

真菌中的群体感应系统*

李曼^{1,2} 邱健² 宋水山^{2**}

(河北师范大学生命科学院 石家庄 050051) (河北省生物研究所 石家庄 050051)

摘要 以胞间通讯信号分子介导的细菌群体感应参与细菌多种生理功能的调控是非常普遍的。近年的研究表明,真菌中也存在类似于细菌群体感应信号分子的调节分子,并且介导着真菌某些生理行为的调节。这一过程也称为真菌的群体感应系统。文中简要介绍真菌群体感应系统的研究进展,并讨论了真菌群体感应系统作为抗真菌感染靶点的可能性。

关键词 真菌群体感应,真核生物,群体感应系统,真菌

中图分类号:Q93 文献标识码:A 文章编号:0253-2654(2007)03-0566-03

Quorum Sensing in Fungi*

LI Man^{1,2} QIU Jian² SONG Shui-Shan^{2**}

(School of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050051) (Biology Institute of Hebei, Shijiazhuang 050051)

Abstract Involvements of bacterial quorum-sensing in regulations of diverse responses are common in bacteria. Recently, it has become apparent that fungi, like bacteria, also has specific quorum sensing molecules and use quorum sensing to regulate some population-level behaviors of fungi. The recent progress on quorum sensing in fungi is described and the possibility of taking fungal quorum-sensing as potential targets for antifungal therapies is discussed in the present paper.

Key words Fungal quorum-sensing, Eukaryotes, Quorum sensing, Fungi

20世纪90年代以来,大量的研究工作表明细菌中,不管是革兰氏阳性还是革兰氏阴性细菌普遍存在着细菌与细菌之间的信息交流。细菌根据特定信号分子的浓度检测周围环境中自身或其它细菌的数量变化,当信号分子达到一定的浓度阈值时,即细菌数量达到一定量时,启动菌体中相关基因的表达来适应外界环境的各种变化。这一过程称为“群体感应系统(quorum sensing, QS)”。细菌的QS系统调控细菌许多生理功能,包括生物发光、成群浮游现象、抗生素的生物合成、质粒接合转移、动植物病原细菌毒力因子的产生等^[1,2]。近年来有研究指出真菌中也存在着类似于细菌QS信号分子的信息素,并且介导着真菌某些生理行为的调节。本文将对真菌中群体感应系统研究进展进行简要概述,并对真菌群体感应系统作为抗真菌靶点的可能性进行讨论。

1 荚膜组织胞浆菌(*Histoplasma capsulatum*)中的调节分子

真菌中的群体感应现象最初是由 Kügler 等人在寄生性

真菌荚膜组织胞浆菌的丝状体和酵母细胞两种形态转换调节中发现的^[3]。以酵母形式存在的荚膜组织胞浆菌以密度依赖方式产生一些特有的胞壁多糖如 α -1,3 糖苷。这种糖苷对其致病性是必需的。当酵母细胞密度高时这种糖苷含量丰富,但若将培养物稀释到新鲜培养基使其浓度低时,多数细胞不再合成糖苷。然而,如果新鲜培养基中含有来自稳定生长期酵母培养物的滤液,细胞仍然可以继续合成糖苷。这些结果表明,高密度培养时酵母细胞释放一种因子,可能类似于自身诱导物,可以促进糖苷的合成,并构成细胞的胞壁组分^[3]。

2 白色念珠菌(*Candida albicans*)中的调节分子

白色念珠菌也是较早被报道具有群体感应系统的真菌之一。它通常可以以芽孢酵母和极性菌丝两种形式存在,并且互相转换。早有报道指出,白色念珠菌菌丝体的形成在细胞密度较高时被抑制,也被进入稳定期生长的白色念珠菌培养物上清液所抑制。后来的研究表明,这种可溶性

* 国家自然科学基金资助项目(No. 30570402),河北省自然科学基金资助项目(No. C2006000707)

** 通讯作者 Tel: 0311-83999012, Fax: 0311-83032060, E-mail: shuishans@hotmail.com

收稿日期: 2006-07-05, 修回日期: 2006-09-26

因子是金合欢醇(farnesol)。金合欢醇的浓度随菌体密度的增加而增长。多种白色念珠菌均可产生不同水平的金合欢醇^[4]。但白色念珠菌感应金合欢醇的机制尚不清楚。应用金合欢醇的荧光类似物已将金合欢醇及其衍生物定位于细胞质膜和核膜上^[5]。Kruppa等人研究发现 Chk1 组氨酸激酶缺陷型的白色念珠菌突变株菌丝生长和生物膜形成不受金合欢醇的抑制^[6]。Sato等人指出外加金合欢醇可抑制营养缺乏条件下主导菌丝的 MAP 激酶级联反应,但 Chk1 和 MAP 激酶级联反应的关系有待进一步研究^[7]。

