

平成18年度 学術創成研究費 研究終了報告書 (事後評価用)

平成18年4月20日

ふりがな	みずの けんさく		②所属研究機関・ 部局・職		東北大学・大学院生命科学研究科・教授			
①研究代表者 氏名	水野健作							
③研究課題名 (英訳名)	細胞の形態と運動性を制御する細胞センシング機構 (Cell Sensing Mechanisms Regulating Cell Morphology and Motility)							
④研究経費 (千円未満切捨)	年度	研究経費 (千円)		使用内訳 (千円)				
		交付額	支出額	設備備品費	消耗品費	旅費	謝金等	その他
	平成13年度	63,000	63,000	37,782	24,256	618	247	97
	平成14年度	68,500	68,500	30,458	25,447	1,017	11,547	31
	平成15年度	68,500	68,500	26,184	21,217	2,801	18,254	44
	平成16年度	66,000	66,000	4,754	33,674	1,455	22,775	3,342
	平成17年度	65,500	65,500	13,492	36,402	1,426	13,831	349
総計	331,500	331,500						
⑤研究組織 (研究代表者及び研究分担者)								
氏名	所属研究機関・部局・職	現在の専門	役割分担 (研究実施計画に対する分担事項)					
水野健作	東北大学・大学院生命科学研究科・教授	生化学・細胞生物学	研究全体の実行と総括					
大橋一正	東北大学・大学院生命科学研究科・助教授	分子細胞生物学	研究全体の実行・特に LIM キナーゼ経路の時空的解析と神経機能					
計 2 名								

⑥当初の研究目的

アクチン細胞骨格系は、細胞内外のシグナルに応答してダイナミックに再構築され、細胞の形態変化、移動、分裂など細胞の動的な基本活動を支える重要な役割を担っている。細胞が正常に機能するためには、細胞内外のシグナルを感知し、アクチン細胞骨格の再構築を時間的・空間的に制御するシステムの存在が考えられるが、細胞骨格の再構築を統御し、細胞の形態と運動性を制御する細胞センシングと応答機構の多くは不明である。私たちは、アクチン細胞骨格の再構築制御における Rac, Rho→LIM キナーゼ→コフィリン経路の存在を明らかにした。コフィリンはアクチンの重合・脱重合を制御する最も重要な因子の一つであり、その活性制御機構の解明は、アクチン細胞骨格の制御機構を理解するうえで必須である。本研究は、コフィリンの活性を制御するシグナル伝達経路を中心に、アクチン細胞骨格の再構築を制御するシグナル伝達機構を解明し、細胞の形態変化、運動、分裂の諸過程におけるこれらの経路の役割を解明することを目的とする。さらに、白血球の遊走、癌細胞の浸潤・転移、神経突起の伸展・退縮、細胞質分裂時の収縮環形成など細胞の形態変化や運動性が関わる多くの生命現象の分子機序の解明とその活用を目指す。

⑦研究成果の概要

研究目的に対する研究成果を必要に応じて図表等を用いながら、具体的に記入してください。

私たちは、アクチン細胞骨格の再構築を制御する新しいシグナル伝達経路として、Rac, Rho→LIM キナーゼ (LIMK)→コフィリンという経路を明らかにした。LIMK はコフィリンをリン酸化（不活性化）し、アクチン繊維の重合と安定化を促進する。本研究において、私たちは、コフィリンを脱リン酸化（活性化）するコフィリンホスファターゼとして Slingshot ファミリーの同定に成功した。さらに、LIMK の新しい活性化経路や Slingshot の F アクチンによる活性化機構を解明し、細胞遊走（極性形成）、細胞分裂、神経突起の伸長・退縮、血管新生、癌細胞の浸潤においてコフィリンのリン酸化制御が重要な役割を果たしていることを明らかにした。

