免疫グロブリンによる認識の分子機構 —抗原認識部位の構築原理—

東京大学薬学部薬品物理化学教室 荒田 洋 治

We discuss how the antigen binding site of immunoglobulin molecules is constructed in order to cope with the unlimited diversity of antigens. Importance of pattern recognition is emphasized for the antigen-antibody interactions. Relevance of the present idea to the general aspect of the specificity of molecular recognition by protein molecules is also discussed briefly.

1. はじめに

脊椎動物における自己防衛反応の最前線の担い手である免疫グロブリンは、体内に侵入する異物監視のパトロール隊のセンサーである。したがって、免疫グロブリンには、相手がどのようなものであるかにかかわらず、それを認識する潜在的能力をもつことが要求される。いうまでもなく、タンパク質がその機能を発現するには、高次構造をもたねばならない。すなわち、免疫グロブリンは、見ず知らずのいかなる相手でも認識できる、いわば『無限の多様性』に対処することのできるように構築された高次構造をもつタンパク質群である。

一方では、しかし、認識につづいておこる数々の生物活性の発現は抗原の種類によって、基本的には規制を受けない。すなわち、無限の多様性をもつ免疫グロブリンの網のかかった抗原に関する情報は、共通の流れとなって生物活性を発現するのである。抗原の認識が引き金となって起こる補体系カスケードはそのもっとも重要な例の一つである。

我々はこれまで、免疫グロブリンによる認識の多様制と機能の発現について、高次構造の視点に立って研究を進めてきた¹⁾。本稿では免疫グロブリンによる認識の意義、そのためのタンパク質の高次構造の構築について議論する。

2. 免疫グロブリンにおける認識部位の構築

タンパク質の機能発現に必要な部位—活性部位—は、酵素にみるように、進化上保存され、むやみにアミノ

酸置換が起きない。免疫グロブリンは、抗原認識部位が、無限に多様な抗原に対処できる変異を示す一方で、『認識したという事実』が引き金となっておこる生物活性発現のための部位は、アミノ酸配列が本質的には、保存されるという、巧妙なモザイク構造をとっている。

免疫グロブリンは、長さの異なる二種のポリペプチド鎖—H鎖とL鎖—それぞれ2本づつによって構成されている。H鎖、L鎖はいずれも約110個のアミノ酸残基からなる明確なドメインを構造の基本単位としている。代表的な免疫グロブリンであるヒトIgGにおけるドメインの構成を図1に示す。異なる免疫グロブリン分子のV_H、V_Lドメインは、異なるアミノ酸配列をもつ。これに対して、残りのC_H1、C_H2、C_H3、C_Lドメインは、基本的には、一定のアミノ酸配列をもつ。上で述べた多様な抗原の認識と、それにひきつづいて起こる共通の応答の発現のために、このようなドメイン構成が必須なのである。H鎖のC_H1ドメインとC_H2ドメインの間には、短いヒンジ領域が介在する。

いずれのドメインも、向きあった2枚のβシートを中心を、S—S結合が、あたかも2枚の食パンを楊枝でつきさしてサンドイッチにしたような非常に特徴のあるポリペプチド鎖の折りたたみ構造

図1. 免疫グロブリンIgGのドメイン構成

Molecular-Structural Basis of Antigen Recognition
by Immunoglobulins

Yoji ARATA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo

“immunoglobulin fold”をもつ²⁾。免疫グロブリンのドメインを調べてみると、このS-S結合のすぐ横にTrp残基がつねに存在する。これまでに調べられた免疫グロブリンのすべてのドメインには、この3残基を中心とする、いわば要の部分がある。ポリペプチド鎖が折りたたまれ、この部分がピンでとめられ、immunoglobulin foldができて上がっているかのようなのである。この芯を中心として、2枚の β シートが向きあってドメインの核の部分“コア”を形成する。コアにはドメインの約1/3のアミノ酸残基が含まれる。残りの2/3のアミノ酸残基は、コアの外にはみだしている。この部分は、免疫グロブリン分子の示す多彩な生物活性と深くかかわっている。

免疫グロブリンをババインで限定分解すると、H鎖の中心に位置するヒンジ領域で切断が起こり、図1で示すように2つのフラグメントFabおよびFcにわかれる。Fabは V_L 、 V_H を含み、抗原結合能を保っている。これに対して、Fcは抗原認識にひきつづいておこる共通の活性すなわちエフェクター機能の発現にかかわっている。 V_H と V_L には、免疫グロブリン分子ごとにアミノ酸配列がとくに変異の高い部分—hypervariable (超可変) 領域—が、一次構造上でとびとびの位置にちらばって配置されている。 V_L と V_H の超可