金合欢醇也影响白色念珠菌生物膜的形成。白色念珠菌是一种重要的人类病原真菌,其生物膜的形成是引起感染的重要过程^[9]。目前导管、支架等生物医用材料大量使用,白色念珠菌很容易在导入材料表面定殖形成生物膜。研究发现菌丝体的形成对白色念珠菌生物膜的发育发挥重要作用^[10-14]。Ramage等人报道培养基中加入金合欢醇可以有效的抑制白色念珠菌生物膜的形成^[15]。基因芯片研究表明用金合欢醇处理主要降低了与菌丝体形成有关的基因表达^[16]。如果能研究清楚金合欢醇直接调控的基因和蛋白及其机制,我们就可以将金合欢醇开发成抗白色念珠菌感染的抗菌药物。

2004年 Fink 实验室发现白色念珠菌中第二个群体感应信号分子,这一信号分子促进白色念珠菌从酵母到菌丝状体的转换^[8]。当将高密度培养物稀释到新鲜培养基中使之密度降低时,在菌体重新开始生长和丝状体芽管形成之前有一个很长的停滞期。新鲜培养基中添加培养过白色念珠菌的培养液,则停滞期明显缩短。经纯化鉴定这种存在于培养液中的活性分子是酪氨酸(tyrosol),向稀释的培养液中加入酪氨酸,既可以缩短菌体生长的停滞期,也可以诱导菌体芽管的形成。Chen等人利用基因组学方法比较酪氨酸处理对高密度培养白色念珠菌细胞中基因转录的影响,发现不加酪氨酸低密度培养时某些基因的表达量显著降低,但低密度培养培养基中添加酪氨酸时这些基因表达量并未降低。并且发现这些基因所编码的蛋白主要参与 DNA 合成,细胞周期调节等^[8]。结果表明,菌体细胞被稀释后之所以要有较长停滞期才能启动菌体细胞重新生长,主要由于细胞在这一阶段需要进行 DNA 复制、染色体分离、细胞周期调整等。正像细胞的群体感应一样,白色念珠菌的群体感应也可以影响基因的转录^[8]。

3 酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)中的群体感应信号分子

同上述真菌一样,酿酒酵母根据不同的环境条件也可以进行从酵母到丝状体形态的转变,引发这一形态转变的因素之一是培养基中氮营养缺乏。氮营养缺乏可以激活几种不同的信号转导途径,其中之一是 Ras-cAMP 依赖的蛋白激酶(PKA)途径。最近,Chen Fink 等人研究发现,进入稳定

期的酿酒酵母培养物可强烈诱导菌体的丝状生长^[17]。在这一过程中主导丝状生长的基因 *Flo11* 的表达量提高 5 倍多,这至少是丝状生长被强烈诱导的部分原因。经纯化鉴定表明存在于稳定期酿酒酵母培养液中的活性组分是苯乙醇(phenylethylalcohol)和色氨酸(tryptophol),分别是衍生于苯丙氨酸和色氨酸的芳香醇。同时向培养基中加苯乙醇和色氨酸诱导菌丝体生长的效应比单独添加任何一种要强得多,这说明二者可能具有协同作用^[17]。根据细菌群体感应特点,这些活性分子具备了群体感应信号分子的特征,即①其产生依赖于生长期,当培养物细胞进入稳定生长期,其积累水平达到最大;②色氨酸的产生受自身调节,培养基中加入色氨酸显著提高参与将色氨酸转化为色氨酸的基因 *ARO9* 和 *ARO10* 的转录表达;③不能产生这两种芳香醇的突变株的菌体丝状生长的能力和 *Flo11* 表达量均显著降低。

苯乙醇和色氨酸作为真菌丝状生长的群体感应信号分子的发现可以将已知的影响形态建成的信号转导和调节机制联系起来。其一,人们已知氨离子抑制菌体丝状生长,也抑制 *Flo9* 和 *Flo10* 的转录。其二,cAMP-PKA 途径及其靶转录因子 *Flo8* 均参与菌体丝状生长的调节,而苯乙醇和色氨酸发挥作用均需要 cAMP 蛋白激酶 Tpk2 和 *Flo8* 的参与。

