

免疫系の抗原認識と特異性

伊藤 博夫

鹿児島大学歯学部予防歯科学講座

Antigen Recognition and the Specificity of Immune System

Hiro-O ITO

*Department of Preventive Dentistry,
Kagoshima University Dental School,
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

Abstract

Both innate and acquired immunity are indispensable for human beings to survive. Acquired immunity is mediated by lymphocytes that possess antigen receptors on their cell surfaces, and are roughly divided into two populations, T cells and B cells. Although their biological roles are distinct, the structures of ligand binding sites of the receptors share characteristics in a great extent. One binding site comprises heterodimeric protein subunits, and 6 discontinuous sites in the protein primary structures, termed complementarity determining regions, take part in making it up. Therefore, the tertiary and quaternary structures of the receptor proteins play critical roles for the antigen-binding capacity. Structural and functional complementarity between the surfaces of receptor and antigen is required for the specific binding. In response to a protein antigen, T cells recognize oligopeptidic fragments of the protein bound to the self-major histocompatibility complex (MHC) class II molecules. The peptide-MHC complex is provided by antigen-presenting cells (APC), including several different types of cells. Thus, T cells can not react to any structures of the protein itself, whereas B cells can recognize surface structures of the protein. A harmonized collaboration among the three types of cells is required for the progression of humoral immune response. Finally, importance of higher order structures of proteins for the B cell epitopes is discussed, as to the immunodominancy.

I. はじめに

生物は生存のために、種々の病原微生物の侵襲から身体を守らなくてはならない。広い意味での免疫 (immunity) とは、その生体防御機構全体のことを指す。これには、好中球を主体とする種々の食細胞はもちろん、上皮の角化層や粘膜上皮を被う分泌液などのバリア機構まで含めることができる。一方、古く紀元前のギリシャ時代以来人々は、ある特定の伝染性疾患から回復した人は再び同一の疾患にかからないという事実に気付いていた。このような“(抗原) 特異性”と“記憶”を伴う免疫現象が、狭義の免疫である。すなわち、広義の免疫は、“特異性”と“記憶”を伴わないもの (innate immunity) と、両者を随伴することを特徴とするもの (acquired immunity) に大別される。Acquired immunity を初めて人為的に制御し医療に実用化したのが、有名なジェンナーの種痘であり、今から200年前の事であった。パスツールやコッホらによって病原微生物の概念が成立する約100年も前の事である。

今世紀に入ってから、免疫学は飛躍的に進展した。特にこの20~30年は目覚ましいものがある。これには、分子生物学的、遺伝子工学的技術の急速な進歩に依るところが大であるのだが、また免疫学の方からも、生命科学全休の進路を切り開くような大発見がいくつもなされてきた。利根川進の見出した体細胞における遺伝子再編現象¹⁾や、Köhler と Milstein のモノクローナル抗体の作製²⁾などは、各々過去の常識を覆し、あるいは長い論争に終止符をうち、さらにその後の生命科学全般において研究方法論を完全に変えてしまう影響力を示した。

さて、学問領域としての免疫学には、innate immunity と acquired immunity の両者が含まれるので、免疫学者によっても、“免疫”という言葉は各人の専門とする亜領域の違いによって、かなり大きなニュアンスの違いをもって受けとめられているようである。元来“immunity”とは伝染病の“2度無し現象”を表現した言葉であり、生体防御機構そのものではない。一般の人々が免疫という言葉からイメージするのも、やはり主として acquired immunity であるように思われる。本稿で以下に述べる内容も、acquired immunity についてであり、これが示す“特異性”と“記憶”という2大特徴のうち、前者を規定する分子認識のメカニズムについて、現在までにはほぼ理解の固まったと思われる点を整理してみたい。

II. Acquired immunity の担当細胞=リンパ球

記憶と特異性を伴う免疫現象を司る主役の細胞はリンパ球である。生物は全て、何らかの生体防御機構を持つことで種の保存を可能にしているわけであるが、狭義の免疫機構を持つのはリンパ球を保有するもの、すなわち脊椎動物以上の高等生物のみである。リンパ球はT細胞とB細胞に大別される。光学顕微鏡レベルの形態的特徴や、両者ともに細胞表面に抗原物質を特異的に認識するための受容体分子を表現しているという類似性を有しつつ、細胞生物学的意義をはじめ種々の点で大きな違いがある。

III. B細胞抗原受容体の分子構造

B細胞表面に存在する抗原受容体と、血中等に存在する抗体とは物質的にほぼ同一である。休止期成熟B細胞は抗原物質その他から必要な刺激を受けると活性化され、分裂増殖し、形質細胞に最終分化して、可溶性の抗体、即ち免疫グロブリン (Ig: immunoglobulin) を体液中に産生する。これは、膜結合領域を欠いたB細胞抗原受容体そのものである。代表的なIgであるIgGの構造は、分子量約5万のH (heavy) 鎖と分子量約2.5万のL (light) 鎖とがS-S共有結合したヘテロダイマーが更にホモダイマーを構成する、すなわちヘテロダイマーのホモダイマーが1つの分子単位となっている (図1左)。

抗原結合領域はH鎖とL鎖両者のN末の領域が1つになって構成される。この領域は、一個体内においても抗体ごと、B細胞クローンごとで異なることからV (variable) 領域と呼ばれる。一方、これよりC末側の各ドメインは比較的变化に乏しくC (constant) 領域と呼ばれる。H鎖のC領域の違いによってIgは種々のクラス、サブクラスに分類される。またクラスによってはIgG様の基本単位がさらに2量体 (IgA) や5量体 (IgM) を形成する。クラス、サブクラスの違いによって抗体の生理的機能も変わってくるが、本稿ではC領域の機能についてはこれ以上触れずに、抗原結合性を司るV領域に限って話を進めたい。

V領域の中にあっても特に変化の著しい部分がH鎖L鎖それぞれに3カ所ずつ、計6カ所、アミノ酸配列上では不連続な位置に存在し、超可変領域と称される。この部分が抗体の抗原特異性を決定していることから、相補性決定領域 (complementarity determining regions: CDR) とも称される (図1, 図5も参照)。1次構造上では離れた位置に存在する6つのCDRが、正しく折り畳まれたタンパク質になった時には互いに

