

黄色ブドウ球菌の細胞壁成分による自然免疫の誘導と制御

白土明子

黄色ブドウ球菌はヒトへの日和見感染症を起こすグラム陽性細菌であり、多剤耐性菌の蔓延が治療上の問題として知られる。黄色ブドウ球菌は細菌生理や遺伝子発現の研究において、ゲノム解析やリソース開発が進んだモデル細菌として広く利用されており、また、病原性や宿主感染時の細菌応答を解析する上でも有用である。近年は、グラム陽性細菌の細胞壁成分が、感染した宿主に自然免疫反応を導くことや、その逆に細菌が細胞壁成分を使って宿主免疫を回避することが報告されている。また、細胞壁成分の構造の一部が変化することで、宿主の免疫反応への量的および質的な違いが導かれる。細胞壁成分の持つこのような活性は、モデル生物である線虫や昆虫から哺乳類を含む高等生物を宿主とする場面でも同様に発揮されることから、細菌成分と宿主との相互作用には生物種を超えた共通性があるといえる。本稿では、黄色ブドウ球菌の細胞壁成分による宿主応答の誘導と調節の仕組みを解説する。

1. 黄色ブドウ球菌の細胞壁成分

細菌が宿主上皮へ接触したり体内へ侵入した際には、宿主はこれを異物と感知して排除しようと免疫の仕組みが働く。後述するが、宿主の免疫は液性応答（2-2節）と細胞性応答（2-3節）に大別でき、さらに高等動物ではそれぞれ自然免疫と獲得免疫とに区分される。自然免疫による細菌認識では、細菌の生存や増殖に必須な成分がその標的であることが多く、その代表が細胞壁成分である（図1）。黄色ブドウ球菌を含むグラム陽性細菌は、主に糖鎖で構成される厚い細胞壁を持ち、これが細菌をグラム陽性と陰性とに分類できる根拠とされる。黄色ブドウ球菌細胞壁の主要成分は、糖を主とするペプチドグリカン (peptidoglycan, PGN) (1-1節)、リビトールリン酸またはグリセロールリン酸のポリマーを主構造とするタイコ酸 (teichoic acid,

TA. テイコ酸ともいう) (1-2節)、そして、タンパク質を主成分とするものには、リポタンパク質 (lipoprotein, LP)、細胞膜タンパク質 (membrane-associated protein)、細胞壁タンパク質 (cellwall-associated protein) などがある

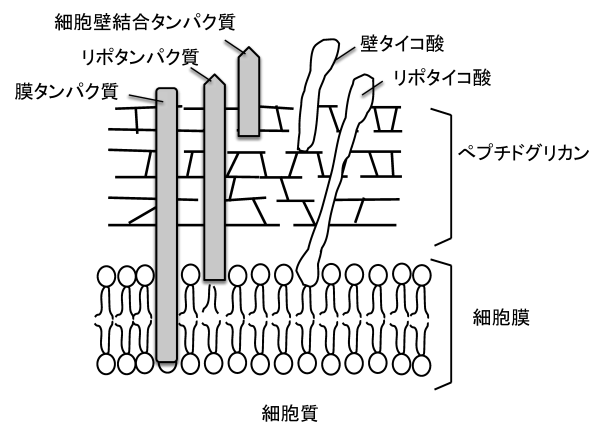


図1 グラム陽性細菌の細胞壁の構造

グラム陽性細菌は表面に厚いペプチドグリカンを持ち、その内側に細胞膜が存在する。グリセロールリン酸やリビトールリン酸を主成分とするタイコ酸は、ペプチドグリカンまたは細胞膜と共有結合によりつながれており、それぞれ壁タイコ酸およびリポタイコ酸と呼ばれる。一方、細胞壁のタンパク質は、ペプチドグリカンまたは細胞膜と結合して細胞壁内あるいは細菌表面に局在する。

金沢大学大学院医学系研究科, 金沢大学医薬保健研究域・薬学系 (〒920-1192 石川県金沢市角間町 金沢大学自然科学研究科棟)

Induction and regulation of innate immune responses by cell-wall components of *Staphylococcus aureus*

Akiko Shiratsuchi (Graduate School of Medical Science, and College of Medical, Pharmaceutical and Health Sciences, Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa, Ishikawa 920-1192, Japan)

(1-3節). また, 莢膜多糖 (capsular polysaccharide) も細菌表面の成分として細胞壁成分に含める場合がある¹⁻⁶⁾ (1-4節). 細胞壁成分は, 細菌の物理的な強度を担い, 細菌内外の物質輸送や環境の感知に働く. また, 宿主組織との接着や食細胞貪食からの回避, 宿主細胞による感知を介して病原性発揮を導くことや, あるいはバクテリオファージが細菌を宿主として吸着する標的であることが知られる. 一方で, 細菌が細胞壁成分を利用して, 免疫因子の認識を逃れたり, 宿主の情報経路を変化させるあるいは乗っ取ることがある. 細菌には宿主の免疫応答へ抵抗し, これを回避して生存する仕組みが備わっており⁷⁻⁹⁾, 黄色ブドウ球菌も細菌共通や固有の免疫回避機構を持つ^{7,10)}. なお, 厳密には, ペプチドグリカン層とこれに結合する成分を細胞壁とし, これに細胞膜やその結合成分を加えて cell wall envelope と分類されるが³⁾, 本稿では上述した細胞壁関連の物質を総称して細胞壁成分と呼ぶ.

1-1 ペプチドグリカン

ペプチドグリカンはグラム陽性細菌細胞壁の構成成分のうち大きな割合を占め, その構造は, *N*-アセチルグルコサミンと *N*-アセチルムラミン酸との交互に結合した糖鎖が, オリゴペプチドで架橋されている (図2). オリゴペプチド部分に付加されるアミノ酸には *D*型アミノ酸が含まれる. 黄色ブドウ球菌を含むグラム陽性細菌ではオリゴペプチドにリシン残基が含まれることから, これはリシン型ペプチドグリカン (Lys-type PGN) と呼ばれる¹⁾. 一方, 大腸菌などのグラム陰性細菌や枯草菌のペプチドグリカンは, オリゴペプチドにジアミノピメリン酸 (diaminopimelic acid, DAP) を含むことから DAP型ペプチドグリカン (DAP-type PGN) と呼ばれる²⁾. 自然免疫系ではこの二つの型のペプチドグリカンは異なる受容体により認識されて, 導かれる免疫応答にも違いがある. ペプチドグリカン

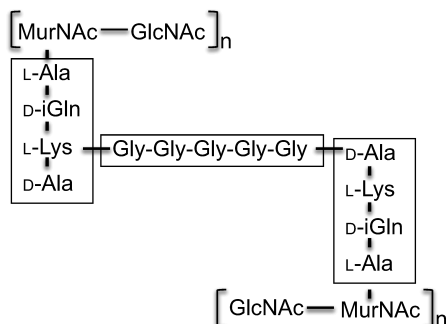


図2 黄色ブドウ球菌のペプチドグリカンの構造
N-アセチルムラミン酸 (MurNAc) と *N*-アセチルグルコサミン (GlcNAc) の連続した構造を, オリゴペプチド (枠で囲んだ部分) が架橋している. 黄色ブドウ球菌を含むグラム陽性細菌では, 橋渡し部分がリシン残基でありリシン型ペプチドグリカンと呼ばれる.

は, 第一に細菌の障壁として働き, その量的および質的な変化は細菌への物理的あるいは化学的刺激への耐性を左右する. また, 既存の抗生物質には, ペプチドグリカンの合成経路を抑制する種類が多く存在する. これらのことは, ペプチドグリカンが細菌の構造上も機能上も必須であることを意味している.

1-2 タイコ酸

タイコ酸はグラム陽性細菌に特徴的な細胞壁成分であり, 後述 (3章) するが, その構造は宿主に対する細菌の振る舞いに大きな影響を与える. タイコ酸はペプチドグリカンと結合した壁タイコ酸 (wall teichoic acid, WTA) と膜脂質に結合したリポタイコ酸 (lipoteichoic acid, LTA) とに分類される (図3). 黄色ブドウ球菌の壁タイコ酸は, ペプチドグリカンに二糖が結合し, そこにリビトールリン酸のポリマーが結合した構造を持つ. 一方, リポタイコ酸は, 膜リン脂質のジアセリルグリセロールに二糖が結合した脂質アンカーに, グリセロールリン酸のポリマーが結合している. 2種類のタイコ酸はそれぞれ, 複数の酵素活性により段階的に合成される. そして, 両者とも *dlt* 遺伝子群の働きで, リビトールおよびグリセロールのヒドロキシ基の一部に *D*-アラニンが付加される. 壁タイコ酸のリビトールはその他に *N*-アセチルグルコサミンの付加も受ける^{5,11)} (図3).

1-3 細胞壁に存在するタンパク質群

黄色ブドウ球菌の細胞壁のタンパク質は, 膜脂質との疎水性相互作用により脂質二重層に埋まって存在する種類や, 細胞壁成分や膜脂質との共有結合, あるいは細胞壁成分との電荷により結合する種類が含まれる³⁾ (図4).

1-3-1 細胞壁結合タンパク質

細胞壁結合タンパク質は, 細胞壁成分と共有結合を形成する種類と, そうではない種類とに分かれる. 前者は, まずポリペプチド部分が細胞内で合成され, そのC末端は共通する五つのアミノ酸配列を持つ. 次に, Sec 膜輸送体を介してペプチドが膜外に移動すると, *srt* 遺伝子にコードされるプロテアーゼ SortaseA の働きで, 先のアミノ酸配列の特定部位が切断され, これがペプチドグリカン前駆体ペンタグリシン残基の末端アミノ基に架橋されることで, 細胞表面に局在する細胞壁結合型タンパク質が作られる^{5,11)} (図4). 一方, 後者は細胞壁成分との非共有結合により細胞壁に局在する^{2,3)}.

