Arak Medical University Journal (AMUJ)
2014; 17(92): 62-69

Original Article

Hemokinin-1 molecular adjuvant: an approach to enhance the efficacy of influenza vaccine

Sadeghi K[1], Shahsavandi Sh[1*], Ebrahimi MM[1], Mehravani H[1], Fazel H[2]

1-Razi Vaccine&Serum Research Istitute, Karaj, Iran.
2- Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Teahran, Iran.

Received: 30 Aug 2014, Accepted: 12 Nov 2014

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 10:11 +0430 on Friday August 17th 2018

Abstract

Background: The outbreaks of new antigenic variants of influenza viruses in human populations have increased necessity the improvement of controlling programs. Influenza vaccines are formulated with adjuvant to enhance and direct the host immune responses. Currently, much effort is devoted to designing molecular adjutants. Hemokinin-1 (HK-1) activates T and B cells for proliferation, survival, differentiation into plasma cells, and antibody production. In this study, the effect of HK-1 as a molecular adjuvant for inducing humoral immune response against influenza virus was investigated.

Materials and Methods: The HK-1 coding sequence was cloned into pcDNA3.1 vector and used as adjuvant. Groups of mice were immunized with an inactivated influenza vaccine formulated with HK-1. The sera of vaccinated mice were collected prior to priming and boosting injections and at defined weeks, and analyzed with serological assays.

Results: The results showed that HK-1 was able to increase antibody titer against virus vaccine. The mice immunized with the adjuvanted vaccine produced higher antibody titers against influenza comparing to vaccine alone immunized group. Number of boosting had no effect on the enhancing of antibody titer.

Conclusion: These data revealed that HK-1 as a molecular adjuvant induces stronger humoral and memory responses against influenza immunization.

Keywords: Influenza, Inactivated Vaccine, Molecular Adjuvant, Hemokinin-1, Immunization

*Corresponding Author:
Address: Razi Vaccine&Serum Research Istitute, Karaj, Iran
Email: s.shahsavandi@rvsri.ac.ir

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۱۷، شماره ۱۱ (شماره پیاپی ۹۲)، بهمن ۱۳۹۳، ۶۹-۶۲

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 10:11 +0430 on Friday August 17th 2018

یاور مولکولی هموکینین-۱: رهیافتی برای افزایش کارایی واکسن آنفلوانزا

کاوه صادقی[۱]، شهلا شاهسوندی*[۲]، محمد مجید ابراهیمی[۲]، همایون مهروانی[۲]، هادی فاضل[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ویروس‌شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج، ایران

۲- استادیار، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج، ایران

۳- دانشجوی دکتری تخصصی ویروس‌شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: رخدادهای واریته‌های آنتی‌ژنی جدید ویروس‌های آنفلوانزا در جمعیت‌های انسانی ضرورت بهبود برنامه‌های کنترلی را بیش‌تر کرده است. برای افزایش و هدایت پاسخ‌های ایمنی واکسن‌های آنفلوانزا با یاور ترکیب می‌شوند. در سال‌های اخیر، بیش‌تر تلاش‌ها به طراحی یاورهای مولکولی اختصاص یافته است. هموکینین-۱ فعال‌کننده سلول‌های T و B برای تکثیر، بقا، تمایز به سلول‌های پلاسما و تولید آنتی‌بادی است. در این پژوهش اثر هموکینین -۱ به عنوان یاور بر القا پاسخ ایمنی هومورال علیه ویروس آنفلوانزا بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: توالی رمز دهنده ژن هموکینین -۱ در داخل وکتور pcDNA3.1 قرار داده شده و به عنوان یاور استفاده شد. گروه‌های موش واکسن غیرفعال آنفلوانزا فرموله شده با یاور HK-1 را دریافت کردند. نمونه‌های سرم موش‌های تحت آزمایش پیش از تزریق‌های اولیه و یادآور و در زمان‌های معین گرفته شده و با آزمایش‌های سرولوژی ارزیابی شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که یاور هموکینین -۱ توان افزایش عیار آنتی‌بادی علیه ویروس واکسن را دارد. موش‌های ایمن شده با واکسن دارای یاور در مقایسه با گروهی که فقط واکسن را دریافت کرده بودند سطح بالاتری از آنتی‌بادی علیه آنفلوانزا داشتند. تفاوت در تعداد تزریق‌های یادآور اثری بر روی افزایش عیار نداشت.

نتیجه‌گیری: داده‌های این پژوهش بیان‌گر آن است که هموکینین -۱ به عنوان یک یاور مولکولی پاسخ‌های ایمنی هومورال و خاطره قوی در ایمن‌سازی علیه آنفلوانزا القا می‌کند.

