

综述和进展

果蝇先天性免疫研究进展*

曹慧^{1**} 李宗芸^{1,2***} 王秋香¹

(1. 徐州师范大学生命科学学院,细胞与分子生物学研究所 江苏 徐州 221116;

2. 江苏省药用植物生物技术重点实验室 江苏 徐州 221116)

The progress of research on *Drosophila* innate immunity. CAO Hui^{1**}, LI Zong Yun^{1,2***}, WANG Qiu-Xiang¹
(1. *Institute of Cellular and Molecular Biology, School of Life Science, Xuzhou Normal University, Xuzhou 221116, China*; 2. *Key Laboratory for Biotechnology on Medicinal Plant of Jiangsu Province, Xuzhou 221116, China*)

Abstract *Drosophila melanogaster* is an important model organism for understanding basic biological and human disease mechanisms. *Drosophila*, lacking an adaptive immune system found in mammals, can resist rapidly and effectively to infection of various microorganisms through multifaceted innate immune response involving humoral immunity, cellular immunity and melanization. The latest achievement of *Drosophila* immunity was reviewed in this paper, including the proteins and their interaction related to Toll and immune deficiency (Imd) signal pathway through which *Drosophila* produces antimicrobial peptides, and phagocytosis and encapsulation in cellular immunity and melanisation. It was showed that Toll and Imd signal pathway in *Drosophila* is similar to TLR4 and TNFRF-1 signal pathway in human innate immune systems, respectively, which implied that the immune signal pathway of *Drosophila* and human may have common origins.

Key words *Drosophila*, humoral immunity, Toll signal pathway, Imd signal pathway, cellular immunity; melanization

摘要 果蝇是生命科学与人类疾病研究的重要模式生物,虽然不具有人类高度专一的获得性免疫,但也有对病原微生物感染作出快速有效反应的先天性免疫应答系统,主要包括体液免疫、细胞免疫和黑化反应。文章结合国外最新研究,详细介绍果蝇体液免疫中控制抗菌肽合成的 Toll 信号通路和 Imd 信号通路中涉及的蛋白及其相互作用,并对果蝇细胞免疫中的吞噬、包埋功能和黑化反应作简要阐述。研究表明,果蝇的 Toll 和 Imd 信号通路分别与人类的 TLR4 和 TNFRF-1 信号通路存在着惊人的相似之处,说明果蝇与人类在免疫调控通路方面可能存在着共同的进化起源。

关键词 果蝇, 体液免疫, Toll 和 Imd 信号通路, 细胞免疫, 黑化反应

先天性免疫系统是多细胞生物抵抗各种微生物入侵的第一道防线。果蝇 *Drosophila melanogaster* 没有类似哺乳动物的 B 和 T 淋巴细胞,因而不具有高等生物高度专一的获得性免疫系统,但果蝇能够对微生物感染作出快速有效的免疫应答,这表明果蝇具有抗病原微生物的先天性免疫系统^[1]。

已有的研究表明,果蝇具有 3 种免疫应答系统:一是体液免疫,主要是由脂肪体产生抗菌肽(antibacterial peptide);二是细胞免疫,涉及的

主要是浆细胞的噬菌作用;三是黑化作用,通过一系列的蛋白级联反应产生黑色素,黑色素沉积在伤口和外来物的周围,愈合伤口并杀死病原体。

本文主要结合目前的研究进展对果蝇体液

*国家自然科学基金资助项目(30470421);江苏省药用植物生物技术重点实验室开放研究课题(KJS03077)。

** E-mail: caohuifighting@126.com

*** 通讯作者, E-mail: zongyunli@xznz.edu.cn

收稿日期:2008-03-09,修回日期:2008-09-02

免疫中的 2 条通路 (Toll 和 Imd) 的信号转导途径,细胞免疫和黑化作用进行综述。

1 体液免疫

果蝇体液免疫的主要特点是机体受感染后,脂肪体细胞合成抗菌肽,抗菌肽分泌到血淋巴中杀死入侵的病原体。果蝇的脂肪体能合成多达 7 类抵抗不同微生物的多肽,基因组分析表明,这 7 类多肽共由 21 个基因编码^[2]。不同的病原微生物通过激活不同的信号通路产生各类抗菌肽分子,例如,真菌与大多数革兰氏阳性菌激活 Toll 信号途径,调控果蝇抗真菌肽 (*drosomycins*)、基因的表达;革兰氏阴性菌激活 Imd 信号途径,调控天蚕素 (*cecropins*)、果蝇肽 (*drosocin*)^[3]、双翅肽 (*diptericins*) 和樗蚕素 (*attacins*) 基因的表达;而碧蟾金属肽 (*metchnikowin*) 和抗菌肽防卫素 (*defensins*) 基因表达受 Toll 和 Imd 信号途径共同调控^[4]。

