

## انواع ادجوانت و مکانیسم عمل آنها

معصومه قدس فومنی<sup>۱</sup>، لیلا اسدپور<sup>۲</sup>، علیرضا عزیزی سراجی<sup>۳</sup>، علی شریفات سلمانی<sup>۴</sup>

محمد رضا آقاصادقی\*<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران <sup>۲</sup> گروه دامپزشکی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران <sup>۳</sup> گروه هپاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران <sup>۴</sup> گروه علوم آزمایشگاهی دامپزشکی، باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱ ۶۶۹۶۹۲۹۱ فاکس: ۰۲۱ ۶۶۹۶۹۲۹۱ E-mail: mrasadeghi@pasteur.ac.ir

### چکیده

ادجوانت‌ها، ترکیبات شیمیایی یا بیولوژیک هستند که باعث تحریک غیر اختصاصی سیستم ایمنی، علیه آنتی ژنی یا آنتی ژنهایی می‌شوند که به همراه آن تزریق شده است. کاهش اثرات مضر مربوط به واکسن و تحریک انواع خاصی از ایمنی، منجر به توسعه ادجوانت‌های بسیار زیاد و جدیدی شده است. ادجوانت‌ها در واکسن‌های آزمایشگاهی و تجاری، شامل نمک‌های آلومینیوم (آلوم)، امولسیون‌های روغنی، ساپونین‌ها، کمپلکس‌های محرک ایمنی، لیپوزوم‌ها، میکروپارتیکل‌ها، کولیمرهای دسته‌ای غیر یونی، پلی ساکارید‌های مشتق شده، سایتوکاین‌ها و انواع گسترده‌ای از مشتقات باکتریایی می‌باشند. مکانیسم فعالیت این ترکیبات مختلف، متفاوت است و فاکتورهای تاثیر گذار در انتخاب یک ادجوانت شامل گونه حیوان، پاتوژن، آنتی ژن، مسیر ایمن سازی و نوع ایمنی مورد نیاز می‌باشد. به طور کلی در این مقاله مروری سعی شده انواع ادجوانت‌های رایج، ساختار و مکانیسم عمل و کاربرد آنها در تولید واکسن‌های دامی و انسانی معرفی شود تا به عنوان یک منبع مناسب جهت مطالعه در اختیار دانشجویان و محققین رشته‌های مرتبط قرار بگیرد.

**کلمات کلیدی:** ادجوانت؛ واکسن؛ محرک‌های سیستم ایمنی؛ ایمن سازی

دریافت: ۹۰/۴/۱۷ پذیرش: ۹۰/۱۱/۱۹

### مقدمه

به طور کلی به نظر می‌رسد که آنها سبب افزایش میزان عرضه آنتی ژن و پایداری آن شده و یا به عنوان یک تعدیل کننده سیستم ایمنی عمل می‌کنند. یک ادجوانت به تنهایی ممکن است بیش از یک مکانیسم عمل داشته باشد. در بسیاری از موارد، این شیوه‌ها در ایجاد ایمنی بیشتر بر اساس پاسخ‌های آنتی بادی بسیار موفق بوده‌اند [۲]. هدف واکسیناسیون ایجاد پاسخ ایمنی قوی برای ایجاد حفاظت طولانی مدت علیه عفونت است. برای رسیدن به این هدف، برخلاف واکسن‌های زنده ی

واکسیناسیون بهترین روش برای جلوگیری از خسارات ناشی از بیماری‌های عفونی در انسان‌ها و در حیوانات است. واکسن‌های رایج، عمدتاً شامل پاتوژن‌های زنده ضعیف شده و واکسن‌های زیر واحدی<sup>۱</sup> مانند توکسین‌های باکتریایی غیر فعال شده می‌باشند [۱]. علیرغم سال‌ها تحقیق، مکانیسم عمل تمام ادجوانت‌ها به طور دقیق شناسایی نشده است.

<sup>۱</sup> Suunit Vaccine

لطفاً به این مقاله به شکل زیر ارجاع دهید:

Foumani MG, Asadpour L, Azizi Saraji AR, Sharifat Salmani A, Aghasadeghi MR. Adjuvants and Their Mechanisms of Action. J Ardabil Univ Med Sci. 2012; 12(3): 276-291. (Full Text in Persian)

### نقش ادجوانت ها

از ادجوانت ها به منظور بهبود واکنش ایمنی نسبت به آنتی ژن های واکسن، به شیوه های مختلفی می توان استفاده کرد، از جمله: ۱) افزایش ایمنی زایی آنتی ژن های ضعیف، ۲) افزایش سرعت و مدت پاسخ ایمنی، ۳) افزایش میل ترکیبی آنتی بادی به آنتی ژن، اختصاصی تر کردن اتصال آنتی بادی به آنتی ژن، تغییر ایزوتایپ یا زیر کلاس آنتی بادی، ۴) تحریک ایمنی وابسته به سلول<sup>۱</sup>، ۵) افزایش تحریک ایمنی مخاطی، ۶) افزایش واکنش های ایمنی در افراد خردسال و مسن، ۷) کاهش دوز آنتی ژن در واکسن و در نتیجه کاهش قیمت ها، ۸) غلبه بر رقابت آنتی ژن ها در واکسن های ترکیبی [۳-۹].

### دسته بندی ادجوانت ها

تلاش برای قرار دادن ادجوانت ها در دسته های مجزا برای آسان شدن استفاده از آنها گاهی به علت تاثیرات مشابه و همچنین اثرات متعدد بیولوژیکی مشکل می شود. یک طبقه بندی مفید از انواع مختلف مواد محرک سیستم ایمنی توسط ادنلان و تاچت پیشنهاد شده است. در بررسی اخیر، سه نوع متداول ترکیبات محرک سیستم ایمنی یعنی خود ادجوانت ها، ناقل های غیر زنده<sup>۲</sup> و حامل ها<sup>۳</sup> مطرح می شوند. از جمله ادجوانت های شناخته شده می توان به نمک های آلومینیوم، ساپونین، دی یا تری پپتید مورامیل، مونوفسفریل لیپید A<sup>۴</sup>، جسم سلولی برخی میکروارگانیزم ها مانند برتدلا پرتوزیس<sup>۴</sup> در واکسن DPT (جسم سلولی غیرفعال شده این باکتری در واکسن DPT هم به عنوان جزء ایمونوژن برای القای پاسخ ایمنی و مصونیت در برابر سیاه سرفه و هم به عنوان یک ادجوانت برای دو توکسوئید به کار رفته در این واکسن یعنی توکسوئید دیفتری و کزاز عمل

ضعیف شده، عموماً ارگانیزم کامل کشته شده یا واکسن های زیر واحدی برای تاثیر گذار بودن، نیاز به افزودن یک ادجوانت دارند [۳، ۴]. واژه ادجوانت از کلمه لاتین *adjuvare* به معنی کمک یا افزایش، مشتق شده است [۵]. ادجوانت ها ترکیباتی هستند که واکنش ایمنی علیه آنتی ژن های تلقیح شده با آن را افزایش می دهند [۴]. ادجوانت ها باید مطابق معیارهای مختلفی انتخاب شوند که از جمله آنها گونه های هدف، نوع آنتی ژن، نوع و مدت پاسخ ایمنی مورد نیاز برای حفاظت می باشد [۶]. تحقیقی که در سال ۱۹۲۵ انجام شد نشان داد که، افزایش سطح آنتی توکسین کزاز و دیفتری توسط افزایش موادی همچون آگار، نمک های فلزی، لیسیتین یا ساپونین امکان پذیر است. ادجوانت های مختلف، به منظور افزایش واکنش ایمنی علیه آنتی ژن های خاص استفاده شده اند [۷]. از جمله شناخته شده ترین ادجوانت ها، فروند و آلوم می باشد. نمک های آلوم، بیشتر به شکل فسفات آلومینیوم یا هیدروکسید آلومینیوم به شکل گسترده ای به عنوان ادجوانت های انسانی استفاده شده اند. ادجوانت فروند یک امولسیون آب در روغن است که آنتی ژن را در فاز مایع به کمک یک ماده ی امولسیون ساز وارد روغن پارافین سبک وزن می کند. به هنگام تزریق، این ماده تولید مداوم آنتی بادی های قوی را تحریک می کند. این نوع ادجوانت، فروند ناقص نامیده می شود. اضافه کردن مایکوباکتریوم های مرده و خشک شده به فاز روغنی، ایمنی سلولی و همورال را بر می انگیزد. به طور کلی در این مقاله مروری سعی شده انواع ادجوانت های رایج، ساختار و مکانیسم عمل و کاربرد آنها در طراحی و تولید واکسن های دامی و انسانی معرفی شود تا به عنوان یک منبع مناسب جهت مطالعه در اختیار دانشجویان و محققین رشته های مرتبط قرار بگیرد [۸].

