

Situación actual en el desarrollo de una vacuna frente al virus de la inmunodeficiencia humana

José Alcamí

Unidad de Inmunopatología del SIDA. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

El avance de la epidemia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) ha situado la obtención de una vacuna eficaz frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) como un objetivo científico prioritario. En el momento actual no se dispone de una vacuna preventiva y en ningún modelo animal se ha conseguido la protección frente a la infección. En esta revisión se analizan las dificultades existentes en el desarrollo de una vacuna contra el SIDA, en particular los mecanismos de escape viral a la respuesta inmunitaria y se describen los prototipos de vacunas preventivas y terapéuticas en desarrollo y los resultados obtenidos. Por otra parte, esta investigación se sitúa en el contexto sanitario, económico y social de la pandemia de SIDA y se analizan las polémicas actualmente planteadas en el desarrollo de ensayos clínicos con los diferentes tipos de vacunas.

Palabras clave: VIH. SIDA. Respuesta inmunitaria. Vacunas. Escape viral.

Present situation regarding development of an HIV vaccine

The AIDS epidemic continues to advance, and the development of a preventive HIV vaccine has become a major objective for scientific research. An effective vaccine against this virus is not available and complete protection still has not been achieved in animal models. In this review the major challenges related to the development of a vaccine against HIV are analyzed, particularly the mechanisms involved in viral escape from the immune response, and the results obtained with the various therapeutic and preventive vaccine prototypes are summarized. Finally, the social, economic and health aspects related to research on HIV vaccines and the current controversy around the performance of clinical trials with these agents is discussed.

Key words: HIV. AIDS. Immune response. Vaccines. Viral escape.

Correspondencia: Dr. J. Alcamí.
Centro Nacional de Microbiología.
Instituto de Salud Carlos III.
28220 Majadahonda. Madrid.
Correo electrónico: ppalcamí@isciii.es

Manuscrito recibido el 25-09-2002; aceptado el 26-09-2002.

Introducción

El desarrollo de vacunas y su aplicación constituye sin duda uno de los progresos más importantes en la historia de la medicina y probablemente ninguna medida de intervención sanitaria ha tenido un impacto tan enorme en la salud pública y ha salvado tantos millones de vidas. El desarrollo de una vacuna eficaz frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es la gran asignatura pendiente de la investigación sobre el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y su obtención se ha convertido en un objetivo científico prioritario¹⁻⁴. Al debate sobre los aspectos estrictamente científicos se han sumado consideraciones éticas, económicas y el trasfondo social de la insostenible situación originada por la progresión de la pandemia de SIDA⁵⁻⁸. La explosión de la epidemia de SIDA en los países en vías de desarrollo ha planteado la necesidad de adoptar medidas preventivas urgentes y el acceso expandido a la medicación antirretroviral. Sin embargo, en algunas zonas del mundo estas medidas, aunque imprescindibles, serán probablemente insuficientes para frenar la epidemia por lo que la obtención de una vacuna eficaz es la única posibilidad de control de la epidemia en los países en vías de desarrollo en los que se encuentra el 95% del total de pacientes infectados por el VIH⁸.

Desde el punto de vista científico, los esfuerzos y la inversión en investigación han sido dedicadas de forma mayoritaria a los estudios de patogenia y al desarrollo de nuevos fármacos. La inversión en la búsqueda de una vacuna ha sido proporcionalmente baja. Hasta 1995, los institutos de la salud americanos habían dedicado a la investigación sobre la vacuna del SIDA 120 millones de dólares, mientras que sólo en el año 2000 la partida dedicada a este fin fue de 360 millones de dólares, cantidad todavía insuficiente³. El plan de Naciones Unidas para controlar la epidemia solicita la creación de un fondo de 10.000 millones de dólares pero hasta el momento los países desarrollados sólo han aportado 3.000 millones de dólares. El cumplimiento de este objetivo es hoy una de las principales reivindicaciones de la comunidad internacional y en particular de aquellos países especialmente afectados por la infección por el VIH. Otras iniciativas importantes, tanto por parte de instituciones públicas como privadas han puesto el desarrollo de una vacuna frente al SIDA como un objetivo prioritario (tabla 1).

En este capítulo se analizan las dificultades científicas en el desarrollo de una vacuna contra el SIDA, en especial los mecanismos de escape viral a la respuesta inmunitaria, los prototipos de vacuna en desarrollo y los resultados obtenidos. Por otra parte, esta investigación se sitúa en el contexto sanitario, económico y social de la pandemia de

TABLA 1. Iniciativas actuales en el desarrollo de una vacuna frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)

1. Plan Clinton para desarrollar una vacuna frente al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) que frene el progreso de la epidemia en los países en vías de desarrollo
2. Se crea un nuevo Centro de Investigación sobre la vacuna frente al VIH en los Institutos Nacionales de Salud
3. Otras instituciones aumentan sus recursos para investigar sobre una vacuna contra el SIDA: Walter Reed Institute, Center for Disease Control, Agencia Francesa de Investigación sobre el SIDA, Medical Research Council (UK), Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (Japón)
4. La Unión Europea financia la iniciativa EUROVAC que agrupa a 25 laboratorios en Europa y Estados Unidos
5. La industria farmacéutica también incrementa su presupuesto de investigación en vacunas y potencia el desarrollo de ensayos en el tercer mundo
6. La Organización Mundial de la Salud (OMS) inicia una iniciativa global sobre la vacuna frente al VIH cuyo objetivo es coordinar los esfuerzos internacionales y facilitar una serie de criterios que garanticen los aspectos éticos de la investigación sobre vacunas en los países en vías de desarrollo
7. La Fundación Bill y Melinda Gates dedican 1.000 millones de dólares al desarrollo de vacunas frente a enfermedades infecciosas de alta incidencia en países en vías de desarrollo
8. El secretario general de la Organización de las Naciones Unidas (ONU), Kofi Annan, propone un plan global para frenar la expansión de la epidemia de SIDA mediante la creación de un fondo que requiere la aportación de 10.000 millones de dólares por los países desarrollados

SIDA y se analizan las polémicas actualmente planteadas en el desarrollo de ensayos clínicos con los diferentes tipos de vacunas.

Dificultades para conseguir una vacuna frente al virus de la inmunodeficiencia humana

Desde el punto de vista científico la obtención de una vacuna eficaz para impedir la infección por el VIH se enfrenta a una serie de problemas:

1. La caracterización de determinantes mayores de inmunogenicidad.
2. La definición de parámetros surrogados inmunes de protección.
3. Los mecanismos de escape viral.

Caracterización de los determinantes mayores de inmunogenicidad

La respuesta inmunitaria se inicia mediante el reconocimiento por parte de los linfocitos CD4 de antígenos extraños presentados en el surco HLA de clase II por las células especializadas en el procesamiento antigénico. La presentación de estos antígenos activa los distintos mecanismos efectores del sistema inmunitario: producción de anticuerpos por los linfocitos B, síntesis de citocinas y quimiocinas, activación de linfocitos CD4 y generación de linfocitos CD8 citotóxicos. Estos últimos representan el principal mecanismo de destrucción de células infectadas

por virus y, para ello, los linfocitos citotóxicos deben reconocer determinantes antigénicos del germen en el surco HLA clase I de las células infectadas para iniciar el proceso de lisis⁹. Debido al polimorfismo del sistema HLA tanto en el reconocimiento del antígeno en las células presentadoras como en las células diana (presentado en el cañón HLA clase II y clase I, respectivamente) los epítomos seleccionados varían en función del haplotipo HLA individual. En otras palabras, existe una variabilidad entre individuos en la selección de los epítomos de un mismo microorganismo en función de la afinidad de los péptidos extraños por el HLA propio¹⁰. En numerosos virus existen “determinantes mayores de inmunogenicidad” que corresponden a secuencias peptídicas que son presentadas eficientemente por el sistema HLA y reconocidas con gran avidez por los anticuerpos y receptores de los linfocitos T, por lo que inducen una potente respuesta del sistema inmunitario¹¹. La eficacia de esta respuesta depende de dos características de estos determinantes mayores: corresponden a epítomos o dominios de las proteínas virales que se encuentran conservados entre los distintos virus aislados, incluso en el contexto de virus altamente variables. La segunda característica es que estos determinantes mayores son procesados por la mayoría de haplotipos HLA. La existencia de estos determinantes mayores de inmunogenicidad es clave para poder desarrollar una vacuna ya que constituyen las dianas virales por excelencia al ser “universales” en un doble sentido: como epítomos conservados en la proteína viral y en cuanto epítomos susceptibles de presentación antigénica por la mayoría de los sujetos con independencia de su haplotipo HLA. En el caso de *Influenza* o polio, a pesar de su variabilidad existen determinantes mayores de inmunogenicidad que inducen una respuesta inmunitaria potente frente a las distintas variantes virales por la mayoría de los sujetos. En el caso del VIH no se ha descrito un determinante de inmunogenicidad similar, lo que representa una limitación muy importante para diseñar una preparación vacunal¹¹.

Definición de los parámetros surrogados de protección

El objetivo de una vacuna es inducir una respuesta inmunitaria eficaz de tipo memoria que permita al sistema inmunológico reaccionar frente al agente infeccioso impidiendo su propagación. Para alcanzar este objetivo es indispensable saber cuáles son los efectores inmunológicos eficaces en el control de la infección para así definir una serie de parámetros surrogados inmunológicos que nos permitan evaluar si una preparación vacunal es eficaz o no. En el paciente infectado por el VIH se ha descrito una respuesta inmunitaria intensa que abarca prácticamente todos los mecanismos efectores del sistema inmunitario. Esta respuesta es asimismo relativamente amplia, ya que se desarrolla frente a numerosos epítomos y prácticamente todas las proteínas del virus, tanto estructurales como reguladoras son reconocidas como extrañas. Sin embargo, todavía es motivo de controversia el papel “protector” de cada uno de estos componentes de la respuesta antiviral. En otras palabras, la activación de un determinado parámetro de la respuesta inmunitaria no permite concluir automáticamente su eficacia. A continuación se describe el tipo de respuesta inmunitaria generada frente a la infección por el VIH.

