

·特约综述·

孢子丝菌病及其病原真菌的再认识

黄怀球

(中山大学附属第三医院皮肤科, 广东 广州 510630)



作者简介:中山大学附属第三医院皮肤科教授、主任医师、医学博士、博士生导师。国际人类动物真菌学会(ISHAM)成员,国际人类动物真菌学会孢子丝菌病研究协作小组成员,中国菌物学会医学真菌专业委员会委员,广东省预防医学会过敏病预防与控制专业委员会副主任委员,广东省保健协会皮肤科和美容保健分会副主任委员,中华医学会皮肤科分会真菌学组委员,中华医学会广东省皮肤科分会真菌学组原副组长,中国医师协会皮肤科分会真菌专业委员会委员,中华预防学会皮肤感染专业委员会委员,中国中西医结合皮肤科学会甲病学组委员。荷兰皇家真菌生物多样性研究中心、意大利墨西拿大学交流访问学者,《热带医学杂志》编委。研究方向为医学真菌病,主要包括深部真菌病孢子丝菌病的发病机制、真菌耐药机制研究、病原真菌孢子丝菌复合体基因组转录组及功能基因的研究。主持包括2项国家自然科学基金的省部级以上课题9项。获中华医学会皮肤科优秀论文奖、中山大学医疗成果奖。发表

论文100多篇,其中在 *Genome Biol Evol*、*Eur J Dermatol*、*Mycoses*、*Int Immunopharmacol* 等国际杂志以通讯和共同作者发表论文30篇。E-mail: hhuaiq@mail.sysu.edu.cn。

摘要:孢子丝菌病是由双相型真菌孢子丝菌复合体引起的皮肤黏膜、皮下组织及局部淋巴系统的慢性感染性疾病,可播散至全身引起多系统损害,是一种全球性的人畜共患真菌病,临床表现以固定型和淋巴管型为主。病原真菌孢子丝菌复合体包含多种孢子丝菌,它们在微观形态学、遗传学、流行病学、耐药性和致病性等方面存在差异。孢子丝菌复合体的致病性与其本身的黑素、粘附因子及几丁质等毒力因素有关。课题组参与了孢子丝菌复合体的全基因组和转录组的测序分析工作和对孢子丝菌毒力因素研究,为孢子丝菌病的发病机制研究提供了基础。

关键词:孢子丝菌病;孢子丝菌复合体;流行病学;基因组学;转录组学

中图分类号:R756

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2021)05-0641-10

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2021.0501

The Reviews of Sporotrichosis and the *Sporothrix* Complex

HUANG Huai-qiu

(Department of Dermatology and Venereology, The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University,
Guangzhou 510630, China)

Correspondence to: HUANG Huai-qiu; E-mail: hhuaiq@mail.sysu.edu.cn

Abstract: Sporotrichosis is a worldwide-distributed zoonotic mycosis caused by the dimorphic fungi *Sporothrix* complex, and it can initiate the chronic infection of skin, mucosa, subcutaneous cellular tissue and adjacent lymphatic vessels. The lesions are usually restricted to the skin and local lymphatic vessels, but the fungi also can disseminate to other organs and lead to a systemic disease. The *Sporothrix* complex is composed of at least six pathogenic species, which have differences in microscopic morphology, genetics, epidemiology, drug resistance and pathogenicity. The pathogenic studies

收稿日期:2021-05-14

基金项目:国家自然科学基金(81974300, 81371746)

of *Sporothrix* complex focus on melanin, adhesions and chitin. Our study on the whole genome and transcription sequencing of *Sporothrix* complex has been completed, providing a basis for the pathogenesis of *Sporothrix* disease.

Key words: Sporotrichosis; *Sporothrix* complex; epidemiology; genomic; transcriptional

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2021, 42(5): 641-650]

孢子丝菌病(Sporotrichosis)是由孢子丝菌复合体引起的皮肤、皮下组织及局部淋巴管的慢性感染,是全球分布最广的深部真菌病。孢子丝菌复合体(*Sporothrix* complex)属于子囊菌门,长喙壳菌目,长喙壳菌科,孢子丝菌属,由 Schenck 于 1898 年首次发现并分离命名为申克孢子丝菌,在我国 1916 年刁信德首次报道^[1]。孢子丝菌常见于土壤和腐木中,通过皮肤创口接种感染人类或动物,因此,从事花卉、农业和木材开采的人员易患孢子丝菌病。人类也可通过和动物密切接触感染孢子丝菌。孢子丝菌病临床表现多样,严重程度不一,分为皮肤型和皮肤外型。皮肤型可分为局限在皮肤或皮下组织的固定型和沿淋巴管分布的淋巴管型,以及通过自身接种或血行播散引起的皮肤播散型,临床上大多数孢子丝菌病表现为淋巴管型^[2],少数出现皮肤外型,如肺孢子丝菌病由于吸入孢子丝菌复合体的分生孢子导致肺部感染。近年来随着免疫受损人群数量增多,孢子丝菌病在全球的发病率逐年升高^[3],在南美地区已成为严重危害人类健康的人畜共患病^[4],人们对孢子丝菌复合体的认识也日益深入。本文就孢子丝菌复合体的病原学、流行病学、致病性和分子生物学研究进展进行综述。

