

サイコシン：細胞を巨大化させる 「エンドマイトーシス」を誘導する糖脂質

竹松 弘

(藤田医科大学医療科学部・研究推進ユニット・医療検査学科・免疫医学分野)

序

本稿では、生体を構成するスフィンゴ脂質のうち、アシル鎖を一本だけ持つリゾ型のスフィンゴ糖脂質について、その生合成、機能、そして、筆者らが注目している、エンドマイトーシスに関する活性を概説する。

1. スフィンゴ糖脂質の生合成

スフィンゴ脂質は、リン脂質、コレステロールとともに生体脂質を構成する三大脂質類の一つであり、その構造骨格にスフィンゴシンをもつ脂質の総称である。真核生物は、各生物種で非常に類似したスフィンゴ脂質をもつため、スフィンゴ脂質は真核生物内において共通性を示す。スフィンゴ脂質は主にセラミドおよびその修飾体として細胞膜に存在しており、膜構造の構成要素として、細胞膜内に脂質ラフトなどマイクロドメインを形成するなどの性質を有する。一方、細胞内・間でのシグナルメディエーターとしての働きも新たに知られてきており、細胞運動などを制御するためにスフィンゴシン1リン酸のシグナル伝達が重要な働きをすることなど、様々な生理活性が解明されてきている。

このような多様な機能を果たすため、スフィンゴ脂質には多様な分子種があるが、共通点はスフィンゴイド塩基（長い炭化水素鎖とアミノ基を持つと言うことで、長鎖塩基 long chain base (LCB) とも呼ばれる）であるスフィンゴシンをその構造中に持つことである。このため、スフィンゴイド塩基の生合成（図1）がスフィンゴ脂質発現の起点となる。スフィンゴイド塩基生合成酵素はアミノ酸のセリンとパルミトイル-CoAを縮合・脱炭酸反応させ、3ケトジヒドロスフィンゴシンをつくるセリンパルミトイルトランスフェラーゼ (SPT) が初発反応であり、細胞でのスフィンゴ脂質量を決める律速段階を担う。その後、ジヒドロスフィンゴシンを基質として、アシル鎖が付加され、セラミド

が合成される。セラミドの1位のヒドロキシ基に極性基としてホスホコリンが付加されるとスフィンゴミエリン (SM) となり、グルコースなど糖が付加されると、糖脂質 (GSL) となる。糖脂質の糖鎖部分はさらに150種にも及ぶ糖転移酵素の働きにより、多彩なスフィンゴ糖脂質群 (GSLs) へと合成される (図1)。糖脂質のもつ糖鎖抗原の中には、ABO血液型抗原も含まれており、その発現機構解明にはワシントン大学の箱守仙一郎が多大な貢献を行った¹⁾。ABO型抗原に限らず、細胞は細胞独自の糖脂質発現プロファイルをもち、それが各細胞で特異的な機能を果たすと考えられる。

2. スフィンゴ脂質と疾患

上述の生合成経路解明に加え、スフィンゴ脂質研究のもう一つのトピックは、その分解に関わるものであった。というのも多様なスフィンゴ脂質には特異的な分解酵素があり、分解が出来ないと蓄積症となって重篤な神経変性疾患などの原因となるためである。スフィンゴ脂質・スフィンゴ糖脂質の分解は主にリソゾームの加水分解により行われる。この反応も生合成と同様に逐次反応であるため、一つの酵素が働けなくなると、そこで分解が止まってしまう。分解できない脂質がリソゾーム中に蓄積し、最終的に細胞毒性を発揮する疾患をリソゾーム病と呼ぶ。グルコシルセラミドの分解が出来ない Gaucher 病、ガラクトシルセラミドの分解出来ない Krabbe 病、GM2 ガングリオシドが分解できない Tay-Sachs 病や Sandhoff 病（両者は欠損する遺伝子が異なる）など、様々な先天性の疾患が知られている。このことから、糖脂質は、細胞種特異的に発現しているだけでなく、その量も適正にコントロールされており、量が増えすぎるとスフィンゴリピドーシスといって重篤な疾患の原因となる事が明らかになった。近年、Gaucher 病における責任変異遺伝子 *GBA1*（酸性βグルコシダーゼをコードする）はさら

