

平成22年3月25日現在

研究種目：基盤研究（B）
研究期間：2007～2009
課題番号：19390183
研究課題名（和文） non-coding RNA 分子を包括した、ABO 式血液型の発現機構の統合的解明
研究課題名（英文） Investigation on regulation of the human blood group *ABO* gene transcription with a novel antisense RNA transcribed from the opposite strand
研究代表者
小湊 慶彦（KOMINATO YOSHIHIKO）
群馬大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：30205512

研究成果の概要（和文）：

ABO 式血液型遺伝子の転写産物のアンチセンス RNA (*ABOAS*) を同定した。ABO 遺伝子の転写産物 (*ABOS*) と *ABOAS* は様々な組織において同時に発現していたが、*ABOS* の発現を抑制すると *ABOAS* の発現は抑制された。これらの結果から ABO 式血液型遺伝子の転写調節には *ABOAS* が関与していることが推測された。

研究成果の概要（英文）：

We found a novel antisense RNA transcribed from the opposite strand of the human blood group *ABO* gene, and showed that the *ABO* and *ABOAS* transcripts appeared to exhibit reciprocal expression patterns in the cells expressing the *ABO* gene. These results suggest that *ABOAS* transcribed from the opposite strand of the *ABO* gene might be involved in the regulation of *ABO* gene expression.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	9,100,000	2,730,000	11,830,000
2008年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
総計	12,800,000	3,840,000	16,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：血液型

1. 研究開始当初の背景

ABO 式血液型システムは 1900 年にランドスタイナーによって発見され、輸血医療の道を開くだけでなく、個人識別に重要な指標として法医学に応用され今日に至っている。ABH 抗原は組織あるいは体液中に存在し、糖

蛋白あるいは糖脂質、または母乳中の糖質などの複合多糖の基幹糖鎖であるところの、
[β -ガラクトース (1 \rightarrow 3 又は 4) β -N-アセチルグルコサミン] n の非還元末端のガラクトースにフコースが α 1 \rightarrow 2 結合した構造が H 抗原である。その H 抗原を基礎とし、アセチル

ガラクトサミンがサブターミナルのガラクトースに $\alpha 1 \rightarrow 3$ 結合した構造がA型抗原である。ガラクトースがサブターミナルのガラクトースに $\alpha 1 \rightarrow 3$ 結合した構造がB型抗原である。これらのABH抗原を構成する糖鎖の生合成は特異的な糖転移酵素の作用によって行われる。即ち、フコース転移酵素FUT1、FUT2の産生物であるH抗原が、ABO式血液型合成酵素が触媒する反応の基質となるのである。これらの糖転移酵素をコードする遺伝子は単離されたが、これらの糖転移酵素遺伝子が細胞特異的に、細胞分化の同じ時期に協調的に発現し、ABH抗原の合成に至るメカニズムは未解明である。言い換えれば、糖転移酵素群の機能的な本質は協調的な発現と触媒作用の連続である。

ABO式血液型は1900年に発見され、1960年代に抗原構造の解析、1980年代の後半から1990年代にかけてABH抗原生合成に関わる糖転移酵素のcDNAの構造が明らかにされた。ABO式血液型の研究は我が国の法医学会において幾多の先駆的業績がなされてきた領域であり、ABO遺伝子の転写調節は富山医科大学のグループによって、FUT遺伝子は久留米大学のグループによって解明されてきた。今日、ABO式血液型システムのより高度なレベルでの発現調節機構の解明が求められている。

2. 研究の目的

本研究の目的は non-coding RNA 分子を包括した ABO 遺伝子の転写調節機構解明、ABO 式血液型抗原の合成に関与する糖転移酵素の協調的発現機序等を解明し、ABO 式血液型の発現機構の統合的解明を目的とするものである。

