

令和 2 年 7 月 9 日現在

機関番号：23302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08542

研究課題名(和文) マクロファージ機能極性を制御するスフィンゴ脂質シグナリング

研究課題名(英文) Investigation on the roles for sphingolipid signaling in the regulation of macrophage functions

研究代表者

多久和 典子 (Takuwa, Noriko)

石川県立看護大学・看護学部・教授

研究者番号：70150290

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：脂質メディエーター、スフィンゴシン-1-リン酸(S1P)は、スフィンゴシン・キナーゼ(SphK1およびSphK2)により生成し、細胞膜受容体(S1P1～S1P5)を介して多彩な作用を発揮する。本研究は、マクロファージの機能調節にスフィンゴ脂質シグナル伝達系がどのように関わっているのかを検討した。その結果、抗がん剤ブレオマイシンにより誘発される肺線維症がマクロファージに発現するS1P2の働きにより顕著に増悪すること、また、高脂肪食による粥状動脈硬化がマクロファージのSphK2の欠如で顕著に増悪することを見出した。これらの知見は新たな治療戦略の可能性を示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

S1Pは5つの受容体サブタイプを介して多彩な生物効果を発揮し、様々な病態への関与も明らかにされつつある。本研究は第一に、マクロファージのS1P2受容体が肺線維症の増悪に関与することを明らかにし、S1P2特異的遮断薬が肺線維症の治療薬の候補となる可能性を提示した。第二に、これまでその機能が十分明らかでなかったS1P産生酵素の一つSphK2が、S1P産生以外の機序で粥状動脈硬化の進行抑制に働いていること、その分子機構として、粥状動脈硬化の主役(泡沫細胞)であるマクロファージにおいて、貪食脂肪滴のオートファジー-リソソーム系による分解・処理機能遂行に、細胞内のSphK2が必要なことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The sphingolipid mediator, sphingosine-1-phosphate (S1P), which is generated by the action of sphingosine kinases (SphK1/2), acts through cell surface receptors (S1P1-S1P5) to exert diverse biological activities. We have reported that S1P2 receptor expressed in blood vessels are required for maintenance of vascular barrier function and inhibition of tumor angiogenesis. In this study, we investigated whether and how the sphingolipid signaling system regulates macrophage functions, by employing two disease models. First, deletion of S1P2 markedly ameliorated bleomycin-induced lung fibrosis. We found that S1P2 expressed in macrophages potentiates expression of inflammatory cytokines such as interleukin-13 to aggravate pulmonary inflammation and resistant fibrosis. Second, deletion of SphK2, but not SphK1, markedly aggravated high fat diet-induced atherosclerosis. We found that SphK2 is required for degradation of phagocytosed lipid droplets through autophagy-lysosome system.

研究分野：細胞分子生理学

キーワード：マクロファージ 脂質メディエーター 遺伝子改変動物

## 1. 研究開始当初の背景

スフィンゴ脂質メディエーター、スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、S1P 産生酵素 (SphK1 および SphK2) により生成し、G タンパク共役型受容体 (GPCR) の複数のサブタイプを介して多彩な作用を発揮する。我々は当初オーファン受容体としてクローニングした AGR16/Edg5/S1P2 (1)、ならびに当時唯一相同性を認めた Edg1/S1P1 と、これらに遅れて報告された Edg3/S1P3 のリガンド S1P を海外のグループとほぼ同時に同定し、S1P1~S1P3 の CHO 細胞強発現系を樹立して共役 G タンパクと細胞内情報伝達系を解明した(2-4)。S1P1 と S1P3 は Gi 共役 - Rac 活性化を介して S1P に対する化学遊走を惹起する(2-5)。一方、S1P2 は G<sub>12/13</sub> - Rho 活性化 - Rac 抑制を介して細胞遊走を抑制する初めての GPCR である(3-9,13,14,16,17)。実際、がん細胞に発現する S1P1 と S1P3 は *in vitro* における細胞遊走・マトリゲル浸潤の促進と *in vivo* 尾静脈注入モデルにおける血行性肺転移の促進を媒介したのに対し、S1P2 はこれらすべてを抑制した(10,11)。さらに S1P2 ノックアウト (KO) マウスを作出し、S1P2 が血管壁細胞とマクロファージ (Mφ) に発現し、これらの細胞の S1P2 が協働してがん血管新生と腫瘍増大の抑制を媒介すること(13,19-21,27)、また、血管内皮細胞の S1P2 は血管壁バリア機能維持に必要なこと(26,27)、一方、SphK1・S1P1 を全身に高発現するトランスジェニックマウスは、それぞれ心筋肥大・心筋線維化を発症すること、それぞれ S1P3 - TGFβ クロストーク、アンジオテンシン II - IL-6 クロストークとの関連に基づくことを明らかにした(18,22-24,28)。

