

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(研究機関別)

- 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(研究機関別)

- 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。

TLR8 とリガンドとの複合体構造は新たなリガンド設計の指針となります。これまで我々が構造解析した合成化合物は 3 環構造を有するイミダゾキノリン環 (CL075 など) を持つものでした。それと類似した構造をもつ DS877 という化合物との複合体構造を解析したところ、Thr574 との水素結合は失われていたものの (図 1)、活性はやや弱くなる程度で保持されていました。このことからフラン環部分があまり重要でないことが示唆されたため、この部分をなくした新規化合物を合成したところ、CL075 とほぼ同様な強い活性を示しました (文献 1)。

また今年度は TLR8 と天然基質である ssRNA との複合体結晶の取得、さらには一本鎖核酸認識 TLR に特徴的な長い挿入ループ (Z-loop) のプロセッシングの意義を構造科学的に明らかにすることを目標にしました。我々は、TLR8 と ssRNA 複合体結晶の取得に成功し、予備的な構造を得ています。極めて興味深いことに、ssRNA は複数サイトに結合していました。このことから TLR8 における ssRNA の認識は先に解明した合成化合物の認識とは異なることが示唆されました。今後は変異体解析などを行い論文化していきたいと考えています。Z-loop のプロセッシングに関しては、Z-loop が切断されていない TLR8 の構造解析を行い、Z-loop が二量体界面に位置し二量体化が妨げていることわかりました。つまり Z-loop のプロセッシングは活性型の二量体構造になるために必須なものであることを構造科学的に明らかにしました。

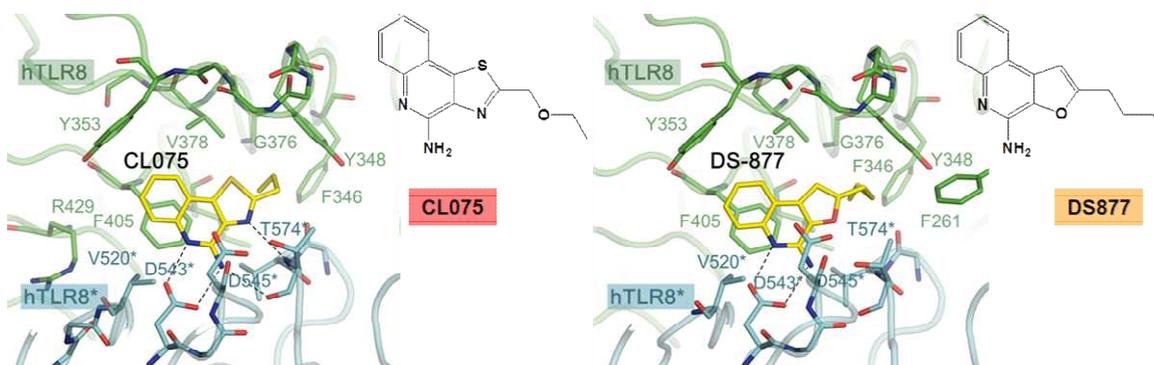


図1 既に報告した TLR8/CL075 複合体(左)と今回新たに解析した TLR8/DS877 複合体(右)。

DS877 のフラン環はタンパク質によって直接は認識されていない。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国内)

1. 丹治裕美、大戸梅治、清水敏之, “自然免疫系 RNA 受容体 TLR8 の結晶構造”, 結晶学会誌, vol. 55, pp.285-289, 2013
2. 大戸梅治、清水敏之, ” To11 様受容体による病原体認識の構造生物学的基盤”, 日本免疫学会ニュースレター、印刷中

論文詳細情報(国際)

1. Kokatla HP, Sil D, Tanji H, Ohto U, Malladi SS, Fox LM, Shimizu T, David SA., “Structure-Based Design of Novel Human Toll-like Receptor 8 Agonists”, *ChemMedChem*, 2014 (DOI: 10.1002/cmdc.201300573) (in press)
2. Ohto U, Tanji H, Shimizu T. “Structure and function of Toll-like receptor 8”, *Microbes Infect* 2014 (DOI: 10.1016/j.micinf.2014.01.007) (in press)
3. Tanimura N, Saitoh SI, Ohto U, Akashi-Takamura S, Fujimoto Y, Fukase K, Shimizu T, Miyake K. “The attenuated inflammation of MPL is due to the lack of CD14-dependent tight dimerization of the TLR4/MD2 complex at the plasma membrane” *Int Immunol*. 2014 (in press).