

## یاورهای ایمونولوژیک: مروری بر عملکرد پذیرنده‌های Toll-like در راه اندازی پاسخ‌های ایمنی

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۲/۰۷ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۴/۰۱

### خلاصه

### چکیده

سایتوکاین‌ها نقش مهمی در کنترل سیستم ایمنی بدن دارند و پیام آن‌ها پاسخ ایمنی را به سمت ایمنی هومورال یا ایمنی با واسطه سلولی هدفمند می‌کند. این مولکول‌ها در پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی شامل بلوغ سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن، تمایز سلول‌های Th1 و Th2 و القا سلول‌های کشنده طبیعی و لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک نقش کلیدی دارند. بنابراین، می‌توانند به عنوان یاور واکسن در افزایش پاسخ ایمنی علیه عوامل بیماری‌زا موثر باشند. سلول‌های دندریتیک مسوول جذب و ارایه آنتی‌ژن به سلول‌های T، و هدف اصلی برای فعالیت یاور هستند. چندین پروتئین در تنظیم و حفظ هموستاز سیستم ایمنی نقش دارند. خانواده پروتئینی TLR قادرند تولید سایتوکاین‌ها شامل اینترفرون‌های نوع I و سایتوکاین‌های پیش‌تهابی را فعال کنند که به تنظیم و بیان ژن‌های مرتبط با سیستم ایمنی منجر می‌شود. این پروتئین‌ها تنظیم‌کننده‌های کلیدی تولید اینترفرون در فیبروبلاست‌ها و سلول‌های دندریتیک تخصص یافته هستند و نقش آن‌ها به عنوان یاور در افزایش پاسخ‌های ایمنی ارزیابی شده است. در این جستار، ساختار و عملکرد این پذیرنده‌ها در تحریک پاسخ‌های ایمنی با تکیه بر مسیرهای پیام‌رسان آن‌ها مرور شده است.

**کلمات کلیدی:** پاسخ ایمنی، سایتوکاین، TLR، مسیر پیام‌رسان

سمیرا رشید<sup>۱</sup>

شهلا شاهشوندی<sup>۲\*</sup>

۱- کارشناس ارشد ویروس‌شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۲- دانشیار، ژنتیک مولکولی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

\* موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

تلفن: ۰۹۱۲۲۶۱۱۴۶۸

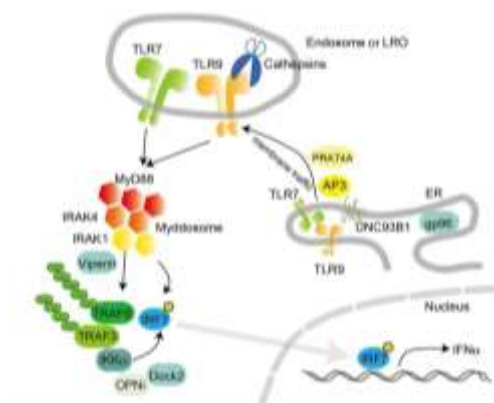
Email: s.shahsavandi@rvsri.ac.ir

## مقدمه

سامانه دفاعی میزبان شامل دو بخش ایمنی ذاتی و ایمنی اکتسابی است. ایمنی ذاتی، به تعداد محدودی از پذیرنده‌های شناسایی عامل بیماری‌زا (PRR) مانند Toll-like receptor (TLR) که مسئول شناسایی الگوهای عامل بیماری‌زا (PAMP) هستند، متکی است. فعال شدن این گیرنده‌ها سبب القا پاسخ‌های ایمنی شامل تولید اینترفرون‌های نوع I ( $\alpha$  و  $\beta$ ) و سایتوکاین‌های پیش التهابی شده که به محدود شدن تکثیر عامل بیماری‌زا منجر می‌شود، هم‌چنین آغازگر پاسخ‌های ایمنی است (۱). TLR در کنترل پاسخ‌های ایمنی ذاتی نقش مهمی دارد و تحریک آن سبب بلوغ سلول‌های دندریتیک (DC) و افزایش ظرفیت ارایه آنتی ژن توسط سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن (APC) می‌شود که برای شروع و گسترش پاسخ‌های ایمنی اکتسابی ضروری است. این سلول‌های تخصص یافته ظرفیت بالایی برای هدایت آنتی ژن به سلول‌های  $CD4^+$  و تحویل آن به سلول‌های T دارند، هم‌چنین رابط اصلی بین پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی هستند (۲). DCها از سلول‌های پیش ساز مغز استخوان مشتق شده‌اند و پیش ساز آنها ابتدا به DCهای نابالغ تبدیل می‌شوند. DCهای نابالغ با سلول B واکنش می‌دهند و پس از پردازش آنتی ژن، به APCهای بالغ تبدیل می‌شوند. این سلول‌های بالغ با عرضه آنتی ژن‌ها بر روی سطح سلول، به طور مستقیم پیش برنده بیان پذیرنده‌های سلول B هستند که نتیجه آن برهم کنش‌های متوالی با  $Th$ ها برای شروع ترشح آنتی بادی است. عملکرد DCها در القا ایمنی با بلوغ و فعال شدن آنها تنظیم می‌شود که طی پیام‌رسانی با واسطه TLR صورت می‌گیرد. DCها بیشترین تعداد و تنوع از این پذیرنده‌ها را بروز می‌دهند. بنابراین، ارتباط مهمی بین این TLRها و DCها در آماده سازی پاسخ‌های سلول‌های T و آغاز پاسخ‌های ایمنی اکتسابی وجود دارد (۳-۴).

