

平成 16 年度上原賞受賞者

講演録

生理活性脂質の生合成と機能に関する総合的研究

東京大学大学院医学系研究科 生化学・分子生物学 教授
清水 孝雄

このたび、平成 16 年度上原賞を受賞する栄誉に浴しましたことは、誠に光栄に存じております。上原賞は我が国の生命科学を対象とする科学賞の中でも極めて権威の高い賞であり、過去の受賞者の大きな業績を考えると身が引き締まる思いが致します。上原昭二理事長、財団の理事・評議員各位、また、選考に当たられた中西重忠教授を初めとする委員の諸先生、さらに、本賞へのご推薦を賜りました高久史麿先生、遠藤 實先生に心より御礼申し上げます。

今回は広く脂質生物学全体の紹介をし、その後に私の研究成果の一端をご紹介致したいと存じます。詳細は HP (http://biochem2.umin.jp/index_j.html) および、末尾の主要文献をご参照下さい。

はじめに—脂質生物学とは

脂質とは何かの定義は難しい。一般には炭化水素を主成分として、水に不溶で有機溶媒に溶ける分子と定義される。水に溶けない—この事実が脂質に関する研究を難しくした。無理矢理理解けない脂質を水に懸濁し、再現性の無い結果を出したり、また、酸素や光に晒すことで脂質が化学的に変化したことすら気づかずに行われた実験も数多い。分子生物学や電気生理学などは基本的には水溶性の分子を扱うのに最適化された学問であったからである。

生命体は一千万年から十億年前の間に誕生したと言われている。DNA と RNA のどちらが先かの長年の論争は 1980 年代の RNA 自己触媒能の発見により、ほぼ決着がついた。RNA 自身の自己複製は 40 億年も昔にあったとの説もあり、やがてその不安定性を克服すべく、次第に DNA が遺伝情報の主役となった。しかし、アメーバなどの単細胞から、 10^{13} 個の多細胞からなるヒトまでおよそあらゆる生命体にとって、細胞は必須であり、細胞膜を作る主成分が脂質であることは当然すぎることであった。細胞膜に囲まれ、水などを容易に通過させない独自の環境を作ることで、生命は誕生し、また、効率の良いエネルギー産生や DNA 複製、タンパク合成を可能とした。

生体膜を作るのに脂質が使われたのは、多くの脂質がもつ「両親媒性」(amphipat hic=amphiphilic, amphiphobic とも言う) という化学的特徴による。両親媒性とは名のごとく、水溶性と疎水性の両方の性質を持つことを意味し、それは分子の中にそれぞれの性質を持つ構造が両方あることを意味している。グリセロリン脂質を例にあげると、セリンやコリンなどの水溶性頭部 (polar head group) とそれ以外のグリセロール骨格と脂肪酸エステルによる疎水性部分に分けられる。生体膜では水溶性部分を両側に、疎水性部分を内側に置く二重膜構造が熱力学的に最も安定した構造であり、これを脂質二重膜 (lipid bilayer) と呼ぶ (図 1)。もちろん、脂質分子は熱、光や酸素などの単純な化学反応でできるものではない。これは酵素的に規則正しく生合成されるものであり、その酵素はタンパクであり、さらにその情報は DNA の塩基配列に深く組み込まれている。塩基配列情報から一義的に決まらない脂質の研究がポストゲノム時代の代表的研究の一つとなる所以である。

1. 我が国における脂質研究の伝統

脂質を巡る研究は時間がかかり、忍耐力のある研究である。しかし、我が国では脂質の研究が地味ではあるが、着実に進められてきた。日本の脂質科学の大先達は北海

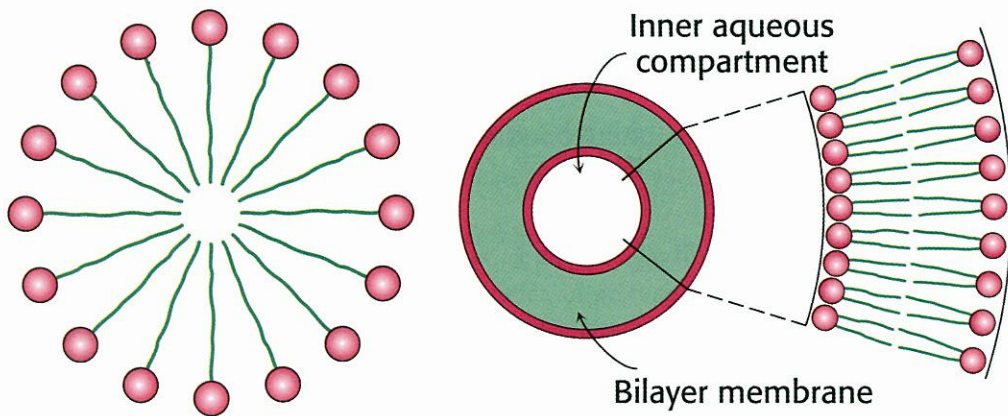


図 1. 脂質の両親媒性と脂質二重膜.

両親媒性を利用して生体膜が作られた。外界から独立した環境を作り（細胞）、ゲノムの複製やエネルギー産生ができるようになった = 生命の誕生に必須。左はミセル、右はリポソームであり、生体膜の原形である。

道大学の安田守雄教授（脂肪酸，コレステロールの研究など，明治 34 年生まれ）で日本脂質生化学会の初代会長を務めた。その後，糖脂質は山川民夫（東京大学），シアトル在住の箱守仙一郎（ワシントン大学）らが中心に展開し，また，リン脂質は野島庄七（東京大学）や故 沼 正作（京都大学）が，また，脂質メディエーターについては早石 修，山本尚三（京都大学）が端緒を開いた。イノシトールリン脂質の代謝回転とシグナル伝達の関連では故 西塚泰美（神戸大学），竹縄忠臣，御子柴克彦（東京大学）らの先駆的業績がある。コレステロールやリポタンパクの仕事は米国のグループ〔ブロック（ハーバード大学），ブラウン（テキサス大学），ゴールドスタイン（テキサス大学）など 13 名がコレステロールでノーベル賞を受賞した〕が先駆的な仕事をしたが，遠藤 章（東京農工大学）がメバロチン前駆体であるモノコリン K を発見したような特筆すべき成果もあった。こうした先駆者の末裔たちにより，我が国では脂質代謝に関連する酵素の多くが単離，クローニングされ，また，コレステロール代謝の研究は「アディポサイトカイン」の研究へと発展し，さらに，プロスタノイドを初めとする脂質メディエーターの受容体の多くが世界に先駆けて我が国の研究者により単離されたのである。

2. 脂質生物学の 4 つの課題（表 1）

脂質生物学と呼ばれるものは大きく言って次の四つの研究課題を持っている。それは脂質が生体で果たしている役割と対応するものである。第一の機能は，言うまでも無く，生体膜の重要な構成成分としての脂質である。主として小胞体で作られた脂質

