

## 密度感应分子对白色念珠菌生物被膜形成作用的研究

许雯倩, 张 琰, 马 鸣, 魏 昕\*

(南京医科大学口腔医学研究所, 江苏 南京 210029)

**[摘要]** 目的: 白色念珠菌生物被膜形成受密度感应分子调控, 法尼醇和酪醇是白色念珠菌产生的两种密度感应分子。本研究探讨不同生物被膜时相, 密度感应分子对白色念珠菌形态及生物被膜形成的作用。方法: 体外构建白色念珠菌生物被膜。研究分为法尼醇处理组、酪醇处理组、法尼醇和酪醇联合处理组、对照组。首先采用 XTT 检测不同生物被膜时相酪醇和法尼醇对白色念珠菌细胞活力的作用。扫描电子显微镜(scanning electron microscopy, SEM)观察酪醇和法尼醇对白色念珠菌生物被膜的作用。同时采用气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC/MS)检测白色念珠菌生物被膜法尼醇的产生, 高效液相色谱(high press liquid chromatograph, HPLC)检测白色念珠菌生物被膜酪醇的产生。结果: XTT 结果显示, 与对照组比较, 酪醇可促进 6 h 白色念珠菌生物膜活力( $P < 0.05$ ), 法尼醇抑制早期(3 h 和 6 h)生物被膜活力( $P < 0.05$ ), 联合作用组抑制 6 h 生物被膜活力( $P < 0.001$ )。扫描电镜观察发现, 酪醇促进 3 h 和 6 h 白色念珠菌细胞的出芽, 法尼醇抑制 3 h 和 6 h 菌丝形成, 两者联合作用以后者对菌丝形成的抑制作用为主。GC/MS 及 HPLC 结果表明在早期(3 h 和 6 h)生物被膜, 2 种密度感应分子产生少且无明显升高趋势( $P > 0.05$ ); 随着生物被膜成熟(24 h 及 36 h), 酪醇产生明显增多( $P < 0.05$ ), 法尼醇产生也明显增多( $P < 0.05$ )。24 h 生物被膜产生酪醇最多, 36 h 生物被膜产生法尼醇最多。结论: 酪醇可以促进白色念珠菌出芽和菌丝伸长, 促进早期生物被膜形成。法尼醇抑制出芽和菌丝形成, 抑制早期生物被膜形成。两者联合作用以法尼醇对菌丝形成的抑制作用为主。

**[关键词]** 白色念珠菌; 生物被膜; 法尼醇; 酪醇

**[中图分类号]** R379.4

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2014)09-1196-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20140909

## Effects of quorum sensing molecule on the morphology in *Candida albicans* biofilm

Xu Wenqian, Zhang Yan, Ma Ming, Wei Xin\*

(Institute of Stomatology, NJMU, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** Quorum sensing regulates the formation of *Candida albicans* (*C. albicans*) biofilm. Farnesol and tyrosol are quorum sensing molecules produced by *C. albicans*. The aim of this study is to find the effects of quorum sensing molecules on the formation of *C. albicans* and biofilm in different time phases of biofilm. **Methods:** *C. albicans* biofilm was constructed *in vitro*. The study *C. albicans* biofilm were separated into the tyrosol treated group, the farnesol treated group, the tyrosol and farnesol co-treated group and the no-treated control group. The effects of the tyrosol and farnesol on *C. albicans* cell viability in different time phases were detected by XTT method. The effects of the tyrosol and farnesol on *C. albicans* biofilm formation were observed by scan electronic microscope (SEM). The production of farnesol and tyrosol of biofilms was detected by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) and high press liquid chromatograph (HPLC), respectively. **Results:** The XTT method suggested that biofilm activity was promoted by tyrosol at 6 h ( $P < 0.05$ ), while it was suppressed by farnesol at 3 h and 6 h ( $P < 0.05$ ). Biofilm activity of the tyrosol and farnesol co-treated group was inhibited at 6 h ( $P < 0.001$ ). The SEM observations showed that tyrosol contributed to the germ tube formation of the *C. albicans* biofilm at 3 h and 6 h. Farnesol inhibited the hyphae growth of biofilm at 3 h and 6 h. The tyrosol and farnesol co-treated group showed that the effect of tyrosol was not antagonistic to that of farnesol. GC/MS and HPLC results showed that *C. albicans* produced little tyrosol and farnesol at early stage and showed no obvious rising trend ( $P > 0.05$ ). With biofilm maturation (24 h and 36 h), the production of tyrosol increased significantly ( $P < 0.05$ ), which of farnesol was also increased significantly ( $P < 0.05$ ). In all, *C. albicans* produced most tyrosol at 24 h and most farnesol at 36 h. **Conclusion:** Tyrosol contributed to the biofilm formation by increasing the germ tube formation of the *C. albicans* biofilm. Farnesol inhibited the *C. albicans* biofilm formation