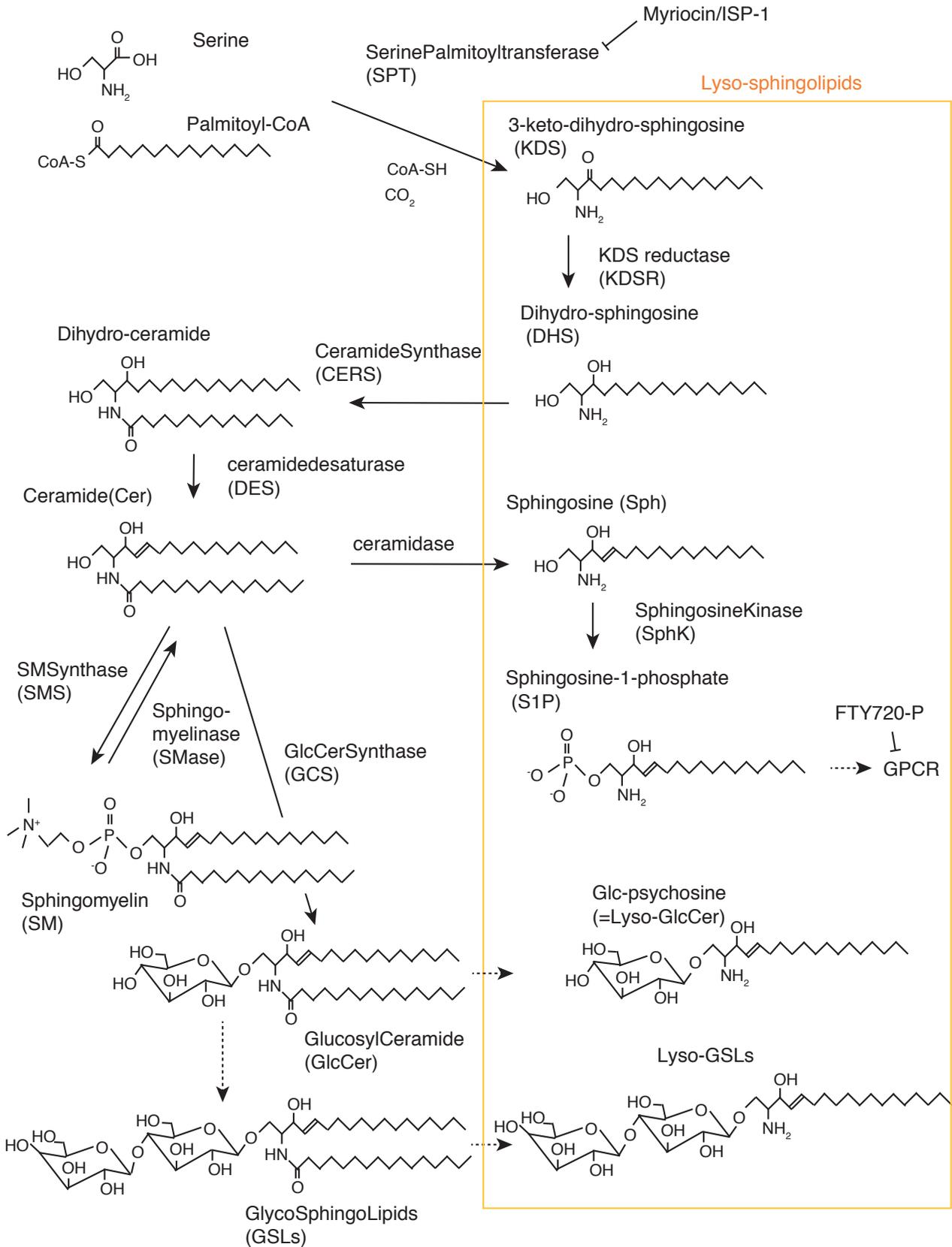


図1 スフィンゴ脂質の生合成経路
 スフィンゴ脂質類の生合成経路を示す。生合成はセリンパルミトイル転移酵素反応により始まる。分子の構造、名称と共に、その反応を触媒する酵素名を示す。リゾ型のスフィンゴ脂質は相対的に右側に配置し、四角で囲んだ。スフィンゴ糖脂質 (GSLs) には結合する糖鎖の違いによる非常に多くの分子種が存在するが、この図では、グルコシルセラミドにガラクトースが結合したラクトシルセラミドを例として挙げた。リゾGSLs に関しても、GSLsと同様の分子多様性を持つことが考えられるが、その発現は、GSLsと比較して多くない。

