

· 综述 ·

白念珠菌的高适应性及代谢

毕爽, 胡丹丹, 姜远英, 王彦 (第二军医大学药学院新药研究中心, 上海 200433)

[摘要] 病原真菌白念珠菌对环境具有高度的适应能力, 主要体现在与宿主共生时、侵袭宿主时以及在抗真菌药物作用的情况下。白念珠菌生存、繁殖的过程伴随着物质代谢, 其可利用的碳源、氮源广泛, 并且对营养物质的变化非常敏感。近年来不少研究发现, 白念珠菌所处的环境会影响其代谢, 与此同时, 白念珠菌又可以通过调整代谢过程来适应多变的环境。因此, 深入研究白念珠菌代谢与高适应性之间的关联有助于发现新的抗真菌作用靶点。

[关键词] 白念珠菌; 高适应性; 代谢

[中图分类号] R37; Q939.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2016)02-0116-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.02.006

The high adaptability and metabolism of *Candida albicans*

BI Shuang, HU Dandan, JIANG Yuanying, WANG Yan (New Drug Research and Development Center, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Pathogenic *Candida albicans* has a high degree of adaptability to environment, which is evidenced by its adaptability to various conditions, including its symbiosis with the host, growth in host tissues during invasion, and survival under antifungal treatment. The growth and reproduction of *C. albicans* is accompanied with metabolism process. *C. albicans* can use a wide range of carbon and nitrogen sources, and it is sensitive to the alteration of nutrition. Recent studies reveal that the environment affects the metabolism of *C. albicans*, whilst *C. albicans* regulates its metabolism to adapt to the environment. Therefore, further study on the relationship between metabolism and high adaptability of *C. albicans* is helpful to discover novel antifungal targets.

[Key words] *Candida albicans*; high adaptability; metabolism

白念珠菌是一种重要的致病真菌, 该菌是人体肠道正常的寄生菌之一, 但当宿主免疫力低下时, 白念珠菌可导致严重感染, 这已成为重症监护患者最重要的直接致死原因之一^[1]。白念珠菌需要应对的环境条件复杂, 但其对环境具有高度的适应性。首先, 白念珠菌要适应宿主体内多变的环境, 比如可供利用的碳源、氮源等营养物质处于动态变化之中。从寄生菌到致病菌, 从浅表感染到深度感染, 宿主不同部位可供白念珠菌继续存活增殖的营养环境各异, 如葡萄糖水平、营养成分的丰富程度等都大相径庭。其次, 白念珠菌要应对来自宿主免疫系统的攻击, 包括对共生状态下温和的免疫防护的适应性, 以

及对侵袭状态强烈的免疫反应的适应性。第三, 白念珠菌要适应抗真菌药物的杀伤作用, 通过产生耐药性以求生存。目前临床上白念珠菌的耐药性问题日益显现, 对唑类药物的耐药尤为严重。

越来越多的研究表明, 白念珠菌的高适应性及代谢之间存在千丝万缕的联系。当白念珠菌所处的环境改变时, 可供代谢的物质发生变化, 代谢随之改变, 与此同时, 白念珠菌在形态、结构等方面也发生变化以适应环境, 故白念珠菌的代谢与其对环境的适应息息相关。耐药性作为白念珠菌高适应性的表现形式之一, 与代谢之间也存在密切联系。有研究表明, 白念珠菌进化为耐药菌后或者经过抗真菌药物处理后, 其糖异生、乙醛酸循环、氧化呼吸等众多代谢相关基因的转录表达水平均发生改变。从研究白念珠菌高适应性及代谢之间的相关性入手, 揭示白念珠菌的关键致病因子, 有利于发现新的抗真菌药物作用靶点。本文对白念珠菌高适应性及代谢之间的关联进行综述。

[基金项目] 国家自然科学基金(81273558), 上海市浦江人才计划(14PJJD001)

[作者简介] 毕爽, 硕士研究生, 研究方向: 白念珠菌基因功能研究. E-mail: shuangxun640@126.com

[通讯作者] 王彦, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 真菌致病及药物作用机制研究. Tel: (021)81871360; E-mail: wangyansmmu@126.com

