تغییرات ژنتیکی ویروس و فرار از سامانه ایمنی، چالش‌های پیش‌رو علیه آنفلوآنزا: *مقاله مروری*

شهلا شاهسوندی*

گروه ژنتیک مولکولی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، کرج، ایران.

چکیده

دریافت: ۱۳۹٤/۰۳/۰٦ پذیرش: ۱۳۹٤/۰۵/۰٤ آنلاین: ۱۳۹٤/۰٦/۱٦

پراکندگی ویروس‌های آنفلوآنزا در گونه‌های مختلف پرندگان و پستانداران تهدید جدی جمعیت‌های انسانی و حیوانی در سطح جهانی است. انتقال مستقیم ویروس‌هایی که دارای گیرنده‌های اختصاصی اسید سیالیک شبیه ویروس‌های آنفلوآنزا انسانی هستند هشداری برای پیدایش یک سویه جهش یافته جدید است که به‌احتمال شاخصه‌های مولکولی برای تکثیر آسان در میزبان انسانی را کسب کرده و می‌تواند به‌سهولت از فردی به فرد دیگر منتقل شود. تغییرات ژنتیکی، بازپدیدی و نوپدیدی واریته‌های آنتی‌ژنی و انتقال ویروس آنفلوآنزا پرندگان به انسان اقدامات گسترده برای کنترل جهان‌گیری را می‌طلبد. واکسیناسیون، پیشگیری دارویی و محافظت فردی ابزارهای برخورد با عفونت ویروسی هستند. پدیدار شدن سویه‌های مقاوم تحت فشار انتخابی دارو و کارایی محدود آنها در موارد پرخطر، نیاز به راهبردهای درمانی جدید را بیش‌تر می‌کند. در سال‌های اخیر ترکیباتی که بر مراحل مختلف چرخه زندگی ویروس اثر می‌گذارند معرفی و دامنه گسترده‌ای از راهبردهای ضد ویروسی شامل بازداشتن ورود و توقف تکثیر ویروس یا هدف قرار دادن مسیرهای انتقال پیام داخلی سلولی ارایه شده‌اند. واکسن‌های غیرفعال فقط پاسخ سلول‌های B را برمی‌انگیزند. کاربرد این واکسن در نتیجه پدیدار شدن واریته‌های آنتی‌ژنی جدید ویروس با محدودیت‌هایی مواجه شده است. در دهه اخیر طراحی واکسن‌های ژنی با هدف قرار دادن پروتیین‌های ویروسی که پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی را القا می‌کنند، مورد توجه بوده است. افزایش و هدایت این پاسخ‌ها با بهره‌گیری از یاور قابل دستیابی است. توانایی یاورهای مولکولی زیستی مانند سایتوکین‌ها، اینترلوکین‌ها، و مشتقات باکتریایی برای بهبود ایمنی‌زایی واکسن‌ها به‌عنوان راهبردی نوین در حال ارزیابی است، هر چند پروتیین‌های تنظیم‌کننده سامانه ایمنی توجه بیش‌تری را به خود معطوف کرده‌اند.

کلمات کلیدی: آنفلوآنزا، تغییرات ژنومی، پیشگیری و کنترل، ایمن‌سازی.

* نویسنده مسئول: کرج، خیابان شهید دکتر بهشتی، کدپستی: ۳۱۹۷٦۱۹۷۵۱ تلفن: ۰۲٦-۳٤٥۷۰۰۳۸
E-mail: s.shahsavandi@rvsri.ac.ir

آنفلوآنزا RNA ویروس پوشش‌دار متعلق به خانواده *ارتومیکسوویریده* (*Orthomyxoviridae*) با قطبیت منفی و ژنوم هشت قطعه‌ای است که چندین پروتیین شامل نوکلئوپروتیین NP، پروتیین‌های داخلی پلیمرازی PB1، PB1-F2، PB2 و PA، گلیکوپروتیین‌های سطحی هماگلوتینین (HA) و نورآمینیداز (NA)، پروتیین‌های ماتریکس M1 و M2 و پروتیین‌های غیرساختمانی NS1 و NS2 را رمزدهی می‌کند.[۱و۲] سه پلی‌پپتید HA، NA و M به غشای لیپیدی میزبان تمایل داشته و سایر پروتیین‌ها در مورفوژنز ویرون‌ها با جوانه زدن از غشا پلاسمایی دخالت دارند. هدف اولیه ویروس آنفلوآنزا سلول‌های مژه‌دار اپی‌تلیال مخاط تنفسی است.[۳] شروع عفونت آنفلوآنزا نتیجه اتصال HA ویروس به گیرنده‌های حاوی سیالیک اسید در زنجیره‌های جانبی کربوهیدراتی در سطح گلیکوپروتیینی و گلیکولیپیدی سلول‌های اپی‌تلیال مانند بینی، نای و شش‌های پستانداران و روده‌های پرندگان است.[٤] ویروس متصل‌شده

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-22]

توسط اندوسیتوز وارد وزیکول‌های اندوزومی سلول می‌شود. سلول‌های اپی‌تلیوم تنفسی دارای سرین پروتئازهایی هستند که پروتیین HA ویروس را برش داده و در نتیجه شرایط ورود و تکثیر اولیه این ویروس را فراهم می‌کنند.[۵و۶] برش پس از ترجمه HA0 به‌عنوان پیش‌ساز مولکول HA به زیرواحدهای HA1 و HA2 توسط پروتئازهای سلول میزبان، یک دُمین اتصال در انتهای آمینی آن ایجاد می‌کند که واسطه جوش‌خوردگی بین پوشش ویروس و غشا اندوزومی سلول میزبان است.[۷]

پروتیین M2 که کوچک‌ترین جز ویریون‌ها است دارای فعالیت کانال یونی است. این پروتیین در زیر غشای لیپیدی ویروس قرار دارد و به‌صورت پلی بین هسته درونی ویروس و پروتیین‌های غشایی عمل کرده و به‌عنوان یک کانال یونی pH دستگاه گلژی را تنظیم می‌کند.[۸] طی مرحله برهنه‌شدن ویریون، این کانال در pH پایین و با ورود یون‌ها به داخل اندوزوم‌ها فعال می‌شود. توانایی انتخاب یون در کانال یونی M2 بر این دلالت دارد که این کانال یونی برای یون‌های H بسیار اختصاصی است. در واقع عملکرد دیگر آن پایدارکردن HA در شبکه ترانس گلژی و جلوگیری از برش آن توسط پروتئازهای سلولی است.

