

The role of sphingosine 1-phosphate in the regulation of vascular barrier function

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/41229

【総説】

脂質メディエータースフィンゴシン 1-リン酸による血管障壁機能の制御

The role of sphingosine 1-phosphate in the regulation of vascular barrier function

金沢大学医学保健研究域医学系血管分子生理学
(生理学第一)

岡 本 安 雄

はじめに

スフィンゴシン 1-リン酸 (sphingosine 1-phosphate, S1P) は血管機能, 免疫機能の重要な調節因子として, 近年注目を集めている脂質メディエーターである (図1)¹⁾. S1Pは血漿に極めて高濃度 ($\sim 1 \mu\text{M}$) で存在し, 細胞膜に発現するS1P特異的G蛋白質共役型受容体S1P₁ ~ S1P₅を介して作用する. 血漿S1Pの主要な標的細胞は血管内皮細胞と白血球 (特にリンパ球) である. 血管内皮細胞に及ぼすS1Pの作用は, 血管バリア (障壁) 機能を健全に保ち, 血管透過性の抑制である (図2). このS1Pの血管バリア維持作用は, S1P₁アゴニスト投与が血管透過性亢進を抑制することやS1P₁アンタゴニストFTY720投与が血管透過性亢進を引き起こすことから, S1P₁を介すると考えられている (図2)^{2),3)}. 著者の所属研究室は, S1P₂遺伝子座に β -ガラクトシダーゼ遺伝子を挿入したマウスを作製・解析し, 多くの組織において血管内皮細胞がS1P₂を発現していることを見出した⁴⁾. しかし, 血管内皮細胞のS1P₂機能は不明であった.

アナフィラキシーは急性血管バリア機能破綻の代表的な病態である. アナフィラキシーでは肥満細胞から放出されたヒスタミンや血小板活性化因子 (platelet-activating factor, PAF) などのアナフィラキシー誘発メディエーターが血管内皮細胞に直接作用し, VE-カドヘ

リンを主体とする内皮バリア構造を破綻させる. 最近, 著者らは血管内皮細胞のS1P₂がこのアナフィラキシー時の急性バリア破綻を防ぐことを見出した⁵⁾. 本稿では, 血管バリア機能調節におけるS1P₂の役割を概説する.

スフィンゴシン 1-リン酸, その代謝酵素および受容体

S1Pはスフィンゴ脂質代謝産物のひとつであり, 細胞膜の構成成分であるスフィンゴミエリンからセラミド, スフィンゴシンを経て生じるリゾリン脂質である (図1)¹⁾. S1Pは細胞内でスフィンゴシンがスフィンゴシンキナーゼ (sphingosine kinase, SphK) によってリン酸化されて生成される. SphKには, SphK1とSphK2の2つのアイソフォームが同定されている. 生成されたS1PはS1P輸送体Spns2によって細胞外に輸送される. また, S1PはS1Pホスファターゼあるいはリン脂質ホスファターゼにより脱リン酸化されてスフィンゴシンへ, またS1Pリアーゼによりパルミトアルデハイドとホスホエタノールアミンに分解される (図1).

脂質メディエーターとしてのS1Pの特徴のひとつは, 血漿に極めて高濃度 ($\sim 1 \mu\text{M}$) で存在する点である¹⁾. SphK1とSphK2の二重ノックアウト胎仔肝臓由来の造血細胞を移植したマウス (S1P-lessマウス) では, 血漿S1P濃度は1/10程度に低下した²⁾. この結果から, 定常状態における血漿S1Pの主要な産生源は主として骨髓由

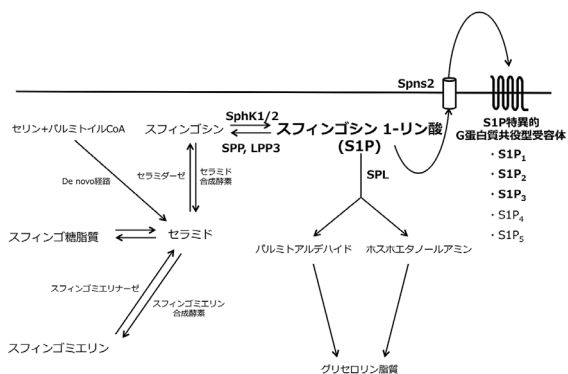


図1. スフィンゴシン 1-リン酸 (S1P) の代謝, S1P 輸送体と S1P 受容体.

