环境昆虫学报 2021，43（5）：1079－1094
Journal of Environmental Entomology
http：//hjkcxb. alljournals. net
doi：10. 3969/j. issn. 1674－0858. 2021. 05. 1

李洁，李洁，于乾龙，郑桂玲，张彬，李长友．鳞翅目昆虫抗病毒免疫反应的研究进展［J］．环境昆虫学报，2021，43（5）：1079－1094.

鳞翅目昆虫抗病毒免疫反应的研究进展

李　洁，李　洁，于乾龙，郑桂玲，张　彬，李长友*
（青岛农业大学植物医学学院，山东省植物病虫害综合防控重点实验室，山东青岛 266109）

摘要：鳞翅目昆虫种类繁多，对农业生产和人类生活产生重大影响，宿主昆虫与病毒相互关系的研究对于利用病毒杀虫剂进行害虫治理和益虫病毒性疾病的预防具有重要意义。因此，鳞翅目昆虫与病毒的互作研究显得尤为重要，宿主昆虫的免疫系统在抗病毒感染过程中发挥着关键作用，对病毒产生不同程度的免疫反应。本文综述了昆虫围食膜和中肠对病毒入侵的防御作用，病毒进入体腔后昆虫所产生的细胞免疫和体液免疫反应，以及 RNAi、细胞的自噬与凋亡、Toll、Imd、JAK-STAT 和 STING 信号通路等相关的抗病毒免疫途径，并对昆虫抗病毒免疫研究的制约因素和未来鳞翅目昆虫抗病毒免疫的研究重点进行了讨论，以期为害虫的生物防治和益虫疾病的防控提供理论依据。

关键词：鳞翅目昆虫；抗病毒；免疫反应；信号通路
中图分类号：Q965；S89　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1674－0858（2021）05－1079－16

Advance research on antiviral immunity response in lepidopteran insects

LI Jie，LI Jie，YU Qiang-Long，ZHENG Gui-Ling，ZHANG Bin，LI Chang-You*（College of Plant Health and Medicine，Qingdao Agricultural University，Shandong Province Key Laboratory for Integrated Control of Plant Diseases and Pests，Qingdao 266109，Shandong Province，China）

Abstract：Lepidopteran insects are diverse and have a major impact on agricultural production and human life，the interrelationship between host insects and viruses is important for the use of viral insecticides for pest control and prevention of viral diseases of beneficial insects. Therefore，the research on the interaction between lepidopteran insects and viruses is particularly important. Insect innate immunity plays a key role in the process of antiviral infection，which produces different degrees of immune responses to viruses. This paper reviewed the defensive roles of insect peritrophic matrix and midgut against virus invasion，the cellular and humoral immune responsed generated by insects after virus entry into the haemocoele，and the antiviral immune pathways related to RNAi，autophagy and apoptosis，Toll，Imd，JAK-STAT and STING signaling pathways. We also discussed the constraints on the study of antiviral immunity in insects and future research priorities for antiviral immunity in lepidopteran insects，which would provide a theoretical basis for biological control of pests and prevention of beneficial insect diseases.

Key words：Lepidopteran insects；antivirus；immune response；signaling pathway

鳞翅目昆虫种类繁多，是昆虫纲中的第二大目，其中许多种类是农业上的重要害虫，给农业生产带来巨大的经济损失；同时，一些种类如家蚕 *Bombyx mori* 和柞蚕 *Antherea pernyi* 等，是重要

基金项目：国家自然科学基金（31972333）；山东省自然科学基金（ZR2020MC128，ZR2020MC130）
作者简介：李洁，女，1984 年生，山东平度人，博士，副教授，研究方向为病毒与昆虫互作，Email：lijiepd@163. com
* 通讯作者 Author of correspondence：李长友，男，博士，教授，研究方向为害虫生物防治，Email：cyli@qau. edu. cn
收稿日期 Received：2021－07－15；接受日期 Accepted：2021－08－09

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

的资源昆虫。鳞翅目昆虫可被多种病毒感染，其中一些病毒是具有致病性的，常见的如杆状病毒科 Baculoviridae 的核型多角体病毒（Nucleopolyhedrovirus，NPV）和颗粒体病毒（Granulovirus，GV）、呼肠孤病毒科 Reoviridae 的质型多角体病毒（Cypovirus）、二分 DNA 病毒科 Bidnaviridae 的二分浓核病毒（Bidensovirus）、囊泡病毒科 Ascoviridae 的囊泡病毒（Ascovirus）和痘病毒科 Poxviridae 的昆虫痘病毒（Entomopoxvirus）等。因此，昆虫病毒可以作为生物防治的重要手段来防治很多农业害虫，如棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*、斜纹夜蛾 *Spodoptera litura*、草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 和苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* 等（Sosa-Gómez *et al.*，2020），其优点是特异性强，安全无害，不易产生抗药性等特点，长期使用后可引起害虫群体病毒病的流行传播，从而实现害虫的可持续治理（李慧等，2015；Kergunteuil *et al.*，2016）；另一方面，病毒感染家蚕等有益昆虫会造成严重的经济损失，预防和控制有益昆虫的病毒性疾病也十分重要（Jiang，2021）。因此，研究鳞翅目昆虫与病毒的相互关系对于害虫的防治和益虫的利用都显得尤为紧迫，尤其是昆虫的抗病毒免疫研究。昆虫属于无脊椎动物，与高等脊椎动物相比缺少获得性免疫系统，不会对入侵的病毒产生特异的抗体，而是在与病毒的长期互作中形成了一套独特的先天免疫系统，主要是通过体液免疫和细胞免疫共同抵御病毒的入侵。在病毒与宿主的互作过程中，病毒可以劫持宿主的基因来进行自我增殖，同时病毒对其宿主产生的巨大选择压力，使其进化出各种抗性途径（Misof *et al.*，2014）。反之，多样化的抗病毒途径又激发病毒对宿主免疫产生了丰富的抑制或逃避宿主的免疫响应。因此，通过病毒与宿主昆虫之间的互作研究，可以深入了解鳞翅目昆虫抗病毒免疫途径的多样性。本文将针对鳞翅目昆虫对病毒入侵的防御、细胞免疫和体液免疫反应、抗病毒免疫途径及相关基因的功能、抗病毒免疫研究的制约因素等的研究进展进行综述，以期为害虫的生物防治和益虫疾病的防控提供理论依据。

1 昆虫对病毒入侵的防御

多数种类的鳞翅目昆虫病毒会随食物经口和消化道入侵中肠，病毒粒子需要通过围食膜和中肠上皮细胞，进而造成继发性感染，完成病毒的复制、组装和释放等过程。昆虫也进化出了一套抑制或阻断病毒入侵的方法，其中消化道在昆虫先天免疫防御中起着重要的作用，是抵御病毒的第一道天然屏障，下面主要介绍围食膜和中肠在防御病毒入侵过程中的作用。

1.1 围食膜的防御作用

围食膜（Peritrophic matrix，PM）是广泛分布于昆虫中肠内壁，处于中肠上皮细胞和肠道内容物之间的一层选择透过性膜，起到增加中肠润滑、促进食物消化、中和毒素等作用。围食膜由中肠前端一直延伸至后肠内。根据围食膜的形成方式可将其分为两类：一类由中肠细胞分泌，形成多层重叠的管状膜，称Ⅰ型围食膜，多见于鞘翅目、膜翅目、蜻蜓目、直翅目昆虫和鳞翅目幼虫中；另一类由中肠前端特殊细胞分泌出粘液，通过食道内褶与中肠之间环状裂缝的挤压形成Ⅱ型围食膜，常见于革翅目、等翅目、纺足目、部分鳞翅目和双翅目幼虫（Hegedus *et al.*，2019）。围食膜是由几丁质、蛋白质和多糖组成的复合物，几丁质构成围食膜的骨架，多数的蛋白质与糖结合以糖蛋白或蛋白多糖的形式存在，而糖是围食膜半渗透性以及致密性的主要因素（Yang *et al.*，2010）。

病毒能否入侵中肠上皮细胞，是病毒开始感染时首先要面对的问题之一。作为病毒同昆虫接触的第一道物理屏障，围食膜在保护昆虫免受病毒侵染方面发挥着重要的作用。围食膜的结构特性可以影响昆虫对病毒感染的敏感性，与敏感昆虫相比，抗性的梨豆夜蛾 *Anticarsia gemmatalis* 围食膜相对较厚，几丁质含量更高，与麦胚凝集素的结合能力更强（Levy *et al.*，2007；2012）。

围食膜作为昆虫体内一道物理性保护屏障，其特殊的结构组成形式发挥着主要的生理功能。人为干扰昆虫围食膜正常的生理功能，可以达到控制害虫的目的。多种病毒增效因子可以通过不同方式与围食膜上特异位点结合或降解围食膜蛋白和几丁质，从而破坏围食膜的结构，可以促进病毒对昆虫的感染（Erlandson *et al.*，2019）。例如，来自于颗粒体病毒的增效蛋白，是一种金属蛋白酶，能降解围食膜肠粘蛋白（Invertebrate intestinal mucin，IIM），使围食膜结构受到破坏，帮助病毒粒子进入中肠细胞，加速病毒感染进程

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(Wang and Granados, 1997)。荧光增白剂可以竞争性地结合到几丁质上，导致围食膜蛋白与几丁质的解离，并能促进核型多角体病毒对宿主的侵染(Wang and Granados, 2000)。几丁质酶处理的围食膜常出现孔洞和缝隙，随着处理时间的延长，对围食膜的破坏程度也越大，可以明显加快核型多角体病毒对棉铃虫初孵幼虫的致死速度(刘文霞等, 2008)。以上研究均说明围食膜对病毒的入侵具有一定的防御作用。

1.2　中肠的防御作用

昆虫中肠是分泌消化酶、消化食物和吸收营养物质的重要场所，同时也是病毒入侵的作用靶标。中肠的组织结构、组成和生理功能也对病毒的入侵具有一定的防御作用。研究发现，随着龄期的增加，烟芽夜蛾 *Holiothis virescens* 幼虫对苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒(*Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus*, AcMNPV)感染的抗性不断增强，与 4 龄幼虫相比，5 龄幼虫经口腔感染的进程要慢得多，抗性可能是由于中肠细胞的不同生理特性引起的，5 龄幼虫后期的中肠细胞结构会随着发育向成虫细胞类型发生转变，中肠细胞可能在幼虫末期以较快的速度脱落(Kirkpatrick *et al.*, 1998)。舞毒蛾 *Lymantria dispar* 新蜕皮的 4 龄幼虫对舞毒蛾核型多角体病毒(*Lymantria dispar multiple nucleopolyhedrovirus*, LdMNPV)的 LD_{50}低于蜕皮后 2 ~ 3 d 感染病毒的幼虫。此外，蜕皮后2 ~ 3 d 感染的幼虫较新蜕皮感染的幼虫体内含有更多的黑化感染病灶，被感染的血细胞数量也减少(McNeil *et al.*, 2010a; 2010b)。

