

治療性的疫苗

于鴻仁 楊崑德

一、疫苗的種類

最早有免疫概念的時代是十一世紀的中國，當時人們把健康的小孩抱去與感染天花的兒童接觸或以天花皮屑預防天花，但危險性仍高。這種概念和技術傳入中東再到英國，才由金納（Edward Jenner）於兩百年前應用到種牛痘（cow pox）以預防天花（small pox）而開啓了疫苗的接種，並且真正根除天花疾病。疫苗的接種對於重大傳染病的控制與根除扮演極重要的角色。隨著時代的演進，傳染病盛行狀況有所變化，疫苗的使用也在演變。在過去疫苗幾乎都使用在感染性疾病的預防，比如先前提過的用牛痘來預防天花，以及口服沙賓疫苗用來預防小兒麻痺。但在跨入二十一世紀的今天，在高生物科技的推波助瀾下，疫苗已朝向治療性的方向發展。尤其是治療性基因疫苗的設計更是具有潛力，我們可以藉著調整宿主的免疫反應或病原的抗原性而得到較好的治療。現今治療性疫苗的應用大致上可歸納為如〈表一〉所示的四類：（一）腫瘤疫苗、（二）自體免疫疾病疫苗、（三）過敏性疾病疫苗、（四）感染性治療疫苗。本文簡要介紹前三種治療性疫苗然後再詳細介紹感染症的治療性疫苗。

表一、治療性疫苗（therapeutic vaccine）分類

治療性疫苗分類	原理	代表性應用現況	Reference
腫瘤治療疫苗	第一代腫瘤疫苗		
	1. 腫瘤抗原	1. 黑色素瘤, 黑色素瘤 GM2 抗原、前列腺癌	1,2,3,4
	2. 卡介苗 (BCG) 使用	2. 膀胱癌	5
	3. 映像抗體疫苗 (antiidiotype antibodies vaccines)	3. 黑色素瘤 anti-HMW-MAA 抗體	6
	第二代基因修飾腫瘤疫苗		
	1. 細胞激素基因疫苗	1. IL-6/ sIL-6R 基因導入黑色素瘤	7,8
	2. 腫瘤抗原基因疫苗	2. PSA 基因疫苗治療前列腺癌	9
感染治療疫苗	3. 樹突細胞與自然殺手細胞疫苗免疫療法	3. 惡性神經膠質瘤、大腸直腸癌、鼻咽癌、子宮頸癌	10,11
	胜肽類 peptide analog	合成 HIV gp-160 或 gp-120 蛋白	12
	基因疫苗 DNA vaccine	轉植 HIV 的 Nef 基因	13
	其他活病毒	合成的痘病毒載體, 如 vaccinia virus	14
自體免疫疾病治療疫苗	胜肽類 peptide analog		
	1. T細胞受器胜肽 TCR peptide	1. 用 V β 3, V β 14, V β 17 peptide 治療類風濕關節炎	15
	2. 抗原胜肽 Antigen peptide	2. 518-529 peptide 小鼠實驗自體免疫葡萄視網膜炎	16
	基因疫苗 DNA vaccine		
	細胞激素和免疫反應基因調控	1. IL-1R antagonist/soluble TNF-R 基因治療關節炎 2. MBP gene 誘發鼠體第二型 T 輔助細胞反應	17
	映像抗體疫苗 (idiotype antibodies vaccine)	重症肌無力症	18
過敏性疾病治療疫苗	減敏治療 (過敏原皮下注射)	合成類過敏抗原 (recombinant allergen) 應用於減敏治療	19
	基因疫苗 gene vaccine 加佐劑 (CpGODN, IL-12, anti-IL-5)	免疫氣喘治療	20,21
	阻斷特異過敏原 IgE		
	1. IgE 結合半抗原	1. 花粉過敏治療	22
	2. 抗 IgE 抗體	2. γ hu Mab-E25 應用於氣喘治療	23

在介紹治療性疫苗前，有必要簡介幾個與免疫治療相關的免疫重要細胞：樹突細胞（dendritic cells）、毒殺性T細胞（cytotoxic T cells）、自然殺手細胞（nature killer; NK cells）及自然殺手T細胞（NKT cells）。

樹突細胞在功能上是一種很有效的抗原呈現細胞（antigen presenting cell）。樹突細胞是從骨髓造血原生細胞（bone marrow hemopoietic progenitor cells）發展而來，這些原生細胞最初分化成未成熟的樹突細胞。未成熟的樹突細胞具有高度吞飲活動和低度T細胞活化作用能力。未成熟的樹突細胞會利用它本身具有的識別感受器（pattern recognition receptors, PRRs）（例如Toll-like receptors）來接收環境中病原菌的訊息，未成熟的樹突細胞也具有吞食外來抗原的能力。一旦未成熟的樹突細胞接觸了抗原，他們會變成成熟的樹突細胞並且開始移居到淋巴結，並利用細胞內的蛋白酵素，將抗原加以處理，並放在主要組織相容蛋白（major histocompatibility complex, MHC）上，然後呈現在MHC I 或MHC II上，來活化毒殺T細胞或輔助T細胞。在此同時，他們也為加強其它輔助受器例如CD80（B7）、CD86（B70）和CD40來幫助活化T細胞，達到期望的免疫反應。毒殺性T細胞帶有CD8的細胞標記和第一類組織相容性複合體（MHC I），一旦受到活化，它就可以攻擊遭受病原體感染的細胞以及癌細胞。

自然殺手細胞（NK細胞）是一種特殊的毒殺淋巴球。NK細胞在病毒感染和腫瘤排斥方面扮演重要角色。它們透過放出穿孔素（perforin）和顆粒酶（granzyme）造成腫瘤細胞和被病毒感染細胞產生凋亡（apoptosis）反應。有研究人員將黑色素瘤、肝癌、肺癌等癌症病患的NK細胞取出，在體外培養增生後，再由靜脈點滴方式注入病患體內，試驗顯示NK細胞可以抑制腫瘤細胞的生長和轉移。

而自然殺手T細胞（NKT cells）則是一種非典型的T淋巴球，它同時表現自然殺手細胞受體及T細胞受體 α 、 β 鏈，其中T細胞受體的 α 鏈為不變鏈。自然殺手T細胞可辨識CD1d所呈現的醣脂質抗原（傳統T細胞則藉由肽-MHC複合體辨識抗原）。自然殺手T細胞具備自然殺手細胞（NK細胞）的特質，它可透過放出顆粒酶（granzyme）造成腫瘤細胞和被病毒感染細胞產生凋亡（apoptosis）反應。

（一）腫瘤治療性疫苗

腫瘤疫苗的使用最早可追溯到一百年前William Coley，一位最早的腫瘤免疫學家，他從培養的鏈球菌中，分離出特別的物質來治療腫瘤[24]。而百年後的今天，我們依舊努力研究試圖找到更好的方法去活化免疫機轉來對抗腫瘤。事實上細胞毒殺作用（cellular cytotoxicity）目前被認為是消滅腫瘤細胞最主要的機轉。而活化細胞毒殺作用則至少需要三個訊息的協同作用：

（1）特殊腫瘤抗原（specific tumor antigen）經由具人類組織配對抗原（MHC）細胞呈現給免疫細胞，（2）輔助性刺激訊號（costimulatory factor；如B7分子），（3）細胞激素的傳播訊息（propagation signal；如interleukin-2等細胞素）。腫瘤疫苗的基礎就是用具有免疫刺激性的特殊腫瘤抗原加上一些佐劑（adjuvant）或細胞素來喚醒或加強抗腫瘤反應，以期能對抗腫瘤細胞。

腫瘤疫苗可分成二代：第一代主要是由腫瘤全細胞或是腫瘤細胞溶解產物，加上一些非特異性的佐劑而成，在臨床使用約有20%的反應，而且目前也持續在做臨床測試。例如：Morton等人[25,26]曾嘗試使用黑色素腫瘤抗原加上卡介苗（BCG）作為佐劑在75個第四期的病人身上使用，結果五年存活率為26%，比用其它療法的人存活率只有6~10%來得好。

至於所謂第二代的腫瘤疫苗主要是應用基因修飾過的腫瘤細胞、基因轉植抗原呈現細胞（antigen presenting cells）或基因合成的腫瘤抗原來達到治療的目的。經基因修飾過的腫瘤細胞帶有免疫細胞辨識分子，例如以B7分子來加強免疫細胞的辨認；或是讓腫瘤細胞帶有不同的細胞激素基因，當腫瘤細胞生長時就可分泌不同的細胞激素，以達到調整免疫反應之功用。我們也可利用基因修飾的方式讓抗原呈現細胞（antigen presenting cells）把特殊的腫瘤抗原訊息帶給輔助T細胞（helper T cells）或殺手T細胞（cytotoxic T cells）。這些第二代的腫瘤疫苗有著更高的特異性及更少的毒性，並且許多已進入了第一期或第二期的試驗階段（phase I / II trials），例如：使用IL-6及soluble IL-6 receptor基因修飾過的老鼠可表現持久的抗腫瘤反應[27]。相信不久的將來便有更令人振奮的結果。還有的新方法是在病毒誘導的腫瘤病人身上，以病毒抗原加上免疫反應刺激原來催化T細胞反應達到治療的效果。這一類的治療會在未來幾年被廣為應用在EB病毒，人類乳突瘤病毒（HPV）或C型肝炎上。

近年來以樹突細胞為基礎的疫苗免疫療法，用在治療癌症領域逐漸被重視，初步臨床試驗也獲得良好的成效。原理是分離病人血液單核球並以藥物誘導分化成成熟的樹突細胞，再將其與腫瘤抗原一起培養，便可培養出帶有腫瘤抗原的樹突細胞，再將此攜有腫瘤抗原之樹突細胞做為一治療性疫苗，注射入癌症病人體內，以刺激病人自身淋巴球發展成抗腫瘤的毒殺淋巴球，進而殺死腫瘤之細胞。目前有多項研究以此種方式治療惡性腫瘤包括惡性神經膠質瘤、大腸直腸癌、鼻咽癌、子宮頸癌等。也有學者從病人血中分離出自然殺手細胞或自然殺手T細胞，在體外培養後，使其增殖並保持其活性，然後再輸回病人體內，希望靠這些大量的自然殺手細胞或自然殺手T細胞可捕殺病人體內癌細胞，增強病人的免疫力，達到預防癌症的抑制[11,12]。