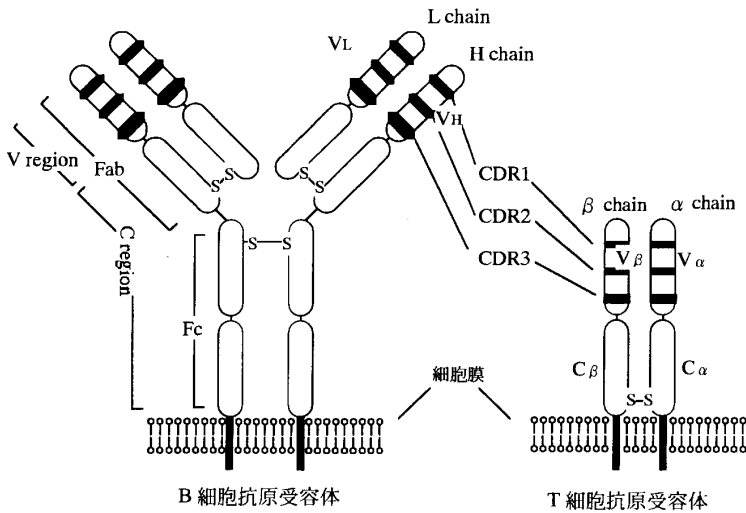


図1 リンパ球の抗原受容体の構造。B細胞抗原受容体（左）はIgG, IgD, IgAの場合を示す。IgM, IgEではC領域に4つめのドメインを有する。T細胞抗原受容体（右）にはγ鎖とδ鎖からなるタイプのものもあるが、本稿においては取り上げない。

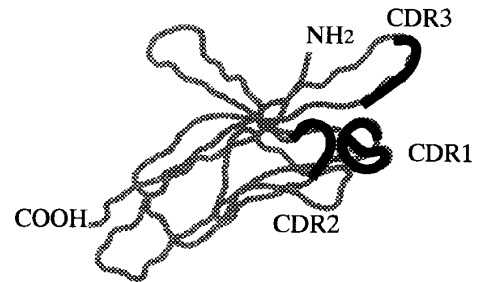


図2 免疫グロブリン (Ig) のV領域の3次構造。L鎖のV領域を例として示す。1次構造上は離れて位置する3つのCDR（図1および図5参照）は立体構造上は近接している（濃く示した部分）。H鎖においても同様に折り畳まれて全6カ所のCDRは互いに近接し1つの抗原結合面を構成する。

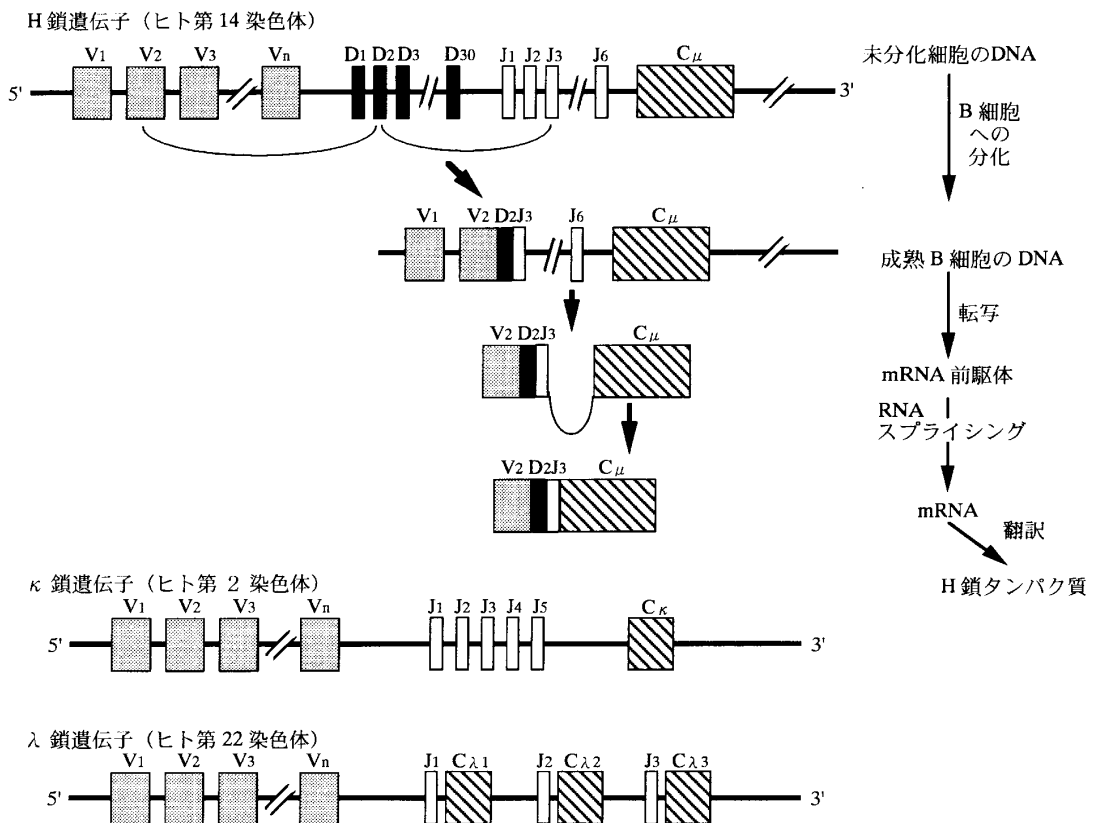


図3 抗体遺伝子の構造と遺伝子再編成

近傍に位置し、協調的に単一の機能（抗体の場合は抗原結合性）の発揮に寄与する（図2, 図4も参照）。別の言い方をすれば、抗体可変領域のどの部分のアミ

ノ酸配列によっても抗体の機能は代表されない。これは、タンパク質の機能にとっての高次構造の重要性を端的に示す好例の1つである。

IV. T細胞抗原受容体

T細胞抗原受容体は、Ig とは全く別の遺伝子産物であるが、その分子構造はIgのFab部と酷似している(図1)。したがって、分子レベルの抗原認識機構も抗体の場合とほとんど同一であるが、細胞生物学的役割や機能は全く異なる。この点については、後ほど触れる。

V. 抗原受容体の多様性の生成

抗原受容体が認識するものは、抗原分子の全体ではなく、ある特定の部位の構造的特徴である。この構造部分を抗原決定基、あるいはエピトープと呼ぶ。基本的に1個のリンパ球はただ1種類の抗原受容体を表現し、したがって1種類の抗原にのみ(もっと正確には1種類のエピトープにのみ)に結合できる。このことは、多くの生化学者たちが特別な免疫学的知識を持たずともモノクローナル抗体を作製し研究に活用していることでもわかるように、現在では至極当然の事として受け入れられているが、かつては免疫学の重要な研究テーマであった。

