

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1部 リン脂質代謝酵素

セラミドを中心としたスフィンゴ脂質代謝

北谷和之, 浅野智志, 橋本真由美,
谷口真, 岡崎俊朗

スフィンゴ脂質はスフィンゴ塩基から構成される脂質群の総称である。セラミドはスフィンゴ脂質の合成・代謝における中心的脂質であり、生物学的には細胞の生死などの細胞応答を制御するシグナル伝達分子として機能する。本稿では、セラミドとスフィンゴリン脂質スフィンゴミエリン間の酵素的変換に焦点を当て、関連酵素の特徴および活性制御を生化学的観点から概説する。また、近年、スフィンゴミエリンやセラミドの生理学的機能研究も進展しており、著者らの研究成果を含め細胞生物学的意義のみならず今後の医学的応用をも含めたスフィンゴ脂質研究の現状と今後について紹介したい。

1. はじめに

生体膜にはグリセロリン脂質、中性脂質やスフィンゴ脂質が豊富に存在し、これら脂質の生成や分解は多くの代謝酵素により巧妙に調節されている。本稿で紹介するスフィンゴ脂質は19世紀後半にドイツ人生化学者 Thudichum により発見されて以来、300種類以上の分子種が同定されている。これらスフィンゴ脂質は、長年の間、主に生体膜の構造維持に関わる脂質として考えられてきた。ところが、1980年代後半にスフィンゴ脂質のスフィンゴシンがプロテインキナーゼC (PKC) の活性化を強力に抑える分子として報告され¹⁾、細胞内シグナル伝達分子としてのスフィンゴ脂質の生物学的役割が提唱された。これを皮切りに、近年の著しい科学技術の発展とともに、多くのスフィンゴ脂質および代謝酵素が生体および細胞機能を制御すること

を示す実験データが蓄積している²⁻⁶⁾。本稿では、セラミドおよびスフィンゴミエリンの代謝に焦点を当て、スフィンゴ脂質の生成経路、代謝酵素の特徴や生物学的役割について概説する。

2. スフィンゴ脂質代謝

スフィンゴ脂質はスフィンゴ塩基（スフィンゴシンおよびジヒドロスフィンゴシン）を基本骨格にもつ脂質の総称であり、これらにはスフィンゴシン、セラミド、スフィンゴ糖脂質、スフィンゴシン1-リン酸、セラミド1-リン酸やスフィンゴミエリンなどがある（図1）。最後の三者はリン酸基をもつ代表的なスフィンゴリン脂質として知られている。この内、スフィンゴミエリンはセラミドのプール分子として考えられている。

セラミドは恒常的に生成され、骨格分子として複合スフィンゴ糖脂質やスフィンゴミエリンの合成に利用される。一方で、スフィンゴ脂質の異化代謝経路も存在し、同様にセラミドが中心的な分子である。このセラミドは細胞内シグナル伝達分子として機能し、この細胞内量は複数のスフィンゴ脂質代謝経路により巧妙に調節されている^{4,7)}。ここではセラミド生成の主要な三つの経路を概説する（図2）：*de novo* 合成経路⁸⁾、スフィンゴミエリナーゼ (SMase) 経路^{7,9)}およびサルベージ経路¹⁰⁾。

鳥取大学医学部病態解析医学講座臨床検査医学分野/検査部/血液腫瘍科 (〒683-8503 鳥取県米子市西町 86)
Ceramide-centered sphingolipid metabolism
Kazuyuki Kitatani, Satoshi Asano, Mayumi Hashimoto, Makoto Taniguchi, and Toshiro Okazaki (Division of Clinical Laboratory Medicine and Hematology/Oncology, Faculty of Medicine, Tottori University, Nishi-Machi 86, Yonago 683-8503, Japan)

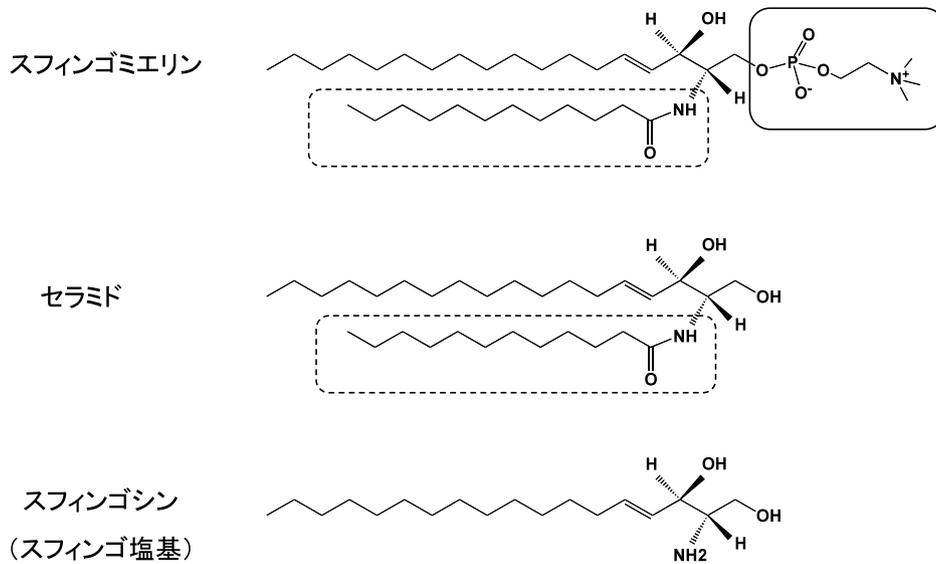


図1 スフィンゴ脂質の分子構造
スフィンゴシン、セラミドおよびスフィンゴミエリンの分子構造を示す。スフィンゴシン骨格にアミド結合したアシル基は破線枠の囲い、ホスホコリン基は黒色枠の囲いで示す。

