

# 自然免疫系受容体の結晶構造解析 Crystallographic studies of innate immune receptors

大戸梅治\*

東京大学大学院薬学系研究科  
〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

## 1 はじめに

自然免疫は微生物やウイルスの感染に対する生体の初期防御反応であり、微生物の構成成分は主に Toll-like receptor (TLRs)などの受容体により認識され、様々な免疫応答を引き起こす。

TLR8 (および TLR7) は、ウイルス由来の一本鎖 RNA を認識する受容体であり、炎症、抗ウイルス応答を引き起こす。また、TLR7/8 は、合成低分子化合物によっても活性化されることが知られており、これらの TLR7/8 を活性化または阻害する化合物は、抗ウイルス薬、がん、アレルギーに対する治療薬として働くことが期待されている。これまで、TLR7/8 がどのようにして RNA またはこれらの低分子化合物により活性化され細胞内へ情報を伝えるのかについての詳細な機構は不明であった。我々はこれまでに、リガンド非結合型 TLR8 と合成低分子リガンド結合型 TLR8 の結晶構造を明らかにし、TLR8 による低分子化合物の認識機構とシグナル伝達機構を明らかにした。本年度は、TLR8 の本来のリガンドである RNA の認識機構を結晶構造から明らかにすることを目指した (文献1)。

微生物由来の DNA 配列 (CpG モチーフ) は TLR9 を介して免疫系を活性化し、インターフェロンなどの産生を促す。そのため、TLR9 は、抗ウイルス薬やアレルギー薬などの創薬の標的として注目されていたが、具体的な DNA 認識機構は不明だった。本年度は、リガンド非結合状態の TLR9、CpG モチーフ DNA が結合した状態の TLR9、アンタゴニスト DNA が結合した状態の TLR9 の結晶構造解析を行った (文献2)。

## 2 実験

TLR 細胞外ドメイン全長についてショウジョウバエ S2 細胞を用いて分泌発現を行った。培養上清から IgG アフィニティー精製、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換カラムクロマトグラフィーにより精製を行った。また、付加された糖鎖は糖鎖切断酵素 endo Hf により短鎖化した。精製サンプル単独またはリガンドとの複合体試料を調製して蒸気拡散平衡法で結晶化を行い TLR 単独または TLR とリガンドとの複合体の結晶を得た。これらの結晶について PF-AR NE3A において回折強度データを収集した。

## 3 結果および考察

TLR8/RNA 複合体構造中では結晶化に用いた一本鎖 RNA 全長は確認できず、その代わりに RNA の分解産物 (ウリジンと短鎖 RNA) が2ヶ所の結合部位で確認された。この結果により、これまで TLR8 は一本鎖 RNA を認識する受容体だと考えられていたが、実際には RNA が分解されて生じた短鎖 RNA とウリジンを同時に認識して活性化されるという新規の機構を提唱した。この知見は、なぜ TLR8 が RNA と低分子リガンドという物理的、化学的に大きく性質の異なる2種類のリガンドによって活性化されるのかという謎を解明するものであり、また TLR8 の活性を制御する薬剤を設計する際の重要な構造基盤を与えるものである。

TLR9 と CpG モチーフ DNA との複合体の構造解析により、TLR9 と CpG モチーフ DNA は2対2の複合体を形成し活性化型2量体を形成すること、CpG モチーフ DNA は TLR9 の N 末端側にある溝に結合することによって認識されることが明らかになった。一方で、TLR9 とアンタゴニスト DNA は1対1の比率で結合し、DNA は TLR9 の馬蹄型構造の内側にコンパクトなループのような形で結合していた。2種類の DNA の結合部位は一部重なっており、アンタゴニスト DNA は CpG モチーフ DNA と競合して TLR9 に結合することで TLR9 の活性化を阻害することが明らかになった。これらの知見は、抗ウイルス薬、アレルギー薬、ワクチンなどの治療薬の設計につながるものと期待される。

## 謝辞

PF のビームラインスタッフの方々にはいつも大変お世話になっております。感謝いたします。

## 文献

- [1] U. Ohto et al., *Nature* **520**, 702-705. (2015)
- [2] H. Tanji et al., *Nat Struct Mol Biol.* **22**, 109-115. (2015)

\* umeji@mol.f.u-tokyo.ac.jp