

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.01390

致病真菌凋亡机制的研究进展

戴宝娣², 曹颖瑛¹, 徐勇刚¹, 高平挥¹, 王彦¹, 姜远英^{1,2*}

- 1. 第二军医大学药学院药理学教研室, 上海 200433
- 2. 沈阳药科大学药理学教研室, 沈阳 110016

[摘要] 随着耐药致病真菌的临床检出率不断攀升,其死亡机制的探讨也成为了热点。致病真菌的凋亡是由许多信号通路、调节因子和效应物质组成的复杂网络。致病真菌的凋亡与真菌的自体吞噬、线粒体凋亡通路、内源性和外源性因素的变化等密切相关。凋亡通路作为抗真菌药物研究的新靶点,其临床意义十分重大。因此,本文对致病真菌凋亡通路做一综述。

[关键词] 致病真菌;细胞凋亡;信号通路

[中图分类号] R 379 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)11-1390-05

Apoptotic mechanism of *Pathogenic fungi*: recent progress

DAI Bao-di², CAO Ying-ying¹, XU Yong-gang¹, GAO Ping-hui¹, WANG Yan¹, JIANG Yuan-ying^{1,2*}

- 1. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
- 2. Department of Pharmacology, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 010016

[ABSTRACT] Apoptotic mechanism of *Pathogenic fungi* has become a focus of study due to the worsening situation of clinical drug resistance in fungi. Apoptosis of *Pathogenic fungi* is a complicated network involving many pathways, regulators and effectors. Besides, it is closely related to the autophagy, mitochondrial apoptotic pathways, and changes of endogenous and exogenous factors. As a new target of antifungal agent, apoptotic pathways are of great clinical importance. This paper reviews the apoptotic pathways of *Pathogenic fungi*.

[KEY WORDS] *Pathogenic fungi*; apoptosis; signal pathways

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(11):1390-1394]

细胞凋亡 (apoptosis) 也叫程序化细胞死亡 (programmed cell death, PCD), 是细胞普遍存在的一种特征, 科学家们认为, 以细胞凋亡为研究手段, 可进一步探讨和揭示疾病的发生机制, 寻找新的治疗药物和方法。

1 人类临床疾病相关的致病真菌

目前为止, 人类已经发现了许多致病真菌(表 1), 它们可以导致许多临床疾病, 比如: 股癣、体癣、手足癣、发甲癣、鹅口疮、阴道炎、皮肤病、气管炎、肺炎等。近几十年来, 随着艾滋病患者增多, 临床上对癌症患者、器官和骨髓移植患者大量应用化疗药物、广谱抗生素和免疫抑制剂, 深部真菌感染呈明显上升趋势^[1-2]。深部真菌感染已成为一种常见病、多发病, 并已逐渐成为免疫功能受损患者死亡的主要原因之一^[3-4]。此外, 一些植物致病真菌也给人们生产生活带来极大困扰(表 2), 它们损毁农作物导致粮食减产^[5-7]。

威胁人类健康的致病真菌主要是真菌, 其可以根据环境和条件的不同, 发生酵母形态、假菌丝形态、菌丝形态的转

换, 伴随着形态转换其致病毒力也随之增强。多种形态的致病真菌中, 致病性较强的是白念珠菌和它的近亲们(都柏林念珠菌、克鲁斯念珠菌、近平滑念珠菌、热带念珠菌), 以及与其亲缘关系较远的光滑念珠菌。其他一些威胁人类疾病的致病真菌还有烟曲霉菌、新型隐球菌和马尼弗青霉菌等。其中, 白念珠菌作为临床最常见的致病真菌, 其感染比例占感染病例的 50%~60%, 因此, 它也成为了研究病原性、毒力和真菌分子遗传学的典型真菌。

2 致病真菌凋亡机制研究

致病真菌虽然仅占真菌家族的一小部分, 但是其危害却十分严重, 临床耐药菌检出率的逐年上升也引起了人们极大的关注。真菌的凋亡与哺乳动物的凋亡有着很多相似之处, 例如: 细胞的自我吞噬 (autophagy)、线粒体功能丧失引发凋亡、药物作用和环境刺激诱发细胞凋亡等。随着分子生物学手段的日趋成熟完善, 对真菌凋亡的信号通路的研究有了新的进展。

[收稿日期] 2008-04-30 **[接受日期]** 2008-09-10

[基金项目] 国家自然科学基金(30630071, 30870105). Supported by National Natural Science Foundation of China(30630071, 30870105).