SphK, スフィンゴキナーゼ; SPL, S1P リアーゼ; SPP, S1P ホスファターゼ; LPP3, リン脂質ホスファターゼ 3

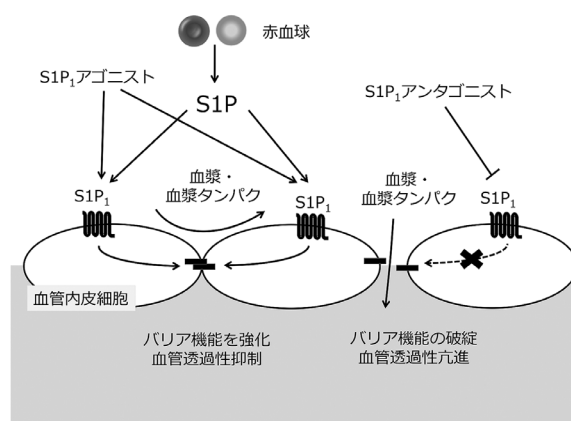


図2. S1P₁は血管バリア機能の恒常的な保護因子 S1P の作用を媒介している.

来細胞、特に赤血球であると考えられている。また、赤血球の他に血管内皮細胞なども血漿S1P濃度の維持に寄与していることが報告されている。S1Pのもうひとつの特徴は、シグナル伝達機構の異なる5種のS1P特異的G蛋白質共役型受容体S1P₁～S1P₅を介して作用する点である¹⁾。5種の受容体のうち、S1P₁、S1P₂、S1P₃が様々な臓器に発現する主要なサブタイプである。S1P₁はG_iと、S1P₂は主にG_{12/13}と、S1P₃は主にG_qと共役し、これらの三量体G蛋白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。著者の所属研究室では、これまでにS1P受容体がサブタイプ特異的に細胞運動を二方向性に制御することを明らかにしている⁶⁾。S1P₁はG_iを介して低分子量G蛋白質Racを活性化し、S1Pに対する化学遊走を媒介する化学遊走促進受容体として、S1P₂はG_{12/13}を介して低分子量G蛋白質Rhoを活性化し、Racの抑制を介してS1Pに対する化学遊走を抑制する化学遊走反発受容体として機能する。

S1P-less マウスにおける血管透過性の亢進

血漿S1Pは血管内皮細胞のバリア機能を強化することで血管透過性に対して抑制的に働く(図2)¹⁾。実際、上記のS1P-lessマウスでは、野生型マウスに比較して、血管内皮細胞の接着が弱まり、定常時において血管透過性が亢進していた²⁾。IgE/抗原感作によるアナフィラキシーモデル(受動性免疫モデル)およびアナフィラキシー誘発メディエーターであるヒスタミンやPAFの静脈内投与によるアナフィラキシーモデルにおいて、S1P-lessマウスは野生型マウスに比較して、アナフィラキシー時の肺血管透過性が亢進し、致死率が増加した。しかし、S1P-lessマウスへのS1P₁アゴニスト投与は、S1P-lessマウスで観察される血管透過性亢進と致死率を改善した。以上の結果から、血漿S1Pは血管内皮細胞のS1P₁を介して恒常的に血管透過性を低く保つこと、さらにS1P₁がアナフィラキシー時の血管透過性亢進に対して抑制的に働くことが明らかになった(図2)。

S1P₂はアナフィラキシーによるバリア破綻を防止する

最近、著者らは、ノックアウトマウスを用いたアナフィラキシーモデル実験から、S1P₂がS1P₁とは別のメカニズムを介して血管透過性を抑制することによりアナフィラキシーに対して防御的に働くことを見出した⁵⁾。

異種タンパク牛血清アルブミン(bovine serum albumin, BSA)感作によるアナフィラキシーモデル(能動性免疫モデル)およびPAFの静脈内投与によるアナフィラキシーモデルを用いて、S1P₂がアナフィラキシーにどのような影響を与えるかを検討した⁵⁾。S1P₂ノックアウトマウスおよび野生型マウスを、アジュバンド存在下において抗原としてBSAで能動感作し、感作2週間後のマウスに同じ抗原の静脈内注射により抗原刺激を行った。S1P₂ノックアウトマウスは、抗原刺激後10分以内に死亡しはじめ、すべてのS1P₂ノックアウトマウスは30分以内に死亡した。一方、野生型マウスは、25分

