

横浜市立大学

2024 SPRING International Workshop

概 要 (Part1:プレゼンテーション)

2024 年度 プレゼンテーション 演題「自己紹介および研究紹介」R6 SPRING 支援学生 18 名

No.1～6 発表 (P.1～6)

【国際マネジメント研究科 国際マネジメント専攻】

1. 親が子どもに持つ性別期待が人的資本投資に与える影響について……………高橋 淳

【生命ナノシステム科学研究科 物質システム科学専攻】

2. 天然物由来カーボン量子ドットの作製と蛍光特性……………井上 拳
3. 架橋タンパク質結晶の材料応用への発展と特異な力学特性の解明……………高久 大輝
4. 第一原理計算による重水素化医薬品の薬効持続に関する理論的研究……………高桑 美央

【生命ナノシステム科学研究科 生命環境システム科学専攻】

5. 細胞間相互作用に着目したマウス濾胞構造維持機構の解明……………武田 博香
6. MMP-7 と膜型セリンプロテアーゼが誘導する細胞凝集が、
がん転移能を増強するメカニズムの解明……………五十畑 萌

No.7～13 発表 (P.7～13)

【生命医科学研究科 生命医科学専攻】

7. EMT の空間多様性の創出のメカニズムの解明……………坂本 優太
8. 遺伝的背景特異的に、TAND 欠損変異により生育不全を示す
出芽酵母株を用いた TAND の機能解析……………藤井 奈桜
9. グライコプロテオミクスによる早期膵がん診断マーカーの開発……………向 武志
10. 胸腺腫関連重症筋無力症を誘発する異所性 B 細胞濾胞の形成メカニズム……………並木 佳乃
11. 植物の DNA 維持メチル化の構造基盤と新規 DNA メチル化阻害剤の開発……………菊地 杏美香
12. 細胞膜透過性を付与した二次構造制御型 PPI 阻害ペプチドの in silico デザイン……………藤田 陽
13. パーキンソン病における O-GlcNAc 修飾とリン酸化修飾による競合的制御……………保科 隼佑

No.14～18 発表 (P.14～18)

【医学研究科 医科学専攻】

14. 二光子イメージングを用いた脳幹機能の解明……………尾崎 壮
15. がん第Ⅱ相臨床試験デザインに対するベイズ流アプローチの提案……………小巻 萌夏
16. TAF7 と MED26 の相互作用を介した遺伝子発現スイッチング機構の解明……………古郡 華月
17. マウス受精卵におけるコアメディエーター複合体による
LLPS 非依存型転写制御機構の解明……………山本 美羽
18. 3 群非劣性試験における新たな検定手法の提案と性能評価……………小林 実結

Yokohama City University
2024 SPRING International Workshop

Abstract (Part1: Presentation)

FY2024 Presentation Title: "Self-Introduction and Research Introduction" R6 SPRING Selected Students 18

No. 1-6 Announcement (P.1-6)

Graduate School of International Management, Department of International Management

1. Parental Preferences over Child Gender and Education Investment Decisions
..... Jun Takahashi

Graduate School of Nanobioscience, Department of Materials System Science

2. Synthesis and Fluorescent Properties of Plant-Seed-Induced Carbon Dots
..... Ken Inoue
3. Development for material applications and elucidation of the unique mechanical properties of cross-linked protein crystals Daiki Takaku
4. Theoretical Study of Sustained Drug Effects of Heavy Drugs by First-Principles Calculations
..... Mio Takakuwa

Graduate School of Nanobioscience, Department of Life and Environmental System Science

5. The role of the cell-cell interaction in the follicular growth and structure of the mouse ovary
..... Hiroka Takeda
6. Mechanism of MMP-7 and / or membrane-type serine proteases-promoted cancer metastasis via their inductions of cancer cell aggregation
..... Moe Isohata

No.7-13 Announcement(P.7-13)

Graduate School of Medical Life Science Department of Medical Life Science

7. Elucidating the molecular mechanism of spatial regulation of EMT via regulating the expression of ZEB1..... Yuta Sakamoto
8. Molecular analysis of TAND, whose deficiency causes a genetic background-specific growth defects in *Saccharomyces cerevisiae* Nao Fujii
9. Clinical N-glycoproteomics for the exploration of diagnostic markers for Pancreatic cancer
..... Takeshi Mukai
10. Mechanism of formation of ectopic B cell follicles that induce thymoma associated myasthenia gravis Kano Namiki
11. Structural basis for DNA methylation maintenance in plants and development of novel DNA methylation inhibitor..... Amika Kikuchi
12. In silico design of peptide foldamers targeting protein-protein interactions with enhanced membrane permeability..... Minami Fujita
13. Competitive regulation by O-GlcNAcylation and phosphorylation in Parkinson's disease
..... Shunsuke Hoshina

No. 14-18 Announcement (P.14-18)

Graduate School of Medicine Doctoral Degree Program

14. In-vivo two photon calcium imaging for brainstem ~The correlation with drinking~
..... So Ozaki
15. Bayesian Screening Design for Phase II Oncology Trials
..... Moka Komaki
16. Mechanism of switching from transcription initiation to elongation by TFIID and Mediator
complex Kazuki Furugori
17. Elucidation of the LLPS-independent transcriptional control mechanism by the core mediator
complex in mouse fertilized eggs..... Miu Yamamoto
18. Proposing a novel test and performance evaluation for 3-arm non-inferiority trials
..... Miyu Kobayashi

