

# 昆虫神经肽 tachykinin 研究进展

刘晓光, 徐梦超, 王青鸽, 苏健诚, 魏纪珍\*, 安世恒

(小麦玉米作物学国家重点实验室, 河南省害虫绿色防控国际联合实验室, 河南农业大学植物保护学院, 郑州 450002)

**摘要** 神经肽是昆虫体内仅次于保幼激素和蜕皮激素的重要肽类激素。而速激肽与其他神经肽一样,属于典型的脑-肠肽,具有神经调节、神经递质或激素功能,其首先在粗糙型内质网中合成前体多肽,前体蛋白(多肽)在其N端具疏水结构的信号肽的引导下进入内质网后切除信号肽,然后经过一系列修饰后以颗粒状小分子多肽释放出来。在昆虫生长发育及生理行为方面发挥着同样重要的作用。本文从昆虫速激肽的发现、命名、分子特性、分离鉴定方法以及最新相关研究进展等做了全面的总结,为深入研究其复杂的生物学功能及在微生物-昆虫-植物三级营养中的作用,进一步探索害虫综合治理提供重要依据。

**关键词** 昆虫; 神经肽; 速激肽; 研究进展

**中图分类号:** Q966 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2022477

## Research progress on tachykinin neuropeptide in insects

LIU Xiaoguang, XU Mengchao, WANG Qingge, SU Jiancheng, WEI Jizhen\*, AN Shiheng

(State Key Laboratory of Wheat and Maize Crop Science, Henan International Laboratory for Green Pest Control, College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract** Neuropeptide is the major peptide hormone, the second only to juvenile and ecdysone hormone. As the common brain-gut peptide hormone and functioning as central neuromodulators, neurotransmitter and circulating hormones in insects, tachykinin is first synthesized as part of a large prohormone in the rough endoplasmic reticulum, and shortly after synthesis, the cleavage of the N-terminal signal sequence of the prohormone results in the formation of prohormone. To release the bioactive hormone, the prohormone matures during the intracellular transport from the rough endoplasmic reticulum to golgi apparatus and finally to secretory granules. Tachykinin also plays multi- function and vital roles in growth and development, and also the role of physiology behavior in insects. In this article, we summarized the detection, nomination, molecular characterization, identification, and the latest research advances of insect tachykinin. And all of them above will shed light on relationships in the biological function and complexity, and tritrophic interactions among the microbe, insect and plant of tachykinin. It also provides a solid foundation for integrated pest management.

**Key words** insect; neuropeptide; tachykinin; research progress

昆虫体外信息交流和体内信号传递均离不开神经肽的参与<sup>[1-7]</sup>。神经肽是一类小分子活性多肽,主要由神经元(neurons)、神经内分泌细胞(neuroendocrine cells)或肠内分泌细胞(endocrine cells)分泌,其生成过程具有较高的相似性(图1),即神经肽基因经过转录、翻译后首先形成前体蛋白(precursor proteins, pro-proteins),前体蛋白在其N端具疏水结构的信号肽的引导下进入内质网(endoplasmic reticulum,

ER)<sup>[8]</sup>。在内质网中,前体蛋白N端信号肽首先被切除,切除信号肽的其余肽段经历一系列翻译后修饰(糖基化、羟基化、N端酰基化和二硫键的形成)进入高尔基体,其序列中某些单个或者相邻两个位点氨基酸残基被特异性蛋白酶识别并切割(C端碱性残基由羧肽酶转化酶切除形成C端酰胺化或N端焦谷氨酰胺残基发生谷氨酰胺酰基环化)<sup>[9]</sup>,最终形成具有生物活性的成熟多肽,这些活性多肽通过各种途径分泌到

收稿日期: 2022-08-06 修订日期: 2022-09-25

基金项目: 河南省重大科技专项(201300111500);国家自然科学基金青年基金(31601904);河南省现代农业产业技术体系(S2014-11-G06);中央引导地方项目(XZ202001YD0002C)

\* 通信作者 E-mail: weijizhen1986@163.com

细胞外,最终达到靶位点,与 G 蛋白偶联受体结合(G protein-coupled receptor, GPCR),激活下游信号通路<sup>[8,10]</sup>。随着基因组、转录组和多肽质谱等技术的快速发展,诸多神经肽得以发现。仅昆虫中就有 30 余种、数百个成熟肽得到鉴定<sup>[11-15]</sup>。其中 tachykinin (TK)为众多神经肽中的一类,也称速激肽。TK 在进

化上属于较为保守的脑-肠多肽(brain-gut peptide),参与生物的生长发育和生理行为活动<sup>[16-18]</sup>。TK 含量虽少,但在昆虫生长发育过程中却起着异常重要的作用,对于以 TK 为代表的神经肽的深入研究,有助于人们更全面地了解昆虫生理功能及内分泌机制,为探索害虫治理提供科学依据。

