

### AIDS 백신개발의 최근 동향

배 용 수

한남대학교 미생물학과

세계적으로 AIDS와의 전쟁에서 항 바이러스제의 개발이 주류를 차지하고 있으나 대부분의 HIV-1 감염자들은 이들 치료제의 혜택을 거의 누리지 못하고 있는 실정이다. 이는 실제 AIDS 환자들이 이런 약들을 구입할 만한 재정적 능력이 부족한 국가나 지역에 집중되어 있기 때문이다. 그 외에도 항 바이러스제를 이용한 치료가 가능한 서방 국가에서도, 약에 대한 부작용과 약제 내성 바이러스의 출현으로 인해 항 바이러스제를 이용한 치료는 보편화되지 못하고 있다. 실제 항 바이러스제의 치료에 효과를 보는 듯하던 사람들에게서조차도 입과조직에서는 HIV-1 바이러스의 증식이 계속되고 있다는 사실이 밝혀지면서 더더욱 AIDS 치료제는 한계를 드러내고 있다 (30). 그러므로 AIDS의 확산을 성공적으로 봉쇄하기 위해서는 무엇보다도 예방용 백신 개발이 시급한 실정이다.

HIV-1 바이러스는 그 독특한 성질 때문에 백신 개발이 어려운 것이 사실이다. 그러기에 지난 10여년 간의 엄청난 연구투자와 노력에도 불구하고 이렇다 할 백신이 개발되지 못한 채 HIV-1 감염을 억제할 방어면역 생성에 대해서도 아직 밝혀져야 할 많은 부분이 남아있다. 이 바이러스는 감염된 사람 안에서 끊임없이 복제하며, 체액성 및 세포성 면역이 강력하게 작용함에도 불구하고 감염자의 몸에서 사라지지 않은 채 면역을 피해 계속 몸의 면역계를 파괴시킨다 (74). 감염 후 virus에 대한 면역이 생기면 계속 도피성 돌연변이주 (escape mutant)가 생겨나 다시 증식하여 몸의 면역세포를 서서히 파괴시키다가 면역결핍 상태가 되면 급속히 증식하여 잔여 면역세포를 완전히 파괴시켜 환자가 외부 병원체의 감염에 무방비 상태가 되게 한다 (79). 또한 몸의 면역이 강력할 경우 감염된 세포 내에서 provirus 상태로 잠복기를 지나면서 무한정 존속하다가, 기회를 타서 다시 증식하여 발병하기도 한다 (17).

이러한 많은 한계에도 불구하고 인류가 AIDS의 공포로부터 벗어나기 위해서 AIDS vaccine은 계속 연구되고 반드시 개발되어야 한다. 본고에서는 AIDS 백신개발을 위해 알아야 할 기본적인 면역반응과 최근 AIDS vaccine 개발의 동향을 크게 몇가지 항목으로 분류하여 기술하고 AIDS 백신 개발과 관련하여 최근 강조되고 있는 점막면역과 성공적인 백신개발의 전략에 대해 살펴보고자 한다.

### 감염자의 체내에서 나타나는 HIV-1에 대한 면역 반응

HIV-1에 대한 효과적인 백신개발을 위해서는 무엇보다도 이 바이러스에 대한 체액성 및 세포성 면역을 잘 이해하여야 한다. 환자에게서 직접 분리한 HIV-1 바이러스는 중화항체 유도능이 낮은 구조를 가지고 있다 (102). 그러므로 비록 감염자가 HIV-1의 표면항원에 대한 높은 항체역가를 보여도 이러한 항체들은 체내의 바이러스를 중화시키는 능력이 매우 낮은 것으로 보고되었다 (62, 63). 더욱이 감염초기 바이러스가 대량 증식되는 1차 viremia 시기에는 이런 약한 중화항체조차 생산되지 않다가 몸속에서 오랜 증식과정이 지난 후에야 그나마 약한 중화항체가 나타난다 (44, 78, 80). 이러한 연구결과는 중화항체가 HIV-1 감염후 초기 증식억제에 제대로 작용하지 못하고 있음을 시사한다.

그러나, 이러한 연구결과가 vaccine이 중화 항체를 유도할 수 없거나 그런 면역 반응이 HIV-1 감염을 방어하지 못한다는 의미는 아니다. 사실 HIV-1에 감염된 환자에서 분리하여 만든 몇 종류의 단클론 항체는 다양한 HIV-1 바이러스 변이종에 대해 강력한 중화력을 가진 것으로 알려졌다 (8). 또한 이러한 중화항체가 바이러스를 중화시키기 위해서는 바이러스의 표면의 gp120만이 아니라 반드시 gp120-gp41 complex에 잘 결합하여야 한다는 것이 명확하여졌다 (8). 앞으로 더 광범위하게 작용할 수 있는 HIV-1에 대한 단클론 중화 항체가 개발될 수 있다면 예방 뿐 아니라 치료제로도 효과적으로 사용될 수 있을 것이다.

CD8<sup>+</sup> 세포독성 임파구 (CTL)는 감염된 사람들에 있어서 HIV-1의 증식을 억제하는데 중요하게 작용하며 CTL의 중요성은 이미 많은 연구결과를 통해 잘 알려져 있다. HIV-1에 특이하게 작용하는 CTL은 HIV-1에 감염된 환자나 인위적으로 감염시킨 영장류의 말초 혈액, 임파선, 기관지 계통의 임파조직, spleen, 피부, 척수, vaginal 점막조직, 등에 다양으로 검출된다 (35, 40, 50, 87, 108). 이러한 CTL에 의한 HIV-1 증식억제는 아마도 autologous CD8<sup>+</sup> 이 발현 분비하는 chemokine이나 cytokine과 함께 작용하는 것으로 알려지고 있다 (100, 103). 분명한 것은 감염된 사람에게서 HIV-1 복제가 초기에

봉쇄되는 것은 virus-specific CTL의 출현과 깊은 관계가 있다 (14, 44, 75). 또한 HIV-1에 만성 감염된 사람에게서 CTL 반응이 높게 나타나면서 바이러스 load가 낮게 유지되는 등 장기간 병의 진전이 억제되는 것도 이러한 맥락에서 해석될 수 있을 것이다 (69, 73). 이러한 연구결과는 효과적인 HIV-1 백신은 HIV-1-specific CTL을 잘 유도하여야 함을 시사한다. 이는 HIV-1 백신 개발시 고려하여야 할 또 다른 과제로, 이제까지 다른 전염병 예방을 위해 개발된 백신들은 대부분 이러한 effector T cell의 유도를 고려할 필요가 없었다.

AIDS 백신이 효과를 보기 위해서 어느 정도의 CTL을 유도하여야 하는지는 아직 분명치 않다. 이상적이기로는 대부분의 백신 접종자가 여러 종의 HIV-1 virus가 발현하는 단백질에 대하여 강력하고도 지속적인 CTL을 유도하는 것일 것이다. 어떠한 백신 접종에 의해 HIV-1-specific CTL을 유도한다는 논리적 근거는 백신 접종을 통해 HIV-1에 특이하게 작용하는 memory CTL을 확보하고 있다가 이들이 바이러스가 감염되면 다른 naive T cell에 비해 effector T cell로 빠른 속도로 분화되면서 수가 급격히 늘어나는 것이어야 한다. 백신 접종으로 비록 산발적으로라도 CTL을 유도하여 memory T cell을 만들어 놓을 수 있다면 바이러스 감염 직후 이들에 의해 신속하고도 효과적인 effector CTL의 작용을 기대 할 수 있을 것이다. 그러므로 앞으로 보다 효과적인 AIDS vaccine 개발을 위해서는 CTL 면역유도에 많은 관심과 연구가 병행되어야 할 것이다.

## HIV-1 백신 개발을 위한 동물 모델

개발된 AIDS 백신 후보주의 면역 유도능과 이들의 HIV-1 감염에 대한 체내에서의 방어력을 시험하기 위해 동물 모델 필요하다 (표 1). 사람 이외에 HIV-1에 의해 감염되는 유일한 동물이 대동물 영장류(great apes)이다. 이 중에서도 침팬지에서 연구가 가장 효과적이고 사람에서 나타나는 증상과 비슷한 것으로 알려져 있다. 그러나 환자에게서 직접 분리한 대부분의 HIV-1은 침팬지에서 낮은 증식력을 보이며, 만성감염의 경우에도 혈장에서 viral RNA를 검출할 수 없었다. 그리고 이러한 환자 분리주들은 대부분 침팬치에서 병을 유발하지 않는다. 그러기에 실제 백신 후보주라고 하여 침팬치에 면역시키고 이러한 환자 분리주로 challenge하여 백신 가능성을 주장했던 결과들이, 많은 부분 백신 효과라고 하기보다는 침팬지에서 challenge한 HIV-1의 낮은 증식력 때문일 것으로 보인다(34). 그러나 최근 HIV-1 환자 분리주 중 chimpanzee에서 여러 대에 걸쳐 계대배양 했을 때 상당한 수준까지 복제력이 증가하고, CD4+ 임파구의 손실을 유발하며, 침팬지에서 AIDS와 유사한 증상을 야기하였다 (71). 이러한 균주의 개발은 앞으로 백신 후보주를 검사하는데 중요한 도구가 될 것이다. 그럼에도

생물산업

표 1. HIV-1 백신 검사를 위한 비인간 영장류 모델

종과 바이러스	한 계
침팬지/HIV-1	동물의 회소성, 경비, 제한된 바이러스 복제와 patient isolates에 의해 감염되었을 때 질병 부재
Macaques /SIV	genome sequence 와 외막 단백질의 epitope 이 HIV-1다름
Macaques/SHIV	CD4 <sup>+</sup> cell 의 감소 pattern이 HIV-1 감염자의 AIDS로의 진전과 다름

불구하고, 고비용과 침팬지의 회소성 때문에 이러한 침팬지를 이용한 AIDS vaccine 후보주의 검사는 여전히 큰 한계로 남아 있고 그 효용성도 그리 높지 못하다.

HIV-1은 retrovirus family의 subgroup인 lentivirus에 속하며, 이와 함께 아프리카 nonhuman primate에 감염되어 사람의 AIDS와 유사한 증상을 일으키는 원숭이 면역결핍 virus (SIV)도 여기에 속한다. 본래 SIV는 영장류에서 병을 일으키는 바이러스가 아니었다. 그러나 이러한 SIV 변이 중 중 어떤 것은 높은 증식력을 보이면서 Asian macaque 원숭이에 감염될 경우 CD4<sup>+</sup> 임파구 감소, 면역 결핍, 체중감소, 여러 가지 기회감염 균에 의한 감염, 그리고 lymphomas 등 HIV-1 감염에 의해 사람에게서 나타나는 AIDS와 유사한 증상을 나타내었다 (47). 그리하여 SIV와 macaque 원숭이는 지난 10여 년간 HIV-1 백신개발을 위한 중요한 모델이었다.

HIV는 SIV와 핵산의 유사도 (nucleotide sequence homology)가 상당히 높은 편이다. 그러나 HIV와 SIV는 외막 단백질상의 항원성과 구조적 차이가 너무 커서 HIV-1 표면항원을 이용한 백신개발 연구에 SIV/macaque 모델이 최종결론으로 받아들여지지 않고 있다. 이러한 한계를 극복하기 위해 최근 SIV backbone에 HIV-1 envelopes 유전자를 결합시켜 실험실에서 제조한 chimeric virus가 상당한 주목을 받고 있다 (39, 48, 52). 이 재조합 바이러스를 simian/human 면역결핍 바이러스(SHIV)라 명명하였으며, 처음에는 증식력도 낮고 macaques에서 질병을 일으키지 않았으나, 이들을 macaque 원숭이에서 여러 대에 걸쳐 계대한 결과 CD4<sup>+</sup> 임파구 감소에 의한 면역결핍증과 기회감염증을 나타내는 등 AIDS와 유사한 증상을 보였으며 감염된 원숭이가 면역 결핍으로 사망하는 것으로 보아 앞으로 이를 좀더 보완하면 AIDS vaccine 개발을 위한 좋은 동물모델이 될 수 있을 것으로 기대된다 (85).

