

按蚊免疫相关基因及其多态性研究进展

冯欣宇 马雅军*

【摘要】 病原体感染媒介按蚊后,会引起一系列免疫反应,其过程涉及数量众多的免疫相关基因,包括病原体识别、信号调节、信号转导及效应反应等。初步研究表明按蚊免疫相关基因多态性与其易感性和进化相关。该文就近期按蚊免疫相关基因及其多态性研究进展进行综述。

【关键词】 按蚊;免疫相关基因;多态性

Research progress on immune-related genes and polymorphism of *Anopheles* mosquitoes FENG Xinyu, MA Ya-jun*. Department of Pathogen Biology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

* Corresponding author: MA Ya-jun, Email: yajunm@yahoo.com.cn

Supported by National Natural Science Foundation of China-Yunnan Joint Fund (U0932604)

【Abstract】 A series of immune response is elicited within vector *Anopheles* mosquitoes after the parasite infection. The process involves many immune-related genes, including pathogen recognition, signal modulation, signal transduction and effect reaction. The polymorphism of immune-related genes was preliminarily showed to relate with susceptibility and evolution. The research progress on immune-related genes and polymorphism of *Anopheles* mosquito was reviewed.

【Key words】 *Anopheles* mosquito; immune-related genes; polymorphism

按蚊隶属昆虫纲、双翅目、蚊科,有些种类可传播严重危害人体健康的疾病。按蚊的免疫系统与其他昆虫类似,主要依靠天然免疫系统识别、结合病原体后激活免疫反应,将入侵的病原体清除,而缺乏特异性 T、B 淋巴细胞介导的获得性免疫。在按蚊体内发生的免疫反应过程,依据顺序可分为 4 个阶段,即:病原体识别(pathogen recognition)、信号调节(signal modulation)、信号转导(signal transduction)和效应反应(effectors response)。目前,与按蚊免疫相关的基因研究主要集中在传疟媒介冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae*)复合体,在冈比亚按蚊中已经发现和确认 18 个基因家族的 242 个基因与免疫反应相关^[1]。媒介按蚊对疟原虫的免疫反应可决定其在蚊体内的发育,故按蚊免疫相关基因应是新型疟疾控

制方法中最具潜力的目标基因,按蚊免疫相关基因多态性研究也将为病原体-媒介的共进化关系提供新的解释。笔者就按蚊免疫相关基因及其多

态性在近年来的研究进展综述如下。

1 按蚊免疫相关基因

1.1 编码病原体识别相关蛋白的基因

天然免疫系统通常是通过模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)识别病原体或结合病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)而引发。

革兰阴性菌结合蛋白(gram-negative binding protein, GGBP)与肽聚糖识别蛋白(peptidoglycan recognition proteins, PGRPs)是蚊虫中最先被研究的模式识别受体。在冈比亚按蚊中,编码 GGBP 的基因家族已鉴定了 6 个基因,可分为亚家族 A 和 B^[2];编码 PGRP 的基因家族已鉴定了 7 个,隶属于短亚家族(PGRP-S)和长亚家族(PGRP-L)^[3],已证实 PGRP-S3 和 PGRP-L4 在激活昆虫免疫反应中起多重作用,包括黑化、噬菌和对革兰阴、阳性菌反应的信号通路等。

富含亮氨酸重复结构蛋白(leucine-rich repeat proteins, LRRs)中的富含亮氨酸的免疫分子(leucine-rich immune molecule, LRIM)属于分泌蛋白的一个家族,其典型特征为包含富含亮氨酸重复结构的 N 端,其后的富含半胱氨酸区域,以及可变的 C

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4122.2012.02.010

基金项目:国家自然科学基金委员会-云南省人民政府联合基金(U0932604)

作者单位:200433 上海,第二军医大学病原生物学教研室

* 通信作者:马雅军,Email: yajunm@yahoo.com.cn

端^[4]。LRIM1 最初是在伯氏疟原虫 (*Plasmodium berghei*)-斯氏按蚊 (*An. stephensi*) 模型中因具抗疟表型被确认,同时也是作为吞噬革兰阴性菌必要的因子^[5-7]。LRIM2 之前被称为按蚊应对疟原虫反应富含亮氨酸重复蛋白 1 (*Anopheles Plasmodium-responsive leucine-rich repeat protein 1, APL1*),该分子是在研究野外冈比亚按蚊的群体遗传差异与抗恶性疟原虫 (*P. falciparum*) 的相互关系时被发现^[8],APL1 由 3 个密切关联的基因编码,分别为 *APL1A*、*APL1B* 和 *APL1C*,其中仅 *APL1C* 负责对伯氏疟原虫的免疫表型^[9]。

