مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی‌ام/شماره ۲۱٤/هفته چهارم دی ماه ۱۳۹۱
مقاله مروری
تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۲۰

بهبود تأثیر ادجووانت‌ها: هدف قرار دادن گیرنده‌های سیستم ایمنی ذاتی با نگاهی ویژه به آگونیست‌های گیرنده‌های شبه تول

دکتر سید الیاس طباطبائی‌زاده[۱]، دکتر علیرضا حق‌پرست[۲]

چکیده

ایجاد ادجوانت‌هایی قوی و ایمن که قادر باشند ایمنی حفاظتی طولانی مدتی را در واکسیناسیون ایجاد نمایند، زمینه‌ی تحقیقاتی گسترده‌ای را در ساخت واکسن به خود اختصاص داده است. در عین حال، کشف گیرنده‌های شبه تول (Toll-like receptors یا TLRs) و سایر گیرنده‌های ایمنی ذاتی با توانایی ایجاد پلی بین پاسخ‌های ایمنی ذاتی و ایمنی اکتسابی فرصت مناسبی را برای استفاده از آگونیست‌های این گیرنده‌ها، جهت ایجاد ادجوانت‌های جدید فراهم نموده است. TLRs از جمله مهم‌ترین گیرنده‌های ایمنی ذاتی هستند که بیشترین تحقیقات در زمینه‌ی شناسایی و استفاده از آگونیست‌های آن‌ها در جهت القای پاسخ‌های ایمنی ذاتی انجام گرفته است. از آگونیست‌های TLRs برای درمان سرطان، آلرژی‌ها و عفونت‌های ویروسی، و به عنوان ادجووانت برای بهبود واکسن‌ها در جهت جلوگیری یا درمان سرطان و بیماری‌های عفونی استفاده شده است. ما در این مطالعه مروری بر راهکارهایی که تاکنون در زمینه‌ی کشف و ایجاد ترکیبات محرک ایمنی و فرمولاسیون واکسن‌هایی که قادر به القای پاسخ‌های ایمنی ذاتی هستند، انجام دادیم. همچنین نقش آن‌ها در فعال‌سازی سیستم ایمنی و استفاده از لیگاندهای آن‌ها به عنوان ادجووانت مورد بحث قرار گرفت.

واژگان کلیدی: ایمنی ذاتی، آگونیست‌های Toll-like receptors، واکسیناسیون، ادجووانت

مقدمه

واکسن‌ها در حال حاضر به عنوان یکی از موفق‌ترین راهکارها در مقابله با بیماری‌های عفونی محسوب می‌شوند (۱). با این وجود هنوز مشکلاتی از قبیل بهبود کارایی واکسن، ایجاد واکسن در برابر بیماری‌هایی که هنوز واکسنی برای آن‌ها وجود ندارد و پاسخ‌دهی سریع به پاتوژن‌های نوظهور مطرح می‌باشند (۳-۲).

در طراحی واکسن‌ها چندین عنصر کلیدی مورد نیاز است. اولین عنصر آنتی‌ژن است که پاسخ‌های ایمنی بر ضد آن ایجاد می‌شود. مواردی که باید در مورد آنتی‌ژن‌ها مورد توجه قرار بگیرد شامل انتخاب آن‌ها (به خصوص در مواردی که تعداد آن‌ها برای انتخاب زیاد است به عنوان مثال برای انتخاب آنتی‌ژن‌های پاتوژن‌های باکتریایی) و عرضه‌ی آن‌ها (جایی که ساختار سوم آنتی‌ژن باید حفظ گردد برای مثال برای القای آنتی‌بادی‌های اختصاصی ساختار فضایی آنتی‌ژن) می‌باشد (۴).

مشاهده شده است که تحریک سیستم ایمنی ذاتی نقش مهمی در ایجاد پاسخ‌های ایمنی اکتسابی دارد. بنابراین عنصر کلیدی دوم استفاده از محرک‌های سیستم ایمنی تحت عنوان ادجووانت (Adjuvant) است که باعث ایجاد پاسخ‌های اولیه‌ی ایمنی ذاتی می‌شوند. هدف ادجوانت‌ها ایجاد پاسخ‌های قوی و طولانی مدت ایمنی اکتسابی می‌باشد که برای مؤثر بودن واکسن‌ها ضروری است (۵).

[۱] دانشجوی دکترای تخصصی، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
[۲] استادیار، گروه ایمونولوژی و بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی و پژوهشکده‌ی فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر علیرضا حق‌پرست
Email: alireza.haghparast@gmail.com

در نهایت عنصر کلیدی بعدی سیستم‌های تحویل‌دهنده می‌باشند که واکسن (آنتی‌ژن و ادجووانت) را در دسترس سلول‌های مناسب سیستم ایمنی قرار می‌دهند و القای سیستم ایمنی را به مطلوب‌ترین حالت خود می‌رسانند (۶).

برای ایجاد پاسخ‌های مؤثر توسط ایمنی اکتسابی در برابر طیف وسیعی از آنتی‌ژن‌ها، تحریک و القای ایمنی ذاتی ضروری می‌باشد.

گیرنده‌های شناسایی‌کننده‌ی الگو (Pattern recognition receptors) مانند گیرنده‌های شبه تول (Toll-like receptors یا TLRs) نقش بسیار مهمی را در فعال‌سازی اولیه‌ی سلول‌های عرضه‌کننده‌ی آنتی‌ژن (Antigen presenting cells یا APCs) اصلی و کلیدی مانند سلول‌های دندریتیک و ماکروفاژها دارند (۹-۷). اگر چه تمامی اعضای خانواده‌ی TLRs دارای ویژگی‌های خاص ساختاری و عملکردی مشترک هستند با این حال سیگنال‌های حاصل از TLRهای مختلف می‌توانند پاسخ‌های ایمنی گوناگون و متفاوتی را از نظر کیفی و کمی ایجاد نمایند (۱۱-۱۰). بنابراین این که چطور و چگونه APCها فعال شوند می‌تواند تأثیر مهمی بر کیفیت و شدت پاسخ‌های ایمنی اکتسابی داشته باشد.

شناخت بهتر رابطه‌ی بین فعال‌سازی سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی دارای اهمیت زیادی در طراحی ادجووانت‌های واکسنی جدید می‌باشد. ادجووانت‌های واکسنی که در حال حاضر اجازه‌ی استفاده در انسان را دارند (Aluminum hydroxide، Salts، MF59 و Virosomes) باعث افزایش پاسخ ایمنی از طریق افزایش تحویل آنتی‌ژن و فعال‌سازی مسیرهای سیستم ایمنی ذاتی می‌شوند (۱۵-۱۲). هیدروکسید آلومینیم و MF59 به طور عمده سبب تحریک پاسخ ایمنی همورال می‌شوند (۱۶). مشکلی که در رابطه با آنتی‌ژن‌های خالص نوترکیب و سنتتیک مورد استفاده در واکسن‌های نسل جدید وجود دارد این است که این واکسن‌های نسل جدید نسبت به واکسن‌های زنده یا کشته‌شده‌ی حاصل از ارگانیسم کامل دارای توانایی کمتری در القای پاسخ‌های ایمنی می‌باشند. این مسأله یک نیاز اساسی را برای دستیابی به ادجووانت‌های قدرتمندتر برای استفاده در این نوع واکسن‌ها ایجاد کرده است (۱۵).

پاسخ‌های سیستم ایمنی ذاتی

سیستم ایمنی دارای دو عملکرد اصلی می‌باشد: واکنش سریع (در طی چند دقیقه) به الگوهای مولکولی موجود در میکروب‌ها و ایجاد پاسخ‌های آرام (در طی روزها و هفته‌ها) و اختصاصی سیستم ایمنی اکتسابی (۱۷).

به دلیل وجود پاسخ‌های به نسبت آرام سیستم ایمنی اکتسابی، سیستم ایمنی ذاتی به عنوان اولین خط دفاعی سیستم ایمنی محسوب می‌شود. در مقابل، ایمنی اکتسابی با انتخاب و گسترش کلونال سلول‌های ایمنی که ژن‌های گیرنده‌های آن‌ها (گیرنده‌های لنفوسیت‌های B و T) در معرض نوترتیبی سوماتیک قرار گرفته‌اند و فراهم‌کننده‌ی اختصاصیت و خاطره‌ی ایمنی طولانی مدت هستند، عملکرد خود را ایفا می‌نمایند (۱۸).

پاسخ‌های ایمنی ذاتی در میان تأثیرات فراوانی که دارند می‌توانند منجر به افزایش ناگهانی سایتوکاین‌ها و فعال‌سازی سلول‌های عرضه‌کننده‌ی آنتی‌ژن از قبیل ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک شوند (۱۱). این پاسخ‌های غیر کلونال همچنین می‌توانند منجر به آماده‌سازی سیستم ایمنی برای ایجاد پاسخ‌های

اختصاصی ایمنی اکتسابی گردند. سیستم ایمنی ذاتی برای تمایز پاتوژن‌ها از ترکیبات خودی، از سطح وسیعی از گیرنده‌های به نسبت نامتغیر که الگوهای تکاملی حفظ‌شده‌ی پاتوژن‌ها به نام الگوهای مولکولی همراه با پاتوژن (Pathogen associated molecular patterns یا PAMPs) را مورد شناسایی قرار می‌دهند، استفاده می‌کنند (۲۰-۱۹).

اضافه کردن چنین ترکیبات میکروبی به واکسن‌های مورد آزمایش منجر به ایجاد پاسخ‌های قوی و با دوام توسط سیستم ایمنی اکتسابی می‌شود. مکانیسم این قوی‌سازی پاسخ‌های سیستم ایمنی به خوبی مشخص نبود تا این که تعدادی از گیرنده‌های شناسایی‌کننده‌ی الگو (Pattern recognition receptors یا PRRs) که در پاسخ‌های ایمنی ذاتی به PAMPs درگیر بودند، شناسایی شدند. گیرنده‌های شناسایی‌کننده‌ی الگو به میزان‌های متفاوتی بر روی طیف وسیعی از سلول‌های ایمنی شامل نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک، سلول‌های کشنده، سلول‌های B و بعضی سلول‌های غیر ایمنی از قبیل سلول‌های اپیتلیال و اندوتلیال عرضه می‌شوند. تحریک گیرنده‌های شناسایی‌کننده‌ی الگو منجر به فعال‌سازی بعضی از این سلول‌ها و ترشح سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها و همچنین بلوغ و مهاجرت سایر سلول‌ها می‌شود. در پی این اتفاقات یک محیط التهابی ایجاد می‌شود که منجر به ایجاد پاسخ‌های ایمنی اکتسابی می‌گردد (۲۱).

گیرنده‌های شناسایی‌کننده‌ی الگو شامل گیرنده‌های غیر فاگوسایتیک از قبیل TLRs و پروتئین‌های NOD (Nucleotide-binding oligomerization domain) و گیرنده‌های تحریک‌کننده‌ی فاگوسیتوز از قبیل گیرنده‌های گندیده‌خوار (Scavenger receptors)، گیرنده‌های مانوز و گیرنده‌های بتا گلوکان می‌باشند (۲۲).

گیرنده‌های بتا گلوکان به طور مستقیم لیگاندهای سطحی میکروب‌های بیماری‌زا را شناسایی می‌کنند و منجر به بلعیده شدن آن‌ها توسط سلول‌های فاگوسایتیک از قبیل ماکروفاژها می‌شوند. گیرنده‌های غیر فاگوسایتیک که مسؤول شناسایی PAMPs به صورت خارج سلولی توسط برخی از TLRs مشخص یا به صورت داخل سلولی توسط پروتئین‌های خانواده‌ی NOD و TLRs هستند، باعث ایجاد آبشاری از سیگنال می‌شوند. اگر چه گزارش‌ها حاکی از این هستند که بعضی TLRs به طور مستقیم به PAMPs متصل می‌شوند، اما تاکنون به صورت کامل مشخص نشده است که آیا در رابطه با سایر لیگاندها نیز این اتصال به صورت مستقیم است یا تعدادی از اجزای پروتئینی واسط درگیر اتصال هستند (۲۵-۲۳).

مسیر سیگنالینگ از طریق TLRs و سایر گیرنده‌های شناسایی‌کننده‌ی الگو به صورت کامل و با جزییات شرح داده شده‌اند (۲۶، ۱۰).

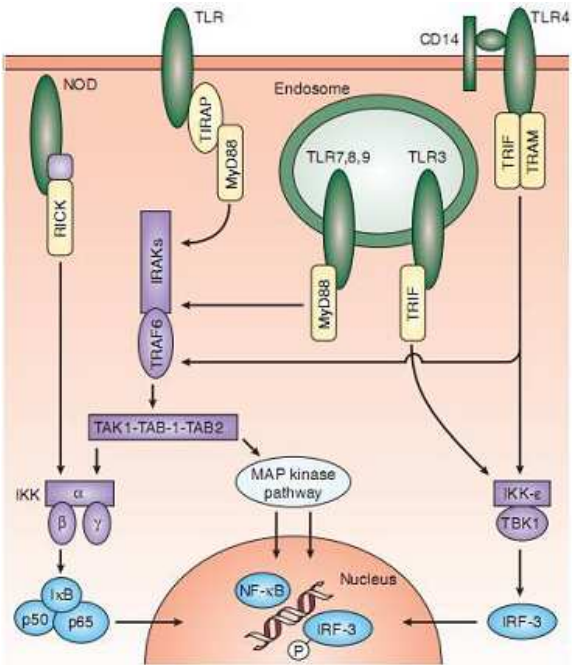
TLRs از نوع گلیکوپروتئین‌های غشایی نوع ۱ هستند که دامنه‌ی (Domain) سیتوپلاسمیک آن‌ها دارای همولوژی با گیرنده‌های اینترلوکین ۱ می‌باشند. یک دامنه‌ی سیتوپلاسمیک حفظ‌شده با طول حدود ۲۰۰ اسید آمینه تحت عنوان TIR (Toll-IL-1 receptor domain) برای همراهی آن با پروتئین‌های اداپتور دارای اهمیت است و این گیرنده‌های غشایی را به مسیر سیگنالینگ آن‌ها ارتباط می‌دهد (۲۷).

