

ABO 遺伝子の転写調節から見た、血液型に関わる現象の分子基盤

小湊 慶彦¹⁾ 佐野 利恵¹⁾ 早川 輝¹⁾ 高橋遥一郎²⁾ 小笠原健一³⁾

ABO 血液型は、赤血球上の A 抗原・B 抗原と血清中の抗 A 抗体・抗 B 抗体からなるシステムであり、その型判定は安全な輸血医療に必須である。ABO 血液型は 20 世紀初頭に発見され、1960 年代に抗原の糖鎖構造が解明され、A 抗原・B 抗原合成に関わる糖転移酵素の精製や特異抗体作製等の研究が行われ、ワシントン大学バイオメンブレン研究所(所長箱守仙一郎博士)の山本文一郎博士らが遺伝子構造を報告した。その後、転写調節機構の解明が進められ、細胞非特異的プロモーター、赤血球系細胞特異的転写活性化領域、上皮系細胞特異的転写活性化領域が同定され、それらの変異が亜型を惹起することが明らかにされた。この総説では ABO 遺伝子の転写調節に焦点を当て、その視点から亜型や ABO 血液型に関わる現象の分子基盤について述べる。

キーワード：ABO 血液型、転写調節、プロモーター、エンハンサー、亜型

1. はじめに

ABO 血液型は、赤血球上の A 抗原・B 抗原と血清中の抗 A 抗体・抗 B 抗体からなるシステムであり、その型判定は安全な輸血医療に欠くことができないものである¹⁾²⁾。ABO 血液型は 20 世紀初頭にランドスタイナーによって発見され³⁾、1960 年代に ABO 血液型抗原の糖鎖構造が解明された⁴⁾。次いで、A 抗原・B 抗原の糖鎖構造の合成に関わる糖転移酵素 (A 合成酵素・B 合成酵素) に関して、蛋白精製や酵素特異抗体の作製等の研究が行われ、ワシントン大学バイオメンブレン研究所箱守仙一郎博士らのグループがヒトの肺組織から A 合成酵素を精製し、一部のアミノ酸配列を利用して同研究所の山本文一郎博士らが遺伝子構造や ABO 血液型の分子基盤を明らかにした^{5)~7)}。ABO 血液型遺伝子(以下、ABO 遺伝子)は第 9 染色体長腕(9q34)に存在し、7 個のエキソンからなり(図 1A)、それらが約 20-kb に存在し、A アレルと B アレルではエキソン 7 の 2 塩基の変異に基づき異なる基質特異性を有する糖転移酵素 (A 合成酵素・B 合成酵素) が産生され、それが A 抗原と B 抗原産生の違いになることが明らかにされた。一方、O アレルではエキソン 6 の 1 塩基欠損からフレームシフトが生じ、触媒ドメインを有する蛋白が産生されず、A 抗原と B 抗原産生に至らないことが分かった。

その後、赤血球上の A 抗原や B 抗原が減少する亜型

の遺伝子解析から、ABO 遺伝子のエキソン 6 とエキソン 7 に多くの変異が報告され、エキソン 3・イントロン 3 境界にも変異が報告され、亜型の多くが遺伝子変異であることが明らかにされた¹⁾²⁾。また、通常型にも多くのアレルが報告されているので、通常型と亜型に対応する変異アレルを合わせると、ABO 遺伝子には 200 以上のアレルが報告されている。一方、日本人では亜型が約 0.048% の頻度で存在するが⁸⁾、その半数を占める B_m型や AB_m型ではコード領域に変異が認められず、その遺伝学的原因は不明であった。B_m型は、赤血球に B 抗原が僅かに存在するが、血清中の B 合成酵素活性は半分程度に減少し、分泌型のヒトでは唾液中に通常型のヒトと同様な B 抗原量があるという特徴を有している¹⁾。

ABO 血液型に関する研究は長い歴史があり、知識の蓄積があることから、その他に様々な現象が知られている¹⁾²⁾。例えば、肺癌、膀胱癌、結腸癌等の癌組織における血液型抗原の欠失、O 型のヒトの癌組織において A 抗原をもつ細胞の出現等がある。箱守博士らが ABO 遺伝子のクローニングを試みた理由はそれらの分子基盤を解明することであった。また、白血病患者においては赤血球上の A 抗原や B 抗原が減少すること、血液型抗原は赤血球や分泌細胞に発現するが神経や心筋に発現しないこと、細胞分化に伴って血液型抗原が発現すること等が知られている。しかし、遺伝子構造の情

1) 群馬大学大学院医学系研究科法医学講座

2) 筑波大学医学医療系生命医科学域法医学

3) 日本赤十字社中央血液研究所

[受付日：2023 年 4 月 24 日、受理日：2023 年 6 月 14 日]