شرایط pH پایین با ایجاد تغییر شکل در ساختار HA این مولکول را به برش توسط پروتئازهای سلول میزبان حساس می‌کند. تغییر شکل فضایی سبب می‌شود انتهای آمینی و آب‌دوست HA2 در معرض قرار گیرد و پس از هم‌جوشی غشا اندوزم سلول میزبان با غشا ویروس، RNP به داخل سیتوپلاسم وارد شود.[۹و۱۰] با اسیدی شدن محیط اندوزم پروتون‌ها از طریق کانال یونی M2 از میان غشا ویروس عبور می‌کنند، این عمل سبب متلاشی شدن هسته و جدا شدن ریبونوکلئوپروتیین‌های ویروس (vRNP) از پروتیین M1، رهاسازی این مولکول‌ها و پروتیین‌های کمکی و RNA پلی‌مراز وابسته به RNA به داخل سیتوپلاسم می‌شود.[۸و۱۱]

vRNAهای رها شده درون سیتوپلاسم توسط پیام‌های داخل سلولی موقعیت‌یابی هسته‌ای روی NP شناسایی شده و وارد هسته می‌شوند تا ژنوم ویروس بیان شود. بیان ژنوم ویروس شامل رونویسی از vRNA، ترجمه mRNAهای ویروسی برای تولید پروتیین‌های ویروسی، اصلاحات پس از رونوشت آنها، و سرهم شدن اجزا ساختمانی ویروس آنفلوآنزا و آزادسازی ویروس‌های تولید شده طی عمل جوانه‌زدن است. در هسته رونویسی از mRNAهای ویروسی از انتهای ′۳ قطعات RNA کلاهک‌دار برش‌خورده آغاز می‌شود. پروتیین‌های پلی‌مرازی و قطعات RNA در هسته به‌هم متصل شده و کمپلکس RNP را می‌سازند. کمپلکس‌های RNP جدید از هسته خارج شده و برای اینکه به پروتیین ترجمه شوند به سیتوپلاسم می‌روند و در غشا سلولی همراه با دیگر پروتیین‌ها به‌صورت ویروس سرهم می‌شوند. vRNPها به غشا سلول آمده در ویریون‌های جدید گنجانده شده و جوانه می‌زنند.[۱۲-۱۴]

در آغاز جوانه زدن، پروتیین M2 به‌صورت تاخیری بیان می‌شود. این پروتیین در سرهم شدن ویریون، بریده شدن غشا و آزادسازی ویروس نقش دارد. بدین‌ترتیب که M2 به‌واسطه M1 در ناحیه گردن جوانه یعنی مرز بین ویریون و توده غشای پلاسمایی مستقر شده و با وارد کردن مارپیچ‌اش به درون غشا و تغییر دادن خط انقباض، خمیدگی غشایی مثبت را ایجاد می‌کند. به‌نظر می‌رسد این خمیدگی نیروی نهایی برای بریده شدن غشا و آزاد شدن ویریون‌های جوانه زده باشد. ویریون‌ها در نتیجه برهمکنش HA و موتیف‌های اسید سیالیک سطح سلول به غشا متصل می‌مانند.[۱۵و۱۶]

گلیکوپروتیین NA که سیالیداز نیز نامیده می‌شود یک پروتیین انتقال غشایی نوع II است که دارای فعالیت‌های آنزیمی ضروری برای ایجاد عفونت و تکثیر ویروسی است و با شکستن پیوند α-کتوسیدیک (α-ketosidic) بین انتهای اسید سیالیک و قند مجاور آن، مانع واکنش گیرنده HA می‌شود. برداشته شدن اسید سیالیک از قند برای جلوگیری از تجمع ویروس پس از رهایی از سلول لازم است. با حذف بقایای این اسید، سبب رهاسازی ویروس از سلول آلوده شده میزبان و ورود آن به سلول دیگر می‌شود.[۷]

آنفلوآنزای انسانی را می‌توان ریشه‌کن کرد زیرا تمام تحت تیپ‌های ویروس آنفلوآنزا A در پرندگان آبزی و مهاجر وجود دارند که به انسان منتقل می‌شوند. هر قطعه از ژنوم ویروس آنفلوآنزا یک واحد رونویسی جداگانه است. این امر احتمال بروز خطا در همانندسازی RNA و تغییر در سرهم شدن و بسته‌بندی ویریون را بسیار زیاد می‌کند. به‌دلیل عدم وجود عملکرد تصحیح اشتباه آنزیم RNA پلی‌مراز وابسته به RNA که ژنوم ویروسی را رونویسی می‌کند، به‌طور تقریبی در هر ده هزار نوکلئوتید از طول vRNA ویروس آنفلوآنزا یک خطا ایجاد می‌کند. این بدان معنی است چنانچه به‌هنگام تکثیر

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-22]

ویروس‌های آنفلوآنزا اختلالاتی در ترکیب ژنوم آنها ایجاد شود این ویروس‌ها توانایی تصحیح اشتباه را نداشته و نمی‌توانند خطاهای ایجاد شده را ترمیم کنند. از نظر تئوری، ژن‌های ویروس در اثر جهش‌های بی‌اثر ممکن است دچار تغییر شده و ۲۵۶ ترکیب مختلف RNA یا نسخه‌های ناقص از درهم آمیختن هشت قطعه ژنوم این ویروس طی همانندسازی ایجاد شوند. این عمل سبب ایجاد جهش آنتی‌ژنی و تغییر در آنتی‌ژن‌های سطحی ویروس‌های آنفلوآنزا می‌شود که به‌تدریج با جهش‌های نقطه‌ای (دریفت آنتی‌ژنی) یا به‌طور موثر با بازآرایی ژنی (شیفت آنتی‌ژنی) تغییر می‌کند. جهش شامل جایگزینی، حذف و اضافه شدن نوکلئوتیدها است که در همه ژن‌های ویروس‌های آنفلوآنزا تیپ A و به‌میزان کمتری در ویروس‌های تیپ B رخ می‌دهند.[۳و۴] انتشار سریع سویه‌های نوپدید و بازپدید ویروس آنفلوآنزا و انتقال مستقیم برخی از سویه‌های پرندگان به انسان ضرورت استفاده از راهبردهای پیشگیری و کنترل علیه بیماری آنفلوآنزا را افزایش داده و سبب شده تا توجه سازمان‌های متولی بهداشت به‌سمت ارتقا و بهینه‌سازی روش‌های درمان و واکسیناسیون معطوف شود. در حال حاضر دو دسته دارو برای درمان آنفلوآنزای انسانی وجود دارد:[۱۷]

۱- بازدارنده‌های گلیکوپروتیین NA که از آزادسازی ویریون‌های جدید جلوگیری می‌کنند اما اثری بر روی تکثیر ویروس در سلول میزبان ندارند شامل اوسلتامی‌ویر (Oseltamivir) و زانی‌می‌ویر (Tamiflu). مهار این پروتیین سبب می‌شود ویریون‌های آنفلوآنزا تکثیر یافته در سلول آزاد نشده و نمی‌توانند سایر سلول‌های میزبان را مورد تهاجم قرار دهند. گزارش شده است جهش در اسیدآمینه ۲۷٤ پروتیین NA تحت تیپ N1 با جایگزینی تیروزین با هیستیدین و در تحت تیپ N2 با جایگزینی آرژنین با لیزین در موقعیت ۲۹۲ و گلوتامیک اسید با والین در موقعیت ۱۱۹ سبب بروز مقاومت ویروس در برابر اوسلتامی‌ویر می‌شود.[۱۸]

۲- بازدارنده‌های پروتیین M2 که عمل کانال یونی را متوقف می‌کنند شامل آمانتادین (Amantadine) و ریمانتادین (Rimantadine). این داروها زمانی اثرگذار هستند که بی‌درنگ پس از تشخیص عفونت مصرف شوند، زیرا پروتیین M2 یک پروتیین انتقال غشایی است که در انتقال انتخابی پروتون‌ها و در نتیجه اسیدی کردن pH درون ویروس و بلوغ گلیکوپروتیین HA نقش دارد. اسیدی شدن محیط درونی ویروس سبب جدا شدن پروتیین M1 از NP می‌شود، این امر برای رها شدن ژنوم ویروس از داخل کپسید و ورود آن به هسته سلول نیاز است. داروهای خانواده (Adamantane) برای درمان عفونت آنفلوآنزا پرندگان داروهای انتخابی نیستند زیرا به‌سرعت در برابر آنها مقاومت ایجاد می‌شود. ویروس‌های مقاوم حدت زیادی داشته و بسیار مسری هستند.

