Helicobacter pylori 백신 개발 현황과 전망

조수정

국립암센터 위암센터

Vaccine Development and Future for *Helicobacter pylori*

Soo-Jeong Cho

Center for Gastric Cancer, National Cancer Center, Goyang, Korea

Helicobacter pylori is one of the most common gastric pathogens, affecting at least half the world's population, and is strongly associated with gastritis, peptic ulcer, gastric adenocarcinoma, and gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. Vaccination against *H. pylori* has been challenging because of its low efficacy, lack of information about protective immunity, and disappointing clinical studies. A recent phase 3 clinical trial in China was reported to be successful to test prophylactic vaccination against *H. pylori*, which caused growing interest in the vaccine development against *H. pylori*. Here, we review literatures regarding vaccination against *H. pylori*. (Korean J *Helicobacter* Up Gastrointest Res 2016;16:134-138)

Key Words: *Helicobacter pylori*; Vaccine

서론

*Helicobacter pylori*는 만성 위염, 소화성 궤양 및 위선암(gastric adenocarcinoma), 위 점막연관 림프조직형 림프종(gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma) 등의 소화기 질환 발생의 위험인자로 알려져 있다.¹ *H. pylori* 감염에 대한 제균 치료는 소화성 궤양을 포함한 다양한 소화기 질환 치료에서 권고된다. 그러나 아직까지 한 가지의 치료로 완벽히 치료하고 재감염을 막을 수 있는 방법은 없으며, 항생제 내성의 증가로 인해 그동안 효과적이었던 제균 요법마저 점차 제균율이 감소하고 있어 *H. pylori* 감염 치료법에 대한 재검토가 필요한 시점이다. 이러한 항생제 제균 치료의 단점을 극복할 수 있는 방법의 일환으로 효과적인 백신의 사용이 제기되었다.

최근까지도 *H. pylori* 백신에 대한 연구는 *H. pylori*에 대한 관심도에 비해 상대적으로 부족하였다. 그 원인으로 항생제 치료라는 강력한 해결방법이 있었기 때문에 천문학적 자원이 필요한 백신 개발의 필요성이 결여되어 있었던 것이 사실이다. 또한 *H. pylori* 인체 내 감염 자체의 긍정적인 효과도 있었다.² *H. pylori* 백신의 전임상 연구결과에서조차 균 감염을 막는 효

과보다는 균 부하(bacterial load)를 감소시키는 효과^{3,4}가 더 뚜렷했던 점도 원인이 될 수 있다. 그 밖에도 *H. pylori* 감염부터 결과 중 하나인 위선암 발생까지의 기간이 길어 백신의 궁극적인 효과를 알기 어려운 점도 있었다.

이 글에서는 *H. pylori*에 대한 백신 개발의 현황과 전망에 대해 검토해보고자 한다.

본론

1. 백신의 종류와 요건

백신이란 인간을 포함한 동물에게 질병이나 전염병에 대한 면역을 부여하는 의약품을 의미한다. 어원은 “소”를 뜻하는 라틴어의 vacca에서 기원하였는데 이는 영국의 에드워드 제너가 천연두 예방법(우두법)을 “vaccination”이라고 불렀고, 프랑스의 루이 파스퇴르가 제너를 기리기 위해 자신의 광견병 치료법을 “vaccine”이라고 부른 데서 유래했다.⁵ 백신은 해당 질병이나 전염병을 일으키는 항원을 배양한 후에 죽었거나 죽기 직전의 상태로 만들어서(약독화) 주입하는 것이 가장 기초적인 원리였다. 최근에는 기술이 발달함에 따라 점점 발전된 백신도 개발되고 있다. 재조합 백신(recombinant vaccine)은 병원체의 DNA가 가지고 있는 항원 결정기의 정보를 이용해 유전자 재조합 기술을 사용하여 그 부분만 따로 생산한 백신을 일컫는다.⁵ 후천적면역결핍증후군(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)이나 말라리아와 같이 병원체 스스로 방어면역을 유도하

Received: August 10, 2016 Accepted: September 6, 2016

Corresponding author: Soo-Jeong Cho

Center for Gastric Cancer, National Cancer Center, 323 Ilsan-ro, Ilsandong-gu, Goyang 10408, Korea

Tel: +82-31-920-1604, Fax: +82-31-920-1289, E-mail: crystal522@ncc.re.kr

Copyright © 2016 Korean College of *Helicobacter* and Upper Gastrointestinal Research