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助课题(81271151)

\*通信作者 (Corresponding author), E-mail: weixinart@163.com

by decreasing the germ tube formation. The inhibition of farnesol to the hyphae growth was more powerful than the contribution of tyrosol to the germ tube growth in the co-treated studies.

[Key words] *Candida albicans*; biofilm; tyrosol; farnesol

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(09): 1196-1201]

白色念珠菌是人类口腔常见条件致病真菌,在人群中检出率较高。HIV 感染、肿瘤放疗和化疗、自身免疫性疾病和糖尿病等导致自身免疫力降低,易发生念珠菌感染。生物被膜是白色念珠菌在口腔内的常见生存方式,生物被膜状态白色念珠菌耐药性和致病性增强,能够有效对抗真菌药物的杀菌作用,导致感染持续难愈<sup>[1-3]</sup>。因此,对生物被膜状态白色念珠菌生存机制的研究显得尤为重要。

生物被膜状态白色念珠菌与浮游状态白色念珠菌具有不同的生物学特点,对白色念珠菌生物被膜形成相关因素的研究有助于了解生物被膜形成机制。白色念珠菌生物被膜形成是由 3 个关键步骤组成:黏附(0~3 h)、微克隆和菌丝形成(3~6 h)及生物被膜成熟(24~48 h)<sup>[4-5]</sup>。这 3 个步骤连续发生,且存在重叠现象。在此形成过程中生物被膜受多个因素影响,包括外界环境因素、菌种生物学特点和宿主免疫等。随着密度感应的发现,密度感应分子是影响生物被膜形成的另一个重要因素。

白色念珠菌是首个被发现存在密度感应机制的真核生物。酪醇和法尼醇是白色念珠菌产生的 2 种密度感应分子。法尼醇是首个被发现的真核生物密度感应分子,它主要抑制白色念珠菌酵母相向菌丝相的转变,从而抑制白色念珠菌生物被膜的形成<sup>[6-8]</sup>。法尼醇对已经伸长的菌丝缺乏明显的抑制作用。酪醇可以改变浮游状态白色念珠菌静止相,恢复对数期生长,并且可以促进菌丝形成<sup>[7,9]</sup>。酪醇对白色念珠菌生物被膜形成的作用及酪醇和法尼醇 2 种密度感应分子对白色念珠菌生物被膜形成作用的研究尚未见报道。

本研究采用扫描电子显微镜形态学观察不同时相 2 种密度感应分子对白色念珠菌生物被膜形成的作用。与此同时,采用气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC/MS)和高效液相色谱(high press liquid chromatograph, HPLC)分别检测不同时相白色念珠菌生物被膜法尼醇和酪醇的产生。本研究关于密度感应分子对生物被膜时相白色念珠菌形态发生调控作用的初步探讨,有助于阐明白色念珠菌生物被膜的形成机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 研究菌株

白色念珠菌标准株 SC5314 由上海第二军医大学药学院遗传工程国家重点实验室赠予。

#### 1.1.2 试剂和仪器

沙堡琼脂培养基[Sabour'd's dextroseagar, SDA, 63.0 g/L(w/v)], YPD 培养液[2%葡萄糖(w/v)、1%胰蛋白胨(w/v)、1%酵母提取物(w/v)], 磷酸盐缓冲液(PBS)(pH=7.2, 0.2 g/L KCL, 0.2 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 8.0 g/L NaHCO<sub>3</sub>, 2.16 g/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O), RPMI-1640 培养基(Gibco 公司, 美国), Tyrosol(Sigma 公司, 美国), E, E-Farnesol(Sigma 公司, 美国), XTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(南京凯基生物科技有限公司), YCP 系列二氧化碳培养箱(上海易亮医疗器械有限公司), 倒置显微镜(Olympus 公司, 日本)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 实验分组

