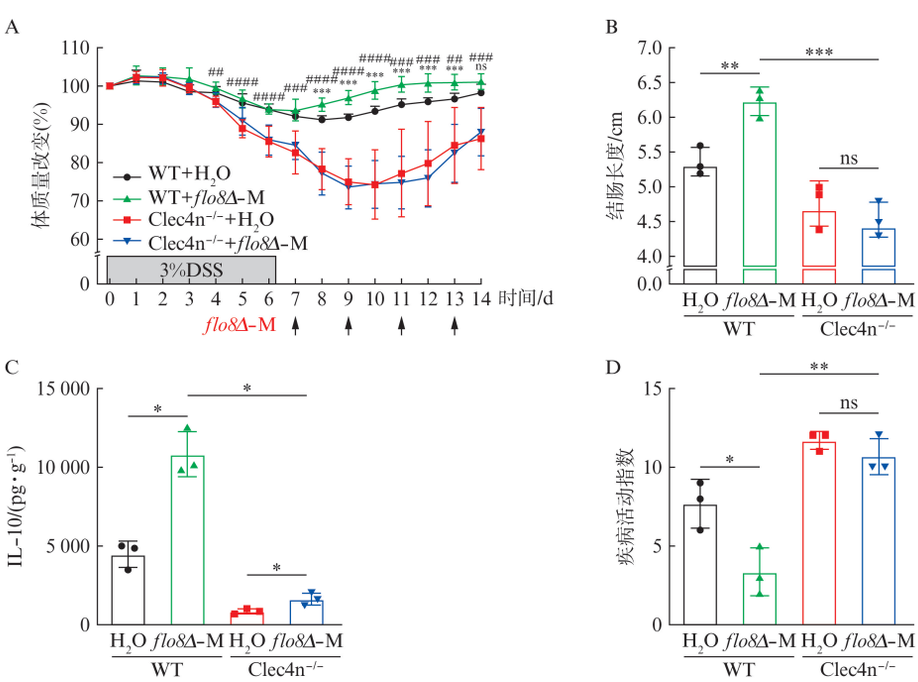

图 5　*flo8*Δ-M 通过 Dectin-2 信号通路在溃疡性结肠炎中的调控作用

Fig. 5　*flo8*Δ-M exerts regulatory effects in ulcerative colitis via the Dectin-2 signaling pathway

A:*flo8*Δ-M 灌胃 WT、Clec4n 基因敲除肠炎小鼠各组小鼠体质量变化;WT+H_2O 组与 WT+*flo8*Δ-M 组相比,$^{*}P$<0.05,$^{**}P$<0.001,WT+H_2O 组与 Clec4n$^{-/-}$+H_2O 组相比,$^{\#\#}P$<0.01;B:WT、Clec4n 基因敲除小鼠结肠长度分析,$^{**}P$<0.01,$^{***}P$<0.01;C:WT、Clec4n 基因敲除小鼠 IL-10 表达量分析,$^{*}P$<0.05;D:WT、Clec4n 基因敲除小鼠 DAI 分析,$^{*}P$<0.05,$^{**}P$<0.01

3　讨　　论

在 DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠模型中，实验动物通常表现为体质量减轻、腹泻和粪便隐血等典型症状[19-20]。本研究通过灌胃给予 WT-M、*flo8*Δ-M，结果显示 WT-M 对于 3%DSS 诱导的溃疡性结肠炎无显著保护作用，进一步系统评估了 *flo8*Δ-M 灌胃小鼠的体质量变化、结肠长度、DAI、细胞因子分泌水平等多项指标结果显示，*flo8*Δ-M 处理组上述指标均显著优于对照组，提示 *flo8*Δ-M 对 DSS 诱导的溃疡性结肠炎具有显著的保护作用。这一发现与本课题组前期研究结果相吻合，即 *flo8*Δ-M 能够通过刺激固有免疫细胞产生高水平的 IL-10 来下调炎症反应[16]。此外，肠道微生物群在 *flo8*Δ-M 干预后的动态变化及其对疾病进程的影响也值得进一步研究。鉴于已有研究表明，香菇多糖能够调控 IL-10 和 TGF-β 等关键细胞因子的表达[21]，因此推测 *flo8*Δ-M 可能具有潜在的抗肿瘤作用，这一假设需要通过后续实验加以验证。通过进一步阐明其作用机制并探究其结构与功能，真菌多糖类化合物有望在炎症性疾病和肿瘤治疗领域发挥更加重要的作用[22-24]。

