

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19390071

研究課題名（和文）イントロンレス RNA の核外輸送の分子メカニズム

研究課題名（英文）Molecular Mechanism of Intronless mRNA transport

研究代表者

萩原 正敏（HAGIWARA MASATOSHI）

東京医科歯科大学・大学院疾患生命科学部・教授

研究者番号：10208423

研究成果の概要：

タンパク質をコードする mRNA は核外に輸送されて翻訳されるため、mRNA の核外輸送は遺伝子発現の重要な制御ステップのひとつである。スプライシングされた mRNA 上に形成される EJC (exon junction complex) と呼ばれる複合体中の REF (RNA export factor) が、mRNA の核外輸送を担っているとのモデルが考えられている。最近我々は、mRNA のキャップ構造にも REF が結合することを見出した。REF の RNA 結合部位を調べたところ、キャップ構造よりも 100 塩基下流の部位に結合することが示された。REF は DExD box 型 RNA ヘリカーゼである UAP56/BAT1 と強固に 2 量体を形成していることから、UAP56 による RNP リモデリングが生じ、キャップ構造から下流の mRNA 上へ移動する機構があるのかもしれない。REF は CBP20 に主として結合していたが、この複合体には SRPK1 もカップリングしており、リン酸化制御を示唆するデータが得られた。このことは、キャップ構造によって RNA 上に呼び込まれる REF がイントロンレス mRNA のスプライシングに依存しない核外輸送を担っている可能性を示している。

また単純ヘルペスの mRNA はウイルスタンパク質 ICP27 が REF と相互作用することにより核外へ輸送されているが、我々の解析では ICP27 は、PML をコードする mRNA のスプライシングを制御するスプライシング調節因子としての機能を有することが判明した。ICP27 の RNA 認識機構は予想外に複雑であることが判明したので、CLIP と呼ばれる新しい研究手法で ICP27 の標的遺伝子転写産物の解析を進めた。このことは、ウイルス感染のより、感染細胞の特定の mRNA のスプライシングパターンが変化することを意味しており、極めて興味深い。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	9,100,000	2,730,000	11,830,000
2008 年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
年度			
年度			
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：ライフサイエンス(医学・医療)

科研費の分科・細目：応用研究、開発研究

キーワード：CBC, REF, mRNA、核外油症、SRPK

## 1. 研究開始当初の背景

タンパク質をコードする mRNA は核外に輸送されて翻訳されるため、mRNA の核外輸送は遺伝子発現の重要な制御ステップのひとつである。スプライシングされた mRNA 上に形成される EJC (exon junction complex) と呼ばれる複合体中の REF (RNA export factor) が、mRNA の核外輸送を担っているとのモデルが考えられている。では EJC が結合しないイントロンレス mRNA はいかなる機構で核外に輸送されているのであろうか？イントロンのないヒストン H2AmRNA は核外輸送を担う特定の配列があり、そこに結合する SR 蛋白によって核外に輸送される。ところが、ヒストン H2A 以外のイントロンレス mRNA 上にはそのような配列は見あたらない。また任意の cDNA を組み込んだ発現ベクターが培養細胞中で cDNA のコードするタンパク質を発現するという実験的事実からも、A) と B) 以外の mRNA 輸送機構が存在することが予想される。本申請者は最近、mRNA のキャップ構造にも REF が結合することを見出した。このことは、キャップ構造によって RNA 上に呼び込まれる REF がイントロンレス mRNA の核外輸送を担っている可能性を示している。ヒトにおいて、イントロンレス mRNA はタンパク質をコードする転写産物の約 10% 存在すると考えられている (Genome SEGE, <http://sege.ntu.edu.sg/wester/intronless/>)。その中で、ヒストンを除いて、大きな割合を占めるのは 7 回膜貫通型受容体や嗅覚受容体など G タンパク質共役型受容体 (GPCR, G protein-coupled receptor) のファミリーである (Agarwal SM, *BBRC* 337: 1192, 2005)。GPCR は細胞内シグナル伝達に重要であるため、その遺伝子発現制御の破綻は疾患に直結する。また、イントロンレス遺伝子は脳や精巣に発現していることが多数報告されており、その mRNA 輸送も組織・発生時期特異的な制御を受けている可能性も考えられる。