C 型类凝集素蛋白 (c-type lectin-like proteins, CTLs) 通常与细胞膜上的多糖或游离于胞液中的糖结合为糖蛋白,以细胞黏附和细胞间相互作用等方式,识别病原体^[10]。类纤维蛋白原蛋白 (fibrinogen-like proteins, FBN) 是重要的模式识别受体,目前已从冈比亚按蚊免疫活性细胞系中鉴定了编码 FBN 的 7 个基因,推断其成员多达 59 个,FBN1、FBN2 和 FBN5 在血细胞和脂肪体中高度表达,FBN5 在中肠组织中中度表达,FBN8、FBN9 和 FBN39 参与抗疟原虫的防御^[11-12]。

含硫脂蛋白 (thioester-containing proteins, TEPs) 存在于从低等动物到人类的大多数生物体。TEP 基因家族有一个保守的硫脂基序,编码补系统的重要蛋白,并作为蛋白酶的普遍抑制子 α -2 巨球蛋白,在其水解之后,含硫脂蛋白利用硫脂键共价结合附近目标,然后由吞噬细胞吞噬或由攻膜复合体 (membrane attack complex) 消灭病原体,在冈比亚按蚊基因组中已确认了 15 个 TEP 基因^[13]。

MDL1 和 *MDL2* 属于一个包括 13 个成员的基因家族,编码类 MD-2 蛋白 (MD-2-like protein),在恶性疟原虫合子入侵中肠组织后诱导表达^[14]。*MDL1* 位于染色体 3L,由 3 个外显子和 750 bp 的转录区组成,AgMDL1 是冈比亚按蚊针对恶性疟原虫特定的免疫防御识别受体。*MDL2* 位于染色体 2R,全长 3 915 bp,包含 4 个外显子,转录区 710 bp 中仅 498 bp 编码氨基酸^[15]。

1.2 编码信号调节相关蛋白的基因

按蚊在对感染的病原体识别后,通过激活丝氨酸蛋白酶和削弱丝氨酸蛋白酶抑制子的作用,放大危险信号或终止假警报等一系列细胞外级联反应处理接收到的信号,并且将有效信号传递至下游效应机制,进而发挥诸如凝集反应、黑化反应及抗菌

肽合成等非特异性免疫功能。

丝氨酸蛋白酶抑制蛋白 (serpins, SRPNs) 为一种针对丝氨酸蛋白酶不可逆转的自杀性抑制子,丝氨酸蛋白酶级联反应受到 SRPNs 的严格控制。冈比亚按蚊中有 14 个 SRPN,其中 10 个是抑制物,非抑制性的 SRPN 的特征尚不清楚,仅显示具激素传递和血压调节作用^[1]。有学者对易感的冈比亚按蚊 *SRNP* 沉默后,发现可诱发包括黑色假瘤形成、动合子溶解及黑化等反应,并与伯氏疟原虫入侵中肠有明显关联;对 *SRPN1* 和 *SRPN3* 进行 RNA 干扰后,与对照组相比,实验组蚊对疟原虫在感染度上无明显效应^[16]。丝氨酸蛋白酶发夹域 (the clip domain serine proteases, CLIPs) N 端为二硫键交联结构,C 端为类胰岛素结构,具有调节和局部活化催化激酶的功能^[17]。目前发现冈比亚按蚊 41 个基因编码 CLIPs,可分为 4 个基因家族,通过对其基因组的生物信息学分析,将 *CLIPs* 定义为 *CLIPA* 和 *CLIPB* 两类,*CLIPA* 包括 10 个编码催化抑制丝氨酸蛋白酶类似物 (serine proteinase homologs, SPHs) 的基因,*CLIPB* 包括 17 个编码催化激活酶的基因^[18-20]。

1.3 编码信号转导相关蛋白的基因

信号转导途径是连接病原体识别和发挥效应作用的中间过程。研究发现按蚊体内存在 3 条控制机体免疫反应的信号转导通路,即 Toll 通路、IMD (immune deficiency) 通路和 JAK (janus kinase)/STAT (signal transducer and activator of transcription) 通路,通过一系列蛋白裂解级联反应影响体液免疫、细胞免疫和生长发育等。

