鶏卵抗体と哺乳動物抗体との比較†

清水 誠

(東京大学農学部)

鶏卵卵黄中に含まれる IgG タイプの抗体 (IgY) は、多量にかつ容易に得られることから、食品、医薬品を含むさまざまな分野への利用が期待されている。しかし、哺乳類と系統的に異なり、免疫機構にも独自の特徴を有する鳥類によって産生される抗体は哺乳類の抗体と同様な性質を持つと考えてよいのであろうか？ ここでは、IgY が哺乳類の IgG 抗体とどのような点で異なっているのかについて、構造、機能の両面から考えてみたい。

1. 1 次 構 造

IgY は哺乳類の IgG と比較して分子量が大きく、とくに H 鎖の分子量が哺乳類のものに比べて 1 万以上大きい⁽¹⁾。IgY の H 鎖 (γ 鎖) の構造は、Parvari ら⁽²⁾、Reynaud ら⁽³⁾による c-DNA クローニングとその配列分析によって近年明らかにされた。その結果、IgY の γ 鎖の定常域は 4 つのドメイン (哺乳類の γ 鎖では 3 つ) からなっていることがわかった。このような構造は哺乳類の抗体では IgM (μ 鎖) や IgE (ϵ 鎖) にみられるものであるが、ニワトリには IgM が別個に存在すること、IgY が血液中での主要免疫グロブリンであり、IgG のように 2 次免疫応答によって初めて抗体価が上昇すること、粘液中には分泌されないこと (輸卵管の分泌物である卵白中には IgY は検出されない)⁽⁴⁾ などから、IgY は哺乳類の IgG 抗体に相当する機能を持った抗体であると考えられている。ただし、その構造には、上記のように哺乳類の IgM や IgE のようなクラスの抗体の特徴も認められるなど、IgY は免疫グロブリンの系統発生の過程で生じた一種独特な抗体ということになる⁽⁵⁾。

IgY の L 鎖 (λ 鎖) の構造も、c-DNA の解析からすでに明らかにされている⁽⁶⁾。L 鎖の構造については哺乳

類のそれと大きな差異は認められず、 γ 鎖に比べればアミノ酸配列上の相同性はかなり高い。

1 次構造から見出された IgY の構造的特徴を図 1 に模式的に示した。定常域に 4 つのドメイン (CH 1~CH 4) があること、CH 1-CH 2 間にヒンジ領域に相当する可動性の高い配列が欠除していること、CH 2 と CH 3 の連結部にも鎖間 SS 結合が存在するらしいこと、CH 3 に N-グリコシド型糖鎖の結合可能配列があることなど、H 鎖に関しては哺乳類 IgG とは顕著に異なる構造を持つことがわかりいただけるであろう。最近、IgY の糖鎖構造の解析も行われ、IgY は、複合型の N-グリコシド型糖鎖の他に、末端に α 1-3 結合したグルコースを持つ新規な高マンノース型糖鎖を持つことも報告されている⁽⁷⁾。

2. 抗 体 機 能

哺乳類の抗体のイデオタイプ多様性が、複数の抗体遺伝子群 (たとえばマウスの H 鎖では、100 個以上の V 遺伝子、15 個程度の D 遺伝子および数個の J 遺伝子、L 鎖では、数百個の V 遺伝子と数個の J 遺伝子) の組換えによって生じるのに対し、鳥類にはそのような多数の抗体遺伝子が存在しないことが知られている。たとえば、 γ 鎖については、V 遺伝子、J 遺伝子はそれぞれ 1 個しか見出されておらず、ただ D 遺伝子のみが 15 個程度存在する。しかしながら、IgY 抗体の多様性が哺乳類のそれに比べて著しく低いという証拠はない。この多様性獲得は、somatic hyperconversion と呼ばれる特異なメカニズムによっている^(8,9)。すなわち、H 鎖では、1 個しか存在しない V 遺伝子の上流に 25 個の偽 V 遺伝子のクラスターが存在し、V 遺伝子がこれらとの間で高頻度の遺伝子変換を行うことによって多様性を獲得すると考えられている。さらに、V、D、J 遺伝子の接合部の変異が頻繁に起こって多様性を高めていくことも見出されている⁽⁹⁾。

このように、IgY では可変領域の形成の仕組みが哺乳

† Comparative Studies on Immunoglobulin G from Chicken and Mammalian Species.
Makoto SHIMIZU (Department of Agricultural Chemistry, University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113)

図1 IgYの1次構造の模式図(a). 1組のH鎖-L鎖のユニットのみ示した. b~eはヒト免疫グロブリンのもの. HはH鎖同士の結合にかかわるジスルフィド結合の位置を, また*は糖鎖結合(可能)位置を示す.

類IgGと異なっているにもかかわらず, その可変領域の骨格は哺乳類のものときわめてよく似ている. たとえば, 超可変領域(CDR1~3)の間をつなぐ骨格部分(framework region)の可動性を, その1次構造から推定すると, IgYも哺乳類IgGもほとんど同じようなプロフィールを描き, 抗原との結合といった抗体の本質的機能には大きな差はないことが推測される.

