

## 鳞翅目昆虫 Hemolin 蛋白的研究进展

马全兵,朱昊,王强,刘晓勇\*

(江苏大学 生命科学研究院,中国江苏 镇江 212013)

**摘要:**鳞翅目(Lepidoptera)是昆虫纲的第二大目,属完全变态的昆虫。在此目昆虫的进化过程中独立进化出一种免疫球蛋白家族成员,即 Hemolin 蛋白。前人在 Hemolin 蛋白的研究上积累了大量的信息,但仍存在着许多问题,有些问题还存在着矛盾。Hemolin 蛋白在鳞翅目昆虫免疫与发育过程中起着非常重要的作用,研究 Hemolin 蛋白对理解昆虫的免疫和发育有着重要的意义。文中主要对 Hemolin 蛋白、Hemolin 蛋白的功能及其表达调控的信号通路等方面做了一些梳理和总结,并结合自己的研究提出了一些新的观点。

**关键词:**鳞翅目;Hemolin 蛋白;免疫;发育;信号通路

中图分类号:Q966

文献标识码:A

文章编号:1007-7847(2016)01-0089-06

## Progresses on Hemolin Protein in Lepidoptera Insects

MA Quan-bing, ZHU Hao, WANG Qiang, LIU Xiao-yong\*

(Institute of Life Science, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, Jiangsu, China)

**Abstract:** Lepidoptera, which has complete metamorphosis, is the second largest order in terms of species number in the class Insecta. During the evolutionary process of these insects, Lepidoptera independently evolves an immunoglobulin, namely Hemolin. Prior studies of Hemolin have paved the way for further study. However, a lot of problems still exist and some of them even contradict each other. Hemolin plays an important role in immunology and development of Lepidoptera insects. Therefore, the research of Hemolin has significant role in understanding immunology and development of insects. Here, several aspects about Hemolin including functions and signaling pathways are summarized and some new viewpoints based on our researches are put forward.

**Key words:** Lepidoptera; Hemolin protein; immune; development; signaling pathway

(Life Science Research, 2016, 20(1): 089-094)

昆虫在进化的漫长过程中发展出一套由细胞免疫(cellular immunity)和体液免疫(humoral immunity)组成的高效免疫系统。该系统在病原体识别、信号转导途径和作用机理等方面与哺乳动物高度相似。在昆虫中,发育和先天免疫这两个重要的过程已被证明使用许多同样的或是类似的分子和信号通路,如双翅目的棕尾别麻蝇(*Sarcophaga peregrina*)中研究的 Lectin 蛋白和 Sapecin 蛋白。这些免疫分子在有病原物刺激时表达,正常情况下主要在脂肪体(功能类似于哺乳动物的肝和肾)和血细

胞中表达,而且只在发育的特定时期表达,对翅原基和胚胎的正常发育起着重要的作用<sup>[1]</sup>。为什么昆虫中很多免疫分子还同时承担发育的功能?有观点认为胚胎发生的过程伴随着凋亡细胞的清除,而在蛹期大多数幼虫的组织需要瓦解,不需要的细胞和分子应被清除。需要清除的细胞被标记为异物,清除的过程可能和清除外源病原物的机制类似,清除不需要的才能产生新的,因此免疫分子参与了组织的重建,也就是发育的过程<sup>[2]</sup>。我们认为之所以某些分子参与了免疫和发育两种过程,可能与昆虫变态

收稿日期:2015-04-21; 修回日期:2015-07-14

基金项目:国家自然科学基金项目(31101673); 江苏省自然科学基金(BK20140539)

作者简介:马全兵(1991-),男,山东聊城人,硕士研究生,主要从事昆虫生理生化与分子生物学研究;\* 通讯作者:刘晓勇(1976-),男,江苏大学生命科学研究院副研究员,博士,主要从事昆虫分子生物学和病毒分子生物学研究,E-mail: liuxiaoyong@ujs.edu.cn.

发育的特点有关。在胚胎期、蜕皮期和蛹期,昆虫体内发生着剧烈的变化,一些与发育相关的基因(如细胞黏附因子、生长刺激因子等)受蜕皮激素的作用大量表达。在漫长的进化过程中这些基因获得了一些调控元件,使之在病原物刺激后也能大量表达,这些蛋白对病原物有作用,特别是细胞粘附因子,因此产生了一些新的免疫途径。免疫功能完善后,在蜕皮期和蛹期虫体较其他时期对病原物更为脆弱的时候,这些大量表达并与发育相关的基因也同时具有了免疫保护功能。之所以先具有发育功能,主要是因为这些双重功能的基因缺失往往导致正常胚胎不能形成,但不能完全影响到昆虫的免疫功能。当然这个观点需要进一步的证明,而 Hemolin 蛋白就属于免疫和发育双功能的分子。