C 型凝集素受体 Dectin-1、Dectin-2、Dectin-3 和 mincle 等可识别到白念珠菌细胞壁 β-葡聚糖、α-甘露聚糖，从而启动对病原真菌的先天性和适应性免疫反应[25]。脾脏酪氨酸激酶（spleen tyrosine kinase，Syk）是一种非受体型酪氨酸激酶，主要在造血细胞中表达，并在免疫受体信号传导中发挥关键作用[26-27]。典型的 CLR 信号转导始于 Syk 的磷酸化激活。本课题组前期研究发现，宿主免疫细胞表面的 C 型凝集素受体 Dectin-2 能够特异性识别 α-甘露聚糖，α-甘露聚糖促进 Dectin-2 与 Dectin-3 形成异源二聚体，增强 Syk 信号通路的激活，从而调控宿主抗白念珠菌免疫[28]。本研究表明，*flo8*Δ-M 能够有效刺激 BMDCs 激活 Syk 信号通路，导致 Syk 的磷酸化。通过 Clec4n 基因敲除小鼠，进一步证明 Dectin-2 参与识别 *flo8*Δ-M 并调控 Syk 激活，对于溃疡性结肠炎产生保护作用。先前的实验表明，*flo8*Δ-M 能够被多种 CLRs 识别，不排除其他受体参与识别 *flo8*Δ-M 并调控溃疡性结肠炎，这也是后续的研究重点。此外，研究发现 Syk 在多种肿瘤中异常表达，并通过调控肿瘤细胞的增殖、存活、侵袭和转移，影响肿瘤进展[29]。因此，*flo8*Δ-M 对 Syk 通路的调控在抗肿瘤领域也有重要的研究意义。

综上所述，在本研究通过建立经典的小鼠溃疡性结肠炎模型，系统性评估小鼠各项指标，证明 *flo8*Δ-M 对于溃疡性结肠炎有显著保护作用。从机制上讲，*flo8*Δ-M 通过 Dectin-2-Syk 通路诱导 IL-10 产生，从而发挥其对溃疡性结肠炎的调控作用。这一发现不仅证实了 *flo8*Δ-M 在溃疡性结肠炎模型中独特的免疫调节功能，也为溃疡性结肠炎的治疗提供了新的思路和潜在的治疗靶点。未来研究将进一步探索 *flo8*Δ-M 在肿瘤治疗中的潜在应用价值，为开发基于真菌多糖的新型治疗策略提供理论依据。

利益冲突声明　所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献说明　朱方舟：设计实验、实验操作、数据处理、论文撰写；杨宜衡：实验设计、论文指导；张思雨：实验操作、数据处理；贾鑫明：课题设计、论文审阅与指导。

【参考文献】

[1] HANEISHI Y, FURUYA Y, HASEGAWA M, et al. Inflammatory bowel diseases and gut microbiota[J]. Int J Mol Sci, 2023,24(4): 3817.

[2] QUAGLIO A E V, GRILLO T G, DE OLIVEIRA E C S, et al. Gut microbiota, inflammatory bowel disease and colorectal cancer[J]. World J Gastroenterol, 2022,28(30): 4053-4060.

[3] ZHENG J Y, SUN Q R, ZHANG M J, et al. Noninvasive, microbiome-based diagnosis of inflammatory bowel disease[J]. Nat Med, 2024,30(12): 3555-3567.

[4] YANG L, HU M, SHAO J. Integration of gut mycobiota and oxidative stress to decipher the roles of C-type lectin receptors in inflammatory bowel diseases[J]. Immunol Invest, 2024,53(8): 1177-1204.

[5] GEIJTENBEEK T B H, GRINGHUIS S I. C-type lectin receptors in the control of T helper cell differentiation[J]. Nat Rev Immunol, 2016,16(7): 433-448.

[6] TANG J, LIN G X, LANGDON W Y, et al. Regulation of C-type lectin receptor-mediated antifungal immunity[J]. Front Immunol, 2018,9: 123.

[7] YORK A G, SKADOW M H, OH J, et al. IL-10 constrains sphingolipid metabolism to limit inflammation[J]. Nature, 2024,627(8004): 628-635.

[8] BRANCHETT W J, SARAIVA M, O'GARRA A.

Regulation of inflammation by interleukin-10 in the intestinal and respiratory mucosa[J]. Curr Opin Immunol, 2024,91: 102495.