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	国際マネジメント研究科 国際マネジメント専攻 (Graduate School of International Management・ Department of International Management)		
学籍番号 (Student ID)	245162	氏名 (Name)	高橋 淳 (Jun Takahashi)
研究課題名 (Research Project Name)	親が子どもに持つ性別期待が人的資本投資に与える影響について (Parental Preferences over Child Gender and Education Investment Decisions)		
<p>本研究の目的は、親が持つ子どもへの性別期待が人的資本投資に与える影響を検証することである。本研究における性別選好とは、親が出産前に息子と娘のいずれを希望していたかを指す。本研究は、人的資本投資における意思決定メカニズムの解明に加え、先行研究では十分に検討されてこなかった「出生前の性別期待」という要因に着目した点において学術的意義を有する。研究方法として、まず女性の家族生活やライフコース上の変化を最大 30 年近く追跡した大規模パネルデータを用いて、第 1 子出生前の親の性別期待を識別する。識別した性別期待をもとに子どもに対する最終学歴希望や人的資本投資への影響を分析する。分析結果は、出生前の親の性別期待が教育投資の重要な決定要因であり、実際の子どもの性別よりも強い影響力を持つことを示している。具体的には、息子を望んだ親の下で育った子どもは、娘を望んだ親の下で育った子どもと比較して、親から高い教育期待を受け、教育関連支出も大きいことが明らかになった。これらの知見は、性別選好が教育機会の性差を生み出す要因となり得ることを示唆している。</p>			
<p>This study examines the impact of parental gender preferences on human capital investment decisions. In this study, gender preference refers to whether parents desired a son or daughter prior to childbirth. This study makes a significant academic contribution by revealing the decision-making mechanisms in human capital investment and by focusing on pre-birth gender preferences, a factor that has been insufficiently explored in previous research.</p> <p>Methodologically, I use an extensive longitudinal dataset that tracks women's family life and life course transitions for up to three decades to identify parental gender preferences before the birth of their first child. We then analyze how these identified preferences influence parents' educational aspirations and human capital investments in their children.</p> <p>I find that pre-birth parental gender preferences are a crucial determinant of educational investment, exerting a stronger influence than the child's actual gender. Specifically, children born to parents who desired sons receive higher educational aspirations and greater educational expenditures compared to those born to parents who desired daughters. These findings suggest that gender preferences can serve as a contributing factor to educational gender disparities.</p>			
<p>【社会実装の可能性: Possibility of social implementation】</p> <p>男女間賃金格差において、人的資本投資格差は重要なテーマである。そのため人的資本投資の決定要因を分析することで、ジェンダーギャップ解消の一助となることが期待される。</p> <p>The disparity in human capital investment constitutes a fundamental factor underlying gender wage gap. Therefore, revealing the determinants of human capital accumulation may provide crucial insights for addressing gender economic inequalities.</p>			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	生命ナノシステム科学研究科 物質システム科学専攻 (Graduate School of Nanobioscience, Department of Materials System Science)		
学籍番号 (Student ID)	245301	氏名 (Name)	井上 拳 (Ken Inoue)
研究課題名 (Research Project Name)	天然物由来カーボン量子ドットの作製と蛍光特性 (Synthesis and Fluorescent Properties of Plant-Seed-Induced Carbon Dots)		
<p>天然物由来カーボン量子ドット(N-CDs)はその優れた発光特性と環境親和性から新時代の発光材料として注目を浴びている。所属研究室では植物の種子から熱分解法による N-CDs の簡易合成に成功している[1,2]。しかし、N-CDs の発光特性に対する熱分解温度の影響は不明瞭であり、更なる発光特性の向上に向けた条件最適化とその詳細の理解が望まれる。そこで本研究では、構造制御による発光特性の向上とメカニズムの解明を目指し、異なる熱分解温度条件下で植物の種子由来の N-CDs の作製と発光特性の評価を行った。</p> <p>結果として、熱分解温度を上げると、N-CDs 蛍光波長が短波長側にシフトし、量子サイズ効果が確認された。また発光の効率を示す量子収率も約 3 倍向上した。得られた最大量子収率の約 30%という値は N-CD のトップデータに匹敵する。また、発光の色純度の指標となる発光スペクトルの半値幅も 16 nm 狭まり、色純度の高い N-CDs が得られた。これらの結果から、N-CDs の光学的特性は熱分解温度に大きく依存することが示された。</p> <p>本研究の結果は、天然物由来でも、作製条件の最適化のみで、従来の試薬由来カーボン量子ドットにも匹敵する発光特性が得られる可能性があることを示唆するものである。</p>			
<p>Carbon dots (CDs) are fluorescent carbon nanoparticles that have gained significant attention for their stable photoluminescence and advantages over conventional heavy-metal-based inorganic semiconductor quantum dots, such as environmental friendliness and nontoxicity. In particular, natural CDs have been widely studied due to the abundance and low cost of carbon sources. Recently, we developed a simple pyrolysis method to fabricate highly reproducible CDs using plant seeds such as fenugreek and fennel. However, the synthesis conditions were not fully optimized, and further improvement in emission properties was needed.</p> <p>In this study, we optimized the synthesis conditions of plant-seed-derived CDs by varying the pyrolysis temperature and evaluating their fluorescent properties. We found that increasing the pyrolysis temperature caused a blue shift in emission wavelengths, attributed to the quantum size effect. Furthermore, the quantum yield increased to approximately 30%, comparable to that of natural CDs synthesized through standard methods. In addition, the full-width at half maximum of CDs narrowed by 16 nm, indicating improved color purity. These results demonstrate that the optical properties of CDs are highly dependent on pyrolysis temperature.</p>			
<p>【社会実装の可能性: Possibility of social implementation】</p> <p>TV や照明などのための発光材料を、より優れた発光性能を持ち、低コスト、安全そして低消費電力なカーボン量子ドットに置き換えられることができる。</p> <p>The emission materials for TVs and lighting can be replaced with carbon quantum dots, which offer superior luminous performance, low cost, safety, and low power consumption.</p>			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	生命ナノシステム研究科 物質システム科学専攻 (Graduate School of Nanobioscience, Department of Materials System Science)		
学籍番号 (Student ID)	245302	氏名 (Name)	高久大輝 (Daiki Takaku)
研究課題名 (Research Project Name)	架橋タンパク質結晶の材料応用への発展と特異な力学特性の解明 (Development for material applications and elucidation of the unique mechanical properties of cross-linked protein crystals.)		
<p>タンパク質を素材とした固体材料であるタンパク質結晶は次世代の新材料として期待されている。しかし、タンパク質結晶は巨大で複雑な形状のタンパク質分子で構成され、弱い分子間相互作用によって結合している為、非常に脆く壊れやすい。その改善策として架橋が知られている。架橋は、タンパク質分子と結合する分子を介して結晶内のタンパク質分子間を結合させることで、結晶が強化される。架橋による大幅な力学特性の改善は知られているが、この強化法は経験的な域を出ておらず、材料力学的観点から見た架橋タンパク質結晶の特性はほとんど理解されていない。</p> <p>そこで、本研究では圧縮試験による架橋タンパク質結晶の力学特性の定量的評価を行った。純粋なタンパク質結晶はある程度のひずみ量に達すると結晶が破壊され、応力が急激に減少する「脆性」を示した。しかし、架橋タンパク質結晶はひずみ量の増加に伴い、応力が線形から非線形な振る舞いに変化し、破壊ではなく塑性変形を示す「延性」を示した。こうした脆性から延性への変化は他の材料では見られないタンパク質結晶特異な性質である。</p>			
<p>Protein crystals, which are solid materials composed of proteins, are expected to be next-generation materials. However, protein crystals are composed of large and structurally complex protein molecules that are held together by weak intermolecular interactions, making them extremely fragile and easily breakable. Cross-linking is known as a method to improve this weakness. Cross-linking strengthens protein crystals by introducing molecules that bind to protein molecules. Although significant improvements in mechanical properties due to cross-linking have been reported, this strengthening method remains largely empirical, and the mechanical properties of cross-linked protein crystals from a materials mechanics perspective are not well understood. In this study, we quantitatively evaluated the mechanical properties of cross-linked protein crystals through compression tests. Pure protein crystals exhibited "brittleness," where the crystal fractured and stress rapidly decreased upon reaching a certain strain. In contrast, cross-linked protein crystals exhibited a transition from linear to nonlinear stress-strain behavior with increasing strain and showed "ductility," undergoing plastic deformation instead of fracturing. This transition from brittleness to ductility may be a unique characteristic of protein crystals that is not observed in other materials. In the presentation, we will further discuss the detailed mechanical properties of cross-linked protein crystals.</p>			
<p>【社会実装の可能性: Possibility of social implementation】</p> <p>本研究の達成により、生体分子から構成されるかつ、再利用可能な機能を持つ架橋タンパク質結晶の材料応用が期待される。そして、材料の観点から温室効果ガスの排出ゼロを目指す脱炭素社会への貢献が可能である。</p> <p>Cross-linked protein crystals are composed of biomolecules and exhibit reusable functionality. This study is expected to advance their material applications. Furthermore, from a materials perspective, these applications have the potential to contribute to the realization of a sustainable society.</p>			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	生命ナノシステム科学研究科 物質システム科学専攻 (Graduate School of Nanobioscience, Department of Materials System Science)		
学籍番号 (Student ID)	245303	氏名 (Name)	高桑 美央 (Mio Takakuwa)
研究課題名 (Research Project Name)	第一原理計算による重水素化医薬品の薬効持続に関する理論的研究 (Theoretical Study of Sustained Drug Effects of Heavy Drugs by First-Principles Calculations)		
<p>近年、医薬品の水素原子(H)を同位体である重水素原子(D)に置換することで、薬効の持続性を改善した重水素化医薬品が注目されている。これは、H原子とD原子が、原子核の量子効果により異なる反応性を示すことを利用している。例として Tetrabenazine を重水素化した Deutetrabenazine は、薬効持続時間が長く副作用も小さいことが証明され、2017 年に米国食品医薬局で承認されている。重水素化医薬品は、既存の医薬品に比べ、代謝酵素の分解反応が遅くなるため薬効持続性が高くなると考えられているが、その詳細は未解明である。この医薬品と代謝酵素の反応解析には理論計算が有効である。しかし、一般的な量子化学計算では、HとDを区別することや、多数の原子から構成される代謝酵素を扱うことは、非常に計算コストが高く困難である。よって、量子効果を考慮した上、大規模分子も扱うことができる新規手法の開発が必要である。</p> <p>そこで、本研究では「量子効果の考慮と大規模分子の計算を両立する手法の開発」、および「開発した手法を用いた重水素化医薬品の薬効持続メカニズムの解明」を行うことで、新規重水素化医薬品の開発に貢献する。</p>			
<p>In recent years, heavy drugs, in which the hydrogen atom (H) of the drug is replaced by the isotope deuterium atom (D), have attracted attention to improve the persistence of drug effects. This is based on the fact that H and D atoms show different reactivity due to the quantum effect of the atomic nucleus. For example, deutetrabenazine, a deuterated form of tetrabenazine, was approved by the U.S. Food and Drug Administration in 2017 after proving to have a longer duration of drug effect and fewer side effects. Heavy drugs are thought to have a slower degradation reaction of metabolic enzymes than existing drugs, resulting in longer drug effect duration, but the details of this reaction have not yet been determined. Theoretical calculations are effective in analyzing the reaction between the drug and the metabolizing enzyme. However, in conventional quantum chemical calculations, it is difficult to distinguish between H and D and to treat metabolic enzymes composed of many atoms, which is computationally very expensive. Therefore, it is necessary to develop a new method that can handle large molecules while taking quantum effects into account.</p> <p>In this study, we will contribute to the development of new heavy drugs by developing a method that can both take quantum effects into account and calculate large molecules, and by elucidating the mechanism by which heavy drugs activate for a longer time using the method we have developed.</p>			
<p>【社会実装の可能性: Possibility of social implementation】</p> <p>重水素化医薬品の薬効持続メカニズムを解明により、薬効持続性が高い分子をコンピュータ上で予測が可能となり、患者への投薬回数の減少と副作用のリスクの低下を期待できる医薬品開発に貢献できる。</p> <p>By elucidating the mechanism of drug persistence of heavy drugs, it will be possible to predict molecules with high drug persistence on a computer, contributing to the development of drugs that are expected to reduce the frequency of drug administration to patients and lower the risk of adverse drug reactions.</p>			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	生命ナノシステム科学研究科 生命環境システム科学専攻 (Graduate School of Nanobioscience, Department of Life and Environmental System Science)		
学籍番号 (Student ID)	235353	氏名 (Name)	武田 博香 (Hiroka Takeda)
研究課題名 (Research Project Name)	細胞間相互作用に着目したマウス濾胞構造維持機構の解明 (The role of the cell-cell interaction in the follicular growth and structure of the mouse ovary)		
<p>マウス卵巣濾胞は、卵母細胞（Oo）が顆粒膜細胞（GC）、基底膜、莢膜細胞で囲まれた構造をとっており、出生直後に形成され卵巣内に貯蔵される。濾胞は思春期以降に成長して排卵に至るが、成長過程における濾胞構造維持機構は未解明である。濾胞内の細胞は主に Adherens junction で結合しており、これらの細胞間結合を担う構成タンパク質を欠失すると濾胞成長が抑制される。本研究は、各成長段階の濾胞における細胞間結合の役割を調べることを目的とした。まず、Gap junction (GJ) を構成する Connexin 43 (Cx43) の局在を調べたところ、原始濾胞から一次濾胞への移行期で発現して二次濾胞まで徐々に増加し、前胞状濾胞以降で急増することが分かった。次に、14-18 日齢の C57BL/6J マウス卵巣から濾胞を単離して濾胞の培養系を確立した。この濾胞培養系では、単離直後は二次濾胞、4 日目に二次濾胞と前胞状濾胞、8 日目には前胞状濾胞と胞状濾胞が観察される。そこで、期間を変えて GJ を阻害すると、4 日目から 8 日目の阻害により濾胞成長が抑制され、8 日目以降の阻害では GC が広く死滅した。Cx43 の発現局在とあわせると、二次濾胞から前胞状濾胞の成長には Oo-GC 間の相互作用が必要であり、前胞状濾胞以降では GC-GC 間の相互作用が GC の生存に必要であると考えられる。</p>			
<p>In the mouse ovary, the follicle consists of an oocyte (Oo) and granulosa cells (GCs) surrounded by the basal lamina and theca cells. In the mouse ovary, the primordial follicle is formed soon after birth and pooled throughout the life. Although follicle structure has been maintained until ovulation, changes in the follicle structure and intercellular junctions during follicle growth are not clear. The Oo and GCs are mainly connected by adherence junctions and gap junctions (GJ).</p>			
