

胎児性 Fc γ 受容体による細胞内トラフィックと免疫監視機構

はじめに

消化管の粘膜面における免疫グロブリンの役割は、これまで分泌型 IgA を中心に研究がなされてきた。しかし、生体内での粘膜分泌液中には IgA だけでなく、多量の IgG も存在している。実際に鼻汁中には 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ¹⁾、直腸液内には 800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ²⁾ と多量の IgG が存在していることが報告されている。二量体 IgA は polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) を介して、基底側から管腔側へ単方向性に分泌され、粘膜面での防御機構をもつことはよく知られているが、IgG がどのようにして管腔内に分泌されるのか、またその粘膜面における役割については明らかではない所が多い。

近年、母子間の IgG 輸送における責任分子として、neonatal Fc γ receptor for IgG (FcRn) が同定された。FcRn は MHC クラス I 関連分子³⁾で、糖鎖がついた重鎖をもつ α 鎖と、 β 鎖である β 2-ミクログロブリン (β 2m) により構成されている。その後、細胞モデルを用いた検討により、FcRn は管腔側から腸管上皮細胞をこえて基底膜側へ、また基底膜側から管腔側へと双方方向性に IgG を輸送することが明らかにされ、基底膜側から管腔側に IgA を単方向性に輸送する pIgR と比べて大きく異なる特徴をもっていることが明らかにされた。FcRn はこの IgG の双方方向性の輸送に加え、IgG を分解から守るという役割ももっている^{4,5)}。このため、IgG はその半減期が他の免疫グロブリンや血清タンパク質と比較して長い。

FcRn は pH 6.0 で IgG と結合し、pH 7.4 で解離するという pH 依存的な IgG との結合能をもち、主に細胞内のエンドソームで IgG と結合することで、リソソームにおける IgG の分解を抑制しているものと考えられている⁴⁾。FcRn は前述のように、母体から胎児・新生児へ IgG を輸送する責任分子⁶⁾であり、げっ歯類では、FcRn は乳児期の小腸上皮細胞に強い発現が認められるが、授乳の終了とともにその発現は低下するため、胎児・乳児期に作用する分子と考えられていた。しかしながらその後の検討にて、げっ歯類だけでなく、ヒトやその他多くの哺乳類においても、FcRn は多くの臓器で授乳終了後も発現していることが明らかになり、FcRn が終生においてその役割を果たし

ていることが示唆されるようになった^{7,8)}。FcRn が IgG を双方方向に輸送することに加え、終生ヒト腸管上皮細胞に発現していることが明らかにされ、またヒト分泌液中にも多量の IgG が存在することから、FcRn が IgG を介して生体の免疫機構に影響を与えている可能性が示唆されている。すなわち FcRn は、母親由来の IgG を胎児・新生児に輸送することで新生児期の生体防御に関わっているだけでなく、IgG を管腔内へ分泌することで、成人後も免疫を監視している可能性がある。本稿では、筆者らのグループが行ってきた FcRn と IgG との相互作用、および免疫制御機構に関して概説する。

1. IgG は FcRn と pH 依存的に結合し、FcRn により上皮細胞内を双方方向性に輸送される。

まず、ヒト FcRn の機能を解析するために、イヌ腎がん由来細胞株である MDCK 細胞にヒト β 2m とヒト FcRn の α 鎖をトランスフェクトした h β 2m/hFcRn-MDCK 細胞を作成した。 β 2m は FcRn の成熟に不可欠であり、これを共発現させない場合には、FcRn が十分に機能しないことが判明している。内因性のヒト FcRn を発現している T84、Caco-2 細胞をポジティブコントロールとして、また、空ベクターをいれた MDCK 細胞をネガティブコントロールとして実験を行った。ヒト IgG とともに pH 6.0、あるいは pH 8.0 とした培養液を用いてそれぞれの細胞を培養し、プロテイン G セファロースで免疫沈降した後に、FcRn、あるいは β 2m について免疫プロットを行った。pH 6.0 においては、FcRn と β 2m 共に IgG との結合が確認されたが、pH 8.0 においてはそれらの結合は確認されなかった (図 1. A)。しかし、すべての細胞可溶成分を免疫プロットすると、FcRn は pH に関係なく発現が確認された (図 1. B)。以上より、FcRn は pH 依存的に IgG と結合することが示された。次に、FcRn を介した輸送メカニズムを検討するために、トランスウェルを用いて上記のヒト β 2m/ヒト FcRn-MDCK 細胞と、空ベクターをトランスフェクトした mock MDCK 細胞を比較した。インプット側を pH 6.0 に、アウトプット側を pH 7.0 に調整したところ、IgG は FcRn の存在下で、頂端側から基底側へ、そして、基底側から頂端側へ双方方向性に輸送され、その輸送はウサギ IgG の濃度依存的に阻害された (図 1. C)。これにより、IgG は FcRn と pH 依存的に結合し、FcRn により上皮細胞内を双方方向性に輸送されることが示唆された。

