doi: 10.1038/mp.a000690.01.
5) Bito, H., Deisseroth, K., & Tsien, R.W.（1996）*Cell*, **87**, 1203–1214.
6) Lyford, G.L., Yamagata, K., Kaufmann, W.E., Barnes, C.A., Sanders, L.K., Copeland, N.G., Gilbert, D.J., Jenkins, N.A., Lanahan, A.A., & Worley, P.F.（1995）*Neuron*, **14**, 433–445.
7) Kawashima, T., Okuno, H., Nonaka, M., Adachi-Morishima, A., Kyo, N., Okamura, M., Takemoto-Kimura, S., Worley, P. F., & Bito, H.（2009）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 316–321.
8) Flavell, S.W. & Greenberg, M.E.（2008）*Annu. Rev. Neurosci.*, **31**, 563–590.
9) 津田正明，原 大智，安田 誠，福地 守，田渕明子（2006）生化学，**78**，998–1007.
10) Chowdhury, S., Shepherd, J.D., Okuno, H., Lyford, G., Petralia, R.S., Plath, N., Kuhl, D., Huganir, R.L., & Worley, P.F.（2006）*Neuron*, **52**, 445–459.
11) Plath, N., Ohana, O., Dammermann, B., Errington, M.L., Schmitz, D., Gross, C., Mao, X., Engelsberg, A., Mahlke, C., Welzl, H., Kobalz, U., Stawrakakis, A., Fernandez, E., Waltereit, R., Bick-Sander, A., Therstappen, E., Cooke, S.F., Blanquet, V., Wurst, W., Salmen, B., Bösl, M.R., Lipp, H.P., Grant, S.G., Bliss, T.V., Wolfer, D.P., & Kuhl, D.（2006）*Neuron*, **52**, 437–444.
12) Pintchovski, S.A, Peebles, C.L., Kim, H.J., Verdin, E., & Finkbeiner, S.（2009）*J. Neurosci.*, **29**, 1525–1537.
13) Kanai, Y., Dohmae, N., & Hirokawa, N.（2004）*Neuron*, **43**, 513–525.
14) Morris, R.G.（2006）*Eur. J. Neurosci.*, **23**, 2829–2846.
15) Okada, D., Ozawa, F., & Inokuchi, K.（2009）*Science*, **324**, 904–909.

奥野 浩行
（東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻
神経生化学分野）

Synapse-to-nucleus signaling and activity-dependent gene expression in neurons: mechanisms of synaptic activity-dependent regulation of the *Arc/Arg*3.1 gene
Hiroyuki Okuno（Department of Neurochemistry, University of Tokyo Graduate School of Medicine, 7–3–1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113–0033, Japan）

ヒト人工染色体ベクターの利点とその応用

はじめに

「外来遺伝子の発現を目的通りにコントロールした動物細胞を効率よく作製する」ために，これまで種々の遺伝子導入ベクターの開発が行われてきた．動物細胞へ遺伝子を導入する方法には大きく分けて，ウイルスベクターを用いる方法と，非ウイルスベクターを用いる方法がある．それらの遺伝子導入ベクターは，細胞に遺伝子を導入し，その機能を解析するためだけでなく，医薬品の生産や遺伝子治療のツールとしても用いられている．

汎用されているウイルスベクターとして，レトロウイルスベクターやレンチウイルスベクター，アデノウイルスベクターなどがあげられる．レトロウイルスベクターやレンチウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行う場合，ウイルスの感染効率が高いため，多くの細胞に遺伝子を導入できるうえ，染色体上に遺伝子が挿入されるため，遺伝子発現を持続的に行う細胞クローンを得ることが可能である．しかし，一方で，挿入された染色体部位による位置効果（サイレンシング）や挿入されるコピー数のため，導入した遺伝子の発現量はクローン間で大きく異なる．また，ベクターは宿主染色体に組込まれるため，宿主染色体上の遺伝子を破壊するなどの可能性がある[1,2]．アデノウイルスベクターは感染効率が非常に高いという利点がある一方で，細胞が分裂するたびに消失するため，遺伝子の発現は一過性であるという欠点がある[3]．センダイウイルスベクターは，染色体に組み込まれず，遺伝子発現を比較的長く維持できるため，高い遺伝子の発現能を示すうえ，一本鎖のマイナス鎖RNAよりなるベクターゲノムは細胞質に留まるため宿主染色体に挿入されず，挿入変異などの危険性を回避できるという利点があることから，遺伝子治療などへの利用が期待されている[4,5]．しかしながら，遺伝子の長期的な発現を可能にするためには，より一層の発現の持続や，ウイルスの反復投与が可能なベクターの構築が今後必要である．

