واکسن‌ها (بخش دوم)

توسط فاطمه آقاجانی دانشجوی دکتری میکرب‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شاهد ورودی ۹۲

فهرست مطالب

فرمولاسیون واکسنها ۱
آدجوانت ۱
آلوم ۲
امولسیون‌های روغن در آب ۳
MPL ٤
سیستمهای تحویل ٥
واکسنهای غیر فعال ٦
ایمونولوژی واکسن ٦
منابع ۱۰

فرمولاسیون واکسن‌ها

ایمونوژنیتیسیته واکسن‌های غیر فعال، ساب‌یونیت و نوکلئیک اسید از طریق فرمولاسیون می‌تواند افزایش یابد. علاوه بر ماده فعال واکسن (آنتی‌ژن یا DNA) این ترکیب می‌تواند شامل آدجوانت و/یا سیستم تحویلی نیز باشد. آدجوانت ماده‌ای است که تزریق همزمان آن با آنتی‌ژن، سبب افزایش تحریک پاسخ هومورال و/یا CMI می‌گردد. سیستم تحویل ابزاری است جهت اطمینان از ارائه واکسن به سلول‌های مناسب از سیستم ایمنی یا پایداری و آزادسازی آنتی‌ژن در طول یک دوره طولانی. آدجوانت و سیستم تحویل ممکن است از نظر ساختاری و عملکردی با هم همپوشانی داشته باشند. برخی از آدجوانت‌های آزمایشی پاسخ آنتی‌بادی را تحریک می‌کنند، درحالیکه بقیه ابتدا پاسخ‌های CMI شامل CTL را تحریک می‌کنند. در جدول ۲، به فواید و چالش‌های استفاده از آدجوانت‌ها و سیستم‌های تحویل جدید اشاره شده است (Ellis 2004).

Potential benefits	Key challenges
Dosage level ↓	Tolerability
Number of doses ↓	Long-term safety
T-cell responses ↑	Demonstrated need
Antibody level ↑	Analytical definition
Antibody quality ↑	Stability
Responses ↑ for impaired persons	Pharmaceutical
Mucosal immunity	Formulation

جدول ۱: آدجوانت‌ها و سیستم‌های تحویل واکسن (Ellis 2004).

آدجوانت

واکسن‌های پیشگیری کننده نقش سودمندی در جلوگیری از بیماری‌های مختلف عفونی دارند. آنتی‌ژن واکسن‌های subunit عموما تحمل بهتری نسبت به پاتوژن‌های زنده تخفیف حدت یافته یا غیر فعال دارند. اما با این حال این آنتی‌ژن‌ها ایمونوژن ضعیف تری بوده و اغلب نیاز به افزودن آدجوانت جهت دستیابی به پاسخ‌های ایمنی محافظت کننده می‌باشد. شناسایی و توسعه آدجوانت‌های جدید ضروری است زیرا که تعداد کم آدجوانت‌های واکسن‌ها که در حال حاظر مورد تایید هستند همواره پاسخ ایمنی محافظت کننده و پایدار مطلوب در برابر پاتوژن‌های مختلف هدف ایجاد نمی‌کنند. برای مثال، نیاز به تولید واکسن موثر و ایمن علیه بیماری‌های عفونی مهم شامل HIV، مالاریا و توبرکلوزیس است. بنابراین شناسایی آدجوانت‌های واکسنی که بتواند به ایجاد پاسخ ایمنی پایدار و گسترده در افراد دارای پاسخ ایمنی ضعیف مانند افراد مسن، دارای نقص

سیستم ایمنی و کودکان بسیار حائز اهمیت می‌باشد. مزیت‌های دیگر در شناسایی آدجوانت‌های ایمن و کارامد دوز پایین آنتی‌ژن و ابزاری برای سوق دادن پاسخ ایمنی به فنوتیپ T cell اختصاصی (Th1, Th2, Th17) است. علی رغم این نیاز برای واکسن‌های subunit، ترکیبات معدودی که در مطالعات پیش کلینیکی انتخاب شدند جهت استفاده در انسان تایید شده اند (جدول ۳) (Mbow, De Gregorio et al. 2010).

جدول ۲: آدجوانت‌های تایید شده جهت استفاده در انسان (Mbow, De Gregorio et al. 2010).

Licensed adjuvants			
	Company	Class	Indications
Alum	Various	Mineral salts	Various
MF59	Novartis	O/W emulsion	Influenza (Fluad)/pandemic flu
ASO3	GSK	O/W emulsion + a tocopherol	Pandemic Flu (Pandemrix)
AS04	GSK	MPL + alum	HBV (Fendrix), HPV (Cervarix)
Liposomes	Crucell	O/w emulsion	HAV, Flu (EU)

در میان تعداد اندک آدجوانت هایی که جهت استعمال در انسان تایید شده اند، نمک‌های هیدروکسید یا فسفات آلومینیوم (آلوم)[1] بیش از ۷۰ سال بطور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است. این آدجوانت برای دهه‌ها در واکسن‌هاای تزریقی به بیش از ۱ بیلیون نفر در سرتاسر جهان بکار گرفته شد. آنتی‌ژن واکسنی با پیوند یونی به نمک آلومینیوم متصل شده و ایجاد یک سوسپانسیون ماکروسکوپی می‌کند. این آدجوانت ترجیحا پاسخ ایمنی نوع Th2 (مانند آنتی‌بادی) را ایجاد می‌نماید. بنابراین برای تحریک پاسخ ایمنی CMI مناسب نیست. هرچند که نمک‌های آلومینیوم برای واکسن‌های تایید شده خاصی مانند هپاتیت B موثر و مفید است اما قدرت کافی برای سایر آنتی‌ژن‌های واکسنی در ایجاد پاسخ آنتی‌بادی بهینه موثر ندارند (Ellis 2004).

