

# 疾病の発症、進行におけるリン脂質因子の生体内動態解析

佐々木 雄彦

## 研究のねらい

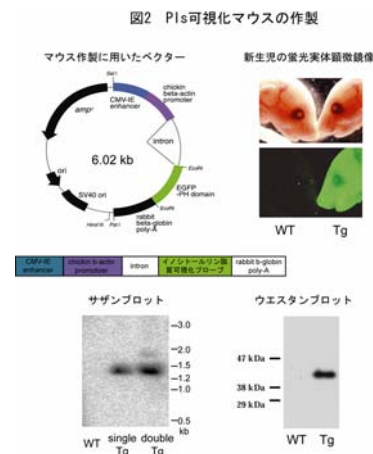
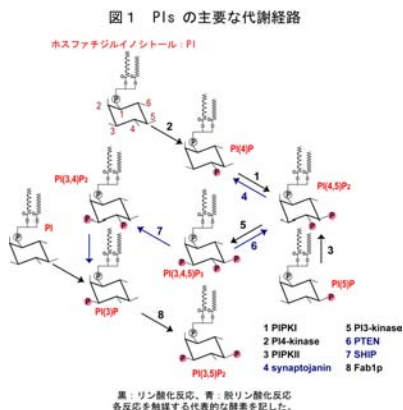
リン脂質の一種であるホスファチジルイノシトールは、細胞内情報伝達において重要な役割を果たす。そのイノシトール環水酸基がリン酸化を受けることで、イノシトールリン脂質と総称される 7 種類の代謝産物が派生する。これらは固有の機能を有する生理活性脂質であることが、主に試験管レベル、培養細胞レベルの研究から明らかになっている。本研究では、新規イノシトールリン脂質代謝酵素欠損マウスの作製・表現型解析を行うことによってイノシトールリン脂質代謝系の病態生理的な役割を明らかにするとともに、生体内でのイノシトールリン脂質動態解析を可能とするトランスジェニックマウスを開発する。これらのマウスを用いて、がん、免疫疾患、アレルギー等におけるイノシトールリン脂質代謝の病態生理的役割を理解し、病態発生の原因となる細胞機能異常の発現機構をリン脂質動態の側面から解明することを旨とした。

## 研究成果

### ホスホイノシチド可視化マウスの開発

#### 背景

イノシトールリン脂質(ホスホイノシチド:PIs)はホスファチジルイノシトールのリン酸化代謝産物の総称である(図 1)。これらは細胞膜の構成成分であり、ホルモン、増殖・分化因子、神経伝達物質、走化性因子などの細胞外情報分子による細胞の活性化に伴い、その代謝回転が亢進する。そして個々の PIs の量的な変動や細胞内局在の変化が、様々な細胞生理応答の発現を仲介する。我々はこれまでに複数の PIs 代謝酵素遺伝子欠損マウスを世界に先駆けて作製し、PIs リン酸化酵素や脱リン酸化酵素の欠損ががん、免疫不全、糖代謝異常、骨代謝異常、心機能異常など幅広い疾病を導くことを見出している<sup>1~18)</sup>。



いくつかの PIs 代謝酵素(遺伝子、タンパク質)と様々な疾病との関連が示されている一方で、どの PIs(脂質)が如何にして細胞機能を制御し、PIs 代謝酵素欠損により導かれる病態に如何にして関与するのかという点は明らかではない。図1に示したうに個々の PIs の代謝は複雑に連関しており、ある酵素が触媒する反応の基質も生成物も共に生理活性脂質である。よって、ある酵素の欠損は基質、生成物以外の PIs の量的変動や局在変化をも同時に導き、これが表現型の主たる原因となる可能性も考えられる。

