دانشور
پزشکی

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌وپنجم-شماره ۱۳۵
تیر ۱۳۹۷

پروتئین شوک حرارتی؛ کاندید واکسن سرطان

نویسندگان: نسیم رحمانی کوکیا[۱]، اردشیر عباسی*[۲]، زهیر محمد حسن[۲]

۱. گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، ایران.
۲. گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، ایران

* نویسنده مسئول: اردشیر عباسی E-mail: ardeshir.abbasi66@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۱۵
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۷/۰۳/۰۲
پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۰۹

چکیده

مقدمه و هدف: تومورها، آنتی‌ژن‌هایی را بروز می‌دهند که توسط سیستم ایمنی به عنوان عامل بیگانه شناخته می‌شوند. پروتئین‌های شوک حرارتی، چاپرون های مولکولی می‌باشند که با اتصال به آنتی‌ژن‌های توموری، جذب آن‌ها را توسط سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن کنترل می‌نمایند.

مواد و روش‌ها: این مقاله، نوعی مقاله مروری بوده که در آن جمع‌آوری اطلاعات در زمینه ایمونوتراپی، سرطان و پروتئین‌های شوک حرارتی به وسیله جستجو در اینترنت (Elsevier, Science, springer) و به صورت محدود به زبان انگلیسی و با محدودیت زمانی (۲۰۰۰ به بعد) انجام گرفته. در میان مقالات بدست آمده از مؤلفین صاحب‌نظر و مجربی که مورد استناد واقع شده بودند، انتخاب گردیدند.

نتایج: کمپلکس آنتی ژن- پروتئین شوک حرارتی با بکارگیری MHCI و MHCII باعث فعال شدن لنفوسیت های T می‌گردد. فرآیندهای درگیر در جذب این کمپلکس که سبب عرضه متقاطع آنتی ژن شده، متفاوت از فرآیندهایی است که برای آنتی ژن منفرد مطرح است؛ بنابراین طبق نظریه‌های جدید، می‌توان از این کمپلکس آنتی ژن- پروتئین شوک حرارتی به عنوان یکی از اجزاء واکسن‌های توموری استفاده نمود. این واکسن‌ها در ایمنی‌زایی علیه تومور نقش داشته و سبب برانگیختن پاسخ‌های مؤثرتر سیستم ایمنی و حفاظت علیه تومور می‌گردد.

نتیجه‌گیری: با خالص‌سازی کمپلکس آنتی ژن-HSP از تومور خاص می‌توان واکسن کارآمد و مؤثری علیه آن تومور ایجاد نمود.

واژگان کلیدی: پروتئین شوک حرارتی، سرطان، واکسن.

مقدمه

پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP) از پروتئین‌های حفاظتی مهم داخل سلولی هستند که نقش مهمی در پیچ‌خوردگی و حفظ ساختار پروتئین‌ها دارند (۱). این پروتئین‌ها در پاسخ به شرایط استرس‌زا نظیر حرارت، استرس اکسیداتیو، مواد شیمیایی، به میزان زیادی بیان می‌شوند که یک مکانیسم سلولی اساسی و مهم بوده که سلول‌ها را قادر می‌سازد تا در مقابل آسیب‌های محیطی زنده بمانند (۲). سلول‌هایی که تحت استرس قرار می‌گیرند به کمک القای پروتئین‌های شوک حرارتی، بر استرس وارد شده غلبه کرده و زنده می‌مانند و یا تسلیم شده و دچار مرگ می‌گردند. این توانائی در طی فرایند تکامل همچنان حفظ شده است (۳). همچنین HSP در نقش هموستاز برای پروتئین‌ها مثل فولدینگ، باز کردن رشته‌های یا رفولدینگ، سرهمبندی و جمع‌بندی پروتئین، انتقال و از بین رفتن پروتئین‌ها (٤) تکثیر سلولی و تمایز سلول‌ها ایفای نقش می‌کنند(۵).

از لحاظ ساختاری، پروتئین‌های شوک حرارتی دارای دو ناحیه انتهایی می‌باشند. شامل انتهای ATP آزی و انتهای پپتیدی که به پلی پپتیدهای مربوطه متصل می‌شود. این پروتئین‌ها مولکول‌های آلوستریکی بوده که با اتصال پلی پپتید به انتهای ATP آزی باعث هیدرولیز ATP به ADP^{+} و P می‌شوند (٦). پروتئین‌های شوک حرارتی در فرایندهای متعددی همچون پیچ‌خوردگی پروتئین‌ها، تجمع و انتقال آن‌ها، عبور و مرور پپتیدها و پردازش آنتی ژن در شرایط فیزیولوژیک و استرس نقش دارند(۳). طبق مطالعات گذشته، این پروتئین‌ها با بسیاری از پپتیدهای آنتی‌ژنیک تومور در ارتباطند. همچنین به عنوان مولکول‌های حفاظتی با تشکیل کمپلکس پپتید–HSP در تشکیل کمپلکس ایمونوژنیک نقش دارند (۷)

عملکرد ایمونولوژیک HSP زمانی آشکار شد که با استفاده از HSP های به دست آمده از تومور (HSP 96, HSP 90, HSP70) توانستند در مقابل آن ایمنی فعال و مؤثری ایجاد کنند. ایمنی‌زایی با کمپلکس خالص شده پپتید– HSP از سلول‌های سرطانی، باعث حفاظت در مقابل تومورهای همان سرطان می‌شود. این نقش HSP، به آنتی ژن چاپرونی شده نسبت داده می‌شود. از این کمپلکس به عنوان واکسن جهت فعال شدن لنفوسیت های T کشنده استفاده می‌شود (۸). HSPدارای عملکردهای ایمونولوژیکی همچون فعال کردن سیستم ایمنی ذاتی، القای دندرتیک سل‌ها برای تولید سایتوکاین های پیش التهابی از قبیل: IL-1, IL-6, TNF-α و IL-12 می‌شود. HSP دارای قابلیت در معرض قرار دادن آنتی‌ژن‌های توموری را به سلول‌های عرضه کننده حرفه‌ای آنتی ژن مثل دندرتیک سل‌ها برای عرضه بهتر و کارآمدتری در عرضه متقاطع و پردازش و عرضه و فعال کردن سلول‌های T می‌باشند. باند شدن HSP به پپتید باعث القای بیشتر ارائه پپتید توسط MHCI و MHCII شده، و در نهایت افزایش پاسخ ایمنی اکتسابی می‌شود(۹). جالب است که HSP های بزرگ مثل HSP110 دارای پتانسیل قوی همچون ادجوانت کامل فروند در افزایش و تقویت سیستم ایمنی دارد(۱۰). همچنین HSP ها دارای اینتراکشن بین سینگنالینگ رسپتور های مثل TLR (Toll Like receptor) و همچنین در بلوغ و فنوتیپ و عملکرد سلول‌های عرضه‌کننده‌های حرفه‌ای آنتی‌ژن دندرتیک سل و منوسیت‌ها نقش دارد به عنوان مثال HSP 70 , 96,60 دارای گیرنده برای TLR1/TLR2 است. HSP22,60,70,96 دارای گیرنده برای TLR4 است(۱۱).

بنابراین دانشمندان معتقدند که HSP حمل‌کننده آنتی‌ژن‌های توموری می‌باشند و باعث ایجاد پاسخ ایمنی ذاتی گشته و متعاقب آن فعال شدن سیستم اکتسابی گشته. از این رو می‌توان این پروتئین‌ها را به عنوان ادجوانت برای تحریک سیستم ایمنی به منظور تکامل و توسعه رویکردهای ایمونوتراپی در درمان سرطان و بیماری‌های عفونی استفاده گردد(۱۲). در نتیجه دانشمندان بر آن شدند که از پروتئین‌های HSP نوترکیب در افزایش عرضه آنتی ژن و تحریک سیستم ایمنی استفاده کنند. بنابراین استفاده از آن برای درمان

سرطان مورد توجه محققین قرار گرفت. هدف از این مقاله مروری جمع‌آوری اطلاعات بر اساس مطالعات گذشته و دانشمندان مجرب در این زمینه و با توجه به اهمیت و ضرورت مولکول‌های HSP در قالب کاندید واکسن سرطان است.