## 1 Hemolin 蛋白

昆虫 Hemolin 蛋白是一种重要的参与免疫与发育过程的球蛋白<sup>[2,3]</sup>。以往普遍认为 Hemolin 蛋白是唯一一个非脊椎动物免疫球蛋白家族成员,仅在鳞翅目昆虫中存在<sup>[4]</sup>。但最近文献报道在甲壳纲的凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)中发现的 LvHemolin 和 Hemolin 具有高度的相似性,该蛋白在对虾的先天性免疫中发挥着与鳞翅目昆虫中 Hemolin 蛋白相似的重要作用<sup>[5]</sup>。

Faye 等<sup>[6]</sup>(1975)在惜古比天蚕(*Hyalophora cecropia*)中发现类免疫球蛋白。然而其基因的发现却比较晚。迄今为止,包括家蚕在内的十多种鳞翅目昆虫的基因序列都已被测定。它们均由单基因控制,并且基因的序列结构非常接近。Su 等<sup>[7]</sup>发现惜古比天蚕的类免疫球蛋白的 4 个蛋白质结构域空间结构呈现马蹄形。

Hemolin 是一种分泌型蛋白,在体内主要有两种存在方式,即分泌到血淋巴中的可溶性 Hemolin 蛋白和结合于血淋巴细胞膜蛋白上的不溶性的 Hemolin 蛋白,它们在昆虫体内分别具有着不同的功能。正常情况下,其在昆虫血淋巴中的滴度非常低,但伴随着昆虫的发育,表达水平发生变化。同时,作为免疫蛋白,在昆虫受到细菌感染时,血淋巴中 Hemolin 滴度会急剧增高。在微生物侵染昆虫机体时,细菌、细菌表面分子 LPS (lipopolysaccharide) 以及 PMA (phorbol myristate acetate) 诱导下昆虫大量合成 Hemolin<sup>[8]</sup>。

果蝇中不含 Hemolin 类似蛋白,神经细胞黏着蛋白与此蛋白同源性最高,同源性为 38%<sup>[9]</sup>。

Hemolin 包含的蛋白结构和基因结构与细胞黏着蛋白类似<sup>[10,11]</sup>。用流动式激活细胞分类、膜蛋白提取以及生物素标签等方法,从昆虫血淋巴细胞的细胞膜中分离得到相对分子质量为 52 kD 的类免疫球蛋白。首先说明了在  $Ca^{2+}$  存在下, Hemolin 蛋白可以结合在血淋巴细胞的细胞膜上,其次说明了出现在血淋巴细胞膜上的 Hemolin 不仅在结构发生了变化,而且通过相对分子质量的增加,说明它还结合了另外一些未知的成分,预测应该是跨膜结构域或信号传递结构域(也称为细胞质结构域),也可能是细胞外结构域的成分<sup>[11]</sup>。Hemolin 蛋白分子质量约为 48 kD。当昆虫机体受到病原菌的刺激后,可溶性的 Hemolin 蛋白与细菌表面因子结合,然后与膜蛋白形式存在的 Hemolin 结合,同时,膜表面的 Hemolin 转换成紧密型,相互之间黏着形成二聚体<sup>[12]</sup>。

## 2 Hemolin 蛋白与鳞翅目昆虫免疫

### 2.1 Hemolin 蛋白的抗细菌真菌活性

Hemolin 蛋白被证明结合革兰氏阴性菌的 LPS、革兰氏阳性菌的脂磷壁酸(lipoteichoic acid)以及真菌细胞壁的  $\beta$ -1, 3-glucan,前者能被钙和磷酸盐部分的抑制,而且是结合到 LPS 的脂质 A 组分<sup>[13]</sup>。进一步研究表明 Hemolin 与 LPS 有两个结合位点,一个是与脂质 A 的磷酸基团,另一个是 LPS 的 o 连接特异抗原和外部核心碳水化合物。这些说明 Hemolin 是一种免疫模式识别蛋白<sup>[8]</sup>。

用 RNAi 方法干扰烟草天蛾 hemolin 基因后,发现烟草天蛾更容易受到发光杆菌(*Photobacterium luminescens*)的攻击<sup>[13]</sup>。此外,烟草天蛾 Hemolin 能够提高血淋巴细胞对大肠杆菌的吞噬作用,惜古比天蚕 Hemolin 能够提高血淋巴细胞和果蝇肿瘤样血淋巴细胞对酵母菌的吞噬作用<sup>[14]</sup>。这些实验都证明了 Hemolin 蛋白在昆虫免疫中的作用。

Lanz. Mendoza 等<sup>[15]</sup>(1996)的研究表明昆虫 Hemolin 与 LPS 或者 PMA 结合不仅能增强惜古比天蚕血淋巴细胞的吞噬作用,增加胞质内的磷酸激酶活性,而且可以增强蛋白激酶活性,磷酸化或去磷酸化不同蛋白的酪氨酸。虽然 Hemolin 不能直接杀灭微生物,但昆虫被细菌感染后,血淋巴中的可溶性 Hemolin 蛋白可以识别细菌的表面成分,从而先和细菌结合,再在  $Ca^{2+}$  出现的情况下与血淋巴细胞结合而组成 Hemolin、细菌和血淋巴细胞的复合体结构,然后细菌和血淋巴细胞融合,刺激血淋巴细胞发挥吞噬作用,从而杀灭血淋巴细胞中的细菌<sup>[15]</sup>。