پتانسیل القا ایمنی اکتسابی در حضور یاور (adjuvant) افزایش می‌یابد. یاورها با فعال سازی APCها و افزایش تحویل آنتی ژن به آنها سبب هدایت آن به سمت مولکول‌های کمپلکس سازگاری بافتی (MHC) و تولید بیش‌تر

سایتوکاین‌ها، بالا بردن پیام‌های حفاظتی سامانه ایمنی، و برانگیخته شدن هرچه بیش‌تر و افزایش پاسخ‌های ایمنی می‌شوند (۵). با گذشت بیش از نود سال از استفاده نمک‌های آلوم به عنوان افزاینده توان ایمنی زایی چندین واکنش غیرفعال انسانی و دامی، هم‌چنان تلاش برای ساخت واکنش‌های مؤثرتر با تکیه بر فناوری‌های نوین ادامه دارد. واکنش‌های غیرفعال اگرچه محرک تولید آنتی بادی‌های خنثی کننده هستند که برای ایجاد حفاظت علیه یک بیماری مورد نیازند اما برای افزایش کارایی آنها باید از ترکیباتی استفاده کرد که سبب ذخیره در محل تزریق برای آزاد سازی تدریجی آنتی ژن، ترشح سایتوکاین و کموکاین، افزایش ظرفیت عمل آوری و ارایه آنتی ژن، افزایش ترشح فعال آنتی بادی و پاسخ‌های مربوط به  $CD8^+$  شوند. در روند آغاز پاسخ‌های ایمنی اکتسابی و القا آنتی بادی‌های خنثی کننده، استفاده از یاورهایی که سبب افزایش ایمنی زایی آنتی ژن می‌شوند بی آن که اثرات جانبی برای میزبان در بر داشته باشند، یک ایده نوین برای ارتقا سطح توانمندی واکنش‌های غیرفعال است. بنابراین در ارایه اثربخشی مطلوب برای جمعیت هدف، انتخاب یاور همانند انتخاب آنتی ژن در فرمولاسیون واکنش بسیار مهم می‌باشد (۶-۷). در دهه‌های اخیر طراحی و توسعه یاورها برپایه بی‌خطر بودن و قدرت اثربخشی آنها، آگاهی داشتن از مسیرهای عملکردی و این‌که چه سلول‌هایی از سامانه ایمنی ذاتی و اکتسابی را فعال می‌کنند، و توان ایجاد ایمنی خاطره قوی استوار است. توسعه ابزار تحلیلی جدید این امکان را فراهم می‌کند که درک عمیق‌تری از ساز و کارهای یاورها در القا پاسخ ایمنی قوی داشته باشیم. بنابراین یاورهای جدید با این رویکرد طراحی می‌شوند که خود یک القا کننده پاسخ ایمنی باشند و ایمنی را در مسیر تحریک هر دو نوع ایمنی سلولی و ایمنی هومورال پیش برند (۸-۱۰). بهینه شدن ایمنی زایی واکنش‌های نسل جدید که مزیت‌های مهمی نسبت به واکنش‌های زنده و غیرفعال متداول دارند، نیازمند استفاده از یاورهای ایمونولوژیک است. این ترکیبات تنظیم کننده سامانه ایمنی شامل کمپلکس‌های محرک ایمنی، توالی‌های نوکلئوتیدی که قابلیت آنتی ژنی نیز دارند، و پروتئین‌های



**شکل ۱- انتقال پیام TLRهای اندوزومی در سلولهای دندریتیک پلاسموسیتوئید و القا پاسخ اینترفرونی**

تمامی TLRهای شناسایی شده پروتئین‌های غشایی نوع I هستند. انتهای آمینی این پروتئین دارای دامنه اتصال به لیگاند (دامنه خارجی) و متشکل از تکرارهای غنی از اسید آمینه لوسین (LRR) است که وظیفه شناسایی و اتصال به PAMP را برعهده دارد. موتیف‌های LRR، در بسیاری از پروتئین‌هایی که در تشخیص ایمنی دخیل هستند یافت می‌شوند. این دامنه یک موتیف ساختاری متشکل از توالی‌های تکرار شونده ۲۰ تا ۳۰ اسید آمینه‌ای دارای اسید آمینه آب گریز لوسین است که یک بخش با توالی حفظ شده LXXLXXN/CXL (X) می‌تواند هر اسید آمینه‌ای باشد) دارد. این توالی‌های تکراری در هم چین خورده و یک دامنه سلنوبیدی با ساختار نعل اسبی را تشکیل می‌دهند. هر واحد تکرار شونده دارای ساختار مارپیچ آلفا و صفحه بتا است و به نظر می‌رسد این موتیف یک چارچوب ساختاری بسیار کاربردی برای برهم کنش پروتئین- پروتئین مانند تنظیم بیان ژن، و پیام رسانی آپوپتوز را فراهم می‌کند. تغییر در قالب این قسمت، پاکت‌های اتصال یا نواحی با ویژگی متفاوت اتصال به لیگاند را به وجود می‌آورد. در غیاب لیگاند، اعضای خانواده TLR معمولاً در سطح سلول‌های یوکاریوتی یا در محفظه اندوزومی قرار می‌گیرند. محل قرار گیری آن‌ها با حضور موتیف‌های خاص اسید آمینه در ناحیه انتقال غشایی تعیین می‌شود (۲۰، ۱۷، ۱۵).

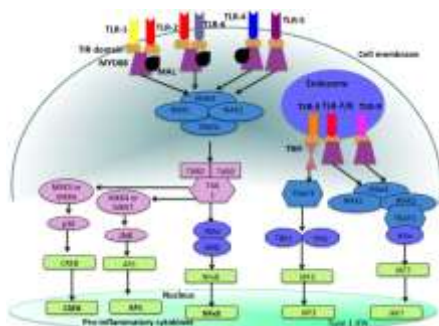
TLRها در دنباله سیتوپلاسمی انتهای کربنه، دارای ناحیه پیام رسانی کاملاً حفظ شده هستند که به دلیل همسانی با دامنه

محرک سامانه ایمنی مانند سایتوکاین‌ها هستند (۱۴-۱۱). سایتوکاین‌ها فاکتورهای تحریک کننده کلون لنفوسیت ماکروفاژ هستند که به طور مستقیم ایمنی را از مسیرهای Th1 و Th2 یا تحریک ایمنی ذاتی پیش می‌برند. این پروتئین‌ها، القا کننده و تنظیم کننده ایمنی سلولی و ایمنی هومورال هستند و سه نقش عمده شامل تکثیر و تمایز سلول‌های B، تغییر ایزوتیپی و بلوغ تمایل آنتی‌بادی‌ها را در پاسخ ایمنی ایفا می‌کنند (۱۳). فعالیت این پروتئین‌های تنظیم کننده سامانه ایمنی از مسیر فعال سازی TLR تاثیر می‌پذیرد (۱۵).

