

草地贪夜蛾体表靶向 TRPV1 的毒素分子筛选及其功能研究

刘嘉逸¹, 张浩源¹, 冯雯灵¹, 贾佩君¹, 加依达古丽·格明¹, 尹传玲¹, 柴龙会¹, 陆先翠¹, 王云飞¹, 马志朋^{2*}

(1. 东北林业大学野生动物与自然保护地学院, 黑龙江哈尔滨 150040; 2. 唐山动物园, 河北唐山 063021)

摘要 [目的]探究草地贪夜蛾诱发人畜危害的分子机制,以草地贪夜蛾诱发人畜呼吸道炎症、疼痛等危害的潜在生理靶点(瞬时电位感受器香草酸受体1,TRPV1)为切入点,揭示草地贪夜蛾体表物质诱发人畜危害的毒素物质基础和生理靶点。[方法]通过凝胶分子筛以及高效液相色谱等方法对草地贪夜蛾体表物质进行分离和纯化,结合膜片钳电生理技术筛选草地贪夜蛾体表物质中靶向TRPV1的活性毒素组分。[结果]从草地贪夜蛾体表物质中分离纯化到一种能够高效(100 mg/L)激活TRPV1的毒素组分V-7,该组分能特异性作用于TRPV1,而对常见离子通道类膜蛋白生理受体(如钠离子通道Nav1.4、Nav1.5、Nav1.7,以及钾离子通道Kv1.1、Kv2.1、Kv4.1)没有作用。[结论]从草地贪夜蛾体表混合物中可分离得到一种高效且特异性激活动物生理靶点TRPV1的毒素组分,部分揭示了外来入侵农业害虫草地贪夜蛾诱发人畜危害的物质基础及生理靶点。

关键词 草地贪夜蛾;体表物质;TRPV1;毒素

中图分类号 S433.4 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2023)11-0065-05

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2023.11.015



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Molecular Screening and Functional Investigation of Toxins Targeted to TRPV1 in the Body Surface of *Spodoptera frugiperda*

LIU Jia-yi, ZHANG Hao-yuan, FENG Wen-ling et al (College of Wildlife and Nature Reserves, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040)

Abstract [Objective] In order to explore the molecular mechanism of human-animal hazards induced by the fall armyworm, the potential physiological targets (transient receptor potential vanillic acid subtype 1, TRPV1) inducing human and animal respiratory inflammation and pain were used as the entry point, and the toxin material basis and physiological targets of the body surface substance of *Spodoptera frugiperda* were used as the entry point to reveal the toxin substance basis and physiological target of the human and animal hazards induced by the material on the surface of *Spodoptera frugiperda*. [Method] The body surface substance of the grass moth was isolated and purified by gel molecular sieve and high performance liquid chromatography, and the active toxin components targeting TRPV1 in the body surface substance of the grass night moth were screened by combining patch clamp electrophysiology technology. [Result] A toxin component V-7 that can efficiently (100 mg/L) activate TRPV1 was isolated and purified from the body surface substance of the grassland nightcrawler, which can act specifically on TRPV1, but has no effect on common ion channel membrane protein physiological receptors (such as sodium channel Nav1.4, Nav1.5, Nav1.7, and potassium channel Kv1.1, Kv2.1, Kv4.1). [Conclusion] It is shown that a toxin component that efficiently and specifically activates the animal physiological target TRPV1 can be isolated from the body surface substance of *Spodoptera frugiperda*, which partially reveals the material basis and physiological target of the human and animal hazards induced by the invasive invasion of *Spodoptera frugiperda* in agriculture and forestry.

Key words *Spodoptera frugiperda*; Body surface substance; TRPV1; Toxin

鳞翅目害虫在农业生产中危害严重,对于生态系统、人类生产以及健康等方面都会造成影响,而外来入侵物种由于更强的竞争能力和缺乏天敌等原因会加剧上述危害的程度^[1]。草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)是一种对农业危害严重的外来入侵物种,是联合国粮农组织向全球发出预警的重大迁飞性害虫,具有杂食暴食性、迁飞速度快、繁衍能力强、辨别困难等特点^[2],严重影响我国作物产量,破坏当地生态系统结构与功能,影响农业发展,威胁国家农业生产与粮食安全与人畜健康^[3]。截至2019年8月17日,草地贪夜蛾在我国24个省份1366个县(市、区)分布,随着其分布范围不断扩大,在危害玉米等作物的同时,其与人畜接触的概率也大大增加^[4-7]。研究表明,草地贪夜蛾的接触会导致人畜产生呼吸道炎症、疼痛等不良反应^[8],但草地贪夜蛾通过何种毒素物质作用于人类尚鲜见报道,相应的生理靶点尚未被揭示,同时毒素物质与相应生理靶点的互作分子机制仍未被

