

Mechanisms of the action of
veterinary vaccine adjuvants

Tóth Renáta^{1*}
Mészáros István¹
Farsang Attila²
Zádori Zoltán¹

R. Tóth^{1*}
I. Mészáros¹
A. Farsang²
Z. Zádori¹

1. MTA ATK Állatorvos-tudományi
Intézet
H-1143 Budapest, Hungária krt. 21.

* e-mail: toth.renata@agrar.mta.hu

2. NÉBIH Állatgyógyászati Termékek
Igazgatósága

Az állatorvosi vakcinák adjuvánsainak hatásmechanizmusai

IMMUNOLÓGIA

ÖSSZEFOGLALÁS

Az inaktivált és az alegységvakcinákban a hatékonyabb immunválasz kiváltását mind az állatorvosi, mind pedig a humán gyógyászatban különféle adjuvánsok hozzáadásával segítik elő. A vakcinagyártók számára komoly kihívást jelent a hatékony, de mellékhatás nélküli adjuvánsok fejlesztése. A közelmúltban a kezdeti, próbálgatáson alapuló megközelítéseket felváltották a célzott fejlesztések, amelyek nem jöhettek volna létre az adjuvánsok hatásmechanizmusának egyre részletesebb megismerése nélkül. Az alábbi irodalmi összefoglalóban a szerzők ismertetik az állatorvosi gyakorlatban leggyakrabban használt és a jelenleg legígéretesebbnek tűnő, fejlesztés alatt álló adjuvánsok általános és specifikus hatásmechanizmusait.

SUMMARY

Adjuvants are used to induce increased immune responses of inactivated and subunit vaccines both in veterinary and human medicine. Vaccine producers must overcome serious challenges in order to develop safer and more efficient adjuvants without side effects. During the past decades the initial trial and error based approaches were gradually replaced by targeted developments. Most of the advances were due to the accumulation of detailed knowledge about the mechanisms of action of the adjuvants. In this review the authors describe the mechanisms of the most widely utilized adjuvants in the veterinary practice and that of the most promising ones under development.

A vírusok, a baktériumok és a paraziták elleni vakcinázás fő célja az aktív immunitás kiváltása mellett az immunológiai memória kialakítása, amelyek még a betegség kialakulása előtt lehetővé teszik a kórokozók gyors elpusztítását.

Az új betegségek megjelenése és az antibiotikum-rezisztencia terjedése miatt a vakcinafejlesztés egyre gyorsuló ütemű

Az élő, attenuált vakcinák a leghatékonyabb oltóanyagok közé tartoznak intracelluláris kórokozók ellen

Az előlt, szaporodásra képtelen kórokozót tartalmazó inaktivált vakcinák általában sokkal biztonságosabbak, ám gyakran kevésbé hatékonyak

Az adjuválás „bármely anyag vagy eljárás, amely a vakcina komponenseinek immunogenitását specifikusan növeli”

Állatállományokban a vakcinázásnak gazdasági szempontból is igen nagy jelentősége van, mert a preventív vakcinázások segítségével megelőzhetők, ill. jelentősen csökkenthetők a fertőző betegségek terjedéséből származó gazdasági károk (70).

Bár az oltóanyagok az állat-egészségügyi termékek alig valamivel több, mint 20%-át teszik ki a globális piacon (64), a technológiai fejlődés, az új betegségek megjelenése és a különböző antibiotikumokkal szemben rezisztenssé váló kórokozók miatt az ágazat egyre gyorsuló ütemű fejlődést mutat. Az oltóanyag-fejlesztések fontosságát jelentősen növelik azok az előírások, amelyek az antibiotikumok használatát az állattenyésztésben szigorúan korlátozzák. Az antibiotikumok vakcinával való kiváltása csökkentheti a rezisztencia kialakulásának az esélyét, és elkerülhetővé válhat, hogy egyes, állatorvoslásban használt gyógyszerek maradványai az emberi táplálkozási láncba jussanak (36, 64).

Az élő, attenuált vakcinák a leghatékonyabb oltóanyagok közé tartoznak intracelluláris kórokozók ellen. Oltás után enyhe, rendszerint tünetmentes fertőzést okoznak, és a kórokozó típusától függően akár élethosszig tartó immunitást is eredményezhetnek. Előnyük még, hogy nemcsak szisztémás humorális és celluláris, hanem akár lokális immunválasz indukálására is képesek lehetnek. Hátrányuk viszont, hogy gyártásuk során fennáll a más kórokozókvaló kontaminálódás, használatuk esetén pedig a perzisztálás, a rekombinálódás, valamint a revertálódás veszélye (10, 66). Ez történt pl. az 1990-es években is, amikor Dániában légzőszervi és reprodukciós szindróma vírus (PRRSV) I-es (európai) típusa elleni védekezésként egy II-es típusú (észak-amerikai) vírusból származó élő vakcinával oltottak sertéseket. Mivel a két genotípus között a genetikai távolság meglehetősen nagy (mindössze 55–70% nukleotidazonosság), ezért a II-es típusú vakcina eleve nem adott teljes védelmet az I-es típusú vírus ellen. A helyzetet tovább rontotta, hogy a vakcinavírus revertálódott, majd végigsöpörve mind a vakcinázott, mind pedig a vakcinázatlan állatállományon, rendkívül komoly gazdasági károkat okozott (39, 42).

Az előlt, szaporodásra képtelen kórokozót tartalmazó inaktivált vakcinák általában sokkal biztonságosabbak, ám gyakran kevésbé hatékonyak, mint az előbb említett védőoltások. Az inaktiválás következtében azonban, amennyiben azt tökéletesen végzik, nem revertálódhatnak vagy rekombinálódhatnak, és az idegen, fertőzőképes kórokozókvaló szennyezettség esélye is kisebb. Ezen biztonsági tényezők miatt az inaktivált vakcinák használatát preferálják az élő vakcinákkal szemben mind a humán, mind az állatorvosi gyakorlatban. Az élő, attenuált vakcinákhoz képest kisebb hatékonyságuk intracelluláris kórokozók ellen annak köszönhető, hogy az inaktivált vakcinák többsége nem képes a citotoxikus T-sejtes celluláris immunválasz kiváltására. További hátrányuk, hogy elősegíthetik allergiás reakciók, ill. autoimmun folyamatok kialakulását (36).

Az inaktivált és az alegységvakcinák esetében is a hatékonyabb immunválasz kiváltását mind az állatorvosi, mind pedig a humán gyógyászatban különféle adjuvánsok hozzáadásával erősítik.

AZ ADJUVÁNSOK ÁLTALÁNOS JELLEMZŐI

Az adjuválás általános definíciója: „bármely anyag vagy eljárás, amely a vakcina komponenseinek immunogenitását specifikusan növeli” (11). Maga a szó a latin *adjuvare* szóból származik, amelynek jelentése: *segíteni*. Az adjuvánsok haszná-

latának több praktikus előnye is van. Mivel növelik az antigének immunogenitását, ezért a néha csak igen drágán előállítható specifikus antigének mennyisége, valamint az oltások száma is csökkenthető. Idős vagy legyengült immunrendszerű állatokban/emberekben és újszülöttekben nagyban hozzájárulnak az immunválasz kialakításához, amely alkalmazásuk nélkül el is maradhat. Egyes adjuvánsok alkalmazása a vakcinázási módszerek egyszerűsítéséhez vezethet: pl. liposzóma-hordozókat használva ezek stimulálhatják az antigén nyálkahártyán történő felvételét, szükségtelessé téve az injektálást (49).

Hátrányuk viszont, hogy használatuk során számos szisztémás, ill. helyi mellékhatás léphet fel. A főbb lehetséges szisztémás mellékhatások: láz, ízületi gyulladás, allergia, hányinger, anafilaxia, eozinofília, szervspecifikus toxicitás, immuntoxicitás. Helyileg fájdalom, gyulladás, hólyagképződés lehetséges, ill. a bejuttatás helyén elhalás, steril tályogok megjelenése, fekély, lymphadenopathia fordulhat elő (1).

A vakcinafejlesztők számára a fő kihívást tehát a hatását hosszan kifejtő, lebomló, megfelelő immunválaszt kiváltó, olcsón előállítható, de mindenekeelőtt minimális toxicitást vagy mellékhatást kiváltó adjuváns előállítását jelenti (49).

Az elmúlt évtizedekben a gyógyszeripar számos eltérő hatású adjuvánszt fejlesztett ki, amelyek nagyjából az alábbi nyolc csoportba sorolhatóak:

1. Szervetlen sók: pl. alumíniumsók $[AlK(SO_4)_2, Al(OH)_3, AlPO_4]$, hidroxipatit
2. Olaj-víz emulziók: pl. paraffinolaj-emulziók, szkvalénalapú emulziók (MF59, AS03, AFO3, Montanide)
3. Bakteriális eredetű szerves molekulák: pl. lipopoliszacharid, monofoszforsforil lipid A, peptidoglikán, trehalóz-dimikolát, trehalóz-6,6-dibehenát
4. Szaponinok: pl. Quil A, QS-21
5. Citokinek: pl. IL-2, IL-4, IL-12, IL-18
6. Liposzómák: CAF01 (kationos liposzóma (dimetil-dioktadecil-ammónium) immunmodulátor glikolipiddel (trehalóz-6,6-dibehenát) stabilizálva)
7. Más szerves molekulák: pl. koleratoxin, inulinszármazékok
8. Kombinált adjuvánsok: pl. AS04 (kombinálva lipopoliszacharid, monofoszforsforil lipid A, alumíniumsó), ISCOMATRIX (koleszterol, foszfolipid, szaponin)

KORAI FEJLESZTÉSEK

A védőoltások hatékonyabbá tételére történő első próbálkozások egészen a 20. század elejére nyúlnak vissza. LE MOGNAÇ és PINAY 1916-ban figyelt fel arra, hogy az ásványi olajban szuszpendált *Salmonella* Typhimurium tenyészet kiváló ellenanyagválaszt indukál (16). Az 1920-as években RAMON és mtsai megfigyelték, hogy lovakban a diftéria-toxoidok alkalmazásakor az oltás helyén tályogok keletkeztek, amelyeket, mint kiderült, a fiolában található szennyező anyagok okoztak. A szennyezés ugyanakkor jelentősen növelte az ellenanyagszintet a toxoiddal szemben is. Mindez a gyártók figyelmét a csomagolás technikai higiéniájára irányította, és magyarázatul is szolgált arra a megoldatlan problémára, hogy a változatlan technológiával készülő vakcinák különböző tételei miatt mutatnak jelentős hatékonyságbeli eltéréseket (69). A szennyezések szerepének tisztázása az immunológiai válasz erősítésében (adjuválásban) olyan steril vagy sterilizálható anyagok keresésére sarkallta a kutatókat és gyártókat, amelyeknek mellékhatások nélküli kedvező hatása van a vakcinák immunválaszt kiváltó tulajdonságaira. 1926-ban GLENNY és mtsai alumíniummal adszorbeált diftéria-toxoidot használtak: ez már nem okozott tályogot, de szignifikánsan emelte az ellenanyagszintet a toxoid ellen (49).

