

平成23年度科学研究費補助金（特別推進研究）自己評価書 〔追跡評価〕

◆記入に当たっては、「平成23年度科学研究費補助金（特別推進研究）自己評価書等記入要領」を参照してください。

平成23年5月20日現在

研究代表者 氏名	成宮 周	所属研究機関・ 部局・職	京都大学・大学院医学研究科・教授
研究課題名	低分子量 G 蛋白質 Rho の情報伝達と生理的意義の研究		
課題番号	13002007		
研究組織 (研究期間終了時)	研究代表者 成宮 周（京都大学・大学院医学研究科・教授）		

【補助金交付額】

年度	直接経費
平成13年度	122,000 千円
平成14年度	108,000 千円
平成15年度	100,400 千円
平成16年度	98,800 千円
平成17年度	92,000 千円
総計	521,200 千円

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか

特別推進研究によってなされた研究が、どのように発展しているか、次の(1)~(4)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究の概要

(研究期間終了後における研究の実施状況及び研究の発展過程がわかるような具体的内容を記述してください。)

(1) mDia によるアクチン重合の仕組みの解明

本特別推進研究で、mDia のアクチン重合の触媒部位 FH2 ドメインの構造を明らかにした (*Mol. Cell*, 13:511-522, 2004) とともに、mDia が in vitro のみならず in vivo の生細胞内でもアクチン重合の先端にあって真っすぐで長いアクチン線維形成を触媒していることを明らかにした (*Science*, 2004 303:2007-2010, 2004)。これらの所見より、mDia の活性が細胞内でどのように調節されているか、また、mDia によるアクチン重合がどのように触媒されているかなどの疑問が出て来た。前者については、mDia の細胞内での活性調節に局所 G-アクチン濃度が critical であるという発見 (*J. Cell Sci.*, 121, 3403-3412, 2008) と新規 mDia 結合蛋白質が mDia の細胞膜 targeting を調節して mDia 活性を制御しているという発見 (*J Cell Sci.*, revision) に発展した。また、mDia によるアクチン重合の触媒様式については、FH2 dimer による環状構造体がアクチン線維の螺旋に沿って回転しながら重合を行なうという発見 (*Science*, 331:80-83, 2011) に発展した。

(2) mDia による細胞移動の解明とこれから発した Src による細胞悪性化メカニズムの解明

本特別推進研究で mDia が Rho の下流で潜在的に Rac の活性化に繋がること、これが細胞接着斑での c-Src による Cas のリン酸化によることを解明した (*J. Cell Biol.*, 157:819-830, 2002)。この研究は、ついで、mDia が c-Src の細胞接着斑への targeting を介達することにより細胞接着斑の回転を制御し細胞の移動を調節しているという発見 (*Mol Cell Biol.* 26:6844-6858, 2006) に繋がった。また、これは、mDia が v-Src の細胞膜への移行を同様の機構で行なっており、これが v-Src による細胞悪性化と腫瘍形成に必須であるという発見 (*Mol Cell Biol.* 30:4604-4615, 2010) に繋がった。これは、これまで不明であった v-Src の targeting 機構を明らかにしたものであった。また、これらの報告により、Rho-mDia 経路による細胞の migration 機構の存在が明らかになったが、この機構の in vivo での存在を証明するために mDial の遺伝子欠損マウスを作製し、mDial 欠損 T 細胞や樹状細胞で migration が抑制されることを見出した (*J. Exp. Med.* 204:2031-2038, 2007; *Blood*, 116, 5875-5884, 2010)。さらに、現在、mDial と mDia3 の double KO マウスを用いた解析で脳形成時の神経前駆細胞の移動が mDia 分子により調節されているという知見を得つつある (篠原ら、未発表)。

(3) 神経軸索投射、神経系可塑性、神経幹細胞制御に置ける Rho シグナリングの役割の解明

これまで Rho-ROCK 経路が突起退縮を起こすことを報告し、本特別推進研究で in vitro の神経軸索形成における Rho-mDia 経路の役割を見出した (*J. Cell Biol.* 161:381-391, 2003) が、実際の神経回路構築でのこれら経路の役割は不明であった。これを遺伝学的に立証するため、一つは、ROCK-II 欠損マウスを脊髄傷害モデルに供することにより、軸索再生において ROCK が抑制的に働いていることを明らかにした (*J Neurosci.* 29:15266-15276, 2009)。また、現在、上述の mDial/3 二重欠損マウスにおいて corticospinal tract の投射や神経幹細胞制御の異常を見出し解析中である (篠原、Thumkeo ら、未発表)。