关键基因 Toll 通路的激活是依赖于 PGRPs 对病原体的识别,然后激活丝氨酸蛋白酶级联反应,并最终导致胞外腺的蛋白水解活化反应。基于 Toll 蛋白传来的信号在细胞浆内与 MyD88、Tube、Pelle 和 Cactus 形成相互作用的蛋白激酶复合体,以抵御革兰氏阳性菌和真菌感染。Toll 通路涉及到一系列基因,包括: *PGRP*、*Toll*、*MyD88*、*Tube*、*Pelle*、*Rel1* 和 *Cactus* 等。目前在冈比亚按蚊已鉴定了 11 个 Toll 基因,其中 4 个与果蝇同源,即 *Toll6*、*7*、*8* 和 *9*^[21]。IMD 通路是当病原体被 PGRP 识别后,通过细胞外免疫识别分子相互作用触发一系列胞内反应,导致特定的免疫相关基因表达,包括抗菌肽的合成等,该通路与哺乳动物的肿瘤坏死因子通路相似^[22-23]。JAK/STAT 通路因激酶或转录因子控制该通路活化而命名,在细菌感染果蝇时发挥重要作用^[24]。目前

在冈比亚按蚊中确认了 2 个 STAT 转录因子 STAT-A 和 STAT-B,而在埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)和果蝇中仅发现了 1 个^[25]。有学者在埃及伊蚊抗病毒免疫反应中对 JAK/STAT 通路进行了研究,但在疟原虫-按蚊相互关系中尚未进行细致的探索^[26-27]。

1.4 编码效应反应相关蛋白的基因

经过病原体识别,信号调节及信号转导后,转录因子同基因调节区中特定位点结合诱导 RNA 聚合酶进行转录,此过程涉及数量众多的基因,分别为编码前酚氧化酶(prophenoloxidasen, PPOs)黑化系统、抗菌肽(antimicrobial peptides, AMPs)和吞噬系统的相关基因等 3 大类。

前酚氧化酶促使的黑化反应是重要的免疫反应之一,PPO 原酶围绕血淋巴,通过酶原结构域裂解激活,参与黑色素合成,促使外皮骨化、伤口愈合、对病原体黑化并包裹^[28-29];最近还发现 PPOs 与血淋巴凝集有关^[30]。编码 PPOs 的基因没有信号肽标志,提示 PPOs 是由血细胞破裂产生,不是分泌而来。

抗菌肽由脂质体合成并分泌到血淋巴中,也有少部分由表皮细胞合成,被认为是昆虫感染微生物后的激素反应。从冈比亚按蚊中已鉴定出 4 个编码抗菌肽的基因家族,包括天蚕素(cecropin, CEC)基因、防御素(defensin, DEF)基因、GAM(gambicin)基因和攻击素(attacin)基因。CEC 是碱性蛋白,相对分子质量小($\approx 4\ 000$),具有广谱的抗菌能力^[31-32]。编码 CEC 的基因位于 X 染色体,不同的等位基因型可对疟原虫混合基因型感染产生较高的免疫效能,文献报道 CEC1 等位基因型与恶性疟原虫感染相关^[33]。DEF 是富含半胱氨酸的多肽,是蚊虫最初应对各种病原体产生的效应分子^[34],主要在幼虫和成虫的脂质体中合成、分泌到血淋巴中持续低度表达,但感染病原体后可急剧增加表达。GAM 是一个富含半胱氨酸,共 61 个氨基酸残基的免疫诱导蛋白,成熟的 GAM 对革兰阳性和阴性菌、丝状真菌,以及疟原虫动合子阶段都会有产生免疫作用。GAM 基因表达的模式与 DEF 和 CEC 相似,在蚊前中肠、胸部及腹部都有明显表达^[35]。

吞噬作用是蚊虫在进化上保守的一种细胞免疫反应,此反应中所涉及的血细胞识别,吞噬和杀灭病原体等过程会产生可溶性的调理素、TEP1、TEP3、TEP4 和 LRIM1 等脂蛋白受体相关蛋白^[36]。Dscam 是一种细胞黏附分子,属于免疫球蛋白超家

