

細胞内外で機能するスフィンゴシン1リン酸 (S1P) の役割

岡田 太郎, 中村 俊一

S1Pはスフィンゴ脂質由来の脂質メディエータで、1990年代に細胞増殖作用などが見いだされたことを契機に、発見から数十年を経てその意義が再評価されるようになった。また、S1Pはリゾホスファチジン酸と共に血漿中に豊富に存在するリゾリン脂質であり、これらの脂質メディエータの受容体がほぼ同時期に同定されたことにより、それらの生理機能が飛躍的に解明された。一方で、S1Pは受容体を介する作用のみならず、細胞内でセカンドメッセンジャーとしての作用も有しており、これらが合わさって一層複雑な作用機序を形成する。さらに、スフィンゴ脂質とコレステロールが集積して形成される脂質ラフトが情報伝達の“プラットフォーム”としての場を提供することと相まって、S1Pは様々なシグナル伝達系を統合処理する“オペレーター分子”として機能する実態が浮かび上がってきた。そしてその生理作用は細胞増殖・分化、炎症、免疫、神経機能などの調節と多岐にわたり、これらの破綻から生ずるがん、自己免疫疾患、慢性炎症や認知症などの病態解析そして新たな分子標的治療法の開発にも一層期待が高まる。

はじめに

生物界に広く分布するスフィンゴ脂質は発見から百余年を経たが、長らく生体膜の構成成分としてのみ、その機能がとらえられてきた。最近になってスフィンゴ脂質の構成成分の一つスフィンゴミエリンが、コレステロールと共に細胞膜ミクロドメインを形成することが分かってきた。脂質ラフトは様々なシグナル伝達分子が集積するプラットフォームを細胞膜に形成し、情報伝達の調節に重要な役割を果たすらしい。さらに細胞外からの様々な情報に应答して、スフィンゴミエリン自身が速やかに代謝され、その結果産生されるセラミド、スフィンゴシンやスフィンゴシン1リン酸 (S1P) 等の代謝産物は、生存、増殖、分化や運動などを調節する重要な脂質メディエータであることが明らかになりつつある。特にS1PはS1P受容体の発見に

より、その生理機能に関する理解が飛躍的に進展し、免疫・炎症そして神経機能の調節等多岐にわたって関与する。本総説ではS1Pの作用機序および生理作用に焦点を合わせて概説すると共に、S1Pの関与する病態や新規治療法にも触れたい。

1. スフィンゴ脂質代謝

スフィンゴ脂質はスフィンゴイド塩基を含む複合脂質の総称であり、グリセロリン脂質、コレステロールと共に真核生物の細胞膜を構成する主要な脂質成分の一つである。スフィンゴ脂質の合成はセリンとパルミトイル CoA の縮合によって始まり、数段階の反応によって生成したセラミドを経て、スフィンゴミエリンや様々なスフィンゴ糖脂質が合成される (図1)。これらのスフィンゴ脂質はコレステロールと共に細胞膜上に脂質ラフトと呼ばれるドメインを形成し、多くの情報伝達分子が集積するプラットフォームを提供することにより、シグナル伝達、細菌やウイルスの感染、細胞内小胞輸送などに重要な役割を果たすと考えられている¹⁾。そしてさらに脂質ラフトは単に場の提供を行うだけの構造ではなく、そこに存在する糖脂質の糖鎖構造により特異的なシグナルが伝達されることも分かっている²⁾。脂質ラフトの概念が変わりつつある。

神戸大学大学院医学研究科生化学・分子生物学講座生化学分野 (〒650-0017 神戸市中央区楠町7丁目5番1号)
Role of S1P acting both inside and outside the cells
Taro Okada and Shun-ichi Nakamura (Division of Biochemistry, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Kobe University Graduate School of Medicine, Kusunoki-Cho 7-5-1, Kobe 650-0017, Japan)

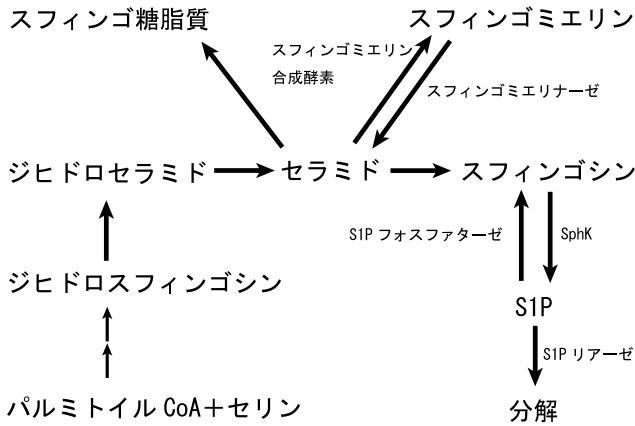


図1 スフィンゴ脂質代謝

パルミトイル CoA とセリンの縮合に始まる de novo 合成経路により生成されたセラミドから、スフィンゴミエリンや種々のスフィンゴ糖脂質が合成される。一方、細胞が炎症性サイトカインやストレス刺激等を受けた際には、細胞膜のスフィンゴミエリナーゼが活性化されてセラミドが生成される。この分解系により産生されたセラミドは速やかに代謝され、スフィンゴシンさらに S1P へと変換される。

一方で細胞が炎症性サイトカインやストレス刺激等を受けた際には、細胞膜のスフィンゴミエリナーゼが活性化され、スフィンゴミエリンがセラミドに分解される（スフィンゴミエリンサイクル）³⁾。この時産生されたセラミドは、de novo の合成経路により産生されたセラミドと異なり、速やかに代謝されスフィンゴシン、さらに S1P へと変換される。これらのスフィンゴミエリンの代謝産物は脂質メディエータとして細胞増殖や分化など多くの細胞機能を調節することが知られる。一般にセラミドとスフィンゴシンは細胞増殖の阻害やアポトーシスの誘導を引き起こすが、それらがさらに代謝された産物 S1P は反対の効果、すなわち細胞増殖の促進やアポトーシスの抑制を惹起すること

から、前二者の総和と S1P の比が細胞の運命を決定するとするスフィンゴ脂質 rheostat (加減抵抗器) モデルが提唱されている⁴⁾。しかしその後、S1P が細胞質に存在するときは細胞増殖を促すが、核に集積すると逆に細胞増殖を抑制したり、アポトーシスを誘導することが実験的に示されており⁵⁾、S1P の細胞内での存在場所が細胞機能を調節する上で重要であるらしい。

2. スフィンゴシンキナーゼ (SphK)

