

本文引文格式:周文婷,李琛妍,黄凯黎,等.白色念珠菌菌丝形成与黏附侵袭致病的调控机制研究[J].右江民族医学院学报,2022,44(5):744-748.

【医学综述】

## 白色念珠菌菌丝形成与黏附侵袭致病的调控机制研究

周文婷,李琛妍,黄凯黎,董蕙华,黄雯,黄衍强,黄干荣

(右江民族医学院,广西高校耐药微生物感染防治研究重点实验室,广西百色 533000)

**摘要:** 白色念珠菌是免疫缺陷个体最容易感染的真菌,可引起多种黏膜疾病和全身感染性疾病,其致病的机制与菌丝的形成密切相关。本文从转录阻遏物(transcriptional repressor, Tup1)介导的负调控通路、转录因子(transcription factor, Cph1)介导的有丝分裂原激活蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)信号通路、增强菌丝生长基因(enhanced filamentous growth, Efg1)介导的环磷酸腺苷/蛋白激酶 A(cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A, cAMP/PKA)信号通路、pH 响应转录因子(pH-response transcription factor, Rim101)介导的 pH 信号通路等 4 个方面概述白色念珠菌菌丝形成与致病的机制,并从细胞色素 P450(cytochrome P450, CYP)家族相关基因对菌丝伸长和侵袭的调控、水解酶对侵袭过程的调控、细胞壁蛋白对菌黏附过程的调控等 3 个方面阐述了白色念珠菌菌丝形成与黏附、侵袭的致病调控机制,为以菌丝作为药物靶点防治白色念珠菌感染提供理论参考。

**关键词:** 白色念珠菌;菌丝;黏附;侵袭

**中图分类号:** R379.4      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1001-5817(2022)05-0744-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-5817.2022.05.023

白色念珠菌通常以酵母形态作为良性共生菌生活在哺乳动物宿主中,几乎一半的人群携带有该菌,在免疫缺陷的人群中发病率最高,可由条件致病菌转为致病菌,在血流中传播,引起广泛的黏膜和全身感染性疾病<sup>[1]</sup>,死亡率高达 30%~50%<sup>[2-3]</sup>。黏附、侵袭和组织损伤是白色念珠菌的主要致病过程。在该过程中,关键的毒力因素之一是菌丝形态的可塑性,即当宿主微生态平衡失调或者免疫功能受抑制时,白色念珠菌芽孢和丝状(假菌丝和真菌丝)之间可进行形态转变<sup>[4]</sup>,菌丝生长后可增强菌株的毒力。同时,菌丝形态发生时,白色念珠菌为了抵抗巨噬细胞的吞噬作用,而利用氨基酸中和吞噬体中的酸性环境,进行了转录重编程,并通过破坏免疫细胞而逃逸<sup>[5-6]</sup>,从而使黏附、侵袭过程更容易完成。白色念珠菌菌丝形态的转变是一个高度极性的过程。在体外菌丝诱导条件下,多种信号通路对菌丝的发育有重要的调控作用<sup>[4]</sup>,关键的调节基因包括 Efg1、Cph1、Rim101 和羊毛甾醇 14 $\alpha$ -去甲基化醇(lanosterol 14 $\alpha$ -demethylase, CYP51)等<sup>[7]</sup>。它们是编码丝状形成所需的重要转录调节因子,与这些基因相反的负调控基因包括 Tup1、转录调节因子(transcriptional regulator, Nrg1)和丝状生长抑制因子(repressor of filamentous growth 1, Rfg1)等,它们高

表达时可明显阻止丝状生长。这种菌丝形态转变的能力受各种宿主环境条件变化的影响<sup>[8]</sup>,如温度、pH 值、营养、血清及 CO<sub>2</sub> 等。菌丝是白色念珠菌特有的成分,菌丝壁蛋白等表面黏附素可与上皮细胞受体结合,黏附于黏膜上皮细胞,进而侵袭黏附下层,导致黏膜疾病的发生<sup>[9]</sup>,甚至扩散到其它脏器引起全身性感染。目前虽然已知菌丝的形成与菌株的致病性密切相关,但其具体的致病机制尚未完全清楚。因此,本文从菌丝形成的层面综述白色念珠菌菌丝形成与黏附、侵袭的致病调控机制,为研发新药提供靶点,增强防治白色念珠菌感染的效果。

