

白色念珠菌疫苗的研究进展

徐进¹, 周恩旭¹, 曹颖琰² (1. 第二军医大学生物技术本科, 上海 200433 2. 第二军医大学药学院生化药理学教研室, 上海 200433)

摘要 白色念珠菌病对人类的健康有很大威胁, 虽然已经有了一些治疗性药物(如氟康唑、两性霉素等), 但其发生率和死亡率都居高不下。目前认为, 抗真菌疫苗是未来治疗真菌疾病的新途径。本文综述了近年来白色念珠菌疫苗基础性研究的进展, 概述了几种正在研究中的白色念珠菌疫苗。

关键词 白色念珠菌; 疫苗

中图分类号: R978 5 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)01-0005-03

近年来, 器官移植免疫抑制剂的使用, 癌症放疗化疗的增多, 广谱抗菌药物的滥用和艾滋病的流行, 使得免疫功能低下者不断增多。深部真菌感染作为一种并发症, 感染率大幅上升, 已成为上述疾病患者死亡的主要原因。白色念珠菌是临床最常见的致病真菌, 在系统性真菌感染病例中, 有 50% 以上的病例是由白色念珠菌感染引起的。对于治疗真核病原体固有的问题一直阻碍着临床上抗念珠菌药物的发展。然而, 在过去的 20 年中还是有一些药物面世, 比如两性霉素 B、唑类药物和一些新的细胞壁抑制剂。尽管如此, 由于误诊、药物耐受、或者病人的免疫功能低下, 侵入性的念珠感染通常导致的还是死亡。因此, 目前认为治疗白色念珠菌感染除了抗真菌药物以外, 还需使机体处于高免疫状态, 由此, 抗白色念珠菌感染疫苗的研制显得尤为重要, 特别是对那些因为抗真菌药物而导致体内正常菌群失调的患者更是如此^[1,3], 本文就白色念珠菌疫苗的研究进展作一概述。

1 全细胞疫苗

灭活的全细胞疫苗能使机体产生针对白色念珠菌表面及胞质成分的高水平的细胞和体液免疫, 故理论上应该是最安全也是最方便的预防途径, 但事实上灭活的全细胞疫苗并不是非常有效。对此, Carla 等^[4]进行了改进, 他们在研究中发现, 将灭活的全细胞通过二硫苏糖醇 (DDT) 和蛋白酶 K 进行处理后, 能有效提高全细胞疫苗的效果。试验中, 他们将灭活细胞和处理后的灭活细胞分别对感染小鼠进行注射, 发现注射普通灭活细胞的小鼠平均存活时间为 1~3 d, 肾脏中平均的白色念珠菌数量为

$10^5 \sim 10^6$, 而注射了处理后的灭活细胞的小鼠平均存活时间为 60 d 并且肾脏中平均的白色念珠菌数量也少得多。在进一步的研究中, 还发现一些抗念珠菌表面抗原的抗体(例如抗 β -1,3 和 β -1,6 葡聚糖的抗体)可以阻断免疫血清的自卫能力。所以通过处理去除了细胞表面抗原的灭活细胞疫苗, 反而有更好的免疫效果。这一发现为全细胞疫苗的应用打开了思路。

2 念珠菌核糖体疫苗

最早有关念珠菌核糖体疫苗的研究是由 Segal 等^[5]开展的, 他们通过对白色念珠菌胞质的差速离心获得了一系列核糖体片段, 随后分两组注射感染大鼠, 一组为腹腔注射感染大鼠, 另一组为静脉注射感染大鼠。结果他们发现将念珠菌的核糖体片段注入大鼠体内能有效地控制念珠菌感染, 核糖体疫苗腹腔内注射感染大鼠的生存率为 46%~90%, 而注射安慰剂的感染大鼠的生存率仅为 14%~38%。同时, 在通过静脉注射感染大鼠的另一组, 注射核糖体疫苗的大鼠生存率为 22%~67%, 而未注射的感染大鼠无一生存。此次实验使人们意识到通过核糖体疫苗来治疗慢性和急性念珠菌感染的可能性。此后, 为了提高核糖体疫苗的效用, Segal 等人还将核糖体包埋入脂质体, 脂质体不仅充当疫苗的载体, 同时也作为一种免疫佐剂。他们发现这种疫苗的效果与普通的核糖体疫苗同样显著, 而且以脂质体为载体的疫苗可以同时诱发细胞和体液免疫^[6]。但是核糖体提取物的成分有可能包括 mRNA、多肽、提取过程中的胞壁残留、rRNA 和核糖体蛋白等。所以核糖体疫苗的免疫原性并不是十分清楚。研究者的解释也多种多样, 并没有确定的结论。尽管有这些不确定, 但 segal 等人的研究还是显示了这类疫苗潜在的利用价值。