族,有报道表明在蚊细胞系中可调节对大肠杆菌和金色葡萄球菌的吞噬作用,编码 Dscam 的基因 *AgDscam* 包含 101 个外显子,能产生 31 000 个不同的剪辑异构体^[32]。在按蚊感染疟原虫后一氧化氮(nitric oxidase, NO)可在中肠产生,对入侵的疟原虫和细菌均有杀灭作用,并能抑制疟原虫的生长发育^[37-38]。在冈比亚按蚊中, H_2O_2 水平在血餐后显著增加, H_2O_2 和 NO 同样参与按蚊的免疫防御过程^[39]。

本文所述的免疫反应基本阶段是按照在蚊体内发生的顺序进行的简单划分,实际的免疫应答中,通常是形成交错的网络结构和复杂的调控机制行使具体的功能。如:最近发现的 LRIM1/APL1C/TEP1 蛋白复合体即是决定寄生虫在其蚊媒体内“命运”所形成复杂网络结构的具体表现;*AgGNBP4* 可调节多个免疫相关基因在体内的表达,如:*GAM*、防御素 1、天蚕素 3、*LRIM1*、*CLIPB14* 和 *PCRP-LC3* 等^[40]。另外,有证据表明 GNBP 还可针对不同的病原体,在激活 IMD 和 Toll 信号通路上发挥双重作用;PPO 级联反应是由模式识别受体结合病原体表面分子引发;PPO 的活化与凝聚素及 GNBP 相关联;NO 是由 JAK/STAT 或其他信号通路诱导产生^[2]。

2 按蚊免疫相关基因多态性

初步研究表明免疫相关基因在群体内、群体间,以及种间的多态性,可揭示各种选择压力下免疫的进化过程,且与病原体的易感性相关。

Mendes 等^[3]报道 *PGRP-S1*、*PGRP-S2* 和 *PGRP-S3* 在冈比亚按蚊和阿拉伯按蚊(*An. arabiensis*)的野生群体中均存在一定的遗传多态性,*PGRP-S2* 和 *PGRP-S3* 的多态性高于 *PGRP-S1*; *PGRP-S1* 多态性程度在种间不同,推测与该基因位于 X 染色体有关;*PGRP-S2* 和 *PGRP-S3* 位于染色体 2L,受到纯化选择的压力,表明其功能受到制约。分析冈比亚按蚊复合体[冈比亚按蚊、阿拉伯按蚊及四环按蚊(*An. quadriannulatus*)]DEF 的多态性,发现编码成熟肽区及编码区总体多态性比非编码区低;不同蚊种同一成熟肽区,非同义突变比同义突变水平明显低;在冈比亚按蚊群体间遗传分化程度低,而种间成熟肽区域多态性较高,提示在成熟肽区甚至整个编码区为很强的纯化选择^[41]。Lehmann 等^[42]通过分析 *SP14D1*、*GNBP*、*defensin* 和 *gambicin* 等免疫基因的多态性来揭示选择效应,在阿拉伯按蚊和冈比亚按蚊群体中各基因编码区的核苷酸多态性明显低于非编码区,比较种内相同基因不同功能单位的

多态性模式,发现选择效应发生在不同的时间范围。Parmakelis 等^[43]研究了冈比亚按蚊复合体 6 个成员种的 *gambicin*, *NOS*, *Rel2* 和 *FBN9*, 均发现有基因滞留和祖先多态性共享现象,但没有明显的证据说明正向选择作用于上述基因。Blandin 等^[13]发现冈比亚按蚊种内 *LRIM1* 具有相当的多态性,其中出现的类阿拉伯按蚊等位基因是因基因渗入而非祖先多态性的保留。分析冈比亚按蚊复合体 *MDL1* 的 76 条序列,发现了 66 个等位基因,仅其中 1 个等位基因在堡巴按蚊 (*An. bwambae*) 和四环按蚊中共享;*MDL2* 的 49 条序列中有 34 个等位基因,无种间共享类型;*FBN8* 的 50 条序列中有 37 个等位基因,其中 5 个为种间共享型;49 条 *CLIPB14* 序列中有 48 个等位基因,无共享类型;*CLIPB14* 和 *FBN8* 的进化处于正选择压力之下,祖先多态性的保留或渗入现象在所有的位点中都非常罕见,尽管存在一些潜在的混杂效应,但还是能确认 dN/dS 大于 1 的位点^[15]。Oliveira 等^[44] (2011) 比对分析了 *FBN9* 基因在新热带区 4 种按蚊[达林按蚊 (*An. darling*)、努氏按蚊 (*An. nuneztovari*)、*An. aquasalis* 和白跗按蚊 (*An. albitalis*)] 与冈比亚按蚊的序列差异,在氨基酸水平高度保守,核苷酸序列的少数位点出现分化,且为非同义替换;基于核苷酸序列的聚类分析显示新热带区的按蚊与非洲的蚊种位于不同的进化分支,正好对应两个亚属。

