

新たに同定された赤血球のS1P輸送体MFSD2B

小林 直木¹, 西(川崎) 晶子², 西 毅^{2,3}

赤血球は血漿中S1P濃度の維持に重要な役割を果たしており、S1Pが関与するさまざまな現象に関わっている。赤血球からのS1P放出が細胞膜輸送体を介していることが示されて以降、その分子実体の解明が待たれていた。最近になって、MFSD2Bが赤血球のS1P輸送体として機能することが明らかとなった。MFSD2BによるS1P輸送は赤血球反転膜小胞を用いて明らかにしたS1P輸送と同様の生化学的特徴を持っており、その輸送機構は受動的輸送であると考えられる。MFSD2B欠損マウスでは、赤血球と血小板からのS1P放出活性がなくなり、赤血球自体が溶血しやすくなるなどの表現型がみられた。しかし、MFSD2B欠損マウスの血漿中S1P濃度は野生型マウスの50%程度に保たれており、リンパ組織から血液中へのリンパ球移行はほぼ正常であった。MFSD2Bの同定により生体内の主要なS1P輸送体が同定されたことになり、S1Pシグナリングの全体像の解明が可能となった。

1. 赤血球から血漿中に供給されるS1Pはさまざまな必須の役割を持つ

1) 細胞遊走の制御

S1Pは血漿中に1μM程度の濃度で存在し、キャリアタンパク質であるApoM含有HDLもしくはアルブミンに結合した状態で存在する¹⁾。S1Pはリンパ球の細胞膜に発現するS1P受容体1 (S1P₁)に結合することで、胸腺や脾臓などのリンパ組織から血液中やリンパ液中へのリンパ球移動を促進する(図1)。生後3~5日目のマウスにおいて、

スフィンゴシンキナーゼ1 (*Sphk1*)と2 (*Sphk2*)を両方欠損させると、血漿中のS1Pが消失し、血液中のリンパ球数は大きく減少し、胸腺での成熟Tリンパ球の蓄積がみられる²⁾。このマウスの血液中にS1Pを投与すると血液中のリンパ球数は増加し、野生型のマウスから採取した赤血球を投与した場合でも血漿のS1P濃度が上昇することで胸腺での成熟Tリンパ球の蓄積が減少する。したがって、赤血球から血漿中に供給されるS1Pは胸腺から血液へのリンパ球移動に寄与している。しかし一方で、放射線照射した野生型マウスに*Sphk1*, 2欠損マウスの骨髄を移植した場合、血漿中のS1P濃度が野生型マウスの骨髄を移植した場合の10

¹ 摂南大学薬学部生命融合化学分野 (〒573-0101 大阪府枚方市長尾峠町45-1)

² 大阪大学産業科学研究所生体分子制御科学研究分野 (〒567-0047 大阪府茨木市美穂ヶ丘8-1)

³ 大阪大学大学院薬学研究科細胞生物学分野 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-6)

Identification of a novel S1P transporter in erythrocytes

Naoki Kobayashi¹, Shoko Kawasaki-Nishi² and Tsuyoshi Nishi^{2,3}

(¹Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University, 45-1 Nagaotoge-cho, Hirakata, Osaka 573-0101, Japan, ²Department of Biomolecular Science and Regulation, Osaka University, 8-1 Mihogaoka, Ibaraki, Osaka 567-0047, Japan, ³Faculty of Pharmaceutical Science, Osaka University, 1-6 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, 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.2018.900581

© 2018 公益社団法人日本生化学会

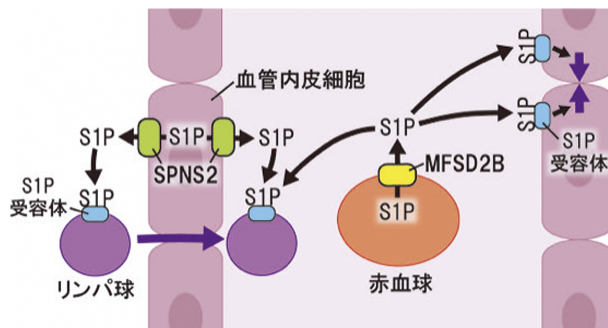


図1 赤血球が血液中のS1Pシグナリングの中心である。二次リンパ組織からのリンパ球の血中移行には、血管内皮細胞のSPNS2から供給されるS1Pと二次リンパ組織と血漿との間のS1P濃度勾配が必須である。血漿中のS1Pの半分は赤血球からMFSD2Bを介して供給される。また、赤血球由来のS1Pは血管強度の維持にも重要である。

