

生物学 ガイダンス

免疫化学

M. W. スチュワード 著
清水 磧 訳



講談社サイエンティフィック

生物学ガイドンス

M. W. S

利用期間票

免疫化学

清水 碩 訳

講談社サイエンティフィック

訳者紹介

しみず せき
清水 碩

昭和 31 年 東京大学理学部植物学科卒業

昭和 51 年現在 お茶の水女子大学理学部生物学科助教授

主要訳書 進化論, 生命の起原 (文庫クセジュ), 生命の調節と分化
(共訳, 共立出版)

© 1976 Seki Shimizu

免疫化学

昭和 51 年 5 月 7 日 第 1 版第 1 刷発行

NDC 464 118 p 19 cm

訳者	清水 碩
発行者	野間省一
発行所	株式会社 講談社 文京区音羽 2-12-21 電話 (03) 945-1111 (大代表) 振替 東京 3930
印刷所	新日本印刷株式会社
製本所	有限会社 千曲堂

落丁本・乱丁本はお取りかえいたします

編集



講談社サイエンティフィック

Printed in Japan

Immunochemistry

M.W. Steward

*Kennedy Institute of
Rheumatology, London*

***First published in 1974
by Chapman and Hall Ltd
11 New Fetter Lane, London EC4P 4EE
© 1974 M.W. Steward***

**Distributed in the U.S.A.
by Halsted Press, a Division
of John Wiley & Sons, Inc. New York**

本書は Chapman and Hall Ltd. より正式に翻訳権を取得したものである.

目 次

- 1 序 章 1
- 2 抗 原 4
 - 2.1 天 然 抗 原 5
 - 2.1.1 血 球, ウィルス, 細 菌 5
 - 2.1.2 タ ン 白 質 7
 - 2.1.3 炭 水 化 物 9
 - 2.1.4 脂 質 11
 - 2.1.5 核 酸 11
 - 2.2 人 工 抗 原 12
 - 2.3 合 成 抗 原 15
 - 2.4 免 疫 原 性 の 分 子 上 の 基 盤 と 抗 原 特 異 性 18
 - 2.4.1 大 き さ 19
 - 2.4.2 組 成 19
 - 2.4.3 コ ン ホ メ ー シ ョ ン 20
 - 2.4.4 電 荷 22
 - 2.4.5 光 学 活 性 23
 - 2.4.6 物 理 的 な 形 態 23
 - 2.5 抗 原 決 定 基 の 大 き さ 24
 - 2.6 細 胞 学 的 考 察 24
 - 文 献 26
- 3 免 疫 グ ロ ブ リ ン と 抗 体 28
 - 3.1 免 疫 グ ロ ブ リ ン と 特 異 抗 体 の 単 離 と 精 製 28
 - 3.2 免 疫 グ ロ ブ リ ン と 抗 体 の 検 出 と 定 量 31
 - 3.3 免 疫 グ ロ ブ リ ン の 構 造 33
 - 3.3.1 4 本 の 鎖 から 成 る IgG の 基 本 構 造 33
 - 3.3.2 各 ク ラ ス の 免 疫 グ ロ ブ リ ン 37

3.3.3	アミノ酸配列の研究	42
3.3.4	抗体の結合部位	45
3.3.5	アロタイプとイディオタイプ	48
3.4	免疫グロブリンの生合成	52
3.4.1	細胞レベル	52
3.4.2	合成, 会合, 分泌	55
3.4.3	免疫グロブリン生合成の遺伝子によるコントロール	58
	文 献	61
4	抗体-抗原反応	65
4.1	沈降反応	65
4.2	凝集反応	67
4.3	抗体-抗原反応の動的機作	68
4.3.1	抗体の親和性	69
4.3.2	親和性計算のための式の変形	71
4.3.3	親和性の測定方法	75
4.4	抗体-抗原間の相互作用に關与する分子間の力	82
4.4.1	水素結合	82
4.4.2	無極性または疎水性相互作用	82
4.4.3	イオンまたはクーロンの力による相互作用	83
4.4.4	ファン・デル・ワールス力	83
4.4.5	立体因子または立体反発力	84
4.5	抗体親和性の生物学的な意義	84
	文 献	90
5	抗体の生物学的活性	93
5.1	補体結合	96
5.2	抗体のもつその他の生物学的活性	99
	文 献	102
訳 者 注		104
訳者あとがき		108
索 引		110

