

## Abstract

新規のエピトープタグ付きヒト第 VIII 因子をコード化している  
アデノウイルスベクターの *in vivo* での評価*In vivo* evaluation of a novel epitope-tagged human factor VIII-encoding adenoviral vector

S. Roy, P. S. Shirley, S. Connelly, J. L. Andrews, D. B. Kayda, J. M. Gardner and M. Kaleko

血友病 A は凝固第 VIII 因子 (FVIII) の欠乏により生じる疾患で、遺伝子治療の格好のターゲットとなる。B ドメイン欠損型 (BDD) ヒト FVIII cDNA をコード化しているアデノウイルスベクターは、高濃度ヒト FVIII の発現に関与し、血友病マウスや血友病イヌの出血異常を改善することがこれまでに示されている。ヒト以外の霊長類モデルによるベクター評価は、臨床に先立ち重要な情報をもたらしてくれると思われるが、これらのモデルは未だ完成に至っておらず、ヒト FVIII とサル FVIII を区別するアッセイも未だ開発されていない。そこで我々は、ヒト以外の霊長類でのベクター評価を可能にするための最初のステップとして、BDD 蛋白の C 末端に 16 アミノ酸を付加することにより、エピトープを付加させた

FVIII 分子を構築した (BDD-E)。このベクターを正常マウスに投与したところ、治療濃度の BDD-E FVIII が 20 週間以上にわたり発現した。また、血友病マウスへの治療を通して、BDD-E 蛋白は *in vivo* で生物学的活性をもつことが判明した。さらに、ヒト以外の霊長類の FVIII と BDD-E 蛋白を区別するため、高感度の免疫沈降・ウエスタンアッセイを開発した。この手法により、エピトープを結合したヒト FVIII 1 ng/ml を、サル血漿存在下で繰り返し検出した。これらのデータは、エピトープタグを付加しても FVIII の機能や免疫原性には影響がないことを示しており、BDD-E ベクターがヒト以外の霊長類の研究において効果的な試薬になることを示唆している。