さて、この世に何種類存在するのか見当の付けようもない数の抗原に対して、免疫系は実際に、莫大な数のクローンを用意している。B細胞を例にとるとその数は少なくとも1億以上といわれている。いうまでもなく抗体、すなわちIgはタンパク質であり、したがってその遺伝子がゲノムの中に保有されているはずだが、我々は1億種類もの遺伝子をゲノムの中に保有することはできない。現在進行中のヒトゲノムプロジェクトから、機能遺伝子の総数は約10万個に過ぎないと推定されている。では、どのようにしてこの莫大な数の機能遺伝子を免疫系は用意することができるのか?この疑問に明快に答えたのが、ノーベル賞の対象となった利根川進の一連の研究であった¹⁾。図3に示すように、H鎖を例にとると、将来V領域を構成する遺伝子はゲノム内で100を越えるV_H断片、約30のD断片、6のJ断片に別れて存在している。これがB細胞への分化・成熟に伴って、V、D、J各断片が1個ずつランダムに選択され、結合し、機能的V領域遺伝子が完成する。これを抗体遺伝子の再編成というが、この組合せによって100×30×6、即ち18,000種類以上の多様性が生み出される。さらに各断片間の連結点では、連結が不正確に行われるため、ゲノムにコードされていなかった塩基対が挿入されたりフレームシフトがおきたりする。これを考慮するとH鎖の多様性はさらに莫大なものとなる。もちろん停止コドンにコードするよ

うになってしまう場合もあるが、その際にもすぐさま相同染色体からの遺伝子を使用して再編成をやり直す。同様の事が、L鎖においても行われる。L鎖には κ 鎖と λ 鎖の2種類があり、それぞれ独立したV断片群が存在する(図3)。H鎖とL鎖の組合せもまたランダムであり、この結果抗体のV領域の機能的多様性は無限に近いものになる。

分化した細胞の遺伝子が、生殖系列細胞の遺伝子とは非可逆的に変化してしまっているという遺伝子再編成(rearrangement)の事実は、当時までの生物学のドグマ: 遺伝子是不変で調節遺伝子産物に発現が調節される、あるいは1酵素1遺伝子説などを完全に覆すものであったと聞く。利根川は λ 鎖を材料にしていち早くこの“動く遺伝子”の現象を解明したが、少し遅れて κ 鎖やH鎖でも同様の現象が検証されることによって、全ての生物学、生化学の教科書が書き改められることとなった。ところが現在に至って、体細胞クローン動物の成功は、改めて我々に認識の変更を迫る。

T細胞抗原受容体の遺伝子も後ほど同定され、それが抗体遺伝子とは無関係の物質であることが明らかにされた。しかし、その遺伝子の構造上の特徴やタンパク質分子構造はIg(抗体)と酷似していた。すなわち、T細胞抗原受容体の α 鎖と β 鎖でも、また同様の遺伝子再編成が行われ、これによって莫大な数のT細胞レパートリーが形成される。

T細胞抗原受容体にはなく、抗体に特有の現象とされるが、成熟した休止期B細胞が抗原刺激で活性化され分裂増殖する際に、異常な高頻度でV遺伝子に突然変異を起こすことが知られている³⁾。この体細胞突然変異によって抗原への結合力がより高くなったクローンが抗原刺激をめぐる生存競争の中で選択され、さらに増殖を続けることで、生体内全体として見た場合の抗体の親和性が次第に高まるものと考えられている。高頻度の突然変異はCDR領域を中心に起き、それ以外の部分たとえばC領域では変異は起きない。この変異導入を制御する分子機構は多くが未解明のままである。

VI. 抗原抗体反応(抗体の抗原認識)

いくつかの抗体・抗原複合体において、そのX線結晶構造解析により結合様式が詳細に解析されている。中でもPoljakらのグループの卵白リゾチームをモデル抗原に使用した一連の研究⁴⁻⁹⁾は、抗体の分子認識機構、ひいてはタンパク質のタンパク質認識機構を理

解する上で重要な知見を提供してくれる。彼らの得た結論をごく簡単にまとめると、相互作用のためには、抗体の抗原結合部位の分子表面と抗原エピトープの分子表面の間に、立体構造上の相補性とアミノ酸側鎖の機能的相補性（陽性荷電アミノ酸に陰性荷電アミノ酸、疎水性アミノ酸に疎水性アミノ酸）の両者が必要である。抗体側あるいは抗原側のわずかなアミノ酸変異は、親和性に定量的な影響を与えつつも定性的な結合は許容する。また、表面構造が一定の条件を満たしてしまえば、1次構造が全く異なる無関係な物質であっても本来の抗原と同等、時によってはそれ以上に強く結合できる場合もある。

古くから、抗体と抗原の関係は鍵穴と鍵の関係に例えられてきたが、かつて抗体の交叉反応性をどの程度認識しながらこの例えが語られていたのかを筆者は知らないが、特異性とは相反するとも感じるこの点までを含めて、まさしく鍵穴と鍵である。ただし、タンパク質相互作用における構造上の相補性は、金属製の鍵と鍵穴のように絶対的なものではない。タンパク質は

柔らかく可塑性があり、結合時の構造が、フリーな状態での構造と異なっている場合があることが報告されている^{10,11)}。この現象を induced fit と呼ぶ。

X線結晶構造解析は現在の生命科学においてまさに花形役者であるが、その限界についても是非ここで触れさせて頂きたい。結晶構造で明らかになるのは、物質が結晶化した時に取ったある特定の静的形態であり、溶液中で機能している時の形態と異なる可能性が常に考えられるのである。すなわち静止画像である。人間の群れが、狭い部屋で体育座りしている様子を観察して「人間の手はすねにくっついて存在し、顔と膝の距離は約20cmである」と言ってしまう可能性を常々念頭に置きつつ結果を読む必要がある。構造解析のもう一方の花形である核磁気共鳴法（NMR）では、結晶化という最難関ステップが不要で、しかも溶液中の動的な構造が解析できる。しかし、分析試料の分子サイズが大きくなるとコストと手間が途方もなく大きくなり、タンパク質間相互作用の解析に広く利用される状況には至っていない。電子顕微鏡技術も長足の進歩を

