原索動物ホヤ類の生体防御機構

安 住 薫, 横 沢 英 良*

1. はじめに

原索動物ホヤ類は、沿岸から深海底、さらに赤道から極にいたる世界中の海に生息しており、約1500種が知られている。受精後の一時期に背骨に似た脊索を持ち、オタマジャクシ形の幼生として水中を遊泳し、海底や岩などに固着後、変態する。尾部にあった脊索は消失して、岩礁や軽石に付着したまま、海水中のプランクトンなどをこし取る濾過食者として生息する。ホヤ類はその生活形態から、単独で生活する単体ボヤ(体長、1~15cm)と小型の個虫(3~10mm)が多数集合する群体ボヤとに分けられるが、体のしくみは基本的には同じである。

図1に、ホヤ類の体のしくみを示した¹⁾。体の中に矢印で示した海水の通路があり、エラでへだてられた内部には消化管などの臓器が存在し、それらの臓器の周りに体液が充満している。体液と臓器を包んでいるのが筋肉で、その外側を被囊とよばれる堅い皮の様なものが覆っている。ホヤ類は、系統発生的には脊椎動物に最も近いが、血球細胞の分化の度合いや補体、抗体を持たない点で、最も下等な脊椎動物である円口類とは大きな隔たりがある。したがって、ホヤ類の生体防御のしくみは、基本的には他の無脊椎動物で見いだされているように、赤血球凝集素(レクチン)や抗菌性物質などの体液性因子の作用、ならびに血球細胞による摂食作用や被包化作用が中心になっていると考えられる。これらの反応は非特異的で二次応答も認められないという意味で、明らかに脊椎動物の獲得免疫とは異なっている。

ホヤ類の多くの種において、赤血球凝集素あるいは抗菌性物質の存在や、免疫現象として想定される細胞応答などが報告されている。しかし、1つの個体でのいろいろな防御因子の間の相互作用の解析から、その個体における生体防御機構の全体像を考察

する研究は未だになされていない。そこで筆者らは、単体ボヤの中でも1個体が大きくて生化学的研究に適し、かつ東北地方で養殖されているので入手も容易なマボヤ(*Halocynthia roretzi*)を取り上げ、マボヤの生体防御機構をいろいろな角度から解析し、それらの結果をもとにマボヤにおける防御システムの全体像を考察するという大きな目標を掲げて研究に着手した。

本稿では、前半部で、マボヤも含めてホヤ類ですでに報告されている体液性および細胞性因子を紹介し、後半部で、マボヤの生体防御機構において特に血球細胞がどのような役割を担っているのかについて考察してみたい。

2. 体液性因子が関与する生体防御機構

1) 抗菌性物質 イリノイ大学の Rinehart らは、1974年にカリフォルニア半島沿岸で約860種、1978年にはカリブ海で約460種の海洋生物をアルファ・ヘリックス(Alpha Helix)号で採集し、それらからの抽出物について、抗菌活性、抗ウイルス活性、細胞毒性を指標にした大規模なスクリーニングを船上にて行なった。ホヤ類については、27種中68%に抗菌作用が、26種中23%にヘルペス(herpes simplex)ウイルスに対する抗ウイルス作用が、27種中70%にサル腎臓細胞に対する細胞毒性が1978年の調査で見いだされている²⁾。それらの中で、群体ボヤの1種 *Trididemnum* sp. から単離された、低分子の環状ペプチド様構造を有するダイデムニン(Didemnin) A~C は、種々のDNAおよびRNA ウイルスの増殖を低濃度で抑制した。さらに、マウスのL1210白血球細胞に対する顕著な細胞毒性作用や、マウスのP388白血球およびB16メラノーマに対する抗腫瘍活性を示すことが見いだされ^{3), 4)}、現在臨床面への

*Kaoru AZUMI & Hideyoshi YOKOSAWA, 北海道大学薬学部薬品生物化学講座(〒060 札幌市北区北12条西6丁目)