© The Korean Journal of *Helicobacter* and Upper Gastrointestinal Research is an Open-Access Journal. All articles are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

여 효과적인 백신 개발이 어려운 경우에는 최근 DNA 백신이나 벡터 백신(vectored vaccine) 방법이 도입되었다. 이들 백신은 인체 숙주 세포 내에서 병원성 미생물에 대한 항원이 발현되도록 조절하여 면역 반응이 유도되기 때문에 숙주 자체가 백신 공장과 같이 작용한다고 할 수 있다. 또한 DNA 백신은 저장 및 배포가 용이하며 암이나 만성 지속적 감염을 제거하는 데 필요한 T_H1 과 세포독성 T세포(cytotoxic T cell) 면역반응을 잘 유도할 수 있는 장점이 있어 차세대 백신으로 주목 받고 있다.⁵

성공적인 백신이 되기 위해서는 장기간의 면역학적 “메모리” 유도가 필수적이다. 이를 위해서는 질환 예방에 필요한 적합한 면역반응을 유도해야 하며, 오랫동안 살 수 있는 메모리 B세포와 T세포가 유도되어야 한다. 또한 메모리 세포 유지를 위해 백신 기술 관련 메커니즘에 대한 이해가 필수적이다.⁵

2. 경구용 백신과 면역보강제

병원성 미생물의 침투 경로가 구강인 경우 침입 경로에 따라 경구용 백신이 많이 개발되었다. 대표적인 경구용 백신으로 소아마비, 장티푸스 백신이 있다. 최근 개발된 콜레라, 이질균, 살모넬라균, 대장균 백신은 장독소(enterotoxin)에 대한 경구용 백신으로서, 방어 면역 효과가 장기간 지속되고 안전하며 가격이 저렴하고 적은 투여 횟수 등의 장점이 특징이다. 최근에는 백신 개발시 항원 결정기로 정제 단백 펩타이드 혼합체를 많이 사용하는데, 최근 개발된 *H. pylori* 백신과 같이 정제 단백질과 단백당을 결합시킨 백신은 항체 형성과 보조 T세포(helper T cell) 면역반응을 유발하는 데 용이하다고 알려져 있다. 이 밖에도 최근 시도되는 plasmid DNA 백신은 인체 내에서 지속적으로 항원성 역할을 할 수 있는 순수 핵산을 발현시키도록 고안되었다.⁵

많은 경우에 있어서 백신은 면역원성 항원의 역할을 강화시키는 면역보강제(adjutant)를 포함하고 있다. 이의 정확한 기전은 아직 밝혀지지 않았으나 보조 T세포 면역반응을 촉진하여 백신의 면역원성을 높이는 것으로 추정되며 수산화알루미늄(aluminium hydroxide)이 대표적이다.

3. *H. pylori* 백신 개발의 배경

*H. pylori*는 전 세계 인구의 약 절반에서 감염되어 있다고 알려져 있으며, 감염되면 대부분 무증상이다. 한번 감염된 *H. pylori*는 수십년 이상 감염이 지속되는데 이와 관련된 기전은 아직 명확하지 않다. 지속적인 *H. pylori* 감염은 만성 위염을 유발할 수 있고 암 발생과 관련되어 있다고 알려져 있다.⁶ 현재는 *H. pylori* 제균을 위해 항생제가 사용되고 있으나 항생제 내성 균주의 출현으로 제균율이 떨어지고 있으며, 유병률이 높은 지역에서는 재감염률도 문제가 된다. 많은 양의 약제 복용과 부

작용으로 인해 환자의 순응도가 떨어지고, 이에 따른 내성 증가도 또한 문제이다.⁷

이러한 항생제 제균 치료의 단점을 극복할 수 있는 방법으로 *H. pylori* 백신 개발을 위한 여러 연구들이 진행 중이며, *H. pylori* 백신은 감염을 예방하기 위한 예방적인 측면과 현재 진행중인 감염 상태를 제거하기 위한 치료적인 측면의 사용으로 구분할 수 있다.⁸ 일반적으로 *H. pylori* 집락 형성이 유년기에 이루어지므로 영아들이 예방적인 백신 프로그램의 목표 대상이 될 것이고, *H. pylori*에 감염된 성인들이 치료 목적의 백신 투여에 적합한 대상이 될 것이다. 백신의 중요성에 대한 예측 모델에 따르면 미국에서 2010년도부터 10년간 백신 접종이 이루어진다고 가정하였을 때 2100년에 *H. pylori* 감염과 관련된 십이지장 궤양은 인구 십만 명당 33.3명에서 2.5명, 위암은 4.5명에서 0.4명으로 감소하고 감염 유병률은 12%에서 0.7%로 감소할 것으로 기대한다고 보고하였다.⁹

