

◆特邀专稿◆

真菌感染防控及真菌细胞壁靶标的研究进展*

覃启剑, 房文霞**

(广西科学院生物科学与技术研究所, 广西南宁 530007)

摘要:全球有超过 10 亿人患有真菌感染, 每年有超过 160 万人因此而死亡, 且真菌感染病例正呈激增趋势。此外, 真菌病害不仅严重影响作物的生长, 还会产生毒素影响农作物的质量, 对农业生产带来严重影响。真菌的细胞壁结构在哺乳动物中不存在, 且与植物细胞壁组分完全不同, 因此成为开发抗真菌药物的理想靶标。本文详细阐述病原真菌对人类、动物和植物的风险, 临床和农业上使用的抗真菌药物, 以及真菌细胞壁不同组分在药物研发中的研究进展, 并展望基于广西的天然资源在抗真菌药物研发中的潜在前景。

关键词:真菌感染; 真菌病害; 药物靶标; 细胞壁; 抗真菌药

中图分类号: Q939.97 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2023)03-0213-10

DOI: 10.13657/j.cnki.gxkxyxb.20230829.001

据估计, 真菌大约在 16 亿年前开始在自然环境中出现^[1], 预测自然界中可能存在 220 万 - 380 万种不同的真菌^[2]。其中, 大部分真菌对人类是有益的, 例如在面粉发酵、酱油制作和霉豆腐生产等过程中都需要真菌的参与。此外, 真菌的次级代谢产物也是许多重要药物的主要来源, 如青霉素、环孢菌素 A 和他汀类药物等。然而, 少数真菌也能引起动物、植物和人类的多种疾病, 对公共卫生、农业和生物多样性产生毁灭性影响^[3]。

临床上, 目前已知能引起人类疾病的真菌有 300 余种, 其引起的疾病表现多种多样^[4]。真菌感染被称为真菌病, 根据真菌入侵组织的深浅程度, 可以分为

浅表真菌病和深部真菌病。浅表真菌病是最常见的皮肤真菌感染病, 全球的发病率为 20% - 25%^[5]。在中国, 浅表真菌感染主要以红色毛癣菌 (*Trichophyton rubrum*) 为主^[6]。深部真菌病也称为侵袭性真菌感染 (Invasive Fungal Infections, IFI), 严重时可危及生命。全球每年有超过 150 万人死于 IFI, 与肺结核/疟疾的死亡人数相当^[7]。曲霉菌、念珠菌和隐球菌是三大机会性病原真菌, 是侵袭性真菌感染的主要致病菌。近年来, 随着抗生素的滥用、器官移植以及放疗、化疗等的广泛应用, 侵袭性真菌感染的发病率呈上升趋势, 严重感染的死亡率可达 80% 以上, 尤其是侵袭性曲霉病目前几乎无特效药物可用, 已经

收稿日期: 2023-04-11

修回日期: 2023-07-18

* 广西自然科学基金杰出青年项目 (2022JJG130009) 和广西自然科学基金青年项目 (2021GXNSFBA075007) 资助。

【第一作者简介】

覃启剑 (1989 -), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事丝状真菌细胞壁药物靶标的鉴定研究。

【**通信作者】

房文霞 (1981 -), 女, 博士, 研究员, 主要从事病原真菌防控的基础研究和应用基础研究, E-mail: wfang@gxas.cn。

【引用本文】

覃启剑, 房文霞. 真菌感染防控及真菌细胞壁靶标的研究进展 [J]. 广西科学院学报, 2023, 39(3): 213-222.

QIN Q J, FANG W X. Research Progress in Prevention and Control of Fungal Infections and Fungal Cell Wall Targets [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 2023, 39(3): 213-222.

严重影响人类的生活质量并对生命健康构成威胁^[8]。

真菌不仅能够感染人或动物导致真菌病,还能够侵染植物并引发一系列症状,如腐烂、坏死和萎蔫等,从而对植物造成病害。一些常见的植物病害包括锈病、黑粉病、枯萎病、炭疽病和黑穗病等,可造成农作物减产,严重时导致颗粒无收。据统计,全球主要农作物的平均损失占总产量的10%–15%,其中70%–80%的植物病害是由真菌感染引起的^[9]。除了对植物造成病害外,植物病原真菌还会产生次生代谢产物,污染农产品,严重影响农产品的质量,对人体健康构成极大威胁,如黄曲霉毒素、镰刀菌毒素和麦角毒素等。

广西位于亚热带地区,与东盟国家相邻,气候温暖潮湿,真菌病原菌的多样性非常显著。各种新发、高发机会性真菌感染层出不穷,且耐药真菌菌株日益增多,已成为威胁广西人民健康的一个重大问题。此外,由真菌造成的作物病害,如甘蔗黑穗病,香蕉枯萎病、炭疽病,以及百香果根腐病等,严重影响广西特色经济作物的种植和农业发展。在这种情况下,对广西的天然资源进行开发,寻找和开发新型抗真菌药物,不仅可以应对当地真菌感染问题,还可以促进农业的可持续发展和保障人民的健康,具有重要的意义。

1 抗真菌药的种类及现状

真菌属于真核生物,其胞内分子机器与动植物的相似,因此开发特异的抗真菌药物非常具有挑战性。目前,临床上用于治疗侵袭性真菌感染的抗真菌药物

主要分为4类:多烯类(Polyenes)、唑类(Azoles)、棘白菌素类(Echinocandins)和嘧啶类似物(Pyrimidine analogs)。治疗浅表真菌感染的常用药物包括烯丙胺类(Allylamines)、吗啉类(Morpholine)和氧硼戊环类(Oxaborole)等。这些药物的作用机制及治疗范围各不相同,详见表1。