表 1. 脂質生物学の4つの課題

研究課題	研究内容
膜脂質の動態	膜脂質の合成機構, ラフト (マイクロドメイン), 脂質の輸送, 開口放出, オートファジー, タンパクの脂質修飾, 脂質可視化
エネルギー代謝	脂質代謝と生合成の調節, 脂肪細胞分化, 肥満とメタボリックシンドローム, アディポサイトカインなど
シグナル分子	生理活性脂質の合成, 放出, 運搬と受容体, シグナル伝達とイノシトールリン脂質代謝, 脂溶性シグナル分子と核内受容体
脂質メタボロミックス	網羅的解析法の確立, 質量分析システム, 脂質データベースと脂質ライブラリーの作製, 検索エンジン開発, 質量顕微鏡など

膜がそれぞれのオルガネラや細胞膜に輸送される機構, また, 細胞膜の非対称性の分子機構, グリセロリン脂質の二位の脂肪酸組成決定 (いわゆる脂質膜のリモデリング) の仕組みなどは重要な研究課題である. 多くのシグナル伝達の場合は細胞膜であり, この膜脂質組成や流動性 (不飽和度, コレステロール含量などで決まる) が細胞の機能に影響している可能性は高い. 従来のシグナル伝達は主としてタンパクの相互作用を中心に考えられてきた. しかし, 受容体やシグナル分子を埋め込んだ土台である脂質膜の組成や性質に関して十分な注意が払われてきたとは言い難い. 膜脂質の研究は膜形成, 開口放出, 細胞分裂, オートファジーなどの多くの重要な生物過程の中心課題である.

第二の機能はエネルギー源としての脂質である. 近年食事の西欧化に伴い, 肥満, 高血圧, 高脂血症, 糖尿病などを合併したいわゆるメタボリックシンドロームが大きな社会問題となっている. また, 脂肪細胞の分化や脂肪細胞から分泌される各種のホルモンやサイトカインの生理的作用, 病態での意義などが注目されている. 体の要求に応じてエネルギー源としての脂肪はいかに効率よく蓄えられ, また, 緊急時に動員されるかのメカニズムをシステムとして明らかにすることは第二の重要な研究課題である.

第三の機能がシグナル分子としての脂質であり, これが私の今までの研究課題の中心である. コレステロールからステロイドホルモンが作られ, また, リン脂質からは血小板活性化因子 (PAF) やスフィンゴシン 1-リン酸 (S1P), リゾホスファチジン酸 (LPA), 内因性カンナビノイド物質などの生理活性物質が作られる. さらに, 不飽和脂肪酸の一つであるアラキドン酸からはプロスタグランジン, ロイコトリエン,

リポキシンなどの 30 を超える化合物が作られ、それぞれが多彩な生理機能を担っている。これらの脂質性リガンドを総称して脂質メディエーターあるいは生理活性脂質と呼ぶ。ステロイドや脂溶性ビタミンの一部を除き、これらの物質は 7 回膜貫通型受容体（いわゆる G タンパク共役型受容体）を介してその作用を発揮する。

生理活性脂質が他のシグナル分子（サイトカインやホルモン、神経伝達物質）と大きく異なる点はその産生と放出様式である。すなわち、多くのホルモンや神経伝達物質は活性型として予め細胞に（多くの場合顆粒の中に）蓄えられており、カルシウム増加が刺激となり、開口放出により細胞外へ放出される。サイトカインや増殖因子は主として転写レベルでその産生量が決定されている。これらに対して生理活性脂質はその多くが生体膜成分として不活性な状態で存在し、刺激に応じて酵素的に活性分子へと変換され、細胞外へと放出される。作用が終わると速やかに分解され不活性分子となり、膜へ再取り込みされるか、あるいは分解されてエネルギーとなる。生理活性脂質の作用は酵素で調節されているわけである。生理活性脂質の機能を考える上で、代謝学、酵素学が重視される所以である。

第四の研究課題は脂質の網羅的解析（リピドミックス）とデータベースの作製である。脂質データベースは 10 年以上前から作製されてきたが（<http://lipidbank.jp>）、さらにマスコットのような質量分析計のデータをオンライン入力できる検索エンジンを導入し、一定の確率で化合物を推定しようとする試みが東京大学医学部メタボローム講座や日本脂質生化学会のデータベース構築委員会で進められている。

I. 生理活性脂質生合成と分解に関する研究—地図を作る仕事

1. プロスタグランジン D₂ の生合成と代謝に関する研究^{1~6)}

1978 年、京都大学で研究を開始した時点で、プロスタグランジン D₂ (PGD₂) は生物作用も知られておらず、不安定なプロスタグランジンエンドペルオキシド (PGG₂, PGH₂) の非酵素的最終産物であるという考えが主流であった。私はそれから数年間かけて、共同研究者と共に PGD₂ が脳などで酵素的に産生され、また、NADP⁺ 存在下に 15-keto-PGD₂ という不活性分子となること、また、NADPH 存在下には 11-epi-PGF₂（当時は PGF_{2α} と同定）という別の生理活性分子に変換することを突き止めた（図 2）。また、PGH₂ を血漿と反応させると非酵素的に PGD₂ となり、これはヒト血小板の凝集にネガティブフィードバックをかけることなどを明らかにした。血小板や脳に PGD₂ の結合蛋白があることは報告したが、機能解明や受容体の同定に

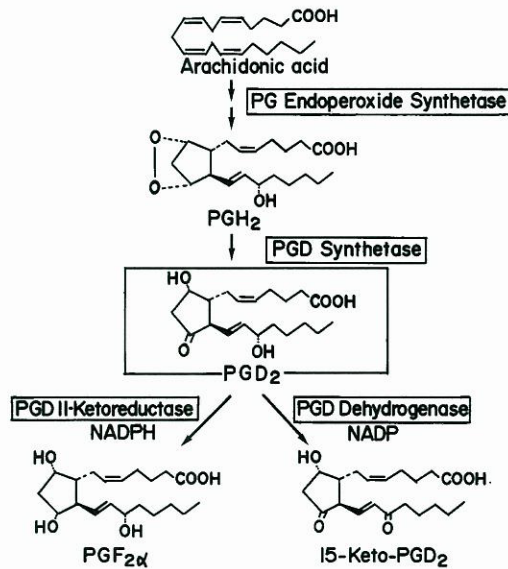


図 2. プロスタグランジン D₂ の生合成と代謝.
 PGD Synthetase は正確には PGD Synthase である。PGF_{2α} は後に 11-epimer であることが報告された。なお、PG Endoperoxide Synthetase も PG Endoperoxide Synthase (Cyclooxygenase) が正確な呼び方である。

はいたらず、また、生理機能などの解析は後に早石グループにより精力的に進められた。

2. ロイコトリエンの生合成と代謝の研究^{7~31)}

1982年にスウェーデンのカロリンスカ研究所に留学した私の次のテーマはロイコトリエンの生合成酵素を単離することであった。白血球遊走作用や強い平滑筋収縮作用を持ち気管支喘息など多くの病態に関与していると考えられていたロイコトリエンであるが、その生合成酵素は明らかでなかった。不飽和脂肪酸の5位の炭素にヒドロペルオキシドを作ることから、5-リポキシゲナーゼの存在が示唆されていた。ロイコトリエン生合成の鍵を握る5-リポキシゲナーゼを精製しその性質を詳細に解析した。はじめにジャガイモのリポキシゲナーゼを単離し、反応機構を解明したところ、脂肪酸の5位への酸素添加のみならず、引き続いて脱水反応を引き起こしエポキシ型ロイコトリエン (LTA₄) を合成することを明らかとした。この両方の反応にカルシウムイオンが必要であること、また、これはC7, C10のメチレンユニットの水素原子の一つを立体特異的引き抜きによることも明らかにした。ジャガイモのリポキシゲナーゼを用いたこの反応モデルは、当時、一般には受け入れられず、高等動物はより複雑な制御系があるはずだとの反論論文も出されたが、2年後に東京大学に戻った私