表1 ホヤ類で見いだされている抗菌性物質

Species	Compound
<i>Aplidium californicum</i>	Prenylhydroquinone (T)*
<i>Aplidium cavernosa</i>	Geranylhydroquinone (T)
<i>Aplidium</i> sp.	Aplidiasphingosine (T, M)
<i>Dendrodoa grossularia</i>	Dendrodoine (T)
<i>Didemnum ternatanum</i>	N, N'-diphenethylurea (T)
<i>Didemnum</i> sp.	3,5-Diiodo-4-methoxyphenethylamine (T, M)
<i>Eudistoma glaucus</i>	Eudistomidin A (Cm)
<i>Eudistoma olivaceum</i>	Eudistomin A-Q (V, Ca)
<i>Lissoclinum patella</i>	Ulithiacyclamide (T)
	Patellamide A-C (T)
	Ulicyclamide (T)
<i>Polyandrocarpa</i> sp.	Polyandrocarpidine I, II (M)
<i>Trididemnum</i> sp.	Didemnin A-C (V, T)
Unidentified sp.	Ascidiacyclamide (V)

*V, antiviral; T, antitumor; M, antimicrobial;
Cm, calmodulin antagonist; Ca, calcium release.

図1 ホヤの体のしくみ

応用が試みられている。また、同じく群体ボヤである *Eudistoma olivaceum* からβカルボリン骨格を持つユーディストミン (Eudistomin) A～Q が単離され、強い抗ウイルス作用を持つことが報告されている^{5), 6)}。上記以外にもいくつかの群体ボヤから、種々の構造を持つ化合物が抗菌作用および腫瘍細胞に対する細胞毒性作用を示す物質として単離されている²⁾ (表1)。しかし、体腔も含めて臓器の区別をすることが難しい群体ボヤで、群体まるごとからの抽出物を用いてスクリーニングが行なわれているため、報告されているそれら抗菌性物質がホヤのどの部位に由来するのかは現在のところ明らかではない。

マボヤを含む単体ボヤでの抗菌性物質の報告はこれまでになされていなかったが、マボヤの生体防御機構を考える上で、抗菌性物質が存在するとすれば、体内に侵入してきた微生物に対する直接的作用が期待される。そこで筆者らは、マボヤの臓器別にアセトン抽出物を調整し、大腸菌、枯草菌、酵母、アオカビ等に対する抗菌活性のスクリーニングを行なった。その結果、血球細胞のアセトン抽出液から2種類の抗菌性物質を単離することに成功し、ハロサイアミン (Halocyamine) A, Bと命名した⁷⁾。ハロサイアミンは、DOPAを含むテトラペプチド様構造

表2 ホヤ類で見いだされているレクチン

Species	Subunit MW	Native MW	Carbohydrate Specificity
<i>Botrylloides leachii</i> HA-1	28,200	152,000	D-Galactose
	29,600		
HA-2	33,400	65,000	D-Galactose
LBP-3	29,600	140,000—	Lactose
	28,200	160,000	
	23,600		
<i>Didemnum candidum</i> DCL-I	14,000	56,600	D-Galactose
DCL-II	15,000	57,500	D-Galactose
<i>Halocynthia pyriformis</i>	40,500	—	Sialic acid
<i>Halocynthia roretzi</i> I	41,000	660,000	D-Galactose
II	28,000	500,000	N-Acetyl-D-galactosamine
<i>Phallusia mamillata</i>	60,000	—	D-Galactose
	64,000		