1 病原学

1.1 孢子丝菌复合体的分类及对比

多年以来,申克孢子丝菌(*Sporothrix schenckii*)被认为是导致孢子丝菌病的唯一病原体。既往孢子丝菌病病原菌的鉴定是基于形态学以及核糖体 DNA(rDNA)分析,de Lima Barros^[5]和李珊山等^[6]发现用传统方法鉴定为同一种的菌株却对同种治疗药物有着不同的反应,提示该病的致病菌可能并非单一的物种。2007 年 Marimon 等^[7]根据真菌形态、糖同化实验等将孢子丝菌分出 4 个新种:巴西孢子丝菌(*Sporothrix brasiliensis*)、球形孢子丝菌(*Sporothrix globosa*)、墨西哥孢子丝菌(*Sporothrix mexi-*

cana)以及卢艾里孢子丝菌(*Sporothrix luriei*),这几种孢子丝菌与人类致病相关,因此称为“临床致病群”^[8]。通过对孢子丝菌几丁质合成酶、 β -微管蛋白和钙调蛋白基因等分析,将孢子丝菌复合体分为 5 组菌株:第一组(Clade I)分离菌株来源于巴西,为巴西孢子丝菌(*Sporothrix brasiliensis*);第二组(Clade II)菌株为申克孢子丝菌(*Sporothrix schenckii*),其中又被分成 2 个亚组:II a 组来自美国和南美洲的菌株,而 II b 组来自南美洲;第三组(Clade III)分离菌株来自中国、印度、意大利、日本、西班牙、美国和英国,为球形孢子丝菌(*Sporothrix globosa*);第四组(Clade IV)为来自墨西哥的墨西哥孢子丝菌(*Sporothrix mexicana*);第五组(Clade V)为来自欧洲的白孢子丝菌(*Sporothrix pallida*, 原称 *Sporothrix albicans*)。不同组菌株的分生孢子有差异:第一组和第三组分生孢子呈球形;第二组分生孢子呈三角形;第四组分生孢子呈梭形;第五组则不存在分生孢子^[9-10]。

孢子丝菌复合体在遗传学、流行病学、耐药性和引起的临床表现等方面均存在很大差异。申克孢子丝菌在遗传学方面具有高度的遗传变异性,巴西孢子丝菌和球形孢子丝菌各自基因却具有较高的同质性^[11-12]。不同亚类的孢子丝菌的分布地区存在差异:球形孢子丝菌广泛分布于亚洲、欧洲以及美洲,亚洲是主要流行地区^[13-14];申克孢子丝菌在全球广泛分布,主要集中在热带及亚热带地区,如阿根廷、墨西哥、秘鲁、南非等;巴西孢子丝菌主要局限在巴西东南部地区^[15-16];墨西哥孢子丝菌曾被认为只局限在墨西哥地区,巴西^[15]和葡萄牙^[17]也发现有墨西哥孢子丝菌病例;卢艾里孢子丝菌稀少且致病力低,目前只有非洲、意大利、印度有报道^[18]。本课题组和国外学者开始共同关注和研究临床药物治疗失败菌株和无致病性环境分离株的特征^[19-20]。球形孢子丝菌对唑类药物耐药性在逐渐增强,巴西孢子丝菌在体外实验中对大多数抗真菌药都高度敏感^[21]。球形孢子丝菌主要引起固定

型孢子丝菌病;申克孢子丝菌和巴西孢子丝菌常引起典型的淋巴管型孢子丝菌病。

1.2 形态学

孢子丝菌复合体在环境中(25℃)呈菌丝相,在人体内(37℃)呈酵母相。孢子丝菌复合体在实验室采用沙保氏葡萄糖培养基(SDA培养基)、酵母浸出液葡萄糖培养基(YPD培养基)、马铃薯葡萄糖培养基(PDA培养基)中于28℃培养时,复合体不同菌株菌落形态相似,呈现灰褐色、绒毛样菌落生长。显微镜下容易观察到直径为1~3 μm的薄、透明和有隔膜的菌丝,菌丝常产生分枝^[10]。在脑心浸出液肉汤培养基(BHI培养基)37℃培养,可见柔软、光滑、湿润的酵母样菌落生长。孢子丝菌复合体的申克孢子丝菌(*Sporothrix schenckii*)最重要,是孢子丝菌属第一个被描述的菌种,申克孢子丝菌引起的病例在全世界均有报道。申克孢子丝菌在25℃SDA和37℃BHI液体培养基培养时呈现不同的形态学特征,SDA液基中25℃培养96h后镜检可见细长的分枝、分隔菌丝,分生孢子梗由菌丝侧呈锐角或直角生长。转入BHI液基中37℃培养24h后菌丝变粗变短,部分断裂;培养36h后可见短棒样结构形成,48h后则可见雪茄样、卵圆形或圆形的分生孢子。

1.3 自然生长环境

孢子丝菌复合体通常生长在温暖潮湿如热带和亚热带地区的环境中,适宜生长的平均温度为20℃~25℃,相对湿度高于90%。有些菌株可能存在耐热性,另外有些菌株能在pH为3.5~9.6的范围内生长^[3, 22-24]。尽管全年都有孢子丝菌病的发生,本病一般在秋季和冬季高发,这与当地雨季结束有关,例如墨西哥在雨季结束时,环境的温度和湿度都达到了孢子丝菌的最适生长条件;同时在这两个季节,当地人会进行收割粮食、蔬菜等与植物长时间接触的劳作,增大了与孢子丝菌接触的风险。在大多该病流行的国家,孢子丝菌复合体多生长在纤维素、草、有机物、木材等含量高的土壤和环境^[3, 22, 25]。另外有中国学者报道从玉米的根、茎中分离出球形孢子丝菌^[26]。

1.4 感染途径

孢子丝菌入侵主要有两种途径:宿主创伤后感染和吸入性感染^[27]。自然环境中的孢子丝菌为腐生菌,以菌丝相产生大量的分生孢子,上皮和黏膜外伤破损失去连续性被侵入,认为这是皮肤感染的

