



## I 型インターフェロン産生にかかわる TIR ドメイン間の 相互作用を初めて解明

### 研究成果のポイント

- ・ TICAM-1, TICAM-2 の TIR ドメインの構造を明らかにし, TICAM-1 および TICAM-2 の相互作用面を同定した。
- ・ TICAM-2 ホモ二量体形成により作られる面に TICAM-1 が結合することを明らかにした。
- ・ 上流の TIR ドメインの二量体形成は下流の TIR ドメインの結合に必須であること, TIR ドメインを介した巨大な複合体の形成が TLR 下流のシグナルを効率的に伝える可能性を示した。

### 研究成果の概要

私たちの体は細菌, ウイルス固有の分子を検知して病原体の侵入を知るとともに, 病原体を排除します。この機構は自然免疫として知られ, 細胞表面の Toll-like receptor (TLR) が病原体固有の分子を検知し, TLR およびアダプター分子の Toll/interleukin-1 receptor (TIR) ドメイン相互作用を介して下流のシグナル伝達経路を活性化し, 炎症性サイトカインやインターフェロンを産生することにより行われます。今回は I 型インターフェロンの産生に関わる TLR4 下流のアダプター分子 TICAM-1 および TICAM-2 の TIR ドメインの溶液構造を NMR 法により明らかにするとともに, ホモおよびヘテロ二量体の形成機構を yeast two hybrid 法に基づく変異実験と構造情報を組み合わせて明らかにしました。この結果, 上流の TIR ドメインの二量体化により形成される面に下流の TIR ドメインが結合することを明らかにしました。上流の TIR ドメインの二量体形成がシグナル伝達に必須であること, TLR4 下流に形成される TICAM-2, TICAM-1 の TIR ドメインにより架橋された巨大複合体がシグナル伝達を効率的に行う可能性を示しました。

### 論文発表の概要

研究論文名: Structures and interface mapping of the TIR domain-containing adaptor molecules involved in interferon signaling (インターフェロンシグナルに関与する TICAM-1, TICAM-2 の TIR ドメインの構造と相互作用面マッピング)

著者: 氏名 (所属) 榎園能章, 久米田博之 (北海道大学大学院先端生命科学研究院), 舟見健児 (北海道大学大学院医学研究科), 堀内正隆 (北海道大学大学院先端生命科学研究院), Sarmiento Joy, 山下和男, Standley M. Daron (大阪大学, IFREC), 松本美佐子, 瀬谷 司 (北海道大学大学院医学研究科), 稲垣冬彦 (北海道大学大学院先端生命科学研究院)

公表雑誌: 米国科学アカデミー紀要

(Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)

公表日: 米国東部時間 2013 年 11 月 19 日 (火)

## 研究成果の概要

### (背景)

私たちの体は細菌やウイルス固有の分子を検知することにより体内への細菌やウイルスの侵入を知ります。病原体固有の分子として、ペプチドグリカン、リポポリサッカライド (LPS) や二重鎖の RNA があげられます。これらの分子が細胞表面の Toll-like receptor (TLR) により認識されると、下流のシグナル伝達経路が活性化され、IL-1 $\beta$ 等の炎症性サイトカインや I 型インターフェロンが産生され、体内より病原体が除去されます。TLR 下流のシグナル伝達において中心的な役割を果たすのが Toll/interleukin-1 receptor (TIR) ドメインです。特に TLR4 は LPS により活性化され、細胞質内の TIR ドメインは二量体化されます。この二量体化した TLR4 TIR ドメインに TICAM-2 の TIR ドメインが、ついで TICAM-1 の TIR ドメインが逐次補充され、最終的に炎症性サイトカインや I 型インターフェロン産生が促進されます。活性化にはホモおよびヘテロの TIR ドメインの二量体形成が必要ですが、その分子機構に関してはこれまで明らかにされていません。

### (研究手法)

TIR ドメインの BB-ループ変異体は TLR 下流のシグナル伝達にドミナントネガティブ<sup>(※)</sup>に働きます。私たちは TICAM-1、TICAM-2 の BB-ループ変異体を作成し、これらの変異体がホモ二量体を形成しないことを明らかにし、NMR 法により溶液構造を明らかにしました。このようにして得た単量体の構造と yeast two hybrid 法による変異体実験を組み合わせ、TICAM-2—TICAM-1 ヘテロ二量体形成に関わるアミノ酸残基を同定しました。さらにヘテロ二量体形成に関わるアミノ酸残基に変異を加えるとシグナル伝達が阻害されることを明らかにしました。

### (研究成果)

TICAM-2 の二量体形成により作られる面に TICAM-1 の TIR ドメインが結合することを明らかにしました。TICAM-2 の BB-ループ変異体は二量体形成ができないドミナントネガティブ変異体であることが報告されていましたが、本研究により TICAM-1 の結合面が形成できないため、TICAM-2 下流のシグナル伝達が阻害されることが分かりました。ホモ二量体を形成した TICAM-2、TICAM-1 は 2 価の結合が可能であることを考慮すると、LPS により活性化された TLR4 下流には TIR ドメインにより架橋された巨大な複合体が形成され、自然免疫応答が効率的に行われる可能性を示しました。

### (今後への期待)

過度の自然免疫応答は重篤な疾患を誘起します。TIR ドメイン間の相互作用を阻害すれば過度の自然免疫応答を抑制することができます。TIR ドメイン間の相互作用をターゲットとした新たな薬剤開発が可能となります。

## お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学大学院先端生命科学研究院 特任教授 稲垣冬彦 (いながき ふゆひこ)  
TEL : 011-706-9011 FAX : 011-706-9012 E-mail : finagaki@pharm.hokudai.ac.jp

## <用語説明>

(※) ドミナントネガティブ

遺伝子の変異産物が正常産物に対して優位 (ドミナント) に働いて、正常産物の作用を阻害する (ネガティブな効果) 作用を指す。