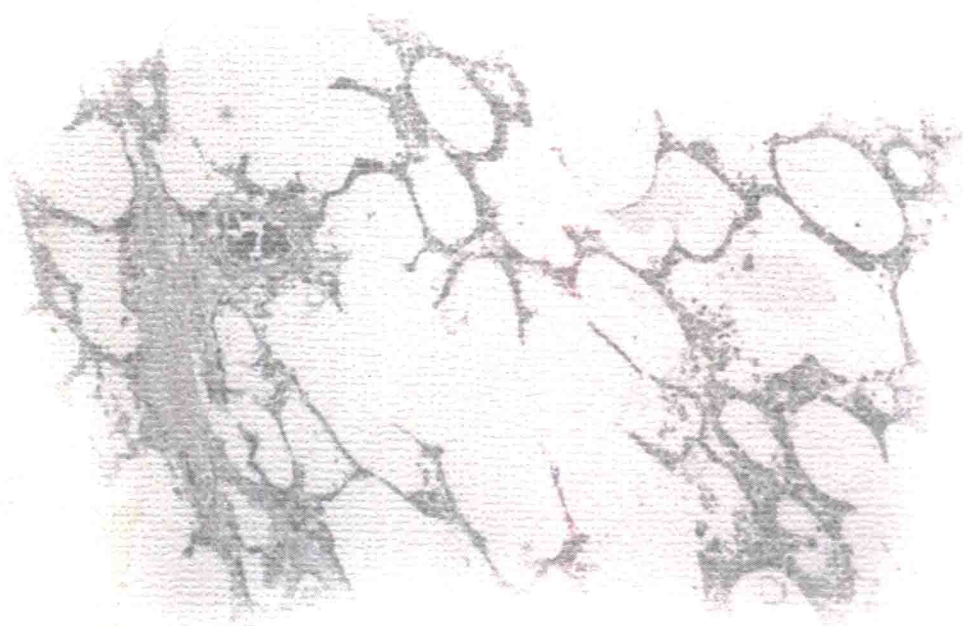


中国科协三峡科技出版资助计划

肺孢子菌肺炎 诊断与治疗

阴赅宏 主编



中国科学技术出版社
CHINA SCIENCE AND TECHNOLOGY PRESS

中国科协三峡科技出版资助计划

肺孢子菌肺炎 诊断与治疗

阴赅宏 主编

中国科学技术出版社

· 北 京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

肺孢子菌肺炎诊断与治疗 / 阴赅宏主编. —北京: 中国科学技术出版社, 2012. 12
(中国科协三峡科技出版资助计划)
ISBN 978 - 7 - 5046 - 6267 - 5

I. ①肺… II. ①阴… III. ①肺炎 - 诊疗 IV. ①R563. 1
中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 306615 号

总 策 划	沈爱民 林初学 刘兴平 孙志禹	责任编辑	史若晗 王 丽
项 目 策 划	杨书宣 赵崇海	责任校对	孟华英
出 版 人	苏 青	印刷监制	李春利
编辑组组长	吕建华 许 英 赵 晖	责任印制	张建农

出 版 中国科学技术出版社
发 行 科学普及出版社发行部
地 址 北京市海淀区中关村南大街 16 号
邮 编 100081
发行电话 010 - 62103349
传 真 010 - 62103166
网 址 <http://www.cspbooks.com.cn>

开 本 787mm × 1092mm 1/16
字 数 170 千字
印 张 8
版 次 2013 年 7 月第 1 版
印 次 2013 年 7 月第 1 次印刷
印 刷 北京华联印刷有限公司

书 号 ISBN 978 - 7 - 5046 - 6267 - 5/R · 1649
定 价 35.00 元

(凡购买本社图书, 如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责调换)

总序

科技是人类智慧的伟大结晶，创新是文明进步的不竭动力。当今世界，科技日益深入影响经济社会发展和人们日常生活，科技创新发展水平深刻反映着一个国家的综合国力和核心竞争力。面对新形势、新要求，我们必须牢牢把握新的科技革命和产业变革机遇，大力实施科教兴国战略和人才强国战略，全面提高自主创新能力。

