应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2014, 51(2): 317–328. DOI: 10.7679/j.issn.2095–1353.2014.038

前沿与综述

昆虫的变态发育研究*

曾保娟** 冯启理***

（昆虫分子与发育生物学实验室 广东省植物生物工程重点实验室 生命科学学院 华南师范大学 广州 510631）

摘 要 昆虫变态发育使得昆虫成为地球陆地上种类最多、数量最大、分布最广、生活环境最多样化的一群生物。变态使昆虫在其生命周期中的不同发育时期表现出完全不同的形态、结构、功能和生活习性的变化，有利于昆虫迁飞转移，扩大其求偶交配、生活和生存环境空间。昆虫变态发育的变化是长期自然环境适应、协同进化的结果，受激素、营养和基因的精确调控。本文简要介绍了昆虫变态的类型、激素调控、营养调控和基因调控方面的研究进展，以及研究昆虫变态发育的科学和应用意义。

关键词 变态发育，蜕皮激素，保幼激素，营养，受体

Study of insect metamorphosis

ZENG Bao-Juan** FENG Qi-Li****

(Laboratory of Molecular and Developmental Entomology, Guangdong Provincial Key Lab of Biotechnology for Plant Development, School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract Metamorphosis has allowed insects to become the biggest group of land organisms on the planet in terms of species number, overall numbers as well as to have a global distribution and huge diversity of living habits. Metamorphosis allows insects to have completely different morphological features, structures, functions and living habits at different life-stages, which greatly expands their behavioral and ecological range. Metamorphosis is a result of long-term adaption to the natural environment and co-evolution. Metamorphosis is accurately regulated by insect hormones, nutrients and gene expression. This review provides a brief introduction to the types of metamorphosis, its regulation by hormones, nutrients and genes, and the scientific and practical significance of research on metamorphosis.

Key words metamorphosis, ecdysone, juvenile hormone, nutrient, receptor

昆虫是地球陆地上种类最多、数量最大、生活环境最多样化的一群生物。正是由于昆虫在变态发育上的不同演化，使得昆虫千姿百态，绚丽多彩，分布广泛。所谓变态是指昆虫在其生命周期中不同发育时期表现出完全不同的形态、结构、功能和生活习性的变化。对于全变态昆虫来说，其一生中经历了卵、幼虫、蛹和成虫等发育阶段。许多昆虫常常有多个幼虫期，例如，家蚕有 5 个幼虫期。我们把从前一个幼虫期向后一个幼虫期的转变过程称为蜕皮（Ecdysis，Molting）；而把末龄幼虫化蛹，以及蛹向成虫转变的过程称为变态（Metamorphosis）。虽然昆虫的蜕皮和变态过程具有相似的地方，例如，都发生旧表皮脱落，新表皮形成；都受到昆虫激素的调控，但是，这两个过程仍有很大的区别。幼虫蜕皮过程通常不涉及新器官的形成，只是幼虫组织器官更新和个体的生长；而变态过程中，往往幼虫组织器官会退化，成虫器官形成和性成熟。

* 资助项目：国家自然科学基金（31330071；31172265）

** E-mail: 675827050@qq.com

***通讯作者，E-mail: qlfeng@scnu.edu.cn

收稿日期：2014-02-19，接受日期：2014-02-26

一般来说，幼虫蜕皮发育直到化蛹前，其生理功能和生活环境并不会发生巨大的改变，性器官不成熟，不能进行繁殖；而变态发育后其生理功能和生活环境往往发生巨大的改变，性器官成熟，可以进行繁殖。因此，变态发育对于昆虫来说，具有十分重要的意义。例如，幼虫没有翅，靠幼虫脚爬行运动；而成虫常常有脚并形成翅,可以飞翔，有利于昆虫迁飞转移，扩大其交配、生活和生存环境空间。幼虫表皮薄，不易忍受低温，化蛹后，或躲在茧中，或地下土壤中，并有厚厚的表皮包裹，使得昆虫能够度过寒冷的冬天。许多昆虫特别是农林业害虫，幼虫期以植物为专一食物，化蛹后，停止进食，而到了成虫，食性发生完全的改变，变成杂食性。昆虫这些变态发育的变化是长期自然环境选择、协同进化的结果。本文简要介绍昆虫变态的类型、激素调控、营养调控和基因调控方面的研究进展，以及研究昆虫变态发育的科学和应用意义。

1 昆虫变态的类型

按变态的不同程度，昆虫可分为完全变态和不完全变态昆虫。完全变态（Holometabolism）是指虫体自卵孵化后，经历了幼虫、蛹和成虫等过程，期间形态结构、生活方式和生活环境完全不同。绝大多数昆虫属于这种变态类型的昆虫，如常见的蝴蝶、飞蛾、蜜蜂、家蚕、苍蝇等。不完全变态（Hemimetabolism）是指虫体自卵孵化后，不经历幼虫、蛹和成虫等过程，仅经历若虫阶段发育到成虫，而若虫在形态、结构和生活习性上与成虫十分相似，只是幼虫身体较小。蝗虫，蜻蜓，螳螂，蟑螂，浮游等昆虫都属于不完全变态昆虫。不完全变态昆虫依若虫与成虫的形态特征和生活习性等差异程度的不同，还可以分为渐变态、半变态和过渐变态等类型。

2 昆虫变态发育的激素调控

2.1 促前胸腺激素的调控机理

昆虫变态受到多种昆虫激素的控制，其中最主要是促前胸腺激素（Prothoracicotropic hormone, PTTH）、蜕皮激素（Ecdysone）和保幼激素（Juvenile hormone, JH）。促前胸腺激素启动蜕皮与变态的发生；蜕皮激素起动和调控蜕皮与变态发育过程；而保幼激素调控变态发育的方向（Truman and Riddiford，2002）。PTTH 是一种小分子的昆虫神经肽，它在昆虫脑咽侧体（Corpus allatum）内分泌腺细胞中合成后，分泌到前胸腺（Prothoracic gland， PG），刺激蜕皮激素在前胸腺中的合成和分泌。PTTH 先后从烟草天蛾 *Manduca sexta* 鉴定纯化出来（Blackburn *et al.*，1995）。PTTH cDNA 首先从家蚕 *Bombyx mori* 中克隆出来（Kawakami *et al.*，1990），并于 1999 年从家蚕的脑分离纯化出体内的蛋白（Hua *et al.*，1999）。 烟草天蛾和家蚕 PTTH 蛋白均由 109 个氨基酸组成，含有 3 对链内二硫键和一对链间二硫键，在昆虫体内，PTTH 通常以二聚体的形式发挥生理学功能。2009 年，明尼苏达大学 O’Connor 和北卡大学 Gilbert 小组共同从黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 中鉴定出 PTTH 受体 Torso（Rewitz *et al.*，2009）。PTTH 受体 Torso 是一个受体酪氨酸激酶（Receptor tyrosine kinase, RTK）。当 PTTH 与 Torso 受体结合后，通过信号途径中的 Ras 和 Raf 等因子激活激酶 ERK 的磷酸化，启动了蜕皮激素的合成，从而触发了后续的变态发育系列活动（图 1）。