疾病の発症を担う PIs の特定のためには、遺伝子欠損マウスでの表現型解析と、機能異常を呈する細胞内での個々の PIs 動態解析を並行して行うことが有益な情報を与えるものと期待される。しかし、これには技術的な障害がある。従来の PIs 動態解析は主に、細胞をラジオアイソトープラベル後に破壊し、抽出した脂質のクロマトグラフィー分析によりなされている。この方法では個体レベルでの解析が現実的に不可能であり、仮に個体をラジオアイソトープラベルして臓器からの抽出脂質を解析したとしても、臓器・組織を構成する様々な細胞(例えば各種の分化細胞同士あるいは正常細胞とがん細胞)での PIs 動態を個別に解析、比較することは不可能である。また、培養細胞レベルでの解析においても従来の生化学的手法では、細胞の破壊により脂質の細胞内局在に関する情報が失われてしまうという欠点があり、煩雑な操作は数秒単位での時間的变化を解析することも妨げている。最近、種々のタンパク質に見いだされている PIs 結合モジュールと緑色蛍光タンパク質(GFP)との融合タンパク質を PIs 可視化プローブとして、PIs の時空的動態解析が行われている。この手法は培養細胞株では極めて有効であるものの、より生理的で多様な応答を解析することが出来る初代培養細胞や個体内で臓器を構成する細胞においては、プローブの利用に必要な、非侵襲的で効率的な遺伝子導入が困難であることが障害となっている。

本研究では、PIs の可視化プローブを発現するトランスジェニックマウス(PIs 可視化マウス)を作製した。この改良により、非侵襲的に PIs 可視化プローブが導入された生体資料を簡単に調整でき、個体を構成する全ての細胞種での PIs 代謝解析が可能となり、様々な内在性あるいは外来性の物質が PIs 動態に与える作用を、時間的、空間的な側面からも明らかにできると期待できる。遺伝子導入動物をマウスとすることで、従来得られている多数の病態モデルマウス、PIs 代謝酵素欠損マウスでの病態発症における PIs 動態の意義を明らかにすることが期待される。

### PIs 可視化マウスの作製

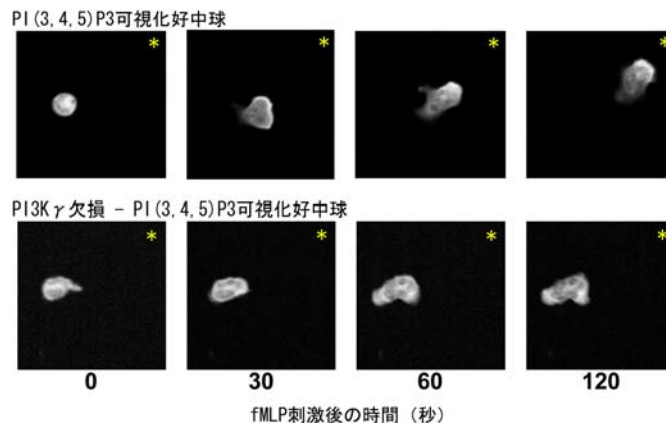
GFP-PKB-PH(PI(3,4,5)P3 可視化プローブ)、GFP-Btk-PH(PI(3,4,5)P3 可視化プローブ)、GFP-PLC  $\delta$  1-PH(PI(4,5)P2 可視化プローブ)、GFP-TAPP2-PH(PI(3,4)P2 可視化プローブ)、GFP-EEA1-FYVE(PI(3)P 可視化プローブ)を発現する5種類の PIs 可視化マウスを樹立した(国内特許出願)。いずれの系統においても、全身性に恒常的な発現を導く pCAGGS ベクターを用いた。PI(3,4,5)P3 可視化マウス(PKB-PH-GFP のトランスジェニックマウス)を例として具体的なデータを示す(図2)。蛍光陽性の子孫マウスを得て、常法に従いゲノム DNA を精製し、GFP プローブによるサザンブロットを行い、トランスジーン導入を確認した。トランスジーン産物の発現は好中球の細胞

溶解液を用いて抗 GFP 抗体によるウエスタンブロットを行い、確認した。また、各種臓器における発現を、凍結組織切片を蛍光顕微鏡で観察することで行った。系統によって発現分布は異なるが、ほとんどの臓器・組織でプローブの発現を示す系統がいくつか得られた。

