



## 共生菌与昆虫的免疫

王争艳\*, 雍晗紫, 胡海生

河南工业大学粮油食品学院, 河南 郑州 450001

王争艳, 雍晗紫, 胡海生. 共生菌与昆虫的免疫. 微生物学报, 2022, 62(8): 2893–2904.

Wang Zhengyan, Yong Hanzi, Hu Haisheng. Symbiotic bacteria and insect immunity. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(8): 2893–2904.

**摘要:** 共生菌可通过产生抗菌物质、调控宿主免疫相关基因和微生物种间竞争作用等方式保护昆虫宿主免受病原体的侵染。为维持共生关系, 昆虫进化出精细的调控机制避免对共生菌的过激免疫应答, 共生菌通过免疫识别信号多态性或化学拟态来降低或躲避宿主免疫系统对自身的伤害。本文在分析共生菌对宿主免疫的功能及其机制的基础上, 探讨宿主对免疫应答的精准调控以及共生体系的协同进化, 以期对共生菌对宿主免疫影响的深入研究提供参考。

**关键词:** 昆虫; 共生微生物; 病原体; 免疫; 协同进化

## Symbiotic bacteria and insect immunity

WANG Zhengyan\*, YONG Hanzi, HU Haisheng

School of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, Henan, China

**Abstract:** Symbiotic bacteria can protect their insect hosts against pathogens by producing antimicrobial substances, regulating host immune-related genes, and competing with exotic pathogens for resources. To maintain the symbiotic relationship, insects have evolved fine-tuned regulatory mechanisms to avoid overactive immune responses to symbiotic bacteria, and the latter reduce or evade the damage from the host immune system via immune recognition signal polymorphisms or chemical mimicry. In this paper, we analyzed the function of symbiotic bacteria on host immunity and the

**基金项目:** 河南省科技攻关项目(202102110059); 国家自然科学基金(31601890)

Supported by the Henan Science and Technology Research Project (202102110059) and by the National Natural Science Foundation of China (31601890)

\*Corresponding author. Tel: +86-371-67758022; E-mail: zywangedu@163.com

Received: 30 November 2021; Revised: 23 January 2022; Published online: 25 March 2022

mechanism and then explored the precise regulation of immune response by the host and the coevolution of the symbiotic system, hoping to provide a reference for further research on the influence of symbiotic bacteria on host immunity.

**Keywords:** insect; microbial symbiont; pathogen; immunity; coevolution

多细胞生物的生存环境充满各种微生物(细菌、真菌、原生生物或病毒),其中有害的微生物称为外源性病原体。为适应生存环境中的病原体,多细胞生物进化出多种细胞和分子防御机制来抵御病原体的感染,这些防御机制称为免疫<sup>[1]</sup>。病原体首次感染宿主时,宿主通过模式识别受体(pattern recognition receptors, PRR)来识别病原体的相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMP),以产生抗菌肽(antimicrobial peptide, AMP)或激活吞噬细胞等方式进行免疫应答,这些基础免疫机制被称为先天免疫。当同一病原体反复感染宿主时,脊椎动物的淋巴细胞通过特异性抗原识别受体来特异性识别病原体,形成一种更有选择性的防御系统,即适应性免疫,从而提高宿主的免疫应答时效<sup>[2]</sup>。昆虫体内没有淋巴细胞,缺乏适应性免疫,而是通过发达的先天免疫来对抗病原体感染<sup>[3]</sup>。

昆虫的免疫机制包括物理屏障、体液免疫和细胞免疫<sup>[4]</sup>。昆虫中肠的围食膜构成物理屏障,保护肠壁细胞免受研磨性食物颗粒和消化酶的伤害,但是围食膜具有半透性,不能有效抵御病原体的侵染<sup>[5]</sup>。当病原体穿过物理屏障时,细胞和体液免疫应答被激活。细胞免疫主要是血细胞对病原体的吞噬、成瘤和包囊等作用<sup>[6]</sup>。体液免疫包括产生抗菌肽、激活酚氧化酶原级联反应和产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)<sup>[7]</sup>。这 2 类免疫共同抵御病原体的侵染,维护昆虫内环境的稳定<sup>[1]</sup>。

共生菌对昆虫宿主具有多种功能,能参与

昆虫的生理生化过程,影响昆虫的营养、抗药性和天敌防御等<sup>[8]</sup>。此外,一些研究表明,共生菌还能参与和调节宿主对病原体的免疫应答,或通过生态位竞争来抑制病原菌的增殖,以保护宿主免受病原体的侵染<sup>[9]</sup>,这类功能称为共生菌的定殖抗性(colonization resistance)<sup>[10]</sup>。例如,黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)的内共生菌 *Wolbachia* 能增强宿主对果蝇 C 病毒的免疫能力<sup>[11]</sup>。由于共生菌对宿主免疫功能影响的研究目前仍处于初级阶段,缺乏系统研究。因此,本文在系统总结和分析共生菌对宿主免疫的功能及其机制的基础上,探讨了宿主对免疫应答的精准调控以及昆虫-共生菌共生体系的协同进化,以期为共生菌对宿主免疫影响的深入研究提供参考。

## 1 共生菌对宿主免疫的功能

共生菌通过多种机制保护昆虫宿主免受外源性病原体的侵袭,包括产生抗菌物质、调控宿主免疫相关基因,及以微生物种间竞争作用来抑制病原菌等<sup>[12]</sup>。

### 1.1 产生抗菌物质

很多研究已证实,昆虫体外共生菌可产生抗菌物质,以帮助宿主抵御病原体。如伪叶甲亚科昆虫的共生菌 *Burkholderia gladioli* 会产生毒黄素、核霉素、大环内酯和异硫氰酸酯等抗菌物质,保护昆虫宿主在卵期免受病原体的侵害<sup>[13]</sup>。欧洲狼蜂(*Philanthus triangulum*)成虫触角中有一种共生菌 *Streptomyces*,成虫将该菌传递给子代,该菌会在幼虫茧表面产生至少 9 种抗

菌物质, 保护幼虫免受病原菌的侵害<sup>[14]</sup>。顶切叶蚁(*Acromyrmex subterraneus*)表皮上的共生菌 *Actinobacteria* 能够分泌抗菌物质以保护宿主免受绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*)的侵害<sup>[15]</sup>。