### عملکرد و ساختار TLR

خانواده پروتئینی TLR نخستین بار در درزوفیلا کشف شده و تاکنون هویت تعدادی از آن‌ها تعیین شده است. برآورد شده است پستانداران ۱۳ تا ۱۵ نوع TLR دارند که در سطح غشا داخل سلولی DC ها، ماکروفاژها و گرانولوسیت‌ها بیان می‌شوند و لیگاندهای لیپیدی و یا اسیدهای نوکلئیک را از ناحیه‌ی حفظ شده آن‌ها شناسایی می‌کنند (۱۷-۱۶). گستره توزیع بافتی و سلولی یکی از ویژگی‌های مهم و تاثیرگذار بر عملکرد TLR است، زیرا بر ظرفیت تشخیص میکروارگانیسم‌های مختلف طی ورود و تکثیر آن‌ها در بافت‌های مختلف تاثیر می‌گذارد. این گستره الگوی مشخصی از بیان mRNA هر TLR را در بافت‌ها و سلول‌های ایمنی جدا شده از خون محیطی و طحال ارایه می‌کند (۱۹، ۱۸). برخی از آن‌ها شامل TLR1/6/10، TLR3، TLR4، TLR5 و TLR7 بیشتر بافت‌ها بیان می‌شوند، در حالی که گستره بیان TLR2 و TLR7 محدود به زیر مجموعه‌های سلولی ایمونولوژیک شامل DCهای میلوئیدی (mDC) و پلاسماسیتوئید (pDC)، ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها و زیر مجموعه‌های سلول‌های B و T است (شکل ۱). pDCها که به عنوان سلول‌های تولید کننده اینترفرون هم شناخته می‌شوند، سلول‌های ایمنی تخصص یافته اند که به طور انتخابی TLR7 و TLR9 اندوزومی را بیان می‌کنند، بر خلاف mDCها که سایر TLRها را بیان می‌کنند (۲۰).

عنوان پروتئین‌های پیام رسان TLR در نظر گرفته می‌شوند (۲۴-۲۳، ۲۰). فعال شدن آبخار پیام رسانی نتیجه ی فسفوریله شدن، یوبی کوئیده شدن، و اتصال پروتئین‌های مختلف مانند IRAK1، IRAK2، IRAK4، TRAF6 و NEMO می‌باشد که طی مسیر پیام رسانی وابسته به پروتئین تطبیق دهنده و برهم کنش با دامنه‌های TIR انجام می‌شود (۲۶-۲۴). تشکیل کمپلکس توسط ناحیه بسیار محافظت شده بین موتیف‌های TIR برای پیام رسانی پذیرنده بسیار مهم بوده و با سه روش امکان پذیر است. اولین برهم کنش واسطه الیگومریزه شدن موتیف‌های TIR پذیرنده است که با مشارکت موتیف‌های خارج سلولی پذیرنده ها، تسهیل می‌شود. برهم کنش دوم با الیگومریزه شدن موتیف‌های TIR فرودست مولکول MyD88 میانجی شده و ممکن است با برهم کنش دامنه‌های مرگ در این مولکول تسهیل شود. برهم کنش سوم واسطه ارتباط بین پذیرنده IL-1 و موتیف‌های TIR است. آبخار پیام رسانی در نهایت به انتقال هسته ای فاکتورهای رونویسی مانند NF- $\kappa$ B و فعال شدن MAPK (Mitogen-activated protein kinases) منجر می‌شود (۲۷، ۲۶، ۲۳). فعال شدن این فاکتورهای رونویسی سبب افزایش سطح mRNA اینترفرون نوع I، فعال شدن فاکتورهای تنظیم کننده اینترفرون شامل IRF7 و IRF3، القای بیان ژن‌های سایتوکاین‌های پیش التهابی و IL-1، و رونویسی از ژن اینترفرون‌های نوع I ( $\alpha$  و  $\beta$ ) شده و در نتیجه پاسخ‌های ایمنی القا می‌شود (۲۸-۳۰، ۲۵) (شکل ۲).



شکل ۲. نقش پروتئین‌های تطبیق دهنده در القا پاسخ‌های اینترفرون و سایتوکاین‌های پیش التهابی در مسیر پیام رسانی TLR ها

پیام رسانی پذیرنده IL-1، دامنه TIR (Toll/interleukin-1 receptor 1) نامیده می‌شود. آرکی باکترها، قارچ‌ها و ویروس‌ها فاقد این دامنه هستند. دامنه TIR با ۲۰۰-۱۲۵ اسید آمینه یکی از تکامل یافته ترین ساختمان‌های بسیار محافظت شده در سیستم ایمنی است و نقش مهمی در القا پاسخ ایمنی ذاتی ایفا می‌کند (۲۱). دامنه TIR برهم کنش‌های پروتئین-پروتئین و تنظیم مجموعه پیام رسانی سیستم ایمنی را تحریک می‌کند که به فعال شدن تعدادی از پروتئین‌های داخل سلولی که تطبیق دهنده نامیده می‌شوند، و تعیین مسیر آبخاری پیام رسانی TLR منجر می‌شود. سه موتیف حفظ شده در TIR شناسایی شده اند که ویژگی آن‌ها اتصال مستقیم به پذیرنده‌های IL-1 است. این اتصال به علت نقش IL-1 است که مانند پلی بین ایمنی ذاتی و ایمنی اکتسابی عمل کرده و به طور مستقیم یا غیر مستقیم بر روی APC ها، و لنفوسیت‌های B و T اثر می‌گذارد. بدین ترتیب، اساس مولکولی پیام رسانی در TLR به قسمت حفظ شده ی TIR بستگی دارد (۲۱، ۱۶).