探明^[9-11]。由此,探明农业害虫草地贪夜蛾导致人畜危害的毒素物质基础和生理靶点,可以阐明草地贪夜蛾导致人畜危害的分子机制,也可以为草地贪夜蛾诱发人畜危害的科学防治提供理论基础。

瞬时电位感受器香草酸受体1(transient receptor potential vanillic acid subtype 1,TRPV1),又称辣椒素受体,是一种非选择性阳离子通道,广泛分布于哺乳动物的皮肤、呼吸道等器官的神经末梢中,与环境温度感知、疼痛信号传递、炎症和免疫激活、咳嗽引发等生理活动相关^[12-15]。其特异性激活剂香草酸类似物等刺激性物质可引起动物产生疼痛、咳嗽、神经源性炎症等症状,这些不良反应与接触飞蛾引起的呼吸道炎症、疼痛等症状类似^[16-18]。同时,有研究表明,动物接触草地贪夜蛾的主要成分为其体表的物质(如鳞粉等)^[8]。因此,笔者推测草地贪夜蛾体表物质中可能含有可以激活TRPV1的毒素物质成分。这些物质中的相应毒素物质通过特异性靶向TRPV1,导致人畜接触草地贪夜蛾后产生呼吸道炎症等症状。笔者利用蛋白纯化、高效液相色谱等技术对草地贪夜蛾体表物质进行了分离和纯化,并利用膜片钳电生理以及微量药物灌流等技术进行了功能筛选研究。通过这些研究,从草地贪夜蛾体表物质混合物中分离得到一种高效且

基金项目 中央高校基本科研业务费项目(2572020BE04);东北林业大学大学生创新创业训练计划项目(202010225073)。**作者简介** 刘嘉逸(1999—),女,内蒙古阿拉善盟人,从事多肽毒素的生物活性识别及其应用研究。*通信作者,工程师,硕士,从事野生动植物保护与繁育研究。**收稿日期** 2022-08-01

特异性激活动物生理靶点 TRPV1 的毒素物质,揭示了草地贪夜蛾诱发人畜危害的部分物质基础及生理靶点。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器 将购买的草地贪夜蛾蛹放置室内饲养 7 d [$T=(25\pm 1)^\circ\text{C}$, $L:D=12:12\text{ h}$, $\text{RH}=(75\pm 5)\%$],待其羽化后,采集成虫翅膀与体表物质,液氮速冻后保存在 -80°C 冰箱中。

试验试剂:PBS (18 g/L NaCl、0.20 g/L KCl、1.44 g/L Na_2HPO_4 、0.24 g/L KH_2PO_4 、HCl 调至 pH=6)、Sephadex G-50 凝胶 (Amersham Biosciences)、乙腈 (Thermo)、DMEM 细胞培养液、胰蛋白酶、胎牛血清、Lipofectamine 2000、OptiMEM 培养基、电生理试验所使用的试剂均购于 Thermo 公司,质粒小提中量试剂盒购于生工生物工程 (上海) 有限公司, KOH、HEPES、氯化胆碱、D-glucose、 MgCl_2 、 CaCl_2 、KOH 均购于 Sigma 公司,所有试验用水均为超纯水。

试验仪器:生物安全柜 (ESCO, 日本); -80°C 超低温冰箱 (Panasonic, 日本); 高效液相色谱仪 (Waters 1525, 美国); 蛋白纯化系统 (AKTA pure, 中国); 电子天平 (Sartorius TE124S); 台式离心机 (Eppendorf Centrifuge 5424); 冷冻台式离心机 (Sigma 3-18K、Scan Spend 1730R); 紫外分光光度计 (UNICO); 电子脉冲刺激仪 (LGT-2300S); 质谱仪 (MALDI-TOF, Bio); C18 柱 (30.0 mm \times 4.6 mm, Aglient); 凝胶过滤层析玻璃柱 (北京瑞达恒辉公司); 冷冻干燥机 (Thermo); 移液器 (Eppendorf); 超纯水仪 (Synergy, 爱尔兰); 高压蒸汽灭菌锅 (Zealway); pH 计 (Thermo); 电子分析天平 (Sartorius); 膜片钳系统 (HEKA); 电机控制仪 (PC-50, Narishige); 灌流装置 (Biorep Perfusion Apparatus)。

试验用人胚肾细胞 (HEK293T) 由实验室保存并传代培养; 试验用质粒由实验室提供并保存。

1.2 葡聚糖凝胶 Sephadex G-50 分离

1.2.1 凝胶装填。55 g Sephadex G-50 用 1.1 L 的 PBS 溶液混匀, 100°C 水浴 1~2 h 后, 置于真空抽制器中 3~4 h; 缓慢向凝胶柱中一次性加入凝胶后, 设置蛋白纯化仪流速 0.3 mL/min, 待凝胶稳定在指定位置后, 卸下装柱器, 设置 PBS 溶液流速为 0.3 mL/min, 过夜灌流。