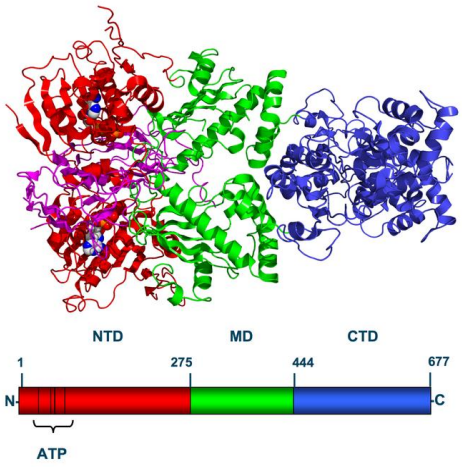
انواع پروتئین‌های شوک حرارتی

براساس محل حضور آن‌ها به دو نوع تقسیم می‌شوند، اول پروتئین‌های شوک حرارتی که عمدتاً در سیتوپلاسم وجود دارند، به‌استثناء HSP 60 که در میتوکندری دیده می‌شود. سری دوم پروتئین‌های شوک استرس یعنی پروتئین‌های مرتبط با گلوکز Grp (Glucose regulated protein) در شبکه آندوپلاسمی مستقر می‌باشند.Grp ها به آسانی به شوک حرارتی و استرس اکسیداتیو واکنش نمی‌دهند، اما در شرایطی که احتمال تداخل در عملکرد شبکه آندوپلاسمی باشد، (نظیر آنوکسی) وارد عمل می‌شوند و عملکرد حفاظتی خود را انجام می‌دهند (۱).

امروزه مشخص شده است که HSP 110, HSP 70 و Grp170 سه گروه خانواده پروتئینی جدا را تشکیل می‌دهند که از نظر تکاملی دارای نیای مشترک می‌باشند. از آنجایی که انواع مختلف HSPدر سیتوپلاسم و شبکه آندوپلاسمی همه سلول‌های یوکاریوتی وجود دارند، بنابراین این پروتئین‌ها دارای عملکردهای متفاوتی می‌باشند. تعدادی از اعضای خانواده پروتئین‌های چاپرونی که نقش اساسی در ایمونولوژی سرطان دارند را در دو کلاس A(HSP 70, HSP 110, Grp170) و کلاس C (HSP 90, Grp94, Grp 96) دسته‌بندی می‌کنند(۱۳).

ساختار پروتئین‌های شوک حرارتی

بررسی‌های انجام شده بر روی پروتئین‌های شوک حرارتی نشان می‌دهد که این پروتئین دارای دو ناحیه انتهایی می‌باشند شامل: انتهای N که انتهای متصل شونده به نوکلئوتید(۱٤) و انتهای C ، متصل شونده به سوبسترا (۱۵)، انتهای N دارای خاصیت ATPase نیز است. انتهای C علاوه بر ناحیه اتصال شونده به سوبسترا حاوی کلاهک نیز است. این دو ناحیه توسط توالی حفظ شده (linker) به هم وصل می‌شوند، که این ناحیه برای ارتباط و فعالیت دو انتها مهم و ضروری است (شکل۱)(۱٦). اتصال ATP باعث باز شدن کلاهک مارپیچی و دسترسی پپتید به محل اتصال سوبسترا می‌شود، با هیدرولیز ATP به ADP^{+} و P، پپتید جدا و جایگاه سوبسترا بسته می‌شود (۱۷). توانایی چاپرون ها در نگه‌داشتن پپتید به اندازه خود چاپرون بستگی دارد، به طوری که اعضای کوچک‌تر کلاس A (hsp70) به پپتیدهای کوچک‌تر با افینیتی متوسط متصل می‌شود و این در حالی است که چاپرون های بزرگ‌تر این گروه (hsp110, grp170) به‌طور محکم و با افینیتی بیشتر به پپتیدهای بزرگ‌تر متصل می‌شوند(۱٦).



شکل ۱. نمایی از ساختار پروتئین شوک حرارتی (HSP) (۱۶).

عملکردهای پروتئین شوک حرارتی

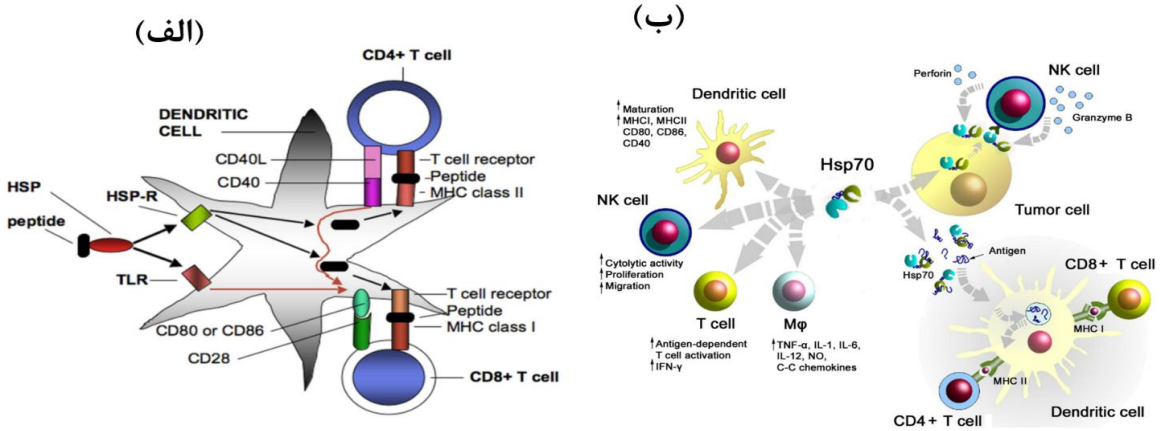
پروتئین‌های شوک حرارتی دارای عملکردهای متعددی می‌باشند از جمله:

الف) عملکردهای هموستاتیک شامل: ۱- ممانعت از تجمع پروتئین‌ها، ۲- بازگرداندن به حالت محلول پروتئین‌های که به صورت سست تجمع پیداکرده‌اند ۳- کمک به چین‌خوردگی زنجیره‌های پلی پپتیدی تازه ساخته شده و یا چین‌خوردگی دوباره پروتئین‌های بد تاخورده و آسیب‌دیده، ٤- هدف‌گیری پروتئین‌های کاملاً دفرمه شده به سمت ماشین تخریب سلولی، ۵- مجزا نمودن پروتئین‌های آسیب‌دیده از مجتمع‌های بزرگ‌تر در موارد آسیب گسترده سلولی (۱۸) ٦-

فرایندهای نقل و انتقال پروتئین‌ها در بین بخش‌های مختلف سلول (۱۹) ۷- تغییرات پس از ترجمه پروتئین‌های ناقل پیام (۳). ب) عملکردهای مؤثر بر دستگاه ایمنی بدن: ۱- القای بلوغ سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن (۲۰)، ۲- اثرگذاری بر مسیرهای عرضه آنتی ژن، تأثیر مؤثر بر عرضه مولکول‌های MHC کلاس یک و القای پاسخ‌های سلول‌های $TCD8^+$، ۳-فعال‌سازی سلول‌های NK(۲۱). ج) اثرگذاری بر سیر بیماری‌زایی بیماری‌هایی از قبیل: سرطان، دیابت (۲۲)، اختلالات نورودژنراتیو، ایسکمی، ترمیم زخم و ... .

پروتئین‌های شوک حرارتی و سیستم ایمنی

مولکول‌های HSP موجب برانگیخته شدن هر دو بازوی پاسخ‌های ایمنی یعنی ایمنی ذاتی (فعال‌سازی و بلوغ سلول‌های دندرتیک و فعال‌سازی سلول‌های NK) و ایمنی اکتسابی (عرضه متقاطع آنتی ژن و فعال‌سازی سلول‌های $TCD8^+$) می‌گردد (۲۳). بدین صورت که پروتئین‌های شوک حرارتی با اتصال به آنتی‌ژن، کمپلکسی را ایجاد می‌کنند که کمپلکس پپتید-HSP نامیده می‌شود. این پروتئین، پپتیدها را به صورت کمپلکس پپتید -HSP به سلول‌های دندریتیک(DC) ارائه می‌دهند تا در شیار کمپلکس سازگاری بافتی (MHC) قرار گیرد به درستی برای ایجاد ایمنی اکتسابی عرضه شوند. سلول‌های دندریتیک که از سلول‌های حرفه‌ایی عرضه کننده آنتی ژن (APC) می‌باشند این کمپلکس را بلعیده، سپس توسط کمپلکس سازگاری بافتی کلاس یک و دو (MHC I and MHC II) بر روی سطح خود عرضه می‌کنند. عرضه آنتی‌ژن‌ها توسط این سلول‌ها سبب فعال شدن سلول‌های T، $CD4^+$ و همچنین $CD8^+$ در حال استراحت می‌شوند (۲۴). مطالعات اخیر نیز نقش مهم و اصلی HSP را در پاسخ‌های ایمنی میزبان نشان داده‌اند به عنوان مثال اتصال HSP ۷۰ وGP96 به گیرنده‌های اختصاصی خود، این ظرفیت ویژگی را دارند که بر بلوغ فنوتایپی و عملکردی APC ها تأثیر بگذارند. به دنبال چنین اتصالی، شاهد افزایش بیان مولکول‌های MHC کلاس II، مولکول‌های کمک تحریکی CD86 و CD80 در کنار ترشح سایتوکاین های پیش التهابی مانند IL-12 و TNFα خواهیم بود (شکل ۲) (۲۵)و (۲۶). لذا این ویژگی‌های مهم ایمنولوژیکی، پیشنهاد استفاده از HSP به عنوان ادجوانت ایمنی را در برابر بیماری‌های عفونی و انواع سرطان‌ها را می‌دهد (۲۷).