（二）自體免疫疾病治療性疫苗

在過去自體免疫疾病（如關節炎、多發性硬化症等）都只能用一些免疫抑制劑來控制，但這些免疫抑制劑的作用都是非選擇性的，會把許多好的免疫功能都抑制掉。因此近年來許多專家學者致力於開發特異性免疫過盛的治療，加上分子生物學的進步，在此方面的確有所進展。

自體免疫疾病多為特異性免疫功能過盛或失調所致，因此目前的治療性疫苗大致都是從B淋巴細胞及第一型與第二型輔助T細胞之平衡來著手。譬如類風濕關節炎的病人其關節液中含有T細胞會攻擊自己的關節組織，而這些T細胞的受器（T-cell receptor）會表現大量的Vb3、Vb14、Vb17，因此有人嘗試用Vb3、Vb14、Vb17胜肽做為疫苗，以誘導患者產生抗體來與T細胞受器結合，使T細胞受器無法做辨認之用。重症肌無力是一種自體抗體異常的疾病，因此有人嘗試利用互補胜肽（complement peptide）製造出映像抗體（Anti-idiotypic antibody）來中和掉自體抗體，以達到治療疾病的目的。另外許多自體免疫疾病都有第一型與第二型輔助T細胞反應不平衡的現象。因此我們也可以嘗試使用胜肽／蛋白質疫苗（peptide vaccine）或基因疫苗（DNA vaccine）輔以不同的佐劑，經由不同的注射方法來改變第一型與第二型輔助T細胞的平衡以達到治療效果。例如：老鼠的EAE（experimental autoimmune encephalitis）以第一型輔助T細胞反應為主，我們可用MBP（major basic protein）基因，利用基因槍（gene gun）打入鼠體內誘導偏向第二型輔助T細胞反應以治療疾病。另外因為炎症反應常會產生大量的細胞激素，如關節炎時關節腔液可見大量的interleukin-1（IL-1）、tumor necrosis factor（TNF）。若用反轉錄病毒（retrovirus）把IL-1受器拮抗體（IL-1 receptor antagonist）或可溶性腫瘤壞死因子受器（soluble TNF receptor）的轉錄因子（transcription factor）帶入動物關節腔內，可減少細胞激素的作

用而減緩發炎反應。另外就是利用病人自己的幹細胞（CD34+細胞），在注入帶有調節免疫功能的基因後輸注回去，來達到治療的目的，這也是另一個主流發展。

（三）過敏疾病治療疫苗

過敏疾病的治療性疫苗，過去多指以能夠降低或修飾過敏疾病的過敏原萃取物，在給予皮下注射後，使體內免疫反應逐漸改變，藉以減低敏感度，以達到治療的目的，例如使用塵蟎抗原進行皮下減敏治療。近年來有推展鼻噴、口服或舌下的方式給予來減少皮下注射的副作用。但是減敏療法是費時又花錢的長期治療方法，而且治療效果也受到許多因素的影響，未必優於局部藥物控制，於是有新一代的過敏疾病治療疫苗的發展。新一代的過敏疾病治療疫苗發展方向如下：

1. 合成不具過敏性過敏原（nonanaphylactic allergens），以期減少減敏治療時過敏性休克的機會。許多過敏原都有它們的同形物（isoform），它們同樣具有致敏性，但某些性質又不盡相同。例如樺樹的花粉（birch pollen）天然過敏原Betv1的同形物與天然過敏原具同樣的免疫刺激性卻不會引起過敏性休克[19]。
2. 基因疫苗（DNA vaccine）。以過敏原的質體核酸（plasmid DNA）作為疫苗可誘導免疫反應朝向第一型輔助T細胞反應進行，體內會產生更高的丙種干擾素（INF- γ ），相反的降低了體內的第四型、第五型介白素（IL-4、IL-5），進而減少嗜酸球（eosinophil）及IgE，減輕過敏症狀[28]。華濟醫院許清祥醫師、臺大醫學院蔡考圓教授、陶秘華教授和故長庚兒童醫院謝貴雄院長合作由動物實驗中發現老鼠先注射基因疫苗，再讓其吸入過敏原，可以降低抗體IgE的生成，從而抑制了氣喘的發生[20,21]。更值得注意的是，即使老鼠已經患了氣喘，再注射基

因疫苗，發現也有很好的治療效果。這項研究成果是全世界的首例報告，引起相當廣泛的重視。

3. 發展能與IgE結合之半抗原（hapten），如此就能在過敏原（allergen）與IgE結合前搶先一步與肥大細胞（mast cell）上的IgE結合，避免肥大細胞破裂釋放出化學激素[22]。
4. 有些B細胞株體（B-cell line）會產生過敏原的特異性單株IgG，若大量繁殖此B細胞株體或合成大量抗體打回去生物體內，則這些IgG會與IgE競爭和過敏原結合，減少過敏反應。例如針對樺樹花粉過敏原Betv1產生的B細胞株（BAB1）可產生專一的單株抗體[29]。
5. 抗IgE抗體。若能發展出可與IgE的Fc部位結合的單株抗體，則可阻斷IgE與肥大細胞之結合。例如張子文教授開發出可與人類IgE Fc epsilon R1 binding domain接合的單株抗體rhu MAb-E25，它可以抑制IgE與肥大細胞結合，又不會激發肥大細胞。在臨床上使用於氣喘病人，結果可有效減少氣喘發作，並改善肺功能[23]。
6. 拮抗細胞激素的抗體或基因。我們知道在許多過敏性疾病如氣喘等，嗜酸球及其釋放的化學物質扮演了發炎反應中很重要的角色。而第五介白素（interleukin-5）又主宰了嗜酸球的增生與活化。因此就有學者想到何不使用IL-5的抗體來阻斷IL-5的作用，或是以拮抗IL-5 mRNA表現來降低過敏反應，以期能抑制嗜酸球進而控制過敏疾病。實驗証實，經由靜脈注射或肌肉注射IL-5抗體的確能大大減少動物體內嗜酸球的數目及活性，只是目前這個抗體必須持續的使用才能維持效果，而且可能不足以阻斷所有的過敏性發炎反應[30]。另外第四介白素（IL-4）是調控IgE產生的關鍵角色，故也有學者從抗IL-4抗體著手來治療氣喘[31]。

7. 趨化激素受器拮抗體。現在已知除了細胞激素（cytokines）外，趨化激素（chemokines）也在過敏反應中扮演了重要的角色。趨化激素受器CCR3 receptor就是一個例子，它可接受許多化學激素如eotaxin、MCP3（monocyte chemotactic protein 3）、RANTES等等的刺激，參與第二型輔助T細胞及嗜酸球活化的過敏反應。目前已有學者想到利用CCR3受器拮抗蛋白來減輕過敏發炎反應[32]，這方面我們認為應該還有很大的發展潛力。
8. 轉錄因子（transcription factor）調控。最近發現有些轉錄因子會選擇性的表現在第一型或第二型輔助T細胞。例如GATA-3好表現於第二型輔助T細胞（Th2），而T-bet好表現於第一型輔助T細胞（Th1）。Ferber等人[33]試著把GATA-3模板DNA轉植到第一型輔助T細胞，結果促進了IL-4、IL-5的分泌，卻抑制了兩種干擾素（INF- γ ）的分泌，於是把Th1細胞轉化為Th2細胞。因此未來我們也可應用這個機轉把T-bet模板DNA轉植到氣喘病人的輔助T細胞上，讓Th2轉向Th1細胞，用以治療氣喘。

（四）感染病治療疫苗

因為感染病治療疫苗的目標病原太廣，我們只能在此引述幾個較重要的病原體以及相關的治療疫苗發展，我們把病毒感染治療性疫苗整理在〈表二〉；而把細菌和寄生蟲治療疫苗列於〈表三〉說明。感染性治療疫苗目前的應用原理大致可分為胜肽或蛋白質疫苗、基因疫苗、疫苗加佐劑及其它四大類。以下我們就以原理分類來說明其使用現況。

1. 病毒疾病的治療性疫苗〈表二〉

（1）治療性的胜肽或蛋白質疫苗

胜肽 / 蛋白質疫苗的應用是較早就開始發展的，因此我們對於胜肽 / 蛋白質疫苗的安全性及效果也較清楚。一般來說，由於

表二、感染性治療疫苗使用現況

病毒	疫苗分類	應用原理	人體試用	效果	參考文獻
人類後天免疫不全病毒	胜肽 / 蛋白質疫苗	合成gp-160蛋白/合成gp-120蛋白	Phase III	CTL ↑ 淋巴增生反應 ↑	12,34
		映像抗體	Phase II	中和病毒	35
		改變HLA應對抗原性	<i>In vitro</i>	增加HLA-A0201 peptide complex穩定度, CTL ↑	36
	基因疫苗	轉植Nef基因	動物實驗	Memory cells ↑, CTL ↑	14,37
		轉植核酸酶基因	Phase II	抑制HIV複製, 病毒活性 ↓	38~42
	基因疫苗 + 佐劑	Gp-160 gene/ Alum/ CpG 合成物	動物實驗	IgG2a ↑ (Th0/Th1) ↑, INF- γ ↑	43
	其他活病毒	合成的痘病毒載體帶有HIV外套抗原	<i>In vitro</i>	CTL ↑	14
單純疱疹病毒	胜肽 / 蛋白質疫苗	Subunit疫苗 (gB2+gD2) + 佐劑	Phase II	中和抗體 ↑ 復發 ↓	44,45
	基因疫苗	單純疱疹第二型gD基因	動物實驗	Th1 ↑ Ab ↑	46
	其他活病毒	疱疹抑制性合成疱疹病毒	<i>In vitro</i>	抑制wild type virus複製100-200倍	47
B型肝炎病毒	胜肽 / 蛋白質疫苗	lipopeptide vaccine	Phase II	CTL ↑	48
	基因疫苗	B型肝炎各種抗原基因	Phase II	CTL ↑, IgG ↑ IgG2a ↑ > IgG1 ↑	49~51
		B型肝炎表面抗原基因內含肝細胞的B型肝炎受器分子基因	動物實驗	HbsAg清除 ↑, anti-HBS Ab ↑	52
	基因疫苗 + 佐劑	HBV表面抗原基因+INF- γ / IL-12基因	動物實驗	IgG2a ↑ ↑ CTL ↑ ↑	53
C型肝炎病毒	胜肽 / 蛋白質疫苗	找到 specific Ag epitope 可與HLA-A2, HLA-A3, HLA-B7結合辨識	Phase I	CTL ↑ ↑	54
	基因疫苗	C型肝炎各種抗原基因	動物實驗	IgG2a ↑, CTL ↑, HTL ↑	55,56
	基因疫苗 + 佐劑	HCV NS3, NS4, NS5基因 + GM-CSF基因	動物實驗	T-cell 增生 ↑	57
		Anti-PD-1 免疫治療	<i>In vitro</i>	Treg expansion ↑ Treg 活性 ↑	58
	其他活病毒	鳥類黏液囊疾病病毒	Phase II	B型及C型肝炎患者減少復發, 病程縮短, 緩解增加	59

胜肽 / 蛋白質對於宿主細胞而言是外來的抗原，故引發的免疫反應是以輔助型T細胞及B細胞產生特異性抗體為主。Benson等人[60]嘗試用人類後天免疫不全病毒（HIV）的類病毒粒子（viral like particle）P24-VLP加上治療性藥物Zidovudin，使用在HIV無症狀的患者身上，發現可加強這些患者的特異殺手T細胞反應，而單獨使用P24-VLP或Zidovudin就沒有此種效果。Sandstrom等人[12]則是利用合成的HIV外套蛋白gp-160做為疫苗使用於患者，同樣的也有加強淋巴增生及特異性殺手T細胞的功能，而使用愛滋病毒外套蛋白gp120做為疫苗使用於患者則已進入Phase III研究[34]。我們知道HIV進入T細胞時必須靠外套蛋白gp120與T細胞的CD4結合，而後就有人發展出CD4的映像抗體，這種抗體的抗原結合區結構與CD4的部份相似，因此也可與HIV的gp120外套蛋白結合，可以中和掉病毒並抑制HIV導致的細胞融合現象，映像抗體（anti-idiotypic antibody）的應用也是治療性疫苗的重點之一。

我們知道處理過的抗原必須與抗原呈現細胞的MHC結合才能表現給免疫細胞，Pogne等人[36]曾嘗試把與HLA-A0201結合的愛滋病毒抗原結合區第一個位置的tyrosine改為isoleucine，結果發現可增加HLA-A0201與抗原結合的穩定度並促進殺手T細胞反應。

治療性疫苗在單純疱疹病毒（HSV）的治療上也有些不錯的效果，Nesburn等人[44]把HSV的醣蛋白gD1和gD2加上佐劑打到那些有反覆疹性角膜炎的兔子眼眶周圍，發現能減少反覆感染的次數，並且淚水中的IgA有升高的情形。同樣的，這個方法也被應用在那些有反覆生殖器疱疹病毒感染的女性，但改使用肌肉注射的方法，結果發現那些接受疫苗的女性子宮頸分泌的中和抗體IgA及血中IgG抗體可上升數倍[45]，至於實際臨床治療效果仍待進一步臨床研究。

由於也有證據顯示，在感染性疾病的治療與控制中，其實與MHC-I結合的殺手T細胞反應扮演了主要角色。以往胜肽 / 蛋白質疫苗誘發的是以體液型免疫反應為主，而殺手T細胞反應都不佳，因此就有學者想出一個組合型疫苗，其中利用B型肝炎病毒核抗原胜肽18-27做為殺手T細胞辨認區（epitope），以破傷風類毒素胜肽830-843做為輔助T細胞辨認區，另外加上脂肪酸做為佐劑來加強免疫反應，這個三合一的治療性疫苗（Theradigm-HBV）已証實可在人體誘發強烈的特異殺手T細胞反應，且已進入了第二期（phase II）臨床試驗[48]，但這種疫苗有肝組織被免疫細胞大量破壞的潛在危險。同樣的，如果我們能找到或合成一個C型肝炎病毒抗原epitope，可與HLA更穩定結合，則也可彌補自然感染所引起不足的免疫反應，用於治療C型肝炎[54]。

（2）治療性基因疫苗（DNA vaccine）

由於胜肽 / 蛋白質疫苗的效果較短，價格昂貴且不易誘導細胞型免疫反應，因此近年來大家都把重心轉移到基因疫苗。

一開始有人注意到有些人具有很強的對抗HIV-1 nef蛋白的殺手T細胞反應，這些人就算暴露在HIV的危險環境下，也不易被感染。這個nef蛋白是HIV的一個調節蛋白，與其它HIV蛋白比起來，它具有較少的多樣性，於是Asakura等人[13]想到利用nef蛋白的質體作為基因疫苗經由肌肉注射到鼠體內來誘導特異性殺手T細胞來治療病毒。

目前HIV的基因治療有兩大主流，一是利用修改過的基因來對抗病毒，例如RevM10基因、核糖酵素基因（ribozyme gene）。另一派則是使用自殺基因，利用病毒複製時啟動自殺基因，終結受感染細胞。

第一型愛滋病毒（HIV-1）有一個調節蛋白rev，它是未修剪的mRNA要從細胞核送到細胞質所不可缺少的調控因子，這個rev蛋白有一種trans-dominant變異型，叫RevM10，很特別的是，RevM10卻會抑制愛滋病毒的複製，因此有人想到用RevM10質體做為基因疫苗種入造血幹細胞，以抑制愛滋病毒在T細胞內的複製[38,39]。另外有學者則嘗試用一種核醣核酸酵素基因（ribozyme gene）植入愛滋病毒感染的T細胞，這種基因會製造核醣酵素，這種核醣核酸酵素外型像髮夾，所以叫hairpin ribozyme，並在愛滋病毒複製時切斷愛滋病毒的RNA，這個方法不只可以阻止受感染細胞的基因表現，也可以預防下一個新細胞受到感染[39,40]。自殺基因的發展也是這幾年才興起的。有一種自殺基因是利用疱疹病毒的tyrosine kinase基因，當受愛滋病毒感染的細胞被植入這種自殺基因後會使得受感染細胞容易被gancyclovir殺死，這樣就不讓病毒有機會繼續複製壯大[39,41]。另一種自殺基因則是利用單純疱疹病毒的virion host shutoff（vhs）基因，它會製造一種加速mRNA衰退（degradation）的蛋白質，把它植入受HIV感染的細胞則會抑制病毒複製，達到治療的效果[42]。

相似的原理，轉植HIV病毒基因疫苗的原理也可以應用在其他病毒的治療上，例如轉植gD基因之於單純疱疹[46]，轉植B型肝炎病毒核抗原或表面抗原之於B型肝炎[49-51]及轉植C型肝炎病毒外殼蛋白E2以及非結構蛋白（non-structural protein）NS3, NS4, NS5之於C型肝炎[55,56]，這些基因疫苗在老鼠都可誘導出第一型輔助T細胞為主的免疫反應和特異性IgG2a。

（3）基因疫苗＋佐劑

佐劑是疫苗中用來加強免疫反應的物質。一般來說，佐劑是經由以下幾個方法來加強免疫反應：（1）使抗原保持更久、（2）加大抗原有效刺激分子、（3）誘導巨噬細胞吞噬、

(4) 促進細胞激素分泌。佐劑可分為二類，包括(1)有機性的(biological)、(2)無機性的(non-biological)。

有機性的佐劑包括一些脂肪酸、類毒素、卡介苗成份等，或是一些帶有功能的質體如細胞激素質體、細胞分子質體(plasmid of accessory molecule)。有一種比較特殊的寡去氧核糖核酸序列(Oligodeoxynucleotide sequence, ODN)，若其中含有胞嘧啶(cytosine)及鳥嘌呤(guanine)相接，且又有未甲基化的胞嘧啶核酸基時，我們稱之為unmethylated CpG ODN sequence，這種CpG ODN具有特殊的免疫誘導效果，可促使免疫反應偏向第一型輔助T細胞，促進IL-12、IFN- γ 的分泌及IgG2a的產生。這種效果與未甲基化程度及胞嘧啶和鳥嘌呤相連的多寡成正比。於是我們可利用此現象來調控我們想要的免疫反應。

而無機性的佐劑最為大家所熟知的是鋁鹽(A1)(氫氧化鋁或磷酸鋁鹽)，它可加強免疫原(immunogen)的穩定及有效性，甚至促進某些細胞激素的分泌(如IL-1)，可惜它促進的主要都是體液型(humoral)的免疫抗體反應。

Deml等人[43]曾使用HIV外套蛋白抗原gp160 gene加上鋁鹽及CpG核酸序列注射到鼠體，改變了原來以gp-160 gene混以鋁鹽引發的第二型輔助T細胞反應，而促使分泌十倍以上的丙種干擾素(IFN- γ)及大量的IgG2a，抑制了IL-5的產生。同樣的，直接把細胞激素如IL-12或丙種干擾素的基因與B型肝炎表面抗原基因嵌在一起，當做基因疫苗打入鼠體內，也可以加強第一型輔助T細胞免疫反應[53]。若嵌入的是顆粒球骨髓細胞生長刺激素(GM-CSF)基因，則可大量的促進T淋巴球增生，這個現象已經在C型肝炎病毒上觀察到了[57]，而且有証據指出如果把C型肝炎NS(non-structural)蛋白基因與GM-CSF基因分開注射，則效果會比合成一個質體注射來的差。

臺大醫院江伯倫教授與生物醫學科學研究所陶秘華教授等人曾製造了表現B型肝炎病毒表面抗原（HBsAg）的質體DNA。當小鼠接受B型肝炎基因疫苗注射後，第二週即出現專一性抗體及殺手T細胞反應，此免疫效價可以維持10個月以上[53]。後來也證實基因疫苗可以在接種後的兔子和豬引發高效價的專一性抗體。與目前使用的B型肝炎蛋白疫苗比較，基因疫苗不但引起的抗體效價較高，而且抗體存在的時間也遠長於蛋白疫苗引發的抗體。另外他們也發現當合併細胞激素（cytokine）基因interleukin-2（IL-2）於B型肝炎病毒質體DNA，不但能提高抗體效價，而且可以減低注射劑量達100倍。目前使用的B型肝炎蛋白疫苗雖然證明十分有效，但是也有5～15%的人對它不起反應，這種不反應現象和特定的組織抗原蛋白有關，有些品系的小鼠對B型肝炎蛋白疫苗也有這種不反應現象。初步的實驗證明，基因疫苗，尤其是同時表達B型肝炎病毒表面抗原和IL-2的基因疫苗，可以在這些不反應小鼠（B10.M）引發高效價的保護性抗體[53]，至於此方法是否可運用於人體則有待進一步研究。

也有學者發現其實B型肝炎表面抗原與抗體的複合體其實對免疫的刺激效果比單獨使用B型肝炎表面抗原HBsAg來的好，因此可做為佐劑之用，但可惜引發的反應偏向體液免疫反應，於是人們嘗試利用B型肝炎表面抗原抗體複合物加上B型肝炎表面抗原質體，希望能擷取兩者的優點，果然得到了更好的細胞型免疫反應。接下來就有人想到是不是把B型肝炎表面抗原質體換成C型肝炎核抗原質體也有此種效果，經過實驗證實B型肝炎表面抗原抗體複合物與C型肝炎核抗原質體共同做為疫苗注射鼠體，不但可使得C型肝炎核抗原抗體增加，同時也能加強B型肝炎表面抗原抗體複合物的免疫刺激效果。近來文獻已知慢性感染可以造成免疫抑制作用，例如C型肝炎會使人類白血球表現趨向死亡因子

（programmed death-1, PD-1）而鈍化T細胞免疫功能。利用佐劑拮抗PD-1以增強免疫力去清除慢性感染[58]。如果合併疫苗使用，也許有重要的應用。

（4）其它活病毒

就如武俠小說中的以毒攻毒一般。有學者嘗試用一種病毒來治療另一種病毒感染。Yao等人[47]在1999年報告他們合成了一種新的單純疱疹病毒，這種病毒會表現出一種trans-dominant negative HSV-1 UL9 origin接合蛋白，經過實驗這種蛋白不但可抑制本身病毒的複製高達一百萬倍，更證實此種蛋白可抑制野型（wild type）單純疱疹病毒的複製達一百至二百倍。這種新病毒為單純疱疹病毒的治療開了一道新方向。Csatory等人[59]嘗試使用無致病性的鳥類黏液囊疾病病毒（avian bursal disease virus）來治療B型及C型肝炎患者，他們發現這些經過治療的病人他們轉變成慢性活動性肝炎的比例與使用傳統療法比較起來還來的少，另外復發率也下降了。在治療的一個月內肝炎緩解率上升，整個肝炎病程也從7~8個星期縮短成3~4個星期。另外他們也發現這些病毒對於肝功能失常的慢性肝炎患者也有令人振奮的療效。

2. 細菌疾病的治療性疫苗〈表三〉

幽門螺旋桿菌慢性感染與急慢性胃炎、胃潰瘍、胃癌及低度B細胞淋巴瘤有著密切的關係[56]。由於抗生素的治療很容易引起抗藥性，故有許多專家學者致力於治療性疫苗的研究，希望能找到更好的治療方法。就目前所知慢性幽門螺旋菌感染在人類引發的主要是第一型輔助T細胞免疫反應，但似乎第二型輔助T細胞免疫反應比較能有效治療幽門螺旋桿菌，所以在幽門螺旋桿菌的治療性疫苗方面，目前開發的多為胜肽／蛋白質疫苗。而由於胃部黏膜免疫反應對於治療幽門螺旋桿菌又比系統性免疫反應來

的重要，故口服劑型的應用及適當可誘發胃部黏膜強大免疫反應的佐劑更是發展重心。臨床上幽門螺旋桿菌可分為三種亞型：第一型菌株占65 % 可產生兩種細胞毒素，分別為空泡樣細胞毒素A（vacuolating cytotoxin A，簡稱Vac A）及與細胞毒素有關的基因A（cytotoxin-associated gene A，簡稱Cag A）具有這種毒素的菌株比較容易在人體身上產生潰瘍及慢性胃、十二指腸炎。第二型菌株占19%，既不會產生Cag A，也不會產生Vac A。第三型菌株占16%，其遺傳表現型（phenotype）與第一型菌株類似，但它無法產生Cag A及Vac A。

老鼠的體外實驗中，給予口服純化的空泡樣細胞毒素（Vac A）會導致上皮細胞空泡的形成及胃糜爛病變，這意味著Vac A在幽門螺旋桿菌所造成的疾病方面，扮演相當重要的角色。Crabtree等人曾[61]使用合成的幽門螺旋菌抗原Vac A及CagA加上滅毒的大腸桿菌腸毒素（E. coli enterotoxin），做為疫苗直接注入老鼠胃內，發現可以有有效的治療慢性感染並能對抗再次感染（reinfection）。Mattsspm等人[63]嘗試著用口服BS-WC疫苗（含有霍亂弧菌B subunit及幽門螺旋桿菌完整死菌whole cell）給予那些受幽門螺旋桿菌感染的患者，發現那些患者的胃竇部份（antrum）的IgA分泌細胞可大量增加，比起未受感染的人可高達八十倍。以霍亂弧菌B subunit做為佐劑，除了可促進胃壁黏膜分泌IgA外，它也少有免疫容忍性（immune tolerance）的問題。

雖然世界衛生組織一直在努力提升環境衛生及控制感染，但*Mycobacterium tuberculosis*（結核菌）依舊是人類的主要致病原。根據統計每年有高達三百萬人死於結核菌感染，所以結核菌的控制是一個重要的課題。卡介苗（BCG vaccine）已經被廣為使用於結核菌的預防，但結核菌的治療依舊必須靠多種藥物的長期使用。不僅只是藥物服用困擾，抗藥性菌種的快速產生也是令人束

表三、細菌與寄生蟲感染治療性疫苗使用現況

分 類	疫苗分類	應用原理	人體試用	效 果	參考文獻
細菌					
幽門螺旋桿菌	胜肽 / 蛋白質疫苗	合成Vac A及Cag A抗原 + 減毒大腸桿菌腸毒素	phase I	有效的治療慢性感染並對抗再次感染	61
		urease + 佐劑	phase I	痊癒	62
		BS-WC 疫苗（幽門螺旋桿菌完整死菌+霍亂弧菌毒素B subunit）	Phase II	病患胃竇IgA分泌細胞↑	63
結核桿菌	基因疫苗	結核菌抗原基因疫苗	動物實驗	殺死結核菌	64
		結核菌自殺基因疫苗	<i>in vitro</i>	抑制結核菌生長	65
		熱休克蛋白基因疫苗	動物實驗	抑制結核菌生長	66
	其他結核死菌	<i>Mycobacterium vaccae</i> strain NCTC 11659	Phase II	與藥物合併使用可減少失敗	67
寄生蟲					
瘧原蟲	胜肽 / 蛋白質疫苗	合成SPf66抗原	Phase II	治療效果?	68
	基因疫苗	轉植PfCSP基因	動物實驗	特異性CTL	69

手無策。因此發展出治療性的疫苗用以加強宿主本身的免疫功能加上治療藥物的使用以達到有效治療的目的似乎是一個具潛力的方向。

因為基因疫苗誘導的主要是第一型T輔助細胞反應，故基因疫苗被視為極具潛力的結核菌治療方法。1999年Lowrie等人[64]報告用基因疫苗合併傳統治療藥物來治療結核菌感染的小鼠，發現可改善原來較弱的免疫反應，殺死病菌。另外有人用熱休克蛋白65（HSP65）基因做為基因疫苗給予小鼠單次肌肉注射，結果發現脾臟及肺臟中的活菌數大量減少；如果先給予傳統藥物治療再加上基因疫苗，結果絕大多數的結核菌都被清除乾淨。而Rom等

人[65]則嘗試用一段突變的RNA聚合酶基因來做為自殺基因，希望能抑制結核菌的轉錄（transcription）步驟，初步結果証實可以抑制結核菌的生長。目前大家都認為要有效治療細胞內寄生菌必須靠第一型輔助T細胞的作用，既然用TB結核菌做為疫苗引發的第一型輔助T細胞反應並不是這麼有效，就有人試著用同屬性但較易誘導第一型輔助T細胞的他種結核菌如*Mycobacterium vaccae*做為疫苗以治療結核菌，結果發現與傳統藥物合併使用後可明顯減少治療失敗的機會及降低死亡率[66]，但是另一篇報告[67]就沒有這麼好的效果。

3. 寄生蟲疾病的治療性疫苗〈表三〉

瘧原蟲SPf66抗原曾於拉丁美洲及非洲等地被用來預防瘧病感染，根據統計它能提供百分之三十八點八到百分之六十的預防效果[68]，至於用於治療用途效果則未見有明確報告。而Wang等人[69]曾報告有20個未受瘧病感染的自願者在接受熱帶瘧原蟲（*Plasmodium falciparum*）的PfCSP抗原體肌肉注射後，可以明顯的加強特異性殺手T細胞反應。Weiss等人[70]則報告用鼠瘧疾抗原PyCSP質體可促進使老鼠產生特異性抗體對抗瘧原蟲孢子的感染，如果再合併GM-CSF質體則效果更好。由於瘧原蟲的多變抗原性與抗藥性的特性，使得基因疫苗的開發更顯得重要。

二、未來具潛力的發展方向

並不是每種病原感染都急需發展治療性的疫苗，事實上只有那些因個人免疫基因型較容易有特定感染，或是容易促成癌症發生的潛在感染，以及那些容易產生抗藥性或目前沒有發展出適當的治療藥物而病原體又能逃避免疫系統的攻擊且危害人體者才需要發展治療性疫苗。我們認為治療性疫苗的進一步發展，仍必須建立在對致病機轉、免疫活化及免疫忍受性的進一步瞭解，因此

表四、未來有潛力的感染治療性疫苗發展方向及應用標的

調整方向	機 轉	可能的應用例子
病原體	重組抗原或活菌減毒以加強抗原效果	結核菌（細胞壁脂質/分泌蛋白）、
	以ribozyme中斷病原體的複製和毒素	HIV病毒/B型肝炎病毒（RNA）、肉毒桿菌（毒素）、例如蕃薯幽門螺旋桿菌/瘧疾等治療疫苗
	病原基因轉殖植物食品疫苗	
抗原呈現細胞	改變抗原呈現細胞屬性	用樹突細胞加病毒基因疫苗治療EBV和HPV潛伏感染
	調整白血球抗原（MHC，CCR5，CTLA-4）	調整白血球接受器以防治CMV和HIV感染
免疫細胞	駕馭T細胞免疫反應偏向，如Th1活性	結核菌（趨化激素/ICAM-1）/麻疹病毒（CTLA-4抗體）
	選擇性活化細胞分子路徑	愛滋病毒（CD28抗體）/巨大細胞病毒
宿主細胞	阻斷病原體二次進入宿主細胞	愛滋病毒（趨化激素受器）/瘧疾（Duffy抗原）
	促進受感染宿主細胞死亡或凋亡	愛滋病毒（抗Fas 抗體）/EB病毒（Fas/FasL）

我們必須了解人類免疫功能對抗病原體（host defense vs. organism invasion）之間的一些互動關係。

就免疫學的觀點，我們認為未來有潛力的感染治療性疫苗應是針對病原的生活特性以及人體的免疫死角來達成治療的目的。我們可以從病原體、抗原呈現細胞、免疫細胞及宿主細胞等四方面來著手。〈表四〉

（一）修飾病原抗原的表現

就持續性病毒感染而言，目前已知病毒逃避免疫系統追緝的方式，可能有幾種。例如單純疱疹或帶狀疱疹病毒會躲藏在神經元中而不表現活性，因此免疫系統偵測不到病原抗原。另外，許多實質器官中較少免疫細胞浸潤（這或許是缺乏沾黏分子adhesion molecule的關係），因此有些病毒會懂得藏身在此種器官中，例如巨大細胞病毒（cytomegalovirus）好感染腎臟及唾液腺。有些

病毒如HIV或B型肝炎病毒則會改變它們的抗原表現，讓免疫細胞來不及反應。諸如此類，坐載合適抗原來表現才能有治療潛伏感染的可能。

例如B型肝炎病毒表面抗原HbsAg其中的一個氨基酸序列arginine會突變為glycine，導致原有的B型肝炎疫苗無法誘發B細胞產生B型肝炎表面抗原抗體；而B型肝炎病毒核酸序列的pre-C部份，也是突變好發位置。這種B型肝炎持續感染的治療，正有待更穩定、更專一的抗原質體或佐劑以進一步加強專一的免疫反應來達成。又例如結核菌富含脂質的細胞壁是很特殊的結構，它可對抗補體及巨嗜細胞釋放的游離根，其中lipoarabinomannan更可幫忙結核菌在巨嗜細胞內存活，而acylated trehaloses則與誘導細胞分泌細胞激素有關。而且活的結核菌也會分泌一些死菌不會分泌的蛋白質，如BCG-85複合體、BCG-a，經實驗証實那些蛋白質與菌體沾黏有關，並可刺激淋巴球增生，所以活菌疫苗的效果總是比死菌好。這些成份似乎是開發減毒結核菌疫苗時需一併考量的。

再者B型肝炎病毒的共價封閉環狀DNA（covalently closed circular DNA, cccDNA）穩定性大概是B型肝炎病毒治療上最令人頭痛的問題，而我們知道B型肝炎病毒的RNA除了可轉譯病毒蛋白外，還可像愛滋病毒一樣，利用反轉錄酶製造cccDNA，躲在肝細胞核內，以期長久寄宿。因此我們可能可以考慮應用核糖核酸酵素（ribozyme）抑制愛滋病毒的原理，合成B型肝炎病毒RNA的核糖核酸酵素，把B型肝炎病毒的RNA切掉，使它無法合成cccDNA。對於那些藉由分泌毒素而致病的病原體則可以嘗試發展毒素中和物質來治療，例如肉毒桿菌素中毒。有些病原體會製造保護蛋白，如腺病毒蛋白E3-14, 7k, E3-10,4k / 14,5k及E1B-19k可保護受感染細胞不被腫瘤細胞壞死因子（TNF）溶解，單純疱疹

病毒的gC, gE, gI蛋白類似抗體Fc部位及補體會干擾抗體及補體的作用，我們可以尋找專一性的蛋白合成抑制物質，以減少病原蛋白合成，或是利用這些病原蛋白加以處理後，讓它們變成了強力的免疫刺激原。

現在用基因工程方法製造出的疫苗，大多是利用細菌系統來製造。雖然細菌系統有生產速度快及產量大的優點，但其所生產的疫苗往往可溶性太低，又常存有細菌毒素，需要多次化學處理及純化，致使生產成本提高。近年來許多先進國家積極研發基因轉殖的動植物疫苗，尤其是植物疫苗。利用基因轉殖植物生產的疫苗具有可溶性高、品質佳、安全、可大量生產、價格低廉之優點。前面提過，有許多病原菌致病是經由侵犯表皮黏膜細胞，例如幽門螺旋桿菌。要防治這類病原菌，通常透過黏膜免疫反應來產生IgA，會比注射途徑來的有效。但是口服接種所需的疫苗量大約是注射途徑的一千倍，因此藉由轉殖基因技術讓可食農作物的某部份產生大量的疫苗成份，似乎可達到此目的。此外使用基因轉殖作物產生的食物疫苗還有易於儲藏運送的優點，而且也很能被兒童所接受。目前食物疫苗的研究普遍是使用馬鈴薯，這可能是由於歐美人士常以馬鈴薯為主食，而且馬鈴薯也容易操作基因轉殖之故，但或許稻米及蕃薯更適合國人使用。目前成功利用基因轉殖植物生產的疫苗有B型肝炎病毒的表面抗原、大腸桿菌毒素的B蛋白（LT-B）及霍亂毒素的B蛋白（CT-B）等[71]。相信不久的將來，我們也可以針對不同種類的腸病毒（enterovirus）轉殖栽種出不同編號的蕃薯，例如當克沙奇病毒A16流行時，衛生署就鼓吹民眾吃長庚16號蕃薯；當腸病毒71型流行時，大家都改吃長庚71號蕃薯。同樣的，食物疫苗也可做為防治自體免疫疾病的一大利器。我們知道大多數第一型糖尿病（IDDM）病患，體

內會產生麩氨酸脫羧基酵素（Glutamic acid decarboxylase, GAD）抗體，目前的理論基礎是克沙奇病毒的某一段蛋白質與GAD結構類似，當病人被克沙奇病毒感染後有些人會具有交叉作用（cross-reaction）的抗體，這個抗體跑去攻擊具有GAD的胰島素細胞，於是就造成了糖尿病。理論上給予GAD抗原做減敏療法可以治療IDDM，而以基因轉殖的菸草葉片及馬鈴薯餵食老鼠已被證實可預防老鼠罹患糖尿病[72,73]。相同的道理，也許未來我們就要吃富含雙股DNA的香蕉來治療系統性紅斑性狼瘡了。

最近報載會發出綠色螢光的基因轉殖蚊子已被發展出來，於是吾人聯想到如果能讓瘧原蟲抗原基因轉殖的蚊子在叮咬人類同時能釋放瘧原蟲抗原，使被基因轉殖蚊子叮咬的同時可對瘧原蟲產生免疫力，並大量繁殖這種蚊子野放到瘧疾盛行的落後國家，不知道是不是對瘧疾的防治會有所助益。

（二）調整抗原呈現細胞（antigen presenting cell）

抗原呈現細胞可決定後續的免疫反應，抗原呈現細胞也具有可塑性強的優點，因此已有學者著手嘗試分離出抗原呈現細胞，再利用抗原質體、抗原蛋白或佐劑來加以選擇性的大量繁殖，使偏向第一型樹突細胞（DC1）或第二型樹突細胞（DC2），或加強特異免疫功能以達到我們想要的免疫反應。例如Ranieri等人[74]曾把樹突細胞分離出來，再利用腺病毒載體把EB病毒抗原Latent membrane protein 2B基因帶入突棘細胞與殺手T細胞混合培養，證實可誘發很強的殺手T細胞反應，甚至可抗殺EB病毒感染的B淋巴母細胞，這讓人想到此方法似乎可用於治療EB病毒感染引起的一些惡性腫瘤。另外Rauscher Leukemia Virus（RLV）對老鼠而言相當於人類的HIV病毒，在正常情形下樹突細胞會分泌IL-12促進T細胞的增殖，而樹突細胞如果被RLV病毒感染後會增

加IL-4的分泌，減少了IL-12的分泌。但是如果把RLV病毒感染過的樹突細胞加入IL-12後又可重新令樹突細胞分泌IL-12並促進T細胞增殖[75]。

就人類免疫功能來說必須先有組織抗原（HLA）的抗原辨識功能，再有T細胞和B細胞的活化，接著是執行功能和終止活化反應進入記憶過程。證據顯示特殊個人的HLA辨認、免疫活化以及終止活化等基因譜的變化對各種感染的感受性都不相同。例如HLA-DRB的基因譜與慢性B型肝炎的活動性有關，有報告指出具有HLA-DQA1 *0501、HLA-DQB1 *0301的人有較高比率會有慢性B型肝炎，而具有HLA-DRB及HLA-DRB *1301-1302的人則較少有慢性感染的情形[76-78]。另外HIV和CMV感染都有抑制MHC-1分子表現以便逃避免疫攻擊的特性，所以利用基因疫苗加強MHC-1分子表現可能也是一個治療之道。不同型趨化激素接受器（CCR5）與HIV的感受性有關，例如具同型接合子（homozygote）CCR5-Delta 32對偶基因者，對HIV-1似乎有較強的抵抗力，而具同型接合子CCR5-59356-T對偶基因者卻較易於嬰兒期受HIV-1傳染[79]；而T細胞終止反應分子CTLA-4的基因譜不同則與麻瘋病的感受性有關[80]。這種特定個人基因型與疾病的關係的釐清也是未來以免疫基因疫苗防治特定感染症的方向之一。