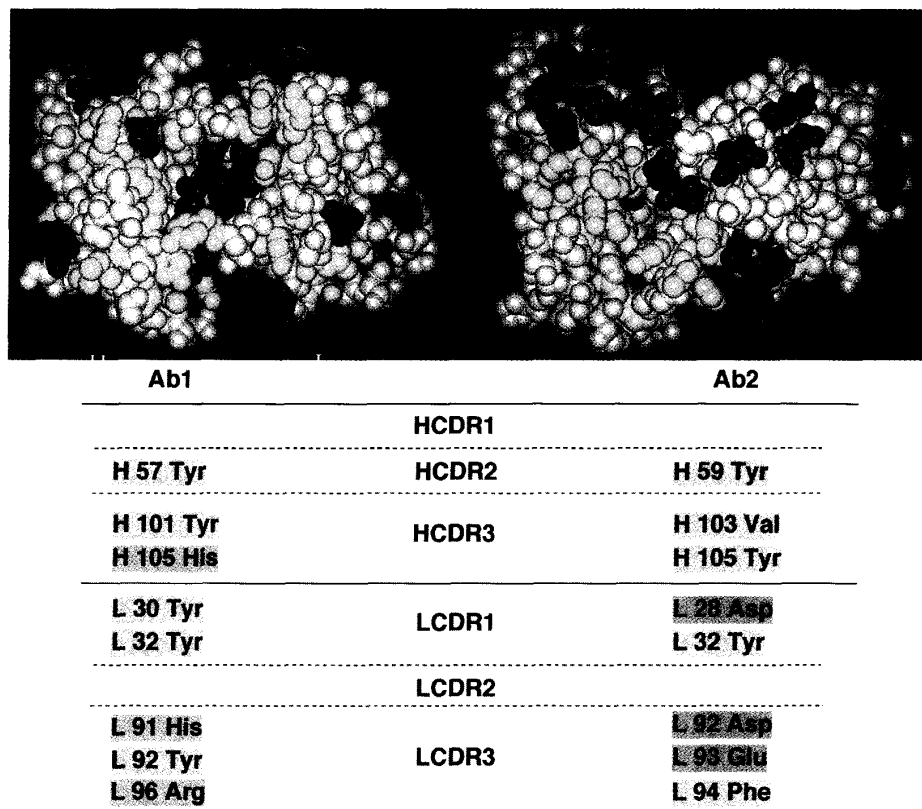


図4 抗II型コラーゲン抗体（Ab1）とAb1に対する抗イディオタイプ抗体（Ab2）の結合面の立体構造と相互作用に関与するアミノ酸残基の性質および由来。塩基性アミノ酸を青、酸性アミノ酸を赤、疎水性アミノ酸を黄の各色で表す。

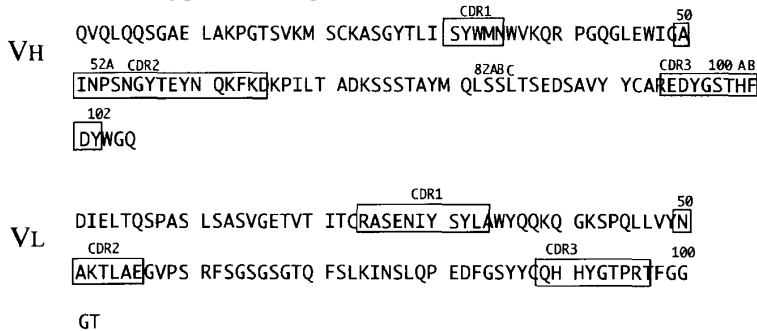
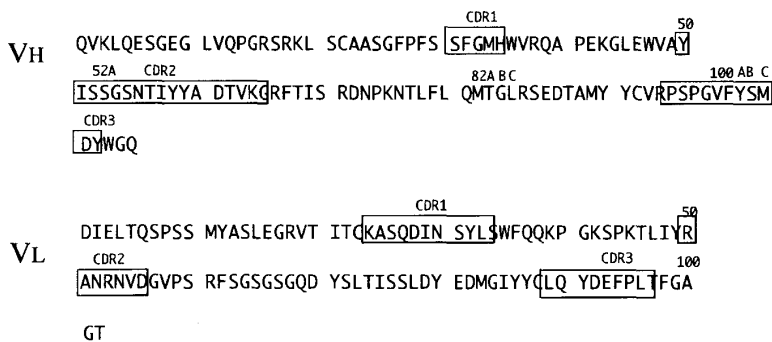
Ab1: anti-Type II Collagen**Ab2: anti-1-5 Idiotope**

図5 抗II型コラーゲン抗体 (Ab1) と Ab1 に対する抗イディオタイプ抗体 (Ab2) のV領域の1次構造, GenBank (NCBI sequence data base) accession number: U69538 (Ab1 V_H), U69539 (Ab1 V_L), U69540 (Ab2 V_H), U69541 (Ab2 V_L). ITO, H.-O. et al¹²⁾より改変。

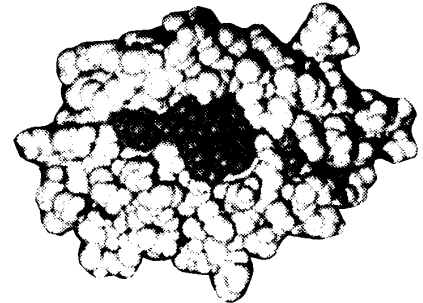


図6 抗原ペプチドを結合したMHC class I 抗原。T細胞抗原受容体が結合する面を上方より見た様子。中央付近の黒い部分が抗原ペプチド。Class I 分子に結合できるのはアミノ酸6~8残基のもので、これより長いものは結合できず抗原となり得ない。Class II 分子の場合もほぼ同様であるが、アミノ酸残基数10~12あるいはそれ以上の長さのペプチドも結合が可能である。

