

特集：リン脂質代謝と脂質メディエーター研究の最新の成果
第2部 リゾリン脂質を中心とした脂質メディエーター

スフィンゴシン 1-リン酸シグナル伝達系の心血管系における機能

岡本安雄¹, 吉岡和晃¹, 多久和典子^{1,2}, 多久和陽¹

スフィンゴシン 1-リン酸 (S1P) はスフィンゴ脂質代謝の過程で産生され、G タンパク質共役型 EDG 受容体ファミリーを介して、様々な細胞に作用する脂質メディエーターである。これまでに S1P 受容体および S1P 代謝関連酵素群の遺伝子改変マウスの解析から、S1P とその受容体群は発生期の血管や神経系の形成・発達に必須であり、生体ではリンパ球再循環の調節などの免疫機能に関与することが明らかになり、自己免疫疾患の治療に対しての応用が期待されている。さらに、S1P は心血管系においても、内皮細胞バリア機能、血管新生、動脈硬化や血管・心筋リモデリングに関与することが明らかになり、S1P シグナル伝達系は動脈硬化、動脈閉塞症や血管新生療法などの心血管系の新たな治療標的としても注目されている。

1. はじめに

スフィンゴ脂質はセリンとパルミチン酸の縮合反応に始まり、脂肪酸が付加したセラミドを経て合成される細胞膜の主要な構成成分である。主な細胞膜のスフィンゴ脂質は、セラミドにさらにコリン残基が結合したスフィンゴミエリンである¹⁾。S1P の生合成は、この細胞膜構成成分であるスフィンゴミエリンを出発物質としている。スフィンゴミエリンはスフィンゴミエリナーゼによりセラミドに、セラミドはセラミダーゼによりスフィンゴシンに加水分解される (図 1)。さらに、スフィンゴシンがスフィンゴシンキナーゼ (sphingosine kinase : SphK) によってリン酸化されるとスフィンゴシン 1-リン酸 (S1P) が産生される (図

1)¹⁾。これらセラミド、スフィンゴシン、S1P などのスフィンゴ脂質代謝産物は、単なる細胞膜の構成成分としてのみならず、強力な生理活性を持つことが明らかにされてきた¹⁾。中でも S1P は、血管内皮細胞やリンパ球をはじめ様々な細胞種に対して、細胞増殖作用、細胞運動・形態調節作用、細胞分化作用などの多彩な作用を及ぼす脂質メディエーターとして注目されてきた^{2,3)}。当初は細胞内セカンドメッセンジャーとして働くと考えられていたが、私達のグループを含むいくつかのグループによって S1P に対する 5 種の特異的 G タンパク質共役型受容体 (endothelial differentiation gene (EDG) 受容体ファミリー, S1P₁-S1P₅) が同定され、これらの受容体を介するシグナル伝達経路の存在が明らかとなった²⁾。S1P の生理作用は、これら S1P の合成・分解系と S1P 受容体の二つを中心に研究が進められてきた³⁾。遺伝子改変マウスを用いた解析から、S1P は胎生期における血管新生・成熟過程に重要な役割を果たしていることが明らかになった⁴⁾。また、末梢の T リンパ球を減少させることにより免疫抑制作用を及ぼす FTY720 (フィンゴリモド) が、S1P₁ の細胞内内化・不活性化の促進を引き起こす機能的アンタゴニストとして作用することが示され、S1P シグナル系は生体内におけるリンパ球分布の重要な調節系であることが明らかになった^{5,6)}。昨年、アメリカの食品医薬品局は、再発性多発性硬化症の経口治

¹ 金沢大学医薬保健研究域医学系血管分子生理学 (〒920-8640 石川県金沢市宝町 13-1)

² 石川県立看護大学健康科学講座 (〒929-1212 石川県かほく市中沼ツ 7 番 1)

Cardiovascular function of sphingosine 1-phosphate signaling Yasuo Okamoto¹, Kazuaki Yoshioka¹, Noriko Takuwa^{1,2}, and Yoh Takuwa¹ (¹Department of Physiology, Kanazawa University Graduate School of Medicine, 13-1 Takara-machi, Kanazawa, Ishikawa 920-8640, Japan; ²Department of Health Science, Ishikawa Prefectural University, Tsu-7-1, Nakanuma, Kahoku, Ishikawa 929-1212, Japan)