<sup>1</sup> Cell-Mediated Immunity

<sup>2</sup> Vehicle

<sup>3</sup> Carriers

<sup>4</sup> *Bordetella pertussis*

موثر باشند. در طول یک پاسخ ایمنی، آنتی ژن باید به بافت های لنفاوی ثانویه (معمولا گره های لنفاوی) برسند. اغلب این آنتی ژن ها توسط سلول های دندریتیک به گره های لنفاوی حمل می شوند. این سلول های عرضه کننده آنتی ژن<sup>۳</sup> (APC) همانند دندریتیک، ماکروفاژها، سلول های لنفوسیت B، آنتی ژن ها را پردازش کرده و اپی توپ ها را در مولکول های اصلی کمپلکس سازگاری نسجی (MHC)<sup>۴</sup> به سلول های T ارائه می دهند. سلول های دندریتیک، ماکروفاژها، سلول های B و سایر سیکنال های مورد نیاز برای آغاز پاسخ ایمنی، مانند تحریک کمکی توسط مولکول های خانواده B7 را فراهم می کنند. هر ادجوانتی که بتواند جذب آنتی ژن توسط این سلول ها را بهبود ببخشد، سبب افزایش بیان مولکول های محرک ایمنی یا مولکول های MHC شده و با افزایش مهاجرت سلولی به سوی گره های لنفاوی می تواند سبب بهبود پاسخ ایمنی گردد. برخی از ادجوانت ها، آنتی ژن ها را در محل تزریق به دام انداخته و ذخیره ی مداومی از آنتی ژن برای سلول های عرضه کننده آنتی ژن به صورت موضعی فراهم می کنند. این اثر دپو<sup>۵</sup> ممکن است حذف آنتی ژن را توسط کبد کاهش دهد. امولسیون های روغنی مانند ادجوانت های فروند می توانند دپو های کوتاه مدتی را (۱۰-۸ روز) که برای افزایش ایمنی مناسب هستند، شکل دهند. ادجوانت های میکروپارٹیکل جدید می توانند دپو های طولانی مدت (۶-۱ ماه) را شکل دهند و ممکن است مقدار مشخصی از آنتی ژن را به طور تدریجی رها کنند. سایر ادجوانت ها ممکن است با اشباع کردن سلول های کوپفر در کبد و با کاهش جذب کبدی آنتی ژن، موثر واقع شوند. این قبیل ادجوانت ها ممکن است مقدار آنتی ژن های در دسترس سلول های عرضه کننده آنتی ژن را افزایش

می کند)، سایتوکین ها و انواع بسیار دیگری اشاره کرد. حامل ها که بیشتر، به تحریک سلول T کمک می کنند شامل توکسین های باکتریایی، اسیدهای چرب و وکتورهای زنده می باشند. دسته ناقل ها شامل امولسیون های روغن معدنی (به عنوان مثال ادجوانت فروند ناقص)، امولسیون های روغنی زیست تجزیه پذیر (مانند امولسیون های محتوی روغن بادام زمینی)، سورفاکتانت های کوپلیمر توده های غیر یونی<sup>۱</sup>، لیپوزوم ها و پلیمر میکروسفرهای زیست تجزیه پذیر<sup>۲</sup> را در بر می گیرد [۸]. مکانیسم های کلی که ادجوانت ها به وسیله آنها عمل می کنند عبارتند از:

- ۱) تاثیر گذاری بر سیستم ایمنی از طریق نوع سایتوکین های ترشح شده.
- ۲) ارائه (حفظ شکل فضایی آنتی ژن)
- ۳) القاء لنفوسیت T سایتوتوکسیک
- ۴) تاثیر گذاری بر سلول های خاص
- ۵) تولید دپو (ناحیه ای از بدن که در آن یک ماده مثل یک دارو می تواند تجمع یابد و یا ذخیره گردد و سپس از آنجا در بدن منتشر می شود) [۵].

### مکانیسم عمل ادجوانت ها

علیرغم سال ها تحقیق، مکانیسم عمل ادجوانت ها تنها تا حدودی حدس زده می شود. به طور کلی به نظر می رسد که آنها سبب افزایش میزان عرضه آنتی ژن و پایداری آن شده و یا به عنوان یک تعدیل کننده سیستم ایمنی عمل کند. یک ادجوانت به تنهایی ممکن است بیش از یک مکانیسم عمل داشته باشد. برای مثال، ادجوانت هایی که به حفظ ساختار آنتی ژن کمک می کنند، می توانند علاوه بر بهبود کیفیت واکسن، سبب افزایش عمر مفید آن گردند. ادجوانت هایی که بر ارائه آنتی ژن تاثیر می گذارند، می توانند در نقاط بیشماری از این فرآیند پیچیده

<sup>3</sup> Antigen-Presenting Cells

<sup>4</sup> Major Histocompatibility Complex

<sup>5</sup> Depot Effect

<sup>1</sup> Non-Ionic Block Copolymer Surfactants

<sup>2</sup> Biodegradable Polymer Microspheres

به نظر می‌رسد تعدادی نیز همچون لیپوزوم‌ها، آنتی ژن‌ها را به مسیرهایی تحویل می‌دهند که منجر به نمایش در مولکول‌های MHC I و تولید پاسخ CTL می‌شوند. در برخی موارد ممکن است ارائه متقاطع آنتی ژن<sup>۵</sup> ارائه آنتی ژن از دو مسیر مختلف در تولید CTL‌ها مهم باشد. تاثیرگذاری بر سیستم ایمنی مکانیسم دیگری از فعالیت ادجوانت‌ها است. مکانیسم تعدیل‌کننده سیستم ایمنی، سیستم ایمنی را توسط تغییر شبکه سایتوکاین تحریک می‌کند. اغلب ادجوانت‌ها توسط افزایش برخی سایتوکاین‌ها و کاهش غلظت انواع دیگر، بر نوع پاسخ ایمنی تاثیر می‌گذارند. سایتوکاین‌ها مانند اینترفرون گاما (-IFN $\gamma$ )، اینترلوکین-۲ (IL-2) و اینترلوکین-۱۲ (IL-12) با پاسخ‌های نوع ۱ سلول T کمکی (TH1) و ایمنی سلولی مرتبط هستند. IL-4، IL-5، IL-6، IL-13 و احتمالاً IL-10 با پاسخ‌های نوع دوم سلول T کمکی (TH 2) و ایمنی هومورال مرتبط هستند. ادجوانت‌هایی همچون ساپونین‌ها از طریق تغییر در میزان این دو دسته از سایتوکاین‌ها، ممکن است ایمنی سلولی را نسبت به آنتی ژنی تحریک کنند که به صورت طبیعی فقط تولید آنتی بادی را تحریک می‌کند. تعدادی از ادجوانت‌های محرک سیستم ایمنی، بیان مولکول‌های محرک کمکی یا مولکول‌های MHC را روی سلول‌های عرضه‌کننده آنتی ژن به صورت مستقیم و یا توسط تولید سایتوکاین‌ها افزایش می‌دهند. براساس برخی از فرضیه‌های رایج، APC ابتدا باید فعال شود و سپس پاسخ ایمنی را آغاز کند. از نتایج یک مدل مطالعه شده چنین نتیجه‌گیری شد که این فعال‌سازی وقتی رخ می‌دهد که گیرنده‌های شناسایی الگو<sup>۶</sup> در سطح سلول‌های عرضه‌کننده آنتی ژن به نواحی محافظت شده در لیپوپلی ساکاریدهای باکتریایی، قندها، یا بخش‌های دیگر بچسبند. اگر این فرضیه درست باشد، امکان دارد ادجوانت‌ها با تقلید