1.2.2 样品预处理。取适量样品于 5 mL 4°C 冰箱预冷的 PBS 溶液中溶解, 离心 (12 000 r/min, 4°C , 10 min), 吸取上清液, 0.22 μm 针孔式微孔滤膜过滤, 置于冰上备用。

1.2.3 上样。用 5 mL 注射器吸取样品, 通过蛋白纯化仪上样口, 每次缓慢推入 1 mL 样品。

1.2.4 洗脱与收集。设置流速为 1 mL/min, 样品洗脱液收集在干净玻璃管中, 洗脱产物按波长 215 nm 和 280 nm 光吸收值峰值位置的不同将洗脱液合并, 冷冻干燥机冻干备用。

1.3 高效液相色谱分离 无机相: 超纯水。有机相: 乙腈。样品预处理: 超纯水以 400 mg/mL 溶解待分离样品, 0.22 μm 针孔式微孔滤膜过滤, 置于冰上备用。上样: 5 mL 注射器吸取样品, 通过高效液相色谱仪上样口, 缓慢加入 1 mL 样本。洗脱与收集: 设置流速 1 mL/min, 无机相冲洗 10 min 后, 有

机相以 2%/min 梯度洗脱, 洗脱液收集于干净玻璃管中, 洗脱产物按波长 215 nm 和 280 nm 光吸收值峰值位置不同进行合并, 冷冻干燥机冻干备用。

1.4 转染 HEK293T 细胞

1.4.1 细胞培养。吸取 HEK293T 细胞 (密度 80%~90%) 200 μL 于 35 mm 细胞培养皿中, 加入 2 mL 含 10% FBS 的 DMEM 培养液, 培养箱 37°C 5% CO_2 培养 12~16 h。

1.4.2 细胞转染。吸去培养皿中培养基, 沿内壁缓慢加入 2 mL Opti-MEM 细胞培养液。准备 1.5 mL 离心管 2 个, A 管: 200 μL Opti-MEM 细胞培养液, 6 μL Lipofectamine 2000; B 管: 200 μL Opti-MEM 细胞培养液, 5 μg 质粒, 1 μg EGFP 荧光标签; 室温静置 5 min 后, 将 A 管加入 B 管中混匀, 室温静置 15 min, 均匀滴加到细胞培养皿, 置于 37°C 5% CO_2 培养箱中 4 h, 吸去细胞培养皿中 Opti-MEM 细胞培养液, 加入 2 mL DMEM+10% 血清细胞培养液继续培养至次日。

1.5 膜片钳功能验证 依次连接灌流器、三通阀、橡胶软管、导管、电极, 超纯水检漏, 溶液冲洗后安装到微操作工作台上。五步拉制法制备硼硅酸盐玻璃微电极 (505°C 、速度 19), 电极阻抗为 3~5 M Ω , 高温抛光后置于电极盒中备用。已转染细胞用 1 mL 胰蛋白酶消化 1 min, 吸去消化液, 加入 2 mL 含 10% FBS 的 DMEM 细胞培养液终止消化, 吹打重悬, 滴加到铺在 35 mm 细胞培养皿底部的细胞爬片上, 培养箱中静置 30 min, 待细胞贴附。使用 EPC-9 膜片钳放大器 (HEKA 公司, 德国) 进行试验记录。在电极与细胞膜形成高阻 (1~5 G Ω) 封接后, -80 mV 电压钳制将膜吸破, 形成全细胞状态进行电流记录。待测样本采用对应通道的电极溶液配制, 通过切换电极给药, 排药管每个管口直径 0.5 mm, 管口距所记录的细胞 < 100 μm 。在成功封接破膜形成全细胞膜片钳记录模式后, 通过 rsc-200 灌流加药系统切换灌流管。试验在室温 ($22\sim 26^\circ\text{C}$) 进行。

2 结果与分析

2.1 草地贪夜蛾体表物质葡聚糖凝胶分离 首先对草地贪夜蛾体表物质进行葡聚糖凝胶分离, 经进样试验, 最终确定使用 280 nm 吸收值对样品进行检测, 每次进样 5 mL, 流速 1.0 mL/min 时, 样品有较好的分离效果。草地贪夜蛾体表物质粗样经葡聚糖凝胶分子筛按照物质分子量大小进行分离后, 较大的组分较早洗脱出峰, 较小的组分较晚洗脱出峰。分离完毕后 280 nm 光吸收值峰如图 1 所示, 上样洗脱 38 min 后开始出峰, 可分为 5 个分离效果较好的峰, 且各峰对称性良好, 将其按照洗脱的先后顺序分别命名为 I、II、III、IV、V, 其中 V 峰含量最为丰富。