後から死亡しはじめ、45%の野生型マウスは、抗原刺激後60分後においても生存した。S1P₂ノックアウトマウスは、血液濃縮により、10分後のヘマトクリット値が野生型マウスと比較して高値であった。インビボでの肺血管透過性を定量化するために、静脈内投与したエバンスブルーの漏出を抗原刺激後10分において肺を摘出して測定したところ、S1P₂ノックアウトマウスは野生型マウスと比較して、肺でのエバンスブルー漏出量が高値であった。次に、アナフィラキシー誘発メディエーターであるPAFの静脈内投与に対するS1P₂の影響を検討した(図3)。PAF投与後の生存率において、ほとんどの野生型マウスは、PAF投与後60分後においても生存したが、すべてのS1P₂ノックアウトマウスは30分以内に死亡した。S1P₂ノックアウトマウスのヘマトクリット値は、PAF投与10分後では、野生型マウスと比較して高値であった。また、S1P₂ノックアウトマウスは、野生型マウスと比較して、肺のエバンスブルー漏出量が高値であった。以上の結果から、アナフィラキシーモデルにおいて、S1P₂欠失は血管透過性および致死を悪化させることから、S1P₂はアナフィラキシーに対して防御的に作用することが明らかになった。

次にマイルスアッセイを用いて、S1P₂ノックアウトマウスと野生型マウスのPAFに対する皮膚血管内皮細胞の透過性亢進反応を検討した⁵⁾。非刺激時の血管透過性は、S1P₂ノックアウトマウスと野生型マウス間においては同等であったが、S1P₂ノックアウトマウスは野生型マウスに比較して、PAFによる皮膚における血管透過性が亢進していた。これらの結果から、S1P₂ノックアウトマウスではPAFに対する血管内皮細胞の反応が亢進していることが考えられた。

アナフィラキシーでは血管内皮細胞において、タンパクリン酸化酵素Aktによる内皮型一酸化窒素合成酵素

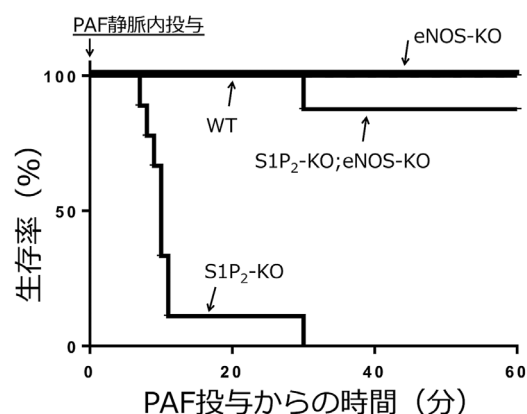


図3. S1P₂ノックアウトマウスでは血小板活性化因子(PAF)静注アナフィラキシーにおける生存率が低下し、eNOS遺伝子欠損で改善する。

WT, 野生型マウス; S1P₂-KO, S1P₂ノックアウトマウス; eNOS-KO, 内皮型一酸化窒素合成酵素ノックアウトマウス; S1P₂-KO; eNOS-KO, S1P₂; eNOSダブルノックアウトマウス

(endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 活性化が亢進していることが示されている⁷⁾。様々な血管透過性因子は、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) -Akt経路の活性化とそれに続くeNOS活性上昇・一酸化窒素 (nitric oxide, NO) 産生増加を引き起こし、血管内皮細胞間の間隙を広げ、血管透過性亢進を誘導する⁷⁾。実際、NOSやPI3Kの薬理的阻害あるいはAktやeNOSの遺伝子欠損は、異種タンパク感作によるアナフィラキシーモデル (能動性免疫モデル) およびPAFの静脈内投与によるアナフィラキシーモデルによるマウスの致死率を顕著に改善した⁸⁾。また、著者の所属研究室では血管内皮細胞においてS1PはS1P₂を介してAktを抑制することを見出した⁴⁾。そこで、S1P₂が血管内皮細胞においてAkt-eNOS-NO経路を抑制することによりNO産生を抑制し、その結果として血管透過性やアナフィラキシーに対して抑制的に働くとの仮説を立て、検証した。非刺激時のAktとeNOSのリン酸化 (eNOS活性化) レベルはS1P₂ノックアウトマウスと野生型マウスの大動脈および肺で同等であった。野生型マウスにおいて、PAF投与による大動脈および肺におけるAktとeNOSのリン酸化の増加が観察され、この応答はS1P₂ノックアウトマウスで増強していた⁵⁾。次にS1P₂ノックアウトマウスで観察されるアナフィラキシー時の血管透過性亢進および致死の悪化に対するNOS阻害薬投与あるいはeNOS遺伝子欠損の効果を検討した⁵⁾。NOS阻害薬であるN ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) 前処理はPAF投与による致死からS1P₂ノックアウトマウスを保護し、ヘマトクリット値の上昇を抑制した。これらの結果から、NOがS1P₂ノックアウトマウスのPAF投与による血管透過性亢進および致死の悪化に関与していることが明らかになった。次に、S1P₂ノックアウトマウスで観察されるアナフィラキシー時の血管透過性亢進および致死の悪化におけるeNOSの