1) コフィリンホスファターゼ Slingshot の同定 (Cell, 2002; Genes Cells, 2003) : コフィリンは LIMK により Ser-3 がリン酸化されると不活性化される。コフィリンの活性制御機構を理解するためには、コフィリンを脱リン酸化（活性化）するホスファターゼの同定が必須である。私たちは、上村研との共同研究により、上皮の変形とアクチンの過重合を表現型とするショウジョウバエ変異体の解析からコフィリン特異的なホスファターゼ Slingshot を同定し、さらに3種のヒト Slingshot ホモログも同定した。Slingshot ファミリーは、MAPK ホスファターゼと遠縁の新規ホスファターゼで、コフィリンの Ser-3 を特異的に脱リン酸化し、細胞レベル、個体レベルで LIMK によるアクチン重合作用を中和することを明らかにした。

2) Slingshot の活性化機構 (JCB, 2004; JBC, 2004, 2005) : 私たちは、Slingshot がケモカインや増殖因子の刺激により移動細胞先端端のラメリポディアに集積することを見出し、これに着目して Slingshot がアクチン繊維との結合によって著しく活性化されることを見出した。また、Slingshot-1 は Ser-937, Ser-978 のリン酸化依存的に 14-3-3 蛋白質と結合し、それによってアクチン繊維への結合と活性化が阻害されることを明らかにし、図1のような Slingshot 活性化機構のモデルを提出した。刺激前の細胞では Slingshot は 14-3-3 によってアクチン繊維による活性化から保護されているが、刺激によって 14-3-3 から解離し先端端に移行してアクチン繊維により活性化され、コフィリンの脱リン酸化（活性化）を介してアクチンのターンオーバーを促進し、細胞移動に必要なラメリポディアの伸展に寄与していると考えられる。また、Slingshot は PI3 キナーゼや Ca<sup>2+</sup>シグナルの下流で活性化されることも明らかにした。

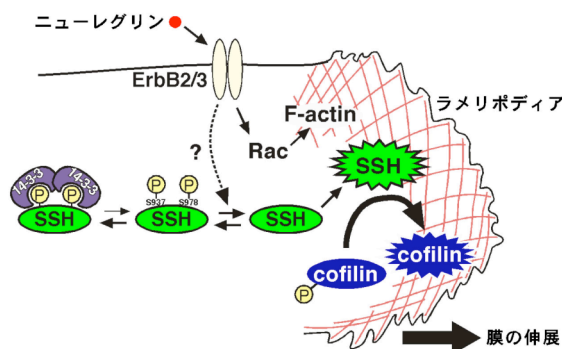


図1. Slingshot (SSH)の活性化機構のモデル

## ⑦研究成果の概要 つづき

3) 細胞遊走におけるコフィリンの時空間的活性制御の役割解明 (MCB, 2002; JCB, 2005): ケモカインによる T 細胞の遊走におけるコフィリンのリン酸化制御の役割を解明するため、LIMK、Slingshot の siRNA を行った。その結果、LIMK はケモカイン刺激によるラメリポディアの形成に寄与しているのに対して、Slingshot は仮足を一方向に局限し、細胞極性を形成するのに必要であることが明らかとなった。また、Slingshot のアクチン繊維による活性化は細胞遊走におけるコフィリンの時間的・空間的な活性変化を誘導し、細胞移動時の極性形成に必須の役割を果たしていることを明らかにした。

4) LIM キナーゼ活性化の新規シグナル経路の解明と血管新生における役割 (EMBO J, 2006): VEGF による血管内皮細胞の遊走や管腔形成の誘導過程において、LIMK の活性化とコフィリンのリン酸化が重要であることを見出した。さらに、血管内皮細胞を VEGF で刺激すると、p38 MAPK → MAPKAPK-2 経路が活性化され、MAPKAPK-2 により LIMK の Ser-323 がリン酸化され、活性化されることを明らかにした。LIMK の不活性型や Ser-323 の変異体の発現によって VEGF による細胞遊走や管腔形成が抑制されることを見出し、血管新生において MAPKAPK-2 による LIMK の活性化が重要な役割を果たしていることを解明した。

