

- sites in human phospholipid scramblase 3: differential binding to an alternatively spliced isoform and amino acid-substituted mutants[J]. J Biol Chem, 2008, 283(15): 9623-9632.
- [39] OSUGI K, SUZUKI H, NOMURA T, et al. Identification of the P-body component PATL1 as a novel ALG-2-interacting protein by in silico and far-Western screening of proline-rich proteins[J]. J Biochem, 2012, 151(6): 657-666.
- [40] QUISTGAARD E M. BAP31: physiological functions and roles in disease[J]. Biochimie, 2021, 186: 105-129.
- [41] IWASAWA R, MAHUL-MELLIER A L, DATLER C, et al. Fis1 and Bap31 bridge the mitochondria-ER interface to establish a platform for apoptosis induction[J]. EMBO J, 2011, 30(3): 556-568.
- [42] DADSENA S, KING L E, GARCÍA-SÁEZ A J. Apoptosis regulation at the mitochondria membrane level[J]. Biochim Biophys Acta Biomembr, 2021, 1863(12): 183716.
- [43] BRECKENRIDGE D G, STOJANOVIC M, MARCELLUS R C, et al. Caspase cleavage product of BAP31 induces mitochondrial fission through endoplasmic reticulum calcium signals, enhancing cytochrome c release to the cytosol[J]. J Cell Biol, 2003, 160(7): 1115-1127.
- [44] KAMEMURA K, CHIHARA T. Multiple functions of the ER-resident VAP and its extracellular role in neural development and disease[J]. J Biochem, 2019, 165(5): 391-400.
- [45] LI M, DING W, TARIQ M A, et al. A circular transcript of ncxl gene mediates ischemic myocardial injury by targeting miR-133a-3p[J]. Theranostics, 2018, 8(21): 5855-5869.
- [46] XIANG X, ZHENG L, LI X. Silencing of long noncoding RNA zinc finger antisense 1 protects against hypoxia/reoxygenation-induced injury in HL-1 cells through targeting the miR-761/cell death inducing p53 target 1 axis[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2020, 76(5): 564-573.
- [47] LIAO Z, CHEN Y, DUAN C, et al. Cardiac telocytes inhibit cardiac microvascular endothelial cell apoptosis through exosomal miRNA-21-5p-targeted cdip1 silencing to improve angiogenesis following myocardial infarction[J]. Theranostics, 2021, 11(1): 268-291.
- [48] LAI C H, BARIK P, HSIEH D J Y, et al. Inhibition of cell death-inducing p53 target 1 through miR-210-3p overexpression attenuates reactive oxygen species and apoptosis in rat adipose-derived stem cells challenged with Angiotensin II [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 532(3): 347-354.
- [49] ZHOU X, FENG Y, LIU S, et al. IL-33 promotes the growth of non-small cell lung cancer cells through regulating miR-128-3p/CDIP1 signalling pathway[J]. Cancer Manag Res, 2021, 13: 2379-2388.

(收稿日期: 2022-12-22 修回日期: 2023-03-28)

• 综 述 •

外阴阴道念珠菌病发病机制及抗生物膜治疗的研究进展

张欢欢¹, 莫 非^{1,2}, 刘艺清³, 丁文静³综述, 渠 巍^{1,3△}审校

1. 贵州医科大学医学检验学院, 贵州贵阳 550000; 2. 贵州医科大学附属医院临床检验中心, 贵州贵阳 550000;
3. 贵阳市妇幼保健院检验科, 贵州贵阳 550000

摘 要: 外阴阴道念珠菌病是一种主要由白念珠菌引起的症状性阴道炎症, 有近 40% 的患者会复发, 部分患者甚至发展为复发性外阴阴道念珠菌病。该文讨论了白念珠菌的致病机制, 并概括了外阴阴道念珠菌病抗生物膜治疗的最新进展。

关键词: 外阴阴道念珠菌病; 白念珠菌; 宿主免疫; 生物膜

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.17.022 **中图法分类号:** R711.31

文章编号: 1673-4130(2023)17-2162-04 **文献标志码:** A

Research progress on pathogenesis and antibiofilm therapy of vulvovaginal candidiasis