分の1になるが、血液中のリンパ球数は正常である²⁾。この結果は、血球以外の細胞も血漿中にS1Pを供給しており、リンパ球移動にはその程度の血漿中S1P濃度で十分だということを示している。

リンパ球以外では、骨髄から血液中への造血幹細胞・前駆細胞の移動³⁾や破骨前駆細胞の運動制御⁴⁾に血漿中のS1Pが関与することが報告されている。

2) 血管形成・血管バリアへの関与

赤血球特異的に*Sphk1*と*Sphk2*の両方が欠損することで、マウスは血管形成不全のため胎生致死となることから、赤血球由来のS1Pが胚発生時の血管形成に必須であることが示されている⁵⁾。また、生後3~5日目に組織非特異的に*Sphk1*と*Sphk2*の両方を欠損させた場合には、マウスの血漿中S1Pがなくなり、血管漏出が増加してアナフィラキシーや炎症の惹起に対し感受性が増す⁶⁾。この血管漏出は、野生型マウス由来の赤血球を注入することにより回復することから、赤血球由来のS1Pが血管強度の維持にも関与することが示唆されている。また、ラットにおいても赤血球由来のS1Pが、毛細血管の透過性を抑制することが報告されている⁷⁾。

2. 赤血球は血漿中にS1Pを供給する主要な細胞である

前述のとおり、赤血球が血漿中S1Pの供給において重要な役割を果たすことがわかってきたが、細胞内で生成されたS1Pが細胞外へと放出される現象の報告は、1995年の矢富らによる血小板からの刺激依存的なS1P放出が最初である⁸⁾。その後1999年に赤血球・好中球・単核細胞からの刺激非依存的なS1P放出活性がYANGらによって⁹⁾、肥満細胞からの刺激依存的なS1P放出がJollyらによって報告された¹⁰⁾。血球細胞以外では、血管内皮細胞が刺激非依存的にS1Pを放出することが2007年にLeeらによって報告されている¹¹⁾。血小板は非常に高濃度のS1Pを蓄積しており、ヒトでは1細胞あたりの細胞内S1P量は赤血球の約9倍である¹²⁾。しかし赤血球は血小板よりも細胞数が圧倒的に多いため、血液中のS1P量としては赤血球の方が多く、ヒトでは血液中のS1Pの51%が赤血球に、30%が血小板に、13%が血漿に存在する¹²⁾。血小板を実質的に欠失させたマウスの血漿中S1P濃度は野生型マウスと同程度であることから²⁾、血漿中のS1P濃度に対する血小板の寄与は小さい。赤血球、血管内皮細胞は細胞内で合成されたS1Pを刺激非依存的で恒常的に放出することから、血漿中のS1P濃度に対する寄与が大きいと考えられる。

3. 血球細胞および血管内皮細胞からのS1P放出は細胞膜の輸送体を介する

S1Pを含む脂質メディエーターは脂溶性が高いことから当初、輸送体を介した細胞外放出機構についてあまり考え

られていなかった。しかし、特に血小板においてS1Pは高濃度に細胞内に蓄積されているが、受動拡散により細胞外へ放出されない。これはS1Pが親水性のリン酸基を持っているためであり、S1Pの細胞外放出は細胞膜の輸送体を介しているのではないかと考えられた。そこで我々は血小板のセミインタクト細胞を用いて、S1Pの細胞外放出の機構を詳細に解析し、血小板からの刺激依存的なS1P放出が細胞内顆粒の開口放出によるものではないことを示すとともに、細胞膜に存在する輸送体がS1Pを細胞膜内葉から外葉に輸送し、これをS1Pキャリアタンパク質が受け取り細胞外液中に移行させることを明らかにした¹³⁾。さらにこの結果は、細胞膜のみを持ち、刺激非依存的にS1Pを放出する赤血球からのS1Pの放出も細胞膜の輸送体を介している可能性を示唆していた。特に赤血球はこれまでに多くの生化学的解析がなされ、血小板に比べて解析が容易であるため、S1P輸送体の実体を明らかにするために最適であると考えた。実際、赤血球の反転膜を用いた生化学的な解析から、赤血球にはキャリアタンパク質としてアルブミンを必要とする、ATP依存的なS1P輸送体が細胞膜に存在することを明らかにできた¹⁴⁾。赤血球と血小板のS1P輸送体はともにATP依存的であり、glyburideにより阻害されるという共通の特徴を持っていた^{13, 14)}。赤血球からのS1P放出にはキャリアタンパク質としてアルブミンもしくはHDLが必要であり、ApoMはS1Pが直接結合するタンパク質として赤血球からHDLへのS1P放出を促進することが示されている¹⁵⁾。