تمامی TLRs به غیر از TLR3 دارای یک مسیر سیگنالینگ مشترک هستند که از یک پروتئین اداپتور به

نام MyD88 (Myeloid differentioation factor 88) استفاده می‌کند. در بعضی موارد به عنوان مثال در مورد TLR5، TLR7، TLR9 نشان داده شده است که MyD88 می‌تواند به طور مستقیم با دامنه‌ی TIR باند شود، در حالی که در سایرین مانند TLR2 و TLR4 مولکول اداپتور دیگری تحت عنوان TIRAP (TIR domain containing adaptor protein) دخالت دارد. در مطالعه‌ای که بر روی PBMC (Peripheral blood mononuclear cells) افراد سالم انجام گرفت، مشاهده گردید که TLR2، TLR4، MyD88 و CD14 در این سلول‌ها بیان می‌شوند، اما سطح بیان TLR2 و TLR4 به میزان قابل توجهی بالاتر از میزان بیان MyD88 و CD14 می‌باشد (۲۹-۲۸).

MyD88 از طریق دامنه‌ی انتهای آمینی خود به خانواده‌ی دیگری از ناقلین سیگنال به نام IRAKs (IL-1 receptor associated kinases) متصل می‌شود. IRAKs از طرف دیگر به TRAF6 متصل می‌شوند. متعاقب آن TRAF6 با دخالت TAK1 و TAB2 باعث فعال‌سازی فاکتورهای رونویسی NF-κB و AP-1 می‌شود (۳۰، ۱۰) (شکل ۱). در میان TLRها، تنها TLR3 و TLR4 می‌توانند از طریق TRIF باعث تولید اینترفرون نوع یک شوند (۳۲-۳۱) (شکل ۱).

پروتئین‌های NOD مسؤول شناسایی داخل سلولی پاتوژن‌ها و محصولات آن‌ها از قبیل مورامیل دی پپتید و پپتیدوگلیکان‌های باکتریایی می‌باشند. اعضای خانواده‌ی NOD که از گیرنده‌های شناسایی‌کننده‌ی الگو هستند از لحاظ ساختاری دارای سه ناحیه‌ی مجزا می‌باشند: یک دامنه‌ی شناسایی‌کننده‌ی الگو غنی از لوسین مشابه با TLRs، یک دامنه‌ی اتصال به نوکلئوتید که برای الیگومریزاسیون و سیگنالینگ ضروری است و موتیف‌های اجرایی از قبیل دامنه‌ی جذب‌کننده‌ی کاسپاز (Caspase-recruitment domain). بعد از این که NOD1 و NOD2 با لیگاندهای خود همراه شدند از طریق مسیری که نیاز به برهم‌کنش RIPK (Receptor interacting serine/threonine kinase) با فعال‌سازی NF-κB می‌شوند.



شکل ۱. سیگنالینگ از طریق گیرنده‌های سیستم ایمنی ذاتی. بعد از واکنش با PAMPs، آبشار سیگنالینگ توسط PRRs آغاز می‌شود و باعث فعال‌سازی فاکتورهای رونویسی (از قبیل NF-κB و IRF3) و در نتیجه بیان سایتوکاین‌های التهابی و سایر وقایع مربوط به فعال‌سازی سلولی می‌شوند. عناصر اصلی این مسیر که با استفاده از رنگ نشان داده شده‌اند شامل گیرنده‌ها (سبز)، پروتئین‌های اداپتور (زرد)، کینازها (بنفش) و فاکتورهای رونویسی (آبی) هستند (۱۶).

TRIP: TIR domain-containing adaptor protein inducing IFN-p; TRAM: TRIF-related adaptor molecules; TBK1: TRAF family member-associated NF-kB activator binding kinase 1; IKK: IkB kinase complex; TAK1: Transforming growth factor [J-activated kinase]; TAB1/2: TAK1 binding protein

www.mui.ac.ir

بر اساس مطالب ذکرشده، سیگنالینگ در سیستم ایمنی ذاتی در برگیرنده‌ی مجموعه‌ی پیچیده‌ای از گیرنده‌های غشایی و پروتئین‌های داخل سلولی است که این می‌تواند نشان‌دهنده‌ی طیف وسیعی از اهداف احتمالی برای ادجووانت‌های واکسنی باشد (شکل ۱).

نقش ایمنی ذاتی در آماده‌سازی ایمنی اکتسابی

سیگنالینگ توسط گیرنده‌های شناسایی‌کننده‌ی الگو منجر به فعال‌سازی فاکتورهای رونویسی از قبیل NF-κB و IRF3 (Interferon regulatory factor 3) می‌شود که این‌ها یک زمینه‌ی التهابی را برای فعال‌سازی سریع سیستم دفاعی میزبان فراهم می‌نمایند. مسیر NF-κB کنترل‌کننده‌ی بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی از قبیل IL-1β و TNF-α (Tumor necrosis factor-α) است در حالی که مسیر IRF3 منجر به تولید اینترفرون‌های نوع ۱ ضد ویروسی (IFN-α و IFN-β) می‌شود (۱۰).

همراه با این سایتوکاین‌ها، کموکاین‌های مختلفی از قبیل IL-8، پروتئین‌های جذب‌کننده مونوسیت (Monocytes chemoattractant proteins) پروتئین‌های التهابی ماکروفاژ (Macrophage inflammatory proteins) و RANTES (Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted) رها می‌شوند و گیرنده‌های آن‌ها بر سطح سلول‌های فعال‌شده بیان می‌گردد. در نتیجه سلول‌های اندوتلیال عروق می‌توانند با تغییر بیان سطحی سلکتین‌ها (Selectins) و مولکول‌های چسبنده‌ی بین سلولی (Intercellular cell adhesion molecules) منجر به خروج و یا جلوگیری انتخابی از ورود بعضی از لوکوسیت‌ها از عروق به محل التهاب شوند. این سلول‌ها شامل مونوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، بازوفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و سلول‌های کشنده‌ی طبیعی (Natural killer cells) هستند که بسیاری از آن‌ها TLRs را بیان می‌کنند و می‌توانند در حضور لیگاند مناسب فعال شوند. در نتیجه‌ی این محیط التهابی، مونوسیت‌هایی که به محل آمده‌اند می‌توانند به ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک تمایز یابند. بنابراین فعال شدن سیستم ایمنی ذاتی می‌تواند آماده‌کننده‌ی پاسخ‌های ایمنی اکتسابی باشد (۲۱).

در مطالعه‌ای که توسط آسوده و همکاران به منظور بررسی تأثیر پپتید ضد میکروبی Brevinin-2R جداشده از پوست قورباغه Rana ridibunda بر رده‌ی سلولی انسانی اپیتلیال ریه (A549) انجام گرفت، مشاهده شد که B2R باعث افزایش بیان IL-1β و IL-8 در این رده سلولی می‌شود (۳۵) که این مسأله می‌تواند نشان‌دهنده‌ی فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ توسط گیرنده‌های شناسایی‌کننده‌ی الگو باشد.

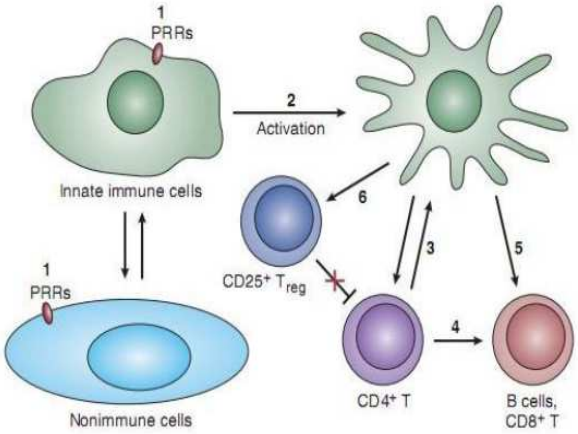
سلول‌های دندریتیک به عنوان یکی از مهم‌ترین انواع سلول‌ها برای شروع آماده‌سازی سلول‌های CD4 کمکی (T_H) دست‌نخورده (Naive) و برای القای تمایز سلول‌های CD8 T به سلول‌های کشنده می‌باشند (۳۶). سلول‌های دندریتیک نابالغ از لحاظ آناتومیک در مکان‌های استراتژیک بدن قرار دارند. این مسأله به آن‌ها این امکان را می‌دهد تا به سرعت در برابر تهاجم میکروب‌ها پاسخ دهند (۳۷).

سلول‌های دندریتیک نابالغ در صورت احساس سیگنال‌های میکروبی خطرناک از طریق PRRs، بالغ می‌شوند و به ارگان‌های لنفاوی ثانویه جهت آماده نمودن (Priming) سلول‌های T دست‌نخورده مهاجرت می‌کنند (۳۷).

حداقل سه زیر مجموعه‌ی مختلف از سلول‌های دندریتیک (حاصل از میلوییید، لنفوییید و سلول‌های لانگرهانس) بر اساس منشأ و خصوصیات فنوتیپیک (شامل بیان TLRs متفاوت) توصیف شده‌اند (۳۸). بنابراین فعال‌سازی سلول‌های دندریتیک مختلف این پتانسیل را دارد که پاسخ‌های ایمنی متفاوت را از لحاظ کیفی ایجاد کند. فعال‌سازی سلول‌های دندریتیک لنفوییدی به دلیل توانایی آن‌ها در ترشح IL-12 (Interleukin 12) می‌تواند برای آماده‌سازی پاسخ‌های مرتبط با T_H1 دارای اهمیت باشد، در حالی که فعال‌سازی اولیه‌ی سلول‌های دندریتیک میلوییدی می‌تواند منجر به القای پاسخ‌های T_H2 یا T_H0 گردد. همچنین سیگنالینگ TLR نقش مهمی در تعیین کیفیت پاسخ‌های این سلول‌های T کمکی دارد (۳۹).

برای مثال برهم‌کنش TLR2 با لیگاند Pam3Cys منجر به تولید ترجیحی سایتوکاین‌های T_H2 می‌شود، در حالی که لیپوساکارید که لیگاند TLR4 است منجر به پاسخ‌های T_H1 می‌گردد (۴۰-۳۹). همچنین سلول‌های دندریتیک ممکن است تأثیرات غیر مستقیم نیز داشته باشند برای مثال از عملکرد تنظیم‌کننده‌های منفی فعال‌سازی ایمنی ممانعت کنند (شکل ۲).

پیشنهاد شده است که تولید IL-6 به وسیله‌ی سلول‌های دندریتیک ممکن است مسؤول جلوگیری از فعالیت ممانعت‌کنندگی سلول‌های T_{reg} باشد (۴۱). به طور خلاصه، عناصر مختلفی از پاسخ‌های ایمنی ذاتی برای ایجاد پاسخ‌های ایمنی اختصاصی بر ضد آنتی‌ژن ضروری هستند و بنابراین می‌توانند اهداف کلیدی برای ادجووانت‌های واکسنی باشند (۵).



شکل ۲. آغاز پاسخ ایمنی. بعد از واکنش با PAMPs (۱)، سلول‌های ایمنی ذاتی و سلول‌های غیر ایمنی مشخصی (از قبیل سلول‌های اپی‌تلیال بافتی) شروع به ترشح سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها می‌کنند. پیکان‌های دوتایی نشان‌دهنده‌ی واکنش متقابل سلول‌ها هستند. ویژگی‌های کلیدی این فعال‌سازی اولیه شامل افزایش عملکرد APC که مشخصه‌ی آن افزایش ظرفیت کمک تحریکی و افزایش مولکول‌های سطحی MHC است (۲). سلول‌های سیستم ایمنی اکتسابی (از قبیل سلول‌های $CD4^+$ T و $CD8^+$) آنتی‌ژن عرضه‌شده را شناسایی و گسترش کلونال انجام می‌دهند (۳). واکنش بین سلول‌های T و B باعث می‌شود سلول‌های B فعال شوند و گسترش یابند و به سلول‌های پلاسما که ترشح‌کننده‌ی آنتی‌بادی‌های اختصاصی هستند، تبدیل شوند (۴). همچنین سلول‌های دندریتیک فعال‌شده می‌توانند به طور مستقیم باعث تبدیل سلول‌های $CD8^+$ T به CTLs شوند (۵) و نیز فاکتورهای محلولی را ترشح می‌کنند که بر تأثیرات $CD25^+$ T_{reg} اثر ممانعت‌کننده داشته باشند (۶). قسمتی از سلول‌های ایمنی اکتسابی به سلول‌های خاطره‌ای تمایز می‌یابند که آماده برای پاسخ‌گویی بعد از مواجهه‌ی ثانویه با یک پاتوژن خاص خواهند بود. بنابراین، نابودی کامل پاتوژن‌ها به وسیله‌ی سلول‌ها و عوامل محلول هر دو سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی حاصل می‌گردد (۱۶).