科技著作是科研成果和自主创新能力的重要体现形式。纵观世界科技发展历史，高水平学术论著的出版常常成为科技进步和科技创新的重要里程碑。1543年，哥白尼的《天体运行论》在他逝世前夕出版，标志着人类在宇宙认识论上的一次革命，新的科学思想得以传遍欧洲，科学革命的序幕由此拉开。1687年，牛顿的代表作《自然哲学的数学原理》问世，在物理学、数学、天文学和哲学等领域产生巨大影响，标志着牛顿力学三大定律和万有引力定律的诞生。1789年，拉瓦锡出版了他的划时代名著《化学纲要》，为使化学确立为一门真正独立的学科奠定了基础，标志着化学新纪元的开端。1873年，麦克斯韦出版的《论电和磁》标志着电磁场理论的创立，该理论将电学、磁学、光学统一起来，成为19世纪物理学发展的最光辉成果。

这些伟大的学术论著凝聚着科学巨匠们的伟大科学思想，标志着不同时代科学技术的革命性进展，成为支撑相应学科发展宽厚、坚实的奠基石。放眼全球，科技论著的出版数量和质量，集中体现了各国科技工作者的原始创新能力，一个国家但凡拥有强大的自主创新能力，无一例外也反映到其出版的科技论著数量、质量和影响力上。出版高水平、高质量的学术著

作，成为科技工作者的奋斗目标和出版工作者的不懈追求。

中国科学技术协会是中国科技工作者的群众组织，是党和政府联系科技工作者的桥梁和纽带，在组织开展学术交流、科学普及、人才举荐、决策咨询等方面，具有独特的学科智力优势和组织网络优势。中国长江三峡集团公司是中国特大型国有独资企业，是推动我国经济发展、社会进步、民生改善、科技创新和国家安全的重要力量。2011年12月，中国科学技术协会和中国长江三峡集团公司签订战略合作协议，联合设立“中国科协三峡科技出版资助计划”，资助全国从事基础研究、应用基础研究或技术开发、改造和产品研发的科技工作者出版高水平的科技学术著作，并向45岁以下青年科技工作者、中国青年科技奖获得者和全国百篇优秀博士论文获得者倾斜，重点资助科技人员出版首部学术专著。

我由衷地希望，“中国科协三峡科技出版资助计划”的实施，对更好地聚集原创科研成果，推动国家科技创新和学科发展，促进科技工作者学术成长，繁荣科技出版，打造中国科学技术出版社学术出版品牌，产生积极的、重要的作用。

是为序。

中国长江三峡集团公司董事长



2012年12月

编写人员名单

主 编 阴赓宏

副主编 刁宗礼 齐海宇

编 者

常 涛 (新疆医科大学附属第六医院)

陈宝敏 (首都医科大学附属北京地坛医院)

崔 红 (首都医科大学附属北京友谊医院)

刁宗礼 (首都医科大学附属北京友谊医院)

黄敏君 (首都医科大学附属北京友谊医院)

李晶铃 (北京海淀医院)

李小丽 (首都医科大学附属北京友谊医院)

李兴旺 (首都医科大学附属北京地坛医院)

刘瑞霞 (首都医科大学附属北京友谊医院)

路 琴 (北京市老年医院)

马素霞 (北京市石景山医院)

齐海宇 (首都医科大学附属北京友谊医院)

孙芳芳 (西安市第五医院)

孙 岚 (首都医科大学附属北京友谊医院)

王 超 (首都医科大学附属北京友谊医院)

王 红 (首都医科大学附属北京友谊医院)

王 欢 (首都医科大学附属北京友谊医院)

王建成 (首都医科大学附属北京友谊医院)

王 婧 (首都医科大学附属北京友谊医院)