영장류실험으로 인간에 적용할 백신을 완벽하게 검사하기란 불가능하다. 또한 가능하다고 하더라도 효율적인 백신 후보주의 점막방어력을 보기 위해 vaginal challenge 실험을 할 충분한 수의 자성 침팬지나 macaque 원숭이를 구하기도 어렵다. 이러한 한계 때문에 연구자들은 vaginal challenge 대신

intravenous challenge 방법을 사용하고 있으나 이러한 연구결과들로는 이성간의 성접촉을 통한 바이러스 전파에 백신이 얼마나 효과가 있을 지 추정하기 어렵다. 많은 경우 HIV-1의 감염 및 전파가 cell-associated virus에 의해 진행된다는 사실을 연구자들도 잘 알고 있으나 대부분의 영장류에서 바이러스 challenge 연구는 측정상의 문제를 단순화하기 위해 cell-free 바이러스를 사용하고 있다. 또한 영장류에서 백신 후보주의 방어력 시험을 할 때 사람에게서 전파되는 양보다 월등히 많은 양의 바이러스를 사용한다. 이러한 사실들은 실험동물에서 얻은 백신의 효능이 실제 사람에게서 나타나는 것과는 괴리가 있을 수 있음을 예시해 준다.

또한 영장류에서 HIV-1 에 대한 백신검사는 바이러스의 종류에 따라 challenge 하는 바이러스의 양을 달리 하여야 하는 문제점이 있다. 예를 들면 HIV-1 중 SF2 strain은 침팬지에 잘 감염되지 않으므로 웬만한 백신도 효과가 있는 것처럼 보인다. 이는 아마도 HIV-1 SF2 strain이 침팬지에서 잘 증식하지 않기 때문으로 추측된다 (34). 그러므로 침팬지에서 HIV-1 SF2 를 challenge 용으로 사용한 백신의 검사의 효능은 사람에게서 동일한 결과를 얻으리라고 기대하기 어렵다. 반면에, SIV 중 Pbj14는 돼지 꼬리 macaque 원숭이에서 일차 감염만으로도 높은 증식력을 보이므로 사람에게서 충분히 백신의 효능을 나타낼 수 있는 양으로도 이 원숭이에서는 HIV-1의 감염을 방어하지 못하는 것으로 보고되었다 (65). 그 외에도 SIV/macaque 모델이 바이러스 load 면에서는 HIV-1/human에서와 비슷한 것처럼 보이지만 생물학적으로 보더라도 virus-host interactions 상에 분명한 차이점이 존재하기에 SIV/macaque의 결과를 바로 HIV-1/human에 적용하기는 어렵다. 간단한 실험으로 SIV에 감염된 macaque 원숭이가 HIV-1에 감염된 인간보다 훨씬 빨리 죽는다는 점이다. 병원성이 높은 SHIV isolates 에 감염된 macaque의 경우 CD4+ 임파구 감소의 범위와 속도는 HIV-1에 감염된 환자의 CD4+ 세포 유실보다 훨씬 빠르고 크다 (85). 이러한 여러 사실을 볼 때, HIV-1 백신 효능을 검사할 수 있는 완벽한 영장류 모델은 없다고 보아야 한다. 그러

나, 달리 백신 후보주의 면역성을 산정 할만한 마땅한 model 이 없기에 그나마 가장 유사하다고 간주하여 영장류에서의 검사로 백신의 효능을 가늠하고 있는 형편이다.

## 여러 종류의 AIDS vaccine

### Attenuated viral vaccine

가끔씩 유전적인 변이에 의해 병원성이 약해진 바이러스들이 야생형과 비슷한 수준의 세포성 및 체액성 면역을 유발한다. 소아마비, 홍역, 천연두 등이 이러한 경우로 유전적인 변이에 의해 약독화된 바이러스가 훌륭한 백신으로 사용되고 있다. HIV-1도 이러한 약독화된 바이러스를 원숭이에서 전임상 실험을 통해 조사하여 보았다. Accessory 유전자 중 *nef* 유전자를 deletion 시킨 SIV를 제조하여 면역을 유도한 원숭이에 병원성이 높은 야생형 SIV를 challenge 하였을 때 병이 유발되지 않았다 (22). 그리고 실제 오스트레일리아에서 *nef*-defective HIV-1 감염자의 피를 수혈 받은 10여 명의 환자들이 HIV-1에 대한 항체는 발견되나 15년이 되도록 AIDS 증상을 보이지 않았다 (23). 이러한 결과로 인해 한 때 HIV-1의 accessory gene들을 결손 시킨 약독화된 재조합 HIV-1을 만들면 vaccine으로 사용 할 수 있으리라는 기대가 커지면서 live attenuated vaccine에 의해 유도되는 방어면역 기작이 집중적으로 연구되었다. *nef*-deleted SIV로 감염시킨 macaque 원숭이의 혈청을 면역하지 않은 macaque에 주입한 다음 SIV로 challenge하였을 때 감염을 억제하지 못하였다. 한편 *nef*-deleted SIV를 rhesus 원숭이에 감염시켰을 때 SIV-specific CTL 반응을 유도하였다 (42). 또한 *nef*-deleted SIV 면역으로 병원성이 높은 SIV 감염뿐 아니라 HIV의 envelope을 발현하는 SHIV의 감염도 억제하였다 (21, 89). 물론 이러한 결과는 SHIV가 macaque 원숭이에서 낮은 증식력을 보이기 때문이라고 생각할 수도 있지만, 만일 그렇지 않은 경우 envelope-specific immunity는 방어에 별로 관여하지 않으며, SIV-specific CTL이 약독화 백신주의 방어면역 유도능의 핵심이라

표 2. 최근 HIV-1 백신 개발의 동향

연구 방법	한 계
Live attenuated viruses	백신주가 오랜기간이 지나면 야생형으로 바뀌어 병을 유발 (eventual pathogenicity)
Inactivated viruses with Adjuvants	백신 제조용 세포에 의해 방어면역이 유도, 바이러스에 대해 특이면역 미약, CTL 유도 불가
Subunit Vaccine	
Recombinant monomeric envelope protein	환자분리주에 대한 중화항체 생성 미약, CTL 유도 불가
Peptides	환자분리주에 대한 중화항체 생성 미약
Live-vector based vaccine (Pox virus, Adenovirus, Poliovirus, BCG, enteric bacteria)	vector에 의한 발병가능성, 인체내에서 증식시 도입된 유전자의 유전적 안정성 및 낮은 면역유도능
DNA vaccines	축적된 지식부족, 안정성 및 부작용(외부유전자 삽입으로 나타날 수 있는)

고 볼 수 있다. 그러나 이러한 긍정적인 결과에도 불구하고 약독화된 바이러스는 AIDS백신으로의 안전성에는 문제가 있다. 12개의 base를 결손시킨 *nef*-defective virus는 macaque 원숭이에 여러대 계대하는 동안 야생형의 *nef*로 돌아가 병원성을 회복하였다 (105). 그 뿐 아니라 표 2에서 보듯이 이러한 약독화된 vaccine 주가 갖 태어난 원숭이에서는 병을 유발하며, 나이든 원숭이도 오랜기간이 지나면 AIDS로 진전되는 것을 발견하였다 (3). 또한 최근 동일 연구자들의 연구 결과에 따르면 *nef* 이외에도 동시에 여러곳에 유전자의 결손을 유도하여 약독화된 virus를 만들어도 이를 *in vivo*에서 계대하면 야생형으로 돌아가 병원성을 회복하고 AIDS를 유발하였다 (2). 이러한 연구 결과는 약독화된 HIV-1 바이러스를 백신으로 개발하기에는 안전성에 한계가 있음을 보여주는 결정적인 자료가 되었다.

### Killed viral vaccine

Influenza virus나 소아마비 바이러스의 경우 formalin으로 불활화시켜 adjuvant와 함께 사용하면 장기간 효과가 지속되는 방어면역을 유도 할 수 있다. HIV-1를 완전하게 비활성화하지 못할 경우 예방 접종자가 AIDS에 감염될지도 모른다는 우려에도 불구하고, 불활화 시킨 SIV를 투여한 macaque 원숭이가 동종의 병원성이 높은 SIV challenge에 대해 쉽게 방어력을 나타낸다는 연구결과는 AIDS에 대한 역학 연구초기 상당한 관심을 불러 일으켰다 (68). 그러나, 이러한 방법의 백신 연구는 불활성화된 백신으로 예방 접종된 원숭이에서 만들어진 면역성이 virus에 특이적이지 않다는 후속 연구결과에 의해 빛을 잃고 말았다. 오히려 이러한 백신에 접종된 동물에서 보여지는 방어력은 백신 바이러스가 배양되었던 세포에 특이하게 반응하는 항체 생산과 상관 관계가 있는 것으로 나타났다 (92). 감염되지 않은 세포를 macaque 원숭이에 접종하여도 병원성 바이러스의 감염에 어느 정도 방어력을 나타내었다. 이 세포-특이 면역 반응은 백신을 제조하는 과정에서 바이러스와 함께 섞였거나 바이러스가 감염세포에서 budding out 되는 과정에서 세포막의 일부를 싸고 나오기 때문에 세포막에 의해 유도된 면역항체가 바이러스의 표면의 일부나 바이러스가 감염될 세포의 수용체와 결합하여 virus-cell interaction을 방해함으로써 감염을 어느 정도는 억제 할 수 있을 것이다. 연구자들이 이러한 사실을 확인한 후로는 적어도 HIV-1 백신 개발에 있어 불활화 백신에 대한 연구는 더 이상 큰 진전을 보지 못하고 있다. 그러나 불활화 백신이 야생의 바이러스와 비슷한 3차 구조를 유지하므로 적어도 B-cell epitope은 야생형과 비슷하게 유지 할 것이라는 기대 하에 HIV-1 단백을 세포에서 발현시켜 단백질만으로 자체적으로 조립된 virus-like particle을 생산하고 이를 백신으로 개발하려는 연구가 시도되었다 (53, 96). 그러나 이 경우 바이러스 particle을 순수분리하여 백신으로 정제하기까지 envelope 단백질이 intact하게 유지되어야 하는 기

생물산업

술적인 문제가 남게 되며, 이런 한계는 결국 사백신 (killed vaccine)연구의 실용성을 극히 제한하고 있다.