براساس پژوهش‌های سازمان بهداشت جهانی، ویروس H1N1 موسوم به آنفلوآنزای خوکی سال ۲۰۰۹، ویروس‌های H5N1 که از همه‌گیری‌های اواخر سال ۲۰۰۳ به بعد در جنوب شرقی آسیا جدا شده‌اند، و نیز برخی از ویروس‌های H9N2 به داروی آمانتادین مقاومند.[۱۹] دامنه اثر این داروها به ویروس‌های آنفلوآنزا A محدود می‌شود زیرا ویروس‌های نوع B فاقد M2 هستند.[۲۰] داروهای رایج کارایی محدودی در درمان آنفلوآنزا در جمعیت‌ها و گونه‌های متفاوت دارند. با توجه به میزان بالای رخداد مقاومت ویروس آنفلوآنزا نسبت به آنها به‌ویژه در بیماران مبتلا به نقص ایمنی، طراحی داروهای جدید که فعالیت‌های ویژه ویروس را هدف قرار داده و سبب توقف یک یا چند مرحله از چرخه عفونت‌زایی آن شوند بیش از پیش نیاز است. در سال‌های اخیر بیش‌تر پژوهش‌ها بر روی بازداشتن پیوند ویروس به سلول میزبان، فعالیت RNA پلی‌مراز ویروس و برهمکنش‌های سلول میزبان-ویروس متمرکز شده‌اند شامل:

گلیکوپروتیین HA یک مولکول تریمر میله‌ای‌شکل است که در سطح ویرون‌ها بیان می‌شود. در مرحله اولیه عفونت، به‌طور اختصاصی به گیرنده‌های اسید سیالیک سلول میزبان متصل شده و پس از هم‌جوشی غشاهای ویروس و سلول وارد سیتوپلاسم می‌شود. برهمکنش HA با گیرنده‌های سلولی به‌طور موثر توسط ماکرومولکول‌های مصنوعی مرکب از بقایای اسید سیالیک کونژوگه با گلیکان، گلیکوپپتید یا پلی آکریل آمید بازداشته می‌شود.[۲۱]

ترکیبات آلی کوچک مانند کوئینون (Quinone) و مشتقات بنزآمید و پودوکارپیک اسید (Podocarpic acid) بازدارنده‌های هم‌جوشی غشایی هستند. اگرچه این ترکیبات در شرایط آزمایشگاهی خاصیت ضد ویروسی برجسته نشان می‌دهند، اما بیشتر آنها سمی هستند و مجوز مصرف انسانی ندارند.[۲۲] داروی نوترکیب فلوداز (Fludase) یا DAS181 نتیجه‌ی پیوند ژن سیالیداز باکتری *اکتینومایسس ویزکوزوس* (*Actinomyces vesicosus*) که فلور دهان

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-22]

انسان می‌باشد با دُمین اپی‌تلیال سلول‌های میزبان است. این دارو با عملکرد آنزیمی گیرنده‌های اسید سیالیک را از سلول‌های اپی‌تلیومی برداشته و با متوقف کردن HA مانع اتصال ویروس به سلول می‌شود. آنزیم سیالیداز بر روی فرآیند اتصال HA ویروس آنفلوآنزا به سلول میزبان و تکثیر اولیه آن در سلول اثر می‌گذارد. هنگامی که این مولکول با سلول مواجه می‌شود، هر دوی پیوندهای α2,6 و α2,3 که توسط HA ویروس بر روی گیرنده‌های سطحی اپی‌تلیوم تنفسی شناسایی می‌شوند را می‌شکند. این ماده که مرحله دوم کارآزمایی بالینی انسانی را می‌گذراند بر روی هر دوی ویروس‌های آنفلوآنزا A و B عمل می‌کند.[۲۳] پپتید Entry Blocker (EB) مشتق از فاکتور چهار رشد فیبروبلاستی، با اتصال اختصاصی به HA مانع ورود ویروس به سلول شده و به‌نظر می‌رسد بازدارنده عود عفونت باشد.[۲۴]

همانندسازی و رونویسی ژنوم ویروس آنفلوآنزا توسط هولوآنزیم RNA پلی‌مراز که فعالیت کاتالتیک دارد، انجام می‌شود. فعالیت پلی‌مرازی برای طویل شدن زنجیره RNA و فعالیت اندونوکلئازی برای برش توالی آغازگر کلاهک‌دار mRNA میزبان ضروری است. ساختار کلاهک ۷-متیل گوانوزین (m7GpppXm) است که از طریق گروه تری‌فسفات به mRNA میزبان متصل می‌شود.[۱۴] فرآیند کلاهک برداری (Cap snaching) برای شروع رونویسی از RNA ویروس آنفلوآنزا نیاز است.[۲۵] بنابراین RNA پلی‌مراز ویروسی یک هدف مناسب برای طراحی داروهای ضد ویروس با دامنه گسترده است زیرا ساختار بسیار حفظ شده بین سویه‌های آنفلوآنزاست. ترکیبات بازدارنده RNA پلی‌مراز ویروسی از همانندسازی ویروس درون سلول و در نتیجه تکثیر آن جلوگیری می‌کنند زیرا تکثیر ویروس مستلزم مشارکت این آنزیم با NP برای تشکیل RNP است. پاکت اتصال دنباله حلقوی پروتیین NP و نیز پل نمکی Arg416…Glu339 با اثر بر روی برهم‌کنش‌های آب‌گریز و آب‌دوست NP-NP می‌توانند هدف داروهای ضد آنفلوآنزا باشند. از آنجایی‌که این توالی‌ها حفظ شده هستند، احتمال پدیدار شدن ویروس‌هایی که نسبت به این گونه داروها مقاوم باشند بسیار بعید است.[۱۳]