این مکانیسم برای ادجوانت‌های مشتق پلی ساکاریدی، از جمله دکستران‌های سولفاته با وزن مولکولی بالا و دی‌اتیل آمینو اتیل<sup>۱</sup> (DEAE) پیشنهاد شده است. برخی از ادجوانت‌ها هدف‌گیری آنتی ژن در سلول‌های عرضه‌کننده آنتی ژن را بهبود می‌بخشند. ادجوانت‌های ذره‌ای مانند نمک‌های آلومینیوم (آلوم) تشکیل‌توده‌ها را افزایش می‌دهند و این توده‌ها آسانتر فاگوسیتوز می‌شوند. پلیمرهای کربوهیدرات همچون مانان یا آسمانان<sup>۲</sup> ممکن است از طریق اتصال به گیرنده‌های کربوهیدرات، آنتی ژن‌ها را به سمت سلول‌های عرضه‌کننده آنتی ژن راهنمایی کنند. پروتئین‌های حامل مانند سرم آلبومین گاوی<sup>۳</sup> (BSA)، (KLH)<sup>۴</sup> و توکسوئید دیفتری یا کزاز می‌توانند از طریق جذب سلول T کمکی، به ارائه‌ی هاپتن‌ها یا آنتی ژن‌های کربوهیدراتی کمک کنند. علاوه بر این به نظر می‌رسد تعدادی از ادجوانت‌ها، آنتی ژن را در بخش‌های خاصی از سلول‌های عرضه‌کننده آنتی ژن قرار می‌دهند و بر تحریک واکنش لنفوسیت T سایتوتوکسیک (CTL) اثر می‌گذارند. وقتی که سلول‌های T کمکی و CTL با آنتی ژن‌های موجود در مولکول‌های MHC I یا MHC II برهم‌کنش می‌دهند، واکنش‌های آن‌ها به ترتیب فعال می‌شوند. اگرچه گاهی ارائه‌ی آنتی ژن‌ها از مسیرهای مختلف رخ می‌دهد ولی عموماً آنتی ژن‌های موجود بر روی مولکول‌های MHC II، خارج سلول از APC منشأ گرفته‌اند و توسط فاگوسیتوز جذب شده‌اند، اما آنتی ژن‌های موجود در مولکول‌های MHC I از سیتوپلاسم همه سلول‌های عرضه‌کننده مولکول‌های MHC I منشأ گرفته‌اند. اغلب ادجوانت‌ها می‌توانند به شکل موثری سلول‌های T کمکی و ایمنی هومورال را تحریک کنند.

<sup>1</sup> Diethylaminoethyl

<sup>2</sup> Acemannan

<sup>3</sup> Bovine Serum Albumin

<sup>4</sup> Keyhole Limpet Hemocyanin

<sup>5</sup> Cross-Priming

<sup>6</sup> Pattern Recognition Receptors

است [۱۴-۱۳]. به طور طبیعی دوزهای کم آلومینیوم توسط کلیه ها دفع می‌شود، اما تحت شرایط خاصی به عنوان مثال زمانی که عملکرد کلیه ها کاهش می‌یابد، آلومینیوم در بدن انباشته شده و می‌تواند به سم تبدیل شود. سطوح بالای آلومینیوم در بدن به شکل قابل ملاحظه ای بر مغز و بافت استخوانی اثر می‌کند و باعث سندرم مهلک نورولوژیک<sup>۱</sup> و دمانس دیالیزی<sup>۲</sup> می‌شوند [۱۵]. همچنین مسمومیت آلومینیوم به صورت بالقوه به بیماری اسکروز جانبی آمیوتروفیک<sup>۳</sup> و بیماری آلزایمر مرتبط می‌شود [۴].

#### سایر ادجوانت های نمک معدنی

نمک های کلسیم، آهن و زیرکونیوم نیز برای جذب آنتی‌ژن‌ها استفاده شده‌اند، البته نه به اندازه نمک‌های آلوم. به خصوص فسفات کلسیم برای واکسن های سه گانه (دیفتری-کزاز-سیاه سرفه) استفاده شده است [۱۵-۱۶-۱۷]. فسفات کلسیم دارای ویژگی های مشابه نمک های آلوم است، اما مزیتش این است که برای بدن انسان یک ترکیب طبیعی محسوب شده و بسیار خوب تحمل می‌شود. فسفات کلسیم ظرفیت قابل قبولی برای جذب آنتی ژن ها دارد و سطح بالایی از آنتی بادی های IgG را القا می‌کند ولی تولید IgG را افزایش نمی‌دهد. ضمناً احتمال وقوع واکنش‌های نورولوژیک با استفاده از واکسن های سیاه سرفه به همراه ادجوانت فسفات کلسیم، نادر است [۱۷].

#### ادجوانت های امولسیون روغنی

ادجوانت های امولسیون روغنی شامل مخلوط روغن در فاز آبی است که توسط سورفکتانت تثبیت شده اند. سه نوع ادجوانت روغنی شامل امولسیون های آب در روغن، مانند ادجوانت فروند ناقص<sup>۴</sup> (IFA)

از این سیگنال های اصلی، عمل کنند. در حقیقت بسیاری از ادجوانت‌ها، مشتقات باکتریایی یا ترکیباتی مشابه، از پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها یا DNA باکتری‌ها هستند. به هر حال این مدل نمی‌تواند در مورد ادجوانت‌هایی همچون امولسیون های روغنی، ساپونین‌ها یا آلوم صدق کند. مطابق مدل دوم، APC سیگنال های درونی آزاد شده توسط سلول‌های آسیب دیده، سلول‌هایی که دچار استرس شده اند و یا سلول های در حال مرگ را شناسایی می‌کند. تحقیقات نشان داده است که فیبروبلاست‌های نکروتیک یا رگ‌های خونی می‌توانند مانند ادجوانت‌های بسیار موثر عمل کنند. علاوه بر این می‌توان تاثیر بر عملکرد نوتروفیل ها را بعد از واکسیناسیون با برخی از ادجوانت ها، مشاهده کرد [۱۰].

#### انواع عمده ی ادجوانت ها

##### ادجوانت های نمک آلوم (نمک معدنی)

متاسفانه نمک های آلومی، ادجوانت های نسبتاً ضعیفی هستند و به ندرت پاسخ های ایمنی سلولی را تحریک می‌کنند [۱۱-۱۲]. مکانیسمی که نمک های آلوم توسط آن کار می‌کنند ناشناخته باقی مانده است، اگرچه به نظر می‌رسد که آنها با دپوی یک آنتی ژن در محل تلقیح عمل می‌کنند. سایر مکانیسم‌های احتمالی عمل نمک های آلوم شامل فعال سازی کمپلمان، اتوزینوفیل، یا ماکروفاژ است [۴] و میزان جذب آنتی ژن را توسط سلول های ارائه دهنده ی آنتی ژن افزایش می‌دهند. همچنین به دام انداختن آنتی ژن های قابل انحلال در ژل آلوم ممکن است زمان بر هم کنش آنتی ژن با سیستم ایمنی را افزایش دهد [۳]. اثرات مضر آلوم کم است اما افزایش تولید IGE، گرانولوم، واکنش های آلرژیک و نوروتوکسیک مشاهده شده است [۴-۱۰]. وقتی آلوم به جای تزریق داخل عضلانی به روش زیرجلدی یا داخل جلدی تزریق شود، ایجاد گرانولوم متداول

<sup>1</sup> Fatal Neurological Syndrome

<sup>2</sup> Dialysis-Associated Dementia

<sup>3</sup> Amyotrophic Lateral Sclerosis

<sup>4</sup> Incomplete Freund's Adjuvant

که محتوی ریز قطره های فاز آبی در روغن است و توسط سورفکتانت تثبیت شده است، امولسیون های روغن در آب و امولسیون های آب در روغن در آب می باشد [۳-۴-۱۰]. برخی از واکسن های دامی که در آنها IFA استفاده شده است شامل واکسن بیماری پا و دهان<sup>۱</sup>، آنفلونزای اسبی، وبای خوکی، هاری، پارا آنفلونزا، بیماری نیوکاسل و هپاتیت سگی و اگیردار می باشد [۱]. ادجوانت های روغنی به تنهایی اکثرا واکنش های آنتی بادی را تحریک میکنند اما تحت شرایط خاصی امولسیون های آب در روغن ممکن است بتوانند CTLs را فعال نمایند. در بسیاری از مطالعات، امولسیون ها همچنین به عنوان سیستم هایی جهت به مقصد رساندن ادجوانت های محرک سیستم ایمنی از جمله منوفسفریل لیپید A و QS21 استفاده شده اند. این شیوه سبب استفاده از ادجوانت های محرک سیستم ایمنی برای افزایش میزان جذب توسط APC می شود. در یک مطالعه ایمنی که امولسیون روغن در آب ( $O/W^2$ ) محتوی منو فسفریل لیپید A و QS21 در مدل موش، بر علیه مالاریا ایجاد نمود قابل مقایسه و یا بهتر از سطح ایمنی بود که توسط واکسن محتوی ادجوانت فروند کامل ایجاد شد [۱۸]. به طور کلی امولسیون های روغنی ادجوانت های قوی تری نسبت به آلوم هستند اما منجر به افزایش واکنش های التهابی در محل تزریق و گرانولوم می شوند. به طور سنتی این ادجوانت ها محتوی روغن معدنی هستند [۱۰]. واکسن هایی که براساس روغن های معدنی همچون دراکتول و مارکول امولسیفیه شده انده سطح ایمنی بالایی در گاو و خوک ایجاد می کنند [۱] ولی احتمال آلودگی این روغن توسط هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای کارسینوژن وجود دارد. در نتیجه اکنون بسیاری از امولسیون ها محتوی روغن های گیاهی یا حیوانی مانند روغن جگر کوسه می باشند.