### پیام رسانی TLR

پیام رسانی TLR، برای فعال سازی سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی ضروری است. پیام‌های TLR توان و ظرفیت عرضه آنتی ژن در DCها را افزایش داده و آبخارهای چند پیامی را فعال می‌کنند. شکل گیری دایمرهای دامنه TIR سیتوپلاسمی و اتصال قسمت حفظ شده آن به لیگاندهای مختلف سبب فعال شدن واکنش‌های آبخاری از مسیرهای پیام رسان می‌شود که در گونه‌های حشرات، گیاهان و انسان حفظ شده اند (۲۲، ۱۵). دامنه‌های TIR واسطه برهم کنش بین TLR و IL-1 و اتصال بخش‌های پروتئین-پروتئین در فرآیند پیام رسانی می‌باشند (۲۱). پیام رسانی داخلی TLR هم چنین به انتخاب یک پروتئین تطبیق دهنده یا ترکیبی از آن‌ها توسط پذیرنده‌های مختلف نیاز دارد، در نتیجه یک شبکه پاسخ پیچیده شکل می‌گیرد. از پنج پروتئین تطبیق دهنده شناخته شده به عنوان واسطه پیام رسان، Myeloid differentiation primary response protein 88 (MyD88) و Toll/interleukin-1 domain-containing adaptor protein (TIRAP)

سایر TLRها، مانند TLR7 و TLR9 شرکت داشته باشند (۳۱، ۱۷، ۱۵).

### TLRها به عنوان مولکول‌های فزاینده پاسخ‌های ایمنی

ایمن سازی موفق مستلزم انجام یک سری برهم کنش‌های ایمنی در میزبان است. سلول‌های ایمنی شامل لنفوسیت‌های B و APCها (DCها و ماکروفاژها) آنتی ژن واکسن را گرفته و ذخیره می‌کنند (۳۲). DCها کارآمدترین سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن برای فعال سازی سلول‌های T و پیماد آن آغاز پاسخ‌های ایمنی هستند. عملکرد این سلول‌ها در القا ایمنی با بلوغ و فعال شدن آن‌ها تنظیم می‌شود که طی پیام رسانی TLR و تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی، کموکاین‌ها و اینترفرون‌های نوع I صورت می‌گیرد (۳۳، ۳، ۱). پاسخ ایمنی ذاتی، ایمنی اکتسابی را به دنبال داشته و می‌تواند القای پاسخ‌های خاص واکسن را افزایش دهد. TLRها به طور اختصاصی بر روی DCها عمل کرده و با افزایش تحویل آنتی ژن به APCها سبب هدایت آن به سمت مولکول‌های MHC I و MHC II و تولید بیش‌تر اینترفرون‌ها و سایتوکاین‌های التهابی می‌شوند. اینترفرون نوع I القا کننده ایمنی با تحریک DC و مشارکت آنتی ژن‌های MHC است که DCها را قادر به فعال کردن سلول‌های B می‌کند (۲۴، ۱۶). DCهای بالغ با عرضه آنتی ژن بر روی سطح سلول، به طور مستقیم پیش برنده بیان پذیرنده‌های سلول B هستند که نتیجه آن برهم کنش‌های متوالی با Thها برای شروع ترشح آنتی بادی است (۲۹). سایتوکاین‌ها نیز نقش زیستی خود را با پیوند به پذیرنده‌های ویژه روی غشای سلول‌های هدف انجام می‌دهند. این پذیرنده‌ها از نظر ساختاری بسیار گوناگون هستند شامل پذیرنده‌های سایتوکاینی رده I و II، TNF، اینترفرون، و ایمونوگلوبولین. پذیرنده IL-1 عضوی از خانواده پذیرنده‌های ایمونوگلوبولین است که بر روی سلول‌های B و سلول‌های دیگر بیان می‌شود. افزایش پاسخ‌های ایمنی با استفاده از این یاورهای زیستی به دلیل ایجاد پیام‌های کمک‌تحریکی برای هدایت لنفوسیت‌ها به سمت پاسخ ایمنی و ترشح فاکتورهای محرک مانند IL-1 است که بر روی تکثیر لنفوسیت‌ها تاثیر می‌گذارد (۳۴، ۱۳). دامنه TIR در تنظیم TLR و مسیر انتقال پیام داخلی IL-1 دخالت می‌کند. این

مسیرهای پیام رسانی TLR به دو دسته وابسته به پروتئین MyD88 و وابسته به پروتئین TRIF طبقه بندی می‌شوند. در پاسخ به لیگاندها و برای تولید سایتوکاین‌های التهابی، تمامی TLRها به جز TLR3 از مسیر پیام رسانی وابسته به پروتئین MyD88 بهره می‌برند (شکل ۲). این مسیر آبخارهای IRF3، IRF1، MAPK، IRF7 را برای تحریک تولید سایتوکاین‌ها شامل اینترفرون‌های نوع I و سایتوکاین‌های پیش التهابی فعال می‌کند. فسفریله شدن فاکتورهای تنظیمی اینترفرون (به‌ویژه TLR3 و TLR7) که توسط کمپلکس کینازی IKKε و TBK1 در سلول‌های اپی‌تلیال فعال می‌شوند، میانجی تولید IFN-β وابسته به TRIF است. پروتئین IRF فعال شده با برهم کنش با پروتئین اتصال-CREB رونویسی از IFN-β را فعال می‌کند. افزون بر IRF-3، فعال سازی فاکتور رونویسی NF-κB وابسته به TRIF در مسیر انتقال پیام TLR واسطه تولید IFN-β است. فعال شدن TRIF سبب آغاز یک‌سری از برهم کنش‌ها بین TRAF6 و یک کمپلکس پروتئین کیناز متشکل از TAK1، TAB1، TAB2 و TAB3 می‌شود. کمپلکس TAK1 کیناز فعال شده، سپس مسیر انتقال پیام IKK/NF-κB، هم‌چنین MEKK6/JNK و MEKK6/p38 MAPK کیناز را فعال می‌کند (۲۵-۲۴). پیام رسانی TLR3 با دیگر TLRها متفاوت بوده و فقط وابسته به مسیر TRIF است. در پیام رسانی TLR3 و پیام رسانی TLR4 غیروابسته به MyD88، پروتئین‌های TRIF، TBK1، و TRAF6 به دامنه سیتوپلاسمی TLR3 متصل می‌شوند. پروتئین IRF-3 اینترفرون‌های نوع I را فعال می‌کند و P13K سبب افزایش فعالیت این پروتئین می‌شود. در سلول‌های اپی‌تلیال میزبان، پروتئین TRIF کمپلکس TBK1/IKKε کیناز را فعال کرده و TRAF6 و RIP1 را برای تحریک مسیر انتقال پیام NF-κB القا می‌کند. علاوه بر این، پروتئین TRAF6 برای فعال کردن آبخارهای MAPK با کمپلکس TAK1-TAB1/2/3 برهم کنش دارد. پروتئین‌های تطبیق دهنده‌دیگری نیز ممکن است در القا اینترفرون توسط