دو بازدارنده RNA پلی‌مراز ویروسی با مکانیسم اثر متفاوت معرفی شده‌اند. گروه اول آنالوگ‌های نوکلئوزیدی برای متوقف کردن طویل‌سازی زنجیره RNA مانند T-705 با نام ژنریک فاوی‌پیراویر (Favipiravir) هستند. این ترکیب علیه ویروس‌های هر سه تیپ آنفلوآنزا مقاوم به بازدارنده‌های نورآمینیداز (آمانتادین و اوسلتامی‌ویر) و نیز علیه ویروس فوق حاد H5N1 در آزمایش بر روی حیوانات موثر بوده و مرحله سوم آزمایش‌های بالینی بر روی انسان را با نظارت وزارت بهداشت ژاپن طی می‌کند.[۲۶] آنالوگ نوکلئوزیدی دیگر ریباویرین (Ribavirin) (وایرازول) و مشتق آن ویرامیدین است و به‌احتمال سبب بروز آنمی همولتیک می‌شود.[۲۷] گروه دوم ترکیباتی هستند که دُمین‌های اندونوکلئازی و اتصال-کلاهک هولوآنزیم پلی‌مراز را متوقف می‌کنند مانند ۲ و ٤-فنیل بوتانیک اسید (2,4-phenylbutanic acid) و فلوتی‌ماید (Flutimide) که از قارچ Delitschia confertaspora جدا شده است.[۲۸]

بسیاری از مولکول‌های سلول میزبان نقش مهمی در تکثیر ویروس‌های آنفلوآنزا دارند بنابراین اهداف مناسبی برای طراحی نسل جدید بازدارنده‌های برهمکنش سلول-ویروس هستند. متوقف کردن مکانیسم‌های سلولی که برای تکثیر ویروس ضروری است می‌تواند مانع رشد ویروس شود،[۲۹] بنابراین پژوهش‌گران بر روی ترکیبات بازدارنده آبشارهای انتقال پیام داخل سلولی مانند بازدارنده‌های پروتون- ATPase واکوئلی که کانال یونی M2 را در سیتوپلاسم سلول میزبان غیرفعال می‌کنند، بازدارنده‌های پروتئازهای سلولی که فعال شدن پروتئازی HA را متوقف می‌کنند و بازدارنده‌های سیستم پروتئوزوم-یوبی کوئیتین سلولی بیش از سایر عوامل متمرکز شده‌اند.[۳۰] این فرآیندها، تنظیم کننده‌های مرکزی بسیاری از پاسخ‌های سلولی هستند که ممکن است سبب تکثیر ویروس شوند. از آن‌جایی که ویروس نمی‌تواند عملکرد سلولی متوقف‌شده را جایگزین کند، پدیدار شدن مقاومت دارویی به‌آسانی امکان‌پذیر نخواهد بود. به‌عنوان مثال فعال شدن فاکتور رونویسی NF-κB (Nuclear factor κB) و مسیر Raf/MEK/ERK برای تکثیر و رشد مناسب ویروس ضروری است. در سطح مولکولی، خروج کمپلکس RNP ویروس از هسته تحت تاثیر بازداشته شدن مسیر ERK و مختل شدن فعالیت پروتیین NEP ویروس است.[۳۱و۳۲] به‌نظر می‌رسد این مسیر هدف مناسبی برای رفتارهای ضد ویروس باشد.

به‌علت بازآرایی ژنتیکی احتمالی ویروس‌های آنفلوآنزا، تولید واکسن مناسب علیه این بیماری گاه دشوار است.[۳۳] تغییر در مکان‌های آنتی‌ژنی پروتیین‌های سطحی به‌ویژه HA که مهمترین آنتی‌ژن سطحی ویروس است سبب پیدایش سویه جدید می‌شود. تغییر در این نواحی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-22]

سبب بی‌اثر شدن آنتی‌بادی‌های ایجادشده علیه سویه‌های پیشین شده، در نتیجه نقشی در ایمنی علیه بیماری نخواهند داشت.[۳۴] ویروس برای فرار از ایمنی هومورال میزبان، از جهش‌های نقطه‌ای در ژن‌های HA و NA بهره می‌برد. این جهش‌های کوچک و پیوسته همراه با تغییرات اسیدآمینه در ژنوم ویروس به ایجاد واریته‌ای با تنوع آنتی‌ژنی جدید به‌ویژه در HA منجر می‌شود که هیچ واکنشی با آنتی‌بادی‌های تولیدشده طی عفونت‌های پیشین ندارد.[۳۵و۳۶] شیفت آنتی‌ژنی با انتقال مستقیم ویروس‌های آنفلوآنزا پرندگان یا خوک به انسان و یا نوترکیبی بین ویروس‌های انسان و پرندگان ایجاد می‌شود. این تغییرات آنتی‌ژنی گسترده به پدیدار شدن تحت تیپ‌جدیدی از ویروس (دارای NA یا HA جدید) منجر می‌شود که از نظر ایمونولوژی با گونه‌های در گردش پیشین متفاوت هستند و سبب میزان درگیری بالایی در جمعیت فاقد ایمنی علیه آنتی‌ژن جدید می‌شوند. تحت تیپ‌های H5، H7 و H9 ویروس آنفلوآنزا پرندگان سد محدودیت میزبان را شکسته و عفونت‌های انسانی را سبب شده‌اند.[۳۷]

در طول قرن گذشته، چهار شیفت آنتی‌ژنی در ویروس‌های آنفلوآنزا انسانی رخ داده است شامل جهان‌گیری سال ۱۹۱۸ یا آنفلوآنزای اسپانیایی، سال ۱۹۵۷ یا آنفلوآنزای آسیایی، سال ۱۹۶۸ یا آنفلوآنزای هنگ‌کنگی و سال ۱۹۷۷ یا آنفلوآنزای روسی.[۳۸و۳۹] هنگامی‌که یک سلول منفرد با بیش از یک نوع ویروس آنفلوآنزا آلوده شود اجازه ترکیب و تبادل vRNA های متفاوت را می‌دهد. عمل نوترکیبی سبب تغییر سریع در ژنتیک ویروس و بروز جهش‌ها و تغییرات آنتی‌ژنی می‌شود. تغییرات بزرگ ناگهانی به ویروس اجازه می‌دهد تا گونه‌های جدید میزبانی را آلوده کرده و به‌سرعت بر ایمنی حفاظت شده غلبه کند. از آن‌جایی که میزبانان نسبت به ویروس‌های جدید ایمنی محافظت کننده‌ای ندارند ویروس جدید توانایی ایجاد جهان‌گیری را به‌طور بالقوه دارا می‌باشد. به‌عنوان مثال جهان‌گیری‌های ۱۹۵۷ و ۱۹۶۸ توسط ویروس‌های نوترکیب شده به‌وقوع پیوستند به‌طوری که در این ویروس‌ها قطعات HA، PB1 و یا HA، NA و PB1 منشا پرندگان داشته و بقیه قطعات به ویروس انسانی تعلق داشت. ویروس H1N1 سال ۲۰۰۹ نیز در اثر نوترکیبی بین ویروس‌های انسان، خوک و پرنده حاصل شده است. در این ویروس قطعات PB2 و PA منشا پرنده، قطعه PB1 منشا انسانی و دیگر قطعات منشا خوکی دارند. در سال ۲۰۱۳ برای اولین‌بار در چین سه نفر با ویروس آنفلوآنزا H7N9 که منشا پرنده دارد آلوده شدند و هر مبتلا مردند.[۴۰]