中肠的组成也对病毒的入侵具有影响，通过比较家蚕对浓核病毒中国株(*Bombyx mori densovirus*, BmDNV-3)抗性及感性品系的中肠蛋白质表达谱，鉴定出糖基转移酶(Glycosyltransferase)、糖基转移酶-S(GlcAT-S)、21.5 kDa 小热休克蛋白(21.5 kDa small heat shock protein)、V-ATP 酶(Vacuolar ATP synthase)和精氨酸激酶(Arginine kinase)等 5 种蛋白在抗性品系秋丰中的表达量均高于感性品系华八 35，而糖基转移酶和糖基转移酶-S 仅在抗性品系中存在，提示它们可能是与抗浓核病毒有关的蛋白(包方等, 2007)。草地贪夜蛾对 AcMNPV 经口感染具有高度抗性，但对血腔内的芽生病毒(BV)极敏感。研究表明，AcMNPV 的包埋型病毒粒子(ODV)无法在草地贪夜蛾中肠细胞内轻易建立原发感染，这是经口抗性产生的主要原因，病毒的经口感染可能受到病毒粒子与昆虫中肠结合能力的影响。相比于草地贪夜蛾核型多角体病毒(*Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus*, SfMNPV)，AcMNPV ODV 与草地贪夜蛾幼虫中肠细胞的亲和力降低，仅为 SfMNPV 的 15%。SfMNPV ODV 可与 AcMNPV ODV 未结合的中肠细胞受体结合，这可能有助于其提高其启动感染的能力(Haas-Stapleton *et al.*, 2005)。

另外，从家蚕的消化液中分离出家蚕红色荧光蛋白(Red fluorescent proteins, RFPs)、家蚕脂肪酶-1(*Bombyx mori* lipase-1, Bmlipase-1)、家蚕丝蛋白酶-2(*Bombyx mori* serine protease-2, BmSP-2)、可溶性 NADPH 氧化还原蛋白(A soluble NADH-oxidoreductase-like protein, BmNOX)、家蚕胰蛋白酶(*Bombyx mori* trypsin, Bmtryp)等多种抗病毒因子，对病毒入侵起到不同程度的抗性作用(郭望等, 2018)。

2　昆虫的细胞免疫和体液免疫

当病毒突破宿主昆虫中肠屏障后，进入到体腔时，昆虫的免疫系统可对外来的病原微生物或异物进行防御。昆虫的免疫系统可分为细胞免疫和体液免疫。细胞免疫主要通过浆细胞、粒细胞和拟绛色细胞等血细胞参与的吞噬(Phagocytosis)、集结(Nodulation)和包囊(Encapsulation)等过程清除异物(Lemaitre and Hoffmann, 2007)。体液免疫主要是通过 Toll、Imd、JAK-STAT 等信号通路产生抗菌肽(Antimicrobial peptides, AMPs)等效应分子和由原酚氧化酶(Prophenoloxidase, ProPO)等一系列酶参与的凝结(Coagulation)和黑化反应(Melanization)(Christensen *et al.*, 2005)。虽然将昆虫天然免疫反应分为细胞免疫和体液免疫两种，其实，在抵御病原物侵染的过程中，细胞免疫和体液免疫实际上是相互交叉，紧密联系在一起的。二者共同作用，通过对病原体识别、信号转导途径及效应机制等过程完成对病原物的杀灭和清除。

在昆虫天然免疫反应中，首先由模式识别蛋白(Pattern recognition proteins /receptor, PRPs)识别并结合病原物表面特有的模式分子(Pathogen-associated molecular pattern, PAMPs)。模式识别蛋白通常分布在脂肪体细胞以及血淋巴细胞表面，

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

或者游离在昆虫的血淋巴中，已经鉴定的模式识别蛋白主要有 β-1，3-葡聚糖识别蛋白（β-1，3-glucan recognition protein，βGRP）或革兰氏阴性细菌结合蛋白（Gram-negative bacteria binding proteins，GNBPs）、肽聚糖识别蛋白（Peptidoglycan recognition proteins，PGRPs）、类免疫球蛋白（Hemolin）、C 型凝集素（C-type lectins）等，不同的模式识别蛋白具有不同的结构和功能，可以识别并结合不同的 PAMPs（Jiang *et al.*，2010；Hughes，2012）。当外界病原物进入昆虫体内被模式识别受体蛋白识别后，继而一系列包括丝氨酸蛋白酶和丝氨酸蛋白酶抑制剂在内的级联激活反应，以及 Toll、Imd、JAK-STAT 等信号转导通路被激活，来调控昆虫的体液免疫和细胞免疫（Christensen *et al.*，2005）。

免疫效应分子主要包括抗菌肽、黑色素、活性氧等，负责对病原物的杀灭和清除。抗菌肽是一类小分子量的阳离子肽，具有广谱抗菌活性，针对不同类型的病原物，抗菌肽的产生机制也不尽相同。昆虫体内主要是由 Toll 和 Imd 等途径通过激活不同转录因子，调控不同抗菌肽基因的表达而参与昆虫体内的天然免疫反应（张明明等，2012）。黑化反应是由丝氨酸蛋白酶级联调控的，丝氨酸蛋白酶裂解和激活原酚氧化酶，形成有活性的酚氧化酶，然后催化酚类物质（如酪氨酸）氧化成苯醌类非芳香环化合物，然后再聚合形成黑色素。黑色素合成和沉积的结果会导致伤口部位变黑，是对抗感染的重要防御手段，它可以包裹和隔离病原体，类似于脊椎动物的凝血系统（Popham *et al.*，2004）。酚氧化酶同时能激活体液免疫和细胞免疫，发挥抗病毒作用（Lu *et al.*，2014；Yi *et al.*，2014）。此外，黑化反应的中间体可参与活性氧的生产，活性氧是杀死病原微生物的毒剂（Lemaitre and Hoffmann，2007）。

关于昆虫天然免疫系统的研究和描述大部分来自于模式昆虫果蝇，但一些报道显示，鳞翅目昆虫对病毒具有相似的免疫防御系统。美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* 和烟芽夜蛾同属于鳞翅目夜蛾科，但美洲棉铃虫对 AcMNPV 的敏感性比烟芽夜蛾低 1 000 倍，是由于 AcMNPV 感染美洲棉铃虫能够激活宿主的黑化和包囊反应，从而降低病毒在血淋巴中的滴度并抑制感染进程，而在烟芽夜蛾中的这一免疫途径并不活跃（Trudeau *et al.*，2001）。海灰翅夜蛾 *Spodoptera littoralis* 对 AcMNPV 感染也具有高度的抗性，由于能够有效地将病毒包裹在成气管细胞中，病灶在蜕皮过程中被清除，从而消除了感染（Rivkin *et al.*，2006）。研究表明细胞免疫和体液免疫在昆虫的抗病毒过程中发挥重要作用，这个过程涉及多条免疫途径，详见下文。

3 鳞翅目昆虫的抗病毒免疫途径

3.1 RNAi 途径

RNA 干扰（RNA interference，RNAi）是一种存在于细胞内进化较为保守的基因沉默机制，在调节基因表达和抵抗病毒侵染中发挥重要作用，是昆虫中重要的抗病毒免疫途径（Kingsolver *et al.*，2013；Chejanovsky *et al.*，2014；Carissimo *et al.*，2014；McFarlane *et al.*，2014；Zografidis *et al.*，2015；Swevers *et al.*，2020）。RNAi 是指外源或内源的 dsRNA（Double-stranded RNA）特异性的诱导其同源基因转录后的沉默，病毒 dsRNA 的存在会诱发昆虫体内的抗病毒 RNAi 反应。在昆虫中，已经检测到病毒衍生的不同类型的小 RNA，即 siRNA（Small interfering RNA）、miRNA（Micro-RNA）和 piRNA（Piwi-interacting RNA）（Morazzani *et al.*，2012；Aguiar *et al.*，2015）。研究发现 siRNA 在昆虫的抗病毒免疫中起主要作用，病毒的 dsRNA 被 Dicer 家族的 RNA 酶切割成 21 ~ 23 nt 的 siRNA，siRNA 中的一条链被 Argonaute（Ago）家族蛋白复合体识别并加以修饰，形成 RNA 诱导的沉默复合物（RISC），在 siRNA 的引导下驱动病毒 RNA 的降解（Kim *et al.*，2009）。

在鳞翅目昆虫中，将 RNAi 途径中的关键基因过表达可以帮助细胞免受病毒感染（图 1，表 1）。例如，在粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* High Five 细胞中过表达 Dicer-2 和 Argonaute-2（Ago-2）可以提高细胞对蟋蟀麻痹病毒（*Cricket paralysis virus*，CrPV）的防御能力。反之，通过 RNAi 沉默 Dicer-2 和 Ago-2 导致细胞中的拟黄斑潜伏病毒（*Macula-like latent virus*，MLV）的转录水平显著升高（Santos *et al.*，2018）。在家蚕幼虫中过表达 Ago-2 和 Dicer-2，可以提高家蚕对 dsRNA 的敏感性（You *et al.*，2020）。在转基因家蚕中过表达以家蚕核型多角体病毒（*Bombyx mori nucleopolyhedrovirus*，BmNPV）、家蚕质型多角体病毒（*Bombyx mori cypovirus*，BmCPV）和家蚕二分浓核病毒（*Bombyx mori bidensovirus*，BmBDV）等病毒基因为靶标的