1-3-2 膜結合タンパク質

膜脂質と共有結合するタンパク質はリポタンパク質と呼ばれ, 黄色ブドウ球菌には約50種類が存在する. グラム陽性細菌のリポタンパク質の合成では, まず, 前駆体となるポリペプチドが細胞内で合成され細胞外に輸送された

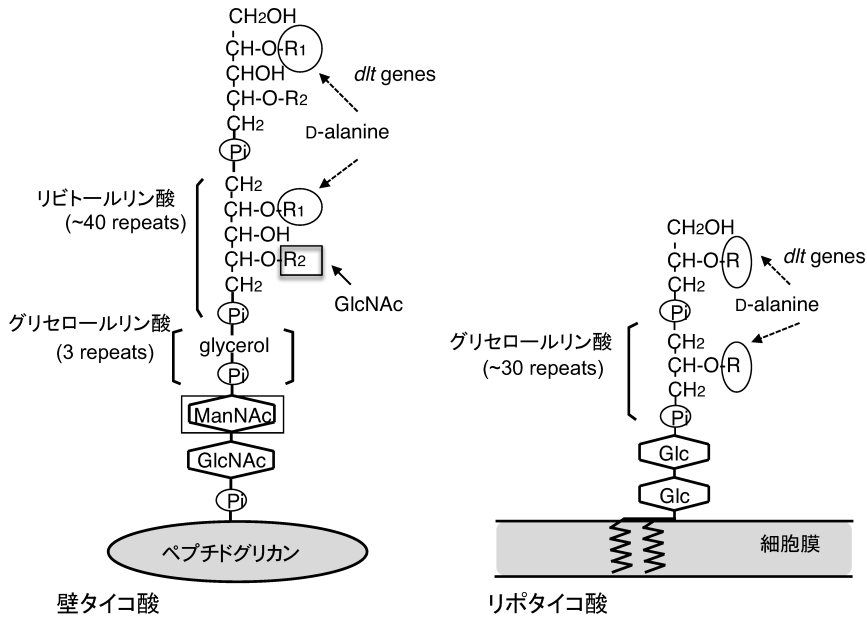


図3 黄色ブドウ球菌のタイコ酸の構造
 壁タイコ酸は、ペプチドグリカンに二糖と3分子のグリセロールリン酸が結合した基盤構造に、リボトールリン酸の繰り返し構造が結合している。リポタイコ酸は、膜脂質に二糖が結合した基盤構造に、グリセロールリン酸の繰り返し構造が結合している。ともに、側鎖がD-アラニンやN-アセチルグルコサミンの修飾を受ける。D-アラニン化によるタイコ酸の修飾は *dlt* 遺伝子群により担われる。

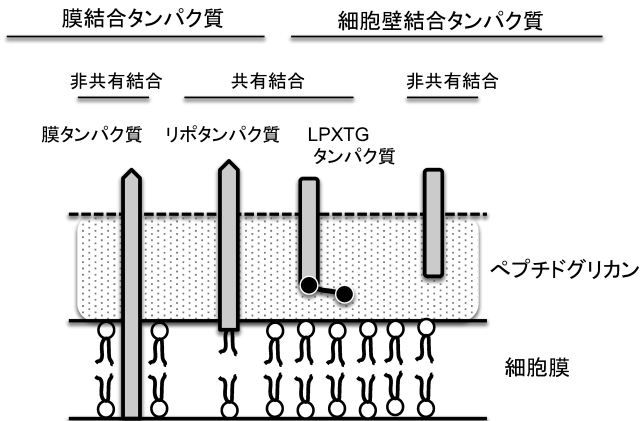


図4 グラム陽性細菌の表層タンパク質の構造
 細菌表層のタンパク質は、ペプチドグリカンまたは細胞膜と結合しており、結合様式には共有結合と非共有結合の両者がある。細菌遺伝子 *lgt* および *srtA* にコードされる酵素の活性が、ポリペプチドと膜脂質および細胞壁との共有結合の形成にそれぞれ必要である。膜脂質やペプチドグリカンと共有結合するペプチドは、それぞれに共通するアミノ酸配列を持ち、それが細胞外への輸送や細胞壁成分および膜脂質との共有結合形成に必要である。黒丸は共有結合を示す。

後、リポタンパク質前駆体に共通するシグナルペプチド内のシステイン残基が、細胞膜のジアシルグリセロールと共有結合を作る。この反応は *lgt* 遺伝子にコードされる転移酵素に触媒される。続いてシグナルペプチダーゼの働きを受けて、2本のアシル鎖を持つリポタンパク質が作られ

る。黄色ブドウ球菌には、アシル基転移反応により3本のアシル鎖を持つリポタンパク質を作る酵素活性が存在する³⁾。一方、膜成分との共有結合ではなく、ポリペプチドの疎水性の高い領域が脂質二重層に保持される膜タンパク質も存在する³⁾(図4)。

1-4 莢膜とバイオフィルム

多くの病原性細菌や黄色ブドウ球菌の臨床分離株は莢膜を有する。これは、厳密には細胞壁ではないが、顕微鏡下では菌体を持つ膜のように観察されたことからこのように呼称されている。莢膜は主に多糖類から構成され、高分子の粘質物の層を形成している。また多くの細菌は、バイオフィルム (biofilm) と呼ばれる、多糖とタンパク質を主成分とする分泌物に包まれて凝集体を形成することで、抗生物質や宿主免疫の攻撃を回避する¹²⁾。黄色ブドウ球菌のバイオフィルム形成については、細菌がその足場を作るための接着因子や、環境感知による多糖産生の仕組みが明らかにされている^{12,13)}。また、同種および異種細菌が産生する物質によりバイオフィルムの形成が調節されることや、バイオフィルムの表層付近と内部とは成分が異なり、それが細菌の情報伝達や生存を調節することも報告されている¹⁴⁾。

2. 細菌に対する宿主の自然免疫応答

自然免疫と獲得免疫の両方を持つ生物では、自然免疫応

答が獲得免疫の誘導に必要である。例えば、宿主免疫食細胞に細菌が取り込まれた場合には、食細胞内で部分分解を受けた細菌成分が細胞表層に移動して情報分子となる。そして、遺伝子再編成によって作られた免疫細胞レパートリー内の特定細胞の活性化を促し、獲得免疫が誘導される。同じ細菌成分が再び侵入した時には、活性化した免疫細胞が速やかに増殖してその排除にあたる。このように、免疫記憶つまり獲得免疫の誘導には自然免疫応答が関わり、また、自然免疫応答の基本的な仕組みと反応を担う因子は、線虫や昆虫からヒトを含む高等生物に至るまで進化的に保存されている。2011年のノーベル生理学医学賞が、モデル動物キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) を用いた自然免疫機構の理解と、これを担う分子群の哺乳類カウンターパートを扱った研究による本分野の発展に与えられたことは、両者を用いた研究の重要性を示している。この節では、自然免疫の液性応答と細胞性応答の概要を述べる。

2-1 自然免疫の歴史

自然免疫の概念は米国の Janeway により提唱された^{15,16)}。すなわち、微生物表面には pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) と名付けられた微生物に特徴的な構造の繰り返し(分子パターン)が存在し、それを宿主のパターン認識受容体 (pattern recognition receptor, PRR) が認識して、抗微生物応答が誘導される。近年は、このような構造は病原性と関係なく微生物が有することから、microbe-associated molecular patterns (MAMPs) あるいは単純に分子パターンとも呼ばれる。この反応にはT細胞受容体や抗体はかかわらず、自然免疫 (natural immunity あるいは innate immunity) と呼ばれる¹⁷⁻¹⁹⁾。また、その実体にはまだ不明な点はあるが、生きている細菌と死んだ細菌とでは細胞壁表面の分子パターンが違い、生きた細菌特有の構造を vita-PAMPs と呼ぶ場合がある。そして、宿主は感染リスクの高さをこの有無で感知して免疫応答を変化させるという考え方が提唱されている²⁰⁾。自然免疫には、獲得免疫と同様に液性および細胞性の両方の応答があり (図5)、

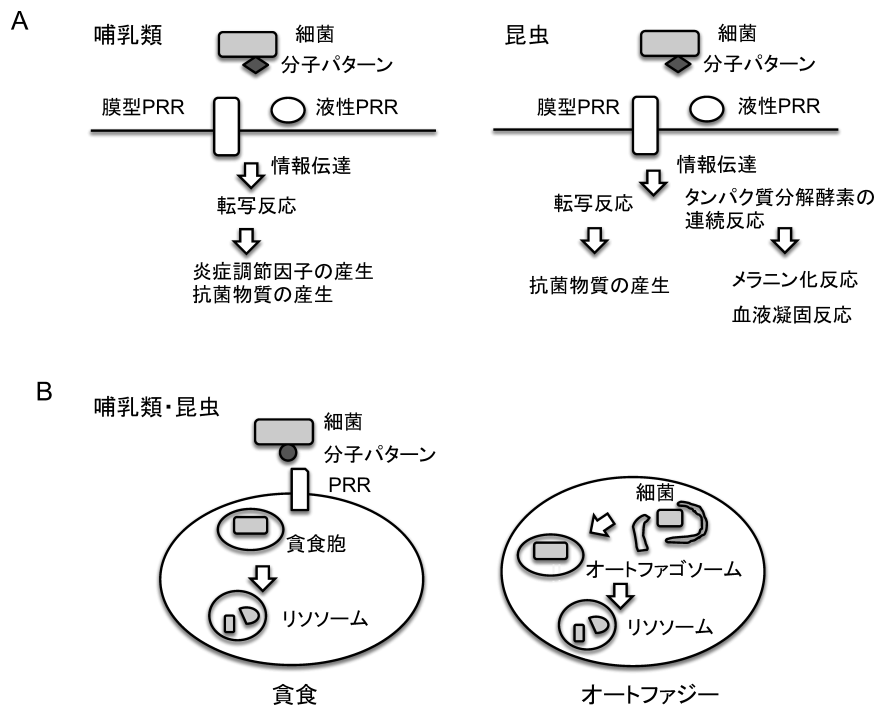


図5 細菌に対する自然免疫応答の概要

(A) 哺乳類の液性応答では、細菌表面の分子パターンが、宿主の膜型パターン認識受容体 (PRR) との結合により直接認識、または液性 PRR とその受容体を介して間接的に認識され、細胞内情報経路を介して炎症調節物質や抗微生物物質を産生する。昆虫や無脊椎動物では、これに加えて体液因子によるメラニン化反応や血液凝固反応が生じる。(B) 細胞性応答の代表は食細胞による細菌の貪食排除である。この機構は昆虫から哺乳類に至るまで高度に保存されている。細菌表面の分子パターンが貪食誘導性 PRR に認識されると、食細胞では細胞骨格の再編成が起こって細胞膜の形態が大きく変化し、細菌を貪食胞内に取り込む。貪食胞はリソソームに輸送され、細菌はそこでリソソーム内の酵素やラジカルにより破壊される。貪食胞から細胞質に抜け出した細菌はオートファゴソームに捕獲され、リソソームに輸送されてそこで排除される。

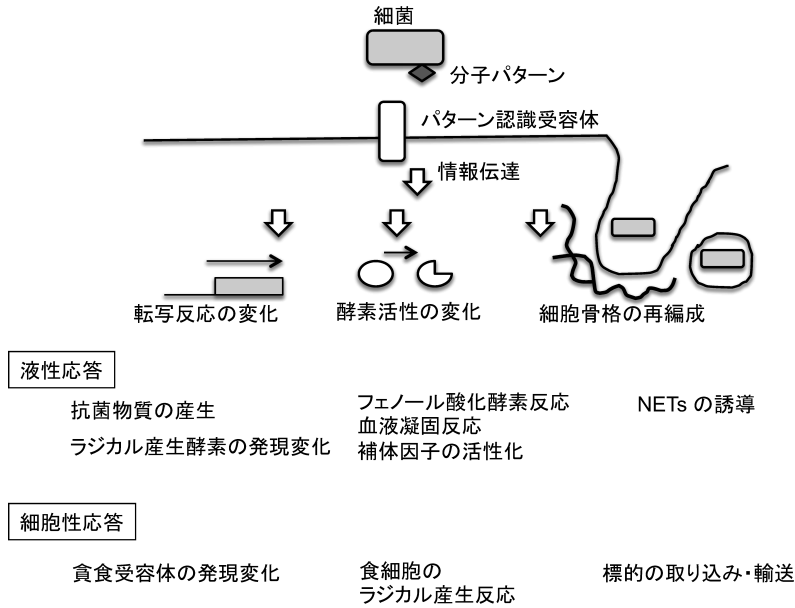


図6 受容体を介する細菌の認識と免疫誘導
受容体からの情報は、転写の変化、酵素活性の変化、あるいは細胞骨格の再編成を標的とする。それぞれの液性応答や細胞性応答は、そのいずれか、もしくは複数の組み合わせで発揮される。