尽管目前有多种抗真菌药可供选择,但它们都存在一定的局限性。例如,一些药物需要较高剂量才能产生疗效,增加了药物副作用的风险;另外一些药物只能减轻症状,需要长期使用才能治疗;还有一些药物可能导致胃肠道不适、肝损害、肾损害或过敏等不良反应。因此,加强抗真菌药物的研发迫在眉睫^[17]。然而,更为紧迫的是,近年来已经发现了越来越多的多重耐药菌株,其中包括在美国多个州爆发的超级真菌——耳念珠菌(*Candida auris*)以及在印度出现的与新型冠状病毒合并感染的耐药毛霉菌(*Mucor*)^[3],给临床治疗带来了巨大的挑战。为此,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)已推出政策,允许抗真菌感染新药的市场专利权延长5年,并将抗真菌药物列为“孤儿状态”,降低临床试验的限制,以鼓励抗真菌药物的研发^[18]。多个国家的科学家呼吁加强病原真菌发病机制、传播途径、耐药机制、药物开发以及治疗方案的相关研究,以提高对真菌感染的预防和治疗能力。同时,也需要加强抗真菌药物的监管和使用,以避免药物滥用和耐药性的加剧。

表1 临床常用抗真菌药物

Table 1 Commonly used antifungal drugs in clinical

药物类型 Types of drugs	代表药物 Representative drugs	作用机制 Mechanism of action	治疗范围 Treatment scope
Polyenes ^[10]	Nystatin, Natamycin, Amphotericin B	Binding to ergosterol on fungal cell membranes	Amphotericin B for treating Invasive Fungal Infections (IFI), Nystatin for treating skin, vaginal and esophageal candidiasis and Natamycin for treating fungal keratitis and corneal infections
Azoles ^[11]	Fluconazole, Itraconazole, Voriconazole	Blocking the biosynthesis of ergosterol on the cell membrane, leading to changes in fungal cell membrane permeability, thus inhibiting fungal growth	For treating superficial <i>Candida</i> infections such as oral, esophageal and vagina candidiasis, as well as fungal infections caused by dermatophytes on the skin and infections caused by <i>Aspergillus fumigatus</i>
Echinocandins ^[12]	Caspofungin, Micafungin	Inhibiting the synthesis of β -(1,3)-D-glucan, the integrity of fungal cell wall was destroyed and fungal cells are eventually lysed	For treating fungal infection caused by <i>Candida</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Histoplasma</i> and other pathogenic fungi
Pyrimidine analogs	Flucytosine ^[13]	Inhibiting DNA, RNA, and protein synthesis	For treating mycoses caused by <i>Candida</i> species (except <i>Candida krusei</i>), <i>Cryptococcus</i> species and some dematiaceous fungi
Allylamines ^[14]	Terbinafine, Naftifine	Reversibly inhibiting squalene epoxidase (a key enzyme in ergosterol biosynthesis)	Good activity against <i>Aspergillus</i> , <i>Trichophyton</i> , and other filamentous fungi, and is widely used for treating skin fungal infections

续表

Continued table

药物类型 Types of drugs	代表药物 Representative drugs	作用机制 Mechanism of action	治疗范围 Treatment scope
Morpholine	Amorolfine ^[15]	Inhibiting ergosterol synthesis, leading to impaired cell membrane structure and function	Commonly used for the treatment of onychomycosis and skin fungal infections
Oxaborole	Tavaborole ^[16]	Specifically inhibiting leucyl transfer ribonucleic acid synthase, thereby inhibiting fungal protein synthesis	For treating toenail onychomycosis caused by <i>Trichophyton rubrum</i> and filariasis, for external use only

在农业领域,我国目前化学农药在农药登记中的占比超过 91%,而生物农药仅占约 9%^[19],说明我国农业生产主要依赖化学农药来进行植物病害防治。然而,长期大量使用化学农药不仅会导致环境污染和农药残留等问题,还会对生物多样性和生态环境造成不良影响。相比之下,生物农药具有低毒、对环境友好等优点,将成为未来农药发展的趋势。针对真菌病害的农用抗生素种类非常有限,目前常用的仅有 6 类,包括氨基糖苷类(Aminoglycosides)、大环内酯类(Macrolides)、N-糖甙类抗生素(N-glycoside antibiotics)、尿嘧啶核苷类(Uracil nucleotides)、胞嘧啶核苷类(Cytidine-5'-diphosphate disodium)和酰胺类(Amides)等,详见表 2。相对于化学农药,这些农用抗生素具有活性高、来源广、可共用生产设备、对环境污染小且不易富集等特点^[19]。因此,为了促进人类社会的绿色可持续发展,亟需研发新型高效、环保的生物农药来替代化学农药。需要注意的是,不同类型的真菌病害对不同的农用抗真菌药具有不同的敏感性,因此在使用农用抗真菌药时需要根据具体的病害情况选择合适的药物和用药方法。

表 2 常见农用抗真菌药

Table 2 Commonly used antifungal drugs in agriculture

药物类型 Types of drugs	代表药物 Representative drugs	作用机制 Mechanism of action	防治对象 Prevention and control targets
Aminoglycosides	Kasugamycin ^[20]	Binding to ribosome small subunit to inhibit protein synthesis	Mainly for controlling rice blast disease (including leaf blast, rice head blast, and panicle blast)
	Jinggangmycin ^[21]	Inhibiting trehalase activity, inositol biosynthesis, cellulose degrading enzymes and polygalacturonase activity of fungi	Mainly for controlling sheath blight, rice tungro, and corn ear rot diseases
Macrolides	Tetramycin ^[22]	Inhibition of mycelial growth and spore germination	Broad-spectrum antifungal activity, mainly controlling wheat powdery mildew, Fusarium head blight, corn head smut, anthracnose and other diseases
N-glycoside antibiotics	Zhongshengmycin ^[23]	Inhibiting protein synthesis, hyphal growth, spore germination and spore formation	Mainly for controlling apple ring rot, watermelon wilt and wheat Fusarium head blight diseases
Uracil nucleotides	Polyoxin ^[24]	Interfering with chitin synthesis in fungal cell walls	Mainly for controlling cucumber downy mildew, powdery mildew, <i>Alternaria panax</i> , apple and pear gray leaf spot, and rice sheath blight diseases
	Blasticidin S ^[25]	Inhibiting the incorporation of 14C-glutamine into proteins by pathogenic fungi, thereby inhibiting protein synthesis, or binding to the ribosomal 50S subunit to prevent the peptide chain elongation	Mainly for controlling rice blast
Cytidine-5'-diphosphate disodium	Wuyiencin ^[26]	Inhibiting protein synthesis, mycelium growth and spore germination; affecting cell membrane permeability, and activating enzymes related to disease resistance in plants	Mainly for controlling powdery mildew, leaf mold, gummosis and other diseases
	Ningnanmycin	Involved in the establishment of plant disease resistance mechanism and playing an important role in plant defense response ^[27]	Mainly for controlling stem rot, gummy stem blight, powdery mildew and other diseases
Amides	Gongzhulingmeisu ^[26]	Inhibiting the germination of chlamydo-spores of grain smut, inhibiting hyphal elongation	Mainly for controlling sorghum grain mold, sorghum anthracnose, and wheat fusarium crown rot diseases

2 抗真菌的药物靶标——真菌细胞壁

细胞壁是真菌细胞外一层高度动态、复杂的结构,主要由 β -葡聚糖、几丁质、甘露聚糖等多糖及糖蛋白组成,是真菌的“糖衣”。作为真菌的细胞外骨架,细胞壁不仅起着维持细胞形状、保护细胞抵抗外界压力等作用,而且在病原真菌的极性生长、入侵新的生态域、启动宿主免疫反应中也起着重要作用^[28]。真菌细胞壁组分的比例不仅因真菌种类不同而有所改变,而且随着真菌不同的生长阶段而不断发生变化^[29]。哺乳动物没有细胞壁,植物细胞壁的主要组分是纤维素、半纤维素、淀粉和果胶等。因此,真菌细胞壁的特殊性使其成为开发抗真菌药物的理想靶标。例如,最新的棘白菌素类新型抗真菌药物的靶标就是细胞壁,通过非竞争性抑制真菌 β -1,3-D-葡聚糖合成酶,造成细胞壁中 β -葡聚糖含量减少,从而破坏细胞壁结构,最终导致菌体裂解、死亡^[30]。另外,农用抗生素多抗霉素(Polyoxin)的作用靶标也是细胞壁,通过竞争性抑制真菌细胞壁中几丁质的合成,从而破坏细胞壁,导致菌体死亡^[24]。值得注意的是,棘白菌素类抗真菌药物对肝肾功能无明显影响,耐受性好^[31];多抗霉素对植物病原真菌具有很强的活性,而对植物、鱼类及哺乳动物毒性很低^[32]。这些都表明靶向细胞壁的抗真菌药物相较于其他类型抗真菌药物具有高效、低毒的特点。

3 细胞壁作为药靶的研究进展

真菌细胞壁是高度动态、复杂的细胞器,在真菌的生长发育过程中,细胞壁必须不断重建,包括旧细胞壁的水解,新细胞壁的不断形成及细胞壁锚定蛋白的插入等过程。因此靶向干预细胞壁合成过程的关键酶或重要调控基因可导致细胞壁组分减少、真菌外骨骼被破坏,从而诱发细胞膜破裂造成真菌死亡。

3.1 葡聚糖合成途径作为药靶的研究

葡聚糖是真菌细胞壁的重要组成部分之一,位于真菌细胞壁内层,主要由 β -1,3-葡聚糖和 α -1,3-葡聚糖组成。在真菌细胞壁合成过程中,葡萄糖通过己糖激酶2(HXK2)被磷酸化为葡萄糖六磷酸(Glc-6P),然后被磷酸葡萄糖变位酶(PGM)转化为葡萄糖一磷酸(Glc-1P),最终通过焦磷酸化酶(UGP)的作用转化成UDP-Glc。UDP-Glc作为葡萄糖的活化形式参与葡聚糖的合成。尽管HXK2、PGM和UGP在人类中也有同源基因,但随着基于片段分子的药物

发现方法的兴起和发展,开发真菌特异性抑制剂具有很大的可能性,因此HXK2、PGM和UGP都已被列为潜在的药物靶标^[33,34]。UDP-Glc通过 β -1,3-葡聚糖合成酶(包括催化亚基Fks1和调控亚基AfRho1)的催化合成 β -1,3-葡聚糖。目前,已经在临床上应用了通过靶向Fks1抑制真菌的药物,例如非竞争性抑制剂棘白菌素(Echinocandins)及其衍生物,如卡泊芬净(Caspofungin)、阿尼芬净(Anidulafungin)和米卡芬净(Micafungin)等^[35]。AfRho1是Rho GTPase家族的成员之一,也是烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)生存的必需蛋白,但由于AfRho1与人类同源蛋白具有高度保守性,寻找特异性抑制AfRho1而不抑制其他Rho GTPase蛋白的研究还在进行中^[33]。

近年来,针对耐药菌株的出现和棘白菌素衍生物半衰期短等问题,新型棘白菌素的研发已取得实质性进展。其中,雷扎芬净(Rezafungin)和SCY-078(Ibrexafungerp)比较有代表性^[36,37]。雷扎芬净具有更好的溶解性,能够在类似阴道环境的培养基中显著抑制对氟康唑耐药的白色念珠菌(*C. albicans*)和光滑念珠菌(*C. glabrata*)的生长,同时具有更好的口服生物利用度和更长的半衰期^[38]。SCY-078是一种新型的 β -1,3-葡聚糖合成酶抑制剂,能够抑制真菌细胞壁的合成,并且可以通过口服给药发挥其抗真菌效果^[39]。更重要的是,SCY-078对许多Fks1催化亚基突变而导致耐药的菌株仍具有抗真菌效果,这表明其具有更好的抗真菌药代动力学特性和更高的临床价值^[40]。最近,Hu等^[41]揭示了真菌细胞壁 β -1,3-葡聚糖合成的分子基础和棘白菌素类抗真菌药物的耐药产生机制。这些发现将在很大程度上加快针对 β -1,3-葡聚糖的新型抗真菌药物的开发进程。