Az adjuvánsok fejlesztésének kezdeti időszakában csak sötétben tapogatóztak a kutatók, és olyan anyagokat próbálgattak, amelyeket egyébként is használtak

Az adjuvánsok használata során szisztémás és egyéb mellékhatások léphetnek fel

Kezdetben az adjuvánsok még szennyező anyagok voltak a vakciókban

már a gyógyászatban más célra, mivel ezekről feltételezték, hogy nincsenek káros mellékhatásaik. Így fedezték fel a talán leggyakrabban használt adjuvánsokat, az alumíniumsókat is, amelyeket a humán gyógyászatban savlekötőként alkalmaztak a 20. század elején. Víz-olaj emulziót is először intralipid infúzióként használtak zsírsavak és más nutriensek pótlására az 1960-as évek elején (45). Az elmúlt 15–20 évben a próbálgatáson alapuló megközelítést felváltották a célzott fejlesztések, amelyek nem jöhettek volna létre az adjuvánsok hatásmechanizmusának az elmúlt évtizedek kutatásain alapuló mind jobb és részletesebb megértése nélkül (2).

AZ ADJUVÁNSOK ÁLTALÁNOS HATÁSMECHANIZMUSA

Sokáig azt gondolták, hogy adjuvánsok használatának előnye kimerül abban, hogy hatásukra a beoltás helyén antigéndepó jön létre, így az antigén felszívódása lassabban megy végbe, ez pedig növeli az antigénprezentáló sejtek antigénfelvételét, valamint aktiválja a makrofágokat, az eozinofil granulocytákat és a komplementrendszer (73).

Az újabb kutatások eredményeként tudjuk, hogy ez az adjuvánsok hatásmechanizmusai közül csak az egyik, és valószínűleg nem is a legfontosabb. MOREIN (1996) szerint az adjuvánsok három területen fejtik ki hatásukat:

- az antigén fizikai megjelenítése;
- az antigén eljuttatása a nyirokszervekhez;
- az antigén immunogenitásának növelése elsősorban az antigén intracelluláris forgalmában, proteolitikus feldolgozásában, MHC I (major histocompatibility complex I; fő hisztokompatibilitási komplex I) és MHC II molekulákkal való kapcsolatában történő változások révén, ill. a citokintermelés és citokinmintázat megváltoztatása útján (38).

Mai tudásunk alapján úgy tűnik, az adjuvánsok úgy erősítik fel a specifikus immunválaszt, hogy aktiválják a veleszületett immunrendszer azon jelátvivő útvonalait, amelyek hozzájárulnak a hatékonyabb adaptív immunválaszhoz. A hatékony adjuvánsok az aktivált útvonaltól függően képesek megváltoztatni a specifikus immunválasz mértékét és minőségét is.

Nagyon sok adjuváns a jellegzetes mikrobiális struktúrákat felismerő, ún. mintázatfelismerő receptorokon (PRR: pattern recognition receptor) keresztül fejt ki immunstimuláló hatását. A TLR (1. ábra), NLR, RLR, CLR családokba (1. táblázat) tartozó receptorok mind – közvetlenül vagy közvetve – különféle adjuvánsok specifikus célpontjai lehetnek.

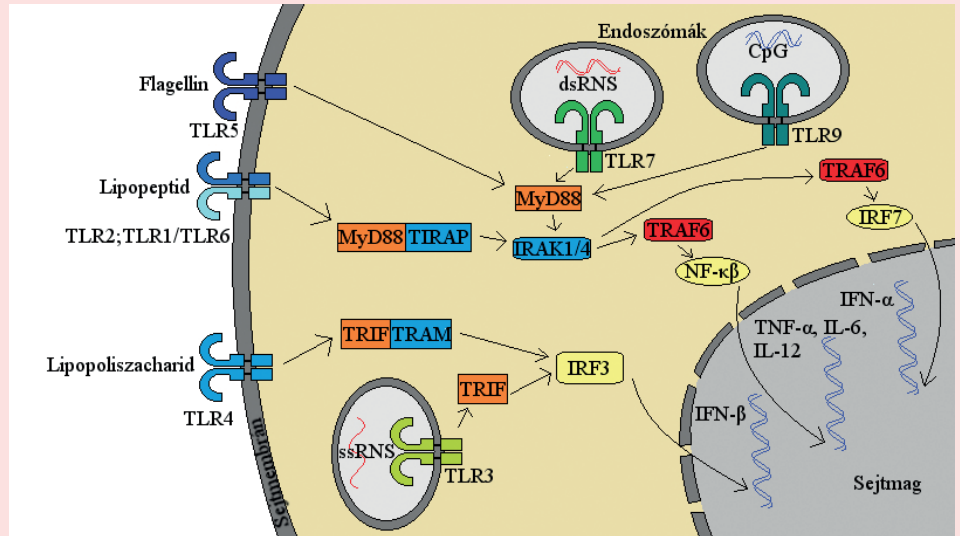
A receptorokhoz kötődő adjuvánsok különböző jelátviteli útvonalakon keresztül, különböző immunstimuláló citokin- és kemokingének expresszióját serkentik (46).

A hagyományos adjuvánsok esetében (pl. alumíniumsók [alum] és emulziók) a PRR-ek indukciója nem az adjuváns közvetlen kötődésén keresztül valósul meg, hanem az injektálás és az adjuvánsok sejtkárosító hatása következtében a károsodott sejtekből felszabaduló anyagok (DAMP: damage-associated molecular patterns, sérüléshez kapcsolható molekuláris mintázat, pl. ATP, húgysav, DNS) segítik az adjuváns hatás kiváltását. Jól ismert tény, hogy víz-olaj emulziók az injektálás helyén helyileg károsítják a környező szöveteket. Az viszont kevésbé köztudott, hogy kristályos szerkezetű részecskék felvétele (pl. alum-kalcium sók, kristályos húgysav) ugyancsak a sejtek sérülésével járhat. A sejtbe jutott kristályok ugyanis károsíthatják az endoszómák és lizoszómák membránjait, amely aztán a sejtek elhalásához vagy apoptózisához vezethet (2. ábra). Az elhalt sejtekből többek között húgysav, ill. ATP szabadul fel, amelyek a környező sejtek citoplazmájába jutva NOD-like receptorokon (NLR, 1. táblázat) keresztül IL-1 β

Az adjuvánsok aktiválják a veleszületett immunrendszer azon jelátvivő útvonalait, amelyek hozzájárulnak a hatékonyabb adaptív immunválaszhoz

1. ÁBRA. A Toll-szerű receptorok jelátviteli útvonalai

FIGURE 1. Signalling pathways of the toll-like receptor family



A sejtmembránban található TLR4 a lipopoliszacharidok felismerésére képes és a TRIF/TRAM útvonalon keresztül az IFN- β expresszióját serkenti. Ugyanezt az útvonalat aktiválja az endoszómális TLR3, amely az egyszálú RNS-molekulák megkötésére képes. A TLR5 extracelluláris doménje a flagellint, a TLR2/TLR1 vagy TLR2/TLR6 dimer a lipopeptideket érzékeli. Az endoszómák membránjában lokalizálódó TLR7 a duplaszálú RNS-t, a TLR9 a metilálatlan CpG-motívumokat ismeri fel. Mindegyik a MyD88 útvonalat aktiválja, amely végül a TNF- α , IL-6, IL-12, IFN- α gének expressziójához vezet (47).

TLR: Toll-szerű receptor; TRIF: interferon- β -termelést indukáló, TIR (Toll-interleukin-1 receptor-tartalmú adapter fehérje) TRAM: TRIF-kapcsolt adaptor molekula; IFN: interferon; CpG: citozin-guanin dinukleotid; MyD88: myeloid differenciáló faktor 88; TNF: tumor nekrozis faktor; IL: interleukin; TRAF: TNF-receptor asszociált faktor; IRF: interferon reguláló faktor; NF- κ B: nukleáris faktor kappa B; IRAK: interleukin-1 receptor asszociált kináz; TIRAP: TIR-tartalmú adapter fehérje

TLR4 is localized in the cell membrane, binds to lipopolysaccharides and upregulates the expression of the IFN- β through the TRIF/TRAM pathway. The somal TLR3 activates the same pathway as TLR4 but it recognizes single-stranded RNAs. The extracellular domain of the TLR5 detects flagellin while the TLR2/TLR1 and the TLR2/TLR6 complexes bind lipopeptides. TLR7 and TLR9 are localised in the membrane of the endosomes. TLR7 recognizes double-stranded RNA whereas TLR9 recognizes un-methylated CpG motifs. These receptors activate the MyD88 pathway that lead to the expression of the TNF- α , IL-6, IL-12, IFN- α genes (47).