役割を検討するために、S1P₂; eNOSダブルノックアウトマウスを作成した。S1P₂; eNOSダブルノックアウトマウスはPAF投与による致死からほぼ完全に逃れることができた (図3)。また、PAF投与後のS1P₂ノックアウトマウスで観察されるヘマトクリット値の上昇もS1P₂; eNOSダブルノックアウトマウスでは認められなかった。さらに抗原投与による能動性免疫アナフィラキシーモデルにおいても、S1P₂; eNOSダブルノックアウトマウスは抗原投与による致死から逃れることができ、抗原投与後のS1P₂ノックアウトマウスで観察されるヘマトクリット値の上昇もS1P₂; eNOSダブルノックアウトマウスでは認められなかった。以上の結果から、血管内皮細胞のeNOSが、S1P₂欠失により引き起こされるアナフィラキシーの悪化に関与していることが明らかになった。

抗原投与による降圧反応を検討するために、各マウスの動脈圧を測定した (図4)。抗原投与により野生型マウスでは急激に血圧が約40mmHgまで低下し、40分以上低血圧が続いた。一方、S1P₂ノックアウトマウスでは、血圧が急激に低下し、25分以内に測定不能になった。しかしながら、S1P₂; eNOSダブルノックアウトマウスやeNOSノックアウトマウスは血圧の一時的低下が観察されたが、50分で回復した。以上の結果から、S1P₂ノックアウトマウスは深刻な循環性ショックを示し、そして、eNOS欠失は野生型マウスおよびS1P₂ノックアウトマウスのアナフィラキシー時の低血圧を防ぐことが示された (図4)⁵⁾。また、抗原投与は野生型マウスの40分間の観察中に直腸体温の低下を誘導した。S1P₂ノックアウトマウスは、野生型マウスと比較して、急激な体温低下を示し、致死する約25分間まで連続して低下した。S1P₂; eNOSダブルノックアウトマウスやeNOSノックアウトマウスは、一時的な体温低下を示したが、野生型マウスよりも低下の程度が低かった。これらの結果から、eNOS欠失は、S1P₂欠失によるアナフィラキシー時の低体温の悪化を防いでいることが示された⁵⁾。

次に、S1P₂ノックアウトマウスと野生型マウスから単離した肺微小血管内皮細胞を用いて、PAF投与によるAktとeNOSのリン酸化およびNO産生に対するS1P₂の影響を検討した⁵⁾。S1P₂ノックアウトマウスから単離した肺微小血管内皮細胞では野生型内皮細胞と比較して、PAFによるAktとeNOSのリン酸化およびNO産生が亢進していた。これらの結果から、S1P₂は、AktおよびeNOSのリン酸化の抑制を介して、血管内皮細胞でのNO産生を抑制することが示された。

さらに、PAFによる細胞間接着結合の崩壊におけるS1P₂の影響について、内皮バリア構造を構築するVE-カドヘリンおよび β -カテニンに対する抗体を用いて免疫蛍光染色を行った⁵⁾。未刺激では、S1P₂ノックアウトマウスおよび野生型マウスから単離した肺微小血管内皮細胞では細胞間接着結合が形成され、VEカドヘリンと β -カテニンが細胞間の境界に沿って連続的に局在している