(4) 細胞分裂、細胞周期進行での Rho シグナルの役割の解明

本特別推進研究では、Cdc42-mDia3 による分裂中期の制御機構を見出した (*Nature* 428:767-771, 2004) が、ついで、細胞質分裂の収縮環形成におけるアクチン重合因子として mDia2 を同定し、これがアクチンの足場形成を行なうことにより、収縮環の安定化に働いていることを明らかにした (*Mol. Biol. Cell* 19:2328-2338, 2008)。さらに、この足場形成を行なう mDia2 の結合パートナーとして anillin を同定し、mDia2 と anillin が相互依存的に収縮環形成に働いていることを示した (*Mol. Biol. Cell* 21:3193-204, 2010)。さらに、本研究中に Rho 標的蛋白質の一つ citron が Rho 活性依存的に分裂溝に移行することを示した (*J Cell Sci.* 114:3273-3284, 2001) が、現在、citron の細胞質分裂での機能とメカニズムを解析中である。また、これら分裂期での働きやこれまで知られていた G1/S 期進行の制御に加えて、Rho GTPase が細胞周期の G2/M 期進行にも働いていること、その作用が中心体での aurora A キナーゼの活性化にあることを明らかにした (*Mol. Biol. Cell* 18:3752-3763, 2007)。

(5) ROCK の生理的役割の解明

本特別推進研究で、ROCK 阻害薬が眼圧を低下させ眼房水の流出を促進することを示した (*Inv. Opt. Vis. Sci.* 42:137-144, 2001) が、この発見は、ROCK 阻害薬の緑内障治療薬として開発に繋がった。また、本研究で作出した ROCK I と ROCK-II の欠損マウスを掛け合わせることにより、ヘテロホモ、ホモヘテロ欠損マウスを作出し、ROCK の 2 つのアイソフォームが yolk sac での血管形成に働いていることを明らかにした (*Genes to Cells*, revision)。また、Rho-ROCK 経路が、受精時に卵細胞-卵丘細胞複合体で細胞外マトリックスの形成を促進することにより、精子の侵入を阻害するよう働いていることを明らかにした (*Endocrinol.* 150:3345-3352, 2009)。さらに、ES 細胞の apoptosis が ROCK 依存性過程で起こっていること、ROCK 阻害薬は apoptosis 阻害に働くことを見出した (*J. Neurosci. Res.*, 86:270-180, 2008; *Cell Stem Cell* 7, 225-239, 2010)

(2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など（研究の発展過程でなされた研究成果の発表状況を記述してください。）