目前对于果蝇抗菌肽产生的信号通路研究已日趋成熟,研究结果表明,在果蝇体内存在 2 种病原体识别信号通路即:Toll 信号通路和 Imd 信号通路。

1.1 Toll 信号通路

这是目前了解最多的果蝇抗菌肽产生的一条信号通路(图 1)。由于微生物中存在一些与其生命活动有关的保守结构,称之为病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs),PAMPs 是特异性激活先天免疫系统的配体,通常,免疫信号通路中的跨膜蛋白受体不能直接识别这些分子,因此必须有中介分子参与。果蝇中识别 PAMPs 配体的模式识别受体 (PRR) 主要包括肽聚糖识别蛋白 (PGRP) 和革兰氏阴性菌结合蛋白 (GNBP) 等,PGRP 和 GNBP 都参与了 Toll 和 Imd 信号通路中的信号传递。PGRP 又可分为长型肽聚糖识别蛋白 (PGRP-LA, LB, LC, LD, LE) 和短型肽聚糖识别蛋白 (PGRP-SA, SB, SC, SD)^[5]。

当果蝇受到外界病原微生物革兰氏阳性菌入侵时,Toll 通路上游的 PGRP-SA、PGRP-SD 和 GNBP-1 作为识别受体识别其细胞壁中的赖氨

酸型肽聚糖 (Lysine-type PG)^[6-8];果蝇应对真菌的感染仍然是通过激活 Toll 信号通路这一途径,但与革兰氏阳性菌不同的是,真菌采取了 2 条通路共同激活 Toll 信号通路,其一是 -1,3-葡聚糖 GNBP3 SPE 途径,即 GNBP 家族的 GNBP-3 识别真菌细胞壁上的 -1,3-葡聚糖,再通过一系列的生化反应将信号传给神经生长因子同源物 (cytokine-like NGF-homologue Spätzle, Spz) 激活酶 (SPE),其二是 PR1 PSH 途径,即真菌分泌的真菌毒性因子 (fungal virulence factor PR1) 直接激活 PSH (persephone) 成其活性形式^[9,10](图 1)。最近研究证明,PGRPSC1a 也参与对革兰氏阳性葡萄球菌的吞噬作用和 Toll 通路的信号传导^[11],由此可见 Toll 通路上游识别病原菌的机理十分复杂。

果蝇受革兰氏阳性菌和真菌感染后,通过一系列蛋白酶级联反应最终分解宿主蛋白 Spz,Spz 在果蝇血细胞内是无活性的,在 SPE 的作用下水解为其活性形式 C-106 Spz^[12],同时果蝇血淋巴里的 PSH 也间接参与了 Spz 活化,活化的 Spz 与膜受体 Toll 结合使得 Toll 受体二聚化,二聚化的受体再将信号传给下游^[13](图 1)。

Toll 是跨膜受体,膜外是亮氨酸富集重复域,膜内的结构与白介素 1 受体 (interleukin 1 receptor IL-1R) 对应部分具有很高的相似性,称之为 TIR 域 (Toll/IL-1 receptor)^[3]。Toll 的 TIR 域与胞质内 3 个含有死亡结构域 (death domain DD) 的蛋白 (dMyD88、Tube 和 Pelle) 相互作用形成受体配体复合体(图 1),其中 dMyD88 与 Tube 是衔接蛋白,dMyD88 是哺乳动物 MyD88 的同源物,它除了 1 个死亡结构域外还有 1 个与 Toll 相似并与 Toll 连接的 TIR 域,而 Tube 在哺乳动物中未发现同源物;另一蛋白 Pelle 结构中含有丝氨酸-苏氨酸激酶域,与哺乳动物 IRAKs (interleukin-1 receptor-associated kinases) 同源。这 3 种蛋白相互作用最终激活 2 种 NF- κ B 样蛋白 Dif (dorsal-related immunity factor) 和 Dorsal^[14],使结合其上的 Cactus 蛋白磷酸化,随之 Cactus 蛋白被蛋白酶体降解,导致 Dif 和 Dorsal 释放进入核内,从而启动下游靶基因转

