
 バイオファクター研究のブレイクスルー：「コリン」

(2) コリンの代謝

静岡大学農学部応用生物化学科*

杉山 公男

Vitamin (Japan), 75 (8), 427-433 (2001)

1. はじめに

コリンは生体内で重要な役割を果たす生体成分、例えばホスファチジルコリン(PC)、スフィンゴリエリン(SM)、血小板活性化因子(PAF)などのリン脂質、メチル基供与体のベタイン、神経伝達物質のアセチルコリンなどの合成材料である。PCのコリン部分はホスファチジルエタノールアミン(PE)の三段階のメチル化により体内で合成できるが、このメチル化によるPC合成はコリン欠乏に起因するいくつかの生化学的変化を完全には抑制しえないことが報告されている。また、ヒトでも特殊な状態ではコリン欠乏が観察されることなどが明らかにされ、米国では1998年にコリン摂取の推奨値が提示されるに至っている。本稿では、コリン代謝に関する基礎的なものに加え、最近の話題も紹介する。

2. コリンの吸収・輸送²⁾⁻⁵⁾

食物中には遊離のコリンとPCやSMなどのコリン含有リン脂質が含まれている。遊離のコリンは小腸の特に空腸で吸収されるが、大腸でも一部吸収される。モルモット空腸の場合、コリン濃度4mM以下では飽和に達しうるキャリアーを介して吸収される(K_m 値は110 μ M)が、4mM以上では単純拡散により吸収される。ラット小腸では、新生児でも成熟個体と同程度のコリン吸収能が見られ、これは母乳中に比較的多く含まれるコリンの吸収に対応するためと考えられる³⁾。近年、ミルク中にはホスホコリンやグリセロホスホコリンが高濃度含まれることが明らかにされている⁴⁾。これらの化合物は、おそらくホスファターゼにより分解されたのちに遊離のコリンとして吸収されると推定される。コリン

を比較的多量(1.5 g/kg)にラットに投与した場合、コリンは盲腸や大腸に達して腸内細菌による代謝を受け、ジメチルおよびトリメチルアミンを生成する。このことはコリンの吸収能力には限界があることを示唆するとともに、発がん物質であるジメチルニトロソアミン生成との関連で注意を要する⁵⁾。PCは小腸でホスホリパーゼA₂の作用によりLysoPCとなり吸収される。LysoPCは、小腸上皮細胞内でさらに脱アシル化されグリセロホスホコリンとなり門脈に入るか、再アシル化されPCとなりカイロミクロン表面膜成分としてリンパ系に入る。

吸収されたコリンは、血液中からキャリアーを介する輸送系並びに単純拡散で肝臓、腎臓、乳腺、胎盤、脳などに取り込まれる。ヒトやラットの場合、血漿コリン濃度は約10 μ Mと比較的安定しており²⁾、コリン濃度を一定に保つ機構が存在する。コリンやPCの摂取後に一過性の血漿コリン濃度の上昇が見られるが、せいぜい50 μ Mまでである。コリン代謝の最も活発な臓器の一つである肝臓は、血液中からコリンを能動的に取り込み、ベタインに代謝したりPCを合成する。腎臓もコリンを能動的に取り込みベタインに代謝するが、ベタインは腎臓で浸透圧の調節に関与しているらしい。乳腺や胎盤は、コリンを取り込んで乳成分を合成したり胎児に送り込む。コリンは血液-脳関門を通るが、これに関与するキャリアーのコリンに対する K_m 値は血液中のコリン濃度よりはるかに高い(440 μ M)。これは、血液中のコリン濃度の上昇がそのまま脳に取り込まれるコリン量に反映されることを意味する。ラット新生児の血液-脳関門のコリン輸送活性は非常に高く、加齢とともに低下する。これは外因性コリンの脳機能改善効果を考える上で興味深い。