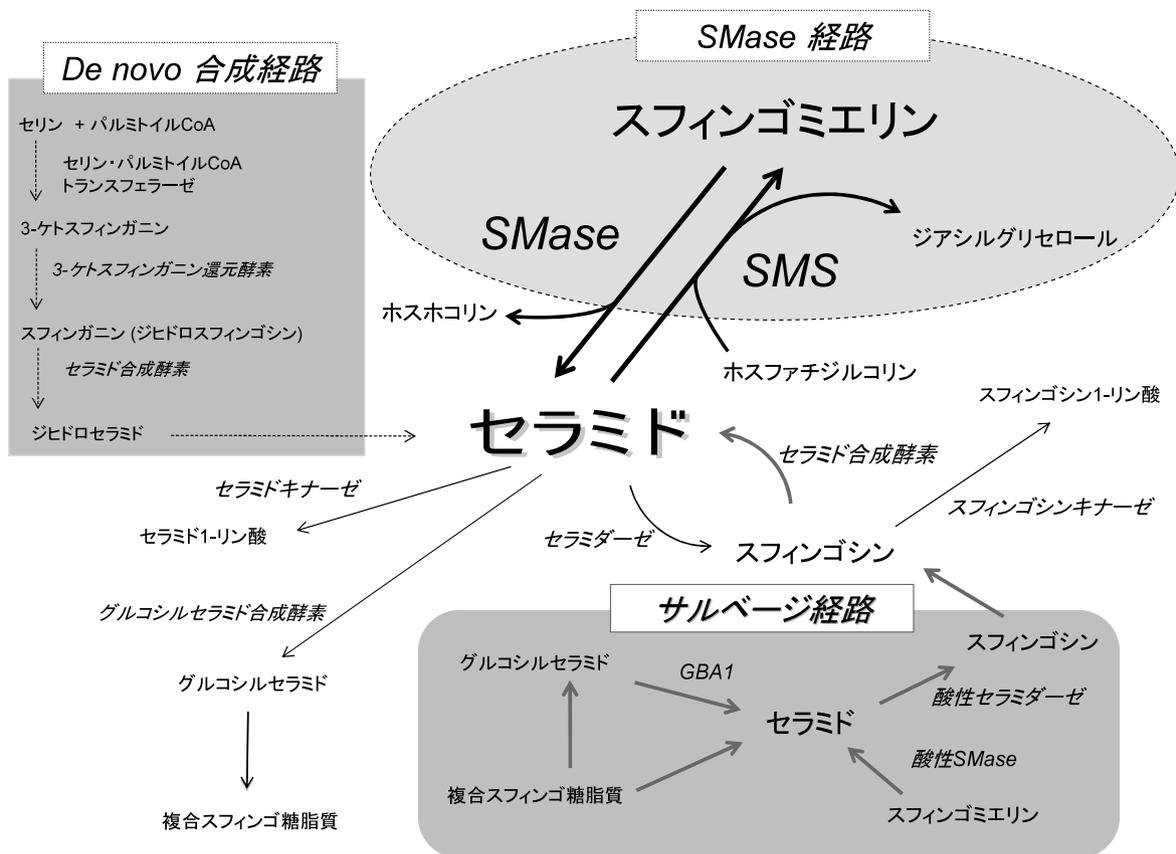


図2 セラミド生成経路
矢印のうち、灰色線はサルベージ経路、点線は *de novo* 合成経路、太い黒線は SMase 経路・スフィンゴミエリンサイクル、および細い黒線はその他の代謝を示す。SMase, スフィンゴミエリナーゼ; SMS, スフィンゴミエリン合成酵素; GBA1, 酸性-β-グルコシダーゼ

De novo 合成経路：スフィンゴ脂質の *de novo* 合成はセリンとパルミトイル CoA の縮合反応に始まり、3-ケトスフィンガニンが生成される。この分子はスフィンガニン（ジヒドロスフィンゴシン）に変換され、さらにセラミド合成酵素によるアシル化反応を経てジヒドロセラミド、そしてセラミドが不飽和化酵素の触媒反応により生成される。この一連のセラミド合成は小胞体で起こり、一部のセラミドは修飾を受けることなく形質膜や細胞内小器官に輸送される。大部分のセラミドは多種類のスフィンゴ脂質の骨格分子としてゴルジ装置で糖鎖やホスホコリン等の極性基が付与され形質膜に配置される。グルコース付加によりグルコシルセラミドが生成され、複合スフィンゴ糖脂質の前駆物質として利用される。また、スフィンゴミエリン合成酵素（SMS）の触媒作用により、セラミドはスフィンゴミエリンに変換される。また、セラミドキナーゼの触媒作用では、セラミド 1-リン酸が生成される。

SMase 経路：SMase はスフィンゴミエリンを水解することでセラミドとホスホコリンの生成を担う酵素である。生体膜のセラミドはスフィンゴミエリンの約 10 分の 1 量比で存在しており、SMase の活性化制御がセラミド量の主要な決定因子の一つである。後述するように、SMase はその至適 pH により酸性（aSMase）、中性（nSMase）、およびアルカリ性（Alk-SMase）の 3 種類に分類される。特に、nSMase および SMS はセラミドとスフィンゴミエリン間の相互変換に寄与し、このサイクルは“スフィンゴミエリンサイクル”として知られている¹¹⁾。このサイクルにおいて、nSMase の活性化が主にセラミドの増加に寄与すると考えられてきたが、近年では SMS 活性化制御の重要性も指摘されている^{12,13)}。

サルベージ経路：スフィンゴ脂質には生合成経路に加え異化経路が存在する。この異化代謝は後期エンドソーム／リソソームで行われ、多くの代謝酵素により順次セラミドへと分解される。セラミドはさらにセラミダーゼの触媒作用によりスフィンゴ脂質の最小単位スフィンゴシンへと変換される。このように生成したスフィンゴシンはセラミド生成に向けて再利用（サルベージ）される。一部のスフィンゴシンはスフィンゴシンキナーゼのリン酸化により生理活性脂質スフィンゴシン 1-リン酸に変換される³⁾。このサルベージ経路はスフィンゴ脂質生合成の 50%–90% を占めると見積もられている¹⁰⁾。また、ここでの異化代謝酵素の欠損に起因した遺伝性疾患がスフィンゴ脂質蓄積症として知られている^{14,15)}。食餌性スフィンゴミエリンは、消化管内で Alk-SMase¹⁶⁾ の触媒作用によりセラミドに変換される。さらに中性セラミダーゼ^{17,18)} がセラミドをスフィンゴシンと脂肪酸に分解する。つづいて、スフィンゴシンは腸粘膜細胞により吸収され、新たなスフィンゴ脂質合成に向けてサルベージされる¹⁶⁾。スフィンゴシンに比して、腸粘

膜細胞ではスフィンゴミエリンやセラミドは難吸収性を示し、これらの分子自体が実際に消化管内で吸収されるかどうかは不明である¹⁶⁾。

3. スフィンゴ脂質の細胞内輸送

小胞体で合成されたセラミドはゴルジ装置に輸送され、そこでスフィンゴミエリンやグルコシルセラミドに変換される。近年、この輸送を担うタンパク質が発見され、セラミド輸送タンパク質（CERT, ceramide transfer protein）と名づけられた^{19,20)}。CERT は 68 kDa の親水性タンパク質であり、そのほとんどは細胞質に分布するが、一部ゴルジ装置にも会合している。CERT は小胞体膜から特異的にセラミドを引き抜き、順次 CERT-セラミド複合体がゴルジ装置に到達し、そこでセラミドを膜へと受け渡す。ここでは、さらにゴルジ装置局在性 SMS が細胞質側でスフィンゴミエリンを合成し、このスフィンゴミエリンはルーメン側に移動し輸送小胞を介して形質膜外膜に輸送される。また、ラット脳から精製したシナプス小胞（代表的な輸送小胞）の構成脂質を網羅的に解析した研究から、スフィンゴミエリンやセラミドはやはり輸送小胞の構成脂質であることが確認された²¹⁾。

生体膜／形質膜にはスフィンゴ脂質やコレステロールから形成される脂質マイクロドメイン（脂質ラフト）^{22,23)} と呼ばれる生体膜脂質微小領域が存在する。スフィンゴミエリンはこの脂質マイクロドメインに豊富に存在するスフィンゴ脂質の一つである²⁴⁾。これらの脂質を含むマイクロドメインまたは形質膜の一部は、小さな輸送小胞としてエンドサイトーシスされる²⁵⁾。これらは、初期エンドソームから後期エンドソーム／リソソームへと順次運ばれる。これら酸性細胞小器官では、スフィンゴミエリンなどのスフィンゴ脂質は多くの酵素により分解される^{15,25)}。この異化反応より生成したスフィンゴシンはサルベージされる^{10,26)}。このように、細胞内輸送がスフィンゴ脂質の生成-配置-分解-サルベージに重要である。

また、スフィンゴ脂質はミトコンドリア⁵⁾ や細胞核^{27,28)} にも存在することが示されている。これらの細胞小器官へのスフィンゴ脂質輸送機構は全く明らかではなく、今後の研究進展が望まれる。