を有し、グラム陽性菌、真菌、海洋微生物の一部に対して抗菌活性を示し、また、いくつかの魚病ウイルスに対して抗ウイルス活性を示した⁸⁾。その有効濃度は25~100 µg/mlで、ダイデムニンなどの抗菌活性と比較すると約100倍程度弱い。マボヤの血球細胞1個あたりに5 mg/ml以上という高濃度で存在していることが示された。実際には、ハロサイアミンA、B共に1種類の血球細胞(この血球細胞は全血球細胞数の40~60%を占める)にしか存在しないのでその濃度はさらに高くなる。したがって、ハロサイアミンが血球細胞に取り込まれた微生物に対して細胞内で作用するにせよ、あるいは後述する“細胞接触崩壊反応(contact reaction)”の結果、体液中に放出されて作用するにせよ、侵入してきた微生物に対して有効に作用するのに十分な濃度のハロサイアミンが、マボヤの体内に存在すると考えられる。

節足動物の昆虫類では、抗体が存在しないかわりに、異物が侵入すると短時間に強力な抗菌性物質が誘導されることが知られている⁹⁾。しかしホヤ類では、見いだされた抗菌性、抗ウイルス性、抗腫瘍性物質が体液中に誘導されるという例は知られていない。

2) 赤血球凝集素(レクチン) 哺乳類の赤血球を

凝集させるレクチンは、無脊椎動物界に広く存在している。ホヤ類でも群体、単体を問わず多数の報告がある¹⁰⁾。これらのレクチンの内、分子的性質が調べられているもののみを表2にまとめた。大部分のレクチンがガラクトースに対する特異性を示すことが特徴的である。マボヤの体液からも2種類のレクチンが単離された^{11),12)}。分子量はいずれも50~60万と高分子量で、1つはガラクトースやメリビオースに対する特異性を有し、もう1つはN-アセチルガラクトサミンに対する特異性を有している。また、シロウスボヤ(*Didemnum candidum*)レクチンでは、アミノ酸組成分析やN-末端部分アミノ酸配列分析の結果から、下等脊椎動物の免疫グロブリンや哺乳類C-反応性蛋白質との類似性が報告されている¹³⁾。

無脊椎動物の体液中に存在するレクチンの生理機能としては、異物を凝集したり、異物を血球細胞に結合させたりして、自己の血球細胞による食作用を受けやすくさせる、いわゆるオプソニン効果が想定されている¹⁴⁾。イタボヤ(*Botrylloides leachi*)のレクチンは、哺乳類のマクロファージに対するヒツジ赤血球の結合を促進し¹⁵⁾、かつ、イタボヤ自身の血球細胞に対するオプソニン効果も観察されている¹⁶⁾。また、シロウスボヤのレクチンが哺乳類の胸

腺や脾臓細胞を活性化すること¹⁷⁾、マボヤのガラクトース特異的レクチンが哺乳類の多形核白血球を活性化してスーパーオキシドアニオン($O_2^{\cdot-}$)の生成を誘起すること¹⁸⁾なども明らかにされている。

ある種の昆虫では、幼虫の体液中に、異物の侵入に伴って短時間でレクチンが誘導されることが知られている¹⁹⁾。ホヤ類でもレクチンが誘導されるか否かは興味深い点であるが、マボヤの体液中に存在する2種類のレクチンについては、1回の哺乳類赤血球の注入では、量的な変動は観察されなかった¹²⁾。一方、群体ボヤであるイタボヤでは、哺乳類の赤血球を体腔内に注入することにより、ゆるやかではあるが体液中のレクチン活性の上昇が観察されている²⁰⁾。単体ボヤの中でもユウレイボヤ(*Ciona intestinalis*)では、2回のヒツジ赤血球の被嚢への注入によって注入された赤血球の被包化が高まるという報告がある²¹⁾。

無脊椎動物の血球細胞からレクチンが単離された例は、カプトガニを除いてほとんど知られていないが、筆者らは、マボヤの血球細胞中に体液中に存在する2種類のレクチンとは糖特異性の異なる赤血球凝集素を見だし、単離に成功した²²⁾。その凝集素は分子量が約12万で、ヘパリン、コンドロイチン硫酸、大腸菌の細胞壁構成成分(リボポリサッカライド)等に対する特異性を示した。また、この凝集素がグラム陽性、陰性を問わず、細菌に結合し、凝集させることが沈降実験で明らかとなった。しかし、凝集させた細菌を殺すことはできないことから、おそらくこの凝集素は、血球細胞内あるいは細胞外で、マボヤの体内に侵入してきた微生物に作用して凝集させ、血球細胞による食作用等を受けやすくしているのであろう。