واژگان کلیدی: آنفلوانزا، واکسن غیر فعال، یاور مولکولی، هموکینین-۱، ایمن‌سازی

* **نویسنده مسئول:** کرج، موسسه تحقیات واکسن و سرم سازی رازی

Email:s.shahsavandi@rvsri.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 10:11 +0430 on Friday August 17th 2018

مقدمه

در دهه اخیر به دلیل افزایش رخداد آنفلوانزا در جمعیت‌های انسانی به ویژه انتقال مستقیم ویروس عامل از پرندگان به انسان، بررسی‌های بسیاری در زمینه کنترل و پیش‌گیری از این بیماری صورت گرفته است. بخش مهمی از این تحقیقات به معرفی یاور (یاور) به عنوان ترکیب اصلی واکسن‌ها برای افزایش پاسخ ایمنی اختصاصی علیه آنتی ژن ویروسی اختصاص دارند(۵-۱). یاور از واژه لاتین adjuvare به معنای کمک کننده یا افزایش دهنده گرفته شده است(۶). این ترکیبات که برای تحریک سامانه ایمنی و افزایش القا ایمنی موثر علیه عامل بیماریزا استفاده می‌شوند، به طور ذاتی قابلیت آنتی ژنیک ندارند و هدف از به کار گیری آنها تسریع در برانگیخته شدن، افزایش و دوام پاسخ ایمنی است(۷). یاورها منبع مناسبی برای رها سازی تدریجی آنتی‌ژن هستند و به چندین روش اثر خود را اعمال می‌کنند: تاثیر گذاری بر سامانه ایمنی با القای ترشح سایتوکاین‌های مختلف و پیامد آن افزایش تحریک سلول‌های آیاریگر نوع ۱ و ۲ (Th1 یا Th2) و لنفوسیتهای T سیتوتوکسیک، ارایه شکل فضایی صحیح آنتی‌ژن به سلول های عرضه کننده آنتی‌ژن برای اتصال مناسب آنتی‌ژن به این سلول ها و القا لنفوسیت با ساز و کارهای مختلف و در نهایت تحریک سلول‌های B و افزایش تولید آنتی‌بادی‌های IgM، IgG، و IgA (۹-۷).

یاورها بر اساس ماهیت و ساختارشان به انواع ترکیبات آلی، لیپوزوم، ساپونین و کمپلکس‌های محرک ایمنی، ترکیبات موجود در پیکره باکتری‌ها و ترکیبات تجزیه‌پذیر زیستی تقسیم‌بندی می‌شوند(۹، ۱۰). علاوه بر استفاده از این ترکیبات، مطالعات گسترده‌ای در مورد استفاده از سایتوکاین‌ها و توالی‌های نوکلئوتیدی برای افزایش توان ایمنی‌زایی واکسن‌ها در حال انجام است. شناسایی داخل سلولی این مولکول‌ها توسط گیرنده‌های (Toll Like Recepter) سبب فعال شدن ایمنی ذاتی به صورت کارامد می‌شود(۱۱، ۱۲). هموکینین-۱ (Hemokinin-1-HK-1) آخرین پروتئین شناخته شده از خانواده تاچی‌کینین است و از ژن TAC4 رمزدهی می‌شود. عملکرد برجسته این سایتوکاین که اغلب در بافت‌های غیر عصبی مانند سیستم تنفسی و سیتم عروقی خونی بیان می‌شود، توسعه و فعال کردن لنفوسیت‌های محل درگیر بوده و در القا و تنظیم سامانه ایمنی اکتسابی نقش به سزایی دارد(۱۳، ۱۴). HK-1 فعالیت‌های خود را از چندین مسیر انتقال پیام داخلی مانند تحریک لیپوپلی ساکارید (Lipopolysacarid-LPS) پیوند متقاطع گیرنده سلول B(B cell receptor-BCR) و افزایش سطح لیگاند CD40 پیش می‌برد. این مسیرها سبب تکثیر و افزایش طول عمر سلول‌های B می‌شوند. افزایش سطح این لیگاند در سطح سلول‌های T کمکی بیانگر تاثیر این پروتئین بر مرکز سیستم ایمنی اکتسابی یعنی T CD4+ است که سبب اتصال آن به CD40 بر روی سطح سلول های B می‌شود(۱۵، ۱۶). موتیف‌هایی از HK-1 در پستانداران و پرندگان حفظ شده هستند به ویژه توالی Are-Ser-Thr-Are-Gln-Phe-Tyr-Gly-Leu-Met در انتهای آمینی که تمایز سلول های B را به فعالیت آن نسبت می‌دهند(۱۳). پاسخ‌های ایمنی هومورال با آنتی‌بادی‌های اختصاصی تولید شده توسط سلول‌های پلاسما ترشح کننده آنتی‌بادی که آخرین مرحله از سیر تکامل لنفوسیت‌های B است، میانجی می‌شود که با القا مکانیسم ایمنی مناسب و جمعیت حساس از سلول‌های خاطره که در تماس مجدد با آنتی‌ژن به سرعت تکثیر یافته و سبب ایجاد حفاظت در برابر عفونت می‌شوند. بر همین اساس به نظر می‌رسد بخشی از این پپتید که دارای این موتیف باشد می‌تواند ایمنی اختصاصی هومورال را به خوبی القا کرده و خاطره مناسبی ایجاد کند.