شکل ۲. (الف) اتصال پروتئین‌های شوک حرارتی به گیرنده‌های اختصاصی در سطح DC... و (۳۳).(ب) نقش ایمونومدولاتوری HSP70 به تنهایی و یا همراه با آنتی‌ژن سرطانی در القای اجزای سیستم ایمنی(۲۸).

اتصال hsp70 وgp96 به گیرنده‌های اختصاصی خود این ظرفیت را دارند که بر بلوغ فنوتایپی و عملکردی سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن‌ها تأثیر بگذارند. به دنبال چنین اتصالی، شاهد جذب کمپلکس آنتی‌ژن-Hsp توسط APC و بیان MHC II و MHC I به همراه مولکول‌های کمک تحریکی CD40، CD40L، CD86 و CD80 در سطح این سلول‌ها، در کنار ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند IL-12 و TNFα برای فعال‌سازی سلول‌های T، $CD8^+$ و $CD4^+$ خواهیم بود.

پروتئین شوک حرارتی خارج سلولی و رسپتورهای آن در سیستم ایمنی

پروتئین‌های استرس خارج سلولی شامل HSP و Grp به عنوان واسطه‌های مهمی در نقل و انتقالات داخل سلولی عمل می‌نمایند. این پروتئین‌ها در پاسخ به محرک‌های پاتولوژیک و یکسری تغییرات متابولیک نظیر استرس در سلول افزایش یافته و به عنوان پیام خطر از سلول آزاد می‌شوند. بعد از رها شدن به داخل مایع میان بافتی، HSP و Grp به سطح سلول‌های هدف متصل شده و آبشار انتقال پیام را روشن می‌نمایند و همچنین باعث انتقال مولکول‌هایی همچون پپتیدهای آنتی ژنیک در داخل مایع میان بافتی می‌شوند. حتی HSP70 و 60 HSP این توانایی را دارند که وارد جریان خون شوند و بر روی سلول‌های دور از مکان آزاد شدنشان نیز اثر بگذارند (۲۷). بسیاری از تأثیرات پروتئین‌های خارج سلولی از طریق رسپتورهای سطح سلولی انجام می‌گیرد. این رسپتورها شامل TLR4,TLR2,CD40,CD90,CCR5 و رسپتورهای خانواده scavenger از قبیل: LOX-1 و SREC-1 است. وجود انواع زیادی از رسپتورها برای اعضای خانواده HSP و Grp اجازه اتصال آن‌ها را به انواع کثیری از سلول‌ها و انجام فرایندهای پیچیده سلولی به ویژه در سلول‌های سیستم ایمنی و عصبی را فراهم کرده است (۲۹). در تعدادی از مطالعات اخیر نشان داده شده است که HSP 70 به دلیل واکنش با رسپتورهایی نظیر TLR2,4 نقش پیش التهابی را دارد. این نقش HSP خارج سلولی تحت شرایط invivo و در آسیب‌های بافتی بیشتر دیده می‌شود (۳۰). به عنوان مثال مشخص شده است که در سرطان ریه اگر میزان HSP 70 را توسط تغییرات دمایی، افزایش داده و بصورت invivo استفاده شود، سبب آزاد شدن کموکاین‌هایی نظیر CCL2, CCL10 و CCL5 وابسته به TLR می‌شود، در نتیجه باعث جذب دندرتیک سل وT cellها به سمت تومور می‌گردد (۳۱). HSPهای خارج سلولی نشانی از ایجاد شرایط استرس‌زا در بدن برای تحریک سلول‌های دیگر به ویژه سلول‌های سیستم ایمنی است تا از گسترش جراحت جلوگیری کنند. عقیده پژوهشگران بر این است که سلول‌ها در پاسخ به شرایط استرس، وزیکول های خارج سلولی از خود آزاد می‌کنند؛ که این وزیکول های خارج سلولی حاوی مولکول‌های خاصی همچون HSP می‌باشند که در اثر استرس بیانشان افزایش می‌یابد. این وزیکول‌ها توسط سلول‌های دیگر سیستم ایمنی تشخیص داده می‌شوند. بدین صورت بدن برای مقابله با استرس وارد عمل می‌گردد و باعث ایجاد پاسخ ایمنی بر علیه آن می‌شود. وزیکول ها همچنین حاوی پیام برای فعال کردن پاسخ در سلول‌های ایمنی با فاصله دور می‌باشند (۲۷). همچنین در مطالعه‌ای مشخص شده که در شرایط گرسنگی و قحطی بدن، میزان HSP70 و HDL در افراد بالا می‌رود (۳۲).

پروتئین شوک حرارتی و عرضه متقاطع آنتی ژن در سیستم ایمنی

برای فعال شدن ایمنی اکتسابی، HSPهای متصل به پلی پپتید با نفوذ به سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن وارد مسیرهای پردازش آنتی ژن می‌شوند (۳۳). مطالعات نشان داده است که HSPها توسط سلول‌های دندریتیک که از سلول‌های حرفه‌ایی و مؤثر عرضه کننده آنتی ژن‌اند، جذب می‌شوند (۳٤). مورد توافق است که پردازش آنتی ژن طی چند فرآیند انجام می‌گیرد. به این صورت که پروتئین‌های داخل سلولی وارد پروتئازوم شده و توسط پروتئازها تجزیه می‌گردند. پس از پردازش، این آنتی‌ژن‌ها با MHCI بر سطح سلول‌ها عرضه شده و به سلول‌های $T\ CD8^+$ ارائه می‌شوند (۳۵). در مقابل آنتی‌ژن‌های خارجی پس از ورود به داخل سلول‌های ایمنی توسط لیزوزوم‌ها پردازش شده و توسط MHCII برای سلول‌های سیستم ایمنی عرضه می‌شوند که نتیجه آن فعال شدن سلول‌های $T\ CD4^+$ است (۳٦). بعدها نشان داده شد که مسیر دیگری برای عرضه آتنی ژن وجود دارد که به آتنی ژن‌های خارج سلولی اجازه ورود به مسیر MHCI را می‌دهد (۳۷). این فرآیند عرضه متقاطع آنتی‌ژن نامیده می‌شود که به آنتی‌ژن‌های خارجی این امکان را می‌دهد که به همراه MHCI توسط سلول‌های عرضه

کننده آنتی‌ژن، لنفوسیت های T سیتوتوکسیک (CTL) را فعال نموده تا عوامل بیگانه و سرطانی را به طور مؤثرتری از بین ببرند (۳۸). مطالعات نشان داده است که HSP با اتصال به آنتی ژن باعث می‌شود که آنتی‌ژن وارد مسیر عرضه متقاطع گردد در حالی که در غیاب HSPاین امکان فراهم نیست. عرضه متقاطع آنتی ژن فرآیند پیچیده ایی است که نیاز به ورود آنتی‌ژن‌های خارجی به سلول در ساختارهای وزیکولی و نفوذ به مسیرهای پردازش پروتئین برای عرضه به همراه MHCI می‌باشند که این کار توسط HSPها انجام می‌گیرد (۳۹).