3.2 几丁质合成途径作为药靶的研究

几丁质是真菌细胞壁的主要骨架组分,能够保持真菌细胞的硬度和稳定性。UDP-GlcNAc是几丁质合成的糖供体,在几丁质合成酶的催化下合成几丁质^[42]。在真核细胞中,UDP-GlcNAc的合成从果糖-6-磷酸(Fru-6P)开始,主要涉及4个酶,分别是葡萄糖胺-6-磷酸(GlcN-6P)合成酶(GFA1)、GlcN-6P乙酰转移酶(GNA1)、磷酸乙酰葡萄糖胺变位酶(AGM1)及UDP-GlcNAc焦磷酸化酶(UAP1)^[43]。目前已有一系列的研究表明,参与UDP-GlcNAc合成的酶GNA1、AGM、UAP1都是潜在的药物靶标^[44-48]。真菌中的几丁质合成酶存在冗余性^[49],使

得靶向单个几丁质合成酶的药物开发非常困难。尼可霉素 Z (Nikkomyacin Z) 是一种 UDP-GlcNAc 类似物, 能够竞争性与几丁质合成酶结合, 从而减少真菌几丁质的合成, 达到抑制真菌生长的作用^[50]。有研究表明, 尼可霉素 Z 对许多深部真菌感染的治疗效果较好, 特别是对由二态真菌引起的真菌病, 如球孢子菌病 (Coccidioidomycosis)、芽生菌病 (Blastomycosis) 和组织胞浆菌病 (Histoplasmosis) 等^[51-54]。遗憾的是, 尼可霉素 Z 在小鼠和人类血液中的半衰期约为两个小时^[50], 这严重限制了其在临床上的应用。因此, 开发出更加稳定、对几丁质合成酶亲和力更高的 UDP-GlcNAc 类似物, 有助于推进靶向几丁质合成的抗真菌药物的研发。农用抗生素多抗霉素 (Polyoxin) 也是一种 UDP-GlcNAc 类似物^[55], 作用机制与尼可霉素 Z 类似。在农业上, 多抗霉素对黄瓜霜霉病、白粉病、人参黑斑病等植物真菌病害有较好的防治效果。目前白色念珠菌的几丁质合成酶结构及其与抑制剂尼可霉素 Z、多抗霉素共结合的结构已被解析^[56], 这将极大地推进靶向几丁质合成酶的新型抗真菌药物的研发。

3.3 糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白 [Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-Anchored Proteins, GPI-APs] 合成途径作为药靶的研究

糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白 (GPI-APs) 通过 GPI 连接将蛋白锚定在细胞膜或细胞壁上, 参与许多重要的生物学过程, 如细胞分化、细胞凋亡和细胞信号转导等^[57]。真菌细胞壁上的 GPI-APs 参与细胞壁的完整性、生物膜的形成及真菌对宿主的黏附等生物学过程^[58], 对真菌的致病力和侵袭性至关重要^[59]。GPI 生物合成是酵母和曲霉细胞壁生物合成所必需的一个保守而重要的过程^[60]。在 GPI 合成过程中, 需要一系列酶的参与, 其中最重要的两个酶是 Gwt1^[61] 和 Mcd4^[62]。Gwt1 介导 GPI 前体的肌醇酰基化修饰。在真菌中 Gwt1 可被新型抗真菌药物 APX001 (E1210) 特异性抑制, 从而阻断 GPI 锚定蛋白的合成, 然而人的 Gwt1 同源蛋白 PIG-W 却不受抑制^[63]。目前, APX001A 已完成了 I 期临床试验, 将启动针对侵袭性曲霉病与侵袭性念珠菌病的 II 期临床项目^[64]。此外, 两个人工合成的化合物 G365 和 G884 也被证明具有抑制 Gwt1 活性的作用^[65]。Gepinacin 也是 Gwt1 的特异性抑制剂, 作用机制与 APX001A 类似。有趣的是, 当白色念珠菌暴露于亚致死浓度的 Gepinacin 下时其菌丝结构会被破坏, 同

时暴露细胞壁 β -葡聚糖, 从而刺激巨噬细胞中的促炎细胞因子反应^[66]。Mcd4 是一种乙醇胺磷酸转移酶, 将磷脂酰乙醇胺的 EtNP 基团转移到 GPI 前体 Man-Man-GlcN-(acyl)PI 中的第二个 Man 基团上, *mcd4* 基因缺失后导致白色念珠菌不能存活^[62]。目前通过抑制 Mcd4 阻断 GPI 合成的药物有 M743 和 M720 等^[62]。M743 是一种天然产物, 可以抑制 Mcd4 的乙醇胺磷酸转移酶活性^[67,68]。M720 是 M743 的半合成类似物, 与 M743 具有类似的作用^[69]。Spt14 (也称为 Gpi3) 是 UDP-糖基转移酶的催化亚基, 负责 GPI 生物合成的第一步反应。最近有研究表明 Jawsamycin 化合物能够特异性抑制 Spt14 的活性, 具有广谱的抗真菌活性, 但是对人 Spt14 同源蛋白 PIG-A 却没有抑制效果^[70], 这表明 Jawsamycin 化合物是非常有应用前景的抗真菌化合物。

4 靶向细胞壁的天然产物随机筛选

极性生长在真核生物中广泛存在, 是丝状真菌生长发育中的必经阶段。极性生长需要确定芽管或分枝出现的位置, 然后将形态发生参与分子招募到这些位置进行局部细胞壁的沉积^[71]。在极性生长过程中, 真菌细胞壁的合成和降解是高度动态的。真菌是否建立极性、极性生长的异常或缺陷都表明细胞壁合成通路受阻^[72], 因此极性的建立和形态发育表型可作为从天然产物中筛选细胞壁抑制剂的标志。根据这一特性, 已从天然产物中筛选到一系列能够靶向细胞壁的天然产物。

