

スフィンゴシン1-リン酸 (S1P) 輸送体である Spns2 の分子機能

久野 悠¹, 川原 敦雄²

ある種の細胞間シグナル分子は、細胞内で生成された後に細胞外へと放出され、標的細胞に発現するシグナル分子特異的受容体に結合することで情報を伝達する。リゾリン脂質メディエーターの一種であるスフィンゴシン1-リン酸 (S1P) はまさにそのような分子であり、血管内皮細胞や赤血球内で産生され細胞外へと放出され、さらに、Gタンパク質共役型受容体 (GPCR) であるS1P受容体 (S1PR1~5) を介して細胞遊走、細胞増殖およびアポトーシスの抑制などの細胞機能を制御することで血管新生、血管透過性およびリンパ球の循環などを調節している。S1Pの前駆体であるスフィンゴシンは細胞内に局在するスフィンゴシンキナーゼ (SPHK1/2) によりリン酸化を受けるので、S1Pが標的細胞膜上に発現するS1PRに結合するためには、一度細胞外へと放出される必要がある。S1Pは疎水性の高い脂質メディエーターであるがリン酸基を分子内に保有するため、単純拡散により細胞膜を通過できず、何らかの放出機構が存在すると考えられていた。本稿では、最近、分子実体が明らかとなったS1P輸送体を中心にS1Pの生理機能を紹介する。

1. はじめに

一般的に細胞間コミュニケーションをつかさどるシグナル分子は、細胞内で生成された後に細胞外へと放出され、標的細胞に発現するシグナル分子特異的受容体に結合することで情報を伝達する。スフィンゴシン1-リン酸 (S1P) は、Gタンパク質共役型受容体 (GPCR) であるS1P受容体 (S1PR1~5) を介して細胞遊走、細胞増殖およびアポトーシスの抑制などの細胞機能を制御する。S1Pは生体内において血液中に豊富に存在しており、血管新生、血管透過性およびリンパ球の循環などを制御している。S1Pの前

駆体であるスフィンゴシンは細胞内に局在するスフィンゴシンキナーゼ (SPHK1/2) によりリン酸化を受けるので、S1Pが標的細胞膜上に発現するS1PRに結合するためには、一度細胞外へと放出される必要がある。S1Pは疎水性の高い脂質メディエーターであるがリン酸基を分子内に保有するため、単純拡散により細胞膜を通過できず、何らかの放出機構が存在すると考えられていた。本稿では、生体内で機能するS1P輸送体について最近の知見を紹介する。

2. 生体内でS1P輸送体として機能する Spns2 の同定

ゼブラフィッシュは順遺伝学的解析に適したモデル脊椎動物として注目されているが、筆者らと Stainier らの研究グループは、それぞれ独立して二叉心臓の表現型を示すゼブラフィッシュ変異体を作製し、その原因遺伝子が *spns2* であることを報告した^{1,2)}。この二叉心臓の表現型は、S1PR2 受容体遺伝子変異体 (*s1pr2* 変異体)³⁾ と類似した表現型を示したことから、Spns2 と S1P シグナルの関連性が考えられた。また、Spns2 は、その一次配列から 12 回膜貫通型輸送体ファミリーである major facilitator superfamily (MFS) に分類されたことから、筆者らは Spns2 が S1P 輸送体として機能する可能性を検討した。*spns2* を遺伝子導入した培養細胞では Spns2 の細胞膜上への発現が確認され、それに伴い時間依存的な S1P の細胞外への放出が観察

¹ Harvard Medical School, Boston Children's Hospital (300 Longwood Avenue, Boston, MA 02115, USA)

² 山梨大学大学院総合研究部医学教育センター発生生物学 (山梨県中央市下河東 1110)

Molecular function of a sphingosine 1-phosphate (S1P) transporter, Spns2

Yu Hisano¹ and Atsuo Kawahara² (¹ Harvard Medical School, Boston Children's Hospital, 300 Longwood Avenue, Boston, MA 02115, USA, ² University of Yamanashi, Shimokato 1110, Chuo, Yamanashi, Japan)

本論文の図版はモノクロ (冊子版) およびカラー (電子版) で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2018.900574

© 2018 公益社団法人日本生化学会

された。また、上記の変異体由来の *Spns2* (153 番目のアルギニンがセリンに点突然変異) は S1P の輸送活性が消失していることから、*Spns2* が S1P 輸送体として機能することが心臓発生に重要であると考えられた。それまで複数の ABC 型輸送体が S1P 輸送に関与すると報告されていたが⁴⁻⁸⁾、これらの ABC 型輸送体遺伝子を培養細胞に導入しても S1P の輸送活性は認められなかった⁹⁾。これに対し、*Spns2* は単独で S1P 輸送活性が観察された。*Spns2* はゼブラフィッシュだけでなく哺乳類にもそのオルソログが保存されており、マウスおよびヒト *SPNS2* も S1P 輸送体として機能することが明らかとなっている^{1, 10-12)}。