<p>In this study, the role of GJ in follicle growth was examined <i>in vitro</i>. GJ blocker (CBX) treatment during the first half period (day 4 to day 8) significantly increased the percentage of secondary and preantral follicles, whereas CBX treatment during the latter half period (day 8 to day 12) suppressed follicle growth and widely induced GC death. In the mouse ovary, connexin 43, GJ channels component protein in GC, was low in the secondary follicles but it was high in preantral and antral follicles. Isolated secondary follicles grew and secondary and preantral follicles were observed on day 4, and preantral and antral follicles were found on day 8. Therefore, CBX can inhibit GJ between GCs in preantral and antral follicles, while GJ between Oo and GCs may be affected by CBX in small follicles. Thus, follicle growth in the early stage depends on the interaction of Oo-GCs, whereas GJ in GCs are necessary for survival of GCs in the late stage.</p>			
<p>【社会実装の可能性： Possibility of social implementation】</p> <p>本研究により濾胞の成長と構造維持機構を明らかにすることができれば、生殖医療における効率的な卵母細胞の成熟や排卵率の向上を通じて、女性の不妊治療などに貢献することができると考える。</p> <p>If the role of cell-cell interaction in the follicle development and follicle structure is revealed, this study could contribute to the female infertility by improving of oocyte maturation and ovulation rate in the assisted reproductive technology.</p>			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	生命ナノシステム科学研究科 生命環境システム科学専攻 (Graduate School of Nanobioscience・Life and Environmental System Science)		
学籍番号 (Student ID)	245352	氏名 (Name)	五十畑 萌 (Moe Isohata)
研究課題名 (Research Project Name)	MMP-7 と膜型セリンプロテアーゼが誘導する細胞凝集が、がん転移能を増強するメカニズムの解明 (Mechanism of MMP-7 and/or membrane-type serine proteases-promoted cancer metastasis via their inductions of cancer cell aggregation)		
<p>がん転移は、周囲の組織を破壊して血液に入ったがん細胞が、血流に乗って移動し他の臓器に浸潤して確立する。実際に悪性の大腸がん組織ではタンパク質分解酵素 MMP-7 が高発現しており、当研究室では、MMP-7 が膜貫通タンパク質 HAI-1 を切断すると、細胞が凝集し転移能が増強するメカニズムを報告している。また、HAI-1 の標的である膜型セリンプロテアーゼ遺伝子をノックアウトすると細胞凝集が著しく遅延したことから、細胞凝集における膜型セリンプロテアーゼ活性の必要性も示した。しかし、その活性化が起こる細胞内部位、凝集に至るメカニズムは不明であるから、活性化が起こる細胞内部位としてエンドソームの弱酸性環境に着目した。エンドソームは細胞外や細胞膜上の分子を取り込む経路における細胞内小胞を指す。実際に弱酸性溶媒における膜型セリンプロテアーゼと HAI-1 の親和性は著しく低下した。次に細胞凝集に至るメカニズムとして、既知の細胞間接着機構タイトジャンクション(TJ)の構成タンパク質 Claudin-7 の細胞内局在を観察すると、凝集時に細胞膜から細胞内に移動していたことから、Claudin-7 が TJ を修復して細胞凝集を形成する可能性がある。(499)</p>			
<p>Cancer metastasis is established when cancer cells that have destroyed surrounding tissues and entered the blood migrate into the bloodstream and invade other organs. In fact, the proteolytic enzyme MMP-7 is highly expressed in malignant colorectal cancer tissues, and our laboratory has reported a new metastasis mechanism by which MMP-7 cleaves the membrane-type protein HAI-1, resulting in cell aggregation and enhanced metastasis potential. HAI-1 is targeted to membrane-type serine protease. They also demonstrated the necessity of membrane-type serine protease activity in cell aggregation, since knockout of its gene significantly delayed cell aggregation. However, the intracellular site of membrane-type serine protease’s activation and the mechanism leading to aggregation are unknown, so we focused on the weakly acidic environment of endosomes as the intracellular site of activation. Endosomes are intracellular vesicles in the pathway that take up molecules from outside the cell or on the cell membrane. In fact, the affinity of HAI-1 for membrane-type serine proteases in weakly acidic environment was significantly reduced. Next, as a mechanism leading to cell aggregation, we observed the subcellular localization of Claudin-7, a component protein of the known intercellular adhesion mechanism tight junctions (TJs). During cell aggregation, it moved from the plasma membrane into the intracellular vesicles, suggesting that Claudin-7 may repair TJs to form cell aggregation. (212)</p>			
<p>【社会実装の可能性： Possibility of social implementation】</p> <p>本研究は、膜型セリンプロテアーゼを標的とした副作用の少ない抗がん剤の開発に貢献することを目的としており、がんの重篤化・難治化の最大の要因であるがん転移を抑制できる新しい治療戦略となり得る。(94)</p> <p>This study aims to contribute to the development of anti-cancer drugs targeting membrane-type serine proteases with fewer side effects. This could be a new therapeutic strategy that can inhibit cancer metastasis, the biggest factor in the severity and refractoriness of cancer. (41)</p>			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	生命医科学研究科 生命医科学専攻 (Graduate school of Medical Life Science Department of Medical Life Science)		
学籍番号 (Student ID)	225505	氏名 (Name)	坂本 優太 (Yuta Sakamoto)
研究課題名 (Research Project Name)	EMT の空間多様性の創出のメカニズムの解明 (Elucidating the molecular mechanism of spatial regulation of EMT via regulating the expression of ZEB1.)		
<p>上皮間葉移行(EMT : Epithelial-Mesenchymal Transition)は上皮細胞が細胞接着や Apical-basal 極性を失い、運動能や線維芽細胞様形態や細胞遊走能を獲得する現象である。EMT は胚発生や損傷治癒で役割を果たしているが、腫瘍の進展にも関与している。単一細胞遺伝子発現や空間トランスクリプトーム解析により、腫瘍内で腫瘍の中心に位置する細胞より辺縁の細胞の方が EMT の感受性が高い。この EMT の空間多様性は二次元培養系でも観察されている。乳腺上皮細胞株において上皮細胞コロニーの中心に位置する細胞ほど、TGF-beta (EMT 誘導因子)誘導性の EMT に対して大きな抵抗性を示すことが明らかとなっている。しかし、その分子機構はほとんど解明されていない。このプロセスを明らかにするために、私たちは正常の乳腺上皮細胞であり EMT の研究で広く用いられている MCF10A で分子機構の探索を行いました。私たちは、上皮細胞コロニーにおいて EMT 転写因子である ZEB1 の発現は空間的に依存しており、それがタンパク質レベルで制御されていることを発見した。それに加え、ZEB1 タンパク質はユビキチン-プロテアソーム経路により調節されており、細胞の密度が高い条件下ではそれは積極的に分解されていることを明らかにした。今後、ZEB1 タンパク質の分解を促進するユビキチンリガーゼを明らかにして行く。</p>			
<p>Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a cellular process in which epithelial cells lose cell adhesion and apical-basal polarity and acquire fibroblast-like morphology and cell motility. EMT plays a role in embryogenesis and wound healing but is associated with tumor progression. Single-cell and spatial transcriptomics have been revealed that EMT phenotypes of cancer cells are divergent within a tumor. In typical cases, tumor cells at the peripheral edges of tumor mass are prone to undergo EMT whereas cells at the center tend to retain epithelial phenotype. This heterogeneous EMT response observed in tumors can be replicated in two-dimensional culture systems. For example, in mammary epithelial cell lines, cells at the center of epithelial colonies exhibit greater resistance to TGF-beta (an inducer of EMT) induced EMT. However, the molecular mechanisms underlying such heterogeneous EMT responses remain poorly understood. To elucidate this process, we use MCF10A, a normal mammary gland epithelial cell line and widely used as a model for EMT. We found that the expression of ZEB1, an EMT transcription factor, is spatially dependent in epithelial cell colonies and that it is regulated at the protein level. In addition, we identified that ZEB1 protein is regulated by the ubiquitination-proteasome pathway and its degradation is actively promoted under the high cell density culture conditions. In the future, we plan to identify the ubiquitin ligase(s) responsible for the degradation of the ZEB1 protein.</p>			
<p>【社会実装の可能性: Possibility of social implementation】</p> <p>本研究で明らかとなった EMT の空間多様性創出の分子メカニズムを利用することで、間葉系の性質を持つがん細胞や ZEB1 を高発現しているがん細胞に対しての標的とした新たな治療戦略の開発への貢献が期待される。The molecular mechanism of creating spatial diversity of EMT revealed in this study is expected to contribute to the development of new therapeutic strategies against cancer cells with mesenchymal properties and highly expressed ZEB1.</p>			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	生命医科学研究科 生命医科学専攻 (Graduate school of Medical Life Science Department of Medical Life Science)		
学籍番号 (Student ID)	225511	氏名 (Name)	藤井 奈桜 (Nao Fujii)
研究課題名 (Research Project Name)	遺伝的背景特異的に、 TAND 欠損変異により生育不全を示す出芽酵母株を用いた TAND の機能解析 (Molecular analysis of TAND, whose deficiency causes a genetic background-specific growth defects in <i>Saccharomyces cerevisiae</i>)		
<p>真核生物における遺伝子発現は、DNA から mRNA への合成反応(転写)と、mRNA からタンパク質への合成反応(翻訳)の二段階から成る。転写反応は、TBP が各遺伝子の上流 DNA 配列に結合することが初発段階となる。従って、TBP の DNA への結合制御は、遺伝子発現の制御において極めて重要と考えられる。TBP と相互作用する因子は幾つか知られているが、Taf1 の N 末端領域(TAND)は TBP と相互作用し、DNA 結合を制御することが試験管内の実験により示唆されている。しかしながら、一倍体出芽酵母株を用いた遺伝学的解析の結果、TAND 領域の遺伝子を欠損させた TAND 欠損一倍体株は室温下で生育可能であり、TAND の生体内における働きは未解明であった。</p> <p>先行研究において、TAND 欠損二倍体株は、株の遺伝的背景特異的に生育不全を示すことが明らかとなっていた。私は、本株が生育不全を示す原因を調べることで、生体内における TAND の機能解明を目指している。生育不全を示す二倍体株において、オーキシンデグロンシステムを用い、TAND 欠損状態を誘導した直後に転写不全が観察されるか否かを調べた。その結果、TAND 欠損状態の誘導はグローバルな mRNA 量の減少を引き起こすことが明らかとなった。本結果は、TAND は生体内において多くの遺伝子の転写を正に制御することを示唆する。</p>			
<p>In Eukaryotes, gene expression is a 2-step process; synthesis of mRNA from DNA (transcription) and protein from mRNA (translation). The binding of TBP to the upstream DNA sequence of each gene is the first step of transcription, indicating that the regulation of DNA binding of TBP is important. Previous <i>in vitro</i> experiments suggest that the N-terminal domain of Taf1 (TAND) interacts with TBP and regulates DNA binding. On the other hand, genetic analysis has shown that TAND-lacking <i>taf1</i> (<i>taf1-DTAND</i>) mutation doesn't cause the growth defects in haploid yeast strains at room temperature, and the function of TAND <i>in vivo</i> remains unknown.</p> <p>Previous studies have demonstrated that <i>taf1-DTAND</i> mutation causes the growth defects in diploid strain with the specific genetic background. I wonder whether transcription defects are induced by <i>taf1-DTAND</i> mutation causing the growth defects. Strains which show the growth defects are not able to be analyzed, although Auxin-inducible degron system, which induces rapid degradation of target protein in response to auxin, enable us to analyze <i>taf1-DTAND</i> diploid strains. The result shows that the global mRNA levels were reduced in TAND-lacking cells, although not as much as in <i>taf1</i>-lacking cells. This suggests that TAND is one of the global transcription regulators, which promote transcription of many genes <i>in vivo</i>.</p>			
<p>【社会実装の可能性: Possibility of social implementation】</p> <p>本研究により TAND が TFIID による転写を促進することが示唆され、転写のメカニズムに対する理解が深まった。転写機構に対する理解が深まることは医学的観点からも重要と考えられる。</p> <p>Although the function of TAND <i>in vivo</i> has been unknown, the current study suggests that TAND promotes transcription <i>in vivo</i>, improving our understanding of transcription. Although this study is fundamental research, updating our knowledge of transcription will be useful to investigate the new drug.</p>			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	生命医科学研究科 生命医科学専攻 (Graduate School of Medical Life Science Department of Medical Life Science)		
学籍番号 (Student ID)	235511	氏名 (Name)	向 武志 (Takeshi Mukai)
研究課題名 (Research Project Name)	グライコプロテオミクスによる早期膵がん診断マーカーの開発 (Clinical N-glycoproteomics for the exploration of diagnostic markers for Pancreatic cancer)		
<p>膵がんは致死率の高い悪性腫瘍の一つであり、全体の5年生存率は5%未満といわれている。膵がんは遺伝子変異を伴い、進行が早く、診断時には既に進行期であることが多い。膵がんマーカーとして現在利用されているCA19-9は、非腫瘍性病変においても高値を示すことから、感度・特異度の高い新たな膵がんマーカー開発が望まれている。近年、がん関連糖鎖を持つ糖タンパク質を糖鎖とタンパク質の両方を検出することで、偽陽性を改善した診断薬開発が期待されている。そこで本研究では、膵がん患者血清を用いた定量グライコプロテオミクスにより、新規膵がんマーカー候補となる糖タンパク質の同定を目指した。</p> <p>進行・再発膵がん患者及び健康人血清より濃縮した糖ペプチドのLC/MS/MSにより、患者血清中でフィブリノゲンγ鎖(FGG)が増加することを見出した。膵がん患者血清FGGのN78には2本鎖モノおよびジシアロ糖鎖が付加しており、一部血漿中FGGとは異なるシアル酸結合様式を持つことが示唆された。また、診断能を示すROC解析におけるAUC値は1.0であった。このことからFGGは膵がんマーカーとして有用であることが示唆された。</p>			
<p>Pancreatic cancer is one of the most lethal malignancies, with an overall 5-year survival rate of less than 5%. It is characterized by genetic mutations, rapid progression, and late-stage diagnosis in most cases. CA19-9, currently used as pancreatic cancer biomarker, often shows elevated levels in non-tumor conditions, highlighting the need for more sensitive and specific biomarkers. Recently, the detection of both glycan and protein components of cancer-associated glycoproteins has been explored to improve diagnostic accuracy and reduce false positives.</p> <p>In this study, we aimed to identify novel pancreatic cancer biomarker candidates through quantitative glycoproteomics using serum from pancreatic cancer patients. Glycopeptides enriched from the sera of patients with advanced or recurrent pancreatic cancer and healthy individuals were analyzed by LC/MS/MS, revealing an increase in fibrinogen gamma chain (FGG) levels in patient sera. N78 of FGG carried biantennary mono- and disialylated glycans, with distinct sialic acid linkages differing partially from plasma FGG. Furthermore, ROC analysis demonstrated an AUC value of 1.0, indicating excellent diagnostic performance. These findings suggest that FGG is a promising biomarker for pancreatic cancer detection.</p>			
<p>【社会実装の可能性: Possibility of social implementation】</p> <p>本研究で同定されたFGGは、高い診断能(AUC値1.0)を示し、膵がんの新規バイオマーカーとして有望である。今後、大規模臨床研究と診断薬開発を進めることで、社会実装の可能性が十分にあると考えられる。</p> <p>The FGG identified in this study demonstrated high diagnostic performance (AUC = 1.0) and is a promising novel biomarker for pancreatic cancer. With further large-scale clinical studies and diagnostic drug development, its potential for social implementation is considerable.</p>			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	生命医科学研究科 生命医科学専攻 (Graduate School of Medical Life Science Department of Medical Life Science)		
学籍番号 (Student ID)	245510	氏名 (Name)	並木 佳乃 (Kano Namiki)
研究課題名 (Research Project Name)	胸腺腫関連重症筋無力症を誘発する異所性 B 細胞濾胞の形成メカニズム (Mechanism of formation of ectopic B cell follicles that induce thymoma associated myasthenia gravis)		

