

（様式6-A） A. 雑誌発表論文による学位申請の場合

高橋遥一郎氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

題 目 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)
Vox Sanguinis 106: 167-175, 2014
Yoichiro Takahashi, Kazumi Isa, Rie Sano, Tamiko Nakajima, Rieko Kubo, Keiko Takahashi, Yoshihiko Kominato, Hatsue Tsuneyama, Kenichi Ogasawara, Makoto Uchikawa

論文の要旨及び判定理由

ABO式血液型は、輸血及び個人識別において重要な表現型である。通常の血液型その他、臨床上や鑑定上で問題となる種々の亜型の存在や、血液疾患における抗原量低下等の現象が知られており、その分子基盤の解明は医学における課題の一つである。これまでに、ABO遺伝子における転写調節領域として、翻訳開始点の約5.8kb下流の第1イントロン内に赤血球系細胞特異的に働くエンハンサー領域（+5.8-kb site）が同定され、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。またB_m型（B抗原量が血球系でのみ減弱する亜型）の全例において同エンハンサー領域の欠失または領域内のGATA結合配列の1塩基置換が存在することが報告されている。今回申請者は、これらの知見を背景に、A_m型（A抗原量が血球系でのみ減弱する亜型）の分子遺伝学的解析を行った。まずA_m型2名のゲノムDNAを用いてAアレル特異的にABO遺伝子約23kbをPCR増幅し、全エキソン、+5.8-kb site及びプロモーターの塩基配列を決定した。その結果、Aアレルの+5.8-kb site内に新規の23塩基欠失を発見し、さらに同欠失領域内には転写因子RUNX1の認識配列が含まれることを見出した。赤白血病細胞K562を用いたレポーターアッセイでは、同23塩基欠失が+5.8kb siteのエンハンサー活性を約70%減弱させることを示したと共に、RUNX1認識配列の変異によっても同程度のエンハンサー活性低下が見られることを確認した。これらの所見により、+5.8kb siteのエンハンサー活性には、同欠失領域を介してRUNX1が関与することが示唆された。さらにRUNX1の関与を証明するため、同欠失領域に対応したオリゴDNAをプローブとしてゲルシフトアッセイを行い、同欠失領域にRUNX1が結合することを抗RUNX1抗体を用いたスーパーシフトアッセイにより確認した。以上より、血液型亜型A_m型の原因が、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る、ABO遺伝子の組織特異的な転写活性の低下であることを示し、A_m型に対しての遺伝子診断を可能とした。

この提出論文は、ABO遺伝子の発現調節に転写因子RUNX1が関与することを示した初の報告である。RUNX1は血球系において重要な転写因子であり、白血病患者における変異が知られている。今回の申請者の報告は、亜型に対する遺伝子診断を可能とただけでなく、ABO遺伝子の発現と白血病患者における血液型抗原量低下に関して新たな展開の可能性をもたらすものである。従って、以上の研究成果及び発表論文は医学の発展に寄与するものと認められ、博士（医学）の学位に値するものと判定した。

（審査年月日：平成27年2月9日）

審査委員

主査	群馬大学教授（医学系研究科） 細菌学分野担任	富田 治芳	印
副査	群馬大学教授（医学系研究科） 病理診断学分野担任	小山 徹也	印
副査	群馬大学教授（医学系研究科） リハビリテーション医学分野担任	白倉 賢二	印

参考論文

1. Presence of nucleotide substitutions in transcriptional regulatory elements such as the erythroid cell-specific enhancer-like element and the ABO promoter in individuals with phenotypes A₃ and B₃, respectively
(A₃型の赤血球系細胞特異的エンハンサー様領域や、B₃型のABO遺伝子プロモーター等の、転写調節領域における一塩基置換の存在)
Vox Sanguinis 107: 171-180, 2014
Takahashi Y, Isa K, Sano R, Nakajima T, Kubo R, Takahashi K, Kominato Y, Michino J, Masuno A, Tsuneyama H, Ito S, Ogasawara K, Uchikawa M

（様式6, 2頁目）

最終試験の結果の要旨

ABO式血液型遺伝子の構造についておよび血液型遺伝子の発現と悪性腫瘍のスクリーニングについて試問し満足すべき解答を得た。

（試験年月日：平成27年2月9日）

試験委員

群馬大学教授（医学系研究科）

法医学分野担任

小湊 慶彦

印

群馬大学教授（医学系研究科）

病理診断学分野担任

小山 徹也

印

試験科目

主専攻分野

法医学

A

副専攻分野

病理診断学

A