

# キロショウジョウバエを用いたトランスグルタミナーゼの生理機能と分泌機構の解析

柴田 俊生

トランスグルタミナーゼ (TG) は後生生物に高度に保存されているタンパク質間の架橋に関わる酵素であり、細胞内外で生存に必須の役割を果たしている。筆者らはキロショウジョウバエを用いてTGの機能解析を推進してきた。本酵素はハエ生体内において、外骨格の形成に関与すること、腸管のムチン層に相当する囲食膜の安定化に寄与すること、腸内上皮細胞内では転写因子の不活性化を行うことで腸内細菌叢の恒常性に関与することが判明した。さらに、ハエTGの遺伝子は1種類しか存在しないが、選択的RNAスプライシングにより生じた2種類のパリアントのうちTG-Aは脂質修飾依存的にエクソソームとして分泌されることが判明した。本稿ではハエTGの生理機能と分泌の機構について概説する。

## 1. はじめに

トランスグルタミナーゼ (transglutaminase: TG) はリシン残基 (または一級アミン) とグルタミン残基の側鎖間を $\epsilon$ -( $\gamma$ -グルタミル) リシン結合で架橋する $\text{Ca}^{2+}$ 依存性の酵素である<sup>1)</sup>。哺乳類には遺伝子と組織局在の異なる8種類のTGアイソザイムが存在している<sup>2)</sup>。たとえばTG1は、皮膚上皮において複数の構造タンパク質を架橋重合し、物理的・化学的に安定な皮膚の形成を担っている<sup>3)</sup>。またTG2はアポトーシスや転写制御、血液凝固因子のXIIIa因子はフィブリンどうしの架橋による凝固塊の安定化や創傷治癒などに関与している<sup>4,5)</sup>。いずれのTGアイソザイムも変異や発現異常によって疾患を引き起こすことが知られている。一方で、キロショウジョウバエ (ショウジョウバエ, *Drosophila melanogaster*, 以下ハエと表記する) のTG遺伝子はゲノム中に1種類のみ存在し (CG7356)、分子量約87,000のタンパク質をコードしている。哺乳類TGにはいずれも分泌に必要なN末端分泌シグナル配列は付加していないが、ハエTGにおいても同様にその一次配列からは

見いだされない。またハエと哺乳類のTGのアミノ酸類似性はおおよそ50%であり、酵素活性に必須の触媒3残基 (システイン、ヒスチジン、アスパラギン酸) も保存されている。本稿では、RNA干渉 (RNA interference: RNAi) を用いたTGのハエ生体内での機能解析と、分泌シグナル配列に依存しない非典型的な分泌機構について概説する。

## 2. ハエTGはクチクラ形成に関与する

ハエにおいては、GAL4/UASシステムにより遺伝子の過剰発現やRNAiを個体レベルで容易に行うことが可能である。国内のグループにより、ハエTGを過剰発現させると複眼の形成異常や翅脈の過形成が起こることが報告されている<sup>6,7)</sup>。一方で、筆者らはTGの全身性RNAiにより、約80%程度が蛹の段階で致死となること、また成虫の約90%が翅の水疱形成や腹部外骨格のメラニン化消失の形態異常を引き起こすことを見いだした<sup>8)</sup>。昆虫の外骨格を形成するクチクラはキチンおよびキチン結合性のタンパク質から構成される。野生型成虫の翅の中に含まれるタンパク質群は通常、羽化後24時間で高度に架橋化され抽出ができなくなるが、TGをRNAiした個体の翅からは複数のタンパク質が抽出された。これらのタンパク質はTGの機能不全により架橋化が不十分となり遊離型となった基質群だと推定し、質量分析計による同定を行った。同定された12種類についてRNAiにより全身の発現を抑制したところ、larval serum protein 2 (LSP2) およびキチン結合タンパク質であるCpr76Bdにおいて腹部のメラニン化消失が認められた。また、7種類は全身性RNAiで致死となったが、C型レクチン

九州大学大学院理学研究院生物科学部門生体高分子学研究室 (福岡市西区元岡744)

Functional analysis and a secretion mechanism of *Drosophila* Transglutaminase

Toshio Shibata (Department of Biology, Faculty of Science, Kyushu University, 744 Motooka, Nishi-ku, Fukuoka)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920413