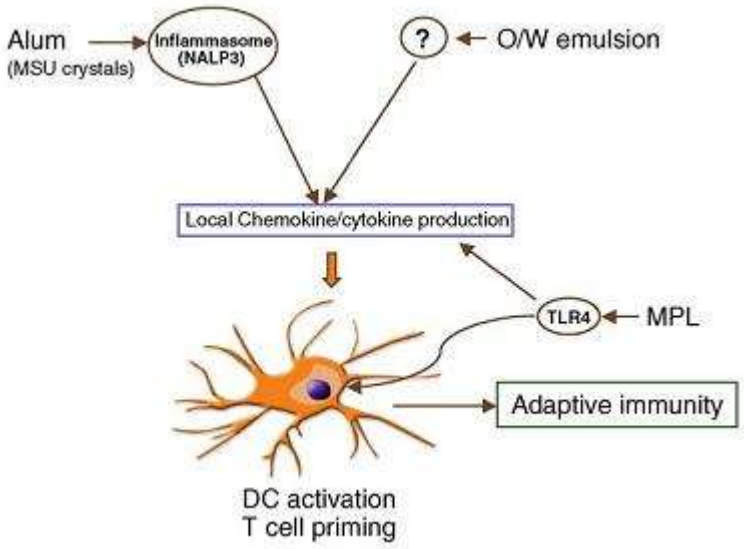
با در نظرگیری نیاز به بهبود خصوصیات نمک‌های آلومینیوم، بسیاری از مواد شیمیایی و بیوشیمیایی از منابع طبیعی، و پروتئین‌هایی با فعالیت تنظیم‌کنندگی سیستم ایمنی (سایتوکین‌ها) به عنوان آدجوانت مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته‌اند. در یک آدجوانت ایده آل باید بین درجه اثرات جانبی و افزایش ایمنی‌زایی تعادل وجود داشته باشد (Ellis 2004).

آدجوانت‌های دیگر مانند MF59 از جمله موارد دیگری هستند که از سال ۱۹۹۷ در واکسن‌های آنفلوانزا مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این آدجوانت همراه با ASO3 در واکسن‌های پاندمی 2009 H1N1 بطور گسترده استفاده شدند. هر دو آدجوانت نام برده شده یک امولسیون روغن در آب می‌باشند. ASO4 یک لیپید A مونوفسفریل دآسیله است که به آلومینیوم افزوده شده و همراه با واکسن نوترکیب هپاتیت B بدست آمده از مخمر سبب افزایش قابل ملاحظه‌ای در پاسخ آنتی‌بادی ضد HBs می‌گردد. در اروپا و ایالات متحده، استفاده از این آدجوانت در فرمولاسیون واکسن‌های HBV و HPV تصویب شده است. لیپوزوم‌ها (ویروزم‌ها)[2] آدجوانت‌های دیگری هستند که استفاده آنها در واکسن آنفلوانزای فصلی و واکسن هپاتیت A تایید شده است (Ellis 2004). امولسیون‌های روغن در آب (MF59 و AS03) جهت استفاده در واکسن‌های آنفلوآنزا در اروپا مورد تایید قرار گرفته اند. AS04 یک آدجوانت ترکیبی شامل مونوفسفریل لیپید A (MPL) جذب شده بر روی آلوم است که در واکسن‌های HPV و HBV استفاده می‌شود (Mbow, De Gregorio et al. 2010).

آلوم

فرمولاسیون بسیاری از واکسن‌ها حاوی نمک‌های آلومینیوم می‌باشد که سبب پایداری و ایمونوژنتیسیته آنتی‌ژن‌ها بدنبال جذب بر روی ذرات آلومینیومی می‌گردد. این آدجوانت پر کاربردترین ترکیبی است که در واکسن‌های مورد استفاده مانند HAV، HPV،HBV ، دیفتری و تتانوس (DT)، *H.influenza* تیپ B (HIB) بکار می‌رود. مکانیزم عمل آلوم در دست بررسی است. بطور عمومی، جذب سطحی آلوم سبب افزایش جذب آنتی‌ژن و پایداری آن در محل تزریق می‌گردد. علاوه بر این، آلوم سبب القای یک واکنش پیش التهابی موضعی می‌گردد که افزایش ایمونوژنتیسیته را بدنبال دارد (Mbow, De Gregorio et al. 2010).

[1] Alum
[2] Virosome



شکل ۱: مکانیزم فعالیت آدجوانت‌های تایید شده انسانی (Mbow, De Gregorio et al. 2010).

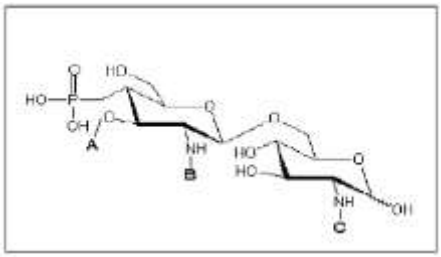
مطالعات نشان داده اند که NALP3 فعال شده بواسطه آلوم که یک جزئی از کمپلکس inflammasome است در القای چندین سایتوکین پیش التهابی شامل IL1β نقش دارد. در شرایط in vivo در موش هایی که دچار نقص در NLRP3 هستند نشان داد که NLRP3 به آدجوانتیسیتی آلوم کمک می‌کند. با این حال لزوم مسیر inflammasome/NALP3 جهت فعالیت آدجوانتی آلوم با نتایجی که نشان می‌دهند مسیر NALP3 برای فعالیت آدجوانت آلوم در درون بدن غیر ضروری است به چالش کشیده شده است. توضیح دقیق این اختلاف نامشخص است. این امر می‌تواند به دلیل سیستم‌های مدل مختلف مورد استفاده بوده و ممکن است که مسیرهای اضافی دیگر فعالیت آلوم را در میزبان تنظیم کند باشد. اما بررسی تمامی مسیرهای ایمنی و مولکولی درگیر در فعالیت آدجوانت آلوم دشوار است. مزیت کلیدی این آدجوانت استفاده بیش از ۷۰ سال در واکسن‌ها و اثبات ایمن بودن آن است. با این حال، مطالعات پیش کلینیکی و کلینیکی نشان داده اند که آلوم قدرت کمتری نسبت به سایر آدجوانت‌ها مانند امولسیون‌های آب در روغن دارند. علاوه بر این آلوم القاکننده ضعیف پاسخ ایمنی بواسطه Th1 است که برای توسعه واکسن‌ها علیه پاتوژن‌های درون سلولی مهم هستند می‌باشند (Mbow, De Gregorio et al. 2010).

