

乳癌における脂質メディエーターの 役割解明と治療応用を目指して



名古屋大学大学院医学系研究科

病態外科学講座 乳腺・内分泌外科学分野

教授 永橋 昌幸

はじめに

癌が周囲組織へ浸潤し、リンパ節や遠隔臓器へ転移する機序を理解することは、手術や薬物療法を含めた治療戦略を考える上で重要である。中でも乳癌では、リンパ行性転移は代表的な進展様式であり、病期や予後とも密接に関連することから、その分子機構の解明は重要な課題となっている。従来、リンパ行性転移は癌細胞がリンパ流に乗ってリンパ節へ到達する過程として理解されてきた。リンパは、免疫細胞やサイトカインに加え、脂質を運搬する体液でもあり、リンパの流れは同時に脂質シグナル分子の流れでもある。

スフィンゴシン-1-リン酸(sphingosine-1-phosphate: S1P)は、その代表的な脂質シグナル分子である¹⁾。S1Pは細胞の増殖や遊走、血管新生、リンパ管新生、炎症、免疫調節など多彩な生理機能を制御する脂質メディエーターとして知られている²⁾⁻⁴⁾。さらに、癌細胞内の脂質代謝に寄与し、癌と血管・リンパ管・免疫細胞を含む周囲の腫瘍微小環境との相互作用を結び付ける中心的なメディエーターとして機能することから、近年では乳癌を含む癌の浸潤・転移、とくにリンパ行性転移を理解する上で重要な分子として注目されている^{5)、6)}。

本総説では、S1P情報伝達系に関わる基礎生物学を概説し、乳癌におけるリンパ行性転移との関連性を中心に、腫瘍微小環境や炎症と癌との相互作用、そしてS1Pのバイオマーカーや治療標的としての臨床応用の可能性について、最新の知見を交えながら概説する。

S1Pの産生とシグナル伝達

S1Pは、細胞膜の主要構成成分であるスフィンゴ脂質の代謝過程で産生される生理活性脂質であ

る⁷⁾。細胞膜由来のセラミドから生成されたスフィンゴシンが、スフィンゴシンキナーゼ(sphingosine kinase: SphK)1またはSphK2によってリン酸化されることでS1Pが産生される⁷⁾。SphK1は主に細胞質に存在し、増殖因子、炎症性サイトカイン、ホルモンなどの刺激を受けると細胞膜近傍へ移行してS1Pを産生する。一方、SphK2は主に核、小胞体、ミトコンドリアなどの細胞内小器官に局在し、SphK2によって産生されたS1Pは遺伝子発現や代謝制御などに関わっており、SphK1によって産生されたS1Pとは異なる細胞内機能を担うことが知られている⁸⁾。

S1Pは極性の高いリン酸基を有するため、細胞膜自体を自由に通過することができない。細胞膜近傍でSphK1によって産生されたS1Pは、ABCC1、ABCG2、Spns2 (Spinster homolog 2)などの膜輸送体を介して細胞外へ放出される⁹⁾。乳癌細胞では、SphK1が高発現しており、細胞質内で産生されたS1Pは、エストロゲン刺激によりABCC1およびABCG2を介して放出が促進されることが報告されている¹⁰⁾。さらにABCC1およびABCG2を介して放出されたS1PはSphK1を刺激し、S1P産生を増幅する正のフィードバック機構が働く可能性も示されている¹¹⁾。Spns2もS1Pの主要な輸送体であるが、特にリンパ管内皮細胞で高発現しており、リンパ液中の高いS1P濃度を維持することで、T細胞やB細胞のリンパ節からの遊走を制御する¹²⁾。

細胞外へ放出されたS1Pは、細胞自身や血管内皮細胞、リンパ管内皮細胞、免疫細胞などに発現する5種類のGタンパク質共役型受容体(S1PR1-5)へ結合し、オートクラインあるいはパラクライン様式で多彩な生物学的作用を発揮す

る¹³⁾。このように、細胞内で産生された S1P が細胞外へ放出され、細胞表面受容体を介して情報を伝達するという特徴的な作用様式は inside-out signaling (図 1) と呼ばれ、S1P シグナルを特徴づける基本概念となっている¹⁴⁾。このシグナルは、細胞増殖、生存、遊走、血管・リンパ管新生、炎症、免疫応答などを制御している。特に癌においては、S1P は癌細胞の増殖・浸潤・転移だけでなく、周囲の微小環境の形成にも重要な役割を果たす¹³⁾。