实验分组如下: ①100 μmol/L 酪醇处理组; ②500 μmol/L 酪醇处理组; ③1 000 μmol/L 酪醇处理组; ④50 μmol/L 法尼醇处理组; ⑤100 μmol/L 法尼醇处理组; ⑥500 μmol/L 法尼醇处理组。以上实验分组每组样本数均为 3 个, 每组检测重复 3 次。

#### 1.2.2 白色念珠菌悬液的制备

将-70℃保种的白色念珠菌标准株 SC5314 复苏, 接种到 SDA 培养基上 37℃生长 24 h。取单克隆菌株在 YPD 培养液中 75 r/min 30℃生长 24~36 h, 达到对数生长期。收集培养液中对数生长状态细胞重悬于 RPMI1640 培养液中, 按照实验需要制备成浓度为 5 × 10<sup>5</sup> 个/ml 菌悬液。

#### 1.2.3 XTT 检测不同时相白色念珠菌生物被膜形成

将上述菌悬液接种到 96 孔板, 形成早期生物被膜, 1 h 后移出培养液, 无菌 PBS 冲洗 3 次以去除未黏附的细胞, 再加入 100 μl 培养液, 按上述方法将酪醇处理组、法尼醇处理组、酪醇和法尼醇联合处理组、未处理对照组生物被膜继续培养。酪醇在菌液中的浓度是 100 μmol/L, 法尼醇在菌液中的浓度是 50 μmol/L。分别培养至 3、6、24 及 36 h 后, 移去培养

液,无菌 PBS 缓冲液洗 3 次。每孔加入 100  $\mu\text{l}$  RPMI-1640 培养液和 50  $\mu\text{l}$  XTT 工作液,细胞培养箱避光孵育 2 h,酶标仪在 450 nm 波长处检测每孔吸光度值。

#### 1.2.4 扫描电镜观察

将 2 000  $\mu\text{l}$  上述标准菌悬液均匀接种到 6 孔培养板中,每孔底部预先放置无菌血盖片,5%  $\text{CO}_2$  37 $^\circ\text{C}$  孵育。培养 1 h 后移出培养液,无菌 PBS 缓慢冲洗 3 次去除未黏附的细胞。每隔 1 h 换置 RPMI-1640 培养液。每次换液时实验组分别用酪醇、法尼醇或酪醇和法尼醇联合处理,对照组加入相同体积无菌去离子水。酪醇的浓度分别为 100、500 和 1 000  $\mu\text{mol/L}$ ,法尼醇的浓度分别为 50、100 和 500  $\mu\text{mol/L}$ 。酪醇与法尼醇联合处理即同时加入 100  $\mu\text{mol/L}$  酪醇和 50  $\mu\text{mol/L}$  法尼醇。

取 3、6、24 和 36 h 培养后的实验组和对照组样本,2.5%的戊二醛(pH7.0)固定 2 h 以上,用 30%、50%、70%、80%、90%酒精梯度脱水,每次 20 min。100%酒精脱水 3 次,每次 30 min。叔丁醇(100%)置换 2 次,每次 30 min。随后,将样本放入冷冻干燥仪干燥。干燥后样本固定、镀膜、标记。准备扫描电镜观察。

#### 1.2.5 高效液相色谱检测酪醇

将上述浓度白色念珠菌悬液接种,形成生物被膜。在 3、6、24 和 36 h 分别吸取上清液,离心和抽滤(0.22  $\mu\text{m}$ ),获得检测样本。标准品酪醇(Sigma 公司,美国)浓度 5  $\mu\text{mol/L}$ 。酪醇液相色谱条件:采用等度洗脱方法,流动相为乙腈/水(40/60,  $v/v$ ),用前过滤和脱气,流速 0.5 ml/min,紫外检测波长为 277 nm,柱温是 25 $^\circ\text{C}$ ,进样量 3.0  $\mu\text{l}$ 。采用外标法定量,灵敏度下限是 0.125  $\mu\text{mol/L}$ 。标样和样品均用流动相溶解,每个待测样本重复进样 3 次,取平均峰面积。