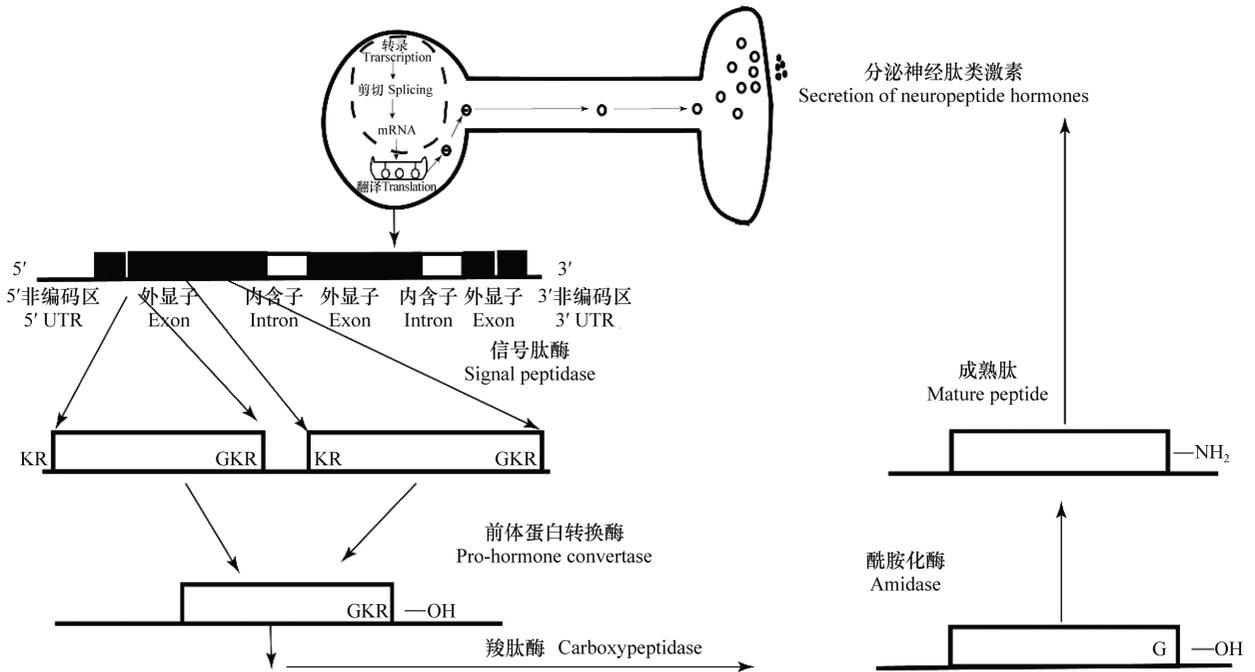


图 1 昆虫速激肽成熟肽合成释放过程

Fig. 1 Synthesis, maturation and release of tachykinin of insects

## 1 昆虫速激肽的发现

无脊椎动物中,TK 最早发现于昆虫,Schoofs 等收集并解剖 9 000 多头飞蝗 *Locusta migratoria* 脑-心侧体-咽侧体-咽下神经节复合体,通过分离纯化,首次获得 TK 的多肽序列<sup>[19-20]</sup>。利用类似方法,Muren 等从 1 000 头马德拉蜚蠊 *Leucophaea maderae* 的脑组织中成功分离纯化出 7 个 TK 多肽<sup>[21]</sup>。此后,研究者又陆续从黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*<sup>[22]</sup>、家蚕 *Bombyx mori*<sup>[23]</sup>、赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*<sup>[12]</sup>、豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum*<sup>[24]</sup>、褐飞虱 *Nilaparvata lugens*<sup>[25]</sup>、吸血蝽 *Rhodnius prolixus*<sup>[26]</sup>、意大利蜜蜂 *Apis mellifera*<sup>[13]</sup>、二化螟 *Chilo suppressalis*<sup>[14]</sup>、麦蛾茧蜂 *Habrobracon hebetor*<sup>[15]</sup> 和稻绿蝽 *Nezara viridula*<sup>[27]</sup> 等其他昆虫中发现。

## 2 速激肽的命名与分类

分类命名上,在脊椎动物中发现的速激肽称为典

型的 P 物质(substance P, SP),主要包括神经激肽 A (neurokinin A, NKA) 和神经激肽 B (neurokinin B, NKB)<sup>[28]</sup>;在无脊椎动物包括昆虫中发现的称为 TK 或速激肽相关肽(tachykinin-related peptide, TKP),它们共同构成了速激肽超基因家族<sup>[29]</sup>。

## 3 速激肽的一般特征

目前研究结果表明,在编码昆虫 TK 蛋白的序列中一般含有多个 TK 成熟多肽,而单个成熟多肽通常由 8~14 个氨基酸残基组成,且 C 末端均发生酰胺化。如利用分离纯化方法,结合质谱技术研究者从飞蝗中鉴定出 4 种 TK 成熟肽<sup>[19-20]</sup>,果蝇中有 5 种<sup>[30]</sup>,家蚕和小地老虎 *Agrotis ipsilon* 中有 6 种<sup>[23,31-32]</sup>,意大利蜜蜂中鉴定出 7 种<sup>[13,33-34]</sup>,赤拟谷盗中预测出 8 个<sup>[12]</sup>,褐飞虱中预测出 8 个<sup>[25]</sup>。不同昆虫体内 TK 成熟肽数量不尽相同,但它们均由一个基因开放阅读框(open reading frame, ORF)编码的前体蛋

白产生。大多数昆虫 TK 前体蛋白中,编码其成熟肽的氨基酸序列有一定的差异,但也有一些昆虫中存在一个前体蛋白所产生的若干个 TK 成熟肽氨基酸序列完全一致的现象(如意大利蜜蜂 TK 前体蛋白序列中有两个位点同时产生 APMGFQGMR-amide 成熟肽),不同昆虫产生的 TK 成熟肽也有个别序列完全一致,如马德拉蜚蠊与赤拟谷盗中均存在 APSGFMGMR-amide 成熟肽。这些多肽的鉴定和预测也为发现和研究相关受体提供了很好的基础。其次,除酰胺化外,这类成熟肽在 C 端也相对保守,具有典型的 FX<sub>1</sub>GX<sub>2</sub>R 氨基酸基序(图 2)。

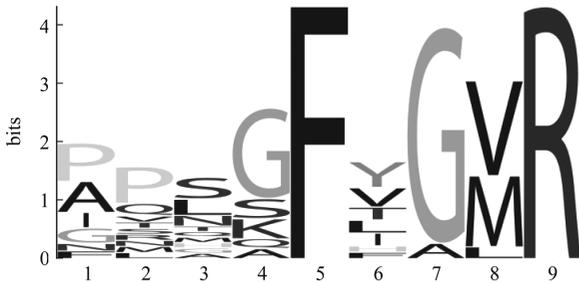


图 2 昆虫速激肽成熟肽 C 端典型 FX<sub>1</sub>GX<sub>2</sub>R 基序

Fig. 2 The C terminal typical FX<sub>1</sub>GX<sub>2</sub>R motif of mature tachykinin in insect

#### 4 速激肽分离、鉴定和预测方法

昆虫神经肽的分离与鉴定历经了较为漫长的发展过程。自 Stone 等从飞蝗和沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* 心侧体 (corpus cardiacum) 中分离并首次测序了神经肽脂动激素 (adipokinetic hormone, AKH) 开始<sup>[35]</sup>,至 Schoofs 等成功分离并测定出 TK 部分序列,开启了有关昆虫 TK 研究的新征程,这也是在节肢动物中最早发现 TK 的正式报道,该传统研究方法沿用至今<sup>[19-20]</sup>。