にパーキンソン病の危険因子でもあることが示されるなど、スフィンゴリピドーシスと神経変性疾患との関連に注目が集まっている。

これら糖脂質は細胞表面に存在するため、体内に何らかの理由で抗糖脂質抗体が作られると、糖脂質を起点とする免疫反応や、シグナル伝達を引き起こし、これも神経細胞などの炎症の原因となることがある。本学脳神経内科の武藤多津郎は糖脂質のうちラクトシルセラミドなど中性糖脂質に対する抗体が通常の神経細胞機能発揮のためのシグナル伝達をかく乱し、神経変性疾患の原因になる事などを精力的に報告している²。つまり、糖脂質はシグナル伝達のプラットフォームとして働く場合があり、これが外部から（抗体で）刺激されると、病的なシグナル伝達の原因となる。

3. 化合物によるスフィンゴ脂質不全の誘導

スフィンゴ脂質を生合成する過程に問題がある場合は、発生段階で異常となり、病気にもなれない。先述のセリンパルミトイル転移酵素 SPT はスフィンゴ脂質生合成をになう酵素であり、これを遺伝学的に欠損するマウスは、胎生初期に致死の表現型を示す。つまり、スフィンゴ脂質は、生命の様々な場面で重要な役割を果たす脂質であると言える。一方で、化合物を用いることで、一過性にスフィンゴ脂質生合成を阻害することが出来る。Myriocin/ISP-1 は京都大学薬学部藤多哲朗らにより冬虫夏草という寄生性真菌類から発見された生理活性物質で、その構造類似性から、SPT 活性を抑制する³（図 1）。これを利用して、Myriocin を用いて一過的にスフィンゴ脂質生合成を止め、その細胞・細胞内シグナル伝達に対する影響を明らかにすると共に、遺伝学的に関連遺伝子を同定する研究が、京大大学生命科学研究科小堤保則らにより提唱され、現在でも、本手法はスフィンゴ脂質の細胞機能を調べるための重要なツールとなっている。この試薬で処理すると、細胞はスフィンゴ脂質の新規合成が出来なくなり、これが長引けば細胞死を誘導する。つまり、スフィンゴ脂質は、細胞レベルで必要とされる脂質である。この致死性を利用し、小堤らは、Myriocin/ISP-1 耐性遺伝子として、出芽酵母遺伝学の系でスフィンゴ脂質シグナルの概念を開拓した。Myriocin/ISP-1 処理に耐性を示した耐性遺伝子として同定されたものには、この化合物を N-アセチル化して不活化する酵素⁵の他、Ypk1 というスフィンゴ脂質生合成を制御するセリン・スレオニンプロテインキナーゼ⁶、アミノ酸のトランスポーター、新規細胞小器官として注目される eisosome の構成タンパク質⁷、イノシトールリン脂質のリン酸化酵素⁷など、非常に幅広い遺伝子が同定されていた。こ

れは、スフィンゴ脂質の細胞に及ぼす影響の幅広さを示唆するものである。

4. リゾ型スフィンゴ脂質

リゾ型のスフィンゴ脂質とは、スフィンゴ脂質のうち、脂質部分にスフィンゴシンのみを持つタイプのをさす。リゾ型スフィンゴ脂質には、生合成経路上で、まず長鎖塩基 (LCB) として生合成されるジヒドロスフィンゴシン類、また、セラミドから脂肪酸が外されることで供給されるスフィンゴシン類、さらに、スフィンゴ糖脂質から脂肪酸が外されることでできるリゾ糖脂質類があげられる（図 1）。これらのうちスフィンゴシンは、セラミドからの切り出しによって生合成される。細胞膜のセラミドの量はスフィンゴミエリンの脱ホスホコリン反応（中性スフィンゴミエリナーゼ反応）により制御されており、「SM サイクル」と呼ばれる。セラミドは一度 SM を経て生合成され、その発現量も「SM サイクル」で調節され、その後各種スフィンゴ脂質類へと生合成される⁸。つまり、セラミドが、各種スフィンゴ脂質分子種の量を定める重要な因子である。セラミドより作られたスフィンゴシンは、リン酸化を受けて、スフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) となる（図 1）。S1P に対する特異的な受容体として 7 回膜貫通型の GPCR があり S1P₁₋₅ と名付けられている。現在まで、典型的な受容体が見つかったスフィンゴ脂質分子種は S1P のみで、このことから、S1P の生理活性についての研究が進んでいる。

