文章编号:1000-5404(2013)20-2203-05

论著

人工合成家蝇抗真菌肽MAF-1A对白色念珠菌致病性的影响

罗振华[1],吴建伟[2],付 萍[2],国 果[2],姜 珊[2] (550004 贵阳,贵阳医学院:医学生物工程系实训中心[1],寄生虫学教研室[2])

[摘要] **目的** 观察和研究人工合成家蝇抗真菌肽MAF-1A对白色念珠菌致病性的影响。**方法** 以白色念珠菌ATCC10231为效应菌,检测MAF-1A在MIC浓度下不同时间白色念珠菌的孢子萌发率及芽管形成率,瑞氏染色后显微镜计数,观察MAF-1A预处理后及干预下,酵母相和菌丝相白色念珠菌定植人口腔黏膜上皮细胞能力变化;分别设立氟康唑(fluconazole ,FLC)和PBS为阳性对照和阴性对照。**结果** MAF-1A作用白色念珠菌后,孢子萌发率及芽管形成率小于阳性对照和阴性对照组($P<0.05$);MAF-1A可减少白色念珠菌酵母相细胞或菌丝相细胞对人口腔黏膜上皮细胞的粘附数,且减少酵母相细胞粘附作用强于菌丝相细胞($P<0.05$);MAF-1A预处理白色念珠菌后,对人口腔黏膜上皮细胞粘附数少于MAF-1A干预组的细胞粘附数($P<0.05$)。**结论** MAF-1A可通过抑制白色念珠菌孢子萌发和芽管的形成以及有效降低白色念珠菌对人口腔黏膜上皮细胞粘附能力,从而影响白色念珠菌的致病能力。

[关键词] 家蝇;抗真菌肽MAF-1A;白色念珠菌,致病性
[中图法分类号] R341;R379.4;R963 [文献标志码] A

Effect of synthetic musca domestica antifungal peptide-1A (MAF-1A) on pathogenicity of *Candida albicans*

Luo Zhenhua[1], Wu Jianwei[2], Fu Ping[2], Guo Guo[2], Jiang Shan[2] ([1]Ceter of Experimentar Training, Faculty Department of Medical Bioengineering, [2] Department of Parasitology Guiyang Medical college, Guiyang, Guizhou 550004, China)

[**Abstract**] **Objective** To probe the effect of synthetic Musca domestica antifungal peptide-1A (MAF-1A) on the pathogenicity of *Candida albicans*. **Methods** Blastospore germination and germ tube formation of *Candida albicans* ATCC10231 were detected and fungal numbers of adherence to human buccal epithelial cells (BEC) *in vitro* were counted for yeast form and hyphal form of *Candida albicans* respectively using Wright's staining after exposing to MIC concentration of MAF-1A, with fluconazole as positive control and PBS as negative control. **Results** Comparing with the controls, MAF-1A significantly decreased the blastospore germination and germ tube formation of *Candida albicans* ($P<0.05$), and reduced the numbers of both yeast form and hyphal form cells adhered to BEC, showing stronger inhibition effects on the yeast form cells than the hyphal form cells. The number of *Candida albicans* adhered to BEC in the MAF-1A pretreatment group was less than that in the MAF-1A intervention group ($P<0.05$). **Conclusions** MAF-1A affects the pathogenicity of *Candida albicans* by inhibiting blastospore germination, germ tube formation and the adhesion ability to BEC.

[**Key words**] Musca domestica; antifungal peptide-1A; *Candida albicans*; Pathogenicity

Supported by the National Natural Science Foundation of China(81360254, 30960343), the "Eleventh Five-year Plan" of National Key Technology R&D Program(2011BAC06B12), the Science and Technology Foundation of Guizhou Province (LG[2011]025, J[2012]2038); and the Science and Technology Foundation of Guizhou Provincial Health Department(gzwkj2011-01-059). Corresponding author: Wujianwei, E-mail:wjw@gmc.edu.cn

白色念珠菌(*Candida albicans*)在侵袭性真菌感染中发病率位居首位[1-2]。白色念珠菌为二相型真菌,菌丝相是主要的致病形式。其芽管形成、产生胞外毒性代谢产物、二相型转换等毒力因子被认为是抗真菌药物的靶点[3]。Ellepola等[4]研究发现制霉菌素能够减少白色念珠菌对人口腔黏膜上皮的粘附作用。Toenjes等[5]证实Clozapine、Fluspirilene、GW9662、ETYA等分子,可通过改变蛋白激酶和蛋白磷酸酶的活性、影响Ras信号传递系统等途径干扰白色念珠菌酵母相向菌丝相的转变。一些中药制剂如大蒜素能够

