مجله علوم پزشکی مدرس: آسیب‌شناسی زیستی
دوره ۱۳، شماره ۲: از ۷۹-۸۶
تابستان ۱۳۸۹

مقاله کوتاه

ارزیابی ایمونولوژیک واکسن پپتیدی HIV-1-P24-Nef با ادجوانت مونوفسفریل لیپید A در موش‌های BALB/c

مهدی مهدوی[۱،۲]، معصومه ابتکار[۳*]، کیهان آزادمنش[۲]، فریدون مهبودی[۴]، حمیدرضا خرم‌خورشید[۵]، فاطمه رهبری‌زاده[۶]، امیر نژادمقدم[۷]، زهیر محمد حسن[۸]

۱- دانش‌آموخته دکتری تخصصی، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه ویروس‌شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۳- دانشیار، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۴- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۵- دانشیار، مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، تهران، ایران
۶- استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۷- کارشناس ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۸- استاد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

دریافت مقاله: ۸۸/۰۷/۰۷ پذیرش مقاله: ۸۸/۱۰/۱۶

چکیده

هدف: واکسن‌های متعددی علیه ویروس نقص ایمنی اکتسابی انسان بررسی شده‌اند؛ اما هیچ‌کدام از واکسن‌ها به‌عنوان واکسن ضد ایدز مورد تأیید قرار نگرفته‌اند. یک راه‌کاری که بتوان پاسخ ایمنی را علیه بیماری‌زاها تقویت نمود، به‌کارگیری یک واکسن چند اپی‌توپی است. این استراتژی علیه واکسن‌های متعددی به‌کار گرفته شده است و پاسخ‌های ایمنی را بهبود بخشیده است.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق یک پپتید الحاقی چند اپی‌توپی شامل قسمت‌هایی از P24 و Nef ویروس نقص ایمنی اکتسابی انسان به‌عنوان کاندید واکسن به موش‌ها تزریق شد و سپس پاسخ‌های ایمنی همورال با سنجش تیتر آنتی‌بادی کل و تعیین زیرکلاس‌های IgG به کمک الایزا مشخص شد. همچنین سنجش پاسخ‌های ایمنی سلولی با بررسی پاسخ‌های تکثیری سلول‌های طحالی با استفاده از MTT و سلول‌کشی با روش آزمایش لاکتات دهیدروژناز بررسی شد. در نهایت الگوی سیتوکین‌های اینترفرون گاما و اینترلوکین-٤ نیز به کمک الایزا مشخص شد.

نتایج: نتایج پژوهش حاضر بیانگر آنست که واکسن کاندید باعث تحریک پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های طحالی موش شده و همچنین پاسخ‌های سلول‌کشی قدرتمندی را نیز القا نموده است. بررسی پاسخ ایمنی همورال نشان داده است که واکسن کاندید باعث تولید آنتی‌بادی اختصاصی شده که اغلب از زیرکلاس IgG2a است. همچنین بررسی الگوی سیتوکینی نشان داده است که ترشح اینترفرون گاما پاسخ غالب بوده است.

نتیجه‌گیری: به‌کارگیری اپی‌توپ‌های ایمونوژن و حفاظت شده از P24 و Nef موجب القای پاسخ‌های ایمنی همورال و سلولی قدرتمندی شده است و می‌توان کاندیدی برای مطالعات بیشتر در مدل‌های حیوانی باشد.

کلیدواژگان: واکسن پپتیدی، HIV-1-P24-Nef، ادجوانت، مونوفسفریل لیپید A، موش BALB/c

***نشانی مکاتبه:** تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی،گروه ایمنی‌شناسی، کدپستی: ۱٤۱۱۷۱۳۱۱٦
Email: ebtekarm@modares.ac.ir

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-17]

۱- مقدمه

با وجود تلاش‌های فراوان در مورد ساخت یک واکسن مؤثر و کارای ضد ویروس نقص سیستم ایمنی انسان (Human Immunodeficiency Virus: HIV)، دسترسی به آن کماکان در پرده‌ای از ابهام قرار دارد [۱]. داروهای ضد عفونت ایدز (Acquired Immunodeficiency Syndrome: AIDS) در پاک‌سازی کامل بدن از عفونت ناتوان بوده‌اند و به‌نظر می‌رسد که شاید یک واکسن مؤثر و کارامد بتواند مشکل پاندمی جهانی را برطرف سازد [۲]. شواهد نشان می‌دهد که برخی از اپی‌توپ‌های موجود در ساختار ویروس HIV ایمونوژن (Immunogene) و حفاظت شده (Conserved) است و پاسخ‌های ایمنی را به‌خوبی تحریک می‌نماید [۳].