ZHANG Huanhuan¹, MO Fei^{1,2}, LIU Yiqing³, DING Wenjing³, QU Wei^{1,3△}

1. School of Medical Laboratory, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550000, China;

2. Department of Clinical Laboratory Center, Affiliated Hospital of Guizhou Medical

University, Guiyang, Guizhou 550000, China; 3. Department of Clinical Laboratory,

Guiyang Maternal and Child Health Care Hospital, Guiyang, Guizhou 550000, China

Abstract: Vulvovaginal candidiasis is a type of symptomatic vaginal inflammation caused mainly by *Candida albicans*. Nearly 40% of patients will relapse, some patients even develop recurrent vulvovaginal can-

△ 通信作者, E-mail: 306255115@qq.com。

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20230824.1627.004.html> (2023-08-25)

didiasis. In this paper, the pathogenesis of *Candida albicans* is discussed and the recent advances of antibiofilm therapy in vulvovaginal candidiasis are summarized.

Key words: vulvovaginal candidiasis; *Candida albicans*; host immunity; biofilm

外阴阴道念珠菌病是一种常见的女性阴道黏膜感染性疾病,主要由白念珠菌引起^[1]。常见的临床表现包括阴道瘙痒、灼热、疼痛、发红及阴道白色豆腐渣样分泌物。外阴阴道念珠菌病是最常见的人类念珠菌感染,有报道,75%的女性一生中至少感染一次,而在感染的女性中,5%~9%的外阴阴道念珠菌病会发展成复发性外阴阴道念珠菌病^[1-3]。因此针对外阴阴道念珠菌病的发病机制展开研究,并寻求有效的治疗手段意义重大。此外,真菌感染通常与生物膜的形成有关,而念珠菌形成生物膜的能力是其致病性的关键,被认为是外阴阴道念珠菌病和复发性外阴阴道念珠菌病的重要毒力因素^[4]。目前对白念珠菌生物膜的研究不多且分散,因此本文通过对外阴阴道念珠菌病的发病机制及抗生物膜治疗进展的文献复习,为临床认识外阴阴道念珠菌病的病因寻求治疗新思路提供理论依据。

1 外阴阴道念珠菌病的发病机制

1.1 念珠菌的毒力 外阴阴道念珠菌病主要感染菌株为白念珠菌,白念珠菌具有多态性,主要为卵球形酵母和细长菌丝两种形态,在某些特定环境下,不同的生长形式和形态之间可逆切换^[5]。念珠菌主要通过两种主要机制进行破坏:菌丝的直接入侵或毒力效应物的分泌,菌丝对于突破黏膜屏障和造成组织损伤至关重要^[6]。

1.1.1 凝集素样序列(ALS) ALS 基因代表了白念珠菌中的一个黏附素家族,许多与菌丝相关的黏附素有将白念珠菌锚定在黏膜上皮上。ALS3 是一种菌丝特异性细胞壁蛋白,是白念珠菌 ALS 蛋白家族的一员。ALS3 作为一种侵袭素,诱导白念珠菌的网格蛋白依赖性内吞进入上皮细胞,进一步促进其侵袭性,还可结合异源配体,包括钙黏蛋白、铁蛋白和戈登链球菌表面蛋白。这使得 ALS3 成为抗念珠菌治疗的潜在目标。白念珠菌在各种基质(包括唾液膜、聚苯乙烯和硅酮弹性体)上形成生物膜的能力也受到 ALS3 表达的影响^[7]。

1.1.2 菌丝壁蛋白(HWP) HWP 家族的成员是毒力和交配所必需的,HWP1 是酵母样真菌菌丝形态的关键毒力因子之一,具有独特的作用机制,是真菌细胞黏附上皮细胞的一个关键因素^[3]。HWP1 具有一个糖基磷脂酰肌醇锚定结构域,其 N 端序列是转谷氨酰胺酶与上皮细胞结合的底物。HWP1 与宿主上皮细胞表面的各种蛋白质结合,其中包括结合 ALS1 和 ALS3,可调节芽孢-菌丝和菌丝-菌丝的自黏附,这是生物膜结构中的一个关键相互作用^[8]。在口腔念珠菌病小鼠模型中,HWP1 基因两个拷贝均被删除的菌

