

A LEUKOCITA PLAZMAMEMBRÁN SZEREPE A KEMOTAXISBAN

NAGY ZSOLT, SOLYMOSSY MAGDOLNA és ANTONI FERENC

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Kémiai—Biokémiai Intézet, Budapest

Az elmúlt dekádban a leukocita kemotaxis biokémiai és fiziológiai folyamataira vonatkozó ismereteink jelentősen gazdagodtak.

Ez részben annak tulajdonítható, hogy a leukociták szeparálására és tisztítására, a kemotaxis kvalitatív és kvantitatív mérésére a korábbinál jobb módszerek kidolgozására és bevezetésére került sor, továbbá az a tény, hogy néhány kemoattraktáns szerkezetét sikerült részletesebben is megismerni.

Különösen jelentősek azok a vizsgálatok, amelyek a kemotaxis során a leukocita felszínén (membránjában) lejátszódó eseményeket tanulmányozták. A közleményünk ezeket az eredményeket foglalja össze.

Utalunk azonban a kemotaxissal kapcsolatos, általunk nem említett, egyéb biokémiai folyamatokat ismertető jelentősebb összefoglalókra: ZIGMOND 1978, GALLIN és QUIE 1978, GALLIN 1980, ANTONI és mtsai 1979—1980, BECKER 1980.

A sejt migrációja — helyváltztatása — biokémiai folyamatok sorozatának következménye, amelyik egyik kiemelkedő jelensége az intracelluláris aktomiozin polimerizációja és kontrakciója. A kemotaxissal foglalkozó kutatók egyik legizgalmasabb problémája megismerni e komponensek aktivációjához vezető molekuláris eseményeket. Az eddigi vizsgálatok a kemotaxisban három fő folyamatot különítenek el:

1. Az attraktáns, ill. a koncentráció gradiensnek a „felismerése” (az érzékelés vagy szignál mechanizmusa).
2. A felismerési szignál átvezetése a plazma membránon (a transzdukció vagy transzmisszió mechanizmusa).
3. A sejt citoskeleton elemeinek aktivációja (a kontrakció mechanizmusa).

Összefoglalónk a plazmamembrán eseményeire szorítkozik, így az 1. és 2. mechanizmust kívánjuk ismertetni.

Rövidítések: CT, kemotaktikus; PMN, polimorfonukleáris; SAM, S-adenozil-metionin; PL, foszfolipidek; PE, foszfatidil-etanol-amin; PC, foszfatidil-kolin; CDP-, citidin-difoszfo-

1. Az „érzékelés” mechanizmusa

1.1 Specifikus receptorok

A leukocita a kemoattraktáns vegyületnek nemcsak a struktúráját és koncentrációját, hanem a gradiens irányát is felismeri (vektorális effektus). A szignál vektorális természetének megfelelően, a molekuláris mechanizmusnak feltételezhetően komplexebbnek kell lenni, mint pl. a hormonra vagy a neurotranszmitterekre érzékeny célsejteknek.

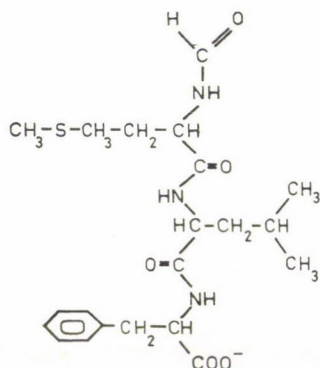
Az elmúlt évek látványos eredményei közé tartozott, hogy kimutatták (SHOWELL és mtsai 1976, WILLIAMS és mtsai 1977, ASWANIKUMAR és mtsai, 1977, CHENOWETH és HUGLI 1978, SPILBERG és MENTA 1979) a leukociták felszínén a kemoattraktánsra specifikus receptorokat.