このようなウイルスベクターに共通していえることは，導入できる遺伝子サイズが10kb以下と小さく，特にセンダイウイルスベクターは5kb程度と，ウイルスベクターの中でも特に小さい．よって，導入できる遺伝子サイズに制約があるため，大きなサイズの遺伝子を導入することは困難である．また，ヒトの遺伝子治療への利用に限れば，ウイルスベクターの免疫原性の問題や，遺伝子の挿入箇所によっては近傍のがん原遺伝子を活性化させる可能性も含んでいる．実際に，2003年にヒト重症免疫不全の遺伝子治療にウイルスベクターが使用されたが，ベクターの宿主染色体への挿入によるがん（白血病）の発生が報告されている[6]．

一方，非ウイルスベクターとしては，リポソームを用いた方法や，ヒト，動物，魚類の遺伝子構造の中に見られる

Sleeping Beautyと呼ばれるトランスポゾンを利用した方法がある．リポソームは，非感染のベクターであり，様々な種類の細胞に導入できるという利点はあるものの，導入遺伝子の発現は一過性である[7]．Sleeping Beautyトランスポゾンシステムは，プラスミドをそのまま導入でき，かつ長期的な遺伝子発現を可能にするという利点はあるが，挿入変異や染色体の構造変化などを誘発する危険性は避けられない[8,9]．

それでは，理想的な遺伝子導入ベクターとはどのような特徴を持ったベクターか？　著者らは，以下のような特徴を兼ね備えたものであると考える．

① 安全な遺伝子治療のために，宿主染色体上の遺伝子を破壊しない．
② エピジェネティクスといった影響により，導入遺伝子の過剰発現や発現消失が起きず，発現が変化しない．
③ 導入遺伝子の発現を目的通りにコントロールできる．

導入するDNAサイズに制限がなければ，遺伝子の発現を思いのままにコントロールすることが可能になる．例えば，内在性の遺伝子と同様の発現を外来遺伝子で再現しようとすれば，オルタネーティブプロモーター，エンハンサー，翻訳制御領域などを含んだ遺伝子領域全てを導入すればよい．あるいは過剰発現を目的とするのであれば，導入する遺伝子のコピー数を増幅させた巨大なベクターを導入すればよい．ただし，これらの場合，導入する遺伝子のサイズは極めて巨大になる．

これらの特徴を併せ持ったものの一つが染色体であるといえる．染色体とは，真核生物の長い歴史上，細胞内で遺伝子という情報を運搬し正確に伝えてきた，いわば天然の遺伝子の運び屋（ベクター）である．この運び屋の特性をそのまま用いて，目的の細胞に遺伝子を導入することができれば，遺伝子導入ベクターとして多くの利点を持った理想的なベクターになることが期待できる．

本稿では，ヒトの染色体を基本材料とし作製したヒト人工染色体（human artificial chromosome: HAC）ベクターの構築方法と遺伝子の搭載方法について述べるとともに，HACベクターの可能性を応用例を挙げながら紹介したい．

1.　HACベクターの構築

HACの構築方法には大別して，ボトムアップアプローチとトップダウンアプローチの二つがある．

ボトムアップアプローチを用いた*de novo* HACの構築は，1997年Harringtonらにより初めて報告された[10]．アルフォイドDNA（ヒト染色体のセントロメア領域に局在する反復配列）と選択マーカーなどを，プラスミド，酵母人工染色体（yeast artificial chromosome：YAC），大腸菌人工染色体（bacterial artificial chromosome：BAC），P1ファージ由来人工染色体（P1-derived artificial chromosome：PAC）にクローニングし，ヒトHT1080細胞に導入して構築する．

一方で，トップダウンアプローチでは，染色体改変技術を用いて，天然の染色体から不要な遺伝子を取り除いて短くし，テロメア・セントロメアと複製起点のみからなるミニ染色体を構築する．染色体の末端構造であるテロメア配列を染色体上に挿入するとその部位で染色体が切断され，染色体が短くなる．実際，この方法を用いて，ヒトX，Y染色体から短腕と長腕それぞれの大部分の配列を除去したミニ染色体が作製されている[11,12]．また，染色体を相同組換えが高頻度に起こるニワトリPre-B細胞株DT40に導入することで，部位特異的なテロメア配列の挿入や組換えが容易に可能となった．そこで，我々はこの方法を用いて，ヒトゲノムプロジェクトの初期に塩基配列が報告されていたヒト21番染色体をベースとして，染色体上の遺伝子を除去するため部位特異的切断により長腕及び短腕を削除し，アルフォイドDNAとセントロメア近傍の特異的配列から成るミニ染色体を構築した．さらに長腕側にはクローニングサイトであるloxP配列を導入した．我々はこうしてHACベクターの開発に成功した[13,14]（**図1**）．また，現在，loxPのような遺伝子導入部位を複数持ったHACベクターの構築も進めており，効率的に複数の遺伝子を搭載できるベクターであることを示せつつある（山口ら，未発表）．