また、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) に対する自然免疫応答の知見も集まっている²¹⁾。昨今は、哺乳類の Toll 様受容体 (Toll-like receptor, TLR) や NOD 様受容体 (NOD-like receptor, NLR) を初めとする自然免疫受容体が精力的に解析対象にされており、これらの研究により、自然免疫による獲得免疫誘導機構の実体や、両者の協調的な関係が明らかにされた²²⁾。そして、液性応答と細胞性応答のどちらについても、細菌を感知した受容体からの情報は、遺伝子転写反応の変化、酵素活性の変化、細胞骨格変動のいずれかを標的とした反応を導く (図 6)。

歴史的には Janeway による概念提唱の前より、自然免疫の考えに基づく研究が行われてきた。無脊椎動物ではこの分野の研究に長い歴史があり、液性および細胞性応答の一連の反応を担う分子やその情報経路が解析された。例えば、マクロファージによる細菌の選択的な貪食排除機構はロシア出身の Mechinifov により 20 世紀初頭には示されていた。また、生物種を問わず体液中には、リゾチーム等の分解酵素、抗菌ペプチド、ラジカル産生酵素が存在し、これらは、細菌細胞壁成分の分解、ペプチドによる膜小孔の形成、そしてラジカルにより、細胞壁や細胞膜の構造や機能を破壊して、細菌を排除する。また、血清成分にはコレクチン (コラーゲン様領域と C 型レクチン領域を分子内に持つタンパク質群) のように、細菌を凝集させて不活性化する種類も含まれる (図 7)。このような研究では、ショウジョウバエの遺伝学的解析、カブトガニ (horseshoe crab)、ニクバエ、ゴミムシダマシ (*Tenebrio molitor*) の

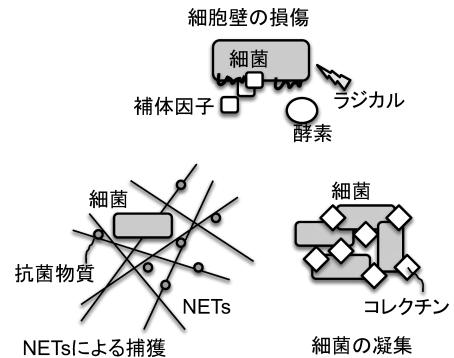


図7 体液成分による細菌への免疫反応の認識と免疫誘導
上皮や宿主体液内にもともと存在する物質が細菌に直接働きかけて、細菌を凝集させて感染の広がりを抑制したり、細胞壁の構造や機能に損傷を与える。この場合には受容体を介する情報伝達を必要としない。また、補体の反応ではタンパク質分解酵素の連続反応が細胞壁の損傷を導く。neutrophil extra traps (NETs) は好中球細胞の DNA からなる網目状構造体であり、ここに細菌を捉えて抗菌物質で殺菌する。

体液や体液細胞を材料とした生化学的解析が大きな位置を占め、その成果はこの分野の発展を推し進めてきた^{23~28)}。

2-2 自然免疫の液性応答

液性応答は、体液中に存在するリゾチームなどの酵素による細菌の破壊 (図 7)、細菌を感知した宿主細胞が産生する抗菌物質や炎症調節因子による細菌の攻撃と免疫細胞の集積誘導、そして液性の橋渡し分子の細菌結合をきっかけとする新たな反応の誘起に大別される (図 5, 6)。この

うち、遺伝子発現を介して働く抗菌物質や炎症調節因子の産生を担う哺乳類の自然免疫受容体 PRR には、膜結合型タンパク質の TLR や C 型レクチン、細胞内液性タンパク質の NLR, retinoic acid-inducible gene-like receptor が含まれる^{18, 19, 29)}。そして、これらに認識される PAMPs/MAMPs

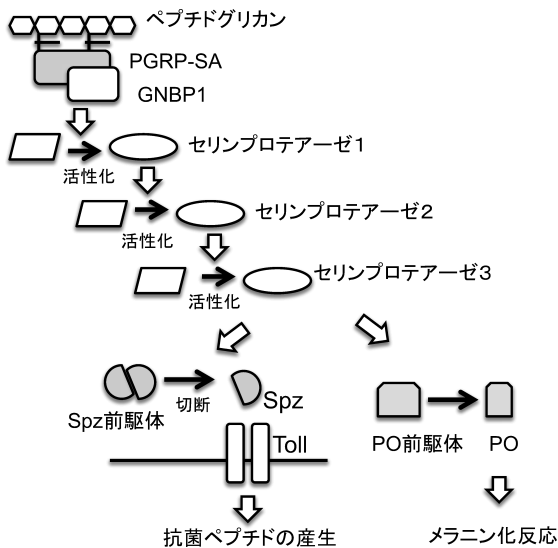


図8 昆虫 Toll 経路によるグラム陽性細菌の認識と液性応答の誘導

グラム陽性細菌のリシン型ペプチドグリカンが宿主の液性因子 (PGRP-SA/GNBP1) と結合すると、体液中ではセリンプロテアーゼの連続した活性化反応を介して Spätzle (Spz) 前駆体が切断される。切断を受けた Spz は体液細胞の膜受容体 Toll に結合し、下流の情報経路を介して、抗菌ペプチドの産生を転写レベルで導く。また、セリンプロテアーゼは、フェノール酸化酵素 (PO) を活性化し、メラニン化反応を誘導する。

が同定され、両者の結合による細胞内情報経路や炎症調節因子産生機構の解析が進んだ^{18, 19, 29)} (図5)。PRR をコードする遺伝子は染色体上でその配列が保存されており、T 細胞受容体のように微生物感知により変化することはない。また、哺乳類の PRR は、無脊椎動物でそれに相当する分子と、構造と機能の両面で保存されている。黄色ブドウ球菌を認識する PRR の代表に TLR2 があり、炎症調節因子を産生して免疫細胞の活性化や集積を導く^{18, 19, 29)}。

一方、無脊椎動物では、細菌を感知した宿主内では、タンパク質分解酵素の連続反応が誘導され、フェノール酸化酵素を活性化してメラニン化反応が起きる。そして、作られたラジカルや、体液の凝固反応によって、細菌は物理的および化学的に攻撃される^{30, 31)} (図6, 図8)。これらの速やかな応答が働く間に、転写反応を介して抗菌物質が作られて細菌排除を後押しする。また、昆虫の腸管では、細菌を感知した腸管上皮細胞がラジカルを産生して腸管内の細菌を攻撃する³²⁻³⁴⁾ (図9)。無脊椎動物の研究から導かれた概念および物質的な成果は、獲得免疫を有する生物の自然免疫応答を理解するための基にもなっている^{8, 28, 35-38)}。

2-3 自然免疫の細胞性応答

細菌に対する細胞性応答の代表は貪食であり、これは食活性を持つ一群の食細胞により担われる (図5)。食細胞による細菌貪食の選択性は古くから知られていたが、これを規定する分子や貪食経路の同定には、それからしばらくの期間を要した。貪食反応は、細菌表面の分子パターンを、食細胞細胞膜の貪食受容体が直接に、もしくは橋渡し分子を介して間接的に認識して開始する。すなわち、貪食

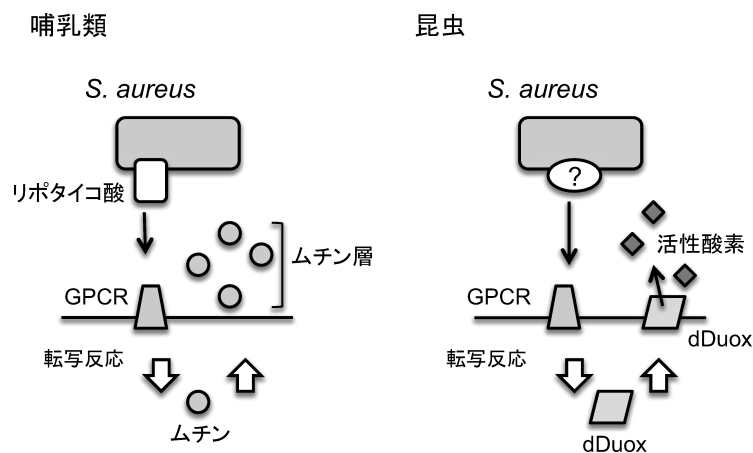


図9 腸管の液性応答を誘導する黄色ブドウ球菌の認識

哺乳類では、リポタイコ酸が腸管上皮細胞の G タンパク質共役型受容体 (GPCR) に認識されるとムチンが産生され腸管内に分泌されて、ムチン層を補充して細菌から腸管内を保護する。昆虫では、未知成分が腸管上皮細胞の GPCR に認識されて、NADPH オキシダーゼのショウジョウバエカウンターパート dDuox の発現を誘導し、dDuox は細胞膜に局在して活性酸素を産生して腸管内に放出する。

誘導性の受容体は PRR と捉えることができる。貪食受容体は細胞内経路を介して食細胞の細胞骨格の再編成を導き、細菌が食細胞内の貪食胞に取りこまれる^{31,39)}。そして、食細胞内の細菌はリソソームに輸送されて分解排除される³⁹⁾(図5)。これらの一連の反応を担う貪食関連因子は、線虫や昆虫から哺乳類まで生物種を超えて高度に保存されている。また、細菌が貪食胞から細胞質に抜け出して食細胞の免疫を回避する場合もあり、このような細菌は、細胞内で膜小胞に再捕獲されてリソソームで排除される。この際には、オートファジー(自食作用)の仕組みで細菌を捕獲するオートファゴソーム膜形成と細胞内輸送が担われ、この反応に関わる因子も、生物種を超えて共通性が高い^{40~44)}(図5)。一方で、細菌を感知した好中球が、DNA や抗菌物質からなる網目状構造物を作り、細菌をそこに捕獲して殺菌する neutrophil extra traps (NETs) も細胞性応答に含まれる^{45,46)}(図7)。

3. 液性経路の誘導と調節に関わる細胞壁成分

細菌の宿主への感染には、体液中への侵入で感染する場合と、経口摂取されて消化管で感染する場合とがある。この章と次章では、宿主に液性応答や細胞性応答を導く細菌細胞壁成分や、免疫回避に働く成分を紹介する。

