



杨文, 博士, 研究员。本科毕业于复旦大学, 之后在加拿大 McGill 大学获得博士学位, 并于哈佛大学医学院完成博士后研究工作, 2017 年入职上海交通大学医学院。一直致力于线粒体代谢与衰老相关疾病关系的分子机制研究, 重点关注线粒体蛋白稳态在细胞代谢、细胞器互作以及衰老及其相关疾病中的作用。近年来得到国家自然科学基金面上项目、重点课题、重大研究计划和国家高层次人才项目的基金资助共 4 项。主要研究成果包括发现翻译后水平的线粒体膜电势差通过 SIRT3 调控代谢稳态的新机制, 发现线粒体过氧化物自由基通过凋亡相关途径延缓线虫衰老、通过直接氧化修饰调节蛋白翻译和整合应激反应等的有益作用, 开发人工养殖玻璃海鞘作为新型衰老研究模式生物等。在 *Cell*、*Aging Cell*、*PLoS Biology*、*Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*、*Theranostics*、*Advanced Healthcare Materials*、*Molecular Therapy: Nucleic Acids*、*Cell Death and Diseases* 等学术期刊上以第一作者或通信作者发表论文 20 余篇。参与撰写书籍《铁死亡》(科学出版社)、《医学遗传学基础与进展》(研究生教材, 科学出版社) 和 *Introductory Review on Sirtuins in Biology, Aging, and Disease* (Elsevier 出版)。获得授权专利 2 项。

郑媛, 理学博士, 助理研究员。长期从事海洋生物离体细胞研究平台的构建及其应用研究工作。自 2018 年以来, 主要专注于玻璃海鞘人工养殖品系的构建, 并尝试应用于衰老生物学机制的探究; 目前, 已成功培育出可在全人工环境下稳定繁育的玻璃海鞘品系, 并获得了其全基因组信息, 为进一步开展该动物模型的生物学基础研究奠定了坚实基础。此外, 主持完成 1 项国家博士后基金和 1 项国家自然科学基金原创类项目, 并参与 3 个海洋生物相关课题(包括国家 973 项目和 863 高技术计划)的研究工作。作为第一作者或共同作者发表论文 6 篇, 并参与发表 2 篇; 其中 SCI 论文 7 篇。此外, 获得 2 项国家发明专利, 并参编 1 项国家标准。



玻璃海鞘作为模式生物的优势及其应用

李睿琪, 段涵, 甘罗, 郑媛, 杨文

(上海交通大学医学院基础医学院, 上海 200025)

[摘要] 随着实验生物学的持续发展, 常用模式生物的应用局限日益凸显。由于实验动物和人类的相关研究之间存在差异, 严重影响到动物实验研究结果的转化应用。本文介绍了一种在进化上与脊椎动物亲缘关系最近的无脊椎动物, 同时也是脊椎动物的姊妹分支——尾索动物玻璃海鞘 (*Ciona intestinalis*)。本综述通过总结近年来玻璃海鞘在各领域的研究进展, 说明其作为新型模式生物具有的优势与巨大应用前景。玻璃海鞘的研究进展主要包括: (1) 玻璃海鞘全基因组测序完成并建立了许多相关数据库, 多种胚胎基因编辑技术已经在玻璃海鞘中成功应用, 使玻璃海鞘成为易于遗传学操作且能够直观研究目的基因功能和相互作用的动物模型。(2) 神经生物学领域, 玻璃海鞘具有与脊椎动物相似的中枢神经系统组织结构且拥有众多同源神经肽和激素分子, 使其在研究内分泌与神经内分泌相关分子的作用机制、功能进化方面具有优越性。同时, 玻璃海鞘幼虫对光刺激的敏感性与习惯性可用于探索行为可塑性相关机制。(3) 免疫学领域, 玻璃海鞘已有成熟的固有免疫系统, 并进化出部分适应性免疫系统相关基因的前体, 加之编码免疫相关基因较简单, 故而可以作为免疫领域研究较理想的模式生物。(4) 发育生物学领域, 众多研究聚焦玻璃海鞘的脊索发育过程和其中的表达调控机制, 提示脊索动物共同的进化发育策略。另外有关心脏发育方向的研究则对人类心脏发育基因网络的理解做出重要贡献。(5) 医学领域中, 玻璃海鞘的神经复合体和虹吸管具有再生能力, 以及心脏在严重损伤后仍然可以存活并恢复收缩功能, 使得玻璃海鞘可作为研究再生问题和心脏受损的动物模型。同时玻璃海鞘作为阿尔茨海默病的研究模型在新药开发方面也有其独特优势。此外, 玻璃海鞘的完整生

[基金项目] 国家自然科学基金项目“基于玻璃海鞘 (*Ciona intestinalis*) 的衰老对心肌细胞凋亡作用初步研究”(31900377)

[第一作者] 李睿琪 (2001—), 女, 临床医学八年制在读, 研究方向: 临床医学。E-mail: lrq.seven@sjtu.edu.cn。ORCID: 0009-0004-1379-0555;

段涵 (2002—), 女, 临床医学八年制在读, 研究方向: 临床医学。E-mail: dhhhh020606@sjtu.edu.cn。ORCID: 0009-0006-6080-0896

[通信作者] 杨文 (1979—), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 线粒体代谢与衰老。E-mail: yangwen@shsmu.edu.cn。ORCID: 0000-0002-2032-1982;

郑媛 (1979—), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 玻璃海鞘实验动物模型的构建及其在衰老生物学研究中的应用。E-mail: zhengyuan@shsmu.edu.cn。ORCID: 0009-0007-6016-548X

命周期仅5个月左右,便于用其观察记录衰老全过程,探索不同因子的衰老效应。总之,本综述旨在说明玻璃海鞘作为模式动物具有独特的优越性并且有望在更多的科学研究方面发挥重要作用。

[关键词] 玻璃海鞘; 模式生物; 神经生物学; 免疫学; 发育生物学

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2024)02-0162-18



Advantages of *Ciona intestinalis* as a Model Organism and Its Applications

LI Ruiqi, DUAN Han, GAN Luo, ZHENG Yuan, YANG Wen

(Shanghai Jiao Tong University College of Basic Medicine Sciences, Shanghai 200025, China)

Correspondence to: YANG Wen (ORCID: 0000-0002-2032-1982), E-mail: yangwen@shsmu.edu.cn;

ZHENG Yuan (ORCID: 0009-0007-6016-548X), E-mail: zhengyuan@shsmu.edu.cn

[ABSTRACT] With the continuous development of experimental biology, the limitations of commonly utilized model organisms are becoming increasingly apparent. Discrepancies between research conducted on laboratory animals and humans significantly impede the translational application of findings derived from animal experiments. This review introduces ascidian *Ciona intestinalis* as a novel model organism, an invertebrate that is evolutionarily closest to vertebrates and is a sister group to vertebrates. The review summarizes recent research progress on *Ciona intestinalis* in various fields to illustrate the significant advantages and promising application prospects of it as a model organism. The research progress outlined in the review mainly encompasses: (1) The whole-genome sequencing of *Ciona intestinalis* has been determined and numerous related databases have been established. Various embryonic gene editing technologies have been successfully applied, making it an animal model easy to manipulate genetically and study the functions and interactions of target genes visually. (2) In the field of neurobiology, *Ciona intestinalis* boasts a central nervous system structure similar to that of vertebrates and possesses numerous homologous neuropeptides and hormone molecules. These features grant it an edge in exploring the mechanisms and functional evolution of endocrine and neuroendocrine-related molecules. Additionally, the sensitivity and habituation of its larvae to light stimulation provide an avenue for exploring mechanisms related to behavioral plasticity. (3) In the field of immunology, *Ciona intestinalis* possesses a mature innate immune system and has evolved precursor genes to the adaptive immune system, with a relatively simple coding of immune-related genes. These features make it an exemplary model organism for immunological studies. (4) In the field of developmental biology, many studies have focused on the notochord development process in *Ciona intestinalis* and the regulatory mechanisms of gene expression within it, indicating common evolutionary developmental strategies among chordates. Additionally, insights into its heart development also significantly enhance our comprehension on the genetic network of human heart development. (5) In medical research, the ability of *Ciona intestinalis* to regenerate its neural complex and siphon, as well as the resilience of its heart to recover contractile function from substantial damage, renders it a valuable animal model for the study of regeneration and heart injury. It also has unique advantages as a research model for Alzheimer's disease and new drug development. Furthermore, its brief five-month lifespan facilitates the observation and recording of the entire aging process and the exploration of the effects of various factors on aging. In summary, this review aims to demonstrate that *Ciona intestinalis* stands out as a model organism with unique attributes and is expected to play a significant role in a wider range of scientific research areas.

[Key words] *Ciona intestinalis*; Model organism; Neurobiology; Immunology; Developmental biology

在现代生物学领域的研究中,模式生物是揭示具有普遍规律的生命现象的载体。常用的模式生物包括

线虫、果蝇、小鼠、斑马鱼等。其中,线虫匹配到的人类同源基因可靠性不强,果蝇与人类同源基因相似

性较差;而在实际应用中,小鼠也存在诸多不足,如饲养成本较高、生命周期较长、配对繁殖过程相对复杂等问题。

模式动物玻璃海鞘 (*Ciona intestinalis*) 和脊椎动物同属于脊索动物门。作为脊椎动物的姊妹分支,玻璃海鞘的胚胎透明、发育快,而且幼虫具有脊索结构,这使得其成为研究胚胎发育、脊索发育的良好模型。玻璃海鞘成体具有与脊椎动物相似的器官组织构成,其基因组构成与人类等脊椎动物相比有较高的相似性,并且更为紧凑。这些特点使得玻璃海鞘逐渐成为发育生物学研究的重要模型。玻璃海鞘还具有一定的组织器官再生能力,并且寿命较短,因此该模型也在再生研究中得到应用。目前,随着前期研究的积累以及组学技术的应用,该动物模型各个器官发育的细胞谱系信息、染色体水平的精细基因组、基因表达谱等基础生物学信息数据已近于完善,且有成熟的基因编辑技术可供应用,使得玻璃海鞘用于开展生命科学研究具有较强的可操作性。但是,迄今为止,由于人工养殖的玻璃海鞘群体存活率和性成熟比例较低,该动物的

实验材料依赖于采集天然野生个体,而采集野生个体所带来的地域局限性和较高的遗传背景多态性严重限制了该动物模型的应用和推广。因此,亟须培育可在实验室内连续稳定繁殖传代的玻璃海鞘人工养殖品系,以用作实验材料。下文将综述无脊椎动物玻璃海鞘的生物学特点和组织结构,总结并叙述其作为模式动物独特的优势以及在众多领域中的应用研究进展。

1 玻璃海鞘简介

1.1 进化地位

玻璃海鞘属于脊索动物门尾索动物亚门海鞘纲玻璃海鞘属。近年来已经陆续完成了包括玻璃海鞘在内的几种尾索动物和以文昌鱼 (*Branchiostoma floridae*) 为代表的几种头索动物的基因组测序^[1]。基于这些物种的基因组和蛋白质组数据对比,尾索动物被认为是与脊椎动物在进化上亲缘关系最近的无脊椎动物^[2] (图1)。因此,玻璃海鞘所在的尾索动物也被称为是脊椎动物的姊妹分支。