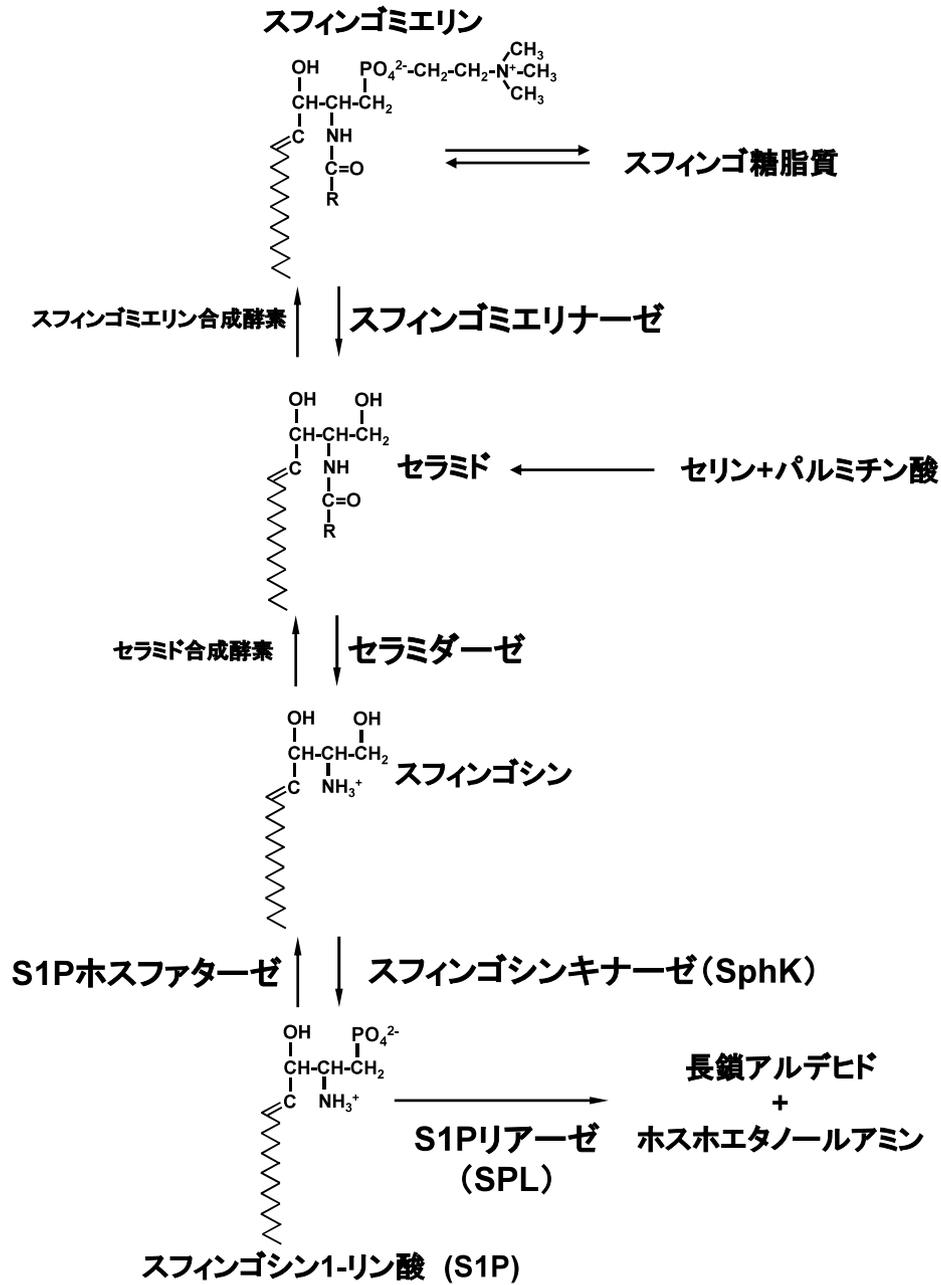


図1 スフィンゴ脂質代謝

脂質二重層の構成成分であるスフィンゴミンはスフィンゴミエリナーゼによりセラミドへ、セラミドはセラミダーゼによりスフィンゴシンに代謝される。スフィンゴシンがスフィンゴシンキナーゼによりリン酸化され、S1Pが産生される。Rは炭化水素鎖を示す。

療薬としてフィンゴリモドの処方 を正式に認可した^{7,8)}。心血管系においても、S1Pシグナル伝達系は血管新生、動脈硬化、内皮細胞バリア機能や血管・心筋リモデリングに関与することが、最近明らかになっている^{2,9,10)}。

本稿では、まずS1Pの合成と分解、S1P受容体とシグナル伝達について述べた後、S1Pの作用、特に心血管系の病態への関与について概説する。

2. S1Pの生成と分解

S1Pを生成するSphKには二つのサブタイプ(SphK1とSphK2)が同定されているが、この二つの酵素の役割分担は十分に明らかとなっていない¹¹⁾(図1)。SphK1は主として細胞質に存在し、多くの臓器に発現している¹¹⁾。SphK2は主に核に存在しているとされるが、その詳しいメカニズムはまだ不明である¹²⁾。SphK1あるいはSphK2各遺伝子単独のノックアウト(KO)マウスの表現型はほとんど正

常である。一方、SphK1とSphK2の二重KOマウスは血管系や神経系の発生異常により胎生致死であり、胎仔組織中のS1Pは検出レベル以下の低値であることから、これら両酵素はS1Pを生成する唯一の酵素群であり、発生に必須であることが明らかになった¹³⁾。また、スフィンゴ脂質代謝は正常妊娠中に著しく亢進するが、SphK1ホモKO；SphK2ヘテロKOの雌マウスでは、亢進したスフィンゴ脂質代謝経路の一部が遮断されることにより、細胞毒性の強いスフィンゴシンやジヒドロスフィンゴシンが子宮内の脱落膜細胞および血管内皮細胞に異常に蓄積して脱落膜形成が障害される結果、不妊を呈する¹⁴⁾。

産生されたS1Pの分解経路には主に二つが知られている(図1)。一つはS1P特異的脱リン酸化酵素(S1Pホスファターゼ)¹⁵⁾および脂質リン酸ホスファターゼ(lipid phosphate phosphatase)であり¹⁶⁾、これらの酵素はS1Pを脱リン酸化してスフィンゴシンを生成する。もう一つはS1Pリアーゼ(S1P lyase: SPL)による不可逆的分解経路で¹⁷⁾、S1Pの2位と3位の間の結合が切断されて長鎖アルデヒド(ヘキサデセナール)とホスホエタノールアミンが生じる。SPL-KOマウスは血中S1Pが野生型マウスより40倍高値であり、胎仔期および乳仔期の発達・生育には問題ないが、離乳後正常に発育できず、リンパ球減少症、骨髄系細胞の過形成(血中好中球・単球レベルの上昇)および肺、心臓、尿路系および骨の異常が認められた¹⁸⁾。また、SPL-KOマウスでは、血中スフィンゴ脂質(スフィンゴシン、セラミド、スフィンゴミエリンなど)レベルの上昇、高脂血症、肝臓におけるスフィンゴ脂質代謝、グリセロリン脂質代謝、脂肪酸代謝、コレステロール代謝の異常が認められた¹⁹⁾。S1Pの分解産物、長鎖アルデヒドとホスホエタノールアミンはグリセロリン脂質の前駆体として利用されることから、S1P代謝経路はスフィンゴ脂質からグリセロリン脂質への変換に重要であることが報告されていた²⁰⁾。以上の結果からも、S1Pの合成および分解に関与する様々な酵素群は、生体内でのS1Pレベルの調節だけではなく、スフィンゴ脂質代謝経路を含む他の脂質代謝経路の調節に重要な役割を果たすことが明らかになった。

S1Pは血中およびリンパ液中には高濃度(約 10^{-7} M)で存在する²¹⁾。一方、組織にはS1Pを分解するSPLが広範に発現しており、組織中では非常に低い濃度に保たれている¹⁷⁾。このS1Pの大きな濃度勾配が免疫系などにおける作用に重要な意味を持つ^{5,6)}。血漿中のS1Pの主要産生臓器は血小板と考えられてきたが²¹⁾、SphK1とSphK2の二重ホモKO胎仔肝臓由来の造血幹細胞を移植すると、血漿中S1P濃度は1/10に低下し、血漿中のS1Pは主として骨髄由来細胞、特に赤血球に由来することが示された²²⁾。また、赤血球の他に血管内皮細胞も血中S1P濃度の維持に寄与していることが報告されている²³⁾。これらの結果よ

り、定常状態における血漿S1Pの主要な定常的産生源は主に赤血球であると考えられている。また、リンパ液中や胸腺のS1P濃度の維持には、それぞれリンパ管の内皮細胞あるいは放射線抵抗性のストロマ細胞および神経堤由来周皮細胞が寄与していることが報告されている^{22,24,25)}。さらに、活性化血小板、肥満細胞、マクロファージなどの細胞から刺激依存性にS1Pが合成・放出されることが報告されている^{21,26,27)}。