3 细胞壁表面成分疫苗

在系统性白色念珠菌感染过程中,细胞壁表面成分最先与宿主接触,能诱导宿主产生免疫防御反应,其中磷酸甘露糖复合物(PMC)是导致该效应的最主要成分之一。但是,PMC被单独作为念珠菌疫苗时,机体的敏感性很低^[7]。为了解决这个难题,有学者将脂质体用作PMC的佐剂载体并在念珠菌散布模型中试验。用脂质体包埋的PMC给小鼠被体内接种,每周1次,连续5周,5次接种后3d实验动物被体内注射不同浓度的活性白色念珠菌。结果显示,被接种的小鼠比对照组有更长的生存时间。从被免疫动物获得的多克隆抗血清中检测到的免疫球蛋白组分被证明对于正常的和SCID(重度联合免疫缺陷)的小鼠抵抗白色念珠菌和热带念珠菌有积极防御作用^[9]。

虽然已证明脂质体-PMC制剂具有潜在的防御价值,但脂质体的不稳定性和多重体内注射的必须性阻碍了这种疫苗成分的临床应用。为了克服这些局限性,有人制成了一种由PMC结合物和小牛血清蛋白组成的联合疫苗。首先以启动剂量将这种疫苗腹腔注射小鼠,在21d后加强注射,在28d后,实验动物体内接种酵母菌,结果显示接受联合疫苗的小鼠,5只中有4只存活了65d而对对照组小鼠存活的都没有超过17d。另一方面,Cutler实验室的研究人员正致力于用人工合成的 β -1,2-甘露三醇来取代PMC,并以体内表达白色念珠菌细胞壁表面蛋白来代替小牛血清载体蛋白。这种包括了确定的甘露聚糖表位和体内表达的细胞外载体蛋白的疫苗有潜力诱导一个更强的保护反应,因此提高了疫苗预防念珠菌的潜在效能^[8]。

4 杀伤细胞毒素疫苗

Polonelli等^[9]研究发现杀伤细胞毒素(KT)与白色念珠菌细胞壁受体 β 葡聚糖结合,可以导致白色念珠菌死亡。但这种糖蛋白毒素并不能用于治疗,因为在人体内环境的pH和体温下,它会变得不稳定,且具有抗原性和宿主毒性。因此需要通过被KT致免的动物获得抗KT抗体,并用这种抗体作为免疫原来介导产生抗KT抗体的抗抗体或者说抗独特型抗体,作为疫苗。Polonelli等开发了一种鼠类单克隆抗体KT4在对散播性念珠菌疾病的有效性的实验中^[10],小鼠首先皮下注射KT4,2周后,每只小鼠都接受加强免疫给药,7d后,将小鼠分成3组,给以不同剂量的KT4单克隆抗体(体内给药),接着1周后再用KT4追加体内免疫增强。第1次免疫接

种52d后,给药的小鼠明显比对照组有更长的生存时间,这个实验证明了独特型疫苗KT4作为一种免疫防御因子的潜在有效性。尽管独特型单克隆抗体KT4疫苗能增强对散播念珠菌病模型和引导念珠菌病模型的抵抗力,但还有许多问题尚未阐明,最重要的就是酵母杀伤毒素和抗独特型单抗的作用机制。