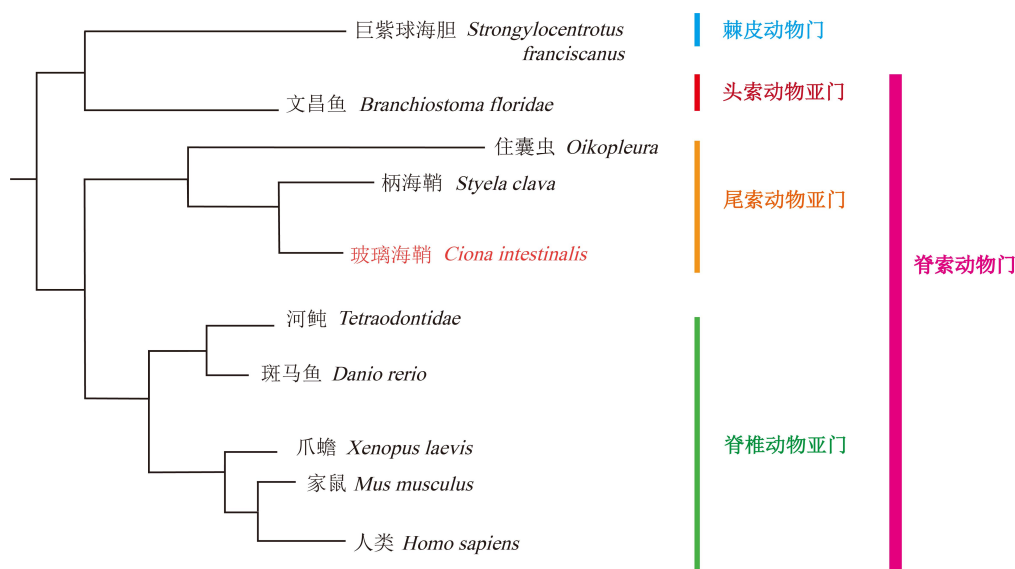


图1 从系统进化树看玻璃海鞘的进化地位

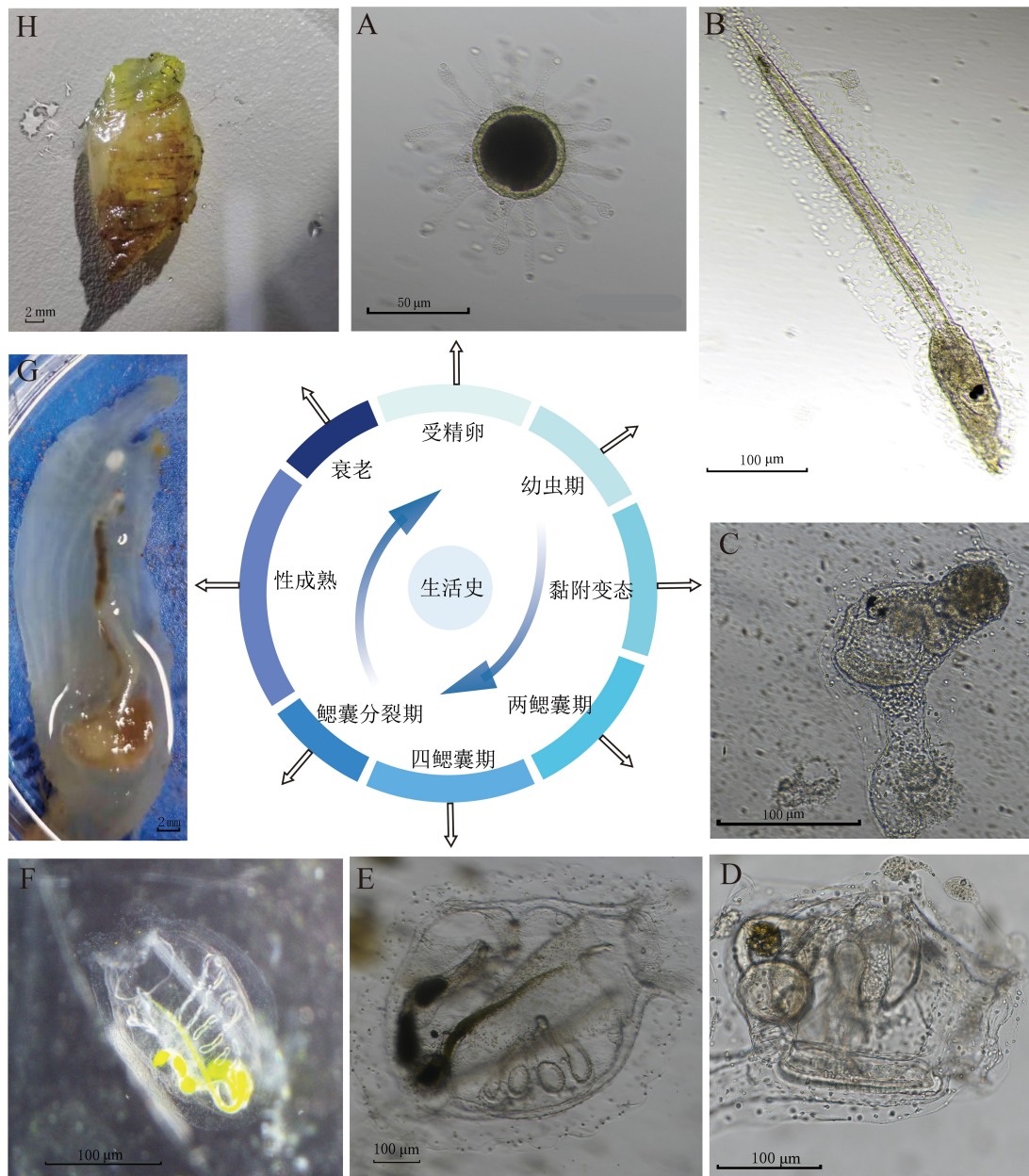
Figure 1 Evolutionary status of *Ciona intestinalis* in the phylogenetic tree

1.2 生物学特征

玻璃海鞘成体固着于自然或者人工基质中生活,雌雄同体,自交或杂交均存在。玻璃海鞘的受精卵以及胚胎透明 (图2A),成体结构简单。玻璃海鞘的生长发育过程中,先由卵裂球发育成为蝌蚪状幼虫 (图

2B),幼虫可以在水环境中自由游动1~5 d,然后经变态后成为稚体 (图2C~D),稚体经生长发育为成体,并逐渐衰老 (图2E~H)。

玻璃海鞘幼虫有6种组织,包括表皮、间充质 (mesenchyme)、内胚层 (endoderm)、肌肉组织、脊索



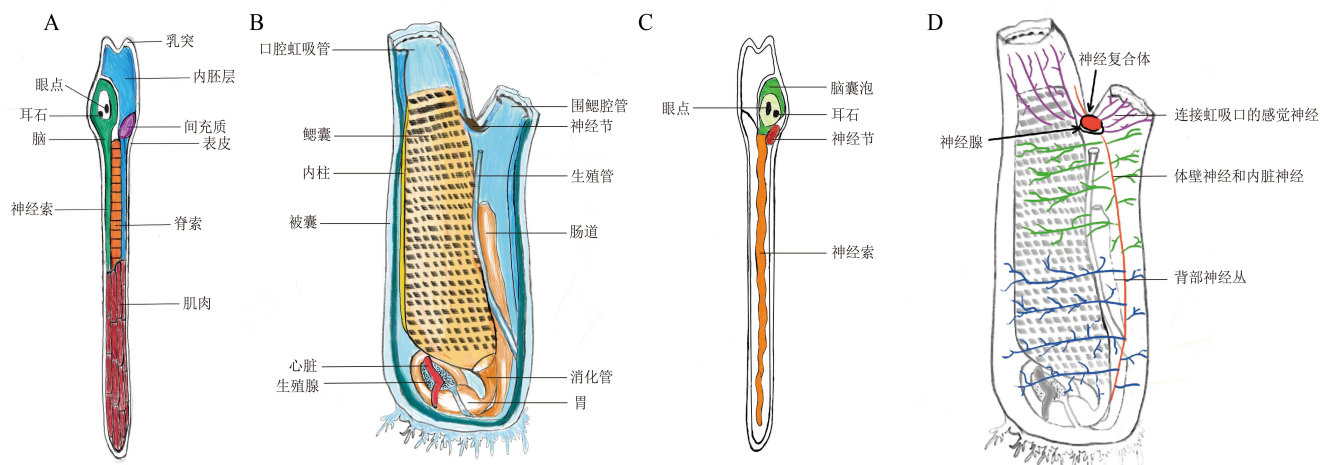
注：A，受精卵（标尺：50 μm ）；B，贴壁的幼虫（标尺：100 μm ）；C，变态期稚体（标尺：100 μm ）；D，二鳃囊期稚体（标尺：100 μm ）；E，四鳃囊期稚体（标尺：100 μm ）；F，鳃囊分裂期稚体（标尺：100 μm ）；G，性成熟成体（标尺：2 mm）；H，衰老成体（标尺：2 mm）。
 Note: A, Fertilized egg (scale bar: 50 μm); B, Attached larva (scale bar: 100 μm); C, Juvenile during metamorphosis (scale bar: 100 μm); D, Two-branchial sac stage larva (scale bar: 100 μm); E, Four-branchial sac stage larva (scale bar: 100 μm); F, Juvenile during branchial sac division (scale bar: 100 μm); G, Sexually mature adult (scale bar: 2 mm); H, Aged adult (scale bar: 2 mm).

图2 玻璃海鞘生活史

Figure 2 Life history of *Ciona intestinalis*

和中枢神经系统（图3A）。幼虫自由游动，并对光有敏感性。成体外表类似于桶状，最外层有被囊覆盖，被囊表面有结节状突起（tubercular prominences）生长，另有口腔虹吸管（oral siphon）和围鳃腔管（atrial siphon）与外界相通，用于吸入食物以及排出代谢物。内部结构有心脏、鳃囊（branchial sac）、内柱

（endostyle）、消化管（oesophagus）、胃（stomach）、肠道（intestine）、生殖腺（gonad）、生殖管（gonoduct）和神经节（neural ganglion）等，以及位于口腔虹吸管和围鳃腔管末端的橙色的感觉器官——口腔虹吸管色素器官（oral siphon pigment organs, OPOs）和心房虹吸管色素器官（atrial siphon pigment organs, APOs）（图3B）。



注：A，幼虫结构示意图，6种幼虫组织分别为内胚层（蓝色）、间充质（紫色）、中枢神经系统（绿色）、脊索（橙色）、肌肉（红棕色）以及最外层的表皮；B，成体内部结构示意图，中枢神经系统包括感觉囊泡（脑，其中包括眼点和耳石等感觉器官）、神经索和神经节；C，幼虫神经系统的示意图；D，成体的神经系统示意图。

Note: A, Schematic diagram of larval structure depicting six tissues: the endoderm (blue), mesenchyme (purple), central nervous system (green), notochord (orange), muscle (reddish-brown), and the outermost layer of epidermis; B, Schematic diagram of the adult's internal structure, showing the central nervous system consisting of sensory vesicles (the brain, which includes sensory organs such as ocellus and otolith), nerve cords, and ganglia; C, Schematic diagram of the larval central nervous system; D, Schematic diagram of the adult central nervous system.

图3 玻璃海鞘幼虫及成体的结构示意图和中枢神经系统示意图

Figure 3 Structural diagrams and central nervous system diagrams of *Ciona intestinalis* larva and adult

2 玻璃海鞘作为模式生物的优势

玻璃海鞘作为模式生物的优势体现在许多方面，例如其基因组较小、与脊椎动物亲缘关系近、多个器官的组织结构与脊椎动物相似、生命周期相对短且易于实验室养殖与研究等。

2.1 胚胎发育快速，成体较透明，生命周期较短

玻璃海鞘的胚胎具有大而明确的细胞和细胞核、快速的有丝分裂周期和较少的细胞数量，这些特点为应用复杂的实时成像方法开展细胞生物学研究提供了便利。2021年Treen等^[3]应用活的海鞘胚胎做了一项表达实验，研究基因沉默后的抑制蛋白分布；结果提示DNA模板作为抑制因子Hes凝聚物形成的支架，限制了转录抑制因子在基因组不需要区域的分布。海鞘成体由于外覆被囊，透明度下降；但心脏、胃肠道、性腺等器官肉眼可见，易于观察多种体征，如心跳、胃肠消化过程、性腺发育过程等。这些体征数据可以更灵敏、精准地反映不同因素在海鞘上的作用效果。

另外，玻璃海鞘的胚胎发育期短，由卵裂球发育为幼虫用时仅需18 h（在18℃下养殖）。成体海鞘的生命周期是4~5个月，比小鼠、斑马鱼等经典模式动物的生命周期更短。性成熟个体的繁殖期约为2个月，成体海鞘一生大约可产生数千个胚胎，因此易在较短

时间内获得大量实验样本，便于作为生物模型研究有关全生命周期的科学问题。

2.2 遗传构成与人类等脊椎动物的相似性高

玻璃海鞘的基因组测序工作在2002年已经完成，并基于2018年的Hi-C数据，基因组序列信息得到了进一步的完善^[4]。海鞘的基因组大概有123 Mb，包含大约13 799个蛋白编码基因，其中50%左右的基因可以在人类等其他脊椎动物中找到^[5]。脊椎动物的基因家族通常以简化形式存在于海鞘中。测序结果表明在目前所涉及的脊索实验动物中，玻璃海鞘与脊椎动物的亲缘关系最近。借助完善的基因数据，结合最新组装的一个高质量版本的基因/转录模型集^[6]，可以识别海鞘与包括小鼠、人等在内的已研究生物的同源基因，有助于开展发育生物学和进化研究。同时，海鞘基因组较小，单拷贝，基因组构成紧凑，可以更简便地研究某些基因的功能和相互作用。

