

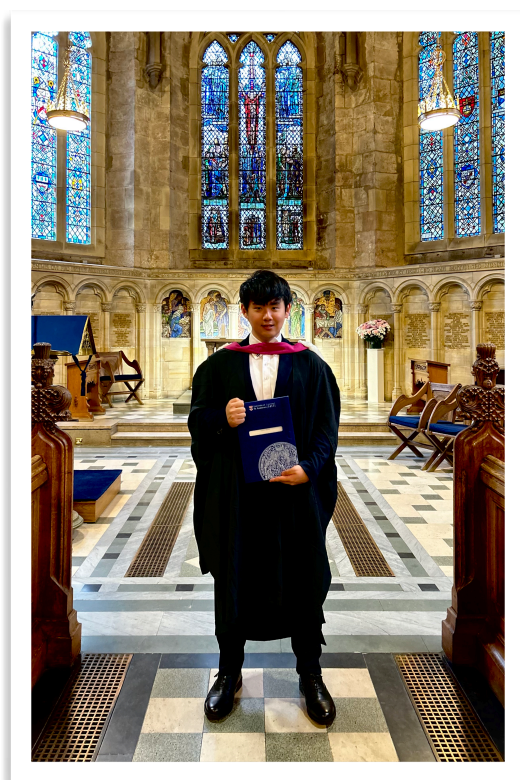
# 卒業報告書

## 明石晃一

### 1. はじめに

セント・アンドリュース大学医学部の明石晃一です。7月4日に卒業式が執り行われました！

また同時に、マンチェスター大学臨床課程への進学が確定しました。医師になるまであと3年、まだようやく折り返しです。



St Salvator's Chapelにて

### 2. 最終学期の所感

今学期は、今までの学期のように特定の系（e.g. 循環器系、呼吸器系）について深く掘り下げるといったものとは異なり、これまで学んだ内容の総合的な応用といった雰囲気でした。通常我々の履修単位は各学期につき1つなのですが、今学期は2つあったので分けて説明します。

まず MD4002。これは、学士論文のモジュールです。配られるブックレットを読んで、どのトピックのどの教官が良いかを決め、第25希望までを提出し（はい、25で読み間違え

てないです）、前学期の終わりに自分が行う研究のトピックが割り振られました。私の場合は、黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）の野生株と、その16個ある環境適応メカニズムである TCSs (Two-Component Systems) の一部分である Response Regulator というサブユニットに Phosphomimetic Substitution を引き起こした Plasmid を Reintroduce して RNA sequencing was performed on these strains, そして transcript abundance was quantified using the software Salmon which employs efficient computational algorithms called quasi-mapping and expectation-maximisation algorithm for the alignment process. Differential expression analysis for sequencing data (DESeq) was carried out with an R package DESeq2, and dimensionality reduction techniques including PCA and tSNE were used for visualisation of samples themselves and the DESeq results. すみません、例の如く日本語でこれらの内容を学んだことがないので訳すのがしんどいです。要は、あるバクテリアの環境適応を担うタンパク質のある遺伝子を変異させたらどんな変化があるのか？ という題を、大規模ゲノムデータの解析を行い調べた、といったところです。わざわざこの報告書を読んでくださる皆様ですので興味のある方もいらっしゃるでしょうから、一応 Lay Abstract & Scientific Abstract を以下に貼っておきます。

#### **Does Phosphomimetic Substitution of Two-Component Systems in *Staphylococcus aureus* Cause Different Gene Expression Profiles Compared to Wild-Type Strains?**