从鱼腥草 (*Houttuynia cordata*) 中提取的鱼腥草素钠可以通过干扰 β -1,3-葡聚糖的合成和运输来抑制白色念珠菌的生长。此外, 鱼腥草素钠与氟康唑联用可以发挥协同作用^[73]。从鱼腥草的木质纤维素水解物中获得的植物天然产物 Poacic Acid (PA), 能够与 β -1,3-葡聚糖结合从而抑制 β -1,3-葡聚糖的合成, 具有抗真菌活性, 可对一系列植物病原真菌和酿酒酵母产生作用^[74]。从小檗属 (*Berberis*) 植物中分离获得的小檗碱能够破坏细胞壁的完整性, 抑制烟曲霉菌丝的生长, 具有良好的抗真菌活性^[75]。从罗汉松 (*Podocarpus macrophyllus*) 中提取的萘内酯 E (Nagilactone E) 是一种去甲二萜双内酯, 可通过降低 β -1,3-葡聚糖合成酶活性导致酿酒酵母菌细胞壁渗漏, 也能引起烟曲霉的形态变化^[76]。Arthrichitin 是从 *Arthrinium phaeospermum* 或海洋真菌 *Hypoxylon oceanicum* 中分离出来的一种环状肽, 在高

浓度时能够抑制几丁质合成酶和葡聚糖合成酶的活性,对 *Candida* spp. 和 *Trichophyton* spp. 具有广谱的抗真菌活性,是一个良好的先导化合物^[77]。根赤壳霉素 (Radicalol) 是从真菌 *Monosporium bonorden* 中分离得到的一种化合物,能够非竞争性抑制几丁质合成酶的活性,从而干扰细胞壁的合成,对毛霉属真菌具有良好的抗真菌活性^[78]。Cyclotiazomycin B1 是从链霉菌 A307 的培养液中分离出来的一种环硫肽^[79],能够与真菌细胞壁几丁质结合从而降低细胞壁硬度,达到抑菌的效果,对毛霉菌、镰刀菌 (*Fusarium*) 等丝状真菌均有抑制活性^[77]。更重要的是,Cyclotiazomycin B1 对哺乳动物细胞系无细胞毒性,因此是一个良好的抗真菌先导化合物^[80]。

5 展望

近年来,由于抗真菌药物及抗生素的滥用,出现了越来越多的耐药菌株,严重威胁人类健康及农业生产,因此寻找新的药物靶标和开发新型抗真菌药物的工作非常紧迫。

首先,需要加强真菌细胞壁在药物研发领域的基础研究。通过挖掘直接或间接参与真菌细胞壁合成和调控的新基因,评估其作为药物靶点的可开发性。同时,解析靶点与片段分子的结合方式,以评价靶点的药物可行性。建立细胞水平和动物模型上的细胞壁抑制剂高通量筛选平台,鉴定药物靶点和作用机理,为抗真菌药物的开发提供先导化合物。对于出现的耐药菌株,可以通过改进现有药物的结构来生成更安全有效的抗真菌药物。

其次,需要加强微生物来源的天然产物在抗真菌中的应用研究。微生物来源的天然化合物是抗真菌药物的重要来源之一。广西拥有特殊的生境,如天坑、地下溶洞和喀斯特石山等,其中蕴藏着丰富的、未被挖掘的微生物资源。因此,应充分挖掘这些特殊生境的微生物资源,用于真菌病和真菌病害的防控。

再次,应加强中草药方剂在抗真菌中的应用。随着耐药菌株的增多,现有抗真菌药物的治疗效果逐渐下降,而新型抗真菌药物的研发周期长、成本高。因此,迫切需要寻找新的方法治疗真菌感染。中医药作为中华民族的瑰宝,历经千年而不衰,早就具备了抗真菌的方剂。广西作为一个少数民族聚居的地区,拥有丰富的中药资源,如壮药、瑶药和苗药等。因此,应加强中药方剂在体外和体内抗真菌活性的研究,同时探索将中药活性成分与现有抗真菌药物联合使用的

协同效应,充分发挥中药在真菌感染中的作用。

最后,还需加强真菌病菌的监测和病原菌的分离鉴定,加强公众的健康教育和科普宣传,提高人民对真菌病的防控意识,从源头上减少真菌感染,以更好地保障人民的健康和生命安全。

参考文献

- [1] WANG D Y C, KUMAR S, HEDGES S B. Divergence time estimates for the early history of animal phyla and the origin of plants, animals and fungi [J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 1999, 266(1415):163-171.
- [2] HAWKSWORTH D L, LÜCKING R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species [J]. Microbiology Spectrum, 2017, 5(4): 1-14. DOI: 10.1128/microbiol-spec.
- [3] SUN S, HOY M J, HEITMAN J. Fungal pathogens [J]. Current Biology, 2020, 30(19): R1163-R1169. DOI: 10.1016/j.cub.2020.07.032.
- [4] 廖万清, 顾菊林. 医学真菌学研究进展 [J]. 自然杂志, 2011, 33(1): 1-5, 18, 63.
- [5] HAVLICKOVA B, CZAIKA V A, FRIEDRICH M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide [J]. Mycoses, 2008, 51 (Suppl. 4): 2-15. DOI: 10.1111/j.1439-0507.2008.01606.x.
- [6] 吴绍熙, 郭宁如, 刘维达. 中国致病皮肤真菌流行病学研究: 1986、1996、2006年 [J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2011, 18(3): 144-147, 152.
- [7] ALMEIDA F, RODRIGUES M L, COELHO C. The still underestimated problem of fungal diseases worldwide [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 12(10): 214. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00214.
- [8] 蒲莉, 蒋鹤春, 王莎, 等. 参与丝状真菌曲霉多药抗性的分子转录和蛋白表达的调控途径 [C]//中国菌物学会. 中国菌物学会第五届会员代表大会暨 2011 年学术年会论文摘要集. [S. l. : s. n.], 2011: 156-157.
- [9] 康振生. 我国植物真菌病害的研究现状及发展策略 [J]. 植物保护, 2010, 36(3): 9-12.
- [10] FUENTEFRÍA A M, PIPPI B, DALLA LANA D F, et al. Antifungals discovery: an insight into new strategies to combat antifungal resistance [J]. Letters in Applied Microbiology, 2017, 66(1): 2-13. DOI: 10.1111/lam.12820.
- [11] DENNING D W, BROMLEY M J. Infectious disease. How to bolster the antifungal pipeline [J]. Science, 2015, 347(6229): 1414-1416. DOI: 10.1126/science.aaa6097.
- [12] 韩晓燕, 宋亚丽, 白埔, 等. 抗真菌药物的系统分类、耐药机制及新药研发进展 [J]. 中国现代应用药学, 2019,