4. スフィンゴミエリンとスフィンゴミエリンサイクル

スフィンゴリン脂質のスフィンゴミエリンはセラミドを基本骨格にもち、本骨格の第一級アルコール性水酸基がホスホコリンで修飾されている。この脂質は細胞膜構成リン脂質の約 10% を占め、細胞膜の構造維持に関わると思われている。また、スフィンゴミエリンは核にも存在し、RNase による RNA の分解を防ぐことが推察されている²⁹⁾。刺激に応答してタンパク質が集合する脂質マイクロドメ

表1 SMase ファミリー

		酸性 SMase		中性 SMase			アルカリ性 SMase	
遺伝子シンボル (遺伝子座)	ヒト	<i>SGMS1</i> (Chr. 11 p15.4-15.1)		<i>SMPD2</i> (Chr. 6 q21)	<i>SMPD3</i> (Chr. 16 q22.1)	<i>SMPD4</i> (Chr. 2 q21.1)	<i>SMPD5</i> (Chr. 8 q24.3)	<i>ENPP7</i> (Chr. 17 q25.3)
	マウス	<i>Smpd1</i> (Chr. 7 E3)		<i>Smpd2</i> (Chr. 10 B2)	<i>Smpd3</i> (Chr. 8 D2)	<i>Smpd4</i> (Chr. 16 B1)	<i>Smpd5</i> (Chr. 15 D3)	<i>Enpp7</i> (Chr. 11 E2)
アミノ酸数	ヒト	630		423	655	866	464	458
	マウス	627		419	655	823	483	446
タンパク質		L-aSMase (リソソーム型)	S-aSMase (放出型)	nSMase1	nSMase2	nSMase3	MA-nSMase	Alk-SMase
細胞内局在		リソソーム /エンドソーム 形質膜	細胞外	小胞体	ゴルジ装置 形質膜	小胞体 ゴルジ装置 形質膜	ミトコンドリア	不明
組織発現 (高発現)	ヒト	ユビキタス		不明	脳	ユビキタス (骨格筋・心臓)	不明	肝臓・十二指腸 空腸
	マウス	ユビキタス		ユビキタス (腎臓)	ユビキタス (脳・脾臓)	不明	ユビキタス (精巣・膵臓・脳)	不明
酵素反応		基質/生成物			スフィンゴミエリン/セラミド			
生化学的 特徴	カチオン	Zn ²⁺ 不要	Zn ²⁺	Mg ²⁺ ・Mn ²⁺	Mg ²⁺ ・Mn ²⁺	Mg ²⁺	Mg ²⁺ ・Mn ²⁺	Zn ²⁺ で阻害
	至適 pH	pH5.0		pH7.5	pH7.5	pH7.5	pH7.5	pH9.0
参考文献		48, 49		9, 62	58, 62, 65	59, 62	60-62	16, 79

インでは、スフィンゴミエリンは受容体およびアダプタータンパク質などの分子集合化プラットフォームの形成に関わることで細胞内シグナルを制御すると考えられている³⁰。また、脂質マイクロドメインは形質膜に加えて、ミトコンドリア³¹や核膜³²においても存在することが指摘され、これらも細胞小器官の膜上で細胞内シグナル伝達に関与すると推察される。

スフィンゴミエリンサイクルにおいて nSMase は、抗がん剤、熱ストレス、ビタミン D、酸化ストレス、サイトカイン (IL-1β および TNF-α)、リポ多糖などの刺激に反応して活性化する^{9,11,33}。このスフィンゴミエリンの加水分解により、細胞内シグナル伝達分子セラミドが生成される。これが引き金となり、細胞死³⁴、分化³⁵や炎症³⁶などの細胞応答が実行される。上述した以外に、セラミドはオートファジーの誘導分子³⁷としても知られており、著者らは近年スフィンゴミエリンサイクルの活性化により白血病細胞におけるオートファジーとその後の細胞死が亢進することを確認している。

5. セラミドシグナル

細胞応答でのセラミド依存的な細胞内シグナル伝達はセラミドシグナルと呼ばれ、このシグナルには多様な分子がセラミドの細胞内標的分子として介在していると思われる。現在のところ、ceramide-activated protein phosphatases

(CAPPs, セリン/トレオニンプロテインホスファターゼ PP1 および PP2A)^{38,39}, kinase suppressor of Ras⁴⁰, カテプシン D⁴¹, プロテインキナーゼ C (PKC) α⁴² および PKCζ⁴³ などの分子がセラミドの細胞内標的分子として同定されている。例えば、セラミドは細胞内標的分子 CAPPs を活性化することで、p38 MAP キナーゼ^{36,44}, PKCα/β⁴⁵, Akt⁴⁶, SR⁴⁷ や Bcl-2^{48,49} の脱リン酸化/不活化の亢進に関与する。スフィンゴミエリンサイクルに加えて、*de novo* 合成やサルベージ経路も刺激に反応したセラミドおよびセラミドシグナル生成に関与することが示されている^{5,8,10}。

6. SMase

SMase はバクテリアから哺乳動物にわたり広く存在する。SMase は生化学的特徴から前述したように酸性、中性、およびアルカリ性に分類される (表 1)。これらの至適 pH は、それぞれ 5.0, 7.5, および 9.0 である。ここでは、哺乳動物 (マウスおよびヒト) SMase の特徴および生物学的意義について概説する。

(1) aSMase

aSMase^{48,49} は亜鉛要求性のリソソーム局在酵素として知られ、ヒトおよびマウス組織では本酵素の発現はユビキタスに検出される。さらに、aSMase はタンパク質翻訳後にリソソーム型 (L-aSMase) または放出型 (S-aSMase) へ

と変換される。本酵素の欠損はニーマンピック病A型を引き起こすことが知られている。

aSMaseは、物理化学的ストレス（長波紫外線、短波紫外線、電離放射線、熱、酸化ストレス）または生物学的ストレス（TNF- α 、IL-1 β 、Fas、抗がん剤、リポ多糖）に反応して活性化する^{5,7)}。また、刺激に反応してaSMaseは形質膜に移行しスフィンゴミエリンを水解することで、セラミドが局所的に蓄積される³⁾。このような部位はシグナル伝達を制御するセラミドプラットフォームと呼ばれている⁵⁾。しかし、どのような機構でリソソームから形質膜へaSMaseが移行するかは、全く不明である。

近年、Hannun博士の研究グループは、aSMaseのリン酸化が膜への移行および活性化に重要であることを指摘した^{50~52)}。そこでは、ホルボールエステル刺激により活性化したPKC δ がaSMaseの508番目セリン残基をリン酸化する酵素として同定された⁵⁰⁾。また、この部位のリン酸化は紫外線や抗がん剤シスプラチン刺激下においても亢進し、アポトーシスに関与することが示された^{51,52)}。このようにリン酸化修飾はaSMaseの活性化制御に重要な因子の一つである。

(2) nSMase

1967年にnSMase活性はニーマンピック病患者から得られた細胞において初めて確認された⁵³⁾。その20年後にはバクテリアから初めてnSMaseの遺伝子が同定され^{54,55)}、1998年には哺乳類nSMase1の遺伝子がクローニングされた⁵⁶⁾。これらに続き、酵母においてnSMase1のホモログとして*ISCI*が同定された⁵⁷⁾。その後、相次いでnSMase2⁵⁸⁾、nSMase3⁵⁹⁾、およびミトコンドリア局在性のMA-nSMase^{60,61)}が同定された。現在、哺乳類nSMaseは4種類に分類されている：nSMase1、nSMase2、nSMase3、MA-nSMase。

nSMaseの活性化には、Mg²⁺が必要である⁶²⁾。また、Mn²⁺はnSMase1、nSMase2、およびMA-nSMaseの活性を上昇させることが明らかにされている。これら二価陽イオンに加えて、カルジオリピンやホスファチジルセリンのような陰性リン脂質がnSMaseの脂質性活性化因子として知られている^{62,63)}。試験管内でのMA-nSMaseの酵素活性測定系では、陰性リン脂質の中でカルジオリピンが最も強力な活性化因子である⁶¹⁾。この陰性リン脂質はミトコンドリアに豊富に存在することを考え合わせると、細胞内でもカルジオリピンがミトコンドリアでのMA-nSMaseの活性化調節分子であると思われる。

nSMaseファミリーのうち、nSMase2の特徴が最も研究されている。nSMase2はバクテリアSMaseへの相同性に基づき同定され、ヒトでは655個のアミノ酸から構成されている。ここでは、構造およびトポロジーについての記述

