



図5 ペプチド結合リポソームによる、SARS-CoV-N 特異的CTLの誘導

SARS-CoVのN蛋白由来ペプチド、N-223およびN-227を結合したペプチド結合リポソーム(Lip-N-223, Lip-N-227)でHLA-A2トランスジェニックマウスを免疫して7日後、その脾細胞を調整した。そして、それぞれのペプチドの存在(B, D)、非存在(A, C)下で5時間培養し、CD8と細胞内IFN- γ を染色して、フローサイトメトリーで解析した。数字は、CD8細胞中のIFN- γ 陽性細胞の%である。

対して、抗体だけでなくCTLを強力に誘導するので、広く利用されている。SとN遺伝子を組み込んだアデノウイルス複製欠損株で、マウスやアカゲザルを免疫したところ、中和抗体とともに強いT細胞反応が誘導された¹²⁾。

(3)他の組換えウイルス

他に、水疱性口内炎ウイルス¹³⁾やアデノ随伴ウイルス¹⁴⁾などが利用されている。それぞれに、SかN遺伝子が組み込まれ、実験動物に中和抗体やCTLを誘導した。

6. DNAワクチン

DNAワクチンは、安全で作製が容易であり、体液性免疫と細胞性免疫の両方を誘導するため、さまざまな研究室で開発が試みられている。しかし、免疫原性が弱いのが難点である。Yangら²⁾は、SARS-CoVのS遺伝子を組み込んだ発現プラスミドでマウスを免疫し、SARS-CoVに対するDNAワクチンの最初の報告を行った。また、抗原提示を促進するcalreticulin遺伝子¹⁵⁾を加えて、免疫の誘導を向上させた。しかし、DNAで初回免疫(プライム)した後に、同じ抗原遺伝子を含む組換えウイルスで2次免疫(ブースト)すると

強力に体液性免疫と細胞性免疫を誘導できることがわかったため、最近では、このプライム・ブースト法が主流である¹⁶⁾。

7. ペプチド結合リポソーム

われわれは、合成ペプチドをリポソーム表面に結合させてマウスに免疫することで、強力にペプチド特異的CTLを誘導できることを示した¹⁷⁾。このペプチド結合リポソームは抗原特異的IgE産生がみられないため、アレルギー反応を惹起しにくいワクチンの担体となりうる。われわれは、このペプチド結合リポソームを利用して、SARSに対するCTL誘導型ワクチンの開発を試みている(図5)。

おわりに

重症急性呼吸器症候群(SARS)の発生はここ数年みられないが、ウイルスは自然宿主に潜んでいる。したがって、またいつか、種の壁を越えてヒトに猛威を振るうであろう。われわれは、人獣の両方に感染する株に対しても防御反応を提供できるようなワクチンを開発する必要がある。それには、体液性免疫と細胞性免疫の両方を誘導するようなワクチンが理想である。SARSから自然に回復したヒトの免疫機構を理解することは重要である。また、動物モデルの確立、SARSのpathologyの理解は、副作用のない、安全で効率的なワクチンの開発に必要である。

文 献

- 1) Enjuanes L, DeDiego ML, Alvarez E, et al. Vaccines to prevent severe acute respiratory syndrome coronavirus-induced disease. *Virus Res* 2008; 133: 45.
- 2) Yang ZY, Kong WP, Huang Y, et al. A DNA vaccine induces SARS coronavirus neutralization and protective immunity in mice. *Nature* 2004; 428: 561.
- 3) Li T, Xie J, He Y, et al. Long-term persistence of robust antibody and cytotoxic T cell responses in recovered patients infected with SARS coronavirus. *PLoS ONE* 2006; 1: 1.
- 4) Wang H, Rao S, Jiang C. Molecular pathogenesis of severe acute respiratory syndrome. *Microbes Infect* 2007; 9: 119.

- 5) Spruth M, Kistner O, Savidis-Dacho H, et al. A double-inactivated whole virus candidate SARS coronavirus vaccine stimulates neutralising and protective antibody responses. *Vaccine* 2006 ; 24 : 652.
- 6) See RH, Zakhartchouk AN, Petric M, et al. Comparative evaluation of two severe acute respiratory syndrome (SARS) vaccine candidates in mice challenged with SARS coronavirus. *J Gen Virol* 2006 ; 87 : 641.
- 7) Lamirande EW, DeDiengo ML, Roberts A, et al. A live attenuated severe acute respiratory syndrome coronavirus is immunogenic and efficacious in golden syrian hamsters. *J Virol* 2008 ; 82 : 7721.
- 8) He Y, Li J, Li W, et al. Cross-neutralization of human and palm civet severe acute respiratory syndrome coronaviruses by antibodies targeting the receptor-binding domain of spike protein. *J Immunol* 2006 ; 176 : 6085.
- 9) Lu X, Chen Y, Bai B, et al. Immune responses against severe acute respiratory syndrome coronavirus induced by virus-like particles in mice. *Immunology* 2007 ; 122 : 496.
- 10) Bisht H, Roberts A, Vogel L, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein expressed by attenuated vaccinia virus protectively immunizes mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 6641.
- 11) Weingartl H, Czub M, Czub S, et al. Immunization with modified vaccinia virus Ankara-based recombinant vaccine against severe acute respiratory syndrome is associated with enhanced hepatitis in ferrets. *J Virol* 2004 ; 78 : 12672.
- 12) Gao W, Tamin A, Soloff A, et al. Effects of a SARS associated coronavirus vaccine in monkeys. *Lancet* 2003 ; 362 : 1895.
- 13) Kapadia SU, Simon ID, Rose JK. SARS vaccine based on a replication-defective recombinant vesicular stomatitis virus is more potent than one based on a replication-competent vector. *Virology* 2008 ; 376 : 165.
- 14) Du L, Zhao G, Lin Y, et al. Intranasal vaccination of recombinant adeno-associated virus encoding receptor-binding domain of severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) spike protein induces strong mucosal immune responses and provides long-term protection against SARS-CoV infection. *J Immunol* 2008 ; 180 : 948.
- 15) Kim TW, Lee JH, Hung CF, et al. Generation and characterization of DNA vaccines targeting the nucleocapsid protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Virol* 2004 ; 78 : 4638.
- 16) Ma C, Yao K, Zhou F, et al. Comparative immunization in BALB/c mice with recombinant replication-defective adenovirus vector and DNA plasmid expressing a SARS-CoV nucleocapsid protein gene. *Cell Mol Immunol* 2006 ; 3 : 459.
- 17) Taneichi M, Ishida H, Kajino K, et al. Antigen chemically coupled to the surface of liposomes are cross-presented to CD8⁺ T cells and induce potent anti-tumor immunity. *J Immunol* 2006 ; 177 : 2324.

* * *