スフィンゴシンキナーゼ (SphK) はスフィンゴシンの 1 位の水酸基をリン酸化し、S1P を産生する酵素である。SphK は酵母、線虫、ショウジョウバエからほ乳類に至る高等動物に幅広く存在し、2 種類の子タイプが同定されている。ほ乳類における SphK1 と SphK2 は、どちらも様々な組織で広く発現し、また共に構造的にジアシルグリセロールキナーゼに類似し、良く保存された領域を有することから (図 2)⁶⁾、互いに類似した機能を有していると思われる。実際ノックアウトマウスを用いた実験から、両者を共に欠損するマウスでは、神経管の閉鎖不全および血管系の発生異常と出血から胎生致死となるが、SphK1 あるいは SphK2 のいずれかの欠損マウスでは、外見および生殖能に異常は認められないことから、これらのアイソザイムは機能的に互いに相補作用があることが示されている⁷⁾。一方で、SphK2 の N 末と中央の領域には SphK1 と相同性の低い配列が存在することから、これらのアイソザイムには固有の機能も存在すると考えられる。実際に後述するようにこれらのアイソザイムでは、細胞内局在、基質特異性、さらに活性化機構に於いて相違点が報告されており、S1P のオルガネラ特異的機能を理解する上で興味深い。SphK1 は細胞質に局在する可溶性タンパク質である。分子量が約 4 万であることから受動的に核に移行すること

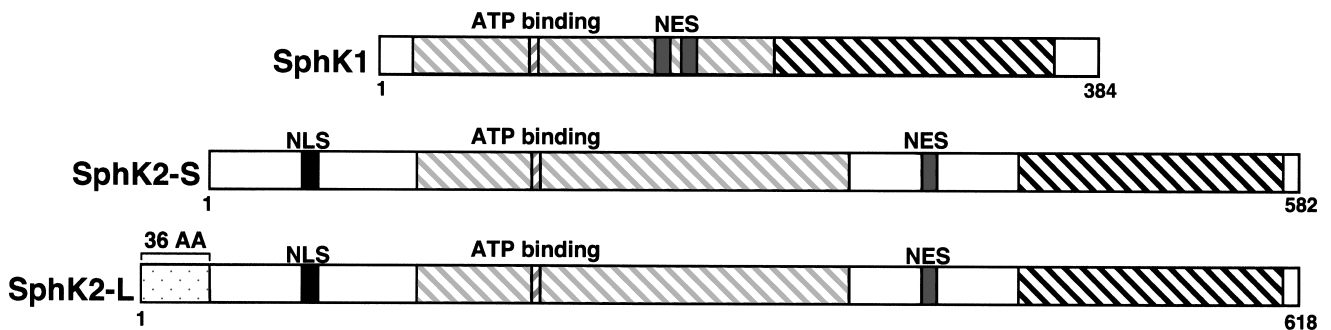


図2 SphK アイソザイム

hSPHK1 および hSPHK2 の構造を示す。各アイソザイムには大きく 2 カ所の相同性の高い領域 (斜線部) が存在し、触媒領域と考えられている。SphK1 および SphK2 の両者に核排出シグナル (NES) (灰色部) が存在し、さらに SphK2 には核移行シグナル (NLS) (黒色部) が存在する。SphK2 には種特異的アイソザイム、SphK2-S と SphK2-L が存在する。SphK2-L はヒト等の霊長類に存在するアイソザイムで SphK2-S の N 末に 36 アミノ酸が付加されたスプライズバリエントで、げっ歯類には存在しない。また SphK2 の NES 領域は PKD によってリン酸化されるセリン残基を含んでおり、このリン酸化により SphK2 の細胞質-核シャトリングが制御されている。

も考えられるが、その構造に核排出シグナル (NES) を有し積極的に核外に排出されていることも明らかにされた⁸⁾。炎症性サイトカインなどで細胞を刺激したり、細胞が脱分化する時に、SphK1 は活性化され細胞膜に移行することから、刺激に依存する S1P の濃度上昇に於いてはこのアイソザイムが関与しているらしい。

S1P の機能を理解するために、SphK1 に対する結合分子を同定する試みがなされ、その結果 RPK118⁹⁾、TRAF2¹⁰⁾、PECAM-1¹¹⁾、Aminoacylase 1¹²⁾、 δ -カテニン¹³⁾、カルシウム・インテグリン結合タンパク質 1 (CIB1)¹⁴⁾、脂質としてはホスファチジン酸¹⁵⁾等が報告されており、これらとの結合によって SphK1 の細胞内局在や活性が調節されている。例えば SphK1 はホスファチジルイノシトール 3-リン酸 (PI3P) と特異的に結合する PX ドメインを有する RPK118 との結合を介して、PI3P が豊富に存在する初期エンドソーム上に引き寄せられ、細胞内小胞輸送を制御する可能性が指摘されている⁹⁾。また SphK1 の Ser225 が ERK1/2 によりリン酸化されることで、細胞膜への移行が促進されることも報告されている¹⁶⁾。そして SphK1 は細胞膜に移行することにより、細胞増殖・抗アポトーシスを惹起することが知られる。さらに、SphK1 を過剰発現させることでマウスの線維芽細胞 NIH3T3 細胞ががん化することが報告されている¹⁷⁾。またヒトの種々のがんにおいて SphK1 遺伝子の発現が亢進している例が多数報告されていることから¹⁸⁾、SphK1 を分子標的にした新たながん治療法に期待が持てる。

一方、SphK2 は SphK1 と異なり、ヒト等の霊長類に存在するアイソザイム SphK2-L が存在する。SphK2-L はげっ歯類等の SphK2-S に比べ N 末が 36 アミノ酸延長したスプライスバリエントでげっ歯類には存在しないが、ヒトでは大部分を占めるアイソザイムである¹⁹⁾。SphK2-L や SphK2-S はともに核移行シグナル (NLS) および NES を有し、細胞の環境によって核と細胞質の間をシャトリングしている。細胞密度が高くなったり血清飢餓状態に陥ると、SphK2 は核に集積する。また細胞密度が低下したり血清が豊富に存在し、細胞増殖が起こるような環境では、核から細胞質に移行する。この時プロテインキナーゼ D による SphK2 の NES に存在するセリン残基のリン酸化により核排出が誘導されることが示された²⁰⁾。SphK1 に比べ SphK2 の機能はあまり明らかにされていないが、細胞が増殖するような環境では、SphK1 と SphK2 は共に細胞膜付近の S1P 濃度を上昇させ細胞増殖や生存シグナルを伝達するのに対し、ストレス環境下では SphK2 は核に移行し核内での S1P の濃度を上昇させ、細胞に負の増殖シグナルを送っているらしい。