* 〒422-8529 静岡市大谷836

3. コリンの代謝²⁾³⁾⁶⁾⁻⁸⁾

コリンは酸化, アセチル化, リン酸化の代謝を受ける。酸化反応はcholine dehydrogenaseによるベタインアルデヒドの生成と, それに引き続くbetaine aldehyde dehydrogenaseによるベタインの生成である。両酵素をcholine oxidaseと総称して呼ぶ場合もある。choline oxidase活性は肝臓と腎臓で強く, またcholine dehydrogenaseはミトコンドリアに, betaine aldehyde dehydrogenaseはサイトゾールに局在する。コリンの酸化は過剰なコリンを処理し, 安定な中性化合物を生成する。ベタインのメチル基1個はホモシステイン(Hcy)の再メチル化に用いられるので, メチル基を保存する意味もある。動物の種類によりcholine oxidase活性が大きく異なり, これがコリン要求性の違いに関係していると思われる⁸⁾。

コリンのアセチル化は, 神経伝達物質であるアセチルコリンの合成という点で重要な反応である。これはアセチルCoAのアセチル基がコリンに転移する反応で, choline acetyltransferase(ChAT)による。ヒト脳

ChATのコリンとアセチルCoAに対するKm値はそれぞれ600 μ Mと7 μ Mであるのに対し, 脳中のコリンとアセチルCoA濃度はそれぞれ37~100 μ Mと8~9 μ Mである。これは二つの基質のうち, 特にコリン濃度の上昇がアセチルコリン生成に反映することを示す。

コリンのリン酸化によるホスホコリンの生成はPC合成の最初のステップであるが, ベタインの場合と同様にコリンを中性化合物として細胞内に蓄えることの意義も指摘されている。事実, 細胞内のホスホコリンは遊離型コリンよりも高い濃度で存在する。

3-1. ホスファチジルコリン合成材料としてのコリン⁹⁾⁻¹⁴⁾

LysoPCはPCの脱アシル化により, またSMはPCのホスホリルコリン部分がスフィンゴシンに転移して生成するので, コリン含有リン脂質の合成においてはPC合成が中心となる。PCは高等動物の組織や膜系の違いにより含量が異なるものの, 生体内で最も多く存在するリン脂質である。PCは主として二つの経路により肝臓で合成される (Fig. 1)。一つはコリンを出発物質として合成

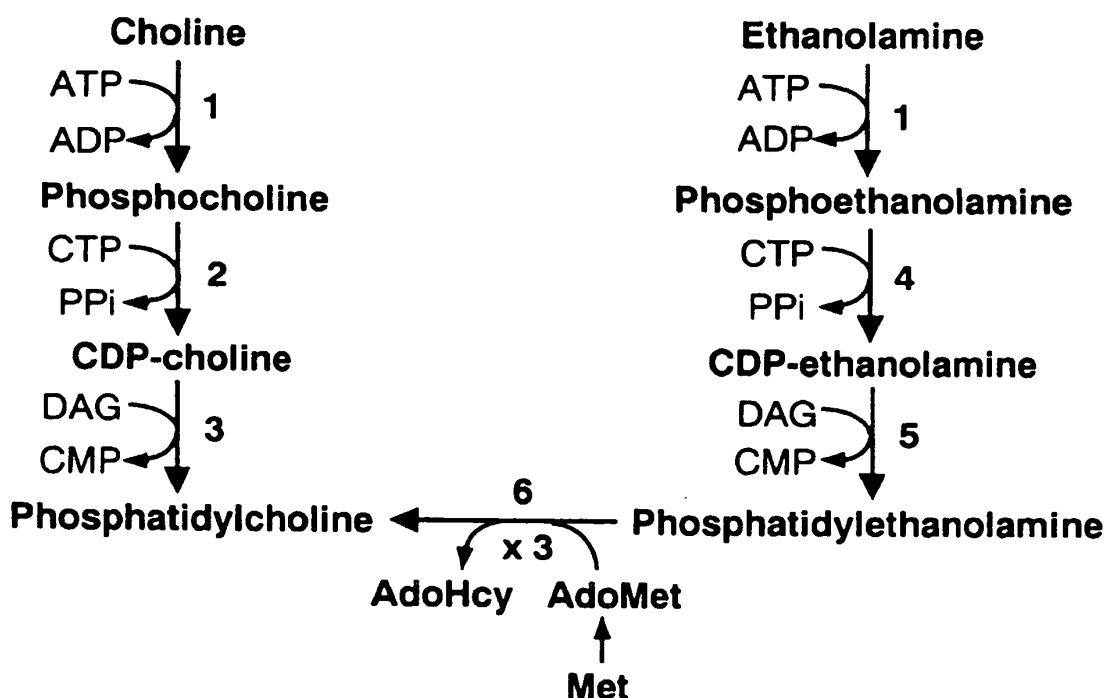


Fig. 1. Biosynthesis of phosphatidylcholine by CDP-choline pathway and phosphatidylethanolamine *N*-methylation pathway.