王 艳（首都医科大学附属北京友谊医院）

王 昭（首都医科大学附属北京友谊医院）

文 艳（首都医科大学附属北京友谊医院）

肖红丽（首都医科大学附属北京友谊医院）

衣恩通（首都医科大学附属北京友谊医院）

阴赅宏（首都医科大学附属北京友谊医院）

郑晓燕（首都医科大学附属北京友谊医院）

序 一

肺孢子菌肺炎（PCP）常见于因肿瘤放化疗、器官及骨髓移植、高龄、先天或获得性免疫缺陷、HIV 感染及因各种疾病而接受免疫抑制药造成免疫功能低下的人群。近年来我国发生 PCP 的高危人群日趋扩大，临床患者日益增多，它所涉及的健康问题已很严重，但很多临床医师对这种疾病并不熟悉。如何预防和控制 PCP 的发生受到了很大关注。

尽管在使用高效抗逆转录病毒疗法（HAART）及对 PCP 预防性用药后，PCP 的发生率已明显下降，但 PCP 仍是我国艾滋病患者常见的机会性真菌感染。随着近年器官移植和免疫抑制药物的广泛应用，使移植术后 PCP 患者明显增加，如未能早期诊断和及时治疗，发生 PCP 后病情迅速恶化，易发生急性呼吸窘迫综合征（ARDS），并发多重感染，病死率高。而肾移植、肺移植患者积极预防 PCP 后，可明显减少患者的死亡，保证移植成功率。因此，如能掌握针对 PCP 的有效治疗方法，及时诊断和治疗，那么预后将是满意的。

《肺孢子菌肺炎诊断与治疗》一书内容充实，既有理论价值和教学参考价值，又有临床实用价值。本书介绍了肺孢子菌肺炎的病原、病理、临床表现、诊断、治疗等，内容源于编者的研究和临床实践经验，并结合国内外最新研究进展，将有利于增加临床医护人员、患者及其家属对本病的了解，有利于 PCP 诊疗水平的提高。因此，既可以使读者了解 PCP，又可以有效地指导临床实践，是为该书的主要特点。

本书即将付梓，乐为之序。

首都医科大学附属北京友谊医院 教授 主任医师



序 二

肺孢子菌肺炎（PCP）是一种由肺孢子菌引起的呼吸系统机会性感染。鉴于目前艾滋病进入高发期，肿瘤放化疗、器官及骨髓移植等技术的广泛应用，其发病率在我国不断增加，其危害性受到关注，PCP 已成为越来越重要的临床问题。

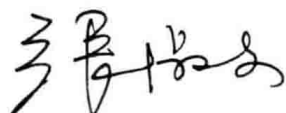
然而，国内目前尚无 PCP 的专著出版，有关 PCP 的著述多见于《感染病学》、《传染病学》等学术著作中，因此，出版有关的 PCP 医学专著已迫在眉睫，本书的出版具有重要的学术价值和社会价值。

《肺孢子菌肺炎诊断和治疗》的编者从事感染性疾病的临床与基础研究多年，积累了丰富的临床和实践经验，为了适应临床需要，根据实践经验，结合国内外最新研究进展编著成书，反映了 PCP 诊治的最新动态，内容涉及 PCP 的基础与临床，是一本高质量的学术著作，具有较高的理论价值和应用价值。

本书的出版，将填补 PCP 相关学术著作的空白，不仅可供临床医师应用参考，还有利于加深普通读者对肺孢子菌肺炎的认识和了解，将对我国 PCP 诊治水平的提高起到积极的促进作用。

在本书即将出版之际，有幸拜读，愿为之序。

首都医科大学附属北京友谊医院 教授 主任医师



前 言

肺孢子菌肺炎（PCP）是一种常见的呼吸系统机会性感染，多见于因肿瘤放化疗、器官及骨髓移植、高龄、先天或获得性免疫缺陷（如 HIV 感染）及因各种疾病而接受免疫抑制药造成免疫功能低下的人群。