常见原因。自孢子丝菌能从动物的蹄以及牙齿中被分离出来,认为本病也可通过动物媒介进行传播。如啮齿类动物中大鼠和松鼠是常见的动物媒介;由昆虫(如蚂蚁和蜜蜂)、爬行动物、蜘蛛以及蝙蝠的叮咬造成疾病的传播也有报道^[3, 22]。近年来,养猫、狗等作为宠物的数量越来越多,动物源性的孢子丝菌病也逐渐增多,且从动物的爪、皮损以及它们的窝中分离出孢子丝菌。特别需要指出的是,与经典的通过污染土壤或植物的传播方式不同,猫在巴西孢子丝菌的传播中起到重要作用,体现了与巴西孢子丝菌在进化以及传播中的相互联系。近10年来巴西孢子丝菌为了适应宿主做出了适应性改变,如提高了耐热性。猫的体温在38℃~39℃之间,巴西孢子丝菌更能适应在较高温的环境中生长。在37℃培养时,巴西孢子丝菌生长最好,其次是申克孢子丝菌。而其他种类的孢子丝菌,如球形孢子丝菌和墨西哥孢子丝菌对温度更为敏感,最高可耐受的温度为35℃。巴西不同地区的31只猫以及2条狗上分离出了33株孢子丝菌,其中32株鉴定为巴西孢子丝菌,1株鉴定为申克孢子丝菌,表明造成巴西地区猫感染的大多数为巴西孢子丝菌^[15, 28]。迄今为止,动物孢子丝菌病的最大疫情暴发在里约热内卢,疫情已经蔓延至巴西南部地区,预估超过10 000只猫和200只狗被感染,经检测此次疫情主要是由巴西孢子丝菌引起^[15]。人类可以通过被猫抓伤或咬伤感染,猫传播毒性更强的酵母相巴西孢子丝菌,而不是其菌丝相或分生孢子。

少数情况下,孢子丝菌可通过呼吸道吸入引起原发性的肺部感染^[3, 22]。目前对吸入性感染的研究尚少,主要是在免疫状态低下的病人特别是感染人类免疫缺陷病毒或是患有获得性免疫缺陷综合征的病人中有报道^[29-30]。

2 流行病学

2.1 地域分布

孢子丝菌病主要集中于热带、亚热带,在美国,南美洲(巴西、哥伦比亚、危地马拉、墨西哥、秘鲁),亚洲(中国、印度、日本)和澳大利亚均有报道^[3]。

在我国,几乎所有省份都有孢子丝菌病病例的报道^[18],吉林省报道的病例数最多。在该地区的玉米秆、枯枝、腐烂木材、污泥和土壤等样本中可检出有申克孢子丝菌,其中据田亚萍等^[31]的调查,在吉

林地区自然环境中收集腐木、土壤等标本70份,分离出申克孢子丝菌的阳性率为8.6%。在吉林附近的内蒙古呼和浩特市,姜长友等^[32]从69份标本中分离出8株申克孢子丝菌,阳性率为11.6%。另外在中国东南部,纪青等^[33]对广东省珠海市金湾区的一项孢子丝菌生态学的研究表明,该研究从珠海金湾区自然环境中分离出了申克孢子丝菌24株,分离率为15%,可见孢子丝菌在我国广泛存在。后来对中国收集的菌种按照新的分类方法重新鉴定,基本上结果都是球形孢子丝菌^[34]。

中国北方的大多数报道^[23]指出,在寒冷季节北方地区的温度通常低于零摄氏度,此时发病率更高,与孢子丝菌适宜在温暖湿润的环境中生长的观点截然不同,冬季发病率增高可能的原因是当地农民会用到玉米秸秆、芦苇和树枝去燃烧以及取暖。这些燃烧物上的真菌会导致室内污染,因此,这可能是导致孢子丝菌病在寒冷季节高发的重要因素^[2]。除吉林省外,孢子丝菌病在其他省份也很普遍。总体来看,在中国其他地区,大部分孢子丝菌病病例都聚集在长江沿岸的省份(四川和江苏)和中国东南部的省份(广东和广西)。

在国外某些高流行地区,例如秘鲁的发病率为每10万人48至98例,儿童的平均发病率为每10万人156例^[35];在墨西哥的哈利斯科山脉和普埃布拉山脉地区,据统计每1000名居民中有25例患病^[18]。日本从1946年到1982年每年报告约155例^[36],现在已降至每年50例。相比之下,巴西的病例数逐年增加,里约热内卢的Evandro Chagas临床研究所在1998年至2004年间报告了759例人类、1503例猫和64例狗孢子丝菌病病例,这些结果与1987年至1997年只发现13例人类病例形成鲜明对比^[37]。Barros等^[38]描述了1998年至2009年间在巴西里约热内卢确诊的大约2200例人和3244例猫孢子丝菌病病例,表明这20年出现疾病在猫科动物和人群中爆发,这是世界上有记录以来人类和动物孢子丝菌病最大爆发的报道。巴西孢子丝菌可从动物传播给人类,对其监测应包括环境、人与动物,非常迫切需要从“One health”角度提出孢子丝菌病预防的综合方法模型,由多个部门同时有效实施和执行孢子丝菌病蔓延的防控政策^[39]。

2.2 患病的职业、性别和年龄特征

孢子丝菌病患者与职业关系密切,园林工人、狩猎者、农民、矿工和木材开采者患病比例较大^[2],

感染的概率取决于职业的暴露风险,不同人的职业以及生活习惯影响着他们的暴露风险。例如,狩猎者在乌拉圭患病率更高,由于他们在捕猎的过程中容易受伤导致感染^[40]。女性的患病率在印度东北部和日本较高,由于她们更多地参与农业活动^[36,41]。在南非,男性患者与女性患者的数量之比约为3:1,由于男性更频繁地参与了户外工作以及采矿活动^[42]。在秘鲁安第斯山脉,儿童的发病率是成人的3倍。病例对照研究^[35]表明,在庄稼地和脏地板上玩耍可能是这些儿童的感染途径。

3 致病因素分析

孢子丝菌复合体室温下(25℃)呈无致病性的菌丝相生长,在人体内(37℃)则呈现具有致病性的酵母相生长,这种由温度诱导下的菌丝相向酵母相的转化被认为是其毒力基因的表达以及致病能力形成的过程^[43]。孢子丝菌复合体中的各种菌株的毒力因素存在显著差异,Arrillaga-Moncrieff等^[44]报道,在孢子丝菌复合体中,巴西孢子丝菌是毒力最强的,其次是申克孢子丝菌、卢艾里孢子丝菌和球形孢子丝菌。

