

# Cryo-EM 構造解析により TLR7 の阻害機構を可視化 ～自己免疫疾患治療法の開発に向けて～

## 概要

東京大学大学院薬学系研究科蛋白構造生物学教室の張志寛 助教、大戸梅治 准教授、清水敏之 教授と大日本住友製薬株式会社の共同研究チームがクライオ電子顕微鏡 (Cryo-EM) 分析を用いて高分解能での TLR7/新規阻害剤の複合体構造を解明しました。本研究成果は 2020 年 10 月 15 日付 (GMT+9, 18:00) で *Nature Communications* ウェブサイトに掲載されました。

## 1. 発表者

張志寛 (東京大学大学院薬学系研究科 助教)  
清水敏之 (東京大学大学院薬学系研究科 教授)  
大戸梅治 (東京大学大学院薬学系研究科 准教授)

## 2. 発表のポイント :

- 大日本住友製薬の共同研究チームが TLR7 の低分子アゴニストを起点として、強力な TLR7 特異的な低分子阻害剤を創出しました。全身性エリテマトーデス (SLE) モデルマウスにおいて、開発された阻害剤の治療効果が認められました。
- Cryo-EM 分析および X 線結晶構造解析を用いて、これらの阻害剤による TLR7 の動的な構造変化が観察されました。
- Cryo-EM 分析により、TLR7 の阻害剤認識の分子機構を 2.8 Å の分解能で可視化することに成功しました。

## 3. 発表内容

### 【研究の背景】

生命体は細菌やウイルスなどの病原体の侵入と感染を感知し反撃するため、自然免疫システムという先天的に備わる防御機構を発達させてきました。Toll 様受容体 (Toll-like receptor, TLR) は多くの動物にある自然免疫受容体の一つであり、自然免疫システムにおいて中心的な役割を果たしています。その重要性から、2011 年ノーベル生理学・医学賞は TLR の発見と同定が受賞対象となりました。ヒトでは 10 種類の TLR が発現されており、病原体固有のリポ多糖、タンパク質分子および核酸などの分子パターンを認識し、免疫反応を活性化し防御反応を引き起こします。そのうちの TLR7 は一本鎖 RNA の受容体として知られ、ヒト免疫不全ウイルス、インフルエンザウイルスおよびコロナウイルスなどが引き起こす感染症に深く関与しています。

これまでに、本研究グループは TLR7 の一本鎖 RNA および低分子アゴニストによる活

性化機構の分子メカニズムを解明してきました (*Immunity*, 2016; *Cell Reports*, 2018)。一方、TLR7 が誤って自己 RNA を認識することが喘息、全身性エリテマトーデスおよび関節リウマチなどの自己免疫疾患の病態形成に関与することが知られています。近年、TLR7 を標的とした自己免疫疾患の分子治療法が世界中の研究グループおよび製薬企業により開発されています。しかし、これらの治療薬候補による TLR7 の阻害機構の分子メカニズムは解明されていません。

### 【研究方法と結果】

大日本住友製薬の共同研究チームは、TLR7 の強力な低分子アゴニストを起点とし、様々な誘導体化合物を合成し TLR7 の阻害活性を評価した結果、TLR7 に対する特異的かつ強力な阻害剤である Cpd-6 および Cpd-7 を創出しました。さらに、Cpd-7 の治療効果を評価するため、全身性エリテマトーデス (SLE) モデルマウスに投与した結果、腎炎発症の抑制および生存率の改善が見られました。

本研究グループはクライオ電子顕微鏡 (高エネルギー加速器研究機構, 理化学研究所放射光科学研究センターおよび東京大学の Cryo-EM 施設) および X 線結晶構造解析 (高エネルギー加速器研究機構—PF BL5A & PF-AR NE3A) を併用して、TLR7 が上記の阻害剤による動的な構造変化を引き起こすことを観察しました。具体的には、TLR7/アゴニスト複合体構造はクローズ型二量体のコンフォメーションを、TLR7/Cpd-6 複合体構造はクローズ型二量体およびオープン型二量体の 2 種類のコンフォメーションを、TLR7/Cpd-7 複合体構造は主にオープン型二量体のコンフォメーションを形成していました。これらの結果から、Cpd-6 および Cpd-7 により誘導される TLR7 二量体は、クローズ型 (活性化型) とオープン型 (不活性化型) のコンフォメーション間の動的な平衡状態のため、安定な活性化状態を保持できず、不活性の阻害状態となると結論付けました (図 1)。

