

# BCG ve Yeni Tüberküloz Aşıları

## BCG and New Tuberculosis Vaccines

Özlem TEZOL,<sup>a</sup>  
Necdet KUYUCU<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları BD,  
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Mersin

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Necdet KUYUCU  
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları BD,  
Mersin, TÜRKİYE  
nkuyucu@mersin.edu.tr

**ÖZET** Tüberküloz (TB) 21. Yüzyılda önemli bir halk sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2050 yılına kadar TB'un eliminasyonu hedefine ulaşabilmesi için, TB insidansının yılda <1/1.000.000 olması gerekmektedir. Bu stratejinin esas hedef noktası yakın zamana kadar erken tanı ve aktif hastalığı olan kişileri etkin bir şekilde tedavi etmek iken, bu yaklaşımın hedefe ulaşmak için yeterli olmadığı anlaşılmış ve temas öncesi etkin bir aşılama programı önem kazanmıştır. Yeni, güvenilir ve etkin bir TB aşısı ile aşılama hem maliyet etkin olacak hem de TB'ü küresel bir sağlık sorunu olmaktan çıkaracaktır.

**Anahtar Kelimeler:** BCG aşısı; tüberküloz aşıları; primer korunma; bağışıklama

**ABSTRACT** Tuberculosis (TB) continues to be an important public health problem in 21<sup>st</sup> century. Tuberculosis incidence must be under 1/1.000.000 per year for achieving the World Health Organization (WHO) target for eliminating TB until 2050. While the main focus of this strategy was the early diagnosis and effective treatment of the individuals with active disease; it has been understood that this approach was not adequate for achieving the target and an effective vaccination before exposure has gained importance. Novel, safe and effective tuberculosis vaccination would not only be cost effective; it will also eliminate the global burden of TB.

**Key Words:** BCG vaccine; tuberculosis vaccine; primary prevention; vaccination

**Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci 2016;12(3):97-104**

### BCG AŞISI

Virülansı azaltılmış, canlı; fakat hastalık yapmadan bağışıklık kazandıran basil ismini, bulucusu olan Albert Calmette ve Camille Guerin'in soyadlarının baş harflerinden almıştır. Bacillus Calmette Guerin (BCG) aşısı, 1920'li yıllarda bovin (sığıır) tipi TB basillerinin (*Mycobacterium bovis*) safıralı ve gliserinli plak üzerinde 230 kez kültürden kültüre aktarılmasıyla 13 yıl gibi bir süre sonunda üretilmiştir. Bu şekilde üretilen, TB basilinın bütün yapısal özelliklerini taşıyan bakteriler, insanlarda hastalık yapmamış ancak TB basiline karşı bağışıklık oluşturmuştur. Aşı virülen basilin oluşturduğu enfeksiyona benzer şekilde T lenfositleri ve makrofajları aktive eder, dışarıdan virülen basil alındığında BCG'nin oluşturduğu immün yanıt uyarılır ve bakteriler akciğerde sınırlandırılır.<sup>1</sup>

BCG aşısı, TB için tek ruhsatlı aşıdır ve DSÖ'nün genişletilmiş aşı programının bir parçası olarak 1970'lerden bu yana 4 milyardan fazla dozda uygulanmıştır. Aşı-

nın etkinliği ve güvenilirliği farklı çalışmalarda tartışılmış, elde edilen sonuçlar birbiriyle çelişkili bulunmuştur. Bu durum ülkeler arasında farklı aşı politikalarına yol açmıştır. Tüberküloz prevalansının yüksek olduğu ülkelerde doğumdan sonra mümkün olan en kısa sürede tek doz BCG aşısı önerilmektedir.<sup>2</sup> Tüberküloz insidansının daha düşük olduğu ülkeler BCG aşılmasını, tanımlanmış yüksek riski olan yenidoğan ve infantlar ile tüberkülin deri testi (TDT) negatif olan çocuklar olarak sınırlandırmışlardır.

Gelişmiş ülkelerde, bir kişiyi TB'dan korumak için 10.000'den fazla kişiyi aşılama gerektiğinden, TB ile savaşta olgu saptama ve saptanan olguları etkin tedavi etmeyi hedefleyerek, tarama testi olarak önem taşıyan TDT'nin sonucunu etkileyecek olan BCG aşısı uygulanmamaktadır. Tüberkülozun endemik olmadığı bölgelerde çoklu ilaç direnci gösteren *M.tuberculosis* ile temas öyküsü olan, daha önce aşılanmamış ve TDT negatif kişilere de BCG önerilmektedir. Çoğunlukla güvenli olduğu biliniyor olsa da immün yetmezliği olan kişilere [lösemi, lenfoma, steroid yada immün supresif ilaç kullanımı, radyoterapi, acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)], human immuno deficiency virus (HIV) pozitiflere, TB geçirenlere, vücut ağırlığı 3 kg'a ulaşana kadar prematürelere, egzema gibi deri hastalığı olanlara ve gebelere disemine hastalık geliştirme riski nedeniyle BCG aşısı yapılması önerilmemektedir.<sup>3</sup>

Ülkemizde, Sağlık Bakanlığı Genişletilmiş Bağışıklama Programı çerçevesinde doğumdan 2 ay sonra BCG aşısı yapılır ve bir daha tekrarlanmaz. İlk 6 ayda BCG doğrudan uygulanabilir, enfekte olmuş bireyleri aşılama amacıyla BCG aşısı yapılmamış 6 ay ve üzerindeki çocuklara, 6 yaşa kadar tüberkülin deri testi (TDT) negatif ise BCG yapılır, 6 yaştan sonra BCG önerilmez. BCG, diğer aşılarla ve aynı anda, canlı virüs aşılarıyla farklı kollardan uygulanabilir. Sol omuz deltoid kası üzerinde, deri içine, 1 yaş altında 0,05 ml, 1 yaş üzerinde 0,1 ml olarak yapılır. Ülkemizdeki kuru toz aşı sulandırılmadan oda sıcaklığında 1 ay, buzdolabında +2 ile +8°C'de 1-2 yıl saklanabilir; sulandırdıktan sonra 6 saat içinde kullanılması gerekir. BCG'nin güvenilirliği yüksektir, ciddi komplikasyon oranı çok düşüktür. Aşının dozuna ve uygulanma yerine, aşılanan kişinin yaşına ve bağışıklık sisteminin özelliğine göre komplikasyonlar gelişebilir.<sup>4,5</sup>

Sistemik BCG enfeksiyonu, osteomyelit hemen her zaman immün yetmezliği olan çocuklarda görülür, ölümcül seyredebilir.<sup>5</sup> Bağışıklık sistemi normal çocuklarda gelişen ciddi komplikasyonlar tedavi edilebilir

özelliğindedir. BCG uygulama yerinde 1-3 gün içinde gelişen erken lokal reaksiyon, TDT'nin pozitif olduğunu düşündürür. Üç aydan daha uzun süre sonra, %1-10 oranında gelişen geç reaksiyonlar ise aşı yerinde ülserasyon ya da servikal ve/veya aksiller lenfadenit şeklinde olabilir ve sistemik tedavi gerektirmezler.<sup>5,6</sup>

BCG'nin kan ve lenfatik sistemle basilin yayılmasını engelleyerek çocuklarda miliyer ve meningeal TB gibi disemine TB hastalığını önlemede başarılı olduğu gösterilmiştir.<sup>7</sup> Günümüze dek yapılan bu çalışmalarda BCG'nin koruyuculuğu %0-80 arasında değişik oranlarda bulunmuştur.<sup>8</sup> BCG'nin etkinliği; bir toplumda BCG aşısının uygulanmasından sonra, aşılanmış kişilerde hastalık yüzdesinde azalma olarak ifade edilir. Kullanılan aşıların çalışma yöntemleri, suşları, hastalığın doğal seyri ve çalışılan bölgelerdeki farklı atipik mikobakterilerin varlığı koruyuculuk oranlarının farklı bulunmasıyla ilişkilendirilmektedir.<sup>9</sup> Endemik bölgelerde (sub-sahra Afrika ve güneydoğu Asya) ve ergenlerde pulmoner hastalığa karşı tam koruma sağlayamamakta ve indüklediği bağışıklık zamanla zayıflamaktadır.<sup>10</sup> Endemik bölgelerde yaşayan 25 yaşın üzerindeki erişkinlerde latent tüberküloz enfeksiyonunun (LTBE) insidansı %60-70'dir ve bu populasyon TB epidemisini yaymaya devam etmektedir. Bu bölgelerde sık bulunan çevresel mikobakteriler ile erken karşılaşma sonucu oluşan immünitenin, BCG aşısının uygulanmasından sonra basillerin çoğalmasının engellediği ve aşının koruyuculuğunu azalttığı düşünülmektedir.<sup>11</sup> Bu etki erişkin dönemde yapılan BCG'nin koruyuculuk etkisi-nin daha düşük olmasını da açıklayabilir.

İnsanlarda hücrel immüniteyi düzenleyen birçok gen vardır ve bu topluluklardan topluluklara fark gösteriyor olabilir, farklı genetik yapıda basillerin virülansları arasında da fark olabilir.<sup>12,13</sup> Günümüzde kullanılan BCG aşıları ilk elde edilen BCG suşunun kız suşlarıdır ve ilk BCG suşundan pasajlanarak elde edilmişlerdir. BCG genomunun tanımlanmasından sonra şimdiki suşların RD1 bölgesi gibi önemli virülans taşıyan bölgelerinin pasajlar sırasında kaybolduğunu göstermiştir ve bazı aşı suşlarında daha da farklı genetik bölgelerinde kaybı söz konusudur.<sup>14,15</sup> Bu TB aşılarının koruyuculuğu konusunda yapılan çalışmaların yıllar içerisinde etkinliklerinin azalmasının bir açıklaması olabilir.

Bazı araştırmacılara göre ise BCG etkinliğinin toplumdan topluma ve zaman içerisinde fark etmesinde, toplum içindeki TB enfeksiyon riskindeki değişiklikler sonucu TB görülme oranlarının değişmesinin rolü olduğu düşünülmektedir. BCG aşısı ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar bugün tanımlandığı şekilde (örn. çok

merkezli, randomize, çift-kör plesebo kontrollü klinik çalışmalar) yüksek kalitede kanıtlar sağlayacak şekilde planlanmadan geçmişte yapılmıştır. Hemen hemen koruyuculuk için elde edilen verilerin tümü gözlemsel bazlı çalışmalardır. Patrick Nguipdop-Djomo ve ark. Norveç’de zamanla azalsa da BCG korumasının daha önce bildirilenden daha yüksek ve uzun süreli olduğunu göstermişlerdir. Örnek olacak bir halk sağlığı kayıt ve bildirim sistemi yazarlara, 1962 ve 2001 arasında kaydedilen ve içerisinde tüm formlarda 260 TB olgusu da olan 40 yıllık, yaklaşık 2 milyon orijinal kohorttan yaklaşık 400.000 insanın kayıtlarından çalışma olanağı vermiştir. Bu uzun zaman diliminde kaba TB insidansı; 3.3/100.000 aşılanmamış insan/yıl ve 1.3/100.000 BCG aşıli insan/yıl olarak bulunmuştur. Bu sayılar ba-zında BCG’nin yaşama ayarlanmış etkinliği, ilk 20 yılda yaklaşık %60’dan, son 20 yılda yaklaşık %40’a azalması, % 50 oranında saptanmıştır. Ayrıca 40 yıl esnasında BCG’nin pulmoner TB karşı ayarlanmış koruması (sadece enfeksiyonun bulaştırılmış formuna) %55 olarak bildirilmiştir.<sup>16</sup>

Bu uzun dönem sonuçlar Avrupa’da BCG aşı etkinliğini değerlendiren ilk verilerdir. Bununla birlikte BCG’nin tam koruma sağlamaması ve bulaşın azalmasında oynadığı rolün yeterince açık olmaması nedeni ile yeni ve daha etkili aşılar gereksinim duyulmasına neden olmaktadır. Tüm dünyada yaklaşık 2 milyar kişi TB basili ile enfektedir ve bu kişilerin %10’unda da TB hastalığı beklenmektedir. Ayrıca HIV ile birlikte görülen TB olgularında çoklu ve yaygın ilaç dirençli TB sıklığı giderek artmaktadır.<sup>17</sup> Bu nedenle acil olarak yeni ve etkili bir TB aşısına gereksinim vardır.