- 36(11):1430-1436.
- [13] 李若瑜, 余进. 抗真菌药物研究进展[J]. 中国临床医生, 2010, 38(11): 54-56.
- [14] 李岷, 沈永年, 吕桂霞, 等. 棘白菌素类抗真菌药[J]. 中国真菌学杂志, 2009, 4(4): 249-256.
- [15] 吴绍熙. 5-氟胞嘧啶的药理及其临床应用[J]. 国外医学. 皮肤病学分册, 1979(1): 6-9.
- [16] 温守明, 黄家章. 烯丙胺类抗真菌药萘替芬和特比萘芬的研究进展[J]. 国外医学. 药学分册, 1993(3): 157-160. DOI: 10. 13220/j. cnki. jipr. 1993. 03. 009.
- [17] 马道铭. 新的吗啉类抗真菌药: 阿莫罗芬[J]. 国外医学. 皮肤性病学分册, 1994(5): 264-266.
- [18] 吴先伟, 邓秀娥, 汪舰笛. Tavarborole 治疗甲真菌病的疗效和安全性[J]. 中国皮肤性病杂志, 2019, 33(6): 721 - 723. DOI: 10. 13735/j. cjdv. 1001 - 7089. 201805138.
- [19] 谭海军. 中国生物农药的概述与展望[J]. 世界农药, 2022, 44(4): 16-27, 54. DOI: 10. 16201/j. cnki. cn10-1660/tq. 2022. 04. 03.
- [20] 汪桂, 吴蕴, 袁子雨, 等. 春雷霉素的研究现状及展望[J]. 生物加工过程, 2016, 14(4): 70-75.
- [21] 徐利剑, 赵维, 曹聪, 等. 井冈霉素的研究进展[J]. 中国农学通报, 2015, 31(22): 191-198.
- [22] GAO Y Y, HE L F, LI X X, et al. Toxicity and biochemical action of the antibiotic fungicide tetramycin on *Colletotrichum scovillei* [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2018, 147: 51-58.
- [23] 蒋细良, 谢德龄, 倪楚芳, 等. 中生菌素对真菌作用机理的研究[J]. 中国生物防治, 1997(2): 23-25. DOI: 10. 16409/j. cnki. 2095-039x. 1997. 02. 006.
- [24] 吴家全, 李军民. 多抗霉素研究现状与市场前景[J]. 农药科学与管理, 2010, 31(11): 21-23.
- [25] 肖春宏. 微生物源抗真菌农用抗生素的研究进展[J]. 科技信息(学术研究), 2008(19): 73-74, 76.
- [26] 张克诚, 石义萍, 李梅. 微生物农药武夷菌素的研究进展[C]//中国植物保护学会. 农业生物灾害预防与控制研究. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2005: 645-648.
- [27] 陈敏纯, 廖美德, 夏汉祥. 农用抗生素作用机理简述[J]. 世界农药, 2011, 33(3): 13-16.
- [28] ALCAZAR-FUOLI L, BAYRY J, AIMANIANDA V. Editorial: the role of the fungal cell wall in host-fungal interactions [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2020, 29(10): 392. DOI: 10. 3389/fcimb. 2020. 00392.
- [29] FANG W X, SANZ A B, BARTUAL S G, et al. Mechanisms of redundancy and specificity of the *Aspergillus fumigatus* Crh transglycosylases [J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 1669. DOI: 10. 1038/s41467-019-09674-0.
- [30] WIEDERHOLD N P, LEWIS R E. The echinocandin antifungals: an overview of the pharmacology, spectrum and clinical efficacy [J]. Expert Opinion on Investigational Drugs, 2003, 12(8): 1313-1333. DOI: 10. 1517/13543784. 12. 8. 1313.
- [31] 陈良安. 抗真菌药物的临床应用与进展[J]. 中国实用内科杂志, 2008(8): 708-710.
- [32] 胡永红, 曹峥, 杨文革, 等. 多效霉素研究进展[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(12): 1-4. DOI: 10. 15889/j. issn. 1002-1302. 2013. 12. 067.
- [33] 房文霞. 烟曲霉细胞壁作为药物靶标的鉴定研究[J]. 广西科学, 2017, 24(1): 61-66.
- [34] YAN K, STANLEY M, KOWALSKI B, et al. Genetic validation of *Aspergillus fumigatus* phosphoglucomutase as a viable therapeutic target in invasive aspergillosis [J]. Journal of Biological Chemistry, 2022, 298(6): 102003. DOI: 10. 1016/j. jbc. 2022. 102003.
- [35] BROWN G D, DENNING D W, GOW N A R, et al. Hidden killers: human fungal infections [J]. Science Translational Medicine, 2012, 4(165): 165rv13. DOI: 10. 1126/scitranslmed. 3004404.
- [36] GEDDES-MCALISTER J, SHAPIRO R S. New pathogens, new tricks: emerging, drug-resistant fungal pathogens and future prospects for antifungal therapeutics [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2019, 1435(1): 57-78. DOI: 10. 1111/nyas. 13739.
- [37] HEALEY K R, PERLIN D S. Fungal resistance to echinocandins and the MDR phenomenon in *Candida glabrata* [J]. Journal of Fungi, 2018, 4(3): 105. DOI: 10. 3390/jof4030105.
- [38] LOCKE J B, ALMAGUER A L, DONATELLI J L, et al. Time-kill kinetics of Rezafungin (CD101) in vagina-simulative medium for fluconazole-susceptible and fluconazole-resistant *Candida albicans* and non-*albicans* *Candida* species [J]. Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology, 2018, 2018: 7040498. DOI: 10. 1155/2018/7040498.
- [39] KUHNERT E, LI Y, LAN N, et al. Enfumafungin synthase represents a novel lineage of fungal triterpene cyclases [J]. Environmental Microbiology, 2018, 20(9): 3325-3342. DOI: 10. 1111/1462-2920. 14333.
- [40] APGAR J M, WILKENING R R, PARKER D L J, et al. Ibrexafungerp: an orally active β -1,3-glucan synthesis inhibitor [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2021, 32: 127661. DOI: 10. 1016/j. bmcl. 2020. 127661.
- [41] HU X L, YANG P, CHAI C D, et al. Structural and mechanistic insights into fungal β -1,3-glucan synthase FKS1 [J]. Nature, 2023, 616(7955): 190-198. DOI: 10. 1038/s41586-023-05856-5.

