

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07367

研究課題名(和文) 遺伝病におけるCLKを介した偽エクソン制御機構の解析

研究課題名(英文) Functional study for CLK-dependent pseudo exon in genetic diseases

研究代表者

網代 将彦 (Ajiro, Masahiko)

京都大学・医学研究科・特定講師

研究者番号：60761864

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：RNAスプライシング制御は遺伝子発現の多様性を生む基本的プロセスであり、その恒常的制御の破綻は数多くの疾患原因にもなる。本研究では、疾患関連スプライシング異常について、選択的スプライシング制御因子Serine/Arginine-rich Splicing Factor (SRSF)とそのリン酸化制御を担うCDC-like kinase (CLK)の機能と関連した制御に着目して解析を進めた。本課題を通して、複数の遺伝性疾患やがん免疫応答と関連したスプライシング制御メカニズムを解明するとともに、アンチセンス核酸や低分子化合物を用いた治療介入の有効性を示す成果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

スプライシング制御異常と関連する疾患は数多く報告されている。しかし、個々のスプライシング異常に関する制御因子は多くの場合解明されていない。本研究課題では、個々の制御メカニズムを理解することで、アンチセンス核酸や低分子化合物による新規の治療介入の可能性を示した。また、科学的知見が特に少ない深部イントロン領域のスプライシング変異について制御機構を示すとともに、新規のスプライシング変異に関する報告を行った。これらの研究成果は、病的スプライシング制御の理解という学術的意義、そして診断・治療への貢献という社会的意義を有する。

研究成果の概要(英文)：RNA splicing is a fundamental process during gene expression to produce a proteome diversity, and its impairment is associated with numerous diseases. In this project, we conducted functional studies regarding disease-associated RNA splicing events, primarily focusing on those regulated by an alternative splicing factor, serine/arginine-rich splicing factor (SRSF), and upstream kinase, CDC-like kinase (CLK). We uncovered regulatory mechanisms and therapeutic manipulations for pathogenic aberrant RNA splicing in genetic diseases and cancer. We also indicated potential manipulation of cancer immunity through a specific RNA splicing regulation. Overall, outcomes from this project suggests a new direction toward RNA splicing-targeted therapeutics.

研究分野：RNA生物学

キーワード：RNAスプライシング 癌免疫 遺伝病 病原性スプライシング

## 1. 研究開始当初の背景

RNA スプライシングは遺伝子発現の多様性を生み出す基本的制御機構であるが、一方でその恒常的制御の破綻は様々な疾患原因にもなり得る。実際に、遺伝性疾患で原因変異として報告されているおよそ 30 万種類の変異の内、約 35%が RNA スプライシング制御異常と関連すると推計されている (Manning K.S. and Cooper T.A., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2017)。近年、脊髄性筋萎縮症に対する *SMN2* 遺伝子のスプライシング制御を標的としたヌシネルセンや、デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する *Dystrophin* 遺伝子のスプライシング制御を標的としたビルデプソが本邦でも承認されるなど、アンチセンス核酸薬によるスプライシング制御を標的とした治療介入が注目を集めている。また、世界的にもスプライシング制御をメカニズムとする創薬研究が展開しており、特に *SMN2* 遺伝子のスプライシング制御を標的とした低分子化合物の開発が進められている。その一方で、治療標的として研究されているスプライシング異常の種類は限られており、その主な理由として疾患原因となるスプライシング異常生み出す制御機構が分子レベルで理解されている現象が未だ少数であることがあげられる。特に、偽エクソン型と呼ばれる深部イントロン変異に起因するスプライシング異常は近年のトランスクリプトーム解析や全ゲノム配列解析から疾患への寄与が明らかになってきたが、スプライシング変異の中でも特に情報が限られている。しかし、それらスプライシング制御のメカニズムを理解し制御にかかわる関連因子を明らかにすることは、新たな治療標的の発見に結びつく可能性がある。本研究課題では、そのような疾患関連スプライシング制御の分子メカニズムを解析し、新たな治療介入の方向性を提示することを試みた。