3. *Spns2* を介した心臓の形成機構

心臓は、器官形成期に胚体の左右に位置する心臓前駆細胞が正中線方向に移動し融合することにより形成される。この心臓前駆細胞の移動に異常が生じると左右に二つの心臓が形成される二叉心臓と呼ばれる表現型を示す。ゼブラフィッシュにおいて *spns2* 変異体および *s1pr2* 変異体が二叉心臓の表現型を示すことから、S1P が心臓前駆細胞の移動を制御していることが示された。S1P 輸送体である *Spns2* は *S1pr2* の上流で機能すると考えられるが、興味深いことに *Spns2* は卵黄多核層に発現が認められている。卵黄多核層は卵黄嚢と胚体の境界に存在する胚体外の組織であり、卵黄多核層が形成された後は、卵黄嚢と胚体の間の物質の移動が制限を受ける。下に示すように、卵黄嚢で生成された S1P は、卵黄多核層に発現する *Spns2* を介することで卵黄側から胚体側へと S1P を供給していると考えられた¹⁾。

最近、筆者らは、S1P の産生酵素である *Sphk2* が心臓発生を制御していることを明らかにした¹³⁾。上述したように、*Sphk1* および *Sphk2* は S1P の前駆体であるスフィンゴシンをリン酸化することで S1P を産生する。この反応経路は可逆的であり、脱リン酸化酵素であるホスファターゼ (S1P phosphatase や lipid phosphate phosphatase) によって再びスフィンゴシンに変換される。筆者らはゲノム編集技術である TALEN (transcription activator-like effector nuclease) を利用して *sphk1* および *sphk2* の機能欠損ゼブラフィッシュを作製した。*sphk1* と *sphk2* の単独機能欠損変異体は、ともに顕著な発生異常が認められず成魚へと成長した。*Sphk1* と *Sphk2* の間で機能補完の可能性が考えられたが、*sphk1/sphk2* 二重機能欠損変異体においても発生異常は認められなかった。一方、成熟した *sphk2* 機能欠損変異体のメス (ホモ型) とヘテロ型のオスを交配して得られた *sphk2* 機能欠損変異体胚 (母性-接合体変異体) は二叉心臓の表現型を示した。この表現型は、*sphk2* mRNA あるいは S1P を注入することで回復した。*sphk2* 母性変異体の卵黄嚢における S1P 量は、検出限界まで減少していた。一方、*sphk1* 遺伝子に対する母性-接合体変異体は、正常に発生した。これらの結果は、母性および接合体由来の *Sphk2*

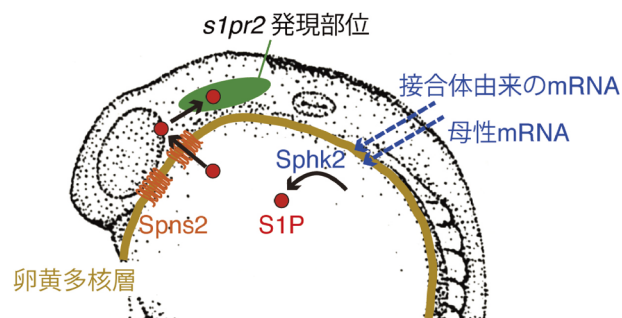


図1 心臓前駆細胞の移動の分子メカニズム
母性 mRNA あるいは接合体に由来する *Sphk2* が、卵黄嚢における S1P の産生を担っている。卵黄多核層に発現する *Spns2* は、卵黄嚢から胚体へ S1P を輸送することで *S1pr2* 発現細胞に S1P シグナルを伝達する。

が心臓前駆細胞の移動に必要な S1P を産生していることを示している¹³⁾。つまり、*Sphk2* によって産生された S1P が卵黄嚢に蓄積しており、卵黄多核層に発現する *Spns2* を介して胚体側に供給され、胚体に発現する *S1pr2* を活性化することにより心臓前駆細胞の移動を制御していると考えられる (図1)。

4. 哺乳類における SPNS2 の機能

卵黄多核層は魚類に特異的に発達した組織であり、*SPNS2*-KO (ノックアウト) マウスでは心臓発生に顕著な異常が認められないことから、哺乳類における *SPNS2* の新たな機能が考えられた。血液には S1P が豊富に存在しており、複数の細胞から供給される。最初に、血小板が S1P 放出活性を持つ細胞として報告され¹⁴⁾、その後、赤血球および血管内皮細胞が S1P を放出することが示された^{15, 16)}。血小板からの S1P 放出はトロンビンなどの刺激依存的であるのに対して赤血球および血管内皮細胞からの S1P 放出は刺激非依存的であるなど細胞によって放出機構が異なることから、複数の S1P 輸送体の存在が示唆されている^{17, 18)}。赤血球および血管内皮細胞は血液中的の恒常的な S1P 量に貢献しており、血小板は血管損傷部位などにおいて局所的な S1P 濃度を調節している (図2)。SPNS2-KO マウスでは血液中的の S1P 濃度が約 4 割減少していたことから、マウスの生体内でも *SPNS2* が S1P 輸送体として機能していることが示唆された。SPNS2-KO マウスから調製された赤血球および血小板からの S1P 放出能は野生型と同程度で、血管内皮細胞からの S1P の放出量は完全に消失していた¹⁰⁾。つまり、*SPNS2* は血管内皮細胞における唯一の S1P 輸送体として機能しており、逆に、赤血球および血小板には異なる S1P 輸送体が発現していると考えられた。最近、西らおよび Nguyen らのグループから赤血球で機能する S1P 輸送体として MFSD2B が同定された^{19, 20)}。血管内皮細胞あるいはリンパ管内皮細胞特異的な Cre リコンビナーゼを利用した *SPHK1/2*-KO マウスでは、それぞれ血液中 S1P 濃度の減少がみられないことから、これまで赤血球が主な血液