在利用传统方法研究 TK 等神经肽过程中,样品前处理、活性组分的收集与分离等是获取活性神经肽的关键和难点。前处理过程需要两步,首先,组织解剖后样品需要尽快进行热变性或立即采用有机溶剂(如冰冻的色谱级甲醇)进行变性稳定处理,或液氮迅速冷冻后暂时存放于-80℃,防止成熟肽的快速降解<sup>[36]</sup>;其次是样品除杂,样品组织需经超声破碎、离心后取上清液,上清液经超滤柱(膜)初步去除大分子蛋白。以上预处理样品再借助填充不同材料的色谱柱分离,根据单一峰或若干组合峰对应的

液相分离液,准确收集并进一步将其冷冻浓缩获得活性组分。此步是获得活性神经肽的关键,技术上有一定的难度。因此,利用色谱柱分离是多肽分离技术的核心,其在实际应用中经历了较大改进与发展。该技术最初采用可控孔径玻璃珠 (controlled-pore glass, CPG) 作为吸附载体,先将小分子多肽过柱分离、浓缩,再经过硅胶薄层层析板 (silica gel thin-layer plate) 分离获得微量 (μg)、纯度较高且具有活性的神经肽<sup>[35]</sup>;随后又发展到利用高效液相色谱 (highly performance liquid chromatography, HPLC) 系统,与不同非极性反相 (reversed-phase) 色谱柱组合,充分利用色谱柱极性差异,不断更换色谱柱,依次反复纯化洗脱。洗脱粗组分经生物活性测定初步确定多肽分离的保留时间(每种多肽具有特殊的生理功能,可通过生物活性测定初步鉴定多肽种类)<sup>[37]</sup>;进一步地,学者们又将免疫学与色谱技术结合,用神经肽 (TK 等) 多克隆抗体结合放射免疫 (radioimmunoassay, RIA)<sup>[2]</sup> 或酶联免疫 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 等技术<sup>[4]</sup> 快速确定阳性组分,同时记录具有阳性组分所对应的更准确的保留时间,利用同样分离条件可在短时间内获得大量分离液,将收集到的分离液进一步冷冻浓缩,提高天然神经肽的获得率与产量,完善了 TK 神经肽等分离和鉴定技术<sup>[36]</sup>。由于该技术操作繁琐,对仪器及操作过程要求较高,目前国际上仅有少数实验室仍保留着以上传统的分离鉴定方法。此外,还可借助简单的反相色谱技术,前处理样品经过一次反相色谱分离得到粗产物,该粗产物在快速冷冻浓缩后无需经过其他色谱填料的反相色谱柱组合进行反复地分离,即可直接上质谱系统检测<sup>[32]</sup>,还有将神经组织或脑组织切片直接上质谱获得 TK 精确分子量的报道<sup>[33-34]</sup>。此外,随着生物信息学和质谱技术的飞速发展,首先利用以上质谱技术,获得多肽的精确分子量,或者利用同位素标记相对和绝对定量 (isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ) 技术获得序列确定的多肽片段,再结合基因组、转录组,将收集到的组织样品与相应的质谱数据与氨基酸序列自动匹配,预测出神经肽成熟肽序列<sup>[32]</sup>。

#### 5 速激肽的表达与分布

昆虫 TK 与其他神经肽类似<sup>[1]</sup>,最早从脑组织 (脑-咽侧体-心侧体-咽下神经节) 中分离<sup>[19-20]</sup>,后来

也在中肠发现,因此又称脑-肠肽<sup>[2]</sup>。有关 TK 的研究当数黑腹果蝇中最为详细,Veenstra 等利用埃及伊蚊 *Aedes aegypti* TK 多肽制备的抗体,在黑腹果蝇成虫不同组织中进行了 TK 神经元定量分析,结果发现脑部最多,约 700 个,中肠中次之,约 360 个,其次是后肠,约 140 个,胸腹神经约 110 个,马氏管约 10 个,嗉囊最少,约 4 个<sup>[38]</sup>。类似地,有关 TK 神经元在烟草天蛾 *Manduca sexta* 中的分布也有报道。在烟草天蛾成虫期,检测到 TK 神经元主要集中在中脑(midbrain),约有 100 个,其中视神经叶(optic lobe)中仅发现 1 个。而在 5 龄幼虫中,TK 神经元主要集中在脑神经细胞,约有 60 个;其次是腹神经索(ventral nerve cord),其中咽下神经(suboesophageal ganglion)5 对,胸神经(thoracic ganglia)2 对,第 5 未融合的腹神经(fifth unfused abdominal ganglia)各 1 对,融合末端神经(fused terminal ganglion)3 对,与黑腹果蝇成虫不同,在烟草天蛾成虫与幼虫的前肠和后肠中并未检测到 TK 神经元<sup>[39]</sup>。此外,借助新兴的单细胞转录组测序技术,Guo 等首次研究了黑腹果蝇中肠肠内分泌细胞各类神经肽的分布特点,其中重点关注了 TK 神经元。结果表明,在中肠共富集并分离鉴定出 10 类肠内分泌神经元类群,其中 TK 集中表达于 4 个主要细胞类群(即所分属的 1、3、4 和 7 肠内分泌细胞类群)。同时发现,TK 成熟多肽具有与不同神经肽共表达的偏好性,即 TK 偏好在某些内分泌细胞中单独存在,或与 DH31、CCAP、CCH、ITP、Gbp5、sNPF、NPF、Mip、Nplp2 等单个或多个神经肽共表达,而极少或决不与神经肽 AstC 共表达<sup>[40]</sup>。

## 6 速激肽受体研究

尽管昆虫 TK 不断被发现,但有关其受体的发掘和研究较少,目前已发现的潜在受体可归为 3 类。Li 等利用哺乳动物同源 TK 受体(tachykinin receptor,TKR)基因作为探针,从黑腹果蝇 cDNA 文库中筛选并首次发现了第一类无脊椎动物 TK 受体,该受体由 CG7887 基因编码,也称为 DTKR(*Drosophila* tachykinin receptor)或 TKR99D<sup>[41]</sup>。第二类 TK 受体由 CG6515 基因编码,起初命名为果蝇神经激肽受体(neurokinin receptor from *Drosophila*),简称 NKD 或 TKR86C。这两类与哺乳动物神经激肽受体(mammalian neurokinin receptor)跨膜区序列