3. S1P を介するシグナル伝達系

S1P は細胞増殖、アポトーシスの抑制、細胞運動の亢進、免疫機能の調節さらには神経伝達物質の放出等その作用は多岐にわたるが、この多様性を説明する鍵は S1P の複雑な作用機序にある。ほ乳類に於ける S1P の作用機序としては、酵母を始めとする単細胞の真核生物が有している細胞内脂質メディエーターとしての側面を受け継ぐと同時に、より高度な多細胞生物が獲得した受容体を介する作用機序の二つを同時に併せ持つ。受容体としては 5 種類の S1P 受容体が同定されており、いずれも Gi/o, Gq, G12/13 等の G タンパク質と関連し (図 3)、それぞれの受容体の特異的な組織分布の結果、血管新生、リンパ球の運動性の調節や神経伝達物質の放出調節など多彩な生理作用を示す²¹⁾。一方で S1P の細胞内脂質メディエーターとしての作用に関しては、細胞内での S1P の標的分子が明らかにされていないこともあり、今なお理解が深まっていない。しかしながら、dihydro-S1P は S1P 同様に S1P 受容体を活性化するにもかかわらず、S1P に比べアポトーシス抑制能が弱いこと²²⁾、caged-S1P で細胞内の S1P 濃度を高めると IP3 非依存性の細胞内プールからカルシウムイオンが動員されること²³⁾、さらにイーストには S1P 受容体が存在しないにもかかわらず、細胞内での S1P がストレス刺激によるアポトーシスの回避を行うこと等の根拠から²⁴⁾、S1P の細胞内作用の存在は今も支持されている。最近、S1P の細胞内での標的分子の可能性を示唆する興味深い報告がなされた。Sphk2 は核内でヒストン H3 と結合し、産生された S1P がヒストン脱アセチル化酵素に結合し、同酵素活性を抑制することによりヒストンのアセチル化が亢進し、転写活性を促進する可能性が示された²⁵⁾。この発見は環境要因に応じてエピジェネティックなメカニズムによる遺伝子の発現調節に S1P が関与することを示唆するもので、がん、自己免疫疾患、あるいは慢性炎症などの病態に S1P シグナルが関与している可能性を示す。

しかしながら S1P の作用機序に関しては、S1P の作用を細胞の内外部で区別することは困難なこともある。例えば、増殖因子やサイトカインによる細胞刺激の結果、S1P 受容体がトランスアクチベーションを受けることが知られる。様々な細胞に於いて PDGF や TNF α 刺激により SphK1 が活性化を受けると、細胞内の S1P 濃度が上昇する。この時産生された S1P は細胞内脂質メディエーターとして細胞内で作用する一方で、一部は細胞膜の ABC トランスポーターにより細胞外に排出され S1P 受容体を刺激することによりオートクライン、あるいはパラクライン作用²⁶⁾により自身や近傍の細胞に作用することが知られている²⁶⁾。そしてさらに S1P 受容体刺激の結果、SphK が活性化され細胞内の S1P 濃度が上昇することがある。S1P によ

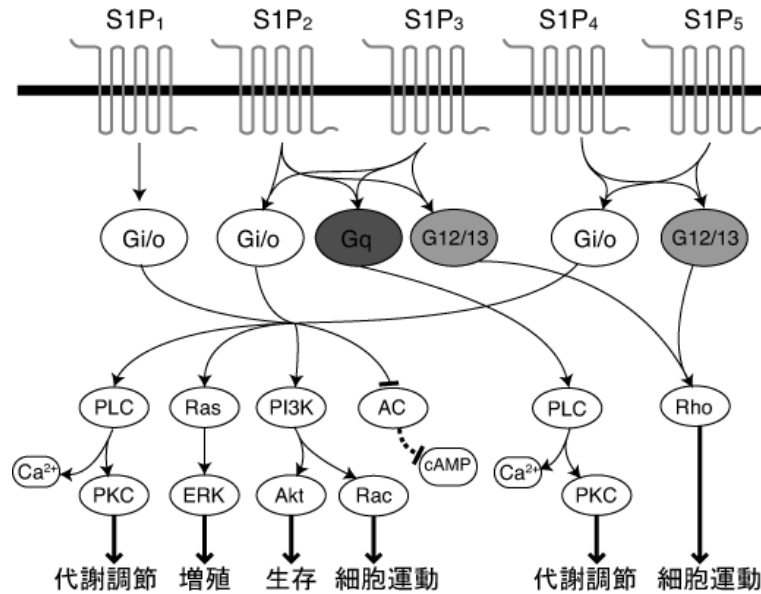


図3 S1P受容体を介する細胞内情報伝達

S1P受容体には5種類のサブタイプ(S1P₁~S1P₅)が存在し、いずれも7回膜貫通型の3量体型Gタンパク質共役型受容体である。S1P₁はGi/o特異的に共役し、S1P₂とS1P₃はGi/o、Gq、G12/13と、S1P₄とS1P₅はGi/o、G12/13と共役する。S1P受容体は組織特異的な分布を示し、また共役するGタンパク質の下流に位置するシグナル伝達分子により、S1Pは多彩な細胞応答を引き起こす。

りS1P受容体が活性化され細胞運動が亢進する場合、SphKの活性化が必要である。この時S1P受容体を介する刺激では細胞の極性が規定され、細胞内のS1Pは細胞の運動性を高める方向に作用し、両方の作用で合目的な細胞運動が調節されることが示された²⁷⁾。

次にSphK/S1Pが関与する現象で以上のどのメカニズムにも当てはまらない例として、がん細胞に於けるRasタンパク質の活性化機構を紹介する。ヒトの膀胱がんでは多くの例で血管内皮細胞増殖因子(VEGF)およびVEGF受容体の発現が亢進していることが知られ、またVEGFの発現が病気再発の指標に使われることもある。VEGFシグナルはRas/ERKシグナル伝達系を介して細胞増殖を促進す

注)

オートクライン(autocrine)やパラクライン(paracrine)は生理活性物質の作用様式の一つであり、細胞から分泌された活性物質が、その場で同じ細胞(オートクライン)や近隣の細胞(パラクライン)に作用する。しかしながら、生理活性物質に対する受容体が分泌細胞および近隣の細胞に共に存在するときは、これらの様式を厳密に区別することは困難であり、両者を合わせてオートクライン/パラクライン様式と呼ばれることが多い。尚、これらの作用様式を有する生理活性物質はオートコイド(autacoid)あるいは局所ホルモン(local hormone)と呼ばれる。最近注目を集めているS1Pも、リンパ球の循環や神経伝達物質の調節ではこの様式を介することが明らかになってきた。

ることが知られるが、この時Rasの活性化にはRasのグアニンヌクレオチド交換因子Ras-GEFは関与しないらしい。これはヒト膀胱がん由来のT24細胞をVEGFで刺激しRasを活性化する際は、RasのドミナントネガティブRas-N17により変化を受けないが、一方でEGF刺激によるRasの活性化はこの変異体で抑制されることから、VEGF刺激によるRas-GEFの関与しないRasの活性化が示唆された²⁸⁾。さらに興味深いことに、in vitroに於けるRas-GAP活性がスフィンゴシンで活性化され、S1P存在でこの活性化が阻害されることが報告された²⁹⁾。以上から、VEGF刺激によりSphKが活性化されスフィンゴシンがS1Pに変換されることにより、スフィンゴシン濃度が減少しS1P濃度が上昇することにより、Ras-GAPの活性化を維持することができず、GTP結合型のRasが蓄積する。その結果、Ras/Raf/ERKシグナル伝達系が活性化され、細胞が増殖方向に向かうと推論している。しかしながら実際にスフィンゴシンとS1Pの比によりRas-GAP活性が調節されているか否かはさらなる生理的な証明が必要であろう。

