

(様式4)

学位論文の内容の要旨

印

(学位論文のタイトル)

Deletion of the RUNX1 binding site in the erythroid cell-specific regulatory element of the ABO gene in two individuals with the A_m phenotype

(A_m型2名におけるABO遺伝子の赤血球系細胞特異的調節領域内のRUNX1結合サイトの欠失)

(学位論文の要旨)

<諸言>ABO式血液型にはその発現機序が不明である種々の亜型が存在し、輸血及び個人識別の際に問題となる。これまでにABO遺伝子における転写調節領域として、第1イントロン内に、翻訳開始点下流5653塩基から6154塩基に赤血球系細胞特異的に働くエンハンサー (+5.8-kb site) が発見され、その活性に転写因子GATA-1/2の関与が必須であることが示されている (Sano R, et al. Blood, 119: 5301-5310, 2012)。また、調査されたB_m型の全例において、この領域の欠失または領域内のGATA結合配列の1塩基置換が存在していた (Nakajima T, et al. Transfusion, 53: 2917-2927, 2013)。今回その発現機序が不明な血液型亜型であるA_m型の遺伝子解析を行い、新たな知見を得た。

<材料と方法>血清学的検査によりA_m型と診断された2名の血液からゲノムDNAを抽出し、peptide nucleic acid-mediated PCR clamping法を用いてAアレル特異的にABO遺伝子を増幅し、全エクソン、+5.8-kb site及びプロモーターの塩基配列を決定した。赤白血病細胞K562を用いたゲルシフトアッセイやプロモーターアッセイを行い、エンハンサー活性に関与する転写因子や、遺伝子変異が転写調節に与える影響について調べた。なお本研究は群馬大学医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理審査委員会により承認済みである。

<結果>A_m型2名において、Aアレルの+5.8-kb site内に、GATA認識配列のすぐ下流に新規の23塩基欠失 (g. 5892_5914del) を発見した。またこの欠失領域は転写因子RUNX1の認識配列を含んでいた。なお、その他の全エクソン及びプロモーター領域に有意な変異はなかった。発見された欠失領域に対応したオリゴDNAをプローブとしたゲルシフトアッセイでは、抗RUNX1抗体によりスーパーシフトが確認され、この欠失領域に転写因子RUNX1が結合することが示された。またプロモーターアッセイにおいて、この23塩基欠失及びRUNX1認識配列の変異が、共にエンハンサー活性を約70%減弱することが示された。

<まとめと考察>ABO遺伝子における赤血球系細胞特異的エンハンサー領域には、転写因子GATA-1/2に加えて転写因子RUNX1が結合し、そのエンハンサー活性に影響を与えていることが判明した。また、A_m型の個人においては赤血球系細胞特異的エンハンサー領域内のRUNX1結合配列の欠失によって、ABO遺伝子の転写活性の低下が生じ、これが赤血球におけるA抗原量低下の原因であることが示された。これらの知見によりABO遺伝子の発現調節機構が解明されると共に、これまでその原因が不明であった血液型亜型A_m型に対して遺伝子診断が可能となった。なお転写因子RUNX1は急性骨髄性白血病の患者においてしばしば相互転座のために変異することが知られており、本研究結果から、白血病患者における血液型変換の新たな機構の解明が可能になると考えられる。