## 2.2 Hemolin 蛋白的抗病毒活性

Hemolin 蛋白在有些物种中能参与抵抗病毒的入侵,在另外一些物种中则对病毒没有反应<sup>[16,17]</sup>。鳞翅目昆虫只有在幼虫期才能被杆状病毒感染,在幼虫期他们对致命病毒的抗性慢慢增加,Hemolin 的表达也随之增高<sup>[18]</sup>。而且在柞蚕(*Antheraea pernyi*)中 Hemolin 能因被注射或是喂食杆状病毒而诱导表达<sup>[19]</sup>。有趣的是,Hemolin 的表达和柞蚕的抗病毒能力在注射低剂量(0.005  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) Hemolin 特异的 dsRNA 时被激活,但高剂量(10  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )注射时被抑制<sup>[20]</sup>。

这些研究表明 Hemolin 能被 dsRNA 或是病毒所诱导,据此推测 Hemolin 在有些鳞翅目昆虫中参与了抵抗病毒的过程。但用杆状病毒感染后 Hemolin 在 *Helicoverpa zea* 和 *Heliothis virescens* 中几乎没有变化,研究认为蚕蛾类(*Bombycoidea*) Hemolin 参与抵抗病毒感染的感染,而在夜蛾(*Noctuoidea*)类却没有<sup>[16]</sup>。我们的研究认为在家蚕中病毒的侵染对 Hemolin 的表达并没有影响(待发表)。同时,家蚕品种中的确存在抗病毒的品种,我们认为在抗性品种中 Hemolin 的表达可能有所不同,这还需进一步的研究。

## 2.3 Hemolin 蛋白参与免疫的信号通路

当昆虫受到外界病原物的侵染时,体内模式识别蛋白(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),进而激活血淋巴和脂肪体中的特定信号通路。

细胞免疫反应主要是通过血细胞依照病原物的大小和密度来进行吞噬或是黑化,体液免疫主要是通过脂肪体产生抗菌肽和酚氧化物酶等免疫效应分子,清除或杀灭外源物。昆虫的体内有 Toll 途径和 Imd 途径两种信号转导途径来调节抗菌物质的产生,对病毒免疫应答主要是通过 Toll 通路和其他非 Imd 依赖性通路调节,通过激活不同的转录因子来调控不同基因的表达,参与昆虫体内的天然免疫反应。而且,激活两者的信号分子不同。

在 Toll 途径中,当昆虫受到了微生物的侵染,会通过 PGRP-SA 与病原物相关形态分子结合,进而触发淋巴液中一系列酶解反应,产生激活型 spätzle<sup>[21]</sup>。活化的 spätzle 结合 Toll,使得 toll 类似受体(toll-like receptor, TLR)的 Toll/IL-1R(TIR)结构域与 MyD88、Tube、Pelle 三聚体作用,引起胞内信号级联反应。最终使 cactus 泛素化和

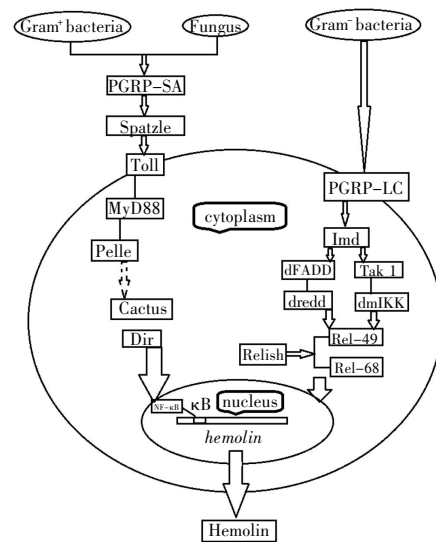


图 1 病原物刺激诱导 Hemolin 表达的信号通路(虚线箭头表示作用过程还不清楚)

Fig.1 Signaling pathways of the expression of Hemolin induced by pathogens stimulation(The dashed arrow represents the process is still unclear)

磷酸化并降解,释放转录因子 Rel 蛋白<sup>[22]</sup>。激活的 Rel 蛋白进入细胞核,与靶标基因的启动子或增强子中的 NF- $\kappa$ B 因子结合,调节 hemolin 等基因的表达(图 1)。Imd 途径中,在病原菌侵染诱导下,PGRP-LC 与病原体相关形态分子结合,诱导 imd 基因表达产生活性受体,引起胞内信号级联反应。最终激活 Relish 与 NF- $\kappa$ B 转录因子作用,调节靶标基因表达。当前已知参与此通路的有 Imd、转化生长因子激活激酶(dTAK1)、果蝇具 Fas 相关死亡域蛋白(dFADD)、DmIKK 等。