但是，这个结果最近受到挑战。澳大利亚的 Johnson 等（2013）发现，一个拟 Torso（Torso-like, Tsl）蛋白也定位于 PG 中并影响变态发育的进程，但其作用途径可能与 Torso 不同， 两者的作用是独立的，PTTH 异位表达后获得的变态表型不需要 *tsl* 的参与。他们认为，Tsl 可能通过不依赖于 PTTH/Tor 的信号途径控制了幼虫的大小和变态发育的进程。但不管 PTTH 的受体和其信号途径是什么，PTTH 在咽侧体合成后分泌到前胸腺，从而启动了蜕皮激素在前胸腺的合成和分泌。

2.2 蜕皮激素的调控机理

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）（Gilbert *et al.*，2002），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）异源二聚体结合后，诱导了大量转录因子基因的表达（Riddiford *et al.*，2000），这些转录因子再调控了与蜕皮或变态直接相关的靶基因的表达，最终导致变态的发生。

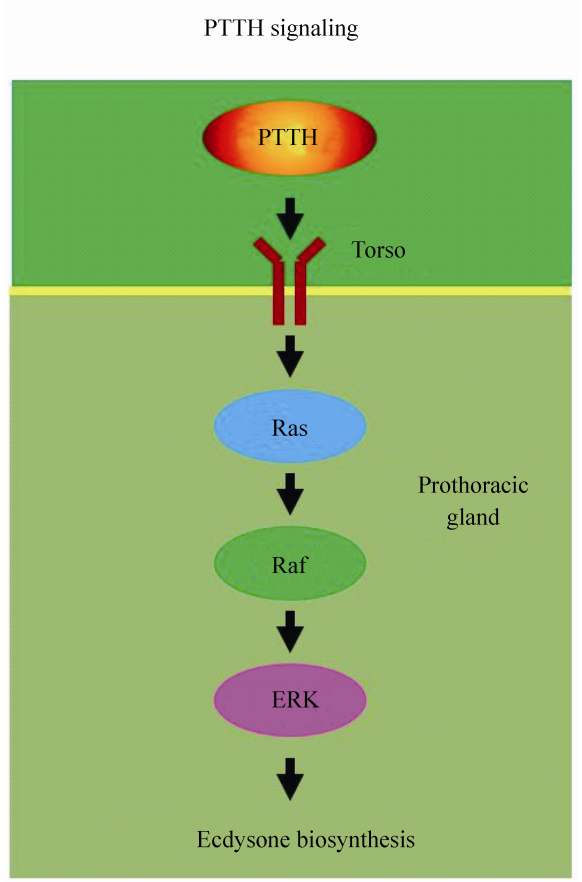

图 1　PTTH、受体 Torso 和 Torso/ERK 信号转导途径（引自 Rewitz 等，2009）

Fig. 1　PTTH, its receptor Torso and the Torso/ERK signal transduction pathway (from Rewitz *et al.*, 2009)

蜕皮激素受体于 1991 年首先从果蝇中克隆和鉴定得到（Koelle *et al.*，1991）。蜕皮激素受体是一个由非共价键连接起来的 EcR/USP 异源二聚体，这两个蛋白均是细胞核蛋白，具有非常相似的序列结构，但却是不同的两个蛋白，分别是哺乳类动物中的法尼醇 X 受体（Farnesoid X receptor，FXR）和维生素 A X 受体（Retinoid X receptor，RXR）蛋白同系物。它们均具有激素受体特征的几个关键结构域（图 2）：A/B 结构域是一个反式激活（*trans*-activation）靶基因转录的区域；C 结构域是与其靶基因调控区 DNA 相互作用的区域，因此该区域通常具有典型的与 DNA 结合的锌指结构。这个区域也对两个异源受体蛋白的相互结合发挥着重要的作用；D 结构域是铰链域（或变构域），使到两个异源受体蛋白能够通过空间结构的变动更好地靠近和结合。这个区域还具有细胞核定位信号，引导受体蛋白进入细胞核中；E 结构域是与激素配体结合的区域。激素与该区域结合后，改变了受体蛋白的构型，使之能结合到靶基因调控区的 DNA 上，从而激活靶基因的转录；F 结构域，位于羧基末端，是最不保守的区域，对于许多 USP 蛋白来说，没有 F 结构域，表明该结构域对于受体的功能可能没有很大的影响。当然，F 结构域也可能与受体的专一性有关。

在不同的昆虫中，或同一种类昆虫中，常常存在不同形式的 EcR 和 USP 同源异构体。例如，EcR-A 和 EcR-B，USP-A 和 USP-B。不同的受体异构体组合，会导致不同的调控功能。在果蝇中，EcR 有 3 种形式：EcRA、EcR-B1 和 EcR-B2，它们只是在 A/B 结构域上有所不同，其它结构域是完全相同的（Dela *et al.*，2000）。另外，这些异构体的表达谱和功能显然也是不同的，EcR-A 在将要分化成成虫组织的细胞中表达，而 EcR-B1 和 EcR-B2 主要在幼虫组织中表达（Schubiger *et al.*，2003；Davis *et al.*，2005）。果蝇中的 USP 也存在两种形式，USP-A 和 USP-B，它们在氨基末端的结构不同。在埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 中，也存在 USP-A 和 USP-B 两种异构体，并在表达时期上完全不同。USP-A 主要在低水平的蜕皮激素存在时表达；而 USP-B 主要在高水平的蜕皮激素存在时表达。因此，推测在埃及伊蚊中 USP-2 可能是与 EcR 作用的主要形式（Wang *et al.*，2000）。而在烟草天蛾 *Manduca sexta* 中，起主要作用的却是 EcR-B1/USP-A 而不是 EcR-B1/USP-B（Lan *et al.*，1999），

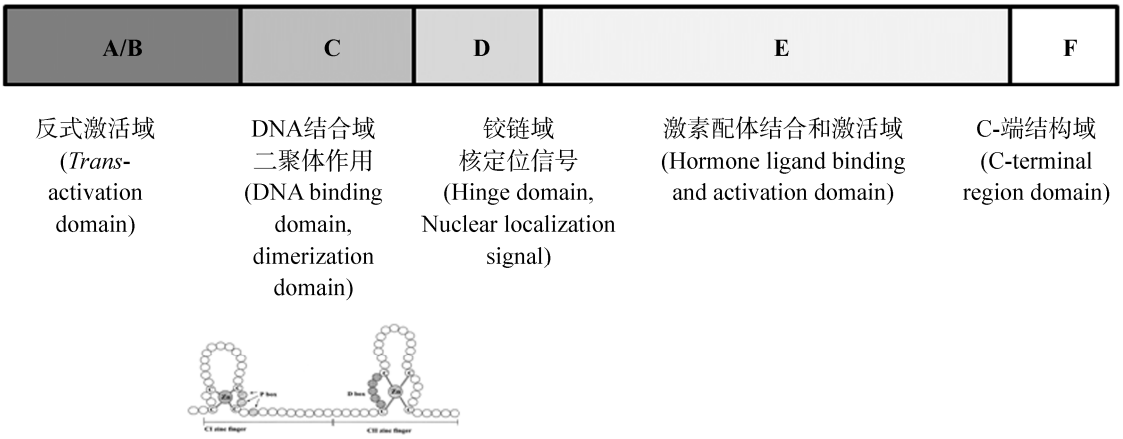

图 2　蜕皮激素受体 EcR 和 USP 蛋白的基本结构域示意图
Fig. 2　Scheme of structural domains of ecdysone receptors EcR and USP