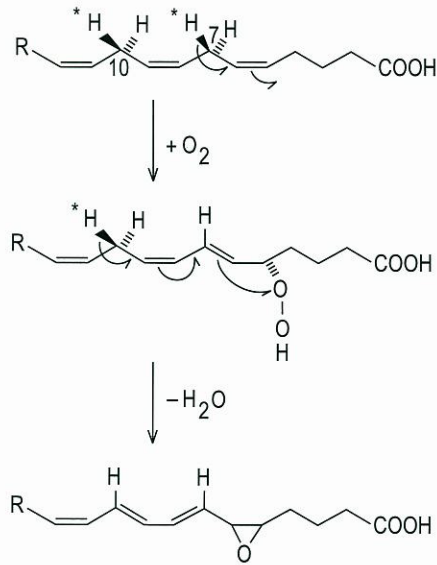


図3. アラキドン酸5-リポキシゲナーゼによるロイコトリエン A₄ 生成.
C7, C10のD-水素原子を立体特異的に引きぬくことで, LTA₄が合成される^{7, 10)}.

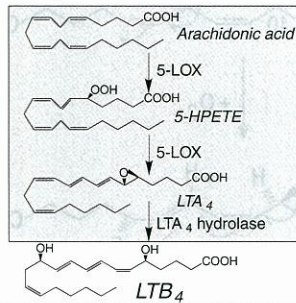
自身（東京大学）、カロリンスカ研究所、徳島大学の3グループが異なる材料から哺乳動物の5-リポキシゲナーゼを精製し、5位への酸素添加と脱水によるLTA₄合成が単一の酵素で触媒されることは明らかとなった（図3）。一酵素—基質という旧来の酵素学の特異性に対する反証は、その後、多くの酵素反応に当てはまることが明らかとなっていった。

ついで、LTA₄がLTB₄、LTC₄に変換する酵素の単離を行った、結果的にはLTB₄生成にかかわるLTA₄水解酵素の精製およびcDNAクローニングに成功した。LTA₄水解酵素のcDNAクローニングはエイコサノイド研究では最初のクローニング成功例となった。LTC₄合成酵素は米国のグループに先を越されることとなった。研究はさらに90年代になっても継続され、LTA₄水解酵素は亜鉛結合タンパクでプロテアーゼ活性を持つなどの意外な結果に発展した。さらに、産生されたLTB₄の新たな分解経路を明らかにした。こうした一連の仕事は新たに「地図を作る仕事」と呼び、私どもの研究室で重視している研究分野である（図4）。

II. 生理活性脂質受容体の単離と性質の解明^{32~76)}

東京大学医学部へ助教授として戻り代謝学、酵素学を続ける傍らロイコトリエンや

Biosynthesis of LTB₄



Degradation of LTB₄

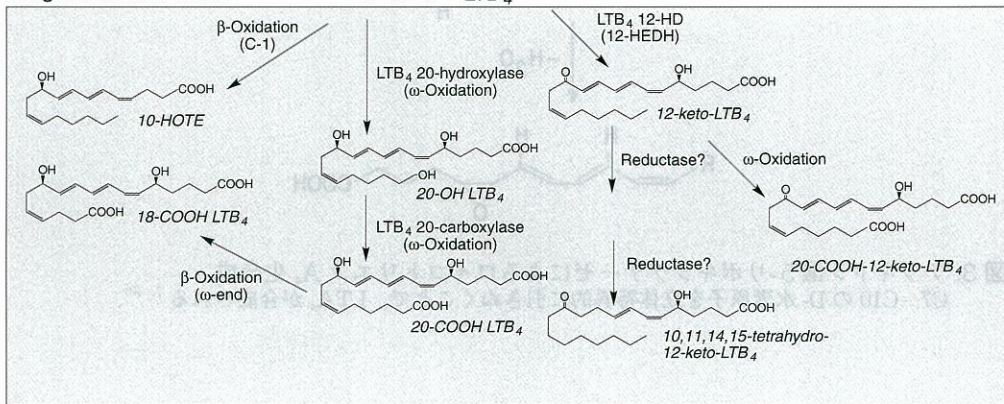


図 4. ロイコトリエン B₄ の生合成と分解。

血小板活性化因子の作用機構を明らかにするため、受容体へと研究は進んでいった。受容体を生体膜から界面活性剤を用いて可溶化し、三量体 G タンパク質と再構成する試みは長年の努力にもかかわらず成功をもたらさなかった。1987 年の中西ら（京都大学）、および Richard Axel（コロンビア大学）のアフリカツメガエル卵母細胞を用いた受容体発現クローニングに刺激された私は京都大学の中西研究室へ出かけ、ノウハウを習得すると共に、当時東京大学医学部脳研究施設の高橋國太郎教授の元で、電気生理によるシグナル依存性クロライドチャンネルの解析系を立ち上げた。当時の大学院生や客員研究員との共同で PAF（血小板活性化因子）受容体の cDNA クローニングに成功した。現在までに生理活性脂質をリガンドとする G タンパク共役型受容体は数十に達するが、この PAF 受容体の cDNA クローニングが世界で最初の成功例となった。このニュースはロイター電で世界に流れ、米国の記者のインタビューも受けた。ついで、サブトラクション法によるロイコトリエン B₄ (LTB₄) 受容体のクローニング、LTB₄ 第二受容体の発見 (BLT₁, BLT₂ と呼称) へと続き、さらにオーファン受容体の天然リガンドをスクリーニングする過程でいくつかの新規受容体の単離、