目前，玻璃海鞘全基因组序列已公布，可通过多个网站查询，如<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/7719/>^[7]。还可利用Ensembl (<http://asia.ensembl.org/index.html>) 等网站将玻璃海鞘基因与人类或其他模式生物的基因组数据库进行比对，寻找同源基因。表1总结了玻璃海鞘基因组相关的常用数据库，可供参考。

表1 玻璃海鞘生物信息相关的数据库

Table 1 Genome-related databases of *Ciona intestinalis*

资源名称	网址	类型	主要内容
Resource names	Website	Type	Main content
Joint genome institute	https://genome.jgi.doe.gov/portal/	数据库	基因组
Ghost Database	http://ghost.zool.kyoto-u.ac.jp/cgi-bin/gb2/gbrowse/kh	数据库(日语)	基因组和cDNA
Aniseed genome browser	http://www.aniseed.cnrs.fr/	数据库	基因组
Smith research lab	http://labs.mcdb.ucsb.edu/smith/william	公众号	神经系统发育和功能
UniProt	https://www.uniprot.org/	数据库	蛋白质组
Ensemble	http://asia.ensemble.org	数据库	基因组
NCBI	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/dbEST_summary.html	数据库	基因的时空表达信息
NBRP	http://nbrp.jp/	数据库(日语)	cDNA
Database of Tunicate	http://dbtgr.hgc.jp/	数据库	组织特异性基因5'侧翼的顺式调控元件数据库
Gene Regulation			
NCBI	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/	数据库	基因表达谱
Tefor	http://crispor.tefor.vet	数据库	CRISPOR引物在线设计
PrimerX	http://www.bioinformatics.org/primerx/cgi-bin/DNA_1.cgi	数据库	基因突变引物在线设计
EDomics	http://edomics.qnlm.ac/#/home	数据库	基因组和转录组等

2.3 相似的器官组织构成和较少的细胞数量

玻璃海鞘幼虫和成体的器官组织结构都与脊椎动物有很多相似性。玻璃海鞘的消化系统具有高度发达和分区化的肠道，在消化食物过程中，肠道菌群起着重要的辅助作用。玻璃海鞘的免疫系统虽然没有B细胞、T细胞等适应性免疫系统成分，但已经建立起用以抵御外界有害物质的稳定黏膜环境和固有免疫体系。目前研究人员已经确定玻璃海鞘肠道黏膜表面存在众多免疫相关分子，如Toll样受体（Toll-like receptor, TLR）、补体（complement）等^[8]。对于中枢神经系统，玻璃海鞘幼虫与其他脊椎动物在形态与发育方面有较强的相似性，并且已研究发现玻璃海鞘成体内含有40多种神经肽与肽激素^[9]。玻璃海鞘的循环系统是开放的，会周期性地改变心脏跳动的方向，从而改变全身血液的流动方向；这种周期性方向变化的机制仍未明确，但有可能与其心脏存在“自动中心”、交替工作和心脏收缩周期性逆转有关^[10]。玻璃海鞘成体的心脏是一个简单的V形管，由单层横纹肌细胞组成，被覆单层心包上皮^[11]。另外，玻璃海鞘的内柱被认为与脊椎动物的甲状腺同源，可以摄入碘并维持体内碘高浓度，产生甲状腺激素^[12]。

另外，玻璃海鞘细胞数量少。幼虫完全发育时只有6种组织，全部细胞数仅大约2 500个，其中脊索仅有40个细胞，神经元大约有100个^[13]。因此，便于研究玻璃海鞘具体的发育过程并进行精细调控。

2.4 遗传操作的优势

玻璃海鞘的受精卵透明，易于遗传学操作。通过

显微注射和电穿孔可以将核酸（DNA、RNA）引入玻璃海鞘胚胎中，研究其器官的发育过程、体内蛋白的表达等；或者对玻璃海鞘胚胎的基因进行编辑，研究其基因的功能。目前，玻璃海鞘可在人工养殖体系中存活并进行传代，这为该动物模型的应用研究提供了保障。

目前，主要有4种基因编辑技术已经在玻璃海鞘中成功应用，分别为转录激活因子样效应物核酸酶（transcriptional activator-like effector nucleases, TALENs）技术、成簇规律间隔短回文重复序列（clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR）/CRISPR相关蛋白9（CRISPR-associated protein 9, Cas9）转基因编辑技术、吗啉基寡核苷酸（morpholino oligonucleotides）基因沉默技术和转座子转基因技术。

CRISPR/Cas9和TALENs被广泛用于海鞘遗传功能的研究。TALENs技术是通过构建有特异性的核酸酶蛋白，剪切DNA特定序列，实现基因编辑^[14]；该技术在2004年成功应用于海鞘纤维素合成酶（cellulose synthase）基因的剪切^[15]。CRISPR技术来源于原核生物免疫系统，可以识别和剪切特定基因^[16]。例如，最近有研究就应用CRISPR方法探究Tbx1/10-Ebf-Mrf网络在咽肌分化中的功能，以及Wnt-Tcf在心脏发育中的功能^[17]。相较于TALENs，CRISPR技术具有更高的精确性和可控性，且操作更简单，但会导致更多的非靶向基因敲除，即“脱靶效应”。此外，与TALENs比较，CRISPR/Cas9的突变率低。因此，对于组织特异性敲除，即使CRISPR/Cas9方法构建更容易，仍建议

使用TALENs技术^[17]。尽管后来出现了一种针对有效变异基因的优化的CRISPR/Cas9方法,而且构建CRISPR/Cas9比构建TALENs容易,但是使用优化的CRISPR/Cas9方法也不容易实现对玻璃海鞘的组织特异性敲除时,TALENs技术仍然非常有用^[17]。

吗啉基寡核苷酸可与靶序列结合,通过空间位阻效应,阻断蛋白质翻译过程,抑制目标基因的表达。在海鞘受精卵中注射吗啉基寡核苷酸可在海鞘发育成幼虫阶段时,抑制特定蛋白的表达^[18]。吗啉基寡核苷酸技术能较好地抵抗核酸酶的作用,不引起目标基因的mRNA降解,特异性好,但价格较高。该技术于2001年被证实可抑制海鞘内源、外源基因的表达,通过注释目的基因的mRNA可回补对应的吗啉基寡核苷酸的抑制效果,如 β -catenin mRNA能解除吗啉基的抑制作用。转座子通过携带特定基因并调控后者表达,向基因组引入外源基因;该技术于2010年成功应用于绿色荧光蛋白的表达^[19]。

向海鞘的卵或胚胎引入外源基因的技术主要有显微注射和电转2种。显微注射是经典且常用的核酸输送方式,也是最早被应用于海鞘的转基因技术。该技术可在体视镜下,通过显微针头注射,将核酸片段注入海鞘卵或胚胎中。显微注射仅需较小量的核酸,且可以明确注射的位置和转入外源基因的量,确保以比电穿孔更少的镶嵌方式引入核酸;但是此方法操作难度较高且速度慢^[20]。电转是通过电穿孔使卵摄入外源质粒DNA,常用于研究发育过程中的基因调节。电转虽然可以同时很多卵进行操作,但需较大量的核酸,且无法确定注射的位置和转入外源基因的量^[21]。同时,很多胚胎未实现外源基因整合,而在实现了外源基因整合的胚胎中,有很大一部分为嵌合胚胎,即胚胎中部分卵裂球实现了外源基因整合,但部分卵裂球并无外源基因整合,因此在观察表型之前,需要通过参考报告评估基因的表达水平,从而选择转基因嵌合性较低的动物个体^[17]。

3 玻璃海鞘作为模式生物的已有研究方向

作为脊椎动物的姊妹分支,玻璃海鞘具有与脊椎动物类似的器官组织结构且生命周期较短,可用作神经生物学、免疫学、发育生物学等研究方向的基础模型。

3.1 神经生物学

3.1.1 玻璃海鞘的神经系统构成

海鞘幼虫的中枢神经系统(central nervous system,

CNS)由感觉囊泡、神经节和神经索3部分组成(图3C)。类比人类的中枢神经系统,海鞘大脑就是感觉囊泡,其中包含耳石和单眼等感觉器官^[22]。神经节包括5对胆碱能神经元,其中有能够支配尾部肌肉的运动神经元^[23-24]。神经索沿着尾巴的背侧区域排布,其中包含4排室管膜细胞;神经元几乎不存在^[23]。在分子水平上对海鞘和脊椎动物的中枢神经系统进行比较后发现,海鞘幼虫中枢神经系统的组织结构与脊椎动物的组织结构非常相似。例如,脊椎动物的前脑和中脑对应海鞘的感觉囊泡;脊椎动物的中后脑组织边界(mid-hindbrain boundary, MHB)对应海鞘的神经节;脊椎动物的后脑和脊髓对应海鞘脊索^[25-26]。此外,海鞘幼虫的整合转录组/连接组脑图显示,其具有与脊椎动物下丘脑不同区域相关的几种细胞类型,包括乳状核、弓形核和大细胞神经元;并且对比转录组分析确定,海鞘幼虫有小鼠下丘脑不同区域神经元的同源细胞类型。这些观察结果为下丘脑先于脊椎动物大脑的进化提供了证据^[27]。所以,研究玻璃海鞘的神经系统发育、再生等方面内容可为开展脊椎动物的神经系统研究提供思路。

变态后的成体海鞘的神经系统由神经复合体、神经腺(图3D)、连接虹吸口的感觉神经、体壁神经、内脏神经以及背部神经丛组成,神经复合体和神经腺位于两个虹吸管之间的体壁上。位于神经复合体内的脑神经节包括了中枢神经系统的大部分神经细胞体。在这些成分中,脑神经节、背部神经和内脏神经形成背神经系统,被认为可以调节食物摄入、排泄和生殖等生物过程^[28]。这可以被认作是脊椎动物神经系统控制机体调节某些生物过程的原始程序,或者说是起始点。

3.1.2 玻璃海鞘幼虫神经系统的光行为

海鞘幼虫具有一系列的视觉运动行为,其中特征性行为模式包括向上游动的初始时期和向下游动或者下沉的时期。许多研究者注意到,光照会导致同一年龄段不同幼虫个体之间的运动行为有显著区别。研究表明,幼虫在接受反复光刺激后表现出不同的光行为,这些行为强烈依赖于光的强度和幼虫自身所处的发育阶段。这种差异是基于幼虫行为的敏感性(不同个体对不同强度光的敏感度)和习惯性(幼虫本身见到光会停止运动,在反复光刺激下,对光的响应逐渐减弱,最终见到光不会停止)而产生的。但是这种光行为只能产生在孵化4 h以上的幼虫身上,并且这种习惯性的

记忆大约只能保持 1 min^[29]。玻璃海鞘幼虫对光刺激的敏感性与习惯性提示其可以用来帮助了解短期和长期行为可塑性的细胞和生化基础,其具有的简单神经系统也可以被用于习惯化、致敏和经典条件反射的还原论分析。此外,玻璃海鞘拥有一种已知最简单的神经系统,这种简单性促进了将行为和神经回路联系来的研究。研究发现,海鞘幼虫的两种不同的视觉运动行为,即隐现的阴影反应和负趋光性,是由不同的光感受器簇启动的独立神经回路介导后,投射到被称为脑后囊泡 (posterior brain vesicle, pBV) 的中枢神经系统结构所产生。pBV 汇集多个感觉系统的输入,这提示了 pBV 很可能是感觉整合与处理的场所,进一步支持了 pBV 和脊椎动物的脑之间共同起源的理论^[30]。