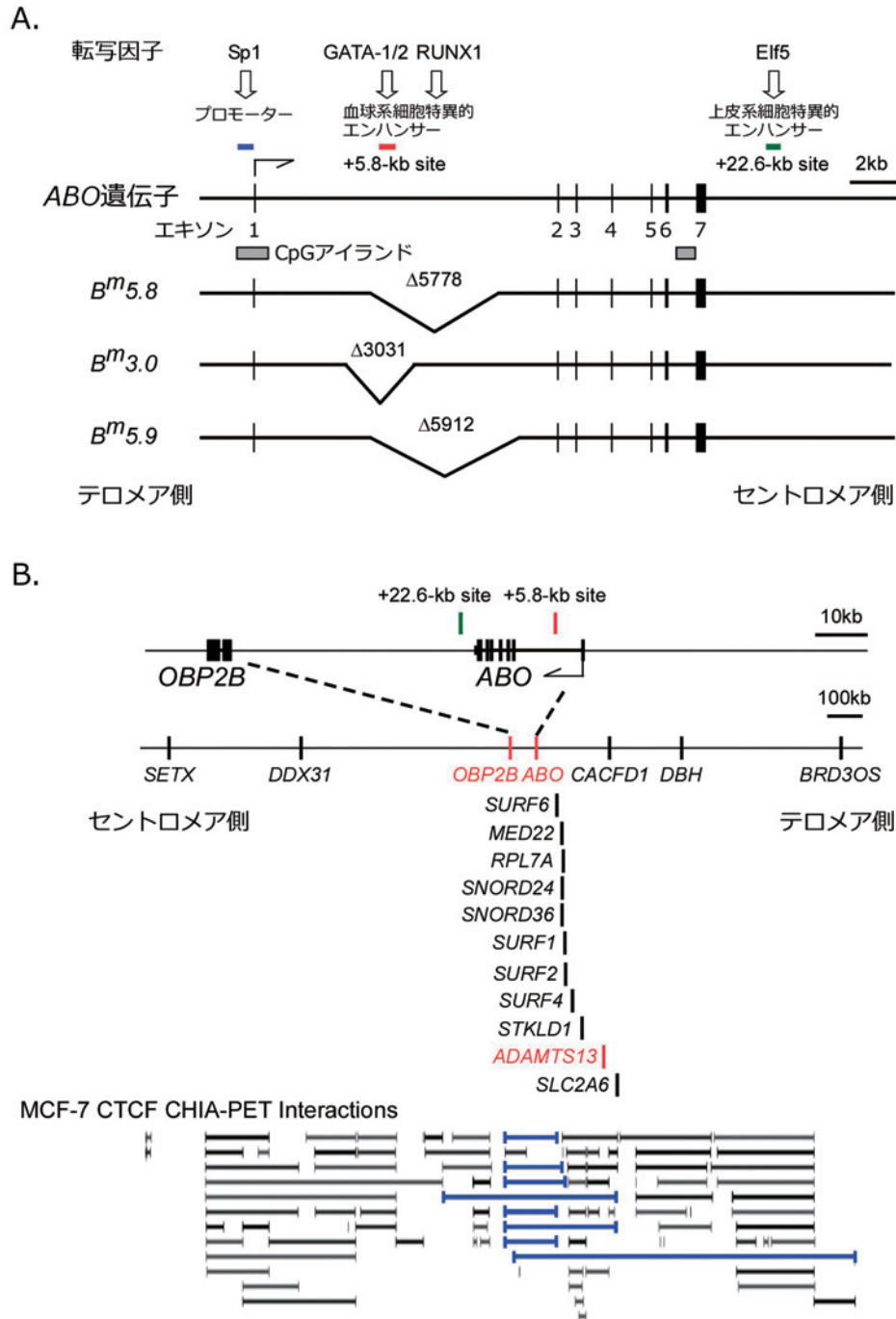


図1 ABO 遺伝子の構造と亜型における変異。

A. ABO 遺伝子の構造。縦線や四角形はエキソン，矢印は転写開始点，青四角はプロモーター，赤四角は赤血球系細胞特異的エンハンサー+5.8-kb site，緑四角は上皮系細胞特異的エンハンサー+22.6-kb siteを示す。また，転写調節領域に作用する転写因子を示す。さらに灰色の四角は CpG アイランドの位置を示す。ABO 遺伝子プロモーターは翻訳開始点を+1にすると c.-150 から c.-2 となる²³⁾。一方，初期の報告では山本らによって報告された転写開始点⁷⁾を+1にしたことから，プロモーターは -117 から+31 と報告されていた¹²⁾。通常型アレルのゲノム構造の下に，イントロン1 内に+5.8-kb site を含む大きな欠失が認められアレル $B^m_{3.0}$ ， $B^m_{5.8}$ ， $B^m_{5.9}$ 等を示す。レファレンス NG_006669.1 (NM_020469.2) に基づく HGVS 表記では， $B^m_{3.0}$ は c.28+4077_7107del， $B^m_{5.8}$ は c.28+5110_10889del， $B^m_{5.9}$ は c.28+5443_11354del と表記される。V 部分は欠失部である。但し，各原著における表記は，+4105_+7136del²⁶⁾，+5137_+10914del²³⁾，c.28+5443_29-1655del³⁰⁾ である。B. 第9染色体 34.1-2 付近の遺伝子と ABO 遺伝子周囲に形成されるトポロジカルドメイン。ABO 遺伝子周囲に存在する遺伝子を示す。その下に，公表されている乳癌培養細胞 MCF-7 の Chromatin interaction analysis by paired-end tag sequencing データを示す⁵⁷⁾。横線の範囲がトポロジカルドメインを示す。ABO 遺伝子と OBP2B 遺伝子を包含するトポロジカルドメインは青色で示されている。

報だけではそれらの分子基盤は不明であったことから、ABO 遺伝子の転写調節機構の解明が必要であった。

ところで、A 抗原・B 抗原が発現するには、ABO 遺伝子からの転写、RNA スプライシング、糖転移酵素の産生、酵素のゴルジ装置への貯留、H 抗原への糖の転移等の多くの過程がある¹⁾²⁾。遺伝子の転写とは、鋳型となる DNA から RNA を合成することであるが、その転写調節のためには、プロモーターと呼ばれる、転写開始点を含み、転写方向を決める DNA 領域が必要である⁹⁾。また、転写を活性化する DNA 領域や転写を抑制する DNA 領域があり、エンハンサーやサプレッサーと呼ばれる。一方、エンハンサー DNA に転写因子(DNA 結合型転写因子)と呼ばれる蛋白質等が結合し、転写を調節する。プロモーターとエンハンサーが DNA 配列上において隔たりがあっても、DNA がループ構造をとるため、プロモーターとエンハンサーとが空間的に近接し、プロモーターから RNA 合成が開始される。

この総説では ABO 遺伝子の転写調節に焦点を当て、その視点から ABO 血液型以外の変異型や ABO 血液型に関わる現象について述べることにする。また、ABO 血液型以外にもコード領域に変異を有する多くの変異型が報告されているが、これらについては他を参照していただきたい¹⁾²⁾。

2. ABO 遺伝子の転写調節

1) ABO 遺伝子プロモーター

エキソン 1 周辺の約 1.3-kb は CpG アイランドの特徴を有し(図 1A)、ABO 遺伝子の転写はエキソン 1 の翻訳開始点直上流から開始されるが⁵⁾⁷⁾¹⁰⁾¹¹⁾(図 2A)、その他に ABO CpG アイランドの 5' 辺縁にあるエキソン 1a からも開始される¹⁰⁾。但し、エキソン 1 に比較するとエキソン 1a からの転写産物は僅かであった。エキソン 1 の転写開始点周囲約 150-bp に細胞非依存的なプロモーター活性があり(図 1A)¹⁰⁾¹²⁾、転写因子 Sp1 がプロモーター活性に重要であった¹³⁾。また、ABO CpG island の 3' 辺縁から ABO 遺伝子の転写とは反対方向への転写(ABOAS)が開始されているが、その意義は不明である¹⁴⁾。一方、遺伝子解析により、B₃型ではプロモーター領域に塩基置換や欠失等の変異が見出されている(図 2A)^{15)~18)}。以上より、同定されたプロモーター領域が転写調節に関与することが明らかとなった。しかし、エキソン 1 上流のプロモーターは細胞非特異的であることから、細胞非特異的プロモーターと細胞特異的エンハンサーが協調的に作用し、ABO 遺伝子が細胞特異的に発現することが示唆された。

