

When you can't do it alone:
TLR2 heterodimers and innate immunity

Toll 様受容体 (TLR) などのパターン認識受容体 (PRR) によって微生物を早期に検出することは、宿主の保護に必要な自然免疫応答を開始するのに極めて重要です。特に、toll-like receptor 2 (TLR2) は、バクテリア、真菌、寄生体由来等の多種多様な微生物性の病原体関連分子パターン (PAMP) を検出するのに不可欠な役割を果たしています。PAMP の一例として、リポタンパク質、リポテイコ酸 (グラム陽性菌のみ)、リポアラビノマンナン (マイコバクテリアのみ)、キチン (真菌) などの細胞壁成分が挙げられます^{1,2}。興味深いことに、HIV や単純ヘルペスウイルスを含む多くのウイルスも、TLR2 と直接相互作用することが示されています^{3,4}。また、特筆すべきことに、TLR2 シグナル伝達に関する実験データの大部分が合成リガンドを使用して見出されたものであるため、加熱処理菌などの全バクテリアを使用して更に研究を進めることによって、TLR2 活性化による潜在的な応答の全容が解明される可能性があります。

TLR は、ロイシンリッチリピート (LRR) ドメインなどの特徴に基づいて、6 つの主要なサブファミリーに分類され、TLR2 のほか、TLR1、TLR6、TLR10 が、TLR1 サブファミリーに属しています⁵。TLR2 は、中和抗体を用いた研究で一般的に選択されている共受容体の TLR1 または TLR6 とともに、シグナル伝達およびリガンド特異性の発揮に必要な不可欠なヘテロ二量体を細胞表面上で形成する (図 1) ことが証明されています^{6,7,8}。TLR2 が機能を持つホモ二量体を形成し、シグナル伝達カスケードを引き起こすことを証明する論文は、今のところありません⁹。TLR2 ヘテロ二量体は細胞表面上に形成されるものの、リガンドがないため細胞内の Toll/IL-1 受容体 (TIR) ドメインは相互作用することができず、その結果、シグナル伝達カスケードが開始されないことが示唆されています。TLR2/TLR1 および TLR2/TLR6 ヘテロ二量体は、リポタンパク質がそれぞれトリシル化またはジアシル化されているかどうかに応じて、それらと特異的に結合することが知られています^{7,8}。これらの特異的な結合は構造的な差異によるもので、具体的には、TLR1 には、リポタンパク質中のアセチル化した第 3 の鎖に結合する疎水性チャンネルが存在する一方で、TLR6 にはこのチャンネルが存在しません。さらに、CD14 は、TLR2 への非特異的なリポタンパク質運搬によって、リガンド認識を増強し、また、CD36 や Dectin-1 といったリガンド特異的な分子もこのリガンド認識に作用することがあります^{10,11}。CD14 の機能が阻害されると、TLR2 シグナル伝達は大幅に減衰します。興味深いことに、TLR10 は TLR2 とヘテロ二量体のような構造を形成し、TLR2/TLR1 ヘテロ二量体と同様に、リガンドに対して結合特異性を有することも示されています。しかしながら、その機能や特定のシグナル伝達経路は特定されていません¹²。

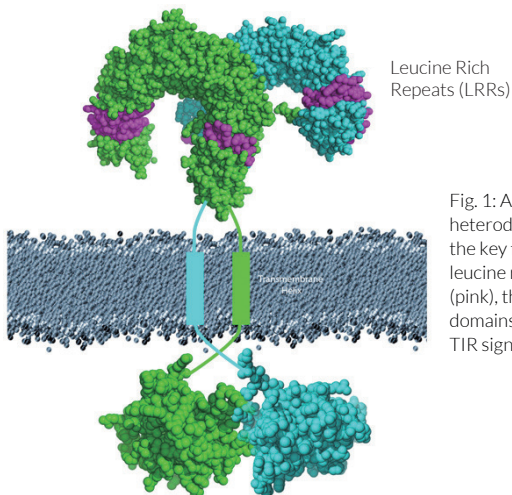


Fig. 1: A general TLR2 heterodimer highlighting the key features, such as the leucine rich repeats (LRRs) (pink), the transmembrane domains, and the cytoplasmic TIR signaling domains