## 2. 研究の目的

疾患関連スプライシング異常に関して制御メカニズムを明らかにし、標的分子の提示等、新たな治療介入の可能性を示すこと。

## 3. 研究の方法

RNA スプライシング制御異常を解析するにあたり、初期評価として対象とするスプライシング異常を再現する変異型ミニジーンベクターを作製し、培養細胞を用いたトランスフェクション導入実験を実施した。目的とする RNA スプライシング異常が再現される場合は、スプライシング調節機能が予測される配列に点変異等による改変やトランス制御因子の RNA 干渉によるノックダウン、CRISPR/Cas9 によるノックアウト実験を検討した。また、ESE finder 等のスプライシング周辺配列の解析を実施し、RNA プルダウンアッセイによる RNA-タンパク質間相互作用の評価を実施した。解析は、偽エクソン型変異を中心として主要なスプライシング変異群に対して実施した。そして、低分子化合物等のスクリーニングを想定する場合は、迅速なスプライシング評価のために 2 色蛍光リポーターによる検出系を構築した。本研究では、嚢胞性線維症における *CFTR* 遺伝子 c.3849+10kb C>T 変異 (第 22 イントロンにおける偽エクソン発生)、*NEMO* 異常症における *NEMO* 遺伝子 IVS4+866 C>T 変異 (第 4 イントロンにおける偽エクソン発生)、家族性自律神経失調症における *IKBKAP* 遺伝子 IVS20+T>C 変異 (第 20 エクソンのスキッピング)、また、その他に深部イントロスプライシング変異に起因する疾患を中心として複数のスプライシング疾患についてリポーター作成と低分子化合物スクリーニングを実施した。スクリーニングには、京都大学が保有する化合物ライブラリーを用いた。

ミニジーンベクターによる初期評価の後、病態評価モデルを用いて、病態解析および治療介入効果について検討した。病態評価モデルには患者細胞に由来する iPS 細胞から特定の組織型に分化誘導させた細胞モデル、または各種細胞バンクから入手可能な患者細胞を用いた。例として、嚢胞性線維症については米国 Coriell 研究所から取得した患者 B 細胞を、家族性自律神経失調症については患者 iPS 細胞由来の末梢神経細胞を、*NEMO* 異常症については患者 iPS 細胞由来のマクロファージを用いた病態モデル解析を実施した。さらに、マウスモデルによる評価が可能な場合はトランスジェニックマウスの取得あるいは樹立を行い解析を実施した。本研究課題では、家族性自律神経失調症についてヒト変異型 *IKBKAP* 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを用いて脊椎後根神経節における mRNA 発現解析を施行した。また、偽エクソン型疾患についてはマウスモデルを新たに作成し、低分子化合物の薬効評価等を実施した。病態モデル解析は各疾患の特性に応じて施行した。例として嚢胞性線維症における *CFTR* イオンチャネルの活性評価にはヨウ化物イオン取り込みによる YFP 蛍光抑制を利用した  $F^{-}$  ion influx アッセイ、マクロファージの免疫応答については Interferon- $\gamma$ 、リポポリサッカロイド添加に対する TNF- $\alpha$  産生等を測定した。また、低分子化合物等による RNA スプライシング介入実験では、その副反応の有無を評価するため RNA シークエンシング解析を実施した。

## 4. 研究成果

### (1). 原発性免疫不全症候群におけるスプライシング変異の解析

NF- $\kappa$ B 経路のメディエーターである *NEMO* 遺伝子の機能減弱型の変異は免疫不全を伴う無汗性外胚葉形成異常症 (EDA-ID) と関連する。今回、京都大学医学部附属病院・小児科のグループ、米国ロックフェラー大学 Casanova 博士らのグループと共同で、EDA-ID の特徴を示すが原因変異が不明の原発性免疫不全症候群症例を解析し、*NEMO* 遺伝子の深部イントロン領域における IVS4+866C>T 変異が、日本とフランスの症例で共通して確認され、EDA-ID の新規ホットスポット変異であることを見出した (Boisson, B. et al. *J. Clinical Invest.* 2019)。そして、*NEMO* 遺伝子偽エクソンの生成が SRSF6 の機能に依存することを示し、CLK 阻害剤 TG003 処理による SRSF6 の機能抑制により *NEMO* 遺伝子偽エクソンの認識が抑制されることを確認した。さらに、EDA-ID 患者由来 iPS 細胞を樹立し、CLK 阻害剤処理によって NF- $\kappa$ B 活性に依存したサイトカイン応答機能の回復が確かめられた (図 1) (Boisson, B. et al. *J. Clinical Invest.* 2019)。