Mφは生体防御において重要な役割を担う (M1 phenotype) 一方、様々な疾患への関与 (M2 phenotype) が指摘されている。M1/M2 Mφは異なる形質 (極性 polarity) を示し、各々の誘導には別個のサイトカインが関わっている。加えて、様々な因子が M2 Mφの極性誘導への関与を通じて病態の増悪に関わっていると推測され、これらの因子の同定と分子機構の解明が疾患の新規治療戦略に繋がると期待されている。

## 2. 研究の目的

スフィンゴ脂質情報伝達系の Mφにおける病態生理学的意義とその分子機構を 2 つの疾患モデル (肺線維症、粥状動脈硬化) を用いて明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

S1P2KO マウス, SphK1 トランスジェニック (Tg) マウスは当研究室で作出した。SphK1KO, SphK2KO マウスは共同研究者 (R. Proia 博士) より提供を受けた。ApoEKO マウスは Jackson Laboratory より購入した。いずれも C57BL/6J の遺伝的背景にて、同腹野生型マウス (WT) を対照群として比較検討した。金沢大学動物実験審査委員会の承認のもとに以下の実験を行った。

### (1) 肺線維症モデル

S1P2KO マウスおよび同腹 WT マウスの 2 群にブレオマイシン (35mg/kg) あるいは生理食塩水を 3 日おきに腹腔内投与し、33 日後に肺線維化の程度を比較検討した。気管支肺胞洗浄液中に回収される肺胞 Mφにおける向炎症性サイトカインの発現・細胞内情報伝達をマイクロアレイ・qPCR 解析およびウェスタンブロット法を用いて検討した。また、抗サイトカイン抗体、単球系造血因子 CSF-1 受容体阻害薬、S1P2 選択的遮断薬の効果を検討した。

### (2) 粥状動脈硬化モデル

SphK1KO および SphK2KO マウスをそれぞれ ApoEKO マウスと交配し、ApoE 欠損の遺伝的背景とした上で高脂肪食を負荷し、粥状動脈硬化の程度・病理組織像、単離 Mφのスフィンゴ脂質含量、貪食能、酸化 LDL 取り込み能、コレステロール汲み出し能、サイトカイン産生能、SphK1・SphK2 の細胞内局在とオートファジー・リソソーム系の形態・機能について検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 肺線維症モデル

S1P2 欠損により、ブレオマイシン負荷による肺組織の線維化が約 70%抑制された。気管支肺胞洗浄液中に回収される Mφ数、総タンパク、可溶性コラーゲンはいずれも S1P2KO マウスにおいて同腹 WT マウ

スの約 50%抑制された。S1P2 遺伝子座にβ-ガラクトシダーゼ (LacZ) をノックインした S1P2<sup>LacZ/+</sup>マウスを用いた検討により、肺組織および気管支肺胞洗浄液中の Mac3 陽性肺胞 Mφ に S1P2 の発現を確認した。

骨髄移植によりキメラマウスを得て検討した結果、肺線維化の程度は S1P2KO 骨髄の移植により約 50%軽減され (図 1)、骨髄由来 Mφ の関与が大きいと考えられた。さらに、単球系造血因子 CSF-1 の受容体阻害薬 (BLZ945) を全身投与した WT マウスでは、ヴィークルコントロールの投与に比較して、ブレオマイシン負荷による肺線維化が半減し、気管支肺胞洗浄液中の肺胞 Mφ、可溶性コラーゲンも 50%以上減少した。

以上から、骨髄由来 Mφ に発現する S1P2 受容体がブレオマイシン肺線維症の増悪に関与すると考えられた。

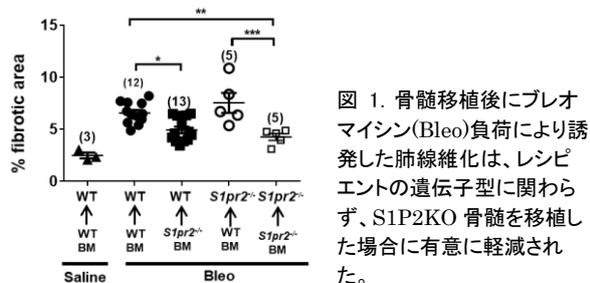


図 1. 骨髄移植後にブレオマイシン(Bleo)負荷により誘発した肺線維化は、レシピエントの遺伝子型に関わらず、S1P2KO 骨髄を移植した場合に有意に軽減された。