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

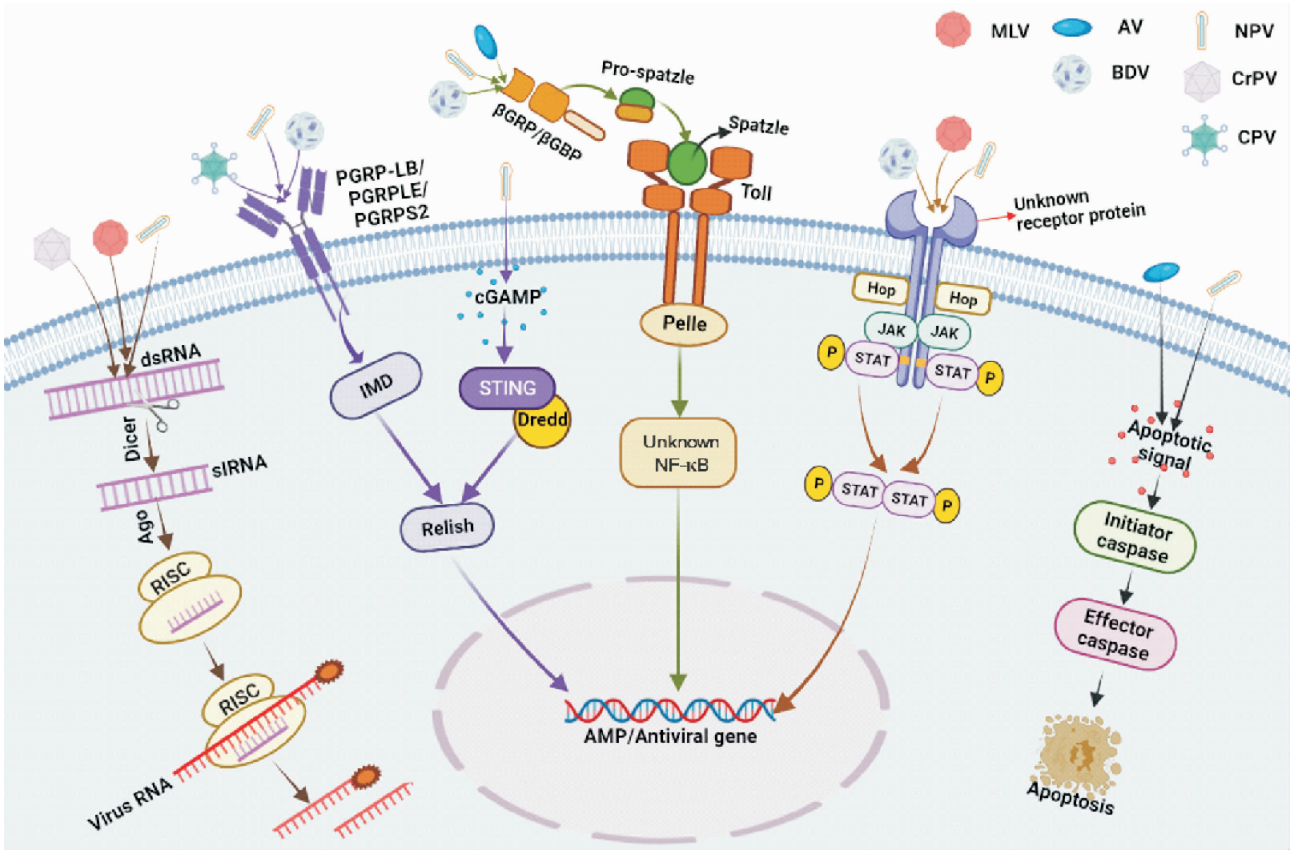


图 1　鳞翅目昆虫免疫信号通路（RNAi、Imd、STING、Toll、JAK-STAT、凋亡）及免疫相关基因

Fig. 1　Immune signaling pathways (RNAi, Imd, STING, Toll, JAK-STAT, Apoptosis) and immune-related genes of lepidopteran insects

注：MLV，黄斑潜伏病毒；AV，囊泡病毒；BDV，二分浓核病毒；NPV，核型多角体病毒；CrPV，蟋蟀麻痹病毒；CPV，质型多角体病毒。Note: MLV, *Macula-like latent virus*; AV, Ascovirus; BDV, Bidensovirus; NPV, Nucleopolyhedrovirus; CrPV, *Cricket paralysis virus*; CPV, Cypovirus.

dsRNA，可以显著降低上述病毒的增殖和家蚕感染病毒后的死亡率（Jiang *et al.*，2013；2017；Sun *et al.*，2018）。Jayachandran 等（2012）在美洲棉铃虫脂肪体细胞（HzFB）中，通过 RNAi 沉默 Dicer-2 的表达，成功的提高了棉铃虫核多角体病毒（*Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus*，HaNPV）在细胞中的增殖，表明 Dicer-2 直接参与棉铃虫的抗病毒免疫。Karamipour 等（2018）用 AcMNPV 感染 Sf9 细胞后发现 Dicer-2 和 Ago-2 基因表达水平上调，同时发现 Sf9 细胞中有大量细胞中 siRNA 匹配到 AcMNPV 上。次年，Karamipour 等（2019）又发现，通过 RNAi 将 Dicer-1 和 Ago-1 沉默后，提高了 AcMNPV 在 Sf9 细胞中的增殖，同时降低了 miR-184 的表达水平，表明 *Dicer* 和 *Ago* 基因在 AcMNPV 侵染 Sf9 细胞中参与了抗病毒免疫。另外，宿主编码的 miRNA 可以抑制病毒的增殖，如 Bmo-miRNA-2819 通过下调 BmNPV 的 *ie-1* 基因的表达来抑制病毒的增殖（Wu *et al.*，2019）。与 siRNA 和 miRNA 不同，piRNA 来源于单链 RNA 前体，piRNA 在模式昆虫黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*、埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 中有明显的抗病毒免疫作用，但是在鳞翅目昆虫中 piRNA 的抗病毒免疫作用尚不清楚（Kolliopoulou *et al.*，2019）。

3.2　细胞的自噬及凋亡途径

很多研究表明，病毒侵染细胞后能诱导细胞的自噬（Autophagy）和凋亡（Apoptosis）。自噬和凋亡是决定细胞命运的关键途径，在抗病毒免疫中发挥着非常重要的作用。细胞自噬是宿主为抵抗外界干扰，维持能量代谢平衡的一种发生在生物体内的相对保守的过程。近年来，自噬被认为是昆虫中一种重要的抗病毒机制，当病毒感染细胞后，诱导自噬信号的释放，促使自噬产生（Shelly *et al.*，2009；Nakamoto *et al.*，2012）。与自

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

噬相关信号分子有 III 型磷脂酰肌醇 3-激酶（Phosphoinositide 3-kinase，PI3K）复合体、ULK-Atg13-FIP200-Atg101 复合体、跨膜蛋白 Atg9、跨膜蛋白 Atg14、Atg12-Atg5 共轭系统和 Atg8/LC3 共轭系统（Suzuki *et al.*，2007；Urman and Ktistakis，2010；Yin *et al.*，2016）。PI3K-Akt 途径可以对自噬进行负调控，PI3K-Akt 途径的激活可以提高 TOR（Target of rapamycin）的表达水平，TOR 通过磷酸化作用抑制 ULK 复合物的激活和 Atg 蛋白的表达，最终抑制细胞自噬的发生（Wong *et al.*，2013）。在黑腹果蝇中，利用 RNAi 沉默 *Atg5* 基因的表达，可以抑制自噬过程，导致 S2 细胞和黑腹果蝇体内水泡性口炎病毒（*Vesicular stomatitis virus*，VSV）产量的增加。而利用 RNAi 沉默 Akt 的表达，可以促进自噬过程，降低虫体内病毒的产量（Shelly *et al.*，2009）。

细胞凋亡是一种在基因控制下的细胞程序性死亡，可以由病毒侵染诱导发生，在机体的免疫中发挥重要作用（Ikeda *et al.*，2013）。在病毒感染早期，细胞凋亡不仅可以抑制病毒的复制，也可以促进吞噬细胞对感染细胞的清除，从而降低或阻止病毒在宿主体内的传播（Settles and Friesen，2008；Liu *et al.*，2013；Byers *et al.*，2016）。用 BmNPV、甜菜夜蛾核型多角体病毒（*Spodoptera exigua multiple nucleopolyhedrovirus*，SeMNPV）和黄杉毒蛾核多角体病毒（*Orgyia pseudotsugata multiple nucleopolyhedrovirus*，OpMNPV）分别感染舞毒蛾 Ld652Y 细胞均会诱导其凋亡（Ishikawa *et al.*，2003）；AcMNPV 感染斜纹夜蛾细胞早期，斜纹夜蛾核型多角体病毒（*Spodoptera litura multiple nucleopolyhedrovirus*，SpltMNPV）和大豆夜蛾核型多角体病毒（*Anticarsia gemmatalis multiple nucleopolyhedrovirus*，AgMNPV）感染的宿主细胞早期均会诱导宿主细胞凋亡（Zhang *et al.*，2002；Ishikawa *et al.*，2003），上述结果表明在病毒感染早期，细胞启动凋亡来抑制病毒的增殖和扩散。研究发现，半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶（Cysteinyl aspartate specific proteinase，Caspase）参与病毒感染引发的细胞凋亡，在细胞抗病毒免疫中发挥重要作用（Shi，2002）（图 1，表 1）。病毒感染家蚕抗性品系后，家蚕细胞 *14-3-3* 基因的表达量升高，降低了细胞凋亡抑制因子 *Bcl-2* 基因的表达，从而促进线粒体中细胞色素 C 释放到细胞质，细胞色素 C 触发 Caspase 级联反应，*BmCaspase1* 的表达量上升进而诱导细胞凋亡（Rosenquist，2003）。BmNPV 感染家蚕后，家蚕中 *Bmcaspase-1* 的表达水平显著升高，并且其在抗 BmNPV 的家蚕品系中表达水平被上调（Wang *et al.*，2017）。此外，AcMNPV 侵染甜菜夜蛾幼虫时导致 *SeCaspase-6* 的表达水平显著上调（表 1）（Yu *et al.*，2020）。综上所述，*Caspase* 在杆状病毒感染鳞翅目昆虫过程中起重要作用。

3.3 免疫信号转导通路

导致细胞基因表达变化的信号转导途径是先天抗病毒免疫的另外一个重要组成部分。免疫信号转导是生物体通过对外源病原物进行识别，将识别信号放大，激活免疫效应因子的过程。研究表明，鳞翅目昆虫对病毒入侵的免疫应答主要涉及 4 种免疫信号转导通路，分别是 Toll、Imd、JAK-STAT（Janus kinase-signal transducer and activator of transcription）和 STING（Stimulator）通路。

3.3.1 Toll 信号通路

Toll 信号通路不仅能够介导宿主对病原微生物感染的防御，快速产生相应的抗菌肽（Chowdhury *et al.*，2019），在细胞的免疫应答中起关键作用（Hillyer，2016；Yamamoto-Hino and Goto，2016）。Toll 信号通路的激活包括 βGRP、β-1，3-葡聚糖结合蛋白（β-1，3-glucan binding protein，βGBP）对病原物的识别、配体 Spätzle（Spz）的活化、细胞膜上 Toll 受体的结合与激活，调控下游作用基因的转录，快速调节抗菌肽的合成与分泌（Wang *et al.*，2007）。当 Toll 受体的胞外功能区与活化的 Spz 配体结合而具有活性时，它的胞内功能区会与髓样分化因子（MyD88）结合，随后 MyD88 再与 Tube（连接蛋白）结合，然后将信息传递给 Pelle 激酶，最后导致负调节因子 Cactus 的水解，使转录因子 Dorsal/Dif 从细胞质向细胞核转移，调节下游基因的表达及抗菌肽的产生（Valanne *et al.*，2011）。