は割愛する（総説を参考）^{9,62)}。本酵素は形質膜やゴルジ装置に局在することが報告されている^{64,65)}。また、分子生物/遺伝学的なアプローチから、細胞の刺激応答においてnSMase2は活性化することが明らかにされている⁶²⁾。さらに、nSMase2を介して生成されたセラミドがシグナル伝達分子として細胞周期の停止、炎症性関連分子（VCAM、ICAM、eNOS、iNOS）の誘導に関わることも明らかにされた^{9,65)}。また、TNF受容体（TNF-R1）を介して活性化されたfactor associated with nSMase activation (FAN)⁶⁶⁾およびp38 MAPキナーゼ⁶⁵⁾はnSMase2を活性化することが報告されている。今後、これらの詳細な分子機序の解明が望まれる。

ミトコンドリアはエネルギー合成の中心的細胞小器官である。セラミドはミトコンドリア呼吸鎖複合体IIIの阻害作用⁶⁷⁾をもち、ミトコンドリアの断片化⁶⁸⁾やシトクロムcの遊離⁶⁹⁾を促進することが示されている。さらにミトコンドリア外膜上では、セラミド蓄積によりセラミドチャンネルが形成されるようである⁷⁰⁾。これらは細胞死と密接に関わることから、ミトコンドリアでのセラミドはこの細胞小器官を介した細胞死を制御していると思われる。近年、Obeid博士らはミトコンドリアでのスフィンゴミエリンがセラミドのプール分子として存在する可能性を示し⁷¹⁾、他の多くの研究においてもミトコンドリアでのセラミド蓄積が報告されている^{44,72)}。これらのセラミド蓄積へのnSMaseの関与は不明であるが、MA-nSMaseはミトコンドリアにおいてスフィンゴミエリンを分解することでセラミド蓄積に関わり、ストレス応答での細胞死を制御している可能性は考えられる。

(3) Alk-SMase

約40年前にAlk-SMase活性はNilsson博士らにより小腸粘膜から発見され⁷³⁾、その生化学的特徴および特異的な組織分布から食餌性スフィンゴミエリンの消化に関与することが示唆されている^{16,74)}。また、活性の低下がヒト結腸がんや家族性大腸腺腫で認められることから、Alk-SMaseは細胞増殖の抑制に寄与している可能性が示されている^{75,76)}。さらに、近年、ラットおよびヒト小腸からAlk-SMaseが精製され、そこで生化学的な特徴が明らかにされた^{77,78)}。nSMaseとは異なり、これらの酵素活性は二価陽イオンを必要とせず、胆汁酸（タウロコール酸、タウロケノデオキシコール酸）存在下に上昇した。これらの特徴に加え、Alk-SMaseは消化性酵素トリプシンおよびキモトリプシンのタンパク質分解作用に抵抗を示す。また、基質特異性において小腸Alk-SMaseは、スフィンゴミエリンに比して極僅かであるがCa²⁺存在かつ中性条件下にホスファチジルコリン水解作用を有している。さらに、精製Alk-SMaseタンパク質の部分アミノ酸配列を特定し、この配列

をもとに Alk-SMase をコードするヒト遺伝子が同定された⁷⁹⁾。この遺伝子を過剰発現することで細胞抽出液および培養液中の Alk-SMase 活性は上昇し、この酵素活性の生化学的特徴は精製 Alk-SMase に類似していた。また、ヒトでの mRNA 発現は十二指腸、空腸および肝臓組織において非常に高いことが確認された⁷⁹⁾。さらに、本遺伝子欠損マウス (表3) が作製され、その表現型の解析が報告されている (参考文献参照)⁸⁰⁾。

7. SMS

1958年、Sribney および Kennedy 博士は世界に先駆けて SMS 活性の存在を明らかにした⁸¹⁾。そこでは、スフィンゴミエリン分子内のホスホコリン残基は CDP コリンに由来することが報告されている。一方で、1974年に Ullman および Radin 博士により、マウス肝臓より調整されたマイクロソーム画分での酵素的なスフィンゴミエリン合成ではホスファチジルコリンはホスホコリンのドナーであることが示された⁸²⁾。この酵素活性は、カチオン添加を必要とせず、至適 pH7.4 を有していた。現在では、著者らを含めた SMS 遺伝子のクローニング・性状解析^{30, 83)} から、後者の酵素反応様式が SMS を介したスフィンゴミエリン合成に寄与すると考えられている。

SMS は疎水性膜結合型タンパク質であり、精製が困難なため生化学的性状解析は遅れている。これまでに、マウス肝臓のマイクロソーム画分での SMS 酵素活性は、二価陽

イオン添加を必要とせず、至適 pH7.4 を示すことが報告されている⁸²⁾。さらに、SMS 活性はゴルジ装置および核画分においても検出されている^{84, 85)}。核画分 SMS 活性は Fas 刺激下において低下し、核内で SMase と協調的にセラミドの蓄積に寄与しているようである⁸⁵⁾。また、ラット肝細胞から調整された核膜およびクロマチンでも SMS 活性は検出され、その至適 pH はそれぞれ 7.6 および 8.4 であった²⁸⁾。後者の特徴は、これまで知られている SMS 活性とは異なるようである。

SMS はセラミドからスフィンゴミエリンを合成する唯一の酵素である。スフィンゴミエリンは主要な細胞膜構成リン脂質であり、細胞増殖において新規のスフィンゴミエリン合成が必要であると思われる。これに加え、SMS の触媒反応では、細胞死誘導脂質セラミドが基質として消費されること、さらには細胞増殖性脂質ジアシルグリセロールが副生成物として産生されることから、SMS 活性はこれら脂質を介した細胞増殖の調節に関与すると考えられている^{86~89)}。

セラミドは抗がん剤に応答したがん細胞のアポトーシス誘導に寄与する。一方で、セラミドの蓄積を防ぐスフィンゴ脂質代謝酵素の活性上昇はがん細胞の抗がん剤耐性化に関与することが指摘されている⁹⁰⁾。その代表的な酵素はグルコシルセラミド合成酵素である。この酵素に加え、著者らの研究グループは SMS の関与の可能性を指摘した⁹¹⁾。抗がん剤耐性を示す血液腫瘍疾患患者由来の白血病芽球に