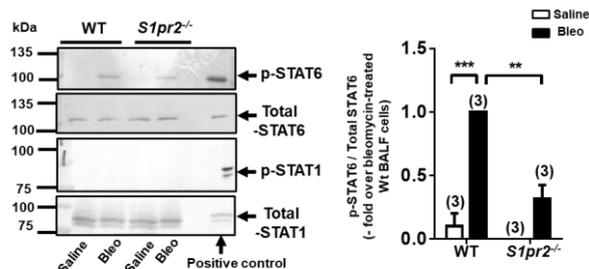


図 3. 肺胞マクロファージのチロシンリン酸化 STAT6 (p-STAT6) レベルはブレオマイシン負荷で増加するが、S1P2KO マウスでは同腹 WT マウスに比較して有意に軽減された。

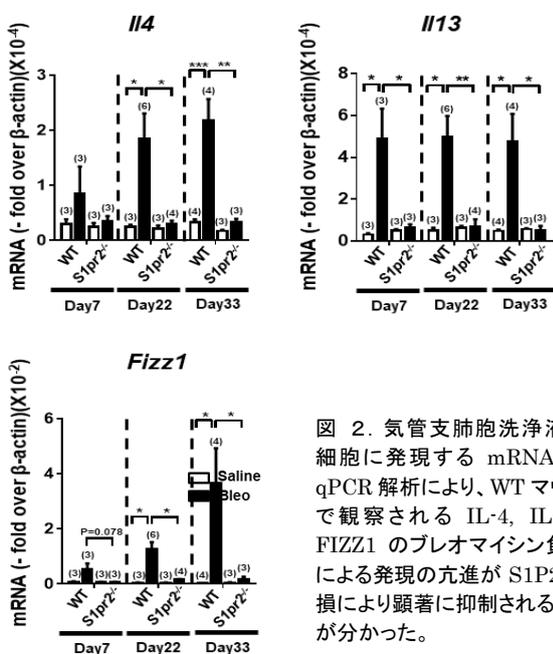


図 2. 気管支肺胞洗浄液中細胞に発現する mRNA の qPCR 解析により、WT マウスで観察される IL-4、IL-13、FIZZ1 のブレオマイシン負荷による発現の亢進が S1P2 欠損により顕著に抑制されることが分かった。

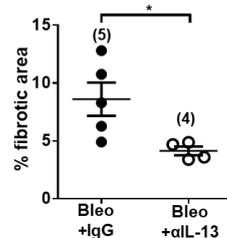


図 4. 抗 IL-13 抗体の投与により、ブレオマイシンによる肺線維化が抑制された。

気管支肺胞洗浄液中の Mφ に発現する mRNA のマイクロアレイ解析および qPCR により、S1P2WT マウスではブレオマイシン負荷により向線維化サイトカイン IL-13、IL-4 の発現亢進、および、これらサイトカインの作用により (細胞内の転写因子 STAT6 のチロシンリン酸化を介して) 発現が誘導される線維化促進因子 Fizz1 の発現亢進が観察されたが、S1P2KO マウスでは発現の亢進がほぼ完全に抑制された (図 2)。実際、STAT6 の活性化の指標となるチロシンリン酸化も S1P2KO マウスで約 70%抑制されていた (図 3)。一方、IL-13、IL-4 の受容体の mRNA 発現は S1P2KO と WT で差がなかった。気管支肺胞洗浄液中の IL-13 含量は S1P2KO と WT で差を認めず、Mφ 以外の細胞種 (Th2、type II ILCs 等) が IL-13 産生の主役と考えられた。以上から、Mφ の S1P2 受容体活性化は IL-13、-4 の受容体活性化以降のステップで STAT6 リン酸化レベルを増強し、FIZZ1 発現を亢進させ、ブレオマイシンによる肺線維化を増悪させると考えられる。

抗 IL-13 抗体を WT マウスに全身投与したのちブレオマイシン負荷を行って IL-13 の線維化への関与の程度を検証検討したところ、ヴィークルコントロールと比較して、気管支肺胞洗浄液中マクロファージ数・可溶性コラーゲンはそれぞれ約 50%・40%抑制、肺組織の線維化は約 50%された (図 4)。さらに、S1P2 受容体特異的遮断薬 (S1P2Ri) の全身投与によりブレオマイシンによる肺線維化が約 50%抑制された。

## (2) 粥状動脈硬化モデル

ApoEKO の遺伝背景において、高脂肪食負荷 12 週間後に解析した大動脈粥状動脈硬化病変の面積は、SphK2KO マウス (SphK1WT; SphK2KO) において同腹野生型マウス (SphK1WT; SphK2WT) に比較