3.1.3 玻璃海鞘神经系统的神经肽、肽激素及同源体

在海鞘中,已经发现了 40 种神经肽、肽激素和几种同源受体。迄今为止,海鞘神经肽包括 4 类:第一类是脊椎动物肽的同源序列、受体及其信号通路,同源序列包含胆囊收缩素 (cholecystokinin, CCK)。第二类是脊椎动物肽的同系物或者雏形,例如促性腺激素释放激素 (gonadotropin-releasing hormone, GnRH)、速激肽 (tachykinin, TK)、胰岛素/松弛素 (insulin, INS/relaxin, RLX) 旁系同源物、降钙素 (calcitonin, CT) 和甘丙肽 (galanin, GAL),这些肽在原口动物中未被鉴定到。第三类多肽属于保守家族,但含有特异性的基本序列或活性,如 Ci-GnRH-X (一种结构相关的海鞘 GnRH 肽) 和海鞘血管升压素 (*Ciona* vasopressin, Ci-VP)。同源受体包括离子蛋白受体 (*Cionin* receptor, CioR)、促性腺激素释放激素受体 (GnRH receptor, GnRHR)、海鞘速激肽受体 (*Cionin*-TK receptor, Ci-TK-R) 和海鞘血管升压素受体 (Ci-VP-receptor, Ci-VP-R) 等。序列相似性和分子系统发育树证明海鞘的肽和受体与脊椎动物有着共同的祖先。第四类是通过肽表达谱鉴定到的新发现的海鞘特异性肽,特征是羧基端的氨基酸序列包含 YFV/Ls (Tyr-Phe-Val/Leu) 肽家族和 LF (Leu-Phe) 家族。这些肽及其前体与已知神经肽无序列同源性。因此,这些神经肽被认为是在海鞘特异的世系中逐渐形成的,可能在海鞘特异的功能中发挥作用。这些肽的受体尚未被确定^[31]。

作为脊椎动物的姊妹分支,玻璃海鞘不仅在研究各种生物过程内在的神经肽和激素分子机制方面有应

用优势,而且在研究内分泌、神经内分泌和神经系统的分子、功能进化和多样化上具有优越性。例如,海鞘速激肽 (Ci-TK) 可以通过激活若干蛋白酶诱导卵巢二期卵黄细胞的滤泡生长,从而上调卵母细胞的生长^[32];海鞘神经紧张素样肽 6 (*Ciona*-neurotensin-like peptide-6, Ci-NTLP-6) 下调海鞘卵黄卵母细胞生长,其生物学机制已被阐明^[33]。由于玻璃海鞘没有与脊椎动物垂体和产生分泌性类固醇激素相对应的器官,提示在脊椎动物进化获得垂体器官和分泌性类固醇激素之前,神经肽也许在共同祖先的卵巢滤泡发育中是主要的调节因子。海鞘神经肽能卵泡发育系统是整个脊索动物中保守的进化起源。高等的促性腺激素系统即下丘脑-垂体-性腺 (hypothalamus-pituitary-gonad axis, HPG) 轴,是随着垂体器官和相关垂体激素或性类固醇激素的获得而建立的。根据相关研究结果推测,玻璃海鞘已经进化出神经肽能 GnRH 直接调节卵巢的机制。这可能是脊椎动物 GnRH 能介导相关内分泌调节的前身,以及神经内分泌系统 (HPG 轴) 的前身^[9]。通常, GnRH 是脊椎动物生殖成熟所必需的,而 γ -氨基丁酸 (gamma aminobutyric acid, GABA) 是青春期下丘脑 GnRH 的重要兴奋性调节因子。2020 年 Hozumi 等^[34]通过研究海鞘变态,揭示了 GABA-GnRH 轴在脊索动物胚胎后发育调控中的另一个作用,即作为海鞘变态的关键调节因子;虽然 GABA 通常被认为是一种抑制性神经递质,但在海鞘变态中 GnRH 是 GABA 的下游神经肽, GABA 通过促代谢的 GABA 受体正向调节 GnRH 分泌。

3.2 免疫学

海鞘在脊椎动物免疫系统的进化中占有重要地位^[35]。海鞘有成熟的固有免疫系统。随着玻璃海鞘基因组序列的发布,目前可以基本排除海鞘存在适应性免疫;但是玻璃海鞘已进化出部分适应性免疫系统相关基因的前体,如原始的主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC)^[35],而且海鞘编码免疫相关基因相对简单^[36]。以上研究结果提示海鞘可以成为免疫领域研究中潜在的理想模式生物。

3.2.1 玻璃海鞘固有免疫系统

海鞘的咽部和肠道是最容易受到海洋环境微生物侵袭的身体结构,被认为是主要的免疫器官。已知源自体腔细胞或血细胞的吞噬活性在无脊椎和脊椎动物的固有免疫中发挥重要作用。海鞘的内部防御主要依靠在咽部血管中循环和在非血管的被囊基质中分散的

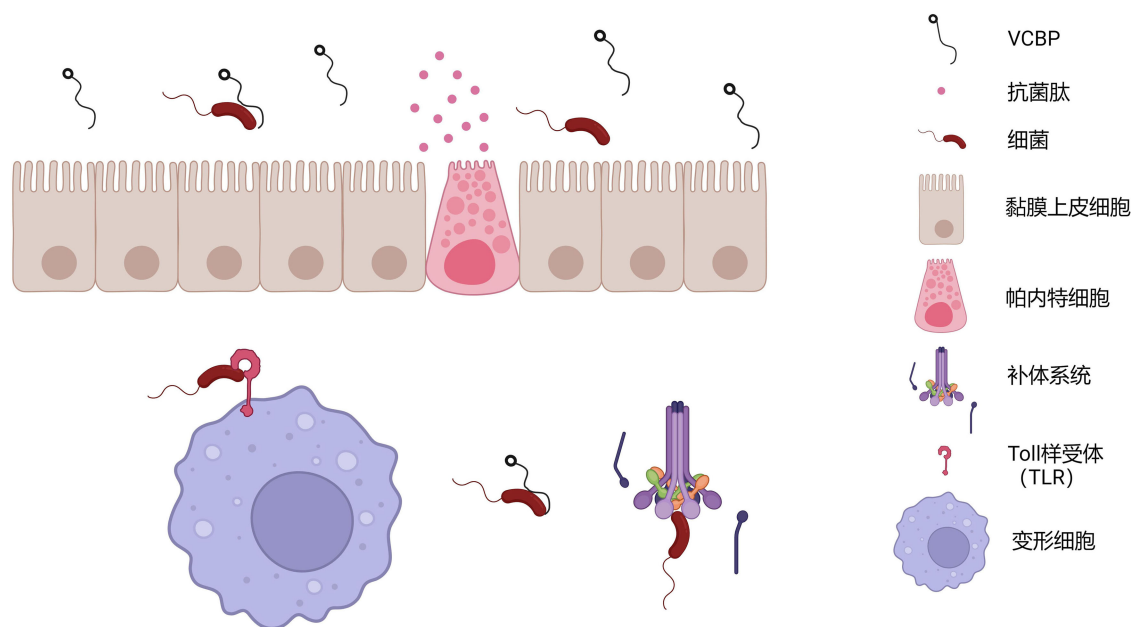
不同类型的血细胞、在血淋巴和咽中循环的血细胞,以及位于肠道固有层的血细胞完成,它们是感知自我或识别非自我的先天免疫能力的幕后主角^[37-38]。

先天免疫是所有后生动物门的特征,不同种类的分子作为种系编码受体发挥作用,可以识别出非常不同的分子结构。海鞘先天免疫系统的组成部分似乎与脊椎动物是共同的,提示在原脊索动物和脊椎动物的共同祖先中,至少已经存在一些与脊椎动物免疫有关的遗传回路^[37]。

玻璃海鞘固有免疫系统中的免疫分子同源物主要包括补体系统、Toll样受体和参与免疫反应的细胞内信号转导相关基因,并与脊椎动物比较表现出扩张和意想不到的多样性^[35,37]。同时,在具有免疫球蛋白超家族可变区-V结构域的基因中,海鞘具有文昌鱼含几丁质结合蛋白的可变区(variable region-containing chitin-binding proteins, VCBP)的同源物,即分泌免

疫球蛋白的含几丁质结合蛋白的可变区(*Ciona robusta* variable region-containing chitin-binding proteins, CrVCBPs),其两个N端V结构域与几丁质结合结构域相连,与脊椎动物的含V区抗体和T细胞抗原受体不同,CrVCBPs不经历体细胞重排,但可以表现出区域化的超多态性^[35,37]。作为免疫受体分子,VCBP在海鞘肠道稳态调节中发挥了重要作用,但它不存在于脊椎动物中^[37]。

海鞘体腔细胞具有调理素依赖性和非依赖性吞噬作用,具有6个整合素 α (integrin α) 基因和5个整合素 β (integrin β) 基因。免疫细胞主要包括变形细胞和帕内特细胞(图4)。有关海鞘免疫系统及其与人类免疫系统进化关系的比较分析见表2。从进化的视角看,海鞘的TLR、补体系统和跨膜信号转导基因均在进化上保守;尽管海鞘无适应性免疫系统,但其已进化出了部分适应性免疫系统相关分子的前体^[38]。



注:黏膜免疫包括黏膜上皮细胞分泌黏液,以及帕内特细胞分泌抗菌肽;固有免疫是由Toll样受体(TLR)、含几丁质结合蛋白的可变区(VCBP)和补体系统等机制介导变形细胞吞噬作用。

Note: Mucosal immunity includes the secretion of mucus by mucosal epithelial cells and the secretion of antimicrobial peptides by Paneth cells. The innate immunity is mediated by Toll-like receptors (TLR), variable region-containing chitin-binding proteins (VCBP), and the complement system, which facilitate the phagocytic activity of amoebocytes.

图4 玻璃海鞘的固有免疫系统对消化道的保护机制

Figure 4 Protective mechanism of the innate immune system to the digestive tract of *Ciona intestinalis*

哺乳动物基因组编码若干个TLR,每一个TLR负责检测对应的病原体相关分子。人类拥有9种亚型的TLR基因。通过细胞外富含亮氨酸的重复基序和细胞

内的Toll/IL-1R结构域鉴定到海鞘仅有3个TLR基因,仅编码2种亚型的TLR分子,即主要表达于海鞘消化道和血细胞中的TLR1和TLR2^[38]。小鼠的RP105蛋白

表2 海鞘免疫系统与人类免疫系统的比较

Table 2 Comparison of immune systems between *Ciona intestinalis* and human

免疫系统组成 Immune system composition	玻璃海鞘 <i>Ciona intestinalis</i>		人 <i>Homo sapiens</i>		进化差别 Evolutionary difference
	分子 Molecules	作用 Function	分子 Molecules	作用 Function	
免疫识别分子 Immune recognition molecules	TLR	介导免疫应答	TLR	介导免疫应答	人类TLR具有更多亚型
	凝集素	特异性结合糖蛋白	-	-	不存在同源分子
	酚氧化酶	杀死细菌,合成黑色素	-	-	不存在同源分子
	CrPxt	介导细胞-细胞,细胞-细胞外基质之间的黏附	-	-	
	CrPtx-like	参与体液免疫	C反应蛋白	参与固有免疫反应	同源
细胞因子 Cytokine	补体系统分子C3、CFB、MASP等	调理作用、炎症反应	补体系统分子C3、CFB、MASP等	调理作用、炎症反应、溶解细胞	同源
	TNF- α	参与细菌的免疫反应	TNF- α	识别病原体,激活NF- κ B	同源
	IL-17	介导抗真菌和细菌的保护性免疫	IL-17	介导抗真菌和细菌的保护性免疫,也与多种自身免疫性和慢性炎症性疾病相关	同源
	CiTGF- β	参与免疫应答,激活免疫细胞	hTGF- β	调节炎症过程	同源
组织重构与伤口愈合相关因子 Factors related to tissue remodeling and wound healing	MMP-9样分子	胚胎发生、组织重构、血管生成、伤口愈合	MMP-9	胚胎发生、组织重构、血管生成、伤口愈合	同源
	MIF	介导免疫反应	MIF	介导固有免疫和适应性免疫反应	同源
顺式调控元件 Cis-regulatory element	Cr8long、Cr8short	功能尚不明确	RTP	与嗅觉相关	同源
	CrCAP	免疫应答调控	GAIT复合物	免疫应答调控	同源
抗菌肽 Antimicrobial peptide	Ci-MAM-A、Ci-PAP-A	参与初次免疫应答	-	-	不存在同源分子

注: TLR为Toll样受体; CrPxt为海鞘细胞黏附蛋白; CrPtx-like为海鞘的穿透素样组分; C3为补体C3; CFB为补体B因子; MASP为甘露聚糖结合蛋白-凝集素相关丝氨酸蛋白酶2; TNF- α 为肿瘤坏死因子 α ; IL-17为白细胞介素17; CiTGF- β 为海鞘转化生长因子- β ; hTGF- β 为人转化生长因子- β ; MMP-9为基质金属蛋白酶-9; MIF为巨噬细胞迁移抑制因子; RTP为受体转运蛋白家族; GALT复合物为干扰素(IFN)- γ 激活的翻译抑制复合物; Cr8long、Cr8short、CrCAP、Ci-MAM-A及Ci-PAP-A均为玻璃海鞘中发现的蛋白质或肽段的直接命名。

Note: TLR, Toll-like receptor; CrPxt, *Ciona* peroxinectin; CrPtx-like, Pentraxin-like component of *Ciona intestinalis*; C3, Complement C3; CFB, Complement factor B; MASP, Mannose-binding protein-associated serine protease; TNF- α , Tumor necrosis factor α ; IL-17, Interleukin-17; CiTGF- β , Transforming growth factor- β of *Ciona intestinalis*; hTGF- β , Human transforming growth factor- β ; MMP-9, Matrix metalloproteinase-9; MIF, Macrophage migration inhibitory factor; RTP, Receptor transporter protein family; GALT, Interferon (IFN)- γ -activated translational inhibitory complex; Cr8long, Cr8short, CrCAP, Ci-MAM-A, and Ci-PAP-A are named after proteins or peptides identified in *Ciona intestinalis*.

