

## 論文内容の要旨

氏名	水町 邦義
Hybrid human-porcine factor VIII proteins partially escape the inhibitory effects of anti-factor VIII inhibitor alloantibodies having A2 or C2 domain specificity.  (和訳) ブタ第VIII因子相同配列に組み換えたヒト-ブタハイブリッド第VIII因子はA2およびC2ドメイン特異的なインヒビターの阻害作用を部分的に回避する	

### 論文内容の要旨

#### 【背景】

血友病 A(HA) の治療において、第 VIII 因子(FVIII) に対する同種抗体(インヒビター) の出現は既存の凝固因子の補充療法を極めて不安定かつ困難にさせる。porcine (p)FVIII は human (h)FVIII と構造が類似し同様の凝固活性を示すが、hFVIII に対するインヒビターとの交差反応が少ないことが知られている。hFVIII に対するインヒビターの認識部位は同蛋白の A2 および C2 ドメインで頻度が高く、hFVIII の A2・C2 ドメインを pFVIII の相同配列に組み替えた hybrid FVIII は凝固活性を維持しつつ、インヒビターによる FVIII 不活化を回避できる可能性がある。

#### 【方法・結果】

hFVIII の A2 ドメイン単独、C2 ドメイン単独、その両方をそれぞれ pFVIII の相同配列へ組み替えた 3 種の hybrid human-porcine FVIII 蛋白 (hpA2、hpC2、hpA2C2) を作成し、BHK 細胞で発現・精製した。

当科通院中のインヒビター保有 HA 患者のうち、主として A2 ドメインを認識する患者 2 名、A2・C2 ドメインを共認識する患者 2 名の血漿から IgG を精製し、それぞれ市販 FVIII 欠乏血漿へ添加して約 5 BU/mL に調整した。これらの血漿に hFVIII または各 hpFVIII のいずれかを添加し、FVIII 活性の経時的測定およびトロンビン生成試験(TGA)で凝固能を評価した。A2 認識インヒビターを添加した血漿において、hFVIII および hpC2 は添加 20 分後には FVIII 活性は初期値の 5%未満となり、TGA のトロンビンピーク値(Peak)とトロンビン総生成量(ETP)は FVIII 欠乏血漿と同等まで低下した。一方、hpA2 および hpA2C2 では添加 30 分後でも初期値の 50-100%の残存活性が認められ、TGA でも Peak と ETP が低下せず凝固能が維持されていることが示された。また、A2・C2 ドメインを共認識するインヒビターを用いた同様の実験では、hpA2C2 のみが凝固能を維持していた。

次に、全血の凝固反応に伴う粘弾性の経時的変化を測定する rotational thromboelastometry (ROTEM) を用いて検討を行った。ROTEM では反応開始から凝固開始までの時間 (CT; clot time) をパラメータとして用いた。インヒビター非保有 HA 患者の全血に対し、A2・C2 ドメインを共認識するインヒビター-IgG を添加したのち、hFVIII または各 hpFVIII のいずれかを添加して ROTEM を行った。hFVIII を添加した場合に比べ、各 hpFVIII を添加した全血ではいずれも有意な CT の短縮が認められ、3 つの hpFVIII 蛋白のなかでは hpA2C2 を添加した場合に最も CT が短縮していた。

#### 【結語】

A2 および/または C2 ドメインが主要認識部位であるインヒビターを保有する HA 患者において、同ドメインを pFVIII の相同配列に組み替えた hybrid FVIII はインヒビターの阻害作用を回避でき、止血治療に有効である可能性がある。