最近、昆虫で、体液中のレクチンと類似のレクチンが胚発生の特定の時期に出現するという報告²³⁾や、さなぎの中で成虫組織の構築に関与している可能性の報告もなされている²⁴⁾。レクチンは無脊椎動物では、生体防御のみならず発生や形態形成の過程で様々な機能を担っていると考えられる。

3) その他の体液性因子 節足動物の節口類カプトガニに哺乳類の凝固系と類似の凝固システムが存在することが古くから知られている²⁵⁾。また、昆虫類では、体液中のフェノール酸化酵素系によって形成されたメラニンが体液の止血にあずかるとともに、異物を封じ込めることも報告されている²⁶⁾。しかし、ホヤ類で体液中に凝固システムが存在するという報

告はなく、フェノール酸化酵素系によるメラニン形成についてもよくわかっていない。

抗体や補体と類似の構造を持つ物質が無脊椎動物に存在するか否かということは、非常に興味深い点である。昆虫類、甲殻類および棘皮動物では、補体関連因子、補体抑制因子あるいは補体レセプターの存在が知られている²⁷⁾が、1つの動物で一連のカスケード系としての補体系が証明された例はない。また、ホヤのレクチン(シロウスボヤ・レクチン)の例¹³⁾を除いて、抗体関連物質が存在するという明確な証拠も現在のところまだない。

マボヤの体液を体外に取りだして放置しても体液のゲル化は観察されず、トリプシンやトロンビンを添加しても体液の変化は見られなかった。しかし、マボヤの体液中にはトリプシン様酵素活性²⁸⁾およびトリプシン・インヒビター²⁹⁾が見いだされており、“ゲル”の前駆体であるコアギュローゲン様の物質が存在しなくても、セリンプロテアーゼの活性化経路は存在する可能性がある。一方、マボヤの体液を体外に取り出すと血球細胞の凝集が観察される。EDTA存在下では血球細胞の凝集は観察されないこと、体液の温度が高いと凝集の速度が速いという温度依存性を示すことから、血球細胞の凝集には体液中の液性因子の関与が想定される。体液のゲル化が起こらないマボヤにとって、血球細胞の凝集という現象には止血や異物を封じ込めるという重要な役割があるのであろう。

3. 細胞性応答による生体防御機構

無脊椎動物の生体防御機構における血球細胞の最も重要な機能として、食作用があげられる。食作用は、動物界全体を通じて進化の過程で最も古くから保持されている血球細胞の機能であり、生体防御機構の基本原理の1つであると考えられる。しかしながら、マボヤの血球細胞における食作用については、まだ不明な点が多い。マボヤのすべての血球細胞は食作用を行うという報告もある³⁰⁾が、顕微鏡下でウマ赤血球の取り込みを観察する限りでは、1種類の血球細胞による食作用が活発に行われていた。異物の大きさの違いによって食作用を行う血球細胞が異なっているのかもしれない。

一方、生物における自己と非自己の識別という問題は、進化の過程で生物が獲得してきた“個性”と密接に関連している。ホヤ類は、無脊椎動物の中では最も厳密な独自の識別機構を備えており、それゆ

表3 ホヤ類で見いだされている細胞性応答

a. Non-fusion reaction in compound ascidians <i>Botryllus primigenus</i> (Oka and Watanabe, 1957)
b. Contact reaction in solitary ascidians <i>Halocynthia roretzi</i> (Fuke, 1980)
c. Tunic reaction-Inflammatory-like reaction in the tunic <i>Ciona intestinalis</i> (Parrinello et al., 1977)