3. 研究の方法

- 1) ABO 遺伝子の転写産物 (*ABOS*) に対するアンチセンス RNA (*ABOAS*) を、RT-PCR、リアルタイム PCR を用いて同定した。
- 2) *ABOAS* の発現を各種組織について調べ、*ABOS* の発現状況と比較した。
- 3) *ABOAS* の転写開始点とその付近のプロモーター活性を調べた。
- 4) ミトラマイシンを用いて *ABOS* の発現を抑制した場合、*ABOAS* の発現を RT-PCR、リアルタイム PCR を用いて調べた。

4. 研究成果

ABO 式血液型遺伝子の転写産物のアンチセンス RNA (*ABOAS*) を同定した。ABO 遺伝子の転写産物 (*ABOS*) と *ABOAS* は様々な組織において同時に発現していたが、*ABOS* の発現を抑制すると *ABOAS* の発現は抑制された。これらの結果から ABO 式血液型遺伝子の転写調節には *ABOAS* が関与していることが推測された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 22 件)

- 1) Nakajima T, Takagi R, Tajima Y, Makita C, Kominato Y, Kuribara J, Ohshima S, Tada H, Tsurugaya H, Kobayashi Y, Takeshita H, Kawai Y, Yasuda T. Development of a Sensitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Measurement of DNase I in Human Serum. *Clinica Chimica Acta* 403: 219-222, 2009. (査読有り)
- 2) Tajima Y, Takagi R, Nakajima T, Yasuda T, Kominato Y. 11-Tungstophosphate with iron(II) and hydrogen peroxide efficiently detached bacterial biofilm. *Biol Pharm Bull* 32:1783-1789, 2009. (査読有り)
- 3) Sano R, Hasuike T, Nakano M, Kominato Y, Itoh H. A fatal case of myocardial damage due to misuse of the “designer drug” MDMA. *Legal Med* 11(6): 294-297, 2009. (査読有り)
- 4) Tajima Y, Takagi R, Kominato Y. A case of acute myocardial infarction after intracoronary stent implantation: demonstration of the stent location by postmortem X-ray examination. *Legal Med* 11: 226-228, 2009. (査読有り)
- 5) Yasuda T, Iida R, Kawai Y, Nakajima T, Kominato Y, Fujihara J, Takeshita H. Serum deoxyribonuclease I can be used as a useful marker for diagnosis of death due to ischemic heart disease. *Legal Med* 11: S213-S215, 2009. (査読有り)
- 6) Kuribara J, Tada H, Kawai Y, Kawaguchi R, Hoshizaki H, Arakawa K, Kitayama M, Kajinami K, Kurabayashi M, Ohshima S, Taniguchi K, Kominato Y, Yasuda T. Levels of serum deoxyribonuclease I activity on admission in patients with acute myocardial infarction can be useful in predicting left ventricular enlargement due to remodeling. *Journal of Cardiology* 53: 196-203, 2009. (査読有り)
- 7) Ueki M, Takeshita H, Fujihara J, Iida R, Yuasa I, Kato H, Panduro A, Nakajima T, Kominato Y, Yasuda T. Caucasian-specific allele in non-synonymous single nucleotide