此外,一些按蚊免疫相关基因的多态性与病原体的易感性表现出一定程度的关联。在非洲马里采集的冈比亚按蚊中有 3 个 SNP 位点与疟原虫感染有关,其中 2 个位于 *Toll5B* 基因,均与野外蚊虫对恶性疟原虫的感染度明显相关,另 1 个位于类胰岛素 3 前肽 (insulin-like peptide 3 precursor) 的编码区^[45]。在 *Toll6* 上发现的 SNP 非同义突变,可能会对邻近位点造成另一个 SNP,此处可间接作用于寄生虫从而影响到下游免疫通路信号传导。位于 *CEC1* 与 *CEC3* 间的 500 bp 中发现的 SNP 位点,可能会在调节区域引发新的 SNP,影响上述两个基因的表达,或是导致其中一个基因的编码区出现非同义替换^[46]。杂合子对恶性疟原虫的抗感染能力要高于纯合子,这与遗传杂合能够提升宿主对病原体免疫力的理论一致。

3 展望

在过去的 10 年中,有关媒介按蚊免疫的相关知识以前所未有的速度在更新和发展,冈比亚按蚊基

因组的完成也为其与病原体相互关系的研究提供了广阔的契机。本文所述的免疫相关基因是近年研究较为集中的部分,而按蚊免疫相关基因多态性的研究尚属起步阶段。研究者期望通过阐明免疫相关基因在群体和种水平的遗传差异,并分析其与传疟作用的相互关系,为制定新的媒介控制手段提供理论依据。

参 考 文 献

- [1] Christophides GK, Zdobnov E, Barillas-Mury C, et al. Immunity-related genes and gene families in *Anopheles gambiae* [J]. Science, 2002, 298(5591): 159-165.
- [2] Kim YS, Ryu JH, Han SJ, et al. Gram-negative bacteria-binding protein, a pattern recognition receptor for lipopolysaccharide and beta-1,3-glucan that mediates the signaling for the induction of innate immune genes in *Drosophila melanogaster* cells [J]. J Biol Chem, 2000, 275(42): 32721-32727.
- [3] Mendes C, Felix R, Sousa A, et al. Molecular evolution of the three short PGRPs of the malaria vectors *Anopheles gambiae* and *Anopheles arabiensis* in East Africa [J]. BMC Evol Biol, 2010, 10: 9.
- [4] Povelones M, Waterhouse RM, Kafatos FC, et al. Leucine-rich repeat protein complex activates mosquito complement in defense against *Plasmodium* parasites [J]. Science, 2009, 324(5924): 258-261.
- [5] Moita LF, Vriend G, Mahairaki V, et al. In vivo identification of novel regulators and conserved pathways of phagocytosis in *Anopheles gambiae* [J]. Immunity, 2005, 23(1): 65-73.
- [6] Osta MA, Christophides GK, Kafatos FC. Effects of mosquito genes on *Plasmodium* development [J]. Science, 2004, 303(5666): 2030-2032.
- [7] Warr E, Lambrechts L, Koella JC, et al. *Anopheles gambiae* immune responses to Sephadex beads: involvement of anti-*Plasmodium* factors in regulating melanization [J]. Insect Biochem Mol Biol, 2006, 36(10): 769-778.
- [8] Riehle MM, Markianos K, Niare O, et al. Natural malaria infection in *Anopheles gambiae* is regulated by a single genomic control region [J]. Science, 2006, 312(5773): 577-579.
- [9] Riehle MM, Xu J, Lazzaro BP, et al. *Anopheles gambiae* APL1 is a family of variable LRR proteins required for rel1-mediated protection from the malaria parasite, *Plasmodium berghei* [J]. PLoS ONE, 2008, 3(11): e3672.
- [10] Schnitger AK, Yassine H, Kafatos FC, et al. Two C-type lectins cooperate to defend *Anopheles gambiae* against gram-negative bacteria [J]. J Biol Chem, 2009, 284(26): 17616-17624.
- [11] Dimopoulos G, Casavant TL, Chang S, et al. *Anopheles gambiae* pilot gene discovery project: identification of mosquito innate immunity genes from expressed sequence tags generated from immune-competent cell lines [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(12): 6619-6624.
- [12] Dong Y, Dimopoulos G. *Anopheles* fibrinogen-related proteins provide expanded pattern recognition capacity against bacteria and malaria parasites [J]. J Biol Chem, 2009, 284(15): 9835-9844.
- [13] Blandin S, Shiao SH, Moita LF, et al. Complement-like protein TEPI is a determinant of vectorial capacity in the malaria vector *Anopheles gambiae* [J]. Cell, 2004, 116(5): 661-670.
- [14] Dong Y, Aguilar R, Xi Z, et al. *Anopheles gambiae* immune re-