1, ATP: choline (ethanolamine) phosphotransferase; 2, CTP: phosphocholine cytidyryltransferase; 3, CDP-choline: 1,2-diacylglycerol cholinephosphotransferase; 4, CTP: phosphoethanolamine cytidyryltransferase; 5, CDP-ethanolamine: 1,2-diacylglycerol ethanolaminephosphotransferase; 6, *S*-adenosylmethionine: phosphatidylethanolamine *N*-methyltransferase.

される経路で、CDP-コリンあるいはKennedy経路と呼ばれる。もう一つはPEのN-メチル化により合成されるもので、メチル化経路と呼ばれる。後者のメチル化にはメチオニン (Met) 由来のS-アデノシルメチオニン (AdoMet) がメチル基供与体であり、したがってコリンとMetがPC合成を刺激しうる。また、ホモシステインの再メチル化に関与する5-methyltetrahydrofolate:homocysteine methyltransferaseは葉酸とビタミンB₁₂を補酵素とし、さらにホモシステインからシステインへの代謝に関与するcystathionine β-synthaseやcystathionine γ-lyaseは代表的なビタミンB₆酵素であり、これらのビタミンも間接的にPC合成に影響を及ぼす (Fig. 2)。

Choline kinase (CK) はCDP-コリン経路の最初のステップを触媒する酵素で、PC合成に関わる酵素の大部分が小胞体膜に結合しているのとは対照的にサイトゾールに存在する。哺乳動物ではCKとethanolamine kinaseは同一である¹¹⁾。CTP: phosphocholine cytidylyltransferase (CCT) はCDP-コリン経路の律速酵素と考えられており¹²⁾、この酵素の活性調節に関して多くの研究がなされてきた。CDP-choline:1,2-diacylglycerol cholinephospho-transferaseはCDP-コリン経路の最後のステップを触媒する酵素であるが、酵素の精製すら成功していない¹³⁾。PE N-methyltransferase (PEMT) 活性は肝臓での活性が他の臓器に比べて圧倒的に強く、同一酵素が三段階のメチル