- polymorphisms of the gene encoding deoxyribonuclease I-like 3, potentially relevant to autoimmunity, produces an inactive enzyme. *Clinica Chimica Acta* 407: 20-24, 2009. (査読有り)
- 8) Iida R, Ueki M, Takeshita H, Fujihara J, Nakajima T, Kominato Y, Nagao M, Yasuda T. Genotyping of five single nucleotide polymorphisms in the *OCA2* and *HERC2* genes associated with blue-brown eye color in the Japanese population. *Cell Biochem Funct* 27(5): 323-327, 2009. (査読有り)
 - 9) Mouri F, Tsukada J, Mizobe T, Higashi T, Yoshida Y, Minami Y, Izumi H, Kominato Y, Kohno K, Tanaka Y. Intracellular HMGB1 transactivates the human IL1B gene promoter through association with an Ets transcription factor PU.1. *European Journal of Hematology* 80(1): 10-19, 2008. (査読有り)
 - 10) Ueki M, Iida R, Fujihara J, Takeshita H, Yuasa I, Kominato Y, Yasuda T. Development of genotyping methods for single nucleotide polymorphism in the human pancreatic ribonuclease gene (*RNASE1*) and their application to population studies. *Biochemical Genetics* 46(3-4): 145-153, 2008. (査読有り)
 - 11) Shimada I, Matsui K, Kominato Y, Hata Y, Takizawa H, Nishida N. Immunohistochemical study of thyroid transcription factor -1 and surfactant-associated protein A for investigation of peripheral airway structure in perinatal fatality. *Legal Med* 10: 96-100, 2008. (査読有り)
 - 12) Mouri F, Tsukada J, Mizobe T, Higashi T, Yoshida Y, Minami Y, Izumi H, Kominato Y, Kohno K, Tanaka Y. Intracellular HMGB1 transactivates the human IL1B gene promoter through association with an Ets transcription factor PU.1. *Eur J Haematol.* 80(1):10-9, 2008. (査読有り)
 - 13) Tajima Y, Takagi R, Nakajima T, Kominato Y. An infant with asymptomatic hepatic granuloma probably caused by bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccination found incidentally at autopsy: a case report. *Cases J.* 1:337(1-5), 2008. (査読有り)
 - 14) Soejima M, Nakajima T, Fujihara J, Takeshita H, Koda Y. Genetic variation of *FUT2* in Ovambos, Turks, and Mongolians. *Transfusion* 48(7): 1423-1431, 2008. (査読有り)
 - 15) Takeshita H, Fujihara J, Soejima M, Koda Y, Yasuda T, Nakajima T. Extremely high prevalence of *DNase I*1* allele in African populations. *Cell Biochem Funct* 26(2): 151-153, 2008. (査読有り)
 - 16) Hata Y, Kominato Y, Takizawa H. Identification and characterization of a novel antisense RNA transcribed from the opposite strand of the human blood group *ABO* gene. *TRANSFUSION* 47: 842-851, 2007. (査読有り)
 - 17) Kominato Y, Iida R, Nakajima T, Tajima Y, Takagi R, Makita C, Kishi K, Ueki M, Kawai Y, Yasuda T. Hypoxia induces up-regulation of the deoxyribonuclease I gene in the human pancreatic cancer cell line QGP-1. *Biochimica et Biophysica Acta* 1770: 1567-1575, 2007. (査読有り)
 - 18) Kominato Y, Tajima Y, Fujikura T, Matsui K, Shimada I, Kuwayama N, Takizawa H. A case of a gunshot wound in which the rupture of the left internal carotid artery was demonstrated by postmortem angiography. *Legal Med* 9 (1): 22-24, 2007. (査読有り)
 - 19) Tsuboi K, Asao T, Ide M, Hashimoto S, Noguchi K, Kominato Y, Kuwano H, Yazawa S. $\alpha 1,2$ Fucosylation Is a Superior Predictor of Postoperative Prognosis for Colorectal Cancer Compared with Blood Group A, B, or Sialyl Lewis X Antigen Generated within Colorectal Tumor Tissues. *Annals of Surgical Oncology* 146 (6): 1880-1889, 2007. (査読有り)
 - 20) Tajima Y, Takagi R, Kominato Y, Kuwayama N. A case of iatrogenic cerebral infarction demonstrated by postmortem cerebral angiography. *Legal Med* 9(6): 326-329, 2007. (査読有り)
 - 21) Ueki M, Takeshita H, Fujihara J, Ueta G, Nakajima T, Kominato Y, Kishi K, Iida R, Yasuda T. Susceptibility of mammalian deoxyribonuclease I (DNase I) to proteolysis by proteases and its relationships to tissue distribution: Biochemical and molecular analysis of equine DNase I. *Comparative Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 148(1): 93-102, 2007. (査読有り)
 - 22) Morikawa N, Kawai Y, Arakawa K, Kumamoto T, Miyamori I, Akao H, Kitayama M, Kajinami K, Lee J-D, Takeshita H, Kominato Y, Yasuda T. Serum deoxyribonuclease I activity can be used as a novel marker of transient myocardial ischaemia: results in vasospastic angina pectoris induced by provocation test. *Eur. Heart J* 28(24): 2992-2997, 2007. (査読有り)
- [学会発表] (計 22 件)
- 1) 藤原純子, 中島たみ子, 小湊慶彦, 湯浅勲, 加藤秀章, 飯田礼子, 植木美鈴, 安田年博: DNASE I13 遺伝子の非同義置換型 SNPにおけるコーカソイド特異的