سایتوکاین سبب فعال سازی Th1 و القا افزایش بیان ژن هایی می شود که در تکثیر و پایداری سلول های B نقش دارند (۲۱). دامنه TIR فعالیت خود را از چندین مسیر انتقال پیام داخلی مانند به خدمت گرفتن پروتئین MyD88، و فعال کردن فاکتورهای تنظیمی اینترفرون پیش می برد که سبب تکثیر لنفوسیت های T فولیکولاری در pDC ها می شوند. این سلول های فولیکولاری نوعی T CD4+ هستند که به دنبال شروع آبشار انتقال پیام TLR، ایمنی هومورال را در واکنش علیه آنتی ژن های پروتئینی فعال می کنند (۲۳، ۲۱، ۳).

TLR ها اگرچه بر روی DC ها، ماکروفاژها و لنفوسیت ها بیان می شوند اما از نظر مکان یابی (غشا پلازما یا درون سلول)، استفاده از پروتئین های تطبیق دهنده برای القا و پیام رسانی (TIRAP، TRIF، TRAM و MyD88)، نوع لیگاند و پاسخی که القا می کنند (Th1 یا Th2 و پاسخ های التهابی) از یکدیگر متفاوت هستند. TLR های یک تا شش بجز سه، روی غشا پلاسمایی سلول قرار دارند و TLR های هفت تا نه در محدوده اندوزومی مکان یابی می شوند. این تفاوت ها، ماهیت پاسخ های ایمنی سلولی و ایمنی هومورال را به هنگام استفاده از TLR ها به عنوان یاور تحت تاثیر قرار می دهد (۲۰، ۱۵). به عنوان مثال، تحریک TLR2 سبب القای بلوغ DC شده که به تنظیم فرادست پیام های محرک مولکول های MHC کلاس II، CD80، CD83 و IL-12، و آزادسازی سایتوکاین های TNF، و IL-1 منجر می شود. در نهایت بلوغ و فعالیت سلول های B، افزایش تولید IgG و پاسخ ایمنی هومورال را در پی خواهد داشت (۳۶-۳۵). TLR3 فقط با پروتئین TRIF پیوند برقرار می کند. با تحریک این پذیرنده، فعال شدن آبشار انتقال از طریق NF-kB، MAP kinases و IRF3 صورت می گیرد و تولید سایتوکاین های التهابی و اینترفرون های نوع I به بالاترین حد خود می رسد. راه اندازی این آبشار، سبب تسهیل ارابه آنتی ژن به مولکول های MHC کلاس I و تسریع تولید سلول های T سیتوتوکسیک می شود. بنابراین، با هدف راه اندازی پاسخ ایمنی سلولی قوی تر در ایمن سازی علیه عوامل بیماری زا، TLR3 یاور مناسبی خواهد بود (۳۷، ۲۷).

سلول های سیستم ایمنی ذاتی، TLR4 توسط بسیاری از سلول های غیرایمنی مانند فیروبلاست و سلول های اپی تلیال بیان می شود. این پذیرنده تولید اینترفرون های نوع I را از هر دو مسیر MyD88 و TRIF تحریک می کند. فعال سازی TLR4 سبب تولید IL-12p70 می شود که به طور قابل توجهی پاسخ های ایمنی سلولی و ایمنی هومورال را افزایش می دهد (۳۸، ۲۰). TLR5 در سطح بسیاری از سلول های ایمنی مانند مونوسیت ها، mDC ها، سلول های لانگرهانس، سلول های T و سلول های NK یافت می شود. این پذیرنده سبب بلوغ DC و تنظیم پیام های محرک مولکول های CD80، CD83، CD86، TNF $\alpha$ ، IL-8، IL-1 $\beta$ ، CCL2، و CCL5 می شود. TLR5 با مشارکت آنتی ژن های MHC کلاس II که در سطح سلول های APC بیان می شوند، DC ها را قادر به فعال کردن سلول های B و القا ایمنی هومورال می کند (۴۰، ۳۹).

