

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。

TLR7 は一本鎖 RNA の受容体として知られており、インフルエンザウイルス感染に対する生体防御などに関与しています。興味深いことに TLR7 は一本鎖 RNA に加えてグアノシンやそのアナログによっても強く活性化されることが示されました (文献 1)。しかしながら、TLR7 がどのようにこれらのリガンドを認識して免疫を活性化するのかに関する具体的な機構はこれまで不明でした。

本研究グループは、TLR7 による一本鎖 RNA および低分子リガンドの認識機構を、TLR7-グアノシン-polyU、TLR7-loxoribine-polyU、TLR7-R848、の 3 つの複合体の立体構造を X 線結晶解析で明らかにしました (文献 2)。その結果 TLR7 はそれぞれのリガンドと 2 : 2 (または 2 : 2 : 2) の複合体を形成することで活性化型の m 字型の 2 量体構造をとることが明らかになりました。グアノシンなどの低分子リガンドは 2 量体界面中の第 1 結合部位に結合し、特徴的な相互作用により認識されていました。また、19 のウリジンからなる polyU の断片の UUU 部分は TLR7 の N 末端側の LRR1-LRR5 の凹面および Z-loop (LRR14 と LRR15 をつなぐ領域)から構成されている第 2 結合部位に結合していました。UUU の中央の U 部分とその周辺のアミノ酸残基と塩基特異的およびリボース特異的な相互作用を形成していました。また、一本鎖 RNA による TLR7 の活性化には、第 1 結合部位と第 2 結合部位の両方のリガンドが必須であること、さらに TLR7 の第 1 結合部位のリガンドに対する親和性は、TLR7 が一本鎖 RNA と結合することで強くなることが明らかになりました。

これまで TLR7 は一本鎖 RNA を認識する受容体だと考えられていましたが、今回の結果から 2 つのリガンド結合部位を用いて 2 種類のリガンドを同時に認識し活性化することが明らかになりました。このことから、今後は 2 つの作用点で制御するという新しい視点で、TLR7 をターゲットとした治療薬開発が進むと期待されます。

一方、TLR7 ファミリーは Z-loop と呼ばれ長い挿入配列があり、この切断が TLR7 ファミリーの活性化に必須であることが知られています。本研究グループは Z-loop 未切断体の構造解析に成功し(文献 3)、Z-loop が二量体化を立体障害により阻害していること、Z-loop の切断によりこの立体障害が解除されて TLR7 ファミリーは活性型の二量体構造が形成可能になることも示しました。

(1) Shibata T *et al.*, *Int Immunol.* **28**, 211-222 (2016)

(2) Zhang, Z. *et al.*, *Immunity* **45**, 737-748 (2016)

(3) Tanji, H. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **113**, 3012-3017