変領域は、immunoglobulin foldのコアからループ状に外に向って突出し、これがみごとに束ねられ、直径15~20Åの円形の凸凹の帽子状の面を形成する。図2参照。この面が抗原結合部位にほかならない。いろいろの免疫グロブリンの形をくらべてみると、超可変ループによって作られる帽子の部分が、いわばカセットのようにはめこまれていることがわかる。すなわち、抗原を認識するにあたって、免疫グロブリン分子は、超可変領域ループの作る面を使い、かつこれをカセットのように入れかえては異なる抗原に対処しているのである。このような面としての抗原認識部位は、無限の多様性の発現に極めて好都合である。

3. モノクローナル抗体:特異性と交差反応性

DNA レベルにおいて作り出し得る抗体の種類は、原理的には、天文学的数字に達するようにみえる。一体これらのすべてがタンパク質として発現する必要があるのか。あるいはあったとして、抗原結合部位の作る特異性はどうか異なるのか、さらにいえば、一体どれだけの種類の抗体を準備できれば、我々の免疫系は必要にして十分なのであろうか。この点に関して、タンパク質の高次構造の視点に立った明確な解答はいまだ存在しない。

抗体の抗原結合部位の凸凹に、抗原がぴったりと、カギとカギ穴のようにはまりこむことは、一般にはあり得ないであろう。なぜなら、未知の相手に対して、何の予備知識もない免疫グロブリンが、隅から隅までぴったり合致するような高次構造を用意できるはずがないからである。すなわち、抗原結合部位は本来、とくにどの抗原に対してfitするという“個性”をもたないはずである。抗原と抗体の結合には、水素結合、塩結合、疎水結合などが関与するであろう。しかし、抗原抗体の接触面のすべての凸凹がこれらの結合を通じてジグソーパズルのようにぴったりかみ合う確率はきわめて低く、たとえかみ合ったとしても、それは全くの偶然と考えるべきものである。

実際、モノクローナル抗体には、さまざまな抗原が、いろいろの強さで結合する。別の言葉でいえば、種類のモノクローナル抗体の抗原結合部位には個性がなく、交差反応がその特徴である。このことは、しかし、モノクローナル抗体が抗原Aおよびそれと構造が微妙に異なる抗原A'を、時として極めて厳密に区別することと矛盾しない。きわめて近い構造を区別するにもかかわらず、一見何の関連もないものに交差反応を示す。これがモノクローナル抗体の特異性の特徴であ

図2. 免疫グロブリンの抗原認識部位の成り立ち

る。

免疫系は、認識する能力をもつ抗体が、同時に認識されるという二元性をもつことで成り立っている。これまで述べてきたように、抗原と抗体の完全な fitting は本来あり得ない性質のものである。一方、認識分子どうしの間の情報交換は、適確かつ多様でなければならない。一見、矛盾したこの要請は、無限とも言える多種多様な抗原に対して抗体はいったい何種類用意されていけばよいか、という基本的な問題と深く関係することのように思われる。

4. パターンによる認識とその意義

前章で述べた点を念頭におきつつ、免疫グロブリンによる抗原認識の特異性について、さらに議論を進めよう。それには、Poljak が報告しているニワトリリゾチーム (HEL)。抗 HEL モノクローナル抗体の抗原抗体コンプレックスの X 線結晶解析の結果³⁾が重要なヒントを与える。コンプレックスにおいては、HEL、抗 HEL 抗体それぞれの分子表面上の15個程度のアミノ酸残基が互いに接触している。図3は、Poljak のグループの結果を参考にして、HEL 分子の、抗体と接触している面の静電ポテンシャルを等高線表示したものである⁴⁾。同じ方法で4種の類縁リゾチームについて等高線を表示した結果もあわせて示す。それぞれの図には、HEL に対応する等高線があわせて書き込んである。コリンウズラリゾチームは、等高線が HEL と完全に一致するが、その他の3種のリゾチームには明瞭な差がある。4種とも、HEL と比較して、3～7 残基のアミノ酸の置換があるが、コリンウズラリゾチームを除いては、電荷が一位以上変化している。予想されるように、コリンウズラリゾチームだけが、ここで述べた抗 HEL モノクローナル抗体と結合するのである。