Korábban WILKINSON és MCKAY (1971 és 1972) majd WILKINSON (1973) hívta fel a figyelmet arra az összefüggésre, hogy a CT aktivitású proteinek (pl. kazein, ill. annak alfa, béta frakciói, szérum-albumin, laktalbumin) apoláris csoportjaik révén nagy affinitást mutatnak a leukocita membrán hidrofób csoportjaihoz.

Feltételezés szerint ezek a fehérjék könnyen „áthatolhatnak” a foszfolipid felépítésű membránon. Nem sokkal ezután SCHIFFMAN és mtsai (1975) formil-oligopeptidekről bizonyította be a kemoattraktáns tulajdonságot.

Az egyik leghatásosabb (10^{-10} M koncentrációban kemotaxiszt előidéző) molekulát mutatja az 1. ábra.

Mintegy 90 hasonló szerkezetű peptid tanulmányozásából derült ki, hogy az N-terminális formil csoport és az apoláris oldalcsoportok szükségesek a biológiai effektushoz. Ehhez nemcsak az oldalcsoportok hidrofób karaktere, hanem azok sorrendje is fontos, mert pl. a két utolsó aminosav sorrendjének változtatása az aktivitás egyharmadra való csökkenését eredményezi. Kiderült továbbá az is, hogy a kemotaxiszhoz az aminosavaknak L-konfigurációjának



1. ábra. Az N-formil-metionil-leucil-fenilalanin (formil-peptid) szerkezete

kell lennie. Jogosan vetődött fel tehát, hogy a neutrofil sejtek felszínén a formil-peptidekre sztereoszelektívek a receptorok. A receptort egy időben, egymástól függetlenül két kutatócsoport (ASWANIKUMAR és mtsai 1977, WILLIAMS és mtsai 1977) is leírta, az egyik humán PMN-re, míg a másik nyúl neutrofilokra. Kísérleteik szerint — a triciált formil-peptid — 37°C-on humán PMN-eken a maximálisan kötődő molekulának fele 2 percen belül megtalálható (WILLIAMS és mtsai 1977) és mintegy 10 perc múlva egyensúly áll be. A K_d 12–14 nM. Számítások szerint humán PMN-en 2000, míg nyúl leukocitákon 10^5 kötőhely van. Ezek száma azonban nem állandó, mert a formil-peptid receptorok száma a kemotaxis során növekedhet (FLETCHER és mtsai 1982). Megállapították azt is, hogy szoros korreláció van a kötődés mértéke és a biológiai aktivitás nagysága között. A receptor természetére WILKINSON és ALLAN (1978) végeztek kísérleteket lipid-specifikus bakteriális toxinokkal. Ezek gátolták a kemotaxist, ami arra utalt, hogy a receptorok lipid komponenseket is tartalmaznak.

GOETZL és mtsai-nak (1981) sikerült humán neutrofil formilpeptid receptorokból három különböző (68 000, 94 000 és 40 000) molekulasúlyú fehérjét izolálni. Az izolált receptorokra jellemző, hogy a hidrofób aminosavak képezik a fehérjék mintegy 40%-át. A formil-peptidek maximális kötődésének pH optimuma 6,75, ennek 60%-a található, pH 7.6-nál (NIEDEL és mtsai 1979).