[基金项目] 国家自然科学基金(81360254,30960343);"十一五"国家科技支撑计划(2011BAC06B12);贵州省科技联合基金(黔科合LG字[2011]025号);贵州省卫生厅基金(gzwkj2011-1-059);贵州省科技厅基金(黔科合J字[2012]2038)
[通信作者] 吴建伟, E-mail:wjw@gmc.edu.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130619.1557.016.html(2013-06-19)

增强两性霉素B抑制菌丝形成的能力[6]。虽然这些药物或分子能够抑制白色念珠菌的生长或降低致病性,但随着耐药菌株的产生、药物毒副作用、中药制剂MIC较高等问题的出现,使得研究人员从新的途径探寻新型安全、更为有效的抗真菌药物。

1993年Iijima等[7]首次从麻蝇幼虫血淋巴分离出可抑制白色念珠菌小分子多肽,将其命名为AFP(anti-fungal peptide),随后相继从不同生物分离出具有抗真菌活性的抗真菌肽如Drosomycin、ABP-cM4、Magainins等。目前认为,抗真菌肽主要通过破坏真菌细胞膜发挥抗菌作用[8]。Le-Lay等[9]研究了乳球菌产生的抗菌肽Nisin Z抗真菌作用,发现其不仅能抑制白色念珠菌的生长,还能通过破坏真菌细胞表面结构,干扰白色念珠菌酵母相向菌丝相的转变。MAF-1是经免疫诱导后从家蝇幼虫血淋巴中分离得到抗真菌肽,结构特征独立于目前发现的昆虫抗菌肽种类,GenBank登录号HM178948[10]。本研究选择MAF-1碳端α螺旋功能结构域第128~153位26个氨基酸肽段MAF-1A进行研究,经NCBI的Blastn比对发现该肽无同源序列表明为一全新多肽。前期生物信息学分析发现,MAF-1A为一阳离子单α螺旋线性肽,序列富含碱性氨基酸残基尤其是N端富含赖氨酸(Lys),对白色念珠菌敏感株及耐药株均有抗菌活性。为了解MAF-1A对白色念珠菌致病性的影响,本实验观察了在MAF-1A干预作用下,白色念珠菌孢子萌发、芽管生成以及白色念珠菌粘附人口腔黏膜上皮细胞的影响,初步探讨MAF-1A干预白色念珠菌致病性的机制,为进一步揭示其抗真菌的分子机制提供工作基础,为寻找新型小分子多肽抗真菌药物科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验菌株 白色念珠菌ATCC10231(*Candida albicans* ATCC10231)由中国生物药品检定所提供。

1.1.2 抗真菌肽 MAF-1A为家蝇抗真菌肽MAF-1 C端第128位~153位功能结构域肽段,KKFKETADKLIESAKQQLESLAKEMK,由上海生物工程公司合成,HPLC纯化后采用LC-MS验证,多肽合成纯度≥95%。

1.1.3 主要试剂 ①培养基:沙氏葡萄糖琼脂培养基(SDA)、沙氏葡萄糖肉汤培养基(SDB)及酵母浸出粉胨葡萄糖培养基(YEPD)由上海博微生物科技有限公司提供;RPMI1640培养基(含谷氨酰胺,不含碳酸氢盐,含有酚红作为pH值试剂),美国GIBCO公司提供。②其他试剂:胎牛血清(杭州四季青生物工程公司);氟康唑(Fluconazole,FLC)(美国SIGMA公司);瑞氏染液(北京赛驰科技有限公司),PBS缓冲液(pH值为7.2~7.4,上海生物工程有限公司)。

1.1.4 人口腔黏膜上皮细胞(human buccal epithelial cell,BEC细胞) 取自健康志愿者口腔颊黏膜上皮细胞,志愿者近期无口腔黏膜疾病,近1周内无药物使用史。

