



## 新生隐球菌细胞通讯研究进展

张科贵<sup>1</sup> 何光军<sup>\*2</sup>

1 淮南师范学院生物工程学院 安徽 淮南 232001

2 中国科学院微生物研究所 北京 100101

**摘要:** 细胞通讯系统调控多细胞生物的细胞增殖与分化等多种基础生物学过程,也是调控单细胞生物群体或社会性行为的重要策略。新生隐球菌是一种重要的环境来源病原真菌,主要感染免疫缺陷人群,具有很高的致死率。作为环境致病真菌,新生隐球菌进化出丰富的环境适应性策略。新生隐球菌细胞呈现出高度的异质性和社会性,不同形态的细胞承载着不同生物学功能和病原学特征。越来越多的研究表明,通过细胞通讯系统调控其群体或社会性行为,既是新生隐球菌适应多变的外界环境和宿主环境的关键策略,也与其致病能力密切相关。本文介绍新生隐球菌中细胞通讯系统的研究进展及其在有性生殖、细胞形态转换、适应环境及宿主压力等社会性行为中的调控作用。

**关键词:** 新生隐球菌, 细胞通讯, 社会性, 有性生殖, 形态转换

## Cell-cell communication in human fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*

ZHANG Ke-Gui<sup>1</sup> HE Guang-Jun<sup>\*2</sup>

1 School of Biological Engineering, Huainan Normal University, Huainan, Anhui 232001, China

2 Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

**Abstract:** Cell-cell communication has been well known about the control of various fundamental processes, such as proliferation and cellular differentiation, in multi-cellular organisms. In microbes, cell-cell communication system determines a variety of community and social behaviors. *Cryptococcus neoformans* is an important environmental human fungal pathogen, which is a common cause for fatal infection towards immune-compromised patients. This pathogen employs diverse strategies as environmental adaptation to maximize its survival during or between its infections. These strategies include cell-cell communication, which regulates the transition between different *Cryptococcus neoformans* morphotypes with distinct trade-offs against stressors from host or natural niches. In this review, the complex cell-cell communication systems in *C. neoformans* and their contribution to morphotype transition, stress adaptation and community behaviors are focused.

**Keywords:** *Cryptococcus neoformans*, Cell-cell communication, Social behavior, Sexual reproduction, Morphotype transition

**Foundation item:** Key Program in the Youth Elite Support Plan in Universities of Anhui Province (gxqnZD2018074)

**\*Corresponding author:** Tel: 86-10-64806033; E-mail: heguangjun@163.com

**Received:** 22-07-2019; **Accepted:** 30-07-2019; **Published online:** 16-09-2019

**基金项目:** 安徽省高校优秀青年人才支持计划(gxqnZD2018074)

**\*通信作者:** Tel: 010-64806033; E-mail: heguangjun@163.com

**收稿日期:** 2019-07-22; **接受日期:** 2019-07-30; **网络首发日期:** 2019-09-16

细胞作为生命活动的基本单位,既是一个相对独立的系统,也是一个开放系统。为了保证生命活动的顺利进行,细胞与外界每时每刻都进行着物质、能量和信息的交换,其中信息的获得起着举足轻重的作用。细胞接受各种信号的刺激,通过特定的信号转导机制,最终调控细胞内的物质代谢和能量代谢,进而在时间和空间上精确调控细胞的增殖、运动、分化和死亡等几乎所有生理过程。无论是多细胞生物还是单细胞生物,细胞的生命活动都不是孤立进行的,细胞与细胞、细胞与胞外环境之间通过细胞通讯和细胞识别而相互作用、相互协调,形成了所谓的细胞社会。

细胞通讯(cell-cell communication)是指细胞与细胞之间、细胞与环境之间发生的信息传递以及信号在胞内整合的过程。为了保证生命活动的顺利进行,多细胞生物进化出了复杂的细胞通讯网络,参与细胞识别和信息传递。细胞通讯不仅对高等多细胞生物的细胞分化、组织构建、器官形成和个体发育起着重要的作用<sup>[1-2]</sup>,而且在神经系统、免疫应答等多种生物学过程中发挥着重要的生理功能<sup>[3-9]</sup>。细胞通讯的异常,特别是信号转导通路的异常和许多重要疾病包括炎症、癌症、糖尿病、心血管等疾病的发生发展密切相关<sup>[10-16]</sup>。

单细胞生物在多数情况下也并非孤立生存,它们在自然界中往往以群落的方式生存,其中生物被膜(biofilm)是研究得最为深入的群落生存方式。生物被膜是一种或多种微生物细胞聚集在一起,包括分泌的胞外多糖、蛋白质等组成的胞外基质形成的复杂群体结构。生物被膜中的细胞也具有显著的社会性,通过复杂的细胞通讯系统来调控细胞间分工和协作。生物被膜的形成对于微生物的环境适应性、病原微生物的感染和耐药具有重要的意义<sup>[17-19]</sup>。

多细胞生物存在多种细胞通讯方式,包括依赖于细胞连接和细胞接触的直接通讯,其中最普遍的是通过分泌胞外信号分子进行细胞间相互通讯的方式。信号分子由细胞产生并分泌到胞外,将信号传递给周围细胞、远距离细胞或者是自身细胞,信

号分子通过与细胞表面或细胞内的特异性受体结合,通过信号转导机制启动一系列过程,最终导致靶细胞产生相应的生物学效应。因此,对信号分子及其受体的鉴定及相互作用机制、受体与信号的跨膜转导机制、细胞内信号传递途径(激酶、磷酸酶、GTP结合蛋白、相互作用蛋白、转录因子)的研究是细胞通讯的重要内容。对细胞通讯,特别是通讯过程中的信号转导机制的研究近几十年来也是分子细胞生物学热点研究领域,至今方兴未艾。对一些经典的信号分子如各种激素、细胞因子及其信号转导通路的研究极大地加深了我们对高等生物生命活动的调控和疾病发生发展机制的认识。

相对于高等多细胞生物和细菌的细胞通讯,我们对真菌,特别是病原真菌细胞间通讯的认识还非常有限。本文主要以人类环境病原真菌的模式菌——新生隐球菌为例,介绍细胞通讯系统在新生隐球菌的有性生殖、细胞形态转换、适应环境及宿主压力等社会性行为调控中的作用。