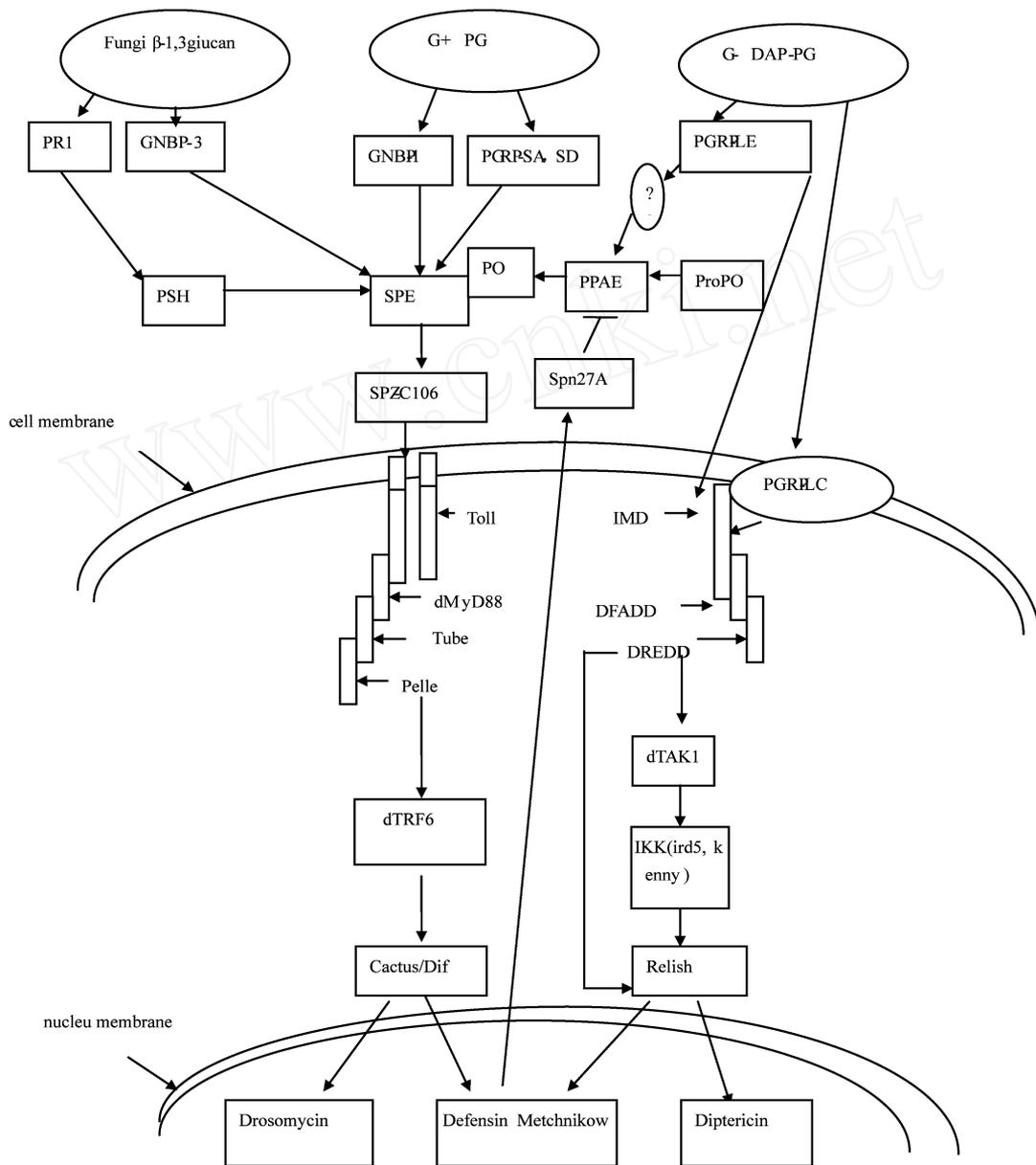


图 1 Toll 和 Imd 信号通路^[2]

Fungi β -1,3 glucan: 真菌 β -1,3-葡聚糖; G+ PG: 革兰氏阳性菌, 赖氨酸型肽聚糖; G- DAP-PG: 革兰氏阴性菌 - 细胞壁的 α -氨基庚二酸型肽聚糖; PR1: 真菌毒性因子; GNBP-3: 革兰氏阴性菌结合蛋白-3; GNBP-1: 革兰氏阴性菌结合蛋白-1; PGRP-SA, SD: 长型肽聚糖识别蛋白 SA SD; PGRP-LE, PGRP-LC: 短型肽聚糖识别蛋白 LE, LC; PSH: 血淋巴蛋白酶; SPE: 神经生长因子同源物激活酶; PO: 酚氧化酶; PPAE: Prophenoloxidase-activating enzyme 激发 proPO 激酶; ProPO: 酚氧化酶前体; SPZC106: 活性神经生长因子同源物; Spn27A: 丝氨酸蛋白酶 27A; dMYD88, Tube: 含有死亡结构域转接蛋白; Pelle: 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶; dTRF6: 肿瘤坏死因子受体活化因子 6; Cactus: 哺乳动物 I κ Bs 的同源物; Dif NF- κ B: 样蛋白 (核因子- κ B); IMD Immune deficiency: 免疫缺陷; DFADD: (drosophila Fas-associated protein with death domain) 含死亡结构域的 Fas 相关蛋白; DREDD: Caspase 8 同源物; dTAK1: 生长因子 活化激酶; IKK(ird5, kenny): 果蝇 IKK 复合体, 分别为哺乳动物 IKK, IKK 同源物; Relish: NF- κ B 样蛋白 (核因子- κ B); Drosomycin: 果蝇抗真菌肽; Defensin: 防卫素; Metchnikowin: 碧蜻金属肽; Diptericin: 双翅抗菌肽; Cell membrane: 细胞膜; nucleus membrane: 核膜