近年来，随着我国人口老龄化进程加速，HIV 感染的不断增加，器官移植的普及，以及肿瘤放化疗人数的增多，发生 PCP 的高危人群日趋扩大，临床 PCP 患者日益增多，常导致患者死亡，因此，PCP 已成为严重的健康问题。如何预防和控制 PCP 的发生受到了更大的关注。然而，目前很多医护人员对 PCP 的临床表现、诊断、治疗、护理尚缺乏系统的了解，因此，加强 PCP 相关知识的介绍和教育显得非常必要。

《肺孢子菌肺炎诊断和治疗》一书分为上、中、下三篇，详细介绍了 PCP 的病原学、流行病学、病理学、诊断学、治疗学、护理学、实验诊断技术等内容，为 PCP 的临床诊治提供了专业指导，有利于 PCP 的早期发现、早期治疗，提高治愈率，节省医疗资源，减轻患者负担。

《肺孢子菌肺炎诊断与治疗》的编写充分反映我国 PCP 诊疗水平，填补国内该领域的空白。适于从事呼吸内科、感染内科、老年内科、血液内科、肿瘤内科、风湿内科以及从事肾移植、肝移植、肺移植的医护人员，也可供艾滋病防治专业人员、大专院校和科研院所从事病原生物学教学、科研人员及研究生参考使用。

在本书的编写过程中，首都医科大学附属北京友谊医院的王宝恩教授和张淑文教授百忙之中为本书作序，郭增柱研究员做了大量的前期工作，在此一并表示感谢。

限于编者水平，虽几易其稿，但疏漏之处仍在所难免，望同道及广大读者予以斧正。

首都医科大学附属北京友谊医院 教授 主任医师



目 录

总 序	曹广晶
第 1 章 病原学	1
1.1 发现史	1
1.2 肺孢子菌命名	2
1.3 肺孢子菌细胞结构	3
1.4 表面抗原	6
1.5 传染性	8
第 2 章 病理学	12
2.1 致病机制	12
2.2 病理	22
第 3 章 流行病学	27
3.1 流行概况	27
3.2 传染源	29
3.3 传播途径	31
3.4 易感人群	34
第 4 章 临床表现	36
第 5 章 实验室及其他检查	40
5.1 病原学诊断	40
5.2 分子生物学诊断	47
5.3 胸部 X 线及 CT 检查	53
5.4 血清学诊断及其他实验室检查	54