孢子丝菌病临床表现的差异与机体的免疫状态有关,与孢子丝菌复合体中各种菌株毒力的差异密切相关。球形孢子丝菌感染绝大多数仅引起皮肤型孢子丝菌病,以固定型和淋巴管型为常见,固定型的临床表现呈多样性,皮肤播散型少见,黏膜和皮外形偶见^[45]。巴西孢子丝菌与其他种类不同具有特别强的毒力,可引起严重的炎症反应的皮肤症状,引起眼睑皮肤感染以及其他的眼部后遗症,此外还引起超敏反应,最常见表现包括结节性红斑和多形性红斑、关节痛、肌痛和关节炎,这些都与动物传播相关^[46]。

目前孢子丝菌的毒力研究主要针对细胞壁,因为细胞壁是真菌应对宿主免疫反应的主要结构。酵母相的细胞壁含有黑素,黑素在细胞表面形成致密的保护膜,具有抵抗巨噬细胞吞噬、抗氧化、增强细胞黏附性以及增加真菌耐药性等作用^[47]。实验证明^[48],产生黑素的分生孢子比不能产生黑素的分生孢子更能抵抗宿主细胞的吞噬和杀伤,甚至能抵抗氧、氮氧自由基。另外粘附力是真菌侵入宿主的先决条件,Kadry等^[49]研究表明:细胞壁中的甘露糖和肽聚糖均参与了粘附的过程,并且它们在与宿

主细胞外基质蛋白的粘附作用起到了关键的作用。Alba-Fierro、Portuondo 和 Rodrigues 等^[50-52]研究表明,申克孢子丝菌具有可识别宿主层粘连蛋白、纤维连接蛋白等的整合素或粘附素样凝集素样分子。Toll样受体(TLR)家族作为重要的模式识别受体,能识别入侵的病原体介导各种免疫应答,课题组验证了皮肤角质形成细胞和巨噬细胞的TLR2和TLR4对孢子丝菌的识别作用^[53]。

几丁质也是真菌细胞壁的重要组成部分之一,可与葡萄糖、甘露糖、蛋白多糖等交联,构成保护屏障,是真菌重要的毒力成分^[3]。本课题组发现从申克孢子丝菌菌丝相细胞壁提取的富含几丁质的多糖能增强感染小鼠清除真菌能力,在体外促进小鼠巨噬细胞吞噬真菌孢子,调节促炎细胞因子TNF- α 和IL-12分泌^[54]。本课题组用姜黄素处理申克孢子丝菌,发现姜黄素可以通过增加细胞壁几丁质的暴露增强宿主巨噬细胞杀伤作用而清除真菌^[55]。姜黄素极大地上调了几丁质合成有关的PKC信号通路,几丁质合成增多,重新分配到细胞壁的外层,这被认为是真菌应对恶劣环境的主要适应机制。本课题组研究发现用姜黄素处理的分生孢子,几丁质暴露在细胞壁外层,容易被巨噬细胞识别,从而调节宿主对真菌的免疫反应。同时姜黄素可刺激巨噬细胞在早期分泌TNF- α ,促进了真菌的清除。我们还首先报道了姜黄素与特比萘芬联合作用于申克孢子丝菌有协同作用^[56]。机体可以分泌针对真菌的几丁质或类几丁质酶抵抗病原体,课题组发现申克孢子丝菌不能诱导巨噬细胞CHI3L1表达升高,这可能导致了孢子丝菌病皮损慢性化难以愈合^[57]。

4 基因组学与转录组学研究

由于全世界每年都有大量的感染病例报道,对临床相关的孢子丝菌的研究越来越引起人们的关注。本课题组联合国际同行对临床药物治疗失败的临床株的基因组进行了比较基因组学研究,发现临床药物治疗失败菌株和低毒力无效病性临床分离株的基因组可能具有一定特征^[19-20];进一步分析了申克孢子丝菌菌丝相和酵母相转录组表达谱及建立了孢子丝菌基因组数据库^[58],发现调控孢子丝菌菌丝相和酵母相的形成与维持的分子途径异常复杂,可能由不同的长链非编码RNA(long non-

coding RNA, lncRNA)的表达差异以及一些尚未明确功能的蛋白质编码基因决定所造成。L-精氨酸在真菌中参与多种细胞活动,特别是细胞形态的发生以及真菌繁殖的调控^[59],如在盾壳霉(*Coniothyrium minitans*)和稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)中,L-精氨酸参与调控它们无性生殖的过程,对它们分生孢子的形成至关重要。盾壳霉中由于氨基甲酰磷酸合成酶(CSP1)编码基因(L-精氨酸合成的关键基因)的破坏而产生的突变会导致盾壳霉只能长出菌丝而不能产生孢子;在稻瘟病菌中,与盾壳霉CSP1基因的直向同源基因为CPA2基因,CPA2基因的破坏同样影响稻瘟病菌分生孢子的形成^[59-60]。在申克孢子丝菌菌丝相中氨基甲酰磷酸酶合成基因(ORF Spsc_00280)与酵母相相比表达下调,表明L-精氨酸的生物合成参与了申克孢子丝菌的形态的转化^[58]。

近年来,组氨酸激酶(Histidine protein kinases, HPK),(在孢子丝菌中由DRK1基因编码)被认为是包括孢子丝菌在内的几种双相真菌中菌丝相向酵母相转化以及毒力变化的主要调节因子^[61-62]。HPKs可以使组氨酸残基磷酸化,是一大类信号传导酶,HPKs与其下游的靶蛋白共同组成二组分信号系统。MAPKs级联系统和cAMP信号通路被认为参与真菌的形态转化及致病力的形成,而两者又都被上游的HPKs二组分调控系统所调控,故Nemecek等^[63]认为DRK1可能是调控双相真菌形态转化的启动因素。据报道^[61-62],申克孢子丝菌中该基因在酵母相中的表达与菌丝相比上调,但是在本课题组的研究中发现申克孢子丝菌的DRK1基因在菌丝相和酵母相中的表达并无差异,原因可能是诱导菌丝相以及酵母相时的实验条件不同所致,同时指出在诱导成酵母相后,DRK1基因表达水平可能下降,由于其他因素维持酵母相^[58]。有趣的是,该研究同时还发现了另一种由ORF Spsc_09813编码的HPK,这种新发现的HPK在申克孢子丝菌中两种形态间的表达存在差异,在酵母相中表达上调。真菌中双相转换的分子机制非常复杂,取决于许多基因的表达,这些象可能由不同的化学、物理刺激引起,这些刺激通过调控特定分子通路激活特定下游分子来实现。

