



李蕾, 张雷, 李世广. 昆虫血细胞功能、形态及细胞免疫反应研究前沿 [J]. 环境昆虫学报, 2020, 42 (5): 1112 - 1120.

昆虫血细胞功能、形态及细胞免疫反应研究前沿

李蕾*, 张雷*, 李世广**

(安徽农业大学植物保护学院, 合肥 230036)

摘要: 细胞免疫反应是昆虫先天免疫系统的重要组成部分, 与体液免疫反应共同作用以防御外源物。不同类群的昆虫其血细胞种类不同, 空间形态及免疫应答功能也各具特征, 但在细胞免疫中大都发挥着吞噬、结节与包裹作用。本文根据国内外的研究, 对昆虫血细胞的类型、功能、形态、吞噬过程、细胞表面吞噬受体、以蚜虫为代表的完全变态昆虫免疫学和影响蚜虫免疫系统的共生体等研究动态进行了综述, 以期为害虫防治提供思路和防治策略。

关键词: 昆虫; 细胞免疫; 血细胞; 吞噬体; 吞噬受体分子

中图分类号: Q968.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2020) 05-1107-09

Research frontiers of hemocytes functions, morphology and cellular immune response in insects

LI Lei*, ZHANG Lei*, LI Shi-Guang** (College of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: Cellular immune response is an important part of the innate immune response in insects, which works together with humoral immune response to protect against pathogens. Different insects have different hemocytes. Although the types, spatial morphology and immune response functions of hemocytes may vary, most of them play the roles of phagocytosis, nodulation and encapsulation in cellular immunity. This paper describes recent progress in insect cellular immunity, including the types, functions, and morphology of insect hemocytes, phagocytosis, cell-surface phagocytic receptors, hemimetabolous immunology and symbionts affecting aphids' immunity. The purpose of this paper is to provide ideas and strategies for pest control.

Key words: Insect; cellular immunity; hemocytes; phagosome; phagocytic receptor molecules

在各类环境的胁迫下, 昆虫形成了独特而高效的免疫机制。与同时具备先天免疫反应 (innate immune response) 和适应性免疫反应 (adaptive immune response) 的脊椎动物不同, 昆虫缺少 B 和 T 效应淋巴细胞, 因此只具备先天免疫反应。昆虫的先天免疫系统依赖于血细胞介导的细胞免

疫和酚氧化酶原与 Toll/Imd 信号通路调节的体液免疫。细胞免疫应答是昆虫先天免疫中不可或缺的重要反应, 与体液免疫各司其职但又相互联系、共同作用。本文对昆虫细胞免疫相关研究进展进行了综述, 将有助于系统地了解昆虫细胞免疫, 为害虫防治提供策略。

基金项目: 安徽省自然科学基金 (1908085MC94)

* 共同第一作者简介: 李蕾, 女, 硕士研究生, 研究方向为害虫生物防治, E-mail: 2637885090@qq.com; 张雷, 男, 硕士研究生, 研究方向为植物保护与资源利用, E-mail: 386578101@qq.com

** 通讯作者 Author for correspondence: 李世广, 男, 博士, 教授, 研究方向为害虫生物防治, E-mail: lsg815@163.com

收稿日期 Received: 2019-11-10; 接受日期 Accepted: 2020-01-15

1 昆虫细胞免疫反应研究的历史

关于细胞免疫反应的研究,始于俄国科学家 Metchnikoff 于 1884 年首次在海星幼虫中发现了体内吞噬现象的存在 (Metchnikoff, 1989)。随着对昆虫血细胞的深入探究,20 世纪 60 年代科学家在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 体中发现了具备吞噬能力的循环血细胞,并探明了它们在防御微生物方面的作用 (Rizki and Rizki, 1984)。在昆虫血淋巴中发现的细胞,相当于脊椎动物的血细胞,表现出与哺乳动物巨噬细胞相似的特性,并以温度和肌动蛋白依赖性方式有效地摄取颗粒和细菌 (Gray and Botelho, 2017)。在过去的二十年中,血淋巴细胞中发挥吞噬作用的关键成分已经被确定,吞噬细胞已成为宿主防御中重要的中枢效应细胞。

2 昆虫细胞免疫反应研究的进展

血淋巴中的血细胞是免疫系统的重要组成部分,具有免疫防御作用。昆虫血细胞来源于中胚层衍生的干细胞,通过形态学、功能和分子标记可分化为特定的谱系 (Lavin and Strand, 2002)。这些血细胞自由地漂浮于开放式的血腔中,或者附着于各种组织和器官上。血细胞参与多种生理功能,在昆虫的新陈代谢、变态和先天免疫中起着至关重要的作用,具有吞噬作用和免疫性,能保护虫体免受寄生物的危害 (Zhang *et al.*, 2018)。在限制外界病原物扩散并清除入侵体内寄生物的过程中,昆虫血细胞所起到的免疫功能主要包括:吞噬作用 (phagocytosis)、结节作用 (nodulation) 和包囊作用 (encapsulation) (Artega *et al.*, 2017)。当昆虫受到病原真菌等外源物入侵时,发挥吞噬作用的血细胞将其吞噬或合成抗菌肽来清除,同样也会伴随黑化反应;当病原物体积更大时,如原生动物、线虫、寄生物等,细胞不能将其吞噬,则须通过形成结节与包囊将之清除 (Siddiqui and Al, 2014)。昆虫吞噬和包囊反应的一个显著表型是黑色素化。色素出现在病原体破坏表皮角质层表面,也出现在侵入宿主血腔的生物体表面及其附近 (Nappi and Christensen, 2005)。

