

インターロイキン 18 と受容体の相互作用の構造基盤 Structural basis of the interaction between Interleukin-18 and its receptors

堤 尚孝¹, 朽尾 豪人^{2,*}

¹京都大学大学院 工学研究科, 〒615-8510 京都市西京区京都大学桂

²京都大学大学院 理学研究科, 〒606-8502 京都市左京区北白川追分町

Naotaka Tsutsumi¹ and Hidehito Tochio^{2,*}

¹Graduate School of Engineering, Kyoto University, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8510, Japan

²Graduate School of Science, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan

1 はじめに

Interleukin (IL)-18 は、IL-1 ファミリーに属する炎症性サイトカインで、樹状細胞、単球、マクロファージ等により産生され、炎症反応の誘導や感染部位への好中球遊走の誘導など、生体防御因子として重要な役割を担う[1]。病原体が Toll 様受容体によって検知されると、NF- κ B 経路が活性化され、IL-18 前駆体の発現が誘導される。ただし、前駆体は分泌されることなく、細胞内に蓄えられる(Priming step)。他方、病原体(他に、尿酸結晶、アスベストといった危険因子でも)が細胞内に侵入してくると、細胞内の NOD 様受容体を介して、インフラマソームと呼ばれるタンパク質複合体が形成される。これによってカスパーゼ-1 が活性化され、細胞内に蓄積された IL-18 前駆体を部位特異的に切断し、成熟型に変換する(Processing step)。成熟型 IL-18 は細胞外に分泌され、多様な炎症性サイトカインの発現を促し、炎症反応を増大させる。IL-1 β も同様に、前駆体の発現とカスパーゼ 1 による切断(成熟化)という二段階を経て細胞外に分泌されるが、近年、インフラマソームの制御不全(多くの場合、遺伝子異常に起因する)によって過剰な IL-1 β や IL-18 産生が引き起こされ、その結果、自己炎症性疾患が発症するということが明らかになってきた。

IL-18 が関与すると考えられている自己炎症性疾患として、クライオパイリン関連周期熱症候群(CAPS)、全身性エリテマトーデス(SLE)、若年性特発性関節炎(JIA)などが報告されている[2,3]。また、IL-18 はアレルギー疾患にも関わるとされ、気管支喘息で IL-18 遺伝子のプロモーター領域の多型が有意に認められたほか、アトピー性皮膚炎では血清中 IL-18 濃度と症状増悪との関連が報告されている[4,5]。このように、IL-18 は多様な疾患群の病態に深く関与しており、IL-18 の活性を制御することは、

それらに対する有効な治療戦略となる。実際、代表的な IL-1 ファミリーメンバーである IL-1 β の過剰産生に起因する自己炎症性疾患の場合、IL-1 β の活性を中和するための抗体医薬や受容体アンタゴニストが高い治療効果を示すことが知られている[6]。中でも抗 IL-1 β 抗体の一つ Canakinumab は自己炎症性疾患の一つである CAPS の特効薬として、既に臨床で利用されている。さらに、IL-1 β の場合は受容体との複合体構造[7,8]も解明されており、阻害剤の論理的設計を行なう環境も整っている。

その一方で、IL-18 の過剰産生に起因する疾患に対する治療薬開発は遅れており、論理的創薬の基盤となる IL-18 とその受容体との複合体の構造も得られていない。そこで我々は、IL-18 受容体による IL-18 の分子認識を解明することを目指し、IL-18 と受容体細胞外ドメインとの複合体について X 線結晶構造解析を進めてきた。

2 実験

本年度は、PF-17A にて 3 者複合体(IL-18/IL-18R α /IL-18R β)の結晶の X 線回折データセットを収集し、その構造決定を行った。データの処理には HKL2000 [9]を用いた。初期位相の計算は、前年度に得られていた 2 者複合体の結晶構造を基に、Phaser [10]を用いた分子置換によって行った。モデル構築には COOT [11]を用い、最終的に BUSTER [12]で精密化を行った。表 1 に、X 線回折データ収集、及び構造精密化の統計値を示す。

表 1: 3 者複合体結晶の X 線回折データ、及び構造精密化の統計値

| Data collection | |
|-----------------|------------------------|
| Beamline | BL17A (Photon Factory) |
| Wavelength | 0.9800 |
| Space group | $P2_12_12_1$ |
| Cell dimensions | |
| a, b, c (Å) | 72.56, 111.56, 134.57 |

| | |
|--------------------------------------|------------------------|
| α, β, γ ($^\circ$) | 90.00, 90.00, 90.00 |
| Resolution (\AA) | 50.0-3.10 (3.21-3.10) |
| R_{merge} | 11.5 (68.3) |
| $I / \sigma I$ | 19.8 (2.9) |
| Completeness (%) | 99.9 (99.3) |
| Redundancy | 9.8 (9.2) |
| Refinement | |
| Resolution (\AA) | 42.00-3.10 (3.29-3.10) |
| No. reflections | 17,368 (1,825) |
| $R_{\text{work}} / R_{\text{free}}$ | 18.8/23.2 (20.9/29.7) |
| No. atoms | |
| Protein | 5663 |
| Glycan | 335 |
| Others | 32 |
| B-factors | |
| Protein | 74.38 |
| Glycan | 139.74 |
| Others | 36.55 |
| R.m.s. deviations | |
| Bond lengths (\AA) | 0.009 |
| Bond angles ($^\circ$) | 1.17 |
| Ramachandran plot | 93.7, 5.4, 0.8 |