本総説は2019年度奨励賞を受賞した。

© 2020 公益社団法人日本生化学会

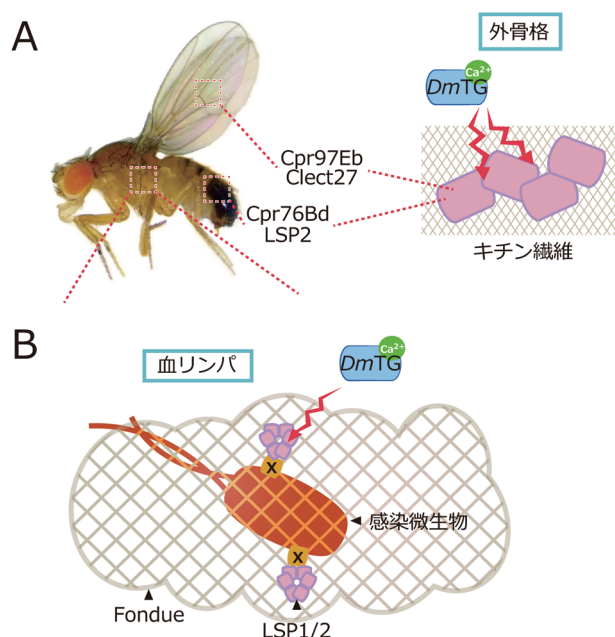


図1 外骨格と凝固反応に与関するTGの基質群

(A) TG遺伝子をRNAiした成虫の翅から抽出されたタンパク質を質量分析により同定した。RNAiや生化学的解析から、4種類のキチン結合性タンパク質が翅や腹部メラニン化に寄与していることが判明した。(B)血リンパにおける凝固反応と感染微生物の包囲化の様子を示す。感染微生物表層タンパク質(X)がTG依存的にLSP1/2に架橋され、Fondueを介した凝固塊に取り込まれると推定される。

様タンパク質のClect27およびキチン結合タンパク質であるCpr97Ebにおいては翅原器特異的なRNAiにより翅脈の消失と翅の形態異常が観察された。またこれら4種類のタンパク質について、組換え体を用いた*in vitro*の再構成系でTGの基質となることが確認されたことから、TG依存的に強固な外骨格形成へ寄与しているものと考えられる(図1A)<sup>8)</sup>。

### 3. ハエTG依存的な血リンパ凝固反応およびその基質群

血液凝固XIIIa因子はフィブリンを架橋することにより、安定な凝固塊形成に寄与している。一方でスウェーデンのグループにより、TGのタンパク質間架橋反応の競合的阻害剤であるモノダンシルカダベリン(一級アミンとしてタンパク質のグルタミン残基に取り込まれる)を用いた実験により、ハエTGは血リンパ凝固に与関していることが報告された<sup>9)</sup>。質量分析やRNAiを用いた解析の結果、TGは血リンパ中のタンパク質Fondueを基質としていること<sup>9)</sup>、さらに同じく血リンパタンパク質であるhemolactinもTG依存的な架橋反応の基質となり、安定な凝固塊形成や創傷治癒に与関することが判明した<sup>10)</sup>。また、TG依存的な架橋反応はこのような凝固や創傷治癒に与関するだけでなく、侵入した異物の包囲化にも寄与している。TGの合成基質であるビオチン化ペンチルアミン(BPA)はアミノ基供与体となり、TG依存的にタンパク質中のグルタミン

残基に取り込まれる(同時にモノダンシルカダベリンと同様に競合阻害剤としても働く)。BPAを野生型ハエ体液および感染微生物と混合させたところ、感染微生物表層でのBPA集積が認められた。TG依存的にBPAが取り込まれたタンパク質をストレプトアビジン結合ビーズで回収し解析を行った結果、血リンパ中のLSP1およびLSP2が表層タンパク質とTG依存的に架橋されることが判明した。以上のことにより、感染微生物はその表層タンパク質を介しLSP1/2やFondue凝固塊に取り込まれ包囲化されることが示唆される(図1B)<sup>11)</sup>。

### 4. TGによる腸管免疫恒常性維持機構

我々ヒトを含む多細胞生物は、自身の体細胞よりも多くの常在細菌を保持している、いわば生命の共同体といえることができる。腸内の共生細菌は、宿主の免疫反応から免れて増殖し、腸管の恒常性に寄与するとともに、ビタミンなどの必須栄養源の供給を行っている。このような腸内の共生細菌叢は、腸管の免疫系により管理されているが、共生細菌に対する宿主の免疫寛容の仕組み、つまり異物であるはずの細菌がなぜ宿主から排除されてしまわないのかという分子機構は、多くの部分が謎に包まれている。ハエにおいてはヒトと比べシンプルな腸内細菌を有している(およそ10~50種、計500万)こと、また無菌化が容易であることから、腸管免疫と腸内細菌叢の関係を研究する上でよい研究材料となっている。ハエ腸管では、細菌の刺激を受け取った上皮細胞の受容体が、immune deficiency (IMD) 経路と呼ばれる自然免疫経路を介して細胞内に情報を伝達し、最終的にDiptericinやCecropinと呼ばれる抗菌ペプチドを腸管内腔へ分泌することにより腸内細菌への応答を行っている(図2A)<sup>12-15)</sup>。IMD経路はグラム陰性細菌や一部のグラム陽性細菌由来のペプチドグリカンによってシグナルが開始し<sup>16)</sup>、受容体であるPGRP-LC<sup>17, 18)</sup>やPGRP-LE<sup>19)</sup>によって認識される。最終的に、NF- $\kappa$ Bファミリーの転写因子のRelishが限定分解を受け、C末端側のIkB様アンキリンリピートドメインが遊離することでN末端側のRelish-Nが核内へと移行する(図2A)。本経路は経口感染細菌のみならず、腸管の常在細菌によっても活性化が引き起こされるため、過剰な腸管免疫が引き起こされないよう適切に制御する機構が複数備わっている<sup>20-25)</sup>。筆者らはTGがIMD経路の一つの抑制因子であることを見いだした。