هدف از این مطالعه، بررسی اثر HK-1 بر ایجاد پاسخ‌های ایمنی القا شده علیه ویروس آنفلوانزا است. این یاور مولکولی با وارد کردن ناحیه رمز دهنده ژن در یک وکتور بیانی ساخته شد و اثر آن پیامد تزریق توام با واکسن غیرفعال آنفلوانزا در موش‌های بالب سی (Balb/c) بررسی شده است.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 10:11 +0430 on Friday August 17th 2018

مواد و روش‌ها

استخراج RNA از سلول‌های ریه

ریه پنج موش آزمایشگاهی پس از برداشت در محلول استریل PBS (pH=7.2) هموژن شد. RNA بافتی با استفاده از کیت (High Pure RNA Tissue Kit) ساخت شرکت Roche آلمان استخراج شد.

کلون سازی ژن HK-1

برای تکثیر ژن HK-1 در وکتور شرکت اینویتروژن pcDNA3.1(+) (شرکت اینویتروژن)، توالی‌های mRNA HK-1 موش آزمایشگاهی (با شماره رهگیری NM_053093.1) و رت (با شماره رهگیری AY471575.1) از پایگاه داده Genbank گرفته شدند. پس از هم ردیفی و تعیین ناحیه حفظ شده ژن، برای دو سر ۳ و ۵ آن آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر و کلون‌سازی طراحی شد. با بررسی جایگاه برش آنزیم‌های محدود اثر در وکتور، آنزیم‌های *Nco*I و *Bam*HI به ترتیب در ۵ آغازگر رفت و آغازگر برگشت قرار داده شدند. ساخت آغازگرهای F:5-GGATCCCTTGCCCTGTTTCTCCTGAT-3 و R:5-CCATGGCTTCCCCATCAGACCGTAAT-3 به شرکت Macrogen سفارش داده شد. پس از تکثیر ژن با آزمایش RT-PCR، قطعه مورد نظر در وکتور کلون شد.

واکسن آنفلوانزا

برای تهیه واکسن غیرفعال، ویروس آنفلوانزا به تخم مرغ‌های جنین‌دار تزریق شده و مایع آمینو آلانتوییک در شرایط استریل برداشت شد. آنتی‌ژن به دست آمده با فرمالین غیرفعال شده و به نسبت ۱ به ۷ با یاور HK-1 پیش از تزریق مخلوط شد.

گروه بندی موش‌های تحت آزمایش

تعداد ۴۵ سر موش ماده Balb/c (موسسه واکسن و سرم سازی رازی، کرج) با سن شش هفته و میانگین وزنی بیست گرم در سه گروه کنترل (هر گروه ۵ سر) و یک گروه تیمار (۲۰ سر) دسته‌بندی شدند. در گام اول پس از سازگاری موش‌ها با محیط حیوان‌خانه، برای اطمینان از عدم وجود آنتی‌بادی علیه ویروس آنفلوانزا در روز۳- (سه روز پیش از شروع تزریق) به طور تصادفی از موش‌ها خون‌گیری شده و عیار آنتی‌بادی در نمونه‌های سرم با آزمایش‌های ممانعت از آگلوتیناسیون (HI) و الایزا بررسی شد. گروه‌های مورد آزمایش عبارت بودند از گروه کنترل A: بدون دریافت واکسن آنفلوانزا و یاور HK-1، گروه کنترل B: دریافت فقط یاور، گروه کنترل C: دریافت فقط واکسن، گروه تیمار D: دریافت توام واکسن و یاور. در روز صفر (نخستین تزریق) براساس گروه‌بندی‌ها، تزریق در محل عضله چهار سر ران انجام شد. در روز هفتم پس از خون‌گیری از چند سر موش در هر گروه، نمونه ریه و طحال از گروه های A، B و D برای بررسی هیستوپاتولوژی گرفته شد. در روز ۱۴ موش‌های تیمار شده پس از خون‌گیری به طور تصادفی به دو گروه مساوی D1 (دریافت یک نوبت تزریق یادآور) و D2 (دریافت دو نوبت تزریق یادآور) تقسیم شدند. عیار آنتی‌بادی در نمونه‌های سرم گرفته شده در فواصل دو هفته‌ای تا پایان دوره آزمایش بررسی شد. پیش از هر نوبت خون‌گیری موش‌ها توزین می‌شدند.