S1PがS1P受容体に作用するためには、細胞内で産生された後、細胞外へ放出されなければならない。これまでに、細胞内のS1PがABCトランスポーターファミリーに属するABCC1やABCA1などによって輸送され、細胞外へ排出されることが報告されていたが²⁸⁾、最近、spns 2 (spinster-like 2)が有力なS1P輸送体候補タンパク質として報告された^{29,30)}。今後、血管、リンパ節、骨髄内の局所や細胞間接着部位などでのS1Pの放出の調節機構が明らかにされることが期待される。血中に排出されたS1Pの大部分は、他の生理活性脂質と同様に、高密度リポタンパク質(high-density lipoprotein: HDL)やアルブミンなどの担体に結合して存在している³¹⁾。HDLの様々な血管内皮細胞保護作用は、HDLに含まれるS1Pを介していることが報告されている³¹⁾。

3. S1P受容体とシグナル伝達

1998年以降、S1Pに対する5種の特異的Gタンパク質共役型EDG受容体ファミリーサブタイプS1P₁-S1P₅が同定された^{2,32)}。このうち、S1P₁、S1P₂、S1P₃は全身のほとんどの臓器・組織に広範に発現している^{2,32)}。一方、S1P₄は主に造血・リンパ組織、肺に、S1P₅は主に神経組織、脾臓に発現している²⁾。S1P作用の多彩な生理作用は、S1P受容体の組織特異的および細胞特異的発現パターンと受容体によって共役する三量体Gタンパク質の親和性が異なることによる²⁾。各S1P受容体サブタイプによって活性化されるシグナル伝達経路を私達のグループの検討結果を中心にまとめると(図2)、S1P₁はG_iを介して、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ(PI3K)経路によるAktおよび低分子量Gタンパク質Racの活性化、Ras-ERK(extracellular signal-regulated kinase)経路の活性化、ホスホリパーゼC(PLC)の活性化およびアデニル酸シクラーゼの抑制に共役している³³⁻³⁵⁾。S1P₃はS1P₁と同様にG_iと共役する他に、G_qを介してPLCを強力に活性化し、G_{12/13}を介して低分子量Gタンパク質Rhoの活性化に共役している^{33,35,36)}。S1P₂はG_{12/13}を介したRho-Rhoキナーゼ経路への共役が最も優勢なシグナル経路であり、NF-κBあるいはPTENが活性化される³⁷⁻⁴⁰⁾。このほかにG_iとG_qと共役するが³⁷⁾、後者二つのシグナル伝達経路への共役は、S1P₁とS1P₃に比較して弱い。

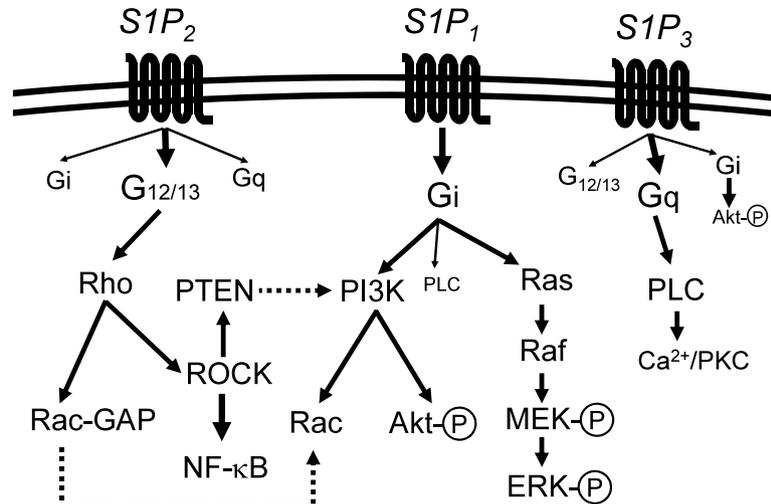


図2 S1P受容体と細胞内シグナル
実線は促進，点線は抑制を示す。

私達のグループは、これまでにS1P受容体はサブタイプ特異的に細胞運動を二方向性に制御することを明らかにした^{35,38,41,42}。すなわち、S1P₁、S1P₃はG_iを介しRacを活性化することによりS1Pに対する化学遊走を媒介する化学遊走促進受容体として機能する(図2)。一方、S1P₂はG_{12/13}を介しRhoを活性化し、Racを抑制することにより化学遊走を強力に抑制する化学遊走反発受容体として機能する(図2)^{35,38,41,42}。実際、S1P受容体は血管内皮細胞、平滑筋細胞、腫瘍細胞、マクロファージ、破骨前駆細胞などでS1Pに対する*in vitro*あるいは*in vivo*における細胞遊走を調節していることが示された^{40,43-51}。

S1Pのほとんどの生理作用は、上述の受容体を介して発揮されるものと考えられているが、S1Pがヒストン脱アセチル化酵素¹²、ユビキチンリガーゼ⁵²やプロテインキナーゼCデルタ²⁷に直接結合して、これらの酵素活性を制御するなど受容体を介さない作用も報告されている。

4. 心血管系におけるS1Pの役割

4-1. 血管新生

S1Pは*in vitro*では培養血管内皮細胞に作用して、主要なペプチド性血管新生因子であるVEGF(vascular endothelial growth factor)とほぼ同等の細胞遊走と管腔形成の促進活性を示す^{43,53}。これらの作用はS1P₁とS1P₃を介し、Racが関与している^{43,53}。S1P₁、S1P₃と比較して、培養内皮細胞におけるS1P₂の発現は低い、ある種の内皮細胞ではS1P₂の発現が比較的高く、このようなタイプの内皮細胞ではS1PはRacを抑制し、内皮細胞の遊走と管腔形成を抑制することを私達のグループは見出した⁴⁶。最近、私達のグループは、S1P₂遺伝子座にLacZをノックインしたS1P₂-LacZノックインマウスを作出し、S1P₂の生体内に

おける発現を検討したところ、S1P₂は様々な臓器・組織において血管の内皮、平滑筋に発現していた⁴⁸。また、S1P₂-KOマウスおよび同腹野生型マウスから採取した肺動脈毛細血管内皮細胞を用いた検討では、S1P₂がRhoを活性化して、内皮細胞のRac活性、細胞増殖・細胞遊走とマトリゲル上での管腔形成を抑制した⁴⁸。

以上の結果は、血管内皮細胞に発現するS1P₁とS1P₂が細胞遊走と管腔形成に拮抗的に働いていることを示している。

腫瘍の増殖過程において血管新生が重要な役割を果たしていることおよびS1Pは血管新生作用や血管成熟作用を持ち、一部のガンではSphk1の過剰発現がみられることから⁵⁴、S1Pが腫瘍血管新生に関与する可能性が考えられた。マウス移植腫瘍実験において、S1P₁遺伝子に対するsiRNAの局所投与によるS1P₁の発現低下やFTY720投与によるS1P₁(およびS1P₃)のダウンレギュレーションは、腫瘍血管新生を抑制し、腫瘍の成長も抑制した^{55,56}。また、VEGF投与により誘導される*in vivo*血管新生もFTY720投与により抑制されたことから、VEGFの血管新生作用はS1Pに依存することが示唆された。S1Pに対する中和抗体の投与によっても、腫瘍増殖および血管新生抑制効果が得られている⁵⁷。