پروتئین P24 از ایمونوژن‌ترین پروتئین‌های ویروس HIV است که پاسخ‌های سلول‌کشی (Cytotoxic) ضد آن در کنترل بیماری نقش دارد [٤]. از طرف دیگر یکی از ژن‌های تنظیمی ویروس AIDS که در چرخه زندگی ویروس نیز نقش حیاتی دارد ژن Nef است که به‌عنوان کاندید واکسن، تحقیقات زیادی روی آن صورت گرفته است [۵]. جالب توجه این‌که در پروتئین Nef اپی‌توپ‌های محافظت شده متعددی وجود دارد که در افراد آلوده به AIDS پاسخ‌های سلول‌کشی قدرتمندی علیه آن‌ها مشاهده شده است. این ویژگی‌ها این مناطق را کاندید مناسبی برای واکسن قرار می‌دهد [٦، ۷] پروتئین Nef در بیماری‌زایی ویروس AIDS بسیار اهمیت دارد و در مراحل اولیه چرخه ویروس نقش مهمی برعهده دارد. از سوی دیگر؛ یافته‌های علمی نشان می‌دهد که اپی‌توپ‌های ایمونوژن متعددی در سطح Nef وجود دارد که توسط لنفوسیت‌های B و T شناسایی می‌شود و پاسخ ایمنی قدرتمندی به آن‌ها داده می‌شود [۸، ۹]. بنابراین به‌نظر می‌رسد که استفاده از پروتئین Nef در ساختار یک واکسن کاندید چند اپی‌توپی بتواند کارایی واکسن را ارتقا بخشد.

در پژوهش حاضر با به‌کارگیری پپتید الحاقی (Fusion peptide) HIV-P24-Nef، آثار ایمونولوژیک آن بررسی شد. این ترکیب پروتئینی برای اولین بار، در این پژوهش به‌عنوان کاندید واکسن استفاده شده است بنابراین در تحقیق حاضر پپتید الحاقی HIV-P24-Nef با استفاده از ادجوانت (Adjuvant) مونوفسفریل لیپید A (Monophosphoryl Lipid A: MPLA) به موش‌ها تزریق و پاسخ‌های ایمنی همورال و سلولی بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه پپتید HIV-P24-Nef

پپتید الحاقی HIV-P24-Nef شامل توالی‌های (۱۵۹-۱۷۳) P24 و از (۱۰۲-۱۱۷) Nef توسط شرکت GL Biochem از کشور چین در فاز جامد سنتز شده و با خلوص بالای ۹۵ درصد استفاده شد.

۲-۲- تهیه پپتید HIV-P24-Nef مخلوط در ادجوانت MPLA

برای ایمن نمودن موش‌ها، به ازای هر موش ۲۰ میکروگرم پپتید که در بافر PBS (Phosphate Buffered Saline) حل شده بود، در حجم نهایی ۲۰۰ میکرولیتر در MPLA (Sigma) مخلوط شد و سپس برای تزریق زیر پوستی استفاده شد.

۲-۳- گروه‌های مورد مطالعه و تزریق واکسن کاندید

تعداد ١٦ سر موش BALB/c ماده ٦ تا ۸ هفته‌ای از انستیتو پاستور ایران (کرج) خریداری شد. موش‌ها به چهار گروه چهار تایی تقسیم شدند. به گروه اول ۲۰۰ میکرولیتر شامل ۲۰ میکروگرم آنتی‌ژن مخلوط شده با ادجوانت MPLA و به گروه دوم ۲۰ میکرولیتر آنتی‌ژن در حجم ۲۰۰ میکرولیتر در PBS به‌صورت زیر پوستی تزریق شد. به‌عنوان گروه‌های کنترل به چهار سر موش، ۲۰۰ میکرولیتر بافر PBS و به گروه

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-17]

دیگر ۲۰۰ میکرولیتر ادجوانت MPLA تنها تزریق شد. موش‌ها چهار هفته بعد با شرایط مشابه دوز تقویت کننده (Booster Dose) واکسن کاندید را دریافت نمودند.