录^[21](图 1)。Cactus 蛋白是哺乳动物 IκBs 的同源物,在休眠状态下,Dif 和 Dorsal 与 Cactus 结合形成无活性的复合物。

在果蝇的发育过程中,免疫应答 Toll 通路能够激活 2 种 NF-κB 样蛋白:成虫的 Dif、幼虫的 Dorsal 和(或)Dif^[15],在幼虫阶段两者均能参与 Toll 调控的免疫应答,但 Dif 主要是成虫受真菌而非革兰氏阳性菌感染时 Toll 信号传递的介质^[16]。

另外 Anderson 等人研究表明,Toll 通路除了能抗细菌感染,也是果蝇抗病毒感染的重要途径,能有效的抑制 *Drosophila X virus* (DXV) 的复制^[17]。

1.2 Imd 信号通路

Imd 信号通路是果蝇天然免疫的另一条通路,是在研究果蝇一种隐性变异体抗菌肽表达时发现的^[18]。果蝇 7 种抗菌肽中的 Diptericin, Drosocin, Cecropins, Attacins 都是由此途径调控表达(图 1)^[19]。果蝇的 imd 基因(*immunodeficiency gene*) 编码的 25 kDa 的蛋白质,含有 1 个致死结构域,与哺乳动物的 RIP 蛋白(TNF-receptor-interacting protein) 有很高的同源性^[20]。果蝇受到革兰氏阴性菌入侵时,Imd 通路上游的模式识别受体 PGRP-LC 识别革兰氏阴性菌细胞壁的二氨基庚二酸型(DAP-type) 肽聚糖,从而激活该通路^[21]。经过 *pgp-lc* mRNA 不同的拼接方式,果蝇 PGRP-LC 存在 3 种异构体 LCa, LCx 和 LCy,均为胞质内区域相同胞外区不同的膜结合蛋白,这种在 PGRP-LC 区域的多样性大大加强了 PGRP-LC 结合 PAMPs 的能力^[5,22]。跨膜受体 PGRP-LCa 和 PGRP-LCx 都能识别革兰氏阴性菌的 DAP 型肽聚糖从而激活 Imd 通路,但在识别 DAP-type 肽聚糖单体和多体时涉及的机理有差别:PGRP-LCx 和 PGRP-LCa 形成异源二聚体识别单体的肽聚糖;而聚合体的肽聚糖只需 PGRP-LCx 的二聚体^[23,24]。PGRP-LE 为 Imd 上游的另一个 PRR^[25],PGRP-LE 与 PGRP-LC 具有相似的功能,也可以结合革兰氏阴性菌细胞壁的 DAP-type 肽聚糖,同时 PGRP-LE 过表达还能激活酚

氧化酶前体(Prophenoloxidase proPO) 级联反应。Aya Takehana 等人研究表明,在抗大肠杆菌(*Escherichia coli*) 和巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*) 感染时 PGRP-LE 与 PGRP-LC 有相互促进作用^[26]。

现已知道有 5 种蛋白参与了 Imd 信号通路的级联反应:含有死亡结构域的蛋白 Imd、dFADD(哺乳动物 FADD 的同源物)、Dredd(Caspase 8 同源物)、有丝分裂原蛋白酶(MAP3) 激酶 dTak1、果蝇 IKK 复合体(Ird5 和 Kenny,分别为哺乳动物 IKK, IKK 同源物),这 5 种成分中任一编码该蛋白的基因发生突变都会增加果蝇对革兰氏阴性菌的易感性^[27~29]。5 种成分的信号传递过程是:蛋白 Imd 凭借 DD 结构域募集 dFADD,再与 Dredd 相互作用形成受体配体复合物,接着该复合体激活 IKK 复合物,IKK 复合物的激活需要有丝分裂原蛋白酶(MAP3) 激酶 dTak1 参与,活化的 IKK 复合物磷酸化果蝇第 3 种 NF-κB 样蛋白 Relish,Relish 的磷酸化的结果使其抑制子转移,释放 Relish 蛋白的 N-末端转移到核内启动抗菌肽基因的表达^[30]。同时 Dredd 也能直接分解果蝇 NF-κB 蛋白 Relish(图 1)。