**Scientific Abstract.** *Staphylococcus aureus* is a Gram-positive pathogen that triggers a range of infections and other life-threatening conditions (e.g. sepsis, necrotising pneumonia) with its prominent adaptability in virulence and antibiotic resistance, presenting immense clinical concerns globally. A key contributor to this adaptability is two-component systems (TCSs), which allows for environmental sensing and subsequent flexible gene expression regulations. This study investigated whether phosphomimetic substitution, specifically the replacement of the conserved aspartic acid residue in response regulators with glutamic acid in *S. aureus*, could alter gene expression profiles in *S. aureus* compared to wild-type strains. Employing the well-studied MW2 strain for analysis, all 15 non-essential TCSs except for WalKR were deleted to create a minimal background, and a plasmid with response regulator which was either normal (WT or wild-type) or constitutively activated by phosphomimetic substitution was reintroduced (SDM or site-directed mutant). RNA sequencing was performed on these strains, and transcript abundance was quantified using the software Salmon which uses efficient computational algorithms called quasi-mapping and expectation-maximisation algorithm for the alignment process. Differential expression analysis for sequencing data (DESeq) was carried out with an R package DESeq2, and dimensionality reduction techniques including PCA and tSNE were used for visualisation of samples themselves and the DESeq results. As a result, phosphomimetic substitution caused discernible differences in gene expression profiles compared to WT, with changes both in upregulation and downregulation of regulons in the vast majority of TCSs. Furthermore, differential expressions of TCS regulons specifically related to each TCS's known function were observed, confirming the characterisations of these TCSs in previous research. Notably, TCSs such as WalKR and BraSR displayed large expression level changes in SDM in specific genes related to survival and antibiotic resistance, respectively. Dimensionality reduction results also confirmed distinct clustering patterns between WT and SDM strains, further supporting transcriptional divergence. Subsequently, this study concluded that phosphomimetic mutation in TCSs did alter downstream gene regulations. Moreover, this study examined TCS crosstalk based on DESeq results and elucidated many more genes regulated by multiple TCSs in SDM relative to WT, demonstrating one novel research value of phosphomimetic mutants in future studies.

**Lay Abstract.** *Staphylococcus aureus* is a type of bacteria that causes a wide range of diseases, from minor skin infections to serious conditions like sepsis (the body's overreaction to infections) and pneumonia (lung inflammation). It is a grave threat to our community because of its ability to rapidly adapt to environmental changes by forming resistance against antibiotic drugs and enhancing its harmfulness. One way it does so is through its mechanism called two-component systems (TCSs) which are the signalling mechanisms that help the bacterium sense environmental signals and adjust its gene activities accordingly. This study aimed to find out whether a mutation in a component of TCS in a specific way, called phosphomimetic substitution, would lead to different patterns of gene activity compared to normal (wild-type) strains. To test this, scientists first created strains of *S. aureus* where non-essential TCSs were deleted, leaving only the essential one for basic survival. Next, they reintroduced a normal or genetically modified version (phosphomimetic mutant-type) of TCS component that causes constant activation of genes under its control. By analysing which genes were turned on (expressed), this study compared how gene activity would differ between the wild-type and mutant-type versions. The results showed that the phosphomimetic substitution caused clear differences in gene expression profiles relative to the wild-type strains. It was also observed that some TCSs showed unique patterns of gene activity increase related to specific functions such as bacterial survival and antibiotic resistance formation, confirming their previously known roles in past studies. Advanced visual analysis methods also confirmed that the wild-type and mutant-type strains showed evidently distinct gene activity patterns as well. Overall, these findings suggested that phosphomimetic substitution did significantly change how *S. aureus* behaves at a genetic level. Moreover, this study examined the interactions between TCSs, and identified many more genes controlled by multiple TCSs in mutant-type strains than in wild-type. Given that some of them were not known to be under the control of multiple TCSs based on the analysis under the normal condition, this result demonstrated one novel research value of phosphomimetic mutants in future studies.