2.1 昆虫血细胞的类型及形态

2.1.1 昆虫血细胞类型

参与细胞免疫应答的血细胞通常包括:原血

细胞 (prohemocytes)、粒细胞 (granulocytes)、浆细胞 (plasmatocytes)、类绦色细胞 (oenocytoids)、脂血细胞 (adipohemocytes)、珠血细胞 (spherulocytes) 等 (Majumder *et al.*, 2017), 前 5 种血细胞存在于多数昆虫中,其中浆细胞与粒细胞是参与细胞免疫应答最重要的两种优势血细胞,几乎存在于所有昆虫的血腔中。原血细胞位于造血器官中,拥有干细胞的功能,在应对病原菌等其他外源物入侵时具有分化为其他血细胞的潜能 (Zibae *et al.*, 2011; 2012)。幼虫期或若虫期的昆虫,其血细胞除了通过中胚层的造血器官中的干细胞分裂而来,还会通过血液循环中已有的血细胞继续分裂而产生 (Wu *et al.*, 2016)。Nakahara 等 (2010) 提出家蚕 *Bombyx mori* 造血器官中的原血细胞分化为浆细胞,浆细胞被释放到血液循环中,循环中的浆细胞又可分化为粒细胞、珠血细胞和类绦色细胞。珠血细胞能运输表皮成分。类绦色细胞中含有胞质酚氧化酶的前体物质,参与血淋巴的黑化作用、体液免疫与包囊反应,起到物质代谢和分泌作用 (Lavin and Strand, 2002)。脂血细胞可能起到贮藏血淋巴脂肪的作用,血淋巴中储存的脂肪可作为抗逆物质,从而增强昆虫的抗逆性 (Amaral *et al.*, 2010)。鳞翅目昆虫中的血细胞包括浆细胞、粒细胞、类绦色细胞与珠血细胞,且浆细胞和粒细胞在血淋巴中数量最丰富,其中粒细胞表现出了对大肠杆菌 *Escherichia coli* 强大的吞噬能力 (Wu *et al.*, 2016)。小金蝠蛾 *Thitarodes xiaojinensis* 幼虫的粒细胞在血淋巴中所占比例最高,比已报道的其他鳞翅目昆虫高,在 Nielsen 等 (2000) 的研究中提到蝠蛾作为鳞翅目类群中进化最为原始的种系,推测其体内的粒细胞可能是最早出现在此类昆虫细胞免疫中的血细胞类型,因此在细胞免疫应答方面起主要作用。上述血细胞也存在于双翅目 (黑腹果蝇除外)、直翅目、膜翅目等其他类群中。果蝇的血细胞在昆虫纲中较为特殊,主要为三类:片状细胞 (lamellocytes)、晶体细胞 (crystal cells) 和浆细胞。片状细胞与浆细胞特性相似,粘附在异物表面介导细胞防御反应,在果蝇幼虫中由浆细胞分化产生的片状细胞参与结节和包囊反应 (Evans *et al.*, 2003); 晶体细胞是非黏附性血细胞,其中含有酚氧化酶前体 (Jiravanichpaisal *et al.*, 2006); 在果蝇血淋巴中,浆细胞占成熟细胞的 90% ~ 95%, 具有很强的粘附性,起到吞噬病原物和凋

亡细胞的作用。

研究者对完全变态类型昆虫（如黑腹果蝇和鳞翅目昆虫）的免疫研究较为深入，而对不完全变态昆虫的免疫研究却相对较少，且多集中于半翅目的蝽类。蝽类常见的血细胞有 7 种，即：原血细胞、浆细胞、粒细胞、类绦色细胞、脂血细胞、囊血细胞（cystocytes）和巨细胞（giant cells）。但不是每种蝽类都具有这 7 类血细胞，比如，在大锥蝽 *Panstrongylus megistus* 和骚扰锥蝽 *Panstrongylus infestans* 中没有发现脂血细胞和类绦色细胞，在长红猎蝽 *Rhodnius prolixus* 中没有发现巨细胞（Azambuja *et al.*, 1991），这些血细胞在消除入侵的病原真菌时大都发挥着吞噬、包囊和结节的作用。有研究表明，浆细胞是半翅目蝽类唯一参与吞噬外来颗粒的血细胞（Borges *et al.*, 2008）。研究发现哺乳动物体内的巨核细胞（megakaryocytes）同样出现在意大利蝗 *Calliptamus italicus* 体内，表明节肢动物与脊椎动物具有较相似的同源基因（何岚等，2017）。

当昆虫被病原物感染后，首先会出现血淋巴凝集现象（coagulation），凝集现象出现在体液免疫反应之前（Loof *et al.*, 2011），该反应可以修复伤口、吸附侵入的病菌，并形成凝血细胞（coagulocytes），从而防止病原真菌在血液中进一步移动。昆虫血细胞的数量及其功能会受到病原真菌的影响。例如棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 被莱氏野村菌 *Nomuraea rileyi* 侵染后，其血细胞总数（total hemocyte count, THC）无变化，但血细胞介导的吞噬、结节和包囊反应却受到损害（Zhong *et al.*, 2017）；金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* 侵染沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* 两天后便定殖于宿主血淋巴中，沙漠蝗的血细胞不附着在真菌上，也不吞噬或结节，THC 先增加，后减少（Gillespie *et al.*, 2000）；Zibae 等（2011）发现球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 破坏了麦扁盾蝽 *Eurygaster integriceps* 的多种免疫机制，因真菌次生代谢产物抑制了麦扁盾蝽血细胞的吞噬活性，阻碍了结节的形成，使真菌得以克服血屏障并杀死宿主。

2.1.2 昆虫血细胞的形态

不同类群的昆虫血细胞种类不同，同种昆虫的不同类型血细胞在空间形态上又存在着明显差异。浆细胞和粒细胞是参与吞噬作用的两类重要血细胞，血涂片初期观察两者在形态上无明显的区别，都表现为球形、卵圆形的形态特征，而经

