



USO DE AGONISTAS DE TLRs PARA MEJORAR LA RESPUESTA INMUNE EN VACUNAS

Elena Baretino Luengo
Trabajo de Fin de Grado

Grado en Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid

Resumen

Los receptores TLR (*Toll-Like Receptor*) son proteínas transmembrana presentes en células del sistema inmune innato. Su activación desencadena una respuesta inflamatoria e inmune y es decisiva en la maduración de las células presentadoras de antígeno. Esto implica sus ligandos puedan tener aplicación como adyuvantes en vacunas. Esta revisión bibliográfica recopila información existente sobre su potencial uso en intervenciones inmunoproliféricas. Al examinar estrategias basadas en la estimulación de TLR3 y de TLR5, así como otras menos estudiadas, los resultados indican que este es un campo prometedor para la investigación y el desarrollo de vacunas más seguras y eficaces.

Introducción

Los receptores TLR son proteínas transmembrana (fig 1) presentes en células del sistema inmune innato que reconocen específicamente y se unen a patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs).

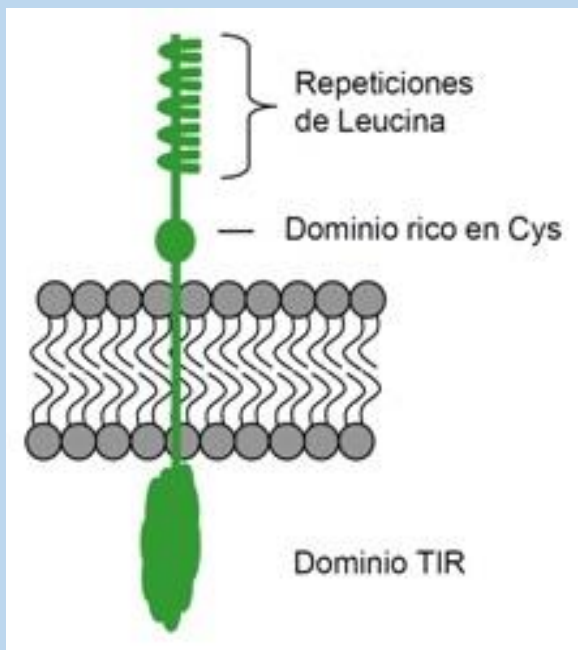


Fig 1: Estructura de un receptor TLR. Tomado de Sánchez Madrid F, Martín P (2012).

Su activación desencadena una respuesta inflamatoria e inmune a través de dos principales vías de señalización (fig 2): una que requiere la proteína adaptadora MyD88, y otra independiente de MyD88.

Los TLR activados aumentan la producción de moléculas co-estimuladoras que se encargan de la estimulación y maduración de células presentadoras de antígeno (APCs). Cuando el sistema inmune es expuesto a un patógeno, los antígenos son capturados por las APCs que los procesan y presentan a los linfocitos T.

La evidencia existente apunta a que los agonistas de receptores TLR pueden ser efectivos para mejorar la respuesta del sistema inmune a los antígenos vacunales. Por ello, se usan como adyuvantes en investigación y desarrollo de vacunas.