S1P の作用は、どの受容体を介するかによって大きく異なる¹⁴⁾。S1PR1 はリンパ球の体内循環や血管内皮の恒常性維持に必須であり、炎症反応や血管新生にも深く関与する。乳癌では、肥満関連の転移促進や免疫抑制性腫瘍微小環境の形成への関与が報告されている。一方、S1PR3 は乳癌細胞の増殖・浸潤に加え、乳癌幹細胞様細胞の維持にも関与する可能性が示されている。これに対し、S1PR2 は細胞種や病態によって異なる作用を示し、S1PR1 や S1PR3 とは逆に細胞遊走を抑制する方向に働く場合があることも報告されている。S1PR4 および S1PR5 については免疫細胞での機能が明らかになりつつあるものの、乳癌における役

割はなお十分に解明されておらず、今後の研究が期待される。

このように、S1P シグナルはどこで産生され、どこへ放出され、どの受容体を介して作用するかによって、その生理作用が異なる。さらに、生体内では S1P は一様に分布しているわけではなく、血液、リンパ液、組織間で特徴的な濃度勾配が形成されており、免疫細胞の移動や腫瘍微小環境の形成に重要な役割を果たしている。

S1P 濃度勾配と腫瘍微小環境

S1P の生理作用を理解する上で重要なのは、生体内に形成される S1P の濃度勾配である。S1P は血液中で高濃度に存在し、リンパ液中では血液より低いものの、末梢組織より高い濃度に維持されている¹⁵⁾。末梢組織では S1P リアーゼやホスファターゼなどの分解酵素が高発現しているため、S1P は速やかに分解される。その結果、生体内には血液 > リンパ液 > 末梢組織という特徴的な S1P の濃度勾配が形成されている。この濃度勾配は、免疫細胞の体内循環を制御する基本的な仕組みとして機能する。リンパ球は S1PR1 を介して周囲の S1P 濃度を感知し、高濃度の S1P が存在

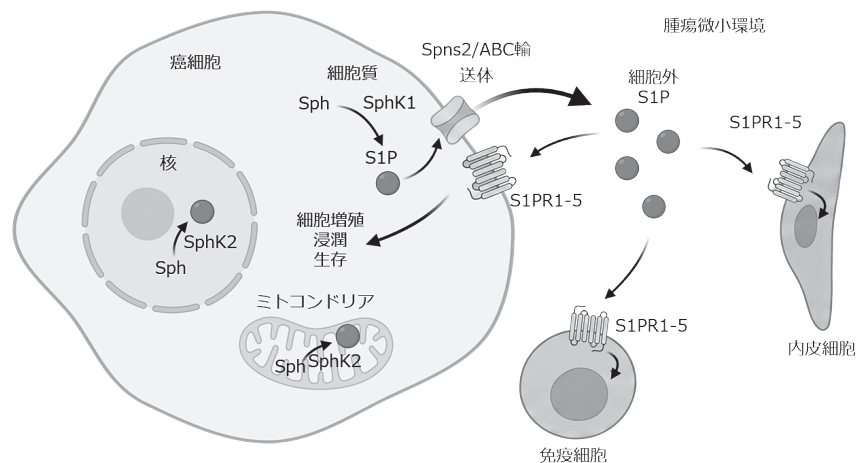


図 1. S1P における inside-out signaling の概略

スフィンゴ脂質代謝経路において、スフィンゴシン (Sph) はスフィンゴシンキナーゼ (SphK1, SphK2) によってリン酸化され、スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) が産生される。細胞質で産生された S1P は S1P 輸送体 (Spns2 や ABC 輸送体など) を介して細胞外へ放出され、細胞膜上の S1P 受容体 (S1PR1-5) に作用することで、細胞増殖、浸潤、生存などのシグナルを誘導する。また、核内やミトコンドリア内では、SphK2 によって S1P が産生され、遺伝子発現などの細胞機能を制御する。これらの S1P シグナルは、オートクライン、パラクライン様式で腫瘍免疫微小環境にも影響を及ぼし、癌の進展に関与する。S1P, sphingosine-1-phosphate; Sph, sphingosine; SphK, sphingosine kinase; S1PR, sphingosine-1-phosphate receptor; Spns2, spinster homolog 2; ABC 輸送体, ATP-binding cassette transporter