2.　HACベクターへの遺伝子搭載法

HACベクターへの遺伝子搭載方法は環状インサート型と染色体転座型の二つのクローニング方法に分類される．

環状インサート型ではプラスミド，BAC，PAC，YACなどを利用できることから任意の遺伝子改変を施した後，HACベクター上へ環状インサートを搭載できる利点がある．BAC PACリソースセンター（http://bacpac.chori.org/）で開発されたPAC/BACライブラリーは，HACベクター上へのクローニングが可能なloxPとhCMVプロモーターが搭載されている．従って，目的遺伝子を保持するPAC/BACを改変することなく直接利用できる．実際にこの系が稼動するかを確認するために，ヒポキサンチンをイノシン酸に変換するプリン代謝系の酵素であるヒトHPRT遺伝子を含むPACクローンをHACベクター上に搭載して，HPRT欠損ヒト細胞へと導入し，HAT培地にて選択した．HAT培地中には，細胞のプリンとピリミジンヌクレオチ

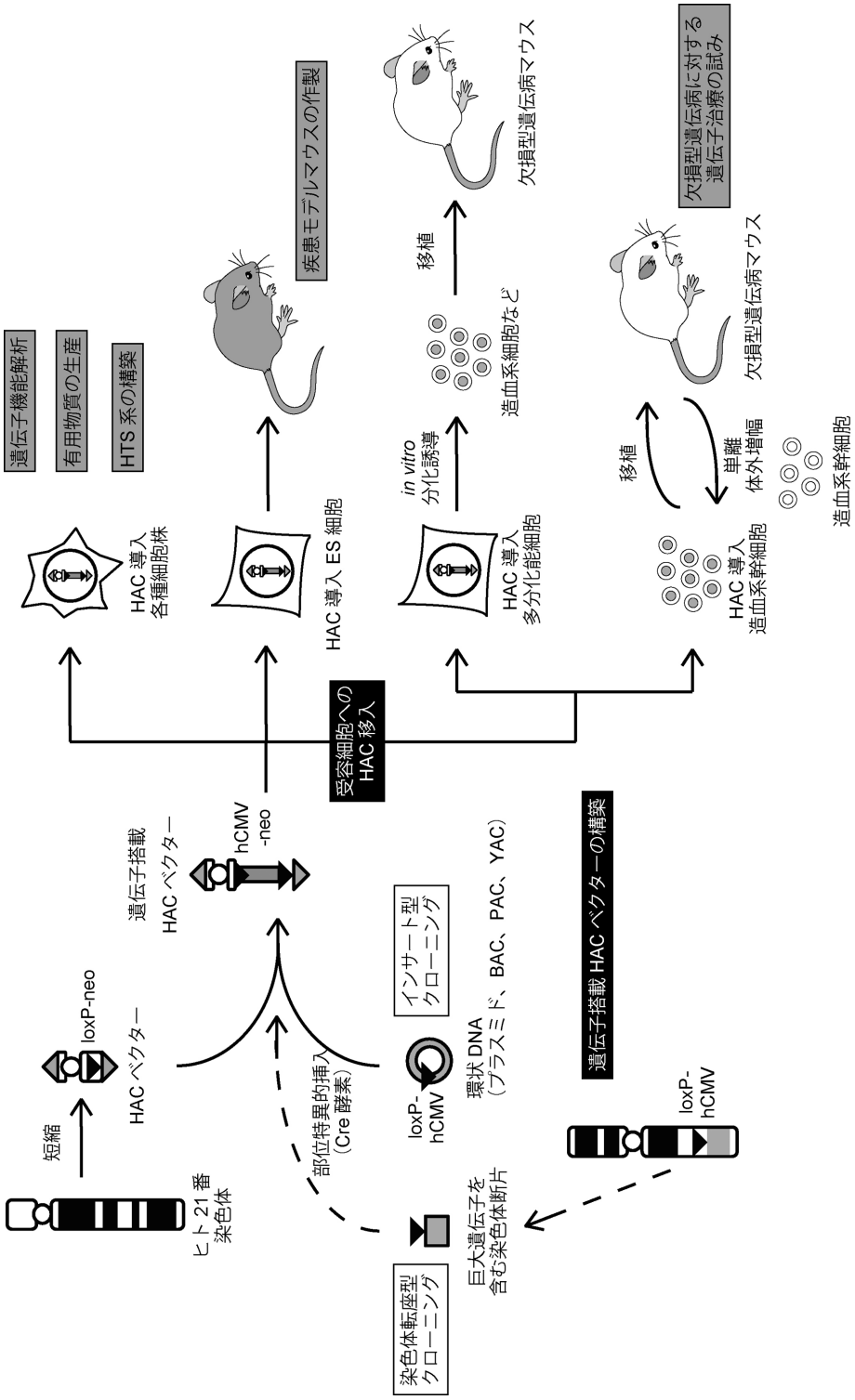

図1 HAC ベクターの構築と遺伝子搭載法および遺伝子搭載 HAC ベクターを用いた応用研究
ヒト 21 番染色体のセントロメアを残し，すべての遺伝子を取り除いた HAC ベクターに任意の遺伝子を搭載する．目的遺伝子を搭載した HAC ベクターを種々の細胞に導入し，遺伝子機能解析やモデルマウスの作製に利用する．また，HAC ベクターに治療遺伝子を搭載し，実験動物での有用性を検証することによって，ヒトでの安全な遺伝子・再生医療への応用を目指している．

ド合成経路を阻害するアミノプテリンが含まれているため，HPRT遺伝子が欠損した細胞は生存できない．ヒトHPRT遺伝子を搭載したHACベクターが導入されたHPRT欠損ヒト細胞ではHAT耐性を獲得したことから，PACクローンをHACベクター上に搭載する系が機能することを確認した[15]．

一方，染色体転座型クローニング法はMb単位の巨大な染色体領域でもクローニングできるものの，ヒト染色体を保持するトリDT40ライブラリーが必須であること，環状インサート型よりも操作のステップが多いこと，変異導入が容易でないことなどが問題点である．現在のところ，2.4 MbのヒトDMD遺伝子および700kbCYP3Aクラスターの HACベクターへのクローニングに成功しており，DMD-HACまたはCYP3A-HACを導入したマウスにおいて機能的に発現することが確認されている[16]（詳細は，“HACベクターの応用”の項に記載）．

以上のように，上述したHACベクター上への二つのクローニング法のいずれかを用いれば，目的とする遺伝子を導入したHACベクターが作製できる．

3. HACベクターの応用

これまでに我々はHACベクターを用いた機能解析として，**表1**に示すような成果を出してきた．