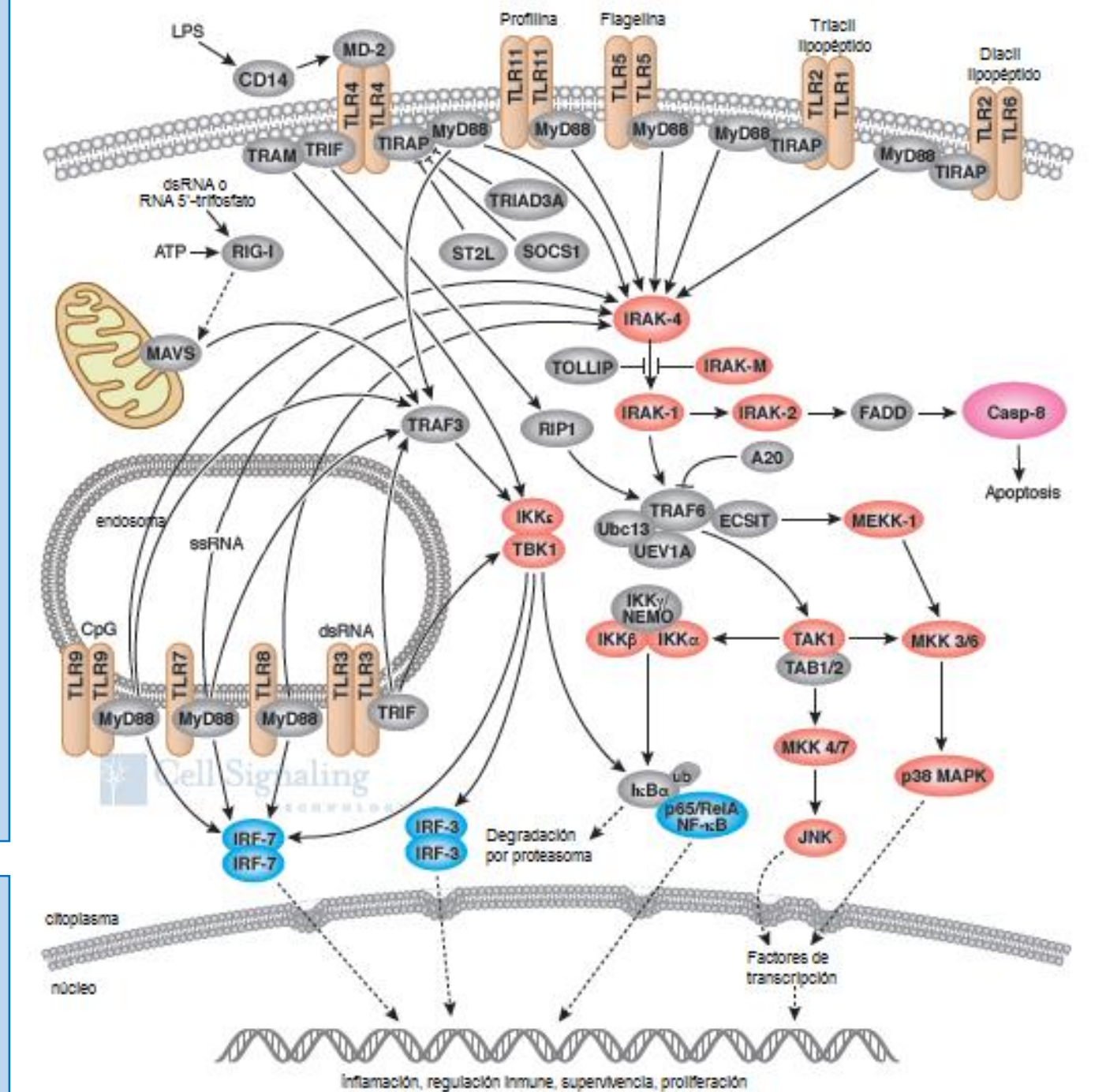


Fig 2: Principales vías de señalización asociadas a TLRs. En naranja aparecen los receptores TLR; en rojo, las caspasas y en azul, los factores de transcripción. Adaptado de Cell Signaling Technology. www.cellsignaling.com

Objetivos

El objetivo de esta revisión bibliográfica es ofrecer un enfoque global de las posibilidades que ofrece el uso de agonistas de los TLR como adyuvantes en intervenciones inmunoproliféricas. Se centra en la estimulación de TLR5 y TLR3 al ser los más estudiados en la literatura encontrada, pero incluye también algunos usos individuales encontrados para otros subtipos.