5) 細胞分裂におけるコフィリンのリン酸化制御の役割解明 (JBC, 2002, 2003): 細胞周期依存的なコフィリンのリン酸化レベルの変動を解析し、コフィリンは細胞分裂中期に顕著にリン酸化され終期に脱リン酸化されることを見出した。これと並行して、中期には LIMK の活性上昇と Slingshot の活性低下が、終期には LIMK の活性低下と Slingshot の活性上昇が認められた。LIMK の過剰発現により終期のコフィリン脱リン酸化を阻害すると、細胞は多核化することを見出し、終期におけるコフィリンの脱リン酸化は細胞質分裂において重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、LIMK の発現抑制により、中期のコフィリンのリン酸化を阻害すると、紡錘体が回転し位置が不安定になることを見出した (未発表)。この結果は、分裂期中期の紡錘体の位置決定にアクチン細胞骨格の制御が関与していることを示す重要な結果である。

6) 神経突起伸長・退縮および樹状突起スパインの形態形成におけるコフィリンリン酸化制御の役割 (Nat. Neurosci., 2001; JN, 2003; Neuron, 2003): 培養神経細胞において、LIMK の過剰発現は神経突起伸長を抑制し、Slingshot の過剰発現は突起伸長を促進することを見出した。また、siRNA を用いた解析により、NGF 刺激による神経突起の伸長には LIMK と Slingshot の両者の活性が必要であることを明らかにした。また、LIMK はスパインの形態形成、可塑性に重要であることがノックアウトマウスの解析から示唆されているが、井ノ口研との共同研究により、海馬 LTP 刺激によってコフィリンのリン酸化レベルが上昇し、F アクチン量が上昇することを明らかにし、LIMK によるコフィリンのリン酸化が LTP 刺激依存的なスパインの形態変化に関与することを示唆する結果を得た。

7) 癌細胞浸潤におけるコフィリンリン酸化制御の役割: 高浸潤性肝癌細胞 MM1 では低浸潤性の親株 W1 細胞より LIMK と Slingshot の発現量が高く、siRNA や阻害剤によって LIMK、Slingshot の発現や活性を抑制すると浸潤能が抑制されることを見出した。これらの結果から、LIMK と Slingshot によるコフィリンのリン酸化サイクルの亢進が癌細胞の高浸潤能に関与していることを明らかにした (投稿準備中)。

8) コフィリンリン酸化動態の時空間的解析: コフィリンのリン酸化状態をリアルタイム解析するためのプローブとして、コフィリンとアクチンからなる FRET プローブと BiFC (Bimolecular Fluorescence Complementation) プローブを作成した。これらのプローブは脱リン酸化型特異的に発色するが、細胞内動態の観察には適さないことがわかり、さらに改良が必要である。

9) コフィリンの真の細胞機能の解明に向けて: コフィリンの細胞機能としては、アクチン脱重合活性による G アクチンの供給及びターンオーバーの促進説と、アクチン繊維切断活性による重合端の生成とアクチン重合促進説の 2 つの説がある。Dronpa-アクチンを用いて細胞内アクチン動態を観察し、コフィリンは主に細胞内に G アクチンを供給する働きをもつことを証明した。コフィリンを不活性化した細胞では刺激依存的なラメリポディアの形成や運動能が阻害されるが、これは細胞内の G アクチン量の減少によることを証明した (投稿準備中)。

## ⑧特記事項

この研究において得られた、独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、学問的・学術的なインパクト等特記すべき事項があれば記入してください。