TLR: Toll-like receptor; TRIF: TIR (Toll-interleukin-1 receptor) -domain-containing adapter-inducing interferon- β ; TRAM: TRIF-related adaptor; IFN: interferon; CpG: cytosine-phosphodiester bond-guanine; MyD88: myeloid differentiation primary response gene 88; TNF: tumour necrosis factor; IL: interleukin; TRAF: TNF-receptor associated factor 6; IRF: interferon regulatory factor; NF- κ B: nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; IRAK: interleukin-1 receptor-associated kinase; TIRAP: TIR-domain-containing adapter protein

(interleukin-1 β), IL-18 (interleukin-18) felszabadulást indukálnak (10). Az IL-1 citokin a szervezetet ért káros tényezők (égés, trauma, fertőzések) hatására gyorsan kialakuló akutfázis-reakció egyik fő komponense (12). Az IL-18, habár homológ szerkezetű az IL-1-gyel, funkciója eltérő: az IL-12 (interleukin-12) jelenlétében az intracelluláris kórokozók elleni védekezésben szerepet játszó Th1-közvetített immunválaszt (celluláris irány), míg IL-12 hiányában a Th2-es immunreakciót (humorális irány) stimulálja (44).

Újabb vizsgálatok szerint a sejt sérüléseknél extracellulárisan megjelenő intracelluláris DNS is DAMP-ként funkcionál, és rendkívül fontos szerepet játszik a hagyományos adjuvánsok immunválaszt fokozó hatásában. A hatásmechanizmus egyelőre nem ismert, de az biztosnak látszik, hogy független az ez idáig azonosított immunstimuláns tulajdonságú DNS-szenzorok (TLR9, STING – stimulator of interferon genes, interferon gének stimulátora) indukciójától (8, 50).

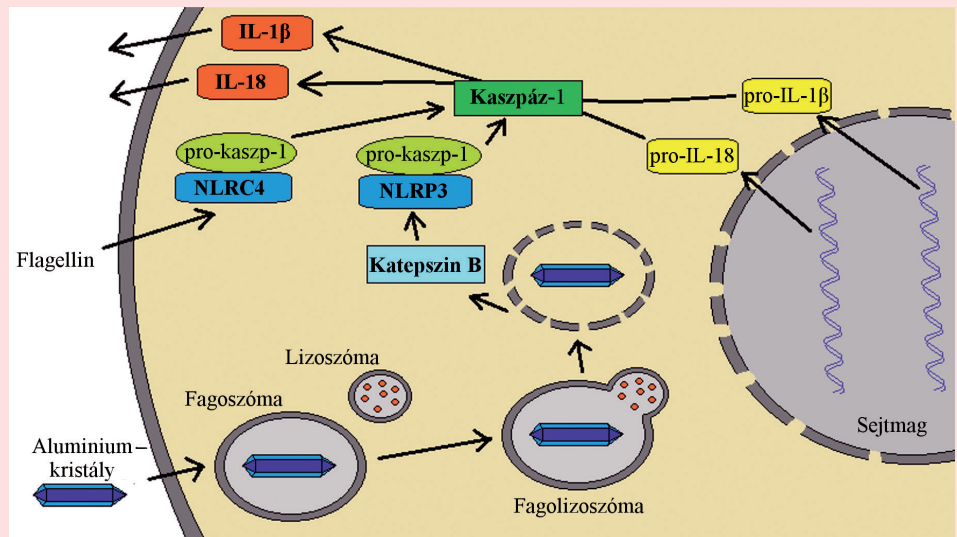
1. TÁBLÁZAT. Receptorcsaládok és funkcióik (10)

TABLE 1. Receptor families and their functions (10)

Receptor	Funkció	Felismert molekula
TLR (Toll-like receptor, Toll-szerű receptor)	A veleszületett immunrendszer rendkívül fontos elemei, mivel sokféle molekula felismerésére képesek. Többféle jelátviteli utat aktiválnak.	fehérjék, lipoproteinek, nukleinsavak, lipidek
NLR (NOD-like receptor, NOD-szerű receptor; NOD: nucleotide-binding oligomerization domain, nukleotidkötő oligomerizáló domén)	Bakteriális sejtalkotókat, valamint a nekrotikus sejtekből felszabaduló molekulákat ismerik fel, amelyek hatására főként gyulladásos folyamatokat indukálnak	peptidoglikánok, toxinok, flagellinek, ATP
RLR (RIG-1-like receptor: RIG-1-szerű receptor; RIG-1: retinoic acid-inducible gene 1, retinsavval indukálható gén 1)	Feladatuk a virális eredetű RNS detektálása a citoplazmában, amelyek hatására antivirális immunválaszokat indukálnak	citoplazmatikus RNS
CLR (C-type lectin receptor: C-típusú lektin receptor)	A kórokozók lipid és szénhidrát molekuláit ismerik fel. Főként a gombák felismerésében van szerepük	lipidek, szénhidrátok

2. ÁBRA. Kristályos szerkezetű adjuvánsok jelátviteli útvonala

FIGURE 2. Signalling pathway of adjuvants with crystallized particles



NOD-like receptor: NOD-szerű receptor; NOD: nukleotidkötő oligomerizáló domén; IL: interleukin
 A kristályos szerkezetű részecskék felvétele (pl. alumíniumsók, húgysav) a sejtek sérülésével járhat, ugyanis károsíthatják az endoszómák és lizoszómák membránjait, amelyekből ennek hatására katepszin B jut ki a citoplazmába. Ezt követően a katepszin B a NOD-like receptorokon (NLRP3 és NLRC4) keresztül beindítja az inflammaszóma képződését. Az inflammaszóma aktiválják a kaszpáz-1 fehérjét, amely a pro-IL-1 β , ill. pro-IL-18 hasítására képes, amelyek így aktív interleukinokká alakulnak (26).

NOD: nucleotide-binding oligomerization domain; IL: interleukin
 Endocytosis of crystallized particles (e.g. aluminium salts, uric acid) may damage endosomal and lysosomal membranes and can lead to the releasing of cathepsin B to the cytoplasm. Binding of cathepsin B to NOD-like receptors (NLRP3 and NLRC4) initiates the formation of inflammasomes, which in turn activate the caspase-1 protein that cleaves pro-IL-1 β and pro-IL-18 creating active interleukins (26).

LEGGYAKORIBB ADJUVÁNSOK ÉS TULAJDONSÁGAIK

ALUMÍNIUMSÓK

Alumíniumsókat több mint 80 éve használnak adjuválásra

A legszélesebb körben használt hatásfokozó szerek az alumíniumsókat tartalmazó adjuvánások, amelyek több mint 80 éve használatosak. Még napjainkban is a forgalomban lévő adjuvánst tartalmazó állatorvosi vakcinák nagy többségében különböző alumíniumsókat alkalmaznak (2. táblázat) az oltás által kiváltott immunreakció elősegítésére. Alumíniumadjuvánst alkalmaznak pl. a madarak fertőző bronchitise, a kutyahepatitis, a Newcastle-betegség, a ragadós száj- és körömfájás vírusa, valamint sok *Clostridium*, *Leptospira* és *Pasteurella* faj elleni vakcina esetében (33).

Az oldhatatlan alumíniumsó precipitátumok erős elektrosztatikus kölcsönhatások által felületükön adszorbeálják az antigéneket. Újabb kísérletek azonban kimutatták, hogy ennél komplexebb folyamatok is szerepet játszanak az adjuváló hatásban. Egerekben alumíniumsók oltását követően néhány órán belül gyulladásos mediátorok, pl. IL-1 β , hisztamin és IL-5 detektálhatók. Egy napon belül az injektálás helyén eozinophil és neutrophil granulocyták, valamint professzionális antigénprezentáló sejtek – myeloid dendritikus sejtek (DC: dendritic cells), plazmacitoid DC-k és monocyták – halmozódnak fel. Utóbbiak az antigén felvételét követően a nyirokcsomókba vándorolnak, ahol MHCII+ dendritikus sejtekké differenciálódnak. Ezen kívül azt találták, hogy a peritoneális DC- és B-sejtek könnyebben felveszik az alumíniumsókhöz adszorbeált antigént, mint az adjuváns nélküli szolubilisat, valamint megnő a DC-k T-sejt aktiváló képessége (29, 60).

Az alumíniumadjuvánások elsősorban Th2 típusú, vagyis humorális, immunválaszt indukálnak. A Th2-útvonal aktiválása az alumíniumadjuvánások esetében nagymértékű IgE-termeléssel járhat együtt. Ez a hatás sok esetben nemkívánatos, mivel az IgE-indukció komoly szerepet játszik a különféle allergiás megbetegedések létrejöttében (6).

Használatuk szerepet játszhat allergiás megbetegedések kialakulásában

2. TÁBLÁZAT. A magyarországi állatorvosi gyakorlatban jelenleg használt 69 inaktivált vakcina adjuvánsai

A Magyarországon jelenleg engedélyezett élő attenuált vakcina száma 192, az összes állatorvosi vakcina száma 261

TABLE 2. Adjuvants of the 69 inactivated veterinary vaccines licensed in Hungary

The number of veterinary vaccines licensed in Hungary is 261, the number of live, attenuated vaccines is 192

Célállat	Adjuvánsok megnevezése							
	Alumíni- umsók	Szaponin	Quil A	Kalciumsók	Szkvalán	Monta- nide**	ISCOM	Paraffinolaj
Kutya	14	0	0	0	0	0	0	0
Macska	7	0	2	0	0	0	0	0
Szarvasmarha	10	2	2	0	0	0	0	1
Sertés	7	0	0	0	0	3	0	4
Baromfi	4	0	0	0	0	0	0	13
Ló	5	0	0	0	1	1	1	0
Egyéb	1†	0	0	0	0	1†	0	0
Összes adott adju- vánst tartalmazó vakcina száma*	39	2	4	0	1	5	1	18

* Az értékek nem feltétlen kumulatívak, mivel egy adott vakcinát esetleg több állatfajra is ajánlhatnak.