۲-٤- بررسی پاسخ‌های تکثیری لنفوسیت‌ها

دو هفته پس از آخرین تزریق پپتید، پاسخ‌های تکثیری با روش استاندارد MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl- 2,5-diphenyltetrazolium bromide) بررسی شد [۱۰]. نتایج پاسخ تکثیری به‌صورت شاخص تحریک (Stimulation Index: SI) با توجه به کنترل هر نمونه از آزمون (جذب سلول‌های تحریک نشده/جذب سلول‌های تحریک شده) محاسبه شد.

۲-۵- بررسی پاسخ لنفوسیت‌های سلول‌کش

با استفاده از روش استاندارد لاکتات دهیدروژناز (Lactate Dehydrogenase: LDH) پاسخ‌های سلول‌کشی بررسی شد. همچنین میزان درصد سلول‌کشی با فرمول ارایه شده در کیت محاسبه شد [۱۰].

۲-٦- بررسی الگوی پاسخ سیتوکینی [اینترفرون گاما (Interferon gamma: IFN-γ) و اینترلوکین ٤ (Interleukin 4: IL-4)]

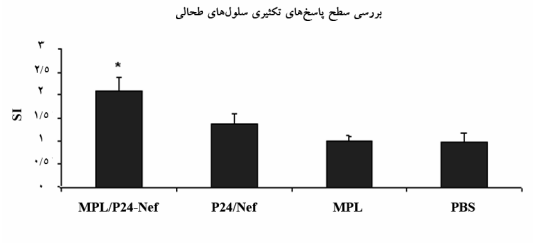
برای بررسی پاسخ الگوی سیتوکینی از سوسپانسیون سلولی به‌دست آمده از طحال در محیط کشت سلولی FBS+RPMI (Fetal Bovine Serum) ۱۰ درصد سوسپانسیونی به تعداد ۳×۱۰^{٦} سلول در هر میلی‌لیتر استفاده شد. سپس سلول‌های طحال در پلیت ۲٤ خانه‌ای با آنتی‌ژن اختصاصی تحریک شدند. بعد از ۷۲ ساعت از کشت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به همراه ۵ درصد CO_2 سوپ رویی جمع‌آوری شد. سنجش سیتوکینی با کمک کیت مخصوص الایزای (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA) سیتوکین موشی (R&D system,USA) صورت گرفت و سپس نسبت IFN-γ/IL-4 محاسبه شد.

۲-۷- بررسی تیتر IgG اختصاصی و زیر کلاس‌های آن

بدین منظور دو هفته پس از آخرین ایمن‌سازی موش‌ها از آن‌ها خون‌گیری نموده و سرم جدا شد. برای سنجش تیتر آنتی‌بادی و زیر کلاس‌های IgG1 و IgG2a از روش ELISA استفاده شد.

۲-۸- بررسی آماری

برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون آنووای یک سویه (One-Way ANOVA) و آزمون توکی (Tukey's test) در سطح ۹۵ درصد اطمینان استفاده شد. همه داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار (SD) بیان شد و P کوچک‌تر از ۰/۰۵ به مفهوم معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد.



نمودار ۱ بررسی پاسخ‌های تکثیری سلول‌های طحالی با روش MTT در گروه‌های مطالعه؛ داده‌ها به‌صورت SI نشان داده شده است و نمودار شامل میانگین ± انحراف معیار است. واکسن کاندید به همراه MPL موجب افزایش معنی‌دار پاسخ‌های تکثیری سول‌های طحال نسبت به پپتید بدون ادجوانت (P=۰/۰٤۵) و گروه‌های کنترل (P=۰/۰۰۱) شده است. بین پپتید تنها و گروه‌های کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. (*: اختلاف معنی‌دار)

۳- نتایج

۳-۱- پاسخ تکثیری لنفوسیت‌ها به واکسن

یافته‌ها بیانگر آنست که تزریق پپتید مخلوط شده با

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-17]

ادجوانت موجب افزایش پاسخ‌های تکثیری می‌شود (نمودار ۱)، به‌گونه‌ای که با گروه آنتی‌ژن تنها (P=۰/۰٤٥) و همچنین گروه‌های کنترل (P=۰/۰۰۱) اختلاف معنی‌داری دارد، اما تزریق پپتید تنها فاقد چنین اثری بوده است.