有 32%~48% 的相似度<sup>[42]</sup>。第三类速激肽受体是从厩螫蝇 *Stomoxys calcitrans* 中克隆获得,称为 STKR,它与前两类受体在跨膜区相似度高达 80%<sup>[43]</sup>。早期,由于试验方法和技术的限制,这些 TK 及其受体的研究一直是孤立的,无法建立联系,甚至受体基因的克隆早于 TK 的发现。直到 2000 年之后,遗传学家以果蝇为材料,利用转基因技术构建了大量基因缺失或过表达品系<sup>[22]</sup>,才开始基因功能研究,但有关 TK 的研究在果蝇中尚未开展广泛研究,进展较为缓慢,其具体生理功能也尚不清楚。

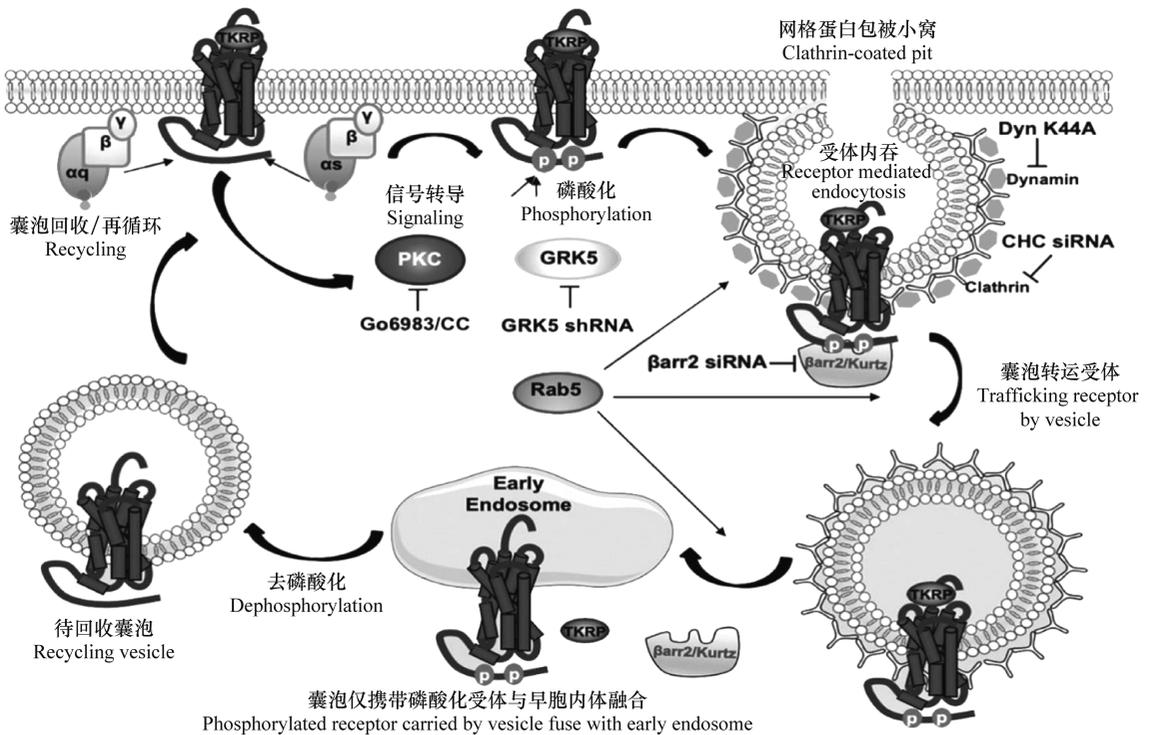
配体/受体基因的获得为研究 TK/TKR 信号传导打开了一扇大门。目前,相关研究主要集中于基因组草图已经完成的模式昆虫。对于 DTKR,Birse 等利用不同体外细胞表达系统,在人肾源细胞 HEK293 和果蝇 S2 细胞系中均成功表达了 DTKR,随后用人工合成的 DTK1~DTK6 等多肽分别处理以上两种细胞,结果均能在短时间内提升细胞内 Ca<sup>2+</sup> 浓度及环磷酸腺苷(cAMP)水平,并且,这些信号随多肽浓度的增大而显著上升<sup>[44]</sup>。而对于果蝇 NKD,研究者分别利用中国仓鼠 *Cricetulus barabensis* 卵巢细胞 CHO-PAM28 和果蝇 S2 细胞系表达了该受体。同样,分别加入人工合成的 DTK1~DTK6、N 端增加不同氨基酸残基而仍保留 C 端基序不变的 DTK6 和其他昆虫 TK 等神经肽刺激,结果除 DTK6 表现出较低的生物活性外,DTK1~DTK5 等神经肽均无激活特性<sup>[45]</sup>。这些结果暗示了 DTKR 是 DTK 的潜在受体,而 NKD 则不是 DTK 的受体。在鳞翅目中也有类似研究,根据基因进化分析,发现家蚕 TK 受体 BNGR-A24(*Bombyx mori* neuropeptide GPCR A24)与 DTKR 亲缘关系更近;而 BNGR-A32 和 BNGR-A33 与 NKD 具有较近的亲缘关系<sup>[46]</sup>,这在一定程度上也表明 TKR 与 NKD 属两类不同的 TK 受体。此外,He 等用 2 种不同细胞系即人胚胎肾细胞 HEK293 和草地贪夜蛾卵细胞系 Sf21(*Spodoptera frugiperda* ovarian cell line 21)分别表达了 BNGR-A24,随后用人工合成的家蚕 TK 检测生理活性,发现 TK1~TK6 (BmTK1~BmTK6)也分别能够快速提升细胞内 Ca<sup>2+</sup> 浓度及 cAMP 水平,cAMP 水平随多肽浓度增加具有一定的浓度依赖性。这些结果也进一步表明了 BNGR-A24 是 BmTK1~BmTK6 潜在的受体<sup>[47]</sup>。