- [42] DORFMUELLER H C, FERENBACH A T, BORODKIN V S, et al. A structural and biochemical model of processive chitin synthesis [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289 (33): 23020 - 23028. DOI: 10.1074/jbc.M114.563353.
- [43] MILEWSKI S, GABRIEL I, OLCHOWY J. Enzymes of UDP-GlcNAc biosynthesis in yeast [J]. *Yeast*, 2006, 23(1): 1-14. DOI: 10.1002/yea.1337.
- [44] DURAND P, GOLINELLI-PIMPANEAU B, MOUILLERON S, et al. Highlights of glucosamine-6P synthase catalysis [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2008, 474 (2): 302-317. DOI: 10.1016/j.abb.2008.01.026.
- [45] LOCKHART D E A, STANLEY M, RAIMI O G, et al. Targeting a critical step in fungal hexosamine biosynthesis [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2020, 295 (26): 8678 - 8691. DOI: 10.1074/jbc.RA120.012985.
- [46] FANG W, DU T, RAIMI O G, et al. Genetic and structural validation of *Aspergillus fumigatus* N-acetylphosphoglucosamine mutase as an antifungal target [J]. *BioScience Reports*, 2013, 33(5): e00063. DOI: 10.1042/BSR20130053.
- [47] FANG W X, DU T, RAIMI O G, et al. Genetic and structural validation of *Aspergillus fumigatus* UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase as an antifungal target [J]. *Molecular Microbiology*, 2013, 89(3): 479-493. DOI: 10.1111/mmi.12290.
- [48] URBANIAK M D, COLLIE I T, FANG W X, et al. A novel allosteric inhibitor of the uridine diphosphate N-acetylglucosamine pyrophosphorylase from *Trypanosoma brucei* [J]. *ACS Chemical Biology*, 2013, 8(9): 1981-1987. DOI: 10.1021/cb400411x.
- [49] RONCERO C. The genetic complexity of chitin synthesis in fungi [J]. *Current Genetics*, 2002, 41(6): 367-378. DOI: 10.1007/s00294-002-0318-7.
- [50] SASS G, LARWOOD D J, MARTINEZ M, et al. Nikkomycin Z against disseminated coccidioidomycosis in a murine model of sustained-release dosing [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2021, 65(10): e00285-21. DOI: 10.1128/AAC.00285-21.
- [51] SHUBITZ L F, TRINH H T, PERRILL R H, et al. Modeling nikkomycin Z dosing and pharmacology in murine pulmonary coccidioidomycosis preparatory to phase 2 clinical trials [J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2014, 209(12): 1949-1954. DOI: 10.1093/infdis/jiu029.
- [52] HECTOR R F, ZIMMER B L, PAPPAGIANIS D. Evaluation of nikkomycins X and Z in murine models of coccidioidomycosis, histoplasmosis, and blastomycosis [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1990, 34(4): 587-593. DOI: 10.1128/AAC.34.4.587.
- [53] CLEMONS K V, STEVENS D A. Efficacy of nikkomycin Z against experimental pulmonary blastomycosis [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1997, 41(9): 2026-2028. DOI: 10.1128/AAC.41.9.2026.
- [54] LARWOOD D J. Nikkomycin Z - Ready to meet the promise? [J]. *Journal of Fungi*, 2020, 6(4): 261. DOI: 10.3390/jof6040261.
- [55] OSADA H. Discovery and applications of nucleoside antibiotics beyond polyoxin [J]. *The Journal of Antibiotics*, 2019, 72(12): 855-864. DOI: 10.1038/s41429-019-0237-1.
- [56] REN Z N, CHHETRI A, GUAN Z Q, et al. Structural basis for inhibition and regulation of a chitin synthase from *Candida albicans* [J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2022, 29(7): 653-664. DOI: 10.1038/s41594-022-00791-x.
- [57] MÜLLER G A, TSCHÖP M H, MÜLLER T D. Chip-based sensing of the intercellular transfer of cell surface proteins; regulation by the metabolic state [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(10): 1452. DOI: 10.3390/biomedicines9101452.
- [58] RICHARD M L, PLAINE A. Comprehensive analysis of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins in *Candida albicans* [J]. *Eukaryotic Cell*, 2007, 6(2): 119-133. DOI: 10.1128/EC.00297-06.
- [59] LIU W, ZOU Z, HUANG X, et al. Bst1 is required for *Candida albicans* infecting host via facilitating cell wall anchorage of Glycosylphosphatidyl inositol anchored proteins [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 34854. DOI: 10.1038/srep34854.
- [60] 房文霞, 金城. 烟曲霉细胞壁的成分、组装及其功能概述 [J]. *菌物学报*, 2018, 37(10): 1307-1316. DOI: 10.13346/j.mycosystema.180142.
- [61] UMEMURA M, OKAMOTO M, NAKAYAMA K, et al. *GWT1* gene is required for inositol acylation of glycosylphosphatidylinositol anchors in yeast [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(26): 23639-23647. DOI: 10.1074/jbc.M301044200.
- [62] HASEGAWA S, YAMADA Y, IWANAMI N, et al. Identification and functional characterization of *Candida albicans* mannose-ethanolamine phosphotransferase (Mcd4p) [J]. *Current Genetics*, 2019, 65(5): 1251-1261. DOI: 10.1007/s00294-019-00987-7.
- [63] WATANABE N A, MIYAZAKI M, HORII T, et al. E1210, a new broad-spectrum antifungal, suppresses *Candida albicans* hyphal growth through inhibition of glycosylphosphatidylinositol biosynthesis [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2012, 56(2): 960-