۳-۲- بررسی پاسخ سلول‌کشی

بررسی پاسخ‌های CTL (Cytotoxic T Lymphocyte) با استفاده از روش سنجش LDH نشان داده است که تزریق پپتید مخلوط شده با ادجوانت در نسبت ۱/۵۰ با گروه آنتی‌ژن تنها (P<۰/۰۰۱) و گروه‌های کنترل (P<۰/۰۰۱) و ۱/۱۰۰ با گروه آنتی‌ژن تنها (P<۰/۰۰۲) و گروه‌های کنترل (P<۰/۰۰۱) اختلاف معنی‌داری دارد (جدول ۱). اما در گروهی که آنتی‌ژن تنها را دریافت نموده‌اند تنها در نسبت ۱/۱۰۰ توانسته است با گروه‌های کنترل اختلاف معنی‌داری ایجاد نماید (P<۰/۰٤۷) و در گروه‌های کنترل هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده است.

جدول ۱ بررسی سلول‌کشی سلول‌های طحالی در گروه‌های مطالعه؛ داده‌ها به‌صورت درصد سلول‌کشی نشان داده شده است و جدول شامل میانگین ± انحراف معیار است. تزریق واکسن کاندید به همراه MPL موجب افزایش معنی‌دار پاسخ‌های سلول‌کشی در نسبت‌های ۵۰ و ۱۰۰ به تمامی گروه‌ها (P=۰/۰۰۱) شده است. تزریق پپتید بدون ادجوانت افزایش معنی‌دار پاسخ‌های سلول‌کشی در نسبت‌های ۱۰۰ به تمامی گروه‌های کنترل (P=۰/۰٤۷) را نشان می‌دهد (*: اختلاف معنی‌دار).

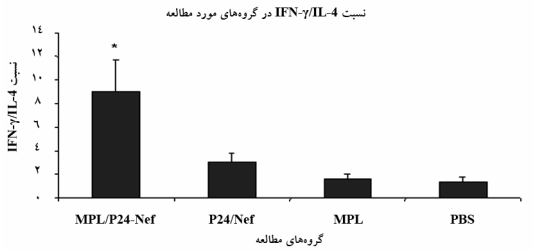
نسبت سلول مؤثر به هدف	گروه‌ها	MPL/P24-Nef (درصد سلول‌کشی)	P24-Nef (درصد سلول‌کشی)	MPL (درصد سلول‌کشی)	PBS (درصد سلول‌کشی)
۱/۵۰±SD		۳۸/۹±٤/۳*	۹/۰۳±۲/۱۱	٦/۳±۱/۹	٦/۳±۱/۷۷
۱/۱۰۰±SD		۱٤/۱۲±۳/۸۸	۱۳/٦±۳/۸۲	*۲۵±٦/۵۱	*٦۳/۵۷±۹/۳

۳-۳- الگوی سیتوکینی

یافته‌های حاضر نشان می‌دهد که با تزریق واکسن کاندید به همراه ادجوانت MPLA نسبت IFN-γ/IL-4 به‌طور معنی‌داری (نمودار ۲) نسبت به سایر گروه‌ها افزایش می‌یابد (P<۰/۰۰۱). تزریق پپتید بدون ادجوانت تغییر محسوسی نسبت به گروه‌های کنترل و هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری با این گروه‌ها ندارد (P<۰/٤۰۱).

۳-٤- تیتر آنتی‌بادی اختصاصی

بررسی سطح آنتی‌بادی اختصاصی پپتید پس از ایمن‌سازی ثانویه نشان می‌دهد (نمودار ۳) که سطح پاسخ‌های آنتی‌بادی در گروه دریافت کننده واکسن کاندید به همراه ادجوانت با تمامی گروه‌ها اختلاف معنی‌داری دارد (P<۰/۰۰۱). همچنین تزریق پپتید بدون استفاده از ادجوانت نیز موجب القای پاسخ آنتی‌بادی شده است اما در مقایسه با گروه‌های کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (P>۰/۰۵۷).