在家蚕中既存在 EcR-A 也含有 EcR-B1 和 EcR-B2，但这两种异构体存在的组织和时期均不同（Kamimura *et al.*，1997）。在化蛹时，EcR-B1 在大多数组织中都有高水平的表达；而 EcR-A 则仅在前部丝腺高水平表达，且先于 EcR-B1 表达。不同昆虫中，不同的 EcR 和 USP 异构体的不同时期和组织的专一性表达，说明它们可能组合成不同的异源二聚体，发挥着不同的基因表达和发育事件的调控功能。另外，不同物种的 EcR 和 USP 是可以相互作用组成不同的异源二聚体调控靶基因转录的（Palli *et al.*，2005；Singh *et al.*，2010；Zotti *et al.*，2013），这个系统可以应用于杀虫剂筛选和转基因植物靶基因表达的调控。

EcR 与 USP 结合后，与变态发育相关的初级（早期）应答转录因子基因如*βFTZ-F1*、*BR-C*、*E75*、*E74* 和 *E93* 等的启动子反应元件结合，激活了它们的转录表达；而初级转录因子又调节了下游的次级（晚期）应答转录因子如 HR3、HR4、HR39 和 E78 等表达；这些转录因子的表达又进一步启动了大量与蜕皮直接相关的基因的表达，例如几丁质酶（Chitinase），几丁质合成酶（Chitin syntase），表皮几丁质结合蛋白（Cuticle protein）等（Deng *et al.*，2011，2012），通过这个基因级联放大表达过程，最终导致激素信号转变成生理和结构的变化，导致蜕皮和变态发育（图 3）。

2.3　保幼激素的调控机理

保幼激素（JH）是一种小分子的倍半萜类化合物，在昆虫脑部咽侧体中合成后，被运输到靶组织中发挥作用。当昆虫从一个龄期幼虫向下一个龄期幼虫发育时，往往同时有高水平的 JH 分泌，使到昆虫不会马上发育成蛹或成虫（蛾）。但在幼虫向蛹期发育时，体内 JH 水平下降，并在高水平蜕皮激素的作用下，幼虫向蛹变态发育。因此，JH 的生理作用主要是维持虫体的“年青”，只有当虫体内 JH 水平下降时，幼虫才能变态发育进入蛹期（Truman and Riddiford，2007）。另一方面，JH 也具有促进性器官成熟发育和成虫寿命的作用（Dubrovsky *et al.*，2002；Riddiford，2012；Yamamoto *et al.*，2013）。

尽管 JH 的存在和作用已发现了几十年，但到目前为止，JH 受体的分离和鉴定仍有许多工作要做，许多蛋白都被认为是昆虫 JH 的核受体，但还有待大量实验证据证明。由于 JH 是倍半萜类化合物，可以很容易与细胞的各种组分结合。因此，要鉴定 JH 专一受体在技术方法上还具有一定的难度。另外，JH 是疏水性化合物，很容易通过细胞膜和细胞质进入细胞核内。因此，一直有人认为细胞膜和细胞质中均存在 JH 结合的蛋白（或受体）（Chang *et al.*，1980；Kim *et al.*，1999）。

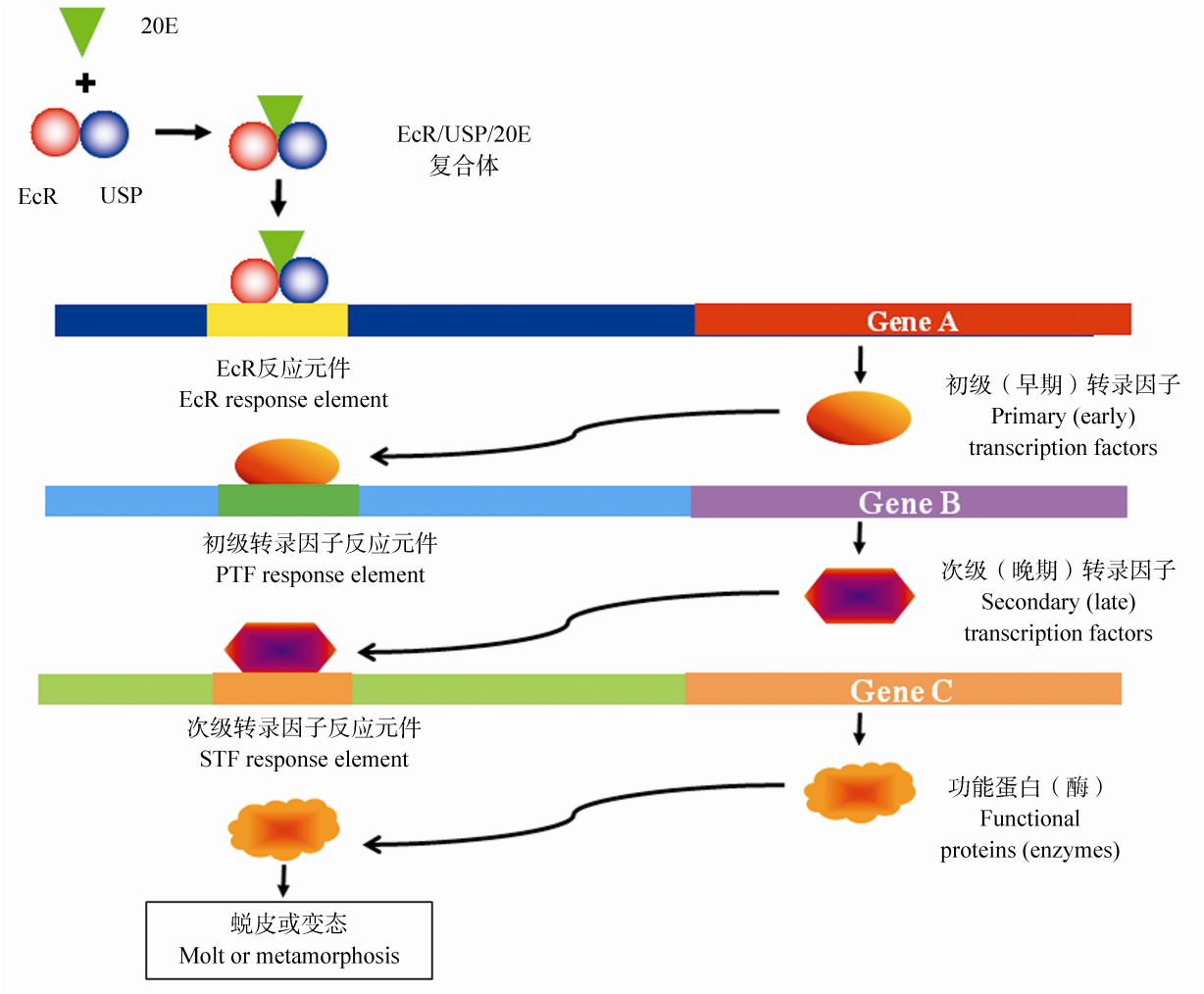

图 3　昆虫蜕皮激素信号传导途径通过转录因子的级联放大效应对昆虫变态发育的调控

Fig. 3　Metamorphosis regulation by the cascade effect of transcription factors in ecdysone signal transduction pathway

