Searching for interactive molecules using the Yeast Two-Hybrid system

学会・研究会抄録

〔東女医大誌 第87巻 第1・2号
頁 45〜47 平成29年4月〕

平成28年度東京女子医科大学医学部・基礎系教室研究発表会

日　時：平成28年12月22日（木）13：00〜17：00
場　所：東京女子医科大学　臨床講堂Ⅰ
主　催：基礎医学系教授会

1. BCL-2ファミリーを標的とした小細胞肺癌治療

（病理学（第二））　山内　茜

小細胞肺癌は肺癌全体の約15〜20%を占める非常に悪性度の高い癌である．化学療法や放射線療法に対する感受性が高いが，多くの場合再発が問題となっており，新たな治療法の開発が待たれている．興味深いことに，小細胞肺癌はアポトーシス抑制因子BCL-2/BCL-X_Lの阻害薬ABT-263に対して高い感受性を示すことが報告され，その臨床応用に期待が集まった．しかしながら，ABT-263の臨床試験の結果はその有効性を支持するものではなく，併用治療の必要性を示すものであった．本研究では，ABT-263耐性の克服を目指し，ABT-263のアポトーシス活性を促進可能な薬剤のスクリーニングを行った．1069種類の薬剤を含む2種類の薬剤ライブラリーを用いたスクリーニングの結果，doxorubicinを含むアントラサイクリン系薬剤および，dinaciclibを含むCDK阻害薬を同定した．実際に，doxorubicinおよびdinaciclibは，ABT-263との相乗作用により，ABT-263耐性を示す複数の小細胞肺癌細胞株のアポトーシスを効率的に誘導した．それらの薬剤の主要な作用標的は，ABT-263によって阻害されない，アポトーシス抑制因子MCL-1であり，その発現を転写レベルで抑制することが判明した．本発表ではBCL-2ファミリーを標的とした新たな小細胞肺癌の治療戦略について議論したい．

2. Searching for interactive molecules using the Yeast Two-Hybrid system

(Department of Pharmacology)
Tutomu OMORI

The Yeast Two-Hybrid (Y2H) system is one of the methods for analyzing protein-protein interactions. The protein of interest is called as the bait. The fusion protein, such as hunted unknown protein, is called as the prey. If the bait and the prey have intermolecular interaction, they transcript several reporter genes and result in growth the yeast on the selective mediums. Based upon those results, we identify positive, negative, and false-positive clones. While the Y2H can successfully recognize true protein-protein bindings, it also hunts a number of false-positives. The distinction between positives and false-positives has been the toughest challenge in this system. Thanks to individual researchers and many manufactures, protocols and commercial products are easily available nowadays. Not only following those protocols, but we simultaneously have tried some verification and interlaced various methods. Those processes could be miscellaneous and sometimes lead the screenings to devastating end. However, a major reason we keep try screening is that the Y2H system is a mixture of good and bad and there is always a possibility to find a new, unknown binding partner. Although the system is not perfect, we have used this strategy as to reveal the molecular mechanisms of cancer metastasis and so far. Several papers are already published and some are still working. Considering a time and effort, the Y2H system may be difficult as a first foothold, but it would be great if anyone will be interested in it.

3. 網膜傷害後のMüllerグリアの細胞周期進入とDNA損傷応答

([1]解剖学, [2]衛生学公衆衛生学（第一）)
蒋池かおり[1]・
齋藤文典[1]・蒋池勇太[2]・藤枝弘樹[1]

魚類などの下等脊椎動物では，網膜傷害時に網膜のグリア細胞であるMüllerグリア（MG）が脱分化して増殖し，新しい神経細胞に再分化して網膜を再生する．哺乳類でもMGの同様な性質は報告されているが，網膜の再生能は極めて乏しく，そのメカニズムは明らかになっていない．そこで我々は，網膜が再生する魚類（ゼブラフィッシュ）と網膜が再生しない哺乳類（ラット，マウス）を比較することで，哺乳類網膜の再生を負に制御する要因を明らかにすることを目的とし,本研究を行った．成体Wistarラット，C57BL/6マウス，およびゼブラフィッシュに視細胞特異的にアポトーシスを誘導するDNAのアルキル化剤，N-methyl-N-nitrosourea（MNU）を投与して視細胞変性を誘導し，細胞周期への進入とDNA損傷応答について解析した．その結果，ラットのMGは細胞周期へ進入し，同時にDNA損傷応答（γ-H2A.X，p53，p21の発現）を呈した後に細胞死を起こし減少した．一方マウスではMGの細胞周期への進入は認められなかった．ゼブラフィッシュでは盛んなMGの増殖が認められ，DNA損傷応答は認められなかった．以上の結果から，哺乳類網膜では網膜の変性後，ラットのようにMGが細胞周期へ進入するもののDNA損傷応答を呈する，もしくはマウスのように細胞周期に進入しないために網膜再生が負に制御されている可能性が示唆された．