موارد اخلاقی نگه‌داری موش‌ها در دوره آزمایش شامل دریافت کافی و مناسب آب و غذا، عدم ایجاد تنش به هنگام خون‌گیری و واکسیناسیون به طور کامل رعایت شد.

آزمایش‌های سرولوژی برای تایید وجود آنتی‌بادی علیه ویروس آنفلوانزا

برای انجام آزمایش HI، در هر چاهک میکروپلیت ۲۵ میکرولیتر و در چاهک‌های ستون ۱۲ آن ۵۰ میکرولیتر PBS ریخته شد. ۲۵ میکرولیتر از نمونه‌های سرم در اولین چاهک هر ردیف (A تا G) ریخته شد. ستون ۱۲ به عنوان کنترل گلبول قرمز و ردیف H به عنوان کنترل ویروس درنظر گرفته شد. رقت‌های دو برابر از هر سرم در هر چاهک تهیه شد. ۲۵ میکرولیتر از آنتی‌ژن اختصاصی ویروس دارای ۴ واحد HA در چاهک‌های ستون ۱ تا ۱۱ ریخته شد. پس از مخلوط کردن آرام، میکروپلیت مدت نیم ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. ۲۵ میکرولیتر گلبول قرمز ۱ درصد (نسبت حجمی) به همه چاهک‌ها

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 10:11 +0430 on Friday August 17th 2018

اضافه شد. پس از مخلوط کردن و قرار دادن پلیت به مدت نیم ساعت در دمای آزمایشگاه، رسوب گلبول‌های قرمز و عدم توده‌ای شدن آنها بررسی شد. عکس رقت آخرین چاهک مشاهده شده در HI، به عنوان عیار آنتی‌بادی در نظر گرفته شد.

آزمایش الایزا با استفاده از کیت ProFLOk® Avian Influenza Virus Antibody Test (Synbiotics, USA) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد.

آزمایش بافت‌شناختی

برای بررسی آثار احتمالی آسیب بافتی یاور HK-1، نمونه‌های طحال و ریه از موش‌های گروه C در روز سوم پس از تزریق و در پایان آزمایش گرفته شده و مقاطع بافتی با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند.

ارزیابی آماری

پردازش آماری با استفاده ار آزمون آنووا یک‌طرفه و با نرم افزار SPSS نسخه ۱۱ صورت گرفت. بیشینه خطای مورد پذیرش، با درنظرگرفتن ضریب اطمینان ۹۵ درصد، معادل ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین وزن موش‌ها در تمامی گروه‌های کنترل و تیمار تفاوتی نداشت و در بازه زمانی آزمایش از ۲۰ گرم به ۳۵/۴ گرم رسید. این امر بیان‌گر آن است که هیچ یک از ترکیبات واکسن آنفلوانزا و یاور HK-1 اثر سویی بر روی حیوان نداشتند. میانگین عیار آنتی‌بادی نمونه‌های سرم موش‌های کنترل و تیمار شده در جدول ۱ آمده است.

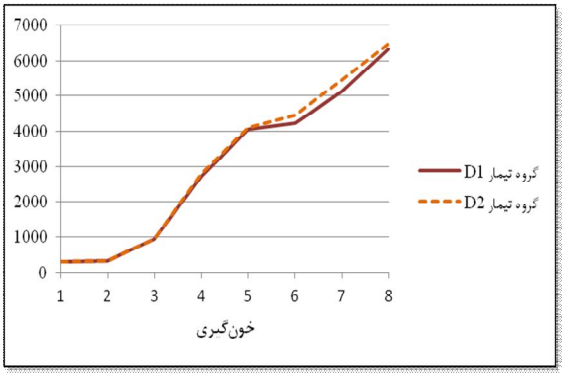
نتایج آزمایش‌های HI و الایزا نمونه‌های سرم نشان می‌دهد که در موش‌های تیمار شده با واکسن آنفلوانزا و یاور HK-1، یکنواختی در عیار آنتی‌بادی در طول دوره آزمایش وجود داشت. پس از دو بار تزریق یادآور، ۸۴ درصد موش‌های تیمار شده گروه D2 از میانگین عیار آنتی‌بادی $\log_2$ ۵< برخوردار بودند که تفاوت چشم‌گیری ($p<۰/۰۵$) با موش‌های گروه D1 که یک نوبت تزریق یادآور را دریافت کرده بودند نداشت(نمودار ۱).