昆虫体内的共生菌同样能产生抗菌物质, 以提高宿主对病原菌的抵抗能力。沙漠蝗(*Schistocerca gregaria*)的肠道共生菌成团泛菌(*Pantoea agglomerans*)可产生酚类物质, 抑制绿僵菌在其肠道内的增殖<sup>[16]</sup>。斯氏按蚊(*Anopheles stephensi*)中肠的沙雷氏菌(*Serratia*) AS1 重组菌株可以分泌抗疟原虫的效应蛋白<sup>[17]</sup>。值得注意的是, 一些胞内共生菌也能通过产生抗菌物质提高宿主的免疫力, 如豌豆蚜血淋巴中的兼性内共生菌 *Regiella insecticola* 能抑制真菌 *Pandora (Erynia) neoaphidis* 在其体腔内的增殖<sup>[18]</sup>。胞内共生菌和胞外病原菌存在多重空间阻隔, 病原菌通过何种信号途径引发内共生菌的免疫应答呢? 目前仍缺乏相关的研究, 但有研究发现, 内共生菌胞膜上有能与病毒衣壳蛋白结合的受体<sup>[19]</sup>, 这表明的确存在内共生菌和病毒的信息交流。

## 1.2 调控宿主免疫相关基因

由于宿主需对共生菌的丰度进行调控, 因此不难理解, 共生菌能够刺激宿主的免疫系统, 提高宿主对病原体的免疫应答。共生菌通过调控昆虫宿主体液免疫因子的合成通路, 帮助宿主抵抗病原体的侵染。研究表明, 西方蜜蜂(*Apis mellifera*)<sup>[20]</sup>、斯氏按蚊<sup>[21]</sup>、点蜂缘蝽(*Riptortus pedestris*)<sup>[22]</sup>及刺舌蝇(*Glossina morsitans*)<sup>[23]</sup>的肠道共生菌均能够诱导宿主抗菌肽等免疫因子的表达量上调, 以保护宿主免受病原体的侵染。此外, 共生菌可以在基因表达水平上调控昆虫宿主血细胞的增殖与分化, 来提高宿主的细胞免疫应答<sup>[24]</sup>。回接共生菌 *Arsenophonus* 的褐飞虱(*Nilaparvata lugens*), 其雌成虫体内浆血细胞

数量显著高于抗生素处理的无菌褐飞虱, *Arsenophonus* 会促进浆血细胞的增殖, 从而降低宿主感染黄绿绿僵菌(*Metarhizium flavoviride*)的机率<sup>[25]</sup>。

目前, 关于共生菌对刺舌蝇细胞免疫影响的研究较为系统。专性胞内共生菌 *Wigglesworthia* 能诱导刺舌蝇幼虫肠道内的气味结合蛋白 6 (obp6)的表达量上调。obp6 能促进宿主造血 RUNX 转录因子 *lozenge* 的系统表达, 产生晶体细胞(一类血细胞), 激活宿主的黑色素沉积等免疫应答<sup>[26]</sup>。与野生型刺舌蝇相比, 抗生素处理过的不含 *Wigglesworthia* 的刺舌蝇, 其体内血细胞数量显著减少, 且与造血相关的 2 种转录因子 *lozenge* 和 *serpent*, 以及与吞噬和黑化等细胞免疫过程相关的酚氧化酶酶原基因、含硫酯蛋白质基因(*tep2* 和 *tep4*)的表达下调, 未见吞噬作用、血淋巴凝血和黑色素沉积。将野生型刺舌蝇的血细胞转移给无菌刺舌蝇后, 刺舌蝇对大肠杆菌的免疫恢复正常<sup>[23,27]</sup>。用从野生型刺舌蝇体内分离的 *Wigglesworthia* 的细胞提取物喂养无菌的雌成虫, 可以刺激造血转录因子的表达并且可以促进 F1 代无菌幼虫的造血作用。此外, 在哺乳动物的研究中也发现, 小鼠肠道菌释放的肽聚糖(peptidoglycan, PGN)通过肠壁细胞扩散到循环系统, 激发中性粒细胞的免疫应答<sup>[28]</sup>。综上可以推测, *Wigglesworthia* 提取物中的 PGN 可以刺激刺舌蝇的血细胞分化, 提高其免疫能力, 但还需进一步研究以明确 *Wigglesworthia* 释放的 PGN 在宿主体内扩散和世代间垂直传递的模式。当然, 为了提高刺激宿主血细胞增殖的高效性, 共生菌也可能通过 PGN 以外的 PAMP 来刺激宿主的免疫应答。

另有研究发现, 豌豆蚜体内的关键免疫基因的表达量会随着内共生菌 *Regiella insecticola* 丰度的增加而降低。免疫下调不是宿主为了适

应共生菌的存在而做出的改变,而是 *Regiella insecticola* 为了在宿主中建立更高的丰度而抑制宿主的免疫应答<sup>[29]</sup>。

### 1.3 微生物的种间作用抑制病原菌

在宿主体内或体外,通过菌群间的生态位和资源竞争,处于优势种的共生菌可以竞争性地抑制病原菌的增殖,从而提高宿主防御病原菌的能力。在昆虫体外,红翅大小蠹(*Dendroctonus rufipennis*)的成虫将含有共生菌的口腔分泌物涂到寄主植物上,通过资源竞争拮抗病原性真菌的生长,使昆虫宿主免受真菌的侵害<sup>[30]</sup>。在昆虫体内,肠道共生菌的多样性、丰度与宿主抵御病原菌的能力相关。肠道共生菌多样性或丰度越高,甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)对苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)的抗性越高<sup>[31]</sup>,沙漠蝗对病原菌(*Serratia marcescens*)的抗性越高<sup>[32]</sup>。这可能是因为宿主肠道共生菌种类越多,占据生态位、营养竞争以及激活免疫应答的能力越强,对外源性病原菌施加的生态位竞争压力就越大,因此越有利于维持肠道生态系统的稳定<sup>[33]</sup>。例如,在人体内,肠道共生菌可直接竞争性结合肠壁细胞,与病原菌竞争黏附部位、受体或营养物质,从而间接地防御病原体的感染<sup>[34]</sup>。进一步的肠道微生物分布和丰度原位监测有助于揭示昆虫体内的共生菌与病原菌之间的竞争关系。