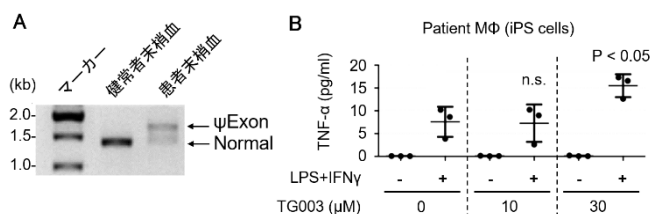


図 1. 原発性免疫不全症候群 *NEMO* 異常症における偽エクソン型スプライシング異常を標的とした低分子化合物の作用。(A) 健康者および *NEMO* 遺伝子 IVS4+866 C>T 変異を有する *NEMO* 異常症患者由来の末梢血 RNA に対する RT-PCR。患者末梢血においては偽エクソンの取込み (Ψ Exon) が認められる。(B) 同患者末梢リンパ球より樹立した iPS 細胞由来のマクロファージに対して、リポポリサッカライド (LPS) とインターフェロン  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) の共処理を行い、TNF- $\alpha$  の産生量を定量した。TG003 処理により TNF- $\alpha$  産生能の回復が認められる。(図は Boisson B. et al. *J. Clin. Invest.* 2019 より改変)

さらに、EDA-ID 患者由来 iPS 細胞を樹立し、CLK 阻害剤処理によって NF- $\kappa$ B 活性に依存したサイトカイン応答機能の回復が確かめられた (図 1) (Boisson, B. et al. *J. Clinical Invest.* 2019)。

## (2). 嚢胞性線維症におけるスプライシング変異の解析

嚢胞性線維症は塩化物イオンである *CFTR* 遺伝子の変異によって引き起こされる難治疾患である。遺伝子変異により *CFTR* の機能が障害されることで、患者体内では細胞分泌物の組成を正常に調節することが出来なくなる結果、分泌液粘性の亢進とそれによる細菌などの排除困難から感染症リスクの上昇や組織機能が低下する。嚢胞性線維症症例全体の 2% 未満では深部イントロン領域のスプライシング変異 c.3849+10kb C>T 変異が認められ、第 22 イントロン領域の一部が偽エクソン化しフレームシフトを誘導することが疾患原因となる。今回の解析では、c.3849+10kb C>T 変異によるスプライシング異常が複数の SRSF 分子に依存しており、CLK 阻害剤による SRSF の機能抑制により正常型の *CFTR* 遺伝子 mRNA の産生が回復することが確認された (Shibata S. et al. *Cell Chem. Biol.* 2020)。さらに、高活性を示す CLK 阻害剤、CaNDY を同定し、同化合物が偽エクソン生成を抑制することで *CFTR* イオンチャネル活性を回復させることを示した (図 2) (Shibata S. et al. *Cell Chem. Biol.* 2020)。

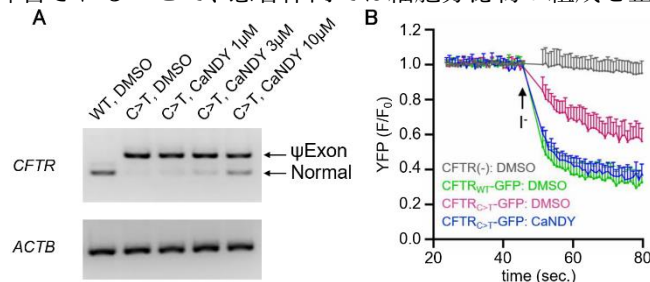


図 2. 嚢胞性線維症における偽エクソン型スプライシング異常を標的とした低分子化合物の作用。(A) Calu-3 に *CFTR* 遺伝子のミニジーンをトランスフェクションし、CaNDY に対する偽エクソン取り込みの応答を RT-PCR により解析、濃度依存的な偽エクソンのスキッピング活性を認めた。(B) YFP 発現ベクター、および第 22 イントロン配列を挿入した *CFTR* コーディング配列ベクターを HEK293 細胞に共導入し、ヨウ化物イオン (I-) インフラックスアッセイを指標として *CFTR* イオンチャネルの活性を評価した。同アッセイでは細胞外 I-イオンの作用により細胞内で発現する YFP の蛍光強度が減弱するが、CaNDY 処理により陰イオンチャネルの活性が正常型と同程度まで回復することが示された (CFTR(-), CFTR ベクター非導入細胞; CFTR<sub>WT</sub>, 健康型第 22 イントロン配列を含む CFTR ベクター導入細胞; CFTR<sub>C>T</sub>, c.3849+10kb C>T 変異型第 22 イントロン配列を含む CFTR ベクター導入細胞) (図は Shibata S. et al. *Cell Chem. Biol.* 2020 より改変)