### PIs 可視化マウス由来好中球を用いた遊走制御機構の解析結果

好中球は細菌感染宿主応答や炎症反応において主要な役割を担う。PI(3,4,5)P3 可視化マウス由来好中球を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。無刺激状態の細胞では、蛍光プローブの局在は細胞質に見られたことから、PI(3,4,5)P3 は細胞膜に極微量しか存在しないと考えられた。10  $\mu$ M fMLP 刺激後数秒において、蛍光プローブの形質膜への移行が検出されたこと、また、この移行が PI3K 阻害剤である wortmannin (300 nM) 前処理細胞においては観察されないことから、この PI(3,4,5)P3 可視化トランスジェニックマウス由来好中球を用いて、走化性因子刺激に伴い極めて迅速に細胞内で産生される PI(3,4,5)P3 を検出することが可能であることが示された。マイクロピペットに fMLP を充填し、細胞近傍にて緩やかに放出することで、走化性因子の濃度勾配を形成させた場合(図3の \* がピペットの位置)、走化性因子を感知して形態的に極性化した細胞では、蛍光プローブは形質膜へと移行していた。走化性因子依存的に細胞内に産生された PI(3,4,5)P3 は、高濃度の走化性因子へと遊走中の好中球における先導端(細胞の進行方向前端)に局在することが示された。

図3 遊走好中球先導端でのPI(3,4,5)P3の局在化



我々は PI(3,4,5)P3 産生酵素である phosphoinositide 3-kinase (PI3K)  $\gamma$  の欠損マウスを以前作製し解析した結果、このマウスでは腹腔内感染に伴う好中球、マクロファージなどの食細胞の集積が抑制されること、footpad での LCM ウイルス感染に伴う T 細胞集積が減弱すること、病態の成立に好中球の集積が鍵となるエンドトキシンによる急性肺炎が軽減されることなどを見出した。これまで、遊走中の好中球において PI(3,4,5)P3 の動態を時間的・空間的に記述することは、単離した好中球においては不可能であった。それは外来の DNA やタンパク質の好中球への導入が、種々のウイルス発現系やマイクロインジェクションなどのいかなる方法をとっても、これまで不可能であったからである。そこで、PI3K  $\gamma$  欠損マウスを PI(3,4,5)P3 可視化マウスと交配し、好中球を調製し、走化性因子の濃度勾配に暴露したところ、PI3K  $\gamma$  欠損好中球では PI(3,4,5)P3 の局在化は認められなかった。

このことから、遊走細胞の先端端に局在する PI(3,4,5)P3 は PI3K  $\gamma$  によって産生されるものであることが明らかになった(図 3 下段)。

SHIP1 は PI(3,4,5)P3 の脱リン酸化酵素である。次に、SHIP1 欠損マウスと PI(3,4,5)P3 可視化マウスと交配し、SHIP1 欠損好中球での PI(3,4,5)P3 動態を解析した。その結果、SHIP1 非存在下では、形質膜に PI(3,4,5)P3 が産生されるものの、細胞膜のいたるところに遍在し、局在化が起らなかった。これと符合して、SHIP1 欠損好中球は先端端を形成することができず、細胞の遊走が著しく損なわれることも明らかになった。SHIP1 欠損好中球は定常状態から扁平で円形であり、発達したラメリポディアを細胞の全周で形成しているが、このラメリポディアは wortmannin 処理により消失し、形態も野生型と同様に回復した。これらをまとめて考えると、PI3K  $\gamma$  により形質膜の全周において産生される PI(3,4,5)P3 が SHIP1 により部分的に分解されることが、局所的な PI(3,4,5)P3 の蓄積と先端端の形成に重要であると考えられた。

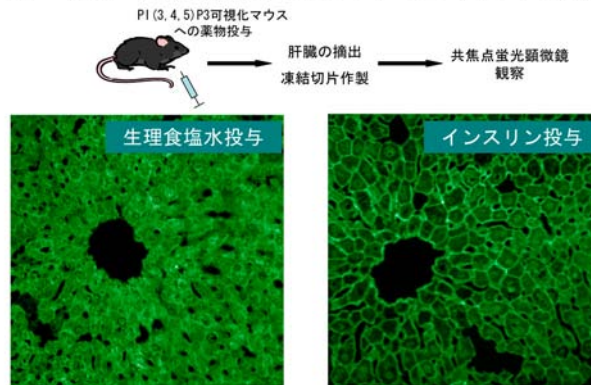
その他の PIs 可視化マウス由来好中球においても、各 PIs の動態を解析し、PI(3,4,5)P3 とは対照的に PI(4,5)P2 が遊走細胞の後端膜に偏在することを見出し、この現象が后端膜の退縮に重要であることを示唆する知見を得ている。このように、PIs 可視化トランスジェニックマウス由来好中球は、時間的分解能、空間的分解能において PI(3,4,5)P3 をはじめとする PIs の代謝・動態に関する多くの情報をもたらす解析系であることが示された。