一方、血液型抗原の発現が欠損する培養細胞の検索から、プロモーターがメチル化を受けて転写が抑制され、癌組織での血液型抗原欠失に至ることが示唆され

た¹⁹⁾²⁰⁾。また、癌組織の臨床検体の検索から、癌細胞における血液型抗原欠失の原因として、プロモーターのメチル化と遺伝子の欠損等が指摘され、未知の原因もあることが示された²¹⁾²²⁾。

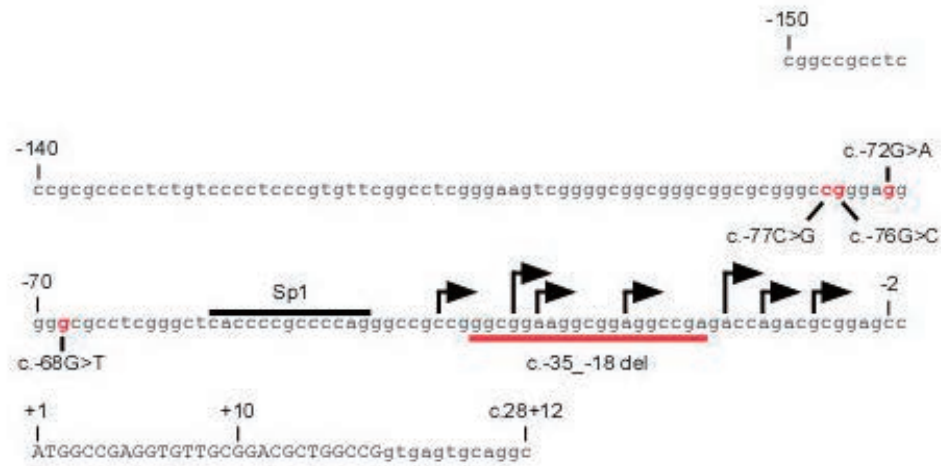
2) 血球系細胞特異的エンハンサー (+5.8-kb site)

ENCODE プロジェクトにより明らかにされてきた、転写調節領域を示唆する、DNaseI 高感受性部位、クロマチン修飾、結合転写因子に関する情報を利用し、ルシフェラーゼアッセイ、ゲルシフトアッセイ、ChIP アッセイ等の試験管内の実験的手法等を行い、イントロン 1 内で転写開始点下流約 5.8-kb に血球系細胞特異的エンハンサー (+5.8-kb site) の存在やそこに結合する血球系細胞特異的転写因子 GATA-1/2 及び RUNX 1 が示され、+5.8-kb site が転写活性化領域として機能する可能性が示された(図 1A, 2B)^{23)~25)}。+5.8-kb site には GATA 結合サイトが 2 カ所あり、それらはいずれも転写活性に必須であった²³⁾。

亜型の遺伝子解析が行われ、B_m型の日本人では+5.8-kb site を含む 5.8-kb の欠失 (B^m5.8) と 3.0-kb の欠失 (B^m3.0) が見出された(図 1A)²³⁾²⁶⁾。また、B_m型のヒトにおいて+5.8-kb site 内の下流 GATA 結合サイトに 1 塩基変異が報告された(図 1A, 2B)²⁴⁾。B_m型のオーソログである A_m型のヒトにおいて下流 GATA 結合サイトの 1 塩基変異や RUNX1 結合サイトを含む 23-bp の欠失が見出され²⁵⁾²⁷⁾、A₃型や B₃型のヒトにおいて RUNX 1 結合サイト周囲に塩基置換が報告された(図 2B)¹⁵⁾²⁸⁾²⁹⁾。一方、通常 ABO 血液型の 1,005 名には前述の変異はなかった²³⁾。また、亜型に対する次世代シーケンサーを用いた解析から、+5.8-kb site を含む 5.9-kb の欠失 (B^m5.9)³⁰⁾、上流 GATA 結合サイト、下流 GATA 結合サイト、RUNX1 結合サイト等の 1 塩基変異、C/EBP 結合サイト(推定)の 3' 近傍の 1 塩基変異³¹⁾等が報告されている。上記のストラテジーによって、ABO 遺伝子の転写がイントロン 1 内の血球系細胞特異的エンハンサー +5.8-kb site によって調節されることが明らかとなり、転写因子 GATA-1/2 及び RUNX1 が転写活性化に関与することが示唆された。

一方、日本人の B_m及び AB_m型のほとんどは B^m5.8 であった³²⁾。一方、韓国や中国からは B^m5.8 に関する報告が無いことから、B^m5.8 は日本人固有の遺伝子であることが考えられる³³⁾。ところで、+5.8-kb site の 6 カ所の塩基に多型性があり、通常 ABO 血液型の日本人 113 名について+5.8-kb site の配列を調べたところ、6 種類のハプロタイプがあり、それらのハプロタイプ間では+5.8-kb site の転写活性に差はなく、通常型 ABO 遺伝子型と+5.8-kb site ハプロタイプの間の特異的なリンクがあることが報告されている³⁴⁾。但し、その関係が成立しないアレルが 3.5% あり、それらは O アレルと B アリ

A.



B.

Wild type	C/EBP	GATA	RUNX	Wild type	Ref
agagtccttcgcaatgcctgggaaaggagagataaggctcactagccacagaaaaacagccag					
c.28+5843G>A	agagtccttcgcaaaacctgggaaaggagagataaggctcactagccacagaaaaacagccag			c.28+5839G>A	31
c.28+5859G>C	agagtccttcgcaatgcctgggaaaggagagacataaggctcactagccacagaaaaacagccag			c.28+5830G>C	27
c.28+5859G>A	agagtccttcgcaatgcctgggaaaggagagaataaggctcactagccacagaaaaacagccag			c.28+5855G>A	31
c.28+5860A>G	agagtccttcgcaatgcctgggaaaggagagagtaaggctcactagccacagaaaaacagccag			c.28+5856A>G	31
c.28+5861T>G	agagtccttcgcaatgcctgggaaaggagagagaaaggctcactagccacagaaaaacagccag			+5890T>G	24
c.28+5865_5887del	agagtccttcgcaatgcctgggaaaggagagataag-----ccag			+5892_+5914del	25
c.28+5864G>A	agagtccttcgcaatgcctgggaaaggagagataaaggctcactagccacagaaaaacagccag			+5893G>A	15
c.28+5875C>T	agagtccttcgcaatgcctgggaaaggagagataaggctcactagcctacagaaaaacagccag			+5904C>T	29
c.28+5877C>T	agagtccttcgcaatgcctgggaaaggagagataaggctcactagccataggaaaaacagccag			c.28+5873C>T	31
c.28+5878A>G	agagtccttcgcaatgcctgggaaaggagagataaggctcactagccatgggaaaaacagccag			c.28+5874A>G	31
c.28+5880A>G	agagtccttcgcaatgcctgggaaaggagagataaggctcactagccacagaaaaacagccag			+5909A>G	15
c.28+5885C>T	agagtccttcgcaatgcctgggaaaggagagataaggctcactagccacagaaaaatagccag			c.28+5885C>T	28
	c.28+5829			c.28+5891	

図2 ABO 遺伝子プロモーターの塩基配列と亜型における変異.