して約 50%増大していた (図 5)。一方、SphK1KO マウス (SphK1KO; SphK2WT) の大動脈粥状動脈硬化面積は野生型 (SphK1WT; SphK2WT) と同程度であった。SphK2KO マウスの血漿コレステロール、中性脂肪およびリポタンパクプロファイルは野生型マウスと同様であった。骨髓移植したキメラマウスの解析では、SphK2KO マウス骨髓の移植が粥状動脈硬化を悪化させた。以上から、骨髓由来 Mφ の SphK2 欠損が粥状動脈硬化を増悪させると考えられた。

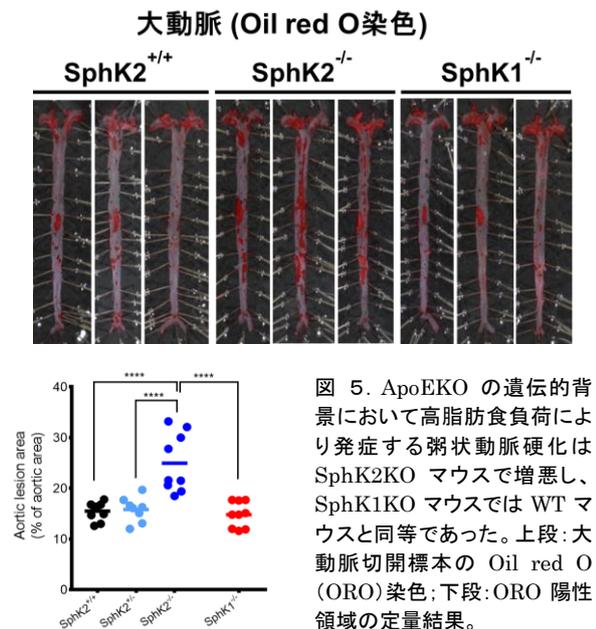


図 5. ApoEKO の遺伝的背景において高脂肪食負荷により発症する粥状動脈硬化は SphK2KO マウスで増悪し、SphK1KO マウスでは WT マウスと同程度であった。上段: 大動脈切開標本の Oil red O (ORO) 染色; 下段: ORO 陽性領域の定量結果。

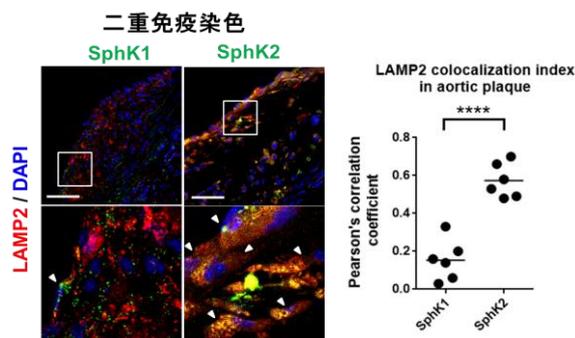


図 6. 大動脈の粥状動脈硬化病変において SphK2 は内膜下に浸潤したマクロファージに高発現し、リソソーム (マーカータンパク LAMP2 陽性) に局在した。

大動脈の粥状動脈硬化病変において SphK2 は主に内膜下に浸潤した Mφ に高発現し、単離 Mφ ではリソソームに局在していた (図 6)。SphK2KO マウスから単離した腹腔 Mφ の酸化 LDL 取り込み

能・コレステロール汲み出し能は野生型マウスの Mφ と同等であったが、細胞内のスフィンゴシン、セラミドレベルが増加し、細胞内脂肪蓄積が増加し泡沫化が著しかった。また、SphK2KO マウスでは泡沫化した血中単球も増加していた。

血管内膜下の Mφ に取り込まれた酸化 LDL はリソソームで分解された後、小胞体でトリグリセリドと会合して脂肪滴 (lipid droplet, LD) となり、細胞質に放出された LD はオートファジーによって分解され、遊離したコレステロールは ABC トランスポーターによって細胞外に排出されることが知られている。

SphK2KO の Mφ では、オートファゴソーム～オートリソソームの数とサイズの増大、脂肪蓄積の増加、リソソーム内酸性化およびタンパク分解活性の低下、さらには血清・アミノ酸飢餓によりオートファジーを誘発した際の脂肪分解能の低下を認めた。