遂げ、抗体分子ぐらゐの大きさ (150kD) のものなら単一分子の姿を捉えることが可能となっているが、抗体抗原反応表面の原子間相互作用を観察するには程遠い。

さて、本稿では、抗原抗体反応の1例として、筆者らがコンピュータホモロジーモデリングによって解析したII型コラーゲンに対するモノクローナル抗体とこの抗体に対するモノクローナル抗イディオタイプ抗体¹²⁾の抗原結合面の予想立体構造を紹介する(図4)。相互作用に関与すると考えられるアミノ酸残基とその1次構造(図5)とを合わせて見て頂きたい。X線結晶構造は未確定のため詳細には不明な点が多く残されてはいるが、塩基性アミノ酸 (Ab1) と酸性アミノ酸 (Ab2) による中央部の電気的相互作用を、周辺の芳香環側鎖を持つアミノ酸の疎水相互作用が補助する様子がうかがえる。形態的には凹面 (Ab1) と凸面 (Ab2) の相補性を示している。また、1次構造上は遠く離れて存在するアミノ酸残基が高次構造上で協調

的に上記の特徴を表現している点にも改めて注意していただきたい。抗体のH鎖とL鎖は独立したサブユニットであるので、このような高次構造を4次構造と称する。Ab1とAb2の2つのタンパク質間の親和性が両者の4次構造に完全に依存し、3次構造の保持では不十分であることは、免疫化学的にも確認されている¹²⁾。

VII. T細胞の抗原認識機構と抗原提示

T細胞の抗原受容体の分子構造や遺伝子構造は、前述のように抗体と酷似しており、その分子レベルの認識機構も、抗体の抗原認識となんら異なるところはない。しかしながら、結合する相手に大きな制約がある。T細胞抗原受容体は自己の組織適合性抗原 (major histocompatibility complex antigen: MHC) に結合した、抗原タンパク質の断片を認識するのみであり、抗原分子の表面部分構造を認識する抗体とは性格を大きく異にする^{13,14)}。自己MHCに反応しないT細胞は分化の初期段階で死滅し、自己に反応性を示すT細胞

だけが成熟して末梢組織に供給され機能する。このように言うと意外に感じられる人もいるかもしれないが、これをT細胞の正の選択 (positive selection) といい、まぎれもない事実である¹⁵⁾。もちろん自己抗原に強く反応し過ぎる前駆細胞も分化の初期に除去されており、こちらを負の選択 (negative selection) と言う¹⁵⁾。さて、免疫系による自己と非自己の識別がいかにより制御されているのかは、現在でも免疫学の中心中の中心的課題であり、簡単に説明は出来ない。また、本稿の主旨ともはずれるので、この点に興味をお持ちの方は多田富雄氏の名著¹⁶⁾があるのでご一読を願いたい。

図6に示すように、MHC-抗原ペプチド複合体のT細胞抗原受容体との結合面の大部分は、自己由来であり、中央部分の限られた領域にごく短いオリゴペプチドが結合する。全体としての構造が、対応する成熟休止期T細胞の抗原受容体と一定以上の親和性で結合

出来る場合に、免疫応答は開始する。MHCはclass Iとclass IIに分類される。 α 鎖と β 鎖からなる受容体を持つT細胞 (末梢リンパ組織の大多数) はMHC class Iに反応するCD8 T細胞と、class IIに反応するCD4 T細胞に2分される。MHC class I分子は全ての体細胞表面に表現されており、原則的に細胞内で産生されるタンパク質 (内因性抗原) の消化断片を結合する。CD8 T細胞は活性化されると対応抗原を提示する細胞を殺す、細胞障害性T細胞となる。これらは突然変異し癌化した自己細胞や、ウイルス感染細胞の排除に必須の役割を有する。一方CD4 T細胞は、主として免疫反応を調節する役割を持っている。例えば、B細胞が抗体を産生するようになるには、抗原刺激の他にCD4 T細胞からの助けを受ける必要がある。CD4 T細胞が認識するclass II MHC分子は、抗原提示細胞と称される特殊な細胞群のみが発現する。