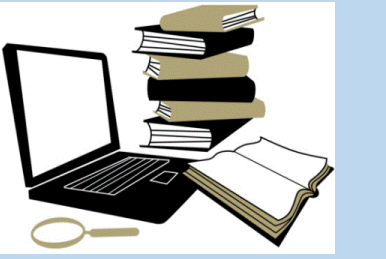
Metodología

Para esta revisión bibliográfica se ha realizado una búsqueda de artículos científicos en la base de datos PubMed (NCBI) a partir de términos de búsqueda que relacionaban "TLR", "adyuvant" y "vaccine".

Se incluyeron artículos señalados como relacionados por la propia base de datos o citados en los artículos encontrados que fueran de especial interés.

Como criterio de inclusión, se ha tenido en cuenta la actualidad (posterior al año 2000) y como criterios de exclusión, el idioma (solo en castellano o inglés) y la relevancia.

Se ha obtenido información sobre aspectos básicos sobre los TLR, las enfermedades mencionadas y el sistema inmune en libros de microbiología e inmunología.



Resultados y discusión

Estrategias basadas en la estimulación de TLR3

En vacuna contra la malaria

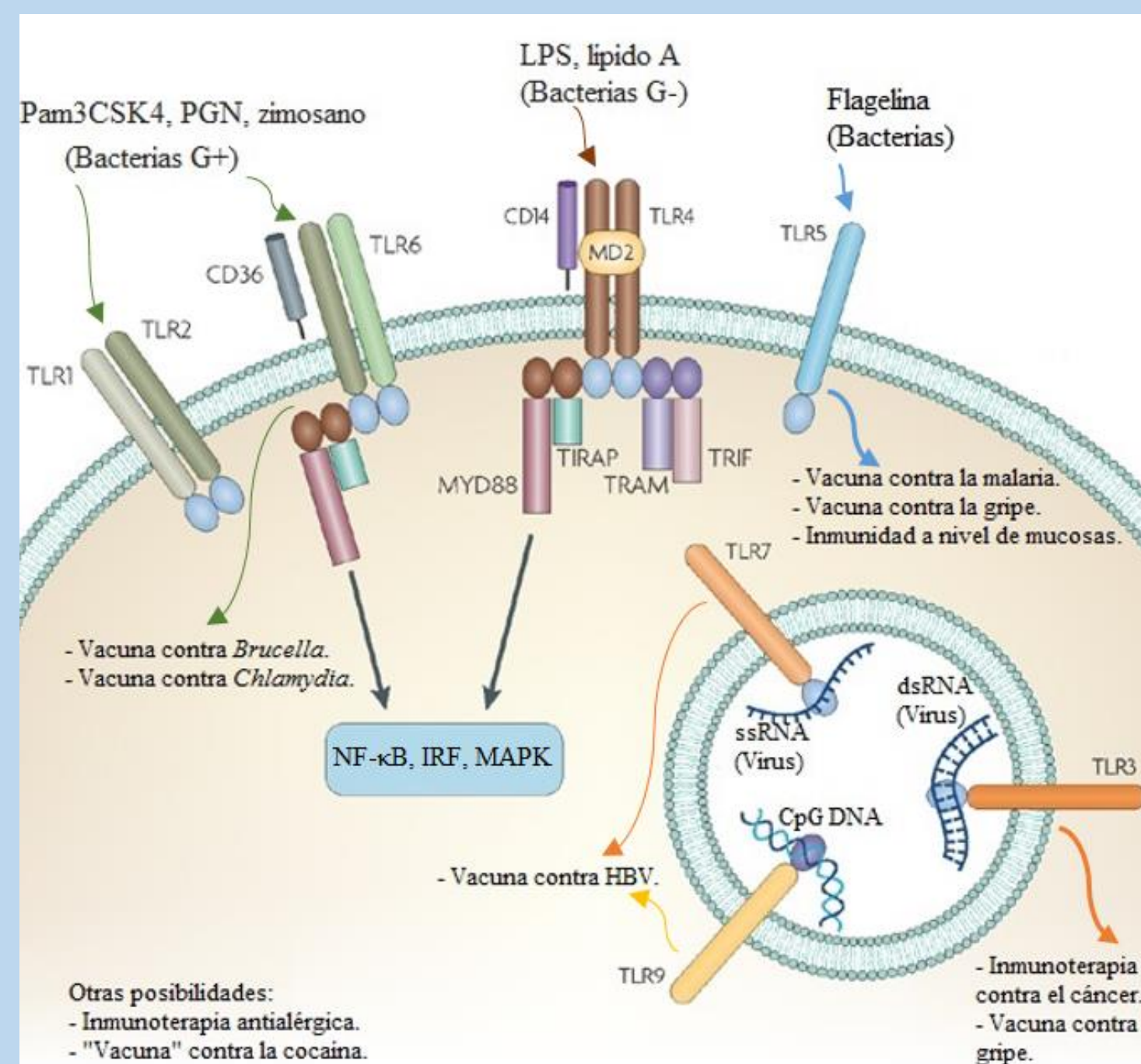
- Existen ensayos con vacunas basadas en proteínas de distintas formas del patógeno y de varias especies, por vía subcutánea o intranasal.
- En ellos, se ha observado aumento de la inmunidad tanto a nivel de mucosas como sistémico y mayor protección frente al patógeno.