امولسیون‌های روغن در آب

یکی از انواع آدجوانت‌هایی که در این دسته قرار می‌گیرند MF59 است. این آدجوانت حاوی ترکیب آلی متابولیزه شده squalene (۴/۳ ٪ w/v) و دو سورفکتانت polyoxyethylene sorbitan monooleate (۰/۵ w/v, tween 80) و sorbitan trioleate (۰/۵ w/v, span-85) می‌باشد (Plotkin, Orenstein et al. 2008). MF59 از سال ۱۹۹۷ برای لستفاده در واکسن‌های آنفلوانزای پاندمیک و فصلی مورد تایید قرار گرفته و نشان داده شده است که سبب افزایش ایمونوژنتیسیته و پاسخ ایمنی می‌گردد (Mbow, De Gregorio et al. 2010Mastelic, Ahmed et al. 2010;). بررسی اثر آدجوانت‌های مختلف در عضله موش نشان می‌دهد که MF59 تقویت کننده پاسخ ایمنی قوی در محل تزریق است که منجر به جذب اولیه لوکوسیت‌ها می‌گردد. علاوه بر این، این آدجوانت باعث جذب سریع سلول‌های خونی CD11b+ به عضله محل تزریق می‌شود (Mastelic, Ahmed et al. 2010). در واقع MF59 با ایجاد منطقه تحریک ایمنی موضعی در محل تزریق که با افزایش فعالیت ژن‌های سیتوکین ها، کموکین‌ها و سایر ژن‌های ایمنی همراه است، باعث جذب CD11b+ و سلول‌های MHCII در عضله می‌گردد. علاوه بر تحریک سیستم ایمنی، MF59 میزان جذب آنتی‌ژن توسط سلول‌های دندریتیکی را افزایش می‌دهد (Mbow, De Gregorio et al. 2010). این آدجوانت بطور مستقیم فیبرهای عضلانی را که سبب ایجاد میانجی‌های ایمنی فعال‌کننده DC موضعی می‌شود، می‌گردد. بنظر می‌رسد که MF59 دو ویژگی دارد: تحویل آنتی‌ژن با فعالیت تقویت سیستم ایمنی در جایگاه تزریق که منجر به جذب و فعالسازی APCهای ساکن و یا گردشی می‌گردد (Mastelic, Ahmed et al. 2010).

MPL [3]

برای اولین بار Johnson و همکارانش اثر آدجوانتی LPS اندوتوکسین باکتری‌های گرم منفی را در سال ۱۹۵۶ کشف کردند (Plotkin, Orenstein et al. 2008). MPL مشتق غیر سمی LPS باکتریایی است که اولین آدجوانت هدف TLR [4] که جهت استفاده در انسان مورد تایید قرار گرفت محسوب می‌شود (Mastelic, Ahmed et al. 2010). در واقع MPL یک monophosphoryl lipid A است که از لیپوپلی ساکارید موتانت *Salmonella minnesota* R595 تهیه می‌گردد. این ترکیب مخلوطی از دی ساکاریدهای ۲-دی اکسی-۲ آمینوگلوکز است که در موقعیت ۴ فسفریله بوده و با پیوندهای β1→6 به یکدیگر متصل شده اند. گروه‌های هیدروکسی آسیل یا آسیل اکسی آسیل بطور گسترده در موقعیت‌های ۲، ۲′ و ۳′ جایگزین می‌شود که باعث متغیر بودن گروه‌های آسیل چرب بین ۳ و ۶ می‌گردد (شکل ۴) (Francis, Wilcock et al. 2004).



Fatty acid group	Linkage A	Linkage B	Linkage C
Hexa-acyl	$C_{14}OC_{14}$	$C_{12}OC_{14}$	$C_{16}OC_{14}$
Penta-acyl	$C_{14}OC_{14}$	$C_{12}OC_{14}$	HOC_{14}
	HOC_{14}	$C_{12}OC_{14}$	$C_{16}OC_{14}$
	Δ-C_{14}	$C_{12}OC_{14}$	$C_{16}OC_{14}$
Tetra-acyl	HOC_{14}	$C_{12}OC_{14}$	HOC_{14}
	Δ-C_{14}	$C_{12}OC_{14}$	HOC_{14}
	H	$C_{12}OC_{14}$	$C_{16}OC_{14}$

از آنجا که MPL مشتق غیر سمی LPS است بنابراین به عنوان القا کننده Th1 عمل می‌کند. جهت حذف فسفات گلیکوزیدی در موقعیت ۱ و اتصال باقی بخش مرکزی داخلی از طریق موقعیت ۶، LPS با اسید تیمار پیدا کرده و به دنبال آن تیمار با قلیا سبب حذف آسیل چرب در موقعیت ۳ می‌گردد. MPL باقی مانده سمیت بسیار کمی را نشان می‌دهد اما فعالیت ایمونوژنی آن مانند LPS طبیعی همچنان حفظ می‌گردد (Francis, Wilcock et al. 2004).

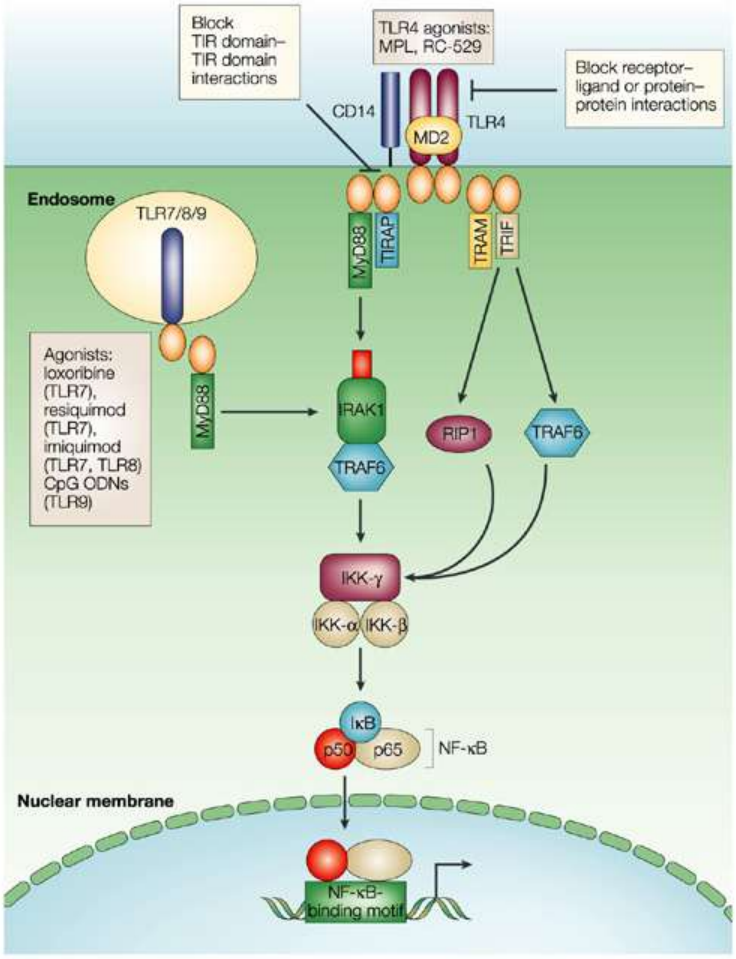
شکل ۲: ساختار شیمیایی MPL (Francis, Wilcock et al. 2004).

