

## 【綜 説】

## 磷 原 質

## ——その分布と動物の系統との関係——

## Phosphagens

## Their Distribution and Phylogenetic Significance

柳 沢 富 雄 (T. YANAGISAWA)

東京都 東京都立大学理学部生物学教室

昭和 42 年 2 月 14 日 受領

生物の進化や系統を考える上に、生物体の構造の変化・複雑化とならんで、生体機能の変化・複雑化を生化学の面からとらえることが必要である。

磷原質は、動物に限って見られるエネルギーの貯蔵態の一種で、主に筋組織に含まれている。手短かに言えば、無脊椎動物の磷原質が arginine phosphate (AP)<sup>1)</sup> であるのに対して、脊椎動物のそれは creatine phosphate (CP) である。動物の系統との関係で興味のあることは、無脊椎動物の中で、脊椎動物につながる位置におかれる棘皮動物などには、CP を含むものがあって、磷原質が、これ等の動物の進化の道程を示す生化学的証拠の 1 つとされ、又進化のこの時点で、化学的変異 chemical mutation が起ったものとされている。

ところで、近年得られた結果の中には、進化のかなり早い時点で、CP・AP 両者を生ずる能力があらわれ、その能力が、次第に一方だけに限定された結果、無脊椎動物のなかで、節足動物・軟体動物は AP だけとなり、脊椎動物では CP だけとなったと考うべき事実がある。そこで、この点を中心にして、磷原質の問題を考えなおしてみることにする。

1) 全体にわたって、次の省略を用いた: A, AP, APT はそれぞれ arginine, arginine phosphate, arginine phosphoryltransferase; C, CP, CPT は creatine, creatine phosphate, creatine phosphoryltransferase を示す。以下同様に、G, GP, GPT は glycoamine の; T, TP, TPT は taurocyamine の; HT, HTP, HTPPT は hypotaurocyamine の; L, LP, LPT は lombricine の; O, OP, OPT は opheline の塩基、磷原質、転移酵素を示す。H は hirudonine である。

## §1. 磷原質の歴史

磷原質の歴史は、哺乳類の筋組織に CP を (Eggleton and Eggleton, 1927; Fiske and Subbarow, 1929), 又甲殻類筋肉で AP (Meyerhof and Lohmann, 1928) を発見したのに始まる。

Meyerhof は 1930 に、早くも「AP は無脊椎動物筋の磷原質で、これから、化学的変異によって、脊椎動物筋に特有な磷原質の CP が生ずる」という説を発表した。その後、Needham *et al.* (1932) や Baldwin and Needham (1937) の広範な仕事から、この説がたしかめられるとともに、形態学的に脊椎動物につながる枝をつくっているとされた無脊椎動物には、CP を磷原質として含むものが見つけられ、系統関係を生化学的に証拠づけるものとされた。

磷原質の発見から、数年を経ないうちに、AP を無脊椎動物の、又 CP を脊椎動物の磷原質として性格づけたのは、Meyerhof の慧眼によるものである。もともと、その当時、動物界の creatine 分布の研究から、動物は creatinate (クレアチン動物) と acreatinate (無クレアチン動物) とにわけられ、前者はほぼ脊椎動物と、後者はほぼ無脊椎動物と一致することが提称されていた (Kutscher and Ackermann, 1926)。クレアチン磷酸動物とアルギニン磷酸動物とは、いわば creatinate・acreatinate の換骨奪胎だと言っても良い。

その後、20年以上にもわたって、磷原質は AP と CP に限られると考えられていたが、1950 年代になって、それまで AP も CP も見つからなかった動物群 (主に環形動物) の中から、Roche 一派の研究によ

って、続々と新しい燐原質が発見され、この動物群が燐原質分布の上で、特異な位置を占めていることがわかり、又新発見の燐原質の数は6種に達した：*Arenicola marina* から taurocyamine phosphate (Thoai *et al.*, 1953), *Nereis diversicolor* から glyco-cyamine phosphate (Thoai *et al.*, 1953), *Lumbricus terrestris* から lombricine phosphate (Thoai and Robin, 1954), *Hirudo medicinalis* から hirudonine (多分 phosphate) (Roche *et al.*, 1956), *Ophelia neglecta* より opheline phosphate (Thoai *et al.*, 1963) 及びホシムシ類の *Phascolosoma vulgare* より hypotaurocyamine phosphate (Robin and Thoai, 1962)。

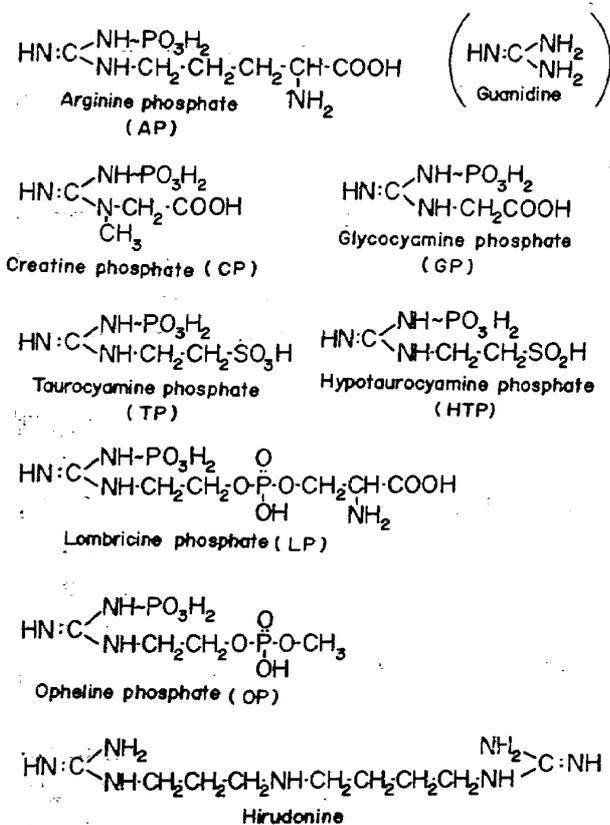


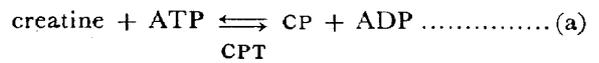
Fig. 1. Chemical formulae of 8 phosphagens

発見された以上8種の燐原質の化学構造は、第1図に示した。いずれも guanidine の誘導體で、その分子の一方の  $-\text{NH}_2$  には、一般に酸基を含む枝がつき、残りの  $-\text{NH}_2$  に燐酸が結合したものである。後者の結合は高エネルギー結合で、弱い酸水解で容易に切れ (0.1N HCl, 30°C, 30分、CP, AP, TP はそれぞれ 47.5, 25.4, 14.6% 水解される), 約 10,000

cal/mole のエネルギーを放出する (Thoai and Roche, 1964 a)。

CP の加水分解はモリブデン酸イオンの存在で著しく促進されるのに対して、AP などの他の燐原質は、かえって安定化されるので、CP とその他の燐原質を、分別水解で比較的容易に区別することができる。(Ennor and Morrison, 1958)