#### 1.2.6 气相色谱-质谱联用检测法尼醇

检测样本准备同酪醇。标准品法尼醇(Sigma 公司,美国)浓度 1  $\mu\text{mol/L}$ 。5 ml 检测样本中加 2 ml 乙酸乙酯,静置分层,取上清液过无水硫酸钠,滤液

备用。色谱条件:进样口温度 250 $^\circ\text{C}$ ,进样 1  $\mu\text{l}$ ,不分流进样;柱温:起始温度 100 $^\circ\text{C}$ ,以 15 $^\circ\text{C}/\text{min}$  升至 280 $^\circ\text{C}$ ;传输线温度 280 $^\circ\text{C}$ ;载气,氦气,流速 1.0 ml/min。质谱条件:离子源,EI;离子源温度 230 $^\circ\text{C}$ ;溶剂延迟 5 min;扫描范围 40~400 au,保留时间与图谱检索定性,选择离子 69 和 81 定量。

#### 1.3 统计学方法

所有数据录入 SPSS17.0 统计软件,以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,进行单因素方差分析, $P \leq 0.05$  认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 酪醇和法尼醇对白色念珠菌生物被膜活力的作用

在 3 h,法尼醇抑制白色念珠菌生物被膜活力( $P < 0.05$ ),酪醇作用及联合作用均不明显( $P > 0.05$ );在 6 h,酪醇促进白色念珠菌生物被膜活力( $P < 0.05$ ),法尼醇抑制白色念珠菌生物被膜活力( $P < 0.001$ ),酪醇和法尼醇联合作用抑制白色念珠菌生物被膜活力( $P < 0.001$ )。酪醇和法尼醇对于 24 h 和 36 h 白色念珠菌生物被膜作用不明显( $P > 0.05$ ,表 1)。

### 2.2 不同浓度酪醇和法尼醇对白色念珠菌形态的作用

观察 3 h 白色念珠菌生物被膜的形态学发现:未处理对照组主要由长短不一的假菌丝及芽生孢子组成,芽生孢子呈球状。不同浓度酪醇(100、500、1 000  $\mu\text{mol/L}$ )处理时,白色念珠菌假菌丝增多(图 1),而法尼醇(50、100、500  $\mu\text{mol/L}$ )处理时,少见假菌丝,主要是芽生孢子(图 2)。可见酪醇促进黏附的白色念珠菌出芽,法尼醇抑制其出芽;且酪醇处理组细胞壁表面突起增多,法尼醇处理组细胞壁表面平滑(图 1、2)。