A. ABO 遺伝子プロモーター. ABO 遺伝子プロモーター (c. -150 から c.-2) からエクソン1 コード領域 (c. 1 から c.28), イントロン1 (c. 28+1 から c.28+12) の塩基配列を示す. 非コード領域の塩基は小文字, コード領域の塩基は大文字, 転写開始点は矢印で示され, +1 は翻訳開始点を示す. 亜型で変異していた塩基は赤字, 欠失していた塩基は下線で示されている^{15)~18)}. B. ABO 遺伝子赤血球系細胞特異的エンハンサーの塩基配列と変異. +5.8-kb site の塩基配列 (c.28+5829 から c.28+5891) を示す. 塩基配列上に転写因子の認識配列を示す. 但し, C/EBP 認識配列は推定されるもので, 実証はされていない. その下方に, 亜型や変異型で見出されたアレルにおいて変異していた塩基を赤字, 欠失していた塩基を横線で示す. 各変異に対して, ゲノムデータ NG_006669.1 をレファレンスとした HGVS 表記を塩基配列の左側に示す. それらは最初に報告された変異の表記と異なることから, 右側に参考文献とそこに記載されている変異の表記を記載する.

ル, A アリルと O アリル, A アリルと B アリル等の間での遺伝子組み換えにより生じたものと推測された³⁴⁾.

最近のロングリードシーケンシングの結果も同様な遺伝子組み換えを示している³⁵⁾.

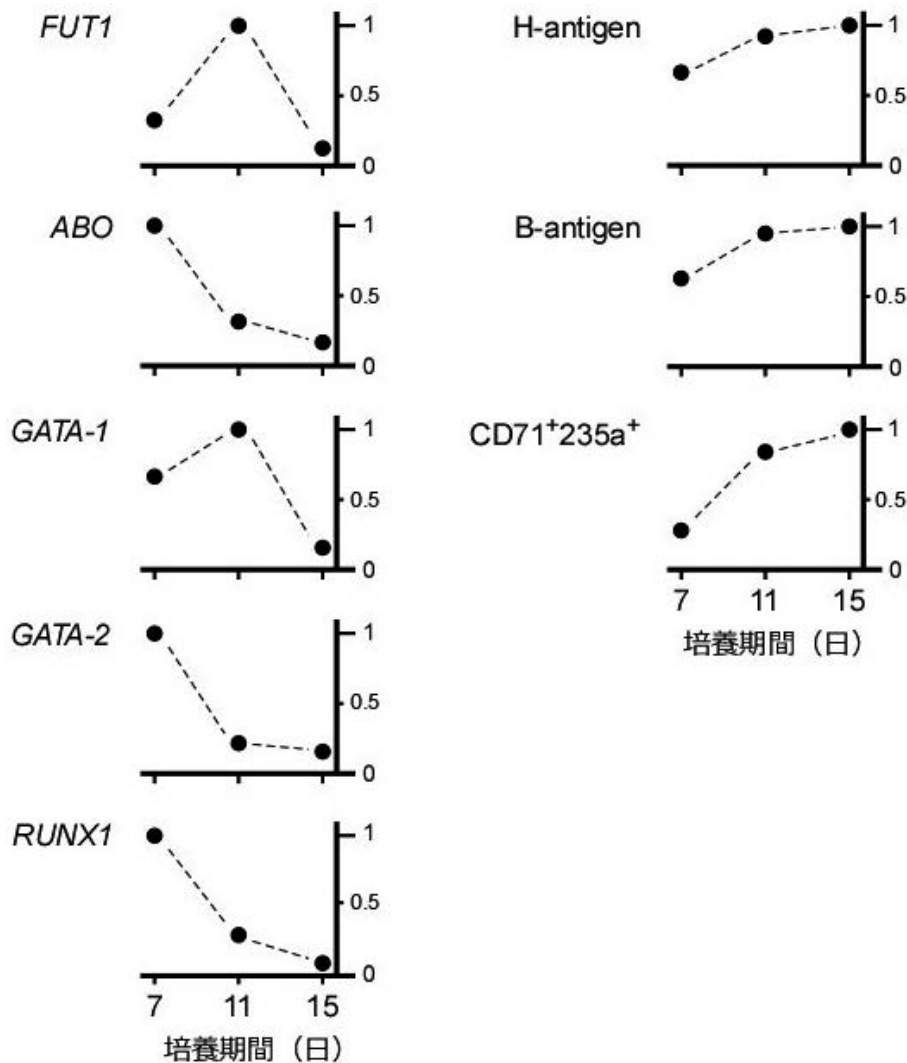


図3 赤血球系細胞分化における ABO 血液型抗原発現に関する遺伝子の発現変化。B 型健常人から採取された末梢血から分離した CD34 抗原陽性細胞を試験管内で赤血球系細胞に分化させ、ABO 遺伝子 (B アレル)、FUT1 遺伝子、GATA1 遺伝子、GATA2 遺伝子、RUNX1 遺伝子等の発現、B 抗原、H 抗原、CD71CD235a 抗原 (CD71, トランスフェリン受容体: CD235a 抗原, グリコフォリン A) の発現を、分化培養 7 日後、11 日後、15 日後に調べた⁴⁰⁾。各測定項目における最大値を 1 とし、その他を相対的な量として経時的に表している。CD71CD235a 抗原のデータは原著には記載されていないが、新たに加えられている。

試験管内における赤血球系細胞分化誘導実験から、細胞分化に伴い血液型抗原陽性細胞が増加すること、A 抗原の発現は BFU-E と CFU-E において観察されたことが報告されている^{36)~39)}。試験管内における CD34 陽性細胞からの赤血球系細胞分化誘導実験において、未分化な血球系細胞で ABO 遺伝子発現は高く、血球分化・成熟に伴い低下する (図 3)⁴⁰⁾⁴¹⁾。転写因子 GATA-2 は未熟な細胞で発現し、分化・成熟に伴いその発現が低下し、反対に GATA-1 は分化・成熟に伴い発現が増強し、RUNX1 は分化・成熟に伴い発現が低下することが示され、細胞分化に伴う ABO 遺伝子の発現抑制は GATA-2 と RUNX1 の減少によると考えられた。また、ABO 遺伝子は未熟な赤血球系細胞で発現が増加し、分