另外有研究证明一氧化氮(NO) 与 Imd 信号通路的抗菌肽表达有关。Foley 和 O'Farrell 证明:抑制一氧化氮合酶(NOS) 的活性能抑制抗菌肽双翅肽(diptericin) 的表达,增强果蝇幼虫对革兰氏阴性菌的易感性。抗菌肽研究者也揭示了 NO 能激活未感染幼虫的免疫反应,在脂肪体中 No 能够诱导 Imd 通路调控的 Diptericin 基因表达。这些研究显示了在果蝇抗革兰氏阴性的先天性免疫反应中 NOS 具有重要作用^[31]。接着 Pascale 等人指出:钙调蛋白磷酸酶(calcineurin) 参与了果蝇幼虫的免疫反应,并通过将信号传递给 NO 最终激活抗菌肽基因的表达^[32]。

研究表明,果蝇的 Toll 和 Imd 信号通路分别与人类的 TLR4 和 TNFR-1 信号通路存在着惊人的相似之处,说明果蝇与人类在免疫调控通路方面可能存在着共同的进化起源^[30]。最

近研究发现:Spz(Toll配体)和革兰氏阴性菌肽聚糖(PGRP-LC配体)通过协同作用,激活了Toll和Imd信号通路靶基因*Drosomycin*、*Diptericin*和*Attacin A*的表达^[33],表明果蝇的Toll和Imd通路可以对某些抗菌肽的诱导性表达进行交叉调控。

2 细胞免疫

果蝇的细胞免疫研究还处在早期阶段,主要包括通过血细胞的吞噬和包围作用清除入侵的病原微生物。果蝇幼虫时期具有3种血细胞:浆细胞(plasmacytes)、薄层细胞(lamellocytes)和晶细胞(crystal cells)^[34],而成虫不具有薄层细胞和晶细胞,也不具有造血能力,因此有关果蝇细胞免疫的研究大部分集中在幼虫发育阶段。

浆细胞体积小,圆型,约占果蝇血细胞的95%,浆细胞具有吞噬活性,能够吞噬死亡的细胞和感染的细菌,功能与哺乳动物的单核细胞或巨嗜细胞相似^[35]。至今已经发现了几个浆细胞受体的候选成分,一个是在胚胎时期吞噬凋亡细胞需要的*croquemort*基因,其编码CD36的同源物^[36];另一个是Pearson等人鉴定出的清道夫受体CI识别的配体(dSR-CI),它与哺乳动物A类清道夫受体识别的配体具有很高的同源性,体外研究证明果蝇的清道夫受体dSR-CI参与血细胞识别革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌^[37]。虽然这些研究证明*croquemort*基因的编码产物和清道夫受体dSR-CI是吞噬作用的中间媒介,但其内在作用机理仍不清楚。另外,PGRP-LC也能介导革兰氏阴性菌的吞噬作用^[38]。

薄层细胞是果蝇幼虫体内体积最大的血细胞,扁平型。薄层细胞是最理想的包裹外来物的血细胞,主要包理由果蝇变态发育中凋亡的大组织和外来物,如寄生虫卵^[35]。这种细胞在健康的个体中很少存在,只有外来物太大不能被浆细胞吞噬除去时,早期未成熟的血细胞才分化成为薄层细胞发挥作用。

晶细胞比浆细胞稍大,占幼虫血细胞不到

5%,主要提供黑化作用的酶——酚氧化酶原^[31],通过蛋白酶的级联反应最终形成的黑色素沉积在果蝇受损伤的部位或薄层细胞包裹大量异物的胶囊体周围。通过对黑化作用缺陷的果蝇突变体的研究发现:黑化能促进果蝇伤口修复,阻止果蝇因血淋巴过多流失而死亡。

一般认为,血细胞识别、包裹、分解外来物的过程大致是:当外来有机体进入果蝇血淋巴,马上就会被血淋巴中的浆细胞识别,如果是寄生虫卵,浆细胞随即附着在其表面^[39],很快淋巴腺中血细胞增殖,同时晶细胞分裂,薄层细胞分化、释放进入血淋巴^[40],释放的薄层细胞,转移到目标处形成多层包裹体,最终令包裹的生物有机体窒息或被具有细胞毒性的醌或半醌杀死^[41]。