図2 マボヤ血球細胞のノマルスキー顕微鏡観察 (×1000倍) a～fは異なる種類の血球細胞

えに哺乳類での特徴である獲得免疫の原型ともいべきシステムがすでに存在するとされている(表3)。群体ボヤであるミダレクイタボヤ(*Botryllus primigenus*)では、同一群体由来の小片どうしは癒合するが、異なる群体由来の小片どうしは拒絶されることが見いだされ、遺伝子レベルでの解析がなされている(non-fusion reaction)^{31), 32)}。自己と非自己の識別がなされている単体ボヤの例として、マボヤでは同種異個体由来の血球細胞間で生じる細胞接触崩壊反応、すなわち“contact reaction”が見いだされている³³⁾。これらの反応では、組織あるいは血球細胞の細胞膜上で自己と非自己の識別機構が働いていると考えられており、血球細胞膜上の識別物質として哺乳類の組織適合抗原に相当する物質の存在が想定されている³²⁾。実際に、群体ボヤの血球細胞膜から哺乳類の Try-1 抗原と似た構造を持つ糖蛋白質が単離されており^{34), 35)}、血球細胞膜表面に存在する識別物質の候補の1つになっている。

また、透明でやわらかい皮囊を持つユウレイボヤ

では、皮囊に傷をつけると傷をつけた部位に顆粒球様の血球細胞が集まってくるという、炎症反応に似た現象(tunic reaction)^{36), 37)}も報告されている。

以上のように、ホヤ類では、免疫の進化を考える上で興味深い細胞性応答が見いだされているが、それらの応答に関与する物質の解析についてはいずれも今後の課題となっている。

4. マボヤの生体防御機構における血球細胞の役割

マボヤの体液中に数種類の血球細胞(図2 a～f)が存在することが顕微鏡下で観察される。筆者らが、マボヤにおける生体防御機構の全体像を理解するためには血球細胞の機能を解明することが重要と考えたのは、これらの血球細胞の構成比が個体によって、あるいはホヤのおかれた環境によって大きく異なることを見いだしたからである。

また、マボヤの血球細胞が、刺激剤(カルシウムイオノフォア、リボポリサッカライド、ホルポール

図3 原索動物マボヤの生体防御の概念

エステルなど)の添加によってメタロプロテアーゼを遊離することをも見いだした³⁸⁾。そこで、血球細胞の機能分担を知る1つの手掛かりとして、このプロテアーゼ遊離反応を利用することを考えた。そのためには、数種類存在するマボヤの血球細胞を相互に分離しなければならない。筆者らは、哺乳類の血球細胞の分離方法を参考にしていくつかの試行錯誤を行った結果、ウシ血清アルブミンを用いた不連続

密度勾配遠心法によって、マボヤの血球細胞を5つのグループ(L1~L5)に分離することに成功した³⁹⁾。電子顕微鏡観察の結果から、L1とL5の細胞群は99%以上が1種類の細胞であるが、L2, L3, L4には一部他の形態の細胞が混在していることがわかった。そこで次に、各細胞群について刺激剤に対する応答を、プロテアーゼ遊離反応を指標にして調べた。そして、L1, L3, L4の細胞群からはメタロプロ

テアーゼが遊離されるが、L2とL5の細胞群からはほとんどプロテアーゼが遊離されないという興味深い結果を得た。さらに驚くべきことに、プロテアーゼを遊離しない細胞群(L2とL5)とL1の細胞群の酸抽出液中には、他の細胞群からのプロテアーゼの遊離を促進する物質が存在することが示唆された。また、前項で紹介した抗菌性物質ハロサイアミンならびに細菌を凝集する赤血球凝集素(細胞凝集素)はどちらもL5の細胞群にのみ存在することも明らかとなった。