先述の Myriocin/ISP-1 は、当初免疫抑制活性を持つ物質として発見された。この活性は、T 細胞の生存維持にスフィンゴ脂質が必要なためであったことが後に判明した。一方で、サイクロスポリン、FK506 以外の作用機序を持つ免疫抑制剤の開発も必要とされていた。上述の藤多らにより、Myriocin/ISP-1 を親化合物とし、その誘導体として合成された FTY720 は、興味深いことに、免疫抑制活性を示す化合物であったが、T 細胞の活性化は抑制せず、SPT 抑制活性も持たなかった。しかしながら、末梢からリンパ球を減少させるという、これまで無かったかたちでの免疫抑制活性を示した⁹。現在も、多発性硬化症の治療薬として重要な薬物であるが、当初、FTY720 の作用機序は不明であった。その後、FTY720 がリン酸化された FTY720-リン酸が免疫抑制活性を持っていることが報告され、そのリン酸化型がスフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) の受容体との結合を阻害するアンタゴニストとして働く活性を持つことが明らかにされた^{10,11}。S1P はリゾ型スフィンゴ脂質の中でも、細胞表面に受容体を持ち、細胞間でのメディエーターとして作用する分子である。

S1P 受容体は、7 回膜貫通型の GPCR で、その下流のプロセスには、細胞運動性の獲得も含まれる。この S1P はリンパ節内で、濃度勾配を持って存在しているため、この濃度勾配に従い、T 細胞はリンパ節外に遊出する¹²が、リン酸化 FTY720 はこのステップを阻害することによって末梢リンパ球数の減少をひき起こす(図 1)。

5. サイコシン

サイコシンは、galactosyl-sphingosine とよばれ、中性糖であるガラクトースとスフィンゴシンが結合したリゾ型スフィンゴ脂質の一種である(図 2)。サイコシンの生体内での生合成は、スフィンゴシンのガラクトシル化ではなく、ガラクトシルセラミドのセラミド部位の脱 N-アシル化により生じる。発見当初は、PKC の活性制御などの細胞活性が見出されたが、当時使われていたサイコシン濃度がミリ M 程度であり、実際にその濃度で体内に存在することが疑問視された。その発現量の低さから、生理学的意義についても、余り多くのことは分かっていない。しかしながら、サイコシンは、病理学的には非常に重要な意義付けがされた脂質である。サイコシンは、ガラクトシルセラミドを分解するガラクトシルセラミダーゼ活性を遺伝的 (*GALC* 遺伝子) に欠く Krabbe 病 (Globoid cell leukodystrophy, GLD 症) でその発現が強く、また、当疾患では、リソゾーム病でありながら、分解できずに蓄積するガラクトシルスフィンゴシンは病的に大きな問題ではなく、その蓄積により副産物として生じると考えられるサイコシンが、実際には細胞毒性を示し、

脱ミエリン鞘など神経変性を引き起こす事が示唆され、ノースカロライナ大学の鈴木邦明の提唱したサイコシン仮説として注目されてきた。Krabbe 病の鑑別診断は、病名の由来にもなっている Globoid cell という多倍体化した巨大細胞が白質に存在するかどうかで行われてきた。

6. エンドミトースシス誘導活性

リゾ型スフィンゴ脂質を含むスフィンゴ脂質類の示す細胞活性に興味を持っていた我々は、細胞に各種リゾ型脂質および、スフィンゴシンの生合成に関わる SPT 活性を阻害する ISP-1/myriocin を添加し、現在なら Chemical Biology と呼ばれる手法で、これらリゾ型スフィンゴ脂質の活性を調べていた。リゾ SM (スフィンゴシルホスホリルコリン) はマクロファージ系細胞である THP-1 細胞を M1 方向に分化誘導する事、一方、リゾスルファチド (極性頭部には硫酸化ガラクトースを持つ) は THP-1 を M2 方向に分化誘導することなど、リゾスフィンゴ脂質の極性頭部の違いにより、細胞に様々な影響を及ぼすことが分かってきた¹⁴。また、極性頭部にガラクトースを持つサイコシンは、同じく単球マクロファージ系の U937 細胞を多倍体化する活性があることが明らかになった。当初は、体細胞分裂 (mitosis) の最後のステップである細胞質分裂を阻害する活性として注目した。特に、クログリア細胞という中枢神経系のマクロファージ系細胞が多倍体化してグロバイド細胞が形成されることから、Krabbe 病の毒性だけでなく、病理診断という面でもサイコシンが重要な代謝物であることが明らかになった¹⁵。サイ