最近有研究表明,真菌 *Beauveria bassiana* 感染 *S. exigua* 后会引起 hemolin 等基因的表达,dsRNA 抑制 Toll 途径会同时抑制 hemolin 的表达,但抑制 Imd 途径则不会<sup>[23]</sup>。说明真菌感染特异性的激活 Toll 途径以及 hemolin 的表达。

研究表明包括 hemolin 基因在内的许多与免疫和应急相关的基因的启动子区域都含有 NF- $\kappa$ B 结合的结构元件<sup>[24]</sup>,而且由 *Cotesia plutella* 病毒编码的 NF- $\kappa$ B 抑制蛋白 CpBV- $\kappa$ B 能抑制宿主受细菌感染时表达 Hemolin 蛋白,这也说明 Hemolin 蛋白是受 NF- $\kappa$ B 结合元件所控制<sup>[25]</sup>。

## 3 Hemolin 蛋白与鳞翅目昆虫发育

### 3.1 Hemolin 蛋白参与昆虫的发育调节

无病原物感染时,鳞翅目昆虫 Hemolin 蛋白的转录一般发生在蛹期脂肪体,在脂肪体细胞内合成

后被分泌到血淋巴中发挥作用<sup>[26]</sup>,但是某些昆虫的中肠和胚胎以及在滞育的卵中也能进行少量的转录<sup>[19]</sup>。*Manduca sexta* 中 Hemolin 只在血淋巴中有非常低的表达,直到化蛹前的一段时间,之后大量表达。另外, Hemolin 在不同发育时期的糖基化程度有所不同,从成虫和细菌感染的幼虫中分离的 Hemolin 含有不定数量和种类的非共价结合的糖基,然而在化蛹前的幼虫中却没有糖基<sup>[27]</sup>。在蛹中注射 siRNA 后,虽然蛹能够正常孵化,但是交配后不能产生可育的卵<sup>[28]</sup>。在 *Plodia interpunctella* 化蛹前大量表达的 Hemolin 受蜕皮激素调控,表达的部位主要是表皮,脂肪体也有表达。

考虑到 Hemolin 与神经胶质蛋白最相似,而后者是一种细胞粘附蛋白,对神经系统发育至关重要。因此, Hemolin 蛋白可能在胚胎发育期作为一种细胞粘附因子而发挥作用。在我们的研究中(待发表),我们发现在蛹期对家蚕进行 RNA 干扰,成虫有一部分家蚕的翅不能正常的发育。综合各方面信息,我们认为在特定时期及部位表达的 *hemolin* 基因,主要原因并不是目前认为的在昆虫脆弱时对抗病原物的侵染,更可能的作用是作为细胞粘附因子参与了变态重建的多个过程。

**3.2 Hemolin 蛋白参与发育的信号通路**

多种昆虫激素控制着昆虫的变态,其中最主要的是促前胸腺激素(prothoracicotropic hormone, PTH)、蜕皮激素(ecdysone)和保幼激素(juvenile hormone, JH)。PTTH 启动蜕皮与变态的发生;蜕皮激素启动和调控蜕皮与变态发育过程;而 JH 调控变态发育的方向。蜕皮激素是一类甾醇类化合物,在昆虫前胸腺中合成后分泌到昆虫血液中,并被氧化成具有生物活性的 20-羟基蜕皮酮(20-hydroxyecdysone, 20E),然后随血液被运输到各个靶组织中与靶组织细胞内蜕皮激素受体(ecdysone receptor, EcR)和超气门蛋白(ultraspiracle, USP)异源二聚体结合,诱导早期应答转录因子基因的表达<sup>[29]</sup>,进而再调控与蜕皮、变态直接相关的靶基因表达,如表皮几丁质蛋白、几丁质合成酶、多巴胺脱羧酶和多酚氧化酶等,通过这个基因级联表达过程,最终使激素信号转变成生理和结构的变化,导致蜕皮变态发育<sup>[30]</sup>。

蜕皮激素能刺激 *Hyalophora cecropia* 滞育蛹的脂肪体表达 Hemolin (HcHemolin)。20E 还能在病毒感染时增加 *hemolin* 基因的转录<sup>[31]</sup>。一种咪唑衍生物 kk-42 能阻止滞育,它能抑制蜕皮激素

的合成,能大大减少 *hemolin* 基因的表达,然而再添加 20E, *hemolin* 基因又能恢复表达<sup>[19]</sup>。*Manduca sexta* 的 *hemolin* (Mshemolin) 和 *Hchemolin* 基因的上游区域有几个激素反应元件(hormone response elements, HREs),由此可以证明 *hemolin* 基因受到蜕皮激素的调控<sup>[31]</sup>(图 2)。

越来越多的证据表面蜕皮激素也调节昆虫的体液免疫<sup>[32]</sup>。但 20E 对体液免疫,有时有增强的作用,有时也有抑制的作用。有意思的是,在家蚕脂肪体中,有研究认为蜕皮激素能抑制一类免疫相关的蛋白抗菌肽 mRNA 的水平,抑制其活性<sup>[33]</sup>,还有研究认为在家蚕中肠中蜕皮激素能刺激 Imd 信号通路诱导抗菌肽的上调<sup>[34]</sup>。

Toll 通路除参与体液免疫外,还调控昆虫的发育。Imd 在昆虫发育中不起作用,却可能参与细胞死亡的调节<sup>[35]</sup>。20E 被证明在果蝇 *mbn-2* 细胞中能诱导 Toll 通路的抗菌肽的表达<sup>[3]</sup>。蜕皮激素和 Toll 以及 Imd 通路的关系还不清楚<sup>[36]</sup>。

**4 Hemolin 蛋白与其他蛋白的相互作用**

家蚕酚氧化物酶与家蚕 Yippee 蛋白是在免疫和发育过程中与 Hemolin 密切相关的两种重要分子,对研究后者的功能是重要的参照物。

昆虫伤口愈合、表皮硬化和对外源病原物的黑化,这些生理过程中酚氧化物酶(PO)都是必需的<sup>[37]</sup>。PO 同 Hemolin 一样可由病原物刺激产生,粘附于细胞表面而起作用。酚氧化物酶原(PPO)

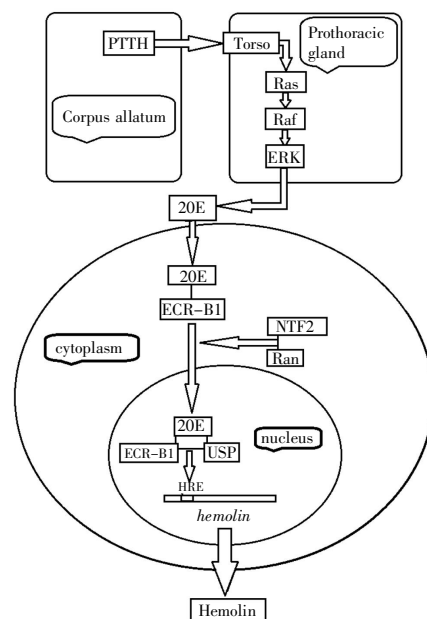


图 2 20E 调控 *hemolin* 基因的表达  
Fig.2 The expression of *hemolin* regulated by 20E

蛋白的活化与脂蛋白颗粒有关<sup>[39]</sup>,而 He-molin 也同脂质颗粒有关<sup>[9]</sup>。与 Hemolin 一样,PPO 也能被蜕皮激素所诱导,对家蚕的蜕皮是必需的<sup>[40]</sup>。两者在免疫及发育过程中相同的阶段和部位都起着重要的作用。用 Hemolin 的 dsRNA 注射 *H. cecropia* 的蛹,成虫产出的卵不仅不能孵化,而且卵的黑化也不如正常的卵,而黑化正是 PO 的产物。利用 RNA 干扰技术沉默 *hemolin* 基因后,酚氧化酶的活性降低,影响黑色素的形成<sup>[41]</sup>。Hemolin 可能在触发 PPO 活化过程中起着重要作用,以对付入侵的病原物<sup>[42]</sup>。因此,有理由相信 Hemolin 与 PO 在对抗病原物的侵染和昆虫发育过程中共同发挥作用。

Yippee 蛋白就是在研究 Hemolin 时发现的,目前研究很少。研究 Hemolin 蛋白 20 多年的瑞典科学家 Ingrid Faye 为了寻找与 Hemolin 相互作用的蛋白,用果蝇翅原基的 cDNA 构建的表达文库与 *Hyalophora cecropia* 的 Hemolin 蛋白进行相互作用陷阱分析,鉴定到了果蝇的 Yippee 蛋白与 *Hyalophora cecropia* 的 Hemolin 有着很强的相互作用,而且证明相互作用发生在 Hemolin 的第一结构域和 Yippee 蛋白的最后两对半胱氨酸之间<sup>[43]</sup>。Yippee 蛋白包含一个可以结合金属离子的锌指状结构,可形成二聚体,是一种细胞内蛋白,在果蝇的整个发育阶段都有表达,被认为是一种高度不稳定的生长抑制因子<sup>[44]</sup>。还有报道认为 Yippee 蛋白与减数分裂有关<sup>[45]</sup>。这是迄今鉴定到的唯一与 Hemolin 有相互作用的蛋白,但这种相互作用还需进一步的研究证实。

## 5 问题与展望

对 Hemolin 蛋白的研究在 20 世纪末期较多,但对其功能的了解却仍然有很多不清楚的地方。比如鳞翅目昆虫如何进化出 Hemolin 蛋白,是从神经胶质样蛋白通过复制进化而来的吗<sup>[46]</sup>? 它又为何在免疫和发育中起着重要的作用? Hemolin 蛋白如何与血细胞结合来发挥免疫作用? Hemolin 蛋白为何在有些鳞翅目物种中有抵抗病毒的作用,而在另一些物种中却没有反应? 为何昆虫的免疫和发育总是密切相关,而且很多分子共同参与这两个过程? 同时受蜕皮激素和病原刺激调控的 Hemolin 蛋白、酚氧化酶以及 Yippee 蛋白是怎样在免疫和发育中共同起作用,受到哪些信号分子的调控? Hemolin 参与免疫和发育的调控是否皆因它是一个重要的细

胞黏附因子,两种作用的本质能否统一起来?