1

序 章

細菌やウイルスのような感染性の生物に接触した経験をもつ人が、同じ生物にいま一度感染したさいに、すでに免疫を獲得していることは以前から知られていた。このような感染性生物に対する免疫性は、抗体（これは γ -グロブリンで、感染性生物と反応して、これを排除するのを助ける）の産生と、体細胞が媒介する免疫機構の両者に依存している。免疫性の体液的な面と細胞的な面とが、たがいに依存しあうことは明らかではあるが、最近の実験免疫学者は、この2つのいずれかの分野に区別されている。免疫学をこの2つの分野に区分することは、目新しいことではない。実際に、Wright (1903) が、Metchnikoff (1883) によってそれまで述べられていた抗体 (Wright は “Opsonins” と言っている) が細胞の媒介する食菌作用を、助けていることを明らかにした仕事が始まりである。この Wright の仕事で、免疫に関する2つの仮説の間で妥協が行なわれた。研究の方向を2つに分かつことに、著者は決して味方するものではないが、免疫のうちでも体液的なものを、この本では主として取り上げるようにする。細胞的な面については、このシリーズの別の本で扱われるだろう。

抗体の研究の歴史は、1890年にまでさかのぼることができる。この年 Von Behring は、はじめてウマの抗毒素作用をもつ抗体で細菌毒素が中和されることを明らかにした。ちょうどこの頃、免疫化学の先駆者である Paul Ehrlich は毒素と抗毒素との沈降反応を定量

的に研究した最初の人物となった。偉大な物理化学者の Arrhenius は免疫沈降反応に興味を示して、はじめて“免疫化学”という言葉を使用した。1907年に出版された“免疫化学”と題する一連の講義のなかで、Arrhenius は次のように述べている。

“私はこの講義に‘免疫化学’という表題をつけましたが、これには動物の血液中に異物が注入されたときに作られる物質の示す化学反応が、免疫作用の本質であることを、この言葉で示したいと思ったからであり、この点についてお話ししたいと思います。そして次には、タンパク質や酵素と同じようにこの生成物が働きかける物質の化学的な性質について考えたいと思っております。”

この定義は現代の免疫化学に今もなお当てはまり、ただモダンな術語に言い換えられて、抗原と抗体の化学や、この両者の相互作用のメカニズムの研究にもちいられている。

今日われわれの抱いている概念は、抗原も抗体も均一な物質——血清さえも単一の“抗体”と見なしていた初期の免疫化学者達の概念より、幅広くなっている。今日、この先人たちの概念が事実とは遠く離れており、アルブミンのような単純で精製された抗原でさえも、いくつかの抗原決定基を有していることが知られている。化学構造のよく分かった合成抗原をもちいて、抗原性に必要な分子構造についてもある程度のことになってきた。よく知られているように、抗体は構造と機能に関しては、均一なものでなく、このことこそ免疫グロブリンの化学構造と合成について一層の研究を妨げてきた。ミエローマタンパク質——骨髄腫患者に見られる均質なタンパク質で単一の免疫グロブリンである——が発見されたことは、抗体の構造の研究に大いに役立った。しかしながらミエローマタンパク質が本当に典型的な抗体といえるかについては問題が残されてい

1. 序 章

る。免疫化学者が直面している免疫応答に関する問題の1つは、抗体が絶えず変る抗原の存在する環境に対して特異性をもつようなシステムを、遺伝的にコントロールしている本質を明らかにすることである。このような変化に対応できる能力が、生殖系列で伝えられる遺伝子群のうち、ある決まった数のものの、体細胞突然変異の結果にもとづくものなのか、生殖系列が広範囲の抗体の産生に必要な遺伝子を全部伝えているのか、いまだに説明がついていない。

ここ数年間に免疫化学の分野、特に抗体の構造・合成・機能に関するわれわれの知見や、さらに抗体の結合部位の位置・構造・構成に関する基礎的な研究に関しては、大いに見るべき進歩があったが、まだまだ多くのことが不明のままに残されている。

この全般的な背景こそこの本が書かれた理由である。そして、今日の免疫化学に関する多くの知見の概略を読者に知ってもらい、現在の研究が行なわれている方向についてもなにがしかをお伝えするのが、この本の目的である。