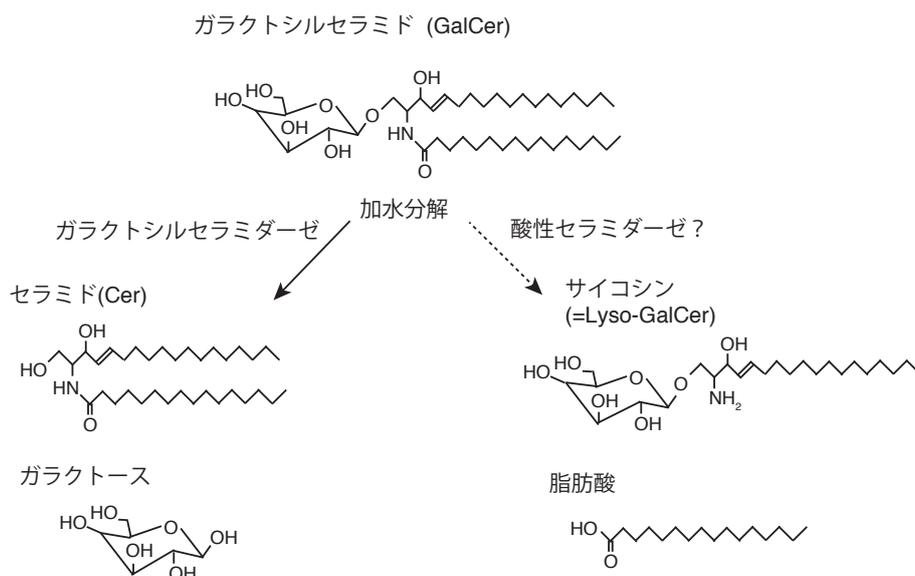


図 2 ガラクトシルセラミドの分解とサイコシンの生成
ガラクトシルセラミドは、通常、リソゾームのガラクトシルセラミダーゼの働きで、ガラクトースとセラミドに加水分解される。Krabbe 病においては、この酵素が不全であり、ガラクトシルセラミドが蓄積するが、副次的に酸性セラミダーゼの働きで、サイコシンと脂肪酸に分解される事が考えられる。

コシンの活性をさらに解析したところ、サイコシンは細胞内に WGA レクチンで染まる小胞を細胞内に蓄積させることが、共焦点顕微鏡観察により明らかになり、この小胞は、トランスゴルジネットワークに近いマーカーを発現させていた¹⁶。このことは、サイコシンは細胞内トラフィックに大きな影響を与える活性を持つことを示す。

ここまで、サイコシンが細胞質分裂を阻害する活性を持つことに注目してきたが、細胞質分裂だけをスキップして細胞周期を回し巨大化する体細胞分裂の例として、エンドマイトーシスが知られる(図3)。サイコシンで処理した多倍体細胞が、引き続き S 期に入り細胞周期を回し続ける点や、多倍体になにもかかわらず細胞死のサイクルに入らない点など、サイコシン処理細胞には「細胞質分裂に失敗」し、破綻していく細胞とは思えない点が見られ、「エンドマイトーシスに成功した」と捉えた方が良いと思われた。そこで、それまでのサイコシン感受性があるかないかの択一的な見方を脱して、サイコシンによる多倍体化を定量化解析

することにした。定量化してみても分かったことは、サイコシンによりエンドマイトーシスする感受性が非常に細胞種特異的であり、さらに、その強度も様々であることであった。以前、筆者が遺伝子発現強度と表現型発現強度とを相関解析することで、トランスクリプトームを行ったのと同様の、定量的相関解析手法を用いてサイコシンによるエンドマイトーシスの強度と相関する細胞因子として、細胞が発現する糖脂質の発現を同定した。ヒト B 細胞株 Namalwa を用いると、糖脂質 GSLs の発現が高いとエンドマイトーシスが強くなり、スフィンゴリエリンの発現が高いとそれが抑制されると言ったかたちで、サイコシンによるエンドマイトーシスは量的に制御できる表現型であることが分かった¹⁷。これは、サイコシンが細胞膜外葉におけるスフィンゴリエリンのマイクロドメインを破壊し、このドメインにより制御される細胞膜内葉のイノシトールリン脂質の生合成経路に影響を与えていることが、その理由の一端となっている事が考えられた(図4)。つまり、サイコシンによるエンドマイトーシス誘導の強さは、細胞膜でのスフィンゴ脂質のうち、セラミドを