そしてこの段落の最後に、一つのシグナル伝達系が他の伝達系を縦横無尽に巻き込んでゆく、いわゆる“criss-cross”シグナル伝達に於けるS1Pの役割について紹介する。乳がんの増殖促進因子としてエストロジェンが重要な役割を果たしていることが知られる。そしてヒトの乳がん由来の培養株MCF-7細胞を17 β -estradiol(E2)を用い

て刺激すると SphK1 が速やかに活性化され、そしてこの SphK1 の活性化が E2 による細胞増殖に必要なことが報告された³⁰⁾。MCF-7 細胞を E2 で刺激すると、SphK1 が活性化され産生された S1P が細胞外に排出され、オートクリン様式で S1P₃ 受容体を活性化する。その結果、膜型マトロプロテアーゼ (MT1-MMP) が活性化され、ヘパリン結合型 EGF 様増殖因子 HB-EGF を切断する “shedding” 反応により EGF 受容体の活性化を引き起こし、ERK/MAP キナーゼ系を動員し、細胞の増殖を引き起こすらしい³¹⁾。しかしながら、S1P 受容体を介する MT1-MMP の活性化機序に関しては不明である。この様式に従えば、S1P シグナル伝達系を介して一つのシグナルがシグナル伝達網を形成する仕組みが説明できる。

4. S1P の濃度勾配の形成

これまで述べた様々な作用様式により、S1P は血管新生、炎症、免疫、細胞運動そして神経伝達物質の放出など多岐にわたった生理機能を調節していることが明らかになってきた。そして S1P がこれらの機能を発揮するためには、脈管系と組織間での S1P の濃度勾配の形成が重要である。細胞内で産生された S1P はフォスファターゼにより可逆的にスフィンゴシンに変換されたり、あるいは S1P リアーゼにより不可逆的に分解される。細胞内の S1P 濃度は主に SphK と S1P リアーゼのバランスにより調節されるが (図 1)、刺激にตอบสนองして活性化を受けたりトランスロケーションする SphK に対し、S1P リアーゼ活性は恒常的に高いため、リンパ組織を始めとする多くの組織では主に S1P リアーゼ活性により S1P 濃度は低く抑えられている。しかしながら赤血球³²⁾や血小板³³⁾では S1P リアーゼ活性が低いため、高濃度の S1P が血漿に放出されている。この結果、血漿の S1P の濃度は高く (マイクロモル濃度)、リンパ組織などの多くの組織 (ピコモル濃度) との間で S1P 濃度勾配が形成され、後述の如くリンパ球の循環調節などを始めとする様々な S1P の生理機能が発揮される上で重要な環境を形成している³⁴⁾。また血漿中の S1P の多くは高密度リポタンパク質 HDL と結合している。HDL と結合した S1P は生理活性を有し、これまでに報告されている HDL の機能の中で、一酸化窒素 (NO) を介した血管拡張効果、血管新生、抗アポトーシス効果などは HDL 中に存在する S1P がその効果を担っている可能性が高い³⁵⁾。

5. 血管内皮細胞と S1P

S1P は血管内皮細胞にはたらき、増殖、細胞移動、血管新生等を調節していることが知られる。血管内皮細胞には S1P₁、S1P₂、S1P₃ の受容体が発現されている。細胞運動に関しては、一般的に S1P₁ 受容体は Gi を介し Rac を活性化し、膜のラッフル形成や葉状仮足の形成を促進する。他

方、S1P₂ 受容体は G12/13 を介し、Rho を活性化し、ストレスファイバーの形成を促しその作用は S1P₁ 受容体と拮抗することが多い³⁶⁾。血管新生に関しては、S1P は S1P₁ および S1P₃ 受容体を介し共に促進方向にはたらく。実際、S1P₁ 受容体の欠損マウスでは血管の脆弱性と出血により胎生致死となることが報告されていることから、血管新生には S1P₁ 受容体が重要である³⁷⁾。一方血管の透過性に関しては、血漿中の S1P を選択的に低下させた遺伝子改変マウスでは、血管の透過性の亢進からアナフィラキシーによる致死率が上昇するが、野生型のマウスからの赤血球を輸血し血漿中の S1P 濃度を回復させると、血管の透過性亢進やアナフィラキシーによる致死率が改善されることから、血漿中の S1P が血管内皮細胞の透過性調節に重要な役割を果たしているらしい³⁸⁾。また、血漿中の S1P は血管内皮細胞に発現する S1P₁ 受容体にはたらき細胞内のカルシウムイオン濃度を上昇させ、さらに PI3 キナーゼを活性化させることにより血管内皮細胞に存在する一酸化窒素産生酵素 (eNOS) を活性化させることにより NO の産生を引き起こす³⁹⁾。血管内皮細胞で産生された NO は周囲の平滑筋にはたらき血管を弛緩させることが知られている。一方で、脳動脈や心臓の冠動脈の血管平滑筋細胞は自身の産生する S1P に反応し、S1P₃ 受容体を介して血管の収縮を引き起こすことが報告されている⁴⁰⁾。これらの血管内皮細胞と血管平滑筋細胞の S1P に対する相反する作用の結果、血管の緊張性がバランスよく調節されているらしい。

6. 自然免疫と S1P

免疫反応の一つである自然免疫は細菌やウイルス等の感染病原体の初期認識ならびにその後の炎症反応の惹起や獲得免疫の誘導に重要な役割を果たす生体防御メカニズムである。自然免疫を司るマクロファージや樹状細胞は病原体固有に存在する構造 (Pathogen-associated molecular patterns) を認識するパターン認識受容体 (Pattern-recognition receptors) を発現しており、この受容体を介してシグナルが伝達される。このパターン認識受容体の一つ、Toll 様受容体 (Toll-like receptor) は病原体の認識に際して活性化され、TNF α を始めとする様々な炎症性サイトカインの放出に関わる。これらの反応の際に SphK1 が活性化されることから、S1P 系シグナル伝達の関与が示唆された⁴¹⁾。事実、SphK1 を阻害すると Toll 様受容体依存性の NF κ B の活性化も抑制され、炎症性サイトカインの産生が抑制された。これらの結果は、敗血症などの治療に SphK1/S1P 系シグナル伝達を標的とした新規治療法の開発にも期待が持てよう。

このようにして放出された TNF α は様々な組織で強力な炎症反応を惹起する。TNF α の受容体としては、TNFR1 と TNFR2 が知られる。TNFR1 は FADD (Fas-associated