まずTGをRNAiした成虫の腸管では、IMD経路制御下にある抗菌ペプチドのmRNA発現量が亢進し、生存率は野生型と比較し有意に低下することを見いだした。一方でこのハエを無菌飼育下に置くと生存率は完全に回復した。この原因が腸内細菌にあるものと考え、TGをRNAiしたハエ腸管抽出液を無菌飼育した野生型ハエに経口投与するとその生存率が低下した。腸管のIMD経路におけるTGの基質タンパク質を同定する目的で、合成基質BPA

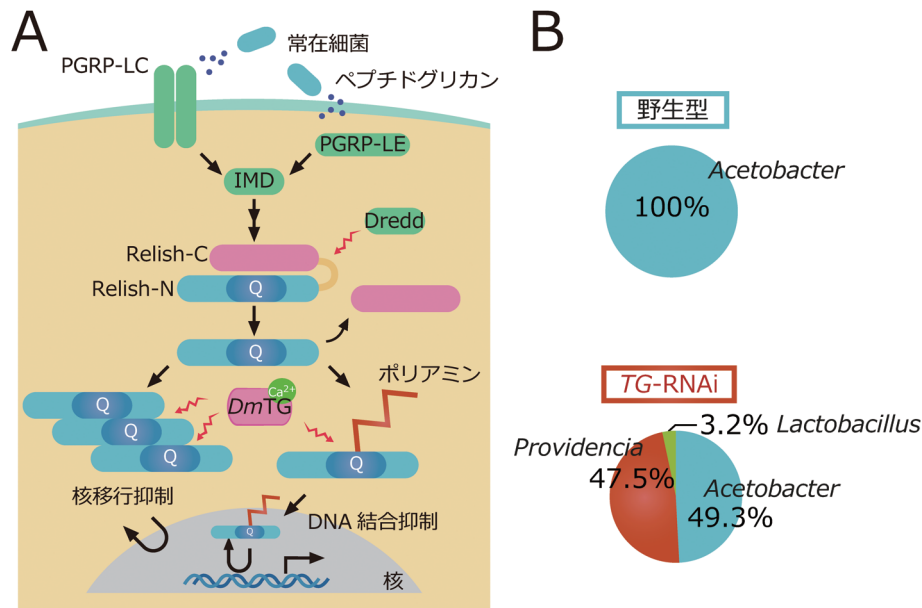


図2 TGによる腸管上皮細胞内のIMD経路抑制と細菌叢維持機構

(A)IMD経路による抗菌ペプチド産生系とTGによるその抑制機構を示す。腸内細菌により本経路が活性化すると、カスパーゼであるDreddがRelishを限定分解する。切断によって生じたRelish-Nが核内に移行し抗菌ペプチドの転写を行うが、TGはRelish-Nの重合化やポリアミンの付加反応を触媒することで、過剰な免疫反応を抑制する。(B)メタゲノム解析の結果を示す。野生型では*Acetobacter*属が占有しているが、TG-RNAi系統では*Acetobacter*属に加えて*Providencia*属も半数程度占めるようになる。

をハエ成虫に経口投与し、細胞内タンパク質へ取り込まれたBPAを蛍光標識ストレプトアビジンにより検出した。その結果、TGはIMD経路の転写因子Relish-Nを標的にしていることが判明した<sup>15)</sup>。Relishは活性化の際にカスパーゼによりN末端側のRelish-NとC末端側のRelish-Cに切断されるが、組換え体を用いた解析によりTGは活性化型のRelish-Nへ特異的に作用し高分子のポリマーを形成すること、Relishの全長やRelish-Cには作用しないことが判明した<sup>15)</sup>。さらに、組換え体のRelish-NとTGを合成基質モノダンシルカダベリン存在下で作用させ、質量分析計を用いてモノダンシルカダベリンがRelish-Nのどのグルタミン残基に取り込まれるかを確認した。その結果、モノダンシルカダベリンは少なくとも六つのグルタミン残基にTG依存的に架橋され、そのすべてがRelish-Nの転写活性に必須なDNA結合領域に位置していた<sup>26)</sup>。さらに、ポリアミンであるスペルミンやスペルミジンをTG存在下でRelish-Nに作用させたと、これらポリアミンの取り込みやRelish-Nの転写活性の低下が認められた。以上のことから、細胞内のTGはRelish-Nどうしの架橋反応による不活性化のみならず、Relish-Nとポリアミンの架橋形成により抗菌ペプチド産生の抑制に寄与していることが明らかとなった(図2A)<sup>26)</sup>。一方で哺乳類においては、TG2がリポ多糖刺激により炎症を起こした細胞内において発現が上昇し、さらにはNF- $\kappa$ Bの核移行を抑えているI $\kappa$ Bを架橋化させることでNF- $\kappa$ Bの核移行を促し炎症を増悪させること、また、アルコール処理した肝細胞においてはTG2が細胞核に移動し、転写因子Sp1を過度に架橋し不活性化させることに