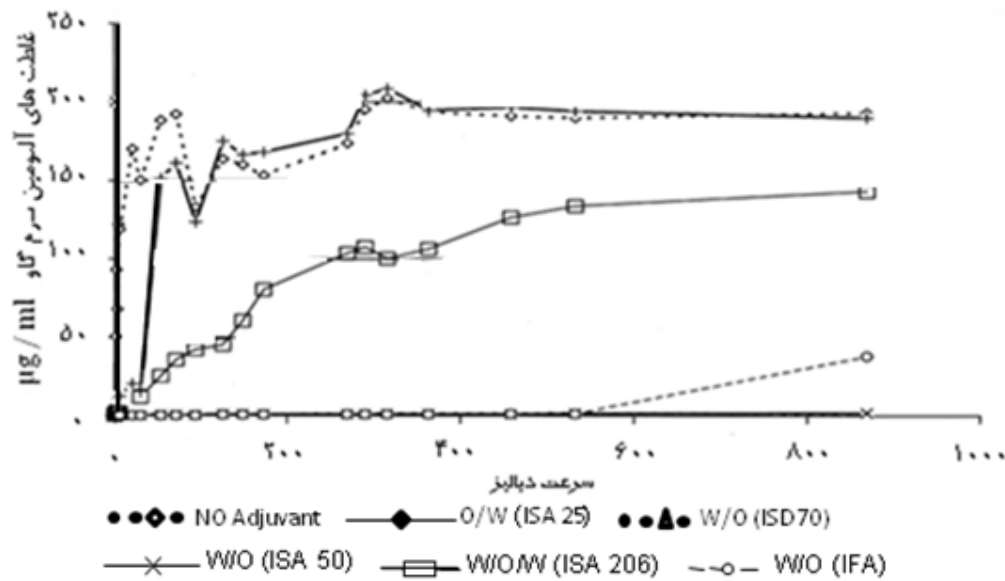
ادجوانت های محتوی روغن های قابل متابولیسم نسبت به ادجوانت هایی که بر پایه روغن های معدنی هستند، ایمنی بهتری نشان می دهند و صرفا التهاب خفیفی ایجاد می کند. این ادجوانت ها به مرور زمان آنتی ژن های واکسن را آزاد کرده و می توانند ایمنی بلند مدت ایجاد کنند. التهاب های محل تزریق در استفاده از ادجوانت های آب در روغن نسبتا رایج هستند. همچنین این امولسیون ها ویسکوزیته بالایی دارند، به همین دلیل به سختی تزریق می شوند. به دلیل این اشکالات، امولسیون های آب در روغن در واکسن های انسانی و حیوانات خانگی استفاده نمی شود ولی امکان دارد آنها را جهت استفاده در برخی واکسن های حیوانات نشخوار کننده، ماکیان و آبیان استفاده شوند و گاهی اوقات در حیوانات تحقیقاتی استفاده می شود. امولسیون های روغن در آب مانند MF59، محتوی ریز قطره های روغن در آب است که توسط سورفکتانت تثبیت شده اند. امولسیون های روغن در آب، آنتی ژن را به سرعت آزاد کرده و ایمنی کوتاه مدت ایجاد می کنند. امکان دارد ریز قطره های روغنی بتوانند آنتی ژن ها را در رگ های لنفاوی به سمت گره های لنفاوی حمل کنند و باعث تجمع شدن آنتی ژن بر سلول های عرضه کننده آنتی ژن در گره های لنفاوی به جای محل تزریق شکل بگیرند. امولسیون های روغن در آب ویسکوزیته ی کمتری دارند و احتمالا التهاب کمتری نسبت به فرمولاسیون آب در روغن ایجاد می کنند. امولسیون های ( $WOW^3$ ) محتوی ریز قطره های آب در روغن است که در میان فاز آبی پخش شده اند. این ادجوانت ها آنتی ژن ها را سریع تر از امولسیون های آب در روغن اما کندتر از امولسیون های روغن در آب آزاد می کنند. امولسیون های ( $WOW$ )، می توانند هم ایمنی کوتاه مدت و هم بلند مدت را افزایش دهند و نسبت به امولسیون های آب در روغن ویسکوزیته ی کمتری دارند [۱۰]. تاثیرات

<sup>1</sup> Foot-and-Mouth Disease

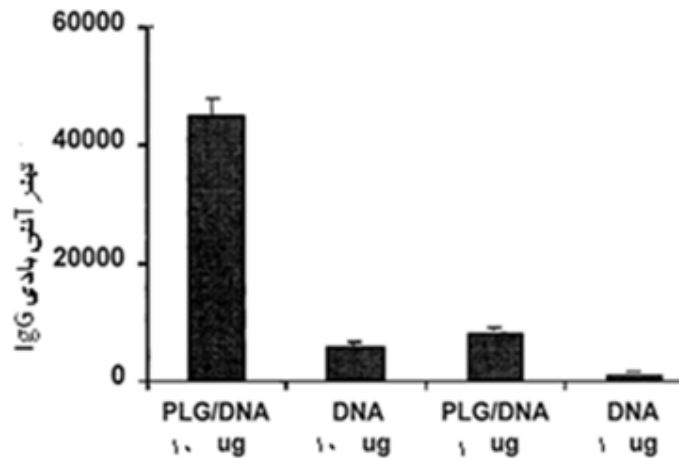
<sup>2</sup> Oil in Water

<sup>3</sup> Water-in-Oil-in-Water

جانبی متداول امولسیون ها شامل واکنش های التهابی،  
گرانولوم و زخم در محل تزریق می شود [۴].



شکل ۱. سرعت آزادسازی سرم آلبومین گاوی فرموله در امولسیون های مختلف در آزمایشگاه [۷].



شکل ۲. تیترا آنتی بادی IgG در گروهی از موش ها (n=10) که به صورت داخل عضلانی با 1 تا 10µg از DNA کد کننده ی ژن pSS gag ویروس HIV که به صورت DNA برهنه، یا پوشیده شده با میکروپارتیکل کاتیونی بوده است، ایمن شدند [۲].

شد که سرعت آزادسازی یک پروتئین از یک  
امولسیون به طور مشخصی با نوع امولسیون در  
ارتباط است (شکل ۱).

پروتئین بدون ادجوانت بلافاصله آزاد می شود، در  
حالی که امولسیون های روغن در آب با کمی تاخیر این  
کار را انجام می دهند. امولسیون های آب در روغن  
(W/O) یا باعث آزاد شدن بسیار کم آنتی ژن شده و

عملکرد امولسیون ها هنوز مشخص نیست و بر  
مکانیسم های مختلفی استوار هستند. اولین مورد،  
تجمع شدن و آزادسازی تدریجی آنتی ژن در مکان  
تزریق است که میزان و سرعت این آزادسازی  
مطابق نوع امولسیون، متغیر است. در مطالعات  
تجربی به روش لوله ی دیالیز معکوس<sup>۱</sup> نشان داده

<sup>۱</sup> Inverted Dialysis Tube Method

نظر گرفته می‌شوند [۱۰، ۱۹، ۲۰]. لیپوزوم‌ها به شکل گسترده‌ای در واکسن‌های آزمایشگاهی استفاده شده‌اند. توان لیپوزوم‌ها به تعداد لایه‌های لیپیدی، بار الکتریکی، ترکیب و روش تهیه بستگی دارد [۲۳-۲۱، ۱۱].

آنها ایمنی هومورال را تحریک می‌کنند و در برخی موارد CTLs را فعال می‌کنند [۱۰]. لیپوزوم‌ها در ترکیب ادجوانت‌های کمپلکس که اغلب شامل مونوفسفریل لیپید A<sup>۲</sup> هستند، استفاده شده‌اند و این مسئله باعث شده که تعیین نقش لیپوزوم در این مجموعه‌ی ادجوانتی مشکل شود [۲]. این ادجوانت‌ها می‌توانند آنتی ژن‌ها را وارد حفره‌ی سلولی و یا داخل غشا کنند [۱۰]. به عنوان مثال ویروزم‌های ویروس آنفلونزا در لیپوزوم‌های تک لایه‌ای بیشتر شامل فسفاتیدیل کولین است و گلیکوپروتئین هم‌گلویتین آنفلونزا در این غشا قرار داده می‌شود. یک شیوه دیگر برای تحویل واکسن که ممکن است مزایایی نسبت به لیپوزوم‌ها داشته باشد، استفاده از آرکتوزوم‌ها است. آرکتوزوم‌ها وزیکول‌هایی هستند که از لیپیدهای قطبی آرکی (آرکی باکتری)‌ها تهیه شده‌اند. در برخی مطالعات، آرکتوزوم‌ها قدرت بیشتری نسبت به لیپوزوم‌ها نشان داده‌اند [۱]. لیپیدهای گونه‌های مختلف آرکی‌ها از نظر میزان تاثیر متفاوتند، برخی می‌توانند ایمنی بسیار زیادی نسبت به آلوم ایجاد کنند. همچنین برخی لیپیدها تعدیل‌کننده‌ی سیستم ایمنی هستند. آرکتوزوم‌ها می‌توانند هم سایتوکین‌های نوع ۱ (IFN- $\gamma$ ) و سایتوکین‌های نوع ۲ (IL-4) و هم پاسخ‌های وابسته به سلول را نسبت به آنتی ژن‌های مختلف تحریک کنند. اگرچه ایمنی آرکتوزوم‌ها هنوز در حال بررسی است، اما تا به امروز اثرات رضایت بخشی در مورد کاربرد آنها به اثبات رسیده است [۱۰].