### 1.4 共生菌与昆虫的免疫致敏

直到最近,人们还认为昆虫缺乏免疫记忆,不存在适应性免疫,因为它们没有类似脊椎动物的特殊记忆细胞。然而,越来越多的研究发现昆虫存在免疫致敏(immune priming)现象。免疫致敏指接触低剂量病原体感染的经历能够增强昆虫抵御病原体感染的能力<sup>[35]</sup>。如疟原虫感染冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae*)中肠后,宿主

体内的可溶性血细胞分化因子脂质运载蛋白 Evokin 表达量和脂氧素 A<sub>4</sub> 生成量持续增加,从而刺激血细胞的分化,使细胞免疫增强<sup>[36]</sup>。不同于适应性免疫,免疫致敏不具有微生物特异性。通过病原菌的垂直传递,免疫致敏还可以传递给后代<sup>[37]</sup>。

据报道,共生菌参与调控昆虫宿主的免疫致敏。除去肠道共生菌后,随血餐摄入的 *Plasmodium falciparum* 不再能引起冈比亚按蚊的免疫致敏<sup>[38]</sup>。在赤拟谷盗(*Tribolium castaneum*)中,共生菌能调控苏云金芽孢杆菌(Bt)引起的免疫致敏,这可能是因为:(1) Bt 产生的 Cry 毒素破坏了肠壁细胞,促进了肠道共生菌在肠道皮层和血腔中的扩散,提高了宿主的免疫应答水平;(2) 感染 Bt 后,宿主肠道共生菌的组成或丰度发生改变,拮抗病原菌的能力提高<sup>[37]</sup>。

## 2 宿主免疫应答平衡的调控

受宿主取食、发育状态和生存环境等的影响,昆虫体内共生菌的组成不断变化<sup>[39]</sup>。为了维持昆虫-共生菌既定的共生关系,昆虫需要通过一定机制维持共生菌群落组成的相对稳定。共生菌群落的稳态指的就是共生菌群的组成与宿主免疫之间的动态平衡<sup>[40]</sup>。在共生菌-昆虫共生体系中,对于昆虫宿主来说,如何有效地耐受共生菌,从而避免免疫的过度激活来维持共生菌群落的稳态是一个挑战。

### 2.1 宿主免疫系统的退化

豌豆蚜的免疫应答较为独特,它缺乏 IMD-AMP 免疫应答过程中与细菌识别(如 PGRP)、信号转导(如 IMD 或 Relish)和抗菌反应(如 defensins 等抗菌肽)有关的大部分基因,抵抗革兰氏阴性菌感染相关的免疫基因缺失,完全依靠内共生菌 *Buchnera aphidocola* 来调控

其细胞免疫应答。豌豆蚜对共生菌的免疫依赖被认为是一种适应性结果, 免疫系统退化可以满足单一共生菌定殖的需要<sup>[41]</sup>。相较于如此极端的适应结果, 宿主通过精细调控免疫应答来区别对待共生菌和外源性病原菌具有更普遍的进化意义。

## 2.2 负调控因子对免疫应答的精准调控

如果共生菌或病原菌能进化出微生物特异性的 PAMP, 宿主的免疫系统就能区分对待共生菌或病原菌, 从而维持免疫平衡。例如, 黑腹果蝇的常见病原菌 *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora* 15 产生的尿嘧啶会激活宿主肠道细胞的 DUOX 途径, 而肠道共生菌不产生尿嘧啶<sup>[42]</sup>。实际上, 宿主识别微生物的 PAMP, 如细菌的 PGN、脂多糖、脂磷壁酸以及真菌中的葡聚糖和甘露聚糖, 通常不具有微生物特异性, 即共生菌与病原菌的 PAMP 相似<sup>[43]</sup>, 宿主只有对免疫应答进行精准的调节, 才能维持免疫系统清除病原菌和耐受共生菌之间的平衡<sup>[44]</sup>。目前, 已明确负调控因子对免疫应答的调控机制<sup>[45]</sup>, 在此以黑腹果蝇肠壁细胞的免疫应答为例进行说明(图 1)。

### (1) IMD-AMP 免疫应答途径

当外源性病原体侵染宿主细胞时, 位于肠壁细胞膜的肽聚糖结合受体(PGRP-LC)、细胞内的肽聚糖结合受体(PGRP-LE)识别细菌细胞壁上的 PGN 并与之结合, 激活 IMD 信号通路<sup>[44]</sup>。IMD 信号通路激活转录因子 Relish, 进而诱导抗菌肽等免疫因子的表达<sup>[46]</sup>。免疫应答在清除病原体的同时, 必须容许共生菌的存在。

细菌的丰度会影响免疫应答的性质。肠道内只有共生菌时, 少量的 PGN 与 PGRP 结合, 激活 IMD 信号通路的基础活性(basal activity), 活化少量的转录因子 Relish 进入细胞核。在细胞核内, 转录抑制因子 Caudal 与 Relish 特

异性结合, 抑制肠壁细胞表达抗菌肽<sup>[47]</sup>。此外, Relish 诱导 IMD 信号通路负调控因子(PIMS、PGRP-LB 和 PGRP-SC)的适量表达, 维持肠道共生菌群落的稳态<sup>[46]</sup>。PIMS 可以阻止 PGN 结合受体 PGRP-LC 向细胞表面迁移, 减少位于细胞表面的受体数量并且阻碍 IMD 信号通路的启动<sup>[48]</sup>。具有酰胺酶活性的 PGRP-LB 和 PGRP-SC 可以裂解 PGN, 使共生菌分泌的 PGN 维持在较低水平, 从而抑制 IMD 信号通路的过激应答<sup>[49]</sup>。当大量外源性病原菌侵染时, 病原菌在肠道内的迅速分裂增殖导致 PGN 浓度快速升高, IMD 信号通路应答增强, 大量的 Relish 进入细胞核内, 克服 Caudal 的抑制, 因此抗菌肽大量表达<sup>[46]</sup>。

