

## 愛滋疫苗研發新希望

陳宜民 林郁婷

目前爲了控制愛滋病的蔓延，全球已經致力於愛滋病毒疫苗的研究與發展，長遠來說預防性的愛滋病毒疫苗將是我們阻止AIDS流行唯一的希望[1]。愛滋病毒疫苗目前分爲兩大類：治療性疫苗（therapeutic vaccines）及預防性疫苗（preventive vaccines），治療性的疫苗是針對本身已經感染HIV的病人，利用病人本身的免疫反應來控制病情，一般是用來輔助其他的治療方法；預防性疫苗是針對沒有感染HIV的人，預防其將來得到HIV的感染，大部分預防性的疫苗在作臨床試驗時，也會評估其作爲治療性疫苗的可行性。

近年來在臨床效能試驗的發展上有一大突破，給愛滋疫苗研發帶來了一線曙光。由泰國及美國陸軍所組成的研究團隊在泰國當地針對超過16,000人所作的第三期臨床試驗（RV144臨床試驗）有了重大突破[2]，讓人們對愛滋疫苗重新燃起希望。RV144臨床試驗主要是施打兩種不同的疫苗（ALVAC-HIV vCP1521及AIDSVAX gp120 B/E），ALVAC-HIV vCP1521疫苗爲一種滅毒的金絲雀痘病毒載體帶有HIV的外套膜（env）、gag及蛋白（pro）基因，此種疫苗能產生大量的毒殺T細胞（CTL）來清除被HIV感染的細胞，且由於它不會在人體複製，因此安全性佳；

而AIDSVAX gp120 B/E疫苗則是HIV醣蛋白（gp120）B亞型及CRF01\_AE的重組蛋白，由於泰國當地在靜脈藥癮（IDU）族群及男同志（MSM）族群以感染B亞型病毒株為主，而異性戀族群則以感染CRF01\_AE重組病毒株為主，因此選擇B亞型及CRF01\_AE的重組蛋白作為疫苗的成份，此種疫苗能誘導出較高的抗體效價，因此免疫性較佳。臨床試驗施打策略為初打（prime）兩劑ALVAC-HIV vCP1521疫苗，兩劑間隔一個月，在第二劑施打兩個月後追加（boost）兩劑AIDSVAX gp120 B/E疫苗加上ALVAC-HIV vCP1521疫苗，兩劑間隔三個月，整個施打/追加的過程包括四劑ALVAC-HIV vCP1521疫苗以及兩劑AIDSVAX gp120 B/E疫苗，為期半年。過去單獨使用這兩種疫苗的結果不甚理想，但當結合兩種疫苗並結合初打/追加的策略後顯示有接受疫苗注射的組別在預防愛滋感染上有顯著的效力（31.1%）。此臨床試驗的資料及結果將作為未來愛滋疫苗發展上的重要資訊。

愛滋病毒疫苗在發展的過程中遭遇到不少的瓶頸，其中包括愛滋病毒高度的變異性、抗原的多樣性、由黏膜及受感染的細胞傳播病毒、野生型病毒株對中和性血清有耐受性、病毒的基因會嵌入宿主細胞染色體內、病毒潛伏在靜止的記憶T細胞內、在宿主體內很快出現突變以及造成組織相容抗原第一型（MHC class I）表現量降低等。病毒反轉錄酵素的高錯誤率會導致HIV基因的突變，造成HIV基因多樣性及高變異性的特性，尤其是外套膜（envelope）的區域，但在HIV核心及調控基因則變異的範圍較小。目前全球HIV亞型的分佈主要以C亞型為主（47.2%），其次是亞型B、A及E[3-8]，不同國家流行的亞型不盡相同。這些資料對於愛滋病毒疫苗的設計有非常大幫助，因為對某一種亞型有保護作用的疫苗可能對其他亞型或重組病毒株並沒有保護能力，或是只有部分的保護效果而已。