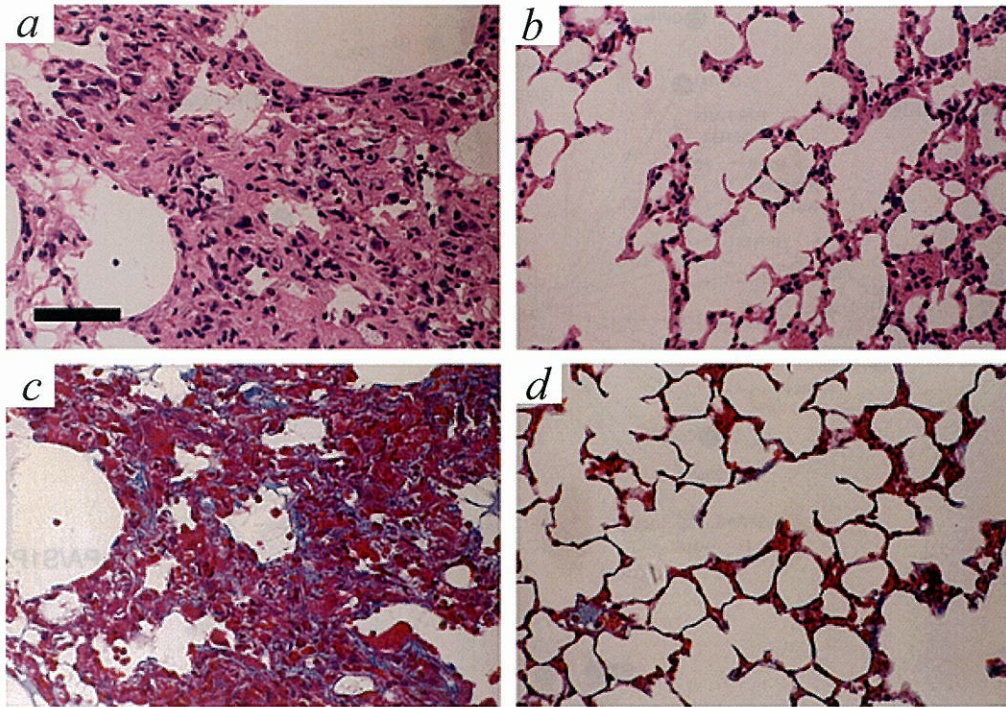


図 6. プレオマイシン誘発性肺臓炎（肺線維症）への生理活性脂質の関与⁸⁹⁾.
 a, cは野生型, b, dは cPLA₂a欠損マウスを示す. a, bは HE 染色, c, dは Masson's trichrome 染色で, コラーゲン線維を青く染色している. なお, スケールは 50 μ m である.

にかかわっているかを明らかにする目的でいくつかの遺伝子改変マウスを作製した。我々の選んだ標的分子の第一は、細胞質型ホスホリパーゼ A₂α (cPLA₂α : cytosolic phospholipase A₂α) である。これは我々が自らの手で単離した遺伝子では無いが、生理活性脂質生合成の中心的役割を果たすものであり、また、その分子的特徴から細胞へのシグナルと共役したホスホリパーゼ A₂ であると確信したため、当時東京大学の宮崎（現大阪大学）、生田（現京都大学）両博士との共同で欠損マウス樹立に成功した。cPLA₂α 欠損マウスは生殖や分娩の異常、神経可塑性の異常などを示した。一方、気管支喘息、プレオマイシン誘発肺臓炎（線維症）、関節リウマチ、動脈硬化、多発性硬化症など多くの疾患モデルで顕著な症状の改善が認められ、生理活性脂質が多くのアレルギー免疫疾患にかかわっていることが明らかとなった（図 6）。cPLA₂α 欠損マウスの解析結果は直接にどの mediator が病態に絡んでいるかを示すものではない。そこで、私どもが単離した PAF 受容体遺伝子の欠損マウス、過剰発現マウス、また、各種のロイコトリエン受容体欠損マウスも作製し、その表現形を逐一解析している。予想外の機能も多く発見されており、例えば骨粗鬆症への PAF の

関与、免疫反応へのロイコトリエン B₄ の関与などがそれである。生理活性脂質はそれまで炎症や免疫反応の最終段階で症候を引き起こす terminal mediator と考えられてきたが、実は免疫反応の初期中期で重要な役割を果たす免疫調節因子であるという、新しい概念が生まれようとしている。ところで、cPLA₂ α 欠損マウスの表現形は予想以上に軽微であった。これは他のホスホリパーゼ A₂ がアラキドン酸放出に絡んでいることを示すものであり、実際、当研究室で cPLA₂ α の仲間である δ , ε , ζ などの新規酵素遺伝子を新たに発見しており、現在それぞれの解析が始まっている。

私どもを含めて多くの研究者により生理活性脂質関係では 20 種類近い遺伝子改変マウスが作られているが、胎性致死や先天奇形などは一部を除きほとんど知られておらず、大部分は正常に発育し、寿命を全うする。しかし、一端何らかの刺激を与えたり、ストレスに晒すとその表現形は顕在化する。つまり、生理活性脂質は転写因子などのように直接形態形成や生死に関与する分子ではないが、生命の質 (Quality of life) を微細に調節していることが明らかとなってきたわけである。これが生体調節因子 (biomodulator) としての生理活性脂質の本質を示しており、副作用の比較的小さい薬剤の開発へ向けて、分子標的としては適しているものかもしれない。また、表現を出す条件や刺激を見つけるところに研究のおもしろさがあると言って良いだろう。

IV. 終わりに

脂質生物学全般の紹介と私自身の研究内容をまとめてきた。私は東京大学医学部を卒業後、呼吸器内科医を目指して臨床研修を行ったが、生化学の重要性を考え、京都大学へ入門したのがきっかけとなり、そのまま生化学者となった。代謝学、酵素学、受容体やシグナル伝達の研究が中心であるが、これらを通して病態の理解と治療に結び付けたい気持ちは今も研究の動機となっている。わずかな経験とは言え、研修医時代に看取った肺線維症などの患者の苦しみなどはいまだに鮮明に覚えている。本研究は京都大学 (早石 修教授)、カロリンスカ研究所 (サミュエルソン教授)、東京大学栄養学 (脊山洋右教授) の元で基礎を作り、東京大学生化学でさらに継続発展している研究である。多くの先輩、同僚や大学院生との共同の成果であり、この機会を借りて感謝したい。脂質生物学の研究は、今後益々おもしろく展開すると確信している。

なお、研究の詳細と共同研究者については末尾の主要文献を参照していただきたい。

文 献

〈代謝学・酵素学の研究〉

- 1) Shimizu, T., Yamamoto, S. & Hayaishi, O.: Purification and properties of prostaglandin D synthetase from rat brain. *J. Biol. Chem.*, **254**: 5222-5228, 1979.
- 2) Watanabe, K., Shimizu, T., Iguchi, S., Wakatsuka, H., Hayashi, M. & Hayaishi, O.: An NADP-linked prostaglandin D dehydrogenase in swine brain. *J. Biol. Chem.*, **255**: 1779-1782, 1980.
- 3) Ueno, R., Shimizu, T., Kondo, K. & Hayaishi, O.: Activation mechanism of prostaglandin endoperoxide synthetase by hemoproteins. *J. Biol. Chem.*, **257**: 5584-5588, 1982.
- 4) Tokumoto, H., Watanabe, K., Fukushima, D., Shimizu, T. & Hayaishi, O.: An NADP-linked prostaglandin 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase specific for prostaglandin D₂ from swine brain. *J. Biol. Chem.*, **257**: 13576-13580, 1982.
- 5) Watanabe, T., Narumiya, S., Shimizu, T. & Hayaishi, O.: Characterization of the biosynthetic pathway of prostaglandin D₂ in human platelet-rich plasma. *J. Biol. Chem.*, **257**: 14847-14853, 1982.
- 6) Watanabe, K., Yoshida, R., Shimizu, T. & Hayaishi, O.: Enzymatic formation of prostaglandin F_{2a} from Prostaglandin H₂ and D₂: Purification and properties of prostaglandin F synthetase from bovine lung. *J. Biol. Chem.*, **260**: 7035-7041, 1985.
- 7) Shimizu, T., Radmark, O. & Samuelsson, B.: Enzyme with dual lipoxygenase activities catalyzes leukotriene A₄ synthesis from arachidonic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**: 689-693, 1984.
- 8) Radmark, O., Shimizu, T., Jornvall, H. & Samuelsson, B.: Leukotriene A₄ hydrolase in human leukocytes: Purification and properties. *J. Biol. Chem.*, **259**: 12339-12345, 1984.
- 9) Rouzer, C. A., Shimizu, T. & Samuelsson, B.: On the nature of the 5-lipoxygenase reaction in human leukocytes: Characterization of a membrane-associated stimulatory factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**: 7505-7509, 1985.
- 10) Shimizu, T., Izumi, T., Seyama, Y., Tadokoro, K., Radmark, O. & Samuelsson, B.: Characterization of leukotriene A₄ synthase from murine mast cells: Evidence for its identity to arachidonate 5-lipoxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**: 4175-4179, 1986.
- 11) Shimizu, T., Takusagawa, Y., Izumi, T., Ohishi, N. & Seyama, Y.: Enzymic synthesis of leukotriene B₄ in guinea pig brain. *J. Neurochem.*, **48**: 1541-1546, 1987.
- 12) Ohishi, N., Izumi, T., Minami, M., Kitamura, S., Seyama, Y., Ohkawa, S., Terao, S., Yotsumoto, H., Takaku, F. & Shimizu, T.: Leukotriene A₄ hydrolase in the human lung: Inactivation of the enzyme with leukotriene A₄ isomers. *J. Biol. Chem.*, **262**: 10200-10205, 1987.