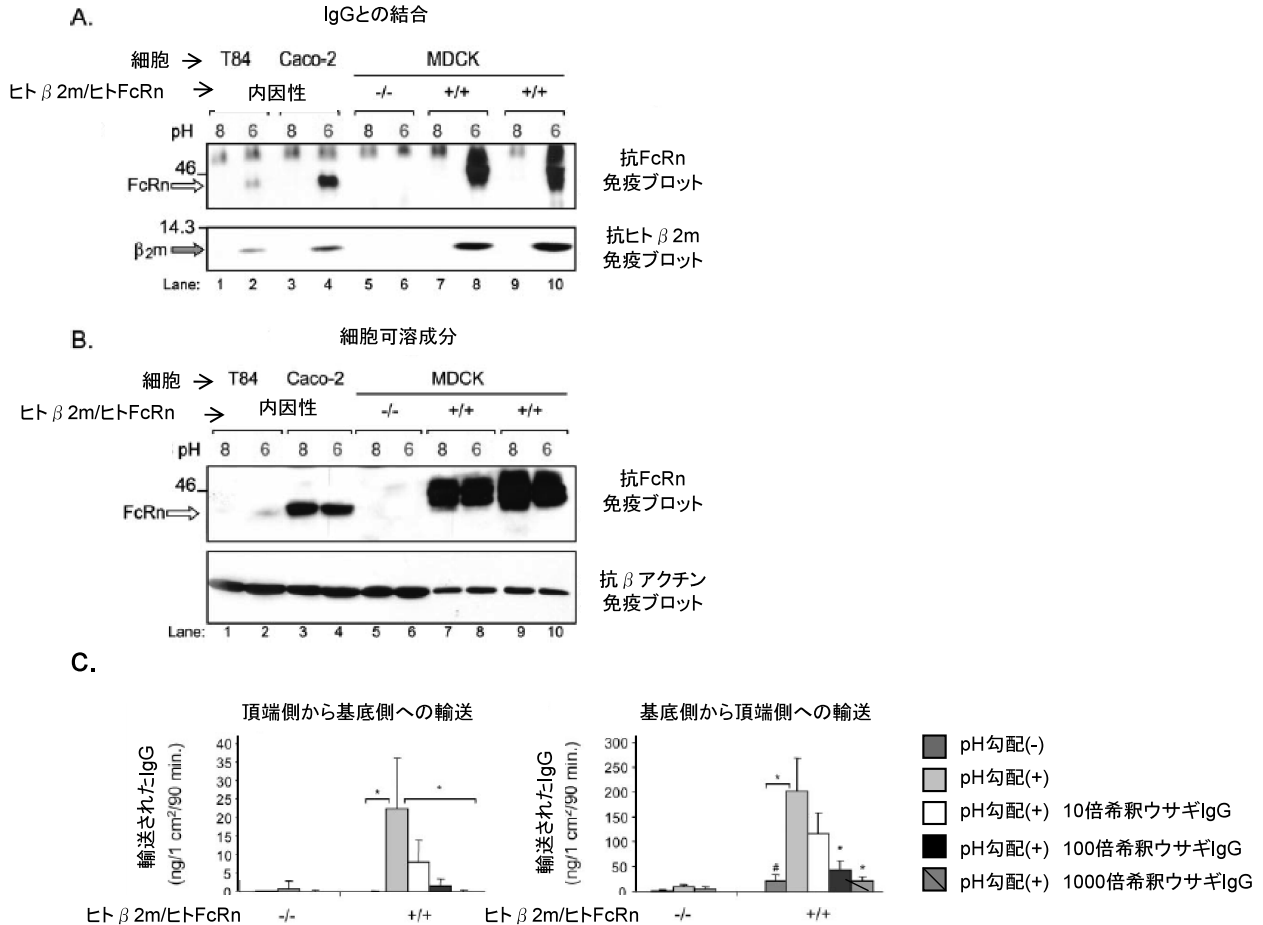


図1 IgGはFcRnとpH依存的に結合し、FcRnにより上皮細胞内を双方向性に輸送される。

A T84細胞、Caco2細胞、コントロールのMDCK細胞、あるいはヒトFcRnを発現させたMDCK細胞をそれぞれ、ヒトIgGとともにpH6.0あるいはpH8.0に調整した培養液でそれぞれの細胞を培養し、プロテインGセファロースで免疫沈降してFcRnあるいは、β2mにて免疫プロットを行った。pH6.0においては、FcRnとβ2m共にIgGとの結合が確認されたが、pH8.0においてはその結合は確認されなかった。