LPS به دلیل اینکه یک الگوی مولکولی وابسته به پاتوژن (PAMP)[5] است، سبب القای پاسخ ایمنی می‌گردد زیراکه بواسطه PRR [6] که بر روی سلول‌های APC وجود دارند شناسایی می‌شوند. برای اینکه مولکولی به عنوان PAMP توسط APCها شناسایی شود باید ساختاری داشته باشد که بین تعداد زیادی از پاتوژن‌ها مشترک باشد اما در بدن انسان وجود نداشته باشد. PAMPها عموما موادی هستند که توسط باکتری‌ها تولید می‌شوند. برای مثال موتیف‌های CpG غیر متیله (که مشخصه DNA باکتریایی است)، پپتیدوگلیکان ها، تیکوئیک اسیدها و LPS. MPLها سیگنالدهی LPS را داشته و توسط PRR، TLR4 شناسایی می‌شوند. APCهای انسانی دارای MHCII در تعداد زیادی از لایه‌های مخاطی و پوست وجود دارند. ماکروفاژها و سلول‌های لنفوسیت B نیز به عنوان APC عمل می‌کنند اما اغلب APCهای بالقوه انسانی سلول‌های دندریتیک (DC) هستند. DCهای نا بالغ به عنوان سلول‌های نگهبان، آنتی‌ژن‌ها را از طریق پینوسیتوز در ناحیه ورودی دریافت می‌کنند. هر سلول با طیف وسیعی از PRRها پوشیده شده است و زمانیکه یک PAMP مانند MPL به کمپلکس گیرنده TLR4 متصل می‌گردد، آبشاری از مسیر سیگنالی درون سلولی آغاز می‌شود که NF-κB را فعال می‌کند که یک تنظیم کننده کلاسیک رونویسی ژن‌های پیش التهابی است (شکل ۵) (Francis, Wilcock et al. 2004).

پس از مواجه شدن DC با آنتی‌ژن و سیگنال PAMP، شروع به بالغ شدن می‌کند و به گره‌های لنفاوی مهاجرت می‌کند. MPL سبب افزایش فاگوسیتوز و بیان MHCII و B7 (CD80 و CD86) همانند تحریک تولید سایتوکین‌های IL-1، IL-10، IL-12 و GM-CSF می‌شود. DCهای بالغ شده که سطوح بالایی از MHCII و B7 را بیان می‌کنند، آنتی‌ژن‌های فراوری شده را به سلول‌های T دست نخورده ارائه می‌دهند. سایتوکین‌ها بخصوص IL-12 تولید شده توسط DC پس از برخورد با ترکیباتی مانند LPS یا MPL بر سلول‌های T دست نخورده اثر گذاشته و سبب بلوغ آن به Th1 می‌گردد. DCها آلرژن فراوری شده را با کمک B7 و IL-12 به سلول‌های T دست نخورده عرضه می‌کنند. این سه سیگنال ترکیبات کلیدی در ارتباط میان سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی محسوب می‌شوند. اهمیت IL-12 به دلیل توانایی آن در القای مستقیم پاسخ‌های Th1 می‌باشد. با

[3] Monophosphoryl Lipid A
[4] Toll Like Receptor
[5] Pathogen associated molecular pattern
[6] Pattern recognition receptor

اتصال این سایتوکین به گیرنده IL-12Rβ2، مسیر سیگنالدهی درون سلولی ای آغاز می‌شود که منجر به تولید IFN-Y و کاهش توانایی سلول در تولید Th2 می‌گردد. زمانیکه یک سلول T دست نخورده کمپلکس آنتی‌ژن- MHC را شناسایی می‌کند فعال شده و به بلاست سل تبدیل می‌شود که چندین بار تقسیم شده و سریعا جمعیتی از کلون‌ها را تواید می‌کند (Francis, Wilcock et al. 2004).



شکل ۳: فعالسازی کمپلکس TLR4 که منجر به ایجاد آبشاری از سیگنال درون سلولی شده و سبب رونویسی ژن‌های پیش التهابی می‌گردد (Ulevitch 2004).

سیستم‌های تحویل

در کنار ارائه آنتی‌ژن یا DNA به سلول‌های هدف، یک سیستم تحویل می‌تواند واسط سایر فعالیت‌های کلیدی نیز باشد. از جمله باقی ماندن آنتی‌ژن در جایگاهی مناسب به منظور استمرار در تحریک سیستم ایمنی. علاوه بر این سبب افزایش پایداری DNA یا آنتی‌ژن نیز می‌گردد. سیستم تحویل، ارائه کارامد واکسن‌هایی را که از طریق لایه‌های مخاطی دریافت می‌شوند جهت جذب توسط سلول‌های M و بدنبال آن انتقال سلولی به پلاک‌های پیر و ارائه به لنفوسیت‌ها جهت القای ایمنی موکوزال را فراهم می‌سازد (Ellis 2004).

