

专家述评

侵袭性真菌感染与宿主免疫应答的评述

宋章永

(西南医科大学基础医学院病原生物学教研室,四川泸州 646000)

摘要 近年来,侵袭性真菌感染的发病率和病死率呈急剧上升趋势。侵袭性真菌感染时会引起宿主一系列免疫应答反应来清除病原体,其中固有免疫应答在识别侵袭性真菌抗原、清除病原体和介导适应性免疫反应等方面发挥重要作用,而近期研究证实适应性免疫在应答真菌感染时发挥着不可缺失的功能。一方面侵袭性真菌采取多种策略来逃避宿主的免疫反应,另一方面特异免疫细胞识别病原体并启动一系列免疫反应来维持宿主免疫平衡和避免机体病菌的发生。为更深入的认识侵袭性真菌感染宿主引起的免疫应答和免疫逃避造成的侵袭性真菌病,本文对侵袭性真菌感染和宿主免疫应答的机制研究现状作一评述。

关键词 侵袭性真菌;免疫应答;免疫逃避;组学技术

中图分类号 R379

文献标志码 A

doi:10.3969/j.issn.2096-3351.2018.02.001

Commentary on invasive fungi infection and host immune response

SONG Zhangyong

Department of Pathogenic Biology, the School of Basic Medical Sciences of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Abstract The infections and mortality of human fungal infections have been on the rise in recent years. Nevertheless, the invasive fungi can cause a wide range of syndromes of immune response from host. The innate immune system play a crucial role in the innate immune response by recognizing pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), protecting against infection, and mediating the adaptive immunity. Recent studies have confirmed that adaptive immunity also play an essential role in response to the invasive fungi. On the one hand, invasive fungi have developed many strategies to evade the host immune system. On the other hand, recognition of microbial pathogens and commissioning the wide range of syndromes of immune response by specialized immune cells are essential to maintain host homeostasis. To avoid the occurrence of microbial pathogens, the host should keep the immune homeostasis. To understand the balance between immune surveillance, host invasion and immune evasion, this commentary will outline the status of research on the interplay of invasive fungi and host immune response mechanism.

Keywords Invasive fungi; Immune response; Immune evasion; Omics technology

基金项目: 国家自然科学基金项目(31701127); 四川省教育厅重点项目(18ZA0515)。

执行编委简介: 宋章永,副研究员,理学博士。2014年毕业于重庆大学,随后在重庆大学生物医学工程流动站从事博士后研究工作,2017年1月于西南医科大学工作至今。

主要研究领域为人体病原真菌感染和宿主免疫应答的分子机制。先后主持和主研国家自然科学基金项目、国家科技成果转化资金项目、国家公益性行业科研项目、国家“863”项目、中国博士后科学基金面上项目、四川省教育厅重点项目和中央高校基本科研创新人才专项项目等12项。近5年在BMC Genomics、Scientific reports等国内外期刊发表学术论文20篇,其中SCI论文14篇。并担任Molecular Medicine Reports等SCI杂志的审稿人。

临幊上随着抗生素和免疫抑制剂的广泛使用,艾滋病和糖尿病的发病率不断上升,同时念珠菌、曲霉和隐球菌等侵袭性真菌感染的发病率和病死率呈急剧上升趋势^[1]。侵袭性真菌感染除发生在免疫力低下者外,免疫功能正常的人群也会发生侵袭性真菌的感染^[2]。侵袭性真菌已成为继细菌后的第二重要感染源,其感染人体引起的免疫应答和逃避人体免疫应答的机制均较为复杂,目前尚未完全阐明。本文将对侵袭性真菌在人体内引起的免疫应答和逃避免疫机制的主要研究进展进行评述,旨在为诊断和治疗侵袭性真菌的发生提供依据。