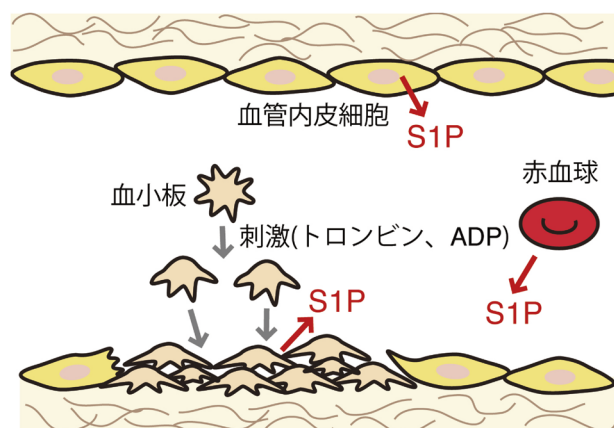


図2 血液中におけるS1Pの供給源

血液中のS1Pは、血管内皮細胞、赤血球および血小板から供給される。トロンビンなどで刺激された血小板は、大量のS1Pを産生する。

中S1Pの供給源で内皮細胞の寄与は小さいと考えられていた^{21, 22)}。しかし、SPNS2-KOマウスの赤血球からのS1P放出能は正常であるにもかかわらず、血液中S1P濃度が約4割減少していた。SPNS2は血管内皮細胞に加えてリンパ管内皮細胞にも発現しており、血管とリンパ管内皮細胞が協調して恒常的な血液中S1P濃度の維持に貢献しているのかもしれない。

5. SPNS2によるリンパ球の循環制御

哺乳類におけるS1Pの生理機能の一つは、リンパ球の循環制御である。S1PアナログであるFTY720は、経口投与が可能な多発性硬化症（自己免疫疾患の一種と考えられている）に対する治療薬として承認されている（図3）。免疫担当細胞であるリンパ球にはS1PR1が発現しており、胸腺やリンパ節などのリンパ組織から血液中へと移出する際にS1PR1の活性化が必須である²³⁾。FTY720のリン酸化型であるFTY720PはS1PR1に結合すると、受容体の内部移行および分解を促進するため、結果的に細胞表面からS1PR1が消失し、本来のリガンドであるS1Pへ応答できなくなる（機能的アンタゴニストとして作用する）。骨髄で作られたTリンパ球の前駆細胞は、胸腺で成熟した後に再び循環血液中へと移動する。未成熟なT細胞はS1PR1が発現しておらず、成熟する過程でS1PR1の発現が誘導され（S1Pへの反応性を獲得し）、S1Pに応答して胸腺から移出する^{24, 25)}。たとえば、未成熟T細胞にS1PR1を強制発現させたトランスジェニックマウスでは未成熟な状態で末梢血へ移出することから、S1PR1を介するシグナル伝達が胸腺からの移出に重要であることがわかる²⁶⁾。SPNS2-KOマウスでは末梢血でのリンパ球数が激減しており、逆に胸腺では成熟T細胞が蓄積していることからSPNS2が循環するT細胞の数を調節していると考えられた。さらに、SPNS2-KOマウスの成熟T細胞はS1PR1を発現しており（SPNS2はT細胞の成熟過程に影響を与えない）、S1P濃度依存的

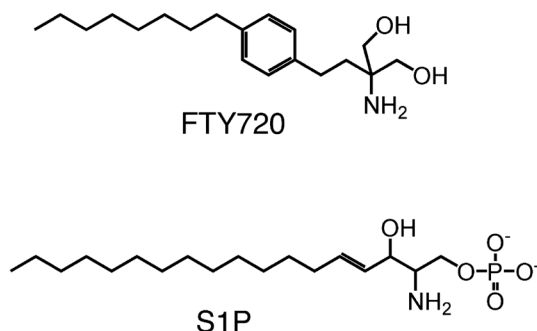


図3 S1Pと免疫抑制剤FTY720のリン酸化型の構造

FTY720はS1Pと類似した構造であり、生体内においてSphk2によりリン酸化を受ける。このリン酸化型が免疫抑制の機能を発揮する。

な遊走活性を示すことから、SPNS2は胸腺からの移出に必要なS1Pを供給することでT細胞の移出を制御している¹⁰⁾。胸腺組織内のS1P濃度は低く、血液中のS1P濃度は高く保持されているため、T細胞膜上のS1PR1はこの濃度差を感知していると考えられていた。SPNS2-KOマウスの血液中S1P濃度は野生型の約6割ほどであり、S1P産生酵素であるSPHK1-KOマウスとほぼ同程度の減少である。しかしながらSPNS2-KOマウスがリンパ球の循環異常を示す一方で、SPHK1-KOマウスには同様の異常は認められていない²⁷⁾。つまり、胸腺中の成熟T細胞は血液中のS1Pを直接認識しているのではなく、SPNS2から供給されるS1Pを特異的に認識していると考えられる。SPNS2は血管内皮細胞の基底膜側に発現しており、胸腺髄質と血管が接する微小空間のS1P濃度を制御している可能性や、T細胞膜上のS1PR1を直接活性化している可能性が考えられる。また、血管周皮細胞に発現するSPHK1/2が成熟T細胞の移出に必要であることを示す報告もあり²⁶⁾、SPNS2は血管内皮細胞に加えて、胸腺髄質と接する周皮細胞においてS1P輸送体として機能している可能性もある。今後、発現動態解析に有用なSPNS2レポーターマウスや各細胞種特異的なCreリコンビナーゼを利用した細胞特異的な機能欠損の表現型解析を行うことが重要だと考えられる。