また、SphK2KO マウスではリポポリサッカライド投与後の血漿 IL-1β 増加が亢進していた。

以上の結果より、SphK2KO の Mφ で観察されるオートファゴソーム～オートリソソームへの脂肪蓄積は、主としてオートファジーによる脂肪滴分解の障害によると考えられた。SphK2KO Mφ を S1P で処理しても過剰な脂肪蓄積は改善しなかったが、SphK1Tg と交配して得た SphK1 過剰発現 SphK2KO マウス (SphK2KO; SphK1Tg) では粥状動脈硬化が改善し、単離 Mφ のスフィンゴシン・セラミドの増加、オートファゴソーム～オートリソソームの脂肪蓄積、リソソームのタンパク分解活性低下、p62 および LC3-II の増加についても、いずれも部分的な改善が認められた。

以上の結果から、SphK2 欠損はオートファジーによる LD 分解を障害する結果、Mφ の泡沫化を促進し動脈硬化を悪化させることが示唆される。SphK2 の作用は SphK1 の過剰発現によっても完全には代替されない SphK2 特異的な機能である。また、この SphK2 作用は細胞外 S1P を介するのではなく、細胞内スフィンゴシン・セラミドレベルを低下させる作用によることが示唆される。

## 5. 引用文献

- Okazaki H., Ishizaka N., Sakurai T., Kurokawa K., Goto K., Kumada M., Takuwa Y. Molecular cloning of a novel putative G protein-coupled receptor expressed in the cardiovascular system. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993; 190:

- 1104-1109
2. Okamoto H, Takuwa N, Gonda, K, et al. EDG1 is a functional sphingosine-1-phosphate receptor that is linked via a Gi/o to multiple signaling pathways including phospholipase C activation, Ca<sup>2+</sup> mobilization, Ras-MAPK activation, and adenylate cyclase inhibition. *J. Biol. Chem.* 1998; 273(42): 27104-27110
  3. Gonda K, Okamoto H, Takuwa N, et al. The novel sphingosine 1-phosphate receptor AGR16 is coupled via pertussis toxin-sensitive and -insensitive G-proteins to multiple signalling pathways. *Biochem. J.* 1999; 337(1): 67-75
  4. Okamoto H, Takuwa N, Yatomi Y, et al. EDG3 is a functional receptor specific for sphingosine-1-phosphate and sphingosylphosphorylcholine with signaling characteristics distinct from EDG1 and AGR16. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999; 260(1): 203-208
  5. Okamoto H, Takuwa N, Yokomizo T, et al. Inhibitory regulation of Rac activation, membrane ruffling and cell migration by sphingosine-1-phosphate receptor EDG5, but not EDG1 or EDG3. *Mol. Cell. Biol.* 2000; 20(24): 9247-9261
  6. Takuwa Y, Okamoto H, Takuwa N, et al. Subtype-specific, differential activities of the EDG family receptors for sphingosine-1-phosphate, a novel lysophospholipid mediator. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2001; 177(1-2): 3-11
  7. Takuwa Y, Takuwa N, Sugimoto N. The Edg G protein-coupled receptors for lysophospholipids: Their signaling properties and biological activities. *J. Biochem.* 2002; 131: 767-771
  8. Ryu Y, Takuwa N, Sugimoto N., et al. Sphingosine-1-phosphate, a platelet-derived lysophospholipid mediator, negatively regulates cellular Rac activity and cell migration in vascular smooth muscle cells. *Circ Res.* 2002; 90(3): 325-332
  9. Sugimoto N, Takuwa N, Okamoto H, et al. Inhibitory and stimulatory regulation of Rac and cell motility by the G<sub>12/13</sub>-Rho-and the Gi-pathways integrated downstream of a single G protein coupled sphingosine-1-phosphate receptor isoform. *Mol. Cell. Biol.* 2003; 23(5): 1534-1545
  10. Arikawa K, Takuwa N, Yamaguchi H, et al. Ligand- dependent inhibition of B16 melanoma cell migration and invasion via endogenous S1P2 G protein-coupled receptor requirement of inhibition of cellular Rac activity. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(35): 32841-32851
  11. Yamaguchi H, Kitayama J, Takuwa N, et al. Sphingosine-1-phosphate receptor subtype-specific positive and negative regulation of Rac and hematogenous metastasis of melanoma cells. *Biochem. J.* 2003; 374(Pt 3): 715-722
  12. Usui S, Sugimoto N, Takuwa N, et al. Blood lipid mediator sphingosine-1-phosphate potently stimulates platelet derived growth factor-A and -B chain expression through S1P1-Gi-Ras-MAPK- dependent induction of Krüppel-like factor 5. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(13): 12300-12311
  13. Inoki I, Takuwa N, Sugimoto N, et al. Negative regulation of endothelial morphogenesis and angiogenesis by S1P2 receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 346(1): 293-300
  14. Takuwa Y, Sugimoto N, Takuwa N, Igarashi Y. Signaling mechanisms for positive and negative regulation of cell motility by sphingosine-1-phosphate receptors. In: *Sphingolipid Biology*. (Hirabayashi Y, Igarashi Y, Merrill AH. eds) Springer, Berlin, 415-425 (2006)
  15. Oyama O, Sugimoto N, Qi X, et al. The lysophospholipid mediator sphingosine-1-phosphate promotes angiogenesis in vivo in ischemic hindlimbs of mice. *Cardiovasc. Res.* 2008; 78(2): 301-307
  16. Takashima S, Sugimoto N, Takuwa N, et al. G<sub>12/13</sub> and Gq mediate S1P2-induced inhibition of Rac and migration in vascular smooth muscle in a manner dependent on Rho but not Rho kinase. *Cardiovasc. Res.* 2008; 79(4): 689-697
  17. Takuwa Y, Okamoto Y, Yoshioka K, Takuwa N. Sphingosine-1-phosphate signaling and biological activities in the cardiovascular system. *Biochim. Biophys. Acta.* 2008; 1781(9): 483-488
  18. Takuwa N, Ohkura S, Takashima S, et al. S1P3-mediated cardiac fibrosis in sphingosine kinase 1 transgenic mice involves reactive oxygen species. *Cardiovasc. Res.* 2010; 1;85(3): 484-93
  19. Du W, Takuwa N, Yoshioka K, et al. S1P2, the G protein-coupled receptor for sphingosine-1-phosphate, negatively regulates tumor angiogenesis and tumor growth in vivo in mice. *Cancer Res.* 2010; 70(2): 772-781
  20. Takuwa N, Du W, Kaneko E, et al. Tumor-suppressive Sphingosine-1-phosphate Receptor-2 Counteracting Tumor-promoting Sphingosine-1-phosphate Receptor-1 and Sphingosine Kinase 1 —Jekyll Hidden behind Hyde. *Am J Cancer Res.* 2011;1(4): 460-481
  21. Takuwa N, Okamoto Y, Yoshioka K, Takuwa Y. G Protein-coupled sphingosine-1-phosphate receptors: potential molecular targets for angiogenic and anti-angiogenic therapies. *Biomed Rev.* 2011; 22: 15-29
  22. Takuwa Y, Okamoto Y, Yoshioka K, Takuwa N. Sphingosine-1-phosphate signaling in physiology and diseases *Biofactors.* 2012; 38(5): 329-337
  23. Takuwa Y, Ikeda H, Okamoto Y, Takuwa N, Yoshioka K. Sphingosine-1-phosphate as a mediator involved in development of fibrotic diseases. *Biochim Biophys Acta.* 2013; 1831(1): 185-192
  24. Takuwa N, Okamoto Y, Yoshioka K, Takuwa Y. Sphingosine-1-Phosphate Signaling and Cardiac Fibrosis. *Inflammation and Regeneration* 2013; 33(2): 96-108
  25. Biswas K, Yoshioka K, Asanuma K, et al Essential role of class II PI3K-C2α in sphingosine-1-phosphate receptor-1 mediated signaling and migration in endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 2013; 288(4): 2325-2339
  26. Cui H, Okamoto Y, Yoshioka K, et al. Sphingosine-1-phosphate receptor-2 protects against anaphylactic shock through suppression of eNOS in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 132(5): 1205–1214
  27. Takuwa N, Okamoto Y, Yoshioka K, Takuwa Y. Vascular endothelial S1P2 receptor limits tumor angiogenesis and hyperpermeability. In: *Bioactive Lipid Mediators: Current Reviews and Protocols*. (Yokomizo T, Murakami M. eds) Springer Japan, Tokyo 237-252 (2015)
  28. Ohkura S, Usui S, Takashima S, et al. Augmented sphingosine 1 phosphate receptor-1 signaling in cardiac fibroblasts induces cardiac hypertrophy and fibrosis through angiotensin II and interleukin-6. *PLoS One* 2017; 12(8): e0182329
  29. Zhao J, Okamoto Y, Asano Y, et al. Sphingosine-1-phosphate receptor-2 facilitates pulmonary fibrosis through potentiating IL-13 pathway in macrophages. *PLoS One.* 2018; 13(5): e0197604
  30. Ishimaru K, Yoshioka K, Kano K, et al. Sphingosine kinase-2 prevents macrophage cholesterol accumulation and atherosclerosis by stimulating autophagic lipid degradation *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 18329

