

점막면역백신의 개발 현황과 전망

손원근

제주대학교 수의학과

Trends and Prospects of Mucosal Vaccine Development

Won Geun Son

Dept. of Verterinary Medicine Cheju National University

ABSTRACT

Although development of new antibiotics may be contributing to overcoming with many bacterial diseases, it is also related with the emergence of antibiotic-resistant bacteria and viral diseases are not treated with any antibiotics developed yet. Therefore, control of infectious diseases is achieved most effectively by vaccination. Ideally, vaccination leads to eradication of an infectious agent regardless of alternative hosts or environmental reservoirs. This kind of vaccination may be accomplished by mucosal immunity inducing in mucosal surfaces, such as respiratory, gastrointestinal, and urogenital organs, because a large number of emerging pathogens are mucosally transmitted and must cross mucosal barriers to infect the host. Mucosal infection by intracellular pathogens results in the induction of cell-mediated immunity, as well as usually humoral immunity. These responses are normally accompanied by the synthesis of secretory immunoglobulin A antibodies, which provide an important first line of defense against invasion of deeper tissues by these pathogens. Live *Salmonella* bacteria optimize this form of mucosal immune protection. Because they are able to cross the epithelial barrier of the gut, to survive in antigen-presenting cells, and to express adjuvant activity that prevents induction of oral tolerance. Attenuated *S. typhimurium* has been used successfully in mice to induce systemic and mucosal responses against more than 60 heterologous antigens. Despite these advances, new and reemerging infectious diseases are tipping the balance in favor of the parasite: continued mucosal vaccine development will be needed to effectively combat many infectious diseases.

서론

점막면역계는 점막표면을 침입하는 병원체에 대하여 면역을 제공하는 림프조직과, 분자 및 세포들로

구성되어 있다. 일반적인 면역계는 세포성 면역과 체액성 면역으로 나누어진다. 체액성 면역이 항체라고 하는 면역방어 단백질에 의하여 일어나는 반면, 세포매개성 면역이란 CD4-positive (CD4 +) T helper-type 1 cells과 CD8 + cytotoxic T-lymphocytes에 의한 면

역을 말한다. 가장 이상적인 면역작용은 이들 둘 모두에 의하여 일어난다. 세포내 기생성 병원체에 의한 점막감염은 세포매개성면역을 유도한다. 이와 같은 반응은 정상적으로 분비성 면역글로불린 A (S-IgA)에 대한 항체를 합성하며, S-IgA는 병원체의 침부 침입을 방어하는 데 최고 1선을 담당한다. 차가운 온도에 적응시킨 재조합 비강용 인플루엔자 및 구강용 rotavirus와 같은 약독화 바이러스 백신은 점막면역 방어를 할 수 있게 최적화되어 있다. 이와 같은 백신 개발의 진보에도 불구하고, 새로운 그리고 재출현하는 전염병의 원인체 또한 계속적으로 변형하기 때문에 이 새로운 위협과 싸우기 위해서는 점막백신의 개발이 계속 진행되어야 할 것이다.

인간숙주의 생활 양상이 변화함에 따라 새로운 질환이 다시 나타날지도 모른다. 아마도 emerging 재출현 병원체는 유전 재조합과 같은 과정을 통하여 항생제에 저항하게 되거나 숙주방어에 더욱 저항하게 된다. 재조합은 새로운 병원체에 의한 감염율을 증가시키고, 유행성 감기바이러스의 경우에는 때에 따라 전국적으로 유행할 수 있다. 재출현 병원체가 점막을 통하여 침입하여 숙주에 감염하기 위해서는 점막장벽을 통과 해야한다. 이와 같이 새롭게 재출현한 감염병에 대한 궁극적인 방어는 효과적인 점막면역 백신에 의하여 이루어질 것이다. 점막표면은 위장관, 비노기, 호흡기에 집중되어 있고 병원체의 침입문호를 제공한다. 위생개념의 증가, 항생제의 사용, 및 유년기의 백신투여는 전염병에 의한 사망률을 상당히 감소시켜왔다. 그러나 항생제의 의하여 제거되지 않고 위생적 처치로 개선되지 않는 전염체가 대부분 현재까지 유행하고 있는 것으로 판단된다. 이러한 범주에 있는 병원체는 호흡기 바이러스 (유행성 감기바이러스)가 대표적이다. 다른 그룹으로는 전파성 성병 (STD) 병원체, 즉 HIV이다. 그러나 그 이외의 다른 바이러스나 전파성 성병의 원인체 또한 중요한 관심사이기도 하다. 점막침입 병원체를 차단하는 가장 좋은 방어법은 백신, 아마도 전신성 및 점막성 면역을 유도할 수 있는 점막백신일 것이다. 점막 면역 백신을 유도하기 위한 여러 가지 방법들이 있지만 주로 *Salmonella*와 adenovirus와 같은 live attenuated vector들이 지금까