主たる発表論文

1. Yamana, N. et al. (2006) Rho-mDia1 Pathway Regulates Cell Polarity and Focal Adhesion Turnover in Migrating Cells Through Mobilizing APC and c-Src. *Mol. Cell Biol.*, **26**, 6844-6858
2. Miyoshi, T. et al. (2006) Actin turnover-dependent fast dissociation of capping protein in the dendritic nucleation actin network: evidence of frequent filament severing. *J Cell Biol.* **175**, 947-955.
3. Ando, Y., Yasuda, S., Ocegüera-Yanez F. and Narumiya, S. (2007) Inactivation of Rho GTPases with Clostridium difficile Toxin B Impairs Centrosomal Activation of Aurora-A in G2/M Transition of HeLa Cells. *Mol Biol Cell.* **18**, 3752-3763.
4. Sakata, D. et al. (2007) Impaired T lymphocyte trafficking in mice deficient in an actin-nucleating protein, mDia1. *J. Exp. Med.*, **204**, 2031-2038.
5. Koyanagi, M. et al. (2008) Inhibition of the Rho/ROCK pathway reduces apoptosis during transplantation of embryonic stem cell-derived neural precursors. *J Neurosci Res.* **86**, 270-280.
6. Watanabe, S. et al. (2008) mDia2 induces the actin scaffold for the contractile ring and stabilizes its position during cytokinesis in NIH 3T3 cells. *Mol. Biol. Cell.* **19**, 2328-2338.
7. Higashida, C. et al. (2008) G-actin regulates rapid induction of actin nucleation by mDia1 to restore cellular actin polymers. *J. Cell Sci.*, **121**, 3403-3412.
8. Miki, T. et al. (2009) mDia2 shuttles between the nucleus and the cytoplasm through the importin-a/b- and CRM1-mediated nuclear transport mechanism. *J. Biol. Chem.*, **284**, 5753-5762.
9. Narumiya, S., Tanji, M. & Ishizaki, T. (2009) Rho signaling, ROCK and mDia1, in transformation, metastasis and invasion. *Cancer Metastasis Rev.*, **28**, 65-76.
10. Yodoi, R. et al. (2009) RhoA/ROCK Signaling in the Cumulus Mediates Extracellular Matrix Assembly. *Endocrinology*, **150**, 3345-3352
11. Duffy, P. t al. (2009) Rho-associated kinase II (ROCKII) limits axonal growth after trauma within the adult mouse spinal cord. *J. Neurosci.*, **29**, 15266-15276.
12. Narumiya, S., and Watanabe, N. (2009) Migration without a clutch. *Nat. Cell Biol.*, **11**, 1394-1396.
13. Watanabe, S. et al. (2010) Rho and Anillin-dependent Control of mDia2 Localization and Function in Cytokinesis. *Mol Biol Cell*, **21**, 3193-3204.
14. Tanji, M. et al. (2010) mDia1 Targets v-Src to Cell Periphery and Facilitates Cell Transformation, Tumorigenesis and Invasion. *Mol Cell Biol.* **30**, 4604-4615.
15. Ohgushi, M. et al. (2010) Molecular Pathway and Cell State Responsible for Dissociation-Induced Apoptosis in Human Pluripotent Stem Cells. *Cell Stem Cell.* **7**, 225-239.
16. Tanizaki, H. et al. (2010) Rho-mDia1 pathway is required for adhesion, migration, and T-cell stimulation in dendritic cells. *Blood*, **116**, 5875-5884.
17. Mizuno, H. et al. (2011) Rotational movement of the formin mDia1 along the double helical strand of an actin filament. *Science*, **331**, 80-83.

招待講演

1. Narumiya, S.: "Rho signaling: Roles and Mechanism in Cell Morphogenesis and Movement", Dana-Farber Cancer Institute Seminars in Oncology, April 3, 2007, Dana-Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, U.S.A.
2. Narumiya, S.: "mDia Isoforms Mediate Delivery of c-Src and Spindle Orientation through Actin Cytoskeleton; A Conserved Mechanism from Yeast to Mammals?", A symposium talk in 2007 ASCB-ECF Summer Meeting *Dynamic Interplay Between Cytoskeletal and Membrane Systems*, Dijon Congrexpo, Dijon, France, June 27-30, 2007.
3. Narumiya, S.: "Rho GTPases in Cell Division; From G2/M Transition to Cytokinesis", The Gordon Research Conference on Mechanism of Cell Signaling, September 16-21, 2007, Magdalen College, Oxford.
4. Narumiya, S.: "The Rho-mDia Pathway in Cell Transformation and Migration", The AACR Special Conference in Cancer Research on Cytoskeletal Signaling in Cancer, February 3-5, 2008, San Diego.
5. Narumiya, S.: "Rho-mDia pathway, Src and cell transformation", Gordon Conference on Phosphorylation and G-protein mediated Signaling Networks, June, 15-20, 2008, University of New England, Maine.
6. Narumiya, S.: "Functions of the Rho-mDia pathway in the body; lessons from knockout mice", The Gordon Research Conference on "Mechanisms of Cell Signaling", August 23-28, 2009, Magdalene College, Oxford, U.K.
7. Narumiya, S.: "Phenotype Analysis of Mice Deficient in Actin Nucleator, mDia", The 4th Mechanobiology Workshop and Biophysical Society Meeting, November 9-12, 2010, Singapore.