生体内には、それぞれの燐原質に特異性の高い燐酸基転移酵素 phosphoryltransferase があり、例えば CP の場合では、クレアチンが次の反応によって ATP より  $\sim\text{P}$  をうけとって CP を形成する、



この反応に関与する酵素の特異性は非常に高い。APT は arginine のほかには、arginine methyl ester だけに働く。CPT は creatine のほかでは、ごくわずかながら negumine に、GPT は glyco-cyamine のみに、TPT は taurocyamine のほか、hypotaurocyamine (前者の 1/3) やごくわずかに lombricine に、HTPT は hypotaurocyamine のほか taurocyamine (前者の 1/3) に、又 LPT は lombricine のほか、ごくわずかに taurocyamine に働く (Thoai and Roche, 1946 a)。

## § 2. 燐原質の分布

燐原質は、はじめ筋組織から見出されたが、その後の研究で、含有量は低い、筋以外の組織にも、かなり一般的に含まれている事がわかった。哺乳類の組織では、筋組織について、神経や精巣には、かなりの量が含まれている。(Ennor and Morrison, 1958 参照)。

燐原質は極めて不安定な物質であるから、抽出操作・試料動物の保存状態などが、検出量に影響するので、組織に含まれる燐原質の種類は、(1) 低温で酸抽出 (5% の三塩化酢酸や 0.4 N の過塩素酸が普通に用いられる) したものを、Ca や Ba の塩として、アルカリ側で分別沈殿して得られる粗標本を、分別的に水解し、生じた燐酸又はグアニジン塩基部分を定量する (Needham 一派が主に使用)、(2) ATP との間で (a) 式により燐酸転移をする酵素 phosphoryltransferase の存在とその種類をきめる (Ennor, Yanagisawa らが主に使用)、(3) 100°C の稀酸で、短時間に抽出されるグアニジン塩基の種類を、ペー

パー・クロマトグラフ法で同定する (Roche 一派が主に使用) などの方法で決められる。

脊椎動物の組織に含まれる燐原質が、CP に限られることは、疑いのない事実である (Wajzer and Brochart, 1947 は、哺乳類の精液は、CP と共に AP を含むと報告しているが、精液の AP はそれ以後確認されていない)。

無脊椎動物の筋組織 (又は全動物) 体に含まれる燐原質の分布は、第 1・2・3 表に示した。全般的には Meyerhof の説の如くで、海綿動物・有櫛動物・腔腸動物、及び前口動物幹に属する大部分の動物 (扁形動物・紐形動物・袋形動物・軟体動物・節足動物) はいずれも AP のみを含んでいる。

無脊椎動物でも、脊椎動物につらなる後口動物には、CP を含むものがあり、頭索動物・尾索動物・半索動物はこの例である。

棘皮動物の燐原質は、第 3 表に示す様に、多くは AP であるが、クモヒトデ類は CP で、ウニ類の一部には、AP・CP 両方を含んでいるものがある。毛顎動物での報告はないが、筆者の未発表の仕事では、ヤムシが APT・CPT の両者を含む結果が得られているので、この動物群も複燐原質動物と考えられる。有鬚動物については報告が全くない。

前口動物ではあるが、触手動物のホウキムシ *Phoronopsis viridis* の燐原質は CP である。この動物が、分類学上、後口動物の棘皮・半索・有鬚・毛顎動物と共に、原腔動物 archicoelomata なる一群をつくっていることが、燐原質分布から支持されたものとして興味深い。

環形動物は、先にもふれた様に、燐原質の分布の上から極めて特異な動物群であるので、項をあらためて述べることにする。

海綿動物の中で、CP だけを含む種類が報告されているが (Roche and Robin, 1954)、この点については生殖細胞の燐原質の項でふれたい。

原生動物での研究はほとんどないが、一般に燐原質を含まないとされている。

動物界の燐原質の分布 (主に筋組織内) と系統樹 (内田, 1965)<sup>2)</sup> との関係を示した。図中

2) 系統樹については、内田教授より有益な御示唆をいただいた。

— は AP, — — は CP, ..... はその他の燐原質を含む事を示す。又下線が 2 重になっているものは、複燐原質を含むことを示す。(環形動物は、次項に述べる様に、極めて複雑なので、簡略に示すにとどめた。)

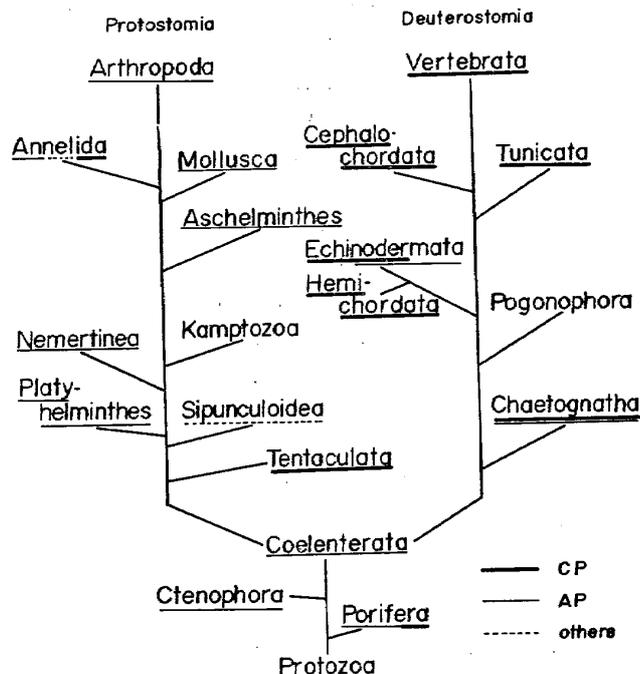


Fig. 2. Relationship between phylogenetic tree and distribution of phosphagens.