Respuesta humoral

La infección por el VIH induce una intensa respuesta de anticuerpos frente a prácticamente todas las proteínas reguladoras y estructurales del VIH¹²⁻¹⁴. Algunos de estos anticuerpos tienen capacidad neutralizante *in vitro*¹⁴ y en experimentos de inmunoterapia adoptiva *in vivo*¹⁵⁻¹⁸. Sin embargo, la producción de anticuerpos con capacidad neutralizante es escasa y muy rápidamente se observa un escape viral a éstos¹⁹. Por otra parte, en los modelos de inmunización desarrollados hasta el momento no se obtiene de una forma consistente niveles elevados de anticuerpos neutralizantes ni su presencia se asocia de forma sistemática con protección^{20,21}. Estos datos hacen que algunos investigadores planteen dudas sobre el papel de la respuesta humoral en el control de la infección por el VIH¹⁹⁻²². Sin embargo, no existe prácticamente ninguna vacuna preventiva que no induzca anticuerpos neutralizantes y su carácter de marcador surrogado de protección está claramente demostrado en otras enfermedades²³⁻²⁵. Por lo tanto, *a priori* una vacuna preventiva frente al VIH debería inducir anticuerpos neutralizantes^{25,26}. La dificultad para conseguir anticuerpos neutralizantes y, sobre todo, para permitir su acción sobre una proteína que como la gp160 esconde los dominios de neutralización²⁷ es por tanto uno de los grandes desafíos planteados en la actualidad en el desarrollo de una vacuna frente al SIDA. Estudios recientes en que se define la estructura de los anticuerpos neutralizantes de amplio espectro, su mecanismo de acción y los epítomos de neutralización en el virus representan avances de gran importancia para comprender los mecanismos de neutralización y definir las características que deben tener los anticuerpos inducidos mediante vacunas²⁸⁻³².

Respuesta celular

En la infección por el VIH se produce una respuesta celular antiviral en las distintas poblaciones: linfocitos T colaboradores, linfocitos T citotóxicos (CTL) y células de estirpe NK. Sin embargo, la mayoría de los trabajos coinciden en que la respuesta CD4 y CD8 representa probablemente el mecanismo más importante de protección frente al VIH. El estudio de la respuesta citotóxica *in vitro* (CTL) ha demostrado que en los pacientes seropositivos existe una expansión clonal de linfocitos CD8 con actividad citotóxica^{33,34}. Esta respuesta celular es particularmente intensa en pacientes en estadio de primoinfección y su intensidad correlaciona con el control de la replicación viral^{35,36}. También se ha descrito una intensa respuesta CD4 y CD8 anti-VIH en algunos pacientes en el contexto de la reconstitución inmunitaria obtenida tras tratamiento antirretroviral, sobre todo en aquellos con una buena situación inmunológica antes de iniciar el tratamiento³⁷⁻³⁹, así como en pacientes con interrupciones estructuradas de tratamiento que controlan espontáneamente la replicación viral⁴⁰⁻⁴². Aunque es difícil concluir una relación causa-efecto entre la aparición de un tipo específico de respuesta inmunitaria y el control de la replicación viral todos los datos sugieren que las respuestas celulares helper y citotóxica son esenciales para contener la replicación viral en estadios precoces de la enfermedad en que existe una indemnidad relativa del sistema inmunitario³⁵⁻⁴². Experimentalmente los datos más concluyentes sobre el papel de la respuesta celular sobre el control de la replicación viral vienen de

trabajos en los que la depleción de linfocitos CD8 en macacos infectados con virus de la inmunodeficiencia del simio (VIS) origina un gran aumento de la viremia y aceleran la evolución a SIDA⁴³⁻⁴⁵.

Factores solubles

Sobrenadantes generados a partir de linfocitos contienen una actividad supresora de la infección por el VIH⁴⁶⁻⁴⁹. La descripción de que receptores frente a quimiocinas son a su vez correceptores frente a distintas cepas del VIH ha permitido caracterizar esta actividad supresora que corresponde principalmente a CC y CXCR4 quimiocinas como RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β y SDF-1^{50,51}.

Particularmente importante es el papel de SDF-1 en el bloqueo de la infección por determinadas variantes del VIH-1. Las células de los epitelios vaginal, endocervical y rectal y células dendríticas^{52,53}, producen grandes cantidades de esta quimiocina que actuaría bloqueando la propagación de variantes de tipo X4. Sin embargo la neutralización de quimiocinas no bloquea completamente la actividad supresora producida por linfocitos^{54,55} por lo que otros factores pueden estar implicados en este fenómeno. Recientemente se ha caracterizado una nueva familia denominada "defensinas"⁵⁶ que contribuyen a esta actividad supresora y es posible que en un futuro se encuentren otros factores con actividad antiviral.

Lecciones de los grupos de pacientes expuestos y no infectados y lentos progresores

Quizá los datos más interesantes sobre los mecanismos inmunes de protección frente al VIH *in vivo* se han obtenido del estudio de 2 grupos concretos de pacientes: aquellos sujetos altamente expuestos al VIH por vía sexual y que no resultan infectados (ENI) y los pacientes con una evolución particularmente lenta de la enfermedad en los que no existe deterioro inmunológico durante años (progresores lentos o LTNP).

Respuestas protectoras en pacientes ENI. Un grupo muy estudiado es un colectivo de prostitutas de Nairobi con un alto grado de resistencia –no absoluto– a la infección por el VIH. Estas mujeres presentan un haplotipo HLA particular (B35) que se asocia a una intensa respuesta CTL frente a distintas proteínas del VIH^{57,58}. Se ha descrito la infección de algunas de estas mujeres tras el abandono temporal de la prostitución, coincidiendo con una disminución de la respuesta CTL frente al VIH⁵⁹, lo que sugiere que esta respuesta protectora tiene una duración limitada en el tiempo.

Otro mecanismo independiente que ha sido descrito en algunos pacientes ENI es la secreción de IgA específica frente al VIH en secreciones vaginales⁶⁰. Este parámetro, muy complejo de determinar, se ha descrito en varios trabajos, incluyendo modelos animales de infección. Asimismo se ha demostrado *in vitro* que la IgA secretora aislada de mujeres altamente expuestas es capaz de bloquear la penetración del VIH por transcitos a través de los epitelios⁶¹.

Respuestas celulares en los pacientes LTNP. Los progresores lentos representan un grupo heterogéneo de pacientes con distintos mecanismos de protección frente a una evolución rápida o habitual de la infección por el VIH:

factores genéticos, infección por variantes defectivas o una respuesta inmunitaria especialmente eficaz^{62,63}. En muchos de estos sujetos los mecanismos efectores frente al VIH (en particular la actividad celular citotóxica [CD8] y colaboradora [CD4]) presentan una actividad muy superior a la encontrada en los pacientes que tienen una evolución rápida a SIDA⁶⁴⁻⁶⁷.

A partir de estos datos una vacuna preventiva debería ser capaz de inducir una respuesta humoral y celular especialmente vigorosa a nivel de mucosas mientras que una vacuna terapéutica debería orientarse a conseguir una intensa respuesta celular CD4 y CD8 frente a antígenos virales^{25,68}.

Mecanismos de escape viral

Cada familia de virus desarrolla una serie de mecanismos de escape para evitar su eliminación por la respuesta inmunitaria. Una vacuna tendrá que enfrentarse a los mismos mecanismos de escape y –para tener éxito– deberá inducir una serie de respuestas inmunológicas capaces de superarlos. En el caso del VIH estos mecanismos son especialmente sofisticados y representan un gran obstáculo para la obtención de una vacuna.

Variabilidad genética

La tasa de variabilidad del VIH es debida a la alta tasa de error de la transcriptasa inversa (una sustitución por 10^3 - 10^4 nucleótidos y ronda de copia). Esta falta de fidelidad genera una alta diversidad en las proteínas del virus que le permiten escapar al control de la respuesta inmunitaria específica⁶⁹⁻⁷². El VIH dispone por tanto de un mecanismo clásico de escape inmune frente al VIH común a los virus ARN en los que el alto índice de variabilidad les permite encontrar agujeros en el repertorio inmunológico.

A la variabilidad debida a la alta tasa de error de la transcriptasa inversa se añaden otros mecanismos como la recombinación genética que origina nuevos subtipos y virus “mosaico” entre distintos subtipos. Numerosos trabajos de epidemiología molecular han insistido en la rápida diseminación de variantes del VIH y han descrito la distribución de diversos subtipos o virus recombinantes en las distintas regiones del planeta⁷³⁻⁷⁴, lo que puede representar un obstáculo en el desarrollo de una vacuna universal^{75,76}.

Enmascaramiento de epítomos de neutralización

La estructura de la envuelta viral en su forma nativa oculta los dominios de interacción con los correceptores virales que únicamente son expuestos cuando se produce la unión a CD4²⁷. El enmascaramiento de los epítomos de neutralización explicaría la baja tasa de anticuerpos neutralizantes generados por los pacientes seropositivos. Por otra parte, los cambios conformacionales que exponen los dominios de neutralización se producen en el momento de interacción de las membranas viral y celular. En este contexto, la eficacia de los anticuerpos es menor dada su baja accesibilidad a los epítomos de neutralización.

Rapidez en el establecimiento de la infección

Tanto en modelos animales como en pacientes primoinfectados el establecimiento de la infección por el VIH después de su inoculación en el organismo por vía sexual es un proceso muy rápido⁷⁷. En unas horas se produce la

infección de las células linfoides de la submucosa vaginal y rectal y en 7 días la infección se ha propagado a ganglios linfáticos sistémicos en los que alcanza un nivel de carga viral y proviral similar al de la infección crónica⁷⁸. La rapidez de instauración de estos reservorios, antes de que la respuesta inmunitaria específica se desencadene es un obstáculo mayor para el control de la replicación viral, ya que el virus se establecerá en los linfocitos infectados en los que “persistirá” a pesar de una respuesta inmunitaria específica⁷⁹⁻⁸¹.

