

JCLS 第 53 回学会 シンポジウム 5 (国際)

遺伝疾患における細胞メカニズムの探索

マレーシア Mohd Nazil Salleh 先生, PICOMS International University College

みなさん、こんにちは。このセッションへようこそお越しくございました。私は Doctor Mohd Nazil Salleh、マレーシアを代表してお話します。最初に第 53 回日本医療検査科学会学会における講演の機会をくださった JCLS に感謝申し上げます。

私に与えられた演題は、マレーシアにおける研究内容の紹介でしたので遺伝的疾患における細胞のメカニズムについての報告を致します。本題に入る前に、今日の講演に内容をご紹介します。まず、マレーシアにおける戦略的研究の状況、特に 2021 年の優先順位や割当て、トランスレーションメディカルリサーチについてお話します。次に自分の研究対象で遺伝的疾患であると思われる乾癬 psoriasis の概説、臨床的特徴、病因、遺伝子関連についてお話します。そして、in situ PCR ハイブリダイゼーションに進み、方法、結果、考察を話します。

みなさん、改めまして申し上げます。マレーシアはとても研究活動が活発な地域です。我々は研究活動において 140 カ国中、24 番目にランクされています。2018 年の Global Competitiveness Index にも記載されています。マレーシアにおける戦略的研究活動は、基本的に国家の知的集団を創出することであり、教育、研究における改革、そしてサービスという 3 つの重要な柱に注目し、原動力となる者を改革することでもあります。更に、国の創造、富の創出、最終的には万国の平和と成功につながると考えています。2021 年、既にマレーシア政府は COVID-19 ワクチンに注力することを重要な研究の優先順位とし配置を決定しています。ワクチン開発に 3 億マレーシア・リンギット、1 億 5800 万マレーシア・リンギット、を研究へ投資します。科学には 2 千万マレー

シア・リングット、社会改革など MOSTI に含まれる項目に対する予算は、昨年度から 4.2%増加しています。研究は基礎科学、人類への応用、臨床への応用、臨床での使用と公衆衛生学的なインパクトという順に進みますが、2021 年のトランスレーションメディカルリサーチでは、人類への応用、臨床への応用に注目しています。4 つの重要なエレメントである基礎科学、応用化学、社会と技術、工業として社会での問題解決やインパクトへ発展します。

それでは、私のリサーチに進みましょう。ここに示します私の研究課題、RT in situ PCR 反応を用いた乾癬遺伝子における JunB と c-FLIP 検出です。これは、とても重要な研究で、臨床医が mRNA レベルに関与する遺伝子の発現を探索することに寄与しています。

乾癬は、個人、社会の大きな負担を引き起こす、世界のどこでも、どの年齢でも、発症する慢性的に丘疹鱗屑性の皮膚を示す一般的な疾患です。世界の 3%の人が罹患しており、生活の質に大きな影響を与えていると報告されています。イギリス連邦の罹患率は 2.3%、ノルウェーでは 4.5%です。アメリカ合衆国での罹患率は約 3%、南米で、インド、アフリカ、アジアでは罹患率が低く約 0.5%と報告されています。乾癬は、現在では全身性疾患ととらえられており、循環器、関節炎、その他の疾病にも影響していると言われています。

乾癬の臨床的特徴を見てみましょう。乾癬は plaque psoriasis、guttate psoriasis、inverse psoriasis、pustular psoriasis、palmoplantar psoriasis、nail psoriasis 6 つに分けられます。乾癬の臨床症状は、所々に赤く隆起した炎症を持つ皮膚とかゆみと熱感があります。乾癬発症の要因は、遺伝子、ストレス、自己免疫システム、投薬、感染症、肥満、喫煙、気候変動があります。この中で本日皆さんに紹介するのは遺伝子に関する事項です。遺伝子について語る時、どの遺伝子か、どの分子が遺伝的に関与しているのかに注目します。この研究は 2021 年に行われ The Lancet に掲載されました。我々は損傷の無い皮膚から始め、関与する要因を探索しました。環境にある病

原体、肥満、薬物、喫煙について前述しました。遺伝子に関しては、JunB と c-FLIP という2つの重要な遺伝子があります。この2つはどんな機能不全を起こすのでしょうか。JunB と c-FLIP 遺伝子は AP-1 転写要因である重要な遺伝子です。皮膚の前駆細胞の異なるステージにおける反応により、主に表皮幹細胞と皮脂腺の調整をする機能をもちます。JunB もサイトカイン発現と皮膚の免疫システムの調節に関わる重要なタンパクの一部となっています。c-FLIP 遺伝子はネクローシスやオートファジー発現に含まれるアポトーシス遺伝子など、シグナルパスウェイにおいて多くの役割を持っています。

この研究で用いた手法をお話します。検体のホルマリン固定から始め、in situ での研究のため細胞固定標本としました。通常の細胞採取法を用い、細胞にホルマリンを加えインキュベートした後に PBS で洗浄し、キシレンとエタノールで処理しました。RT in situ PCR に用いる標本ができました。PCR 機にスライドを入れます。これが in situ での方法です。スライド上でサンプルにプロテアーゼを反応させます。その後、digoxigenin-11-dUTP プローブを検体にバインドさせ、ハイブリダイゼーションを始めます。特殊な遺伝子を用いこの研究では JunB と c-FLIP 遺伝子を検出対象にしています。乾癬患者標本の 10 倍像です。乾癬患者に特異的な細胞が見られます。これは 40 倍像です。その後、RT in situ PCR を始めます。ここに皮膚疾患の RT in situ PCR の異なる4つのスライドを示します。最初の A スライドは、digoxigenins を反応させていない陰性対照です。2 つ目も digoxigenins を反応させていない陰性対照です。3 番目スライド C も陰性対照です。4 つ目が陽性対照サンプルです。これらが RT in situ の結果です。mRNA レベルで JunB と c-FLIP 遺伝子の発現が確認されました。茶色染色されたたくさんの mRNA が 10 倍像で観られます。このスライドでは、RT in situ PCR の間に収取されたたくさんの mRNA が見られます。次に、JunB と c-FLIP 遺伝子発現です。10 倍像と 40 倍像です。茶色に染まった mRNA が見られます。

別スライドには別検体を示します。まとめますと、in situ での RT を用いて組織学的皮膚切片から JunB と c-FLIP 遺伝子発現を検出したということです。臨床医が乾癬患者さんに対して最適な治療や患者マネージメントを行うための情報を mRNA を測定することで得られるこの方法は重要です。

この講演を終える前に IR4.0 を用いた将来の研究と医療の方向についてお話します。そして、この講演の機会を繰れた JCLS に御礼申し上げます。どうも、ありがとうございました。

<広告>

* * *