### § 3. 複燐原質動物

それぞれの動物種では、一般に、含まれる燐原質が一種類に限られるが、環形動物・星口動物・棘皮動物及び恐らくは毛顎動物では、複数の燐原質を含む場合があり、これを複燐原質 (pluriphosphagens) と呼ぶ (Robin, 1964)。

尾索動物・半索動物も、しばしば複燐原質動物に数えられることがある。尾索動物は CP を含む動物群であるが、Needham *et al.* (1932) は、*Ascidia mentula* が AP を含むと報告している。しかし、その後の実験結果は、いずれもこれを支持せず、一般に CP だけを含むと考えられる様になっている (Morrison *et al.*, 1956)。

半索動物の *Balanoglossus salmoneus* が AP と CP の両方を含むとされたが、Needham *et al.* (1932) のもとの data を見ると、結果は極めてまちまちであるうえに、共同研究者の一人である Baldwin 自身

Table 1. Distribution of Phosphagens in Invertebrata

Phylum	Species	Phosphagen	Phylum	Species	Phosphagen
PROTOZOA	原生動物		ARTHROPODA	節足動物	
	<i>Tetrahymena gelii</i>			<i>Jusus verreauxi</i>	AP
PORIFERA	海綿動物			<i>Pomatoceros fluviatilis</i>	AP
	<i>Halichondria panicea</i>	AP		<i>Astacus fluviatilis</i>	AP
	<i>Hymeniacidon caruncula</i>	AP	SIPUNCULOIDEA	星口動物	
	<i>Thetia lyncurium</i>	CP		<i>Dendrostomum dyscritum</i>	HTP TP
COELENTERATA	腔腸動物			<i>Sipunculus nudus</i>	(AP) HTP TP
	<i>Actinia equina</i>	AP		<i>Phascolosoma elongatum</i>	HTP TP
	<i>Anemonia sulcata</i>	AP		<i>P. gouldii</i>	(AP)
	<i>Calliactis parasitica</i>	AP		<i>P. vulgaris</i>	HTP TP
CTENOPHORA	有櫛動物			<i>P. noduliferum</i>	TP
	<i>Pleurobrachia pileus</i>	AP		<i>P. agassizii</i>	HTP TP
PLATYHELMINTHES	扁形動物	AP		<i>Phascolion strombi</i>	HTP TP
	<i>Planaria vitta</i>	AP		<i>Siphonosoma ingens</i>	HTP TP
	<i>Polycelis nigra</i>	AP	TENTACULATA	触手動物	
NEMERTINEA	紐形動物			<i>Phoronopsis viridis</i>	CP
	<i>Lineus longissimus</i>	AP	CHAETOGNATHA	毛顎動物	
	<i>L. gesserensis</i>	AP		<i>Sagitta sp.*</i>	AP CP
	<i>L. pictifrons</i>	AP	POGONOPHORA	有鬚動物	
	<i>Cerebraturus occidentalis</i>	AP	HEMICHORDATA	半索動物	
KAMPTOZOA	曲虫類			<i>Balanoglossus clavigerus</i>	CP
ASCHELMINTHES	袋形動物	AP		<i>B. salmoneus</i>	(AP) CP
	<i>Ascaris lumbricoides</i>	AP		<i>Saccoglossus horsti</i>	CP
MOLLUSCA	軟体動物			<i>S. kowalevskyi</i>	CP
	<i>Pecten yessoensis</i>	AP	ECHINODERMATA	棘皮動物 (別表)	
	<i>P. opercularis</i>	AP	PROTOCHORDATA	原索動物	
	<i>P. jacobaeus</i>	AP	TUNICATA	被囊類	
	<i>Sepia officinalis</i>	AP		<i>Ascidia mentula</i>	AP
	<i>Octopus sp.</i>	AP		<i>Pyura stolonifera</i>	CP
	<i>O. vulgaris</i>	AP		<i>P. subculata</i>	CP
ANNELIDA	環形動物 (別表)			<i>Styela rustica</i>	CP
TARDIGRADA	くまむし			<i>S. carnea</i>	CP
PENTASTOMIDA	舌形動物			<i>S. plicata*</i>	CP
			CEPHALOCHORDA	頭索類	
				<i>Amphioxus lanceolatus</i>	CP

See Baldwin (1933), Ennor and Morrison (1958), Huenneckens and Whiteley (1960), Roche *et al.* (1957), Thoai and Roche (1964 a, b) and Yanagisawa (unpublished data (\*))

による同じ動物種での追試 (1953) では, CP のみが検出されて, AP はついに確認されなかった。他のギボシムシの結果をもあわせ考えると, 半索動物を複燐原質動物とする証拠は極めて不充分というべきで (Yudkin, 1954, p 513 をも参照), CP 動物とするのが妥当である。

(1) 環形動物の複燐原質

燐原質の分布の上で, 環形動物が非常に興味ある動物群であることは, Arnold and Luck (1933) が指摘し, Baldwin and Yudkin (1950) の研究を経て, Roche 一派の広範な仕事ではほぼその全貌が明らかとなった。Roche 以前の研究は, グアニジン部分の確認がやや不充分で, 'CP' とされたものはほぼ間違いはないが, 'AP' としたもののうち, AP 以外のものが

含まれる場合が少なくないので、古い報告の結果の処理には十分な注意を要する。第2表は、主に Roche 一派の Robin (1964) の結果を改変したものを示し

た。なお動物の分類は Dales (1963) によった。表からわかる様に、環形動物からは既知の8種の燐原質のうち、HTP (星口動物のみに含まれる) を除くすべ