## 2. 研究の目的

(1) CBC-REF 複合体構成因子の同定：キャップ構造には CBC (cap-binding complex) と呼ばれる複合体が形成される。我々は CBC に REF が相互作用することを見出しているが、免疫沈降などの実験から両者以外にもパートナーが存在するとのデータを得ている。そこで、CBC-REF を含む複合体を HeLa 細胞より精製し、構成因子を同定する。さらに mRNA をキャップ構造部位

特異的に放射性標識( $^{32}\text{P}$ ) し UV クロスリンクすることによって、CBC-REF 複合体の各構成因子のキャップ構造への直接結合性を確かめる。

(2) CBC-REF 複合体構成因子の機能解明：CBC-REF 複合体構成因子の同定後、それらの因子のイントロンレス mRNA 核外輸送における役割を、Cy3 標識 mRNA を生細胞にマイクロインジェクションする mRNA 核外輸送アッセイにより明らかにする。

(3) CBC-REF 複合体依存的 mRNA の同定：我々は CBC と REF のタンパク質間相互作用に必要なアミノ酸部位を明らかにしており、変異体作成にも成功している。そこで、我々はこの REF 変異体を培養細胞内で発現させ、細胞質画分を分離してマイクロアレイで解析することにより、どの遺伝子の転写産物の発現が影響を受けているかを明らかにする。さらにタンパク質レベルでの発現も 2 次元電気泳動で展開後、質量分析装置で解析する。

(4) ウイルスの RNA 輸送蛋白 ICP27 の機能解明：どのような機構でウイルス RNA (特に HSV) の核外輸送がリン酸化酵素に制御されているかは不明である。我々は、ICP27 が REF と相互作用している RNA 領域を特定し、HSV-1 RNA 核外輸送機構を明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) CBC-REF 複合体精製と構成因子解析：mRNA のキャップ構造には CBC と呼ばれる CBP20-CBP80 ヘテロ二量体が形成されているが、CBP20 と REF のタンパク質間相互作用が検出されたことから、CBC には少なくとも REF が含まれていることが考えられる。また REF や CBP20 に対する抗体で免疫沈降した結果、多くのタンパク質が得られたことから CBC-REF 複合体がその他の因子と相互作用している可能性が高い。そこで我々は、キャップ構造に結合する CBC-REF 複合体を精製するため FLAG 付き REF を発現させた HeLa 細胞を樹立し、その HeLa 細胞から、細胞抽出液をゲルろ過で分画して CBC と REF が共存する画分を分離する。また、CBC-REF 複合体形成のメカニズムを明らかにするという点で、キャップ構造に直接結合しているタンパク質を同定することも重要である。我々は、5' 末端が pppG の RNA を *in vitro* 転写で合成し、組換えキャッピング酵素と放射性ヌクレオチド ( $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{GTP}$ ) を共に反応させることによってキャップ構造に放射性標識をしてい

る (m7G32pppG)。このキャップ構造部位特異的標識 mRNA を HeLa 核抽出液中で反応させ、UV クロスリンクを行う。その後、RNase 処理し、SDS-PAGE で解析することでキャップ構造に結合しているタンパク質のみが検出できるようになっている。我々が開発したこの系を用いて複数のタンパク質がキャップ構造に直接結合することが明らかになっている。現在、免疫沈降を行うことによってそれぞれのタンパク質バンドを同定した。

(2) キャップ結合複合体形成の分子メカニズム：キャッピングやスプライシングは転写後の RNA に対して行われるのではなく、RNAPII 転写による RNA 伸長と同時に進行される反応である。我々は RNAPII 転写反応時に形成される RNA-タンパク質複合体 (RNP, RNA-protein complex) を解析するために、*in vitro* RNA プロセッシング/転写共役系を独自に開発した。この系で T7 転写と RNAPII 転写を比較すると明らかに RNAPII 転写産物の方が RNA プロセッシングの効率が良いことがわかる。核外輸送に重要な REF はスプライシング特異的に形成される EJC の構成成分の一つとして考えられてきたのだが、我々は共役系を用いて、REF が EJC 以外にも RNA 上に結合することを見出し、その結合がキャップ構造に依存することが判明した。ここで興味深いのは、REF はイントロンレス mRNA やスプライシングされた RNA に結合するが、スプライシング前駆体や中間体には結合しないことである。このことは、スプライシングが完了していない未成熟な mRNA を細胞質へ核外輸送しないように役立っているのかもれない。しかしながら、キャップ構造はスプライシング前駆体においても当然付加されている。ではなぜスプライシング前駆体には REF が結合できないのであろうか。この点について詳しく分子メカニズムを探りたい。あらかじめ、イントロンを除いた RNA には REF が結合できることから、イントロンを認識するスプライシング複合体 (spliceosome) が関わっていることが予想される。スプライシング複合体の形成を阻害するような U snRNA 相補的 2'-O メチルオリゴを用いて、REF の結合が抑制されるかどうか調べる予定である。また、REF の RNA 結合部位を調べたところ、キャップ構造よりも 100 塩基下流の部位に結合することが示された。REF は DExD box 型 RNA ヘリカーゼである UAP56/BAT1 と強固に 2 量体を形成していることから、UAP56 による RNP リモデリングが生じ、キャップ構造から下流の mRNA 上へ移動する機構があるのかもしれない。UAP56 の RNA ヘリカーゼ活性を欠いた変異体を作成し、REF の mRNA 結合について調べた。

