

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年4月26日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23790723

研究課題名（和文） クロマチンリモデリングに基づくABO式血液型遺伝子の転写調節機構の解明

研究課題名（英文）

Elucidation of transcriptional regulation mechanism of ABO gene based on chromatin remodeling.

研究代表者

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

研究成果の概要（和文）：

ABO 式血液型遺伝子第1イントロンに血球系特異的エンハンサー領域を同定した。この知見のもとに、血液型変異型 B<sub>m</sub> 型において第1イントロンのエンハンサーを含む領域の欠失を発見した。B<sub>m</sub> 型は赤血球系細胞特異的エンハンサー活性低下に基づき、転写の低下、血液型抗原合成酵素の産生低下から赤血球表面上の B 抗原の減少に至ると推測した。

研究成果の概要（英文）：

An erythroid cell-specific regulatory element has been identified in the first intron of ABO using luciferase reporter assays with K562 cells. The erythroid cell-specific regulatory activity of the element was dependent upon GATA-1 binding. In addition, partial deletion of intron 1 including the element was observed in genomic DNAs obtained from 111 B<sub>m</sub> and AB<sub>m</sub> individuals.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,100,000	630,000	2,730,000

研究分野：法医学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：ABO、転写調節機構

## 1. 研究開始当初の背景

ABO 式血液型は個人識別に重要な指標として法医学、犯罪鑑識において利用されている。ABO 式血液型は 20 世紀初頭に発見され、1960 年代に抗原構造の解析、1980 年代後半から 1990 年代にかけて血液型合成に関わる糖転移酵素の cDNA の構造が明らかにされた。

申請者らは、血液型抗原の組織特異的発現、細胞分化に伴う発現、癌細胞での抗原の欠落、

血液型抗原の発現が弱い変異型等の現象を分子レベルで解明するために、ABO 遺伝子の発現制御機構の研究を進めてきた。

## 2. 研究の目的

ABO 式血液型に関する遺伝子型判定方法については多数の研究発表があるが、未だに遺伝子診断は実行不可能である。その理由は、頻度は非常に少ないが、血液型変異型が存在

し、それらの原因が不明であるため、診断方法が確立されていないことによる。このため、ABO 遺伝子の転写調節領域を特定し、変異型における遺伝子診断を確立する。

日本人で最も多い変異型である B<sub>m</sub> 型は B 抗原の減少が赤血球においてのみ出現する特徴を有し、コード領域の変異よりむしろ細胞特異的な発現制御に原因があることが推察されているため、これを確認する。

### 3. 研究の方法

ENCODE project により明らかにされた DNase I hypersensitive site(DHS)やクロマチン修飾に着目し、赤白血病細胞 K562 を用いて、遺伝子周辺約 54kb について検索を行い、プロモーターアッセイおよびゲルシフトアッセイによりエンハンサーおよび関わる転写因子を特定した。

変異型 B<sub>m</sub> 型において第 1 イントロンのエンハンサー領域の検討を行った。

### 4. 研究成果

ENCODE project により明らかにされた DNase I hypersensitive site(DHS)やクロマチン修飾に着目し、赤白血病細胞 K562 を用いて、遺伝子周辺約 54kb について検索を行い、第 1 イントロンでエキソン 1 の下流 5.8kb(+5.8kb site)及び遺伝子 3' 側でエキソン 1 の下流 41.0kb(+41.0kb site)に転写活性化領域(エンハンサー)を見出した。+5.8kb site は組織特異的転写因子 GATA-1/2 により赤血球系細胞特異的に働くことを示した。

また、B<sub>m</sub> 型 111 名中 110 名において+5.8kb site を含む約 5.8kb の塩基が欠失していることを発見した(論文業績 3)。一方、この約 5.8kb の塩基欠失は通常型 ABO 型 1005 名にはなかった。さらに、約 5.8kb の塩基欠失を持たない B<sub>m</sub> 型においては、GATA 認識配列に塩基置換があり、GATA-1/2 の結合が消失し、+5.8kb site の活性が喪失することを見出した(論文業績 1)。

以上の結果から、B<sub>m</sub> 型は赤血球系細胞特異的エンハンサー活性低下に基づき、転写の低下、血液型抗原合成酵素の産生低下から赤血球表面上の B 抗原の減少に至ると推測した。

この発見により B<sub>m</sub> 型の遺伝子解析が可能となり、型判定の確実性が高まった。また、赤血球系細胞特異的エンハンサーの発見は、B<sub>m</sub> 型以外の亜型 A<sub>3</sub> や A<sub>m</sub> の遺伝子解析にも応用されていた。