Kimutatták továbbá, hogy a formil-peptid receptorok a sejt felszínén (a plazmamembránban) egyenletesen oszlanak el. A receptorhoz kötött attraktáns molekula (az izotóppal jelzett ligand) kezdetben a felszínen található (1–2 percig). Ezen időn belül lehet csak eltávolítani a „kötődött” molekulákat proteáz vagy feleslegben adott jelzetlen peptiddel. Később a ligandok aggregálódnak a leukociták felszínén, „foltok” alakulnak ki, majd internalizálódnak (endocitózissal) a citoplazmában. Hogy ezen folyamatoknak — az aggregációnak, az internalizációnak — mi a kapcsolata a kemotaktikus válaszhoz, arra ma még nem lehet választ adni. Jóllehet a jelenség nemcsak a kemoattraktánsokra jellemző, hasonló jelenséget lehetett megfigyelni IgE-vel, inzulinval és növekedési hormonnal is. (JACOBS és mtsai 1978, SHECHTER és mtsai 1979). Az internalizálódott vegyület-receptor komplex a citoplazmában még 3–10 percig kimutatható, majd a lizoszomával történő fúzió után protolitikus degradáció eredményeként peptid fragmentek keletkeznek, melyek valamilyen módon kikerülnek a sejtéből. Az internalizációt követően azonban egy bizonyos ideig az eredeti membrán struktúra nem áll helyre. Ez a magyarázata lehet a deaktiváció jelenségének. Nevezetesen, hogy azon sejtek, melyeket kemotaxist előidéző koncentrációjú attraktánsal előzetesen kezeltek, majd ezt követően a sejteket kimosták, az attraktánsok ismételt adása nem idézett elő kemotaxist.

1.2 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPáz}$

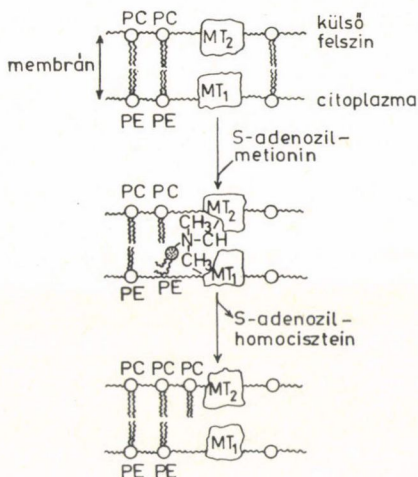
NUNGESTER már 1951-ben közölte, hogy a leukociták kemotaxisához egyes kétértékű kationokra (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}) feltétlenül szükség van. Ezzel kapcsolatban most csak egy enzimre, a $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPáz}$ -ra hívjuk fel a figyelmet. SHA'AFI és mtsai (1976) közölték, hogy nyúl PMN leukociták membránjában $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPáz}$ található. A $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -pumpa működése szükséges, hogy a PMN a maximális kemotaxisal válaszoljon az attraktánsokra. Ennek alapját SHOWEL és BECKER (1976) vizsgálatai bizonyították, nevezetesen, hogy extracellulárisan adott K^+ (5.5 mM) mintegy $2 \times$ -re fokozta a neutrofilok migrációját, de csak Na^+ ion jelenlétében. Az oubain (5×10^{-6} M) azonban csak a K^+ fokozó hatását gátolta és nem magát a migrációt. A kemotaktikus anyagok aktiválják a $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPáz}$ -t, mert izolált leukocita membránban közvetlenül mérni lehetett az enzim aktivitásának növekedését (BECKER és mtsai 1978), továbbá azt, hogy a CT anyag adása után a K^+ transzportja fokozódott a sejtekbe, míg a Na^+ az extracelluláris térben jelent meg (NACCHACHE és mtsai 1977). Hogy a CT anyagok hogyan aktiválják az enzimet, nem ismert. Az sem, hogy az enzim aktiválása miért vezet maximális CT válaszhoz.