HACベクターの利点を用いれば，患者の染色体上の遺伝子を破壊することなく治療遺伝子を導入することもできる．それに加え，導入された遺伝子の発現は長期的に持続される．このような利点を活かし，欠損型遺伝子治療へ向けた試みを行っている．HACベクターを用いた遺伝子・細胞治療モデルは，従来のベクター系では治療できなかった筋ジストロフィーや糖尿病のヒトへの治療的試みへ応用可能である（**図2**）．

デュシャンヌ型筋ジストロフィー（DMD）はヒトX染色体上に存在するDMD遺伝子の機能欠損により引き起こされる進行性筋委縮症である．DMD遺伝子は全長2.4 Mbにも及ぶことからDMDの完全な遺伝子治療は不可能であった．

そこで，HACベクターにDMD遺伝子を搭載したDMD-HACを構築し，DMD-HACを持つキメラマウスを作製した．このマウスを用いて各種組織においてDMD遺伝子の組織特異的スプライシングバリアントがヒトと同様に発現しているかをRT-PCR法を用いて解析したところ，脳特異的アイソフォームは脳特異的に，筋肉特異的なアイソフォームは筋肉特異的に発現が観察された．このことから，HACベクターは，搭載した遺伝子・ゲノムの機能的

表1 HACベクターを用いた機能解析

HACベクターに搭載した遺伝子	受容細胞	機能解析	文献
CMV-GFP	CHO細胞，HT1080細胞	100PDL長期培養後もGFPは安定に発現する	13
オステオポンチンプロモーター＋GFP	ヒト間葉系幹細胞（hiMSC）	骨分化誘導細胞において組織特異的な発現を呈する	17
テトラサイクリン誘導性DNA-PKcs	DNA-PKcs欠損CHO細胞	DNA-PKcsの欠損株の表現型をテトラサイクリン誘導により修復する	18
温度感受性プロモーター＋インスリン	HT1080細胞	温度依存的にプロインスリンを発現する	19
エリスロポエチン（EPO）	ヒト正常線維芽細胞	少なくとも12週間増殖し，EPO発現が安定して持続する	20
gp130キメラ受容体	ヒト血液細胞 マウスハイブリドーマ	人工リガンドの投与により細胞を増殖させる	21，22
hTERT	ヒト正常線維芽細胞	細胞の寿命を延長させる	23
ヒトp53（PAC由来ゲノム）	p53欠損マウスmGS細胞	放射線感受性耐性および分化能を修復する	15
ヒトHPRT（PAC由来ゲノム）	HPRT欠損HeLa，CHO細胞	HAT耐性を獲得する	15
マウスCD40L（BAC由来ゲノム）	Jurkat細胞	共培養によりCD40L欠損マウスのB細胞からIgGの分泌を誘導する	24
ヒトATM（染色体由来ゲノム全長）	ATBIVA細胞	AT患者由来細胞株の放射線感受性を修復する	香月ら未発表
HSV-TK	HT1080細胞	*in vivo* および *in vitro* においてガンシクロビル投与によりHAC導入細胞を死滅させる	香月ら未発表
ヒトFⅧ	CHO細胞	コピー数依存的にFⅧが発現する	黒崎ら未発表
ヒトDMD（染色体由来ゲノム全長）	マウスES細胞	種々のスプライシングアイソフォームが組織特異的に発現する	16
CMV-Fucci	CHO細胞	細胞周期依存的に蛍光を観察できる	山口ら未発表