T 細胞は、自己を認識するものは分化の過程で取り除かれ、異物を認識するものだけが免疫応答に寄与する。この自己応答性 T 細胞の排除は、胸腺上皮細胞 (TECs) が担っている。したがって、TECs の異常は、自己応答性 T 細胞の排除機能を不全にし、結果として自己免疫疾患を惹起する。この TECs 異常による疾患に胸腺腫がある。胸腺腫は重症筋無力症を併発する (MGT) 特徴を持つ。MGT 患者の胸腺では、通常存在しない B 細胞濾胞を形成し、その形成頻度と重症筋無力症の原因である自己抗原の血清濃度は正の相関を持つことがわかっている。よって、異所性 B 細胞濾胞と MGT には密接な関連があるとされているが、異所性 B 細胞濾胞の形成メカニズムは不明である。そこで、私は、異所性 B 細胞濾胞の形成メカニズムの解明を目指す。私は、ヒト検体の腫瘍 TECs と正常 TECs の遺伝子発現解析から腫瘍 TECs で起こる遺伝子発現変動を発見した。その変化を TECs で一部模倣し、異所性 B 細胞濾胞を形成するマウスを新たに作成した。このマウスを用いて、異所性 B 細胞濾胞がどのように形成するのか解析を行っている。今後は、網羅的な遺伝子発現解析により胸腺内でどのようにして B 細胞が集積するのか調べていく予定である。