[作者简介] 戴宝娣, 博士生。

* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 021-25070371, E-mail: jiangyuanying@126.com

表 1 临床主要致病真菌及引发病症

Tab 1 *Pathogenic fungi associated with human diseases*

Name	Genara	Infection	Caused diseases
<i>Trichophyton rubrum</i>	Trichophyton	Skin, nail, hairs	Tinea cruris, tinea corporis, tinea of feet and hands, tinea unguium
<i>Microsporum ferrugineum</i>	Microsporum	Skin	Tinea unguium, tinea corporis
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Aspergillus	Lung	Pulmonary aspergillosis
<i>Penicillium marneffi</i>	Penicillium	Lung, liver, intestine, lymph, kidney, skin	Penicilliosis
<i>Mucor racemosus</i>	Mucor	Nose, lung, brain	Mucormycosis
<i>Candida albicans</i>	Candida	Skin, lung	Thrush, coelitis, dermatosis, tracheitis, pneumonia, endocarditis
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Cryptococcus	Lung, skeleton, skin, lymph node, and central nervous system	Cryptococcosis, cryptococcal meningitis

表 2 植物相关的一些致病菌及引发病症

Tab 2 *Pathogenic fungi associated with plants*

Name	Genara	Infection	Caused diseases
<i>Magnaporthe grisea</i>	Magnaporthe	Plants(rice)	Rice blast disease
<i>Tilletia indica</i>	Tilletia	Plants	Karnal bunt
<i>Puccinia kuehni</i>	Puccinia	Plants	Sugar cane orange rust
<i>Cryphonectria parasitica</i>	Cryphonectria	Plants	Chestnut blight
<i>Ophiostoma spp.</i>	Ophiostoma	Plants	Dutch elm disease

2.1 真菌的凋亡与自体吞噬 自体吞噬对于维持细胞活性、分化、生长是一个很重要的过程,同时也是细胞凋亡的机制之一^[8]。真菌的凋亡通路与哺乳动物有很多相似之处,但也有着些许差别。真菌 UTH1 基因参与 Bax 介导的细胞死亡,同时与自体吞噬密切相关^[9]。研究发现敲除 UTH1 基因并不能阻止 Bax 进入到线粒体外膜和细胞色素(cytochrome C, Cyt_c)释放,此过程是通过线粒体脂质氧化和 ROS 的产生来诱导死亡,它是一个 Cyt_c 独立的自体吞噬相关的凋亡通路^[10]。进一步研究还发现自体吞噬相关的 UTH1 基因还涉及各种应激应答,衰老还有雷帕霉素耐药^[11-12]。因此,真菌中的凋亡和自体吞噬都与 Bax 作用密切相关。事实上, Bax 的表达表现出典型的自体吞噬特征,包括:蛋白 Atg8p 的累积,空泡碱性磷酸酶的激活,吞噬小体的出现等。阻止自体吞噬并不能减少 Bax 诱导的凋亡,因此研究者推测细胞通过 Bax 表达实现自体吞噬的保护作用。

2.2 真菌凋亡的线粒体通路 线粒体是调节细胞生长、分化、能量代谢、死亡的重要细胞器。它由基质、内膜、外膜和膜间隙组成。内膜含有 ATP 合酶、电子传递链、腺苷酸转位子。生理条件下,这些分子维持电化学梯度。Bcl-2 位于线粒体内膜,在维持线粒体膜电位中起重要作用。线粒体外膜含有电压依赖的阴离子通道。膜间隙含有 Cyt_c、caspase 酶原、腺苷酸激酶和凋亡诱导因子(apoptosis inducing factor, AIF)。线粒体不但是多种促细胞凋亡信号转导分子的靶点,也是细胞死亡通路的整合元件。在各种促细胞凋亡信号作用下,线粒体通透性转变孔(MPT pore, MPTP)不可逆过度开放,线粒体跨膜电位崩解下降、呼吸链解偶联、线粒体基质渗透压升高、内膜肿胀、Cyt_c 等释放于细胞质内,引起细胞凋亡。