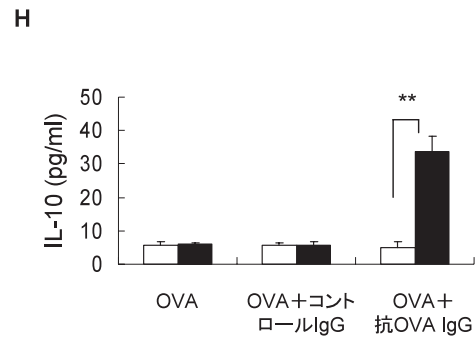
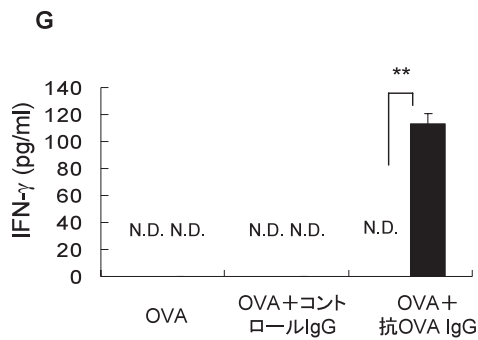
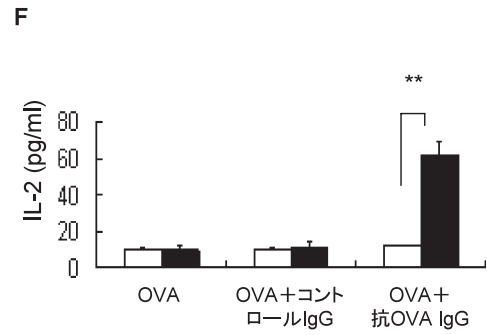
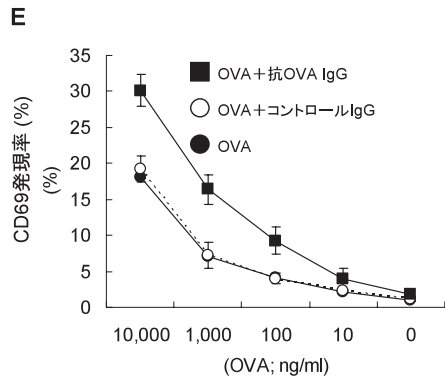
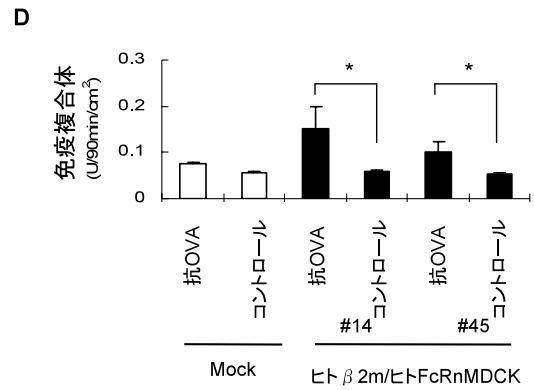
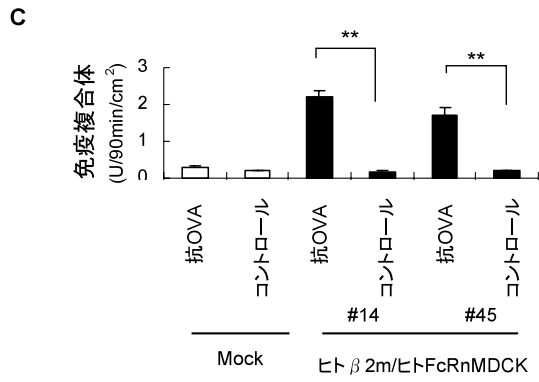
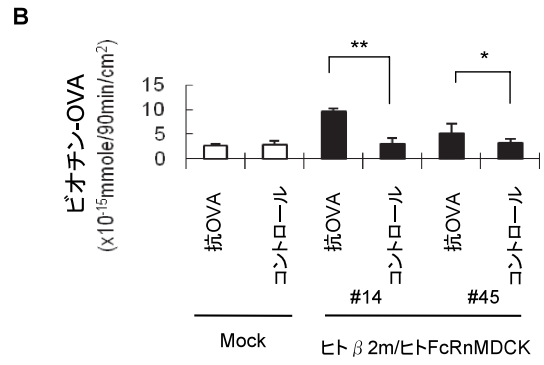
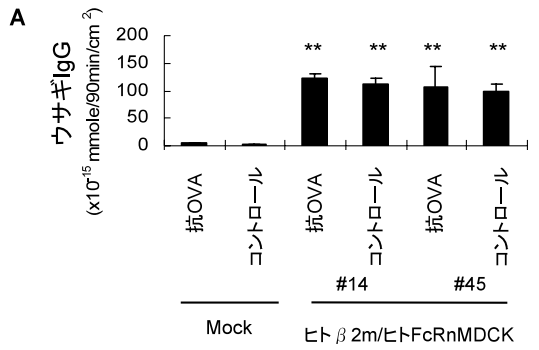
B それぞれの細胞において、すべての細胞可溶成分を免疫プロットすると、FcRnはpHに関係なく検出された。

C トランスウェルシステムを用いて、インプット側をpH6.0に、アウトプット側をpH7.4にしたところ、IgGはFcRnの存在下で、頂端側から基底側へ、そして基底側から頂端側へ双方向性に輸送され、その輸送はウサギIgGの濃度依存的に阻害された。

2. 上皮細胞に発現するFcRnは抗原-IgG複合体を輸送し、抗原特異的T細胞を活性化する。

FcRnが免疫複合体を輸送するかどうかについて検討した。まず、ニワトリ卵白アルブミン(chicken-ovalbumin; OVA)をビオチン化したビオチンOVA(B-OVA)を作製し、これと特異的に結合するウサギ抗OVA IgG、またはウサギコントロールIgGと共培養することで、免疫複合体ならびにそのコントロールを作製した。上記のトランス