前述のように、免疫抑制剤であるFTY720はプロドラッグであり、生体内でSPHK2によりリン酸化されたFTY720Pが標的細胞膜上のS1PR1に作用する²⁸⁾。つまり、FTY720PもS1Pと同様に細胞内で合成された後に細胞外へ放出される必要がある。SPNS2は培養細胞レベルではFTY720Pに対する輸送活性も保持しており⁹⁾、また、SPHK1-KOではなくSPHK2-KOマウスでのみFTY720の薬効が消失することより、SPHK2が生体内でのFTY720のリン酸化に関与していると考えられる^{27, 28)}。しかし、SPNS2が発現している血管内皮細胞では、SPHK1の方がSPHK2に比べて優位に発現しているためFTY720のリン酸化効率²⁹⁾は低い。赤血球も同様にFTY720のリン酸化能が低く、血小板ではFTY720Pの産生および放出能が確認されているが、SPNS2は血小板では機能していない¹⁰⁾。生理的条件

下で機能するFTY720P輸送体の同定は、FTY720の作用機序を理解する上で非常に重要である。

SPNS2は、リンパ球の循環を制御するだけでなくナイーブT細胞の生存にも関わっている。ナイーブT細胞とは、胸腺から末梢血に移出しているが抗原刺激を受けていないT細胞をいう。リンパ管内皮細胞に由来するS1Pは胸腺からの成熟T細胞の移出には関与していないはずだが²¹⁾、リンパ管内皮細胞特異的なSPNS2-KOマウスにおいても循環T細胞数が減少していた³⁰⁾。エネルギー産生であるミトコンドリアは、細胞生存と強い関連性があるが、リンパ管内皮細胞に発現するSPNS2によって供給されるS1PはナイーブT細胞上のS1PR1を活性化することで、ミトコンドリア量を維持し、ナイーブT細胞の生存を促進していることが明らかとなった³⁰⁾。S1P輸送体であるSPNS2の機能解析は、S1Pの時空間制御がその生理的機能の理解に重要であることを示している。

6. SPNS2とがん

S1PRを介するシグナル伝達は細胞遊走や血管新生などを制御していることから、S1Pシグナルとがんの発生や転移との関わりが精力的に解析されている。5種類あるS1PRの中でS1PR1とS1PR3は細胞遊走を促進しS1PR2は抑制するため、各S1PRの発現パターンに依存してS1Pシグナルに対する細胞応答が異なる(図4)。たとえば、血管内皮細胞、リンパ球、アストロサイトおよび破骨細胞ではS1P刺激によって細胞遊走が促進されるが、血管平滑筋細胞や肥満細胞では細胞遊走の阻害効果がみられる。がん細胞株においてもS1Pに対する遊走応答性は発現するS1PRのサブタイプに依存し、膀胱がん・食道がん・前立腺がん・卵巣がん細胞株では細胞遊走を促進し、悪性黒色腫・骨肉腫・乳がん細胞株では細胞遊走の阻害を促す。

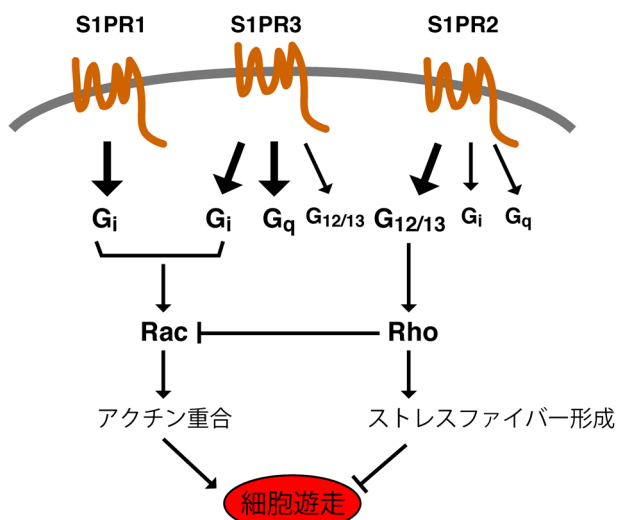


図4 S1PRを介するシグナル伝達
哺乳類のS1PR1、S1PR2およびS1PR3は、受容体に共役するGタンパク質とRac/Rho経路を介して細胞遊走を制御している。

肺の血管内皮細胞では肝細胞増殖因子（hepatocyte growth factor: HGF）刺激によって葉状仮足の形成が促進され細胞遊走が誘導されるが、siRNAによってS1PR1、SPHK1あるいはSPNS2の発現を抑制することで葉状仮足の形成と細胞遊走の阻害が観察された³¹⁾。つまり、肺の血管内皮細胞ではSPNS2を介したS1Pのオートクライン経路によって自身の細胞遊走を制御している。一方、肺がん細胞では、SPNS2の発現抑制が細胞遊走を促進するという報告もある³²⁾。肺がん細胞で活性化を受けるシグナル伝達経路は不明だが、実際にステージ2Bおよび3の肺がん患者の腫瘍組織においてSPNS2 mRNAの発現量が約40%ほどに減少しており、リスクファクターとみなされる³³⁾。