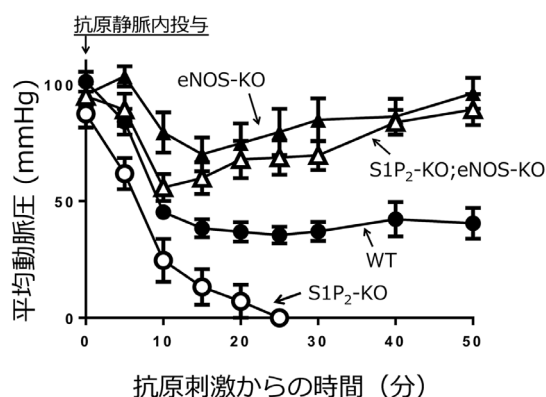


図4. eNOS 遺伝子欠損は野生型マウスおよびS1P₂ノックアウトマウスへの抗原投与後の平均動脈血圧の低下を改善する。WT, 野生型マウス; S1P₂-KO, S1P₂ノックアウトマウス; eNOS-KO, 内皮型一酸化窒素合成酵素ノックアウトマウス; S1P₂-KO; eNOS-KO, S1P₂; eNOSダブルノックアウトマウス

ことが観察された。しかし、PAF刺激によりこれらの局在が不連続になり、S1P₂欠損内皮においてこの不連続性がより増強された。また、このPAF刺激による細胞間接着結合の異常はNOS阻害薬L-NAMEにより回復した。

NOによる β -カテニンのS-ニトロシル化が β -カテニンの分解を促進し、細胞間接着結合異常を引き起こすことが報告されている⁹⁾。そこで、PAFによる β -カテニンのS-ニトロシル化に対するS1P₂の効果を検討した⁹⁾。PAF刺激では、 β -カテニンのS-ニトロシル化が認められ、S1P₂欠損内皮において増加傾向が観察された。また、L-NAME前処理は、この β -カテニンのニトロシル化を抑制した。以上の結果から、S1P₂がPAFによるNO産生を抑制することによって β -カテニンのS-ニトロシル化を阻害する結果、細胞間接着結合の崩壊を防ぐことを突き止めた。

以上の結果から、血管内皮細胞のS1P₂は、アナフィラキシー誘発メディエーターによるAkt-eNOS-NO経路活性化を抑制することによりアナフィラキシーによる血管透過性亢進に対して防御的に作用することが明らかになった(図5)⁹⁾。

Oliveraらは、アナフィラキシー誘発メディエーターであるヒスタミンの静脈内投与によるアナフィラキシーモデルにおいて、S1P₂ノックアウトマウスでは野生型マウスに比較して、ヒスタミンクリアランスの低下を伴ったアナフィラキシー反応(低体温・低血圧)からの回復が遅れることを報告している¹⁰⁾。これらの報告は、S1P₂がアナフィラキシーに対して防御的に働くことでは著者らの報告と一致するが、S1P₂の作用機構が異なる(図6)。Oliveraらは、アナフィラキシー反応の改善に血管平滑筋に発現するS1P₂を介する血管トーン調節が重要であることを示唆しており、血管内皮細胞に発現するS1P₂が血管バリア破綻を抑制することを明らかにした著者らの発見は新発見である(図5, 図6)。

一方、S1Pはアナフィラキシーで重要な役割を持つ肥満細胞に作用を及ぼすとの報告がある¹¹⁾。Fc ϵ RIによる肥満細胞の活性化(脱顆粒反応)にSphKによるS1P産生とS1P受容体の重要性が報告されている。肥満細胞は、細胞膜表面のFc ϵ RIの架橋により細胞内のSphKが活性化され、S1Pを産生、放出する(図7)。しかし、SphK1, SphK2のいずれがS1P産生に重要かについては、RNA干渉によりSphKをノックダウンした肥満細胞やSphKノックアウトマウスより単離した肥満細胞を用いた実験結果が一致しない¹¹⁾。

産生されたS1Pは細胞外に放出されてオートクリン、パラクリン様式で肥満細胞上のS1P₁, S1P₂を活性化する(図7)¹¹⁾。インビトロの解析では、S1P₂がFc ϵ RIによって誘発される脱顆粒反応に必要である。S1P₁は肥満細胞の遊走に必要であるが、Fc ϵ RIによる肥満細胞の活性化には必要ではない。

実際に、5つあるS1P受容体のうちS1P₂がヒト肥満細

胞の脱顆粒反応やサイトカイン産生に関与しており、IgE/抗原感作によるアナフィラキシーモデル(受動性免疫モデル)において、S1P₂遺伝子欠損あるいはS1P₂阻害薬投与は、野生型マウスに比べて血漿ヒスタミンレベルの上昇、低体温および肺毛細血管透過性亢進などのアナ