آلودگی با ویروس آنفلوآنزا هر دوی پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی را فعال می‌کند. ویروس به‌طور مستقیم بر روی MHCهای سامانه ایمنی سلولی اثر نمی‌گذارد و برای فرار از سامانه ایمنی میزبان از دریفت و بازآرایی ژنومی استفاده می‌کند. این تغییرات آنتی‌ژنی و پدیدار شدن یک سویه نوپدید در جمعیت غیر ایمن از تهدیدهای ایمن‌سازی علیه آنفلوآنزا به‌شمار می‌روند. سلول‌های T سیتوتوکسیک (CTL) نقش بسیار مهمی در کنترل عفونت‌های آنفلوآنزا دارند، زیرا اپی‌توپ‌های حفظ شده موجود در بیشتر ویروس‌های آنفلوآنزا را شناسایی می‌کنند.[۳۵] HLA کلاس I در عرضه کردن پپتیدهای داخل سیتوپلاسمی به سلول‌های +TCD8 یا CTL ها شرکت دارد و CTL ها را علیه سلول‌های عرضه‌کننده فعال می‌کند. تغییر در آن دسته از اسیدهای آمینه‌ای که در اپی‌توپ‌های توالی پروتیینی ویروس توسط HLA شناسایی می‌شوند سبب عدم شناسایی ویروس توسط این HLA و فرار آن از سیستم ایمنی میزبان می‌شود.[۴۱] این تغییرات در توالی اپی‌توپی گلیکوپروتیین سطحی HA ویروس‌های آنفلوآنزا انسانی و پرندگان بیش‌تر از پروتیین‌های داخلی حفظ شده ویروس است.[۴۲] میزان فرار ویروس‌های آنفلوآنزا از سامانه ایمنی سلولی به مراتب کم‌تر از ایمنی هومورال است زیرا توالی پپتیدی که توسط HLA-I شناسایی می‌شود اغلب کوتاه و شامل ۱۱-۹ عدد اسید آمینه می‌باشد.[۴۳] به‌علت بازآرایی ژنتیکی احتمالی ویروس‌های آنفلوآنزا، تولید واکسن مناسب علیه این بیماری گاه دشوار است.[۳۳] با توجه به اهمیت ایمنی سلولی در برنامه‌های کنترل و پیشگیری از بیماری آنفلوآنزا، طراحی واکسن‌های ژنی جایگاه ویژه‌ای یافته است. هر دوی مسیر ایمنی اکتسابی هومورال و ایمنی سلولی توسط DNA واکسن‌ها فعال می‌شوند اگرچه ایمنی سلولی بهتر از ایمنی هومورال تحریک خواهد شد. علاوه بر این DNA واکسن‌ها می‌توانند ایمنی متقاطع در برابر ویروس‌های غیر همسان را القا کنند. مزیت دیگر DNA واکسن این است که با فعال کردن مسیر سلولی TANK-binding kinase 1 (STING-TBK1) در مدت کوتاهی سامانه ایمنی ذاتی را فعال می‌کنند.[۴۴] نخستین‌بار در سال ۱۹۹۳ ژن داخلی و بسیار حفظ شده NP ویروس آنفلوآنزا برای تولید DNA واکسن به‌کار گرفته شد.[۴۵] پس از آن توان ایمنی‌زایی گلیکوپروتیینHA و پروتیین‌های M به‌ویژه

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-22]

M2e در ایجاد حفاظت علیه این ویروس‌ها بررسی شد. آنتی‌بادی علیه پروتیین‌های NP و M1 خنثی‌کننده نیستند و در نتیجه حفاظت ایجاد نمی‌کنند، اما پروتیین سطحی M2 حفاظت محدودی در موش ایجاد می‌کند.[۴۶] نتایج کارآزمایی بالینی بر روی DNA واکسن رمزدهنده بخش حفظ شده HA2 بیانگر توانمندی و کارایی بیشتر آن نسبت به سایر پروتیین‌های ویروس است.[۴۷] یافته‌های پژوهش‌ها بر روی کنترل بیماری آنفلوآنزا نشان می‌دهند، استفاده از اپی‌توپ‌های حفاظت‌شده HA، آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده علیه ویروس القا می‌کند. این بخش از ویروس به غشا سلول میزبان متصل شده و سبب ورود آن به سلول می‌شود. به این ترتیب آنتی‌بادی‌هایی که به HA متصل شوند می‌توانند ویروس را خنثی کرده و ایمنی مناسبی علیه بیماری ایجاد کنند.[۴۸] این مولکول یک تعیین‌کننده آنتی‌ژنی است که توسط سامانه ایمنی اکتسابی میزبان شناسایی شده و آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده علیه آن تولید می‌شوند. بر همین اساس برای فرار از سامانه ایمنی اکتسابی پیوسته آرایش ژنومی خود را تغییر می‌دهد. در بیش‌تر موارد این تغییر در ناحیه سر کروی HA1 رخ داده و سبب تغییر در آنتی‌ژنیسته و فرار ویروس از سامانه ایمنی میزبان می‌شود.[۴۹] علاوه بر مکان‌های آنتی‌ژنی که در قسمت سر HA یا HA1 قرار دارند، قسمت پایه‌ی HA یا HA2 که نواحی محافظت‌شده ژنوم‌اند خاصیت آنتی‌ژنی داشته و محل اتصال آنتی‌بادی هستند.[۵۰]

با توجه به رخداد جهش‌های نقطه‌ای گسترده در زیرواحد HA1، استفاده از زیر واحد HA2 که دارای جایگاه‌های آنتی‌ژنی متعدد حفظ شده می‌باشد در بررسی‌های ایمن‌سازی علیه آنفلوآنزا اهمیت بیش‌تری یافته است.[۵۱] با وجود قابلیت‌های فراوان، این واکسن‌ها قدرت تحریک‌کنندگی کم‌تری نسبت به واکسن‌های زنده ضعیف شده دارند.[۵۲] برای جبران این کاستی از یاور (Adjuvant) استفاده می‌شود. این ترکیبات با افزایش میزان آنتی‌ژنسیته سبب بالا بردن پیام‌های حفاظتی سامانه ایمنی و افزایش زمان عرضه آنتی‌ژن و در دسترس بودن آن برای سامانه ایمنی تحریک هر چه بیش‌تر سامانه را موجب می‌شوند.