(3) mRNA 核外輸送アッセイによる CBC-REF 複合体の機能解析：CBC-REF 複合体構成タンパク質の mRNA 核外輸送活性は HeLa 細胞を

用いたモニター系によって解析する予定で、HeLa 細胞の核に Cy3 標識 mRNA をマイクロインジェクションし、Cy3 標識 mRNA の動態を蛍光顕微鏡下でモニターする。従来、mRNA 核外輸送はアフリカツメガエル卵母細胞核に RI 標識した *in vitro* 合成 RNA をマイクロインジェクションし、細胞質と核を生化学的に分離して定量する方法でアッセイしていた。アフリカツメガエルの卵母細胞は核と細胞質が容易に分離可能で定量性に優れているため使用されてきたが、必ずしも哺乳細胞の核外輸送のメカニズムを反映できない欠点があった。それゆえ Tokunaga らは生きた哺乳細胞を用いる RNA 核外輸送 RNA モニター系を確立している (Tokunaga *et al.*, *Genes Cell* 11:305, 2006)。またこの系では培養細胞内での RNA の挙動が生きた状態で経時的に観察できる利点があり、我々はこの系を一部改良して mRNA 核外輸送アッセイに用いている。実際の解析では、Cy3 標識 mRNA と CBC-REF 複合体をあらかじめ形成させてから、インジェクションを行った。また、CBC-REF 複合体構成因子の機能解析は各構成因子の変異体、特異抗体、siRNA などを HeLa 細胞を用いた mRNA 核外輸送アッセイ同時にインジェクションし、その mRNA 核外輸送への阻害活性から評価した。mRNA が細胞核から細胞質へ移行したかどうかは Cy3 シグナルを検出することによって確かめられる。mRNA が核-細胞質間を移動する際に通る核膜孔は 30kDa 以上のタンパク質をエネルギーなしに輸送することができないため、細胞核に正確に mRNA がインジェクションされたかどうかは、FITC-dextran 70kDa を用いて FITC の蛍光で評価した。

(4) ウイルス蛋白の RNA 核外輸送制御：単純ヘルペスウイルス-1 (HSV-1) などの特定のウイルス種の RNA はイントロンを持たないものが多く存在している。HSV-1 の場合、ウイルス由来のタンパク質 ICP27 が REF と相互作用し、HSV-1 のイントロンレス mRNA 核外輸送を促進することが報告されている。ICP27 は宿主の SR タンパク質リン酸化酵素 SRPK1 と相互作用し、そのリン酸化活性を抑制することが報告されている (Sciabica *et al.*, *EMBO J.* 22: 1608, 2003)。宿主側のスプライシング因子である SR タンパク質のリン酸化状態が変わることで宿主の mRNA スプライシングを阻害していると考えられるが、ウイルス RNA の核外輸送に用いるために SRPK1 を奪い取っていることがその原因なのかもしれない。このことから、ウイルス感染時に関わらず、宿主側 (哺乳細胞) においてもイントロンレス mRNA の核外輸送にリン酸化制御が関わっている可能性が考えられる。我々のグループでは SRPK1 の特異的阻害剤を開発しているため (Fukuhara *et al.*, *PNAS* 103: 11329,

2006) この阻害剤を投与したり変異体 SRPK1 をマイクロインジェクションすることで核外輸送が変化するか調べた。さらに CLIP 法を用いて、ICP27 の標的 RNA を同定し、SELEX 法を用いて、RNA 結合タンパク質の認識配列を同定した。