### 1 白色念珠菌菌丝形成的调控机制

1.1 Tup1 介导的负调控通路 在 Tup1 介导负调控通路中通常由 Tup1(转录抑制因子)、Nrg1(DNA 结合蛋白)和 Rfg1 共同发挥作用。Tup1 通过 Nrg1 和 Rfg1 靶向菌丝特异性基因。在非诱导条件下, Nrg1 仍然表现为丝状生长,其缺失突变体形态类似于 Tup1 缺失突变体, Nrg1 可以抑制由 Tup1 控制的菌丝调节蛋白(hyphally-regulated protein, Hyr1)、凝集素样细胞表面蛋白(agglutinin-like cell surface protein 8, Als8)、细胞伸长蛋白(extent of cell elongation protein 1, Ece1)和菌丝细胞壁蛋白(hyphal wall protein 1,

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(32060018);中央引导地方科技发展项目(GUIKEZY20198004)

**第一作者简介:** 周文婷(1999-),女,在读硕士研究生,研究方向:耐药微生物防治研究, E-mail:1678887470@qq.com

**通讯作者简介:** 黄干荣(1971-),男,本科,高级实验师,研究方向:耐药微生物防治研究, E-mail:88193724@qq.com



p450 单加氧酶,其介导了麦角甾醇合成的关键步骤<sup>[28]</sup>。治疗白色念珠菌病时,若 CYP51(Erg11) 缺失或者抑制其表达,则会抑制麦角甾醇的代谢,影响白色念珠菌菌丝伸长和侵袭性生长的能力,ROS 清除缺陷,从而导致体内毒力降低。唑类药物是主要的抗真菌药物,其活性基团里含氮杂环中的氮原子通过配位键与 Erg11 编码的血红素铁活性中心结合来阻碍氧原子与活性中心的结合,从而抑制羊毛甾醇 C-14 $\alpha$  位的甲基羟化反应,影响甾醇的生物合成<sup>[29-30]</sup>。甾醇的缺失又会进一步影响细胞膜功能的发挥,进而导致白色念珠菌生长受抑。此外,Erg11 缺陷体能够被巨噬细胞更有效地杀死并在体内失去毒力,当 Erg11p 被抑制时,途径中的 Erg6p、Erg25p、Erg26p、Erg27p 和 Erg3p 等其他酶可以合成一种抑制真菌的有毒甾醇 [14 $\alpha$ -甲基麦角 8-24 (28) 二烯醇],也会导致白色念珠菌的生长受抑<sup>[31-32]</sup>。因此 CYP51(Erg11) 对膜的稳定性和功能是必需的,是唑类杀菌剂抗真菌的主要靶点,也是设计药物抑制菌丝的关键靶点。

