

단순 포진 바이러스 백신의 개발 및 도전

정 홍

건국대학교 의학전문대학원 비뇨기과학교실

Challenge of Developing a Herpes Simplex Virus Vaccine

Hong Chung

Department of Urology, Konkuk University School of Medicine, Chungju, Korea

Herpes simplex virus 1 and 2 (HSV-1 and HSV-2), also known as human herpes virus 1 and 2 (HHV-1 and HHV-2), are two members of the herpes virus family, herpes viridae, which infect humans. Both HSV-1 (which produces most cold sores) and HSV-2 (which produces most genital herpes) are ubiquitous and contagious. They can be spread when an infected person is producing and shedding the virus. Herpes Simplex can be spread through contact with saliva, such as sharing drinks. HSV-2 is one of the most prevalent sexually transmitted infections worldwide. In addition to recurrent genital ulcers, HSV-2 causes neonatal herpes, and is associated with a 3-fold increased risk for HIV acquisition. Many HSV-2 vaccines have been studied in animal models, however, few have reached clinical trials, and those that have been tested in humans were not consistently effective. Here, I review HSV-2 pathogenesis, with a focus on novel understanding of mucosal immunobiology of HSV-2, and vaccine efforts to date, in an attempt to stimulate thinking about future directions for development of effective prophylactic and therapeutic HSV-2 vaccines.

Keywords: Etiology; Simplexvirus; Vaccines

Received: 10 February, 2014

Revised: 28 February, 2014

Accepted: 2 March, 2014

Copyright © 2014, Korean Association of Urogenital Tract Infection and Inflammation. All rights reserved.
© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Correspondence to: Hong Chung
Department of Urology, Konkuk University Chungju Hospital, 82, Gugwon-daero, Chungju 380-704, Korea
Tel: +82-43-840-8270, Fax: +82-43-848-4722
E-mail: chunghong@kku.ac.kr

서 론

일생 동안 단순 헤르페스 바이러스(herpes simplex virus, HSV) 감염은 신체적인 접촉을 통한 구강 혹은 생식기 상피 세포 감염에 의하여 발생한다. 전세계에서 5억명 이상의 HSV-2 감염자와 매년 2,300만의 새로운 감염자가 발생할 것으로 생각되며, 이러한 HSV-2 감염은 단순한 불편감 외에도 정신적인 문제까지 유발하기도 한다.¹ 또한 HSV-2 감염이 인간 면역결핍 바이러스(human immunodeficiency virus,

HIV)의 감염을 용이하게 할 것으로 생각되고 있다.^{2,3} 바이러스의 발산에 대한 평가는 음부 헤르페스(herpes genitalis) 감염에 대한 증상 및 증후를 확인하는 것이 더 정확하다. 그러나 임상적인 증상이 없는 경우 바이러스의 발산에 대한 평가가 어렵다는 문제점을 갖고 있다. 또한 감염된 환자에서 바이러스의 발산의 발생 빈도는 전염력의 정도와 직접적인 연관성이 있을 것으로 판단된다. 현재 몇 개의 백신이 항체의 중화나 혹은 CD4 T-세포 반응을 유도하기 위하여 연구되고 있으나, HSV-2 감염에 대한 예방책으로 성공적이지 못하다. 현재까지

	Prophylactic vaccine		Therapeutic vaccine	
Goal	Prevent acquisition	Reduce acquisition and transmission Reduce recurrence and shedding for those who become infected	Prevent or reduce transmission and recurrence	Prevent or reduce recurrence
Endpoint	HSV seroconversion	HSV seroconversion Rate and quantity of viral shedding in those who become infected	Rate and quantity of viral shedding	Virologically confirmed lesions
Population to benefit	HSV-2-negative sexually active adolescents and young adults, particularly in high-HIV seroprevalence regions Pregnant women		HSV-2-seropositive and -seronegative sexually active adolescents and young adults, particularly in high-HIV seroprevalence regions Pregnant women	HSV-2-seropositive people
	Most desirable		Most feasible	

Fig. 1. Herpes simplex virus (HSV)-2 vaccine development strategies (adapted from the article of Johnston et al. J Clin Invest 2011;121:4600-9, with permission of American Society for Clinical Investigation).⁴

치료적인 목적의 백신에 대한 개발 결과는 어느 정도 효과를 보이고 있으나 예방적인 측면에서의 백신은 어려움을 보이고 있다(Fig. 1). 근래에 들어 HSV-2에 대한 백신으로 CD4+와 CD8+ 균형된 반응을 유도하는 백신이 효과적일 것으로 생각되고 있다.

현재 인체유두종 바이러스(human papilloma virus), 대상포진(herpes zoster)의 장기 면역력 획득을 위한 백신은 개발되어 사용되고 있다. 반면 현재까지의 연구에서 HSV 1형과 2형에 대한 백신의 과거 연구들은 긍정적인 결과에 비하여 부정적인 결과들이 더 많았다. 이는 장기간의 면역력을 획득하기 위한 다른 백신에 비하여 HSV의 면역 회피 기전이 더 복잡하기 때문이다.⁴⁵ 그러나 과거 HSV 백신에 대한 연구들은 긍정적인 결과를 보여주지는 못하였으나, HSV의 장기간 예방을 위해서는 세포 면역의 획득이 필수적이라는 점을 확인시켜주는 계기가 되었다.⁵ HSV는 주로 질이나 구강을 통한 비각화성 상피세포(non-keratinized epithelium)로 감염이 되어 숙주 세포내 virions이 들어가 복제가 빠르게 진행되며, 다른 부위의 각화성 상피세포에 감염이 되게 된다.⁴ 또한 증상이 없는 감염자도 virus를 배출하고 비감염자들에게 virus를 감염시키기 때문에 단순한 HSV 증상을 나타나지 않도록 하는 백신은 의미가 없다.⁶ 현재 음부 헤르페스에 대한 자연사 및 감염 과정에 대해서는 잘 알려져 있다.⁷ 현재 항바이러스 치료제(antiviral medications)를 이용한 주기적 혹은 억제제를 위한 다양한 치료법이 사용되고 있으나, 아직까지 재활성화와 관련된 요인들에 대해서는 충분하게 알려져 있는 않은 점이 치료 및 백신에 대한 주요 문제점이다. 이에 현재까지의 HSV 백신의 개발 및 연구 중인 백신의 작용에 대하여 정리하고자 한다.

본 론

1. HSV-1과 HSV-2의 백신에 대한 최근 연구 동향

1980년대 이후 기초 연구를 바탕으로 HSV 백신에 대하여 진행되어 왔으나 명확한 효과를 입증하기에는 어려움이 있었다.⁵ 지난 30여 년 동안 인체유두종 바이러스, 대상포진 등의 연구와 함께 면역학 및 세포생물학의 괄목할만한 발전이 이루어져왔으며, 이는 새로운 방법으로서의 접근을 근간으로 한 백신 연구의 기반이 되어왔다. 예를 들면, HSV 백신의 경우 증상이 나타나는 환자와 나타나지 않는 환자에서 T-세포 항원결정인자(epitope) 인식의 차이를 밝히고자 하였다. 1980년대에 다수 종의 비활성화된 virus를 기반으로 한 백신 개발이 시도되기 시작하였다.⁸⁻¹⁰ 2000년대 들어 불가리아에서 다섯 종의 HSV-2에 감염된 토끼의 세포를 초음파로 파괴해 얻은 분리물에서 추출한 HSV-2 백신(PRK)이라는 virus 백신의 연구를 진행하였다. 55명의 환자에게 24종의 백신을 접종한 후 6년간 경과 관찰한 결과, HSV-1에 대해 항원성을 보였고, HSV-2에 대해서는 5.4%의 감소를 보였다. 그러나 이 결과는 무작위, 이중맹검 연구가 아니어서 결과를 신뢰하는 데 문제점이 있다.¹¹ 이후 다양한 약독화 백신에 대한 연구가 진행되었으며, 이러한 연구들은 더 높은 신뢰도를 바탕으로 백신의 치료 효과를 기대할 수 있을 것이라 생각되어 왔다. 예를 들면, 2001년 Wachsman 등¹²은 ribonucleotide reductase (ICP10) large subunit domain (Th2 activity, viral replication and latency reactivation)의 protein kinase deletion을 바탕으로 한 herpes simplex virus type 2 mutant (ICP10DPK) 백신은 guinea pigs에서 예방 및 치료 효과가 있다고 보고하였다. 2006년 Courreges 등¹³은 복제가 불가능한 HSV를 바탕으로 한 HSV 백신 연구를 시행하였으며, D106이라는 복제 불능의 HSV-1

제조합 유전자가 쥐에서 외부 유전자를 발현시키고, 체액성 반응을 유발하는 것으로 확인하였다. 이는 이식 유전자를 발현시키며, 세포 독성에 제한적이고, 수지상 세포(dendritic cells)를 림프절로 이주 및 성숙시키는 백신이었다. 이후 복제 불능의 HSV를 이용한 연구는 복제 불능 HSV-2 돌연 변이 virus (d15-29)에 대한 연구로 이어졌다. 2007년 Watanabe 등¹⁴은 d15-29의 HSV-1 각막 감염에 대한 쥐 연구에서 투여량이 많을수록 얼굴의 부종과 상처가 크게 감소하는 상관관계를 보였으며, 잠복기 virus가 최대 10배까지 줄어드는 것을 확인하였다. 가장 최근의 d15-29에 대한 연구는 Dudek 등¹⁵이 시행한 6주령의 female-C57Bl/6 mice를 이용한 동물 실험이었다. 이 연구는 HSV-2를 초점으로 했으나 HSV-2가 HIV와 밀접한 연관 관계가 있어, d15-29가 HIV에 대한 예방 효과로도 역할을 하리라고 기대되었다. 결과에서 United State와 South Africa의 HSV stains은 예방적 항원결정인자와 병의 발생에 차이를 보이며, HSV와 HIV에서 d15-29를 이용한 면역력 획득은 South Africa에 비하여 United State에서 효과적임을 보여주었다. 그러나 결과적으로 South Africa strains에 대한 면역력 유도는 United State strains보다 어려웠으며, virus의 감소 효과가 적게 나타났다(overall disease: $p < 0.001$; viral shedding: $p = 0.051$; paralysis: $p = 0.016$).

2. 특이항원 백신(Subunit Vaccines)

Glycoproteins (g)을 바탕으로 하여 주요 target인 gB와 gD를 우선적으로 한 제조합체 HSV 백신(recombinant HSV vaccine)이 개발되었다. Adjuvant MF59와 함께 HSV-2의 gB와 gD를 포함하여 Chiron (Emeryville, CA, USA)에서 개발된 백신은 높은 항체 역가를 유도하는 데 성공적이었으며 여성에서는 약 26%의 효용성을 보였다.¹⁶ 그러나 효용성을 보인 여성에서 예방 효과가 6개월 밖에 지속되지 않았고, 남성에서는 예방 효과가 없었다. GlaxoSmithKline (GSK)에서 2007년 3상 연구를, Biovex에서도 1상 연구를 마친 subunit 백신을 개발하였다. 영국계 다국적 제약회사인 GSK의 백신은 gD를 항원으로 선택하였는데 이는 gD가 virus 유입에 가장 중요한 단백질이면서 동시에 항체와의 강한 결합력을 형성하기 때문이다. 이런 GSK의 gD-2 subunit 백신은 HSV-1과 HSV-2 모두 혈청 반응 음성인 여성에게 약 73-74%의 예방 효과를 보였다. 하지만 HSV-1, HSV-2에 혈청반응 양성인 여성, HSV-2에 혈청반응 양성인 남성에게 효과적이지 않다.¹⁷ Belshe 등¹⁸은 HSV-1, HSV-2 혈청반응 음성인 18-30세의 8,323명을 대상으로 한 0, 1, 6개월에 HSV 백신 접종시 음부 헤르페스에 대한 전체적인 백신 효과는 20%, HSV-1 genital herpes는 58%, HSV-1 감염에 대한 백신 효과는 35%였으나 HSV-1 감염에 대한 백신 효과가 관찰되지 않아 백신으로는 효과적이지 않았다. 백신의 남녀 성별에 대한 차이를 극복하기 위한 방법으로

virus의 immune system 회피 기전에 대한 이해가 필요하다. 근래에 HSV 백신에 대한 3상 연구가 여성에서 주로 진행되고 있는 이유는 질 조직이 점막면역계(mucosal immune system)로 구성되어 있어 남성의 표피면역계(epidermal immune system)에 비해 감염의 예방에 아주 효과적이기 때문이다. 또한 혈청반응 양성인 여성에서 백신이 효과적이지 않은 이유는 gD-2 백신이 HSV-1에 이미 감염된 사람에는 제대로 작용하지 못하기 때문으로 생각되고 있다. 최근 개발되는 백신은 gC와 gD에 대한 복합 면역 작용에 중점을 두고 있으며, gD에 비하여 더 강한 면역원으로 작용하고 있는 gC는 C3b와 결합하여 보체 매개성 면역(complement-mediated immunity)을 억제할 것으로 기대하고 있다. Awasthi 등¹⁹은 C3 knockout mice를 이용하여 gC-1이 C3b에 붙는 것을 억제하였을 때 gD-1 IgG의 증가가 나타나며, 이는 HSV 백신으로서 gD-1 단독보다는 gC-1과 gD-1을 같이 작용하였을 때 더욱 효과적임을 보고하였다. 이는 gC-1이 HSV의 면역 회피를 억제하고, gD-1의 면역 작용을 강화시켜주는 것으로 생각된다.

3. 바이러스 백신(Viral Vaccine)

바이러스 백신은 1980년대 이후부터 관심을 받아왔다. 바이러스 백신은 바이러스를 중성화시키는 항체를 생성하는 데 일부분 관여하여 virus에 대한 면역력을 획득하는 것으로 알려져 있으나 몇 가지 문제점들을 가지고 있다. 예를 들자면 생백신은 사백신보다 세포성 면역을 더 많이 유발한다. 실제 Biovex에서 개발한 ImmunoVex라는 생백신은 HSV의 면역 회피와 관련된 유전자를 제거하여 면역력을 획득하고자 하였다. 이는 C3b와 연결된 HSV gC가 보체 연쇄 반응 활성화를 저해하며, HSV에서 CD8+ T-세포의 항원 발현 및 interferon의 반응을 막는 단백질을 표현하게 한다. ImmunoVex는 회피 기전 획득을 위하여 제거된 유전자를 통하여 정상적인 주조직 적합성복합체(major histocompatibility complex, MHC)의 항원 발현을 저해하는 수지상세포의 활성, interferon의 반응을 저하시킨다. 두 종류의 ImmunoVex (HSV1, HSV2)는 건강한 성인에서 1상 연구가 진행되었으며, 긍정적인 결과를 보이고 있어, 추후 기대가 되는 상황이다.²⁰ ImmunoVex와 유사한 HSV2에 대한 생백신으로 ICP10 mutant 복제를 이용한 백신이 AuRix Biotech에서 2상 연구가 진행 중이다.²¹ 2006년 생 바이러스 백신을 이용한 무작위 다기관 위약 대조군 연구(randomized multicenter placebo-controlled trial)가 보고되었다.²² 대상은 gH gene이 없는 HSV-2의 복제가 억제된 바이러스 백신을 이용하여 1년에 6번 이상 반복되는 genital HSV-2 감염을 보이는 면역력이 저하된 환자를 대상으로 HSV-2의 재활성화 또는 임상 질환의 감소를 위한 disable infectious single cycle (DISC) 치료 백신으로 시도된 연구였다. 복제에 제한하는 gH gene의 결손으로 만들어진 이 백신은 과거 바이

리스 백신의 문제점이었던 안전성에 대한 부분에서 이상 소견을 보이지 않았으나, 음부 헤르페스의 첫 재발까지의 시간, 재발의 평균 횟수, 첫 재발 후 치료까지의 기간에서 대조군과 비교하여 차이를 보이지 않았다. 이 DISC 백신은 초기 치료 목적의 개발보다는 HSV에 노출되지 않은 사람에서 예방 목적의 백신으로 초점이 옮겨지고 있다.

4. DNA 백신(DNA Vaccine)

Polynucleotide 백신은 열에 안정성이 있으며, 상대적으로 저렴하고 다양한 항원을 encoding이 가능하다는 장점이 있으나, 현재까지 이러한 백신은 개, 말, 연어 등 동물에게서 허가를 받아 사용 중이나 사람에게 사용 허가를 받은 백신은 없다.²³ 그러나 DNA 백신 연구는 사람에서 효과적인 면역 반응을 이끌어 낼 수 있을 것으로 기대되고 있다. HSV가 세포-세포 간에 전파되는 특이한 방식과 복잡한 생활사를 고려할 때 세포 매개성 면역 반응 강화는 백신으로써 효용성을 기대할 수 있다. 이를 바탕으로 한 연구는 주로 높은 수준의 유전자 발현을 위한 vector의 수정이나 다양한 분자들의 encoding을 이용하여 DNA 백신의 효용성을 높이려 하였다. 2000년대 들어서면서, interleukin-8이나 regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES)와 같은 chemokine을 동시에 주사함으로써 gD 백신 단독 투여와 비교하여 DNA 백신의 생존율을 높일 수 있게 되었다.²⁴ 2004년 Johns Hopkins University의 연구에서 항원을 발현하는 수지상 세포의 수가 특징화되어 있고, 특히 항원 발현 수지상 세포가 VP22와 항원의 연결을 통하여 항원 특이 CD8+ T-세포 활성화에 영향을 미칠 수 있을 것으로 추측되었다.²⁵ 이는 VP22와 E7의 연결이 감염된 수지상 세포에서 E7을 나타내는 MHC class 1을 향상시켰고 E7-specific CD8+ T-세포의 활동을 향상시키는 것을 확인하였다. 2006년에 2006년 스웨덴에서 시행된 연구에서는 질 점막에서 chemokine 반응 유도를 위하여 CpG-containing oligodeoxynucleotide의 가능성과 이를 증강시키기 위한 HSV-2의 gD에 대한 연구가 mice에서 시행되었다.²⁶ 이들 결과들은 백신 단독보다는 보조 요법이 병행되었을 때 백신의 효과가 증가될 수 있음을 보여주었다.

결 론

HSV-2는 전세계에서 가장 흔한 유행성 성전파성 염증 질환으로 반복되는 생식기 궤양과 같은 임상 증상 외에도 신생아 헤르페스 질환을 유발하기도 한다. 또한 HSV 감염은 HIV 감염에 대한 위험성을 3배 증가시키는 것으로 알려져 있다. 다수의 HSV 백신에 대한 동물 모델 연구들이 진행되어 왔으며, 현재 많지는 않으나 임상 연구 또한 진행 중에 있다. 그러나 불행하게도 현재까지 HSV 백신으로 사람에게 적용할 만한

결과를 보이고 있지는 않다. HSV 감염에 대한 면역학 및 세포생물학적 이해가 동반된다면 예방적 측면 및 치료적인 측면에서 효과적인 HSV 백신 개발에 대한 좋은 결과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

REFERENCES

1. Looker KJ, Garnett GP, Schmid GP. An estimate of the global prevalence and incidence of herpes simplex virus type 2 infection. *Bull World Health Organ* 2008;86:805-12, A.
2. Freeman EE, Weiss HA, Glynn JR, Cross PL, Whitworth JA, Hayes RJ. Herpes simplex virus 2 infection increases HIV acquisition in men and women: systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *AIDS* 2006;20:73-83.
3. Nagot N, Ouedraogo A, Foulongne V, Konate I, Weiss HA, Vergne L, et al; ANRS 1285 Study Group. Reduction of HIV-1 RNA levels with therapy to suppress herpes simplex virus. *N Engl J Med* 2007;356:790-9.
4. Johnston C, Koelle DM, Wald A. HSV-2: in pursuit of a vaccine. *J Clin Invest* 2011;121:4600-9.
5. Koelle DM, Corey L. Recent progress in herpes simplex virus immunobiology and vaccine research. *Clin Microbiol Rev* 2003;16:96-113.
6. Dervillez X, Gottimukkala C, Kabbara KW, Nguyen C, Badakhshan T, Kim SM, et al. Future of an "asymptomatic" T-cell epitope-based therapeutic herpes simplex vaccine. *Future Virol* 2012;7:371-8.
7. Corey L, Bodsworth N, Mindel A, Patel R, Schacker T, Stanberry L. An update on short-course episodic and prevention therapies for herpes genitalis. *Herpes* 2007;14(Suppl 1):5A-11A.
8. Field HJ, Darby G, Wildy P. Isolation and characterization of acyclovir-resistant mutants of herpes simplex virus. *J Gen Virol* 1980;49:115-24.
9. Semenova TB, Posevaia TA, Vanag AI, Barinskii IF. Properties of herpes simplex virus strains isolated from patients with recurrent cutaneous herpes. *Vopr Virusol* 1985;30:93-6.
10. Dundarov S, Andonov P, Bakalov B. Characterization of herpes simplex virus strains isolated from patients with various diseases. *Arch Virol* 1980;63:115-21.
11. Skinner GR, Davies JA, Dundarov S, Andonov P. Prevention of herpes genitalis by the 'Bulgarian' vaccine FHSV-2V(PRK): preliminary clinical evidence. *Croat Med J* 2000;41:378-83.
12. Wachsmann M, Kulka M, Smith CC, Aurelian L. A growth and latency compromised herpes simplex virus type 2 mutant (ICP10DeltaPK) has prophylactic and therapeutic protective

- activity in guinea pigs. *Vaccine* 2001;19:1879-90.
13. Courreges MC, Benencia F, Conejo-Garcia JR, Zhang L, Coukos G. Preparation of apoptotic tumor cells with replication-incompetent HSV augments the efficacy of dendritic cell vaccines. *Cancer Gene Ther* 2006;13:182-93.
14. Watanabe D, Brockman MA, Ndung'u T, Mathews L, Lucas WT, Murphy CG, et al. Properties of a herpes simplex virus multiple immediate-early gene-deleted recombinant as a vaccine vector. *Virology* 2007;357:186-98.
15. Dudek TE, Torres-Lopez E, Crumpacker C, Knipe DM. Evidence for differences in immunologic and pathogenesis properties of herpes simplex virus 2 strains from the United States and South Africa. *J Infect Dis* 2011;203:1434-41.
16. Bourne N, Bravo FJ, Francotte M, Bernstein DI, Myers MG, Slaoui M, et al. Herpes simplex virus (HSV) type 2 glycoprotein D subunit vaccines and protection against genital HSV-1 or HSV-2 disease in guinea pigs. *J Infect Dis* 2003;187:542-9.
17. Stanberry LR, Spruance SL, Cunningham AL, Bernstein DI, Mindel A, Sacks S, et al; GlaxoSmithKline Herpes Vaccine Efficacy Study Group. Glycoprotein-D-adjuvant vaccine to prevent genital herpes. *N Engl J Med* 2002;347:1652-61.
18. Belshe RB, Leone PA, Bernstein DI, Wald A, Levin MJ, Stapleton JT, et al. Efficacy results of a trial of a herpes simplex vaccine. *N Engl J Med* 2012;366:34-43.
19. Awasthi S, Lubinski JM, Friedman HM. Immunization with HSV-1 glycoprotein C prevents immune evasion from complement and enhances the efficacy of an HSV-1 glycoprotein D subunit vaccine. *Vaccine* 2009;27:6845-53.
20. Liu BL, Robinson M, Han ZQ, Branston RH, English C, Reay P, et al. ICP34.5 deleted herpes simplex virus with enhanced oncolytic, immune stimulating, and anti-tumour properties. *Gene Ther* 2003;10:292-303.
21. Gytoku T, Ono F, Aurelian L. Development of HSV-specific CD4+ Th1 responses and CD8+ cytotoxic T lymphocytes with antiviral activity by vaccination with the HSV-2 mutant ICP10DeltaPK. *Vaccine* 2002;20:2796-807.
22. de Bruyn G, Vargas-Cortez M, Warren T, Tyring SK, Fife KH, Lalezari J, et al. A randomized controlled trial of a replication defective (gH deletion) herpes simplex virus vaccine for the treatment of recurrent genital herpes among immunocompetent subjects. *Vaccine* 2006;24:914-20.
23. Davidson AH, Traub-Dargatz JL, Rodeheaver RM, Ostlund EN, Pedersen DD, Moorhead RG, et al. Immunologic responses to West Nile virus in vaccinated and clinically affected horses. *J Am Vet Med Assoc* 2005;226:240-5.
24. Sin J, Kim JJ, Pachuk C, Satishchandran C, Weiner DB. DNA vaccines encoding interleukin-8 and RANTES enhance antigen-specific Th1-type CD4(+) T-cell-mediated protective immunity against herpes simplex virus type 2 in vivo. *J Virol* 2000;74:11173-80.
25. Kim TW, Hung CF, Kim JW, Juang J, Chen PJ, He L, et al. Vaccination with a DNA vaccine encoding herpes simplex virus type 1 VP22 linked to antigen generates long-term antigen-specific CD8-positive memory T cells and protective immunity. *Hum Gene Ther* 2004;15:167-77.
26. Tengvall S, Lundqvist A, Eisenberg RJ, Cohen GH, Harandi AM. Mucosal administration of CpG oligodeoxynucleotide elicits strong CC and CXC chemokine responses in the vagina and serves as a potent Th1-tilting adjuvant for recombinant gD2 protein vaccination against genital herpes. *J Virol* 2006;80:5283-91.