- 13) Minami, M., Ohno, S., Kawasaki, H., Radmark, O., Samuelsson, B., Jornvall, H., Shimizu, T., Seyama, Y. & Suzuki, K.: Molecular cloning of a cDNA coding for human leukotriene A₄ hydrolase: Complete primary structure of an enzyme involved in eicosanoid synthesis. *J. Biol. Chem.*, **262**: 13873-13876, 1987.
- 14) Funk, C. D., Radmark, O., Fu, J.-Y., Matsumoto, T., Jornvall, H., Shimizu, T. & Samuelsson, B.: Molecular cloning and amino acid sequence of Leukotriene A₄ hydrolase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**: 6677-6681, 1987.
- 15) Watanabe, T., Asano, T., Shimizu, T., Seyama, Y. & Takakura, K.: Participation of lipoxygenase products from arachidonic acid in the pathogenesis of cerebral vasospasm. *J. Neurochem.*, **50**: 1145-1150, 1988.
- 16) Shimizu, T., Watanabe, T., Asano, T., Seyama, Y. & Takakura, K.: Activation of the arachidonate 5-lipoxygenase pathway in the canine basilar artery after experimental subarachnoidal hemorrhage. *J. Neurochem.*, **51**: 1126-1131, 1988.
- 17) Miki, I., Shimizu, T., Seyama, Y., Kitamura, S., Yamaguchi, K., Sano, H., Ueno, H., Hiratsuka, A. & Watabe, T.: Enzymic conversion of 11,12-leukotriene A₄ to 11, 12-dihydroxy-5,14-cis-7,9-trans-eicosatetraenoic acid: Purification of an epoxide hydrolase from the guinea pig liver cytosol. *J. Biol. Chem.*, **264**: 5799-5805, 1989.
- 18) Miki, I., Watanabe, T., Nakamura, M., Seyama, Y., Ui, M., Sato, F. & Shimizu, T.: Solubilization and characterization of leukotriene B₄ receptor-GTP binding protein complex from porcine spleen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **166**: 342-348, 1990.
- 19) Ohishi, N., Minami, M., Kobayashi, J., Seyama, Y., Hata, J., Yotsumoto, H., Takaku, F. & Shimizu, T.: Immunological quantitation and immunohistochemical localization of leukotriene A₄ hydrolase in guinea pig tissues. *J. Biol. Chem.*, **265**: 7520-7525, 1990.
- 20) Toh, H., Minami, M. & Shimizu, T.: Molecular evolution and zinc ion binding motif of leukotriene A₄ hydrolase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **171**: 216-221, 1990.
- 21) Minami, M., Ohishi, N., Mutoh, H., Izumi, T., Bito, H., Wada, H., Seyama, Y., Toh, H. & Shimizu, T.: Leukotriene A₄ hydrolase is a zinc-containing aminopeptidase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **173**: 620-626, 1990.
- 22) Yokomizo, T., Izumi, T., Takahashi, T., Kasama, T., Kobayashi, Y., Sato, F., Taketani, Y. & Shimizu, T.: Enzymatic inactivation of leukotriene B₄ by a novel enzyme found in the porcine kidney: Purification and properties of leukotriene B₄ 12-hydroxydehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, **268**: 18128-18135, 1993.
- 23) Tsuge, H., Ago, H., Aoki, M., Furuno, M., Noma, M., Miyano, M., Minami, M., Izumi, T. & Shimizu, T.: Crystallization and preliminary X-ray crystallographic studies of recombinant human leukotriene A₄ hydrolase complexed with bestatin. *J. Mol. Biol.*, **238**: 854-856, 1994.
- 24) Yokomizo, T., Ogawa, Y., Uozumi, N., Kume, K., Izumi, T. & Shimizu, T.: cDNA cloning, expression & mutagenesis study of leukotriene B₄ 12-hydroxydehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, **271**: 2844-2850, 1996.

- 25) Yokomizo, T., Ogawa, Y., Uozumi, N., Kume, K., Izumi, T. & Shimizu, T.: cDNA cloning and mutagenesis study of leukotriene B₄ 12-hydroxydehydrogenase. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **407**: 151-156, 1997.
- 26) Fukasawa, K. M., Fukasawa, K., Harada, M., Hirose, J., Izumi, T. & Shimizu, T.: Aminopeptidase B is structurally related to leukotriene-A₄ hydrolase but is not a bifunctional enzyme with epoxide hydrolase activity. *Biochem. J.*, **339**: 497-502, 1999.
- 27) Hirabayashi, T., Kume, K., Hirose, K., Yokomizo, T., Iino, M., Itoh, H. & Shimizu, T.: Critical duration of intracellular Ca²⁺ response required for continuous translocation and activation of cytosolic phospholipase A₂. *J. Biol. Chem.*, **274**: 5163-5169, 1999.
- 28) Yamashita, A., Kawagishi, N., Miyashita, T., Nagatsuka, T., Sugiura, T., Kume, K., Shimizu, T. & Waku, K.: ATP-independent fatty acyl-coenzyme A synthesis from phospholipid: coenzyme A-dependent transacylation activity toward lysophosphatidic acid catalyzed by acyl-coenzyme A: lysophosphatidic acid acyltransferase. *J. Biol. Chem.*, **276**: 26745-26752, 2001.
- 29) Hanaka, H., Shimizu, T. & Izumi, T.: Nuclear-localization-signal-dependent and nuclear-export-signal-dependent mechanisms determine the localization of 5-lipoxygenase. *Biochem. J.*, **361**: 505-514, 2002.
- 30) Asai, K., Hirabayashi, T., Houjou, T., Uozumi, N., Taguchi, R. & Shimizu, T.: Human Group IVC phospholipase A₂ (cPLA_{2γ}): Roles in the membrane remodeling and activation induced by oxidative stress. *J. Biol. Chem.*, **278**: 8809-8814, 2003.
- 31) Hori, T., Yokomizo, T., Ago, H., Sugahara, M., Ueno, G., Yamamoto, M., Kumasaka, T., Shimizu, T. and Miyano, M.: Structural basis of leukotriene B₄ 12-hydroxydehydrogenase/15-oxo-prostaglandin 13-reductase catalytic mechanism and a possible Src homology 3 domain binding loop. *J. Biol. Chem.*, **279**: 22615-22623, 2004.