2

抗 原

“抗原”という言葉は、ふつう二通りにもちいられる。その1は、適当な動物に注入されたとき、体内を循環する抗体の産生を引き起こしたり、遅延型の過敏症^(註)のように細胞性反応を変化させる物質を指す場合である。その2は、抗体に応答する性質、すなわち抗原特異性を持つ物質を指す場合である。この2つの特性は必ずしも同じことを指すのではない。たとえばある物質は抗体と反応するが、自身に抗体形成を引き起こさせる能力はない。同様に、ある種の動物には免疫応答を生ぜしめる（応答群）が、他のものには応答を生ぜしめることができない（非応答群）物質がある。そこで免疫応答を誘導する能力によって物質を分別しようとする際には、免疫動物の免疫応答性も考慮に入れなければならない。今日では“免疫原性”という術語は、物質の抗原性といった面を指してもちいられている。すなわち、応答群では抗原となる物質は免疫原性があるが、非応答群では免疫原性がないことになる。そこで抗原性という術語は、物質の次の2つの性質を指している：(i)免疫応答を誘導する能力、すなわち免疫原性と(ii)抗原特異性。抗原分子表面のある限られた部分は、抗原決定基と名付けられており、免疫原性と、抗原特異性に関与している。こうした決定基は、立体構造をもっており、これと抗体の結合部位が反応する。そして抗原はこのような決定基をいくつか持っている。そしてこの決定基は必ずしも全部同一のものとは限らない。

2. 抗 原

創成期の免疫学では、細菌と血球は最もふつうに研究された抗原であった。次いで、細菌性毒素と動植物産生の水溶性のものが研究されるようになり、同時にこれら天然抗原の化学的な性質についてもある種の概念が得られた。これらのものは、ふつうタンパク質・リポタンパク質・糖タンパク質や多糖類として分類される。さらにごく最近では、抗原性物質の単離・精製・合成する上でのすぐれた化学的・生化学的な技術が、抗原の本質に関するわれわれの知見に大きな進歩をもたらした。

すべての抗原は次の3つのカテゴリーのいずれかに属すると考えられている^{1,2)}：A. 天然抗原，B. 人工抗原，C. 合成抗原（表2.1参照）。抗原のこの3つの大きなカテゴリーについて、それぞれの例をあげながら、簡単な考察を加えることにする。

表 2.1 抗原の分類

抗原の分類	起 原	例
天 然	植 物	粒状のもの：血球，細菌
	細 菌	ウイルス
人 工	動 物	可溶性のもの：トキソイド，タンパク質，炭水化物，糖タンパク質，リポタンパク質
	化学的に変えられた天然抗原	ヨード化タンパク質，タンパク質-ハプテン複合体（たとえばアゾ-，DNP-タンパク質）
合 成	化学的に合成された分子	ポリペプチド，ポリアミノ酸，多鎖アミノ酸コポリマー

2.1 天然抗原

2.1.1 血球，ウイルス，細菌

すでに述べたように、血球、細菌、ウイルスのように複雑な粒状

構造の天然抗原を使用して、免疫応答に関するわれわれの知見は大いに広げられた。実際にも、*in vitro* で抗体を産生する細胞が容易に検出できる Jerne の溶血プラークによる細胞検定法^{3,4)} のように、細胞レベルでの抗体産生の研究に、ヒツジの赤血球が今日もお変わりなくもちいられている。抗原としての赤血球の免疫化学は、今もお理論と応用の両面で、大きな研究対象を占めている。とくに応用面では、D型赤血球抗原（新生児に多い溶血症によく見られる抗原）⁵⁾ と、それに対応する抗体との反応機作の研究は、-D型（Rh マイナス）で、+D型細胞に敏感と思われる母親に、積極的に抗D抗体を移入することに応用され、この病気を抑えるのに大きく貢献している⁶⁾。

タバコ・モザイク病ウイルス（TMV）は、最初に同定され、結晶化されたウイルスであり、多価抗原としてもちいられた最初のウイルスである。抗体・抗原の相互反応が最初に電子顕微鏡下に認められたのも、この抗原をもちいてであった。このウイルスが特に免疫化学者の関心を引いたのは、これがRNAの核と、2,130本の同一のポリペプチド鎖（この鎖は158個のアミノ酸からなり、その配列はすでに分かっている）からなるタンパク質のコートから構成されているからである。

その細胞壁の化学構造が知られている場合には、細菌やウイルスを抗原として使用することは、今日でもなお興味深いものがある。たとえば、溶血性連鎖状球菌のグループAとCのうちの、immunodominant なグループについては詳細に知られているが（2.1.3参照）、これらの抗原をもちいて、抗体産生の遺伝子コントロールの本質に関する研究が行なわれている¹⁻³⁾。