TLR9 توسط سلول های B انسان و pDC بیان می شود. این پذیرنده موتیف های CpG غیرمتمبله موجود در DNA را پیدا می کند. شناسایی CpG DNA توسط سلول هایی که TLR9 را بیان می کنند دارای اثر آبشاری بر سیستم ایمنی بدن است و به بلوغ، تمایز و تکثیر سلول های NK، سلول های T، سلول های B، منوسیت ها و ماکروفاژها منجر می شود. پاسخ ایمنی با واسطه سلولی با تولید سایتوکاین های پیش التهابی بر پایه Th1 (مانند IL-1، IL-6، TNF $\alpha$ ، IFN $\gamma$  و IL-12) ایجاد می شود (۴۲-۴۱، ۲۰). TLR7 و TLR8 از نظر فیلوژنتیکی و ساختاری شبیه هم هستند و بلوغ سلول های لانگرهانس و مهاجرت آن ها از پوست به گره های لنفاوی را افزایش می دهند. پیام های داخل سلولی TLR7 فقط توسط pCD گرفته می شوند در حالی که فعال سازی TLR8، سبب تولید IL-12 توسط mDCs می شود (۴۳). پیامد فعال شدن مسیر آبشاری پیام رسانی TLR7، این مولکول پروتئین MyD88 را از طریق دامنه TIR به خدمت می گیرد. MyD88، پروتئین IRAK که پذیرنده IL-1 است را فعال می کند. فعال شدن TLR7 به تولید سایتوکاین التهابی شامل اینترفرون نوع I، IL-6، IL-12، TNF- $\alpha$ ، تنظیم فرادست

سایتوکاین سبب فعال سازی Th1 و القا افزایش بیان ژن هایی می شود که در تکثیر و پایداری سلول های B نقش دارند (۲۱). دامنه TIR فعالیت خود را از چندین مسیر انتقال پیام داخلی مانند به خدمت گرفتن پروتئین MyD88، و فعال کردن فاکتورهای تنظیمی اینترفرون پیش می برد که سبب تکثیر لنفوسیت های T فولیکولاری در pDC ها می شوند. این سلول های فولیکولاری نوعی T CD4+ هستند که به دنبال شروع آبشار انتقال پیام TLR، ایمنی هومورال را در واکنش علیه آنتی ژن های پروتئینی فعال می کنند (۲۳، ۲۱، ۳).

TLR ها اگرچه بر روی DC ها، ماکروفاژها و لنفوسیت ها بیان می شوند اما از نظر مکان یابی (غشا پلازما یا درون سلول)، استفاده از پروتئین های تطبیق دهنده برای القا و پیام رسانی (TIRAP، TRIF، TRAM و MyD88)، نوع لیگاند و پاسخی که القا می کنند (Th1 یا Th2 و پاسخ های التهابی) از یکدیگر متفاوت هستند. TLR های یک تا شش بجز سه، روی غشا پلاسمایی سلول قرار دارند و TLR های هفت تا نه در محدوده اندوزومی مکان یابی می شوند. این تفاوت ها، ماهیت پاسخ های ایمنی سلولی و ایمنی هومورال را به هنگام استفاده از TLR ها به عنوان یاور تحت تاثیر قرار می دهد (۲۰، ۱۵). به عنوان مثال، تحریک TLR2 سبب القای بلوغ DC شده که به تنظیم فرادست پیام های محرک مولکول های MHC کلاس II، CD80، CD83 و IL-12، و آزادسازی سایتوکاین های TNF، و IL-1 منجر می شود. در نهایت بلوغ و فعالیت سلول های B، افزایش تولید IgG و پاسخ ایمنی هومورال را در پی خواهد داشت (۳۶-۳۵). TLR3 فقط با پروتئین TRIF پیوند برقرار می کند. با تحریک این پذیرنده، فعال شدن آبشار انتقال از طریق NF-kB، MAP kinases و IRF3 صورت می گیرد و تولید سایتوکاین های التهابی و اینترفرون های نوع I به بالاترین حد خود می رسد. راه اندازی این آبشار، سبب تسهیل ارابه آنتی ژن به مولکول های MHC کلاس I و تسریع تولید سلول های T سیتوتوکسیک می شود. بنابراین، با هدف راه اندازی پاسخ ایمنی سلولی قوی تر در ایمن سازی علیه عوامل بیماری زا، TLR3 یاور مناسبی خواهد بود (۳۷، ۲۷).

اینترفرون نوع I با فعال سازی DCها، تنظیم کننده سلول‌های مرتبط با سیستم‌های ایمنی ذاتی و ایمنی اکتسابی است. این سلول‌ها با عرضه آنتی ژن‌ها بر روی سطح سلول، به طور مستقیم پیش برنده بیان گیرنده‌های سلول B هستند که نتیجه آن برهم کنش‌های متوالی با Thها برای شروع ترشح آنتی بادی است. یکی از مهم‌ترین عملکردهای یاورها علاوه بر تسریع در برانگیخته شدن، افزایش و پایداری پاسخ ایمنی، شناسایی آنتی ژن توسط DCها و تحویل آن به سلول‌های T است که به فعال سازی، ازدیاد و تمایز سلول‌های اختصاصی آنتی ژن CD8+ یا CD4+ منجر می‌شود. هر یاور که جذب آنتی ژن توسط DCها را بیشتر کند و ذخیره پایداری از آنتی ژن برای APCها فراهم نماید، سبب افزایش بیان مولکول‌های محرک پاسخ‌های ایمنی یا مولکول‌های MHC شده و با افزایش مهاجرت سلولی به سوی گره‌های لنفاوی می‌تواند پاسخ ایمنی را بهبود ببخشد (۴۵-۴۴، ۱۳، ۶). استفاده از TLRها به عنوان القا کننده های ایمنی موثر در فعالیت و بلوغ DCها، که سبب برانگیخته شدن و افزایش پاسخ ایمنی شوند بی آن که اثرات جانبی برای میزبان در بر داشته باشند، یک ایده نوین برای ارتقا سطح توانمندی واکسن‌ها است. بیان زیاد TLRها در DCهای سلول B و روند پیام رسانی آن‌ها در ارایه بهتر آنتی ژن از طریق DCها، و در نهایت تحریک هرچه بهتر و پایدارتر سیستم ایمنی میزبان از مزایای این پذیرنده‌ها به عنوان یاور زیستی در مطالعات ایمن سازی به شمار می‌آیند.