یکی از مهم‌ترین عملکردهای یاورها، شناسایی آنتی‌ژن توسط سلول‌های دندریتیکی و تحویل آن به سلول‌های T است.[۵۳] این ترکیبات بر اساس منشا، ساز و کار عملکردی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی به گروه‌های متفاوتی تقسیم‌بندی می‌شوند.[۵۴] یاورهای ژنتیکی مانند الیگونوکلئوئیدها که بر پایه توالی‌های CPG غیر متیله طراحی می‌شوند[۵۵] و سایتوکین‌ها شامل اینترفرون‌ها، اینترلوکین‌ها[۵۶و۵۷] و پروتیین‌های محرک سامانه ایمنی[۵۸و۵۹] به‌عنوان یاور زیستی که سه نقش عمده شامل تکثیر و تمایز سلول‌های B، تغییر ایزوتیپی و بلوغ تمایل آنتی‌بادی‌ها را در پاسخ آنتی‌بادی ایفا می‌کنند. این گروه جدیدترین یاورهای مورد مطالعه بوده و سبب پیشرفت ایمنی حاصل از Th1، Th2 و یا ایمنی با واسطه CTL می‌شوند، در نتیجه خود یک القاکننده و تنظیم‌کننده ایمنی سلولی و ایمنی هومورال هستند. اغلب ترکیبات مصنوعی و طبیعی در افزایش کارایی واکسن نقش دارند اما سمیت مهمترین مشکل در معرفی بسیاری از آنها برای استفاده در موجود زنده است. بنابراین طراحی و توسعه یاورها بر پایه 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. پروتیین‌های سلولی با خاصیت القا پاسخ‌های ایمنی که به‌میزان زیاد در بافت‌های بدن میزبان بیان می‌شوند گزینه‌های مناسبی برای مطالعه هستند. این پروتیین‌ها به‌دلیل آنکه برای میزبان بیگانه نیستند، هیچ‌گونه واکنش التهابی ایجاد نکرده و مانند بسیاری از یاورهای غیر زیستی سبب بروز واکنش‌های التهابی ناخواسته موضعی، حساسیت و واکنش‌های شدید سیستمیک، شوک آنافیلاکسی، سمیت شیمیایی برای بافت‌های بدن و واکنش‌های متقاطع با آنتی‌ژن‌های بافتی میزبان نمی‌شوند.[۵۳و۵۴]

الیگونوکلئوتیدهای تنظیم‌کننده سامانه ایمنی که با تحریک آنتی‌بادی در تغییر مسیر ایمنی به‌سمت پاسخ‌های اینترفرونی نوع I موثرند سبب افزایش پاسخ‌های ایمنی علیه ویروس آنفلوآنزا می‌شوند. هموکینین-۱ (HK-1) در بافت‌های عصبی، طحال، دستگاه تنفسی و مجرای تنفسی فوقانی پستانداران و پرندگان رونویسی و بیان می‌شود. بیشتر پژوهش‌ها بر نقش آن در تنظیم سامانه ایمنی تاکید دارند و به‌عنوان یک فاکتور رشد و یا القاکننده فاکتور رشد در تکثیر و تمایز سلول‌های B اولیه معرفی می‌شود.[۶۰] این پروتیین همچنین در تکامل سلول‌های T نیز نقش دارد.[۶۱] پژوهش‌ها نشان داده است HK-1 دارای گیرنده‌های مختلف بر روی سلول‌های متفاوت است و گیرنده‌های آن در ریه‌های انسان به‌میزان زیادی وجود دارد. بنابراین میزان ماکروفاژهای ناحیه ریوی افرادی که میزان این پروتیین در ریه‌هایشان بیشتر است، بالاتر خواهد بود. پروتیین HK-1 روی گیرنده‌های سطح سلول‌های B اثر

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-22]

می‌گذارد که نقش کلیدی در فعال کردن این سلول‌ها دارند. همچنین با ترشح IL-12 از سلول‌های T فولیکولاری به‌طور مستقیم سلول‌های B را فعال می‌کند. سلول‌های Th فعال‌شده سایتوکین‌هایی را ترشح می‌کنند که هماهنگ با CD40 و لیگاند آن عمل کرده موجب تحریک تکثیر سلول‌های B و تولید ایزوتیپ‌های مختلف آنتی‌بادی می‌شود. این پروتیین سلول‌های B را به سلول‌های فولیکولار و سلول‌های مرکز زایا تمایز می‌دهد به‌همین دلیل در تولید سلول‌های B خاطره که عمر طولانی داشته و پایدارند اهمیت زیادی دارد.[٦٢] بررسی اخیر بر روی نقش پروتیین HK-1 در القای پاسخ‌های ایمنی علیه ویروس آنفلوآنزا بیانگر این است که این پروتیین موجب افزایش قابل‌ملاحظه پاسخ‌های ایمنی شده و میزان آنتی‌بادی تولید شده علیه آنتی‌ژن HA[٥٨] و اپی‌توپ‌های محافظت‌شده آن به مراتب بیشتر از واکسیناسیون بدون این یاور می‌باشد.[٦٣]

آلودگی سلول‌های پستانداران به ویروس آنفلوآنزا سبب افزایش بیان اینترفرون‌های نوع I می‌شود که القاکنندگان قوی مکان‌های ضد ویروسی هستند و اثر حفاظتی‌شان را با بیان ژن‌های تحریک‌شونده بیان می‌کنند. مقاومت به میکسوویروس (Mx)،[٥٩و٦٠] الیگو آدنیلات و پروتیین کیناز مثال‌هایی از پروتیین‌های ضد ویروسی هستند که توسط این ژن‌ها رمزدهی می‌شوند. پروتیین‌های Mx گروه بزرگی از خانواده دینامین (Dynamin) و نشانگر القای اینترفرون هستند.[٦٤] موتیف حفظ‌شده‌ای از این پروتیین که در دامنه GTPase قرار دارد[٦٥] سبب افزایش عیار آنتی‌بادی علیه ویروس آنفلوآنزا و نیز تحریک ایمنی سلولی بدون ایجاد هر گونه عوارض جانبی در موش‌های آزمایشگاهی Balb/c شده است.[٥٩]

با وجود مطالعات گسترده در زمینه پیش‌گیری و کنترل بیماری آنفلوآنزا برای افزایش سطح سلامت عمومی، به‌دلیل ماهیت تغییرپذیر ویروس، گردش هم زمان تحت تیپ‌های مختلف، بروز شیفت‌ها و دریفت‌های متعدد آنتی‌ژنی و توان سازگاری سویه‌های نوپدید با میزبان‌های جدید، تلاش برای ساخت واکسن جامع توانمند با کم‌ترین آثار جانبی ادامه دارد.

