よる転写抑制作用が分化制御遺伝子群の発現の抑制という作用を及ぼしている可能性も考えられる．さらにリプログラミング過程で観察されるES細胞特異的遺伝子群のプロモーター領域の脱メチル化を引き起こす因子としてAID（活性化誘導シチジンデアミナーゼ）が必須の役割を果たしていることが最近報告された[15]．現在はまだES細胞やiPS細胞を制御するクロマチン制御因子群の限られたパーツが見つかりはじめた状態に過ぎない．この分野の今後の研究の動向に注目したい．

謝辞

本稿で紹介した研究は産業技術総合研究所 幹細胞工学研究センター，東京大学総合文化研究科（浅島誠教授），東京大学農学研究科（塩田邦郎教授）との共同研究である．関係者に感謝したい．

1）Takahashi, K. & Yamanaka, S.（2006）*Cell*, **126**, 663–676.
2）Niwa, H., Ogawa, K., Shimosato, D., & Adachi, K.（2009）*Nature*, **460**, 118–122.
3）Meshorer, E. & Misteli, T.（2006）*Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **7**, 540–546.
4）Cowan, C.A., Atienza, J., Melton, D.A., & Eggan, K.（2005）*Science*, **309**, 1369–1373.
5）Gurdon, J.（2009）*Nat. Med.*, **15**, 1141–1144.
6）Kikyo, N., Wade, P.A., Guschin, D., Ge, H., & Wolffe, A.P.（2000）*Science*, **289**, 2360–2362.
7）Jullien, J., Astrand, C., Halley-Stott, R.P., Garrett, N., & Gurdon, J.B.（2010）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 5483–5488.
8）Kurisaki, A., Hamazaki, T. S., Okabayashi, K., Iida, T., Nishine, T., Chonan, R., Kido, H., Tsunasawa, S., Nishimura, O., Asashima, M., & Sugino, H.（2005）*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **335**, 667–675.
9）Seki, Y., Kurisaki, A., Watanabe-Susaki, K., Nakajima, Y., Nakanishi, M., Arai, Y., Shiota, K., Sugino, H., & Asashima, M.（2010）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 10926–10931.
10）Ziv, Y., Bielopolski, D., Galanty, Y., Lukas, C., Taya, Y., Schultz, D.C., Lukas, J., Bekker-Jensen, S., Bartek, J., & Shiloh, Y.（2006）*Nat. Cell Biol.*, **8**, 870–876.
11）Ho, L., Ronan, J.L., Wu, J., Staahl, B.T., Chen, L., Kuo, A., Lessard, J., Nesvizhskii, A.I., Ranish, J., & Crabtree, G.R.（2009）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 5181–5186.
12）Singhal, N., Graumann, J., Wu, G., Arauzo-Bravo, M.J., Han, D.W., Greber, B., Gentile, L., Mann, M., & Scholer, H.R.（2010）*Cell*, **141**, 943–955.
13）Matsui, T., Leung, D., Miyashita, H., Maksakova, I.A., Miyachi, H., Kimura, H., Tachibana, M., Lorincz, M.C., & Shinkai, Y.（2010）*Nature*, **464**, 927–931.
14）Rowe, H.M., Jakobsson, J., Mesnard, D., Rougemont, J., Reynard, S., Aktas, T., Maillard, P.V., Layard-Liesching, H., Verp, S., Marquis, J., Spitz, F., Constam, D.B., & Trono, D.（2010）*Nature*, **463**, 237–240.
15）Bhutani, N., Brady, J.J., Damian, M., Sacco, A., Corbel, S.Y., & Blau, H.M.（2010）*Nature*, **463**, 1042–1047.

栗崎 晃
（（独）産業技術総合研究所 幹細胞工学研究センター
幹細胞制御研究チーム）

A novel chromatin-related factor that regulates the pluripotency of embryonic stem cells

Akira Kurisaki（Stem Cell Differentiation Research Team, Research Center for Stem Cell Engineering, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology（AIST）, Higashi 1–1–1, Tsukuba, Ibaraki 305–8562, Japan）