Table 2. Distribution of Phosphagens in Annelida

Class	Species	Phosphagen	Class	Species	Phosphagen
<b>POLYCHAETA 多毛綱</b>			Spionida (Sed.)		
Phyllodocida (Err.)			Chaetopteridae つばさごかい科		
Phyllodocidae さしぼごかい科			<i>Chaetopterus variopedatus</i> <b>CP</b>		
<i>Eularia viridis</i> <b>CP GP</b>			Eunicida (Err.)		
Aphroditidae うろこむし科			Eunicidae いそめ科		
<i>Halosydna brevisetosa</i> <b>CP GP</b>			<i>Eunice harrassi</i> <b>CP</b>		
<i>Sthenelais boa</i> <b>CP GP</b>			<i>Arabella semimaculata</i> <b>CP</b>		
Glyceridae ちろり科			<i>Diopatra splendidissima</i> <b>CP</b>		
<i>Glycera americana</i> <b>CP</b>			<i>D. cuprea</i> <b>CP</b>		
<i>G. dibranchiata</i> <b>CP</b>			<i>Lumbriconereis erecta</i> <b>AP CP</b>		
<i>G. convoluta</i> <b>CP</b>			<i>L. impatiens</i> <b>CP</b>		
<i>Hemipodus borealis</i> <b>CP</b>			<i>L. zonata</i> <b>CP GP</b>		
Nephtyidae しろがねごかい科			<i>Marphysa sanguinea</i> <b>CP</b>		
<i>Nephtys coecoides</i> <b>GP (TP)</b>			Ariciida (Sed.)		
<i>N. hombergi</i> <b>GP</b>			Ariciidae ぼこさきごかい科		
Nereidae ごかい科			<i>Scoloplos acmeceps</i> <b>CP</b>		
<i>Nereis succinea</i> <b>CP</b>			<i>S. armiger</i> <b>CP</b>		
<i>N. vexillosa</i> <b>CP (GP)</b>			Cirratulida (Sed.)		
<i>N. brandti</i> <b>CP GP</b>			Cirratulidae みづひきごかい科		
<i>N. diversicolor</i> <b>CP GP</b>			<i>Cirriiformis spirabrancha</i> <b>CP</b>		
<i>N. limnicola</i> <b>CP GP</b>			Terebellida (Sed.)		
<i>Perinereis cultrifera</i> <b>CP GP</b>			Pectinariidae うみいさごむし科		
<i>Platinereis agassizii</i> <b>CP GP</b>			<i>Pectinaria californiensis</i> <b>TP</b>		
Capitellida (Sed.)			Terebellidae ふさごかい科		
Capitellidae いとごかい科			<i>Amphitrite edwardsii</i> <b>AP TP</b>		
<i>Notomastus tenuis</i> <b>AP LP</b>			<i>A. gracilis</i> <b>AP TP</b>		
<i>Dasybranchus lumbricoides</i> <b>LP</b>			<i>Terebella lapidaria</i> <b>AP CP TP</b>		
Maldanidae たけふしごかい科			<i>Thelepus crispus</i> <b>AP TP</b>		
<i>Axothella rubrocincta</i> <b>AP TP</b>			<i>Polymnia nebulosa</i> <b>AP TP</b>		
Opheliidae おふえりあごかい科			Sabellida (Sed.)		
<i>Ophelia bicornis</i> <b>AP LP</b>			Sabellidae けやり科		
<i>O. limacina</i> <b>AP LP</b>			<i>Myxicola infundibulum</i> <b>CP TP</b>		
<i>O. neglecta</i> <b>OP</b>			Serpulidae かんざしごかい科		
<i>Thoracophelia mucronata</i> <b>LP</b>			<i>Mercierella enigmatica</i> <b>AP CP TP</b>		
<i>Travisia gigas</i> <b>AP</b>			<b>OLIGOCHAETA 貧毛綱</b>		
			<i>Lumbricus terrestris</i> <b>LP</b>		
			<i>Magascolides cameroni</i> <b>LP</b>		
			<b>HIRUDINEA ヒル綱</b>		
			<i>Hirudo medicinalis</i> <b>HP</b>		
			<b>ECHIUROIDA ユムシ綱</b>		
			<i>Urechis caupo</i> <b>LP</b>		

See Robin (1964), Hobson and Rees (1955) and Thoai and Roche (1964)

複燐原質の場合、太字は主燐原質を示す。

てが含まれている。しかし、その中で多彩なのは多毛綱に限られ、他の諸綱はいずれも単純であって、貧毛綱・ユムシ綱は LP, ヒル綱は HP のみを含む単燐原質動物である。

多毛綱の動物でも、単燐原質の場合がかなりあるが(種類は HTP・HP 以外の 6 種のいづれか 1 つ)、複燐原質を含む場合が多く、ときには 3 つの燐原質を含む種類も知られている。複燐原質を含む動物では、種類によってそれぞれ一定の燐原質の含まれ方が常に多く(主燐原質 major phosphagen, 第 1・2 表に太字で示した)、他の燐原質量は少い(副燐原質 minor phosphagen)。その比は、ある動物種では 1:0.6 とほぼ 1 に近いこともあるが、別の動物種では、1:0.01 とその差が極めて著るしい(Robin, 1964)。この差が更に極端になったものが、単燐原質であるとも考えることもできる。HTP と HP 以外は、どの燐原質も、主燐原質になっている。多毛綱の系統と燐原質の分布との間に、必ずしも厳密な相関関係は認められない。*Ophelia* 属では、*O. neglecta* は OP のみを含むのに対し、*O. bicornis* と *O. limacina* は複燐原質を含み、LP が主燐原質で AP が副燐原質であって、同一属内で著るしい相違を示している。だが、一般的には、それぞれの科は一定の主燐原質を含み、副燐原質を伴う場合も、その種類がほぼ一定していることは、第 2 表からも明らかで、分類学上の科の意義は、この点で明確である。又遊泳目 (Errantia) の燐原質は、Robin (1964) が指摘しているように、ほぼ CP と GP とに限定されるが、底棲目 (Sedentaria) では AP・CP・TP・LP・OP と極めて多様であるが、GP は含まれないのが特徴である。これから、多毛類でも、燐原質の分布が系統と大まかな関連があるといえてよい。

燐原質の種類から、星口動物は環形動物との類縁が考えられる。即ちホシムシ類の燐原質は AP でも CP でもなくて、この動物に今のところ特有の HTP と、多毛綱だけに認められた TP を含み、どの種類でも前者が主燐原質、後者が副燐原質である(第 1 表)。

## (2) 棘皮動物の複燐原質

棘皮動物が複燐原質動物であることは、燐原質研究の当初から知られ (Needham *et al.*, 1932)、動物進化の道すぢを示す biochemical evolution の好例とされた。棘皮動物の筋組織の燐原質分布は、主に

Yanagisawa (1960) のまとめたものに多少補充したものを、第 3 表に示した。

なお生殖細胞の燐原質分布は、筋組織と異っており、同時にあつかうことは、混乱を招くものになるので、別項でとりあつかうことにする。

第 3 表から、棘皮動物もウニ綱以外は単燐原質動物で、ウミユリ綱・ナマコ綱・ヒトデ綱は AP のみを含み、クモヒトデ綱は CP のみを含んでいる。(Cucumaria frondosa が 2 種類の燐原質を含むとする、Needham *et al.*, 1932, の結果は、その後の支持がない。)

ウニ綱に属する動物も、一般には AP のみを含み、正形亜綱中の Camarodonta 目に属する動物に限って、AP・CP 両方を含む複燐原質動物である (Yudkin, 1954; Yanagisawa, 1960)。ウニの燐原質量の測定は、あまり行なわれていないので、主燐原質・副燐原質の関係は不明であるが、phosphoryltransferase 活性で見ると限りでは、APT > CPT が一般で、おそらく AP が主燐原質であろう。但し、サンショウウニ科 Temnopteuridae では CPT > APT であって、CP をより脊椎動物に近い指標とすれば、サンショウウニ科は Camarodonta 目中でも最も進んだ科ということになる (Yanagisawa, 1960)。

同一組織に、複数の燐原質が含まれることの生物学的意義は、全く不明である。

## § 5. 燐原質系の形成

生体内で燐原質を産生する系は、反応 (a) に示したように、(1) ATP, (2) ATP の末端の ~P を受けとるグアニジン誘導体, (3) ~P の転移をうながす酵素の 3 つからなる。