私達のグループはS1P₂の腫瘍血管新生における役割を明らかにするために、S1P₂-KOマウスに腫瘍細胞を移植した。移植した腫瘍における微小血管密度は野生型マウスと比較して高く、腫瘍血管壁の平滑筋および周皮細胞の発達も促進されていた⁴⁸。腫瘍の増殖が亢進していることから、S1P₁の腫瘍血管新生促進作用とは対照的に、S1P₂は腫瘍血管新生に抑制的に働くことが明らかとなった⁴⁸。S1P₂欠損内皮細胞を腫瘍細胞とともに皮下に植えたところ

ろ、野生型マウス内皮細胞と腫瘍細胞の移植に比較して、血管新生、腫瘍増殖がともに亢進していた。また、S1P₂-KO マウスでは、腫瘍内に浸潤している表面マーカー CD11b 陽性、CD45 陽性の骨髄由来細胞が増加し、これらの細胞は S1P₂ を発現していた⁴⁸⁾。野生型マウスに S1P₂ 欠損骨髄を移植すると、腫瘍増殖と血管新生が亢進した。S1P は単離した野生型マウス骨髄細胞の遊走を抑制したが、S1P₂-KO マウス骨髄細胞の遊走はむしろ促進した⁴⁸⁾。以上の結果から、内皮細胞および骨髄細胞の両者に発現している S1P₂ が腫瘍血管新生を抑制すると考えられた。

以上の結果をまとめると、S1P は S1P₁ と S1P₂ を介して腫瘍血管新生にそれぞれ促進的、抑制的に働くことから、両受容体を標的とした血管新生抑制療法が、将来悪性腫瘍の治療のひとつの選択肢となりうると期待される (図 3)。

血液不足により四肢末端の壊疽を来す末梢動脈閉塞性疾患は先進国では頻度の高い疾患であるが、この疾病に対して臨床上の有効性が明確に証明された血管新生療法は未だない。私達のグループは、マウス虚血肢に S1P を連日局所投与することにより虚血肢の血流回復が促進されることを示した⁵⁸⁾。S1P 投与により虚血肢筋肉内の毛細血管数の増加が観察され、血流回復亢進が血管新生促進によるものであることが示唆された⁵⁸⁾。また、私達のグループは、Sphk1 トランスジェニック (Tg) マウス (後述) が、虚血後の血管新生反応の亢進を呈することも見出している⁶⁰⁾。S1P 投与によって、VEGF 投与に際してみられる虚血肢の浮腫は観察されず、エバンスブルー漏出法で測定した血管透過性も無治療マウスと比較して差が認められなかつ

た⁵⁸⁾。さらに私達のグループは、生分解性のポリ乳酸-グリコール酸重合体を基剤に用いた S1P 徐放化製剤を開発・合成し、少ない投与回数で同等の血流回復効果が得られることを明らかにした⁵⁹⁾。S1P 徐放薬の血管新生作用は Akt/ERK-eNOS (内皮型 NO 合成酵素) 経路を介しており、虚血肢筋肉内の毛細血管数を増加させ、周皮細胞の発達を促進した⁵⁹⁾。S1P 徐放化製剤も、血管新生療法の副作用である組織浮腫を引き起こすことはなく、VEGF による浮腫の発生を抑制した⁵⁹⁾。さらに、近年、血管新生に関与すると報告されている骨髄由来 CD45 陽性、CD11b 陽性あるいは Gr-1 陽性細胞の虚血部位への集積を促進し、血管新生に関与する肝細胞増殖因子、インターロイキン-1、ストロマ細胞由来因子-1 の発現を促進した⁵⁹⁾。以上の結果から、S1P 徐放化製剤の虚血肢に対する血管新生治療薬としての有効性が期待される (図 3)。

4-2. 内皮細胞バリア機能

S1P は内皮細胞のバリア機能を強化することで血管透過性に対して抑制的に働く^{53,61)}。このバリア機能の強化には S1P₁ を介した Rac や血管内皮-カドヘリンの制御が重要と考えられている^{53,61)}。Sphk1 と Sphk2 の造血幹細胞特異的欠損により血中の S1P が著減したマウスでは、血管内皮細胞の接着が弱まり、定常および炎症時ともに血管透過性が亢進することが示された⁶²⁾。血中には受容体を活性化するのに十分な濃度の S1P が常に存在することから、受容体の活性化の制御機構として、血中の S1P が血管内皮細胞管腔側膜の S1P₁ を活性化し、細胞間接着を強化してい

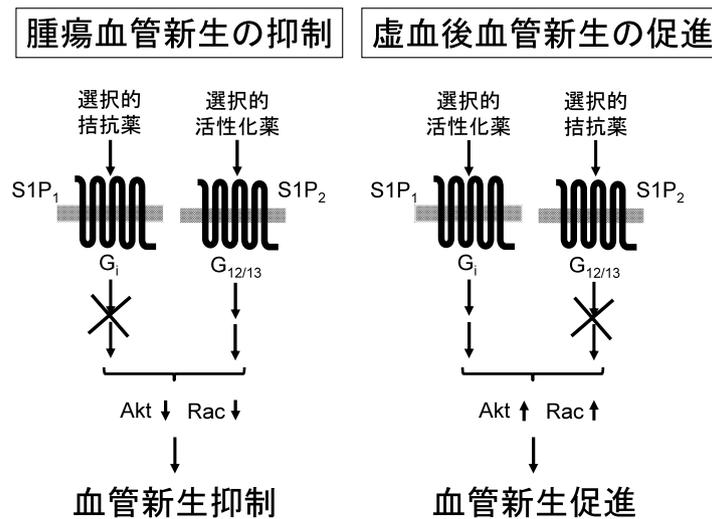


図 3 血管新生に対して拮抗的に働く S1P₁ と S1P₂ を標的とした悪性腫瘍と虚血性疾患の新規治療法の可能性

S1P は S1P₁ と S1P₂ を介して血管新生促進および血管新生抑制に働く。悪性腫瘍に対する血管新生抑制療法として、血管新生促進受容体 S1P₂ 拮抗薬と S1P₁ 活性化薬が、一方、虚血後血管新生促進治療として、S1P₁ 活性化薬と S1P₂ 拮抗薬が期待される。

るとするモデルと、血管内皮下層側に局在する S1P₁ が血液の漏出により濃度の増加した S1P を検知して活性化し、細胞間接着を強化しているとするモデルが提唱されている⁶²。また、血液凝固の抑制を来す活性化型プロテイン C の内皮細胞上の受容体である endothelial protein C receptor は S1P₁ を介して内皮細胞のバリア機能を増強させるという報告もある⁶³。近年、急性肺障害における S1P の関与が注目されている。S1P 投与はリポ多糖 (LPS) 誘発性急性肺障害における肺血管の透過性を *in vivo* において低下させること^{64,65}、逆に SphK1-KO マウスでは、LPS による肺水腫やサイトカイン産生が増強すること⁶⁶、また SPL 阻害剤投与あるいは SPL ヘテロマウスを用いた実験から、S1P の分解抑制が LPS による肺障害や炎症を抑えること⁶⁷が示された。以上の結果は、S1P が急性肺障害における肺血管の透過性や炎症に対して保護的に働くことを示している。このように S1P は血管透過性や炎症反応などを制御することで正常な血管機能の維持に寄与していると考えられる。