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(3) 研究費の取得状況（研究代表者として取得したもののみ）

平成 18-22 年度 特別推進研究 18002015 （代表）

「Rho GTPases を介する細胞機能の時空間特異的制御と個体での役割」

105,100 千円 (H18)、110,600 千円 (H19)、105,100 千円 (H20)、87,600 千円 (H21)、84,800 千円 (H22)

総額 493,200 千円

平成 18-19 年度 医薬基盤研究所 基礎研究推進事業 （代表）

「プロスタノイド受容体タイプ選択的作用薬のトランスレーショナルリサーチ」

137,000 千円 (H18)、129,000 千円 (H19) 総額 266,000 千円

平成 23-25 年度 基盤研究A 23249014 (代表)

「個体での組織構築・恒常性におけるRho-mDia経路の役割」

14,200 千円 (H23) , 11,500 千円 (H24) 、 11,500 千円 (H25) 総額37,200 千円

平成23-27年度 CREST研究領域「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」

研究課題名「プロスタグランジンを引き金とする炎症慢性化機構の解明」

67,131千円 (H23) , 66,288千円 (H24) 、 65,616千円 (H25) 、 64,857千円 (H26) 、

64,844 千円 (H27) 総額 328,736 千円

(4) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

1-(1) と一部重複するが、発見・知見をより一般化して記すと以下ようになる。

① アクチン核化・重合因子としての mDia の確立

本特別推進研究の成果とその他の同時期の報告により mDia を含む formin 分子群が Arp2/3 と並ぶアクチン核化・重合因子であることが明確に同定され、それが Arp2/3 と異なり、アクチン重合体の barbed end に結合して loose な cap をつくり重合を促進するという独特の様式をとること、その結果、Arp2/3 によって形成される分岐状アクチンと異なる直鎖の長いアクチン線維形成を特徴とすることが明らかになった。

② メカノセンサーとしての Rho シグナル系の確立。

個体では、例えば血流のずり応力により細胞の形態変化がおこりアクチン細胞骨格の形成がおこるが、本特別推進研究での解析により外部より加わった tensiton を Rho シグナル系が感知し、それをアクチン細胞骨格に伝えるセンサーとして働くことが示された。

③ Rho シグナル経路のクロストークとその細胞移動での役割

本特別推進研究とそれに引き続いた研究により、Rho が c-Src や Rac を動かして、細胞移動を引き起こすことが in vitro の培養系のみならず、in vivo の個体で示されたが、これは、Rho は接着で Rac が運動を Cdc42 が運動の方向性を決めるという既存のパラダイムを変革するものであった。

④ 個体での Rho シグナルとそれによるアクチン細胞骨格制御の役割

個体は、発生時にその表面で様々な管状構造を形成し、それを閉鎖することで構造を形作る。本特別推進研究での研究で、このような体壁閉鎖の過程で Rho-ROCK 経路とそれによるアクトミオシン系が働いていることが明らかになった

⑤ Src による細胞がん化の分子メカニズムの解明

v-Src は、最初に同定されたがん遺伝子であるが、これが細胞のどの場所で働いてがん化に働くかは不明であった。本特別推進研究とそれに引き続いた研究で、v-Src が Rho-mDia 経路により細胞内から細胞接着斑へ運ばれ、これが細胞膜へ移行することで、がん化と腫瘍形成に働くことが明らかにされた。

⑥ 細胞周期における Rho の役割解明

本特別推進研究とそれに引き続く研究で、Rho やそのエフェクターが、G2/M 期進行、染色体分離、細胞質分裂に働いていることとその機構の一部が解明された。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況

特別推進研究の研究成果が他の研究者に活用された状況について、次の(1)、(2)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 学界への貢献の状況（学術研究へのインパクト及び関連領域のその後の動向、関連領域への関わり等）

本特別推進研究の科学へのインパクトとしては、生物学全般への貢献、細胞生物学への貢献、発生生物学への貢献、医学への貢献などに大別して考えることができる。

生物学全般への貢献としては、外力に対するメカノセンサーとして細胞接着斑における Rho-mDia1 経路を同定したことが挙げられる。この論文は、587 回引用されており、その引用文献は、Nat. Rev. Mol. Cell Biol., Science, Cell, Dev. Cell, J. Cell Sci., Cancer Cell, J. Cell Biol., Faseb J., Physiol. Rev., Ann. Rev., Cell Dev. Biol., JBC, Trends Cell Biol. などの review（いずれも被引用回数 200 以上）を含み、繰り返し引用されている。その理由としては、外力に対する細胞反応が新しい科学”Mechanobiology”として立ち上がりつつあり、具体的な細胞反応の例として、この分野の立ち上げに貢献したことが考えられる。

細胞生物学へのインパクト、貢献としては、まず、mDia のアクチン核化・重合因子として役割をはっきりさせたことが挙げられる。これによって、細胞でのアクチン線維形成の 2 大因子として、Arp2/3 とともに mDia を含む formin が位置づけられることとなった。これは、細胞生物学の基本命題の一つであるアクチン細胞骨格形成機構の基盤を与えたものと考えられる。