株的毒力显著降低,这表明该黏附蛋白是念珠菌的关键毒力因子^[9]。

1.1.3 分泌型天冬氨酸蛋白酶(SAP) SAP 家族由 10 个 SAP(SAP1~SAP10)基因编码,是白念珠菌在黏膜和播散性感染中的重要毒力因子,因为它们通过促进入侵和对抗宿主防御系统在致病性中发挥潜在作用^[10]。这些基因根据菌株和环境条件(如 pH 值、温度或营养来源类型)的不同而差异表达,如 SAP1~SAP3 主要在酵母细胞中表达,而 SAP4~SAP6 几乎只在接近中性 pH 值的菌丝形成过程中表达,从而支持宿主穿透和逃避免疫反应。生物膜形成过程中,SAP5 和 SAP6 的表达增加,SAP9 和 SAP10 与出芽时真菌黏附、细胞壁完整性和细胞分离有关^[11]。

1.2 宿主免疫 白念珠菌作为病原体与宿主的相互作用取决于真菌毒力、宿主免疫反应和微生物环境。虽然真菌毒力对外阴阴道念珠菌病的初始发病很重要,但是宿主免疫反应在真菌、宿主和微生物群之间的相互作用发挥的上皮屏障上,提供了对白念珠菌感染的关键保护^[6]。真菌识别天然免疫系统是抵御白念珠菌感染的第一道防线,通过天然免疫细胞的模式识别受体(PRR)进行白念珠菌的免疫反应过程。PRR 中如 TOLL 样受体(TLR)和 C 型凝集素受体(CLR),与白念珠菌细胞壁上的病原体相关分子模式(PAMP)相互作用,如葡聚糖和甘露聚糖,导致炎症细胞因子的分泌^[12]。以下几种类型的 CLR 对于白念珠菌的识别至关重要,包括 DECTIN-1、DECTIN-2、MINCLE、DC-SIGN 和 MR。DECTIN-1 识别真菌 B-葡聚糖,该葡聚糖触发 CARD9-SYK 通路,导致核因子(NF)- κ B 激活,并随后释放细胞因子和趋化因子。DECTIN-1 还可以诱导吞噬和炎症小体激活。此外,DECTIN-2 与 DECTIN-3 形成异二聚体,并在白念珠菌菌丝表面结合 α 甘露聚糖^[6]。TLR 介导的 PAMP 识别激活先天免疫细胞中 MYD88 依赖性和 TRIF 信号通路,以调节炎症反应^[13]。在 CD4⁺ T 细胞中,TH1 和 TH17 细胞分别通过释放炎症细胞因子如 γ 干扰素和白细胞介素(IL)-17A/F 促进真菌细胞的吞噬清除,这些 T 细胞亚群对保护性抗真菌免疫至关重要。另一方面,TH2 细胞反调节 TH1 和 TH17 反应,这有利于真菌的持久性并促进过敏表现。调节性 T 细胞维持这些反应之间的稳态平衡,并在感染清除时限制炎症。TH17 细胞是人类白念珠菌特异性辅助性 T 细胞群的主要亚群,TH1 和 TH2 细胞是次要亚群^[14]。先天性免疫和适应性免疫的互补和协作,影响宿主与白念珠菌相互作用的结局,是抗白念珠菌感染