En vacuna contra la gripe

- Los ensayos de vacunas con agonistas de TLR5 como adyuvantes han dado como resultado un aumento de IgG e IgA, mejor protección contra el virus e inmunidad ante cepas homólogas y heterólogas. Además, uno de ellos ha dado resultados prometedores para su uso en neonatos.

Para conseguir inmunidad a nivel de mucosas

- Al administrar vacunas con agonistas de TLR5 como adyuvante por vía IN, se observa que en las vías respiratorias juegan un importante papel las células epiteliales y hay activación de DC a nivel de pulmón.



Estrategias basadas en la estimulación de TLR3

En inmunoterapia contra el cáncer

- La estimulación de TLR3 es un enfoque prometedor, pues en lugar de la vía de señalización dependiente de MyD88, que da lugar a una respuesta inflamatoria que induce el crecimiento tumoral, activa la vía TICAM-1, que induce la muerte celular por necrosis o apoptosis.
- Existen estudios sobre la inmunoterapia con agonistas de TLR3 como adyuvantes que han dado resultados positivos.

En vacuna contra la gripe

- Los ensayos de vacunas con agonistas de TLR3 como adyuvantes han dado como resultado un aumento de IgG e IgA, mejor protección contra el virus e inmunidad ante cepas homólogas y heterólogas.

Otras estrategias

- En vacuna contra Brucella:** usando agonista de TLR2/6.
- En vacuna contra Chlamydia:** usando agonista de TLR2/6.
- En vacuna contra HVB:** usando agonista de TLR7/8 y usando agonista de TLR9.

Otros tipos de inmunoterapia

- Modelo de vacuna contra la cocaína:** conjugando hapteno de la molécula con flagelina (el adyuvante más óptimo), se generan anticuerpos que se unen a la molécula de cocaína e impedirían su paso a través de BHE.
- Inmunoterapia contra la alergia:** existen dos vacunas antialérgicas que contienen agonistas de TLR en fase de ensayo clínico que han sido seguras y eficaces en pacientes con rinitis alérgica, *Pollinex Quattro* y *AIC*, y además, otras en fase de desarrollo.

Conclusiones

- La literatura analizada señala la eficacia de estas estrategias para potenciar la respuesta inmune en las vacunas, al generar una respuesta más fuerte y duradera y mejorar la protección ante la exposición al patógeno.
- Ventajas:**
 - Mecanismo de acción conocido, en general son seguros
 - Estimulan tanto la inmunidad innata como la adaptativa al tener un papel clave en la maduración de las DCs
 - Dan buenos resultados tanto en administración parenteral como intranasal, pueden generar inmunidad a nivel de mucosa.
 - Ofrecen potencial para la formulación de vacunas a partir de antígenos poco inmunogénicos o su uso en poblaciones cuya respuesta sería subóptima (neonatos, inmunodeprimidos).
 - Pueden mejorar el perfil de seguridad de las vacunas.
- Inconvenientes:**
 - Pueden producir reacciones adversas derivadas de la exacerbación de la respuesta inmune.
 - Existen datos insuficientes sobre su uso en humanos

Se puede concluir que este es un campo prometedor y es necesario continuar las investigaciones necesarias para su uso en pacientes.



Bibliografía

Seya T, Shime H, Takeda Y, Tamemitsu M, Takahashi K, Matsumoto M. Adjuvant for vaccine immunotherapy of cancer - focusing on Toll-like receptor 2 and 3 agonists for safely enhancing antitumor immunity. *Cancer Science*. 2015; 106:1659-1668.

Danno M, Wilson DS, Simeoni E, Hubbell JA. TLR3 stimulation improves anti-tumor immunity elicited by dendritic cell vaccine-based vaccines in a murine model of melanoma. *Scientific Report*. 2015; 5:17622.

Matsumoto M, et al. Defined TLR3-specific adjuvant that induces NK and CTL activation without significant cytokine production in vivo. *Nature Communications*. 2015; 6:6280.

Jasani B, Navabi H, Adams M. Ampligen: A potential toll-like 3 receptor adjuvant for immunotherapy of cancer. *Vaccine*. 2009; Vol 27, Iss 25-26: 3401-3404.

Ichinohe T, Kawaguchi A, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Chiba J, Sato T, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal immunization with H5N1 vaccine plus Poly(I:C12U), a Toll-like receptor agonist, protects mice against homologous and heterologous virus challenge. *Microbes and Infection*. 2007; Vol 9, Iss 11: 1333-1340.

Ichinohe T, Aina A, Tashiro M, Sata T, Hasegawa H. Poly(I:C12U) adjuvant-combined intranasal vaccine protects mice against highly pathogenic H5N1 influenza virus variants. *Vaccine*. 2009; Vol 27, Iss 45: 6276-6279.

Aina A, Tashiro M, Hasegawa H. Cross-protective immunity against influenza virus infections induced by intranasal vaccination together with a TLR3-mucosal adjuvant. *Human Vaccines*. 2011; Vol 7, Iss. suppl.

Camacho AG, Teixeira LI, Bargieri DV, Boscardin SB, Soares IS, Nussenzeig IS, et al. TLR5-dependent immunogenicity of a recombinant fusion protein containing an immunodominant epitope of malarial circumsporozoite protein and the flagellin of *Salmonella Typhimurium*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2011; 106 (Suppl 1): 167-171.

Carapau D, Mitchell R, Nacer A, et al. Protective Humoral Immunity Elicited by a Needle-Free Malaria Vaccine Comprised of a Chimeric Plasmodium falciparum Circumsporozoite Protein and a Toll-Like Receptor 5 Agonist, Flagellin. *Infection and Immunity*. 2013; 81(12):4350-4362.

Qian F, Gue A, Li M, Liu W, Pan Z, Jiang L, Wu X, Xu H. *Salmonella flagellin* is a potent carrier-*adjuvant* for peptide conjugate to induce peptide-specific antibody response in mice. *Vaccine*. 2015; Vol 33, Iss 17: 2038-2044.

Liu G, Song L, Reiszeva L, Trivedi U, Li H, Liu X, Noah D, Hou F, Weaver B, Tussey L. Flagellin-HA vaccines protect ferrets and mice against H5N1 highly pathogenic avian influenza virus (HPAIV) infections. *Vaccine*. 2012; Vol 30, Iss 48: 6833-6838.