## YENİ TÜBERKÜLOZ AŞILARI

1990’lı yıllardan günümüze kadar daha etkin, güvenilir ve immünojen bir TB aşısı elde etmek için yaklaşık 200 aday aşı deneysel modellerde denenmiş ve bazıları insanlar üzerinde çalışılmak üzere izin almıştır. İdeal bir TB aşısının kolay uygulanabilir, ucuz, tek dozda güvenli, etkin ve immünojen olması, yenidoğan ve çocuklarda etkili olması, tüberkülin reaktivitesine yol açmadan primer enfeksiyon, reenfeksiyon ve reaktivasyon TB’u ile akciğer, akciğer dışı ve dissemine hastalığı önleyebilmesi, TB-dışı mikobakterilerle enfekte ve BCG aşıli temaslılarda yeterli bağışıklık yanıtı oluşturabilmesi, HIV pozitif, AIDS’li ya da diğer bağışıklık yetmezlikli ve malnutrisyonlu hastalarda güvenli ve etkin olması hedeflenmektedir.<sup>18</sup>

Koruyucu TB aşıları temas öncesi veya sonrasında uygulanabilen, küresel olarak TB epidemisini sonlan-

dırma amacı taşıyan ürünler olarak araştırılmaktadır. Henüz enfekte olmamış infantlara temas öncesinde uygulanırsa primer enfeksiyonu önleyeceği düşünülmektedir. Temas sonrası uygulanan aşılar ise, ergenler ve genç erişkinlere uygulanarak hastalığı ve/veya latent enfeksiyonun reaktivasyonunu önleme amacı taşımaktadır. Tedavi edici TB aşıları ise anti-TB tedavinin etkinliğini arttırmak, süresini kısaltmak amacıyla, hastalığı olan kişileri hedeflemektedir.<sup>19,20</sup>

Tüm yaş gruplarında, HIV pozitif hastalarda, hem ilaca duyarlı ve hem de ilaca dirençli TB tiplerinde kullanılmaya uygun; tekrarlayan aşılamalara gereksinim bırakmayan, uzun süreli ve etkin bağışıklık hafızası sağlayan bir aşı ideal olacaktır.<sup>18</sup> Bu amaçla aşı geliştirme çalışmaları BCG korumasını güçlendirme yeteneği olan rapel aşılar ya da BCG’nin yerine primer aşı olarak kullanılacak tam mikobakteri aşıları üretme konusunda devam etmektedir. Primer aşılar canlı aşı, rapel aşılar ise canlı olmayan aşı özelliğindedir. Tüberküloz aşı adayları prelinik testlerde aşamalı olarak fare, kobay ve insan dışı primat modellerinde değerlendirildikten sonra klinik çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır (Tablo 1).<sup>21</sup>

## PROFİLAKTİK (KORUYUCU) AŞILAR

### Sub-Ünit Tüberküloz Aşıları

#### Rekombinant proteinler

İmmünojenik olarak baskın TB antijenleri kullanılarak tasarlanan canlı olmayan sub-ünit aşılar güvenlik nedeniyle ilk tercih olmuştur. Hayvan modellerinde doza bağlı kuvvetli bir immün yanıt elde edilmiştir.

*M.tuberculosis*’in Mtb32 ve Mtb39 antijenlerini içeren bir birleşme proteini veya bir 72 kDa lipoproteininden ibaret olan bir aday aşı (Mtb72F), fare ve kobay modellerinde koruyucu kapasite göstermiştir.<sup>22</sup> Adjuvan olarak oil-in-water emülsiyon (AO2) ya da lipozomal formülasyon (ASO1) içeren iki tipi geliştirilmiştir.

HyVac4 mikobakteriyel antijenler olan Ag85B ve TB10.4’ten oluşan füzyon proteini aşısıdır. BCG ile indüklenen bireylerde IC31 veya DDA/MPL adjuvanları ile birlikte uygulanmıştır. Prelinik çalışmalarda H4, 6-8 haftalık dişi farelerde BCG ile indüklenen immünitenin etkin bir şekilde güçlenmesini ve uzamasını sağlamıştır, oluşan immünitede IFN- $\gamma$ /TNF- $\alpha$ /IL-2 üreten CD4+ T lenfositler baskın rol oynamıştır.<sup>23</sup> 990 ergen üzerinde yürütülecek faz II klinik çalışmalar AERAS global tüberküloz aşısı vakfı/fonu tarafından Mart 2014’te duyurulmuştur.<sup>24</sup>

**TABLO 1:** Klinik çalışmalarda kullanılan tüberküloz aşılıarı.<sup>21</sup>

Strateji	Aşı adayı	Aşı tipi	Faz
Primer	MTBVAC	Canlı, genetik olarak zayıflatılmış M.tb	Ila
	VPM1002	Canlı rekombinant BCG	Ila
Rapel	M72/AS01	Protein/adjuvan	Ilb
	Hybrid 4 + IC31	Protein/adjuvan	Ila
	Hybrid 56 + IC31	Protein/adjuvan	Ila
	Hybrid 1 + IC31	Protein/adjuvan	Ila
	Ad5Ag85A	Viral vektör	I
	Crucell Ad35 + MVA85A	Viral vektör	I
	ChAdOx1.85A + MVA85A	Viral vektör	I
	Dar-901	Tam hücre M.obuense	I
	MVA85A (aerosol)	Viral vektör	I
	MVA85A-IMX313	Viral vektör	I
	ID93 + GLA-SE	Protein/adjuvan	I
	TB/FLU-04L	Viral vektör	I
İmmünoterapötik	M.vacce	Tam hücre M.vacce	III
	RUTI	Fragmente M.tb	Ila
	CSU-F36	Protein/adjuvan	I

H56, Ag85B ve ESAT-6'dan oluşan bir füzyon proteini aşısıdır. H4'e benzer şekilde BCG'ye karşı oluşan immün yanıtın güçlendirilmesi amacıyla tasarlanmıştır. BCG aşılı maymunlarda H56/IC31 ile güçlendirme enfeksiyonun etkin kontrolünü sağlamış ve klinik hastalık oranını azaltmıştır. Sadece BCG aşılı hayvanlara kıyasla klinik parametreler, inflamatuvar belirteçler ve yaşam süresi iyileşme göstermiştir.<sup>25</sup> H56 Statens Serum Enstitüsü tarafından geliştirilmiş ve klinik deneyler AERAS ile birlikte yapılmıştır.