T cells that recognize self-antigens are removed during differentiation, and only those that recognize foreign antigens contribute to the immune response. Thymic epithelial cells (TECs) are responsible for the elimination of these autoreactive T cells. Thus, abnormalities in TECs cause the defective elimination of autoreactive T cells and consequently to the development of autoimmune diseases such as myasthenia gravis. One disease caused by abnormal TECs is thymoma. Thymoma is characterized by associated myasthenia gravis (MGT). The thymus of MGT patients forms B cell follicles that are not normally present, and the frequency of their formation has been found to positively correlate with serum levels of self-antigens, the cause of myasthenia gravis. These findings suggest a close association between ectopic B cell follicles and MGT. However, the mechanism of formation of ectopic B cell follicles is unknown. Therefore, I aim to elucidate the mechanism of formation of ectopic B cell follicles. I discovered the gene expression changes that occur in tumor TECs by gene expression analysis of tumor TECs and normal TECs in human samples. I partially mimicked the changes in TECs of mice and have created new mice that form ectopic B cell follicles. Using these mice, I am analyzing how ectopic B cell follicles form in the thymus. In the future, I plan to investigate how B cells accumulate in the thymus using comprehensive gene expression analysis of the mice.

【社会実装の可能性: Possibility of social implementation】

胸腺腫は稀な疾患のため研究が進んでおらず、併発する MTG の発症機構や根本的な治療法も不明なままである。本研究は、MTG の病態に関わる B 細胞濾胞の形成に着目しており、新たな治療法確立の新視点を提供し得る。

Thymoma is a rare disease, so it has not been well studied. Therefore, the pathogenesis of MTG and the basic treatment remain unknown. This study focuses on the formation of B-cell follicles that induce MTG and may provide a new perspective for establishing new treatment methods.