3-1 昆虫の液性応答の細胞壁成分による変化

ショウジョウバエを含む昆虫では、黄色ブドウ球菌のリシン型ペプチドグリカンが、体液中のペプチドグリカン認

識タンパク質 (peptidoglycan recognition protein, PGRP) の PGRP-SA/GNBP1 と結合し、セリンプロテアーゼの連続した反応を介して Spätzle が切断されて、受容体の Toll と結合するようになる。Toll は哺乳類の肝臓に相当する昆虫脂肪体細胞に存在する膜受容体であり、切断された Spätzle が結合した Toll は細胞内経路を活性化し、哺乳類の転写因子 NFκB のショウジョウバエカウンターパートを介して抗菌物質の産生を導く^{29,35)}(図8)。体液中のセリンプロテアーゼ群とその活性化機構は、ショウジョウバエの遺伝学的解析で報告された後、昆虫チャイロコメノゴミダマムシ (*Tenebrio molitor*) などを材料とした生化学的解析により物質的な証明に至り、現在では、生物種を超えて保存されていることがわかった^{28,30)}。一方で、細菌の細胞壁成分が宿主の液性応答からの回避に働く場合がある。黄色ブドウ球菌のアラニン化修飾壁タイコ酸は、ショウジョウバエ Toll 経路に抑制的に働く(図10)。D-アラニン化修飾された壁タイコ酸の存在により、ペプチドグリカンと PGRP-SA との結合程度が低下する。すると Toll 経路の活性化が抑制されて抗菌物質の産生が低下し、黄色ブドウ球菌は免疫を回避して生き延びる⁴⁷⁾。また、壁タイコ酸は、ショウジョウバエ⁴⁸⁾やチャイロコメノゴミダマムシ⁴⁹⁾の PGRP-SA を介した Toll 経路の活性化程度を変化させることも報告されている。これらの事実は、壁タイコ酸とその D-アラニン化修飾が、細菌の昆虫液性応答を変化させて、免疫回避に働くことを示している。

また、宿主体液中の PGRP が細菌の死を直接的に誘導す

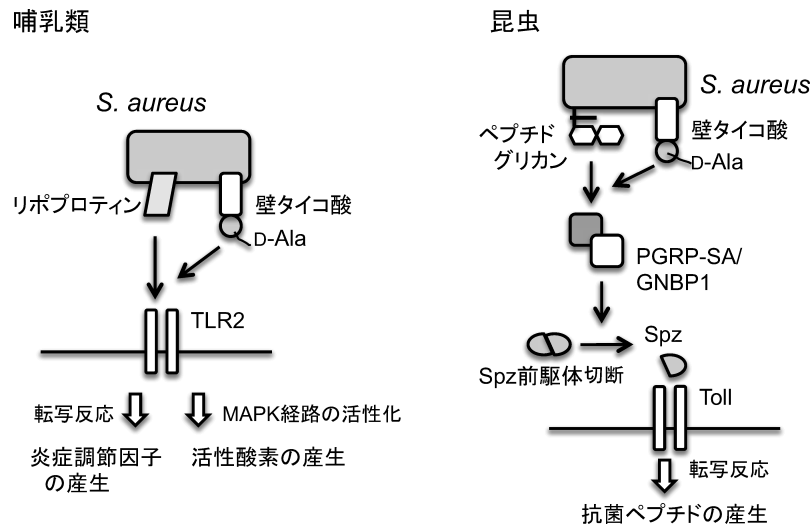


図10 液性応答を誘導する黄色ブドウ球菌の認識と情報経路

哺乳類ではリポタンパク質が、昆虫ではリシン型ペプチドグリカンが、分子パターンとして哺乳類 TLR2 経路および昆虫 Toll 経路を活性化して液性応答が導かれる。例えば、転写反応を介して抗菌ペプチドが産生される、あるいはタンパク質リン酸化酵素の MAP キナーゼ (MAPK) 経路を介して活性酸素の産生が導かれる。D-アラニン化された壁タイコ酸はこれらの経路に抑制的に働き、細菌は殺菌を回避して生き延びる。

る場合もある。哺乳類のPGRPが細菌細胞壁のペプチドグリカンに結合すると、細菌内の情報経路を介して、生存に必要な分子の生合成の抑制とラジカル産生の誘導とが起こり、その結果、細菌が死に至る⁵⁰⁾。このような仕組みによる細菌の死の誘導は、グラム陽性細菌と陰性細菌の両方で報告されている。これより、宿主の細胞壁結合因子が細菌の情報経路を変化させて、細菌に死を誘導する仕組みが、細菌の種類を超えて存在するといえる。

3-2 哺乳類の液性応答の細胞壁成分による変化

哺乳類では、黄色ブドウ球菌のリポタンパク質が、ショウジョウバエ Toll カウンターパートの一つであるTLR2により認識される^{51,52)}(図10)。TLR2はグラム陽性細菌のリポタンパク質を認識し、細胞内経路を介して転写因子のNFκBが核へ移行して炎症調節因子の転写を導き、産生された因子が免疫応答を行う。TLR2のリガンドに関して、かつてはペプチドグリカンやリポタイコ酸がその候補として提唱され、追ってリポタンパク質がTLR2リガンドとして同定された^{51,52)}。また、細菌が持つ酵素レパートリーの違いにより、アシル鎖が2本または3本のリポタンパク質が作られ、アシル鎖の構造が免疫応答の違いを生むことがわかってきた⁵²⁾。リポタンパク質のリゾ体やN-アセチル化体ではTLR2のリガンド活性が亢進することから、これらの構造も宿主応答を変化させる⁵³⁾。黄色ブドウ球菌のリポタンパク質は、哺乳類では菌の生存を助け免疫抵抗性に働くが⁵⁴⁾、ショウジョウバエでは液性および細胞性応答のいずれにも影響を与えず⁴⁷⁾、このことから、リポタンパク質の免疫応答への影響は宿主ごとに異なると考えられる。また、黄色ブドウ球菌の壁タイコ酸に血清タンパク質のマノース結合レクチン(mannose-binding lectin, MBL)が結合すると、TLR2を介する炎症調節物質の産生が抑制される。これらの事実を考え合わせると、黄色ブドウ球菌の壁タイコ酸は液性応答のリガンド活性を抑制して、細菌の免疫回避に働くといえる。上述したTLR2と黄色ブドウ球菌成分の組み合わせに限らず、PRRのリガンド活性やそれを調節する細菌細胞壁の構造と合成経路の同定は、細菌に対するPRR応答性の質的および量的な違いの説明につながる。その一方で、例えば大腸菌リポ多糖とTLR4との結合時の構造が示されたように、TLR2とリポタンパク質の結合様式の構造生物学的解析も、PRRによるPAMPs/MAMPs認識機構の物質的な証明に必要である。

3-3 哺乳類および昆虫の腸管の液性応答

細菌が経口感染した場合には、腸管細胞が細菌への免疫応答を行い、細菌はすぐには体腔内に侵入しない。哺乳類の腸管では、TLR2によりグラム陽性細菌を認識した抗原提示細胞が免疫調節因子を産生し、これが液性または細胞

性応答を担うT細胞の種類のバランスを保つことで、獲得免疫が調節されている。一方で、哺乳類の腸管内腔は厚いムチン層で覆われ、ここには糖タンパク質の他に抗菌ペプチドや分解酵素、獲得免疫により産生された抗体などが含まれ、感染免疫の前線が形成されている⁵⁵⁾。病原性細菌には腸管上皮細胞の機能抑制だけでなく、ムチン層を分解して免疫に対抗する種類があり、ムチン層の保持は腸管での感染防御に欠かせない。腸管上皮細胞では、グラム陰性細菌のリポ多糖をTLR4が認識してムチン産生を誘導するのに対し、黄色ブドウ球菌の感染ではTLR非依存的にムチン産生を導く。腸管上皮細胞のGタンパク質共役型受容体(G protein-coupled receptor, GPCR)が黄色ブドウ球菌のリポタイコ酸を認識してムチン発現を転写レベルで誘導する。どちらの場合にも、作られたムチンが腸管内に分泌されて腸管粘膜層を保持する⁵⁵⁾(図9)。一方、ショウジョウバエの細菌経口投与による腸管感染系は、細菌への腸管上皮の液性応答を知るよいモデルであり、生物種を超えた共通機構が見いだされている³²⁻³⁴⁾。ショウジョウバエの腸管上皮細胞のPRRが細胞壁成分を認識すると、抗菌ペプチド産生が誘導されて腸管内に放出される。この応答では、グラム陰性細菌ではリシン型ペプチドグリカンがPRRに認識されると知られているが、黄色ブドウ球菌を初めとするグラム陽性細菌への応答に関してはいまだ十分に知られていない。また、細菌を腸管上皮細胞のGPCRが認識すると、哺乳類のNADPHオキシダーゼの昆虫ホモログであるdDuoxの発現が誘導され、これが上皮細胞の腸管側細胞膜に局在して活性酸素を産生して腸管内に放出する³²⁻³⁴⁾。この反応でもGPCRの実体やそのリガンドとなる細菌成分はいまだ不明である(図9)。さらに、腸管上皮で作られた活性酸素は情報分子としても働く。例えば、腸管から体腔に放出された活性酸素は脂肪体による抗菌ペプチドの産生を誘導する。また、活性酸素は腸管上皮細胞に一酸化窒素合成酵素の発現を誘導する。産生された一酸化窒素は、腸管内で抗菌作用を持つラジカルとして働くだけでなく、体腔中の食細胞に作用して、食細胞依存の脂肪体の抗菌ペプチド産生の調節因子としても働く⁵⁶⁾。

4. 細胞性応答の誘導と調節に関わる細菌細胞壁成分

4-1 食食反応

細菌の食細胞による食食機構は、線虫や昆虫からヒトまで高度に保存されている。PRRである食食誘導性受容体や細胞内情報因子、細胞骨格変動を導く低分子量Gタンパク質に至るまで、生物種を超えてこれらのカウンターパートの存在が報告されている(図1)。すなわち、細胞壁成分に結合する液性因子とその膜受容体、もしくは細胞壁成分と直接結合する膜受容体が、細胞内でアダプター分子やリン酸化酵素から構成される情報経路の活性化を介し

て、Rhoファミリーの低分子量Gタンパク質の活性を変動させる仕組みである。これが細胞膜の形を変化させ、細菌は膜に包み込まれるようにして細胞内の貪食胞に取り込まれる。貪食胞は食細胞の細胞膜がくぼんでできた小胞であり、細胞内でリソソームに輸送されて、細菌はリソソーム由来の各種の加水分解酵素やラジカルで分解排除される^{28,39)}。

4-1-1 哺乳類の食細胞による細菌貪食

哺乳類では細菌の貪食を行う食細胞は主に好中球とマクロファージであり、これらは血流に乗って移動して、細菌の近傍に集積する。また、組織局在型の食細胞も細菌貪食を担い、これらは組織に侵入した細菌の貪食を行う。これまでに、黄色ブドウ球菌の細胞壁成分に血清中の液性因子が結合して橋渡し分子となり、貪食を導くことが知られている。橋渡し分子には、補体因子、コレクチン、C反応性タンパク質、トロンボスポンジンなどがあり、補体受容体、C受容体、コレクチン受容体、インテグリンなどの膜タンパク質とそれぞれ結合して貪食を導く⁵⁷⁻⁶⁰⁾。また、微生物成分を直接認識する貪食が行われる場合もある。その代表がグルカン受容体のDectinやマンノース受容体であり、真菌の細胞壁糖鎖と結合して貪食を誘導する仕組みが知られているが、これらの黄色ブドウ球菌の貪食への寄与は示されていない^{39,61)}。一方、スカベンジャー受容体(scavenger receptor, SR)ファミリーはマルチリガンド性の膜タンパク質であり、近年になり、黄色ブドウ球菌を直接認識して貪食を行うことがわかってきた。マクロファージのSR-Aは、細胞壁成分を直接認識して、あるいはコレクチンを橋渡し分子として黄色ブドウ球菌の貪食を導く⁶²⁾。また、SR-Bグループに属するSR-BI/IIやCD36も、

