

自然免疫系 RNA 認識受容体 TLR8 の結晶構造解析 Crystallography of innate immune TLR8 receptor recognizing viral RNA

大戸梅治*, 丹治裕美, 清水敏之
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。本研究では、リガンド非結合型 TLR8 と合成低分子リガンド結合型 TLR8 の結晶構造を分解能 2.0~2.7 Å で明らかにした。

2 実験

ヒト TLR8 細胞外ドメイン全長の C 末端にプロテイン A タグを付け、キフネンシン存在下でショウジョウバエ S2 細胞を用いて分泌発現を行った。精製サンプルを用いて結晶化を行い、リガンド非結合型で 1 種、リガンド結合型で 5 種 (CL097, CL075, R848 form1, R848 form2, R848 form3) の結晶が得られた。TLR8/R848 form1 の結晶の重原子誘導置換体 (Pt, Cs) を作成して位相を決定し、他の結晶構造は分子置換法で構造解析を行った。最終的にリガンド非結合型は 2.3 Å、リガンド結合型は 2.0-2.7 Å で構造決定した。

3 結果および考察

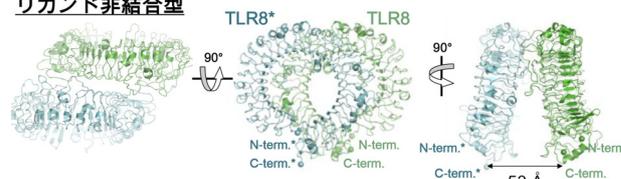
TLR8 は発現させた時点でロイシンリッチリピート (LRR) 14 と LRR 15 の間の長い挿入ループ (Z-loop) の部分で切断されていた。TLR8 の単量体構造では、Z-loop で切断を受けているにも関わらず、N 末端側と C 末端側が会合した一連の馬蹄形の LRR 構造を保持していた。

結晶構造では、リガンド非結合状態、リガンド結合状態、いずれも 2 量体であった。いずれも 2 分子の C 末端同士が近接した m 字型の 2 量体を形成していた。C 末端同士の距離はリガンド非結合状態が約 50 Å であるのに対して、リガンド結合状態では約

30 Å と接近していた。リガンドは 2 量体中の、2 回軸で関係づけられる 2 ヶ所に結合していた。リガンド非結合状態では、2 量体界面は 1,290 Å² であるのに対して、リガンド結合状態では 2,150 Å² と顕著に増大していた。リガンドが結合することでより安定な 2 量体へと構造変化して、それに伴い、2 分子の C 末端同士が近接する。さらに、細胞内のシグナル伝達ドメインである TIR ドメインが近接しシグナルが伝わるのが予想される。

上記の 2 量体の再構成によるシグナル伝達機構は、これまで考えられてきたリガンド依存的に TLR が 2 量体化するという機構とは異なるものである。この機構は TLR8 に特異的なのか、それとも、TLR7, TLR8, TLR9 のサブファミリーに共通していることなのか、今後の研究で明らかにしていく予定である。

リガンド非結合型



リガンド結合型 (CL097)

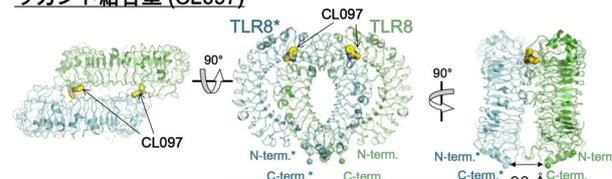


図 1 : TLR8 の 2 量体構造

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。

参考文献

[1] Tanji, H., Ohto, U., Shibata, T., Miyake, K., and Shimizu, T. (2013). Structural reorganization of the dimer of Toll like receptor 8 induced by agonistic ligands. *Science* **339**, 1426-1469.

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