## References

- 1) Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol* 2010; 11:373-84.
- 2) Allenspach EJ, Lemos MP, Porrett PM, Turka LA, Laufer TM. Migratory and lymphoid-resident dendritic cells cooperate to efficiently prime naive CD4 T cells. *Immunity* 2008; 29:795-806.
- 3) Granucci F, Zanoni I, Ricciardi-Castagnoli P. Central role of dendritic cells in the regulation and deregulation of immune responses. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65:1683-97.
- 4) Kabelitz D, Medzhitov R. Innate immunity-cross-talk with adaptive immunity through pattern recognition receptors and cytokines. *Curr Opin Immunol* 2007; 19:1-3.
- 5) Awate S, Babiuk LA, Mutwiri G. Mechanisms of action of adjuvants. *Front Immunol* 2013; 4:114.

CD40، CD86، و مولکول‌های MHC منجر می‌شود. پیامد پاسخ‌های سایتوکاین‌ها و اینترفرون‌ها، pDCها به APCها تمایز یافته و توانایی تنظیم ایمنی اکتسابی با واسطه سلول T را کسب می‌کنند (۴۴، ۲۳، ۲۰). تحریک TLR7 هم چنین پیش برنده تعویض کلاس ایمنوگلوبولین و تولید آنتی بادی است. فسفریله شدن پروتئین MAPK یکی از عوامل پیش برنده فعال شدن سلول B و پدیدار شدن سلول‌های پلاسما ترشح کننده آنتی بادی، و در نهایت تولید آنتی بادی است. از طرف دیگر، تشکیل کمپلکسی از پروتئین‌های پذیرنده TNF و IL-1 (IRAKs/TRAF6) به فعال شدن IRF7 که تنظیم کننده عمده تولید اینترفرون نوع I است منجر می‌شود. اینترفرون نوع I مشتق از pDC و گیرنده آن برای تنظیم پاسخ‌های TLR7 در سلول‌های B مورد نیازند زیرا پیام‌های TLR7 با پیام‌های گیرنده سلول‌های B در پیشبرد سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن از طریق تنظیم فرادست مولکول‌های محرک و تولید سایتوکاین هم خوان هستند و ظرفیت عرضه آنتی ژن در DCها را افزایش می‌دهند. در تنظیم پاسخ‌های سلول B وابسته به TLR7، TLR به عنوان یک کوفاکتور سلول‌های B که دارای CD40 هستند عمل می‌کند. برآیند پیام های CD40 و سایتوکاین‌ها که APCها را فعال می‌کند به افزایش توانایی این سلول‌ها در پردازش و عرضه آنتی ژن و در نتیجه به افزایش بیان مولکول‌های کمک محرک و ترشح سایتوکاین‌ها می‌انجامد. این امر افزایش فعال سازی سلول‌های T را به همراه دارد. این برهم کنش دو طرفه بین APCها و لنفوسیت‌های T شناسایی کننده آنتی ژن، چرخه بازخورد (فیدبک) مثبتی است که به تقویت پاسخ ایمنی کمک کرده و با تنظیم فرادست تولید سایتوکاین‌ها سبب تعویض کلاس ایمنوگلوبولین و پیشبرد تولید آنتی بادی می‌شود (۲۹، ۲۸، ۲۵، ۳). دامنه TIR این پذیرنده نقش کلیدی در القای اینترفرون نوع I و افزایش پاسخ‌های ایمنی هومورال دارد. افزایش اثربخشی آن بر پاسخ ایمنی به دلیل ایجاد پیام‌های کمک تحریک برای هدایت لنفوسیت‌ها به سمت پاسخ ایمنی و ترشح فاکتورهای محرک مانند IL-1 است که بر روی تکثیر لنفوسیت‌ها تاثیر می‌گذارد (۲۱، ۱۱، ۸).