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 8件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Ishimaru K, Yoshioka K, Kano K, Kurano M, Saigusa D, Aoki J, Yatomi Y, Takuwa N, Okamoto Y, Proia RL, Takuwa Y.	4. 巻 9
2. 論文標題 Sphingosine kinase-2 prevents macrophage cholesterol accumulation and atherosclerosis by stimulating autophagic lipid degradation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 18329
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-54877-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Aki S, Yoshioka K, Takuwa N, Takuwa Y.	4. 巻 31
2. 論文標題 TGF $\beta$ receptor endocytosis and Smad signaling require synaptojanin1, PI3K-C2 $\beta$ , and INPP4B-mediated phosphoinositide conversions.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Biol Cell.	6. 最初と最後の頁 360-372
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1091/mbc.E19-11-0662.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Islam S, Yoshioka K, Aki S, Ishimaru K, Yamada H, Takuwa N, Takuwa Y.	4. 巻 70
2. 論文標題 Class II phosphatidylinositol 3-kinase $\alpha$ and $\beta$ isoforms are required for vascular smooth muscle Rho activation, contraction and blood pressure regulation in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Physiol Sci.	6. 最初と最後の頁 18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12576-020-00745-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Sarker MD. A. K, Aki S, Yoshioka K, Kuno K, Okamoto Y, Ishimaru K, Takuwa N, Takuwa Y.	4. 巻 160
2. 論文標題 Class II PI3K $\alpha$ and $\beta$ are required for Rho-dependent uterine smooth muscle contraction and parturition in mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 235-248
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1210/en.2018-00756.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Aung KT, Yoshioka K, Aki S, Ishimaru K, Takuwa N, Takuwa Y.	4. 巻 69
2. 論文標題 The class II phosphoinositide 3-kinases PI3K-C2 and PI3K-C2 differentially regulate clathrin-dependent pinocytosis in human vascular endothelial cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Physiol Sci.	6. 最初と最後の頁 263-280
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12576-018-0644-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Pham HQ, Yoshioka K, Mohri H, Nakata H, Aki S, Ishimaru K, Takuwa N, Takuwa Y.	4. 巻 -
2. 論文標題 MTMR4, a phosphoinositide-specific 3'-phosphatase, regulates TFEB activity and the endocytic and autophagic pathways.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genes Cells.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12609	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Zhao J, Okamoto Y, Asano Y, Ishimaru K, Aki S, Yoshioka K, Takuwa N, Wada T, Inagaki Y, Takahashi C, Nishiuchi T, Takuwa Y.	4. 巻 13
2. 論文標題 Sphingosine-1-phosphate receptor-2 facilitates pulmonary fibrosis through potentiating IL-13 pathway in macrophages.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0197604	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ohkura SI, Usui S, Takashima SI, Takuwa N, Yoshioka K, Okamoto Y, Inagaki Y, Sugimoto N, Kitano T, Takamura M, Wada T, Kaneko S, Takuwa Y.	4. 巻 12
2. 論文標題 Augmented sphingosine 1 phosphate receptor-1 signaling in cardiac fibroblasts induces cardiac hypertrophy and fibrosis through angiotensin II and interleukin-6.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0182329. eCollection 2017.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計21件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 多久和典子, 石丸和宏, 多久和陽
2. 発表標題 粥状動脈硬化におけるスフィンゴ脂質代謝酵素の役割
3. 学会等名 第29回日本病態生理学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshioka K, Aung KT, Sarker MAK, Aki S, Biswas K, Takuwa N, Takuwa Y.
2. 発表標題 Differential roles of class II PI3K in endocytosis and endosomal signaling.
3. 学会等名 60th International Conference on the Bioscience of Lipids (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Aki S, Yoshioka K, Takuwa N, Takuwa Y.
2. 発表標題 Sequential phosphoinositide conversion is required for transforming growth factor $\beta$ -induced receptor endocytosis and Smad2/3 activation in endothelial cell.
3. 学会等名 60th International Conference on the Bioscience of Lipids (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉岡和晃, Quynh Hoa Pham, 安藝翔, 多久和典子, 多久和陽
2. 発表標題 イノシトールリン脂質3' 脱リン酸化酵素MTMR4 による細胞内クリアランス制御メカニズム
3. 学会等名 第61回 日本脂質生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藝翔, 吉岡和晃, 多久和典子, 多久和陽