یا اینکه اصلاً سبب آزادسازی آن نمی‌شوند این موضوع با پایداری امولسیون مرتبط می‌باشد و به محض فروپاشی امولسیون، مقدار زیادی آنتی ژن آزاد می‌شود اما روند این آزادسازی کندتر از امولسیون‌های روغن در آب است. امولسیون‌های W/O/W (پراکنندگی آب در قطرات روغن) رفتار بینابینی دارند. تجمع تنها مکانیسم عمل ادجوانت‌ها نیست به طوری که در مورد ادجوانت فرزند هم نشان داده شد که عدم تجمع مواد در محل تزریق، مانع عمل ادجوانت نمی‌شود. انتشار جزئی ریز قطره‌های روغن به گره‌های لنفاوی بیان‌کننده‌ی این موضوع است. همچنین امولسیون‌ها در مقابل تخریب سریع توسط آنزیم‌ها، از آنتی ژن حفاظت می‌کنند و می‌توانند بار الکتریکی آنتی ژن را به شکل مناسبی تغییر دهند بطوریکه قابلیت ایمنی‌زایی بیشتری پیدا کنند. همچنین التهاب ایجاد می‌کنند که سبب فراخوانی سلول‌های ارائه‌کننده‌ی آنتی ژن مانند ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها به محل حضور آنتی ژن می‌شود. علاوه بر این می‌توانند به جذب آنتی ژن توسط سلول‌های عرضه‌کننده آنتی ژن کمک کنند و این را می‌توان از طریق برهم کنش بین سورفکتانت و غشای سلول مشخص نمود. گیر انداختن لنفوسیت، مکانیسم دیگری از فعالیت ادجوانت‌های روغنی است. آنها جمع‌آوری لنفوسیت را در گره‌های لنفاوی تحریک می‌کنند و مانع گردش مجدد آن‌ها شده و در نتیجه تجمع سلول‌ها را تسهیل می‌کنند. در نهایت بسته به نوع امولسیون، تولید سایتوکین‌های خاصی القاء می‌گردد [۷].

### لیپوزوم‌ها و آرکتوزوم‌ها

لیپوزوم‌ها وزیکول‌هایی از کلسترول و فسفولیپید هستند که هم به عنوان ادجوانت و هم به عنوان سیستم‌های تحویلی<sup>۱</sup> آنتی ژن‌ها و ادجوانت‌ها در

<sup>۲</sup> Monophosphoryl Lipid A

<sup>۱</sup> Delivery Systems



### میکروپارتیکل ها و نانوپارتیکل ها

نانوپارتیکل ها و میکروپارتیکل ها، پارتیکل های جامد و بسیار کوچکی هستند که تنها از نظر اندازه با هم متفاوت هستند. اندازه ی نانوپارتیکل ها ۱-۱۰۰۰nm و میکروپارتیکل ها ۱-۱۰۰ μm می باشد [۱۰]. با اتصال آنتی ژن به میکروپارتیکل های پلیمری، یا با استفاده از پلیمرها یا پروتئین هایی که به صورت خود به خودی درون پارتیکل ها گرد هم می آیند، میزان جذب آنتی ژن توسط APC افزایش می یابد. پلی استر های زیست تجزیه پذیر<sup>۱</sup> و زیست سازگار<sup>۲</sup> پلی لاکتید-کو-گلیکولیدها<sup>۳</sup> (PLG)، انتخاب های اول برای ساخت میکروپارتیکل ها به عنوان ادجوانت هستند زیرا این پلیمرها سالهاست در انسان و حیوان به عنوان یکی از مواد تشکیل دهنده بخیه و حامل های دارو استفاده می شوند و گمان بر این است که سمی نیستند [۱۰، ۲۴، ۲۵]. اثر ادجوانتی میکروپارتیکل های پلی لاکتید-کو-گلیکولید برای القاء پاسخ های CTL در موش نسبت به آلوم موثرتر نشان داده اند [۲۸-۲۶].

معمولا میکروپارتیکل ها تعدیل کننده ی سیستم ایمنی نیستند اما می توان به جای دادن تعدیل کننده های سیستم ایمنی در آنها، اثرشان را تقویت کرد. ادجوانت های میکروپارتیکلی می توانند از آنتی ژن هایی که داخل آنها جای گرفته اند، در مقابل شرایط سخت، مانند pH پایین، نمک های صغراوی و فعالیت آنزیم ها محافظت کنند. به همین دلیل خصوصا در واکسن های خوراکی و داخل بینی می توانند مفید باشند [۱۰]. ظاهرا اثر ادجوانتی میکروپارتیکل ها تا حد زیادی در نتیجه جذب آن ها توسط APC است [۱۰]. همچنین به نظر می رسد میکروپارتیکل ها پتانسیل قابل توجهی برای استفاده به عنوان ادجوانت در DNA واکسن ها دارند [۲۹، ۳۰].

اخیرا در یک روش جدید، از میکروپارتیکل های کاتیونی حامل پلاسمید استفاده شدند و به طور چشمگیری مطابق شکل [۲] کارآیی DNA واکسن ها را در موش ها و پریمات ها افزایش دادند [۲۹]. علاوه بر این میکروپارتیکل های کاتیونی می توانند به عنوان سیستم های تحویلی<sup>۴</sup> مولکول های فعال ادجوانت از جمله CpG DNA استفاده شوند [۱]. میکروپارتیکل های آنیونی مشابه نیز می توانند برای تحویل پروتئین های جذب شده استفاده شوند و همچنین برای القای CTL در موش ها موثرند [۳۱]. ادجوانت نانوپارتیکل در مقایسه با آلوم، پاسخ های ایمنی سلولی را تحریک و پاسخ های هومورال را تعدیل می کند [۴]. نانوپارتیکل ها و میکروپارتیکل ها در حیوانات خانگی، شامل اسب، گاو، خوک و ماهی تست شده اند [۱۰].

### ساپونین ها

گروهی از ادجوانت ها که هم محرک سیستم ایمنی و هم تعدیل کننده آن هستند، تری پتید گلیکوزیدها یا ساپونین ها می باشند که از گیاهان و اغلب از پوست درخت گوالایا ساپوناریا<sup>۵</sup> استخراج می شوند. به نظر می آید ساپونین ها بیشتر از طریق القاء سایتوکاین ها عمل می کنند. سالهاست ساپونین ها به شکل گسترده ای به عنوان ادجوانت استفاده شده اند و در چندین واکسن دامی از جمله واکسن های ویروس آنفلوانزای اسبی، پاروویروس سگ و لوسمی گربه (FeLV)<sup>۶</sup> به کار رفته اند. یکی از ساپونین ها Quil A است که از عصاره ی آبی پوست این درخت گرفته می شود. ترکیباتی همچون QS-21 که توسط کروماتوگرافی فاز معکوس از این عصاره جدا می شوند، قابلیت تحریک پاسخ های سلولی قوی علیه آنتی ژن ها دارند [۱۰، ۱۱، ۳۲، ۳۳]. مشخص شده که

<sup>4</sup> Delivery Systems

<sup>5</sup> Quillaia Saponaria

<sup>6</sup> Feline Leukemia

<sup>1</sup> Biodegradable Polyesters

<sup>2</sup> Biocompatible

<sup>3</sup> Polylactide-Co-Glycolides

با بیش از ۲۰ پاتوژن ویروسی، باکتریایی و انگلی استفاده شده اند و در واکسن های اسهال ویروسی گاوی، هرپس ویروس نوع ۱ گاوی، طاعون گاوی، Pseudorabis، FeLV و هاری یافت می‌شوند. گاهی اوقات ISCOMs اثرات سمی در موش ها و موش های صحرایی دارند اما اثرات مضر کمی در گونه های مهم دامی مشاهده شده است [۱۰].