** Montanide ISA 70, Montanide ISA 35VG, Montanide ISA 708, Montanide ISA 763AVG, Montanide-888 együttes adatok. †galamb, ‡nyúl.

* The values are not cumulative as certain vaccines can be applied to several animal species. ** Summarized data of Montanide ISA 70, Montanide ISA 35VG, Montanide ISA 708, Montanide ISA 763AVG, Montanide-888. †pigeon, ‡rabbit.

Normális körülmények között, ha az alumínium kis dózisban van jelen, kiválasztódik a vesében, viszont a veseműködés zavara esetén lerakódik a testben, ami toxikus is lehet (18). Emellett, bár rákkeltő és magzatkárosító hatásuk egyelőre nem bizonyított, néhányan idegrendszeri károsodások kialakulásának elősegítéséért teszik őket felelőssé (amyotrophiás lateralsklerosis, Guillain-Barre-betegség, szklerózis multiplex) (61).

Az alumíniumsók mellett újabban kalciumsókat is használnak adjuvánsként. Mivel ezek az anyagok nagy mennyiségben fordulnak elő, elsősorban az élőlények vázrendszerében, ezért az emlősök szervezete általában jól tolerálja őket, és könnyen fel is szívódnak (57). Az általánosan kalcium-foszfátnak nevezett adjuváns neve félrevezető, ugyanis fizikokémiai vizsgálatok kimutatták, hogy nem $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ alkotja, hanem hidroxipatit ($\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_{4-x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$, ahol $x = 0-2$) gél. A 10×150 nm-es tű alakú kristályok elektrosztatikus úton kötik az antigének pozitívan töltött funkció csoportjait, és felületükön juttatják be a sejtekbe (24).

Habár jelenleg nincs forgalomban kalciumsókat tartalmazó állatorvosi vakcina, humán oltóanyagokban jól vizsgáztak. Az alumíniumsókkal szemben előnyük, hogy nem toxikusak, és allergizáló hatásuk is kisebb, mivel sem állatokban, sem emberben nem indukálnak IgE ellenanyagválaszt. Ezért alkalmasnak látszanak arra, hogy hosszú távon kiváltsák a több mellékhatással bíró alumíniumsókat (19, 71).

FREUND-ADJUVÁNS

Az egyik legismertebb adjuvánst, amelyet ma Freund komplett adjuváns (FCA) néven ismerünk, FREUND állította elő 1936-ban, amikor víz, paraffinolaj és hővel előlt *Mycobacterium*-szuszpenzió keverékét alkalmazta hatásfokozóként nyulakban és tengerimalacban tuberkulózis ellen (17). Bár potenciális TLR2, TLR4 (glikoproteinek, di- és triacilált lipoproteinek, lipoarabinomannán és más glikolipidek), valamint TLR9 (metilátlan CpG) ligandumokat tartalmaz, elsősorban mégsem a Toll-like receptorokon, hanem az IL-1 receptoron (IL-1R) keresztül aktivál jelátviteli útvonalakat, amelyek erős celluláris immunválaszhoz vezetnek. Az IL-1 gyulladási citokin termelését az FCA komponensei közül legerősebben a *Mycobacterium*ból származó peptidoglikán és glikolipid (trehalóz-dimikolát vagy más néven cord faktor) stimulálja. Nagy valószínűséggel az injektálás következtében létrejövő sejtkárosodás hatására a nekrotikus sejtekből meginduló szignalizációs útvonalak is segítik adjuváló hatását (62, 63, 68). Hátránya, hogy számos helyi káros reakciót vált ki, és túl toxikus a mindennapi humán vagy állatgyógyászatban való használathoz. A bakteriális komponensek hatására indukálódó nagyszámú Th17-sejt túlzott aktivitása magyarázhatja az FCA használatakor tapasztalt káros gyulladási reakciókat (63).

Kevésbé toxikus és kevésbé hatékony baktérium nélküli változata, a Freund inkomplett adjuváns (FIA) (67), amely a ma használatban lévő emulziós adjuvánsok prototípusának tekinthető.

EMULZIÓS ADJUVÁNSOK

Az emulziós adjuvánsokat két egymással nem keveredő anyag (általában víz és olaj) kombinálásával hozzák létre úgy, hogy a kisebbik alkotórészt diszpergálják a nagyobbik komponensben. A két anyag szétválását valamilyen felületaktív anyag (surfactant) hozzáadásával gátolják meg.

A jelenleg forgalomban lévő emulziós adjuvánst tartalmazó vakcinák nagyobb részében ásványi olajból finomított, nagy tisztaságú könnyűolajból (paraffinolaj) készítik az olajos fázist (2. táblázat). A fázisok elkülönülését legtöbbször nem ionos detergens (pl. oktilfenol-etoxilát [Triton X-100], nonilfenol-etoxilát) hozzáadásával gátolják meg.

Mivel az emulziós adjuvánsok mellékhatásai – pl. a gyulladási reakciók, a fekélyek és a granulomák – igen gyakoriak, ezért a fejlesztők természetes olajok használatával kevésbé káros emulziótípusokat próbáltak előállítani: így kevésbé viszkózus,

A komplett Freund-adjuváns víz, paraffinolaj és előlt *Mycobacterium*-szuszpenzió keverékét tartalmazza

Az emulziós adjuvánsokat két egymással nem keveredő anyag kombinálásával hozzák létre

Kezdetben az emulziós adjuvánsok használata számos mellékhatással járt

könnyebben bejuttatható és stabilabb keverékeket sikerült készíteniük. Napjainkban az egyik leggyakrabban használt emulziós adjuváns a szkvalén alapú MF59 (3A ábra).

A szkvalén egy 30 szénatomos triterpén, amely a szteroidok prekursoraként minden élőlényben megtalálható (3B ábra), és sokkal könnyebben metabolizálható, mint a Freund-adjuvánsokban alkalmazott paraffinolaj (48).

Hatásmechanizmusának vizsgálata alapján nem valószínű, hogy antigéndepóként működne. Hat óra elteltével az adjuváns 90%-a és az antigén 75%-a már nem található meg az injektálás helyén, de jelölt szkvalén akár 15 nap múlva is kimutatható kísérleti egerek oltásközeli nyirokcsomóiban (15). Más kísérleti adatok is arra utalnak, hogy az MF59 serkenti a granulocyták, monocyták és makrofágok antigénfelvő képességét és az oltás helyére történő migrációját, valamint elősegíti a monocyták differenciálódását antigénprezentáló dendritikus sejtekké (59). Az aktiválódott immunsejtek kemokinek bocsátanak ki, amelyek pozitív visszacsatolási folyamat révén elősegítik további granulocyták, monocyták és makrofágok megjelenését az oltási helyen (14). Izomsejtek is közrejátszhatnak az MF59 aktiváló hatásában, mivel ezekben megugrik az immunaktivátor JunB (transzkripciófaktor) és pentraxin3 (akutfázis-fehérje) fehérjék szintézise (40).

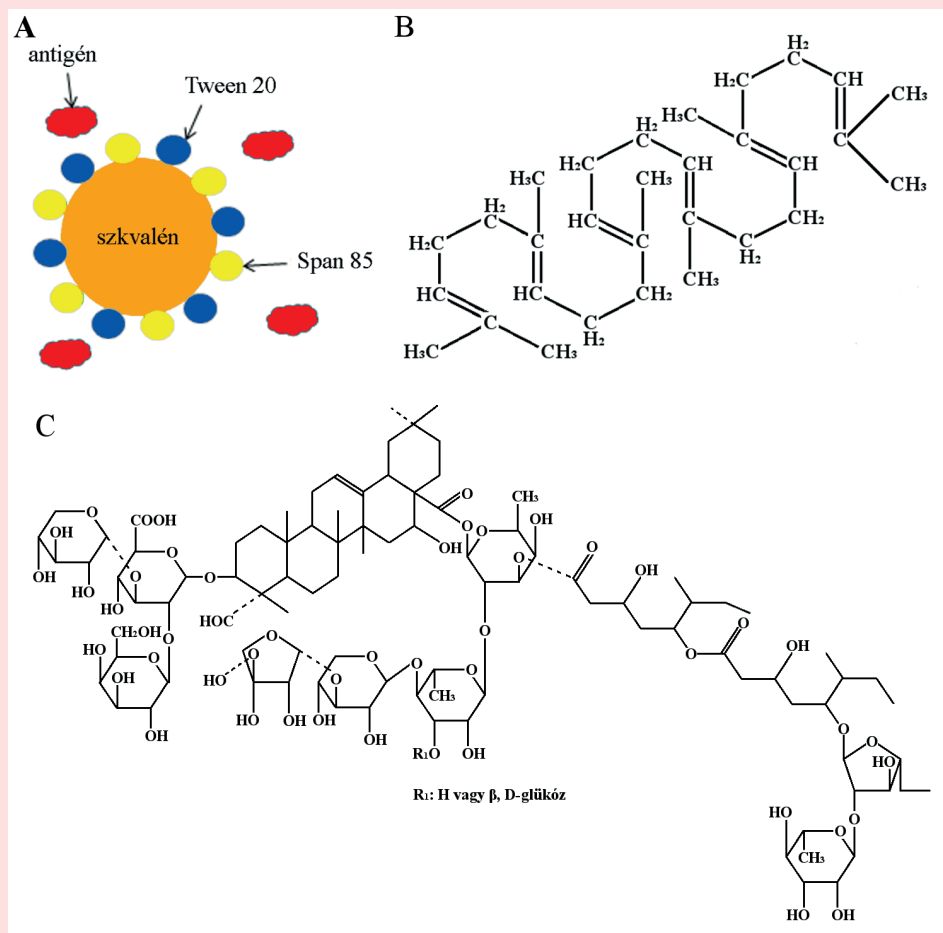
Az aktivált immunsejtek intracelluláris módon transzportálják az oltási helyről az antigént a helyi nyirokcsomókba. Az antigénprezentáló sejtek mennyisége a nyirokcsomókban az immunválasz szempontjából rendkívül jelentős. Jelenlegi tudásunk szerint az MF59 hatásának alapja, hogy az oltási helyen nagyobb számban megjelenő és onnan továbbvándorló immunsejtek növelik a nyirokcsomókban prezentált antigének mennyiségét, ami nemcsak az immunválasz erősségére, de