さらに、TLR7 による Cpd-7 の認識の分子メカニズムを可視化するため、東京大学 Cryo-EM 施設の Titan Krios 電子顕微鏡を用いて、2.8 Å の高分解能で TLR7/Cpd-7 の分子構造を解明しました (添付資料, 図 2)。本構造は世界で初めて報告された TLR7/阻害剤複合体の分子構造です。Cpd-7 は二分子の TLR7 が形成する二量体界面中に存在する新たに同定された阻害剤結合部位に特異的に認識されていました。

### 【研究の意義と今後の展開】

近年、TLR7 はウイルス感染症や自己免疫疾患の治療ターゲットとして注目を浴びています。TLR7 を阻害する治療方法を開発するため、TLR7 の阻害機構の分子基盤が重要な知見だと考えられます。本研究グループの成果は TLR7 の阻害機構を理解するうえで重要な構造的基盤を提供し、TLR7 をターゲットとした自己免疫疾患の画期的な治療薬の開発が進むと期待されます。

#### 4. 発表雑誌

雑誌名： *Nature Communications*

題目： Structural analysis reveals TLR7 dynamics underlying antagonism

著者： Shingo Tojo\* †, **Zhikuan Zhang\***, Hiroyuki Matsui, …, **Umeharu Ohto †** and **Toshiyuki Shimizu †** (\* co-first authors, † co-corresponding authors)

DOI： 10.1038/s41467-020-19025-z

論文へのリンク： <https://www.nature.com/articles/s41467-020-19025-z>

#### 5. 問い合わせ先

東京大学大学院薬学系研究科 蛋白構造生物学教室

教授 清水敏之(シミズトシユキ)

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

Tel: 03-5841-4840

E-mail: [shimizu@mol.f.u-tokyo.ac.jp](mailto:shimizu@mol.f.u-tokyo.ac.jp)

東京大学大学院薬学系研究科 蛋白構造生物学教室

准教授 大戸梅治(オオトウメハル)

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

Tel: 03-5841-4842

E-mail: [umeji@mol.f.u-tokyo.ac.jp](mailto:umeji@mol.f.u-tokyo.ac.jp)

大日本住友製薬株式会社

リサーチディビジョン 化学研究ユニット第1グループ

主席研究員 東城慎吾(トウジョウシンゴ)

〒554-0022 大阪市此花区春日出中 3-1-98

Tel: 080-3348-0152

E-mail: [shingo-tojo@ds-pharma.co.jp](mailto:shingo-tojo@ds-pharma.co.jp)

## 6. 添付資料

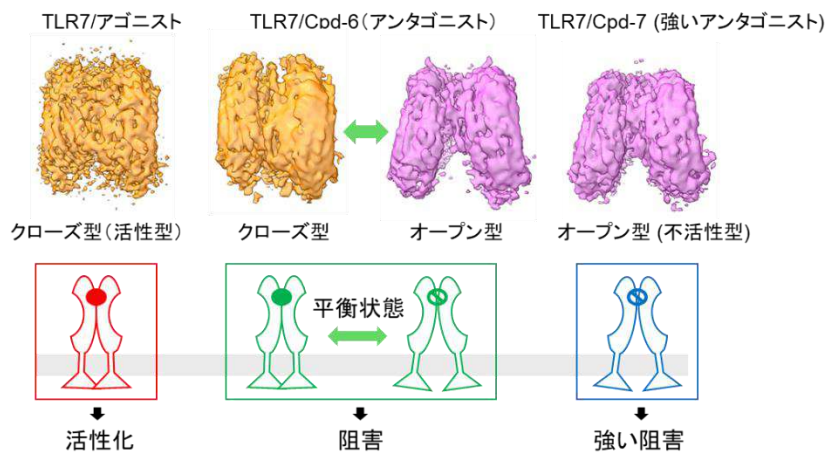


図1. TLR7 の阻害機構

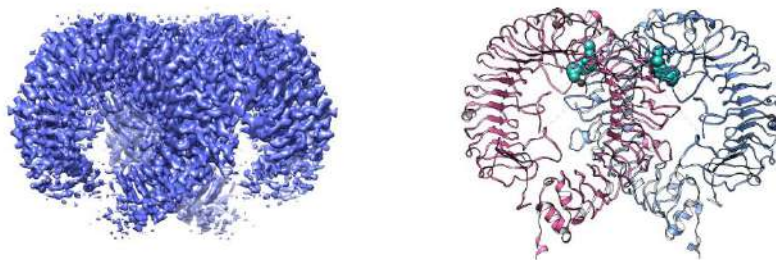


図2. TLR7/Cpd-7 複合体の Cryo-EM 三次元マップおよびその構造  
(Cartoon モデル: TLR7 分子; 球モデル: Cpd-7)