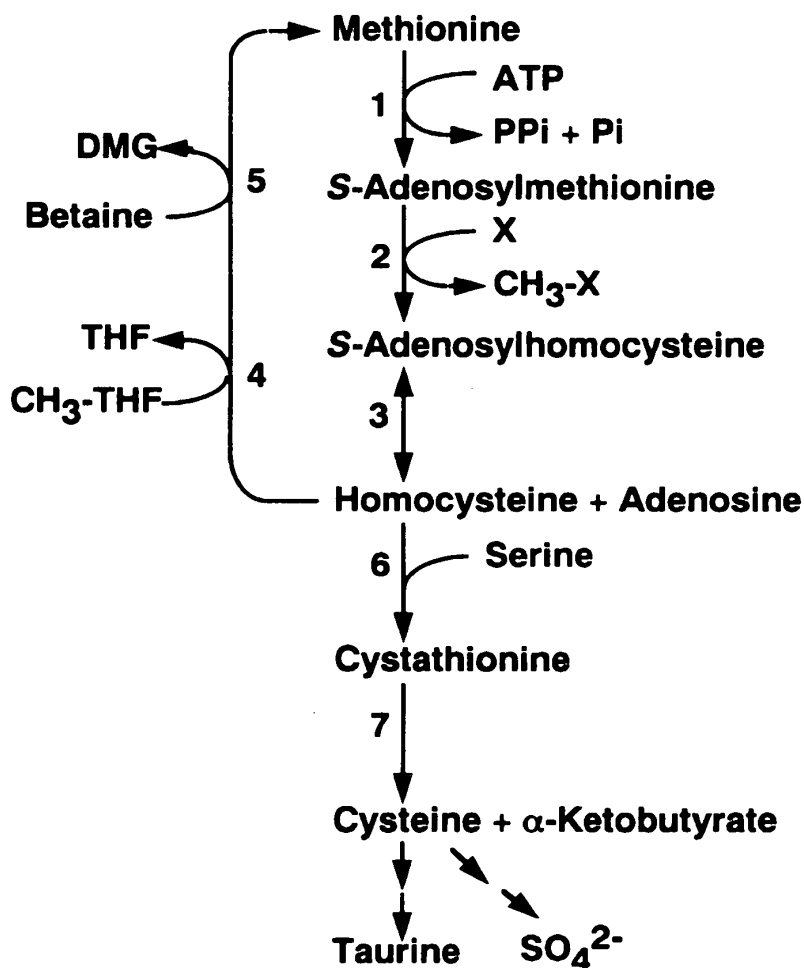


Fig. 2. Methionine metabolism.

- 1, ATP: methionine adenosyltransferase; 2, S-adenosylmethionine: X methyltransferase;
- 3, S-adenosylhomocysteine hydrolase; 4, 5-methyltetrahydrofolate: homocysteine methyltransferase;
- 5, betaine: homocysteine methyltransferase; 6, cystathionine β-synthase;
- 7, cystathionine γ-lyase.

化を触媒する¹⁴⁾。

合成されたPCは肝臓で用いられるのみならず、血漿リポタンパク質粒子の膜成分として血中に、また胆汁成分として胆汁中に分泌される。PCは肝臓で主に合成されることと肝臓の分泌機能と密接に結びついていることから、PC合成の低下は脂肪肝の発生に見られるように肝臓に大きな影響をもたらす。

3-2. コリンからのホスファチジルコリン合成の調節機構⁹⁾¹⁰⁾¹⁵⁾⁻¹⁸⁾

CDP-コリン経路における律速酵素であるCCTはミクロソームの他にサイトゾールにも存在するが、ミクロソーム酵素が活性型である。したがって、CCTの活性制御の一つは小胞体膜とサイトゾール間の移動である。cAMPやオカダ酸はCCT活性を阻害するのに対し、発がんのプロモーターであるホルボールエステルはCCT活性を上昇させるが、この場合もCCTの活性型と不活性型との変換による。CCTはリン酸化-脱リン酸化の修飾を受け脱リン酸化は酵素活性を上昇させるが、脱リン酸化はCCTを膜結合型にするための必須条件でないことが示されている。Vanceらのグループは、cAMPによるPC合成抑制には膜中の1,2-diacylglycerol (DAG)濃度が関与するとの実験結果を示している¹⁵⁾。すなわち、小胞体膜中のDAG濃度の上昇はCCTを膜結合型にさせやすいというものである。

コリン供給はPC合成を左右する主要な要因の一つであり、CCT活性に及ぼすコリン欠乏の影響が検討されている。コリン欠乏時にはCDP-コリン経路によるPC合成は低下するが、ラット肝臓のCCT活性は逆に上昇する¹⁶⁾。これは、コリン欠乏によりCCTがサイトゾールから小胞体膜に移行したためと考えられる。コリン欠乏時にはCK活性も上昇することから、コリン欠乏に対してCDP-コリン経路の活性は適応的に上昇することを示している。コリン欠乏食を与えたラットから調製した肝細胞のメディウムにコリンを添加すると、膜のPCは経時的に増加するが、それに伴って膜結合性CCT活性は低下しサイトゾールのCCT活性は逆に増加する。このことから、CCT活性がPCによりフィードバック制御を受けているとの考え方が提示されている¹⁷⁾。一方、コリン欠乏肝細胞のメディウムにコリンを添加すると、膜PCの分解速度が高まるが、これもPCの分解がPCにより制御されていることを示している¹⁸⁾。CDP-コリン経路により合成されたPCは、PC合成をフィードバック阻害するとともにPCの分解を促進し、膜のPC量を一定に保つ機構が働いていると考えられる。事実コリン