## (3). 家族性自律神経失調症原因スプライシング変異の解析

家族性自律神経失調症 (familial dysautonomia (FD)) は遺伝性感覚・自律神経系ニューロパチー III 型 (HSAN III 型)、または Riley-Day 症候群として知られる疾患で、自律神経・感覚神経の発達異常と進行性的変性・衰退による種々の感覚障害・自律神経機能障害が生じる常染色体劣性遺伝病である。*IKBKAP* 遺伝子の変異 IVS20+6T>C は 99.5% 以上の症例の原因変異になっており、同変異により *IKBKAP* 遺伝子第 20 エクソンがスキッピングを受け、フレームシフトにより未成熟な終始コドンが発生する。今回、同エクソンが下流のスプライシング・エンハンサー配列に結合する SRSF6 により制御を受けることを見出した。また、低分子化合物 RECTAS

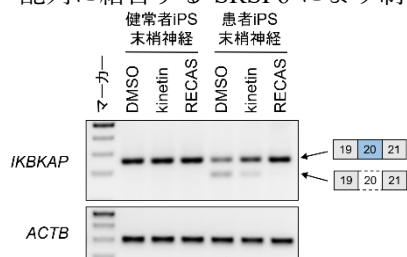


図 3. 家族性自律神経失調症に対する *IKBKAP* 遺伝子の変異 IVS20+6T>C によるスプライシング制御。健康者および家族性自律神経失調症患者の線維芽細胞から iPS 細胞を樹立し、末梢神経細胞に分化させた細胞における RT-PCR 結果。患者 iPS 細胞由来末梢神経細胞では *IKBKAP* 遺伝子 exon 20 のスキッピングが生じる。スプライシング制御化合物 RECTAS の処理 (10 μM) により exon 20 のスキッピングは消失する。一方、低活性の類縁体である kinetin 処理 (10 μM) では部分的な効果に留まる。(図は Ajiro M. et al. *Nat. Commun.* 2021 より改変)

は同エクソンの認識を促進し、患者由来線維芽細胞、患者 iPS 細胞由来末梢神経細胞において正常な mRNA 発現の回復が認められた (図 3)。さらに、変異型ヒト *IKBKAP* 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスに RECTAS を経口投与しマウス感覚神経細胞の遺伝子発現を解析したところ、スプライシング異常の抑制が個体レベルで確認された (Ajiro M, et al. Nat. Commun. 2021)。これらのことから、家族性自律神経失調症に対するスプライシング異常を標的とした経口薬の可能性が示された。

#### (4). *OAS1* 遺伝子選択的 RNA スプライシング制御の解析

*OAS1* 遺伝子について認められる選択的 RNA スプライシング制御について解析を行ったところ、CLK 阻害剤により不活性型スプライシング産物の産生が抑制されることが確認された。また、SRSF6 の結合が *OAS1* 遺伝子のエクソン 5 認識を妨げており、CLK 阻害によりその認識が促進されることが作用メカニズムであることが示された。また、同遺伝子は新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の感染性と関連する遺伝子であり、実際に CLK 阻害剤により *OAS1* スプライシングを変化させた条件ではウイルス感染が抑制されることが確かめられた (プレプリント公開: Iida K. and Ajiro M. et al. *BioRxiv* 2021)。