黄色ブドウ球菌や大腸菌との直接結合、または橋渡し分子を介して細菌貪食を誘導する。この場合には、黄色ブドウ球菌細胞壁のペプチドグリカンや大腸菌のリボ多糖が受容体に認識される⁶³⁻⁶⁵⁾(図11)。

哺乳類マクロファージによる黄色ブドウ球菌の貪食反応の過程では、マクロファージのTLR2は貪食された細菌の処理を調節する。マクロファージのTLR2は、黄色ブドウ球菌細胞壁のリポタンパク質を認識して下流経路を活性化するが、他の細胞壁成分がTLR2のリガンド活性を抑制して、黄色ブドウ球菌の食細胞内での殺菌に抑制的に働く⁶⁶⁾。その仕組みとして、D-アラニン化された壁タイコ酸が、リガンドを認識したTLR2を介するJNK経路の活性化と活性酸素産生の両者を抑制する⁶⁷⁾。このことより、黄色ブドウ球菌はアラニン化壁タイコ酸を使ってTLR2経路を乗っ取り、活性酸素による殺菌を逃れて生存する仕組みを持つと考えられる。壁タイコ酸のD-アラニン化修飾に関しては、これが菌表面の電荷を変化させることから、細胞壁との親和性に起因して抗菌物質への感受性が変化することが、以前より知られていた。上述したように、現在では、修飾されたタイコ酸が宿主の免疫応答を変化させて、病原性の変化を導く様々な例が黄色ブドウ球菌⁶⁸⁾を初めとするグラム陽性細菌について報告されている。

黄色ブドウ球菌の細胞壁結合性タンパク質についても、これが貪食殺菌の回避に働くことが報告されている。例えば、細胞壁結合タンパク質合成に必要な酵素のSortase Aを欠損した黄色ブドウ球菌は、哺乳類マクロファージに貪食された後に食細胞内で早く排除されることから、細胞壁結合性タンパク質の中に貪食殺菌の回避に働く種類があると考えられる^{69,70)}。一方で、ショウジョウバエの感

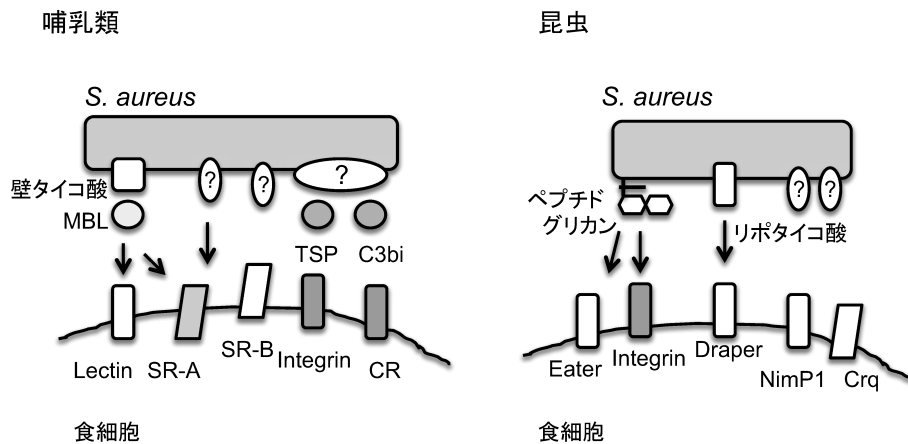


図11 黄色ブドウ球菌の貪食を規定する認識

食細胞による細菌の貪食を規定する認識には、細胞壁成分が食細胞受容体に直接認識される場合と、液性成分が橋渡しとなって受容体に認識される場合とがある。また、貪食誘導性のパターン認識受容体は、マルチリガンド性であることが多く、複数の細菌成分を認識するだけでなく、アポトーシス細胞や生体内の変性高分子も認識する。

染モデルでは、Sortaseは黄色ブドウ球菌の病原性には影響しない(筆者ら、未発表)。

バイオフィームや莢膜の成分である多糖が貪食回避に働く場合がある。黄色ブドウ球菌のバイオフィームは、マクロファージによる貪食や炎症物質の産生を抑制する⁷¹⁾。また、グラム陽性細菌のブタ連鎖球菌の細菌莢膜多糖との接触により、マクロファージの細胞膜ミクロドメイン構造が不安定化すると、ラジカル産生が抑制され、また、貪食誘導に必要な膜脂質の集積が阻害される。その結果、細菌は貪食とラジカルによる殺菌を逃れて生き延びる⁷²⁾。

4-1-2 昆虫食細胞による細菌貪食

昆虫の体液細胞はヘモサイトと呼ばれ、ショウジョウバエには、プラズマトサイト(plasmacyte)、ラメロサイト(lamellocyte)、クリスタル細胞(crystal cell)の3種類が存在する。このうち、プラズマトサイトは哺乳類のマクロファージに相当し、細菌の貪食を主に担う²⁸⁾。また、ラメロサイトは大型の侵入体を取り囲んで隔離した後ラジカルで異物を攻撃し、クリスタル細胞はメラニン化反応の基質を産生することが知られている。ショウジョウバエのヘモサイトで細菌貪食に関わる受容体として、epidermal growth factor(EGF)様繰り返し配列を持つ膜受容体群に属するEater⁷³⁾、Nimrod P1⁷⁴⁾、そしてDraper⁷⁵⁾、哺乳類のスキャベンジャー受容体様の構造を持つCroquemort、および哺乳類インテグリンのショウジョウバエカウンターパート⁷⁶⁾が同定されている(図10)。このうち、Eater⁷⁷⁾やインテグリン⁷⁶⁾はペプチドグリカンと、Draperはリポタイコ酸と⁷⁵⁾それぞれ結合する(図11)。そして、細胞壁成分を認識した受容体は、低分子量Gタンパク質のRacを介して細胞骨格を再編成させ、ヘモサイトによる黄色ブドウ球菌の貪食を誘導する。また、一つのヘモサイトには複数の貪食誘導性受容体が局在し、これらは協調的に働いて細菌を効率よく排除して個体の恒常性を保っている。

4-2 NETsによる細菌排除

哺乳類が持つ好中球は主に貪食とラジカルによる殺菌を行うが、大量の細菌成分やある種の炎症調節物質を感知するとNETsを形成する。好中球ではDNAがほどけて網状構造が作られるとともに膜が破壊され、細胞がはじけるようにして網状構造体が細胞外に放出される。網状構造には細胞質の抗菌物質が結合しており、捕獲した細菌の排除に働く^{45,46,78)}(図7)。NETsの形成過程では、好中球は細胞死誘導機構の活性化により細胞構成成分の破壊とともに死ぬ。これより、NETs形成に伴う好中球の死は生理的細胞死に位置づけられる。これまでに、グラム陽性細菌も陰性細菌もNETsにより殺菌されることが知られている。NETsを誘導する細胞壁成分としては、大腸菌のリポ多糖が報告されているが、黄色ブドウ球菌を含むグラム陽性細菌

ではいまだ同定されていない。一方、NETsへの抵抗機構として、細菌のDNA分解酵素がNETsを破壊することや、グラム陽性細菌のD-アラニン化壁タイコ酸がNETs形成を抑制することが報告されている⁷⁹⁾。また、昆虫のヘモサイトにもNETsと似た細菌排除の仕組みが存在すると考えられている。

4-3 オートファジーによる細菌排除

オートファジーとは、ある細胞内の細胞小器官などの内容物を、膜小胞で包んでリソソームに運び、自身の内容物を分解する細胞応答であるが、細胞内に存在する細菌をこの仕組みで捕獲殺菌する場合にも、オートファジーの呼称が使われることが多い^{40,44)}。オートファジーによる細菌排除は、哺乳類細胞で見いだされ、昆虫でも同じ機構の存在が報告された。細胞内に取り込まれた細菌の中には、貪食細胞を壊して細胞質内に逃げ出し、そこで生存と増殖を行う種類がある。オートファジー装置は、細胞質に逃げ出した細菌を膜で囲んで再捕獲し、リソソームに輸送して排除する^{40~42)}。グラム陽性細菌の黄色ブドウ球菌やA型連鎖球菌のリシン型ペプチドグリカンは哺乳類細胞にオートファジーを誘導する。また、ショウジョウバエでは、グラム陰性細菌のDAP型ペプチドグリカンがオートファジーを誘導して細菌を排除することが知られている⁴³⁾。一方、細胞壁成分の認識を必要としないオートファジー機構も提唱されている。例えば、細菌に傷つけられた貪食細胞の構造変化がオートファジーを誘導して、細菌が貪食細胞もろともオートファゴソームに捕獲される仕組みである。これは、細菌種や細胞壁成分の影響を受けずにオートファジーが誘導されることから、宿主に有利な機構といえる。

一方、貪食やオートファジーにより食細胞内の膜小胞に取り込まれた細菌は、膜輸送によりリソソームに輸送されて排除されることから、細菌は輸送経路を抑制する、あるいは変化させて殺菌を回避する仕組みを持つ。これに関しては、哺乳類細胞を宿主とした解析により、細胞内寄生細菌がこれらの経路を利用して免疫を回避する例が報告されている^{9,55,56,80)}。

4-4 宿主の生理状態による細菌貪食の調節

宿主の生理的な日内遺伝子発現変動が、自然免疫にも影響を与えることが分子レベルでわかってきた。細菌貪食が宿主のサーカディアンリズムで変化する例がある。ショウジョウバエの時計遺伝子timelessは、グラム陽性細菌の黄色ブドウ球菌や肺炎球菌が感染したハエで、宿主の生存や細菌の貪食排除に必要であるとわかり、その仕組みとして、時計遺伝子がグラム陽性細菌選択的な貪食受容体の発現を調節することが挙げられた⁸¹⁾。時計遺伝子は遺伝子転写の調節因子であり、細菌貪食が宿主の遺伝子発現リズム

の調節を受けるといえる。このことは、宿主の発生や分化を初めとして、生物に備わっている遺伝子発現プログラムが、自然免疫を調節することへの示唆を与える。

5. 自然免疫応答の協調的な働きと PRR の選択的誘導

上述した細菌への液性および細胞性の応答は、単独に働くだけでなく、先に生じた応答が別の応答を誘導する、あるいは、一つの生理活性因子が複数の応答を誘導することで、細菌排除が量的および質的に促進される場合がある。また、細菌成分による PRR の選択的誘導も報告されている。そのような例を紹介する。

5-1 補体因子による細菌への免疫応答とその協調的な働き

補体の活性化には、古典経路、第二経路、レクチン経路の三つの経路が知られており、いずれの経路も複数の細菌排除機構をあわせ持つことが多い。補体の働きとして、貪食反応の誘導、細胞膜への傷害、白血球の誘導などが挙げられる。このうち、グラム陰性細菌に対しては、補体因子は膜侵襲複合体を作って膜傷害性を発揮するが、黄色ブドウ球菌を含むグラム陽性細菌は、細胞表層に脂質二重層を持たないために膜侵襲複合体は作られず、補体の抗菌作用はこれ以外の仕組みで発揮される。補体のレクチン経路は、自身の活性化だけでなく、補体第二経路の活性化も導く場合がある。レクチン経路の構成因子であるマンノース結合レクチン (mannose-binding lectin, MBL) が細菌の細胞壁に結合すると、MBL 結合セリンプロテアーゼ (MBL-binding serine protease, MASP) が活性化してこの経路の標的分子を切断して活性化が開始する。MASP は一方でこれとは別の体液分子の切断も行い、MASP が補体の第二経路の活性化を導く。そして、一連の反応で生じた補体因子が黄色ブドウ球菌に結合して橋渡し分子となり、マクロファージによる細菌貪食を誘導する⁸²⁾。これはレクチン経路と第二経路の協調的な働きの例といえる。また、MBL 自身が貪食誘導の橋渡し分子として働く場合もあり、細菌と食細胞との結合性を高めて補体経路非依存の細菌貪食を亢進する。この反応では、MBL は大腸菌のリポ多糖と結合してマクロファージによる貪食を促進し⁸³⁾、また、黄色ブドウ球菌の壁タイコ酸と結合して好中球による貪食を促進する⁸⁴⁾。