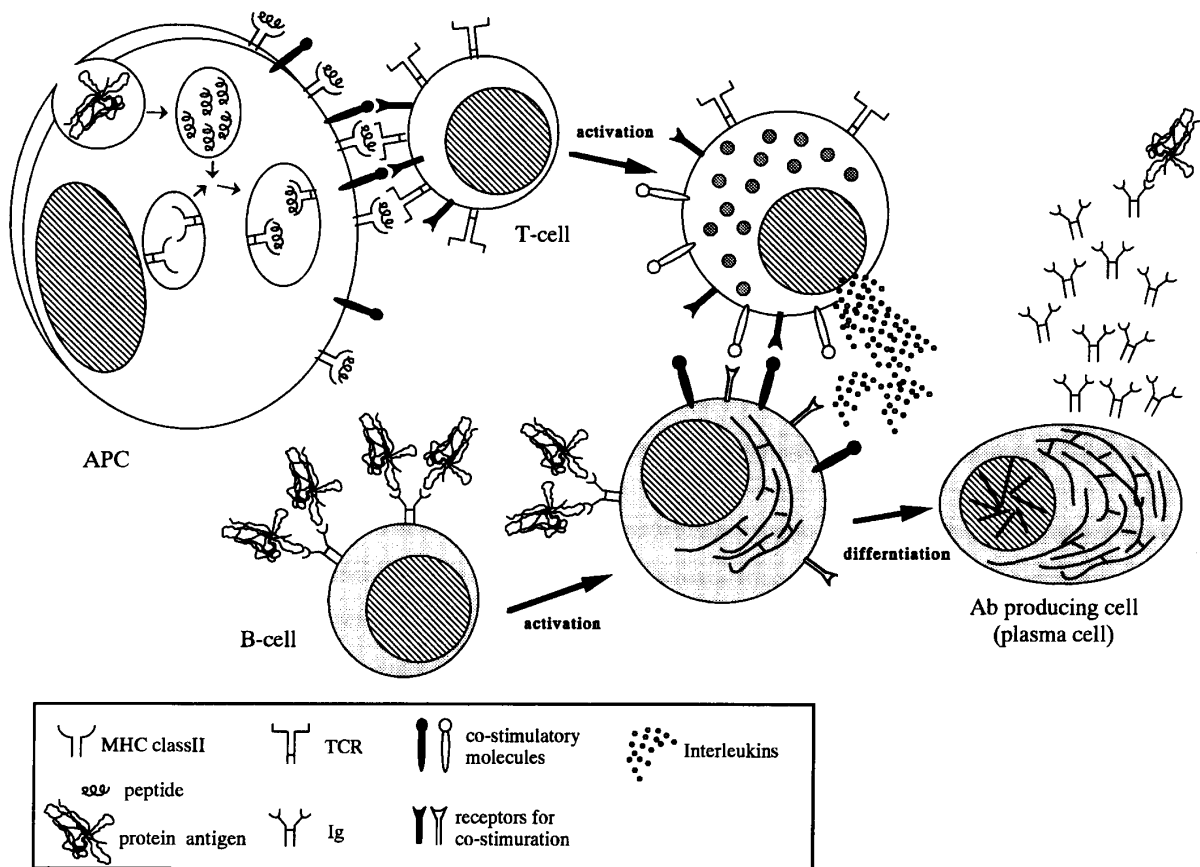


図7 外来タンパク質抗原に対する抗体産生系における細胞間相互作用。外来抗原は抗原提示細胞 (APC) に endocytosis もしくは phagocytosis により細胞内に取り込まれ、プロテアーゼにより消化され、ペプチド断片が MHC Class II 分子によって提示される。T細胞抗原受容体 (TCR) で MHC+ペプチドを認識し、副刺激を得たT細胞は活性化され、B細胞の活性化に必要なリンホカインや副刺激分子を発現する。一方タンパク質分子表層のエピトープを細胞表面 Ig により認識したB細胞がT細胞からの刺激を得ると、分裂増殖し、抗体産生細胞に最終分化する。図には示していないが、B細胞もまた抗原提示能を有する。

外来抗原は通常、抗原提示細胞内に取り込まれた後に細胞内プロテアーゼで消化され(プロセッシング)、その断片の一部が class II 分子と結合して細胞表面に提示され、T細胞による認識を待つ。外来タンパク質の特定の断片を結合した MHC class II に対して親和性の強い T細胞抗原受容体を有するクローンが活性化され、その結果 B細胞活性化に必要なシグナルを供給する。それは、インターリウキン(とりわけ IL-4,5,6)などの可溶性因子と、細胞表面上の CD40リガンド¹⁷⁾などである。また、CD4 T細胞の活性化の為に、MHC からの抗原受容体刺激のみでは不十分で、抗原提示細胞上の B7 と呼ばれる分子群と T細胞上の CD28 分子との結合をはじめ、一群の補助刺激分子の相互作用が必要である¹⁸⁾。以上の、外来抗原が侵入した時に誘導される、抗体産生に至る免疫応答における T細胞、B細胞、抗原提示細胞の相互作用を図 7 に模式的に示す。B細胞は、生のままの抗原分子の立体構造を含め、細胞外で消化分解された変性体の構造などあらゆる構造を認識し、活性化の前段階に入って T細胞からの指令を待つ。同時に、抗原提示細胞に表現された抗原由来オリゴペプチドを MHC class II 分子と共に認識した CD4 T細胞が活性化されることで免疫反応は作動するのである。

VIII. 抗原提示細胞

本題から少し脱線するが、ここで抗原提示細胞とは何かを述べたい。それは MHC class II を細胞表面に発現する細胞の事を言う。定義に揺れも見られるが、原則として、恒常的に MHC class II を発現する細胞をプロフェッショナル抗原提示細胞と言う。樹状細胞(dendritic cells)、ランゲルハンス細胞、B細胞、それに恐らくはマクロファージの一部などがこれに相当する。ある刺激下(多くの場合インターフェロン γ による刺激)でのみ class II 分子を発現するものがあり、これはノンプロフェッショナル抗原提示細胞と呼ばれる。血管内皮細胞、ケラチノサイト、線維芽細胞などが相当する。現在も免疫学の教科書においてさえも、「抗原提示細胞イコールマクロファージ、逆もまた真なり」の如くの記述を見ることがあるが、このように理解することは誤りである。

種々のタイプの抗原提示細胞の T細胞活性化能は、前項でも触れた副刺激分子の表現性に左右されている。現在最も高効率の抗原提示細胞であると考えられているのは樹状細胞であるが¹⁹⁾、この命名が我々の理解を混乱させる。この名は、顕微鏡観察下における形態的

特徴に対して与えられたものであり、外来抗原を提示できない樹状細胞も存在する。抗原提示細胞の代表的なものが樹状細胞であると言うことは正しいが、樹状細胞は抗原提示細胞であると言うと、また、必ずしも正確ではない。上皮内に存在するランゲルハンス細胞は抗原提示能を有する樹状細胞の一つの姿であると考えられている²⁰⁾。B細胞も、特に 2次免疫応答における重要な抗原提示細胞である。抗原タンパク質の未変性高次構造を認識する B細胞は、抗原受容体を介して効率よく未変性抗原を取り込み、T細胞にペプチド断片を提示する²¹⁾。ノンプロフェッショナル抗原提示細胞では、多くの場合副刺激分子の発現が不十分である。副刺激の無い抗原受容体刺激は、T細胞を活性化するのは逆に、無応答性(アナジー)を誘導する¹⁸⁾ため、これらの細胞はむしろ免疫応答を負に調節する可能性が考えられる²²⁾。

IX. 高次構造依存性 B細胞エピトープ

既に何度も触れたが、抗原がタンパク質である場合、抗体の認識するエピトープは、アミノ酸の 1次配列の一部で表現可能なタイプと、3次や4次の高次構造に依存するタイプのものが存在する²³⁾。前者は、linear epitope, sequential epitope, continuous epitope などと様々に呼ばれ、後者は conformational epitope, discontinuous epitope などと呼ばれる。いずれの場合でも、抗体分子が認識するのはエピトープの立体構造上の特徴であることに違いはないが、その構造上の特徴が、1線に繋がったオリゴペプチドで表現できる時もあるが、そうでない場合もある。

近年、タンパク質抗原のエピトープマッピングが盛んに行われてきた。抗原物質のエピトープ部分だけを取り出す事ができれば、毒性などの生物活性を持たない安全なワクチンが合成できるというような、あるいは自己免疫疾患をエピトープ特異的に制御しようというような、理想的免疫療法を追求する上での試みである。その過程で使用されてきた方法論は、SDS-PAGE 展開後のイムノプロットや、合成オーバーラッピングペプチドを用いたものなどが中心であるが、これらの方法論は T細胞エピトープの同定には有効と考えられるものの、B細胞エピトープについては、linear なエピトープにしか対応できない。もちろん linear エピトープによって免疫応答を効果的に制御できる場合があり、そのような成功例が報告されてきた²⁴⁻²⁷⁾。しかし、conformational エピトープに対する抗体が決定的に重要であり、linear エピトープは