2.2 膜片钳功能验证 对粗样中分离出的组分 I、II、III、IV、V 以 400 mg/L 的浓度溶于 TRP 离子通道细胞外液中, 使用全细胞电压钳模式在表达 TRPV1 蛋白的 HEK293T 细胞上进行膜片钳记录。细胞钳制于 0 mV, 之后外加 +80 mV 电压刺激 300 ms, 再外加 -80 mV 电压刺激 300 ms。通过试验发现, 组分 I、II、III 和 IV 对 TRPV1 离子通道无明显的激活或抑制作用, 而组分 V 对 TRPV1 通道具有显著的激活作用, 膜片钳

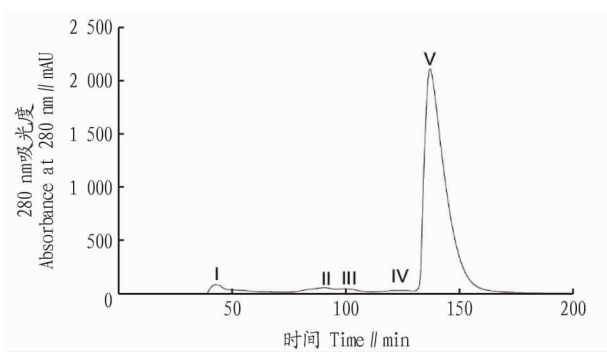


图 1 草地贪夜蛾体表物质葡聚糖凝胶分离

Fig. 1 Sephadex gel separation of body surface substance of *Spodoptera frugiperda*

试验电流如图 2 所示。这提示在组分 V 中具有可以靶向作用于 TRPV1 的毒素物质成分,因此下一步试验中,笔者对组分 V 进行了进一步的分离纯化。

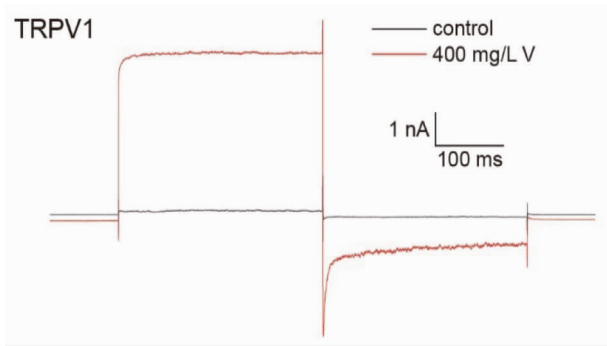


图 2 400 mg/L 组分 V 对 TRPV1 的活性的影响

Fig. 2 Representative whole-cell TRPV1 currents recorded in the presence of 400 mg/L component V

2.3 组分 V 高效液相色谱分离纯化 利用 C18 色谱柱对组分 V 进行反向高效液相色谱 (RP-HPLC) 分离纯化,结果如图 3 所示。前 10 min 使用超纯水洗脱,防止乙腈使样品内的盐类在色谱柱内析出而降低柱效。10 min 后,样本与柱内填料充分结合,且盐类成分洗脱完毕,乙腈浓度以 2%/min 梯度增加,持续 80 min,在 56 min 内样品完全洗脱。各组分光吸收值积分面积统计见表 1,按照出峰时间进行编号。

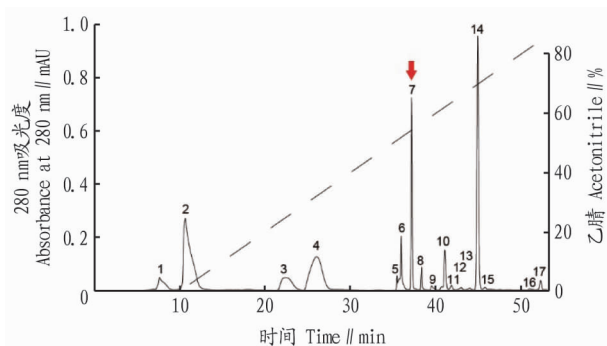


图 3 高效液相色谱法分离组分 V

Fig. 3 Component V was subjected to HPLC

2.4 组分 V-7 激活 TRPV1 离子通道 从组分 V 分离出的所有成分以 100 mg/L 溶于 TRP 离子通道细胞外液中,使用

全细胞电压钳模式在表达 TRPV1 的 HEK293T 细胞上进行膜片钳记录。细胞钳制于 0 mV 之后外加 +80 mV 电压刺激 300 ms,再加 300 ms 的 -80 mV 电压刺激。TRPV1 的膜片钳试验电流如图 4 所示。V-7 (图 4) 使 TRPV1 通道开放,产生了明显的激活现象,其余 16 个组分均不能激活 TRPV1。

表 1 组分 V 分离产物光吸收值积分面积

Table 1 The integral area corresponding to each optical absorbing value of component V