的关键。

1.3 阴道微生物群 阴道微生物群主要由乳杆菌属组成,宿主和阴道微生物群之间的相互作用是高度动态的,育龄妇女的阴道微生物群主要由至少 5 种不同的类型组成^[4]。其中 4 种群落类型以产乳酸的乳酸杆菌属为主,而第 5 种通常由厌氧菌和严格厌氧菌组成。大多数体外和动物研究表明,乳酸杆菌对白念珠菌的生长、形态转变、毒力和生物膜形成具有抑制作用^[15]。乳酸杆菌的代谢产物,包括乳酸、过氧化氢、细菌素和生物表面活性剂,都有助于抗真菌作用^[16]。乳酸对病原体和宿主防御有着直接和间接影响,它的产生与阴道的整体健康有关^[17]。育龄期时高水平的雌激素诱导阴道黏膜上皮细胞肥大,并通过阴道上皮细胞分泌糖原。糖原被阴道菌群的主要成分乳酸杆菌发酵成乳酸,导致 pH 值显著降低,从而阻止了其他微生物的发展,其中酸性 pH 抑制白念珠菌菌丝生长,可能在限制真菌相关毒力因子的表达和入侵方面发挥重要作用^[8,18]。在白念珠菌存在的情况下,卷曲乳杆菌降低了上皮 TLR2/4 表达和 IL-8 水平,但通过增加 β -防御素的产生来维持抗真菌活性。此外,鼠李糖乳杆菌通过减少 IL-1 α 和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子的产生来调节上皮细胞的炎症反应,限制白念珠菌诱导的阴道细胞促炎反应(IL-1 α 和 IL-1 β 除外)^[4]。还可以通过营养消耗和黏附位点阻塞来预防白念珠菌诱导的损伤和入侵^[19]。同时减少白念珠菌增殖并诱导脱落上皮屏障,从而防止真菌侵入组织^[20]。微生物群与宿主免疫系统之间的相互作用有助于减少白念珠菌增殖并防止其传播。真菌利用阴道微生物群的信号如乳酸、缺氧、环境 pH 值来调节 β -1,3-葡聚糖水平,而降低 β -1,3-葡聚糖水平会导致抗念珠菌免疫反应减弱并促进疾病进展。真菌可能利用这些信号来预测即将到来的免疫攻击,并通过激活免疫逃避机制来保护自己^[6]。

2 抗生物膜治疗

微生物生物膜是指包裹在细胞外基质中并附着于表面的复杂、结构化、空间定向的微生物群落。生物膜是真菌毒力的重要构成因素,在形成生物膜后,真菌对临床常用抗真菌药物的灵敏度极大下降,并且其耐药性随着生物膜的成熟而增强。抗生物膜治疗主要的难题在于生物膜细胞对抗真菌药物和宿主防御表现出顽强的抵抗力。而随着真菌生物膜感染发病率的增加,开发替代或辅助治疗念珠菌生物膜感染的方法迫在眉睫^[21]。根据生物膜形成和调控的机制,以下概述了外阴阴道念珠菌病抗生物膜治疗的主要研究方向。

2.1 影响群体感应系统 群体感应在介导白念珠菌生物膜的形成中起着重要作用,群体感应是一种密度依赖的细胞间通信机制在这种机制中。随着密度的增加,会释放自诱导物(信号分子),从而增强或抑制

某些基因或因子的激活。重要的是,它也对生物膜的形成作出了贡献^[22]。在白念珠菌中,法尼醇是最具特征的群体感应信号分子,是白念珠菌中甾醇生物合成的前体,由法尼基二磷酸(FPP)产生的,而 FPP 是生物合成麦角甾醇和扁豆醇的前体。它在生长过程中以较高的细胞密度持续释放到环境中,通常阻断酵母菌向丝状菌的过渡,但不能抑制已有菌丝的伸长^[23]。在生物膜后期高密度的丝状细胞交织时,法尼醇产生增多,抑制菌丝形成,促进酵母相白念珠菌增多,新生的子代酵母相细胞移出并脱离成熟生物被膜,在新环境定植,因此阻碍白念珠菌的生物膜发育和形态转变^[23-24]。法尼醇的作用方式,使它有很大的潜力作为辅助物质与其他药物(唑类抗真菌药物)联合使用^[25]。ALEM 等^[26]发现法尼醇、氟康唑、两性霉素 B 或米卡芬净对白念珠菌生物被膜形成均有抑制作用,将其联合使用时发现抑制生物被膜效果增强,其中法尼醇和米卡芬净达到最大的协同作用。