属于非典型的哺乳动物TLR家族成员,拥有多个LRR基序,缺少Toll/IL-1R结构域。在海鞘中鉴定到10个与RP105蛋白相似结构域的基因^[35]。

人类的补体系统主要有调理作用、参与炎症反应和细胞溶解3种作用。海鞘的补体系统包括补体C3 (complement 3)、FB (factor B)、甘露糖结合蛋白-凝集素相关丝氨酸蛋白酶 [mannose-binding protein (MBP)-associated serine proteases, MASPs]、甘露聚

糖结合凝集素 (mannan-binding lectin, MBL)、纤维胶凝蛋白 (ficolin)、补体3受体的 α 和 β 链 (the alpha and beta chain of the receptor of complement 3, CR3 α 和CR3 β)等,可发挥调理作用和介导炎症反应。包含的识别分子有MBP、ficolin和C1q (补体系统经典途径的识别分子)。哺乳动物的晚期补体组分在病原体细胞膜上形成膜攻击复合物 (membrane attack complex, MAC),从而导致细胞溶解。这些MAC的组分和穿孔

素(perforin)具有特有的MAC/perforin结构域。虽然由于缺少补体C6(complement 6)基因,海鞘的补体系统不能引发细胞溶解^[35],但是在海鞘中也发现了类似的结构域。值得注意的是,所有的C6样基因都有相应的EST序列。系统发育分析表明C6样基因在海鞘谱系得到扩张。哺乳动物的补体系统包括调节子,可抑制不需要的对抗自身细胞的补体激活。大多数的补体调节子由重复的SCR结构域组成,在海鞘中其补体调节子也包含132个具有SCR结构域基因模型^[35]。

此外,抗菌肽能抵御细菌、病毒、真菌的感染。海鞘的免疫系统中已发现2种抗菌肽,即抵御微生物的海鞘分子A(*Ciona*-molecule against microbes, Ci-MAM-A)和海鞘假定的抗菌肽A(*Ciona*-putative antimicrobial peptide, Ci-PAP-A)。这两种抗菌肽主要存在于被膜上和发生炎症反应的组织的粒细胞中^[39]。

3.2.2 适应性免疫系统

适应性免疫仅存在于有颌脊椎动物中,可以通过重组机制产生特异性识别。免疫球蛋白和T细胞抗原受体作为介质,其特异性会受到体细胞在可变(V)结构域的变异影响。玻璃海鞘缺乏在脊椎动物适应性免疫系统中发挥关键作用的重要基因,但是根据分子进化相关研究,玻璃海鞘含有与脊椎动物MHC抗原加工和/或呈现系统相关基因具有显著同源性的基因,例如适应性免疫的关键基因T细胞受体、二聚体免疫球蛋白分子、MHC I类和II类基因、参与Ig和TCR重排的RAG1和RAG2、末端脱氧核苷酸转移酶(将核苷酸添加到重新排列的VDJ元件中创造受体多样性),以及V区亚基因元件(编码T细胞和Ig抗原受体结构域)、VLR样免疫受体元件等^[37]。另外,在海鞘内还鉴定到一些可以与C型凝集素受体(C-type lectin receptors, CLRs)耦联的免疫受体酪氨酸基抑制基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITIMs)和免疫受体酪氨酸基激活基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITAMs)^[35,37,40],而C型凝集素受体在脊椎动物中可以参与细胞内信号转导,触发细胞因子产生及诱导适应性免疫反应。其次,脊椎动物的适应性免疫系统需通过重组激活基因(recombination activating genes, RAG)编码的重组酶对胚系基因片段进行重排,进而实现适应性免疫识别分子的特异性和多样性;而对玻璃海鞘基因组的分析表明,海鞘不仅具有可作为RAG介导的转位事件靶点的V结构域,而且具有类似于C1集的C结构域,这是抗

原受体的另一个核心元件^[40]。由于海鞘尚未进化出重组激活基因,所以其已进化出的适应性免疫系统相关分子前体尚不能像在脊椎动物中那样发挥适应性免疫作用^[35]。但玻璃海鞘中上述结构域序列的相似性以及和脊椎动物中对应系统发育的关系为免疫相关基因的进化研究提供了一些线索。

3.2.3 免疫系统对消化道菌群的选择性调控

海鞘的消化系统是由咽部、食管、胃、肠道4部分构成的U型消化管道,相比于常用的模式生物如线虫、果蝇等,更接近人类消化系统。海鞘的肠道核心菌群包括革兰阴性菌属的变形菌门、拟杆菌门、梭杆菌门和疣微菌门,以及革兰阳性菌属的厚壁菌门和放线菌门等;这些细菌在其他动物(包括人类)的肠道中也具有十分重要的作用^[8]。

海鞘固有免疫系统对消化道的保护机制包括由黏膜上皮细胞分泌的黏液、抗菌肽,以及由模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)、VCBP和补体系统等机制介导的变形细胞吞噬作用^[8]。

免疫系统对消化道微生物的识别和选择性调控主要体现在:PRR与消化道微生物相互作用,若识别该菌为消化道益生菌,则不产生免疫应答,支持其在胃肠道寄生繁殖;若识别该菌为病原体,则产生炎症反应,通过固有免疫应答予以清除^[41]。

海鞘固有免疫系统与肠道菌群相互作用的主要分子为VCBP-C。该蛋白介导无脊椎动物变形细胞的吞噬调理作用。体外实验已证实,VCBP-C可选择性地与部分细菌结合并将其清除,而不与某些细菌作用,为这些细菌在肠道寄生提供可能。同时,海鞘肠道中表达的TLR除固有免疫识别外,还可以识别不同微生物,并有选择地维护肠道益生菌^[8]。有关TLR对不同菌株的识别和选择性调控的机制,目前尚无研究做出明确阐述。

3.2.4 免疫系统应答病原菌感染的炎症反应

有关固有免疫系统对病原体的识别和应答研究主要聚焦在海鞘咽部感染后由内柱(endostyle)介导的炎症反应。当前,研究人员已发现了许多对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)炎症反应发挥应答效应的分子,如属于过氧化物酶-环氧化酶基因超家族成员的海鞘细胞黏附蛋白(*Ciona* peroxinectin, CrPxt),其在LPS接种后表达上调,聚集于发炎的被囊基质和内柱的7、8、9区的血细胞、血管上皮和单室折射性粒细胞中^[42]。海鞘在接种LPS后1 h出现CrPxt表达峰值,

且 MD-2 相关脂类识别蛋白 (MD-2-related Lipid-recognition, ML) 超家族成员和尼曼病蛋白 C2 (Niemann-Pick type C, NPC2) 优先在血管腔内的血细胞中表达^[43]。有研究通过比较对照组和 LPS 接种组的整个咽部转录本发现, 2 和 4 亚家族的细胞色素 P450 成分表达下调; 另外通过 miRNA 网络相互作用发现, 不同的保守性和物种特异性 miRNA 参与细胞色素基因的转录后调控, 并且在海鞘炎症反应中, 调节炎症和细胞色素分子的特异性 miRNA 之间可能存在相互作用^[44]。另外有研究者发现, LPS 诱导产生的短 mRNA (Ci8 short) 派生的短肽能够与人类 MHC 的 I 类和 II 类等位基因特异性结合, 从而调节人类适应性免疫系统的多个重要反应^[45]。

海鞘现已成功应用于固有免疫应答机制和免疫基因进化的相关研究。例如: 针对海鞘炎症反应介导的转录和转录后基因调控机制的研究发现, TLR/髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 依赖性信号通路组分 (Tlr2, MyD88 和 Irak4) 与核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路组分 (NF- κ B, I κ B α 和 I κ k α) 之间存在功能上的联系; 在炎症反应中, 巨噬细胞移动抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) 比炎症介质或效应分子 [如 IL-17s、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloprotein 9, MMP9)、Tlrs、MyD88、白细胞介素受体相关激酶 (interleukin receptor-associated kinase 4, Irak4)、NF- κ B 和凝集素 (galectins)] 更频繁地表达, 这表明在炎症反应的双相激活中, Mif 细胞因子和 NF- κ B 信号通路组分之间存在密切的相互作用。针对 Tlr2、MyD88、核因子 κ B 抑制因子 α (inhibitor kappa B alpha, I κ B α)、I κ B 激酶 (I κ B kinase, I κ k) 和 NF- κ B 转录本的 3'-UTR 分析显示, 海鞘中存在 γ 干扰素激活/翻译抑制 (interferon- γ -activated inhibitor of translation, GAIT) 元件, 已知该元件在人类免疫基因特异性翻译的调节中起关键作用; 这表明, 海鞘和人类一样, 复杂的转录和转录后控制机制参与了若干炎症基因的调节^[46]。海鞘的穿透素样 (pentraxin-like, Ptx-like) 组分具有 C 端 PTX 结构域 [与人类 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 的短 PTX 同源] 和典型的长 PTXs 的长 N 端结构域, 参与了在体的 LPS 免疫反应; Ptx-like 在咽部血管内的血细胞簇 (主要是粒细胞) 表达, 且这

些粒细胞在肌肉组织和循环系统的腔隙中流动, 参与炎症反应的初始阶段和次要阶段, 实现基质重塑和稳态。这些证据表明 Ptx-like 是海鞘免疫防御反应系统对抗细菌感染的急性期反应的潜在分子^[47]。

此外, 人类甲状腺是由内柱进化而来^[42]。人类甲状腺是将碘元素作为产生甲状腺激素的原料, 而玻璃海鞘的内柱也可以利用碘元素^[5]。故不仅限于免疫反应, 深入研究玻璃海鞘内柱的其他功能也可能促进人们对甲状腺功能和甲状腺疾病的深入理解。

3.3 发育生物学

海鞘有其独特的系统发育位置, 以及简单的典型脊索动物的身体结构^[7]。脊索是脊索动物的重要特征, 可作为器官发育分化的组织中心支持身体结构, 并可以分泌一些信号因子传递到周围组织中, 诱导其他组织的发育分化, 并为其定位提供必要信息^[48]。玻璃海鞘的脊索只在幼体中存在, 且结构简单, 由 40 个细胞组成, 并分别来自两个细胞谱系。玻璃海鞘的脊索细胞数目少、个体大, 可作为脊索发育研究的模式生物, 很早就受到关注, 研究成果颇丰^[49]。一方面, 研究聚焦于脊索形成的细胞过程, 利用实时影像、共聚焦显微镜等技术观察脊索发育过程的细胞变化, 包括形状排列、定向迁移、细胞间黏附和相互作用等^[50-51]。研究发现海鞘脊索的管腔形成依赖于各种常见的基本细胞生物学过程, 包括细胞形态变化、顶端膜的生物发生、细胞间黏附重塑、动态细胞爬行和管腔基质分泌等^[50]。而一些脊椎动物 (如斑马鱼) 的肠道形成也是通过这一管腔形成方式完成的^[52], 这为研究生物管腔形成模式提供了新的见解。人类等脊椎动物的大多数器官 (包括肺、肾和脉管系统) 主要或完全由管道组成, 生物管腔在机体内发挥运输、交换等重要作用。人类的许多疾病如多囊肾病和动脉粥样硬化性心脏病, 本质上都是管道缺陷。深入理解管腔发生的分子机制可能会为诊断和治疗这些疾病提供新的方法。另一方面, 部分研究关注更深层面的控制脊索发育的基因表达调控网络。有研究者发现, 阻断双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶 (dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase, DYRK1) 的活性可以抑制海鞘脊索的发育, 并在抑制 DYRK1 活性后通过磷酸化蛋白质组学和脊索特异性蛋白质组学相结合鉴定出相当多的磷酸化差异蛋白, 这些磷酸化蛋白参与介导与脊索管腔形成有关的囊泡运输、离子跨膜运输等过程, 提示脊索发育分子机制与 DYRK1 密切相关^[53]。