最近、がん転移に関与する遺伝子を探索する目的で810系統の遺伝子ノックアウトマウスのスクリーニングが行われ、SPNS2が最も高い肺への転移抑制効果を示した遺伝子として同定された³³⁾。SPNS2は成熟リンパ球の循環を制御しており、SPNS2-KOマウスでは循環血中のT細胞やB細胞の総数は減少するが、活性化されたエフェクターT細胞やナチュラルキラー細胞の数は逆に増加していた。ナチュラルキラー細胞は自然免疫において主要な役割を担っており、T細胞とは異なり感作を必要としない。エフェクターT細胞およびナチュラルキラー細胞は腫瘍細胞を攻撃し、特に腫瘍細胞の転移に対して抑制効果を示す。SPNS2はがん細胞の初期段階での増殖や血管外への滲出への関与は認められず、SPNS2-KOマウスでは悪性黒色腫、大腸がん、乳がん細胞腫の肺および肝臓への転移が抑制されていた³³⁾。S1PR1を標的とするFTY720の投与ではエフェクターT細胞の抑制や血管透過性の上昇も引き起こすため、SPNS2はより効果的ながん転移に対する創薬標的分子として期待される。

前立腺がん細胞と骨芽細胞は骨微小環境下において、細胞増殖や細胞分化を誘導する因子を相互に供給しており、がんの骨転移を高頻度で伴い病態の悪化を引き起こしている³⁴⁾。前立腺がん細胞にはS1PR1、骨芽細胞にはS1PR3とSPNS2が発現しており、骨芽細胞はSPNS2を介してS1PR3を活性化することで、骨芽細胞の成熟過程で重要な転写因子であるRunx2の発現を誘導している³⁵⁾。また、骨芽細胞のSPNS2を介し放出されたS1Pは、前立腺がん細胞に発現するS1PR1を活性化することで細胞増殖や薬剤耐性を誘導する。つまり、SPNS2に対する阻害剤は、前立腺がんの骨転移を抑制する治療薬となりうる可能性が考えられる。

低酸素状態により誘導される血管新生は増殖が盛ながん組織において共通にみられる現象であり、転写因子であるHIF（hypoxia-inducible factor）により制御されている。神経膠腫細胞株を低酸素状態にするとSPHK1のプロモーター領域に直接結合するHIF-2αによってSPHK1の発現が誘導され、S1Pの細胞外への放出が観察される³⁶⁾。腺がん細胞株では低酸素状態によりSPHK2が発現誘導され、S1Pの放出が誘導される³⁷⁾。これらの細胞種におけるS1P

輸送体の実体は解明されていないが、SPNS2やMFSD2Bが関与している可能性も考えられる。腎臓がん細胞株ではSPHK1、SPNS2およびS1PR1の発現抑制によって、低酸素依存的なHIF-2 α の発現誘導が阻害された³⁸⁾。つまり、SPNS2を介したS1Pシグナルががん組織での血管新生を制御している可能性がある。

肺がん組織ではSPNS2の発現量が減少していたが、乳がん患者の腫瘍組織における発現遺伝子プロファイル解析では、予後不良のグループで発現量が増加している遺伝子の一つとしてSPNS2が同定されている³⁹⁾。また、肝がん組織においてもSPNS2遺伝子発現の増加が認められている⁴⁰⁾。これらの報告は複数のがんにおいてSPNS2の役割が異なることを示唆しており、各がん組織におけるSPNS2の分子機能を正しく理解することが重要である。

7. おわりに

本稿では生体内でS1P輸送体として機能するSpns2について、ゼブラフィッシュおよび哺乳類における機能について紹介した。Spns2の発見から約10年が経過し、主に免疫反応やがん組織におけるSPNS2の機能や発現動態解析などが行われてきたが、未解明の課題も多く残されている。S1P産生酵素やS1PRは多様な細胞に発現しており、免疫・がん・炎症反応など生体防御や病態に関わっている。今後、病態モデル生物や臨床サンプルを用いた詳細な解析から新たなSPNS2の生理機能が解明されるであろう。

SPNS2の生理的役割だけでなく分子レベルでの構造解析についても新たな展開を期待したい。たとえば、SPNS2が属するMFS型輸送体はこれまでに結晶構造が解かれたものはすべてV字型の構造をしており、細胞質側に開いた構造と細胞外側に開いた構造をとり、両構造間で輸送基質との親和性が変化することで、細胞膜を介した物質の輸送を可能にしている⁴¹⁾。しかし、これらのMFS型輸送体は水溶性分子を輸送基質としており、脂溶性の高いS1Pでは輸送機構が異なる可能性が考えられる。一般的なGPCRではリガンド結合部位が細胞外側に向いており、リガンドは細胞外側から直接アクセスできるが、S1PR1のリガンド結合部位は細胞外ではなく細胞膜側に向いており、受容体を活性化するためにリガンドであるS1Pはいったん細胞膜に溶け込んでから受容体のS1P結合部位へアクセスすると考えられる⁴²⁾。これまでに知られている水溶性分子輸送体は細胞質または細胞外から基質認識部位へ直接アクセスできるV字型構造であるのに対して、側面方向である細胞膜に局在するS1Pの輸送経路を同様のモデルで説明することは難しい。さらに細胞膜の内外で受容体、キャリアタンパク質、代謝酵素などと相互作用している可能性も考えられる。Spns2の発見に端を発し国内外で精力的な解析が行われており、近い将来これらの課題が解かれ、脂質メディエーターの分泌機構の全容が解明されることを期待したい。