さらに、細胞生物学の基本命題の一つである細胞の migration 機構では、これまでのパラダイムであった Rac-Cdc42 に加えて Rho の関与をはっきりさせた。これは、同時期にだされた Hahn らの live imaging 結果と併せて、既存パラダイムに変革を迫るものとなった。

さらに、同じく細胞生物学の基本命題の一つである細胞周期、細胞分裂で、いくつかの新しい知見を加えるとともに、新しい分子の関与の可能性を示すことが出来た。このうち、mDia3 による kinetochore 制御については、最近、この追試が Dev. Cell に報告されコメントが掲載され (Dev. Cell, 20:342-352; *ibid*, 20:283-284, 2011)、Cdc42 については、Nat. Cell Biol. に CENP-A の centromere での安定化という epigenetic な役割が報告されるなど (Nat Cell Biol. 12:1186-1193, 2010) 新しい展開が見られている。

さらに発生生物学に対しては、ROCK の遺伝子欠損マウスを作製し、Rho によるアクチン細胞骨格制御の個体発生における役割解析を始動させることとなった。これは、mDia の各アイソフォーム欠損マウスの解析へと受け継がれている。また、Rho-mDia 経路の軸索形成の役割の解明は、発生時の脳におけるこの経路の軸索の path finding や patterning への可能性を探索するきっかけとなっている。

医学への貢献については、本特別推進研究での研究が契機となり、がん遺伝子 v-Src による細胞悪性化機構の解明がなされることとなった。また、本研究で行なわれた研究によって ROCK 阻害薬の緑内障治療薬としての可能性が試されることとなった。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況（続き）

(2) 論文引用状況（上位10報程度を記述してください。）

【研究期間中に発表した論文】

No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	Focal contacts as mechanosensors: Externally applied local mechanical force induces growth of focal contacts by an mDia1-dependent and ROCK-independent mechanism. (<i>J. Cell Biol.</i> , 153, 1175-1186, 2001)	細胞は外力を感知するメカノセンシング機構を備えている。本論文では、繊維芽細胞にピペットで張力を加えることにより接着斑が形成されるメカニズムを解析し、接着斑が Rho-mDia 経路を用いてメカノセンサーとして働くことを明らかにした。	587
2	Actin polymerization-driven molecular movement of mDia1 in living cells. (<i>Science</i> , 303, 2007-2010, 2004)	蛍光蛋白質標識した mDia の活性化変異体の XTC 細胞での 1 分子イメージングにより、mDia が生細胞内で真つすぐなアクチン線維形成を極めて速い速度で行なうこと、これにより mDia 分子が細胞内で直線的に移動することを示したものの。	138
3	ROCK and mDia1 antagonize in Rho-dependent Rac activation in Swiss 3T3 fibroblasts (<i>J. Cell Biol.</i> 157, 819-830, 2002)	Swiss 3T3 繊維芽細胞を lysophosphatidic acid で刺激すると普通 Rho の活性化により stress fiber が形成されるが、この時、Rho effector のひとつ ROCK を阻害すると Rac 依存性の membrane ruffle が誘導される。この機構を解析し、ROCK 阻害下では、Rho が mDia を介して Cas のリン酸化をおこし、これが Rac の活性化を引き起こすことを証明した。	133
4	Effects of Rho-associated. protein kinase inhibitor Y-27632 on intraocular pressure and outflow facility. (<i>Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.</i> , 42, 137-144, 2001)	ROCK 特異的阻害薬 Y-27632 のウサギ眼圧と眼房水の流出に対する効果を検討し、Y-27632 が眼圧低下と眼房水の流出促進を起こすことを報告した。	95
5	Cdc42 and mDia3 regulate microtubule attachment to kinetochores. (<i>Nature</i> , 428, 767-771, 2004)	mDia3 が kinetochore に局在すること、mDia3 の枯渇と Cdc42 の不活化が紡錘体形成を阻害することから、Cdc42-mDia3 経路が紡錘体微小管の kinetochore への結合を調節している可能性を示唆したものの。	96
6	Control of axon elongation via an SDF-1 α /Rho/mDia pathway in cultured cerebellar granule neurons. (<i>J. Cell Biol.</i> , 161 381-391, 2003).	これまで神経細胞での Rho の働きは一方向性の突起退縮であると考えられて来た。この論文では、小脳顆粒神経細胞の培養系を用い、Rho の下流で ROCK が軸索の退縮に、mDia が軸索に進展に働いており、これら一見相反する作用が SDF1a の濃度依存性に発現されることを明らかにした。	116
7	ROCK-I regulates closure of the eyelids and ventral body wall by inducing assembly of actomyosin bundles. (<i>J. Cell Biol.</i> , 168, 941-953, 2005)	ROCK の 2 つのアイソフォームのうち ROCK-I の遺伝子欠損マウスを作製し、これが閉眼異常や腹壁ヘルニアを呈することを見出し、ROCK-I がこれらの場所で細胞を越えたアクトミオシン束を形成し、体壁閉鎖に働くことを明らかにした。	97
8	Targeted disruption of the mouse Rho-associated kinase 2 gene results in intrauterine growth retardation and fetal death. (<i>Mol Cell Biol.</i> , 23, 5043-5055, 2003)	ROCK に 2 つのアイソフォームのうち ROCK-II の遺伝子欠損マウスを作出し、ホモ欠損マウスは子宮内で死亡または発育遅延を来すこと、これが胎盤迷路層での血栓形成による胎盤機能不全によることを明らかにした。	91
9	Localization of a mammalian homolog of diaphanous, mDia1, to the mitotic spindle in HeLa cells. (<i>J. Cell Sci.</i> , 114, 775-784, 2001)	mDia1 の分裂細胞における局在を解析し、これが FH3 から FH1 ドメインにかけて領域により紡錘体微小管に局在すること、これは Rho 非依存性であることを示した。	86
10	The core FH2 domain of diaphanous-related formins is an elongated actin binding protein that inhibits polymerization. (<i>Mol. Cell</i> , 13, 511-522, 2004)	338 amino acids からなる mDia1 の core FH2 domain を同定、その構造を X 線結晶構造解析により明らかにしたものの。これにより FH2 domain が半円状の構造をなし、oligomerize することで actin 重合を促進することが明らかとなった。	73