在海鞘基因组测序结果的基础上,研究者通过精细的分子实验揭示,玻璃海鞘基因组中有限的转录因子可以通过不同组合产生复杂的发育结果^[54]。运用多种基因编辑技术如CRISPR/Cas系统可以调控单细胞阶段的受精卵,从而观察表型变化;单细胞转录组测序技术(single cell RNA-seq, scRNAseq)可以研究特定细胞群的转录组,从而探索影响发育过程的基因网络。再加上实时成像技术和计算方法,可以对脊索动物进化过程中的发育策略有更进一步的认识。比如意大利那不勒斯安东·多恩动物学院生物与海洋生物进化系的Olivo等^[55]在单细胞水平上描述了海鞘感觉器官色素细胞和光感受细胞谱系的发育程序,揭示了基本的脊索动物色素和感光细胞形成的发育机制,以及高等脊椎动物构建更复杂结构的共同或不同的进化策略。

此外,作为动物模型,海鞘对人类理解心脏发育基因网络也做出了重要贡献。在观察到转录因子*Ci-es1/2*和*Ci-mesp*表达可促使海鞘产生心脏祖细胞后,研究人员将人皮肤成纤维细胞转分化为心脏祖细胞。这一独特发现为人类细胞培养中细胞谱系的重新编程提供了方向^[56]。Wang等^[57]在2020年采用单细胞基因组学方法,重建了形成第一和第二心脏谱系和咽肌前体的发育轨迹,并表征了心咽命运选择的分子基础。

3.4 其他有潜力的应用研究方向

3.4.1 玻璃海鞘作为再生研究的模型

玻璃海鞘可以作为模式生物用于再生机制研究,其优势不仅是海鞘基因组已经完成测序和注释,而且已经发现了关于其发育的大量信息,例如,胚胎细胞谱系可以揭示哪些胚胎细胞产生了参与再生过程的多能细胞。另外,基因编辑可以实现在海鞘特定组织中表达某些分子标志,这些标志可以用来追踪海鞘的再生过程,从而对海鞘的再生进行跟踪探索,例如Auger等^[58]运用在整个神经系统中表达绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的转基因海鞘探究口腔虹吸管不同部位截短后的再生能力。海鞘虹吸管也可以作为外植体培养^[58],便于在体外研究再生或者进行再生过程的基因分析。玻璃海鞘的神经复合体(即神经系统)和虹吸管具有再生能力,并且被证明具有近端身体部位再生远端器官的能力^[59]。海鞘与脊椎动物具有较近的亲缘关系,对海鞘再生机制的研究有可能揭示包括人在内脊椎动物的再生机制。

部分有关海鞘再生的研究集中于以口腔虹吸管作为模型^[58,60]。口腔虹吸管沿其边缘有OPOs,其管中

具有肌纤维网络。由顶部、管部或底部的口腔虹吸管截断触发不同的再生过程。一种是通过直接分化位于局部的干细胞,或从鳃囊迁移的干细胞直接分化来替代OPOs,而无需新的细胞分裂;另一种是通过由鳃囊干细胞产生的祖细胞的迁移来参与芽基形成^[61]。当玻璃海鞘被垂直纵轴截断时,近端如口腔虹吸管和神经复合体可以再生远端组织,但远端碎片不能再生近端器官,即使远端含有一部分鳃囊干细胞^[60,62]。因此,2023年Jeffery等^[63]通过分离损伤海鞘的鳃囊、测序后转录组数据分析,鉴定出两大类差异表达基因:与再生有关的上调基因和与代谢稳态相关的下调基因。其中热休克70 kDa蛋白(heat shock 70 kDa protein, *hsp70*)、DnaJ热休克蛋白家族(Hsp40)成员B4[DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member B4, *dnaJb4*]基因表达水平在远端损伤后的鳃囊中显著上调,并且通过siRNA敲低验证了*hsp70*和*dnaJb4*是再生所必需的。由于两种基因在远端碎片中都没有显著表达,但在热休克处理远端碎片后表达激活,因此提示应激反应可诱导鳃囊细胞增殖,促进组织再生。这对理解包括脊椎动物在内的其他动物的有限再生有一定启示意义。

新的实用的中枢神经系统再生模型及其分子工具和资源对于研究神经再生至关重要。在脊索动物中,玻璃海鞘具有再生神经元和完整成体中枢神经系统的能力。因此,神经复合体也是研究海鞘再生的关注点。海鞘的神经节具有新的快速的再生模式,即在完全消融后28~35 d内形成一个全新的神经复合体。在健康成体中,表达物质P样(substance P-like, SP-li)、胆囊收缩素样和胰岛素样的免疫反应性神经元细胞体在神经节皮质皮层中表现出明确的定位模式,并具有贯穿整个神经堆的由核周引起的特征性长突起。某些递质如GnRH、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、物质P(substance-P, SP)的表达模式也在新的脑神经节中恢复,但新生神经节会小于原始的神经节^[64]。海鞘的神经系统再生被分为4个不同阶段:愈合(第I期)、神经合并(第II期)、结构再生(第III期)和功能再生(第IV期),这种划分有助于我们更清楚地观察在此过程中发生的复杂的时间和空间变化^[65],从而为理解普遍的再生过程奠定基础。

需要说明的是,现有的关于再生的研究大部分是在野生个体中按照体长来确定年龄,因此相关研究结果需要在人工养殖过程中用精确年龄的个体进行验证。

3.4.2 玻璃海鞘在疾病研究方面的应用

随着基因编辑技术的进步,当模式动物拥有与人类相似的同源基因时,可以在其基因组中模拟人类疾病发生的基因突变以构建疾病模型,模拟人类疾病的发生机制,提供更精细的模拟和分析研究^[66]。海鞘的优势在于:相比于其他无脊椎动物,它与人类有着较多的同源基因,并且透明度高,便于成像和进行基因编辑等操作,同时还具有寿命短、实验可操作性较强等优势,有助于人们理解细胞或组织在正常和病理条件下所发生的相应变化。以玻璃海鞘在阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)相关研究中的应用为例,各种遗传学和临床证据表明 β -淀粉样蛋白(β -protein, A β)、 β -淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)^[67]和包含异常磷酸化的微管相关tau蛋白的神经纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)^[68]是AD的主要病理性标志。海鞘基因组包含所有AD相关基因的同源物,如NFTs的主要成分tau蛋白和 α -分泌酶等。转基因海鞘幼虫可以适当表达人类APP695(与家族性AD相关的人类APP695变体),产生A β 肽,并且A β 可以迅速聚集形成淀粉样斑块,斑块沉积,进而影响幼虫附着变态。而对幼虫进行抗淀粉样蛋白治疗可改善这些AD样病状^[69]。虽然作为无脊椎动物,玻璃海鞘模型无法准确模拟复杂的哺乳动物神经系统和行为,但仍然可以帮助理解AD背后的分子细胞生物学过程,以及快速清晰地观察AD相关表型^[70]。将玻璃海鞘作为AD的研究模型,有可能在药物开发过程早期对筛选治疗AD的候选化合物发挥重要作用^[69]。

众所周知,人类心肌梗死后无法愈合,这促使生物医学领域对心脏受损再生相当关注。斑马鱼和新生小鼠等脊椎动物的心脏修复依赖于支持心肌细胞增殖的剩余心脏组织。与之不同的是,玻璃海鞘在心脏完全化学消融和功能丧失后仍可存活,并能恢复心脏组织和其收缩力。这提示玻璃海鞘可作为研究心脏受损和再生问题的动物模型。此外,玻璃海鞘与脊椎动物的心脏再生均依赖于骨形态发生蛋白信号介导的心肌细胞增殖,然而,玻璃海鞘心脏在完全消融后,新的心肌细胞可以从内胚层谱系出现,这是一个全新的心脏再生发生的案例^[71],提示可以利用玻璃海鞘确定内胚层细胞如何在体内转分化为心肌细胞的具体机制。

3.4.3 玻璃海鞘活性成分为开发新药提供思路

玻璃海鞘作为海洋生物,其本身具有的各种生物活性成分可以为新药研发提供材料。沿海地区有十分

丰富易得的海鞘资源,如果其活性成分具备开发成药物的可能性,那么对海鞘的有效利用将进一步扩展。

6-硫酸盐化葡萄糖基神经酰胺(6-sulfated glucosylceramide, 6-sufaltide)是从玻璃海鞘中分离出的一种活性物质。目前已知内源性的3-硫酸盐半乳糖神经酰胺(3-sulfated galactosylceramide, 3-sufaltide)参与肿瘤细胞转移的调节^[72]。而合成的6-sufaltide和3-sufaltide可以显著抑制小鼠黑色素瘤细胞B16F10在纤维连接蛋白包被的组织板上黏附,通过作用于细胞迁移和侵袭相关蛋白如抑制整合素 α (5)、 β (1)的表达,抑制局灶黏附激酶和Akt的表达以及细胞外信号调节激酶信号通路的激活,从而抑制肿瘤细胞的运动和侵袭^[73]。因此,这些硫脂化合物有望成为治疗肿瘤转移的候选药物。此外有研究发现,一种从玻璃海鞘中分离出的水化合物CI431可以通过线粒体介导途径诱导人肝癌细胞株Bel-7402细胞凋亡,推测CI431有可能被开发为一种新型的抗癌药物^[74]。

玻璃海鞘的固有免疫系统中天然存在抗菌肽,可以抵御外界细菌,维持自身环境的稳定。有研究人员根据玻璃海鞘血细胞中的天然肽合成了一种特殊耐盐肽Ci-MAM-A24(*Ciona*-molecule against microbes-A24,即海鞘抗微生物分子A24)^[75],其可以有效杀死耻垢分枝杆菌和牛分枝杆菌卡介苗^[76]。推测这一基于玻璃海鞘天然肽合成的化合物可以作为开发新的分枝杆菌抑制药物的基础。

4 展望

目前被应用的脊索实验动物中,玻璃海鞘的进化地位与人类亲缘关系最近,其器官组成也与人类有较大相似性。玻璃海鞘5个月左右的生命周期更使其成为观察衰老全过程的理想模式动物,具有极好的时间效益优势。另外,玻璃海鞘身体透明,心脏、胃肠道、性腺等器官肉眼可见,易于观察多种体征的特征;其中,与衰老有关的表型可以更敏锐地反映个体衰老情况,进而在衰老研究过程中更精准地体现不同因素的作用效果。海鞘的进化地位较为原始,其基因组组成较简单,可以通过转录组测序技术比较不同生命阶段个体的基因表达情况,从而确定玻璃海鞘中可能与衰老有关的基因和通路。此外,玻璃海鞘具有与人类等脊椎动物同源的基因,脊椎动物基因家族通常以简化形式在海鞘中存在,其生物信息的网络资源已基本完善。因此,相关基因研究结果不仅可以拓展到小鼠或者人

类的同源基因及其通路是否对衰老有独特作用,还可以用于研究在高等生物的复杂生物学机制中保守基因的作用。例如,有研究人员通过收集小鼠不同组织和器官的基因组数据生成单细胞转录图谱,评估不同年龄不同类型细胞的特异性表型,分析其基因表达变化与衰老的关系^[77]。因此,可以通过单细胞的时空转录组学,将玻璃海鞘与小鼠和人类生命周期过程中相关基因组进行比对,以寻找进化上相对保守的生物学过程;同时,相关研究内容也可以进一步拓展到细胞增殖、分化等方面。现已开展的以玻璃海鞘作为模式生物的研究内容涉及神经、免疫、发育和再生等领域,其中将玻璃海鞘与脊椎动物的蛋白质组进行比较,将为人类再生医学等领域提供更多的新思路。另外,玻璃海鞘体内的某些活性成分可以为新药研发提供思路。目前对于玻璃海鞘,仍有相当大的研究空间亟待探索,以玻璃海鞘为模式动物的研究将会在更多的科学领域中发挥重要作用。