4. *H. pylori* 백신의 면역 기전

백신의 효과를 최대한으로 끌어올리기 위해서는 다음의 요건이 충족되어야 한다.¹⁰ 첫째, 적절한 항원을 가져야 하고, 둘째, 투여량과 횟수가 적정해야 하며, 셋째, 투여경로가 적절해야 하고, 마지막으로 강한 면역반응을 유도할 수 있어야 한다. 강한 면역반응 유도를 위해 대부분 면역보강제나 carrier 또는 delivery system을 백신에 포함시키게 된다. 일반적으로 강한 면역반응을 일으키기 위해 항원은 한 개보다는 여러 개를 동시에 투여하는 것이 낫다고 알려져 있다. 또한 위장관의 점막에서 면역반응을 유도하기 위해서는 한 가지 요건이 더 필요한데, 이는 선천적으로 존재하는 면역반응 억제 메커니즘, 즉 위장관 내부의 음식물, 다양한 항원, 미생물에 대한 숙주의 면역반응을 감소시키는 기전을 극복해야 한다는 점이다. 이러한 점막 표면에서의 면역 억제는 다른 병원성 미생물에 비해 위장관 병원균에 대한 백신이 상대적으로 부족한 이유이기도 하다.

이전부터 *H. pylori* 감염에 대한 면역반응에서 가장 중요한 역할을 하는 것은 T세포로 알려져 왔다.¹¹ 쥐를 이용한 동물 실험에서 *H. pylori* 유래 단백질에 대한 protection immunity는 주로 T_H1 과 T_H17 세포에 의한 세포 염증 반응(cellular inflammatory response)에 기인한다고 알려져 있다.¹¹ 염증 반응에 의해 유도된 항체가 직접적인 보호 효과를 가지는지에 대해서는 효과가 없다는 보고와,^{12,13} 균 부하를 감소시킨다^{3,4}는 상반된 보고가 있어 이에 대한 연구가 필요하다.

설치류를 이용한 백신 실험에서 *H. pylori* 감염에 대한 예방 효과가 있다고 알려진 항원은 urease subunits, CagA, VacA, catalase, flagellin, heat shock protein, *H. pylori* adhesion A, neutrophil activating protein (NAP), killed whole-cell

bacteria 등이 있다.¹¹ *H. pylori* 백신에서 면역보강제는 수산화 알루미늄 외에 다른 위장관 병원체의 장독소가 많이 쓰인다.

5. *H. pylori* 백신의 임상연구와 한계

현재 인간에 사용할 수 있는 *H. pylori* 백신은 아직까지 상용화된 것이 없다. 지금까지 *H. pylori* 백신의 효과를 시험하는 임상 시험으로 크게 5개가 보고되어 있다(Table 1).^{10,14-18} 이들은 사용된 항원, 면역보강제나 delivery system, 투여 경로, *H. pylori* 감염 여부 등에 따라 차이가 있다. 이중 한 개의 임상 시험에서만 백신의 효과가 있다고 보고되었으며, 나머지 네 연구는 대조군에 비해 유의한 효과가 없었다. 1999년도에 보고된 연구¹⁴에서는 항원으로 urease B (180, 60, 20 mg)와 면역보강제로 *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin (LT, 10 µg)을 결합하여 사용하였다. *H. pylori*에 감염된 자원자에게 경구로 투여하였을 때 protective immunity는 일어나지 않았으나, 대조군에 비해 urease-specific circulating IgA-producing B 세포가 증가하였고, urease 항원을 가장 적게 투여한 그룹에서 위 내 *H. pylori* 밀집도가 의미 있게 감소하였다. 그러나 시험군의 60%에서 LT 면역보강제에 의한 설사 부작용이 발생하였다. 이후 LT 농도를 줄이려는 노력이 있었으며,¹⁹ 이에 따라 *H. pylori* 항원 투여량도 함께 줄어들게 되어 면역반응이 줄어드는 결과를 보이기도 했다.²⁰