〈受容体の研究〉

- 32) Shimizu, T., Mizuno, N., Amano, T. & Hayaishi, O.: Prostaglandin D₂, a neuromodulator. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**: 6231-6234, 1979.
- 33) Shimizu, T., Yamashita, A. & Hayaishi, O.: Specific binding of prostaglandin D₂ to rat brain synaptic membrane: Occurrence, properties, and distribution. *J. Biol. Chem.*, **257**: 13570-13575, 1982.
- 34) Kurachi, Y., Ito, H., Sugimoto, T., Shimizu, T., Miki, I. & Ui, M.: Arachidonic acid metabolites as intracellular modulators of G protein-gated cardiac K⁺ channel. *Nature*, **337**: 555-557, 1989.
- 35) Watanabe, T., Shimizu, T., Miki, I., Sakanaka, C., Honda, Z., Seyama, Y., Teramoto, T., Matsushima, T., Ui, M. & Kurokawa, K.: Characterization of the guinea pig lung membrane leukotriene D₄ receptor solubilized in an active form: Association and dissociation with an islet-activating protein-sensitive guanine nucleotide-binding protein. *J. Biol. Chem.*, **265**: 21237-21241, 1990.

- 36) Watanabe, T., Yatomi, Y., Sunaga, S., Miki, I., Ishii, A., Nakao, A., Higashihara, M., Seyama, Y., Ogura, M. & Saito, H.: Characterization of prostaglandin and thromboxane receptors expressed on a megakaryoblastic leukemia cell line, MEG-01s. *Blood*, **78**: 2328-2336, 1991.
- 37) Nakamura, M., Honda, Z., Izumi, T., Sakanaka, C., Mutoh, H., Minami, M., Bito, H., Seyama, Y., Matsumoto, T. & Noma, M.: Molecular cloning and expression of platelet-activating factor receptor from human leukocytes. *J. Biol. Chem.*, **266**: 20400-20405, 1991.
- 38) Honda, Z., Nakamura, M., Miki, I., Minami, M., Watanabe, T., Seyama, Y., Okado, H., Toh, H., Ito, K., Miyamoto, T. & Shimizu, T.: Cloning by functional expression of platelet-activating factor receptor from guinea-pig lung. *Nature*, **349**: 342-346, 1991.
- 39) Bito, H., Nakamura, M., Honda, Z., Izumi, T., Iwatsubo, T., Seyama, Y., Ogura, A., Kudo, Y. & Shimizu, T.: Platelet-activating factor (PAF) receptor in rat brain: PAF mobilizes intracellular Ca^{2+} in hippocampal neurons. *Neuron*, **9**: 285-294, 1992.
- 40) Bito, H., Honda, Z., Nakamura, M. & Shimizu, T.: Cloning, expression and tissue distribution of rat platelet-activating-factor-receptor cDNA. *Eur. J. Biochem.*, **221**: 211-218, 1994.
- 41) Takano, T., Honda, Z., Sakanaka, C., Izumi, T., Kameyama, K., Haga, K., Haga, T., Kurokawa, K. & Shimizu, T.: Role of cytoplasmic tail phosphorylation sites of platelet-activating factor receptor in agonist-induced desensitization. *J. Biol. Chem.*, **269**: 22453-22458, 1994.
- 42) Honda, Z., Takano, T., Gotoh, Y., Nishida, E., Ito, K. & Shimizu, T.: Transfected platelet-activating factor receptor activates mitogen-activated protein (MAP) kinase and MAP kinase kinase in Chinese hamster ovary cells. *J. Biol. Chem.*, **269**: 2307-2315, 1994.
- 43) Ferby, I. M., Waga, I., Sakanaka, C., Kume, K. & Shimizu, T.: Wortmannin inhibits mitogen-activated protein kinase activation induced by platelet-activating factor in guinea pig neutrophils. *J. Biol. Chem.*, **269**: 30485-30488, 1994.
- 44) Bito, H., Mori, M., Sakanaka, C., Takano, T., Honda, Z., Gotoh, Y., Nishida, E. & Shimizu, T.: Functional coupling of SSSTR4, a major hippocampal somatostatin receptor, to adenylate cyclase inhibition, arachidonate release and activation of the mitogen-activated protein kinase cascade. *J. Biol. Chem.*, **269**: 12722-12730, 1994.
- 45) Watanabe, T., Waga, I., Honda, Z., Kurokawa, K. & Shimizu, T.: Prostaglandin $F_{2\alpha}$ stimulates formation of p21ras-GTP complex and mitogen-activated protein kinase in NIH-3T3 cells via G_q -protein-coupled pathway. *J. Biol. Chem.*, **270**: 8984-8990, 1995.
- 46) Honda, Z., Takano, T., Hirose, N., Suzuki, T., Muto, A., Kume, S., Mikoshiba, K., Itoh, K. & Shimizu, T.: G_q pathway desensitizes chemotactic receptor-induced calcium signaling via inositol trisphosphate receptor down-regulation. *J. Biol. Chem.*, **270**: 4840-4844, 1995.

- 47) Ishii, S., Matsuda, Y., Nakamura, M., Waga, I., Kume, K., Izumi, T. & Shimizu, T. : A murine platelet-activating factor receptor gene : Cloning, chromosomal localization and up-regulation of expression by lipopolysaccharide in peritoneal resident macrophages. *Biochem. J.*, **314** : 671-678, 1996.
- 48) Ferby, I. M., Waga, I., Hoshino, M., Kume, K. & Shimizu, T. : Wortmannin inhibits mitogen-activated protein kinase activation by platelet-activating factor through a mechanism independent of p85/p110-type phosphatidylinositol 3-kinase. *J. Biol. Chem.*, **271** : 11684-11688, 1996.
- 49) Kishimoto, S., Shimadzu, W., Izumi, T., Shimizu, T., Fukuda, T., Makino, S., Sugiura, T. & Waku, K. : Regulation by IL-5 of expression of functional platelet-activating factor receptors on human eosinophils. *J. Immunol.*, **157** : 4126-4132, 1996.
- 50) Mori, M., Aihara, M., Kume, K., Hamanoue, M., Kohsaka, S. & Shimizu, T. : Predominant expression of platelet-activating factor receptor in the rat brain microglia. *J. Neurosci.*, **16** : 3590-3600, 1996.
- 51) Mutoh, H., Fukuda, T., Kitamaoto, T., Masushige, S., Sasaki, H., Shimizu, T. & Kato, S. : Tissue-specific response of the human platelet-activating factor receptor gene to retinoic acid and thyroid hormone by alternative promoter usage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93** : 774-779, 1996.
- 52) Ogita, T., Tanaka, Y., Nakaoka, T., Matsuoka, R., Kira, Y., Nakamura, M., Shimizu, T. & Fujita, T. : Lysophosphatidylcholine transduces Ca²⁺ signaling via the platelet-activating factor receptor in macrophages. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **272** : H17-H24, 1997.
- 53) Liu, B., Nakashima, S., Adachi, T., Ito, Y., Takano, T., Shimizu, T. & Nozawa, Y. : Prolonged activation of phospholipase D in Chinese hamster ovary cells expressing platelet-activating-factor receptor lacking cytoplasmic C-terminal tail. *Biochem. J.*, **327** : 239-244, 1997.
- 54) Kume, K. & Shimizu, T. : Platelet-activating factor (PAF) induces growth stimulation, inhibition & suppression of oncogenic transformation in NRK cells overexpressing the PAF receptor. *J. Biol. Chem.*, **272** : 22898-22904, 1997.
- 55) Ishii, I., Izumi, T., Tsukamoto, H., Umeyama, H., Ui, M. & Shimizu, T. : Alanine exchanges of polar amino acids in the transmembrane domains of a platelet-activating factor receptor generate both constitutively active and inactive mutants. *J. Biol. Chem.*, **272** : 7846-7854, 1997.
- 56) Yokomizo, T., Izumi, T., Chang, K., Takuwa, Y. & Shimizu, T. : A G-protein-coupled receptor for leukotriene B₄ that mediates chemotaxis. *Nature*, **387** : 620-624, 1997.
- 57) Ishii, I., Saito, E., Izumi, T., Ui, M. & Shimizu, T. : Agonist-induced sequestration, recycling & resensitization of platelet-activating factor receptor. Role of cytoplasmic tail phosphorylation in each process. *J. Biol. Chem.*, **273** : 9878-9885, 1998.
- 58) Hoshino, M., Izumi, T. & Shimizu, T. : Leukotriene D₄ activates mitogen-activated