Prakash等^[64]分析了致病性孢子丝菌属的基因组特征,揭示了其基因组多个扩增的基因家族。引起粘连的毒力相关基因(CFEM域和LysM结构域),

铁捕获基因(高亲和力铁离子渗透酶(high-affinity iron permease, FTR1)和多铜氧化酶,组织降解蛋白酶(丝氨酸和天冬氨酸蛋白酶)和转运蛋白基因(MFS和OPT转运蛋白)在孢子丝菌属中得到扩增。和其他双相真菌相比,孢子丝菌含有更多的胞外结构域,如CFEM(common in fungal extracellular membrane)蛋白结构域和LysM结构域。CFEM结构域是真菌独有的一种蛋白结构域,含有8个半胱氨酸,在宿主与病原体的相互作用中发挥重要作用^[65]。含有CFEM结构域的蛋白质参与信号转导受体和粘附分子的形成,参与铁获取和细胞壁的形成。孢子丝菌中CFEM结构域的扩增表明其可能在内皮细胞粘附、应激反应、从宿主获得铁的能力和细胞壁完整性中起作用^[65-67]。真菌含有LysM结构域的蛋白质能结合碳水化合物^[68],如LysM与几丁质分子结合,通过掩盖细胞壁几丁质分子帮助免疫逃避^[69]。LysM结构域也可能在免疫逃避中起作用,保护酵母免受吞噬和细胞内杀灭,尚需要进一步的研究来验证LysM结构域在人类病原真菌中的作用。

铁是一种重要的金属,获取铁的还原途径和铁载体介导的途径均与真菌的致病力相关^[70]。毛霉菌属(*Mucor sp.*)中从宿主中获取铁是建立感染的重要机制,高亲和力铁离子渗透酶(FTR1)、多铜氧化酶和亚铁氧化酶对与铁的获取对真菌毒力是必不可少的^[70-71]。另外,除了铁还原途径,铁载体介导的机制是真菌中铁吸收的另一种主要模式^[67]。在念珠菌中,铁载体运输相关基因参与铁的摄取,有助于念珠菌的侵袭以及逃避巨噬细胞的吞噬^[67,72]。Prakash等^[64]观察到铁获取的基因在孢子丝菌属中是保守且有扩增,提示这些基因在孢子丝菌中可能起到增强真菌毒性的作用。

真菌蛋白酶是真菌入侵宿主组织所必需的^[73]。编码丝氨酸蛋白酶如脯氨酰寡肽酶(S09)、丝氨酸羧肽酶(S28)和二肽基肽酶(S15)的基因在孢子丝菌表达增加。脯氨酰寡肽酶具有胞外降解、蛋白质成熟和液泡蛋白酶的作用。丝氨酸羧肽酶和二肽基肽酶的功能在真菌中尚不清楚^[74]。除了真菌蛋白酶外,分泌型脂肪酶在孢子丝菌中也有扩增。孢子丝菌的分泌性蛋白酶和脂肪酶可能通过帮助它

们粘附在上皮细胞和组织降解上产生毒力导致感染的传播^[75]。预测孢子丝菌属中的转运蛋白家族是MFS(major facilitator superfamily)转运蛋白家族,寡肽转运蛋白(oligopeptide transporter, OPT)家族和ATP结合盒(ATP-binding cassette, ABC)转运蛋白。ABC和MFS转运蛋白在脂肪酸代谢等各种生理条件下发挥重要作用,作为外排泵在真菌耐药性中发挥重要作用。OPT家族转运体和MFS转运体的亚类,如糖转运体,对形态发生和毒力等细胞生物功能至关重要^[76]。

本课题组利用RNA-seq鉴定了17 307个基因,其中11 217个被归类为蛋白质编码基因,6 090个被归类为非编码RNA(ncRNAs),标注的基因中大约有71%的基因发生了重叠,以不同链重叠型最为常见,基因表达分析显示有8 795个基因在双相转化中受到不同的调控,有一半以上的基因在酵母相中的表达被上调^[58]。这项研究描述了5 929个长链非编码RNA(lncRNAs),这些基因座占申克孢子丝菌基因组中全部基因的34%以上。其中大多数发现的lnc RNAs为天然反义转录本(natural anti-sense transcripts, NATs)。NATs分为转录于靶基因基因座的反链DNA的顺式NATs(cis-NATs)和转录于不同基因座的反式NATs(trans-NATs),NATs通过与蛋白质编码或非编码的转录本相互作用,从而调节基因的表达^[77]。报道表明许多cis-NATs是子囊菌和担子菌中基因表达的重要调节剂^[78]。该研究公布了申克孢子丝菌全转录组数据和建立了基因组数据库(<http://sporothrixgenomedatabase.unime.it/>),为真菌致病的分子机制研究提供强有力的理论基础。

5 结 语

孢子丝菌病已经对全球的公共卫生造成一定影响,每年都有大量的病例确诊,部分地区甚至爆发流行。本文阐述了孢子丝菌复合体的病原学和流行病学等基本的生活习性以及分布情况,分析了孢子丝菌的致病毒力因素,整理了目前孢子丝菌的基因组学和转录组学研究结果,有助于深入了解孢子丝菌病和孢子丝菌的基础研究和诊断治疗。