### 2.3 酪醇和法尼醇对不同时相白色念珠菌生物被膜的作用

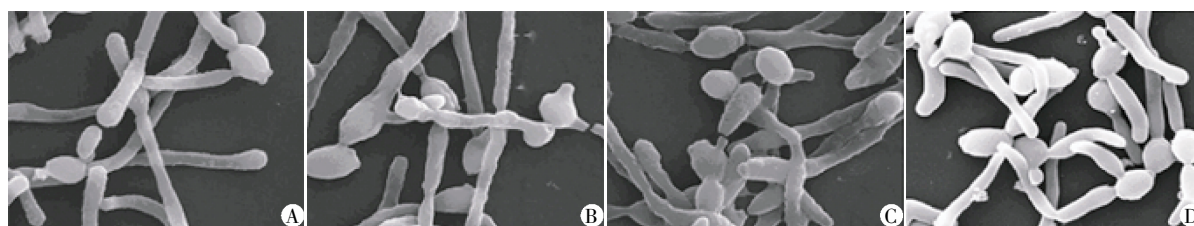
观察不同时间段(3、6、24、36 h)白色念珠菌生

表 1 酪醇和法尼醇对白色念珠菌生物被膜作用的 XTT 分析

Table 1 XTT analysis of *C. albicans* biofilm in the control, tyrosol, farnesol, and tyrosol-farnesol co-treated groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	吸光度值			
	3 h	6 h	24 h	36 h
酪醇处理组	0.52 $\pm$ 0.03	1.80 $\pm$ 0.04 $^{\Delta*}$	3.20 $\pm$ 0.02 $^{**}$	3.80 $\pm$ 0.06 $^{**\Delta}$
法尼醇处理组	0.40 $\pm$ 0.03 $^{\Delta}$	0.60 $\pm$ 0.05 $^{\Delta*}$	2.80 $\pm$ 0.03 $^{**}$	3.20 $\pm$ 0.07 $^{**\Delta}$
酪醇和法尼醇联合处理组	0.45 $\pm$ 0.04	0.70 $\pm$ 0.04 $^{\Delta*}$	2.80 $\pm$ 0.06 $^{**}$	3.40 $\pm$ 0.06 $^{**\Delta}$
对照组	0.50 $\pm$ 0.03	1.70 $\pm$ 0.03 $^*$	2.80 $\pm$ 0.05 $^{**}$	3.50 $\pm$ 0.06 $^{**\Delta}$

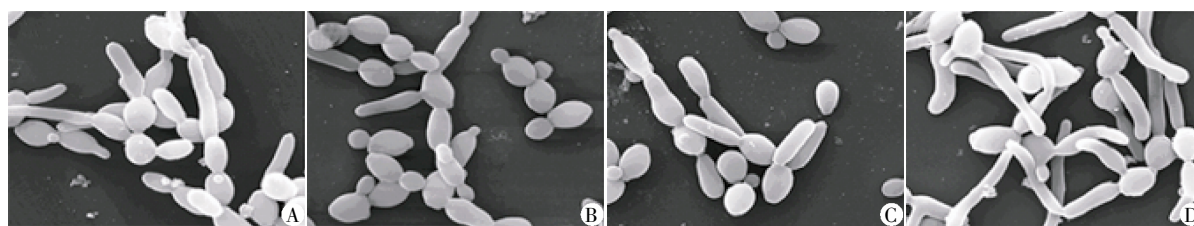
与相同时间点对照组比较, $^{\Delta}P < 0.05$ ;与同组 3 h 比较, $^*P < 0.001$ ,与同组 6 h 比较, $^{**}P < 0.001$ ,与同组 24 h 比较, $^{\Delta\Delta}P < 0.001(n = 3)$ 。



A:100  $\mu\text{mol/L}$  酪醇;B:500  $\mu\text{mol/L}$  酪醇; C:1 000  $\mu\text{mol/L}$  酪醇;D:对照组。

图 1 不同浓度酪醇处理 3 h 后对白色念珠菌生物被膜的作用( $\times 5\ 000$ )

Figure 1 Scanning electron micrograph images of *C. albicans* biofilm treated with different concentrations of tyrosol at 3 h ( $\times 5\ 000$ )



A:50  $\mu\text{mol/L}$  法尼醇;B:100  $\mu\text{mol/L}$  法尼醇;C:500  $\mu\text{mol/L}$  法尼醇;D:对照组。

图 2 不同浓度法尼醇处理 3 h 后对白色念珠菌生物被膜的作用( $\times 5\ 000$ )

Figure 2 Scanning electron micrograph images of *C. albicans* biofilm treated with different concentrations of farnesol at 3 h ( $\times 5\ 000$ )

物被膜的形态发现:3 h 及 6 h 时,法尼醇处理组白色念珠菌数量减少,且主要以孢子相为主,少量较短假菌丝;酪醇处理组白色念珠菌数量较对照组没有明显差异,但菌丝量较对照组多且长。可见法尼醇抑制白色念珠菌酵母相向菌丝相的转变及菌丝的生长,酪醇促进生物被膜状态白色念珠菌出芽和菌丝伸长。酪醇和法尼醇联合作用时,白色念珠菌仍以孢子形态存在,菌丝较少且短小,可见以法尼醇对白色念珠菌生物被膜的抑制作用为主,酪醇对白色念珠菌生物被膜的促进作用不明显。24 h 及 36 h 时,各实验组白色念珠菌形态较对照组无明显改变(图 3)。

#### 2.4 白色念珠菌生物被膜酪醇和法尼醇的产生

白色念珠菌生物被膜产生酪醇和法尼醇的情况见表 2。在早期(3 h 及 6 h)生物被膜,两种密度感应分子产生少且无明显升高趋势( $P > 0.05$ );随着生物被膜成熟(24 h 及 36 h),酪醇产生明显增多( $P < 0.05$ ),法尼醇产生也明显增多( $P < 0.05$ )。24 h 生物被膜产生酪醇最多,36 h 生物被膜产生法尼醇最多。