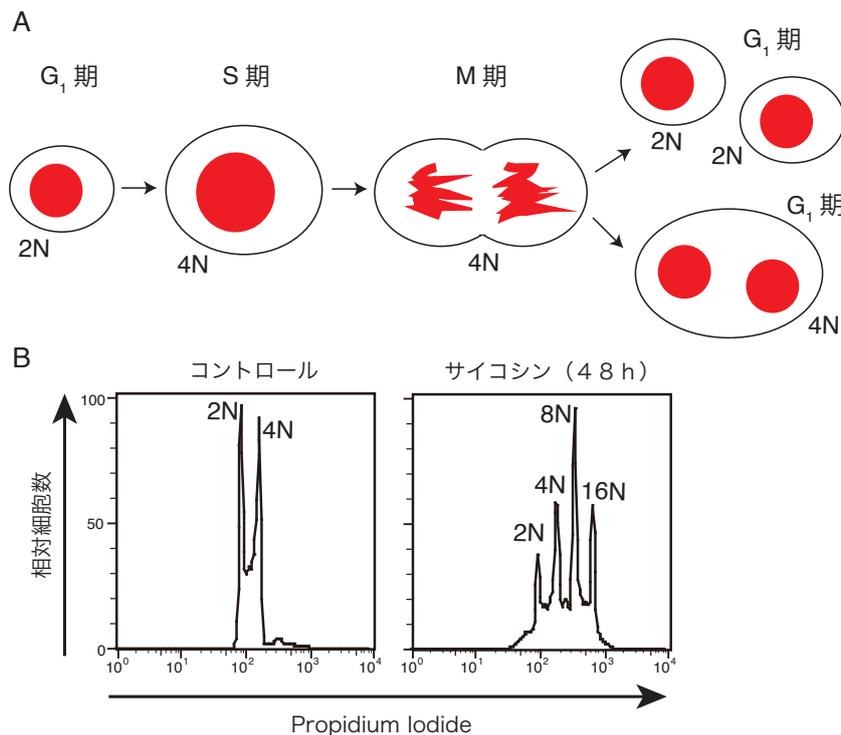


図3 サイコシンによるエンドマイトーシス

(A) エンドマイトーシスの模式図

エンドマイトーシスは体細胞分裂 (mitosis) の一種で、S 期での細胞内容物の倍化のあと、細胞周期の M 期後半のステップを経ずに、次のサイクルの G1 期に進むことで、多倍体化を繰り返し、巨大な細胞を作る細胞分裂形式である。一度のエンドマイトーシスで、2 倍体 (2N) 細胞が 4 倍体 (4N) となる。模式図では、核・染色体を赤色で示す。

(B) サイコシンによる多倍体化の亢進

Namalwa 細胞培養液に 5 μM のサイコシンを添加して 48 時間培養し、回収した細胞のゲノム DNA を Propidium Iodide で染色した結果を示した。ゲノムの多倍体化が分かる。サイコシン存在下で培養すると、通常の 2N、4N の他に 8N、16N のピークが見られた。一方で、6N、10N といった細胞が見られないため、細胞融合ではなく、エンドマイトーシスで多倍体化が起きていると考えられた。