ウェルシステムを用いて、B-OVA+ウサギ抗OVA IgG免疫複合体、またはB-OVA+ウサギコントロールIgGをそれぞれ頂端側に加えて90分間培養し、基底側から培養液を回収することで、IgG、B-OVAならびに免疫複合体が輸送されるかどうかを検討した。その結果、ウサギ抗OVA IgGならびにコントロールIgGはヒトIgGと同様にFcRn依存的に輸送された。またB-OVA+ウサギ抗OVA IgG免疫複合体群では、B-OVA+ウサギコントロールIgG群と比較して、より多量のB-OVAが輸送された(図2.A,



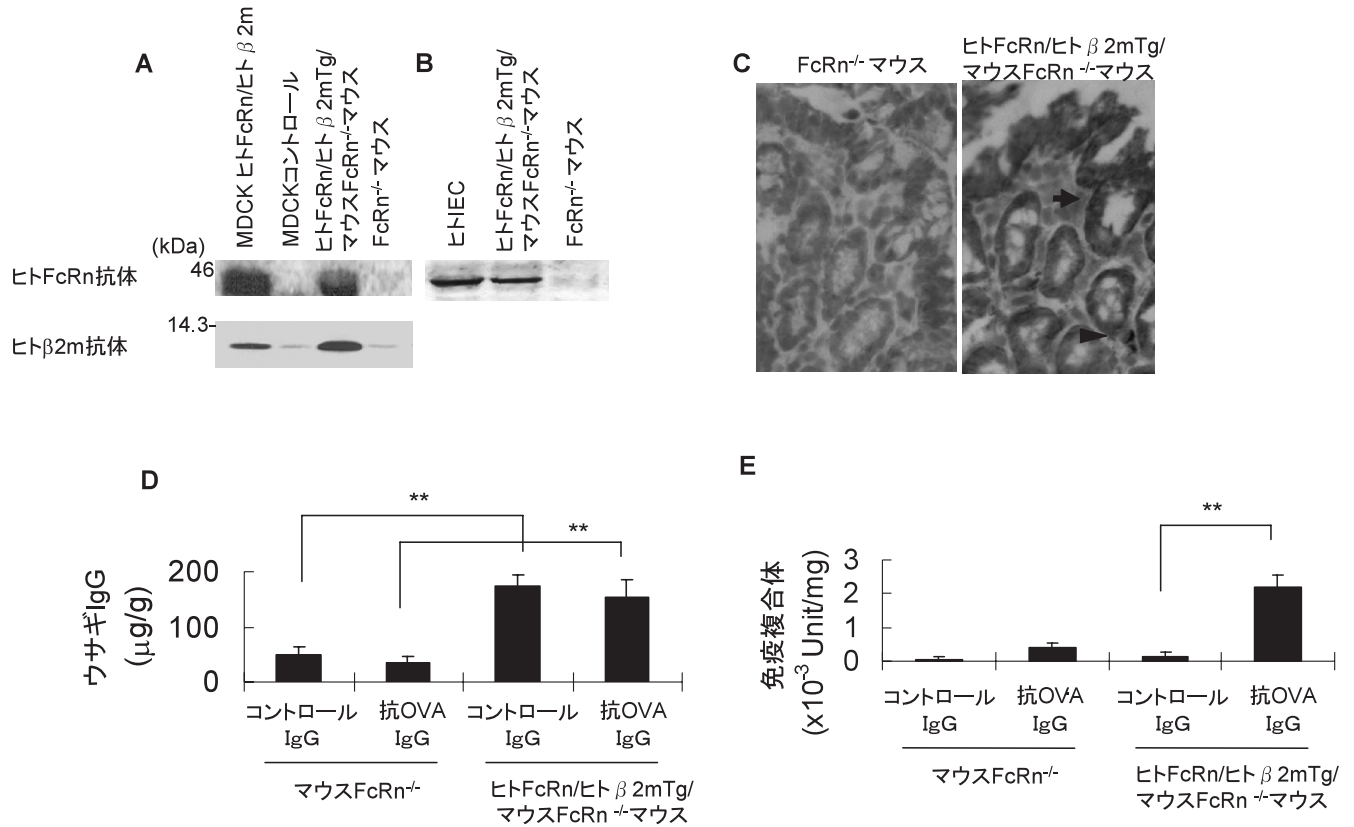


図3 生体内において免疫複合体はhFcRnによって粘膜下に輸送される。

A, B ヒトFcRn抗体, ヒトβ2m抗体を用いた免疫プロットを行った。ヒトFcRn過剰発現マウスは、ヒト腸管上皮細胞レベルでヒトFcRnを発現していた。
 C 矢印はヒトFcRnの上皮細胞における発現を、矢頭は粘膜固有層に存在する単核球に発現するヒトFcRnを示している。FcRn^{-/-}マウスでは、これらの発現が認められなかった。
 D, E FcRn^{-/-}マウスとヒトFcRn/β2mTg/マウスFcRn^{-/-}マウスにウサギコントロールIgG,あるいはウサギ抗OVA IgGを経静脈的に投与し、その6時間後に経口でビオチンOVAを投与、そして、その30分後に小腸液を回収し、ウサギIgG,あるいはIgG-OVA免疫複合体量を測定した。ヒトFcRn/β2mTg/マウスFcRn^{-/-}マウスでウサギIgGは輸送され、抗原特異的IgGの存在下で小腸液中の免疫複合体が同定された。