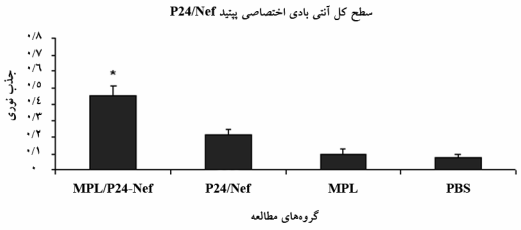
نمودار ۲ بررسی نسبت IFN-γ/IL-4 در گروه‌های مطالعه؛ داده‌ها به‌صورت SI نشان داده شده است و نمودار شامل میانگین ± انحراف معیار است. تزریق واکسن کاندید به همراه MPL موجب افزایش معنی‌دار نسبت IFN-γ/IL-4 در مقایسه با تمامی گروه‌ها (P=۰/۰۰۱) شده است. تزریق پپتید بدون ادجوانت چنین اثری در مقایسه با گروه‌های کنترل (P=۰/۰٦۷) نداشته است. (*: اختلاف معنی‌دار)

۳-۵- تعیین زیر کلاس‌های آنتی‌بادی اختصاصی

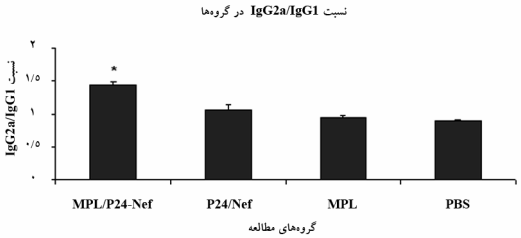
یافته‌های حاضر نشان می‌دهد (نمودار ٤) که تزریق واکسن کاندید به همراه ادجوانت MPLA موجب افزایش سطح آنتی‌بادی اختصاصی IgG2a می‌شود و به دنبال آن موجب افزایش معنی‌دار نسبت IgG2a/IgG1 در مقایسه با گروه‌های

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-17]

کنترل شد (P<۰/۰۰۱۷).



نمودار ۳ بررسی سطح آنتی‌بادی کل اختصاصی؛ داده‌ها به‌صورت SI نشان داده شده است و نمودار شامل میانگین ± انحراف معیار است. با تزریق واکسن کاندید به همراه MPL افزایش معنی‌دار سطح پاسخ‌های آنتی‌بادی اختصاصی نسبت به تمامی گروه‌ها (P=۰/۰۰۱) مشاهده می‌شود. تزریق پپتید بدون ادجوانت چنین اثری در مقایسه با گروه‌های کنترل (P=۰/۰۵۷) نداشته است. (*: اختلاف معنی‌دار)



نمودار ٤ بررسی در گروه‌های مطالعه؛ داده‌ها به‌صورت SI نشان داده شده است و نمودار شامل میانگین ± انحراف معیار است. با تزریق واکسن کاندید به همراه MPL افزایش معنی‌دار نسبت IgG2a/IgG1 نسبت به تمامی گروه‌ها (P=۰/۰۰۱۷) مشاهده می‌شود. (*: اختلاف معنی‌دار)