Death Domain) を介してカスパーゼ8を活性化しアポトーシスを引き起こす。一方で、TNFR2はTNFR-associated factor 2 (TRAF2) やreceptor-interacting protein 1 (RIP1) を介してNFκBやAP-1を活性化し、細胞増殖を促すことが知られる⁴²⁾。しかしながらTNFR1の活性化がNFκBを活性化する例もあり、同じTNFαがアポトーシスや細胞増殖を如何に誘導するのかに関する分子メカニズムは不明であった。興味ある知見として、TNFα刺激により血管内皮細胞、マクロファージ、リンパ球を始めとする多くの細胞でSphK1が活性化され、S1Pが産生されることによりアポトーシスが回避されることが明らかになりつつある。そしてTNFα刺激によるNFκBの活性化にはTRAF2のSphK1への結合と活性化が必要であることが示された。さらに、この時産生されたS1PがTRAF2に結合し、同タンパク質のE3ユビキチンリガーゼを活性化させることにより、RIP1をポリユビキチン化しNFκBの活性化へと導くことが明らかにされた⁴³⁾。またこの現象はS1Pの細胞内標的の例としても興味深い。

7. 獲得免疫とS1P

リンパ球の関わる免疫すなわち獲得免疫反応に於いては、FTY720 (Fingolimod) の出現により、この免疫系に於けるS1Pの機能に関する理解が大いに深まった。FTY720は投与後、循環するTリンパ球の数を長期間にわたり減少させることから新たな免疫抑制薬として注目され、そのメカニズムが詳細に調べられた。FTY720は摂取後体内でSphK2によりリン酸化を受けS1P様構造となることにより、S1P受容体に結合し活性化させる薬物であることが明らかにされ⁴⁴⁾、さらにその後の研究でリン酸化型FTY720は受容体と共に細胞内に取り込まれ、受容体をタンパク質レベルあるいはmRNAレベルで長期にわたりダウンレギュレーションすることが明らかにされた⁴⁵⁾。これらの一連の研究からリンパ球の循環に於けるS1Pの機能が明らかになってきた。

骨髄や胸腺などの一次リンパ組織で産生されたリンパ球は、血管系を介してリンパ節や脾臓などの二次リンパ組織に移住する。そして再び血管系を介して、二次リンパ組織に向かうという現象を繰り返す。この過程は、リンパ球再循環現象とよばれる。Tリンパ球の再循環調節に於いてはS1P₁受容体が重要な役割を果たす。Tリンパ球が血漿やリンパ中に存在するときは、高濃度のS1PによりS1P₁受容体はダウンレギュレーションを受けており、S1Pに対して不応答の状態になっている(図4)。Tリンパ球がリンパ節等のリンパ組織に入るとS1P濃度勾配により血漿に比べS1P濃度が低いため、徐々にリンパ球の表面にS1P₁受容体が発現し、S1Pに対する反応性を回復する。そこでS1PによるS1P₁受容体の活性化が起こるとTリンパ球運

動が亢進し、リンパ組織からの流出が引き起こされる。またこの時、マクロファージ等による抗原提示によりリンパ球の活性化が起こり膜表面に膜抗原CD69が発現すると、S1P₁受容体の活性化が阻害され、応答しているリンパ球は流出されず増殖が引き起こされる⁴⁶⁾。また、Bリンパ球に於いても同様にS1P/S1P₁受容体シグナル系を介してリンパ組織からの流出が調節されていることが分かっている⁴⁷⁾。

一方で、S1Pによる免疫系の調節はリンパ球の循環のみならず、リンパ球の分化調節にも深く関わっていることが明らかにされつつある。胸腺から分化してくるレギュラトリーT細胞は免疫寛容の維持や自己免疫発症の抑制等に重要なリンパ球である。しかしながら、この系が強く作用しすぎると獲得免疫反応が抑制され感染症やがんにかかり易くなるが、一方でこの系が抑制されすぎると自己免疫疾患にかかる頻度が高くなることが予測される。では、どのようにバランスよくこれらの系が調節されているのであろうか。最近の研究から、レギュラトリーT細胞とヘルパーT細胞のバランスのとれた分化調節にS1Pを介する情報伝達が重要な役割を担っていることが明らかになってきた。S1P₁受容体欠損マウスではレギュラトリーT細胞の数ならびに機能が増強し、逆にS1P₁受容体のトランスジェニックマウスではレギュラトリーT細胞の機能が減弱し、全身で自己免疫能が亢進していることが示された⁴⁸⁾。同様に、FTY720でS1P₁受容体をダウンレギュレーションしても、レギュラトリーT細胞の機能が亢進することが確かめられている⁴⁹⁾。一方で、S1P₁受容体刺激はヘルパーT細胞の一つTh1細胞の増殖を引き起こすことが報告されている⁵⁰⁾。以上のことから、未熟なTリンパ球がS1P₁受容体刺激を受けると、免疫反応が増強し、逆にS1P₁受容体が阻害されると免疫寛容が形成されることが示唆された。これらの現象を応用してS1Pシグナル伝達系を調節することにより、がん、ウイルス感染、さらには自己免疫疾患に有効な分子標的治療法が見つかるかも知れない。

8. FTY720と臨床応用

FTY720の作用機序が明らかになるにつれ、この薬物の免疫抑制薬としての臨床応用に多くの注目が集まった。FTY720の臨床応用として現在最も実用性の期待が高まっている疾患として多発性硬化症(multiple sclerosis)がある。多発性硬化症は中枢性脱髄疾患の一つで、脳、脊髄、視神経などに病変が起こり、多彩な神経症状を示す疾患である。発症のメカニズムは未だに不明なところが多いが、中枢神経系に於ける自己免疫能が高まり炎症反応を経て脱髄、再髄鞘化を繰り返し病状の再発・緩解を繰り返す。正常の脳では血管からの物質の透過性は血液脳関門を通して