臨床的に無価値である場合もある。例えば、リウマチ性関節炎との関わりが疑われるⅡ型コラーゲンに対する抗体や^{28, 29)}、SLEの一部に随伴する抗PCNA (proliferating cell nuclear antigen) 抗体などの自己抗体^{30, 31)}では、高次構造依存性エピトープが重要な意味を持つと考えられているし、タンパク質抗原ではないが、やはりSLEとの関連で有名な抗DNA自己抗体でも、1本鎖DNA抗体ではなく2本鎖DNAに向かう抗体に病因論的意義が認められる。歯周感染でも、歯周炎患者の*Porphyromonas gingivalis* 線毛に対する抗体は、線毛ポリマーには強く反応するものの線毛モノマーにはあまり反応しないと報告されている³²⁾。

リゾチームをモデル抗原として、linear epitopeと discontinuous epitopeの出現頻度を数学的、理論的に求めた研究があるが、linearなものでは僅かしか表現され得ないと結論づけられている³³⁾。筆者が行った実験でも、リゾチームや*P. gingivalis* 線毛を含めて、抗原が安定な3次あるいは4次の高次構造を有する場合には、それらを抗原として生体内で誘導される抗体産生細胞クローンの圧倒的大部分が conformational エピトープに対するクローンで占められるという結果を得た³³⁾。

抗体が抗原エピトープの立体構造を認識するという性質においては、抗原が多糖であれ脂質であれ共通のことであるが、タンパク質の場合には、折り紙細工のように正確にかつ複雑に折り畳まれている (folding) 事が多く、B細胞エピトープを探索する場合にもこの folding pattern を考慮する必要がある。タンパク質の基本設計図は遺伝子、すなわちDNAの1次配列であるので、1次配列が folding pattern を規定しているはずと信じ、1次構造と3次構造を関係付ける法則性を見つけようと、構造生物学者らは熱心に取り組んでいる。今のところ法則性とまで言えるようなものは何もわかっていないに等しいようであるが、近い将来に飛躍的進展が得られるものと、筆者は大きな期待を寄せている。

構造生物学の現状がこのような段階であるので、免疫学において高次構造依存性エピトープを同定するのは容易な作業ではない。そんなわけで、より結果の得やすい linear epitope が研究対象として取り上げられる傾向が強かったとも考えるのだが、高次構造依存性エピトープに関する研究も地道に続けられており³⁴⁻³⁶⁾、これらが提供する知見は、期待される構造生物学の進歩と協調して、合成ワクチン開発のためのより合理的な戦略の立て方を示してくれるに違いない。

X. おわりに

免疫系の抗原認識において、タンパク質抗原の1次から4次までの構造がどのような意味を持つものかを中心に、抗原提示の問題も含めつつ、現在確立され今後ともまず変更されないと思われる事柄を極力簡単に整理したつもりである。私は大学院に入学した1983年以来一貫して免疫学、中でも抗体産生に関わる研究に携わってきたつもりであるが、所属が変わる毎に標榜上の専門領域名が変わり (歯周病学→生化学→予防歯科学) その都度、視点は保ちつつも研究材料や表現方法を変えざるを得なかった。そんな事もあって、自らの研究成果を軸にして一編の総説を記す事に困難を感じた為、本稿はいささか入門書的な解説になってしまったきらいもあるうがご容赦願いたい。

謝辞

稿を終えるにあたり、執筆の機会をお与え下さった本誌編集員の各先生に御礼申し上げる。また親切なる御校閲を賜った予防歯科学講座、井上昌一教授に感謝申し上げます。本稿に紹介した筆者の研究結果は、主として九州大学歯学部生化学教室において古賀敏生前教授、平田雅人現教授らの下、同大学大学院薬学研究科免疫薬品学教室 (井本泰治教授) との共同研究によるものであり、研究費の一部は文部省科学研究費 (No.07857135, 08877282, 09671924) から助成を受けたことを申し添える。最後に、本稿執筆中に急逝した我が父にこれを捧げさせて頂きたい。

文献

- 1) Tonegawa, S.: Somatic generation of antibody diversity. *Nature* 302, 575-581, 1983
- 2) Köhler, G. & Milstein, C.: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256, 495-497, 1975
- 3) Rajewsky, K.: Clonal selection and learning in the antibody system. *Nature* 381, 751-758, 1996
- 4) Amit, A. G., Mariuzza, R. A., Phillips, S. E. & Poljak, R. J.: Three-dimensional structure of an antigen-antibody complex at 2.8 Å resolution. *Science* 233, 747-753, 1986
- 5) Bentley, G. A., Boulot, G., Riottot, M. M. & Poljak, R. J.: Three-dimensional structure of an idiotope-anti-idiotope complex. *Nature*