表2 SMS ファミリー

	SMS1	SMS2	SMSr
遺伝子シンボル (遺伝子座)	ヒト <i>SMPD1</i> (Chr. 10 q11.2)	<i>SGMS2</i> (Chr. 4 q25)	<i>SAMD8</i> (Chr. 10 q22.2)
	マウス <i>Sgms1</i> (Chr. 19 C1)	<i>Sgms2</i> (Chr. 3 G3)	<i>Samd8</i> (Chr. 14 B)
アミノ酸数	ヒト 413	365	414
	マウス 419	365	432
細胞内局在	ゴルジ体	ゴルジ体・形質膜	小胞体
組織発現	ヒト ユビキタス	ユビキタス	不明
	マウス 睪島	睪島 骨髓由来マクロファージ	不明
酵素反応 (基質/生成物)	基質 ↓ 生成物	セラミド+PC ↓ スフィンゴミエリン+DAG	セラミド+PE ↓ CPE
		セラミド+PC ↓ スフィンゴミエリン+DAG または セラミド+PE ↓ CPE	
参考文献	92, 83, 108	83, 93, 96, 100	83, 94

CPE, セラミドホスホエタノールアミン; DAG, ジアシルグリセロール; PC, ホスファチジルコリン; PE, ホスファチジルエタノールアミン

において、耐性細胞ではセラミド量の低下が観察された。この細胞ではグルコシルセラミド合成酵素活性に加えて、SMSの活性が有意に上昇していた。このようなセラミド代謝酵素の活性上昇は抗がん剤応答で蓄積されるアポトーシス誘導脂質セラミドを協調的に代謝することで蓄積を防ぎ、抗がん剤への耐性化に寄与すると推察された。今後、SMS阻害剤を用いた新規の抗がん剤耐性療法の開発が期待される。

(1) SMS 遺伝子の発見

2005年に著者らの研究グループは、SMS活性を欠いたマウスリンパ球様細胞を用いて、SMS活性を回復させる遺伝子をヒトcDNAライブラリーより同定した⁹²⁾。また、同時期にHuitema博士らはSMSの候補遺伝子として、lipid phosphate phosphatase (LPP)モチーフとの相同性と膜貫通ドメインを複数もつものをBLASTにより抜粋し、酵母発現系において候補遺伝子の導入によりSMS活性を確認した⁸³⁾。このようにSMS1、SMS2およびSMSr (SMS related)の遺伝子が発見された。ヒトでは、それぞれ413、365および414個のアミノ酸から構成されている。これらの組織発現は、SMSrが未だ不明であることを除き、ユビキタスである(表2)。

これら三者はSMSファミリーとして認識されているが、これらのすべてにスフィンゴミエリン合成活性があるわけではない。SMS1およびSMS2はともに合成触媒能を有している。対照的に、SMSrはスフィンゴミエリン合成触媒能を有しておらず、セラミドとホスファチジルエタノールアミンからセラミドホスホエタノールアミンを合成する触媒能が検出されている。最近の研究では、僅かながらであるが、SMS2もまたこの合成活性を有していることが明らかにされている⁹³⁾。しかしながら、動物細胞で検出されるセラミドホスホエタノールアミン量は極僅かであり、この脂質の生物学的意義は不明である⁹⁴⁾。

(2) SMSの構造

同定されたヒトSMS1、SMS2およびSMSrは、細胞膜貫通ドメインをC末端側に四つ以上含む膜結合型タンパク質である^{83,92)}。また、SMS1とSMSrではタンパク質間相互作用に重要なsterile alpha motifドメインをN末端にもつことが明らかにされている⁹⁵⁾。SMSは、ホスファチジルコリン分子内のホスホコリンとジアシルグリセロール間のリン酸モノエステル結合を解離させ、ホスホコリンをセラミドに転移する。この解離反応は、同じくリン酸エステル結合を有する脂質(スフィンゴシン1-リン酸等)の脱リン酸化を行うLPPファミリーに類似している。実際に、SMS1やSMS2の4番目膜貫通ドメインのLPP様モチーフ(H-Y-T-X-D-V-X)の点変異(太字)により、いずれもSMS

活性が失われることから、このモチーフは触媒作用に必要な部位であることが推察されている⁸³⁾。また、上記変異型のSMS1およびSMS2の細胞内局在は野生型と同じであったことから、細胞内局在を決定するのは活性中心とは独立した他の部位であることが示唆された。また、SMS2の細胞内局在性についての研究から、タンパク質のアルミール化が形質膜局在に重要であることが示されている⁹⁶⁾。

(3) SMS1

SMS1は、SMS2と同様にゴルジ装置に局在し、CERTにより運搬されたセラミドからスフィンゴミエリンを合成することで、細胞でのスフィンゴミエリン量の保持に寄与している⁹⁷⁾。著者らは、スフィンゴミエリン欠失マウスリンパ球様細胞(SMS1およびSMS2発現欠失細胞株)において、SMS1の強制発現が形質膜スフィンゴミエリン量を増加させ、Fasリガンドに応答したセラミド生成およびセラミド依存的なアポトーシス誘導を増強することを示した³⁰⁾。したがって、SMS1を介したスフィンゴミエリン(セラミドのプール分子)の生成はFasリガンドによるアポトーシス誘導を調節する因子の一つであると考えられる。

また、SMS活性の低下がセラミド蓄積に寄与している場合がある。IL-2¹²⁾や血清⁹⁸⁾の除去、またはFas刺激⁹⁹⁾に応答して、SMS活性は低下することが報告されている。この低下はセラミドからスフィンゴミエリンへの変換を抑えることでセラミドの蓄積を誘導し、つづいてセラミド依存的な細胞死を引き起こす。フランスの研究グループはこのSMS活性の低下機序の一つを明らかにした⁹⁹⁾。それは、カスパーゼ依存的なSMS1分子の切断と不活性化である。この分解を担う特異的なカスパーゼとSMS1分子内の切断部位は同定されていないが、SMS1の翻訳後活性調節の存在が明らかにされたことは意義深い。

(4) SMS2

SMS2はゴルジ装置に加えて形質膜にも偏在し、SMS1と同様に、スフィンゴミエリンおよびジアシルグリセロールの生成とセラミドの消費を担う。この活性化制御はこれらの脂質を介した細胞死および細胞増殖の調節に重要である。また、このようなSMS2依存的な脂質制御が細胞の炎症性応答を調節していることを示唆する研究成果が報告されている¹⁰⁰⁾。そこでは、SMS2遺伝子欠損マウス由来マクロファージが用いられ、リポ多糖刺激下SMS2欠損細胞では転写因子NF- κ Bの活性化は野生型に比して著しく減弱していることが明らかにされた。SMS2ノックダウンHEK293細胞では、TNF- α 刺激下でのTNFR1のマイクロドメインでのクラスター化およびNF- κ Bの活性化は対照細胞に比して有意に減弱することから、SMS2がTNFR1のクラスター化とNF- κ Bの活性化に重要であることが示

表3 SMase および SMS 遺伝子欠損マウスの表現型

	遺伝子欠損マウスの表現型	参考文献
aSMase	脳でのスフィンゴミエリンの蓄積・ニーマンピック病 A 型	104
nSMase1	スフィンゴ脂質・セラミド量に変化なし	105
nSMase2	下垂体ホルモンの欠乏による小人症・思春期の遅延 脳でのスフィンゴ脂質・セラミド量に変化なし 軟骨異形成	106, 107
Alk-SMase	小腸でのスフィンゴミエリン量の増加・セラミド量の減少 腸管上皮の肥大化	80
SMS1	インスリン分泌低下・活性酸素の蓄積	108
SMS2	血漿スフィンゴミエリン量の低下 リポ多糖誘導性の肺障害が緩和 骨髄移植によって LDL ^{-/-} マウスでのアテローム性動脈硬化が緩和	101, 109, 110

された。また、細胞モデルに加え、SMS2 遺伝子欠損マウスを用いた動物レベルの研究からも、SMS2 はリポ多糖誘発性サイトカイン産生および肺障害に寄与する可能性が示された¹⁰¹⁾。したがって、SMS2 は炎症性細胞応答を調節する重要な酵素であると考えられる。