雖然對於具有保護效果的免疫機制仍不清楚[9]，但兩種免疫系統（體液性免疫及細胞性免疫）都被認為是保護作用中十分重要的元素，HIV感染後典型的免疫反應包括產生中和性抗體及細胞性免疫反應，而好的疫苗能有效地防止宿主在暴露HIV後被其感染。然而，儘管有這些免疫系統存在，HIV持續性的感染反映出HIV不但能逃脫免疫系統的攻擊，且能在抗原呈現細胞（antigen-presenting cells, APC）及免疫細胞內複製，使得病毒能一直不斷地補充。產生中和性抗體及毒殺T細胞來對抗HIV病毒株是發展愛滋病毒疫苗最終努力的目標[10]，體液性免疫所產生的中和性抗體會徹底的阻止病毒感染新的宿主細胞，目前國際間已經建立國際中和性抗體聯盟（International Neutralizing Antibody Consortium），並與國際愛滋疫苗發起組織（International AIDS Vaccine Initiative, IAVI）共同經營及募集資金。由於HIV病毒突變非常快速以至於能躲避一般抗體的辨識，因此一個有效的愛滋疫苗必須能中和世界上大部分的HIV病毒株，而此疫苗必須仰賴某些成份去成功誘發免疫系統產生中和性抗體，這也是目前全球許多科學家及國際愛滋疫苗發起組織優先研究的方向。

抗病毒的細胞性免疫反應在控制病毒複製上扮演相當重要的角色，尤其是急性感染的時期[11,12]，因此若能製造出有特異性細胞性免疫的愛滋病毒疫苗，可以在未被感染的人身上增加抵抗HIV-1的CD4記憶細胞及CD8毒殺細胞，便能使這些細胞在病毒一開始感染的時候快速增生，理論上，這些立即增生的細胞會引發病毒與免疫系統間的作用，造成病毒感染的細胞快速被CTL清除及維持較低的病毒量[13]。目前疫苗研發的策略著重在發展細胞性免疫反應，尤其是經由對HIV有特異性的CD8細胞毒性。

利用疫苗產生細胞性免疫反應是需要疫苗載體（vector）將病毒免疫原基因送入抗原呈現細胞內，目前已有一些載體在臨床前

期（preclinical）及臨床試驗早期作測試，另外也包括各種複製缺陷的病毒及所謂的DNA載體也應用在其中。除此之外，愛滋病毒疫苗也缺乏相關的動物模式，過去在非人類靈長動物模式中，這些疫苗已經可以產生免疫反應來減緩病毒感染的情形，依不同的個體有高低不同的效果[14]。

在愛滋病毒疫苗發展的過程中遭遇許多的困難，包括分配給愛滋病毒疫苗資金的不足、整合方法的缺乏、在開發中國家的管理權、批准過程緩慢、試驗方法及試劑的標準化以及臨床試驗期耗費的時間（尤其是效能試驗）等，因此目前執行愛滋病毒疫苗臨床試驗是十分困難、耗時及昂貴的。不僅如此，在招募低危險族群（臨床試驗第一期）以及處於危險族群（效能試驗第二、三期）的自願者都是相當困難的，因為這些自願受測者在試驗期間容易遭受污名烙印及歧視、謠言及誤解以及新聞媒體輿論的攻擊，因此保護開發中國家受測者個人的權利及福利是發展疫苗優先考慮的議題。過去許多國家已經參與國際愛滋病毒疫苗的發展，從經驗中也逐漸提升其倫理委員會及管理代辦機構的能力，但在縮短耽擱期間仍須投入更多的努力。

自1987年第一個預防性愛滋病毒疫苗進入臨床試驗以來，已有超過一百五十個候選疫苗進行安全性及免疫抗原性的評估試驗，其中三個候選疫苗目前已進入效能試驗〈表一〉。估計在1987至2009年間，已有超過四萬個未被HIV感染的自願者參與愛滋臨床試驗，人類愛滋病毒疫苗臨床試驗的資料庫目前已經由國際愛滋病毒疫苗發起組織（IAVI）（[www.iavi.org](http://www.iavi.org)）以及美國國家衛生院疫苗研究中心（[www.vrc.nih.gov](http://www.vrc.nih.gov)）所建立，可提供其他個別試驗詳盡的細節及相關參考資料。下面將針對不同的愛滋病毒疫苗作說明。