지 연구되어 왔다. 점막면역은 장기간동안 방어할 수 있는 면역이며, 점막 감염에 대한 1차 방어선이다. 병원체에 대한 점막의 방어능력은 점액, 상피, 자연면역 기전과 같은 천연장벽을 제공할 뿐 만 아니라 CD4 + T cells, secretory immunoglobulin A (S-IgA) 및 antigen-specific cytotoxic T-lymphocytes (CTLs)와 같이 점막표면에 풍부하게 존재하는 후천성 숙주면역장벽에 의해 이루어진다.

본 론

재출현 병원체

효과적인 항생제와 백신의 결여로 새로운 전염병의 치료 및 예방에 많은 어려움이 지속되고 있다. 항생제의 남용은 항생제 내성균의 출현을 가속화시키고 있으며, 저렴한 점막백신의 개발 필요성을 더욱 부추기고 있다. 세계보건기구(WHO)는 신속하게 개발되어야 할 몇 가지 백신으로서는 폐렴구균, *Haemophilus influenzae* type b, rotavirus, hepatitis B에 대한 백신이라고 한다. 최근 동물에서 새롭게 발생되고 있는 구제역 또한 신속하게 제거되어야 할 질병이며, 동물성 식품을 통하여 사람에게 감염되는 각종 식중독균에 대한 예방 백신 역시 빠른 시간 내에 개발되어야 할 과제이다. 이러한 가축의 질병 및 WHO가 목표로 하는 대부분의 백신은 감염경로를 토대로 할 때 점막면역의 유도로 이루어져야 할 것 같다. 따라서 점막면역을 이해하는 것만이 보다 효과적인 점막백신을 개발할 수 있는 길일 것이다.

점막면역계

점막면역계의 작용은 그 기능에 따라 크게 두가지로 나누어진다. 먼저 점막유도부에는 장관에 있는 Peyer's patches와 구인두강내에 있는 nasal-associated lymphoreticular tissue(호흡기계에는 면역관련 조직: NALT)가 소화기 및 호흡기의 파수군으로서의 역할을 하며 점막면역반응을 시작하는 주요부위이다.

이 유도부의 주요부분이 M cell이라는 세포이며 아직까지 정확한 기능은 밝혀져 있지 않다. 그러나, 최근 연구결과를 종합하면, 미생물항원의 흡수, 수송, 처리 및 presentation 과 관련이 있다 (Neuta 등, 1996; Allan 등, 1994). T 및 B 림프구와 상피세포의 상호작용은 상피세포를 M-cell로 분화되게 유도한다 (Kerneis 등, 1998). 항원을 흡착한 M-cell은 Peyer's patches에 모여 follicle을 형성하고 항원을 다른 면역 세포에게 보여주거나 전달하는 것 같다. 이와같은 세포간의 상호작용은 M-cell의 일부기능이며, 장관내 항원, 바이러스, 세균 및 기타 단백질의 항원성을 촉진시키는 것 같다. 수송에서 M-cell의 능력은 상피세포의 방어벽을 통과하여 숙주세포의 조직 깊숙이 항원을 전달해 주는 데에 그 특징이 있다고 할 것이다. 이는 침입성 *Salmonella* (Jones 등, 1994)와 reovirus (Wolf 등, 1981)에 대한 연구결과에서 잘 나타나고 있다.

다음으로는 효과부로서 유도부에서 유도된 항원을 인식한 B 혹은 T 세포가 원래의 자리로 귀환하는 Lamina propria나 gland 등으로서 이러한 효과부로 이주한 면역세포들은 항체생성 (IgA 등)이 가능한 새로운 세포로 분화한다. 이처럼 효과부로 이주한 자신의 딸세포에 의해 면역 B 및 T 세포가 유도되는 것이다.

IgA와 관련된 T-Cell 및 Cytokine

Polymeric IgA (pIgA)를 분비하는 plasma cell에서 B-cell로의 전환에 관한 다양성은 수없이 연구되고 있지만 여전히 많은 의문점이 남아있다. 최근 몇 년 동안, 유전자 결손이나 knockout mouse의 개발은 IgA 아형 전환에서 특이세포, cytokines, 및 표면분자들의 역할을 이해하는데 아주 탁월한 기여를 하고 있다. 이 아형 전환은 점막유도부에서 일어나는 반면, plasma cell에 의한 IgA 생성은 점막효과부에서 일어나며, B 세포에 의한 IgA 전환과 분비는 다른 면역담당부위에서 분리되어 일어나는 것 같다(McGhee 등, 1999). 이들 각각의 단계에는 점막효과부에서 항원 특이 S-IgA 항체를 생성하기 위하

여 보조자극인자, cytokines 및 T 보조 세포와 같은 특이 신호가 필요하다.