マボヤのそれぞれの血球細胞が、哺乳類のどの免疫担当細胞に相当するかについてはまだ断定できる段階ではないが、マボヤの血球細胞もマボヤの生体防御システムにおいて機能を分担しており、さらに血球細胞間で相互に情報伝達を行っているという姿が浮かび上がってきた。最近、8種類のホヤの体液あるいは全組織抽出液中にインターロイキン-1様の物質が存在することが、哺乳類胸腺細胞の増殖促進活性を指標にしたアッセイ系により見いだされており⁴⁰⁾、マボヤの場合も、プロテアーゼの遊離を促進する因子の化学的実体に興味を持たれる。

一方、刺激に応答して血球細胞が遊離するメタロプロテアーゼは、マボヤの体液中で何をしているのだろうか。現時点では推定の域を出ないが、直接異物を攻撃する作用、体液中の蛋白質に作用して走化性因子等を遊離させる(その結果、防御因子を細胞内に持つ血球細胞や食細胞などを局所に遊走させて異物を攻撃させる)作用、体液中に液性の防御システム(凝固系や補体系)が存在すれば、それらを活性化作用等を想定している。

5. マボヤの生体防御機構の全体像

マボヤの体内に構築されている生体防御システムは、大きく3段階に分けて考えることができる。図3に3段階からなるマボヤの生体防御機構の現段階での全体像をまとめた。

海水中には100ml当たり 10^4 個の微生物が存在するといわれている。それらの微生物は、海水と共に入水口から、あるいは被囊の傷口等からマボヤの体内への侵入をはかる。被囊は強固な物理的バリヤーであり、エラや消化管にはおそらくリゾチーム等が存在していて化学的なバリヤーを築いているであろう。

それらのバリヤーを越えて体内に侵入してきた微生物は、血球細胞による様々な攻撃を受けることに

なる。血球細胞の凝集は、環境の変化や異物の侵入に対する最初の応答であろう。この時に、体液中のレクチンや、おそらく血球細胞から遊離されると推定されるトリブシン様酵素が関与していると考えられる。侵入してきた微生物が少数であれば、その時点で食細胞に捕獲されてしまうであろう。微生物がもっと多量に侵入してきた場合は、局所に存在する食細胞だけでは間に合わなくなる。血球細胞の凝集あるいは微生物との接触が刺激となり、メタロプロテアーゼが遊離され、その作用で走化性因子等が放出されて、“炎症部位”の遠くからも、食細胞や、抗菌性物質(ハロサイアミン)および細菌凝集素を有する血球細胞の動員がなされると考えられる。体液中のレクチンや血球細胞中の細菌凝集素は、おそらく多量に侵入してきた微生物を凝集させて、食作用や被包化の作用を受けやすくしているのであろう。

メタロプロテアーゼの遊離反応や、細胞接触崩壊反応(contact reaction)における厳密な自己と非自己の識別などの機能を血球細胞が分担しているというシステムが、マボヤが進化の過程で“獲得”してきたものであると考えるならば、ホヤ類は系統発生的に脊椎動物に最も近く位置づけられているので、さらに精巧なシステム、すなわち“記憶”と“特異性”を備えた“獲得免疫”の原型がマボヤに存在するか否かという点は非常に興味深い。それらを明らかにすることは今後の大きな課題の1つである。

ホヤ類に最も近い脊椎動物である円口類には、抗体を必要としなくても活性化される補体第二経路の存在が示されている⁴¹⁾ので、原索動物でも補体系の原始型が存在する可能性が考えられる。系統樹の上で原索動物のすぐ下に位置する棘皮動物のウニでは、血球細胞膜上にC3biに対するCR3レセプターが存在するという報告があり⁴²⁾、同じ棘皮動物のヒトデの体液中には、コブラ毒素因子(CVF)と反応してカエルの補体系を活性化する因子が存在するという報告⁴³⁾(この因子は低分子量(2,000)であるという⁴⁴⁾)もあるが、ウニやヒトデ自身の体液中で、活性化された蛋白質複合体による哺乳類赤血球の溶血作用が観察されたという報告は、まだなされていない。筆者らも、マボウの体液を用いて哺乳類の赤血球に対する溶血活性を調べたが、補体系の第二経路を活性化すると言われているコブラ毒素因子(CVF)をマボヤ体液に添加しても、溶血作用は観察されなかった。