### پروتئین های ناقل

ناقل های پروتئینی می‌توانند به آنتی ژن ها متصل شوند تا ایمنی زایی آنها را تقویت کنند. چنین ناقل‌هایی خصوصا بر هاپتن ها و آنتی ژن های کربوهیدراتی موثرند که به ویژه در خردسالان، ایمنوژن ضعیفی هستند. ناقل های استفاده شده، اغلب شامل توکسوئید دیفتری و کزاز، KLH و سرم آلبومین گاوی می باشد. توکسوئیدها عموما برای واکسن های کربوهیدراتی در انسان ها استفاده می‌شوند. همچنین پپتیدهایی که با موفقیت با KLH مخلوط شده اند تا پاسخ ایمنی را تحریک کنند شامل قطعاتی از پاپیلوما ویروس- $\epsilon$ ، ویروس انسفالیت و پاروویروس خوکی می‌باشند [۱۰].

### مشتقات کمپلمان

به نظر می رسد اجزاء سیستم کمپلمان پستانداران نیز ادجوانت های موثری برای تحریک پاسخ های آنتی بادی باشند. قطعات این پروتئین به آنتی ژن‌های بیگانه متصل می‌شود و آن ها را برای گیرنده های آنتی بادی ها و سلول های ایمنی علامت دار می‌کند. جزء  $C_{3d}$  می‌تواند یک ادجوانت مفید و ویژه باشد. در یک بررسی، اتصال ۳ مولکول  $C_{3d}$  به یک آنتی ژن، ایمنی زایی آن را تا ۱۰۰۰ برابر افزایش داده است. آنتی ژن هایی که توسط  $C_{3d}$  با موفقیت دچار تغییر شدند، شامل هماگلوئینین ویروس آنفلوانزا، آنتی بادی های ضد ایدیوتایپ و پلی

QS21 یک ادجوانت قوی برای القای CTL است و همچنین تولید سایتوکین های نوع ۱ (اینترلوکین-۲ و اینترفرون  $\gamma$ ) و آنتی بادی های ایزوتیپ IgG2a را تحریک می‌کند [۳۲]. ترکیبات محرک سیستم ایمنی که از کوئل A<sup>۱</sup> گرفته می‌شوند، درون پارتیکل های لیپیدی محتوی کلسترول، فسفولیپید و آنتی ژن های غشای سلولی جای می‌گیرند که به آنها ISCOMs گفته می‌شود [۳۴]. مزیت عمده ی ایجاد ISCOMs این است که می‌تواند مقدار اثر همولیتیک ادجوانت Quil A را کاهش دهد. علاوه بر این داخل ساختار ISCOM، Quil A به کلسترول متصل می‌شود و آزاد نیست که با غشاهای سلولی بر هم کنش داشته باشد. بنابراین فعالیت همولیتیک ساپونین‌ها به صورت چشم گیری کاهش می‌یابد [۳۵-۳۴].

### کمپلکس های محرک ایمنی (ISCOMs)

کمپلکس های محرک ایمنی ذراتی به بزرگی ۴۰ nm هستند که محتوی ساپونین ها، لیپیدها، کلسترول و آنتی ژن هستند و توسط برهم کنش آبگریز بین سه ترکیب اول، کنار هم نگه داشته می‌شوند [۴، ۱۰]. در واکسن های دامی گاهی اوقات ساپونین، Quil A است [۱۰]. کلسترول، لیگاندی است که به حلقه های ۱۲ نانومتری ساپونین متصل می‌شود. این حلقه ها توسط لیپیدها، کنار هم محکم می‌شوند تا نانوپارتیکل کروی تشکیل دهند. آنتی ژن های هیدروفوب یا آمفی پاتیک می‌توانند داخل این کمپلکس جای بگیرند [۴]. ISCOMs تعدیل کننده های سیستم ایمنی هستند. آن ها می‌توانند در مواردی واکنش‌های تیپ ۱، CTL ها و پاسخ های تیپ ۲ را همزمان تحریک کنند [۱۰].

ISCOMs سیستم های تحویلی چند کاره و انعطاف پذیری هستند که قابلیت ارائه ی آنتی ژن به سلول‌های B را دارد و میزان جذب آنتی ژن توسط APC را افزایش می‌دهد [۴]. این کمپلکس ها همراه

<sup>۱</sup> Quil A

ساکارید های کپسولی هستند. همچنین جزء C<sub>3</sub>b نیز فعالیت ادجوانتی نشان داده است. احتمال اینکه ادجوانت های کمپلمان، سلول های B را به صورت غیر اختصاصی فعال کرده و باعث ایجاد خود ایمنی شوند، وجود دارد و این یکی از نگرانی های بالقوه ای است که در مورد این ادجوانت ها وجود دارد، البته تا به امروز این مسئله رخ نداده است و به نظر می رسد پاسخ آنتی بادی نسبت به آنتی ژن اختصاصی باشد [۱۰].

### ادجوانت های گرفته شده از باکتری ها

پپتیدوگلیکان دیواره ی سلولی یا لپو پلی ساکارید باکتری های گرم منفی با وجود اینکه خودشان خیلی ایمنوژن نیستند، پاسخ ایمنی را علیه آنتی ژن هایی که همراه با آنها توزیع می شوند، افزایش می دهد. فعالیت این ادجوانت از فعال سازی گیرنده های شبه (TLRs)<sup>۱</sup> از طریق شروع سیگنال های خطر<sup>۲</sup> سیستم دفاعی میزبان، تاثیر می پذیرد [۳۶]. در تحقیقات انجام شده فرآورده های پروپیونی باکتریوم آویدوم KP-40<sup>۳</sup> لیوفیلیزه و کشته شده توسط حرارت، می توانند پاسخ آنتی بادی را نسبت به آنتی ژنی که همراه با آنها توزیع می شود، افزایش دهند. چنین فرآورده های باکتریایی برای استفاده در واکسن های جدید، باید بیشتر تخلیص شده و اغلب سم زدایی شوند. در پپتیدوگلیکان مایکوباکتری ها که نقش تعدیل کنندگی سیستم ایمنی دارند مورامیل دی پپتید (MDP) یک ترکیب فعال است. MDP اثرات جانبی مهمی دارد از جمله تب، ورم مفاصل و التهاب عنبیه اما مشتقات سمی کمتری تولید می کنند. مشتقات آبدوست (مانند ترئونیل-MDP، مورامیتید<sup>۴</sup>، مورابیوتید<sup>۵</sup>، نور-MDP، N-استیل

کلوکز آمینیل-MDP) بیشتر پاسخ های تیپ ۲ را تحریک می کنند. ترئونیل-MDP به صورت آزمایشی در واکسن های FeLV استفاده شده است [۱۰]. مشتقات آبگریز، مانند مورامیل تری پپتید فسفاتیدیل اتانول آمین (MTP-PE)<sup>۶</sup> اغلب داخل لیپوزوم ها یا امولسیون های آب در روغن و روغن در آب، جای می گیرند و واکنش های تیپ ۱ ایمنی سلولی قوی را تحریک می کنند [۳۷،۱۰]. MDP انواع سلول های متفاوتی را فعال می کند از جمله ماکروفاژها، لکوسیت ها، ماستوسیت ها، سلول های اندوتلیال و فیبروبلاست ها که محرک ترشح سایتوکاین هایی مانند IL-1، فاکتور رشد B-Cell و فاکتور فعال کننده فیبروبلاست هستند [۳]. توکسین های باکتریایی نیز می توانند به عنوان ادجوانت عمل کنند. برخی از توکسین هایی که به واسطه ADP-ribosylation عمل می کنند برای استفاده ی مخاطی یا پوستی در حال بررسی هستند. دو مورد از این توکسین ها که به صورت گسترده ای بررسی شده اند، سم وبا و اگزوتوکسین حساس به حرارت (LT) اشرشیا کولی هستند. این دو علاوه بر پاسخ های هومورال قوی، CTLs را نیز تحریک می کند. برای استفاده ی مخاطی، هم LT و هم سم وبا باید به فرم هایی با سمیت کمتر جهش پیدا کنند اما گلین و همکارانش کشف کرده اند که توکسین های با حدت طبیعی، ادجوانت های موثرتری برای ایمن سازی از طریق پوست هستند. وقتی سم وبا به صورت دست نخورده از طریق پوست به موش تزریق شد، پاسخ های ایمنی را نسبت به آنتی ژن هایی که همراه با آن توزیع شده بود، بدون هیچ اثرات مضرى تحریک کرد. ثانیاً پاسخ های ایمنی هومورال نیز در این آزمایشات دیده شده است و در موش ها حفاظت ایجاد شد [۱۰]. دیگر گروه مهم ترکیبات مشتق شده از دیواره ی سلولی باکتری های گرم منفی، لیپوپلی ساکاریدها هستند. ترکیب اصلی در

<sup>1</sup> Toll-Like Receptors

<sup>2</sup> Danger Signals

<sup>3</sup> *Propionibacterium Avidum* KP-40

<sup>4</sup> Murametide

<sup>5</sup> Murabutide

<sup>6</sup> Muramyl Ttripeptide Phosphatidyl Ethanolamin

اگرچه در برخی مطالعات دوزهای پایین، ایمن نشان داده است اما در دوزهای بالا الیگونوکلوئوتیدهای CpG ممکن است در موش ها اسپلینومگالی ایجاد کند و DNA باکتریایی می‌تواند سبب آزادسازی سایتوکاین ها و شوک کشنده شود. احتمال دارد این اثرات مضر، با اتصال توالی های CpG به توالی DNA در DNA واکسن ها یا الیگونوکلوئوتیدها به آنتی ژن، کاهش یابد [۱۰].