DNA修復酵素APエンドヌクレアーゼ研究から見えてきた基質認識メカニズム

1. はじめに

2010年11月段階で1,490種のゲノムがすでに明らかになっていて，現在も真正細菌で約9,000種，古細菌で約200種，真核生物で約1,600種のゲノムプロジェクトが進行している．それら生物の設計図であるゲノムDNA，すなわち全遺伝情報を含むDNAは遺伝子重複や組換え，様々な突然変異などの変化を絶えず受けてきている．DNAは熱，紫外線，放射線，化学物質，活性酸素などの様々な内的および外的要因のストレスに曝されていて，DNAには常に損傷や複製エラーが生じている．これらDNAの傷が修復されずにDNAに蓄積されると，それらは細胞死やがん化，老化などの原因となる．ヒトの場合，1日に細胞あたり約7万個の傷がDNAに生じ，そのうち核酸塩基が失われてできるAP（apurinic/apyrimidinic）部位は1万個あるといわれている．体全体では1日に約500京個のダメージである．しかし，これら損傷のほとんどはいろいろなDNA修復酵素によって，確実に修復されている．DNA以外の生体高分子は化学的ダメージを受けたり，機能を失ったりした場合には分解されて破棄されるか，あるいは再び生体材料になれば良いが，遺伝情報を担っているDNAはそういうわけにはいかない．生体高分子の中でDNAだけは傷ついても修復される特異な生体物質である．DNA修復酵素は損傷部位があると，間違いなく結合して，働かなくてはならない．従って，DNA修復酵素の基質認識機構は巧妙で，厳密であると思われる．本稿では特に塩基脱落部位に働くAPエンドヌクレアーゼについて，筆者

らが明らかにしたAP部位認識メカニズムについて概説する．

2.　AP部位生成とAPエンドヌクレアーゼ

DNA損傷には多くの種類があるが，その一つに核酸塩基が糖リン酸骨格より脱落してできるAP部位がある．AP部位はヒトの細胞の場合，1日に1細胞当たりプリン塩基（特にアデニン塩基）が約1万個，ピリミジン塩基が数百個脱落して生じている[1]．AP部位生成には主に二つのメカニズムがある．その一つはデオキシリボース残基と核酸塩基間の*N*-グリコシド結合が生理的な条件下，自然発生的な加水分解によって生じるというものである．このような分解反応はDNAの複製や転写が行われている単鎖部分では二本鎖部分の100倍以上の速度で起こっているといわれている．もう一つのメカニズムは損傷を受けた核酸塩基がDNA *N*-グリコシラーゼによってDNA鎖から除去されてAP部位が生じるものである[2]．例えば，シトシン塩基がデアミネーションによって本来DNA中には存在しないウラシル塩基になったもの，活性酸素によってグアニン塩基が8-ヒドロキシグアニン塩基になったものなどが*N*-グリコシラーゼによって除去され，新たにAP部位という損傷に変換されるものである．このように損傷塩基が除去されて修復が進んでいく修復過程を塩基除去修復（BER：base excision repair）と呼ぶ．また，DNAの複製や遺伝的組換えに伴って生じるミスペアーの修復の際にも，*N*-グリコシラーゼによるミスマッチ塩基の除去を介する経路の存在が知られている．このようにAP部位はある意味，DNA損傷の中では「ありふれたもの」であり，多種多様な塩基損傷をAP部位の損傷として置き換えることは生物にとっては効率の良いDNA修復のシステムであるといえる．APエンドヌクレアーゼはこのようにしてできたAP部位のデオキシリボース残基の5′水酸基にリン酸を残す形でリン酸ジエステル結合を切断する．生理的条件下であってもAP部位ができてしまうので，APエンドヌクレアーゼは非常に重要であり，極めて高いホモロジーを維持し続けてきたと思われる．大腸菌の対数増殖期の細胞中ではエキソヌクレアーゼIII（ExoIII）がAPエンドヌクレアーゼ活性の85%を担っている．枯草菌（*Bacillus subtilis*）にはExoA，ヒトにはAPE1というAPエンドヌクレアーゼがある．