组分 Component	洗脱时间 Retention time//s	峰面积 Integral area	峰面积占比 Integral area ratio
V-1	26.554	1 287 685	1.55
V-2	19.832	23 912 744	28.75
V-3	7.320	2 467 527	2.97
V-4	7.639	7 086 449	8.52
V-5	6.651	46 852	0.06
V-6	12.119	988 842	1.19
V-7	26.925	3 891 331	4.68
V-8	5.900	194 700	0.23
V-9	13.400	393 269	0.47
V-10	14.145	236 083	0.28
V-11	15.184	77 528	0.09
V-12	15.748	30 357	0.04
V-13	17.045	235 254	0.28
V-14	10.185	13 432 000	16.15
V-15	17.899	330 591	0.40
V-16	5.250	31 625	0.04
V-17	11.882	273 215	0.33

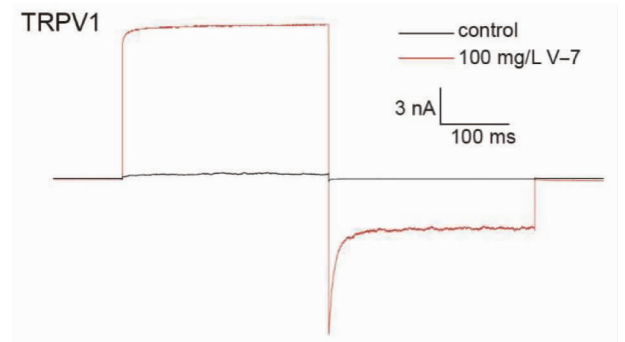


图 4 100 mg/L V-7 对 TRPV1 活性的影响

Fig. 4 Representative whole-cell TRPV1 currents recorded in the presence of 100 mg/L substance V-7

2.5 组分 V-7 的功能特异性 为确定 V-7 对 TRPV1 的特异性,探索 V-7 对于常见的钾离子通道家族与钠离子通道家族的作用,选取 6 种常见的离子通道进行了探究。分别为:广泛分布于中枢神经系统,在神经元动作电位的复极化过程中起着决定作用的 KV1.1 (电压敏感性钾离子通道 1.1);广泛表达于心肌细胞,使心肌动作电位复极的主要离子通道 KV2.1 (电压敏感性钾离子通道 2.1);主要分布于脑中,同样在神经元动作电位的复极化过程中起着重要作用的 KV4.1 (电压敏感性钾离子通道 4.1);主要分布于骨骼肌细胞中,与肌肉收缩有关的 NaV1.4 (电压敏感性钠离子通道 1.4);主要分布于心肌中,负责心肌细胞动作电位形成及冲

动传导的 NaV1.5(电压敏感性钠离子通道 1.5);主要分布在外周神经系统中,在机体感觉尤其是疼痛的感觉及传导中起重要作用的 NaV1.7(电压敏感性钠离子通道 1.7)。

V-7 以 100 mg/L 的浓度溶于钾离子通道细胞外液中进行药物灌流,使用全细胞电压钳模式在表达通道的 HEK293T

细胞上进行膜片钳记录。细胞钳制于 -80 mV,之后外加 $+10$ mV 电压刺激 600 ms。对小鼠钾离子通道 KV1.1、KV2.1、KV4.1 的膜片钳试验电流图如图 5 所示,结果表明,V-7 对常见的电压敏感型钾离子通道 KV1.1、KV2.1、KV4.1 均无明显作用。