### 3 讨论

法尼醇和酪醇是白色念珠菌生长过程中产生的 2 种密度感应分子。近年来,关于法尼醇对白色念珠菌形态发生作用的研究较多。法尼醇抑制酵母相向菌丝相的转变及抑制菌丝形成,抑制生物被膜形成,降低生物被膜药物易感性<sup>[6-8]</sup>。随后,Chen 等<sup>[10]</sup>研究

发现酪醇可以促进浮游状态的静止相白色念珠菌细胞出芽,促进白色念珠菌细胞从酵母相向菌丝相的转变,表现出与法尼醇相反的作用。Alem 等<sup>[11]</sup>观察到酪醇可加速 2~6 h 白色念珠菌生物被膜菌丝的产生,但 XTT 分析未见酪醇对成熟生物膜形成的促进作用,扫描电镜观察 48 h 成熟生物被膜生长形态也无明显变化。Nickerson<sup>[12]</sup>对两者的相互作用研究发现法尼醇对白色念珠菌菌丝形成的抑制作用不会因加入酪醇而改变,故认为后者是一种不太重要的密度感应分子,主要原因是它的作用不能超过前者。

国内外白色念珠菌密度感应作用的研究缺乏酪醇和法尼醇对白色念珠菌不同时相生物被膜作用的研究。已知浮游状态酪醇对白色念珠菌生长有促进作用,且生物被膜状态酪醇的产生量明显高于浮游状态白色念珠菌。这些现象的存在促使我们思考:酪醇在白色念珠菌生物被膜形成过程中有无作用,酪醇与法尼醇的相互作用在不同时相生物被膜表现怎样。针对酪醇和法尼醇对不同时相生物被膜作用的白色念珠菌形态学观察将有助于阐明上述问题。

先前研究者采用的法尼醇浓度为 50~300  $\mu\text{mol/L}$ ,其明显抑制菌丝形成的作用通常在最高浓度出现<sup>[13]</sup>。本研究为了接近白色念珠菌自然生存状态而选择 50  $\mu\text{mol/L}$  接种浓度。在研究中间隔 1 h 换液,去除内源性法尼醇和酪醇的干扰。本研究发现:酪醇促进出芽和菌丝伸长,促进白色念珠菌生物