关于 JH 受体，Jones 和 Sharp（1997）认为，蜕皮激素异型二聚体受体中的 USP 蛋白也可能同时是 JH 受体。当 JH 与 USP 结合后，昆虫对 JH 响应，竞争性地抑制了蜕皮激素的作用；而当蜕皮激素与 USP 结合后，昆虫对蜕皮激素响应，竞争性地抑制了 JH 的作用（图 4：A）。这个理论可以解释为什么蜕皮激素与保幼激素在许多生理现象中呈现出相互拮抗的作用。但这个模型的主要问题是实验所证实的 USP 蛋白与 JH 的结合亲和力远远低于作为一个激素受体在生理条件下应具备的结合能力。因此，尚没有得到大多数人的接受。

越来越多的证据证明，另一个核转录因子 MET 可能是 JH 的受体，或者至少是一个非常关键的结合蛋白（Ashok *et al.*，1998）。MET 属于含有 helix-loop-helix（bHLH）-Per-Arnt-Sim（PAS）结构域的转录因子家族。MET 首先是从果蝇中鉴定出来的，这个核蛋白可以与 JH 结合（Charles *et al.*，2011），当编码这个蛋白的基因被突变后，果蝇就不能对 JH 响应，不能发育到成虫。后来的研究发现，另一个核蛋白甾醇受体共激活子（Steroid receptor co-activator, SRC）对于 JH 作用也是非常重要的（Zhang *et al.*，2011）。SRC 的表达受蜕皮激素 20E 的抑制。MET 蛋白与 JH 结合后，与激素受体 EcR/USP 复合物的共激活子 p160/SRC（FISC）结合成复合物，然后

与靶基因如 *Krüppel homolog 1*（*kr-h1*）的反应元件结合，从而发挥 JH 信号对靶基因的调控作用（Li *et al.*，2011；Kayukawa *et al.*，2012）（图 4：B）。研究还发现，在 JH 存在下，MET 可以竞争性地与蜕皮激素受体 USP 结合，形成 MET/USP 二聚体，再与受调控的靶基因反应元件结合（Guo *et al.*，2012）（图 4：C）。这些模型都能解释保幼激素与蜕皮激素的拮抗作用。还有研究表明，MET 还与另一个核蛋白 Cycle（CYC）结合，共同调控了 JH 信号传导途径中靶基因的表达（Shin *et al.*，2012）。目前，MET 蛋白被认为是 JH 信号传导途径中与 JH 结合的核受体蛋白，但同时还有争论。例如，JH 信号是昆虫幼虫发育所必须的，*met* 基因突变必然导致 JH 信号传导途径的中断，幼虫不可能发育到蛹，但 *met* 突变的果蝇仍能发育到蛹，这难以解释。但是，研究又发现，在果蝇中还存在另一个可与 JH 结合的 MET 同源蛋白 GCE（Germ cell-expressed），可以补偿 MET 蛋白的缺失，发挥 MET 蛋白的相同作用（Liu *et al.*，2009；Baumann *et al.*，2010；Abdou *et al.*，2011）。不管 MET 蛋白是否真的是 JH 受体蛋白，但越来越多的证据证明，MET 蛋白在保幼激素信号转导途径中起着非常关键性的作用（Jindra *et al.*，2013）。

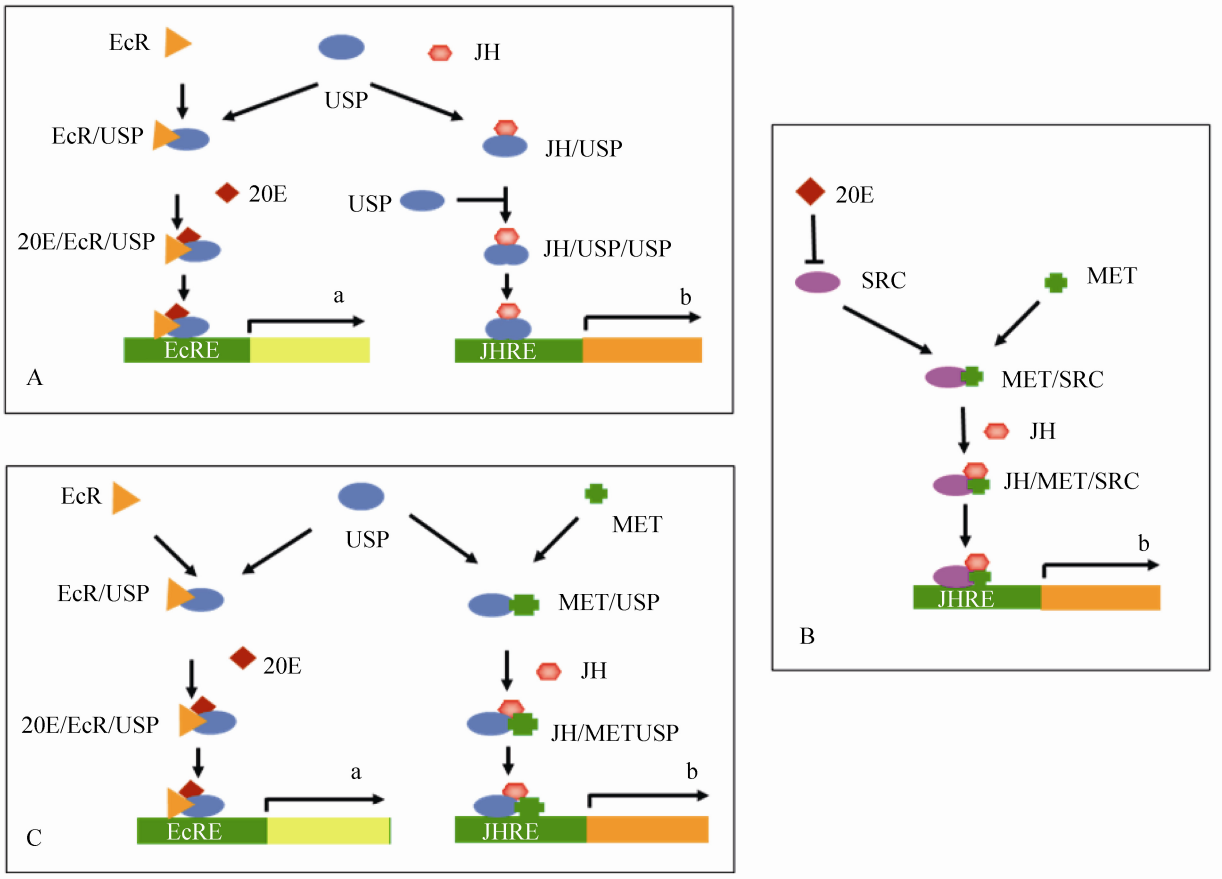

图 4　保幼激素与蜕皮激素相互拮抗的作用机理模型

Fig. 4　Scheme of antagonism mechanism of juvenile hormone and ecdysone

A. JH 和 20E 竞争性地与 USP 结合的模型（Jones 和 Sharp，1997）；B. 20E 抑制 SRC 从而抑制 JH 作用的模型（Kayukawa 等，2012）；C. MET 和 EcR 竞争性与 USP 结合的模型（Guo 等，2012）。

A. Scheme of the competitive binding of JH and 20E with USP (Jones and Sharp, 1997); B. Scheme of the 20E inhibition of SRC and JH action (Kayukawa *et al.*, 2012); C. Scheme of the competitive binding of MET and EcR with USP (Guo *et al.*, 2012).