پروتئین شوک حرارتی و سرطان

پژوهشگران نشان داده‌اند که اکثر پاسخ‌های سیستم ایمنی در ایمنی ذاتی و اکتسابی علیه آنتی‌ژن‌های توموری، توسط HSPایجاد می‌شود. کمپلکس آنتی‌ژن – HSP سلول‌های توموری توسط سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن (DC) جذب شده و به صورت MHCII و MHCI در سطح این سلول‌ها برای فعال‌سازی سلول‌های T، $CD8^+$ عرضه گردیده و باعث القاء CTL می‌شوند. در نتیجه سلول‌های T در حال استراحت با کارایی بالایی فعال شده و منجر به سلول کشی اختصاصی به آنتی ژن در لنفوسیت‌های T و در ادامه مانع رشد تومور و در نتیجه نابودی تومور می‌گردند (۷). علاوه بر این، HSPها باعث فعال شدن سلول‌های کشنده طبیعی (NK) نیز می‌شوند. مطالعات نشان داده است که فرم غشائی HSP 70 در سطح سلول‌های توموری حضور دارد در حالی که در سطح سلول‌های سالم وجود ندارد. این مسئله موجب شناسایی اختصاصی سلول‌های توموری توسط سلول‌های NK خواهد شد. همچنین تائید شده است که به نحو جالبی میزان حساسیت سلول‌های توموری به لیز با واسطه سلول‌های NK متناسب با میزان حضور مولکول‌های HSP 70 در سطح سلول‌های توموری است. در نتیجه این فعالیت‌ها، باعث ایجاد پاسخ‌های بالقوه مؤثرتر و قوی‌تر ضد توموری NK در میزبان می‌شود (۱۹). سلول‌های سرطانی دچار جهش‌های زیادی شده که بسیاری از این جهش‌ها در ایجاد بدخیمی مؤثرند. بعضی از این جهش‌ها باعث بروز آنتی‌ژن‌های سطحی می‌گردند و از آنجایی که جهش‌ها برای هر تومور متفاوت است، شاهد بروز آنتی ژن خاص، برای هر تومور خاصی خواهیم بود(۴۰). پروتئین شوک حرارتی با اتصال به آنتی ژن توموری نقش اثر انگشت آنتی‌ژنی را ایفا نموده، بدین صورت که هر HSPحاوی آنتی ژن ویژه‌ای برای تومور خاصی خواهد بود (۴۱). با توجه به توانایی سلول‌های دندریتیک در عرضه آنتی‌ژن‌های مختلف بویژه آنتی‌ژن‌های توموری به لنفوسیت‌های T و القاء پاسخ ایمنی یا اختصاصی، باعث شده تا این سلول‌ها به عنوان وسیله ایی مؤثر در ایمنی تراپی فعال توجه محققین علوم پایه و بالینی را به خود جلب نماید(۴۲). هدف از ایمونوتراپی با استفاده از سلول DC، تقویت ایمنی ضد تومور از طریق تولید سلول‌های عمل‌کننده‌ای است که سلول‌های توموری را مورد حمله قرار داده و لیز می‌کنند (۲). طبق مطالعات گذشته ثابت شده است که با تشکیل تومور، HSPها نیز افزایش یافته و به جایگاه‌های هیدروفوبیک پلی‌پپتیدهای تومور متصل می‌شود. پروتئین‌های متصل به HSP از طریق رسپتورهای خاصی وارد سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن شده و با عرضه آنتی ژن بصورت کمپلکس سازگاری بافتی کلاس یک و دو (MHCI & MHCII) به لنفوسیت‌های T ، سبب برانگیختن پاسخ ایمنی سلولی بر علیه تومور می‌شوند (۴۳). به طوری که استفاده از HSPهای متصل به پپتید به صورت واکسن برای تحریک سیستم ایمنی در افراد مبتلا به سرطان برای کاهش توده توموری در بسیاری از مطالعات ثابت شده است (۱۳). همچنین به نظر می‌رسد که HSP 60, HSP 70, HSP 90 ,GP96 نقش مهمی در ایمنی‌زایی تومور داشته و به عنوان پیام‌های خطر برای هشدار به سلول‌های ایمنی عمل می‌کنند (۱۳). در ابتدا تصور می‌شد HSPها منحصراً پروتئین‌های داخل سلولی باشند، اما امروزه مشهود است که سلول‌های نکروزی هم HSP آزاد می‌کنند، که پیام بلوغ را به DC حمل می‌کنند. این HSP آزادشده حاوی

سیگنال مهمی است که می‌تواند سیستم ایمنی را فعال کند، به طوری که سلول می‌تواند شرایط خطرناک فیزیولوژیکی را تشخیص دهد (٤٤). بنابراین با وجودی که بیشتر HSPها پروتئین‌های داخل سلولی هستند ولی می‌توانند عملکرد خارج سلولی نیز داشته باشند. HSP های خارج سلولی به ویژه HSP 70 بصورت آزاد یا به شکل ساختارهای متصل به لیپید که اگزوزوم نامیده می‌شوند، می‌تواند از سلول‌های سرطانی بصورت فعال ترشح شود (٤٥). شکل (٣) نمای شماتیکی از استراتژی‌های استفاده از HSP در القای پاسخ‌های ایمنی بر علیه سرطان را نشان می‌دهد(٤٦).

از ویژگی‌های مهم HSP برای مؤثر بودن به عنوان واکسن سرطان(٤٧).

١. توانایی عرضه بالای آنتی ژن (پلی والان بودن) برای جلوگیری از فرار تومورها. دریافت توسط MHCI و فعال کردن CTL علیه تومور

٢. هدف APC های حرفه‌ای قرار می‌گیرد

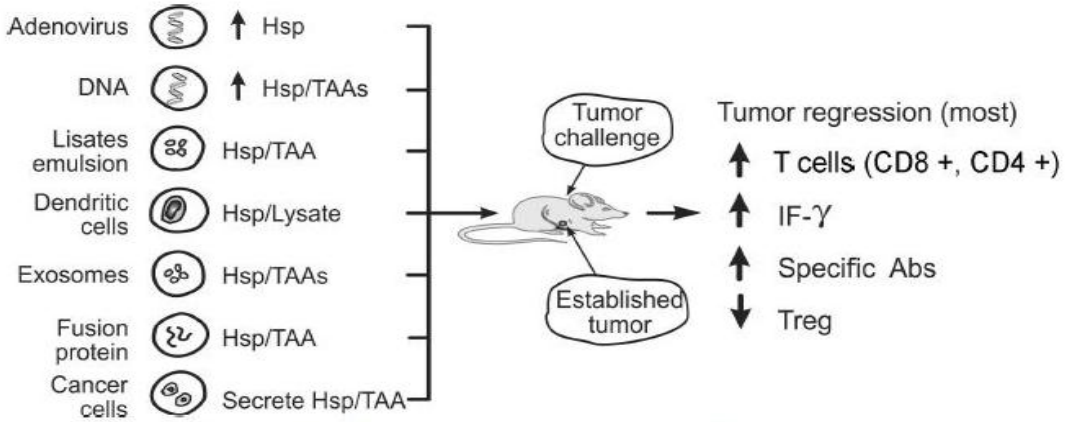
٣. مستقیماً APC و DC را فعال می‌کند

٤. تغییر دادن مسیر عرضه آنتی ژن به سمت مسیر عرضه متقاطع

٥. فعال کردن سلول‌های T فاکتور (فعال کردن سلول‌های CTL بدون دخالت Th)

٦. فعال کردن اجزای سیستم ایمنی ذاتی (ماکروفاژ و NK و...)

٧. اتوایمنی ایجاد نمی‌کند

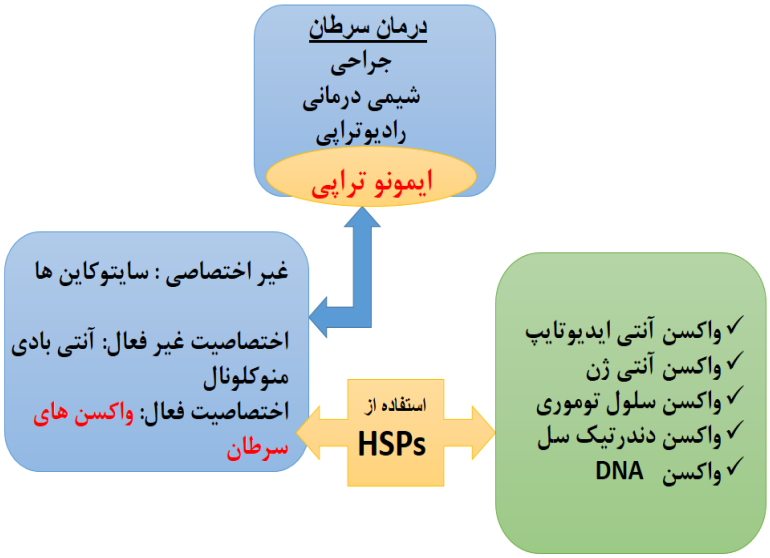


شکل (٣). شکل شماتیکی از استراتژی‌های استفاده از HSP در القای پاسخ‌های ایمنی بر علیه سرطان(٤٦).

پروتئین شوک حرارتی و واکسن سرطان

امروزه یکی از راه‌کارهای رایج درمان سرطان علاوه بر جراحی، شیمی‌درمانی، پرتودرمانی، هورمون درمانی، ایمونوتراپی است که به صورت فعال و غیرفعال صورت می‌گیرد (شکل٤). ایمونوتراپی فعال شامل نوعی درمان است که پاسخ اختصاصی ضد تومور را در میزبان تحریک می‌کند. یکی از فعالیت‌های فیزیولوژیک سیستم ایمنی تشخیص و تخریب کلون‌های تغییریافته‌ی سلولی قبل از تبدیل آن‌ها به تومور و همچنین از بین بردن تومورهاست. پاسخ‌های ایمنی اغلب نمی‌توانند جلوی رشد تومور را بگیرند ولی می‌توان سیستم ایمنی را فعال کرد تا بطور مؤثرتری سلول‌های توموری را از بین ببرد (٤٨)؛ بنابراین می‌توان از آنتی‌ژن‌ها به عنوان یکی از اجزاء واکسن‌های توموری استفاده کرد (٤٩). اگزوزوم های حاصل از سلول‌های توموری و DC، وزیکول های غشایی در اندازه نانومتری می‌باشند که قادر به القای پاسخ ایمنی خاصی علیه تومور می‌باشند (٥٠). با توجه به اثر حرارت بر پاسخ‌های ایمنی ضد تومور، محققان بر ان شدند تا تأثیر حرارت را به‌عنوان عامل استرس بر روی اگزوزوم های سلول‌های توموری بسنجند. این بررسی‌ها نشان داد که اگزوزوم های بدست آمده می‌توانند سلول‌های T و DC را فعال و علیه تومور وارد عمل کنند. این وزیکول ها حاوی کموکاین‌هایی نظیر CCL 2, CCL 3, CCL 4, CCL5 و CCL 20 هستند و بطور

شیمیایی توسط DC و T cell هم در شرایط invivo و هم invitro جذب می‌گردند (۵۱). با بهره‌گیری از این روش نشان داده شد که ایمن‌سازی موش‌ها با اگزوزوم های حاصل از سلول‌های توموری باعث ایجاد پاسخ ایمنی و کاهش رشد، تحلیل تومور و مهار متاستاز آن می‌شود؛ بنابراین از این اگزوزوم ها (HSP) می‌توان بصورت مؤثر برای ایجاد پاسخ‌های ایمنی علیه تومور در قالب واکسن استفاده کرد (۵۲). به صورت خلاصه جدول (۱) مثال‌های از استفاده‌های HSP ها به عنوان ادجوانت در واکسن‌ها بر علیه سرطان و بیماری‌های عفونی آورده شده است.