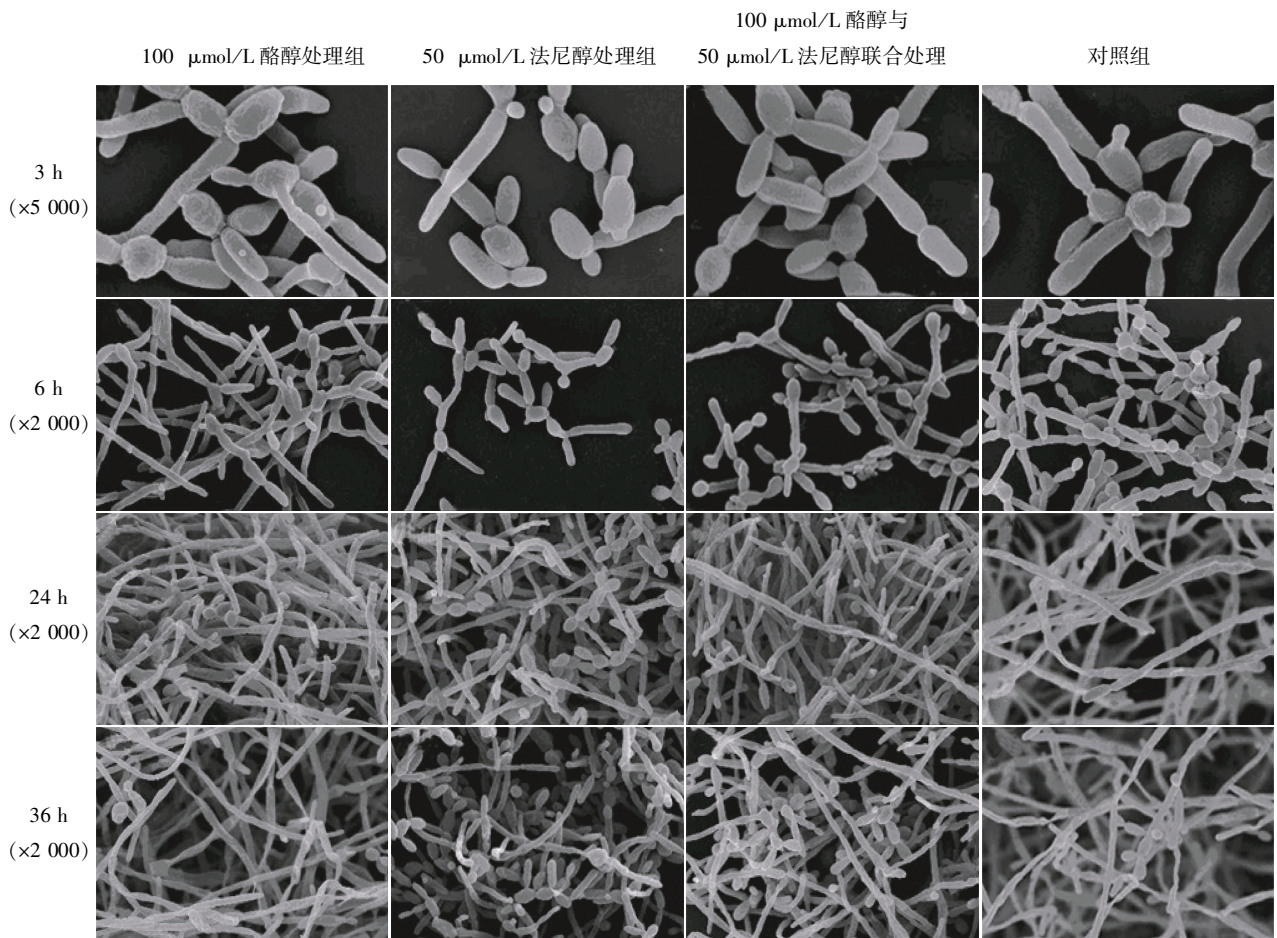


图3 酪醇和法尼醇对不同时间段白色念珠菌生物被膜的作用

Figure 3 Scanning electron micrograph images of *C. albicans* biofilm formed at different periods in the farnesol or tyrosol-treated group

表2 不同时间段酪醇和法尼醇测定结果

Table 2 Tyrosol and farnesol levels of the *C. albicans* biofilms in different periods (μmol/L,  $\bar{x} \pm s$ )

时间	酪醇	法尼醇
3 h	-	0.05 ± 0.03
6 h	0.51 ± 0.08	0.10 ± 0.01
24 h	11.93 ± 1.13*	0.25 ± 0.07*
36 h	8.02 ± 0.73**	1.15 ± 0.07**

与6 h比较, \* $P < 0.001$ , 与24 h比较, \*\* $P < 0.001$  ( $n = 3$ )。

被膜形成;法尼醇抑制白色念珠菌出芽及菌丝形成。酪醇和法尼醇的作用均与白色念珠菌生物被膜时相关,对白色念珠菌早期生物被膜作用比较明显。酪醇可促进6 h白色念珠菌生物被膜活力,法尼醇抑制3 h和6 h生物被膜活力,联合作用组抑制6 h生物被膜活力。加入法尼醇后,抑制了酪醇对6 h白色念珠菌酵母相细胞出芽的促进作用,以法尼醇对菌丝形成的抑制作用为主。但对于24 h和36 h白色念珠菌生物被膜,法尼醇和酪醇的作用均不明显。

推测原因,可能是随着生物被膜的成熟,细胞密度与环境之间达到一种平衡,由于没有细胞密度的改变,密度调控机制的作用暂时沉默,而与时相相关的其他因素控制着生物被膜的生存。

本研究发现酪醇是白色念珠菌早期生物被膜形成的正向调控因子。推测 Alem 等<sup>[11]</sup>未能观察到酪醇作用的原因主要是采用了高接种密度条件( $1 \times 10^7$  个/ml),研究的生物被膜为48 h的成熟后期生物被膜。本研究同样观察到酪醇和法尼醇对24 h及36 h白色念珠菌生物被膜无明显作用。因此,时相选择是影响研究结果的重要因素之一。