분명한 것은 Th1- 또는 Th2-type cytokines이 B cells이 surface IgA positive (sIgA+) B cells로 전환하는데 기여하는 것이 아니라 이 과정은 transforming growth factor $\beta \delta 1$ (TGF- $\beta \delta 1$)에 의하여 매개된다는 것이다 (Ehrhardt 등, 1992). TGF- $\beta \delta 1$ 은 활성화된 B-cell 배양에서 B 세포의 2%정도가 IgA를 분비할 수 있게 전환시킨다 (Ehrhardt 등, 1992; Coffman 등, 1989). 그러나 TGF- $\beta \delta 1$ 이 다른 신호인자와 함께 사용되었을 때에는 이들을 10-20%까지 증가시킨다 (McIntyre 등, 1995). 이와 같이 여러 개의 활성화신호인자가 B-cell을 IgA 생성 세포로 전환하는데 관여한다. 또한 TGF- $\beta \delta 1$ 은 Th2-type cytokine을 자극하여 IgA의 생성을 촉진시키기 때문에 T-cell 또는 B cell이 IgA를 생성하는 세포로 분화하는데 큰 기여를 하는 것으로 추측할 수 있다 (Spalding 등, 1984).

T-cell 보조기능은 전신성 및 점막성 면역담당기관에서 항원 특이적 체액성 및 세포성 면역을 생성하는데 중요한 역할을 한다. CD4⁺ T 세포가 면역에 중요하다는 것은 AIDS의 연구에서 보다 확실하게 밝혀져 있다. Th0 세포가 Th1 혹은 Th2 로 분화되는 것은 interleukin 12 (IL-12), interferon $\gamma \delta$ (IFN- $\gamma \delta$) 및 IL-4와 같은 cytokine에 의해 유도된다. 포유류에서 Th1-type 반응은 세포성 면역을 유도하며 Th2-type 반응은 체액성 면역을 주로 매개한다(McGhee 등, 1999).

Th1 혹은 Th2 cell이 적당한 S-IgA의 생성에 어느 정도의 영향을 미치는 지는 명확하지 않으나, Th2-type cytokine 들이 항체반응을 주로 도와주는 것으로 알려져 있다. 예를 들면, Th2 cell 반응을 유도하는 cholera toxin과 같은 점막면역용 보조제는 S-IgA 항체반응을 보조해 주는 효과가 있다 (Xu-Amano 등, 1993). 그러나 Th1 반응을 주로 일으키는 *Salmonella*와 같은 세포내 기생성 병원체에 대한 S-IgA 항체 또한 생성된다(VanCott 등, 1996). 따라서 Th1이나 Th2 혹은 이들의 공동작용에 의해 antigen-specific S-IgA Ab responses가 일어날 것으

로 생각된다.

점막 분비성 IgA (S-IgA) 항체반응

점막 면역계의 작동여부는 S-IgA의 생성에 있다. S-IgA는 polymeric Ig receptor (pIgR)로부터 방출되어 장관으로 분비되는 IgA로서 pIgA가 pIgR에 부착된 상태로 상피를 거쳐 transcytosis된 IgA이다. 이 Ig는 proteolysis에 보다 강한 저항성이 있으며, 병원체의 부착을 차단하는 기능이 있다. Monomeric IgA는 IgG와 유사한 기능을 하는 반면 S-IgA는 유행성감기바이러스의 침입을 차단하는 효과가 더욱 우수한 것으로 보고되어 있다(Taylor 와 Dimmock, 1985). 게다가 IgG나 monomeric IgA와는 반대로 pIgA는 바이러스를 중화시키는 능력이 있다(Mazanec 등, 1992). 더욱이 pIgA는 상피표면에서의 감염이나 염증을 방어하며 pIgA가 상피를 통과하는 과정에서 보다 능동적으로 병원체를 제거하는 역할을 한다(Burns 등, 1996).

점막표면에서의 세포성 면역

비록 S-IgA가 점막표면에서의 방어에 중요한 역할을 담당한다고 할 지라도 세포성면역에 의한 점막방어 역시 중요한 것으로 평가하지 않을 수 없다. 유행성 감기바이러스와 같은 병원체의 경우 세포성 면역는 바이러스의 core protein에서 유래된 펩타이드를 인식하면서 일어난다. Core protein은 중화항체가 형성되기 훨씬 이전인 감염초기에 나타나기 때문에 항체에 의한 방어기전이 발휘되기 전에 세포성 면역(CMI)이 유도되어야 한다. 항체 또한 이후 면역반응에서 형성되지만 항체의 방어 역할은 불분명하다. 이와 같이 체액성 면역 외에 세포성 면역이 면역기능에서 중요한 역할을 수행하는 데, 대표적인 것이 CD4 + T-helper cells의 기능이다. 이 세포는 지연형 과민증(delayed-type hypersensitivity)을 매개하는 cytokine을 분비하며 세포내 기생성 병원체의 방어에 중요한 역할을 한다. 예를 들면, Th1 cells은 major histocompatibility complex (주요조직적합성 복합

체: MHC)-restricted CTL responses를 도와준다. Cytotoxic cells은 항원 특이성인지 MHC 한정성인지에 따라 분류될 수 있다. 비특이적 세포독성 세포는 NK 세포를 포함한 각종 세포로 구성되어 면역반응 초기(1-3일)에 기능을 나타낸다. 이들 세포는 면역반응 초기에 병원체의 수를 감소시키면서, 항원 특이적 반응을 완성시켜 나가는 듯하다. MHC-restricted CTLs는 항원특이성 CTL로서 비특이성 CTL보다 약간 늦은 면역반응시기(3-5일)에 가장 활발한 기능을 발휘하는 것 같다. 이들 두 형태의 세포는 두 개의 다른 기전에 의해 세포내기생성 병원체의 증식을 저해할 수 있다 (Fig. 1). 첫째로, cytokine이나 chemokine의 분비에 의해 감염에 반응하는 것이다(Chisari, 1997; Fehniger 등, 1998; Yang 등, 1997). 이들 인자들은 숙주세포를 파괴하지 않고 병원체의 세포내 증식을 억제한다. 두 번째로, 세포독성 세포는 감염된 세포를 효과적으로 인식하여, 세포를 용해함으로써 병원체의 증식을 방해한다.

점막면역계

점막면역계는 비강, 구강, 장관, 비뇨생식기 등에 존재하는 면역계로서 총괄적으로 mucosal-associated lymphoreticular tissue (MALT)라 하며, 비강에 있는 면역조직은 nasopharynx-associated lymphoreticular tissue (NALT), 장관에 있는 면역조직을 gastrointestinal-associated lymphoreticular tissue (GALT), 비뇨생식기에 있는 면역조직을 urogenital-associated lymphoreticular tissue (UALT)라 한다.

점막조직에 항원이 출현하면 유도부로부터 B 및 T 림프구가 이주하여 각종 점막효과부로 귀환하게 된다. 이와같이 일반 점막면역계는 처음 항원이 출현했던 부위 이외의 점막 효과부로 항원 특이적 림프구가 귀환하는 것과 관련이 있다. 구강, 직장, 비강과 같은 여러 면역 경로는 점막면역반응을 유도할 수 있다. 그러나 구강면역은 비강면역에 비하여 제한된 점막반응을 유도한다. 따라서 비강면역으로 항체들은 보다 광범위한 조직 즉 타액이나 비뇨기로 분비된다(McGhee 등, 1999).

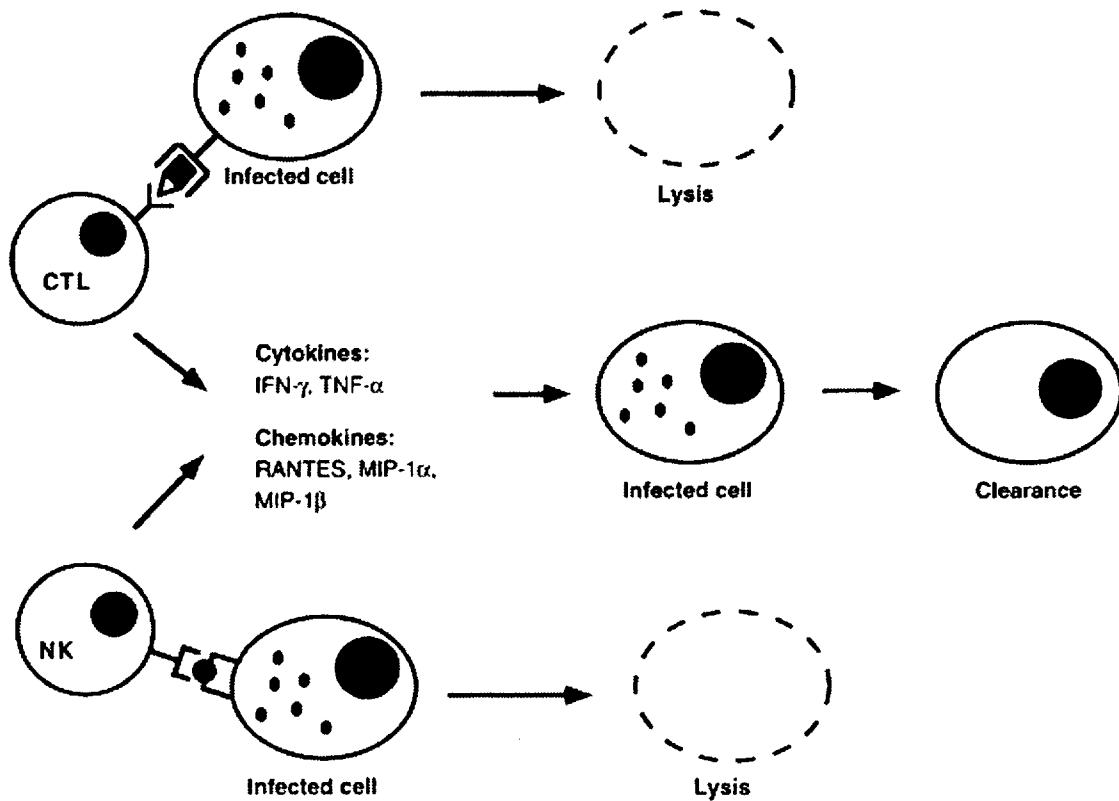


Fig. 1. Pathways of intracellular pathogen clearance from infected cells by cytotoxic cells. Intracellular pathogen-derived antigens complexed to MHC class I molecules are recognized by CTLs, while NK cells recognize the absence or suppressed levels of MHC class I molecules on infected cells. Activated cytotoxic cells deliver apoptotic signals through Fas ligand and perforin to infected cells. They also secrete cytokines (IFN- γ δ TNF- α δ and chemokines (Rantes, MIP-1 α , MIP- β) to inhibit or suppress intracellular pathogen replication.

점막백신

점막면역 백신에는 여러 가지 장점이 있을 지라도 단지 소수의 공인된 점막백신 만이 대부분 경구용으로만 사용되고 있다. 이러한 백신에는 소아마비, *Salmonella typhi*, *S typhimurium* 및 최근에 공인된 rotavirus 백신인 RotaShield 등이 있다. 그러나 RotaShield는 대장 장애의 하나인 장중첩과 관련이 있어 최종적인 공인을 위하여는 보다 상세한 분석이 필요할 것으로 본다. 사람에서 공인된 점막백신은 지금까지 약독화 생균 백신들이었고 이 이유 때문에 경구용 소아마비 백신은 불활화된 소아마비 바이러스

스를 접종받은 이후에 사용하도록 권장된다. 왜냐하면 약독화 생균백신으로 면역받은 후에 극소수의 소아마비가 발생한 예가 있기 때문이다. 어느 정도의 전신면역을 유도한 후에 생균 바이러스에 노출되면 부작용을 최소화하면서 보다 우수하고 장기간 지속되는 방어능을 유도할 수 있다. 다른 경구 백신으로는 약독화 *S. typhi* strain Ty21a을 이용한 typhoid에 대한 백신이다.

임상실험단계에 돌입해 있는 cold-adapted influenza virus (CAIV)는 비강접종용으로는 처음으로 개발된 점막백신으로서 방어능력이 있는 면역반응을 생성하는 것으로 보고되어 왔다(Gruber 등, 1996). 이처럼

CAIV는 어린이들의 감기를 예방하는 데 사용될 수 있는 유망한 백신이며, 최근에 발생한 홍콩 바이러스에서 관찰된 문제점을 일부 해결할 수 있을 지도 모른다. Chicken/Hong Kong/258/97 (H5N1) virus가 부화란을 죽이는 특성이 있기 때문에 계란에 바이러스를 계대 배양하여 백신을 목적으로 바이러스를 생산하는 데에 심각한 어려움이 있다. 따라서 CAIV의 개발방법을 이용함으로써 이러한 문제를 극복하여 높은 역가의 백신용 바이러스를 생산할 수 있을 지도 모른다.

다른 대안으로는 DNA 백신의 사용이다. Plasmid DNA는 hepatitis B virus, herpes simplex virus, HIV, malaria, influenza 등, 몇몇 병원체를 방어하기 위하여 임상적으로 시험되어 왔다(Weiner 와 Kennedy, 1999)). 그러나 모두 전신적으로 만 항체나 CTL을 유도하였을 뿐, 점막에서의 반응은 보고된 바가 없다. 비록 실험동물에서 cationic lipids나 다른 면역전달 매개체, 그리고 immunostimulatory CpG dinucleotide motifs를 사용하여 DNA 백신이 점막면역을 유도하였다는 보고가 있었으나 사람에서 보고된 바는 없다.

또 다른 유망 점막백신은 세균의 부착인자의 사용이다. 이들 인자에 대한 점막 항체는 점막장벽을 침입하는 병원체의 능력을 차단한다. 대부분의 부착인자는 높은 동질성을 가지기 때문에 한 병원체에 대한 백신의 결과들은 다른 병원체의 백신 개발에 응용할 수 있는 가능성이 아주 높다. Uropathogenic 대장균은 Pilus-associated adhesin인 FimH가 주요 병원성 인자로 작용하기 때문에 FimH에 대한 백신의 개발이 1차적인 목표일 것이다. 실제로 FimH를 포함하는 백신을 점막으로 투여하였을 때 우수한 효과가 있었다는 임상 결과가 보고된 바 있다. 더욱이 최근에 공인된 pertussis vaccine 역시 부착인자에 대한 것이며 이들은 모두 부착인자에 특이적인 면역이 점막으로 이루어 졌을 때 병원체의 감염을 차단할 수 있음을 보여주고 있다(Wizemann 등, 1999). 따라서 병원체의 정착 및 침입을 조기에 차단할 수 있는 점막백신의 개발은 바이러스성 질환 및 유아에서의 세균성 질환을 예방하는 백신으로서 연구할 만한 충분한 가능성이 있음을 시사하고 있다.

약독화 *Salmonella* 백신벡터

일반적으로 숙주의 구강을 통하여 들어온 항원성분들은 위 내에서 파괴되거나 항원성이 제대로 전달되지 않아 충분한 면역반응을 일으킬 수 없다. 그러나 병원성 *Salmonella*는 장관 상피세포의 방어벽을 통과하여 antigen-presenting cell 내에서 생존할 수 있기 때문에 면역세포에게 세균의 항원성을 쉽게 인식하도록 하는 특성이 있다. 따라서 약독화시킨 *S. typhimurium*을 이용한 경구백신에 대한 많은 연구가 진행되어 왔고(Sirard 등, 1997; Hess 등, 2000), 백신 벡터의 특성 및 장점을 도해하면 그림 2에서 보는 바와 같다. 특히 약독화 *S. typhimurium*은 *aro* 유전자가 결핍되어 있기 때문에 aromatic compounds를 인공적으로 첨가하기 전에는 분열증식할 수 없다. 게다가 *asd* 유전자가 결핍됨으로서 aromatic compound가 첨가된 인공배지에서도 diaminopimelic acid를 첨가했을 경우에만 세균집락을 관찰할 수 있다. 따라서 aromatic compound가 거의 모든 숙주 세포나 환경에 존재하지 않기 때문에 약독화 *Salmonella*가 감염되어도 질병을 발생시킬 가능성은 없으며, cloning 혹은 transformation의 유무를 확인하기 위하여 *asd* 유전자를 항생제 내성 유전자 대신으로 사용하기 때문에 여러 가지 환경 문제를 배제할 수 있다. 현재까지 약독화 *S. typhimurium*에 transformation되어 경구 접종용으로 연구된 백신은 약 60여종 이상으로서 거의 모두 탁월할 효과가 보고(Sirard 등, 1997; Catmull 등, 1999; Chabalgoty 등, 1997; Flo 등, 2001)되어 왔으며 점막면역에 대한 새로운 개념이 도입되고 있다(Hess 등, 2000; Mayer, 1998; Pascual 등, 2001; Pascual 등, 1996).

결론

점막면역계는 복잡하고 병원체의 침투와 염증을 막기 위하여 세포성 면역 뿐 만 아니라 풍부한 양의 S-IgA를 생산하기에 충분한 시스템이라 할 것이다. Mucosal immune system은 병원체에 대한 방어망을

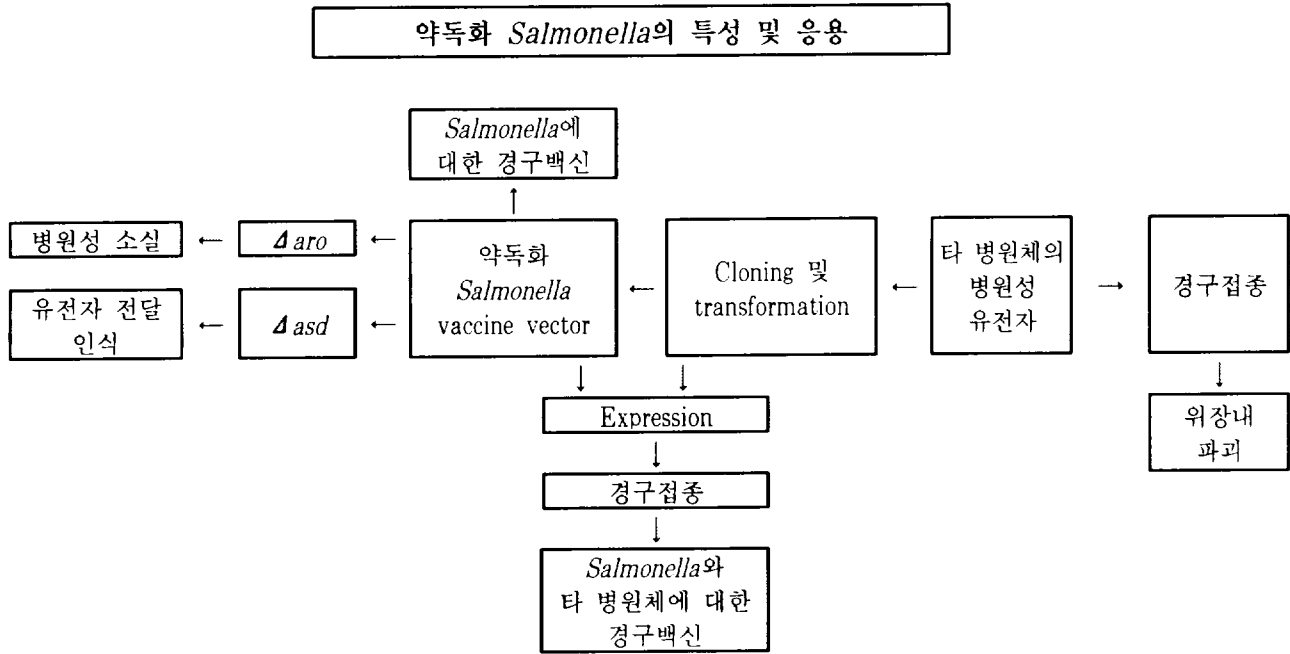


Fig. 2. 약독화 *Salmonella* Vaccine Vector의 특성 및 연구원리.

형성하기에 효과적이며 약독화 병원체를 이용한 백신의 투여는 장기 지속성 방어벽을 생성하는 데도 분명한 효력이 있다. 사람에서 공인된 점막백신은 모두 약독화 병원체이기 때문에 앞으로는 약독화 병원체 이외의 다른 형태의 백신이 개발되어야 할 것이다. 예를 들면 점막면역보조제 (saponin, mutant enterotoxins, unmethylated CpG motifs, cytokines)와 조합된 DNA 백신이나 세균의 부착인자와 같은 subunit 백신, microsphere와 같은 mucosal delivery systems 은 사람 및 동물에서 병원체를 차단할 수 있는 점막백신으로 개발될 차 세대 주자로 손꼽히고 있다. 아울러 약독화 *Salmonella* vaccine vector를 이용한 점막면역은 접종방법의 개선을 통하여 다가 백신으로서의 개발이 용이할 것으로 보여지며 사람 및 동물의 질병을 예방하는 데 널리 이용될 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Allan CH, Mendrick DL, Trier JS. 1993. Rat intestinal M cells contain acidic endosomal-

lysosomal compartments and express class II major histocompatibility complex determinants. *Gastroenterology* 104:698-708.

2. Burns JW, Siadat-Pajouh M, Krishnaney AA, Greenberg HB. 1996. Protective effects of rotavirus VP6-specific IgA monoclonal antibodies that lack neutralizing activity. *Science*. 272:46-8.

3. Catmull J, Wilson ME, Kirchoff LV, Metwali A, Donelson JE. 1999. Induction of specific cell mediated immunity in mice by oral immunization with *Salmonella* expressing *Onchocerca volvulus* glutathione S-transferase. *Vaccine*. Jan;17(1):31-9.

4. Chabalgoity JA, Harrison JA, Esteves A, Demarco de Hormaeche R, Ehrlich R, Khan CM, Hormaeche CE. 1997. Expression and immunogenicity of an *Echinococcus granulosus* fatty acid-binding protein in live attenuated *Salmonella* vaccine strains. *Infect Immun*. Jun;65(6):2402-12.