【研究期間終了後に発表した論文】			
No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	The Rho-mDia1 pathway regulates cell polarity and focal adhesion turnover in migrating cells through mobilizing Apc and c-Src. (<i>Mol. Cell Biol.</i> , 26 , 6844-6858, 2006)	ラット C6 glioma 細胞で mDia1 を RNAi で枯渇することにより、細胞の極性と移動が阻害されることを見出し、前者が細胞先端への Apc 輸送の障害により、後者が細胞接着斑への c-Src の集積の阻害によることを示した。	71
2	Rho signaling, ROCK and mDia1, in transformation, metastasis and invasion. (<i>Cancer Metastasis Rev.</i> , 28 , 65-76, 2009)	Rho GTPases なかでも Rho は、様々ながんで活性化が報告されている。本論文では、細胞のがん化、がんの転移・浸潤における Rho の働きとそこで想定されるシグナル伝達について総説した。	51
3	Rho GTPases in animal cell mitosis. (<i>Curr. Opin. Cell Biol.</i> , 18 , 199-205, 2006)	Rho GTPase の分裂での働きについて、分裂軸の決定、紡錘体形成、細胞質分裂の各点より論じた。	54
4	Impaired T lymphocyte trafficking in mice deficient in an actin-nucleating protein, mDia1. (<i>J. Exp. Med.</i> , 204 , 2031-2038, 2007)	mDia1 の遺伝子欠損マウスを作成し、mDia1 欠損 T 細胞が胸腺からの移出やリンパ組織への移動に障害があること、これが走化刺激に対するアクチン増生や極性形成の障害にあることを示し、T 細胞移動での mDia1 機能の重要性を明らかにした。	46
5	Inhibition of the Rho/ROCK pathway reduces apoptosis during transplantation of embryonic stem cell-derived neural precursors. (<i>J Neurosci Res.</i> 86 , 270-280, 2008)	ES 細胞由来の神経前駆細胞の apoptosis での Rho の役割を解析し、分散培養による in vitro の apoptosis も移植後の in vivo の apoptosis も ROCK 阻害薬 Y-27632 で防止できることを示した。	36
6	mDia2 induces the actin scaffold for the contractile ring and stabilizes its position during cytokinesis in NIH 3T3 cells. (<i>Mol. Biol. Cell</i> , 19 , 2328-2338, 2008)	哺乳類細胞の細胞質分裂の収縮環形成に働くアクチン重合因子は不明であった。本論文では、mDia1-3 の各 mDia を RNAi することにより、mDia2 が収縮環のアクチン繊維形成を行ない、これにより収縮環の安定化に働いていることを明らかにした。	35
7	Actin turnover-dependent fast dissociation of capping protein in the dendritic nucleation actin network: evidence of frequent filament severing. (<i>J Cell Biol.</i> 175 , 947-955, 2006)	生細胞でのアクチン動態を解析するため、capping protein (CP) と GFP の融合蛋白質を発現し 1 分子 speckle 解析を行なった。この結果、CP は生細胞ではアクチン繊維より極めて早い解離を呈し、これは cofilin によるアクチン切断によるものであることが示された。	30
8	Inactivation of Rho GTPases with Clostridium difficile toxin B impairs centrosomal activation of Aurora-A in G2/M transition of HeLa cells. (<i>Mol Biol Cell.</i> 18 , 3752-3763., 2007)	これまで細胞周期で Rho GTPase は G1/S 進行と分裂に働くことが知られているが、その他は不明であった。本論文では、S 期からリリースした細胞を Rho GTPases 全般を阻害する toxin B で処理すると G2 進行が遅延すること、これが中心体での Aurora A の活性化とこれに続く cyclin B-CDK1 の活性化の阻害によることを示し、Rho GTPase が G2/M 期進行にも働いていることを明らかにした。	16
9	mDia2 Shuttles between the Nucleus and the Cytoplasm through the Importin-alpha/beta- and CRM1-mediated Nuclear Transport Mechanism. (<i>J. Biol. Chem.</i> , 284 , 5753-5762, 2009)	mDia の各アイソフォームを GFP 融合蛋白質として発現させ、核内局在を比較することで、mDia2 が importin- α/β を介して核内に輸送され、CRM-1 依存過程で核外に出されるという核-細胞質間をシャトルしていることを明らかにした。	12
10	Rho-Associated Kinase II (ROCKII) Limits Axonal Growth after Trauma within the Adult Mouse Spinal Cord. (<i>J. Neurosci.</i> , 29 , 15266-15276, 2009)	ROCK は in vitro で軸索退縮を起こすことから、ROCK 阻害薬が脊髄損傷の際の軸索再生に働くことが期待されている。本論文は、神経組織に rich である ROCK-II の遺伝子欠損マウスを用いて軸索再生での ROCK-II の貢献度について検討したもので、in vitro, in vivo の両方で ROCK-II の欠損が軸索再生を促進することが示された。	6