6. おわりに

以上の様に、現在のところ、マボヤの体液中の防御因子は前述したもの以外には補体系も含めて検出されていない。存在が明らかになった因子だけで多量の微生物が侵入してきた場合に対処できるのであろうか。

昆虫の幼虫に異物を注入する実験を行う場合、滅菌していない生理食塩水を用いても幼虫は平気であるという。生理食塩水中の微生物は、誘導される抗菌性物質等で排除されてしまうらしい。マボヤの体腔中にウマ赤血球を注入した実験を行った際、滅菌していない生理食塩水を5 ml 注入した個体は生き永らえたが、10 ml 注入した個体は4日後に死んでしまった。この時体液を観察すると、多数の微生物が繁殖していた。個体差もあるだろうが、侵入してきた微生物に対してマボヤが防御できる限界があるようである。いいかえれば、その限界はマボヤの生体防御システムの限界でもあろう。

海水温が高くなる夏は、水槽中のホヤも弱りやすい。ホヤが生育する海域は夏を除けば、水温は1～20℃ぐらいで、陸上の無脊椎動物が生育する環境よりは低温であり、微生物の増殖速度も陸上よりは遅いと思われる。マボヤの体内での微生物の増殖とマボヤの防御システムとのバランスの上に、マボヤの防御システムとのバランスの上に、マボヤの“命”が支えられているのであろう。

文 献

- 1) 和合治久：生体防御，3，159 (1986)
- 2) 小林淳一：化学と生物，23，119-123 (1985)
- 3) Rinehart, K.L., Jr., Gloer, J.B., Hughes, R. G., Jr., Renis, H.E., McGovren, J.P., Swynenberg, E.B., Stringfellow, D.A., Kuentzel, S.L., & Li, L.H.: Science, 212, 933-935 (1981)
- 4) Rinehart, K.L., Jr., Gloer, J.B., Wilson, G.R., Hughes, R. G., Jr., Li, L.H., Renis, H. E., & McGovren, J.P.: Fed.Proc., 42, 87-90 (1983)
- 5) Rinehart, K.L., Jr., Kobayashi, J., Harbour, G.C., Hughes, R.G., Jr., Mizsak, S.A., & Scahill, T.A.: J.Amer.Chem.Soc., 106, 1524-1526 (1984)
- 6) Kobayashi, J., Harbour, G.C., Gilmore, J., & Rinehart, K.L., Jr.: J.Amer.Chem.Soc., 106, 1526-1528 (1984)
- 7) Azumi, K., Yokosawa, H., & Ishii, S.: Biochemistry, 29, 159-165 (1990)
- 8) Azumi, K., Yoshimizu, M., Suzuki, S., Ezura, Y., & Yokosawa, H. 投稿中 (1990)
- 9) Okada, M., & Natori, S.: J.Biol.Chem., 260, 7174-7177 (1985)
- 10) Vasta, G.R., & Marchalonis, J.J.: Progr. Clin.Biol.Res., 157, 125-141 (1984)
- 11) Yokosawa, H., Sawada, H., Abe, Y., Numakunai, T., & Ishii, S.: Biochem.Biophys.Res. Commun., 107, 451-457 (1982)
- 12) Harada-Azumi, K., Yokosawa, H., & Ishii, S.: Comp. Biochem. Physiol., 88B, 375-381 (1987)
- 13) Vasta, G.R., Hunt, J.C., Marchalonis, J.J., & Fish, W.W.: J.Biol.Chem., 261, 9174-9181 (1986)
- 14) Yeaton, R.W.: Dev.Comp.Immunol., 5, 535-545 (1981)
- 15) Coombe, D.R., Schluter, S.F., Ey, P.L., & Jenkin, C.R.: Dev. Comp. Immunol., 6, 65-73 (1982)
- 16) Coombe, D.R., Ey, P.L., & Jenkin, C.R.: J. Comp.Physiol., 154, 509-521 (1984)
- 17) Vasta, G.R., Marchalonis, J.J., & Decker, J. M.: J.Immunol., 137, 3216-3223 (1986)
- 18) Yokosawa, H., Harada, K., Igarashi, K., Abe, Y., Takahashi, K., & Ishii, S.: Biochim. Biophys.Acta, 870, 242-247 (1986)
- 19) Komano, H., Mizuno, D., & Natori, S.: J. Biol.Chem., 255, 2919-2924 (1980)
- 20) Coombe, D. R., Ey, P. L., & Jenkin, C. R.: Aust.J.Exp.Biol.Med.Sci., 60, 359-368 (1982)
- 21) Wright, R.K., & Cooper, E.L.: Amer.Zool., 15, 21-27 (1975)
- 22) Azumi, K., Ozeki, S., Yokosawa, H., & Ishii, S. 投稿中 (1990)
- 23) Takahashi, H., Komano, H., & Natori, S.: J. Insect Physiol., 32, 771-779 (1986)
- 24) 倉田祥一郎，名取俊二；現代化学，220，56-60 (1989)
- 25) 岩永貞昭：代謝，14，375-384 (1977)
- 26) 芦田正明：化学と生物，26，425-435 (1988)
- 27) 和合治久：蛋白質・核酸・酵素，31，886-903 (1986)