توسعه تکنولوژی‌های خاص جهت تحویل واکسن از راه‌های مختلف (مانند دهانی، بینی، جلدی) به سرعت در حال گسترش می‌باشند. هنگامی که واکسن به منطقه مناسبی از بدن انسان وارد می‌گردد، مقادیر کافی از آنتی‌ژن (و آدجوانت) جهت دسترسی به سلول‌های مناسب به منظور فعالسازی سیستم ایمنی باید وجود داشته باشد. از جمله ابزارها یا ناقلینی که با این هدف مورد استفاده قرار می‌گیرند می‌توان به باکتری‌ها و ویروس‌های تخفیف حدت یافته، وکتورهای باکتریایی کامنسال، ویروزوم‌ها، VLP ها، لیپوزوم‌ها، لیپوپپتیدها، کمپلکس‌های محرک سیستم ایمنی، ریز ذرات و نانوذرات اشاره نمود. ویروس‌ها،

ابزارهای اولیه تحویل آنتی‌ژن محسوب می‌شوند، چرا که وارد سلول شده و از آن برای تکثیر خود و بنابراین تکثیر آنتی‌ژن مورد نظر و نیز تحریک یک عمل آدجوانتی طبیعی با فعالسازی کموکین‌ها و سایتوکین‌ها استفاده می‌کنند. ویروس‌های نوترکیب با بیان ژن آنتی‌ژن هترولوگ، فوایدی مشابه واکسن‌های ویروسی زنده تخفیف حدت یافته مرسوم دارند. این وکتورها، DNA یا RNA خارجی را وارد سلول کرده و با تکثیر آن، سیستم ایمنی را فعال می‌کنند. ویروس‌های مورد استفاده به عنوان وکتورهای واکسنی علاوه بر دارا بودن قدرت پاتوژنتیسیته پایین حتی در افراد دارای نقص سیستم ایمنی، توانایی نگهداری ژن‌های خارجی و آدجوانت‌ها را نیز داشته باشند. مهمترین مزیت وکتورهای باکتریایی نسبت به ویروسی، ظرفیت بالای آنها در دریافت ژن‌های هترولوگ، آدجوانت‌ها یا پلازمیدها می‌باشد (Ellis 2004).

سیستم‌های غیر تکثیری تحویل واکسن شامل کمپلکس‌های محرک سیستم ایمنی (ISCOMs)، لیپوزوم‌ها، ریز ذرات، نانو ذرات، ویروزوم‌ها و VLPها هستند که در ارائه آنتی‌ژن و آدجوانت مشابه ویروس‌های زنده عمل می‌کنند. اندازه این ذرات و نحوه جذبشان توسط APCها مانند ویروس‌ها است. بسیاری از این ترکیبات حاوی لیپید هستند که سبب افزایش نفوذپذیری غشا و پروتئین‌های ویروسی و باکتریایی در فعالسازی سیستم ایمنی می‌شوند. لیپوزوم‌ها وزیکول‌هایی حاوی غشای دولایه فسفولیپیدی هستند که آنتی‌ژن‌ها در مرکز آبی یا بر روی سطح خارجی آن قرار می‌گیرند. ISCOMها ساختارهای قفس مانند ۴۰ nm حاوی ۱۲ زیرواحد ساپونین[7] (مانند Quil A) و کلسترول هستند. ریز ذرات و نانوذرات نیز از پلیمرهایی با قابلیت تجزیه زیستی مانند پلی‌لاکتید[8] و پلی‌لاکتید کاگلیکولاید[9] یا پلیمرهای زیستی مانند کیتین یا کیتوسان ساخته می‌شوند. جهت افزایش دوره عرضه آنتی‌ژن، ریز ذرات را می‌توان به گونه‌ای طراحی کرد که آزاد سازی آنتی‌ژن به آهستگی صورت گیرد (Ellis 2004).

واکسن‌های غیر فعال[10]

آماده‌سازی آنتی‌بادی مونوکلونال یا پلی‌کلونال در ارتباط با واکسن‌های غیر فعال می‌باشند. فعالیت ایمونولوژیکی سریع می‌تواند برای جلوگیری یا درمان یک بیماری عفونی، سرطان یا سایر بیماری‌ها ضروری باشد. اثر محافظت کنندگی بواسطه خنثی-سازی بیماری‌زایی ویروس، اتصال به باکتری‌ها که بدنبال آن تخریب با سلول‌های فاگوسیتی اتفاق می‌افتد یا اتصال به مولکول‌هایی مانند توکسین‌ها (که بواسطه پاتوژن‌ها تولید شده) یا دیگوزین‌ها[11] و خنثی‌سازی آنها صورت می‌پذیرد (Ellis 2004). این نوع واکسن‌ها شامل انواع آنتی‌بادی‌های پلی کلونال و مونو کلونال هستند که از پیش تهیه شده و موجود می‌باشند.

ایمونولوژی واکسن

یکی از چالش‌های موجود در ارتباط با واکسیناسیون ایجاد مصونیت و نحوه ایجاد آن است. اطلاعات کمی از نحوه فعالسازی سیستم ایمنی توسط واکسن‌های موجود که بطور تجربی توسعه پیدا کرده اند وجود دارد. در درجه اول، اثر محافظتی اولیه آنها در ارتباط با القای واکنش آنتی‌ژن و آنتی‌بادی اختصاصی است. برای ایجاد مصونیت بلند مدت نیاز به پایداری آنتی‌بادی‌های واکسنی و/یا ایجاد سلول‌های خاطره می‌باشد. عوامل القای خاطره ایمنی و نیز سهم نسبی تداوم آنتی‌بادی‌ها و خاطره ایمنی در ایمنی علیه بیماری‌های خاص پارامترهای ضروری در اثر بخشی طولانی مدت واکسن‌ها هستند. ایمنی طولانی مدت بواسطه پایداری افکتورهای ویژه آنتی‌ژن و/یا از طریق القای سلول‌های خاطره ایمنی که می‌تواند سریعا و با کارایی کافی با افکتورهای ایمنی در مواجهه با پاتوژن دوباره فعال شوند ایجاد می‌گردد. افکتورهای ایمنی القا شده بواسطه واکسن (جدول ۳) آنتی‌بادی‌های تولیدی لنفوسیت‌های B هستند که قادر به اتصال اختصاصی به یک پاتوژن یا توکسین می‌باشند. سایر افکتورهای بالقوه شامل لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک CD8+ (CTL) اند که از طریق شناسایی و مرگ سلول‌های آلوده یا ترشح سیتوکین‌های ضد ویروسی خاص مانع گسترش عوامل عفونی می‌گردند. ایجاد و بقای پاسخ