より肝細胞増殖因子受容体であるc-Metの遺伝子発現を低下させ、最終的にアポトーシスを誘発することなどが報告されている<sup>27, 28)</sup>。TGを介した細胞内の情報伝達制御は種を超えて存在していることがうかがえる。

## 5. TGのRNAiは腸管のdysbiosisを誘発する

上述のようにハエTGはRelish-Nの不活性化を介したIMD経路の抑制により常在細菌の恒常性維持を行っており、TG遺伝子のRNAiにより成虫の短命が引き起こされる<sup>15)</sup>。ハエ腸管のメタゲノム解析により、TG-RNAi系統は対照系統とは異なる細菌叢になっていること、すなわち、対照系統では*Acetobacter*属の細菌が主体であるのに対し、RNAi系統では*Acetobacter*属に加えて*Providencia*属が占有していることが判明した(図2B)<sup>29)</sup>。我々は、ハエの腸管から4種の細菌系統(*Acetobacter persici* SK1, *Acetobacter indonesiensis* SK2, *Lactobacillus pentosus* SK3, *Providencia rettgeri* SK4)を単離した。なお、SK1およびSK3はTG-RNAi系統および対照群の両系統から得られ、SK2およびSK4はTG-RNAi系統のみから得られた。ハエにおいては、無菌化した個体に特定の細菌を経口投与することにより、その細菌単独の宿主への影響を調べることが可能である。ハエから単離した上記4系統について、TG-RNAi系統および対照系統に単独摂取させたところ、SK1およびSK4は両ハエ系統に同量程度定着すること、SK2およびSK3についてはTG-RNAi系統へは定着するが、対照系統には定着しないことが明らかとなった。このことより、ハエ腸管





繊維状構造は、細菌の分泌する毒素プロテアーゼ (AprA) から耐性を示すこと、膜障害性の毒素タンパク質 (Monalysin) の吸着も行うことが明らかとなった (図3)。さらに、腸管特異的にTGをRNAiした系統では、腸管のみならず全身性の過剰免疫応答も引き起こされるため (筆者ら未発表データ)、TGによる囲食膜の安定化は感染細菌からの腸管上皮保護のみならず腸内細菌由来のペプチドグリカンの体液中への侵入阻止にも関与していることが推定される。

## 7. TGの脂質修飾を介したエクソソーム分泌機構

ハエのTGはゲノム中に1種類しか存在しないが、選択的RNAスプライシングにより2種類のバリエーション、すなわちTG-A (FBpp0079155) およびTG-B (FBpp0079156) が産生される。両者はほぼ同一のアミノ酸配列を有する

が、そのN末端のみTG-Aでは46、TG-Bでは38アミノ酸残基の違いが認められる。それぞれのmRNAの発現量はクロップと呼ばれる器官で最も高く、また3齢幼虫や蛹前期においてはTG-Bの発現量がTG-Aに比べ5倍から10倍程度高いこと、蛹後期で両発現量が最も高いことがわかっている<sup>34)</sup>。これまでに、ハエTGは細胞内外で多機能性を発揮するマルチプレーヤーな酵素であることを述べてきたが、その分泌機構は不明のままであった。興味深いことに、分泌に必要なN末端の分泌シグナル配列はハエにも哺乳類に存在する8種類のTGいずれにも見いだされていない。一方で、筆者らはハエTG-AのN末端に代表的な脂質修飾であるN-ミリスチル化のコンセンサス配列 (NH<sub>2</sub>-Met-Gly-Gln-Lys-Leu-Ser-Cys-Cys-) を見いだした (図4A)。点変異体を用いた解析により、TG-AはN末端から2番目のGly残基にN-ミリスチル化、さらに7番目と8番目の