1 侵袭性真菌细胞壁的主要构成

真菌细胞壁在维持真菌固有形态、细胞新陈代谢、真菌发育及与宿主免疫细胞互作等方面发挥着重要功能。由几丁质、纤维素、葡聚糖、甘露聚糖和半乳聚糖等组成的多糖链是真菌细胞壁的主要成分。多糖的数量和性质存在着种属间和不同生活阶段的差异。真菌细胞最外层是无定形的葡聚糖,是重要的宿主识别受体^[3],这些葡聚糖构成带有支链的多聚体,由于结构复杂,目前尚未完全明确。 β -甘露糖是真菌特有的糖型,通过N-乙酰葡萄糖胺与蛋白组成甘露聚糖蛋白复合物,可分布于细胞表面的葡聚糖之间,构成甘露聚糖蛋白的表面结构,在维持真菌细胞的完整性、宿主互作的抗原表位和细胞表面受体分子等方面发挥作用^[3-5],其特异的抗原决定簇是开发真菌病检测试剂盒的重要依据。另一方面,甘露聚糖蛋白也分散于细胞质周围的间隙内,构成一些处于细胞壁次内层的糖蛋白,是一些酶的基础。丝状真菌的壳聚糖或酵母菌的葡聚糖为主组成的不溶性微细纤维构成细胞壁最内层,是真菌防御宿主免疫应答的重要成分^[3,6]。

2 固有免疫应答真菌入侵

侵袭性真菌通过粘附、形态转换、分泌胞外酶和毒素物质等方式突破人体天然屏障,进入人体体内,或在人体内寄生,当个体免疫力低下或正常菌群失调时,造成侵袭性真菌病^[6-9]。人体体内的单核/巨噬细胞、树突细胞和自然杀伤细胞等是抵抗病原真菌入侵的第一道防线。固有免疫细胞通过模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)来识别病原体的保守区域。目前模式识别受体主要包括Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)、C型凝集素家族(C-type lectins, CLRs)、NOD样受体(nod-like receptors, NLRs)、RIG-I样受体(RIG-I like receptors, RLRs)等。这些PRPs拥有不同的识别配体、信号转导和亚细胞位置,通过识别不同病原微生物的相关分子模型(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)来激活免疫细胞内的相关信号通路,从而诱导产生促炎性细胞因子、趋化因子、干扰素和共刺激因子等表达,发挥免疫防御作用^[6]。依据受体蛋白激活信号通路的不同,将这些受体分为两类:一类是通过核转录因子NF- κ B(nuclear factor- κ B)或干扰素应答因子IRF(interferon regulatory factor)进行转录表达的炎性细胞因子;一类是参与形成的炎症小体。

目前大量研究证实在识别病原真菌 β -葡聚糖和甘露糖时CLRs发挥主要作用。研究发现树突状细胞在应对白色念珠菌侵染时,不是TLRs下游接头分子MyD88蛋白,而是CLRs募集的Syk(spleen tyrosine kinase)蛋白激酶协调天然免疫应答^[10]。NLRs属于胞内PRRs,可识别被免疫细胞吞噬的病原体的PAMPs,在半胱天冬酶-8参与形成炎症小体时,不依赖NLRs而是通过Dectin-1受体途径来诱导白介素IL-1 β 的产生^[11]。CLRs包含Dectin-1、Dectin-2、Mannose receptor、Mincle和DC-SIGN(dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin)等多个成员,主要在骨髓和上皮细胞表达。研究证实,Dectin-1和Dectin-2受体作为PRRs感应白色念珠菌酵母或菌丝体感染时发挥功能,配体一旦结合受体,则可通过Syk来激活转录NF- κ B、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和钙调磷酸激酶等信号通路,在机体应答免疫平衡、炎症性反应和应答病原真菌感染方面发挥重要作用^[12]。但两受体发挥功能时又有所不同,Dectin-1受体不依赖Ca²⁺方式识别真菌 β -葡聚糖,而Dectin-2受体是依赖Ca²⁺方式识别真菌 α -甘露聚糖,Dectin-1受体激活NF- κ B信号通路时是激活NF- κ B的全部亚基,而Dectin-2受体是通过活化NF- κ B的c-REL亚基来达到激活NF- κ B信号通路^[11]。