作为一个激素受体，必须满足三个最基本的条件：一是高度专一性和特异性，受体蛋白与激素的结合必须是高度专一的和特异的，它不应该与体内的其它激素或化合物有明显的交叉结合作用，否则，不足以完成特定生理功能的精确调控作用；二是敏感性，受体蛋白与激素的结合必须在体内正常的生理浓度范围内，而体内的激素水平往往是很低的，激素信号通过信号传导过程才把信号逐步偶联放大，否则，不能起到精确调控作用；三是生理反应性。当受体蛋白与激素结合后，必须导致特异的细胞活动和生理反应，否则，只能被认为是激素的结合蛋白或运输蛋白。JH 受体及其信号传导途径的研究已经历了半个多世纪，至今仍然是昆虫生理学研究中的一个重大和热点科学问题，随着 JH 受体蛋白的鉴定，必对昆虫生理学研究和昆虫杀虫剂的研发产生巨大的推动作用。

3 昆虫变态发育的营养调控

变态是昆虫长期自然演化形成的一个正常发育过程，除了昆虫激素外，变态发育显然还受到营养和能量的调控。当昆虫幼虫的体积达到一定大小（或称阈值体重，Critical weight）后，在昆虫激素的作用下就会发生蜕皮，从一个龄期发育到下一个龄期。在末龄幼虫期，幼虫不仅仅蜕皮，同时还发生变态。无论是在幼虫的蜕皮期或虫蛹和蛹蛾的变态期，昆虫均暂时停止进食，不能从外部获得营养。因此，昆虫必须动用体内的营养和能量以实现形态与结构的变化和重建。因此，营养和能量供应对于变态发育具有十分重要的作用。

如上所述，蜕皮或变态是由蜕皮激素启动的，而蜕皮激素的合成是由 PTTH 的变化触发的，这个过程涉及到 phosphoinositide 3-kinase/Akt（PI3K/Akt）信号途径。Akt 是蛋白激酶 B（Protein kinase B）。PTTH 诱导了 Akt 的磷酸化后，启动了蜕皮激素的合成。研究发现，在昆虫中存在类胰岛素多肽 （Insulin-like peptide，如家蚕素 Bombyxin）。昆虫类胰岛素参与昆虫的变态发育已有大量的报道。一方面， Bombyxin 可以促进 Akt 的磷酸化（Nagata *et al.*，2008），并与 PI3K/Akt 信号途径相互作用调控蜕皮激素的合成（Gu *et al.*，2011）；另一方面，Bombyxin 通过 Insulin 途径可以降低血液中主要的碳水化合物蔗糖和海藻糖的浓度，促进它们转化成葡萄糖并运输到中肠和肌肉等器官被利用。Bombyxin 还可以促进脂肪体中糖原的磷酸化来增加糖原的利用，从而降低脂肪体中的糖原含量（Satake *et al.*，1997）。这样，昆虫的类胰岛素通过或调控蜕皮激素的合成和储存营养的动员这两方面的作用参与了昆虫的蜕皮和变态发育的调控。

研究发现，在家蚕中，当蜕皮和变态发生时，在蜕皮激素 20E 作用下，幼虫食物消耗减少导致饥饿，脂肪体大量裂解，脂肪甘油三酯脂肪酶（Adipose triacylglycerol lipase）基因 *Brummer* 表达上调，释放出可用于各种代谢的脂类物质（Wang *et al.*，2010）。但也有研究表明，20E 信号并不直接影响脂肪体的营养动员利用（Bond *et al.*，2010）。在果蝇中，20E 信号在幼虫达到阈值体重后，通过释放受抑制基因的表达，从而启动了翅原基不依赖于营养的分化发育（Mirth *et al.*，2009）。 保幼激素也显然通过类胰岛素途径参与了饥饿昆虫的脂肪和糖代谢。抑制 JH 合成与作用，JH 受体 MET 和类胰岛素 2（Insulin-like peptide 2，ILP2）合成均降低脂肪和糖代谢，增加昆虫对饥饿的忍受力。JH 还通过调控海藻糖的运输和代谢来保持海藻糖动态平衡，维持变态时饥饿昆虫储存营养的均衡利用（Xu *et al.*，2013）。

4 昆虫变态发育的基因调控

蜕皮激素与其复合受体 EcR/USP 结合后，诱导了早期应答转录因子基因的表达，这些转录因子再调控与蜕皮与变态直接相关的靶基因的表达，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。变态时，旧的幼虫组织器官退化，新的成虫组织器官形成。对于变态时新器官的形成，目前认为，一些新的成虫器官原基（Imaginal disc）在幼虫期其实已存在的，但其发育被抑制住，幼虫阶段并不继续进一步生长与分化。当受到蜕皮激素等发育信号的刺激，抑制作用被解除，新器官的分化与生长发育得以继续进行，最终形成新的器官（Truman and Riddiford，2002）。例如，昆虫翅发育是一个典型的变态过程。 幼虫时，翅以一团细胞的翅原基形式存在，并不发育成翅。当化蛹时，在蜕皮激素 20E 作用下，幼虫向蛹变态发育，同时翅原基在翅发育相关基因如表皮几丁质蛋白基因表达，使翅原基再度生长向翅分化发育。在家蚕中，20E 首先与其受体复合体结合，启动了早期转录因子 BmBR-C Z4 和 BmβFTZ-F1 的表达，BmBR-C Z4 再激活了转录因子 BmPOUM2 的表达，然后 BmPOUM2-L 和 BmβFTZ-F1 分别结合到蛹期专一表达的表皮几丁质蛋白 BmWCP4 基因的相应调控元件上，启动了 BmWCP4 的表达，从而导致了蛹期表皮几丁质蛋白的表达，使得翅原基向翅发育，以及幼虫实现向蛹期的变态发育（Deng *et al.*，2011，2012）（图 5）。这里，表皮几丁质蛋白与表皮几丁质结合，构成了蛹翅结构，因此，它是与翅变态发育直接相关的蛋白。

除了新器官（如成虫器官）形成外，变态时旧器官（如幼虫器官）是如何消亡的呢？对于旧器官的消亡，目前认为主要通过细胞程序性死亡如细胞凋亡和细胞自噬作用得以实现。细胞程序性死亡是生物发育过程中细胞按照预定的程序自主解体死亡的现象，是由发育程序自主控制或外界刺激信号诱导而发生的。当昆虫发生变态时，蜕皮激素水平上升后触发细胞程序性死亡相

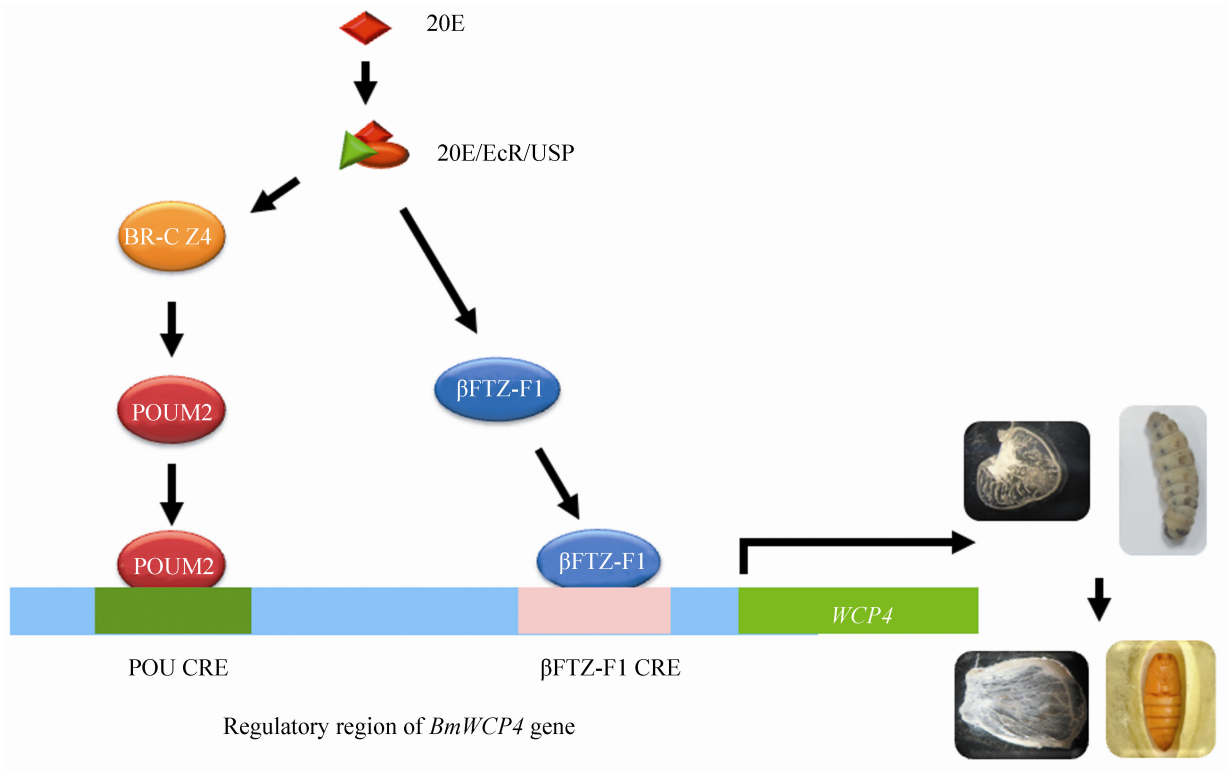

图 5　蜕皮激素调控家蚕翅原基表皮几丁质蛋白基因（*WCP4*）表达和翅发育的模型（Deng *et al.*，2011，2012）
Fig. 5　Scheme of the regulation of wing disc cuticle protein gene (*WCP4*) and wing disc development by ecdysone (Deng *et al.*, 2011, 2012)

关的基因表达，从而导致相应的幼虫器官如神经、肠道、丝腺、脂肪体等死亡和解体（Truman *et al.*, 1992；Li *et al.*, 2011；Franzetti *et al.*, 2012；Tian *et al.*，2013）。变态时，幼虫组织细胞的死亡显然是受 20E 启动的。在脂肪体中，20E 上调了细胞凋亡和细胞自噬相关基因的表达和启动了细胞死亡的发生；而通过 RNA 干扰技术抑制了蜕皮激素受体 USP，就抑制了细胞凋亡的发生（Tian *et al.*，2012，2013）。受 20E 诱导的组织蛋白酶 B 和 D（Cathepsin B and D）也参与了变态时脂肪体细胞的裂解和死亡（Gui *et al.*，2006）。在中肠中，20E 也诱导了细胞凋亡和细胞自噬相关基因的表达，并且细胞自噬的发生先于细胞凋亡的发生（Franzetti *et al.*，2012）。

另一个问题是在不同变态类型的昆虫中，变态调控是如何实现的？促前胸腺激素、蜕皮激素和保幼激素在不同变态类型的昆虫中已有发现，但不同昆虫存在不同形式和不同活性的昆虫激素，同一昆虫在不同发育时期可能也存在不同的激素种类。如 JH 0，JH I 和 JH II 存在于鳞翅目昆虫中，JH III 存在于大多数昆虫种类中，而 JH B3 主要存在于双翅目昆虫中。另外，蜕皮激素受体基因和蛋白在不同昆虫中的结构、表达、调控及活性也存在差异。蜕皮激素受体以及许多与蜕皮变态相关的转录因子都有不同的异型蛋白，如前所述，蜕皮激素受体 EcR 和 USP 至少有 A 和 B 两种异型蛋白。同样，蜕皮激素信号途径中的转录因子也有不同的同源蛋白，如 HR3 和 HR4、E75A 和 E75B、和 BR-C Z1-Z4 等，这些异型蛋白往往具有完全不同的调节作用。另外，在受蜕皮激素调节的转录因子基因的调节区往往含有多个与受体复合物结合的激素响应元件，当这些响应元件与不同的激素受体结合后，调控基因不同的表达反应。也许这些差异使得昆虫对激素的反应性不同，从而产生不同的生理和生化响应，最终呈现不同的变态效应和结果。这方面的研究目前仍存在大量未知的科学问题（Truman and Riddiford，2002）。

5 研究昆虫变态发育的意义

千姿百态种类繁多的昆虫是如何形成的呢？昆虫变态是昆虫长期与自然界其它生物和环境协同演化的结果，是其遗传物质与环境相互作用的结果。昆虫变态发育的细胞和分子机理是一个重大的科学问题，对此研究至少有 3 个方面的重要意义：第一，可以回答器官是如何发生的这一重要科学问题。哺乳类动物在胚胎发育的后期，各个器官都已经基本分化形成，并随着个体的发育而成熟，再没有新的器官形成。而昆虫则不同，全变态昆虫的成虫器官如翅只有在成虫时才出现，在幼虫期以翅原基的形式存在；幼虫常常多足，而成虫往往只有少量的腿；成虫的进食与消化系统、神经系统、视觉系统与幼虫的也完全不同。那么，新的蛹和成虫组织器官在胚胎发育后期是如何形成的？幼虫旧的组织器官又是如何退化消失的？是什么因素维持着未分化的原基细胞在幼虫期的相对静止而不进一步生长分化？什么因素触发了这些细胞在化蛹和化蛾时的重新生长和分化？这些过程涉及到细胞的分裂、分化及程序性死亡。利用哺乳类动物或人类开展这些研究显然有一定的限制。昆虫成虫组织器官在幼虫期的原基细胞本质上是属于未分化的干细胞（Stem cells）的范畴。对昆虫器官变态发育研究，可以为干细胞的分化和组织器官的形成的机理提供线索。第二，昆虫变态发育与环境适应性有关，是昆虫与其生态环境协同进化，长期自然选择的结果。生态环境是如何在细胞和分子水平上通过影响昆虫遗传物质的变异和表达来影响昆虫的变态发育的？或者说昆虫如何通过遗传物质的改变和活动实现不同的变态发育以适应环境，从而演化出巨大和丰富的多样性？这是非常有趣的科学问题。由于昆虫种类繁多，数量巨大，分布广泛，为系统演化等这方面的研究提供了很好的材料和模型。第三，昆虫变态发育与人类生活与生存息息相关。一方面，害虫与人类争夺资源，包括植物、粮食及环境。昆虫也是许多重要疾病病原的携带者和传播者。一

些益虫（如家蚕）又可为人类服务。对昆虫变态发育的研究，可为害虫防治和益虫利用的方法策略提供有效的分子靶标。另一方面，昆虫作为自然生态系统的一员，对生态系统的平衡起着重要的作用，例如，昆虫可为植物传粉；许多昆虫是昆虫天敌的食物链成员等等。因此，对昆虫变态发育的研究，不仅仅具有重要的科学意义，还具有重要的应用意义。

6 前景与展望

目前，多种变态类型昆虫的全基因组序列测定已经完成，例如，果蝇，蚊子、家蚕，蜜蜂、甲虫、蚜虫、蝽蟓、虱、寄生蜂等。随着更多全变态和不完全变态昆虫全基因组结构的测定以及相关的比较基因组学、功能基因组学以及蛋白组学的研究，对于进一步阐明昆虫变态发育的遗传控制和演化机理将有极大的帮助。也许将来在阐明昆虫变态发育的遗传和分子机理后，我们可以预测昆虫变态发育的方向，可以定向改变昆虫变态发育的进程，达到更有效地防治害虫的目的，或创造出全新的昆虫物种，使得昆虫更加千姿百态，绚丽多彩，更好地为人类服务。

参考文献 (References)

Abdou MA, He Q, Wen D, Zyaan O, Wang J, Xu J, Baumann AA, Joseph J, Wilson TG, Li S, Wang J, 2011. *Drosophila* Met and Gce are partially redundant in transducing juvenile hormone action. *Insect Biochem.Mol. Biol.*, 41(12): 938–945.

Ashok M, Turner C, Wilson TG, 1998. Insect juvenile hormone resistance gene homology with the bHLH-PAS family of transcriptional regulators. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(6): 2761–2766.

Baumann A, Barry J, Wang S, Fujiwara Y, Wilson TG, 2010. Paralogous genes involved in juvenile hormone action in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 185: 1327–1336.

Blackburn MB, Wagner RM, Kochansky JP, Harrison DJ, Thomas-Laemont P, Raina AK, 1995. The identification of two myoinhibitory peptides, with sequence similarities to the galanins, isolated from the ventral nerve cord of *Manduca sexta*. *Regul. Pept.*, 57(3): 213–219.

Bond ND, Hoshizaki DK, Gibbs AG, 2010. The role of 20-hydroxyecdysone signaling in *Drosophila* pupal metabolism. *Comp.Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 157(4): 398–404.

Charles JP, Iwema T, Epa VC, Takaki K, Rynes J, Jindra M, 2011. Ligand-binding properties of a juvenile hormone receptor, Methoprene-tolerant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108(52): 21128–21133.

Chang ES, Coudron TA, Bruce MJ, Sage BA, O'connor JD, Law JH, 1980. Juvenile hormone-binding protein from the cytosol of *Drosophila* Kc cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77(8): 4657–4661.

Davis MB, Carney GE, Robertson AE, Bender M, 2005. Phenotypic analysis of EcR-A mutants suggests that EcR isoforms have unique functions during *Drosophila* development. *Dev. Biol.*, 282(2): 385–396.

Dela Cruz FE, Kirsch DR, Heinrich JN, 2000. Transcriptional activity of *Drosophila melanogaster* ecdysone receptor isoforms and ultraspiracle in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Mol. Endocrinol.*, 24(2): 183–191.

Deng HM, Zheng SC, Yang XH, Liu L, Feng QL, 2011. Transcription factors BmPOUM2 and BmbFTZ-F1 are involved in regulation of the expression of the wing cuticle protein gene BmWCP4 in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Mol. Biol.*, 20(1): 45–60.

Deng HM, Zhang JL, Li Y, Zheng SC, Liu L, Huang LH, Xu WH, Feng QL, 2012. Homeodomain POU and Abd-A proteins regulate the transcription of pupal genes during metamorphosis of the silkworm, *Bombyx mori*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109(31): 12598–12603.

Dubrovsky EB, Dubrovskaya VA, Berger EM, 2002. Juvenile hormone signaling during oogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 32(11): 1555–1565.

Franzetti E, Huang ZJ, Shi YX, Xie K, Deng XJ, Li JP, Li QR, Yang WY, Zeng WN, Casartelli M, Deng HM, Cappellozza S, Grimaldi A, Xia Q, Feng Q, Cao Y, Tettamanti G, 2012. Autophagy precedes apoptosis during the remodeling of silkworm larval midgut. *Apoptosis*, 17(3): 305–324.

Gilbert LI, Rybczynski R, Warren JT, 2002. Control and biochemical nature of the ecdysteroidogenic pathway. *Annu. Rev. Entomol.*, 47: 883–916.

Gu SH, Young SC, Lin JL, Lin PL, 2011. Involvement of PI3K/Akt signaling in PTTH-stimulated ecdysteroidogenesis by prothoracic glands of the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 41(3): 197–202.

Gui ZZ, Lee KS, Kim BY, Choi YS, Wei YD, 2006. Functional role of aspartic proteinase cathepsin D in insect metamorphosis. *BMC Dev. Biol.*, 6: 49.

Guo E, He Q, Liu S, Tian L, Sheng Z, Peng Q, Guan J, Shi M, Li K, Gilbert LI, Wang J, Cao Y, Li S, 2012. MET is required for the maximal action of 20-hydroxyecdysone during *Bombyx* metamorphosis. *PLoS One*, 7(12): e53256.

Hua YJ, Tanaka Y, Nakamura K, Sakakibara M, Nagata S, Kataoka H, 1999. Identification of a prothoracicostatic peptide in the larval brain of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Biol. Chem.*, 274(44): 31169–31173.

Jindra M, Palli SR, Riddiford LM, 2013. The juvenile hormone signaling pathway in insect development. *Annu. Rev. Entomol.* , 58: 181–204.

Johnson TK, Crossman T, Foote KA, Henstridge MA, Saligari MJ, Forbes Beadle L, Herr A, Whisstock JC, Warr CG, 2013. Torso-like functions independently of Torso to regulate Drosophila growth and developmental timing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110(36): 14688–14692.

Jones G, Sharp PA, 1997. Ultraspiracle: an invertebrate nuclear receptor for juvenile hormones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94(25): 13499–13503.

Kamimura M, Tomita S, Kiuchi M, Fujiwara H, 1997. Tissue-specific and stage-specific expression of two silkworm ecdysone receptor isoforms - ecdysteroid-dependent transcription in cultured anterior silk glands. *Eur. J. Biochem.*, 248(3): 786–793.