LT 면역보강제 독성을 줄이기 위해 아미노산 한 개를 돌연변이시켜 효소 활성을 제한시킨 유전자 조작 LT_{R192G}와 같은 면역보강제가 시도되었고,^{21,22} 이를 인간을 대상으로 한 임상시험에 사용한 시도는 포르말린으로 약독화시킨 whole-cell *H. pylori* (HWC)를 사용한 연구였다.¹⁵ 당시 LT_{R192G} 25 µg과 2.5×10^{10} 개의 HWC를 *H. pylori* 감염자에게 경구 투여하여 침과 대변에서 *H. pylori* 특이 항체가 증가한 것을 관찰하였다. 그러나 혈액에서 메모리 면역 반응은 오히려 *H. pylori* 비감염자에서만 일어났고, 백신투여 7.5개월까지 체균 반응은 일어나지 않았으며, LT_{mutant} 투여에도 불구하고 설사가 18%에서 발생

하였다. 이 연구를 통해 독성이 없는 점막 면역보강제의 필요성이 더 대두되었고, 하나의 항원이 아닌 여러 항원(*H. pylori* 전체, HWC)을 사용한 백신의 면역반응 효과가 좋지 않았던 점이 실망스러웠던 결과였다.

세 번째 연구¹⁶는 약독화된 재조합 *Salmonella* Ty21a를 carrier vehicle로 사용하여 *H. pylori* urease나 HP0231 항원을 운반하도록 디자인된 경구투여 백신 임상시험이었다. 이전의 phase I 임상 연구^{23,24}에서 재조합 *Salmonella* Ty21a와 urease 단백질이 사람에서 항체 반응을 유도하진 않았지만 메모리 T세포 반응을 일으킨다는 연구를 바탕으로 한 임상연구였다. 참여자들은 인간의 위에서 유래한 *H. pylori*를 경구 감염시킨 후 백신을 투여받았다.²⁵ 33명의 백신 투여 자원자 중 8명에서 *H. pylori* 균 부하 정도가 감소하였으나, 이러한 변화는 Ty21a control vector만 투여 받은 25명 중 5명에서도 관찰되어 효과 면에서 유의한 차이는 없었다.

네 번째 연구¹⁷는 alum-based trivalent 백신으로 3개의 항원, 즉 *H. pylori* CagA, VacA, NAP를 항원으로 하고, 면역보강제로는 수산화알루미늄을 사용한 근육주사 투여 백신이었다. 이전 설치류 실험²⁶에서 국소 면역 반응이 억제된 위장관보다는 근육주사 등 다른 투여 경로를 통해 국소 림프절에서 더 강하고 보호효과가 뚜렷한 면역반응이 일어났다는 결과를 바탕으로 경구투여가 아닌 주사 투여 방법을 사용하였다. 동물실험에서 alum-based 백신을 피하 또는 복강 내 주사했을 때 세균 독소 면역보강제 경구투여 백신보다 효과 면에서 최소한 같거나 더 좋았다.^{27,28} Phase I 임상연구에서 alum-based trivalent 백신은 강한 항원 특이 항체 반응과 메모리 T세포 반응을 유도하였으며 부작용은 없었다.²⁹ 이 연구¹⁷에서는 *H. pylori*에 감염되지 않은 자원자를 대상으로 백신 투여군(n=19)과 위약군(n=15)으로 나누어 한 달 간격으로 3회 근육 주사하였고 마지막 boost가 끝나고 한 달 후에 *H. pylori*를 경구 감염시켰다. 감염시킨 후 12주째에 *H. pylori* 감염률을 검사하였을 때 시험군 42%, 위약군 53%로 나와 약 절반에서 *H. pylori*가 자연적으로 소실되는

Table 1. Clinical Trials for Vaccine Efficacy against *Helicobacter pylori* (modified based on previous paper¹⁰)

Year	Route	Antigens	Adjuvant	Timing	Challenge	Result
1999 ¹⁴	Oral	Urease	LT	Therapeutic	Natural	Significant reduction in bacterial load in some vaccine groups
2001 ¹⁵	Oral	Whole cell	LT _{mutant}	Therapeutic	Natural	No clearance
2008 ¹⁶	Oral	Urease or HP0231	<i>Salmonella</i> Ty21a	Prophylactic	Experimental	Some clearance in both vaccine and control groups
2012 ¹⁷	Intramuscular	CagA, VacA, NAP	Aluminium hydroxide	Prophylactic	Experimental	Clearance equivalent between vaccine and control groups
2015 ¹⁸	Oral	Urease	LT	Prophylactic	Natural	Efficacy 72%

HP, heat shock protein; LT, *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin.

결과를 보여, 백신 투여 효과의 차이는 없는 것으로 나왔다.

6. 최신 *H. pylori* 백신 임상연구

최근 중국에서 6~15세의 어린이를 대상으로 한 단기관, 3상 무작위 대조군 연구가 발표되었다(Table 1).¹⁸ *H. pylori* 감염력이 없는 총 4,464명의 환자를 대상으로 무작위로 vaccine 군과 placebo군으로 나누어 0일, 14일, 28일째 경구로 백신을 투여하였다. 백신은 urease B subunit를 *E. coli* 유래 LT B subunit에 결합한 재조합(recombinant) *H. pylori* 백신이었다. 백신 접종 1년 후 *H. pylori* 감염은 백신 투여군에서 대조군에 비해 훨씬 적게 일어나서(14명 vs. 50명), 백신에 의한 감염 예방 효과(efficacy)는 71.8%로 나타났다. 2년째와 3년째 efficacy도 55.0%, 55.8%로 장기간 효과가 유지되었다. 백신 투여자의 혈청 anti-urease B subunit IgG 항체와 타액 IgA 항체가 증가하였으며, 시간이 지나면서 감소하였지만 대조군에 비해 여전히 높은 상태로 지속되었다. 이상반응은 양군에서 비슷하게 일어났으며 백신 관련 중대한 이상반응은 없었다. 이 연구는 3년간의 관찰에서 *H. pylori* 감염 감소효과를 보였으나, 예방 효과가 3년 이후에도 지속될지, 그리고 *H. pylori* 관련 질환에 대해서도 예방 효과가 있을지에 대해서는 더 오랜 관찰이 필요하다. 또한 *H. pylori*에 대한 예방 효과에서 세포관련면역(cell-mediated immunity)에 대한 연구는 수행되지 않아 향후 백신의 면역기전에 대한 연구가 필요하다. 처음 스크리닝에서 약 20%의 어린이가 이미 *H. pylori*에 감염되었기 때문에 접종 시기에 대해서도 더 연구가 필요하다. 이 밖에도 복용 방법에 있어 음식과 함께 비교적 다량의 bicarbonate 용액을 함께 복용해야 하는 점과 점막 면역보강제로 쓰인 장독소의 안전성에 있어서도 고려가 필요하다.

7. *H. pylori* 백신 개발의 향후 과제

지금까지 살펴본 백신 연구는 아직까지 많은 제한점이 있다. 첫째, 지금까지 인간을 대상으로 한 임상연구에서 효과가 있다고 나온 연구에서조차 백신의 *H. pylori* 예방 효과에 대한 면역 반응에 대한 연구가 충분하지 않다. 최근의 중국 연구¹⁸에서조차 T세포 반응 기전에 대한 고려가 없었다. 그 원인으로 *H. pylori*의 동물 감염 모델의 부족과 동물 모델의 예방 효과가 실제 인간에게 완벽하게 적용되기 어려운 이유 등을 들 수 있다. 둘째, *H. pylori* 감염 자체가 면역 억제 체계를 활성화한다는 점이다. *H. pylori* 감염은 위점막 표면에서 이루어지고 확실한 세포독성이 약하기 때문에 숙주는 위장관에 공생하는 다른 세균총에 대한 반응과 비슷한 반응을 보인다. *H. pylori*에 감염되었을 때, 숙주는 regulatory T세포 (Treg 세포, CD25^{hi} T세포)와 IL-10-producing Tr1 세포를 통해 면역 반응을 억제한다고

알려져 있다.³⁰⁻³³ *H. pylori*에 감염된 숙주의 말초 혈액 실험에서 Treg 세포를 줄이면 전반적인 T세포 활성화가 높아진다는 보고가 있었다.³⁴ 따라서 향후 Treg 세포 활성화를 제한하거나 proinflammatory T세포를 활성화하여 억제된 면역 반응을 극복하는 방향이 고려되어야 하겠다. 셋째, 어린이를 대상으로 한 중국의 연구¹⁸에서 볼 수 있듯 백신 투여 시기에 대한 고려가 필요하다. 이론적으로는 preventive immunity를 위해 *H. pylori* 감염시기 이전에 투여하는 것이 맞지만, 너무 이른 연령에 투여하는 것은 면역 관용을 일으켜,³⁵ 오히려 어른이 되었을 때 제균할 수 있는 능력이 떨어질 수도 있다. 넷째, 독성반응을 최소화하면서 면역반응을 활성화시킬 수 있는 면역보강제에 대한 연구도 필요하겠다. 마지막으로, *H. pylori* 감염을 예방하는(sterilizing) 백신보다 CagA와 같이 *H. pylori*의 병원성 부위를 타겟으로 하는 접근 방법도 고려해 볼 수 있다.