4-3. 血管リモデリング

内皮細胞とは逆に S1P は平滑筋の遊走を強力に抑制することが知られている。この内皮細胞と平滑筋の S1P に対する反応性の違いは平滑筋における S1P₂ の高発現によると考えられている²。平滑筋では、S1P は S1P₂-G_{12/13}-Rho 経路の活性化を介して Rac を抑制することで、血小板由来増殖因子刺激による平滑筋の遊走を強力に抑制する^{2,43,47}。S1P₂-KO マウスでは、バルーン障害後の血管内膜新生が顕著に増加しており、S1P に対する平滑筋細胞の増殖、遊走の増加が一因であることが示されている⁶⁸。また、S1P₂ 阻害剤 JTE013 を用いた検討でも、S1P に対する増殖性が増加し、*in vivo* 投与において血管内膜新生が増加する⁶⁹。一方、S1P₁/S1P₃ 阻害剤 VPC44116 は血管内膜新生を阻害する⁶⁹。形質転換した増殖型平滑筋細胞では S1P₁ の発現が高く、S1P に対する遊走性が増加する^{70,71}。この平滑筋細胞の増殖型への形質転換は、S1P₂ の阻害により促進される^{69,72}。以上の結果から、S1P₂ は平滑筋の増殖型への形質転換を抑制し、表現型を収縮型に保ち、かつ増殖、遊走を抑制していると考えられる。

4-4. 動脈硬化

血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、動脈硬化病巣に集積している泡沫細胞の前駆細胞である単球・マクロファージに S1P 受容体が発現していることから、S1P が動脈硬化に何らかの役割を果たしている可能性が考えられた¹⁰。実際、S1P や S1P 含有 HDL が内皮細胞上の単球の接着を抑制することおよび eNOS を活性化して NO 産生を高めることなどから、動脈硬化に抑制的に働くことが示唆された^{10,31}。

逆に、S1P が内皮細胞の接着分子の発現を促進するという報告もある^{10,31}。動物個体を用いた解析も行われ、FTY720 が高コレステロール食によるアポ E-KO マウスおよび低密度リポタンパク質 (LDL) 受容体 KO マウスにおける動脈硬化の進展を抑制することが明らかになった^{73,74}。これらの報告では、FTY720 の免疫抑制作用によるリンパ球減少、粥状動脈硬化病変へのマクロファージ集積の低下、炎症性サイトカインの減少が示された^{73,74}。また、興味深いことに FTY720 の投与はリンパ球におよぼす効果と異なり、内皮細胞では受容体のダウンレギュレーションを引き起こさなかった⁷³。しかしながら、S1P が催動脈硬化因子あるいは逆に抗動脈硬化因子であるのか、また動脈硬化に関与するどの細胞に発現するどの受容体サブタイプが主として動脈硬化発症に関わるのかについては依然不明であった⁷³。

私達のグループは、S1P₂ 遺伝子欠損動脈硬化 (アポ E-KO 背景) マウスを解析することにより、粥状動脈硬化における S1P₂ の役割を検討した⁴⁰。S1P₂-LacZ ノックインマウスの解析により、S1P₂ は大動脈の粥状動脈硬化病変 (プラーク) に存在する血管内皮、平滑筋、マクロファージに発現していることがわかった⁴⁰。高コレステロール食を負荷した S1P₂-KO マウスでは野生型マウスに比較して、大動脈のプラーク面積が著しく減少し、プラークのマクロファージ密度の低下、平滑筋密度の増加、eNOS のリン酸化亢進、および炎症性サイトカイン発現低下が観察された⁴⁰。骨髄移植実験により、粥状動脈硬化においてはマクロファージに発現する S1P₂ が重要な役割を果たすことが示された⁴⁰。S1P₂-KO マウスから単離したマクロファージは、Rho/Rho キナーゼ/NF-κB 経路の活性が低下していた。その結果、S1P₂ 欠損マクロファージは、サイトカイン発現低下、酸化 LDL 取り込み低下、スカベンジャー受容体発現低下、コレステロール汲みだし亢進、ABC ファミリーコレステロールトランスポーター発現亢進を示した⁴⁰。また、S1P₂-KO マウス由来の肺毛細血管内皮細胞においても Rho キナーゼ/NF-κB 活性が低下し、マクロファージに対して化学遊走作用をおよぼすケモカイン単球走化因子-1 の発現低下および eNOS リン酸化の亢進が観察された⁴⁰。上述したように、野生型マウスに S1P₂ 選択的遮断薬 JTE-K1 を長期投与すると、プラーク面積が減少し、マクロファージの酸化 LDL 取り込みが低下した⁴⁰。同時期に、Hla らのグループも私達のグループと同様の結果を得ている⁷⁵。以上の結果から、S1P₂ は粥状動脈硬化において重要な促進的役割を果たし、粥状動脈硬化に対する新規治療標的となりうると思われる (図 4)。

4-5. 心筋リモデリング

心筋の虚血・再灌流障害は、S1P や S1P を結合している

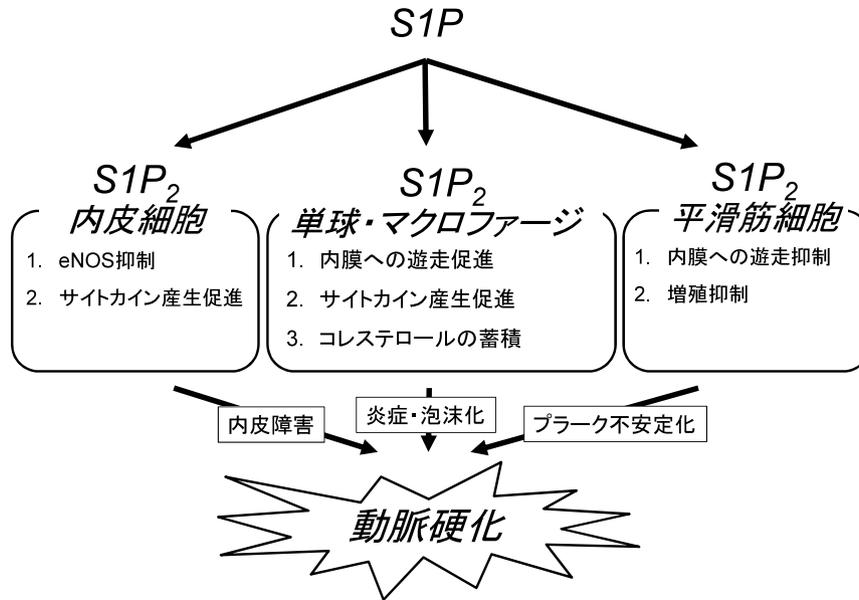


図4 動脈硬化における内皮細胞、単球・マクロファージおよび平滑筋細胞に発現するS1P₂の役割

S1P₂は内皮細胞においてはeNOSの抑制とサイトカイン産生促進、単球・マクロファージにおいては内膜への遊走促進、サイトカイン産生促進とコレステロール蓄積、平滑筋細胞においては内膜への遊走抑制と増殖抑制を介して動脈硬化に対して促進的に働く。