- protein kinase through a protein kinase C α -Raf-1-dependent pathway in human monocytic leukemia THP-1 cells. *J. Biol. Chem.*, **273**: 4878-4882, 1998.
- 59) Shimada, A., Ota, Y., Sugiyama, Y., Sato, S., Kume, K., Shimizu, T. & Inoue, S.: *In situ* expression of platelet-activating factor (PAF) -receptor gene in rat skin and effects of PAF on proliferation and differentiation of cultured human keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.*, **110**: 889-893, 1998.
- 60) Igarashi, T., Yokomizo, T., Tsutsumi, O., Taketani, Y., Shimizu, T. & Izumi, T.: Characterization of the leukotriene B $_4$ receptor in porcine leukocytes. Separation and reconstitution with heterotrimeric GTP-binding proteins. *Eur. J. Biochem.*, **259**: 419-425, 1999.
- 61) Masuda, K., Yokomizo, T., Izumi, T. & Shimizu, T.: cDNA cloning and characterization of guinea-pig leukotriene B $_4$ receptor. *Biochem. J.*, **342**: 79-85, 1999.
- 62) Aihara, M., Ishii, S., Kume, K. & Shimizu, T.: Interaction between neurone and microglia mediated by platelet-activating factor. *Genes Cells*, **5**: 397-406, 2000.
- 63) Noiri, E., Yokomizo, T., Nakao, A., Izumi, T., Fujita, T., Kimura, S. & Shimizu, T.: An *in vivo* approach showing the chemotactic activity of leukotriene B $_4$ in acute renal ischemic-reperfusion injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 823-828, 2000.
- 64) Kato, K., Yokomizo, T., Izumi, T. & Shimizu, T.: Cell-specific transcriptional regulation of human leukotriene B $_4$ receptor gene. *J. Exp. Med.*, **192**: 413-420, 2000.
- 65) Yokomizo, T., Kato, K., Terawaki, K., Izumi, T. & Shimizu, T.: A second leukotriene B $_4$ receptor, BLT2: A new therapeutic target in inflammation and immunological disorders. *J. Exp. Med.*, **192**: 421-432, 2000.
- 66) Yokomizo, T., Kato, K., Hagiya, H., Izumi, T. & Shimizu, T.: Hydroxyeicosanoids bind to and activate the low affinity leukotriene B $_4$ receptor, BLT2. *J. Biol. Chem.*, **276**: 12454-12459, 2001.
- 67) Fukunaga, K., Ishii, S., Asano, K., Yokomizo, T., Shiomi, T., Shimizu, T. & Yamaguchi, K.: Single nucleotide polymorphism of human platelet-activating factor receptor impairs G-protein activation. *J. Biol. Chem.*, **276**: 43025-43030, 2001.
- 68) Stromgaard, K., Saito, D. R., Shindou, H., Ishii, S., Shimizu, T. & Nakanishi, K.: Ginkgolide derivatives for photolabeling studies: preparation and pharmacological evaluation. *J. Med. Chem.*, **45**: 4038-4046, 2002.
- 69) Ito, N., Yokomizo, T., Sasaki, T., Kurosu, H., Penninger, J., Kanaho, Y., Katada, T., Hanaoka, K. & Shimizu, T.: Requirement of phosphatidylinositol 3-kinase-activation and Ca influx for leukotriene B $_4$ -induced enzyme release. *J. Biol. Chem.*, **277**: 44898-44904, 2002.
- 70) Ohshima, N., Ishii, S., Izumi, T. & Shimizu, T.: Receptor-dependent metabolism of platelet-activating factor in murine macrophages. *J. Biol. Chem.*, **277**: 9722-9727, 2002.
- 71) Ogasawara, H., Ishii, S., Yokomizo, T., Kakinuma, T., Komine, M., Tamaki, K., Shimizu, T. & Izumi, T.: Characterization of mouse cysteinyl leukotriene receptors, mCysLT $_1$

and mCysLT₂: Differential pharmacological properties and tissue distribution. *J. Biol. Chem.*, **277**: 18763-18768, 2002.

- 72) Vogensen, S. B., Stromgaard, K., Shindou, H., Jaracz, S., Suehiro, M., Ishii, S., Shimizu, T. & Nakanishi, K.: Preparation of 7-substituted ginkgolide derivatives: Potent platelet-activating factor (PAF) receptor antagonists. *J. Med. Chem.*, **46**: 601-608, 2003.
- 73) Noguchi, K., Ishii, S. & Shimizu, T.: Identification of p2y₉/GPR23 as a novel G protein-coupled receptor for lysophosphatidic acid, structurally distant from the Edg family. *J. Biol. Chem.*, **278**: 25600-25606, 2003.
- 74) Masuda, K., Itoh, H., Sakihama, T., Akiyama, C., Takahashi, K., Fukuda, R., Yokomizo, T., Shimizu, T., Kodama, T. & Hamakubo, T.: A combinatorial G protein-coupled receptor reconstitution system on budded baculovirus: Evidence for G_{αi} and G_{αo} coupling to a human leukotriene B₄ receptor. *J. Biol. Chem.*, **278**: 24552-24562, 2003.
- 75) Okuno, T., Ago, H., Terawaki, K., Miyano, M., Shimizu, T. & Yokomizo, T.: Helix 8 of the leukotriene B₄ receptor is required for the conformational change to the lowaffinity state after G-protein activation. *J. Biol. Chem.*, **278**: 41500-41509, 2003.
- 76) Murakami, N., Yokomizo, T., Okuno, T. & Shimizu, T.: G2A is a proton-sensing G-protein-coupled receptor antagonized by lysophosphatidylcholine. *J. Biol. Chem.*, **279**: 42484-42491, 2004.