一方, 抗体が持つ抗原結合以外の機能性については, IgYと哺乳類IgGの間には多くの違いが認められる. たとえば, IgYは哺乳類の補体と結合しない(あるいは結合力がきわめて弱い)とされている. また, 哺乳類IgGのFc部分と結合する自己抗体であるリウマチ因子と結合しない, プロテインAやGのようなIgG結合蛋白質と結合しないなどの特徴を有している. リウマチ因子との反応性がないことは, 臨床検査でのヒト血液中成分の免疫化学的測定に用いる場合, 好都合である⁽¹⁰⁾. ただし, プロテインAやGとの特異的結合性がな

図2 IgYと各種哺乳類IgG(C, ウン; G, ヤギ; P, ブタ; R, ウサギ)の酸性条件下での変化⁽¹⁵⁾. a) 各pHでインキュベートした特異抗体を中和後, 酵素免疫測定法(ELISA)でその抗原結合活性を測定した. b) 各pHでIgYまたはIgG溶液の示す蛍光スペクトル(励起波長296nm)を測定し, 最大蛍光波長のシフトをpHに対してプロットした.

いことは, IgYのワンステップでの精製を困難なものにしている.

その他, IgYは高塩濃度(たとえば1.5M NaCl)条件下で高い抗原凝集能を示すことが報告されており, これは, 高塩濃度下でIgYが2量体を形成するためらしい⁽¹¹⁾.

3. 安定性

抗体を試薬として用いる場合にも, 食品素材として用いる場合にも, その安定性を知ることが重要であるが, IgYと哺乳類IgGの蛋白質としての安定性はさまざまな観点から比較されている^(1,12~15).

(1) 熱安定性: IgYと4種類の哺乳類IgG(ウン, ヤギ, ブタ, ウサギ)の熱安定性を, ELISAで測定した抗原結合活性を指標に比較すると, ウサギ以外の哺乳類IgGとIgYの熱安定性はほぼ同様である. なお, ウサギIgGの熱変性温度は他のものに比べて5~10℃高い.

(2) 酸安定性: 酸性条件下で抗体をインキュベートし, その抗原結合活性を比較すると, ウサギ以外の抗体

はいずれも pH 3~3.5 の範囲で活性の低下が起こるが、なかでも IgY の活性低下は他の抗体に比べて急激に起こる (図 2a)。また、トリプトファンによる自然蛍光を指標に立体構造変化を比較すると、IgY は他の抗体に比べて酸性条件下での構造変化を起こしやすいことがわかる (図 2b)。なお、ウサギの IgG 抗体は酸に対しても耐性が顕著に高い。

(3) 変性剤に対する安定性：自然蛍光のスペクトル変化を指標に塩酸グアニジンによる変性曲線を描くと、IgY は 3 M 付近で急激な構造変化を起こすことがわかる。一方、哺乳類 IgG の場合には 2.5~5 M に渡って徐々に構造変化が起こっていく。

(4) 蛋白質分解酵素に対する安定性：ペプシン、トリプシンなどの消化管プロテアーゼによる分解性を、H 鎖の残存率を指標に観察すると、IgY は哺乳類 IgG に比べて分解速度が速い。なお、哺乳類のなかでも、ウサギ IgG の分解速度は顕著に遅い。

以上のような結果から、IgY という免疫グロブリンはその高次構造を維持している分子内結合力が若干弱く、哺乳類 IgG と比較して柔軟性の高い分子構造を持っているようである。ただし、筆者のみるところ、ウシやマウスのような哺乳類 IgG と IgY の間の差は、これらの IgG とウサギ IgG との間の差より小さい。本論の主題とは外れるが、なぜウサギ IgG だけがかくも安定な構造を持っているのかについては興味を持たれるところである。

- (1) M. Shimizu, R. C. Fitzsimmons, and S. Nakai : *J. Food Sci.*, **53**, 1360—1366 (1988).
- (2) R. Parvari, A. Avivi, E. Lentner, E. Ziv,

- S. Tel-Or, Y. Burstein, and I. Schechter : *EMBO J.*, **7**, 739—744 (1988).
- (3) C.-A. Reynaud, A. Dahan, V. Anquez, and J.-C. Weil : *Cell*, **59**, 171—183 (1989).
- (4) M. Shimizu, R. C. Fitzsimmons, and S. Nakai : *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 497—500 (1989).
- (5) 小林邦彦：蛋白質 核酸 酵素, **31**, 904—918 (1986).
- (6) C.-A. Reynaud, A. Dahan, and J.-C. Weil : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 4099—4103 (1983).
- (7) M. Ohta, J. Hamako, S. Yamamoto, H. Hatta, M. Kim, T. Yamamoto, S. Oka, T. Mizouchi, and F. Matsuura : *Glycoconjugate J.*, **8**, 400—413 (1991).
- (8) 小野寺節：化学と生物, **30**, 422—430 (1992).
- (9) C.-A. Reynaud, V. Anquez, and J.-C. Weil : *Eur. J. Immunol.*, **21**, 2661—2670 (1991).
- (10) A. Larsson, A. Karisson-Parra, and J. Sjöquist : *Clin. Chem.*, **37**, 411—414 (1991).
- (11) A. Polson, M. B. Von Wechmar, and G. Fazakerley : *Immunol. Commun.*, **9**, 495—514 (1980).
- (12) H. Ohtani, K. Matsumoto, A. Saeki, and A. Hosono : *Lebensm. Wiss. Technol.*, **24**, 152—158 (1991).
- (13) M. Shimizu, H. Nagashima, K. Sano, K. Hashimoto, M. Ozeki, K. Tsuda, and H. Hatta : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 270—274 (1992).
- (14) H. Hatta, K. Tsuda, S. Akachi, M. Kim, and T. Yamamoto : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 450—454 (1993).
- (15) M. Shimizu, H. Nagashima, and K. Hashimoto : *Comp. Biochem. Physiol.*, in press.