HDLの投与により軽減される^{76,77)}が、このS1P効果はS1P₃-KOマウスでは失われるので、S1P₃を介すると考えられている^{76,77)}。SphK1-KOマウスでは虚血・再灌流障害が増悪することから、プレコンディショニング(軽度の心筋虚血の前負荷により虚血・再灌流障害に対する耐性が獲得されること)にもSphK1は関与していることが明らかになった⁷⁸⁾。以上の結果から、心筋の虚血・再灌流障害において、S1Pは保護的に作用することが考えられる。

私達のグループは、SphK1-Tgマウスを作製し、内因性のS1P過剰発現が心血管系に及ぼす影響を検討した⁶⁰⁾。SphK1-Tgマウスでは、10倍以上のSphK1活性を示した⁶⁰⁾。SphK1-Tgマウスでは、予想通り虚血・再灌流障害が野生型マウスに比べ減弱した⁶⁰⁾。興味深いことに、SphK1-Tgマウスは加齢に伴い、心肥大を伴わない心筋線維化が発症することを見出した⁶⁰⁾。この心筋線維化はスタチン、活性酸素阻害剤、S1P₃の欠損により抑制されたことから、内因性のS1P過剰発現による心筋線維化の分子機構として、S1P₃を介したRho経路の活性化、さらにトランスフォーミング増殖因子βシグナル系のトランス活性化および活性酸素産生が関与していることを明らかにした⁶⁰⁾。

5. おわりに

S1P受容体の発見を契機にして飛躍的に発展したS1P研究により、発生期の血管や神経系の形成・発達やリンパ球

移行・再循環に加えて、S1Pが心血管恒常性における重要な生理的調節因子であることも明らかになってきた。また、本稿では詳しく触れなかったが、S1Pシグナル伝達系は、がん⁵⁴⁾、線維化⁸⁰⁾、敗血症²⁷⁾、アナフィラキシーや喘息などのアレルギー疾患^{26,81,82,83)}、骨粗鬆症^{49,50)}、多発性硬化症や関節リウマチなど自己免疫疾患^{8,84)}、未熟児網膜症⁸⁵⁾などの様々な病態形成に関与することを示す知見も集積してきた。昨年、再発性多発性硬化症の経口治療薬としてフィンゴリモド(FTY720)の処方正式に認可された。今後、S1P受容体特異的アゴニスト・アンタゴニストやS1P代謝関連酵素群の阻害剤の開発により、S1P受容体やS1P代謝関連酵素群を標的とした新しい治療法が開発が期待される。

文 献

- Hannun, Y.A. & Obeid, L.M. (2008) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **9**, 139-150.
- Takuwa, Y. (2008) *Biochim. Biophys. Acta*, **1781**, 483-488.
- Takuwa, Y., Takuwa, N., & Sugimoto, N. (2002) *J. Biochem.*, **131**, 761-771.
- Kono, M., Allende, M.L., & Proia, R.L. (2008) *Biochim. Biophys. Acta*, **1781**, 435-441.
- Schwab, S.R. & Cyster, J.G. (2007) *Nat. Immunol.*, **8**, 1295-1301.
- Rivera, J., Proia, R.L., & Olivera, A. (2008) *Nat. Rev. Immunol.*, **8**, 753-763.

