



昆虫飞行肌细胞凋亡的分子生物学研究进展^{*}

冯红林¹ 孙红岩¹ 李克斌^{2**} 席景会^{1**} 尹 姣² 曹雅忠²

(1. 吉林大学植物科学学院 长春 130062; 2. 中国农业科学院植物保护研究所 北京 100193)

摘 要 细胞凋亡是多细胞生物体内由激素刺激, 基因调控, 蛋白调节的一个主动的程序化死亡过程, 对生物体特定组织功能的发生、发展、衰老及退化等具有重要作用。而昆虫飞行肌细胞凋亡对昆虫迁飞行为尤为重要, 它直接决定迁飞性昆虫能否选择更适宜的寄主植物和生活条件, 进而影响到对农作物的危害地域和严重程度。本文在近年来昆虫细胞凋亡的研究基础上, 从分子生物学的角度, 综述了调控昆虫飞行肌细胞凋亡的相关基因和蛋白质的研究进展, 探讨了昆虫飞行肌细胞凋亡发生与调控的分子生物学机制。

关键词 飞行肌, 细胞凋亡, 迁飞, 迁飞机制

Progress of molecular biology researches in insect flight muscle cell apoptosis

FENG Hong-Lin¹ SUN Hong-Yan¹ LI Ke-Bin^{2**} XI Jing-Hui^{1**} YIN Jiao² CAO Ya-Zhong²

(1. College of Plant Science Jilin University, Changchun 130062, China;

2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100193, China)

Abstract Cell apoptosis is a process causing cell death in multi-cellular organisms that is stimulated by hormones and regulated and modulated by specific genes and proteins. It plays an important role in germinating, developing, aging and the degeneration of certain cells and tissues. Flight muscle apoptosis is especially important in insects that migrate over long distances. The timing of this process determines whether such insects can locate preferable plant hosts or better habitats and indirectly affects the nature of the damage such pests inflict on agricultural plant crops. In this article, we summarize the genes and proteins which encode or regulate parts of insects' flight muscle and discuss the molecular mechanism of flight muscle apoptosis and its role in the regulation of insect migration.

Key words flight muscles, apoptosis, migration, migration mechanisms

细胞凋亡是多细胞生物体内一种重要的自我维稳机制, 与细胞的增殖, 发育和分化具有同等重要的生理学或病理学意义。1972年Kerr等在*Cancer*杂志上首次提出细胞凋亡的概念, 随后, 各领域对细胞凋亡开展了广泛研究。细胞凋亡已成为细胞生物学、分子生物学和肿瘤学等诸多学科的研究热点, 但是与昆虫学相关的研究相对较少, 主要对昆虫变态生长发育的调控过程进行了研究, 而与昆虫飞行肌相关的研究更是鲜有报道。

本文针对近年来与迁飞性昆虫飞行肌细胞凋亡的相关研究, 阐述了飞行肌细胞凋亡在昆虫迁飞中的分子机理及其重要的生理学意义。

1 细胞凋亡的相关概念

多细胞生物体内, 细胞死亡方式包括两种, 细胞程序化死亡(programmed cell death, PCD)和细胞坏死(necrosis)。细胞程序化死亡又分为Ⅰ型PCD-细胞凋亡(apoptosis)和Ⅱ型PCD-细胞自噬

^{*} 资助项目: 公益性行业科研专项“作物蚜虫综合防控技术研究与示范推广”(201103022)。

^{**} 通讯作者, E-mail: jhxi1965@jlu.edu.cn; kbli@ippcaas.cn

收稿日期: 2010-10-11, 接受日期: 2011-02-11

(autophagy) (Edinger and Thompson, 2004; 刘影等, 2009)。细胞坏死是由物理、化学等损害因子及缺氧、营养不良等病理性因素导致的细胞死亡, 是一个被动的过程, 在这个过程中, 细胞及细胞器肿胀破裂, 内容物外溢, 累及大片临近细胞, 并引起炎症反应 (杨艳等, 2007)。细胞自噬是细胞内容物 (包括细胞质、细胞器等) 的降解与再利用的循环过程。较弱的细胞自噬可以进行自救, 从而抑制细胞死亡的发生, 而强烈的细胞自噬通过快速清除细胞核和细胞器来加速细胞死亡的发生 (Klionsky, 2005; Kourtis and Tavernarakis, 2009)。而细胞凋亡与细胞自噬和细胞坏死不同, 它是生物体中固有的, 由激素刺激、基因调控、蛋白调节的主动的细胞程序化死亡过程。它的形态学特征是逐步出现的, 经过多个发展阶段, 主要集中在细胞核内, 比如胞质浓缩、核染色质凝缩、DNA 大规模断片化、细胞膜内陷并发泡形成凋亡小体 (apoptotic bodies), 最终被巨噬细胞或临近细胞吞噬清除, 整个过程中细胞及细胞器都保持良好的完整性, 并且有新蛋白质的合成与参与 (樊廷俊和夏兰, 2001; 翟中和等, 2005)。可以说, 细胞凋亡是一个多层次调控的严格的细胞死亡过程, 不仅是一个细胞水平上的生物活动, 而且涉及亚细胞 (胞内细胞器, 如线粒体) 和超细胞 (细胞组群, 器官或整个个体) 等 (Bakeeva *et al.*, 2007), 对整个机体正常功能的维持等具有重要意义。

2 昆虫细胞凋亡的研究进展

2.1 昆虫细胞凋亡现象

细胞凋亡存在于昆虫生长发育的许多方面。在昆虫的变态发育过程中, 细胞内分裂器官进行器官重建。由于蜕皮激素的激活, 遗传级联系统调控的细胞凋亡机制启动, 导致大量幼虫器官发生细胞凋亡直到最后完全消亡 (刘影等, 2009)。在昆虫卵子发生过程中, 细胞凋亡现象也普遍存在。黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 卵子发生的卵黄期有细胞凋亡现象, 凋亡可使黑腹果蝇在不利的环境条件下保持较高的生殖水平, 并且通过凋亡可以及时清除完成使命的细胞 (杨艳等, 2007)。如卵子发生过程中, 滋养细胞将细胞质转运至卵母细胞后, 很快就退化消失; 滤泡细胞完成任务后就产生凋亡, 然后被输卵管上皮细胞吞噬 (杨佐娟和何建平, 2006)。

2.2 昆虫细胞凋亡的诱导因子

诱导昆虫细胞发生凋亡的因素有很多, 如高温、紫外线辐射、一氧化氮 (NO)、重金属离子、荧光增白剂、植物源农药、蛋白质合成抑制剂、昆虫体内的激素、脂类信号小分子、氨基酸饥饿和病毒感染等 (Lee and Baehrecke, 2000; Xia *et al.*, 2005; Xiu *et al.*, 2005)。无翅红椿 *Pyrrhocoris apterus* 的飞行肌在饥饿和烯虫酯处理后, 均能引起飞行肌细胞的凋亡 (Socha and Kula, 2008)。病毒感染也是导致昆虫细胞凋亡的重要因素, 苜蓿银纹夜蛾 *Spodoptera litura* 核型多角体病毒 (杜昌升等, 2003) (autographa Californica nuclear polyhedrosis virus, AcNPV) 和家蚕 *Bombyx mori* BmNPV, 2 种病毒在缺失 P35 基因的情况下, 含有多种促细胞凋亡的基因表达, 如 AcMNPV 的 *p10* 基因, 早期病毒反式激活因子 IE-1 等, 均可以诱导多种昆虫细胞凋亡 (吕鸿声等, 2003a, 2003b)。

2.3 昆虫细胞凋亡的信号通路及影响因素

2.3.1 Caspase 家族与细胞凋亡途径 胱天蛋白酶 (cysteine aspartic acid specific protease, caspase) 家族在细胞凋亡发生的调控和执行阶段起着十分关键的作用。迄今为止已报道了多个 caspase 家族成员, 其中人源 14 种、鼠源 10 种、鸟和鱼的 4 种、两栖类的 8 种、果蝇的 7 种和线虫的 3 种 (Lamkanfi *et al.*, 2002)。最近在草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (Pei *et al.*, 2002)、家蚕 (宋丽娜等, 2007)、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Yang *et al.*, 2008) 和粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* Hübner (Hebert *et al.*, 2009) 等鳞翅目昆虫中也分离并鉴定出了与黑腹果蝇 caspase 有高度同源性的 caspase-1。在高等动物细胞凋亡调控过程中, caspase 家族的 caspase 2、8、9 和 10 在上游参与细胞凋亡的起始, 促进凋亡的执行者 caspase 3、6、7 凋亡聚 (ADP 核糖) 聚合酶和 DFF-45 (DNA Fragmentation Factor-45), 抑制 DNA 修复并启动 DNA 凋亡 (翟中和等, 2005)。比较果蝇、线虫和哺乳动物的凋亡途径发现, 它们在整体的调控途径上具有保守性。哺乳动物凋亡蛋白酶激活因子 Apaf-1 (apoptotic protease activating factor 1), 秀丽新小杆线虫 *Caenorhabditis elegans* CED-4 与果蝇 DApaf-1 是功能上的同源物, 而 caspase-9, CED3 则与果蝇凋亡引发酶 Dronc 有着相似的功能地位, 哺

乳动物 caspase-3, 7 也与果蝇凋亡效应蛋白酶 DrICE 功能相似。并且在细胞凋亡的抑制过程中, 哺乳动物凋亡抑制蛋白 IAPs 与果蝇 DIAP1 都发挥着抑制细胞凋亡的作用。

2.3.2 昆虫细胞凋亡的 3 种途径 最新的研究发现, 昆虫细胞凋亡的信号通路至少有 3 条, 一条类似于线虫细胞凋亡信号通路; 另一条类似哺乳动物细胞凋亡信号通路; 还有一条不依赖 caspase 的凋亡信号通路。

原癌基因 Bcl2 家族, 其蛋白结构适合与线粒体和内质网膜相结合, 在动物成熟组织内选择性表达, 作用于细胞色素 C (cytochrome C, cyt-c)。线粒体细胞色素 C 的释放, 可以诱导多种依赖胱天蛋白酶 (caspase) 活性的昆虫细胞凋亡。果蝇中已经发现了两类高度同源的细胞色素 C 基因 (cyt-c-d, cyt-c-p), 它们都参与 caspase 的活化, 并证明了细胞色素 C 介导的凋亡通路在果蝇中确实存在 (Dorstyn *et al.*, 2004; Arama *et al.*, 2006), 并且在鳞翅目昆虫中也发现了相同的现象 (Lin *et al.*, 2005)。

通过对果蝇的研究发现, 昆虫中至少还存在另一种细胞凋亡通路, 它不依赖细胞色素 C 的释放, 而是通过 CED-4 参与活化 caspase, 最终导致细胞凋亡的发生 (Kanuka *et al.*, 1999; Zhou *et al.*, 1999), 与秀丽新小杆线虫细胞凋亡途径极为相似。

此外, 昆虫细胞内还存在不依赖于 caspase 家族和细胞色素 C 释放的细胞凋亡信号转导通路。广谱 caspase 抑制剂 zVAD-fmk 可以抑制很多其他因子诱导的昆虫细胞凋亡, 但不能抑制 Bcl-2 诱导的果蝇细胞系 S2 细胞的凋亡 (Zimmermann *et al.*, 2002)。并且果蝇的 reaper 蛋白 (与 Hid, Grim and Sickel 家族蛋白统称为 RHG 蛋白) 可以不依赖于线粒体通透性改变和细胞色素 C 释放诱导昆虫细胞凋亡信号通路的开启 (Tait *et al.*, 2004)。因此昆虫细胞内还存在不依赖于 caspase 家族的细胞凋亡信号通路 (刘凯于等, 2008)。

2.4 泛素-蛋白水解酶复合体途径与细胞凋亡

Goldstein 等 (1975) 首次从牛胸腺中分离到泛素蛋白, 后来发现这种蛋白质广泛存在于各种真核生物。20 世纪 90 年代初, 科学家发现在烟草天蛾 *Manduca sexta* 肌节细胞凋亡过程中泛素的表达

量急剧上升 (Kuelzer *et al.*, 1999), 随后 Muller 等 (2004) 通过烟草天蛾细胞内吞过程中泛素大量表达的现象, 证实了泛素参与细胞凋亡。另外, 烟蚜夜蛾 *Heliothis virescens* Fabricius 成虫通过泛素降解蛋白调节节间肌凋亡的快慢, 48 h 内就可将幼虫和蛹期遗留的节间肌去除 (Bayline *et al.*, 2005)。

近年来, 对果蝇等重要模式昆虫泛素的研究, 使得我们对泛素在昆虫细胞凋亡过程中的作用有了深入认识。泛素-蛋白水解酶复合体通路 (ubiquitin-proteasome pathway, UPP) 是细胞质和细胞核内依赖于 ATP 的非溶酶体途径的蛋白质降解通路, 在细胞凋亡过程中降解大量蛋白质。UPP 首先通过泛素化 (泛素分子与底物蛋白共价结合), 把需要降解的靶蛋白在 ATP 作用下标记成缀合物, 随后其他泛素分子相继与前一个泛素分子的赖氨酸残基相连, 形成多聚泛素链, 此时靶蛋白即可以被蛋白水解酶复合体降解, 同时泛素被重新活化 (李晓梅等, 2009)。

3 昆虫飞行肌细胞凋亡

3.1 昆虫飞行肌细胞凋亡现象

人们很早就从蚊类、白蚁、冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*、中华蟋蟀 *Gryllulus chinensis* 和蚜虫等昆虫中观察到飞行肌的凋亡现象 (Finlayson, 1975; Tanaka, 1986)。各国学者观察了昆虫处理后不同时期飞行肌的超微结构变化, 发现不同昆虫飞行肌细胞超微结构的形态学变化极为相似, 肌细胞是一个大型的多核细胞, 在飞行肌发育和凋亡过程中, 肌细胞核没有发生破裂或消失, 随着飞行肌的凋亡, 肌细胞中各个细胞核之间的距离明显变小 (翟保平等, 1999; 韦永贵等, 2008), 其中一些迁飞性昆虫的飞行肌在到达迁入地后即开始凋亡, 其作用一方面是阻止其继续飞行, 另一方面则是促进生殖行为的发生 (Kobayashi and Ishikawa, 1993; Gibbs and Dyck, 2010)。凋亡的飞行肌一部分可能为昆虫的卵子发生提供脂肪、氨基酸和蛋白质等能源物质 (Cullen, 1969; Bhakthan *et al.*, 1970), 还有一部分直接参与生殖行为 (Nair and Prabhu, 1985; 李克斌等, 2001; 王瑞等, 2008)。飞行肌细胞的凋亡现象不仅发生在迁飞性昆虫迁飞完成之后, 在翅型分化方面也出现此现象, 如豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 1 龄若蚜均具有翅盘, 但到 3 龄若蚜, 无翅蚜的翅盘消失,

有翅蚜的翅盘得以继续发育,这种现象被认为和昆虫飞行肌细胞凋亡有关(Ishikawa *et al.*, 2008)。

3.2 昆虫飞行肌细胞凋亡的分子生物学

3.2.1 昆虫飞行肌的结构及其编码基因 昆虫是唯一有翅的无脊椎动物,飞行肌是昆虫特有的肌肉类型,包括直接飞行肌和间接飞行肌(indirect flight muscle, IFM),直接飞行肌与翅本身相连,其中一对收缩直接牵动翅上升,另一对控制翅的下降。间接飞行肌固定在背腹板的内壁上,由背腹肌和背纵肌组成,靠改变胸部背板形态使翅运动。不同昆虫具有不同的飞行能力,但其飞行肌却有非常相似的超微结构:肌球蛋白组成的粗肌丝和肌动蛋白辅以原肌球蛋白和肌钙蛋白组成的细肌丝相互穿插平行排列。

编码飞行肌自身结构的基因是飞行肌凋亡上游调控基因的执行者,直接决定着昆虫飞行肌的结构和昆虫的飞行能力。

肌球蛋白直接控制着肌肉的收缩功能。黑腹果蝇飞行肌肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK)中丝氨酸被非磷酸化的丙氨酸取代,造成MLC2基因(控制肌球蛋白合成的一个基因)的突变,形成MLC2突变体,它虽然拥有正常的飞行肌,但是因为收缩功能的丧失而不能飞行(Tohtong *et al.*, 1997; 许西奎等, 2009)。肌动蛋白基因*Act88F*,在黑腹果蝇间接飞行肌中特异性表达,能够降低黑腹果蝇的飞行能力(Fyrberg *et al.*, 1998; Nongthomba *et al.*, 2001)。肌钙蛋白(troponin, Tpn)也是肌肉中重要的组成成分,它是1个三亚基复合物,包括TpnC, TpnI和TpnT。科学研究发现, TpnT可能与昆虫飞行能力的获得有关(Domingo *et al.*, 1998)。而TpnC可以分为Type I、Type II、Type III,其中Type III可能与间接飞行肌功能的获得相关(Domingo *et al.*, 1998; Herranz *et al.*, 2005)。可见,肌球蛋白、肌动蛋白和肌钙蛋白编码基因的表达与否,直接决定昆虫飞行肌的结构和功能的完整性,对昆虫的迁飞行为起着关键性的作用。并且,它们也可以作为昆虫飞行肌细胞凋亡的形态学和生理生化检测过程中的重要指标。

另外,参与昆虫肌原纤维的组装与调节的蛋白还有副肌球蛋白、 α -辅肌动蛋白、肌球杆蛋白、

飞行蛋白和连锁蛋白等(Moore *et al.*, 1999; 杨璞和祝增荣, 2005)。它们各自发挥着不同的作用,辅助肌球蛋白和肌动蛋白,使昆虫能够完成一次完美的展翅,完成长距离迁飞行为。昆虫飞行肌的凋亡也通过不同的细胞凋亡通路,以飞行肌的结构基因为靶标,抑制它们的表达,最终导致昆虫飞行肌的降解。

3.2.2 昆虫飞行肌凋亡相关的调控基因 细胞凋亡过程不仅是一个细胞水平的生物活动,而且涉及细胞器和组织器官,是一个多基因、多层次调控的综合过程,它拥有着严密而完美的调控体系。

3.2.2.1 激素与昆虫飞行肌凋亡 与昆虫发育直接相关的激素主要有两大类:一类是由前胸腺(prothoracic gland)分泌的蜕皮激素,它调控与幼虫蜕皮、化蛹和成虫羽化相关的生长和分化等,在昆虫变态发育过程中参与昆虫细胞凋亡的调控过程;另一类是由咽侧体(corpus allatum CA)分泌的保幼激素(juvenile hormone JH),它主要抑制蜕皮激素的各种调节活动,协调控制幼虫蜕皮的发育方向(杨艳等, 2007)。

保幼激素对飞行的影响在一些典型的迁飞性昆虫中,如马利筋长蝽 *Oncopeltus fasciatus*、集栖瓢虫 *Hippodamia convergens* 和君主斑蝶 *Danaus plexippus* (Johnson, 1969)等,已有较多的研究报道,明确了保幼激素对飞行和生殖均有刺激作用。而在另外一些昆虫中,保幼激素却导致飞行肌凋亡,或者对飞行行为无显著的刺激作用。褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 长翅型经JH II和JH III处理后会呈现短翅化,并且JH III在长翅型中能够加强卵巢的发育(Bertuso *et al.*, 2002),说明JH III在褐飞虱飞行肌凋亡和卵巢形成过程中起重要作用。地中海蟋蟀 *Gryllus bimaculatus* 和草地贪夜蛾中,咽侧体抑制素(allatostatin)基因(*As-A*)沉默能够使血淋巴中JH上升,昆虫飞行减弱,生殖系统开始发育(Meyering-Vos *et al.*, 2006)。这些结果都表明JH在一定程度上抑制昆虫飞行肌的发育,影响着昆虫的飞行行为,同时也验证了飞行与生殖共轭理论。

Christiansen-Weniger和Hardie(2000)利用早熟素III复合物处理豌豆蚜,导致雄虫产生无翅,Tojo等用早熟素II处理豌豆蚜时得到同样的效果(Bertuso *et al.*, 2002),推断早熟素可能与JH发挥类似的作用,但其作用机制尚不清楚,尚需进一

步研究确定。

3.2.2.2 能量供应与昆虫飞行肌凋亡 20 世纪六七十年代,科学家研究发现,作为昆虫飞行能源的常见物质有:碳水化合物、脂类和氨基酸。脂类含有较高的能量,不易渗透,对长时间没有取食的昆虫来说,它可以能作为贮藏能量,有利于昆虫远距离飞行(李克斌和罗礼智,1999)。因此在研究昆虫迁飞前期和迁飞结束两个能量的关键时期时,脂肪含量是一个重要的衡量指标,调控脂类能源物质的基因在飞行肌的形成与凋亡过程中显得尤为重要。

脂肪酸结合蛋白(fatty acid binding protein, FABP)基因在小鼠中成功克隆之后(Chang *et al.*, 2001),昆虫飞行肌细胞中的 *fabp* 基因也得到了克隆,它由长链脂肪酸应答元件控制表达,并找到了该基因上的脂肪酸应答因子(FARE),甾类激素报告子结合位点(IR-3),并通过凝胶迁移试验证实了这些位点可结合蝗虫飞行肌细胞核的核蛋白,提出了昆虫飞行肌细胞中脂肪酸诱导 FABP 表达的假说(Wu *et al.*, 2002)。推断 *fabp* 在昆虫飞行肌能量供应上起重要作用,影响飞行肌的形成与凋亡。

另外,线粒体是细胞内主要的 ATP 生产中心,是生命体内最主要的供能细胞器,在昆虫细胞凋亡过程中具有至关重要作用。近年来,线粒体被视为细胞凋亡的关键因素,caspase 家族携带凋亡信号定位于线粒体,线粒体可以通过调节自身内膜的渗透压或者是外膜的通透性转换孔释放促凋亡蛋白,从而对 caspase 的活化进行放大,最终诱导细胞凋亡。桃蚜 *Myzus persicae* 腺嘌呤核苷酸转移酶(ANT)基因的表达产物 ANT 蛋白位于线粒体细胞内膜,属于线粒体转运家族,在昆虫间接飞行肌中特异性表达,通过调节昆虫飞行肌的能量供应,从而调节飞行肌的形成与降解。并且,在黑腹果蝇飞行能力随龄期增长而下降的过程中,线粒体与细胞一样会产生凋亡,这一现象对昆虫飞行肌的能量供应与细胞凋亡信号的放大与传导有着重要作用(Bakeeva, *et al.*, 2007)。