- 348, 254-257, 1990
- 6) Chitarra, V., Alzari, P. M., Bentley, G. A., Bhat, T. N., Eisele, J. L., Houdusse, A., Lescar, J., Souchon, H. & Poljak, R. J.: Three-dimensional structure of a heteroclitic antigen-antibody cross-reaction complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 7711-7715, 1993
 - 7) Bhat, T. N., Bentley, G. A., Boulot, G., Greene, M. I., Tello, D., Dall'Acqua, W., Souchon, H., Schwarz, F. P., Mariuzza, R. A. & Poljak, R. J.: Bound water molecules and conformational stabilization help mediate an antigen-antibody association. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 1089-1093, 1994
 - 8) Lescar, J., Pellegrini, M., Souchon, H., Tello, D., Poljak, R. J., Peterson, N., Greene, M. & Alzari, P. M.: Crystal structure of a cross-reaction complex between Fab F9.13.7 and guinea fowl lysozyme. *J. Biol. Chem.* 270, 18067-18076, 1995
 - 9) Fields, B. A., Goldbaum, F. A., Ysern, X., Poljak, R. J. & Mariuzza, R. A.: Molecular basis of antigen mimicry by an anti-idiotope. *Nature* 374, 739-742, 1995
 - 10) Holmes, M. A. & Foote, J.: Structural consequences of humanizing an antibody. *J. Immunol.* 158, 2192-2201, 1997
 - 11) Oakley, A. J., Lo, B. M., Ricci, G., Federici, G. & Parker, M. W.: Evidence for an induced-fit mechanism operating in pi class glutathione transferases. *Biochemistry* 37, 9912-9917, 1998
 - 12) Ito, H.-O., Ueda, T., Hashimoto, T., Imoto, T. & Koga, T.: Quaternary structure-dependent idiotope and antigen binding of a monoclonal antibody specific for conformational epitope on type II collage. *Cell. Mol. Life Sci.* 53, 51-60-,1997
 - 13) Garcia, K. C., Degano, M., Stanfield, R. L., Brunmark, A., Jackson, M. R., Peterson, P. A., Teyton, L. & Wilson, I. A.: An alpha-beta T cell receptor structure at 2.5 Å and its orientation in the TCR-MHC complex. *Science* 274, 209-219, 1996
 - 14) Garboczi, D. N., Ghosh, P., Utz, U., Fan, Q. R., Biddison, W. E. & Wiley, D. C.: Structure of the complex between human T-cell receptor, viral peptide and HLA-A2. *Nature* 384, 134-141, 1996
 - 15) Jameson, S. C., Hogquist, K. A. & Bevan, M. J.: Positive selection of thymocytes. *Annu. Rev. Immunol.* 13, 93-126, 1995
 - 16) 多田富雄: 免疫の意味論, 青土社, 東京, 1993
 - 17) Van den Eertwegh, A. J., Noelle, R. J., Roy, M., Shepherd, D. M., Aruffo, A., Ledbetter, J. A., Boersma, W. J. & Claassen, E.: In vivo CD40-gp39 interactions are essential for thymus-dependent humoral immunity. I. In vivo expression of CD40 ligand, cytokines, and antibody production delineates sites of cognate T-B cell interactions. *J. Exp. Med.* 178, 1555-1565, 1993
 - 18) Schwartz, R. H.: A cell culture model for T lymphocyte clonal anergy. *Science* 248, 1349-1356, 1990
 - 19) Cella, M., Sallusto, F. & Lanzavecchia, A.: Origin, maturation and antigen presenting function of dendritic cells. *Curr. Opin. Immunol.* 9, 10-16, 1997
 - 20) Peguet, N. J., Moulon, C. & Schmitt, D.: The antigen presenting capacity of human epidermal Langerhans cells. *Cell. Mol. Biol. (Noisy le grand)* 1, 15-20, 1994
 - 21) Lanzavecchia, A.: Antigen-specific interaction between T and B cells. *Nature* 314, 537-539, 1985
 - 22) Nickoloff, B. J. & Turka, L. A.: Immunological functions of non-professional antigen-presenting cells: new insights from studies of T-cell interactions with keratinocytes. *Immunol. Today* 15, 464-469, 1994
 - 23) Barlow, D. J., Edwards, M. S. & Thornton, J. M.: Continuous and discontinuous protein antigenic determinants. *Nature* 322, 747-748, 1986
 - 24) Burnie, J. P., Brooks, W., Donohoe, M., Hodgetts, S., al, G. A. & Matthews, R. C.: Defining antibody targets in *Streptococcus oralis* infection. *Infect. Immun.* 64, 1600-1608,

- 1996
- 25) Baughn, R. E., Jiang, A., Abraham, R., Ottmers, V. & Musher, D. M.: Molecular mimicry between an immunodominant amino acid motif on the 47-kDa lipoprotein of *Treponema pallidum* (Tpp47) and multiple repeats of analogous sequences in fibronectin. *J. Immunol.* 157, 720-731, 1996
- 26) Mechin, M. C., Rousset, E. & Girardeau, J. P.: Identification of surface-exposed linear B-cell epitopes of the nonfimbrial adhesin CS31A of *Escherichia coli* by using overlapping peptides and anti-peptide antibodies. *Infect. Immun.* 64, 3555-3564, 1996
- 27) Lotter, H., Zhang, T., Seydel, K. B., Stanley, S. J. & Tannich, E.: Identification of an epitope on the *Entamoeba histolytica* 170-kD lectin conferring antibody-mediated protection against invasive amebiasis. *J. Exp. Med.* 185, 1793-1801, 1997
- 28) Stuart, J. M., Townes, A. S. & Kang, A. H.: Nature and specificity of the immune response to collagen in type II collagen-induced arthritis in mice. *J. Clin. Invest.* 69, 673-683, 1982
- 29) Terato, K., Hasty, K. A., Reife, R. A., Cremer, M. A., Kang, A. H. & Stuart, J. M.: Induction of arthritis with monoclonal antibodies to collagen. *J. Immunol.* 148, 2103-2108, 1992
- 30) Brand, S. R., Bernstein, R. M. & Mathews, M. B.: Autoreactive epitope profiles of the proliferating cell nuclear antigen define two classes of autoantibodies. *J. Immunol.* 152, 4120-4128, 1994
- 31) Brand, S. R., Bernstein, R. M. & Mathews, M. B.: Trimeric structure of human proliferating cell nuclear antigen. Implications for enzymatic function and autoantibody recognition. *J. Immunol.* 153, 3070-3078, 1994
- 32) Yoshimura, F., Sugano, T., Kawanami, M., Kato, H. & Suzuki, T.: Detection of specific antibodies against fimbriae and membrane proteins from the oral anaerobe *Bacteroides gingivalis* in patients with periodontal diseases. *Microbiol. Immunol.* 31, 935-941, 1987
- 33) Ito, H.-O. et. al.: Immunodominancy of conformation-dependent B-cell epitopes of protein antigens. (投稿中)
- 34) Schulte, S., Unger, C., Mo, J. A., Wendler, O., Bauer, E., Frischholz, S., von der Mark, K., Kalden, J. R., Holmdahl, R. & Burkhardt, H.: Arthritis-related B cell epitopes in collagen II are conformation-dependent and sterically privileged in accessible sites of cartilage collagen fibrils. *J. Biol. Chem.* 273, 1551-1561, 1998
- 35) Gao, B. & Esnouf, M. P.: Elucidation of the core residues of an epitope using membrane-based combinatorial peptide libraries. *J. Biol. Chem.* 271, 24634-24638, 1996
- 36) Korth, C., Stierli, B., Streit, P., Moser, M., Schaller, O., Fischer, R., Schulz-Schaeffer, W., Kretzschmar, H., Raeber, A., Braun, U., Ehrensperger, F., Hornemann, S., Glockshuber, R., Riek, R., Billeter, M., Wuthrich, K. & Oesch, B.: Prion (PrP^{Sc})-specific epitope defined by a monoclonal antibody. *Nature* 390, 74-77, 1997