表一、過去及目前進行的第二及第三期臨床試驗

年份 (國家)	臨床 試驗期	策略 (初打/追加)	疫 苗 產 物	受測 人數
2009* (美國等)	IIa	DNA / 痘病毒載體	pGA2/JS7 DNA; MVA/HIV62	225
2009* (美國)	II	DNA / 腺病毒載體	VRC-HIVDNA016-00-VP; VRC-HIVADV014-00-VP	1,350
2007* (泰國)	I/II	DNA / 痘病毒載體	pHIS-HIV-AE; rFPV-HIV-AE	8
2007 (法國等)	I/II	DNA / 痘病毒載體	DNA-C; NYVAC-C	147
2006 (美國)	IIa	腺病毒載體 / 腺病 毒載體	VRC-HIVADV014-00-VP; VRC-HIVADV014-00-VP	66
2006* (美國)	I/II	DNA / 痘病毒載體	HIVIS-DNA; MVA-CMDR	60
2005* (南非)	IIb	腺病毒載體	MRKAd5 HIV-1 gag/pol/nef	800
2005 (美國等)	II	DNA / 腺病毒載體	VRC-HIVDNA016-00-VP; VRC-HIVADV014-00-VP	480
2005 (南非等)	II	腺相關病毒	tgAAC09	84
2005 (東非)	I/II	DNA / 腺病毒載體	VRC-HIVDNA016-00-VP; VRC-HIVADV014-00-VP	326
2004 (法國)	II	蛋白質	lipopeptide (LIPO-5)	156
2004 (芬蘭)	I/II	DNA	GTU-MultiHIV clade B DNA	28
2004 (美國)	I/II	痘病毒載體 / 蛋白質	ALVAC vCP1452; LIPO-5	174
2003 (泰國)	III	痘病毒載體 / 蛋白質	ALVAC-HIV vCP1521; AIDSVAX gp120 B/E	16,395
2003 (美國)	IIa	DNA / 痘病毒載體	DNA.HIVA; MVA.HIVA	115
2002 (美國)	I/II	DNA / 痘病毒載體	DNA.HIVA; MVA.HIVA	120

2000 (巴西等)	II	痘病毒載體 / 蛋白質	ALVAC vCP1452; MN rgp120	200
2000 (美國)	II	痘病毒載體 / DNA	ALVAC vCP1452; AIDSVAX B/B	330
2000 (泰國)	I/II	痘病毒載體 / 蛋白質 / 蛋白質	ALVAC-HIV vCP1521; gp160 THO23/LAI-DID; rgp120/HIV-1 SF-2	120
2000 (韓國)	I/II	痘病毒載體 / 蛋白質	ALVAC-HIV vCP1521; gp120 C4-V3	120
1999 (泰國)	III	蛋白質	AIDSVAX B/E	2,500
1999 (美國)	I/II	蛋白質	UBI HIV-1 Peptide Vaccine, Microparticulate Monovalent	24
1999 (美國)	I/II	蛋白質 / 蛋白質	AIDSVAX B/B; AIDSVAX B/E	120
1998 (美國)	III	蛋白質	AIDSVAX B/B	5,400
1997 (美國)	II	痘病毒載體 / 蛋白質	ALVAC-HIV MN120TMG strain; rgp120/HIV-1 SF-2	420
1997 (美國)	I/II	痘病毒載體 / 蛋白質	ALVAC vCP1452; AIDSVAX B/B	48
1993 (澳洲)	I/II	蛋白質	UBI HIV-1 V3 Peptide Immunogen, Multivalent	24
1992 (美國)	II	蛋白質 / 蛋白質	rgp120/HIV-1 SF-2; MN rgp120	296

