

利用小鼠 (mice) 模型 評估六種主要致病念珠菌的致病力

【國衛院感染症與疫苗研究所台灣黴菌實驗中心 陳晉文/謝禮雲/曾國鑒/羅秀容 摘譯】

念珠菌是醫院血液感染的重要致病菌之一。念珠菌存在人體或周圍環境的共生酵母菌，構成皮膚和腸道菌叢的一部份。大約 50~70% 的健康人黏膜表面可以檢測到念珠菌。念珠菌移生是內源性感染的條件，其中，胃腸道移生則被認為是引起念珠菌菌血症的主要原因。侵襲性念珠菌的主要致病機制包括：1. 正常胃腸道菌群的破壞 (例如使用廣效性抗生素)，導致腸道中的念珠菌有更多營養與空間生長；2. 破壞腸道黏膜屏障 (例如抗癌化學療法)，使念珠菌比較容易直接侵入血液和腹腔；3. 損害宿主的免疫反應 (例如嗜中性球低下)，而無法阻止念珠菌生長，增加念珠菌擴散到血液和其他的器官的機會，導致各種器官的深層感染。白色念珠菌 (*Candida albicans*)、光滑念珠菌 (*Candida glabrata*)、近平滑念珠菌 (*Candida parapsilosis*)、熱帶念珠菌 (*Candida tropicalis*)、克魯斯念珠菌 (*Candida krusei*) 和季也蒙念珠菌

(*Candida guilliermondii*) 是造成侵襲性念珠菌感染症 (Invasive candidiasis) 的主要病原體，根據 ARTEMIS DISK 全球抗真菌監測研究 (Global Antifungal Surveillance Study) 在 1997~2007 的結果表示，*C. albicans* 是最常見的念珠菌種，佔 93%。近年來除了 *C. albicans* 外，非白色念珠菌 (Non-*albicans* *Candida* species) 感染也有增加的趨勢，從 1970~1990 年的 10~40% 到 1991~1998 年增加為 35~65%。在國內，台灣院內感染監視資訊系統 (Taiwan Nosocomial Infections Surveillance System, TNIS System) 報告中，2010~2018 年醫學中心加護病房醫療照護相關感染 (血流) 株數比率為 5.4 增加至 7.7%；譯者團隊之台灣黴菌抗藥性監測計畫 (Taiwan Surveillance of Antimicrobial Resistance of Yeasts, TSARY) 結果也顯示，從 2002 年來，分離自血液的非白色念珠菌比率也超過一半以上。

目前，研究侵襲性念珠菌感染

症的動物模式大多都是透過尾靜脈 (tail vein) 直接注射大量念珠菌的方式，但此方法並不符合臨床疾病的進程。相對的，消化道黏膜感染動物模式較符合人類感染的情形。但是 *C. albicans* 不是小鼠胃腸道的共生菌，因此，很少有可以模仿此感染途徑的小鼠模型。本篇作者研發了一種可再現性小鼠模型，由黴菌位移 (translocation)，進而引起的侵襲性念珠菌感染。首先，為了使腸道黏膜變薄，餵食五周大的雌性小鼠低蛋白飲食 14 天；在禁食 24 小時後，使用口服管將念珠菌接種在胃內。為了模擬念珠菌菌血症 (candidaemia)：包括中性粒細胞減少、黏膜炎、以及使用廣效性抗生素，作者利用環磷酰胺 (cyclophosphamide) 誘導嗜中性白血球減少症，連同 Enrofloxacin 和 vancomycin 一起減少內源性鼠胃腸道細菌。作者並進一步確認，在動物模式開發過程中必須使用抗生素，因為小鼠接種了 *C. glabrata* 卻未施給抗生素的死亡率高於同時施用抗生素的死亡率，這很可能是由於細菌位移引起的。而後，作者利用這個小鼠模型比較了六種主要致病性念珠菌的毒性。