Dectin-3受体(又名MCL,或Clecsf8,或Clec4d)能够识别真菌细胞壁上的 α -甘露糖,在免疫应答白色念珠菌、皮炎芽生菌等病原菌时发挥重要作用^[13],且与Dectin-2在识别病原真菌 α -甘露聚糖发挥协同功能^[14]。目前已证实CLRs通过成员之间的复杂协同作用发挥应答病原菌的感染^[15]。但CLRs成员之间的协同作用机制均尚未研究透彻^[12]。同时CLRs也与其他模式受体发挥协同功能,如Toll样受体中的TLR2和TLR4也能够识别隐球菌的葡萄糖醛酸木甘露聚糖^[2,16],但CLRs与TLRs的协同作用机制尚未明确。而针对CLRs下游Syk-负调控蛋白E3泛素化连接酶CBLB(casitas B-lineage lymphoma protein b)的免疫调节应答白色念珠菌的功能研究,为增强固有免疫治疗感染的侵袭性真菌提供了思路^[17-18]。

固有免疫细胞通过巨噬细胞的吞噬作用,或者分泌一系列细胞因子和趋化因子引起炎症反应将病原菌杀灭,招募中性粒细胞在感染部位聚集并释放有效的颗粒物质,达到清除入侵病原菌的目的^[19]。不同细胞因子可诱导巨噬细胞极化成M1和M2型,其中M1型巨噬细胞通过产生ROS(reactive oxygen

species)和RNS (reactive nitrogen species)来阻碍病原菌的侵染^[3,20],而M2型巨噬细胞在抑制和调节炎症反应和伤口愈合方面发挥关键作用。巨噬细胞应答新生隐球菌产生的极化过程较复杂,其机制尚未研究透彻^[2]。

3 适应性免疫应答真菌入侵

当侵袭性真菌感染进一步发展时,人体会启动适应性免疫来参与防御感染。抗原提呈细胞(APC)将抗原提呈给T细胞进而启动适应性免疫应答。研究已证实CD4⁺和CD8⁺T细胞均参与抗病原真菌感染的反应^[2,6],但CD4⁺T细胞作用更重要。CD4⁺T细胞接受抗原刺激后,活化、增殖、分化成辅助性T细胞(helper T cell, Th细胞)。Th细胞受局部微环境中的细胞因子影响,又可分化为Th1、Th2、Th17或调节性T细胞(regulatory cells, Tregs细胞)。Th1细胞是应答病原真菌的重要免疫细胞,直接或间接分泌 γ -干扰素和IL-2、IL-6、IL-12等白细胞介素,促进巨噬细胞、自然杀伤细胞和CD8⁺T细胞等的活化和增殖,导致炎症的发生和对病原真菌吞噬、灭杀,达到消除感染的病原真菌目地^[20-21]。Th2细胞和Th17细胞是应答黏膜念珠菌病所必需的^[22-23],Th2细胞分泌的IL-4、IL-10等白细胞介素因子,可促进B细胞增殖并产生抗体,参与体液免疫应答。同时Th2细胞还分泌白细胞介素IL-13和转化生长因子TGF- β 等,在调控免疫平衡方面发挥功能,如IL-13可抑制IFN- γ 干扰素对巨噬细胞的活化,TGF- β 在抑制中性粒细胞活化增殖方面发挥作用。Th17细胞被证实在病原真菌感染过程中可能发挥更重要的作用,但其作用机制仍需深入研究^[23]。Tregs细胞在机体免疫耐受及维持自身稳态方面发挥重要功能,其抗病原微生物感染方面发挥着功能,但作用机制尚未研究透彻^[2,24]。