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報

次の(1)、(2)の項目ごとに、該当する内容について具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究成果の社会への還元状況（社会への還元の程度、内容、実用化の有無は問いません。）

我々が Rho の標的蛋白質として見出した ROCK に対する阻害薬（ROCK 阻害薬/Rho キナーゼ阻害薬）は、極めて多数の製薬会社によって候補化合物が作られており（Thomson-Reuter Integrity によると patent 数として 79、化合物数として 481）、そのうち、現在では、RKI-983/SNJ-1656/Y-39983 が国内で千寿製薬によって緑内障治療薬として、国外で Novartis によって緑内障治療薬、高血圧薬として第 2 相臨床試験中である。また、BA-210 が Alseres によって脊髄損傷治療薬として第 2 相臨床試験中、DE-104 が参天製薬によって緑内障治療薬として第 2 相臨床試験中、SAR-407899 が Sanofi-Aventis によって高血圧治療薬、神経性疼痛治療薬、勃起不全治療薬として第 2 相臨床試験中、K-115 が DWTI/Kowa によって緑内障治療薬として第 2 相臨床試験中、AR-12286 が、同じく、緑内障治療薬として第 2 相臨床試験中である。これら多くの臨床試験で対象になっている緑内障の根拠は、本研究で行なった ROCK 阻害薬 Y-27632 が眼圧低下、眼房水流出を促進するという報告(3.2 論文 4. Honjo *et al.* Effects of Rho-associated. protein kinase inhibitor Y-27632 on intraocular pressure and outflow facility, *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 42, 137-144, 2001)が基礎となったものである。また、脊髄損傷に対する治療効果の検討は、3.3 の論文 10 と関連している。

本特別推進研究では、研究費を研究課題「低分子量 G 蛋白質 Rho の情報伝達と生理的意義の研究」の研究だけでなく、代表者が並行して行なっていたプロスタグランジン受容体の研究にも使用することを許可頂いた。その研究で得た成果の一半を以下に記す。

1. Sonoshita M. et al. Acceleration of intestinal polyposis through prostaglandin receptor EP2 in Apc(Delta 716) knockout mice. *Nat. Med.* 7:1048-1051, 2001; 被引用数: 335
2. Narumiya S. & FitzGerald GA. Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. *J. Clin. Invest.*, 108:25-30, 2001; 被引用数: 261
3. Kabashima K. et al. The prostaglandin receptor EP4 suppresses colitis, mucosal damage and CD4 cell activation in the gut. *J. Clin. Invest.* 109: 883-893, 2002; 被引用数: 195
4. Mutoh M, Watanabe K, Kitamura T, et al Involvement of prostaglandin E receptor subtype EP4 in colon carcinogenesis. *Cancer Res.*, 62: 28-32, 2002; 被引用数: 188
5. Seno H. et al. Cyclooxygenase 2-and prostaglandin E-2 receptor EP2-dependent angiogenesis in Apc(Delta 716) mouse intestinal polyps. *Cancer Res.*, 62: 506-511, 2002; 被引用数: 182
6. Kobayashi T. et al. Roles of thromboxane A(2) and prostacyclin in the development of atherosclerosis in apoE-deficient mice. *J. Clin. Invest.* 114: 784-794, 2004; 被引用数: 142
7. Amano H. et al. Host prostaglandin E-2-EP3 signaling regulates tumor-associated angiogenesis and tumor growth. *J. Exp. Med.*, 197: 221-232, 2003; 被引用数: 141
8. Kabashima K. et al. Prostaglandin E-2-EP4 signaling initiates skin immune responses by promoting migration and maturation of Langerhans cells. *Nat. Med.* 9: 744-749, 2003; 被引用数: 140
9. Yoshida K. et al. Stimulation of bone formation and prevention of bone loss by prostaglandin E EP4 receptor activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99: 4580-4585, 2002; 被引用数: 129
10. Moriyama T. et al. Sensitization of TRPV1 by EP1 and IP reveals peripheral nociceptive mechanism of prostaglandins. *Mol. Pain* 1: 3 JAN 17 200; 被引用数: 115
11. Kunikata T. et al. Suppression of allergic inflammation by the prostaglandin E receptor subtype EP3. *Nat. Immunol.*, 6: 524-531, 2005; 被引用数: 76

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報（続き）

(2) 研究計画に関与した若手研究者の成長の状況（助手やポスドク等の研究終了後の動向を記述してください。）

3.2 の論文 2, 9 の共同研究者渡邊直樹は本教室准教授より東北大学生命科学研究科の教授に昇任した。また、論文 1, 3, 7, 8, 9 の共同研究者である石崎敏理は、本教室助教より准教授に昇任した。また、論文 6 の共著者である尾藤晴彦は、本教室講師より東京大学准教授に昇任した。論文 3, 6 の共著者である大学院生古屋敷智之は、現在、本教室助教である。論文 3 の共著者で論文 6 の筆頭著者である大学院生荒川芳輝は、現在、京都大学脳神経外科の助教である。論文 5 の共著者で論文 9 の筆頭著者である大学院生加藤隆幸は、現在、大阪市立大学大学院の助教である。論文 4 の共著者である京大眼科学教室講師の谷原秀信は、現在、熊本大学眼科学教室教授である。論文 6 の共著者である大学院生木村-竹本さやかは、現在、東京大学医学系研究科の助教である。論文 7 の共著者で、論文 8 の筆頭著者である修士課程学生の Dean Thumkeo は現在本教室の助教である。論文 7 の筆頭著者である大学院生清水良彦は、現在、滋賀医科大学産婦人科学教室の助教である。また、本研究遂行時、本教室の大学院生であった椛島健治は、現在、京都大学皮膚科学教室の准教授である。また、本研究遂行時、本教室の助教であった小林拓也は、現在、京都大学医学研究科細胞生物学教室の講師である。また、博士研究員であった小賀徹は、現在、京都大学呼吸管理睡眠制御学講座の講師である。また、博士研究員/助教であった瀬木恵理は、現在、京都大学薬学研究科の准教授である。また、当時、大学院生であった本田哲也は、京都大学皮膚科学教室助教をへて現在留学中である。