する血液側へ移動することで、胸腺やリンパ節などの2次リンパ装置から末梢循環へ移出する。この機構はリンパ球の恒常的な循環に不可欠であり、S1Pシグナルの生理的重要性を示す一例である。多発性硬化症治療薬である fingolimod (FTY720) は、生体内でリン酸化された後、S1PR1の機能的アンタゴニストとして作用する。FTY720によって、リンパ球はS1P濃度勾配を認識できなくなり、リンパ節内に保持されるため、末梢血リンパ球数は減少し、炎症が抑制される。この作用機序は、S1P濃度勾配が免疫細胞の移動を制御していることを示す代表的な臨床的エビデンスである。

近年では、このS1P濃度勾配が免疫細胞のみならず、癌細胞と腫瘍微小環境との相互作用にも重要な役割を果たすことが明らかになってきた。腫瘍局所におけるS1P濃度を正確に評価することは、S1Pが関与する癌の病態生理を理解する上で重要である。私たちは、質量分析法を用いてマウスのリンパ液中のS1Pを定量し、リンパ液中のS1P濃度が血漿より低く、正常組織より有意に高いことを明らかにした¹⁵⁾。さらに、マウスおよびヒトの乳腺・乳癌組織から間質液を収集し、微量の間質液中S1Pを定量する手法を確立した¹⁶⁾。間質液は癌細胞、線維芽細胞、血管・リンパ管内皮細胞、免疫細胞を直接取り囲む細胞外環境であり、そこに存在するS1Pは細胞表面のS1P受容体へ直接作用する生理学的に重要な分画である。実際、乳癌組織由来の間質液は正常乳腺組織由来の間質液よりS1P濃度が有意に高く、腫瘍局所で産生・放出されたS1Pが微小環境の形成に関与していることが示唆された¹⁶⁾。

このように、S1P濃度勾配は免疫細胞の動態を制御する生理的機構であると同時に、乳癌では癌細胞と周囲組織との相互作用に関わる重要な要素でもある。こうした局所におけるS1P動態の理解は、次に述べる血管新生、リンパ管新生、さらにはリンパ節転移の分子機構を理解する基盤となる。

S1Pによる血管新生・リンパ管新生とリンパ節転移

腫瘍が増殖し転移能を獲得するためには、癌細胞自身の増殖だけでなく、血管やリンパ管新生を伴う腫瘍微小環境の再構築が重要である。S1Pは、

この過程を制御する代表的な脂質メディエーターの一つであり、血管新生とリンパ管新生の双方を促進することで、腫瘍増殖とリンパ行性転移に寄与している。

乳癌移植マウスでは、正常マウスと比較して乳腺組織内および血中のS1P濃度が有意に上昇する¹⁷⁾。癌細胞でSphK1により産生されたS1Pは、血管内皮細胞およびリンパ管内皮細胞へ作用して血管新生・リンパ管新生を促進し、腫瘍への栄養供給を増加させるとともに、癌細胞がリンパ管へ侵入しやすい環境を形成する¹⁷⁾。このマウスモデルに、SphK1阻害薬SK1-Iを投与すると、腫瘍内S1P濃度の低下に伴い、腫瘍増殖、血管・リンパ管新生、およびリンパ節転移がいずれも抑制されることが報告されている¹⁷⁾。これらの結果は、S1Pが癌細胞の増殖を促進するだけでなく、リンパ行性転移に関わる腫瘍微小環境の形成にも役割を担っていることを示している。

S1Pによるリンパ管新生は、リンパ管内皮細胞への直接作用によるものだけでなく、S1Pは腫瘍関連マクロファージ (tumor-associated macrophage: TAM) の浸潤や活性化を促進し、VEGF-Cをはじめとするリンパ管新生関連因子や炎症性サイトカインの産生を誘導することで、間接的にもリンパ管新生を増強すると考えられている¹⁸⁾。このようにS1Pは、癌細胞、リンパ管内皮細胞、および免疫細胞の相互作用を仲介し、リンパ節転移に適した腫瘍微小環境を形成するハブ分子として機能している¹⁸⁾。