S1P輸送体として、最初にマスト細胞の遺伝子ノックダウン実験によりABCC1の関与が示唆されてから¹⁶⁾、細胞での遺伝子発現抑制による細胞外S1P放出量の減少を指標に、いくつかのABC輸送体のS1P輸送への関与が示唆された¹⁷⁻²²⁾。しかし、これらのABC輸送体は我々の確立したS1Pを高濃度に蓄積する培養細胞を用いたS1P放出輸送体機能解析系に発現させても、細胞外へのS1P放出活性を示さないことから、単独ではS1Pを輸送しないと考えている²³⁾。

このような状況の中で、我々は生理的に機能するS1P輸送体としてSPNS2を初めて同定した²⁴⁾（詳細は川原らの稿参照）。SPNS2はマウスでは血管内皮細胞に発現しており、SPNS2欠損マウスの血管内皮細胞からのS1P放出は完全に消失していたにもかかわらず、赤血球および血小板からのS1P放出はまったく変化がなかった。このことから、これらの細胞にはSPNS2ではない別のS1P輸送体が存在すると考えられた²⁵⁾。

4. 赤血球S1P輸送体としてのMFSD2Bの同定

赤血球のS1P輸送体を同定するため、我々は生化学的な解析に成功していた赤血球反転膜を用いて、S1Pのアミノ基に光架橋基を結合させたS1Pアナログを作製し、アフィニティーラベリングによるS1P輸送体の精製を試みたが、

ほとんどがBand3などの赤血球に多く存在する膜タンパク質に反応し、S1P輸送体分子の同定には至らなかった。光架橋基がかさ高く、S1Pの親水性部分の構造が大きく変わるため、S1P輸送体により認識されなかった可能性が高い。それに並行して、脂質や薬剤の排出輸送体、ABC輸送体、赤血球膜での発現が確認されている輸送体、さらにS1P輸送体であるSPNS2と相同性の高いSLC輸送体など50種類以上の輸送体を調べたが、S1P輸送活性を示すものはなかった²⁶⁾。

そこで遺伝学的な手法を試みようとしたが、赤血球はDNAを持たない細胞であり遺伝学的な手法が使えないため、赤血球と同様のS1P放出輸送活性を持つ培養細胞の探索を進めた。さまざまな培養細胞を試した中、分化誘導したK562細胞において初めて弱いS1P放出活性を観察することができたが、再現性が悪く使用を断念した。その後、マウスES細胞からの分化誘導により樹立された赤血球前駆細胞株(MEDEP-E14, MEDEP-BRC4-1, MEDEP-BRC5)²⁷⁾がより赤血球に近い性質を有することがわかり、これらの細胞を試すことにした。細胞にS1Pの前駆体であるスフィンゴシンを添加すると、いずれの細胞株でも細胞内でS1Pが合成され、細胞外へ放出されることがわかった(図2)。我々はこれらの赤血球前駆細胞株のうち、最もS1P放出活性の高かったMEDEP-E14細胞を用いてさらに研究を進めた。MEDEP-E14細胞の親株細胞であるE14TG2a細胞ではスフィンゴシンの添加により細胞内で少量のS1Pが合成されたが、細胞外へのS1P放出はみられなかった。そこでMEDEP-E14細胞とE14TG2a細胞のS1P放出能の違いに着目し、マイクロアレイにより遺伝子発現の差異を解析した。E14TG2a細胞には発現せず、MEDEP-E14細胞のみに高発現している輸送体遺伝子を上位から抽出したところ、順に*Slc28a2*, *Slc14a1*, *Mfsd2b*を見いだした。これらの遺伝子をそれぞれスフィンゴシンキナーゼを安定発現させたCHO細胞に一過的に発現させたところ、MFSD2BのみがS1P放出輸送活性を示した。安定発現株を用いた解析でもMFSD2BはSPNS2に匹敵するS1P放出活性を示し、マウスおよびヒトのMFSD2Bともに高いS1P輸送活性がみられた²⁶⁾。MEDEP-E14細胞やMFSD2Bを発現させた細胞からのS1P放出輸送活性は、赤血球と同様に刺激非依存的であり、glyburideにより阻害された²⁶⁾。実際に、MEDEP-E14細胞で*Mfsd2b*遺伝子をCRISPR/Cas9システムにより欠損させると、アルブミンおよびHDL依存的なS1P放出活性が大きく減少したことから、MEDEP-E14細胞におけるS1P輸送体はMFSD2Bであることを確認した(図3)²⁶⁾。マウス個体において*Mfsd2b*はmRNAレベルで特に骨髄で高発現しており、また、タンパク質レベルでは赤血球膜で強い発現が確認できたことから、MFSD2Bが赤血球のS1P輸送体として機能していることが強く示唆された²⁶⁾。