결론

H. pylori 항생제 제균 치료의 단점을 극복할 수 있는 방법의 일환으로 효과적인 백신의 개발이 진행 중이다. 최근 인체를 대상으로 한 연구에서 처음으로 백신 효과에 대한 좋은 결과가 보고되었으며, 향후 *H. pylori* 예방 효과에 대한 면역 반응과 백신 투여시기를 고려한 더 다양한 연구가 이루어질 것으로 보인다.

REFERENCES

1. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. N Engl J Med 2002;347:1175-1186.
2. Blaser MJ. Disappearing microbiota: *Helicobacter pylori* protection against esophageal adenocarcinoma. Cancer Prev Res (Phila) 2008;1:308-311.
3. Lee CK, Weltzin R, Thomas WD Jr, et al. Oral immunization with recombinant *Helicobacter pylori* urease induces secretory IgA antibodies and protects mice from challenge with *Helicobacter felis*. J Infect Dis 1995;172:161-172.
4. Blanchard TG, Czinn SJ, Maurer R, Thomas WD, Soman G, Nedrud JG. Urease-specific monoclonal antibodies prevent *Helicobacter felis* infection in mice. Infect Immun 1995;63:1394-1399.
5. Sung YC. Perspective of vaccine development: past, present and future. BioWave 2005;7:1-15.
6. Reiter NJ, Osterman A, Torres-Larios A, Swinger KK, Pan T, Mondragón A. Structure of a bacterial ribonuclease P holoenzyme in complex with tRNA. Nature 2010;468:784-789.
7. Eun CS, Han DS. Current concepts in the treatment of *H. pylori* infection and *H. pylori* vaccines. Hanyang Medical Review 2007;27:96-106.
8. Kabir S. The current status of *Helicobacter pylori* vaccines: a review. Helicobacter 2007;12:89-102.