## 1 新生隐球菌——人类环境病原真菌的模式菌

新生隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)是一种自然界广泛分布的环境致病真菌,主要感染免疫缺陷患者,也可感染免疫功能正常的人群。该菌能够深度侵染人体内所有器官,并且能够透过血脑屏障引发致死率极高的隐球菌性脑膜炎,已成为导致艾滋病患者死亡的主要原因<sup>[20-21]</sup>。据统计,全球有22.3万新发隐球菌性脑膜炎病例,并导致18.1万人死亡<sup>[22]</sup>。而在我国,隐球菌却表现出感染免疫正常人群的倾向<sup>[23-25]</sup>。根据流行病学调查,我国内地的隐球菌病患者约有70%属于无明确免疫功能抑制因素的人群<sup>[26]</sup>,暗示新生隐球菌可能成为潜在的临床常规感染源<sup>[27]</sup>,这也为我国隐球菌病的防控带来了新的挑战。

新生隐球菌的致病性与其3个主要的毒力因子密切相关:(1)能在人类宿主体温37℃下生存和繁殖<sup>[28]</sup>;(2)能产生胞外荚膜多糖<sup>[29]</sup>,荚膜的存

在可以削弱宿主的免疫反应并提供抗氧化压力,从而增强新生隐球菌的侵染能力<sup>[30]</sup>; (3) 能够产生抵御宿主免疫细胞中自由基压力的黑色素<sup>[31]</sup>。目前针对隐球菌病的药物非常有限,而且毒副作用大<sup>[32-33]</sup>,而新药研发进展缓慢。另外,新生隐球菌能够进行真核生物特有的有性生殖,由有性生殖引起的子代遗传多样性也加速了抗药性菌株和高毒菌株的不断涌现<sup>[34-35]</sup>,使得新生隐球菌对人类健康的威胁日益严峻。

作为环境来源的致病真菌,新生隐球菌的致病机制是什么也是环境真菌病原学的核心问题。越来越多的证据显示,新生隐球菌的致病性很可能就是衍生于其对于生存环境的强大适应能力<sup>[36]</sup>,而新生隐球菌社会性行为及其调控是其环境适应的重要策略<sup>[37]</sup>。

## 2 新生隐球菌的社会性调控——细胞通讯

作为环境来源的致病真菌,新生隐球菌在环境中往往以群落的方式生存,主要通过出芽的方式进行无性繁殖,然而在合适的条件下也能够进行有性生殖。新生隐球菌存在  $a$  和  $\alpha$  两种相对的交配型,能够进行异性生殖( $\alpha/a$ )和同性生殖( $\alpha/\alpha$ )<sup>[35,38]</sup>。在有性生殖过程中,新生隐球菌性群落展现出类似高等多细胞生物的发育分化特征,部分酵母态细胞分化成菌丝,在成熟菌丝的顶端膨大形成担子,经减数分裂产生孢子。性群落中的隐球菌细胞存在明显的异质性和社会性,包括酵母细胞、菌丝、梨形细胞、泰坦细胞和有性孢子等多种细胞形态,不同形态的细胞承载着不同生物学功能和病原学特征,从而更好地适应多变的外界环境和宿主微环境<sup>[34,37,39]</sup>。

酵母形态是新生隐球菌最为常见的形态,也是其感染宿主的主要形态<sup>[40]</sup>。菌丝形态细胞可以帮助隐球菌菌落进行有效扩张并获取营养<sup>[41]</sup>,而菌丝形态并无感染活性<sup>[42]</sup>,且接种菌丝能为宿主提供完全的免疫保护<sup>[43]</sup>。梨形细胞很可能是响应性信息素并参与有性生殖过程的细胞融合。泰坦细胞(也叫巨型细胞)由于体积大可避免宿主巨噬细胞的吞噬<sup>[44]</sup>,并

抵抗宿主的氧化压力。性孢子由于体积小、抗逆性强、易散播,有利于隐球菌占领新的生态位,而且性孢子产生过程中经过减数分裂可以导致遗传和核型的多样性,促进该致病菌的毒力进化,性孢子也是新生隐球菌重要的感染繁殖体<sup>[45-46]</sup>。这些形态和功能不同的细胞亚群通过多种细胞通讯系统进行交流、协作,并可相互转换。细胞形态转换在很多病原真菌中都存在,并且和致病性密切相关<sup>[34,39,47-50]</sup>。通过细胞-细胞通讯系统进行细胞社会性调控,从而适应多变的自然和宿主环境,很可能是病原真菌长期进化而来的适应性策略。

目前已经发现,新生隐球菌可以通过多种胞外信号分子进行细胞通讯,调控新生隐球菌的有性生殖、发育分化、不同细胞亚群之间的形态转换等多种细胞社会行为,从而适应自然和宿主环境的变化。其中研究较为清楚的信号分子是性信息素、群感效应分子和胞外基质信号分子。

### 2.1 性信息素

信息素(pheromone)也叫外激素,是由生物个体通过外分泌发出的信号分子,最早在昆虫中被发现和命名,后来发现在包括真菌在内的许多物种中都存在。酿酒酵母的性信息素(mating pheromone)及其信号转导通路研究得最为透彻,也是单细胞生物通过性信息素进行细胞通讯和有性生殖的典型范例。单倍体酿酒酵母存在两种不同的交配型,将不同交配型的细胞混合后,细胞形态会发生变化,启动交配。随后的研究发现,不同交配型的酿酒酵母细胞能够分泌各自的多肽信号分子,该信号分子传递给交配型相反的细胞以停止增殖、准备交配,该多肽被命名为交配信息素,也叫性信息素<sup>[51]</sup>。酿酒酵母性信息素的信号转导通路已经十分清楚,性信息素通过与细胞表面的G蛋白偶联受体结合,激活了下游保守的MAPK三级激酶级联通路,最终引发交配应答,性信息素-MAPK信号通路在真菌中高度保守<sup>[52-55]</sup>。