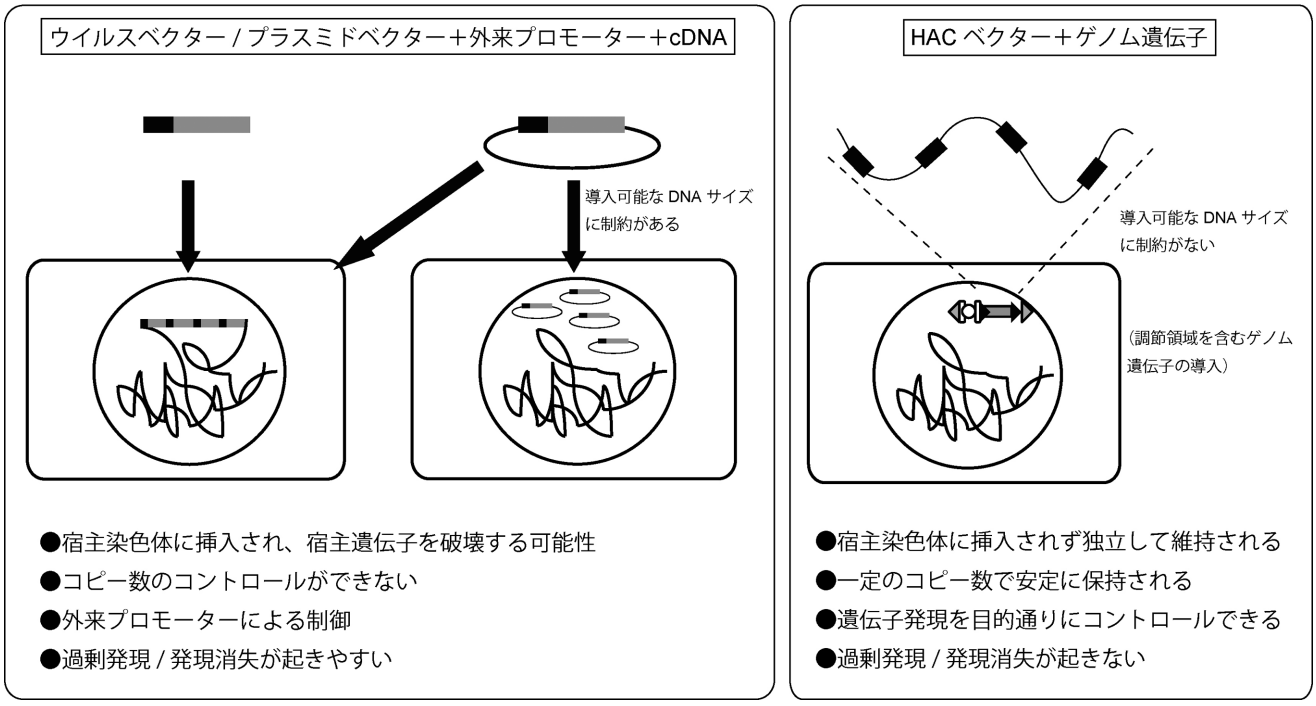

図2 HAC ベクターの利点（従来法との比較）

な発現制御を可能にすることが示唆された[16]．また，細胞治療への利用が期待されるヒト間葉系幹細胞へ，骨のマーカー遺伝子であるオステオポンチンのプロモーター制御下に GFP 遺伝子をつないだコンストラクトを搭載した HAC ベクターを導入し，分化誘導したところ，骨に分化した場合にのみ GFP 遺伝子の発現が見られた．このことから，ヒト間葉系幹細胞においても組織特異的な発現を呈することが示唆された[17]．

その他の巨大遺伝子原因疾患である毛細血管拡張性運動失調症（Ataxia-Telangiectasia：AT）や，DNA 依存性プロテインキナーゼ触媒サブユニット（DNA-dependent protein kinase catalytic subunit：DNA-PKcs）の変異，ホルモン欠乏性疾患，インスリン依存型糖尿病（Insulin-dependent diabetes mellitus：IDDM）に対する遺伝子治療の試みも行っており，様々な疾患への応用が期待できる[18～20]．