タンパク質分子間の相互作用における静電ポテンシャルの役割についてさらに議論することのできる素材を次に示す。黄色ブドウ球菌の細胞壁に存在するプロテイン A が Fc と相互作用することは、以前からよく知られている。相互作用の強さは免疫グロブリンのクラス、サブクラスによって異なる。相互作用の強さはまた、pH に依存する。pH 8 前後で形成されるプロテイン A と Fc のコンプレックスは、pH の低下によって解離する。この事実は、抗体の分離・精製をはじめとして、生化学の分野で広く利用されている。

pH 4～8の間では、Fc にも、プロテイン A にも、高次構造の大きな変化は起きない。これは、¹H NMR

図3⁴⁾。5種類のリゾチームの分子表面の静電ポテンシャルの比較。Poljak が X 線結晶解析を行ったニワトリリゾチーム・抗ニワトリリゾチームモノクローナル抗体コンプレックスでは、リゾチーム分子のこの面が抗体によって認識されている。ニワトリ以外のリゾチームにおいては、破線がニワトリ、実線がそれぞれのリゾチームの静電ポテンシャルを示す。

を測定してみると明瞭である。そうだとすれば、プロテイン A と Fc の相互作用の pH 依存性の原因としては、この2つのタンパク質分子の接触面に存在する解離基にもとづく静電相互作用が浮かび上がってくる。プロテイン A と Fc が接触する面上の静電ポテンシャルプロファイルを計算して、この点を視覚化してみよう。静電相互作用は His 残基の存在によって、pH 4～8 の範囲で pH に大きく依存するはずである。His 残基の pKa は¹H NMR によって個別に決定し、これをもとに静電ポテンシャルプロファイルの pH 依存性を立体図で描いてみると図4のようになる⁴⁾。pH によって変化しない正、負電荷の間の⊕⋯⊖の相互作用のほかに、コンプレックスが安定に存在する高 pH では、一方の面の⊕の山が、他方の面の⊕の山を避けるように配列しているのが目をひく。pH が下がってくるとさらに別の⊕の山が出現して、⊕と⊕がぶつかっているのである。プロテイン A と Fc のコンプレックスの解離も、この時点で始まる。プロテイン A と Fc の相

図 4⁴⁾。プロテイン A と Fc との接触面の静電ポテンシャルの pH 変化 (立体図)
実線: プロテイン A 側, 破線: Fc 側

相互作用の源は、 $\oplus\ominus$ の引力を含めた相互作用 (pH に依存しない) によっているのであるが、重要な点は pH が積極的に関与し、高い pH では、 $\oplus$ 電荷の相補性によって結合が保たれ、pH の低下によって、この相補性が消滅し、解離が起こることである。

5. 抗体の特異性について:

ポリクローナル抗体の存在意義

以上のように考えてみると、抗体が相手を“パターン”としてとらえていると理解することの重要性が浮かび上がってくる。たとえアミノ酸の置換が抗体側に起きていても、あるいは一見構造の非常に異なる抗原であっても、パターンが合う相手とは結合するとすれば、モノクローナル抗体による認識は漠然とした甘いものであるという考えに自然に到達する。個々のモノクローナル抗体のもつ特異性は、以上述べた意味において、甘いものであり、したがってモノクローナル抗体はいろいろな相手と結合する可能性をもつ。「甘さ」の異なる多種のモノクローナル抗体の混合物は共通の性質として本来の抗原には必ず結合する。別のものを認識する (すなわち交差反応性をもつ) 抗体がこの混

合物のなかには多種類入っている。しかし、それぞれの交差反応性は、いずれも異なる。すなわち、交差反応性によって、抗体が予期しない相手を認識してしまう可能性は、共通の抗原を認識する多種のモノクローナル抗体を用意することによって回避できる。ここにポリクローナル抗体の存在意義がある。

6. 認識と相互作用

これまでは、電荷分布によるパターンだけを問題にしてきたが、その他のさまざまな形の相互作用についても同じことがいえるのではないかと思う。たとえば、糖や疎水性分子を認識する抗体の場合には、より一般的な相互作用とそれに基づくパターンを考える必要があろう。

ここで強調しておきたいことは、静電的な相互作用は、その他の相互作用にくらべて、非常に遠くまでその影響がおよぶ特徴をもつ点である。細胞同士の相互作用は、細胞 (表面のレセプター) が他の細胞 (表面の何らかのマーカ) を見ることに還元されよう。この場合、相手を最初に認識するのは、大まかな、しかし、遠くまでおよぶ相互作用であるはずである。まず、遠くまでおよぶ静電的相互作用で相手を粗く識別する。これによって、近くに引き寄せた相手を、さらに細かく認識するのに、すでに述べた電荷の分布、さらには、諸々の相互作用にもとづくパターンをもとにした構造の微調整が重要な役割を演じているのではあるまいか。