### (2) DUOX-ROS 免疫应答途径

DUOX 免疫途径产生的 ROS 具有杀菌活性。当昆虫肠道内只有共生菌群时, 双磷酸酶 MKP3 通过抑制 p38 信号通路, 抑制 DUOX 的表达, 但 ROS 合成仍然发生。肠壁细胞表面的 G 蛋白偶联受体(GPCR)与 Non-PGN 的 PAMP 结合后, 通过肌醇磷脂信号途径, 动员细胞内  $Ca^{2+}$  激活 DUOX, 维持肠道内 ROS 的基础水平, 抑制共生菌的过度增殖<sup>[50-51]</sup>。当大量外源性病原菌侵染时, 依赖  $Ca^{2+}$  信号的 DUOX 的基础活性不足以对抗病原菌的侵染<sup>[46]</sup>。在这种情况下, PGN 刺激 IMD 和 p38 信号通路的应答增强, DUOX 大量表达, 而 Non-PGN 刺激 p38 信号通路应答增强, 消除 MKP3 的抑制作用, 诱导 DUOX 大量表达<sup>[52]</sup>。

## 2.3 空间隔离共生菌

为了维持共生菌的丰度及确保共生菌有可用的资源, 昆虫宿主会为共生菌提供专门的组织作为寄生场所。这些组织是宿主对共生菌的定殖做出的适应性进化<sup>[53]</sup>。在这些组织内, 共生菌可能营胞内或胞外寄生。在点蜂缘

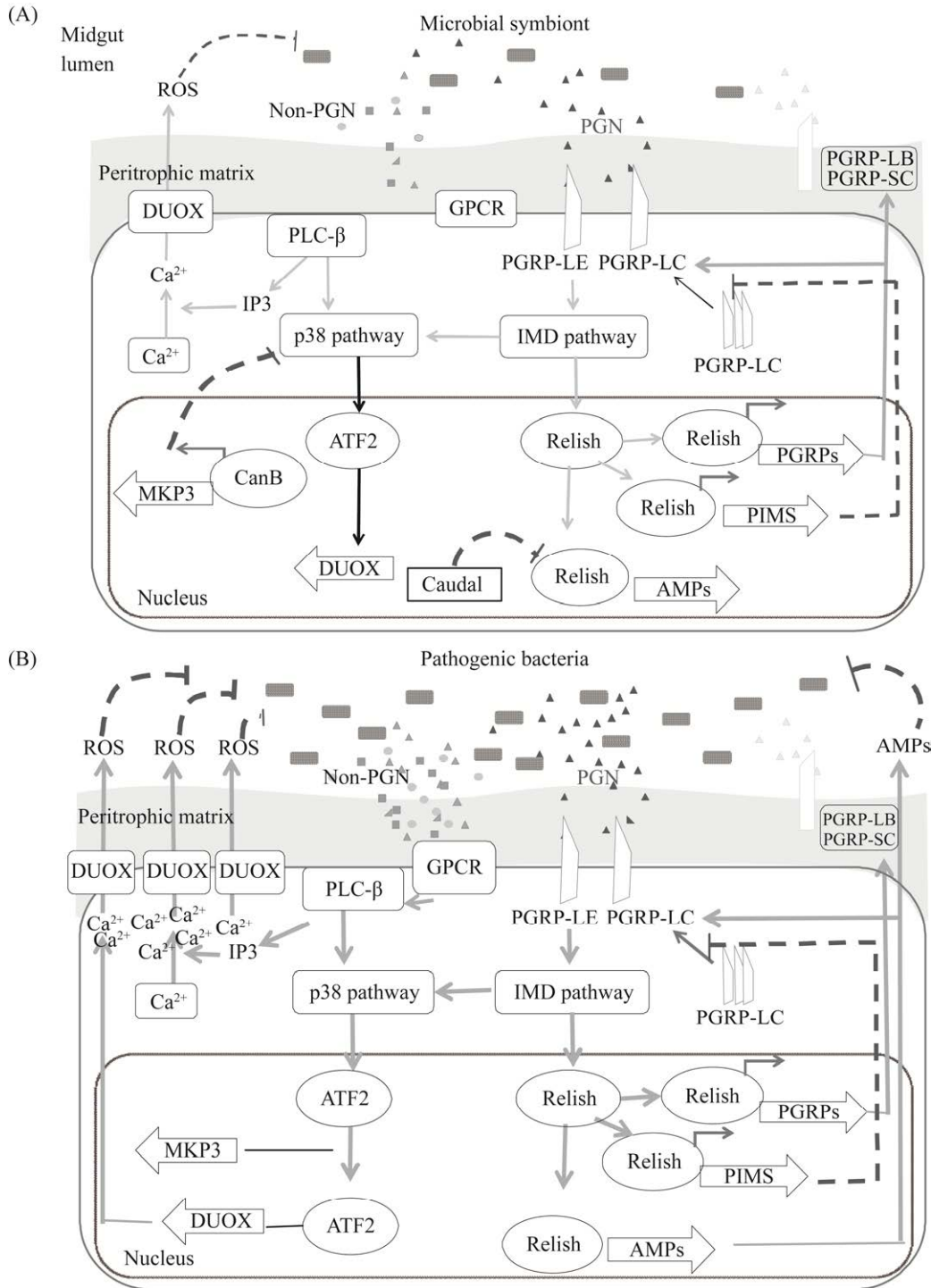


图 1 黑腹果蝇中肠免疫系统 IMD 和 DUOX 信号通路介导 AMP 和 ROS 的产生<sup>[46]</sup>

Figure 1 Production of AMP and ROS by the IMD and DUOX pathway in the *Drosophila melanogaster* midgut immune system<sup>[46]</sup>. Solid lines indicate activation, and dashed lines indicate inhibition. The thickness of the line indicates the strength of the signal. A: in the presence of the symbiotic bacteria; B: in the presence of the pathogenic bacteria.

蜻-*Burkholderia* 共生体系中, 共生菌增强了宿主的免疫能力, 而宿主通过沉默共生菌聚集区(中肠 M4 区隐窝处)的免疫应答, 维持了胞外共生菌的正常丰度<sup>[22]</sup>。在果蝇肠道的不同组织区域, 免疫相关基因(如抗菌肽编码基因和 Caudal)的表达有很大差异<sup>[40]</sup>。区域特异性表达的抗菌肽可以实现宿主肠道区域特异性的共生菌组成和丰度的调节。