3.2.2.3 昆虫飞行肌凋亡的其他相关基因 除了激素调控和能量供应基因之外,科学家还发现了多种其他影响昆虫飞行肌的凋亡与迁飞行为的相关基因。

通过对果蝇突变体的研究发现,在发育的肌

肉中,*Gemin3* 的缺失能够导致果蝇飞行肌的凋亡和无翅成虫的形成(Cauchy *et al.*, 2008)。诱导人类肌营养不良症的 δ -肌糖蛋白基因在果蝇体内的缺失,引起果蝇飞行肌的降解,果蝇 840 系飞行肌断裂和肌节缩短,果蝇 28 系运动活性降低(Allikian *et al.*, 2007)。*sply* 基因,亚等位基因 *lace* 的突变对成虫肌肉发育有很大影响,能够导致果蝇飞行肌缺陷。诱导人类帕金森症的 *PAPK2* 基因,其在果蝇中的类似物 *pakin* 基因沉默,导致果蝇不能做跳跃和飞行等运动(Pesah *et al.*, 2004)。可见,它们在果蝇飞行肌形成与凋亡过程中起着重要作用。

烟草天蛾肌肉细胞质中发现的小细胞质蛋白 *SCLP* 基因,豌豆蚜中过度表达的基因 *ApSDI-H* (刘向东和翟保平,2003),绿桃蚜中的 *OS-D*, *TO* 和 *TOL* 基因序列(Ghanim *et al.*, 2006),它们都与飞行肌的形成和凋亡存在着一定的关系,在昆虫翅型、寄主型和迁飞型的转变过程中起着相关的作用。

4 昆虫飞行肌细胞凋亡的分子生物学机制

昆虫飞行肌细胞凋亡机制,各国学者展开了不同程度的研究。早期研究主要集中在光照、温湿度、生态类型等引起昆虫内部生理生化变化对飞行肌形态和功能的影响。如科学家检测了在飞行过程中各种相关酶(如 3-磷酸甘油醛脱氢酶 GAPDH, 3-磷酸甘油脱氢酶 GDH, 乳酸脱氢酶 LDH, 3-羟酰辅酶 A 脱氢酶 HOAD 等)的动力学参数(李克斌等,2005),证实了能源物质在飞行肌凋亡以后转向卵巢发育,促进昆虫生殖行为的发生。

昆虫飞行肌细胞凋亡的分子生物学系统的研究国内外还鲜见报道。昆虫学家证实了细胞凋亡在昆虫变态发育及卵子发生过程中的重要作用。在果蝇的变态发育过程中,蜕皮激素与受体结合后诱导转录因子的表达,这些转录因子作为程序性细胞死亡调控网络中的初、次级应答信号,激活凋亡诱导因子 RHG 蛋白的表达。RHG 蛋白进而阻止凋亡蛋白抑制因子的活性,从而启动 caspase 途径,引起细胞凋亡(Dorstyn and Kumar 2008;刘影等,2009)。而昆虫从蛹期到羽化是全变态发育的关键时期,昆虫体内需要经历巨大的变化才使翅得以形成,果蝇变态发育过程中细胞凋亡的研究为此提供了极好的借鉴作用。

至今,昆虫飞行肌凋亡的分子机制还没有形成一个完整的系统,根据科学家在昆虫细胞凋亡及迁飞行为上的研究成果,我们可以对昆虫飞行肌的凋亡提出这样的假设:当昆虫迁飞到迁入地后,保幼激素作用于飞行肌使其快速进入降解程序,从而使能量转向生殖。在此过程中,保幼激素与受体结合,产生细胞凋亡的应答信号,激活昆虫依赖 caspase 家族凋亡途径,定位于飞行肌中大量线粒体使凋亡信号瞬时级数放大,凋亡信号刺激信号通路下游因子,诱导细胞凋亡。同时,昆虫接收到凋亡信号以后抑制飞行肌骨架基因的表达,使飞行肌的结构萎缩,崩塌,泛素-蛋白水解酶途径大量降解飞行肌中的蛋白质,最终使飞行肌产生凋亡。然而,飞行肌细胞的凋亡过程远不止如此,也不止这一条凋亡通路在起作用。在这一整个过程中,各个通路是怎样被激活,各个因子之间是怎么相互通讯,又是怎样相互协调最终完成飞行肌凋亡的,这一方面的研究还处在起始阶段,还尚待研究。

5 小结

昆虫远距离迁飞是在长期进化过程中形成的一种生存对策,昆虫能够依靠自己的飞行能力和气流的携带作用,迅速迁入异地进行繁殖为害。长期以来,草地螟 *Loxostege sticticalis*、粘虫 *Mythimna separate*、蝗虫、棉铃虫和蚜虫等迁飞性害虫严重威胁我国主要农作物的生产。昆虫迁飞行为的发生与调控机制一直是国内外昆虫迁飞研究领域中的热点。了解害虫的迁飞行为和迁飞规律,有利于从根本上了解其生活习性和成灾机理,对害虫的综合治理具有重要的指导意义。昆虫迁飞受很多因素影响,主要集中在寄主种类、寄主植物长势与营养、种群密度、温湿度、光照、天敌等方面(刘向东等,2004;国伟和沈佐锐,2004)。而飞行肌的产生和凋亡直接决定昆虫翅的运动能力,从而决定昆虫的迁飞行为。随着分子生物学技术的深入发展,昆虫迁飞行为发生的分子调控机制也越来越受到重视,飞行肌的结构组成,发生,发展,老化与凋亡等一系列过程的分子生物学机制自然也成为科学家研究的焦点。