文 献

- 1) Kawahara, A., Nishi, T., Hisano, Y., Fukui, H., Yamaguchi, A., & Mochizuki, N. (2009) The Sphingolipid Transporter Spns2 Functions in Migration of Zebrafish Myocardial Precursors. *Science*, **323**, 524–527.
- 2) Osborne, N., Brand-Arzamendi, K., Ober, E.A., Jin, S.-W., Verkade, H., Holtzman, N.G., Yelon, D., & Stainier, D.Y.R. (2008) The Spinster Homolog, Two of Hearts, Is Required for Sphingosine 1-Phosphate Signaling in Zebrafish. *Curr. Biol.*, **18**, 1882–1888.
- 3) Kupperman, E., An, S., Osborne, N., Waldron, S., & Stainier, D.Y. (2000) A sphingosine-1-phosphate receptor regulates cell migration during vertebrate heart development. *Nature*, **406**, 192–195.
- 4) Honig, S.M., Fu, S., Mao, X., Yopp, A., Gunn, M.D., Randolph, G.J., & Bromberg, J.S. (2003) FTY720 stimulates multidrug transporter- and cysteinyl leukotriene-dependent T cell chemotaxis to lymph nodes. *J. Clin. Invest.*, **111**, 627–637.
- 5) Mitra, P., Oskeritzian, C.A., Payne, S.G., Beaven, M.A., Milstien, S., & Spiegel, S. (2006) Role of ABCG2 in export of sphingosine-1-phosphate from mast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 16394–16399.
- 6) Sato, K., Malchinkhuu, E., Horiuchi, Y., Mogi, C., Tomura, H., Tosaka, M., Yoshimoto, Y., Kuwabara, A., & Okajima, F. (2007) Critical role of ABCA1 transporter in sphingosine 1-phosphate release from astrocytes. *J. Neurochem.*, **103**, 2610–2619.
- 7) Nieuwenhuis, B., Luth, A., Chun, J., Huwiler, A., Pfeilschifter, J., Schafer-Korting, M., & Kleuser, B. (2009) Involvement of the ABC-transporter ABCG2 and the sphingosine 1-phosphate receptor subtype S1P(3) in the cytoprotection of human fibroblasts by the glucocorticoid dexamethasone. *J. Mol. Med. (Berl.)*, **87**, 645–657.
- 8) Takabe, K., Kim, R.H., Allegood, J.C., Mitra, P., Ramachandran, S., Nagahashi, M., Harikumar, K.B., Hait, N.C., Milstien, S., & Spiegel, S. (2010) Estradiol induces export of sphingosine-1-phosphate from breast cancer cells via ABCG2 and ABCG1. *J. Biol. Chem.*, **285**, 10477–10486.
- 9) Hisano, Y., Kobayashi, N., Kawahara, A., Yamaguchi, A., & Nishi, T. (2011) The Sphingosine 1-Phosphate Transporter, SPNS2, Functions as a Transporter of the Phosphorylated Form of the Immunomodulating Agent FTY720. *J. Biol. Chem.*, **286**, 1758–1766.
- 10) Hisano, Y., Kobayashi, N., Yamaguchi, A., & Nishi, T. (2012) Mouse SPNS2 Functions as a Sphingosine-1-Phosphate Transporter in Vascular Endothelial Cells. *PLoS One*, **7**, e38941.
- 11) Nijnik, A., Clare, S., Hale, C., Chen, J., Raisen, C., Mottram, L., Lucas, M., Estabel, J., Ryder, E., Adissu, H., et al., Sanger Mouse Genetics Project (2012) Sanger Mouse Genetics Project, Adams, Niels C., Ramirez-Solis, Ramiro, White, Jacqueline K., Steel, Karen P., Dougan, Gordon, and Hancock, Robert E. W., The role of sphingosine-1-phosphate transporter spns2 in immune system function. *J. Immunol.*, **189**, 102–111.
- 12) Fukuhara, S., Simmons, S., Kawamura, S., Inoue, A., Orba, Y., Tokudome, T., Sunden, Y., Moriwaki, K., Ishida, J., Uemura, A., et al. (2012) The sphingosine-1-phosphate transporter Spns2 expressed on endothelial cells regulates lymphocyte trafficking in mice. *J. Clin. Invest.*, **122**, 1416–1426.
- 13) Hisano, Y., Inoue, A., Okudaira, M., Taimatsu, K., Matsumoto, H., Kotani, H., Ohga, R., Aoki, J., & Kawahara, A. (2015) Maternal and Zygotic Sphingosine Kinase 2 Are Indispensable for