- 7) Chiba, K. (2005) *Pharmacol. Ther.*, **108**, 308–319.
- 8) Arkas, O., Kury, P., Kieseier, B., & Hartung, H.P. (2010) *Nat. Rev. Neurol.*, **6**, 373–382.
- 9) Takuwa, Y., Du, W., Qi, X., Okamoto, Y., Takuwa, N., & Yoshioka, K. (2010) *World. J. Biol. Chem.*, **1**, 307–312.
- 10) Okamoto, Y., Wang, F., Yoshioka, K., Takuwa, N., & Takuwa, Y. (2011) *Pharmaceuticals*, **4**, 117–137.
- 11) Spiegel, S. & Milstein, S. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 2125–2129.
- 12) Hait, N.C., Allegood, J., Maceyka, M., Strub, G.M., Harikumar, K.B., Singh, S.K., Luo, C., Marmorstein, R., Kordula, T., Milstien, S., & Spiegel, S. (2009) *Science*, **325**, 1254–1257.
- 13) Mizugishi, K., Yamashita, T., Olivera, A., Miller, G.F., Spiegel, S., & Proia, R.L. (2005) *Mol. Cell. Biol.*, **25**, 11113–11121.
- 14) Mizugishi, K., Li, C., Olivera, A., Bielawski, J., Bielawska, A., Deng, C.X., & Proia, R.L. (2007) *J. Clin. Invest.*, **117**, 2993–3006.
- 15) Mandala, S.M., Thornton, R., Galve-Roperh, I., Poulton, S., Peterson, C., Olivera, A., Bergstrom, J., Kurtz, M.B., & Spiegel, S. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 7859–7864.
- 16) Long, J.S., Pyne, N.J., & Pyne, S. (2008) *Biochem. J.*, **411**, 371–377.
- 17) Fyrst, H. & Saba, J.D. (2010) *Nat. Chem. Biol.*, **6**, 489–497.
- 18) Vogel, P., Donoviel, M.S., Read, R., Hansen, G.M., Hazlewood, J., Anderson, S.J., Sun, W., Swaffield, J., & Oravec, T. (2009) *PLoS One*, **4**, 1–15.
- 19) Bektas, M., Allende, M.L., Lee, B.G., Chen, W., Amar, M.J., Remaley, A.T., Saba, J.D., & Proia, R.L. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 10880–10889.
- 20) Ikeda, M., Kihara, A., Kariya, Y., Lee, Y.M., & Igarashi, Y. (2005) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **329**, 474–479.
- 21) Yatomi, Y., Igarashi, Y., Yang, L., Hisano, N., Qi, R., Asazuma, N., Satoh, K., Ozaki, Y., & Kume, S. (1997) *J. Biochem.*, **121**, 969–973.
- 22) 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., & Coughlin, S.R. (2007) *Science*, **316**, 295–298.
- 23) Venkataraman, K., Lee, Y.M., Michaud, J., Thangada, S., Ai, Y., Bonkovsky, H.L., Parikh, N.S., Habrukowich, C., & Hla, T. (2008) *Circ. Res.*, **102**, 630–632.
- 24) Pham, T.H., Baluk, P., Grigorova, I., Bankovich, A.J., Pappu, R., Coughlin, S.R., McDonald, D.M., Schwab, S.R., & Cyster, J.G. (2010) *J. Exp. Med.*, **207**, 17–27.
- 25) Zachariah, M.A. & Cyster, J.G. (2010) *Science*, **328**, 1129–1135.
- 26) Olivera, A., Mizugishi, K., Tikhonova, A., Ciaccia, L., Odom, S., Proia, R.L., & Rivera, J. (2007) *Immunity*, **26**, 287–297.
- 27) Puneet, P., Yap, C.T., Wong, L., Lam, Y., Koh, D.R., Mochhala, S., Pfeilschifter, J., Huwiler, A., & Melendez, A.J. (2010) *Science*, **328**, 1290–1294.
- 28) Kim, R.H., Takabe, K., Milstien, S., & Spiegel, S. (2009) *Biochim. Biophys. Acta*, **1791**, 692–696.
- 29) Osborne, N., Brand-Arzamendi, K., Ober, E.A., Jin, S.W., Verkade, H., Holtzman, N.G., Yelon, D., & Stainier, D.Y. (2008) *Curr. Biol.*, **18**, 1882–1888.
- 30) Kawahara, A., Nishi, T., Hisano, Y., Fukui, H., Yamaguchi, A., & Mochizuki, N. (2009) *Science*, **323**, 524–527.
- 31) 岡島史和, 木村孝穂, 佐藤幸市 (2009) 生化学, **81**, 393–397.
- 32) Okazaki, T., Ishizuka, N., Sakurai, T., Kurokawa, L., Goto, K., Kumada, M., & Takuwa, Y. (1993) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **190**, 1104–1109.
- 33) Okamoto, H., Takuwa, N., Gonda, K., Okazaki, H., Chang, K., Yatomi, Y., Shigematsu, H., & Takuwa, Y. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 27104–27110.
- 34) Okamoto, H., Takuwa, N., Yatomi, Y., Gonda, K., Shigematsu, H., & Takuwa, Y. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **260**, 203–208.
- 35) Okamoto, H., Takuwa, N., Yokomizo, T., Sugimoto, N., Sakurada, S., Shigematsu, H., & Takuwa, Y. (2000) *Mol. Cell. Biol.*, **20**, 9247–9261.
- 36) Ishii, I., Friedman, B., Ye, X., Kawamura, S., McGiffert, C., Contos, J.J., Kingsbury, M.A., Zhang, G., Brown, J.H., & Chun, J. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 33697–33704.
- 37) Gonda, K., Okamoto, H., Takuwa, N., Yatomi, Y., Okazaki, H., Kimura, S., Sillard, R., Harii, K., & Takuwa, Y. (1999) *Biochem. J.*, **337**, 67–75.
- 38) Sugimoto, N., Takuwa, N., Okamoto, H., Sakurada, S., & Takuwa, Y. (2003) *Mol. Cell. Biol.*, **23**, 1534–1545.
- 39) Sanchez, T., Skoura, A., Wu, M.T., Casserly, B., Harrington, E.O., & Hla, T. (2007) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **27**, 1312–1318.
- 40) Wang, F., Okamoto, Y., Inoki, I., Yoshioka, K., Du, W., Qi, X., Takuwa, N., Gonda, K., Yamamoto, Y., Ohkawa, R., Nishiuchi, T., Sugimoto, N., Yatomi, Y., Mitsumori, K., Asano, M., Kinoshita, M., & Takuwa, Y. (2010) *J. Clin. Invest.*, **120**, 3979–3995.
- 41) 杉本直俊, 多久和典子, 多久和陽 (2003) 生化学, **75**, 597–600.
- 42) Takuwa, Y. (2002) *Biochim. Biophys. Acta*, **1582**, 112–120.
- 43) Ryu, Y., Takuwa, N., Sugimoto, N., Sakurada, S., Usui, S., Okamoto, H., Matsui, O., & Takuwa, Y. (2002) *Circ. Res.*, **90**, 325–332.
- 44) Yamaguchi, H., Kitayama, J., Takuwa, N., Arikawa, K., Inoki, I., Takehara, K., Nagawa, H., & Takuwa, Y. (2003) *Biochem. J.*, **374**, 715–722.
- 45) Arikawa, K., Takuwa, N., Yamaguchi, H., Sugimoto, N., Kitayama, J., Nagawa, H., Takehara, K., & Takuwa, Y. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 32841–32851.
- 46) Inoki, I., Takuwa, N., Sugimoto, N., Yoshioka, K., Takata, S., Kaneko, S., & Takuwa, Y. (2006) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **346**, 293–300.
- 47) Takashima, S., Sugimoto, N., Takuwa, N., Okamoto, Y., Yoshioka, K., Takamura, M., Takata, S., Kaneko, S., & Takuwa, Y. (2008) *Cardiovasc. Res.*, **79**, 689–697.
- 48) Du, W., Takuwa, N., Yoshioka, K., Okamoto, Y., Gonda, K., Sugihara, K., Fukamizu, A., Asano, M., & Takuwa, Y. (2010) *Cancer Res.*, **70**, 772–781.
- 49) Ishii, M., Egen, J.G., Klauschen, F., Meier-Schellersheim, M., Saeki, Y., Vacher, R.J., Proia, R.L., & Germain, R.N. (2009) *Nature*, **458**, 524–528.
- 50) Ishii, M., Kikuta, J., Shimazu, Y., Meier-Schellersheim, M., & Germain, R.N. (2010) *J. Exp. Med.*, **207**, 2793–2798.
- 51) Michaud, J., Im, D.S., & Hla, T. (2010) *J. Immunol.*, **184**, 1475–1483.
- 52) Alvarez, S.E., Harikumar, K.B., Hait, N.C., Allegood, J., Strub, G.M., Kim, E.Y., Maceyka, M., Jiang, H., Luo, C., Kordula, T., Milstien, S., & Spiegel, S. (2010) *Nature*, **465**, 1084–1088.
- 53) Lee, M.-J., Thangada, S., Claffey, K.P., Ancellin, N., Liu, C. H., Kluk, M., Volpi, M., Sha'afi, R.I., & Hla, T. (1999) *Cell*, **99**, 301–312.
- 54) Pyne, N.J. & Pyne, S. (2010) *Nat. Rev. Cancer*, **10**, 489–503.
- 55) Chae, S.-S., Paik, J.-H., Furneaux, H., & Hla, T. (2004) *J.*