随后一个重要试验证明了果蝇、家蚕乃至其他

一些模式昆虫的各种受体与各自配体的生物学关系。Jiang 等在果蝇、家蚕和赤拟谷盗等模式昆虫中鉴定出一类 C 端相对保守、序列上类似 TK 的神经肽(C 端为 FxxxRa 或 YxxxRa motif), 将其寓意为拉丁语“出生”(natalisin, NTL)、并用拉丁化的 NTL 命名<sup>[48]</sup>。该团队随后进行了“受体/候选配体”体外细胞活性验证, 结果显示果蝇 DNTL1~DNTL5 分别与受体 NKD 均有强烈的活性反应, 相比而言, DTK6 显现出的活性反应远低于 DNTL1~DNTL5; 而在家蚕中发现的 12 个 NTL 成熟多肽(BmNTL), 其中 BmNTL-1, BmNTL-3 和 BmNTL-5(FxxxRa motif)可强烈激活 BNGR-A33, 而 BmNTL-10 和 BmNTL-11(YxxxRa motif)强烈激活 BNGR-A32; 赤拟谷盗中发现的 2 个 NTL 对赤拟谷盗受体都具有生物活性反应<sup>[48]</sup>。自此, 困扰了 20 多年有关 TK 与其受体的寻找终于“尘埃落定”, 即 DTKR (TkR99D) 为 DTK 的受体, NKD (TkR86C) 为果蝇 NTL 的受体; 家蚕 BNGR-A24 为速激肽 BmTK 的受体, 而 BNGR-A32 和 BNGR-A33 为 BmNTL 的受体; 赤拟谷盗中也分别找到了

TK 和 NTL 及其相应受体。另外, 在已知膜翅目昆虫意大利蜜蜂和丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis* 基因组中, 并没有发现 NTL 及其受体, 而寄生于蜜蜂等膜翅目的常见螨虫则存在相应的 NTL 及其受体, 可以将螨虫 NTL 及其受体作为靶标基因, 这也为设计新的害虫靶标基因提供了很好的思路<sup>[48]</sup>。

有关昆虫 TK/TKR 信号转导机制和功能研究才刚刚开始, 在这些工作中, 浙江大学周耐明教授、堪萨斯州立大学 Park 和哈佛大学 Song 等领衔或所在的研究团队都做出了重要贡献<sup>[10, 17, 47-48]</sup>。他们分别在家蚕、赤拟谷盗和黑腹果蝇等模式昆虫中开展了相关研究, 发现了一些重要的保守信号通路, 即 TK 与受体结合多数会引起 cAMP、Ca<sup>2+</sup> 等上升, 可能通过 PLC/Ca<sup>2+</sup>/PKC 或 AC/cAMP/PKA 信号通路调控下游关键基因。同时, TK 与受体结合后还可通过 GRK5/PKC 激酶途径实现受体自身磷酸化, 通过招募  $\beta$ -arrestin2/Kurtz 蛋白复合体, 经网格蛋白包被小窝 (clathrin-coated pits) 快速将受体内吞, 随后受体通过去磷酸化并最终恢复至细胞膜表面, 形成完整信号转导过程<sup>[10]</sup> (图 3)。



引自文献[10]并作修改  
Cited from reference [10] and modified

图 3 PKC, GRK5 和  $\beta$ -arrestin2/BmKurtz 参与 TK/TKR 信号通路中配体依赖的内吞过程

Fig. 3 The signal pathway of ligand-dependent internalization tachykinin-related peptide receptor regulated by PKC, GRK5 and  $\beta$ -arrestin2/BmKurtz

## 7 速激肽生理功能与行为调节研究

### 7.1 参与信息物质合成和感受

TK 不仅具有促进成虫对信息化合物的感受,而且在性信息素合成、调控两性交配行为等方面具有重要功能。将转基因果蝇脑神经和咽下神经节中 TK 转录水平调低后,与对照品系相比,其对丁醇(butanol)、醋酸异戊酯(isoamyl acetate)和苯甲醛(benzaldehyde)等挥发性化合物的趋向选择性显著降低<sup>[7]</sup>。此外,研究还发现 TK 也参与昆虫对性信息素的感受。位于雄虫前足的味觉神经元受体 Gr68a,能够通过味觉系统参与感知雄性同类射精管球(ejaculatory bulb)释放的抑性欲信息素成分 CH503[(3R, 11Z, 19Z)-3-acetoxy-11, 19-octacosadien-1-ol],该性信息素成分是雄性交配过程中留给雌性的信息物质,可以降低交配过的雌性对其他同种雄性的吸引力,从而避免该雌虫与其他雄虫发生重复交配。这一重要功能的实现,首先是通过配体即性信息素 CH503 与 Gr68a 受体结合后快速激活该信号通路,进一步通过肽能细胞(peptidergic cell)将该信号传导至雄性中央脑(central brain),而咽下区域(subesophageal zone, SEZ)正是作为感受信息、参与抑制其他雄虫与该雌虫重复交配行为的黑匣子。该黑匣子接收到上游转导信号后,其区域分布的 8~10 个能够分泌 TK 的特异性神经元并快速响应,释放 TK 成熟多肽,其中 TK 参与的一条信号可通过 P1 神经元簇(P1 neuron cluster),最终表现出抑制雄虫与该雌虫交配行为。利用 RNAi 将果蝇雄成虫的 SEZ 区域内 TK 转录水平定点下调,这些特定区域 TK 下调后的雄虫在与已交配过的雌虫接触后,其感知 CH503 能力显著降低,不能有效避免重复交配<sup>[49]</sup>。将人工合成的飞蝗 TK (Lom-TK-III 和 Lom-TK-VI)<sup>[19]</sup>,注射到家蚕体内或利用含有 TK 成熟肽的培养液离体培养雌蛾的性信息素腺体,结果发现,两种方式均可促进家蚕雌成虫性信息素的合成,而且随着 TK 剂量的增加,雌性性信息素合成量具有显著的浓度依赖性<sup>[50]</sup>。此外,研究还发现由 TK 祖先进化形成的另一分支神经肽 natalisin,具有促进双翅目黑腹果蝇、橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 和鞘翅目赤拟谷

盗交配的功能<sup>[18,48,51]</sup>。但因物种差异性,鳞翅目蛾类与鞘翅目或双翅目性信息素合成机制差异较大。目前研究已证明鞘翅目<sup>[51]</sup>和蜚蠊目性信息素合成由保幼激素(juvenile hormone, JH)调控<sup>[52-53]</sup>,双翅目由蜕皮激素(20-hydroxyecdysone, 20E)调控<sup>[54]</sup>,而鳞翅目蛾类主要由性信息素合成激活肽(pheromone biosynthetic activating neuropeptide, PBAN)调控<sup>[55]</sup>。随着性信息素合成途径研究的深入,我们总结发现,自 Fónagy 首次报道 TK 参与性信息素合成之后<sup>[50]</sup>,TK 如何参与性信息素合成尚无新的报道,其作用机制也依然未知,而 TK 在参与家蚕等鳞翅目性信息素合成过程中扮演何种角色值得进一步探索。