جدول ۱. میانگین عیار آنتی‌بادی علیه آنفلوانزا نمونه‌های سرم موش‌های تیمار شده با واکسن آنفلوانزا و یاور HK-1

روز خونگیری	عیار آنتی‌بادی	
	الایزا + SD	HI $\log_2$ + SD
۳- (پیش از تزریق)	۸۷/۲۲+۳۱۵	۰/۲۳+۰/۸۲
۷ (پس از تزریق اول)	۸۵/۶۱+۳۴۲	۰/۲۱+۰/۸۷
۱۴ (تزریق یادآور اول)	۸۹/۷۵+۹۴۶	۰/۳۴+۲/۸۵
گروه D1:		
۲۸	۱۱۸/۳۲+۲۷۳۴	۰/۴۲+۴/۳۰
۵۲	۱۶۲/۱۹+۴۰۴۶	۰/۴۲+۵/۴۰
۶۶	۱۷۸/۴۰+۴۲۲۸	۰/۴۲+۵/۳۵
۸۰	۱۶۵/۳۳+۵۱۲۳	۰/۴۱+۵/۷۵
۹۴	۱۷۲/۲۵+۶۳۴۳	۰/۴۵+۶/۱۰
گروه D2:		
۲۸ (تزریق یادآور دوم)	۱۱۷/۱۲+۲۸۲۶	۰/۴۲+۴/۳۵
۵۲	۱۵۸/۲۷+۴۱۱۳	۰/۴۲+۵/۴۰
۶۶	۱۸۶/۱۵+۴۴۵۹	۰/۴۲+۵/۴۰
۸۰	۱۷۳/۸۸+۵۴۶۱	۰/۴۱+۵/۹۰
۹۴	۱۸۰/۵۶+۶۴۹۸	۰/۴۵+۶/۱۵

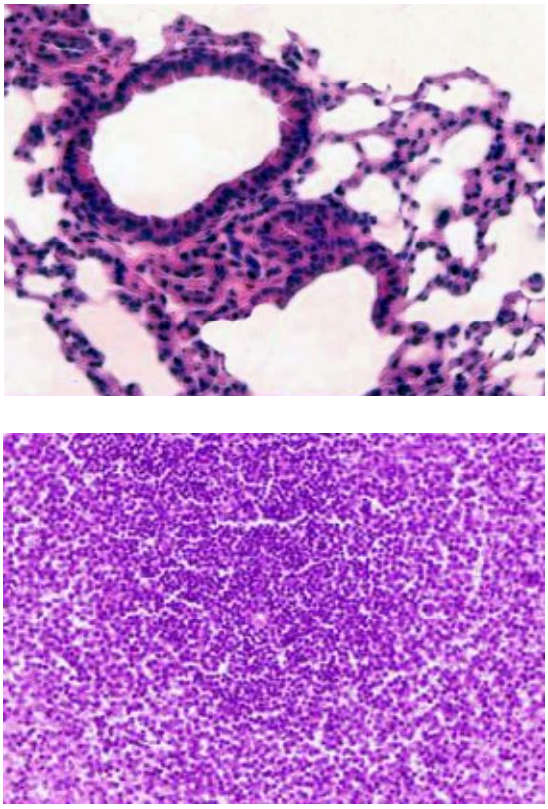
با محاسبه ارزش Z، هم‌خوانی بین آزمایش‌های HI و الایزا در تعیین عیار آنتی‌بادی سرمی موش‌های ایمن شده با واکسن آنفلوانزا برآورد شد. هم‌خوانی نزدیک با محاسبه کاپا ۰/۹۳ بین این دو روش به دست آمد. مقدار کاپا بیش از ۰/۸ نشان‌دهنده هم‌خوانی نزدیک بین نتایج حاصل از این آزمایش‌هاست.

در آزمایش بافت‌شناختی نمونه‌های ریه و طحال موش‌های دریافت کننده یاور، هیچ گونه واکنش التهابی ناخواسته در اثر تزریق HK-1 مشاهده نشد(شکل ۱).