#### Viral vektör aşılıarı

Çoğalmayan rekombinant vaccinia virüs veya rekombinant Salmonella gibi canlı vektörler M.tuberculosis'in immünojenik olarak baskın genlerini taşımak üzere hazırlanarak aşı adayı haline getirilmiştir.<sup>22</sup>

MVA85A modifiye Ankara aşı virüsü, M.tuberculosis'in 85A antijenini sentezleyen rekombinant bir türüdür. Antijen spesifik T lenfosit yanıtını güçlendirmek amacıyla heterolog prime-boost stratejisi ile geliştirilmiştir. BCG-prime ve MVA85A-boost rejimi denenmiş, en geniş infant faz IIB etkinlik çalışması tamamlanmıştır. MVA85A'nın sanıldığı kadar immün baskın olmadığı sonucuna varılmıştır.<sup>26</sup> Çalışmanın hayal kırıklığı yaratan sonuçları TB aşısı geliştirme ve test etme konusundaki güçlükleri gözler önüne sermiştir.

Hayvanlar üzerinde yapılan (fare, Gine domuzu, insan dışı primatlar) çok sayıda kısıtlılığı olduğu bilinen geniş prelinik çalışmalarda, her deneyde olmasa da BCG aşısının MVA85A ile güçlendirilmesinin mikobakterilerden korunmayı iyileştirdiğini göstermiştir.<sup>27-29</sup>

MVA85A sağlıklı, M.tuberculosis ile enfekte veya HIV ile enfekte kişilerde M.tuberculosis'e karşı savunmada önemli olan antijene özgü Th1 ve Th17 yanıtını uyarır.<sup>30-32</sup> Çok sayıdaki Faz I/IIa çalışmaları da hastalık yükünden bağımsız olarak infant, çocuk, adolesan ve erişkinlerde MVA85A'nın immünojenik ve güvenli olduğunu göstermiştir.<sup>33,34</sup>

Yakın zamanda HIV-negatif, BCG aşılı, yaklaşık 2800 sağlıklı infant (4-6 aylık) ile yapılan randomize kontrollü bir çalışmada MVA85A uygulanan grup MVA85A'yı iyi tolere etmiş ve plasebo grubuna kıyasla hafif-ılımlı düzeyde bir antijen spesifik T lenfosit yanıtı başlatmıştır. Bu aşının, M.tuberculosis enfeksiyonuna ve hastalığına karşı etkinliği %3,8 ve %17,3 olarak saptanmış, BCG uygulamasına ek bir koruma sağlamadığı sonucuna varılmıştır.<sup>26</sup>

Güney Afrika ve Senegal'de yaşayan 650 sağlıklı, HIV enfekte erişkinler üzerinde yapılan başka bir faz IIB çalışmasında güvenli ve immünojenik özellikteki MVA85A ile antijen spesifik T lenfosit yanıtı indüklenmiş, ilk immün yanıt olarak monofonksiyonel CD4+ T

lenfositler IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  üretmişlerdir. Plasebo grubuyla karşılaştırıldığında aşının *M.tuberculosis* enfeksiyonuna karşı etkinliği %11,7, hastalığına karşı etkinliği %32,8 bulunarak koruyucu olmadığı görülmüştür.<sup>35</sup>

Tüm bu olumsuz sonuçlara rağmen MVA85A çalışmaları yüksek hastalık yükü durumlarında ve hedef populasyonlarda yeni TB aşılarının klinik etkinliğini değerlendiren geniş boyutlu araştırmalar yapılabileceğini göstermiştir.

#### DNA aşıları

Mycolyl-transferase ailesi (Ag85 kompleks) ve ısı şok proteinleri 60, 65, 70 (HSP 60,65, 70) gibi mikobakteriyel antijenleri kodlayan plazmidleri kapsayan DNA aşılarının TB'a karşı etkinliği laboratuvar hayvan modellerinde geniş olarak çalışılmıştır. Bu aşılardan etkinliğini artırmak için ayrıca sitokinlerle birlikte verilmesine ya da katyonik lipidler veya diğer tip adjuvanlar eklenerek kullanılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır. DNA aşıları hem Th1 T hücreleri, hem de CD8+ T hücre aracılı sitotoksititeyi uyarırlar. Ancak DNA aşılarının sağlam bir koruma sağlaması için proteinin kuvvetlendirilmesine gereksinimleri vardır.<sup>22</sup>

#### Canlı Tüberküloz Aşıları

##### Rekombinant BCG aşıları

BCG'nin etkinliğini iyileştirmek için, mevcut genlerinin kopyalarını eklemek veya uzun in-vitro attenüasyon sürecinde kaybolmuş olan genlerinin bazılarını yeniden dahil etmek gibi yolları kullanarak pek çok çalışma yapılmıştır.<sup>22</sup>

Rekombinant BCG aşı geliştirme stratejilerden biri, fazla miktarda otolog koruyucu antijen üreten rekombinant BCG yaratılmasına dayanır. Bu tamamlayıcı antijenler, BCG genlerinin ekspresyonunu artırarak, diğer BCG antijenlerine karşı immüniteyi artırmak için tasarlanmıştır. *M.tuberculosis*'in majör sekretuar proteini olan 30 kDa'yı ([alfa]-antijen ve Ag85B) "overexpresse" eden bir rekombinant BCG (rBCG30 veya rBCG-85B) hayvan modellerinde iyi koruma göstermiştir. rBCG30 ile bir faz I klinik çalışma 2004 yılında başlatılmıştır. Alternatif olarak BCG'de kaybolmuş olan ESAT-6 ile birleştirilmiş BCG aşısı ile farede daha iyi koruma elde edilmiştir.<sup>22</sup>

Rekombinant BCG aşı geliştirme stratejilerden ikincisi ise, BCG'nin rölatif olarak düşük intrinsek CD8+ T hücre indüklemeye yeteneğinin artırılmasıdır. Bu tip rekombinant BCG'nin özellikle, konak hücrelerinde fago-

zomların membranlarının geçirgenliğini artırıp artırmadığı değerlendirilmiştir. Bu amaçla biyolojik olarak aktif listeriolyisin salgılayan rBCG oluşturulmuştur (rBCG: DureC-hly+). Listeriolizin infekte makrofaqın içinde rol alır ve hem apoptozisi uyarır hem de antijenin sitoplazmaya taşınmasını güçlendirerek MHC-I'e sunulacak antijen miktarını artırır. VPM1002 olarak adlandırılan antijenlerin konağa sunumunu artırarak CD8+ T lenfosit yanıtını güçlendirir. Bu aşı bir üreaz-eksik mutant olduğu için, üreaz eksikliğine bağlı olarak fagozom matürasyonunu durduramaz ve daha az virülandır. Bu nedenle AIDS hastalarında ve BCG aşısına bağlı dissemine BCG enfeksiyonu olgularının olduğu bölgelerde kullanılabilirliği düşünülmüştür.<sup>36</sup> VPM1002 faz I çalışmayı tamamlamıştır. Güvenli ve immünojenik olduğu, hem B hem T hücre yanıtını uyardığı gösterilmiş olsa da daha ileri araştırılması gerekmektedir.<sup>37</sup>