和酿酒酵母类似,新生隐球菌也存在  $a$  和  $\alpha$  两种相对的交配型,能够进行异性生殖( $\alpha/a$ )和同性

生殖( $\alpha/\alpha$ )。新生隐球菌异性生殖启动也依赖于性信息素<sup>[34-35]</sup>。a 和  $\alpha$  交配型的新生隐球菌细胞能够表达性信息素 a (Mfa)和  $\alpha$  (Mfa)。和酿酒酵母类似,性信息素前体也是由相应的性信息素基因经转录翻译而成,其中 Mfa 前体为 38 个氨基酸的寡肽, Mfa 为 42 个氨基酸的寡肽<sup>[56-57]</sup>。新生隐球菌和酿酒酵母的性信息素虽然在一级序列上并不保守,但是其 C 端都含有保守的 CAAX 基序(A 为脂肪族氨基酸, X 可为半胱氨酸、丝氨酸、甲硫氨酸或丙氨酸),该基序对于性信息素的加工和法尼基化修饰至关重要。性信息素前体经过加工去掉 N 端一段序列得到 14 个(Mfa)或 17 个(Mfa)氨基酸的寡肽,并进行法尼基化修饰后形成成熟的性信息素,然后由外排泵分泌到细胞外作为信号分子<sup>[56-57]</sup>。

不同交配型的细胞表面存在可以结合相反交配型的性信息素受体(图 1A)。当性信息素与其相应的 G 蛋白偶联受体(Ste3)结合后,激活 G 蛋白并使 G 蛋白的  $\beta\gamma$  亚基(Gpb1)同  $\alpha$  (Gpa3)亚基分离,活化的 Gpb1 磷酸化并激活 Ste20。Ste20 激活 MAPK 通路中的 3 个核心激酶 Ste11 (MAPKKK)、

Ste7 (MAPKK)和 Cpk1 (MAPK)的级联反应(图 1B),活化的 Cpk1 启动一系列有性生殖相关基因的表达,激发  $\alpha$  和 a 细胞之间的细胞融合,进而促进有性菌丝的产生,经过有性菌丝的发育、减数分裂、有性孢子产生最终完成有性生殖周期<sup>[35]</sup>。

性信息素是真菌中最为经典的性激素分子,性信息素及其受体基因也是重要的性别决定基因,它们作为不同交配型细胞的识别因子,可以诱导酵母态细胞形态的变化和极性生长,从而有利于不同交配型细胞的结合和交配,因此也一直被认为是真菌有性生殖所必需。在新生隐球菌性信息素细胞通讯系统中,性信息素及其受体对于不同交配型细胞的识别和融合至关重要,性信息素-MAPK 途径关键基因的缺失能够完全阻断异性生殖的发生<sup>[58]</sup>,然而性信息素和其受体本身对于新生隐球菌的同性生殖和菌丝的产生却并不是必需的,最近的研究发现一个群感效应分子 Qsp1 可以替代性信息素激发新生隐球菌的同性生殖<sup>[59]</sup>。性信息素和隐球菌的毒力也有密切联系,Okagaki 等发现,当两种相反交配型的菌株共同感染宿主时,细胞受刺激变大形成泰坦细胞,而当性信息素受体缺失时就不会出现这种现象<sup>[60]</sup>。而性信息素是通过何种途径影响泰坦细胞形成,以及性信息素及其信号通路与新生隐球菌的毒力和感染关系还有待于进一步深入研究。

## 2.2 群感效应分子

单细胞生物并不是孤立地进行生命活动,它们也能够向其它单细胞生物发送和接收化学信号进行细胞-细胞通讯,其中研究得最为深入的是群体感应(quorum sensing)现象。群体感应现象在 20 世纪六七十年代首先在原核生物肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)的遗传感受态和费氏弧菌(*Vibrio fischeri*)生物发光的研究中被发现<sup>[61]</sup>。后来发现许多细菌都能够向胞外分泌特定的化学信号(群感效应分子),当细胞生长达到一定浓度从而导致群感效应分子浓度达到阈值,接受信号的细菌会启动或关闭相关基因的表达来适应外界环境的变化,这一过程被称为群体感应<sup>[62]</sup>。群体感应现象在细菌的生长、

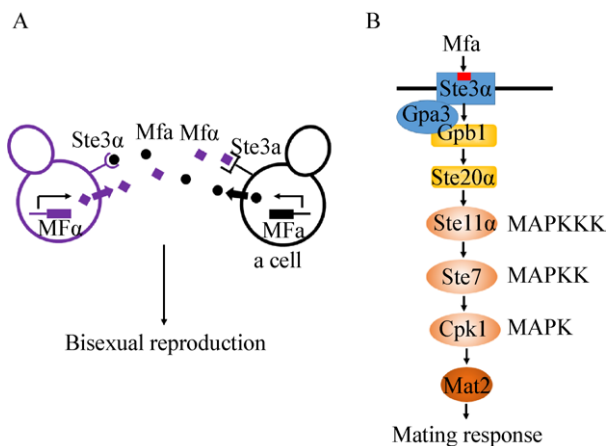


图 1 依赖于性信息素的新生隐球菌异性生殖(A)及其 MAPK 信号通路(B)

Figure 1 Schematic diagram depicting mating pheromone paracrine signal (A) and mating pheromone-MAPK signaling cascades (B) in *C. neoformans*

注: Mfa 为交配型 a 细胞分泌的性信息素, Ste3 $\alpha$  为 Mfa 的受体。  
Note: Mfa is pheromone secreted by mating-type a cell. Ste3 $\alpha$  is the receptor of Mfa.