Toll 受体在昆虫的先天免疫中如同一个监视器，能够监视和识别各种病原物表面特有的模式分子，在昆虫抵御外源入侵机体中起着重要作用（Ramirez and Dimopoulos，2010；Anthoney *et al.*，2018）。利用草地贪夜蛾囊泡病毒（*Spodoptera frugiperda ascovirus*，SfAV）侵染草地贪夜蛾的幼虫，Toll 通路的 βGRP、Toll、Spz、Pelle 的表达水平显著升高，表明 SfAV 感染激活了 Toll 信号通路

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(Zaghloul *et al.*, 2020)。BmNPV 感染家蚕细胞也可以激活 Toll 信号转导通路，抗 BmNPV 的家蚕细胞中 BmToll10-3 的转录水平显著升高，进而诱导一系列抗菌肽和抗病毒分子的产生，参与抗病毒的调控（李喜升，2016）。另外，利用 BmBDV 感染家蚕幼虫，发现 Toll 通路上的 *Spz* 基因的表达水平显著升高，表明其对 BmBDV 有免疫应答（孔鸣，2018；Kumar *et al.*, 2019）。孔鸣（2018）研究发现，家蚕抗性品系 NB 和华八 BC8 中 *βGRP* 的表达量显著高于感性品系 306 中的表达量。上述研究结果表明 Toll 信号通路参与了鳞翅目昆虫的抗病毒免疫反应，但其具体机制还需进一步研究。

3.3.2　Imd 信号通路

昆虫 Imd 信号通路是调控昆虫体液免疫反应的重要信号转导途径之一，类似于哺乳动物的肿瘤坏死因子受体（Tumor necrosis factor receptor，TNFR）信号途径（Tanji *et al.*, 2007）。昆虫 Imd 通路在果蝇中研究较为透彻，果蝇中主要介导革兰氏阴性菌和部分病毒的免疫响应（Ramirez *et al.*, 2019），革兰氏阴性菌的表面存在 DAP-型肽聚糖等病原相关分子，通过含跨膜结构域的肽聚糖识别蛋白 PGRP-LC 或胞外的 PGRP-LE 对病原物进行识别，且造成 PGRP-LC 或 PGRP-LE 构象的改变（Kaneko *et al.*, 2006），将信号传递给接头蛋白 IMD 并将其活化（Choe *et al.*, 2002）。激活后的 IMD 与转化生长因子 β 激活激酶 1（Transforming growth factor β-activated kinase，TAK1）发生作用，随后 TAK1 将免疫信号传递给 IκB 激酶（Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase），激活 Relish 蛋白（Leulier *et al.*, 2002；Silverman *et al.*, 2003），Relish 蛋白的部分区域进入细胞核诱导下游抗菌肽的表达（Tanaka *et al.*, 2008）。

Imd 通路已经被证明在模式昆虫果蝇和蚊子的抗病毒免疫中发挥作用（Lamiable *et al.*, 2016；Mussabekova *et al.*, 2017；Ramirez *et al.*, 2019）。在家蚕中（图 1，表 1），肽聚糖识别蛋白 PGRP-S2 是一种分泌蛋白，可以识别 BmCPV 的特定成分，将信号传递给 Imd 通路的下游分子。PGRP-S2 过表达后增加了 *BmImd*，*BmRelish* 和 *AMPs* 基因的表达，同时降低了家蚕感染 BmCPV 后的死亡率（Zhao *et al.*, 2018）。此外，*BmPGRP2-2* 基因也参与了家蚕的抗 BmNPV 的免疫反应，利用 BmNPV 感染敲除 *BmPGRP2-2* 后的家蚕，显著降低了家蚕 BmN4-SID1 细胞系和家蚕 DZ 幼虫中的 BmNPV 的增殖和死亡率，反之，在家蚕细胞系中过表达 *BmPGRP2-2* 显著提高了 BmNPV 的产量。此研究还发现，BmNPV 感染家蚕可以诱导 *BmPGRP2-2* 的表达量升高，通过抑制 PI3K/Akt 信号通路来抑制细胞的凋亡，从而促进 BmNPV 的增殖（Jiang *et al.*, 2019）。另外，利用 BmBDV 感染家蚕初孵幼虫 144 h 后，其体内 *PGRP-LE*、*PGRP-LC* 和 *PGRP-LB* 的表达量极显著升高，亦表明 BmBDV 感染激活了 Imd 通路（Kumar *et al.*, 2019）。上述结果表明，Imd 通路参与了鳞翅目昆虫对病毒的免疫防御，但是 Imd 通路在鳞翅目昆虫抗病毒免疫中的具体机制尚不清楚。

3.3.3　JAK-STAT 信号通路

JAK-STAT 是一条由配体识别激活的免疫信号通路，是昆虫重要的抗病毒免疫信号转导通路。目前对昆虫 JAK-STAT 信号通路的研究主要集中在果蝇、蚊子和家蚕等昆虫中。在黑腹果蝇、埃及伊蚊免疫研究中发现：胞外配体 Upaired（Upd）识别免疫信号后与跨膜受体 Domeless（Dome）结合后，JAK-STAT 信号通路被启动，激活 Janus 酪氨酸激酶 Hopscotch（Hop），导致 STAT 的磷酸化并形成二聚体转移到细胞核，然后二聚体结合至下游效应基因启动子的调控序列上，从而启动下游靶基因的转录表达进而发挥抗病毒作用（Hombría and Brown, 2002；Arbouzova and Zeidler, 2006）。细胞因子信号转导抑制因子 SOCS（Suppressor of cytokine signaling）和 PIAS 蛋白（Protein inhibitor of activated STAT）是 JAK-STAT 通路上重要的转录调节因子（Betz *et al.*, 2001；Robert and Cooney, 2002）。当 Dome 或 Hop 被 RNA 干扰后，埃及伊蚊更容易被登革病毒（*Dengue virus*，DENV）感染，而当负调节因子 PIAS 被抑制时，埃及伊蚊对 DENV 的抗性增强（Souza-Neto and Dimopoulos, 2009；Jupatanakul *et al.*, 2017）。在果蝇中发现参与 JAK-STAT 信号通路的基因有 *Upd1*、*Upd2*、*Upd3*、*Hop* 和 *STAT92E* 等（Arbouzova and Zeidler, 2006）。在家蚕中也鉴定到 *Hop*、*STAT*、*SCOS* 和 *PIAS* 基因，但未鉴定到 *Upd* 和 *Dome* 基因（Wu *et al.*, 2010）。同样，本课题组用 AcMNPV 侵染甜菜夜蛾细胞，发现不敏感细胞中 *Hop*、*STAT* 基因的表达量较敏感细胞显著升高，但在甜菜夜蛾基因组中亦未发现 *Upd* 和 *Dome* 两个基因，表明 AcMNPV 侵染激活了 JAK-STAT 通路，但是与果

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

蝇、蚊子等昆虫的 JAK-STAT 通路不同，与病原物识别结合的基因不是 *Upd* 和 *Dome*。在家蚕中 *BmHop* 编码的蛋白可能是一种 JAK 激酶，可以将 *BmSTAT* 转录因子磷酸化，进而激活靶基因的转录。另外有研究表明，BmNPV 和 BmBDV 感染家蚕后，能检测到家蚕中肠中 *BmSTAT* 基因的表达量显著上升，家蚕黄斑类似病毒（*Bombyx mori macula-like virus*，BmMLV）感染家蚕也可以诱导 *BmSTAT* 的表达量轻微上调（Liu *et al.*，2015；Zhang *et al.*，2016）。孔鸣（2019）研究发现 BmBDV 感染家蚕后，*BmSOCS-2* 在抗性家蚕品系华八 BC7 中的表达量显著高于敏感品系中的表达量，后又在家蚕卵巢细胞 BmN 中过表达 *BmSOCS-2*，提高了细胞对 BmNPV 的抗性，证明了 *BmSOCS-2* 在抗 BmNPV 侵染的过程中发挥了重要作用。综上所述，家蚕的 JAK-STAT 信号通路被激活并参与到抗病毒的免疫反应中，在抗病毒防御中发挥重要作用。

3.3.4 STING 信号通路

STING 是一个内质网常驻蛋白，是哺乳动物先天免疫中的重要信号传递因子（Ishikawa and Barber，2008）。在 cGAS-STING 信号通路中，cGAS 可以识别病毒 DNA，与细胞内的 ATP、GTP 一起形成 cGAMP，cGAMP 将信号传递给 STING，STING 从内质网转移到近核区，并且可以磷酸化 TBK1 和 IRF3，被磷酸化的 IRF3 进入细胞核，诱导 β 干扰素的产生，起到抗病毒免疫的作用（Wu *et al.*，2013；Woo *et al.*，2014）。

在家蚕中也存在 STING 介导的抗病毒信号通路（图 1），BmNPV 感染家蚕可以诱导细胞合成 cGAMP，cGAMP 激活家蚕 STING 并使其发生核移位，STING 与 Dredd 相互作用进而激活 NF-κB 转录因子，提高 Relish 的表达，诱导抗菌肽和抗病毒因子的表达，提高对 BmNPV 感染的抵抗力（Hua *et al.*，2018）。果蝇中 STING 的研究结论与家蚕一致，果蝇 STING 参与抗果蝇 C 病毒（*Drosophila C virus*，DCV）的免疫反应中，作用在 Relish 的上游，调控抗病毒因子 Nazo 的产生（Goto *et al.*，2018）。此外，Martin 等（2018）研究表明 STING 信号通路的抗病毒作用在进化上非常保守。