2.2 抑制胞外聚合物(EPS)形成 EPS 胞外聚合物基质由多糖、DNA、蛋白质等组成,有助于生物膜的结构,保护生物膜细胞免受宿主防御和药物攻击。是生物膜发育阶段中必不可少的成分,它可以促进表面黏附、细胞-细胞黏附和聚集^[27]。其中 β -1,3-葡聚糖是白念珠菌生物膜 EPS 的主要成分之一,对念珠菌生物膜的形成具有重要作用。研究表明 β -1,3-葡聚糖酶作为抗生物膜剂,可通过降解生物膜细胞外基质来治疗念珠菌生物膜相关感染。该酶可单独使用或与其他药物联合使用,以增强药物对念珠菌生物膜的作用。表明 β -1,3-葡聚糖酶是一种潜在的治疗念珠菌生物膜相关感染的药物^[28]。细胞外 DNA 在许多生物膜的 EPS 中起结构支架的作用,研究表明脱氧核糖核酸酶可以分解微生物的生物膜,此外胞外多糖作为 EPS 的主要成分,在生物膜结构建立和维持中起重要作用,生物膜基质中存在两种关键胞外多糖 Pel 和 Psl(一种由 N-乙酰-d-氨基葡萄糖和 N-乙酰基-d-半乳糖胺组成的阳离子胞外多糖),研究证明靶向生物膜胞外多糖的糖苷水解酶能够通过体外降解这两种胞外多糖来破坏生物膜的完整性^[27]。因此利用酶降解 EPS 已成为提高药物疗效和去除生物膜的新策略^[28]。

3 小结与展望

宿主通过免疫系统,保持阴道微生物群的动态平衡,从而控制阴道炎症。生物膜的出现成为临床治疗白念珠菌感染的困难问题。本文对真菌、宿主和微生物群之间的相互作用机制及近期治疗生物膜的研究方法进行了文献复习。期望这些消除或抑制生物膜的方法,能解决现有临床治疗的困境,延缓或减轻真菌耐药。综上所述,抗生物膜的治疗方法虽然很有前景,但目前多停留在基础研究阶段,由于缺乏能够真实模拟临床环境的良好实验模型,它们在生物膜根除方面的效用仍需进一步的动物或临床实验来验证。