これらの実験結果は、ヒト乳癌組織においても支持されている。私たちは、乳癌組織では非癌部と比較してS1Pを含むスフィンゴ脂質濃度が有意に上昇していることを明らかにした¹⁹⁾。また、SphK1の活性化型であるリン酸化SphK1 (pSphK1) の発現は、腫瘍内S1P濃度と正の相関を示すだけでなく、リンパ節転移とも有意に関連していた²⁰⁾。これらの知見は、SphK1-S1P経路の活性化がヒト乳癌におけるリンパ行性転移と密接に関連していることを示唆する臨床的エビデンスである。

炎症・肥満と転移前ニッチ形成

慢性炎症は、発癌のみならず癌の進展や転移を促進する重要な病態基盤である。近年、S1Pシグナルは炎症反応と癌進展を結び付ける重要な分子

として注目されている。炎症性腸疾患関連大腸癌マウスモデルでは、SphK1-S1P-S1PR1経路がNF- κ B、IL-6、およびSTAT3を連結する正のフィードバック回路を形成し、炎症と腫瘍増殖とを持続させることが示されている²¹⁾。すなわち、S1PによるNF- κ B活性化がIL-6産生を促進し、IL-6によって活性化されたSTAT3がS1PR1発現を誘導することでS1Pシグナルがさらに増幅される。この自己増幅機構は、炎症性サイトカインの産生と腫瘍促進シグナルを持続させ、腫瘍微小環境の形成に寄与すると考えられている。

肥満は、このような慢性炎症を背景とする代表的な病態であり、閉経後乳癌の発症リスクや予後不良、遠隔転移との関連が知られている。肥満では脂肪組織へのマクロファージ浸潤や炎症性サイトカイン産生が亢進するとともに、SphK1-S1P経路も活性化される²²⁾。実際に、肥満を伴う乳癌患者では血中S1P濃度が上昇し、高脂肪食負荷マウスでは腫瘍組織のみならず、血液、腫瘍間質液、および肺においてもS1P濃度の上昇が認められている²²⁾。

近年、この全身的なS1Pシグナルの亢進が転移前ニッチ（pre-metastatic niche）の形成に関与することが明らかになってきた。転移前ニッチとは、癌細胞が遠隔臓器へ到達する以前から、原発巣由来の液性因子や炎症反応によって形成される転移を受け入れやすい微小環境を指す。高脂肪食負荷乳癌マウスモデルでは、腫瘍由来S1Pが肺におけるマクロファージ浸潤とIL-6産生を促進し、炎症性微小環境を形成することで肺転移前ニッチを構築し、その結果、肺転移が有意に促進されることが示されている²²⁾。一方、マウスモデルにおいてFTY720は、肺におけるIL-6発現、マクロファージ浸潤、およびS1Pシグナルを抑制し、肺転移を減少させることが報告されている²²⁾。これらの結果は、S1Pが腫瘍局所だけでなく、遠隔臓器の微小環境を再構築することで転移を促進することを示している。今後は、S1Pシグナルを標的とした治療が、肥満関連乳癌や転移前ニッチ形成の制御にどのように寄与するかを検証する前向き研究が期待される。

核内 S1P による転写・代謝制御

これまで述べてきたS1Pの作用の多くは、細胞外へ放出されたS1Pが細胞表面のS1P受容体を介して作用するinside-out signalingによるものである。一方、S1Pが細胞内、とくに核内においても独立したシグナル分子として機能することも明らかになってきた。

SphK2によって核内で産生されたS1Pは、ヒストン脱アセチル化酵素HDAC1およびHDAC2へ直接結合し、その活性を阻害する²³⁾。その結果、ヒストンのアセチル化が促進され、クロマチン構造や遺伝子発現が変化する。すなわち、核内S1Pは細胞表面受容体を介さず、エピジェネティック機構を介して転写を制御する。さらに肝臓では、胆汁酸によるS1PR2活性化がSphK2を介した核内S1P産生を促進し、脂質代謝や胆汁酸代謝関連遺伝子の発現を調節することが報告されている^{24)、25)}。この知見は乳癌を対象としたものではないものの、S1Pがどこで産生されるかによって、その作用機構や生理機能が大きく異なることを示している。