一方で，ヒト細胞を用いた細胞治療を行う際の最大の問題点は細胞数の確保である．そこで我々は，生体に存在しない，人工リガンド・レセプターシステムで人為的に細胞の増殖調節を行えるかを検証した．人工リガンドとして天然に存在しないフルオレインダイマー（FL-dimer）を準備し，FL-dimer 特異的に結合するエレメントと細胞内にシグナル伝達するエレメントの融合遺伝子を搭載した HAC ベクターをヒト造血細胞に導入し，人工リガンド依存的な細胞増殖を検討した．その結果，HAC ベクターが導入された細胞では，FL-dimer による細胞増殖の促進が確認され，正常ヒト造血細胞において人工リガンドによる増殖調節の可能性を示した[21,22]．その他に，テロメア伸張酵素である hTERT 遺伝子を搭載した HAC ベクターを正常細胞に導入することで，細胞の寿命が延長するかを検証したところ，少なくとも 120 日間増殖を停止せず，細胞の分裂寿命が延長することを確かめた[23]．今後はこれらの技術を，欠損遺伝子を搭載した HAC ベクターと併用することにより，遺伝子再生医療へ利用したいと考えている．

また，遺伝子改変マウスの作製に HAC ベクターを用いている．これにより，*in vivo* でのヒト遺伝子の機能解析と巨大なヒト遺伝子を保持する「ヒト型」モデル動物の作製が可能となった．以下に，ヒト CYP3A クラスターを保持するマウスの作製を例に挙げる．

薬物代謝酵素シトクロム P450（CYP）は肝や小腸で薬を分解することにより，薬の効果や安全性に重要な役割を果たす．特に，CYP3A は臨床で使用されている約半分の薬を分解する最も重要な薬物代謝酵素である．このため，薬の飲み合わせにより，CYP3A の働きが変化すると重篤な薬物相互作用を起こすことがある．しかし，CYP3A の

特性は動物とヒトで異なるため，ヒトにおける薬物相互作用を動物実験から予測するには限界がある．そこで，最近，我々はHACベクターを用いてヒトCYP3A遺伝子クラスターを導入した「CYP3Aヒト化マウス」の作製に成功した．このCYP3A-HACマウスでは肝臓と小腸特異的に発現が再現され，また成体期特異的なCYP3A4は成体期に，胎仔期特異的なCYP3A7は胎仔期特異的に発現した．上記CYP3A-HACはヒト正常繊維芽細胞由来のヒト7番染色体であるが，いったんマウスES細胞に導入して，マウスを作製することで，CYP3A-HAC上の遺伝子はエピジェネティックに初期化され，各種細胞に分化すると，それぞれの組織特異的な遺伝子発現を呈したといえる．次にこのマウスがヒトにおける薬物相互作用を再現できるか否かについて検討した結果，CYP3Aを介する薬物代謝に対するCYP3A阻害薬の影響は「CYP3Aヒト化マウス」と「ヒト」で良く一致することが明らかとなった．このことより，「新規ヒト型CYP3Aクラスター導入マウス」はCYP3A遺伝子の遺伝子発現制御を解析するモデルやCYP3Aの阻害に関する薬物相互作用を予測する有用なモデルとなる可能性が考えられた（香月ら，未発表）．

その他の応用として，化合物のハイスループットスクリーニング（HTS）系や医薬品などの有用物質の生産系への応用を現在検討しており，今後はHACベクターの多岐にわたる分野での利用が期待できる．

4. HACベクターの課題

現時点で，HACベクターの構造を損なわずに受容細胞に移入する方法は，微小核細胞融合法（microcell-mediated chromosome transfer：MMCT）である．MMCTとは，細胞をコルセミドで長時間処理し，細胞内に1個から複数個の染色体を含む微小核を形成させて，サイトカラシンBの脱核作用により微小核を回収した後に，目的の細胞との細胞融合により特定の染色体を含む細胞を取得する技術である．

しかしながら，HACベクターが移入された細胞を得られる効率は1×10^5個の細胞あたり，1細胞程度と低い．分裂限界を持たないES細胞や株化された細胞株ではMMCTによるHACベクターの移入効率は問題にならない．しかし，一方でHACベクターを遺伝子治療に適用するとなると，患者からの細胞採取，体外増幅，HACベクターの移入，自家移植という手順からなるいわゆる*ex vivo*遺伝子細胞治療が現実的であるが，これを実現するにはMMCTの効率化を図ることが大きな課題となる．