ATP はすべての生物体に含まれるので問題はないが、(3) の転移酵素は特異性が高く (§ 1. 参照)、燐原質ごとに別な酵素が働いているので、新しい燐原質系形成には、そのつど新しい転移酵素の形成を要する。

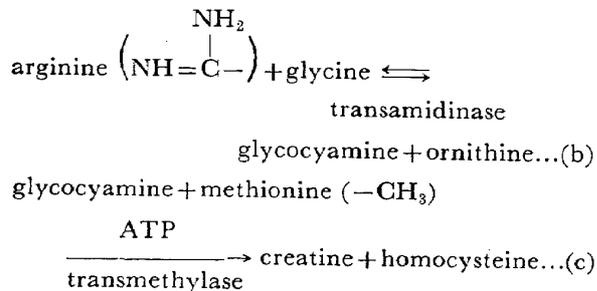
グアニジン塩基は、AP の場合はアルギニンで、ごく普通に生体に含まれるアミノ酸であるから、AP 系の形成はもっぱら APT の形成のみによっている。その他の燐原質系では、グアニジン塩基部分の形成がまず必要となる。taurocyamine その他の形成については、ほとんど研究されていないが、脊椎動物での creatine 形成はよく研究されており、次の反応に

Table 3. Distribution of Phosphagens in Echinodermata

Class	Species	Phosphagen	Class	Species	Phosphagen	
CRINOIDEA	らみゆり綱		Stirodonta			
	<i>Comanthus japonica</i>	AP		<i>Arbacia punctulata</i>	AP	
	<i>Antedon bifida</i>	AP		Camarodonta	<i>Temnopleurus hardwickii</i>	AP CP
<i>A. mediterranea</i>	(AP)	<i>Mespilia globulus</i>			AP CP	
HOLOTHUROIDEA	なまこ綱				<i>Lytechinus variegatus</i>	AP CP
	<i>Cucumaria frondosa</i>	CP			<i>Toxopneustes pileolus</i>	AP CP
	<i>C. echinata</i>	AP			<i>Tripneustes esculentus</i>	AP CP
	<i>Thyone briareus</i>	AP			<i>Sphaerechinus granularis</i>	AP CP
	<i>Holothuria tubulosa</i>	AP			<i>Pseudocentrotus depressus</i>	AP CP
	<i>Stichopus sp.</i>	AP			<i>Echinus esculentus</i>	AP CP
	<i>S. moebii</i>	AP			<i>Paracentrotus lividus</i>	AP CP
	<i>S. japonicus</i>	AP	<i>Hemicentrotus pulcherrimus</i>		AP CP	
	<i>Synapta inhaerens</i>	AP	<i>Echinometra lacunter</i>	AP CP		
	<i>Leptosynapta ooplax</i>	AP	<i>Anthocardaris crassispina</i>	AP CP		
ASTEROIDEA	ひとで綱		<i>Strongylocentrotus lividus</i>	AP CP		
	<i>Asteropecten polyacanthus</i>	AP	ECHINOIDEA, IRREGULARIA			
	<i>Certonardoia semiregularis</i>	AP		らに綱 (不正形重綱)		
	<i>Asterina pectinifera</i>	AP		<i>Clypeaster japonicus</i>	AP	
	<i>Coscinasterias acutispina</i>	AP		<i>Peronella lesueuri</i>	AP	
	<i>Marthasterias glacialis</i>	AP		<i>Scaphechinus mirabilis</i>	AP	
	<i>Asterias forbesi</i>	AP		OPHIUROIDEA	くもひとで綱	
<i>A. amurensis</i>	AP	<i>Ophiomyxa flaccida</i>			CP	
ECHINOIDEA, REGULARIA	らに綱 (正形重綱)				<i>Ophiothrix fragilis</i>	CP
	Lepidocentroida				<i>Ophionereis reticulata</i>	CP
	<i>Asthenosoma ijimai*</i>	AP			<i>Ophiocoma echinata</i>	CP
	Aurodonta		<i>Ophioderma brevispina</i>		CP	
		<i>Diadema setosum</i>	AP		<i>O. longicauda</i>	CP
	<i>Centrostephanus rodgersii</i>	AP	<i>Ophiarachnella gorgonia</i>		CP	
			<i>Ophioplocus japonicus</i>		CP	

See Yanagisawa (1960, and unpublished datum (\*)), Baldwin and Yudkin (1950), Ennor and Morrison (1958) and Yudkin (1954).

よっている (Ennor and Morrison, 1958, 参照),



glycine も methionine もともに、生体に普通に含まれるアミノ酸で、反応 (b) により arginine 分子中の amidine 基が glycine に転移して、glycocyamine ができ、これに methionine の methyl 基が、反応 (c)

により転移すれば creatine ができる。反応 (b) は1つの酵素ですむが、反応 (c) には、transmethylase のほかに、methionine の活性化のために ATP と transphosphorylase が必要である。

従って、G の形成には1つの酵素、C の形成には3つの酵素が形成されねばならない。結局 AP 系の形成は APT の形成だけでよいが、GP 系の形成には、GPT を含めると2種類の酵素の新成が必要であり、CP 系の形成には CPT を含めると、4種の酵素の形成が必要となろう (Yudkin, 1954)。TP 系や LP 系の形成には、更に数多くの酵素の生成が予想される。無脊椎動物で AP 以外の燐原質を含む場合、特に

Table 4. Activity of guanidine phosphoryltransferases in sea urchin and starfish gametes  
Incubation mixture (2 ml) contained 2 mM ATP, 9 mM creatine or arginine, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 25 mM NaF, 25 mM veronal buffer (pH 8.5) and gamete extract (1.0 mg protein).

Species (no. of expt.)	P ( $\mu$ g) transferred to	
	creatine	arginine
Eggs		
<i>Diadema setosum</i> (2)	0	44 $\pm$ 14
<i>Temnopleurus hardwickii</i> (6)	1	70 $\pm$ 5
<i>Toxopneustes pileolus</i> (1)	0	38
<i>Pseudocentrotus depressus</i> (2)	1	46 $\pm$ 13
<i>Hemicentrotus pulcherrimus</i> (5)	2	95 $\pm$ 5
<i>Anthocidaris crassispira</i> (9)	0	35 $\pm$ 12
<i>Asterias amurensis</i> (3)	0	54 $\pm$ 1
<i>Asterina pectinifera</i> (4)	1	7 $\pm$ 2
Spermatozoa		
<i>Diadema setosum</i> (5)	41 $\pm$ 4	1
<i>Temnopleurus hardwickii</i> (2)	34 $\pm$ 8	1
<i>Toxopneustes pileolus</i> (1)	46	2
<i>Pseudocentrotus depressus</i> (5)	41 $\pm$ 3	0
<i>Hemicentrotus pulcherrimus</i> (4)	25 $\pm$ 5	1
<i>Anthocidaris crassispira</i> (2)	44 $\pm$ 5	0
<i>Asterias amurensis</i> (4)	21 $\pm$ 4	2
<i>Asterina pectinifera</i> (6)	29 $\pm$ 5	3

See Yanagisawa (1959 a, 1961).