3. ÁBRA. Emulziós és szaponinalapú adjuvánsok

A – Az MF59 sematikus képe. Előállításakor szkvalént diszpergálnak citrát-pufferben, Span 85 és Tween 80 nem ionos detergenssekkel stabilizálva (45)
B – A szkvalén szerkezeti képlete
C – A Quil A szerkezeti képlete

FIGURE 3. Emulsion and saponine based adjuvants

A – Schematic figure of MF59. The squalene is dispersed in citrate buffer and stabilized with Span 85 and Tween 80 non-ionic detergents (45)
B – Structural formula of squalene
C – Structural formula of Quil A



minőségére is jelentős befolyással van, és ez megmutatkozik az ellenanyagok affinitásának, ill. a felismert epitópok mennyiségének növekedésében is. Egy klinikai kísérletben alumadjuvált, előlt H5N1 influenzavakcina főleg a hemagglutinin HA2 doménje ellen indukált ellenanyagokat, míg az MF59 a HA1 domén és a neuraminidáz ellen is, ráadásul csak az MF59-cel generált szérum volt képes neutralizáló konformációs epitópokat is felismerni a hemagglutininben (25).

A hazai forgalomban lévő állatgyógyászati oltóanyagok közül egyedül egy lórotavírus elleni vakcina tartalmazza adjuvánsként a szkvalén hidrogénezett változatát, a szkvalánt.

SZAPONINOK

A szaponinok növényekben, mélytengeri állatokban, ill. néhány baktériumban található felületaktív szteroidok vagy triterpén-glikozidok, amelyekben a hidrofób maghoz szénhidrogénláncok kapcsolódnak (53).

A Quil A és a QS-21 a szappankéregfa kérgéből kivont szaponinszármazékok, amelyek számos állatorvosi vakcinában megtalálhatóak (3C ábra). Adjuváló hatásuk különösen az emlőállatokban érvényesül, és sokkal kevésbé hatékonyak az állatok más csoportjaiban, pl. madarakban. Legnagyobb előnyük, hogy a humorális immunválasz stimulációja mellett a citotoxikus CD8+ lymphocytákat is aktiválják, így sokkal intenzívebb T-sejtfüggő választ képesek kiváltani, mint az adjuvánsok nagy többsége (53). Ezt a hatást nagy valószínűséggel úgy érik el, hogy felületaktív anyagként a koleszterollal kölcsönhatásba lépve beékelődnek a sejtek felszíni és endoszomális membránjaiba, ahol lyukakat képezhetnek, vagy megváltoztatják a membránok permeabilitását, és ezzel segítik elő az antigének bejutását a citoszolba (3). A citoszolba jutott fehérjeantigént a citoplazmatikus proteázok megemésztik, így azok az MHCII-molekulákhoz kötődve kimutathatók a sejtfelszínen annak ellenére, hogy *de novo* fehérjeszintézis nem történt a sejtben (kereszt- vagy indirekt prezentáció). Az MHCII-hez kötött antigének ezután beindíthatják a celluláris immunválaszt (13). Hátrányos mellékhatásaik, hogy elősegíthetik granulomák képződését, aspecifikus monocytá-proliferációhoz vezethetnek, erős helyi gyulladásokat okozhatnak és hemolízist is előidézhhetnek (53). A hazai gyakorlatban jelenleg két szarvasmarha, egy IBR és egy *E.coli*/rotavírus/koronavírus elleni kombinált oltóanyag van forgalomban, amelyekben szaponin az adjuváns.

A Quil A fontos alkotója az immunstimuláló komplexeknek (ISCOM), amelyeket MOREIN és mtsai írtak le először 1984-ben (37). Az ISCOM vakcinák koleszterolt, foszfolipidet, szaponint és antigént tartalmaznak, amelyek körülbelül 40 nm átmérőjű partikulákká állnak össze. Az antigén nélküli változata az ISCOMATRIX. Az ISCOM és az ISCOMATRIX vakcinák erősen immunogének, a veleszületett és az adaptív immunrendszert is képesek aktiválni (65). Az ISCOM intraperitoneális injektálása intenzív helyi gyulladás létrejöttét, neutrofil granulocyták és hízósejtek, majd később makrofágok, dendritikus sejtek és lymphocyták termelődését, valamint reaktív oxigén intermedierek és gyulladásos citokinek (IL-1, IL-6, IL-8, IFN- γ (interferon- γ)) szekrécióját stimulálja (74). Mindezek mellett serkenti az MHCII és MHCII fehérjék expresszióját is, és részecsketermészete miatt elősegíti az antigén felvételét DC-kben, ill. makrofágokban endocitózis által (56, 72). Jelenleg egy, a lovak nyugat-nílusi láz elleni oltóanyagában alkalmaznak ISCOMATRIX-ot.

FEJLESZTÉS ALATT ÁLLÓ ADJUVÁNSOK

CPG-T TARTALMAZÓ OLIGODEZOXINUKLEOTIDOK

Az új generációs adjuvánsok közül a legintenzívebben tanulmányozottak a metilálatlan CpG-t tartalmazó oligodezoxinukleotidok (CpG ODN). A CpG megnevezés a DNS-szálon egymás mellett álló citozinra és guaninra, a p jelölés pedig a

A szaponinok a humorális immunválasz stimulációja mellett a citotoxikus CD8+ lymphocytákat is aktiválják

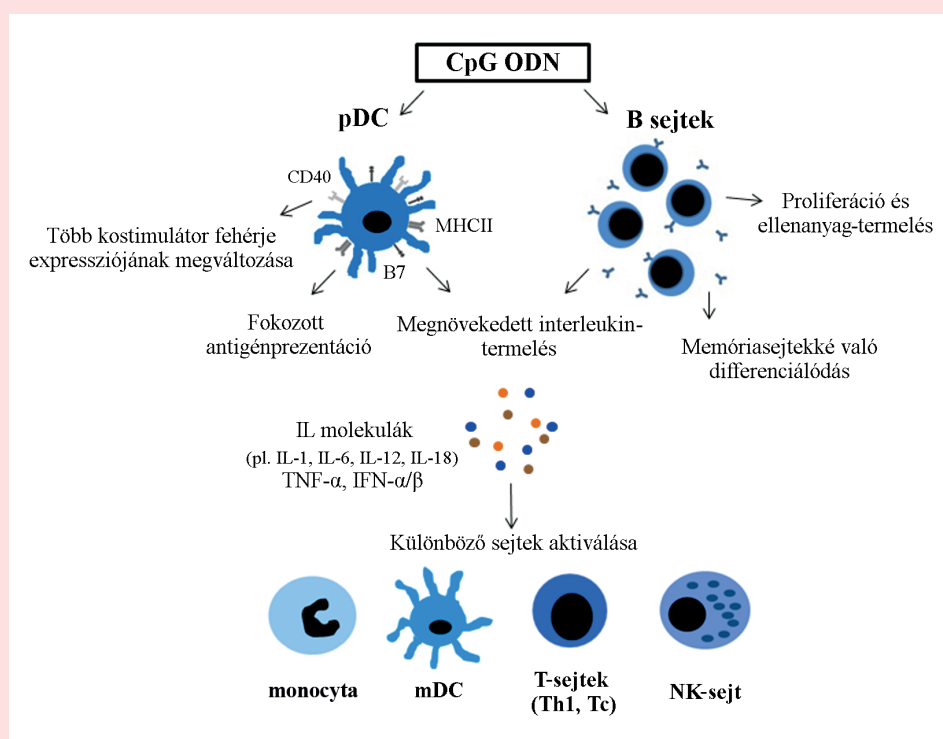
Az ISCOM vakcinák koleszterolt, foszfolipidet, szaponint és antigént tartalmaznak, amelyek körülbelül 40 nm átmérőjű partikulákká állnak össze

A metilálatlan CpG-t tartalmazó oligonukleotidok a bakteriális genomra jellemző mintázatúak

köztük lévő foszfodiészter kötésre utal. Mint ismert, a metilálatlan CpG dinukleotidok gyakorisága és mintázata eltér a prokarióták és eukarióták között (9, 55). A bakteriális genomban ugyanis a CpG dinukleotidok metilálatlanok maradnak, számuk pedig a várt gyakoriságnak megfelelő, míg a gerincesek genomjában a CpG-k 70–90%-a metilált és a CpG-k alulreprezentáltsága jellemző. Ennek eredményeként a gerincesekben olyan saját/nem saját mintázatfelismerő mechanizmusok alakultak ki, amelyek lehetővé teszik a patogének genomjából származó nem metilált CpG-t hordozó DNS-darabok detektálását (30). Emlősökben a Toll-like receptor 9 (TLR9), míg madarakban a Toll-like receptor 21 (TLR21) köti a metilálatlan CpG-t tartalmazó egyszálú DNS-t, és szolgál specifikus detektorként (7). TLR9 és TLR21 az endoszómák membránjában található. Ez a lokalizáció elősegítheti, hogy a receptorok főleg a patogénekből (vírusok, baktériumok) az endoszómális emésztés során kiszabaduló nukleinsavakat érzékeljék, és ne találkozzanak