过 1 h 以上的孵育后则表现出明显差异，粒细胞延展出片状和丝状伪足，并出现典型圆形的黑色颗粒内含物，细胞整体呈卵圆形（倪若尧等，2018）；而浆细胞虽可延展出片状和丝状伪足，但细胞质形变为纺锤形或不规则形，粒细胞与浆细胞的空间形态在多数昆虫中可见（Borges *et al.*, 2008; Zibae *et al.*, 2011）；在麦扁盾蝽、长红猎蝽及其他昆虫血淋巴中发现原血细胞是球形的小细胞，胞内细胞质稀薄，细胞核很大，位于中心位置，并填充细胞，使细胞质占据细胞核周围的狭窄区域，原血细胞位于造血器官和几种昆虫的血淋巴中；在鳞翅目、直翅目、膜翅目、半翅目等多数昆虫中类绦色细胞是体积最大的一类血细胞，在相差显微镜下观测到其直径大小约为 25 ~ 30 μm ，呈规则状圆形，圆形细胞核小而偏离中心，细胞质均一，胞质颗粒和晶体内含物少而小（Amaral *et al.*, 2010）；果蝇晶体细胞在形态上与其他昆虫的类绦色细胞相似；片状细胞呈整体扁平薄状，具伪足无胞质内含物（Ribeiro and Michel, 2006）；脂血细胞是大小为 25 ~ 27 μm 的圆形细胞，其特征表现为脂质滴在细胞质中扩散并形成特定的细胞质（Zibae *et al.*, 2011）；珠血细胞在鳞翅目昆虫中整体呈现出被内含物小球填充成不规则形（倪若尧等，2018）。

2.2 血细胞介导的细胞免疫应答

2.2.1 吞噬作用

昆虫血细胞能够识别各种外来生物和非生物靶标，并通过由相应的配体激活细胞表面的受体做出免疫反应。在昆虫中，吞噬作用是一种重要的由受体介导并对病原体和寄生虫做出防御的先天免疫反应，能有效地清除凋亡细胞和入侵病原体（Stuart and Ezekowitz, 2008）。哺乳动物的吞噬作用主要由巨噬细胞（macrophages）、单核细胞（mononuclear phagocytes）和中性粒细胞（neutrophils）完成，而昆虫的吞噬作用主要由浆细胞或粒细胞完成，其他血细胞，如类绦色细胞也可能吸附病原体（Silva, 2010; Lim *et al.*, 2017; Niedergang and Grinstein, 2018）。细胞从环境中吞噬大颗粒的过程对于宿主防御传染性微生物和清除发育过程中产生的凋亡细胞至关重要（Borges *et al.*, 2008），这是吞噬作用去除的两类主要靶标。Ling 和 Yu（2005）的研究表明烟草天蛾 *Manduca sexta* 血淋巴中的浆细胞参与对“异己”微球珠的识别和吞噬，而粒细胞参与昆虫自身凋

亡细胞的吞噬, 这些细胞表现出内化物质的能力, 并且能够吞噬大于其自身表面积颗粒。血细胞对各种细菌的反应也是不同的。例如, 在埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 中, 血细胞对大肠杆菌的反应是吞噬作用, 而对膝黄微球菌 *Micrococcus luteus* 的反应是黑色素化, 其中某些被黑化的膝黄微球菌被粒细胞吞噬 (Marmaras and Lampropoulou, 2009)。此外, 在不同细菌之间, 吞噬作用的效率和速度存在差异。如在冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*、果蝇细胞系以及分离的地中海实蝇 *Ceratitis capitata* 血细胞中, 大肠杆菌比金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 更容易被吞噬 (Lamprou *et al.*, 2007; Bryant and Michel, 2016)。

2.2.2 吞噬过程

吞噬作用是识别颗粒, 将颗粒结合到细胞表面并在吞噬物质周围内化形成一种称为“吞噬体”(phagosome)的细胞器的高度保守过程。吞噬体是吞噬过程发生的核心, 在先天免疫与适应性免疫中起着关键作用 (Kagan and Iwasaki, 2012; Gray and Botelho, 2017)。但是新形成的吞噬体会被某

些病原体破坏, 因此早期的吞噬体会与核内体或溶酶体融合变成成熟的吞噬溶酶体 (phagolysosome), 成熟吞噬体的高度水解和消化能力能够限制细菌的繁殖, 并且在许多情况下可以杀死内化的微生物 (Peltier *et al.*, 2017)。在吞噬作用期间, 吞噬性细胞和其他细胞摄取颗粒大小超过约 $0.5 \mu\text{m}$ 的配体, 质膜发生明显弯曲并形成吞噬杯, 细胞中部突出延伸形成伪足以便包住并内化颗粒, 细胞膜在吞噬杯的底部与延伸伪足的起点和尖端处明显凹陷弯曲 (图 1 A)。为了内化大颗粒或众多颗粒, 吞噬细胞必须从细胞内吸收其他细胞器的膜, 如核内体和内质网 (图 1 B), 在这个过程中, 外囊 (一种与果蝇吞噬体相关的八聚体复合物) 将吸收的核内体束缚到吞噬杯的底部 (图 1 C)。内化形成的早期吞噬体通过裂变并与溶酶体或核内体融合而成熟, 以提供特殊的酸性和水解环境, 最终降解被吞噬的颗粒 (Stuart and Ezekowitz, 2008; Flanagan *et al.*, 2012) (图 1 D - F)。