環形動物や棘皮動物で、関連する酵素の形成がどうなっているかを知ることが、大変興味があるが、この分野の研究はほとんど進んでいない。

わづかに知られた結果によれば、CP系を含むウニ (*Paracentrotus*, *Sphaerechinus*), クモヒトデ (*Ophiothrix*), ギボシムシ (*Glossobalanus*) は、CPTのほか、予想通り反応 (c) が認められる (Thoai and Robin, 1951)。一方、CP系を含まない動物でも、ホタテガイ *Pecten maximus* は例外的に反応 (c) を示す。ところで、反応 (b) であるが、ウニの2種、*Echinus esculentus* と *Sphaerechinus granularis* では、予期に反して、transamidination が認められないという (Robin, 1954)。

Stephens *et al.* (1965) は、腔腸動物から原索動物にわたる15種の無脊椎動物の、transamidinase 活性と G 及び C の有無をしらべた所、CP動物の *Glycera dibranchiata* (環形動物), *Diopatra cuprea* (同前), *Saccoglossus kowalevski* (半索動物), *Styela carnea* (尾索動物) は、いずれも C は含むが、それを形成するのに必要な G と transamidinase 活性は、予想に

反して、認められなかった。これでは、脊椎動物で知られた経路による C の形成は、これ等の無脊椎動物では行なわれないことになる。

一方、transamidinase 活性が認められた *Metridium dianthus* (腔腸動物), *Nereis virens* (環形動物), *Lepidonotus squamatus* (同前), *Mercenaria mercenaria* (軟体動物) は、transamidinase 活性とその産物である G を含むが、C も CP も含まれない。(残りの7種はいづれをも含まない。)

ところで、組織の抽出物を用いる場合は、例えば CP を含む筋組織で、C 或は G の形成がおこらず、他の組織からはこぼれてきたものを利用する場合を考えると、それを形成する組織をつきとめない場合は、あやまった結論に達するおそれがある。動物全体を用いて、標識した arginine か glycine を用いる実験を行なうと、この心配は除かれる。

そこで、上の動物で、CP は含むが transamidinase 活性も G の存在も認められなかった動物から、*Saccoglossus* と *Glycera* をえらび、arginine-<sup>14</sup>C と glycine-<sup>14</sup>C を含む海水で、動物を1—4時間飼育

後、正常海水にもどして 24—96 時間して、動物体内の C をしらべたところ、 $^{14}\text{C}$  のクレアチンへの取込みは全く認められなかった。この結果も、これらの動物では、脊椎動物とは異なり、arginine や glycine から C を生合成することはないことを示している。

更に、creatine- $^{14}\text{C}$  そのものを海水に加えたところ、これは極めて低濃度 ( $10^{-7}\text{M}$ ) でも、活潑に体壁を通して取りこまれ、CP 形成に用いられるとともに、長く体内にとどまって、海水中にはほとんどだされない。

*Nereis* や *Mercenaria* でも、CP 動物ではないが、C は海水から能率良く取りこまれるという。もっともこの場合は、再び容易に海水中に放出される (Stephens *et al.*, 1965)。

一方、*Pecten* の様に、C の生合成は行なうが、これを燐原質形成に利用せず、AP 動物であるという場合もある (Thoai and Robin, 1951)。

これらの結果は、結局、無脊椎の CP 動物は、みづから C の生合成を行なうことなく、他の動物や植物が燐原質形成以外の目的でつくりだしたものを、取りこんで、燐原質の合成に利用しているという結論になるが、この真疑は将来検討を要する。

## § 6. 生殖細胞の燐原質

(1) 棘皮動物の場合 脊椎動物では、筋肉に次いで、

神経組織や精巣は、かなりの量の燐原質を含んでいるが、無脊椎動物でも、精子はかなりの燐原質含有量を示し、ウニ精子で  $3\mu\text{ moles/g}$  に達する (Yanagisawa, 1959 a, b, 1967)。

精巣にかなりの量の CP が含まれることを始めて確認したのは、鯉の精巣を用いた Greenwald (1946) の研究で、同時に、棘皮動物の *Strongylocentrotus*, *Holothuria*, *Cucumaria*, 環形動物の *Urechis*, 半索動物の *Balanoglossus*, *Glossobalanus*, 尾索動物の *Boltenia*, *Microcosmus* などの精巣も、かなりの量の C を含むことをみている。

棘皮動物の精巣が CP を含むことを最初に示したのは、*Asterias forbesi* を用いた M. Levy の未発表の仕事で、Greenwald (1946) に引用されている。

筆者は、数種のウニとヒトデの、卵と精子とに含まれる、燐原質と燐酸転移酵素をしらべて、第 4・5 表に示す様に、成体が AP 型でも、AP+CP 型でも、卵は常に AP・APT を含み、(Chambers & Mende, 1953; 柳沢, 1961), 精子は常に CP・CPT のみを含むことを明かにした (Yanagisawa, 1959a, b; 柳沢, 1961)。

従って、棘皮動物で複燐原質を含むものは、ウニ綱 *Camarodonta* 目に限られるとする、筋肉組織で得られた結論は、生殖細胞にはあてはまらず、卵子では、ウニでもヒトデでも一般に AP を、精子では

Table 5. Phosphagens in sea urchin and starfish gametes

Perchloric acid extracts were fractionated by LePage's method (1957). Creatine phosphate was hydrolyzed in 0.5 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  contained 0.25 % ammonium molybdate for 20 min at 30°C. Arginine phosphate was hydrolyzed in 2 % TCA for 60 sec at 100°C. Phosphate, creatine and arginine liberated were determined by the methods of Beremblum and Chain (1938), Eggleton *et al.* (1943) and Sakaguchi (1950), respectively.