我们对家蚕 Hemolin 的研究已经证实该蛋白与 Yippee 在翅原基中存在相互作用(待发表),下一步的研究将鉴定与 Hemolin 结合的血细胞膜结构的成分。Hemolin 蛋白的双功能分子原理通过这些研究也终将得以阐明。这对丰富昆虫的免疫调控和变态发育理论有着非常重要的意义。

## 参考文献(References):

- [1] NATORI S. Molecules participating in insect immunity of *Sarcophaga peregrina*[J]. Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and Biological Sciences, 2010, 86(10): 927-938.
- [2] MENDOZA H L, FAYE I. Physiological aspects of the immunoglobulin superfamily in invertebrates[J]. Developmental and Comparative Immunology, 1999, 23(4-5): 359-374.
- [3] DIMARCQ J L, IMLER J L, LANOT R, et al. Treatment of I(2) mbn *Drosophila* tumorous blood cells with the steroid hormone ecdysone amplifies the inducibility of antimicrobial peptide gene expression[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 1997, 27(10): 877-886.
- [4] BAO Y, YAMANO Y, MORISHIMA I. Induction of hemolin gene expression by bacterial cell wall components in eri-silk-worm, *Samia cynthia ricini*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2007, 146(1): 147-151.
- [5] ZUO H, LI H, WEI E, et al. Identification and functional analysis of a Hemolin like protein from *Litopenaeus vannamei*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2015, 43(1): 51-59.
- [6] FAYE I, PYE A, RASMUSON T, et al. Insect immunity II. Simultaneous induction of antibacterial activity and selection synthesis of some hemolymph proteins in diapausing pupae of *Hyalophora cecropia* and *Samia cynthia*[J]. Infection and Immunity, 1975, 12(6): 1426-1438.
- [7] SU X D, GASTINEL L N, VAUGHN D E, et al. Crystal structure of hemolin: a horseshoe shape with implications for homophilic adhesion[J]. Science, 1998, 281(5379): 991-995.
- [8] YU X, KANOST M R. Binding of hemolin to bacterial lipopolysaccharide and lipoteichoic acid[J]. European Journal of Biochemistry, 2002, 269(7): 1827-1834.
- [9] SUN S C, LINDSTROM I, BOMAN H G, et al. Hemolin: an insect-immune protein belonging to the immunoglobulin superfamily[J]. Science, 1990, 250(4988): 1729-1732.
- [10] KANOST M R, ZEPP M K, LADENDORFF N E, et al. Isolation and characterization of a hemocyte aggregation inhibitor from hemolymph of *Manduca sexta* larvae[J]. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 1994, 27(2): 123-136.
- [11] BETTENCOURT R, LANZ-MENDOZA H, LINDQUIST K R, et al. Cell adhesion properties of hemolin, an insect immune protein in the Ig superfamily[J]. European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry, 1997, 250(3): 630-637.
- [12] DAFFRÉS, FAYE I. Lipopolysaccharide interaction with hemolin, an insect member of the Ig-superfamily[J]. FEBS Letters, 1997, 408(2): 127-130.
- [13] ELEFATHERIANOS I, MAROKHAZI J, MILLICHAP P J, et al. Prior infection of *Manduca sexta* with non-pathogenic *Escherichia coli* elicits immunity to pathogenic *Photobacterium luminescens*: Roles of immune-related proteins shown by RNA interference[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2006, 36(6): 517-525.
- [14] ELEFATHERIANOS I, GÖKÇEN F, FELDÖLDI G, et al. The immunoglobulin family protein Hemolin mediates cellular immune responses to bacteria in the insect *Manduca sexta*[J]. Cellular Microbiology, 2007, 9(5): 1137-1147.
- [15] LANZ-MENDOZA H, BETTENCOURT R, FABBRI M, et al. Regulation of the insect immune response: the effect of hemolin on cellular immune mechanisms[J]. Cellular Immunology, 1996, 169(1): 47-54.
- [16] TEREINIUS O, POPHAM H J R, SHELBY K S. Bacterial, but not baculoviral infections stimulate *Hemolin* expression in noctuid moths[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2009, 33(11): 1176-1185.
- [17] TEREINIUS O. Hemolin—A lepidopteran anti-viral defense factor? [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2008, 32(4): 311-316.