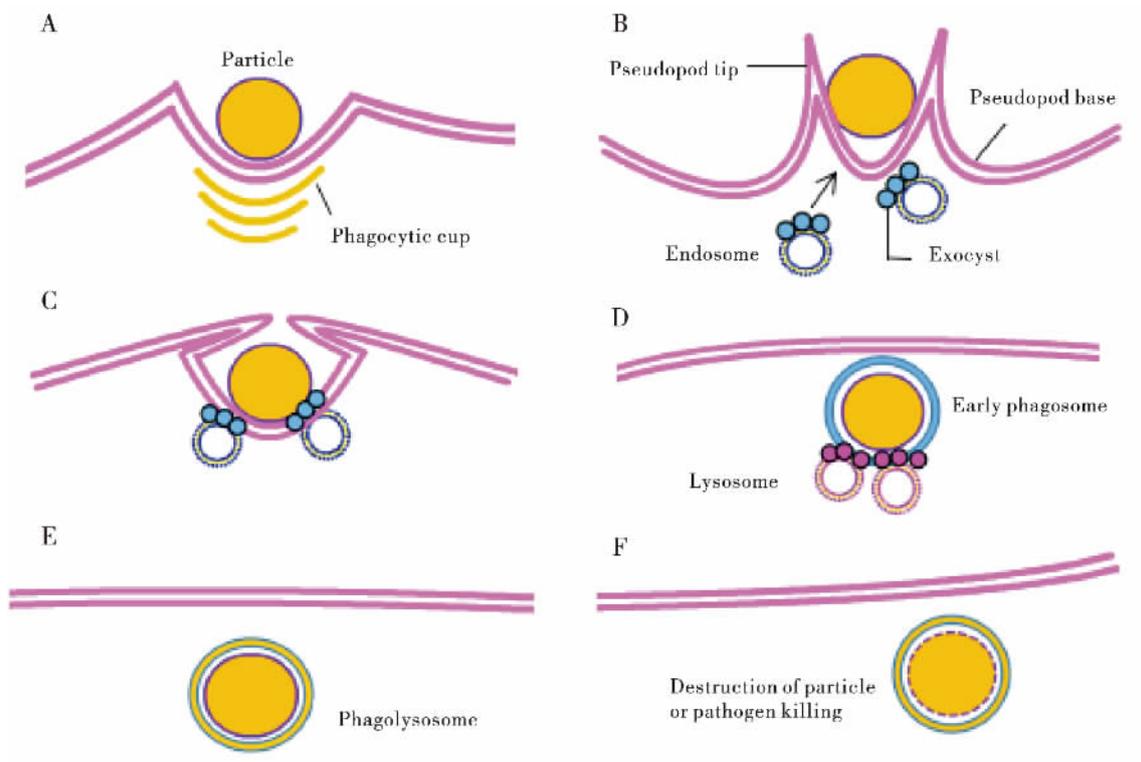


图 1 吞噬过程示意图

Fig. 1 Sketch map of phagocytosis

注: A, Particle, 病原体颗粒物; Phagocytic cup, 吞噬杯。B, Pseudopod tip, 伪足; Pseudopod base, 伪足基部; Endosome, 核内体; Exocyst, 外囊。D, Lysosome, 溶酶体; Early phagosome, 未成熟吞噬体。E, Phagolysosome, 吞噬溶酶体。F, Destruction of particle or pathogen killing, 破坏颗粒或杀死病原体。

2.2.3 吞噬受体分子

吞噬作用是由细胞表面受体的连接而引发的,当吞噬细胞表面受体被靶细胞激活时,受体与相应的配体结合,吞噬作用被激活,病原体被吞噬。以黑腹果蝇为例,在其细胞中已鉴定出四类主要的细胞表面吞噬受体分子(表1),分别为:①补体样调理素(complement-like opsonins):即含硫酯的蛋白质(thioester-containing proteins, TEPs),TEPs是一类分泌效应蛋白的超家族。TEPs家族成员中的巨球蛋白相关蛋白(macroglobulin-related protein, MCR;即TEPVI)结合并增强对白色念珠菌 *Candida albicans* 的吞噬作用(Anna *et al.*, 2017; Upasana and Ioannis, 2017)。其他TEP如:TEPII和TEPIII分别结合大肠杆菌和金黄色葡萄球菌并增强吞噬作用(Anna *et al.*, 2017; Shokal *et al.*, 2017)。②清道夫受体(scavenger receptors, SR):是结构上不相关的多配体受体,结合聚阴离子配体,并在许多物种中成为重要的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)(Gordon and Neyen, 2016; Kim *et al.*, 2017)。在那些缺乏适应性免疫的物种中,清道夫受体家族得到了扩展,这证实了它们在宿主防御中的重要性。例如,人类只有3个CD36样蛋白(CD36-like protein)的清道夫受体,而黑腹果蝇却有10个。这种扩增很可能是由这些受体结合病原体的能力所驱动,这种能力增强了受体对细菌的识别,并保持果蝇自身的生存优势。B类清道夫受体SR-B:CD36样蛋白中的Croquemort在果蝇中介导凋亡细胞的吞噬;另一类B类清道夫受体SR-B:Peste是黑腹果蝇中细菌的受体,结合偶然分枝杆菌 *Mycobacterium fortuitum* (Philips, 2005; Canton *et al.*, 2013);C类清道夫受体SR-C:SR-CI是I型膜蛋白,含有与补体控制蛋白和粘蛋白相关的结构域,并结合革兰氏阳性和阴性细菌(Ramet *et al.*, 2001)。SR-CI中存在高水平的天然多态性,这与不同程度的细菌感染抗性相关(Marmaras and Lampropoulou, 2009)。③新兴表皮生长因子样重复受体家族(epidermal growth factor (EGF)-like-repeat-containing receptors):一种黑腹果蝇I型膜蛋白Eater,是第一个被证明参与微生物识别的EGF样重复受体,在浆细胞中表达,并广泛识别病原体(Bretscher *et al.*, 2015)。RNAi筛选发现Eater是对细菌起吞噬作用的GATA转录因子,在果蝇S2细胞中,Eater的表达若受到抑制会降低受

体对细菌的结合与吸收,缺乏Eater的果蝇巨噬细胞吞噬细菌的能力会受损,最终受到单核细胞增生李斯特菌 *Listeria monocytogenes* 的感染(Kocks *et al.*, 2005; Chung and Kocks, 2011);Nimrod C1是黑腹果蝇中10个Nimrod基因簇的一部分,在蚕蛾中也发现了类似的蛋白清除细菌(János *et al.*, 2013; Melcarne *et al.*, 2019);Drape是秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 凋亡细胞受体CED-4中的基因,与黑腹果蝇基因具同源性,其在神经胶质细胞和黑腹果蝇巨噬细胞表面上表达,负责吞噬果蝇凋亡细胞、修剪轴突以及去除切断的轴突(Macdonald *et al.*, 2006; Kuraishi *et al.*, 2009)。已发现Draper的两个配体分子是Pretaporter和Calreticulin(Kuraishi *et al.*, 2007; Fujita *et al.*, 2012)。④高度变异的受体和调理素:唐氏综合症细胞粘附分子(Down syndrome cell-adhesion molecule, DSCAM),免疫球蛋白超家族成员DSCAM在宿主防御中弥补了果蝇缺乏适应性免疫的缺陷来抵御新出现的病原体,DSCAM结合大肠杆菌并且可能充当吞噬细胞受体和调理素(Watson, 2005; Peuß *et al.*, 2016)。在冈比亚按蚊细胞中DSCAM的缺少会减少对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的吞噬作用(Yuemei *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2011)。除了以上四类细胞表面吞噬受体之外,黑腹果蝇还表达其他受体,如肽聚糖识别蛋白(peptidoglycan recognition protein, PGRP)家族中的PGRP-LC,它参与吞噬革兰氏阴性细菌,而不吞噬革兰氏阳性细菌(Kurata, 2010);在黑腹果蝇中,PGRP-SA是PGRP家族吞噬革兰氏阳性细菌的受体蛋白(Liu *et al.*, 2018)。已鉴定出的这几类果蝇同源吞噬受体除了DSCAM、Nimrod、PGRP-LC在冈比亚按蚊中表达,在其它蝇类和鳞翅目昆虫中暂未发现(Marmaras and Lampropoulou, 2009; Sigle and Hillyer, 2018)。