内共生菌被隔离在特定的含菌细胞中, 受宿主体液免疫的影响较小。但宿主会选择将含菌细胞限制在特定的空间, 以提高免疫应答的特异性。此外, 含菌细胞有特异性的免疫应答机制, 以维持内共生菌的稳态。刺舌蝇中肠内的菌胞体为共生菌 *Wigglesworthia leginidia* 提供了生存空间, 并且 PGRP-LB 基因在该部位中有较强的表达。PGRP-LB 可以清除 *Wigglesworthia* 释放的 PGN, 抑制抗菌肽的产生<sup>[54]</sup>。当然, 宿主也需要通过一定的免疫机制, 抑制内共生菌的过度增殖。玉米象(*Sitophilus zeamais*)在含菌细胞中仅表达 coleoptericin A (ColA) 这一种抗菌肽, 并且 ColA 的转录水平与玉米象内共生菌群丰度成正比, 能特异性抑制内共生菌的胞质分裂、过度增殖和扩散<sup>[55]</sup>。

### 3 共生菌对宿主的免疫适应

共生菌与病原菌一样, 在宿主体内新陈代谢过程中均会释放 PAMP 引起宿主的免疫应答。一些共生菌进化出特殊的适应能力, 如通过改变细胞壁 PAMP 的组成和化学拟态等方式来减弱宿主免疫应答对自身的影响。

#### 3.1 共生菌 PAMP 的特化

为了降低宿主免疫应答对自身的影响, 共生菌会改变自身细胞壁成分, 降低对宿主免疫系统的刺激。刺舌蝇肠道共生菌 *Sodalis glossinidius* 的外膜蛋白 A (OmpA) 暴露区域中

的氨基酸系列发生变化, 与致命性病原细菌 *Escherichia coli* K12 的 OmpA 的结构存在显著差异。然而, 表达 *Sodalis* OmpA 的重组 *E. coli* K12 菌株侵染宿主时, 宿主存活了下来。相反, 表达 *E. coli* K12 OmpA 的重组 *Sodalis* 菌株侵染宿主后, 宿主死亡。基因表达图谱显示, 表达 *E. coli* K12 OmpA 的重组 *Sodalis* 菌株不能诱导抗菌肽的产生。相反, 表达 *Sodalis* OmpA 的重组 *E. coli* K12 菌株能够引发宿主强烈的免疫应答。RNA 干扰舌蝇负反馈调节因子 PGRP-LB 后, 感染 *E. coli* K12 后宿主的死亡率显著降低。这表明 PGRP-LB 表达上调导致宿主对 OmpA 突变体的微弱免疫应答。OmpA 暴露区域的多态性代表了共生菌的一种适应机制, 减弱了昆虫宿主对共生菌的免疫应答<sup>[56]</sup>。

#### 3.2 化学拟态

在埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)和尖音库蚊(*Culex pipiens*)肠道中, 共生菌群会利用宿主表达的 C 型凝集素抵消宿主免疫的不利影响, C 型凝集素包裹在共生菌表面, 掩护共生菌免于被肠壁细胞的 PGRP 识别以及保护共生菌免受抗菌肽的作用, 从而适应严酷的肠道环境, 进行长期定殖<sup>[57]</sup>。昆虫病原真菌已经进化出许多躲避宿主免疫的策略<sup>[58]</sup>, 这为共生菌的相关研究提供了借鉴。例如, 绿僵菌侵染大蜡螟(*Galleria mellonella*)时会采用伪装策略。大蜡螟侵染胸腔 20 min 内就会产生 Mcl1 蛋白, Mcl1 蛋白构成的抗黏附胶原层可以掩盖细菌细胞壁的 PAMP, 从而避免宿主血细胞的识别和吞噬<sup>[59]</sup>。

### 4 免疫共生体系的协同进化

从昆虫的角度来讲, 共生菌的存在可以帮助宿主抵御病原体的侵染。为了维持共生关系, 昆虫必须降低其对共生菌的免疫能力, 但昆虫对共生菌的免疫应答并未完全消失, 因为昆虫

需要抑制体内共生菌的过度增殖。从共生菌的角度来讲,共生菌在宿主体内获取营养和生存环境,同时,共生菌进化出相应的自我保护机制以降低昆虫免疫系统对自身的伤害(表 1)。

点蜂缘蝽-*Burkholderia* 共生体系能很好地解释共生双方的协同进化。点蜂缘蝽(*Riptortus pedestris*)从土壤中获得共生菌 *Burkholderia*。成为点蜂缘蝽的肠道共生菌后,*Burkholderia* 仍保留独立存活的能力,很容易体外培养,因此,可以将 *Burkholderia* 从宿主中肠分离出来,进行形态和代谢产物的分析,并以体外培养的 *Burkholderia* 为对照,可以揭示共生菌适应宿主的分子机制。例如,从点蜂缘蝽肠道分离的 *Burkholderia* 细胞壁完整性降低,细胞壁上的抗原多糖含量降低,但是体外培养 1 d 后,该菌细胞壁的完整性和抗原多糖含量均恢复至正常水平,这就表明 *Burkholderia* 的细胞壁变化是为适应宿主而进化的特征。为了提高共生体系之间的信息交流,共生菌细胞壁的完整性降低,

导致其在除 M4 区以外的中肠组织内无法存活,这也提高了宿主免疫系统对其丰度的精细控制作用。细胞壁上的抗原多糖含量降低,这也减少了宿主的免疫应答<sup>[22]</sup>。

## 5 结语

目前,已经明确共生菌会对昆虫宿主的免疫功能产生影响。在昆虫-共生菌的共生体系中,共生菌通过产生抗菌物质、调控宿主免疫相关基因表达、微生物种间竞争作用等方式保护昆虫宿主免受病原体的侵染。同时,昆虫也进化出精细的调控机制以避免对共生菌的过激免疫应答。共生菌通过改变自身细胞壁中 PAMP 的组成及化学拟态等方式来降低或躲避宿主免疫系统对自身的影响。目前仍未明确共生菌识别病原菌的机制,共生菌释放的特异性信号物质及其跨膜传递途径<sup>[63]</sup>,以及共生菌产生的信号物质刺激宿主体液免疫和血细胞增殖分化的机制<sup>[20,23]</sup>。