### سایتوکاین ها

پروتئین های سایتوکاین و ژن های آن ها به عنوان ادجوانت واکسن ها در نظر گرفته می‌شود. از جمله این سایتوکاین ها،  $IL-1$ ،  $IL-2$ ، فاکتور تحریک کننده کلنی گرانولوسیت-ماکروفاژ (GM-CSF) و  $IL-12$  است [۱۰].  $INF-\gamma$  یک سایتوکاین پلئوتروپیک است که می‌تواند پاسخ های ایمنی سلولی را از طریق مکانیسم های مختلفی افزایش دهد [۳]. فاکتور محرک کلنی گرانولوسیت-ماکروفاژ، پاسخ ایمنی اولیه را توسط فعال سازی و گرفتن سلول های عرضه کننده ی آنتی ژن افزایش می‌دهد [۳۹]. در تعداد محدودی از آزمایشات وقتی  $IL-1$  و  $IL-2$  نوترکیب با سایر ادجوانت ها ترکیب شدند، برای استفاده به عنوان ادجوانت در گاو و گوسفند امید بخش بودند. در حال حاضر گرایش ویژه ای نسبت به  $IL-12$  وجود دارد چون به نظر می رسد که مسیر پاسخ ایمنی را به سمت پاسخ های تیپ ۱ تغییر می‌دهد. در گربه ها،  $IL-12$  یک ادجوانت موثر برای واکسن تحت واحدی ویروس نقص ایمنی گربه ای بود و ترکیب  $IL-12$  با  $IL-18$  در DNA واکسن FeLV موثر بود. اما ممکن است برخی از سایتوکاین‌ها به اندازه ی کافی در واکسن ها پایدار نباشند. همچنین سمیت آنها نیز نگران کننده است. اغلب سایتوکاین ها فقط در مقادیر کم و در طی

ساختمان لیپوبلی ساکارید که مسئول عمل ادجوانتی آن است، لیپید A می باشد. ممکن است در شرایط اسیدی پایین، لیپید A به مونو فسفریل لیپید A (MPL) هیدرولیز شود. MPL ترکیبی است که فعالیت ادجوانتی لیپید A را با سمیت کمتر، در خود حفظ می‌کند [۳۸-۳۹]. لیپید A و مشتق آن (MPL) تعدیل کننده های سیستم ایمنی هستند که می‌توانند پاسخ های تیپ ۱ قوی را تحریک کنند. GBA<sup>۱</sup> یک ادجوانت جدید و قابل توجه است. GBA یک پلیمر بزرگ آمینوگلیکوزیدی مشتق شده از باکتری *Cytophaga* است. این پلی ساکارید می‌تواند آزادسازی سایتوکاین را در گربه ها، موش ها و انسان تحریک کند و یک ادجوانت موثر و ایمن نشان داده است. به نظر می رسد وقتی GBA با ادجوانت‌های دیگر مثل آلوم یا امولسیون روغنی ترکیب می‌شود، بیشترین تاثیر را دارد. در گربه‌ها ترکیب GBA با ادجوانت روغنی به طور محسوسی پاسخ های آنتی بادی را در قیاس با آلوم و یا تیترمکس (یک ادجوانت آب در روغن قوی و محتوی کوپلیمر CRL-8941) افزایش داد. همچنین DNA باکتریایی می‌تواند به عنوان یک ادجوانت عمل کند و باعث تحریک سایتوکاین شود [۱۰].

الیگونوکلوئوتیدهای CpG<sup>۲</sup> ادجوانت هایی هستند که مشابه موتیف DNA باکتریایی می‌باشند. این موتیف، شش زنجیره ی دراز از دئوکسی نوکلئوتید DNA همراه با دی نوکلئوتیدهای CpG مرکزی می باشد و در DNA باکتریایی و ویروسی نسبت به DNA پستانداران، ۲۰-۳ برابر بیشتر دیده می‌شود [۱۰، ۴]. الیگونوکلوئوتیدهای CpG تعدیل کننده های سیستم ایمنی هستند که می‌توانند آنتی بادی را تحریک کنند و خصوصا به نظر می رسد در تغییر مسیر ایمنی به سمت پاسخ های تیپ ۱ موثر باشند [۴۰-۴۱-۴۲]. بی‌خطری این ادجوانت ها هنوز مشخص نیست

<sup>3</sup> Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor

<sup>1</sup> Gliding Bacterial Adjuvant

<sup>2</sup> CpG Oligonucleotides

ادجوانت های جدید در تست های بالینی و یا در واکسن های جدید استفاده می شوند. ادجوانت هایی که برای واکسن های مورد استفاده علیه باکتری های خارج سلولی مناسبند لزوما این گونه نیست که ادجوانت های خوبی برای پاتوژن های داخل سلولی باشند. برای انتخاب یک ادجوانت برای هر واکسن، باید دانست که همیشه بهترین ادجوانت ها برای همه وضعیت ها و همه ی آنتی ژن ها بهترین نیستند. یک ادجوانت مطلوب، به نوع حیوان، پاتوژن، آنتی ژن واکسن، مسیر ایمن سازی و نوع ایمنی مورد نیاز وابسته است. بنابراین هیچ ادجوانت عمومی وجود ندارد و باید متناسب با معیارهای مختلف انتخاب شوند تا بهترین تعادل بین ایمنی و اثر بخشی آنها ایجاد شود.

پاسخ ایمنی ساخته می شوند و عمدتا در همان محل فعالیت می کنند. وقتی به مقدار زیاد وارد گردش خون سیستمیک می شود خطر ایجاد شوک شدید و مرگ، یا اثرات مضر با شدت کمتر وجود دارد. همچنین برخی از سایتوکاين ها ممکن است خطر بروز خود ایمنی را بالا ببرند. مقدار بیش از حد IL-2 به ایجاد بیماری های خود ایمنی مرتبط شده است [۱۰].

### نتیجه گیری

تولید ادجوانت های جدید نشان دهنده ی تنوع وسیع ترکیبات شیمیایی با مکانیسم های عمل مختلف و اثرات جانبی متفاوت می باشد. یکی از اهداف پژوهش در مورد ادجوانت ها، کشف ادجوانت های موثرتر با اثرات جانبی کمتر است. در حال حاضر تعدادی از

### References

- 1- Singh M, O'Hagan DT. Recent advances in veterinary vaccine adjuvants. *Int J Par.* 2003 May; 33(5-6): 469-478.
- 2- O'Hagan DT, MacKichan ML, Singh M. Recent developments in adjuvants for vaccines against infectious diseases. *Biomol Eng.* 2001 Oct; 18(3): 69-85.
- 3- Petrovsky N, Aguilar JC. Vaccine adjuvants: Current state and future trends. *Im Ce Bio.* 2004 Oct; 82(5): 488-96.
- 4- Aguilar JC, Rodriguez EG. Vaccine adjuvants revisited. *Vaccine.* 2007 May; (25-19): 3752-3762.
- 5- Lima KM, dos Santos SA, Rodrigues JM, Silva CL. Vaccine adjuvant: it makes the difference. *Vaccine.* 2004 Jun; 19 (22-23): 2374-2379.
- 6- Dupuis L, Deville S, Aucouturier J, Ascarateil S, Laval A, Ganne V. Veterinary vaccine adjuvants. *Abstracts / Vet Immuno Immunopa.* 2009 Mar (1-3): 248-249.
- 7- Aucouturier J, Dupuis L, Ganne V. Adjuvants designed for veterinary and human vaccines. *Vaccine.* 2001 Mar (17-19): 2666-2672.
- 8- Alving CR. Design and selection of vaccine adjuvants: animal models and human trials. *Vaccine.* 2002 May (20-3): S56-64.
- 9- Zinkernagel RM, Ehl S, Aichele P, Oehen S, Kundig T, Hengartner H. Antigen localisation regulates immune responses in a dose- and time-dependent fashion: a geographical view of immune reactivity. *Immunol Rev.* 1997 Apr (156): 199-209.
- 10- Spickler AR, Roth JA. Adjuvants in veterinary vaccines: modes of action and adverse effects. *J Vet Intern* 2003 May-Jun; (3): 273-81.
- 11- Allison AC, Gregoriadis G. Liposomes as immunological adjuvants. *Nature.* 1974 Nov; (5480): 252.
- 12- Glenny AT, Pope CG, Waddington H, Wallace V. The antigenic value of toxoid precipitated by potassium-alum. *J Path Bact.* 1926; 29:38-45.