#### PIs 可視化マウスを用いた *in vivo* イノシトールリン脂質動態解析

これまでに、インスリンなどのホルモン、種々の増殖因子、サイトカイン、神経伝達物質などが PIs 代謝を介して、細胞内シグナリングを始動させることが知られている。インスリンは血糖値調節において中心的な役割を担うが、その糖取り込み促進作用、脂肪分解抑制作用などは PI3K による細胞内 PI(3,4,5)P3 レベルの上昇に依存することが、培養細胞レベルの研究結果から確立されている。しかしながら、これまでに、インスリンの標的臓器・組織内の細胞が、インスリン刺激を受けて PI(3,4,5)P3 産生亢進を示すことは、実際に個体内において確認されていない。

PI(3,4,5)P3 可視化マウスにインスリンを腹腔内投与し、肝臓の凍結組織切片を作製し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。コントロール(生理食塩水投与)マウス由来の肝臓組織では、肝細胞の細胞質に PKB-PH-GFP 由来の蛍光が検出されたが、インスリン投与後には蛍光プローブは形質膜へと局在した(図 4)。また PI3K 阻害剤である wortmannin をインスリン投与 20 分前に投与した PI(3,4,5)P3 可視化マウスにおいては、この形質膜への移行はみられなかった。これらの結果から、インスリンが実際に PI3K 活性化を導き、肝細胞内で PI(3,4,5)P3 レベルが上昇することが個体レベルにおいて初めて示された。

図4 臓器・組織を構成する細胞でのPI(3,4,5)P3の可視化



#### ホスファチジルイノシトール 4,5-ニリン酸産生酵素 PIPKI $\alpha$ によるアレルギーの抑止

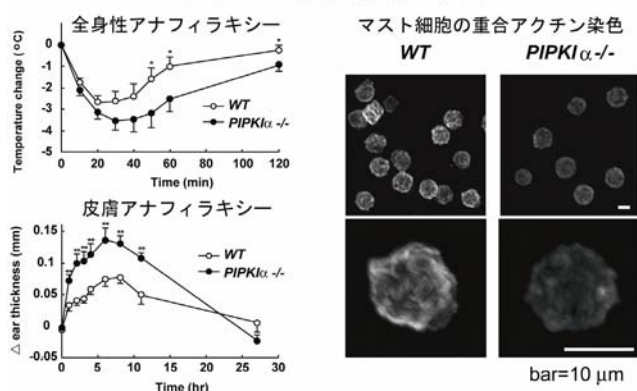
ホスファチジルイノシトール 4,5-ニリン酸[PI(4,5)P<sub>2</sub>]は、いくつかのセカンドメッセンジャーの前駆体である。また、最近の研究では、PI(4,5)P<sub>2</sub>がその代謝産物を介さず直接的にアクチン細胞骨格やエンドサイトーシスの調節分子を制御することも明らかとなっている。PI(4,5)P<sub>2</sub>は phosphatidylinositol phosphate kinase type I (PIPKI)により産生され、これには3つのアイソザイム(PIPKI $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ )が存在する。本研究では PIPKI $\alpha$ のキナーゼコアダメインをコードするエクソンを欠失するマウスを作製した<sup>18)</sup>。PIPKI $\alpha$ ホモ欠損マウスはメンデル比に則って誕生し、SPF飼育環境下では二年間の生存を確認している。このマウスは野生型マウスと比べて、より重篤な全身性および局所性(皮膚)アナフィラキシー反応を呈する(図5)。骨髄由来マスト細胞(BMMC)をIgEで感作し、対応する抗原によってFc $\epsilon$ RIを刺激したところ、ヒスタミン含有小胞の放出(脱顆粒)、IL-3、IL-4、TNF $\alpha$ などのサイトカイン産生の顕著な亢進が認められた。PIPKI $\alpha$ 欠損BMMCでは、PIPKI $\beta$ とPIPKI $\gamma$ の発現レベルは野生型と同等であるが、PI(4,5)P<sub>2</sub>レベルが約8割に低下している。PIPKI $\alpha$ 欠損BMMCではF-アクチン量が減少しており、一方、IP(1,4,5)P<sub>3</sub>の産生とこれに引き続く細胞内カルシウムレベルの上昇、PI(3,4,5)P<sub>3</sub>に制御されるAktの活性化は抑制されず、むしろ亢進していた。これらの結果は、PIPKI $\alpha$ によって供給されるPI(4,5)P<sub>2</sub>がアクチン重合に促進性に機能しており、一方、PLCやPI3Kの基質としてセカンドメッセンジャーの前駆体となるPI(4,5)P<sub>2</sub>の供給は、他のPIPKIアイソザイムにより代償されうることを示唆している。