2.2 水解酶对白色念珠菌菌丝侵袭过程的调控 主动侵袭是白色念珠菌侵袭黏膜屏障的主要机制之一,通过分泌性天冬氨酸蛋白酶(secreted aspartate proteinase, SAP)、磷脂酶 B(phospholipase, PLB) 和脂肪酶等各种水解酶破坏上皮细胞的结构形成通道,进而延长菌丝促使菌株侵袭黏膜屏障<sup>[33]</sup>。Sap 的高蛋白水解酶活性能够降解多种宿主细胞黏膜表面的保护分子,为白色念珠菌生长提供营养<sup>[13]</sup>,同时通过增强其黏附和入侵的能力,促进白色念珠菌对宿主组织的侵袭和免疫逃逸<sup>[19]</sup>。Sap 由 10 个 Sap 基因编码,机体免疫功能越低时,白色念珠菌分泌 Sap 的能力则越强<sup>[34]</sup>。Sap 在酵母相和菌丝相间存在差异性表达,如 Sap1-3 主要表达于酵母相与白-灰表型转换期,而酵母型与菌丝状的转变则主要通过 Efg1 调节 Sap4-6 的表达<sup>[35]</sup>。ABIRAMI G 等<sup>[36]</sup>证实了,Sap1、Sap2 与生物膜的形成、磷脂酶和胞外多聚物的产生有关。Sap9 与 Sap10 介导生物膜的形成,并在白色念珠菌细胞壁完整性以及与人类上皮细胞和中性粒细胞的相互作用中发挥作用<sup>[37]</sup>。此外,Sap9 还参与白色念珠菌芽管的生成,促使中性粒细胞趋化到菌丝,通过 EFG1 介导的 cAMP-PKA 途径对血清菌丝诱导刺激作出反应<sup>[38]</sup>。PLB 的水解酶和溶血磷脂酶-转酰基酶活性可以分解宿主细胞膜磷脂,引起膜通透性的增高和完整性的损伤,促使白色念珠菌侵入,但是电镜下观察到磷脂酶 B 缺陷型菌株和野生菌株对上皮细胞的黏附性无明显差异<sup>[39]</sup>,因此,磷脂酶 B 仅与宿主细胞膜的损伤有关,与黏附力无直接作用关系<sup>[40-41]</sup>。可见,在水解酶中,能作为药物靶点的可能主要是 Sap。

2.3 细胞壁蛋白对白色念珠菌菌丝黏附过程的调控

白色念珠菌侵袭黏膜屏障的另一主要机制是诱导内吞<sup>[33]</sup>。在黏附过程中,白色念珠菌表达了大量的细胞壁蛋白,包括黏附素和菌丝壁蛋白。目前研究比较深入的黏附素是凝集素样序列(agglutinin-like sequence, Als) 基因家族。该家族蛋白中心结构中的重复序列富含暴露于细胞表面的丝氨酸和苏氨酸,这使得该家族的蛋白大多具有黏附功能<sup>[42-43]</sup>。编码的细胞表面糖蛋白在黏附方面具有重要作用。其中,Als3 编码参与白色念珠菌黏附、生物膜形成、侵袭和铁获取的多功能细胞壁表面蛋白,是唯一具有显著侵袭功能的成员<sup>[44]</sup>。PHAN Q T 等<sup>[45]</sup>发现,Als3 是白色念珠菌附着并损伤内皮细胞、上皮细胞和细胞外质的关键,它以哺乳动物钙黏蛋白的分子模拟物的形式,与宿主细胞中的 E-钙黏蛋白和 N-钙黏蛋白结合,刺激肌动蛋白介导的生物体内吞作用,促进白色念珠菌入侵内皮细胞和口腔上皮细胞。此外,它还作为铁蛋白受体促进铁的获取,利于白色念珠菌在宿主中的生存<sup>[44]</sup>。Als3 作为菌丝特异性基因,由 Tup1、Nrg1 和 Rfg1(菌丝特异性抑制因子) 下调其转录,诱导菌丝形成的两个转录因子 Efg1 和 Cph1 则与其上调有关,如图 2 所示。Als1 和 Als5 也可诱导内皮细胞的内吞作用,但与钙粘蛋白的结合较为弱<sup>[46]</sup>。

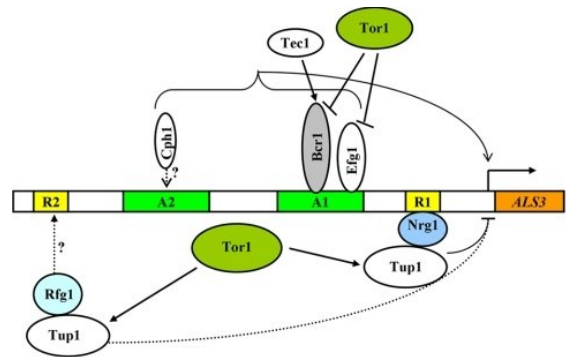


图 2 Als3 表达的转录调控图

具有显著抗原和菌丝特异性的 Hwp1(菌丝细胞壁蛋白 1) 是发育调节的重要黏附素,也是菌丝发育、交配、维持生物膜完整性、附着宿主等所必需的。Hwp1 通过共价连接白色念珠菌菌丝与宿主细胞,促进念珠菌的黏附,从而引起念珠菌感染<sup>[47]</sup>。另外,有研究表明,在生物膜形成过程中,Hwp1、Als1、Als3 和 ECE1 以互补结合的方式发挥它们的作用<sup>[48-49]</sup>。可见,Als 应该是汇集了其它通路的作用,是目前药物设计最为关键的靶基因。