4. ÁBRA. A CpG oligodezoxinukleotidok immunstimuláló hatása

FIGURE 4. Immunostimulatory effects of CpG oligodeoxynucleotides



ODN: oligodezoxinukleotid; CpG: citozin–foszfodiészter kötés–guanin; pDC: plazmacitoid dendritikus sejt; TLR: Toll-szerű receptor; IL: interleukin; mDC: myeloid dendritikus sejt; NK: természetes ölősejt; MHC: fő hisztokompatibilitási komplex; CD40: differenciációs faktor 40

A metilálatlan CpG-ket tartalmazó ODN-ek a plazmacitoid dendritikus sejtek és B-sejtek endoszómáiban található TLR9-receptorokkal kölcsönhatásba lépve a természetes és az adaptív immunrendszer aktiválására is képesek. Hatásukra fokozódik több kostimulátor fehérje expressziója, valamint az interleukinok és ellenanyagok termelése. A termelt molekulák myeloid dendritikus sejteket, T-sejteket (Th1, Tc), monocytákat, valamint természetes ölősejteket (NK) aktiválnak (28)

ODN: oligodeoxynucleotide; CpG: cytosine–phosphodiester bond–guanine; pDC: plasmacytoid dendritic cell; TLR: Toll-like receptor; IL: interleukin; mDC: myeloid dendritic cell; NK: natural killer cell; MHC: major histocompatibility complex; CD40: cluster of differentiation 40

Unmethylated CpG-containing ODNs interacting with TLR9 receptors in the endosomes of plasmacytoid dendritic cells and B cells can activate the innate and the adaptive immune systems. They increase the expression of costimulatory molecules and the production of antibodies and interleukins (IL). The produced immunomodulators activate myeloid DCs, T cells (Th1, Tc), monocytes and natural killer cells (28)

sérülések során a sejtekből kiszabaduló saját DNS-sel, amelyet az extracelluláris DNázok viszonylag gyorsan lebontanak (4). A metilátlan CpG-eket tartalmazó szekvenciák a TLR9 receptorokkal kölcsönhatásba lépve a MyD88 (myeloid differentiation primary response gene 88, myeloid differenciáló faktor 88) adaptor fehérjén keresztül mitogénaktivált proteinkinázok és transzkripció faktorok: NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, nukleáris faktor kappa B), AP1 (activator protein-1, aktivátor protein 1), IRF-7 (interferon regulatory factor 7, interferon reguláló faktor 7) aktiválásával stimulálják a veleszületett és adaptív immunrendszer elemeit (4. ábra) (31, 32). Hatásukra fokozódik több kostimulátor fehérje (pl. MHCII, CD40 – cluster of differentiation 40, differenciációs faktor 40), ill. Fc-receptor expressziója, az antigénprezentáló sejtek pedig ellenanyagok, ill. citokinek (pl. IL-1, IFN- α/β) termelésébe kezdenek. A termelt molekulák myeloid DC-eket, T-sejteket, monocytákat, valamint 1-es típusú NK-sejteket (natural killer, természetes ölősejt) aktiválnak. Utóbbiak nagy mennyiségben kezdenek IFN- γ -t szekretálni, valamint fokozódik litikus aktivitásuk is (5, 54).

Akár már hat nukleotid hosszúságú CpG ODN is aktiválhatja a gerincesek immunrendszerét

Akár már hat nukleotid hosszúságú CpG ODN is aktiválhatja a gerincesek immunrendszerét, az viszont, hogy milyen CpG-szekvencia stimulál immunválaszt, a szegélyező nukleotidoktól, ill. az adott gazdafajtól is függhet (31). A lehetséges stimulátorszekvenciákat vizsgálva kimutatták, hogy azok a CpG ODN-ek, amelyek 3' végükön timinben gazdagok, 5' végükön pedig TpC dinukleotidot tartalmaznak általában erősebb immunstimulánsok, mint azok, amelyekben a CpG-k a 3' vég közelében találhatóak (21, 31). Az említettekén kívül a stimuláló hatást befolyásolhatja a CpG ODN kémiai és másodlagos (palindrom szekvenciák) szerkezete is (43).

Napjainkra száznál több olyan preklinikai vizsgálatot végeztek, amelyben sikerült kimutatni a metilátlan CpG-eket tartalmazó ODN-ek immunstimuláló hatását (8). Azt tapasztalták, hogy a CpG ODN-ek adjuválo hatása jobban érvényesült akkor, ha az antigénnel egy időben, ill. szoros közelségben, pl. alummal konjugálva, vagy közös liposzómában juttatták be őket a sejtekbe (20, 27).

Egy CpG ODN-nel adjuvált lépfenevakcina hosszabb és hatékonyabb védelmet biztosított egerekben, mint az adjuválatlan megfelelője

A CpG ODN-ekben rejlő lehetőséget jól érzékelteti egy egereken végzett kísérlet. Ennek során CpG ODN-nel kombináltak emberi célra már regisztrált, alumadszorbeált előlt lépfenebacillust tartalmazó vakcinát (AVA: Anthrax Vaccine Adsorbed, adszorbeált anthrax vakcina). A kísérlet során a kombinált vakcina nemcsak az immunválaszt erősítette, hanem annak időtartamát is növelte. Az egerek többsége ugyanis egy év múltán is ellenállt a kísérleti lépfenefertőzésnek, amikor az ellenanyagszint már a protektív érték alá esett. Ezt a vizsgálatok szerint a korábban képződött antianthrax memória B-sejtek aktiválódása és nagy affinitású ellenanyaguk gyors szekréciója tette lehetővé. A gyors immunválasz annak köszönhető, hogy a mérések szerint a nagy affinitású memóriasejtek száma háromszorosa volt a CpG-vel adjuvált állatokban, mint a csak AVA-val vakcinázottakban (5). A CpG-vel kapott kiváló eredmények ugyanakkor még nem jelentek meg a mindennapok állatgyógyászatában. Egyelőre nincsen CpG ODN adjuvánst tartalmazó állatgyógyászati oltóanyag, sem hazai, sem európai forgalomban.

NYÁLKAHÁRTYA-ADJUVÁNSOK

Az állatorvosi gyakorlatban komoly kereslet lenne haszonállatok nyálkahártyán történő vakcinázásra, mivel ez csökkentené az oltással kapcsolatos költségeket (képzett személyzet, steril eszközök) és az állatokat érő stresszt. A legtöbb kórokozó bejutási helye amúgy is a légző-, az urogenitális, ill. az emésztőrendszert borító nyálkahártya. Ennek immunológiai védelmére alakult ki gerincesekben a nyálkahártya alatt lévő nyirokszövetrendszer, amelyet az angol elnevezés rövidítése alapján MALT-nak (Mucosa Associated Lymphoid Tissue, nyálkahártyához kapcsolódó lymphoid szövet) nevezünk: ez tekinthető a legnagyobb emlős nyirokszervnek.

**Hatékony nyálkahártya-
adjuvánsok és -vakci-
nák segítségével meg-
lehetne akadályozni
az adott kórokozó
szervezetbe jutását**

A MALT erősen tagolt: Peyer-plakkok, mezenterális nyirokcsomók, a vakbél, a bélben lévő mirigyek, a mandulák, a garat tájékán lévő adenoidok alkotják, működése lényegében független a szisztémás immunrendszertől (41).

Az ellenanyagok közül elsősorban az IgA termelődik nagy mennyiségben a nyálkahártya-felszíneken (34). Védő hatású IgA-válasz kiváltásához az orális immunizáció tűnhetne legkézenfekvőbbnek, viszont a gyomorsavon és a gyomor emésztőenzimjein keresztül rendkívül nehéz az antigéneket úgy eljuttatni a vékonybélbe, hogy azok a Peyer-plakkok stimulációjával olyan immunválaszt váltssanak ki a nyálkahártyák felületén, amely ténylegesen megakadályozza a kórokozók bejutását a szervezetbe. Ugyanakkor nem ritka jelenség, hogy az orálisan bejuttatott antigén-ellenanyagválasz helyett toleranciát vált ki. Ezért a fejlesztők alternatív utakat (nazális és rektális immunstimuláció) is intenzíven tanulmányoznak a hatékonyabb mukozális immunválasz kiváltására (58).

A hozzáférhető adatokból az derül ki, hogy az adjuvánsok megfelelő kiválasztásának és alkalmazásuk módjának kulcsszerepe lehet a sikeres nyálkahártya-vakcinák fejlesztésében.

Biztató kísérletek folynak retinsavval és enterotoxinokkal (koleratoxin és az *E. coli* hőlabilis enterotoxin) mint nyálkahártya adjuvánsokkal. A retinsav az A-vitamin egyik geometriai izomer származéka, fontos immunstimuláns, amely egyrészt befolyásolja a T-sejtek helyeződését a nyálkahártyában, másrészt serkenti a nyálkahártya B-sejtek IgA-szekrécióját (23).

A kísérleti rendszerekben leginkább tanulmányozott mukozális adjuváns a monomer α (CTA) és a homopentamer β (CTB) alegységekből álló koleratoxin (CT: cholera toxin). A toxin kötődésének hatására megváltozik az hámsejtek permeabilitása, a MALT-ban pedig megnő a professzionális antigénprezentáló immunsejtek antigénfelvevő és antigénprezentáló képessége. B-sejteknél a kötődés együtt jár az MHCII-fehérjék termelődésének növekedésével, valamint az izotípus-differenciáció serkentésével. Emellett a toxin komplex változásokat okoz az immunsejtek citokinszintézisében is. Pl. IL-4-expressziót idéz elő Th2-sejtekben és IL-1-szekréciót makrofágokban és DC-kben.