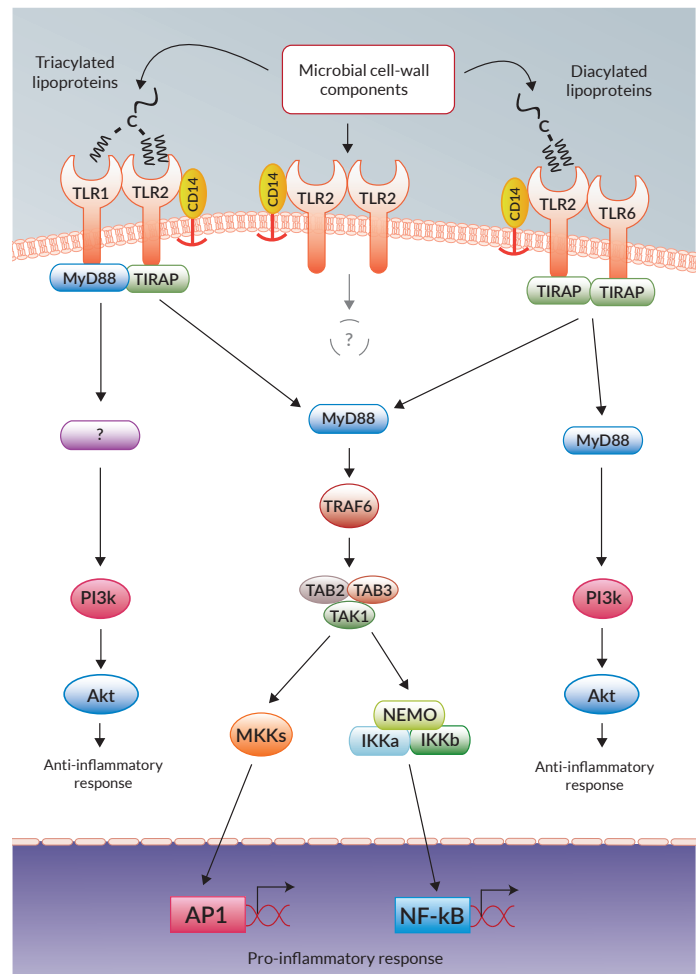


Fig. 2: The TLR2 signaling pathway

TLR2 ヘテロ二量体の細胞質性 TIR ドメインが、リガンド誘導性によって二量体化されることにより、TLR2 シグナル伝達が始まります¹³。次いで、刺激因子が TLR2/1 なのか TLR2/6 なのかに応じて、異なる一連のリン酸化シグナル伝達を引き起こし、最終的には宿主における多様な自然免疫応答および獲得免疫応答を開始させます (図 2)¹⁴。これらのシグナル伝達カスケードは、MyD88 や MAL/TIRAP 依存性経路を介して、NF- κ B や AP-1 といった炎症誘発性転写因子の活性化をもたらします^{15,16}。

加えて、PI3K/Akt 経路が活性化され、IL-10 などの抗炎症性サイトカインの産生も引き起こされます¹⁷。興味深いことに、この多様性は、*Staphylococcus sp.* などに由来するリポタンパク質の脂質部分の長さによる、リガンドのわずかな修飾の一部起因しており、この修飾によって、寛容応答と防御応答とのバランスを決定していることが示されています¹⁸。*S. aureus* や *S. epidermidis* 等、TLR2/1 ヘテロ二量体と会合した長鎖脂肪酸でアシル化された *Staphylococcus sp.* 由来のリポタンパク質は、免疫応答(寛容)を抑制する一方で、*S. carnosus* のように、TLR2/6 ヘテロ二量体と会合した短鎖脂肪酸でアシル化された *Staphylococcus sp.* 由来のリポタンパク質は、免疫応答(防御)を増強することが示されています¹⁸。

TLR2 は、広範囲の微生物性 PAMP を検出する重要な受容体です。TLR2 の重要な特徴は、TLR1 および TLR6 とヘテロ二量体を形成できることであり、それによって、このヘテロ二量体が認識できる PAMP の範囲を拡大するだけでなく、宿主内で誘発する下流のシグナル伝達カスケードを多様化することができます。この特徴により、TLR2 依存性の認識およびシグナル伝達において、かなりの可塑性をもたらしてくれます。このことは、一連の TLR2 リガンドがもともと考えられたものとは異なる可能性があることを意味し、今後の研究の発展に伴って理解が進んでいくものと考えられます。

また、敗血症などの疾患治療における抗体免疫療法の「概念実証」研究において、TLR2 が有望な標的となっている理由は、① TLR2 のリガンド特異性と、② 下流のシグナル伝達での可塑性があるためです¹⁹。したがって、このヘテロ二量体を単独または組み合わせ (TLR2/TLR1 または TLR2/6) で研究することによって、それら特有のリガンド活性化と、それに続くサイトカインプロファイルについてより深く理解することが可能となります。