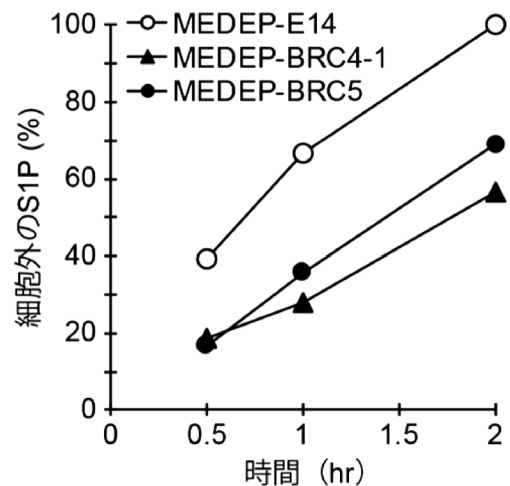


図2 赤血球前駆細胞株からのS1P放出
確立されている3種類のマウス赤血球前駆細胞株(MEDEP-E14, MEDEP-BRC4-1およびMEDEP-BRC5)の細胞外にスフィンゴシンを添加すると、細胞内に取り込まれS1Pに変換される。スフィンゴシン添加後の各時間における細胞外へのS1P放出量を測定した。

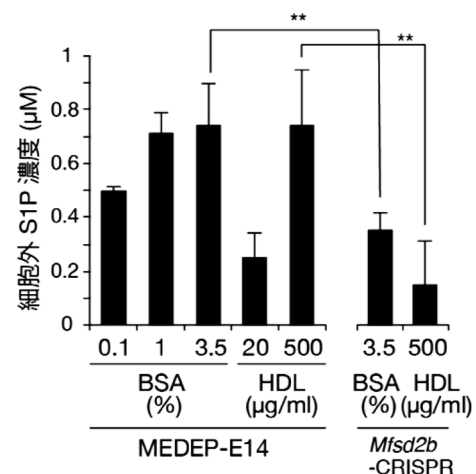


図3 赤血球前駆細胞株からのキャリアタンパク質濃度依存的なS1P放出
赤血球前駆細胞株MEDEP-E14を用い、生理的なS1Pキャリアタンパク質であるアルブミン(ここではBSA)とHDLの異なる濃度におけるS1P放出への影響を調べた。またMEDEP-E14細胞の*Mfsd2b*遺伝子をCRISPR/Cas9システムを用いて欠損させた細胞株からのキャリアタンパク質依存的なS1P放出も示した。**は有意差 $P < 0.01$ 。

5. MFSD2BによるS1P輸送機構

MFSD2BのホモログであるMFSD2Aは、2014年にリゾホスファチジルコリン(LPC)輸送体として同定され、血液脳関門の血液側細胞膜に発現することから脳へのドコサヘキサエン酸(DHA)取り込みに必須の輸送体である²⁸⁾。MFSD2Aは、DHAを含むLPCを Na^+ との共輸送により細胞内へ取り込むが、S1Pを取り込むことはできない²⁸⁾。MFSD2BとMFSD2Aでは基質の輸送方向が異なるが、アミノ酸配列の同一性が42%と非常に高く、基質であるS1P

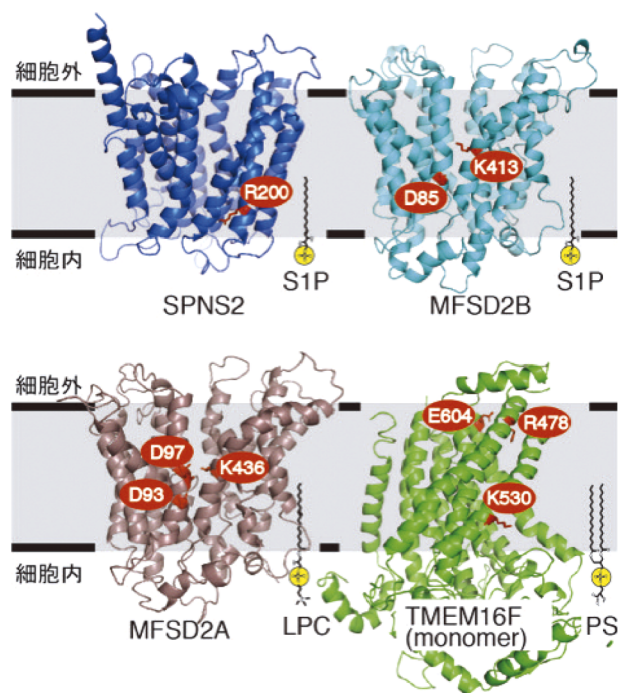


図4 脂質輸送体モデルにおける基質輸送に必要な荷電性アミノ酸残基の比較

SPNS2, MFSD2B, MFSD2A および脂質スクランブラーゼ TMEM16F のホモロジーモデリングによる推定構造を示した。TMEM16F は二量体で機能することが報告されているが、ここでは単量体を示し、鋳型の nhTMEM16 とアライメントできない部分を一部削除している。それぞれの脂質輸送体において S1P などの基質の輸送に必須であると報告されている残基を示した。基質となる脂質は膜上に示し、脂質のリン酸部位を丸で示している。