2.1.2 タンパク質

抗原性を有することが明らかにされた最初の物質はタンパク質(表 2.2)であり、今日もなお広く抗原としてもちいられている。

表 2.2 抗原としてもちいられることの多いタンパク質

タンパク質	分子量(およその値)
TMV サブユニット・タンパク質	17,000
ミオグロビン	17,000
フラジリン	40,000 (これのポリマーも可)
卵アルブミン	44,000
ジフテリヤ毒素	65,000
血清アルブミン	69,000
トランスフェリン	90,000
グロブリン	170,000
カサガイのヘモシアニン	$2-7 \times 10^6$

タンパク質は非常に複雑な分子ではあるが、植物・動物・微生物から、高度に純粋な状態で容易に得られる。しかしながら、タンパク質の持つ多数の抗原決定基の本質については、ほとんど分かっていない。このような制約はあるが、タンパク質を抗原としてもちいた研究は、免疫応答に関するわれわれの知見を広げるのに大いに貢献してきた。いくつかのタンパク質を部分的に分解することで、抗原決定基のうちのあるものを明らかにしようとする試みが行われてきた。このような方法で、分子量がおよそ 7,000 のヒトの血清アルブミンから、もとのタンパク分子の抗原決定基のうちの一個を含んでいるペプチドのフラグメントが得られた^{5,6)}。タンパク質の構造に関する詳しい知識の不足が、抗原決定基を明らかにする問題のなお一層の研究の進展を妨げている。しかし、タンパク質の 1 つであるミオグロビンは、そのアミノ酸の配列と、コンホメーションが詳

しく知られているので、抗原決定基の性質を研究するのにもちいられている。このタンパク質は、残念なことにとくに良い免疫原とはいえないが、最低4個の抗原決定基を有している。このタンパク質全体とこれから生じたペプチド鎖の免疫化学的な研究は、この分子には2つのタイプの抗原決定基のあることを明らかにした⁷⁾。それは(i)“シーケンシャル”抗原決定基で、ランダムコイル状に連続しているアミノ酸配列から成っており、いま1つは(ii)“コンホメーションナル”抗原決定基で、その性質は立体的な高次構造に依存している。こうした事柄に関しては、2.4で詳しく述べるつもりである。

タンパク質抗原であるフラジリン——サルモネラのペン毛から抽出されるタンパク質——をもちいた免疫化学的な研究方法で、このものの抗原決定基の性質とその位置に関して、ある程度の手掛りが得られている。シアノゲンブロマイド(アミノ酸の1つであるメチオニンの含まれているペプチド結合を切断する)で、モノマー(分子量40,000)を分割すると4つのフラグメントになる。そのうちの1つだけにもとの分子全部の抗原決定基が見られる⁸⁾。こうした抗原決定基の本質をより詳しく明らかにするには、さらに一層の研究が必要である。タバコ・モザイク病ウイルスのサブユニット・タンパク質で、分子量17,000のものについて、同様の研究が行なわれてきた。この単位タンパク質のペプチド・フラグメントが、もとの全タンパク分子に感応する抗体に対して、どのような結合活性を示すかを調べることで、分子の抗原的に活性な場を決めることが試みられている。

酵素的に、あるいは化学的に作られたペプチドをもちいて、タンパク質の抗原決定基の研究が行なわれているが、これに加えて分子構造を化学的に変える方法ももちいられている。様々な化学的処理

2. 抗 原

が、変性・酸化・還元・消化・脱アミノ・エステル化・アシル化・ハロゲン化を含めて、タンパク質の抗原性にどのような影響をおよぼすかが研究された⁹⁾。このような処理を受けたタンパク質は、もとの分子に対する抗体に対して活性が減じた。しかしながらこうした結果をどのように解釈するかについては問題がある。それはこの結果が特別な部位が変化を受けたことによるものなのか、単なるコンホメーションの変化によるものか、答えるのが非常に困難だからである。