（三）重塑免疫細胞

今天人們已漸漸學會如何利用不同性質的抗原及質體，經由不同的投藥途徑，輔以不同的細胞激素及佐劑來做一些免疫調控。例如抗原質體與抗原蛋白相比較，誘發的是偏向第一型輔助T細胞（Th1）反應。經由肌肉注射相較於皮下注射也是偏向第一型輔助T細胞反應。而以IL-4質體用基因疫苗帶入胞內，則在IL-4

大量分泌下，誘導了第二型免疫反應，以丙種干擾素及IL-12質體則反之。我們對免疫反應愈瞭解就愈能掌控免疫反應。

就對抗結核菌感染而言：第一時期結核菌入侵後靠巨嗜細胞的包圍、吞噬，這是最重要的防衛機制，這時期必須有TNF- α 、INF- γ 等細胞激素（cytokines）參與作用。而第二時期趨化激素（chemokines）和ICAM-1的表現則扮演了重要的角色。若第一時期的巨噬細胞或TNF- α /INF- γ 分泌活化路徑出問題，那麼結核菌就不易消滅；若第二時期的T細胞或趨化激素的分泌或內皮細胞的ICAM-1表現出問題，那麼結核菌就容易散播到其它器官。這也就是為什麼愛滋病患因輔助T細胞的缺失而容易得到散播型結核菌感染的原因。一旦我們確實了解疾病致病徵結所在，我們就可能可以利用更強力的抗原及佐劑活化免疫細胞，或者利用基因疫苗加強細胞激素／趨化激素的分泌，加強內皮細胞ICAM-1表現，免疫細胞的趨化激素受器表現等等，以達到治療之目的。

此外也有學者嘗試著眼於細胞分子調控，例如T細胞上的CD28分子是活化分子，而CTLA-4是抑制分子。CD28與抗原性呈現細胞上B7-1分子結合而CTLA-4則與B7-2分子結合，有學者認為AIDS患者體內CD4+T細胞減少是因為患者的抗原性呈現細胞表面的B7分子有問題，無法與T細胞上的CD28分子結合，故特異T細胞會死亡或不活化，因此用CD28抗體可取代B7分子與CD28結合而活化特異T細胞。同樣的利用CTLA-4抗體與B7-2分子結合也可促使免疫細胞凋亡，用以治療某些自體免疫疾病或過敏疾病。例如疱疹基質角膜炎（herpetic stromal keratitis）是一種發生在老鼠由疱疹病毒感染啟動的自體免疫疾病，如果給予CTLA-4抗體後，可抑制特異第一型輔助T細胞則有治療的效果[81]。依此Fas、FasL、B7或其它分子都可類似應用，但需視不同疾病而利用不同的機制。

（四）修飾宿主細胞（target host cell）

許多病原體進入宿主細胞時都需要宿主細胞表面上的分子存在，例如愛滋病毒（HIV）需巨噬細胞與T細胞上的CXCR4分子或T細胞上的CCR5受器分子，瘧原蟲的merozoite form進入紅血球需Duffy血型抗原，如果證實這些細胞分子扮演的角色對人體影響不大，則可以利用一些基因疫苗或藥物的方法改變或降少這些細胞分子的表現，使病原體不易二次感染其它健康宿主細胞。瘧原蟲感染的紅血球表面會表現一些蛋白如PfEMP-1（*Plasmodium falciparum*-infected erythrocyte membrane protein 1）與脾臟內皮細胞的表面分子ICAM-1、E-selectin接合，如此脾臟可抓住這些受感染的紅血球來加以破壞。對於有抗藥性的瘧原蟲感染患者，我們可利用基因來加強脾臟的接合分子表現，加強清除受感染紅血球的功能。宿主細胞抵抗B型肝炎病毒感染主要是靠甲種干擾素（ $\text{INF-}\alpha$ ），而B型肝炎病毒感染後會使肝細胞對於甲種干擾素的敏感度下降，因此利用基因疫苗提高甲種干擾素的產量或增加肝細胞的甲種干擾素受器，是治療B型肝炎患者可以考量的方向之一。許多病原體都是進入宿主細胞以後，利用宿主細胞去自我繁殖，例如愛滋病毒等。有人發現愛滋病患者的單核球的FasL表現會大量減少，這可能是病毒為防止受感染宿主細胞凋亡的傑作。實驗證實給予愛滋病患者anti-Fas抗體，可促進受感染宿主細胞凋亡，進而抑制九成以上的病毒增生[82]。同樣的，有些病毒會躲在免疫細胞不易到達的地區，如巨大細胞病毒好感染唾液腺及腎臟；人類乳突腫瘤病毒好感染真皮區，因此如果能強化局部組織與T淋巴球間的沾黏分子，吸引T淋巴球到那些區域，或許能達到治療的目的。EB病毒也會產生BCRF-1蛋白來刺激B細胞複製及變性，產生LMP-1來活化宿主細胞的BCL-2進而抑制宿主細胞凋亡，因此我們也可以合成一些自殺基因，選擇性的種到受感染

細胞，使受感染細胞Fas表現增加或活化宿主相對細胞的FasL，促使受感染細胞凋亡，以進一步消滅病原體，當然也可以活化免疫細胞的FasL或利用Fas抗體達到相同目的。

三、結語

人類已經利用牛痘疫苗終結了天花病毒，國人也用B型肝炎疫苗加上高效價抗體阻斷母親感染嬰兒的管道。目前最需要治療性疫苗的是愛滋病毒、EB病毒、疱疹病毒和巨大細胞病毒以及瘧疾、結核病和胃幽門螺旋菌等感染的治療。隨著我們對免疫與病原的了解以及生物科技的進步，或許以後冠狀動脈疾病（CAD）也可以因披衣菌治療性疫苗的使用而得到控制；多發性硬化症（multiple sclerosis）可以使用重組免疫細胞受器而得到治療；第一型糖尿病也可能以腸病毒治療性疫苗來調節其自體免疫反應來達到治療效果。達到所謂知己知彼、百戰百勝。總之，我們若能了解宿主的優缺點，並注意生態的改變和平衡；再針對其不平衡的部份用治療性疫苗加以治療，那麼就成功在望。相反地！若不能了解生態與宿主隨時有動態的互動存在，想要達到人定勝天的境界則十分不易。同樣也要反省的是當一個疫苗終結了某個傳染病後，也會帶動另一個生態的變動！新的病原或不同的免疫狀態都會改變人類的疾病型態。我們不能只安於減少了一個傳染病；我們更要有生態平衡的眼光去維繫「人定勝天」和「萬物之靈」的理念。

【作者簡介】

于鴻仁

◎現職

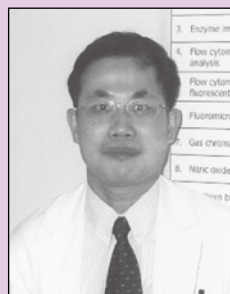
高雄長庚兒童醫院兒童過敏氣喘免疫風濕科
主治醫師
助理教授

◎學歷

長庚大學臨床醫學研究所博士班畢業

◎經歷

中華民國兒科醫學會專科醫師
中華民國免疫學會專科醫師、臺灣兒童過敏
氣喘免疫學會專科醫師



【作者簡介】

楊崑德

◎現職

秀傳醫療體系 營運中心 醫研副營運長

彰濱秀傳小兒科 教授級主治醫師

◎學歷

國防醫學院醫學系畢業（1983）

國防醫學院醫學科學研究所 博士（1989）

美國猶他大學醫學院 臨床免疫博士後研究員（1987-1989）

美國哈佛醫學院 分子藥理博士後研究員（1991-1992）

◎經歷

三軍總醫院小兒科 住院醫師 總醫師（1983-1991）

三軍總醫院小兒科 主治醫師（1991-1997）

美國猶他大學醫學院 臨床病理科講師（1987-1989）

國防醫學院小兒學科 助教（1983-1987）副教授（1989-1995）
教授（1995-1997）

長庚大學 醫學系暨臨研所 教授（1997-2011）

高雄長庚醫院 副院長（1997-2003）

高雄長庚醫院醫學研究部 主任（1997-2011）

高雄長庚兒童醫院過敏氣喘免疫風濕科主任（2003-2011）

高雄兒童過敏氣喘免疫醫學會 理事長2002-2005）

美國約翰霍普金斯醫院 訪問教授（2007-2008）

臺灣小兒科醫學會專科醫師

臺灣兒童過敏氣喘免疫專科醫師

臺灣新生兒醫學會專科醫師



【參考文獻】

1. Bystryn JC. Clinical activity of a polyvalent melanoma antigen vaccine. *Recent Results Cancer Res* 1995; 139: 337-48.
2. Bystryn JC, Oratz R, Roses D, Harris M, Henn M, Lew R. Relationship between immune response to melanoma vaccine immunization and clinical outcome in stage II malignant melanoma. *Cancer* 1992; 69: 1157-64.
3. Livingston PO, Kaelin K, Pinsky CM, Oettgen HF, OLD LJ. The serologic response of patients with stage II melanoma to allogeneic melanoma cell vaccines. *Cancer* 1985; 56: 2194-200.
4. Goldman B, DeFrancesco L. "The cancer vaccine roller coaster," *Nature Biotechnology* 2009; 27: 129-39.
5. Alexandroff AB, Jackson AM, Onnell MA, James K. BCG immunotherapy of bladder cancer: 20 years on. *Lancet* 1999; 353: 1689-94.
6. Mittelman A, Wang X, Matsumoto K, Ferrone S. Antiantiidiotypic response and clinical course of the disease in patients with malignant melanoma immunized with mouse antiidiotypic monoclonal antibody MK2-23. *Hybridoma* 1995; 4: 175-81.
7. Mackiewicz A, Gorny A, Laciak M, Malicki J, Murawa P, Nowak J, Wiznerowicz M, Hawley RG, Heinrich PC, Rose-John S. Gene therapy of human melanoma. Immunization of patients with autologous tumor cells admixed with allogeneic melanoma cells secreting interleukin 6 and soluble interleukin 6 receptor. *Hum Gene Ther* 1995; 6: 805-11.
8. Mackiewicz A, Wiznerowicz M, Roeb E, Nowak J, Pawlowski T, Baumann H, Heinrich PC, Rose-John S. Interleukin 6 type cytokines and their receptors for gene therapy of melanoma. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 762: 361-74.
9. Kantoff P, Schuetz T, Blumenstein B., et al., "Overall survival (OS) analysis of a phase II randomized controlled trial (RCT) of a poxviral-based PSA targeted immunotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC)," *Journal of Clinical Oncology* 2010; 28: 1099-105.
10. Luptrawan A, Liu G, Yu JS. Dendritic cell immunotherapy for malignant gliomas. *Rev Recent Clin Trials*. 2008; 3: 10-21.
11. Fujii S. Exploiting dendritic cells and natural killer T cells in immunotherapy against malignancies. *Trends Immunol*. 2008; 29: 242-9.
12. Kundu SK, Katzenstein D, Valentine FT, Spino C, Efron B, Merigan TC. Effect