表 1 昆虫-共生菌共生体系的协同进化

Table 1 Coevolution of insect-symbiotic bacteria

Partner	Effect	Impact	Evolutionary force	Evolutionary pattern
Insect hosts	Positive effects	(1) Improved immunity	(1) To improve communication efficiency between symbiotic partners	(1) Symbiosomal membranes produced by the host with selective permeability of metabolites <sup>[60]</sup>
	Negative effects	(1) Excessive energy consumption of immune response (2) Excessive nutrition consumption of symbiotic bacteria	(1) To reduce energy consumption of immune response and excessive nutrient consumption of symbiotic bacteria	(1) Negative feedback regulation of the immune system <sup>[45-46,50-51]</sup> (2) Decline of the immune system <sup>[41]</sup> (3) Spatial-specific immune response <sup>[22,40,53]</sup>
Symbiotic bacteria	Positive effects	(1) Stable niche (environment/nutrition)	(1) To improve the function of functional genes (2) To improve communication efficiency between symbiotic partners	(1) Decline of genome <sup>[61]</sup> (1) Increase in permeability of bacterial membrane <sup>[62]</sup>
	Negative effects	(1) Damage from host immune response	(1) To avoid damage from host immune response	(1) Chemical mimicry <sup>[57]</sup> (2) Decrease of PAMP production <sup>[22]</sup> (3) Polymorphism of PAMPs <sup>[56]</sup>



由于共生菌-昆虫相互作用的模式、共生菌在昆虫宿主中的位置以及共生菌种间作用的复杂性,昆虫的免疫应答具有复杂的时空特异性,且许多共生菌不易在体外培养,极大地限制了共生菌对宿主功能及其机制的研究<sup>[22]</sup>。因此,需要对昆虫-病原菌、昆虫-共生菌相互作用进行详尽的比较分析,以阐明建立共生关系的分子机制。从生态学的角度出发,研究共生关系的形成、维持和进化,需要开展不同共生菌之间、共生菌与宿主之间以及与环境非生物因子多维度的互作研究。随着新一代高通量测序技术的广泛应用,基因组学、转录组学、蛋白组学、代谢组学以及微生物组等组学的快速发展,为昆虫-共生菌互作分子机制的研究提供了更为有效的手段。可以通过转录组学和代谢组学关联分析和功能研究,阐明共生菌与宿主间的信息交流<sup>[64]</sup>。

加强昆虫-共生菌共生体系相互作用的研究,明确共生菌在宿主免疫功能中的作用,将有助于从昆虫体内获得微生物资源和基因资源,开发基于共生菌的新型虫害控制策略。例如,*Wolbachia*可降低甚至清除人类病原体在蚊媒中的感染,抑制登革热病毒、基孔肯雅病毒、黄病毒、疟原虫和丝虫等病原体感染蚊媒<sup>[65]</sup>。共生菌产生的抗菌物质可以用来预防病原体感染动植物<sup>[13]</sup>,如*Burkholderia*基因组编码的代谢产物具有抗肿瘤抗癌以及抗菌的能力<sup>[66]</sup>。此外,明确共生菌调控宿主免疫应答的生理机制,有助于推进共生菌对宿主的其他功能,如化学通讯、抗药性和营养共生等的深入研究。这是因为:(1)在昆虫对微生物的免疫应答和稳态调控方面,目前已系统地揭示了微生物和宿主间的信息交流和免疫信号通路作用的分子机制<sup>[33]</sup>,这可以为研究共生菌与宿主间的信息交

流提供思路;(2)共生菌可能通过免疫系统对昆虫生理生化产生深远的影响,如共生菌可通过影响昆虫的免疫系统来调控宿主的抗药性<sup>[67]</sup>。

## 参考文献

- [1] Shields V. Insect physiology and ecology. *Rijeka: In Tech*, 2017: 179–212.
- [2] Müller U, Vogel P, Alber G, Schaub GA. The innate immune system of mammals and insects. *Contributions to Microbiology*, 2008, 15: 21–44.
- [3] Cooper D, Eleftherianos I. Memory and specificity in the insect immune system: current perspectives and future challenges. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8: 539.
- [4] Sutek M, Kordaczuk J, Wojda I. Current understanding of immune priming phenomena in insects. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2021, 185: 107656.
- [5] Hegedus D, Erlandson M, Gillott C, Toprak U. New insights into peritrophic matrix synthesis, architecture, and function. *Annual Review of Entomology*, 2009, 54: 285–302.
- [6] Tsakas S, Marmaras VJ. Insect immunity and its signaling: an overview. *Invertebrate Survival Journal*, 2010, 7(2): 228–238.
- [7] Browne N, Heelan M, Kavanagh K. An analysis of the structural and functional similarities of insect hemocytes and mammalian phagocytes. *Virulence*, 2013, 4(7): 597–603.
- [8] 王争艳, 何梦婷, 鲁玉杰. 共生微生物对昆虫化学通讯的影响. *应用昆虫学报*, 2020, 57(6): 1240–1248. Wang ZY, He MT, Lu YJ. Influence of microbial symbionts on chemical communication in insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2020, 57(6): 1240–1248. (in Chinese)
- [9] Hamdi C, Balloi A, Essanaa J, Crotti E, Gonella E, Raddadi N, Ricci I, Boudabous A, Borin S, Manino A, Bandi C, Alma A, Daffonchio D, Cherif A. Gut microbiome dysbiosis and honeybee health. *Journal of Applied Entomology*, 2011, 135(7): 524–533.
- [10] Dillon RJ, Dillon VM. The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions. *Annual Review of Entomology*, 2004, 49: 71–92.
- [11] Teixeira L, Ferreira A, Ashburner M. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biology*, 2008, 6(12): e2.