参考文献

- [1] 张明瑞, 杨鑫, 赵飞, 等. 孢子丝菌复合体分子分型研究进展[J]. 菌物学报, 2019, 38(8): 1235-1244. Zhang MR, Yang X, Zhao F, et al. Overview of genotyping studies for *Sporothrix* complex [J]. *Mycosystema*, 2019, 38(8): 1235-1244.
- [2] Bonifaz A, Tirado-Sánchez A. Cutaneous disseminated and extracutaneous sporotrichosis: current status of a complex disease[J]. *J Fungi (Basel)*, 2017, 3(1): 6. doi:10.3390/jof3010006.
- [3] Barros MB, de Almeida Paes R, Schubach AO. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2011, 24(4): 633-654.
- [4] Brandolt TM, Madrid IM, Poester VR, et al. Human sporotrichosis: A zoonotic outbreak in southern Brazil, 2012-2017[J]. *Med Mycol*, 2018, doi: 10.1093/mmy/myy082.
- [5] de Lima Barros MB, Schubach AO, de Vasconcellos Carvalhaes de Oliveira R, et al. Treatment of cutaneous sporotrichosis with itraconazole—study of 645 patients [J]. *Clin Infect Dis*, 2011, 52(12): e200-206.
- [6] 李珊山, 刘鹤松, 郑华, 等. 皮肤型孢子丝菌病 585 例临床分析[J]. 中华皮肤科杂志, 2011, (3): 161-164. Li SS, Liu HS, Zheng H, et al. Clinical analysis of 585 cases of cutaneous sporotrichosis [J]. *Chin J Dermatol*, 2011, (3): 161-164.
- [7] Marimon R, Cano J, Gené J, et al. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest[J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(10): 3198-3206.
- [8] de Beer ZW, Duong TA, Wingfield MJ. The divorce of *Sporothrix* and *Ophiostoma*: solution to a problematic relationship[J]. *Stud Mycol*, 2016, 83: 165-191.
- [9] Vasquez-del-Mercado E, Arenas R, Padilla-Desgarennes C. Sporotrichosis[J]. *Clin Dermatol*, 2012, 30(4): 437-443.
- [10] Mora-Montes HM, Lopes-Bezerra LM. Current progress in medical mycology [A]. Fahal AH. *Mycetoma* [C]. Cham: Springer International Publishing, 2017: 355-380. doi: 10.1007/978-3-319-64113-3.
- [11] Zhang Y, Hagen F, Stielow B, et al. Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14 000 human and animal case reports[J]. *Perthoonia*, 2015, 35: 1-20.
- [12] Rangel-Gamboa L, Martínez-Hernández F, Maravilla P, et al. Update of phylogenetic and genetic diversity of *Sporothrix schenckii* sensu lato [J]. *Med Mycol*, 2016, 54(3): 248-255.
- [13] Madrid H, Cano J, Gené J, et al. *Sporothrix globosa*, a pathogenic fungus with widespread geographical distribution [J]. *Rev Iberoam Micol*, 2009, 26(3): 218-222.
- [14] de Oliveira MM, de Almeida-Paes R, de Medeiros Muniz M, et al. Sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa* in Rio De Janeiro, Brazil: case report [J]. *Mycopathologia*, 2010, 169(5): 359-363.
- [15] Rodrigues AM, de Melo Teixeira M, de Hoog GS, et al. Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline sporotrichosis outbreaks [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2013, 7(6): e2281.
- [16] 郭亚南, 翁梦微, 刘慧瑜. 孢子丝菌病原学的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(5): 1074-1079. Guo YN, Chou MW, Liu HY. Advances in research on pathogenicity of sporotrichosis [J]. *J Clin Pathol Res*, 2019, 39(5): 1074-1079.
- [17] Dias NM, Oliveira MM, Santos C, et al. Sporotrichosis caused by *Sporothrix Mexicana*, Portugal [J]. *Emerg Infect Dis*, 2011, 17(10): 1975-1976.
- [18] Chakrabarti A, Bonifaz A, Gutierrez-Galhardo MC, et al. Global epidemiology of sporotrichosis [J]. *Med Mycol*, 2015, 53(1): 3-14.
- [19] Huang L, Gao W, Giosa D, et al. Whole-genome sequencing and in silico analysis of two strains of *Sporothrix globosa* [J]. *Genome Biol Evol*, 2016, 8(11): 3292-3296.
- [20] D'Alessandro E, Giosa D, Huang L, et al. Draft genome sequence of the dimorphic fungus *sporothrix pallida*, a nonpathogenic species belonging to *Sporothrix*, a genus containing agents of human and feline Sporotrichosis [J]. *Genome Announc*, 2016, 4(2): e00184-16.
- [21] Marimon R, Serena C, Gene J, et al. In vitro antifungal susceptibilities of five species of *sporothrix* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(2): 732-734.
- [22] Bonifaz A, Vazquez-Gonzalez D. Sporotrichosis: an update [J]. *G Ital Dermatol Venereol*, 2010, 145(5):