### 7.2 参与取食及其他生理行为

昆虫在取食过程中,不仅受 JH 和 20E 这两大重要激素的影响,同时还受到诸多肽类激素的调节。研究表明,饥饿可诱导昆虫体内 TK 激素水平快速上升<sup>[56]</sup>。而增加 TK 量能够促进果蝇幼虫后肠收缩蠕动<sup>[57]</sup>,减少体内脂肪含量<sup>[17]</sup>,这可能与促进心侧体内 AKH 的释放、增加 cAMP 的水平具有一定的相关性<sup>[6]</sup>。同时,TK 还可减少体重增加量,显著缩短幼虫饥饿后搜寻食物时间<sup>[47]</sup>,这一现象与其他肽类激素如胰岛素(insulin)和 sNPF(short neuropeptide F)类似<sup>[58]</sup>。进一步研究发现,果蝇脑和中肠部分胰岛素信号通路受到 TK 信号的严格调控,而且共同参与了维持体内海藻糖水平、抵御虫体饥饿和氧化应激反应<sup>[56,59]</sup>。此外,TK 还参与了痛觉敏感信号通路(hedgehog signaling),该环路中 TK 所在的神经元发生突变后可以提升对热及紫外线的耐受性<sup>[60]</sup>。昆虫在整个生命阶段,时刻面临着各种环境压力,TK 的分泌有助于昆虫提升抗逆能力。自然界中,昆虫取食各种寄主植物或其他食物的同时,从环境中获得大量有益环境微生物<sup>[61]</sup>,取食后的食物在肠道微生物的参与下易于虫体吸收与利用,更重要的是,某些有益微生物产生的短链脂肪酸乙酸盐可有效激活虫体先天免疫通路,进而通过促进 TK 大量分泌,在维持肠道脂肪稳态乃至机体健康方面发挥着重要作用<sup>[16]</sup>。

## 8 展望

神经肽作为 JH 和 20E 之外的重要激素,在昆

虫生长发育及生理行为方面同样发挥着重要的作用。研究发现,TK 与其他 30 多类神经肽一样,均属于典型的脑-肠多肽。总结目前国内外已有的神经肽功能研究文献,发现其具有以下显著特征,有关脑部神经肽的试验侧重于行为功能研究,有关中肠组织内神经肽的试验则侧重代谢或免疫研究。因此,基于神经肽组织特异性和表达的时序性,对于昆虫 TK 的研究,已开始从传统的分离鉴定及基因克隆研究逐步转入基因功能与演化关系研究。一方面,可通过研究 TK 在不同类群昆虫中的共性特征,如参与脂质稳态<sup>[17]</sup>与饥饿下食物搜寻<sup>[56,59]</sup>,了解昆虫的取食与能量代谢机制。另一方面,发掘 TK 在不同类群中的特有功能,如具有聚集习性的切叶蚁 *Acromyrmex echinatior* 工蚁(worker caste)体内 TK 基因转录水平要显著高于独居型的蚁后(queen),可能与膜翅目特殊的社会性、或其蛋白序列中 TK 成熟肽数量较多具有一定的相关性<sup>[13,62]</sup>。此外,对昆虫 TK 现有功能的研究和未知功能的挖掘,有助于探索昆虫在取食寄主植物及逃避或适应天敌寄生过程中适合度权衡具有重要生态学意义,可进一步深入地阐释 TK 在微生物-昆虫-植物三级营养关系层面所扮演的重要角色<sup>[61,63]</sup>。

## 参考文献

- [1] BROWN M R, CRIM J W, ARATA R C, et al. Identification of a *Drosophila* brain-gut peptide related to the neuropeptide Y family [J]. *Peptides*, 1999, 20(9): 1035 - 1042.
- [2] KWOK R, CHUNG D, BRUGGE V T, et al. The distribution and activity of tachykinin-related peptides in the blood-feeding bug, *Rhodnius prolixus* [J]. *Peptides*, 2005, 26(1): 43 - 51.
- [3] MARTELLI C, PECH U, KOBENBRING S, et al. SIFamide translates hunger signals into appetitive and feeding behavior in *Drosophila* [J]. *Cell Reports*, 2017, 20(2): 464 - 478.
- [4] NÄSSEL D R, KIM M Y, LUNDQUIST C T. Several forms of callitachykinins are distributed in the central nervous system and intestine of the blowfly *Calliphora vomitoria* [J]. *The Journal of Experimental Biology*, 1995, 198 (Pt 12): 2527 - 2536.
- [5] NÄSSEL D R, PASSIER P C, ELEKES K, et al. Evidence that locustatachykinin I is involved in release of adipokinetic hormone from locust corpora cardiaca [J]. *Regulatory Peptides*, 1995, 57(3): 297 - 310.
- [6] NÄSSEL D R, VULLINGS H G, PASSIER P C, et al. Several isoforms of locustatachykinins may be involved in cyclic AMP-mediated release of adipokinetic hormones from the locust *Corpora cardiaca* [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 1999, 113(3): 401 - 412.
- [7] WINTHER A M E, ACEBES A, FERRÚS A. Tachykinin-related peptides modulate odor perception and locomotor activity in *Drosophila* [J]. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 2006, 31(3): 399 - 406.
- [8] CANAFF L, BENNETT H P, HENDY G N. Peptide hormone precursor processing: getting sorted? [J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 1999, 156(1/2): 1 - 6.
- [9] HARRIS R B. Processing of pro-hormone precursor proteins [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1989, 275(2): 315 - 333.
- [10] HE Xiaobai, YAN Lili, WU Qi, et al. Ligand-dependent internalization of *Bombyx mori* tachykinin-related peptide receptor is regulated by PKC, GRK5 and  $\beta$ -arrestin2/BmKurtz [J/OL]. *Biochimica et Biophysica Acta — Molecular Cell Research*, 2020, 1867(6): 118690. DOI: 10.1016/j.bbamer.2020.118690.
- [11] PAULS D, CHEN Jiangtian, REIHER W, et al. Peptidomics and processing of regulatory peptides in the fruit fly *Drosophila* [J]. *EuPA Open Proteomics*, 2014, 3: 114 - 127.
- [12] LI Bin, PREDEL R, NEUPERT S, et al. Genomics, transcriptomics, and peptidomics of neuropeptides and protein hormones in the red flour beetle *Tribolium castaneum* [J]. *Genome Research*, 2008, 18(1): 113 - 122.
- [13] HAN Bin, FANG Yu, FENG Mao, et al. Quantitative neuropeptidome analysis reveals neuropeptides are correlated with social behavior regulation of the honeybee workers [J]. *Journal of Proteome Research*, 2015, 14(10): 4382 - 4393.
- [14] XU Gang, GU Guixiang, TENG Ziwen, et al. Identification and expression profiles of neuropeptides and their G protein-coupled receptors in the rice stem borer *Chilo suppressalis* [J/OL]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 28976. DOI: 10.1038/srep28976.
- [15] YU Kaili, XIONG Shijiao, XU Gang, et al. Identification of neuropeptides and their receptors in the ectoparasitoid, *Habrobracon hebetor* [J/OL]. *Frontiers in Physiology*, 2020, 11: 575655. DOI: 10.3389/fphys.2020.575655.
- [16] KAMAREDDINE L, ROBINS W P, BERKEY C D, et al. The *Drosophila* immune deficiency pathway modulates enteroendocrine function and host metabolism [J]. *Cell Metabolism*, 2018, 28(3): 449 - 462.
- [17] SONG Wei, VEENSTRA J A, PERRIMON N. Control of lipid metabolism by tachykinin in *Drosophila* [J]. *Cell Reports*, 2014, 9(1): 40 - 47.
- [18] GUI Shunhua, JIANG Hongbo, XU Li, et al. Role of a tachykinin-related peptide and its receptor in modulating the olfacto-