Species	(no. of expt.)	creatine phosphate		arginine	phosphate
		P	creatine	P	arginine
Eggs					
<i>Pseudocentrotus depressus</i> (6)		0.02	—	0.52±0.14	0.76±0.14
<i>Hemicentrotus pulcherrimus</i> (5)		0.04	0.02	0.52±0.19	0.39±0.01
<i>Asterina pectinifera</i> (1)		0.06	0.00	0.32	0.24
Spermatozoa					
<i>Pseudocentrotus depressus</i> (6)		2.52±0.62	2.56±0.79	0.12	0.01
<i>Hemicentrotus pulcherrimus</i> (6)		2.20±0.55	2.34±0.56	0.03	0.00
<i>Asterias amurensis</i> (1)		1.60	2.09	0.35	0.01
<i>Asterina pectinifera</i> (1)		3.54	3.89	1.00	0.06

See Yanagisawa (1959 b, 1961).

( $\mu\text{moles per g fresh cell}$ )

Table 6.4: Phosphagen and related compounds in spermatozoa

Phylum	Species	Muscle	Ciliated spermatozoa	Non-ciliated spermatozoa
COELENTERATA				
	<i>Calliactis parasitica</i>	AP	C	
	<i>Spirocodon saltatrix</i> *		CPT	
ANNELIDA				
	<i>Arenicola marina</i>	TP	C	
	<i>Audouinia tentaculata</i>	C	C	
	<i>Dasybranchus caducus</i>	C	C	
	<i>Perinereis sp.</i> *	GPT	CPT	
	<i>Urechis caupo</i>	LP	CP, CPT	
	<i>U. unicinctus</i> *		CPT	
ASCHELMINTHES				
	<i>Ascaris lumbricoides</i>	A		A
ARTHROPODA				
	<i>Maja squinata</i>			A
ECHINODERMATA				
	<i>Anthocidaris crassispira</i>	APT+CPT	CP, CPT	
	<i>Sphaerechinus granularis</i>	A+C	C	
	<i>Hemicentrotus pulcherrimus</i>	APT+CPT	CP, CPT	
	<i>Pseudocentrotus depressus</i>	APT+CPT	CP, CPT	
	<i>Toxopneustes pileolus</i>	APT+CPT	CPT	
	<i>Diadema setosum</i>	APT	CPT	
	<i>Peronella lesueuri</i>	APT	CPT	
	<i>Scaphechinus mirabilis</i>	APT	CPT	
	<i>Asterias amurensis</i>	APT	CP, CPT	
	<i>Asterina pectinifera</i>	APT	CP, CPT	
	<i>Leptosynapta inhaerens</i>	A	C	

See Thoai and Roche (1964 a), Robin (1964) and Yanagisawa (1960, 1961, and unpublished data (\*)).

CP を含むから、個体全体でいえば、ウニでもヒトデでも複燐原質を含むことになる。先に、筋組織に限りて燐原質を論じ、系統との関係を論じたのは、この混乱をさけるためである。

成体の筋組織の燐原質をしらべるときに、一般に性別を考えずに混合して取扱っている。もしかして、雄は遺伝的に CP、雌は AP という可能性も皆無ではない。そこで、複燐原質を含む *Hemicentrotus* と単燐原質の *Asterias* で、雌雄をわけ、その筋組織の CPT と APT の活性を測ったところ、前者は（アリストテレス提燈の筋肉）雄も雌ともに CPT と APT を含み、その活性の比は、雌雄で全く差がなかった。後者では（管足を使用）、いづれも APT 活性のみを示した (Yanagisawa, 1960)。

筋組織でいえば、ヒトデは AP 動物であり、ウニも多くの場合に AP 動物であるが、Camarodonta 目

に限りて複燐原質であるということからすると、生殖細胞では、ウニとヒトデを通じて、精子は CP を、卵子は AP を含むという結果は、極めて意外なことというべきである。この結果は、従来考えられていた様に、ヒトデやウニの中の AP 動物では、遺伝子的に AP 系であったものが、Camarodonta 目を生ずるときに変異がおこって、遺伝子が変わり、CP 系が生ずるようになったものではなく、ウニもヒトデもともに、AP 系及び CP 系を生ずる遺伝子をもっているもので、これが組織分化の過程で、卵では AP 系のみが発現し、精子では CP 系のみが発現するのに対し、筋組織では、ある種類が AP 系のみを発現する一方、Camarodonta 目のウニでは AP・CP 両系を発現するわけで、変異は遺伝子のレベルでおこるのではなく、各組織でそれを発現せしめる調節の機構におこったものと解すべきである。

燐原質の分布を、動物の系統と関連させて論ずるときに、この組織による相違を頭におかないと、不要な混乱をまねく結果になるので、常に筋組織ならば筋組織に限って論ずるのが良い。Needham 一派がときに混乱におちいたり、Stephens *et al.* (1965) らが、燐原質を用いて系統関係を論ずることに、極めて悲観的な立場をとるにいたったのは、少なくとも一部はこの注意をおこたったことに起因していると思われる。Meyerhof が、筋組織に限ってその系統関係を考えたのは、賢明であった。

組織による相違が明らかになったところで、1 つ気になることは、同じ筋組織といったが、ウニでは良く発達した提燈の筋肉を用いたが、ヒトデではこれに対比すべき筋組織がないことから、通常管足を用いる。ウニの或種類が AP のほかに CP を含むことは、ただ単に良く発達した筋肉の分化に帰せられ、同じ動物でも管足はヒトデと同じ AP 系の状態にとどまっているかも知れない。

そこで、複燐原質を含むラッパウニ *Toxopneustes* の管足と提燈の筋の転移酵素活性を比べたところ、後者では APT > CPT であるのに、管足では APT 活性を示さず、CPT 活性のみを示した。管足でみても、ウニとヒトデの相違は明かであった(柳沢, 未発表)。

(2) その他の動物の場合 生殖細胞の燐原質は、ウニとヒトデに関する限り、精子ではすべて CP、卵子ではすべて AP であったが、棘皮動物以外の動物群ではどうであろうか。

脊椎動物の卵は、鶏・蛙・魚でみた限りでは、AP を含まず、少量の CP を含んでいる(Needham, 1950, 参照)。精子も CP のみを含み、AP は含まれない(Ennor and Rosenberg, 1952; Newton and Rothschild, 1961)。

無脊椎動物の生殖細胞の燐原質は、棘皮動物を除いては、ほとんど研究されていない。やや断片的な data をつづりあわせてみると、コムシ *Urechis caupo* (成体は LP)、*Nereis vexillosa* (成体は CP と GP)、*Audouinea tentaculata* (前者とともに環形動物、成体は CP)、ホシムシ *Phascolosoma agassizii* (成体は TP と HTP) の卵の燐原質はいづれも LP である(Robin *et al.*, 1956)。LP は環形動物に特有の燐原質である点で一般性がないが、成体筋組織の燐原質の多様性に比べれば、卵の燐原質が LP で一致し