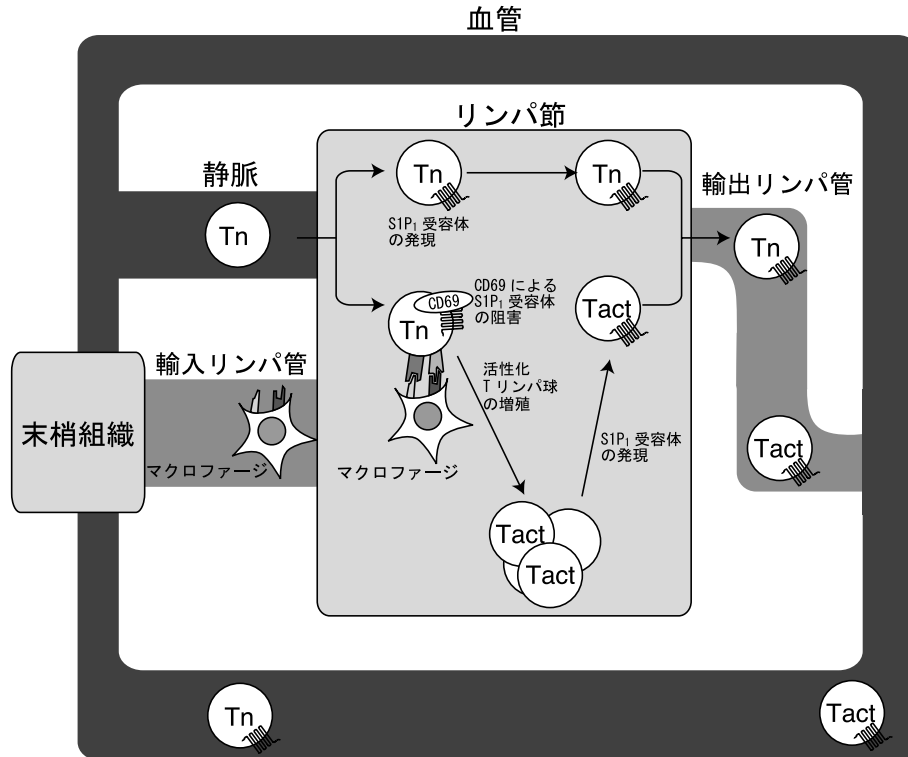


図4 S1P 依存的な T 細胞のリンパ節からの移出

リンパ球再循環現象に於いては S1P が重要な役割を担う。一般に、血中の S1P 濃度は高く (濃灰色表示)、血中のリンパ球は S1P 受容体がダウンレギュレーションされているが、リンパ節内では S1P 濃度は低いため (淡灰色表示) S1P 受容体の発現が起こる。一方、リンパ管内の S1P 濃度は比較的高く (中灰色表示)、このためリンパ節内とリンパ液の S1P 濃度勾配によって、抗原刺激を受けていないナイーブ T 細胞 (Tn) は S1P 刺激により運動性が亢進し、リンパ節から輸出リンパ管へと流出する。他方、リンパ節内でマクロファージや樹状細胞からの抗原提示を受けて活性化された T リンパ球 (Tact) においては、S1P 受容体を介するシグナルが CD69 の発現により阻害され、輸出リンパ管への移出を免れリンパ節内で増殖する。増殖後の Tact は Tn と同様に S1P 濃度勾配により輸出リンパ管へと移出し血管と合流する。

制御がなされているが、多発性硬化症の患者に於いては何らかのメカニズムで血液脳関門を介する物質の透過性が亢進し、脳実質にリンパ球の浸潤が起り脳神経の脱髄を引き起こすらしい。FTY720 を摂取すると脳に最も高濃度に蓄積する。FTY720 はまず血液脳関門を通り、脳の白質に移行し、そこで SphK2 によりリン酸化され、髄鞘に数週間存在するらしい。また、リン酸化型 FTY720 は脳血管の内皮細胞にある S1P₁ 受容体にはたらき接着接合分子を介して血液脳関門の透過性を減少させる方向にはたらく⁵¹⁾。またこの時リン酸化型の FTY720 は脳血管内皮細胞の S1P₁ 受容体のインターナリゼーションを引き起こすことはなく、FTY720 の作用は持続することが示されている⁵¹⁾。さらに、多発性硬化症の実験モデルとして用いられる実験的自己免疫性脳脊髄炎ラットを FTY720 で治療すると症状の改善が見られるが、投与を中止すると血漿中のリンパ球数の減少は継続するが、症状が再発することが報告されている⁵²⁾。このことは FTY720 の作用がリンパ球の循環のみな

らず、レギュラトリー T 細胞を介した免疫寛容による病状の改善を示しているのかも知れない。

9. 神経機能と S1P

スフィンゴ脂質はミエリン鞘を始め神経組織に豊富に存在することが発見当初から知られていた。さらに、S1P 受容体や S1P の産生酵素である SphK は脳に豊富に存在することから、これらのシグナル伝達系の神経特異的な機能に関心が集まっていた。特に、SphK の二つのアイソザイム SphK1 および SphK2 のダブル・ノックアウトマウスや S1P₁ 受容体欠損マウスでは、血管の形成不全による出血と胎生初期に於ける神経管の閉鎖不全から胎生致死となることが報告され、SphK や S1P 受容体を介するシグナル伝達の中樞神経系に於ける生理的意義の解明が急がれていた⁷⁾。一方で、成長期の小脳の神経細胞は神経成長因子 NGF に応答してグルタミン酸の放出を行うが、この時スフィンゴミエリナーゼ阻害薬による前処理を行うとグルタ

ミン酸の放出が阻害されることや⁵³⁾、痛覚神経細胞に於いて NGF 刺激により産生されたセラミドはさらに代謝され S1P に変換されることにより神経の興奮性を高めることが示され⁵⁴⁾、さらに S1P₂ 受容体欠損マウスに於いて高頻度にてんかん発作を引き起こすことが示された⁵⁵⁾。このような背景から S1P シグナル伝達系と神経細胞の興奮性との関連が推測されたが、その実態に関しては不明であった。最近になり、海馬の初代神経細胞を用いた実験でナノモル濃度の S1P が、テトロドトキシン処理しナトリウムチャンネルをブロックした神経からグルタミン酸を放出させる現象が報告され⁵⁶⁾、S1P シグナルが神経細胞に直接作用し、神経伝達物質の放出を引き起こすことが明らかになってきた (図 5)。この現象は海馬のスライスを用いた電気生理学実験からも裏付けられた⁵⁷⁾。ラットの海馬のスライスを S1P で処理すると、CA3 領域でのみ AMPA 型グルタミン酸受容体の微小興奮性シナプス後電流の頻度が亢進したが、CA1 領域ではこれらの変化は認められなかった。海馬は記憶の一次中枢部位であり、他の感覚野から得られた情報を統合して受け入れ、三シナプス回路を形成することにより、他の脳領域に長期記憶として情報を配信する役割を担う。海馬に於ける以上の結果は、三シナプスの内 2 番目のシナプス伝導に於いて S1P シグナルが重要な働きをしていることを示している。実際に SphK1 の欠損マウスではこの 2 番目のシナプス領域 (CA3) で、記憶の実験モデルとして用いられる長期増強効果 (LTP) が形成され

ず、また個体レベルで記憶・学習が障害されていることが行動解析から示された³⁹⁾。今後、海馬の機能障害として知られる認知症や海馬からのグルタミン酸の過剰分泌が引き金で起こる内側側頭葉てんかんの病態解析に S1P シグナルの研究は増々重要性を高め、そして分子標的治療の開発へと進んでゆくであろう。また、S1P シグナルが海馬のグルタミン酸作動性神経のみならず、他の脳領域でセロトニンやドーパミン作動性神経でも同様な機能を有しているのかは今後の大変興味深い課題である。

おわりに

SphK 並びに S1P 受容体の発見に伴い、これまで「スフィンクスの謎」と思われたスフィンゴ脂質の有する生理的意義について徐々に理解が深まってきた。そして理解が進むにつれてその実態は一層複雑さを増し、様々なシグナル伝達系を統括的に制御する司令塔のような役割がおぼろげながら見えてきた。本総説では S1P の機能のうち血管新生、免疫、炎症そして神経機能など重要な機能調節について述べてきた。S1P の機能で、S1P 受容体を介するものは大いに理解が進んだが、細胞内での作用に関しては未だに不明である。核に於ける S1P によるエピジェネティックな調節などは今後の発展が楽しみである。細胞内での様々な部位に於ける S1P の機能に関しては、オルガネラバイオロジーを駆使した研究が重要かも知れない。これらの分子メカニズムのさらなる解明を通して様々な疾患に於