5 P43疫苗

白色念珠菌的P43(促B细胞分裂素)是白色念珠菌抵抗宿主防御反应所必需的一种蛋白^[11],该蛋白可以通过与单核/吞噬细胞的相互作用,来激活B淋巴细胞和T淋巴细胞的TH2反应^[12],使白介素10水平升高,从而抑制TH1淋巴细胞清除病原体的能力^[13]。如果机体能产生抗P43的抗体,中和P43就能增加对白色念珠菌的抵抗力。Tavares等^[14]开展了P43中和抗体消除免疫抑制实验,他们将P43皮下注射小鼠,并在3周后给与免疫加强剂。免疫接种P43后的第7、15和30天予以腹腔注射活念珠菌,5d后处死小鼠并取其肾脏检测真菌侵袭状况。令人惊讶的是在接种后第7天和15天被念珠菌感染小鼠组中没有发现菌落形成单位,在接种后30d被感染的小鼠组内,25只中只有1只有真菌存在。而对照组中,真菌菌落形成单位的计数相当高。对于该种疫苗还在进一步的研究中。

6 凝集素样序列1蛋白疫苗

凝集素样序列1蛋白(A1s1p)属于白色念珠菌外源凝集素超家族(已知8个成员),可介导白色念珠菌与人体细胞相结合^[15]。由于该蛋白表达在细胞表面,抗体可以通过直接抑制它来清除白色念珠菌与上皮细胞的结合,而且它与A1s蛋白家族的其它成员间有免疫交叉反应,因此N端重组A1s1p(rA1s1p-N)可以作为一种白色念珠菌疫苗。Ashraf等^[16]通过小鼠实验证实了该蛋白作为白色念珠菌疫苗的可行性。首先给小鼠注射纯度为95%的rA1s1p-N混合完全弗氏佐剂,21d后用另一剂量的抗原配合不完全弗氏佐剂给小鼠追加剂量,2周后给予白色念珠菌感染。结果表明,使用适当剂量rA1s1p-N组的小鼠生存时间明显长于对照组,小鼠体内的A1s1p抗体数目没有明显升高,而TH1细胞的数目却高于对照组。用细胞免疫缺陷和体液免疫缺陷的裸鼠试验,进一步证明rA1s1p-N不能诱发体液免疫,而能诱发机体产生细胞免疫,主要引起Th1应答。

(下转第10页)

- 步实验研究 [J]. 青海医学院学报, 2005, 26(4): 258.
- [26] 杨怀江, 李瑞敏. 梅花鹿血粉胶囊抗缺氧、抗疲劳作用 [J]. 河南中医药学刊, 2001, 16(3): 37.
- [27] 陈 勤, 曹炎贵. 济生口服液抗缺氧抗疲劳作用的实验研究 [J]. 中国中医药科技, 2002, 9(6): 357.
- [28] 浦斌红. 扶元补脑冲剂抗缺氧作用的实验研究 [J]. 国医论坛, 2000, 15(3): 48.
- [29] 杨 梅, 格日力, 周晓梅, 等. 藏药抗缺氧作用的初步研究 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(11): 1117.
- [30] 于兰英, 王 沛. 参芪红枣汤抗缺氧及增强体液免疫功能实验研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2005, 32(9): 976.
- [31] 王银燕, 孔 刚, 孙 静. 白芍总甙的药理作用与临床应用 [J]. 中华综合临床医学杂志, 2003, 5(9): 72.
- [32] 王 微, 贡济宁. 脑宁胶囊对调节动物脑血流量及抗缺氧作用的研究 [J]. 中医药学刊, 2002, 20(6): 801.
- [33] 王丽云, 徐德洲. 复方红景天对动物缺氧功能的研究 [J]. 中华医学研究杂志, 2004, 4(7): 645.
- [34] 杨 勇, 阚健全, 刘志华, 等. 蜂蛹抗疲劳、抗缺氧作用的实验研究 [J]. 中医药学报, 2006, 34(4): 17.

收稿日期: 2007-05-17

(上接第 6 页)

7 其它白色念珠菌疫苗

作为第 3 代疫苗, DNA 疫苗也在抗白色念珠菌中得到应用。如球孢子菌 DNA 疫苗和副球孢子菌 DNA 疫苗等, 将来都有可能用于真菌病的防治^[17]。另外, 近年来的研究显示, 树突状细胞在抗真菌感染过程中起着重要的抗原呈递及免疫调节作用。体内过继转移酵母或孢子致敏 DC 可极大提高机体对白色念珠菌的抵抗力^[18], 目前以树突状细胞为基础的“佐剂”型疫苗越来越引起研究者的关注。