毒力因子分泌、生物被膜形成、孢子形成和耐药性等方面都扮演了重要的角色<sup>[63-66]</sup>。

细菌中群感效应的信号途径研究得较为清楚, 费氏弧菌的群体感应系统主要由 LuxI/LuxR 双组分系统组成, 其中 LuxI 蛋白是群感效应分子的合成酶, 合成群感效应分子是酰基-高丝氨酸内酯 (acyl-homoserine lactones, AHL), LuxR 蛋白是 AHL 的受体, 同时也是转录激活因子。AHLs 扩散到细胞外后, 随着细胞密度的增加而积累, 当 AHLs 浓度达到临界值时, 与 LuxR 结合并激活荧光素酶基因的转录<sup>[67-69]</sup>。费氏弧菌的双组分系统被视为革兰氏阴性菌群体感应的模式系统。革兰氏阳性细菌的群感效应分子主要是自诱导多肽 (autoinducing peptide, AIP), 其信号识别系统由双组分磷酸激酶组成, 当受体结合 AIP 后导致其组氨酸磷酸化, 随后把磷酸基团传递给响应调控因子的天冬氨酸残基, 磷酸化的调控因子再激活下游相关基因的表达<sup>[70]</sup>。

真菌中群感效应分子的发现较晚, 最早鉴定的群感效应分子是来自白色念珠菌的法尼醇<sup>[71]</sup>。白色念珠菌也是一种常见的人类致病真菌, 该菌也能够不同细胞形态之间相互转换, 其中酵母-菌丝形态的转换是一种常见的形态转换模式, 酵母形态能够定植在皮肤和粘膜表面引发浅部感染, 而菌丝形态利于白色念珠菌侵入宿主的组织器官, 是一种高致病的形态。研究发现, 法尼醇可以抑制白色念珠菌酵母形态向菌丝形态的转换, 也可以抑制生物被膜的形成<sup>[71]</sup>。随后的研究在白色念珠菌鉴定了另一种群体感应分子——酪醇, 与法尼醇的作用相反, 酪醇可以刺激菌丝和生物膜形成<sup>[72]</sup>。在模式物种酿酒酵母中也鉴定了两种芳香醇类群感效应分子: 苯基乙醇和色醇, 它们应答于氮源饥饿, 从而控制酿酒酵母的形态变化<sup>[73-75]</sup>。

在新生隐球菌中, 目前已鉴定了至少两套群体感应系统。2007年, Lee 等<sup>[76]</sup>在血清型 D 的新生隐球菌调控因子 *TUP1* 缺失突变体中发现类似群体感应现象, 发现当突变体菌株的接种密度低

于  $10^3$  细胞/mL 时, 细胞生长显著低于野生型, 高接种密度则无此现象, 当添加高密度培养物的上清液时可以弥补 *TUP1* 缺失突变体的生长缺陷表型, 说明培养物中含有一种信号分子参与了该过程; 同时, 他们从高密度突变体细胞培养液上清液经高效液相色谱分离结合质谱技术鉴定得到了一个由 11 个氨基酸组成的小肽, 命名为 Qsp1 (quorum sensing-like peptide 1), 进一步研究发现, Qsp1 是 *CQS1* (*Cryptococcus* quorum sensing-like molecule) 基因表达加工后的产物, *CQS1* 编码 45 个氨基酸的多肽, 去掉 N 端 21 个氨基酸的信号肽后分泌到细胞外, 在细胞外加工去掉 N 端 13 个氨基酸后得到 Qsp1 (图 2)。

Qsp1 小肽是新生隐球菌中第一个被发现的群感效应分子, 然而 Qsp1 对野生型新生隐球菌没有活性, 而且在血清型 A 新生隐球菌(临床菌株)的

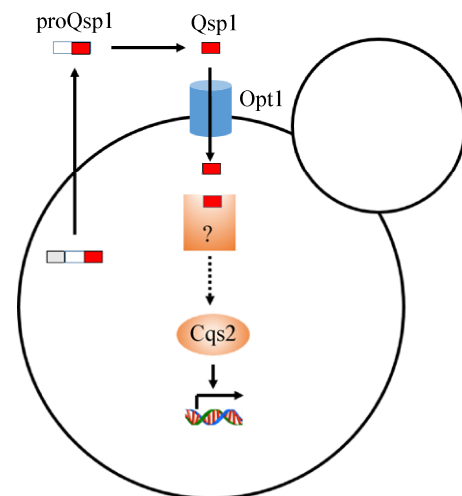


图 2 Qsp1 信号通路模式图

**Figure 2 Schematic diagram of Qsp1 signaling pathway**

注: 由 *CQS1* 基因表达后经内质网-高尔基体途径切除信号肽后分泌到细胞外, 在细胞外被后加工形成成熟的群感效应分子 Qsp1, Qsp1 经 Opt1 运输到细胞内, 最终激活下游基因的表达。

Note: The expression product of *CQS1* was secreted outside the cell through endoplasmic reticulum-Golgi dependent secretory pathway and the signal peptide was cleaved. ProQsp1 was processed to form matured quorum sensing molecule Qsp1. Qsp1 was then transported into cell and finally activate the expression of downstream genes.

*TUP1* 突变体中未观察到类似现象<sup>[77]</sup>, 因此 Qsp1 正常的功能尚不清楚。Homer 等发现 Qsp1 需要经过寡肽运输蛋白 Opt1 运输到细胞内才能发挥作用, 而且和新生隐球菌的毒力相关, 表明群体感应系统在新生隐球菌的感染中起着重要作用<sup>[78]</sup>。最近, 我们实验室的研究发现, Qsp1 对于新生隐球菌的有性生殖(包含同性生殖和异性生殖)至关重要, Qsp1 可以替代性信息素激发新生隐球菌的同性生殖, 并且是减数分裂所必需, 研究还进一步鉴定了响应 Qsp1 信号的关键蛋白 Cqs2<sup>[59]</sup>, 这也是首次发现群感信号分子在真核生物特有的基础生命繁殖方式——有性生殖过程中的重要作用。由于新生隐球菌的  $\alpha$  同性生殖保持了早期真核祖先有性生殖的重要性征(不依赖于细胞融合, 而是借助细胞周期调控提高染色体倍性), 代表了古老的有性生殖方式<sup>[79]</sup>, 这也暗示群感调控可能作为一种古老的胞外调控方式在真核生物祖先的有性生殖过程中扮演了重要的角色。关于 Qsp1 的信号转导机制以及是否存在其它功能还有待于进一步深入研究。