4 其它真菌的调节分子

其它真菌也可以产生介导细胞形态的胞外分子。菜豆锈孢单菌(*Uromyces phaseoli*)产生的 3,4-二甲氧肉桂酸基蛋氨酸就是一种孢子萌发自身抑制剂^[18]。在腐柄角藻菌(*Ceratocystis ulmi*)中也观察到密度依赖型现象。调解密度依赖现象的活性因子可被有机溶剂提取出来,但其化合物的性质尚不确定^[19]。

5 真菌群体感应信号分子的其他功能及其与细菌群体感应的相互作用

群体感应信号分子不仅在种群内作为信号发挥作用,有时还可以介导种群间甚至物种间的相互作用^[20]。白色念珠菌产生的金合欢醇可诱导巢曲霉细胞凋亡,说明金合欢醇可能在白色念珠菌与其它真菌的竞争中发挥作用^[21]。金合欢醇及其相关化合物也可以引起人类肺癌细胞凋亡^[22]。虽然金合欢醇确实能够抑制哺乳动物磷酸转移酶,但结果表明这不是金合欢醇促进细胞凋亡的原因^[23]。研究表明金合欢醇对哺乳动物细胞内钙信号和细胞膜流动性也有作用^[24-26]。有报道指出某些抗真菌化合物在低浓度下就可导致白色念珠菌金合欢醇合成的增加^[27-28]。Machida 等报道金合欢醇处理 30 min 可诱导白色念珠菌线粒体产生的活性氧大量增加并可阻断酿酒酵母的生长,而经其它异戊二烯类化合物处理的则并不产生此类效应^[29,30]表明金合欢醇可能抑制酿酒酵母的磷酸酰胆碱肌醇信号转导途径^[31]。铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌产生的细菌群体感应信号分子可以抑制

白色念珠菌菌丝体发育^[32,33], 50 μ M ~ 200 μ M 的金合欢醇可以破坏金黄色葡萄球菌细胞膜的完整性^[34]。金合欢醇还可以使革兰氏阳性菌(金黄色葡萄球菌)和革兰氏阴性菌(大肠杆菌)对多种不同的抗生素敏感^[35]。这种现象或许代表了细菌调节真菌行为的机制,或白色念珠菌和其它相关真菌对周围存在拮抗性细菌存在的应答机制。本实验室在筛选能够降解细菌群体感应信号分子——N 酰基高丝氨酸内酯的菌种时,获得一株能够以 AHL 为唯一碳源和能源生长的酵母菌,经理化分析和分子鉴定确定为红冬孢酵母(资料待发表)。其生物学意义尚不清楚,但我们推测这或许代表酵母菌在自然环境中与细菌相互竞争的又一种机制。

6 结论与展望

到目前为止,虽然发现不同真菌产生不同的信号分子,但是真菌中的群体感应几乎都是参予菌体细胞形态转换的。这是真菌群体感应的主要生物学功能,还是由于研究材料、研究方法和研究深入程度的限制还未发现其它功能尚不得而知。细菌有一类信号分子-呋喃酮酰硼酸二酯(furanosylborate diester, AI-2)在革兰氏阳性、革兰氏阴性细菌中均存在,可以介导细菌种间信号通讯,在混合微生物群体的基因表达中发挥作用。在真菌中是不是存在着类似的种间通用信号分子还需要大量的研究工作进行证实。与细菌群体感应系统相比,对真菌群体感应系统的研究才刚刚开始,诸如真菌群体感应信号分子的受体或靶蛋白、转录因子以及信号转导途径、靶基因的调控和其它生物学功能都有待进一步研究。一旦确定了真菌群体感应对病原菌致病性的重要作用和作用机制,人们就可以开发以真菌群体感应为靶点的新型抗菌药物或技术手段,从而达到有益于人类的目的。