真菌的凋亡过程,线粒体也会发生一系列的生理变化,包括:Cyt_c 和 AIF 的释放,线粒体膜电位的去极化、线粒体崩解^[13]。Braun 等^[14]研究发现,突变酿酒酵母的 CDC48 基因,可使真菌发生严重的线粒体损伤,进而导致真菌凋亡。Cdc48p 是一个高度保守的哺乳动物 VCP 的同源蛋白^[15]。VCP 是一个与多聚谷氨酰胺引起的神经退行性疾病密切相关的蛋白。研究发现,很多物质都是通过线粒体诱导细胞凋亡,如:过氧化氢、胺碘酮、 α 因子、乙酸等。虽然大多数上游机制仍不清楚,但是这些凋亡都可以诱发线粒体膜电位的超极化,Cyt_c 氧化酶(COX)活性降低及活性氧大量产生。研究还发现高渗应激也可引起 caspase 依赖的线粒体通路凋亡发生。高浓度的葡萄糖或山梨醇培养基可致酿酒酵母线粒体肿胀^[16],caspase 活性增强,发生凋亡。而敲除 YCA1 基因可以很大程度的减少这些表型的发生。此外,敲除 CYC1、CYC3 或 CYC7 可以减少 caspase 激活的细胞数。这些结果也证明线粒体和 Cyt_c 在真菌凋亡过程中与 caspase 通路密切相关。

2.3 影响真菌凋亡的内源性和外源性因素 许多因素可以诱导真菌凋亡。内源性因素包括:线粒体通路、Cyt_c 释放、细胞凋亡因子(AIF)激活、caspase 活性增加等。细胞凋亡的外因主要是一系列的环境应激,如药物刺激;过氧化氢(H₂O₂)、乙酸(acetic acid)、AMB、胺碘酮等;此外高渗溶液:如 NaCl、葡萄糖等,或是紫外线、光、热等都可以导致细胞凋亡。

2.4 人类致病真菌的凋亡通路 真菌凋亡的经典通路与哺乳动物有很多相近之处,很多研究也十分透彻。比如与人类临床疾病密切相关的致病真菌的凋亡通路,研究它们可以便于我们通过诱发这类凋亡来防治相关疾病。

2.4.1 Ras-cAMP-PKA 凋亡信号通路 Ras 蛋白是由一条

多肽链组成的胞质蛋白,由原癌基因 *ras* 编码而得名,具有鸟苷酸结合活性,介导生长因子依赖的细胞信号通路的转导。*Ras* 蛋白具有 2 种构象:GTP 结合构象和 GDP 结合构象,且二者在一定条件下可以发生互变。并且,只有 GTP 结合构象可以激活 *Ras* 以下的信号转导过程。细胞形成过程中,*Ras* 信号调节丝裂原活化蛋白激酶通路(MAPK)和环腺苷酸-蛋白激酶 A 通路(cAMP-PKA)。在 *Ras*-cAMP-PKA 信号转导通路中,细胞外信号通过与相应受体结合激活 *Ras* 蛋白,使其构象发生变化,GTP 结合构象的 *Ras* 蛋白含量增加,进而激活腺苷酸环化酶,通过腺苷酸环化酶调节 cAMP 的水平,凋亡通路被激活。cAMP 作为第二信使,进一步激活 PKA 及其下游的靶点蛋白,调节细胞的凋亡。