1.2 白色念珠菌酵母相和菌丝相的培养

1.2.1 白色念珠菌酵母相的培养 参考文献[11]方法,将冷藏保存的白色念珠菌ATCC10231无菌接种至SDA培养基,37 ℃培养48 h复苏;挑取生长后的白色念珠菌菌落至YEPD液体培养基,用细胞计数池将细胞浓度调至5.0×10^8/mL,取0.1 mL菌液至10 mL 30 ℃预热的YEPD培养基中,30 ℃,180×*g*恒温振荡培养18~24 h后取出,用接种环少量涂于玻片上显微镜下观察酵母相细胞形成率。

1.2.2 白色念珠菌菌丝相的培养 参考文献[11]方法并加以改进,取0.1 mL白色念珠菌(细胞浓度为5.0×10^8/mL)至10 mL 37 ℃预热的RPMI1640培养液(pH=7.4,含15%胎牛血清)中,37 ℃连续静置培养5 d,共转种10次(每12 h转种1次),每次转种前将培养液混匀静置10 min后,取0.5 mL上层液体至新鲜培养液中继续培养,每次转种前用接种环取少量培养物涂于玻片上显微镜下观察和计数,计算菌丝形成率。

1.3 MAF-1A对白色念珠菌芽生孢子生成的影响

将白色念珠菌接种至30 ℃预热的SDB培养液中(细胞终浓度为5.0×10^6/mL),加入MIC浓度的MAF-1A(反应终浓度为0.6 mg/mL)混匀,30 ℃ 180×g恒温振荡培养,待反应0、2、4、6 h取出,用接种环取少量培养物涂于玻片上显微镜下观察和随机计数100个细胞中产生的芽生孢子数量,芽生孢子萌发率=(芽生孢子数量/白色念珠菌数)×100%。以FLC为药物对照组(反应终浓度为CLSI推荐微量液体稀释法M27-2A中MIC最大使用浓度0.1 mg/mL)、无菌PBS为阴性对照组,每组重复实验3次。

1.4 MAF-1A对白色念珠菌的芽管形成的影响

参考文献[12]方法并加以改进,将白色念珠菌接种至37 ℃预热的RPMI1640培养液(pH=7.4,含10%胎牛血清,细胞终浓度为5.0×10^6/mL),加入MIC浓度的MAF-1A(反应终浓度为0.6 mg/mL)混匀,37 ℃180×g恒温振荡培养,待反应0、1、2、3 h取出,用接种环取少量培养物涂于玻片上显微镜下观察和随机计数100个细胞中产生的芽管数量,芽管形成率=(芽管数量/白色念珠菌数)×100%。以FLC(反应终浓度为0.1 mg/mL)为药物对照组、无菌PBS为阴性对照组,每组重复实验3次。

1.5 MAF-1A对白色念珠菌粘附BEC细胞影响的观察[13]

1.5.1 白色念珠菌菌悬液的制备 收集培养的白色念珠菌酵母相及菌丝相细胞,用pH=7.4的0.01 mol/mL PBS 800×*g*,5 min离心洗涤3次,用细胞计数池将细胞浓度调至1.0×10^6/mL。

1.5.2 BEC细胞悬液的制备 采用无菌压舌板轻刮健康志愿者口腔双侧颊黏膜获取BEC细胞,放置于无菌试管内用0.01 mol/L,pH=7.4的PBS缓冲液,180×g,5 min离心洗涤3次,将细胞浓度调至1.0×10^5/mL。

1.5.3 MAF-1A干预下白色念珠菌对BEC细胞粘附性的影响

1.5.3.1 白色念珠菌酵母相细胞对BEC细胞粘附性的影响

分别取200 μL白色念珠菌酵母相菌悬液与200 μL BEC细胞悬液混匀,加入MAF-1A使其终浓度分别为3MIC(1.8 mg/mL)、2MIC(1.2 mg/mL)和MIC(0.6 mg/mL)。混合均匀37 ℃恒温

培养4 h后,180×g,5 min离心弃上清,PBS缓冲液洗涤3次沉淀物涂片风干,热固定,瑞氏细胞染色。镜下随机计数100个上皮细胞,计算粘附白色念珠菌数量。以FLC(反应终浓度为0.1 mg/mL)为药物对照组、无菌PBS为阴性对照组,每组重复实验3次。