を多量に与えても、例えばラット肝臓のPC量が一定以上に増加することはない。

3-3. ホスファチジルコリン合成におけるコリンとメチオニンとの関係⁹⁾¹⁰⁾¹⁹⁾⁻²²⁾

CDP-コリン経路とメチル化経路のPC合成に対する寄与率に関する情報は意外に少ない。ラット培養肝細胞を用いた実験でCDP-コリン経路が60~80%、メチル化経路が20~40%という数字が示されており¹⁹⁾、高等動物ではCDP-コリン経路が主経路でメチル化経路は補完的な経路と考えられている。しかし、コリンを全く含まない食餌でラットを飼育しても、食餌中のMet含量が一定レベル以上であれば、例えばPC不足による明確な脂肪肝は見られない²⁰⁾。この場合にはメチル化経路によるPC合成がむしろ主と考えられるので、両経路によるPC合成の寄与率はコリンとMetの摂取状態に左右される。

メチル化経路によるPC合成の調節はどうであろうか。PEMTは構成酵素の色彩が強く、PEMTによるPC合成は基質であるPEとAdoMetの影響を受ける⁹⁾¹⁰⁾。食餌中のMet含量を高めると、肝臓ミクロソーム中のPC/PE比は上昇するが、これは主としてPEの減少による²¹⁾。Met摂取量は肝臓AdoMet濃度に反映し、AdoMet濃度がメチル化反応を左右すると考えれば説明がつく。事実、PEMTのAdoMetに対するKm値は生理的な変動範囲内にあり、AdoMet濃度の変動はPE N-メチル化反応に直接影響を及ぼしうる。なお、シイタケに含まれるエリタデニンは血漿コレステロールを低下させる物質であるが、エリタデニンはメチル化経路によるPC合成を強く抑制する²⁰⁾²²⁾ので、コリンとメチオニンとの関係を解析するのに有用である。

3-4. CDP-コリン経路とPE N-メチル化経路の機能の違い²³⁾⁻²⁸⁾

近年Vanceらのグループは、メチル化経路によるPC合成が肝細胞の増殖に調節的役割を果たしているとの興味深い一連の研究を発表している。これは、CDP-コリン経路の意義を明らかにすることにもつながる。PEMTにはPEMT1とPEMT2の二つがあり、クローニングされている酵素は遠心でミトコンドリア膜と一緒に沈降する小胞体様の膜画分に存在するPEMT2である。小胞体に存在するPEMT1の酵素学的詳細は不明である。PEMT2の発現は、肝細胞の分裂・増殖と負の相関関係にあることが示されている。分裂・増殖速度の速いラット肝がんMcA細胞ではPEMTの発現が抑制されているが、McA細胞にPEMT2遺伝子を導入するとCCTの発