図2 上皮細胞に発現するFcRnは抗原-IgG複合体を輸送し、抗原特異的T細胞を活性化する。

A-D mock-MDCK細胞,またはヒトFcRn-MDCK細胞をトランスウェル上で培養し、免疫複合体を形成するビオチンOVA+ウサギ抗OVA IgG,または形成しないビオチンOVA+ウサギコントロールIgGを管腔側に加えた。90分後に対側のウェルより培養液を回収し、輸送されたウサギIgG量とビオチンOVA量を測定した。ビオチンOVAは免疫複合体を形成する群で多く輸送されていた(A, B)。また、免疫複合体もFcRnにより輸送されることが確認された(C;頂端側→基底側, D;基底側→頂端側)。
 E-H OVA特異的CD4陽性T細胞を様々な濃度のOVAとコントロールIgG,あるいは抗OVA IgGを加え、60時間後にCD69量を測定した。抗OVA-IgGの存在下では、効率よくT細胞の活性化が引き起こされた(E)。mock-MDCK細胞,あるいはヒトβ2m/ヒトFcRnMDCK細胞を培養したトランスウェルの頂端側にビオチンOVA+ウサギ抗OVA IgG,またはビオチンOVA+コントロールIgGを加え、90分後に基底側からの培養液をそれぞれ回収した。抗原提示細胞ならびにナイーブなCD4陽性OVA特異的T細胞と48時間共培養することで、OVA特異的T細胞が活性化されるかどうかを検討した。ヒトβ2m/ヒトFcRnMDCK細胞群でビオチンOVA+ウサギ抗OVA IgGを管腔側に加えた群でのみ、IL-2, IFN-γならびにIL-10の産生増強が認められた(F, G, H)。

B). B-OVA+ウサギ抗OVA IgGまたはB-OVA+ウサギコントロールIgGをそれぞれ頂端側, 基底側に加えて90分間培養し, 対側から培養液を回収して免疫複合体を測定したところ, 免疫複合体もFcRnにより輸送されることが確認された(図2. C, D).

次に, OVA特異的CD4陽性T細胞をDO11.10マウスより精製し, 様々な濃度のOVAとコントロールIgG, あるいは, 抗OVA IgGを加えて, 60時間後にT細胞活性化マーカーであるCD69の発現量を測定した. コントロールあるいは, OVAのみを加えた時に比べて, 抗OVA IgGの存在下では, 効率よくT細胞の活性化が引き起こされた(図2. E). 次に, mock MDCK細胞, あるいはヒト $\beta 2m$ /ヒトFcRn-MDCK細胞を培養したトランスウェルの頂端側にB-OVA+ウサギ抗OVA IgGを, またはB-OVA+コントロールIgGを加え, 90分後に基底側から培養液をそれぞれ回収した. 輸送されたB-OVAの濃度を調整した後, その培養液を用いて, 抗原提示細胞ならびにナイーブなCD4陽性OVA特異的T細胞を48時間共培養することで, OVA特異的T細胞が活性化されるかどうかを検討した. ヒト $\beta 2m$ /ヒトFcRn-MDCK細胞群でB-OVA+ウサギ抗OVA IgGを管腔側に加えた群でのみ, IL-2, IFN- γ , ならびにIL-10の産生増強が認められた(図2. F, G, H). これにより, FcRnが抗原-IgG複合体を輸送し, 輸送された免疫複合体が効率よく抗原提示細胞に取り込まれ, OVA特異的CD4陽性T細胞を活性化している可能性が示唆された.

3. 生体内においても免疫複合体はhFcRnによって粘膜下に輸送され抗原特異的T細胞を活性化する.

生体内で, ヒトFcRnがIgGの基底側から管腔側への分泌に関与しているかどうかを検討した. マウスではヒトと異なり, 腸管上皮細胞におけるFcRnの発現が授乳後に低下するため, ヒト内因性のFcRnプロモーターを用いたヒトFcRnトランスジェニックマウス(Tg)とヒト $\beta 2m$ を発現したトランスジェニックマウスを交配し, ヒトFcRn・ヒト $\beta 2m$ 過剰発現マウス(ヒトFcRn/ $\beta 2m$ Tg)を作製した. さらに, マウスFcRnの影響をなくすためFcRn^{-/-}マウスと交配し, ヒトFcRn/ $\beta 2m$ Tg/マウスFcRn^{-/-}マウスを作製した. ヒトFcRn/ $\beta 2m$ Tg/マウスFcRn^{-/-}マウスの腸管上皮細胞は, ヒト腸管上皮細胞と同程度のヒトFcRnとヒト $\beta 2m$ の発現を認めたが, FcRn^{-/-}マウスではその発現を認めなかった. また, 免疫組織学的検討では, ヒトFcRn/ $\beta 2m$ Tg/マウスFcRn^{-/-}マウスの腸管上皮細胞で小腸・大