Habár a CTB sem emberben, sem állatban nem toxikus, közel sem olyan hatékony orális mukozális adjuváns, mint a teljes CT, ami határozottan arra utal, hogy a CTA-nak is komoly szerepe van az adjuváns hatás kialakításában. Ezt támasztja alá az a kísérlet is, ahol az enzimatikusan aktív CTA1-t egy *Staphylococcus aureus*-ból származó proteín-A-származékhoz (DD) kapcsolták, amely specifikusan képes volt antigénprezentáló B-sejtek sejt felszíni immunoglobulinjaihoz kötődni. Amikor CTA1-DD-t különféle antigénekkal alkalmaztak intranazálisan, a kimeráfehérje mind a szisztémás, mind a mukozális immunválaszt jelentősen növelte (35, 51).

A komplett CT jobb adjuváló hatásának kiaknázására jelenleg is folynak kísérletek, amelyekben a CTA toxicitását oly módon próbálják mutációkkal vagy inszerciókkal csökkenteni, hogy az adjuváló hatás megmaradjon (22, 52).

JÖVŐBENI KILÁTÁSOK

Amint azt a fentebb részletesen tárgyalt anyagok hatásmechanizmusa mutatja, az adjuvánsok különféle jelátviteli útvonalak aktiválásán keresztül érik el immunstimuláló hatásukat a vakcinázás során. Ezeknek a jelátviteli utaknak mind részletesebb ismerete egyre jobban megkönnyíti az antigének egyedi tulajdonságaihoz hangolt adjuvánsok célzott kiválasztását a minimális mellékhatást és specifikus immunválaszt kiváltó hatékony vakcinák fejlesztéséhez. Az általunk részletesen tárgyalt immunstimulánsokon kívül számos más adjuvánssal is többnyire vakcinagyártók által támogatott komoly kutatások és előrehaladott fejlesztések folynak.

A jelenleg forgalomban lévő vakcinákban leggyakrabban használt hagyományos paraffinolaj és az alum nem minden esetben a leghatékonyabb és a legkevesebb mellékhatással járó adjuváns

Az valószínűsíthető, hogy a jelenleg forgalomban lévő vakcinákban leggyakrabban használt hagyományos paraffinolaj és az alum nem minden esetben a leghatékonyabb és a legkevesebb mellékhatással járó adjuváns. Elterjedt használatukat a hatékonyságuk mellett elsősorban a konzervatív szabályozási környezetnek köszönhetik, ami jelentősen megdrágítja az új adjuvánsok bevezetését. Azonban a vakcinapiacra élesedő verseny miatt jelenleg a nagy gyártók szinte mindegyike folytat kísérleteket és fejlesztéseket új generációs adjuvánsokkal. Ezeknek megjelenése elsősorban „új betegségek” elleni vakcinákban várható először. Hosszú távon azonban az új generációs adjuvánsok – első megjelenésük után gyorsuló ütemben – vélhetően egy-két évtized alatt, ki fogják szorítani a hagyományos adjuvánsokat elsősorban jobb biztonsági és kevesebb mellékhatást okozó tulajdonságaik miatt. Ennek a folyamatnak a sebessége azonban nagymértékben függeni fog a szabályozó környezet változásaitól.

IRODALOM

- ALLISON, A. C. – BYARS, N. E.: Immunological adjuvants: desirable properties and side-effects. *Mol. Immunol.*, 1991. 28. 279–284.
- AWATE, S. – BABIUK, L. A. – MUTWIRI, G.: Mechanisms of action of adjuvants. *Front. Immunol.*, 2013. 4. 114.
- BANGHAM, A. D. – HORNE, R. W. et al.: action of saponins on biological membranes. *Nature*, 1962. 196. 952–955.
- BARTON, G. M. – KAGAN, J. C. – MEDZHITOV, R.: Intracellular localization of Toll-like receptor 9 prevents recognition of self DNA but facilitates access to viral DNA. *Nat. Immunol.*, 2006. 7. 49–56.
- BODE, C. – ZHAO, G. et al.: CpG DNA as a vaccine adjuvant. *Expert Rev. Vaccines*, 2011. 10. 499–511.
- BREWER, J. M. – CONACHER, M. et al.: In interleukin-4-deficient mice, alum not only generates T helper 1 responses equivalent to Freund's complete adjuvant, but continues to induce T helper 2 cytokine production. *Eur. J. Immunol.*, 1996. 26. 2062–2066.
- BROWNLIE, R. – ZHU, J. et al.: Chicken TLR21 acts as a functional homologue to mammalian TLR9 in the recognition of CpG oligodeoxynucleotides. *Mol. Immunol.*, 2009. 46. 3163–3170.
- BURDETTE, D. L. – VANCE, R. E.: STING and the innate immune response to nucleic acids in the cytosol. *Nat. Immunol.*, 2013. 14. 19–26.
- CARDON, L. R. – BURGE, C. et al.: Pervasive CpG suppression in animal mitochondrial genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1994. 91. 3799–3803.
- COFFMAN, R. L. – SHER, A. – SEDER, R. A.: Vaccine adjuvants: putting innate immunity to work. *Immunity*, 2010. 33. 492–503.
- COX, J. C. – COULTER, A. R.: Advances in adjuvant technology and application. In: YONG, W. K. (editor): *Animal Parasite Control Utilizing Biotechnology*. CRC Press Inc. Boca Raton, Palm Beach, Florida, USA, 1992. 51–54.
- DINARELLO, C. A.: Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute-phase response. *N. Engl. J. Med.*, 1984. 311. 1413–1418.
- DUEWELL, P. – KISSER, U. et al.: ISCOMATRIX adjuvant combines immune activation with antigen delivery to dendritic cells *in vivo* leading to effective cross-priming of CD8+ T cells. *J. Immunol.*, 2011. 187. 55–63.
- DUPUIS, M. – DENIS-MIZE, K. et al.: Immunization with the adjuvant MF59 induces macrophage trafficking and apoptosis. *Eur. J. Immunol.*, 2001. 31. 2910–2918.
- DUPUIS, M. – McDONALD, D. M. – OTT, G.: Distribution of adjuvant MF59 and antigen gD2 after intramuscular injection in mice. *Vaccine*, 1999. 18. 434–439.
- EPPSTEIN, D. A. – BYARS, N. E. – ALLISON, A. C.: New adjuvants for vaccines containing purified protein antigens. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 1990. 4. 233.
- FREUND, J. – CASALS, J. – HOSMER, E. P.: Sensitization and antibody formation after injection of tubercle bacilli and paraffin oil. *Proc. Soc. Exp. Biol. Medical*, 1937. 37. 509–513.
- GOTO, N. – KATO, H.: Studies on the toxicities of aluminium hydroxide and calcium phosphate as immunological adjuvants for vaccines. *Vaccine*, 1993. 11. 914–918.
- GUPTA, R. K. – SIBER, G. R.: Comparison of adjuvant activities of aluminium phosphate, calcium phosphate and stearyl tyrosine for tetanus toxoid. *Biologicals*, 1994. 22. 53–63.
- GURSEL, I. – GURSEL, M. et al.: Sterically stabilized cationic liposomes improve the uptake and immunostimulatory activity of CpG oligonucleotides. *J. Immunol.*, 2001. 167. 3324–3328.
- HARTMANN, G. – KRIEG, A. M.: Mechanism and function of a newly identified CpG DNA motif in human primary B cells. *J. Immunol.*, 2000. 164. 944–953.
- HOLMGREN, J. – HARANDI, A. M. – CZERKINSKY, C.: Mucosal adjuvants and anti-infection and anti-immunopathology vaccines based on cholera toxin, cholera toxin B subunit and CpG DNA. *Expert Rev. Vaccines*, 2003. 2. 205–217.
- IWATA, M. – HIRAKIYAMA, A. et al.: Retinoid acid imprints gut-homing specificity on T cells. *Immunity*, 2004. 21. 527–538.
- JIANG, D. – PREMACHANDRA, G. S. et al.: Structure and adsorption properties of commercial calcium phosphate adjuvant. *Vaccine*, 2004. 23. 693–698.
- KHURANA, S. – CHEARWAE, W. et al.: Vaccines with MF59 adjuvant expand the antibody repertoire to target protective sites of pandemic avian H5N1 influenza virus. *Sci. Transl. Med.*, 2010. 2. 15ra5
- KIM, J. J. – JO, E. K.: NLRP3 inflammasome and host protection against bacterial infection. *J. Korean Med. Sci.*, 2013. 28. 1415–1423.
- KLINMAN, D. M. – BARNHART, K. M. – CONOVER J.: CpG motifs as immune adjuvants. *Vaccine*, 1999. 17. 19–25.
- KLINMAN, D. M.: Immunotherapeutic uses of CpG oligodeoxynucleotides. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004. 4. 249–258.