3.　モデルDNAを用いた解析とX線結晶構造解析から見た基質認識メカニズム

大腸菌ExoIIIファミリーに属するAPエンドヌクレアーゼの基質認識メカニズムについて，2006年以前は三つの仮説が提唱されていた．APエンドヌクレアーゼと基質DNAオリゴマーとの複合体のX線結晶構造解析から提唱されたものであった．まず一つ目の仮説は，酵素がAP部位の反対側（相補鎖側）の塩基を認識するというものである[3]．しかし，筆者らはAP部位の反対側，すなわち相補的位置がどの塩基であっても基質になり得ることを明らかにし，AP部位の反対側の塩基がAPエンドヌレアーゼによって認識されているわけではないことを明らかにした．また筆者らはAP部位を含む一本鎖DNAも基質になることを明らかにし，APエンドヌクレアーゼは二本鎖構造をも必要としていないことが分かった[4]．二つ目の仮説はAPエンドヌクレアーゼがAP部位のデオキシリボース残基を認識するというものであった[5]．そこでAP部位として，デオキシリボース環の他に，化学的に安定なジヒドロフラン環や環状構造をとっていないプロパンジオール残基を含むDNAを化学合成し，APエンドヌクレアーゼの酵素反応に供した．これらがいずれも良い基質となったことより，APエンドヌクレアーゼがリボース環を認識しているという仮説も否定された[4]．その他，AP部位の出現によってその近傍の二本鎖構造にひずみが生じて，それを認識しているという考えを提唱したものもあったが[6]，バルジ構造をとるDNAであっても[4]，AP部位周りのヌクレオチド残基の糖パッカリングが結晶中のそれとは異なる3′-*endo*に固定されたもの（BNA：bridged nucleic acid）（未発表データ）であっても良い基質であり[4]，二重らせん構造のひずみがAPエンドヌクレアーゼの基質認識に重要であるという仮説は否定された．従って，APエンドヌクレアーゼの基質認識メカニズムに関して新たな仮説を立てる必要に迫られた．AP部位生成メカニズムから考えて，AP部位前後の塩基配列に特に意味がないことは自明のことであり，AP部位があるという特徴以外に構造上の特徴は見当たらない．塩基がないことそのものをAPエンドヌクレアーゼが認識していると考えざるを得なかった．そこで筆者らは酵素のアミノ酸側鎖がDNA鎖中の塩基が抜けてできる穴（隙間）を認識していると仮定した．すなわち酵素表面のアミノ酸残基の側鎖が脱塩基部分に挿入される形で結合すると考え，プリン塩基に似たトリプトファンのインドール環をその側鎖の候補と考えた．そこで改めてAPエ

ンドヌクレアーゼの酵素・基質複合体の結晶構造を見てみると，活性中心近傍にトリプトファン残基が存在していた．しかし，特に核酸塩基とスタッキングすることもなく，またAP部位のデオキシリボース残基や相補鎖側の塩基，または糖–リン酸骨格と相互作用している様子はみられなかった．むしろAP部位とは無関係に存在していた．しかし，活性中心近くにあるトリプトファン残基は高い保存性があり，ExoIIIの場合，212番目にそのトリプトファン残基があり，また枯草菌ExoAと同じタイプのAPエンドヌクレアーゼでは大腸菌と同じ位置ともう一箇所，大腸菌の226番目のアミノ酸残基に相当する位置に保存性の高いトリプトファン残基がある．ヒトや高等真核生物のAPエンドヌクレアーゼの場合は大腸菌ExoIIIの226番目に相当する位置にトリプトファン残基が保存されていることが分かった（**図1A**）．