これまでMMCTにはポリエチレングリコール（PEG）が汎用されてきたが，ヒト造血細胞へのHAC移入は実験レベルでは可能なものの実用レベルには至っていない[24]．また，近年不活化したHVJエンベロープ（HVJ-E）にプラスミドを封入し，受容細胞に導入する試薬が開発された．このHVJ-Eは，プラスミド導入の副作用として受容細胞同士の融合を起こすとの報告があることから，微小核細胞の融合剤としての効果を検討した．しかし，多分化能を持つ間葉系幹細胞（MSC）株を用いた結果では，融合効率はPEGと比較して数倍高まった程度で顕著な効果は見られなかった[25]．今後はさらに効率が高まる新規の細胞融合法の開発が望まれる．

お わ り に

これまで述べたようにHACベクターと染色体導入技術を用いることで，これまでのベクターでは樹立困難であった細胞の構築が可能になってきた．それに加え，子孫伝達可能なHACベクターの開発により望みの遺伝子をモデル動物に導入できる．また，*in vivo*や少数の幹細胞への遺伝子治療においては導入効率の改善が重要課題ではあるが，現在のウイルスベクターに代わる安全性の高い遺伝子導入ベクターとして遺伝子・再生医療，テーラーメイド医療に貢献できると考える．我々は「病気を治す」，「薬（タンパク質医薬）を作る」，「生命現象をモニターする」といった様々な指示を書き込んだ遺伝子を搭載させたHACベクターの開発に取り組んでいる．今後，HACベクターは，遺伝子機能解析といった基礎研究とともに，遺伝子改変動物作製や遺伝子治療といった領域でも有用なツールとなることが期待できる．

1）Klug, C.A., Cheshier, S., & Weissman, I.L.（2000）*Blood*, **96**, 894–901.
2）Escors, D. & Breckpot, K.（2010）*Arch. Immunol. Ther. Exp.*, **58**, 107–119.
3）Russell, W.C.（2000）*J. Gen. Virol.*, **81**, 2573–2604.
4）Bitzer, M., Armeanu, S., Lauer, U.M., & Neubert, W.J.（2003）*J. Gene Med.*, **5**, 543–553.
5）Sasaki, K., Inoue, M., Shibata, H., Ueda, Y., Muramatsu, S.I., Okada, T., Hasegawa, M., Ozawa, K., & Hanazono, Y.（2005）*Gene Ther.*, **12**, 203–210.
6）Hacein-Bey-Abina, S., Von Kalle, C., Schmidt, M., McCormack, M.P., Wulffraat, N., Leboulch, P., Lim, A., Osborne, C. S., Pawliuk, R., Morillon, E., Sorensen, R., Forster, A., Fraser, P., Cohen, J.I., de Saint Basile, G., Alexander, I., Wintergerst, U., Frebourg, T., Aurias, A., Stoppa-Lyonnet, D., Romana, S., Radford-Weiss, I., Gross, F., Valensi, F., Delabesse, E., Macintyre, E., Sigaux, F., Soulier, J., Leiva, L.E., Wissler, M., Prinz,