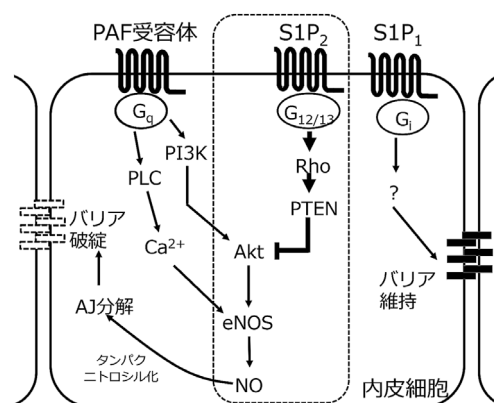


図5. S1P₂はアナフィラキシー誘発メディエーターによる急性の血管バリア破綻をAkt-eNOS-NO経路の抑制を介して阻止する。

AJ, 細胞間接着結合; PI3K, ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ; PLC, ホスホリパーゼ C; PTEN; phosphatase and tensin homologue

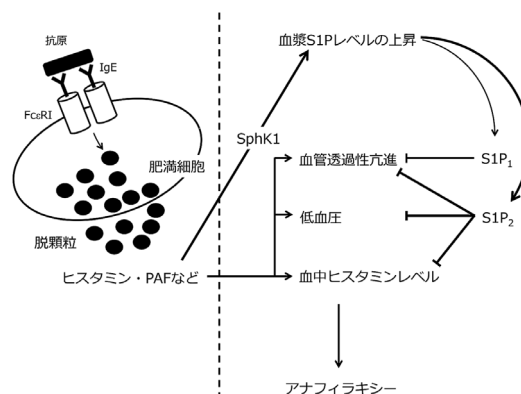


図6. S1Pによるアナフィラキシー防御作用

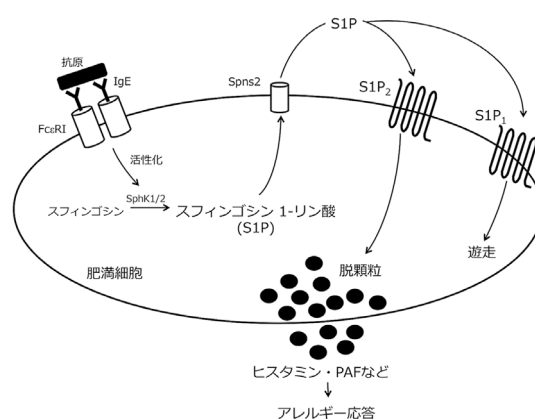


図7. S1Pによる肥満細胞活性化

フィラキシー反応が減弱することが報告されている¹²⁾。しかし、肥満細胞から脱顆粒反応より放出されるヒスタミンやPAFの静脈内投与によるアナフィラキシーモデルではアナフィラキシー反応（低体温・肺毛細血管透過性亢進）は改善しない。以上の結果から、S1P₂がS1Pによる肥満細胞活性化によるアナフィラキシーの発症に重要であり、発症後のアナフィラキシー反応（低血圧、低体温・血管透過性亢進など）には影響がない。しかしながら、この観察を説明できるS1P₂の作用機構はいまだ明らかになっていない。

おわりに

これまでの研究結果から、S1Pは血管内皮細胞のバリア機能を強化することで血管透過性に対して抑制的に働くことが知られており、このバリア機能の強化にはS1P₁が重要であることが示されてきた（図1）。しかし、著者らは、血管内皮細胞に発現するS1P₂がアナフィラキシーによる血管透過性亢進に対して防御的に作用すること、さらにこのS1P₂の作用機構として、NOによる血管内皮細胞内のタンパク質ニトロシル化のS1P₂による抑制が重要であることを明らかにした（図5）⁹⁾。以上の結果から、インビボにおいて定常時および炎症時ともに血管透過性を制御するS1P₁と比べて、S1P₂は定常時よりもアナフィラキシーなどの病的な血管透過性亢進において重要な役割を果たしていると考えられる。現在、アナフィラキシーに対する代表的な治療薬としてアドレナリン（強心・血管収縮作用）、抗ヒスタミン薬（メディエーター作用遮断）、ベータ作動薬（強心作用）などが使用されているが、S1P₂選択的アゴニストが血管バリア機能破綻の抑制という既存の治療薬とは異なる作用機構を介した新規なアナフィラキシー治療の標的となる可能性が期待される。