٤- بحث

استفاده از چند اپی‌توپ ایمونوژن در ساختار یک واکسن کاندید، راهکار مؤثری است که امروزه بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است. اساس این تفکر تحریک جمعیت‌های سلولی اختصاصی چند اپی‌توپ ایمونوژن و حفاظت شده علیه بیماری‌زای مورد نظر است و از این رو این پدیده موجب گسترش شدید پاسخ ایمنی علیه عامل بیماری‌زا شده و پاک‌سازی آن را از بدن بیمار آسان می‌کند [۱۱]. بررسی پاسخ‌های تکثیری سلول‌های طحالی متعاقب تزریق پپتید با استفاده از ادجوانت MPLA نشان می‌دهد که پپتید باعث افزایش پاسخ‌های تکثیری در مقایسه با سایر گروه‌ها شده است. از سوی دیگر بررسی پاسخ‌های سلول‌کشی نیز نشان داده است که واکسن کاندید موجب القای قدرتمند پاسخ‌های CTL شده است. این یافته‌ها نشان می‌دهد که واکسن کاندید قادر به القای پاسخ‌های ایمنی سلولی است. در حقیقت پاسخ‌های ایمنی سلولی از پارامترهای مهم در کنترل عفونت‌های ویروسی خصوصاً در AIDS است و القای این شاخه از پاسخ‌های ایمنی می‌تواند یکی از ویژگی‌های مهم یک واکسن مؤثر باشد [۱۲]. بررسی عفونت تجربی در مدل میمون نشان داده است که حذف جمعیت لنفوسیت‌های سلول‌کش منجر به گسترش عفونت می‌شود و این یافته علمی نشان می‌دهد که پاسخ‌های ایمنی سلولی به‌ویژه پاسخ‌های سلول‌کشی در کنترل عفونت AIDS نقش حیاتی دارند و بنابراین تقویت پاسخ‌های سلول‌کشی یکی از ویژگی‌های کلیدی یک واکسن مؤثر ضد AIDS است. تحقیقات متعددی در مورد آنتی‌ژن‌های P24 و Nef نشان داده است که این دو پروتئین قادر به تحریک ایمنی سلولی هستند. ژانگ (Zhang) و همکاران با استفاده از اپی‌توپ‌های متعددی از P24 به سطوح بالایی از ایمنی سلولی دست یافتند [۱۳]. در مطالعه‌ای دیگر استریک (Streeck) و همکارانش نیز پاسخ‌های CTL قدرتمندی علیه برخی از اپی‌توپ‌های P24 در بیماران مبتلا به AIDS مشاهده نمودند [١٤]. همچنین مطالعات متعددی وجود دارد که همگی بیانگر القای پاسخ‌های ایمنی سلولی توسط پروتئین Nef است [۷]. در تحقیق حاضر، با استفاده از پپتید الحاقی دو پروتئین مذکور القای پاسخ‌های ایمنی مشاهده شد. در مرحله بعدی به مطالعه روی سیتوکین‌های IL-4 و IFN-γ پرداخته شد. یافته‌های بررسی حاضر، نشان می‌دهد که تزریق پپتید با استفاده از ادجوانت MPLA موجب القای قدرتمند سیتوکین IFN-γ و افزایش معنی‌دار نسبت IFN-γ/IL-4 می‌شود. الگوی Th1 (T helper 1) در مقابله با عفونت‌های ویروسی و القای پاسخ‌های ایمنی سلولی، به‌ویژه پاسخ‌های CTL بسیار اهمیت دارد [۱۵]. اعتقاد بر اینست که القای الگوی سیتوکینی Th1 با پاسخ‌های

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-17]