3 結果および考察

3 者複合体の全体構造 (図 1) を見ると、二つの受容体とリガンドの配置は、既知の IL-1 β 複合体の場合と同じであったが [7, 8]、分子界面を中心に大きな違いが認められた。

各受容体は、それぞれ 3 つの Immunoglobulin (Ig) 様ドメイン (アミノ末端側から、D1、D2、D3 と呼ぶ) から成るが、典型的な Ig ドメインとは異なる特徴が見られた。すなわち、IL-18 α の D1 は Ig スーパーファミリーにおいて良く保存されている Cys 残基が Phe に置き換わっているために、ドメインコアのジスルフィド結合が存在しなかった。その一方で、リガンド結合表面に 2 つのジスルフィド結合を有し、それらによって維持されるポケットが IL-18 の β ヘアピンを認識していた。また、IL-18 α と IL-18 β の D2 でも β ストランドが一つ欠失していた。この領域は、IL-18、IL-18 α 、IL-18 β の 3 者が接する結合界面に存在し、3 者複合体の形成に決定的な影響を及ぼすと思われる。また、IL-1 β と IL-18 の複合体を比較すると、2 者 (IL-1 β /IL-1RI or IL-18/IL-18 α) に対する 2 次受容体 (IL-1RAcP or IL-18R β) の配向が異なっていた。先の β ストランドの欠損がこの 2 次受容体の配置や、結合の特異性に寄与していると考えられる。また、2 次受容体の D1 は IL-1 β 、IL-18 システムの双方で複合体形成には関与していなかった。しかし、その配向は、両者で大きく異なっており、Ig ドメインの短軸を中心として 180 度反転している。

さらに、IL-18 α の Asn に付加した糖鎖が、IL-18 と非常に近い距離に位置していることが明らかにな

った。これは受容体の糖鎖がリガンド認識に直接関与している可能性を示しており、非常に興味深い。

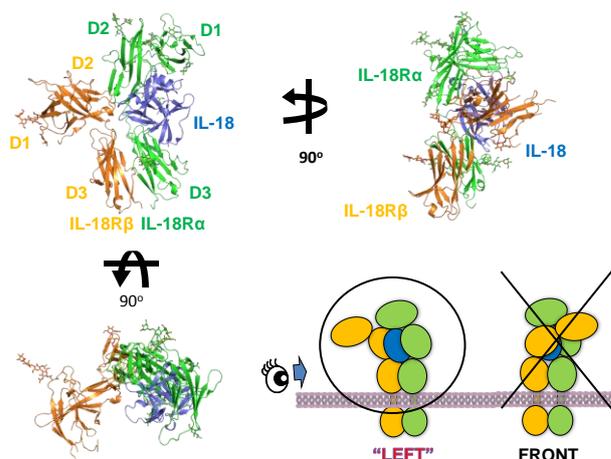


図 1 : IL-18/IL-18 α /IL-18 β の 3 者複合体の構造

4 まとめ

本研究によって、IL-18 が、その受容体によってどのように認識されているかが明らかになった。また、IL-1 ファミリーのサイトカインには、共通のリガンド認識モードが存在するということも分かり、当該ファミリーのシグナル伝達機構に関する理解も深まった。得られた構造は、IL-18 の活性阻害剤の設計にとっても有用な基盤となると考えられ、自己炎症性疾患など、IL-18 の関連する疾患の治療薬開発を促進するものと期待される。

謝辞

X 線データ収集を補助してくださった Photon Factory のスタッフの皆様、及び共同研究者である、岐阜大学の近藤直美先生、加藤善一郎先生、大西秀典先生、木村豪先生、山本崇裕先生、横浜市立大学の有田恭平先生、京都大学の白川昌宏先生、有吉真理子先生に、深く感謝致します。

参考文献

- [1] Okamura H., *Nature* 1995.
- [2] Maeno N., *Arthritis Rheum* 2002.
- [3] Janssen R., *Arthritis Rheum* 2004.
- [4] Ohnishi H., *Allergol Int.* 2003.
- [5] Trzeciak M., *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2010.
- [6] Blech M., *J Mol Biol.* 2013.
- [7] Wang D., *Nature Immunol* 2010.
- [8] Thomas C., *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2012.
- [9] Otwinowski Z., *Methods Enzymol* 1997.
- [10] McCoy A. J., *J. Appl. Crystallogr.* 2007.
- [11] Emsley P., *Acta Crystallogr. Section D* 2004.
- [12] Bricogne, G., BUSTER. 2.10.0 Ed. 2011.

* tochio@mb.biophys.kyoto-u.ac.jp