1 白念珠菌的高适应性

1.1 共生状态下的高适应性 白念珠菌能适应共生环境,寄生在人体肠道或生殖道内。其在宿主体内寄生而不致病的机制复杂,包括病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)与宿主细胞表面的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)的相互作用^[2],免疫防护机制,宿主体内的菌群平衡^[3],以及微环境中代谢物的影响^[4]。白念珠菌在共生状态下的高适应性体现在对宿主免疫防护作用的适应性、对其他共生菌的适应性和对微环境中代谢底物的适应性。

1.2 致病状态下的高适应性 白念珠菌通过适应致病环境侵袭宿主的策略包括:对宿主细胞黏附性的改变、形态转换和分泌水解酶^[5]等。白念珠菌起黏附作用的主要物质是白念珠菌细胞壁表面的甘露聚糖、甘露糖蛋白质和几丁质^[6]。其中,一类在细胞壁表面帮助白念珠菌识别宿主的生物分子称为黏附素(adhensin),它负责识别并介导白念珠菌与宿主组织细胞表面的细胞外基质蛋白或糖蛋白结合。目前对黏附相关的ALS(agglutinin-like sequence)基因家族研究较为透彻,该家族包含ALS1~9的9个基因编码细胞表面糖蛋白,在对宿主组织表面的黏附过程中发挥作用^[7]。形态转换是白念珠菌高适应性和致病性的最强武器。目前发现白念珠菌有6种细胞形态:白态(white)、灰态(gray)、不透明态(opaque)、酵母态(yeast)、菌丝态(hyphae)和假菌丝态(pseudohyphae)。白态、灰态、不透明态之间存在相互转换,酵母态、菌丝态、假菌丝态之间也存在相互转换。当前对酵母态-菌丝态转换的研究最为深入,该转换被公认为白念珠菌由共生态转变为侵袭态的典型特征。不同形态的白念珠菌上结构不同的PAMP能被免疫细胞的PRR区分识别,菌丝态白念珠菌与酵母态相比,常具有更强的侵袭性并能引起更强烈的免疫反应。白念珠菌能够分泌胞外水解酶,如天冬氨酸蛋白酶、磷脂酶和脂肪酶等^[5]。这些水解酶可以破坏宿主细胞膜屏障,促进黏附和组织浸润,使宿主防御分子失活,以逃避免疫系统的攻击,并可以通过水解作用分解聚合物,为自身提供营养。

1.3 药物作用下的高适应性 白念珠菌对抗真菌药物也有很强的适应性。随着有限的几种抗真菌药物的长期大量使用,白念珠菌耐药的问题在临床日益凸显。临床应用最广泛的抗真菌药物是以氟康唑为代表的唑类药物,唑类药物的抗真菌机制是抑制

一种与麦角甾醇合成有关的细胞色素P450酶ERG11编码的14- α -去甲基化酶,使麦角甾醇的合成受阻,破坏真菌细胞膜的完整性,抑制其生长和繁殖^[8]。白念珠菌产生耐药的原因复杂,目前比较明确的耐药机制主要有:①药物外排增加:药物转运相关的ATP结合盒(ATP-binding cassette, ABC)转运蛋白CDR超家族以及主要易化扩散载体MDR超家族蛋白的表达增加^[9]。②靶基因改变:14- α -去甲基化酶的编码基因ERG11突变,导致酶构象改变,药物无法与位点结合;或14- α -去甲基化酶过表达使麦角甾醇合成增多。此外,白念珠菌其他的耐药机制包括:改变细胞膜甾醇成分、形成生物被膜、激活钙调神经磷酸酶通路等。

2 白念珠菌的代谢

2.1 碳源代谢 白念珠菌的碳源代谢是其最主要的供能、供物质途径。白念珠菌可利用的碳源分为2种:可发酵的六碳糖和不可发酵的二碳化合物。可发酵碳源主要是葡萄糖,还包括果糖、半乳糖和麦芽糖等;不可发酵碳源包括氨基酸和有机酸类,有机酸多数是乳酸,由寄生环境中共存的内生乳酸菌产生,对白念珠菌来说是一种很重要的碳源^[10]。碳源代谢途径可分为2种:①可发酵碳源进行的糖酵解和糖的有氧氧化;②不可发酵碳源通过乙醛酸循环和糖异生合成糖。白念珠菌通过乙醛酸循环利用某些二碳化合物,如乳酸、乙酸和乙醇等,已有研究证明,乙醛酸循环对于白念珠菌的致病过程是必需的^[11,12]。脂肪酸的 β -氧化是白念珠菌碳源代谢的另一重要途径。在没有葡萄糖作为碳源时,脂肪酸是糖异生的主要原料之一。