[9] JIA D J C, WANG Q W, HU Y Y, et al. *Lactobacillus johnsonii* alleviates colitis by TLR1/2-STAT3 mediated CD206$^+$ macrophages(IL-10) activation[J]. Gut Microbes, 2022,14(1): 2145843.

[10] YANG J P, GERMANO P M, OH S, et al. Pomegranate extract improves colitis in IL-10 knockout mice fed a high fat high sucrose diet[J]. Mol Nutr Food Res, 2022,66(5): e2100730.

[11] LIONAKIS M S, DRUMMOND R A, HOHL T M. Immune responses to human fungal pathogens and therapeutic prospects[J]. Nat Rev Immunol, 2023,23(7): 433-452.

[12] GOW N A R, LENARDON M D. Architecture of the dynamic fungal cell wall[J]. Nat Rev Microbiol, 2023,21(4): 248-259.

[13] BOJANG E, GHUMAN H, KUMWENDA P, et al. Immune sensing of *Candida albicans*[J]. J Fungi, 2021,7(2): 119.

[14] HONORATO L, DE ARAUJO J F D, ELLIS C C, et al. Extracellular vesicles regulate biofilm formation and yeast-to-hypha differentiation in *Candida albicans*[J]. mBio, 2022,13(3): e0030122.

[15] JIN X Y, LUAN X Y, XIE F, et al. Erg6 acts as a downstream effector of the transcription factor Flo8 to regulate biofilm formation in *Candida albicans*[J]. Microbiol Spectr, 2023,11(3): e0039323.

[16] LV Q Z, LI D D, HAN H, et al. Priming with FLO8-deficient *Candida albicans* induces Th1-biased protective immunity against lethal polymicrobial sepsis[J]. Cell Mol Immunol, 2021,18(8): 2010-2023.

[17] RONEY K. Bone marrow-derived dendritic cells[J]. Methods Mol Biol, 2019,1960: 57-62.

[18] JIN X, ZHANG M, CAO G F, et al. *Saccharomyces cerevisiae* mannan induces sheep beta-defensin-1 expression *via* Dectin-2-Syk-p38 pathways in ovine ruminal epithelial cells[J]. Vet Res, 2019,50(1): 8.

[19] YANG C H, MERLIN D. Unveiling colitis: a journey through the dextran sodium sulfate-induced model[J]. Inflamm Bowel Dis, 2024,30(5): 844-853.

[20] KATSANDEGWAZA B, HORSNELL W, SMITH K. Inflammatory bowel disease: a review of pre-clinical murine models of human disease[J]. Int J Mol Sci, 2022,23(16): 9344.

[21] SUN M, BU R G, ZHANG B, et al. Lentinan inhibits tumor progression by immunomodulation in a mouse model of bladder cancer[J]. Integr Cancer Ther, 2020,19: 1534735420946823.

[22] GUO C L, GUO D D, FANG L, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharide modulates gut microbiota and immune cell function to inhibit inflammation and tumorigenesis in colon[J]. Carbohydr Polym, 2021,267: 118231.

[23] SOHRETOGLU D, HUANG S L. *Ganoderma lucidum* polysaccharides as an anti-cancer agent[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2018,18(5): 667-674.

[24] KLADAR N V, GAVARIĆ N S, BOŽIN B N. *Ganoderma*: insights into anticancer effects[J]. Eur J Cancer Prev, 2016,25(5): 462-471.

[25] DENG Z H, MA S X, ZHOU H, et al. Tyrosine phosphatase SHP-2 mediates C-type lectin receptor-induced activation of the kinase Syk and anti-fungal TH17 responses[J]. Nat Immunol, 2015,16(6): 642-652.

[26] MÓCSAI A, RULAND J, TYBULEWICZ V L J. The SYK tyrosine kinase: a crucial player in diverse biological functions[J]. Nat Rev Immunol, 2010,10(6): 387-402.

[27] ZHOU Y Q, ZHANG Y W, YU W, et al. Immunomodulatory role of spleen tyrosine kinase in chronic inflammatory and autoimmune diseases[J]. Immun Inflamm Dis, 2023,11(7): e934.

[28] ZHU L L, ZHAO X Q, JIANG C Y, et al. C-type lectin receptors Dectin-3 and Dectin-2 form a heterodimeric pattern-recognition receptor for host defense against fungal infection[J]. Immunity, 2013,39(2): 324-334.

[29] KRISENKO M O, GEAHLEN R L. Calling in SYK: SYK's dual role as a tumor promoter and tumor suppressor in cancer[J]. Biochim Biophys Acta, 2015,1853(1): 254-263.