(5) SMSr

オランダの研究グループは SMSr が小胞体内腔側に局在することを明らかにした⁹⁴⁾。小胞体にはセラミド合成酵素も局在するが、SMSr は細胞においてセラミドホスホエタノールアミン合成能を欠いているようである。また、興味深い実験結果として、本酵素の発現を低下させることで小胞体でのセラミド蓄積およびゴルジ装置の構造的な破壊が起きる。このような結果を踏まえ、SMSr は小胞体でセラミドを代謝せずに捕捉することでセラミド感知器として機能する説および小胞体でのセラミドのホメオスタシスを調節する説が同時に提唱されている。

(6) 基質特異性

セラミドおよびスフィンゴミエリンは、ともに異なるアシル鎖長からなる分子種から構成されている。セラミド合成酵素には、六つのサブタイプが存在し、それぞれが異なる鎖長のアシル COA に対して基質特異性を示す^{102, 103)}。一方で、セラミド分子種への SMS の基質特異性は依然明らかにされていない。著者らの予備研究において、SMS1 の強制発現によりスフィンゴミエリン分子種 (C14, C16, C18, C18:1, C20, C22, C24, C26, および C26:1) が増加することを確認した。しかしながら、分子種間での顕著な変動の偏りは認められなかった。よって、セラミド分子種への SMS1 の基質特異性は低いと思われる。

8. 遺伝子改変マウスから学ぶスフィンゴ脂質の生物学的役割

生体での特定遺伝子の役割を明らかにするために、遺伝

子欠損マウスを作製することは非常に有用である。SMSr, nSMase3 および MA-nSMase を除き、SMase^{80, 104~107)} および SMS^{101, 108~110)} の遺伝子欠損マウスはすでに作製が完了し、その表現型の一部が表3で示すように明らかにされている。これらについての詳細な記述は本稿では触れないが、著者および共同研究者らが進行させている研究の一部 (SMS 欠損マウスの表現型解析) を紹介する。これまでに SMS1 欠損マウスの表現型の一つとしてインスリン分泌異常を報告した¹⁰⁸⁾。予備的研究では、さらに血小板数の減少 (白血球数および赤血球数は正常) や脾臓肥大などの表現型が、SMS2 欠損マウスではなく、SMS1 欠損マウス特異的にみられることを見出した。これまでのところ、血小板産生異常および脾臓での破壊亢進が血小板数減少を引き起こす原因であると推測している。また、これらスフィンゴ脂質合成・代謝酵素の遺伝子改変動物の利用についての総説を参考文献として紹介する¹¹¹⁾。

9. 結 語

膨大な研究成果と著しい科学技術の発展により、大部分のスフィンゴ脂質代謝および代謝酵素の特徴が徐々に明らかにされつつある。しかしながら、依然としてこれらの脂質や代謝酵素の生物学的意義および疾患への関わりへの理解は不十分である。今後、細胞から生体レベルへのスフィンゴミエリン・セラミドを中心としたスフィンゴ脂質研究の進展が期待される。また、本稿でスフィンゴ脂質代謝がグリセロリン脂質および中性脂質の代謝に相互関連していることを概説したように、これらの脂質代謝は大きなネットワークを共有している。このことから、生理学的観点のみならず病理・病態学的観点からの脂質代謝の全容解明にはより包括的な研究視野の必要性が伺える。

文 献

- 1) Hannun, Y.A. & Bell, R.M. (1987) *Science*, 235, 670-674.