アクチン細胞骨格の再構築は、細胞の運動、形態変化、接着、極性形成、輸送、細胞質分裂など細胞の動的活動を支える重要な役割を担っており、ひいては胚発生、器官形成、血管新生、神経系構築、免疫応答、癌細胞転移など多くの生理的、病理的現象の分子的基盤をなしている。したがって、アクチン細胞骨格の再構築を制御するシグナル伝達機構や時空間的制御機構の解明は、細胞生物学における基本的でかつ重要な研究命題の一つである。私たちは、独自のアプローチによってアクチン繊維の主要な調節因子であるコフィリンの活性を制御する新規なキナーゼ（LIM キナーゼ）とホスファターゼ（Slingshot）の同定にはじめて成功し、リン酸化・脱リン酸化によるコフィリンの正と負の制御機構を世界に先駆けて解明し、さらにコフィリンのリン酸化制御のシグナル伝達機構についても研究をリードしてきた。本研究の成果は、細胞の運動と形態変化の制御機構の解明に寄与しただけでなく、胚発生、創傷治癒、癌細胞転移、神経ガイダンス、シナプス可塑性など多くの生命現象の理解にも寄与するものと思われる（実際に、私たちの論文は、細胞生物学だけでなく免疫学、神経科学、癌などの研究領域の論文、総説にも広く引用されている）。本研究において得られた研究成果の中で、新規性を格段に発展させ、学術的インパクトの大きかったと思われる特記事項は以下の通りである。

1) コフィリンホスファターゼ Slingshot の同定：コフィリンはアクチン細胞骨格の再構築を制御する主要因子の一つであり、その活性制御機構の解明は細胞の形態形成、運動性を理解するうえで必須である。種々の細胞外刺激に応答してコフィリンが脱リン酸化されることが報告されていたが、コフィリンホスファターゼの実体は長年不明であった。私たちは、上村研との共同研究により、ショウジョウバエの翅毛・剛毛の形態異常を示す変異体の解析から、細胞・個体レベルで生理的機能をもつコフィリンホスファターゼ **Slingshot の同定にはじめて成功した**。本酵素の同定は、細胞骨格の制御機構の解明にとどまらず、細胞移動、極性形成、神経系構築など多くの細胞機能の分子的理解を格段に前進させる重要な知見と考えられ、Cell 誌や Developmental Cell 誌の review で紹介されるなど学術的に高い評価を受けている。

2) Slingshot の活性制御機構と細胞極性形成における役割の解明：コフィリンはアクチン繊維のターンオーバーを促進し、移動細胞の先端端での仮足形成と極性形成に必須の役割を果たしていると考えられる。私たちは、ケモカイン刺激によって Slingshot が移動細胞の先端端に集積し、アクチン繊維によって活性化されることを見出し、Slingshot を介したコフィリンの局所的な活性化が細胞遊走における極性形成に重要な役割を果たしていることを解明した。この成果は**アクチン繊維の自己触媒的なターンオーバー促進機構を分子レベルで解明した**成果であり、細胞極性形成の分子機構解明に向けた独創的な成果であると考えられる。

3) LIMK 活性化の新しいシグナル伝達機構の解明：VEGF による血管内皮細胞の遊走と管腔形成において、MAPKAPK-2 による LIMK のリン酸化（活性化）が重要な役割を果たしていることを明らかにした。VEGF による血管新生は癌細胞の増殖、転移と深く関わっており、**新たな LIMK シグナル経路の解明**は血管新生阻害剤の開発につながる新たな知見である。

4) 細胞分裂におけるコフィリンの役割：細胞分裂終期の収縮環の消失、細胞質分裂の遂行にコフィリンの脱リン酸化が必須であることを解明した。また、**分裂中期の紡錘体の位置安定化にコフィリンのリン酸化が必須**であることを見出した。アクチン重合・脱重合の制御が紡錘体の位置決定（あるいは分裂面の位置決定）に関与していることを示す独創的な成果である。

5) コフィリンリン酸化制御の神経機能：コフィリンのリン酸化による活性制御が**神経成長円錐の伸長・退縮および樹状突起スパインの形態形成**に関与することが明らかになった。この結果は、神経発生過程における軸索ガイダンスの分子機構およびシナプス可塑性や学習、記憶など高次神経機能の解明において今後の発展性が期待される重要な知見であると考えられる。