〈遺伝子改変マウスを用いた研究〉

- 77) Nagase, T., Ishii, S., Katayama, H., Fukuchi, Y., Ouchi, Y. & Shimizu, T.: Airway responsiveness in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor. Roles of thromboxanes and leukotrienes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **156**: 1621-1627, 1997.
- 78) Uozumi, N., Kume, K., Nagase, T., Nakatani, N., Ishii, S., Tashiro, F., Komagata, Y., Maki, K., Ikuta, K., Ouchi, Y., Miyazaki, J. & Shimizu, T.: Role of cytosolic phospholipase A₂ in allergic response and parturition. *Nature*, **390**: 618-622, 1997.
- 79) Ishii, S., Nagase, T., Tashiro, F., Ikuta, K., Sato, S., Waga, I., Kume, K., Miyazaki, J. & Shimizu, T.: Bronchial hyperreactivity, increased endotoxin lethality and melanocytic tumorigenesis in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor. *EMBO J.*, **16**: 133-142, 1997.
- 80) Ishii, S., Kuwaki, T., Nagase, T., Maki, K., Tashiro, F., Sunaga, S., Cao, W.-H., Kume, K., Fukuchi, Y., Ikuta, K., Miyazaki, J., Kumada, M. & Shimizu, T.: Impaired anaphylactic responses with intact sensitivity to endotoxin in mice lacking a platelet-activating factor receptor. *J. Exp. Med.*, **187**: 1779-1788, 1998.
- 81) Kobayashi, K., Ishii, S., Kume, K., Takahashi, T., Shimizu, T. & Manabe, T.: Platelet-activating factor receptor is not required for long-term potentiation in the hippocampal CA1 region. *Eur. J. Neurosci.* **11**: 1313-1316, 1999.
- 82) Nagase, T., Ishii, S., Kume, K., Uozumi, N., Izumi, T., Ouchi, Y. & Shimizu, T.: Platelet-

- activating factor mediates acid-induced lung injury in genetically engineered mice. *J. Clin. Invest.*, **104** : 1071-1076, 1999.
- 83) Nagase, T., Uozumi, N., Ishii, S., Kume, K., Izumi, T., Ouchi, Y. & Shimizu, T.: Acute lung injury by sepsis and acid aspiration: a key role for cytosolic phospholipase A₂. *Nat. Immunol.*, **1** : 42-46, 2000.
- 84) Takaku, K., Sonoshita, M., Sasaki, N., Uozumi, N., Doi, Y., Shimizu, T. & Taketo, M. M.: Suppression of intestinal polyposis in *Apc*^{Δ716} knockout mice by an additional mutation in the cytosolic phospholipase A₂ gene. *J. Biol. Chem.*, **275** : 34013-34016, 2000.
- 85) Nakatani, N., Uozumi, N., Kume, K., Murakami, M., Kudo, I. & Shimizu, T.: Role of cytosolic phospholipase A₂ in the production of lipid mediators and histamine release in mouse bone-marrow-derived mast cells. *Biochem. J.*, **352** : 311-317, 2000.
- 86) Wu, C., Stojanov, T., Chami, O., Ishii, S., Shimizu, T., Li, A., O'Neill, C. & Shimizu, T.: Evidence for the autocrine induction of capacitation of mammalian spermatozoa. *J. Biol. Chem.*, **276** : 26962-26968, 2001.
- 87) Nagase, T., Ishii, S., Shindou, H., Ouchi, Y. & Shimizu, T.: Airway hyperresponsiveness in transgenic mice overexpressing platelet activating factor receptor is mediated by an atropine-sensitive pathway. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **165** : 200-205, 2002.
- 88) Klein, A., Pinho, V., Alessandrini, A. L., Shimizu, T., Ishii, S. & Teixeira, M. M.: Platelet-activating factor drives eotaxin production in an allergic pleurisy in mice. *Br. J. Pharmacol.*, **135** : 1213-1218, 2002.
- 89) Nagase, T., Uozumi, N., Ishii, S., Kita, Y., Yamamoto, H., Ohga, E., Ouchi, Y. & Shimizu, T.: A pivotal role of cytosolic phospholipase A₂ in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Nat. Med.*, **8** : 480-484, 2002.
- 90) Barbuti, A., Ishii, S., Shimizu, T., Robinson, R. B. & Feinmark, S. J.: Block of the background K⁺ channel, TASK-1, contributes to arrhythmogenic effects of platelet-activating factor. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **282** : H2024-H2030, 2002.
- 91) Wong, D. A., Kita, Y., Uozumi, N., & Shimizu, T.: Discrete role for cytosolic phospholipase A₂*α* in platelets: Studies using single and double mutant mice of cytosolic and group IIA secretory phospholipase A₂. *J. Exp. Med.*, **196** : 349-357, 2002.
- 92) Nagase, T., Uozumi, N., Aoki-Nagase, T., Terawaki, K., Ishii, S., Tomita, T., Yamamoto, H., Hashizume, K., Ouchi, Y. & Shimizu, T.: A potent inhibitor of cytosolic phospholipase A₂, arachidonyl trifluoromethyl ketone, attenuates LPS-induced lung injury in mice. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, **284** : L720-L726, 2003.
- 93) Miyaura, C., Inada, M., Matsumoto, C., Ohshiba, C., Uozumi, N., Shimizu, T. & Ito, A.: An essential role of cytosolic phospholipase A₂*α* in prostaglandin E₂-mediated bone resorption associated with inflammation. *J. Exp. Med.*, **197** : 1303-1310, 2003.
- 94) Hegen, M., Sun, L., Uozumi, N., Kume, K., Goad, E. M., Nickerson-Nutter, C. L., Shimizu, T. & Clark, D. J.: Cytosolic phospholipase A₂*α* deficient mice are resistant to collagen-induced arthritis. *J. Exp. Med.*, **197** : 1297-1302, 2003.

- 95) Tokuoka, S. M., Ishii, S., Kawamura, N., Satoh, M., Shimada, A., Sasaki, S., Hirotsune, S., Wynshaw-Boris, A. & Shimizu, T.: Involvement of platelet-activating factor and LIS1 in neuronal migration. *Eur. J. Neurosci.*, **18**: 563-570, 2003.
- 96) Tashiro, S., Sumi, T., Uozumi, N., Shimizu, T. & Nakamura, T.: B-Myb-dependent regulation of c-Myc expression by cytosolic phospholipase A₂. *J. Biol. Chem.*, **279**: 17715-17722, 2004.
- 97) Ishii, S., Nagase, T., Shindou, H., Takizawa, H., Ouchi, Y. & Shimizu, T.: Platelet-activating factor receptor develops airway hyperresponsiveness independently of airway inflammation in a murine asthma model. *J. Immunol.*, **172**: 7095-7102, 2004.
- 98) Hikiji, H., Ishii, S., Shindou, H., Takato, T. & Shimizu, T.: Absence of platelet-activating factor receptor protects mice from osteoporosis following ovariectomy. *J. Clin. Invest.*, **114**: 85-93, 2004.
- 99) Angeli, V., Llordrá, J., Rong, J. X., Satoh, K., Ishii, S., Shimizu, T., Fisher, E. A. & Randolph, G. J.: Dyslipidemia associated with atherosclerotic disease systemically alters dendritic cell mobilization. *Immunity*, **21**: 561-574, 2004.