

1. HIV ワクチン開発の現状と展望

黒田マルセロ J., 守屋智草

過去20年間にわたる HIV の感染機構や感染をコントロールする免疫機能の膨大な研究データの蓄積にも関わらず、HIV の感染を効率良く阻止出来るワクチンの開発はまだ成功していない。化学療法の進歩は大きく免疫不全の進行を阻止出来たが、この感染症は未だ持って致命的である。特に途上国における感染者の数は増大の一途を辿っており、安価、簡便、かつ効果的な予防ワクチンの開発は危急の課題である。様々な実験結果から、HIV 増殖抑制には細胞性免疫が深く関与していることが示唆されている。最近のマカクザルを用いた実験系では、ワクチンにより誘導された CTL が AIDS ウイルス感染後に急激に増殖しウイルス抑制が認められたことから、現在、HIV 特異的細胞性免疫誘導型ワクチンが有望視されている。本稿では、今日までの HIV ワクチン研究の現状と、主に AIDS 発症動物モデルである SIV 感染マカクザルを用いたワクチン効果を概説し、今後の展望を考察したい。

AIDS ワクチン評価 HIV 感染動物モデル

AIDS ワクチン開発において、ヒト臨床試験に至るまでに安全性や有効性を正確に検討するため、動物モデルは欠かせない重要な役割を果たしてきた。ヒト以外の動物では、チンパンジーのみが HIV 感受性を持っており、最近では免疫不全を発症する HIV 株も樹立されたが、倫理的判断、数の少なさやコストから、一般的なワクチン評価動物モデルには至っていない¹⁾。

SIV (サル免疫不全ウイルス) はアフリカの数多くの霊長類に感染しており、HIV-1 と最も類縁関係が近いウイルスであるが、ほとんどの場合は、免疫不全の発症が見られない²⁾。しかしある Macaque monkey 由来の SIVmac ウイルスが、アカゲザルで AIDS に類似した免疫不全を発症

することより、現在のところ AIDS ワクチン評価に主に用いられている³⁾。SIV の遺伝子配列は、HIV-1 と相同性が高いが、*env* の塩基配列が大きく異なる。そこで SIV をバックボーンに HIV-1 の Env を発現するキメラウイルス SHIV が作製された^{4,5)}。この SHIV をアカゲザルで継代する事により、感染後急激に抹消血 CD4 T リンパ球を減少させる高病原性 SHIV が得られ広く用いられている^{6,7)}。しかしこのようなウイルスを用いて得られた知見は、実際の感染を反映してはいないとする見方もあり、議論の余地のあるところである。

中和抗体の抗 HIV 効果

数多くのウイルス感染症では、中和抗体が中心的に誘導されるワクチンが有効である。一般的にエイズ感染者では高い抗 HIV 抗体価が見られるが、その中和活性は比較的低い。これは中和抗体の主なターゲットであるウイルスのエンベロープをコードする *env* 遺伝子の変異の頻度が高いためと考えられる。しかし、高力価で広範囲の中和抗体の誘導は、AIDS ウイルス感染防御に重要であることは間違いない。主な中和抗体の有効性はサルを用いた動物実験モデルで証明されている。中和抗体をあらかじめ投与したサルではエイズウイルスの感染を阻止するという報告が幾つかのグループより示された⁸⁻¹⁰⁾。また中和抗体を誘導できたワクチンの例でも同様の結果が得られている^{11,12)}。しか

ハーバード大学医学部ベスイスラエル=ディーコネス医療センター

HIV Vaccine Development

Marcelo J. Kuroda, Chikaya Moriya

Department of Medicine, Division of Viral Pathogenesis,
Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical
School

41 Ave. Louis Pasteur, Boston, MA 02215

Tel: 617-667-1795 Fax: 617-667-8210

e-mail: mkuroda@caregroup.harvard.edu

しこれらの実験は同一ウイルス株のみ有効であり、多様なウイルス株に有効な中和抗体を誘導できるワクチン開発は、未だ大きな課題である。

細胞性免疫の抗 HIV 効果

最近、HIV 特異的 CD4 + ヘルパー T 細胞活性や CTL のような細胞性免疫がエイズ発症の抑制に関与していると言う結果が数多く報告されている^{13,14)}。

急性感染時のウイルスのクリアランスと一時的な抗原特異的 CD8 + T 細胞 (CTL) 増化が一致する事や、CTL の数と血清中 HIV ウイルス量の逆相関が AIDS ウイルス持続感染者に見られるといったような事から、CTL は、ウイルスのクリアランスや感染症状の回復に大きな役割を果たすことが知られている¹⁵⁻¹⁷⁾。従って効率の良い CTL を誘導出来る HIV ワクチン開発は極めて重要であると考えられる。最近、SIV 感染マカクザルの系で、感染の前後に CD8 細胞を破壊出来る CD8 に対するモノクローナル抗体を投与したサルでは、ウイルス抑制が見られない事から、急性感染時の AIDS ウイルスのコントロールに大きな役割を持っていることが直接この実験で示された¹⁸⁻²⁰⁾。更に同様な実験を SIV 持続感染サルに行ったところ、CD8 + 細胞の減少と同時に急激な血清中のウイルス量が上昇した事から、CTL は常に HIV 抑制に関与している事が分かった。

抗原特異的 T 細胞の新規の解析方法

最近相次いで開発された抗原特異的 T 細胞の明確な定量法がここまでのエイズワクチン開発にとって重要な役割を果たしている。ELISPOT 及び cytokine flow cytometry (CFC) は抗原で刺激した後 IFN- γ 産生細胞を抗 IFN- γ 抗体を用いて抗原特異的 T 細胞の定量を行う。前者はプレート上、後者は flow cytometry で解析する。これらは HLA のタイプによらず、抗原全体の免疫反応を検出することができる事が利点である。一方1998年に Altman らによるテトラマー技術の開発で、CTL をフローサイトメトリーで明確に定量および解析することが可能になった²¹⁾。原理は以下である。抗原特異的 CD8 + T 細胞は固有の T cell receptor (TCR) を細胞表面に発現している。この TCR は、MHC (major histocompatibility complex) クラス I 分子に結合した抗原ペプチドを特異的に認識する。これまでの *in vitro* の実験系では両者の特異的な結合は見られるものの、親和性が低く、off-rate が速いことが特徴的であった。この MHC クラス I / ペプチド複合体を 4 量体化することで TCR との結合を安定させ、さらに蛍光標識した試薬がテトラマーである²²⁾。テトラマー染色法の開発によりウイルス特異的 CD8 + T 細胞の直接的な定量が可能になり、さまざまな CTL に関する新たな情報が報告された。例えば、HIV 感染者の末梢血で、最高で全 CD

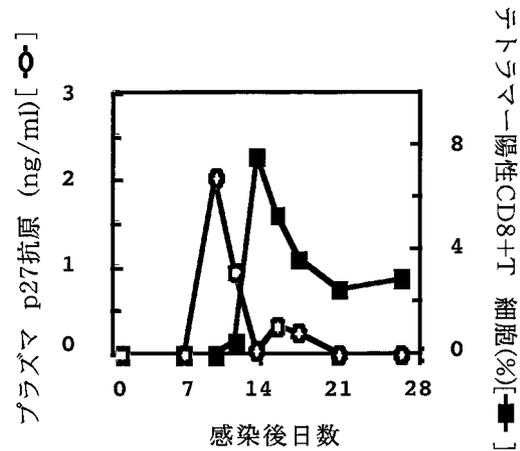


図1 SIVmac 感染 Mamu-A*01陽性アカゲザルのプラズマ中P27抗原の推移および血中 Mamu-A*01/p11c テトラマー陽性 CD8 + CD8 + 細胞率の推移の代表的な結果。ウイルスのクリアランスと CTL の増殖が一致することを示す。

8 + T 細胞の 2%以上が、特定の抗原に対する CTL を誘導していることがこの技術により検出された。又 HIV 急性感染時では HIV 感染者の末梢血で一時的な急激な CTL の増殖が見られ、ウイルスのクリアランスと一致することが分かった。また SIV アカゲザルの系でもヒトと同様 SIV 急性感染期に Gag 特異的 CTL が急激に増殖し、持続感染時でも高レベルの CTL が維持されていることが示された (図1)^{16,23)}。又 CTL をエスケープするウイルス変異の出現が AIDS 臨床経過を悪化することから CTL の重要性が再確認された^{24,25)}。

CD4 + T 細胞の重要性

さらに最近 CD8 + T 細胞に加え、SHIV / アカゲザルの系で HIV エンベロープの抗原特異的 CD4 + T 細胞の明確な定量も、MHC クラス II テトラマーの開発により可能になった²⁶⁾。ヘルパーと呼ばれる CD4 + T 細胞は、HIV のターゲット細胞として注目を浴びて居るが、ウイルス抑制免疫機構のなかでも重要な役割を果たしていることは忘れてはいけない存在である。確かに中和抗体や CTL の様に華やかなウイルス抑制メカニズムを持っていないことから、実験系も少なく比較的研究データの蓄積も少ないが、明らかに抗原特異的 CD4 + T 細胞の機能低下が CTL や抗体反応の機能損傷につながり、最終的には全ウイルス抑制免疫機能低下に終わることが最近の報告で示された。マウスの LCMV (lymphocytic choriomeningitis virus) 感染系でも CD4 + T 細胞のヘルパー機能が欠乏した場合にのみウイルス特異的 CD8 + T 細胞のウイルス抑制機能低下が見られたことから、最適な CTL 機能の維持に大きな役割を果たしていることが示された²⁷⁾。またエイズ患者とは対

照的に、無症候 HIV 感染者の場合は強力な HIV 特異的 CD 4 + T 細胞活性が検出され、CD 4 + T 細胞がウイルスコントロールに重要な役目を担っていることが推測される^{28,29}。さらに初期感染時に強力な HIV の増殖を阻止する抗ウイルス剤投与を受けた者は、CD 4 + T 細胞の減少が起こらず抗ウイルス療法撤退後でも血中ウイルス量は低値に抑えられた。これらの結果から今後開発されるべきエイズワクチンとしては、強力なウイルス特異的 CD 8 及び CD 4 + T 細胞を誘導するようなものが最有力な候補であると考えられる。CTL 誘導ワクチン開発と同様に、MHC クラス II テトラマー染色法がウイルス特異的 CD 4 + T 細胞誘導ワクチン開発に貢献できることを期待したい。

AIDS ワクチン開発

最初にエイズワクチンの有効性を試されたのは、これまでに様々なウイルス病原体の感染防御に有効とされた従来のワクチン候補であった。弱毒変異株ウイルスと不活化ウイルス、およびサブユニットワクチンが代表的なものである。

ポリオ、麻疹や天然痘ウイルスには弱毒変異株ウイルスワクチンが世界中で使われ感染を阻止することが出来、現在それらはほぼ絶滅状態である。1990年代前半に *nef* 欠損の SIV 弱毒変異株が病原性ワイルドタイプ SIV 株の感染を阻止し AIDS ワクチン候補として報告され話題になった³⁰。しかしこの弱毒化変異 SIV 感染サルに数年後にエイズ発症が観察され完全に安全性が否定された^{31,32}。

不活化ウイルスワクチンは、ポリオやインフルエンザウイルスの感染防御に非常に有効であり、特にインフルエンザワクチンとして、毎年予想されたウイルス株で生産され幅広く使用されている。1989年に不活化 SIV ウイルスが SIV 感染マカクザルの系で SIV 感染を完全に阻止すると言う論文が発表されたが、この感染防御が非特異的であった事が判明してこのワクチン候補も否定された^{33,34}。

ウイルスサブユニットの精製蛋白がワクチンとして B 型肝炎ウイルスに有効性を発揮している。中和抗体誘導を目的としウイルスエンベロープ蛋白 gp120が、ワクチンとしてサルのエイズモデルの系やヒトで試された。精製した単量体 gp120と gp160のワクチン効果は第 2/3 相臨床試験でも数多く試されて、安全であり高抗体誘導能を持っていることは確認されているが、広範囲の HIV ウイルスのエンベロープに反応できる中和抗体の誘導が可能でないことから新たなワクチン開発が必要と考えられる。その一つとして単量体 gp120ではなく、自然界で存在する三量体 gp120を用いて広範囲の中和抗体の誘導の試みが行われている。安定な三量体構造をもった gp120の大量生産や精製が難しいことが問題ではあるが、免疫原性の優れた広範囲の中和抗体の誘導の成功に期待したい。また最近 gp120と HIV のレセプターである CD 4 精製蛋白を UV クロスリン

クした蛋白ワクチンがサルの系で広範囲の中和抗体の誘導に成功したという報告があった³⁵。ワクチンの質に焦点を絞った新たな路線として、今後の成果に注目したい。

近年新たに試みられている手法として代表的なものは、感染性ウイルスベクター、プラスミド DNA ワクチン、および細菌ベクターである。

感染性ベクターは、比較的大きな HIV 蛋白発現遺伝子が挿入しやすく、安定であり、感染後細胞内で抗原がプロセスされ抗体、ヘルパー T 細胞及び CTL の幅広い免疫誘導能が誘導されることが大きな利点である。

最も基礎データと臨床試験の蓄積がある代表的な生ワクチンはボックスウイルスであるが、その中でもワクシニアウイルスは、天然痘の絶滅に向けて大きな役割を果たしたワクチンであり、AIDS ウイルスに対する抗原特異的な免疫誘導が数多く報告されている^{36,37}。さらに HIV 蛋白ブーストによりワクシニアウイルスのワクチン効果が強化され SIV 感染防御に成功した報告もある³⁸。しかしワクシニアウイルスは、弱毒生ワクチンといえども発熱や副作用がしばしばみられ、特に何らかの原因で免疫抑制されたヒトではウイルス増殖のコントロールが出来ず重大な感染症にまで至ることがある³⁹。そこで更に弱毒化した幾つかのボックスウイルスが注目を浴びている。代表的な MVA (modified vaccinia virus Ankara) は、同ウイルスの複数の継代の末得られたもので、幾つかの大きな遺伝子欠損がみられ、ヒトやサルの細胞では、感染は成立するが増殖が抑えられ、効率良く外来蛋白を発現できるワクチンである⁴⁰。MVA のワクチン効果は、サルの実験系で SIV 及び SHIV の感染後の病原性を抑制することで示された。同じワクシニアウイルスの中でもカナリボックスは臨床試験で安全性が確認され、比較的効率良く CTL と抗 HIV 抗体を誘導することが示された。

さらに最近ウイルスベクターの中で最も強力な CTL の誘導能を示したものがアデノウイルスである。遺伝子治療を目的として開発されたアデノウイルスのサブタイプ 5 の E1 と E3 遺伝子欠損ウイルスは病原性に係わるウイルス複製機能が抑えられた高免疫誘導能をもった理想的な HIV ワクチン候補である。これらのウイルスベクターはサルの実験系では既に、エボラウイルスの感染防御でワクチン効果を発揮しており、更に AIDS ウイルスの系では SHIV ウイルス感染後の特徴的な現象である急激な CD 4 + T 細胞の減少と臨床経過が抑えられ、この種のワクチンの可能性が示されている^{41,42}。現在ヒトでは第 1, 2 相臨床試験中にある。

また他にも幾つかのウイルスベクターの候補の報告がなされている。紙面の都合上全てを概説することは出来ないが、一本鎖 RNA ウイルスベクター、特にセンダイウイルス (Sendai Virus)⁴³、セムリキ森林熱ウイルス (Semliki forest virus) やヴェネズエラウマ脳炎ウイルス (Venezuelan

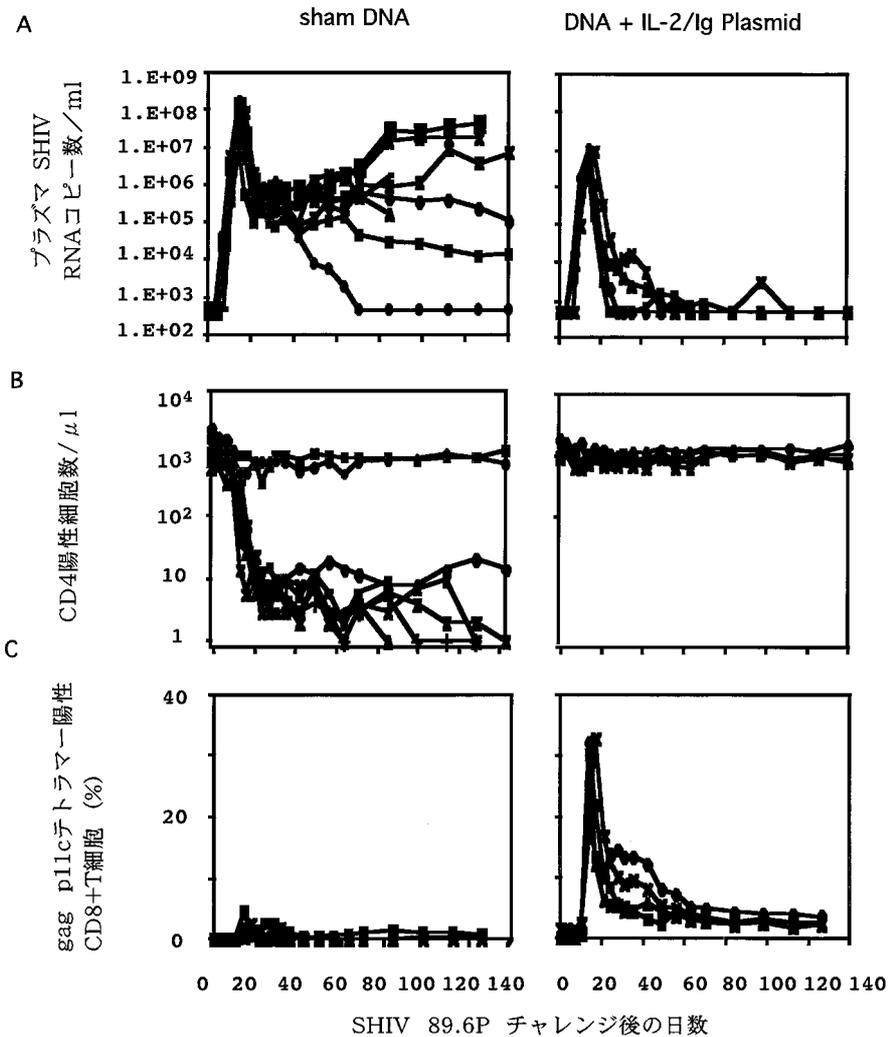


図2 対照コントロールおよび SIVGag/Pol/Env および IL 2-IgDNA ワクチンを接種したアカゲザルに SHIV-89.6P をチャレンジ後
 (A) プラズマのウイルス量
 (B) CD 3 + CD 4 + 細胞率から得られた末梢血中の CD 4 + 細胞数
 (C) CD 3 + CD 8 + 細胞中の SIVGag p11c テトラマー陽性細胞率
 のそれぞれを経時的に測定した結果.

equine encephalitis virus)^{44,45)}もサルやマウスの系で高ワクチン効果を発揮しており、今後の研究の経過に期待したい。

DNA ワクチンは生ワクチンと異なりベクター抗原に対する免疫原性の問題がなく、大量に生産しやすく、安定であることから HIV ワクチン候補のなかでも大きな注目を集めている⁴⁶⁾。プラスミドの形でそのまま接種する DNA ワクチン効果はマウスやサルの実験系で抗体及び細胞性両免疫の誘導能を示したデータが数多く報告されている。AIDS ウイルス蛋白発現プラスミド DNA ワクチンの誘導する免疫反応は生ワクチンに比べて比較的弱いですが、SIV もしくは SHIV の感染後のウイルス増殖を抑える効果は十分あることも示された^{47,48)}。同じくサルでプラスミド IL 2 が

著しく DNA ワクチン効果を強化する結果が見られ、高病原性ウイルスである SHIV89.6P の感染後の AIDS 発症が抑えられた (図 2)。このプラスミド IL 2 をアジュバントとした DNA ワクチンは非常に魅力的ではあるが、効果を発揮する為には両プラスミドの時間差接種を必要とすることから、大規模に接種を行うエイズワクチンとして実用化される可能性は今のままでは残念ながら低い。

さらに最近は一種類の単独ワクチンのみの使用ではなく、二種類以上のワクチンを組み合わせたプライムブースト法が一般化しつつある。プライミング用に DNA ワクチンを、ブーストとして様々な生ワクチンとを組み合わせた手法が特にサルの実験系でいくつか試されており、既に DNA プライム MVA ブースト法を用いた SHIV/アカゲ

ザルの感染系で良好な結果が報告されている⁴⁹⁾。

粘膜ワクチンの可能性

我々の体は皮膚だけではなく、皮膚より数百倍以上の面積をもった粘膜を介して外界と絶えず接している。さまざまな感染源は、この広大な粘膜面を介して体内に侵入するが、HIVも例外ではない。従って第一線の生態防御として働いている粘膜での抗HIV特異的免疫が誘導できる粘膜ワクチン開発は重要である。感染性生ワクチンの中でもウイルスベクターに比べて細菌ベクターを用いた実験データは比較的少ない。しかしこの種のワクチンはこれからの粘膜ワクチン開発に大きな役割を果たすであろう⁵⁰⁾。

おわりに

このように動物モデルを用いて様々なワクチン候補が試され、有効な細胞性免疫誘導型ワクチンが存在するデータが沢山報告されている。SHIVおよびSIV/Aカゲザルを用いた実験系でのワクチン効果を解析すると、どのワクチン候補であってもテトラマー染色法やELISPOT法などで明確に高CTL誘導が確認され、サルでは確実にエイズ発症阻止につながった。サルを使った実験系では、小数の実験データの誤差を最小限に抑えるため、自然感染では考えられない程大量のウイルス量を接種して実験が行われる。ヒトの場合、おそらくこれよりもはるかに微量のウイルス暴露によって自然感染が成立するであろうことを考えると、これらのワクチン候補は十分有効であろうことが推測される。しかし一方でこのような細胞性免疫誘導型ワクチンに加え、多様なHIVウイルス株に対する広範囲の中和抗体が誘導できるようなワクチンの開発もまた確実に必要である。宿主の強力な細胞性免疫に加え、強力な広範囲の中和抗体が誘導出来れば、完全なHIV感染阻止も夢ではない。仮に感染は阻止できなくともウイルス増殖が抑えられればよいであろう。さらに、より多くのCTLの誘導、より広範囲の中和抗体の誘導という量の追求だけではなく、質にターゲットを当てた基礎実験の蓄積も有効なエイズワクチン開発には必要だ。すなわちいかなる抗原に焦点を絞ればより効率的に感染防御を成立させられるかという追求もまた肝要である。このように様々な角度から、多くの研究者のたゆまぬ努力の地平に必ずやAIDS制圧の日を訪れるであろう。またこの共通の目的のもとに、新たな技術の進歩や、新たなscienceのbreakthroughが生じるであろうことは大変喜ばしいことである。

文 献

- 1) Mwaengo DM, Novembre FJ. Molecular cloning and characterization of viruses isolated from chimpanzees with pathogenic human immunodeficiency virus type 1 infections. *J Virol.* 1998 ; 72 : 8976-87. Hirsch VM, and Johnson PR. Pathogenic diversity of simian immunodeficiency viruses. *Virus Res.* 1994 ; 32 : 183-203.
- 2) Hirsch VM, Johnson PR. Pathogenic diversity of simian immunodeficiency virus. *Virus Research.* 1994 ; 32 : 183-203.
- 3) Letvin NL, King NW. Immunologic and pathologic manifestations of the infection of rhesus monkeys with simian immunodeficiency virus of macaques. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1990 ; 3 : 1023-1040.
- 4) Sakuragi S, et al. Infection of macaque monkeys with a chimeric human and simian immunodeficiency virus. *J Gen Virol.* 1992 ; 73 : 2983-2987.
- 5) Li J, et al. Infection of cynomolgus monkeys with a chimeric HIV-1/SIVmac virus that expresses the HIV-1 envelope glycoproteins. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1992 ; 5 : 639-646.
- 6) Reimann KA, et al. 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.* 1996 ; 70 : 6922-6928.
- 7) Igarashi T, et al. Emergence of a highly pathogenic simian/human immunodeficiency virus in a rhesus macaque treated with anti-CD 8 mAb during a primary infection with a nonpathogenic virus. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999 ; 96 : 14049-14054.
- 8) Mascola JR, et al. Protection of Macaques against pathogenic simian/human immunodeficiency virus 89.6 PD by passive transfer of neutralizing antibodies. *J Virol.* 1999 ; 73 : 4009-4018.
- 9) Shibata R, et al. Neutralizing antibody directed against the HIV-1 envelope glycoprotein can completely block HIV-1/SIV chimeric virus infections of macaque monkeys. *Nat Med.* 1999 ; 5 : 204-210.
- 10) Mascola JR, et al. Protection of macaques against vaginal transmission of a pathogenic HIV-1/SIV chimeric virus by passive infusion of neutralizing antibodies. *Nat. Med.* 2000 ; 6 : 207-210.
- 11) Letvin NL, et al. Potent, protective anti-HIV immune responses generated by bimodal HIV envelope DNA plus protein vaccination. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997 ; 94 : 9378-9383.
- 12) Cho MW, et al. Polyvalent envelope glycoprotein vaccine elicits a broader neutralizing antibody response but is unable to provide sterilizing protection against heterologous Simian/human immunodeficiency virus infection in pigtailed macaques. *J Virol.* 2001 ; 75 : 2224-2234.
- 13) Norris PJ, Rosenberg ES. Cellular immune response to human immunodeficiency virus. *AIDS.* 2001 ; 15 Suppl 2 : S16-21.
- 14) Letvin NL, et al. Cytotoxic T lymphocytes specific for the simian immunodeficiency virus. *Immunol Rev.* 1999 ; 170 : 127-134.
- 15) Ogg GS, et al. Quantitation of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and plasma load of viral RNA. *Science.* 1998 ; 279 : 2103-2106.
- 16) Kuroda MJ, et al. Emergence of CTL coincides with clearance of virus during primary simian immunodeficiency virus infection. *J Virol.* 1998 ; 72 : 8976-87.

- ciency virus infection in rhesus monkeys. *J. Immunol.* 1999 ; **162** : 5127-5133.
- 17) Wilson JD, et al. Direct visualization of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes during primary infection. *AIDS.* 2000 ; **14** : 225-233.
 - 18) Matano T, et al. Administration of an anti-CD 8 monoclonal antibody interferes with the clearance of chimeric simian/human immunodeficiency virus during primary infections of rhesus macaques. *J Virol.* 1998 ; **72** : 164-169.
 - 19) Schmitz JE, et al. Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD 8 + lymphocytes. *Science.* 1999 ; **283** : 857-860.
 - 20) Jin X, et al. Dramatic rise in plasma viremia after CD 8 (+) T cell depletion in simian immunodeficiency virus-infected macaques. *J Exp Med.* 1999 ; **189** : 991-998.
 - 21) Altman J, et al. Direct visualization and phenotypic analysis of virus-specific T lymphocytes in HIV-infected individuals. *Science* 1996 ; **274** : 94-96.
 - 22) 黒田マルセロ J. 四量体 MHC クラス I / ペプチド複合体による抗原特異的 T 細胞の解析. *細胞工学* 1999 **18** : 247-253.
 - 23) Kuroda MJ, et al. Analysis of Gag-specific cytotoxic T lymphocytes in SIVmac-infected rhesus monkeys by cell staining with a tetrameric MHC Class I / Peptide Complex. *J. Exp. Med.* 1998 ; **187** : 1373-1381.
 - 24) Barouch DH, et al. Eventual AIDS vaccine failure by CTL escape. *Nature.* 2002 ; **415** : 335-339.
 - 25) Klenerman P, et al. HIV : current opinion in escapology. *Curr Opin Microbiol.* 2002 ; **5** : 408-413.
 - 26) Kuroda MJ, et al. Human immunodeficiency virus type 1 envelope epitope-specific CD 4 + T lymphocytes in simian/human immunodeficiency virus-infected and vaccinated rhesus monkeys detected using a peptide-major histocompatibility complex class II tetramer. *J. Virol.* 2000 ; **74** : 8751-8756.
 - 27) Zajac AJ, et al. Viral immune evasion due to persistence of activated T cells without effector function. *J Exp Med.* 1998 ; **188** : 2205-2213.
 - 28) Rosenberg ES, et al. Vigorous HIV-1-specific CD 4 + T cell responses associated with control of viremia. *Science.* 1997 ; **278** : 1447-1450.
 - 29) Rosenberg ES, et al. Immune control of HIV-1 after early treatment of acute infection. *Nature.* 2000 ; **407** : 523-526.
 - 30) Daniel MD, et al. Protective effects of a live attenuated SIV vaccine with a deletion in the *nef* gene. *Science.* 1992 ; **258** : 1938-1941.
 - 31) Baba TW, et al. Pathogenicity of live, attenuated SIV after mucosal infection of neonatal macaques. *Science.* 1995 ; **267** : 1820-1825.
 - 32) Baba TW, et al. Live attenuated, multiply deleted simian immunodeficiency virus causes AIDS in infant and adult macaques. *Nat Med.* 1999 ; **5** : 194-203.
 - 33) Murphey-Corb M, et al. A formalin-inactivated whole SIV vaccine confers protection in macaques. *Science.* 1989 ; **246** : 1293-1297.
 - 34) Stott EJ. Anti-cell antibody in macaques. *Nature.* 1991 ; **353** : 393.
 - 35) Fouts T, et al. Crosslinked HIV-1 envelope-CD 4 receptor complexes elicit broadly cross-reactive neutralizing antibodies in rhesus macaques. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 ; **99** : 11842-11847.
 - 36) Hu SL, et al. Effect of immunization with a vaccinia-HIV env recombinant on HIV infection of chimpanzees. *Nature.* 1987 ; **328** : 721-723.
 - 37) Shen L, et al. Recombinant virus vaccine-induced SIV-specific CD 8 + cytotoxic T lymphocytes. *Science.* 1991 ; **252** : 440-443.
 - 38) Hu SL, et al. Protection of macaques against SIV infection by subunit vaccines of SIV envelope glycoprotein gp160. *Science.* 1992 ; **255** : 456-459.
 - 39) Redfield RR, et al. Disseminated vaccinia in a military recruit with human immunodeficiency virus (HIV) disease. *N Engl J Med.* 1987 ; **316** : 673-676.
 - 40) Moss B. Replicating and host-restricted non-replicating vaccinia virus vectors for vaccine development. *Dev Biol Stand.* 1994 ; **82** : 55-63.
 - 41) Sullivan NJ, et al. Development of a preventive vaccine for Ebola virus infection in primates. *Nature.* 2000 ; **408** : 605-609.
 - 42) Shiver JW, et al. Replication-incompetent adenoviral vaccine vector elicits effective anti-immunodeficiency-virus immunity. *Nature.* 2002 ; **415** : 331-335.
 - 43) Matano T, et al. Rapid appearance of secondary immune responses and protection from acute CD 4 depletion after a highly pathogenic immunodeficiency virus challenge in macaques vaccinated with a DNA prime/Sendai virus vector boost regimen. *J Virol.* ; **75** : 11891-11896.
 - 44) Mossman SP, et al. Protection against lethal simian immunodeficiency virus SIVsmmPBj14 disease by a recombinant Semliki Forest virus gp160 vaccine and by a gp120 subunit vaccine. *J Virol.* 1996 ; **70** : 1953-1960.
 - 45) Davis NL, et al. Vaccination of macaques against pathogenic simian immunodeficiency virus with Venezuelan equine encephalitis virus replicon particles. *J Virol.* 2000 ; **74** : 371-378.
 - 46) Donnelly JJ, et al. DNA vaccines. *Annu Rev Immunol.* 1997 ; **15** : 617-648.
 - 47) Egan MA, et al. Simian immunodeficiency virus (SIV) *gag* DNA-vaccinated rhesus monkeys develop secondary cytotoxic T-lymphocyte responses and control viral replication after pathogenic SIV infection. *J. Virol.* 2000 ; **74** : 7485-7495.
 - 48) Barouch DH, et al. Control of viremia and prevention of clinical AIDS in rhesus monkeys by cytokine-augmented DNA vaccination. *Science.* 2002 ; **290** : 486-492.
 - 49) Amara RR, et al. Control of a mucosal challenge and prevention of clinical AIDS in rhesus monkeys by a multiprotein DNA/MVA vaccine. *Science.* 2001 ; **292** : 69-74.
 - 50) Kunisawa J, Sakaue G, Kiyono H. NALT immune system for the development of AIDS mucosal vaccine. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi.* 2000 ; **23** : 579-581.