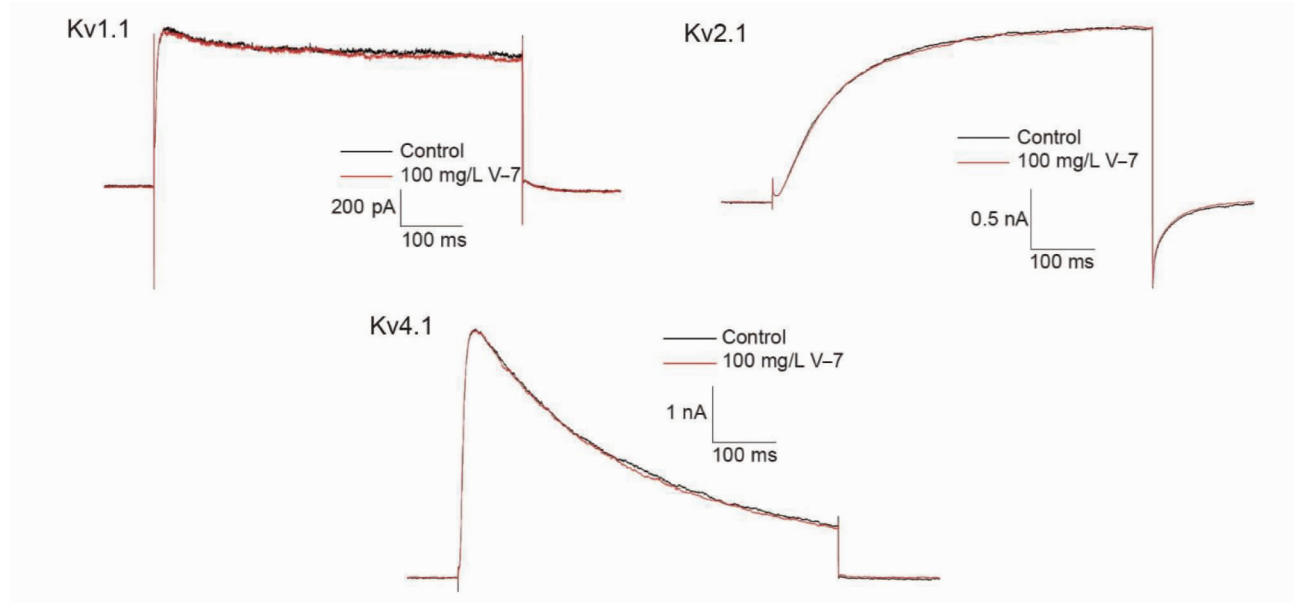


图 5 100 mg/L V-7 对 KV1.1、KV2.1、KV4.1 电流的作用

Fig. 5 Representative whole-cell KV1.1, KV 2.1, KV 4.1 currents recorded in the presence of 100 mg/L substance V-7

V-7 以 100 mg/L 的浓度溶于钠离子通道细胞外液中进行灌流研究,使用全细胞电压钳模式在表达通道的 HEK293T 细胞上进行膜片钳记录。细胞钳制于 -80 mV,之后外加 -10 mV 电压刺激 600 ms。对小鼠钠离子通道 NaV1.4、

NaV1.5、NaV1.7 的膜片钳试验电流图如图 6 所示。结果表明,V-7 对常见的电压敏感型钠离子通道 NaV1.4、NaV1.5、NaV1.7 均无明显作用。

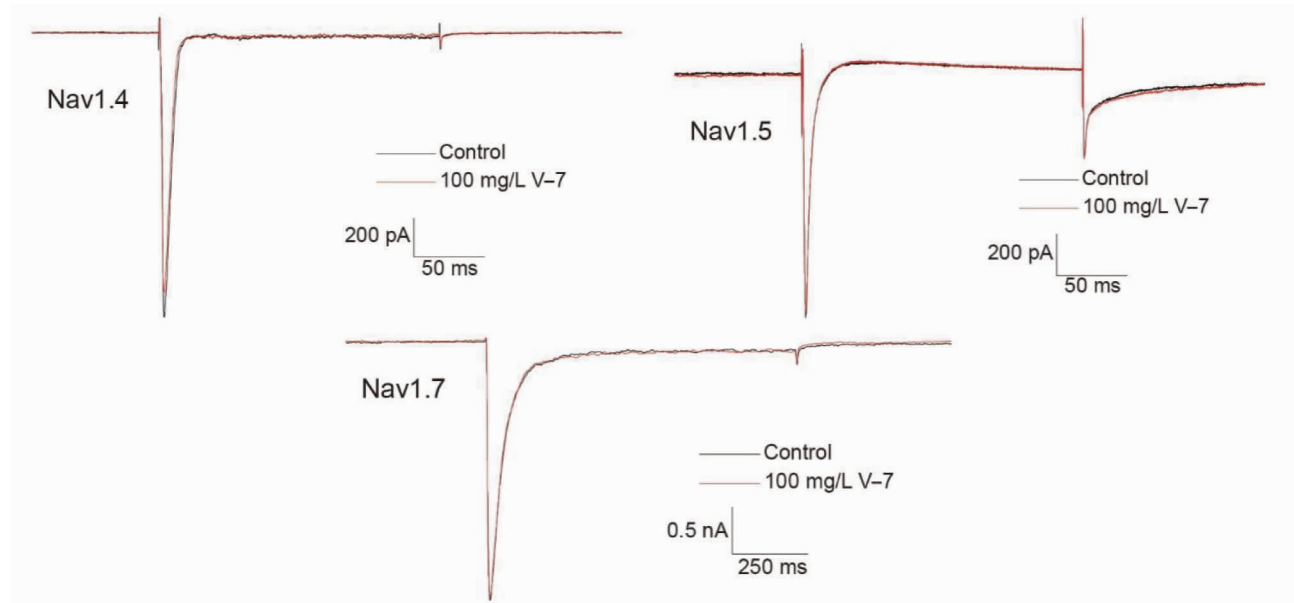


图 6 100 mg/L V-7 对 NaV1.5、NaV1.4、NaV1.7 电流的作用

Fig. 6 Representative whole-cell NaV1.5, NaV1.4, NaV1.7 currents recorded in the presence of 100 mg/L substance V-7