References

1. Medina RA, García-Sastre A. Influenza A viruses: new research developments. *Nat Rev Microbiol* 2011;9(8):590-603.
2. Noda T, Kawaoka Y. Classification and virion structure of influenza virus. *Nihon Rinsho* 2006;64(10):1766-9.
3. Shahsavandi S, Ebrahimi MM, Mohammadi A, Zarrin Lebas N. Impact of chicken-origin cells on adaptation of a low pathogenic influenza virus. *Cytotechnology* 2013;65(3):419-24.
4. Zhang H. Tissue and host tropism of influenza viruses: importance of quantitative analysis. *Sci China C Life Sci* 2009;52(12):1101-10.
5. Okumura Y, Takahashi E, Yano M, Ohuchi M, Daidoji T, Nakaya T, et al. Novel type II transmembrane serine proteases, MSPL and TMPRSS13, Proteolytically activate membrane fusion activity of the hemagglutinin of highly pathogenic avian influenza viruses and induce their multicycle replication. *J Virol* 2010;84(10):5089-96.
6. Böttcher E, Matrosovich T, Beyerle M, Klenk HD, Garten W, Matrosovich M. Proteolytic activation of influenza viruses by serine proteases TMPRSS2 and HAT from human airway epithelium. *J Virol* 2006;80(19):9896-8.
7. Shahsavandi S, Ebrahimi MM. Influenza. Jehade Daneshgahi: Tehran; 2012. [Persian]
8. Schnell JR, Chou JJ. Structure and mechanism of the M2 proton channel of influenza A virus. *Nature* 2008;451(7178):591-5.
9. Sakaguchi T, Leser GP, Lamb RA. The ion channel activity of the influenza virus M2 protein affects transport through the Golgi apparatus. *J Cell Biol* 1996;133(4):733-47.
10. Korte T, Ludwig K, Herrmann A. ph-dependent hydrophobicity profile of hemagglutinin of influenza virus and its possible relevance in virus fusion. *Biosci Rep* 1992;12(5):397-406.
11. Takeda M, Pekosz A, Shuck K, Pinto LH, Lamb RA. Influenza a virus M2 ion channel activity is essential for efficient replication in tissue culture. *J Virol* 2002;76(3):1391-9.
12. Shapiro GI, Krug RM. Influenza virus RNA replication in vitro: synthesis of viral template RNAs and virion RNAs in the absence of an added primer. *J Virol* 1988;62(7):2285-90.
13. Portela A, Digard P. The influenza virus nucleoprotein: a multifunctional RNA-binding protein pivotal to virus replication. *J Gen Virol* 2002;83(Pt 4):723-34.
14. Plotch SJ, Bouloy M, Ulmanen I, Krug RM. A unique cap(m7GpppXm)-dependent influenza virion endonuclease cleaves capped RNAs to generate the primers that initiate viral RNA transcription. *Cell* 1981;23(3):847-58.
15. Marsh GA, Hatami R, Palese P. Specific residues of the influenza A virus hemagglutinin viral RNA are important for efficient packaging into budding virions. *J Virol* 2007;81(18):9727-36.
16. Nayak DP, Hui EK, Barman S. Assembly and budding of influenza virus. *Virus Res* 2004;106(2):147-65.
17. von Itzstein M.. The war against influenza: discovery and development of sialidase inhibitors. *Nature Rev Drug Discovery* 2007;6:967-74.
18. Collins PJ, Haire LF, Lin YP, Liu J, Russell RJ, Walker PA, Gamblin SJ. Crystal structures of oseltamivir-resistant influenza virus neuraminidase mutants. *Nature* 2008;453(7199):1258-61
19. Shi W, Lei F, Zhu C, Sievers F, Higgins DG. A complete analysis of HA and NA genes of influenza A viruses. *PloS ONE* 2010;5(12):e14454.
20. Ilyushina NA, Govorkova EA, Webster RG. Detection of amantadine-resistant variants among avian influenza viruses isolated in North America and Asia. *Virology* 2005;341(1):102-6.
21. Narla SN, Sun XL. Immobilized sialyloligo-macroligand and its protein binding specificity. *Biomacromolecules* 2012;13(5):1675-82.
22. Larson AM, Wang H, Cao Y, Jiang T, Chen J, Klibanov AM. Conjugating drug candidates to polymeric chains does not necessarily enhance anti-influenza activity. *J Pharm Sci* 2012;101(10):3896-905.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-22]

