

201421020A

厚生労働科学研究費補助金
エイズ対策研究事業（エイズ対策実用化研究事業）

課題番号 H25-エイズ-一般-007

T細胞誘導を主とする
予防エイズワクチン開発に関する研究

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 俣野 哲朗

平成27（2015）年 3月

厚生労働科学研究費補助金
エイズ対策研究事業（エイズ対策実用化研究事業）

課題番号 H25-エイズ-一般-007

T細胞誘導を主とする
予防エイズワクチン開発に関する研究

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 俣野 哲朗

平成27（2015）年 3月

研究組織

研究者氏名		所属	職名
俣野 哲朗	研究代表者	国立感染症研究所 エイズ研究センター	センター長
木村 彰方	研究分担者	東京医科歯科大学 難治疾患研究所	教授
立川 愛	研究分担者	東京大学医科学研究所 国立感染症研究所 エイズ研究センター	准教授 室長
村越 勇人	研究分担者	熊本大学エイズ学研究センター	産学連携研究員
松岡 佐織	研究分担者	国立感染症研究所 エイズ研究センター	主任研究官
寺原 和孝	研究分担者	国立感染症研究所免疫部	主任研究官

目 次

I. 総括研究報告書

- T 細胞誘導を主とする予防エイズワクチン開発に関する研究 1
研究代表者：俣野哲朗（国立感染症研究所エイズ研究センター長）

II. 分担研究報告書

1. サルエイズモデルにおける最適化抗原発現ベクターワクチン効果に . . . 9
関する研究
研究代表者：俣野哲朗（国立感染症研究所エイズ研究センター長）
2. ヒト HLA およびサル MHC を中心としたゲノム多様性と免疫応答に . . . 15
関する研究
研究分担者：木村彰方（東京医科歯科大学難治疾患研究所・教授）
3. 各種 HLA クラス I 拘束性 CTL エピトープ候補の網羅的解析 21
研究分担者：立川愛（東京大学医科学研究所・准教授）
（国立感染症研究所エイズ研究センター・室長）
4. universal HLA クラス I 拘束性 CTL 反応と関連変異に関する研究 . . . 27
研究分担者：村越勇人（熊本大学エイズ学研究中心・産学連携研究員）
5. T 細胞誘導エイズワクチン臨床試験に向けた最適化抗原設計に関する . . . 31
研究
研究分担者：松岡佐織（国立感染症研究所エイズ研究センター・主任研究官）
6. 経鼻センダイウイルスベクターワクチンの粘膜免疫誘導に関する研究 . . 35
研究分担者：寺原和孝（国立感染症研究所免疫部・主任研究官）

- III. 研究成果の刊行に関する一覧表 39

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
総括研究報告書

T細胞誘導を主とする予防エイズワクチン開発に関する研究

研究代表者 俣野 哲朗 国立感染症研究所エイズ研究センター長

研究要旨

アフリカを中心とする世界の HIV 感染拡大の抑制は国際的最重要課題の一つであり、本邦の HIV 感染症制圧のためにも必要である。感染者の早期診断・治療推進に加え、切り札となるワクチンの開発が切望されている。我々はこれまで優れた細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 誘導能を有するセンダイウイルス (SeV) ベクターを用いたワクチン開発研究を進めてきた。平成 25 年にはこのワクチンの国際共同臨床試験第 1 相がルワンダ等で開始され、次の有効性評価段階 (第 1-2 相) への進展に向けて発現抗原の最適化が求められている。本研究は、この T 細胞誘導エイズワクチンの実用化に向け、HIV 持続感染阻止に結びつくよう最適化した抗原発現系を設計することを目的とする。これまでの我々の研究で、Gag 蛋白および Vif 蛋白が有効な CTL の標的抗原候補であることが示されたことから、Gag・Vif 蛋白内標的領域断片を繋いだ最適化抗原を設計する計画である。サル免疫不全ウイルス (SIV) 感染サルエイズモデルで抗原設計の合理性を検証する目的で、SIV Gag・Vif 断片連結抗原を設計し、マウスで免疫原性を確認後、断片連結抗原発現 SeV ベクター構築を開始した。平成 27 年度には、この断片連結抗原発現 SeV ベクターワクチンの有効性をサルエイズモデルで評価する計画である。また、サル実験で経鼻 SeV ベクターワクチンの腸管粘膜 T 細胞反応誘導能を確認した。一方、臨床試験対象地域の最適化抗原設計のための基盤情報となる主要 HLA 遺伝子型と流行 HIV 株のゲノム塩基配列・CTL エピトープの情報の収集を継続した。

研究分担者

木村彰方 東京医科歯科大学難治疾患研究所・教授
立川 愛 東京大学医科学研究所・准教授
国立感染症研究所エイズ研究センター・室長
村越勇人 熊本大学エイズ学研究センター・産学連携研究員
松岡佐織 国立感染症研究所エイズ研究センター・主任研究官
寺原和孝 国立感染症研究所免疫部・主任研究官

年 2 百万人以上の新たな感染が発生している。本邦では平成 25 年の年間新規報告件数が過去最高であった。アフリカを中心とする世界の HIV 感染拡大を抑制することは国際的最重要課題の一つであり、本邦の感染拡大抑制のためにも必要である。そのためには、感染者の早期診断・治療の推進に加え、切り札となるワクチンの開発が切望されている。我々はこれまで、優れた細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 誘導能を有するセンダイウイルス (SeV) ベクターを用いた予防エイズワクチン開発研究を推進し、ワクチンによる Gag 抗原特異的 CTL 誘導が持続感染阻止に結びつく可能性をサルエイズモデルで明らかにしてきた。平成 25 年には、この T 細

A. 研究目的

世界の HIV 感染者数は 3 千万人を超え、毎

胞誘導ワクチンの国際共同臨床試験第1相が国際エイズワクチン推進構想 (IAVI) 主動でルアンダ、ケニア、英国にて開始され、次の有効性評価のステップ (第1-2相) への進展には、発現する抗原の最適化が求められている。そこで本研究では、このT細胞誘導ワクチンの実用化に向け、HIV持続感染阻止に結びつくよう最適化した抗原発現系設計を目指すこととした。

これまでの我々の研究で、Gag 蛋白およびVif蛋白が有効なCTLの標的抗原候補であることが示されたことから、Gag・Vif 抗原を断片化し繋いだ最適化抗原を設計する計画で、以下の2点を推進することとした。

(1) サル免疫不全ウイルス (SIV) 感染サルエイズモデルでの抗原設計の合理性の検証：有効性の検討には、SIV慢性持続感染サルエイズモデルでの評価が必要であることから、SIV Gag・Vif断片連結抗原発現SeVベクターワクチンを作製し、サルエイズモデルにおいてその有効性を評価することとした。