Biella 等^[17]研究发现,栗色枯萎病致病真菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 对于病毒 dsRNA 低毒因子所致的感染的应答过程类似于 PCD,而且此过程涉及一系列的基因差异表达。应用基因芯片技术寻找病毒感染所致 PCD 的差异基因,发现在 2 200 个基因中 295 个基因表达有明显差异^[18](132 个基因上调,163 个基因下调)。Chen 等^[19]也应用不同实验方法进行了证实,同时发现其与 G 蛋白和 cAMP 信号通路调控密切相关,这也间接证明真菌死亡应答与 *Ras*-cAMP-PKA 信号通路的关系。*Ras*-cAMP-PKA 信号通路涉及致病真菌细胞死亡应答的直接证据来源于大量病原菌包括 *Colletotrichum trifolii*^[20](苜蓿的一种致病真菌)和白念珠菌^[21]。

在 *Colletotrichum trifolii* 中^[22],过度激活 *Ras* 蛋白增加 ROS 的产生,导致 *Colletotrichum trifolii* 异常生长进而发生凋亡。给予 N-半胱氨酸、吡咯氨酸等抗氧化剂可以减缓凋亡的发生。吡咯氨酸是 ROS 清除剂,其机制很可能是通过介导过氧化氢酶的活性发挥作用。

Phillips 等^[23-24]研究并提出 *Ras*-cAMP-PKA 信号转导通路参与白念珠菌细胞凋亡,敲除该信号转导通路中的相关基因(*rasΔ*,*cdc35Δ*,*tpk1Δ* 及 *tpk2Δ*)能够抑制或延缓细胞凋亡,而激活该信号转导通路(*RAS1^{val13}*,*pde2Δ*)则可加速白念珠菌凋亡的发生。*Ras* 通路不仅调节 MAPK 通路,也调节 cAMP-PKA 的应答。MAPK 通路的应答依赖转录因子 CPH1,cAMP-PKA 的应答依赖于转录因子 EFG1。蛋白激酶 C(protein kinase C,PKC)和依赖于 cAMP 的蛋白激酶 A(protein kinase A,PKA)作为真核细胞中两类主要的蛋白激酶系统,在细胞的增殖和转化中具有重要的调节作用。在白念珠菌中,*Ras* 通路加速细胞凋亡的过程涉及 cAMP 信号的产生,实验发现凋亡时 cAMP 信号明显增加。*Ras* 蛋白受到凋亡刺激,激活腺苷酸环化酶 *Cdc35*,被激活的 *Cdc35* 应答性的产生 cAMP,进而启动 *Ras*-cAMP-PKA 信号转导通路。*Ras*/cAMP 信号通路模型在凋亡过程中十分活跃,*Ras*/cAMP 信号通路级联的下游靶点是蛋白激酶 A(protein kinase A,PKA)。PKA 具有 1 个调节亚基 BCY1,和 2 个催化亚基 TPK1、TPK2^[25]。利用二维电泳的方法可以发现,经促凋亡药物刺激后,调节亚基 BCY1 的 2 个亚型 *Bcy1p*(1)和 *Bcy1p*(2)表达明显降低。但是研究也发现,*Ras*-cAMP-PKA 通路激活本身并不足以导致细胞死亡,所以学者们推测还有其他一些可以放大 *Ras* 信号的通路参与白念珠菌的凋亡过

程的调节。

对于菌丝状态的结合菌纲的波罗毛霉菌^[22],*Ras* 信号主要起到抗凋亡的作用。洛伐他汀(*Ras* 异戊烯化的抑制剂)可诱导波罗毛霉菌的凋亡,外源性加入双丁酰环磷腺苷(可起始并增加菌丝向酵母型转换的药物)时,可以部分减少洛伐他汀诱导的细胞凋亡。