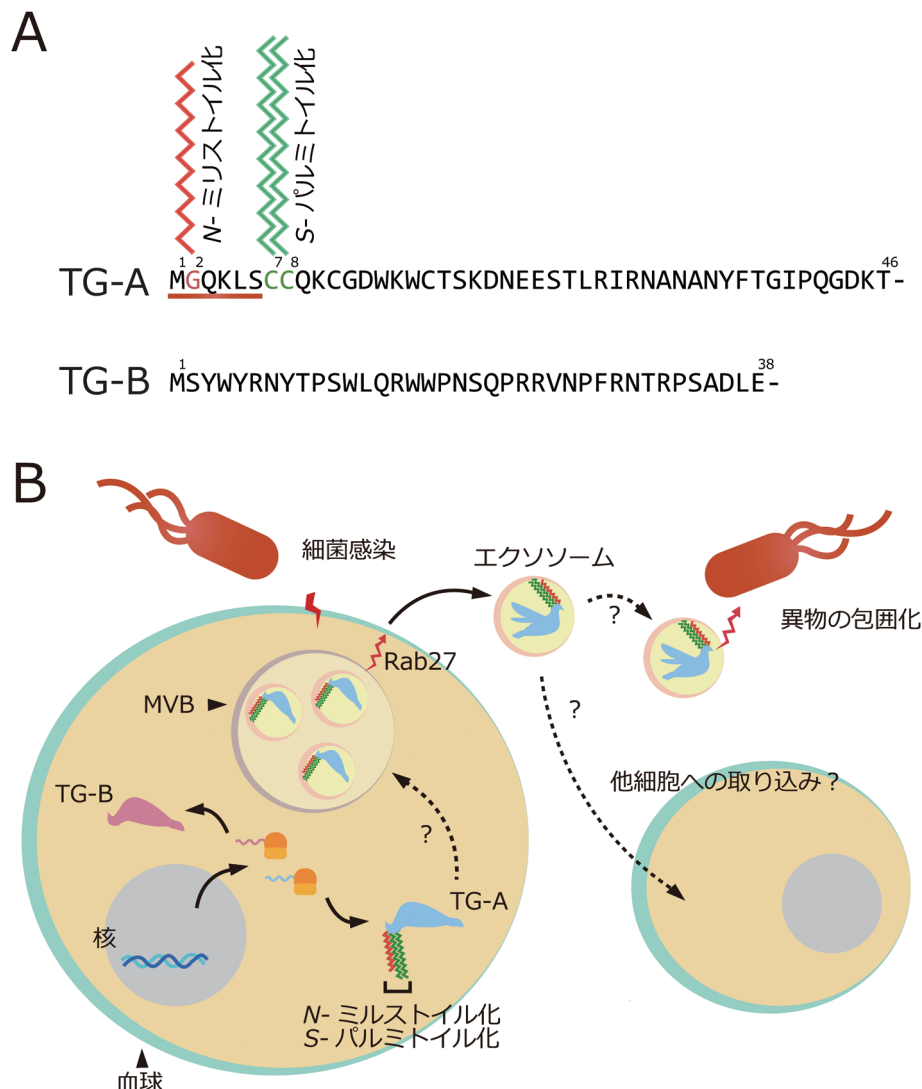


図4 脂質修飾によるTG-A分泌機構

(A)TG-AおよびTG-BのN末端の非共通配列を示す。TG-Aには赤線で示すN-ミリスチル化コンセンサス配列を有する。また、S-パルミトイル化を受けるシステイン残基を緑色で示す。(B)N-ミリスチル化およびS-パルミトイル化修飾を受けたTG-Aは未知の機構により多胞体エンドソーム (MVB) に輸送される。TG-Aは細菌などの外部刺激に応答し、Rab27依存的にエクソソームとして分泌される。分泌されたTG-Aは細菌の包囲化や他細胞による取り込みが行われると推定される。

Cys残基にはS-パルミトイル化修飾を受けること、N-ミリスチル化がS-パルミトイル化の必要条件になっていることが明らかとなった(図4A)<sup>34)</sup>。両修飾を受けたTG-Aは、未知の機構により多胞体エンドソーム(後期エンドソーム)と呼ばれるオルガネラに輸送され、この局在化はGlyやCys残基の変異や脂質修飾阻害剤により完全に抑制された。一方で脂質修飾を受けないTG-Bはサイトゾルにとどまる。N-ミリスチル化やS-パルミトイル化はタンパク質の疎水性の上昇を引き起こし、通常は形質膜へと輸送される。TG-Aは両修飾により多胞体エンドソームへ運ばれるまれなケースであるといえるが、その分子機構は現在も不明のままである。