3.3.5 其它免疫通路和基因

在昆虫与病毒的互作研究中，为了提高病毒在宿主体内的增殖，部分宿主的信号通路可以被侵染病毒所操控，如，原酚氧化酶、磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B（PI3K/Akt）和细胞外信号调节激酶（Extracellular signal-regulated kinase，ERK）信号通路，且各信号通路之间不是孤立存在的，而是相互联系的（Jiang，2021）。例如，杆状病毒侵染宿主可以激活原酚氧化酶信号通路，诱导 *Bmserpin2* 的表达进而抑制宿主的黑化反应（Toufeeq *et al.*，2019）；杆状病毒侵染也可诱导 *BmPGRP2-2* 的表达从而降低磷酸酶和张力蛋白同源物（Phosphatase and tensin homolog，PTEN）的表达，增加 PI3K/Akt 的表达，最终抑制宿主细胞的凋亡和自噬（Lee *et al.*，2018；Jiang *et al.*，2019）；家蚕的病毒还可以通过调控 *BmSpry* 的表达来操控宿主的 ERK 信号通路（Jin *et al.*，2014）。另外，在果蝇、蚊子等模式昆虫中研究发现，Imd、Toll 和 JAK-STAT 信号通路间也是相互联系的，从而对病原物形成特异性的免疫应答。例如，在果蝇中，Imd 和 Toll 信号通路都可以激活细胞转录因子 NF-κB，从而诱导抗菌肽的产生（Kim *et al.*，2009；Fressigné and Simard，2018）；在埃及伊蚊中，当 DENV 侵染时，JAK-STAT 信号通路的负调控因子 PIAS 被沉默后，发现 Toll 信号通路的 Spz，部分抗菌肽和防御素的表达量被下调（Souza-Neto *et al.*，2009）。上述结果表明 Imd 和 Toll 信号通路，JAK-STAT 和 Toll 信号通路是相互关联，除此之外 siRNA 通路和 JAK-STAT 通路之间，细胞凋亡通路与 JAK-STAT 之间通路也是相互联系的（Kingsolver *et al.*，2013）。但是，目前关于鳞翅目昆虫免疫通路之间相互关系的研究鲜有报道，值得深入研究。

除了免疫信号通路相关的抗病毒基因外，在鳞翅目昆虫中还有一些其它基因与昆虫的抗病毒相关（表 1）。例如，在家蚕中，通过 RNAi 抑制丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 2A（Ser/Thr protein phosphatase 2A，PP2A），可增加 BmNPV 的复制。相反，通过过表达 *BmPP2A* 可显著抑制 BmNPV 的增殖（Hu *et al.*，2020）。Selot 等（2010）研究发现家蚕抗性品系 Nistari 中 *BmNOX*（NADH-oxidoreductase-like protein）的表达量显著高于敏感品系 CSR2 中的表达量，并且家蚕 Nistari 品系对 BmNPV 感染表现出较强的抗性，此外，研究证明 BmNOX 蛋白在体外有很好的抗 BmNPV 的活性。在棉铃虫幼虫中，通过 RNAi 抑制 *Thioredoxin*（*Trx*）

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　鳞翅目昆虫中抗病毒免疫相关基因

Table 1　Antiviral immunity related genes in lepidopteran insects

免疫信号通路 Immune signaling pathway	免疫相关基因 Immunity related genes	编码蛋白 Encoded protein	蛋白功能 Protein function	病毒种类 Virus types	宿主 Host	参考文献 References
RNAi	Dicer-1	Dicer 核糖核酸内切酶 III Dicer Ribonuclease III	参与 miRNA 途径 Participate in miRNA pathway	苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 AcMNPV	草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*	Karamipour *et al.*, 2019
	Dicer-2	Dicer 核糖核酸内切酶 III Dicer Ribonuclease III	参与 siRNA 途径 Participate in miRNA pathway	棉铃虫核多角体病毒 HaNPV	棉铃虫,家蚕 *Helicoverpa armigera*, *Bombyx mori*	Jayachandran *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2018
	Argonaute-1	RNA 结合蛋白 RNA binding protein	miRNA 路径的关键因子 Key factor of miRNA pathway	苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 AcMNPV	草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*	Karamipour *et al.*, 2019
	Argonaute-2	RNA 结合蛋白 RNA binding protein	siRNA 路径的关键因子 Key factor of siRNA pathway	蟋蟀麻痹病毒,拟黄斑潜伏病毒 CrPV, MLV	家蚕 *Bombyx mori*	Santos *et al.*, 2018
Apoptosis	Caspase	苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 AcMNPV	草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*	Karamipour *et al.*, 2018		
		半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 Caspase	调节细胞凋亡 Regulate apoptosis	家蚕核型多角体病毒 BmNPV	家蚕 *Bombyx mori*	Wang *et al.*, 2017
		苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 AcMNPV	甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*	Yu *et al.*, 2020		
Toll	βGRP	β-1,3-葡聚糖识别蛋白 β-1,3-glucan recognitionprotein	免疫识别 Immune recognition	家蚕核型多角体病毒 BmNPV	家蚕 *Bombyx mori*	孔鸣, 2018
	βGBP	β-1,3-葡聚糖结合蛋白 β-1,3-glucan binding protein	免疫识别 Immune recognition	草地贪夜蛾囊泡病毒 sfAV	草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*	Zaghloul *et al.*, 2020
	Spz	配体 Späetzle 蛋白 Ligand Späetzle protein	激活 Toll 信号通路 Activate Toll signaling pathway	家蚕二分浓核病毒, 家蚕核型多角体病毒 BmBDV,BmNPV	家蚕 *Bombyx mori*	Kumar *et al.*, 2019
	Toll	Toll 蛋白 Toll protein	激活 Toll 信号通路 Activate Toll signaling pathway	家蚕核型多角体病毒 BmNPV	家蚕 *Bombyx mori*	李喜升, 2016

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

续表 1 Continued table 1

免疫信号通路 Immune signaling pathway	免疫相关基因 Immunity related genes	编码蛋白 Encoded protein	蛋白功能 Protein function	病毒种类 Virus types	宿主 Host	参考文献 References
Imd	PGRP-LB	肽聚糖识别蛋白-LB Peptidoglycan recognition protein-LB	免疫识别 Immune recognition	家蚕二分浓核病毒 BmBDV	家蚕 *Bombyx mori*	Kumar *et al.*, 2019
	PGRP-LE	肽聚糖识别蛋白-LE Peptidoglycan recognition protein-LE	免疫识别 Immune recognition	家蚕二分浓核病毒 BmBDV	家蚕 *Bombyx mori*	Kumar *et al.*, 2019
	PGRP-S2	肽聚糖识别蛋白-S2 Peptidoglycan recognition protein-S2	免疫识别 Immune recognition	家蚕质型多角体病毒 BmCPV	家蚕 *Bombyx mori*	Zhao *et al.*, 2018
	PGRP2-2	肽聚糖识别蛋白 2-2 Peptidoglycan recognition protein 2-2	免疫识别(负调控) Immune recognition (negative)	家蚕核型多角体病毒 BmNPV	家蚕 *Bombyx mori*	Jiang *et al.*, 2019
JAK-STAT	STAT	信号传导及转录激活蛋白 Signal transducer and activator of transcription protein	诱导抗菌肽的表达 Induce the expression of antimicrobial peptides	家蚕核型多角体病毒, 家蚕二分浓核病毒 BmNPV, BmBDV	家蚕 *Bombyx mori*	Liu *et al.*, 2015
			家蚕核型多角体病毒, 家蚕黄斑类似病毒 BmNPV, BmMLV	家蚕 *Bombyx mori*	Zhang *et al.*, 2016	
	SOCS-2	细胞因子信号转导抑制因子 Inhibitor of cytokine signal transduction	调节 JAK-STAT 通路的信号转导 Regulation of signal transduction in JAK-STAT pathway	家蚕核型多角体病毒 BmNPV	家蚕 *Bombyx mori*	孔鸣, 2018; Kumar *et al.*, 2019
STING	STING	干扰素基因刺激蛋白 Interferon-stimulated protein	STING 信号通路的信号转导 Signal transduction in STING pathway	家蚕核型多角体病毒 BmNPV	家蚕 *Bombyx mori*	Hua *et al.*, 2018
其它	PP2A	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 2A Ser/Thr protein phosphatase 2A	调节 mTOR 信号通路 Regulate mTOR signaling pathway	家蚕核型多角体病毒 BmNPV	家蚕 *Bombyx mori*	Hu *et al.*, 2020
	NOX	NADH 氧化还原酶类似蛋白 NADH oxidoreductase-like protein	有明显的的抗病毒活性 Obvious antiviral activity	家蚕核型多角体病毒 BmNPV	家蚕 *Bombyx mori*	Selot *et al.*, 2010
	Trx	硫氧还蛋白 Thioredoxin	调节细胞中的氧化还原 Regulate redox in cells	棉铃虫核多角体病毒 HaNPV	棉铃虫 *Helicoverpa armigera*	Zhang *et al.*, 2015
	TrxR	硫氧还蛋白还原酶 Thioredoxin reductase	调节细胞中的氧化还原 Regulate redox in cells	棉铃虫核多角体病 HaNPV	棉铃虫 *Helicoverpa armigera*	Zhang *et al.*, 2015

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

和 *Thioredoxin reductase* (*TrxR*) 的表达，导致棉铃虫对 HaMNPV 感染的敏感性提高 (Zhang *et al.*, 2015)。上述研究表明 *BmPP2A* 和 *BmNOX* 参与了家蚕抗 BmNPV 的免疫反应，*Trx* 和 *TrxR* 参与了棉铃虫的抗病毒免疫反应，但这些基因在其它鳞翅目昆虫中的抗病毒免疫情况尚不清楚，有待深入研究。

4　鳞翅目昆虫抗病毒免疫研究的制约因素

在鳞翅目昆虫的抗病毒免疫研究中，RNAi 是重要的技术手段。然而，目前 RNAi 技术在害虫防治中的应用还存在一些问题，如有效靶基因的筛选和应用策略，鳞翅目害虫对 RNAi 的敏感性低 (Garbutt *et al.*, 2013; Lim *et al.*, 2016; Mamta *et al.*, 2017; Peng *et al.*, 2018) 以及 dsRNA 在环境中的不稳定性等。在 Terenius 等 (2011) 发表的“鳞翅目昆虫中 RNAi 应用情况”综述中，研究者发现在多种鳞翅目昆虫中，天蚕蛾科昆虫的 RNAi 效率相对较高。文章中共分析了鳞翅目昆虫中 130 个基因的 RNAi 效果，仅有 38% 的靶标基因有较好的沉默效果，这给我们筛选有效 RNAi 靶标基因提出了更高的要求。造成这种现象的原因有多种，其中 dsRNA 进入昆虫中肠或血淋巴中被降解是首要原因 (Song *et al.*, 2017; Guan *et al.*, 2018)。其次，不同昆虫中 Dicer 对 dsRNA 的剪切形式不同也是导致 RNAi 效率差异的重要原因。因此，提高 dsRNA 在环境中和昆虫体内的稳定性，有助于提高对 dsRNA 不敏感昆虫的 RNAi 效率。目前这方面的研究主要集中在以脂质体或纳米粒子对 dsRNA 进行包裹避免被消化系统或环境中的各种酶降解 (Joga *et al.*, 2016)。另外，RNAi 过程中也可能存在脱靶问题，沉默非靶标基因，导致研究结果变的更加复杂 (Kulkarni *et al.*, 2006)，所以在细胞培养中观察到的基因沉默后的表型可能存在一定的偏差，还需要用真正的生物突变体，或用独立的 dsRNA 瞄准靶标基因的不同区域来进行验证。与 RNAi 相比较，CRISP/cas 基因编辑技术极大的降低了靶标基因的脱靶效应，对未来昆虫抗病毒免疫研究有很好的推动作用。