- Clin. Invest.*, 114, 1082–1089.
- 56) LaMontagne, K., Littlewood-Evans, A., Schnell, C., O'Reilly, T., Wyder, L., Sanchez, T., Probst, B., Butler, J., Wood, A., Liao, G., Billy, E., Theuer, A., Hla, T., & Wood, J. (2006) *Cancer Res.*, 66, 221–231.
 - 57) Visentin, B., Vekich, J.A., Sibbald, B.J., Cavalli, A.L., Moreno, K.M., Matteo, R.G., Garland, W.A., Lu, Y., Yu, S., Hall, H.S., Kundra, V., Mills, G.B., & Sabbadini, R.A. (2006) *Cancer Cell*, 9, 225–238.
 - 58) Oyama, O., Sugimoto, N., Qi, X., Takuwa, N., Mizugishi, K., Koizumi, J., & Takuwa, Y. (2008) *Cardiovasc. Res.*, 78, 301–307.
 - 59) Qi, X., Okamoto, Y., Murakawa, T., Wang, F., Oyama, O., Ohkawa, R., Yoshioka, K., Du, W., Sugimoto, N., Yatomi, Y., Takuwa, N., & Takuwa, Y. (2010) *Eur. J. Pharmacol.*, 634, 121–131.
 - 60) Takuwa, N., Ohkura, S., Takashima, S., Ohtani, K., Okamoto, Y., Tanaka, T., Hirano, K., Usui, S., Wang, F., Du, W., Yoshioka, K., Banno, Y., Sasaki, M., Ichi, I., Okamura, M., Sugimoto, N., Mizugishi, K., Nakanuma, Y., Ishii, I., Takamura, M., Kaneko, S., Kojo, S., Satouchi, K., Mitsumori, K., Chun, J., & Takuwa, Y. (2010) *Cardiovasc. Res.*, 85, 484–493.
 - 61) Marsolais, D. & Rosen, H. (2009) *Nat. Rev. Drug Discov.*, 8, 297–307.
 - 62) 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) *J. Clin. Invest.*, 119, 1871–1879.
 - 63) Finigan, J.H., Dudek, S.M., Singleton, P.A., Chiang, E.T., Jacobson, J.R., Camp, S.M., Ye, S.Q., & Garcia, J.G.N. (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 17286–17293.
 - 64) Peng, X., Hassoun, P.M., Sammani, S., Mcverry, B.J., Bume, M.J., Rabb, H., Pearse, D., Tuder, R.M., & Garcia, J.G. (2004) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 169, 1245–1251.
 - 65) Shea, B.S., Brooks, S.F., Fontaine, B.A., Chun, J., Luster, A. D., & Tager, A.M. (2010) *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 43, 662–673.
 - 66) Wadgaonkar, R., Patel, V., Grinkina, N., Romano, C., Liu, J., Zhao, Y., Sammani, S., Garcia, J.G.N., & Natarajan, V. (2009) *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 296, L603–L613.
 - 67) Zhao, Y., Gorshkova, I.A., Berdyshev, E., He, D., Fu, P., Ma, W., Su, Y., Usatyuk, P.V., Pendyala, S., Oskouian, B., Saba, J. D., Garcia, J.G.N., & Natarajan, V. (2010) *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, DOI : 10.1165/rcmb.2010-0422OC.
 - 68) Shimizu, T., Nakazawa, T., Cho, A., Dastvan, F., Shilling, D., Daum, G., & Reidy, M.A. (2007) *Circ. Res.*, 101, 995–1000.
 - 69) Wamhoff, B.R., Lynch, K.R., Macdonald, T.L., & Owens, G.K. (2008) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 28, 1454–1461.
 - 70) Klul, M.J. & Hla, T. (2001) *Circ. Res.*, 89, 496–502.
 - 71) Usui, S., Sugimoto, N., Takuwa, N., Sakagami, S., Takata, S., Kaneko, S., & Takuwa, Y. (2004) *J. Biol. Chem.*, 279, 12300–12311.
 - 72) Medlin, M.D., Staus, D.P., Dubash, A.D., Taylor, J.M., & Mack, C.P. (2010) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 30, 1779–1786.
 - 73) Nofer, J.R., Bot, M., Brodde, M., Taylor, P.J., Salm, P., Brinkmann, V., van Berkel, T., Assmann, G., & Biessen, E.A.L. (2007) *Circulation*, 115, 501–508.
 - 74) Keul, P., Tölle, M., Lucke, S., von Wnuck Lipinski, K., Heusch, G., Schuchardt, M., van der Giet, M., & Levkau, B. (2007) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 27, 607–613.
 - 75) Skoura, A., Michoud, J., Im, D.S., Thangada, S., Xiong, Y., Smith, J., & Hla, T. (2011) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 31, 81–86.
 - 76) Theilmeler, G., Schmidt, C., Hermann, J., Keul, P., Schäfers, M., Herrgott, I., Mersmann, J., Larman, J., Hermann, S., Stypmann, J., Schber, O., Hiderbrand, R., Schulz, R., Heusch, G., Haude, M., von Enuck Lipinski, K., Herzog, C., Schmitz, M., Erbel, R., Chun, J., & Levkau, B. (2006) *Circulation*, 114, 1403–1409.
 - 77) Levkau, B., Hermann, S., Theilmeler, G., van der Giet, M., Chun, J., Schober, O., & Schäfers, M. (2004) *Circulation*, 110, 3355–3359.
 - 78) Jin, Z.Q., Karliner, J.S., & Vessey, D.A. (2008) *Cardiovasc. Res.*, 79, 134–140.
 - 79) Michaud, J., Im, D.S., & Hla, T. (2010) *J. Immunol.*, 184, 1475–1483.
 - 80) Ikeda, H., Watanabe, N., Ishii, I., Shimosawa, T., Kume, Y., Tomiya, T., Inoue, Y., Nishikawa, T., Ohtomo, N., Tanoue, Y., Litsuka, S., Fujita, R., Omata, M., Chun, J., & Yatomi, Y. (2009) *J. Lipid Res.*, 50, 556–564.
 - 81) Oskerizian, C., Price, M.M., Hait, N.C., Kapitonov, D., Falanga, Y.T., Morales, J.K., Ryan, J.J., Milstien, S., & Spiegel, S. (2010) *J. Exp. Med.*, 207, 465–474.
 - 82) Olivera, A., Eisner, C., Kitamura, Y., Dillahunt, S., Allende, L., Tuymetova, G., Watford, W., Meyan, F., Diesner, S.C., Li, L., Schnermann, J., Proia, R.L., & Rivera, J. (2010) *J. Clin. Invest.*, 120, 1429–1440.
 - 83) Idzko, M., Hammad, H., van Nimwegen, M., Kool, M., Müller, T., Soullié, T., Willart, M.A., Hijdra, D., Hoogsteden, H.C., & Lambrecht, B.N. (2006) *J. Clin. Invest.*, 116, 2935–2944.
 - 84) Baker, D.A., Barth, J., Chang, R., Obeid, L.M., & Gilkeson, G. S. (2010) *J. Immunol.*, 185, 2570–2579.
 - 85) Skoura, A., Sanchez, T., Claffey, K., Mandala, S.M., Proia, R. L. & Hla, T. (2007) *J. Clin. Invest.*, 117, 2506–2516.