化・成熟に伴いその発現が低下するが、ABO 遺伝子の発現低下時に、H 抗原合成に関わる酵素 (H 合成酵素) をコードする FUT1 遺伝子の発現が増強することから⁴⁰⁾、ABO 遺伝子と FUT1 遺伝子の共発現の期間が ABO 抗原の合成に重要であることが推測される。A₃ 型や B₃ 型の特徴は抗 A や抗 B に対して部分凝集を呈することである。プロモーターや +5.8-kb site の変異により遺伝子発現の低下から糖転移酵素量が減少し、H 合成酵素との共発現期間において、抗体に対して血球凝集を惹起させる程度の抗原量合成を生じさせる、A 合成酵素や B 合成酵素の濃度になっている期間が短縮し、個々の赤血球において A 抗原や B 抗原量にバラつきが生じ、部分凝集を示すことが考えられている¹⁵⁾。

急性骨髄性白血病, 骨髄異形成症候群, 慢性骨髄性白血病等の白血病患者においては赤血球上の ABO 血液型抗原が減少することが知られていることから¹⁾²⁾, 骨髄異形成症候群患者 13 名の末梢単核球 DNA が調べられたところ, 赤血球上の A 抗原減少が見られた患者 2 名においては転写因子 GATA-2 や RUNX1 をコードする遺伝子に変異が認められたが, 抗原減少が見られなかった患者 11 名においてはそれらの転写因子をコードする遺伝子に変異が認められなかった⁴²⁾⁴³⁾. 以上から, 白血病化に伴い, 転写因子 GATA-2 や RUNX1 をコードする遺伝子に変異が生じ, ABO 遺伝子の転写が低下し, 血液型抗原の減少が生じる可能性が示唆された. 一方, プロモーターのメチル化が白血病患者における赤血球上の A 抗原減少の原因とする報告があるが⁴⁴⁾, 早川らの報告ではプロモーターのメチル化は A 抗原減少の原因の一部であると推測されている. 以上の結果は, ABO 遺伝子の転写調節は転写因子 GATA-2 及び RUNX1 に依存することを支持している.

類人猿では赤血球に ABO 血液型抗原が存在するが, 猿では血液型抗原の発現が微弱である^{45)~47)}. そこで, ヒトの +5.8-kb site に相当する領域について, 類人猿と猿を比較したところ, 類人猿ではヒトと同様に内部に long terminal repeat (LTR) を含むが, その部分が猿では short interspersed nuclear element (SINE) であったことから, 猿から類人猿への進化において SINE から LTR に置換され, +5.8-kb site が形成され, 赤血球系細胞において ABO 遺伝子が発現することとなり, 赤血球の ABO 血液型抗原の出現に至ったと推測されている⁴⁸⁾. 猿で血液型抗原の発現が微弱である, その他の理由として, 猿では H 抗原発現が未熟であることが挙げられる. FUT1 遺伝子の発現に相違があることが予想され, 類人猿の FUT1 遺伝子イントロン 1 内には SINE が存在するが, 猿ではその配列が欠損することから, 猿から類人猿への進化において SINE を獲得したことが FUT1 遺伝子発現を惹起したと推測されている⁴⁹⁾. この SINE は LTR に接している. その LTR には多数の GATA 結合サイトがあり, ゲノムアノテーションデータはその LTR が転写活性化領域であることを示唆していることから, 発現する細胞分化段階を考慮すると, FUT1 遺伝子発現は転写因子 GATA-1/2 に依存する程度が増えていることが推測される. ところで, 赤血球系細胞分化において ABO 遺伝子発現が FUT1 遺伝子発現に先行するという実験結果や骨髄異形成症候群の遺伝子解析結果から⁴⁰⁾⁴³⁾, ABO 遺伝子発現は転写因子 GATA-2 に依存し, FUT1 遺伝子発現は転写因子 GATA-1 に依存すると推測される.

3) 上皮系細胞特異的エンハンサー (+22.6-kb site)

上記と同様な方法により, 遺伝子の下流約 2.6-kb

に転写活性化領域 (+22.6-kb site) を見出し, 上皮細胞特異的転写因子 ELF5 が結合することにより (図 1A), 上皮細胞においてエンハンサーとして機能することを明らかにした⁵⁰⁾. ゲノム編集技術を用いて, +22.6-kb site を欠損する胃癌培養細胞を作製したところ, ABO 遺伝子発現が約半分に低下していた. 以上より, +22.6-kb site が転写制御に関与することが明らかとなったが, +22.6-kb site 以外のエンハンサーの存在が示唆されている.

染色体は機能的に独立したメガベースサイズの領域に区分され, それはトポロジカルドメイン Topologically Associating Domain (TAD) と呼ばれている. 言い換えれば, トポロジカルドメインは染色体の高次構造を支える基盤となっている. トポロジカルドメインの境界には転写因子 CTCF やコヒーシンの結合があり, それらの相互作用を介して, メガベースサイズのループ構造が形成され, トポロジカルドメインがつくられる. トポロジカルドメイン内部には遺伝子複数を含み, ループ構造を介してプロモーターとエンハンサーが相互作用し, 遺伝子の発現が制御を受ける. そのため, エンハンサーシェアリングという, 一つのエンハンサーが複数の遺伝子の転写に影響を及ぼすことが報告されている. Chromatin interaction analysis by paired-end tag sequencing を含む公表されているデータから (図 1B), ABO 遺伝子エキソン 1 のセントロメア側約 38-kb, テロメア側約 38-kb に転写因子 CTCF やコヒーシンの結合を特徴とするトポロジカルドメインの境界領域が示唆され, この内部 76-kb がトポロジカルドメインであることが推定された. そのトポロジカルドメインは ABO 遺伝子と ABO 遺伝子の 66-kb セントロメア側にある Odorant Binding Protein 2B をコードする OBP2B 遺伝子を含む (図 1B). そこで, +22.6-kb site を欠損する胃癌培養細胞を用いて, ABO 遺伝子と OBP2B 遺伝子の発現を調べたところ, 両遺伝子の発現が低下していたことから, 両遺伝子は協調的な転写調節を受けることが推測されている⁵¹⁾. OBP2B 蛋白は, 前立腺や乳腺で発現するリポカリン蛋白の一種で, 匂い物質や脂肪酸のような小分子と結合することが知られているが, その生理学的役割は不明である. しかし, 発現の組織分布から, OBP2B 蛋白には生殖や哺乳等の重要な生理学的役割が予想される.