抗原刺激后,在辅助性T细胞辅助下B细胞活化、增殖、分化为B2细胞,并形成生发中心和产生特异性抗体,介导体液免疫应答。同时分泌IL-10、IL-12、和IL-13等白细胞介素因子,参与免疫调节和炎症反应^[25]。

4 侵袭性真菌的逃避免疫机制

侵袭性真菌突破人体天然屏障,会遭遇上述的人体固有免疫和适应性免疫应答。侵袭性真菌采用多种策略来应对相应的免疫环境:①通过自身形态的改变来逃避免疫细胞识别,如感染过程中白色念

珠菌的酵母-菌丝转换、white-opaque形态转换、新生隐球菌的荚膜增厚和细胞的增大^[2,7,26],均是病原真菌逃避免疫PRRs受体识别的有效手段。②通过改变自身的形态影响免疫细胞释放不同细胞因子或干扰素,造成干扰后续的免疫应答过程^[2,27]。③通过表达大量基因改变自身的细胞壁结构,来抑制吞噬小体的成熟,甚至诱导吞噬细胞的程序性死亡^[28-29]。④病原真菌通过释放造成组织损伤的酶或毒素来破坏入侵组织,造成人体的感染^[9]。总之,病原真菌通过多种策略来逃避人体的免疫应答,从而达到在人体内寄存或感染的目的,但其逃避人体免疫应答的机制较为复杂,目前尚未研究透彻。

5 应用组学技术在侵袭性真菌与人体宿主互作方面的研究

侵袭性真菌与人体免疫细胞的互作是一个复杂而又系统的过程,目前尚未研究透彻。发挥优势的组学技术和高级系统生物学工具则有助于揭示病原真菌侵染时病原与宿主之间的精确互作模式^[30]。现今开展多个水平的组学(转录组学、基因组学、蛋白组学、代谢组学和计算机系统生物学)研究可实现多个角度对宿主免疫应答病原真菌入侵的认识。比较转录组研究树突细胞免疫应答细菌和白色念珠菌感染时,共发现101个差异表达的基因^[31]。对白色念珠菌刺激巨噬细胞分化的蛋白组学研究发现细胞骨架重排和代谢途径蛋白在M1型巨噬细胞中上调表达,且发现白色念珠菌能诱导M1型向M2型巨噬细胞极化^[32]。通过基因组水平研究白色念珠菌应答巨噬细胞吞噬时,共发现102个负调控和872个正调控形态发生的基因,且发现应答巨噬细胞炎性小体时,白色念珠菌通过细胞壁结构的改变和糖基化蛋白的暴露来诱导巨噬细胞的程序性死亡^[26]。目前对免疫细胞与念珠菌互作的组学研究比较多,但对免疫细胞应答其它侵袭性真菌的组学研究较少^[30,33-34]。同时免疫细胞在应答病原真菌入侵时存在细胞异质性,但免疫细胞应答病原真菌的异质性研究目前尚未见报道。

MicroRNA(miRNA)通过抑制信使RNA的翻译在免疫细胞分化、发育和功能调节中发挥重要作用,同时在固有免疫和适应性免疫细胞应答病原微生物方面发挥作用。新生隐球菌诱导单核巨噬细胞后的差异表达miRNA研究显示:多个差异表达的靶基因集中在T细胞信号通路、胞内因子互作、Toll样受体调节等方面^[35]。人体树突状细胞对白色念珠菌和烟曲

霉免疫应答研究发现共有26个差异表达miRNAs和5个特异表达miRNAs^[36]。挖掘病原菌感染诱导不同免疫细胞的miRNA类型及miRNA调控靶基因表达的分子机制,可为治疗侵袭性真菌病提供未来治疗的靶标。