\*目前仍進行中。摘自國際愛滋病毒疫苗發起組織。

## 一、基因重組外套膜次單元 (Recombinant envelope subunits)

外套膜醣蛋白完整結構型態在產生中和性抗體是十分重要的，目前外套膜候選疫苗能產生出與gp120結合且具高力價的抗體，但這種具有中和性的抗體能對抗實驗室組織培養的病毒株，

卻無法對抗原代培養的HIV-1病毒株[16]。全球已經著手進行多種方法來克服這些障礙，其中包括將原代病毒株取得的gp120與醣蛋白gp140三聚體混合，結果顯示混合後的分子會增加免疫抗原的效力。另外將醣化的部分移除以露出中和性抗原決定位置（epitope），或是利用gp120-CD4的複合物，或是去除gp120第一及第二變異環狀結構（loop）的方法都已被拿來作為免疫抗原，結果顯示都能產生廣泛地中和性抗體[17]。

HIV的Tat是比外套膜更高度保留的蛋白，它是病毒生活史中不可缺少且在早期表現的一種基因產物，有報告指出不論在人類或是猴子身上，Tat引發的體液性免疫及細胞免疫反應與延緩疾病進展是相互關連，顯示Tat是愛滋病毒疫苗發展上一個理想的標的，能夠用來控制病毒複製及防止疾病的產生，已有研究證實此種疫苗在動物模式中能產生部分的保護效果，目前也在人體作測試[18]。而gp120 nef/tat融合的次單元疫苗則會在人體產生中度的免疫反應[19]。

## 二、合成的胜肽鏈（Synthetic peptides）

不論是線性或是分支的合成胜肽鏈免疫抗原，最初都集中在gp120的V3環狀結構上，但是由於它的耐受度高，因此在體內並不會產生中和性抗體來對抗原代培養的病毒株[20,21]。雖然胜肽鏈及蛋白質在體內試驗中通常不會產生第一型的CD8免疫反應，但脂肪胜肽鏈能產生廣泛地細胞性免疫反應[22-24]。

## 三、活性重組載體（Live recombinant vectors）

活性重組載體疫苗是利用減毒活性病毒株或減毒活性細菌株作為載體〈表二〉，攜帶會做出抗原蛋白的HIV基因，在體內產生體液及細胞性免疫反應。痘病毒（例：牛痘病毒載體）是

表二、應用在愛滋病毒疫苗的活性重組載體

病 毒 株	細 菌 株
痘疹病毒：牛痘病毒、金絲雀痘病毒（ALVAC）、雞痘病毒、修飾過的牛痘安卡拉（MVA）、減毒痘病毒（NYVAC）	結核桿菌 沙門氏菌
腺病毒	志賀氏桿菌
腺相關病毒（AAV）	乳酸菌
阿爾發病毒：委內瑞拉馬腦炎病毒、辛德畢斯病毒、森林病毒（SFV）	鏈球菌 李斯特桿菌
黃病毒：黃熱病病毒	
棒狀病毒：水泡性口炎病毒、狂犬病病毒	
黏液病毒：流行性感冒病毒	
副黏液病毒：仙臺病毒、麻疹病毒	
小RNA病毒：小兒麻痺病毒	

摘自Excler JL 2005.[15]

最早在動物及人體試驗的載體，由於在免疫力不好的人身上缺乏安全性來對抗重組牛痘病毒，因此使得這些人必須選擇減毒牛痘病毒株，例如減毒痘病毒（NYVAC）或修飾過的牛痘病毒安卡拉（MVA），都是高度減毒且限制宿主範圍的牛痘病毒株。在非人類的靈長類中，發現在接種SHIV或SIV之後，基因重組MVA能產生有效的CTL反應及控制部分病毒量的產生[25]。另外有一種新的MVA載體是經由將尿嘧啶-DNA糖基解酵素基因刪除而阻止痘病毒進入複製週期，猴子在注射這種MVA載體後發現會比原始MVA產生更多的CD8及CD4 T細胞增生。其他在哺乳動物細胞內並不會進行複製的痘病毒也已經慢慢建立起來，包括金絲雀痘病毒（ALVAC）或雞痘病毒（fowlpox），雖然這些不會進行複製的痘病毒在人體中是安全的，但比起牛痘病毒其免疫抗原性較差[26]。



人類腺病毒第四、五、七型能經由口腔或鼻腔接種產生系統免疫及黏膜免疫，最近發現一種會表現HIV-1 Gag的重組腺病毒第五型（Ad5）能順利地在恆河猴身上產生細胞性免疫反應，並在接種致病的SHIV之後能減弱感染的情形及緩和疾病的進展，也發現先用DNA再用重組Ad5接種能在人體產生較強的細胞性免疫反應。

腺相關病毒（AAV）是一種自然發生的病毒，它需依靠輔助的病毒來進行複製，雖然在美國及歐洲已經發現人體內普遍存在抗AAV的免疫反應，但是大規模的流行病學研究已經指出這種病毒是不具有致病力的。臨床前期的資料顯示在動物利用肌肉注射AAV疫苗，可產生抗體及T細胞反應，而且可持續至少六個月。目前以AAV愛滋病毒疫苗臨床試驗已經在歐洲開始進行。對於過去曾經接觸過某個載體且對此種載體已產生免疫的人來說，大部分重組活性病毒或細菌載體在這些人身上的免疫抗原性較低，也有研究指出已經具有較低Ad5抗體效價的人會比高抗體效價的人產生較強的細胞性免疫反應[27]。

#### 四、DNA疫苗（Naked DNA）

質體DNA攜帶抗原基因並在適當的轉錄促進子（promoter）控制下表現抗原，將純化的質體DNA注射到肌肉或皮下，大部分會產生Th1免疫反應。然而單獨的DNA疫苗或是合成密碼子最佳化（codon-optimized）的HIV-1基因，或是將DNA疫苗與細胞激素或其他傳遞系統一起設計的方法，在靈長類或是人體中都只能產生微弱的免疫反應[28]。

初打-追加（Prime-boost）的概念：在動物體內，初次施打病毒載體或核酸疫苗，接著追加施打其他載體或次單元 / 胜肽鏈，比單獨接種任何一種疫苗能產生較強的免疫反應[29]。利用

DNA疫苗作初次施打，再用MVA或雞痘病毒疫苗作追加施打，可以在猴子體內產生最好的CTL反應[30]，且在接種致病的SHIV之後能減低病毒量及延長存活的時間[31]。在猴子身上用DNA疫苗施打再追加雞痘病毒疫苗的試驗發現，雖然用DNA疫苗施打兩次再用雞痘病毒疫苗追加一次，比用DNA疫苗施打三次產生較高的ELISpot INF  $\gamma$  反應，但在接種病毒後兩者降低病毒量的程度是差不多的。而利用脂肪胜肽鏈及鳥痘病毒作為初打-追加的策略顯示不能改善只有單獨脂肪胜肽鏈所產生的免疫反應，所有的疫苗在施打胜肽鏈之後都能測到淋巴球的增生，但施打鳥痘病毒之後只有百分之三十八有淋巴球的增生[32]。為了防止人體內已經存在對抗疫苗載體的免疫反應，目前疫苗朝向鮮少在人體感染的腺病毒亞型發展，例如腺病毒第11型(Ad11)及腺病毒第35型(Ad35)。在動物實驗中，腺相關病毒第一型似乎比第二型能產生較強的免疫反應。當利用重組載體時，異質性的初打-追加策略似乎比同質性的更能產生較強的細胞免疫反應[33]。

二十一世紀愛滋病毒疫苗的發展正代表著科學上及人類史上空前的挑戰，愛滋病毒疫苗似乎是最終的防治工具來補足現今愛滋防治策略的不足，經由多種科學方法以及臨床試驗來加速疫苗的研發，或許是達到此目的最好的方法，而長期的努力更是需要靠政府強而有力的領導、變通性的程序、醫學與科學的奉獻與合作與社會大眾一同來參與的。臺灣由於資源有限，唯有著重整體性的疫苗發展策略，由上、中、下游同心協力分工合作，整合政府、學術、產業的研發體系，暢通基礎研究、技術發展及商品化的管道，將基礎研究的成果經過技術改良及整合，再移轉至產業界〈圖一〉。近年來國科會對疫苗研發十分重視，體認愛滋疫苗研發在生技產業及衛生外交上的重要性，期待未來臺灣也能在愛滋疫苗發展上盡一份心力。

圖一、臺灣愛滋疫苗發展策略



【作者簡介】

陳宜民

◎現職

國立陽明大學 微生物及免疫學研究所 特聘教授  
國立陽明大學 愛滋病防治及研究中心 主任

◎學歷

陽明醫學院醫學士  
微生物及免疫學研究所碩士  
美國哈佛大學公共衛生學院 癌生物學系科學博士



## ◎經歷

國立陽明大學 研發處研發長

國立陽明大學 國際事務處國際長

國立陽明大學 國際學術交流中心主任

國立陽明大學 公衛所教授兼所長

美國國家衛生院癌症醫學中心HIV抗藥研究計畫訪問科學家

中研院生物醫學科學研究所副研究員

林郁婷

## ◎現職

國立陽明大學 愛滋病防治及研究中心 博士後研究員

臺灣預防醫學學會 秘書長

## ◎學歷

臺北醫學大學 公共衛生學士

國立陽明大學 公共衛生研究所碩士

國立陽明大學 公共衛生研究所博士



## 【參考文獻】

1. Esparza J, Bhamarapravati N. Accelerating the development and future availability of HIV-1 vaccines: why, when, where, and how? *Lancet* 2000; 355:2061-6.
2. Rerks-Ngarm S, Pitisuttithum P, Nitayaphan S, Kaewkungwal J, Chiu J, Paris R, Prensri N, Namwat C, de Souza M, Adams E, Benenson M, Gurunathan S, Tartaglia J, McNeil JG, Francis DP, Stablein D, Birx DL, Chunsuttiwat S, Khamboonruang C, Thongcharoen P, Robb ML, Michael NL, Kunasol P, Kim JH; MOPH-TAVEG Investigators. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. *N Engl J Med*. 2009;361 (23) :2209-20.
3. Mandal D, Jana S, Panda S, Bhattacharya S, Ghosh TC, Bhattacharya SK, Chakrabarti S. Distribution of HIV-1 subtypes in female sex workers of Calcutta, India. *Indian J Med Res* 2000;112:165-72.
4. Chakrabarti S, Panda S, Chatterjee A, Sarkar S, Manna B, Singh NB, Naik TN, Detels R, Bhattacharya SK. HIV-1 subtypes in injecting drug users & their non-injecting wives in Manipur, India. *Indian J Med Res* 2000;111:189-94.
5. Gadkari DA, Moore D, Sheppard HW, Kulkarni SS, Mehendale SM, Bollinger RC. Transmission of genetically diverse strains of HIV-1 in Pune, India. *Indian J Med Res* 1998;107:1-9.
6. Halani N, Wang B, Ge YC, Ghapure H, Hira S, Saksena NK. Changing epidemiology of HIV type 1 infections in India: Evidence of subtype B introduction in Bombay from a common source. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2001;17:637-42.
7. Sahni AK, Prasad VV, Seth P. Genomic diversity of human immunodeficiency virus type-1 in India. *Int J STD AIDS* 2002;13 :115-8.
8. Tripathy S, Renjifo B, Wang WK, McLane MF, Bollinger R, Rodrigues J, Osterman J, Tripathy S, Essex M. Envelope glycoprotein 120 sequences of primary HIV type 1 isolates from Pune and New Delhi, India. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1996;12:1199-202.
9. Nathanson N, Mathieson BJ. Biological considerations in the development of human immunodeficiency virus vaccine. *J Infect Dis* 2000;182:579-89.
10. Letvin NL. Progress in the development of an HIV-1 vaccine. *Science* 1998;280: 1875-80.