2. *A transzdukció mechanizmusa*

2.1 *A foszfolipidek metilációja és a foszfolipázok*

A kutatásokhoz az analógiát a baktérium kemotaxis vizsgálata során kapott eredmények szolgáltatták. ARMSTRONG (1972), majd SPRINGER és KOSHLAND (1977) mutatta ki, hogy metil-transzferáz enzim vagy SAM hiánymutáns képtelen kemotaxisra. A humán makrofágokban PIKE és mtsai (1978, 1979) mutatták ki, hogy a metiltranszferázok gátlása a kemotaxist is gátolja. Ez a megfigyelés vezette HIRATA munkacsoportját (1978) a neutrofilok kemotaxisában a membrán foszfolipidek metilációjának vizsgálatában. Az eredmények ismertetése előtt hasznosnak látszik a plazma membrán szerkezetét vázolni. A különféle foszfolipidek a membránban aszimmetrikusan helyezkednek el, így foszfolipiák a nagy részét képező foszfatidiletanolamin (PE) a citoplazma oldal felől, míg a foszfatidilkolin (PC) a membrán külső felszínéhez közel helyezkedik el. (CHAP és mtsai 1977, ROTHMAN és LENARD 1977.) A metilációt két enzim, a metiltranszferáz I (szubsztrátja a PE) és a II (melynek terméke a PC) (HIRATA és mtsai 1978) végzi. A folyamat sémáját a 2. ábrán mutatjuk be.

A PL-ek metilációja vektoriális. Megindul a citoplazma oldal felől, ahol a metiltranszferáz I enzim található. A másik enzim, a metiltranszferáz II, a foszfatidil-N-monometiletanol-amint metilálja PC-á. Ez az enzim viszont már a membrán külső felszínéhez közel helyezkedik el. Radioizotóppal jelzett metil



2. ábra. A foszfolipidek transzlokációja a membrán belső oldaláról a külsőhöz (PC: foszfatidil-kolin; PE: foszfatidil-etanol-amin; MT1 és MT2: metiltranszferáz enzimek)

csoportokkal mutatták ki, hogy 2 percen belül a PL-ek metilálódnak, miközben transzlokálódnak a citoplazma oldalról a membrán külső oldalára (HIRATA és AXELROD 1980). Még annyit szükséges ismerni, hogy az említett PC szintézis csak a „minor” utat jelenti, mert a PC-ek elsősorban a CDP-kolin úton szintetizálódnak (KENNEDY és WEISS 1956).

A lipidek gyors, vektoriális átrendeződése (transzlokációja) jelentősen befolyásolja a membrán fluiditását. A PC mennyiségének növekedése a viszkozitás csökkenését eredményezi. A két metiltranszferáz működése, ill. a foszfolipidek transzlokációja fontos esemény a kemotaxis mechanizmusában. Neutrofilokat inkubáltak H^3 -metioninnal, majd stimuláltak formil-peptidekkel, azt kapták, hogy percekben belül a metionin metil-csoportjainak inkorporációja a PL-be leállt (HIRATA és mtsai 1978). Elvileg a csökkent beépülésnek lehet oka a metiláció gátlása, de lehet oka a metilált lipidek nagyobb mértékű degradációja is. Mivel az előzetesen jelzett lipidek az attraktánssal kezelt leukocitákban gyorsabban tűntek el, mint a nem kezeltben felmerült, hogy az attraktánsok növelik a metilált PL-ek degradációját. Ez időben vált ismertté, hogy más biológiai jelenségek (pl. hisztamin felszabadulás, mitogenezis) során a PL metilációja együtt jár a Ca^{2+} -nak a sejtekbe történő beáramlásával. Jóllehet a pontos mechanizmus nem ismert, valószínű a membrán fluiditása növekedésével megnyílnak a membrán Ca^{2+} csatornái. Amennyiben nem tud elég PC képződni a membránban, ez a jelenség nem következik be. Ezzel lehetne azt magyarázni, hogy a SAM dependens transzmetilációs reakciók miatt szükségesek a kemotaktikus válaszhoz. PIKE és SNYDERMAN (1981) szerint a metiláció a szignál vezetését jelenti és talán a mozgás folyamatos fenntartásához is szükséges. Az eredmény mindenesetre az, hogy kemoattraktánsok hatására a neutro-

filok permeabilitása Ca^{2+} -ra (és Na^{+} -ra) jelentősen megnövekszik (SHOWELL és BECKER 1976). Azt is megfigyelték, az intracelluláris raktárakból ezzel egyidejűleg a Ca^{2+} felszabadul (PETROSKI és mtsai 1979). Végülis átmenetileg a szabad (citoplazmatikus) Ca^{2+} szint megemelkedik. Ennek pedig egyenes következménye a membránkött foszfolipázok (elsősorban az A_2) aktivációja (FRANSON és WAITE 1978).