ایمنی سلولی قدرتمندی همراه است که بـه دنبـال آن بـا مهـار پیشروی به سمت بیماری AIDS همراه است [۱٦]. بنابراین در طراحی یک واکسن کاندید، کسب الگوی پاسخ‌های سـیتوکینی Th1 باید از ملزومات طراحی واکـسن باشـد. یافتـه‌هـای ایـن پژوهش نشان می‌دهد می‌توان با به‌کـارگیری پپتیـد مـذکور بـه الگوی Th1 دست یافت. در این تحقیـق همچنـین پاسـخ‌هـای ایمنی همورال نیز بررسی شد. یافته‌های حاضر نشان می‌دهد که ایمن‌سازی مـوش‌هـا بـا واکـسن کاندیـد بـه همـراه ادجوانـت MPLA موجب افزایش معنی‌دار آنتی‌بادی اختصاصی می‌شـود و نوع پاسخ آنتی‌بادی غالب از کلاس IgG2a است. آنتی‌بـادی IgG1 بیانگر الگوی Th2 بوده و IgG2a در موش بیانگر Th1 است [۱۰] و این نتایج، یافته‌های دیگر ایـن پـژوهش را تأییـد می‌نماید که الگوی پاسخ ایمنی ایجاد شده از نـوع Th1 اسـت. از آن‌جایی که پاسخ آنتی‌بادی در پاک‌سازی ویروس‌ها از خـون مبتلایان به عفونت AIDS بسیار اهمیت دارد [۱۷]، این یکی از نقاط قوت واکسن کاندید در بررسی حاضر است زیرا یافتـه‌هـا نشان داده که واکسن کاندید در مطالعه حاضر قادر است ایمنی همورال را نیز تحریک نماید. از سوی دیگر یافتـه‌هـای تحقیـق حاضر نشان می‌دهد که تزریق پپتید بدون اسـتفاده از ادجوانـت باعث عدم تحریک و یا تحریک بسیار ضـعیف سیـستم ایمنـی می‌شود و این بیانگر نقش مهم ادجوانت‌ها در افـزایش کـارایی واکسن است. با توجه به نتایج این بررسی مـی‌تـوان گفـت کـه واکسن کاندید مطالعه حاضر پاسخ‌های ایمنی سلولی و همورال را بـه‌خـوبی تحریـک نمـوده و الگـوی خـوبی از پاسـخ‌هـای سیتوکینی Th1 را القا مـی‌نمایـد؛ بنـابراین شـاید بـه مطالعـات تکمیلی دیگـری هـم نیـاز باشـد تـا در نهایـت بـرای مراحـل آزمایش‌های انسانی معرفی شود.

۵- تشکر و قدردانی

بـدین‌وسـیله از دانـشگاه تربیـت مـدرس بـه دلیـل تـأمین بخـشی از هزینـه ایـن پـژوهش قـدردانی مـی‌شـود. همچنـین نویسندگان از خانم‌ها مرضیه هلاکوئی و دکتر گلکـار تقـدیر و تشکر می‌نمایند.

٦- منابع

[1] Watkins DI. The hope for an HIV vaccine based on induction of CD8+ T lymphocytes--a review. Mem Inst Oswaldo Cruz 2008; 103(2): 119-29.

[2] Cristillo AD, Wang S, Caskey MS, Unangst T, Hocker L, He L, Hudacik L, Whitney S, Keen T, Chou TH, Shen S, Joshi S, Kalyanaraman VS, Nair B, Markham P, Lu S, Pal R. Preclinical evaluation of cellular immune responses elicited by a polyvalent DNA prime/protein boost HIV-1 vaccine. Virology 2006; 346(1): 151-68.

[3] Pal R, Wang S, Kalyanaraman VS, Nair BC, Whitney S, Keen T, Hocker L, Hudacik L, Rose N, Cristillo A, Mboudjeka I, Shen S, Wu-Chou TH, Montefiori D, Mascola J, Lu S, Markham P. Polyvalent DNA prime and envelope protein boost HIV-1 vaccine elicits humoral and cellular responses and controls plasma viremia in rhesus macaques following rectal challenge with an R5 SHIV isolate. J Med Primatol 2005; 34(5-6): 226-36.

[4] Rubio Caballero M, Rubio Rivas C, Nogués Biau A, Falguera Sacrest M, Manonelles Fernández A. [Survival and disease progression in 251 patients with HIV-1 infection. Study of p24 antigen and viral burden as prognosis makers. Their value at 4 years of follow-up]. An Med Interna 2001; 18(10): 517-20.

[5] Liang X, Fu TM, Xie H, Emini EA, Shiver JW.

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-17]

Development of HIV-1 Nef vaccine components: immunogenicity study of Nef mutants lacking myristoylation and dileucine motif in mice. Vaccine 2002; 20(27-28): 3413-21.

[6] Currier JR, Visawapoka U, Tovanabutra S, Mason CJ, Birx DL, McCutchan FE, Cox JH. CTL epitope distribution patterns in the Gag and Nef proteins of HIV-1 from subtype A infected subjects in Kenya: use of multiple peptide sets increases the detectable breadth of the CTL response. BMC Immunol 2006; 7: 8.

[7] Bråve A, Gudmundsdotter L, Gasteiger G, Hallermalm K, Kastenmuller W, Rollman E, Boberg A, Engström G, Reiland S, Cosma A, Drexler I, Hinkula J, Wahren B, Erfle V. Immunization of mice with the nef gene from Human Immunodeficiency Virus type 1: Study of immunological memory and long-term toxicology. Infect Agent Cancer 2007; 2: 14.