(2) 臨床試験用最適化抗原設計のための基盤情報の収集：世界各地域で主要HLA遺伝子型および流行HIV株が異なることから、臨床試験対象候補地域での最適化抗原設計のための基盤情報として必要となる主要HLA遺伝子型と流行HIV株のゲノム塩基配列・CTLエピトープの情報を収集することとした。

平成26年度には主に以下の解析を推進した。

(1-1) SIV Gag・Vif断片連結抗原を構築し、その免疫原性の確認を行った。

(1-2) HIV防御免疫として腸管粘膜免疫反応が重要視されていることをふまえ、SeVベクター経鼻接種の腸管粘膜T細胞反応誘導能をサルモデルで検討した。

(2-1) 世界各地域で比較的高頻度に見られるユニバーサルHLAアレル関連HIVゲノム変異の同定を進めた。

(2-2) ガーナHIV感染者のHLA遺伝子型同定およびHIVゲノム塩基配列解析を継続した。

(2-3) HIV感受性に影響をおよぼすHLA関連

遺伝子多型の検索を行った。

B. 研究方法

(1-1) Gag・Vif断片連結抗原の設計：過去の実験に用いたサルの凍結サンプルを用い、有効なCTL標的領域解析を継続した。これまで得られた情報をふまえ、SIV GagおよびVif抗原を断片化し連結した抗原を設計した。断片連結抗原C末端にBalb/cマウスMHC-I拘束性エピトープrt2ペプチドを付加した抗原を発現するプラスミドDNAおよびアデノウイルス(AdV)ベクターを作製した。断片連結抗原の免疫原性を調べるため、Balb/cマウスにrt2付加断片連結抗原発現DNAを2回筋注後、rt2付加断片連結抗原発現AdVベクターを1回筋注し、1週間後の脾臓由来リンパ球を用いて、rt2特異的CD8陽性T細胞反応誘導の有無を調べた。また、MHC-I haplotype 90-120-Ia陽性サル由来B-lymphoblastoid cell lines (BLCL) にrt2付加断片連結抗原発現AdVベクターを感染させ、SIV感染慢性期のリンパ球と共培養した後、Gag241-249特異的CD8陽性T細胞反応誘導の有無を調べた。(俣野)

(1-2) 経鼻SeVベクターワクチンの腸管粘膜免疫誘導能の解析：サル3頭にDNAワクチン筋注の後、Gag発現SeVベクター経鼻接種を行い、その後1~2週目のサルの末梢血、そけいリンパ節ならびに腸管(空腸および回腸)からリンパ球を調製し、Gag特異的T細胞反応を調べた。(寺原・俣野)

(2-1) ユニバーサルHLA関連HLAゲノム変異の解析：日本人慢性HIV感染者430名のHIVゲノム塩基配列を調べ、日本・ルワンダ・ガーナに共通して5%以上の頻度で見られるHLA(A*02:01、A*33:03、B*07:02、B*35:01、B*44:03、C*03:04、C*04:01)関連ゲノム変異の同定を進めた。(村越)

(2-2) ガーナの流行HIV株および主要HLA遺伝子型の解析：ガーナ野口記念医学研究所の協力により得られたガーナ人HIV感染者約350名のリンパ球由来DNAを用い、プロウイ

ルス塩基配列解析と HLA タイピングを継続した。(松岡・立川・木村)

(2-3) HLA 関連遺伝子の解析: HLA 関連遺伝子の一つ IkBL に着目し、IkBL 強制発現 T 細胞株の RNA-Seq 解析を行うとともに、IkBL 多型と HIV 感受性との関連を検討した。(木村)

(倫理面への配慮)

ヒト検体を用いる実験については、適宜、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針や臨床研究に関する倫理指針等に基づき、所属機関等の倫理委員会の承認のもと推進した。動物実験については、基本指針に基づき、実施機関および所属機関の動物実験委員会の承認を得てから開始した。用いた組換え生物等については、第二種使用等拡散防止措置確認申請承認(大臣確認) および機関承認済みである。

C. 研究結果

(1-1) SIV 複製抑制への貢献度が高いと考えられる CTL エピトープを Gag・Vif 領域に複数同定した。SIV Gag・Vif 断片連結抗原をコードする cDNA を作製し、断片連結抗原発現 SeV ベクター構築を開始した。rt2 付加断片連結抗原を発現する DNA と AdV ベクターのマウスへの接種実験では、脾臓由来のリンパ球を用いた解析により、rt2 特異的 CTL 反応の誘導を確認した。また、MHC-I haplotype 90-120-Ia 陽性サルの SIV 感染慢性期のリンパ球を用いた解析では、断片連結抗原発現 AdV ベクター感染 BLCL との共培養により、Gag241-249 特異的 CTL 陽性細胞に IFN- γ 誘導が認められ、断片連結抗原発現 AdV ベクター感染細胞の Gag241-249 特異的 CD8 陽性 T 細胞刺激能が確認された。

(1-2) SeV-Gag 経鼻接種サル 3 頭いずれにおいても、末梢血・そけいリンパ節のみならず腸管由来のリンパ球で、Gag 特異的 T 細胞反応の誘導が検出された。

(3-1) ユニバーサル HLA の A*02:01、A*33:03、B*07:02、B*35:01、B*44:03、C*03:04 および

C*04:01 について、HIV 関連変異と考えられる変異を gag 領域に 13 個、pol 領域に 6 個、nef 領域に 21 個見出した。

(3-2) gag 領域塩基配列を基にした HIV サブタイプでは、CRF02-AG が約 60%であった。ウイルスゲノム塩基配列および HLA 遺伝子型の情報を蓄積した。

(3-3) IkBL が多数の遺伝子の発現を制御することに加え、IkBL 多型と HIV 感染感受性との関連が見出された。

D. 考察

Gag・Vif 断片連結抗原については、断片連結により発現・分解パターンが変化し抗原提示効率(免疫原性)が低下する可能性が考えられたが、マウス実験で付加 rt2 特異的 CTL 誘導がみられ、サル培養細胞でも Gag241-249 特異的 CTL 刺激能がみられたことから免疫原性は確認できた。

また、経鼻 SeV ベクターワクチンの腸管粘膜 T 細胞反応誘導能を確認した。この結果は、HIV ワクチンで重視されている腸管粘膜免疫誘導のためのデリバリーシステムとして SeV ベクターが有用であることを示すものである。