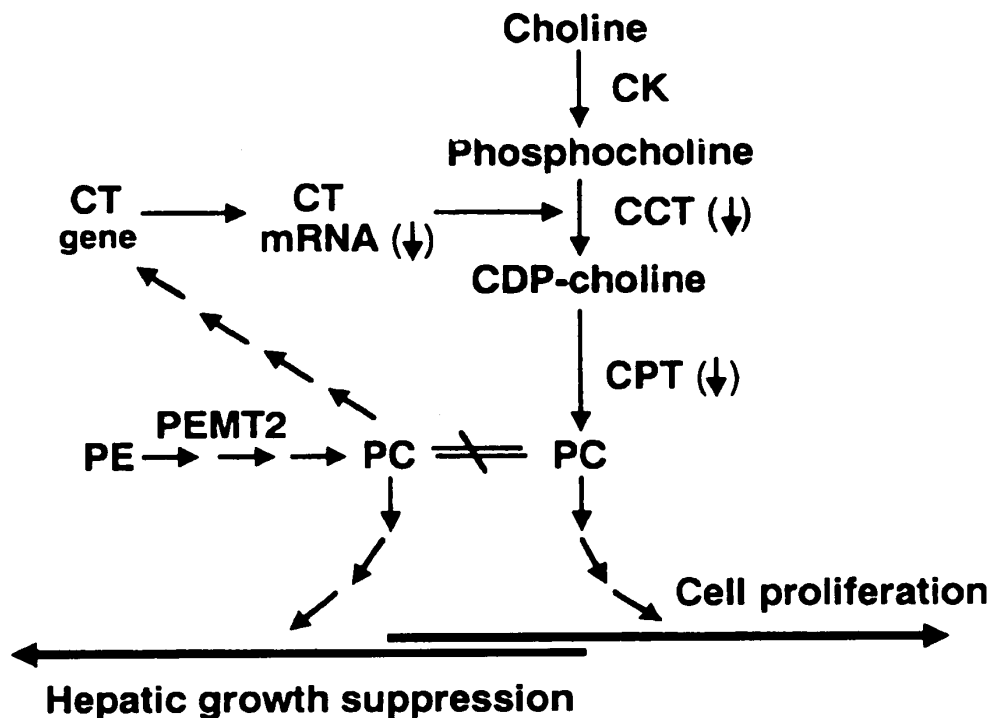


Fig. 3. Hypothetical mechanism for down-regulation of the gene for CTP:phosphocholine cytidylyltransferase as a result of over expression of PEMT2²³⁾.

現や酵素活性は低下し、細胞の増殖は抑制された。しかし、肝臓以外の細胞、例えばCHO細胞にPEMT2遺伝子を導入しても増殖等に変化は見られなかった。ラット肝臓を2/3切除すると肝細胞は急速に増殖を開始して元のサイズに戻るが、肝切除直後にはPEMTの酵素タンパク質およびmRNAは完全に消失し、7日後に回復した。一方、CCT酵素活性およびmRNAは肝切除に伴って上昇し、その後低下した。さらに、アフラトキシンB1などの発がん剤でラットに肝臓ガンを発生させると、肝臓におけるPEMTの発現が低下した²⁶⁾²⁷⁾。これらの結果は、メチル化経路とCDP-コリン経路との間にはクロストークがあること、PEMTは肝細胞の増殖や形質転換(がん化)に対してサプレッサーになっていることを示唆している。PEMTは、肝ガンのバイオマーカーとして有用であることも指摘されている²⁷⁾。Fig. 3は、CDP-コリン経路により生成したPCが一般の細胞増殖に対して促進的に働くのに対し、メチル化経路によるPCは肝細胞の増殖に対して抑制的に働くとの考えを模式的に示したものである²³⁾。しかし、両経路の機能の違いの本質的な原因は解明されていない。

原核細胞でのPC合成はメチル化経路のみであり、

メチル化経路はCDP-コリン経路よりも起源が古いと考えられている。PEMT2遺伝子Pemptを欠損したマウスでは、コリン欠乏に対する感受性が高く、容易に脂肪肝になりやすい。Vanceらは、PEMTは進化の過程でコリン欠乏(例えば絶食や妊娠など)に対応するため、肝臓で生き延びたのではないかとこの考えを提示している²⁸⁾。

4. コリン欠乏によるアポトーシス誘導²⁹⁾³⁴⁾

アポトーシスは、細胞が自ら持つ自殺機構により引き起こされる細胞死である。アポトーシスは様々な内因性および外因性の刺激により誘導されるが、コリン欠乏がアポトーシスを引き起こすことがZeiselらのグループにより明らかにされている。DNA腫瘍ウイルスSV40のラージT抗原でp53を不活化したラット肝細胞(CWS-1)をコリン欠乏培地で培養すると、顕著なアポトーシスが誘導された³⁰⁾。コリン欠乏によるアポトーシスは細胞のPC含量と負の相関を示し、ベタインやMetなどを培地に添加しても、コリン欠乏によるアポトーシスを抑制できなかった³¹⁾。コリン欠乏は培養ラット肝細胞のみならず、*in vivo*でもラットの肝臓細胞

にアポトーシスを引き起こす³²⁾。また、ラット胎児脳や神経細胞様のPC12細胞などアセチルコリンと関係の深い細胞においても、コリン欠乏がアポトーシスを引き起こすことが示されている³³⁾。