2013 年, Albuquerque 等在新生隐球菌中鉴定到另一种群感效应分子——泛酸(pantothenic acid, PA), 他们发现培养新生隐球菌的条件培养基(conditioned medium, CM)可以剂量依赖性地促进新生隐球菌在生物被膜中的细胞生长, 促进隐球菌荚膜多糖和生物被膜胞外基质的重要组分——葡萄糖醛酸木糖甘露聚糖(glucuronoxylomannan, GXM)的大量分泌, 并激发黑色素(melanin)以及大量分泌荚膜的合成, 同时发现新生隐球菌 CM 还可以促进其它物种如白色隐球菌(*Cryptococcus albidus*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)的生长, 进一步在 CM 中通过高效液相色谱及质谱手段鉴定了起活性作用的关键信号分子泛酸<sup>[80]</sup>。泛酸也叫维生素 B5, 是一种几乎存在于所有活细胞中的水溶性维生素, 细胞可以通过酶促反应合成泛酸。泛酸作为辅酶 A 的组成成分具有重要的生理功能。而在新生隐球菌中, 泛酸可以作为群感效应分子影响荚膜多糖和黑

色素的形成, 而荚膜多糖和黑色素都是新生隐球菌重要的毒力因子, 这也表明群感信号分子在新生隐球菌的毒力和感染中扮演着重要的角色<sup>[80]</sup>。

由于在真菌中群感效应分子的研究起步较晚, 很多信号分子还有待于鉴定, 而且至今还没有在真菌中鉴定出群感效应的受体, 相关的信号通路也不是特别清楚。在新生隐球菌中, 目前只报道了两种群感效应分子, 而且对其信号通路的了解还非常有限。随着研究的深入, 必定会有新的群感效应分子被鉴定。深入理解群感效应分子的合成和信号转导机制, 特别是其在新生隐球菌社会性及毒力和感染中的作用, 对于隐球菌病新药物靶点的发现和新型治疗策略的开发具有重要的意义。

### 2.3 胞外基质蛋白信号

胞外基质是分布于细胞外空间, 由蛋白、多糖、脂质等多种物质组成的网络结构<sup>[81]</sup>。在高等多细胞生物中, 细胞外基质不仅对细胞提供保护和支撑作用, 而且在细胞识别和细胞通讯中也起着重要作用, 胞外基质某些组分也往往作为信号分子调控细胞的基因表达<sup>[82-83]</sup>。在单细胞微生物中, 胞外基质作为重要的结构组分参与生物被膜的形成, 一些胞外基质分子也可直接作为信号分子参与微生物发育分化过程<sup>[84-85]</sup>。

在新生隐球菌中也发现了一些胞外基质蛋白可作为信号分子, 以旁分泌的方式激活新生隐球菌性群落分化和菌丝的形成。在新生隐球菌从酵母形态到菌丝形态转换过程中, Znf2 是一个关键调控因子<sup>[42]</sup>。Wang 等在对 Znf2 的下游调控元研究中, 首次鉴定了一个真菌界新颖的粘附蛋白 Cfl1, 发现 Cfl1 在新生隐球菌菌丝产生和性群落分化过程中被大量诱导表达<sup>[86]</sup>。全长的 Cfl1 包含信号肽, 通过经典的内质网-高尔基体途径切除信号肽后分泌到细胞外, 锚定在细胞壁参与细胞粘附, 部分 Cfl1 还可以再次被剪切形成胞外游离蛋白, 参与胞外基质层的组成, 胞外基质层中 Cfl1 蛋白还可作为信号分子诱导邻近细胞的分化并产生菌丝<sup>[87]</sup>(图 3)。Cfl1 编码基因的缺失也显著影响新生

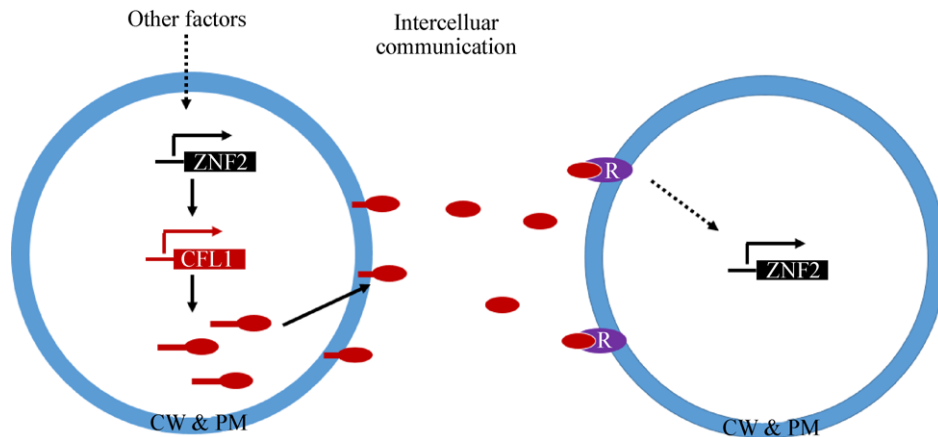


图3 Cfl1旁分泌信号模式图<sup>[87]</sup>

Figure 3 Working model of the paracrine signaling network mediated by Cfl1<sup>[87]</sup>

注: R: Cfl1受体; CW: 细胞壁; PM: 质膜.

Note: R: Cfl1 receptor; CW: Cell wall; PM: Plasma membrane.