第 6 章 诊断及鉴别诊断 57

6.1 诊断依据 57

6.2 鉴别诊断 59

第 7 章 治疗学 61

7.1 药物治疗 61

7.2 免疫治疗 67

7.3 其他治疗 69

第 8 章 各种原发疾病合并肺孢子菌肺炎的处理 72

8.1 艾滋病合并肺孢子菌肺炎 72

8.2 白血病合并肺孢子菌肺炎 78

8.3 骨髓移植合并肺孢子菌肺炎 83

8.4 老年病合并肺孢子菌肺炎 89

第 9 章 护理学 104

9.1 艾滋病合并肺孢子菌肺炎的护理 104

9.2 肾移植术后肺孢子菌肺炎的护理 108

9.3 系统性红斑狼疮合并肺孢子菌肺炎的护理 109

9.4 慢性阻塞性肺疾病合并肺孢子菌肺炎的护理 111

9.5 淋巴瘤化疗后 PCP 的护理 112

1.2 肺孢子菌命名

1912 年 Dolanoe 确认肺孢子菌为不同于锥虫的新物种后, 将其命名为肺孢子虫, 为表示对 Carini 的敬意, 将来源于大鼠的肺孢子虫命名为卡氏肺孢子虫。此后的 70 余年里, 肺孢子虫一直被认为是一种原虫。命名的主要依据: ①生活史类似原虫, 包括四个阶段, 即滋养体、包囊前期、包囊和子孢子; ②形态特征与原虫相似, 其膜结构与疟原虫相似, 微管的超微结构也与孢子虫的特征相吻合, 滋养体具有类似原虫的伪足结构及其活动方式; ③在真菌培养基上不能生长; ④虫体的胞膜上富含胆固醇, 而不是真菌胞膜上的麦角固醇; ⑤对抗真菌药物两性霉素 B 和酮康唑不敏感, 而对抗原虫药物如 TMP-SMZ 和戊脒敏感。但原虫假设也存在争议, 1970 年, 发现肺孢子虫存在真菌类似的形态结构。此外, TMP-SMZ 可阻断真菌和原虫生物学合成途径, 故难以作为鉴别依据。1988 年 Edman 等对鼠源肺孢子虫 18S 核糖体 RNA (rRNA) 进行基因测序, 发现与原虫相比, 其序列与酿酒酵母菌 18S rRNA 基因同源性更高。1992 年 Van de Peer 将大鼠源肺孢子虫的 16S rRNA 序列与 38 种真菌 16S rRNA 序列进行比较后, 也证实其属于真菌。18S rRNA 被广泛用来研究微生物间在进化上的亲缘关系, 大鼠源肺孢子虫与酿酒酵母菌、白色念珠菌、新型隐球菌在 18S rRNA 上的相似性远大于其与蓝氏贾第虫及弓形虫的相似性。从基因所表达的产物来看, Ypmawong 等认为延长因子-3 (elongation factor-3, EF-3) 目前仅存在于真菌中, 是种系发生的最有力依据之一, 实验证实了大鼠源 PC 的 EF-3 基因蛋白产物与酿酒酵母菌具有 57% 的序列同源性。Banerji 等证明 PC 的 Arom 基因编码的蛋白与所有已知真菌 Arom 蛋白高度同源。PC 囊壁中弹性硬蛋白酶、 β -葡聚糖成分以及其他系列蛋白, 如 β -微管蛋白、转译因子 HD、P 型阳离子转移 ATP 酶等均与真菌具有相似性。这些结果从基因水平和蛋白质水平都支持肺孢子虫归属于真菌的学说, 并就此更名为肺孢子菌。

1999 年, Frenkel 提出用二项式命名法来重新命名肺孢子菌, 感染人的肺孢子菌称为耶氏肺孢子菌 (*Pneumocystis jiroveci*, PJ), 以纪念最早研究人肺孢子菌的捷克科学家 Otto Jiroveci, 而感染大鼠的肺孢子菌称为卡氏肺孢子菌 (*Pneumocystis carinii*, PC)。2001 年在美国俄亥俄州召开的机会性原生生物国际研讨会上, 此种命名得到与会专家的一致认可。故感染人的肺孢子菌应称为耶氏肺孢子菌 (PJ), 感染大鼠的肺孢子菌为卡氏肺孢子菌 (PC), 肺孢子虫肺炎为肺孢子菌肺炎 (*Pneumocystis pneumonia*, PCP)。

但是, 对肺孢子菌属于真菌中的分类地位也有不同看法, 有的把肺孢子菌归类为一种不典型真菌, 在进化树上位于子囊菌门和担子菌门之间的一个分支。在应用系统进化分析方法进行比较时发现, 肺孢子菌与壶菌门、接合菌门或担子菌门生物相似性较差, 而与子囊菌门的酿酒酵母菌同源性较高。Tehler 等对 1551 种真菌核糖体基因序

列分析后明确了肺孢子菌属于子囊菌门。肌动蛋白、 β -微管蛋白和钙调素是生物进化中最保守的一类蛋白质，燕安等应用以上蛋白对肺孢子菌构建系统进化树时发现肺孢子菌应属于子囊菌门属的早期分支古子囊菌 (*Archiascomycetes*) 范畴。Sugiyama 也支持以上的观点，并且在以 Hibbett 为首的一个小组的共同努力下对所有真菌进行系统性分类，肺孢子菌在真菌系统中的位置如下：

子囊菌门 (*Ascomycota*)

外囊菌亚门 (*Taphrinomycotina*)

肺孢子菌纲 (*Pneumocystidomycetes*)

肺孢子菌目 (*Pneumocystidales*)

肺孢子菌科 (*Pneumocystidaceae*)

肺孢子菌 (*Pneumocystis*)