3 黑化反应

黑化反应在无脊椎动物,尤其是节肢动物中研究得较多。当果蝇受到病原体的入侵、表皮屏障被破坏时,损伤部位会有黑色素沉积和血细胞的聚集现象,这就是果蝇的黑化反应。黑化反应是果蝇体内另一种免疫反应,是对抗入侵病原体最快的免疫应答。基本过程是:首先由果蝇的血细胞——晶细胞合成无活性的proPO,然后无活性的酶原proPO分泌到血淋巴中,当果蝇受到病原体侵袭后,由识别蛋白识别体内的病原体,激发proPO激酶(prophenoloxidase-activating enzyme,PPAE)的级联反应,最终释放有活性的酚氧化酶(phenoloxidase,PO),活化的PO在酪氨酸氧化酶催化下使苯酚生成苯醌,苯醌对微生物具有毒性,苯醌再聚合成不溶性的黑色素,黑色素的沉积能够促进伤口的愈合和控制微生物的繁殖^[42](图2)。

最近研究发现,模式识别受体PGRP-LE过表达能激活proPO级联反应,在抗革兰氏阴性菌感染的免疫应答过程中,PGRP-LE参与了黑色素的形成^[22]。但在果蝇体内发现一种丝氨酸蛋白酶的抑制蛋白——Serp1r-27A,能抑制pPPAE,通过比较野生型、Toll突变体、Imd突变

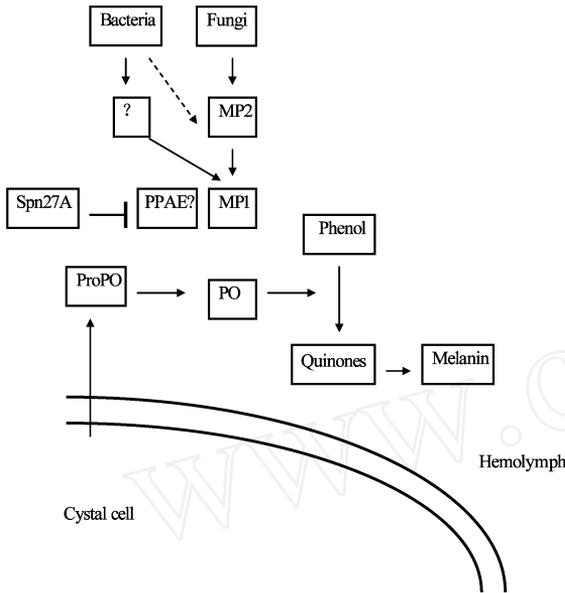


图2 黑蝇黑化反应^[42]

Bacteria: 细菌; Fungi: 真菌; MP2: 黑化蛋白酶 2; MP1: 黑化蛋白酶 1; Spn27A: 丝氨酸蛋白酶 27A; PPAE: 酚氧化酶前体激酶; Phenol: 苯酚; ProPO: 酚氧化酶前体; PO: 酚氧化酶; Quinones: 苯醌; Melanin: 黑色素; Hemolymph: 血淋巴; Cystal cell: 晶细胞

体、Toll 和 Imd 双突变体发现, Serpin-27A 是 Toll 通路的下游产物, 由 Toll 通路调控表达, 能控制 PO 活性阻止黑化级联反应^[43] (图 1)。Huaping Tang 等人研究发现, 果蝇的 2 种蛋白酶, 黑化蛋白酶 1 (MP1) 和黑化蛋白酶 2 (MP2) 受 Serpin-27A 负调控, 在受到细菌和真菌感染时 MP1 参与黑化反应的激活, 而 MP2 主要与真菌感染有关, 因此细菌和真菌可能激发 2 种不同的黑化级联反应, 而 MP1 作为共同的下流蛋白酶激活 PO^[44] (图 2)。

4 展望

最近几年果蝇的天然免疫研究已取得很大进展, 大量研究资料表明, 果蝇能利用其天然免疫系统抵抗微生物入侵, 控制感染, 并确定了 Toll、Imd 信号通路作为抗菌肽基因表达的主要调控通路。在细胞免疫方面, 如血细胞的吞噬, 包埋等作用机理研究也有一定的了解。但是仍存在很多问题有待研究, 如 Toll 通路如何识别

病毒, 如何通过级联反应调节抗病毒的免疫, 细胞免疫具体的作用机理, 细胞免疫与体液免疫如何协同作用抗感染, 黑化作用中有哪些识别分子参与病原体识别, 果蝇体内的 PPAE 等, 所有这些问题有待我们进一步努力探索。