## 3 总结

近年来,白色念珠菌的感染和耐药率逐步攀升,寻找和开发高效低毒的系统性治疗药物是紧急的任务。菌丝作为白色念珠菌的毒力因子逐渐成为研究的热点,其发病机制和毒力因子的关系以及毒力因子的组成非常复杂,涉及很多的理化因素和调控机制,与此相关的研究虽然越来越多,但是没有形成非常清晰的关系网络和明确的药物作用靶点。目前发现菌丝形成与翻译相关的 CYP51、Sap 和 Als 等基因可能是比较理想的药物靶基因, Tup1 和 Efg1 等通路基因也可以作为药物靶点,但是 Cph1 和 Rim101 等基因可能不是主要的药物靶基因,是否还有更理想的药物靶基因,需要进一步探索白色念珠菌的致病机制及生长规律。

## 参考文献:

- [1] 李瑞莲,王倬,杜显光. 白色念珠菌生物被膜研究进展[J]. 微生物学报,2017,57(8):1206-1218.
- [2] 梁嘉伟,白丽. 白色念珠菌生物被膜及其相关治疗方法研究进展[J]. 生物化工,2021,7(3):157-159,163.
- [3] BROWN G D, DENNING D W, GOW N A R, et al. Hidden killers: human fungal infections[J]. Sci Transl Med, 2012,4(165):165rv13.
- [4] SUDBERY P E. Growth of *Candida albicans* hyphae[J]. Nat Rev Microbiol, 2011,9(10):737-748.
- [5] VYLKOVA S, LORENZ M C. Modulation of phagosomal pH by *Candida albicans* promotes hyphal morphogenesis and requires Stp2p, a regulator of amino acid transport [J]. PLoS Pathog, 2014,10(3):e1003995.
- [6] LORENZ M C, BENDER J A, FINK G R. Transcriptional response of *Candida albicans* upon internalization by macrophages[J]. Eukaryot Cell, 2004,3(5):1076-1087.
- [7] CHEN H, ZHOU X D, REN B, et al. The regulation of hyphae growth in *Candida albicans* [J]. Virulence, 2020, 11(1):337-348.
- [8] 杨欣,孙欣. 白色念珠菌的致病和耐药机制研究进展[J]. 中国现代应用药学,2021,38(8):1021-1024.
- [9] POULAIN D. *Candida albicans*, plasticity and pathogenesis[J]. Crit Rev Microbiol, 2015,41(2):208-217.
- [10] BRAUN B R, KADOSH D, JOHNSON A D. NRG1, a repressor of filamentous growth in *C. albicans*, is down-regulated during filament induction[J]. EMBO J, 2001, 20(17):4753-4761.
- [11] LU Y, SU C, WANG A, et al. Hyphal development in *Candida albicans* requires two temporally linked changes in promoter chromatin for initiation and maintenance [J]. PLoS Biol, 2011,9(7):e1001105.
- [12] HOMANN O R, DEA J, NOBLE S M, et al. A phenotypic profile of the *Candida albicans* regulatory network [J]. PLoS Genet, 2009,5(12):e1000783.
- [13] ZEIDLER U, LETTNER T, LASSNIG C, et al. UME6 is a crucial downstream target of other transcriptional regulators of true hyphal development in *Candida albicans* [J]. FEMS Yeast Res, 2009,9(1):126-142.