- アレルは不活性な酵素を産生する。日本DNA多型学会第18回学術集会, 2009年11月20日, 久留米。
- 2) 佐野利恵, 中島たみ子, 小湊慶彦, 加藤恵理子, 高士祐一, 山根庸弘, 新田みなみ, 藤原純子, 竹下治男, 植木美鈴, 安田年博: 低酸素による核酸分解酵素DNase I遺伝子の転写調節。日本DNA多型学会第18回学術集会, 2009年11月19日, 久留米
 - 3) 藤原純子, 高塚尚和, 竹下治男, 神田芳郎, 副島美貴子, 小湊慶彦, 田島裕, 中島たみ子, 飯田礼子, 安田年博: DNASE I exon内SNP検索: アジア人においてDNase I Gln222Argのみが多型性を有する。第93次日本法医学会総会, 2009年5月15日, 大阪。
 - 4) 安田年博, 飯田礼子, 藤原純子, 竹下治男, 中島たみ子, 小湊慶彦, 湯浅勲: RNase superfamily遺伝子における分子多様性: 非同義置換型SNP。第93次日本法医学会総会, 2009年5月14日, 大阪。
 - 5) 小湊慶彦, 佐野利恵, 中島たみ子, 田島裕, 藤原純子, 竹下治男, 飯田礼子, 安田年博: 低酸素による核酸分解酵素DNASE 1 遺伝子の発現増加と転写。第93次日本法医学会総会, 2009年5月14日, 大阪。
 - 6) 田島裕, 高木利恵, 小湊慶彦: 死後のCT撮影により過去の受傷痕を証明し得た暴行死の一例。第93次日本法医学会総会, 2009年5月14日, 大阪。
 - 7) 高木利恵, 中島たみ子, 小湊慶彦, 加藤恵理子, 高士祐一, 山根庸弘, 新田みなみ, 藤原純子, 竹下治男, 植木美鈴, 安田年博: 核酸分解酵素DNase I遺伝子の転写調節機構の解明。日本DNA多型学会第17回学術集会, 2008年11月26日, 東京。
 - 8) 藤原純子, 竹下治男, 中島たみ子, 小湊慶彦, 湯浅勲, 植木美鈴, 飯田礼子, 安田年博: ヒトRNase superfamily遺伝子における非同義置換型SNP解析。日本DNA多型学会第17回学術集会, 2008年11月26日, 東京。
 - 9) 藤原純子, 阿草哲郎, 副島美貴子, 中島たみ子, 竹下治男: ヒ素代謝に関与するAS3MT M287T多型はアジア人特異的低変異性を示す。日本DNA多型学会第17回学術集会, 2008年11月26日, 東京。
 - 10) 田島裕, 高木利恵, 小湊慶彦: 死後の単純X線撮影によりステント留置部位を特定し得た急性心筋梗塞の一例。第77回日本法医学会関東地方会, 2008年11月1日, 東京。
 - 11) Takeshita H, Fujihara J, Iida R, Kawai Y, Kominato Y, Nakajima T, Yasuda T. Serum DNase I can be used as a useful marker for diagnosis of death due to ischemic heart disease. 7th International Symposium ADVANCED IN LEGAL MEDICINE, Osaka, September 5, 2008.
 - 12) 安田年博, 飯田礼子, 河合康幸, 中島たみ子, 小湊慶彦, 藤原純子, 竹下治男: 一過性心筋虚血マーカーとしての血清DNase I: 冠攣縮誘発試験の検討。第92次日本法医学会総会, 2008年4月25日, 長崎。
 - 13) 田島裕, 高木利恵, 小湊慶彦: 急死した乳児の肝臓に類上皮結節が見られた一例。第92次日本法医学会総会, 2008年4月25日, 長崎。
 - 14) 竹下治男, 安田年博, 副島美貴子, 神田芳郎, 高塚尚和, ジョンショウキ, 藤井由己, 小湊慶彦, 中島たみ子, 藤原純子: DNase I 多型Databaseの構築: 民族特異的頻度分布の発見。第92次日本法医学会総会, 2008年4月25日, 長崎。
 - 15) 島田一郎, 小湊慶彦, 松井一裕, 飯田礼子, 坪田悦子, 松木孝澄: 生産・死産の判別に於ける、免疫染色(TTF-1及びPE-10)の利用。第92次日本法医学会総会, 2008年4月25日, 長崎。
 - 16) 小湊慶彦, 中島たみ子, 田島裕, 高木利恵, 竹下治男, 藤原純子, 飯田礼子, 安田年博: 核酸分解酵素DNASE 1 遺伝子の転写調節機構の解明。第92次日本法医学会総会, 2008年4月24日, 長崎。
 - 17) Tsuboi K, Asao T, Ide M, Hashimoto S, Kominato Y, Kuwano H, Yazawa S. α 1,2Fucosylation Is a Superior Predictor of Postoperative Prognosis for Colorectal Cancer Compared with Blood Group A, B, or Sialyl Lewis X Antigen in Colorectal Tumor Tissues. Molecular Targets and Cancer Therapeutics. October 28, 2007. San Francisco.
 - 18) 田島裕, 高木利恵, 小湊慶彦: 死後の血管造影により塞栓部位を推定した医原性脳梗塞の一例。日本法医学会関東地方会, 2007, 10月20日, 横浜。
 - 19) 小湊慶彦: 法医学からみた子供の虐待。第54回日本小児保健学会, 2007年9月22日, 前橋。