2.2 氮源代谢 氮源是继碳源以外合成物质和产能所需的另一类重要物质。通过对酿酒酵母的研究^[13]得知,白念珠菌可以利用多种含氮化合物作为氮源,包括氨、谷氨酰胺、天冬酰胺、氨基酸和尿素等,其中氨、谷氨酰胺、天冬酰胺属于高效率氮源,即白念珠菌在这些氮源低浓度状态下也有较高的生长率。氨作为重要的氮供体,既可以作为生物合成的氮源,同时也是某些含氮物质分解代谢的产物。而白念珠菌在利用含氮物质进行生物合成之前,需将其转化为谷氨酰胺或天冬酰胺^[14]。

3 代谢与高适应性的相关性

3.1 代谢与致病力的相关性 白念珠菌生存环境中可供代谢的碳源种类和浓度会影响其形态、结构等致病力相关特征。Ene等^[10]研究发现,以乳酸为

碳源培养白念珠菌时,与以葡萄糖为碳源相比,细胞壁的结构与性质发生了很大变化,导致白念珠菌入侵宿主细胞的能力增强。当以油酸为碳源时,与葡萄糖为碳源相比,白念珠菌导致系统性感染的致病力下降,引起肠道感染的致病力却有所增强。Buu等^[15]发现,低浓度的葡萄糖(0.1%)会诱发白念珠菌从酵母态向更具侵袭性的菌丝态转化,以及菌丝相关的天冬氨酸蛋白酶表达增加。Han等^[16]发现,在与血糖浓度(0.1%)相同的葡萄糖碳源中,白念珠菌激活了糖酵解过程,并抑制了乙醛酸循环和糖异生。

宿主环境下碳源的种类和浓度是随时变化的^[17],白念珠菌对碳源的高适应性是其致病性的表现形式之一。已有研究表明,白念珠菌在感染宿主时会处于葡萄糖缺乏的微环境,此时白念珠菌无法进行糖酵解,会转而利用非发酵碳源^[18],可利用的非发酵碳源包括乳酸、柠檬酸和乙酸等。当白念珠菌被中性粒细胞或巨噬细胞吞噬后,糖酵解基因表达下调,而糖异生、乙醛酸途径和 β -氧化相关基因表达上调^[19]。之后在细胞因子的刺激下,白念珠菌生成菌丝,穿透并杀死吞噬它的免疫细胞,在此情况下,糖酵解不再受抑制。

越来越多的碳代谢相关基因被认为是白念珠菌致病力的相关基因,比如糖酵解转录调控因子基因 *TYE7*、*GAL4*,糖异生相关基因 *FBPI*, β -氧化相关基因 *FOX2*,丙酮酸脱氢酶复合蛋白 X 编码基因 *PDX1*,当上述基因被敲除时,白念珠菌在小鼠系统感染模型中的致病力下降^[20,21]。调控菌丝形成的上游通路中的特异性关键性分子可能成为抗真菌药物的设计靶点。

低氮是引起白念珠菌由酵母态向菌丝态转化的信号之一,白念珠菌对氮源浓度的敏感性也属于高适应性的表现。白念珠菌氨透性酶 Mep2p 介导氨的摄入,以及感应环境中氮源浓度,并调节菌丝态转化以及蛋白酶的分泌,氨基酸饥饿或者低浓度氨条件会激发白念珠菌形成菌丝^[22,23]。

3.2 代谢与耐药性的相关性 环境中代谢底物的不同会导致白念珠菌对药物敏感性的变化。Ene 和 Adya 等^[10]在耐药性研究中,分别考察了葡萄糖碳源、乳酸碳源、葡萄糖和乳酸碳源培养下白念珠菌对多种抗真菌药物的敏感性。以乳酸为碳源时,白念珠菌对卡泊芬净、土霉素、两性霉素 B 更为耐药,对咪康唑最敏感;以葡萄糖为碳源时,白念珠菌对咪康唑更为耐药,但对两性霉素 B 最敏感;以葡萄糖和乳酸共同作为碳源时,白念珠菌对各药的敏感性介