### ⑨研究成果の発表状況

この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（投稿中の論文を記入する場合は、掲載が決定しているものに限ります。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）、最初と最後のページ、発表年（西暦）、及び国際会議、学会等における発表状況について、3頁以内に収めて記入してください。

1. Kobayashi, M., Nishita, M., Mishima, T., Ohashi, K., and Mizuno, K. MAPKAPK-2-mediated LIM-kinase activation is critical for VEGF-induced actin remodeling and cell migration. **EMBO J.**, 25, 713-726 (2006).
2. Yamamoto, M., Nagata-Ohashi, K., Ohta, Y., Ohashi, K., and Mizuno, K. Identification of multiple actin-binding sites in cofilin-phosphatase Slingshot-1L. **FEBS Lett.**, 580, 1789-1794 (2006).
3. Nishita, M., Tomizawa, C., Yamamoto, M., Horita, Y., Ohashi, K., and Mizuno, K. Spatial and temporal regulation of cofilin activity by LIM-kinase and Slingshot is critical for directional cell migration. **J. Cell Biol.**, 171, 349-359 (2005).
4. Fukuda, R., Hayashi, A., Utsunomiya, A., Nukada, Y., Fukui, R., Itoh, K., Tezuka, K., Ohashi, K., Mizuno, K., Sakamoto, M., Hamanoue, M., and Tsuji, T. Alteration of phosphatidylinositol 3-kinase cascade in multilobulated nuclear formation of adult T cell leukemia/lymphoma (ATLL). **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, 102, 15213-15218 (2005).
5. Tsumura, Y., Toshima, J., Leeksa, O. C., Ohashi, K., and Mizuno, K. Sprouty-4 negatively regulates cell spreading by inhibiting the kinase activity of testicular protein kinase. **Biochem. J.**, 387, 627-637 (2005).
6. Wang, Y., Shibasaki, F., and Mizuno, K. Calcium signal-induced cofilin dephosphorylation is mediated by Slingshot via calcineurin. **J. Biol. Chem.**, 280, 12683-12689 (2005).
7. Okamoto, N., Nukada, Y., Tezuka, K., Ohashi, K., Mizuno, K., and Tsuji, T. AILIM/ICOS-signaling induces T-cell migration/polarization of memory/effector T-cells. **Int. Immunol.**, 16, 1515-1522 (2004).
8. Nagata-Ohashi, K., Ohta, Y., Goto, K., Chiba, S., Mori, R., Nishita, M., Ohashi, K., Kousaka, K., Iwamatsu, A., Niwa, R., Uemura, T., and Mizuno, K. A pathway of neuregulin-induced activation of cofilin-phosphatase Slingshot and cofilin in lamellipodia. **J. Cell Biol.**, 165, 465-471 (2004).
9. Tomiyoshi, G., Horita, Y., Nishita, M., Ohashi, K., and Mizuno, K. Caspase-mediated cleavage and activation of LIM-kinase 1 and its role in apoptotic membrane blebbing. **Genes Cells**, 9, 591-600 (2004).
10. Konakahara, S., Ohashi, K., Mizuno, K., Itoh, K., and Tsuji, T. CD29 integrin- and LIMK1/cofilin-mediated actin reorganization regulates the migration of hematopoietic progenitor cells underneath bone marrow stromal cells. **Genes Cells**, 9, 345-358 (2004).
11. Nishita, M., Wang, Y., Tomizawa, C., Suzuki, A., Niwa, R., Uemura, T., and Mizuno, K. Phosphoinositide 3-kinase-mediated activation of cofilin phosphatase Slingshot and its role for insulin-induced membrane protrusion. **J. Biol. Chem.**, 279, 7193-7198 (2004).
12. Verdijk, P., van Veelen, P. A., de Ru, A. H., Hensbergen, P. J., Mizuno, K., Koerten, H. K., Koning, F., Tensen, C. P., and Mommaas, A. M. Morphological changes during dendritic cell maturation correlate with cofilin activation and translocation to the cell membrane. **Eur. J. Immunol.**, 34, 156-164 (2004).
13. Kutsuna, H., Suzuki, K., Kamata, N., Kato, T., Hato, F., Mizuno, K., Kobayashi, H., Ishii, M., and Kitagawa, S. Actin reorganization and morphological changes in human neutrophils stimulated by TNF, GM-CSF and G-CSF: role of mitogen-activated protein kinases. **Am. J. Physiol. Cell Physiol.**, 286, C55-C64 (2004).