- [12] Douglas AE. Multiorganismal insects: diversity and function of resident microorganisms. *Annual Review of Entomology*, 2015, 60: 17–34.
- [13] Flórez LV, Scherlach K, Gaube P, Ross C, Sitte E, Hermes C, Rodrigues A, Hertweck C, Kaltenpoth M. Antibiotic-producing symbionts dynamically transition between plant pathogenicity and insect-defensive mutualism. *Nature Communications*, 2017, 8: 15172.
- [14] Kaltenpoth M, Engl T. Defensive microbial symbionts in *Hymenoptera*. *Functional Ecology*, 2014, 28(2): 315–327.
- [15] Mattoso TC, Moreira DDO, Samuels RI. Symbiotic bacteria on the cuticle of the leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus* protect workers from attack by entomopathogenic fungi. *Biology Letters*, 2012, 8(3): 461–464.
- [16] Dillon RJ, Charnley AK. Chemical barriers to gut infection in the desert locust: *in vivo* production of antimicrobial phenols associated with the bacterium *Pantoea agglomerans*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1995, 66(1): 72–75.
- [17] Wang SB, Dos-Santos ALA, Huang W, Liu KC, Oshaghi MA, Wei G, Agre P, Jacobs-Lorena M. Driving mosquito refractoriness to *Plasmodium falciparum* with engineered symbiotic bacteria. *Science*, 2017, 357(6358): 1399–1402.
- [18] Scarborough CL, Ferrari J, Godfray HCJ. Aphid protected from pathogen by endosymbiont. *Science*, 2005, 310(5755): 1781.
- [19] Jia D, Mao Q, Chen Y, Liu Y, Chen Q, Wu W, Zhang X, Chen H, Li Y, Wei T. Insect symbiotic bacteria harbour viral pathogens for transovarial transmission. *Nature Microbiology*, 2017, 2: 17025.
- [20] Horak RD, Leonard SP, Moran NA. Symbionts shape host innate immunity in honeybees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2020, 287(1933): e20201184.
- [21] Bai L, Wang LL, Vega-Rodríguez J, Wang GD, Wang SB. A gut symbiotic bacterium *Serratia marcescens* renders mosquito resistance to *Plasmodium* infection through activation of mosquito immune responses. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1580.
- [22] Kim JK, Lee BL. Insect symbiosis and immunity: the bean bug-*Burkholderia* interaction as a case study. *Advances in Insect Physiology*, 2017, 52: 179–197.
- [23] Weiss BL, Maltz M, Aksoy S. Obligate symbionts activate immune system development in the tsetse fly. *Journal of Immunology: Baltimore, Md: 1950*, 2012, 188(7): 3395–3403.
- [24] López-Madrigal S, Maire J, Balmand S, Zaidman-Rémy A, Heddi A. Effects of symbiotic status on cellular immunity dynamics in *Sitophilus oryzae*. *Developmental & Comparative Immunology*, 2017, 77: 259–269.
- [25] 朱欢欢, 陈洋, 万品俊, 王渭霞, 赖凤香, 傅强. 共生菌 *Arsenophonus*、水稻品种和温度对褐飞虱黄绿绿僵菌发病率的影响. *中国水稻科学*, 2017, 31(6): 643–651.
- Zhu HH, Chen Y, Wan PJ, Wang WX, Lai FX, Fu Q. Influence of symbiotic bacteria *Arsenophonus*, rice variety and temperature on the incidence rate of *Nilaparvata lugens* to *Metarhizium flavoviride*. *Chinese Journal of Rice Science*, 2017, 31(6): 643–651. (in Chinese)
- [26] Benoit JB, Vigneron A, Broderick NA, Wu YN, Sun JS, Carlson JR, Aksoy S, Weiss BL. Symbiont-induced odorant binding proteins mediate insect host hematopoiesis. *eLife*, 2017, 6: e19535.
- [27] Weiss BL, Wang JW, Aksoy S. Tsetse immune system maturation requires the presence of obligate symbionts in larvae. *PLoS Biology*, 2011, 9(5): e1000619.
- [28] Clarke TB, Davis KM, Lysenko ES, Zhou AY, Yu Y, Weiser JN. Recognition of peptidoglycan from the microbiota by Nod1 enhances systemic innate immunity. *Nature Medicine*, 2010, 16(2): 228–231.
- [29] Nichols HL, Goldstein EB, Saleh Ziabari O, Parker BJ. Intraspecific variation in immune gene expression and heritable symbiont density. *PLoS Pathogens*, 2021, 17(4): e1009552.
- [30] Cardoza YJ, Klepzig KD, Raffa KF. Bacteria in oral secretions of an endophytic insect inhibit antagonistic fungi. *Ecological Entomology*, 2006, 31(6): 636–645.
- [31] Hernández-Martínez P, Naseri B, Navarro-Cerrillo G, Escriche B, Ferré J, Herrero S. Increase in midgut microbiota load induces an apparent immune priming and increases tolerance to *Bacillus thuringiensis*. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(10): 2730–2737.
- [32] Dillon RJ, Vennard CT, Buckling A, Charnley AK. Diversity of locust gut bacteria protects against pathogen invasion. *Ecology Letters*, 2005, 8(12): 1291–1298.
- [33] 姚志超. 橘小实蝇 Duox-ROS 系统和 IMD 信号通路功能研究. 华中农业大学博士学位论文, 2017.
- [34] Benyacoub J, Bosco N, Blanchard C, Demont A, Philippe D, Castiel-Higounenc I, Guéniche A. Immune