- 2) Hannun, Y.A. (1996) *Science*, **274**, 1855–1859.
- 3) Kihara, A., Mitsutake, S., Mizutani, Y., & Igarashi, Y. (2007) *Prog. Lipid Res.*, **46**, 126–144.
- 4) Tani, M., Ito, M., & Igarashi, Y. (2007) *Cell. Signal.*, **19**, 229–237.
- 5) Stancevic, B. & Kolesnick, R. (2010) *FEBS Lett.*, **584**, 1728–1740.
- 6) Ichikawa, S. & Hirabayashi, Y. (1998) *Trends Cell Biol.*, **8**, 198–202.
- 7) Hannun, Y.A. & Obeid, L.M. (2008) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **9**, 139–150.
- 8) Menaldino, D.S., Bushnev, A., Sun, A., Liotta, D.C., Symolon, H., Desai, K., Dillehay, D.L., Peng, Q., Wang, E., Allegood, J., Trotman-Pruett, S., Sullards, M.C., & Merrill, A. H., Jr. (2003) *Pharmacol. Res.*, **47**, 373–381.
- 9) Wu, B.X., Clarke, C.J., & Hannun, Y.A. (2010) *Neuro-molecular Med.*, **12**, 320–330.
- 10) Kitatani, K., Idkowiak-Baldys, J., & Hannun, Y.A. (2008) *Cell. Signal.*, **20**, 1010–1018.
- 11) Hannun, Y.A. (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 3125–3128.
- 12) Taguchi, Y., Kondo, T., Watanabe, M., Miyaji, M., Umehara, H., Kozutsumi, Y., & Okazaki, T. (2004) *Blood*, **104**, 3285–3293.
- 13) Tafesse, F.G., Ternes, P., & Holthuis, J.C. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 29421–29425.
- 14) Futerman, A.H. & van Meer, G. (2004) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **5**, 554–565.
- 15) Kolter, T. & Sandhoff, K. (2005) *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **21**, 81–103.
- 16) Nilsson, A. & Duan, R.D. (2006) *J. Lipid Res.*, **47**, 154–171.
- 17) Tani, M., Okino, N., Mori, K., Tanigawa, T., Izu, H., & Ito, M. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 11229–11234.
- 18) Kono, M., Dreier, J.L., Ellis, J.M., Allende, M.L., Kalkofen, D.N., Sanders, K.M., Bielawski, J., Bielawska, A., Hannun, Y.A., & Proia, R.L. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 7324–7331.
- 19) Hanada, K., Kumagai, K., Yasuda, S., Miura, Y., Kawano, M., Fukasawa, M., & Nishijima, M. (2003) *Nature*, **426**, 803–809.
- 20) Hanada, K., Kumagai, K., Tomishige, N., & Kawano, M. (2007) *Biochim. Biophys. Acta*, **1771**, 644–653.
- 21) Takamori, S., Holt, M., Stenius, K., Lemke, E.A., Gronborg, M., Riedel, D., Urlaub, H., Schenck, S., Brugger, B., Ringler, P., Muller, S.A., Rammner, B., Gräter, F., Hub, J.S., De Groot, B.L., Mieskes, G., Moriyama, Y., Klingauf, J., Grub-muller, H., Heuser, J., Wieland, F., & Jahn, R. (2006) *Cell*, **127**, 831–846.
- 22) Simons, K. & Toomre, D. (2000) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **1**, 31–39.
- 23) Lingwood, D., Kaiser, H.J., Levental, I., & Simons, K. (2009) *Biochem. Soc. Trans.*, **37**, 955–960.
- 24) Li, Z., Hailemariam, T.K., Zhou, H., Li, Y., Duckworth, D.C., Peake, D.A., Zhang, Y., Kuo, M.S., Cao, G., & Jiang, X.C. (2007) *Biochim. Biophys. Acta*, **1771**, 1186–1194.
- 25) Kolter, T. & Sandhoff, K. (2010) *FEBS Lett.*, **584**, 1700–1712.
- 26) Tettamanti, G., Bassi, R., Viani, P., & Riboni, L. (2003) *Biochimie*, **85**, 423–437.
- 27) Albi, E., Peloso, I., & Magni, M.V. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **262**, 692–695.
- 28) Albi, E. & Magni, M.V. (1999) *FEBS Lett.*, **460**, 369–372.
- 29) Micheli, M., Albi, E., Leray, C., & Magni, M.V. (1998) *FEBS Lett.*, **431**, 443–447.
- 30) Miyaji, M., Jin, Z.X., Yamaoka, S., Amakawa, R., Fukuhara, S., Sato, S.B., Kobayashi, T., Domae, N., Mimori, T., Bloom, E.T., Okazaki, T., & Umehara, H. (2005) *J. Exp. Med.*, **202**, 249–259.
- 31) Sorice, M., Matarrese, P., Tinari, A., Giammarioli, A.M., Garofalo, T., Manganelli, V., Ciarlo, L., Gambardella, L., Mac-cari, G., Botta, M., Misasi, R., & Malorni, W. (2009) *FASEB J.*, **23**, 3298–3308.
- 32) Cascianelli, G., Villani, M., Tosti, M., Marini, F., Bartoccini, E., Magni, M.V., & Albi, E. (2008) *Mol. Biol. Cell*, **19**, 5289–5295.
- 33) Hannun, Y.A. & Bell, R.M. (1993) *Adv. Lipid Res.*, **25**, 27–41.
- 34) Obeid, L.M., Linardic, C.M., Karolak, L.A., & Hannun, Y.A. (1993) *Science*, **259**, 1769–1771.
- 35) Okazaki, T., Bielawska, A., Bell, R.M., & Hannun, Y.A. (1990) *J. Biol. Chem.*, **265**, 15823–15831.
- 36) Kitatani, K., Sheldon, K., Anelli, V., Jenkins, R.W., Sun, Y., Grabowski, G.A., Obeid, L.M., & Hannun, Y.A. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 12979–12988.
- 37) Scarlatti, F., Bauvy, C., Ventruiti, A., Sala, G., Cluzeaud, F., Vandewalle, A., Ghidoni, R., & Codogno, P. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 18384–18391.
- 38) Dobrowsky, R.T., Kamibayashi, C., Mumby, M.C., & Han-nun, Y.A. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 15523–15530.
- 39) Chalfant, C.E., Kishikawa, K., Mumby, M.C., Kamibayashi, C., Bielawska, A., & Hannun, Y.A. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 20313–20317.
- 40) Zhang, Y., Yao, B., Delikat, S., Bayoumy, S., Lin, X.H., Basu, S., McGinley, M., Chan-Hui, P.Y., Lichenstein, H., & Kolesnick, R. (1997) *Cell*, **89**, 63–72.
- 41) Heinrich, M., Wickel, M., Schneider-Brachert, W., Sandberg, C., Gahr, J., Schwandner, R., Weber, T., Saftig, P., Peters, C., Brunner, J., & Kronke, M., Schutze, S. (1999) *EMBO J.*, **18**, 5252–5263.
- 42) Lee, J.Y., Hannun, Y.A., & Obeid, L.M. (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 13169–13174.
- 43) Wang, G., Silva, J., Krishnamurthy, K., Tran, E., Condie, B. G., & Bieberich, E. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 26415–26424.
- 44) Kitatani, K., Idkowiak-Baldys, J., Bielawski, J., Taha, T.A., Jenkins, R.W., Senkal, C.E., Ogretmen, B., Obeid, L.M., & Hannun, Y.A. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 36793–36802.
- 45) Kitatani, K., Idkowiak-Baldys, J., & Hannun, Y.A. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 20647–20656.
- 46) Schubert, K.M., Scheid, M.P., & Duronio, V. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 13330–13335.
- 47) Chalfant, C.E., Ogretmen, B., Galadari, S., Kroesen, B.J., Pet-tus, B.J., & Hannun, Y.A. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 44848–44855.
- 48) Jenkins, R.W., Canals, D., & Hannun, Y.A. (2009) *Cell. Sig-nal.*, **21**, 836–846.
- 49) Smith, E.L. & Schuchman, E.H. (2008) *FASEB J.*, **22**, 3419–3431.
- 50) Zeidan, Y.H. & Hannun, Y.A. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 11549–11561.
- 51) Zeidan, Y.H., Wu, B.X., Jenkins, R.W., Obeid, L.M., & Han-nun, Y.A. (2008) *FASEB J.*, **22**, 183–193.
- 52) Zeidan, Y.H., Jenkins, R.W., & Hannun, Y.A. (2008) *J. Cell Biol.*, **181**, 335–350.
- 53) Schneider, P.B. & Kennedy, E.P. (1967) *J. Lipid Res.*, **8**, 202–209.