1.3 肺孢子菌细胞结构

随着透射电子显微镜和细胞化学染色技术的发展以及三维重建技术的应用，对肺孢子菌的细胞结构的认识取得较大进展。高渗固定剂和适宜的清洗液对获得适用于透射电子显微镜的保存完好的肺孢子菌胞浆结构至关重要。此外，通过体外培养和在高度可重复的 PCP 动物模型体内观察，可获得有关肺孢子菌与肺泡上皮细胞的关系，或肺孢子菌与肺部表面活性物质相互作用的信息资料。从总体上看，肺孢子菌属细胞水平上的基本特性显示该微生物构成一个属于不典型真菌的新生物群体，为基础生物学研究开创了一个新领域。

1.3.1 光学显微镜下形态结构

采用光学显微镜或免疫荧光法通常可从支气管灌洗液 (broncho-alveolar lavage fluid, BALF) 或诱导痰液标本检测到人源性肺孢子菌。寄生虫，特别是成熟包囊应首先选用相差显微镜或 Nomarski 干涉显微镜鉴定。然而，最近多数研究人员多采用空气干燥涂片经 TBO、GMS 或甲醇-吉姆萨染色后检测该微生物。TBO、甲酚紫和 GMS 对肺孢子菌囊壁成分具有较好的亲和力。因此，TBO 可将包囊形态 (如中后期包囊母细胞和成熟包囊) 的细胞壁染成紫红色。GMS 则可将囊壁染成蓝黑色，囊内出现核状物及括弧样特征性结构，背景不着色，对比度佳，菌体易于观察。通过透射电子显微镜，可清楚看到银颗粒沉积于囊壁富含葡聚糖的电子透明中间层内，相反聚集于滋养体电子致密的单层细胞壁内的银颗粒则很少。

TBO 和 GMS 染色，即使是低倍镜条件下，也有利于临床标本和实验性标本肺孢子菌快速检测。然而，这些染料也可使酵母菌和其他真菌的细胞壁着色。因此，鉴定肺

孢子菌的最好方法是对同一份标本涂片后分别采用 TBO（或 GMS）与甲酚紫染色。实际上，甲酚紫染色（或其他类似吉姆萨染色的全染法）一方面可将肺孢子菌与其他微生物区分开，另一方面可鉴定肺孢子菌的不同生活周期阶段。

1.3.2 透射电子显微镜下形态结构

自 20 世纪 70 年代以来，许多学者采用透射电子显微镜对肺孢子菌进行观察。处于肺孢子菌生活周期的无性繁殖阶段的滋养体和早期包囊的细胞壁较薄，只含有一层电子致密层。滋养体形态多不规则，直径 $4 \sim 8\mu\text{m}$ ，内含 1 个较大的细胞核，核膜较厚，核孔数量多且明显，核内为大量电子密度较高的颗粒，细胞质内有 1 个线粒体和较多的粗面内质网。滋养体表膜伸出指状或丝状伪足，与肺泡上皮细胞紧密粘连，鼠源性肺孢子菌伪足丰富并且细长，呈树状分支；直径为 $1 \sim 2\mu\text{m}$ 的最小滋养体呈圆形或椭圆形。肺孢子菌包囊呈圆形或椭圆形，直径 $4 \sim 7\mu\text{m}$ ，胞壁较厚，分为 3 层，内外层电子密度高，中层厚，电子密度低。包囊表面粗糙，乏伪足。包囊内含 $2 \sim 8$ 个囊内小体，成熟包囊内含 8 个囊内小体，散在排列，有的沿囊壁排成一圈。囊内小体直径 $1 \sim 2\mu\text{m}$ ，每个小体含 1 个线粒体和 1 个核仁，囊内小体表膜厚，其上附着电子密度高的粗大颗粒。刚逸出的囊内小体表膜也见类似结构。囊内小体都逸出的包囊呈椭圆形，内含月牙形的致密条带。