2.2.4 结节作用与包裹作用

结节是昆虫主要的细胞防御机制,能够粘附大量细菌的多个血细胞聚集体,形成黑色或未黑色的结节(Marmaras and Lampropoulou, 2009)。结节的形成不同于吞噬作用将病原体吸收内化,而是受到微生物感染后迅速发生血细胞微聚集的复杂多步骤过程,由血细胞捕获大量微生物,这些微聚集体通过粘附额外的血细胞而增大。最后,该过程以黑化为黑色结节而结束,这些结节附着在体壁或各种内部器官上(Stuart and Ezekowitz,

2008; Shi *et al.*, 2014)。到目前为止, 类花生酸 (eicosanoids) 是能介导许多昆虫物种结节的重要化学物质 (Kim *et al.*, 2017), 而酚氧化酶原 (prophenoloxidase, PPO) 和多巴脱羧酶 (dopa decarboxylase, Ddc) 是参与果蝇血红细胞结节的重要酶 (Sideri *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2018)。

Satyavathi 等 (2014) 提出昆虫在感染病原微生物后, 血细胞数量会大幅度减少并逐渐被脂肪体捕获以形成结节, 在此过程中脂肪体参与结节形成, 同样结节的发生也是昆虫受到真菌及代谢物侵染后细胞数量减少的原因。

表 1 黑腹果蝇参与吞噬作用的识别受体与相应的结合体

Table 1 Cell-surface recognition receptors of phagocytosis in *Drosophila melanogaster* and related ligands

黑腹果蝇受体 <i>D. melanogaster</i> receptors	结合体 Ligands
含硫酯蛋白质 (Thioester-containing proteins, TEPs)	
TEPVI (MCR)	<i>C. albicans</i>
TEPII	<i>E. coli</i>
TEPIII	<i>S. aureus</i>
清道夫受体 (Scavenger receptors, SR)	
Croquemort	Apoptotic cells
Peste	<i>M. fortuitum</i>
dSR-CI	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>
表皮生长因子样重复受体 (EGF-like-repeat-containing receptors)	
Eater	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , dsRNA
NimrodC1	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>
Draper	Apoptotic cell, axon pruning and severed axons
唐氏综合征细胞粘附分子 (Down syndrome cell-adhesion molecule, DSCAM)	<i>E. coli</i>
其他 Others	
PGRP-LC	<i>E. coli</i>
PGRP-SA	<i>S. aureus</i>

结节和包囊的产生均因为外源物太大而不能被吞噬。包囊作用是指血细胞与寄生虫、原生动物和线虫等更大的靶标结合 (Grizanov *et al.*, 2018)。自然界常见的包囊现象如当寄生蜂将卵产在果蝇幼虫体内时, 可观察到包囊 (Marmaras and Lampropoulou, 2009)。血细胞结合靶标后, 在其周围形成多层囊, 将病原物包裹在囊内, 通过局部产生带有细胞毒性的自由基活性氧 ROS 和活性氮 RNS 或通过窒息将其杀死, 最终伴有黑色素化, 该囊的形成需要浆细胞与粒细胞的参与 (Siddiqui and Al, 2014)。在包囊过程中血细胞数量明显减少, 是由于血细胞被用于细胞粘附而生成黑色素即形成黑色素包囊。所以由此可见, 在结节形成和包囊作用中, 细胞免疫反应中也涉及到体液免疫反应的参与, 两种免疫反应不可分割。

3 不完全变态昆虫免疫和蚜虫共生体

一直以来, 全变态昆虫在昆虫先天免疫研究中都占据优势, 不完全变态昆虫的免疫机制虽有研究, 但多局限在直翅目蝗科和半翅目蝽类之中。2010 年, 随着首个完成全基因组测序的不完全变态昆虫—豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 基因组注释的完成, 不完全变态昆虫的先天免疫机制受到的关注度日渐提高。不同于全变态昆虫完整的免疫机制, 豌豆蚜基因组中缺失了其它物种保守的免疫成分和途径, 如肽聚糖识别蛋白、C 型溶菌酶、抗菌肽中的 Defensins、IMD 信号通路中的 Dredd、Relish 和 dFADD (Gerardo *et al.*, 2010)。此外, 豌豆蚜的血细胞类型也已被鉴定, 包括原血细胞、浆细胞、粒细胞、珠血细胞和蜡细胞 (wax cells), 这

些血细胞类型不同于全变态昆虫的细胞类型，其功能有待于深入研究 (Anton *in et al.*, 2012)。对豌豆蚜免疫系统的不断探索，必将丰富我们对不完全变态昆虫免疫机制的认识。