と LPC は分子構造も類似していることから、MFSD2B による S1P 輸送も Na^+ か K^+ の濃度勾配に依存することが推測された。しかし、MFSD2B による S1P 輸送活性は、 Na^+ 濃度勾配や K^+ 濃度勾配を消失させても変化せず²⁶⁾、また、 H^+ イオノフォア の Nigericin でも S1P 輸送は阻害されないことから（非公開データ）、 H^+ 濃度勾配も必要ないと思われる。MFSD2A においては結晶構造がすでに明らかとなっている細菌の MFS 型輸送体 MelB とのホモロジーモデリングにより、イオン共役や基質結合に関与する荷電性アミノ酸残基が報告されている²⁹⁾。それら荷電性アミノ酸残基のうち、MFSD2B において保存されている Asp85 および Lys413 を Ala に置換した変異体では S1P 輸送活性が大きく減少したことから、これらのアミノ酸残基はイオン共役を必要としない MFSD2B においても S1P 輸送活性に重要であることが明らかとなった²⁶⁾。Lys413 については相同する MFSD2A の残基が LPC のリン酸基の認識に関与すると考えられており、S1P もリン酸基を持つことから同様の役割を果たしている可能性がある（図4）。 Na^+ 共役型輸送体の Na^+ の結合部位においては3個の荷電性アミノ酸残基を含む6個のアミノ酸残基が立体構造上でクラスターを形成することが知られており³⁰⁾、MFSD2A では二つのアスパラギン酸残基を含む三つのアミノ酸残基がそのクラスター

を形成すると推定されている。MFSD2B では同じ位置に保存されたクラスターが存在せず、唯一保存されている Asp85 が S1P 輸送でイオン共役以外にどのような役割を果たしているのか興味深い。

血管内皮細胞の S1P 輸送体である SPNS2 と MFSD2B のアミノ酸配列を比較した場合、有意な相同性を示さないが、機能的な特徴は類似している。SPNS2 も S1P 輸送活性にイオン濃度勾配を必要としない。また、これまでに複数の正電荷を持つアミノ酸残基が S1P 輸送活性に必須であることがわかっている（未発表）。しかし、少なくとも SPNS2 と MFSD2B のホモロジーモデルにおいては輸送活性に必須の荷電性アミノ酸残基の位置が異なっており²⁶⁾、S1P 輸送の分子機構については高次構造の解明などさらなる研究が必要である。脂質スクランブラーゼである TMEM16F においてもホスファチジルセリンの細胞膜外葉への輸送に正電荷および負電荷を持ったアミノ酸残基が重要であることが報告されており、基質との相互作用が示唆されている³¹⁾。これらの脂質輸送体では脂質を認識する極性残基が基質とアクセスしやすい場所に存在しており、これらの極性残基と脂質のリン酸基などの極性部位が相互作用して脂質を輸送している可能性が考えられる（図4）。

S1P は脂溶性が高い物質であることから、血漿中の S1P はキャリアタンパク質に結合して存在しており、そのうちの約 60% は ApoM とともに HDL に、35% はアルブミンに存在している¹⁾。MEDEP-E14 細胞において、これらの S1P キャリアタンパク質依存的な MFSD2B による S1P 放出輸送を生理的なアルブミン濃度（3.5% BSA）および生理的な HDL 濃度（500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）で測定したところ、これまで実験的に用いていた 1% BSA と同程度であった（図3）。したがって、赤血球から供給される S1P は *in vivo* においても MFSD2B からアルブミンと HDL に対し同程度で受け渡されていることが示唆された²⁶⁾。SPNS2 と MFSD2B におけるアルブミンおよび HDL に対する S1P 輸送量の違いや輸送機構の違いについては今後の検討課題である。