1.3.3 生活史

目前对肺孢子菌生活史的了解仅局限于寄生于感染宿主的肺部阶段。肺孢子菌生活史目前尚不明确的包括：①感染性病原体怎样从空气中进入呼吸道；②从上呼吸道移行至下呼吸道的途径；③病原体从肺部排出体外的机制。有关肺孢子菌生活史的假设均基于透射电子显微镜形态学观察和三维重建技术以及分子生物学资料。研究人员勾勒出不同肺孢子菌在宿主体内的无性和有性繁殖生活史假设。由于缺乏有效的体外培养方法，难以对肺孢子菌不同发育阶段进行细致鉴别，目前尚不能对肺孢子菌生活史的假设进行有效验证。一般认为滋养体、包囊和成熟包囊是与肺孢子菌生活史相关的三种基本形态。根据透射电子显微镜资料，肺孢子菌生活史包括薄壁单核假定生长体或滋养体，滋养体转变成厚壁包囊期（包囊或孢子），在包囊内经过多次核分裂形成 8 个孢子。这些孢子可通过成熟包囊厚壁上的预先形成的小孔逸出，特异性地黏附于 I 型肺泡上皮细胞，然后发育成包囊期。多数研究人员认为滋养体可通过二分裂方式繁殖。

从滋养体向成熟包囊转化过程可能需要经历三个连续的孢子母细胞形态：①早期孢子母细胞：球形、体积较大，单核，具有类似滋养体的低电子密度细胞壁。该期细胞核内可观察到联会复合体，提示存在有丝分裂，即为有性周期。②中期孢子母细胞：

多核(2~8个),具有类似孢囊期的较厚的双层细胞壁,即在电子致密层中存在电子透明层。③后期孢子母细胞:内含8个细胞核,厚壁,含有尚未完全分开的可辨认的孢子。

后期孢子母细胞的细胞膜的内陷包裹于细胞核则形成孢子。每一个单核孢子具有单一的密集线粒体,一个发育良好的粗面或滑面内质网和一个单层电子致密的细胞壁,细胞壁外衬有外表细胞膜。

直至目前,肺孢子菌的不同生活阶段仍然沿用原虫学术语进行命名。目前,考虑到肺孢子菌与子囊菌的密切种系关系,建议采用适用于真菌发育阶段的术语对肺孢子菌发育阶段重新命名。用这种方法,包囊应命名为子囊。因此,由于多数成熟子囊含有8个子孢子,该术语可用于命名肺孢子菌包囊中的8个孢子。

1.3.4 细胞分裂

有关肺孢子菌的核分裂显微照片十分匮乏。有关典型的微管纺锤体资料目前仅限于肺孢子菌早期孢子母细胞或其他孢子母细胞形态。尽管透射电镜显微照片显示滋养体存在二分裂繁殖方式,但难以对可获得的已出版的影像资料进行解释。主要问题来源于下列事实:高度不规则,多态性的滋养体形态难以区分初级孢子母细胞和滋养体形态,难以鉴别二分裂和孢子间的结合状态。滋养体的不规则形态阻碍了研究者在观察滋养体超薄切片时对胞浆甚或胞核缢痕的判断,而出现缢痕是二分裂的重要标识。此外,难以判断所观察到的细胞是一个圆形滋养体而非初级孢母细胞(其内细胞核分裂发育成成熟包囊而不通过二分裂繁殖)。

从另一种角度来看,缺乏滋养体分裂的有力证据主要原因为:发生频率低、分裂速度快或实际上不存在滋养体二分裂繁殖形式。滋养体繁殖低频率假设与通常情况下滋养体在感染宿主肺部占肺孢子菌总数95%以上的事实相矛盾。此外,目前的光学和电子显微镜观察结果显示肺孢子菌的繁殖不是同步的,也就是说在特定时期,不同的肺孢子菌形态共存于肺泡或组合中。因此,如果存在二分裂形式,应该不难被观察到。