ながい間抗原としてタンパク質が広くもちいられてきたが、この高度に複雑な分子の抗原性に関しては、ほんの僅かの知見が得られたに過ぎず、免疫化学者にとっては挑戦すべき大きな分野として、いまだに残されている。単純なタンパク質や、天然に存在するペプチドも、抗原としての働きが調べられてきた。このなかにはインシュリン、グルカゴン、ガストリン、カルシトニン、ブラジキニン、アンギオテンシン、バソプレシン、副腎皮質刺激ホルモン、成長ホルモンなどが含まれている。一般に、これらのものはあまり良い免疫原ではないので、アジュヴァント¹⁰⁾で免疫性を高めるか、天然または合成のキャリアー分子に化学的に結合させて、抗体形成を誘導するように免疫原性を増強することが必要である。このように免疫原性が低いのは、ペプチドの分子量が小さいからである。ヒトの血清中のこうした物質のうちのいくつかを、ラジオイムノアッセイで定量することで、診療面に役立てている。しかし免疫原性が低いということは問題である。というのはこの測定法が十分に鋭敏であるためには、強力な（高い親和力の）抗体を必要とするからである。

2.1.3 炭水化物

ほとんどのタイプの細菌は、血清学的に活性な炭水化物を細胞壁

の表面に、あるいはその中にもっている。このような炭水化物は、細菌に対する抗体と反応する。この化合物自身には抗原性はなく、ハプテンとして振る舞う(2.2 参照)。また髄膜炎球菌のグループAとグループCの炭水化物、さらに肺炎球菌の多糖体の例のように、単離された炭水化物はヒトに対して免疫原性がある。他の炭水化物でデキストラン、細胞壁物質のレバン、テコイル酸なども、ヒトに対して免疫原性がある。炭水化物の場合、抗原決定基を繰返しもつ物質の免疫原性では分子量はとくに重要であるように思われる。この点に関しては、D-グルコースのポリマーであるデキストランで詳しく調べられている。そして分子量が 50,000 より小さいデキストランは、分子量 90,000 以上のものよりも、ヒトに対する免疫原性ははるかに弱い¹⁰⁾。肺炎球菌多糖体Ⅲ型の場合、分子量が 18,000 を超えると、ネズミに免疫応答が生じる¹¹⁾。連鎖球菌の莢膜炭水化物グループAとCは、抗原として詳しく研究されている。熱で殺され、ペプシンで消化されたグループAまたはグループCの細菌から作られたワクチンで、ウサギを免疫すると、それぞれのグループ特有の炭水化物に反応する抗体産生が見られる。グループAの炭水化物は、N-アセチルグルコサミン-ラムノースを単位に、これの繰返しでできており(17 分子の N-アセチルグルコサミンと 38 分子のラムノース)、分子量はおおよそ 10,000 である。そして N-アセチルグルコサミンは、immunodominant グループである。グループCの炭水化物は、N-アセチルガラクトサミンを immunodominant グループとして、N-アセチルガラクトサミン-ラムノース単位からできているよく似た構造をしている。この形成された抗体のもつ見事な特異性は次の事実から明らかである。A ワクチンに対する抗体で、N-アセチルグルコサミンが炭水化物 A の沈殿させるのを抑え

2. 抗 原

ること、一方 *N*-アセチルガラクトサミンにはその働かないことである。炭水化物Cでは、この逆が見られる¹²⁾。連鎖球菌と肺炎球菌の炭水化物によるグループ特異性は、免疫化学者の興味を引きつけている。それはこのような炭水化物に対して、ウサギの抗体は、他のふつうの抗体と違って不均一な分子であることが多いからである¹³⁾。このような抗体を研究することは、免疫グロブリンの構造と合成が、どのような遺伝的なコントロールを受けているかを明らかにするのに役立つものと考えられる。

2.1.4 脂質

純粋な脂質に免疫原性が異論なく認められたことはない。そして脂質に対する抗体を得るには、タンパク質、合成ポリペプチド、あるいは赤血球といったより大きな巨大分子構造と複合体を作らせなければならない。

2.1.5 核酸

この 20 年の間に、核酸は生化学者の関心を大いに集めてきた。そして全身性エリテマトーデス(SLE)¹⁴⁾の患者の血清中に核酸に対する抗体が見い出されたことで、この複合体に対する免疫化学者の関心が高まった。SLE は血清中に抗核・抗核酸抗体とともに、多くの免疫異常体が見られる病気である。抗 DNA 抗体と DNA の免疫複合体が、腎臓の糸状体に沈着しているのがよく見られる。核酸抗原に対する抗体は、メチル化されたウシの血清アルブミン、タンパク質、合成ポリアミノ酸のようなキャリアーに、実験的に核酸を導入することで、うまく作り出すことができる。核酸に対して免疫化学は大きな関心を寄せているが、その免疫原性の本質については、