このように、細胞膜近傍でSphK1により産生されるS1Pは、主として細胞外受容体を介して腫瘍微小環境や細胞間相互作用を制御するのに対し、核内でSphK2により産生されるS1Pは、エピジェネティック制御や細胞代謝を担う細胞内シグナルとして機能する。乳癌における核内S1Pの役割はなお十分には解明されていないが、癌細胞の転写制御や代謝リプログラミングとの関連が今後明らかになることが期待される。

臨床応用に向けたバイオマーカー

S1Pシグナルを乳癌診療へ応用するためには、その活性を反映する信頼性の高いバイオマーカーの確立が不可欠である。しかし、S1Pは脂質であるため、通常ホルマリン固定パラフィン包埋（formalin-fixed paraffin-embedded: FFPE）標本では、脱水や有機溶媒処理の過程で組織から失われてしまうため、組織内S1Pそのものを免疫組織化学的に評価することは困難である。

そこで代替マーカーとして注目されているのが、S1P産生酵素であるSphK1、とくにその活性化型であるリン酸化SphK1（pSphK1）である。私たちは、抗pSphK1抗体を用いた免疫組織化学

により評価した pSphK1 発現が、質量分析法で定量した組織内 S1P 濃度と有意に相関することを見出した¹⁹⁾。さらに乳癌をはじめ様々な癌種において pSphK1 高発現例では、リンパ節転移が多く、また予後不良であることを報告した²⁶⁾⁻³¹⁾。これらの結果は、pSphK1 が S1P 経路活性化を反映する代替マーカーとなり得ることを示唆している。

一方で、pSphK1 は S1P そのものを直接測定する指標ではない。免疫組織化学的評価は、抗体の特異性、固定条件、染色法、判定基準、さらには腫瘍内不均一性などの影響を受けるため、臨床応用には標準化と独立コホートによる前向き検証が不可欠である。現時点では、日常診療で用いる予後予測あるいは治療効果予測バイオマーカーとして確立されるには至っていない。

血液バイオマーカーとしての S1P についても検討が進められている。エストロゲン受容体陽性乳癌では、血漿 S1P 濃度と病勢進行との関連が報告されている³²⁾。しかし、血中 S1P は赤血球や血小板からも放出されるほか、血管内皮機能、肥満、炎症、さらには採血・保存条件など多くの因子の影響を受ける。そのため、腫瘍由来 S1P と全身由来 S1P を区別できる解析法や、標準化された検体処理法の確立が今後の課題である。

組織マーカーである pSphK1 と血液中 S1P は、いずれも S1P シグナルの活性を評価する有望な候補である。しかし、診断や治療方針決定に利用できる臨床バイオマーカーとして確立するためには、測定法の標準化と前向き検証が不可欠である。

S1P を標的とした治療戦略

S1P シグナルは癌細胞の増殖・浸潤のみならず、血管・リンパ管新生、腫瘍免疫、さらには腫瘍微小環境の形成を統合的に制御している。そのため、S1P 経路は乳癌に対する新たな分子標的として期待されている。現在開発が進められている標的には、SphK1、SphK2、S1P 輸送体、細胞外 S1P、および S1P 受容体が含まれる。

SphK1 阻害薬 SKI-1 は、乳癌モデルにおいて腫瘍内 S1P 濃度を低下させ、腫瘍増殖、血管新生、リンパ管新生、およびリンパ節転移を抑制することが報告されている¹⁷⁾。また、FTY720 は、S1PR1 の内在化を誘導することで S1P シグナル

を抑制し、肥満に伴う炎症による癌進展を抑制することが示されている²²⁾。FTY720 はリンパ球をリンパ節内に保持するため、末梢血リンパ球減少や感染症リスクが抗癌剤としての臨床応用上の障壁となる。この問題を克服するため、私たちは癌細胞内に豊富に存在する反応性アルデヒドであるアクロレインを利用し、腫瘍局所で選択的に FTY720 を放出するプロドラッグ pro-FTY を開発した(図 2)³³⁾。pro-FTY は、複数の乳癌細胞株、多剤耐性乳癌細胞、および患者由来オルガノイドの増殖を抑制するとともに、同種移植モデルおよび患者由来異種移植 (PDX) モデルにおいても高い抗腫瘍効果を示し、通常の FTY720 で問題となるリンパ球減少を回避した³³⁾。これらの結果は、全身の S1P シグナルを過度に抑制することなく、腫瘍局所のみを選択的に標的化できる可能性を示している。