以上、論じてきた点は、抗原抗体反応に特殊な現象ではなく、タンパク質を舞台とする認識に深くかかわっている一般的な原理ではないかと考える。たとえば、酵素と基質の相互作用にしても、カギの役割をする基質がカギ穴である酵素の活性部位に100%はまり込むと考えるのは、あまりにも不自然である。伝統的な酵素化学の方法の一つのゴールは、『どれとどれのアミノ酸残基が活性発現に必須』であることを記載することにある。しかし、この記述とても、相対的な意味をもつにすぎないように思う。遺伝子組換えの手法によって、酵素の活性発現に必須のはずのアミノ酸を置換しても、活性がつねに100%消失するわけではない。基質と酵素の結合も、かなりのゆとりをもって行われていると考えるのが自然である。そして、活性部位を中心とする酵素の高次構造と基質がおたがいのパターンを認識し、fitting の微調整が行なわれ、お互いの面のパターンが合う程度を反映して、酵素と基質が結合する度合、そして酵素の特異性と反応性が定まるのではないであろうか。

7. おわりに

Tリンパ球は、免疫グロブリンの産生の制御、自己・非自己の識別など免疫系全体を見渡し、コントロールする細胞群である。Tリンパ球のもつ認識分子は、まとめてT細胞レセプターとよばれる。Bリンパ球のもつ認識分子である免疫グロブリンとの大きな違いは、T細胞レセプターは、抗原だけでなく、抗原を提示している細胞が自己のものであるかどうかを示す旗印であるMHC分子を同時に識別していると考えられている点である。“考えられている”とわざわざ断ったのは、多くの状況証拠にもかかわらず、T細胞レセプターが抗原とMHCを同時に認識している現場を、タンパク質レベルで捉えた人はまだ誰もいないからである。

一方では、多種類のT細胞レセプターの遺伝子構造が明らかにされるに及び、T細胞レセプターと免疫グロブリンは類似の基本構造をもっているらしいと考えられるようになった。さらに、さまざまな状況証拠から、抗原とMHCが同一のT細胞レセプターで認識されているらしいこともわかってきた。そうだとすれば抗原とMHCを免疫グロブリンと同程度の大きさの“抗原(＋MHC)結合部位”で認識できるのかという疑問が生じる。すべては、しかし、現在のところ霧の中である。今後DNAではなく、その産物である“生きている”タンパク質を手にし、その高次構造が、

認識とどのようにかかわっているのかを実証しない限り、いかなる研究も所詮、単なる想像の世界の産物に終わってしまう。この意味から、免疫グロブリンによる抗原認識様式の研究を徹底して行うことは今後さらに重みをもってくるであろう。その成果をさらに、遺伝子レベルで明らかになった免疫学的分子家族へと発展させるためには、“生きている”タンパク質を、山のように大量に手にしない限り勝負にならない。少なくとも欧米のグループはこの線に沿って研究を進めていくことは間違いない。実証的な物量作戦こそ、タンパク質の時代を切り拓く一般的な基本戦略である。

〔謝辞〕

原稿を読んでいただき、論旨の改善についてきわめて有益な御意見をいただいた 桂 勲博士(東大理)に深謝します。

文 献

- 1) 荒田洋治 (1986) 蛋白質核酸酵素 31, (臨時増刊: 免疫の分子論的基礎) 782-797.
- 2) 浜口浩三 (1976) 蛋白質機能の分子論, 学会出版センター.
- 3) Amit, A. G., Mariuzza, R. A., Phillips, S. E. V., Poljak, R. J. (1986) *Science*, 233, 747-753.
- 4) 伊藤 渉, 荒田洋治 (1985) 代謝, 22, (臨時増刊号: 免疫'85), 133-144.

あらた ようじ

昭和31年東京大学医学部薬学科卒業, 第一製薬, 東京大学大学院薬学系研究科(博士過程中退), 電気通信大学, 東京大学理学部・化学教室, 同生物化学教室を経て, 昭和61年より現職

(スポーツ) 野球(趣味) 野球

東京大学薬学部薬品物理化学教室

〒113 東京都文京区本郷7-3-1

☎03-812-2111 内線4810