9. Rupnow MF, Shachter RD, Owens DK, Parsonnet J. Quantifying the population impact of a prophylactic *Helicobacter pylori* vaccine. *Vaccine* 2001;20:879-885.
10. Blanchard TG, Czinn SJ. Current status and prospects for a *Helicobacter pylori* vaccine. *Gastroenterol Clin North Am* 2015;44:677-689.
11. O'Keeffe J, Moran AP. Conventional, regulatory, and unconventional T cells in the immunologic response to *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2008;13:1-19.
12. Blanchard TG, Czinn SJ, Redline RW, Sigmund N, Harriman G, Nedrud JG. Antibody-independent protective mucosal immunity to gastric *Helicobacter* infection in mice. *Cell Immunol* 1999;191:74-80.
13. Sutton P, Wilson J, Kosaka T, Wolowczuk I, Lee A. Therapeutic immunization against *Helicobacter pylori* infection in the absence of antibodies. *Immunol Cell Biol* 2000;78:28-30.
14. Michetti P, Kreiss C, Kotloff KL, et al. Oral immunization with urease and Escherichia coli heat-labile enterotoxin is safe and immunogenic in *Helicobacter pylori*-infected adults. *Gastroenterology* 1999;116:804-812.
15. Kotloff KL, Szein MB, Wasserman SS, Losonsky GA, DiLorenzo SC, Walker RI. Safety and immunogenicity of oral inactivated whole-cell *Helicobacter pylori* vaccine with adjuvant among volunteers with or without subclinical infection. *Infect Immun* 2001;69:3581-3590.
16. Aebischer T, Bumann D, Epple HJ, et al. Correlation of T cell response and bacterial clearance in human volunteers challenged with *Helicobacter pylori* revealed by randomised controlled vaccination with Ty21a-based Salmonella vaccines. *Gut* 2008;57:1065-1072.
17. Malfertheiner P, Selgrad M, Wex T, et al. Efficacy of an investigational recombinant antigen based vaccine against a CagA *H. pylori* infectious challenge in healthy volunteers. *Gastroenterology* 2012;142:S-184.
18. Zeng M, Mao XH, Li JX, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an oral recombinant *Helicobacter pylori* vaccine in children in China: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2015;386:1457-1464.
19. Banerjee S, Medina-Fatimi A, Nichols R, et al. Safety and efficacy of low dose Escherichia coli enterotoxin adjuvant for urease based oral immunisation against *Helicobacter pylori* in healthy volunteers. *Gut* 2002;51:634-640.
20. Sougioultzis S, Lee CK, Alsahli M, et al. Safety and efficacy of E coli enterotoxin adjuvant for urease-based rectal immunization against *Helicobacter pylori*. *Vaccine* 2002;21:194-201.
21. Marchetti M, Rossi M, Giannelli V, et al. Protection against *Helicobacter pylori* infection in mice by intragastric vaccination with *H. pylori* antigens is achieved using a non-toxic mutant of E. coli heat-labile enterotoxin (LT) as adjuvant. *Vaccine* 1998;16:33-37.
22. Summerton NA, Welch RW, Bondoc L, et al. Toward the development of a stable, freeze-dried formulation of *Helicobacter pylori*-killed whole cell vaccine adjuvanted with a novel mutant of Escherichia coli heat-labile toxin. *Vaccine* 2010;28:1404-1411.
23. Bumann D, Metzger WG, Mansouri E, et al. Safety and immunogenicity of live recombinant Salmonella enterica serovar Typhi Ty21a expressing urease A and B from *Helicobacter pylori* in human volunteers. *Vaccine* 2001;20:845-852.
24. Metzger WG, Mansouri E, Kronawitter M, et al. Impact of vector-priming on the immunogenicity of a live recombinant Salmonella enterica serovar typhi Ty21a vaccine expressing urease A and B from *Helicobacter pylori* in human volunteers. *Vaccine* 2004;22:2273-2277.
25. Graham DY, Opekun AR, Osato MS, et al. Challenge model for *Helicobacter pylori* infection in human volunteers. *Gut* 2004;53:1235-1243.
26. Blanchard TG, Eisenberg JC, Matsumoto Y. Clearance of *Helicobacter pylori* infection through immunization: the site of T cell activation contributes to vaccine efficacy. *Vaccine* 2004;22:888-897.
27. Gottwein JM, Blanchard TG, Targoni OS, et al. Protective anti-*Helicobacter* immunity is induced with aluminum hydroxide or complete Freund's adjuvant by systemic immunization. *J Infect Dis* 2001;184:308-314.
28. Guy B, Hessler C, Fourage S, et al. Systemic immunization with urease protects mice against *Helicobacter pylori* infection. *Vaccine* 1998;16:850-856.
29. Malfertheiner P, Schoultze V, Rosenkranz B, et al. Safety and immunogenicity of an intramuscular *Helicobacter pylori* vaccine in noninfected volunteers: a phase I study. *Gastroenterology* 2008;135:787-795.
30. Anderson KM, Czinn SJ, Redline RW, Blanchard TG. Induction of CTLA-4-mediated anergy contributes to persistent colonization in the murine model of gastric *Helicobacter pylori* infection. *J Immunol* 2006;176:5306-5313.
31. Matsumoto Y, Blanchard TG, Drakes ML, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* and resolution of gastritis in the gastric mucosa of IL-10-deficient mice. *Helicobacter* 2005;10:407-415.
32. Rad R, Brenner L, Bauer S, et al. CD25⁺/Foxp3⁺ T cells regulate gastric inflammation and *Helicobacter pylori* colonization in vivo. *Gastroenterology* 2006;131:525-537.
33. Sayi A, Kohler E, Toller IM, et al. TLR-2-activated B cells suppress *Helicobacter*-induced preneoplastic gastric immunopathology by inducing T regulatory-1 cells. *J Immunol* 2011;186:878-890.
34. Lundgren A, Suri-Payer E, Enarsson K, Svennerholm AM, Lundin BS. *Helicobacter pylori*-specific CD4⁺ CD25^{high} regulatory T cells suppress memory T-cell responses to *H. pylori* in infected individuals. *Infect Immun* 2003;71:1755-1762.
35. Billingham RE, Brent L, Medawar PB. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature* 1953;172:603-606.