このほか、SphK 阻害薬 safinolol、SphK2 阻害薬 opaganib、および抗 S1P 抗体 sonenpcizumab については、乳癌以外の固形癌や血液腫瘍を対象とした早期臨床試験が実施されている³⁴⁾⁻³⁶⁾。しかし、現在のところ、S1P 経路を標的として承認された抗癌薬は存在しない。S1P 標的治療を乳癌の転移抑制や予後改善へ応用するためには、S1P 経路への依存性が高い患者集団を同定するバイオマーカーの確立とともに、免疫機能への影響を最小限に抑えた治療戦略の開発が重要となる。とくに、腫瘍局所のみで S1P シグナルを選択的に制御するアプローチは、今後の臨床応用に向けた有望な方向性と考えられる。

おわりに

S1P は、乳癌細胞の増殖や浸潤のみならず、血管新生、リンパ管新生、リンパ節転移、肥満関連炎症、転移前ニッチ形成、腫瘍免疫、さらには転写・代謝制御までを統合的に制御する脂質メディエーターである。本総説で概説したように、S1P は癌細胞のみならず、血管・リンパ管内皮細胞、免疫細胞、および腫瘍間質を含む腫瘍微小環境全体へ作用し、乳癌のリンパ行性転移を促進する重要な分子基盤を形成している。

S1P は正常な免疫機能や血管・リンパ管恒常性の維持にも不可欠であるため、その臨床応用には

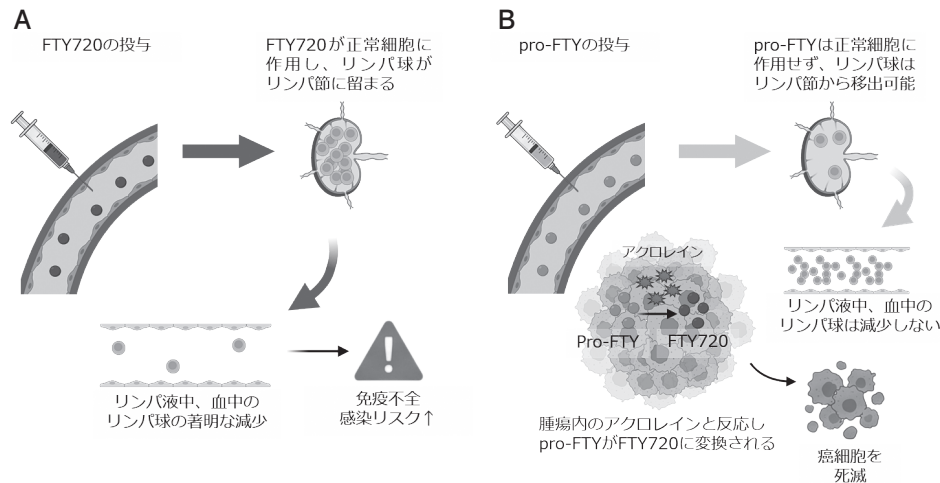


図2. FTY720と癌細胞特異的 S1P 阻害薬 pro-FTY の作用様式

A. FTY720を経静脈的に投与すると、リンパ節にリンパ球が閉じ込められ、リンパ管内および血中のリンパ球が著明に減少し、免疫不全の可能性が高まる。このため、FTY720は抗腫瘍薬としては不向きである。

B. pro-FTY を経静脈的に投与すると、癌細胞では脂質過酸化に伴いアルデヒド化合物アクロレインが高濃度に産生されるため、pro-FTY はアクロレインと反応することで活性型 FTY720を放出するよう設計されている。この機構により、正常細胞では不活性のまま維持されることで、リンパ節内のリンパ球には作用せず、リンパ管内や血中のリンパ球数は減少しない。FTY720, fingolimod ; pro-FTY, prodrug-FTY720

慎重な戦略が求められる。今後は、S1P シグナルへの依存性が高い患者集団を同定するバイオマーカーの確立とともに、pro-FTY に代表される腫瘍選択的S1P 標的治療の臨床開発が期待される。S1P シグナルの理解をさらに深めることは、乳癌のリンパ行性転移の制御のみならず、腫瘍微小環境を標的とした新たな治療戦略の創出、さらには個別化医療の実現につながるものと期待される。