وضعیت ادجووانت‌ها در تحقیقات واکسن

ادجووانت‌های قوی می‌توانند با تقویت ایجاد پاسخ‌های ایمنی قوی، باقی نگاه داشتن پاسخ‌ها برای مدت‌های طولانی‌تر، القای پاسخ‌های ایمنی موضعی مخاطی، ایجاد آنتی‌بادی‌هایی با اختصاصیت و توانایی خنثی‌کنندگی

بیشتر، ایجاد لنفوسیت‌های T سلول‌کش، ارتقای پاسخ‌های ایمنی در افراد با ضعف سیستم ایمنی و کاهش میزان آنتی‌ژن مورد نیاز و بنابراین کاهش هزینه‌های برنامه‌های واکسیناسیون باعث بهبود تأثیر واکسن‌ها گردند. تعریفی که به صورت عملکردی برای ادجووانت‌ها وجود دارد، این است که ادجوانت‌ها ترکیباتی هستند که به منظور ارتقای ایمنی‌زایی واکسن‌ها به صورت In vivo به آن‌ها اضافه می‌شوند (۱۶).

با توجه به یافته‌های جدیدی که در رابطه با مکانیسم‌های عملکردی ایمنی ذاتی به دست آمده است، می‌توان ادجووانت‌ها را بر اساس مکانیسم‌های عملکردی غالب به دو کلاس سیستم‌های تحویل‌دهنده (Delivery systems) و القاکننده‌های فعالیت سیستم ایمنی (Immune potentiators) تقسیم نمود. القاکننده‌های فعالیت سیستم ایمنی می‌توانند به طور مستقیم برای مثال از طریق سایتوکاین‌ها و یا از طریق گیرنده‌های شناسایی‌کننده، الگوی سیستم ایمنی را فعال نمایند، در حالی که سیستم‌های تحویل‌دهنده برای مثال میکروپارتیکل‌های کاتیونیک (۴۲) می‌توانند باعث عرضه‌ی آنتی‌ژن به صورت الگوهای تکرارشونده و قرار دادن آنتی‌ژن‌ها در معرض سلول‌های عرضه‌کننده‌ی آنتی‌ژن (APC یا Antigen-presenting cell) به نوعی به بهبود فعالیت ادجووانت‌های تحریک‌کننده‌ی سیستم ایمنی کمک نمایند (۶).

بنابراین هر دو کلاس ادجووانت‌ها می‌توانند به صورت In vivo باعث ایجاد پاسخ‌های ایمنی اختصاصی آنتی‌ژن گردند. واکسن‌های تحت واحد (Subunit vaccines) ترکیبی از سیستم‌های تحویل‌دهنده، فعال‌کننده‌های سیستم ایمنی و آنتی‌ژن‌های جداشده برای ایجاد پاسخ‌های مطلوب ایمنی مورد نیاز می‌باشند (۴۳).

برخی از ادجووانت‌هایی که تاکنون لیسانس استفاده گرفته‌اند، شامل نمک‌های معدنی (نمک‌های آلومینیوم و کلسیم)، امولوسیون‌ها (MF59)، موتورهای تحویل‌دهنده (میکرو پارتیکل‌ها، لیپوزوم‌ها، وایروزوم)، سلول‌ها و سایتوکاین‌ها (سلول‌های دندریتیک، IL-12 و Granulocyte macrophage colony-stimulating factor) و مشتقات میکروبی (مونوفسفوریل لیپید A، CpG الیگونوکلئوتیدها، سم کلرا و اشرشیاکلی، لیپوپروتئین‌ها) هستند. تمامی این ادجوانت‌ها بر اساس روش‌های تجربی ایجاد شده‌اند.

بنابراین برای بسیاری از واکسیناسیون‌هایی که امروزه انجام می‌گردد، مناسب نیستند. تأکیدی که به خصوص بر ایجاد پاسخ‌های ایمنی همورال وجود داشت، منجر به ایجاد ادجووانت‌هایی شده است که دارای توانایی ارتقای پاسخ‌های آنتی‌بادی شده‌اند. در نتیجه اکثر واکسن‌هایی که به طور معمول مورد استفاده قرار می‌گیرند، در افزایش سطوح آنتی‌بادی سرم مؤثر می‌باشند؛ در حالی که پاسخ‌های قابل ملاحظه‌ای را در رابطه با T_H1 یا CTLs (Cytotoxic T lymphocyte) نشان نمی‌دهند (۴۴).

توانایی یک ادجووانت و تأثیر کیفی که بر نتیجه‌ی پاسخ ایمنی می‌گذارد مطلب مهمی است که باید مورد توجه قرار گیرد؛ چرا که نیاز به واکسن برای مقابله با عفونت‌های مزمن (برای مثال Hepatitis C virus، Human immunodeficiency virus، سل و Herpes simplex virus) و سرطان، توجه را به سمت ایجاد پاسخ‌های ایمنی سلولی تغییر داده است و ادجووانت‌ها به سمت نشان دادن این تأثیر رفته‌اند.

شناخت در حال گسترش ما از ایمنوبیولوژی TLRs و سایر گیرنده‌های شناسایی‌کننده‌ی الگو، سلول‌های تنظیم‌کننده‌ی سیستم ایمنی، سلول‌های دندریتیک و اهمیت پاسخ‌های اختصاصی سلول‌های T کمکی (T_H1 در مقابل T_H2) در مقابله با بیماری‌های خاص، فراهم‌کننده‌ی زمینه‌ای برای بهبود بخشیدن کارایی این ادجووانت‌ها می‌باشد.

در اکثر فعالیت‌هایی که تاکنون در زمینه‌ی ایجاد واکسن‌ها صورت گرفته است به جای این که پاسخ‌های ایمنی در برابر آن‌ها بهبود داده شود در جهت یافتن آنتی‌ژن‌های حفاظتی جدید و روش‌های عرضه‌ی آن‌ها بوده است. در نتیجه، تنها تعداد کمی سیستم‌های تحویل‌دهنده و سیستم‌های تقویت‌کننده‌ی ایمنی برای استفاده‌ی انسانی در واکسن‌های پروفیلاکتیک لیسانس گرفته‌اند. این فقدان پیشرفت در گرفتن لیسانس استفاده در مورد تحریک‌کننده‌های سیستم ایمنی از قبیل ادجووانت‌ها در نتیجه‌ی خطر ایجاد مسمومیت و نبودن مسیری مناسب برای کشف ادجووانت‌ها می‌باشد (۴۴).

نشان داده شده است که لیگاندهای مختلف TLR از قبیل CpG DNA که بر روی TLR9 اثر می‌کند و ایمیدازوکوینولین‌ها (Imidazoquinolines) که بر روی TLR9 و TLR8 اثر می‌گذارند، می‌توانند به صورت In vitro باعث تحریک تولید سایتوکاین‌ها توسط سلول‌های ایمنی شوند. این ترکیبات تاکنون به عنوان ادجووانت و ایمنوتراپی برای سرطان و بیماری‌های عفونی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند و درجاتی از تأثیر را نشان داده‌اند (۴۵، ۴۱).

ایمیدازوکوئینولین‌ها به خصوص به این دلیل که اولین ترکیبات کوچک و شبه دارویی هستند، مورد توجه بوده‌اند و نشان داده شده است که آن‌ها می‌توانند به عنوان آگونیست برای TLRها عمل کنند (۴۷-۴۶). بنابراین کتابخانه‌هایی حاوی هر دو ترکیبات طبیعی و آنالوگ آن‌ها (برای مثال اسیدهای نوکلئیک) یا مولکول‌های کوچک سنتتیک می‌توانند با استفاده از سلول‌هایی که TLRهای خاص و همچنین ژن‌های گزارشگر مناسب را بیان می‌کنند، برای شناسایی انتخابی آگونیست‌های TLRها مورد استفاده قرار بگیرند. به خصوص که ترانسفکشن (Transfection) هم‌زمان یک TLR cDNA با یک ساختار گزارشگر NF-κB به داخل یک لاین سلولی فاقد TLR می‌تواند به عنوان یک وسیله‌ی غربالگری قدرتمند برای القاکننده‌هایی که TLR خاصی را مورد هدف قرار می‌دهند، مورد استفاده قرار گیرد.

سایر روش‌ها می‌توانند برای شناسایی ممانعت‌کننده‌های آنتاگونیست‌های شناخته‌شده‌ی ایمنی (از قبیل تنظیم‌کننده‌های منفی مسیر سیگنالینگ TLR) یا ترکیباتی که باعث تقویت تنظیم‌کننده‌های مثبت سیستم ایمنی (از قبیل فعال‌کننده‌های NF-κB) می‌شوند، مورد استفاده قرار گیرند (۴۸).

در رابطه با تمامی روش‌هایی که برای یافتن ادجووانت‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، می‌توان گفت که در صورتی که کیفیت پاسخ‌های ایمنی مورد نظر و عناصر اختصاصی درگیر در سیستم ایمنی شناخته‌تر شده باشند، این ادجووانت‌ها تأثیرگذاری بهتر و مناسب‌تری بر القای پاسخ‌های ایمنی خواهند داشت.

جستجو برای یافتن لیگاندهای پپتیدی جدید برای گیرنده‌های شناسایی‌کننده‌ی الگو

اکثر الگوهای مولکولی پاتوژنی که به صورت طبیعی

وجود دارند بر پایه‌ی پلی‌ساکاریدها، لیپیدها یا اسیدهای نوکلئیک می‌باشند. با این حال نشان داده شده است که پپتید ALTTE، که از باکتری مشتق شده است، می‌تواند TLR2 را فعال نماید (۵۰-۴۹). پپتید دیگری که از حشره‌ای که به صورت آزمایشی آلوده شده بود به دست آمد قادر بود تا سلول‌های کشنده‌ی طبیعی را تحریک به تولید IFN-γ (Interferon-γ) کند (۵۱). بنابراین پپتیدها این توانایی را دارند که به عنوان تنظیم‌کننده‌های سیستم ایمنی عمل نمایند. مسأله‌ی جالب توجه این است که توالی پپتیدی ALTTE در چندین ژن در انسان یافت شده است، بنابراین الگوهای مولکولی تنها محدود به میکروب‌ها نمی‌باشند. این مشاهده جنبه‌ی دیگری را برای جستجوی تحریک‌کننده‌های سیستم ایمنی با غربالگری کتابخانه‌های پپتیدی ایجادشده با پپتیدهای سنتتیک ترکیبی نشان می‌دهد. با این حال سدهایی در رابطه با استفاده از پپتیدها به عنوان تحریک‌کننده‌ی سیستم ایمنی برای واکسن‌ها وجود دارد. پپتیدها دارای فارماکوکینتیک ضعیفی می‌باشند و از همه مهم‌تر در In vivo نسبت به تجزیه آسیب‌پذیر هستند و این موارد می‌توانند باعث محدودیت استفاده از آن‌ها گردند (۱۶).

ادجووانت‌های بر پایه‌ی سلول و سیستم‌های تحویل‌دهنده

سلول‌های دندریتیک دارای این توانایی هستند که سیستم ایمنی را برای ایجاد پاسخ‌های قوی توسط لنفوسیت‌ها آماده نمایند و بنابراین به دلیل توانایی آن‌ها برای استفاده به عنوان ادجووانت در واکسن‌های درمانی در برابر سرطان‌های مختلف مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. یکی از مشکلاتی که در رابطه با استفاده از این سلول‌ها وجود دارد این است که تهیه‌ی آن‌ها کار مشکل و پر هزینه‌ای است. این مسأله استفاده‌ی از آن‌ها را به عنوان ادجووانت و پروفیلاکتیک غیر عملی نموده است. با این وجود استفاده از آن‌ها به عنوان واکسن‌های درمانی مورد ارزیابی قرار گرفته است (۵۵-۵۲).

سلول‌های دندریتیک برای استفاده به گونه‌ی مؤثر، باید دارای فنوتیپ مناسب باشند تا بتوانند به گونه‌ای مناسب پپتیدهای آنتی‌ژنیک را عرضه نمایند و مولکول‌های کمک تحریکی را بر سطح خود بیان کنند. لیگاندهای مختلف TLR از قبیل لیپوپلی‌ساکارید و CpG DNA از نظر توانایی در آماده نمودن سلول‌های دندریتیک در Ex vivo مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. این ارزیابی‌های با این هدف انجام شد که این لیگاندها بتوانند سلول‌های دندریتیک را تحریک به بیان سطوح بالاتری از مولکول‌های کمک تحریکی و مولکول‌های سطحی (که همراه با مهاجرت سلولی می‌باشند) کنند (۳۹). سلول‌های دندریتیک فعال‌شده با TLR می‌توانند باعث افزایش پاسخ سلول‌های T و جلوگیری از اثرات ممانعت‌کننده به وسیله‌ی سلول‌های T_{reg} شوند (۵۶). به علاوه، در مورد سلول‌های دندریتیک موشی نشان داده شده است که می‌توانند به مهاجرت سلول‌های کشنده‌ی طبیعی به گره‌های لنفاوی کمک کنند و به این وسیله یک منبع اولیه از IFN-γ مورد نیاز برای ایجاد T_H1 را فراهم کنند (۵۷).

تحویل و هدف قرار دادن اختصاصی ادجووانت به TLR

اکثر لیگاندهای TLR به خصوص آن‌هایی که می‌توانند به صورت شیمیایی سنتز شوند یا به صورت ژنتیکی تغییر یابند برای استفاده به عنوان ادجووانت در حال تکوین می‌باشند (۶۰-۵۸). آگونیست‌های TLR به عنوان ادجووانت‌های خیلی قوی محسوب می‌شوند که

این به دلیل توانایی آن‌ها در فعال نمودن سلول‌های بیان‌کننده‌ی TLR به خصوص سلول‌های دندریتیک (سلول‌های کلیدی عرضه‌کننده‌ی آنتی‌ژن) است. سلول‌های دندریتیک، تولیدکننده‌ی سایتوکاین‌ها، کموکاین‌ها و اینترفرون‌ها هستند و دارای توانایی عرضه‌ی آنتی‌ژن به سلول‌های T نابالغ می‌باشند. نشان داده شده است که تجویز هم‌زمان واکسن و آگونیست TLR، به صورت مستقیم یا با استفاده از سیستم‌های تحویل‌دهنده (از قبیل پارتیکل ویروسی، لیپوزوم، متصل به آنتی‌بادی ضد مولکول سطحی سلول‌های دندریتیک)، به داخل سلول‌های عرضه‌کننده‌ی آنتی‌ژن از طریق مسیر اندوزومال، برای فرمولاسیون مناسب واکسنی مورد نیاز می‌باشد (۶۱، ۱۶).

در مطالعه‌ای که از نانوپارتیکل‌های سنتتیک جهت تحویل آنتی‌ژن و لیگاند TLR در موش استفاده گردید مشاهده شد که استفاده از ترکیبی از لیگاندهای TLR4 و TLR7 در مقایسه با استفاده از هر کدام از این لیگاندها به تنهایی، می‌تواند به میزان قابل توجهی سطح آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده‌ی اختصاصی آنتی‌ژن را افزایش دهد. همچنین مشاهده گردید که پاسخ آنتی‌بادی وابسته به تحریک مستقیم TLR4/7 بر سطح سلول‌های B، سلول‌های دندریتیک و سلول‌های T کمکی می‌باشد (۶۲). این مطالعه علاوه بر استفاده از سیستم تحویل‌دهنده‌ی نانوپارتیکل، نشان‌دهنده‌ی اهمیت استفاده از ترکیبی از آگونیست‌های TLRs است که می‌توانند باعث تحریک مجموعه‌ی خاصی از TLRs شوند و در نتیجه منجر به ارتقای پاسخ‌های ایمنی اکتسابی گردند.

هنگامی که می‌خواهیم از آگونیست‌های TLRs به عنوان ادجووانت در ساخت واکسن استفاده کنیم، باید توجه کنیم که محل قرارگیری TLRs در سلول‌ها در بین تحت خانواده‌های مختلف متفاوت می‌باشد. در حالی که برخی از TLRها (۱، ۲، ۴، ۵، ۶ و شاید ۱۰ و ۱۱) در سطح سلول بیان می‌شوند، سایر TLRها (۹-۷، ۳) به طور اختصاصی در داخل اجزای داخل سلولی از قبیل شبکه‌ی اندوپلاسمیک و اندوزوم‌ها یافت می‌شوند (۳۷). TLR1، TLR2 و TLR6 در شناسایی لیپو پروتئین‌ها، TLR4 در شناسایی لیپوپلی‌ساکارید و TLR5 یا TLR11 در شناسایی پروتئین‌های مشتق‌شده از پاتوژن‌ها دارای نقش می‌باشند. از طرف دیگر TLR3، TLR7، TLR8 و TLR9 در شناسایی اسیدهای نوکلئیک دارای نقش هستند (۶۴-۶۳).

مفهوم فیزیولوژیک این الگوهای متفاوت بیان TLRs در بین انواع سلول‌ها و اجزای داخل سلولی هنوز به طور کامل مشخص نشده است، اما عقیده بر این است که لیگاندهایی که به راحتی از پاتوژن‌ها آزاد می‌شوند مانند فلاژلین، لیپوپروتئین و لیپوپلی‌ساکارید موجود در سطح پاتوژن می‌توانند به وسیله‌ی TLRهای سطحی سلول میزبان مورد شناسایی قرار گیرند؛ در حالی که لیگاندهایی که در داخل پاتوژن‌ها مخفی هستند مانند اسیدهای نوکلئیک بعد از تجزیه‌ی لیزوزومی میکروب‌ها یا سلول‌ها در داخل اندوزوم‌ها مورد شناسایی قرار می‌گیرند (۳۷). تمامی این شواهد می‌توانند در مورد فرمولاسیون واکسن‌ها و سیستم‌های تحویل‌دهنده استفاده شوند. علاوه بر این که واکسن‌ها باید سلول‌های عرضه‌کننده‌ی آنتی‌ژن را مورد هدف قرار دهند، لازم است آنتی‌ژن و ادجووانت در داخل سلول در داخل وزیکل قرار گیرند تا عرضه‌ی آنتی ژن از طریق مسیر فاگوزومال و اندوزومال با کفایت انجام

شود و در نتیجه، فعال‌سازی وابسته به TLR سلول‌های دندریتیک جهت آماده نمودن سلول‌های $CD4^+$ T انجام گردد (۶۵).

علاوه بر این‌ها، بیان هر کدام از TLRها بین انواع مختلف سلول‌ها متفاوت است (۶۶، ۲۹–۲۸). TLR2 و TLR4 بر روی سلول‌های مختلف سیستم ایمنی از جمله ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک، سلول‌های B، گرانولوسیت‌ها، سلول‌های کشنده‌ی طبیعی و سلول‌های T و حتی در سلول‌های غیر ایمنی از قبیل فیبروبلاست‌ها و سلول‌های اپیتلیال بیان می‌شوند. TLR7 و TLR9 به میزان بالایی در سلول‌های ایمنی بیان می‌شوند. این گیرنده‌ها به خصوص به طور غالب در سلول‌های دندریتیک پلاسموسایتوید که میزان زیادی اینترفرون نوع یک را در هنگام عفونت‌های ویروسی تولید می‌کنند بیان می‌شوند (۳۲، ۱۱).

در مطالعه‌ای که توسط حق‌پرست و همکاران به منظور بررسی تغییرات بیان تعدادی از ژن‌های PRRs از جمله TLR2، TLR4، MyD88 و CD14 بر روی سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما انجام گرفت، مشاهده شد که بیان CD14 در این سلول‌ها در مقایسه با PBMC افراد سالم به میزان قابل توجهی پایین‌تر می‌باشد. این مسأله می‌تواند برای طراحی ادجووانت مناسب در جهت مقابله با این سرطان مورد استفاده قرار بگیرد (۶۷).

عرضه‌ی آنتی‌ژن‌های کدشده توسط DNA یا RNA ویروسی که در داخل سلول‌ها بیان می‌شوند، به سلول‌های $CD8^+$ T در سطح سلول‌های آلوده انجام می‌گردد (۴). بیان TLRها در پاسخ به سایتوکاین‌های گوناگون و استرس‌های محیطی القاشده به وسیله‌ی پاتوژن‌ها یا واکسن‌ها می‌تواند تغییر نماید. در مطالعه‌ی انجام گرفته توسط حق‌پرست و همکاران که بیان TLR1 تا TLR10 در لاین سلول‌های گاوی آلوده به انگل تیلریا انولاتا (Theileria annulata) انجام گرفت، مشاهده گردید که در پاساژهای اولیه‌ی سلول‌های آلوده به شیزونت (Schizonts) این انگل، افزایش قابل توجهی در بیان تمامی TLRهای مورد آزمایش نسبت به پاساژهای بالای این سلول‌ها داشتند. در بین این گیرنده‌ها بیشترین افزایش بیان مربوط به TLR10 بود (۶۸). بنابراین تحویل اختصاصی و کارامد آنتی‌ژن واکسن و همچنین ادجووانت به سلول‌های عرضه‌کننده‌ی آنتی‌ژن باید برای طراحی واکسن مورد توجه قرار گیرد.

در مطالعات کلینیکی انسانی ادجووانت‌های بر پایه‌ی MPL (Monophosphoryl-lipid A) به عنوان نسل جدید ادجووانت‌های واکسنی در برابر بیماری‌های عفونی و رینیت آلرژیک فصلی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و ثابت شده است که ایمن و مؤثر می‌باشند (۷۱–۶۹). MPL حاوی لیپید A به عنوان لیگاند TLR4 می‌باشد؛ با این حال به تازگی نشان داده شده است که وابستگی آن به TLR4 برای اثر به عنوان ادجووانت، حداقل برای پاسخ‌های آنتی‌بادی اختصاصی آنتی‌ژن به میزان قابل توجهی کم بوده است. این مسأله نشان می‌دهد که در داخل ترکیب MPL عوامل ادجووانتی مستقل از TLR وجود دارد (۷۲).

ادجووانت وابسته به TLR4 تحت عنوان AS04 (ترکیبی از آلومینیوم هیدروکساید و MPL) همراه با واکسن کنژوگه Cervarix®(Conjugated)، که از پارتیکل‌های شبه ویروسی استفاده می‌کند، برای القای پاسخ‌های سیستم ایمنی در برابر HPV-16

(Human papillomavirus) و HPV-18 مورد استفاده قرار گرفته است (۷۳). هنگامی که Cervarix® با واکسنی که ادجووانت آن آلوم بود مورد مقایسه قرار گرفت، در تمامی مقاطع زمانی مورد آزمایش به میزان قابل توجهی پاسخ‌های آنتی‌بادی ضد HPV-16/18 بالاتری را القا نمود (۷۴). سه و نیم سال بعد از واکسیناسیون با Cervarix®، تیترهای آنتی‌بادی به میزان ۱۷ تا ۳۰ برابر بیشتر از تیتر آنتی‌بادی افرادی بودند که به وسیله‌ی عفونت طبیعی با HPV16 و HPV18 آلوده شده بودند (۷۶–۷۵).

درجه‌ی تأثیر Cervarix® در مطالعات کلینیکی فاز II و III مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایش فاز II، Cervarix® در برابر عفونت با HPV-16/18 برای بیشتر از ۱۲ ماه حفاظت ۱۰۰ درصد را فراهم نمود (۷۶). در آزمایش فاز III، فراوانی HPV تناسلی در زنان مورد آزمایش به میزان ۹۲/۲ درصد کاهش یافت (۷۷). اطلاعات حاصل از مطالعات کلینیکی فاز II و III، ایمنی و تأثیر Cervarix® را مورد تأیید قرار داد. این واکسن که دارای ادجووانت AS04 می‌باشد برای استفاده در اروپا و آمریکا تأیید شده است (۷۹–۷۷).

TLR2 مسؤول پاسخ به فعالیت ادجووانتی لیگاند خود یعنی لیپوپروتئین می‌باشد. برای مثال MALP-2 (Mycoplasma macrophage activating lipopeptide 2) به وسیله‌ی هترودایمر TLR2 و TLR6 مورد شناسایی قرار می‌گیرد و لیپوپپتید باکتریایی سنتتیک PAM3CSK4 به وسیله‌ی دایمر TLR2 و TLR1 شناسایی می‌شود (۸۱–۸۰). ثابت شده است که هر دوی آن‌ها در In vivo ادجووانت‌های قوی می‌باشند (۸۴–۸۲). همچنین برخی از شاخص‌های ویروسی می‌توانند TLR2 را تحریک نمایند (۸۵).

لیپوپروتئین سطحی Outer-surface lipoprotein (OspA) در Borrelia burgdorferi که به عنوان واکسن برای بیماری لایم (Lyme disease) مورد استفاده قرار گرفته است و واکسن‌های پلی‌ساکاریدی کنژوگه حاوی کمپلکس پروتئین غشایی مشتق‌شده از هموفیلوس آنفلانزای نوع b (Hib-OMPC) دو فرمولاسیون واکسنی قوی می‌باشند. OspA و Hib-OMPC فقط حاوی آنتی‌ژن‌های حفاظتی نیستند بلکه حاوی اجزای دیواره‌ی سلولی به عنوان ادجووانت هستند که به وسیله‌ی TLR2 شناسایی می‌شوند. در انسان، افرادی که در ایجاد پاسخ حفاظتی بعد از استفاده از واکسن OspA ناتوان بودند دارای نقص در بیان TLR1 بودند. در مورد موش این مسأله در رابطه با نقص بیان TLR1 و TLR2 بوده است (۸۶).

علاوه بر نقش اصلی TLR4 و TLR2 در شناسایی آنتی‌ژن‌ها در سطح سلول و متعاقب آن فعال‌سازی سیستم ایمنی ذاتی، نشان داده شده است که NOD1 و NOD2، که در سیتوپلاسم قرار گرفته‌اند، می‌توانند پپتیدوگلیکان (PGN یا Peptidoglycan) را که جزیی از دیواره‌ی سلولی باکتری است، شناسایی نمایند (۸۸–۸۷). مورامیل دی پپتید (Muramyl dipeptide یا MDP) که یک جزء ساختمانی از پپتیدوگلیکان است، لیگاندی برای NOD2 و دسمورامیل پپتید (DMP) که جزء دیگری از PGN است، لیگاندی برای NOD1 می‌باشد. هر چند که MDP خالص‌شده می‌تواند باعث القای پاسخ‌های ایمنی ذاتی در سلول‌های انسان (اما نه در سلول‌های موشی) شود، سینرژیسم قوی با سایر لیگاندهای TLR مشاهده شده است (۸۹).

به گونه‌ی مشابهی در مورد واکسن BCG (Bacillus calmette guerin) که دارای لیگاندهای

TLR2، TLR4 و TLR9 می‌باشد نشان داده شده که قادر است در غیاب MyD88 (اداپتور ضروری برای فعال‌سازی ایمنی ذاتی با واسطه‌ی TLR) پاسخ‌های ایمنی اکتسابی را القا نماید. این مسأله نشان می‌دهد که ممکن است واکسن BCG حاوی فعالیت ادجووانتی مستقل از TLR و دارای لیگاندهای گیرنده‌های شبه NOD باشد (۹۰).

TLR5 و پروتئین‌های شبه NOD واسطه‌گر تأثیر ادجووانت فلاژلین

TLR5 مسؤول شناسایی پروتئین باکتریایی فلاژلین است که در ساختار فلاژلار خیلی از باکتری‌ها وجود دارد (۹۱). TLR5 در اپیتلیال روده و ریه یافت می‌شود و به مقادیر زیادی در سلول‌های دندریتیک مقیم Lamina propria در روده بیان می‌شود (۹۲). فلاژلین فعال‌کننده‌ی قوی سیستم ایمنی و القاگر تأثیرات بیولوژیک گوناگونی است که واسطه‌گر پاسخ‌های التهابی ایمنی ذاتی و اکتسابی می‌باشند. طبیعت پروتئینی فلاژلین به عنوان مزیت آن برای استفاده در ایمنوتراپی مطرح می‌باشد که به دلیل سهولت کار با آن است. برای مثال، DNA واکسن که یک پروتئین کایمریک از پروتئین آنتی‌ژنیک است و فلاژلین را کد می‌کند مورد بررسی قرار گرفته است (۹۵-۹۳). مطالعات نشان داده‌اند که واکسن‌های فلاژلین- آنتی‌ژن باعث القای پاسخ‌های آنتی‌بادی محافظتی در برابر Yersinia pestis (۹۴)، West Nile virus (۹۶)، Vaccinia virus (۹۷) و Pseudomonas aeruginosa (۹۹-۹۸) می‌گردد.

به نظر نمی‌رسد که TLR5 تنها گیرنده برای واسطه‌گری تأثیر ادجووانتی فلاژلین باشد. نشان داده شده است که، مستقل از TLR5 یا MyD88، عضوی از خانواده‌ی پروتئین NOD-LRR به نام NAIP5 (Neuronal apoptosis inhibitory protein 5) کدر شناسایی فلاژلین در سیتوپلاسم دخیل است (۱۰۰). IPAF (ICE protease activating factor) که یک پروتئین NOD-LRR است سالمونلا تیفیموریوم را شناسایی می‌کند. عفونت با آن همچنین منجر به فعال‌سازی کاسپاز یک می‌شود. فلاژلین در سیتوزول مستقل از TLR5 باعث فعال‌سازی کاسپاز یک از طریق IPAF می‌شود (۱۰۲-۱۰۱).

اگر چه مکانیسمی که به وسیله‌ی آن این دو پروتئین یک لیگاند را شناسایی می‌کنند هنوز مشخص نشده است، NAIP5 و IPAF ممکن است با یکدیگر در شناسایی چنین اجزای باکتریایی مشارکت داشته باشند. این مسأله که چگونه فعالیت قوی ادجووانتی فلاژلین به وسیله‌ی این سه گیرنده فلاژلین: TLR5، NAIP5 و IPAF انجام می‌گردد در صورت مشخص شدن جالب توجه خواهد بود (۱۰۲-۱۰۰).

TLR3، TLR7 و TLR8 و گیرنده‌های شبه RIG واسطه‌گر تأثیر ادجووانتی القاشده توسط RNA

TLR3 وظیفه‌ی شناسایی RNA دو رشته‌ای مشتق‌شده از ژنوم ویروسی یا واسطه‌های ایجادشده در هنگام همانندسازی ویروسی را بر عهده دارد. نشان داده شده است TLR3 که نقش مهمی را در پاسخ‌های ضد ویروسی نیز بر عهده دارد. Poly-I:C که یک نسخه‌ی سنتتیک از dsRNA می‌باشد یکی از اولین عوامل درمانی بود که برای درمان بیماران مبتلا به HIV و لوسمی مورد استفاده قرار گرفت، اما به دلیل سمیت کنار گذاشته شد (۱۰۵-۱۰۳) و مطالعات بر روی مشتقات آن انجام گرفت (۱۰۷-۱۰۶). مسأله‌ی مهمی که وجود دارد، این است که مشاهده شده است که

بلوغ سلول‌های CD8 دندریتیک با واسطه‌ی TLR3 که توسط dsRNA القا می‌شود، نقش مهمی را در القای پاسخ‌های سلول‌های T $CD8^+$ و $CD4^+$ اختصاصی آنتی‌ژن از طریق آماده‌سازی متقاطع (Cross-priming) و با واسطه‌ی اینترفرون نوع یک بر عهده دارد. این مطلب نشان می‌دهد که TLR3 برای القای پاسخ‌های ایمنی سلولی هدف مناسبی برای ادجووانت‌ها می‌باشد (۱۱۰-۱۰۸).

با این حال dsRNA دارای توانایی القای سلول‌های دندریتیک موشی فاقد TLR3 می‌باشد که می‌تواند نشان‌دهنده‌ی وجود گیرنده‌ی ادجووانتی مستقل از TLR3 برای dsRNA باشد. سه DExD/H box RNA helicases هومولوگ به عنوان گیرنده‌های سیتوپلاسمیک برای عفونت ویروسی و dsRNA شناسایی شده‌اند (۱۱۲-۱۱۱).

هر دو عضو یک خانواده به نام‌های RIG-I (Retinoic-acid-inducible gene I) و MDA5 (Melanoma-differentiation-associated gene5) دارای دو N-terminal CARDs به دنبال یک دامنه‌ی هلیکاز RNA می‌باشند (۱۱۲). RIG-I و MDA5 به طریقه‌ی متفاوتی تهاجم RNA ویروس‌های مختلف را به وسیله‌ی شناسایی اشکال متفاوت ژنوم RNA یا محصولات RNA شناسایی می‌کنند و از طریق IPS-1 مسیر سیگنالینگ مستقل از TLR را القا می‌کنند که در نهایت منجر به پاسخ‌های ایمنی ضد ویروسی شامل تولید اینترفرون نوع یک می‌شوند (۱۱۳).

این نتایج اطلاعات مهمی را در رابطه با این که MDA5 علاوه بر این که دارای نقش در پاسخ‌های ضد ویروسی ایمنی ذاتی است، به ما می دهد. زمانی که dsRNA به عنوان ادجووانت استفاده گردد در پاسخ‌های ایمنی اکتسابی به ویروس یا واکسن نیز نقش دارد (۱۱۴). بر خلاف dsRNA، در مورد RNA تک رشته‌ای تا مدت‌ها تفکر بر این بود که از لحاظ ایمنی خنثی می‌باشد به این دلیل که سلول‌های میزبان دارای انواع مختلفی از RNA تک رشته‌ای می‌باشند. با این حال، شواهد نشان می‌دهند که RNA تک رشته‌ای خنثی نمی‌باشد، بلکه اگر به میزان زیادی با متیلاسیون یا سکانس‌های خاصی در آن تغییرات ایجاد نشده باشد حتی می‌تواند یک القاکننده‌ی به نسبت قوی سیستم ایمنی باشد (۱۱۷-۱۱۵).

ژنوم‌های RNA تک رشته‌ای، الیگوریبونوکلئوتیدهای مشتق از ویروس آنفلوانزا یا HIV، بعضی از siRNAهای دو رشته‌ای و ترکیبات کوچک سنتتیک به نام ایمیدازوکوئینولین‌ها به وسیله‌ی TLR7 در موش و توسط TLR7 و TLR8 در انسان شناسایی می‌شوند. این شناسایی باعث فعال شدن سلول‌های مختلف سیستم ایمنی می‌شود که اینترفرون نوع یک را تولید می‌کنند و پاسخ‌های ایمنی سلولی را نشان می‌دهند (۱۱۸، ۴۶).

در انسان TLR7 به میزان زیادی در سلول‌های دندریتیک پلاسماسایتوئید (Plasmacytoid DCs) بیان می‌شود که این مسأله در مورد TLR8 صدق نمی‌کند. فعال‌سازی TLR7 در این سلول‌ها منجر به تولید اینترفرون نوع یک می‌شود. از طرف دیگر، TLR8 به میزان زیادی در مونوسیت‌ها بیان می‌شود و فعال‌سازی TLR8 در این سلول‌ها منجر به تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی به خصوص IL-12 می‌گردد (۱۱۹). TLR7 (و شاید TLR8) از MyD88 به عنوان یک اداپتور ضروری برای مسیر سیگنالینگ استفاده می‌کنند (۳۲).

تاکنون چندین آگونیست TLR7 برای استفاده‌ی کلینیکال در تعدادی از عفونت‌های ویروسی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۲۱-۱۲۰، ۶۰). نشان داده شده است که آگونیست TLR7 به نام ایمیکوییمد (Imiquimod) برای کارسینومای سلول‌های پایه (Basal cell carcinoma) و کراتوز اکتینیک (Actinic keratosis) مؤثر می‌باشد (۱۲۳-۱۲۲) و در آزمایشات بالینی بر ضد HPV مورد استفاده قرار گرفته‌اند. چندین آگونیست سنتتیک دیگر برای TLR7 در ویروس هپاتیت B، ویروس هپاتیت C و سرطان در آزمایشات بالینی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Clinicaltrials.gov). فعالیت ادجوانتی لیگاند TLR7 در پرایمات‌ها نیز اثبات شده است (۱۲۴).

با این حال گزارش شده است که RNA تک رشته‌ای حاصل از RNA ویروس‌هایی از قبیل آنفلوانزا یا الیگوریبونوکلئوتیدهای سنتتیک می‌توانند سیستم ایمنی را به طور مستقل توسط TLR7/8 نیز تحریک نمایند. در حالی که RNA محرک سیستم ایمنی و ژنوم RNA ویروس‌هایی از قبیل آنفلوانزا و سلول‌های دندریتیک پلاسماسایتویید را از طریق TLR7 فعال می‌کنند، همچنین قادر است سلول‌های میلویید از قبیل مونوسایت‌ها، سلول‌های دندریتیک یا فیبروبلاست‌ها را به طور مستقل از TLR7 یا MyD88 فعال نمایند (۱۲۷-۱۲۵).

علاوه بر این‌ها، مطالعات نشان می‌دهد که RIG-I می‌تواند گروه سه فسفاته‌ی انتهای RNA تک رشته‌ای را شناسایی کند (۱۲۹-۱۲۸). بنابراین، برای ما مهم است که بدانیم کدامیک از گیرنده‌های ایمنی ذاتی (TLR و/یا گیرنده‌های شبه RIG) برای القای پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی حفاظتی در هنگام عفونت ویروسی یا واکسیناسیون با واکسن بر پایه‌ی RNA ضروری می‌باشند. با دانستن این جزییات، ما قادر خواهیم بود به گونه‌ای مطلوب سلول‌های مناسب را مورد هدف واکسن حاوی RNA قرار دهیم و فعالیت ادجووانتی آن‌ها را بر اساس گیرنده‌های توصیف‌شده در بالا بهینه‌سازی نماییم.

اثر DNA به عنوان ادجووانت به طور وابسته و مستقل از TLR9

در اکثر ارگانیسم‌های زنده DNA به عنوان یک جزء پایه و اساسی می‌باشد. DNA در یوکاریوت‌ها در هسته و میتوکندری، در باکتری‌ها در دیواره‌ی سلولی و در ویروس‌ها در داخل انولوپ محصور شده است. با این حال در موارد عفونت‌های میکروبی و یا عدم توانایی میزبان در پاک‌سازی DNA، DNA می‌تواند از میکروب‌ها یا سلول‌های صدمه‌دیده میزبان رها شود و باعث تحریک سیستم ایمنی ذاتی گردد. در حال حاضر، TLR9 به عنوان تنها گیرنده‌ی شناخته شده است که می‌تواند DNA محرک سیستم ایمنی مانند CpG DNA را شناسایی کند و مشخص شده است که دارای نقش مهمی در پاسخ‌های ایمنی محافظتی نسبت به عوامل عفونی گوناگون (۱۳۰)، اختلالات آلرژیک و سرطان دارد. در عین حال می‌تواند دارای نقش پاتولوژیک در برخی از بیماری‌های خودایمن باشد (۱۳۲-۱۳۱). الیگوداکسی‌نوکلئوتیدهای سنتتیک (Synthetic oligodeoxynucleotides یا ODNs) که حاوی موتیف‌های CpG غیر متیله هستند، می‌توانند از طریق TLR9 مسیر سیگنالینگ وابسته به MyD88 را در ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک و سلول‌های B فعال کنند و باعث تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی، کموکاین‌ها و ایمنوگلوبولین‌ها شوند. پاسخ‌های قوی

ایمنی ذاتی به CpG ODN، ایمنی میزبان را به سمت پاسخ‌های قوی ایمنی سلولی شامل القای T_H1 و CTL متمایل می‌کند. این تأثیری است که به عنوان ادجووانت و آنتی‌آلرژن دارد (۱۳۴-۱۳۳). DNA پلاسمیدی مشتق‌شده از باکتری حاوی موتیف‌های CpG محرک سیستم ایمنی است.