正直医学部の学士論文としては、かなり生物学寄りな内容だったと思います。また個人的に分子生物の分野は苦手意識が強いのでどちらかというと「自分は一体何のデータを

解析しているのだろうか? 」という点を正確に理解するのに最初の3週間くらいを費やしました。ただ、ご存知の通り私は情報科学分野での経験をほどほどに積んできているので、データの解析自体はかなりスムーズにできました。R、Python、Shell Script を使うくらいですしね。計算処理もあまり計算量に気を遣わず、大学のスパコンに重い処理を投げただけだったので本当に楽でした。また特に、Discussion 部分で使用した次元圧縮の箇所は、別件の研究で数学的な背景も既にある程度抑えていたので結論を支持する為の良い材料を用意することが出来ました。最終成績もここは8割取れたので、大変ではあるものの充実した時間だったと受け取っています。あと正直これまで国際学会でたくさん論文発表をしたり登壇したりとしていたので、「経験値で何とかした感」は強いです。

次、MD4003 について。これは臨床分野のモジュールです。これまで医学部で学んできた各系の臨床知識を総合した実践的な内容が主でした。最終的にこれらは学期末の OSCE (objective structured clinical examination) という実技試験で審査されます。具体的には、患者役の人に対して心臓検診 (cardiovascular exam)、腹部検診 (abdominal exam)、採血 (venepuncture、これは人形を使います) などを行い、その手順の正確性や安全性が点数化されます。また最終年度では OSCE に筆記形式も加わり、心電図やX線、血液検査結果の読み取り、薬の処方や処方箋の書き方など実践的なスキルが試されました。私はあまり実技部分が得意ではないので、学期中も同期を付き合わせ長時間対策を行いました (Thanks)。採血練習用の腕モデルは私のせいで穴だらけで見るに耐えない有様でした。マンチェスター移籍後は名前が変わって CCA (clinical competency assessment) となるそうですが、名前が変わるだけで中身は何も変わりません。まだ長い付き合いになる試験なので、苦手を克服出来るよう精進していきます。

### 3. ここまでの留学生生活を俯瞰的に振り返って

最終的に私が医師免許を取るまでには、計2つの学位を取るということになります。今回私が取得したのは Bachelor of Science Honours (Medicine) というやつです。そして臨床課程で無事全ての試験をパスしたら、マンチェスター大学から Bachelor of Medicine, Bachelor of Surgery (MBChB) という学位が授与されます。これと同時に、UKMLA (United Kingdom Medical Licensing Assessment、日本でいうところの医師国家試験) という試験をパスすることで、無事医師の資格が与えられます。こうしてみると、「まだ半分か」というようにも見えますが、無事に基礎課程を終えここまで来れたという喜びが非常に大きいです。これまでの4年間を振り返ってみると、色々な思い出が蘇ります。

1年目、時はまだコロナ禍の真只中。日本出国の3日前にPCR検査を受け、フライト前日に結果発表があったのを覚えています。大学から届いた "We are delighted to offer you a place at the University of St Andrews" よりも「陰性」のメール通知の方がなんなら安心が大きかったのを覚えています。そしてイギリスに入国するや否や10日間の隔離をさせられました。提供された食事については 検閲により削除されました。そして隔離終了の日、あまりの楽しみに朝4時に起きてフラットを飛び出し、セントアンドリュースの旧市街に向かいました。600年以上前に建てられた大学と、それより更に長い歴史を持つ小さな街の重厚な石造りの建築、そしてそれを覆う霧がかかっており、「えっここって人が住んでんの? 」と驚きを覚えたのを鮮明に記憶しています。朝にカフェに入ってキメたスコーンと紅茶か

ら激動の4年間が始まりました。1年目のカリキュラムは Foundation の一環としてどちらかというと生物学や化学が主でしたが、人生初の長期留学で全てが新鮮でした。

2年生に上がる直前あたりで、東京工業大学（現 東京科学大学）の高松邦彦教授より研究プロジェクトへのお誘いを頂き、情報系の研究を行えるようになりました。幸い私の作業スピードや実装力を高く評価してくださり、その後関わった研究からは合わせて10本以上の査読付き論文を出し（詳細は [こちら](#)）、学会での賞も2つ頂きました。また特許出願を行い、これはそろそろ結果が返ってきます（審査に10ヶ月くらいかかるんですよ）。それと合わせ、今夏からはアプリの開発をガンガン進めており、商用化も目の前となってきました。併せて起業したりもする予定です。