謝辞

本総説の執筆にあたり、研究の御指導を賜りました金沢大学医薬保健研究域医学系血管分子生理学（旧講座名：生理学第一）の多久和陽教授、ともに研究を行った大学院生崔弘さん、共同研究者の金沢医科大学生理学講座芝本利重教授、大学院生張威さん、また研究の遂行にあたり御助言を賜りました吉岡和晃先生、多久和典子先生、教室員、関係の先生方に深謝いたします。また、執筆の機会を与えてくださいました金沢大学十全医学会誌編集委員長の井関尚一教授ならびに関係の方々に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Takuwa Y, Okamoto Y, Yoshioka K, Takuwa N. Sphingosine-1-phosphate signaling in physiology and diseases. *Biofactors* 38 : 329-337, 2012
- 2) Camerer E, Regard I, Comelissen I, Srinivasan Y, Duong DN, Palmer D, Pham TH, Wong JS, Pappu R, Coughlin SR. Sphingosine-1-phosphate in the plasma compartment regulates basal and inflammation-induced vascular leak in mice. *J Clin Invest* 119 : 1871-1879, 2009
- 3) Oo ML, Chang SH, Thangada S, Wu MT, Rezaul K, Blaho V, Hwang SI, Han DK, Hla T. Engagement of S1P₁-degradative mechanisms leads to vascular leak in mice. *J Clin Invest* 121 : 2290-2300, 2011
- 4) Du W, Takuwa N, Yoshioka K, Okamoto Y, Gonda K, Sugihara K, Fukamizu A, Asano M, Takuwa Y. S1P(2), the G protein-coupled receptor for sphingosine-1-phosphate, negatively regulates tumor angiogenesis and tumor growth in vivo in mice. *Cancer Res* 70 : 772-781, 2010
- 5) Cui H, Okamoto Y, Yoshioka K, Du W, Takuwa N, Zhang W, Asano M, Shibamoto T, Takuwa Y. Sphingosine-1-phosphate receptor 2 protects against anaphylactic shock through suppression of endothelial nitric oxide synthase in mice. *J Allergy Clin Immunol* 132 : 1205-1214, 2013
- 6) Sugimoto N, Takuwa N, Okamoto H, Sakurada S, Takuwa Y. Inhibitory and stimulatory regulation of Rac and cell motility by the G_{12/13}-Rho and G_i pathways integrated downstream of a single G protein-coupled sphingosine-1-phosphate receptor isoform. *Mol Cell Biol* 23 : 1534-1545, 2003
- 7) Duran WN, Breslin JW, Sanchez FA. The NO cascade, eNOS location, and microvascular permeability. *Cardiovasc Res* 87 : 254-261, 2010
- 8) Cauwels A, Janssen B, Buys E, Sips P, Brouckaert P. Anaphylactic shock depends on PI3K and eNOS-derived NO. *J Clin Invest* 116 : 2244-2251, 2006
- 9) Thibeault S, Rautureau Y, Oubaha M, Faubert D, Wilkes BC, Delisle C, Gratton JP. S-nitrosylation of β -catenin by eNOS-derived NO promotes VEGF-induced endothelial cell permeability. *Mol Cell* 39 : 468-476, 2010
- 10) Olivera A, Eisner C, Kitamura Y, Dillahun S, Allende L, Tuymetova G, Watford W, Meylan F, Diesner SC, Li L, Schnermann J, Proia RL, Rivera J. Sphingosine kinase 1 and sphingosine-1-phosphate receptor 2 are vital to recovery from anaphylactic shock in mice. *J Clin Invest* 120 : 1429-1440, 2010
- 11) Olivera A, Rivera J. An emerging role for the lipid mediator sphingosine-1-phosphate in mast cell effector function and allergic disease. *Adv Exp Med Biol* 716 : 123-142, 2011
- 12) Oskeritzian CA, Price MM, Hait NC, Kapitonov D, Falanga YT, Morales JK, Ryan JJ, Milstien S, Spiegel S. Essential roles of sphingosine-1-phosphate receptor 2 in human mast cells activation, anaphylaxis, and pulmonary edema. *J Exp Med* 207 : 465-474, 2010