2. 発表標題 連続するホスホイノシタイド代謝がTGF 受容体エンドサイトーシス及びSmad2/3 活性化に必須である.
3. 学会等名 第61回 日本脂質生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takuwa Y, Ishimaru K, Yoshioka K, Takuwa N, Okamoto Y.
2. 発表標題 Sphingosine kinase-2 is required for autophagic lipid degradation in macrophage and inhibits atherosclerosis.
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会 (誌上開催)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshioka K, Aki S, Takuwa N, Takuwa Y.
2. 発表標題 Differential roles of class II PI3-kinase-C2 and -C2 in clathrin-mediated fluid phase endocytosis in vascular endothelial cells.
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会 (誌上開催)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Aki S, Yoshioka K, Takuwa N, Takuwa Y.
2. 発表標題 Sequential phosphoinositide conversion is required for TGF -induced receptor endocytosis and endosomal receptor signaling in endothelial cells.
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会 (誌上開催)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Aki S, Sarker MAK, Yoshioka K, Kuno K, Okamoto Y, Ishimaru K, Takuwa N, Takuwa Y.
2. 発表標題 Class II PI3Ks and are Required for Rho-Dependent Uterine Smooth Muscle Contraction and Parturition in Mice. Symposium on Angiology Evolving into New Research Fields
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会（誌上開催）（シンポジウム招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshioka K, QH Pham, S Aki, N Takuwa, Y Takuwa
2. 発表標題 Regulation of intracellular clearance by 3'-phosphoinositide-specific phosphatase, myotubularin-relatedprotein-4 (MTMR4).
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藝翔, 吉岡和晃, Islam Shahidu, 多久和典子, 多久和陽
2. 発表標題 連続するホスホイノシタイド代謝がTGF 受容体エンドサイトーシス及びSmad2/3活性化に必須である
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉岡和晃, Quynh Hoa Pham, 安藝翔, 多久和典子, 多久和陽
2. 発表標題 イノシトールリン脂質3'-ホスファターゼMTMR4によるエンド-リソソームおよびオートファジー経路の制御メカニズム
3. 学会等名 日本生化学会北陸支部第37回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sarker MAK, S Aki , K Yoshioka, K Kuno, K Ishimaru , N Takuwa , Y Takuwa
2. 発表標題 Novel indispensable role of and isoforms of class II PI3K for uterine smooth muscle contraction and labor.
3. 学会等名 第54回北陸生殖医学会学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 多久和典子, 岡本安雄, 石丸和宏, 多久和陽
2. 発表標題 S1P2によるプレオマイシン誘発肺線維症の増悪機構の検討：肺胞マクロファージの細胞廊下制御の関与
3. 学会等名 第28回日本病態生理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshioka K, Aung KT, Sarker MAK, Aki S, K Yoshioka, Biswas K, N Takuwa , Y Takuwa
2. 発表標題 Essential roles of class II PI3K isoforms in endocytosis and endosomal signaling.
3. 学会等名 9th Congress of the Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Aki S, Yoshioka K, Takuwa N, Takuwa Y.
2. 発表標題 Sequential phosphoinositide conversion is required for transforming growth factor b-induced receptor endocytosis and Smad2/3 activation in endothelial cells.
3. 学会等名 9th Congress of the Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 多久和 典子, 石丸 和宏, 岡本 安雄, 多久和 陽
2. 発表標題 抗がん剤による臓器障害におけるスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) 情報伝達系の関与
3. 学会等名 第27回日本病態生理学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 PQ Hoa, K Yoshioka, SK Azadul, AT Khin, S Islam, S Aki, S Nakamura, N Takuwa, Y Takuwa.
2. 発表標題 Myotubularin-related protein 4 (MTMR4), a phosphoinositide 3'-phosphatase, regulates endolysosome integrity and autophagy flux in human lung alveolar epithelial A549 cells.
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 PQ Hoa, K Yoshioka, SK Azadul, AT Khin, S Islam, S Aki, S Nakamura, N Takuwa, Y Takuwa.
2. 発表標題 Myotubularin-related protein 4 (MTMR4), a phosphoinositide 3'-phosphatase, regulates endolysosome integrity and autophagy flux in human lung alveolar epithelial A549 cells.
3. 学会等名 第 95 回日本生理学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 SK Azadul, S Aki, K Yoshioka, Kuno, Y Okamoto, AT Khin, PQ Hoa, S Islam, N Takuwa, Y Takuwa.
2. 発表標題 Indispensable role of and isoforms of class II phosphoinositide 3-kinases (PI3K) in the uterine smooth muscle contraction during labor.
3. 学会等名 第 95 回日本生理学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 AT Khin, K Yoshioka, S Aki, PQ Hoa, SK Azadul, S Islam, K Ishimaru, N Takuwa, Y Takuwa.
2. 発表標題 Class II phosphoinositide 3-kinase isoforms PI3K-C2 and PI3K-C2 play essential roles in pinocytosis in vascular endothelial cells.
3. 学会等名 第 95 回日本生理学会大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----