1.5.3.2 白色念珠菌菌丝相细胞对BEC细胞粘附性的影响

分别取200 μl白色念珠菌菌丝相菌悬液与200 μl BEC细胞悬液混匀,余实验方法同上。

1.6 MAF-1A预作用白色念珠菌后对BEC细胞粘附性的影响

1.6.1 白色念珠菌酵母相细胞后对BEC细胞粘附性的影响

采用不同浓度MFA-1A与200 μL白色念珠菌酵母相菌悬液混匀,MAF-1A终浓度分别为3MIC(1.8 mg/mL)、2MIC(1.2 mg/mL)和MIC(0.6 mg/mL)。混合均匀37 ℃恒温培养4 h后取出,880×g,5 min离心弃上清,PBS缓冲液洗涤3次,弃上清,收集白色念珠菌加入200 μL的BEC细胞悬液混合均匀,37 ℃恒温培养1 h后,180×g,5 min离心弃上清,PBS缓冲液洗涤3次沉淀物涂片风干,热固定,瑞氏细胞染色,镜下随机计数100个上皮细胞,计算粘附白色念珠菌数量。以FLC(反应终浓度为0.1 mg/mL)为药物对照组、无菌PBS为阴性对照组,每组重复实验3次。

1.6.2 白色念珠菌菌丝相细胞后对BEC细胞粘附性的影响

采用不同浓度MFA-1A与200 μL白色念珠菌菌丝相菌悬液混匀,余实验方法同上。

1.7 统计学方法

各组数据以$\bar{x} \pm s$表示,应用SPSS 13.0软件进行统计学处理,组间比较采用单因素方差分析,组内两样本均数比较采用t检测,检测水准$\alpha = 0.05$。

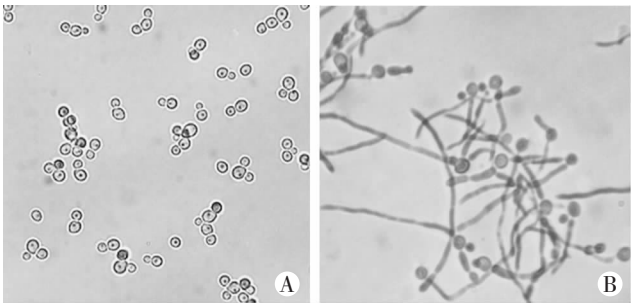
2 结果

2.1 白色念珠菌酵母相和菌丝相的培养结果

在培养条件下均可获得白色念珠菌酵母相与菌丝相细胞,其中培养18~24 h后酵母相细胞形成率达到100%;在RPMI1640(含15%小牛血清,pH=7.4)条件下,37 ℃传代培养5 d后,白色念珠菌菌丝相细胞形成率达到95%以上(图1)。

2.2 MAF-1A对白色念珠菌芽生孢子生成的影响

PBS对照组白色念珠菌细胞及芽生孢子数量明显多于其他两组,细胞圆形或椭圆形,细胞内部物质分布均匀,折光度一致;MAF-1A作用组芽生孢子产生与PBS对照组比较明显减少($P<0.01$),细胞内部物质分布紊乱,折光度不均,出现空泡样改变,随着作用时间的延长,病变细胞逐渐增多;FLC组芽生孢子萌发率高于MAF-1A组($P<0.05$),但与对照组比较萌发率减少(表1,图2)。



A:酶母相;B:菌丝相

图1 不同条件下白色念珠菌ATCC10231培养物观察 (LM ×400)

表1 不同浓度MAF-1A对各组白色念珠菌孢子萌发率的影响

[$n=100$, $(\bar{x} \pm s)\%$]

组别	0 h	2 h	4 h	6 h
PBS对照组	0	34.0±3.0	51.0±3.0	70.0±2.0
MAF-1A组	0	11.0±2.6[b]	18.7±2.5[b]	24.3±3.5[b]
FLC组	0	26.3±1.5[a]	40.3±2.1[a]	47.0±2.0[b]