公表されているデータから, +22.6-kb site はテロメア側に存在する, 血漿蛋白 ADAMTS-13 をコードする遺伝子の転写開始点 (図 1B) と相互作用することが示唆されている⁵¹⁾. ADAMTS-13 は, 血管内皮で合成され, 結合して超巨大分子として血流中に分泌されたフォン・ヴィレブランド因子を適切な長さに切断し, 血流中で血小板とフォン・ヴィレブランド因子の結合を防げて

いる。フォン・ヴィレブランド因子は、損傷を受けた血管内皮細胞下組織に、血小板を粘着・凝集させる分子糊として働くが、フォン・ヴィレブランド因子の血中濃度はA型抗原やB型抗原の付加から影響を受ける。フォン・ヴィレブランド因子の生理的な役割に関与する因子が同一のトポジカドメインに存在していることから、共通するエンハンサーによって制御を受ける可能性が考えられ、その解明は興味深いところである。

4) その他の転写調節領域

上記以外に、翻訳開始点の3.8-kb上流に転写活性化領域、プロモーター直上流に転写抑制領域、翻訳開始点の36-kb下流に転写活性化領域が報告されているが、それらについては原著論文¹²⁾¹³⁾⁵⁰⁾や他の総説⁴¹⁾を参照されたい。

3. ABO血液型の遺伝子診断と未来医療

ABO遺伝子の転写調節機構の解明により、これまで明らかでなかった亜型の遺伝子診断が可能になり、ABO血液型の遺伝子診断の信頼度が増し、遺伝子診断実用化の可能性が開かれたといえる。実際、これらの知見は輸血医療現場において利用され、B_m型の遺伝子診断は日本全国の日本赤十字社で実用化されている³²⁾。しかし、コード領域や調節領域に変異が見出されない亜型が未だに存在すること³⁰⁾、転写調節機構の全てが明らかになっていないことから、更なる研究が必要である。

Genome wide association study (GWAS)から、ABO遺伝子座に関連する疾患として、静脈血栓症、冠動脈疾患、胃癌、胃・十二指腸潰瘍、ノロウイルス感染症、マラリア感染症の重症度、重症のCOVID-19等が明らかにされてきた^{52)~54)}。例えば、静脈血栓症に関して、O型の人には他の血液型よりも発症頻度が低いことが知られており、その原因としてA型抗原やB型抗原で修飾を受けたフォン・ヴィレブランド因子の血中濃度増加が挙げられている。ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬は細胞分化を促進することが知られているが、この薬物を培養細胞に添加し、細胞培養を行うと、ABO遺伝子の発現が低下し、血液型抗原が減少することが報告されている⁵⁵⁾。また、SARS-CoV-2感染のレセプターであるアンジオテンシン転換酵素2をコードする遺伝子の発現がヒストン脱アセチル化酵素阻害薬によって抑制された⁵⁶⁾。これらの結果は、ABO血液型に影響を受ける疾患や血液型不適合臓器移植での拒絶反応等に対して、エピジェネティクスに関与するヒストン脱アセチル化酵素阻害薬が予防に利用できる可能性を示唆している。

4. まとめ

これまでのABO遺伝子の転写調節に関する研究成果から、ABO血液型の特異的現象の幾つかの原因が明らかとなった。前述に述べた以外には下記が挙げられる⁴¹⁾。

1) 細胞特異的発現 (図1A) : ABO血液型の赤血球系細胞特異的発現は、血球系細胞特異的転写因子GATA-1/2が+5.8-kb siteに作用し、+5.8-kb siteが血球系細胞特異的エンハンサーとして機能することによる。上皮系細胞特異的発現は、上皮系細胞特異的転写因子ELF5が+22.6-kb siteに作用し、+22.6-kb siteが上皮系細胞系細胞特異的エンハンサーとして機能することによる。転写因子GATA-1/2やELF5が発現しない細胞ではABO遺伝子の発現がなく、神経や心筋においてはABO血液型抗原が発現しないことになる。2) 細胞分化に伴う転写調節 : 造血組織において、細胞分化に伴って血液型抗原が発現する機序は不明であるが、細胞分化に伴うABO遺伝子の発現減少は転写因子GATA-2とRUNX1の減少によると考えられる (図3)。

ところで、コード領域の変異に基づく亜型においては糖転移酵素の構造が変化し、酵素活性や基質特異性に変化をもたらす。血液型抗原量の減少や産生される抗原の質に変化をもたらす¹⁾²⁾。それらの例としては、A₂型やcisAB型がある。一方、プロモーターの変異はRNA産生量を低下させ、血球系細胞と上皮系細胞の両者において合成される糖転移酵素量が低下し、血清中の糖転移酵素活性は通常型のヒトよりも低下し、血球系細胞と上皮系細胞の両者において血液型抗原が減少する。B_m型のヒトでは+5.8-kb siteに変異があるが、+22.6-kb siteには変異がないため、血球系細胞ではB合成酵素の産生がほとんどないが、上皮系細胞ではB合成酵素の産生があり、唾液中にB型物質が分泌されることになり、また、それらの細胞からB合成酵素が血液中に流入するので、血清中のB合成酵素活性を測定すると、通常型のヒトよりも低下することになる。以上のように、コード領域の変異、プロモーターの変異、+5.8-kb siteの変異ではそれぞれがもたらす影響が異なる。

ABO血液型と疾患の関係については明らかにされてきているが、ABO血液型の生理学的な意義については未解明である。ところで、ABO遺伝子の欠損したヒトの報告が無いことから、ABO遺伝子が進化学的に保存されているように見える。その理由としては、Oアリルが存在することから、A合成酵素やB合成酵素よりABO遺伝子の存在自体が重要な役割を果たしている可能性が考えられる。+22.6-kb siteはOBP2B遺伝子の転写調節を行うが (図1B)、OBP2B蛋白には生殖や哺乳等の重要な生理学的役割が予想されることから、+22.6-kb siteの保存が必要であり、分子進化において、近隣

に存在する ABO 遺伝子の喪失が生じなかったとの推測がある⁵¹⁾。ABO 血液型の生理学的な意義の解明は今後の課題である。

著者の COI 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

謝辞：ホセ・カレラス白血病研究所山本文一郎先生には、本総説にご助言をいただき、また、転写調節機構解明の契機となった ABO 遺伝子のゲノム DNA が挿入されたプラスミド HG-1 のご提供をいただき、その後の研究過程においてさまざまなご支援・ご援助をいただきました。この場をお借りして感謝申し上げます。また、本総説には筆者らの研究成果多数が引用されておりますが、これらの研究遂行にあたって、日本赤十字社内川誠先生、伊佐和美先生、常山初江先生、野川誠之先生、日本赤十字社近畿ブロック血液センター松本加代子先生、群馬大学医学部附属病院輸血部横濱章彦先生、丸橋隆行先生、富山大学附属病院輸血部西野主真先生、道野淳子先生、富山大学医学部法医学講座畑由紀子先生、井上病院山尾裕道先生、産業医科大学血液内科塚田順一先生、群馬大学大学院医学系研究科法医学講座窪理英子様、三輪朋子様、原田恩様、福田治紀先生、故中島たみ子先生には多大なご協力をいただきました。先生方に対してここに感謝の意を表します。