#### 4. 研究成果

近年、遺伝子発現過程の各ステップ、例えば転写、キャッピング、ポリ A 付加、スプライシング、核外輸送、翻訳などは、密接に関連した細胞内反応であると考えられ始めている。mRNA のスプライシング反応は、転写と同様、HeLa 細胞核抽出液を用いて *in vitro* で解析することができる。ところが、通常の *in vitro* スプライシングアッセイでは、T7 RNA polymerase (T7RNAP) によってあらかじめ転写した pre-mRNA を用いており、転写とスプライシングの共役関係については、*in vitro* では深く検討されてこなかった。そこで我々は、*in vitro* で RNA polymerase II (RNAPII) による転写と共役してスプライシング反応を解析できる実験系を構築し、mRNA と RNA 結合蛋白のダイナミズムについて解析を行った。RNAPII で合成された新生  $\beta$ -globin pre-mRNA は、T7RNAP によって合成された RNA より効率良くスプライシングされた。次にビーズに固定化した鋳型 DNA に psoralen を部位特異的に取り込ませ転写伸長反応を任意の位置で停止させたところ、合成途上の pre-mRNA は効率良くスプライシングされていることを見出した。両条件下で転写を途中で止めた状態の新生 RNA を RNase H によって転写装置から遊離させ、様々な RNA 結合タンパク質の抗体を用いた免疫沈降法により、RNA 結合タンパク質を解析した。その結果、興味深いことに、mRNA 輸送アダプターである Aly/REF は、T7 RNAP で合成された RNA にほとんど結合しないが、RNAPII で転写された後スプライシングが完了した成熟 mRNA には特異的に結合していることを見出された。これは、以前から知られていた EJC (exon junction complex) よりも上流に、Aly/REF が RNAPII 転写依存的に結合するためであると推定される。以上の結果は、RNAPII が転写時に Aly/REF 等 RNA 結合蛋白の RNA 上への集散を制御し、mRNA 輸送等にも影響を与えていることを示唆している。

DNA ウイルスであるヘルペスウイルス科のウイルスゲノムの中には、ウイルス間でよく保存され、RNA 結合ウイルスタンパク質をコードしている遺伝子が知られている。その代表的な例が単純ヘルペスウイルス (herpes simplex virus, HSV) の ICP27 (infected cell protein 27) である。ICP27 は、N 末端側に RNA 結合に関わるアルギニン・グリシンに富

んだモチーフ RGG-box、C 末端側に hnRNP K の RNA 結合領域に相溶性が高い KH ドメイン (KH1-KH3) を 3 つ有する。ICP27 タンパク質は、ウイルス遺伝子の転写反応を促進する転写調製因子として知られていたが、その後の解析で転写後の RNA 代謝においても重要な働きをしていることが示されてきた。免疫沈降や免疫染色などから、ICP27 タンパク質は snRNPs、SR タンパク質、SRPK1、SAP145 などいくつかのスプライシング関連因子と相互作用することや細胞内で共局在することが知られている。このことから、ICP27 タンパク質がスプライシング制御因子であることが考えられ、Sandri-Goldin らは ICP27 タンパク質が宿主のスプライシング反応をシャットオフし、宿主遺伝子発現を抑制しているモデルを提唱している。彼女らは、野生型 HSV と ICP27 遺伝子を欠失した変異 HSV 感染細胞から抽出した核抽出液を用いて、 $\gamma$ -globin を基質とした *in vitro* スプライシング反応を行った。その結果、野生型 HSV 感染細胞核抽出液を用いた反応ではスプライシング産物は検出できなかったが、ICP27 欠失 HSV 感染細胞核抽出液を用いるとスプライシング産物は検出できるようになった。 $\gamma$ -globin のイントロンが構成的スプライシングによって除去される典型的なイントロンであることから、ICP27 タンパク質は宿主の全てのスプライシング反応を阻害していると彼女らは考えている。しかしながら、ICP27 タンパク質と snRNPs との相互作用がスプライシング反応阻害に必要なとされないことも報告されていることから、全てのイントロン除去を阻害しているわけではない可能性も考えられる。実際、我々はウイルス増殖に関わる遺伝子の選択的スプライシング制御因子を探索したところ、ICP27 遺伝子を同定するに至った。また、ICP27 タンパク質はその他に解析したいいくつかの遺伝子のスプライシング (構成的、選択的、マイナースプライシング含む) には影響がなかった。我々の結果は、ICP27 タンパク質の RNA 結合には何らかのルールが存在することを示している。ICP27 タンパク質の RNA 認識配列は未だ不明であるため、我々は ICP27 タンパク質標的遺伝子の解析を CLIP や SELEX 法によって進めた。その結果、ICP27 は 2 群の RNA に結合することが判明した。ICP27 の RNA 結合ドメイン解析を行い、ICP27 の新しい RNA 結合領域を見出した。ICP27 は 2 つの RNA 結合領域を使うことで、RNA 輸送とスプライシング制御という複数の機能を遂行していると推測される。