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与PBS对照组比较

2.3 MAF-1A对白色念珠菌的芽管形成的影响

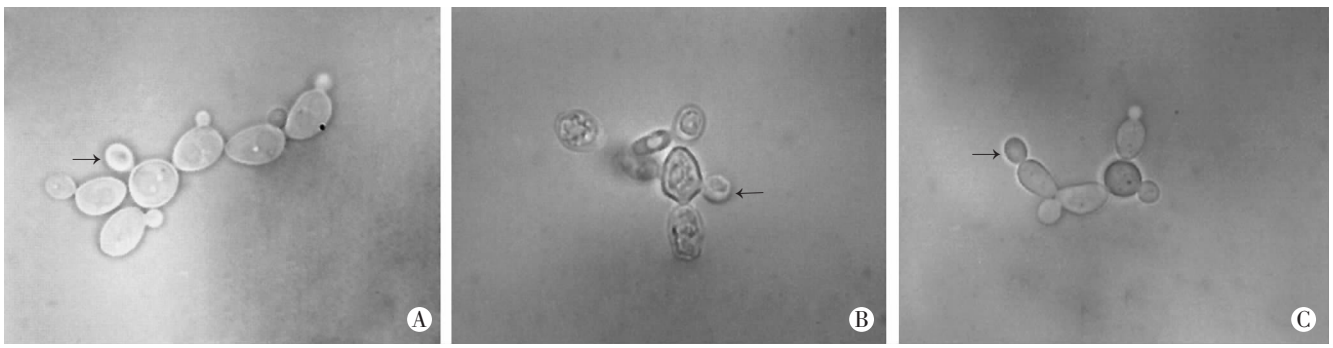
各组白色念珠菌随着培养时间延长芽管数量均有所增加,PBS对照组芽管细长,宽约为菌体的一半,长为菌体的3~5倍,培养3 h时芽管数量形成率到达95%以上,显著多于其他两组;MAF-1A组芽管长度较其他两组短,为菌体的2~3倍,培养2、3 h时芽管形成与PBS对照组相比少于对照组,具有显著性差异($P<0.01$);FCA组培养2、3 h时芽管生成也少于对照组,但高于MAF-1A组,具有统计学意义($P<0.01$)(表2,图3)。

表2 不同浓度MAF-1A对各组白色念珠菌芽管形成率的影响

[$n=100$, $(\bar{x} \pm s)\%$]

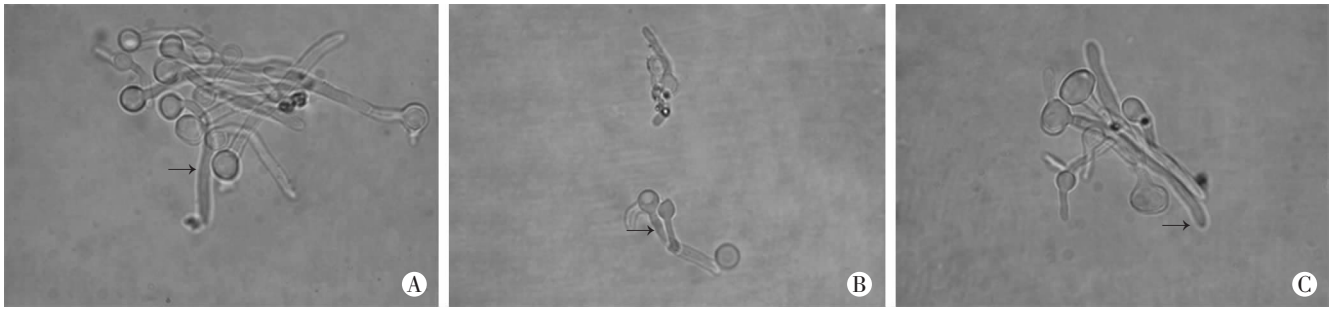
组别	0 h	1 h	2 h	3 h
PBS对照组	0	41.7±3.1	80.0±2.0	96.7±1.2
MAF-1A组	0	35.0±1.0	40.0±1.5[a]	55.7±1.5[a]
FLC组	0	40.3±2.1	57.7±2.5[a]	68.0±1.7[a]