即使在突变体的昆虫研究中得到了抗病毒的有力证据，还要考虑到昆虫品系遗传背景、外部环境和内部因素的影响，如在家蚕中，不同家蚕品系对病毒的抗性情况存在显著差异 (陈克平等, 1991; 1996)。在进行昆虫体内抗病毒基因功能研究时，病毒感染途径也是影响昆虫抗病毒的重要因素。多数鳞翅目昆虫与病毒的互作研究中，是通过注射的方法直接将病毒注入生物体内，这种方法可以精准的控制病毒感染的时间和剂量。然而，在自然环境中，鳞翅目昆虫很少通过注射的方法获得病毒 (Wilfert *et al.*, 2016)，多数是通过直接取食获得病毒。病毒饲喂和注射法会引起昆虫不同的系统反应，进而影响昆虫的抗病毒研究 (Ferreira *et al.*, 2014)。通过饲喂的方法口服病毒很难精准的控制病毒的感染时间和剂量，昆虫体内环境及发育阶段也会对昆虫抵抗病毒产生影响，如不同昆虫体内 pH 环境不同，鳞翅目昆虫只有在幼虫阶段可以接触到病毒，并且低龄期的幼虫抗病毒能力较差，而高龄期幼虫的抗病毒能力较强。

多数鳞翅目昆虫的抗病毒研究都是以细胞系为基础，其优点是可以在一个更为均一的细胞群中工作，更容易控制病毒感染的时间和剂量。但是以昆虫细胞系为载体进行抗病毒研究也存在一些不足，如: (1) 某些昆虫的细胞起源不明，在长期单一条件下培养，细胞会被驯化，丧失天然昆虫细胞的一些特性，导致对病毒响应的不同; (2) 昆虫细胞类型单一，缺乏不同组织细胞间的相互作用，不能真实反应昆虫体内的抗病毒情况; (3) 某些昆虫细胞中可能存在潜伏病毒持续感染的现象，对抗病毒的研究结果产生干扰。上述因素会制约昆虫抗病毒免疫反应的研究 (Marques and Imler, 2016)。

5　结语与展望

昆虫的抗病毒免疫途径表现出丰富的多样性，主要体现在 RNAi、细胞的自噬与凋亡、Imd、Toll、JAK-STAT 和 STING 等重要的免疫信号转导通路上。上述抗病毒反应在不同的昆虫中存在一定的保守性，但又拥其各自的独特性，各信号通路之间不是孤立反应的，而是相互响应的 (Kingsolver *et al.*, 2013)。目前，鳞翅目昆虫中免疫信号通路之间的相互关系尚不清楚，值得研究。除了在昆虫细胞中进行昆虫的抗病毒免疫研究外，应更多的利用 RNAi 和 CRISP/cas 技术在昆虫体内进行基因功能的研究。另外，病毒从昆虫肠道进入其循环系统以及病毒在昆虫体内的增殖中所面

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

临的组织特异性的抗病毒途径也应该被关注。此外，昆虫肠道中的微生物群落对抗病毒免疫的影响也值得深入研究。

随着基因组测序技术的快速发展，目前已经获得了大量与鳞翅目昆虫免疫相关的基因（Jiang *et al.*, 2013; Jiang, 2021）。尽管 RNAi 技术和转基因技术的广泛应用极大的促进了人们对昆虫先天免疫分子机制的了解（尹传林等, 2017），但是对于已经鉴定到的多数鳞翅目昆虫免疫相关基因的功能及调控机制仍不清楚，且有关免疫相关基因的研究主要集中在模式昆虫家蚕上，对于其它一些重要的鳞翅目农业害虫的研究还比较匮乏。目前，利用病毒防控鳞翅目害虫是重要的生防手段，对这些害虫天然免疫系统的研究可为害虫防治新策略的开发提供新的突破口。

关于鳞翅目昆虫抗病毒免疫机制的研究，今后需重点关注以下三个方面的工作：（1）利用生物信息学方法继续挖掘免疫关键基因，利用 RNAi、CRISPR/cas 或转基因技术，深入挖掘这些基因的功能，明确其所属的免疫信号通路，阐明昆虫的抗病毒免疫反应的分子机制及各基因在抗病毒免疫中的调控作用。（2）加强病毒对昆虫的抗病毒免疫反应抑制作用的研究，揭示病毒的逃逸机制，为害虫防控新策略的研发提供新思路。（3）对某些重要害虫的基因组进行重测序和深度分析，进一步挖掘新的昆虫抗病毒途径和抗病毒基因。

参考文献（References）

Aguiar ER, Olmo RP, Paro S, *et al.* Sequence-independent characterization of viruses based on the pattern of viral small RNAs produced by the host [J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43 (13): 6191 – 6206.

Anthoney N, Foldi I, Hidalgo A. Toll and Toll-like receptor signalling in development [J]. *Development*, 2018, 145 (9): dev156018.

Arbouzova NI, Zeidler MP. JAK/STAT signalling in *Drosophila*: Insights into conserved regulatory and cellular functions [J]. *Development*, 2006, 133 (14): 2605 – 16.

Bao F, Yao Q, Li J, *et al.* Differential expression of midgut protein in the resistant and susceptible strains of silkworm to *Bombyx mori densonucleosis virus* (China isolate BmDNV-3) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2007, 50 (12): 1219 – 1224. [包方, 姚勤, 李军, 等. 家蚕对浓核病毒中国株（BmDNV-3）抗性及感性品系中肠的差异蛋白质分析 [J]. 昆虫学报, 2007, 50 (12): 1219 – 1224]

Betz A, Lampen N, Martinek S, *et al.* A *Drosophila* PIAS homologue negatively regulates stat92E [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 2001, 98 (17): 9563 – 9568.

Byers NM, Vandergaast RL, Friesen PD. Baculovirus inhibitor-of-apoptosis Op-IAP3 blocks apoptosis by interaction with and stabilization of a host insect cellular IAP [J]. *Journal of Virology*, 2016, 90 (1): 533 – 544.

Carissimo G, Pondeville E, Mcfarlane M, *et al.* Antiviral immunity of *Anopheles gambiae* is highly compartmentalized, with distinct roles for RNA interference and gut microbiota [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, 112 (2): E176.

Chejanovsky N, Ophir R, Schwager MS, *et al.* Characterization of viral siRNA populations in honey bee colony collapse disorder [J]. *Virology*, 2014, 454 – 455: 176 – 183.

Chen KP, Lin CL, Wu DX, *et al.* Resistance of preserved silkworm species to nuclear polyhedrosis [J]. *Science of Sericulture*, 1991, 17 (1): 45 – 46. [陈克平, 林昌麒, 吴冬秀, 等. 家蚕保存种对核型多角体病的抗性 [J]. 蚕业科学, 1991, 17 (1): 45 – 46]

Chen KP, Lin CL, Yao Q. Studies on the resistance to NPV and its hereditary regularity in the silkworm (*Bombyx mori*) [J]. *Science of Sericulture*, 22 (3): 160 – 164. [陈克平, 林昌麒, 姚勤. 家蚕对核型多角体病的抗性及遗传规律的研究 [J]. 蚕业科学, 1996, 22 (3): 160 – 164]

Choe KM, Werner T, Stöven S, *et al.* Requirement for a peptidoglycan recognition protein (PGRP) in relish activation and antibacterial immune responses in *Drosophila* [J]. *Science*, 2002, 296 (5566): 359 – 362.

Chowdhury M, Li CF, He Z, *et al.* Toll family members bind multiple Spatzle proteins and activate antimicrobial peptide gene expression in *Drosophila* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, 294 (26): 10172 – 10181.

Christensen BM, Li J, Chen CC, *et al.* Melanization immune responses in mosquito vectors [J]. *Trends Parasitology*, 2005, 21 (4): 192 – 199.

Erlandson MA, Toprak U, Hegedus DD. Role of the peritrophic matrix in insect – pathogen interactions [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2019, 117: 103894.

Ferreira ÁG, Naylor H, Esteves SS, *et al.* The Toll-dorsal pathway is required for resistance to viral oral infection in *Drosophila* [J]. *PLoS Pathogens*, 2014, 10 (12): e1004507.

Fressigné L, Simard MJ. Biogenesis of small non-coding RNAs in animals [J]. *Medicine Science*, 2018, 34 (2): 137 – 144.

Garbutt JS, Bellés X, Richards EH, *et al.* Persistence of double-stranded RNA in insect hemolymph as a potential determiner of RNA interference success: Evidence from *Manduca sexta* and *Blattella germanica* [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2013, 59 (2): 171 – 178.

Goto A, Okado K, Martins N, *et al.* The kinase IKKβ regulates a STING- and NF-κB-dependent antiviral response pathway in *Drosophila* [J]. *Immunity*, 2018, 49 (2): 225 – 234.

Guan R, Hu S, Li H, *et al.* The *in vivo* dsRNA cleavage has sequence preference in insects [J]. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 1768.

Guo W, Long YY, Lin GY, *et al.* Research progress of antiviral factors

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

in the digestive juice of Silkworm [J]. *Guangxi Sericulture*, 2018, 55 (4): 30 – 33. [郭望, 龙羽燕, 林刚云, 等. 家蚕消化液中抗病毒因子的研究进展 [J]. 广西蚕业, 2018, 55 (4): 30 – 33]

Haas-Stapleton EJ, Washburn JO, Volkman LE. *Spodoptera frugiperda* resistance to oral infection by *Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus* linked to aberrant occlusion-derived virus binding in the midgut [J]. *Journal of General Virology*, 2005, 86 (5): 1349 – 1355.

Hegedus DD, Toprak U, Erlandson M. Peritrophic matrix formation [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2019, 117: 103898.

Hillyer JF. Insect immunology and hematopoiesis [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2016, 58: 102 – 118.

Hombría JC, Brown S. The fertile field of *Drosophila* JAK/STAT signaling [J]. *Current Biology*, 2002, 12 (16): R569 – 575.