腸ともにヒトFcRnの高発現が認められたことより, 8週齢の離乳後でさえもヒトFcRn/ $\beta 2m$ Tg/マウスFcRn^{-/-}マウスは有意なレベルでヒトFcRnを発現していることが明らかとなった(図3. A-C). FcRn^{-/-}マウスとヒトFcRn/ $\beta 2m$ Tg/マウスFcRn^{-/-}マウスにウサギコントロールIgG, あるいはウサギ抗OVA IgGを経静脈的に投与し, その6時間後に経口でB-OVAを投与, そしてその30分後に小腸液を回収し, ウサギIgG, あるいは, IgG-OVA免疫複合体量を測定した. ヒトFcRn/ $\beta 2m$ Tg/マウスFcRn^{-/-}マウスではウサギIgGは輸送され, 抗原特異的IgGの存在下で小腸液中において免疫複合体が確認された(図3. D, E).

さらに, 管腔内で形成された免疫複体の動きを追跡するため, フルオレセインイソチオシアネート(fluorescein isothiocyanate; FITC)と結合したOVAにウサギIgG, またはウサギ抗OVA IgGをそれぞれ加えて反応させ, ヒトFcRn/ $\beta 2m$ Tg/マウスFcRn^{-/-}マウス, あるいはFcRn^{-/-}マウスに経口投与した. 投与1時間および2時間後にそれぞれのグループから中部小腸組織を採取し, 蛍光顕微鏡にて観察した. 1時間後にはヒトFcRn/ $\beta 2m$ Tg/マウスFcRn^{-/-}マウスの小腸上皮細胞で強いFITCシグナルが検出され, 2時間後には粘膜固有層の細胞にFITCシグナルが検出された. FcRn^{-/-}マウスおよびコントロールIgGとFITC-OVAを投与したものでは, 上皮細胞や粘膜固有層にFITCシグナルは検出されなかった(図4. A-D).

次に, 血中に存在する抗原特異的IgGが, FcRn依存的に管腔内抗原を取り込み, 粘膜関連リンパ組織内CD4陽性T細胞を活性化するか否かを検討した. まず, OVA特異的T細胞レセプター過剰発現マウスを*Rag1*遺伝子欠損マウス(T・B細胞が成熟しないマウス)と交配することで, T細胞にOVA特異的T細胞レセプターのみを発現するマウスを作製した. その脾細胞よりCD4陽性T細胞を調製し, カルボキシフルオレセインジアセテート(carboxy-fluorescein succinimidyl ester; CFSE)で標識した後, FcRn^{-/-}マウス, およびヒトFcRn/ $\beta 2m$ Tg/マウスFcRn^{-/-}マウスに移入した(第1日目). 24時間後にウサギ抗OVA IgG, またはコントロールIgGを静脈内投与し(第2日目), 続いて少量のOVA(0.5 mg/マウス)を経口投与した(第3日目). 第5日目に腸管膜リンパ節を取り出し, OVA特異的CD4陽性T細胞が活性化しているかどうかを検討した. その結果, ヒトFcRn/ $\beta 2m$ Tg/マウスFcRn^{-/-}マウスで抗原特異的IgGの存在下でのみ, OVA特異的CD4陽性T細胞が細胞分裂を起こし, CD69の発現