参考文献

- [1] Miller M B, Bassler B L. *Annu Rev Microbiol*, 2001 **55** : 165 ~ 199.
- [2] 宋水山, 贾振华, 高振贤, 等. *微生物学通报*, 2004 **31** : 117 ~ 120.
- [3] Kügler S, Sebgbat T C, Eissenberg L G, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000 **97** : 8794 ~ 8798.
- [4] Hornby J M, Jensen E C, Lisek A D, *et al.* *Appl Environ Microbiol*, 2001 **67** : 2982 ~ 2992.
- [5] Shchepin R, Dumitru R, Nickerson K W, *et al.* *Chem Biol*, 2005, **12** : 639 ~ 641.
- [6] Kruppa M, Krom B P, Chauhan N, *et al.* *Eukaryot Cell*, 2004 **3** : 1062 ~ 1065.
- [7] Sato T, Watanabe T, Mikami T, *et al.* *Biol Pharm Bull*, 2004 **27** : 751 ~ 752.
- [8] Chen H, Fujita M, Feng Q, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101** : 5048 ~ 5052.
- [9] Calderone, R A. (ed.) *Candida Candida and candidiasis*, ASM Press, Washington, D C, 2002.
- [10] Baillie G S, Douglas L J. *J Med Microbiol*, 1999 **48** : 671 ~ 679.
- [11] Garcia-Sanchez S, Aubert S, Iraqui I, *et al.* *Eukaryot Cell*, 2004 **3** : 536 ~ 545.
- [12] Chandra J, Kuhn D M, Mukherjee L L, *et al.* *J Bacteriol*, 2001, **183** : 5358 ~ 5394.
- [13] Lopez-Ribot J L. *Curr Biol*, 2005 **15** : R453 ~ R455.
- [14] Nobile C J, Mitchell A P. *Curr Biol*, 2005 **15** : 1150 ~ 1155.
- [15] Ramage G, Saville S P, Wickes B L, *et al.* *Appl Environ Microbiol*, 2002 **68** : 5459 ~ 5463.
- [16] Cao Y Y, Cao Y B, Xu Z, *et al.* *Antimicrob Agent Chemother*, 2005 **49** : 584 ~ 589.
- [17] Chen H, Fink G R. *Gene Dev*, 2006 **20** : 1150 ~ 1161.
- [18] Macko V, Staples R C, Gershon H, *et al.* *Science*, 1970 **170** : 539 ~ 540.
- [19] Hornby J N M, Jacobitz-Kizzir S M, McNeel D J, *et al.* *Appl Environ Microbiol*, 2004 **70** : 1356 ~ 1359.
- [20] 宋水山. *自然科学进展*, 2006 **16**(7) : 22 ~ 28.
- [21] Semighini C, Hornby J, Dumitru R, *et al.* *Mol Microbiol*, 2006 **59** : 753 ~ 765.
- [22] Miquel K, Pradines A, Favre G. *Res Commun*, 1996 **225** : 869 ~ 876.
- [23] Wright M M, Henneberry A L, Lagace T A, *et al.* *J Biol Chem*, 2001 **276** : 25254 ~ 25261.
- [24] Rouillet J B, Le Quan Sang K H, Luft U, *et al.* *J Hypertens*, 1997, **15** : 1723 ~ 1728.
- [25] Rouillet J B, Luft U C, Xue H, *et al.* *J Biol Chem*, 1997 **272** : 32240 ~ 32246.
- [26] Rouillet J B, Spaetgens R L, Burlingame T, *et al.* *J Biol Chem*, 1999 **274** : 25439 ~ 25446.
- [27] Hornby J M, Nickerson K W, *Agents Chemother*, 2004, **48** : 2305 ~ 2307.
- [28] Navarathna D H, Hornby J M, Hoermann N, *et al.* *J Antimicrob Chemother*, 2005 **56** : 1156 ~ 1159.
- [29] Machida K, Tanaka T. *FEBS Lett*, 1999 **462** : 108 ~ 112.
- [30] Machida K, Tanaka T, Fujita K, *et al.* *J Bacteriol*, 1998 **180** : 4460 ~ 4465.
- [31] Machida K, Tanaka T, Yano Y, *et al.* *Microbiology*, 1999 **145**(Pt. 2) : 293 ~ 299.
- [32] Hogan D A, Vik A, Kolter R. *Mol Microbiol*, 2004 **54** : 1212 ~ 1223.
- [33] Wang L, He Y, Gao J E, *et al.* *Mol Microbiol*, 2004 **51** : 903 ~ 912.
- [34] Inoue Y, Shiraishi A, Hada T, *et al.* *FEMS Microbiol Lett*, 2004, **237** : 325 ~ 331.
- [35] Brehm-Stecher B, Johnson EA. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, **47** : 3357 ~ 3360.