Hu ZG, Dong ZQ, Dong FF, *et al.* Identification of a PP2A gene in *Bombyx mori* with antiviral function against *B. mori nucleopolyhedrovirus* [J]. *Insect Science*, 2020, 27 (4): 687 – 696.

Hua X, Li B, Song L, *et al.* Stimulator of interferon genes (STING) provides insect antiviral immunity by promoting Dredd caspase-mediated NF-κB activation [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2018, 293 (30): 11878 – 11890.

Hughes AL. Evolution of the betaGRP /GNBP /beta-1, 3-glucanase family of insects [J]. *Immunogenetics*, 2012, 64 (7): 549 – 558.

Ikeda M, Yamada H, Hamajima R, *et al.* Baculovirus genes modulating intracellular innate antiviral immunity of lepidopteran insect cells [J]. *Virology*, 2013, 435 (1): 1 – 13.

Ishikawa H, Barber GN. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signaling [J]. *Nature*, 2008, 455 (7213): 674 – 678.

Ishikawa H, Ikeda M, Yanagimoto K, *et al.* Induction of apoptosis in an insect cell line, IPLB-Ld652Y, infected with nucleopolyhedroviruses [J]. *Journal of General Virology*, 2003, 84 (3): 705 – 714.

Jayachandran B, Hussain M, Asgari S. RNA interference as a cellular defense mechanism against the DNA virus baculovirus [J]. *Journal of Virology*, 2012, 86 (24): 13729 – 34.

Jiang H, Vilcinskas A, Kanost MR. Immunity in lepidopteran insects [J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2010, 708: 181 – 204.

Jiang L, Liu W, Guo H, *et al.* Distinct functions of *Bombyx mori* peptidoglycan recognition protein 2 in immune responses to bacteria and viruses [J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 776.

Jiang L, Peng Z, Guo H, *et al.* Enhancement of antiviral capacity of transgenic silkworms against cytoplasmic polyhedrosis virus via knockdown of multiple viral genes [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2017, 77: 138 – 140.

Jiang L, Zhao P, Wang G, *et al.* Comparison of factors that may affect the inhibitory efficacy of transgenic RNAi targeting of baculoviral genes in silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Antiviral Research*, 2013, 97 (3): 255 – 263.

Jiang L. Insights into the antiviral pathways of the silkworm *Bombyx mori* [J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 639092.

Jin SK, Cheng TC, Jiang L, *et al.* Identification of a new sprouty protein responsible for the inhibition of the *Bombyx mori nucleopolyhedrovirus* reproduction [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9: e99200.

Joga MR, Zotti MJ, Smagghe G, *et al.* RNAi efficiency, systemic properties, and novel delivery methods for pest insect control: What we know so far [J]. *Frontiers in Physiology*, 2016, 7: 553.

Jupatanakul N, Sim S, Angleró-Rodríguez YI, *et al.* Engineered *Aedes aegypti* JAK/STAT pathway-mediated immunity to *Dengue virus* [J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2017, 11 (1): e0005187.

Kaneko T, Yano T, Aggarwal K, *et al.* PGRP-LC and PGRP-LE have essential yet distinct functions in the *Drosophila* immune response to monomeric DAP-type peptidoglycan [J]. *Nature Immunology*, 2006, 7 (7): 715 – 723.

Karamipour N, Fathipour Y, Talebi AA, *et al.* Small interfering RNA pathway contributes to antiviral immunity in *Spodoptera frugiperda* (Sf9) cells following *Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus* infection [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2018, 101: 24 – 31.

Karamipour N, Fathipour Y, Talebi AA, *et al.* The microRNA pathway is involved in *Spodoptera frugiperda* (Sf9) cells antiviral immune defense against *Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus* infection [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2019, 112: 103202.

Kergunteuil A, Bakhtiari M, Formenti L, *et al.* Biological control beneath the feet: A review of crop protection against insect root herbivores [J]. *Insects*, 2016, 7 (4): 70.

Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2009, 10 (2): 126 – 139.

Kingsolver MB, Huang ZJ, Hardy RW. Insect antiviral innate immunity: Pathways, effectors, and connections [J]. *Journal of Molecular Biology*, 2013, 425 (24): 4921 – 4936.

Kirkpatrick BA, Washburn JO, Volkman LE. AcMNPV pathogenesis and developmental resistance in fifth instar *Heliothis virescens* [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1998, 72 (1): 63 – 72.

Kolliopoulou A, Santos D, Taning CNT, *et al.* PIWI pathway against viruses in insects [J]. *Wiley Interdisciplinary Reviews RNA*, 2019, 10 (6): e1555.

Kong M. Response of Silkworm Immune Signal Pathway Against BmNPV and BmBDV Infection [D]. Nanjing: Jiang Su University, 2018. [孔鸣. 家蚕免疫信号通路对 BmNPV 和 BmBDV 两种病毒感染的应答 [D]. 南京: 江苏大学, 2018]

Kulkarni MM, Booker M, Silver SJ, *et al.* Evidence of off-target effects associated with long dsRNAs in *Drosophila melanogaster* cell-based assays [J]. *Nature Methods*, 2006, 3 (10): 833 – 838.

Kumar D, Sun Z, Cao G, *et al.* *Bombyx mori* bidensovirus infection alters the intestinal microflora of fifth instar silkworm (*Bombyx mori*) larvae [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2019, 163: 48 – 63.

Lamiable O, Kellenberger C, Kemp C, *et al.* Cytokine diedel and a viral homologue suppress the IMD pathway in *Drosophila* [J].

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113 (3): 698 – 703.

Lee YR, Chen M, Pandolfi PP. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor: New modes and prospects [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2018, 19 (9): 547 – 562.

Lemaitre B, Hoffmann J. The host defense of *Drosophila melanogaster* [J]. *Annual Review of Immunology*, 2007, 25: 697 – 743.

Leulier F, Vidal S, Saigo K, *et al.* Inducible expression of double-stranded RNA reveals a role for dFADD in the regulation of the antibacterial response in *Drosophila* adults [J]. *Current Biology*, 2002, 12 (12): 996 – 1000.

Levy SM, Falleiros AMF, Moscardi F, *et al.* Susceptibility/resistance of *Anticarsia gemmatalis* larvae to its nucleopolyhedrovirus (AgMNPV): Structural study of the peritrophic membrane [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2007, 96 (2): 183 – 186.

Levy SM, Falleiros AMF, Moscardi F, *et al.* The role of peritrophic membrane in the resistance of *Anticarsia gemmatalis* larvae (Lepidoptera: Noctuidae) during the infection by its nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) [J]. *Arthropod Structure and Development*, 2012, 40 (5): 429 – 434.

Li H, Guo CP, Zhu SM. Advances in baculovirus per os infection and per os infectivity factor-A review [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, 55 (4): 395 – 400. [李慧, 郭采平, 朱士茂. 杆状病毒经口感染及经口感染因子研究进展 [J]. 微生物学报, 2015, 55 (4): 395 – 400]

Li XS. Transcriptome Sequencing of *Antheraea pernyi* Midgut Infected with ApNPV and Related Immune Genes Research [D]. Shen Yang: Shen Yang Agriculture University, 2016. [李喜升. 核型多角体病毒侵染柞蚕中肠转录组及免疫相关基因分析 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016]

Lim ZX, Robinson KE, Jain RG, *et al.* Diet-delivered RNAi in *Helicoverpa armigera* progresses and challenges [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2016, 85: 86 – 93.

Liu B, Behura SK, Clem RJ, *et al.* P53-mediated rapid induction of apoptosis conveys resistance to viral infection in *Drosophila melanogaster* [J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9 (2): e1003137.

Liu W, Liu J, Lu Y, *et al.* Immune signaling pathways activated in response to different pathogenic micro-organisms in *Bombyx mori* [J]. *Molecular Immunology*, 2015, 65 (2): 391 – 397.

Liu WX, Zheng GL, Liang GM, *et al.* AcMNPV *chiA* disrupts the peritrophic membrane of *Helicoverpa armigera* and enhances activity to Bt and NPV [J]. *Journal of Agricultural Biotechnolog*, 2008, 16 (6): 1042 – 1047. [刘文霞, 郑桂玲, 梁革梅, 等. AcMNPV *chiA* 基因表达产物对棉铃虫围食膜的破坏及对 Bt 和 NPV 的增效作用 [J]. 农业生物技术学报, 2008, 16 (6): 1042 – 1047]

Lu A, Zhang Q, Zhang J, *et al.* Insect prophenoloxidase: The view beyond immunity [J]. *Frontiers in Physiology*, 2014, 5: 252.

Mamta B, Rajam MV. RNAi technology: A new platform for crop pest control [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2017, 23 (3): 487 – 501.

Marques JT, Imler JL. The diversity of insect antiviral immunity: Insights from viruses [J]. *Current Opinion Microbiology*, 2016, 32: 71 – 76.

Martin M, Hiroyasu A, Guzman RM, *et al.* Analysis of *Drosophila* STING reveals an evolutionarily conserved antimicrobial function [J]. *Cell Reports*, 2018, 23 (12): 3537 – 3550.

McFarlane M, Arias-Goeta C, Martin E, *et al.* Characterization of *Aedes aegypti* innate-immune pathways that limit *Chikungunya virus* replication [J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2014, 8 (7): e2994.

McNeil J, Cox-Foster D, Gardner M, *et al.* Pathogenesis of *Lymantria dispar multiple nucleopolyhedrovirus* in *L. dispar* and mechanisms of developmental resistance [J]. *Journal of General Virology*, 2010b, 91 (Pt 6): 1590 – 1600.

McNeil J, Cox-Foster D, Slavicek J, *et al.* Contributions of immune responses to developmental resistance in *Lymantria dispar* challenged with baculovirus [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2010a, 56 (9): 1167 – 1177.

Misof B, Liu S, Meusemann K, *et al.* Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution [J]. *Science*, 2014, 346 (6210): 763 – 767.

Morazzani EM, Wiley MR, Murreddu MG, *et al.* Production of virus-derived ping-pong-dependent piRNA-like small RNAs in the mosquito soma [J]. *PLoS Pathogens*, 2012, 8 (1): e1002470.

Mussabekova A, Daeffler L, Imler JL. Innate and intrinsic antiviral immunity in *Drosophila* [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2017, 74 (11): 2039 – 2054.

Nakamoto M, MR, Xu J, Bambina S, *et al.* Virus recognition by Toll-7 activates antiviral autophagy in *Drosophila* [J]. *Immunity*, 2012, 36 (4): 658 – 667.

Peng Y, Wang K, Fu W, *et al.* Biochemical comparison of dsRNA degrading nucleases in four different insects [J]. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 624.