3 讨论与结论

草地贪夜蛾具有适应性高、繁殖力强、迁移快和抗药性高等特点,目前的防治手段有限且效果不明显^[19-20]。在这样

的背景下,草地贪夜蛾入侵的地区人畜具有高度的暴露风险,也增加了草地贪夜蛾对人畜带来的健康危害。由于草地贪夜蛾对人畜危害的毒物质基础 and 生理靶点尚未被阐明,

因此难以揭示草地贪夜蛾导致人畜健康威胁的分子机制,更难以进行草地贪夜蛾的科学防治。

该研究中,通过葡聚糖凝胶分子筛、蛋白纯化系统与高效液相色谱分离等多平台多方法结合,富集并分离纯化了草地贪夜蛾体表物质的混合物,建立了一套分离飞蛾体表物质中活性物质的方法。同时,通过结合膜片钳电生理试验和微量灌注给药系统,从草地贪夜蛾体表物质混合物中分离鉴定到活性组分 V-7,其可以高效且特异性地激活 TRPV1,而对钠离子通道如 NaV1.4、NaV1.5、NaV1.7,以及钾离子通道如 KV1.1、KV2.1、KV4.1 等常见离子通道类膜蛋白生理受体没有活性功能。这表明草地贪夜蛾体表物质中的 V-7 毒素组分通过高效且特异性的方式激活 TRPV1 带来疼痛及炎症等健康危害^[12],由此部分揭示了草地贪夜蛾对人畜危害的毒素物质基础和生理靶点。

毒素是动物进行捕食、防御甚至竞争的高效物质基础。来源于草地贪夜蛾体表物质的毒素物质 V-7,类似于辣椒、蜈蚣与蝎子所使用的多肽或化合物,可以激活捕食者的 TRPV1,由此带来疼痛、炎症等一系列中毒的症状^[21-23]。因此,V-7 可以保护草地贪夜蛾免于被捕食,而这些生理反应可能是草地贪夜蛾进化出 V-7 组分的生态学作用,而这种生存适应策略,也导致了其对人畜的潜在危害。在日常生活以及农业生产活动中,若人畜在接触草地贪夜蛾后不慎吸入其体表物质,其中的活性组分 V-7 将通过激活呼吸道神经细胞上的 TRPV1^[10-11],引起钙离子和钠离子等内流,使神经元去极化并产生神经冲动,同时,释放多种神经肽,进一步引起组织水肿和气道平滑肌收缩,最终导致咳嗽、炎症以及哮喘等不良反应^[13,16,24-28]。

该研究中,笔者通过毒素物质的分离和膜片钳功能筛选,从草地贪夜蛾体表物质混合物中分离鉴定了活性组分 V-7,其可以高效且特异性地激活 TRPV1。一方面,V-7 是草地贪夜蛾进行生存适应的物质基础;另一方面,它也是草地贪夜蛾导致人畜危害的部分毒素物质基础。该研究阐明了草地贪夜蛾导致人畜危害的部分物质基础和生理靶点,同时,在未来研究中可以在分子层面继续探究其与 TRPV1 的互作分子机制,为相关治疗药物的研发提供理论基础^[29-31]。

参考文献

- [1] 杨霞艳. 外来入侵生物的危害及防控对策[J]. 江西农业,2017(1):99.
- [2] 刘元兵,裴德明,李民,等. 草地贪夜蛾的形态特征·危害特点的识别及防控策略[J]. 安徽农业科学,2020,48(24):140-141,211.
- [3] 周倩. 草地贪夜蛾对山东玉米的为害情况研究进展[J]. 现代园艺,2022,45(3):110-111.
- [4] SISAY B, SIMIYU J, MENDESIL E, et al. Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* infestations in East Africa: Assessment of damage and parasitism [J]. *Insects*, 2019, 10(7): 1-10.
- [5] TAMBO J A, KANSIIME M K, MUGAMBI I, et al. Understanding smallholders' responses to fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) invasion: Evidence from five African countries [J/OL]. *Science of the total environment*, 2020, 740 [2022-04-15]. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140015>.
- [6] COCK M J W, BESEH P K, BUDDIE A G, et al. Molecular methods to detect *Spodoptera frugiperda* in Ghana, and implications for monitoring the