隐球菌的毒力和形态分化过程。目前, Cfl1 的受体以及信号转导机制还不清楚。最近, Xu 等鉴定了另一个蛋白类信号分子——分泌乙酰辅酶 A 结合蛋白 Acb1。Acb1 不存在信号肽, 依赖非经典的 GRASP (golgi reassembly stacking protein) 途径分泌到细胞外, Acb1 也参与对菌丝的形成和性群落的正常分化<sup>[88]</sup>。

### 3 结语和展望

无论对于多细胞还是单细胞生物, 单个细胞的生命活动都不是孤立进行的, 细胞与细胞、细胞与环境之间通过细胞通讯相互作用、相互协调, 形成了所谓的“细胞社会”。对哺乳动物细胞通讯及其信号转导机制的研究不仅极大地促进了我们对细胞分化、个体发育、神经传导、免疫应答等基础生命现象的认识, 而且对癌症、糖尿病、心血管等疾病的治疗和新药开发具有重要的意义。为了适应复杂多变的生存环境, 绝大多数单细胞生物也进化出多样的社会性行为, 它们往往以群落的方式生存, 最常见的是形成生物被膜。在群落中不同形态和功能的细胞亚群之间通过多种方式进行细胞通讯, 协同调控细胞亚群之间的分工与合作, 从而更好地适应外界或宿主环境。然而大多数病原微生物的感染、

毒力和耐药性都和生物被膜息息相关。

作为环境致病真菌, 新生隐球菌也能够形成类似生物被膜的群落, 而且群落中的细胞呈现了高度的社会性, 形成不同的细胞亚群, 而不同形态的细胞承载着不同生物学功能和病原学特征, 不同细胞亚群之间利用细胞通讯策略进行交流、协作, 并可相互转换, 这种群体或社会调控与其感染和致病性密切相关。近年来, 对于病原真菌中细胞通讯系统这种重要的群体或社会性调控方式的研究有了不少进展, 但是和高等多细胞生物及细菌相比, 认识还非常有限。在新生隐球菌中, 相关研究也有一些突破性进展, 但是还有很多问题需要深入研究。目前已报道的信号分子种类还比较少, 新信号分子的鉴定依然是本领域的一个重要课题, 只有将新的信号分子鉴定出来, 才能够进行后续的调控和机制研究。随着色谱、质谱和核磁共振等分离和鉴定技术方法的进步, 特别是转录组、蛋白质组和代谢组等多组学技术的普及, 相信会有更多的细胞通讯信号分子被发现。

在细胞通讯系统中信号分子的调控和机制方面也有很多亟待解决的问题。在信号分子的上游方面, 这些信号分子的产生受到何种环境因素诱导? 它们的遗传调控机制是什么? 在下游方面, 信号分

子的信号转导机制是什么? 是否存在相关受体? 不同的信号分子和信号通路之间是否存在交互调控(cross-talk), 细胞是如何整合这些信号从而做出相应的生物学效应的? 越来越多的研究显示, 细胞通讯系统作为新生隐球菌社会性调控的重要方式和新生隐球菌的致病性密切相关。新生隐球菌细胞通讯系统和其毒力与感染之间存在什么样的具体联系? 在感染过程中, 隐球菌的细胞通讯系统和宿主的免疫系统存在什么样相互作用? 对这些问题的研究和解答不仅具有重要的科学意义, 而且具有潜在的临床价值, 不仅可以深入理解病原真菌感染宿主的核心病原学机制, 也能够为发现新药物靶点、发展防控真菌感染的新型治疗策略提供指导。

## REFERENCES

- [1] Clevers H, Loh KM, Nusse R. An integral program for tissue renewal and regeneration: Wnt signaling and stem cell control[J]. *Science*, 2014, 346(6205): 1248012
- [2] Ingham PW. Transducing hedgehog: the story so far[J]. *The EMBO Journal*, 1998, 17(13): 3505-3511
- [3] Hahn G, Ponce-Alvarez A, Deco G, et al. Portraits of communication in neuronal networks[J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2019, 20(2): 117-127
- [4] Laughlin SB, Sejnowski TJ. Communication in neuronal networks[J]. *Science*, 2003, 301(5641): 1870-1874
- [5] Lim WA, Pawson T. Phosphotyrosine signaling: evolving a new cellular communication system[J]. *Cell*, 2010, 142(5): 661-667
- [6] Verpelli C, Schmeisser MJ, Sala C, et al. Scaffold proteins at the postsynaptic density[A]//Kreutz MR, Sala C. *Synaptic Plasticity: Dynamics, Development and Disease*[M]. Vienna: Springer, 2012: 29-61
- [7] McCann JJ, Zheng LQ, Rohrbeck D, et al. Supertertiary structure of the synaptic MAGuK scaffold proteins is conserved[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(39): 15775-15780
- [8] Rajagopal S, Ji YX, Xu K, et al. Scaffold proteins IRSp53 and spinophilin regulate localized Rac activation by T-lymphocyte invasion and metastasis protein 1 (TIAM1)[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(23): 18060-18071
- [9] Shaw AS, Filbert EL. Scaffold proteins and immune-cell signalling[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2009, 9(1): 47-56
- [10] Everson-Rose SA, Ryan JP. Diabetes, obesity, and the brain: new developments in biobehavioral medicine[J]. *Psychosomatic Medicine*, 2015, 77(6): 612-615
- [11] Schwartz MW, Porte Jr D. Diabetes, obesity, and the brain[J]. *Science*, 2005, 307(5708): 375-379
- [12] Lin XY, Taguchi A, Park S, et al. Dysregulation of insulin receptor substrate 2 in  $\beta$  cells and brain causes obesity and diabetes[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2004, 114(7): 908-916
- [13] Long J, Liu Z, Wu XD, et al. siRNA-mediated *SBF2* silencing may inhibit pancreatic cancer cells via attenuation of the TGF- $\beta$  signaling pathway[J]. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 2016, 15(2): 308-313
- [14] Katsuno Y, Lamouille S, Derynck R. TGF- $\beta$  signaling and epithelial-mesenchymal transition in cancer progression[J]. *Current Opinion in Oncology*, 2013, 25(1): 76-84
- [15] Akhurst RJ, Derynck R. TGF- $\beta$  signaling in cancer — a double-edged sword[J]. *Trends in Cell Biology*, 2001, 11(11): S44-S51
- [16] Derynck R, Akhurst RJ, Balmain A. TGF- $\beta$  signaling in tumor suppression and cancer progression[J]. *Nature Genetics* volume, 2001, 29(2): 117-129
- [17] Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(9): 623-633
- [18] Nadell CD, Drescher K, Foster KR. Spatial structure, cooperation and competition in biofilms[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(9): 589-600
- [19] Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2003, 2(2): 114-122
- [20] Mitchell TG, Perfect JR. Cryptococcosis in the era of AIDS — 100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 1995, 8(4): 515-548
- [21] Clark RA, Greer D, Atkinson W, et al. Spectrum of *Cryptococcus neoformans* infection in 68 patients infected with human immunodeficiency virus[J]. *Reviews of Infectious Diseases*, 1990, 12(5): 768-777
- [22] Rajasingham R, Smith RM, Park BJ, et al. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis[J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2017, 17(8): 873-881
- [23] Xue XY, Wu H, Wang KF, et al. Cryptococcosis by *Cryptococcus gattii* in China[J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2015, 15(10): 1135-1136
- [24] Wu SY, Lei Y, Kang M, et al. Molecular characterisation of clinical *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* isolates from Sichuan province, China[J]. *Mycoses*, 2015, 58(5): 280-287
- [25] Fang W, Fa ZZ, Liao WQ. Epidemiology of *Cryptococcus* and cryptococcosis in China[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2015, 78: 7-15
- [26] Chen JH, Varma A, Diaz MR, et al. *Cryptococcus neoformans* strains and infection in apparently immunocompetent patients, China[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2008, 14(5): 755-762
- [27] Kronstad JW, Attarian R, Cadieux B, et al. Expanding fungal