a: $P<0.05$, 与PBS对照组比较



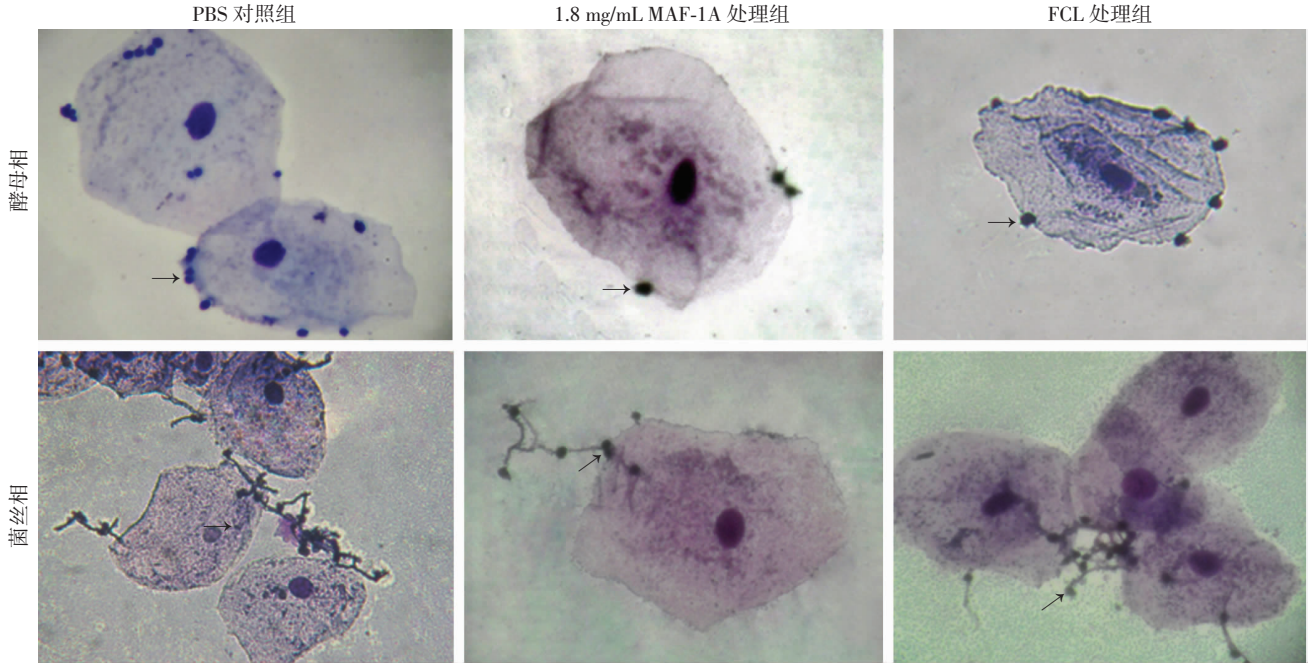
A:PBS对照组,B:MAF-1A处理组;C:FCL处理组 ↑:示芽生孢子

图2 不同处理条件下培养6 h各组白色念珠菌芽生孢子的生成 (LM ×1 000)



A:PBS对照组,B:MAF-1A处理组;C:FCL处理组;↑:示芽管

图3 不同处理条件下培养3 h各组白色念珠菌芽管的形成 (LM ×1 000)



↑:示粘附的白色念珠菌

图4 干预组白色念珠菌酵母相及菌丝相细胞地MAF-1A中对CEB细胞的粘附 (瑞氏染色 ×400)

2.4 MAF-1A对白色念珠菌粘附BEC细胞的影响

2.4.1 MAF-1A对白色念珠菌酵母相细胞粘附性的影响 经瑞氏染色BEC细胞染成紫红色,白色念珠菌染成蓝色,白色念珠菌成簇或分散粘附在细胞上。无论是干预组还是预作用组,MAF-1A各浓度组的白色念珠菌粘附BEC细胞数量与PBS对照组比较均减少,并随着MAF-1A浓度增加粘附数量递减,各浓度组与PBS对照组比较具有统计学意义($P<0.01$)(表3,图4)。

2.4.2 MAF-1A对白色念珠菌菌丝相细胞粘附性的影响 菌丝相的白色念珠菌成细长管状,多成簇聚集粘附在BEC细胞上。在干预组或预作用组中,MAF-1A各浓度组细胞粘附数均少于PBS对照组,随着MAF-1A浓度增加粘附数量递减,各浓度组与PBS对照组比较具有统计学意义($P<0.01$)(表3,图4)。

2.4.3 预作用组与干预组白色念珠菌粘附性的差异性 MAF-1A各浓度组预作用组的粘附BEC细胞白色念珠菌细胞数量均少于干预组的粘附数量,具有统计学意义($P<0.01$),而FLC组间则无统计学差异($P>0.05$)(表3)。