- of therapeutic immunization with recombinant gp160 HIV-1 vaccine on HIV-1 proviral DNA and plasma RNA: relationship to cellular immune responses. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1997; 15: 269-74.
13. Asakura Y, Hamajima K, Fukushima J, Mohri H, Okubo T, Okuda K. Induction of HIV-1 Nef-specific cytotoxic T lymphocytes by Nef-expressing DNA vaccine. *Am J Hematol* 1996; 53: 116-7.
 14. Ray SC, Lubaki N, Dhruva BR, Siliciano RF, Bollinger RC. Autologous strain-specific cytolytic T lymphocyte responses directed against human immunodeficiency virus type 1 Env. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998; 14: 3-13.
 15. Bridges SL Jr, Moreland LW. T-cell receptor peptide vaccination in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheu Dis Clin North Am* 1998; 24: 641-50.
 16. Kezuka T, Sakai J, Yokoi H, Takeuchi M, Okada A, Taguchi O, Usui M, Mizuguchi J. Peptide-mediated suppression of experimental autoimmune uveoretinitis in mice: development of a peptide vaccine. *Int Immunol* 1996; 8: 1229-35.
 17. Lobell A, Weissert R, Storch MK, Svanholm C, de Graaf KL, Lassmann H, Andersson R, Olsson T, Wigzell H. Vaccination with DNA encoding an immunodominant myelin basic protein peptide targeted to Fc of immunoglobulin G suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med* 1998; 187: 1543-8.
 18. Yi Q, Pirskanen R, Lefvert AK. Anti-idiotypic T cells in early stages of myasthenia gravis: increase in the number and prevalence correlated to clinical improvement in patients. *Scand Immunol* 1996; 44: 630-7.
 19. Ferreira F, Hirthenlehner K, Briza P, Breiteneder H, Scheiner O, Kraft D, Breitenbach M, Ebner C. Isoforms of atopic allergens with reduced allergenicity but conserved T cell antigenicity: possible use for specific immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 113: 125-7.
 20. Hsu CH, Chua KY, Tao MH, Lai YL, Wu HD, Huang SK, Hsieh KH. Immunoprophylaxis of allergen-induced immunoglobulin E synthesis and airway hyperresponsiveness in vivo by genetic immunization. *Nat Med* 1996; 2: 540-4.
 21. Hsu CH, Chua KY, Tao MH, Huang SK, Hsieh KH. Inhibition of specific IgE response in vivo by allergen-gene transfer. *Int Immunol* 1996; 8: 1405-11.
 22. Ball T, Vrtala S, Sperr WR, Valent P, Susani M, Kraft D, Valenta R. Isolation of an immunodominant IgE hapten from an epitope expression cDNA library. Dissection

- of the allergic effector reaction. *J Biol Chem* 1994; 269: 28323-8.
23. Kulus M, Hébert J, Garcia E, Fowler Taylor A, Fernandez Vidaurre C, Blogg M. Omalizumab in children with inadequately controlled severe allergic (IgE-mediated) asthma. *Curr Med Res Opin.* 2010;26:1285-93.
24. Nawrocki S, Mackiewicz A. Genetically modified tumour vaccines here we are today. *Cancer Treat Rev* 1999; 25: 29-46.
25. Morton DL, Hoon DS, Nizze JA, Foshag LJ, Famatiga E, Wanek LA, Chang C, Irie RF, Gupta RK, Elashoff R. Polyvalent melanoma vaccine improves survival of patients with metastatic melanoma. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 690: 120-34.
26. Morton DL, Foshag LJ, Hoon DS, Nizze JA, Famatiga E, Wanek LA, Chang C, Davtyan DG, Gupta RK, Elashoff R, Irie RF. Prolongation of survival in metastatic melanoma after active specific immunotherapy with a new polyvalent melanoma vaccine. *Ann Surg* 1992; 216: 463-82.
27. Mackiewicz A, Gorny A, Laciak M, Malicki J, Murawa P, Nowak J, Wiznerowicz M, Hawley RG, Heinrich PC, Rose-John S. Gene therapy of human melanoma. Immunization of patients with autologous tumor cells admixed with allogeneic melanoma cells secreting interleukin 6 and soluble interleukin 6 receptor. *Hum Gene Ther* 1995; 6: 805-11.
28. Raz E, Tighe H, Sato Y, Corr M, Dudler JA, Roman M, Swain SL, Spiegelberg HL, Carson DA. Preferential induction of a Th1 immune response and inhibition of specific IgE antibody formation by plasmid DNA immunization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 5141-5.
29. Visco V, Dolecek C, Denepoux S, Le Mao J, Guret C, Rousset F, Guinépain MT, Kraft D, Valenta R, Weyer A, Banchereau J, Labecque S. Human IgG monoclonal antibodies that modulate the binding of specific IgE to birch pollen Bet v 1. *J Immunol* 1996; 157: 956-62.
30. Zia-Amirhosseini P, Minthorn E, Benincosa LJ, Hart TK, Hottenstein CS, Tobia LA, Davis CB. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of SB-240563, a humanized monoclonal antibody directed to human interleukin-5, in monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 291: 1060-7.
31. Kurup VP, Murali PS, Guo J, Choi H, Banerjee B, Fink JN, Coffman RL. Anti-interleukin (IL) -4 and -IL-5 antibodies downregulate IgE and eosinophilia in mice exposed to *Aspergillus* antigens. *Allergy* 1997; 52: 1215-21.

32. Nibbs RJ, Salcedo TW, Campbell JD, Yao XT, Li Y, Nardelli B, Olsen HS, Morris TS, Proudfoot AE, Patel VP, Graham GJ. C-C chemokine receptor 3 antagonism by the beta-chemokine macrophage inflammatory protein 4, a property strongly enhanced by an amino-terminal alanine-methionine swap. *J Immunol* 2000; 164: 1488-97.
33. Ferber IA, Lee HJ, Zonin F, Heath V, Mui A, Arai N, O arra A. GATA-3 significantly downregulates IFN-gamma production from developing Th1 cells in addition to inducing IL-4 and IL-5 levels. *Clin Immunol* 1999; 91: 134-44.
34. Haynes BF, Putman SB, Weinberg JB. Update on the issues of HIV vaccine development. *Ann Med* 1996; 28: 39-41.
35. Sutor GC, Dreikhausen U, Vahning U, Jurkiewicz E, Hunsmann G, Lundin K, Schedel I. Neutralization of HIV-1 by anti-idiotypes to monoclonal anti-CD4. Potential for idiotypic immunization against HIV. *J Immunol* 1992; 149: 1452-61.
36. Pogue RR, Eron J, Frelinger JA, Matsui M. Amino-terminal alteration of the HLA-A*0201-restricted human immunodeficiency virus pol peptide increases complex stability and in vitro immunogenicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 8166-70.
37. Boyer JD, Chattergoon M, Shah A, Ginsberg R, MacGregor RR, Weiner DB. HIV-1 DNA based vaccine induces a CD8 mediated cross-clade CTL response. *Dev Biol Stand* 1998; 95: 147-53.
38. Bonyhadi ML, Moss K, Voytovich A, Auten J, Kalfoglou C, Plavec I, Forestell S, Su L, Bohnlein E, Kaneshima H. RevM10-expressing T cells derived in vivo from transduced human hematopoietic stem-progenitor cells inhibit human immunodeficiency virus replication. *J Virol* 1997; 7: 4707-16.
39. Cotton P. High-tech assault on HIV: gene therapy. *JAMA* 1994; 272: 1235-6.
40. Wong-Staal F, Poeschla EM, Looney DJ. A controlled, Phase 1 clinical trial to evaluate the safety and effects in HIV-1 infected humans of autologous lymphocytes transduced with a ribozyme that cleaves HIV-1 RNA. *Hum Gene Ther* 1998; 9: 2407-25.
41. Kestler HW, Chakrabarti BK. A live-virus suicide vaccine for human immunodeficiency virus. *Cleve Clin J Med* 1997; 64: 269-74.
42. Hamouda T, McPhee R, Hsia SC, Read GS, Holland TC, King SR. Inhibition of human immunodeficiency virus replication by the herpes simplex virus virion host shutoff protein. *J Virol* 1997; 71: 5521-7.