- [18] KIRKPATRICK B A, WASHBURN J O, VOLKMAN L E. AcMNPV pathogenesis and developmental resistance in fifth instar *Heliothis virescens*[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1998, 72(1): 63–72.
- [19] LEE K Y, HORODYSKI F M, VALAITIS A P, et al. Molecular characterization of the insect immune protein hemolin and its high induction during embryonic diapause in the gypsy moth, *Lymantria dispar*[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2002, 32(11): 1457–1467.
- [20] HIRAI M, TERENIUS O, LI W, et al. Baculovirus and dsRNA induce *Hemolin*, but no antibacterial activity, in *Antheraea pernyi*[J]. Insect Molecular Biology, 2004, 13(4): 399–405.
- [21] AN C, JIANG H, KANOST M R. Proteolytic activation and function of the cytokine Spätzle in the innate immune response of a lepidopteran insect, *Manduca sexta*[J]. FEBS Journal, 2010, 277(1): 148–162.
- [22] WU L P, ANDERSON K V. Regulated nuclear import of Rel proteins in the *Drosophila* immune response[J]. Nature, 1998, 392(6671): 93–97.
- [23] PARK J, KIM Y. Eicosanoid biosynthesis is activated via Toll, but not Imd signal pathway in response to fungal infection[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2012, 110(3): 382–388.
- [24] ROXSTROM-LINDQUIST K, LINDSTROM-DINNETZ I, OLESEN J, et al. An intron enhancer activates the immunoglobulin-related *Hemolin* gene in *Hyalophora cecropia*[J]. Insect Molecular Biology, 2002, 11(5): 505–515.
- [25] SHRESTHA S, KIM H H, KIM Y. An inhibitor of NF- $\kappa$ B encoded in *Cotesia plutella* bracovirus inhibits expression of antimicrobial peptides and enhances pathogenicity of *Bacillus thuringiensis*[J]. Journal of Asia-Pacific Entomology, 2009, 12(4): 277–283.
- [26] LADENDORFF N E, KANOST M R. Isolation and characterization of bacteria-induced protein P4 from hemolymph of *Manduca sexta*[J]. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 1990, 15(1): 33–41.
- [27] YU X Q, KANOST M R. Developmental expression of *Manduca sexta* hemolin[J]. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 1999, 42(3): 198–212.
- [28] BETTENCOURT R, TERENIUS O, FAYE I. *Hemolin* gene silencing by ds-RNA injected into *Cecropia* pupae is lethal to next generation embryos[J]. Insect Molecular Biology, 2002, 11(3): 267–271.
- [29] RIDDIFORD L M. How does juvenile hormone control insect metamorphosis and reproduction[J]. General and Comparative Endocrinology, 2012, 179(3): 477–484.
- [30] 曾保娟, 冯启理. 昆虫的变态发育研究[J]. 应用昆虫学报(ZENG Bao-juan, FENG Qi-li. Study of insect metamorphosis[J]. Chinese Journal of Applied Entomology), 2014, 51(2): 317–328.
- [31] ROXSTROM-LINDQUIST K, ASSEFAW-REDDA Y, ROSINSKA K, et al. 20-Hydroxyecdysone indirectly regulates *Hemolin* gene expression in *Hyalophora cecropia*[J]. Insect Molecular Biology, 2005, 14(6): 645–652.
- [32] FLATT T, HEYLAND A, RUS F, et al. Hormonal regulation of the humoral innate immune response in *Drosophila melanogaster*[J]. Indian Journal of Experimental Biology, 2008, 211(Pt 16): 2712–2724.
- [33] TIAN L, GUO E, DIAO Y, et al. Genome-wide regulation of innate immunity by juvenile hormone and 20-hydroxyecdysone in the *Bombyx* fat body[J]. BMC Genomics, 2010, 11(41): 549.
- [34] XU Q, LU A, XIAO G, et al. Transcriptional profiling of midgut immunity response and degeneration in the wandering silkworm, *Bombyx mori*[J]. PLoS One, 2012, 7(8): e43769.
- [35] GEORGE P, NAITZA S, KAPPLER C, et al. *Drosophila* immune deficiency (IMD) is a death domain protein that activates antibacterial defense and can promote apoptosis[J]. Developmental Cell, 2001, 1(4): 503–514.
- [36] RUS F, FLATT T, TONG M, et al. Ecdysone triggered *PGRP-LC* expression controls *Drosophila* innate immunity[J]. EMBO Journal, 2013, 32(11): 1626–1638.
- [37] CERENIUS L, LEE B L, SODERHALL K. The proPO-system: pros and cons for its role in invertebrate immunity[J]. Trends in Immunology, 2008, 29(6): 263–271.
- [38] YANG B, LU A, PENG Q, et al. Activity of fusion phenoloxidase-GFP and its potential applications for innate immunity study[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64106.
- [39] RAHMAN M M, MA G, ROBERTS H L, et al. Cell-free immune reactions in insects[J]. Journal of Insect Physiology, 2006, 52(7): 754–762.
- [40] WANG M X, LU Y, CAI Z Z, et al. Phenol oxidase is a necessary enzyme for the silkworm molting which is regulated by molting hormone[J]. Molecular Biology Reports, 2013, 40(5): 3549–3555.
- [41] 文胜, 刘锦辉, 张永勤, 等. 色素细胞谱系及其发育调控研究进展[J]. 湖南师范大学自然科学学报(WEN Sheng, LIU Jin-Hui, ZHANG Yong-Qin, et al. Advances in the research of pigment cell lineage and its developmental mechanism[J]. Journal of Natural Science of Hunan Normal University), 2014, 37(6): 24–28.
- [42] TERENIUS O, BETTENCOURT R, LEE S Y, et al. RNA interference of *Hemolin* causes depletion of phenoloxidase activity in *Hyalophora cecropia*[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2007, 31(6): 571–575.
- [43] ROXSTROM-LINDQUIST K, FAYE I. The *Drosophila* gene *Yippee* reveals a novel family of putative zinc binding proteins highly conserved among eukaryotes[J]. Insect Molecular Biology, 2001, 10(1): 77–86.
- [44] BERBERICH S J, TODD A, TUTTLE R. Why YPEL3 represents a novel tumor suppressor[J]. Frontiers in Bioscience, 2011, 16(1): 1746–1751.
- [45] HOSONO K, SASAKI T, MINOSHIMA S, et al. Identification and characterization of a novel gene family YPEL in a wide spectrum of eukaryotic species[J]. Gene, 2004, 340(1): 31–43.
- [46] HUGHES A L. Protein phylogenies provide evidence of a radical discontinuity between arthropod and vertebrate immune systems[J]. Immunogenetics, 1998, 47(4): 283–296.