نمودار ۱. نتایج آزمایش الایزا موش‌های ایمن شده با واکسن آنفلوانزا و یاور HK-1. یکنواختی افزایش عیار آنتی بادی در طول دوره آزمایش برای هر دو گروه تیمار D1 و D2 که به ترتیب یک و دو نوبت تزریق یادآور دریافت کرده بودند مشاهده شد.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 10:11 +0430 on Friday August 17th 2018



شکل ۱. در ارزیابی بافت شناختی نمونه‌های طحال (راست) و ریه (چپ) موش‌های تیمار شده با یاور HK-1 تغییر مشخص و واکنش‌های التهابی نشان ندادند.

بحث

در ایمن‌سازی با واکسن‌های غیرفعال، استفاده از یاورهایی که متابولیزه نمی‌شوند برای فعال‌سازی سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن و برانگیخته شدن هرچه بیش‌تر پاسخ هومورال اختصاصی ضروری است. یاورهای مولکولی الیگو نوکلئوتیدهایی بر پایه موتیف CpG غیر متیله هستند که پس از شناسایی داخل سلولی سبب افزایش توان آنتی‌ژنی واکسن و فعال شدن ایمنی ذاتی می‌شوند. در این پژوهش که با هدف تعیین اثر HK-1 در افزایش سطح ایمنی هومورال علیه ویروس آنفلوانزا طراحی شده است، این سایتوکاین تنظیم کننده و فعال کننده سامانه ایمنی اکتسابی در وکتوری قرار داده شد که در توالی خود دارای موتیف‌های CpG غیر متیله بوده و سامانه ایمنی ذاتی را فعال می‌کند. بدین‌ترتیب می‌توان انتظار داشت یاور HK-1 طراحی شده اثر فزاینده‌ای بر القا ایمنی علیه ویروس آنفلوانزا داشته باشد.

نتایج آزمایش‌های سرولوژی نشان داد که میانگین عیار آنتی‌بادی علیه ویروس در موش‌های ایمن شده با واکسن دارای یاور HK-1 بسیار بیش‌تر از موش‌های کنترلی بود که واکسن را به تنهایی دریافت کرده‌اند، اگرچه میزان عیار در گروه تیمار D2 که دو بار یادآور دریافت کرده بودند اختلاف معنی‌داری با گروه تیمار D1 با یک نوبت تزریق یادآور نداشت. بدین ترتیب HK-1 سبب ارتقا ایمنی هومورال در مقابله با ویروس آنفلوانزا شده است. بیش‌تر مطالعات بر نقش این سایتوکاین در سامانه ایمنی تاکید دارند و به عنوان یک فاکتور رشد و یا القا کننده فاکتور رشد بر روی سلول‌های B اولیه معرفی می‌شود(۱۳، ۱۵، ۱۶) اما پروتئین HK-1 در تکامل سلول‌های T نیز نقش داشته و توانایی فعال کردن آنها را دارد. افزایش پاسخ‌های ایمنی با استفاده از یاورها به دلیل ایجاد پیام‌های کمک تحریکی برای هدایت لنفوسیت‌ها به سمت پاسخ ایمنی و ترشح فاکتورهای محرک مانند اینترلوکین است که بر روی تکثیر لنفوسیت‌ها تاثیر می‌گذارد. نشان داده شده است که افزایش ترشح (Interleukin21-IL21) یکی دیگر از مسیرهای انتقال پیام داخلی پروتئین HK-1 است که سبب تکثیر لنفوسیت‌های T فولیکولاری می‌شود. این سلول‌ها نوعی T CD4+ هستند که ایمنی هومورال را در واکنش علیه آنتی‌ژن‌های پروتئینی فعال می‌کند(۱۶، ۱۷). هدف از واکسیناسیون، ایجاد ایمنی موثر علیه عامل بیماریزا است که با القا ساز و کار ایمنی مناسب و جمعیت حساس از سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن که در تماس مجدد با آنتی‌ژن به سرعت تکثیر یافته و سبب ایجاد حفاظت در برابر عفونت می‌شوند، به دست می‌آید. اما واکسن‌های غیر فعال آنفلوانزا در القا ایمنی سلولی ضعیف عمل می‌کنند و به همین دلیل در سال‌های اخیر علاوه بر مشتقات باکتری‌ها، بر روی اثر دامنه‌ای از سایتوکاین‌ها در تقویت پتاسیل القای ایمنی و افزایش اثربخشی آنها مطالعات گسترده‌ای صورت گرفته است. به عنوان مثال مولکول‌هایی که پاسخ‌های ایمنی ذاتی را از مسیر STING-TBK1 فعال می‌کنند(۱۸) و IC31 که آگونیست TLR-9 است(۱۹) سبب افزایش