于单独为碳源时二者之间。

线粒体功能影响白念珠菌的药物敏感性。线粒体是细胞代谢的重要细胞器,对多个念珠菌线粒体功能基因的研究发现,某些线粒体基因尤其是氧化呼吸链相关基因缺失时,念珠菌对唑类药物的敏感性增强,并伴随有无法利用非发酵碳源的现象。Sun 等^[8]的研究证实,经呼吸链复合体 I~IV 的抑制剂处理后,白念珠菌对氟康唑敏感性增强,复合体 I 相关基因 *GOA11* 和 *NDH51* 缺失时,都会导致菌株对氟康唑敏感性增强,且在不含可发酵碳源的培养基上无法生长。此外,RNA 测序结果显示,2 株缺失菌的耐药相关基因 *CDR1* 和 *CDR2* 的表达降低。

白念珠菌在抗真菌药物刺激下,或者产生耐药性之后,其生长状态以及内部代谢过程会发生一系列变化,这些变化可集中表现在基因表达的变化上。分析白念珠菌氟康唑耐药菌和敏感菌的基因表达差异,发现存在差异的能量代谢相关基因有^[24,25]:糖异生相关基因 (*CDC19*、*PGK1*、*FBA1*、*GPMT1*、*TPII*、*GAP1*)、发酵相关基因 (*ADH1*、*ALD5*)、乙醛酸循环基因 (*Mls1*、*Mdh11*)、TCA 循环基因 (*Idh1*)、氧化呼吸相关基因 (*Qcr1*)和线粒体转运相关基因 (*Mir1*)。其中,除了 *ALD5* 基因,其余基因在耐药菌中表达均高于敏感菌,说明在耐药菌中糖酵解和乙醛酸循环过程是增强的。蛋白质组学研究认为是白念珠菌在形成耐药性的过程中发生了代谢转变。

4 总结

综上所述,白念珠菌的高适应性与代谢之间存在密切联系。随着器官移植等医学科技的发展,免疫功能低下人群不断扩大,真菌感染的发生率、致死率俱增,现有的抗真菌药物已经远远不能满足临床需求,研发安全有效的新型抗真菌药物迫在眉睫。进一步明确白念珠菌代谢与高适应性的关系,发现白念珠菌高适应性的关键因子,将为抗真菌治疗提供新的作用靶点。

【参考文献】

- [1] Guinea J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia [J]. Clin Microbiol Infect, 2014, 20(Suppl 6): 5-10.
- [2] Cottier F, Pavelka N. Complexity and dynamics of host-fungal interactions [J]. Immunol Res, 2012, 53(1-3): 127-135.

- [6] Ichikawa T, Yamada M, Yamaguchi M, *et al.* Optically active antifungal azoles. XIII. Synthesis of Stereoisomers and Metabolites of 1-[(1R, 2R)-2-(2, 4-difluorophenyl)-2-hydroxy-1-methyl-3-(1H-1, 2, 4-triazol-1-yl) propyl]-3-[4-(1H-1-tetrazolyl) phenyl]-2-imidazolidinone (TAK-456) [J]. *Chemic Pharmaceut Bull*, 2001, 49(9): 1110-1119.
- [7] Cao X, Sun Z, Cao Y, *et al.* Design, synthesis, and structure activity relationship studies of novel fused heterocycles-linked triazoles with good activity and water solubility [J]. *J Med Chem*, 2014, 57(9): 3687-3706.
- [8] 梁文杰, 钟宏, 何谋海. 乙氧基羰基异硫氰酸酯的合成工艺 [J]. *化工进展*, 2011, 30(S1): 610-612.
- [9] 张春华, 严云良. 医药用数理统计 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 205.
- [收稿日期] 2015-11-20 [修回日期] 2015-12-30
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 118 页)