(上接第 75 页)

- [58] LOUIS D N, OHGAKI H, WIESTLER O D, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system[J]. Acta Neuropathol, 2007, 114(2): 97–109.
- [59] WU H C, LIN Y C, LIU C H, et al. USP11 regulates PML stability to control Notch-induced malignancy in brain tumours[J]. Nature Communications, 2014, 5: 3214.
- [60] 谢贵娥, 黄招琴, 李莉, 等. SLP-2 基因在乳腺癌细胞系中的表达及对 MCF-7 细胞增殖的影响[J]. 湖南师范大学自然科学学报(XIE Gui-E, HUANG Zhao-Qin, LI Li, et al. Expression of SLP-2 in human mammary cancer cell lines and its effect on cell proliferation in MCF-7 cells[J]. Journal of Natural Science of Hunan Normal University), 2014, 37(6): 19–23.
- [61] KAUFMANN M, VON MINCKWITZ G, BEAR H D, et al. Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer[J]. Annals of Oncology, 2007, 18(12): 1927–1934.
- [62] BAYRAKTAR S, GUTIERREZ BARRERA A M, LIU D, et al. USP-11 as a predictive and prognostic factor following neoadjuvant therapy in women with breast cancer[J]. Cancer Journal, 2013, 19(1): 10–17.
- [63] ZUR HAUSEN H. Papillomavirus infections—a major cause of human cancers[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1996, 1288(2): 55–78.
- [64] LIN C H, CHANG H S, YU W C. USP11 stabilizes HPV-16E7 and further modulates the E7 biological activity[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2008, 283(23): 15681–15688.
- [65] GEILER J, MICHAELIS M, SITHISARN P, et al. Comparison of pro-inflammatory cytokine expression and cellular signal transduction in human macrophages infected with different influenza A viruses[J]. Medical Microbiology and Immunology, 2011, 200(1): 53–60.
- [66] LIAO T L, WU C Y, SU W C. Ubiquitination and deubiquitination of NP protein regulates influenza A virus RNA replication[J]. The EMBO Journal, 2010, 29, (22): 3879–3890.
- [67] LIANG T J, REHERMANN B, SEEFF L B, et al. Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of hepatitis C[J]. Annals of Internal Medicine, 2000, 132(4): 296–305.
- [68] MORADPOUR D, PENIN F, RICE C M. Replication of hepatitis C virus[J]. Nature reviews Microbiology, 2007, 5(6): 453–463.
- [69] DE CHASSEY B, NAVRATIL V, TAFFOREAU L, et al. Hepatitis C virus infection protein network[J]. Molecular Systems Biology, 2008, 4:230.
- [70] HELLEN C U, SARNOW P. Internal ribosome entry sites in eukaryotic mRNA molecules[J]. Genes & Development, 2001, 15(13): 1593–1612.
- [71] LI Q, ZHANG Y Y, CHIU S, et al. Integrative functional genomics of hepatitis C virus infection identifies host dependencies in complete viral replication cycle[J]. PLoS Pathogens, 2014, 10(5): e1004163.
- [72] BURKHART R A, PENG Y, NORRIS Z A, et al. Mitoxantrone targets human ubiquitin-specific peptidase 11 (USP11) and is a potent inhibitor of pancreatic cancer cell survival[J]. Molecular Cancer Research, 2013, 11(8): 901–911.