C., Rabbitts, T.H., Le Deist, F., Fischer, A., & Cavazzana-Calvo, M.（2003）*Science*, **302**, 415–419.
7）Montier, T., Benvegnu, T., Jaffres, P.A., Yaouanc, J.J., & Lehn, P.（2008）*Curr. Gene Ther.*, **8**, 296–312.
8）Belur, L.R., Frandsen, J.L., Dupuy, A.J., Ingbar, D.H., Largaespada, D.A., Hackett, P.B., & McIvor, R.S.（2003）*Mol. Ther.*, **8**, 501–507.
9）Geurts, A.M., Yang, Y., Clark, K.J., Liu, G., Cui, Z., Dupuy, A.J., Bell, J.B., Largaespada, D.A., & Hackett, P.B.（2003）*Mol. Ther.*, **8**, 108–117.
10）Harrington, J.J., Van Bokkelen, G., Mays, R.W., Gustashaw, K., & Willard, H.F.（1997）*Nat. Genet.*, **15**, 345–355.
11）Mills, W., Critcher, R., Lee, C., & Farr, C.J.（1999）*Hum. Mol. Genet.*, **8**, 751–761.
12）Yang, J.W., Pendon, C., Yang, J., Haywood, N., Chand, A., & Brown, W.R.（2000）*Hum. Mol. Genet.*, **9**, 1891–1902.
13）Katoh, M., Ayabe, F., Norikane, S., Okada, T., Masumoto, H., Horike, S., Shirayoshi, Y., & Oshimura, M.（2004）*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **321**, 280–290.
14）Oshimura, M. & Katoh, M.（2008）*Reprod. Biomed. Online*, **16**, 57–69.
15）Kazuki, Y., Hoshiya, H., Kai, Y., Abe, S., Takiguchi, M., Osaki, M., Kawazoe, S., Katoh, M., Kanatsu-Shinohara, M., Inoue, K., Kajitani, N., Yoshino, T., Shirayoshi, Y., Ogura, A., Shinohara, T., Barrett, J.C., & Oshimura, M.（2008）*Gene Ther.*, **15**, 617–624.
16）Hoshiya, H., Kazuki, Y., Abe, S., Takiguchi, M., Kajitani, N., Watanabe, Y., Yoshino, T., Shirayoshi, Y., Higaki, K., Messina, G., Cossu, G., & Oshimura, M.（2009）*Mol. Ther.*, **17**, 309–317.
17）Ren, X., Tahimic, C.G., Katoh, M., Kurimasa, A., Inoue, T., & Oshimura, M.（2006）*Stem Cell Rev.*, **2**, 43–50.
18）Otsuki, A., Tahimic, C.G., Tomimatsu, N., Katoh, M., Chen, D.J., Kurimasa, A., & Oshimura, M.（2005）*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **329**, 1018–1025.
19）Suda, T., Katoh, M., Hiratsuka, M., Takiguchi, M., Kazuki, Y., Inoue, T., & Oshimura, M.（2006）*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **340**, 1053–1061.
20）Kakeda, M., Hiratsuka, M., Nagata, K., Kuroiwa, Y., Kakitani, M., Katoh, M., Oshimura, M., & Tomizuka, K.（2005）*Gene. Ther.*, **12**, 852–856.
21）Yamada, H., Kunisato, A., Kawahara, M., Tahimic, C.G., Ren, X., Ueda, H., Nagamune, T., Katoh, M., Inoue, T., Nishikawa, M., & Oshimura, M.（2006）*J. Hum. Genet.*, **51**, 147–150.
22）Kawahara, M., Inoue, T., Ren, X., Sogo, T., Yamada, H., Katoh, M., Ueda, H., Oshimura, M., & Nagamune, T.（2007）*Biochim. Biophys. Acta*, **1770**, 206–212.
23）Shitara, S., Kakeda, M., Nagata, K., Hiratsuka, M., Sano, A., Osawa, K., Okazaki, A., Katoh, M., Kazuki, Y., Oshimura, M., & Tomizuka, K.（2008）*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **369**, 807–811.
24）Yamada, H., Li, Y.C., Nishikawa, M., Oshimura, M., & Inoue, T.（2008）*J. Hum. Genet.*, **53**, 447–453.
25）Yamaguchi, S., Ren, X., Katoh, M., Miyata, K., Fukushima, H., Inoue, T., & Oshimura, M.（2006）*Chromosome Science*, **9**, 65–73.

山口 繁幸[1,2]，大林 徹也[2]，
香月 康宏[1]，押村 光雄[1]
（[1]鳥取大学大学院医学系研究科
機能再生医科学専攻生体機能医工学講座，
[2]鳥取大学生命機能研究支援センター動物資源開発分野）

Advantages and applications of human artificial chromosome vector

Shigeyuki Yamaguchi[1,2], Tetsuya Ohbayashi[2], Yasuhiro Kazuki[1], and Mitsuo Oshimura[1]（[1]Department of Biomedical Science, Institute of Regenerative Medicine and Biofunction, Graduate School of Medical Science, Tottori University, 86 Nishi-cho, Yonago, Tottori 683–8503, Japan; [2]Divisions of Laboratory Animal Science, Research Center for Bioscience and Technology, Tottori University, 86 Nishi-cho, Yonago, Tottori 683–8503, Japan）

HDL産生トランスポーターABCA1の肝での二重転写制御機構

1. はじめに

食物由来や肝臓で合成されるコレステロールは，低密度リポタンパク（LDL）の形で末梢組織に供給される．しかし末梢細胞はコレステロールを分解するシステムを持たないため過剰のコレステロールは蓄積し，血管壁のマクロファージでは泡沫化して動脈硬化の引き金となる．高密度リポタンパク（HDL）は細胞表面からコレステロールを引き出して肝に運ぶ役割を持つ．肝ではコレステロールは胆汁酸に転換され，胆汁を経て体外に排出される．このようにHDLを使って行われる末梢から肝臓へのコレステロール輸送は「コレステロール逆転送系」と呼ばれ，体内のコレステロールホメオスタシス維持に重要な役割を担っている（**図1**）[1]．コレステロール逆転送が低下する低HDL血症では動脈硬化性疾患のリスクが上昇し，逆にHDL値が高いとリスクが低下することから，HDLは善玉コレステロールと呼ばれている．

HDLの形成には細胞膜に存在するABCトランスポーターA1（ABCA1）が決定的な役割を持ち，遺伝子異常はHDL欠損症の原因となる[1]．ABCA1は12回膜貫通型のタンパク質であり，ATPのエネルギーを利用して細胞内からリン脂質とコレステロールを輸送し，細胞外ドメインに結合するアポリポプロティンA-I（アポA-I）とHDL粒子