Latencia y reactivación

El VIH es capaz de infectar en forma latente sus células diana y mediante este mecanismo escapa de manera absoluta a la vigilancia inmunológica al no expresar productos virales en membrana^{82,83}. Por otra parte, los procesos de reactivación-reinfección se producen en los centros germinales de los órganos linfoides que presentan un microambiente celular idóneo para el proceso de infección: las células dendríticas portan en su membrana una lectina (DC-SIGN) que interacciona a la vez con los viriones y con los linfocitos facilitando su infección⁸⁴. El reconocimiento antigénico por parte de los linfocitos y la presencia de citocinas en este microambiente aumentan a su vez la infectividad de las células diana y la replicación viral⁸⁵. Se produce así un nicho altamente favorable para la propagación del VIH, su reactivación y también su persistencia⁸³. En confirmación de estos datos recientemente se ha demostrado que los clones linfocitarios CD4 específicos frente al VIH se infectan en una proporción más elevada, lo que conllevaría una inmunosupresión preferente de las respuestas específicas frente al VIH⁸⁶. Desde el punto de vista teórico no se debe considerar el compartimento proviral como estático. La generación continua de nuevas células latentemente infectadas a partir del compartimento de replicación viral activa genera un “archivo continuo” de los cambios del virus a lo largo de la enfermedad, incluyendo los genomas mutados de resistencia a tratamiento y las variantes de escape inmune. El VIH pues almacena su “historia” en las células latentemente infectadas, lo que constituye un formidable obstáculo no sólo para conseguir la erradicación, sino como mecanismo de escape tanto frente a tratamiento con antirretrovirales como vacunas⁸³⁻⁸⁷.

Prototipos de vacuna frente al virus de la inmunodeficiencia humana. Resultados experimentales

Virus atenuados

Las vacunas de virus atenuados son sin duda las más eficaces porque el patógeno realiza una serie limitada de ciclos de replicación y simula una infección a bajo nivel que induce todo el espectro de respuesta antiviral en un contexto fisiológico. En el caso de los lentivirus uno de los hallazgos más espectaculares fue el que demostró que una variante defectiva de VIS delecionada en el gen *NEF* y otros genes reguladores inducía una respuesta protectora frente al *challenge* con virus viables altamente agresivos⁸⁸⁻⁹³. Estos datos experimentales tuvieron una correlación natural en la Cohorte de Sydney. Con este nombre se designa a 14 pacientes que fueron infectados por vía sanguínea a partir de un donante seropositivo y que después de 12 años

de la infección presentaban un excelente estado clínico e inmunológico^{94,95}. El clonaje y caracterización del virus de estos pacientes y del donante demostró que presentaba deleciones en el gen *NEF* y en secuencias reguladoras críticas de la región 3'LTR^{96,97}. Estos hallazgos hicieron proponer la utilización de vacunas de virus atenuados VIH similares a los mutantes VIS defectivos⁹⁸. Sin embargo, es importante destacar que las vacunas atenuadas suelen utilizarse frente a virus que no se establecen de forma definitiva o, alternativamente, el virus atenuado no es capaz de persistir en el hospedador. Éste no era el caso para los virus defectivos en *NEF* que no sólo infectan al hospedador, sino que replican y persisten en el mismo, lo que conlleva un riesgo de reactivación o deriva a variantes más agresivas en el sujeto vacunado. Los primeros datos alarmantes vinieron de la vacunación de macacos recién nacidos en los que el virus inocuo en adultos inducía rápidamente una infección agresiva y la muerte por inmunodeficiencia⁹⁹. Por otra parte, el seguimiento prolongado de los pacientes de la cohorte de Sydney permitió objetivar en algunos sujetos un deterioro inmunológico y repuntes en la carga viral¹⁰⁰. De igual manera algunos macacos adultos vacunados con el virus VIS defectivo desarrollaron SIDA a partir del virus con el que habían sido vacunados que experimentó reversiones del fenotipo mutante¹⁰¹. Por estos motivos, la utilización de vacunas de virus defectivos frente al VIH se encuentra descartada en el momento actual y este abordaje se encuentra explícitamente excluido en las recomendaciones de las agencias reguladoras^{102,103}.

Virus inactivados

El empleo de virus inactivados ha sido un abordaje muy poco utilizado en los prototipos de vacunas preventivas¹⁰⁴. Por el contrario, éste es el modelo más ampliamente utilizado en las vacunas terapéuticas de las que el Remune es el prototipo. Estas preparaciones virales están compuestas por viriones completos o por partículas a las que se ha eliminado la envuelta, que posteriormente son inactivadas con formaldehído y que se administran en conjunción con adyuvante incompleto de Freund. Siguiendo esta estrategia se han desarrollado ensayos clínicos de vacunación terapéutica que se analizan en el apartado correspondiente.

Proteínas virales

Las primeras vacunas frente al VIH se basaron en el modelo de inmunización frente a la hepatitis B. Estas vacunas estaban compuestas por proteínas gp120 y gp160 recombinantes producidas por ingeniería genética o utilizando virus *Vaccinia* clásicos como vector de expresión. En los ensayos preclínicos y en los estudios de fase I y II el preparado fue seguro e indujo la síntesis de anticuerpos frente a la envuelta viral¹⁰⁵. Sin embargo, los anticuerpos inducidos fueron incapaces de neutralizar *in vitro* variantes de campo aisladas de pacientes^{106,107}. A pesar de las evidencias en contra de una vacuna de este tipo, se han continuado los ensayos con este tipo de preparado (véase más adelante)^{108,109}.

Otros ensayos han utilizado la proteína reguladora tat que en algunos estudios en macacos ha dado excelentes resultados de protección, aunque su papel sigue siendo controvertido¹¹⁰⁻¹¹⁵.

Péptidos virales

La utilización de péptidos aislados como vacuna no induce una respuesta protectora suficiente frente a numerosos microorganismos. Esto se debe a su baja potencia como inmunógenos considerados aisladamente y al hecho de que los anticuerpos no reconocen en muchos casos la estructura primaria de la secuencia de aminoácidos, sino estructuras secundarias y terciarias en las proteínas diana que no son simuladas por los péptidos. Por este motivo, los péptidos se utilizan por lo general en combinación con otras preparaciones de vacunas como vectores virales o ADN con el fin de inducir una inmunización complementaria¹¹⁶. Las ventajas de estas combinaciones es la baja toxicidad, la posibilidad de preparar *cocktails* de péptidos que cubran un abanico de aislados virales en aquellas proteínas que presentan una alta variabilidad y la utilización de "péptidos mixtos" que incluyen epítomos inmunodominantes T y B y que inducen una respuesta tanto humoral como celular.

Vectores microbianos

En estos sistemas se utilizan virus o bacterias en cuyo genoma se insertan genes del VIH de manera que sus proteínas son expresadas en el curso de la replicación de los vectores en la célula hospedadora. Los modelos más desarrollados son los que utilizan Poxvirus (*Vaccinia*, Canari-pox, Modified Ankara Virus/MVA)¹¹⁷⁻¹²⁰ y adenovirus¹²¹. Otros abordajes se buscan en nuevos sistemas virales (lenti-virus^{122,123}, fagos¹²⁴) y bacterianos (*Salmonella*, BCG recombinante^{125,126}). La ventaja de estos sistemas radica en que se pueden insertar varios genes virales y dada la replicación intracelular de los vectores se induce una fuerte expresión de las proteínas virales y una potente respuesta inmunitaria, sobre todo celular, frente a éstas. Los prototipos de vacunas en desarrollo actualmente incluyen los genes *GAG*, *POL*, *ENV* y *NEF* en distintas combinaciones¹¹⁷⁻¹²¹ y distintas estrategias de inmunización inicial y dosis de recuerdo. Este tipo de preparaciones han fracasado como vacunas preventivas en modelos animales ya que, por el momento, no han conseguido una inmunidad protectora, probablemente debido a que la respuesta humoral inducida frente a proteínas del VIH es errática y poco potente. Sin embargo, sí inducen una potente respuesta celular que hace que los niveles de carga viral se establezcan en niveles bajos (3 log menos que en el grupo control no vacunado)^{120,121}, por lo que se plantea su potencial utilidad para "atenuar" la infección transformando en el mejor de los casos posibles a los individuos vacunados en "supervivientes a largo plazo"¹²⁷. Se espera que los nuevos vectores como BCG, *Salmonella* y Poliovirus induzcan una mayor inmunidad humoral y celular a nivel de las mucosas al administrarse por vía oral, mejorando así la eficacia de estas vacunas.

Vacunas de ADN

La observación de que el "ADN desnudo" es capaz de inducir una respuesta inmunitaria frente a distintos virus en diferente modelos animales abrió un nuevo campo en el desarrollo de vacunas^{128,129}. En modelos de infección con VIS y virus de la inmunodeficiencia humana en simios (SHIV) se ha observado que al igual que con los vectores microbianos, la inmunización con ADN es capaz de inducir una respuesta inmunitaria que si bien no es protectora frente a la infección puede en muchos casos atenuar la replicación viral y los síntomas clínicos^{130,131}.

Nuevos adyuvantes

Los adyuvantes son preparados que potencian la respuesta inmunitaria de los antígenos vacunales mediante distintos mecanismos. Los adyuvantes clásicos como el de Freund son lisados bacterianos que al inducir una respuesta inflamatoria inespecífica "reclutan" células inmunes al sitio de la inyección. Otros como el ISCOM o los liposomas mejoran la presentación de antígenos¹³². Sin embargo, trabajos recientes han mostrado la eficacia del uso de interleucinas, especialmente las activadoras de respuestas de tipo Th1 (interleucinas 2 y 12) o quimiocinas (MCP) en la potenciación de la respuesta inducida por vacunas utilizando vectores virales o ADN desnudo¹³¹.

Situación actual de la vacuna frente al virus de la inmunodeficiencia humana

Vacunas preventivas

No se dispone de una vacuna preventiva frente a la infección por el VIH y en ningún modelo animal se ha conseguido la protección frente a la infección con las estrategias previamente descritas. En el momento actual el desarrollo de vacunas preventivas en seres humanos se centra en la utilización de vectores de expresión viral y bacteriana, ADN desnudo, o combinaciones de los mismos con péptidos recombinantes que abarquen un espectro

amplio de proteínas virales como dianas. En la tabla 2 se detallan los ensayos actualmente en curso y en la tabla 3 aquellos cuya introducción en fase clínica se prevé para los próximos años.

Los únicos ensayos en fase III son los basados en la utilización de gp160 del subtipo B o B/E en Estados Unidos y Tailandia^{108,109}. Como se ha comentado previamente su eficacia es muy dudosa, puesto que los anticuerpos inducidos son incapaces de inducir protección frente a aislados de pacientes *in vitro*¹⁰⁵⁻¹⁰⁷, pero será necesario esperar los análisis de eficacia para concluir sobre su validez.

Entre los protocolos más avanzados para su paso a la fase clínica de los nuevos prototipos de vacunas se encuentran el desarrollado por Aventis Pasteur en Uganda que utiliza un vector de tipo Canarypox para la expresión de proteínas estructurales del virus (fase I) y el recientemente anunciado protocolo de vacunación con ADN y MVA en Kenia bajo el control de la Universidad de Oxford^{133,134}.

Vacunas terapéuticas

El objetivo de las vacunas terapéuticas es potenciar la respuesta inmunitaria frente al VIH con el fin de que esta respuesta controle su replicación¹³⁵. Este abordaje fue contemplado con escepticismo por la comunidad científica, ya que no existía un fundamento claro que justificara el valor añadido de inmunizar con proteínas virales muy conservadas en pacientes que ya presentaban altos niveles

TABLA 2. Ensayos de vacunación preventiva frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)

Fecha de inicio	Vacuna	Subtipo	País	Número de voluntarios
Fase I/II				
1993	Péptido sintético MN-V3	B	China	23
1994	Péptido sintético MN-V3	B	Tailandia	24
	Péptido sintético MN-V3	B	Brasil	30
1995	Envuelta gp120	B	Tailandia	30
	Envuelta gp120	B	Tailandia	52
1996	Proteína recombinante	V3 B	Cuba	30
1997	Envuelta gp120	B, E, B/E	Tailandia	380
1998	Envuelta bivalente gp120	B/E	Tailandia	90
1999	Vector Canarypox	B	Uganda	40
2000	Inmunización-recuerdo			
	Canarypox + gp160 o gp120	E + E	Tailandia	130
	Inmunización-recuerdo			
	Canarypox + gp120	E + E, E + B/E	Tailandia	125
Fase III				
1999	Envuelta bivalente gp120	B/E	Tailandia	2.500

TABLA 3. Vacunas preventivas en investigación y desarrollo

País	Colaboradores	Patrocinadores	Vacuna
Uganda	Universidad Markere Universidad de Western Reserve	NIAID	Aventis Pasteur Canarypox
Kenya	Universidad de Nairobi, Oxford ITD, Cobra Pharmac.	IAVI	MVA y ADN
Sudáfrica	Universidad Natal, AlphaVax Universidad Ciudad de el Cabo	IAVI, NIAID	Virus encefalitis equina
Uganda	Universidad John Hopkins Universidad de Makerere	NIAID	Canarypox + gp120
Uganda	Instituto de Virología Humana	IAVI	Salmonella + ADN
Uganda	US Army	NIAID	Canarypox subtipo A
Sudáfrica	Universidad Ciudad del Cabo Universidad de Stellenboch Instituto Nacional de Virología	SABIH	BCG, MVA, ADN Vectores fúngicos

de replicación viral. Sin embargo, la introducción de las terapias potentes como el tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) ha abierto una nueva perspectiva en la utilización de este tipo de vacunas ya que en un contexto de supresión virológica y reconstitución inmune, su empleo podría potenciar la respuesta específica frente al VIH¹³⁶. Los datos publicados hasta el momento no son alentadores aunque la mayoría de los trabajos presentados son estudios abiertos con una gran heterogeneidad en cuanto al antígeno utilizado, las características de los pacientes y las condiciones de inmunización¹³⁷⁻¹⁴¹. La publicación por parte de los investigadores en contra del criterio de la compañía farmacéutica del primer ensayo controlado a doble ciego utilizando el inmunógeno Remune ha generado una gran polémica. En este estudio no se observa un beneficio clínico, inmunológico o virológico relevante de la inmunización terapéutica con Remune¹⁴². En un subestudio de este trabajo en que se analizó la respuesta anti-VIH en un grupo de pacientes se observó efectivamente una inducción de CTL específicos frente al VIH en los pacientes tratados con Remune respecto al grupo control. Sin embargo, ese aumento de la respuesta CTL no repercutió en un descenso de la carga viral ni en una mejoría clínica significativa. Por lo tanto, no parece que en el caso de las inmunizaciones terapéuticas dispongamos todavía de un marcador surrogado de eficacia. Sin embargo, otros autores obtienen una correlación en un subgrupo de pacientes entre inmunización con Remune, disminución moderada de la carga viral e inducción de respuestas celulares específicas frente a VIH¹⁴³. En resumen, los ensayos con Remune están muy cuestionados en la actualidad y se requieren más datos para concluir la eficacia de este tipo de preparaciones. En el campo de las vacunas terapéuticas se observa una tendencia creciente a utilizar los prototipos de vacunas preventivas en pacientes seropositivos con el fin de inducir respuestas inmunitarias específicas.

Algunos aspectos éticos y científicos planteados en el momento actual

La obtención de una vacuna contra el SIDA se ha convertido en un objetivo altamente prioritario a nivel mundial^{1-8,144}. Esto tiene aspectos muy positivos como la sensibilización social al problema del SIDA, el aumento de la inversión económica, la priorización de la investigación en vacunas y el desarrollo de nuevos abordajes en un momento en que conocemos mucho mejor que hace una década la patogenia de la enfermedad.

Es importante recordar que la demostración de la utilidad de una vacuna es un proceso largo y costoso. Por este motivo, un aspecto crítico es definir las estrategias a utilizar en las distintas fases de desarrollo de una vacuna: tipos de vacunas, objetivos de éstas, diseño experimental, modelos animales, análisis preclínico y en el laboratorio, estudios en fase I y II y requerimientos e infraestructura para iniciar estudios en fase III. Dada la prioridad sanitaria, social y política, la investigación sobre este tema está sometida en ocasiones a fuertes debates extracientíficos como la presión social por parte de los afectados, la presión política por parte de las organizaciones internacionales y los países devastados por la epidemia y la presión económica por parte de las compañías farmacéuticas¹⁴⁵. Aunque algunas de estas

motivaciones son comprensibles dada la gravedad de la situación, estas actitudes pueden también distorsionar el proceso científico. Tampoco hay que olvidar que los mensajes científicos sobre este tema han sido en muchas ocasiones contradictorios. Mientras que en una parte de la comunidad científica existían –y existen todavía– dudas sobre si la consecución de una vacuna frente al VIH será posible, por otro sector del mundo científico se han realizado –y se siguen realizando– una serie de declaraciones basadas más en el deseo que en la realidad de los datos científicos. Valga como ejemplo recurrente el poner fecha a la obtención de una vacuna. Afirmar como se viene haciendo desde hace 20 años que “en cinco, seis o siete años tendremos una vacuna contra el SIDA” es una afirmación sin sentido y que genera falsas expectativas. De hecho, ya existen al menos 25 prototipos de vacunas, pero es imposible predecir si serán o no eficaces y mucho menos poner fecha a este desafío.

A continuación se resumen las que siguen siendo las preguntas clave sobre la vacuna del SIDA.

¿Es posible una vacuna frente a la infección por el VIH y qué podemos esperar de la misma?

Algunos científicos dudan de que sea posible conseguir una vacuna eficaz frente a la infección por el VIH. El motivo es la dificultad en alcanzar lo que se ha definido como “inmunidad esterilizante” frente a retrovirus. Si se analizan los mecanismos de acción de las vacunas, en la mayoría de los casos las vacunas no consiguen una “inmunidad esterilizante”, ya que no impiden la infección sino el establecimiento de la misma y el desarrollo de enfermedad: el patógeno infecta, pero la respuesta inmunitaria impide su propagación y destruye las células infectadas, contribuyendo así a erradicar la infección. En el caso de la infección por VIS y VIH sabemos que, tras el primer inóculo, la infección se establece en un período muy corto de tiempo infectando un reservorio importante de células en el sistema linfático^{77,78}. En algunas de las células inicialmente infectadas el virus se replica activamente⁷⁹⁻⁸¹ pero en otras permanece en un estado de latencia integrado en el genoma de la célula huésped⁸¹⁻⁸³. Es por tanto posible que a pesar de la respuesta inmunitaria inducida por una vacuna el virus pueda “establecerse” en los reservorios y desde allí replicar de forma persistente.

¿Qué objetivos debe alcanzar una vacuna frente al SIDA?

Un aspecto especialmente debatido es el “objetivo final” de la vacuna: si no es posible inducir una “inmunidad esterilizante” que evite la infección, puede bastar una respuesta inmunitaria capaz de controlar el nivel de replicación viral a niveles lo suficientemente bajos para que no se produzca la destrucción del sistema inmune. El objetivo no sería tanto evitar la infección como atenuarla, de manera que los pacientes infectados se transformen en “supervivientes a largo plazo” capaces de convivir con el virus.

Otro aspecto debatido es el nivel de protección que debe “exigirse” a la vacuna. Frente a la alta eficacia de protección de la mayoría de las vacunas (superior al 90% de los vacunados) en distintos foros se plantean como “suficientes” tasas parciales de protección situadas en torno al 25-40%¹⁴⁶⁻¹⁴⁸.

Esta rebaja en las exigencias de una vacuna frente al VIH son discutibles. Por una parte es dudoso que a medio o largo plazo la “atenuación de la infección” sea un fenómeno definitivo. Tanto en los modelos animales como en los casos aislados en que se ha producido una infección por virus defectivos a largo plazo ese virus aumenta su virulencia. Por otra parte, es cierto que el establecimiento de un *set point* bajo de carga viral tras la primoinfección es un factor de buen pronóstico a medio plazo, pero esto no garantiza que los pacientes que presentan bajos niveles de carga viral tras la vacunación se comporten como supervivientes a largo plazo.

El que la eficacia “suficiente” de una vacuna se sitúe por algunos científicos en torno al 30-40% de protección es también criticable. Quizá pueda considerarse una postura realista e, incluso, en determinadas tasas de prevalencia en determinados grupos de riesgo una vacuna de este tipo puede ser eficaz, pero se desconoce a medio plazo su impacto real en la evolución de la epidemia. No hay que olvidar que uno de los mecanismos de eficacia de las vacunas es el derivado de su “impacto poblacional” al disminuir la prevalencia de la infección y, en consecuencia, la posibilidad de transmisión del patógeno en la población general. Este factor poblacional no existiría con las tasas de protección propuestas.

Vacuna universal o vacuna “a la carta”: el problema de la variabilidad

Algunos autores sugieren que esta variabilidad en subtipos representa un obstáculo mayor para el desarrollo de una vacuna universal y que deberían fabricarse vacunas *ad hoc* basadas en los subtipos circulantes en cada región⁷³⁻⁷⁶. Sin embargo, los nuevos prototipos de vacunas utilizan varios genes virales (*ENV*, *GAG*, *POL*, *TAT*) como dianas¹¹⁰⁻¹²¹. Algunos de estos genes virales tienen una variabilidad mucho menor que la envuelta y están relativamente conservados entre subtipos, por lo que no se puede descartar la inducción de una respuesta inmunitaria capaz de neutralizar otros subtipos virales. De hecho, distintos trabajos demuestran que la respuesta celular inducida por la vacunación frente a un subtipo concreto del VIH es capaz de actuar frente a otros subtipos¹⁴⁹⁻¹⁵². Sin embargo, la inducción de anticuerpos neutralizantes de amplio espectro sigue representando un desafío no resuelto²². En este campo se da una paradoja: por una parte se ha demostrado que el escape viral a la presión de los anticuerpos es muy rápida en un paciente determinado¹⁹, por lo que el virus puede potencialmente escapar frente a la respuesta inmunitaria inducida por vacunas específicas de subtipo; por otra parte, algunos pacientes presentan anticuerpos neutralizantes que actúan sobre un amplio repertorio de aislados virales²⁶. El estudio y la caracterización de los mecanismos de acción de estos anticuerpos que se están realizando en la actualidad y las nuevas técnicas de determinación de epítomos inmunogénicos hacen viable que en un futuro próximo se puedan diseñar antígenos capaces de inducir este tipo de anticuerpos de amplio espectro²⁷⁻³².

¿Cómo, cuándo y dónde se va a evaluar la eficacia de las distintas vacunas?

La eficacia de una vacuna frente al SIDA ha de evaluarse forzosamente en poblaciones que tengan una elevada tasa de

ataque de la infección con el fin de poder obtener diferencias significativas entre los grupos control y vacunado en el período más corto posible. Esto hace que prácticamente todos los ensayos se realicen en África y el sudeste asiático, países en los que la seroconversión anual en las zonas más afectadas se sitúa alrededor del 1% en la población adulta^{8,153-155}.

La realización de estos ensayos en países en vías de desarrollo plantea las siguientes cuestiones:

1. Es indispensable que los estudios cumplan todos los requisitos éticos y que los pacientes tengan garantizados sus derechos¹⁵⁶⁻¹⁵⁸.
2. Las vacunas ensayadas deben haber satisfecho los requerimientos científicos y médicos de potencia y seguridad exigible a todo medicamento que se va a introducir en un ensayo en seres humanos¹⁵⁹.
3. Los ensayos de vacunas, sobre todo si se plantea un estudio en fase III, requieren una infraestructura de seguimiento de gran envergadura. Por lo tanto, es indispensable desarrollar estructuras sanitarias que garanticen el control de los pacientes. Sin este requisito el análisis de resultados puede resultar sesgado y/o incompleto y la obtención de conclusiones imposible¹⁶⁰.
4. Una reivindicación exigida por gobiernos y organizaciones sanitarias es la de que en el caso de que una vacuna se revele eficaz, debe garantizarse el acceso gratuito a la misma del país que ha participado en su evaluación.

Estos planteamientos parecen evidentes pero en la realidad hay puntos de vista muy diferentes debido a la gravedad del problema y a la presión social que esto conlleva. Así, una corriente de opinión propugna el inicio “cuanto antes” de ensayos en seres humanos sin esperar la confirmación definitiva sobre la eficacia potencial de una preparación vacunal en modelos animales o en voluntarios sanos. Otros grupos adoptan posturas más cautas y argumentan que la toma de decisiones precipitadas con productos no lo bastante validados entraña el riesgo cierto de que muchos de los ensayos no aporten nada más que confusión al conocimiento sin modificar la evolución de la epidemia¹⁶¹.

La historia de las vacunas se define en dos palabras: “empirismo” y “éxito”. Ninguna intervención ha salvado tantas vidas a lo largo de la historia de la medicina como las vacunas. En muchas ocasiones –casi todas– estos éxitos fueron el fruto del empirismo más descarnado. Sin embargo, el momento actual de desarrollo científico y de las exigencias éticas de los ensayos clínicos, la experimentación de una vacuna contra el SIDA no puede basarse en el empirismo como base del éxito. Sobre todo cuando las características biológicas de los retrovirus hacen que la consecución de una vacuna contra el SIDA siga siendo un objetivo lleno de incertidumbres.

En conclusión, en los últimos 5 años el estado de desarrollo de una vacuna frente al SIDA ha cambiado radicalmente debido a distintos factores: el devastador crecimiento de la epidemia, la sensibilización social, la inversión económica y muy especialmente la mejor comprensión de la patogenia de la enfermedad permiten abordar con medios y de forma racional este desafío. Sólo el esfuerzo científico combinado con un esfuerzo solidario sin precedentes en la historia permitirá concluir si es posible una vacuna frente al VIH y si

su aplicación será suficiente para frenar la actual pandemia de SIDA.

Bibliografía

- Nossal GJV. The Global Alliance for Vaccines and Immunization: A millennial challenge. *Nature Immunol* 2000;1:1-8.
- Abdool-Karim SS. Globalization, ethics, and AIDS vaccines. *Science* 2000;288:2129.
- Esparza J, Bhamarapravati N. Accelerating the development and future availability of HIV-1 vaccines: Why, when, where, and how? *Lancet* 2000; 355:2061-6.
- Nabel GJ. Challenges and opportunities for development of an AIDS vaccines. *Nature* 2001;410:1002-6.
- Corey L. HIV preventive vaccines: Science and politics. XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 143].
- Piot P. Global AIDS Epidemic: Time to Turn the Tide. *Science* 2000;228: 2176-8.
- Cohen J. South Africa's New Enemy. *Science* 2000;228:2168-70.
- WHO. UNAIDS report on the global HIV/AIDS epidemic. Genève: WHO, 2002.
- Zinkernagel R and Doherty P. MHC-restricted cytotoxic T-cells: Studies on the biological role of major transplantation antigens determining T-cell restriction-specificity, function and responsiveness. *Adv Immunol* 2000;27: 51-177.
- Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, Donald J. *Inmunobiología. El sistema inmunitario en condiciones de salud y enfermedad.* Barcelona: Masson, 2000.
- Fields BN, Knipe DM, Howley PM. *Virology.* Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996.
- Robert-Guroff M, Brown M, Gallo RC. HTLV-III-neutralizing antibodies in patients with AIDS and AIDS-related complex. *Nature* 1985;316:72-4.
- Nabel GJ, Sullivan J. Antibodies and Resistance to Natural HIV Infection *N Engl J Med* 2000;343:17-9.
- Bandrés JC, Zolla-Pazner S. Inmunidad humoral en la infección por el VIH. En: González J, Moreno S, Rubio R, editors. *Infección por el VIH 1999.* Madrid: Doyma, 1999.
- Igarashi T. Human immunodeficiency virus type 1 neutralizing antibodies accelerate clearance of cell-free virions from blood plasma. *Nat Med* 1999;5: 211-6.
- Shibata R. Neutralizing antibody directed against the HIV-1 envelope glycoprotein can completely block HIV-1/SIV chimeric virus infections of macaque monkeys. *Nat Med* 1999;5:204-10.
- Mascola JR, Stiegler G, VanCott TC, Katinger H, Carpenter CB, Hanson CE, 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;6:207-10.
- Baba TW, Liska V, Hofmann-Lehmann R, Vlasak J, Xu W, Ayejunie S, et al. Human neutralizing monoclonal antibodies of the IgG1 subtype protect against mucosal simian-human immunodeficiency virus infection. *Nat Med* 2000;6:200-6.
- Richman DD, Wrin T, Little S, Petropoulos C. Rapid evolution of the neutralizing antibody response following primary HIV infection. XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 1051].
- Robinson HL, Montefiori DC, Johnson RP, Manson KH, Kalish ML, Lifson JD, et al. Neutralizing antibody-independent containment of immunodeficiency virus challenges by DNA priming and recombinant pox virus booster immunizations. *Nat Med* 1999;5:526-34.
- Poignard P. Neutralizing antibodies have limited effects on the control of established HIV-1 infections in vivo. *Immunity* 1999;10:431-8.
- Moore JP, Burton DR. HIV-1 neutralizing antibodies: How full is the bottle? *Nat Med* 1999;5:142-4.
- Sattentau Q. Neutralization of HIV-1 by antibody. *Curr Opin Immunol* 1996;8:540-5.
- Burton DR. A vaccine for HIV type 1: The antibody perspective. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:10018-23.
- Burton DR. Opinion: Antibodies, viruses and vaccines. *Nat Rev Immunol* 2002;2:706-13.
- Burton D. Human neutralizing antibodies and a vaccine for HIV-1. XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 201].
- Wyatt R, Sodroski J. The HIV-1 envelope glycoproteins: Fusogens, antigens, and immunogens. *Science* 1998;280:1884-8.
- Desrosiers R. Factors that determine neutralization resistance of SIV: Are there lessons to be learned on how to elicit antibodies with broadly neutralizing activity against primary isolates of HIV-1 XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 209].
- Scanlan CN, Pantophlet R, Wormald MR, Ollmann Saphire E, Stanfield R, Wilson IA, et al. The broadly neutralizing anti-human immunodeficiency virus type 1 antibody 2G12 recognizes a cluster of alpha1- > 2 mannose residues on the outer face of gp120. *J Virol* 2002;76:7306-21.
- Moulard M, Phogat SK, Shu Y, Labrijn AF, Xiao X, Binley JM, et al. Broadly cross-reactive HIV-1-neutralizing human monoclonal Fab selected for binding to gp120-CD4-CCR5 complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99: 6913-8.
- Zwick MB, Wang M, Poignard P, Stiegler G, Katinger H, Burton DR, et al. Neutralization synergy of human immunodeficiency virus type 1 primary isolates by cocktails of broadly neutralizing antibodies. *J Virol* 2001;75: 12198-208.
- Zwick MB, Labrijn AF, Wang M, Spencehauer C, Saphire EO, Binley JM, et al. Broadly neutralizing antibodies targeted to the membrane-proximal external region of human immunodeficiency virus type 1 glycoprotein gp41. *J Virol* 2001;75:10892-905.
- McMichael AJ, Rowland-Jones SL. Cellular immune responses to HIV. *Nature* 2001;410:980-7.
- Ogg GS, Jin X, Bonhoeffer S, Dunbar RP, Nowak MA, Monard S, et al. Quantitation of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and plasma load of viral RNA. *Science* 1998;279:2103-6.
- Rosenberg ES, Billingsley JM, Caliendo AM, Boswell SL, Sax PE, Kalams SA, et al. Vigorous HIV-1-specific CD4+ T cell responses associated with control of viremia. *Science* 1997;278:1447-50.
- Rosenberg ES, Altfeld M, Poon SH, Phillips MN, Wilkes BM, Eldridge RL, et al. Immune control of HIV-1 after early treatment of acute infection. *Nature* 2000;407:523-6.
- Ghanekar SA, Stranford SA, Ong JC, Walker JM, Maino VC, Levy JA. Decreased HIV-specific CD4 T cell proliferation in long-term HIV-infected individuals on antiretroviral therapy. *AIDS* 2001;15:1885-7.
- Pitcher CJ. HIV-1-specific CD4+ T cells are detectable in most individuals with active HIV-1 infection, but decline with prolonged viral suppression. *Nature Med* 1999;5:518-25.
- Gray CM. Frequency of class I HLA-restricted anti-HIV CD8+ T cells in individuals receiving highly active antiretroviral therapy (HAART). *J Immunol* 1999;162:1780-8.
- Ortiz GM, Nixon DF, Trkola A. HIV-1-specific immune responses in subjects who temporarily contain virus replication after discontinuation of highly active antiretroviral therapy. *J Clin Invest* 1999;104:R13-8.
- Garcia F, Plana M, Vidal C, Cruceta A, O'Brien WA, Pantaleo G, et al. Dynamics of viral load rebound and immunological changes after stopping effective antiretroviral therapy. *AIDS* 1999;13:F79-86.
- Richman D. The challenge of immune control of immunodeficiency virus. *J Clin Invest* 1999;104:677-8.
- Musey L, Hughes J, Schacker T, Shea T, Corey L, McElrath MJ. Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8+ lymphocytes. *Science* 1999;283:857-60.
- Jin X, Bauer DE, Tuttleton SE, Lewin S, Gettie A, Blanchard J, et al. Dramatic rise in plasma viremia after CD8(+) T cell depletion in simian immunodeficiency virus-infected macaques. *J Exp Med* 1999;189:991-8.
- Metzner KJ, Jin X, Lee FV, Gettie A, Bauer DE, Di Mascio M, et al. Effects of in vivo CD8(+) T cell depletion on virus replication in rhesus macaques immunized with a live, attenuated simian immunodeficiency virus vaccine. *J Exp Med* 2000;191:1921-31.
- Walker CM, Moody DJ, Stites DP, Levy JA. CD8+ lymphocytes can control HIV infection *in vitro* by suppressing virus replication. *Science* 1986;234: 1563-6.
- Yang OO, Kalams SA, Trocha A, Cao H, Luster A, Johnson RP, et al. Suppression of human immunodeficiency virus type 1 replication by CD8+ cells: Evidence for HLA class I-restricted triggering of cytolytic and noncytolytic mechanisms. *J Virol* 1997;71:3120-8.
- Mackewicz CE, Blackburn DJ, Levy JA. CD8+ T cells suppress human immunodeficiency virus replication by inhibiting viral transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:2308-12.
- Le Borgne S, Fevrier M, Callebaut C. CD8(+)-Cell antiviral factor activity is not restricted to human immunodeficiency virus (HIV)-specific T cells and can block HIV replication after initiation of reverse transcription. *J Virol* 2000;74:4456-64.
- Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Arya SK, Gallo RC, Lusso P. Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science* 1995;270:1811-5.
- Oberlin E, Amara A, Bachelier F. The CXC chemokine SDF-1 is the ligand for LESTR/fusin and prevents infection by T-cell-line-adapted HIV-1. *Nature* 1996;382:833-5.
- Agace WW, Amara A, Roberts AI. Constitutive expression of stromal derived factor-1 by mucosal epithelia and its role in HIV transmission and propagation. *Curr Biol* 2000;10:325-8.
- Bermejo M, Martin Serrano J, Alonso J, Pablos JL, Gamallo C, Arenzana F, et al. SDF-1 production by dendritic cells and regulation of CXCR4 in T

- lymphocytes. XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 1137].
54. Barker E, Bossart KN, Levy JA. Primary CD8+ cells from HIV-infected individuals can suppress productive infection of macrophages independent of beta-chemokines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:1725-9.
 55. Lacey SF, McDanal CB, Horuk R, Greenberg ML. The CXC chemokine stromal cell-derived factor I is not responsible for CD8+ T cell suppression of syncytia-inducing strains of HIV-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94: 9842-7.
 56. Zhang L, Yu W, He T, Yu J, Caffrey RE, Dalmasso E, et al. Contribution of human α -Defensin-1, -2 and -3 to the anti-HIV activity of CD8 antiviral factor. *Science*. 2002 Sep 26 [epub ahead of print. www.sciencexpress.org.]
 57. Rowland-Jones S, Sutton J, Ariyoshi K, Dong T, Gotch F, McAdam S, et al. HIV-specific cytotoxic T-cells in HIV-exposed but uninfected Gambian women. *Nat Med* 1995;1:59-64.
 58. Kaul R, Rowland-Jones S, Kimani J, Fowke K, Dong T, Kiama P, et al. New insights into HIV-1 specific cytotoxic T-lymphocyte responses in exposed, persistently seronegative Kenyan sex workers. *Immunol Lett* 2001;79:3-13.
 59. Kaul R, Rowland-Jones SL, Kimani J, Dong T, Yang HB, Kiama P, et al. Late seroconversion in HIV-resistant Nairobi prostitutes despite pre-existing HIV-specific CD8+ responses. *J Clin Invest* 2001;107:341-9.
 60. Mazzoli S, Trabattoni D, Lo Caputo S, Clerici M. HIV-specific mucosal and cellular immunity in HIV-seronegative partners of HIV-seropositive individuals. *Nature Med* 1997;3:1250-7.
 61. Devito C, Broliden K, Kaul R, Stevensson L, Johansen K, Kiama P, et al. Mucosal and Plasma IgA from HIV-1-Exposed Uninfected Individuals Inhibit HIV-1 Transcytosis Across Human Epithelial Cells *J Immunol* 2000;165:5170-6.
 62. Cao Y, Quin L, Safrit J. Virologic and immunologic characterization of the long term survivors of HIV-1 infection. *N Engl J Med* 1995;332:201-8.
 63. Pantaleo G, Menzo S, Vaccarezza M. Studies in subjects with long-term non progressive HIV infection. *N Engl J Med* 1995;332:209-16.
 64. Rinaldo C, Huang XL, Fan ZF, Ding M, Beltz L, Logar A, et al. High levels of anti-human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) memory cytotoxic T-lymphocyte activity and low viral load are associated with lack of disease in HIV-1-infected long-term nonprogressors. *J Virol* 1995;69:5838-42.
 65. Klein, MR, Van Baalen CA, Holwerda AM, Kerkhof SR, Garde RJ, Bende IP et al. Kinetics of Gag-specific cytotoxic T lymphocyte responses during the clinical course of HIV-1 infection: A longitudinal analysis of rapid progressors and long-term asymptomatics. *J Exp Med* 1995;181:1365-72.
 66. Musey L, Hughes J, Schacker T, Shea T, Corey L, McElrath MJ. Cytotoxic-T-cell responses, viral load, and disease progression in early human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* 1997;337:1267-74.
 67. Autran B. Immune responses in long term non progressors. Lessons for Immune Reconstitution XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 199].
 68. Brander C, Walker BD. T lymphocyte responses in HIV-1 infection: Implications for vaccine development. *Curr Opin Immunol* 1999;11:451-9.
 69. Pantaleo G, Soudeyns H, Demarest F. Evidence for a rapid disappearance of initially expanded HIV-specific CD8+ T cell clone during primary HIV infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:9848-53.
 70. Goulder PJ, Altfeld MA, Rosenberg ES, Nguyen T, Tang Y, Eldridge RL, et al. Substantial differences in specificity of HIV-specific cytotoxic T cells in acute and chronic HIV infection. *J Exp Med* 2001;193:181-94.
 71. Ghanekar SA, Stranford SA, Ong JC, Walker JM, Maino VC, Levy JA. Decreased HIV-specific CD4 T cell proliferation in long-term HIV-infected individuals on antiretroviral therapy. *AIDS* 2001;15:1885-7.
 72. O'Connor D, Hallen TM, Vogel TU, Jing P, DeSouza IP, Dodds E, et al. Acute phase cytotoxic T lymphocyte escape is a hallmark of simian immunodeficiency virus infection. *Nature Med* 2002;8:493-9.
 73. Holguin A, Rodes B, Soriano V. Recombinant human immunodeficiency viruses type 1 circulating in Spain. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000;16: 505-11.
 74. Thomson MM, Villahermosa ML, Vazquez-de-Parga E. Widespread circulation of a B/F intersubtype recombinant form among HIV-1-infected individuals in Buenos Aires, Argentina. *AIDS* 2000;14:897-9.
 75. Van der Groen G, Nyambi PN, Beirnaert E, Davis D, Franssen K, Heyndrickx L, et al. Genetic variation of HIV type 1: Relevance of interclade variation to vaccine development. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998;14(Suppl 3):S211-21.
 76. Workshop Report from the European Commission (DG XII, INCO-DC) and the Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. HIV-1 subtypes: Implications for epidemiology, pathogenicity, vaccines and diagnostics. *AIDS* 1997;11:UNAIDS17-UNAIDS36.
 77. Stahl-Hennig C, Steinman RM, Tenner-Racz K, Pope M, Stolte N, Mätz-Rensing K, et al. Rapid infection of oral mucosal-associated lymphoid tissue with simian immunodeficiency virus. *Science* 1999;285:1261-5.
 78. Haase AT. Population biology of HIV-1 infection: Viral and CD4+ T cell demographics and dynamics in lymphatic tissues. *Annu Rev Immunol* 1999; 17:625-56.
 79. Zhang L, Ramratnam B, Tenner-Racz K, He Y, Vesanan M, Lewin S, et al. Quantifying Residual HIV-1 Replication in Patients Receiving Combination Antiretroviral Therapy. *N Engl J Med* 1999;340:1605-13.
 80. Furtado MR, Callaway DS, Phair JP, Kunstman KJ, Stanton JL, Macken CA, et al. Persistence of HIV-1 Transcription in Peripheral-Blood Mononuclear Cells in Patients Receiving Potent Antiretroviral Therapy. *N Engl J Med* 1999;340:1614-22.
 81. Pomerantz RJ. Residual HIV-1 Disease in the Era of Highly Active Antiretroviral Therapy. *N Engl J Med* 1999;340:1625.
 82. Finzi D, Blankson J, Siliciano JD, Margolick JB, Chadwick K, Pierson T, et al. Latent infection of CD4+ T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. *Nat Med* 1999;5:512-7.
 83. Blankson JN, Persaud D, Siliciano RF. The challenge of viral reservoirs in HIV-1 infection. *Annu Rev Med* 2002;53:557-93.
 84. Geijtenbeek TB, Kwon DS, Torensma R, Van Vliet SJ, Van Duynhoven GC, Middel J, et al. DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell* 2000;100:587-97.
 85. Förster R, Schubel A, Breitfeld D, Kremmer E, Renner-Müller I, Wolf E, et al. CCR7 Coordinates the Primary Immune Response by Establishing Functional Microenvironments in Secondary Lymphoid Organs. *Cell* 1999; 99:23-33.
 86. Douek DC, Brenchley JM, Betts MR, Ambrozak DR, Hill BJ, Okamoto Y, et al. HIV preferentially infects HIV-specific CD4+ T cells. *Nature* 2002;417: 95-8.
 87. Siliciano R. Prospects for eradication or Long-Term control of HIV infection. XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 103].
 88. Daniel MD, Kirchoff F, Czajak SC, Sehgal PK, Desrosiers RC. Protective effects of a live attenuated SIV vaccine with a deletion in the nef gene. *Science* 1992;258:1938-41.
 89. Murphey-Corb ML. Inactivated whole SIV vaccine confers protection in macaques. *Science* 1989;246:1293-7.
 90. Almond N, Rose J, Sangster R, Silvera P, Stebbings B, Walker, et al. Mechanisms of protection induced by attenuated simian immunodeficiency virus. Protection cannot be transferred by human serum. *J Gen Virol* 1997;78:1919-22.
 91. Gauduin MC, Glickman RL, Means R, Johnson RP. Inhibition of simian immunodeficiency virus (SIV) replication by CD8+ T lymphocytes from macaques immunized with live attenuated SIV. *J Virol* 1998;72:6315-24.
 92. Johnson RP, Glickman RL, Yang JQ, Kaur A, Dion JT, Mulligan MJ, et al. Induction of vigorous cytotoxic T-lymphocyte responses by live attenuated simian immunodeficiency virus. *J Virol* 1997;71:7711-8.
 93. Desrosiers RC, Lifson JD, Gibbs JS, Czajak SC, Howe AY, Arthur LO, et al. Identification of highly attenuated mutants of simian immunodeficiency virus. *J Virol* 1998;72:1431-7.
 94. Learmont JC, Geczy AF, Mills J, Ashton LJ, Raynes-Greenow CH, Garsia RJ, et al. Immunologic and virologic status after 14 to 18 years of infection with an attenuated strain of HIV-1: A report from the Sydney Blood Bank Cohort *N Engl J Med* 1999;340:1715-21.
 95. Dyer WB, Ogg GS, Demoitie MA. Strong human immunodeficiency virus (HIV-) specific cytotoxic T-lymphocyte activity in Sydney Blood Bank Cohort patients infected with nef-defective HIV type 1. *J Virol* 1999;73: 436-43.
 96. Deacon NJ, Tsykin A, Solomon A, et al. Genomic structure of an attenuated quasi species of HIV-1 from a blood transfusion donor and recipients. *Science* 1995;270:988-91.
 97. Oelrichs R, Tsykin A, Rhodes D, Solomon A, Ellet A, McPhee D, et al. Genomic sequence of HIV type 1 from four members of the Sydney Blood Bank Cohort of long-term nonprogressors. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998;14: 811-914.
 98. Desrosiers RC. Yes, it is time to consider use of a live-attenuated virus vaccine against HIV-1. En: *Controversies in science: A live-virus AIDS vaccine?* *J NIH Res* 1994;6:1-4.
 99. Baba TW, Liska V, Khimani AH. Live-attenuated, multiply deleted SIV causes AIDS in infants and adult macaques. *Nat Med* 1995;5:194-203.
 100. Greenough TC, Sullivan L, Desrosiers RC. Declining CD4 T-cell counts in a person infected with nef-deleted HIV-1. *N Engl J Med* 1999;340:236-7.
 101. Sawai ET, Hamza MS, Ye M, Shaw KE, Luciw PA. Pathogenic conversion of live attenuated SIV vaccine is associated with expression of truncated Nef. *J Virol* 2000;74:2038-45.
 102. Ruprecht RM, Baba TW, Liska V, Ayehunie S, Andersen J, Montefiori DC, et al. Attenuated HIV vaccine: Caveats. *Science* 1996;271:1790-2.
 103. Cohen J. Weakened SIV vaccine still kills. *Science* 1997;278:24-5.
 104. Murphey-Corb ML. Inactivated whole SIV vaccine confers protection in macaques. *Science* 1989;246:1293-47.
 105. Francis DP, Gregory T, McElrath MJ. Advancing AIDSvax to phase 3. Safety, immunogenicity, and plans for phase 3. *AIDS Res Hum retroviruses* 1998;14:25-31.
 106. Mascola JR, Snyder SW, Weislow OSI. 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* 1996;173:34-48.
107. Bolognesi DP, Matthews TJ. HIV vaccines. Viral envelope fails to deliver? *Nature* 1998;391:38-9.
 108. Nitayaphan S, Brown AE. Preventive HIV vaccine development in Thailand. *AIDS* 1998;S1:55-61.