971. DOI:10.1128/AAC.00731-11.
- [64] 刘昱, 阎澜, 姜远英. 新型抗真菌药物研究进展[J]. 中国真菌学杂志, 2018, 13(2):105-113.
- [65] MUTZ M, ROEMER T. The GPI anchor pathway: a promising antifungal target? [J]. *Future Medicinal Chemistry*, 2016, 8(12):1387-1391. DOI:10.4155/fmc-2016-0110.
- [66] MCLELLAN C A, WHITESELL L, KING O D, et al. Inhibiting GPI anchor biosynthesis in fungi stresses the endoplasmic reticulum and enhances immunogenicity [J]. *ACS Chemical Biology*, 2012, 7(9):1520-1528. DOI:10.1021/cb300235m.
- [67] HONG Y, MAEDA Y, WATANABE R, et al. Pig-n, a mammalian homologue of yeast Mcd4p, is involved in transferring phosphoethanolamine to the first mannose of the glycosylphosphatidylinositol [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(49):35099-35106. DOI:10.1074/jbc.274.49.35099.
- [68] WIEDMAN J M, FABRE A L, TARON B W, et al. *In vivo* characterization of the GPI assembly defect in yeast *mcd4-174* mutants and bypass of the Mcd4p-dependent step in *mcd4*Δ cells [J]. *FEMS Yeast Research*, 2007, 7(1):78-83. DOI:10.1111/j.1567-1364.2006.00139.x.
- [69] MANN P A, MCLELLAN C A, KOSEOGLU S, et al. Chemical genomics-based antifungal drug discovery: targeting Glycosylphosphatidylinositol (GPI) precursor biosynthesis [J]. *ACS Infectious Diseases*, 2015, 1(1):59-72. DOI:10.1021/id5000212.
- [70] FU Y, ESTOPPEY D, ROGGO S, et al. Jawsamycin exhibits *in vivo* antifungal properties by inhibiting Spt14/Gpi3-mediated biosynthesis of glycosylphosphatidylinositol [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1):3387. DOI:10.1038/s41467-020-17221-5.
- [71] HRRIS S D, MOMANY M. Polarity in filamentous fungi: moving beyond the yeast paradigm [J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2004, 41(4):391-400. DOI:10.1016/j.fgb.2003.11.007.
- [72] GOW N A R, LATGE J P, MUNRO C A. The fungal cell wall: structure, biosynthesis, and function [J]. *Microbiology Spectrum*, 2017, 5(3):1-25. DOI:10.1128/microbiolspec.
- [73] SHAO J, CUI Y, ZHANG M, et al. Synergistic *in vitro* activity of sodium houttuynonate with fluconazole against clinical *Candida albicans* strains under planktonic growing conditions [J]. *Pharmaceutical Biology*, 2017, 55(1):355-359. DOI:10.1080/13880209.2016.1237977.
- [74] PIOTROWSKI J S, OKADA H, LU F, et al. Plant-derived antifungal agent poaic acid targets β -1,3-glucan [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(12):E1490-1497. DOI:10.1073/pnas.1410400112.
- [75] 高磊. 天然药物小檗碱抑制烟曲霉作用机制的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [76] HAYASHI K, YAMAGUCHI Y, OGITA A, et al. Effect of nagilactone E on cell morphology and glucan biosynthesis in budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Fitoterapia*, 2018, 128:112-117. DOI:10.1016/j.fitote.2018.05.003.
- [77] LIU W, YUAN L, WANG S Z. Recent progress in the discovery of antifungal agents targeting the cell wall [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2020, 63(21):12429-12459. DOI:10.1021/acs.jmedchem.0c00748.
- [78] FUJITA K, IRIE M, PING X, et al. Antifungal activity of radicicol against *Mucor flavus* IFO 9560 [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 1999, 88(4):380-386. DOI:10.1016/s1389-1723(99)80214-x.
- [79] HASHIMOTO M, MURAKAMI T, FUNAHASHI K, et al. An RNA polymerase inhibitor, cyclothiazomycin B1, and its isomer [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2006, 14(24):8259-8270. DOI:10.1016/j.bmc.2006.09.006.
- [80] MIZUHARA N, KURODA M, OGITA A, et al. Antifungal thiopeptide cyclothiazomycin B1 exhibits growth inhibition accompanying morphological changes via binding to fungal cell wall chitin [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2011, 19(18):5300-5310. DOI:10.1016/j.bmc.2011.08.010.

Research Progress in Prevention and Control of Fungal Infections and Fungal Cell Wall Targets

QIN Qijian, FANG Wenxia^{**}

(Institute of Biological Science and Technology, Guangxi Academy of Sciences, Nanning, Guangxi, 530007, China)

Abstract: More than 1 billion people worldwide are affected by fungal infection. More than 1.6 million people die each year, and the cases of fungal infection are increasing rapidly. In addition, fungal diseases not only seriously affect the growth of crops, but also affect the quality of crops through the production of toxins, which has a serious impact on agricultural production. The cell wall structure of fungi does not exist in mammals and is completely different from the cell wall components of plants, so it is an ideal target for the development of antifungal drugs. In this article, the risk of pathogenic fungi to humans, animals and plants, antifungal drugs used in clinic and agriculture, and the research progress on different components of fungal cell wall in drug development are described in detail. And the potential prospects of natural resources based on Guangxi in the development of antifungal drugs are prospected.

Key words: fungal infection; fungal disease; drug target; cell wall; antifungal drugs

责任编辑:陆媛峰



微信公众号投稿更便捷

联系电话:0771-2503923

邮箱:gxkxyxb@gxas.cn

投稿系统网址:<http://gxkx.ijournal.cn/gxkxyxb/ch>