شکل٤. نمایی کلی از انواع استراتژی‌های درمان سرطان

جدول ۱. مثال‌های از استفاده‌های HSP ها به عنوان ادجوانت در واکسن‌ها بر علیه سرطان و بیماری‌های عفونی

پروتئین شوک حرارتی (HSP)	ایمونوژن	مدل تومور	پاسخ ایمنی	منبع نویسندگان
GP96	GP96 پپتید 15-mer	BALB/c /MATLYLU cells	آنتی‌بادی اختصاصی. $CD4^+$,$CD8^+$	(۵۳)
HSP110/Grp170	کمپلکس پپتید TRP2	C57BL/6. چالش با صد نوع سلول تومور	$CD8^+$ Tcell	(۵۴)
HSP70	کمپلکس پپتید DC&HSP70	سرطان سینه	T سل و INF γ	(۵۵)
HSP70	MOSEC/luc& HSP70	TC-1/ /MOSEC/luc luc cells	$CD4^+$ T ،$CD8^+$ T& NKcell	(۵۵)
GP96	GP96-sr(scFv) antibodies	موش‌های C57BL/6 و BALB.B	سایتوتوکسیک T سل (CTL)	(۵۶)
GP96 / HSP90	/GP96 واکسن و DNA HSP90	سرطان سینه	IFN-γ/IL- 4افزایش کاهش Treg	(۵۷)
HSP70	HSP70/propranole	سرطان فیبر و سارکوما	افزایشINF γ کاهش IL-4 و Treg	(۵۸)
HSP70	پروپانول و HSP70	سرطان فیبر و سارکوما در موش BALB/C	افزایشINF γ افزایش CTL	(۵۹)
Hsp70	Hsp70.PC-F	سرطان پروستات	افزایش CTL افزایش بلوغ دندرتیک سل	(۱۲)
HSP70	HSP70 /واکسن DNA	سرطان ملانوما	افزایش CTL کاهش سایز تومور	(۶۰)
HSP90	HSP90/MAGE-A3	سرطان میلوما	افزایش CTL کاهش Treg	(۶۱)

علیه باکتری‌ها و ویروس‌ها (بیماری‌های عفونی)				
(۶۲)	$CD8^+$ T& CTL	موش(BALB/c (H-2d	کمپلکس پپتید HBV/GP96	GP96
(۶۳)	$CD8^+$ T& $CD4^+$ T	HSV-2 در موش BALB/c	کمپلکس پپتید HSV-2/HSP70	HSP70
(۶۴)	$CD8^+$ T& $CD4^+$ T& CTL	BALB/c	کمپلکس پپتید HPV16-E7 HSP70/	HSP70
(۶۵)	INF γ	Leishmania major در موش BALB/c	کمپلکس پپتید HSP70 / Leishmania major	HSP70
(۶۶)	CTL	C57BL/6	واکسن DNA کمپلکس پپتید HSP70/HPV-E7	HSP70

پروتئین‌های شوک حرارتی به عنوان پایه واکسن‌های ضد سرطانی در کارآزمایی بالینی

در بسیاری از کارآزمایی های بالینی بر روی بیماران سرطانی از واکسن‌های با پایه و اساس HSP در سال‌های اخیر مورد استفاده قرار گرفته است که در جدول (۲) به صورت خلاصه آمده است. نکته مورد توجه در آن‌ها این بود که اتوایمنی در آن‌ها مشاهده نشده است همچنین در حدود ۵۰٪ از این آزمایش‌ها، واکسن HSP باعث افزایش فعالیت +CD8 به وسیله IFN-γ گشته است در برخی از بیماران نیز افزایش قابل ملاحظه ای از NK مشاهده شده است.

جدول ۲. مثال‌های از کارآزمایی های بالینی بر روی بیماران سرطانی با استفاده از واکسن‌های با پایه HSP

منبع نویسندگان	نتایج پاسخ ایمنی	فاز کلینیکی	نوع سرطان	ایمونوژن
(۶۷)	کمترین توکسیسیتی، پاسخ ایمونولوژیکی و کلینیکی	I/II	لوکمی میلوئید حاد	کمپلکس پپتید imatinib mesylate با HSP70
(۶۸)	توکسیسیتی پایین، کاهش سایز تومور، پاسخ T علیه تومور	I	سرطان‌های مختلف	gp96, Hsp27, TAAs hydroxiapatite
(۶۹)	افزایش CTL و NK و CD94	I/II	سرطان کلورکتال و ریه	Hsp70-peptide
(۷۰)	افزایش پاسخ ایمنی علیه تومور و بدون ایجاد اتوایمنی	I	کارسینومای سر و گردن	DNA vaccine (Hsp70 fused with HPV E7)
(۷۱)	افزایش IFN-γ	II	سرطان ملانوما	gp96
(۷۲)	افزایش IFN-γ و پاسخ ضد سزطانی	II	سرطان کولون	gp96
(۷۳)	افزایش سلول‌های ایمنی کاهش تومور	II	سرطان گاستریت	GP96

بحث و نتیجه‌گیری

بسیاری از پروتئین‌های شوک حرارتی به مقدار کم در شرایط فیزیولوژیکی بیان می‌شوند که نقش چاپرونی را اعمال می‌کنند. در حالی که دیگر پروتئین‌های شوک حرارتی در شرایط استرس‌زا و التهابی برای اطمینان از حفاظت از سلول تولید می‌شوند که با تداخل در مسیرهای آپوپتوز باعث ایجاد هموستاز می‌گردد(۷٤) اگرچه آسیب سلولی و نکروز سلول‌ها می‌تواند باعث آزاد شدن پروتئین‌های شوک حرارتی شود اما تعیین مقداردهی و مسیردهی این آزاد شدن، توسط پاسخ سیستم ایمنی ذاتی است(٤٣)

مطالعات بسیاری که توسط محققان انجام گرفته نشان از افزایش تعداد زیادی از این پروتئین‌های شوک حرارتی در بیماری‌های مختلف است از قبیل: افزایش Hsp70 در بیماری التهابی روده(۷۵) و در پانکراتیت آدنو کارسینوما(۷٦) افزایش سطح سرمی HSP27 و HSP70 در سرم و ادرار بیماران کلیوی مزمن(۷۷) افزایش بیان Hsp70 و Hsp60 در بیماران آترواسکلروز(۷۸) افزایش متغیر و مختلف Hsp90 و

Hsp27وHsp60 در بیماری کیستیک تخمدان(۷۹) Hsp60 در بیماران بهجت و آفت عودکننده دهان(۸۰) ,Hsp104 Hsp27 در بیماران مبتلا به پارکینسون (۸۱) Hsp90 در بیماران کرون (۸۲) همچنین در مطالعه‌ای بر روی پلی‌مورفیسم ژن(1267+) Hsp70 در بیماران عروق کرونری حاکی از ارتباط معنی‌داری برای این بیماری در جمعیت ایران معرفی گردید(۸۳).

با توجه به آن چه که در مورد نحوه نقش Hsp ها در عرضه آنتی‌ژن‌های توموری گفته شد، امروزه قبل از استفاده از عصاره سلول‌های توموری به عنوان آنتی ژن در تهیه واکسن، با القاء این پروتئین‌ها سعی می‌کنند کارایی عرضه آنتی ژن توسط سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن را افزایش دهند. استرس حرارتی مهم‌ترین شیوه به‌کاررفته در القای پروتئین‌های شوک حرارتی در سلول‌ها است (۸٤). به طور معمول جهت القای پروتئین‌های شوک حرارتی در محیط کشت سلول از حرارت دهی غیر کشنده در دماهای بالای ٤۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت استفاده می‌گردد (۸۵). ارتباط بینHSP و ایمنی در برابر تومورها در سال ۱۹۸۰ برای اولین بار نشان داده شد. بدین ترتیب که محققین دریافتند چنانچه مولکول‌های HSP از سلول‌های توموری جداسازی گردند، قادر به القای پاسخ‌های لنفوسیت های +TCD8 در برابر سلول‌های توموری خواهند بود، در حالی که این امر با استفاده از HSP خالص شده از بافت سالم مشابه بافت خواستگاه تومور صورت نمی‌پذیرد (۸٦، ۸۷). از طرف دیگر HSP ها از جمله HSP90 باعث القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی از جمله مالتیپل میلوما می‌گردد (۸۸). مطالعات اولیه در مورد کمپلکس‌های GP96-پپتید صورت گرفته است (۸۹) و مطالعات بعدی نیز که با استفاده از HSP70، HSP90، HSP110 و GP170 صورت گرفت، نتایج مؤثر ضد توموری به دست آمده را تائید نمود (۸٦)؛ بنابراین HSP هایی که از سلول‌های توموری جدا می‌گردند به طور بالقوه سرشار از آنتی‌ژن‌های توموری می‌باشند. با توجه به نقش کمپلکس‌های HSP -پپتید در فعال‌سازی و بلوغ APC ها، این مجموعه قادر به فعال‌سازی پاسخ پلی‌کلونال لنفوسیت های T بر علیه آنتی‌ژن‌های توموری خواهند بود. در این شرایط حتی اگر تومور تحت فشار انتخابی دستگاه ایمنی برخی از آنتی‌ژن‌های خود را از دست بدهد، باز کلون‌های متعدد سلول‌های T جهت نابودی سلول‌های توموری در دسترس خواهند بود (۲۹). علاوه بر حمل و انتقال پپتیدهای آنتی ژنیک برای عرضه، واکنش HSP -پپتید با APC منجر به ترشح سیتوکین های پیش التهابی (IL-1, IL-6, TNF-α) توسط ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک و همچنین بلوغ آن‌ها می‌شود (۹۰). بر مبنای تئوری خطر (Danger Theory) فعال‌سازی سیستم ایمنی منوط به شناسایی مولکول‌های خطر آزاد شده از سلول‌های دچار استرس و آسیب‌دیده و یا مولکول‌های خطر مشتق از عامل بیماری‌زا، توسط سیستم ایمنی ذاتی است (۹۱). هر دو فرم غشایی و محلول HSP موجب به صدا آمدن زنگ‌های خطر برای سیستم ایمنی خواهند شد (۱۹). القاء بلوغ در سلول‌های دندریتیک در کنار عرضه متقابل آنتی ژن باعث القای قوی‌تر پاسخ سیستم ایمنی خواهد شد (۹۲). در نتیجه استفاده از این شیوه ما را از شناسایی تک‌تک آنتی‌ژن‌های اختصاصی تومور بی‌نیاز خواهد ساخت. استخراج مجموعه‌های HSP -پپتید از تومور خود فرد تضمین کننده حضور حداکثری آنتی‌ژن‌های اختصاصی و منحصربه‌فرد تومور آن شخص خواهد بود. بدین صورت شواهد بالینی و آزمایشگاهی نشان می‌دهد که می‌توان از ایمونوتراپی در کنار کموتراپی برای افزایش کارایی درمان استفاده کرد و از این پروتئین‌های شوک حرارتی به صورت هدفمند می‌توان در قالب واکسن علیه سرطان استفاده نمود و امید بیشتری برای درمان به بیماران داد (٤٤، ٤٨).

منابع

1. Lindquist S, Craig EA. The heat-shock proteins. Annual review of genetics. 1988;22:631-77.
2. Srivastava PK. Immunotherapy for human cancer using heat shock protein-peptide complexes. Current Oncology Reports 2005;7(2):104-8.
3. Ellis RJ. Protein misassembly: macromolecular crowding and molecular chaperones. Advances in Experimental Medicine and Biology 2007;594:1-13.
4. Guo C, Subjeck JR, Wang X-Y. Creation of Recombinant Chaperone Vaccine Using Large Heat Shock Protein for Antigen-Targeted Cancer Immunotherapy. Chaperones: Springer 2018; 345-57.
5. Wu J, Liu T, Rios Z, Mei Q, Lin X, Cao S. Heat shock proteins and cancer. Trends in Pharmacological Sciences 2017;38(3):226-56.
6. Vogel M, Mayer MP, Bukau B. Allosteric regulation of Hsp70 chaperones involves a conserved interdomain linker. The Journal of Biological Chemistry 2006;281(50):38705-11.
7. Ciocca DR, Arrigo AP, Calderwood SK. Heat shock proteins and heat shock factor 1 in carcinogenesis and tumor development: an update. Archives of Toxicology 2013;87(1):19-48.
8. Enomoto Y, Bharti A, Khaleque AA, Song B, Liu C, Apostolopoulos V, et al. Enhanced immunogenicity of heat shock protein 70 peptide complexes from dendritic cell-tumor fusion cells. Journal of Immunology 2006;177(9):5946-55.
9. Javid B, MacAry PA, Oehlmann W, Singh M, Lehner PJ. Peptides complexed with the protein HSP70 generate efficient human cytolytic T-lymphocyte responses. Biochemical Society Transactions 2004;32(Pt 4):622-5.
10. Wang X-Y, Chen X, Manjili MH, Repasky E , Henderson R, Subjeck JR. Targeted immunotherapy using reconstituted chaperone complexes of heat shock protein 110 and melanoma-associated antigen gp100. Cancer Research 2003;63(10):2553-60.
11. Banchereau J, Palucka K. Immunotherapy: Cancer vaccines on the move. Nature Reviews Clinical Oncology 2018;15(1):9.
12. Weng D, Calderwood SK, Gong J. A Novel Heat Shock Protein 70-based Vaccine Prepared from DC-Tumor Fusion Cells. Chaperones: Springer 2018; 359-69.
13. Murshid A, Gong J, Stevenson MA, Calderwood SK. Heat shock proteins and cancer vaccines: developments in the past decade and chaperoning in the decade to come. Expert Review of Vaccines 2011;10(11):1553-68.
14. Gidalevitz T, Biswas C, Ding H, Schneidman-Duhovny D, Wolfson HJ, Stevens F, et al. Identification of the N-terminal peptide binding site of glucose-regulated protein 94. The Journal of Biological Chemistry 2004;279(16):16543-52.
15. Harris SF, Shiau AK, Agard DA. The crystal structure of the carboxy-terminal dimerization domain of htpG, the Escherichia coli Hsp90, reveals a potential substrate binding site. Structure 2004;12(6):1087-97.
16. Park JE, Facciponte J, Chen X, MacDonald I, Repasky EA, Manjili MH, et al. Chaperoning function of stress protein grp170, a member of the hsp۷۰superfamily, is responsible for its immunoadjuvant activity. Cancer Research 2006;66(2):1161-8.
17. Stevens SY, Cai S, Pellecchia M, Zuiderweg ER. The solution structure of the bacterial HSP70 chaperone protein domain DnaK(393-507) in complex with the peptide NRLLLTG. Protein Science: a Publication of the Protein Society 2003;12(11):2588-96.
18. Yang Y, Li Z. Roles of heat shock protein gp96 in the ER quality control: redundant or unique function? Molecules and Cells 2005;20(2):173-82.
19. Qu P, Ma JH, Zhang XM, Huang XJ, Yang XW, Yan-Fang S. A novel DNA vaccine constructed by heat shock protein 70 and melanoma antigen-encoding gene 3 against tumorigenesis. Indian Journal of Experimental Biology 2010;48(5):436-43.
20. Asea A. Mechanisms of HSP72 release. Journal of Biosciences 2007;32(3):579-84.
21. Lv LH, Wan YL, Lin Y, Zhang W, Yang M, Li GL, et al. Anticancer drugs cause release of exosomes with heat shock proteins from human hepatocellular carcinoma cells that elicit effective natural killer cell antitumor responses in vitro. The Journal of Biological Chemistry 2012;287(19):15874-85.
22. Atalay M, Oksala N, Lappalainen J, Laaksonen DE, Sen CK, Roy S. Heat shock proteins in diabetes and wound healing. Current Protein & Peptide Science 2009;1(1):85-95.
23. Xie Y, Bai O, Zhang H, Yuan J, Zong S, Chibbar R, et al. Membrane-bound HSP70-engineered myeloma cell-derived exosomes stimulate more efficient CD8(+) CTL- and NK-mediated antitumour immunity than exosomes released from heat-shocked tumour cells expressing cytoplasmic HSP70. Journal of Cellular and Molecular Medicine 2010;14(11):2655-66.
24. Zheng H, Dai J, Stoilova D, Li Z. Cell surface targeting of heat shock protein gp96 induces dendritic cell maturation and antitumor immunity. Journal of Immunology 2001;167(12):6731-5.
25. Calderwood SK, Murshid A, Gong J. Heat shock proteins: conditional mediators of inflammation in tumor immunity. Frontiers in Immunology 2012;3:75.
26. Rudd CE, Taylor A, Schneider H. CD28 and CTLA-4 coreceptor expression and signal transduction. Immunological Reviews 2009;229(1):12-26.
27. De Maio A. Extracellular heat shock proteins, cellular export vesicles, and the Stress Observation System: a form of communication during injury, infection, and cell damage. It is never known how far a controversial finding will go! Dedicated to Ferruccio Ritossa. Cell Stress & Chaperones 2011;16(3):235-49.
28. Shevtsov M, Multhoff G. Heat Shock Protein–Peptide and HSP-Based Immunotherapies for