### ⑨研究成果の発表状況

この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（投稿中の論文を記入する場合は、掲載が決定しているものに限ります。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）、最初と最後のページ、発表年（西暦）、及び国際会議、学会等における発表状況について、3頁以内に収めて記入してください。

14. Kaji, N., Ohashi, K., Shuin, M., Niwa, R., Uemura, T., and Mizuno, K. Cell cycle-associated changes in Slingshot phosphatase activity and roles in cytokinesis in animal cells. **J. Biol. Chem.**, 278, 33450-33455 (2003).
15. Ohta, Y., Kousaka, K., Nagata-Ohashi, K., Ohashi, K., Muramoto, A., Shima, Y., Niwa, R., Uemura, T., and Mizuno, K. Differential activities, subcellular distribution, and tissue expression patterns of three members of Slingshot family phosphatases that dephosphorylate cofilin. **Genes Cells**, 8, 811-824 (2003).
16. Fukazawa, Y., Saitoh, Y., Ozawa, F., Ohta, Y., Mizuno, K., and Inokuchi, K. Hippocampal LTP is accompanied by enhanced F-actin content within the dendritic spine that is essential for late LTP maintenance in vivo. **Neuron**, 38, 447-460 (2003).
17. Endo, M., Ohashi, K., Sasaki, Y., Goshima, Y., Niwa, R., Uemura, T., and Mizuno, K. Control of growth cone motility and morphology by LIM-kinase and Slingshot via phosphorylation and dephosphorylation of cofilin. **J. Neurosci.**, 23, 2527-2537 (2003).
18. Amano, T., Kaji, N., Ohashi, K., and Mizuno, K. Mitosis-specific activation of LIM-kinase and roles of cofilin phosphorylation and dephosphorylation in mitosis. **J. Biol. Chem.**, 277, 22093-22102 (2002).
19. Leeksa, O. C., van Achterberg, T. A., Tsumura, Y., Toshima, J., Eldering, E., Kroes, W. G., Mellink, C., Spaargaren, M., Mizuno, K., Pannekoek, H., and de Vries, C. J. Human sprouty 4, a new ras antagonist on 5q31, interacts with the dual specificity kinase TESK1. **Eur. J. Biochem.**, 269, 2546-2556 (2002).
20. Matsui, S., Matsumoto, S., Adachi, R., Kusui, K., Hirayama, A., Watanabe, H., Ohashi, K., Mizuno, K., Yamaguchi, T., Kasahara, T., and Suzuki, K. LIM-kinase 1 modulates opsonized zymosan-triggered activation of macrophage-like U937 cells; possible involvement of phosphorylation of cofilin and reorganization of actin cytoskeleton. **J. Biol. Chem.**, 277, 544-549 (2002)
21. Nishita, M., Aizawa, H., and Mizuno, K. Stromal cell-derived factor-1alpha activates LIM-kinase 1 and induces cofilin phosphorylation for T cell chemotaxis. **Mol. Cell. Biol.**, 22, 774-783 (2002)
22. Niwa, R., Nagata-Ohashi, K., Takeichi, M., Mizuno, K., and Uemura, T. Control of actin reorganization by Slingshot, a family of phosphatases that dephosphorylate ADF/cofilin. **Cell**, 108, 233-246 (2002)
23. Toshima, J. Y., Toshima, J., Watanabe, T., and Mizuno, K. Binding of 14-3-3beta regulates the kinase activity and subcellular localization of testicular protein kinase 1. **J. Biol. Chem.**, 276, 43471-43481 (2001).
24. Yanagita M., Arai, H., Nakano, T., Ohashi, K., Mizuno, K., Fukatsu, A., Doi, T., and Kita, T. Gas6 induces mesangial cell proliferation via latent transcription factor STAT3. **J. Biol. Chem.**, 276, 42364-42369 (2001).
25. Wakayama, T., Ohashi, K., Mizuno, K., and Iseki, S. Cloning and characterization of a novel mouse immunoglobulin superfamily gene expressed in early spermatogenic cells. **Mol. Reprod. Dev.**, 60, 158-164 (2001).