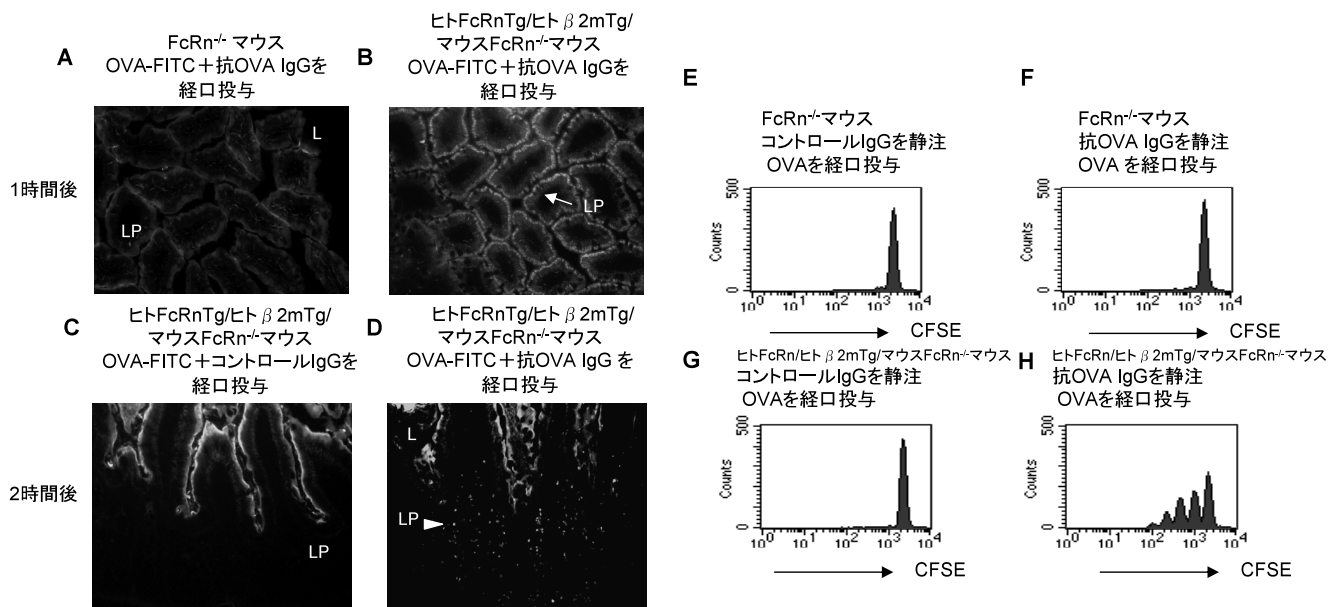


図4 生体内において、hFcRnによって粘膜下に輸送された免疫複合体は、抗原特異的T細胞を活性化する。

A-D FITCと結合したOVAにウサギコントロールIgG, またはウサギ抗OVA IgGをそれぞれ加えて反応させ、ヒトFcRn/β2mTg/マウスFcRn^{-/-}マウス, あるいはFcRn^{-/-}マウスに経口投与した。投与1時間および2時間後にそれぞれのグループから中部小腸組織を採取し、蛍光顕微鏡にて観察した。1時間後にはヒトFcRn/β2mTg/マウスFcRn^{-/-}マウスの小腸上皮細胞で強いFITCシグナルが検出され、2時間後には粘膜固有層の細胞にFITCシグナルが検出された。FcRn^{-/-}マウスおよびコントロールIgGとFITC-OVAを投与したものでは、上皮細胞や粘膜固有層にFITCシグナルは検出されなかった。

E-H OVA特異的CD4陽性T細胞を調整し、CFSEで標識した後、FcRn^{-/-}マウスおよびヒトFcRn/β2mTg/マウスFcRn^{-/-}マウスに移入した。その24時間後にウサギ抗OVA IgG, またはコントロールIgGを静脈内投与し、その翌日に少量のOVA (0.5 mg/マウス)を経口投与した。さらに2日後に腸間膜リンパ節を取り出し、OVA特異的CD4陽性T細胞が活性化しているかどうかを検討した。その結果、ヒトFcRn/β2mTg/マウスFcRn^{-/-}マウスで抗原特異的IgGの存在下でのみ、OVA特異的CD4陽性T細胞が細胞分裂を起こし、CD69の発現上昇を認めた。

上昇を認めた(図4. E-H)。これらの結果より、血中に存在する抗原特異的IgGはFcRnによって分泌され、管腔内または上皮細胞内で形成された免疫複合体は、FcRnにより粘膜下に輸送され、粘膜関連リンパ組織内のCD4陽性T細胞を分裂、活性化させることが示唆された。

おわりに

細胞および個体レベルにおけるIgGおよびFcRnの役割に関して、筆者のグループが行ってきた研究に関して概説した。今後のFcRnによるIgG制御機構の解明がより効率的な抗体療法等新規治療の開発に寄与することが期待される。

- 1) Hanson, L.A. & Brandzaeg, P. (1980) The mucosal defense system. In *Immunologic Disorders in Infants and Children* (Stiehm, E.R. & Fulginity, C.A. eds.), pp. 137-164, W.B. Saunders, Philadelphia.
- 2) Kozlowski, P.A., Cu-Uvin, S., Neutra, M.R., & Flanigan, T.P.

(1997) *Infect. Immun.*, 65, 1387-1394.

- 3) Simister, N.E. & Mostov, K.E. (1989) *Nature*, 337, 184-187.
- 4) Yoshida, M., Claypool, S.M., Wagner, J.S., Mizoguchi, E., Mizoguchi, A., Roopenian, D.C., Lencer, W.I., & Blumberg, R.S. (2004) *Immunity*, 20, 769-783.
- 5) Claypool, S.M., Dickinson, B.L., Wagner, J.S., Johansen, F.E., Venu, N., Borawski, J.A., Lencer, W.I., & Blumberg, R.S. (2004) *Mol. Biol. Cell*, 15, 1746-1759.
- 6) Abrahamson, D.R. & Rodewald, R. (1981) *J. Cell. Biol.*, 91, 270-280.
- 7) Blumberg, R.S., Koss, T., Story, C.M., Barisani, D., Polischunk, J., Lipin, A., Pablo, L., Green, R., & Simister, N.E. (1995) *J. Clin. Invest.*, 95, 2397-2402.
- 8) Spiekermann, G.M., Finn, P.W., Ward, E.S., Dumont, J., Dickinson, B.L., Blumberg, R.S., & Lencer, W.I. (2002) *J. Exp. Med.*, 196, 303-310.