HIRATA és mtsai (1979) szoros összefüggést mutattak ki a leukociták kemotaxisa és a foszfolipidek foszfolipáz A_2 által történő degradációja között. Elsősorban a PC degradálódik és lizofoszfatidil-kolin és arachidonsav keletkezik (ez utóbbit újabban kezdik használni még ismeretlen vegyületek esetleges CT hatásának gyors mérésére). Hogy neutrofilokban a kemotaxis és a foszfolipáz A_2 aktivációja között összefüggés van mutatja, hogy quinaerin, mely foszfolipáz A_2 enzim gátló (jelenlétében nincs arachidonsav felszabadulás) egyúttal gátolja a kemotaxist is. Egy másik enzim gátló — a 21-foszfohidrokortizon — gátolja az arachidonsav megjelenést és a kemotaxist (HIRATA és mtsai 1978). Az említett adatok alapján ma már nagyon is aktuális lenne ismerni a foszfolipázok szabályozásának mechanizmusát, ez megkönnyítené a kemotaxis ezen részlépésének megértését.

Ezen biokémiai történések azonban csak látszólag „egyértelműek” és összefüggőek. Már 1979-ben formil-peptidekre, majd 1981-ben más struktúrájú endogén eredetű kemotaktikus anyagokra mutatták ki, hogy ezek makrofágokban a kemotaxis alatt gátolják (50–73%-kal) a PE transzmetilációját, anélkül, hogy megváltozna az össz-PL-ek szintézise. A PE: metilált foszfolipid arány $4\times$ -re növekszik attraktáns jelenlétében egy óra alatt (PIKE és SNYDERMAN 1981). A kemotaktikus aktivitás és a metiláció gátlás nagysága között szoros összefüggés volt. Azt is kimutatták, hogy humán monocitákban az arachidonsav a foszfatidilinozit-tól származik, s mint ilyen a foszfolipáz C enzim aktivitásának eredménye. Az enzim ezt a PL-t inozitolra és digliceridre bontja. Egy másik enzim a diacilglicerol lipáz, hidrolizálja tovább a digliceridet szabad zsírsavra és glicerinnre. Amennyiben gátolták a metilációt, csökkent az arachidonsav felszabadulás és a kemotaxis is. A fent leírtak ellentmondanak egymásnak, hiszen említettük, hogy a transzmetilációs reakciók szükségesek a kemotaxis-hoz, ugyanakkor a kemotaktikus faktorok gátolják a SAM mediálta metilációs lépéseket.

Jelenlegi ismereteink szerint ezt feloldani nem lehet. Egyrészt elképzelhető, hogy a kemotaxis bizonyos aspektusaihoz metilációra van szükség, míg a PL metiláció gátlás pedig egy másik eseménysorozat kiindulási feltétele. Másrészt elképzelhető az is, hogy egymástól időben elkülönülő folyamatról van szó. Először ahogy az attraktáns molekula hozzákötődik a membrán felszínhez, annak oly módon változik meg a „biofizikai állapota”, hogy az alkalmasabb lesz a sejt migrációjához szükséges alakváltozáshoz. Ehhez pedig a lokális, aszimmetrikus PE felszaporodás (metiláció gátlás eredményeképpen) a kedvező.

Ezt követően a leukocita populáció mozgásba hozásához szükséges amplifikáció (az arachidonsav felszabadulás, ill. az ebből képződő intermedier a lipo- és cikloxygenázok útján) végbemegy a PL degradációjával. Ehhez pedig előfeltétel, hogy metilált PL-ek legyenek a sejtmembránban.