近年来随着分子生物学和基因组学技术的不断发展，蚜虫共生体和昆虫免疫之间的互动成为研究热点。在蚜虫中已经鉴定出许多共生体 (symbiont)，包括初级共生体 (如 *Buchnera aphidicola*) 和次级共生体 (如 *Serratia symbiotica*、*Hamiltonella defensa*、*Regiella insecticola*、*Rickettsia*、*Wolbachia*、*Spiroplasma*、*Arsenophonus* 和 SML 型共生菌 *Sitobion miscanthi* L. symbiont)。初级共生体通过提供限制其生长和繁殖的营养物质而使宿主受益；次级共生体赋予其宿主适应性优势，例如保护昆虫宿主免受病原体和天敌的侵害、增强对杀虫剂的抗性、介导昆虫的新陈代谢和生物合成 (Benoit *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2018)。而宿主会识别病原物相关模式分子 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)，这也包括了共生体 (Chu and Mazmanian, 2013)。这种亲密的相互作用往往导致宿主生理和表型的根本变化，其中一方面就是宿主免疫反应的改变 (Zheng *et al.*, 2011)。蚜虫共生体在血淋巴中可观察到，蚜虫的免疫细胞是共生体相互作用的主要场地，浆细胞和粒细胞在血淋巴中活跃地吞噬初级和次级共生体；在次级共生菌 *H. defensa* 中发现了吞噬溶酶体样结构但尚未发现明显的吞噬现象，推测共生菌吞噬了吞噬溶酶体并有将其内化降解的可能 (Anton *in et al.*, 2012)。在 Laughton 等 (2015) 的研究中发现豌豆蚜次级共生体 *H. defensa*、*R. insecticola* 的存在改变了血细胞数量和包裹反应，对酚氧化酶活性无显著影响，尽管次级共生体的种类会影响测定结果，但当宿主遗传背景保持恒定时，包裹反应仅随 *R. insecticola* 的存在而增加，血细胞数仅随 *H. defensa* 的存在而增加。在豌豆蚜中，一些次级共生体参与了对真菌病原体 and 拟寄生蜂的防御，但其机制尚不完全清楚 (Li *et al.*, 2018)。免疫系统如何对共生体的存在作出反应，以及共生体以何种方式影响蚜虫的免疫反应，这都需进一步研究。

共生体选择性地改变宿主免疫，而降低或下调宿主免疫系统可能有助于为共生种群提供稳定的生存环境。所以研究昆虫体内共生体与宿主互作可为开发新型杀虫剂提供依据。

4 结语

昆虫所处的生境中存在着多种多样的病原物，如昆虫病原真菌、细菌、病毒、线虫和寄生蜂等。因此，昆虫的成功繁衍也必须归功于自身抵御病原体入侵的能力。脊椎动物的适应性免疫应答能够通过效应淋巴细胞的克隆扩增、抗原受体细胞突变以及种系重组而建立免疫记忆 (Hauton and Smith, 2010)，而昆虫不具备 B 和 T 淋巴细胞，因此缺乏适应性免疫反应，但拥有高效的先天免疫系统，能使其应对来自所处生境大多数病原物的威胁。相信随着对昆虫先天免疫反应相关分子机制更深入地研究，将会为我们提供更加丰富的昆虫免疫知识并更广泛地运用到实际中。

参考文献 (References)

- Amaral IMR, Neto JFM, Pereira GB, *et al.* Circulating hemocytes from larvae of *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): Cell types and their role in phagocytosis [J]. *Micron*, 2010, 41 (2): 123 - 129.
- Anna D, Rommelaere S, Poidevin M, *et al.* Thioester - containing proteins regulate the Toll pathway and play a role in *Drosophila*, defence against microbial pathogens and parasitoid wasps [J]. *BMC Biology*, 2017, 15 (1): e79.
- Antonin S, Caroline A, Marc R, *et al.* The cellular immune response of the pea aphid to foreign intrusion and symbiotic challenge [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7 (7): e42114.
- Arteaga B, Luis A, Crispim JS, *et al.* Differential cellular immune response of *Galleria mellonella* to *Actinobacillus pleuropneumoniae* [J]. *Cell and Tissue Research*, 2017, 370 (1): 153 - 168.
- Azambuja PD, Garcia ES, Ratcliffe NA. Aspects of classification of Hemiptera hemocytes from six triatomine species [J]. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1991, 86 (1): 1 - 10.
- Benoit JB, Vigneron A, Broderick NA, *et al.* Symbiont - induced odorant binding proteins mediate insect host hematopoiesis [J]. *eLife*, 2017, 6: e19535.
- Borges AR, Santos PN, Furtado AF, *et al.* Phagocytosis of latex beads and bacteria by hemocytes of the triatomine bug *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) [J]. *Micron*, 2008, 39 (4): 486 - 494.
- Bretscher AJ, Honti V, Binggeli O, *et al.* The Nimrod transmembrane receptor Eater is required for hemocyte attachment to the sessile compartment in *Drosophila melanogaster* [J]. *Biology Open*, 2015, 4: 355 - 363.
- Bryant WB, Michel K. *Anopheles gambiae* hemocytes exhibit transient states of activation [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2016, 55: 119 - 129.
- Canton J, Neculai D, Grinstein S. Scavenger receptors in homeostasis and immunity [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2013, 13 (9): 621 - 634.