- 659-673.
- [23] Song Y, Li SS, Zhong SX, et al. Report of 457 sporotrichosis cases from Jilin province, northeast China, a serious endemic region [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2013, 27(3): 313-318.
- [24] Lopez-Romero E, Reyes-Montes Mdel R, Perez-Torres A, et al. *Sporothrix schenckii* complex and sporotrichosis, an emerging health problem [J]. *Future Microbiol*, 2011, 6(1): 85-102.
- [25] Tellez MD, Batista-Duarte A, Portuondo D, et al. *Sporothrix schenckii* complex biology: environment and fungal pathogenicity [J]. *Microbiology (Reading)*, 2014, 160(Pt 11): 2352-2365.
- [26] Yu X, Wan Z, Zhang Z, et al. Phenotypic and molecular identification of *Sporothrix* isolates of clinical origin in Northeast China [J]. *Mycopathologia*, 2013, 176(1-2): 67-74.
- [27] Pereira SA, Gremião ID, Kitada AA, et al. The epidemiological scenario of feline sporotrichosis in Rio de Janeiro, State of Rio de Janeiro, Brazil [J]. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2014, 47(3): 392-393.
- [28] Moussa TAA, Kadasa NMS, Al Zahrani HS, et al. Origin and distribution of *Sporothrix globosa* causing sapronoses in Asia [J]. *J Med Microbiol*, 2017, 66(5): 560-569.
- [29] Freitas DF, Valle AC, da Silva MB, et al. Sporotrichosis: an emerging neglected opportunistic infection in HIV-infected patients in Rio de Janeiro, Brazil [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2014, 8(8): e3110.
- [30] Bernardes-Engemann AR, de Lima Barros M, Zeitone T, et al. Validation of a serodiagnostic test for sporotrichosis: a follow-up study of patients related to the Rio de Janeiro zoonotic outbreak [J]. *Med Mycol*, 2015, 53(1): 28-33.
- [31] 田亚萍, 钟淑霞, 张朝英, 等. 申克孢子丝菌和暗色真菌的分离 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2004, (3): 360-361; 365-495.
- Tian YP, Zhong SX, Zhang CY, et al. Isolation of *Sporothrix schenckii* and dematiaceous fungi [J]. *J Jilin Univ Med Edit*, 2004, (3): 360-361; 365-495.
- [32] 姜长友, 李纪青, 金学洙, 等. 内蒙古乌兰浩特地区申克孢子丝菌及暗色真菌的生态学研究 [J]. *临床皮肤科杂志*, 2001, (4): 223-224.
- Jiang CY, Li JQ, Jing XZ, et al. Study on ecology of *sporotrichum schenckii* and dematiaceous fungi in Ulan Hot [J]. *J Clin Dermatol*, 2001, (4): 223-224.
- [33] 纪青, 向耘, 罗清平, 等. 广东省珠海市金湾区孢子丝菌及暗色真菌的生态学研究 [J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2010, 17(1): 28-30.
- Ji Q, Xiang G, Luo QP, et al. The Ecologic Features of *Sporothrix Schenckii* and Dematiaceous Fungi in Jinwan District of Zhuhai City in Guangdong Province [J]. *Diagn Ther J Dermatol-Venereol*, 2010, 17(1): 28-30.
- [34] 贺羽, 黄梦雅, 胡青碧, 等. 中国南北方地区临床孢子丝菌菌种鉴定 [J]. *中国真菌学杂志*, 2015, 10(5): 279-282.
- He Y, Huang MY, Hu QB, et al. Species identification of *Sporothrix* clinical isolates in Northern and Southern of China [J]. *Chin J Mycol*, 2015, 10(5): 279-282.
- [35] Lyon GM, Zurita S, Casquero J, et al. Population-based surveillance and a case-control study of risk factors for endemic lymphocutaneous sporotrichosis in Peru [J]. *Clin Infect Dis*, 2003, 36(1): 34-39.
- [36] Fukushima R. Epidemiology and ecology of sporotrichosis in Japan [J]. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A*, 1984, 257(2): 228-233.
- [37] Schubach A, Barros MB, Wanke B. Epidemic sporotrichosis [J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2008, 21(2): 129-133.
- [38] Barros MB, Schubach TP, Coll JO, et al. Sporotrichosis: development and challenges of an epidemic [J]. *Rev Panam Salud Publica*, 2010, 27(6): 455-460.
- [39] Gremião IDF, Martins da Silva da Rocha E, Montenegro H, et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision [J]. *Braz J Microbiol*, 2021, 52(1): 107-124.
- [40] Rodrigues AM, Bagagli E, de Camargo ZP, et al. *Sporothrix schenckii* sensu stricto isolated from soil in an armadillo's burrow [J]. *Mycopathologia*, 2014, 177(3-4): 199-206.
- [41] Bhutia PY, Gurung S, Yegneswaran PP, et al. A case series and review of sporotrichosis in Sikkim [J]. *J Infect Dev Ctries*, 2011, 5(8): 603-608.
- [42] Vismar HF, Hull PR. Prevalence, epidemiology and geographical distribution of *Sporothrix schenckii* infec-