アクチン重合阻害剤は脱顆粒反応に許容効果を示し、重合アクチン安定化剤は脱顆粒反応を抑制したことから、PIPKI $\alpha$ はアクチン重合を促進性に制御することで、マスト細胞の過剰な脱顆粒反応を抑制する生理機能を有するものと推察された。PIPKI $\alpha$ 欠損BMMCでは上記以外にも、Fc $\epsilon$ RIを介したMAPキナーゼ(ERK, SAPK, p38)やその他のシグナリングタンパク質活性化の亢進が見出される。しかしながら、アクチン重合阻害・安定化剤は、脱顆粒反応を除いて、PIPKI $\alpha$ 欠損細胞で亢進しているFc $\epsilon$ RIを介したその他の細胞応答には作用を示さなかった。また、IL-3やSCF(stem cell factor)など、Fc $\epsilon$ RI以外の受容体刺激による細胞応答は、PIPKI $\alpha$ 欠損BMMCにおいて正常であった。そこで、PIPKI $\alpha$ によってFc $\epsilon$ RIの細胞膜での動態が制御され、この受容体を介したシグナリングの効率が規定されている可能性を検証した。受容体刺激前後ともに形質膜Fc $\epsilon$ RI量に関し



では、野生型と PIPKI $\alpha$  欠損細胞の間に差が見られず、PIPKI $\alpha$  の欠損においても Fc $\epsilon$ RI のエンドサイトーシスが損なわれることはなかった。興味深いことに、Fc $\epsilon$ RI の形質膜における分布が PIPKI $\alpha$  の欠損によって変化していた。即ち、しよ糖密度勾配遠心による形質膜の分画で、ラフト画分に Fc $\epsilon$ RI がより多く含まれることが明らかになった。一方、ラフトマーカーの一つである LAT (linker for activation of T cells) の分布は野生型との間に差は無く、ラフト-非ラフト膜画分の仕切りは PIPKI $\alpha$  欠損 BMMC においても正常であった。LAT は Fc $\epsilon$ RI シグナリングに関与する多くの分子と会合するアダプタータンパク質であり、LAT 欠損マウスではアナフィラキシー反応の軽減が報告されている。また、ラフト画分への Fc $\epsilon$ RI の偏在はアクチン重合阻害剤では導かれなかったことから、アクチン重合に依存しない PIPKI $\alpha$  の作用であると考えられる。Fc $\epsilon$ RI の  $\gamma$  鎖には正電荷に富んだクラスターが存在することから、PIPKI $\alpha$  による Fc $\epsilon$ RI のラフトからの排除に、PI(4,5)P<sub>2</sub> や他の PIs と受容体の直接の結合が関与する可能性も考えられる。

図5 PIPKI $\alpha$  欠損によるアレルギー増悪と  
アクチン細胞骨格の異常



## 今後の展開

本研究で得られた PIs 可視化マウスと PIs 代謝酵素欠損マウスの利用により、PIs 代謝異常による病態発現の分子基盤の解析が可能となった。これまでの PIs 代謝酵素欠損マウスの表現型解析により、癌、糖代謝異常、骨代謝異常、心機能異常、免疫疾患(自己免疫、アレルギー、易感染症)など、先進国、発展途上国を問わず多くの人々が罹患する疾病の発症に PIs シグナル伝達の異常が深く関与すると考えられている。既にいくつかの製薬企業で PIs 代謝酵素の阻害剤の大規模なスクリーニングがなされ、有望な候補化合物が得られている。マウスとヒトとの病態を短絡的に結びつけることには慎重であるべきだが、本研究で得られた知見、また、作製したツールを用いて今後得られるであろう研究成果は、作用機序の理解に基づいた、安全かつ効果的な新薬の開発に有益な情報を与えるものと期待することができる。今後の蛍光検出技術開発に伴って、生きた組織での PIs 動態のリアルタイム解析など、その応用はますます広がるものと考えられる。