- Chen XD, Gill TA, Nguyen CD, *et al.* Insecticide toxicity associated with detoxification enzymes and genes related to transcription of cuticular melanization among color morphs of Asian citrus psyllid [J]. *Insect Science*, 2018, 26 (4): 843–852.
- Chu H, Mazmanian SK. Innate immune recognition of the microbiota promotes host – microbial symbiosis [J]. *Nature Immunology*, 2013, 14 (7): 668–675.
- Chung YSA, Kocks C. Recognition of pathogenic microbes by the *Drosophila*, phagocytic pattern recognition receptor Eater [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286 (30): 26524–26532.
- Evans CJ, Hartenstein V, Banerjee U. Thicker than blood: Conserved mechanisms in *Drosophila* and vertebrate hematopoiesis [J]. *Developmental Cell*, 2003, 5 (5): 673–690.
- Flannagan RS, Jaumouillé V, Grinstein S. The cell biology of phagocytosis [J]. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 2012, 7: 61–98.
- Fujita Y, Nagaosa K, Shiratsuchi A, *et al.* Role of NPxY motif in Draper – mediated apoptotic cell clearance in *Drosophila* [J]. *Drug Discoveries and Therapeutics*, 2012, 6 (6): 291–297.
- Gerardo NM, Altincicek B, Anselme C, *et al.* Immunity and other defenses in pea aphids, *Acyrtosiphon pisum* [J]. *Genome Biology*, 2010, 11 (2): R21.
- Gillespie JP, Burnett C, Charnley AK. The immune response of the desert locust *Schistocerca gregaria* during mycosis of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* var *acridum* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2000, 46 (4): 429–437.
- Gordon S, Neyen C. Scavenger receptors [J]. *Encyclopedia of Cell Biology*, 2016, 3: 727–740.
- Gray M, Botelho RJ. Phagocytosis: Hungry, hungry cells. In: Botelho R, ed. *Phagocytosis and Phagosomes: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology* [C]. New York: Springer, 2017: 1–16.
- Grizanova EV, Semenova AD, Komarov DA, *et al.* Maintenance of redox balance by antioxidants in hemolymph of the greater wax moth, *Galleria mellonella*, larvae during encapsulation response [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2018, 98 (4): e21460.
- Hauton C, Smith VJ. Adaptive immunity in invertebrates: A straw house without a mechanistic foundation [J]. *BioEssays*, 2010, 29 (11): 1138–1146.
- He L, Zhang YJ, Fan TS, *et al.* Study on morphology of hemocytes in *Calliptamus italicus* [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2017, 39 (5): 1100–1104. [何岚, 张永军, 樊泰山, 等. 意大利蝗血细胞形态学研究 [J]. 环境昆虫学报, 2017, 39 (5): 1100–1104]
- János Z, Gábor C, Viktor H. *Drosophila* Nimrod proteins bind bacteria [J]. *Open Life Sciences*, 2013, 8 (7): 633–645.
- Jiravanichpaisal P, Lee BL, Söderhäll K. Cell – mediated immunity in arthropods: Hematopoiesis, coagulation, melanization and opsonization [J]. *Immunobiology*, 2006, 211 (4): 213–236.
- Kagan JC, Iwasaki A. Phagosome as the organelle linking innate and adaptive immunity [J]. *Traffic*, 2012, 13 (8): 1053–1061.
- Kim SG, Jo YH, Seong JH, *et al.* Tm SR – C, scavenger receptor class C, plays a pivotal role in antifungal and antibacterial immunity in the coleopteran insect, *Tenebrio molitor* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2017, 89: 31–42.
- Kim Y, Ahmed S, Stanley D, *et al.* Eicosanoid – mediated immunity in insects [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2017, 83: 130–143.
- Kocks C, Cho JH, Nehme N, *et al.* Eater, a transmembrane protein mediating phagocytosis of bacterial pathogens in *Drosophila* [J]. *Cell*, 2005, 123 (2): 335–346.
- Kuraishi T, Manaka J, Kono M, *et al.* Identification of calreticulin as a marker for phagocytosis of apoptotic cells in *Drosophila* [J]. *Experimental Cell Research*, 2007, 313 (3): 500–510.
- Kuraishi T, Nakagawa Y, Nagaosa K, *et al.* Pretaporter, a *Drosophila* protein serving as a ligand for Draper in the phagocytosis of apoptotic cells [J]. *The EMBO Journal*, 2009, 28 (24): 3868–3878.
- Kurata S. Extracellular and intracellular pathogen recognition by *Drosophila* PGRP-LE and PGRP-LC [J]. *International Immunology*, 2010, 22 (3): 143–148.
- Lamprou I, Mamali I, Dallas K, *et al.* Distinct signalling pathways promote phagocytosis of bacteria, latex beads and lipopolysaccharide in medfly haemocytes [J]. *Insect Science*, 2007, 121 (3): 314–327.
- Laughton AM, Garcia JR, Gerardo NM. Condition – dependent alteration of cellular immunity by secondary symbionts in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2015, 86: 17–24.
- Lavine MD, Strand MR. Insect hemocytes and their role in immunity [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2002, 32 (10): 1295–1309.
- Li Q, Fan J, Sun J, *et al.* Effect of the secondary symbiont *Hamiltonella defensa* on fitness and relative abundance of *Buchnera aphidicola* of wheat aphid, *Sitobion miscanthi* [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: e582.
- Lim JJ, Sergio G, Ziv R. Diversity and versatility of phagocytosis: Roles in innate immunity, tissue remodeling, and homeostasis [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2017, 7: 191–203.
- Ling E, Yu XQ. Prophenoloxidase binds to the surface of hemocytes and is involved in hemocyte melanization in *Manduca sexta* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2005, 35 (12): 1356–1366.
- Liu Y, Zhao X, Naeem M, *et al.* Crystal structure of peptidoglycan recognition protein SA in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) [J]. *Protein Science*, 2018, 27 (4): 893–897.
- Loof TG, Schmidt O, Herwald H, *et al.* Coagulation systems of invertebrates and vertebrates and their roles in innate immunity: The same side of two coins? [J]. *Journal of Innate Immunity*, 2011, 3 (1): 34–40.
- Macdonald JM, Beach MG, Porpiglia E, *et al.* The *Drosophila* cell corpse engulfment receptor Draper mediates glial clearance of severed axons [J]. *Neuron*, 2006, 50 (6): 869–881.
- Majumder J, Ghosh D, Agarwala BK. Haemocyte morphology and differential haemocyte counts of giant ladybird beetle *Anisolemnia dilatata* (Coleoptera: Coccinellidae): A unique predator of bamboo woolly aphids [J]. *Science Letter*, 2017, 112 (1): 160–164.
- Marmaras VJ, Lampropoulou M. Regulators and signalling in insect haemocyte immunity [J]. *Cellular Signalling*, 2009, 21 (2): 186–195.