11. Letvin NL, Walker BD. Immunopathogenesis and immunotherapy in AIDS virus infections. *Nature Med* 2003;9:861-6.
12. Blattner WA, Ann Oursler K, Cleghorn F, Charurat M, Sill A, Bartholomew C, Jack N, O'Brien T, Edwards J, Tomaras G, Weinhold K, Greenberg M. Rapid clearance of virus after acute HIV-1 infection: correlates of risk of AIDS. *J Infect Dis* 2004;189:1793-801.
13. Pilcher CD, Tien HC, Eron JJ Jr, Vernazza PL, Leu SY, Stewart PW, Goh LE, Cohen MS; Quest Study; Duke-UNC-Emory Acute HIV Consortium. Brief but efficient: acute HIV infection and the sexual transmission of HIV. *J Infect Dis* 2004;189:1785-92.
14. Desrosiers RC. Prospects for an AIDS vaccine. *Nature Med* 2004;10:221-3.
15. Excler JL. AIDS vaccine development: perspectives, challenges & hopes. *Indian J Med Res.* 2005;121 (4) :568-81. Review.
16. Choopanya K, Tappero JW, Pitisuttithum P, Suntharasamai P, Kaewkungwal J, Vanichseni S, et al. Preliminary results of a phase III HIV vaccine efficacy trial among injecting drug users in Thailand. XV International AIDS Conference, Bangkok, Thailand, 11-16 July 2004. (Abstract ThOrA1427) .
17. Srivastava IK, Ulmer JB, Barnett SW. Neutralizing antibody responses to HIV: role in protective immunity and challenges for vaccine design. *Expert Rev Vaccines* 2004;3 (Suppl 1) :S33-52.
18. Fanales-Belasio E, Cafaro A, Cara A, Negri DR, Fiorelli V, Butto S, Moretti S, Maggiorella MT, Baroncelli S, Michelini Z, Tripiciano A, Sernicola L, Scoglio A, Borsetti A, Ridolfi B, Bona R, Ten Haaf P, Macchia I, Leone P, Pavone-Cossut MR, Nappi F, Vardas E, Magnani M, Laguardia E, Caputo A, Titti F, Ensoli B. HIV-1 Tat- based vaccines: from basic science to clinical trials. *DNA Cell Biol* 2002;21: 599-610.
19. Horton H, Beckham C, Stucky J, Hallstrom J, Lee D, Ferrari G, et al. Induction of IL-2 secreting CD4+ T-cells capable of proliferation in seronegative subjects receiving the HIV-1 gp120/NefTat subunit vaccine. AIDS Vaccine 2004, Lausanne, Switzerland, August 30th-September 1st 2004. (Abstract 54) .
20. Gorse GJ, Keefer MC, Belshe RB, Matthews TJ, Forrest BD, Hsieh RH, Koff