## 研究成果リスト

### (1)原著論文

1. C. Krawczyk, A. Olivera-dos-Santos, T. Sasaki, E. Griffiths, P. Ohashi, S. Snapper, F. Alt & J. Penninger: Vav1 controls integrin clustering and MHC/peptide-specific cell adhesion to antigen-presenting cells. *Immunity* 16: 331-343 (2002)
2. M. Yamazaki, H. Miyazaki, H. Watanabe, T. Sasaki, T. Maehama, M. Frohman & Y. Kanaho: Phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase is essential for ROCK-mediated neurite remodeling. *J. Biol. Chem.* 277: 17226-17230 (2002)
3. M. Crackower, G. Oudit, I. Kozieradzki, R. Sarao, T. Sasaki, E. Hirsch, A. Suzuki, T. Shioi, J. Sasaki, R. Sah, H. Cheng, V. Rybin, G. Lembo, L. Fratta, A. Oliveira-dos-Santos, J. Benovic, R. Kahn<sup>1</sup>, S. Izumo, S. Steinberg, M. Wymann, P. Backx, and J. Penninger: Regulation of myocardial contractility and cell size by distinct PI3K-PTEN signaling pathway. *Cell* 110: 737-749 (2002)
4. N. Ito, T. Yokomizo, T. Sasaki, H. Kurosu, J. Penninger, Y. Kanaho, T. Katada, K. Hanaoka & T. Shimizu: Requirement of phosphatidylinositol 3-kinase-activation and Ca influx for leukotriene B<sub>4</sub>-induced enzyme release. *J. Biol. Chem.* 277: 44898-44904 (2002)
5. A. Suzuki, S. Itami, M. Ohishi, K. Hamada, T. Inoue, N. Komazawa, H. Senoo, T. Sasaki, J. Takeda, M. Manabe, T. Mak & T. Nakano: Keratinocyte-specific Pten deficiency results in epidermal hyperplasia, accelerated hair follicle morphogenesis and tumor formation. *Cancer Res.* 63: 674-681 (2003)
6. M. Nogaimi, M. Yamazaki, H. Watanabe, Y. Okabayashi, Y. Kido, M. Kasuga, T. Sasaki, T. Maehama & Y. Kanaho: Requirement of autophosphorylated tyrosine 992 of EGF receptor and its docking protein phospholipase C  $\gamma$  1 for membrane ruffle formation. *FEBS Lett.* 536: 71-76 (2003)
7. A. Suzuki, T. Kaisho, M. Ohishi, M. Tsukio-Yamaguchi, T. Tsubata, P. A. Koni, T. Sasaki, T. Mak & T. Nakano: Critical roles of Pten in B cell homeostasis and immunoglobulin class switch recombination. *J. Exp. Med.* 197: 657-667 (2003)
8. H. Kishimoto, K. Nakagawa, T. Watanabe, D. Kitagawa, H. Momose, J. Seo, G. Nishitai, N. Shimizu, S. Ohata, S. Tanemura, S. Asaka, T. Goto, H. Fukushi, H. Yoshida, A. Suzuki, T. Sasaki, T. Wada, J. Penninger, H. Nishina & T. Katada: Different properties of SEK1 and MKK7 in dual phosphorylation of stress-induced activated protein kinase SAPK/JNK in embryonic stem cells. *J. Biol. Chem.* 278: 16595-16601 (2003)
9. A. Kim, T. Sasaki & M. Chao: JNK interacting protein 1 promotes Akt1 activation. *J. Biol. Chem.* 278: 29830-29836 (2003)