6 结语与展望

目前侵袭性真菌感染的发病率呈现上升趋势,且病死率居高不下,故寻找侵袭性真菌的快速诊断及治疗上的突破对临床治疗具有重要意义。侵袭性真菌感染人体宿主,引起机体的固有免疫和适应性免疫应答达到消除感染的病原菌,并维持机体免疫平衡,或者病原菌逃避宿主的免疫应答并造成侵袭性真菌病,其过程均是复杂的。因此侵袭性真菌感染人体引起的免疫应答机制和逃避免疫应答的机制仍需深入研究,寻求更有效的疾病干预靶点,进而从免疫角度为临床治疗侵袭性真菌病提供支持。

参 考 文 献

- Gow NAR, Netea MG. Medical mycology and fungal immunology: new research perspectives addressing a major world health challenge[J]. Phil Trans R Soc B, 2016, 371(1709): 20 150 462.
- Leopold Wager CM, Hole CR, Wozniak KL, et al. Cryptococcus and phagocytes: complex interactions that influence disease outcome[J]. Front Microbiol, 2016, 7: 105.
- Qin YL, Zhang LL, Xu Z, et al. Innate immune cell response upon *Candida albicans* infection[J]. Virulence, 2016, 7(5): 512–526.
- Navarro-Arias MJ, Defosse TA, Dementhon K, et al. Disruption of protein mannosylation affects *Candida guilliermondii* cell, immune sensing, and virulence[J]. Front Microbiol, 2016, 7: 1 951.
- Pérez-García LA, Csonka K, Flores-Carreón A, et al. Role of protein glycosylation in *Candida parapsilosis* cell wall integrity and host interaction[J]. Front Microbiol, 2016, 7: 306.
- Marcos CM, de Oliveira HC, de Melo WdCMA, et al. Anti-immune strategies of pathogenic fungi[J]. Front Cell Infect Mi, 2016, 6: 142.
- 潘丽娜,曹承俊,魏羽佳,等.白色念珠菌形态转换及其调控机制的研究进展[J].中国细胞生物学学报,2016,38(9): 1 049–1 059.
- Bielska E, May RC. What makes *Cryptococcus gattii* a pathogen[J]. FEMS Yeast Res, 2016, 16(1): fov106.
- Moyes DL, Wilson D, Richardson JP, et al. Candidalysin is a fungal peptide toxin critical for mucosal infection[J]. Nature, 2016, 532(7597): 64–68.
- Whitney PG, Băr E, Osorio F, et al. Syk signaling in dendritic cells orchestrates innate resistance to systemic fungal infection[J]. PLOS Pathog, 2014, 10(7): e1 004 276.
- Gringhuis SI, Wevers BA, Kaptein TM, et al. Selective C-Rel activation via Malt1 controls anti-fungal T_H-17 immunity by dectin-1 and dectin-2[J]. PLOS Pathog, 2011, 7: e1 001 259.
- Ostrop J, Lang R. Contact, collaboration, and conflict: signal integration of syk-coupled C-type lectin receptors [J]. J Immunol, 2017, 198: 1 403–1 414.
- Lobato-Pascual A, Saether PC, Fossum G, et al. Mincle, the receptor for mycobacterial cord factor, forms a functional receptor complex with MCL and Fcε RI-γ [J]. Eur J Immunol, 2013, 43: 3 167–3 174.
- Zhu LL, Zhao XQ, Jiang CY, 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: 324–334.
- Drummond RA, Lionakis MS. Mechanistic insights into the role of C-type lectin receptor/CARD9 signaling in human antifungal immunity[J]. Front Cell infect Mi, 2016, 6: 39.
- Gibson JF, Johnston SA. Immunity to *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii* during cryptococcosis[J]. Fungal Genet Biol, 2015, 78: 76–86.
- Wirsberger G, Zwolanek F, Asaoka T, et al. Inhibition of CBLB protects from lethal *Candida albicans* sepsis[J]. Nat Med, 2016, 22(8): 915–923.
- Xiao Y, Tang J, Guo H, et al. Targeting CBLB as a potential therapeutic approach for disseminated Candidiasis [J]. Nat Med, 2016, 22(8): 906–914.
- Gazendam RP, van Hamme JL, Tool AT, et al. Human neutrophils use different mechanisms to kill *Aspergillus fumigatus* conidia and hyphae: evidence from phagocyte defects[J]. J Immunol 2016, 196(3): 1 272–1 283.
- Geginat J, Paroni M, Maglie S, et al. Plasticity of human CD4 T cell subsets[J]. Front Immunol, 2014, 5: 630.
- Murdock BJ, Teitz-Tennerbaum S, Chen GH, et al. Early or late IL-10 blockade enhances Th1 and Th17 effector response and promotes fungal clearance in mice with cryptococcosis infection[J]. J Immunol, 2014, 193: 4 107–4 116.
- Conti HR, Gaffen SL. IL-17-Mediated immunity to the opportunistic fungal pathogen *Candida albicans*[J]. J Immunol, 2015, 195: 780–788.
- 陈菲,徐小勇,孙禾,等.烟曲霉感染中TH17免疫应答的作用机制[J].国际呼吸杂志,2015,35(2): 136–138.