the Treatment of Cancer. Frontiers in Immunology 2016;7.
29. Gong J, Zhu B, Murshid A, Adachi H, Song B, Lee A, et al. T cell activation by heat shock protein 70 vaccine requires TLR signaling and scavenger receptor expressed by endothelial cells-1. Journal of Immunology 2009;183(5):3290-8.
30. Sanchez-Perez L, Kottke T, Daniels GA, Diaz RM, Thompson J, Pulido J, et al. Killing of normal melanocytes, combined with heat shock protein 70 and CD40L expression, cures large established melanomas. Journal of Immunology 2006;177(6):4168-77.
31. Chen T, Guo J, Han C, Yang M, Cao X. Heat shock protein 70, released from heat-stressed tumor cells, initiates antitumor immunity by inducing tumor cell chemokine production and activating dendritic cells via TLR4 pathway. Journal of Immunology 2009; 182(3):1449-59.
32. Zare A, Hajhashemi M, Hassan ZM, Zarrin S, Pourpak Z, Moin M, et al. Effect of Ramadan fasting on serum heat shock protein 70 and serum lipid profile. Singapore Medical Journal 2011;52(7):491-5.
33. Heath WR, Carbone FR. Dendritic cell subsets in primary and secondary T cell responses at body surfaces. Nature Immunology 2009;10(12):1237-44.
34. Steinman RM, Gutchinov B, Witmer MD, Nussenzweig MC. Dendritic cells are the principal stimulators of the primary mixed leukocyte reaction in mice. The Journal of Experimental Medicine 1983;157(2):613-27.
35. Neefjes JJ, Momburg F. Cell biology of antigen presentation. Current Opinion in Immunology 1993;5(1):27-34.
36. Cresswell P. Assembly, transport, and function of MHC class II molecules .Annual Review of Immunology 1994;12:259-93.
37. Oura J, Tamura Y, Kamiguchi K, Kutomi G, Sahara H, Torigoe T, et al. Extracellular heat shock protein 90 plays a role in translocating chaperoned antigen from endosome to proteasome for generating antigenic peptide to be cross-presented by dendritic cells. International Immunology 2011;23(4):223-37.
38. Murshid A, Gong J, Calderwood SK. Heat-shock proteins in cancer vaccines: agents of antigen cross-presentation. Expert Review of Vaccines 2008;7(7):1019-30.
39. Norbury CC, Malide D, Gibbs JS, Bennink JR, Yewdell JW. Visualizing priming of virus-specific CD8+ T cells by infected dendritic cells in vivo. Nature immunology 2002;3(3):265-71.
40. Srivastava PK, Old LJ. Individually distinct transplantation antigens of chemically induced mouse tumors. Immunology Today 1988;9(3):78-83.
41. Wang XY, Kazim L, Repasky EA, Subjeck JR. Immunization with tumor-derived ER chaperone grp170 elicits tumor-specific CD8+ T-cell responses and reduces pulmonary metastatic disease. International Journal of Cancer 2003;105(2):226-31.
42. Calderwood SK. Heat shock proteins in breast cancer progression-a suitable case for treatment? International Journal of Hyperthermia: The Official Journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group 2010;26(7):681-5.
43. Srivastava P. Interaction of heat shock proteins with peptides and antigen presenting cells: chaperoning of the innate and adaptive immune responses. Annual Review of Immunology. 2002;20:395-425.
44. Mambula SS, Calderwood SK. Heat induced release of Hsp70 from prostate carcinoma cells involves both active secretion and passive release from necrotic cells. International Journal of Hyperthermia: The Official Journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group 2006;22(7):575-85.
45. Chalmin F, Ladoire S, Mignot G, Vincent J, Bruchard M, Remy-Martin JP, et al. Membrane-associated Hsp72 from tumor-derived exosomes mediates STAT3-dependent immunosuppressive function of mouse and human myeloid-derived suppressor cells. The Journal of Clinical Investigation 2010;120(2):457-71.
46. Ciocca D, Cayado-Gutierrez N, Maccioni M, Cuello-Carrion F. Heat shock proteins (HSPs) based anti-cancer vaccines. Current Molecular Medicine 2012;12(9):1183-97.
47. Lee KP, Raez LE, Podack ER. Heat shock protein–based cancer vaccines. Hematology/Oncology Clinics of North America 2006;20(3):637-59.
48. Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. Nature Medicine 2004;10(9):909-15.
49. Murshid A, Gong J, Calderwood SK. Purification, preparation, and use of chaperone-peptide complexes for tumor immunotherapy. Methods in Molecular Biology 2013;960:209-17.
50. Viaud S, Thery C, Ploix S, Tursz T, Lapierre V, Lantz O, et al. Dendritic cell-derived exosomes for cancer immunotherapy: what's next? Cancer Research 2010;70(4):1281-5.
51. Chen T, Guo J, Yang M, Zhu X, Cao X. Chemokine- containing exosomes are released from heat-stressed tumor cells via lipid raft-dependent pathway and act as efficient tumor vaccine. Journal of Immunology 2011;186(4):2219-28.
52. Zhong H, Yang Y, Ma S, Xiu F, Cai Z, Zhao H, et al. Induction of a tumour-specific CTL response by exosomes isolated from heat-treated malignant ascites of gastric cancer patients. International Journal of Hyperthermia 2011;27(6):604-11.
53. Shanmugam A, Suriano R, Goswami N, Chaudhuri D, Ashok BT, Rajoria S, et al. Identification of peptide mimotopes of gp96 using single-chain antibody library. Cell Stress and Chaperones 2011;16(2):225-34.
54. Wang X-Y, Sun X, Chen X, Facciponte J, Repasky EA, Kane J, et al. Superior antitumor response induced by large stress protein chaperoned protein antigen compared with peptide antigen. The Journal of Immunology 2010;184(11):6309-19.