2.4.4 预作用组与干预组孢子相与菌丝相细胞粘附性的差异性 不论预作用组还是干预组,各浓度MAF-1A组白色念珠菌孢子相细胞粘附BEC细胞数量均少于菌丝相细胞粘附数量,具有统计学意义($P<0.01$),FLC组间粘附数量孢子相也少于菌丝相,具有统计学差异(表3)($P<0.01$)。

表3 不同浓度MAF-1A对各组白色念珠菌粘附BEC细胞的影响 ($n=100, \bar{x}\pm s$)

组别	孢子相细胞		菌丝相细胞	
	预作用组	干预组	预作用组	干预组
PBS对照组	304.0±11.3	316.0±5.3	341.7±4.5	326.7±3.5
0.6 mg/mLMAF-1A组	114.0±5.3[a]	164.7±5.9[a]	195.7±6.8[a]	249.3±4.2[a]
1.2 mg/mLMAF-1A组	85.7±5.1[a]	122.3±4.2[a]	161.3±3.2[a]	182.0±4.4[a]
1.8 mg/mLMAF-1A组	73.3±6.1[a]	105.0±6.6[a]	128.7±2.1[a]	141.7±3.1[a]
FLC组	116.3±4.0[a]	113.3±3.8[a]	211.3±2.5[a]	217.7±4.2[a]

a: $P<0.05$,与PBS对照组比较

3 讨论

白色念珠菌是临床上重要的条件致病菌之一。研究已证实,白色念珠菌的致病因素主要与其定植能力、菌体疏水性、酵母相与菌丝相之间的转换以及产生毒性代谢产物有关[14]。在这些因素中,白色念珠菌粘附

定植在上皮细胞是感染发生的首要条件。刘为国等[15]证实,D-甘露糖、绿幕安及刀豆素A能通过与白色念珠菌竞争上皮细胞的粘附受体以及凝集作用而减少真菌对上皮细胞的粘附。本研究结果显示,MAF-1A能够有效地抑制白色念珠菌对上皮细胞的粘附。我们在前期研究中发现,MAF-1A作用白色念珠菌后可导致菌体表面疏水性下降,可能是由于降低了菌体表面疏水性而降低菌体对上皮细胞的粘附性[16]。扫描电镜发现,MAF-1A作用细胞后细胞表面丧失光滑,菌体表面粗糙,部分细胞出现穿孔现象,严重病变细胞表面呈碎片状,刺状突起现象(论文待发表),提示MAF-1A可能通过降低菌体表面疏水性以及破坏菌体细胞表面结构,减少甘露糖、几丁质、β-葡聚糖等粘附物质[17],从而降低白色念珠菌的粘附作用。MAF-1A预作用组及酵母相细胞抑制粘附效果更好,可能与菌丝相细胞菌体长、表面存在较多且有些不存在于酵母相细胞上的粘附素等物质有关[3,18],其机制有待进一步研究。我们同时观察到MAF-1A减少白色念珠菌粘附数量少于FLC药物对照组($P<0.05$),提示与FLC比较MAF-1A能更有效的降低白色念珠菌对上皮细胞的粘附。

研究表明,以菌丝形态生长的白色念珠菌表现出更强的致病能力,菌丝状态的菌体通过产生芽管特异性抗原增强其粘附性,并能阻止中性粒细胞的吞噬杀伤作用,在吞噬细胞内仍能生成芽管并长出菌丝,从而穿透、破坏宿主细胞膜[14,19]。本实验显示MAF-1A能够抑制芽生孢子的产生,影响白色念珠菌正常的生长繁殖,同时通过抑制芽管的形成,阻止酵母相细胞向菌丝相转变,从而降低白色念珠菌的毒力。MAF-1A是根据家蝇天然抗真菌肽MAF-1的结构功能域人工合成的新型多肽,生物信息学表明MAF-1A结构为富含碱性氨基酸的阳离子α-螺旋多肽,但缺乏色氨酸和C-端酰胺化结构,分子内无半胱氨酸、脯氨酸、甘氨酸及二硫键,结构不同于已发现的昆虫抗菌肽,研究发现α-螺旋结构抗菌肽可通过破坏真菌细胞膜或进入细胞内破坏线粒体、核酸等结构发挥抗菌作用[20]。本研究结果提示我们新型抗真菌肽MAF-1A,在对白色念珠菌感染的治疗和预防中具有潜在的研究价值和应用前景。

参考文献:

[1] De-Luca C, Guglielminetti M, Ferrario A, *et al*. Candidemia: species involved, virulence factors and antimycotic susceptibility [J]. New Microbiol, 2012, 35(4): 459-468.