而在凋亡模式生物酿酒酵母菌中,*Ras*-cAMP-PKA 通路与白念珠菌中的明显不同。敲除 *Ras* 编码基因 *RAS1* 后,白念珠菌可以存活,而 *ras1/ras2* 两条臂都敲除可以使酿酒酵母致死。相反,敲除 *BCY1* 后,酿酒酵母可以生存,但在白念珠菌中想通过敲除 *BCY1* 来激活 PKA 通路则不可能。这些通路在不同真菌中的区别必将最终导致它们的作用靶点不同,信号通路间的串话不同。已有研究^[21]证实,酿酒酵母中基因 *PDE2*(与菌丝形成相关)通过不依赖于 PKA 的方式高表达,可以弥补 *end3* 基因敲除(在肌动蛋白形成时有缺陷,将导致对 H_2O_2 诱导凋亡的高度敏感)的细胞功能缺陷,并且 cAMP 对细胞死亡的作用更直接,也可以分流 PKA 介导的一般应答的抑制。而与敲除酿酒酵母 *ste12* 不能引起凋亡应答相悖,敲除白念珠菌 *Ras* 通路已知的下游效应器 CPH1 或 EFG1 后,一样可以引起凋亡应答。另外,在大多数致病真菌中,*Ras* 通路还与与形态形成的信号密切相关。

2.4.2 STRE 信号通路 过氧化氢作为致病真菌细胞外活性氧一种,可以激活氧化应激应答 STRE(stress response element)通路。当某种因素(如辐射、细胞毒素药物)激活氧化应激应答 STRE 通路后,活性氧的生成超过致病真菌抗氧化防御的能力,氧化还原平衡态被打破,细胞进入氧化应激状态(oxidative stress)。轻度的氧化应激,会诱导防御性基因的表达,使细胞能够防御外来毒性侵害,此时可以对细胞起到保护作用,在有药物作用时就表现为一定的耐药性。但是当活性氧过度升高,并超过细胞能够承受的浓度时,线粒体功能就会受到损毁,线粒体膜电位降低,细胞色素 C 释放,引起 PCD 的发生。

逆渗透蛋白是一种具有抗真菌活性的烟草 PR-5 蛋白,它是植物防御应激的效应器,可以诱导微生物的凋亡。Narasimhan 等^[26]研究也发现,逆渗透蛋白可诱导酿酒酵母的凋亡,且它的机制很可能是由于分子内活性氧的大量积累引起的。植物防御分子的高表达诱导真菌螺旋状菌丝的高度分化或形成,并且生长抑制本身与菌丝分裂相关。另外,逆渗透蛋白还通过 *RAS2*/cAMP 通路抑制应激应答基因的转录,从而激活促凋亡蛋白。逆渗透蛋白诱导的凋亡过程中,STRE 元件和 *Yap1p* 蛋白应答元件(YRE)报告基因的结构也是受到抑制的。

2.4.3 YCA1 通路 YCA1(或 MCA1)是真菌细胞凋亡元件半胱天冬酶 metacaspase 的编码基因。Metacaspase 是哺乳动物 caspase 的同源结构类似物,caspase 参与凋亡的起始和发生。裂殖酵母菌的 *PCA1* 基因与 YCA1 同源^[27],酿酒酵母、裂殖酵母、白念珠菌、烟曲霉菌、构巢曲霉等也都有类似同源基因。哺乳动物细胞中,caspase 酶原的活性很低,只有被激活后才可以特异性地裂解底物发挥作用。YCA1 是细胞凋亡的下游靶基因,绝大多数凋亡过程都是通过激活 YCA1

基因而引起凋亡^[28-31], 过去很多研究都以其作为凋亡检测的重要指标。Khan 等^[32] 敲除 YCA1 后, 发现其可以逆转 H₂O₂ 诱导的酿酒酵母的凋亡, 并与一系列氧化蛋白高表达相关; 高表达 YCA1 基因可以加快细胞的凋亡, 很可能是由于分子内活性氧的非正常累积所致。

而最近一些研究却表明, 致病真菌也可以通过不依赖与 YCA1 的通路诱导凋亡。Guaragnella 等^[33] 证实 YCA1 也参与乙酸诱导的酿酒酵母的 PCD。但是, 敲除 YCA1 基因后, 给予药物刺激细胞仍然可以凋亡, 只是在凋亡时间上比正常野生菌株要慢, 这也提示真菌中还存在非 caspase 凋亡通路。烟曲霉菌是导致的多种医源性真菌感染的病原菌之一, 近年来其凋亡机制的研究也已有很大进展^[34-35]。用低剂量的过氧化氢和 AMB 处理, 可使烟曲霉菌发生凋亡; 给予高剂量的过氧化氢和 AMB 时, 烟曲霉菌直接发生死亡, 此过程与白念珠菌情况完全相同^[22]。研究者发现烟曲霉菌凋亡通路不完全依赖于 YCA1 基因通路^[36]。给予 caspase 抑制剂并不能阻止烟曲霉菌的凋亡表型改变, 但是给予蛋白合成抑制剂放线菌酮时, 则明显减少凋亡的发生。因此, 推测烟曲霉菌的凋亡与蛋白的活性也有很大关系。在构巢曲霉中^[37], 敲除 YCA1 的同源基因 casA 后, 植物鞘氨醇仍然可以诱导其产生凋亡。