- modulation property of *Lactobacillus paracasei* NCC2461 (ST11) strain and impact on skin defences. *Beneficial Microbes*, 2014, 5(2): 129–136.
- [35] Prakash A, Khan I. Why do insects evolve immune priming? A search for crossroads. *Developmental & Comparative Immunology*, 2022, 126: 104246.
- [36] Ramirez JL, De Almeida Oliveira G, Calvo E, Dalli J, Colas RA, Serhan CN, Ribeiro JM, Barillas-Mury C. A mosquito lipoxin/lipocalin complex mediates innate immune priming in *Anopheles gambiae*. *Nature Communications*, 2015, 6: 7403.
- [37] Futo M, Sell MP, Kutzer MAM, Kurtz J. Specificity of oral immune priming in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Biology Letters*, 2017, 13(12): 20170632.
- [38] Rodrigues J, Brayner FA, Alves LC, Dixit R, Barillas-Mury C. Hemocyte differentiation mediates innate immune memory in *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Science*, 2010, 329(5997): 1353–1355.
- [39] Taylor MA, Robertson AW, Biggs PJ, Richards KK, Jones DF, Parkar SG. The effect of carbohydrate sources: sucrose, invert sugar and components of mānuka honey, on core bacteria in the digestive tract of adult honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS One*, 2019, 14(12): e0225845.
- [40] Buchon N, Osman D, David FPA, Yu Fang H, Boquete JP, Deplancke B, Lemaitre B. Morphological and molecular characterization of adult midgut compartmentalization in *Drosophila*. *Cell Reports*, 2013, 3(5): 1725–1738.
- [41] Loughton AM, Garcia JR, Altincicek B, Strand MR, Gerardo NM. Characterisation of immune responses in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Physiology*, 2011, 57(6): 830–839.
- [42] Kim EK, Lee KA, Hyeon DY, Kyung M, Jun KY, Seo SH, Hwang D, Kwon Y, Lee WJ. Bacterial nucleoside catabolism controls quorum sensing and commensal-to-pathogen transition in the *Drosophila* gut. *Cell Host & Microbe*, 2020, 27(3): 345–357.e6.
- [43] 刘微. 肽聚糖识别蛋白 PGRP 基因及活性氧调节柞蚕肠道免疫功能的研究. 沈阳农业大学博士学位论文, 2019.
- [44] Bosco-Drayon V, Poidevin M, Boneca IG, Narbonne-Reveau K, Royet J, Charroux B. Peptidoglycan sensing by the receptor PGRP-LE in the *Drosophila* gut induces immune responses to infectious bacteria and tolerance to microbiota. *Cell Host & Microbe*, 2012, 12(2): 153–165.
- [45] Crotti E, Balloi A, Hamdi C, Sansonno L, Marzorati M, Gonella E, Favia G, Cherif A, Bandi C, Alma A, Daffonchio D. Microbial symbionts: a resource for the management of insect-related problems. *Microbial Biotechnology*, 2012, 5(3): 307–317.
- [46] Engel P, Moran NA. The gut microbiota of insects—diversity in structure and function. *FEMS Microbiology Reviews*, 2013, 37(5): 699–735.
- [47] Ryu JH, Kim SH, Lee HY, Bai JY, Nam YD, Bae JW, Lee DG, Shin SC, Ha EM, Lee WJ. Innate immune homeostasis by the homeobox gene *caudal* and commensal-gut mutualism in *Drosophila*. *Science*, 2008, 319(5864): 777–782.
- [48] Kleino A, Myllymäki H, Kallio J, Vanha-Aho LM, Oksanen K, Ulvila J, Hultmark D, Valanne S, Rämet M. Pirk is a negative regulator of the *Drosophila* Imd pathway. *Journal of Immunology: Baltimore, Md: 1950*, 2008, 180(8): 5413–5422.
- [49] Bischoff V, Vignal C, Duvic B, Boneca IG, Hoffmann JA, Royet J. Downregulation of the *Drosophila* immune response by peptidoglycan-recognition proteins SC<sub>1</sub> and SC<sub>2</sub>. *PLoS Pathogens*, 2006, 2(2): e14.
- [50] Oliveira JHM, Gonçalves RLS, Lara FA, Dias FA, Gandara ACP, Menna-Barreto RFS, Edwards MC, Laurindo FRM, Silva-Neto MAC, Sorgine MHF, Oliveira PL. Blood meal-derived heme decreases ROS levels in the midgut of *Aedes aegypti* and allows proliferation of intestinal microbiota. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(3): e1001320.
- [51] Diaz-Albiter H, Sant'Anna MRV, Genta FA, Dillon RJ. Reactive oxygen species-mediated immunity against *Leishmania mexicana* and *Serratia marcescens* in the phlebotomine sand fly *Lutzomyia longipalpis*. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(28): 23995–24003.
- [52] 杨丽娟. Mesh-Duox 信号通路调节昆虫肠道稳态的研究. 清华大学博士学位论文, 2017.
- [53] Douglas AE. Housing microbial symbionts: evolutionary origins and diversification of symbiotic organs in animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2020, 375(1808): 20190603.
- [54] Wang JW, Wu YN, Yang GX, Aksoy S. Interactions between mutualist *Wigglesworthia* and tsetse peptidoglycan recognition protein (PGRP-LB) influence trypanosome transmission. *PNAS*, 2009, 106(29): 12133–12138.
- [55] Login FH, Heddi A. Insect immune system maintains long-term resident bacteria through a local response. *Journal of Insect Physiology*, 2013, 59(2): 232–239.

- [56] Weiss BL, Wu YN, Schwank JJ, Tolwinski NS, Aksoy S. An insect symbiosis is influenced by bacterium-specific polymorphisms in outer-membrane protein A. *PNAS*, 2008, 105(39): 15088–15093.
- [57] Pang X, Xiao X, Liu Y, Zhang R, Liu J, Liu Q, Wang P, Cheng G. Mosquito C-type lectins maintain gut microbiome homeostasis. *Nature Microbiology*, 2016, 1: 16023.
- [58] Wang CS, Wang SB. Insect pathogenic fungi: genomics, molecular interactions, and genetic improvements. *Annual Review of Entomology*, 2017, 62: 73–90.
- [59] Wang CS, St Leger RJ. A collagenous protective coat enables *Metarhizium anisopliae* to evade insect immune responses. *PNAS*, 2006, 103(17): 6647–6652.
- [60] Feng HL, Edwards N, Anderson CMH, Althaus M, Duncan RP, Hsu YC, Luetje CW, Price DRG, Wilson ACC, Thwaites DT. Trading amino acids at the aphid-*Buchnera* symbiotic interface. *PNAS*, 2019, 116(32): 16003–16011.
- [61] Douglas AE. The molecular basis of bacterial-insect symbiosis. *Journal of Molecular Biology*, 2014, 426(23): 3830–3837.
- [62] Mergaert P, Kikuchi Y, Shigenobu S, Nowack ECM. Metabolic integration of bacterial endosymbionts through antimicrobial peptides. *Trends in Microbiology*, 2017, 25(9): 703–712.
- [63] Douglas AE. The microbial exometabolome: ecological resource and architect of microbial communities. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2020, 375(1798): 20190250.
- [64] 王争艳, 苗世远, 何梦婷, 王文芳, 鲁玉杰. 昆虫共生菌对宿主功能研究的方法体系. *应用昆虫学报*, 2020, 57(3): 744–758.  
Wang ZY, Miao SY, He MT, Wang WF, Lu YJ. Review of the methodology used in the functional analysis of insect-microbial symbioses. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2020, 57(3): 744–758. (in Chinese)
- [65] Caragata EP, Dutra HLC, Sucupira PHF, Ferreira AGA, Moreira LA. *Wolbachia* as translational science: controlling mosquito-borne pathogens. *Trends in Parasitology*, 2021, 37(12): 1050–1067.
- [66] Kunakom S, Eustáquio AS. *Burkholderia* as a source of natural products. *Journal of Natural Products*, 2019, 82(7): 2018–2037.
- [67] 王争艳, 王文芳, 鲁玉杰. 共生菌与昆虫抗药性. *应用昆虫学报*, 2021, 58(2): 265–276.  
Wang ZY, Wang WF, Lu YJ. Symbiotic microbiota and insecticide resistance in insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2021, 58(2): 265–276. (in Chinese)

(本文责编 李磊)