InvivoGen 社では、TLR2 シグナル伝達経路の調査用に遺伝子改変された組換えレポーター細胞株を幅広く提供しています。

REFERENCES

1. Oliveira-Nascimento L. et al., 2012. The role of TLR2 in infection and Immunity. *Front Immunol.* 3(79): doi:10.3389/fimmu.2012.00079.
2. Silva C.A. et al., 2008. TLR-2 and IL-17A in chitin-induced macrophage activation and acute inflammation. *J Immunol.* 181(6): 4279-4286.
3. Henrick B.M. et al., 2015. HIV-1 structural proteins serve as PAMPs for TLR2 heterodimers significantly increasing infection and innate immune activation. *Front Immunol.* 6(428): doi:10.3389/fimmu.2015.00426.
4. Leoni V. et al., 2012. Herpes simplex virus glycoproteins gH/gL and gB bind toll-like receptor 2, and soluble gH/gL is sufficient to activate NF- κ B. *J Virol.* 86(12): 6555-6562.
5. Matsushima N. et al., 2007. Comparative sequence analysis of leucine-rich repeats (LRRs) within vertebrate toll-like receptors. *BMC Genomics.* 8. 124.
6. Ozinsky A. et al., 2000. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between toll-like receptors. *PNAS.* 97: 13766-13771.
7. Takeuchi O. et al., 2001. Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. *Int Immunol.* 13: 933-940.
8. Takeuchi O. et al., 2002. Cutting edge: role of Toll-like receptor 1 in mediating immune response to microbial lipoproteins. *J Immunol.* 169: 10-14.
9. Jin M. S. et al., 2007. Crystal Structure of the TLR1-TLR2 Heterodimer Induced by Binding of a Tri-Acylated Lipopeptide. *Cell.* 130(6): 1071-1082.
10. Jimenez-Dalmaroni M.J. et al., 2009. Soluble CD36 ectodomain binds negatively charged diacylglycerol ligands and acts as a co-receptor for TLR2. *Plos One.* 4: e7411.
11. Lotz S. et al., 2004. Highly purified lipoteichoic acid activates neutrophil granulocytes and delays their spontaneous apoptosis via CD14 and TLR2. *J Leukoc Biol.* 75(3): 467-477.
12. Guan Y. et al., 2010. Human TLRs 10 and 1 share common mechanisms of innate immune sensing but not signaling. *J Immunol.* 184: 5094-5103.
13. Sandor F. et al., 2003. Importance of extra- and intracellular domains of TLR1 and TLR2 in NF κ B signaling. *J Cell Biol.* 162: 1099-1110.
14. Li J. et al., 2013. Evolving bacterial envelopes and plasticity of TLR2-dependent responses: Basic research and translational opportunities. *Front Immunol.* 4(347): doi:10.3389/fimmu.2013.00347.
15. Piao W. et al., 2016. Differential adaptor recruitment by TLR2 co-receptors. *Pathog Dis.* 74(5): doi:10.1093/femspd/ftw043.
16. Sepehri Z. et al., 2016. Toll-like receptor 2 and type 2 diabetes. *Cell Mol Bio Lett.* 21(2): doi.org/10.1186/s11658-016-0002-4.
17. Santos-Sierra S. et al., 2009. Mal connects TLR2 to PI3Kinase activation and phagocyte polarization. *EMBO.* 28(14): 2018-2027.
18. Nguyen M. et al., 2017. Lipid moieties on lipoproteins of commensal and non-commensal staphylococci induce differential immune responses. *Nat Comms.* 8(2246): doi:10.1038/s41467-017-02234-4.
19. Gao W. et al., 2017. Inhibition of Toll-like receptor signaling as a promising therapy for inflammatory diseases: A journey from molecular to nano therapies. *Front. Physiol.* 8(508): doi: 10.3389/fphys.2017.00508.

INVIVOGEN'S PRODUCTS

PRODUCT	DESCRIPTION	UNIT SIZE	CAT.CODE
HEK-Blue™ hTLR2-TLR1 Cells NEW	Human TLR2+TLR1 / NF- κ B / SEAP reporter HEK293 cells	3-7 x 10 ⁶ cells	hkb-htr1
HEK-Blue™ hTLR2-TLR6 Cells NEW	Human TLR2+TLR6 / NF- κ B / SEAP reporter HEK293 cells	3-7 x 10 ⁶ cells	hkb-htr6
HEK-Blue™ hTLR2 KO-TLR1/6 Cells NEW	Human TLR2 (KO-TLR1/6) / NF- κ B / SEAP reporter HEK293 cells	3-7 x 10 ⁶ cells	hkb-htr2k16
Pam3CSK4	Synthetic triacylated lipopeptide - TLR2/1	1 mg	tlr1-pms
Pam2CSK4	Synthetic diacylated lipopeptide - TLR2/6	1 mg	tlr1-pm2s-1
HKLM	Heat Killed <i>Listeria monocytogenes</i> - TLR2/6	10 ¹⁰ cells	tlr1-hklm
HKPA	Heat Killed <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - TLR2/1 and TLR2/6	10 ¹⁰ cells	tlr1-hkpa
QUANTI-Blue™ Solution NEW	Alkaline phosphatase detection medium - Liquid form	5 ml	rep-qbs
HEK-Blue™ Detection	Cell culture medium for SEAP detection	5 pouches	hb-det2