24. Shafiani S, Tucker-Heard G, Kariyone A, et al. Pathogen-specific regulatory T cells delay the arrival of effector T cells in the lung during early tuberculosis[J]. *J Exp Med*, 2010, 207(7): 1 409–1 420.
25. Lionakis MS, Iliev ID, Hohl TM. Immunity against fungi [J]. *JCI Insight*, 2017, 2(11): e93 156.
26. García-Rodas R, Cordero RJ, Trevijano-Contador N, et al. Capsule growth in *Cryptococcus neoformans* is coordinated with cell cycle progression[J]. *mBio*, 2014, 5(3): e00 945–14.
27. Whibley N, Gaffen SL. Beyond *Candida albicans*: mechanisms of immunity to non-albicans Candida species[J]. *Cytokine*, 2015, 76(1): 42–52.
28. Bain JM, Louw J, Lewis LE, et al. *Candida albicans* hypha formation and mannan masking of β -glucan inhibit macrophage phagosome maturation[J]. *mBio*, 2014, 5(6): e01874–14.
29. O'Meara TR, Veri AO, Ketela T, et al. Global analysis of fungal morphology exposes mechanisms of host cell escape[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6 741.
30. Chin VK, Lee TY, Rusliza B, Chong PP. Dissecting *Candida albicans* infection from the perspective of *C. albicans* virulence and omics approaches on host-pathogen interaction: a review[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(10): 1 643.
31. del Fresno C, Soulard D, Roth S, et al. Interferon- β production via dectin-1-Syk-IRF5 signaling in dendritic cells is crucial for immunity to *C. albicans*[J]. *Immunity*, 2013, 38: 1 176–1 186.
32. Reales-Calderón JA, Aguilera-Montilla N, Corbí AL, et al. Proteomic characterization of human proinflammatory M1 and anti-inflammatory M2 macrophages and their response to *Candida albicans*[J]. *Proteomics*, 2014, 14:1 503–1 518.
33. Smeekens SP, van de Veerdonk FL, Netea MG. An omics perspective on *Candida* infections: toward next-generation diagnosis and therapy[J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 154.
34. Tóth A, Zajta E, Csonka K, et al. Specific pathways mediating inflammasome activation by *Candida parapsilosis*[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 43 129.
35. Chen H, Jin Y, Chen H, et al. MicroRNA mediated inflammatory responses induced by *Cryptococcus neoformans* depend on the NF- κ B pathway in human monocytes[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(6): 1 525–1 532.
36. Dix A, Czakai K, Leonhardt I, et al. Specific and novel microRNAs are regulated as response to fungal infection in human dendritic cells[J]. *Front Microbiol* 2017, 8: 270.

(2018-02-02 收稿)