- Cardiac Development in Zebrafish. *J. Biol. Chem.*, **290**, 14841–14851.
- 14) Yatomi, Y., Ruan, F., Hakomori, S., & Igarashi, Y. (1995) Sphingosine-1-phosphate: a platelet-activating sphingolipid released from agonist-stimulated human platelets. *Blood*, **86**, 193–202.
 - 15) Venkataraman, K., Lee, Y.M., Michaud, J., Thangada, S., Ai, Y., Bonkovsky, H.L., Parikh, N.S., Habrukowich, C., & Hla, T. (2008) Vascular endothelium as a contributor of plasma sphingosine 1-phosphate. *Circ. Res.*, **102**, 669–676.
 - 16) Yang, L., Yatomi, Y., Miura, Y., Satoh, K., & Ozaki, Y. (1999) Metabolism and functional effects of sphingolipids in blood cells. *Br. J. Haematol.*, **107**, 282–293.
 - 17) Kobayashi, N., Nishi, T., Hirata, T., Kihara, A., Sano, T., Igarashi, Y., & Yamaguchi, A. (2006) Sphingosine 1-phosphate is released from the cytosol of rat platelets in a carrier-mediated manner. *J. Lipid Res.*, **47**, 614–621.
 - 18) Kobayashi, N., Kobayashi, N., Yamaguchi, A., & Nishi, T. (2009) Characterization of the ATP-dependent Sphingosine 1-Phosphate Transporter in Rat Erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, **284**, 21192–21200.
 - 19) Kobayashi, N., Kawasaki-Nishi, S., Otsuka, M., Hisano, Y., Yamaguchi, A., & Nishi, T. (2018) MFS2B is a sphingosine 1-phosphate transporter in erythroid cells. *Sci. Rep.*, **8**, 4969.
 - 20) Vu, T.M., Ishizu, A.N., Foo, J.C., Toh, X.R., Zhang, F., Whee, D.M., Torta, F., Cazenave-Gassiot, A., Matsumura, T., Kim, S., et al. (2017) Mfs2b is essential for the sphingosine-1-phosphate export in erythrocytes and platelets. *Nature*, **550**, 524–528.
 - 21) Pham, T.H.M., Baluk, P., Xu, Y., Grigorova, I., Bankovich, A.J., Pappu, R., Coughlin, S.R., McDonald, D.M., Schwab, S.R., & Cyster, J.G. (2010) Lymphatic endothelial cell sphingosine kinase activity is required for lymphocyte egress and lymphatic patterning. *J. Exp. Med.*, **207**, 17–27.
 - 22) Gazit, S.L., Mariko, B., Therond, P., Decouture, B., Xiong, Y., Couty, L., Bonnin, P., Baudrie, V., Le Gall, S.M., Dizier, B., et al. (2016) Platelet and Erythrocyte Sources of S1P Are Redundant for Vascular Development and Homeostasis, but Both Rendered Essential After Plasma S1P Depletion in Anaphylactic Shock. *Circ. Res.*, **119**, e110–e126.
 - 23) Hisano, Y., Nishi, T., & Kawahara, A. (2012) The functional roles of S1P in immunity. *J. Biochem.*, **152**, 305–311.
 - 24) Allende, M.L., Dreier, J.L., Mandala, S., & Proia, R.L. (2004) Expression of the sphingosine 1-phosphate receptor, S1P₁, on T-cells controls thymic emigration. *J. Biol. Chem.*, **279**, 15396–15401.
 - 25) Matloubian, M., Lo, C.G., Cinamon, G., Lesneski, M.J., Xu, Y., Brinkmann, V., Allende, M.L., Proia, R.L., & Cyster, J.G. (2004) Lymphocyte egress from thymus and peripheral lymphoid organs is dependent on S1P receptor 1. *Nature*, **427**, 355–360.
 - 26) Zachariah, M.A. & Cyster, J.G. (2010) Neural Crest-Derived Pericytes Promote Egress of Mature Thymocytes at the Cortico-medullary Junction. *Science*, **328**, 1129–1135.
 - 27) Allende, M.L., Sasaki, T., Kawai, H., Olivera, A., Mi, Y., Van Echten-Deckert, G., Hajdu, R., Rosenbach, M., Keohane, C.A., Mandala, S., et al. (2004) Mice deficient in sphingosine kinase 1 are rendered lymphopenic by FTY720. *J. Biol. Chem.*, **279**, 52487–52492.
 - 28) Kharel, Y., Lee, S., Snyder, A.H., Sheasley-O'Neill, S.L., Morris, M.A., Setiady, Y., Zhu, R., Zigler, M.A., Burcin, T.L., Ley, K., et al. (2005) Sphingosine kinase 2 is required for modulation of lymphocyte traffic by FTY720. *J. Biol. Chem.*, **280**, 36865–36872.
 - 29) Anada, Y., Igarashi, Y., & Kihara, A. (2007) The immunomodulator FTY720 is phosphorylated and released from platelets. *Eur. J. Pharmacol.*, **568**, 106–111.
 - 30) Mendoza, A., Fang, V., Chen, C., Serasinghe, M., Verma, A., Muller, J., Chaluvadi, V.S., Dustin, M.L., Hla, T., Elemento, O., et al. (2017) Lymphatic endothelial S1P promotes mitochondrial function and survival in naive T cells. *Nature*, **546**, 158–161.
 - 31) Fu, P., Ebenezer, D.L., Berdyshev, E.V., Bronova, I.A., Shaaya, M., Harijith, A., & Natarajan, V. (2016) Role of Sphingosine Kinase 1 and S1P Transporter Spns2 in HGF-mediated Lamellipodia Formation in Lung Endothelium. *J. Biol. Chem.*, **291**, 27187–27203.
 - 32) Bradley, E., Dasgupta, S., Jiang, X., Zhao, X., Zhu, G., He, Q., Dinkins, M., Bieberich, E., & Wang, G. (2014) Critical Role of Spns2, a Sphingosine-1-Phosphate Transporter, in Lung Cancer Cell Survival and Migration. *PLoS One*, **9**, e110119.
 - 33) Van Der Weyden, L., Arends, M.J., Campbell, A.D., Bald, T., Wardle-Jones, H., Griggs, N., Velasco-Herrera, M.D., Tuting, T., Sansom, O.J., Karp, N.A., et al., Sanger Mouse Genetics Project (2017) Genome-wide in vivo screen identifies novel host regulators of metastatic colonization. *Nature*, **541**, 233–236.
 - 34) Logothetis, C.J. & Lin, S.H. (2005) Osteoblasts in prostate cancer metastasis to bone. *Nat. Rev. Cancer*, **5**, 21–28.
 - 35) Brizuela, L., Martin, C., Jeannot, P., Ader, I., Gstalder, C., Andrieu, G., Bocquet, M., Laffosse, J.M., Gomez-Brouchet, A., Malavaud, B., et al. (2014) Osteoblast-derived sphingosine 1-phosphate to induce proliferation and confer resistance to therapeutics to bone metastasis-derived prostate cancer cells. *Mol. Oncol.*, **8**, 1181–1195.
 - 36) Anelli, V., Gault, C.R., Cheng, A.B., & Obeid, L.M. (2008) Sphingosine kinase 1 is up-regulated during hypoxia in U87MG glioma cells. Role of hypoxia-inducible factors 1 and 2. *J. Biol. Chem.*, **283**, 3365–3375.
 - 37) Schnitzer, S.E., Weigert, A., Zhou, J., & Brune, B. (2009) Hypoxia enhances sphingosine kinase 2 activity and provokes sphingosine-1-phosphate-mediated chemoresistance in A549 lung cancer cells. *Mol. Cancer Res.*, **7**, 393–401.
 - 38) Watson, C., Long, J.S., Orange, C., Tannahill, C.L., Mallon, E., McGlynn, L.M., Pyne, S., Pyne, N.J., & Edwards, J. (2010) High Expression of Sphingosine 1-Phosphate Receptors, S1P1 and S1P3, Sphingosine Kinase 1, and Extracellular Signal-Regulated Kinase-1/2 Is Associated with Development of Tamoxifen Resistance in Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer Patients. *Am. J. Pathol.*, **177**, 2205–2215.
 - 39) Finak, G., Bertos, N., Pepin, F., Sadekova, S., Souleimanova, M., Zhao, H., Chen, H., Omeroglu, G., Meterissian, S., Omeroglu, A., et al. (2008) Stromal gene expression predicts clinical outcome in breast cancer. *Nat. Med.*, **14**, 518–527.
 - 40) Sato, M., Ikeda, H., Uranbileg, B., Kurano, M., Saigusa, D., Aoki, J., Maki, H., Kudo, H., Hasegawa, K., Kokudo, N., et al. (2016) Sphingosine kinase-1, S1P transporter spinster homolog 2 and S1P2 mRNA expressions are increased in liver with advanced fibrosis in human. *Sci. Rep.*, **6**, 32119.
 - 41) Quistgaard, E.M., Low, C., Guettou, F., & Nordlund, P. (2016) Understanding transport by the major facilitator superfamily (MFS): structures pave the way. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **17**, 123–132.
 - 42) Hanson, M.A., Roth, C.B., Jo, E., Griffith, M.T., Scott, F.L., Reinhart, G., Desale, H., Clemons, B., Cahalan, S.M., Schuerer, S.C., et al. (2012) Crystal Structure of a Lipid G Protein-Coupled Receptor. *Science*, **335**, 851–855.