- pathogenesis: *Cryptococcus* breaks out of the opportunistic box[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9(3): 193-203
- [28] Kozubowski L, Heitman J. Profiling a killer, the development of *Cryptococcus neoformans*[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2012, 36(1): 78-94
- [29] Kumar P, Yang M, Haynes BC, et al. Emerging themes in cryptococcal capsule synthesis[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2011, 21(5): 597-602
- [30] O'Meara TR, Alspaugh JA. The *Cryptococcus neoformans* capsule: a sword and a shield[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2012, 25(3): 387-408
- [31] Gómez BL, Nosanchuk JD. Melanin and fungi[J]. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2003, 16(2): 91-96
- [32] Perfect JR. The antifungal pipeline: a reality check[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2017, 16(9): 603-616
- [33] Chen XW, Wei FL, Wen H. Diagnosis and treatment of cryptococcosis[J]. *Dermatology Bulletin*, 2017, 34(5): 604-612 (in Chinese)  
陈雪雯, 卫凤莲, 温海. 隐球菌病的诊治[J]. *皮肤科学通报*, 2017, 34(5): 604-612
- [34] Lin XR. *Cryptococcus neoformans*: morphogenesis, infection, and evolution[J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2009, 9(4): 401-416
- [35] Wang LQ, Lin XR. Mechanisms of unisexual mating in *Cryptococcus neoformans*[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2011, 48(7): 651-660
- [36] Wang LQ. Adaptation strategies: how environmental fungi become fatal?[J]. *Hereditas*, 2015, 37(5): 436-441 (in Chinese)  
王琳淇. 适应性策略: 人类致病真菌新生隐球菌的“杀手锏”[J]. *遗传*, 2015, 37(5): 436-441
- [37] Ding H, He GJ, Wang LQ. Party for killing: the social behaviors in *Cryptococcus neoformans*[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2017, 33(9): 1555-1566 (in Chinese)  
丁浩, 何光军, 王琳淇. 人类环境病原真菌——新生隐球菌的社会行为[J]. *生物工程学报*, 2017, 33(9): 1555-1566
- [38] Lin XR, Patel S, Litvintseva AP, et al. Diploids in the *Cryptococcus neoformans* serotype A population homozygous for the  $\alpha$  mating type originate via unisexual mating[J]. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(1): e1000283
- [39] Wang LQ, Lin XR. The morphotype heterogeneity in *Cryptococcus neoformans*[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2015, 26: 60-64
- [40] May RC, Stone NRH, Wiesner DL, et al. *Cryptococcus*: from environmental saprophyte to global pathogen[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(2): 106-117
- [41] Phadke SS, Feretzaki M, Heitman J. Unisexual reproduction enhances fungal competitiveness by promoting habitat exploration via hyphal growth and sporulation[J]. *Eukaryotic Cell*, 2013, 12(8): 1155-1159
- [42] Wang LQ, Zhai B, Lin XR. The link between morphotype transition and virulence in *Cryptococcus neoformans*[J]. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(6): e1002765
- [43] Zhai B, Wozniak KL, Masso-Silva J, et al. Development of protective inflammation and cell-mediated immunity against *Cryptococcus neoformans* after exposure to hyphal mutants[J]. *mBio*, 2015, 6(5): e01433-15
- [44] Okagaki LH, Nielsen K. Titan cells confer protection from phagocytosis in *Cryptococcus neoformans* infections[J]. *Eukaryotic Cell*, 2012, 11(6): 820-826
- [45] Byrnes III EJ, Li WJ, Lewit Y, et al. Emergence and pathogenicity of highly virulent *Cryptococcus gattii* genotypes in the northwest United States[J]. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(4): e1000850
- [46] Fraser JA, Giles SS, Wenink EC, et al. Same-sex mating and the origin of the Vancouver Island *Cryptococcus gattii* outbreak[J]. *Nature*, 2005, 437(7063): 1360-1364
- [47] Lin XR, Alspaugh JA, Liu HP, et al. Fungal Morphogenesis[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2014, 5(2): a019679
- [48] Klein BS, Tebbets B. Dimorphism and virulence in fungi[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2007, 10(4): 314-319
- [49] Wang LQ, Lin XR. Morphogenesis in fungal pathogenicity: shape, size, and surface[J]. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(12): e1003027
- [50] Pan B, Chen M, Pan WH, et al. Cryptococcal cell morphology and pathogenic mechanism[J]. *Journal of Microbes and Infections*, 2012, 7(2): 121-125 (in Chinese)  
潘博, 陈敏, 潘炜华, 等. 隐球菌形态学变化及其致病机制[J]. *微生物与感染*, 2012, 7(2): 121-125
- [51] Betz R, Duntze W. Purification and partial characterization of a factor, a mating hormone produced by mating-type- $\alpha$  cells from *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1979, 95(3): 469-475
- [52] Malleshaiah MK, Shahrezaei V, Swain PS, et al. The scaffold protein Ste5 directly controls a switch-like mating decision in yeast[J]. *Nature*, 2010, 465(7294): 101-105
- [53] Davis RJ. Cell biology. A scaffold switch to insulate[J]. *Science*, 2012, 337(6099): 1178-1179
- [54] Bhattacharyya RP, Reményi A, Good MC, et al. The Ste5 scaffold allosterically modulates signaling output of the yeast mating pathway[J]. *Science*, 2006, 311(5762): 822-826
- [55] Mordret G. MAP kinase kinase: a node connecting multiple pathways[J]. *Biology of the Cell*, 1993, 79(3): 193-207
- [56] Shen WC, Davidson RC, Cox GM, et al. Pheromones stimulate mating and differentiation via paracrine and autocrine signaling in *Cryptococcus neoformans*[J]. *Eukaryotic Cell*, 2002, 1(3): 366-377
- [57] McClelland CM, Fu JM, Woodlee GL, et al. Isolation and characterization of the *Cryptococcus neoformans* MAT $\alpha$  pheromone gene[J]. *Genetics*, 2002, 160(3): 935-947
- [58] Davidson RC, Nichols CB, Cox GM, et al. A MAP kinase cascade composed of cell type specific and non-specific elements controls mating and differentiation of the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*[J]. *Molecular*