文献

- 1) Spiegel S, Milstien S : Sphingosine-1-phosphate : an enigmatic signalling lipid. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003 ; 4 : 397-407.
- 2) Nagahashi M, Abe M, Sakimura K, et al : The role of sphingosine-1-phosphate in inflammation and cancer progression. *Cancer Sci* 2018 ; 109 : 3671-3678.
- 3) Takabe K, Yamada A, Rashid OM, et al : Twofer anti-vascular therapy targeting sphingosine-1-phosphate for breast cancer. *Gland Surgery* 2012 ; 1 : 80-83.
- 4) Aoyagi T, Nagahashi M, Yamada A, et al : The role of sphingosine-1-phosphate in breast cancer tumor-induced lymphangiogenesis. *Lymphat Res Biol* 2012 ; 10 : 97-106.
- 5) Huang WC, Nagahashi M, Terracina KP, et al : Emerging Role of Sphingosine-1-phosphate in Inflammation, Cancer, and Lymphangiogenesis. *Biomolecules* 2013 ; 3.
- 6) Nagahashi M, Miyoshi Y : Targeting Sphingosine-1-Phosphate Signaling in Breast Cancer. *Int J Mol Sci* 2024 ; 25.
- 7) Nagahashi M, Hait NC, Maceyka M, et al : Sphingosine-1-phosphate in chronic intestinal inflammation and cancer. *Adv Biol Regul* 2014 ; 54 : 112-120.
- 8) Nagahashi M, Yuza K, Hirose Y, et al : The roles of bile acids and sphingosine-1-phosphate signaling in the hepatobiliary diseases. *J Lipid Res* 2016 ; 57 : 1636-1643.
- 9) Takabe K, Spiegel S : Export of sphingosine-1-phosphate and cancer progression. *J Lipid Res* 2014 ; 55 : 1839-1846.
- 10) Takabe K, Kim RH, Allegood JC, et al : Estradiol induces export of sphingosine 1-phosphate from breast cancer cells via ABCC1 and ABCG2. *J Biol Chem* 2010 ; 285 : 10477-10486.
- 11) Yamada A, Nagahashi M, Aoyagi T, et al : ABCC1-Exported Sphingosine-1-phosphate, Produced by Sphingosine Kinase 1, Shortens Survival of Mice and Patients with Breast Cancer. *Mol Cancer Res* 2018.
- 12) Nagahashi M, Kim EY, Yamada A, et al : Spns2, a transporter of phosphorylated sphingoid bases, regulates their blood and lymph levels, and the lymphatic network. *FASEB J* 2013 ; 27 : 1001-1011.
- 13) Nagahashi M, Takabe K, Terracina KP, et al :