●久野 悠 (ひさの ゆう)



Harvard Medical School, Boston Children's Hospital, Vascular Biology Program, Research Fellow. 博士 (薬学).

■略歴 1983年愛媛県に生る。2005年大阪大学薬学部卒業。10年同大学院薬学研究科博士課程修了。12年理化学研究所研究員。15年Weill Cornell Medical College, Research Fellow. 17年より現職。

■研究テーマと抱負 遺伝子工学及びプ

ロテオミクスによるスフィンゴシン1-リン酸放出輸送体及び受容体を介したシグナル伝達機構の解析。

■ウェブサイト <https://projects.iq.harvard.edu/hl1lab>

■趣味 スノーボード, テニス。

●川原 敦雄 (かわはら あつお)

山梨大学大学院総合研究部医学教育センター発生物学。博士 (医学)。

■略歴 大阪大学大学院医学研究科博士課程修了。大阪大学医学部遺伝学, 米国立衛生研究所分子遺伝学, 京都大学先端領域融合医学研究機構, 理化学研究所生命システム研究センターなどを経て, 2014年より現所属。

■研究テーマと抱負 順遺伝学的解析とゲノム編集技術を用いた逆遺伝学的解析から形態形成を司る分子実体を明らかにすることを目標としている。

■ウェブサイト <https://www.med.yamanashi.ac.jp/medicine/devbio/access.html>