白色念珠菌生物被膜与浮游状态生物学特点的不同可能由于密度感应分子产生及调控作用的差异。生物被膜状态白色念珠菌产生酪醇明显高于浮游状态白色念珠菌<sup>[11]</sup>,酪醇的产生随着生物被膜的成熟逐渐增多,在24 h达到最高,随后降低<sup>[14]</sup>。早期白色念珠菌生物被膜产生法尼醇较少,随着生物被膜的成熟产生增多。早期生物被膜分泌酪醇

促进白色念珠菌的出芽和成熟,成熟后期生物被膜(36 h)酪醇产生降低,导致白色念珠菌出芽减少。在成熟期(24 h)和成熟后期(36 h),法尼醇产生增多,抑制菌丝形成,促进酵母相白色念珠菌增多,新生的子代酵母相细胞移出并脱离成熟生物被膜,在新地点定植。这进一步证实酪醇和法尼醇的产生和作用存在时相和密度相关性<sup>[12,15]</sup>。

总之,白色念珠菌生物被膜的形成与密度感应调控尚存在未能解释的问题,密度感应分子的作用提示化学信号分子在生物被膜形成中的重要作用。深入探讨化学信号分子的生物被膜调控机制将有助于进一步阐明生物被膜的毒力机制。

#### [参考文献]

- [1] Deorukhkar SC, Saini S, Mathew S. Virulence factors contributing to pathogenicity of *Candida tropicalis* and its antifungal susceptibility profile [J]. *Int J Microbiol*, 2014, 2014:456878
- [2] Hasan F, Xess I, Wang X, et al. Biofilm formation in clinical *Candida* isolates and its association with virulence [J]. *Microbes Infect*, 2009, 11(8-9):753-761
- [3] Dongari-Bagtzoglou A, Kashleva H, Dwivedi P, et al. Characterization of mucosal *Candida albicans* biofilms [J]. *PLoS One*, 2009, 4(11):e7967
- [4] Finkel JS, Mitchell AP. Genetic control of *Candida albicans* biofilm development [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2011, 9(2):109-18
- [5] Kuhn DM, Chandra J, Mukherjee PK, et al. Comparison of biofilms formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on bioprosthetic surfaces [J]. *Infect Immun*, 2002, 70(2):878-888
- [6] Langford ML, Atkin AL, Nickerson KW. Cellular interactions of farnesol, a quorum-sensing molecule produced by *Candida albicans* [J]. *Future Microbiol*, 2009, 4(10):1353-1362
- [7] De Sordi L, Muhlschlegel FA. Quorum sensing and fungal-bacterial interactions in *Candida albicans*: a communicative network regulating microbial coexistence and virulence [J]. *FEMS Yeast Res*, 2009, 9(7):990-999
- [8] Lu Y, Su C, Unoje O, et al. Quorum sensing controls hyphal initiation in *Candida albicans* through Ubr1-mediated protein degradation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(5):1975-1980
- [9] Madhani HD. Quorum sensing in fungi: Q&A [J]. *PLoS Pathog*, 2011, 7(10):e1002301
- [10] Chen H, Fujita M, Feng Q, et al. Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(14):5048-5052
- [11] Alem MA, Oteef MD, Flowers TH, et al. Production of tyrosol by *Candida albicans* biofilms and its role in quorum sensing and biofilm development [J]. *Eukaryot Cell*, 2006, 5(10):1770-1779
- [12] Nickerson KW, Atkin AL, Hornby JM. Quorum sensing in dimorphic fungi: farnesol and beyond [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2006, 72(6):3805-3813
- [13] Langford ML, Hasim S, Nickerson KW, et al. Activity and toxicity of farnesol towards *Candida albicans* are dependent on growth conditions [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(2):940-942
- [14] 魏 昕, 吴观陵, 刘卫红, 等. 白色念珠菌的菌体密度与生物被膜形成及 tyrosol 分泌 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2010, 30(4):344-348
- [15] Weber K, Schulz B, Ruhnke M. The quorum-sensing molecule E,E-farnesol-its variable secretion and its impact on the growth and metabolism of *Candida* species [J]. *Yeast*, 2010, 27(9):727-739

[收稿日期] 2014-03-13