

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
 - ・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。

TLR8 は一本鎖 RNA の受容体として知られており、過度な TLR8 応答は自己免疫疾患に関与するとされています。そのため、TLR8 を不活性化する阻害剤は、自己免疫疾患治療薬として期待されます。しかし、阻害剤がどのように TLR8 を不活性化しているのかは、明らかになっていませんでした。我々は、阻害剤による TLR8 の応答阻害機構を明らかにするため、コロラド大学の Yin 博士らが新規に開発した TLR8 阻害剤(CU-CPT8m および CU-CPT9b)と TLR8 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。

TLR8 とアンタゴニストとの複合体はいずれもリガンド非結合型 2 量体と類似した 2 量体を形成し、2 分子の C 末端間の距離が 49 Å 離れていました。このことは、アンタゴニスト結合型の TLR8 はリガンド非結合型 TLR8 二量体構造と類似し、不活性化型の 2 量体だと考えられます。

アンタゴニストはリガンド非結合型にのみ存在するポケットに結合していました(以降このポケットをアンタゴニスト結合ポケットと呼びます)。アンタゴニスト結合ポケットは疎水的なアミノ酸から構成され、アンタゴニストも主として疎水的な相互作用によって認識されていました。具体的には CU-CPT8m – TLR8 複合体においては CU-CPT8m の含窒素複素環が Tyr348 および Phe495*によって挟まれているようなスタッキング相互作用、Gly351 および Val520*との水素結合が観測された。CU-CPT9b も同様に認識されていたが、Ser516*との水素結合が新たに観測されました。CU-CPT8m と比べ CU-CPT9b は IC50、解離定数ともに強力ですがこのような付加的な相互作用も原因の一つだと考えられます。

以上の結果から TLR8 アンタゴニストによる不活性化機構は以下のように考えられます。TLR8 はリガンド非結合型 2 量体ではアンタゴニスト結合ポケットが、活性型 2 量体ではアゴニストが結合する第 1 結合部位が形成されており、構造が再編成されてそれぞれの 2 量体が形成されるためにそれぞれの結合部位が同時に存在することはありません。興味深いことにこれら 2 つのポケットの半分は共通した領域が利用されています。今回開発された低分子阻害剤はリガンド非結合型 2 量体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によって不活性化型 2 量体構造を安定化し、活性型への構造変換を阻止するというまったく新しい機構によって阻害効果を発揮します。

代表的原著論文

(1) Zhang, S. *et al.*, *Nature Chem. Biol.* **14**, 58-64 (2018)_