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 10:11 +0430 on Friday August 17th 2018

پاسخ‌های ایمنی علیه عفونت‌های آنفلوانزا می‌شوند. تاکنون اثر HK-1 به عنوان یاور مولکولی در افزایش پاسخ‌های ایمنی علیه ویروس هپاتیت B بررسی شده است. نتیجه مطالعه چن و همکاران نشان داد که این توالی نوکلئوتیدی اثر فزاینده‌ای بر هردوی پاسخ‌های هومورال و سلولی علیه ویروس دارد(۲۰).

آگاهی از نوع عملکرد یاور این امکان را فراهم می‌کند تا هماهنگی بین یاور و ایمونوژن برای افزایش چند برابری در کارایی واکسن ایجاد شود(۶، ۱۰، ۲۱). اثرات ایمنی شناختی HK-1 ریوی است و می‌تواند سامانه ایمنی ناحیه اپی‌تلیال شش‌ها را به خوبی فعال کند و چون آنفلوانزا یک بیماری تنفسی است به نظر می‌رسد این دو هم‌خوانی بیش‌تری برای تولید اینترفرون نوع I و القا مسیر ایمنی سلولی و ایمنی هومورال دارند. در این مطالعه، از اثر الیگونوکلئوتیدهای CpG غیر متیله در توالی DNA وکتور که فعال کننده سامانه ایمنی ذاتی است در طراحی یاور مولکولی HK-1 استفاده شد. این الیگونوکلئوتید تنظیم کننده سامانه ایمنی بوده و با تحریک آنتی بادی در تغییر مسیر ایمنی به سمت پاسخ‌های اینترفرونی نوع یک موثر است(۲۲، ۲۳)، علاوه بر این موتیف CpG توسط TLR9 شناسایی شده و از چند مسیر انتقال پیام داخلی ایمنی ذاتی را تحریک می‌کند. فعال شدن مسیر MyD88 سبب فعال شدن IRF3 و در نهایت فاکتور رونویسی NF-κB می‌شود(۲۴). این فاکتور از ژن‌های سامانه ایمنی مانند اینترفرون γ رونویسی می‌کند که از مهم‌ترین سدهای دفاعی بدن در برابر ویروس‌ها و فعال کننده ماکروفاژها در حذف سلول‌های آلوده است. بنابراین یاور HK-1 دارای دو عملکرد برجسته در فعال کردن سامانه ایمنی ذاتی و ایمنی اکتسابی علیه یک عفونت است(۲۵).

نتیجه‌گیری

تزریق واکسن غیرفعال آنفلوانزا فرموله شده با یاور مولکولی HK-1 سبب القا ایمنی هومورال اختصاصی و افزایش عیار آنتی‌بادی علیه ویروس در گروه‌های موش تحت آزمایش شد. پروتئین HK-1 به میزان زیاد در شش‌ها بیان می‌شود و چون برای میزبان بیگانه نیست هیچ‌گونه واکنش التهابی ایجاد نمی‌کند و مانند بسیاری از یاورهای غیر بیولوژیک سبب بروز واکنش‌های التهابی ناخواسته موضعی، حساسیت و واکنش‌های شدید سیستمیک، شوک آنافیلاکسی، سمیت شیمیایی برای بافت‌های بدن و واکنش‌های متقاطع با آنتی‌ژن های بافتی میزبان نمی‌شود. به نظر می‌رسد طراحی یاورهایی که چندین مسیر انتقال پیام داخلی را فعال می‌کنند و بررسی توان تحریک و القا سامانه ایمنی توسط آنها، پایه تحقیقات نوین در زمینه پیش‌گیری و کنترل بیماری‌های عفونی و ارتقا سطح سلامت عمومی باشد.

تشکر و قدردانی

منابع مالی این پروژه توسط موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تامین شده است. بدین وسیله از دست اندرکاران سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Schellack C, Prinz K, Egyed A, Fritz JH, Wittmann B, Ginzler M, et al. IC31, a novel adjuvant signaling via TLR9, induces potent cellular and humoral immune responses. Vaccine. 2006; 24(26):5461-72.
2. Dai J, Pei D, Wang B, Kuang Y, Ren L, Cao K, et al. Molecular Adjuvant Ag85A Enhances Protection against Influenza A Virus in Mice Following DNA Vaccination. Viruses. 2012; 4(12):3606-24.
3. Fagone P, Shedlock D, Bao H, Kawalekar O, Yan J, Gupta D, et al. Molecular adjuvant HMGB1 enhances anti-influenza immunity during DNA vaccination. Gene therapy. 2011; 18(11):1070-7.
4. Shinya K, Ebina M, Yamada S, Ono M, Kasai N, Kawaoka Y. Avian flu: influenza virus receptors in the human airway. Nature. 2006; 440(7083):435-6.
5. Cox R, Brokstad K, Ogra P. Influenza virus: immunity and vaccination strategies. Comparison of the immune response to inactivated and live, attenuated influenza