- [14] CARLISLE P L, KADOSH D. *Candida albicans* Ume6, a filament-specific transcriptional regulator, directs hyphal growth via a pathway involving Hgc1 cyclin-related protein [J]. Eukaryot Cell, 2010,9(9):1320-1328.
- [15] WANG Y. Fungal adenylyl cyclase acts as a signal sensor and integrator and plays a central role in interaction with bacteria [J]. PLoS Pathog, 2013,9(10):e1003612.
- [16] LIN C J, WU C Y, YU S J, et al. Protein kinase A governs growth and virulence in *Candida tropicalis* [J]. Virulence, 2018,9(1):331-347.
- [17] GIACOMETTI R, KRONBERG F, BIONDI R M, et al. *Candida albicans* Tpk1p and Tpk2p isoforms differentially regulate pseudohyphal development, biofilm structure, cell aggregation and adhesins expression [J]. Yeast, 2011,28(4):293-308.
- [18] BRÜCKNER S, MÖSCH H U. Choosing the right lifestyle: adhesion and development in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. FEMS Microbiol Rev, 2012,36(1):25-58.
- [19] DESAI P R, LENGELER K, KAPITAN M, et al. The 5' untranslated region of the EFG1 transcript promotes its translation to regulate hyphal morphogenesis in *Candida albicans* [J]. mSphere, 2018,3(4):e00280-18.
- [20] SETIADI E R, DOEDT T, COTTIER F, et al. Transcriptional response of *Candida albicans* to hypoxia: linkage of oxygen sensing and Efg1p-regulatory networks [J]. J Mol Biol, 2006,361(3):399-411.
- [21] DAVIS D. Adaptation to environmental pH in *Candida albicans* and its relation to pathogenesis [J]. Curr Genet, 2003,44(1):1-7.
- [22] DAVIS D A. How human pathogenic fungi sense and adapt to pH: the link to virulence [J]. Curr Opin Microbiol, 2009,12(4):365-370.
- [23] LI M C, MARTIN S J, BRUNO V M, et al. *Candida albicans* Rim13p, a protease required for Rim101p processing at acidic and alkaline pHs [J]. Eukaryot Cell, 2004,3(3):741-751.
- [24] DAVIS D, WILSON R B, MITCHELL A P. RIM101-dependent and-independent pathways govern pH responses in *Candida albicans* [J]. Mol Cell Biol, 2000,20(3):971-978.
- [25] 韩叙,廖国建. 白色念珠菌麦角甾醇的储存、调节和功能 [J]. 国外医药(抗生素分册), 2018,39(5):424-429.
- [26] 胡成成,余鹏举,李少杰. 真菌中麦角甾醇合成的调控机制 [J]. 菌物研究, 2019,17(3):138-146.
- [27] JORDÁ T, PUIG S. Regulation of ergosterol biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Genes (Basel), 2020,11(7):795.