نشان داده شده است که این DNA قادر به تحریک سیستم ایمنی ذاتی می‌باشد؛ بنابراین این موتیف‌ها می‌توانند به عنوان ادجووانت برای DNA واکسن‌ها عمل کنند (۱۳۵، ۱۳۲). TLR9 در حال حاضر تنها گیرنده‌ی شناخت شده برای موتیف‌های CpG در DNA است و سلول‌های عرضه‌کننده‌ی آنتی‌ژن فاقد TLR9 از جمله سلول‌های دندریتیک به موتیف‌های CpG پاسخ نمی‌دهند (۱۳۶). با این حال در مورد DNA واکسن‌ها، موش‌های فاقد TLR9 مقادیر قابل مقایسه‌ای از IgG اختصاصی آنتی‌ژن کد شده، IFNγ و پاسخ‌های CTL را در مقایسه با موش‌های نوع وحشی (Wild type) نشان دادند (۱۳۸-۱۳۷).

مطالعه‌ی دیگری کاهش نسبی پاسخ‌های ایمنی را در موش‌های فاقد TLR9 نشان می‌دهد (۱۳۹). شواهد نشان می‌دهد که علاوه بر DNA مشتق از میکروب‌ها، DNA مشتق از سلول میزبان نیز می‌تواند به طور مستقل از موتیف CpG و وابسته به ساختار دو رشته‌ای آن، هنگامی که در سیتوزول قرار می‌گیرد (۱۴۱-۱۴۰) و یا پاک‌سازی و حذف چنین DNAای به تعویق افتاده باشد (۱۴۲)، می‌تواند سیستم ایمنی ذاتی را فعال کند. DNA دو رشته‌ای به فرم B راست‌گرد (B-DNA) و به مقدار کمتری به فرم Z چپ‌گرد (Z-DNA) می‌تواند هر دو نوع سلول‌های ایمنی و غیر ایمنی را برای تولید اینترفرون نوع یک، سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها از طریق مسیر مستقل از TLR-9 فعال نماید (۱۴۴-۱۴۳). این نتایج نشان می‌دهند که ایمنی‌زایی DNA واکسن بیشتر توسط مسیر مستقل از TLR9 کنترل می‌شود و احتمال دارد که عوامل مستقل از موتیف CpG در DNA پلاسمیدی به عنوان ادجووانت عمل کنند.

در مطالعه‌ای مشاهده گردید که یک ترکیب انتخابی از لیگاندهای سه TLR (TLR2/6, TLR3, and TLR9) قادر است تأثیر حفاظتی بالاتری در واکسیناسیون موش با یک پپتید از ویروس HIV در مقایسه با استفاده از لیگاندهای هر کدام از دو گیرنده به تنهایی داشته باشد. این افزایش تأثیر به طور مستقل از افزایش تعداد سلول‌های T و وابسته به افزایش تمایل اتصال سلول‌های T به آنتی‌ژن و در نتیجه حذف مؤثرتر ویروس بوده است (۱۴۵).

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان‌دهنده‌ی این بود که تحریک انتخابی ترکیبات مختلفی از TLRها می‌تواند در جهت افزایش ایمنی حفاظتی از دو طریق افزایش تعداد سلول‌های سیستم ایمنی (کمیت) و یا ارتقای عملکرد این سلول‌ها (کیفیت) در برابر عوامل بیماری‌زا به کار گرفته شود.

آزمایشات کلینیکی گسترده‌ای که تاکنون با استفاده از لیگاندهای TLRها انجام گرفته است، در بسیاری از موارد نشان‌دهنده‌ی تأثیر و ایمن بودن این ادجوانت‌ها بوده است (Clinicaltrials.gov). این در حالی است که نتایج مثبت مطالعات انجام گرفته منجر به تأییدیه‌ی گرفتن تعدادی از این ادجووانت‌ها برای استفاده در واکسن‌های تجاری شده است و مسیر را برای استفاده بیشتر از این نوع ادجووانت‌ها هموار کرده است. از مواردی که تأییدیه‌ی استفاده دریافت کرده‌اند می‌توان

به واکسن‌ها و ترکیبات تجاری از قبیل Proteosomes™ (واکسن Shigella flexneri 2a حاوی پروتئین‌های غشایی منگوکوکی لیگاند TLR2)، Ampligen® (آزمایشات کلینیکی برای ME/CFS، AIDS و هپاتیت C حاوی RNA دو رشته‌ای لیگاند TLR3)، Fendrix® (واکسن هپاتیت B حاوی MPL لیگاند TLR4)، Cervarix® (واکسن پاپیلوما ویروس انسانی حاوی MPL) و Imiquimod (درمان برخی بیماری‌های پوستی ترکیبی از imidazoquinoline لیگاند TLR7/8) اشاره نمود.

با توجه به محدودیت‌هایی که در رابطه با انجام آزمایشات کلینیکی وجود دارد، در ارتباط با تعداد زیادی از ادجوانت‌های مورد استفاده در مدل‌های آزمایشی، در مرحله‌ی آزمایشات کلینیکی مقایسه‌ی نسبی بین تأثیر ادجوانت‌های مختلف انجام نگرفته است. همچنین به دلیل تفاوت در ماهیت پاسخ‌های سیستم ایمنی در برابر عوامل بیماری‌زای عفونی و تومورهای مختلف و تفاوت لیگاندهای TLRها در القای متفاوت پاسخ‌های سیستم ایمنی چه از نظر کیفی و کمی و یا نوع پاسخ‌های ایجادشده (همورال یا سلولی) نمی‌توان ادجوانت‌های خاصی را به عنوان مؤثرترین‌ها در ایمن‌سازی برابر مجموعه‌ی بزرگی از این عوامل عفونی یا سرطانی در نظر گرفت. همین مسأله زمینه‌ساز نیاز به تحقیقات بیشتر در رابطه با یافتن مؤثرترین ادجوانت‌ها در القای ایمنی حفاظتی در ارتباط با عوامل بیماری‌زای عفونی یا تومورهای مختلف می‌باشد.

در کنار نگاه به مسیرهای وابسته به TLRها، مسیرهای مستقل از TLR را که نه تنها ایمنی ذاتی بلکه پاسخ‌های ایمنی اکتسابی را کنترل می‌کنند، نیز می‌توان مورد توجه قرار داد. شناخت بیشتر هر دو مسیر شناسایی و تنظیم در ایمنی ذاتی توسط ترکیبات فعال از لحاظ ایمنی، ایجاد ادجوانت‌های قوی تر و سالم‌تر را تسهیل خواهد کرد که این مسأله در نهایت به ایجاد واکسن‌های حفاظتی مؤثرتر بر ضد بیماری‌ها منجر خواهد شد.

References

1. Hilleman MR. Vaccines in historic evolution and perspective: a narrative of vaccine discoveries. Vaccine 2000; 18(15): 1436-47.
2. Kieny MP, Excler JL, Girard M. Research and development of new vaccines against infectious diseases. Am J Public Health 2004; 94(11): 1931-5.
3. Plotkin SA, Plotkin SL. The development of vaccines: how the past led to the future. Nat Rev Microbiol 2011; 9(12): 889-93.
4. Capers Dr. Immune Response to Infectious Diseases. In: Kindt TJ, Osborne BA, Goldsby RA, editors. Kuby Immunology. 6th ed. New York, NY: W. H. Freeman; 2006.
5. Akira S. Innate immunity and adjuvants. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2011; 366(1579): 2748-55.
6. O'Hagan DT. Recent developments in vaccine delivery systems. Curr Drug Targets Infect Disord 2001; 1(3): 273-86.
7. Cook DN, Pisetsky DS, Schwartz DA. Toll-like receptors in the pathogenesis of human disease. Nat Immunol 2004; 5(10): 975-9.
8. Reis e Sousa. Toll-like receptors and dendritic cells: for whom the bug tolls. Semin Immunol 2004; 16(1): 27-34.
9. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. Annu Rev Immunol 2003; 21: 335-76.
10. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. Nat Rev Immunol 2004; 4(7): 499-511.
11. Beutler BA. TLRs and innate immunity. Blood 2009; 113(7): 1399-407.
12. El SH. MF59™ as a vaccine adjuvant: a review of safety and immunogenicity. Expert Rev Vaccines 2010; 9(10): 1135-41.
13. Tritto E, Mosca F, De GE. Mechanism of action of licensed vaccine adjuvants. Vaccine 2009; 27(25-26): 3331-4.
14. Didierlaurent AM, Morel S, Lockman L, Giannini SL, Bisteau M, Carlsen H, et al. AS04,

an aluminum salt- and TLR4 agonist-based adjuvant system, induces a transient localized innate immune response leading to enhanced adaptive immunity. J Immunol 2009; 183(10): 6186-97.
15. Petrovsky N, Aguilar JC. Vaccine adjuvants: current state and future trends. Immunol Cell Biol 2004; 82(5): 488-96.
16. Pashine A, Valiante NM, Ulmer JB. Targeting the innate immune response with improved vaccine adjuvants. Nat Med 2005; 11(4 Suppl): S63-S68.
17. Kindt TJ, Osborne BA, Goldsby RA. Overview of the Immune System. In: Kindt TJ, Osborne BA, Goldsby RA, editors. Kuby Immunology. 6th ed. New York, NY: W. H. Freeman; 2006.
18. Gourley TS, Wherry EJ, Masopust D, Ahmed R. Generation and maintenance of immunological memory. Semin Immunol 2004; 16(5): 323-33.
19. Janeway CA, Jr. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 1989; 54 Pt 1: 1-13.
20. Barton GM, Medzhitov R. Toll-like receptors and their ligands. Curr Top Microbiol Immunol 2002; 270: 81-92.
21. Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. Nat Immunol 2004; 5(10): 987-95.
22. Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. Cell 2002; 111(7): 927-30.
23. Lien E, Means TK, Heine H, Yoshimura A, Kusumoto S, Fukase K, et al. Toll-like receptor 4 imparts ligand-specific recognition of bacterial lipopolysaccharide. J Clin Invest 2000; 105(4): 497-504.
24. Rutz M, Metzger J, Gellert T, Luppa P, Lipford GB, Wagner H, et al. Toll-like receptor 9 binds single-stranded CpG-DNA in a sequence- and pH-dependent manner. Eur J Immunol 2004; 34(9): 2541-50.
25. Sato M, Sano H, Iwaki D, Kudo K, Konishi M, Takahashi H, et al. Direct binding of Toll-like receptor 2 to zymosan, and zymosan-induced NF-kappa B activation and TNF-alpha secretion are down-regulated by lung collectin surfactant protein A. J Immunol 2003; 171(1): 417-25.
26. Van de Veerdonk FL, Netea MG. Toll-Like Receptors and Inflammasomes. The Inflammasomes 2011; 123-32.
27. Khan JA, Brint EK, O'Neill LA, Tong L. Crystal structure of the Toll/interleukin-1 receptor domain of human IL-1RAPL. J Biol Chem 2004; 279(30): 31664-70.
28. Haghparast A, Heidari Kharaji M. Simultaneous Detection of Pattern Recognition Receptors (PRRs) in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) by Touchdown PCR. World Applied Sciences Journal 2010; 9(5): 479-83.
29. Haghparast A, Heidari Kharaji M. Quantification of Expression of Pattern Recognition Receptors (PRRs) in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) by Real-Time Quantitative PCR. World Applied Sciences Journal 2010; 9(5): 474-8.
30. Akira S, Yamamoto M, Takeda K. Role of adapters in Toll-like receptor signalling. Biochem Soc Trans 2003; 31(Pt 3): 637-42.
31. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. Cell 2006; 124(4): 783-801.
32. Kumar H, Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and innate immunity. Biochem Biophys Res Commun 2009; 388(4): 621-5.
33. Chamaillard M, Hashimoto M, Horie Y, Masumoto J, Qiu S, Saab L, et al. An essential role for NOD1 in host recognition of bacterial peptidoglycan containing diaminopimelic acid. Nat Immunol 2003; 4(7): 702-7.
34. Girardin SE, Boneca IG, Viala J, Chamaillard M, Labigne A, Thomas G, et al. Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. J Biol Chem 2003; 278(11): 8869-72.
35. Asoodeh A, Haghparast A, Kashef R, Chamani J. Pro-Inflammatory Cytokine Responses of A549 Epithelial Cells to Antimicrobial Peptide Brevinin-2R. Int J Pept Res Ther 2012; 1-6.
36. Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ, et al. Immunobiology of dendritic cells. Annu Rev Immunol 2000; 18: 767-811.
37. Kindt TJ, Osborne BA, Goldsby RA. Innate Immunity. In: Kindt TJ, Osborne BA, Goldsby RA, editors. Kuby Immunology. 6th ed. New York, NY: W. H. Freeman; 2006.
38. Shortman K, Liu YJ. Mouse and human dendritic cell subtypes. Nat Rev Immunol 2002; 2(3): 151-61.
39. Pulendran B. Modulating vaccine responses with dendritic cells and Toll-like receptors. Immunol Rev 2004; 199: 227-50.
40. Dabbagh K, Lewis DB. Toll-like receptors and T-helper-1/T-helper-2 responses. Curr Opin Infect Dis 2003; 16(3): 199-204.
41. Hengge UR, Cusini M. Topical immunomodulators for the treatment of external genital warts, cutaneous warts and molluscum contagiosum. Br J Dermatol 2003; 149(Suppl 66): 15-9.
42. O'Hagan DT, Singh M, Dong C, Ugozzoli M, Berger K, Glazer E, et al. Cationic microparticles are a potent delivery system for a HCV DNA vaccine. Vaccine 2004; 23(5): 672-80.
43. Christensen D, Korsholm KS, Andersen P, Agger EM. Cationic liposomes as vaccine

adjuvants. Expert Rev Vaccines 2011; 10(4): 513-21.
44. Lindblad EB. Aluminium adjuvants--in retrospect and prospect. Vaccine 2004; 22 (27-28): 3658-68.
45. Cooper CL, Davis HL, Morris ML, Efler SM, Krieg AM, Li Y, et al. Safety and immunogenicity of CPG 7909 injection as an adjuvant to Fluarix influenza vaccine. Vaccine 2004; 22(23-24): 3136-43.
46. Hemmi H, Kaisho T, Takeuchi O, Sato S, Sanjo H, Hoshino K, et al. Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88-dependent signaling pathway. Nat Immunol 2002; 3(2): 196-200.
47. Shukla NM, Lewis TC, Day TP, Mutz CA, Ukani R, Hamilton CD, et al. Toward self-adjuvanting subunit vaccines: model peptide and protein antigens incorporating covalently bound toll-like receptor-7 agonistic imidazoquinolines. Bioorg Med Chem Lett 2011; 21(11): 3232-6.
48. Karin M, Yamamoto Y, Wang QM. The IKK NF-kappa B system: a treasure trove for drug development. Nat Rev Drug Discov 2004; 3(1): 17-26.
49. Asai Y, Ohyama Y, Gen K, Ogawa T. Bacterial fimbriae and their peptides activate human gingival epithelial cells through Toll-like receptor 2. Infect Immun 2001; 69(12): 7387-95.
50. Ogawa T, Asai Y, Hashimoto M, Uchida H. Bacterial fimbriae activate human peripheral blood monocytes utilizing TLR2, CD14 and CD11a/CD18 as cellular receptors. Eur J Immunol 2002; 32(9): 2543-50.
51. Chernysh S, Kim SI, Bekker G, Pleskach VA, Filatova NA, Anikin VB, et al. Antiviral and antitumor peptides from insects. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99(20): 12628-32.
52. Mayordomo JI, Zorina T, Storkus WJ, Zitvogel L, Garcia-Prats MD, DeLeo AB, et al. Bone marrow-derived dendritic cells serve as potent adjuvants for peptide-based antitumor vaccines. Stem Cells 1997; 15(2): 94-103.
53. Zitvogel L, Couderc B, Mayordomo JI, Robbins PD, Lotze MT, Storkus WJ. IL-12-engineered dendritic cells serve as effective tumor vaccine adjuvants in vivo. Ann N Y Acad Sci 1996; 795: 284-93.
54. Palucka K, Ueno H, Fay J, Banchereau J. Dendritic cells and immunity against cancer. J Intern Med 2011; 269(1): 64-73.
55. Kalinski P, Edington H, Zeh HJ, Okada H, Butterfield LH, Kirkwood JM, et al. Dendritic cells in cancer immunotherapy: vaccines or autologous transplants? Immunol Res 2011; 50(2-3): 235-47.
56. Pasare C, Medzhitov R. Toll pathway-dependent blockade of CD4+CD25+ T cell-mediated suppression by dendritic cells. Science 2003; 299(5609): 1033-6.
57. Martin-Fontecha A, Thomsen LL, Brett S, Gerard C, Lipp M, Lanzavecchia A, et al. Induced recruitment of NK cells to lymph nodes provides IFN-gamma for T(H)1 priming. Nat Immunol 2004; 5(12): 1260-5.
58. Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors as adjuvant receptors. Biochim Biophys Acta 2002; 1589(1): 1-13.
59. van DD, Medzhitov R, Shaw AC. Triggering TLR signaling in vaccination. Trends Immunol 2006; 27(1): 49-55.
60. Tomai MA, Vasilakos JP. TLR-7 and -8 agonists as vaccine adjuvants. Expert Rev Vaccines 2011; 10(4): 405-7.
61. O'Hagan DT, Valiante NM. Recent advances in the discovery and delivery of vaccine adjuvants. Nat Rev Drug Discov 2003; 2(9): 727-35.
62. Kasturi SP, Skountzou I, Albrecht RA, Koutsonanos D, Hua T, Nakaya HI, et al. Programming the magnitude and persistence of antibody responses with innate immunity. Nature 2011; 470(7335): 543-7.
63. Ishii KJ, Akira S. Innate immune recognition of nucleic acids: beyond toll-like receptors. Int J Cancer 2005; 117(4): 517-23.
64. Ishii KJ, Coban C, Akira S. Manifold mechanisms of Toll-like receptor-ligand recognition. J Clin Immunol 2005; 25(6): 511-21.
65. Blander JM, Medzhitov R. On regulation of phagosome maturation and antigen presentation. Nat Immunol 2006; 7(10): 1029-35.
66. Haghparast A, Heidari Kharaji M, Malvandi AM. Expression of Innate Immunity Receptor Genes in Human Glioblastoma Cells. Proceedings of the 11th Iranian Genetic Congress; 2010 May 22-24; Tehran, Iran. 2010.
67. Haghparast A, Heidari KM, Malvandi AM. Down-regulation of CD14 transcripts in human glioblastoma cell line U87 MG. Iran J Immunol 2011; 8(2): 111-9.
68. Haghparast A, Heidari Kharaji M, Malvandi AM, Habibi GhR. Differential Expression of Pattern Recognition Receptors(PRRs)in Theileria Annulata Schizont Infected Cell Lines. Proceedings of the 9th international veterinary immunology symposium; 2010 August 16; Tehran, Iran. 2010.
69. Evans JT, Cluff CW, Johnson DA, Lacy MJ, Persing DH, Baldridge JR. Enhancement of antigen-specific immunity via the TLR4 ligands MPL adjuvant and Ribi.529. Expert Rev Vaccines 2003; 2(2): 219-29.
70. Sarti F, Perera G, Hintzen F, Kotti K, Karageorgiou V, Kammona O, et al. In vivo evidence of oral vaccination with PLGA

nanoparticles containing the immunostimulant monophosphoryl lipid A. Biomaterials 2011; 32(16): 4052-7.
71. Nordly P, Agger EM, Andersen P, Nielsen HM, Foged C. Incorporation of the TLR4 agonist monophosphoryl lipid A into the bilayer of DDA/TDB liposomes: physico-chemical characterization and induction of CD8+ T-cell responses in vivo. Pharm Res 2011; 28(3): 553-62.
72. Gavin AL, Hoebe K, Duong B, Ota T, Martin C, Beutler B, et al. Adjuvant-enhanced antibody responses in the absence of toll-like receptor signaling. Science 2006; 314(5807): 1936-8.
73. Garcon N, Chomez P, Van MM. GlaxoSmithKline Adjuvant Systems in vaccines: concepts, achievements and perspectives. Expert Rev Vaccines 2007; 6(5): 723-39.
74. Giannini SL, Hanon E, Moris P, Van MM, Morel S, Dessy F, et al. Enhanced humoral and memory B cellular immunity using HPV16/18 L1 VLP vaccine formulated with the MPL/aluminium salt combination (AS04) compared to aluminium salt only. Vaccine 2006; 24(33-34): 5937-49.
75. De CN, Teixeira J, Roteli-Martins CM, Naud P, De BP, Zahaf T, et al. Sustained efficacy and immunogenicity of the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine up to 7.3 years in young adult women. Vaccine 2010; 28(38): 6247-55.
76. Romanowski B, de Borba PC, Naud PS, Roteli-Martins CM, De Carvalho NS, Teixeira JC, et al. Sustained efficacy and immunogenicity of the human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine: analysis of a randomised placebo-controlled trial up to 6.4 years. Lancet 2009; 374(9706): 1975-85.
77. Paavonen J, Naud P, Salmeron J, Wheeler CM, Chow SN, Apter D, et al. Efficacy of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic HPV types (PATRICIA): final analysis of a double-blind, randomised study in young women. Lancet 2009; 374(9686): 301-14.
78. Paavonen J, Jenkins D, Bosch FX, Naud P, Salmeron J, Wheeler CM, et al. Efficacy of a prophylactic adjuvanted bivalent L1 virus-like-particle vaccine against infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: an interim analysis of a phase III double-blind, randomised controlled trial. Lancet 2007; 369(9580): 2161-70.
79. Schwarz TF, Spaczynski M, Schneider A, Wysocki J, Galaj A, Perona P, et al. Immunogenicity and tolerability of an HPV-16/18 AS04-adjuvanted prophylactic cervical cancer vaccine in women aged 15-55 years. Vaccine 2009; 27(4): 581-7.
80. Takeuchi O, Kawai T, Muhlradt PF, Morr M, Radolf JD, Zychlinsky A, et al. Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. Int Immunol 2001; 13(7): 933-40.
81. Takeuchi O, Sato S, Horiuchi T, Hoshino K, Takeda K, Dong Z, et al. Cutting edge: role of Toll-like receptor 1 in mediating immune response to microbial lipoproteins. J Immunol 2002; 169(1): 10-4.
82. Borsutzky S, Kretschmer K, Becker PD, Muhlradt PF, Kirschning CJ, Weiss S, et al. The mucosal adjuvant macrophage-activating lipopeptide-2 directly stimulates B lymphocytes via the TLR2 without the need of accessory cells. J Immunol 2005; 174(10): 6308-13.
83. Patel M, Xu D, Kewin P, Choo-Kang B, McSharry C, Thomson NC, et al. TLR2 agonist ameliorates established allergic airway inflammation by promoting Th1 response and not via regulatory T cells. J Immunol 2005; 174(12): 7558-63.
84. Jayakumar A, Castilho TM, Park E, Goldsmith-Pestana K, Blackwell JM, McMahon-Pratt D. TLR1/2 activation during heterologous prime-boost vaccination (DNA-MVA) enhances CD8+ T Cell responses providing protection against Leishmania (Viannia). PLoS Negl Trop Dis 2011; 5(6): e1204.
85. Barbalat R, Lau L, Locksley RM, Barton GM. Toll-like receptor 2 on inflammatory monocytes induces type I interferon in response to viral but not bacterial ligands. Nat Immunol 2009; 10(11): 1200-7.
86. Alexopoulou L, Thomas V, Schnare M, Lobet Y, Anguita J, Schoen RT, et al. Hyporesponsiveness to vaccination with Borrelia burgdorferi OspA in humans and in. Nat Med 2002; 8(8): 878-84.
87. Fritz JH, Ferrero RL, Philpott DJ, Girardin SE. Nod-like proteins in immunity, inflammation and disease. Nat Immunol 2006; 7(12): 1250-7.
88. Inohara, Chamaillard, McDonald C, Nunez G. NOD-LRR proteins: role in host-microbial interactions and inflammatory disease. Annu Rev Biochem 2005; 74: 355-83.
89. Tada H, Aiba S, Shibata K, Ohteki T, Takada H. Synergistic effect of Nod1 and Nod2 agonists with toll-like receptor agonists on human dendritic cells to generate interleukin-12 and T helper type 1 cells. Infect Immun 2005; 73(12): 7967-76.
90. Fremond CM, Yeremeev V, Nicolle DM, Jacobs M, Quesniaux VF, Ryffel B. Fatal Mycobacterium tuberculosis infection despite adaptive immune response in the absence of MyD88. J Clin Invest 2004; 114(12): 1790-9.
91. Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, Hawn TR, Yi EC, Goodlett DR, et al. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by