5-2 細菌細胞壁成分の部分分解や修飾による宿主応答の変化

宿主内で細胞壁成分の構造が変化して、免疫応答が調節を受ける場合がある。黄色ブドウ球菌の細胞壁ペプチドグリカンがリソソーム内で部分分解されると、引き続いて TLR2 を介する免疫応答が生じる^{85, 86)}。また、グラム陰性菌の大腸菌ペプチドグリカンが体液中の酵素で部分分解さ

れると、昆虫 PRR への結合能が増大して液性応答が促進される⁸⁷⁾。その逆に、ペプチドグリカンが修飾を受けて構造変化することで、酵素による部分分解が抑制されて免疫応答亢進が起こらず、細菌は宿主免疫を逃れて生存する⁸⁸⁾。

5-3 細菌成分による宿主 PRR の選択的誘導

細菌成分が宿主免疫因子のアイソフォーム選択性を導く例が報告されている。哺乳類の免疫グロブリンスーパーファミリーに属する接着分子の Dscam は、無脊椎動物の脂肪体や食細胞にもカウンターパートが存在し、例えば昆虫は 3 万種類以上のアイソフォームを持つ。細菌が感染した昆虫体内では当該細菌への結合性の高いアイソフォームの産生が誘導され、これが宿主内の細菌に結合して速やかな貪食排除を導く⁸⁹⁾。Dscam は細菌が持つ特定の細胞壁成分に結合すると推測されるが、Dscam 産生誘導や Dscam との結合に必要な細胞壁成分はまだわかっていない。獲得免疫を持たない無脊椎生物の免疫反応に、多数のアイソフォーム産生に基づく細菌選択的な受容体発現の仕組みの存在があるとすれば、自然免疫受容体が感染非依存に存在するというこれまでの理解に変更を加える必要がある。

6. 宿主感知による黄色ブドウ球菌の遺伝子発現と振る舞いの変化

6-1 宿主と細菌の相互作用

細菌の遺伝子発現制御の面から、細菌-宿主の相互作用が研究されている。宿主環境や免疫物質を感知した細菌は、遺伝子発現を変化させて宿主の攻撃を逃れて生存しようとする。また、毒素を直接産生せずに病原性を発揮するものもある。これらの解釈として以下が挙げられる。宿主内で細菌と宿主の遺伝子発現がともに変化すると、両者ともに感染時に特有の分子レパートリーを持つ。すると、特定の条件で細菌が生き延びたり、宿主の病態に変化をもたらす可能性がある。感染免疫の研究では、宿主の免疫応答機構に関して既に多くの知見があり、現在は、微生物と宿主とが相互応答する場面を想定した、微生物側の変化に関する研究も盛んになっている。例えば、黄色ブドウ球菌を材料として、宿主の血液や血清中で発現レベルが変化する遺伝子の網羅的解析や、発現亢進する病原性因子の解析が行われている^{90, 91)}。その中には、毒素など直接的に病原性につながる因子だけでなく、機能未知の膜タンパク質や液性因子も含まれている。感染状態の細菌を用いた遺伝子発現の網羅的解析から、細菌感染と免疫応答に関わる今まで知られていなかった物質が見つかる可能性がある。

6-2 細菌遺伝子の転写制御

細菌の遺伝子発現は、転写と翻訳とが共役して起こることが真核細胞との大きな違いである。そのため、細菌の遺

伝子発現は転写段階ではほぼ決定されると考えられ、転写制御因子の同定と機能が集中的に解析されてきた。細菌遺伝子の転写制御は主として、二成分制御系、RNAポリメラーゼのシグマ因子、そして転写因子が担う。実際に、細菌の病原性因子の発現や細菌感染時の宿主病態変化が、これらの因子で調節されることが多数報告されている^{92,93)}。

細菌は宿主環境の感知だけでなく周囲の細菌とのコミュニケーションを行って、集団としてその恒常性を保っている。黄色ブドウ球菌の病原性因子の発現は、細菌密度依存に産生される因子によるクオラムセンシング(quorum sensing)の理解と連動して調べられてきた。細菌はその密度が増大するとオートインデューサー(autoinducer, AI)と呼ばれる液性因子を放出する。細菌は、これを認識するとその遺伝子発現を変化させて増殖程度を調節し、細菌間のコミュニケーションにより集団としての恒常性を保つ(図12A)。その後の研究により、クオラムセンシングは細菌濃

度の調節に限らず、宿主環境への適応や免疫回避にも働くことがわかってきた。例えば、食細胞内の黄色ブドウ球菌は、クオラムセンシング機構を介して細胞溶解性ペプチドを産生し、リソソームの膜を破壊して細胞質に抜け出す⁹⁴⁾。一方、二成分制御系は細菌の情報経路であり、膜結合型のヒスチジンキナーゼをセンサー、その標的タンパク質をレギュレーターとする2種類のタンパク質の組み合わせで構成される。環境変化を感知したセンサーが活性化すると、細胞質のレギュレーターをリン酸化する。リン酸化されたレギュレーターは、転写因子として直接あるいは間接的に、これが制御する遺伝子群の転写を調節する^{93,95)}(図12B)。黄色ブドウ球菌では、16種類の二成分制御系が知られており、病原性に関係のある種類が報告されている^{93,95)}。これらは毒素などの液性因子の遺伝子だけでなく、細菌細胞壁成分の産生に関わる遺伝子の発現も制御する。例えば、細胞膜リン脂質のリジル化に必要な *mprF* 遺伝

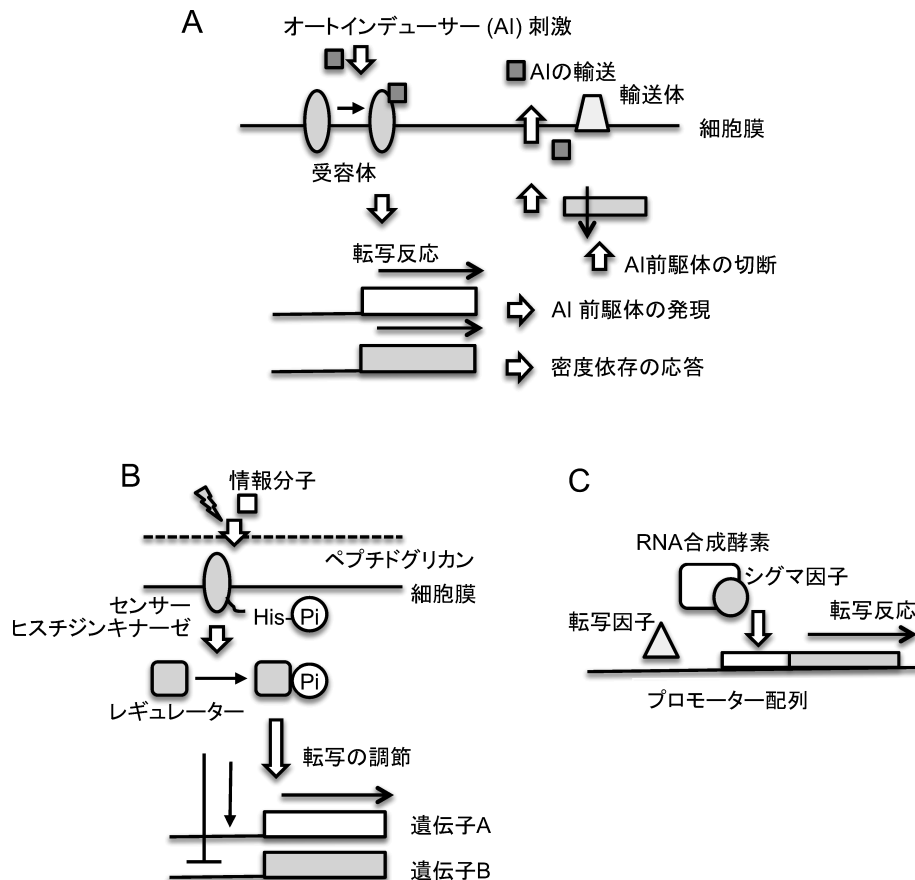


図12 細菌の遺伝子発現制御

(A) クオラムセンシングによる細菌密度依存の遺伝子発現調節を示す。オートインデューサー(AI)前駆体が細菌内部で決断されて菌外に放出され、細菌がそれを膜受容体で認識して転写反応が調節される。(B) 二成分制御系では、センサーがレギュレーターの構造変化を導いて情報伝達され、標的遺伝子の転写調節には、促進と抑制の両者がある。(C) RNAポリメラーゼのシグマ因子はプロモーター配列を認識して、転写される遺伝子を規定する。転写因子はシグマ因子や二成分制御系と協調的に働いて、遺伝子発現調節に関わる。

子、タイコ酸のD-アラニン化修飾に必要な *dlt* 遺伝子群、細胞壁タンパク質の Protein A をコードする *spa* 遺伝子、ペプチドグリカン合成に必要な *pbpB* 遺伝子などの発現を調節する二成分制御系が同定されている。また、活性酸素など食細胞が細菌を攻撃する刺激で活性化する SarR と SarS (*S. aureus* exoprotein expression R & S) は、黄色ブドウ球菌の貪食殺菌の回避に働くと考えられている⁹⁶⁾。また、転写因子の Sar (Staphylococcal accessory regulator) ファミリータンパク質は、二成分制御系と連携して病原性関連遺伝子の発現を導く¹²⁾。一方、転写酵素を構成するシグマ因子の種類の違いも細菌遺伝子の転写調節に働く。細菌の RNA ポリメラーゼは、転写活性を担うコア酵素に、遺伝子プロモーター配列に結合するシグマ因子が加わりホロ酵素を構成する。シグマ因子は、特定のプロモーター配列を認識して転写すべき遺伝子を規定する (図 12C)。細菌は複数種類のシグマ因子を持ち、例えば黄色ブドウ球菌は3種類、大腸菌は7種類が同定されている。細菌の増殖相や環境の変化によりシグマ因子の存在比が変わり、細菌は転写する遺伝子レパートリーを変化させて恒常性を維持すると知られている⁹⁷⁾。黄色ブドウ球菌ではシグマ B と呼ばれる種類が病原性因子の発現を調節する。また、大腸菌ではシグマ S やシグマ E が宿主免疫への抵抗性に必要であることが知られている。これらのことから、宿主へ侵入して、宿主内の成分を感知した細菌でシグマ因子の存在比が変化すると、発現するタンパク質の種類と濃度が変わり、細菌が宿主免疫に抵抗したりこれを回避する仕組みが存在すると考えられる。