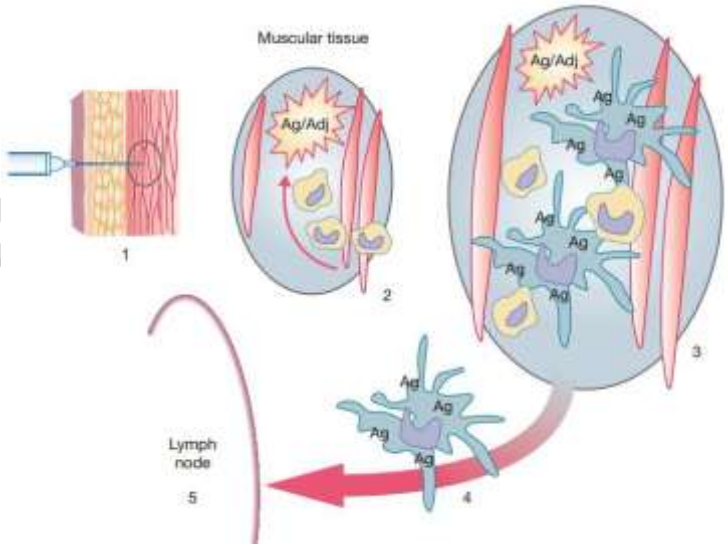
[7] Saponin
[8] Polylactide
[9] Polylactide coglycolide
[10] Passive vaccine
[11] Digoxin

سلول‌های B و CD8+ T بواسطه فاکتورهای رشد و سیگنالهای تولیدی سلول‌های T کمکی CD4+ (Th) که عموما به دو زیر گروه Th1 و Th2 تقسیم می‌شوند ایجاد می‌گردند. این افکتورها توسط Tهای تنظیمی (Treg) که در ایجاد تحمل ایمنی دخالت دارند کنترل می‌شوند. اکثر واکسن‌ها و آنتی‌ژن‌ها پاسخ ایمنی سلول‌های B و T را ایجاد می‌کنند. علاوه بر این برای اغلب پاسخ‌های آنتی‌بادی، سلول‌های CD4+ T نیاز است در حالیکه آنتی‌بادی‌ها اثرات قابل توجهی بر پاسخ‌های سلول T علیه پاتوژن‌های درون سلولی دارند (Siegrist 2008).

جدول ۳: مکانیسم‌های افکتور ایجاد شده توسط واکسن (Siegrist 2008).

▪ Antibodies prevent or reduce infections by extra- and intracellular agents and clear extracellular pathogens through : ○ binding to the enzymatic active sites of toxins or preventing their diffusion ○ neutralizing viral replication, e.g. preventing viral binding and entry into cells ○ promoting opsonophagocytosis of extracellular bacteria, i.e. enhancing clearance by macrophages and neutrophils ○ activating the complement cascade
▪ $CD8^+$ T cells do not prevent but reduce, control and clear intracellular pathogens by: ○ directly killing infected cells (release of perforin, granzyme, etc.) ○ indirectly killing infected cells through antimicrobial cytokine release
▪ $CD4^+$ T cells do not prevent but participate to the reduction, control and clearance of extra- and intracellular pathogens by : ○ producing IFN-γ, TNF-α/-β, IL-2 and IL-3 and supporting activation and differentiation of B cells, $CD8^+$T cells and macrophages (Th1 cells) ○ producing IL-4, IL-5, IL-13, IL-6 and IL-10 and supporting B cell activation and differentiatio n (Th2 cells)

جهت القای پاسخ ایمنی سلول‌های B و T نیاز به فعالسازی آنها با سلول‌های اختصاصی عرضه کننده آنتی‌ژن (APC) بخصوص سلول‌های دندریتیکی (DC) است. DCهای نابالغ در سرتاسر بدن گردش می‌کنند. هنگام برخورد این سلول‌ها به پاتوژن ها، دستخوش تغییرات شده، بالغ می‌شوند و طی آن گیرنده‌های اختصاصی در سطح آنها ایجاد می‌گردد. سپس به غدد لنفاوی ثانویه مکانی که القای پاسخ‌های سلول‌های B و T اتفاق می‌افتد، مهاجرت می‌کنند. نقش کلیدی DCهای بالغ در القای پاسخ‌های واکسنی در ارتباط با توانایی منحصر به فرد آن‌ها در ایجاد سیگنال‌های costimulation و سیگنال‌های ویژه آنتی‌ژن است، این سیگنال‌های خطر برای فعالسازی سلول‌های T نابالغ نیاز هستند. بنابراین اولین قدم در ایجاد پاسخ‌های واکسنی تامین سیگنال‌های خطر کافی در آنتی‌ژن‌های واکسن و/یا آدجوانت‌ها برای ایجاد واکنش التهابی است که بواسطه سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی ایجاد می‌گردند.

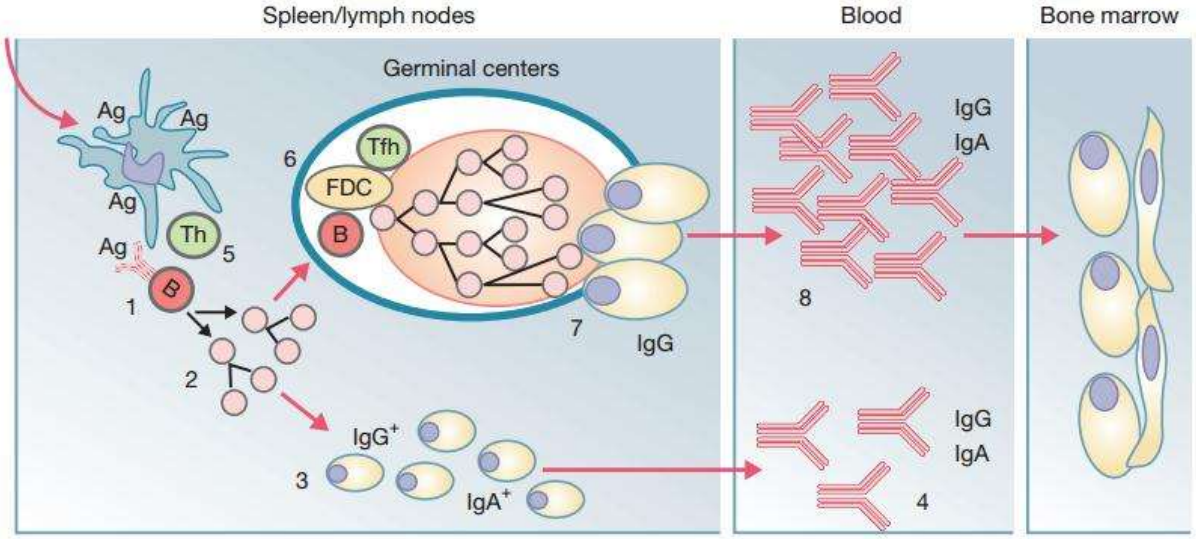


شکل ۴: تزریق واکسن (۱). جذب سلول‌های دندریتیکی، مونوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها که در بدن گردش می‌کنند توسط آنتی‌ژن‌های موجود در واکسن (۲). در صورتیکه Ag/Adjuvant سیگنال‌های خطر کافی ایجاد کنند، مونوسیت‌ها و سلول‌های دندریتیکی فعال می‌شوند (۳) که گیرنده‌های سطحی آن‌ها را تغییر داده و جهت مهاجرت به رگ‌های لنفاوی (۴) جهت زهکشی در غدد لنفاوی (۵)، جاییکه فعالسازی لنفوسیت‌های B و T اتفاق می‌افتد، تحریک می‌کنند.

DC ها، مونوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها گروهی از گیرنده‌ها را بر روی سطح خود بیان می‌کنند که الگوهایی از پاتوژن‌ها که طی تکامل محافظت شده اند را شناسایی کرده و بنابراین براحتی از آنتی‌ژن‌های خودی باز شناسایی می‌کنند. از میان این رسپتور ها، رسپتورهای شبه Toll نقش مهمی دارند (جدول ۵). این سلول‌ها در زمان مواجهه با پاتوژن‌ها بواسطه گیرنده هایشان آنتی‌ژن‌های خارجی را شناسایی کرده و فعال می‌شوند (شکل ۷). آن‌ها بیان مولکول‌های سطحی خود را تنظیم کرده و کموکین‌ها و سایتوکین‌های پیش التهابی را تولید می‌کنند. این امر سبب جذب مونوسیت‌ها (به ماکروفاژها تمایز پیدا می‌کنند) ، گرانولوسیت‌ها و سلول‌های NK می‌گردد.

جدول ۴: شناسایی عوامل واکسنی توسط رسپتورها (Siegrist 2008).

Receptors	Ligands	Demonstrated ligands in vaccine antigens
TLR1	Certain bacterial lipoproteins	
TLR2	Peptidoglycan, lipoproteins, glycolipids, lipopolysaccharide	BCG, Hib-OMP, pneumococcal PS
TLR3	Viral double-stranded RNA	BCG, pneumococcal PS, HPV-VLPs
TLR4	Bacterial lipopolysaccharides	
TLR5		
TLR6	Bacterial flagellins	
TLR7	Lipotechoic acid, lipopeptides	Yellow-fever, live attenuated influenza, whole cell influenza
TLR8	Single-stranded RNA	
TLR9		Yellow-fever
TLR10	Single-stranded RNA	Yellow-fever
NOD1, NOD2	CpG oligonucleotides Unknown Peptidoglycans	Pneumococcal PS



شکل ۵: در پاسخ به آنتی‌ژن‌های پروتئینی که به غدد لنفاوی یا طحال می‌رسند، سلول‌های B که بواسطه ایمونوگلوبولین‌های سطحی خود قابلیت اتصال به آنتی‌ژن‌ها را دارند فعال می‌گردند (۱). در واکنش خارج فولیکولی (۲)، سلول‌های B سریعا در پلاسماسل‌ها تمایز پیدا می‌کنند (۳) که آنتی‌بادی هایی با افینیتی پایین تواید کرده و چند روز پس از ایمنی زایی در سطح پایینی در سرم قابل شناسایی می‌باشند (۴). سلول‌های Th (۵) که توسط سلول‌های دندریتیکی حاوی آنتی‌ژن فعال شده اند سبب آغاز مهاجرت سلول‌های B اختصاصی آنتی‌ژن به سمت سلول‌های دندریتیکی فولیکولی (FDC) شده(۶) و واکنش مرکز زایا (GC[۱۲]) آغاز می‌گردد. در مراکز زایا، سلول‌های B سیگنال هایی را از سلول‌های T فولیکولی (Tfh) دریافت کرده و تکثیر کلون اتفاق می‌افتد که سبب تغییر تولید IgM به IgG، IgA یا IgE (۷) و تمایز به پلاسما سل هایی که مقادیر بالایی از آنتی‌بادی‌های اختصاصی آنتی‌ژن را ترشح می‌کنند می‌گردد (۸). در انتهای واکنش GC، تعداد کمی از پلاسما سل‌ها طحال/غدد لنفاوی را ترک می‌کنند و عموما به مغز استخوان مهاجرت می‌کنند تا در آنجا از سیگنال‌های تولید شده توسط سلول‌های استرومایی در امان باقی بمانند (۹).