2.2 Membrán kötött peptidázok, eszterázok

WARD és BECKER (1967 és 1970) hívták fel a figyelmet először a membrán-kötött (szerin) eszteráz szerepére a kemotaxisban. Foszfonáttal gátolták az enzimet, ezzel egyidejűleg a kemotaxis is gátlódott. Később ASWANIKUMAR és mtsai (1976) mutatták ki, hogy nyúl neutrofilokhoz kötött a formil-peptidek membrán peptidázok hatására hidrolizálódnak. Az enzim gátlásával egyidejűleg kemotaxis sem figyelhető meg. NIEDEL és mtsai (1979) szerint a neutrofilok kemotaxisa során a membrán peptidáz aktivitása növekszik, amely különösen az aromás aminosavakra specifikus. Ez esetleg magyarázhatja a fenilalanin szerepét a peptid aktivitásában. MEHTA és mtsai (1981) human neutrofilban Ca^{2+} aktiválható eszteráz aktivitást igazolták a kemotaxis kezdeti eseményeként. Felvetik, hogy az eszterázok inaktiválhatják a kemotaktikus peptideket, vagy a receptort, illetve esetleg mindkettőt.

Közvetlen bizonyíték azonban ma még nem áll rendelkezésre a proteázok szerepére vonatkozólag. Ismert az a jelenség, hogy a leukociták a funkciójuknak megfelelően a CT stimulusra „emésztő” enzimeket szekretálnak a mikro-környezetükbe, ami megnehezíti a membrán felszíni enzimek működésének vizsgálatát.

IRODALOM

- ANTONI, F., NIKOLICS, K., NAGY, L. TEPLÁN, I.: Orvostudomány **30—31**, 197 (1979—1980).
 ARMSTRONG, J. B.: Can. J. Microbiol. **18**, 1695 (1972).
 ASWANIKUMAR S., SCHIFFMANN E., CORCORAN B. A. and WAHL S. M.: Proc. Natl. Acad. Sci. **73**, 2439 (1976).
 ASWANIKUMAR S., CORCORAN B., SCHIFFMANN E., DAY A. R., FREER R. J., SHOWELL H. J. and BECKER EG.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **74**, 210 (1977).
 BECKER, E. L., TALLEY, J. V., SHOWELL, H. J., NACCACHE, P. H., SHA'AFI, R. I.: J. Cell Biol. **77**, 329 (1978).
 BECKER, E. L.: J. Allergy Clin. Immunol. **66**, 97 (1980).
 CHAP, H. J., ZWAAL, R. F. A., VAN DEENEN, L. L. M.: Biochim. Biophys. Acta **467**, 146 (1977).
 CHENOWETH, D. E., HUGLI, T. E.: Proc. Natl. Acad. Sci. **75**, 3943 (1978).
 FLETCHER, M. P., SELIGMANN, B. E., and GALLIN, J. I.: J. Immunol. **128**, 941 (1982).
 FRANSON, R. and WAITE, M.: Biochemistry **17**, 4029 (1978).
 GALLIN, J. I.: in The Phagocytic Cell in Host Resistance (eds., Bellanti, J. A. and Dayton, D. H.) Raven Press, New York p. 299 (1980).
 GALLIN, J. I., QUIE, P. G., eds. Leukocyte Chemotaxis: Methods, Physiology and Clinical Implications Raven Press, New York (1978).
 GOETZL, E. J., FOSTER, D. W., GOLDMAN, D. W.: Biochemistry **20**, 57 (1981).
 HIRATA, F., VIVEROS, O. H., DILIBERTO, E. Jr. and AXELROD, J.: Proc. Natl. Acad. Sci. **75**, 1718 (1978).
 HIRATA, F. and AXELROD, J.: Proc. Natl. Acad. Sci. **75**, 2348 (1978).
 HIRATA, F., CORCORAN, B. A. VENKATA SUBRAMNAN, K., SCHIFFMANN, E., AXELROD, J.: Proc. Natl. Acad. Sci. **76**, 2640 (1979).