- ry sensitivity in the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2017, 80: 71–78.
- [19] SCHOOF S L, HOLMAN G M, HAYES T K, et al. Locust tachykinin III and IV: two additional insect neuropeptides with homology to peptides of the vertebrate tachykinin family [J]. *Regulatory Peptides*, 1990, 31(3): 199–212.
- [20] SCHOOF S L, HOLMAN G M, HAYES T K, et al. Locust tachykinin I and II, two novel insect neuropeptides with homology to peptides of the vertebrate tachykinin family [J]. *FEBS Letters*, 1990, 261(2): 397–401.
- [21] MUREN J E, NÄSSEL D R. Seven tachykinin-related peptides isolated from the brain of the Madeira cockroach; evidence for tissue-specific expression of isoforms [J]. *Peptides*, 1997, 18(1): 7–15.
- [22] VANDEN BROECK J. Neuropeptides and their precursors in the fruitfly, *Drosophila melanogaster* [J]. *Peptides*, 2001, 22(2): 241–254.
- [23] ROLLER L, YAMANAKA N, WATANABE K, et al. The unique evolution of neuropeptide genes in the silkworm *Bombyx mori* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2008, 38(12): 1147–1157.
- [24] HUYBRECHTS J, BONHOMME J, MINOLI S, et al. Neuropeptide and neurohormone precursors in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2010, 19(S2): 87–95.
- [25] TANAKA Y, SUETSUGU Y, YAMAMOTO K, et al. Transcriptome analysis of neuropeptides and G-protein coupled receptors (GPCRs) for neuropeptides in the brown planthopper *Nilaparvata lugens* [J]. *Peptides*, 2014, 53: 125–133.
- [26] ONS S, STERKEL M, DIAMBRA L, et al. Neuropeptide precursor gene discovery in the Chagas disease vector *Rhodnius prolixus* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2011, 20(1): 29–44.
- [27] LAVORE A, PERE-GIANMARCO L, ESPONDA-BEHRENS N, et al. *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) transcriptomic analysis and neuropeptidomics [J/OL]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 17244. DOI: 10.1038/s41598-018-35386-4.
- [28] MUNEKATA E. Neurokinin A and B [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology and Toxicology*, 1991, 98(1): 171–179.
- [29] HARRISON S, GEPPETTI P. Substance P [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2001, 33(6): 555–576.
- [30] BAGGERMAN G, BOONEN K, VERLEYEN P, et al. Peptidomic analysis of the larval *Drosophila melanogaster* central nervous system by two-dimensional capillary liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2005, 40(2): 250–260.
- [31] DIESNER M, GALLOT A, BINZ H, et al. Mating-induced differential peptidomics of neuropeptides and protein hormones in *Agrotis ipsilon* moths [J]. *Journal of Proteome Research*, 2018, 17(4): 1397–1414.
- [32] LIU Xiaoguang, NING Xia, ZHANG Yan, et al. Peptidomic analysis of the brain and corpora cardiaca-corpora allata complex in the *Bombyx mori* [J/OL]. *International Journal of Peptides*, 2012, 2012: 640359. DOI: 10.1155/2012/640359.
- [33] PRATAVIEIRA M, DA SILVA MENEGASSO A R, GARCIA A M, et al. MALDI imaging analysis of neuropeptides in the Africanized honeybee (*Apis mellifera*) brain: effect of ontogeny [J]. *Journal of Proteome Research*, 2014, 13(6): 3054–3064.
- [34] TAKEUCHI H, YASUDA A, YASUDA-KAMATANI Y, et al. Identification of a tachykinin-related neuropeptide from the honeybee brain using direct MALDI-TOF MS and its gene expression in worker, queen and drone heads [J]. *Insect Molecular Biology*, 2003, 12(3): 291–298.
- [35] STONE J V, MORDUE W, BATLEY K E, et al. Structure of locust adipokinetic hormone, a neurohormone that regulates lipid utilisation during flight [J]. *Nature*, 1976, 263(5574): 207–211.
- [36] CONLON J M. Purification of naturally occurring peptides by reversed-phase HPLC [J]. *Nature Protocols*, 2007, 2(1): 191–197.
- [37] SITHIGORNGUL P, SARAITHONGKUM W, LONGYANT S, et al. Three more novel FMRFamide-like neuropeptide sequences from the eyestalk of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Peptides*, 2001, 22(2): 191–197.
- [38] VEENSTRA J A, AGRICOLA H J, SELLAMI A. Regulatory peptides in fruit fly midgut [J]. *Cell and Tissue Research*, 2008, 334(3): 499–516.
- [39] SKAER N J V, NÄSSEL D R, MADDRELL S H P, et al. Neurochemical fine tuning of a peripheral tissue: peptidergic and aminergic regulation of fluid secretion by Malpighian tubules in the tobacco hawkmoth *M. sexta* [J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2002, 205(Pt 13): 1869–1880.
- [40] GUO Xingting, YIN Chang, YANG Fu, et al. The cellular diversity and transcription factor code of *Drosophila* enteroendocrine cells [J]. *Cell Reports*, 2019, 29(12): 4172–4185.
- [41] LI Xiaojiang, WOLFGANG W, WU Yanna, et al. Cloning, heterologous expression and developmental regulation of a *Drosophila* receptor for tachykinin-like peptides [J]. *The EMBO Journal*, 1991, 10(11): 3221–3229.
- [42] MONNIER D, COLAS J F, ROSAY P, et al. NKD, a developmentally regulated tachykinin receptor in *Drosophila* [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1992, 267(2): 1298