- tions in Gauteng, South Africa [J]. *Mycopathologia*, 1997, 137(3): 137-143.
- [43] Klein BS, Tebbets B. Dimorphism and virulence in fungi [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2007, 10 (4) : 314-319.
- [44] Arrillaga-Moncrieff I, Capilla J, Mayayo E, et al. Different virulence levels of the species of *Sporothrix* in a murine model [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2009, 15 (7): 651-655.
- [45] 吕莎, 李福秋. 孢子丝菌病的临床表现诊疗与变迁 [J]. *皮肤科学通报*, 2017, 34(5): 556-564;555. Lv S, Li FQ. Clinical manifestation, diagnosis, treatment and changes of sporotrichosis [J]. *Dermatology Bulletin*, 2017, 34(5): 556-564;555.
- [46] Rossow JA, Queiroz-Telles F, Caceres DH, et al. A one health approach to combatting *Sporothrix brasiliensis*: narrative review of an emerging zoonotic fungal pathogen in South America [J]. *J Fungi (Basel)*, 2020, 6(4): 247.
- [47] Lopes-Bezerra LM, Mora-Montes HM, Zhang Y, et al. Sporotrichosis between 1898 and 2017: The evolution of knowledge on a changeable disease and on emerging etiological agents [J]. *Med Mycol*, 2018, 56 (suppl_1): 126-143.
- [48] Romero-Martinez R, Wheeler M, Guerrero-Plata A, et al. Biosynthesis and functions of melanin in *Sporothrix schenckii* [J]. *Infect Immun*, 2000, 68 (6) : 3696-3703.
- [49] Kadry AA, El-Ganiny AM, Mosbah RA, et al. Deletion of *Aspergillus nidulans* GDP-mannose transporters affects hyphal morphometry, cell wall architecture, spore surface character, cell adhesion, and biofilm formation [J]. *Med Mycol*, 2018, 56 (5) : 621-630.
- [50] Alba-Fierro CA, Perez-Torres A, Toriello C, et al. Molecular components of the *Sporothrix schenckii* complex that induce immune response [J]. *Curr Microbiol*, 2016, 73(2): 292-300.
- [51] Portuondo DL, Batista-Duarte A, Ferreira LS, et al. A cell wall protein-based vaccine candidate induce protective immune response against *Sporothrix schenckii* infection [J]. *Immunobiology*, 2016, 221 (2): 300-309.
- [52] Rodrigues AM, Kubitschek-Barreira PH, Fernandes GF, et al. Immunoproteomic analysis reveals a convergent humoral response signature in the *Sporothrix schenckii* complex [J]. *J Proteomics*, 2015, 115: 8-22.
- [53] 张静, 黄丽林, 张晓辉, 等. Toll样受体2和4在抗孢子丝菌早期免疫阶段小鼠皮肤中的表达 [J]. *中华皮肤科杂志*, 2015, 48(11): 787-791. Zhang J, Huang LL, Zhang XH, et al. Expressions of Toll-like receptor 2 and 4 in mouse skin during early immune responses against *Sporothrix* [J]. *Chin J Dermatol*, 2015, 48(11): 787-791.
- [54] Huang L, Zhang J, Du W, et al. Chitin-rich heteroglycan from *Sporothrix schenckii* sensu stricto potentiates fungal clearance in a mouse model of sporotrichosis and promotes macrophages phagocytosis [J]. *BMC Microbiol*, 2021, 21(1): 190.
- [55] Huang L, Zhang J, Song T, et al. Antifungal curcumin promotes chitin accumulation associated with decreased virulence of *Sporothrix schenckii* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 34: 263-270.
- [56] Lenardon MD, Munro CA, Gow NA. Chitin synthesis and fungal pathogenesis [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2010, 13(4): 416-423.
- [57] 黄丽林, 张静, 高文超, 等. 类几丁质酶3蛋白1在申克孢子丝菌刺激巨噬细胞的表达和作用研究 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2015, 31 (10) : 938-942. Huang LL, Zhang J, Gao WC, et al. Differential expression and function of chitinase 3-like-1 in macrophage stimulated by *Sporothrix schenckii* [J]. *Chin J Zoono*, 2015, 31(10): 938-942.
- [58] Giosa D, Felice MR, Giuffrè L, et al. Transcriptome-wide expression profiling of *Sporothrix schenckii* yeast and mycelial forms and the establishment of the *Sporothrix* Genome DataBase [J]. *Microb Genom*, 2020, 6 (10): mgen000445.
- [59] Gong X, Fu Y, Jiang D, et al. L-arginine is essential for conidiation in the filamentous fungus *Coniothyrium minitans* [J]. *Fungal Genet Biol*, 2007, 44 (12) : 1368-1379.
- [60] Liu X, Cai Y, Zhang X, et al. Carbamoyl phosphate synthetase subunit MoCpa2 affects development and pathogenicity by modulating arginine biosynthesis in *magnaporthe oryzae* [J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 2023.
- [61] Hou B, Zhang Z, Zheng F, et al. Molecular cloning,

- characterization and differential expression of DRK1 in *Sporothrix schenckii* [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 31(1): 99–104.
- [62] Zhang Z, Hou B, Wu YZ, et al. Two-component histidine kinase DRK1 is required for pathogenesis in *Sporothrix schenckii* [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1): 721–728.
- [63] Nemecek JC, Wuthrich M, Klein BS. Global control of dimorphism and virulence in fungi [J]. *Science*, 2006, 312(5773): 583–588.
- [64] Prakash H, Karupiah P, AA-DN, et al. Comparative genomics of *Sporothrix* species and identification of putative pathogenic-gene determinants [J]. *Future Microbiol*, 2020, 10.2217/fmb-2019-0302: 1465–1481.
- [65] Zhang ZN, Wu QY, Zhang GZ, et al. Systematic analyses reveal uniqueness and origin of the CFEM domain in fungi [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 13032.
- [66] Kulkarni RD, Kelkar HS, Dean RA. An eight-cysteine-containing CFEM domain unique to a group of fungal membrane proteins [J]. *Trends Biochem Sci*, 2003, 28(3): 118–121.
- [67] Bairwa G, Hee Jung W, Kronstad JW. Iron acquisition in fungal pathogens of humans [J]. *Metallomics*, 2017, 9(3): 215–227.
- [68] Akcapinar GB, Kappel L, Sezerman OU, et al. Molecular diversity of LysM carbohydrate-binding motifs in fungi [J]. *Curr Genet*, 2015, 61(2): 103–113.
- [69] de Jonge R, Thomma BP. Fungal LysM effectors: extinguishers of host immunity? [J]. *Trends Microbiol*, 2009, 17(4): 151–157.
- [70] Navarro-Mendoza MI, Perez-Arques C, Murcia L, et al. Components of a new gene family of ferroxidases involved in virulence are functionally specialized in fungal dimorphism [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 7660.
- [71] Ibrahim AS, Gebremariam T, Lin L, et al. The high affinity iron permease is a key virulence factor required for *Rhizopus oryzae* pathogenesis [J]. *Mol Microbiol*, 2010, 77(3): 587–604.
- [72] Nevitt T, Thiele DJ. Host iron withholding demands siderophore utilization for *Candida glabrata* to survive macrophage killing [J]. *PLoS Pathog*, 2011, 7(3): e1001322.
- [73] Prakash H, Rudramurthy SM, Gandham PS, et al. *Apophysomyces variabilis*: draft genome sequence and comparison of predictive virulence determinants with other medically important Mucorales [J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 736.
- [74] Muszewska A, Stepniewska-Dziubinska MM, Steczkiewicz K, et al. Fungal lifestyle reflected in serine protease repertoire [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9147.
- [75] Park M, Do E, Jung WH. Lipolytic enzymes involved in the virulence of human pathogenic fungi [J]. *Mycobiology*, 2013, 41(2): 67–72.
- [76] Perlin MH, Andrews J, Toh SS. Essential letters in the fungal alphabet: ABC and MFS transporters and their roles in survival and pathogenicity [J]. *Adv Genet*, 2014, 85: 201–253.
- [77] Latge G, Poulet C, Bours V, et al. Natural antisense transcripts: molecular mechanisms and implications in breast cancers [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 123. doi: 10.3390/ijms19010123.
- [78] Donaldson ME, Saville BJ. Natural antisense transcripts in fungi [J]. *Mol Microbiol*, 2012, 85(3): 405–417.