参考文献

- [1] PHILLIPS N A, ROCKTASHEL M, MERJANIAN L. Ibrexafungerp for the treatment of vulvovaginal Candidiasis: design, development and place in therapy[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2023, 17(1): 363-367.
- [2] FIDEL P L. History and update on host defense against vaginal candidiasis[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2007, 57(1): 2-12.
- [3] DENNING D W, KNEALE M, SOBEL J D, et al. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review[J]. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18(11): 339-347.
- [4] RODRÍGUEZ-CERDEIRA C, MARTÍNEZ-HERRERA E, CARNERO-GREGORIO M, et al. Pathogenesis and clinical relevance of biofilms in vulvovaginal Candidiasis[J]. *Front Microbiol*, 2020, 11(1): 544480.
- [5] HÖFS S, MOGAVERO S, HUBE B. Interaction of *Candida albicans* with host cells: virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota[J]. *J Microbiol*, 2016, 54(3): 149-169.
- [6] D'ENFERT C, KAUNE A, ALABAN L, et al. The impact of the fungus-host-microbiota interplay upon *Candida albicans* infections: current knowledge and new perspectives[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2021, 45(3): fuaa060.
- [7] BAMFORD C V, NOBBS A H, BARBOUR M E, et al. Functional regions of *Candida albicans* hyphal cell wall protein Als3 that determine interaction with the oral bacterium *Streptococcus gordonii*[J]. *Microbiology (Reading)*, 2015, 161(1): 18-29.
- [8] CZECHOWICZ P, NOWICKA J, GOSCINIAK G. Virulence factors of *Candida* spp. and host immune response important in the pathogenesis of vulvovaginal Candidiasis[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(11): 5895.
- [9] ZHU W, FILLER S G. Interactions of *Candida albicans* with epithelial cells[J]. *Cell Microbiol*, 2010, 12(3): 273-282.
- [10] FENG W, YANG J, PAN Y, et al. The correlation of virulence, pathogenicity, and itraconazole resistance with SAP activity in *Candida albicans* strains[J]. *Can J Microbiol*, 2016, 62(2): 173-178.
- [11] BRAGA-SILVA L A, SANTOS A L S. Aspartic protease inhibitors as potential anti-*Candida albicans* drugs: impacts on fungal biology, virulence and pathogenesis[J]. *Curr Med Chem*, 2011, 18(16): 2401-2419.
- [12] JABRA-RIZK M, KONG E, TSUI C, et al. *Candida albicans* pathogenesis: fitting within the host-microbe damage response framework[J]. *Infect Immun*, 2016, 84(10): 2724-2739.
- [13] SWIDERGALL M, SOLIS N, WANG Z, et al. EphA2 is a neutrophil receptor for *Candida albicans* that stimulates antifungal activity during oropharyngeal infection[J]. *Cell Rep*, 2019, 28(2): 423-433.
- [14] BACHER P, HOHNSTEIN T, BEERBAUM E, et al. Human anti-fungal Th17 Immunity and pathology rely on cross-reactivity against *Candida albicans*[J]. *Cell*, 2019, 176(6): 1340-1355.
- [15] DE GREGORIO P R, SILVA J A, MARCHESI A, et al. Anti-*Candida* activity of beneficial vaginal lactobacilli in in vitro assays and in a murine experimental model[J]. *FEMS Yeast Res*, 2019, 19(2): foz008.
- [16] FUOCHI V, CARDILE V, PETRONIO G P, et al. Biological properties and production of bacteriocins-like-inhibitory substances by *Lactobacillus* sp. strains from human vagina[J]. *J Appl Microbiol*, 2019, 126(5): 1541-1550.
- [17] SMITH S, RAVEL J. The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology[J]. *J Physiol*, 2017, 595(2): 451-463.
- [18] ARDIZZONI A, WHEELER R, PERICOLINI E. It takes two to Tango: how a dysregulation of the innate immunity, coupled with virulence, triggers VVC Onset[J]. *Front Microbiol*, 2021, 12(1): 692491.
- [19] MAILÄNDER-SÁNCHEZ D, BRAUNSDORF C, GRUM AZ C, et al. Antifungal defense of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG is mediated by blocking adhesion and nutrient depletion[J]. *PLoS One*, 2017, 12(10): e0184438.
- [20] GRAF K, LAST A, GRATZ R, et al. Keeping *Candida* commensal: how lactobacilli antagonize pathogenicity of *Candida albicans* in an in vitro gut model[J]. *Dis Model Mech*, 2019, 12(9): dmm039719.
- [21] BANDARA H, MATSUBARA V, SAMARANAYAKE L. Future therapies targeted towards eliminating *Candida* biofilms and associated infections[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2017, 15(3): 299-318.
- [22] ATRI WAL T, AZEEM K, HUSAIN F, et al. Mechanistic understanding of *Candida albicans* biofilm formation and approaches for its inhibition[J]. *Front Microbiol*, 2021, 12(1): 638609.
- [23] PADDER S A, PRASAD R, SHAH A H. Quorum sensing: a less known mode of communication among fungi[J]. *Microbiol Res*, 2018, 210(1): 51-58.
- [24] 许雯倩, 张琰, 马鸣, 等. 密度感应分子对白色念珠菌生物被膜形成作用的研究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2014, 34(9): 1196-1201.
- [25] DIZOVA S, BUJDAKOVA H. Properties and role of the quorum sensing molecule farnesol in relation to the yeast *Candida albicans*[J]. *Pharmazie*, 2017, 72(6): 307-312.
- [26] ALEM M, OTEEF M, FLOWERS T, et al. Production of tyrosol by *Candida albicans* biofilms and its role in quorum sensing and biofilm development[J]. *Eukaryot Cell*, 2006, 5(10): 1770-1779.
- [27] JIANG Y, GENG M, BAI L. Targeting biofilms therapy: current research strategies and development hurdles[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(8): 1222.
- [28] TAN Y L, MA S, LEONHARD M, et al. β -1,3-glucanase disrupts biofilm formation and increases antifungal susceptibility of *Candida albicans* DAY185[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 108(1): 942-946.