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	生命医科学研究科 生命医科学専攻 (Graduate School of Medical Life Science Department of Medical Life Science)		
学籍番号 (Student ID)	245506	氏名 (Name)	菊地 杏美香 (Amika Kikuchi)
研究課題名 (Research Project Name)	植物の DNA 維持メチル化の構造基盤と新規 DNA メチル化阻害剤の開発 (Structural basis for DNA methylation maintenance in plants and development of novel DNA methylation inhibitor)		
<p>DNA メチル化は、細胞形質を定義するエピジェネティックマークである。細胞分化の過程で確立した DNA メチル化パターンは、細胞増殖に伴って娘細胞に正確に継承される。この継承は DNA 維持メチル化機構により制御され、その破綻は細胞のがん化を引き起こすことが知られている。実際に、DNA メチル化酵素阻害剤の 5-アザシチジンは骨髄異形成症候群の治療に使用されているが、ゲノム全体で異常な核-タンパク質複合体を形成するので、副作用が大きく、その使用は限定的である。私たちは、クライオ電子顕微鏡単粒子解析法で DNA メチル化酵素 DNMT1 の活性化型の構造を決定し、DNMT1 の新規の活性制御部位を発見した (Kikuchi <i>et al.</i>, <i>Nat. Commun.</i> 2022 [Featured Article])。このモチーフは、哺乳類が持つ他の DNA メチル化酵素には存在しないため、この活性制御部位に結合する化合物は DNMT1 に対する選択性が高く、細胞毒性の低い阻害剤になると考えた。本発表では、同定した活性制御部位を標的とした DNMT1 の新規阻害剤の開発について報告する。さらに、植物における DNA メチル化の分子機構の解明についても、研究意義を含めて紹介する。</p>			
<p>Accurate inheritance of DNA methylation is important for maintaining differentiated phenotypes in multicellular organisms. A cell’s DNA methylation pattern is faithfully copied into newly replicated DNA at cell division by DNA methylation maintenance. Abnormal DNA methylation is involved in cellular oncogenesis. In fact, DNA methyltransferase inhibitor 5-Azacytidine is used in the treatment of myelodysplastic syndromes. However, its use is limited due to significant side effects caused by the formation of aberrant nuclear-protein complexes throughout the genome. We have determined the structure of activated form of DNA methyltransferase DNMT1 using cryo-EM analysis and unveiled a novel activation mechanism of DNMT1 (Kikuchi <i>et al.</i>, <i>Nat. Commun.</i> 2022 [Featured Article]). The activation motif is absent in other DNA methyltransferases in mammals, suggesting that compounds targeting this regulatory site would exhibit high selectivity for DNMT1 and serve as inhibitors with reduced cytotoxicity. In this presentation, I will report on the development of inhibitors targeting the novel activation motif of DNMT1. Furthermore, I will also introduce the molecular mechanisms of DNA methylation maintenance in plants, including their biological significance.</p>			
<p>【社会実装の可能性： Possibility of social implementation】</p> <p>基礎研究と応用研究の成果により、DNA 維持メチル化の基本原理の理解と医学研究の発展、そして農業・環境問題への解決に貢献できると期待している。</p> <p>I hope that the results of our basic and applied research will contribute to understanding of the molecular mechanism of DNA methylation maintenance, advances in medical research, and solutions to agricultural and environmental problems.</p>			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	生命医科学研究科 生命医科学専攻 (Graduate School of Medical Life Science Department of Medical Life Science)		
学籍番号 (Student ID)	245511	氏名 (Name)	藤田 陽 (Minami Fujita)
研究課題名 (Research Project Name)	細胞膜透過性を付与した二次構造制御型 PPI 阻害ペプチドの <i>in silico</i> デザイン (<i>In silico</i> design of peptide foldamers targeting protein-protein interactions with enhanced membrane permeability)		
<p>タンパク質間相互作用 (PPI) はシグナル伝達や細胞増殖など生命現象において重要な役割を担っており、異常な PPI は様々な疾患に関与する。</p> <p>当研究室では、多岐にわたるがん疾患に関与することが報告されている細胞内タンパク質を標的とした PPI 阻害ペプチドを開発し、さらに計算手法を利用した配列最適化を実施することでペプチドの高活性化に成功した。一方で開発した PPI 阻害ペプチドは単体では十分な細胞膜透過性を有していなかったため、細胞膜透過性ペプチド (CPP) を連結し、細胞内での機能を発現させた。しかし、標的タンパク質への結合親和性を予測後に CPP を連結しているため、阻害活性を十分に予測できていない点や、分子量が大きくなるといった課題がある。</p> <p>上記の理由から、本研究ではがん疾患に関与する細胞内 PPI を標的とし、細胞膜透過性を有するペプチドをテンプレートとした PPI 阻害ペプチドの効率的な開発を目指した。本発表ではペプチドのデザイン手法やこれまでに得た知見について報告する。</p>			
<p>Protein-protein interactions (PPIs) are involved in various biological processes, such as cell proliferation, cell differentiation and apoptosis. PPIs are also involved in the establishment of many cell signaling pathways.</p> <p>We have developed peptide-based inhibitors targeting intracellular proteins that have been reported to be involved in a wide variety of cancer diseases. We have then successfully enhanced the activity of the peptides through sequence optimization using computational methods. Since the peptide-based inhibitors developed did not have sufficient cell membrane permeability by themselves, they were conjugated with cell penetrating peptides (CPPs) to express their intracellular functions. However, since the CPPs were linked after predicting the binding affinity to the target protein, there are issues such as insufficient prediction of inhibitory activity and large molecular weight.</p> <p>For the above reasons, in this study, we targeted intracellular PPIs involved in cancer diseases and aimed to efficiently develop peptide-based inhibitors using peptides with cell membrane permeability as templates. In this presentation, I will present peptide design methodology and findings to date.</p>			
<p>【社会実装の可能性: Possibility of social implementation】</p> <p>本研究で開発する技術は様々な細胞内のタンパク質を標的とした PPI 阻害ペプチドにも応用可能である。さらに、計算手法を利用することで人間がこれまで見逃していたアミノ酸配列や修飾を網羅的に探索できる。</p> <p>The technology developed in this study can be applied to peptide-based inhibitors targeting various intracellular proteins. Furthermore, the computational methods can be used to comprehensively search for amino acid sequences and modifications that have been previously missed by humans.</p>			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	生命医科学研究科 生命医科学専攻 (Graduate School of Medical Life Science Department of Medical Life Science)		
学籍番号 (Student ID)	245512	氏名 (Name)	保科 隼佑 (Shunsuke Hoshina)
研究課題名 (Research Project Name)	パーキンソン病における O-GlcNAc 修飾とリン酸化修飾による競合的制御 (Competitive regulation by O-GlcNAcylation and phosphorylation in Parkinson’s disease)		
<p>近年、世界的にパーキンソン病 (PD) の患者数が増加しており、社会問題となっている。しかし、根本的な治療はないため、疾患メカニズムの詳細な理解が急務である。現在、PD 関連タンパク質に修飾し、さらに生命現象と関係するリン酸化と修飾位置を競合するため、O-GlcNAc 修飾が注目されている。しかし、微量で解析困難であるため、PD との関係は不明な事が多い。本研究では、タンパク質の網羅解析に有用な質量分析計を用いて、新たな O-GlcNAc タンパク質の解析法を構築し、ゲノム編集された PD モデルと、対照の iPS 細胞由来ドパミン神経系細胞を用いて、PD 特異的な O-GlcNAc タンパク質の変化を明らかにすることを目的とした。ヒト iPS 細胞から小麦胚芽レクチンで濃縮した O-GlcNAc タンパク質をトリプシンで消化し、LC/MS/MS により O-GlcNAc ペプチドを同定しスペクトルライブラリ化した。並行して、ヒト iPS 細胞から分化誘導された神経系細胞のタンパク質を消化し、LC/MS/MS を実施した。取得したスペクトルデータをライブラリと照合することで、変動した O-GlcNAc タンパク質を明らかにした。</p>			
<p>The increasing number of Parkinson’s disease (PD) patients is social problem in the world. Detail understanding of the disease mechanisms is urgent, because there is no complemented treatment. Recently, the O-GlcNAcylation which attached on proteins related to PD and competing with the phosphorylation for modification sites, has got attention as the new keys for treatments. However, despite the lack of analyzing methods, the relationship has remained unclear. In this study, we have developed the new O-GlcNAc proteomics method using the mass spectrometer to clarify PD specific change with PD model and control human-induced Pluripotent Stem Cells (iPSC) derived Dopaminergic-neurons (DA-NC). O-GlcNAcylated proteins concentrated by Wheat germ agglutinin (WGA) were trypsin digested and analyzed to identify O-GlcNAcylated peptides to develop the spectral library in skyline analysis software. Next, all proteins from DA-NC derived iPSCs of PD model and control were collected. These proteins were only trypsin digested, not concentrated by WGA. Digested peptides were analyzed with mass spectrometer. Obtained spectral data were overlapped with spectral library on skyline to identify and quantify the O-GlcNAcylated peptides automatically. Then we clarified PD specific changes during neuron differentiation. And we have checked the proteins on HexNAc biosynthesis pathway, O-GlcNAc transferase and, O-GlcNAcase. In the future, we want to consider why the O-GlcNAcylated proteins in PD model cells were changed from proteomics and phosphoproteomics data to reveal one of the PD mechanisms.</p>			
<p>【社会実装の可能性: Possibility of social implementation】</p> <p>O-GlcNAc は、PD などの多くの疾患との関係が示唆されている。本手法は、濃縮法を省略して定量解析することを可能にする。社会実装することで、疾患メカニズムの理解や、標的探索に貢献すると考えられる。</p> <p>O-GlcNAcylation has been suggested there are relationships with various diseases including PD and cancers. This method enables us to quantify the O-GlcNAcylated proteins without cumbersome concentrations. It will contribute to understanding the disease mechanisms and to detect new targets for treatments or molecular biomarkers.</p>			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	医学研究科 医科学専攻 (Graduate School of Medicine Doctoral Degree Program)		
学籍番号 (Student ID)	246015	氏名 (Name)	尾崎壮 (So Ozaki)
研究課題名 (Research Project Name)	二光子イメージングを用いた脳幹機能の解明 (In-vivo two photon calcium imaging for brainstem ~The correlation with drinking~)		
<p>【研究背景】生体マウス脳における神経細胞活動をリアルタイムで観察する手法として、二光子イメージングが近年注目を集めている。現在留学先の米国サウスカロライナ医科大学の神経科学研究室では、大脳皮質領域で多くの成果(Itokazu et al. Nature Com. 2018; Abe et al. eLife. 2024)を上げている。一方、脳幹の孤束核は消化管・循環・呼吸などに関連する多くの機能を持つとされているが、解剖学的アプローチの難しさからイメージングが困難であり局所的な役割はまだ解明されていない。</p> <p>【対象と方法】GCaMP のウイルスベクターおよび遺伝子改変マウスを用いた。後頭骨を削除した後に小脳Ⅶ～Ⅹ葉を切除、露出した脳幹上面にカバーガラスを固定しウィンドウを作成した。ウィンドウ上に二光子顕微鏡を設置し、飲水下で孤束核の神経細胞活動を解析した。</p> <p>【結果】咽頭・食道・胃にそれぞれ TdTomato や GFP ウイルスを感染させて、脳幹・孤束核に逆行性にウイルスが広がる事を観察した。さらに機械的刺激やカプサイシンによる化学的刺激を与えることで、消化管神経支配の局在が孤束核内で解剖学的局在とも関連している事を明らかにした。各消化器を支配する上位中枢神経を中心に飲水下での二光子カルシウムイメージングを行った。舌運動の録画とイメージング画像をリンクさせた結果、飲水中における上位中枢神経の興奮性細胞活動を得ることに成功した。ここまでの結果は、未だ世界で報告のない非麻酔下の脳幹イメージングに成功しただけでなく、飲水時に活動する孤束核回路の解明に繋がると考えられる。</p>			
[Background]Two-photon imaging has recently been a curious method for real-time observation of neuronal activity. At my research lab in the Medical University of South Carolina, significant progress has been made in cortical areas (e.g., Itokazu et al., Nature Communications, 2018; Abe et al., eLife, 2024). Meanwhile, NTS in the brainstem, known to play crucial roles in organs, remains poorly understood due to the anatomical challenges.			
[Methods] GCaMP viral vectors and genetically modified mice were used for fluorescent calcium imaging. After removing cerebellar lobules VII-X and placing a coverglass, a two-photon microscope was positioned above the brain surface, and we gave mice water orally.			
[Results] TdTomato or GFP viruses were injected to the pharynx, esophagus, and stomach, and we saw the retrograde spread to NTS. Mechanical with forceps and chemical stimulation with capsaicin in the GI tract were associated with localized activity within the NTS. We conducted two-photon calcium imaging focused on these GI controlling CNS regions while drinking. By AI deep learning to detect tongue movements from video and synchronizing this data with brain imaging, we successfully got excitatory neuronal activity in NTS. This study achieved the non-anesthetized brainstem imaging yet to be reported all over the world, and observed NTS circuits that activate in drinking.			
【社会実装の可能性： Possibility of social implementation】			
次のステップとして X 線透視装置を用いた嚥下造影による検討を予定しており、孤束核における動的特性と嚥下行動に与える影響を解明し、中枢神経由来の嚥下障害の病態解明や治療に繋げることを期待する。We plan to use X-ray swallowing fluoroscopy to discover dynamics of NTS. It hopes to contribute to understanding the pathophysiology of CNS induced swallowing disorders and advancing treatments.			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	医学研究科 医科学専攻 (Graduate School of Medicine Doctoral Degree Program)		
学籍番号 (Student ID)	246028	氏名 (Name)	小巻萌夏 (Moka Komaki)
研究課題名 (Research Project Name)	がん第Ⅱ相臨床試験デザインに対するベイズ流アプローチの提案 (Bayesian Screening Design for Phase II Oncology Trials)		
<p>がん第Ⅱ相臨床試験は、抗腫瘍効果についての新薬のスクリーニングや、治療法の新しい組み合わせ、新しいスケジュールを試みることを通じて、第Ⅲ相試験の計画に重要な役割を果たす。近年、分子標的治療などの薬剤開発により、ランダム化第Ⅱ相試験が注目されており、その中でもがん領域においてしばしば用いられる、Flexible Screening Design (以下、FSD)に着目した。FSDは、主要評価項目において期待するほどの差が見込めない場合でも、ガイドラインで推奨される副次的な要因（毒性、コスト、投与の容易さ、生活の質など）を考慮して意思決定が行われるデザインである。場合によっては、他の要因を踏まえ、例えば奏効割合がやや低い治療が高い治療よりも選好されることがある。このデザインは、奏効割合が特定の患者に推奨する治療を決定する際の考慮事項の一つに過ぎないという臨床現場を反映している。さらに近年では医薬品開発に対して革新的な試験デザインの活用に関心が高まっている。事前情報が十分に見込まれる場合、ベイズ法を適用することで効率的な試験実施が期待できるだろう。本研究では、ベイズ流アプローチによるFSDと症例数設計法を提案し、その性能を評価する。また、実データ解析を通じて提案デザインの有用性を示す。</p>			
<p>Phase II cancer clinical trials serve as a foundation for the development of pivotal phase III trials by screening new drugs for antitumor activity, exploring new combinations of therapies, and testing new treatment schedules. With recent advances in drug development, such as molecularly targeted therapies, randomized Phase II trials have garnered increasing attention. Among these, the Flexible Screening Design (FSD) proposed by Sargent and Goldberg (2001) is occasionally utilized in oncology. The FSD design provides a unique decision-making framework, allowing for the selection of a treatment even when there is uncertainty in the effect shown on the primary endpoint. When the drug cannot be selected based on the primary endpoint, the decision will be made using secondary factors such as toxicity, cost, ease of administration, and quality of life (QOL), which are also recommended as potential considerations in the guidelines. In some cases, a treatment with a slightly lower response rate may be preferred over one with a higher response rate due to these other factors. This design reflects the clinical reality that the success probability of a treatment is only one of many considerations when recommending a treatment for a particular patient. Additionally, there is growing interest in innovative trial designs for drug development. When sufficient prior information is available, applying Bayesian methods can lead to more efficient trial execution.</p> <p>This study proposes an FSD-based Bayesian approach for trial design and sample size determination, evaluates its performance, and demonstrates its utility through real data analysis.</p>			
<p>【社会実装の可能性：Possibility of social implementation】</p> <p>本研究のデザインは、有用な事前情報を積極的に組み入れることにより、必要症例数の削減や臨床試験の効率化・迅速化が期待できる。</p> <p>This design actively incorporates useful prior information, aiming to reduce the required sample size and improve the efficiency and speed of clinical trials.</p>			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	医学研究科 医科学専攻 (Graduate School of Medicine Doctoral Degree Program)		
学籍番号 (Student ID)	246060	氏名 (Name)	古郡 華月 (Kazuki Furugori)
研究課題名 (Research Project Name)	TAF7 と MED26 の相互作用を介した遺伝子発現スイッチング機構の解明 (Mechanism of switching from transcription initiation to elongation by TFIID and Mediator complex)		