 109. Berman PW, Huang W, Riddle L. Development of bivalent (B/E) vaccines able to neutralize CCR5-dependent viruses from the United States and Thailand. *Virology* 1999;265:1-917.
 110. Gallo RC. Tat as one key to HIV-induced immune pathogenesis and Tat toxoid as an important component of a vaccine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:8324-6.
 111. Cafaro A, Caputo A, Fracasso C, Maggiorella MT, Goletti D, Baroncelli S, et al. Control of SHIV-89.6P-infection of cynomolgus monkeys by HIV-1 Tat protein vaccine. *Nat Med* 1999;5:643-50.
 112. Caselli E, Betti M, Grossi MP, Balboni PG, Rossi C, Boarini C, et al. DNA immunization with HIV-1 tat mutated in the trans activation domain induces humoral and cellular immune responses against wild-type Tat. *J Immunol* 1999;162:5631-8.
 113. Osterhaus AD, Van Baalen CA, Gruters RA, Schutten M, Siebelink CH, Hulskotte EG, et al. Vaccination with Rev and Tat against AIDS. *Vaccine* 1999;17:2713-4.
 114. Gringeri A, Santagostino E, Muça-Perja M, Le Buanec H, Bizzini B, Lachgar A, et al. Tat toxoid as a component of a preventive vaccine in seronegative subjects. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1999;20: 371-5.
 115. Pauza CD, Trivedi P, Wallace M, Ruckwardt TJ, Le Buanec H, Lu W, et al. Vaccination with tat toxoid attenuates disease in simian/HIV-challenged macaques. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:3515-9.
 116. Bukawa H, Sekigawa K, Hamajima K, Fujushima J, Yamada Y, Kiyono H, et al. Neutralization of HIV-1 by secretory IgA induced by oral immunization with a new macromolecular multicomponent peptide vaccine candidate. *Nature Med* 1995;1:681-5.
 117. Evans TG, Keefer MC, Weinhold KJ, Wolff M, Montefiori D, Gorse GJ, et al. A canarypox vaccine expressing multiple human immunodeficiency virus type 1 genes given alone or with rgp120 elicits broad and durable CD8+ cytotoxic T lymphocyte responses in seronegative volunteers. *J Infect Dis* 1999;180:290-308.
 118. Tartaglia J, Excler J-L, El Habib R, Limbach K, Meignier B, Plotkin S, et al. Canarypox virus-based vaccines: Prime-boost strategies to induce cell-mediated and humoral immunity against HIV. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998;14(Suppl 3):S291-S8.
 119. Hanke T, Samuel RV, Blanchard TJ, Neumann VC, Allen TM, Boyson JE, et al. Effective induction of simian immunodeficiency virus-specific cytotoxic T lymphocytes in macaques by using a multiepitope gene and DNA prime-modified vaccinia virus ankara boost vaccination regimen. *J Virol* 1999;73:7524-32.
 120. Seth A, Ourmanov I, Schmitz JE, Kuroda MJ, Lifton MA, Nickerson CE, Wyatt L, et al. Immunization with a modified vaccinia virus expressing simian immunodeficiency virus (SIV) Gag-Pol primes for an anamnestic Gag-specific cytotoxic T-lymphocyte response and is associated with reduction of viremia after SIV challenge. *J Virol* 2000;74:2502-9.
 121. Shiver JW, Fu TM, Chen L, Casimiro DR, Davis ME, Evans RK, et al. Replication-incompetent adenoviral vaccine vector elicits effective anti-immunodeficiency-virus immunity. *Nature* 2002;415:331-5.
 122. Trono D. Lentiviral vectors: Turning a deadly foe into a therapeutic agent. *Gene Ther* 2000;7:20-3.
 123. Davis NL, Caley IJ, Brown KW, Bett MR, Irlbeck DM, McGrath KM, et al. Vaccination of macaques against pathogenic simian immunodeficiency virus with Venezuelan equine encephalitis virus replicon particles. *J Virol* 2000;74:371-8.
 124. Chen X, Scala G, Quinto I, Liu W, Chun T-W, Shaw J, et al. Protection of rhesus macaques against disease progression from pathogenic SHIV-89.6PD by vaccination with phage-displayed HIV-1 epitopes. *Nature Med* 2001;7: 1225-31.
 125. Kameoka M, Nishino Y, Matsuo K, Ohara N, Kimura T, Yamazaki A, et al. T lymphocyte response in mice induced by a recombinant BCG vaccination which produces an extracellular alpha antigen that fused with the human immunodeficiency virus type 1 envelope immunodominant domain in the V3 loop. *Vaccine* 1994;12: 153-8.
 126. Honda M, Matsuo K, Nakasone T, Okamoto Y, Yoshizaki H, Kitamura K, et al. Protective immune responses induced by secretion of a chimeric soluble protein from a recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin vector candidate vaccine for human immunodeficiency virus type 1 in small animals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:10693-7.
 127. Robinson H. Working towards an AIDS Vaccine. XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 212].
 128. Boyer JD, Kim J, Ugen KI. HIV-1 DNA vaccines and chemokines. *Vaccine* 1999;17(Suppl 2):S536-S40.
 129. Boyer JD, Cohen AD, Vogt S. Vaccination of seronegative volunteers with a human immunodeficiency virus type 1 env/rev DNA vaccine induces antigen-specific proliferation and lymphocyte production of β -chemokines. *J Infect Dis* 2000;181:476-83.
 130. Barouch DH, Santra S, Schmitz J, Kuroda A. Augmentation of immune responses to HIV-1 and simian immunodeficiency virus DNA vaccines by IL-2/Ig plasmid administration in rhesus monkeys. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:4192-7.
 131. Barouch DH, Santra S, Schmitz J, Kuroda A, Fu T-M, Wagner W, et al. Control of viremia and prevention of clinical AIDS in rhesus monkeys by cytokine-augmented DNA vaccination. *Science* 2000;290:486-92.
 132. Cox JC, Coulter AR. Adjuvants a classification and a review of their modes of action. *Vaccine* 1997;15:248-56.
 133. Hanke T, McMichael A. Pre-clinical development of a multi-CTL epitope-based DNA prime MVA boost vaccine for AIDS. *Immunol Lett* 1999; 66:177-81.
 134. McMichael A. DNA/MVA prime boost for an A clade vaccine. XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 208].
 135. Salk J. Prospects for the control of AIDS by immunizing seropositive individuals. *Nature* 1987;327:473-6.
 136. Hoff R, McNamara J. Therapeutic vaccines for preventing AIDS: Their use with HAART. *Lancet* 1993;353:1723-4.
 137. Sandström E, Wahren B. Therapeutic immunisation with recombinant gp160 in HIV-1 infection: A randomised double-blind placebo-controlled trial. Nordic VAC-04 Study Group. *Lancet* 1999;353:1735-42.
 138. Goebel FD, Mannhalter JW, Belshe RB. Recombinant gp160 as a therapeutic vaccine for HIV-infection: Results of a large randomized, controlled trial. *AIDS* 1999;13:1461-8.
 139. Birx DL, Loomis-Price LD, Aronson N. Efficacy testing of recombinant human immunodeficiency virus (HIV) gp160 as a therapeutic vaccine in early-stage HIV-1-infected volunteers. *J Infect Dis* 2000;181:881-9.
 140. Levine AM, Groshen S, Allen J. Initial studies on active immunization of HIV-1 infected subjects using a gp120-depleted HIV-1 immunogen: Long-term follow-up. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996; 11:351-64.
 141. Moss RB, Ferre F, Levine A. Viral load, CD4 percentage, and delayed-type hypersensitivity in subjects receiving the HIV-1 immunogen and antiviral drug therapy. *J Clin Immunol* 1996;16:266-71.
 142. Kahn JO, Cherg DB, Mayer K, Murray H, Lagakos S and the 806 Investigator team. Evaluation of HIV-1 Immunogen, an Immunologic Modifier, Administered to Patients Infected With HIV Having 300 to 549 \times 10⁶/L CD4 counts. *Jama* 2000; 284:17, 2193-202.
 143. Diaz L, Podzamczar D, Canto-Nogues C, Rodriguez-Sainz MC, Carbone S, Moreno S, et al. 3-year evaluation of a therapeutic vaccine (HIV-1 immunogen) administered with antiretrovirals versus antiretroviral therapy alone in patients with HIV chronic infection. XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 1482].
 144. Robinson H. Working towards an AIDS Vaccine. XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 212].
 145. Corey L. HIV preventive vaccines: Science and politics. XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 143].
 146. Anderson RM, Garnett GP. Low-efficacy HIV vaccines: Potential for community-based intervention programmes. *Lancet* 1996;348:1010-3.
 147. Vermund SH. Rationale for the testing and use of a partially effective HIV vaccine. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998;14(Suppl 3):S321-S3.
 148. Anderson R. Impact of a partially effective vaccine. XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 133].
 149. Ferrari G, Humphrey W, McElrath MJ. Clade B-based HIV-1 vaccines elicit cross-clade cytotoxic T lymphocyte reactivities in uninfected volunteers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:396-401.
 150. Verrier F, Burda S, Belshe R, Duliege Am, Excler JL, Klein M, et al. A human immunodeficiency virus prime-boost immunization regimen in humans induces antibodies that show interclade cross-reactivity and neutralize several X4-, R5-, and dualtropic clade B and C primary isolates. *J Virol* 2000;74:10025-33.
 151. LaCasse RA, Follis KE, Trahey M, Scarborough JD, Littman DR, Nunberg JH. Fusion-competent vaccines: Broad neutralization of primary isolates of HIV. *Science* 1999;283:357-62.
 152. Emini E. An HIV-1 Vaccine using a replication-defective adenoviral vector. XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 210].
 153. Suraratdech C, Ainsworth M, Tangcharoensathien V. The demand for an HIV/AIDS vaccine among high-risk groups: Does risk matter? XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 1301].
 154. UNAIDS. AIDS vaccine research in Asia: Needs and opportunities. Report from a UNAIDS/WHO/NIID meeting, Tokyo, 1998. *AIDS* 1999;13:1-13.
 155. Mahoney RT, Maynard JE. The introduction of new vaccines into developing countries. *Vaccine* 1999;17:646-52.

156. Bloom BR. The highest attainable standard: Ethical issues in AIDS vaccines. *Science* 1998;279:186-8.
157. Guenter D, Esparza J, Macklin R. Ethical considerations in international HIV vaccine trials: Summary of a consultative process conducted by the Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). *J Med Ethics* 2000;26:37-43.
158. UNAIDS. Ethical considerations in HIV preventive vaccine research (document UNAIDS/00.07E). Genève: WHO, 2000.
159. Isbell MT, Widdus R, Williams L, Gold D. Minimizing Regulatory Delays in the Approval and Licensure of New HIV/AIDS Vaccines. XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain, July 2002 [Abstract n° 1302].
160. Boily MC, Masse BR, Desai K, Alary M, Anderson RM. Some important issues in the planning of phase III HIV vaccine efficacy trials. *Vaccine* 1999;17:989-1004.
161. Hilleman MR. The business of science and the science of business in the quest for an AIDS vaccine. *Vaccine* 1999;17:121-2.