6-3 細菌遺伝子発現の転写後調節

細菌の遺伝子発現の転写後調節には、翻訳を受けない低分子 RNA (small RNA) による仕組みがあり、リボスイッチと呼ばれる^{98,99)}。感染状態の細菌での宿主応答や病原性発揮に働く因子の発現がリボスイッチで調節される例が報告されており、宿主免疫の感知や回避への役割がわかってきた。この機構を担う因子に RNA シャペロンと呼ばれるタンパク質がある。RNA シャペロンが small RNA と結合すると、small RNA の構造が、発現調節を受ける標的 mRNA の塩基と相補的結合を作りやすくなる。生じた複合体は標的 mRNA を安定化してその発現量を増加させたり、その逆に、複合体に RNA 分解酵素を集積させて標的 mRNA の分解を促し発現を抑制する⁹⁸⁾。黄色ブドウ球菌に関しても、small RNA の RN オームが行われており¹⁰⁰⁾、また、黄色ブドウ球菌の病原性発揮に RNA シャペロンの働きが関わりとわかりつつある。また、通常は宿主内で速やかに排除される細菌が RNA シャペロンの存在で病原性を示す場合もある (筆者ら、未発表データ)。一部の細菌では、細菌の全 small RNA の同定と機能解析を目指した大

規模シーケンシングも行われており¹⁰¹⁾、今後は、転写調節以外の仕組みによる、細菌の宿主応答の分子機構や意義が明らかにされるだろう。

7. おわりに

黄色ブドウ球菌の細胞壁成分が宿主 PRR に認識されて、自然免疫応答が誘導される仕組みや、細胞壁成分が宿主応答を調節することがわかってきた。そして、宿主応答により生じた細菌成分の変化が、第二の宿主応答を誘導して細菌の排除を量的および質的に亢進することは、宿主応答の連携の総和が感染防御を担うことを示す。その一方で、細菌表面の分子パターン構造が変化すれば、これらは細菌の免疫回避因子として働くことができ、細菌の生存増殖や宿主への病原性の亢進を導く。その例として、宿主を感知した細菌が遺伝子発現を変化させ、細胞壁を含めた細菌の構造と振る舞いが変化することが挙げられる。実際に、感染状態で発現変化する細菌遺伝子の網羅的解析から、宿主と細菌の相互作用が解析されている。

一方、細菌貪食受容体の多くはマルチリガンド性であり、例えば、発生過程で生じる死細胞や、変性した自己細胞の貪食除去により、組織の形態形成や機能獲得、細胞の置き換えを行い、個体の恒常性が保たれる¹⁰²⁻¹⁰⁷⁾。変性自己細胞が貪食の標的とされる場合には、正常時には存在しない分子構造が細胞表面に出現して分子パターンとなり、PRR である貪食受容体に認識される。そして、貪食受容体の発現と機能は、宿主のおかれた生理的状态の違いにより代謝レベルで調節されることもわかってきた¹⁰⁸⁾。また、昆虫の液性応答を形成するフェノール酸化酵素経路は、組織の維持にも働いている。組織が傷つくと、まず体液凝固反応で傷口を塞ぎ、感染や体液が失われることを防ぐ。そして、同じ経路を介して作られる活性酸素は、組織細胞の情報経路を活性化して組織の形態と機能の維持に働く¹⁰⁹⁾。これらの例が示すように、自然免疫応答は生物種を超えて共通する個体の恒常性維持機構である。細菌への宿主の振る舞いはその中心であり、細菌の細胞壁成分は自然免疫を担う各反応の誘導物質となるだけでなく、その調節にも関わっている。

謝辞

本稿で引用した筆者の研究は、金沢大学大学院医学系研究科および医薬保健研究域の生体防御応答学、中西義信教授の研究室で行われたものです。同教授に深謝します。また、本稿に助言を頂いた黒川健児博士 (釜山大学校薬学部) に感謝いたします。

文 献

本稿ではできるだけ総説 (*印) を引用するように努めたつもりである。個々の原著論文は総説から引用していただければ幸いである。

- *1) Navarre, W.W. & Schneewind, O. (1999) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **63**, 174–229.
- *2) Maresso, A.W. & Schneewind, O. (2008) *Pharmacol. Rev.*, **60**, 128–141.
- *3) Desvaux, M., Dumas, E., Chafsey, I., & Hébraud, M. (2006) *FEMS Microbiol. Lett.*, **256**, 1–15.
- *4) Marraffini, L.A., DeDent, A.C., & Schneewind, O. (2006) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **70**, 192–221.
- *5) Xia, G., Kohler, T., & Peschel, A. (2010) *Int. J. Med. Microbiol.*, **300**, 148–184.
- *6) Hanson, B.R. & Neely, M.N. (2012) *Curr. Opin. Microbiol.*, **15**, 1–7.
- *7) Garzoni, C. & Kelley, W.L. (2009) *Trends Microbiol.*, **17**, 59–65.
- *8) Vallet-Gely, I., Lemaître, B., & Bocard, F. (2008) *Nat. Rev. Microbiol.*, **6**, 302–313.
- *9) Ham, H., Sreelatha, A., & Orth, K. (2011) *Nat. Rev. Microbiol.*, **9**, 635–646.
- *10) Sinha, B. & Fraunholz, M. (2010) *Int. J. Med. Microbiol.*, **300**, 170–175.
- *11) Neuhaus, F.C. & Badeiley, J. (2003) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **67**, 686–723.
- *12) Agarwal, A., Singh, K.P., & Jain, A. (2010) *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **58**, 147–160.
- *13) Periasamy, S., Joo, H.S., Duong, A.C., Bach, T.H., Tan, V. Y., Chatterjee, S.S., Cheung, G.Y., & Otto, M. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 1281–1286.
- *14) Yang, L., Liu, Y., Markussen T., Høiby, N., Tolker-Nielsen, T., & Molin, S. (2011) *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **62**, 339–347.
- *15) Janeway, C.A., Jr. (1989) *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **54**, 1–13.
- *16) Janeway, C.A., Jr. & Medzhitov, R. (2002) *Annu. Rev. Immunol.*, **20**, 197–216.
- *17) Hultmark, D. (2003) *Curr. Opin. Immunol.*, **15**, 12–19.
- *18) Kawai, T. & Akira, S. (2011) *Immunity*, **34**, 637–650.
- *19) Kumar, H., Kawai, T., & Akira, S. (2011) *Int. Rev. Immunol.*, **30**, 16–34.
- *20) Blander, J.M. & Sander, L.E. (2012) *Nat. Rev. Immunol.*, **12**, 215–225.
- *21) Fournier, B. & Philpott, D.J. (2005) *Clin. Microbiol. Rev.*, **18**, 521–540.
- *22) Paul, W.E. (2011) *Cell*, **147**, 1212–1215.
- *23) Park, J.W., Kim, C.H., Rui J., Park, K.H., Ryu, K.H., Chai, J.H., Hwang, H.O., Kurokawa, K., Ha, N.C., Söderhäll, I., Söderhäll, K., & Lee, B.L. (2010) *Adv. Exp. Med. Biol.*, **708**, 163–180.
- *24) Kim, C.H., Park, J.W., Ha, N.C., Kang, H.J., & Lee, B.L. (2008) *BMB Rep.*, **29**, 93–101.
- *25) Iwanaga, S. & Lee, B.L. (2005) *J. Biochem. Mol. Biol.*, **38**, 128–150.
- *26) Iwanaga, S. (2002) *Curr. Opin. Immunol.*, **14**, 87–95.
- *27) Royet, J. (2004) *Mol. Immunol.*, **41**, 1063–1075.
- *28) Lemaître, B. & Hoffman, J. (2007) *Annu. Rev. Immunol.*, **25**, 697–743.
- *29) Leulier, F. & Lemaître, B. (2008) *Nat. Rev. Genet.*, **9**, 165–178.
- *30) Cerenius, L., Kawabata, S., Lee, B.L., Nonaka, M., & Söderhäll, K. (2010) *Trends Biochem. Sci.*, **35**, 575–583.
- *31) Cerenius, L., Lee, B.L., & Söderhäll, K. (2008) *Trends Immunol.*, **29**, 263–271.
- *32) Jiang, H. & Edgar, B.A. (2011) *Exp. Cell Res.*, **15**, 2780–2088.
- *33) Maloy, K.J. & Powrie, F. (2011) *Nature*, **474**, 298–306.
- *34) Royet, J. (2011) *Cell. Mol. Life Sci.*, **68**, 3651–3660.
- *35) Valanne, S., Wang, J.H., & Rämetsä, M. (2011) *J. Immunol.*, **186**, 649–656.
- *36) Tzou, P., De Gregorio, E., & Lemaître, B. (2002) *Curr. Opin. Immunol.*, **5**, 102–110.
- *37) Vodovar, N., Acosta, C., Lemaître, B., & Bocard, F. (2004) *Trend. Microbiol.*, **12**, 235–242.
- *38) Ratcliffe, N.R., Mello, C.B., Garcia, E.S., Butt, T.M., & Azambuja, P. (2011) *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **41**, 747–769.
- *39) Underhill, D. & Ozinsky, A. (2002) *Annu. Rev. Immunol.*, **20**, 825–852.
- *40) Levine, B., Mizushima, N., & Virgin, H.W. (2011) *Nature*, **469**, 323–335.
- *41) Shahnazari, S. & Brumell, J.H. (2011) *Curr. Opin. Microbiol.*, **14**, 68–75.
- *42) Fujita, N. & Yoshimori, T. (2011) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **23**, 492–497.
- *43) Yano, T. & Kurata, S. (2011) *J. Biochem.*, **150**, 143–149.
- *44) Underhill, D.M. & Goodridge, H.S. (2012) *Nat. Rev.*, **12**, 492–502.
- *45) Papayannopoulos, V. & Zychlinsky, A. (2009) *Trends Immunol.*, **30**, 513–521.
- *46) Wartha, F., Beiter, K., Normark, S., & Henriques-Normark, B. (2007) *Curr. Opin. Microbiol.*, **10**, 52–56.
- 47) Tabuchi, Y., Shiratsuchi, A., Kurokawa, K., Gong, J.H., Sekimizu, K., Lee, B.L., & Nakanishi, Y. (2010) *J. Immunol.*, **185**, 2424–2431.
- 48) Atilano, M.L., Yates, J., Glittenberg, M., Filipe, S.R., & Ligoxygakis, P. (2011) *PLoS Pathog.*, **7**, e1002421.
- 49) Kurokawa, K., Gong, J.H., Ryu, K.H., Zheng, L., Chae, J.H., Kim, M.S., & Lee, B.L. (2011) *Dev. Comp. Immunol.*, **35**, 835–859.
- *50) Royet, J., Gupta, D., & Dziarski, R. (2011) *Nat. Rev. Immunol.*, **11**, 837–851.
- 51) Hashimoto, M., Tawaratsumida, K., Kariya, H., Kiyohara, A., Suda, Y., Krikae, F., Kirikae, T., & Götz, F. (2006) *J. Immunol.*, **177**, 3162–3169.
- 52) Kurokawa, K., Lee, H., Roh, K.B., Asanuma, M., Kim, Y.S., Nakayama, H., Shiratsuchi, A., Choi, Y., Takeuchi, O., Kang, H.J., Dohmae, N., Nakanishi, Y., Akira, S., Sekimizu, K., & Lee, B.L. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 8406–8411.
- 53) Kurokawa, K., Ryu, K.H., Ichikawa, R., Masuda, A., Kim, M.S., Lee, H., Chae, J.H., Shimizu, T., Saitoh, T., Kuwano, K., Akira, S., Dohmae, N., Nakayama, H., & Lee, B.L. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 13171–13181.
- *54) Schmalzer, M., Jann, N.J., Götz, F., & Landmann, R. (2010) *Int. J. Med. Microbiol.*, **300**, 155–160.
- *55) Ashida, H., Ogawa, M., Kim, M., Mimuro, H., & Sasagawa, C. (2012) *Nat. Chem. Biol.*, **8**, 36–45.
- 56) Wu, S.C., Liao, C.W., Pan, R.L., & Juang, J.L. (2012) *Cell Host Microbe*, **11**, 410–417.