Kawakami A, Kataoka H, Oka T, Mizoguchi A, Kimura-Kawakami M, Adachi T, Iwami M, Nagasawa H, Suzuki A, Ishizaki H, 1990. Molecular cloning of the *Bombyx mori* prothoracicotropic hormone. *Science*, 247: 1333–1335.

Kayukawa T, Minakuchi C, Namiki T, Togawa T, Yoshiyama M, Kamimura M, Mita K, Imanishi S, Kiuchi M, Ishikawa Y, Shinoda T, 2012. Transcriptional regulation of juvenile hormone-mediated induction of *Krüppel* homolog 1, a repressor of insect metamorphosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109(29): 11729–11734.

Kim F, Rewitz, Naoki Yamanaka, Lawrence I, Gilbert, Michael B, O'Connor1, 2009. The insect neuropeptide PTTH activates receptor tyrosine kinase Torso to initiate metamorphosis. *Science*，326(5958): 1403–1405.

Kim Y, Davari ED, Sevala V, Davey KG, 1999. Functional binding of a vertebrate hormone, L-3,5,3'-triiodothyronine (T3), on insect follicle cell membranes. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 29(10): 943–950.

Koelle MR, Talbot WS, Segraves WA, Bender MT, Cherbas P, Hogness DS, 1991. The *Drosophila* EcR gene encodes an ecdysone receptor, a new member of the steroid receptor superfamily. *Cell*, 67: 59–77.

Lan Q, Hiruma K, Hu X, Jindra M, Riddiford LM, 1999. Activation of a delayed-early gene encoding MHR3 by the ecdysone receptor heterodimer EcR-B1-USP-1 but not by EcR-B1-USP-2. *Mol. Cell Biol.*, 19(7): 4897–4906.

Li M, Mead EA, Zhu J, 2011. Heterodimer of two bHLH-PAS proteins mediates juvenile hormone-induced gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108(2): 638–643.

Li QR, Zheng SC, Liu L, Tettamanti G, Cao Y, Feng QL, 2011. Expression of autophagy-related genes in the anterior silk gland of *Bombyx mori* during metamorphosis. *Can. J. Zool.*, 89: 1019–1026.

Liu Y, Sheng Z, Liu H, Wen D, He Q, Wang S, Shao W, Jiang RJ, An S, Sun Y, Bendena WG, Wang J, Gilbert LI, Wilson TG, Song Q, Li S, 2009. Juvenile hormone counteracts the bHLH-PAS transcription factors MET and GCE to prevent caspase-dependent programmed cell death in *Drosophila*. *Development*, 136(12): 2015–2025.

Mirth CK, Truman JW, Riddiford LM, 2009. The ecdysone receptor controls the post-critical weight switch to nutrition-independent differentiation in *Drosophila* wing imaginal discs. *Development*, 136(14): 2345–2353.

Nagata S, Hakuno F, Takahashi S, Nagasawa H, 2008. Identification of *Bombyx mori* Akt and its phosphorylation by bombyxin stimulation. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.*, 151(3): 355–360.

Palli SR, Kapitskaya MZ, Potter DW, 2005. The influence of heterodimer partner ultraspiracle/retinoid X receptor on the function of ecdysone receptor. *FEBS J.*, 272(23): 5979–5990.

Rewitz KF, Yamanaka N, Gilbert LI, O'Connor MB, 2009. The insect neuropeptide PTTH activates receptor tyrosine kinase torso to initiate metamorphosis. *Science*, 326(5958): 1403–1405.

Riddiford LM, 2012. How does juvenile hormone control insect metamorphosis and reproduction? *Gen. Comp. Endocrinol.*, 179(3): 477–484.

Riddiford LM, Cherbas P, Truman JW, 2000. Ecdysone receptors and their biological actions. *Vitam. Horm.*, 60: 1–73.

Satake S, Masumura M, Ishizaki H, Nagata K, Kataoka H, Suzuki A, Mizoguchi A, 1997. Bombyxin, an insulin-related peptide of insects, reduces the major storage carbohydrates in the silkworm

Bombyx mori. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.*, 118(2): 349–357.

Schubiger M, Tomita S, Sung C, Robinow S, Truman JW, 2003. Isoform specific control of gene activity in vivo by the *Drosophila* ecdysone receptor. *Mech. Dev.*, 120(8): 909–918.

Singh AK, Tavva VS, Collins GB, Palli SR, 2010. Improvement of ecdysone receptor gene switch for applications in plants: *Locusta migratoria* retinoid X receptor (LmRXR) mutagenesis and optimization of translation start site. *FEBS J.*, 277(22): 4640–4650.

Shin SW, Zou Z, Saha TT, Raikhel AS, 2012. bHLH-PAS heterodimer of methoprene-tolerant and cycle mediates circadian expression of juvenile hormone-induced mosquito genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109(41): 16576–16581.

Tian L, Liu S, Liu H, Li S, 2012. 20-hydroxyecdysone upregulates apoptotic genes and induces apoptosis in the *Bombyx* fat body. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 79: 207–219.

Tian L, Ma L, Guo E, Deng X, Ma S, Xia Q, Cao Y, Li S, 2013. 20-hydroxyecdysone upregulates Atg genes to induce autophagy in the *Bombyx* fat body. *Autophagy*, 9(8): 1172–1187.

Truman JW, Riddiford LM, 2002. Endocrine insights into the evolution of metamorphosis in insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 47: 467–500.

Truman JW, Riddiford LM, 2007. The morphostatic actions of juvenile hormone. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 37(8): 761–770.

Truman JW, Thorn RS, Robinow S, 1992. 1: Programmed neuronal death in insect development. *J. Neurobiol.*, 23(9): 1295–1311.

Xu J, Sheng Z, Palli SR, 2013. Juvenile hormone and insulin regulate trehalose homeostasis in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *PLoS Genet.*, 9(6): e1003535.

Wang S, Liu S, Liu H, Wang J, Zhou S, Jiang RJ, Bendena WG, Li S, 2010. 20-hydroxyecdysone reduces insect food consumption resulting in fat body lipolysis during molting and pupation. *J. Mol. Cell Biol.*, 2(3): 128–138.

Wang SF, Li C, Zhu J, Miura K, Miksicek RJ, Raikhel AS, 2000. Differential expression and regulation by 20-hydroxyecdysone of mosquito ultraspiracle isoforms. *Dev. Biol.*, 218(1): 99–113.

Yamamoto R, Bai H, Dolezal AG, Amdam G, Tatar M, 2013. Juvenile hormone regulation of *Drosophila* aging. *BMC Biol.*, 11: 85.

Zhang Z, Xu J, Sheng Z, Sui Y, Palli SR, 2011. Steroid receptor co-activator is required for juvenile hormone signal transduction through a bHLH-PAS transcription factor, methoprene tolerant. *J. Biol. Chem.*, 286(10): 8437–8447.

Zotti MJ, De Geyter E, Swevers L, Braz AS, Scott LP, Rougé P, Coll J, Grutzmacher AD, Lenardão EJ, Smagghe G, 2013. A cell-based reporter assay for screening for EcR agonist/antagonist activity of natural ecdysteroids in Lepidoptera (Bm5) and Diptera (S2) cell cultures, followed by modeling of ecdysteroid-EcR interactions and normal mode analysis. *Pest. Biochem. Physiol.*, 107(3): 309–320.