ヘルペスウイルス科には、HSV ICP27 の相溶性遺伝子として EB ウイルスの SM (EB2) 遺伝子、カポジ肉腫関連ウイルスの ORF57 遺伝子などが知られており、最近になって、それらがスプライシング制御因子として働いて

いることが報告されている。Swaminathanらは、EBウイルスのSMタンパク質を発現させるとSTAT1のイントロン23中に5 スプライス部位を見つけ出し、新しいスプライシングバリエーションSTAT1 $\alpha$ を発現することを見出した。このSMタンパク質の選択的スプライシング制御は、UVクロスリンク実験からSMタンパク質がイントロン23の5 スプライス部位付近に直接結合し、SF2/ASFタンパク質と競合することで得られる。ICP27相同遺伝子がヘルペスウイルス科の全てのウイルスにおいて存在し、少なくとも4種類のウイルスで同様な機能を有している。ヘルペスウイルス科以外では、アデノウイルスやワクシニアウイルス感染時にはSRタンパク質のSF2/ASFが脱リン酸化されて減少し、逆にHPV感染ではウイルスのE2タンパク質がSF2の発現を促進することが報告されている。それぞれのウイルスごとに異なったメカニズムで、宿主のmRNAスプライシング制御機構に干渉しているものと推測される。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計7件)

1. Kuroyanagi H, Ohno G, Sakane, H, Maruoka, H, and Hagiwara M (2010) Visualization and genetic analysis of alternative splicing regulation *in vivo* using fluorescence reporters in transgenic *Caenorhabditis elegans*. Nature Protcol (in press).
2. Nowak DG, Amin EM, Rennel ES, Hoareau-Aveilla C, Gammons M, Damodoran G, Hagiwara M, Harper SJ, Woolard J, Ladomery MR, Bates DO. (2010) Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) splicing from pro-angiogenic to anti-angiogenic isoforms - a novel therapeutic strategy for angiogenesis, J. Biol. Chem. 285, 5532-5540
3. Nojima T, Oshiro-Ideue T, Nakanoya H, Kawamura H, Morimoto M, Kawaguchi Y, Kataoka N and Hagiwara M (2009) Herpesvirus protein ICP27 switches PML isoform by altering mRNA splicing Nucleic. Acids Res. Oct;37(19):6515-27
4. Jiang K, Patel NA, Watson JE, Apostolatos H, Kleiman E, Hanson O, Hagiwara M, Cooper DR. (2009) Akt2 regulation of Cdc2-like kinases (Clk/Sty), serine/arginine-rich (SR) protein phosphorylation, and insulin-induced alternative splicing of PKC $\delta$  mRNA.

- Endocrinology 2009 May;150(5):2087-97
5. 萩原正敏、野島孝之 (2009) ウイルスによるスプライシング暗号の利用と攪乱 実験医学 増刊 Vol.27 No.10
  6. 萩原正敏 (2009) リン酸化依存的スプライシング制御機構 蛋白質 核酸 酵素 Vol.54 No.16
  7. 萩原正敏 (2010) RNA プロセッシング異常: RNA病を斬る 細胞工学 Vol.29. No2.
  8. 野島孝之、萩原正敏 (2010) RNAスプライシングの可視化による創薬スクリーニング 細胞工学 Vol.29. No2.

[学会発表]計(18)件

Visualization and manipulation of alternative pre-mRNA splicing. 研究所ネットワーク国際シンポジウム, 2009/1/31-2/1, 大阪 千里阪急ホテル

Visualization and manipulation of mRNA splicing, 国際生化学分子生物学会, 2010/8/6 上海国際ナショナルコンベンションセンター

mRNA スプライシングの分子イメージングと医療分野への展開, 医歯学総合研究科大学院セミナー 2009/1/26, 東京医科歯科大学 歯学部講堂  
第一部テーマ: 我が国の技術移転における障壁と改革への方策, 知財人材養成プログラムサマリーセッション, 2009/2/28, 東京医科歯科大学 臨床講堂