#### Canlı Mikobakteriyel Aşılar

Canlı zayıflatılmış basilin kullanıldığı aşılardan gerekli tüm antijenleri sağlar ve basilin kendisi doğal bağışıklığı tetikler, liposakkaritleri adjuvan olarak davranır, pro-inflamatuar sitokin salgısını artırır. SO2 aşısı, tek gen kesilerek oluşturulmuş bir *M.tuberculosis* mutant suşudur. MT103 bozulmuş phoP genine sahiptir, replikasyon potansiyeli önemli düzeyde düşüktür ve virülansı azalmıştır.<sup>38</sup> SO2 aşısı çok sayıda kilit antijen içerdiğinden BCG aşısından daha etkili korunma sağlayabilir. Örneğin; BCG'de bulunmayan ESAT-6 antijeninin Gine domuzlarında belirgin olarak immün-baskın olduğu gösterilmiştir.<sup>39-41</sup> Bu sebeple canlı, zayıflatılmış aşılardan kullanımı potansiyel bir seçenektir. Virülans kazanmayacaklarıdan emin olunması için daha çok araştırmaları gerekmektedir.

#### TEDAVİ EDİCİ AŞILAR

Geliştirilen profilaktik aşılardan TB'dan korunmada yetersiz kalmıştır ve bu gerçeğe bağlı olarak latent enfeksiyonun reaktivasyonu ciddi bir risk olarak devam etmekte, hastalığın eradikasyonu halen mümkün olamamaktadır. Tüberküloz tedavisi eradikasyon sağlamak amacıyla profilaksiyi tamamlar. Çoklu ilaç dirençli, yaygın ilaç dirençli ve total dirençli *M.tuberculosis* tipleri nedeniyle TB'un etkin tedavisi en önemli önceliklerden biri olmakla birlikte, tedavi edici aşılardan geliştirilmesi gerektiği fikri de ortaya çıkmıştır. Tedavi edici aşılardan kemoterapi tarafından oluşturulan yanıtı artırıcı ya da kemoterapi sonrası latent enfeksiyonun kontrolünü sağlayıcı şekilde tasarlanmıştır.<sup>24</sup>

İnaktif tam hücre aşısı M.vacce ilk olarak 1985 yılında Leptra tedavisinde kullanılmak yerine BCG aşısını güçlendirici olarak tanıtılmıştır.<sup>42</sup> *M.tuberculosis*'e benzer immün baskın antijenlere sahiptir ve HIV pozitif TB hastalarında antijene özgü Th1 yanıtıyla beraber özellikle IgG şeklinde antikor yanıtını da arttırmıştır.<sup>43</sup> Uganda'da yapılan bir çalışmada HIV-negatif hastalarda tek doz inaktif 109 M.vacce kemoterapi ile birlikte verildiğinde klinik sonuçlarda iyileşme izlenmiştir.<sup>44</sup> Başka bir çalışmada HIV-negatif, kemoterapi alan hastalara M.vacce üç doz verilmiş ve hastalarda klinik iyileşmeler görülmüştür.<sup>45</sup> Bu sonuçlar kritik noktanın kemoterapi olduğunu düşündürmektedir.

CSU-F36, TLR-2 agonisti ve ESAT-6 antijeninin füzyonudur. IL-12 kadar güçlü düzeyde sitotoksik T lenfosit yanıtı oluşturma potansiyeline sahip olsa da düşük dozda aerosol *M.tuberculosis* 'e karşı koymayı başarabilmiştir.<sup>46</sup>

RUTI immünoterapinin yeni bir formudur. Aşı rejimi içinde detoksifiye edilmiş, lipozom içinde hapşolmuş *M.tuberculosis* parçalarını kullanır. Gine domuzlarında ve farelerde yapılan prelinik çalışmalarda RUTI tedavisinin kemoterapinin etkinliğini arttırdığı gösterilmiştir.<sup>47</sup> Uygulanan 1 aylık aşılama stratejisi, kemoterapinin sağladığı bakterisidal aktiviteyi arttırmış ve lokal inflamatuvar yanıtı baskılamıştır. RUTI aşılmasının kemoterapiden sonra latent enfeksiyonun reaktivasyonunu önlemek amacıyla da uygulanabileceği düşünülmektedir. Farelerde intranazal RUTI uygulaması basil sayısında azalma ve toksisite gelişmeden dengeli bir Th1/Th2/Th3 yanıtı oluşmasına katkı sağlamıştır. Tedavi süresi boyunca spesifik CD8+ T lenfositlerin ve humoral yanıtların uyarıldığı düşünülürse koruyuculuk bakımından RUTI diğer aşılarla göre avantajlı görünmektedir.<sup>48</sup>

Rekombinant mikobakteriyel antijenlere karşı belirgin bir immün yanıt oluşturan RUTI, SCID'lı farelerde önemli bir koruma sağlamıştır.<sup>49</sup> Tedavi edici bir aşı olan RUTI'nın profilaktik etkileri de izlenmiştir. *M.tuberculosis*'e bağlı kronik hastalığı olan fare modelinde RUTI aşılmasından 4 hafta sonra akciğerler ve dalakta yaşayan basil sayısında anlamlı azalma, aşılama 9 ay sonra akciğerlerde dalağa kıyasla daha güçlü bir korunma görülmüştür. Gine domuzu temastan 5 hafta önce aşılandığında daha uzun süre hayatta kalmıştır. Randoimize, plasebo kontrollü bir çalışmada RUTI'nın tolere edilebilir ve latent TB'ü olan hastalarda immünojen bir aşı olduğunu göstermiştir. RUTI potansiyel bir profilaktik aşı olarak düşünülebilir.<sup>50</sup>

