

# 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

Umeharu Ohto\*

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo,  
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-0033, Japan

## 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。我々はこれまでに、TLR8 に関して低分子化合物および一本鎖 RNA の認識機構とシグナル伝達機構を明らかにしてきた。しかし、TLR7 に関してはその一本鎖 RNA の認識機構や配列特異性、TLR8 との構造的関連性など不明であった。そこで本年度は、TLR7 に関して 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。

## 2 実験

サル TLR7 細胞外ドメイン全長 (数か所の糖鎖結合部位に変異を入れる) 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。精製サンプルと低分子リガンドや polyU などのリガンドとの共結晶化を行い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

TLR7 に関して TLR7/guanosine/polyU 複合体、TLR7/loxoribine/polyU 複合体、TLR7/R848 複合体の計 3 つの結晶構造を明らかにした。いずれも TLR8 や TLR9 と同様の活性化型の 2 量体構造を形成していた。TLR7 には 2 か所のリガンド結合部位 (第 1

結合部位と第 2 結合部位) が存在することが明らかになった。第一結合部位で guanosine や R848 などの低分子リガンドを認識し、第 2 結合部位で RNA を認識していた。第 2 結合部位では、polyU の 3 塩基が TLR7 と相互作用しており、特に 2 番目の U が複数の水素結合を介して TLR7 によって特異的に認識されていることが明らかになった。構造解析結果をもとにリガンドとの相互作用解析や変異体解析を行った。その結果、TLR7 の第 2 結合部位に RNA が結合することで第 1 結合部位への低分子リガンドの親和性が上昇することが明らかになった。その結果、第 1 結合部位へリガンドが結合して活性化型 2 量体を誘導する。ただし、第 1 結合部位をターゲットにした合成リガンド (例えば R848 など) は単独でも TLR7 に対して高い親和性を示すために RNA の補助がなくても TLR7 を活性化する。また第 1 結合部位へはモノヌクレオシドの中では guanosine が最も親和性が高いことが明らかになった。つまり TLR7 は 2 種類のリガンドを同時に認識する受容体であることが構造解析を通して明らかになった。

これらの知見は TLR7 をターゲットにした抗ウイルス薬、がん、アレルギー薬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。

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