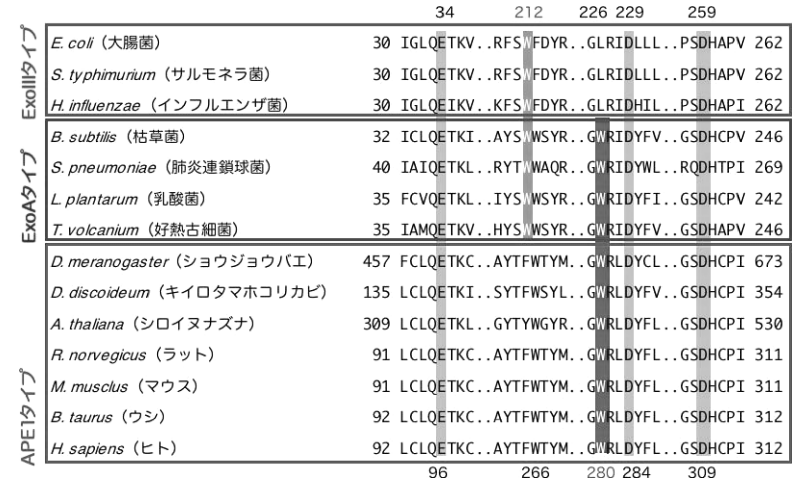
これらトリプトファン残基が，その保存性の高さから何らかの機能をもっている可能性を期待して，筆者らはこれらトリプトファン残基を他のアミノ酸残基に置換した部位特異的変異体を調製して，それらの酵素活性を調べた（**図2**）．ヒトAPE1タイプと大腸菌ExoIIIタイプでは保存性の高いトリプトファン残基の位置は異なっているが，それらトリプトファン残基をセリン残基に置換すると，AP部位を含むDNAとの複合体形成能が失われ，APエンドヌクレアーゼ活性も失われた（図1B）．ここでさらに驚いたことには，活性を失ったヒトAPE1に大腸菌のトリプトファン残基の位置にトリプトファン残基を導入して大腸菌ExoIIIタイプにするとAPエンドヌクレアーゼ活性が復活した．同様に活性を失った大腸菌ExoIIIにヒトのトリプトファン残基の位置にトリプトファン残基を導入してヒトAPE1タイプにすると，これもまたAPエンドヌクレアーゼ活性が復活した[7]（図1B）．枯草菌のExoAタイプの場合は保存性の高いトリプトファン残基は大腸菌ExoIIIと同じ位置とヒトAPE1と同じ位置の二箇所にある．枯草菌と同じExoAタイプのAPエンドヌクレアーゼをもつ*Thermoplasma volcanium*と*Lactobacillus plantarum*のAPエンドヌクレアーゼのこれら二箇所のトリプトファン残基を両方ともセリン残基に置換したものは基質と複合体が形成できず，APエンドヌクレアーゼ活性も完全に消失した．しかし，どちらか片方のトリプトファン残基が残っているものは天然型酵素とほぼ同じように複合体を形成し，基質を分解した[8]（図1C）．以上のようにAPエンドヌクレアーゼの活性中心近傍のトリプトファン残基の有無が酵素–基質複合体の形成及びAPエンドヌクレアーゼ活性に決定的に重要な要素であることが分かった．

次にトリプトファン残基を含むトリペプチド（Lys-Trp-Lys）がDNAのAP部位に結合するという知見があったので[9]，トリプトファン残基がほぼ真ん中に位置し，塩基性アミノ酸残基に富むペプチドKSRGK**W**KGRSAとトリプトファン残基を含まないKSRGK**A**KGRSAを，それぞれAP部位があるDNAとないDNAとに混合した．その結果，トリプトファンを含むペプチドとAP部位のあるDNAとの組合せの場合だけに強い複合体形成が観察された．またAPエンドヌクレアーゼとDNAとの相互作用を表面プラズモン共鳴（SPR/ビアコア）でより詳細に検討したところ，酵素活性とゲルシフト法で複合体形成が観察されなかった変異体はAP部位の有無にかかわらず，ごくわずかであるがDNAに結合した[7]．APエンドヌクレアーゼの部位特異的変異体とAP部位を含む基質DNAの研究から，APエンドヌクレアーゼの活性中心近傍にあるトリプトファン残基がAP部位の認識に働いているというメカニズムを提唱するに至った[7,8,10]．