6. 生体内での MFSD2B の役割

我々が赤血球前駆細胞株 MEDEP-E14 において新規 S1P 輸送体 MFSD2B を同定したのと同時期に、Vu らも MFSD2B が赤血球の S1P 輸送体であることを報告し、さらに MFSD2B 欠損マウスの解析結果も示した³²⁾。まず、MFSD2B の欠損により赤血球および血小板の S1P 放出活性が完全に抑制されることから、MFSD2B が赤血球および血小板の S1P 輸送体であることが示された³²⁾。血漿中の S1P 濃度は野生型の 50% 程度に減少したが、SPNS2 欠損マウスの場合（SPNS2 欠損により血漿中 S1P が野生型の約 60% に減少）とは異なり、リンパ球移動はほとんど影響がなかった。前述のとおり、これまでに赤血球由来の S1P が発生の血管形成に必要であることが示されていたが⁵⁾、血漿中 S1P 濃度が保たれているためか、血管強度についても影響

がなかった。MFSD2B欠損の影響が出たのは、アナフィラキシーショックに対する感受性の上昇と、赤血球自体の脆弱性に関係した表現型である。MFSD2B欠損マウスでは口唇状赤血球症を伴う溶血を示し、溶血はストレス誘導性の赤血球新生において悪化した。これらの結果はMFSD2BによるS1P放出が、赤血球の形態維持に重要であることを示している。MFSD2B欠損マウスの赤血球には野生型の40倍程度のS1Pやスフィンゴシンが蓄積することから、界面活性剤様の作用を持つS1Pが赤血球細胞膜の構造に悪い影響を与えるのかもしれない。実際に我々が赤血球の反転膜小胞を用いてS1P輸送活性を測定する際にも、高濃度のS1P添加により細胞膜が不安定になることを示唆する実験結果を得ている¹⁴⁾。これまでに、血漿中のS1Pを失ったマウスはアナフィラキシーショックに対して感受性になることが報告されており、赤血球および血小板由来のS1Pは、ともにアナフィラキシーショック時の急激な血漿中S1P欠乏には必須である³³⁾。

7. おわりに

現在では、S1Pの多面的な働きが知られるようになったが、やはりリンパ球の遊走におけるS1Pの役割は特に重要である。S1P受容体の機能的アンタゴニストであるFTY720（フィンゴリモド）には免疫抑制作用があり、現在多発性硬化症の治療薬として使われている。これまでに、S1P受容体を介した情報伝達やS1Pの代謝については早い段階でその分子機構の解明が進んでいたが、リンパ組織から血液中へのリンパ球移動に必要な血漿中のS1Pを産生し供給する細胞からのS1P放出機構についてはあまり注目されていなかった。我々は、赤血球や血管内皮細胞において、S1Pが輸送体を介して放出されているのではないかと考え、その分子機構の解明を進めてきた。その過程で血小板と赤血球の生化学的解析からS1Pが輸送体を介して放出されることを明らかにし、血管内皮細胞のS1P輸送体であるSPNS2を同定した。SPNS2欠損マウスでは血漿中のS1Pが野生型マウスの60%程度までしか減少しないのにもかかわらず、リンパ組織から血液中へのリンパ球移動は大きく減少した。一方、最近我々が同定した赤血球S1P輸送体のMFSD2Bは、MFSD2B欠損マウスにおいて血漿中のS1Pが野生型マウスの半分まで減少するがリンパ球移動は大きく影響を受けない。これらの結果は、リンパ組織から血液中へのリンパ球移動が、S1P濃度の低いリンパ組織と血液との間で形成されるS1P濃度勾配をリンパ球が認識することによってのみ引き起こされるのではないことを示している。我々は血管内皮細胞のSPNS2が血漿中にS1Pを供給する以外に、リンパ組織にいるリンパ球に対して直接的に働きかけることでリンパ球の移動を制御しているのではないかと考えている。

我々が生化学的解析から示してきたとおり^{13, 14)}、赤血球と血小板からのS1P放出はともにMFSD2Bという輸送体が

担っていることが明らかとなった。血小板は刺激依存的にS1Pを放出することから、同じ輸送体を介したS1P放出機構の違いを解明していきたい。また、多発性硬化症治療薬フィンゴリモドは主に血小板に存在するスフィンゴシンキナーゼ2によりリン酸化され活性化体となり、血漿中に放出されることが報告されているが³⁴⁾、MFSD2B欠損マウスでもフィンゴリモド投与によるリンパ球の血中移行阻害が観察されることから、MFSD2Bがフィンゴリモドの活性化体の輸送に関与しているかどうか興味深い。

血管内皮細胞のS1P輸送体SPNS2はリンパ球移動の他に、がんの進行への寄与も示唆されている³⁵⁾。MFSD2Bについても、S1Pが関係する生理機能や病態への関与を今後明らかにし、S1P輸送体によるS1Pシグナル制御の全体像の解明を目指していきたい。