吉田 優¹⁾, 増田 充弘¹⁾²⁾, 藤島 佳未¹⁾, 西海 信¹⁾,
水野 成人²⁾, 久津見 弘¹⁾, 井口 秀人¹⁾, 東 健¹⁾

(¹ 神戸大学大学院医学研究科内科学講座

消化器内科学分野,

² 神戸薬科大学医療薬学研究室)

The intracellular traffic and the immune surveillance by neonatal Fcγ receptor for IgG

Masaru Yoshida¹⁾, Atsuhiko Masuda¹⁾²⁾, Yoshimi Fujishima¹⁾, Shin Nishiumi¹⁾, Shigeto Mizuno²⁾, Hiromu Kutsumi¹⁾, Hideto Inokuchi¹⁾, and Takeshi Azuma¹⁾ (Division of Digestive Diseases, Kobe University Graduate School of Medicine, 7-5-1 Kusunoki, Chuo, Kobe 650-0017, Japan, ²Department of Medical Pharmaceutics, Kobe Pharmaceutical University, 4-19-1 Motoyamakitamachi, Higashinada, Kobe 658-8558, Japan)

アサリ貝リゾチームの構造と機能

1. はじめに

リゾチーム (EC 3.2.1.17) は、グラム陽性菌の細胞壁の主要構成成分である NAG (*N*-acetyl glucosamine) と NAM (*N*-acetyl muramic acid) の間の β-1,4-グリコシド結合を切断する溶菌酵素である。細菌の感染を防ぐための第一の防波堤であり、ヒトにおいては、涙腺、唾液、汗などに常に含まれており、細菌感染時にはマクロファージ、好中球、好塩球などの免疫細胞から分泌され、細菌の感染を防ぐ。リゾチームは、ヒトを初めとするほ乳類、鳥類、は虫類、真菌、原核生物、ファージ、植物など様々な生物に存在し、様々な動物において抗菌酵素として働いている。また、リゾチームは細菌にも存在し、細胞壁の代謝に関わっているのではないかと考えられている。リゾチームは一次配列上のホモロジーから、いくつかの型に分類されており、現在、6種類の型 (ニワトリ型 (c-type), ファージ型, バクテリア型, ゲース型, 植物型, そして無脊椎動物型) が構築されている。五つの型, すなわちニワトリ型¹⁾, ファージ型²⁾, バクテリア型³⁾, ゲース型⁴⁾そして植物型⁵⁾に関しては、ひとつ又はそれ以上のリゾチームの立体構造が解析されている。ニワトリ卵白リゾチームの立体構造は、酵素タンパク質としては世界で初めて、1965年に Phillipsらの手によって、明らかにされた¹⁾。これまで解析された

リゾチームは、活性部位周辺の立体構造および一次配列上の保存性が高く⁶⁾、「新規のリゾチームが単離されても、そのアミノ酸配列を解析すれば、そのタンパク質の立体構造を高い信頼性で予想することができるであろう」と考えられていた。

Jollès らによって 1975 年に無脊椎動物であるヒトデから溶菌活性を指標として単離されたりゾチームは、一次配列がこれまでに単離されていたリゾチームのいずれとも配列相同性がなかった⁷⁾。その後、種々の無脊椎動物からリゾチームが単離され、それらの配列がヒトデから得られたリゾチームと高い配列相同性を持っていたことから、2002 年に無脊椎動物型 (invertebrate-type, i-type) リゾチームというファミリーが新たに構築された⁸⁾。以前、我々の研究室においてアサリ貝 (*Tapes japonica*) から溶菌活性に基づいて単離し、一次構造を決定したアサリ貝リゾチーム (以下、*Tapes japonica* lysozyme, 以下 TJL と略す) はこの無脊椎動物型リゾチームファミリーに属している⁹⁾。TJL は 90℃ という高温条件下でも活性を保持する非常に安定な酵素であり、分子量約 14 kDa の塩基性タンパク質で、123 個のアミノ酸から構成されている。

筆者らは、最近、TJL と基質類似体 NAG の三量体 ((NAG)₃) との複合体の立体構造を X 線結晶構造解析により 1.6 Å 分解能で決定し、世界で初めて無脊椎動物型リゾチームの構造を明らかにした¹⁰⁾。

2. アサリ貝リゾチームの立体構造

今回解かれた TJL の立体構造は 6 本のヘリックスと 1 組の β シートから構成される α/β 型のタンパク質であった (図 1-A)。また、TJL の中には無脊椎動物型リゾチームの間でも高く保存されている 14 個の Cys があり、これらは全て S-S 結合を形成していた。TJL は熱安定性が非常に高く、わずか 14 kDa の酵素の中に 7 本の S-S 結合が存在することが、その安定性の高さの要因であると考えられる。

また、そのアミノ酸配列は保存されていないにもかかわらず、活性部位近傍における二次構造の立体構造上の配置はこれまでに同定されてきた他の型のリゾチームと非常に高い類似性を持っていた (図 1-B)。ニワトリ卵白リゾチーム (HEL) と TJL との構造の比較から、HEL の活性触媒基である Glu35 と基質 (NAG)₃ の位置関係は、TJL の Glu18 と (NAG)₃ の立体位置関係と同じであった。一方で TJL の Glu18, Asp30 は無脊椎動物型リゾチーム間での保存性が高く (図 1-C)、また、Glu18, Asp30 のアラニン変