断片連結抗原発現 SeV ベクターワクチンについて、平成 27 年度にサルエイズモデルで SIV 持続感染成立阻止効果を検証する計画である。有効性が示され、設計合理性を確認することができれば、この設計理論を基にした T 細胞誘導 HIV ワクチン抗原設計に直結することが期待される。その際、本研究で得られたガーナ等の主要 HLA 遺伝子型と流行 HIV 株のゲノム塩基配列・CTL エピトープの情報は、臨床試験対象地域のワクチン最適化抗原設計の基盤として重要である。また、HIV 感受性に影響をおよぼす HLA 関連遺伝子多型に関する情報は、臨床試験の際の有効性評価において有用である。

E. 結論

SeV ベクターを用いた T 細胞誘導 HIV ワクチン臨床試験の次のステップへの進展に向け、

最適化抗原設計を目指した研究を展開した。SIV Gag・Vif 断片連結抗原を設計し、マウスでの断片連結抗原発現ベクター接種実験およびサル培養細胞での抗原刺激能の解析により免疫原性を確認後、断片連結抗原発現 SeV ベクター構築を開始した。平成 27 年度には、この断片連結抗原発現 SeV ベクターワクチンの有効性をサルエイズモデルで評価し、抗原設計の合理性を検証する計画である。また、サル実験で経鼻 SeV ベクターワクチンの腸管粘膜 T 細胞反応誘導能を確認した。一方、臨床試験対象地域の最適化抗原設計のための基盤情報として、主要 HLA 遺伝子型と流行 HIV 株のゲノム塩基配列・CTL エピトープの情報収集を継続した。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1 論文発表

- 1) Takebe Y, Naito Y, Raghwan J, Fearnhill E, Sano T, Kusagawa S, Mbisa J, Zhang H, Matano T, Brown AL, Pybus O, Dunn D, Kondo M. Inter-continental dispersal of HIV-1 subtype B associated with transmission among men who have sex with men in Japan. *J Virol* 88:9864-9876, 2014.
- 2) Nomura T, Yamamoto H, Takahashi N, Naruse TK, Kimura A, Matano T. Identification of SIV Nef CD8⁺ T cell epitopes restricted by a MHC class I haplotype associated with lower viral loads in a macaque AIDS model. *Biochem Biophys Res Commun* 450:942-947, 2014.
- 3) Terahara K, Ishii H, Nomura T, Takahashi N, Takeda A, Shiino T, Tsunetsugu-Yokota Y, Matano T. Vaccine-induced CD107a⁺ CD4⁺ T cells are resistant to depletion following AIDS virus infection. *J Virol* 88:14232-14240, 2014.
- 4) Gu L, Kawana-Tachikawa A, Shiino T, Nakamura H, Koga M, Kikuchi T, Adachi E,

Koibuchi T, Ishida T, Gao GF, Matsushita M, Sugiura W, Iwamoto A, Hosoya N. Development and Customization of a Color-Coded Microbeads-Based Assay for Drug Resistance in HIV-1 Reverse Transcriptase. *PLoS One* 9:e109823, 2014.

- 5) Han C, Kawana-Tachikawa A, Shimizu A, Zhu D, Nakamura H, Adachi E, Kikuchi T, Koga M, Koibuchi T, Gao GF, Sat Y, Yamagata A, Martin E, Fukai S, Brumme ZL, Iwamoto A. Switching and emergence of CTL epitopes in HIV-1 infection. *Retrovirology* 11:38, 2014.
- 6) Nakayama-Hosoya K, Ishida T, Youngblood B, Nakamura H, Hosoya N, Koga M, Koibuchi T, Iwamoto A, Kawana-Tachikawa A. Epigenetic repression of interleukin-2 expression in senescent CD4⁺ T cells during chronic human immunodeficiency virus type-1 infection. *J Infect Dis* 211:28-39, 2015.
- 7) Rahman MA, Kuse N, Murakoshi H, Chikata T, Gatanaga H, Oka S, Takiguchi M. Raltegravir and elvitegravir-resistance mutation E92Q affects HLA-B*40:02-restricted HIV-1-specific CTL recognition. *Microbes Infect* 16(5):434-438, 2014.
- 8) Chikata T, Carlson JM, Tamura Y, Borghan MA, Naruto T, Hashimoto M, Murakoshi H, Le AQ, Mallal S, John M, Gatanaga H, Oka S, Brumme ZL, Takiguchi M. Host-specific adaptation of HIV-1 subtype B in the Japanese population. *J Virol* 88(9):4764-4775, 2014.

2 学会発表

- 1) Matano T. SIV control by Gag/Vif/Nef-specific CD8 T cells. HIV Elite Controllers Mini-Symposium, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, FL, USA, 4/11/2014.
- 2) Nakamura M, Takahara Y, Matsuoka S, Miura T, Koyanagi Y, Matano T. Therapeutic vaccine-induced Gag-specific CD8⁺ T cells under anti-retroviral therapy contribute to viral