23. Moss RB, Hansen C, Sanders RL, Hawley S, Li T, Steigbigel RT. A phase II study of DAS181, a novel host directed antiviral for the treatment of influenza infection. *J Infect Dis* 2012;206(12):1844-51.
24. Jones JC, Turpin EA, Bultmann H, Brandt CR, Schultz-Cherry S. Inhibition of influenza virus infection by a novel antiviral peptide that targets viral attachment to cells. *J Virol* 2006;80(24):11960-7.
25. Guilligay D, Tarendeau F, Resa-Infante P, Coloma R, Crepin T, Sehr P, et al. The structural basis for cap binding by influenza virus polymerase subunit PB2. *Nature Struct Mol Biol* 2008;15(5):500-6.
26. Furuta Y, Takahashi K, Kuno-Maekawa M, Sangawa H, Uehara S, Kozaki K, et al. Mechanism of action of T-705 against influenza virus. *Anti Agents Chem* 2005;49(3):981-6.
27. Sidwell RW, Bailey KW, Wong MH, Barnard DL, Smee DF. In vitro and in vivo influenza virus-inhibitory effects of viramidine. *Antiviral Res* 2005;68(1):10-7.
28. Eyer L, Hruska K. Antiviral agents targeting the influenza virus: a review and publication analysis. *Vet Med* 2013:58(6):113-85.
29. Das K, Aramini JM, Ma LC, Krug RM, Arnold E. Structures of influenza A proteins and insights into antiviral drug targets. *Nature Struct Mol Biol* 2010;17(5):530-8.
30. Barik S. New treatments for influenza. *BMC Med* 2012;10:104.
31. Hayden, F. Developing New Antiviral Agents for Influenza Treatment: What Does the Future Hold? *Clin Infect Dis* 2009;48 Suppl 1:S3-13.
32. Pinto R, Herold S, Cakarova L, Hoegner K, Lohmeyer J, Planz O, et al. Inhibition of influenza virus-induced NF-kappaB and Raf/MEK/ERK activation can reduce both virus titers and cytokine expression simultaneously in vitro and in vivo. *Antiviral Res* 2011;92(1):45-56.
33. Marangon S, Cecchinato M, Capua I. Use of vaccination in avian influenza control and eradication. *Zoonoses Public Health* 2008;55(1):65-72.
34. Cox RJ, Brokstad KA, Ogra P. Influenza virus: immunity and vaccination strategies. Comparison of the immune response to inactivated and live, attenuated influenza vaccines. *Scand J Immunol* 2004;59(1):1-15.
35. Stephenson I, Nicholson KG, Wood JM, Zambon MC, Katz JM. Confronting the avian influenza threat: vaccine development for a potential pandemic. *Lancet Infect Dis* 2004;4(8):499-509.
36. Kilbourne ED. Influenza pandemics of the 20th century. *Emerg Infect Dis* 2006;12(1):9-14.
37. Shahsavandi S, Ebrahimi MM, Sadeghi K, Mosavi SZ, Mohammadi A. Dose- and time-dependent apoptosis induced by avian H9N2 influenza virus in human cells. *BioMed Res Int* 2013;DOI.org/10.1155/2013/524165.
38. Lipatov AS, Govorkova EA, Webby RJ, Ozaki H, Peiris M, Guan Y, et al. Influenza: emergence and control. *J Virol* 2004;78(17):8951-9.
39. Russell CJ, Webster RG. The genesis of a pandemic influenza virus. *Cell* 2005;123(3):368-71.
40. Peiris JS, Guan Y, Markwell D, Ghose P, Webster RG, Shortridge KF. Cocirculation of avian H9N2 and contemporary "human" H3N2 influenza A viruses in pigs in southeastern China: potential for genetic reassortment? *J Virol* 2001;75(20):9679-86.
41. Uchida T. Development of a cytotoxic T-lymphocyte-based, broadly protective influenza vaccine. *Microbiol Immunol* 2011;55(1):19-27.
42. Shahsavandi S. Molecular identification of pre-existing immunity in human against H9N2 influenza viruses using HLA-A*0201 binding peptides. *Iran J Virol* 2013;7(4):21-8.
43. Wang M, Larsen MV, Nielsen M, et al. HLA Class I Binding 9mer Peptides from Influenza A Virus Induce CD4+ T Cell Responses. *PLoS ONE* 2010;5(5):e10533.
44. Kim JH, Jacob J. DNA vaccines against influenza viruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 2009;333:197-210.
45. Rao SS, Kong WP, Wei CJ, Van Hoeven N, Gorres JP, Nason M, et al. Comparative efficacy of hemagglutinin, nucleoprotein, and matrix 2 protein gene-based vaccination against H5N1 influenza in mouse and ferret. *PLoS One* 2010;5(3):e9812
46. De Filette M, Min Jou W, Birkett A, Lyons K, Schultz B, Tonkyro A, et al. Universal influenza A vaccine: optimization of M2-based constructs. *Virology* 2005;337(1):149-61.
47. Khanna M, Sharma S, Kumar B, Rajput R. Protective immunity based on the conserved hemagglutinin stalk domain and its prospects for universal influenza vaccine development. *BioMed Res Int* 2014;DOI.org/10.1155/2014/546274.
48. Steel J, Lowen AC, Wang TT, Yondola M, Gao Q, Haye K, et al. Influenza virus vaccine based on the conserved hemagglutinin stalk domain. *MBio* 2010;DOI.10.1128/mBio.00018-10
49. Shahsavandi S, Salmanian AH, Ghorashi SA, Masoudi S, Ebrahimi MM. Evolutionary characterization of hemagglutinin gene of H9N2 influenza viruses isolated from Asia. *Res Vet Sci* 2012;93(1):234-9.
50. Staneková Z, Mucha V, Sládková T, Blaškovičová H, Kostolanský F, Varečková E. Epitope specificity of anti-HA2 antibodies induced in humans during influenza infection. *Influenza Other Respir Viruses* 2012;6(6):389-95.
51. Lee JS, Chowdhury MY, Moon HJ, Choi YK, Talactac MR, Kim JH, et al. The highly conserved HA2 protein of the influenza A virus induces a cross protective immune response. *J Virol Methods* 2013;194(1-2):280-8.
52. Fuchs W, Römer-Oberdörfer A, Veits J, Mettenleiter TC. Novel avian influenza virus vaccines. *Rev Sci Tech* 2009;28(1):319-32.
53. Even-Or O, Samira S, Ellis R, Kedar E, Barenholz Y. Adjuvanted influenza vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2013;12(9):1095-108.
54. Awate S, Babiuk LA, Mutwiri G. Mechanisms of action of adjuvants. *Front Immunol* 2013;4:114.
55. Fagone P, Shedlock DJ, Bao H, Kawalekar OU, Yan J, Gupta D, et al. Molecular adjuvant HMGB1 enhances anti-influenza immunity during DNA vaccination. *Gene Ther* 2011;18(11):1070-7.
56. Dai J, Pei D, Wang B, Kuang Y, Ren L, Cao K, et al. Molecular adjuvant Ag85A enhances protection against influenza A virus in mice following DNA vaccination. *Viruses* 2012;4(12):3606-24.
57. Fan X, Hashem AM, Chen Z, Li C, Doyle T, Zhang Y, et al. Targeting the HA2 subunit of influenza A virus hemagglutinin via CD40L provides universal protection against diverse subtypes. *Mucosal Immunol* 2015;8(1):211-20.
58. Sadeghi K, Shahsavandi S, Ebrahimi MM, Mahravani H, Fazel H. Hemokinin-1 molecular adjuvant: an approach to enhance the efficacy of influenza vaccine. *Arak Med Uni J* 2014;17(11):62-9.
59. Soleimani S, Shahsavandi S, Maddadgar O, Mahravani H, Lotfi M. Mx bio adjuvant for enhancing immune responses against influenza virus. *Tehran Uni Med J* 2015;73(3):192-201.
60. Zhang Y, Berger A, Milne CD, Paige CJ. Tachykinins in the immune system. *Curr Drug Targets* 2006;7(8):1011-20.
61. Zhang Y, Lu L, Furlonger C, Wu GE, Paige CJ. Hemokinin is a hematopoietic-specific tachykinin that regulates B lymphopoiesis. *Nat Immunol* 2000;1(5):392-7.
62. Zhang Y, Paige CJ. T-cell developmental blockage by tachykinin antagonists and the role of hemokinin 1 in T lymphopoiesis. *Blood* 2003;102(6):2165-72.
63. Shahsavandi S, Ebrahimi MM, Sadeghi K, Mahravani H. Design of a heterosubtypic epitope-based peptide vaccine fused with hemokinin-1 against influenza viruses. *Virol Sin* 2015;30(3):200-7.
64. Haller O, Kochs G. Interferon-induced mx proteins: dynamin-like GTPases with antiviral activity. *Traffic* 2002;3(10):710-7.
65. 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(Suppl 1):1-8.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-22]

TUMJ monthly Tehran University Medical Journal

Tehran University Medical Journal, October 2015; Vol. 73, No. 7: 469-477 *Review Article*

Virus genetic variations and evade from immune system, the present influenza challenges: *review article*

Shahla Shahsavandi Ph.D.*

Department of Molecular Genetics, Razi Vaccine and Serum, Research Institute, Karaj, Iran.

Abstract

Received: 27 May 2015 Accepted: 26 Jul. 2015 Available online: 07 Sep. 2015

The spread of influenza viruses in multiple bird and mammalian species is a world-wide serious threat to human and animal populations' health and raise major concern for ongoing pandemic in humans. Direct transmission of the avian viruses which have sialic acid specific receptors similar to human influenza viruses are a warning to the emergence of a new mutant strain that is likely to share molecular determinants to facilitate their replication in human host. So the emerge virus can be transmitted easily through person to person. The genetic variations of the influenza viruses, emerge and re-emerge of new antigenic variants, and transmission of avian influenza viruses to human may raise wide threat to public health and control of pandemic influenza. Vaccination, chemoprophylaxis with specific antiviral drugs, and personal protective non-pharmacological measures are tools to treat influenza virus infection. The emergence of drug resistant strains of influenza viruses under drug selective pressure and their limited efficacy in severe cases of influenza infections highlight the need to development of new therapies with alternative modes. In recent years several studies have been progressed to introduce components to be act at different stages of the viral life cycle with broad spectrum reactivity against mammalian and bird influenza subtypes. A wide variety of different antiviral strategies include inhibition of virus entry, blocking of viral replication or targeting of cellular signaling pathways have been explored. The current inactivated influenza vaccines are eliciting only B-cell responses. Application of the vaccines has been limited due to the emergence of the new virus antigenic variants. In recent decade development of gene vaccines by targeting various influenza virus proteins have been interested because significant potential for induction of both humoral and cell mediated immunity responses. Enhanced and directed immune responses to viral vaccine can be achieved by using adjuvant. The ability of biological molecular adjuvant such as cytokines, interlukines, and bacterial derivatives to improve the immunogenicity of vaccines as a novel strategy is under evaluation, however, and immune system regulator proteins have additional considerations.

Keywords: genomic variation, immunization, influenza, prevention and control.

* Corresponding author: Shahid Dr Beheshti St., Karaj, Iran.
Tel: +98-26-34570038
E-mail: s.shahsavandi@rvsri.ac.ir

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-22]