[8] Peng B, Voltan R, Cristillo AD, Alvord WG, Davis-Warren A, Zhou Q, Murthy KK, Robert-Guroff M. Replicating Ad-recombinants encoding non-myristoylated rather than wild-type HIV Nef elicit enhanced cellular immunity. AIDS 2006; 20(17): 2149-57.

[9] Thakar MR, Bhonge LS, Lakhashe SK, Shankarkumar U, Sane SS, Kulkarni SS, Mahajan BA, Paranjape RS. Cytolytic T lymphocytes (CTLs) from HIV-1 subtype C-infected Indian patients recognize CTL epitopes from a conserved immunodominant region of HIV-1 Gag and Nef. J Infect Dis 2005; 192(5): 749-59.

[10] Jamali A, Mahdavi M, Hassan ZM, Sabahi F, Farsani MJ, Bamdad T, Soleimanjahi H, Motazakker M, Shahabi S. A novel adjuvant, the general opioid antagonist naloxone, elicits a robust cellular immune response for a DNA vaccine. Int Immunol 2009; 21(3): 217-25.

[11] Kmieciak D, Bolesta E, Naito T, Gzyl J, Kaneko Y, Kozbor D. Enhancement of cellular and humoral immune responses to human immunodeficiency virus type 1 Gag and Pol by a G/P-92 fusion protein expressing highly immunogenic Gag p17/p24 and Pol p51 antigens. J Hum Virol 2001; 4(6): 306-16.

[12] Promkhatkaew D, Pinyosukhee N, Thongdeejaroen W, Teeka J, Wutthinantiwong P, Leangaramgul P, Sawanpanyalert P, Warachit P. Prime-boost immunization of codon optimized HIV-1 CRF01_AE Gag in BCG with recombinant vaccinia virus elicits MHC class I and II immune responses in mice. Immunol Invest 2009; 38(8): 762-79.

[13] Zhang L, Jin N, Song Y, Wang H, Ma H, Li Z, Jiang W. Construction and characterization of a recombinant fowlpox virus containing HIV-1 multi-epitope-p24 chimeric gene in mice. Sci China C Life Sci 2007; 50(2): 212-20.

[14] Streeck H, Lichterfeld M, Alter G, Meier A, Teigen N, Yassine-Diab B, Sidhu HK, Little S, Kelleher A, Routy JP, Rosenberg ES, Sekaly RP, Walker BD, Altfeld M. Recognition of a defined region within p24 gag by CD8+ T cells during primary human immunodeficiency virus type 1 infection in individuals expressing protective HLA class I alleles. J Virol 2007; 81(14): 7725-31.

[15] Dai B, Yang L, Yang H, Hu B, Baltimore D, Wang P. HIV-1 Gag-specific immunity

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-17]

vaccine candidate in Indian volunteers. AIDS Res Hum Retroviruses 2009; 25(11): 1107-16.

[17] Koopman G, Mortier D, Hofman S, Mathy N, Koutsoukos M, Ertl P, Overend P, van Wely C, Thomsen LL, Wahren B, Voss G, Heeney JL. Immune-response profiles induced by human immunodeficiency virus type 1 vaccine DNA, protein or mixed-modality immunization: increased protection from pathogenic simian-human immunodeficiency virus viraemia with protein/DNA combination. J Gen Virol 2008; 89(Pt 2): 540-53.

induced by a lentivector-based vaccine directed to dendritic cells. Proc Natl Acad Sci USA 2009; 106(48): 20382-7.

[16] Ramanathan VD, Kumar M, Mahalingam J, Sathyamoorthy P, Narayanan PR, Solomon S, Panicali D, Chakrabarty S, Cox J, Sayeed E, Ackland J, Verlinde C, Vooijs D, Loughran K, Barin B, Lombardo A, Gilmour J, Stevens G, Smith MS, Tarragona-Fiol T, Hayes P, Kochhar S, Excler JL, Fast P. A Phase 1 study to evaluate the safety and immunogenicity of a recombinant HIV type 1 subtype C-modified vaccinia Ankara virus

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-17]