参考文献

- Brennan C. A., Anderson K. V. *Drosophila*: the genetics of innate immune recognition and response. *Annu. Rev. Immunol.*, 2004, **22**: 457 ~ 483.
- Hultmark D. *Drosophila* immunity: paths and patterns. *Curr. Opin. Immunol.*, 2003, **15**(1): 12 ~ 19.
- Irving P., Troxler L., Hetru C. Is innate enough? The innate immune response in *Drosophila*. *C. R. Biol.*, 2004, **327**(6): 557 ~ 570.
- Hoffmann J. A., Reichhart J. M. *Drosophila* innate immunity: an evolutionary perspective. *Nature Immunol.*, 2002, **3**(2): 121 ~ 126.
- Tanji T., Ip Y. T. Regulators of the Toll and Imd pathways in the *Drosophila* innate immune response. *Trends Immunol.*, 2005, **26**(4): 193 ~ 198.
- Göbert V., Götter M., Matskevich A. A., et al. Dual activation of the *Drosophila* toll pathway by two pattern recognition receptors. *Science*, 2003, **302**(5653): 2126 ~ 2130.
- Bischoff V., Vignal C., Boneca I. G., et al. Function of the *Drosophila* pattern-recognition receptor PGRP-SD in the detection of Gram-positive bacteria. *Nat. Immunol.*, 2004, **5**(11): 1175 ~ 1180.
- Pili-Floury S., Leulier F., Takahashi K., et al. *In vivo* RNA interference analysis reveals an unexpected role for GNBPI in the defense against Gram-positive bacterial infection in *Drosophila* adults. *J. Biol. Chem.*, 2004, **279**(13): 12848 ~ 12853.
- Götter M., Göbert V., Matskevich A., et al. Dual detection of Fungal infections in *Drosophila* via recognition of glucans and sensing of virulence factors. *Cell*, 2006, **127**(7): 1425 ~ 1437.
- Ligoxgakis P., Pelte N., Hoffmann J. A., Reichhart J. M. Activation of *Drosophila* Toll during fungal infection by a blood serine protease. *Science*, 2002, **297**(5578): 114 ~ 116.
- Carver L. S., Wu J., Wu P. L. The peptidoglycan recognition protein PGRP-SC1a is essential for Toll signaling and phagocytosis of *Staphylococcus aureus* in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, **103**(3): 660 ~ 665.
- Jang I. H., Chosa N., Kim S. H., et al. Spätzle-processing enzyme required for toll signaling activation in *Drosophila* innate immunity. *Dev. Cell*, 2006, **10**(1): 45 ~ 55.
- Weber A. N., Tauszig-Delamasure S., Hoffmann J. A., et al. Binding of the *Drosophila* cytokine Spätzle to Toll is direct and establishes signaling. *Nat. Immunol.*, 2003, **4**(8): 794 ~ 800.