文 献

- 1) 内川 誠：赤血球型，編者 前田平生，大戸 斉，岡崎 仁，輸血学，第 4 版，中外医学社，東京，2018，138—199.
- 2) Daniels G: ABO, H, and Lewis systems. In: Daniels G, eds, Human Blood Groups, 3rd ed, WILEY-BLACKWELL, West Sussex, UK, 2013, 11—95.
- 3) Landsteiner K: Ueber agglutinationserscheinungen normalen menschlichen blutes. Zentralbl Bakteriologie, 27: 357—363, 1900.
- 4) Clausen H, Hakomori S: ABH and related histo-blood group antigens; immunochemical differences in carrier isotypes and their distribution. Vox Sang, 56: 1—20, 1989.
- 5) Yamamoto F, Clausen H, White T, et al: Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. Nature, 345: 229—233, 1990.
- 6) Yamamoto F, Hakomori S: Sugar-nucleotide donor specificity of histo-blood group A and B transferases is based on amino acid substitutions. J Biol Chem, 265: 19257—19262, 1990.
- 7) Yamamoto F, McNeill PD, Hakomori S: Genomic organization of human histo-blood group ABO genes. Glycobiology, 5: 51—58, 1995.
- 8) 内川 誠：赤血球抗原—最近の知見—，第 60 回日本輸血・細胞治療学会教育講演，2012.
- 9) Alberts B, Johnson A, Lewis J, 他編：遺伝子発現の調節，細胞の分子生物学，第 6 版，ニュートンプレス，東京，2018，305—404.
- 10) Kominato Y, Hata Y, Takizawa H, et al: Alternative promoter identified between a hypermethylated upstream region of repetitive elements and a CpG island in human ABO histo-blood group genes. J Biol Chem, 277: 37936—37948, 2002.
- 11) Thuresson B, Chester MA, Storry JR, et al: ABO transcript levels in peripheral blood and erythropoietic culture show different allele-related patterns independent of the CBF/NF-Y enhancer motif and multiple novel allele-specific variations in the 5'- and 3'-noncoding regions. Transfusion, 48: 493—504, 2008.
- 12) Kominato Y, Tsuchiya T, Hata N, et al: Transcription of human ABO histo-blood group genes is dependent upon binding of transcription factor CBF/NF-Y to minisatellite sequence. J Biol Chem, 272: 25890—25898, 1997.
- 13) Hata Y, Kominato Y, Yamamoto F, et al: Characterization of the human ABO gene promoter in erythroid cell lineage. Vox Sang, 82: 39—46, 2002.
- 14) 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.
- 15) Takahashi Y, Isa K, Sano R, et al: 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. Vox Sang, 107: 171—180, 2014.
- 16) Cai X, Jin S, Liu X, et al: Molecular genetic analysis of ABO blood group variations reveals 29 novel ABO subgroup alleles. Transfusion, 53: 2910—2916, 2013.
- 17) Isa K, Yamamuro Y, Ogasawara K, et al: Presence of nucleotide substitutions in the ABO promoter in individuals with phenotypes A₃ and B₃. Vox Sang, 110: 285—287, 2016.
- 18) Hellberg Å, Hult AK, Moser I, et al: A novel single-nucleotide substitution in the proximal ABO promoter gives rise to the B₃ phenotype. Transfusion, 59: E1—E3, 2019.
- 19) Kominato Y, Hata Y, Takizawa T, et al: Expression of human histo-blood group ABO genes is dependent upon DNA methylation of the promoter region. J Biol Chem, 274: 37240—37250, 1999.
- 20) Iwamoto S, Withers DA, Handa K, et al: Deletion of A-antigen in a human cancer cell line is associated with reduced promoter activity of CBF/NF-Y binding region, and possibly with enhanced DNA methylation of A transferase promoter. Glycoconj J, 16: 659—666, 1999.