- sponses to human and rodent *Plasmodium* parasite species [J]. PLoS Pathog, 2006, 2(6): e52.
- [15] Pamkelis A, Moustaka M, Poulakakis N, et al. *Anopheles* immune genes and amino acid sites evolving under the effect of positive selection [J]. PLoS ONE, 2010, 5(1): e8885.
- [16] Michel K, Budd A, Pinto S, et al. *Anopheles gambiae* SRPN2 facilitates midgut invasion by the malaria parasite *Plasmodium berghei* [J]. EMBO Rep, 2005, 6(9): 891-897.
- [17] Yu XQ, Jiang HB, Wang Y, et al. Nonproteolytic serine proteinase homologs are involved in prophenoloxidase activation in the tobacco hornworm, *Manduca sexta* [J]. Insect Biochem Mol Biol, 2003, 33(2): 197-208.
- [18] Gupta S, Wang Y, Jiang H, et al. Manducasexta prophenoloxidase (proPO) activation requires proPO-activating proteinase (PAP) and serine proteinase homologs (SPHs) simultaneously [J]. Insect Biochem Mol Biol, 2005, 35(3): 241-248.
- [19] Piao S, Song YL, Kim JH, et al. Crystal structure of a clip-domain serine protease and functional roles of the clip domains [J]. EMBO J, 2005, 24(24): 4404-4414.
- [20] Jiang H, Wang Y, Yu XQ, et al. Prophenoloxidase-activating proteinase-3 (PAP-3) from *Manduca sexta* hemolymph: a clip-domain serine proteinase regulated by serpin-IJ and serine proteinase homologs [J]. Insect Biochem Mol Biol, 2003, 33(10): 1049-1060.
- [21] Luna C, Wang X, Huang YJ, et al. Characterization of four Toll related genes during development and immune responses in *Anopheles gambiae* [J]. Insect Biochem Mol Biol, 2002, 32(9): 1171.
- [22] Kaneko T, Silverman N. Bacterial recognition and signaling by the *Drosophila* IMD pathway [J]. Cell Microbiol, 2005, 7(4): 461-469.
- [23] Georgel P, Naitza S, Kappler C, et al. *Drosophila* immune deficiency (IMD) is a death domain protein that activates antibacterial defense and can promote apoptosis [J]. Dev Cell, 2001, 1(4): 503-514.
- [24] Buchon N, Broderick NA, Poidevin M, et al. *Drosophila* intestinal response to bacterial infection: activation of host defense and stem cell proliferation [J]. Cell Host Microbe, 2009, 5(2): 200-211.
- [25] Cronin SJF, Nehme NT, Limmer S, et al. Genome-wide RNAi screen identifies genes involved in intestinal pathogenic bacterial infection [J]. Science, 2009, 325(5938): 340-343.
- [26] Dostert C, Jouanguy E, Irving P, et al. The Jak-STAT signaling pathway is required but not sufficient for the antiviral response of *Drosophila* [J]. Nat Immunol, 2005, 6(9): 946-953.
- [27] Souza-Neto JA, Sim S, Dimopoulos G, et al. An evolutionary conserved function of the JAK-STAT pathway in anti-dengue defense [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(42): 17841-17846.
- [28] Lai SC, Chen CC, Hou RF, et al. Immunolocalization of prophenoloxidase in the process of wound healing in the mosquito *Armigeres subalbatus* (Diptera: Culicidae) [J]. J Med Entomol, 2002, 39(2): 266-274.
- [29] Beerntsen BT, James AA, Christensen BM, et al. Genetics of mosquito vector competence [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2000, 64(1): 115-137.
- [30] Nagai T, Kawabata S. A link between blood coagulation and prophenoloxidase activation in arthropod host defense [J]. J Biol Chem, 2000, 275(38): 29264-29267.