このように多胞体エンドソームに局在化したTG-Aは、細菌感染を介したカルシウムシグナリングにより細胞外小胞(EVs, エクソソーム)として分泌されることがハエ血球や培養細胞を用いた実験から明らかとなった(図4B)。典型的な小胞体/ゴルジ体を介した分泌経路阻害剤、たとえばBrefeldin A処理ではTG-Aの分泌は阻害されなかったが<sup>34)</sup>、多胞体エンドソーム形成やエクソソーム分泌段階に必要な低分子量GTPaseのRab11<sup>35)</sup>やRab27<sup>36)</sup>のノックダウンによりTG-Aの分泌量が低下し、加えて、界面活性剤やプロテアーゼを用いた解析により、TG-Aはエクソソームに内包された状態で分泌されることも明らかとなった<sup>34)</sup>。以上のことからTG-Aは脂質修飾を介し、非典型的な経路により分泌されることが示された。TG-Aは感染細菌依存的に分泌されるため殺菌や排除に関与していること、また、外骨格や囲食膜の形成の際には局所的な恒常的カルシウムシグナリングの活性化が起こり、分泌が促されていることが考えられる。一方で脂質修飾を受けない細胞内型のTG-BはRelish-Nの不活性化を介した腸内細菌叢の維持に関与しているものと推定される(図4B)<sup>34)</sup>。

## 8. おわりに

これまでに多種にわたるハエTGの生理機能とその脂質修飾依存的な分泌機構について概説してきた。タンパク質の脂質修飾は、シグナル伝達因子の形質膜への局在安定化や活性の調節など生体内で重要な役割を担っている。一方で、脂質修飾が引き起こすタンパク質の細胞外分泌に関する知見は哺乳類Wntなど数例が報告されているのみである<sup>37, 38)</sup>。前述のようにTGは無脊椎動物から哺乳類に至るまで高度に保存されているが、いずれも分泌シグナル配列は有しておらず、分泌機構についてはほとんど不明である。このような通常の小胞体/ゴルジ装置を介した分泌経路を経由しない分泌タンパク質は、体系的に“Unconventional protein secretion pathway”として整理されつつあるが、いまだに分泌機構が判明していないタンパク質が多く残されている。また、周知のようにエクソソームは多種多様な細胞から分泌され、血流やリンパ液に乗り遠隔の器官に情報を届ける、いわば細胞間コミュニケーションツールと

して機能している。エクソソームは生体恒常性維持やがんの転移など、さまざまな生理現象に関与しているため、現在は重要な創薬・診断ターゲットにもなっている。ハエ培養細胞を用いた系においても、TG-A内包エクソソームの多細胞取り込みが確認できている<sup>34)</sup>。一方で、エクソソームへのタンパク質の特異的な輸送機構は日々知見が積み重なっているものの、その全貌は明らかにされていないままである。今後、脂質修飾を介したタンパク質の多胞体エンドソーム-エクソソーム輸送機構の解明が進むことにより、TG分泌機構のみならず該当分野がより発展することが期待される。

## 文 献

- 1) Eckert, R.L., Kaartinen, M.T., Nurminskaya, M., Belkin, A.M., Colak, G., Johnson, G.V.W., & Mehta, K. (2014) Transglutaminase regulation of cell function. *Physiol. Rev.*, **94**, 383–417.
- 2) Demény, M.Á., Korponay-Szabó, I., & Fésüs, L. (2015) Structure of transglutaminase: unique feature serve diverse functions in Transglutaminase: Multiple Functional Modifiers and Targets for New Drug Discovery (Kitomi, K., Kojima, S., & Fésüs, L. eds.) pp.1–41, Springer Japan, Tokyo.
- 3) Matsuki, M., Yamashita, F., Ishida-Yamamoto, A., Yamada, K., Kinoshita, C., Fushiki, S., Ueda, E., Morishima, Y., Tabata, K., Yasuno, H., et al. (1998) Defective stratum corneum and early neonatal death in mice lacking the gene for transglutaminase 1 (keratinocyte transglutaminase). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 1044–1049.
- 4) Iismaa, S.E., Mearns, B.M., Lorand, L., & Graham, R.M. (2009) Transglutaminases and disease: lessons from genetically engineered mouse models and inherited disorders. *Physiol. Rev.*, **89**, 991–1023.
- 5) Piacentini, M., D'Eletto, M., Falasca, L., Farrace, M.G., & Rodolfo, C. (2011) Transglutaminase 2 at the crossroads between cell death and survival. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, **78**, 197–246.
- 6) Umehara, M., Ichikawa, A., Sakamoto, H., Yamada, A., Yoshioka, Y., Yamaguchi, M., & Ikura, K. (2010) Over-expression of transglutaminase in the *Drosophila* eye imaginal disc induces a rough eye phenotype. *Mol. Cell. Biochem.*, **342**, 223–232.
- 7) Ichikawa, A., Yamada, A., Sakamoto, H., Umehara, M., Yoshioka, Y., Yamaguchi, M., & Ikura, K. (2010) Overexpression of transglutaminase in the *Drosophila* wing imaginal disc induced an extra wing crossvein phenotype. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**, 2494–2496.
- 8) Shibata, T., Ariki, S., Shinzawa, N., Miyaji, R., Suyama, H., Sako, M., Inomata, N., Koshiba, T., Kanuka, H., & Kawabata, S. (2010) Protein crosslinking by transglutaminase controls cuticle morphogenesis in *Drosophila*. *PLoS One*, **5**, e13477.
- 9) Lindgren, M., Riaz, R., Lesch, C., Wilhelmsson, C., Theopold, U., & Dushay, M.S. (2008) Fondue and transglutaminase in the *Drosophila* larval clot. *J. Insect Physiol.*, **54**, 586–592.
- 10) Scherfer, C., Karlsson, C., Loseva, O., Bidla, G., Goto, A., Havemann, J., Dushay, M.S., & Theopold, U. (2004) Isolation and characterization of hemolymph clotting factors in *Drosophila melanogaster* by a pullout method. *Curr. Biol.*, **14**, 625–629.
- 11) Wang, Z., Wilhelmsson, C., Hyrs, P., Loof, T.G., Dobes, P., Klupp, M., Loseva, O., Morgelin, M., Ikle, J., Cripps, R.M., et al. (2010) Pathogen entrapment by transglutaminase—a conserved