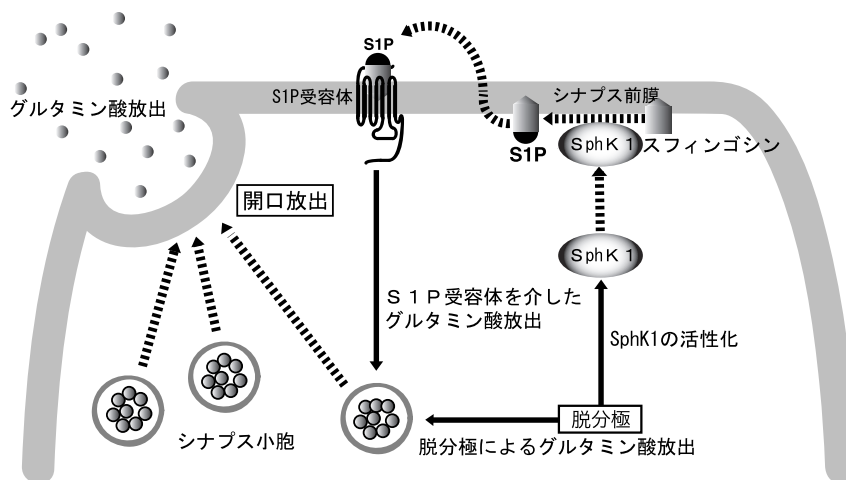


図5 S1Pによるグルタミン酸放出

海馬の神経細胞は脱分極刺激により興奮性神経伝達物質グルタミン酸を放出することが知られる。海馬は記憶と密接な関係があることから、グルタミン酸を介するシナプス伝導に関する研究は数多く存在するが、シナプス前終末からのグルタミン酸放出を直接調節する物質に関する研究は意外に少ない。S1Pはオートクラインの機構でシナプス前終末に存在する S1P 受容体を活性化し、グルタミン酸放出を引き起こす。またこの反応はテトロドトキシンを用いてナトリウムチャンネルを不活性化した“孤立化神経細胞”を用いても観察されることから、神経の脱分極によらない“自発発火”の現象と関連していると推測される。また脱分極時のグルタミン酸を放出の増強効果にも S1P は関与している。

いてS1Pシグナルを軸にした病態解析は進み、そして新規分子標的治療法の開発が一段と加速するであろう。

文 献

- 1) Hanzal-Bayer, M.F. & Hancock, J.F. (2007) *FEBS Lett.*, **581**, 2098–2104.
- 2) Nagatsuka, Y., Hara-Yokoyama, M., Kasama, T., Takekoshi, M., Maeda, F., Ihara, S., Fujiwara, S., Ohshima, E., Ishii, K., Kobayashi, T., Shimizu, K., & Hirabayashi, Y. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 7454–7459.
- 3) Okazaki, T., Bell, R.M., & Hannun, Y.A. (1989) *J. Biol. Chem.*, **264**, 19076–19080.
- 4) Maceyka, M., Milstien, S., & Spiegel, S. (2007) *Circ. Res.*, **100**, 7–9.
- 5) Igarashi, N., Okada, T., Hayashi, S., Fujita, T., Jahangeer, S., & Nakamura, S. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 46832–46839.
- 6) Kohama, T., Olivera, A., Edsall, L., Nagiec, M.M., Dickson, R., & Spiegel, S. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 23722–23728; Liu, H., Sugiura, M., Nava, V.E., Edsall, L.C., Kono, K., Poulton, S., Milstien, S., Kohama, T., & Spiegel, S. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 19513–19520.
- 7) Mizugishi, K., Yamashita, T., Olivera, A., Miller, G.F., Spiegel, S., & Proia, R.L. (2005) *Mol. Cell. Biol.*, **25**, 11113–11121.
- 8) Inagaki, Y., Li, P.Y., Wada, A., Mitsutake, S., & Igarashi, Y. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **311**, 168–173.
- 9) Hayashi, S., Okada, T., Igarashi, N., Fujita, T., Jahangeer, S., & Nakamura, S. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 33319–33324.
- 10) Xia, P., Wang, L., Moretti, P.A., Albanese, N., Chai, F., Pitson, S.M., D'Andrea, R.J., Gamble, J.R., & Vadas, M.A. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 7996–8003.
- 11) Fukuda, Y., Aoyama, Y., Wada, A., & Igarashi, Y. (2004) *Biochim. Biophys. Acta*, **1636**, 12–21.
- 12) Maceyka, M., Nava, V.E., Milstien, S., & Spiegel, S. (2004) *FEBS Lett.*, **568**, 30–34.
- 13) Fujita, T., Okada, T., Hayashi, S., Jahangeer, S., Miwa, N., & Nakamura, S. (2004) *Biochem. J.*, **382**, 717–723.
- 14) Jarman, K.E., Moretti, P.A., Zebol, J.R., & Pitson, S.M. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 483–492.
- 15) Delon, C., Manifava, M., Wood, E., Thompson, D., Krugmann, S., Pyne, S., & Ktistakis, N.T. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 44763–44774.
- 16) Pitson, S.M., Moretti, P.A., Zebol, J.R., Lynn, H.E., Xia, P., Vadas, M.A., & Wattenberg, B.W. (2003) *EMBO J.*, **22**, 5491–5500.
- 17) Xia, P., Gamble, J.R., Wang, L., Pitson, S.M., Moretti, P.A.B., Wattenberg, B.W., D'Andrea, R.J., & Vadas, M.A. (2000) *Curr. Biol.*, **10**, 1527–1530.
- 18) Pyne, N.J. & Pyne, S. (2010) *Nat. Rev. Cancer*, **10**, 489–503.
- 19) Okada, T., Ding, G., Sonoda, H., Kajimoto, T., Haga, Y., Khosrowbeygi, A., Gao, S., Miwa, N., Jahangeer, S., & Nakamura, S. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 36318–36325.
- 20) Ding, G., Sonoda, H., Yu, H., Kajimoto, T., Goparaju, S.K., Jahangeer, S., Okada, T., & Nakamura, S. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 27493–27502.
- 21) Chun, J., Goetzl, E.J., Hla, T., Igarashi, Y., Lynch, K.R., Moolenaar, W., Pyne, S., & Tigyi, G. (2002) *Pharmacol. Rev.*, **54**, 265–269.
- 22) Morita, Y., Perez, G.I., Paris, F., Miranda, S.R., Ehleiter, D., Haimovitz-Friedman, A., Fuks, Z., Xie, Z., Reed, J.C., Schuchman, E.H., Kolesnick, R.N., & Tilly, J.L. (2000) *Nature Med.*, **6**, 1109–1114; van Brocklyn, J.R., Lee, M.-J., Menzeleev, R., Olivera, A., Edsall, L., Cu villier, O., Thomas, D.M., Coopman, P.J.P., Thangada, S., Liu, C.H., Hla, T., & Spiegel, S. (1998) *J. Cell Biol.*, **142**, 229–240.
- 23) van Koppen, C.J., Meyer zu Heringdorf, D., Alemany, R., & Jakobs, K.H. (2001) *Life Sci.*, **68**, 2535–2540.
- 24) Gottlieb, D., Heideman, W., & Saba, J.D. (1999) *Mol. Cell. Biol. Res. Commun.*, **1**, 66–71.
- 25) 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.
- 26) Alvarez, S.E., Milstien, S., & Spiegel, S. (2007) *Trends Endocrinol. Metab.*, **18**, 300–307.
- 27) Yu, H., Okada, T., Kobayashi, M., Abo-Elmatty, D.M., Jahangeer, S., & Nakamura, S. (2009) *Genes Cells*, **14**, 597–605.
- 28) Marais, R., Light, Y., Mason, C., Paterson, H., Olson, M.F., & Marshall, C.J. (1998) *Science*, **280**, 109–112.
- 29) Wu, W., Shu, X., Hovsepian, H., Mosteller, R.D., & Broek, D. (2003) *Oncogene*, **22**, 3361–3370.
- 30) Sukocheva, O.A., Wang, L., Albanese, N., Pitson, S.M., Vadas, M.A., & Xia, P. (2003) *Mol. Endocrinol.*, **17**, 2002–2012.
- 31) Langlois, S., Gingras, D., & Béliveau, R. (2004) *Blood*, **103**, 3020–3028.
- 32) 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.
- 33) Yatomi, Y., Ruan, F., Hakomori, S., & Igarashi, Y. (1995) *Blood*, **86**, 193–202.
- 34) Schwab, S.R., Pereira, P., Matloubian, M., Xu, Y., Huang, Y., & Cyster, J.G. (2005) *Science*, **309**, 1735–1739.
- 35) Sattler, K. & Levkau, B. (2009) *Cardiovasc. Res.*, **82**, 201–211.
- 36) Takuwa, Y., Okamoto, Y., Yoshioka, K., & Takuwa, N. (2008) *Biochim. Biophys. Acta*, **1781**, 483–488.
- 37) Liu, Y., Wada, R., Yamashita, T., Mi, Y., Deng, C.X., Hobson, J.P., Rosenfeldt, H.M., Nava, V.E., Chae, S.S., Lee, M.J., Liu, C.H., Hla, T., Spiegel, S., & Proia, R.L. (2000) *J. Clin. Invest.*, **106**, 951–961.
- 38) 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.
- 39) Dantas, A.P., Igarashi, J., & Michel, T. (2003) *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **284**, H2045–2052.
- 40) Salomone, S., Potts, E.M., Tyndall, S., Ip, P.C., Chun, J., Brinkmann, V., & Waeber, C. (2008) *Br. J. Pharmacol.*, **153**, 140–147.
- 41) 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.
- 42) Karin, M. & Gallagher, E. (2009) *Immunol. Rev.*, **228**, 225–240.
- 43) 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.
- 44) Mandala, S., Hajdu, R., Bergstrom, J., Quackenbush, E., Xie, J., Milligan, J., Thornton, R., Shei, G.J., Card, D., Keohane, C., Rosenbach, M., Hale, J., Lynch, C.L., Rupprecht, K., Parsons, W., & Rosen, H. (2002) *Science*, **346**, 346–349; Brinkmann, V., Davis, M.D., Heise, C.E., Albert, R., Cottens, S., Hof, R., Bruns, C., Prieschl, E., Baumruker, T., Hiestand, P., Foster, C.