[作者贡献 Author Contribution]

李睿琪检索文献,制作图1~4,撰写和修改文稿;
段涵检索文献,制作图5及表1~2,撰写和修改文稿;
甘罗检索文献,参与修改文稿;
郑媛指导文献选择,提供海鞘生活史图片,参与指导文章选题及修改;
杨文确定文章选题和大纲,指导写作和修改。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] DENOUE F, HENRIET S, MUNGPAKDEE S, et al. Plasticity of animal genome architecture unmasked by rapid evolution of a pelagic tunicate[J]. Science, 2010, 330(6009):1381-1385. DOI: 10.1126/science.1194167.
- [2] DELSUC F, BRINKMANN H, CHOURROUT D, et al. Tunicates and not cephalochordates are the closest living relatives of vertebrates[J]. Nature, 2006, 439(7079):965-968. DOI: 10.1038/nature04336.
- [3] TREEN N, SHIMOBAYASHI S F, EEFTEENS J, et al. Properties of repression condensates in living *Ciona* embryos[J]. Nat Commun, 2021, 12(1):1561. DOI: 10.1038/s41467-021-21606-5.
- [4] SATOU Y, NAKAMURA R, YU D L, et al. A nearly complete genome of *Ciona intestinalis* type A (*C. robusta*) reveals the contribution of inversion to chromosomal evolution in the genus *Ciona*[J]. Genome Biol Evol, 2019, 11(11):3144-3157. DOI: 10.1093/gbe/evz228.
- [5] DEHAL P, SATOU Y, CAMPBELL R K, et al. The draft genome of *Ciona intestinalis*: insights into chordate and vertebrate origins[J]. Science, 2002, 298(5601): 2157-2167. DOI: 10.1126/science.1080049.
- [6] SATOU Y, TOKUOKA M, ODA-ISHII I, et al. A manually curated gene model set for an ascidian, *Ciona robusta* (*Ciona intestinalis* type a)[J]. Zoolog Sci, 2022, 39(3): 253-260. DOI: 10.2108/zs210102.
- [7] SATOH N, SATOU Y, DAVIDSON B, et al. *Ciona intestinalis*: an emerging model for whole-genome analyses[J]. Trends Genet, 2003, 19(7): 376-381. DOI: 10.1016/S0168-9525(03)00144-6.
- [8] LIBERTI A, NATARAJAN O, ATKINSON C G F, et al. Reflections on the use of an invertebrate chordate model system for studies of gut microbial immune interactions[J]. Front Immunol, 2021, 12: 642687. DOI: 10.3389/fimmu. 2021. 642687.
- [9] MATSUBARA S, KAWADA T, SAKAI T, et al. The significance of *Ciona intestinalis* as a stem organism in integrative studies of functional evolution of the chordate endocrine, neuroendocrine, and nervous systems[J]. Gen Comp Endocrinol, 2016, 227:101-108. DOI: 10.1016/j.ygcen.2015.05.010.
- [10] HAYWOOD C A, MOON H P, MILLAR R H. Reversal of the heart-beat in Tunicates[J]. Nature, 1953, 172(4366):40-41. DOI: 10.1038/172040b0.
- [11] KALK M. The organization of a tunicate heart[J]. Tissue Cell, 1970, 2(1):99-118. DOI: 10.1016/s0040-8166(70)80010-6.
- [12] EALES J G. Iodine metabolism and thyroid-related functions in organisms lacking thyroid follicles: are thyroid hormones also vitamins?[J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1997, 214(4):302-317. DOI: 10.3181/00379727-214-44098.
- [13] PASSAMANECK Y J, DI GREGORIO A. *Ciona intestinalis*: chordate development made simple[J]. Dev Dyn, 2005, 233(1): 1-19. DOI: 10.1002/dvdy.20300.
- [14] YOSHIDA K, TREEN N. TALEN-based knockout system[M]// SASAKURA Y, ed. Transgenic Ascidians. Singapore: Springer, 2018:131-139. DOI: 10.1007/978-981-10-7545-2_12.
- [15] NAKASHIMA K, YAMADA L, SATOU Y, et al. The evolutionary origin of animal cellulose synthase[J]. Dev Genes Evol, 2004, 214(2):81-88. DOI: 10.1007/s00427-003-0379-8.
- [16] GANDHI S, RAZY-KRAJKA F, CHRISTIAEN L, et al. CRISPR knockouts in *Ciona* embryos[J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1029: 141-152. DOI: 10.1007/978-981-10-7545-2_13.
- [17] SASAKURA Y, HORIE T. Improved genome editing in the ascidian *Ciona* with CRISPR/Cas9 and TALEN[J]. Methods Mol Biol, 2023, 2637: 375-388. DOI: 10.1007/978-1-0716-3016-7_28.
- [18] SATOU Y, IMAI K S, SATOH N. Action of morpholinos in *Ciona* embryos[J]. Genesis, 2001, 30(3):103-106. DOI: 10.1002/gene.1040.
- [19] HOZUMI A, KAWAI N, YOSHIDA R, et al. Efficient transposition of a single Minos transposon copy in the genome of the ascidian *Ciona intestinalis* with a transgenic line expressing transposase in eggs[J]. Dev Dyn, 2010, 239(4): 1076-1088. DOI: 10.1002/dvdy.22254.
- [20] KOBAYASHI K, SATOU Y. Microinjection of exogenous nucleic acids into eggs: *Ciona* species[M]//SASAKURA Y. Transgenic Ascidians. Singapore: Springer, 2018:5-13.10.1007/

- 978-981-10-7545-2_2.
- [21] ZELLER R W. Electroporation in ascidians: history, theory and protocols[M]//SASAKURA Y. Transgenic Ascidians. Singapore: Springer, 2018:37-48.10.1007/978-981-10-7545-2_5.
- [22] HORIE T, NAKAGAWA M, SASAKURA Y, et al. Cell type and function of neurons in the ascidian nervous system[J]. Dev Growth Differ, 2009, 51(3): 207-220. DOI: 10.1111/j. 1440-169X.2009.01105.x.
- [23] HORIE T, NAKAGAWA M, SASAKURA Y, et al. Simple motor system of the ascidian larva: neuronal complex comprising putative cholinergic and GABAergic/glycinergic neurons[J]. Zoolog Sci, 2010, 27(2):181-190. DOI: 10.2108/zsj.27.181.
- [24] STOLFI A, LEVINE M. Neuronal subtype specification in the spinal cord of a protovertebrate[J]. Development, 2011, 138(5): 995-1004. DOI: 10.1242/dev.061507.
- [25] IKUTA T, SAIGA H. Dynamic change in the expression of developmental genes in the ascidian central nervous system: revisit to the tripartite model and the origin of the midbrain-hindbrain boundary region[J]. Dev Biol, 2007, 312(2): 631-643. DOI: 10.1016/j.ydbio.2007.10.005.
- [26] IMAI K S, STOLFI A, LEVINE M, et al. Gene regulatory networks underlying the compartmentalization of the *Ciona* central nervous system[J]. Development, 2009, 136(2): 285-293. DOI: 10.1242/dev.026419.
- [27] LEMAIRE L A, CAO C, YOON P H, et al. The hypothalamus predates the origin of vertebrates[J]. Sci Adv, 2021, 7(18): eabf7452. DOI: 10.1126/sciadv.abf7452.
- [28] OSUGI T, SASAKURA Y, SATAKE H. The nervous system of the adult ascidian *Ciona intestinalis* Type A (*Ciona robusta*): insights from transgenic animal models[J]. PLoS One, 2017, 12 (6): e0180227. DOI: 10.1371/journal.pone.0180227.
- [29] TSUDA M, KAWAKAMI I, SHIRAISHI S. Sensitization and habituation of the swimming behavior in ascidian larvae to light[J]. Zoolog Sci, 2003, 20(1):13-22. DOI: 10.2108/zsj.20.13.
- [30] BORBA C, KOURAKIS M J, SCHWENNICK S, et al. Fold change detection in visual processing[J]. Front Neural Circuits, 2021, 15:705161. DOI: 10.3389/fncir.2021.705161.
- [31] SATAKE H, MATSUBARA S, SHIRAISHI A, et al. Neuropeptides, peptide hormones, and their receptors of a tunicate, *Ciona intestinalis*[J]. Results Probl Cell Differ, 2019, 68:107-125. DOI: 10.1007/978-3-030-23459-1_5.
- [32] AOYAMA M, KAWADA T, FUJIE M, et al. A novel biological role of tachykinins as an up-regulator of oocyte growth: identification of an evolutionary origin of tachykininergic functions in the ovary of the ascidian, *Ciona intestinalis*[J]. Endocrinology, 2008, 149(9):4346-4356. DOI: 10.1210/en.2008-0323.
- [33] KAWADA T, OGASAWARA M, SEKIGUCHI T, et al. Peptidomic analysis of the central nervous system of the protochordate, *Ciona intestinalis*: homologs and prototypes of vertebrate peptides and novel peptides[J]. Endocrinology, 2011, 152(6): 2416-2427. DOI: 10.1210/en.2010-1348.
- [34] HOZUMI A, MATSUNOBU S, MITA K R, et al. GABA-induced GnRH release triggers chordate metamorphosis[J]. Curr Biol, 2020, 30(8):1555-1561.e4. DOI: 10.1016/j.cub.2020.02.003.
- [35] AZUMI K, DE SANTIS R, DE TOMASO A, et al. Genomic analysis of immunity in a Urochordate and the emergence of the vertebrate immune system: "waiting for Godot"[J]. Immunogenetics, 2003, 55(8): 570-581. DOI: 10.1007/s00251-003-0606-5.
- [36] SATAKE H, MATSUBARA S, SHIRAISHI A, et al. Peptide receptors and immune-related proteins expressed in the digestive system of a urochordate, *Ciona intestinalis*[J]. Cell Tissue Res, 2019, 377(3): 293-308. DOI: 10.1007/s00441-019-03024-8.
- [37] LONGO V, PARRINELLO D, LONGO A, et al. The conservation and diversity of ascidian cells and molecules involved in the inflammatory reaction: the *Ciona robusta* model[J]. Fish Shellfish Immunol, 2021, 119: 384-396. DOI: 10.1016/j.fsi.2021.10.022.
- [38] SATOH N. Innate immune system and blood cells[M/OL]// SATOH N. Developmental genomics of ascidians. Hoboken:John Wiley & Sons, Inc., 2013:159-165. (2013-12-05) [2023-11-01]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781118656129.ch15>.
- [39] DI BELLA M A, FEDDERS H, DE LEO G, et al. Localization of antimicrobial peptides in the tunic of *Ciona intestinalis* (Ascidacea, Tunicata) and their involvement in local inflammatory-like reactions[J]. Results Immunol, 2011, 1(1):70-75. DOI: 10.1016/j.rinim.2011.09.001.
- [40] KASAHARA M, SUZUKI T, PASQUIER L D. On the origins of the adaptive immune system: novel insights from invertebrates and cold-blooded vertebrates[J]. Trends Immunol, 2004, 25(2):105-111. DOI: 10.1016/j.it.2003.11.005.
- [41] DISHAW L J, CANNON J P, LITMAN G W, et al. Immune-directed support of rich microbial communities in the gut has ancient roots[J]. Dev Comp Immunol, 2014, 47(1): 36-51. DOI: 10.1016/j.dci.2014.06.011.
- [42] VIZZINI A, PARRINELLO D, SANFRATELLO M A, et al. *Ciona intestinalis* peroxinectin is a novel component of the peroxidase-cyclooxygenase gene superfamily upregulated by LPS[J]. Dev Comp Immunol, 2013, 41(1):59-67. DOI: 10.1016/j.dci.2013.03.015.
- [43] VIZZINI A, BONURA A, LONGO V, et al. Isolation of a novel LPS-induced component of the ML superfamily in *Ciona intestinalis*[J]. Dev Comp Immunol, 2015, 53(1): 70-78. DOI: 10.1016/j.dci.2015.06.018.
- [44] VIZZINI A, BONURA A, LA PAGLIA L, et al. Transcriptomic analyses reveal 2 and 4 family members of cytochromes P450 (CYP) involved in LPS inflammatory response in pharynx of *Ciona robusta*[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(20):11141. DOI: 10.3390/ijms222011141.
- [45] BONURA A, VIZZINI A, VLAH S, et al. Ci8 short, a novel LPS-induced peptide from the ascidian *Ciona intestinalis*, modulates responses of the human immune system[J]. Immunobiology, 2018, 223(2): 210-219. DOI: 10.1016/j.imbio.2017.10.024.
- [46] ARIZZA V, BONURA A, LA PAGLIA L, et al. Transcriptional