転写は、遺伝子発現においては最初のステップを担う重要な反応である。細胞外からの刺激により転写反応を制御することで、タンパク質の合成を調節し、個体の発生や細胞外からの刺激に応答することが可能になる。転写反応の初期段階においては、転写開始点に転写開始前複合体が形成され、DNA から mRNA を合成する酵素である RNA ポリメラーゼ II (Pol II) が呼び込まれる。我々は、メディエーター複合体のサブユニット MED26 が転写伸長因子複合体を遺伝子領域へとリクルートし、転写の伸長を促進することを明らかにしてきた。興味深いことに MED26 は、転写開始前複合体の形成に必須の基本転写因子 TFIID と、サブユニット TAF7 を介して相互作用する。TAF7 と MED26 の相互作用は、転写の開始から伸長を担う 2 つの複合体 TFIID とメディエーター複合体を結びつける重要な結合であるが、その相互作用の役割は明らかとなっていない。

そこで我々は TAF7 の機能を解明するために、dTAG システムを用いて TAF7 を急速分解可能な細胞を作製した。すると、TAF7 の急速分解によって、野生型の細胞に比べて定常時のヒートショック遺伝子の転写が増加することが明らかとなった。以上の結果より、TAF7 は、定常時におけるヒートショック遺伝子の転写を負に制御する可能性が示唆された。

Transcription is a crucial process regulating gene expression. In the transcription process, general transcription factors assemble to form a pre-initiation complex, which is essential for recruiting RNA polymerase II (Pol II). We previously found that the human Mediator complex subunit MED26 interacts with the elongation complex and recruits to the promoter region to promote transcription elongation. Interestingly, MED26 also binds to TAF7, a subunit of the general transcription factor TFIID. TFIID binds to the promoter and plays a central role in the assembly of the pre-initiation complex. The interaction between TAF7 and MED26 plays an important role in linking the two large complexes. However, its role has not been elucidated.