在昆虫飞行肌凋亡的研究中,科学家对昆虫飞行肌的形态学,生理学等方面已经进行了详细而深入的研究,获得了昆虫飞行肌的超微结构,并

通过电镜观察和生理检测证实了飞行肌细胞凋亡的存在。同时科学家在分子生物学方面也进行了大量的研究,涉及到苍蝇、蚱、日本猛蚁 *Pyramica sinensis*、无翅红椿、烟草天蛾、草地贪夜蛾、蟋蟀、稻水象甲 *Lissorhoptrus oryzophilus*、蝗虫、稻褐飞虱、蜜蜂、果蝇、棉蚜 *Aphis gossypii*、桃蚜、麦长管蚜 *Sitobion avenae* 等多种昆虫。科学家已经克隆并分析了多种飞行肌细胞结构基因和相关调控基因。虽然还尚未阐明一个完整的飞行肌凋亡体系,但它们预示着昆虫飞行肌的形成和凋亡像高等动物一样,是由多基因控制,多层次调控的一个综合、复杂的过程。

随着分子生物学,细胞生物学技术的发展,很多肌肉细胞形成与凋亡的调控基因已被克隆,单个基因的调控通路,信号传导途径以及在功能上有交叉(cross talking)的不同基因的综合作用都有所研究,为了解昆虫飞行肌凋亡的整个网状调控系统打下基础,为透彻了解昆虫飞行肌的形成与凋亡机制,解析昆虫迁飞机制以及农业害虫防治提供强有力的依据。并且,果蝇作为模式动物,其基因组已经研究的相当透彻。利用基因插入失活, RNAi 使基因沉默等技术,很多果蝇突变体系都已建立并应用于基因功能的研究,也为昆虫飞行肌凋亡相关基因的研究提供了理论和技术支持(Orfanos, 2009)。

参考文献(References)

- Allikian MJ, Bhabha G, Dospoy P, Heydemann A, Ryder P, Earley JU, Wolf MJ, Rockman HA, McNally EM. 2007. Reduced life span with heart and muscle dysfunction in *Drosophila* sarcoglycan mutants. *Hum. Mol. Genet.*, 16, (23):2933—2943.
- Arama E, Bader M, Srivastava M, Bergmann A, Steller H. 2006. The two *Drosophila* cytochrome C proteins can function in both respiration and caspase activation. *EMBO Journal*, 25(1):232—243.
- Bakeeva LE, Saprunova VB, Pasyukova EG, Roshchina NV. 2007. Mitoptosis in the flight muscle of *Drosophila melanogaster*. *General Biology*, 413(3):417—419.
- Bayline RJ, Dean DM, Booker R. 2005. Inhibitors of ubiquitin-dependent proteolysis can delay programmed cell death of adult intersegmental muscles in the moth *Manduca sexta*. *Developmental Dynamics*, 233(2):445—455.
- Bertuso AG, Morooka S, Tojo S. 2002. Sensitive periods for