2.4.4 其他一些致病真菌凋亡通路 Leiter 等^[38] 发现构巢曲霉的凋亡还涉及到 G-蛋白信号通路的变化。逆渗透蛋白和抗真菌蛋白 PAF 可致构巢曲霉凋亡, 同样诱发 G-蛋白信号的一系列改变。另外有报道, 神经鞘磷脂酶 Isc1p^[39] 与氧化应激所致的凋亡密切相关。Isc1p 通过调节离子水平使细胞达到氧化还原稳态, 敲除 ISC1 后, 细胞对氧化应激刺激变得高度敏感。其他一些致病真菌的死亡通路还涉及到 AIF 因子。AIF 是哺乳动物生长和凋亡中非常重要的调节因子, Wissing 等^[40] 研究了它在酵母中的同源类似物 Ynr74cp (Aif1p) 的功能。通过 BLAST 同源比对发现酿酒酵母的 ORF YNR074C 可以编码 41.3 KD 的蛋白, 与 Aif1p 的一致性达到 22%, 相似性达到 41%。与 Aif1p 相似, Ynr74cp 同样定位在线粒体上, 受到凋亡刺激后转移到细胞核, 进而导致染色体降解, DNA 断裂。Morton 等^[41] 从两栖类动物身上提取了一种名为 dermaseptins 的化合物, 它可以通过 AIF 依赖的方式诱导酿酒酵母的凋亡, 但是可以不通过 YCA1 通路。

致病真菌凋亡机制十分复杂, 与哺乳动物有着很多相似之处, 也又很大的不同。但是我们相信, 随着科学技术的不断创新, 研究方法的不断改进, 人们对致病真菌的凋亡机制的了解的也将越来越深入透彻。

3 展望

随着临床致病真菌耐药株检出率的大幅攀升, 凋亡通路将成为抗真菌药物研究的新靶点。细胞凋亡是个纷繁复杂而又极其常见的死亡机制, 是生物经过很多代进化而产生的一种适应环境的表现。作为单细胞生物, 致病真菌的凋亡可以保持其最适的种群密度, 去除不利基因对子代的影响, 躲避有害生长环境的干扰。凋亡在致病真菌的生长发育、形态

分化、毒力变化中也有着举足轻重的作用。因此, 深入透彻地探讨致病真菌凋亡的机制可以更好地了解真菌的耐药、凋亡与其毒力变化之间的关系, 为新药研发提供靶标, 也可以更好地为临床治疗服务, 达到一举多得的目的。

[参考文献]