To explore the function of TAF7, we generated a cell line expressing FKBP degradation tagged TAF7 to degrade TAF7 rapidly. We found that rapid TAF7 degradation leads to significant upregulation of heat shock genes under steady state condition. This result suggests that TAF7 negatively regulates transcription at the specific genes.

【社会実装の可能性: Possibility of social implementation】

転写は遺伝子発現を担う重要なプロセスであり、転写制御の破綻は、腫瘍性疾患や発生異常などに繋がるということが知られている。転写制御のメカニズムを解明することは、これら疾患の病態解明や治療薬の開発につながることを期待される。

Transcription is a crucial process in gene expression, and the disruption of transcriptional regulation is known to lead to tumor-induced diseases and developmental abnormalities. Elucidating the mechanisms of transcriptional regulation is expected to contribute to understanding the pathology of these diseases and the development of therapeutic drugs.

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	医学研究科 医科学専攻 (Graduate School of Medicine Doctoral Degree Program)		
学籍番号 (Student ID)	246075	氏名 (Name)	山本美羽 (Miu Yamamoto)
研究課題名 (Research Project Name)	マウス受精卵におけるコアメディエーター複合体による LLPS 非依存型転写制御機構の解明 (Elucidation of the LLPS-independent transcriptional control mechanism by the core mediator complex in mouse fertilized eggs)		
受精卵は、次世代の個体を構成するすべての細胞に分化可能な「全能性」を有しており、その最初の遺伝子発現イベントは『Zygotic genome activation (ZGA)』と呼ばれる。ヒトでは ZGA が 4〜8 細胞期、マウスでは 1〜2 細胞期に起こることが知られているが、その分子機構には未解明の部分が多い。本研究では、マウス受精卵および胚性幹細胞を用い、ZGA および全能性を制御する分子メカニズムの解明を目指した。その結果、受精卵で特異的に発現する転写因子 Dux が、クロマチン構造を均質化させることで液-液相分離(LLPS)を抑制し、全能性を維持する重要な役割を果たすことを明らかにした。また、Dux は少数のコアメディエーターサブユニットを介して転写を制御するだけでなく、ペリセントロメア領域の活性化にも関与していることを新たに発見した。興味深いことに、ペリセントロメア領域の活性化は、がん細胞や筋ジストロフィーの病態においても観察される現象であり、受精卵における Dux-メディエーターを介した転写制御が一過的であること、そしてそのタイミングが正常な発生には極めて重要であることが示唆された。			
The zygote possesses “totipotency,” the ability to differentiate into all cell types required to form the next generation organism. The first gene expression event in this process is known as zygotic genome activation (ZGA). In humans, ZGA occurs at the 4- to 8-cell stage, while in mice, it occurs at the 1- to 2-cell stage. However, the molecular mechanisms underlying ZGA remain largely elusive. In this study, we aimed to elucidate the molecular mechanisms that regulate ZGA and totipotency using mouse zygotes and embryonic stem cells. We identified the transcription factor Dux, specifically expressed in zygotes, promotes chromatin homogenization, suppressing liquid-liquid phase separation (LLPS) to maintain totipotency. Additionally, we discovered that Dux not only regulates transcription through a limited set of core Mediator subunits but also activates pericentromeric regions. Interestingly, pericentromeric activation is observed in pathological conditions such as cancer and muscular dystrophy. Our findings suggest that Dux-mediated transcriptional regulation is transient during early embryogenesis and that its precise timing is critical for normal development.			
【社会実装の可能性: Possibility of social implementation】 受精卵における全能性制御機構に関して、細胞の性質を分子レベルで解明することで、初期発生過程の理解に貢献することができる。さらに、筋ジストロフィーの病態解明、新たな治療法の確立に繋がる可能性がある。 By elucidating the mechanism of totipotency control in zygote at the molecular level, it is possible to contribute to the understanding of early developmental processes. Furthermore, this could lead to the elucidation of the pathology of muscular dystrophy and the development of new therapeutic approaches.			

所属研究科・課程・専攻名 (Graduate School)	医学研究科 医科学専攻 (Graduate School of Medicine Doctoral Degree Program)		
学籍番号 (Student ID)	236024	氏名 (Name)	小林実結 (Miyu Kobayashi)
研究課題名 (Research Project Name)	3 群非劣性試験における新たな検定手法の提案と性能評価 (Proposing a Novel Test and Performance Evaluation for 3-arm Non-inferiority Trials.)		

非劣性試験は侵襲性や費用の面から開発される新規治療の評価に用いられ、そのゴールドスタンダードはプラセボ群を含む3群試験である。近年提案されている様々な統計手法のひとつである Hida and Tango (2011) では新規治療群の標準治療群に対する非劣性と標準治療群のプラセボ群に対する優越性を同時に示す枠組みの検定仮説を立てている。しかし、実際の臨床試験で3群非劣性試験に対して提案された統計手法の使用は一般的ではなく、ある臨床試験では新規治療が有用でない場合にも有用であると判断される懸念がある。統計理論と実際の臨床試験のギャップを解消するために本研究では Hida and Tango (2011) に注目し、次の研究テーマを設定する。

1. Hida and Tango (2011) の実際の臨床試験への応用と従来法との比較による性能評価
2. 順序変数のアウトカムに対する統計手法の提案

研究テーマ1は Hida and Tango (2011) と実際の臨床試験の検定仮説の違いや3群非劣性試験に対して提案された統計手法の論点を整理し、様々なシナリオでの数値シミュレーションから効率的な試験計画に必要な条件を検討する。研究テーマ2は実際の臨床試験において順序変数のアウトカムに対して用いられる評価指標に基づいた統計手法を提案する。

Non-inferiority trials are used to evaluate novel therapies, developed in terms of invasiveness and cost, and the gold standard is a 3-arm trial including a placebo group. Hida and Tango (2011), one of the various methods that have been proposed in recent years, set up a framework test hypothesis that simultaneously shows non-inferiority of the novel treatment group to the standard treatment group and superiority of the standard treatment group to the placebo group. However, the use of the proposed methods for 3-arm non-inferiority trials in actual clinical trials is not common, and there is concern that the novel treatment may be judged useful even when it is not useful in a given clinical trial. To bridge the gap between statistical theory and actual clinical trials, this study focuses on Hida and Tango (2011) and sets the following research topics:

1. application of Hida and Tango (2011) to actual clinical trials and performance evaluation by comparison with conventional methods
2. proposal of statistical methods for ordinal variable outcomes

Research topic 1 summarizes the differences between the test hypotheses of Hida and Tango (2011) and actual clinical trials and the statistical methods proposed for 3-arm non-inferiority trials, and examines the conditions necessary for efficient trial design based on numerical simulations under various scenarios. Research topic 2 proposes a statistical method based on an evaluation index used for ordinal variable outcomes in actual clinical trials.

【社会実装の可能性: Possibility of social implementation】

研究テーマ1と2の成果から効率的な臨床試験の計画を目指す。効率的な臨床試験はコストの削減や参加される患者さんへのメリットにつながり、特にアカデミアを含む医薬品開発に関する業界への貢献が期待される。

The goal is to plan efficient clinical trials based on the results of research topics 1 and 2. Efficient clinical trials will lead to cost reductions and benefits to participating patients, and will contribute to the industry, especially regarding drug development, including academia.