情報科学の研究と私の医学の学修はしばらく平行線でしたが、自身の中での両者への解像度が高まっていく中で、より具体的に、自身が将来如何様に MedTech の分野で研究開発を進めていくかということが見えてきました。とりわけ自分は人工臓器の開発に興味を持っていましたが、臨床分野の学習を通して、どうやら呼吸器系が自分にとってはやたら面白い、向いているということがわかりました。ということで、マンチェスターでの3年間のフォーカスはこの辺りの分野になりそうです。こちらでは Robotics Society などにも入ろうと考えていて、新しい知識と同時に近い志をもつ仲間とも出会えればと思っております。

#### 4. 船井財団の皆様へ

財団内でお会いした多くの方は博士課程の方々であり、そういった方々のお話を交流会などで聞いていると「もう既に自身の研究の方向性や目標地点がここまで明確に定まっているんだなあ」と強く感心させられることばかりでした。それに対し学部始めたての自分は、心の中に夢こそあれどそれがいかに曖昧でふわふわしているかということを実感していました。「学部なんだからそりやそうだよ笑」と優しく声を掛けてくださる先輩方もいらっしゃいましたが、やはりどこか歯痒さを感じていたのも事実です。ましてそれは、高校を卒業したばかりで財団に応募する時分には顕著で、何の大きな実績もなく、夢を偉そうに語ったところで大言壮語と取られても仕方ありません。医学とテクノロジーを融合するって言っても、どうやって？ それは可能なの？ 既にそういう研究をもうやってきたの？ — こうした質問にも、堂々と返答できなかった未熟さと経験値不足が私の中にありました。

給付型の奨学金を頂く訳ですから、本来であればその投資に見合うメリットをこちらが提示するのが筋です。それには、学部留学枠なら例えば高校時代に何々オリンピックでメダリストになった、新しい定理を発見した、こんな発明をしていた、など色々な証明の仕方があるでしょう。しかし正直、財団応募時の私にはそれらが何れも不足しており、実際のところそのポテンシャルのみを評価してくださり無事審査合格に至ったと受け取っています。今でこそ私は、医学部基礎課程の試験も全てパスし、国際学会に論文を出しまくったり、特許取得まで目前であったり、開発者としてシステム設計を一任されたり、程々に世界的に名の知れた大学への進学が決まっていたりなど、それこそ比較的多くの方に評価して頂ける材料や実績を積むことができたと思います。しかしそれが無い中、あるのは夢とポテンシャルだけ、そんな人間を採用して頂ける人の寛大さと愛情は、ある意味私が力

や実績をつけていけばつけていくほど得られなくなっていくものであると思います。要は、当時の審査委員長である益田先生への恩が特に尽きないということを言いたい訳です。また私はただでさえそういう状況で審査をして頂いていた身の上でありながら、性格は自他共に認める「生意気なクソガキ」だったと、今顧みればそう思います（えっ？ 今.. も...? そうですか...）。そんなクソガキを「この子面白いじゃない！」と心広く拾ってくださったことが、今私がこうして1ページ目の写真ように立派な大学の教会で立派なガウンを着て立っていることに繋がっているのです。

また、そんなクソガキのお守りお世話をしてくださった斉藤さんや近藤さんをはじめとする事務局の方々への感謝も同時に尽きません。この4年間の支援を通し、セント・アンドリュースでの学びや、サンフランシスコ/ケンブリッジ/東京での交流会から、私もそれなりに大人として成熟することができたのではないかと、そう思います。医師の卵として、近い未来に人の命を預かる立場の人間として、より内省を深め成長し、社会への多大なる貢献をすることをここに誓います。こうして船井財団にご支援頂いたことは、私の記憶として、そして形として残り、私の持てる力を通して、病める人々の命と身体的自由へと繋げて見せます。