## ⑨研究成果の発表状況

この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（投稿中の論文を記入する場合は、掲載が決定しているものに限ります。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）、最初と最後のページ、発表年（西暦）、及び国際会議、学会等における発表状況について、3頁以内に収めて記入してください。

26. Toshima, J., Toshima, J. Y., Takeuchi, K., Mori, R., and Mizuno, K. Cofilin phosphorylation and actin reorganization activities of testicular protein kinase 2 and its predominant expression in testicular Sertoli cells. **J. Biol. Chem.**, 276, 31449-31458 (2001).
27. Toshima, J., Toshima, J. Y., Suzuki, M., Noda, T., and Mizuno, K. Cell type-specific expression of a TESK1 promoter-linked lacZ gene in transgenic mice. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 286, 566-573 (2001).
28. Aizawa, H., Wakatsuki, S., Ishii, A., Moriyama, K., Sasaki, Y., Ohashi, K., Sekine-Aizawa, Y., Sehara-Fujisawa, A., Mizuno, K., Goshima, Y., and Yahara, I. Phosphorylation of cofilin by LIM-kinase is necessary for semaphorin 3A-induced growth cone collapse. **Nature Neurosci.**, 4, 367-373 (2001).
29. Toshima, J., Toshima, J. Y., Amano, T., Yang, N., Narumiya, S., and Mizuno, K. Cofilin phosphorylation by protein kinase TESK1 and its role in integrin-mediated actin reorganization and focal adhesion formation. **Mol. Biol. Cell**, 12, 1131-1145 (2001).
30. Yanagita, M., Arai, H., Ishi, K., Nakano, T., Ohashi, K., Mizuno, K., Varnum, B., Fukatsu, A., Doi, T., Kita, T. Gas6 regulates mesangial cell proliferation through Axl in experimental glomerulonephritis. **Am. J. Pathol.**, 158, 1423-1432 (2001).
31. Amano, T., Tanabe, K., Eto, T., Narumiya, S., and Mizuno, K. LIM-kinase 2 induces the formation of actin stress fibers, focal adhesions and membrane blebs, dependent on its activation by Rho-associated kinase-catalyzed phosphorylation of threonine-505. **Biochem. J.**, 354, 149-159 (2001).

### 国際学会における発表（招待講演）

1. Mizuno, K.: Roles of phosphoregulation of ADF/cofilin in actin dynamics and cell migration. The 58th Annual Meeting of Japan Society for Cell Biology, "Symposium on Actin Cytoskeleton: Its Dynamics and the Role in Cell Motility", June 15-17, 2005, Omiya, Japan.
2. Mizuno, K.: Spatial and Temporal Regulation of Cofilin Activity by LIM-kinase and Slingshot Is Critical for Directional Cell Migration. The American Society for Cell Biology 2005 Summer Meeting on "Coordinating the Events of Directed Cell Motility", July 27-30, 2005, Seattle, USA.
3. Mizuno, K.: Roles of LIM-kinase and Slingshot in Spatiotemporal Control of Cofilin Activity and Cell Migration. International Symposium of Kobe University 21st Century COE Program on "Signal Transduction" In Memory of Prof. Yasutomi Nishizuka. Feb. 9-11, 2006, Kobe, Japan.