- [3] Romani L, Zelante T, Palmieri M, *et al.* The cross-talk between opportunistic fungi and the mammalian host via microbiota's metabolism [J]. *Semin Immunopathol*, 2015, 37(2): 163-171.
- [4] Mallick EM, Bennett RJ. Sensing of the microbial neighborhood by *Candida albicans* [J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(10): e1003661.
- [5] Staniszewska M, Bondaryk M, Pilat J, *et al.* Virulence factors of *Candida albicans* [J]. *Przegl Epidemiol*, 2012, 66(4): 629-633.
- [6] Zhu W, Filler S G. Interactions of *Candida albicans* with epithelial cells [J]. *Cell Microbiol*, 2010, 12(3): 273-282.
- [7] Hoyer LL. The ALS gene family of *Candida albicans* [J]. *Trends Microbiol*, 2001, 9(4): 176-180.
- [8] Sun N, Fonzi W, Chen H, *et al.* Azole susceptibility and transcriptome profiling in *Candida albicans* mitochondrial electron transport chain complex I mutants [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(1): 532-542.
- [9] Prasad R, Rawal MK. Efflux pump proteins in antifungal resistance [J]. *Front Pharmacol*, 2014, 5: 202.
- [10] Ene IV, Adya AK, Wehmeier S, *et al.* Host carbon sources modulate cell wall architecture, drug resistance and virulence in a fungal pathogen [J]. *Cell Microbiol*, 2012, 14(9): 1319-1335.
- [11] Lorenz MC, Fink GR. The glyoxylate cycle is required for fungal virulence [J]. *Nature*, 2001, 412(6842): 83-86.
- [12] Cheah HL, Lim V, Sandai D. Inhibitors of the glyoxylate cycle enzyme ICL1 in *Candida albicans* for potential use as antifungal agents [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e95951.
- [13] Kemsawasd V, Viana T, Ardo Y, *et al.* Influence of nitrogen sources on growth and fermentation performance of different wine yeast species during alcoholic fermentation [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015.
- [14] Gagiano M, Bauer F-F, Pretorius IS. The sensing of nutritional status and the relationship to filamentous growth in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *FEMS Yeast Res*, 2002, 2(4): 433-470.
- [15] Buu LM, Chen YC. Impact of glucose levels on expression of hypha-associated secreted aspartyl proteinases in *Candida albicans* [J]. *J Biomed Sci*, 2014, 21: 22.
- [16] Han TL, Cannon RD, Villas-B? as S-G. The metabolic basis of *Candida albicans* morphogenesis and quorum sensing [J]. *Fungal Genet Biol*, 2011, 48(8): 747-763.
- [17] Brown AJ, Brown GD, Netea MG, *et al.* Metabolism impacts upon *Candida* immunogenicity and pathogenicity at multiple levels [J]. *Trends Microbiol*, 2014, 22(11): 614-622.
- [18] Vieira N, Casal M, Johansson B, *et al.* Functional specialization and differential regulation of short-chain carboxylic acid transporters in the pathogen *Candida albicans* [J]. *Mol Microbiol*, 2010, 75(6): 1337-1354.
- [19] Kitahara N, Morisaka H, Aoki W, *et al.* Description of the interaction between *Candida albicans* and macrophages by mixed and quantitative proteome analysis without isolation [J]. *Amb Express*, 2015, 5(1): 127.
- [20] Ramirez MA, Lorenz MC. Mutations in alternative carbon utilization pathways in *Candida albicans* attenuate virulence and confer pleiotropic phenotypes [J]. *Eukaryot Cell*, 2007, 6(2): 280-290.
- [21] Sellam A, van het Hoog M, Tebbji F, *et al.* Modeling the transcriptional regulatory network that controls the early hypoxic response in *Candida albicans* [J]. *Eukaryot Cell*, 2014, 13(5): 675-690.
- [22] Dunkel N, Biswas K, Hiller E, *et al.* Control of morphogenesis, protease secretion and gene expression in *Candida albicans* by the preferred nitrogen source ammonium [J]. *Microbiology*, 2014, 160(Pt 8): 1599-1608.
- [23] Ramachandra S, Linde J, Brock M, *et al.* Regulatory networks controlling nitrogen sensing and uptake in *Candida albicans* [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e92734.
- [24] Yan L, Zhang JD, Cao YB, *et al.* Proteomic analysis reveals a metabolism shift in a laboratory fluconazole-resistant *Candida albicans* strain [J]. *J Proteome Res*, 2007, 6(6): 2248-2256.
- [25] Xu Y, Sheng F, Zhao J, *et al.* ERG11 mutations and expression of resistance genes in fluconazole-resistant *Candida albicans* isolates [J]. *Arch Microbiol*, 2015.
- [收稿日期] 2015-08-23 [修回日期] 2015-09-29
[本文编辑] 李睿旻