ケミカルバイオロジーによる難治疾患への挑戦, 日本薬理学会第81回関東部会, 2009/7/11, 東京医科歯科大学 5号館講堂

RNA結合蛋白リン酸化酵素を標的とする創薬戦略, 文部科学省補助金 平成20年度研究拠点形成費補助金(若手研究者用成否) 大学教育支援プログラム(大学院GP) 「創薬に向けた医薬科学を先導する人材の要請」, 2009/3/7 慶応大学 北里講堂

蛍光タンパク質による mRNA スプライシングの可視化とその制御, 日本化学会ノーベル化学賞受賞記念シンポジウム 2009/3/28, 日本大学 船橋

Pre-mRNA スプライシングの組織特異的制御とその異常に起因する疾患, 大学院セミナー, 2010/9/15, 京都大学医学部

Host viral interaction on RNA processing, TMDU-CMU 国際シンポジウム, 2009/10/13 東京医科歯科大学 歯学部講堂

Pre-mRNA スプライシングの組織特異的制御とその異常に起因する疾患，北海道大学医学部眼科学講座セミナー，2010/9/15 北海道大学医学部

ストレス下での pre-mRNA の選択的スプライシング，第 82 回日本生化学大会シンポジウム，10/22-10/24 神戸ポートアイランド

神経疾患におけるスプライシング異常とその制御，第 2 回グローバル COE 国際シンポジウム，11/26-11/27，ヒルトン名古屋

RNA 病を斬る/RNA プロセッシング異常に対する創薬の試み，オミックス創薬科学セミナー 2010/1/27，三重大学大学院

新しい分子イメージング技術による創薬，第 5 回ケミカルバイオロジー・第 2 回センシングバイオロジーシンポジウム，2010/2/23 東京医科歯科大学 臨床講堂

蛋白リン酸化酵素を標的とした創薬：ケミカルバイオロジーによるアプローチ，平成 21 年度生命融合科学教育部シンポジウム，2010/3/8 富山県 高志会館カルチャーホール

Visualization and manipulation of alternative pre-mRNA splicing，中国医科大学大学院特別セミナー 2010/10/14 中国医科大学（瀋陽）

Decipherment of splicing code and its manipulation with small chemicals for new therapeutics. Signature Seminar Series Committee Singapore 2010 1/31-2/3 DUKE NUS（シンガポール）

Decipherment of splicing code and its manipulation for new therapeutics. 2010 RNA 国際シンポジウム 2/8-2/9 National Cheng Kung University Medical College（台南）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

出願状況（計 4 件）

名称：発光タンパク質を用いたリン酸化酵素阻害物質のスクリーニング方法

発明者：萩原正敏、野村奈美子、木村広、野崎直仁

出願人：株式会社キノファーマ

出願年月日：基礎出願日：2008年3月4日（特願 2008-053502）

日本 本出願日：2009年3月3日（特願 2009-049763）

発明の名称：抗 RNA ウイルス作用を有するアニリン誘導体

発明者：萩原正敏、小野木博、鈴木正昭、古出願人：株式会社 キノファーマ

山 浩子、細谷 孝充、平松 俊行

基礎出願日：2008 年 3 月 25 日（特願 2008-078728）

PCT 出願日：2009 年 2 月 4 日（JP2009 / 052253）

発明の名称：DYRK を阻害するベンゾチアゾール誘導体を含有する医薬組成物

発明者：萩原 正敏、澁谷 浩司、大西英理子、小川 靖、

細谷 孝充、平松 俊行、吉田 実代

出願人：株式会社 キノファーマ

基礎出願日：2008 年 7 月 23 日（特願 2008-190277）

韓国出願日：2008 年 12 月 31 日（KR 10-2008-0138074）

発明の名称：DYRK を阻害するピチアゾール誘導体を含有する医薬組成物

発明者：萩原正敏、野中洋介、土橋圭子、吉田実代、平松俊行

出願人：株式会社 キノファーマ

基礎出願日：2009 年 2 月 20 日（特願 2009-038327）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

2010.1.29 日経産業新聞 11 ページ

6 . 研究組織

(1)研究代表者

萩原 正敏（HAGIWARA MASATOSHI）

東京医科歯科大学・大学院疾患生命科学研究所・教授

研究者番号：10208423

(2)研究分担者

野島 孝之（NOJIMA TAKAYUKI）

東京医科歯科大学・大学院疾患生命科学研究所・特任助教

研究者番号：80431956

(3)連携研究者