

## 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。

TLR7 および TLR8 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。一方で、過度に反応した場合には全身性エリテマトーデスなどの自己免疫疾患に関与する。また、TLR7/8 は、合成低分子アゴニスト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、自己免疫疾患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、TLR7 および TLR8 に関して低分子アゴニストおよび一本鎖 RNA の認識機構とシグナル伝達機構を明らかにしてきた[1]。TLR7 および TLR8 は、アゴニストと結合することで活性化型の二量体構造をとることが明らかになった。一方で、アンタゴニストとの複合体の構造は明らかになっていなかった。そこで我々は、TLR8 とアンタゴニストとの複合体の結晶構造解析を行った[2]。

### 2 実験

TLR8 の細胞外ドメインの組み換えタンパク質はショウジョウバエ S2 細胞に発現させた。TLR8 のアンタゴニストとして、米国コロラド大学の Hubert Yin 教授らが開発した CU-CPT8m および CU-CPT9b という化合物を用いた。等温滴定カロリメトリーを用いて、精製した TLR8 と CU-CPT8m および CU-CPT9b の間の解離定数を算出した。TLR8 と CU-CPT8m および CU-CPT9b の共結晶を作成し、AR-NE3A および BL-5A で回折強度データを収集した。

### 3 結果および考察

等温滴定カロリメトリーの結果より、TLR8 と CU-CPT8m および CU-CPT9b の間の解離定数はそれぞれ 220 nM と 21 nM と算出され、アゴニスト (R848 の場合 200 nM) と同等もしくはより強く結

合することが明らかになった。また、あらかじめ TLR8 とこれらのアンタゴニストを混合した溶液にアゴニストを滴定しても結合熱が生じなかった。

TLR8 と CU-CPT8m および CU-CPT9b の複合体の結晶構造をそれぞれ分解能 2.4 Å および 2.3 Å で決定した。その結果、いずれの複合体も結晶中で二量体構造を形成し、その二量体構造はリガンド非結合型の二量体構造を類似していた。アンタゴニスト複合体の二量体構造中の 2 分子の C 末端の間の距離は 49 Å であり、リガンド非結合型の場合の 51 Å と同様に、アゴニスト結合型の二量体構造の場合 (34 Å) と比べて離れており、アンタゴニスト複合体の二量体構造は不活性化型の二量体だと考えられた。

TLR8 には 2 つのリガンド結合部位が存在する。1 つは、合成低分子アゴニストやウリジンが結合し活性化型二量体構造形成を誘導する第一結合部位、もう 1 つはオリゴヌクレオチドが結合し第一結合部位へのリガンド結合を促進する第二結合部位である。今回の構造解析の結果、アンタゴニストは、上記 2 つの結合部位とは異なる、リガンド非結合状態の二量体構造中にのみ存在するアンタゴニスト結合ポケットに結合していた。アンタゴニスト結合ポケットは二量体を構成する 2 分子の界面に存在していた。アンタゴニストはリガンド非結合状態にのみ存在するアンタゴニスト結合ポケットに結合することで、アンタゴニスト結合型構造 (リガンド非結合型構造に類似する) を安定化し、アゴニストによる二量体構造の再編成を阻害することが明らかになった。

本研究によりこれまで具体的な制御機構が不明であった TLR8 のアンタゴニストの作用機構が明らかになった。

### 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] Zhang et al., *FEBS letters* **591**, 3167-3181. (2017)
- [2] Zhang et al., *Nature Chem. Biol.* **14**, 58-64. (2018)