- and in silico analyses of MIF cytokine and TLR signalling interplay in the LPS inflammatory response of *Ciona robusta* [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 11339. DOI: 10.1038/s41598-020-68339-x.
- [47] VIZZINI A, DUMAS F, DI FALCO F, et al. Evolutionary and transcriptional analyses of a pentraxin-like component family involved in the LPS inflammatory response of *Ciona robusta* [J]. Fish Shellfish Immunol, 2021, 111: 94-101. DOI: 10.1016/j.fsi.2021.01.014.
- [48] STEMPLE D L. Structure and function of the notochord: an essential organ for chordate development[J]. Development, 2005, 132(11):2503-2512. DOI: 10.1242/dev.01812.
- [49] LU Q X, BHATTACHAN P, DONG B. Ascidian notochord elongation[J]. Dev Biol, 2019, 448(2): 147-153. DOI: 10.1016/j.ydbio.2018.11.009.
- [50] DONG B, HORIE T, DENKER E, et al. Tube formation by complex cellular processes in *Ciona intestinalis* notochord [J]. Dev Biol, 2009, 330(2): 237-249. DOI: 10.1016/j.ydbio.2009.03.015.
- [51] MUNRO E M, ODELL G M. Polarized basolateral cell motility underlies invagination and convergent extension of the ascidian notochord[J]. Development, 2002, 129(1):13-24. DOI: 10.1242/dev.129.1.13.
- [52] BAGNAT M, CHEUNG I D, MOSTOV K E, et al. Genetic control of single lumen formation in the zebrafish gut[J]. Nat Cell Biol, 2007, 9:954-960. DOI: 10.1038/ncb1621.
- [53] WANG Z Q, OUYANG X K, TAN Z C, et al. Quantitative phosphoproteomics reveals the requirement of DYRK1-mediated phosphorylation of ion transport- and cell junction-related proteins for notochord lumenogenesis in ascidian[J]. Cells, 2023, 12(6):921. DOI: 10.3390/cells12060921.
- [54] DI G A. The notochord gene regulatory network in chordate evolution: conservation and divergence from *Ciona* to vertebrates[J]. Curr Top Dev Biol, 2020, 139: 325-374. DOI: 10.1016/bs.ctdb.2020.01.002.
- [55] OLIVO P, PALLADINO A, RISTORATORE F, et al. Brain sensory organs of the ascidian *Ciona robusta*: structure, function and developmental mechanisms[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9:701779. DOI: 10.3389/fcell.2021.701779.
- [56] ISLAS J F, LIU Y, WENG K C, et al. Transcription factors ETS2 and MESP1 transdifferentiate human dermal fibroblasts into cardiac progenitors[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(32): 13016-13021. DOI: 10.1073/pnas.1120299109.
- [57] WANG W, NIU X, STUART T, et al. A single-cell transcriptional roadmap for cardiopharyngeal fate diversification[J]. Nat Cell Biol, 2019, 21(6):674-686. DOI: 10.1038/s41556-019-0336-z.
- [58] AUGER H, SASAKURA Y, JOLY J S, et al. Regeneration of oral siphon pigment organs in the ascidian *Ciona intestinalis*[J]. Dev Biol, 2010, 339(2): 374-389. DOI: 10.1016/j.ydbio.2009.12.040.
- [59] JEFFERY W R. Closing the wounds: one hundred and twenty five years of regenerative biology in the ascidian *Ciona intestinalis*[J]. Genesis, 2015, 53(1): 48-65. DOI: 10.1002/dvg.22799.
- [60] JEFFERY W R. Distal regeneration involves the age dependent activity of branchial sac stem cells in the ascidian *Ciona intestinalis*[J]. Regeneration, 2015, 2(1): 1-18. DOI: 10.1002/reg.2.26.
- [61] JEFFERY W R. Regeneration, stem cells, and aging in the tunicate *Ciona*: insights from the oral siphon[J]. Int Rev Cell Mol Biol, 2015, 319:255-282. DOI: 10.1016/bs.ircmb.2015.06.005.
- [62] JEFFERY W R, GORIČKI Š. Apoptosis is a generator of Wnt-dependent regeneration and homeostatic cell renewal in the ascidian *Ciona*[J]. Biol Open, 2021, 10(4): bio058526. DOI: 10.1242/bio.058526.
- [63] JEFFERY W R, LI B, NG M, et al. Differentially expressed chaperone genes reveal a stress response required for unidirectional regeneration in the basal chordate *Ciona*[J]. BMC Biol, 2023, 21(1):148. DOI: 10.1186/s12915-023-01633-y.
- [64] BOLLNER T, BEESLEY P W, THORNDYKE M C. Pattern of substance P- and cholecystokinin-like immunoreactivity during regeneration of the neural complex in the ascidian *Ciona intestinalis*[J]. J Comp Neurol, 1992, 325(4): 572-580. DOI: 10.1002/cne.903250409.
- [65] DAHLBERG C, AUGER H, DUPONT S, et al. Refining the *Ciona intestinalis* model of central nervous system regeneration[J]. PLoS One, 2009, 4(2): e4458. DOI: 10.1371/journal.pone.0004458.
- [66] JOLY J S. Aquatic model organisms in neurosciences: the genome-editing revolution[M]// Genome Editing in Neurosciences. Cham: Springer, 2017:21-29.10.1007/978-3-319-60192-2_2.
- [67] HARDY J A, HIGGINS G A. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis[J]. Science, 1992, 256(5054):184-185. DOI: 10.1126/science.1566067.
- [68] SCHNABEL J. Amyloid: little proteins, big clues[J]. Nature, 2011, 475(7355): S12-S14. DOI: 10.1038/475S12a.
- [69] VIRATA M J, ZELLER R W. Ascidians: an invertebrate chordate model to study Alzheimer's disease pathogenesis [J]. Dis Model Mech, 2010, 3(5-6): 377-385. DOI: 10.1242/dmm.003434.
- [70] GÖTZ J, STREFFER J R, DAVID D, et al. Transgenic animal models of Alzheimer's disease and related disorders: histopathology, behavior and therapy[J]. Mol Psychiatry, 2004, 9(7):664-683. DOI: 10.1038/sj.mp.4001508.
- [71] SCHUSTER K J, CHRISTIAEN L. The chordate origins of heart regeneration[J]. bioRxiv, 2023:2023.09.19.558507. DOI: 10.1101/2023.09.19.558507.
- [72] GARCIA J, CALLEWAERT N, BORSIG L. P-selectin mediates metastatic progression through binding to sulfatides on tumor cells[J]. Glycobiology, 2007, 17(2):185-196. DOI: 10.1093/glycob/cwl059.
- [73] OZAWA H, SONODA Y, KATO S, et al. Sulfatides inhibit adhesion, migration, and invasion of murine melanoma B16F10 cell line *in vitro*[J]. Biol Pharm Bull, 2012, 35(11):2054-2058. DOI: 10.1248/bpb.b12-00492.
- [74] CHENG L Y, LIU M, WANG C C, et al. Cl₄31, an aqueous compound from *Ciona intestinalis* L., induces apoptosis

through a mitochondria-mediated pathway in human hepatocellular carcinoma cells[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2011, 2011:292873. DOI: 10.1155/2011/292873.

[75] FEDDERS H, MICHALEK M, GRÖTZINGER J, et al. An exceptional salt-tolerant antimicrobial peptide derived from a novel gene family of haemocytes of the marine invertebrate *Ciona intestinalis*[J]. Biochem J, 2008, 416(1):65-75. DOI: 10.1042/BJ20080398.

[76] JENA P, MISHRA B, LEIPPE M, et al. Membrane-active antimicrobial peptides and human placental lysosomal extracts are highly active against mycobacteria[J]. Peptides, 2011, 32(5):881-887. DOI: 10.1016/j.peptides.2011.03.002.

[77] CONSORTIUM T M. A single-cell transcriptomic atlas characterizes ageing tissues in the mouse[J]. Nature, 2020, 583(7817):590-595. DOI: 10.1038/s41586-020-2496-1.

(收稿日期:2023-11-13 修回日期:2024-02-09)

(本文编辑:张俊彦,富群华,丁宇菁,张萍)

[引用本文]

李睿琪, 段涵, 甘罗, 等. 玻璃海鞘作为模式生物的优势及其应用[J]. 实验动物与比较医学, 2024, 44(2): 162-179. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.159.

LI R Q, DUAN H, GAN L, et al. Advantages of *Ciona intestinalis* as a model organism and its applications[J]. Lab Anim Comp Med, 2024, 44(2): 162-179. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817. 2023.159.

2024年版ICMJE推荐规范更新内容说明

2024年1月，国际医学期刊编辑委员会（International Committee of Medical Journal Editors，ICMJE）发布《学术研究实施与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》（*Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals*）更新版，简称“2024年版ICMJE推荐规范”。现将主要的更新内容（下文划线部分）介绍如下。完整的中文翻译版和正式的英文原版请见www.icmje.org。若需引用，请用英文官方版本。

更新主题1：为什么作者署名很重要（II.A.1）

II.A.1节新增：当数据来自中低收入国家（LMIC）时，编辑应警惕将LMIC的研究人员排除在作者署名之外的做法。纳入当地作者增加了研究的公平性、背景和影响。没有将当地研究人员纳入作者应引起质疑，并可能导致拒稿。

更新主题2：如何描述人工智能辅助技术下进行的工作（II.A.3、II.A.4和IV.A.3.d）

II.A.3节新增：使用人工智能（AI）辅助写作应在致谢部分报告。

II.A.4节修改：使用这些技术的作者应该在投稿函和所提交稿件的适当部分酌情描述他们是如何使用的。例如，如果AI用于写作辅助，应在致谢部分描述这一点（见II.A.3节）。如果AI用于数据收集、分析或图形生成，作者应在方法中描述这些用法（见IV.A.3.d节）。

IV.A.3.d节新增：使用AI技术进行研究的作者应该在方法部分充分详细地描述其使用情况，包括所使用的工具、版本和合适的提示词，以使该方法可以被重复。

更新主题3：审稿过程中使用人工智能技术（II.C.2.a和II.C.3）

II.C.2.a节新增：编辑应注意，在处理稿件时使用AI技术可能会违反保密性。

II.C.2.a节新增：审稿人指南应包括有关AI使用的指导。

II.C.3节新增：审稿人必须先征得期刊的许可，才能使用AI技术来帮助审稿。

更新主题4：医学出版和碳排放（II.D.1）

II.D.1节新增：医学出版导致碳排放，加剧气候变化，这对人类福祉和地球健康构成了紧迫威胁。编辑、出版商、期刊所有者和其他利益相关者应共同努力，立即制定减少碳排放的策略，以实现净零碳排放的目标。

更新主题5：资助声明（II.B和IV.A.3.b）

II.B节新增：潜在利益冲突的申报视情况而定，而且申报内容不仅是对这项研究工作的直接支持。在稿件中，资助声明应只描述对所述工作的直接支持，个人因该工作而获取的资助也要如此报告。机构对作者所投入时间的一般性支持应区别于直接的总体资金资助。一份合适的资助声明可以这样写：“这项研究由A资助；F博士对于这项工作的时间投入得到了B的支持。”

IV.A.3.b节新增：资助声明应只描述对所述工作的直接支持。机构对作者所投入时间的一般性支持应区别于直接的总体资助。一份合适的资助声明可以这样写：“本研究由ABC资助；F博士的工作时间投入得到了XYZ的支持。”

更新主题6：受试者保护（II.E）

II.E节修改：所有作者都应当征求独立的地方、区域或国家审查机构（例如，伦理委员会、机构审查委员会）批准其实施研究，并根据编辑要求提供文件。

更新主题7：参考文献（IV.A.3.g）

IV.A.3.g节修改：作者应该尽可能直接引用原始研究作为参考文献，而且应尽可能参考已发表的文章，而非仅参考摘要。

（张俊彦、于笑天、汪源摘译）