- Microbiology, 2003, 49(2): 469-485
- [59] Tian XY, He GJ, Hu PJ, et al. *Cryptococcus neoformans* sexual reproduction is controlled by a quorum sensing peptide[J]. Nature Microbiology, 2018, 3(6): 698-707
- [60] Okagaki LH, Strain AK, Nielsen JN, et al. Cryptococcal cell morphology affects host cell interactions and pathogenicity[J]. PLoS Pathogens, 2010, 6(6): e1000953
- [61] Bassler BL, Losick R. Bacterially speaking[J]. Cell, 2006, 125(2): 237-246
- [62] Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria[J]. Annual Review of Microbiology, 2001, 55: 165-199
- [63] Rutherford ST, Bassler BL. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control[J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 2012, 2(11): a012427
- [64] Le KY, Otto M. Quorum-sensing regulation in staphylococci — an overview[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 1174
- [65] Novick RP, Geisinger E. Quorum sensing in staphylococci[J]. Annual Review of Genetics, 2008, 42: 541-564
- [66] Ng WL, Bassler BL. Bacterial quorum-sensing network architectures[J]. Annual Review of Genetics, 2009, 43: 197-222
- [67] Eberhard A, Burlingame AL, Eberhard C, et al. Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase[J]. Biochemistry, 1981, 20(9): 2444-2449
- [68] Engebrecht J, Silverman M. Identification of genes and gene products necessary for bacterial bioluminescence[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1984, 81(13): 4154-4158
- [69] Kaplan HB, Greenberg EP. Diffusion of autoinducer is involved in regulation of the *Vibrio fischeri* luminescence system[J]. Journal of Bacteriology, 1985, 163(3): 1210-1214
- [70] Atkinson S, Williams P. Quorum sensing and social networking in the microbial world[J]. Journal of the Royal Society Interface, 2009, 6(40): 959-978
- [71] Hornby JM, Jensen EC, Lisec AD, et al. Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(7): 2982-2992
- [72] Chen H, Fujita M, Feng QH, et al. Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(14): 5048-5052
- [73] Hazelwood LA, Daran JM, van Maris AJA, et al. The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(8): 2259-2266
- [74] Wuster A, Babu MM. Transcriptional control of the quorum sensing response in yeast[J]. Molecular BioSystems, 2010, 6(1): 134-141
- [75] Avbelj M, Zupan J, Raspor P. Quorum-sensing in yeast and its potential in wine making[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(18): 7841-7852
- [76] Lee H, Chang YC, Nardone G, et al. *TUPI* disruption in *Cryptococcus neoformans* uncovers a peptide-mediated density-dependent growth phenomenon that mimics quorum sensing[J]. Molecular Microbiology, 2007, 64(3): 591-601
- [77] Lee H, Chang YC, Varma A, et al. Regulatory diversity of *TUPI* in *Cryptococcus neoformans*[J]. Eukaryotic Cell, 2009, 8(12): 1901-1908
- [78] Homer CM, Summers DK, Goranov AI, et al. Intracellular action of a secreted peptide required for fungal virulence[J]. Cell Host & Microbe, 2016, 19(6): 849-864
- [79] Fu C, Heitman J. *PRMI* and *KAR5* function in cell-cell fusion and karyogamy to drive distinct bisexual and unisexual cycles in the *Cryptococcus* pathogenic species complex[J]. PLoS Genetics, 2017, 13(11): e1007113
- [80] Albuquerque P, Nicola AM, Nieves E, et al. Quorum sensing-mediated, cell density-dependent regulation of growth and virulence in *Cryptococcus neoformans*[J]. mBio, 2014, 5(1): e00986-13
- [81] Zarnowski R, Westler WM, Lacmbouh GA, et al. Novel entries in a fungal biofilm matrix encyclopedia[J]. mBio, 2014, 5(4): e01333-14
- [82] Hynes RO. The extracellular matrix: not just pretty fibrils[J]. Science, 2009, 326(5957): 1216-1219
- [83] Guan JL, Chen HC. Signal transduction in cell-matrix interactions[J]. International Review of Cytology, 1996, 168: 81-121
- [84] Vlamakis H, Aguilar C, Losick R, et al. Control of cell fate by the formation of an architecturally complex bacterial community[J]. Genes & Development, 2008, 22(7): 945-953
- [85] Irie Y, Borlee BR, O'Connor JR, et al. Self-produced exopolysaccharide is a signal that stimulates biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(50): 20632-20636
- [86] Wang LQ, Tian XY, Gyawali R, et al. Fungal adhesion protein guides community behaviors and autoinduction in a paracrine manner[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(28): 11571-11576
- [87] Tian XY, Lin XR. Matricellular protein Cfl1 regulates cell differentiation[J]. Communicative & Integrative Biology, 2013, 6(6): e26444
- [88] Xu XP, Zhao YB, Kirkman E, et al. Secreted Acb1 contributes to the yeast-to-hypha transition in *Cryptococcus neoformans*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2016, 82(4): 1069-1079