- early innate immune mechanism. *PLoS Pathog.*, **6**, e1000763.
- 12) You, H., Lee, W.J., & Lee, W.J. (2014) Homeostasis between gut-associated microorganisms and the immune system in *Drosophila*. *Curr. Opin. Immunol.*, **30**, 48–53.
  - 13) Capo, F., Charroux, B., & Royet, J. (2016) Bacteria sensing mechanisms in *Drosophila* gut: Local and systemic consequences. *Dev. Comp. Immunol.*, **64**, 11–21.
  - 14) Buchon, N., Broderick, N.A., & Lemaitre, B. (2013) Gut homeostasis in a microbial world: insights from *Drosophila melanogaster*. *Nat. Rev. Microbiol.*, **11**, 615–626.
  - 15) Shibata, T., Sekihara, S., Fujikawa, T., Miyaji, R., Maki, K., Ishihara, T., Koshiba, T., & Kawabata, S. (2013) Transglutaminase-catalyzed protein-protein cross-linking suppresses the activity of the NF-kappaB-like transcription factor relish. *Sci. Signal.*, **6**, ra61.
  - 16) Myllymäki, H., Valanne, S., & Rämetsä, M. (2014) The *Drosophila* imd signaling pathway. *J. Immunol.*, **192**, 3455–3462.
  - 17) Royet, J. & Dziarski, R. (2007) Peptidoglycan recognition proteins: pleiotropic sensors and effectors of antimicrobial defences. *Natl. Rev.*, **5**, 264–277.
  - 18) Lemaitre, B. & Hoffmann, J. (2007) The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annu. Rev. Immunol.*, **25**, 697–743.
  - 19) Takehana, A., Katsuyama, T., Yano, T., Oshima, Y., Takada, H., Aigaki, T., & Kurata, S. (2002) Overexpression of a pattern-recognition receptor, peptidoglycan-recognition protein-LE, activates imd/relish-mediated antibacterial defense and the phenoloxidase cascade in *Drosophila* larvae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 13705–13710.
  - 20) Ryu, J.H., Kim, S.H., Lee, H.Y., Bai, J.Y., Nam, Y.D., Bae, J.W., Lee, D.G., Shin, S.C., Ha, E.M., & Lee, W.J. (2008) Innate immune homeostasis by the homeobox gene caudal and commensal-gut mutualism in *Drosophila*. *Science*, **319**, 777–782.
  - 21) Zaidman-Remy, A., Herve, M., Poidevin, M., Pili-Floury, S., Kim, M.S., Blanot, D., Oh, B.H., Ueda, R., Mengin-Lecreulx, D., & Lemaitre, B. (2006) The *Drosophila* amidase PGRP-LB modulates the immune response to bacterial infection. *Immunity*, **24**, 463–473.
  - 22) Kleino, A., Myllymäki, H., Kallio, J., Vanha-aho, L.M., Oksanen, K., Ulvila, J., Hultmark, D., Valanne, S., & Rämetsä, M. (2008) Pirk is a negative regulator of the *Drosophila* Imd pathway. *J. Immunol.*, **180**, 5413–5422.
  - 23) Basbous, N., Coste, F., Leone, P., Vincentelli, R., Royet, J., Kellenberger, C., & Roussel, A. (2011) The *Drosophila* peptidoglycan-recognition protein LF interacts with peptidoglycan-recognition protein LC to downregulate the Imd pathway. *EMBO Rep.*, **12**, 327–333.
  - 24) Bosco-Drayon, V., Poidevin, M., Boneca, I.G., Narbonne-Reveau, K., Royet, J., & Charroux, B. (2012) Peptidoglycan sensing by the receptor PGRP-LE in the *Drosophila* gut induces immune responses to infectious bacteria and tolerance to microbiota. *Cell Host Microbe*, **12**, 153–165.
  - 25) Paredes, J.C., Welchman, D.P., Poidevin, M., & Lemaitre, B. (2011) Negative regulation by amidase PGRPs shapes the *Drosophila* antibacterial response and protects the fly from innocuous infection. *Immunity*, **35**, 770–779.