43. Deml L, Schirmbeck R, Reimann J, Wolf H, Wagner R. Immunostimulatory CpG motifs trigger a T helper-1 immune response to human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) gp 160 envelope proteins. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 199-204.
44. Nesburn AB, Burke RL, Ghiasi H, Slanina SM, Wechsler SL. A therapeutic vaccine that reduces recurrent herpes simplex virus type 1 corneal disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 1163-70.
45. Straus SE, Corey L, Burke RL, Savarese B, Barnum G, Krause PR, Kost RG, Meier JL, Sekulovich R, Adair SF, Dekker CL. Placebo-controlled trial of vaccination with recombinant glycoprotein D of herpes simplex virus type 2 for immunotherapy of genital herpes. *Lancet* 1994; 343: 1460-3.
46. Sin JI, Bagarazzi M, Pachuk C, Weiner DB. DNA priming-protein boosting enhances both antigen-specific antibody and Th1-type cellular immune responses in a murine herpes simplex virus-2 gD vaccine model. *DNA Cell Biol* 1999; 18: 771-9.
47. Yao F, Eriksson E. A novel anti-herpes simplex virus type 1-specific herpes simplex virus type 1 recombinant. *Hum Gene Ther* 1999; 10: 1811-8.
48. Livingston BD, Crimi C, Grey H, Ishioka G, Chisari FV, Fikes J, Grey H, Chesnut RW, Sette The hepatitis B virus-specific CTL responses induced in humans by lipopeptide vaccination are comparable to those elicited by acute viral infection. *J Immunol* 1997; 159: 1383-92.
49. Huang Z, Lu S, Liu N. [Specific immune responses in H-2d mice after DNA immunization of HBV core gene] . [Chinese] *Chung Hua Kan Tsang Ping Tsa Chih* 1999; 7: 107-9.
50. Malanchere-Bres E, Payette PJ, Mancini M, Tiollais P, Davis HL, Michel ML. CpG oligodeoxynucleotides with hepatitis B surface antigen (HBsAg) for vaccination in HBsAg-transgenic mice. *Journal of Virology* 2001; 75: 6482-91.
51. Xu DZ, Zhao K, Guo LM, Li LJ, Xie Q, Ren H, Zhang JM, Xu M, Wang HF, Huang WX, Bai XF, Niu JQ, Liu P, Chen XY, Shen XL, Yuan ZH, Wang XY, Wen YM. A randomized controlled phase IIb trial of antigen-antibody immunogenic complex therapeutic vaccine in chronic hepatitis B patients. *PLoS One*. 2008 2; 3 :e2565.
52. Hui J, Mancini M, Li G, Wang Y, Tiollais P, Michel ML. Immunization with a plasmid encoding a modified hepatitis B surface antigen carrying the receptor binding site for hepatocytes. *Vaccine* 1999; 17: 1711-8.

53. Chow YH, Chiang BL, Lee YL, Chi WK, Lin WC, Chen YT, Tao MH. Development of Th1 and Th2 populations and the nature of immune responses to hepatitis B virus DNA vaccines can be modulated by codelivery of various cytokine genes. *J Immunol* 1998; 160: 1320-9.
54. Yutani S, Komatsu N, Shichijo S, Yoshida K, Takedatsu H, Itou M, Kuromatsu R, Ide T, Tanaka M, Sata M, Yamada A, Itoh K. Phase I clinical study of a peptide vaccination for hepatitis C virus-infected patients with different human leukocyte antigen-class I-A alleles. *Cancer Sci.* 2009;100:1935-42.
55. Forns X, Emerson SU, Tobin GJ, Mushahwar IK, Purcell RH, Bukh J. DNA immunization of mice and macaques with plasmids encoding hepatitis C virus envelope E2 protein expressed intracellularly and on the cell surface. *Vaccine* 1999; 17: 1992-2002.
56. Encke J. zu Putlitz J. Geissler M. Wands JR. Genetic immunization generates cellular and humoral immune responses against the nonstructural proteins of the hepatitis C virus in a murine model. *J Immunol* 1998; 161: 4917-23.
57. Cho JH, Lee SW, Sung YC., Enhanced cellular immunity to hepatitis C virus nonstructural proteins by codelivery of granulocyte macrophage-colony stimulating factor gene in intramuscular DNA immunization. *Vaccine* 1999; 17: 1136-44.
58. Franceschini D, Paroli M, Francavilla V, Videtta M, Morrone S, Labbadia G, Cerino A, Mondelli MU, Barnaba V. PD-L1 negatively regulates CD4+CD25+Foxp3+ Tregs by limiting STAT-5 phosphorylation in patients chronically infected with HCV. *J Clin Invest.* 2009; 119: 551-64.
59. Csatory LK, Telegdy L, Gergely P, Bodey B, Bakacs T. Preliminary report of a controlled trial of MTH-68/B virus vaccine treatment in acute B and C hepatitis: a phase II study. *Anticancer Res* 1998; 18: 1279-82.
60. Benson EM, Clarkson J, Law M, Marshall P, Kelleher AD, Smith DE, Patou G, Stewart GJ, Cooper DA, French RA. Therapeutic vaccination with p24-VLP and zidovudine augments HIV-specific cytotoxic T lymphocyte activity in asymptomatic HIV-infected individuals. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1999; 15: 105-13.
61. Malfertheiner P, Schultze V, Rosenkranz B, Kaufmann SH, Ulrichs T, Novicki D, Norelli F, Contorni M, Peppoloni S, Berti D, Tornese D, Ganju J, Palla E, Rappuoli R, Scharschmidt BF, Del Giudice G. Safety and immunogenicity of an intramuscular *Helicobacter pylori* vaccine in noninfected volunteers: a phase I study. *Gastroenterology.* 2008; 135: 787-95.

62. Bégué RE, Cruz AR, Ramgoolam A, Breslin MB. Immunogenicity of *Helicobacter pylori* urease B protein and DNA vaccines in a mouse model. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007; 45: 493-6.
63. Mattsson A, Lonroth H, Quiding-Jarbrink M, Svennerholm AM. Induction of B cell responses in the stomach of *Helicobacter pylori*-infected subjects after oral cholera vaccination. *J Clin Invest* 1998; 102: 51-6.
64. Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Inoue Y, Matsumoto M, McMurray DN, Dela Cruz EC, Tan EV, Abalos RM, Burgos JA, Saunderson P, Sakatani M. Novel prophylactic and therapeutic vaccine against tuberculosis. *Vaccine.* 2009; 27: 3267-70.
65. Rom WN, Yie TA, Tchou-Wong KM. Development of a suicide gene as a novel approach to killing *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1993-8.
66. Changhong S, Hai Z, Limei W, Jiaze A, Li X, Tingfen Z, Zhikai X, Yong Z. Therapeutic efficacy of a tuberculosis DNA vaccine encoding heat shock protein 65 of *Mycobacterium tuberculosis* and the human interleukin 2 fusion gene. *Tuberculosis* 2009; 89: 54-61.
67. Anonymous. Immunotherapy with *Mycobacterium vaccae* in patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis: a randomised controlled trial. *Lancet* 1999; 354: 116-9.
68. Ambroise-Thomas P. [Antimalarial vaccination] . [French] *Sante* 1995; 5: 411-5.
69. Wang R, Doolan DL, Le TP, Hedstrom RC, Coonan KM, Charoenvit Y, Jones TR, Hobart P, Margalith M, Ng J, Weiss WR, Sedegah M, de Taisne C, Norman JA, Hoffman SL. Induction of antigen-specific cytotoxic T lymphocytes in humans by a malaria DNA vaccine. *Science* 1998; 282: 476-80.
70. Weiss WR, Ishii KJ, Hedstrom RC, Sedegah M, Ichino M, Barnhart K, Klinman DM, Hoffman SL. A plasmid encoding murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor increases protection conferred by a malaria DNA vaccine. *J Immunol* 1998; 161: 2325-32.
71. Arakawa T, Yu J, Langridge WH. Food plant-delivered cholera toxin B subunit for vaccination and immunotolerization. *Adv Exp Med Biol* 1999; 464: 161-78.

72. Wong FS, Janeway CA Jr. Insulin-dependent diabetes mellitus and its animal models. *Curr Opin Immunol* 1999; 11: 643-7.
73. Ma S, Jevnikar AM. Autoantigens produced in plants for oral tolerance therapy of autoimmune diseases. *Adv Exp Med Biol* 1999; 464: 179-94.
74. Ranieri E, Herr W, Gambotto A, Olson W, Rowe D, Robbins PD, Kierstead LS, Watkins SC, Gesualdo L, Storkus WJ. Dendritic cells transduced with an adenovirus vector encoding Epstein-Barr virus latent membrane protein 2B: a new modality for vaccination. *J Virol* 1999; 73: 10416-25.
75. Kelleher P, Maroof A, Knight SC. Retrovirally induced switch from production of IL-12 to IL-4 in dendritic cells. *Eur J Immunol* 1999; 29: 2309-18.
76. Thio CL, Carrington M, Marti D, Orien SJ, Vlahov D, Nelson KE, Astemborski J, Thomas DL. Class II HLA alleles and hepatitis B virus persistence in African Americans. *J Infect Dis* 1999; 179: 1004-6.
77. Diepolder HM, Jung MC, Keller E, Schraut W, Gerlach JT, Gruner N, Zachoval R, Hoffmann RM, Schirren CA, Scholz S, Pape GR. A vigorous virus-specific CD4+ T cell response may contribute to the association of HLA-DR13 with viral clearance in hepatitis B. *Clin Exp Immunol* 1998; 113: 244-51.
78. Hohler T, Gerken G, Notghi A, Lubjuhn R, Taheri H, Protzer U, Lohr HF, Schneider PM, Meyer zum Buschenfelde KH, Rittner C. HLA-DRB1*1301 and *1302 protect against chronic hepatitis B. *J Hepatol* 1997; 26: 503-7.
79. Kostrikis LG, Neumann AU, Thomson B, Korber BT, McHardy P, Karanickolas R, Deutsch L, Huang Y, Lew JF, McIntosh K, Pollack H, Borkowsky W, Spiegel HM, Palumbo P, Oleske J, Bardeguez A, Luzuriaga K, Sullivan J, Wolinsky SM, Koup RA, Ho DD, Moore JP. A polymorphism in the regulatory region of the CC-chemokine receptor 5 gene influences perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 to African-American infants. *J Virol* 1999; 73: 10264-71.
80. Kaur G, Sachdeva G, Bhutani LK, Bamezai R. Association of polymorphism at COL3A and CTLA4 loci on chromosome 2q31-33 with the clinical phenotype and in-vitro CMI status in healthy and leprosy subjects: a preliminary study. *Hum Genet* 1997; 100: 43-50.
81. Gangappa S, Manickan E, Rouse BT. Control of herpetic stromal keratitis using CTLA4Ig fusion protein. *Clin Immunol Immunopathol* 1998; 86: 88-94.
82. Sieg S, Smith D, Yildirim Z, Kaplan D. Fas ligand deficiency in HIV disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 5860-5.