- spread of invasive species in developing countries [J]. *Scientific reports*, 2017, 7(1): 1-10.
- [7] 陈鹏, 张家胜, 陈凯. 我国防控跨境迁飞害虫工作现状及对策: 以云南省为例 [J]. *中国森林病虫*, 2021, 40(6): 44-46.
- [8] STEVENSON D D, MATHEWS K P. Occupational asthma following inhalation of moth particles [J]. *The journal of allergy*, 1967, 39(5): 274-283.
- [9] 尚玉堂, 耿美香, 黄梅, 等. 飞蛾鳞粉致全眼球炎 [J]. *中国实用眼科杂志*, 2002(6): 426.
- [10] 伍秋容. 支气管哮喘不同年龄组致敏原分析 [J]. *现代临床医学生物工程杂志*, 2005(2): 119-121.
- [11] 孙宝清, 韦妮莉, 李靖, 等. 蟑螂过敏患者对蚕蛾与尘螨过敏原体外检测研究 [J]. *中华哮喘杂志(电子版)*, 2009, 3(1): 15-18.
- [12] BASBAUM A I, BAUTISTA D M, SCHERRER G, et al. Cellular and molecular mechanisms of pain [J]. *Cell*, 2009, 139(2): 267-284.
- [13] WATANABE N, HORIE S, MICHAEL G J, et al. Immunohistochemical localization of vanilloid receptor subtype 1 (TRPV1) in the guinea pig respiratory system [J]. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, 2005, 18(3): 187-197.
- [14] 徐粮东, 徐美青, 王高洋, 等. TRPV1 在咳嗽发生机制中的作用及其药物治疗 [J]. *临床肺科杂志*, 2021, 26(3): 440-442.
- [15] BUJAK J K, KOSMALA D, SZOPA I M, et al. Inflammation, cancer and immunity-implication of TRPV1 channel [J]. *Frontiers in oncology*, 2019, 9: 1-16.
- [16] KHALID S, MURDOCH R, NEWLANDS A, et al. Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) antagonism in patients with refractory chronic cough: A double-blind randomized controlled trial [J]. *The journal of allergy and clinical immunology*, 2014, 134(1): 56-62.
- [17] LEE L Y, NI D, HAYES D, Jr, et al. TRPV1 as a cough sensor and its temperature-sensitive properties [J]. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, 2011, 24(3): 280-285.
- [18] AKOPIAN A N, FANICK E R, BROOKS E G. TRP channels and traffic-related environmental pollution-induced pulmonary disease [J]. *Seminars in immunopathology*, 2016, 38(3): 331-338.
- [19] 张楠, 陈婷, 李小凤, 等. 54 份鲜食玉米品种草地贪夜蛾抗虫性鉴定与评价 [J]. *广东农业科学*, 2021, 48(12): 25-32.
- [20] 卢辉, 唐继洪, 吕宝乾, 等. 草地贪夜蛾的防治时期和次数对玉米产量的影响 [J]. *热带作物学报*, 2021, 42(12): 3388-3393.
- [21] HAN Y L, LI B W, YIN T T, et al. Molecular mechanism of the tree shrew's insensitivity to spiciness [J]. *PLoS biology*, 2018, 16(7): 1-17.
- [22] HAKIM M A, JIANG W B, LUO L, et al. Scorpion toxin, BmP01, induces pain by targeting TRPV1 channel [J]. *Toxins*, 2015, 7(9): 3671-3687.
- [23] YANG S L, YANG F, WEI N N, et al. A pain-inducing centipede toxin targets the heat activation machinery of nociceptor TRPV1 [J]. *Nature communications*, 2015, 6: 1-11.
- [24] UNDEM B J, SUN H. Molecular/ionic basis of vagal bronchopulmonary C-fiber activation by inflammatory mediators [J]. *Physiology*, 2020, 35(1): 57-68.
- [25] PATIL M J, SUN H, RU F, et al. Targeting C-fibers for peripheral acting anti-tussive drugs [J]. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, 2019, 56: 15-19.
- [26] XU X H, CHEN Q, QIU Z M, et al. Association of cough hypersensitivity with tracheal TRPV1 activation and neurogenic inflammation in a novel guinea pig model of citric acid-induced chronic cough [J]. *Journal of international medical research*, 2018, 46(7): 2913-2924.
- [27] 许丹媛, 赖克方. 瞬时感受器电位香草酸受体 1 在咳嗽发生机制中的作用及其应用前景 [J]. *中华哮喘杂志(电子版)*, 2010, 4(4): 295-298.
- [28] 汪枫林, 刘德行. TRPV1 在哮喘发病机制中作用的研究进展 [J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36(8): 1502-1508.
- [29] AGBOYI L K, GOERGEN G, BESEH P, et al. Parasitoid complex of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in Ghana and Benin [J]. *Insects*, 2020, 11(2): 1-15.
- [30] AGBOYI L K, MENSAH S A, CLOTTEY V A, et al. Evidence of leaf consumption rate decrease in fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, larvae parasitized by *Coccylidium luteum* [J]. *Insects*, 2019, 10(11): 1-9.
- [31] SILVIE P J, MARTIN P, HUCHARD M, et al. Prototyping a knowledge-based system to identify botanical extracts for plant health in sub-saharan Africa [J]. *Plants*, 2021, 10(5): 1-24.