Bargieri DV, Leite JA, Lopes SC, Sbrogio-Almeida ME, Braga CJ, Ferreira LC, Soares IS, Costa FT, Rodrigues MM. Immunogenic properties of a recombinant fusion protein containing the C-terminal 19 kDa of *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-1 and the innate immunity agonist flagellin of *Salmonella Typhimurium*. *Vaccine*. 2010; Vol 28, Iss 16: 2818-2826.

Song L, Kong D, Kang X, et al. An avian influenza A (H9N9) virus vaccine candidate based on the fusion protein of hemagglutinin globular head and *Salmonella typhimurium* flagellin. *BMC Biotechnology*. 2015; 15:79.

Kim JR, Holbrook BC, Hayward SL, et al. Inclusion of Flagellin during Vaccination against Influenza Enhances Recall Responses in Nonhuman Primate Neonates. *Journal of Virology*. 2015; 89(14):7291-7303.

Hong SH, Byun YH, Nguyen CT, Kim SY, Seong BL, Park S, Woo GJ, Yoon Y, Koh JT, Fujishiki K, Rhee JH, Lee SE. Intranasal administration of a flagellin-*adjuvanted* inactivated influenza vaccine enhances mucosal immune responses to protect mice against initial infection. *Vaccine*. 2012; Vol 30, Iss 2: 466-474.

Lycke N. Recent progress in mucosal vaccine development: potential and limitations. *Nature Reviews Immunology*. 2012; 12:592-605.

Fougeron D, Van Maele L, Didierlaurent A, Cayet D, Tabureau J, et al. Airway structural cells regulate TLR5-mediated mucosal adjuvant activity. *Mucosal Immunology*. 2014; 7: 489-500.

Fougeron D, Van Maele L, Songhet P, Cayet D, Hot D, Van Rooijen N, Mollenkopf HJ, Hardt WD, Benecke AG, Sarrad JC. Indirect Toll-like receptor 5-mediated activation of conventional dendritic cells promotes the mucosal adjuvant activity of flagellin in the respiratory tract. *Vaccine*. 2015; 33(29):3331-41.

Retamal-Diaz A, Riquelme-Neira R, Saez D, Rivera A, Fernández P, Cabrera A, Guzmán CA, Oñate A. Use of S-[2,3-Bisphosphatidyl]-[2R]-Propyl]-R-Cysteinyl-Amido-Monomethoxy Polyethylene Glycol as an Adjuvant Improved Protective Immunity Associated with a DNA Vaccine Encoding Cu₂Zn Superoxide Dismutase of *Brucella abortus* in Mice. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2014; 21(11):1474-1480.

Cheng C, Jain P, Bettelli E, Pal S, Tífrea D, de la Maza LM. A TLR2 agonist is a more effective adjuvant for a *Chlamydia major outer membrane protein* vaccine than ligands to other TLR and NOD receptors. *Vaccine*. 2011; 29(38):6641-6649.

Wang Y, Chen K, Wu Z, et al. Immunizations with hepatitis B viral antigens and a TLR7/8 agonist induce antigen-specific immune responses in HBV-transgenic mice. *International Journal of Infectious Diseases*. 2014; 29:31-36.

Cooper CL, Angel JB, Seguin I, Davis HL, Cameron DW. CPG 7909 adjuvant plus hepatitis B virus vaccination in HIV-infected adults achieves long-term seroprotection for up to 5 years. *Clinical Infectious Diseases*. 2008; 46(8):1310-1314.

Lockner JW, Eubanks LM, Choi JL, et al. Flagellin as Carrier and Adjuvant in Cocaine Vaccine Development. *Molecular Pharmacology*. 2015; 12(2):453-462.

Aryani Z, Rezaei N. Toll-like receptors as targets for allergen immunotherapy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2015; Vol 15, Iss 6: 568-574.