- Melcarne C, Ramond E, Dudzic J, *et al.* Two Nimrod receptors, NimC1 and Eater, synergistically contribute to bacterial phagocytosis in *Drosophila melanogaster* [J]. *FEBS Journal*, 2019, 286 (14): 2670–2691.
- Metchnikoff E. On the present state of the question of immunity in infectious diseases [J]. *Scandinavian Journal of Immunology*, 1989, 30 (4): 387–398.
- Nakahara Y, Kanamori Y, Kiuchi M, *et al.* Two hemocyte lineages exist in silkworm larval hematopoietic organ [J]. *PLoS ONE*, 2010, 5 (7): e11816.
- Nappi AJ, Christensen BM. Melanogenesis and associated cytotoxic reactions: Applications to insect innate immunity [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2005, 35 (5): 443–459.
- Ni RY, Meng Q, Zhang H, *et al.* Types, morphology and cellular immune functions of hemocytes in larvae of *Thitarodes xiaojinensis* (Lepidoptera: Hepialidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2018, 61 (4): 432–438. [倪若尧, 孟茜, 张寰, 等. 小金蝠蛾幼虫血细胞的种类、形态及细胞免疫功能 [J]. 昆虫学报, 2018, 61 (4): 432–438]
- Niedergang F, Grinstein S. How to build a phagosome: New concepts for an old process [J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2018, 50: 57–63.
- Nielsen ES, Robinson GS, Wagner DL. Ghost – moths of the world: A global inventory and bibliography of the *Exoporia* (Mnesarchaeoidea and Hepialoidea) (Lepidoptera) [J]. *Journal of Natural History*, 2000, 34 (6): 823–878.
- Peltier J, Härtlova A, Trost M. Assessing the phagosome proteome by quantitative mass spectrometry. In: Botelho R, ed. *Phagocytosis and Phagosomes: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology [C]. New York: Springer, 2016: 249–263.
- Peuß R, Wensing KU, Woestmann L, *et al.* Down syndrome cell adhesion molecule 1: Testing for a role in insect immunity, behaviour and reproduction [J]. *Royal Society Open Science*, 2016, 3 (4): e160138.
- Philips JA. *Drosophila* RNAi screen reveals CD36 family member required for *Mycobacterial Infection* [J]. *Science*, 2005, 309 (5738): 1251–1253.
- Ramet M, Pearson A, Manfrulli P, *et al.* *Drosophila* scavenger receptor CI is a pattern recognition receptor for bacteria [J]. *Immunity*, 2001, 15 (6): 1027–1038.
- Ribeiro C, Michel B. Insect haemocytes: What type of cell is that? [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2006, 52 (5): 417–429.
- Rizki TM, Rizki RM. The cellular defense system of *Drosophila melanogaster*. In: King RC, Akai H, eds. *Insect Ultrastructure* [C]. New York: Plenum Press, 1984: 579–604.
- Satyavathi VV, Minz A, Nagaraju J. Nodulation: An unexplored cellular defense mechanism in insects [J]. *Cellular Signalling*, 2014, 26 (8): 1753–1763.
- Shi M, Chen XY, Zhu N, *et al.* Molecular identification of two prophenoloxidase – activating proteases from the hemocytes of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and their transcript abundance changes in response to microbial challenges [J]. *Journal of Insect Science*, 2014, 14 (1): e179.
- Shokal U, Kopydlowski H, Eleftherianos I. The distinct function of Tep2 and Tep6 in the immune defense of *Drosophila melanogaster* against the pathogen *Photobacterium* [J]. *Virulence*, 2017, 8 (8): 1668–1682.
- Siddiqui MI, Al KMS. Review of haemocyte count, response to chemicals, phagocytosis, encapsulation and metamorphosis in insects [J]. *Italian Journal of Zoology*, 2014, 81 (1): 2–15.
- Sideri M, Tsakas S, Markoutsas E, *et al.* Innate immunity in insects: Surface – associated dopa decarboxylase – dependent pathways regulate phagocytosis, nodulation and melanization in medfly haemocytes [J]. *Immunology*, 2008, 123 (4): 528–537.
- Sigle LT, Hillyer JF. Eater and Draper are involved in the peritrophic haemocyte immune response in the mosquito *Anopheles gambiae* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2018, 27 (4): 429–438.
- Silva MT. When two is better than one: Macrophages and neutrophils work in concert in innate immunity as complementary and cooperative partners of a myeloid phagocyte system [J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2010, 87 (1): 93–106.
- Smith PH, Mwangi JM, Afrane YA, *et al.* Alternative splicing of the *Anopheles gambiae* Dscam gene in diverse *Plasmodium falciparum* infections [J]. *Malaria Journal*, 2011, 10 (1): e156.
- Stuart LM, Ezekowitz RA. Phagocytosis and comparative innate immunity: Learning on the fly [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2008, 8 (2): 131–141.
- Upasana S, Ioannis E. Evolution and function of thioester – containing proteins and the complement system in the innate immune response [J]. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8: e759.
- Watson FL. Extensive diversity of Ig-superfamily proteins in the immune system of insects [J]. *Science*, 2005, 309 (5742): 1874–1878.
- Wu G, Liu Y, Ding Y, *et al.* Ultrastructural and functional characterization of circulating hemocytes from *Galleria mellonella* larva: Cell types and their role in the innate immunity [J]. *Tissue and Cell*, 2016, 48 (4): 297–304.
- Yuemei D, Taylor HE, George D, *et al.* AgDscam, a hypervariable immunoglobulin domain-containing receptor of the *Anopheles gambiae* innate immune system [J]. *PLoS Biology*, 2006, 4 (7): e229.
- Zhang K, Li C, Weng X, *et al.* Transgenic characterization of two silkworm tissue – specific promoters in the haemocyte plasmatocyte cells [J]. *Insect Molecular Biology*, 2018, 27 (2): 133–142.
- Zheng Y, Wang JL, Liu C, *et al.* Differentially expressed profiles in the larval testes of *Wolbachia* infected and uninfected *Drosophila* [J]. *BMC Genomics*, 2011, 12 (1): e595.
- Zhong K, Liu ZC, Wang JL, *et al.* The entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* impairs cellular immunity of its host *Helicoverpa armigera* [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2017, 96 (1): e21402.
- Zibae A, Bandani AR, Talaei HR, *et al.* Cellular immune reactions of the sunn pest, *Eurygaster integriceps*, to the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, and its secondary metabolites [J]. *Journal of Insect Science*, 2011, 11 (138): 1–16.
- Zibae A, Bandani AR, Malagoli D. Methoxyfenozide and pyriproxifen alter the cellular immune reactions of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) against *Beauveria bassiana* [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2012, 102 (1): 30–37.