- control in a macaque AIDS model. The 20th International AIDS Conference, Melbourne, Australia, 7/24/2014.
- 3) Matano T. Impact of HLA genotypes on HIV-1 infection. Sminar, Noguchi Memorial Institute for Medical Research, University of Ghana, Accra, Ghana, 9/12/2014.
 - 4) 侯野哲朗. HIV ワクチン. シンポジウム 1 : 感染制御と MHC、第 23 回日本組織適合性学会大会、長崎、9/14/2014.
 - 5) Matano T. Depletion of vaccine-induced CD107a⁻ CD4⁺ T cells following AIDS virus infection. The 13th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Nara, Japan, 9/25/2014.
 - 6) Matano T. Depletion of vaccine-induced CD107a⁻ CD4⁺ T cells following SIV infection. The 15th Kumamoto AIDS Seminar, Kumamoto, Japan, 10/1/2014.
 - 7) Nomura T, Yamamoto H, Matano T. Broadening of CD8⁺ T-cell targets precedes accumulation of proviral escape mutations in SIV controllers. The 15th Kumamoto AIDS Seminar, Kumamoto, Japan, 10/3/2014.
 - 8) 侯野哲朗. ウイルス感染症と戦う : エイズ克服へのチャレンジ. 平成 26 年度第 5 回都民公開講座、東京都医学総合研究所、東京、10/17/2014.
 - 9) Matano T, Terahara K, Ishii H, Nomura T. Vaccine-induced CD107a⁺ CD4⁺ T cells are resistant to killing following immunodeficiency virus infection. HIV Research for Prevention (HIV R4P) 2014, Cape Town, RSA, 10/29/2014.
 - 10) Karita E, Anzala O, Gazzard B, Bergin P, Nyombayire J, Omosa G, Jackson A, Ingabire R, Ouattara G, Park H, Gumbe A, Chinyenze K, Welsh S, Verlinde C, Clark L, Chetty P, Booley M, Bizimana J, Farah B, Hayes P, Zachariah D, Syvertsen K, Lim MF, Dally L, Barin B, Inoue M, Hara H, Hironaka T, Shu T, Hasegawa M, Matano T, Sayeed E, Parks C, Ackland J, Fast PM, Gilmour J, Cox JH, Lombardo A, Laufer D. Clinical safety and immunogenicity of two HIV vaccines SeV-G (NP) and Ad35-GRIN in HIVuninfected, healthy adult volunteers. HIV Research for Prevention (HIV R4P) 2014, Cape Town, RSA, 10/29/2014.
 - 11) Matano T. A Sendai virus vector vaccine against HIV infection. Symposium 2: Next Generation Vaccine Development, The 62nd Annual meeting, Japanese Society for Virology, Yokohama, 11/10/2014.
 - 12) Nomura T, Yamamoto H, Matano T. Lasting SIV control by multiple Gag, Vif, and Nef epitope-specific CD8⁺ T cells. The 32nd annual symposium on non-human primate models for AIDS, Portland, OR, USA, 11/14/2014.
 - 13) 中村碧、高原悠佑、松岡佐織、三浦智行、小柳義夫、成瀬妙子、木村彰方、侯野哲朗. 抗 HIV 薬投与下の治療ワクチン接種により誘導される CD8 陽性 T 細胞の SIV 複製抑制能の解析. 第 28 回日本エイズ学会学術集会、大阪、12/5/2014.
 - 14) 侯野哲朗. 感染者における HIV コントロール. HIV 感染症の Cure は可能か? - 基礎研究者の挑戦、市民公開講座、第 28 回日本エイズ学会学術集会、大阪、12/5/2014.
 - 15) 侯野哲朗. HIV ワクチン開発 : 臨床応用に向けて. バイオロジクスフォーラム第 12 回学術集会、東京、12/12/2014.
 - 16) 木村彰方. IkBL による免疫制御と感染制御. 第 23 回日本組織適合性学会大会、長崎、9/13-15/2014.
 - 17) 成瀬妙子、飯塚淳次、明里宏文、侯野哲朗、木村彰方. 霊長類における ULBP/RAET1 遺伝子群の進化と特徴. 第 23 回日本組織適合性学会大会、長崎、9/13-15/2014.
 - 18) 成瀬妙子、飯塚淳次、明里宏文、侯野哲朗、木村彰方. 霊長類における ULBP5/RAET1-G 遺伝子群の進化. 日本人類遺伝学会第 59 回大会、東京、11/19-22/2014.
 - 19) 櫻井大祐、今橋真弓、岩谷靖雅、大谷仁志、

- 成瀬妙子、照沼裕、杉浦亙、木村彰方。
APOBEC3H ハプロタイプと HIV-1 感染および AIDS 発症との関連。日本人類遺伝学会第 59 回大会、東京、11/19-22/2014。
- 20) Kawana-Tachikawa A. Disruption of T cell immunity during chronic HIV-1 infection. The 21st East Asia Joint Symposium on Biomedical Research, Seoul, Korea, 7/17-18/2014.
- 21) Hirao M, Suzuki K, Kawana-Tachikawa A, Nakauchi H, Cooper DA, Kelleher AD, Kaneko S. Proposal of new immune cell source for HIV-1 infection study based on iPSCs and evaluation of impact of viral replication in iPSCs-derived macrophage expressing shRNAs targeting HIV-1 promoter. 20th International AIDS Conference, Melbourne, Australia, 7/20-25/2014.
- 22) 藤田由利子、小野敏明、落合央、立川愛、Leen AM、Heslop HE、森尾友宏、高橋聡。実臨床応用に向けたウイルス特異的 T 細胞療法の開発。第 6 回血液疾患免疫療法研究会学術集会、京都、9/6/2014。
- 23) 小野敏明、藤田由利子、立川(川名)愛、高橋聡、森尾友宏：臨床応用に向けた多ウイルス特異的 T 細胞培養法の確立とその特性解析。第 42 回日本臨床免疫学会総会、東京、9/25-27/2014。
- 24) Kamori D、村上知行、Hasan Z、Meribe S、Carlson J、Siarot L、三浦聡之、立川(川名)愛、岩本愛吉、瀧永博之、岡慎一、間陽子、上野貴将。Effects of natural variability of an immunodominant Vpr region on immunological footprints, clinical outcome and protein functions. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、11/10-12/2014。
- 25) 細谷(中山)香、石田尚臣、中村仁美、細谷紀彰、古賀道子、鯉渕智彦、岩本愛吉、立川(川名)愛。HIV-1 感染における CD4 陽性 T 細胞の IL2 遺伝子発現低下分子メカニズムの解明。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、11/10-12/2014。
- 26) Gu L、Han Y、Guan S、Yang F、Zhu T、合田仁、Cao Y、立川(川名)愛、細谷紀彰、Gao FG、岩本愛吉、Li T、石田尚臣。中国 HIV-1 感染者の未治療検体における副受容体指向性の検査。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、11/10-12/2014。
- 27) 佐藤秀憲、細谷(中山)香、菊地正、安達英輔、古賀道子、中村仁美、鯉渕智彦、岩本愛吉、立川(川名)愛。HIV 感染者の CD8 陽性 T 細胞における補助刺激分子 OX40 の検討。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、11/10-12/2014。
- 28) 石坂彩、佐藤秀憲、立川(川名)愛、中村仁美、古賀道子、細谷紀彰、鯉渕智彦、野本明男、岩本愛吉、水谷壮利。HIV-1 残存感染細胞の活性と免疫活性化の相関。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、11/10-12/2014。
- 29) Hayato Murakoshi, Tomohiro Akahoshi, Madoka Koyanagi, Takayuki Chikata, Masafumi Takiguchi, Effective control of HIV-1 by cytotoxic T cells specific for multiple conserved epitopes. 第 43 回日本免疫学会学術集会、京都、12/10-12/2014。
- 30) Tomohiro Akahoshi, Hayato Murakoshi, Masafumi Takiguchi, Conflicting viral selection by HIV-1-specific CTLs. 第 43 回日本免疫学会学術集会、京都、12/10-12/2014。
- 31) Yamashita Y, Tanaka T, Oe T, Kawakami K, Oka M, Matsumoto S, Terahara K, Tsunetsugu-Yokota Y, Morimoto K, Ariyoshi K. Unique cytokine profiles of CD4+T cell to Acr, HBHA and MDP-1 antigens in different clinical stage of mycobacterium tuberculosis infection. The ERS International Congress 2014, Munich, Germany, 9/6-10/2014。
- 32) 寺原和孝、石毛真行、池野翔太、小林(石原)美栄、岡田誠治、横田(恒次)恭子。R5・X4 HIV-1 混在感染ヒト化マウスの感染早期にみられる R5 ウイルス優位性とその要因の検討。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、11/10-12/2014。

- 33) 池野翔太、寺原和孝、駒瀬勝啓、竹田誠、森川裕子、竹山春子、横田（恒次）恭子。ヒト化マウスの麻疹ウイルスベクター評価系への応用 (3)。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、11/10-12/2014.
- 34) 和田倭、小林（石原）美栄、寺原和孝、池野翔太、徳永研三、立川（川名）愛、山岸誠、竹山春子、横田（恒次）恭子。恒常的に培養維持された CD4 陽性 T 細胞への HIV-1 の感染とその転写制御機構の解明。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、11/10-12/2014.
- 35) Ikeno S, Terahara K, Tsunetsugu-Yokota Y. Induction of human cytokines in humanized mice improves myeloid cell development and antigen-specific antibody production. 第 43 回日本免疫学会学術集会、京都、12/10-12/2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1 特許取得
国内特許出願（申請中）
出願人：公益財団法人微生物化学研究会、
発明者：水谷壮利、石坂彩、立川愛
「免疫状態の判定方法、CD4+T細胞数の増加予測方法、及び CD4+T細胞数の減少予測方法、並びにそれらのためのキット」
特願 2014-128028
出願日：2014 年 6 月 23 日
- 2 実用新案登録
なし。
- 3 その他
なし。

Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
分担研究報告書

サルエイズモデルにおける最適化抗原発現ベクターワクチン効果に関する研究

研究代表者 俣野 哲朗 国立感染症研究所エイズ研究センター長

研究要旨

HIV 感染拡大の抑制はグローバルな視点で取り組むべき重要課題である。感染者の早期診断・治療の推進に加え、切り札となるワクチンの開発が切望されている。我々はこれまで優れた細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 誘導能を有するセンダイウイルス (SeV) ベクターを用いたエイズワクチン開発研究を展開し、サルエイズモデルにてワクチンによる Gag 抗原特異的 CTL 誘導が持続感染阻止に結びつく可能性を明らかにした。本研究では、この SeV ベクターを用いたワクチンの実用化に向け、HIV 持続感染阻止に結びつくよう最適化した抗原発現系の設計を目指すこととした。これまでの研究でウイルス Gag 蛋白および Vif 蛋白が有効な CTL の標的抗原候補であることが示されたことから、Gag・Vif 蛋白内の標的領域断片を繋いだ最適化抗原を設計することとした。この設計法の合理性をサルエイズモデルで検証するために、平成 26 年度にはサル免疫不全ウイルス (SIV) Gag・Vif の標的領域断片連結抗原を設計し、マウスでの免疫原性およびサル培養細胞での抗原刺激能を確認後、連結抗原発現 SeV ベクターの構築を進めた。平成 27 年度には、サルエイズモデルでこの連結抗原発現 SeV ベクターワクチンの有効性を評価する計画である。

A. 研究目的

世界の HIV 感染者数は 3 千万人を超え、毎年 2 百万人以上の新たな感染が発生している。アフリカを中心とする世界の HIV 感染拡大の抑制は国際的最重要課題の一つであり、感染者の早期診断・治療の推進に加え、予防ワクチン開発が切望されている。我々はこれまで優れた細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 誘導能を有するセンダイウイルス (SeV) ベクターを用いたワクチン開発研究を展開し、サルエイズモデルにて、ワクチンによる Gag 抗原特異的 CTL 誘導が持続感染阻止に結びつく可能性を明らかにした。2013 年には、このワクチンの国際共同臨床試験第 1 相が開始されており、次の有効性評価のステップ (第 1-2 相) への進展に向けて発現抗原の最適化が求められている。本研究では、この SeV ベクターを用いたワクチンの実用化

に向け、HIV 持続感染阻止に結びつくよう最適化した抗原発現系設計を目指すこととした。

これまでの我々の研究で、Gag および Vif 蛋白が有効な CTL の標的抗原候補であることが示されたことから、Gag・Vif 蛋白の標的領域断片を繋いだ最適化抗原を設計する。研究班では、HLA 遺伝子型情報と HIV CTL エピトープ情報の収集に基づく HIV 最適化抗原設計と、サル免疫不全ウイルス (SIV) CTL エピトープ情報に基づいて設計した SIV 最適化抗原発現ワクチンのサルエイズモデルにおける有効性検証を推進する計画である。本分担研究では、後者のサルエイズモデルでの検証を推進することとした。

平成 26 年度には、SIV Gag・Vif の標的領域断片連結抗原を設計し、マウスでの免疫原性およびサル培養細胞での抗原刺激能を確認した。

また、断片連結抗原発現 SeV ベクター構築を進めた。

B. 研究方法

SIV Gag capsid (CA) および Vif 抗原由来の 50 余りの断片を連結した抗原を設計し、それをコードする cDNA を作製した。断片連結抗原 C 末端に Balb/c マウス MHC-I 拘束性エピトープ rt2 ペプチドを付加した抗原を発現するプラスミド DNA およびアデノウイルス (AdV) ベクターを作製した。断片連結抗原の免疫原性を調べるため、以下の 2 つの実験を行った。

(1) Balb/c マウスに rt2 付加断片連結抗原発現 DNA を 2 回 (day 0 & 3) 筋注後、rt2 付加断片連結抗原発現 AdV ベクターを 1 回 (day 21) 筋注し、その 1 週間後 (day 28) に得られた脾臓よりリンパ球を分離した。rt2 ペプチド刺激後の細胞内免疫染色を行って、rt2 特異的 CD8 陽性 T 細胞反応誘導の有無を調べた。

(2) MHC-I haplotype 90-120-Ia 陽性サル由来のリンパ球より樹立した B-lymphoblastoid cell lines (BLCL) および SIV 感染慢性期の末梢血リンパ球を用いた。rt2 付加断片連結抗原発現 AdV ベクターを感染させた BLCL をリンパ球と共培養した後、Gag241-249 特異的 CTL 検出用テトラマーを用いて細胞内免疫染色を行った。

断片連結抗原をコードする cDNA を挿入した SeV ベクター作製を開始した。

(倫理面への配慮)

動物実験については、倫理面も含めて実施機関および所属機関の動物実験委員会の審査をうけ、その承認を得てから開始した。用いた組換え生物等については、第二種使用等拡散防止措置確認申請承認 (大臣確認) および機関承認済みである。

C. 研究結果

(1) rt2 付加断片連結抗原発現プラスミド DNA プライム・rt2 付加断片連結抗原発現 AdV

ベクターブースト後 1 週目のマウス脾臓由来のリンパ球を用いた解析では、CD8 陽性 T 細胞に rt2 ペプチド刺激特異的 IFN- γ 誘導が認められ、rt2 特異的 CD8 陽性 T 細胞誘導が確認された (図 1)。

(2) MHC-I haplotype 90-120-Ia 陽性サルの SIV 感染慢性期のリンパ球を用いた解析では、コントロール AdV ベクター感染 BLCL との共培養で IFN- γ 誘導は認められなかったが、断片連結抗原発現 AdV ベクター感染 BLCL との共培養により、Gag241-249 特異的 CTL 陽性細胞に IFN- γ 誘導が認められ、断片連結抗原発現 AdV ベクター感染細胞の Gag241-249 特異的 CD8 陽性 T 細胞刺激能が確認された (図 2)。

D. 考察

Gag・Vif 断片連結抗原については、発現・分解パターンが変化し抗原提示効率 (免疫原性) が低下する可能性が考えられたが、マウス実験で付加 rt2 特異的 CTL 誘導がみられ、サル培養細胞でも Gag241-249 特異的 CTL 刺激能がみられたことから免疫原性は確認できた。H27 年度には、サルエイズモデルで断片連結抗原発現 SeV ベクターワクチン接種による SIV 持続感染成立阻止効果を検証する計画である。有効性が示され、設計合理性を確認することができれば、この設計理論を基にした T 細胞誘導 HIV ワクチン抗原設計に直結することが期待される。

E. 結論

T 細胞 HIV ワクチンの最適化抗原設計法を考案し、サルエイズモデルで合理性を検証する目的で SIV Gag・Vif 断片連結抗原を作製した。マウスでの断片連結抗原発現ベクター接種実験およびサル培養細胞での抗原刺激能解析により免疫原性を確認後、連結抗原発現 SeV ベクター構築を開始した。H27 年度には、この断片連結抗原発現 SeV ベクターワクチンの有効性をサルエイズモデルで評価する計画である。

F. 研究発表

1 論文発表

- 1) Takebe Y, Naito Y, Raghwan J, Fearnhill E, Sano T, Kusagawa S, Mbisa J, Zhang H, Matano T, Brown AL, Pybus O, Dunn D, Kondo M. Inter-continental dispersal of HIV-1 subtype B associated with transmission among men who have sex with men in Japan. *J Virol* 88:9864-9876, 2014.
- 2) Nomura T, Yamamoto H, Takahashi N, Naruse TK, Kimura A, Matano T. Identification of SIV Nef CD8⁺ T cell epitopes restricted by a MHC class I haplotype associated with lower viral loads in a macaque AIDS model. *Biochem Biophys Res Commun* 450:942-947, 2014.
- 3) Terahara K, Ishii H, Nomura T, Takahashi N, Takeda A, Shiino T, Tsunetsugu-Yokota Y, Matano T. Vaccine-induced CD107a⁺ CD4⁺ T cells are resistant to depletion following AIDS virus infection. *J Virol* 88:14232-14240, 2014.

2 学会発表

- 1) Matano T. SIV control by Gag/Vif/Nef-specific CD8 T cells. HIV Elite Controllers Mini-Symposium, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, FL, USA, 4/11/2014.
- 2) Nakamura M, Takahara Y, Matsuoka S, Miura T, Koyanagi Y, Matano T. Therapeutic vaccine-induced Gag-specific CD8⁺ T cells under anti-retroviral therapy contribute to viral control in a macaque AIDS model. The 20th International AIDS Conference, Melbourne, Australia, 7/24/2014.
- 3) Matano T. Impact of HLA genotypes on HIV-1 infection. Sminar, Noguchi

Memorial Institute for Medical Research, University of Ghana, Accra, Ghana, 9/12/2014.

- 4) 侯野哲朗. HIV ワクチン. シンポジウム 1 : 感染制御と MHC、第 23 回日本組織適合性学会大会、長崎、9/14/2014.
- 5) Matano T. Depletion of vaccine-induced CD107a⁺ CD4⁺ T cells following AIDS virus infection. The 13th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Nara, Japan, 9/25/2014.
- 6) Matano T. Depletion of vaccine-induced CD107a⁺ CD4⁺ T cells following SIV infection. The 15th Kumamoto AIDS Seminar, Kumamoto, Japan, 10/1/2014.
- 7) Nomura T, Yamamoto H, Matano T. Broadening of CD8⁺ T-cell targets precedes accumulation of proviral escape mutations in SIV controllers. The 15th Kumamoto AIDS Seminar, Kumamoto, Japan, 10/3/2014.
- 8) 侯野哲朗. ウイルス感染症と戦う : エイズ克服へのチャレンジ. 平成 26 年度第 5 回都民公開講座、東京都医学総合研究所、東京、10/17/2014.
- 9) Matano T, Terahara K, Ishii H, Nomura T. Vaccine-induced CD107a⁺ CD4⁺ T cells are resistant to killing following immunodeficiency virus infection. HIV Research for Prevention (HIV R4P) 2014, Cape Town, RSA, 10/29/2014.
- 10) Karita E, Anzala O, Gazzard B, Bergin P, Nyombayire J, Omosa G, Jackson A, Ingabire R, Ouattara G, Park H, Gumbe A, Chinyenze K, Welsh S, Verlinde C, Clark L, Chetty P, Booley M, Bizimana J, Farah B, Hayes P, Zachariah D, Syvertsen K, Lim MF, Dally L, Barin B, Inoue M, Hara H, Hironaka T, Shu T, Hasegawa M, Matano T, Sayeed E, Parks C, Ackland J, Fast PM, Gilmour J, Cox

- JH, Lombardo A, Laufer D. Clinical safety and immunogenicity of two HIV vaccines SeV-G (NP) and Ad35-GRIN in HIVuninfected, healthy adult volunteers.. HIV Research for Prevention (HIV R4P) 2014, Cape Town, RSA, 10/29/2014.
- 11) Matano T. A Sendai virus vector vaccine against HIV infection. Symposium 2: Next Generation Vaccine Development, The 62nd Annual meeting, Japanese Society for Virology, Yokohama, 11/10/2014.
- 12) Nomura T, Yamamoto H, Matano T. Lasting SIV control by multiple Gag, Vif, and Nef epitope-specific CD8⁺ T cells. The 32nd annual symposium on non-human primate models for AIDS, Portland, OR, USA, 11/14/2014.
- 13) 中村碧、高原悠佑、松岡佐織、三浦智行、小柳義夫、成瀬妙子、木村彰方、俣野哲朗. 抗 HIV 薬投与下の治療ワクチン接種により誘導される CD8 陽性 T 細胞の SIV 複製抑制能の解析. 第 28 回日本エイズ学会学術集会、大阪、12/5/2014.
- 14) 俣野哲朗. 感染者における HIV コントロール. HIV 感染症の Cure は可能か? - 基礎研究者の挑戦、市民公開講座、第 28 回日本エイズ学会学術集会、大阪、12/5/2014.
- 15) 俣野哲朗. HIV ワクチン開発: 臨床応用に向けて. バイオロジクスフォーラム第 12 回学術集会、東京、12/12/2014.

G. 知的財産権の出願・登録状況

- 1 特許取得
なし。
- 2 実用新案登録
なし。
- 3 その他
なし。

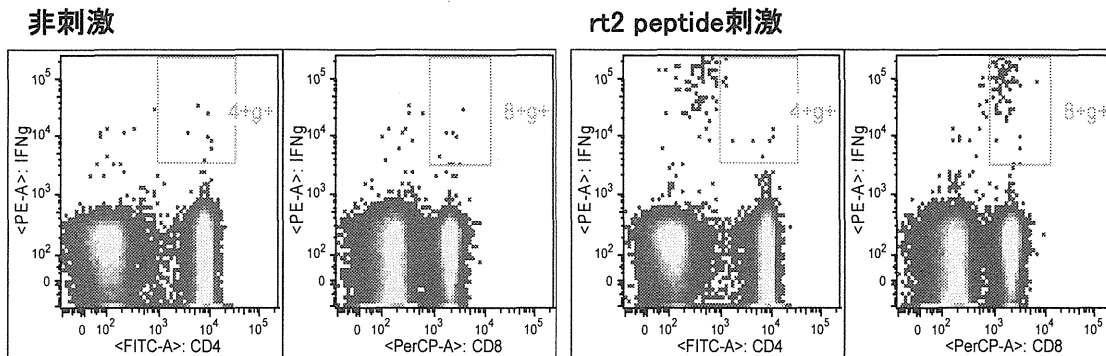


図1. 断片連結抗原発現ベクターの免疫原性

マウスにrt2付加断片連結抗原発現DNAを接種した後、rt2付加断片連結抗原発現AdVベクターを接種した。AdVベクター接種後1週目の脾臓より分離したリンパ球を用い、ペプチド刺激後に細胞内免疫染色を行った。rt2 peptide刺激後のCD8陽性T細胞にIFN- γ 誘導が認められた（右図）。左図は非刺激後の解析。

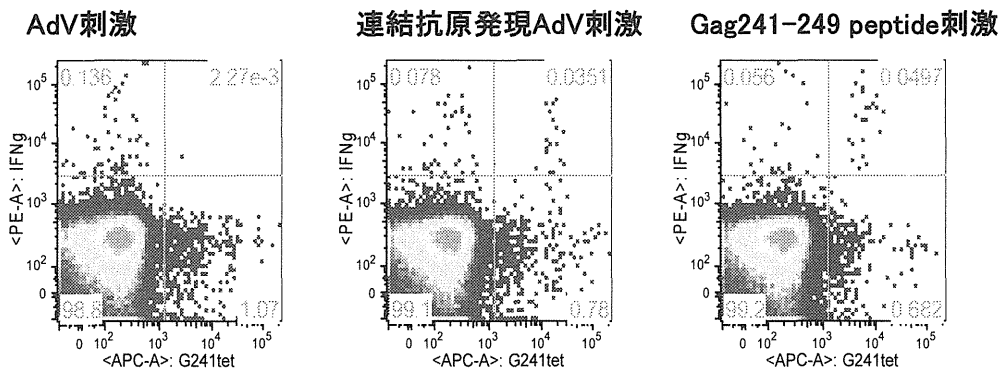


図2. 断片連結抗原発現AdVベクターの抗原刺激能

MHC-I haplotype 90-120-Ia陽性サル由来のBLCLおよびSIV感染慢性期のリンパ球を用いた。コントロールAdV（左）あるいは断片連結抗原発現AdV（中央）を感染させたBLCLをリンパ球と共培養した後、Gag241-249特異的CTL検出用テトラマーを用いて細胞内免疫染色を行った。あるいはGag241-249 peptideパルスしたBLCLをリンパ球と共培養した後、細胞内免疫染色を行った（右）。断片連結抗原発現AdV感染BLCLとの共培養により、Gag241-249特異的CD8陽性T細胞にIFN- γ 誘導が認められた。

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
分担研究報告書

ヒト HLA およびサル MHC を中心としたゲノム多様性と免疫応答に関する研究

研究分担者 木村 彰方 東京医科歯科大学難治疾患研究所・教授

研究要旨

アカゲザルおよびカニクイザルについて、NKG2D レセプターのリガンドである ULBP5 遺伝子の多様性を検討し、アカゲザル、カニクイザルともに、2 種類の ULBP5 遺伝子 (ULBP5.1 および ULBP5.2) を有しており、その多様性もヒトに比べてはるかに大きいことが示された。また、霊長類 ULBP 遺伝子群を用いた系統樹解析から、旧世界ザル ULBP5.1 遺伝子は ULBP5.2 遺伝子から分岐していることが示唆された。また、ULBP5.1 遺伝子の一部のアリルはフレームシフト変異によって α ヘリクス構造が 1 つだけの切断型 ULBP5 分子をコードすると考えられた。一方、3D 立体モデル上に ULBP5.1 および ULBP5.2 に認められた多型をマップしたところ、アカゲザルでは ULBP5.2、カニクイザルでは ULBP5.1 で NKG2D との結合部位に多型が存在することが判明した。このことは旧世界ザルでは ULBP5.1 もしくは ULBP5.2 に機能分担が生じたことを示唆する。さらに、ULBP5 多型一部は NKG2D との結合部位にマップされた。これとは別に、ヒト MHC (HLA) 領域内に存在し、免疫関連遺伝子群やインフルエンザウイルス遺伝子の選択的スプライシングを制御する NFKBIL1 遺伝子のプロモーター多型を検討し、低発現型が HIV-1 感染感受性と関連することが判明した。さらに、APOBEC3H 遺伝子 N15del 多型および G105R 多型が日本人集団における HIV-1 感染感受性および AIDS 発症感受性と密接に関連することを見出した。

A. 研究目的

高等動物では外来抗原に対する免疫応答性に個体差があり、このためウイルス感染に対する感受性・抵抗性やワクチン接種効果が個体によって異なっている。このような免疫応答の個体差は生体の発達過程で形成されるが、そこには遺伝的背景が強く関与する。すなわち、免疫応答性は T 細胞、NK 細胞、抗原提示細胞、B 細胞などの協調によって形成されるが、これらの細胞間の機能連関には種々の分子、ことに MHC 分子群、MHC 関連分子群、NK レセプター群などの免疫応答関連分子群が関わるが、これらの分子群には個体差（遺伝的多型性ないしゲノム多様性）が存在し、このゲノム多様性が免疫応答性の個体差の形成に重要な機能を発揮する。従って、有効なワクチンを開発する上では、このような免疫応答に関わるゲノム多様性の関与を理解し、その知見を生かすことが必要である。

HIV ワクチン開発においてはヒトを対象とした実験が困難であることから動物モデルが用いられるが、マウスやラットなどの実験動物は免疫応答関連分子群の構成自体がヒトとは大きく異な

っており、その知見をヒトに生かす上では制約がある。一方、チンパンジーなどの高等霊長類では、MHC 遺伝子群の構成はヒトと類似しているが多様性が限られており、また希少種であることから、モデル動物としての有用性には限界がある。これに対して、アカゲザルを用いた研究にはそのような制約が少なく、これまでに MHC クラス I 分子の多様性が CTL 誘導ワクチンの有効性と直接関連することが明らかにされている。しかし、その他の分子群の多様性がワクチン効果の個体差形成にどのように関与しているかについては不明な点が多い。

ワクチンの *in vivo* 効果を最大限に発揮させるためには、多種多様な免疫応答関連分子群のうち、どの分子の機能的多様性に注目すべきかを明らかにすることが不可欠であるが、ヒトを用いた研究には制約があるため、実験動物アカゲザルを対象としたワクチン開発系での解析を通じて情報を得て、その情報をヒト HIV ワクチン開発に応用することが有効な手法である。また、ワクチン接種後に SIV 感染が生じた場合のサル個体の臨床予後と免疫応答関連分子群のゲノム多様性との関

連を検討することで、ヒト HIV 感染予後を規定するゲノム多様性に関する有用な情報が得られると考えられる。

そこで本研究では、旧世界ザル（アカゲザルやカニクイザル）を対象として、MHC 分子群、MHC 関連分子群、NK レセプター群などの免疫応答関連分子群のゲノム多様性を検討し、これらのゲノム多様性とアカゲザル実験個体における CTL 誘導型ワクチンによる SIV ウイルス感染制御効果との関連を評価しつつ、新たなワクチン開発戦略を得ることを目的とする。また、ヒトでは、HIV/AIDS への感受性・抵抗性が MHC(HLA)領域によって制御されていることが知られているが、MHC 領域内には多数の遺伝子が存在するため、個々の遺伝子がどのように感染制御に関わるかは必ずしも明らかではない。このため、これまでの解析で免疫制御に関わることを明らかにした NFKBIL1 遺伝子 (IkBL 分子) の多型と HIV/AIDS との関連を検討する。また、MHC 遺伝子群は進化速度が速いことが知られているが、我々は霊長類において進化スピードが速い遺伝子群を抽出し、それらが HIV や SIV の感染感受性とどのように関わるかを合わせて検討することを目的とする。

B. 研究方法

- 1) サル MHC クラス I 様遺伝子群の解析：アカゲザル 8 個体およびカニクイザル 24 個体を対象として、ULBP5 遺伝子群 (ULBP5.1 および ULBP5.2) の第 2 および第 3 エクソンを PCR で増幅し、ダイレクトシーケンシング法によって塩基配列を決定した。既報のアリルと比較し、多型領域の分布を明らかにした。また、本研究で得られたデータを用いて、ULBP 遺伝子群の系統樹を作製した。さらに、ヒト ULBP3 と NKG2D との結晶構造解析結果を参考にして ULBP5 分子の 3D モデルを構築し、多型部位のマッピングを行った。
- 2) ヒト NFKBIL1 遺伝子多型の検討：インド人 HIV-1 感染者 88 名、一般健常者集団 122 名を対象として、ヒト MHC (HLA) クラス I 領域とクラス III 領域の境界部にマップされる NFKBIL1 遺伝子 (IkBL 遺伝子) のプロモーター多型を検討した。
- 3) APOBEC3H 多型と HIV/AIDS 感受性との関連解析：日本人 HIV-1 感染者 (HIV 群) 191 名、HIV-1 巻戦後長期 AIDS 未発症者 (LTNP 群) 93 名、一般集団 (対照群) 421 名について、APOBEC3H 遺伝子の N15del 多型および G105R 多型をタイピングし、アリル頻度および遺伝子

型頻度を比較した。また、Haploview ソフトウェアを用いて、N15del 多型—G105R 多型の連鎖不平衡の検討、ハプロタイプ頻度の推定と比較解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究にはヒト遺伝子解析研究が含まれるが、以下のとおり東京医科歯科大学難治疾患研究所倫理審査委員会に研究計画を申請し、審査を受けた後、研究機関長による実施承認を受けている。(研究課題「HIV ウイルス感染防御機構の究明に関わる研究」、研究代表者：木村彰方、承認番号 2011-002 号)

C. 研究結果

- 1) MHC クラス I 様遺伝子群の解析：昨年度に引き続き、活性化 NK レセプターである NKG2D レセプターのリガンド(RAET1/ULBP)についての解析を行った。ヒトでは RAET1/ULBP 遺伝子座に ULBP1~ULBP6 の 6 個の遺伝子がマップされているが、旧世界ザルではこの領域に遺伝子重複が生じていることが知られている。昨年度までに、アカゲザル、カニクイザルとも ULBP2 遺伝子が 2 個 (ULBP2.1 および ULBP2.2) 存在し、いずれも著明な多型性を示すことが判明したが、今年度は ULBP5 遺伝子を解析した。ULBP5 遺伝子も ULBP2 遺伝子と同様に 2 個 (ULBP5.1 および ULBP5.2) 存在し、いずれも著明な多型性を示した。アカゲザルの解析個体数が少ないが、ULBP5.1 アリルはアカゲザルで 5 種 (Mamu-ULBP5.1)、カニクイザルで 9 種 (Mafa-ULBP5.1) が、ULBP5.2 アリルはアカゲザルで 6 種 (Mamu-ULBP5.2)、カニクイザルで 12 種 (Mafa-ULBP5.2) が検出された (表 1)。

表 1 旧世界ザルにおける ULBP5 遺伝子多様性

	ULBP5.1		ULBP5.2	
	Gene	Protein (truncated)	Gene	Protein
Rhesus	5	5 (1)	6	5
Cynomolgus	9	9 (3)	12	12

Rhesus ; アカゲザル、Cynomolgus;カニクイザル

遺伝子多型は主に Exon2 に存在したが、Exon3 にも認められた。また、ULBP5.1 ではフレームシフトをもたらす遺伝子多型が存在し、アカゲザルでは 1 種、カニクイザルでは 3 種のアリルにフレームシフトが認められた。これらのアリルは、2 本の α ヘリクスで構成される通常の ULBP5 分子 (図 1 左) とは異なり、 α ヘリク