- 1302.

- [43] GUERRERO F D. Cloning of a cDNA from stable fly which encodes a protein with homology to a *Drosophila* receptor for tachykinin-like peptides [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1997, 814: 310–311.
- [44] BIRSE R T, JOHNSON E C, TAGHERT P H, et al. Widely distributed *Drosophila* G-protein-coupled receptor (CG7887) is activated by endogenous tachykinin-related peptides [J]. *Journal of Neurobiology*, 2006, 66(1): 33–46.
- [45] POELS J, BIRSE R T, NACHMAN R J, et al. Characterization and distribution of NKD, a receptor for *Drosophila* tachykinin-related peptide 6 [J]. *Peptides*, 2009, 30(3): 545–556.
- [46] YAMANAKA N, YAMAMOTO S, ZITNAN D, et al. Neuropeptide receptor transcriptome reveals unidentified neuroendocrine pathways [J/OL]. *PLoS ONE*, 2008, 3(8): e3048. DOI: 10.1371/journal.pone.0003048.
- [47] HE Xiaobai, ZANG Jiashu, LI Xiangmei, et al. Activation of BNGR-A24 by direct interaction with tachykinin-related peptides from the silkworm *Bombyx mori* leads to the Gq- and Gs-coupled signaling cascades [J]. *Biochemistry*, 2014, 53(42): 6667–6678.
- [48] JIANG Hongbo, LKHAGVA A, DAUBNEROVÁ I, et al. Natalisin, a tachykinin-like signaling system, regulates sexual activity and fecundity in insects [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(37): E3526–E3534.
- [49] SHANKAR S, CHUA J Y, TAN K J, et al. The neuropeptide tachykinin is essential for pheromone detection in a gustatory neural circuit [J/OL]. *eLife*, 2015, 4: e06914. DOI: 10.7554/elife.06914.
- [50] FÓNAGY A, MATSUMOTO S, SCHOOF S L, et al. *In vivo* and *in vitro* pheromotropic activity of two locust tachykinin peptides in *Bombyx mori* [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1992, 56(10): 1692–1693.
- [51] BLOMQUIST G J, FIGUEROA-TERAN R, AW M, et al. Pheromone production in bark beetles [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, 40(10): 699–712.
- [52] SCHAL C, GU Xiaoping, BURNS E L, et al. Patterns of biosynthesis and accumulation of hydrocarbons and contact sex pheromone in the female German cockroach, *Blattella germanica* [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 1994, 25(4): 375–391.
- [53] CHEN Nan, LIU Yongjun, FAN Yongliang, et al. A single gene integrates sex and hormone regulators into sexual attractiveness [J]. *Nature Ecology & Evolution*, 2022, 6(8): 1180–1190.
- [54] TILLMAN J A, SEYBOLD S J, JURENKA R A, et al. Insect pheromones—an overview of biosynthesis and endocrine regulation [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1999, 29(6): 481–514.
- [55] DU Mengfang, LIU Xiaoguang, MA Nana, et al. Calcineurin-mediated dephosphorylation of acetyl-coA carboxylase is required for pheromone biosynthesis activating neuropeptide (PBAN)-induced sex pheromone biosynthesis in *Helicoverpa armigera* [J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2017, 16(12): 2138–2152.
- [56] SÖDERBERG J A E, BIRSE R T, NÄSSEL D R. Insulin production and signaling in renal tubules of *Drosophila* is under control of tachykinin-related peptide and regulates stress resistance [J/OL]. *PLoS ONE*, 2011, 6(5): e19866. DOI: 10.1371/journal.pone.0019866.
- [57] HADDAD A N S, DEFFERRARI M S, HANA S, et al. Expression and functional characterization of tachykinin-related peptides in the blood-feeding bug, *Rhodnius prolixus* [J]. *Peptides*, 2018, 99: 247–254.
- [58] ROOT C M, KO K I, JAFARI A, et al. Presynaptic facilitation by neuropeptide signaling mediates odor-driven food search [J]. *Cell*, 2011, 145(1): 133–144.
- [59] BIRSE R T, SÖDERBERG J A E, LUO Jiangnan, et al. Regulation of insulin-producing cells in the adult *Drosophila* brain via the tachykinin peptide receptor DTKR [J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2011, 214(Pt 24): 4201–4208.
- [60] IM S H, TAKLE K, JO J, et al. Tachykinin acts upstream of autocrine Hedgehog signaling during nociceptive sensitization in *Drosophila* [J/OL]. *eLife*, 2015, 4: e10735. DOI: 10.7554/eLife.10735.
- [61] HANNULA S E, ZHU Feng, HEINEN R, et al. Foliar-feeding insects acquire microbiomes from the soil rather than the host plant [J/OL]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 1254. DOI: 10.1038/s41467-019-09284-w.
- [62] HOWE J, SCHIÖTT M, BOOMSMA J J. Tachykinin expression levels correlate with caste-specific aggression in workers of the leaf-cutting ant *Acromyrmex echinatior* [J/OL]. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2016, 4: 55. DOI: 10.3389/fevo.2016.00055.
- [63] WANG Yanping, WU Xiaotong, WANG Zehua, et al. Symbiotic bracovirus of a parasite manipulates host lipid metabolism via tachykinin signaling [J/OL]. *PLoS Pathogens*, 2021, 17(3): e1009365. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009365.

(责任编辑: 杨明丽)