- A., Zollinger, M., & Lynch, K.R. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 21453–21457.
- 45) Jo, E., Sanna, M.G., Gonzalez-Cabrera, P.J., Thangada, S., Tigyi, G., Osborne, D.A., Hla, T., Parrill, A.L., & Rosen, H. (2005) *Chem. Biol.*, **12**, 703–715; Oo, M.L., Thangada, S., Wu, M.T., Liu, C.H., Macdonald, T.L., Lynch, K.R., Lin, C.Y., & Hla, T. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 9082–9089.
- 46) Shiow, L.R., Rosen, D.B., Brdicková, N., Xu, Y., An, J., Lannier, L.L., Cyster, J.G., & Matloubian, M. (2006) *Nature*, **440**, 540–544.
- 47) Allende, M.L., Tuymetova, G., Lee, B.G., Bonifacino, E., Wu, Y.P., & Proia, R.L. (2010) *J. Exp. Med.*, **207**, 1113–1124; Cinamon, G., Zachariah, M.A., Lam, O.M., Foss, F.W.J., & Cyster, J.G. (2008) *Nat. Immunol.*, **9**, 54–62.
- 48) Liu, G., Burns, S., Huang, G., Boyd, K., Proia, R.L., Flavell, R.A., & Chi, H. (2009) *Nat. Immunol.*, **10**, 769–777.
- 49) Daniel, C., Sartory, N., Zahn, N., Geisslinger, G., Radeke, H. H., & Stein, J.M. (2007) *J. Immunol.*, **178**, 2458–2468.
- 50) Liu, G., Yang, K., Burns, S., Shrestha, S., & Chi, H. (2010) *Nat. Immunol.*, **11**, 1047–1056.
- 51) Brinkmann, V., Cyster, J.G., & Hla, T. (2004) *Am. J. Transplant.*, **4**, 1019–1025.
- 52) Webb, M., Tham, C.S., Lin, F.F., Lariosa-Willingham, K., Yu, N., Hale, J., Mandala, S., Chun, J., & Rao, T.S. (2004) *J. Neuroimmunol.*, **153**, 108–121.
- 53) Numakawa, T., Nakayama, H., Suzuki, S., Kubo, T., Nara, F., Numakawa, Y., Yokomaku, D., Araki, T., Ishimoto, T., Ogura, A., & Taguchi, T. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 41259–41269.
- 54) Zhang, Y.H., Vasko, M.R., & Nicol, G.D. (2006) *J. Physiol.*, **575**, 101–113.
- 55) MacLennan, A.J., Carney, P.R., Zhu, W.J., Chaves, A.H., Garcia, J., Grimes, J.R., Anderson, K.J., Roper, S.N., & Lee, N. (2001) *Eur. J. Neurosci.*, **14**, 203–209.
- 56) Kajimoto, T., Okada, T., Yu, H., Goparaju, S.K., Jahangeer, S., & Nakamura, S. (2007) *Mol. Cell. Biol.*, **27**, 3429–3440.
- 57) Kanno, T., Nishizaki, T., Proia, R.L., Kajimoto, T., Jahangeer, S., Okada, T., & Nakamura, S. (2010) *Neuroscience*, **171**, 973–980.
-