### Subunit 백신

암 세포주나 yeast에서 HIV-1의 유전자를 발현시키면 순도가 높은 HIV-1 단백들을 비교적 값싸게 생산할 수 있다. 그리고 이런 방식으로 제조된 재조합 단백질은 실제 B형 간염 백신에 성공적으로 사용되고 있다. 이러한 맥락에서 HIV-1의 재조합 envelope 단백질을 subunit vaccine으로 개발하려는 연구에 상당한 노력이 가해졌었다. 그리고 몇 마리 되지는 않지만 침팬지에서의 연구결과는 이러한 vaccine이 정맥을 통한 virus challenge에 상당한 방어력을 보이는 것으로 나타났다 (4). 그러나 이러한 연구들은 실험실 virus주를 challenge에 사용한 결과로 실제 이 바이러스는 침팬지에서는 잘 증식되지 않는다는 사실을 나중에서야 확인하였다. 그리고 이러한 단백질들을 여러 종류의 adjuvant와 함께 사람에게 투여하여 면역 유도능을 조사하여 본 바 여러 번의 실험에서 한결같이 이러한 vaccine은 특이한 CTL을 유도하지 못하며 환자 분리주에 대한 중화항체도 거의 유도하지 못하는 것으로 나타났다 (55). 이와 함께 미국에서는 이 백신을 HIV-1 감염에 high-risk 한 집단의 자원자들에게 투여하였으며 백신에 의해 유도된 면역성을 조사한 결과, 여러번 반복 해서 투여를 받은 사람들조차도 HIV-1 감염에 대해 이렇다 할 방어력을 나타내지 못하는 것으로 나타났다 (19). 이러한 연구결과에 따라, 미국 국립보건원은 재조합형 HIV-1 envelope 백신개발을 계속하지 않기로 결정했다. 그럼에도 불구하고, 다른 미국 정부 기관들과 사립 백신 제조회사들은 타일랜드에서 흔히 발견되는 clade E viruses의 전형적인 envelope 단백을 subunit vaccine으로 제조하여 타일랜드에서 백신 가능성을 계속 시도하고 있다. Envelope 단백질에 대한 이해가 점차 높아지면서, 환자의 초기 분리주의 경우 외피항원의 V3 부위가 감추어져있으나 실험실에서 계대하면 바이러스 외막의 3차구조가 바뀔과 동시에 V3 부분이 외부에 노출되기 때문에 쉽게 중화될 수 있다는 사실이 알려지게 되었다 (5, 90). 또한 최근의 실험결과는 야생형의 외막단백은 단량체 (monomer)가 아니라 삼량체 (trimer)이며 (12), 이것이 CD4/chemokine receptor와 결합 할 때 3차구조가 분명하게 바뀐다는 사실도 밝혀지게 되었다 (8). 그러므로 환자분리주의 외피단백 sequence에 근거한 subunit 단백질이라도 3차구조의 한계를 극복할 수 있는 효과적인 항체생산에는 많은 한계가 있으며 특히 이러한 subunit 백신은 어떠한 adjuvant를 사용하더라도 효과적인 CTL 반응을 유도하지 못하므로 자체로써 백신으로 사용되기에는 한계가 있다. 그러나 만일 이들이 효과적인 중화항체를 유도할 수만 있다면 다른 백신과 함께 조합하여 synergy 효과를 발휘할 수는 있을 것으로 기대된다.

한편 백신개발 초기에 HIV-1의 V3 loop가 principal neutralizing determinant (PND)을 포함하고 있다는 사실에 근거하여 V3에 대한 peptide 백신개발에 열을 올리게 되었다 (36). 특히 adjuvant와 함께 섞어준 peptide가 여러 실험동물에서 HIV-1-specific CTL 반응을 유도하였다. 그럼에도 불구하고 지질 peptide를 합성하여 사람에게 투여한 결과 CTL 반응의 유도는 매우 실망스러웠다. 특히 환자분리주의 경우 V3 loop가 노출되지 않아 중화항체가 별 효과가 없다는 연구결과 (8)는 더 이상 peptide 백신의 연구에 대한 의욕을 상실하게 만들었다. 그러나 최근 V3 loop가 gp120-CD4-chemokine receptor의 상호 결합에 중요하게 작용할 것이라는 제안 (15)과 HIV-1 분리주 간의 sequence 다양성 및 CTL 유도능 등은 peptide 백신의 가능성을 완전히 배제하지 못하게 하고 있다.

### DNA vaccine

Pathogen의 특정 단백질을 coding 하는 유전자를 진핵세포 plasmid 에 cloning 하고 이를 직접 근육이나 장기에 주사 할 경우 효과적으로 면역을 유도한다는 사실이 밝혀졌다 (25). gene gun을 사용하여 근육이나 진피에 재조합 plasmid를 주사하면, plasmids가 세포내로 들어가 핵까지 전달되고 도입된 백신 유전자가 발현되면서 항원표출 세포(antigen presenting cell)에 의해 강력하고 지속적인 체액성 및 세포성 면역이 유도된다. 그 단백질들은 처리되고, 강력하고 지속적인 체액과 세포 면역 반응이 생성된다. 이런 방법은 이미 mouse나 ferret에 DNA vaccination을 할 경우 influenzavirus에 대한 방어면역이 생성되는 것으로 잘 증명되었다. 이러한 DNA vaccine은 live vector-based 백신을 사용할 경우 조심하여야 할 vaccine vector에 의한 발병을 고려하지 않아도 되는 장점을 가지고 있다. 많은 연구결과들에서 DNA 백신이 mouse나 영장류에서 HIV/SIV-specific CTL, helper T cell, 그리고 항체생산을 효과적으로 유도한다는 사실을 보여 주었다. 더구나 영장류에서 병원성 바이러스의 challenge를 통해 DNA vaccine이 효과적으로 방어면역을 유도한다는 사실도 증명되었다 (6, 47). 그러나, 이 침팬지와 macaque 원숭이에서의 연구는 단지 증식력이 낮은 AIDS virus에 대한 방어면역을 보여주는데 그치고 있다. 앞으로 이러한 연구가 궁극적으로 AIDS 백신으로 개발되기 위해서는 아직까지 밝혀지지 않은 부분에 대한 많은 연구가 선행되어야 하리라고 본다. 무엇보다도 DNA의 특성상 핵 속에 들어가 염색체에 무작위적으로 삽입되면서 일어날지도 모를 돌연변이 유발이나 이로 인한 oncogen의 발현 등으로 장기적으로 암을 유발할 가능성도 배제할 수 없을 것이다.

### Therapeutic vaccines

Highly active antiretroviral therapies (HAART) 즉 백신으로 활성상태의 바이러스를 불활성화 시킴으로써 HIV-1 감염

자를 치료할 수 있는 치료용 백신의 개발이 진행되고 있다. 이러한 연구의 이론적 근거는 정상인에게서는 나타나지 않는 생물학적인 일련의 면역반응들이 특정 백신의 접종을 통해 유도되고 이러한 면역반응들이 HIV-1증식을 억제할 수 있다는 가정에 근거하고 있다. 만성 감염자들의 경우 이들에게는 재조합 단백질이나 불활화시킨 HIV-1 바이러스가 이렇다 할 항 바이러스 효과를 유도하지 못한다는 것이 밝혀졌다 (98, 101). 그러나 항 바이러스제에 효과를 보는 환자의 경우 대부분 활성상태의 바이러스가 다량 혈액내에 존재하므로 백신으로 면역을 유도하면 바이러스의 증식을 억제 할 수 있을 것이다. 실제 백신을 투여한 환자의 경우 혈액내에 세포성 및 체액성 면역이 증가하면서 바이러스의 항원이 현저히 감소하는 현상이 보고되었다 (64). 이러한 현상은 아마도 백신에 의해 증강된 면역이 바이러스의 증식을 강하게 억제하여 결과적으로 활성이 강한 바이러스를 제거하였기 때문으로 풀이된다. 이러한 가능성을 확인하기 위해서 앞으로도 많은 연구가 계속 되어야 할 것이다.

### Mucosal vaccine (Live Vector-based Vaccines)

점막면역의 중요성 : 90년대 중반 생명과학분야의 과학자들과 정책입안자들이 제시한 이상적인 AIDS vaccine의 기준을 보면 (10, 43) 공통적으로 CTL의 중요성과 함께 점막면역(mucosal immunity)을 강조하고 있다. 이와 같이 AIDS vaccine 개발에 mucosal immunity가 강조되고 있는 이유는 아마도 다음과 같은 역학조사 및 연구결과 때문일 것이다. 이제까지 AIDS는 약물중독자들의 주사기 공유를 통해, 그리고 동성연애자들과 감염된 피의 수혈에 의해서 전염되는 것으로 알려져 왔다. 그리고 유럽과 미국의 AIDS 환자의 경우 많은 부분이 약물중독 혹은 동성연애자일인 것도 사실이다. 그러나 동남아시아에서 퍼져나가고 있는 AIDS 환자의 경우 많은 부분이 이성간의 성 관계에 의한 전염(heterosexual transmission)인 것을 볼때 AIDS 전파가 피에 의한 전염뿐 아니라 점막세포에 의한 전염(mucosal transmission)도 매우 중요하게 작용한다고 생각하게 되었다(91). 다시 말하면 HIV-1에 양성반응을 보인 환자와 성 관계를 가질 경우 비뇨생식기 주위의 mucosal area에 많이 존재하는 langerhans 세포나 dendritic 세포가 HIV에 감염되고 이것이 mucosal immunity를 유도하는 동안 dendritic 세포에 감염된 T helper 세포에 HIV가 전달되어 결국 AIDS가 전파된다는 것이다. 이에 대한 간접적 증거로 langerhans 세포나(99) dendritic 세포가 HIV-1에 잘 감염된다는 사실이 여러 차례 보고되었는가하면 (45, 76, 77), AIDS 환자의 lymph node에서 dendritic 세포를 중심으로 HIV 증식이 일어나는 것으로 보아 이들 세포가 AIDS 발병기작에 매우 중요한 것이라는 연구결과가 최근 수 차례 발표되었다(9, 27, 29, 74). 또한 mucosal transmission에 대한 동물 실험증거로 Macaque 원숭이의 음성 생식기나 자성 질에 SIV를 처리할 경

우 이들 원숭이가 쉽게 virus에 감염된다는 사실이 밝혀졌다 (60, 61). 이와 관련하여 1998년 현재 우리나라 AIDS 감염자 844명중 180명이 동성연애자인 반면 대다수인 566명이 이성 간의 성접촉에 의해 감염된 환자(감염발생 정보지 1998년 11월호)인 점을 고려해 보더라도 mucosal transmission이 AIDS 전파에 주 요인임을 추측해 볼 수가 있다. 이런 여러 현상들로 미루어 보아 앞으로 개발될 AIDS vaccine은 무엇보다도 mucosal immunity를 잘 유도하여야 한다는 점을 아무리 강조해도 지나치지 않을 것이다. 최근까지 수많은 질병들에 대해 vaccine이 개발되어왔지만 실제 이러한 vaccine중 mucosal immunity를 고려한 vaccine 개발은 거의 전무한 실정이다. 그럼에도 불구하고 이런 vaccine들에 의한 총체적 면역(systemic immunity) 유도로 기관지나 장내 병원성질환을 충분히 방어할 수 있었다. 그러나 HIV-1의 경우 기존의 vaccine과 달리 mucosal immunity 유도를 고려하지 않는다면 vaccine으로서의 효과를 거두기가 힘들 것이다.

**점막면역 (Mucosal Immunity) 이란 :** 사람의 몸속에는 공통된 점막 면역체계 (common mucosal immune system : CMIS)가 존재하며 이것에 의해 체내 전체 점막과 점막부위 및 유출성 임파절(drawing lymph node)과 점막 관련 임파조직(lymphoid organ)의 면역이 이루어진다. 그러므로 어느 한 곳의 면역이 유도되면 다른 위치의 점막에도 면역반응이 나타나게 된다. 특히 편도선(tonsil)이나 Peyer's patches 등과 같은 점막연관 임파조직(mucosa-associated lymphoid tissue)들이 점액성 면역유도에 핵심적으로 작용한다는 것은 주지의 사실이다. 또한 점액부위에서는 특이한 형태의 microfold 세포 (M cells)가 임파조직을 덮고 있어 이들 작용에 의해 점막 관상조직(lamina) 외부의 항원을 점막 안쪽의 B 임파구나 macrophage 혹은 dendritic cell같은 강력한 antigen presenting cell에 효과적으로 전달해줌으로 mucosal immunity를 일으키게 되는데, 이때 특히 dendritic cell의 경우 항원을 전달받으면 interdigitating dendritic cell 모양으로 바뀌어 임파절(lymph node)로 이동한 후 임파절의 T 세포를 활성화시켜 줌으로서 세포성 면역도 유도하게 된다(31, 49). 그러므로 HIV가 M 세포에 의해 mucosal area를 통과하여 dendritic cell에 전달될 경우 DC를 carrier로 하여 lymph node로 옮겨지게 되고 lymph node에 있는 휴지기의 세포가 antigen presenting cell(APC)인 DC에 의해 감작된후 HIV-1에 감염되므로 AIDS 환자의 전기간에 걸쳐 lymph node에서는 지속적인 HIV 증식이 관찰된다는 것이다(59). B cell은 dendritic cell에 비하면 약한 APC로 세포성 면역보다는 mucosal area에 체액성 면역을 유도하는데, 이 경우 mucosal area의 macrophage가 세포를 활성화시켜 IL-5와 IL-6 합성을 촉진시키므로 mucosal area에 많이 존재하는 IgA-생성 B 전구세포의 분화를 유도하게 된다(49, 67). Peyer's patch 같은 핵심적 점막 면역조직 주

위에는 Th2를 포함한 T세포와 IgA-producing B cell의 전구체가 많이 존재하는데 여기에 항원이 들어오면 IgA-생성 B 세포가 Peyer's patch에서 순환계를 거쳐 점막으로 되돌아가고 이때 CMIS를 거치면서 숫자가 증가되어 lamina propria 같은 면역구조를 가지게 된다. 그러므로 면역이 일어나면 lamina propria에는 세포의 수가 보다 월등히 많아지게 된다.

**점막면역을 고려한 AIDS vaccine 개발의 동향 :** Mucosal immunity를 유도하는 AIDS vaccine을 개발하기 위해 다음과 같은 실험이 진행되었다. cholera toxin이나 E. coli의 exotoxin 같은 mucosal immunogen을 사용할 경우 IL-2 생성과 그에 따른 세포증식이 저지되는 반면 IL-4 생성은 영향을 받지 않아 세포증식이 촉진된다(67). 결과적으로 숫자의 불균형은 여러 다른 항원에 대한 mucosal immunity를 증가시켜 주게 되므로(106) 이들 항원을 vaccine과 함께 사용할 경우 세포성면역 보다 과량의 IgA를 생성하는 체액성 면역을 증가하게 된다(106). 이와같은 결과는 SIV-특이 점막면역을 유도하는 연구에서도 잘 나타나(58) 이런 system을 HIV vaccine 개발에 도입할 경우 좋은 결과를 기대할 수도 있을 것이다. 한편 microencapsulation 방법이 개발되었는데 이는 항원을 미세 capsule에 싸서 투여하므로 mucosal area에서 흡수효과를 높이고 또 항원이 소화기관을 지날때 파괴되는 것을 막아주므로 효과적으로 mucosal immunity를 유도하는 방법이다(57). 이와같은 방법으로 만든 SIV vaccine을 전신 면역유도와 함께 소화기나 호흡기를 통해 원숭이에 주입한 후 SIV를 원숭이의 자성 생식기에 감염시킨 결과 SIV가 감염이 억제되었다(56). 그러나 이런 microsphere에 의한 vaccine 연구는 전신성면역과 점막성 면역을 조화를 이루도록 항원조합의 최적조건을 맞추어 주어야 하는 어려움이 남아있다. 이와 함께 HIV vaccine vector로서 재조합 박테리아도 빼놓을 수 없는 좋은 system이다. 결핵에 대한 예방백신으로 사용되는 BCG는 매력적인 bacterial vector 후보이다. BCG는 전세계적으로 사용되면서 그의 안전성이 입증된 데다, 면역 세포성 및 체액성 면역 유도 능도 뛰어나 많은 연구자들이 vector로 개발하려는 연구를 수행하였다. HIV-1 subgenome을 발현하는 재조합 BCG를 rhesus monkey에 면역시켰을 때 원숭이에서 HIV virus-specific CTL 반응이 매우 효과적으로 됨을 발견하였다 (109). 이 외에도 salmonella와 shigella 등을 포함하는 enteric bacteria관심의 대상이 되고 있는데 이는 이러한 장 감염성 세균들의 점막 면역 반응을 잘 유도하는 특징들 때문이다. 무엇보다도 mucosal immunity를 가장 효과적으로 유도할 수 있는 것은 역시 mucosal area에 감염되어 특이 세포독성 임파구(cytotoxic T lymphocyte ; CTL) 생성과 함께 국부 점막면역을 유도하는 호흡기와 소화기를 통해 감염되는 virus들일 것이다. Meitin등(58)에 의한 재조합 vaccinia virus를 사용한 influenza vaccine 연구, Rotavirus 감염후 소장점막표면에

rotavirus-특이 세포독성 T 임파구(rotavirus-specific CTL)의 생성관찰(72), 약독화된 reovirus serotype으로 장에 점막면역 유도시 Peyer's patch에 IgA-producing B cell과 virus에 특이한 CTL이 다량 유도되는점(51), herpes simplex virus glycoprotein B를 adenovirus와 재조합하여 호흡기를 통해 면역시켰을때 점막면역이 유도되고 Herpes simplex virus 감염이 억제되는 연구결과(32) 등 virus에 의해 mucosal immunity가 효과적으로 유도되는 것이 밝혀졌다. 그러므로 이러한 점막면역을 유도하는 virus를 vector로 개발하여 여기에 HIV subgenome을 재조합 할 경우 HIV-1에 대한 mucosal viral vaccine 개발도 가능하리라 생각된다. Recombinant viral vaccine의 안전성과 효율성을 고려할 때 우선 vaccinia virus를 vector로 하여 vaccine을 개발하려는 연구가 많이 진행되었다. Vaccinia virus는 231 kbp의 큰 genome을 가진 pox virus group의 virus로 원하는 유전자를 재조합에 의해 viral genome에 쉽게 삽입할 수 있는 장점이 있어 이미 오래전부터 유전자조작에서 vector로 상용해 왔다. 이 vaccinia virus vector를 이용해 여러 group에서 HIV-1의 env 유전자를 재조합한 recombinant viral vaccine candidate를 개발하였으며(11, 38), 이를 macaques 원숭이와 생쥐에 주사하여 env 유전자에 대한 면역반응과 유도되는 CTL도 각각 확인되었다(26, 93). 그후 SIV의 다른 단백질들을 vaccinia virus에 재조합하여 원숭이에서 CTL 반응을 조사한 바 SIV의 gag 유전자와 재조합된 vaccinia virus도 원숭이에서 효과적으로 CTL을 유도한다는 사실이 밝혀졌다(88). 또한 vaccinia virus의 부작용을 줄이기 위해 HIV-1 유전자와 함께 -interferon을 fusion protein으로 발현시키는 연구도 진행되었다(33). 그리고 이 재조합 바이러스로 접종하여 면역을 유도할 때 재조합 단백질을 함께 사용할 경우 예방 접종된 원숭이들은 어떤 SIV isolate에 대해서도 발병되지 않았다(37). 그러나, 재조합 vaccinia를 면역이 결핍된 사람에게 투여할 경우 치명적인 vaccinia 증이 나타날 수도 있음이 밝혀졌다(84). HIV 백신이 사용될 곳에는 이미 HIV-1에 감염되어 면역이 결핍된 많은 환자들이 있을 것이고 이들 중 정상인에게만 백신을 투여한다고 하더라도 이들을 통해 재조합 vaccinia virus가 유포될 가능성을 고려하여야 하므로 결국 이 vector system은 실용성의 한계에 부딪치게 되었다. 이와 함께 mucosal immunity 유도를 위해 더욱 약독화된 modified vaccinia ankara (MVA)나 사람에게 극히 안전한 avian pox virus 등이 vector로 개발되기도 하였으나(59, 95), 이런 약독화된 vaccinia virus를 사용하여 제조한 recombinant vaccine은 vaccine을 투여 받은 사람에게 효과적으로 면역을 유도하지 못하였다(20). 이러한 실험결과로 볼 때 recombinant vaccinia vaccine을 사용할 경우 다른 immunogen과 함께 booster injection을 하는 등 vaccination 과정이 더 연구되어야 할 것이며 또 아무리 약독화되었다 하여도 면역결핍 환자

에게 vaccinia virus를 주입하는 것은 위험도가 높아 AIDS vaccine 개발로는 아직은 좀더 많은 연구가 선행되어야 할 것으로 생각된다. Adenovirus 감염에 매우 민감한 사람들을 위해 1970년대 초 약독화된 Adenovirus vaccine이 개발되었다(97). 이 viral vaccine도 mucosal immunity 유도능이 크다는 사실이 밝혀지면서 recombinant vaccine 개발연구에 많이 사용되어 왔는데 이도 vaccinia virus보다 작은 genome(35-38kbp)을 가지면서도 원하는 유전자의 full-length를 virus에 재조합시켜 viral vaccine을 생산할 수 있는 편리한 점 때문이다. Chanda등(13)은 Type 7 adenovirus에 HIV-1의 env 유전자를 재조합하여 이를 배양된 세포에 감염시켜 높은 농도의 env 단백질을 합성하였으며, 이를 개에 주사하여 HIV-1 env 단백질에 특이한 매우 효과적인 체액성 면역을 유도하는데 성공하였다(70). 일차 면역반응을 일으킨 개는 Adenovirus 4-env 재조합 virus나 env 단백질만으로도 쉽게 boosting이 되었으나 유도된 면역반응이 세포성 면역반응이었던지 아니면 점막 면역반응이었던지는 밝혀지지 않았었다. 그러나 이 adenovirus vector에 herpes simplex virus glycoprotein B를 재조합한 viral vaccine은 상당히 방어력이 높은 mucosal immunity와 herpes virus에 특이성을 나타내는 CTL을 효과적으로 유도하는 것이 확인되었다(32). 또한 adenovirus의 사람에서의 낮은 면역유도능을 고려하여 gene therapy vector로서 개발된 몇몇 면역성이 증강된 gene-deleted adenovirus를 사용하여 이 분야에서 연구가 계속되고 있다(104). 그러나 이런 human adenovirus도 전염성이 강한 DNA tumor virus로 결막염, 각막염 등 인체에 여러가지 질병을 일으키므로 이것을 면역이 결핍된 환자에게 투여할 vaccine 개발의 viral vector로 사용할 경우 먼저 안정성의 문제가 해결되어야 할 것이다. 이러한 live vector의 공통된 한가지 결점은 이들의 면역유도능이 *in vivo*에서 이들의 증식력과 직결되어 있으며, 이들의 병원성이 증식력과 무관하지 않다는 점이다. 증식력이 낮아 약독화 되었다고 할 지라도 면역결핍된 환자에서서는 병을 일으킬 수 있기 때문에 이러한 문제점은 철저히 점검되어야 할 것이다. 그러나 poliovirus 백신주와 같이 증식력과 무관하게 기주특이성 (host tropism)이 달라져 독성이 사라진 경우는 다른 live vector에서 일어날 수 있는 부작용이 문제가 되지 않으므로 poliovirus를 백신 vector로 개발 할 경우 효과적인 점막 면역유도는 물론이고 그 외에도 많은 장점을 가지고 있는 셈이 된다.

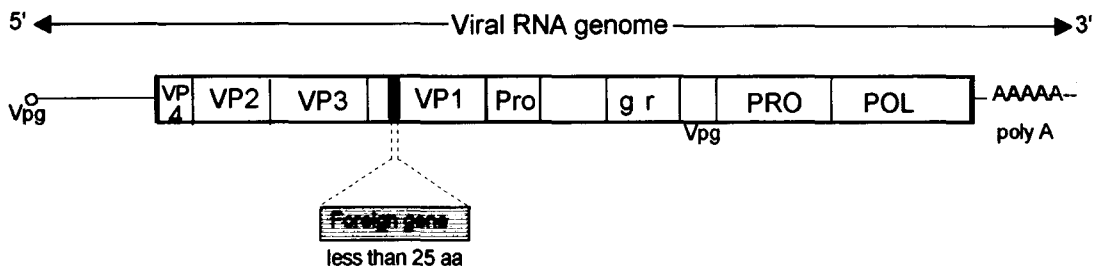
Poliovirus Vaccine Vector : Poliovirus는 7,400여개의 염기로 구성된 (+)-sense ss-RNA virus로 유전자가 L-4-3-4 구조를가지는 전형적인 picornavirus 이다. 다른 picornavirus와 같이 이 virus도 숙주세포에 감염되면 viral genome이 mRNA로 작용하여 먼저 하나의 긴 polyprotein을 만들고 이것이 viral specific protease에 의해 processing 되면서 Leader peptide(L) 외에 4개의 구조단백(VP1, VP3, VP0(VP4 and

VP2}과 RNA polymeras(3D), protease(3C) 등의 기능성 단백을 만들고 polymerase의 작용에 의해 genome replication이 있을 후 숙주세포의 cytoplasm에서 assembly가 일어나며 이어 숙주세포를 파괴하고 progeny virus가 생산된다. Poliovirus는 picornavirus 중에서도 enterovirus로 영장류의 소화기관을 통해 감염되며 야생형의 경우 신경세포에서 증식하여 중추신경계를 손상시킴으로 poliomyelitis를 일으킨다. 이 전염성이 강한 야생형 poliovirus의 감염방지를 위해 3가지 약독화된 polyovirus vaccine strain (Sabin type 1, type2, type 3)이 개발되어 전세계적으로 사용되고있다. 이 vaccine strain 들은 야생형에 비해 neurotropism이 없어 장(intestin)에서만 감염 증식되고 신경세포에는 감염되지 않아 효과적으로

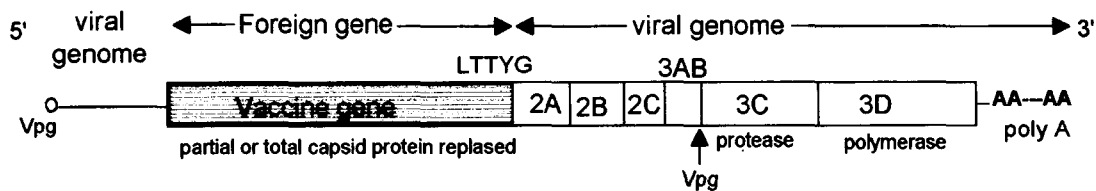
접막면역을 유도하면서도 poliomyelitis를 유발하지 않는다. 그러나 이 중 Sabin type 2와 type 3는 매우 낮은 빈도이기는 하지만 polyomyelitis를 유발하는 것이 보고되어있다. 반면, Sabin type 1 strain은 아직까지 한번도 부작용의 예가 보고된 적이 없는 안전한 vaccine.으로 알려져 있으므로, 이 type 1 strain을 다른 vaccine 개발의 viral vector로 이용할 경우 투여도 간단하고 면역 유도능도 뛰어나며 부작용도 없어 live viral vaccine.으로서 좋은 효과를 기대할 수 있을 것이다.

Poliovirus는 비록 RNA virus이기는 하지만 genome size도 작고 구조도 간단한데다, 1981년 Racanielo와 Baltimore (83)에 의해 infectious cDNA clone이 합성되면서 gene manipulation이 가능하게 되자 여러 가지 분자생물학적인 연

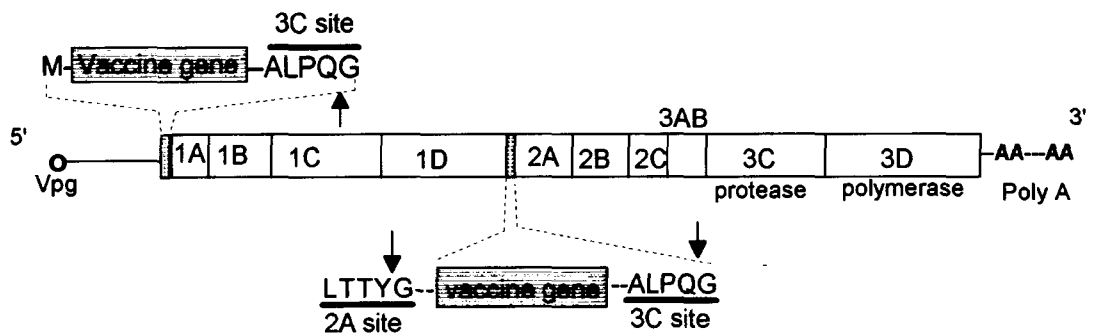
**a. Epitope substitution**



**b. Defective Minireplicon**



**c. Autoprocessing polio vaccine vector**



**Fig. 1.** Schematic illustration for the development of poliovirus-mediated vaccine vectors. (a) epitope substitution, (b) minireplicon, and (c) autoprocessing poliovirus vector.



구를 통해 유전자의 구조와 subgenome들의 기능이 계속적으로 밝혀지게 되었다. Poliovirus를 이용한 vector 개발은 크게 3 부류로 나누어 진행되고 있다 (Fig.1). 첫째는 poliovirus의 major outercapsid protein인 VP1의 immunogenic epitope 일부를 foreign peptide 유전자와 치환하여 chimeric virus를 만드는 방법으로(Fig.1a) 주로 영국 University of Reading의 J.W. Almond group을 중심으로 진행되었으며(7, 24, 28, 41), 두번째는 capsid protein의 일부 혹은 전체를 제거하고 여기에 vaccine 유전자를 삽입한후 이를 capsid protein 발현 vector와 co-transfection 하여 minireplicon을 합성하고 이를 vaccine으로 개발하려는 연구로(Fig.1b) University of Alabama의 C.D. Morrow group에서 진행중이며 (1, 16, 81, 82), 세번째는 vaccine 유전자를 poliovirus cDNA에 cloning 할때 poliovirus-specific protease의 recognition site를 viral cDNA의 cloning site에 도입하여 virus의 감염 및 증식에는 별 손상이 없으면서도 virus 증식시 foreign protein을 계속 합성할 수 있는 recombinant chimeric viral vector를 개발하려는 연구로 (Fig.1c) University of California, San Francisco의 R. Andino와 New York Lederle-Praxis Biological의 N.M. Mattion이 이와 같은 연구의 leading group이다 (54). 그러나 이러한 연구들은 나름대로 해결하여야 할 문제점을 가지고 있다. 첫 번째 연구는 삽입할 수 있는 백신유전자의 크기가 매우 제한되어 있어(<25aa) 1990년대 초 이후 거의 진전이 없으며 C.D. Morrow에 의해 주도되는 2번째 연구는 현재까지 다각도로 연구되고 동물실험에서 가능성도 조사되었으나 minireplicon이 증식력이 없는 defective virus이므로 live-vector based vaccine이라기 보다는 immunogen으로 작용 가능성이 높아 사람에게서 상응하는 CTL 과 mucosal immunity를 충분히 유도할 수 있을지는 미지수이다. 그렇다고 in vivo 상에서 co-transfection에 의한 complementation 효과를 기대할 수도 없으므로 실제 이 system을 사용해 실용화 단계의 vaccine을 개발한다는 것은 한계가 있을 것으로 보인다. 세 번째 연구는 앞의 두 연구방법에서의 문제점을 보완한 매우 매력적인 방법으로 replication-competent chimeric virus를 생산할 수 있으므로 효과적인 CTL 및 점막면역을 유도하는 것으로 알려졌다. 그러나 이 또한 유전적 안정성이 없어 몇 번 개로 도입된 유전자가 급속히 유실되며(66), 더구나 야생형의 Mahoney strain을 vector로 사용하므로 안정성의 문제를 해결한다고 하여도 사람에게 적용하기에는 많은 장애가 있을 것으로 예상된다. 그러나 만일 vector를 독성의 Mahoney대신 경구용 vaccine 주 중 가장 안정한 Sabin 1으로 개발하고 계대시 유전적 안정성을 유지할 수 있는 vector로 개발한다면 효능이나 안정성 면에서 현재까지 개발된 어떠한 점막면역용 재조합 vaccine보다 가능성이 높은 백신이 될 것으로 생각된다. 그러나 Sabin 1주의 경우 유전적으로 매우 안정한 반면 Mahoney

에 비해 genetic stringency가 높아 유전자 조작이 까다롭고 조작 후에도 chimeric virus를 생산하기가 극히 어려우며 재조합된 RNA 전이체의 transfection 효율도 낮아 vector로 개발하기가 쉽지 않았다. 본 연구실에서는 몇 년에 걸쳐 이러한 Sabin 1 strain을 유전자 조작하여 점막면역용 delivery vector system을 개발하였다. 여기에 HIV-1의 p24, env, V3, PND, 등의 vaccine 유전자를 도입하였을 때 도입된 유전자가 잘 발현하였으며, 유전적으로도 매우 안정하여 12회 이상 계대하여도 발현 양이나 도입된 유전자에 변화가 없음을 확인하였다. 뿐만 아니라 poliovirus receptor로 형질전환된 transgenic mice에서 면역성을 조사한 결과 4-6주에 poliovirus 뿐 아니라 도입된 단백질에 대한 항체가 생산되는 것을 확인하였다. 앞으로 이 vector로 만들어진 chimeric virus의 중화항체 생산 및 항원-특이 세포성 면역 유도능을 조사하고 대동물에서 방어력이 확인된다면 이 vector system은 HIV-1 외에도 점막을 통해 전파되는 여러 병원성 바이러스나 세균에 대한 점막 면역용 백신 개발을 위한 효과적인 live vector로 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 결론

지금까지 개발된 여러 종류의 백신들이 낮은 증식력을 나타내는 AIDS 바이러스의 감염은 효과적으로 억제하였으나 높은 증식력을 지닌 바이러스의 감염별 효과를 나타내지 못하였다 (65, 37). 그러나 대부분의 HIV-1은 사람에게 감염되면 높은 증식력을 유지하기 때문에, 이러한 연구결과들은 AIDS vaccine 개발에 부정적인 요인들로 작용하고 있다. 몇몇 연구자들은 어떤 AIDS 백신도 HIV-1 바이러스의 전파를 완전히 차단할 만큼 완전한 면역을 유도하지는 못할 것이라고 말하고 있다. 그리하여 이들은 백신 개발의 실제적인 목표는 HIV-1 감염을 완전 차단하는 것보다는 면역을 유도하여 감염 후의 임상적인 후속조치에 효과를 볼 수 있도록 전략을 세워야 한다고 주장한다. 이를 태면 감염 후 바이러스의 증식을 지연 혹은 완화한다던가, 임상적으로 질환의 진전을 느리게 유도 한다던가하는 것에 목표를 두어야 한다는 것이다.

실제 vaccine에 의해 면역을 얻은 자가 HIV-1에 감염되어도 백신을 투여 받지 않은 사람에 비해 불완전한 면역이나마 작용하므로 임상적 추이가 바뀌어 바이러스의 증식력이 떨어지고 따라서 다른 사람에게 옮길 가능성도 그만큼 떨어질 것으로 기대 된다. 만약 이것이 사실이라면, 불완전한 HIV-1 백신조차도 감염된 사람의 생존을 연장시키고 감염되지 않은 사람에게 바이러스가 전파되는 것을 늦추는 긍정적인 결과를 낼 수 있다. 사실 현재 개발되고 있는 AIDS 치료제는 오래 사용하면 심한 부작용을 일으키는 등 많은 문제점을 안고 있다. 그러나 이들도 조기에 사용하면 좋은 치료효과를 보는 것으로

알려져 있다 (86). 그러나 감염 초기에는 진전이 빨라 초기 진단이 어려운 실정이며 병이 한참 진전된 후에야 치료제를 사용하게 되므로 효과를 보기 힘든 형편이다. 그러나 만일 이들이 비록 불충분하더라도 vaccine 투여로 면역을 가지고 있었다면 바이러스의 진전속도를 늦출 수 있으므로 그만큼 치료제의 효과를 볼 수 있는 기간이 늘어날 것이다. (86). 그러나, HIV-1에 대한 완전한 면역을 유도할 수 있는 vaccine 개발은 계속 지속되어야 한다. 생명과학의 급속한 발전과 HIV-1의 특성들에 대한 보다 구체적인 이해가 늘어나고, 바이러스에 대한 우리 몸의 면역반응을 좀더 명확히 이해하게 될 때 기대하는 완전한 백신 생산도 가능하게 될 것이다. 이러한 관점에서 더욱 깊이 연구하여야 할 부분이 점막면역이며 앞으로는 점막면역을 효과적으로 유도할 수 있는 백신개발에 주력하여야 한다.

전염성 질환의 대부분이 인체의 호흡기, 소화기, 비뇨 생식기 등 mucosal area를 통해 전파되고 있고 오늘날 특히 오늘날 동남아에서 높은 전파속도를 보이는 AIDS의 경우 거의가 이성간의 성접촉에 의한 전염(heterosexual transmission)인 점을 감안할때 mucosal transmission을 효과적으로 방지 할 수 있는 mucosal vaccine 개발이 시급한 실정이다. 이제까지 vaccine 개발에서 mucosal immunity는 크게 역점을 두지 않은 체 systemic immunity유도를 위주로 연구해 왔으며, 또한 systemic immunity만으로도 효과적인 방어력을 나타낼 수 있었던 것이 사실이다. 그러나 오늘날 동일 질병을 일으키는 원인 균들이 숙주의 면역기전을 피하여 많은 variant를 생성하고 이들에 의해서 병이 전파 또는 진전되므로 항원 특이성만을 강조하는 기존의 vaccine 개발보다는 특이성은 조금 떨어지더라도 감염부위(portal of entry)에 broad spectrum을 가지고 감염 초기단계부터 작용하는 면역을 유도할 수 있는 mucosal vaccine 개발이 필요하게 되었다. 이러한 요구에 부응하여 몇 가지 virus들이 live viral vector로 연구되고 있으며 poliovirus도 최근 이와같은 목적으로 연구가 진행되고 있다. Sabin 1 poliovirus는 경구투여용 vaccine으로 경제적이며, mucosal immunity 유도능이 매우높고, 그 mechanism도 다른 vaccine에 비해 비교적 잘 알려져 있을 뿐 아니라, 이제까지 부작용의 예가 전혀 보고된 적이 없어 vaccine vector로 개발될 경우 vaccine 개발에 다양하게 이용될 수 있을 것이다.

## 참고문헌

1. Ansardi, DC., Z. Moldoveanu, D.C. Porter, D.E. Walker, R.M. Conry, A.F. LoBuglio, S. McPherson, and C.D. Morrow 1994. Characterization of Poliovirus Replicons encoding Carcinoembryonic antigen. *Cancer Res.* **54**: 6359-6364.
2. Baba, T.W., V. Liska., A.H. Khimani., N.B. Ray., P.J. Dailey., D. Penninck., R. Bronson., M.F. Greene., H.M. McClure., L.N. Martin and R.M. Ruprecht. 1999. Live attenuated, multiply deleted simian immunodeficiency virus causes AIDS in infant and adult macaques. *Nature Med* **5**(2): 194 - 203.
3. Baba, T.W., Y.S. Jeong., D. Pennick., R. Bronson., M.F. Greene and R.M. Ruprecht. 1995. Pathogenicity of live, attenuated SIV after mucosal infection of neonatal macaques. *Science* **267**(5205): 1820-5
4. Berman, P.W., J.E. Groopman., T. Gregory., P.R. Clapham., R.A. Weiss., R. Ferriani., L. Riddle, C. Shimasaki., C. Lucas. and L.A. Lasky. 1988. Human immunodeficiency virus type 1 challenge of chimpanzees immunized with recombinant envelope glycoprotein gp120. *Proc Natl Acad Sci U S A* **85**(14): 5200-4
5. Bou-Habib, D.C., G. Roderiquez., T. Oravec., P.W. Berman., P. Lusso. and M.A. Norcross. 1994. Cryptic nature of envelope V3 region epitopes protects primary monocytotropic human immunodeficiency virus type 1 from antibody neutralization. *J Virol* **68**(9): 6006-13
6. Boyer, J.D., K.E. Ugen, B. Wang., M. Agadjanyan., L. Gilbert., M.L. Bagarazzi., M. Chattergoon., P. Frost., A. Javadian., W.V. Williams., Y. Refaeli., R.B. Ciccarelli., D. McCallus., L. Coney. and D.B. Weiner. 1997. Protection of chimpanzees from high-dose heterologous HIV-1 challenge by DNA vaccination. *Nat Med* **3**(5): 26-32
7. Burke, K.L., G. Dunn., M. Ferguson., P.D. Minor. and J.W. Almond. 1988. Antigen chimeras of poliovirus as potential new vaccines. *Nature* **332**: 81-82.
8. Burton, D.R., D.C. Montefiori. 1997. The antibody response in HIV-1 infection. *AIDS Suppl A*: S87-98
9. Cameron, P.U., P.S. Freudenthal., J.M. Barker., S. Gezelter., K. Inaba. and R.M. Steinman. 1992. Dendritic cells exposed to human immunodeficiency virus type 1 transmit a vigorous cytopathic infection to CD<sub>4</sub><sup>+</sup> T cells. *Science* **257**: 383-387
10. Cease, K.B. and J.A. Verzofsky. 1994. Toward a vaccine for AIDS:The immergence of immunobiology-based vaccine development. *Ann.Rev.Immunol.* **12**: 923-989
11. Chakrabarti, S., M. Robert-Guroft., F. Wang-stal., RC. Gallo. and B. Moss. 1986.Expressing of HTLV-III envelope gene by a recombinant vaccinia virus. *Nature* **320**: 535-537
12. Chan, D.C., D. Fass., J.M. Berger. and P.S. Kim. 1997. Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. *Cell* **89**(2): 263-73
13. Chanda, P.K., R.J. Natuk., B.B. Mason., B.M. Bhat., L. Greenberg., S.K. Dheer., K.L.Molnm-Kimber., Mizntanis, M.D.Lubeck., A.R.Davis. and P.P.Hung. 1990. High level expression of the envelope glycoprotein of the human immunodeficiency virus type 1 in the presence of rev gene using helper independent adenovirus type 7 recombinant. *Virology* **175**: 535-547.
14. Chen, Z.W., Z.C. Kou., C. Lekutis., L. Shen., D. Zhou.,

- M. Halloran., J. Li., J. Sodroski, D. Lee-Parritz. and N.L. Letvin. 1995. T cell receptor V beta repertoire in an acute infection of rhesus monkeys with simian immunodeficiency viruses and a chimeric simian-human immunodeficiency virus. *J Exp Med* **182**(1): 21-31
15. Choe, H., M. Farzan., Y. Sun., N. Sullivan., B. Rollins., P.D. Ponath., L. Wu., C.R. Mackay., G. LaRosa., W. Newman., N. Gerard, C. Gerard. and J. Sodroski. 1996. The beta-chemokine receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. *Cell* **85**(7): 1135-48
  16. Choi, W.S., R. Pal-Ghosh. and C.D. Morrow. 1991. Expression of human immunodeficiency virus type 1(HIV-1) gag, pol and env proteins from chimeric HIV-1-poliiovirus mini replicons. *J.Virol.* **65**: 2875-2883
  17. Chun, T.W., L. Carruth., D. Finzi., X. Shen., J.A. DiGiuseppe., H. Taylor., M. Hermankova, K. Chadwick., J. Margolick., T.C. Quinn., Y.H. Kuo., R. Brookmeyer., M.A. Zeiger., P. Barditch-Crovo. and R.F. Siliciano. 1997. Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. *Nature* **387**(6629): 183-8
  18. Chun, T.W., L. Stuyver., S.B. Mizell., L.A. Ehler., J.A. Mican., M. Baseler., A.L. Lloyd., M.A. Nowak. and A.S. Fauci. 1997. Presence of an inducible HIV-1 latent reservoir during highly active antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**(24): 13193-7
  19. Connor, R.I., B.T. Korber., B.S. Graham., B.H. Hahn., D.D. Ho., B.D. Walker, A.U. Neumann., S.H. Vermund., J. Mestecky., S. Jackson., E. Fenamore., Y. Cao., F. Gao., S. Kalams., K.J. Kunstman., D. McDonald., N. McWilliams., A. Trkola., J.P. Moore. and S.M. Wolinsky. 1998. Immunological and virological analyses of persons infected by human immunodeficiency virus type 1 while participating in trials of recombinant gp120 subunit vaccines. *J Virol* **72**(2): 1552-76
  20. Cooney, E.L., A.C. Collier., P.D. Greenberg., R.W. Coombs., J. Zarling., D.E. Arditti., M.C. Hoffman., S.L. Hu. and L. Corey. 1991. Safety of and immunological response of a recombinant vaccinia virus vaccine expressing HIV envelope glycoprotein. *Lancet* **337**: 567-572
  21. Cranage, M.P., A.M. Whatmore., S.A. Sharpe., N. Cook., N. Polyanskaya., S. Leech., J.D. Smith., E.W. Rud., M.J. Dennis. and G.A. Hall. 1997. Macaques infected with live attenuated SIVmac are protected against superinfection via the rectal mucosa. *Virology* **229**(1):143-54
  22. Daniel, M.D., F. Kirchhoff., S.C. Czajak., P.K. Sehgal. and R.C. Desrosiers. 1992. Protective effects of a live attenuated SIV vaccine with a deletion in the nef gene. *Science* **258**(5090): 1938-41
  23. Deacon, N.J., A. Tsykin., A. Solomon., K. Smith., M. Ludford-Menting., D.J. Hooker., D.A. McPhee., A.L. Greenway., A. Ellett. and C. Chatfield. 1995. Genomic structure of an attenuated quasi species of HIV-1 from a blood transfusion donor and recipients. *Science* **270**(5238): 988-91
  24. Dedieu, J-F., J.Ronco., Van der S.Werf., J.M. Hogel., Y. Henin. and M. Girad. 1992 Poliovirus chimers expressing sequences from the principal neutralizing domain of Human immunodeficiency virus type1. *J.Virol.* **66**: 3161-3167.
  25. Donnelly, J.J., J.B. Ulmer., J.W. Shiver. and M.A. Liu. 1997. DNA vaccines. *Annu Rev Immunol* **15**: 617-48
  26. Earl, P.L., M. Robert-Gunoff., T.J. Matthews., K. Krohn.. W.T. London. and B. Moss. 1989. Isolate and group-specific immunity to the envelope protein of human immunodeficiency virus induced by a live recombinant vaccinia virus in macaques. *AIDS Res. Hum.Retroviruses.* **5**: 23-32.
  27. Embreston, J., M. Zupancis., J.L. Ribas., A. Burk., P. Racz., K. Tenner-Racz. and A.T. Hasse. 1993. Massive covert infection of helper T cells and macrophages by HIV during the incubation period of AIDS. *Nature* **362**: 359-362
  28. Evans, D.J., J. McKeating., J.M. Meredith., K.L. Burke., K. Katrak., A. John., M. Ferguson., P.D. Minor., R.A. Weiss. and J.W. Almond. 1989 An engineered poliovirus chimera elicits broadly reactive HIV-1 neutralizing antibodies. *Nature* **339**: 385-389.
  29. Fauci, A. 1993. Multifactorial nature of human immunodeficiency virus disease; Implication for therapy. *Science* **262**: 1011-1018
  30. Finzi, D., M. Hermankova., T. Pierson., L.M. Carruth., C. Buck., R.E. Chaisson., T.C. K. Quinn., Chadwick., J. Margolick., R. Brookmeyer., J. Gallant., M. Markowitz., D.D. Ho., D.D. Richman. and R.F. Siliciano. 1997 Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *Science* **278**(5341): 1295-300
  31. Fossum, S. 1988. Lymph-borne dendritic leukocytes do not recirculate, but enter the lymph node paracortex to become interdigitating cells. *Scan.J.Immunol.* **27**: 97-105
  32. Gallichar, W.S., D.C. Johnson., F.L. Graham. and K.L. Rosenthal. 1993. Mucosal immunity and protection after intranasal immunization with recombinant adenovirus expressing herpes simplex virus glycoprotein B. *J.Infect.Dis.* **168**: 622-629
  33. Giavedoni, L.D., L.Jones., M.B. Gardner., H.L. Gibson. P.J. Ba. and T. Yilmd. 1992. Vaccinia virus recombinants expressing chimeric proteins of human immunodeficiency virus and  $\gamma$ -interferon and attenuated for nude mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**: 3409-3413.
  34. Girard, M., B. Meignier., F. Barre-Sinoussi., M.P. Kieny., T. Matthews., E. Muchmore., P.L. Nara., Q. Wei., L.

- Rimsky. and K. Weinhold. 1995. Vaccine-induced protection of chimpanzees against infection by a heterologous human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* **69**(10): 6239-48
35. Hadida, F., A. Parrot., M.P. Kieny., B. Sadat-Sowti., C. Mayaud., P. Debre. and B. Autran. 1992. Carboxyl-terminal and central regions of human immunodeficiency virus-1 NEF recognized by cytotoxic T lymphocytes from lymphoid organs. An in vitro limiting dilution analysis. *J Clin Invest* **89**(1): 53-60
36. Hart, M.K., T.J. Palker., T.J. Matthews., A.J. Langlois., N.W. Lerche., M.E. Martin., R.M. Scearce., C. McDanal., D.P. Bolognesi. and B.F. Haynes. 1990. Synthetic peptides containing T and B cell epitopes from human immunodeficiency virus envelope gp120 induce anti-HIV proliferative responses and high titers of neutralizing antibodies in rhesus monkeys. *J Immunol* **145**(8): 2677-85
37. Hu, S.L., K. Abrams., G.N. Barber., P. Moran., J.M. Zarling., A.J. Langlois., L. Kuller., W.R. Morton. and R.E. Benveniste. 1992. Protection of macaques against SIV infection by subunit vaccines of SIV envelope glycoprotein gp160. *Science* **255**(5043): 456-9
38. Hu, S.L., S.G. Kosowski. and J.M. Daltymple. 1986. Expression of AIDS virus envelope gene in recombinant vaccinia virus. *Nature* **320**: 537-540.
39. Igarashi, T., R. Shibata., F. Hasebe., Y. Ami., K. Shinohara., T. Komatsu., C. Stahl-Hennig, H. Petry., G. Hunsmann. and T. Kuwata. 1994. Persistent infection with SIVmac chimeric virus having tat, rev, vpu, env and nef of HIV type 1 in macaque monkeys. *AIDS Res Hum Retroviruses* **10**(8): 1021-9
40. Jassoy, C., R.P. Johnson., B.A. Navia., J. Worth. and B.D. Walker. 1992. Detection of a vigorous HIV-1-specific cytotoxic T lymphocyte response in cerebrospinal fluid from infected persons with AIDS dementia complex. *J Immunol* **149**(9): 3113-9
41. Jenkins, O., J. Cason, K.L. Burke, D. Lunney, A. Gillen, D. Patel, D.J. McCance, J.W. Almond. 1990. An antigen chimera of poliovirus induces antibodies against human papilloma virus type 16. *J. Virol.* **64**: 1201-1206.
42. Johnson, R.P., R.L. Glickman., J.Q. Yang., A. Kaur., J.T. Dion., M.J. Mulligan. and R.C. Desrosiers. 1997. Induction of vigorous cytotoxic T-lymphocyte responses by live attenuated simian immunodeficiency virus. *J Virol* **71**(10): 7711-8
43. Kott, W.C. 1994. The next steps toward a global AIDS vaccine. *Science* **266**: 1335-1337
44. Koup, R.A., J.T. Safrit., Y. Cao., C.A. Andrews., G. McLeod, W. Borkowsky., C. Farthing. and D.D. Ho. 1994. Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *J Virol* **68**(7): 4650-5
45. Langhoff, E., E.F. Terwilliger., H.J. Bos., K.H. Kallender., M.C. Pozvansky., O.M.L. Bacon. and W.A. Haseltine. 1991. Replication of human immunodeficiency virus type 1 in primary dendritic cell cultures. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* **88**: 7998-8002
46. Letvin, N.L., D.C. Montefiori., Y. Yasutomi., H.C. Perry., M.E. Davies., C. Lekutis., M. Alroy., D.C. Freed., C.I. Lord., L.K. Handt., M.A. Liu. and J.W. Shiver. 1997. Potent, protective anti-HIV immune responses generated by bimodal HIV envelope DNA plus protein vaccination. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**(17): 9378-83
47. Letvin, N.L., N.W. King. 1990. Immunologic and pathologic manifestations of the infection of rhesus monkeys with simian immunodeficiency virus of macaques. *J Acquir Immune Defic Syndr* **3**(11): 1023-40
48. Li, J., C.I. Lord., W. Haseltine., N.L. Letvin. and J. Sodroski. 1992. Infection of cynomolgus monkeys with a chimeric HIV-1/SIVmac virus that expresses the HIV-1 envelope glycoproteins. *Acquir Immune Defic Syndr* **5**(7): 639-46
49. Liu, L.M. and G.G. Macpherson. 1993. Antigen acquisition by dendritic cells; Intestinal dendritic cells acquire antigen administered orally and can prime native T cells in vivo. *J.Exp.Med.* **177**: 1299-1307
50. Lohman, B.L., C.J. Miller. and M.B. McChesney. 1995. Antiviral cytotoxic T lymphocytes in vaginal mucosa of simian immunodeficiency virus-infected rhesus macaques. *J Immunol* **155**(12): 5855-60
51. London, S.D., D.H. Rubin. and J.J. Cebra. 1987. Gut mucosal immunization with reovirus serotype 1/L stimulates virus-specific cytotoxic T cell precursors as well as IgA memory cells in peyers patches. *J.Exp Med.* **165**: 830-847.
52. Luciw, P.A., E. Pratt-Lowe, K.E. Shaw., J.A. Levy. and C. Cheng-Mayer. 1995. Persistent infection of rhesus macaques with T-cell-line-tropic and macrophage-tropic clones of simian/human immunodeficiency viruses (SHIV). *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**(16): 7490-4
53. Luo, L., Y. Li., J.S. Chang., S.Y. Cho., T.Y. Kim., M.J. Choi., H.S. Cheong., H.J. Kim., H.J. Ahn., M.K. Min., B.H. Chun., S.M. Jung., S.G. Woo., S.Y. Park. and C.Y. Kang. 1998. Induction of V3-specific cytotoxic T lymphocyte responses by HIV gag particles carrying multiple immunodominant V3 epitopes of gp120. *Virology* **240**(2): 316-25
54. Mandl, S., L.J. Sigal., K.L. Rock. and R. Andino. 1998. Poliovirus vaccine vectors elicit antigen-specific cytotoxic T cells and protect mice against lethal challenge with malignant melanoma cells expressing a model antigen. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**(14):8216-21
55. Mascola, J.R., S.W. Snyder., O.S. Weislow., S.M. Belay,

- R.B. Belshe., D.H. Schwartz., M.L. Clements., R. Dolin., B.S. Graham., G.J. Gorse., M.C. Keefer., M.J. McElrath., M.C. Walker., K.F. Wagner., J.G. McNeil., F.E. McCutchan., D.S. Burke. 1996. Immunization with envelope subunit vaccine products elicits neutralizing antibodies against laboratory-adapted but not primary isolates of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* **173**(2): 340-8
56. Max, P.A., R.W. Compans., A. Gettie., J.K. Staas., B.M. Gilley., M.J. Mulligan., G.V. Yamshchikov., D. Chen. and J.H. Eldridge. 1993. Protection against vaginal SIV transmission with microencapsulated vaccine. *Science* **260** : 1323-1327
57. McGhee, J.R., J. Mestecky., M.T. Dertzbaugh., J.H. Eldridge., M. Hirasawa. and H. Kiyono. 1992. The mucosal immune system; from fundamental concepts to vaccine development. *Vaccine* **10**: 75-88
58. Meitin, C.A., B.S. Bender. and P.Q. Small. 1991. Influenza immunization: intranasal live vaccine recombinant contrasted with parental inactivated vaccine. *Vaccine* **9**: 751-756
59. Meyer, H., G. Sutter. and A. Mayr. 1991. Mapping of deletions in the genome of the highly attenuated vaccinia virus MVA and their influence on virulence. *J Gen Virol* **72**(Pt 5): 1031-8
60. Miller, C. and M.B. Gardner. 1991. AIDS and mucosal immunity; usefulness of the SIV macaque model of genital mucosal transmission. *J AIDS* **4**: 1169-1172
61. Miller, C.J., N.J. Alexander., S. Sutjipto., A.A. Lackner., A. Gettie., A.G. Hendrick., L.J. Lowenstein., M. Temings. and P.A. Marx. 1989. General mucosal transmission of Simian immunodeficiency virus; Animal model for heterosexual transmission of human immunodeficiency virus. *J Virol*. **63**: 4277-4284
62. Montefiori, D.C., G. Pantaleo., L.M. Fink., J.T. Zhou., J.Y. Zhou., M. Biliska., G.D. Miralles. and A.S. Fauci. 1996. Neutralizing and infection-enhancing antibody responses to human immunodeficiency virus type 1 in long-term nonprogressors. *J Infect Dis* **173**(1): 60-7
63. Moog, C., H.J. Fleury., I. Pellegrin., A. Kirn. and A.M. Aubertin. 1997. Autologous and heterologous neutralizing antibody responses following initial seroconversion in human immunodeficiency virus type 1-infected individuals. *J Virol* **71**(5): 3734-41
64. Morris, L., J.M. Binley., B.A. Clas., S. Bonhoeffer., T.P. Astill., R. Kost., A. Hurley., Y. Cao., M. Markowitz., D.D. Ho. and J.P. Moore. 1998. HIV-1 antigen-specific and -nonspecific B cell responses are sensitive to combination antiretroviral therapy. *J Exp Med* **188**(2): 233-45
65. Mossman, S.P., F. Bex., P. Berglund., J. Arthos., S.P. O'Neil., D. Riley., D.H. Maul., C. Bruck., P. Momin., A. Burny., P.N. Fultz., J.I. Mullins., P. Liljestrom. and E.A. Hoover. 1996. Protection against lethal simian immunodeficiency virus SIVsmmPBj14 disease by a recombinant Semliki Forest virus gp160 vaccine and by a gp120 subunit vaccine. *J Virol* **70**(3): 1953-60
66. Mueller, S. and E. Wimmer. 1998. Expression of foreign proteins by poliovirus polyprotein fusion: analysis of genetic stability reveals rapid deletions and formation of cardioviruslike open reading frames. *J. Virol.* **72**: 20-31
67. Munoz, E., A.M. Zubiaga., M. Merrow., N.P. Santer. and B.T. Huber. 1990. Cholera toxin discriminates between T helper 1 and 2 cells in T cell receptor-mediated activation: Role of cAMP in T cell proliferation. *J. Exp. Med.* **172**: 95-103
68. Murphey-Corb, M., L.N. Martin., B. Davison-Fairburn., R.C. Montelaro., M. Miller., M. West., S. Ohkawa., G.B. Baskin., J.Y. Zhang. and S.D. Putney. 1989. A formalin-inactivated whole SIV vaccine confers protection in macaques. *Science* **246**(4935): 1293-7
69. Musey, L., J. Hughes., T. Schacker., T. Shea., L. Corey. and M.J. McElrath. 1997. Cytotoxic-T-cell responses, viral load, and disease progression in early human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* **337**(18): 1267-74
70. Natuk, R.J., P.A. Chanda., M.D. Lubeck., A.R. Davis., J. William., R. Hjorth., M.S. Wade., D.M. Bhat., S. Mitzatani., S. Lee., J. Eichberg., R.C. Gallo., P.P. Hung. and M. Robert-Gwoff. 1992. Adenovirus-human immunodeficiency virus (HIV) envelope recombinant vaccines elicit high titered HIV-neutralizing antibodies in the dog model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **89**: 7777-7781.
71. Novembre, F.J., M. Saucier., D.C. Anderson., S.A. Klumpp., S.P. O'Neil., C.R. Brown., C.E. Hart., P.C. Guenther., R.B. Swenson. and H.M. McClure. 1997. Development of AIDS in a chimpanzee infected with human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* **71**(5): 4086-91
72. Oftit, P.A. and K.I. Dudzik. 1989. Rotavirus specific cytotoxic T lymphocyte appear at the intestinal mucosal surface after rotavirus infection. *J. virol* **63**: 3507-3512.
73. Ogg, G.S., X. Jin., S. Bonhoeffer., P.R. Dunbar., M.A. Nowak., S. Monard., J.P. Segal., Y. Cao., S.L. Rowland-Jones., V. Cerundolo., A. Hurley., M. Markowitz., D.D. Ho., D.F. Nixon. and A.J. McMichael. 1998. Quantitation of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and plasma load of viral RNA. *Science* **279**(5359): 2103-6
74. Pantaleo, G., C. Graziosi., J.F. Demarest., L. Butini., M. Montroni., C.H. Fox., J.M. Orenstein., D.P. Kotler. and A.S. Fauci. 1993. HIV infection is active progressive in lymphoid tissue during the clinical latent stage of disease. *Nature* **362**: 355-358
75. Pantaleo, G., J.F. Demarest., H. Soudeyns., C. Graziosi.,