コリン欠乏がアポトーシスを引き起こす機構について、サイトカイン(例えばTGF- β 1)やセラミドなどの関与が報告されている。Albrightら³²⁾は、ラットに低Met & コリン欠乏食を6週間与えると肝臓細胞にアポトーシスが観察されるが、同時に肝臓中の形質転換増殖因子 β 1 (TGF- β 1) および関連タンパク質の濃度が上昇することを示した。TGF- β 1は肝臓に作用してsuperoxide dismutaseやcatalaseの発現を抑制し、細胞内過酸化物を増加させるので、アポトーシスの重要な要因の一つと考えられている。一方、Yenら³²⁾はPC12細胞を用いてコリン欠乏に伴う脂質濃度の変化を測定し、アポトーシスに先行してPC量が減少するが、セラミドやDAGは増加することを観察している。セラミドが細胞にアポトーシスを引き起こすことが近年明らかになっていることと合わせて、コリン欠乏によるアポトーシスにはセラミドの増加が関与しているとの考えも彼らは提示している。しかし、コリン欠乏時にセラミドが増加する機構は不明である。

5. おわりに

Metはメチル化経路を介してPCあるいはコリンを供給をしようが、上述のようにMetでは置換できないコリン独自の効果があることが明らかになりつつある。Metとコリンが必ずしも等価ではない理由として、CDP-コリン経路とメチル化経路で合成されたPCでは脂肪酸組成が異なること、メチル化経路は必然的にPEの消費を伴い膜のリン脂質組成を変化させること、PE合成が十分でない場合にはメチル化経路だけでPC合成がまかなえないことなどが考えられ、その他の可能性も大いにありうる。コリンの必須性にかかわるコリン独自の効果についてはいまだ不明な点も多く、今後の研究が大いに期待される分野である。

文 献

- Blusztajn JK (1998) Choline, a vital amine. *Nature* **281**, 794-795
- Zeisel SH (1981) Dietary choline: biochemistry, physiology, and pharmacology. *Ann Rev Nutr* **1**, 95-121
- Zeisel SH (1990) Choline deficiency. *J Nutr Biochem* **1**, 332-349
- Sheard NF, Zeisel SH (1986) An in vitro study of choline uptake by intestine from neonatal and adult rats. *Pediatr Res* **20**, 768-772
- Holmes-McNary MQ, Cheng W-L, Mar M-H, Fussell S, Zeisel SH (1996) Choline and choline esters in human and rat milk and in infant formulas. *Am J Clin Nutr* **64**, 572-576
- Zeisel SH (1994) Choline and human nutrition. *Ann Rev Nutr* **14**, 269-296
- Zeisel SH (1996) Choline: essential for brain development and function. *Adv Pediatr* **44**, 263-295
- Sidransky H, Farber E (1960) Liver choline oxidase activity in man and several species of animals. *Arch Biochem Biophys* **87**, 129-133
- Pelech SL, Vance DE (1984) Regulation of phosphatidylcholine biosynthesis. *Biochim Biophys Acta* **779**, 217-251
- Tijburg LBM, Geelen MJH, van Golde LMG (1989) Regulation of the biosynthesis of triacylglycerol, phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in the liver. *Biochim Biophys Acta* **1004**, 1-19
- Ishidate K (1997) Choline/ethanolamine kinase from mammalian tissues. *Biochim Biophys Acta* **1348**, 70-78
- Kent C (1997) CTP:phosphocholine cytidyltransferase. *Biochim Biophys Acta* **1348**, 100-110
- McMaster CR, Bell RM (1997) CDP-choline:1,2-diacylglycerol cholinephosphotransferase. *Biochim Biophys Acta* **1348**, 142-150
- Vance DE, Walkey CJ, Cui Z (1997) Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase from liver. *Biochim Biophys Acta* **1348**, 142-150
- Jamil H, Udal AK, Vance DE (1992) Evidence that cyclic AMP-induced inhibition of phosphatidylcholine biosynthesis is caused by a decrease in cellular diacylglycerol levels in cultured rat hepatocytes. *J Biol Chem* **267**, 1752-1760
- Yao Z, Jamil H, Vance DE (1990) Choline deficiency causes translocation of CTP:phosphocholine cytidyltransferase from cytosol to endoplasmic reticulum in rat liver. *J Biol Chem* **265**, 4326-4331
- Jamil H, Yao Z, Vance DE (1990) Feedback regulation of CTP:phosphocholine cytidyltransferase translocation between cytosol and endoplasmic reticulum by phosphatidylcholine. *J Biol Chem* **265**, 4332-4339
- Tijburg LBM, Nishimaki-Mogami T, Vance DE (1991) Evidence that the rate of phosphatidylcholine catabolism is regulated in cultured rat hepatocytes. *Biochim Biophys Acta* **1085**, 167-177
- Sundler R, Akesson B (1975) Regulation of phospholipid biosynthesis in isolated rat hepatocytes: effect of different substrate. *J Biol Chem* **250**, 3359-3367
- Sugiyama K, Akachi T, Yamakawa A (1995) Hypocholesterolemic action of eritadenine is mediated by a modification of hepatic phospholipid metabolism in rats. *J Nutr* **125**, 2134-2144
- Sugiyama K, Yamakawa A, Kumazawa A, Saeki S (1997) Methionine content of dietary proteins affects the molecular species composition of plasma phosphatidylcholine in rats fed a cholesterol-free diet. *J Nutr* **127**, 600-607
- Sugiyama K, Yamakawa A, Saeki S (1997) Correlation of suppressed linoleic acid metabolism with the hypocholesterolemic