55. Gong J, Zhang Y, Durfee J, Weng D, Liu C, Koido S, et al. A heat shock protein 70-based vaccine with enhanced immunogenicity for clinical use. The Journal of Immunology 2010;184(1):488-96.
56. Arnold-Schild D, Kleist C, Welschof M, Opelz G, Rammensee H-G, Schild H, et al. One-step single-chain Fv recombinant antibody-based purification of gp96 for vaccine development. Cancer Research 2000;60(15):4175-8.
57. Pakravan N, Langroudi L, Hajimoradi M, Hassan ZM. Co-administration of GP96 and Her2/neu DNA vaccine in a Her2 breast cancer model. Cell Stress and Chaperones 2010;15(6):977-84.
58. Khalili A, Hassan ZM, Shahabi S, Pourfathollah AA, Ostad SN, Noori S, et al. Long acting propranolol and HSP-70 rich tumor lysate reduce tumor growth and enhance immune response against fibrosarcoma in Balb/c mice. Iranian Journal of Immunology 2013;10(2):70.
59. Khalili A, Shahabi S, Pourfathollah AA, Ostad SN, Noori S, Mahdavi M, et al. Reduced treg and onset of a TH1pattern in combined HSP70 and propranolol treatment of fibrosarcoma-bearing mice 2016.
60. Domingo-Musibay E, Heun JM, Nevala WK, Callstrom M, Atwell T, Galanis E, et al. Endogenous Heat-Shock Protein Induction with or Without Radiofrequency Ablation or Cryoablation in Patients with Stage IV Melanoma. The Oncologist 2017;22(9):1026-e93.
61. Vo M-C, Nguyen-Pham T-N, Lee H-J, Jung S-H, Choi N-R, Hoang M-D, et al. Chaetocin enhances dendritic cell function via the induction of heat shock protein and cancer testis antigens in myeloma cells. Oncotarget 2017;8(28):46047.
62. Li Y, Song H, Li J, Wang Y, Yan X, Zhao B, et al. Hansenula polymorpha expressed heat shock protein gp96 exerts potent T cell activation activity as an adjuvant. Journal of Biotechnology 2011;151(4):343-9.
63. Mo A, Musselli C, Chen H, Pappas J, LeClair K, Liu A, et al. A heat shock protein based polyvalent vaccine targeting HSV-2: CD4+ and CD8+ cellular immunity and protective efficacy. Vaccine 2011;29(47):8530-41.
64. Meshkat Z, Soleimanjahi H, Mirshahabi H, Meshkat M, Kheirandish M, Hassan ZM. Strong immune responses induced by a DNA vaccine containing HPV16 truncated E7 C-terminal linked to HSP70 gene. Iranian Journal of Immunology 2011;8(2):65.
65. Holakuyee M, Mahdavi M, Hassan ZM, Abolhassani M. Heat Shock Proteins Enriched-Promastigotes of Leishmania major Inducing Th2 Immune Response in BALB/c Mice. Iranian Biomedical Journal 2012;16(4):209.
66. Farzanehpour M, Soleimanjahi H, Hassan Z, Amanzadeh A, Ghaemi A, Fazeli M. HSP70 modified response against HPV based tumor. Vectors 2013;2:2.
67. Li Z, Qiao Y, Liu B, Laska EJ, Chakravarthi P, Kulko JM, et al. Combination of imatinib mesylate with autologous leukocyte-derived heat shock protein and chronic myelogenous leukemia. Clinical Cancer Research. 2005 15;11(12):4460-8
68. Ciocca DR, Frayssinet P, Cuello-Carrión FD. A pilot study with a therapeutic vaccine based on hydroxyapatite ceramic particles and self-antigens in cancer patients. Cell Stress & Chaperones 2007;12(1):33-43.
69. Krause SW, Gastpar R, Andreesen R, Gross C, Ullrich H, Thonigs G, et al. Treatment of colon and lung cancer patients with ex vivo heat shock protein 70-peptide-activated, autologous natural killer cells. Clinical Cancer Research 2004;10(11):3699-707.
70. Victora G, Socorro-silva A, Volsi E, Abdallah K, Lima F, Smith R, et al. Immune response to vaccination with DNA-Hsp65 in a phase I clinical trial with head and neck cancer patients. Cancer Gene Therapy 2009;16(7):598.
71. Belli F, Testori A, Rivoltini L, Maio M, Andreola G, Sertoli MR, et al. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous tumor-derived heat shock protein gp96-peptide complexes: clinical and immunologic findings. Journal of Clinical Oncology 2002;20(20):4169-80.
72. Mazzaferro V, Coppa J ,Carrabba MG, Rivoltini L, Schiavo M, Regalia E, et al. Vaccination with autologous tumor-derived heat-shock protein gp96 after liver resection for metastatic colorectal cancer. Clinical Cancer Research 2003;9(9):3235-45.
73. Zhang K, Peng Z, Huang X, Qiao Z, Wang X, Wang N, et al. Phase II trial of adjuvant immunotherapy with autologous tumor-derived Gp96 vaccination in patients with gastric cancer. Journal of Cancer 2017;8(10):1826.
74. Arya R, Mallik M, Lakhotia SC. Heat shock genes - integrating cell survival and death. Journal of Biosciences 2007;32(3):595-610.
75. Chen Y, Noble EG. Is exercise beneficial to the inflammatory bowel diseases? An implication of heat shock proteins. Medical Hypotheses 2009;72(1):84-6.
76. Sagol O, Tuna B, Coker A, Karademir S, Obuz F, Astarcioglu H, et al. Immunohistochemical detection of pS2 protein and heat shock protein-70 in pancreatic adenocarcinomas. Relationship with disease extent and patient survival. Pathology, Research and Practice 2002; 198(2):77-84.
77. Lebherz-Eichinger D, Ankersmit HJ, Hacker S, Hetz H, Kimberger O, Schmidt EM, et al. HSP27 and HSP70 serum and urine levels in patients suffering from chronic kidney disease. Clinica chimica acta; International Journal of Clinical Chemistry 2012;413(1-2): 282-6.
78. Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinase expression. Circulation 1998;98(4):300-7.
79. Velázquez MML, Salvetti NR, Amweg AN, Díaz PU, Matiller V, Ortega HH. Changes in the expression of Heat Shock Proteins in ovaries from bovines with cystic ovarian disease induced

by ACTH. Research in Veterinary Science 2013;95(3):1059-67.
80. Deniz E, Guc U, Buyukbabani N, Gul A. HSP 60 expression in recurrent oral ulcerations of Behcet's disease. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics 2010;110(2):196-200.
81. Perrin V, Regulier E, Abbas-Terki T, Hassig R, Brouillet E, Aebischer P, et al. Neuroprotection by Hsp104 and Hsp27 in lentiviral-based rat models of Huntington's disease. Molecular Therapy: the Journal of the American Society of Gene Therapy 2007;15(5):903-11.
82. de Souza HS, West GA, Rebert N, de la Motte C, Drazba J ,Fiocchi C. Increased levels of survivin, via association with heat shock protein 90, in mucosal T cells from patients with Crohn's disease. Gastroenterology 2012;143(4):1017-26.e9.
83. Mardan-Nik M, Pasdar A, Jamialahmadi K, Biabangard-Zak A, Mirhafez SR, Ghalandari M, et al. Association of heat shock protein70-2 (HSP70-2) gene polymorphism with coronary artery disease in an Iranian population. Gene 2014;550(2):180-4.
84. Wang XY, Kazim L, Repasky EA, Subjeck JR. Characterization of heat shock protein 110 and glucose-regulated protein 170 as cancer vaccines and the effect of fever-range hyperthermia on vaccine activity. Journal of Immunology 2001;166(1):490-7.
85. Nicchitta CV, Carrick DM, Baker-Lepain JC. The messenger and the message: gp96 (GRP94)-peptide interactions in cellular immunity. Cell Stress & Chaperones 2004;9(4):325-31.
86. Linderoth NA, Popowicz A, Sastry S. Identification of the peptide-binding site in the heat shock chaperone/tumor rejection antigen gp96 (Grp94). The Journal of Biological Chemistry 2000;275(8):5472-7.
87. Wang XY, Sun X, Chen X, Facciponte J, Repasky EA, Kane J, et al. Superior antitumor response induced by large stress protein chaperoned protein antigen compared with peptide antigen. Journal of Immunology. 2010 Jun 1;184(11):6309-19.
88. Khong T, Spencer A. Targeting HSP 90 induces apoptosis and inhibits critical survival and proliferation pathways in multiple myeloma. Molecular Cancer therapeutics. 2011; 10(10):1909-17.
89. Testori A, Richards J, Whitman E, Mann GB, Lutzky J, Camacho L, et al. Phase III comparison of vitespen, an autologous tumor-derived heat shock protein gp96 peptide complex vaccine, with physician's choice of treatment for stage IV melanoma: the C-100-21 Study Group. Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology 2008;26(6):955-62.
90. Chase MA, Wheeler DS, Lierl KM, Hughes VS, Wong HR, Page K. Hsp72 induces inflammation and regulates cytokine production in airway epithelium through a TLR4- and NF-kappaB-dependent mechanism. Journal of Immunology 2007;179(9):6318-24.
91. Massa C, Guiducci C, Arioli I, Parenza M, Colombo MP, Melani C. Enhanced efficacy of tumor cell vaccines transfected with secretable hsp70. Cancer Research 2004;64(4):1502-8.
92. Aguilera R, Saffie C, Tittarelli A, Gonzalez FE, Ramirez M, Reyes D, et al. Heat-shock induction of tumor-derived danger signals mediates rapid monocyte differentiation into clinically effective dendritic cells. Clinical Cancer Research: an Official Journal of the American Association for Cancer Research 2011;17(8):2474-83.

Daneshvar

Medicine

Scientific-Research Journal of Shahed University
25th Year, No.135
June- July 2018

Received: 04/04/2018
Last revised: 23/05/2018
Accepted: 30/05/2018

Heat shock proteins as a cancer vaccine candidate

Rahmani Kukia Nasim[1], Abbasi Ardeshir[2*], Zuhair Mohamad Hassan[2]

1. Department of Biochemistry, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.
2. Department of Immunology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

*** Corresponding author e-mail: ardeshir.abbasi66@gmail.com**

Abstract

Background: Tumor cells express antigens that can be recognized by immune system as foreign particles. Heat shock proteins (HSPs) are molecular chaperones that bind to tumor antigens and mediate their uptake into antigen presenting cells.

Methods: This articles is a review article and its data has been collected and categorized from the articles in the field of cancer immunotherapy. All the articles were valid and searched from science engines like ScienceDirect, Elsevier, Springer and so on) and it has been tried to refer to the information of the most recent articles in these fields.

Results: HSP antigen complexes are then directed toward either the MHC class I pathway through antigen cross presentation or the conventional class II pathway, leading to activation of T cell subsets. The processes involved in internalization of HSP–antigen complexes differ somewhat from the mechanisms determined for single antigens. Accordingly these complexes can be used as component of tumor vaccines and participate in antitumor immunity. Such vaccines generate impressive immune responses and elicit specific, protective immunity.

Conclusion: When purified from a tumor, certain HSP-peptide complexes can function as effective vaccines against the tumor from which the complexes were isolated.

Keywords: Heat shock protein, Cancer, Vaccine.