## TÜBERKÜLOZ AŞILARININ GELECEĞİ

Güncel olarak araştırılan aşılar daha çok koruyucu bağışıklama ve kemoterapi ile eş güdümlü olarak tasarlanmaktadır. Çalışmaların sonuçları TB'un eradikasyonuna halen çok uzakta olduğumuzu göstermektedir. Etkin ve güvenli bir aşı geliştirilmesine katkı sağlayabilecek önemli bazı noktalar aşağıdaki gibi sıralanabilir:<sup>24</sup>

### B LENFOSİTLER VE ANTİKORLAR

Aşı ile indüklenen antikorlar enfeksiyon hastalıklarından ilk korunmayı sağlarlar. Humoral immunité basilin steril eradikasyon şansını artırır. Uygun antijene karşı Th2 yanıtını başlatabilen bir aşı, hastalığın özellikle latent fazında pulmoner basili hedefleyen antikorlar üretimini uyarabilir. Tüberküloz hastalarının periferik kan örneklerinde invaryant doğal öldürü hücreler (iNKT) baskılanmış olarak bulunur.<sup>51</sup> iNKT hücrelerin  $\alpha$ -galaktozilseramid ( $\alpha$ -GalCer) yoluyla aktivasyonu latent enfekte hücrelerin yıkımını sağlayabilir.<sup>52</sup> Memelilerde  $\alpha$ -GalCer kullanımı henüz kontrol edilmediği için, yerine minör lipid türevleri gibi diğer aktivatörler kullanılabilir.<sup>53</sup> Uygun antijen seçimi antikor yanıtını uyarmanın yanında sitotoksik antijen spesifik CD4+ ve CD8+ T lenfosit üretimini de uyarır.

Güncel aşıların çoğu Ag85A, Ag85B, ESAT-6 antijenlerini hedef alır. Bu hedefler oldukça immün baskındır ve bu durumda latent TB sürekli benzer T hücre klonlarını uyarır, hastalarda düzenleyici T lenfositler (Treg) aktifleşir. Antijene özgü Treg lenfositlerin bir kısmı mikobakteriyel antijenlere karşı yanıt veren T hücreli yanıtı da inhibe eder.<sup>54</sup> Klinik çalışmaların sonuçlarının hayvan çalışmaları sonuçlarına göre çok daha başarısız olmasının nedenlerinden biri bu durum olabilir. Daha az immünojenik olan yeni antijenler ile T lenfosit yanıtını uyararak düşünülebilir. Mtb32 bu antijenlere bir örnektir, fare modellerinde temas öncesi ve sonrası CD4+ ve CD8+ T lenfosit yanıtı oluşturmada umut vericidir.<sup>55,56</sup>

### ADJUVANLAR

Depo etkisi ve pro-inflamatuvar bir ortam sağlayarak doğal immüniteyi uyarırlar, immün yanıtı Th yönüne kaydırırlar. Squalene/Tween-80 emulsiyonu, TLR2 agonisti, MHC-I hedef peptidi, MHC-II yardımcı peptidi ve IFN- $\gamma$  kombinasyonu hem sitotoksik hem de hafıza T hücreleri üreten antijen spesifik CD8+ T lenfosit yanıtı oluşturur. Bu kombinasyonca (CASAC) uyarılan yanıt sadece yabancı antijenlere karşı değil, self antijenlere (ti-

rozin ilişkili protein-2) de karşı olma özelliğindedir. Elde edilen yanıt ile fare modelinde melanom eradike edilebilmiştir ve 50 günlük aradan sonra yanıt geri çağırılabilmiştir.<sup>57</sup>

### BASKILAYICI SİNYALLERİ ENGELLEYEN ANTİKORLAR

Programlı ölüm-1 (PD-1), sitotoksik T-lenfosit antijen (CTLA-4), Treg hücreler T hücre yanıtının baskılanmasıyla ilişkilidir. Kanser aşısı geliştirme çalışmalarının birinde PD-1 ve CTLA-4'ün tümörü infiltrate eden T lenfositler (TIL) ve antijen spesifik CD8+ T lenfositlerde bulunduğu gösterildi. Bu durum Treg tarafından düzenlenmekteydi ve TIL disfonksiyonuna yol açıyordu. Karşılaştırmalı bir çalışmada PD-1 ve CTLA-4'ün ikili blokajı disfonksiyonu giderdi ve tümörün %100 rejeksi-

yonu sağlandı.<sup>58</sup> Bu yol tüberküloz aşıları için ilgi çekici olabilir.

Sonuç olarak, daha önce geçirilmiş TB enfeksiyonu hastalığa karşı koruyuculuk sağlamamakta ve *M.tuberculosis* insanlarla birlikte evrimleşmektedir. Ek olarak çoklu ilaç dirençli ve yaygın ilaç dirençli suşlar giderek daha büyük artış göstermektedir. DSÖ'nün TB hastalığını önleme stratejisinin başında aşı geliştirme çalışmaları gelmektedir. Enfeksiyon durumuna bakılmaksızın hastalık yükünün fazla olduğu ülkelerde tüm ergen ve genç erişkinlerin topluca aşılanmasıyla en iyi sonuçların elde edileceği düşünülmektedir. Böyle bir aşılama stratejisi ile yıllar içinde yeni olgular önlenerek, milyonlarca hayat ve milyarlarca dolar kurtarılmış olacaktır.