- wing development and precocious metamorphosis after precocene treatment of the brown plant hopper, *Nilaparvata lugens*. *J. Insect Physiol.*, 48(2):221—229.
- Bhakthan NMG, Borden JH, Nair KK, 1970. Fine structure of degenerating and regenerating flight muscles in a bark beetle, *Ips confusus*. I. Degeneration. *J. Cell Sci.*, 6: 807—819.
- Cauchi RJ, Davies KE, Liu JL, 2008. A motor function for the DEAD-Box RNA Helicase, Gemin3, in *Drosophila*. *PLoS Genetics*, 4(11):1—12.
- Chang WH, Haunerland JR, Haunerland NH, 2001. Induction of cardiac FABP gene expression by long chain fatty acids in cultured rat muscle cells. *Mol. Cell. Biochem.*, 221(1/2):127—132.
- Christiansen-Weniger P, Hardie J, 2000. The influence of parasitism on wing development in male and female pea aphids. *J. Insect Physiol.*, 46(6):861—867.
- Cullen MJ, 1969. The biology of giant water bugs (Hemiptera: Belostomatidae) in Trinidad. *Proceedings of the Royal Entomological Society of London. Series A, General Entomology*, 44(7/9):123—136.
- Domingo A, Jurado JG, Maroto M, Diaz C, Vinos J, Carrasco C, Cervera M, Marco R, 1998. Troponin-T is a calcium-binding protein in insect muscle: in vivo phosphorylation, muscle-specific isoforms and developmental profile in *Drosophila melanogaster*. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 19: 393—403.
- Dorstyn L, Kumar S, 2008. A biochemical analysis of the activation of the *Drosophila* caspase DRONC. *Cell Death. Differ.*, 15(3):461—470.
- Dorstyn L, Mills K, Lazebnik Y, Kumar S, 2004. The two cytochrome c species, DC3 and DC4, are not required for caspase activation and apoptosis in *Drosophila* cells. *J. Cell Biol.*, 167(3):405—410.
- 杜昌升, 彭建新, 洪华珠, 2003. 杆状病毒反式激活蛋白 IE-1 诱导昆虫细胞凋亡及几种抑制剂对 AcNPV 诱导细胞凋亡的影响. *病毒学报*, 19(1):69—73.
- Edinger AL, Thompson CB, 2004. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 16(6):663—669.
- 樊廷俊, 夏兰, 2001. 线粒体与细胞凋亡. *生物化学与生物物理学报*, 33(1):7—12.
- Finlayson LH, 1975. Development and degeneration// Usherwood PNR (ed.). *Insect Muscle*. New York London: Academic Press. 75—149.
- Fyrberg EA, Fyrberg CC, Biggs JR, Saville D, Beall CJ, Ketchum A, 1998. Functional nonequivalence of *Drosophila* actin isoforms. *Biochemical Genetics*, 36(7/8):271—286.
- Ghanim M, Dombrovsky A, Raccach B, Sherman A, 2006. A microarray approach identifies ANT, OS-D and takeout-like genes as differentially regulated in alate and apterous morphs of the green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *Insect Biochem. Mole. Biol.*, 36:857—868.
- Gibbs M, Dyck HV, 2010. Butterfly flight activity averts reproductive performance and longevity relative to landscape structure. *Oecologia*, 163:341—350.
- Goldstein G, Scheid M, Hammerling U, 1975. Isolation of a polypeptide that has lymphocyte-differentiating properties and is probably represented universally in living cells. *PANS*, 72(1):11—15.
- 国伟, 沈佐锐, 2004. 麦蚜迁飞的研究进展. *中国农学通报*, 20(6):251—254.
- Hebert CG, Valdes JJ, Bentley WE, 2009. Investigating apoptosis: Characterization and analysis of Trichoplusiani-caspase-1 through overexpression and RNAi mediated silencing. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 39(2):113—124.
- Herranz R, Mateos J, Marco R, 2005. Diversification and independent evolution of troponin C genes in insects. *J. Mol. Evol.*, 60(1):31—44.
- Ishikawa A, Hongo S, Miura T, 2008. Morphological and histological examination of polyphonic wing formation in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera, Hexapoda). *Zoomorphology*, 127(13):121—133.
- Johnson CG, 1969. A basis for a general system of insect migration and dispersal of insect by flight. *Nature*, 186: 348—350.
- Kanuka H, Sawamoto K, Inohara N, Matsuno K, Okano H, Miura M, 1999. Control of the cell death pathway by Dapaf-1, a *Drosophila* Apaf-1/CED-4-related caspase activator. *Mol. Cell*, 4(5):757—769.
- Kerr JK, Wyllie AH, Currie AR, 1972. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implication in tissue kinetics. *Br. J. Cancer*, 26:239.
- Klionsky DJ, 2005. The molecular machinery of autophagy: unanswered questions. *J. Cell Sci.*, 118(1):7—18.
- Kobayashi M, Ishikawa H, 1993. Breakdown of indirect flight muscles of Alate aphids (*Acyrtosiphon pisum*) in relation to their flight, feeding and reproductive behavior. *J. Insect Physiol.*, 39, 549—554.
- Kourtis N, Tavernarakis N, 2009. Autophagy and cell death in model organism. *Cell Death Differ.*, 16(1):21—30.
- Kuelzer F, Kuah P, Bishoff ST, Cheng LH, Nambu JR, Schwartz LM, 1999. Cloning and analysis of small cytoplasmic leucine-rich repeat protein (SCLP), a novel,