- Sphingosine-1-phosphate transporters as targets for cancer therapy. *Biomed Res Int* 2014 ; 2014 : 651727.
- 14) Takabe K, Paugh SW, Milstien S, et al : "Inside-out" signaling of sphingosine-1-phosphate : therapeutic targets. *Pharmacol Rev* 2008 ; 60 : 181-195.
 - 15) Nagahashi M, Yamada A, Aoyagi T, et al : Sphingosine-1-phosphate in the lymphatic fluid determined by novel methods. *Heliyon* 2016 ; 2 : e00219.
 - 16) Nagahashi M, Yamada A, Miyazaki H, et al : Interstitial Fluid Sphingosine-1-Phosphate in Murine Mammary Gland and Cancer and Human Breast Tissue and Cancer Determined by Novel Methods. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2016 ; 21 : 9-17.
 - 17) Nagahashi M, Ramachandran S, Kim EY, et al : Sphingosine-1-phosphate produced by sphingosine kinase 1 promotes breast cancer progression by stimulating angiogenesis and lymphangiogenesis. *Cancer Res* 2012 ; 72 : 726-735.
 - 18) Nakajima M, Nagahashi M, Rashid OM, et al : The role of sphingosine-1-phosphate in the tumor microenvironment and its clinical implications. *Tumour Biol* 2017 ; 39 : 1010428317699133.
 - 19) Nagahashi M, Tsuchida J, Moro K, et al : High levels of sphingolipids in human breast cancer. *J Surg Res* 2016 ; 204 : 435-444.
 - 20) Tsuchida J, Nagahashi M, Nakajima M, et al : Breast cancer sphingosine-1-phosphate is associated with phospho-sphingosine kinase 1 and lymphatic metastasis. *J Surg Res* 2016 ; 205 : 85-94.
 - 21) Liang J, Nagahashi M, Kim EY, et al : Sphingosine-1-phosphate links persistent STAT3 activation, chronic intestinal inflammation, and development of colitis-associated cancer. *Cancer Cell* 2013 ; 23 : 107-120.
 - 22) Nagahashi M, Yamada A, Katsuta E, et al : Targeting the SphK1/S1P/S1PR1 axis that links obesity, chronic inflammation and breast cancer metastasis. *Cancer Res* 2018 ; 78 : 1713-1725.
 - 23) Hait NC, Allegood J, Maceyka M, et al : Regulation of histone acetylation in the nucleus by sphingosine-1-phosphate. *Science* 2009 ; 325 : 1254-1257.
 - 24) Studer E, Zhou X, Zhao R, et al : Conjugated bile acids activate the sphingosine-1-phosphate receptor 2 in primary rodent hepatocytes. *Hepatology* 2012 ; 55 : 267-276.
 - 25) Nagahashi M, Takabe K, Liu R, et al : Conjugated bile acid-activated S1P receptor 2 is a key regulator of sphingosine kinase 2 and hepatic gene expression. *Hepatology* 2015 ; 61 : 1216-1226.
 - 26) Hanyu T, Nagahashi M, Ichikawa H, et al : Expression of phosphorylated sphingosine kinase 1 is associated with diffuse type and lymphatic invasion in human gastric cancer. *Surgery* 2018 ; 163 : 1301-1306.
 - 27) Yuza K, Nagahashi M, Shimada Y, et al : Upregulation of phosphorylated sphingosine kinase 1 expression in colitis-associated cancer. *J Surg Res* 2018 ; 231 : 323-330.
 - 28) Hirose Y, Nagahashi M, Katsuta E, et al : Generation of sphingosine-1-phosphate is enhanced in biliary tract cancer patients and is associated with lymphatic metastasis. *Sci Rep* 2018 ; 8 : 10814.
 - 29) Nemoto M, Ichikawa H, Nagahashi M, et al : Phospho-Sphingosine Kinase 1 Expression in Lymphatic Spread of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *J Surg Res* 2019 ; 234 : 123-131.
 - 30) Miura K, Nagahashi M, Prasoon P, et al : Dysregulation of sphingolipid metabolic enzymes leads to high levels of sphingosine-1-phosphate and ceramide in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2021 ; 73 : 614-626.
 - 31) Nagaro H, Ichikawa H, Takizawa K, et al : Clinical Significance of Phosphorylated Sphingosine Kinase 1 Expression in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Anticancer Res* 2023 ; 43 : 3969-3977.
 - 32) Ikarashi M, Tsuchida J, Nagahashi M, et al : Plasma Sphingosine-1-Phosphate Levels Are Associated with Progression of Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer. *Int J Mol Sci* 2021 ; 22.
 - 33) Nagahashi M, Komatsu M, Urano S, et al : An Acrolein-Based Drug Delivery System Enables Tumor-Specific Sphingosine-1-Phosphate Targeting in Breast Cancer without Lymphocytopenia. *Cancer Res Commun* 2025 ; 5 : 981-993.
 - 34) Dickson MA, Carvajal RD, Merrill AH, Jr., et al : A phase I clinical trial of safinolol in combination with cisplatin in advanced solid tumors. *Clin Cancer Res* 2011 ; 17 : 2484-2492.
 - 35) Britten CD, Garrett-Mayer E, Chin SH, et al : A Phase I Study of ABC294640, a First-in-Class Sphingosine Kinase-2 Inhibitor, in Patients with Advanced Solid Tumors. *Clin Cancer Res* 2017 ; 23 : 4642-4650.
 - 36) Companioni O, Mir C, Garcia-Mayea Y, et al : Targeting Sphingolipids for Cancer Therapy. *Front Oncol* 2021 ; 11 : 745092.