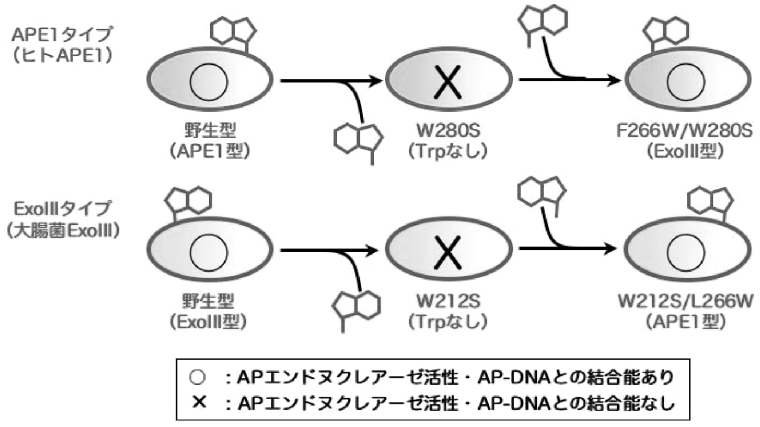
4. AP部位認識メカニズムにおける初期複合体形成

APエンドヌクレアーゼと基質DNAとの複合体のX線結晶構造解析で見えているのはミカエリス複合体[11]，すなわちまさに反応が起ころうとしているところである．しかし酵素活性や複合体形成に決定的に重要な役割を果たしていると思われるトリプトファン残基はこの段階では特に重要な役割を担っていないと思われる．DNA *N*-グリコシラーゼやその他のDNA鎖切断酵素の基質認識機構として一般的に知られているのは“push-pull”機構または”flip-out”機構とよばれるものである[12]．まさに酵素が働こうとしている状態，すなわちミカエリス複合体を見るとこのメカニズムで説明できる．しかし，活性中心に基質をしっかりくわえ込むためにはかなりのエネルギーで基質も酵素も大きな構造変化（誘導適合）を起こさなければならない．しかし，活性中心に基質をしっかりくわえ込むための，このようなDNA鎖上の大きな構造変化はかなりのエネルギーを必要とし，APエンドヌクレアーゼがAP部位を探して認識する機構として適当なものであるかどうかについては疑問を抱かざるを得ない．細胞内においてAP部位が頻繁に形成されることや，AP損傷が起こってから時間をおかずに直ちにDNAは修復されなければならないことを考えると，フリップアウトというかなりエネルギーを消費しなければならないAP部位検索機構は，APエンドヌクレアーゼの基質認識機構としてはかなり無理がある．APエンド

(A)



(B)



(C)

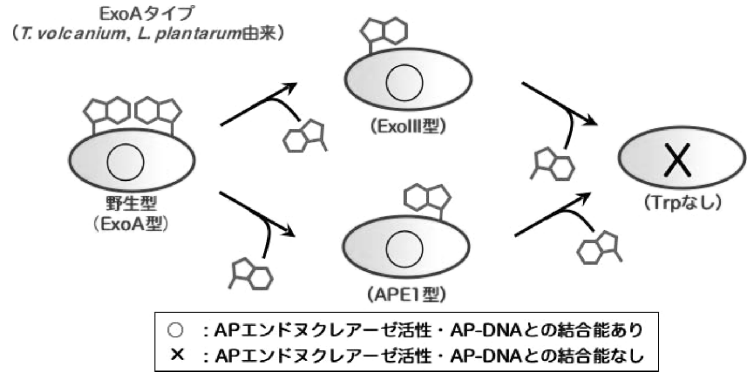


図1　APエンドヌクレアーゼのアミノ酸配列と部位特異的変異体

（A）APエンドヌクレアーゼの活性中心近傍のアミノ酸配列とアライメント
活性アミノ酸残基：E，D，H
活性中心近傍にあり酵素表面にインドール環が突出しているトリプトファン残基によるAPエンドヌクレアーゼの分類

（B）APE1及びExoIIIタイプのAPエンドヌクレアーゼの部位特異的変異体の酵素活性及び複合体形成能

（C）ExoAタイプのAPエンドヌクレアーゼの部位特異的変異体の酵素活性及び複合体形成能

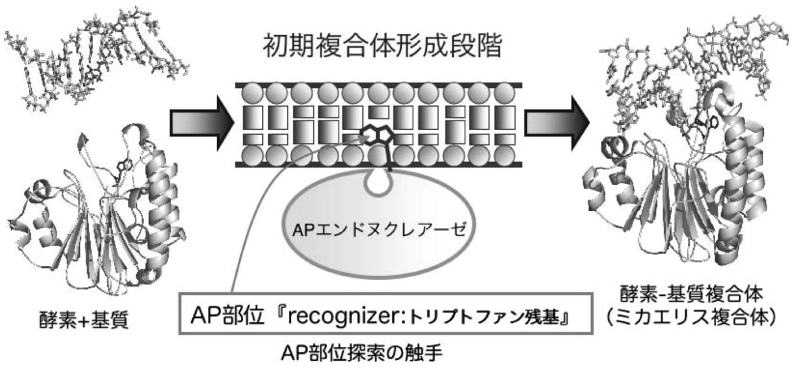


図2 ミカエリス複合体形成の前段階の初期複合体
APエンドヌクレアーゼの活性中心近傍のトリプトファン残基の側鎖のインドール環のみを示す.

