

清水 敏之

東京大学大学院薬学系研究科  
教授

自然免疫における一本鎖核酸認識受容体の構造解明およびその応用

## § 1. 研究実施体制

### (1)「清水」グループ

- ① 研究代表者:清水 敏之 (東京大学大学院薬学系研究科、教授)
- ② 研究項目  
一本鎖核酸認識 TLR の構造生物学的研究
  - ・構造解析用組換えタンパク質の大量発現、精製、結晶化
  - ・核酸および各種合成リガンドとのX線結晶構造解析
  - ・物理化学手法に基づく相互作用解析 (ITC, 超遠心分析など)

### (2)「柴田」グループ

- ① 主たる共同研究者:柴田 琢磨 (東京大学医科学研究所、助教)
- ② 研究項目  
一本鎖核酸認識 TLR の分子細胞生物学的研究
  - ・構造情報に基づく変異体 TLR の生物活性測定
  - ・化合物スクリーニング
  - ・トランスジェニックマウスの作製および解析

## § 2. 研究実施の概要

ヒトをはじめとする高等動物では病原体を排除する免疫システムを備えており、最初に働く「自然免疫」はその後に働く「獲得免疫」と同様、生体防御において重要な役割を果たします。病原体由来の核酸等は強力に自然免疫応答を引き起こしますが、この応答は Toll 様受容体(Toll like receptor: TLR)を中心とする受容体タンパク質により認識されることが出発点となります。我々は一本鎖核酸等を認識する TLR7, 8, 9 に注目してその構造を明らかにし、その知見をもとに抗ウイルス薬や自己免疫疾患の治療薬開発を目指します。

TLR9 は CG 配列を含む一本鎖 DNA(CpG-DNA)によって活性化されますが、どのようにして CpG-DNA を認識するのかについて、詳細な機構は不明でした。我々はこの謎を解明するために、DNA 配列が結合していない TLR9、CpG モチーフを有する DNA 配列が結合した TLR9、TLR9 の機能を阻害する DNA 配列 (アンタゴニスト DNA 配列) が結合した TLR9、の 3 つの状態の結晶構造を明らかにしました (1)。

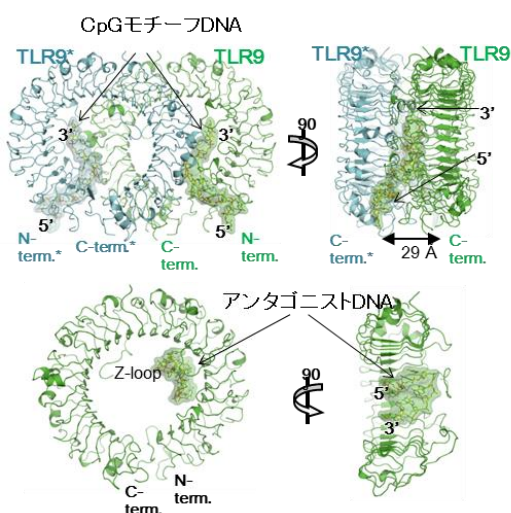


図 TLR9のDNA結合様式  
(上図)CpGモチーフを有するDNAの結合様式。  
(下図)アンタゴニストDNAの結合様式。

構造解析の結果、TLR9 と微生物由来の CpG モチーフは 2 対 2 の比率で複合体を形成しており、TLR9 は 2 分子が結合して (2 量体構造) 活性化型の m 字型の構造をなしていました (図上)。さらに CpG モチーフは伸びた形で 2 分子の TLR9 に挟まれることで TLR9 の 2 量体を安定化させていました。その結果、TLR9 の 2 量体の C 末端側同士が接近することで、細胞外から細胞内へと微生物が侵入してきたという情報を伝えていることが分かりました。一方で、TLR9 とアンタゴニスト DNA は 1 対 1 の比率で複合体を形成していました (図下)。アンタゴニスト DNA は TLR9 の馬蹄型構造の内側にコンパクトなループ構造を作って結合し

ていました。アンタゴニスト DNA は微生物由来の CpG モチーフよりも TLR9 に強力に結合し、しかも結合部位は一部重なっていることから、アンタゴニスト DNA は微生物由来の CpG モチーフの結合を物理的に阻害することによって、TLR9 の機能を阻害していることが分かりました。本研究により、TLR9 を活性化するまたは不活性化する DNA 配列との結合様式が分かったことで、ワクチンアジュバントやウイルス感染やアレルギーなどの治療薬の開発が進展するものと期待されます。このほか、DNA 切断酵素の一種である DNaseII が TLR9 による CpG-A 認識に特異的に関与することを見出しました (2)。

(1) Ohto, U., *et al.* (2015) *Nature* **520**, 702-705

(2) Chan MP, *et al.* (2015), *Nat. Commun.* **6** (5853)