4. 内科共通クラークシップ導入とその評価の検討

（医学教育学）　村﨑かがり

〔緒言〕クリニカルクラークシップでは，臨床参加型実習として，質の高い，標準化された実習内容が求められる．しかしながら，大学病院を中心とした実習では，診療科による専門性にともなう学習内容の偏りが見られていた．今回，本学では新たな臨床実習カリキュラムを開始するにあたり，内科必修臨床実習として，診療科の専門性に関係なく，内科の基本的な事項を学ぶことを目的とした学習単位を設けた．共通e-portfolioに学生が記載した内容を解析とmini CEXによる評価を実施し，実習内容の標準化の推進を行っている．〔対象と方法〕平成27年度，5年生106名を対象に，4週間を1単位として順に内科必修（I）と（II）の2単位，計8週間実施した．内科必修実習中に毎週記録された，e-portfolioの学習記録テキストマイニング手法を用いて解析し，4週間毎に二回実施されたmini CEXの結果を合わせて評価した．〔結果〕共通到達目標96項目のうち，e-portfolioに学生が学んだと記載した項目数は，平均44.7個（最大62項目，最小37項目）であり，担当科毎に差異が見られた．実際の知識，技能，態度20項目をリスト化し，指導医による実習中の観察とPortfolio評価を実施し，併せてmini CEXも行った．いずれの評価も，内科必修（I）と（II）を比較すると評価スコアがおおむね改善しており，学生，教員の満足度も改善した．〔結論〕クリニカルクラークシップでの内科必修臨床実習は，学生全員が一定の到達目標を達成できるよう，内科必修カリキュラムを導入した．e-portfolioを用いて臨床実習記録を行うこととmini CEXによる評価を実施することにより教育指導上の問題をより早く把握することが可能となり，結果は実習終了後直ちに共有され，問題解決のためのワークショップが実施された．e-portfolioの導入は，実践された教育プログラムの改善に対しても有用であると考えられた．

5. わが国における青年の携帯電話利用状況と脳腫瘍罹患率との関連

（衛生学公衆衛生学（第二））　佐藤康仁

携帯電話利用の健康影響を明らかにする疫学研究は現在世界的に進められているところである．本研究は，若い世代（10歳代〜30歳代）に注目して，携帯電話利用状況と脳腫瘍罹患率の関連について分析を実施した．脳腫瘍の罹患データは，地域がん登録全国推計によるがん罹患データを用いた．対象期間は，わが国において携帯電話の普及が進んだ1993〜2010年とした．携帯電話の利用状況データは，本講座が構築した携帯電話利用のコホートからデータを抽出した．解析は男女別，年齢10歳階級別に行った．初めに脳腫瘍の罹患データについて折れ線回帰分析を実施した．次にコホートデータより携帯電話累積使用時間1640時間以上の者の割合を算出した．続いて携帯電話の累積使用時間が1640時間以上の者において，脳腫瘍の相対危険が1.4〜12.0に変化した場合の期待罹患率がどのように変化するのかシミュレーションを行った．折れ線回帰分析の結果，20歳代のAPC（Annual Percent Change）は，男性3.9，女性12.3（2002〜10年）となり有意差が見られた．30歳代のAPCは，男性2.7，女性3.0となり有意差が見られた．シミュレーションの結果，携帯電話累積使用時間1640時間以上において相対危険が1.4である場合の罹患率の上昇はわずかであった．携帯電話の利用で罹患率の上昇を説明することはできなかった．