文 献

- 1) Murata, N., Sato, K., Kon, J., Tomura, H., Yanagita, M., Kuwabara, A., Ui, M., & Okajima, F. (2000) Interaction of sphingosine 1-phosphate with plasma components, including lipoproteins, regulates the lipid receptor-mediated actions. *Biochem. J.*, **352**, 809–815.
- 2) Pappu, R., Schwab, S.R., Cornelissen, I., Pereira, J.P., Regard, J.B., Xu, Y., Camerer, E., Zheng, Y.W., Huang, Y., Cyster, J.G., et al. (2007) Promotion of lymphocyte egress into blood and lymph by distinct sources of sphingosine-1-phosphate. *Science*, **316**, 295–298.
- 3) Ratajczak, M.Z., Lee, H., Wysoczynski, M., Wan, W., Marlicz, W., Laughlin, M.J., Kucia, M., Janowska-Wieczorek, A., & Ratajczak, J. (2010) Novel insight into stem cell mobilization-plasma sphingosine-1-phosphate is a major chemoattractant that directs the egress of hematopoietic stem progenitor cells from the bone marrow and its level in peripheral blood increases during mobilization due to activation of complement cascade/membrane attack complex. *Leukemia*, **24**, 976–985.
- 4) Ishii, M., Egen, J.G., Klauschen, F., Meier-Schellersheim, M., Saeki, Y., Vacher, J., Proia, R.L., & Germain, R.N. (2009) Sphingosine-1-phosphate mobilizes osteoclast precursors and regulates bone homeostasis. *Nature*, **458**, 524–528.
- 5) Xiong, Y., Yang, P., Proia, R.L., & Hla, T. (2014) Erythrocyte-derived sphingosine 1-phosphate is essential for vascular development. *J. Clin. Invest.*, **124**, 4823–4828.
- 6) Camerer, E., Regard, J.B., Cornelissen, I., Srinivasan, Y., Duong, D.N., Palmer, D., Pham, T.H., Wong, J.S., Pappu, R., & Coughlin, S.R. (2009) Sphingosine-1-phosphate in the plasma compartment regulates basal and inflammation-induced vascular leak in mice. *J. Clin. Invest.*, **119**, 1871–1879.
- 7) Curry, F.E., Clark, J.F., & Adamson, R.H. (2012) Erythrocyte-derived sphingosine-1-phosphate stabilizes basal hydraulic conductivity and solute permeability in rat microvessels. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **303**, H825–H834.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) Jolly, P.S., Bektas, M., Olivera, A., Gonzalez-Espinosa, C., Proia, R.L., Rivera, J., Milstien, S., & Spiegel, S. (2004) Transactiva-