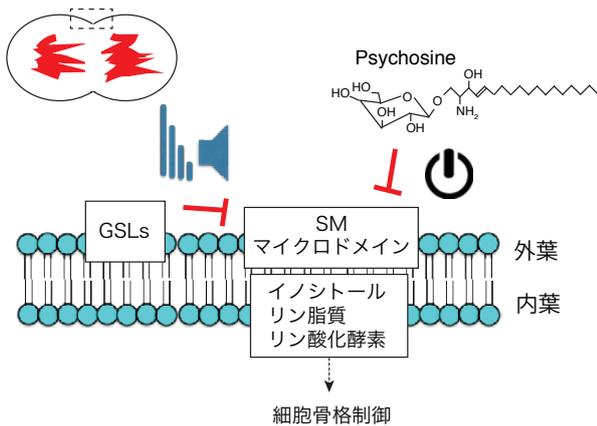


図4 サイコシンによるエンドミトシスの制御
サイコシンは、*Namalwa* 細胞においては、エンドミトシスのスイッチとして働き、細胞膜のスフィンゴ脂質分子種の発現強度が、エンドミトシスの程度を決める。つまり、これらの因子が「エンドミトシス・モジュール」として働いている可能性がある。また、このサイコシンの効果は、サイコシンが細胞膜外葉でのスフィンゴミエリンによるマイクロドメインを攪乱した結果、細胞膜内葉でのインシトールリン脂質による細胞骨格制御を変化させるためであると考えられる。

共通の基質とするスフィンゴミエリンと糖脂質の生合成系の分岐で、正反対に、しかも強度も可変的に制御されるなど、合理的な制御機構があるように思われた。そして、サイコシンはエンドミトシス誘導系のオン・オフを切り替えるスイッチの役目を果たしている事が考えられた(図4)。現在まで、この「エンドミトシス制御モジュール」とも呼ぶべき細胞膜でのユニットは、その機能部位、脂質成分や、それが制御する酵素が一部明らかになっているのみである。さらなる研究により、これらが構成している回路の全体像や、このモジュールがもつ生理学的な作用などについて明らかにしていきたいと考えている。

エンドミトシスは生理的には、巨核球の生成など、細胞を巨大化する際に使われる特殊な体細胞分裂の一種である。筆者が明らかにしたエンドミトシス制御系は、生理的にどう働いているかはまだ明らかではないが、これが自由に人為的に切り替えられると、現在は成分献血に頼っている血小板の産生への応用など、その利用価値は大きい。今後のエンドミトシス研究の進展が待たれるとともに、筆者もその進展に一步でも寄与できることを志し、研究を続けている。

総括

スフィンゴ脂質は生理活性として様々な機能が知られているが、このうち、中性単糖であるガラクトースが一つついたリゾ型のサイコシンは、体細胞分裂中の細胞の細胞質分裂を阻害し、エンドミトシスを誘導する活性を持つ。この活性は、Krabbe病の確定診断に繋がるのが明らかになった。一方で、エンドマ

イトーシスを人為的に制御できるという報告は多くないが、これが出来れば応用的な価値も考えられる。今後この分野のさらなる研究の発展により、人為的にエンドミトシスのオン・オフを切り替え、細胞巨大化の操作ができるようになるなど、基礎的・応用的研究の進展が期待される。

謝辞

これまでの研究に関わる総説を執筆する機会を頂きまして、藤田医学会に感謝いたします。これらの研究は、京都大学在籍時の研究室メンバーおよび様々な国内外の共同研究者の協力により進展したものであり、得られた成果も含み、共同研究者の諸先生方、大学院生諸氏に感謝します。なかでも、スフィンゴ脂質研究に引き込んでいただいた小堤保則京都大学名誉教授、また、ISP-1/FTY720の発見者でもあり、研究のサポートを頂いた京都大学名誉教授藤多哲朗先生、藤多和子さんに感謝いたします。

文献

- 1) Yamamoto F, Clausen H, White T, Marken J, and Hakomori S : Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature*. 1990 ; 345 : 229 - 233.
- 2) Mutoh T : Neutral Glycosphingolipids as Neuroinflammatory Signaling Molecules in Neurodegeneration. *Trends. Glycosci. Glycotechnol.* 2021 ; 33 : E5 - E10.
- 3) Miyake Y, Kozutsumi Y, Nakamura S, Fujita T, and Kawasaki T : Serine palmitoyltransferase is the primary target of a sphingosine-like immunosuppressant, ISP-1/myriocin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995 ; 211 : 396 - 403.
- 4) Sun Y, Taniguchi R, Tanoue D, Yamaji T, Takematsu H, Mori K, Fujita T, Kawasaki T, and Kozutsumi Y : Sli2 (Ypk1), a homologue of mammalian protein kinase SGK, is a downstream kinase in the sphingolipid-mediated signaling pathway of yeast. *Mol. Cell. Biol.* 2000 ; 20 : 4411 - 4419.
- 5) Momoi M, Tanoue D, Sun Y, Takematsu H, Suzuki Y, Suzuki M, Suzuki A, Fujita T, and Kozutsumi Y : SLI1 (YGR212W) is a major gene conferring resistance to the sphingolipid biosynthesis inhibitor ISP-1, and encodes an ISP-1 N-acetyltransferase in yeast. *Biochem. J.* 2004 ; 381 : 321 - 328.