- 54) Coleman, D.C., Arbutnott, J.P., Pomeroy, H.M., & Birkbeck, T.H. (1986) *Microb. Pathog.*, **1**, 549-564.
- 55) Yamada, A., Tsukagoshi, N., Udaka, S., Sasaki, T., Makino, S., Nakamura, S., Little, C., Tomita, M., & Ikezawa, H. (1988) *Eur. J. Biochem.*, **175**, 213-220.
- 56) Tomiuk, S., Hofmann, K., Nix, M., Zumbansen, M., & Stoffel, W. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**, 3638-3643.
- 57) Sawai, H., Okamoto, Y., Luberto, C., Mao, C., Bielawska, A., Domae, N., & Hannun, Y.A. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 39793-39798.
- 58) Hofmann, K., Tomiuk, S., Wolff, G., & Stoffel, W. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**, 5895-5900.
- 59) Krut, O., Wiegmann, K., Kashkar, H., Yazdanpanah, B., & Kronke, M. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 13784-13793.
- 60) Yabu, T., Shimuzu, A., & Yamashita, M. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 20349-20363.
- 61) Wu, B.X., Rajagopalan, V., Roddy, P.L., Clarke, C.J., & Hannun, Y.A. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 17993-18002.
- 62) Clarke, C.J., Wu, B.X., & Hannun, Y.A. (2010) *Adv. Enzyme Regul.*
- 63) Marchesini, N., Luberto, C., & Hannun, Y.A. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 13775-13783.
- 64) Marchesini, N., Osta, W., Bielawski, J., Luberto, C., Obeid, L.M., & Hannun, Y.A. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 25101-25111.
- 65) Clarke, C.J., Truong, T.G., & Hannun, Y.A. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 1384-1396.
- 66) Philipp, S., Puchert, M., Adam-Klages, S., Tchikov, V., Winoto-Morbach, S., Mathieu, S., Deerberg, A., Kolker, L., Marchesini, N., Kabelitz, D., Hannun, Y.A., Schutze, S., & Adam, D. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **107**, 1112-1117.
- 67) Gudz, T.I., Tserng, K.Y., & Hoppel, C.L. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 24154-24158.
- 68) Pinton, P., Ferrari, D., Rapizzi, E., Di Virgilio, F., Pozzan, T., & Rizzuto, R. (2001) *EMBO J.*, **20**, 2690-2701.
- 69) Birbes, H., Luberto, C., Hsu, Y.T., El Bawab, S., Hannun, Y.A., & Obeid, L.M. (2005) *Biochem. J.*, **386**, 445-451.
- 70) Colombini, M. (2010) *Biochim. Biophys. Acta*, **1797**, 1239-1244.
- 71) Birbes, H., El Bawab, S., Hannun, Y.A., & Obeid, L.M. (2001) *FASEB J.*, **15**, 2669-2679.
- 72) Novgorodov, S.A. & Gudz, T.I. (2009) *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **53**, 198-208.
- 73) Nilsson, A. (1969) *Biochim. Biophys. Acta*, **176**, 339-347.
- 74) Duan, R.D. & Nilsson, A. (2009) *Prog. Lipid Res.*, **48**, 62-72.
- 75) Hertervig, E., Nilsson, A., Nyberg, L., & Duan, R.D. (1997) *Cancer*, **79**, 448-453.
- 76) Hertervig, E., Nilsson, A., Bjork, J., Hultkrantz, R., & Duan, R.D. (1999) *Br. J. Cancer*, **81**, 232-236.
- 77) Cheng, Y., Nilsson, A., Tomquist, E., & Duan, R.D. (2002) *J. Lipid Res.*, **43**, 316-324.
- 78) Duan, R.D., Cheng, Y., Hansen, G., Hertervig, E., Liu, J.J., Syk, I., Sjostrom, H., & Nilsson, A. (2003) *J. Lipid Res.*, **44**, 1241-1250.
- 79) Duan, R.D., Bergman, T., Xu, N., Wu, J., Cheng, Y., Duan, J., Nelander, S., Palmberg, C., & Nilsson, A. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 38528-38536.
- 80) Zhang, Y., Cheng, Y., Hansen, G.H., Niels-Christiansen, L.L., Koentgen, F., Ohlsson, L., Nilsson, A., & Duan, R.D. (2011) *J. Lipid Res.*, **52**, 771-781.
- 81) Sribney, M. & Kennedy, E.P. (1958) *J. Biol. Chem.*, **233**, 1315-1322.
- 82) Ullman, M.D. & Radin, N.S. (1974) *J. Biol. Chem.*, **249**, 1506-1512.
- 83) Huitema, K., van den Dikkenberg, J., Brouwers, J.F., & Holthuis, J.C. (2004) *EMBO J.*, **23**, 33-44.
- 84) Jeckel, D., Karrenbauer, A., Birk, R., Schmidt, R.R., & Wieland, F. (1990) *FEBS Lett.*, **261**, 155-157.
- 85) Watanabe, M., Kitano, T., Kondo, T., Yabu, T., Taguchi, Y., Tashima, M., Umehara, H., Domae, N., Uchiyama, T., & Okazaki, T. (2004) *Cancer Res.*, **64**, 1000-1007.
- 86) Meng, A., Luberto, C., Meier, P., Bai, A., Yang, X., Hannun, Y.A., & Zhou, D. (2004) *Exp. Cell Res.*, **292**, 385-392.
- 87) Villani, M., Subathra, M., Im, Y.B., Choi, Y., Signorelli, P., Del Poeta, M., & Luberto, C. (2008) *Biochem. J.*, **414**, 31-41.
- 88) Tafesse, F.G., Huitema, K., Hermansson, M., van der Poel, S., van den Dikkenberg, J., Uphoff, A., Somerharju, P., & Holthuis, J.C. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 17537-17547.
- 89) Holthuis, J.C. & Luberto, C. (2010) *Adv. Exp. Med. Biol.*, **688**, 72-85.
- 90) Gouaze-Andersson, V. & Cabot, M.C. (2006) *Biochim. Biophys. Acta*, **1758**, 2096-2103.
- 91) Itoh, M., Kitano, T., Watanabe, M., Kondo, T., Yabu, T., Taguchi, Y., Iwai, K., Tashima, M., Uchiyama, T., & Okazaki, T. (2003) *Clin. Cancer Res.*, **9**, 415-423.
- 92) Yamaoka, S., Miyaji, M., Kitano, T., Umehara, H., & Okazaki, T. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 18688-18693.
- 93) Ternes, P., Brouwers, J.F., van den Dikkenberg, J., & Holthuis, J.C. (2009) *J. Lipid Res.*, **50**, 2270-2277.
- 94) Vacaru, A.M., Tafesse, F.G., Ternes, P., Kondylis, V., Hermansson, M., Brouwers, J.F., Somerharju, P., Rabouille, C., & Holthuis, J.C. (2009) *J. Cell Biol.*, **185**, 1013-1027.
- 95) Yeang, C., Varshney, S., Wang, R., Zhang, Y., Ye, D., & Jiang, X.C. (2008) *Biochim. Biophys. Acta*, **1781**, 610-617.
- 96) Tani, M. & Kuge, O. (2009) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **381**, 328-332.
- 97) Spessott, W., Uliana, A., & Maccioni, H.J. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 41472-41482.
- 98) Albi, E., Cataldi, S., Bartoccini, E., Magni, M.V., Marini, F., Mazzoni, F., Rainaldi, G., Evangelista, M., & Garcia-Gil, M. (2006) *J. Cell Physiol.*, **206**, 189-195.
- 99) Lafont, E., Milhas, D., Carpentier, S., Garcia, V., Jin, Z.X., Umehara, H., Okazaki, T., Schulze-Osthoff, K., Levade, T., Benoist, H., & Segui, B. (2010) *Cell Death. Differ.*, **17**, 642-654.
- 100) Hailemariam, T.K., Huan, C., Liu, J., Li, Z., Roman, C., Kalbfleisch, M., Bui, H.H., Peake, D.A., Kuo, M.S., Cao, G., Wadgaonkar, R., & Jiang, X.C. (2008) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **28**, 1519-1526.
- 101) Gowda, S.P., Yeang, C., Wadgaonkar, S.D., Anjum, F., Grinkina, N., Cutaia, M., Jiang, X.C., & Wadgaonkar, R. (2010) *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, **300**, L430-L440.
- 102) Mizutani, Y., Mitsutake, S., Tsuji, K., Kihara, A., & Igarashi, Y. (2009) *Biochimie*, **91**, 784-790.
- 103) Levy, M. & Futerman, A.H. (2010) *IUBMB. Life*, **62**, 347-356.
- 104) Horinouchi, K., Erlich, S., Perl, D.P., Ferlinz, K., Bisgaier, C. L., Sandhoff, K., Desnick, R.J., Stewart, C.L., & Schuchman, E.H. (1995) *Nat. Genet.*, **10**, 288-293.
- 105) Zumbansen, M. & Stoffel, W. (2002) *Mol. Cell Biol.*, **22**,

- 3633-3638.
- 106) Stoffel, W., Jenke, B., Block, B., Zumbansen, M., & Koebke, J. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **102**, 4554-4559.
- 107) Stoffel, W., Jenke, B., Holz, B., Binczek, E., Gunter, R.H., Knifka, J., Koebke, J., & Niehoff, A. (2007) *Am. J. Pathol.*, **171**, 153-161.
- 108) Yano, M., Watanabe, K., Yamamoto, T., Ikeda, K., Senokuchi, T., Lu, M., Kadomatsu, T., Tsukano, H., Ikawa, M., Okabe, M., Yamaoka, S., Okazaki, T., Umehara, H., Gotoh, T., Song, W.J., Node, K., Taguchi, R., Yamagata, K., & Oike, Y. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 3992-4002.
- 109) Fan, Y., Shi, F., Liu, J., Dong, J., Bui, H.H., Peake, D.A., Kuo, M.S., Cao, G., & Jiang, X.C. (2010) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **30**, 2114-2120.
- 110) Liu, J., Huan, C., Chakraborty, M., Zhang, H., Lu, D., Kuo, M.S., Cao, G., & Jiang, X.C. (2009) *Circ. Res.*, **105**, 295-303.
- 111) Kawamori, T. (2010) *Adv. Exp. Med. Biol.*, **688**, 109-117.
-