- action of eritadenine. *Lipids* **32**, 859-866
- 23) Vance DE (1996) Phosphatidylethanolamine *N*-methyltransferase: unexpected findings from curiosity-driven research. *Eur J Med Res* **1**, 182-188
- 24) Vance DE, Houweling M, Lee M, Cui Z (1996) Phosphatidylethanolamine methylation and hepatoma cell growth. *Anticancer Res* **16**, 1413-1416
- 25) Vance DE, Walkey CJ, Agellon LB (1998) Why has phosphatidylethanolamine *N*-methyltransferase survived in evolution? *Biochem Soc Trans* **26**, 337-340
- 26) Tessitore L, Cui Z, Vance DE (1997) Transient inactivation of phosphatidylethanolamine *N*-methyltransferase-2 and activation of cytidine triphosphate:phosphocholine cytidylyltransferase during non-neoplastic liver growth. *Biochem J* **322**, 151-154
- 27) Tessitore L, Sesca E, Vance DE (2000) Inactivation of phosphatidylethanolamine *N*-methyltransferase-2 in aflatoxin-induced liver cancer and partial reversion of the neoplastic phenotype by PEMT transfection of hepatoma cells. *Int J Cancer* **86**, 362-367
- 28) Walkey CJ, Yu L, Agellon LB, Vance DE (1998) Biochemical and evolutionary significance of phospholipid methylation. *J Biol Chem* **273**, 27043-27046
- 29) Zeisel SH (2000) Choline: an essential nutrient for humans. *Nutrition* **16**, 669-671
- 30) Albright CD, Liu R, Bethea TC, da Costa K-A, Salganik RI, Zeisel SH (1996) Choline deficiency induces apoptosis in SV40-immortalized CWSV-1 rat hepatocytes in culture. *FASEB J* **10**, 510-516
- 31) Shin O-K, Mar M-H, Albright CD, Citarella MT, da Costa K-A, Zeisel SH (1997) Methyl group donors cannot prevent apoptotic death of rat hepatocytes induced by choline-deficiency. *J Cell Biochem* **64**, 196-208
- 32) Albright CD, Zeisel SH (1997) Choline-deficiency causes increased localization of transforming growth factor- β 1 signaling proteins and apoptosis in the rat liver. *Pathobiol* **65**, 264-270
- 33) Holmes-McNary MQ, Loy R, Mar M-H, Albright CD, Zeisel SH (1997) Apoptosis is induced by choline-deficiency in fetal brain and PC12 cells. *Develop Brain Res* **101**, 9-16
- 34) Yen C-LE, Mar M-H, Zeisel SH (1999) Choline deficiency-induced apoptosis in PC12 cells is associated with diminished membrane phosphatidylcholine and sphingomyelin, accumulation of ceramide and diacylglycerol, and activation of a caspase. *FASEB J* **13**, 135-142