在此模型中，*C. albicans* 在擴散至腎臟之前會先侵入腸道黏膜和肝臟，因此肝臟是最先被感染的器官，這與過去曾發表的文獻結論相同，推測念珠菌可能是通過肝門靜脈循環轉到肝臟。感染 14 天或 21

天後肝臟和腎臟念珠菌菌落數量相當，因此推論念珠菌在感染的後期會通過肝臟傳播到腎臟。*C. albicans* 和 *C. tropicalis* 的小鼠比感染 *C. glabrata*、*C. parapsilosis*、*C. krusei* 和 *C. guilliermondii* 的小鼠有更高的死亡率。*C. albicans* 感染的存活時間在六種念珠菌中最短。感染後第 9 天，小鼠的腸黏膜和肝組織可以偵測到 *C. albicans*，並引起組織明顯的壞死。因為在這感染期間，腎臟並沒有偵測到此菌，作者推論小鼠是死於腸道壞死。*C. albicans* 被認為是最具致病性的念珠菌物種，這與我們目前從靜脈內 (intravenous injection model) 和易位 (translocation model) 小鼠模型獲得的結果一致。而 *C. tropicalis* 也會侵入腸道的肌肉層。但是，與 *C. albicans* 不同，它對周圍組織的傷害較小。因為感染後 14 天，從小鼠的肝臟，腎臟和血液中可以分離出大量 *C. tropicalis*。作者推論小鼠是死於此菌所引起的菌血症，對於毒性較低的念珠菌存活率的毒力評估無法適用，需評估黴菌對器官負擔情形。

在毒性較低的物種中，感染後第 14 天時可在肝臟及腎臟測得 *C. krusei* 菌叢數很明顯的高於 *C. guilliermondii*，顯示其造成器官負擔較大。感染後 21 天 *C. glabrata* 和 *C. krusei* 在肝臟及腎臟所測得的菌叢數，很明顯的高於 *C. guilliermondii*，故此時 *C. glabrata* 和 *C. krusei* 造成器官較大的負擔。*C. parapsilosis* 僅以

酵母 (yeast) 形式存在，並於感染後 21 天在結腸的腸黏膜中發現，但其並未侵入黏膜肌層。*C. guilliermondii* 即使感染後 21 天，在任何小鼠腸黏膜，肝臟或腎臟中均未被鑑定到。整體而言，該模型允許分析個體小鼠中念珠菌菌株的毒性特徵，包括腸道移生、腸道黏膜移生、血管侵入以及隨後的傳播，從而導致致命感染。

【譯者評】 小鼠是最常用於探討念珠菌致病機轉的動物模式，實驗方法分成透過尾靜脈直接注射的血液感染與透過口腔或消化道黏膜感染。作者發展了此動物模式，雖然還是無法避免過程繁瑣及花費昂貴，但卻提供了我們瞭解並分析不同念珠菌種間致病機制與其毒性的異同處，及未來研究念珠菌在腸道中引起免疫反應的小鼠模式。當然，我們還是要特別謹慎斟酌，在感染念珠菌前的小鼠處

理，雖然讓作者成功執行研究目的，但這小鼠模式有幾成能完全推估呈現人體感染時的情形，還需要持續比較與分析。

參考文獻

1. Hirayama T, Miyazaki T, Ito Y, et al: Virulence Assessment of Six Major Pathogenic Candida Species in the Mouse Model of Invasive Candidiasis Caused by Fungal Translocation. *Sci Rep* 2020;10:3814.
2. Nucci M, Anaissie E: Revisiting the source of candidemia: skin or gut? *Clin Infect Dis* 2001;33:1959-67.
3. Naglik JR, Fidel PL, Odds FC: Animal models of mucosal Candida infection. *FEMS Microbiol lett* 2008;283:129-39.
4. Krcmery V, Barnesz AJ: Non-albicans Candida spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect* 2002;50:243-60.
5. 衛生福利部疾病管制署 (2010~2018)。傳染病監視年報-院內感染監視通報系統。摘自 <https://www.cdc.gov.tw/Category/MPage/4G8HuDdUN1k4xaBJhbPzKQ>