ヌクレアーゼが素早くDNA上をスライディングまたはホッピングしながらAP部位を検索している過程[13,14]で，酵素表面に突出しているインドール環がAP部位検索の触手として働いており，AP部位にインドール環がインターカレーションした場合のみ，次のステップ，すなわち誘導適合が起こり，AP部位がフリップアウトしたミカエリス複合体が形成されるというメカニズムが理にかなっているように思われる（図2）．従ってミカエリス複合体のなかではトリプトファン残基はもはや基質認識のための役割を終えている．これまでに知られているDNaseIスーパーファミリーの酵素（APエンドヌクレアーゼも含む）の立体構造を比較すると，互いに良く似た構造をとっているが，活性中心の近くにトリプトファン残基をもつものはAPエンドヌクレアーゼだけである．この事実もAPエンドヌクレアーゼにおけるトリプトファン残基の重要性を支持していると思われる．

5. おわりに

トリプトファン残基のインドール環がAP部位に挿入された状態，すなわち初期複合体についてはその状態が一過性であるため，複合体としての単離が難しく，結晶化による構造解析など，通常の方法では構造決定は困難と予想される．APエンドヌクレアーゼの基質認識に関わる初期複合体を実際に捉えるためには，初期複合体形成後の誘導適合が制限されるような基質の設計が必要であるが，未だ試みられた報告はない．APエンドヌクレアーゼをターゲットとした制がん抗生物質の開発が盛んに行われているが[15]，初期複合体生成という概念は他のDNA修復酵素にも適用できる可能性があり，今後の研究進展を期待したい．

1) Lindahl, T. & Nyberg, B.（1974）*Annu. Rev. Genet.*, **20**, 201–230.
2) Doetsch, P.W., Helland, D.E., & Haseltine, W.A.（1986）*Biochemistry*, **25**, 2212–2220.
3) Mol, C.D., Kuo, C.F., Thayer, M.M., Cunningham, R.P., & Tainer, J.A.（1995）*Nature*, **374**, 381–386.
4) Shida, T., Noda, M., & Sekiguchi, J.（1996）*Nucleic Acids Res.*, **24**, 4572–4576.
5) Gorman, M.A., Morera, S., Rothwell, D.G., de La Fortelle, E., Mol, C.D., Tainer, J.A., Hickson, I.D., & Freemont, P.S.（1997）*EMBO J.*, **16**, 6548–6558.
6) Singer, B. & Hang, B.（1997）*Chem. Res. Toxicol.*, **10**, 713–732.
7) Kaneda, K., Sekiguchi, J., & Shida, T.（2006）*Nucleic Acids Res.*, **34**, 1552–1563.
8) Kaneda, K., Ohishi, K., Sekiguchi, J., & Shida, T.（2006）*Biosci. Biotechnol., Biochem.*, **70**, 2213–2221.
9) Behmoaras, T., Toulme, J.J., & Helene, C.（1981）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 926–930.
10) Yamada, Y., Kodera, T., Ohishi, K., Kaneda, K., & Shida, T.（2009）*Nucleic Acids Symp. Ser.*, **53**, 309–310.
11) 八木清仁（1999）生化学，**71**，1131–1144.
12) Wong, I., Lundquist, A.J., Bernards, A.S., & Mosbaugh, D.W.（2002）*J. Biol. Chem.*, **277**, 19424–19432.
13) Halford, S.E.（2002）*Biochem. Soc. Trans.*, **29**, 363–374.
14) Bonnet, I., Biebricher, A., Porte, P.-L., Loverdo, C., Benichou, O., Voituriez, R., Escude, C., Wende, W., Pingoud, A., & Desbiolles, P.（2008）*Nucleic Acids Res.*, **36**, 4118–4127.
15) Wood, D.K., Weingest, D.M., Bhatie, S.N., & Engelward, B.P.（2010）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 10008–10013.