- [28] ZHANG Q Y, LI D, WEI P, et al. Structure-based rational screening of novel hit compounds with structural diversity for cytochrome P450 sterol 14 $\alpha$ -demethylase from *Penicillium digitatum*[J]. *J Chem Inf Model*, 2010, 50(2):317-325.
- [29] SONY J K, GANGULY S, KUMAR P, et al. Homology model, molecular dynamics simulation and novel pyrazole analogs design of *Candida albicans* CYP450 lanosterol 14  $\alpha$ -demethylase, a target enzyme for antifungal therapy [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2017, 35(7):1446-1463.
- [30] JIANG Y W, ZHANG J, CAO Y B, et al. Synthesis, in vitro evaluation and molecular docking studies of new triazole derivatives as antifungal agents[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21(15):4471-4475.
- [31] BHATTACHARYA S, ESQUIVEL B D, WHITE T C. Overexpression or deletion of ergosterol biosynthesis genes alters doubling time, response to stress agents, and drug susceptibility in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *mBio*, 2018, 9(4).
- [32] SAGATOVA A A, KENIYA M V, WILSON R K, et al. Triazole resistance mediated by mutations of a conserved active site tyrosine in fungal lanosterol 14  $\alpha$ -demethylase [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:26213.
- [33] JENULL S, TSCHERNER M, GULATI M, et al. The *Candida albicans* HIR histone chaperone regulates the yeast-to-hyphae transition by controlling the sensitivity to morphogenesis signals[J]. *Sci Rep*, 2017, 7:8308.
- [34] NAGLIK J R, CHALLACOMBE S J, HUBE B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2003, 67(3):400-428.
- [35] KORTING H C, HUBE B, OBERBAUER S, et al. Reduced expression of the hyphal-independent *Candida albicans* proteinase genes SAP1 and SAP3 in the *efg1* mutant is associated with attenuated virulence during infection of oral epithelium[J]. *J Med Microbiol*, 2003, 52(Pt 8):623-632.
- [36] ABIRAMI G, ALEXPANDI R, DURGADEVI R, et al. Inhibitory effect of morin against *Candida albicans* pathogenicity and virulence factor production: an in vitro and in vivo approaches[J]. *Front Microbiol*, 2020, 11:561298.
- [37] SCHILD L, HEYKEN A, de GROOT P W J, et al. Proteolytic cleavage of covalently linked cell wall proteins by *Candida albicans* Sap9 and Sap10 [J]. *Eukaryot Cell*, 2011, 10(1):98-109.
- [38] YANG H P, TSANG P C S, POW E H N, et al. Potential role of *Candida albicans* secreted aspartic protease 9 in serum induced-hyphal formation and interaction with oral epithelial cells[J]. *Microb Pathog*, 2020, 139:103896.
- [39] WAGNER A S, HANCOCK T J, LUMSDAINE S W, et al. Activation of Cph1 causes  $\beta(1,3)$ -glucan unmasking in *Candida albicans* and attenuates virulence in mice in a neutrophil-dependent manner[J]. *PLoS Pathog*, 2021, 17(8):e1009839.
- [40] 刘奇, 白丽. 白色念珠菌磷脂酶 B 的研究进展[J]. *中国热带医学*, 2008, 8(6):1050-1052.
- [41] MUKHERJEE P K, CHANDRA J, KUHN D M, et al. Differential expression of *Candida albicans* phospholipase B (PLB1) under various environmental and physiological conditions [J]. *Microbiology (Reading)*, 2003, 149(Pt 1):261-267.
- [42] RAUCEO J M, De ARMOND R, OTOO H, et al. Threonine-rich repeats increase fibronectin binding in the *Candida albicans* adhesin Als5p[J]. *Eukaryot Cell*, 2006, 5(10):1664-1673.
- [43] LOZA L, FU Y, IBRAHIM A S, et al. Functional analysis of the *Candida albicans* ALS1 gene product [J]. *Yeast*, 2004, 21(6):473-482.
- [44] LIU Y P, FILLER S G. *Candida albicans* Als3, a multifunctional adhesin and invasin[J]. *Eukaryot Cell*, 2011, 10(2):168-173.
- [45] PHAN Q T, MYERS C L, FU Y, et al. Als3 is a *Candida albicans* invasin that binds to cadherins and induces endocytosis by host cells[J]. *PLoS Biol*, 2007, 5(3):e64.
- [46] HOYER L L, GREEN C B, OH S H, et al. Discovering the secrets of the *Candida albicans* agglutinin-like sequence (ALS) gene family—a sticky pursuit[J]. *Med Mycol*, 2008, 46(1):1-15.
- [47] FAN Y, HE H, DONG Y, et al. *Hyphae-specific genes HGC1, ALS3, HWP1, and ECE1* and relevant signaling pathways in *Candida albicans* [J]. *Mycopathologia*, 2013, 176(5):329-335.
- [48] NOBILE C J, SCHNEIDER H A, NETT J E, et al. Complementary adhesin function in *C. albicans* biofilm formation[J]. *Curr Biol*, 2008, 18(14):1017-1024.
- [49] NOBILE C J, ANDES D R, NETT J E, et al. Critical role of Bcr1-dependent adhesins in *C. albicans* biofilm formation *in vitro* and *in vivo* [J]. *PLoS Pathog*, 2006, 2(7):e63.

收稿日期:2022-06-01;修回日期:2022-07-16