ている点は棘皮動物と軌を一にしている。

最近になって、*Urechis caupo* の精子の燐原質が CP であることがわかった(Robin, 1964)。筆者の未発表の結果によれば、*Urechis unicinctus*, *Perinereis* sp. のほかに、カミクラゲ *Spirocodon saltatrix* の精子も CPT 活性を示すから、これらの動物の精子も、おそらく CP を含む。

無脊椎動物精子のグアニジン塩基の存在をみた Roche *et al.* (1957) の結果をも総合して、表示したのが第 6 表である。はなはだ不完全なリストではあるが、無脊椎動物の精子で鞭毛性の場合には一般に CP であり、*Ascaris* や *Maja* の様な非鞭毛性精子に限って AP を含むという傾向が認められる(Thoai and Roche, 1964a)。先にふれた海綿類の *Thetia lyncurium* で報告された CP も、ここまで論を進めてみると、あるいは精子の燐原質に由来したものかも知れない。

## §7. 結論

以上述べたことは、次の結論を暗示している。

動物は、進化の早い時期、おそらく海綿動物又は腔腸動物のレベルで、CP 系・AP 系両方の形成能力を同時に得たが、筋組織や卵子では、組織分化の間に AP 系のみが発現するのに対して、精子では主に CP 系を発現する。

進化がすすむにつれ、一方では、筋組織以外の組織でもすべて AP 系となり、精子は終に非鞭毛性となったものが、節足動物である。他方、はじめは精子に限られていた CP 系が、次第に筋にも見られる様になったのが、後口動物で、ついには筋を含めた体全体が、CP 系に限られるようになったのが、脊椎動物である。

この様に、一般の動物では、はじめ 2 つの燐原質系を生ずる能力があったものが、次第に限定されて 1 つに限られる方向に進化したのに対し、これとは逆に、更に多様性にむかって進化していった動物群が、環形動物と星口動物で、精子はなお CP 系にとどまっている。

## 文 献

- ARNOLD, A. AND J.M. LUCK (1933) *J. Biol. Chem.* 99: 677.  
BALDWIN, E. (1933) *Biol. Rev.* 8: 74.

- (1953) *Symp. Soc. Exptl. Biol.* no. 7: 22.
- AND D. M. NEEDHAM (1937) *Proc. Roy. Soc. London*, B 122: 197.
- AND W. H. YUDKIN (1950) *ibid.* B 136: 614
- BEREMBLUM, I. AND E. CHAIN (1938) *Biochem. J.* 32: 295.
- CHAMBERS, E. L. AND T. J. MENDE (1953) *Arch. Biochem. Biophys.* 44: 46.
- DALES, R. P. (1963) *Annelids* Hutchinson Univ. Library, London.
- EGGLETON, P. AND G. P. EGGLETON (1927) *Biochem. J.* 21: 190.
- , S. R. ELODEN AND N. GOUGH (1943) *Biochem. J.* 37: 526.
- ENNOR, A.H. AND J.F. MORRISON (1958) *Physiol. Rev.* 38: 631.
- AND H. ROSENBERG (1952) *Biochem. J.* 51: 606.
- FISKE, C. H. AND Y. SUBBAROW (1929) *J. Biol. Chem.* 81: 629.
- GREENWALD, I. (1946) *J. Biol. Chem.* 162: 239.
- HOBSON, G. E. AND K. R. REES (1955) *Biochem. J.* 61: 549.
- HUENNEKENS, F.M. AND H.R. WHITELEY (1960) *Comparative Biochemistry* (Edited by M. Florkin and H. S. Mason) Academic Press, N. Y. 1: 107.
- KUTSCHER, F. AND D. ACKERMANN (1926) *Z. Biol.* 84: 181.
- LEPAGE, G. A. (1957) *Manometric Techniques* (Edited by W. W. Umbreit, R. H. Burris and J. F. Stauffer), Burgess Publ., 268.
- MEYERHOF, O. AND K. LOHMANN (1928) *Biochem. Z.* 196: 22.
- MORRISON, J. F., D. E. GRIFFITHS AND A. H. ENNOR (1956) *Nature* 178: 359.
- NEEDHAM, J. (1950) *Biochemistry and morphogenesis.* Cambridge Univ. Press, London.
- , D. M. NEEDHAM, E. BALDWIN AND W. H. YUDKIN (1932) *Proc. Roy. Soc.*, London, B 110: 260.
- NEWTON, A. A. AND LORD ROTHSCHILD (1961) *Proc. Roy. Soc.*, London, B 155: 183.
- ROBIN, Y. (1954) D. Sc. Thesis, College de France, Paris. (Cited in Ennor and Morrison, 1958).
- (1964) *Comp. Biochem. Physiol.* 12: 347.
- AND N. v. THOAI (1962) *Biochim. Biophys. Acta* 63: 481.
- , — L. A. PRADEL AND J. ROCHE (1956) *Compt. Rend. Soc. Biol.* 150: 1892.
- ROCHE, J. AND Y. ROBIN (1954) *ibid.* 148: 1541.
- , N.v. THOAI AND Y. ROBIN (1957) *Biochim. Biophys. Acta* 24: 514.
- , —, — AND L.A. PRADEL (1956) *Compt. Rend. Soc. Biol.* 150: 1684.
- SAKAGUCHI, S. (1950) *J. Biochem.*, Tokyo 37: 231.
- STEPHENS, G. C., J. F. VAN PILSUM AND D. TAYLOR (1965) *Biol. Bull.* 129: 573.
- THOAI, N. V. AND Y. ROBIN (1951) *Compt. Rend. Acad. Sci.*, Paris, 232: 452.
- AND — (1954) *Biochim. Biophys. Acta* 14: 76.
- AND J. ROCHE (1964a) *Taxonomic biochemistry and serology* (Edited by C. A. Leone) Ronald Prees, N. Y. p. 347.
- AND — (1964b) *Biol. Rev.* 39: 214.
- , —, Y. ROBIN AND N. v. THIEM (1953) *Biochim. Biophys. Acta* 11: 593.
- , F. DI JESO AND Y. ROBIN (1963) *Compt. Rend. Acad. Sci.*, Paris 256: 4525.
- 内田亨 (1965) 動物系統分類の基礎. 北隆館, 東京.
- WAJZER, J. AND M. BROCHART (1947) *Compt. Rend. Acad. Sci.*, Paris 225: 965.
- YANAGISA, T. (1959 a) *J. Fac. Sci.*, Univ. Tokyo, Sec. IV: 8: 473.
- (1959b) *ibid.* IV 8: 481.
- (1960) *ibid.* IV 9: 9.
- (1961) 動物学雑誌 70: 51.
- (1967) *Exptl. Cell Res.* (in press).
- YUDKIN, W.H. (1954) *J. Cell. Comp. Physiol.* 44: 507.