- (1986)
- 28) 原田 薫, 横沢英良, 石井信一: 生化学, 57, 917 (1986)
 - 29) Yokosawa,H., Odajima,R., & Ishii,S.: J. Biochem., 97, 1621-1630 (1985)
 - 30) Fuke,M.T.: Bull.Mar. Biol.Stn.Asamushi, 16, 143-159 (1979)
 - 31) Watanaabe,H., & Taneda,Y.: Amer.Zool., 22, 775-782 (1982)
 - 32) Scofield,V.L., Schlumpberger,J.M., West, L.A., & Weissman,I.L.: Nature, 295, 499-502 (1982)
 - 33) Fuke,M.T.: Biol.Bull., 158, 304-315 (1980)
 - 34) Mansour,M.H., & Cooper,E.L.: Eur. J. Immunol., 14, 1031-1039 (1984)
 - 35) Mansour,M.H., DeLange,R., & Cooper,E. L.: J.Biol.Chem., 260, 2681-2686 (1985)
 - 36) Parrinello,N., Patricolo,E., & Canicatti,C.: Biol.Bull., 167, 229-237 (1984)
 - 37) Parrinello,N., & Patricolo,E.: Biol.Bull., 167, 238-250 (1984)
 - 38) Azumi,K., Yokosawa,H., & Ishii,S.: Dev. Comp.Immunol., 印刷中 (1990)
 - 39) 安住 薫, 横沢英良: 日本免疫学会総会・学術集会記録, 19, 433 (1989)
 - 40) Beck,G., Vasta,G.R., Marchalonis,J.J., & Habicht,G.S.: Comp.Biochem.Physiol., 92B, 93-98 (1989)
 - 41) 片桐千明: 生体機構の進化(中村 運編), p 124-166, 講談社サイエンティフィク (1982)
 - 42) Bertheussen, K.: Dev. Comp. Immunol., 6, 635-642 (1982)
 - 43) Day,N.K.B., Gewurz,H., Johannsen,R., Finstad,J., & Good,R.A.: J.Exp.Med., 132, 941-950 (1970)
 - 44) Day,N., Geiger,H., Finstad,J., & Good,R. A.: J.Immunol., 109, 164-167 (1972)