- phylogenetically-conserved protein that is dramatically up-regulated during the programmed death of moth skeletal muscle. *J. Neurobiol.*, 41(4):482—494.
- Lamkanfi M, Declercq W, Kalai M, Saelens X, Vandenabeele P, 2002. Alice in caspase land. A phylogenetic analysis of caspases from worm to man. *Cell Death Differ.*, 9(4):358—361.
- Lee CY, Baehrecke EH, 2000. Genetic regulation of programmed cell death in *Drosophila*. *Cell Res.*, 10(3):193—204.
- Lin JG, Zhang CX, Suzuki S, 2005. An anti-apoptosis gene of the Bcl-2 family from marine birnavirus inhibiting apoptosis of insect cells infected with baculovirus. *Virus Genes*, 31(2):185—193.
- 李克斌, 高希武, 罗礼智, 尹姣, 曹雅忠, 2005. 粘虫飞行过程中四种相关酶的活性变化. *昆虫学报*, 48(4):643—647.
- 李克斌, 罗礼智, 1999. 粘虫飞行肌中与能量代谢有关的酶活性研究. *昆虫学报*, 42(1):37—43.
- 李克斌, 罗礼智, 曹雅忠, 胡毅, 2001. 粘虫飞行肌降解与生殖关系的初步研究. *中国学术期刊文摘*, 7(5):662—664.
- 李晓梅, 任珍珍, 陈永, 钟国华, 2009. 昆虫泛素基因和功能研究进展. *生物技术通报*, 增刊:62—66.
- 刘凯于, 邓玉杰, 张许平, 彭建新, 李毅, 洪华珠, 2008. 昆虫细胞程序性死亡的研究进展. *昆虫学报*, 51(6):652—658.
- 刘向东, 翟保平, 2003. 棉蚜 *Aphis gossypii* Glover 寄主型和迁飞型的研究. 博士论文. 南京:南京农业大学. 17—24.
- 刘向东, 翟保平, 张孝羲, 2004. 蚜虫迁飞研究进展. *昆虫知识*, 41(4):301—307.
- 刘影, 刘韩茵, 李胜, 2009. 果蝇变态过程中的细胞凋亡和细胞自噬. *昆虫知识*, 46(5):673—677.
- 吕鸿声, 张志芳, 吴金美, 2003a. 细胞凋亡:昆虫抗病毒感染的重要机制 a. *中国蚕业*, 24(3):4—12.
- 吕鸿声, 张志芳, 吴金美, 2003b. 细胞凋亡:昆虫抗病毒感染的重要机制 b. *中国蚕业*, 24(4):4—14.
- Meyering-Vos M, Merz S, Sertkol M, Hoffmann KH, 2006. Functional analysis of the allatostatin-A type gene in the cricket *Gryllus bimaculatus* and the armyworm *Spodoptera frugiperda*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 36(6):492—504.
- Moore JR, Vigoreaux JO, Maughan DW, 1999. The *Drosophila* projectin mutant, bent D, has reduced stretch activation and altered indirect flight muscle kinetics. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 20:797—806.
- Muller F, Adori C, Sass M, 2004. Autophagic and apoptotic features during programmed cell death in the fat body of the tobacco hornworm (*Manduca sexta*). *Eur. J. Cell Biol.*, 83(2):67—78.
- Nair CNM, Prabhu VKK, 1985. Entry of proteins from degenerating flight muscles into oocytes in *Dysdercus cingulatus*. *J. Insect Physiol.*, 31(5):383—388.
- Nongthomba U, Pasalodos-Sanchez S, Clark S, Clayton JD, Sparrow JC, 2001. Expression and function of the *Drosophila* ACT88F actin isoform is not restricted to the indirect muscles. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 22(2):111—119.
- Orfanos Z, 2009. Transgenic tools for *Drosophila* muscle research. review paper. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 29:185—188.
- Pei ZF, Reske G, Huang QH, Hammock BD, Qi YP, Chejanovsky N, 2002. Characterization of the apoptosis suppressor protein P49 from the *Spodoptera littoralis* nucleopolyhedrovirus. *J. Biol. Chem.*, 277(50):48677—48684.
- Pesah Y, Pham T, Burgess H, Middlebrooks B, Verstreken P, Zhou Y, Harding M, Bellen H, Mardon G, 2004. *Drosophila* parkin mutants have decreased mass and cell size and increased sensitivity to oxygen radical stress. *Development and Disease*, 131(9):2183—2194.
- Socha R, Kula J, 2008. Differential allocation of protein resources to flight muscles and reproductive organs in the flightless wing-polymorphic bug, *Pyrrhocoris apterus* (L.) (Heteroptera). *Journal of Comparative Physiology B—Biochemical Systemic and Environmental Physiology*, 178(2):179—188.
- 宋丽娜, 王文兵, 李兵, 沈卫德, 2007. 家蚕凋亡相关基因 *ice* 的克隆及在大肠杆菌中的表达. *安徽农业大学学报*, 34(2):270—273.
- Tait SW, Werner AB, de Vries E, Borsrt J, 2004. Mechanism of action of *Drosophila* Reaper in mammalian cells: Reaper globally inhibits protein synthesis and induces apoptosis independent of mitochondrial permeability. *Cell Death Differ.*, 11(8):800—811.
- Tanaka S, 1986. De-alation, flight muscle histolysis and oocyte development in the striped ground cricket. *Allonemobius fasciatus*. *Physiological Entomology*, 11:453—458.
- Tohtong R, Rodriguez D, Maughan D, Simcox A, 1997. Analysis of cDNAs encoding *Drosophila melanogaster* myosin light chain kinase. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 18(1):43—56.

- 王瑞,沈慧梅,胡高,陈晓,翟保平,2008. 灰飞虱的起飞和扩散行为. *昆虫知识*, 45(1):42~45.
- 韦永贵,孙跃先,李克斌,2008. 麦长管蚜田间种群结构动态和飞行肌凋亡机制的研究. 硕士论文. 北京:中国农业科学院. 11—41.
- Wu QW, Chang WH, Rickers-Haunerland J, Higo T, Haunerland NH, 2002. Characterization of a new fatty acid response element that controls the expression of the locust muscle FABP gene. *Mol. Cell. Biochem.*, 239(1/2): 173—180.
- Xia Q, Sun HX, Hu XJ, Shu YH, Gu DX, Zhang GR, 2005. Apoptosis of Spodoptera lituralarval hemocytes induced by heavy metal zinc. *Chinese Science Bulletin*, 50(24): 2856—2860.
- Xiu MH, Peng JX, Hong HZ, 2005. Mitochondrial response and calcium ion change in apoptotic insect cells induced by SfaMNPV. *Chinese Science Bulletin*, 50(12):1191—1198.
- 许西奎,徐升胜,李兵,许雅香,沈卫德. 2009. 野桑蚕肌球蛋白轻链 2 基因(MLC2)的克隆和序列分析. *蚕业科学*, 35(1):71—77.
- Yang DT, Chai LQ, Wang JX, Zhao XF, 2008. Molecular cloning and characterization of Hearn caspase-1 from *Helicoverpa armigera*. *Mol. Biol. Rep.*, 35(3):405—412.
- 杨璞,祝增荣,2005. 稻水象甲飞行肌发育、消解、再生. 博士论文. 杭州:浙江大学. 3—20.
- 杨艳,周祖基,杨伟,2007. 细胞凋亡及其在昆虫生理学研究中的意义. *安徽农业科学*, 35(35):11499—11501.
- 杨佐娟,何建平,2006. 昆虫卵子发生过程中细胞凋亡的研究进展. *昆虫知识*, 43(4):447—452.
- 翟保平,程家安,郑雪浩,吴建,夏万清,1999. 浙江省双季稻区稻水象甲致害种群的形成. *植物保护学报*, 26(2): 137—141.
- 翟中和,王喜忠,丁明孝,2005. 细胞生物学. 北京:高等教育出版社. 444—466.
- Zhou L, Song ZW, Tittel J, Steller H, 1999. HAC-1, A Drosophila homolog of APAF-1 and CED-4 functions in developmental and radiation-induced apoptosis. *Mol. Cell. Biol.*, 4(5):745—755.
- Zimmermann KC, Ricci JE, Droin NM, Green DR, 2002. The role of ARK in stress-induced apoptosis in Drosophila cells. *J. Cell Biol.*, 156(6):1077—1087.