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 10:11 +0430 on Friday August 17th 2018

6. Wang W, Singh M. Selection of adjuvants for enhanced vaccine potency. World Journal of Vaccines. 2011; 1(02):33.
7. Singh M. Vaccine adjuvants and delivery systems: John Wiley & Sons; 2007.
8. Lambrecht BN, Kool M, Willart MA, Hammad H. Mechanism of action of clinically approved adjuvants. Current opinion in immunology. 2009; 21(1):23-9.
9. Mbow ML, De Gregorio E, Valiante NM, Rappuoli R. New adjuvants for human vaccines. Current opinion in immunology. 2010; 22(3):411-6.
10. Vogel FR. Improving vaccine performance with adjuvants. Clinical Infectious Diseases. 2000; 30(Supplement 3):S266-S70.
11. De Veer M, Meeusen E. New developments in vaccine research--unveiling the secret of vaccine adjuvants. Discovery medicine. 2011; 12(64):195-204.
12. Mastelic B, Garçon N, Del Giudice G, Golding H, Gruber M, Neels P, et al. Predictive markers of safety and immunogenicity of adjuvanted vaccines. Biologicals. 2013; 41(6):458-68.
13. Grassin-Delyle S, Buenestado A, Vallat L, Naline E, Marx S, Decocq J, et al. Expression and proliferative effect of hemokinin-1 in human B-cells. Peptides. 2011; 32(5):1027-34.
14. Grant J. Tachykinins stimulate a subset of mouse taste cells. PloS one. 2012; 7(2):e31697.
15. Wang W, Li Q, Zhang J, Wu H, Yin Y, Ge Q, et al. Hemokinin-1 activates the MAPK pathway and enhances B cell proliferation and antibody production. The Journal of Immunology. 2010; 184(7):3590-7.
16. Zhang Y, Paige CJ. T-cell developmental blockage by tachykinin antagonists and the role of hemokinin 1 in T lymphopoiesis. Blood. 2003; 102(6):2165-72.
17. Sakai A, Takasu K, Sawada M, Suzuki H. Hemokinin-1 gene expression is upregulated in microglia activated by lipopolysaccharide through NF-κB and p38 MAPK signaling pathways. PloS one. 2012; 7(2):e32268.
18. Desmet CJ, Ishii KJ. Nucleic acid sensing at the interface between innate and adaptive immunity in vaccination. Nature Reviews Immunology. 2012; 12(7):479-91.
19. Kobiyama K, Jounai N, Aoshi T, Tozuka M, Takeshita F, Coban C, et al. Innate immune signaling by, and genetic adjuvants for DNA vaccination. Vaccines. 2013; 1(3):278-92.
20. Chen X, Zhang W, Gao W, Zou Q, Feng C, Liu H, et al. Hemokinin-1 as an adjuvant molecule enhancing humoral and memory responses to HBsAg DNA vaccination. Viral immunology. 2012; 25(4):289-96.
21. Fox CB, Kramer RM, Barnes L, Dowling QM, Vedvick TS. Working together: interactions between vaccine antigens and adjuvants. Therapeutic advances in vaccines. 2013; 1(1):7-20.
22. Heeg K, Zimmermann S. CpG DNA as a Th1 trigger. International archives of allergy and immunology. 2009; 121(2):87-97.
23. Weeratna RD, Brazolot Millan CL, McCluskie MJ, Davis HL. CpG ODN can re-direct the Th bias of established Th2 immune responses in adult and young mice. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2001; 32(1):65-71.
24. Hemmi H, Kaisho T, Takeda K, Akira S. The roles of Toll-like receptor 9, MyD88, and DNA-dependent protein kinase catalytic subunit in the effects of two distinct CpG DNAs on dendritic cell subsets. The Journal of Immunology. 2003; 170(6):3059-64.
25. Zhang Y, Lu L, Furlonger C, Wu GE, Paige CJ. Hemokinin is a hematopoietic-specific tachykinin that regulates B lymphopoiesis. Nature immunology. 2000; 1(5):392-7.