- [1] Garber G. An overview of fungal infections[J]. *Drugs*, 2001, 61 (Suppl 1):1-12.
- [2] Maertens J, Vrebos M, Boogaerts M. Assessing risk factors for systemic fungal infections[J]. *Eur J Cancer Care (Engl)*, 2001, 10:56-62.
- [3] Chiou C C, Groll A H, Walsh T J. New drugs and novel targets for treatment of invasive fungal infections in patients with cancer[J]. *Oncologist*, 2000, 5:120-135.
- [4] Cowen L E, Anderson J B, Kohn L M. Evolution of drug resistance in *Candida albicans* [J]. *Annu Rev Microbiol*, 2002, 56: 139-165.
- [5] Lam E. Controlled cell death, plant survival and development[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5:305-315.
- [6] Veneault-Fourrey C, Baroah M, Egan M, Wakley G, Talbot N J. Autophagic fungal cell death is necessary for infection by the rice blast fungus[J]. *Science*, 2006, 312:580-583.
- [7] Talbot N J. On the trail of a cereal killer: exploring the biology of *Magnaporthe grisea* [J] *Annu Rev Microbiol*, 2003, 57: 177-202.
- [8] Marino G, Lopez-Otin C. Autophagy: molecular mechanisms, physiological functions and relevance in human pathology[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2004, 61:1439-1454.
- [9] Camougrand N, Grelaud-Coq A, Marza E, Priault M, Bessoule J J, Manon S. The product of the UTH1 gene, required for Bax-induced cell death in yeast, is involved in the response to rapamycin[J]. *Mol Microbiol*, 2003, 47:495-506.
- [10] Camougrand N, Rigoulet M. Aging and oxidative stress: studies of some genes involved both in aging and in response to oxidative stress[J]. *Respir Physiol*, 2001, 128:393-401.
- [11] Bandara P D, Flattery-O'Brien J A, Grant C M, Dawes I W. Involvement of the *Saccharomyces cerevisiae* UTH1 gene in the oxidative-stress response[J]. *Curr Genet*, 1998, 34:259-268.
- [12] Kissov I, Plamondon L T, Brisson L, Priault M, Renouf V, Schaeffer J, et al. Evaluation of the roles of apoptosis, autophagy, and mitophagy in the loss of plating efficiency induced by Bax expression in yeast[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 36187-36197.
- [13] Eisenberg T, Bttner S, Kroemer G, Madeo F. The mitochondrial pathway in yeast apoptosis[J]. *Apoptosis*, 2007, 12: 1011-1023.
- [14] Braun R J, Zischka H, Madeo F, Eisenberg T, Wissing S, Bttner S, et al. Crucial mitochondrial impairment upon CDC48 mutation in apoptotic yeast[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 25757-25767.
- [15] Shirogane T, Fukada T, Muller J M, Shima D T, Hibi M, Hirano T. Synergistic roles for Pim-1 and c-Myc in STAT3-mediated cell cycle progression and antiapoptosis[J]. *Immunity*, 1999, 11: 709-719.