Toll-like receptor 5. Nature 2001; 410(6832): 1099-103.
92. Uematsu S, Jang MH, Chevrier N, Guo Z, Kumagai Y, Yamamoto M, et al. Detection of pathogenic intestinal bacteria by Toll-like receptor 5 on intestinal CD11c+ lamina propria cells. Nat Immunol 2006; 7(8): 868-74.
93. Applequist SE, Rollman E, Wareing MD, Liden M, Rozell B, Hinkula J, et al. Activation of innate immunity, inflammation, and potentiation of DNA vaccination through mammalian expression of the TLR5 agonist flagellin. J Immunol 2005; 175(6): 3882-91.
94. Honko AN, Sriranganathan N, Lees CJ, Mizel SB. Flagellin is an effective adjuvant for immunization against lethal respiratory challenge with Yersinia pestis. Infect Immun 2006; 74(2): 1113-20.
95. Liu G, Tarbet B, Song L, Reiserova L, Weaver B, Chen Y, et al. Immunogenicity and efficacy of flagellin-fused vaccine candidates targeting 2009 pandemic H1N1 influenza in mice. PLoS One 2011; 6(6): e20928.
96. McDonald WF, Huleatt JW, Foellmer HG, Hewitt D, Tang J, Desai P, et al. A West Nile virus recombinant protein vaccine that coactivates innate and adaptive immunity. J Infect Dis 2007; 195(11): 1607-17.
97. Delaney KN, Phipps JP, Johnson JB, Mizel SB. A recombinant flagellin-poxvirus fusion protein vaccine elicits complement-dependent protection against respiratory challenge with vaccinia virus in mice. Viral Immunol 2010; 23(2): 201-10.
98. Weimer ET, Ervin SE, Wozniak DJ, Mizel SB. Immunization of young African green monkeys with OprF epitope 8-OprI-type A- and B-flagellin fusion proteins promotes the production of protective antibodies against nonmucoid Pseudomonas aeruginosa. Vaccine 2009; 27(48): 6762-9.
99. Weimer ET, Lu H, Kock ND, Wozniak DJ, Mizel SB. A fusion protein vaccine containing OprF epitope 8, OprI, and type A and B flagellins promotes enhanced clearance of nonmucoid Pseudomonas aeruginosa. Infect Immun 2009; 77(6): 2356-66.
100. Molofsky AB, Byrne BG, Whitfield NN, Madigan CA, Fuse ET, Tateda K, et al. Cytosolic recognition of flagellin by mouse macrophages restricts Legionella pneumophila infection. J Exp Med 2006; 203(4): 1093-104.
101. Franchi L, Amer A, Body-Malapel M, Kanneganti TD, Ozoren N, Jagirdar R, et al. Cytosolic flagellin requires Ipaf for activation of caspase-1 and interleukin 1beta in salmonella-infected macrophages. Nat Immunol 2006; 7(6): 576-82.
102. Miao EA, Alpuche-Aranda CM, Dors M, Clark AE, Bader MW, Miller SI, et al. Cytoplasmic flagellin activates caspase-1 and secretion of interleukin 1beta via Ipaf. Nat Immunol 2006; 7(6): 569-75.
103. Robinson RA, DeVita VT, Levy HB, Baron S, Hubbard SP, Levine AS. A Phase I–II Trial of Multiple-Dose Polyriboinosinic-Polyribocytidylic Acid in Patients With Leukemia or Solid Tumors. J Natl Cancer Inst 1976; 57(3): 599-602.
104. Pulko V, Liu X, Krco CJ, Harris KJ, Frigola X, Kwon ED, et al. TLR3-stimulated dendritic cells up-regulate B7-H1 expression and influence the magnitude of CD8 T cell responses to tumor vaccination. J Immunol 2009; 183(6): 3634-41.
105. Stowell NC, Seideman J, Raymond HA, Smalley KA, Lamb RJ, Egenolf DD, et al. Long-term activation of TLR3 by poly(I:C) induces inflammation and impairs lung function in mice. Respir Res 2009; 10: 43.
106. Navabi H, Jasani B, Reece A, Clayton A, Tabi Z, Donninger C, et al. A clinical grade poly I:C-analogue (Ampligen) promotes optimal DC maturation and Th1-type T cell responses of healthy donors and cancer patients in vitro. Vaccine 2009; 27(1): 107-15.
107. Stahl-Hennig C, Eisenblatter M, Jasny E, Rzehak T, Tenner-Racz K, Trumpfheller C, et al. Synthetic double-stranded RNAs are adjuvants for the induction of T helper 1 and humoral immune responses to human papillomavirus in rhesus macaques. PLoS Pathog 2009; 5(4): e1000373.
108. Schulz O, Diebold SS, Chen M, Naslund TI, Nolte MA, Alexopoulou L, et al. Toll-like receptor 3 promotes cross-priming to virus-infected cells. Nature 2005; 433(7028): 887-92.
109. Zaks K, Jordan M, Guth A, Sellins K, Kedl R, Izzo A, et al. Efficient immunization and cross-priming by vaccine adjuvants containing TLR3 or TLR9 agonists complexed to cationic liposomes. J Immunol 2006; 176(12): 7335-45.
110. Jelinek I, Leonard JN, Price GE, Brown KN, Meyer-Manlapat A, Goldsmith PK, et al. TLR3-specific double-stranded RNA oligonucleotide adjuvants induce dendritic cell cross-presentation, CTL responses, and antiviral protection. J Immunol 2011; 186(4): 2422-9.
111. Yoneyama M, Kikuchi M, Matsumoto K, Imaizumi T, Miyagishi M, Taira K, et al. Shared and unique functions of the DExD/H-box helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in antiviral innate immunity. J Immunol 2005; 175(5): 2851-8.
112. Yoneyama M, Kikuchi M, Natsukawa T, Shinobu N, Imaizumi T, Miyagishi M, et al. The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral

responses. Nat Immunol 2004; 5(7): 730-7.
113. Kawai T, Akira S. Innate immune recognition of viral infection. Nat Immunol 2006; 7(2): 131-7.
114. Jin B, Sun T, Yu XH, Liu CQ, Yang YX, Lu P, et al. Immunomodulatory effects of dsRNA and its potential as vaccine adjuvant. J Biomed Biotechnol 2010; 2010: 690438.
115. Diebold SS, Massacrier C, Akira S, Paturel C, Morel Y, Reis e Sousa. Nucleic acid agonists for Toll-like receptor 7 are defined by the presence of uridine ribonucleotides. Eur J Immunol 2006; 36(12): 3256-67.
116. Kariko K, Bhuyan P, Capodici J, Weissman D. Small interfering RNAs mediate sequence-independent gene suppression and induce immune activation by signaling through toll-like receptor 3. J Immunol 2004; 172(11): 6545-9.
117. Koski GK, Kariko K, Xu S, Weissman D, Cohen PA, Czerniecki BJ. Cutting edge: innate immune system discriminates between RNA containing bacterial versus eukaryotic structural features that prime for high-level IL-12 secretion by dendritic cells. J Immunol 2004; 172(7): 3989-93.
118. Heil F, Hemmi H, Hochrein H, Ampenberger F, Kirschning C, Akira S, et al. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. Science 2004; 303(5663): 1526-9.
119. Gorden KB, Gorski KS, Gibson SJ, Kedl RM, Kieper WC, Qiu X, et al. Synthetic TLR agonists reveal functional differences between human TLR7 and TLR8. J Immunol 2005; 174(3): 1259-68.
120. Horsmans Y, Berg T, Desager JP, Mueller T, Schott E, Fletcher SP, et al. Isatoribine, an agonist of TLR7, reduces plasma virus concentration in chronic hepatitis C infection. Hepatology 2005; 42(3): 724-31.
121. Hayashi T, Chan M, Norton JT, Wu CC, Yao S, Cottam HB, et al. Additive melanoma suppression with intralesional phospholipid-conjugated TLR7 agonists and systemic IL-2. Melanoma Res 2010.
122. Lysa B, Tartler U, Wolf R, Arenberger P, Benninghoff B, Ruzicka T, et al. Gene expression in actinic keratoses: pharmacological modulation by imiquimod. Br J Dermatol 2004; 151(6): 1150-9.
123. McInturff JE, Modlin RL, Kim J. The role of toll-like receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. J Invest Dermatol 2005; 125(1): 1-8.
124. Wille-Reece U, Flynn BJ, Lore K, Koup RA, Kedl RM, Mattapallil JJ, et al. HIV Gag protein conjugated to a Toll-like receptor 7/8 agonist improves the magnitude and quality of Th1 and CD8+ T cell responses in nonhuman primates. Proc Natl Acad Sci U S A 2005; 102(42): 15190-4.
125. Kato H, Takeuchi O, Akira S. [Cell type specific involvement of RIG-I in antiviral responses]. Nihon Rinsho 2006; 64(7): 1244-7.
126. Lopez CB, Moltedo B, Alexopoulou L, Bonifaz L, Flavell RA, Moran TM. TLR-independent induction of dendritic cell maturation and adaptive immunity by negative-strand RNA viruses. J Immunol 2004; 173(11): 6882-9.
127. Sugiyama T, Gursel M, Takeshita F, Coban C, Conover J, Kaisho T, et al. CpG RNA: identification of novel single-stranded RNA that stimulates human CD14+CD11c+ monocytes. J Immunol 2005; 174(4): 2273-9.
128. Hornung V, Ellegast J, Kim S, Brzozka K, Jung A, Kato H, et al. 5'-Triphosphate RNA is the ligand for RIG-I. Science 2006; 314(5801): 994-7.
129. Pichlmair A, Schulz O, Tan CP, Naslund TI, Liljestrom P, Weber F, et al. RIG-I-mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5'-phosphates. Science 2006; 314(5801): 997-1001.
130. Coban C, Horii T, Akira S, Ishii KJ. TLR9 and endogenous adjuvants of the whole blood-stage malaria vaccine. Expert Rev Vaccines 2010; 9(7): 775-84.
131. Klinman DM. Immunotherapeutic uses of CpG oligodeoxynucleotides. Nat Rev Immunol 2004; 4(4): 249-58.
132. Krieg AM. Therapeutic potential of Toll-like receptor 9 activation. Nat Rev Drug Discov 2006; 5(6): 471-84.
133. Broide DH. Immunostimulatory sequences of DNA and conjugates in the treatment of allergic rhinitis. Curr Allergy Asthma Rep 2005; 5(3): 182-5.
134. Vollmer J. TLR9 in health and disease. Int Rev Immunol 2006; 25(3-4): 155-81.
135. Gurunathan S, Klinman DM, Seder RA. DNA vaccines: immunology, application, and optimization*. Annu Rev Immunol 2000; 18: 927-74.
136. Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. Nature 2000; 408(6813): 740-5.
137. Babiuk S, Mookherjee N, Pontarollo R, Griebel P, van Drunen Littel-van den Hurk, Hecker R, et al. TLR9-/- and TLR9+/+ mice display similar immune responses to a DNA vaccine. Immunology 2004; 113(1): 114-20.
138. Spies B, Hochrein H, Vabulas M, Huster K, Busch DH, Schmitz F, et al. Vaccination with plasmid DNA activates dendritic cells via Toll-

like receptor 9 (TLR9) but functions in TLR9-deficient mice. J Immunol 2003; 171(11): 5908-12.

139. Tudor D, Dubuquoy C, Gaboriau V, Lefevre F, Charley B, Riffault S. TLR9 pathway is involved in adjuvant effects of plasmid DNA-based vaccines. Vaccine 2005; 23(10): 1258-64.

140. Ishii KJ, Suzuki K, Coban C, Takeshita F, Itoh Y, Matoba H, et al. Genomic DNA released by dying cells induces the maturation of APCs. J Immunol 2001; 167(5): 2602-7.

141. Suzuki K, Mori A, Ishii KJ, Saito J, Singer DS, Klinman DM, et al. Activation of target-tissue immune-recognition molecules by double-stranded polynucleotides. Proc Natl Acad Sci U S A 1999; 96(5): 2285-90.

142. Kawane K, Fukuyama H, Yoshida H, Nagase H, Ohsawa Y, Uchiyama Y, et al. Impaired thymic development in mouse embryos deficient in apoptotic DNA degradation. Nat Immunol 2003; 4(2): 138-44.

143. Ishii KJ, Coban C, Kato H, Takahashi K, Torii Y, Takeshita F, et al. A Toll-like receptor-independent antiviral response induced by double-stranded B-form DNA. Nat Immunol 2006; 7(1): 40-8.

144. Stetson DB, Medzhitov R. Recognition of cytosolic DNA activates an IRF3-dependent innate immune response. Immunity 2006; 24(1): 93-103.

145. Zhu Q, Egelston C, Gagnon S, Sui Y, Belyakov IM, Klinman DM, et al. Using 3 TLR ligands as a combination adjuvant induces qualitative changes in T cell responses needed for antiviral protection in mice. J Clin Invest 2010; 120(2): 607-16.

Journal of Isfahan Medical School Review Article

Vol. 30, No. 214, 4th week, January 2013 Received: 6.10.2012 Accepted: 10.12.2012

Improving the Effectiveness of Adjuvants: Targeting Innate Immune Receptors with a Special Focus on Toll-like Receptor Agonists

Seyed-Elias Tabatabaeizadeh DVM[1], Alireza Haghparast DVM, PhD[2]

Abstract

The development of potent and safe adjuvants for generating vaccines capable of inducing protective and long lasting immunity has become an expanding field in vaccine development. At the same time, the discovery of toll-like receptors (TLRs) and other innate immune receptors, which can bridge the innate immune responses and adaptive immunity, is offering unexampled opportunities for using the agonists of these receptors for developing novel adjuvants. TLRs are among the most important receptors that have been studied for identifying and using of their agonists to induce innate immune responses. TLRs agonists are being employed for the treatment of cancer, allergies and viral infections, and as adjuvants for vaccine improvement to prevent or treat cancer and infectious diseases. Here we review approaches to the discovery and development of immunostimulatory compounds and vaccine formulations that target the innate immune responses. After introducing TLRs biology and their involvement in immune activation, the use of their agonists as adjuvants is discussed.

Keywords: Innate immunity, Toll-like receptors, Vaccination, Immunologic adjuvants

[1] PhD Candidate, Department of Biotechnology, School of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Immunology and Biotechnology, School of Veterinary Medicine AND Institute of Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
Corresponding Author: Alireza Haghparast DVM, PhD, Email: alireza.haghparast@gmail.com