- 14 Hoffmann J. A. The immune response of *Drosophila*. *Nature*, 2003, **426**(6 962): 33 ~ 38.
- 15 Ip Y. T., Reach M., Engstrom Y., et al. Dif, a dorsal-related gene that mediates an immune response in *Drosophila*. *Cell*, 1993, **75**(4): 753 ~ 763.
- 16 Rutschmann S., Jung A. C., Hetru C., et al. The Rel protein DIF mediates the antifungal but not the antibacterial host defense in *Drosophila*. *Immunity*, 2000, **12**(5): 569 ~ 580.
- 17 Anderson K. V., Sloan-Kettering. The Toll pathway is important for an antiviral response in *Drosophila*. *PNAS*, 2005, **102**(20): 7 257 ~ 7 262.
- 18 Lemaitre B., Kromer-Metzger E., Michaut L., et al. A recessive mutation, immune deficiency (imd), defines two distinct control pathways in the *Drosophila* host defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, **92**(21): 9 365 ~ 9 469.
- 19 Khsh R. S., Leulier F., Lemaitre B. *Drosophila* immunity: two paths to NF- κ B. *Trends Immunol.*, 2001, **22**(5): 260 ~ 264.
- 20 Georgel P., Naitza S., Kappler C., et al. *Drosophila* immune deficiency (IMD) is a death domain protein that activates antibacterial defense and can promote apoptosis. *Dev. Cell*, 2001, **1**(4): 503 ~ 514.
- 21 Choe K. M., Werner T., Stoven S., et al. Requirement for a peptidoglycan recognition protein (PGRP) in relish activation and antibacterial immune responses in *Drosophila*. *Science*, 2002, **296**(5 566): 359 ~ 362.
- 22 Werner T., Borge-Renberg K., Mellroth P., et al. Functional diversity of the *Drosophila* PGRP-LC gene cluster in the response to lipopolysaccharide and peptidoglycan. *Biol. Chem.*, 2003, **278**(29): 26 319 ~ 26 322.
- 23 Chang C. I., Ihara K., Chelliah Y., et al. Structure of the ectodomain of *Drosophila* peptidoglycan-recognition protein LcA suggests a molecular mechanism for pattern recognition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, **102**(29): 10 279 ~ 10 284.
- 24 Kaneko T., Silverman N., Kaneko T., Silverman N. Bacterial recognition and signalling by the *Drosophila* IMD pathway. *Cell Microbiol.*, 2005, **7**(4): 461 ~ 469.
- 25 Takehana A., Katsuyama T., Yano T., et al. Overexpression of a pattern-recognition receptor, peptidoglycan-recognition proteinLE, activates imd/relish-mediated antibacterial defense and the prophenoloxidase cascade in *Drosophila* larvae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, **99**(21): 13 705 ~ 13 710.
- 26 Takehana A., Yano T., Mita S., et al. Peptidoglycan recognition protein (PGRP)-LE and PGRP-LC act synergistically in *Drosophila* immunity. *EMBO*, 2004, **23**(23): 4 690 ~ 4 700.
- 27 Leulier F., Vidal S., Saigo K., et al. Inducible expression of double-stranded RNA reveals a role for dFADD in the regulation of the antibacterial response in *Drosophila* adults. *Curr. Biol.*, 2002, **12**(12): 996 ~ 1 000.
- 28 Leulier F., Rodriguez A., Khush R. S., et al. The *Drosophila* caspase Dredd is required to resist gram-negative bacterial infection. *EMBO Rep.*, 2000, **1**(4): 353 ~ 358.
- 29 Vidal S., Khush R. S., Leulier F., et al. Mutations in the *Drosophila* dTAK1 gene reveal a conserved function for MAPKKKs in the control of rel/NF- κ B-dependent innate immune responses. *Genes Dev.*, 2001, **15**(15): 1 900 ~ 1 912.
- 30 Wang L., Ligoxygakis P. Pathogen recognition and signalling in the *Drosophila* innate immune response. *Immunobiology*, 2006, **211**(4): 251 ~ 261.
- 31 Foley E., O'Farrell P. H. Nitric oxide contributes to induction of innate immune responses to gram-negative bacteria in *Drosophila*. *Genes Dev.*, 2003, **17**(1): 115 ~ 125.
- 32 Dijkers P. F., O'Farrell P. H. *Drosophila* calcineurin promotes induction of innate immune responses. *Curr. Biol.*, 2007, **17**(23): 2 087 ~ 2 093.
- 33 Tanji T., Hu X., Weber A. N., et al. Toll and IMD pathways synergistically activate an innate immune response in *Drosophila melanogaster*. *Mol. Cell. Biol.*, 2007, **12**(27): 4 578 ~ 4 588.
- 34 Lanot R., Zachary D., Holder F., Meister M. Postembryonic hematopoiesis in *Drosophila*. *Dev. Biol.*, 2001, **230**(2): 243 ~ 257.
- 35 Williams M. J. *Drosophila* hemopoiesis and cellular immunity. *Immunology*, 2007, **178**(8): 4 711 ~ 4 715.
- 36 Franc N. C., Heitzler P., Ezekowitz R. A., White K. Requirement for ctoquemort in phagocytosis of apoptotic cells in *Drosophila*. *Science*, 1999, **284**(5 422): 1 991 ~ 1 994.
- 37 Ramet M., Pearson A., Manfrulli P., et al. *Drosophila* scavenger receptor CI is a pattern recognition receptor for bacteria. *Immunity*, 2001, **15**(6): 1 027 ~ 1 038.
- 38 Ramet M., Manfrulli P., Pearson A., et al. Functional genomic analysis of phagocytosis and identification of a *Drosophila* receptor for *E. coli*. *Nature*, 2002, **416**(6 881): 644 ~ 648.
- 39 Russo J., Dupas S., Frey F., et al. Insect immunity: early events in the encapsulation process of parasitoid eggs in resistant and susceptible strains of *Drosophila*. *Parasitology*, 1996, **112**(pt 1): 135 ~ 142.
- 40 Sorrentino R. P., Carton Y., Gøvind S. Cellular immune response to parasite infection in the *Drosophila* lymph gland is developmentally regulated. *Dev. Biol.*, 2002, **243**(1): 65 ~ 80.
- 41 Nappi A. J., Vass E., Frey F., Carton Y. Superoxide anion generation in *Drosophila* during melanotic encapsulation of parasites. *Eur. Cell Biol.*, 1995, **68**(4): 450 ~ 456.
- 42 Leclerc V., Pelte N., Chamy L. E., et al. Prophenoloxidase activation is not required for survival to microbial infections in *Drosophila*. *EMBO Rep.*, 2006, **7**(2): 231 ~ 235.
- 43 Ligoxygakis P., Pelte N., Ji C., et al. A serpin mutant links Toll activation to melanization in the host defence of *Drosophila*. *EMBO*, 2002, **21**(23): 6 330 ~ 6 337.
- 44 Tang H., Kambris Z., Lemaitre B., Hashimoto C. Two proteases defining a melanization cascade in the immune system of *Drosophila*. *Biol. Chem.*, 2006, **281**(38): 28 097 ~ 28 104.