29. KOOL, M. – SOULLIÉ, T. et al.: Alum adjuvant boosts adaptive immunity by inducing uric acid and activating inflammatory dendritic cells. *J. Exp. Med.*, 2008. 205. 869–882.
30. KRIEG, A. M. – YI, A. K. – HARTMANN, G.: Mechanisms and therapeutic applications of immune stimulatory CpG DNA. *Pharmacol. Ther.*, 1999. 84. 113–120.
31. KRIEG, A. M.: CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects. *Ann. Rev. Immunol.*, 2002. 20. 709–760.
32. KUMAGAI, Y. – TAKEUCHI, O. – AKIRA, S.: TLR9 as a key receptor for the recognition of DNA. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008. 60. 795–804.
33. LINDBLAD, E. B.: Aluminium compounds for use in vaccines. *Immunol. Cell. Biol.*, 2004. 82. 497–505.
34. LYCKE, N. – ERIKSEN, L. – HOLMGREN, J.: Protection against cholera toxin after oral immunization is thymus-dependent and associated with intestinal production of neutralizing IgA anti-toxin. *Scand. J. Immunol.*, 1987. 25. 413–419.
35. LYCKE, N.: From toxin to adjuvant: the rational design of a vaccine adjuvant vector, CTA1-DD/ISCOM. *Cell. Microbiol.*, 2004. 6. 23–32.
36. MEEUSEN, E. N. – WALKER, J. et al.: Current status of veterinary vaccines. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2007. 20. 489–510.
37. MOREIN, B. – SUNDQUIST, B. et al.: Iscom, a novel structure for antigenic presentation of membrane proteins from enveloped viruses. *Nature*, 1984. 308. 457–460.
38. MOREIN, B. – VILLACRÉS-ERIKSSON, M. et al.: Novel adjuvants and vaccine delivery systems. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1996. 54. 373–384.
39. MORTENSEN, S. R. – STRYHN, A. et al.: Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Prev. Vet. Med.*, 2002. 53. 83–101.
40. MOSCA, F. – TRITTO, E. et al.: Molecular and cellular signatures of human vaccine adjuvants. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2008. 105. 10501–10506.
41. MOWAT, A. M.: Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat. Rev. Immunol.*, 2003. 3. 331–341.
42. MURTAUGH, M. P. – ELAM, M. R. – KAKACH, L. T.: Comparison of the structural protein coding sequences of the VR-2332 and Lelystad virus strains of the PRRS virus. *Arch. Virol.*, 1995. 140. 1451–1460.
43. MUTWIRI, G. K. – NICHANI, A. K. et al.: Strategies for enhancing the immunostimulatory effects of CpG oligodeoxynucleotides. *J. Control. Release*, 2004. 97. 1–17.
44. NAKANISHI, K. – YOSHIMOTO, T. et al.: Interleukin-18 is a unique cytokine that stimulates both Th1 and Th2 responses depending on its cytokine milieu. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2001. 12. 53–72.
45. O'HAGAN, D. T. – FOX, C. B.: New generation adjuvants – from empiricism to rational design. *Vaccine*, 2015. 33. 14–20.
46. O'NEILL, L. A. – BOWIE, A. G.: Sensing and signaling in antiviral innate immunity. *Curr. Biol.*, 2010. 20. 328–333.
47. O'NEILL, L. A. – GOLENBOCK, D. – BOWIE, A. G.: The history of Toll-like receptors – redefining innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2013. 13. 453–460.
48. OTT, G. – BARCHFELD, G. L. et al.: MF59. Design and evaluation of a safe and potent adjuvant for human vaccines. *Pharm. Biotechnol.*, 1995. 6. 277–296.
49. PETROVSKY, N. – AGUILAR, J. C.: Vaccine adjuvants: Current state and future trends. *Immunol. Cell Biol.*, 2004. 82. 488–496.
50. PISETSKY, D. S.: The origin and properties of extracellular DNA: from PAMP to DAMP. *Clin. Immunol.*, 2012. 144. 32–40.
51. PIZZA, M. – GIULIANI, M. M. et al.: Mucosal vaccines: non-toxic derivatives of LT and CT as mucosal adjuvants. *Vaccine*, 2001. 19. 2534–2541.
52. PLANT, A. – WILLIAMS, N. A.: Modulation of the immune response by the cholera-like enterotoxins. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2004. 4. 509–519.
53. RAJPUT, Z. I. – HU, S. H. et al.: Adjuvant effects of saponins on animal immune responses. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.*, 2007. 8. 153–161.
54. RANKIN, R. – PONTAROLLO, R. et al.: CpG motif identification for veterinary and laboratory species demonstrates that sequence recognition is highly conserved. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.*, 2001. 11. 333–340.
55. RAZIN, A. – FRIEDMAN, J.: DNA methylation and its possible biological roles. *Prog. Nucl. Acid Res. Mol. Biol.*, 1981. 25. 33–52.
56. REED, S. G. – BERTHOLET, S. et al.: New horizons in adjuvants for vaccine development. *Trends Immunol.*, 2009. 30. 23–32.
57. RELYVELD, E. H.: A history of toxoids. In: PLOTKIN, S. A. (ed.): *History of Vaccine Development*. Springer. New York, 2011. 57–64.
58. SEDGMEN, B. J. – MEEUSEN, E. N. – LOFTHOUSE, S. A.: Alternative routes of mucosal immunization in large animals. *Immunol. Cell Biol.*, 2004. 82. 10–16.
59. SEUBERT, A. – MONACI, E. et al.: The adjuvants aluminum hydroxide and MF59 induce monocyte and granulocyte chemoattractants and enhance monocyte differentiation toward dendritic cells. *J. Immunol.*, 2008. 180. 5402–5412.
60. SHARP, F. A. – RUANE, D. et al.: Uptake of particulate vaccine adjuvants by dendritic cells activates the NALP3 inflammasome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009. 106. 870–875.
61. SHAW, C. A. – PETRIK, M. S.: Aluminum hydroxide injections lead to motor deficits and motor neuron degeneration. *J. Inorg. Biochem.*, 2009. 103. 1555–1562.
62. SHENDEROV, K. – BARBER, D. et al.: Inflammasome-dependent IL-1 β production is critical for complete Freund's adjuvant-induced helper T cell polarization. *J. Immunol.*, 2010. 184. 136–144.
63. SHENDEROV, K. – BARBER, D. L. et al.: Cord factor and peptidoglycan recapitulate the Th17-promoting adjuvant activity of mycobacteria through mincle/CARD9 signaling and the inflammasome. *J. Immunol.*, 2013. 190. 5722–5730.
64. SHRYOCK, T. R.: The future of anti-infective products in animal health. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2004. 2. 425–430.
65. SJÖLANDER, A. – DRANE, D. et al.: Immune responses to ISCOM formulations in animal and primate models. *Vaccine*, 2001. 19. 2661–2665.
66. SOÓS, T. – TUBOLY, S.: *Vakcinológia. A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft.* Budapest, 2009. 33–37.
67. STUART-HARRIS, C. H.: Adjuvant influenza vaccines. *Bull. WHO*, 1969. 41. 617–621.
68. SU, S. B. – SILVER, P. B. et al.: Essential role of the MyD88 pathway, but nonessential roles of TLRs 2, 4, and 9, in the adjuvant effect promoting Th1-mediated autoimmunity. *J. Immunol.*, 2005. 175. 6303–6310.

69. TRAVIS, K.: Deciphering immunology's dirty secret. *The Scientist*, 2007. 21. 46–51.

70. VAN DRUNEN LITTEL – VAN DEN HURK, S. et al.: Strategies for improved formulation and delivery of DNA vaccines to veterinary target species. *Immunol. Rev.*, 2004. 199. 113–125.

71. VASSILEV, T. L.: Aluminium phosphate but not calcium phosphate stimulates the specific IgE response in guinea-pigs to tetanus toxoid. *Allergy*, 1978. 33. 155–159.

72. VILLACRES, M. C. – BEHBOUDI, S. et al.: Internalization of ISCOMS-borne antigens and presentation under MHC class I or class II restriction. *Cell Immunol.*, 1998. 185. 30–38.

73. WALLS, R. S.: Eosinophil response to alum adjuvants. Involvement of T cells in non-antigen-dependent mechanisms. *Proc. Soc. Exp. Biol. Medical.*, 1977. 156. 431–435.

74. WINDON, R. G. – CHAPLIN, P. J. et al.: Induction of lymphocyte recruitment in the absence of a detectable immune response. *Vaccine*, 2000. 19. 572–578.

Közlésre érk.: 2015. okt. 9.

KÖNYVISMERTETÉS



WOLF ERHARDT, JULIA HENKE, JÖRG HABERSTROH, CHRISTINE BAUMGARTNER, SABINE TACKE, CHRISTINE LENDEL, HEIKE WAMSER:

GYAKORLATI ÚTMUTATÓ KUTYÁK ÉS MACSKÁK ANESZTÉZIÁJÁHOZ ÉS ANALGÉZIÁJÁHOZ

(Praxisleitfaden – Anästhesie und Analgesie – Hund und Katze)

A könyv 438 oldalon számos ábrát és összefoglaló táblázatot tartalmaz, és Apple (App Store), ill. Android (Google Play Store) készülékekre letölthető alkalmazásként is beszerezhető.

Kiadó: Schattauer. Stuttgart

Kiadás éve: 2015

A modern állatorvoslás korszerű, magas színvonalú műtéti altatást és fájdalomcsillapítást igényel. Az altatási rizikó és a fájdalom a gyógyszerek szelektív és célzott alkalmazásával minimalizálható. A szerzők ebben a kézikönyvben gyakorlatorientáltan foglalják össze a különböző rizikócsoportokba tartozó, ill. speciális sebészi beavatkozásokat igénylő kutyák és macskák biztonságos altatásához szükséges ismereteket. Az olvasó könnyen elsajátíthatja az alkalmazandó szerek gyógyszer-tulajdonságait, hatásait, mellékhatásait és hatásmechanizmusait. A könyv ajánlott a német nyelvet értő állatorvostan-hallgatóknak és kezdő állatorvosoknak, mert naprakészen és tömören összegzi a szükséges aneszteziológiai ismereteket, de ajánlott a gyakorlott állatorvosok számára is, mert megoldást nyújt vagy alternatívát kínál speciális esetekben. A mobiltelefonra vagy táblagépre optimalizált alkalmazások segítségével pedig jelentősen felgyorsítható az információelérés sebessége.

Dr. Dunay Miklós Pál
SZIE ÁOTK Sebészeti és
Szemészeti Tanszék és Klinika