  - 26) Maki, K., Shibata, T., & Kawabata, S. (2017) Transglutaminase-catalyzed incorporation of polyamines masks the DNA-binding region of the transcription factor Relish. *J. Biol. Chem.*, **292**, 6369–6380.
  - 27) Park, S.S., Kim, J.M., Kim, D.S., Kim, I.H., & Kim, S.Y. (2006) Transglutaminase 2 mediates polymer formation of I-kappaBalpha through C-terminal glutamine cluster. *J. Biol. Chem.*, **281**, 34965–34972.
  - 28) Tatsukawa, H., Fukaya, Y., Frampton, G., Martinez-Fuentes, A., Suzuki, K., Kuo, T.F., Nagatsuma, K., Shimokado, K., Okuno, M., Wu, J., et al. (2009) Role of transglutaminase 2 in liver injury via cross-linking and silencing of transcription factor Sp1. *Gastroenterology*, **136**, 1783–1795.
  - 29) Sekihara, S., Shibata, T., Hyakkendani, M., & Kawabata, S. (2016) RNA interference directed against the *Transglutaminase* gene triggers dysbiosis of gut microbiota in *Drosophila*. *J. Biol. Chem.*, **291**, 25077–25087.
  - 30) Hanson, M., Dostalova, A., Ceroni, C., Poidevin, M., Kondo, S., & Lemaitre, B. (2019) Synergy and remarkable specificity of antimicrobial peptides in vivo using a systematic knockout approach. *eLife*, **8**, e44341.
  - 31) Lehane, M.J. (1997) Peritrophic matrix structure and function. *Annu. Rev. Entomol.*, **42**, 525–550.
  - 32) Kuraishi, T., Binggeli, O., Opota, O., Buchon, N., & Lemaitre, B. (2011) Genetic evidence for a protective role of the peritrophic matrix against intestinal bacterial infection in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 15966–15971.
  - 33) Shibata, T., Maki, K., Hadano, J., Fujikawa, T., Kitazaki, K., Koshiba, T., & Kawabata, S. (2015) Crosslinking of a peritrophic matrix protein protects gut epithelia from bacterial exotoxins. *PLoS Pathog.*, **11**, e1005244.
  - 34) Shibata, T., Hadano, J., Kawasaki, D., Dong, X., & Kawabata, S. (2017) *Drosophila* TG-A transglutaminase is secreted via an unconventional Golgi-independent mechanism involving exosomes and two types of fatty acylations. *J. Biol. Chem.*, **292**, 10723–10734.
  - 35) Beckett, K., Monier, S., Palmer, L., Alexandre, C., Green, H., Bonnell, E., Raposo, G., Thibault, P., Le Borgne, R., & Vincent, J.P. (2013) *Drosophila* S2 cells secrete wingless on exosome-like vesicles but the wingless gradient forms independently of exosomes. *Traffic*, **14**, 82–96.
  - 36) Ostrowski, M., Carmo, N.B., Krumeich, S., Fanget, I., Raposo, G., Savina, A., Moita, C.F., Schauer, K., Hume, A.N., Freitas, R.P., et al. (2010) Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway. *Nat. Cell Biol.*, **12**, 13–19.
  - 37) Miura, G.I. & Treisman, J.E. (2006) Lipid modification of secreted signaling proteins. *Cell Cycle*, **5**, 1184–1188.
  - 38) Willert, K., Brown, J.D., Danenberg, E., Duncan, A.W., Weissman, I.L., Reya, T., Yate, J.R. 3rd, & Nusse, R. (2003) Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. *Nature*, **423**, 448–452.

## 著者寸描

●柴田 俊生 (しばた としお)

九州大学大学院理学研究院生物科学部門助教。博士 (理学)。

■略歴 2006年九州大学理学部生物学科卒業。11年同大学院システム生命科学府修了。12年より同大学院高等研究院テニエアトラック制助教を経て17年より現職。

■研究テーマと抱負 ショウジョウバエを用いた自然免疫タン

パク質の機能解析に従事。生化学・細胞生物学的切り口で生命現象の基盤解明に取り組みたい。

■ウェブサイト <http://www.biology.kyushu-u.ac.jp/~biopoly/>

■趣味 料理, 散策, 写真撮影。