- F. Denis., J.W. Adelsberger., P. Borrow., M.S. Saag., G.M. Shaw. and R.P. Sekaly. 1994. Major expansion of CD8+ T cells with a predominant V beta usage during the primary immune response to HIV. *Nature* **370**(6489): 463-7
76. Patterson, S. and S.C. Knight. 1987. Susceptibility of human peripheral blood dendritic cells to infection by human immunodeficiency virus. *J.Gen.Virol.* **68**: 1177-1180
77. Patterson, S., J. Gross., P. Bedford. and S.C. Knight. 1991. Morphology and phenotype of dendritic cells from peripheral blood and their productive and nonproductive infection with human immunodeficiency virus type I. *Immunol.* **72**: 361-367
78. Pellegrin, I., E. Legrand., D. Neau., P. Bonot., B. Masquelier., J.L. Pellegrin., J.M. Ragnaud., N. Bernard. and H.J. Fleury. 1996. Kinetics of appearance of neutralizing antibodies in 12 patients with primary or recent HIV-1 infection and relationship with plasma and cellular viral loads. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* **11**(5): 438-47
79. Phillips, R.E., S. Rowland-Jones., D.F. Nixon., F.M. Gotch., J.P. Edwards., A.O. Ogunlesi., J.G. Elvin., J.A. Rothbard., C.R. Bangham., C.R. Rizza. 1991. Human immunodeficiency virus genetic variation that can escape cytotoxic T cell recognition. *Nature* **354**(6353): 453-9
80. Pilgrim, A.K., G. Pantaleo., O.J. Cohen., L.M. Fink., J.Y. Zhou., J.T. Zhou., D.P. Bolognesi., A.S. Fauci. and D.C. Montefiori. 1997. Neutralizing antibody responses to human immunodeficiency virus type 1 in primary infection and long-term-nonprogressive infection. *J Infect Dis* **176**(4): 924-32
81. Porter, D.C., D.C. Ansardi., W.S. Choi. and C.D. Morrow. 1993. Encapsulation of genetically engineered poliovirus minireplicons which express human immunodeficiency virus type 1 gag and pol proteins upon infection. *J.Virol.* **67**: 3712-3719
82. Porter, DC., L.R. Melsen, R.W. Compans, and C.D. Morrow. 1996. Release of virus-like particles from cells infected with poliovirus replicons which express human immunodeficiency virus type1 gag. *J. Virol.* **70**: 2643-2649.
83. Racaniello, V.R., and D. Baltimore. 1981. Cloned poliovirus complementation cDNA is infection in mammalian. *Science* **214**: 916-918.
84. Redfield, R.R., D.C. Wright., W.D. James., T.S. Jones., C. Brown. and D.S. Burke. 1987. Disseminated vaccinia in a military recruit with human immunodeficiency virus (HIV) disease. *N Engl J Med* **316**(11): 673-6
85. Reimann, K.A., J.T. Li., R. Veazey., M. Halloran., I.W. Park., G.B. Karlsson., J. Sodroski. and N.L. Letvin. 1996. A chimeric simian/human immunodeficiency virus expressing a primary patient human immunodeficiency virus type 1 isolate env causes an AIDS-like disease after in vivo passage in rhesus monkeys. *J Virol* **70**(10): 6922-8
86. Rosenberg, E.S., J.M. Billingsley., A.M. Caliendo., S.L. Boswell., P.E. Sax., S.A. Kalams. and B.D. Walker. 1997. Vigorous HIV-1-specific CD4+ T cell responses associated with control of viremia. *Science* **278**(5342): 1447-50
87. Sethi, K.K., H. Naher. and I. Stroehmann. 1998. Phenotypic heterogeneity of cerebrospinal fluid-derived HIV-specific and HLA-restricted cytotoxic T-cell clones. *Nature* **335**(6186): 178-81
88. Shen, L., Z.W. Chen., M.D. Miller., V. Stall. and G.P. Mazzara., D.L. Panicali. and N.L. Letvin. 1991. recombinant viral vaccine-induced SIV-specific CD+8 cytotoxic T lymphocytes. *Science* **252**: 440-443.
89. Shibata, R., C. Siemon., S.C. Czajak., R.C. Desrosiers. and M.A. Martin. 1997. Live, attenuated simian immunodeficiency virus vaccines elicit potent resistance against a challenge with a human immunodeficiency virus type 1 chimeric virus. *J Virol* **71**(11): 8141-8
90. Stamatatos, L., C. Cheng-Mayer. 1995. Structural modulations of the envelope gp120 glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1 upon oligomerization and differential V3 loop epitope exposure of isolates displaying distinct tropism upon virion-soluble receptor binding. *J. Virol* **69**(10): 6191-8
91. Stingl, G., K. Rappersberger., E. Tschachler., S. Gartner., V. Groh., D.L. Mann., K. Wolff. and M. Popovic. 1990. Langerhans cells in HIV-1 infection. *J. Am. Acad. Dermatol.* **22**: 1210-1217
92. Stott, E.J.. 1991. Anti-cell antibody in macaques. *Nature* **353**(6343): 393
93. Takahashi, H., J. Cohen., A. Hosmalin., K.B. Cease., R. Houghten., J. Cornette., C. DeLisi., B. Moss., R.N. Gernain. and J.A. Berzofsky. 1988. An immunodominant epitope of the HIV- I gp160 envelope glycoprotein recognized by class I MHC molecule-restricted murine cytotoxic T lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**: 3105-3109.
94. Tang, S., van Rij R, D. Silvera. and R. Andino. 1997. Toward a poliovirus-based simian immunodeficiency virus vaccine: correlation between genetic stability and immunogenicity. *J Virol* **71**(10):7841-50.
95. Tartaglia,J., M.E. Perkus., J. Taylor., E.K. Norton., J.C. Audonnet., W.I.Cox., S.W. Davis., J. Van der Hoeven., B. Meignier., M. Riviere., B. Languet. and E. Paolette. 1992. A highly attenuated strain of vaccinia virus. *Virology* **188**: 217-232.
96. Tobin, G.J., G.H. Li., S.E. Fong., K. Nagashima. and M.A. Gonda. 1997. Chimeric HIV-1 virus-like particles

- containing gp120 epitopes as a result of a ribosomal frameshift elicit Gag- and SU-specific murine cytotoxic T-lymphocyte activities. *Virology* **236**(2): 307-15
97. Top, F.H., E.L. Buescher., W.H. Bancroft. and P.K. Russel. 1971. Immunization with live type 7 and 4 adenovirus vaccines vaccines . II. Antibody response and protective effect against acute respiratory disease due to adenovirus type 7. *J. Infect. Dis.* **124**: 155-160.
98. Trauger, R.J., F. Ferre., A.E. Daigle., F.C. Jensen., R.B. Moss., S.H. Mueller., S.P. Richieri., H.B. Slade. and D.J. Carlo. 1994. Effect of immunization with inactivated gp120-depleted human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) immunogen on HIV-I immunity, viral DNA, and percentage of CD4 cells. *J Infect Dis* **169**(6): 1256-64
99. Tschachler, E., V. Groh., M. Popovic., D.L. Mann., K. Konrad., B. Safai., L. Eron., F.M. Veronese., K. Wolff. and G. Stingl. 1987. Epidermal langerhans cells-A target for HTLVIII/LAV infection. *J. Invest. Dermatol.* **88**: 233-237
100. Tsubota, H., C.I. Lord., D.I. Watkins., C. Morimoto. and N.L. Letvin. 1989. A cytotoxic T lymphocyte inhibits acquired immunodeficiency syndrome virus replication in peripheral blood lymphocytes. *J Exp Med* **169**(4): 1421-34
101. Vahey, M., D.L. Birx., N.L. Michael., D.S. Burke. and R.R. Redfield. 1994. Assessment of gag DNA and genomic RNA in peripheral blood mononuclear cells in HIV-infected patients receiving intervention with a recombinant gp 160 subunit vaccine in a phase I study. *AIDS Res Hum Retroviruses* **10**(6): 649-54
102. Vancott, T.C., V.R. Polonis., L.D. Loomis., N.L. Michael., P.L. Nara. and D.L. Birx. 1995. Differential role of V3-specific antibodies in neutralization assays involving primary and laboratory-adapted isolates of HIV type 1. *AIDS Res Hum Retroviruses* **11**(11): 1379-91
103. Walker, C.M., D.J. Moody., D.P. Stites. and J.A. Levy. 1986. CD8+ lymphocytes can control HIV infection in vitro by suppressing virus replication. *Science* **234**(4783): 1563-6
104. Wang, Y., Z. Xiang., S. Pasquini. and H.C. Ertl. 1997. The use of an E1-deleted, replication-defective adenovirus recombinant expressing the rabies virus glycoprotein for early vaccination of mice against rabies virus. *J Virol* **71**(5): 3677-83
105. Whatmore, A.M., N. Cook., G.A. Hall., S. Sharpe., E.W. Rud. and M.P. Cranage. 1995. Repair and evolution of nef in vivo modulates simian immunodeficiency virus virulence. *J Virol* **69**(8): 5117-23
106. Wilson, A.D., A. Robinson, L. Irons. and C.R. Stokes. 1993. Adjuvant action of cholera toxin and pertussis toxin is the induction of IgA antibody responses to orally administered antigen. *Vaccine* **11**: 113-118
107. Wong, J.K., M. Hezareh., H.F. Gunthard., D.V. Havlir., C.C. Ignacio., C.A. Spina. and D.D. Richman. 1997. Recovery of replication-competent HIV despite prolonged suppression of plasma viremia. *Science* **278**(5341): 1291-5
108. Yamamoto, H., D.J. Ringler., M.D. Miller., Y. Yasutomi., T. Hasunuma. and N.L. Letvin. 1992. Simian immunodeficiency virus-specific cytotoxic T lymphocytes are present in the AIDS-associated skin rash in rhesus monkeys. *J Immunol* **149**(2): 728-34
109. Yasutomi, Y., S. Koenig., S.S. Haun., C.K. Stover., R.K. Jackson., P. Conard., A.J. Conley., E.A. Emini., T.R. Fuerst. and N.L. Letvin. 1993. Immunization with recombinant BCG-SIV elicits SIV-specific cytotoxic T lymphocytes in rhesus monkeys. *J Immunol* **150**(7): 3101-7