- 20) 中島たみ子, 小湊慶彦, 田島裕, 飯田礼子, 竹下治男, 藤原純子, 河合康幸, 安田年博: DNase I遺伝子は心筋梗塞の新規な疾患感受性遺伝子である. 第91次日本法医学会総会, 2007年5月18日, 秋田.
- 21) 田島裕, 小湊慶彦: 現行のICD分類には当てはまらず、外的要因と内的要因とが共同して死因を構成した一事例. 第91次日本法医学会総会, 2007年5月18日, 秋田.
- 22) 畑由紀子, 小湊慶彦, 松井一裕, 島田一郎, 滝沢久夫: ABO遺伝子の発現制御におけるポリADP-リボシル化の関与の検討. 第91次日本法医学会総会, 2007年5月17日, 秋田.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計3件)

- 1) 名称: 血液型関連物質を用いたノロウイルスの感染防御又は除去
発明者: 矢澤 伸、小湊 慶彦、牛島 廣治
権利者: 国立大学法人群馬大学
種類: 特許
番号: PCT/JP2009/063273
出願年月日: 平成20年7月24日
国内外の別: 国外
- 2) 名称: 血液型関連物質を用いたノロウイルスの感染防御
発明者: 矢澤 伸、小湊 慶彦、牛島 廣治
権利者: 国立大学法人群馬大学
種類: 特許
番号: 特願 2009-003804
出願年月日: 平成20年1月9日
国内外の別: 国内
- 3) 名称: 血液型関連物質を用いたノロウイルスの感染防御
発明者: 矢澤 伸、小湊 慶彦、牛島 廣治
権利者: 国立大学法人群馬大学
種類: 特許
番号: 2008-192372
出願年月日: 平成19年7月25日
国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小湊 慶彦 (KOMINATO YOSHIHIKO)
群馬大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 30205512

(2) 研究分担者

中島 たみ子 (NAKAJIMA TAMIKO)
群馬大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 40008561

佐野 利恵 (SANO RIE)
群馬大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 70455955

(3) 連携研究者

無し