- 22) Pasare C, Medzhitov R. Toll-like receptors: linking innate and adaptive immunity. *Adv Exp Med Biol* 2005; 560:11-8.
- 23) O'Neill LA, Bowie AG. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2007; 7:353-64.
- 24) Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Cell Death Differ* 2006; 13:816-25.
- 25) Colonna M. TLR pathways and IFN-regulatory factors: to each its own. *Eur J Immunol* 2007; 37:306-9.
- 26) Krishnan J, Selvarajoo K, Tsuchiya M, Lee G, Choi S. Toll-like receptor signal transduction. *Exp Mol Med* 2007; 39:421-38.
- 27) Kawai T, Akira S. Toll-like receptor and RIG-I-like receptor signaling. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1143:1-20.
- 28) Honda K, Yanai H, Negishi H, Asagiri M, Sato M, Mizutani T, et al. *Nature* 2005; 434:772-7.
- 29) Pasare C, Medzhitov R. Control of B-cell responses by Toll-like receptors. *Nature* 2005; 438:364-8.
- 30) Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. *Front Immunol* 2014; 5:461-5.
- 31) Fukao T, Koyasu S. PI3K and negative regulation of TLR signaling. *Trends Immunol* 2003; 24:358-63.
- 32) Ohteki T, Koyasu S. Role of antigen-presenting cells in innate immune system. *Arch Immunol Ther Exp* 2001; 49:S47-52.
- 33) Creagh EM, O'Neill LA. TLRs, NLRs and RLRs: a trinity of pathogen sensors that co-operate in innate immunity. *Trends Immunol* 2006; 27:352-7.
- 34) Asif M, Jenkins KA, Hilton LS, Kimpton WG, Bean AG, Lowenthal JW. Cytokines as adjuvants for avian vaccines. *Immunol Cell Biol* 2004; 82:638-43.
- 35) Hertz CJ, Kiertscher SM, Godowski PJ, Bouis DA, Norgard MV, Roth MD, et al. Microbial lipopeptides stimulate dendritic cell maturation via Toll-like receptor 2. *J Immunol* 2001; 166:2444-50.
- 36) Jackson DC, Lau YF, Le T, Suhrbier A, Deliyannis G, Cheers C, et al. A totally synthetic vaccine of generic structure that targets Toll-like receptor 2 on dendritic cells and promotes antibody or cytotoxic T cell responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:15440-5.
- 37) Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R, Flavell RA. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature* 2001; 413:732-8.
- 38) Park BS, Song DH, Kim HM, Choi BS, Lee H, Lee JO. The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex. *Nature* 2009; 458:1191-5.
- 39) Means TK, Hayashi F, Smith KD, Aderem A, Luster AD. The Toll-like receptor 5 stimulus
- 6) Lima KM, dos Santos SA, Rodrigues JR, Silva CL. Vaccine adjuvant: it makes the difference. *Vaccine* 2004; 22:2374-9.
- 7) Petrovsky N, Aguilar JC. Vaccine adjuvants: current state and future trends. *Immunol Cell Biol* 2004; 82:488-96.
- 8) Shahsavandi S, Ebrahimi MM, Mahravani H, Saedghi K. Design of a heterosubtypic epitope-based peptide vaccine fused with hemokinin-1 against influenza viruses. *Viol Sin* 2015; 3:200-7.
- 9) Ebrahimi MM, Shahsavandi S, Shayan P, Goudarzi H, Masoudi S. An immunoinformatic assay to design bio adjuvanted vaccine against infectious Bursal disease virus. *J Biol Today's World* 2016; 5:13-9.
- 10) Soleimani S, Shahsavandi S, Madadgar O, Mahravani H, Lotfi M. In silico analysis of HA2/Mx chimera peptide for developing an adjuvanted vaccine to induce immune responses against influenza viruses. *Adv Pharma Bull* 2015; 5:629-36.
- 11) Ebrahimi MM, Shahsavandi S, Shayan P, Goudarzi H, Masoudi S. Recombinant VP2 expressed in baculovirus and adjuvanted with TIR-TLR7: a vaccine candidate against infectious bursal disease virus. *Comp Clin Pathol* 2018; 27:911.
- 12) Aiyer Harini P, Ashok Kumar HG, Praveen Kumar G, Shivakumar N. An overview of immunologic adjuvants-a review. *J Vaccines Vaccinat* 2013; 4:1-4.
- 13) Tovey MG, Lallemand C. Adjuvant activity of cytokines. *Methods Mol Biol* 2010; 626:287-309.
- 14) Soleimani S, Shahsavandi S, Madadgar O. *Improvement influenza HA2 DNA vaccine cellular and humoral immune responses with Mx bio adjuvant. Biologicals* 2017; 46:6-10.
- 15) Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol* 2003; 21:335-76.
- 16) Hopkins PA, Sriskandan S. Mammalian Toll-like receptors: to immunity and beyond. *Clin Exp Immunol* 2005; 140:395-407.
- 17) Kawai T, Akira S. Signaling to NF-kappaB by Toll-like receptors. *Trends Mol Med* 2007; 13:460-9.
- 18) Kumar H, Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and innate immunity. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 388:621-5.
- 19) Zarembek KA, Godowski PJ. Tissue expression of human Toll-like receptors and differential regulation of Toll-like receptor mRNAs in leukocytes in response to microbes, their products, and cytokines. *J Immunol* 2002; 168:554-61.
- 20) Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. *Front Immunol* 2014; 5:461-5.
- 21) Ve T, Williams SJ, Kobe B. Structure and function of Toll/interleukin-1 receptor/resistance protein (TIR) domains. *Apoptosis* 2015; 20:250-61.



- induction of IFN $\alpha$ /b in plasmacytoid dendritic cells. *Eur J Immunol* 2001; 31:2154-63.
- 43) Jurk M, Kritzler A, Schulte B, Tluk S, Schetter C, Krieg AM, et al. Modulating responsiveness of human TLR7 and 8 to small molecule ligands with T-rich phosphorothiate oligodeoxynucleotides. *Eur J Immunol* 2006; 36:1815-26.
- 44) Bao M, Liu YJ. Regulation of TLR7/9 signaling in plasmacytoid dendritic cells. *Protein Cell* 2013; 4:40-52.
- 45) Ishii KJ, Akira S. Toll or toll-free adjuvant path toward the optimal vaccine development. *J Clin Immunol* 2007; 27:363-71.
- bacterial flagellin induces maturation and chemokine production in human dendritic cells. *J Immunol* 2003; 170:5165-75.
- 40) 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; 410:1099-103.
- 41) Hartmann G, Krieg AM. Mechanism and function of a newly identified CpG DNA motif in human primary B cells. *J Immunol* 2000; 164:944-53.
- 42) Krug A, Rothenfusser S, Hornung V, Jahrsdorfer B, Blackwell S, Ballas ZK, et al. Identification of CpG oligonucleotide sequences with high

## Original Article

# Immunologic adjuvants: An overview of Toll-like receptors mechanism of action in triggering the immune responses

Received: 27/04/2018 - Accepted: 22/06/2018

Samira Rashid<sup>1</sup>  
Shahla Shamsavandi<sup>2\*</sup>

*1- MS, Virology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Karaj, Iran.*

*2- Associated professor, Molecular genetics, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Karaj, Iran.*

\* Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Karaj, Iran.

Tel: 09122611468

Email: s.shamsavandi@rvsri.ac.ir

### Abstract

Cytokines play a crucial role in controlling the immune system, and their signals direct the immune response towards either an antibody-mediated or a cell-mediated immunity. These molecules trigger the innate and adaptive immune responses including maturation of antigen presenting cells, differentiation of Th1 and Th2 cells, and induction of natural killer cells and cytotoxic T lymphocytes. Therefore, cytokines could be promising vaccine adjuvants for enhancing the immune response against infectious agents. Dendritic cells are responsible for antigen uptake and presentation to T cells and represent a key target for adjuvant activity. Many proteins are involved in regulating and maintaining homeostasis of the immune system. TLR family of proteins capable of producing cytokines including interferon type I and proinflammatory cytokines lead to express genes involved in immune system function. These proteins are the key regulator of interferon production in fibroblasts and specialized dendritic cells and their role as an adjuvant in the improvement of immune responses is evaluated. In this article, the structure and function of these receptors in triggering immune responses with rely upon their signaling pathways are reviewed.

**Keywords:** Immune responses, Cytokines, TLR, Signaling pathways

**Acknowledgement:** There is no conflict of interest.