- [31] Vizioli J, Bulet P, Charlet M, et al. Cloning and analysis of a cecropin gene from the malaria vector mosquito, *Anopheles gambiae* [J]. Insect Mol Biol, 2000, 9(1): 75-84.
- [32] Sun D, Eccleston ED, Fallon AM. Peptide sequence of an antibiotic cecropin from the vector mosquito, *Aedes albopictus* [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 249(2): 410-415.
- [33] Mitri C, Jacques JC, Thiery I, et al. Fine pathogen discrimination within the APL1 gene family protects *Anopheles gambiae* against human and rodent malaria species [J]. PLoS Pathog, 2009, 5(9): e1000576.
- [34] Richman AM, Bulet P, Hetru C, et al. Inducible immune factors of the vector mosquito *Anopheles gambiae*: biochemical purification of a defensin antibacterial peptide and molecular cloning of pro-defensin cDNA [J]. Insect Mol Biol, 1996, 5(3): 203-210.
- [35] Vizioli J, Bulet P, Hoffmann JA, et al. Gambicin: a novel immune responsive antimicrobial peptide from the malaria vector *Anopheles gambiae* [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(22): 12630-12635.
- [36] Castillo JC, Robertson AE, Strand MR. Characterization of hemocytes from the mosquitoes *Anopheles gambiae* and *Aedes aegypti* [J]. Insect Biochem Mol Biol, 2006, 36(12): 891-903.
- [37] Dong Y, Taylor HE, Dimopoulos G. AgDscam, a hypervariable immunoglobulin domain-containing receptor of the *Anopheles gambiae* innate immune system [J]. PLoS Biol, 2006, 4(7): e229.
- [38] Luckhart S, Vodovotz Y, Cui L, et al. The mosquito *Anopheles stephensi* limits malaria parasite development with inducible synthesis of nitric oxide [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998, 95(10): 5700-5705.
- [39] Herrera-Ortiz A, Mart nez-Barnette J, Smit N, et al. The effect of nitric oxide and hydrogen peroxide in the activation of the systemic immune response of *Anopheles albimanus* infected with *Plasmodium berghei* [J]. Dev Comp Immunol, 2011, 35(1): 44-50.
- [40] Baxter RH, Steinert S, Chelliah Y, et al. A heterodimeric complex of the LRR proteins LRIM1 and APL1C regulates complement-like immunity in *Anopheles gambiae* [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(39): 16817-16822.
- [41] Simard F, Licht M, Besansky NJ, et al. Polymorphism at the defensin gene in the *Anopheles gambiae* complex: testing different selection hypotheses [J]. Infect Genet Evol, 2007, 7(2): 285-292.
- [42] Lehmann T, Hume JCC, Licht M, et al. Molecular evolution of immune genes in the malaria mosquito *Anopheles gambiae* [J]. PLoS ONE, 2009, 4(2): e4549.
- [43] Pamkelis A, Slotman M, Marshall J, et al. The molecular evolution of four anti-malarial immune genes in the *Anopheles gambiae* species complex [J]. BMC Evol Biol, 2008, 8:79.
- [44] Oliveira SB, Ibrahim IC, Tadei WP, et al. Identification of a fibrinogen-related protein (FBN9) gene in neotropical anopheline mosquitoes [J]. Malaria J, 2011, 10(1): 21.
- [45] Horton AA, Lee Y, Coulibaly CA, et al. Identification of three single nucleotide polymorphisms in *Anopheles gambiae* immune signaling genes that are associated with natural *Plasmodium* infection [J]. Malaria J, 2010, 9(1): 160.
- [46] Harris C, Lambrechts L, Rousset F, et al. Polymorphisms in *Anopheles gambiae* immune genes associated with natural resistance to *Plasmodium falciparum* [J]. PLoS Pathog, 2010, 6(9): e1001112.

(收稿日期:2011-10-20)

(本文编辑:卢延鑫,陈勤)