#### (5). 新規スプライシング産物によるがん免疫応答の解析

スプライシング制御化合物を作用させた癌細胞株に対する RNA シークエンシング結果から、一部では過去にアノテーションされていない新規のスプライシング産物が誘導されることが確認された。それらスプライシング産物の一部は新規ペプチド配列をコードしており、それらペプチド配列の一部は MHC クラス I に提示され抗腫瘍効果を誘導することが確認され、「スプライスネオ抗原 (splice-neoantigen)」として機能することが明らかになった。本解析結果は癌免疫研究に新しい知見を提示するものであり、現在論文投稿を進めている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Iida Kei, Ajiro Masahiko, Muramoto Yukiko, Takenaga Toru, Denawa Masatsugu, Kurosawa Ryo, Noda Takeshi, Hagiwara Masatoshi	4. 巻 該当なし
2. 論文標題 Switching of OAS1 splicing isoforms mitigates SARS-CoV-2 infection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 該当なし
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2021.08.23.457314	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Masahiko Ajiro, Tomonari Awaya, Young Jin Kim, Kei Iida, Masatsugu Denawa, Nobuo Tanaka, Ryo Kurosawa, Shingo Matsushima, Saiko Shibata, Tetsunori Sakamoto, Rolenz Studer, Adrian R. Krainer, and Masatoshi Hagiwara	4. 巻 12
2. 論文標題 Therapeutic manipulation of IKBKAP mis-splicing with a small molecule to cure familial dysautonomia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4507
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-24705-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Saiko Shibata, Masahiko Ajiro (#), and Masatoshi Hagiwara (#)	4. 巻 27(12)
2. 論文標題 Mechanism-Based Personalized Medicine for Cystic Fibrosis by Suppressing Pseudo Exon Inclusion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 1472-1482
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.chembiol.2020.08.013.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Simon Uzor, Sean R Porazinski, Ling Li, Bethany Clark, Masahiko Ajiro, Kei Iida, Masatoshi Hagiwara, Abdullah A Alqasem, Claire M Perks, Ian D Wilson, Sebastian Oltean, and Michael R Ladomery	4. 巻 11(1)
2. 論文標題 CDC2-like (CLK) protein kinase inhibition as a novel targeted therapeutic strategy in prostate cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7963
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-86908-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 網代将彦、萩原正敏	4. 巻 46(9)
2. 論文標題 RNAスプライシング異常を標的とした創薬展開/Drug Development by Targeting Aberrant RNA Splicing	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 550-554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Rong Jia, Masahiko Ajiro, Lulu Yu, Philip McCoy Jr. and Zhi-Ming Zheng	4. 巻 25
2. 論文標題 Oncogenic splicing factor SRSF3 regulates ILF3 alternative splicing to promote cancer cell proliferation and transformation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 RNA	6. 最初と最後の頁 630-644
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1261/rna.068619.118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Bertrand Boisson, Yoshitaka Honda, Masahiko Ajiro, et al.	4. 巻 129
2. 論文標題 Rescue of recurrent deep intronic mutation underlying cell type-dependent quantitative NEMO deficiency	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Investigation	6. 最初と最後の頁 583-597
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/JCI124011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 網代将彦	4. 巻 2
2. 論文標題 スプライシング応答の可視化 スプライシング変異から挑むプレジジョンメディシン	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Precision Medicine	6. 最初と最後の頁 483-486
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Masahiko Ajiro, Masatoshi Hagiwara
2. 発表標題 Amending splicing defects by small molecule compounds/低分子化合物による病原性スプライシングの制御
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 Yuichi Sawayama, Koichi Kato, Masahiko Ajiro, Ryo Kurosawa, Seiko Ohno, Yoshihisa Nakagawa, Minoru Horie
2. 発表標題 A synonymous SCN5A variant p.E446E causing Brugada Syndrome via cryptic donor site splicing
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 黒澤凌、網代将彦、萩原正敏
2. 発表標題 Genome-wide Screening for Pseudo-exonic Variants and their Modulation by CLK Inhibitors
3. 学会等名 京都大学メディカルイノベーション卓越大学院プログラム・医薬系研究交流サロン
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 萩原正敏、伊藤慎二、網代将彦
2. 発表標題 スプライシング治療薬による遺伝病治療の試み
3. 学会等名 第45回日本医用マスメクトル学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 網代将彦
2. 発表標題 CLK-SRSF経路の阻害による偽エクソン型スプライシング疾患の治療効果
3. 学会等名 第21回 日本RNA学会年会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 Shingo Matsushima, Masahiko Ajiro, Kei Iida, Kenji Chamoto, and Masatoshi Hagiwara
2. 発表標題 New strategy for enhancing tumor immunity by splicing modulator-mediated splice-neoantigens.
3. 学会等名 京都大学 発生細胞生物学システム生物学リトリート（招待講演）
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 黒澤凌、網代将彦、萩原正敏
2. 発表標題 偽エクソン型スプライス変異の探索と化合物応答性評価/Investigation of pathogenic pseudo exons and their amendment by small molecules.
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 網代将彦、粟屋智就、田中信生、萩原正敏
2. 発表標題 心ファブリー病に対するスプライシング制御化合物に関する研究開発
3. 学会等名 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 2事業合同成果報告会「疾患克服への挑戦2019」
4. 発表年 2020年～2021年