- *57) Kuroki, Y., Takahashi, M., & Nishitani, C. (2007) *Cell Microbiol.*, **9**, 1871–1879.
- *58) Endo, Y., Matsushita, M., & Fujita, T. (2011) *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **43**, 705–712.
- *59) Rennemeier, C., Hammerschmidt, S., Niemann, S., Inamura, S., Zähringer, U., & Kehrel, B.E. (2007) *FASEB J.*, **21**, 3118–3132.
- *60) Dupuy, A.G. & Caron, E. (2008) *J. Cell Sci.*, **121**, 1773–1783.
- *61) Goodridge, H.S., Wolf, A.J., & Underhill, D.M. (2009) *Immunol. Rev.*, **230**, 38–50.
- 62) Sever-Chroneos, Z., Krupa, A., Davis, J., Hasan, M., Yang, C.H., Szeliga, J., Herrmann, M., Hussain, M., Geisbrecht, B. V., Kobzik, L., & Chronos, Z.C. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 4854–4870.
- 63) Leelahavanichkul, A., Bocharov, A.V., Kurlander, R., Baranova, I.N., Vishnyakova, T.G., Souza, A.C., Hu, X., Doi, K., Vaisman, B., Amar, M., Sviridov, D., Chen, Z., Remaley, A.T., Csako, G., Patterson, A.P., Yuen, P.S., Star, R. A., & Eggerman, T.L. (2012) *J. Immunol.*, **188**, 2749–2758.
- 64) Kneidl, J., Löffler, B., Erat, M.C., Kalinka, J., Peters, G., Roth, J., & Barczyk, K. (2012) *Cell. Microbiol.*, **14**, 914–936.
- 65) Baranova, I.N., Kurlander, R., Bocharov, A.V., Vishnyakova, T.G., Chen, Z., Remaley, A.T., Csako, G., Patterson, A.P., & Eggerman, T.L. (2008) *J. Immunol.*, **181**, 7147–7156.
- 66) Watanabe, I., Ichiki, M., Shiratsuchi, A., & Nakanishi, Y. (2007) *J. Immunol.*, **178**, 4907–4925.
- 67) Shiratsuchi, A., Shimizu, K., Watanabe, I., Hashimoto, Y., Kurokawa, K., Razanajatovo, I.M., Park, K.H., Park, H.K., Lee, B.L., Sekimizu, K., & Nakanishi, Y. (2010) *Immunology*, **129**, 268–277.
- 68) Jann, N.J., Schamaler, M., Ferracin, F., & Landmann, R. (2011) *Immunol. Lett.*, **135**, 17–23.
- 69) Kubica, M., Guzik, K., Koziel, J., Zarebski, M., Richter, W., Gajkowska, B., Golda, A., Maciag-Gudowska, A., Birx, K., Shaw, L., Foster, T., & Potempa, J. (2008) *PLoS One*, **3**, e1409.
- 70) Melvin, J.A., Murphy, C.F., Dubois, L.G., Thompson, J.W., Moseley, M.A., & McCafferty, D.G. (2011) *Biochemistry*, **50**, 7591–7599.
- 71) Miyazaki, S., Matsumoto, Y., Sekimizu, K., & Kaito, C. (2012) *FEMS Microbiol. Lett.*, **326**, 116–124.
- 72) Houde, M., Gottschalk, M., Gagnon, F., Van Calsteren, M. R., & Segura, M. (2012) *Infect Immun.*, **80**, 506–517.
- 73) Kocks, C., Cho, J.H., Nehme, N., Ulvila, J., Pearson, A.M., Meister, M., Strom, C., Conto, S.L., Hetru, C., Stuart, L.M., Stehle, T., Hoffmann, J.A., Reichhart, J.M., Ferrandon, D., Rämet, M., & Ezekowitz, R.A. (2005) *Cell*, **123**, 335–346.
- 74) Kurucz, E., Márkus, R., Zsámboki, J., Folkl-Medzihradzky, K., Darula, Z., Vilmos, P., Udvardy, A., Krausz, I., Lukacsovich, T., Gateff, E., Zetervall, C.J., Hultmark, D., & Andó, I. (2007) *Curr. Biol.*, **17**, 649–654.
- 75) Hashimoto, Y., Tabuchi, Y., Sakurai, K., Kutsuna, M., Kurokawa, K., Awasaki, T., Sekimizu, K., Nakanishi, Y., & Shiratsuchi, A. (2009) *J. Immunol.*, **183**, 7451–7560.
- 76) Shiratsuchi, A., Mori, T., Sakurai, K., Nagaosa, K., Sekimizu, K., Lee, B.L., & Nakanishi, Y. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 21663–21672.
- 77) Chung, Y.S. & Kocks, C. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 26524–26532.
- 78) Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B., Uhlemann, Y., Weiss, D.S., Weinrauch, Y., & Zychlinsky, A. (2004) *Science*, **303**, 1532–1535.
- 79) Wartha, F., Beiter, K., Albiger, B., Fernebro, J., Zychlinsky, A., Normark, S., & Henriques-Normark, B. (2007) *Cell Microbiol.*, **9**, 1162–1171.
- *80) Steinberg, B.E. & Grinstein, S. (2008) *J. Clin. Invest.*, **118**, 2002–2011.
- 81) Stone, E.F., Fulton, B.O., Ayres, J.S., Pham, L.M., Ziauddin, J., & Shirasu-Hiza, M.M. (2012) *PLoS Pathog.*, **8**, e1002445.
- 82) Iwaki, D., Kanno, K., Takahashi, M., Endo, Y., Matsushita, M., & Fujita, T. (2011) *J. Immunol.*, **187**, 3751–3758.
- 83) Shiratsuchi, A., Watanabe, I., Ju, J.S., Lee, B.L., & Nakanishi, Y. (2008) *Immunology*, **124**, 575–583.
- 84) Park, K.H., Kurokawa, K., Zheng, L., Jung, D.J., Takeishi, K., Jin, J.O., Ha, N.C., Kang, H.J., Matsushima, M., Kwak, J.Y., Takahashi, K., & Lee, B.L. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 27167–27175.
- 85) Shimada, T., Park, B.G., Wolf, A.J., Brikos, C., Goodridge, H.S., Becker, C.A., Reyes, C.N., Miao, E.A., Aderem, A., Götz, F., Liu, G.Y., & Underhill, D.M. (2010) *Cell Host Microbe*, **7**, 38–49.
- 86) Wolf, A.J., Arruda, A., Reyes, C.N., Kaplan, A.T., Shimada, T., Shimada, K., Arditi, M., Liu, G., & Underhill, D.M. (2011) *J. Immunol.*, **187**, 6002–6010.
- 87) Park, J.W., Kim, C.H., Kim, J.H., Je, B.R., Roh, K.B., Kim, S.J., Lee, H.H., Ryu, J.H., Lim, J.H., Oh, B.H., Lee, W.J., Ha, N.C., & Lee, B.L. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 6602–6607.
- *88) Davis, K.M. & Weiser, J.N. (2011) *Infect. Immun.*, **79**, 562–570.
- 89) Watthanasurorot, A., Jiravanichpaisal, P., Liu, H., Söderhäll, I., & Söderhäll, K. (2011) *PLoS Pathog.*, **7**, e1002062.
- 90) Malachowa, N., Whitney, A.R., Kobayashi, S.D., Sturdevant, D.E., Kennedy, A.D., Branughon, K.R., Shabb, D.W., Diep, B.A., Chambers, H.F., Otto, M., & DeLeo, F.R. (2011) *PLoS One*, **6**, e18617.
- 91) Oogai, Y., Matsuo, M., Hashimoto, M., Kato, F., Sugai, M., & Komatsuzawa, H. (2011) *Appl. Environ. Microbiol.*, **77**, 8097–8105.
- *92) Novick, R.P. & Geisinger, E. (2008) *Annu. Rev. Genet.*, **42**, 541–564.
- *93) Novick, R.P. (2003) *Mol. Microbiol.*, **48**, 1429–1449.
- 94) Giese, B., Glowinski, F., Paprotka, K., Dittmann, S., Steiner, T., Sinha, B., & Fraunholz, M.J. (2011) *Cell. Microbiol.*, **13**, 316–329.
- *95) Cheung, A.L., Bayer, A.S., Zhang, G., Gresham, H., & Xiong, Y.Q. (2004) *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **40**, 1–9.
- 96) Geiger, T., Goerke, C., Mainero, M., Kraus, D., & Wolz, C. (2008) *J. Bacteriol.*, **190**, 3419–3428.
- *97) Kazmierczak, M.J., Wiedmann, M., & Boor, K.J. (2005) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **69**, 527–543.
- *98) Güell, Yus, E., Lluch-Senar, M., & Serrano, L. (2011) *Nat. Rev. Microbiol.*, **9**, 658–669.
- *99) Breaker, R.R. (2011) *Mol. Cell*, **43**, 867–879.
- *100) Felden, B., Vandenesch, F., Bouloc, P., & Romby, P. (2011) *PLoS Pathog.*, **7**, e1002006.
- 101) Shinbara, A., Matsui, M., Hiraoka, K., Nomura, W., Hirano, R., Nakahigashi, K., Tomita, M., & Kanai, A. (2011) *BMC Genomics*, **12**, 428.
- *102) Kinchen, J.M. (2010) *Apoptosis*, **15**, 1304–1311.

- *103) Kurant, E. (2011) *Glia*, **59**, 1304–1311.
- 104) Franc, N.C., Heitzler, P., Ezekowitz, R.A., & White, K. (1999) *Science*, **284**, 1991–1994.
- 105) Awasaki, T., Tatsumi, R., Takahashi, K., Arai, K., Nakanishi, Y., Ueda, Y., & Ito, K. (2006) *Neuron*, **50**, 855–867.
- 106) Nagaosa, K., Okada, R., Nonaka, S., Takeuchi, K., Fujita, Y., Miyasaka, T., Manaka, J., Ando, I., & Nakanishi, Y. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 25770–25777.
- *107) McPhee, C.K. & Baehrecke, E.H. (2009) *Biochim. Biophys. Acta*, **1793**, 1452–1460.
- *108) Han, C.Z. & Ravichandran, K.S. (2011) *Cell*, **147**, 1442–1445.
- 109) Nam, H.J., Jang, I.H., You, H., Lee, K.A., & Lee, W.J. (2012) *EMBO J.*, **31**, 1253–1265.
-