- 21) Orlow I, Lacombe L, Pellicer I, et al: Genotypic and phenotypic characterization of the histoblood group ABO (H) in primary bladder tumors. *Int J Cancer*, 75: 819—824, 1998.
- 22) Gao S, Worm J, Guldborg P, et al: Genetic and epigenetic alterations of the blood group ABO gene in oral squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*, 109: 230—237, 2004.
- 23) Sano R, Nakajima T, Takahashi K, et al: Expression of ABO blood-group genes is dependent upon an erythroid cell-specific regulatory element that is deleted in persons with the B_m phenotype. *Blood*, 119: 5301—5310, 2012.
- 24) Nakajima T, Sano R, Takahashi Y, et al: Mutation of the GATA site in the erythroid cell-specific regulatory element of the ABO gene in a B_m subgroup individual. *Transfusion*, 53: 2917—2927, 2013.
- 25) Takahashi Y, Isa K, Sano R, et al: Deletion of the RUNX 1 binding site in the erythroid cell-specific regulatory element of the ABO gene in two individuals with the A_m phenotype. *Vox Sang*, 106: 167—175, 2014.
- 26) Sano R, Kuboya E, Nakajima T, et al: A 3.0-kb deletion including an erythroid cell-specific regulatory element in intron 1 of the ABO blood group gene in an individual with the B_m phenotype. *Vox Sang*, 108: 310—313, 2015.
- 27) Oda A, Isa K, Ogasawara K, et al: A novel mutation of the GATA site in the erythroid cell-specific regulatory element of the ABO gene in a blood donor with the A_mB phenotype. *Vox Sang*, 108: 425—427, 2015.
- 28) Tao C, Xiao J, Hu Y, et al: A novel B allele with c.28+5885 C>T substitution in the erythroid cell-specific regulatory element identified in an individual with phenotype B₃. *Transfusion*, 57: 1318—1319, 2017.
- 29) Ying Y, Hong X, Xu X, et al: A novel mutation+5904 C>T of RUNX1 site in the erythroid cell-specific regulatory element decreases the ABO antigen expression in Chinese population. *Vox Sang*, 113: 594—600, 2018.
- 30) Wu PC, Lin YH, Tsai LF, et al: ABO genotyping with next-generation sequencing to resolve heterogeneity in donors with serology discrepancies. *Transfusion*, 58: 2232—2242, 2018.
- 31) Fennell K, Keller MA, Villa MA, et al: Ochoa-Garay G. New ABO intron 1 variant alleles. *Immunohematology*, 37: 178—184, 2021.
- 32) Ogasawara K, Miyazaki T, Ito S, et al: The B allele with a 5.8 kb deletion in intron 1 of the ABO gene is the major allele in Japanese individuals with B_m and A₁B_m phenotypes. *Vox Sang*, 113: 393—396, 2018.
- 33) Kominato Y, Ogasawara K: Is B^m5.8 specific to the Japanese population? *Vox Sang*, 114: 185, 2019.
- 34) Nakajima T, Sano R, Takahashi Y, et al: ABO alleles are linked with haplotypes of an erythroid cell-specific regulatory element in intron 1 with a few exceptions attributable to genetic recombination. *Vox Sang*, 110: 90—92, 2016.
- 35) Gueuning M, Thun GA, Wittig M, et al: Haplotype sequence collection of ABO blood group alleles by long-read sequencing reveals putative A1-diagnostic variants. *Blood Adv*, 7: 878—892, 2023.
- 36) Sieff C, Bicknell D, Caine G, et al: Changes in cell surface antigen expression during hemopoietic differentiation. *Blood*, 60: 703—713, 1982.
- 37) Wada H, Suda T, Miura Y, et al: Expression of major blood group antigens on human erythroid cells in a two phase liquid culture systems. *Blood*, 75: 505—511, 1990.
- 38) Bony V, Gane P, Bailly P, et al: Time-course expression of polypeptides carrying blood group antigens during human erythroid differentiation. *Br J Haematol*, 107: 263—274, 1999.
- 39) Edvardsson L, Dykes J, Olsson ML, et al: Clonogenicity, gene expression and phenotype during neutrophil versus erythroid differentiation of cytokine-stimulated CD 34⁺ human marrow cells *in vitro*. *Br J Haematol*, 127: 451—463, 2004.
- 40) Sano R, Nogawa M, Nakajima T, et al: Blood group B gene is barely expressed in *in vitro* erythroid culture of B_m-derived CD 34⁺ cells without an erythroid cell-specific regulatory element. *Vox Sang*, 108: 302—309, 2015.
- 41) Kominato Y, Sano R, Takahashi Y, et al: Human ABO gene transcriptional regulation. *Transfusion*, 60: 860—869, 2020.
- 42) Hayakawa A, Sano R, Takahashi Y, et al: RUNX1 mutation in a patient with myelodysplastic syndrome and decreased erythrocyte expression of blood group A antigen. *Transfusion*, 60: 184—196, 2020.
- 43) Hayakawa A, Sano R, Takahashi Y, et al: Reduction of blood group A antigen on erythrocytes in a patient with myelodysplastic syndrome harboring somatic mutations in RUNX1 and GATA2. *Transfusion*, 62: 469—480, 2022.
- 44) Bianco-Miotto T, Hussey DJ, Day TK, et al: DNA methylation of the ABO promoter underlies loss of ABO allelic expression in a significant proportion of leukemic patients. *PLoS ONE*, 4: e4788, 2009.

- 45) Nakajima T, Miyazaki S, Yazawa S: ABH antigens in red blood cells and digestive organs of non-human primates (in Japanese). *Primate Res*, 5: 36—45, 1989.
- 46) Nakajima T, Furukawa K, Takenaka O: Blood group A and B glycosyltransferases in nonhuman primate plasma. *Exp Clin Immunogenet*, 10: 21—30, 1993.
- 47) Blancher A, Klein J, Socha WW: Molecular biology and evolution of blood group and MHC antigens in primates. Springer Science & Business Media, Berlin, Germany, 2012, 58—60.
- 48) Sano R, Fukuda H, Kubo R, et al: Emergence of an erythroid cell-specific regulatory region in *ABO* intron 1 attributable to A- or B-antigen expression on erythrocytes in Hominoidea. *Sci Rep*, 13: 4947, 2023.
- 49) Apoil PA, Roubinet F, Despiau S, et al: Evolution of alpha 2-fucosyltransferase genes in primates: relation between an intronic Alu-Y element and red cell expression of ABH antigens. *Mol Biol Evol*, 17: 337—351, 2000.
- 50) Sano R, Nakajima T, Takahashi Y, et al: Epithelial expression of human ABO blood-group genes is dependent upon a downstream regulatory element functioning through an epithelial cell-specific transcription factor, Elf5. *J Biol Chem*, 291: 22594—22606, 2016.
- 51) Sano R, Takahashi Y, Fukuda H, et al: A cell-specific regulatory region of the human ABO blood group gene regulates the neighborhood gene encoding odorant binding protein 2B. *Sci Rep*, 11: 7325, 2021.
- 52) Liunbruno GM, Franchini M: Beyond immunohaematology: the role of the ABO blood group in human diseases. *Blood Transfus*, 11: 491—499, 2013.
- 53) Yamamoto F, Cid E, Yamamoto M, et al: ABO research in the modern era of genomics. *Transfus Med Rev*, 26: 103—118, 2012.
- 54) Severe Covid-19 GWAS Group; Ellinghaus D, Degenhardt F, Bujanda L, et al: Genomewide Association Study of Severe Covid-19 with Respiratory Failure. *N Engl J Med*, 383: 1522—1534, 2020.
- 55) Takahashi Y, Kubo R, Sano R, et al: Histone deacetylase inhibitors suppress ABO transcription in vitro, leading to reduced expression of the antigens. *Transfusion*, 57: 554—562, 2017.
- 56) Takahashi Y, Hayakawa A, Sano R, et al: Histone deacetylase inhibitors suppress ACE2 and ABO simultaneously, suggesting a preventive potential against COVID-19. *Sci Rep*, 11: 3379, 2021.
- 57) ゲノムブラウザーホームページ.
https://www.genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTrackUi?hg_sid=889924671_r2ZG3NhgXAaypcXd4NTsBjeyBWdY&c=chrX&g=wgEncodeGisChiaPet (2023年4月現在).

ELUCIDATION OF TRANSCRIPTIONAL REGULATION OF ABO BLOOD GROUP GENE WITH MOLECULAR BASIS FOR ABO ASSOCIATING PHENOMENA INCLUDING WEAK PHENOTYPES

Yoshihiko Kominato¹⁾, Rie Sano¹⁾, Akira Hayakawa¹⁾, Yoichiro Takahashi²⁾ and Kenichi Ogasawara³⁾

¹⁾Department of Legal Medicine, Gunma University Graduate School of Medicine

²⁾Department of Legal Medicine, Institute of Medicine, University of Tsukuba

³⁾Japanese Red Cross Central Blood Institute

Keywords:

ABO blood group, transcriptional regulation, promoter, enhancer, weak phenotype