1. 発表者名 網代将彦、本田吉孝、八角高裕、萩原正敏
2. 発表標題 Application of Splice-Targeting Small Molecule Compounds for Pathogenic Pseudo Exons Caused by Deep-Intronic Mutations. 病原性深部イントロン変異に起因する偽エクソンを標的としたスプライシング制御化合物の検討
3. 学会等名 京都大学メディカルイノベーション卓越大学院プログラム・医薬系研究交流サロン
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 網代将彦
2. 発表標題 CLK-SRSF経路の阻害による偽エクソン型スプライシング疾患の治療効果
3. 学会等名 第21回 日本RNA学会年会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 網代将彦、粟屋智就、田中信生、萩原正敏
2. 発表標題 心ファブリー病に対するスプライシング制御化合物に関する研究開発
3. 学会等名 疾患克服への挑戦2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 網代将彦、本田吉孝、八角高裕、萩原正敏
2. 発表標題 Application of Splice-Targeting Small Molecule Compounds for Pathogenic Pseudo Exons Caused by Deep-Intronic Mutations
3. 学会等名 京都大学メディカルイノベーション卓越大学院プログラム・医薬系研究交流サロン
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 網代将彦、本田吉孝、八角高祐、萩原正敏
2. 発表標題 深部イントロン変異に起因する偽エクソンを標的としたCLK-SRSF経路阻害効果
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 劉百香、網代将彦、萩原正敏
2. 発表標題 MTRR遺伝子偽エクソン型変異に対するCLK阻害化合物の検討
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 網代将彦、萩原正敏
2. 発表標題 Oncogenic role of splicing factor SRSF3 through ILF3 and targeting SR protein function by CLK inhibitor.
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Masahiko Ajiro, Yoshitaka Honda, Jean Laurent Casanova, Takahiro Yasumi, and Masatoshi Hagiwara.
2. 発表標題 Therapeutic effect of CLK inhibition for EDA-ID caused by the IVS4+866 C>T deep-intronic mutation of NEMO gene.
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Laboratory eukaryotic mRNA processing meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 網代将彦、本田吉孝、八角高祐、萩原正敏
2. 発表標題 NEMO異常症の偽エクソン型変異に対するCLKを標的とした治療戦略
3. 学会等名 第14回 日本ケミカルバイオロジー学会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 柴田清子、網代将彦、萩原正敏
2. 発表標題 スプライシング異常を原因とする嚢胞性線維症に対する低分子治療薬の探索
3. 学会等名 第14回 日本ケミカルバイオロジー学会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Tetsunori Sakamoto, Masahiko Ajiro, Keiji Ueda, and Masatoshi Hagiwara
2. 発表標題 Assessment of antiviral effect of FIT-039 against Kaposi ' s sarcoma-associated herpesvirus.
3. 学会等名 世界をリードする次世代MD研究者・養成プロジェクト2019年度全国リトリート（招待講演）
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計4件

産業財産権の名称 ウイルスを原因とする腫瘍を抑制する医薬組成物	発明者 萩原正敏、網代将彦、阪本哲紀	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、R20026	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 ヒトパピローマウイルスの排除方法	発明者 萩原正敏、網代将彦、小野木博	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2019-085924	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 アルツハイマー病のための医薬組成物	発明者 萩原正敏、網代将彦	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2019-096908	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND TREATMENT METHOD FOR GENETIC DISEASE ASSOCIATED WITH SPLICING ABNORMALITIES	発明者 萩原正敏、網代将彦	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、WO 2011/152043 (欧州)	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>           嚢胞性線維症に対する新しい治療薬を発見 - スプライス制御による難病の治療 -  <a href="https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2020-09-09">https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2020-09-09</a>            京都大学大学院 医学研究科創薬医学講座  <a href="http://www.mic.med.kyoto-u.ac.jp/dddm/members/ajiro.html">http://www.mic.med.kyoto-u.ac.jp/dddm/members/ajiro.html</a>            京都大学大学院 医学研究科形態形成機構学教室  <a href="https://www.anat1dadb.med.kyoto-u.ac.jp/">https://www.anat1dadb.med.kyoto-u.ac.jp/</a>            京都大学大学院 医学研究科 創薬医学講座  <a href="http://www.mic.med.kyoto-u.ac.jp/dddm/members/ajiro.html">http://www.mic.med.kyoto-u.ac.jp/dddm/members/ajiro.html</a> </p>
---

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------