- WC, Hanson CV, Dolin R, Weinhold KJ, Frey SE, Ketter N, Fast PE. A dose-ranging study of a prototype synthetic HIV-1MN V3 branched peptide vaccine. The National Institute of Allergy and Infectious Diseases AIDS Vaccine Evaluation Group. *J Infect Dis* 1996;173:330-9.
21. Salmon-Ceron D, Excler JL, Sicard D, Blanche P, Finkelstzjen L, Gluckman JC, Autran B, Matthews TJ, Meignier B, Kieny MP, et al. Safety and immunogenicity of a recombinant HIV type 1 glycoprotein 160 boosted by a V3 synthetic peptide in HIV-negative volunteers. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1995;11:1479-86.
  22. Gahery H, Silberman B, Figueiredo S, Surenaud M, Bouillette M, Salmon D, et al. Specific immune responses induced by a new formulation of HIV lipopeptide vaccine that combined HIV-1 CD8+ T-cell epitopes with a tetanus toxoid CD4+ T-cell epitope (ANRS VAC-12) . *AIDS Vaccine* 2004, Lausanne, Switzerland, August 30th-September 1st 2004 (Abstract 52) .
  23. Hosmalin A, Andrieu M, Loing E, Desoutter JF, Hanau D, Gras-Masse H, Dautry-Varsat A, Guillet JG. Lipopeptide presentation pathway in dendritic cells. *Immunol Lett* 2001;79: 97-100.
  24. Gahery-Segard H, Pialoux G, Figueiredo S, Igea C, Surenaud M, Gaston J, Gras-Masse H, Levy JP, Guillet JG. Long-term specific immune responses induced in humans by a human immunodeficiency virus type 1 lipopeptide vaccine: characterization of CD8+-T-cell epitopes recognized. *J Virol* 2003;77:11220-31.
  25. Im EJ, Hanke T. MVA as a vector for vaccines against HIV-1. *Expert Rev Vaccines* 2004;3 (Suppl 1) :S89-97.
  26. Franchini G, Gurunathan S, Baglyos L, Plotkin S, Tartaglia J. Poxvirus-based vaccine candidates for HIV: two decades of experience with special emphasis on canarypox vectors. *Expert Rev Vaccines* 2004;3 (Suppl 1) :S75-88.
  27. Barouch DH, Pau MG, Custers JH, Koudstaal W, Kostense S, Havenga MJ, Truitt DM, Sumida SM, Kishko MG, Arthur JC, Koriath-Schmitz B, Newberg MH, Gorgone DA, Lifton MA, Panicali DL, Nabel GJ, Letvin NL, Goudsmit J. Immunogenicity of recombinant adenovirus serotype 35 vaccine in the presence of pre-existing anti-Ad5 immunity. *J Immunol* 2004;172:6290-7.

28. Giri M, Ugen KE, Weiner DB. DNA vaccines against human immunodeficiency virus type 1 in the past decade. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:370-89.
29. Excler JL, Plotkin S. The prime-boost concept applied to HIV preventive vaccines. *AIDS* 1997;11 (Suppl A) :S127-37.
30. Kent SJ, Zhao A, Best SJ, Chandler JD, Boyle DB, Ramshaw IA. Enhanced T-cell immunogenicity and protective efficacy of a human immunodeficiency virus type 1 vaccine regimen consisting of consecutive priming with DNA and boosting with recombinant fowlpox virus. *J Virol* 1998;72:10180-8.
31. Vogel TU, Reynolds MR, Fuller DH, Vielhuber K, Shipley T, Fuller JT, Kunstman KJ, Sutter G, Marthas ML, Erfle V, Wolinsky SM, Wang C, Allison DB, Rud EW, Wilson N, Montefiori D, Altman JD, Watkins DI. Multispecific vaccine-induced mucosal cytotoxic T lymphocytes reduce acute-phase viral replication but fail in long-term control of simian immunodeficiency virus SIVmac239. *J Virol* 2003;77:13348-60.
32. Salmon D, Gahery H, Silbermann B, Jackson A, Mazarin V, Souag N, et al. Safety and immunogenicity of HIV lipopeptides associated or not to a live HIV recombinant canarypox (ALVAC-HIV, vCP1452) in non-HIV-infected volunteers (ANRS VAC 10). *AIDS Vaccine* 2004, Lausanne, Switzerland, August 30th – September 1st 2004. (Abstract 57) .
33. Schultz AM, Connell MM, Koff WC, Wyand M, Anklesaria P, Johnson PR. Immunogenicity of two different AAV-based HIV vaccine candidates in non-human primates. *AIDS Vaccine* 2004, Lausanne, Switzerland, August 30th - September 1st 2004. (Abstract 16) .