### KAYNAKLAR

1. Fine PEM. Bacille Calmette-Guerin vaccines: A rough guide. Clin Infect Dis 1995;20:11-4.
2. BCG vaccine. WHO position paper. Releve epidemiologique hebdomadaire/Section d'hygiene du Secretariat de la Societe des Nations = Weekly epidemiological record/Health Section of the Secretariat of the League of Nations 2004;79:27-38.
3. A joint statement by the advisory council for the elimination of tuberculosis and the advisory committee on immunizations practices. The role of BCG vaccine in the prevention and control of tuberculosis in the United States. MMWR 1996;45:1-18.
4. Bloom BR, Fine PEM. The BCG experience: implications for future vaccines against tuberculosis. In: Bloom BR, ed. Tuberculosis: Pathogenesis, Protection and Control. Washington DC: American Society for Microbiology Press; p.531-57.
5. American Thoracic Society. Medical section of the American Lung Association. Treatment of tuberculosis and tuberculosis infections in adults and children. Am J Respir Crit Care Med 1994;149:1359-74.
6. Tüberküloz Danışma Kurulu. Koruyucu Hizmetler alt grubu, 1996. Toraks Bülteni 1996;1(2).
7. Trunz BB, Fine P, Dye C. Effect of BCG vaccination on childhood tuberculous meningitis and miliary tuberculosis worldwide: a meta-analysis and assessment of costeffectiveness. Lancet (London, England) 2006;367:1173-80.
8. Fine PEM. Variation in protection by BCG: implications of and for heterologous immunity. Lancet 1995;346:1339-45.
9. Abubakar I, Pimpin L, Ariti C, Beynon R, Mangtani P, Sterne JA, et al. Systematic review and meta-analysis of the current evidence on the duration of protection by bacillus Calmette-Guerin vaccination against tuberculosis. Health Technology Assessment (Winchester, England) 2013;17:1-372, v-vi.
10. Colditz GA, Berkey CS, Mosteller F, Brewer TF, Wilson ME, Burdick E, et al. The efficacy of bacillus Calmette-Guerin vaccination of newborns and infants in the prevention of tuberculosis: meta-analyses of the published literature. Pediatrics 1995;96:29-35.
11. Gallant CJ, Cobat A, Simkin L, Black GF, Stanley K, Hughes J, et al. Impact of age and sex on mycobacterial immunity in an area of high tuberculosis incidence. The international journal of tuberculosis and lung disease: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease 2010;14:952-9.
12. Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam K, Whittle H, Hill A. Variations in the NRAMPI gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. N Engl J Med 1998;338:640-4.
13. Herman PWM, Messadi F, Guebrexabher H, et al. Analysis of the population structure of Mycobacterium tuberculosis in Ethiopia, Tunisia and the Netherlands: usefulness of DNA typing for global tuberculosis epidemiology. J Infect Dis 1995;171:1504-13.
14. Behr MA, Wilson MA, Gill WP, et al. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. Science 1999;284:1520-3.
15. Frick M. The Tuberculosis Vaccines Pipeline: A New Path to the Same Destination? London, UK HIV i-Base/Treatment Action Group, 2015.
16. Nguipod-Djomo P, Heldal E, Rodrigues LC, Abubakar I, Mangtani P. Duration of BCG protection against tuberculosis and change in effectiveness with time since vaccination in Norway: a retrospective population-based cohort study. Lancet Infect Dis 2016;16(2):219-26.
17. Monedero I, Caminero JA. "MDR-/XDR-TB management: what it was, current standards and what is ahead." Expert Review of Respiratory Medicine. Vol. 3. No. 2. 2009. p.133-45.
18. Andersen P, Kaufmann SH. Novel vaccination strategies against tuberculosis. Cold Spring Harb Perspect Med 2014;4:a018523.
19. Checkley AM, McShane H. Tuberculosis vaccines: progress and challenges. Trends in Pharmacological Sciences 2011;32:601-6.
20. Abu-Raddad LJ, Sabatelli L, Achterberg JT, Sugimoto JD, Longini IM Jr, Dye C, et al. Epidemiological benefits of more effective tuberculosis vaccines, drugs and diagnostics. Proc Natl Acad Sci USA 2009;106:13980-5.
21. O'Shea MK, McShane H. A Review of clinical models for the evaluation of human TB Vaccines. Human Vaccines & Immunotherapeutics 2016;12(5):1177-87.
22. Tanır G. Tüberküloz aşıları. Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci 2007;3:15-22.
23. Billeskov R, Elvang TT, Andersen PL, Dietrich J. The HyVac4 subunit vaccine efficiently boosts BCG-primed antimycobacterial protective immunity. PLoS ONE 2012;7(6).
24. Tye GJ, Lew MH, Choong YS, Lim TS, et al. Vaccines for TB: Lessons from the Past Translating into Future Potentials. Journal of Immunology Research 2015;2015: 916780.

25. Lin PL, Dietrich J, Tanetel E. The multi stage vaccine H56 boosts the effects of BCG to protect cynomolgus macaques against active tuberculosis and reactivation of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Journal of Clinical Investigation* 2012;122(1):303-14.
26. Tameris MD, Hatherill M, Landry BS, Scriba TJ, Snowden MA, Lockhart S, et al. Safety and efficacy of MVA85A, a new tuberculosis vaccine, in infants previously vaccinated with BCG: a randomised, placebocontrolled phase 2b trial. *Lancet (London, England)* 2013;381:1021-8.
27. Goonetilleke NP, McShane H, Hannan CM, Anderson RJ, Brookes RH, Hill AV. Enhanced immunogenicity and protective efficacy against *Mycobacterium tuberculosis* of bacille Calmette-Guerin vaccine using mucosal administration and boosting with a recombinant modified vaccinia virus Ankara. *Journal of Immunology (Baltimore, Md: 1950)* 2003;171:1602-9.
28. Verreck FA, Vervenne RA, Kondova I, van Kralingen KW, Remarque EJ, Braskamp G, et al. MVA.85A boosting of BCG and an attenuated, phoP deficient M. tuberculosis vaccine both show protective efficacy against tuberculosis in rhesus macaques. *PLoS One* 2009;4:e5264.
29. Vordermeier HM, Villarreal-Ramos B, Cockle PJ, McAulay M, Rhodes SG, Thacker T, et al. Viral booster vaccines improve *Mycobacterium bovis* BCG-induced protection against bovine tuberculosis. *Infection and Immunity* 2009;77:3364-73.
30. Ota MO, Odutola AA, Owiafe PK, Donkor S, Owolabi OA, Brittain NJ, et al. Immunogenicity of the tuberculosis vaccine MVA85A is reduced by coadministration with EPI vaccines in a randomized controlled trial in Gambian infants. *Science Translational Medicine* 2011; 3:88ra56.
31. Scriba TJ, Tameris M, Mansoor N, Smit E, van der Merwe L, Isaacs F, et al. Modified vaccinia Ankara-expressing Ag85A, a novel tuberculosis vaccine, is safe in adolescents and children, and induces polyfunctional CD4+ T cells. *European Journal of Immunology* 2010;40: 279-90.
32. Scriba TJ, Tameris M, Mansoor N, Smit E, van der Merwe L, Mauff K, et al. Dose-finding study of the novel tuberculosis vaccine, MVA85A, in healthy BCG-vaccinated infants. *The Journal of Infectious Diseases* 2011;203:1832-43.
33. Hawkrige T, Scriba TJ, Gelderbloem S, Smit E, Tameris M, Moyo S, et al. Safety and immunogenicity of a new tuberculosis vaccine, MVA85A, in healthy adults in South Africa. *The Journal of Infectious Diseases* 2008;198: 544-52.
34. Minassian AM, Rowland R, Beveridge NE, Poulton ID, Satti I, Harris S, et al. A phase I study evaluating the safety and immunogenicity of MVA85A, a candidate TB vaccine, in HIV-infected adults. *BMJ Open* 2011;1: e000223.
35. Ndiaye BP, Thienemann F, Ota M, Landry BS, Camara M, Dieye S, et al. Safety, immunogenicity, and efficacy of the candidate tuberculosis vaccine MVA85A in healthy adults infected with HIV-1: a randomised, placebocontrolled, phase 2 trial. *The Lancet Respiratory Medicine* 2015;3:190-200.
36. Grode L, Seiler P, Baumann S, et al. Increased vaccine efficacy against tuberculosis of recombinant *Mycobacterium bovis* bacille Calmette-Guérin mutants that secrete listeriolysin. *Journal of Clinical Investigation* 2005;115(9):2472-9.
37. Grode L, Ganoza CA, Brohm C, Weiner J 3rd, Eisele B, Kaufmann SH. Safety and immunogenicity of the recombinant BCG vaccine VPM1002 in a phase 1 open-label randomized clinical trial. *Vaccine* 2013;31(9):1340-8.
38. Asensio JG, Maia C, Ferrer NL, et al. The virulence associated two-component PhoP-PhoR system controls the biosynthesis of polyketide-derived lipids in *Mycobacterium tuberculosis*. *The Journal of Biological Chemistry* 2006;281(3):1313-6.
39. Pym AS, Brodin P, Majlessi L, et al. Recombinant BCG exporting ESAT-6 confers enhanced protection against tuberculosis. *Nature Medicine* 2003;9(5):533-9.
40. Pym AS, Brodin P, Brosch R, Huerre M, Cole ST. Loss of RD1 contributed to the attenuation of the live tuberculosis vaccines *Mycobacterium bovis* BCG and *Mycobacterium microti*. *Molecular Microbiology* 2002;46(3):709-17.
41. Lu Y, Xu Y, Yang E, Wang C, Wang H, Shen H. Novel recombinant BCG coexpressing Ag85B, ESAT-6 and Rv2608 elicits significantly enhanced cellular immune and antibody responses in C57BL/6mice. *Scandinavian Journal of Immunology* 2012;76(3):271-7.
42. Navalkar RG, Chaparas SD, Lakshminarayana CK, Kanchana MV. Antigenic evaluation of *Mycobacterium vaccae* in relation to *Mycobacterium leprae*. *International Journal of Leprosy* 1980;48(4):388-96.
43. Bahr GM, Shaaban MA, Gabriel M, et al. Improved immunotherapy for pulmonary tuberculosis with *Mycobacterium vaccae*. *Tubercle* 1990;71(4):259-66.
44. Johnson JL, Kanya RM, Okwera A, et al. Randomized controlled trial of *Mycobacterium vaccae* immunotherapy in non-human immunodeficiency virus-infected Ugandan adults with newly diagnosed pulmonary tuberculosis. *Journal of Infectious Diseases* 2000;181(4):1304-12.
45. Dlugovitzky D, Fiorenza G, Farroni M, Bogue C, Stanford C, Stanford J. Immunological consequences of three doses of heat-killed *Mycobacterium vaccae* in the immunotherapy of tuberculosis. *Respiratory Medicine* 2006;100 (6):1079-87.
46. Wang B, Henao-Tamayo M, Harton M, et al. A toll-like receptor-2-directed fusion protein vaccine against tuberculosis. *Clinical and Vaccine Immunology* 2007;14(7):902-6.
47. Cardona PJ, Amat I. Origin and development of RUTI, a new therapeutic vaccine against *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Archivos de Bronconeumologia* 2006;42(1):25-32.
48. Cardona PJ. RUTI: a new chance to shorten the treatment of latent tuberculosis infection. *Tuberculosis* 2006;86(3-4):273-89.
49. Guirado E, Gil O, Caceres N, Singh M, Vilaplana C, Cardona PJ. "Induction of a specific strong polyantigenic cellular immune response after short-term chemotherapy controls bacillary reactivation in murine and guinea pig experimental models of tuberculosis. *Clinical and Vaccine Immunology* 2008;15(8):1229-37.
50. Vilaplana C, Montañe E, Pinto S, et al. Double-blind, randomized, placebo-controlled Phase I Clinical Trial of the therapeutic anti-tuberculous vaccine RUTI. *Vaccine* 2010; 28(4):1106-16.
51. Montoya CJ, Cataño JC, Ramirez Z, Rugeles MT, Wilson SB, Landay AL. Invariant NKT cells from HIV1 or *Mycobacterium tuberculosis*-infected patients express an activated phenotype. *Clinical Immunology* 2008;127(1):1-6.
52. Chackerian A, Alt J, Perera V, Behar SM. Activation of NKT cells protects mice from tuberculosis. *Infection and Immunity* 2002;70(11): 6302-9.
53. Brennan PJ, Tatituri RV, Heiss C, et al. Activation of iNKT cells by a distinct constituent of the endogenous glucosylceramide fraction. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2014;111(37):13433-8.
54. Schmidt A, Oberle N, Krammer PH. Molecular mechanisms of treg-mediated T cell suppression. *Frontiers in Immunology* 2012;3:article 51.
55. Ahn SS, Jeon BY, Park SJ, et al. Nonlytic Fc-fused IL7 synergizes with Mtb32 DNA vaccine to enhance antigen specific T cell responses in a therapeutic model of tuberculosis. *Vaccine* 2013;31(27):2884-90.
56. Ahn SS, Jeon BY, Kim KS, et al. Mtb32 is a promising tuberculosis antigen for DNA vaccination in pre- and post exposure mouse models. *Gene Therapy* 2012;19(5):570-5.
57. Wells JW, Cowled CJ, Farzaneh F, Noble A. Combined triggering of dendritic cell receptors results in synergistic activation and potency to toxic immunity. *Journal of Immunology* 2008;181(5):3422-31.
58. Duraiswamy J, Kaluza KM, Freeman GJ, Coukos G. Dual blockade of PD-1 and CTLA-4 combined with tumor vaccine effectively restores T-cell rejection function in tumors. *Cancer Research* 2013;73(12):3591-3603.