- tion of Sphingosine-1-Phosphate Receptors by Fc{varepsilon}RI Triggering Is Required for Normal Mast Cell Degranulation and Chemotaxis. *J. Exp. Med.*, **199**, 959–970.
- 11) Lee, Y.M., Venkataraman, K., Hwang, S.I., Han, D.K., & Hla, T. (2007) A novel method to quantify sphingosine 1-phosphate by immobilized metal affinity chromatography (IMAC). *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, **84**, 154–162.
 - 12) Ito, K., Anada, Y., Tani, M., Ikeda, M., Sano, T., Kihara, A., & Igarashi, Y. (2007) Lack of sphingosine 1-phosphate-degrading enzymes in erythrocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **357**, 212–217.
 - 13) 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.
 - 14) 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.
 - 15) Sutter, I., Park, R., Othman, A., Rohrer, L., Hornemann, T., Stoffel, M., Devuyst, O., & von Eckardstein, A. (2014) Apolipoprotein M modulates erythrocyte efflux and tubular reabsorption of sphingosine-1-phosphate. *J. Lipid Res.*, **55**, 1730–1737.
 - 16) Mitra, P., Oskeritzian, C.A., Payne, S.G., Beaven, M.A., Milstien, S., & Spiegel, S. (2006) Role of ABCC1 in export of sphingosine-1-phosphate from mast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 16394–16399.
 - 17) 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.
 - 18) 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.
 - 19) 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 ABCC1 and ABCG2. *J. Biol. Chem.*, **285**, 10477–10486.
 - 20) Nieuwenhuis, B., Luth, A., Chun, J., Huwiler, A., Pfeilschifter, J., Schafer-Korting, M., & Kleuser, B. (2009) Involvement of the ABC-transporter ABCC1 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.
 - 21) Ito, S., Iwaki, S., Koike, K., Yuda, Y., Nagasaki, A., Ohkawa, R., Yatomi, Y., Furumoto, T., Tsutsui, H., Sobel, B.E., et al. (2013) Increased plasma sphingosine-1-phosphate in obese individuals and its capacity to increase the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in adipocytes. *Coron. Artery Dis.*, **24**, 642–650.
 - 22) Tanfin, Z., Serrano-Sanchez, M., & Leibler, D. (2011) ATP-binding cassette ABCC1 is involved in the release of sphingosine 1-phosphate from rat uterine leiomyoma ELT3 cells and late pregnant rat myometrium. *Cell. Signal.*, **23**, 1997–2004.
 - 23) 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.
 - 24) 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.
 - 25) 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.
 - 26) Kobayashi, N., Kawasaki-Nishi, S., Otsuka, M., Hisano, Y., Yamaguchi, A., & Nishi, T. (2018) MFSD2B is a sphingosine 1-phosphate transporter in erythroid cells. *Sci. Rep.*, **8**, 4969.
 - 27) Hiroyama, T., Miharada, K., Sudo, K., Danjo, I., Aoki, N., & Nakamura, Y. (2008) Establishment of mouse embryonic stem cell-derived erythroid progenitor cell lines able to produce functional red blood cells. *PLoS One*, **3**, e1544.
 - 28) Nguyen, L.N., Ma, D., Shui, G., Wong, P., Cazenave-Gassiot, A., Zhang, X., Wenk, M.R., Goh, E.L., & Silver, D.L. (2014) Mfsd2a is a transporter for the essential omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid. *Nature*, **509**, 503–506.
 - 29) Quek, D.Q., Nguyen, L.N., Fan, H., & Silver, D.L. (2016) Structural Insights into the Transport Mechanism of the Human Sodium-dependent Lysophosphatidylcholine Transporter MFSD2A. *J. Biol. Chem.*, **291**, 9383–9394.
 - 30) Ethayathulla, A.S., Yousef, M.S., Amin, A., Leblanc, G., Kaback, H.R., & Guan, L. (2014) Structure-based mechanism for Na⁺/melibiose symport by MelB. *Nat. Commun.*, **5**, 3009.
 - 31) Gyobu, S., Ishihara, K., Suzuki, J., Segawa, K., & Nagata, S. (2017) Characterization of the scrambling domain of the TMEM16 family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 6274–6279.
 - 32) 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) Mfsd2b is essential for the sphingosine-1-phosphate export in erythrocytes and platelets. *Nature*, **550**, 524–528.
 - 33) 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.
 - 34) Anada, Y., Igarashi, Y., & Kihara, A. (2007) The immunomodulator FTY720 is phosphorylated and released from platelets. *Eur. J. Pharmacol.*, **568**, 106–111.
 - 35) 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.

著者寸描

●小林 直木 (こばやし なおき)



摂南大学薬学部助教。博士(薬学)。

■**略歴** 2003年明治薬科大学薬学部卒業。08年大阪大学大学院薬学研究科博士課程修了。同年大阪大学産業科学研究所特任研究員。10年帝京平成大学薬学部助教。15年より現職。

■**研究テーマと抱負** 細胞膜輸送体が制御する生命現象の分子メカニズムを明らかにしたい。

■**趣味** 水泳, 登山。

●西(川崎) 晶子 (にし-かわさき しょうこ)

大阪大学産業科学研究所特任研究員。博士(理学)。

■**略歴** 福岡県出身。1992年九州大学理学部卒業。94年大阪大学大学院理学研究科修士課程修了。バイエル薬品中央研究所, Tufts大学医学部, 大阪大学産業科学研究所特任助教などを経て2017年から現職。

■**研究テーマと抱負** 脂溶性物質やプロトンが膜を介して輸送される機構を生化学, 構造生物学的に解明し, 生物の持つ普遍性と多様性がどのように生み出されてきているかその分子機構を明らかにしたいと考えています。

■**趣味** バレエの鑑賞。

●西 毅 (にし つよし)

大阪大学産業科学研究所准教授。博士(理学)。

■**略歴** 香川県出身。1991年大阪大学理学部卒業。96年大阪大学大学院理学研究科博士課程修了。Tufts大学医学部 Research Assistant Professor, さきがけ研究者, 大阪大学産業科学研究所特任助教などを経て2008年から現職。

■**研究テーマと抱負** オーフアン輸送体の生理機能を解明すること。個々の膜輸送体はその特異性をどのようにして発揮しているか, そこに普遍的機構があるのかを明らかにすること。安定して研究できる場所と何か面白いことを見つけたい。

■**ウェブサイト** http://www.eonet.ne.jp/~tsuyoshi-nishi/Nishis_group_homepage/Home.html

■**趣味** 野球。