志田　敏夫
（信州大学大学院総合工学研究科
生命機能・ファイバー工学専攻）

AP site recognition mechanism by the tryptophan residue in the vicinity of the catalytic center of AP endonucleases

Toshio Shida（Department of Bioscience and Textile Technology, Interdisciplinary Graduate School of Science and Technology, Shinshu University, Tokida 3-15-1, Ueda, Nagano 386-8567, Japan）

スフィンゴ脂質シグナリング分子の代謝マシナリー

は　じ　め　に

生体膜脂質二重層を構成する両親媒性脂質は，グリセロリン脂質とスフィンゴシン塩基を骨格としたスフィンゴ脂質に大別される．スフィンゴ脂質は，生体膜の10%程度しか占めない比較的マイナーな膜脂質であるが，現在おもに二つの観点から注目を集めている．一つ目は，スフィンゴ脂質は形質膜上のラフトと呼ばれるマイクロドメインの構成分子として機能し，細胞内外のシグナル伝達の中継地点の役割を果たしている点である．二つ目は，膜のスフィンゴ脂質の一部が分解することで微量に産生されるセラミド，スフィンゴシン，スフィンゴシン1-リン酸（S1P）等の代謝産物が，細胞死，増殖，分化等を制御するシグナリング分子として機能するという点である．これらスフィンゴ脂質シグナリング分子の量的変動は，細胞の運命を決定する重要な要因となると考えられている．その主要な生成経路は，膜のスフィンゴミエリンのスフィンゴミエリナーゼによる分解を起点としていると考えられている（**図1A**）．この生成経路は，形質膜，リソソーム，ミトコンドリア，小胞体，細胞外等，様々な領域に存在しており，スフィンゴ脂質シグナリング分子が部位特異的な機能を発揮するために必要であると考えられている（図1B）．近年，スフィンゴ脂質シグナリング分子の代謝に関与する酵素遺伝子のクローニングが殆ど終了したが，個々のスフィンゴ脂質代謝酵素が細胞のどこでどのような制御下で機能するのか，すなわち「スフィンゴ脂質シグナリング分子の代謝マシナリー」に関しては未だ多くの未解明点が存在する．本稿では，スフィンゴ脂質シグナリング分子の代謝酵素のトポロジーや局在制御機構に着目した最近の我々の研究を紹介する．

1.　中性セラミダーゼによる細胞外スフィンゴ脂質代謝

セラミダーゼ（CDase）は，セラミドの酸アミド結合を加水分解して，スフィンゴシンと遊離脂肪酸を生成する酵素である．CDaseは，スフィンゴ脂質シグナリング分子として機能するセラミド，S1P量の調節酵素として古くから重要視されてきた酵素である．CDaseには，最適pHが酸性とアルカリ性の酵素が存在することが示唆されてきたが，近年の遺伝子クローニングの進展でCDaseには一次構造が異なる三つのファミリー（酸性，中性，アルカリ性CDase）が存在することが明らかとなった．我々は，哺乳類の中性セラミダーゼの遺伝子クローニングに最初に成功したことを皮切りとして[1]，本酵素が細胞のどこでどのようにスフィンゴ脂質代謝に関与するのか，について研究を行った．その結果，中性CDaseは形質膜にII型膜結合型タンパク質として存在し，触媒領域を細胞の外側に向けていることが明らかとなった[2]．更に本酵素の一部は，膜貫通領域が切断され，細胞外に分泌されることも確認された．また，本酵素は膜貫通領域近傍に*O*型糖鎖が密集して付加しており，この構造によって細胞表面で安定に発現できることもわかった[2]．これらのことから，形質膜外層を含む細胞外領域においてセラミドの代謝に関与することが示唆された．実際，CHOP細胞（ポリオーマウイルスのLT抗原を発現するCHO細胞）を用いた本酵素の過剰発現実験で，細胞外領域に存在する中性CDaseは形質膜外層や血清中で出現したセラミドをスフィンゴシンに分解することが示された．更に，生成されたスフィンゴシンは，S1Pにまで変換されることも確認された[3]（図1B）．

細胞外S1Pは細胞表面のS1P受容体を介してリンパ球動態や血管新生に関与することが知られており，中性CDaseを介した細胞外S1P産生経路の重要性に関しては今後詳細な解析が必要である．一方で，中性CDaseのノックアウトマウスの解析から，本酵素は食事由来のセラミドを腸内で分解することが示されており，細胞外に分布することで食物の消化にも関与することが示唆されている[4]．従来，スフィンゴ脂質の代謝経路は，主に細胞の中に存在すると考えられてきたが，一連の研究によって形質膜外層を含む細胞外領域においてセラミドからS1Pまでを生成する代謝経路の存在とその重要性が示された．