[12] Germinal Center

واکسن‌های زنده ویروسی احتمالا بواسطه سیگنال‌های پاتوژنی (مانند RNA ویروسی) سیستم ایمنی ذاتی را بطور موثری فعال می‌کنند (جدول ۵). به دنبال تزریق، ذرات ویروسی سریعا بواسطه شبکه عروقی منتشر شده و به بافت هدف خود می‌رسند. بدنبال آن، سلول‌های دندریتیکی فعال می‌شوند و به غدد لنفاوی مربوطه مهاجرت می‌نمایند که سبب فعالسازی سلول‌های B و T می‌شوند. این امر اولین توضیح در سطح بالای ایمونوژنیتیسیته واکسن‌های زنده در مقابل واکسن‌های غیر زنده است (جدول ۶). نتیجه دیگر این الگوی انتشار اولیه، اهمیت کمتر محل و نحوه تزریق واکسن‌های ویروسی زنده است. برای مثال ایمونوژنیتیسیته و reactogenicity واکسن سرخک در تزریق درون عضلانی یا زیر جلدی مشابه می‌باشد. واکسن‌های غیر زنده الگوهای شناسایی پاتوژن را دارند که بواسطه آن‌ها می‌توانند سیستم ایمنی ذاتی را فعال نمایند. در غیاب تکثیر میکروبی، فعالسازی القا شده توسط واکسن از نظر زمانی و مکانی محدود تر می‌شود. واکسن‌های غیر زنده پاسخ‌های ایمنی ذاتی را در محل تزریق فعال می‌کنند. بنابراین محل و نحوه تزریق در این واکسن‌ها مهم تر می‌باشد. اغلب این نوع واکسن‌ها همراه با آدجوانت‌ها هستند که در فعال سازی موثر سیستم ایمنی ذاتی دخالت دارند (Siegrist 2008).

عوامل موثر کمی در پایداری پاسخ‌های آنتی‌بادی واکسنی شناسایی شده اند. طبیعت واکسن نیز نقش مهمی در این زمینه دارد. تنها واکسن‌های ویروسی زنده تخفیف حدت یافته پاسخ ایمنی آنتی‌بادی را القا می‌کنند که برای چندین دهه باقی می‌مانند. این بر می‌گردد به پایداری آنتی‌ژن‌های ویروسی که بطور مداوم باعث ایجاد پاسخ‌های سلول B می‌گردد، هرچند که سایر مکانیزم‌ها نیز ممکن است نقش داشته باشند (Siegrist 2008).

جدول ۵: عوامل موثر در پاسخ‌های آنتی‌بادی واکسنی اولیه در افراد سالم (Siegrist 2008).

Determinants	Mechanisms (presumed)
Vaccine type	
Live vs inactivated	Higher intensity of innate responses, higher antigen content following replication and more prolonged antigen persistence generally result into higher Ab responses to live than inactivated vaccines.
Protein vs polysaccharide	Recruitment of T cell help and induction of GCs results into higher Ab responses to protein or glycoconjugate than to PS vaccines.
Adjuvants	Modulation of antigen delivery and persistence (depot or slow-release formulations) or enhancement of Th responses (immunomodulator) may support or limit Ab responses.
Antigen nature	
Polysaccharide antigens	Failure to induce GCs limit immunogenicity.
Protein antigens	Inclusion of epitopes readily recognized by B cells (B cell repertoire), inclusion of epitopes readily recognized by follicular helper T cells, elicitation of efficient follicular T cell help and the capacity of antigen to associate/persist in association to FDCs result into higher Ab responses.
Antigen dose	As a rule, higher Ag doses increase the availability of Ag for B / T cell binding and activation, as well as for association with FDCs.
Vaccine schedule	
Interval between doses	A 3 week minimal interval between primary doses avoids competition between successive waves of primary responses.
Genetic determinants	The capacity of Ag epitopes to associate to a large panel of MHC molecules increases the likelihood of responses in the population. MHC restriction may limit T cell responses. Gene polymorphisms in molecules critical for B and T cell activation/differentiation are likely to affect Ab responses.
Environmental factors	Mostly yet identified.
Age at immunization	Early life immune immaturity or age-associated immune senescence.

واکسن‌ها شامل اجزایی مانند نگه دارنده ها، پایدار کننده ها، آدجوانت‌ها و محیط کشت بیولوژیکی هستند.

Thiomersal (sodium ethylmercuric thiosalicylate) یکی از ترکیبات آلی حاوی ethylmercury است که از سال ۱۹۳۰ بطور گسترده به عنوان نگهدارنده مورد استفاده قرار گرفت. اما این ترکیب بواسطه دارا بودن فلز سنگین می‌تواند سمی باشد. علاوه بر این جیوه یا ترکیبات تیوسالیسیلات از تیومرسال می‌توانند واکنش‌های ازدیاد حساسیت را نیز ایجاد کنند. این واکنش‌ها حتی در افراد حساس نیز غیر معمول بوده و به ندرت اتفاق می‌افتد. ترکیب phenoxyethanol جایگزینی برای تیومرسال است که می‌توان مورد استفاده قرار داد.

آنتی بیوتیک‌ها مانند neomycin و polymyxin B عموما به منظور جلوگیری از آلودگی‌های باکتریایی طی مراحل ساخت واکسن استفاده می‌شوند. این ترکیبات می‌توانند در ایجاد واکنش‌های آلرژی سیستمیک شرکت داشته باشند.

منابع

Eldred, B. E., A. J. Dean, et al. (2006). "Vaccine components and constituents: responding to consumer concerns." Medical Journal of Australia **184**(4): 170.

Ellis, R. (2004). "Technologies for making new vaccines." Vaccines. 4th ed. Philadelphia, Pa: Elsevier Saunders: 1177-1197.

Francis, J., L. Wilcock, et al. (2004). Adjuvants in allergy immunotherapy; comparison of in vitro responses to old and new adjuvants. CLINICAL AND EXPERIMENTAL ALLERGY, BLACKWELL PUBLISHING LTD 9600 GARSINGTON RD, OXFORD OX42 DG, OXON, ENGLAND.

Mastelic, B., S. Ahmed, et al. (2010). "Mode of action of adjuvants: implications for vaccine safety and design." Biologicals **38**(5): 594-601.

Mbow, M. L., E. De Gregorio, et al. (2010). "New adjuvants for human vaccines." Current opinion in immunology **22**(3): 411-416.

Plotkin, O., W. A. Orenstein, et al. (2008). Offit. Vaccines, Saunders Elsevier.

Rashid, A., K. Rasheed, et al. (2009). "Factors influencing vaccine efficacy-A general review." J. Anim. Pl. Sci **19**(1): 22-25.

Siegrist, C.-A. (2008). "Vaccine immunology." Vaccines. Saunders.

Ulevitch, R. J. (2004). "Therapeutics targeting the innate immune system." Nat Rev Immunol **4**(7): 512-520.

سرمینار دانشجوئی