- 6) Tanoue D, Kobayashi T, Sun Y, Fujita T, Takematsu H, and Kozutsumi Y : The requirement for the hydrophobic motif phosphorylation of Ypk1 in yeast differs depending on the downstream events, including endocytosis, cell growth, and resistance to a sphingolipid biosynthesis inhibitor, ISP-1. *Arch. Biochem. Biophys.* 2005 ; 437 : 29 – 41.
- 7) Kobayashi T, Takematsu H, Yamaji T, Hiramoto S, and Kozutsumi Y : Disturbance of sphingolipid biosynthesis abrogates the signaling of Mss4, phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase, in yeast. *J. Biol. Chem.* 2005 ; 280 : 18087 – 18094.
- 8) Kim MY, Linaud C, Obeid L, and Hannun Y : Identification of sphingomyelin turnover as an effector mechanism for the action of tumor necrosis factor alpha and gamma-interferon. Specific role in cell differentiation. *J. Biol. Chem.* 1991 ; 266 : 484 – 489.
- 9) Chiba K, Yanagawa Y, Masubuchi Y, Kataoka H, Kawaguchi T, Ohtsuki M, and Hoshino Y : FTY720, a novel immunosuppressant, induces sequestration of circulating mature lymphocytes by acceleration of lymphocyte homing in rats. I. FTY720 selectively decreases the number of circulating mature lymphocytes by acceleration of lymphocyte homing. *J. Immunol.* 1998 ; 160 : 5037 – 5044.
- 10) Mandala S, Hajdu R, Bergstrom J, Quackenbush E, Xie J, Milligan J, Thornton R, Shei GJ, Card D, Keohane C, Rosenbach M, Hale J, Lynch CL, Rupprecht K, Parsons W, and Rosen H : Alteration of lymphocyte trafficking by sphingosine-1-phosphate receptor agonists. *Science.* 2002 ; 296 : 346 – 349.
- 11) Brinkmann V, Davis MD, Heise CE, Albert R, Cottens S, Hof R, Bruns C, Prieschl E, Baumruker T, Hiestand P, Foster CA, Zollinger M, and Lynch KR : The immune modulator FTY720 targets sphingosine 1-phosphate receptors. *J. Biol. Chem.* 2002 ; 277 : 21453 – 21457.
- 12) Cyster JG : Chemokines, sphingosine-1-phosphate, and cell migration in secondary lymphoid organs. *Annu. Rev. Immunol.* 2005 ; 23 : 127 – 159.
- 13) Igisu H and Suzuki K : Progressive accumulation of toxic metabolite in a genetic leukodystrophy. *Science.* 1984 ; 224 : 753 – 755.
- 14) Yamamoto H, Naito Y, Okano M, Kanazawa T, Takematsu H, and Kozutsumi Y : Sphingosylphosphorylcholine and lysosulfatide have inverse regulatory functions in monocytic cell differentiation into macrophages. *Arch. Biochem. Biophys.* 2011 ; 506 : 83 – 91.
- 15) Kanazawa T, Nakamura S, Momoi M, Yamaji T, Takematsu H, Yano H, Sabe H, Yamamoto A, Kawasaki T, and Kozutsumi Y : Inhibition of cytokinesis by a lipid metabolite, psychosine. *J. Cell. Biol.* 2000 ; 149 : 943 – 950.
- 16) Kanazawa T, Takematsu H, Yamamoto A, Yamamoto H, and Kozutsumi Y : Wheat germ agglutinin stains dispersed post-golgi vesicles after treatment with the cytokinesis inhibitor psychosine. *J. Cell. Physiol.* 2008 ; 215 : 517 – 525.
- 17) Watanabe H, Okahara K, Naito-Matsui Y, Abe M, Go S, Inokuchi J, Okazaki T, Kobayashi T, Kozutsumi Y, Oka S, and Takematsu H : Psychosine-triggered endomitosis is modulated by membrane sphingolipids through regulation of phosphoinositide 4,5-bisphosphate production at the cleavage furrow. *Mol. Biol. Cell.* 2016 ; 27 : 2037 – 2050.