如果滋养体不分裂,在易感宿主肺部观察到的高数量级的肺孢子菌应该全部由包囊发育而来。为了对这一重要问题进行进一步探索,有研究人员对经体外饲养细胞和鼠源性肺孢子菌无菌短期培养物内的不同发育阶段的肺孢子菌的组成进行研究。对每一发育阶段的动力学进行研究以确定生长是由滋养体还是包囊繁殖而致,抑或两者兼而有之。在饲养细胞或无菌培养物内,可观察到含有子孢子的包囊或空包囊数量增加,表明包囊是肺孢子菌生长形式。实际上,空包囊数量的增长显示滋养体形态由含有子孢子的包囊发育而成。同理,含有子孢子的包囊数量增加则显示滋养体可发育成含有子孢子的包囊。因此可以断定在上述2个培养体系中,滋养体由包囊发育而成。采用肺孢子菌-A549肺泡上皮细胞培养体系,Cushion等发现体外培养时可出现脱包囊现象,

但他们在对不同发育阶段肺孢子菌分别计数的基础上,认为肺孢子菌生长主要通过滋养体二分裂形式实现。

滋养体能否通过滋养体分裂而产生一直存在疑问,假定滋养体不分裂,所有的滋养体均由包囊发育而成。实际上,每一次含子孢子包囊及成熟包囊变成空包囊时,释放出8个滋养体。在这种情况下,空包囊/滋养体生长动力学曲线应该为一条斜率为8的直线。在鼠源性 L2 类肺上皮细胞培养体系(ATCC CCL149),曲线斜率为8.08,提示一个滋养体发育成包囊后可产生8个滋养体。在无菌条件下,曲线斜率为10.2,表明滋养体主要由包囊发育而成,但某种形式的滋养体分裂也是肺孢子菌生长形式。肺孢子菌感染对棘球白素(β -1,3 葡聚糖合成酶抑制物)或粪壳菌素(真菌蛋白合成系统抑制物)的治疗反应进一步支持了有关肺孢子菌生长主要或完全由于包囊发育而非滋养体二分裂所致的假设。实际上,给予治疗剂量的棘球白素(L-671, 329)可选择性地消除感染大鼠肺部肺孢子菌包囊。而低水平的、预防剂量的该种药物,则可阻止滋养体形成。鉴于药物并不能直接对包囊或滋养体产生影响,研究人员认为包囊形态对滋养体的形成必不可少。同样,部分具有高度抗肺孢子菌活性的粪壳菌素衍生物,在实验性大鼠 PCP 模型中表现出对包囊的选择性敏感。实际上,有关肺孢子菌不同发育阶段对其生长的作用需要进一步研究,因为其不仅涉及肺孢子菌的基本生物学特性重要问题,也是了解抗肺孢子菌药物作用机制的重要问题。

1.4 表面抗原

由于肺孢子菌对营养条件要求很高,仅能在宿主肺部环境中大量生长,因此研究者虽然可以从肺孢子菌直接获得表面抗原,但受限于病原体的数量和质量。至今尚无有效的培养系统。然而,随着生物化学的进展,研究者可以分离出编码肺孢子菌表面抗原蛋白的基因,克隆该基因获得首个肺孢子菌主要表面抗原的蛋白序列。随之发现,此基因正是能生成表面抗原变异基因家族的一员。肺孢子菌是首个被发现具有这种基因家族的真菌。此基因家族编码的表面抗原拥有不同的命名,但最常用的名称是主要表面糖蛋白(major surface glycoprotein, MSG)或是糖蛋白 A(glycoprotein A, gpA),简称为 MSG。MSG 是研究最多的肺孢子菌抗原,研究者已通过来自大鼠的卡氏肺孢子菌详细研究了 MSG 基因家族的结构和功能。

1.4.1 表面抗原的识别

通过化学修饰研究首次识别出黏附在肺孢子菌表面可以被宿主免疫系统识别的分子。同时,通过变性聚丙烯酰胺凝胶电泳得到表面蛋白的条带,用蛋白酶、去糖基化酶、凝集素处理后得到条带中所含物质的特征。随后的工作中使用了抗体同时结合物