- HIRATA F. and AXELROD, J.: *Science* **209**, 1082 (1980).
- JACOBS, S., CHANG, K. I. CUATRECASAS, P.: *Science* **200**, 1283 (1978).
- KENNEDY, E. P. and WEISS, S. B.: *J. Biol. Chem.* **222**, 193 (1956).
- MEHTA, J., MANDELL, B., KLEYMAN, T., SPILBERG, I.: *Inflammation* **5**, 89—100 (1981).
- NACCACHE, P. H., SHOWELL, H. J., BECKER, E. L., SHA'AFI, R. I.: *J. Cell Biol.* **73**, 428 (1977).
- NIEDEL, J., KAHANE, I., CUATRECASAS, P.: *Science* **205**, 1412 (1979).
- NIEDEL, J., WILKINSON, S. and CUATRECASAS, P.: *J. Biol. Chem.* **254**, 10700 (1979).
- NUNGESTER, W. J.: *Bacteriol. Rev.* **15**, 105 (1951).
- PETROSKI, R. J., NACCACHE, P. H., BECKER, E. L., SHA'AFI, R. I.: *Am. J. Physiol.* **237**, C43 (1979).
- PIKE, M. C., KREDICH, N. M. and SNYNERMAN, R.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **75**, 3928 (1978).
- PIKE, M. C., KREDICH, N. M., SNYNERMAN, R.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **76**, 2922 (1979).
- PIKE, M. C. and SNYDERMAN, R.: *J. Immunol.* **127**, 1444 (1981).
- PIKE, M. C. and SNYDERMAN, R.: *J. Cell Biology* **91** 221 (1981).
- ROTHMAN, J. E. and LEHARD, J.: *Science* **195**, 743 (1977).
- SCHIFFMANN, E., CORCORAN, B. A., WAHL, S. M.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **72**, 1059—1062 (1975).
- SHA'AFI, R. I., NACCACHE, P., RAIBLE, D., KREPCIO, A., SHOWELL, H., and BECKER, E. L.: *Biochim. Biophys. Acta* **448**, 638—641 (1976).
- SHECHTER, Y., HERNAEZ, L., SCHLESSINGER, J., CUATRECASAS, P.: *Nature* **278**, 835 (1979).
- SHOWELL, H. J., BECKER, E. L.: *J. Immunol.* **116**, 99 (1976).
- SHOWELL, H. J., FREER, R. J., ZIGMOND, S. H., SCHIFFMAN, E., ASWANIKUMAR, S., CORCORAN, B. A., BECKER, E. L.: *J. Exp. Med.* **143**, 1154 (1976).
- SPILBERG, I., MEHTA, J.: *J. Clin. Invest.* **63**, 85 (1979).
- SPRINGER, W. R. and KOSHLAND, D. E.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **74**, 533 (1977).
- WARD, P. A. and BECKER, E. L.: *J. Exp. Med.* **127**, 1001 (1967).
- WARD, P. A. and BECKER, E. L.: *J. Immunol.* **105**, 1057 (1970).
- WILLIAMS, L. T., SNYDERMAN, R., PIKE, M. C. and LEFKOWITZ, R. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **74**, 1204 (1977).
- WILKINSON, P. C. and MCKAY, I. C., *Int. Archs. Allergy appl. Immunol.* **41**, 237 (1971).
- WILKINSON, P. C. and MCKAY, I. C.: *Eur. J. Immunol.* **2**, 570 (1972).
- WILKINSON, P. C.: *Nature* **244**, 512 (1973).
- WILKINSON, P. C.: *Nature* **251**, 58 (1974).
- WILKINSON, P. C. and ALLAN, R. B.: *Mol. Cell. Biochem.* **20**, 25 (1978).
- ZIGMOND, S. H.: *J. Cell Biol.* **77**, 269 (1978).