5. Chisari FV. 1997. Cytotoxic T cells and viral

- hepatitis. *J Clin Invest.* 99:1472-7.
6. Coffman RL, Lebman DA, Shrader B. 1989. Transforming growth factor- β δ specifically enhances IgA production by lipopolysaccharide-stimulated murine B lymphocytes. *J Exp Med.* 170:1039-44.
 7. Ehrhardt RO, Strober W, Harriman GR. 1992. Effect of transforming growth factor (TGF)- β δ 1 on IgA isotype expression. TGF- β δ 1 induces a small increase in sIgA + B cells regardless of the method of B cell activation. *J Immunol.* 148:3830-6.
 8. Fehniger TA, Herbein G, Yu H, Para MI, Bernstein ZP, O'Brien WA, et al. 1998. Natural killer cells from HIV-1 + patients produce C-C chemokines and inhibit HIV-1 infection. *J Immunol.* 161:6433-8.
 9. Flo J, Tisminetzky S, Baralle F. 2001. Oral transgene vaccination mediated by attenuated *Salmonellae* is an effective method to prevent Herpes simplex virus-2 induced disease in mice. *Vaccine.* Feb 8;19(13-14):1772-82.
 10. Gruber WC, Belshe RB, King JC, Treanor JJ, Piedra PA, Wright PA, et al. 1996. Evaluation of live attenuated influenza vaccines in children 6-18 months of age: safety, immunogenicity, and efficacy. *J Infect Dis.* 173:1313-9.
 11. Hess, J., U. Schaible, B. Raupach, and S.H.E. Kaufmann. 2000. Exploiting the immune system: Toward new vaccines against intracellular bacteria. *Adv. Immunol.* 75:1-88.
 12. Jones BD, Ghori N, Falkow S. 1994. *Salmonella typhimurium* initiates murine infection by penetrating and destroying the specialized epithelial M cells of the Peyer's patches. *J Exp Med* 180:7-9.
 13. Kerneis S, Bogdanova A, Kraehenbuhl J-P, Pringault E. 1998. Conversion by Peyer's patch lymphocytes of human enterocytes into M cells that transport bacteria. *Science* 277:949-52.
 14. Mayer, L. 1998. Current concepts in mucosal immunity I. Antigen presentation in the intestine: new rules and regulations. *Current Concepts in Mucosal Immunity.* 1:G7-G9.
 15. Mazanec MB, Kaetzel CS, Lamm ME, Fletcher D, Nedrud JG. 1992. Intracellular neutralization of virus by immunoglobulin A antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 89:6901-5.
 16. McGhee JR, Lamm ME, Strober W. 1999. Mucosal immune responses: an overview. In: *Mucosal immunology.* Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J, McGhee JR, eds. San Diego: Academic Press. p485-506.
 17. McIntyre TM, Kehry MR, Snapper CM. 1995. Novel in vitro model for high-rate IgA class switching. *J Immunol.* 154:3156-61.
 18. Neutra MR, Frey A, Kraehenbuhl J-P. 1996. Epithelial M cells: gateways for mucosal infection and immunization. *Cell* 86:345-8.
 19. Pascual DW, White MD, Larson T, Walters N. 2001. Impaired mucosal immunity in L-selectin-deficient mice orally immunized with a *Salmonella* vaccine vector. *J Immunol.* 167(1): 407-15.
 20. Pascual, D.W., H. Kiyono, J.R. McGhee. 1996. *Mucosal Immunity: Molecular and cellular aspects of immune protection to enteric infections.* ed. L. J. Paradise. pp15-35. In: *Enteric Infections and Immunity.* Plenum Press, N. Y.
 21. Sirard, J.C., F. Niedergang, J.P. Kraehenbuhl. 1997. Live attenuated *Salmonella*: a paradigm of mucosal vaccines. *Immunol. Rev.* 171:5-26
 22. Spalding DM, Williamson SI, Koopman WJ, McGhee JR. 1984. Preferential induction of polyclonal IgA secretion by murine Peyer's patch dendritic cell T cell mixtures. *J Exp Med.* 160:941-6.
 23. Taylor HP, Dimmock NJ. 1985. Mechanism of

- neutralization of influenza virus by secretory IgA is different from that of monomeric IgA or IgG. *J Exp Med.* 161:198-209.
24. VanCott JL, Staat HF, Pascual DW, Roberts M, Chatfield SN, Yamamoto M, et al. 1996. Regulation of mucosal and systemic antibody responses by T-helper subsets, macrophages, and derived cytokines following oral immunization with live recombinant *Salmonella*. *J Immunol.* 156:1504-14.
 25. Weiner DB, Kennedy RC. 1999. Genetic vaccines. *Sci Am.* 281:50-7.
 26. Wizemann TM, Adamou JE, Langermann S. 1999. Adhesins as targets for vaccine development. *Emerg Infect Dis.* 5:395-403.
 27. Wolf JL, Rubin DH, Finberg R, Kauffman RS, Sharpe AH, Trier JS, et al. 1981. BN Intestinal M cells: a pathway for entry of reovirus into the host. *Science* 212:471-2.
 28. Xu-Amano J, Kiyono H, Jackson RJ, Staats HF, Fujihashi K, Burrows PD, et al. 1993. Helper T cell subsets for immunoglobulin A responses: oral immunization with tetanus toxoid and cholera toxin as adjuvant selectively induces Th2 cells in mucosal associated tissues. *J Exp Med.* 178:1309-20.
 29. Yang OO, Kalams SA, Trocha A, Cao H, Luster A, Johnson RP, et al. 1997. 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.* 71:3120-8.