### 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 9 件)

1. Nakajima T, Sano R, Takahashi Y, Kubo R, Takahashi K, Kominato Y, Tsukada J, Takeshita H, Yasuda T, Uchikawa M, Isa K, Ogasawara K. Mutation of the GATA site in the erythroid cell-specific regulatory element of the ABO gene in a B<sub>m</sub> subgroup individual. Transfusion. (in press) 査読有
2. Fujihara J, Yasuda T, Kimura-Kataoka K, Sano R, Nakajima T, Kominato Y, Takeshita H. Six VKORC1 polymorphisms for Asians and its survey on ethnic wide-ranging populations. DNA Pol. (in press) 査読有
3. Sano R, Nakajima T, Takahashi K, Kubo R, Kominato Y, Tsukada J, Takeshita H, Yasuda T, Ito K, Maruhashi T, Yokohama A, Isa K, Ogasawara K, Uchikawa M. Expression of ABO blood-group genes is dependent upon an erythroid cell-specific regulatory element that is deleted in persons with the B<sub>m</sub> phenotype. Blood. 2012;119:5301-10. 査読無
4. Kimura-Kataoka K, Yasuda T, Fujihara J, Toga T, Ono R, Otsuka Y, Ueki M, Iida R, Sano R, Nakajima T, Kominato Y, Kato H, Takeshita H. Genetic and expression analysis of SNPs in the human deoxyribonuclease II: SNPs in the promoter region reduce its in vivo activity through decreased promoter activity. Electrophoresis. 2012;33:2852-58. 査読有
5. Sano R, Hirasawa S, Awata S, Kobayashi S, Shimada T, Takei H, Takahashi Y, Kominato Y. Use of postmortem computed tomography to reveal acute subdural hematoma in a severely decomposed body with advanced skeletonization. Leg Med. 2012;15:32-4. 査読有

6. 佐野利恵, 中島たみ子, 高橋圭子, 窪理英子, 矢澤伸, 小湊慶彦. ABO 式血液型遺伝子 3' 領域は遺伝子発現の抑制に關与する. DNA 多型. 2012; 20: 241-245. 査読有
7. Sano R, Nakajima T, Takahashi K, Kubo R, Yazawa S, Kominato Y. The 3' flanking region of the human ABO histo-blood group gene is involved in negative regulation of gene expression. Leg Med. 2011;13:22-9. 査読有
8. Sano R, Hirawasa S, Kobayashi S, Shimada T, Awata S, Takei H, Otake H, Takahashi K, Takahashi Y, Kominato Y. Use of postmortem computed tomography to reveal an intraoral gunshot injuries in a charred body. Leg Med. 2011;13:286-8. 査読有
9. Sano R, Takahashi K, Kominato Y, Araki T, Yamamoto K, Takei H, Otake H, Awata S, Akuzawa H, Tago Y, Aoki H. A case of fatal drug intoxication showing a high-density duodenal content by postmortem computed tomography. Leg Med. 2011;13:39-40. 査読有

[学会発表] (計 10 件)

1. 佐野利恵, 中島たみ子, 高橋遥一郎, 小湊慶彦. ABO 式血液型遺伝子エンハンサー欠損が B<sub>m</sub> 型の原因である. 日本 DNA 多型学会第 21 回学術集会. 2012. 11. 8 京都
2. 木村かおり, 安田年博, 藤原純子, 植木美鈴, 飯田礼子, 佐野利恵, 中島たみ子, 小湊慶彦, 加藤秀章, 竹下治男. ヒト DNase II 遺伝子内プロモーター領域の SNP はプロモーター活性低下によって血清 DNase II 活性を減少させる. 日本 DNA 多型学会第 21 回学術集会. 2012. 11. 8 京都
3. 佐野利恵, 高橋遥一郎, 中島たみ子, 小湊慶彦. 死後画像検査を加えた、融合型死因調査の一例. 第 81 次日本法医学学会学術関東地方集会. 2012. 10. 20 群馬

4. 高橋遥一郎, 佐野利恵, 中島たみ子, 小湊慶彦, 伊藤一人, 丸橋隆行, 横濱章彦. ABO 式血液型遺伝子のエンハンサーの同定に基づく B<sub>m</sub> 型の遺伝子解析. 第 59 回北関東医学会総会. 2012. 9. 27 群馬
5. 中島たみ子, 佐野利恵, 高橋遥一郎, 竹下治男, 安田年博, 小湊慶彦. ABO 式血液型遺伝子のエンハンサーの同定に基づく B<sub>m</sub> 型の遺伝子解析. 第 96 次日本法医学学会学術全国集会. 2012. 6. 8 浜松
6. 佐野利恵, 高橋遥一郎, 中島たみ子, 小湊慶彦. 死後 CT 検査により急性硬膜下血腫が見出された, 高度の死後変化がある一例. 第 96 次日本法医学学会学術全国集会. 2012. 6. 8 浜松
7. 佐野利恵, 中島たみ子, 高橋圭子, 窪理英子, 矢澤伸, 小湊慶彦. ABO 式血液型遺伝子 3' 領域は遺伝子発現の抑制に關与する. 日本 DNA 多型学会第 20 回学術集会. 2011. 12. 1 神奈川
8. 佐野利恵, 中島たみ子, 小湊慶彦. 火災現場から発見された焼損死体で射創が見出された 4 例における死後 CT 画像の比較検討. 第 80 回日本法医学学会学術関東地方集会. 2011. 10. 29 栃木

9. 佐野利恵, 高橋圭子, 中島たみ子, 小湊慶彦. 死後 CT 検査において十二指腸内に高吸収域が認められた薬物中毒死亡例. 第 95 次日本法医学学会学術全国集会. 2011. 6. 16 福島

10. 佐野利恵, 中島たみ子, 高橋圭子, 窪理英子, 矢澤伸, 小湊慶彦. The 3' flanking region of the human ABO gene is involved in negative regulation of gene expression. 第 95 次日本法医学学会学術全国集会. 2011. 6. 17 福島

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:

権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

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

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし