

各種新型コロナウイルスワクチンの特徴

Characteristics and development of COVID-19 vaccines

なか やま てつ お
中山 哲 夫
Tetsuo NAKAYAMA

要旨

2021年2月14日にファイザー社の mRNA が認可され、2月17日から医療従事者を対象にワクチン接種が始まり、高齢者へ接種が拡大している。次いで5月21日にはモデルナ社の mRNA ワクチンも承認され、同時に mRNA 以外にもアストラゼネカ社のウイルスベクターワクチンも承認された。従来型の精製蛋白や全粒子不活化ワクチンは、外国でも開発が進み一部承認されている。ワクチン導入の進んでいる国では報告例数が減少し、その有効性が証明され段階的に自粛が緩んできているが、変異株による再流行も起こっている。

一方、わが国ではワクチン供給を外国に依存していることから、安定供給に陰りがみられ接種が滞っていた。国産 COVID-19 ワクチンの開発が急がれている現状で、既に認可された新型コロナウイルスワクチンについて概説する。

I. はじめに

2019年12月31日に中国・武漢で急性肺炎の流行が WHO に報告され、年明けの1月10日には全塩基配列が決定され、ウイルスの形態からも2002年に出現した重症急性呼吸器症候群 (severe acute respiratory syndrome; SARS) に近縁のウイルスであることから SARS-CoV-2 と命名された¹⁾。mRNA ワクチンは、臨床試験の中間報告で95%と高い有効率が報告されると、12月には承認され接種が始まるといった、今までの常識を超えるスピードで接種

が進んだ²⁾。mRNA 以外にも、チンパンジーアデノウイルスベクターを用いたアストラゼネカ社のワクチンも承認された。従来型の全粒子不活化ワクチンは中国で承認され、接種が進んでいる。また、精製蛋白を用いたワクチン開発も進んでいる³⁻⁵⁾。mRNA ワクチンの臨床試験の結果では接種後の有効性が90-95%といわれており、実際に広く使われている国々でもその有効性が確認されている⁶⁾。しかしながら、変異株の流行から免疫能の持続や有効性に関しても予断を許さない状況にある。DNA、mRNA、ウイルスベクターのワクチンは、遺伝子情報から短期間で有効なワクチンが製造可能で、新しいワクチンの時代の幕開けを感じさせる。

II. ワクチン開発のプラットフォーム

従来のワクチンはその性状から、生体内で増殖する弱毒ワクチンとして動物細胞で継代して弱毒株を樹立したワクチンや、ヒト以外の動物に感染する病原体を利用したワクチンがある。一方、不活化ワクチンにはウイルス粒子を不活化した全粒子不活化ワクチンや、病原体の感染防御因子を精製した蛋白製剤は生体内で増殖することなく免疫応答を誘導する。COVID-19 のワクチンとして開発されたウイルスベクターワクチンは、ヒトの細胞に一度は感染するが増殖することはない(表1)。2002年の重症急性呼吸器症候群 (SARS)、2005年からのマールブルグ、2012年中東呼吸器症候群 (MERS)、2014年からのエボラ出血熱、2015年のジカ熱と新興ウイルス感染症が相次いで起こり、流行が拡大する中で感染制御には有効なワクチンが必須であることから、

世界中でワクチンの開発研究が行われてきた⁷⁾。有効なワクチン候補は開発されたものの、その時には流行は自然終息し、ワクチンは一般に広く使用されることはなかった。急速に拡大するウイルス感染症に対応するために、遺伝子情報が得られたらすぐに対応できるような新規のワクチン開発のプラットフォームが必要で、欧米ではベンチャー企業、大学の研究室で研究は続けられてきた。そのイメージを図1に示した。

DNA ワクチンは感染防御抗原の遺伝子配列をPCRで増幅し、発現プラスミドにクローニングして

大腸菌に導入することで、大量のプラスミドDNAを迅速に製造できる。このDNAからRNAポリメラーゼを使ってmRNAを合成し精製することでmRNAワクチンが製造できる。長所として、従来のように細胞を用いることなく大量製造が可能であることが挙げられる。遺伝子情報から感染防御抗原遺伝子を他のウイルスの遺伝子の中に組み込んで使う方法がウイルスベクターワクチンである。それには二種類の方法があり、体の中で増殖するタイプと遺伝子を運ぶだけの非増殖型がある。非増殖型は一度細胞に感染させて組み込んだ新型コロナウイルスの遺伝子

表1 ワクチン開発のプラットフォーム

*生ワクチン
1) 従来型の弱毒生ワクチン 麻疹ワクチン、風疹ワクチン、水痘ワクチン等 ヒト以外の動物細胞で継代、低温馴化株の樹立
2) ヒト以外の動物に感染する近縁のウイルスをもちいる。BCG, ロタウイルス
3) 遺伝子組換えワクチン
3-1) 非増殖型ウイルスベクター (1回感染するが増殖できない) センダイウイルス、アデノウイルス、レンチウイルス
3-2) 増殖型ウイルスベクター 既存のワクチンウイルスとして、ワクシニアウイルス (MVA, LC16m8)、麻疹ウイルス その他 パラインフルエンザウイルス
*不活化ワクチン:アジュバントが必要か
1) 全粒子不活化 日本脳炎、A型肝炎等
2) サブユニット インフルエンザ等
3) Virus like particle (VLP) B型肝炎、ヒトパピローマウイルス (HPV)
4) 新規のプラットフォーム: DNA, mRNAワクチン+Lipid nano-particle

下線をひいたワクチンは現在使用されているワクチン。

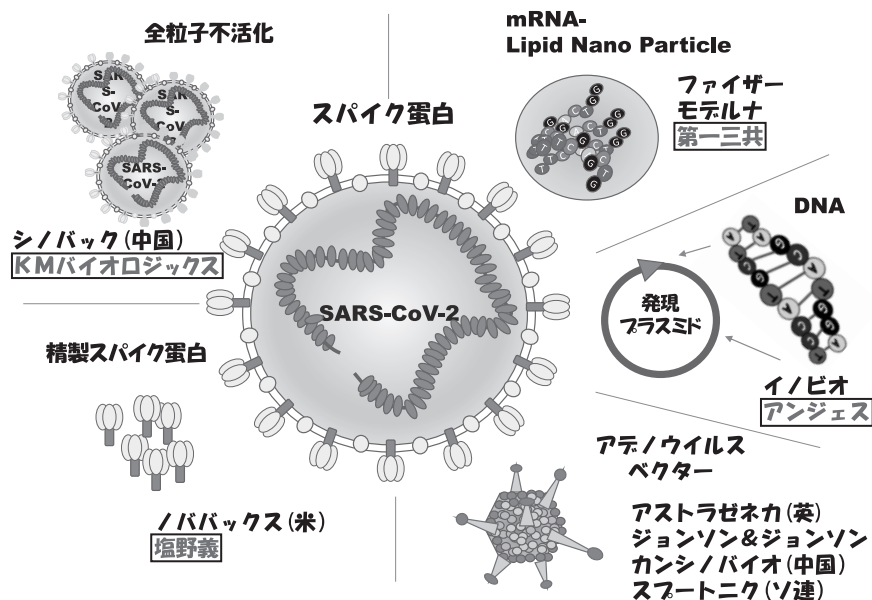


図1 新型コロナウイルスワクチンの開発

S蛋白遺伝子領域をPCRで増幅し、発現プラスミドにクローニングしてDNAワクチンを作成。このプラスミドからmRNAを合成し、lipid nano-particleに包み込んでmRNAワクチンを作成する。DNA断片をアデノウイルスベクターに挿入してウイルス粒子を作成する。全粒子不活化ワクチンはウイルスを培養し、精製しホルマリンで不活化する。精製蛋白はバキュロウイルスにS蛋白遺伝子を挿入し、昆虫細胞に感染させてS蛋白を発現させて精製する。四角で囲った箇所は国内開発メーカー。

を運ぶ（ベクター：運び屋）ことで蛋白を発現させ、体の中では増えないウイルスを使う非増殖型ウイルスベクターで、レンチウイルス、アデノウイルス、センダイウイルスベクターが開発されている。一方、現行の生ワクチンウイルスをベクターとして使って強い免疫応答が期待できるものが、種痘ウイルス（MVA, LC16m8）、麻疹ワクチンウイルスベクターといった増殖型ウイルスベクターである⁸⁻¹⁰。課題としては使用した遺伝子の発現効率、免疫応答の持続が挙げられる。DNAは安定しているがmRNAではRNA分解酵素により分解されやすく、脂質ナノ粒子に包埋する方法がとられる^{11,12}。全粒子不活化ワクチンは細胞培養により、大量の感染性ウイルスを増殖させ精製し、ホルマリンで不活化する。精製蛋白ワクチンは昆虫細胞に、標的とする蛋白の遺伝子を組み込んだバキュロウイルスを感染させ、蛋白を精製する方法である。精製蛋白は免疫原性が低いことからアジュバントを用いることになる。

新型コロナウイルスワクチンは遺伝子情報から設計されDNA、mRNA、ウイルスベクターワクチンが開発され、その特徴を表2に示した。筋注による接種方法でDNA、mRNAは筋肉細胞に取り込まれ発現することになるが、ランゲルハンス細胞等の抗原提示細胞にも取り込まれ、所属リンパ組織に運ばれ免疫応答を起こす。接種された後に安定した状態を保ち、細胞に取り込まれやすくするために、mRNAワクチンはナノ粒子に包む方法がとられている¹²。ウイルスベクターは接種前の免疫状態が免疫能に影響を及ぼす。

新規ワクチンのコンセプトを図2に示した。DNAワクチンは筋肉内注射（以下筋注）により筋肉細胞

の核内に人為的に入れる必要がある。核内でmRNAに転写され細胞質に移行する。アデノウイルスベクターワクチンは感染後増殖することはできないが、核内でmRNAが転写され細胞質に移行する。DNA、mRNA、ウイルスベクターワクチンは細胞質内に取り込まれたり、合成されたmRNAは内因性アジュバントとして細胞質内のPAMPs（pattern-associated molecular pattern）、インフラマソームを刺激し、RNAや一部二本鎖RNAは細胞質内のRNAセンサーのTLR3, 7, 8のリガンドとして働き、I型インターフェロン（type I IFN）を誘導し、type I IFNは獲得免疫としてCD8 CTL活性を誘導する。インフラマソームにも刺激が入ることで炎症性サイトカインを産生する。炎症性サイトカインはCD4 helper T細胞を介して抗体産生を誘導する^{13,14}。DNA、mRNA、ウイルスベクターワクチン抗体産生だけでなく細胞性免疫も誘導できる。

SARS、MERSは動物実験の結果、抗体依存性感染増強（antibody dependent enhancement: ADE）が報告されている。中和抗体だけでなく種々の抗体が産生され、ウイルス粒子に結合して抗体のFc部分を介してマクロファージのFc受容体に結合し、細胞内に感染性粒子を取り込みウイルスが増殖することで炎症性サイトカインを産生し、サイトカインストームを起こしている報告もある¹⁵。デング熱ワクチン接種後にデングウイルスに感染することで重症化した例が報告されており¹⁶、COVID-19でもワクチン接種により起こりうるのではと危惧されている。細胞内に取り込まれてもCD8 CTL活性が誘導されていればADEは低減できるのではと考えられる¹⁷。また、SARS-CoV-2はウイルス血症を起こし

表2 COVID-19 核酸ワクチンの性状

	mRNA	ウイルスベクター	DNA
長所	身体の中に長く残らない。核に移行しないので安全性は高い。早く製造できる。	エボラウイルスのワクチンでの使用経験がある。増殖型と非増殖型がある。	製造コストが安く、大量に製造できる
欠点	感染症に対する実績がない。分解されやすいので脂質ナノ粒子が必要	ウイルスベクターシステムの開発に時間がかかる。接種前の抗体で効果が減弱する。アデノベクターはDNAに組込まれる可能性がある。	投与には特別な機器が必要。核に移行する。
ワクチン開発	ファイザー（米）* モデルナ（米）* *承認済み	アストラゼネカ（英）* ジョンソン&ジョンソン（米）* カンシノバイオ（中国）* ガマレヤ（ソ連）*	イノビオ（米）

わが国ではmRNAワクチンは東京大学医科学研究所と第一三共、DNAワクチンはアンジェス、全粒子不活化ワクチンはKMバイオロジクス、精製蛋白は塩野義が開発している。

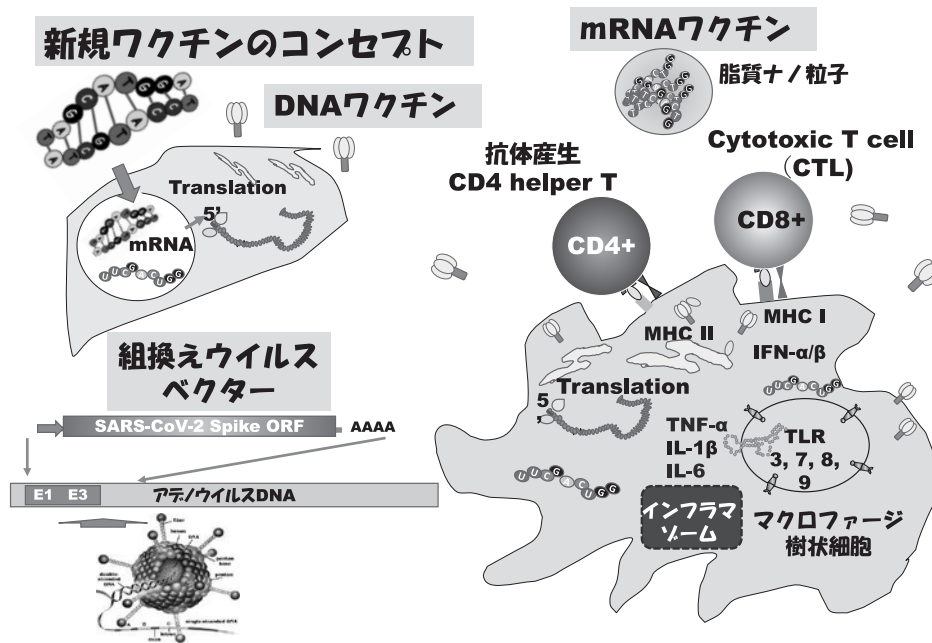


図2 新規ワクチン（DNA, mRNA, ウイルスベクター）のコンセプト

DNAワクチンは核に導入する必要がある。核で転写されたmRNAは細胞質に移行し、蛋白が翻訳される。アデノウイルスベクターは細胞に感染し、DNAは核に移行しmRNAに転写される。mRNA-LNPは細胞に貪食され細胞質にRNAが取り込まれる。mRNAはS蛋白を発現し、RNAは自然免疫を活性化しIFN- α/β はCD8を活性化しCTLを誘導する。インフラマソームを刺激しCD4細胞を活性化しヘルパー細胞を誘導し抗体産生に導く。

難しいようでADEは少ないとも考えられる。

Ⅲ. ワクチン抗原の選択

新型コロナウイルスの遺伝子構造、スパイク (S) 蛋白の機能ドメイン、感染のメカニズムを図3に示した。新型コロナウイルスが分離され、全塩基配列も決定されて、SARSと近縁のウイルスで全長約30Kbの長い (+) 鎖のRNAウイルスである。外殻タンパクとしてスパイク (S)、エンベロープ (E) 抗原が存在し中和抗原として作用している。S蛋白はSARSと76-77%の相同性を有し、SARSをモデルとして感染のメカニズムが解析されている。フーリンプロテアーゼにより開裂し、S1とS2サブユニットに分かれS1領域に受容体結合領域 (receptor binding domain: RBD) が存在し、細胞側のアンギオテンシン変換酵素2 (ACE2) と結合する。S2の中のheptad repeat (HR) 1, 2が同一分子内で重合し、さらにF蛋白は3量体を形成することで安定した6 helix bundle構造をとる。

F蛋白のRBDがACE2と結合してendocytosisで

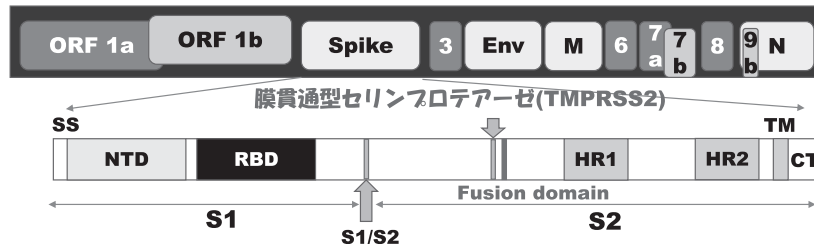
細胞質に取り込まれる経路と、細胞表面の膜貫通型セリンプロテアーゼ (TMPRSS2) によりさらに開裂してfusion domainが露出することで、細胞側の脂質二重膜に突き刺さり安定した6 helix bundle構造に戻り、ウイルス膜と細胞膜融合することで感染する^{18,19)}。S蛋白には感染の成立に働く受容体結合領域が存在することからワクチン開発の標的と考えられる。

Ⅳ. COVID-19 罹患者の免疫応答

ワクチン開発には、DNA, mRNA, ウイルスベクターに搭載する感染防御抗原にどの蛋白を選択するかを決めるだけでなく、自然感染ではどういう免疫応答をするかを知る必要がある。通常の血清応答は発症早期にIgM抗体が出現しIgGに移行するが、COVID-19では発症早期からIgGが出現したり、IgMがIgG抗体と同様に遅れて出現するパターンも報告されている²⁰⁾。

細胞性免疫能としてCD4 T cell responseはS, M, N蛋白の構造蛋白だけでなく、ORF3a, 7aといった非

A: SARS-CoV-2の遺伝子配列



B: 感染様式

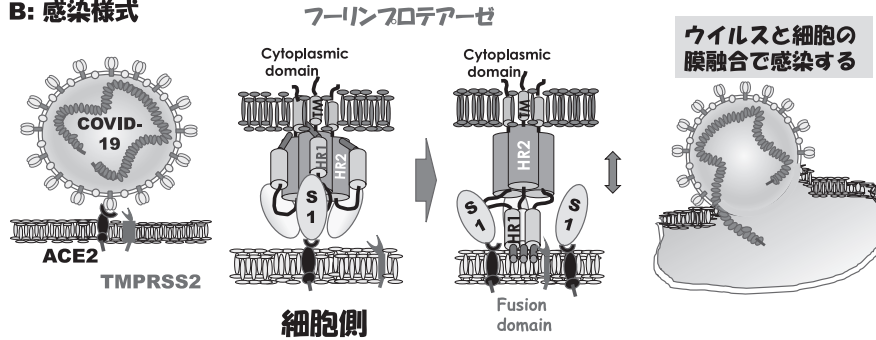


図3 新型コロナウイルスの遺伝子構造と感染のメカニズム

A: SARS-CoV-2 遺伝子構成とS蛋白の機能ドメイン、RBD (receptor binding domain)

B: 感染様式、RBDがアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 2に結合し、endocytosisで細胞内に取り込まれる。細胞膜上の膜貫通型セリンプロテアーゼ (TMPRSS2) により開裂し、fusion domainが細胞の脂質二重膜に突き刺さる。この構造は不安定でHR1, 2が重合した安定構造に戻ることによって膜融合を起こし脱殻する。

構造蛋白に対する反応が報告されている。サイトカイン応答からはTh1 優位の反応である。CD8 T cell response はS蛋白だけでなく、M蛋白に対する応答も検出されている。CD8, CD4 T cell response は回復期の70-100%に認められている²¹⁾。有効なワクチンとしてはCD8, CD4 Th1 応答を誘導するワクチンが必要と考えられる。

新型コロナウイルスに感染していないコントロール群では、新型コロナウイルスN蛋白ペプチドで刺激すると40-60%がCD4 T cell responseを示していることが報告されており、早期からIgG抗体が検出された報告²⁰⁾と合わせて、過去に近縁のウイルスに罹患したことが推測されており、日本を含めアジアでは欧米に比べて死亡率が低いことの一因とも考えられ、対象を拡大しての調査が必要と思われる²¹⁾。

mRNA ワクチンはいずれも注射製剤で、接種後には血中IgG抗体が高率に検出されており、重症化を抑制することはできる。通常、筋注では唾液中のIgA抗体は検出されないがファイザー、モデルナ社のmRNAでは唾液中にIgA抗体が検出できることが報告されており、上気道の感染防御に有効に働くと考えられる²²⁾。

V. 新型コロナウイルスワクチンの開発状況

1. mRNA ワクチン開発

mRNA は1961年にその存在が知られ、ワクチン開発に至るまでの重要な発見を図4^{23,24)}に示した。mRNAは無細胞条件下で人工合成ができ、短期間に製造できることから感染症対策が急がれていた今回のCOVID-19のワクチンとして開発された。1989年にカチオニックリピッドが開発されこれを利用してマウスで蛋白発現が確認されている。2000年前後から自然免疫応答が注目されるようになり、mRNAは細胞質内のPAMPsに認識される。立体構造をとる中で一部二本鎖RNAはTLR3、一本鎖RNAがTLR7, 8に認識され強いI型Interferon (IFN) 誘導刺激となり強いCTL活性を誘導できる。同時に炎症反応を惹起しIL-6, IL-1 β , TNF- α のサイトカイン産生を介し抗体産生を誘導できる。強いCTL活性を誘導できることから癌の領域においては発癌に関連する蛋白の発現を抑制するsmall interfering RNA (siRNA) を投与するなどに応用されてきた。感

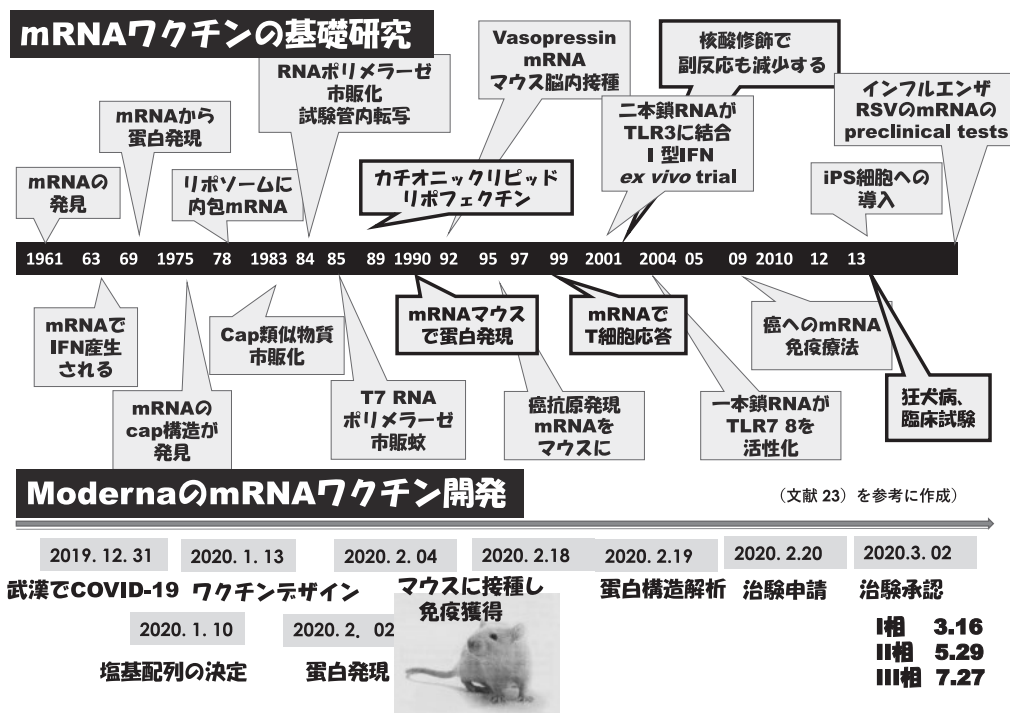


図4 mRNA ワクチンの開発経緯とモデルナ RNA の開発

mRNAは1961年に発見され、蛋白を発現する事、それにはCAP構造が必要であることから、RNA polymeraseも合成され市販化された。mRNAワクチン開発にとって重要な発見はcationic lipid delivery systemで、1989年に開発され、1990年にはmRNAを結合させてマウスに接種すると蛋白を発現することが見つかった。2000年代には自然免疫系が解明されmRNAワクチンでT細胞免疫を誘導できることがわかり、実際に癌の治療に応用された。修飾核酸を用いることで、自然免疫機構から逃れ、副反応が減少した。狂犬病ワクチンが開発されたが、その収益性から大手企業は撤退した。

実際のモデルナ社のワクチン開発のタイムテーブルが発表されている。2019年12月末にCOVID-19がWHOに報告され、2020年1月10日には全塩基配列が公開された。3日後の1月13日にワクチンデザインができて、2月2日に蛋白発現を確認して2日後の2月4日にマウスに接種された。2月20日に治験申請されており、塩基配列が公開され40日で治験申請とワーブスピードで進んできた。

(文献 24) を参考に作成)

感染症の領域では2013年に狂犬病ワクチンの phase I 試験が行われたが、大手製薬メーカーはその収益性から撤退し、モデルナ社とキュアバック社の2社はHIV、Ebola、RSV、Zika等の開発研究へと進んでいた^{23, 24)}。

COVID-19 mRNA ワクチンの模式図とその特徴を図5²⁵⁾に示した。蛋白合成ができることがわかり効率よく蛋白を発現するには5' CAP構造、3'末端のpoly A tailを付加する事や、mRNAのゲノムを安定化するために5', 3'非翻訳領域(untranslational region: UTR)を付加している²³⁾。mRNAをそのまま投与しても破壊されることから、(-)荷電のmRNAと結合する(+)荷電のカチオニックリピッドと結合させることでリポソームに包み込み、lipid nanoparticle (LNP)を構成し細胞内に取り込ませることができるようになった^{25, 26)}。ワクチン化には、mRNAが自然免疫に強い刺激を入れ、副反応も強いことか

ら、TLRに認識されにくいように修飾ウリジンを利用している²⁷⁾。S蛋白のPre fusionの構造を維持するための工夫(986, 987位のアミノ酸をProline)がとられている²⁸⁾。また、細胞質内でSタンパクを何度も発現するようにnon-structure protein (nsP 1-4)の配列を入れてsubgenomic promotorの下流に配したSタンパクの転写翻訳量が増えるような自己増殖型mRNAワクチンとしてデザインされている。こうした研究は、1980年代からの基礎研究の蓄積によるmRNA scienceの結晶である²⁶⁾。

2. ウイルスベクターワクチン開発

ウイルスベクターには生体内で増える増殖型と、一回感染するだけで増殖できない非増殖型ベクターの2種類がある。増殖型ベクターは種痘ウイルスワクチン株アンカラ株を改良したMVAに、他のウイルスの感染防御抗原のDNAを挿入した組換えウイ

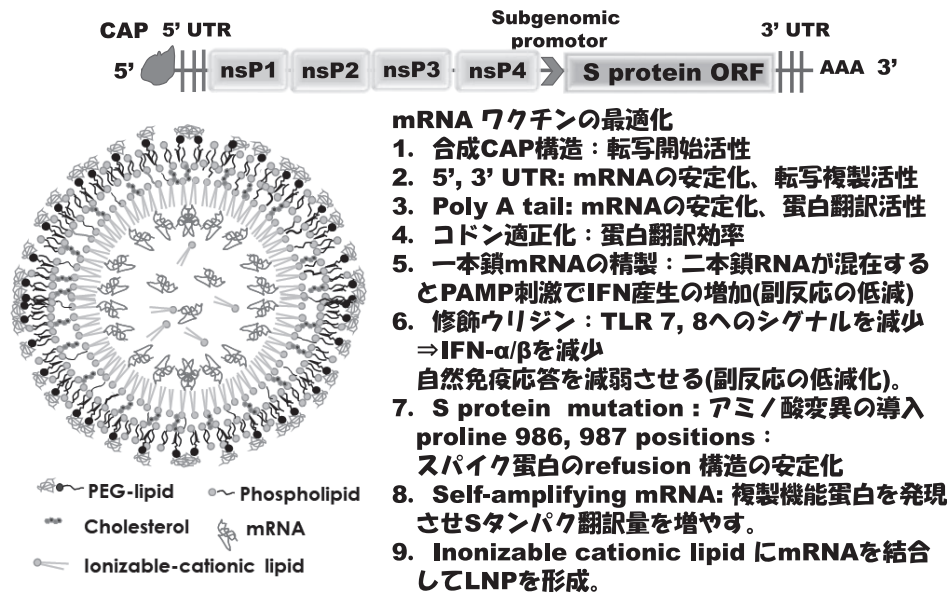


図5 mRNAの模式図と適正化

上段はmRNAワクチンの基本構造で図4で示したmRNAサイエンスが凝縮されている。mRNAの粒子の模式図を示したmRNAはcationic lipidに結合し、リン脂質、コレステロール、PEG結合脂質が脂質粒子を形成し、外側にPEGが並び水溶性となっている。

(文献 25)を参考に作成)

ルスの動物実験が1990年代まで続き、2000年代にはマラリア、H5N1、エボラウイルスの組換えウイルスで臨床試験のphase I/IIまで進んだものもあった。種痘の接種歴がある成人、高齢者がCOVID-19ワクチン対象となると免疫効果が低下することから、麻疹ウイルスベクターと同様に当初から免疫原性に課題をもっていた。非増殖型ベクターとしてレトロウイルス、アデノウイルスが遺伝子治療に使われてきた背景がある(図6)^{29,30)}。

1) レトロウイルスベクター

第一世代はガンマレトロウイルスベクターでgag, pol遺伝子を含めHIVゲノムを多くもっており、さらに多くの細胞のもつlow-density lipoprotein (LDL) receptorを認識するvesicular stomatitis virus (VSV) G蛋白を発現するようにデザインされた。HIVゲノムの中でウイルスの増殖に必須でない修飾遺伝子を欠損させた第2世代のベクターから、安全性を高めるために遺伝子を分割し、粒子形成に必要なgag, pol遺伝子、VSV-G蛋白をヘルパープラスミドから外来性に供給して、外来性遺伝子を運ぶための粒子を作成したものが第三世代のレンチウイルスベクターとして開発された²⁹⁾。こうしたレンチウイルスベクターを血液幹細胞に導入することで、 β -thalassemia, Wiskott-Aldrich syndrome, X-linked severe

combined immunodeficiency (SCID), Adenosine deaminase (ADA) 欠損症の治療用ベクターとして用いる臨床研究が行われている²⁹⁾。

2) アデノウイルスベクター

一方、アデノウイルスベクターはOrnithine transcarbamylase (OTC) 欠損症に用いられた^{30,31)}。ヒトアデノウイルスは50近くの血清型があり、感冒、下痢、咽頭結膜熱の原因となるありふれたウイルスで36kbの二本鎖DNAウイルスである。アデノウイルスは初期蛋白E1a, E1bが発現し、E2, E3を含む後期遺伝子の発現を活性化する。第一世代のアデノウイルスベクターはこのE1領域を欠損させたウイルスで自己増殖能が欠失している。血中に侵入して肝細胞にも導入できるように広い感受性細胞を有するアデノ5型が使用されるようになった。しかし、E1欠損のアデノウイルスベクターの効果の持続は投与前の免疫状態に影響され、抗体陽性のマウスでは免疫能の持続に課題が残った。CTL活性から逃れて免疫能を維持するための改良が必要であった。第二世代のアデノベクターは、E2に温度感受性のマーカーを導入することにより32°Cで増殖して生体内の37-39°Cでは増殖しないベクターである。第三世代はE4遺伝子を欠損させたもので、E4蛋白を外来性に供給することで増殖能を欠き、外来遺伝子

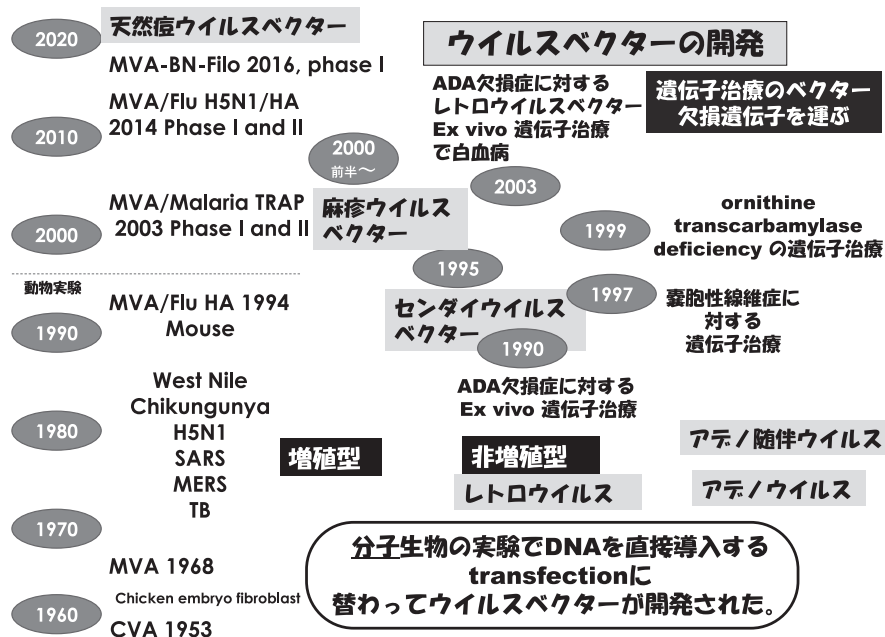


図6 ウイルスベクターの開発の歴史

ウイルスベクターには生体内で増える増殖型と一回感染するだけで増殖できない非増殖型ベクターの2種類がある。増殖型ベクターは種痘ウイルスワクチン株アンカラ株を改良したMVAに、他のウイルスの感染防御抗原のDNAを挿入した組換えウイルスの動物実験が1990年代まで続き、2000年代にはマラリア、H5N1、エボラの組換えウイルスで臨床試験のphase I/IIまで進んだものがあった。

非増殖型ベクターとしてレトロウイルス、アデノウイルスが遺伝子治療に使われてきた。アデノウイルスベクターは最初、嚢胞性線維症に使われたが肺胞が滲出液で覆われているため失敗した。1999年にはオルニチン・トランスカルバミラーゼ欠損症の18歳ゲルシンガー君にこの遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを投与したが4日後に亡くなっている。レトロウイルスベクターのex vivo療法を受けた患者さんで白血病で亡くなったことから、ウイルスベクターの開発が一時中断された。その後オックスフォード大学はウイルスベクターワクチンの開発研究に取り組んでいた。

(文献 29, 30)を参考に作成)

を組み込んだウイルス粒子を作成したものである。

ウイルスベクターは接種前の免疫状態に影響されるため、アデノ5型の血清中和抗体の陽性率が高いことから26型、チンパンジーアデノウイルスが使用されるようになった³²⁻³⁵⁾。MERS等に対するワクチンが開発され、MERSは臨床試験も実施され新型コロナウイルスが出現した時の備えができており、COVID-19臨床試験が行われ70%の有効率が示された^{36,37)}。アストラゼネカ社のチンパンジーアデノウイルスベクターが認可され、次いでジョンソン&ジョンソン社はヒトアデノ26型³⁸⁾、中国のカンシノバイオ社はヒトアデノ5型³⁹⁾、ソ連のガマレヤ研究所のスプートニクVは1回目にアデノ26型ベースのワクチンを接種し、2回目はアデノ5型を接種する方法のアデノウイルスベクターが開発されている⁴⁰⁾。

3) ウイルスベクターの負の側面

第一世代のアデノウイルスベクターは嚢胞性線維症(cystic fibrosis)に対して開発されたが、肺胞は

浸出液で満たされているために肺胞細胞には到達できずに失敗した。次に、OCT欠損症を対象としてマウスで有効性が示された。しかし、高ウイルス量のベクター投与では1週後に肝炎を認め、最高値のウイルス量を接種したアカゲザルは重度の肝障害と凝固異常で、数日後に安楽死の処置がとられていた。第三世代のベクターでは毒性が改善され、死亡例の1/17の低用量での安全性が確認され、高容量ベクターが接種されたヒヒで一過性の臨床検査値の異常が認められたのみであった。ヒトへの臨床試験は6段階のdose escalation testを各群3例ずつで開始し、その後5群15例は一過性の発熱とインフルエンザ様疾患と肝機能障害のみで無事に経過した。最高濃度の6群1例目の症例も同様で重篤な反応は認められなかった。しかし、第2例目のジェッシー・ゲルシンガー君18歳では劇症炎症反応を認め、多臓器不全で4日後に死亡した。剖検ではベクターウイルスによる自然免疫系の活性化による炎症性サイトカ

インが産生されたものと考えられた。接種前のアデノ中和抗体はゲルシンガー君が1:80で、同様に高濃度のベクターが投与された1例目の患者では1:20で遺伝性の素因や接種前の免疫状態が影響していたのか議論されたが、投与前の免疫状態が死亡に至る自然免疫応答の増強に影響するとは考えにくい³⁰⁾。

この事件が発端となって、多くの遺伝子治療の副反応が報告されずにいたことや、動物実験で同様の死亡例についてその原因の究明等が不適切であったことから、遺伝子治療の臨床試験のプロトコルの精査、エントリーする患児の妥当性、人権の保護（ヘルシンキ条約の厳守）、研究者と企業との利益相反の開示が求められるようになった。

レンチウイルスベクターでは、使用したレトロウイルスはヒト遺伝子に挿入される⁴¹⁾。Moloney murine retrovirus ベクターで治療した20例のSCIDの小児の内2名においてゲノムに挿入され、5名が白血病を発症した^{29, 30, 42)}。また、レンチウイルスベクターの遺伝子治療を受けた患児で骨髄異形成や急性骨髄性白血病を発症したことが報告され、ヒト遺伝子に組み込まれることで発癌遺伝子の活性化、癌抑制遺伝子の抑制を起している。

4) その他のワクチン

その他のCOVID-19ワクチンの剤型として、イノビオ社DNAワクチンのPhase Iの結果が報告されており、全長のスパイク領域のDNAを4週間隔2回接種で良好な免疫応答が報告されている⁴³⁾。わが国では、アンジェス社が開発しオール大阪で支援しているDNAワクチンはphase II/IIIが終了している。蛋白製剤のノババックスはS蛋白がPre fusionの構造を安定して発現するために、986, 987位のアミノ酸をProlineに変換して3量体構造のロゼット構造をつくりサポニンベースのMatrix-Mをアジュバントとして使用している⁴⁴⁾。Matrix-Mはマウスの実験では所属リンパ節に好中球, B, NK, 抗原提示細胞が流入し、分化・成熟を誘導し、IL-6等炎症性サイトカインを介してTh2応答を誘導する⁴⁵⁾。ナノ粒子化したノババックスワクチンは、ワクチン群83例、アジュバントに含まない群25例、コントロール群23例のphase I/IIが報告されている⁴⁶⁾。3週間隔2回接種5週後に中和抗体が検出されTh1応答が検出されたと報告されている。アジュバント添加群で抗原量を節約できるが局所反応が増えてく

る。ノババックスのワクチンは武田薬品工業の臨床試験を終え申請している。国産のタンパク製剤は塩野義製薬が臨床試験を実施している。従来タイプの全粒子不活化ワクチンの中国のシノバック/シノファーム社の製品⁴⁷⁾は承認され、中国や周辺国のみならず南米でも使用されている。わが国では旧化血研のKMバイオロジクスが開発中である。

VI. 現在世界で接種されているCOVID-19ワクチン

全世界で200件以上のワクチン開発が進行中と言われている。現在、世界中で認可され使用されているmRNAワクチンは、ファイザーとドイツのビオンテック社が共同開発したもの^{48, 49)}とモデルナ社^{50, 51)}のものである。わが国では東大医科研と第一三共が開発中である。非増殖型ウイルスベクターワクチンでは、アデノウイルスベクターワクチンはアストラゼネカ社を含め4社^{36~40)}と全粒子不活化ワクチン1社が承認されており、その特徴を表3に示した。遺伝子を用いたワクチンとしてDNAワクチンはアメリカのイノビオ社、日本ではアンジェス社が開発しているが承認には至っていない。

VII. ワクチン接種と副反応

1. ありふれた副反応

図2で示したようにDNA, mRNA, ウイルスベクターワクチンは細胞質でmRNAから蛋白を発現すると同時に、RNAセンサーであるTLRのligandとして働き自然免疫を活性化することで獲得免疫を誘導する。このことは別の視点から見ると、接種者の60-80%に強い局所の疼痛、全身反応としての50%前後に倦怠感、頭痛が認められ、発熱は2回接種後に15%程度に出現する^{48, 50)}といった副反応と関連している。いずれも接種当日の夜から翌日にかけて出現し1-2日で軽快する。モデルナワクチン1回目接種後には5-7日後に接種部位に搔痒感を伴う紅斑が0.8%に出現し、2回目では0.2%に出現しモデルナアームとして知られている⁵²⁾。しかし、実際に使用してみるとかなりの頻度で発熱、倦怠感、関節痛といった全身反応が強く認められ、副反応の出現頻

度も高いようである。わが国で現在使用されているファイザーとモデルナ社の mRNA ワクチンを用いたわが国での臨床治験の結果を表 4 に示した。広く接種が始まると phase III で認められなかったアナフィラキシー反応が報告され、欧米では 100 万接種当たり 2.8-5.0 例と報告されているが、わが国では 7 例でほとんどが女性である。

2. 血栓症の問題点

アストラゼネカ社のワクチンの副反応として、英国を含めた EU で 3,400 万人のうち 169 例の脳静脈洞血栓症 (cerebral venous sinus thrombosis) と、53 例

の内臓静脈血栓症 (splanchnic vein thrombosis) が 2021 年 4 月までに報告されており 6.5/100 万の頻度である⁵³⁾。一方、ファイザー社の mRNA ワクチン接種後では 5,400 万接種で 35 例が報告されている⁵³⁾。その病態はヘパリン誘発性の血小板第 4 因子 (platelet factor 4: PF4) に対する抗体による自己免疫疾患の病態が考えられており図 7⁵⁴⁾ に示した。PF4 は血小板から放出され、ヘパリンに親和性を有し、ヘパリン投与中にヘパリン・PF4 複合体ができて、それに対する自己抗体ができることでヘパリン活性を中和し凝固能が亢進する⁵⁴⁾。アストラゼネカのワクチンだけでなく、mRNA でも COVID-19 においても血栓症

表 3 認可されている COVID-19 ワクチン

	ファイザー	モデルナ	アストラゼネカ (英)	カンシノ・バイオロジックス (中国)	ジョンソン&ジョンソン社 (米)	ガマレア (ソ連)	シノバック (中国)
剤型	mRNA	mRNA	チンパンジー Adeno Vect.	Adeno 5型 Vect.	Adeno 26型 Vect.	1X Adeno 26 Vect 2X Adeno 5 Vect	全粒子不活化 アルミアジュバント 0.225mg
抗原	全長 spike	全長 spike	全長 spike	全長 spike	全長 spike	全長 spike	ウイルス抗原
有効率	発症予防 95% Vac: 8/17,411 Cont: 162/17,511	発症予防 94.1% Vac: 11/14,134 Cont: 185/14,073	発症予防 62.1% Vac: 27/4440 (62.1%), Cont: 71/4455	65.37% 30,000 case (Pakistan)	66% Vac: 16/19,306, Cont: 193/19,178	91.6% Vac: 16/16,501, Cont: 62/5476	73%
抗体反応	Day 21 RBD・EIA 抗体+	Day 15 EIA抗体 上昇	Day 28 でEIA抗体 100%陽性、 2回接種で上昇	ELISA:28日後で 96~97%陽性		Day14でEIA抗体 85~89%陽性、2回 接種で100%陽性	
	2回接種でNT+	2回接種でNT+	NT80%抑制法 では32/35 (91%) NT陽性は 2回接種後	NT抗体陽転 率:47~59%	1回接種29日後の NT陽性率>90% 57日後96% 2回接 種で2.2~2.9倍	Adeno26-Adeno5 で2回接種後100% Adeno26 2回接種 後は61%	Day 14で40%+ 2回接種2週後が ピークで 100%陽性
細胞性 免疫能	CD4+, CD8+ ELISPOT 陽性	100µg群でS蛋白 ペプチド刺激で CD4Th1免疫能+	ELISPOT43例 全例14日後に 陽性	ELISPOT:88~ 90% 28日後に 陽性	Day 15 で CD4+: 76~83%, CD8+: 60~67%	proliferation assay CD4+: 2.5% C8+: 1.3%	
副反応	局所反応:80%に 疼痛、全身反応: 発熱20~40%、頭痛 40~50%、倦怠感50 ~60% 2回目強い	局所反応:86%に 疼痛、全身反応: 発熱16%、頭痛 30~60%、倦怠感 70% 2回目強い	局所反応:60%に 疼痛、全身反応: 50~60%に 倦怠感 解熱剤を 一緒に投与	局所反応:57%に 疼痛、全身反応: 発熱32~16%、 頭痛29%、 倦怠感42~34%	局所反応:64~ 78%、全身反応: 65~84%、 発熱15~39%	局所疼痛:78~ 40%、頭痛:67%、 45% (2回目)、 発熱:89%、 95% (2回目)	局所疼痛は24% アジュバント添加 ワクチンで多い
投与方法	3週間隔で 2回	4週間間隔 2回	4週間間隔 2回	単回接種	単回接種	3週間隔で 2回	4週間隔で 2回
文献	48, 49	50, 51	36, 37	39	38	40	47

表 4 ファイザー、モデルナ mRNA の日本での臨床試験

Pfizer	1x %	2x %	Moderna	1x %	2x %
Local pain	86.6% (2.4%)	79.3% (-)	Local pain	82.7% (8.0%)	85.0% (2.0%)
Fatigue	40.3% (9.8%)	60.3% (2.4%)	Fatigue	18.7% (10.0%)	63.3% (8.0%)
Muscle pain	14.3% (2.4%)	16.4% (-)	Muscle pain	37.3% (4.0%)	49.7% (10.0%)
Headache	32.8% (14.6%)	44.0% (12.2%)	Headache	13.3% (-)	47.6% (10.0%)
Chill	25.2% (4.9%)	45.7% (2.4%)	Chill	5.3% (2.0%)	50.3% (-)
Joint pain	14.3% (4.9%)	25.0% (-)	Joint pain	8.0% (-)	32.0% (-)
Fever>37.5°C	14.3% (-)	32.8% (-)	Fever>38°C	2% (2%)	40.1% (-)

Vaccine group 120 subjects
Control group 40 subjects

Vaccine group 150 (147) subjects
Control group 50 subjects

()内はコントロール群での出現率

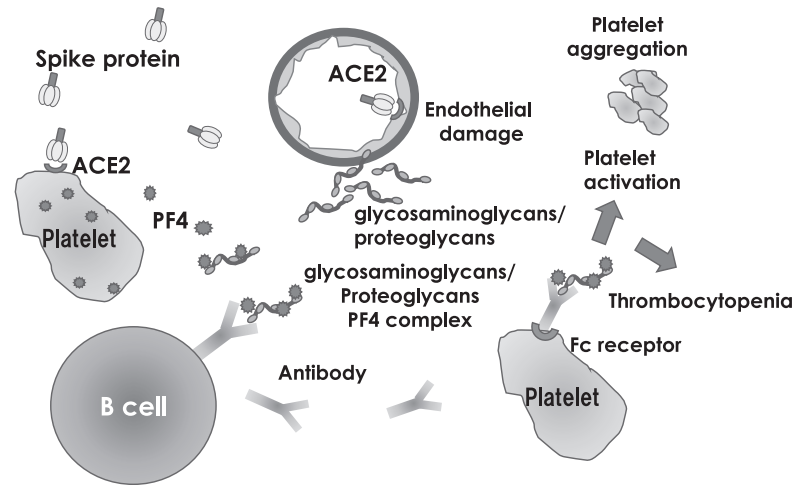


図7 血栓症の病態

スパイク蛋白は血小板のACE2に結合し、血小板が活性化されPF4が放出される。血中に入ったスパイク蛋白は血管内皮に多く発現しているACE2に結合し、炎症反応を惹起し、血栓ができるとともに修復機転として血管内皮細胞や血管平滑筋から glycosaminoglycans/proteoglycans が放出される。PF-4複合体を形成し複合体に対する自己抗体が産生される。抗体のFc部分が血小板のFcRと結合することで、血小板の破壊と活性化により血小板凝固が亢進し血栓を形成する。

(文献 54)を参考に作成)

が認められており、SARS-CoV-2 感染やワクチン接種により産生されるスパイク蛋白は、血小板の ACE2 に結合し血小板が活性化され PF4 が放出される。血中に入ったスパイク蛋白は血管内皮に多く発現している ACE2 に結合し、炎症反応を惹起し血栓ができるとともに修復機転として血管内皮細胞や血管平滑筋から glycosaminoglycans/proteoglycans が露出する。glycosaminoglycans/proteoglycans は PF-4 との親和性が高く、複合体を形成し複合体に対する自己抗体が産生される。抗体の Fc 部分が血小板の FcR と結合することで、血小板の破壊と活性化により血小板凝固が亢進し血栓を形成することが、血小板減少性凝固亢進症の病態と考えられる。ヘパリンを使用しない理由は血中に PF4 が産生されており、結合することで抗ヘパリン作用を増強することにある。いずれにしても頻度は極めて低いもので、ワクチンの効果のメリットが上回るもので、若い女性を除いて高齢者への接種に限定している国が多い。

mRNA ワクチンでは 6 例の心筋炎が 2 回目の接種後に発症したことが報告されており、若い男性で 2 回目の接種後に多く、その病因はまだ明らかとはされていない⁵⁵⁾。ヒトに初めて広く使用されるようになったワクチンであり、注意深く経過を追っていく必要がある。

おわりに

COVID-19 の流行から 1 年半が過ぎワクチン接種も進んできたが、感染力の強い変異株の出現と世界的な流行はまだ終息には至らない。国産ワクチンとして DNA, mRNA, 全粒子不活化ウイルス、精製蛋白ワクチンは Phase I/II が終了したところである。医療従事者から高齢者、基礎疾患を有する成人、職域接種、大学生への接種へと拡大する中で、臨床試験への参加者を募ることが困難となることで、phase III の臨床試験としてコントロール群としてプラセボ群を設定することに倫理的問題があり、数万人レベルの比較臨床試験が困難となっており、Phase III を工夫して実施することになる。

国産ワクチンの認可が待たれるとともに、ワクチン接種が進む中で新型コロナウイルスが果たしてインフルエンザのように毎年抗原性を変えて出てくるのか、注意深く観察を続ける必要がある。

文 献

- 1) Wu JT, Leung K, Leung GM. Nowcasting and forecasting the potential domestic and international spread of the 2019-nCoV outbreak originating in Wuhan, China: a mod-

- elling study. *Lancet* 2020; **395**: 689-697.
- 2) Cohen J. Vaccine designers take first shots at COVID-19; Two candidate vaccines start trials while dozens more are rushed into development. *Science* 2020; **368**: 14-16. DOI: 10.1126/science.368.6486.14
 - 3) Lurie N, Saville M, Hatchett R, et al. Developing covid-19 vaccines at pandemic speed. *N Engl J Med* 2020; **382**: 1969-1973. DOI: 10.1056/NEJMp2005630
 - 4) Chen WH, Strych U, Hotez PJ, et al. The SARS-CoV-2 vaccine pipeline: an overview. *Curr Trop Med Rep* 2020 Mar **3**; 1-4. doi: 10.1007/s40475-020-00201-6.
 - 5) Sharpe HR, Gilbride C, Allen E, et al. The early landscape of coronavirus disease 2019 vaccine development in the UK and rest of the world. *Immunol* 2020; **160**: 223-232. doi:10.1111/imm.13222
 - 6) Chodick G, Tene L, Rotem RS, The effectiveness of the two-dose BNT162b2 vaccine: analysis of real-world data. *Clin Infect Dis* 2021; ciab438. doi: 10.1093/cid/ciab438
 - 7) Trovato M, Sartorius R, D'Apice L, et al. Viral emerging diseases: challenges in developing vaccination strategies. *Front Immunol.* 2020; **11**: 2130. doi: 10.3389/fimmu.2020.02130. eCollection 2020.
 - 8) Flotte TR.: Gene therapy: the first two decades and the current state-of-the-art. *J Cell Physiol.* 2007; **213**: 301-305. doi.org/10.1002/jcp.21173.
 - 9) Bulcha JT, Wang Y, Ma H, et al.: Viral vector platforms within the gene therapy landscape. *Signal Transduct Target Ther* 2021; **6**: 53. doi: 10.1038/s41392-021-00487-6
 - 10) Humphreys IR, Sebastian S.: Novel viral vectors in infectious diseases. *Immunology* 2017; **153**: 1-9.
 - 11) Pushparajah D, Jimenez, S, Wong S., et al.: Advances in gene-based vaccine platforms to address the COVID-19 pandemic. *Adv Drug Del* 2021; **170**: 113-141. doi.org/10.1016/j.addr.2021.01.003
 - 12) Eygeris Y, Patel S, Jozic A, et al. Deconvoluting lipid nanoparticle structure for messenger RNA delivery. *Nano Lett* DOI: 10.1021/acs.nanolett.0c01386
 - 13) Nakayama T. An inflammatory response is essential for the development of adaptive immunity-immunogenicity and immunotoxicity. *Vaccine* 2016; **34**: 5815-5918. doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.08.051
 - 14) Philbin VJ, Levy O. Developmental biology of the innate immune response: implications for neonatal and infant vaccine development. *Pediatr Res* 2009; **65**: 98R-105R. doi:10.1203/PDR.0b013e31819f195d.
 - 15) Liu Y, Soh WT, Kishikawa J, et al. An infectivity-enhancing site on the SARS-CoV-2 spike protein targeted by antibodies. *Cell* 2021; **184**: 3452-3466. doi: 10.1016/j.cell.2021.05.032.
 - 16) Hadinegoro SR, Arredondo-García JL, Capeding MR.: Efficacy and long-term safety of a dengue vaccine in regions of endemic disease. *New Engl J Med*, 2015; **373**: 1195-206. DOI: 10.1056/NEJMoa1506223.
 - 17) de Alwis R, Chen S, Gan ES, et al. Impact of immune enhancement on COVID-19 polyclonal hyperimmune globulin therapy and vaccine development. *EBioMedicine* 2020; **55**: 102768. doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102768
 - 18) Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *Med Virol* 2020; **92**: 418-423. DOI: 10.1002/jmv.25681
 - 19) Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 2020; **181**: 271-280. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052
 - 20) Azkur AK, Akdis M, Azkur D, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy* 2020 doi: 10.1111/ALL.14364
 - 21) Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, et al. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. *Cell* 2020; **181**: 1-13. doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.015
 - 22) Ketas TJ, Chaturbhuj D, Portillo C., et al.: Antibody responses to SARS-CoV-2 mRNA vaccines are detectable in saliva. *Path Immunity* 2021; **6**: 116-134. Doi/10.20411/pai.v6i1.441
 - 23) Sahin U, Karikó K, Türeci Ö, et al.: mRNA-based therapeutics — developing a new class of drugs. *Nature Rev* 2014; **13**: 759-780. doi:10.1038/nrd4278
 - 24) Corbett KS, Edwards DK, Leist SR, et al: SARS-CoV-2 mRNA vaccine design enabled by prototype pathogen preparedness. *Nature* 2020; **586**: 567-571
 - 25) Oberli MA, Reichmuth AM, Dorkin JR, et al.: Lipid nanoparticle assisted mRNA delivery for potent cancer immunotherapy. *Nano Lett* 2018;**17**: 1326-1335. doi:10.1021/acs.nanolett.6b03329
 - 26) Kulkarni JA, Cullis PR, van der Meel R. Lipid nanoparticles enabling gene therapies: from concepts to clinical utility. *Nuc Acid Ther* 2018; **28**: 146-157. DOI: 10.1089/nat.2018.0721
 - 27) Karikó K, Muramatsu H, Welsh FA, et al.: Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability. *Mol Ther* 2008; **16**: 1833-1840. doi:10.1038/mt.2008.200
 - 28) Hsieh CL, Goldsmith JA, Schaub JM, et al.: Structure-based design of prefusion-stabilized SARS-CoV-2 spikes. *Science* 2020; **369**: 1501-1505. doi: 10.1126/science.abd0826.
 - 29) Milone MC, O' Doherty U. Clinical use of lentiviral vectors. *Leukemia* 2018; **32**: 1529-1541. doi.org/10.1038/s41375-018-0106-0.
 - 30) Nemerow G, Flint J. Lessons learned from adenovirus (1970-201) . *FEBS Let* 2019; **593**: 3395-3418. doi.org/10.1002/1873-3468.13700
 - 31) Raper SE, Wilson JM, Yudkoff M, et al.: Developing adenoviral-mediated in vivo gene therapy for ornithine transcarbamylase deficiency. *J Inher Metab Dis* 1998; **21**: 119-137
 - 32) Lemckert AAC, Sumida SM, Holterman L, et al.: Immuno-

- genicity of heterologous prime-boost regimens involving recombinant adenovirus serotype 11 (Ad11) and Ad35 vaccine vectors in the presence of anti-Ad5 immunity. *J Virol* 2005; **79**: 9694-9701.
- 33) Baden LR, Walsh SR, Seaman M, et al.: First-in-human evaluation of the safety and immunogenicity of a recombinant adenovirus serotype 26 HIV-1 Env vaccine (IPCAVD 001). *J Infect Dis* 2013; **207**: 240-247. DOI: 10.1093/infdis/jis.
 - 34) Dicks MDJ, Spencer AJ, Edwards NJ, et al.: A Novel Chimpanzee adenovirus vector with low human seroprevalence: improved systems for vector derivation and comparative immunogenicity. *PLoSOne* 2012; **7**: e40385.
 - 35) Folegatti PM, Bittaye M, Flaxman A, et al.: Safety and immunogenicity of a candidate Middle East respiratory syndrome coronavirus viral-vectored vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, uncontrolled, phase 1 trial. *Lancet Infect Dis* 2020 **20**: 816-26. doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30160-2.
 - 36) Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA, et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet* 2021; **397**: 99-111. doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32661-1.
 - 37) Ramasamy MN, Minassian AM, Ewer K, et al.: Safety and immunogenicity of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine administered in a prime-boost regimen in young and old adults (COV002): a single-blind, randomised, controlled, phase 2/3 trial. *Lancet* 2020; **396**: 1979-1993. doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32466-1
 - 38) Sadoff L, Gars L, Shukarev G, et al.: Interim Results of a Phase 1-2a Trial of Ad26.COV2.S Covid-19 Vaccine. *New Engl J Med* 2021; **384**: 1824-1835. DOI: 10.1056/NEJMoa2034201.
 - 39) Zhu FC, Li YH, Guan XH, et al.; Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet* 2020; **395**: 1845-1854. DOI:10.1016/s0140-6736(20)31208-3
 - 40) Logunov DY, Dolzhikova IV, Shcheblyakov DV, et al.: Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet* 2021; **397**: 671-81. doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00234-8.
 - 41) Biasco L, Baricordi C, Aiuti A.: Retroviral integrations in gene therapy trials. *Mol Ther* 2012; **20**: 709-716. Doi:10.1038/mt.2011.289.
 - 42) Bordignon C, Notarangelo LD, Nobilin N, et al.: Gene therapy in peripheral blood lymphocytes and bone marrow for ADA- immunodeficient patients. *Science* 1995; **270**: 470-475.
 - 43) Tebas P, Yang S, Boyer J, et al.: Safety and immunogenicity of INO-4800 DNA vaccine against SARS-CoV-2: A preliminary report of an open-label, Phase 1 clinical trial. *E Clin Med* 2021; **31**: 100689. doi.org/10.1016/j.eclinm.2020.100689
 - 44) Bangaru S, Ozorowski G, Turner HL, et al.: Structural analysis of full-length SARS-CoV-2 spike protein from an advanced vaccine candidate. *Science* 2020; **370**: 1089-1094. doi: 10.1126/science.abe1502.
 - 45) Reimer JM, Karlsson KH, Lövgren-Bengtsson K, et al.: Matrix-MTM adjuvant induces local recruitment, activation and maturation of central immune cells in absence of antigen. *PLoS One* 2012; **7**: e41451. doi:10.1371/journal.pone.0041451
 - 46) Keech C, Albert G, Cho I, et al.: Phase 1-2 trial of a SARS-CoV-2 recombinant spike protein nanoparticle vaccine. *New Engl J Med* 2020; **383**: 2320-2332. DOI:10.1056/NEJMoa2026920
 - 47) Xia S, Zhang Y, Wang Y, et al.: Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBIBP-CorV: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 trial. *Lancet Infect Dis* 2021; **21**: 39-51. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30831-8.
 - 48) Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, et al.: Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. *N Engl J Med* 2020; **383**: 2603-2615. DOI: 10.1056/NEJMoa2034577
 - 49) Walsh EE, Frenck RW, Falsey AR, et al.; Safety and immunogenicity of two RNA-Based Covid-19 vaccine candidates. *N Engl J Med* 2020 **383**: 2439-2450. DOI: 10.1056/NEJMoa2027906
 - 50) Baden LR, EL Sahly HM, Essink B, et al.: Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine. *N Engl J Med* 2021; **384**: 403-416. DOI: 10.1056/NEJMoa2035389
 - 51) Anderson EJ, Roupheal NG, Widge AT, et al.: Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccine in older adults. *N Engl J Med* 2020; **383**: 2427-2438. DOI: 10.1056/NEJMoa2028436
 - 52) Blumenthal KG, Freeman EE, Saff RR, et al.: Delayed Large Local Reactions to mRNA-1273 Vaccine against SARS-CoV-2. *N Engl J Med* 2021; **384**: 1273-1277. DOI: 10.1056/NEJMc2102131
 - 53) Dotan A, Shoenfeld Y.: Perspectives on vaccine induced thrombotic thrombocytopenia. *J Autoimmun* 2021; **121**: 102663. doi.org/10.1016/j.jaut.2021.102663
 - 54) Kantarcioglu B, Iqbal O, Walenga JM, et al.: An update on the pathogenesis of COVID-19 and the reportedly rare thrombotic events following vaccination. *Clin Appl Throm* 2021; **27**: 1-14. doi.org/10.1177/10760296211021498 (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)
 - 55) Mouch SA, Roguin A, Hellou E, et al.: Myocarditis following COVID-19 mRNA vaccination. *Vaccine* 2021; **39**: 3790-3793. doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.05.087