10. M. Woo, R. Hakem, C. Furlonger, A. Hakem, G. Duncan, T. Sasaki, D. Bouchard, L. Lu, G. Wu, C. Paige & T. Mak: Caspase-3 regulates cell cycle in B cells: a consequence of substrate specificity. *Nat. Immunol.* 4: 1016-1022 (2003)
11. S. Giuriato, X. Pesesse, S. Bodin, T. Sasaki, C. Viala, E. Marion, J. Penninger, S. Schurmans, C. Erneux & B. Payrastre: SH2 domain containing inositol 5-phosphatases 1 and 2 in blood platelets: interaction and respective role in the control of phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate level. *Biochem. J.* 376: 199-207 (2003)
12. G. Oudit, M. Crackower, U. Eriksson; R. Sarao, I. Kozieradzki, T. Sasaki, J. Sasaki, D. Gidrewicz, V. Rybin, T. Wada, S. Steinberg, P. Backx & J. Penninger: Phosphoinositide 3-kinase $\gamma$ -deficient mice are protected from isoproterenol- induced heart failure. *Circulation* 108: 2147-2152 (2003)
13. H. Watanabe, M. Yamazaki, H. Miyazaki; C. Arikawa, K. Itoh, T. Sasaki, T. Maehama, M. Frhoman & Y. Kanaho: Phospholipase D2 functions as a downstream signaling molecule of MAP kinase pathway in L1-stimulated neurite outgrowth of cerebeller granule neurons. *J. Neurochem.* 89: 142-151(2004)
14. T. Wada, N. Joza, M. Cheng, T. Sasaki, I. Kozieradzki, K. Bachmaier, T. Katada, M. Schreiber, E. Wagner, H. Nishina & J. Penninger: MKK7 couples stress signaling to G2/M cell cycle progression and cellular senescence. *Nat. Cell Biol.* 4: 1016-1022 (2004)
15. Y. Horie, A. Suzuki, E. Kataoka, T. Sasaki, K. Hamada, J. Sasaki, K. Mizuno, G. Hasegawa, H. Kishimoto, M. Iizuka, M. Naito, K. Enomoto, S. Watanabe, T. Mak & T. Nakano: Hepatocyte-specific Pten deficiency results in steatohepatitis and hepatocellular carcinomas. *J. Clin. Invest.* 113: 1774-1783 (2004)
16. H. Watanabe, T. Yokozeki, M. Yamazaki, H. Miyazaki, T. Sasaki, T. Maehama, K. Itoh, M. Frhoman & Y. Kanaho: Essential role for phospholipase D2 activation downstream of ERK MAP kinase in NGF-stimulated neurite outgrowth from PC12 cells. *J. Biol. Chem.* 278: 29830-29836 (2004)
17. K. Reif, K. Okkenhaug, T. Sasaki, J. Penninger, B. Vanhaesebroeck & J. Cyster: Differential roles for phosphoinositide 3-kinases, p110 $\gamma$  and p110 $\delta$ , in lymphocyte chemotaxis and homing. *J. Immunol.* 173:2236-2240 (2004)
18. J. Sasaki, T. Sasaki, M. Yamazaki, K. Matsuoka, C. Taya, H. Shitara, S. Takasuga, M. Nishio, K. Mizuno, T. Wada, H. Miyazaki, H. Watanabe, R. Iizuka, S. Kubo, S. Murata, T. Chiba, T. Maehama, K. Hamada, H. Kishimoto, M. Frohman, K. Tanaka, J. Penninger, H. Yonekawa, A. Suzuki & Y. Kanaho: Regulation of anaphylactic responses by phosphatidylinositol phosphate kinase type I  $\alpha$ . *J. Exp. Med.* in press (2005)



(2)特許出願

研究機関累積件数: 1件

佐々木雄彦、米川博通、金保安則、多屋長治、佐々木純子、鈴木聡:「イノシトールリン脂質可視化プローブ遺伝子導入モデル動物」(特願 2004-244481, 2004/8/24)

国際学会招待講演

19. T. Sasaki: Phosphoinositides in chemotaxis. Biochemical Society conference on 'PI3 Kinase in signaling and disease'. (2003/11/12, Horsham, U.K.)
20. T. Sasaki: Essential role of phosphoinositide in mast cell functions. The 3rd Japanese Biochemical Society Biofrontier Symposium 'New aspect of Phospholipid Biology'(2004/5/11, Kamakura, Japan)