- [16] Silva R D, Sotoca R, Johansson B, Ludovico P, Sansonetty F, Silva M T, et al. Hyperosmotic stress induces metacaspase- and mitochondria-dependent apoptosis in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mol Microbiol*, 2005, 58: 824-834.
- [17] Biella S, Smith M L, Aist J R, Cortesi P, Milgroom M G. Programmed cell death correlates with virus transmission in a filamentous fungus [J]. *Proc Biol Sci*, 2002, 269: 2269-2276.
- [18] Allen T D, Dawe A L, Nuss D L. Use of cDNA microarrays to monitor transcriptional responses of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* to infection by virulence-attenuating hypoviruses [J]. *Eukaryot Cell*, 2003, 2: 1253-1265.
- [19] Chen B, Gao S, Choi G H, Nuss D L. Extensive alteration of fungal gene transcript accumulation and elevation of G-protein-regulated cAMP Levels by a virulence-attenuating hypovirus [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 7996-8000.
- [20] Chen C, Dickman M B. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 3459-3464.
- [21] Gourlay C W, Ayscough K R. Identification of an upstream regulatory pathway controlling actin-mediated apoptosis in yeast [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(Pt 10): 2119-2132.
- [22] Roze L V, Line J E. Lovastatin triggers an apoptosis-like cell death process in the fungus *Mucor racemosus* [J]. *Fungal Genet Biol*, 1998, 2: 119-133.
- [23] Phillips A J, Crowe J D, Ramsdale M. Ras pathway signaling accelerates programmed cell death in the pathogenic fungus *Candida albicans* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 726-731.
- [24] Phillips A J, Sudbery I, Ramsdale M. Apoptosis induced by environmental stresses and amphotericin B in *Candida albicans* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 14327-14332.
- [25] Bockmuhl D P, Krishnamurthy S, Gerads M, Sonneborn A, Ernst J F. Distinct and redundant roles of the two protein kinase A isoforms Tpk1p and Tpk2p in morphogenesis and growth of *Candida albicans* [J]. *Mol Microbiol*, 2001, 42: 1243-1257.
- [26] Narasimhan M L, Damsz B, Coca M A, Ibeas J I, Yun D J, Pardo J M, et al. A plant defense response effector induces microbial apoptosis [J]. *Mol Cell*, 2001, 4: 921-930.
- [27] Uren A G, O'Rourke K, Aravind L A, Pisabarro M T, Seshagiri S, Koonin E V, et al. Identification of paracaspase and metacaspase: two ancient families of caspase-like proteins, one of which plays a key role in MALT lymphoma [J]. *Mol Cell*, 2000, 6: 961-967.
- [28] Madeo F, Frhlich E, Ligr M, Grey M, Sigrist S J, Wolf D H, et al. Oxygen stress: a regulator of apoptosis in yeast [J]. *J Cell Biol*, 1999, 145: 757-767.
- [29] Hoerberichts F A, ten Have A, Woltering E J. A tomato metacaspase gene is upregulated during programmed cell death in *Botrytis cinerea* infected leaves [J]. *Planta*, 2003, 217: 517-522.
- [30] Rojo E, Zouhar J, Carter C, Kovaleva V, Raikhel N V. A unique mechanism for protein processing and degradation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 7389-7394.
- [31] Madeo F, Herker E, Maldener C, Wissing S, Lächelt S, Herlan M, et al. A caspase-related protease regulates apoptosis in yeast [J]. *Mol Cell*, 2002, 9: 911-917.
- [32] Khan M S, Boon P, Stadtman E R. Knockout of caspase-like gene, YCA1, abrogates apoptosis and elevates oxidized proteins in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 17326-17331.
- [33] Guaragnella N, Pereira C, Sousa M J, Antonacci L, Passarella S, Côte-Real M, et al. YCA1 participates in the acetic acid induced yeast programmed cell death also in a manner unrelated to its caspase-like activity [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580: 6880-6884.
- [34] Mousavi S A, Robson G D. Entry into the stationary phase is associated with a rapid loss of viability and an apoptotic-like phenotype in the opportunistic pathogen *Aspergillus fumigatus* [J]. *Fungal Genet Biol*, 2003, 39: 221-229.
- [35] Mousavi S A, Robson G D. Oxidative and amphotericin B-mediated cell death in the opportunistic pathogen *Aspergillus fumigatus* is associated with an apoptotic-like phenotype [J]. *Microbiology*, 2004, 150(Pt 6): 1937-1945.
- [36] Richie D L, Miley M D, Bhabhra R, Robson G D, Rhodes J C, Askew D S. The *Aspergillus fumigatus* metacaspase CasA and CasB facilitate growth under conditions of endoplasmic reticulum stress [J]. *Molec Microbiol*, 2007, 63: 591-604.
- [37] Cheng J, Park T S, Chio L C, Fischl A S, Ye X S. Induction of apoptosis by sphingoid long-chain bases in *Aspergillus nidulans* [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23: 163-177.
- [38] Leiter E, Szappanos H, Oberparleiter C, Kaiserer L, Csernoch L, Pusztahelyi T, et al. Antifungal protein PAF severely affects the integrity of the plasma membrane of *Aspergillus nidulans* and induces an apoptosis-like phenotype [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49: 2445-2453.
- [39] Almeida T, Marques M, Mojzita D, Amorim M A, Silva R D, Almeida B, et al. Isc1p plays a key role in hydrogen peroxide resistance and chronological lifespan through modulation of iron levels and apoptosis [J]. *Mol Bio Cell*, 2008, 19: 865-876.
- [40] Wissing S, Ludovico P, Herker E, Bttner S, Engelhardt SM, Decker T, et al. An AIF orthologue regulates apoptosis in yeast [J]. *J Cell Biol*, 2004, 166: 969-974.
- [41] Morton C O, Santos S C, Coote P. An amphibian-derived, cationic, α -helical antimicrobial peptide kills yeast by caspase-independent but AIF-dependent programmed cell death [J]. *Mol Microbiol*, 2007, 65: 494-507.