[2] 罗振华, 王和, 王丹霓, 等. 贵州地区深部感染常见致病性真菌的基因分析[J]. 中华预防医学杂志, 2010, 44(9): 845-846.

[3] Jacobsen I D, Wilson D, Wachtler B, *et al*. Candida albicans dimorphism as a therapeutic target[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2012, 10(1): 85-93.

[4] Ellepola A N, Panagoda G J, Samaranayake L P. Adhesion of oral Candida species to human buccal epithelial cells following brief exposure to nystatin [J]. Oral Microbiol Immunol, 1999, 14(6): 358-363.

[5] Toenjes K A, Stark B C, Brooks K M, *et al*. Inhibitors of cellular signalling are cytotoxic or block the budded-to-hyphal transition in the pathogenic yeast Candida albicans[J]. J Med Micarobiol, 2009, 58(Pt 6): 779-790.

[6] 王晓燕, 齐眉, 李玉瑭, 等. 大蒜素与两性霉素B体外联合应用抑制白色念珠菌菌丝形成的研究[J]. 山东大学学报: 医学版, 2010, 48(5): 23-27.

[7] Iijima R, Kurata S, Natori S. Purification, characterization, and cDNA cloning of an antifungal protein from the hemolymph of Sarcophaga peregrine (flesh fly) larvae[J]. J Biol Chem, 1993, 268(16): 12055-12061.

[8] Matejuk A, Leng Q, Begum M D, *et al*. Peptide-based antifungal therapies against emerging infections[J]. Drugs Future, 2010, 35(3): 197.

[9] Le-Lay C, Akerey B, Fliss I, *et al*. Nisin Z inhibits the growth of Candida albicans and its transition from blastospore to hyphal form[J]. J Appl Microbiol, 2008, 105(5): 1630-1639.

[10] 付萍, 吴建伟, 国果. 家蝇抗真菌肽-1的cDNA克隆及其编码蛋白序列的生物信息学分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2011, 29(4): 279-284.

[11] 董正蓉, 张宏. 白念珠菌菌丝相与酵母相ERG11基因部分序列的比较研究[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2004, 18(7): 385-386, 422.

[12] Zhao X, Oh S H, Cheng G, *et al*. ALS3 and ALS8 represent a single locus that encodes a Candida albicans adhesin; functional comparisons between Als3p and Als1p[J]. Microbiology, 2004, 150(Pt 7): 2415-2428.

[13] Machado A G, Komiyama E Y, Santos S S, *et al*. *In vitro* adherence of Candida albicans isolated from patients with chronic periodontitis [J]. J Appl Oral Sci, 2011, 19(4): 384-387.

[14] 任南, 文细毛, 王洁如. 白色念珠菌致病机制的研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2003, 2(2): 157-158.

[15] 刘为国, 伦永志, 黄敏, 等. 阻断白色念珠菌粘附口腔黏膜上皮细胞的实验研究[J]. 中国微生态学杂志, 2001, 13(3): 164-165.

[16] Hazen K C. Participation of yeast cell surface hydrophobicity in adherence of Candida albicans to human epithelial cells[J]. Infect Immun, 1989, 57(7): 1894-1900.

[17] Ruiz-Herrera J, Elorza M V, Valentin E, *et al*. Molecular organization of the cell wall of Candida albicans and its relation to pathogenicity [J]. FEMS Yeast Res, 2006, 6(1): 14-29.

[18] Wachtler B, Wilson D, Haedicke K, *et al*. From attachment to damage: defined genes of Candida albicans mediate adhesion, invasion and damage during interaction with oral epithelial cells[J]. PLoS One, 2011, 6(2): e17046.

[19] Moyes D L, Murciano C, Runglall M, *et al*. Activation of MAPK/c-Fos induced responses in oral epithelial cells is specific to Candida albicans and Candida dubliniensis hyphae [J]. Med Microbiol Immunol, 2012, 201(1): 93-101.

[20] Hull R, Katete R, Ntwasa M. Therapeutic potential of antimicrobial peptides from insects[J]. Bioltechnology and Molecular Biology Review, 2012, 7(2): 31-47.

(**收稿**:2013-03-29;**修回**:2013-05-08)

(编辑 邓强庭)