综上所述, 白色念珠菌疫苗的出现对于白色念珠菌病的预防和治疗都有积极意义。预防性疫苗能有效控制白色念珠菌病的传播, 而治疗性疫苗和传统药物的合用将会大大降低白色念珠菌感染的死亡率。但目前对新疫苗的作用机制和其对人体的安全性仍要进一步研究。

参考文献:

- [1] Saarek H J, Jousinies H, Takala A, *et al*. Age related acquisition of oral and nasopharyngeal yeast species and stability of colonization in young children [J]. *Oral Microbiol Immunol* 1999, 14(3): 176.
- [2] Kojic EM, Darouiche RO. *Candida* infections of medical devices [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2004, 17(2): 255.
- [3] Comely OA, Ullman AJ, Karthaus M. Evidence-based assessment of primary antifungal prophylaxis in patients with hematologic malignancies [J]. *Blood*, 2003, 101(9): 3365.
- [4] Carla B, Antonella T, Chiani P, *et al*. Interplay between protective and inhibitory antibodies dictates the outcome of experimentally disseminated candidiasis in recipients of a *Candida albicans* vaccine [J]. *Infect Immun*, 2002, 70(10): 5462.
- [5] Levy R, Segal E, Eylan E. Protective immunity against murine candidiasis elicited by *Candida albicans* ribosomal fractions [J]. *Infect Immun*, 1981, 31(3): 874.
- [6] Eckstein M, Barenholz Y, BarLk, *et al*. Liposomes containing *Candida albicans* ribosomes as a prophylactic vaccine against disseminated candidiasis in mice [J]. *Vaccine*, 1997, 15: 220.
- [7] Han Y, Cutler JE. Antibody response that protects against disseminated candidiasis [J]. *Infect Immun* 1995, 63(7): 2714.
- [8] Han Y, Ulrich MA, Cutler JE. *Candida albicans* mann extract protein conjugates induce a protective immune response against experimental candidiasis [J]. *Infect Dis* 1999, 179(6): 1477.
- [9] Polonelli L, Magliani W, Conti S, *et al*. Therapeutic activity of an engineered synthetic killer anti-idiotypic antibody fragment against experimental mucosal and systemic candidiasis [J]. *Infect Immun*, 2003, 71(11): 6205.
- [10] Polonelli L, Lorenzini R, De Bernardis F, *et al*. Idiotype vaccination immunoprotection mediated by anti-idiotypic antibodies with antibiotic activity [J]. *Immunol* 1993, 37(1): 105.
- [11] Tavares D, Salvador A, Ferreira P, *et al*. Immunological activities of a *Candida albicans* protein which plays an important role in the survival of the microorganism in the host [J]. *Infect Immun* 1993, 61(5): 1881.
- [12] Vilanova M, Tavares D, Ferreira P, *et al*. Role of monocytes in the up regulation of the early activation marker CD69 on B and T murine lymphocytes induced by microbial mitogens [J]. *Immunol* 1996, 43(2): 155.
- [13] Araça Chaves M. Is prophylactic immunostimulation of the host against pathogenic microbial antigens an adequate strategy of immunoprotection [J]. *Immunol* 1992, 35(5): 495.
- [14] Tavares D, Ferreira P, Araça Chaves M, *et al*. Increased resistance to systemic candidiasis in athymic or interleukin 10 depleted mice [J]. *Infect Dis* 2000, 182(1): 266.
- [15] Fu Y, Ibrahim AS, Sheppard DC, *et al*. *Candida albicans* Aklp an adhesion that is a downstream effector of the EFG1 filamentation pathway [J]. *Microbiol J* 2002, 44(1): 61.
- [16] Ibrahim AS, Fu Y, Spelbergy BJ, *et al*. 2005 Vaccination with recombinant N-terminal Domain of als1p improves survival during murine disseminated candidiasis by enhancing cell-mediated not humoral immunity [J]. *Infect Immun* 2005, 73(2): 999.
- [17] 沈继川, 谢奇峰, 姚集鲁. 真菌 DNA 免疫的研究进展 [J]. 国外医学. 流行病学传染病学分册, 2002, 29(1): 24.
- [18] Silvia B, Claudia M, Roberta G, *et al*. Dendritic cell-based vaccination against opportunistic fungus [J]. *Vaccine* 2004, 22(7): 857.

收稿日期: 2007-05-10