- 13- Gupta RK, Rost BE, Relyveld E, Siber GR. Adjuvant properties of aluminium and calcium compounds. In: Powell MF, Newman MJ, editors. Vaccine design: the subunit and adjuvant approach. 1<sup>st</sup> volume, New York: Plenum Press, 1995: 229-248.
- 14- Straw BE, MacLachlan NJ, Corbett WT, Carter PB, Schey HM. Comparison of tissue reactions produced by Haemophilus pleuropneumoniae vaccines made with six different adjuvants in swine. Can J Comp Med. 1985 Apr; 49(2):149-51.
- 15- Butler NR, Voyce MA, Burland WL, Hilton ML. Advantages of aluminum hydroxide adsorbed diphtheria, tetanus and pertussis vaccines for the immunization of infants. Br Med J. 1969 Mar; 1(5645):663-6.
- 16- Relyveld EH, Hencoq E, Raynaud M. Etude de la vaccination antidiphtherique de sujets allergiques avec une anatoxine pure adsorbée sur phosphate de calcium. Bull WHO. 1964 Jan; (30)321-325.
- 17- Relyveld EH. Preparation and use of calcium phosphate adsorbed vaccines. Dev Biol Stand. 1986 Jun; (65)131-6.
- 18- Ling IT, Ogun SA, Momin P, Richards RL, Garcon N, Cohen J, et al. Immunization against the murine malaria parasite Plasmodium yoelii using a recombinant protein with adjuvants developed for clinical use. Vaccine. 1997 Oct; 15(14):1562-7.
- 19- Alving CR. Immunologic aspects of liposomes: presentation and processing of liposomal protein and phospholipid antigens. Biochem Biophys Acta. 1992 Dec; 1113(3-4): 307-22.
- 20- Gregoriadis G. Immunological adjuvants; A role for liposomes. Immunol Today. 1990 Mar; 11(3):89-97.
- 21- Shek PN, Yung BYK, Stanacev NZ. Comparison between multilamellar and unilamellar liposomes in enhancing antibody formation. Immunology. 1983 May; 49(1):37-44.
- 22- Heath TD, Edwards DC, Ryman BE. The adjuvant properties of liposomes. Biochem Soc Trans 1976 Apr; 4(1):129-33.
- 23- Van Rooijen N and van Nieuwmegen R. Use of liposomes as biodegradable and harmless adjuvants. Methods Enzymol. 1983 Nov; 93(1):83-95.
- 24- Okada H, Toguchi H. Biodegradable microspheres in drug delivery. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 1995 Jul; 12(1):1-99.
- 25- Putney SD, Burke PA. Improving protein therapeutics with sustained-release formulations. Nat Biotechnol. 1998 Feb; 16(2):153-7.
- 26- Nixon DF, Hioe C, Chen PD, Bian Z, Kuebler P, Li ML, Qiu H, et al. Synthetic peptides entrapped in microparticles can elicit cytotoxic T cell activity. Vaccine. 1996 Nov; 14(16):1523-30.
- 27- Maloy KJ, Donachie AM, O'Hagan DT, Mowat AM. Induction of mucosal and systemic immune responses by immunization with ovalbumin entrapped in poly(lactide-co-glycolide) microparticles. Immunology. 1994 Apr; 81(4):661-7.
- 28- Moore A, McGuirk P, Adams S, Jones WC, McGee JP, O'Hagan DT, et al. Immunization with a soluble recombinant HIV protein entrapped in biodegradable microparticles induces HIV-specific CD8+ cytotoxic T lymphocytes and CD4+ Th1 cells. Vaccine. 1995 Dec; 13(18):1741-9.
- 29- Singh M, Briones M, Ott G, O'Hagan D. Cationic microparticles: A potent delivery system for DNA vaccines. Proc Natl Acad Sci USA. 2000 Jan 18; 97(2):811-6.
- 30- Hedley ML, Curley J, Urban R. Microspheres containing plasmid-encoded antigens elicit cytotoxic T-cell responses. Nat Med. 1998 Mar; 4(3):365-8.
- 31- Kazzaz J, Neidleman J, Singh M, Ott G, O'Hagan DT. Novel anionic microparticles are a potent adjuvant for the induction of cytotoxic T lymphocytes against recombinant p55 gag from HIV-1. J Control Release. 2000 Jul; 67(2-3):347-56.
- 32- Kensil CR. Saponins as vaccine adjuvants. Crit Rev Ther Drug Carr Syst. 1996 Oct; 13(1-2):1-55.

- 33- Takahashi H, Takeshita T, Morein B, Putney S, Germain RN, Berzofsky JA. Induction of CD8+ cytotoxic T cells by immunization with purified HIV-1 envelope protein in ISCOMs. *Nature*. 1990 Apr; 344(6269):873-5.
- 34- Barr IG, Sjolander A, Cox JC. ISCOMs and other saponin based adjuvants. *Adv Drug Deliv Rev*. 1998 Jul; 32(3): 247-271.
- 35- Soltysik S, Wu JY, Recchia J, Wheeler DA, Newman MJ, Coughlin RT, Kensil CR. Structure/function studies of QS-21 adjuvant: assessment of triterpene aldehyde and glucuronic acid roles in adjuvant function. *Vaccine*. 1995 Dec; 13(15):1403-10.
- 36- Audibert FM, Lise LD. Adjuvants: current status, clinical perspectives and future prospects. *Immunol Today*. 1993 Jun; 14(6):281-4.
- 37- Parant MA, Audibert FM, Chedid LA. Immunostimulant activities of a lipophilic muramyl dipeptide derivative and of a desmuramyl peptidolipid analogue. *Infect Immun*. 1980 Mar; 27(3):826-31.
- 38- Tomai MA, Johnson AG. T cell and interferon- involvement in the adjuvant action of a detoxified endotoxin. *J Biol Res Modifiers*. 1989 Dec; 8(6):625-43.
- 39- Heufler C, Koch F, Schuler G. Granulocyte / macrophage colony-stimulating factor and interleukin 1 mediate the maturation of murine epidermal Langerhans cells into potent immunostimulatory dendritic cells. *J Exp Med*. 1988 Feb; 167(2): 700-5.
- 40- Aghasadeghi M.R, Sadat M, Bahramali G, Roohvand F. Immunization of mice with HCV core protein formulated in Montanide-ISA720 and CpG primes CD+8 CTLs and elicits Th1-Th2 responses. 17<sup>th</sup> society of clinical microbiology and infectious diseases (ECCMID). 2007 Mar -Apr. 31-4, Munich, Germany.
- 41- Roohvand F, Aghasadeghi MR, Sadat SM, Budkowska A, Khabiri AR. HCV core protein immunization with Montanide/CpG elicits strong Th1/Th2 and long-lived CTL responses., *BBRC*. 2007Mar; 354(3):641-9.
- 42- Sadat SM, Zabihollahi R, Aghasadeghi MR, Vahabpour R, Siadat SD, Memarnejadian A, et al. Application of SCR priming VLP boosting as a novel vaccination strategy against HIV-1. *Curr HIV Res*. 2011Apr; 9(3):140-7.

## Adjuvants and Their Mechanisms of Action

Foumani MG<sup>1</sup>; Asadpour L<sup>2</sup>; Azizi Saraji AR<sup>3,4</sup>; Sharifat Salmani A<sup>3</sup>;  
Aghasadeghi MR\*<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Rasht Branch, Young Researchers club Islamic Azad University, Rasht, Iran

<sup>2</sup> Department of Veterinary Science, Faculty Veterinary, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

<sup>3</sup> Department of Hepatitis and AIDS Department, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.

<sup>4</sup> Department of Veterinary Laboratory of Sciences, Young Researchers club, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

\*Corresponding Author. Tel/Fax: +982166969291 E-mail: mrasadeghi@pasteur.ac.ir

Received: 6 July 2011 Accepted: 7 February 2012

### ABSTRACT

Adjuvants are chemicals, microbial components, or mammalian proteins that enhance the immune response to vaccine antigens. Reducing vaccine-related adverse effects and inducing specific types of immunity has led to the development of numerous new adjuvants. Adjuvants in experimental and commercial vaccines include aluminum salts (alum), oil emulsions, saponins, immune-stimulating complexes (ISCOMs), liposomes, microparticles, nonionic block copolymers, derivatized polysaccharides, cytokines, and a wide variety of bacterial derivatives. The mechanisms of action of these diverse compounds are different. Factors influencing the selection of an adjuvant include animal species, specific pathogen, vaccine antigen, route of immunization, and type of immunity needed. In this paper we review the current adjuvant types, structure and mechanism of action and their application in the design and production of animal and human vaccines to provide a source for students and researchers in related fields.

**Key words:** Aadjuvants; Vaccine; Immunostimulators; Immunization