Popham HJ, Shelby KS, Brandt SL, *et al.* Potent virucidal activity in larval *Heliothis virescens* plasma against *Helicoverpa zea single capsid nucleopolyhedrovirus* [J]. *Journal of General Virology*, 2004, 85 (Pt 8): 2255 – 2261.

Ramirez JL, Dimopoulos G. The Toll immune signaling pathway control conserved anti-dengue defenses across diverse *Aedes aegypti* strains and against multiple dengue virus serotypes [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2010, 34 (6): 625 – 629.

Ramirez JL, Muturi EJ, Barletta BF, *et al.* The *Aedes aegypti* IMD pathway is a critical component of the mosquito antifungal immune response [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2019, 95: 1 – 9.

Rivkin H, Kroemer JA, Bronshtein A, *et al.* Response of immunocompetent and immunosuppressed *Spodoptera littoralis* larvae to baculovirus infection [J]. *Journal of General Virology*, 2006, 87 (8): 2217 – 2225.

Robert N, Cooney. Suppressors of cytokine signaling (SOCS): Inhibitors of the JAK/STAT pathway [J]. *Shock*, 2002, 17 (2): 83 – 90.

Rosenquist M. 14-3-3 proteins in apoptosis [J]. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2003, 36 (4): 403 – 8.

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Santos D, Wynant N, Van den Brande S, *et al.* Insights into RNAi-based antiviral immunity in lepidoptera: Acute and persistent infections in *Bombyx mori* and *Trichoplusia ni* cell lines [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8 (1): 2423.

Selot R, Kumar V, Sekhar SC, *et al.* Molecular characterization and expression analysis of BmNOX in two strains of *Bombyx mori* with contrasting viral resistance phenotype [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2010, 73 (3): 163 – 175.

Settles EW, Friesen PD. Flock house virus induces apoptosis by depletion of *Drosophila* inhibitor-of-apoptosis protein DIAP1 [J]. *Journal of Virology*, 2008, 82 (3): 1378 – 1388.

Shelly S, Lukinova N, Bambina S, *et al.* Autophagy is an essential component of *Drosophila* immunity against *Vesicular stomatitis virus* [J]. *Immunity*, 2009, 30: 588 – 598.

Shi Y. Mechanisms of caspase activation and inhibition during apoptosis [J]. *Molecular Cell*, 2002, 9 (3): 459 – 470.

Silverman N, Zhou R, Erlich RL, *et al.* Immune activation of NF-κB and JNK requires *Drosophila* TAK1 [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278 (49): 48928 – 48934.

Song H, Zhang J, Li D, *et al.* A double-stranded RNA degrading enzyme reduces the efficiency of oral RNA interference in migratory locust [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2017, 86: 68 – 80.

Sosa-Gómez DR, Morgado FS, Corrκa RFT, *et al.* Entomopathogenic viruses in the neotropics: Current status and recently discovered species [J]. *Neotropical Entomology*, 2020, 49 (3): 315 – 331.

Souza-Neto JA, Sim S, Dimopoulos G. An evolutionary conserved function of the JAK-STAT pathway in anti-dengue defense [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 2009, 106: 17841 – 17846.

Sun Q, Jiang L, Guo H, *et al.* Increased antiviral capacity of transgenic silkworm via knockdown of multiple genes on *Bombyx mori bidensovirus* [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2018, 87: 188 – 192.

Suzuki K, Kubota Y, Sekito T, *et al.* Hierarchy of Atg proteins in pre-autophagosomal structure organization [J]. *Genes to Cells: Devoted to Molecular and Cellular Mechanisms*, 2007, 12 (2): 209 – 218.

Swevers L, Feng M, Ren F, *et al.* Antiviral defense against Cypovirus 1 (Reoviridae) infection in the silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2020, 103 (3): e21616.

Tanaka H, Ishibashi J, Fujita K, *et al.* A genome-wide analysis of genes and gene families involved in innate immunity of *Bombyx mori* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2008, 38 (12): 1087 – 1110.

Tanji T, Hu X, Weber AN, *et al.* Toll and IMD pathways synergistically activate an innate immune response in *Drosophila melanogaster* [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2007, 27 (12): 4578 – 4588.

Terenius O, Papanicolaou A, Garbutt JS, *et al.* RNA interference in lepidoptera: An overview of successful and unsuccessful studies and implications for experimental design [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2011, 57 (2): 231 – 245.

Toufeeq S, Wang J, Zhang SZ, *et al.* Bmserpin2 is involvedin BmNPV infection by suppressing melanization in *Bombyx mori* [J]. *Insects*, 2019, 10 (11): 399.

Trudeau D, Washburn JO, Volkman LE. Central role of hemocytes in *Autographa californica M nucleopolyhedrovirus* pathogenesis in *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* [J]. *Journal of Virology*, 2001, 75 (2): 996 – 1003.

Urman C, Ktistakis NT. Reglulation of autophagy by phosphatidylinositol 3-phosphate [J]. *FEBS Letters*, 2010, 584 (7): 1302 – 1312.

Valanne S, Wang JH, Rämet M. The *Drosophila* Toll signaling pathway [J]. *Journal of Immunology*, 2011, 186 (2): 649 – 656.

Wang P, Granados RR. An intestinal mucin is the target substrate for a baculovirus enhancin [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94: 6977 – 6982.

Wang P, Granados RR. Calcofluor disrupts the midgut defense system in insects [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2000, 30: 135 – 143.

Wang Q, Ju X, Chen L, *et al.* Caspase-1 from the silkworm, *Bombyx mori*, is involved in *Bombyx mori nucleopolyhedrovirus* infection [J]. *Zeitschrift Fur Naturforschung Section C-A Journal of Biosciences*, 2017, 72 (3 – 4): 147 – 153.

Wang Y, Cheng T, Rayaprolu S, *et al.* Proteolytic activation of pro-spätzle is required for the induced transcription of antimicrobial peptide genes in lepidopteran insects [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2007, 31 (10): 1002 – 1012.

Wilfert L, Long G, Leggett HC, *et al.* *Deformed wing virus* is a recent global epidemic in honeybees driven by Varroa mites [J]. *Science*, 2016, 351 (6273): 594 – 597.

Wong PM, Puente C, Ganley IG, *et al.* The ULK1 complex: Sensing nutrient signals for autophagy activation [J]. *Autophagy*, 2013, 9 (2): 124 – 137.

Woo SR, Fuertes MB, Corrales L, *et al.* STING-dependent cytosolic DNA sensing mediates innate immune recognition of immunogenic tumors [J]. *Immunity*, 2014, 41 (5): 830 – 42.

Wu J, Sun L, Chen X, *et al.* Cyclic GMP-AMP is an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA [J]. *Science*, 2013, 339 (6121): 826 – 830.

Wu P, Shang Q, Dweteh OA, *et al.* Over expression of bmo-miR-2819 suppresses BmNPV replication by regulating the BmNPV *ie-1* gene in *Bombyx mori* [J]. *Molecular Immunology*, 2019, 109: 134 – 139.

Wu S, Zhang X, Chen X, *et al.* BmToll9, an arthropod conservative Toll, is likely involved in the local gut immune response in the silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2010, 34 (2): 93 – 96.

Yamamoto-Hino M, Goto S. Spätzle-processing enzyme-independent activation of the Toll pathway in *Drosophila* innate immunity [J]. *Cell Structure and Function*, 2016, 41 (1): 55 – 60.

Yang HJ, Zhou F, Malik FA, *et al.* Identification and characterization of two chitin-binding proteins from the peritrophic membrane of the silkworm, *Bombyx mori* L. [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2010, 40 (3): 228 – 234.

Yi HY, Chowdhury M, Huang YD, *et al.* Insect antimicrobial peptides

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

and their applications [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98 (13): 5807 – 5822.

Yin CL, Li MZ, He K, *et al.* The progress of insect genomic research and the gene database [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2017, 39 (1): 1 – 18. [尹传林, 李美珍, 贺康, 等. 昆虫基因组及数据库研究进展 [J]. 环境昆虫学报, 2017, 39 (1): 1 – 18]

Yin Z, Pascual C, Klionsky DJ. Autophagy: Machinery and regulation [J]. *Microbial Cell*, 2016, 3 (12): 588 – 596.

You L, Zhang F, Huang S, *et al.* Over-expression of RNA interference (RNAi) core machinery improves susceptibility to RNAi in silkworm larvae [J]. *Insect Molecular Biology*, 2020, 29 (4): 353 – 362.

Yu H, Li ZQ, Ou-Yang YY, *et al.* Identification of four caspase genes from *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) and their regulations toward different apoptotic stimulations [J]. *Insect Science*, 2020, 27 (6): 1158 – 1172.

Zaghloul HAH, Hice R, Bideshi DK, *et al.* Mitochondrial and innate immunity transcriptomes from *Spodoptera frugiperda* larvae infected with the *Spodoptera frugiperda ascovirus* [J]. *Journal of Virology*, 2020, 94 (9): e01985 – 19.

Zhang MM, Chu Y, Zhao ZW, *et al.* Progress in the molecular mechanisms of the innate immune responses in insects [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2012, 55 (10): 1221 – 1229. [张明明, 初源, 赵章武, 等. 昆虫天然免疫反应分子机制研究进展 [J]. 昆虫学报, 2012, 55 (10): 1221 – 1229]

Zhang P, Yang B, Dai XJ, *et al.* Apoptosis of *Spodoptera litura* cells induced by AcMNPV *ie-1* gene [J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2002, 34 (6): 707 – 711.

Zhang S, Li Z, Nian X, *et al.* Sequence analysis, expression profiles and function of *thioredoxin* 2 and *thioredoxin reductase* 1 in resistance to nucleopolyhedrovirus in *Helicoverpa armigera* [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 15531.

Zhang X, Guo R, Kumar D, *et al.* Identification, gene expression and immune function of the novel *Bm-STAT* gene in virus-infected *Bombyx mori* [J]. *Gene*, 2016, 577 (1): 82 – 88.

Zhao P, Xia F, Jiang L, *et al.* Enhanced antiviral immunity against *Bombyx mori cytoplasmic polyhedrosis virus* via overexpression of peptidoglycan recognition protein S2 in transgenic silkworms [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2018, 87: 84 – 89.

Zografidis A, Van Nieuwerburgh F, Kolliopoulou A, *et al.* Viral small-RNA analysis of *Bombyx mori* larval midgut during persistent and pathogenic cytoplasmic polyhedrosis virus infection [J]. *Journal of Virology*, 2015, 89 (22): 11473 – 11486.

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net