خلاصه

پلت فرم mRNA اصلاح‌شده با نوکلئوزید محصور شده با نانوذرات لیپیدی (LNP) برای تولید واکسن‌های ایمن و مؤثر در زمان رکورد علیه COVID-19 استفاده شده است.

در اینجا، ما درک فعلی از روشی را که واکسن‌های mRNA باعث فعال‌سازی ذاتی ایمنی می‌شوند و اینکه چگونه این امر به ایمنی محافظتی کمک می‌کند، مرور می‌کنیم. ما در مورد سنجش ایمنی ذاتی واکسن‌های mRNA در سطوح سلولی و درون سلولی بحث می‌کنیم و سهم هر دو mRNA و اجزای LNP را در ایمنی‌زایی آنها در نظر می‌گیریم. یک پیام کلیدی که از مشاهدات اخیر در حال ظهور است این است که حامل LNP به عنوان یک کمک کننده قدرتمند برای این پلت فرم واکسن جدید عمل می کند. در این زمینه، ما شکاف‌های مهم در درک و بحث را برجسته می‌کنیم که چگونه بینش جدید در مورد مکانیسم‌های زیربنایی اثربخشی واکسن‌های mRNA-LNP ممکن است باعث شود که mRNA و مولکول‌های حامل برای تولید واکسن‌هایی با اثربخشی بیشتر و عوارض جانبی خفیف‌تر در آینده امکان‌پذیر باشد.

مقدمه

واکسن‌های mRNA اصلاح‌شده با نوکلئوزید در برابر بیماری کروناویروس 2019 ((COVID-19، یعنی BNT162b2 (Comirnaty) از Pfizer/BioNTech و mRNA-1273 (Spikevax) از Moderna،

اولین محصولات mRNA هستند که از سازمان غذا و دارو تأیید شده‌اند. ((FDAیا آژانس دارویی اروپا (.(EMAدو جزء کلیدی این واکسن ها (1) mRNA اصلاح شده با نوکلئوزید ((Karikó et al., 2005هستند که پروتئین آنتی ژنی مورد نظر (در این مورد، پروتئین اسپایک سندرم تنفسی حاد شدید کروناویروس 2 [(SARS-CoVرا کد می کند. -2])، و (2) نانوذرات لیپیدی حاوی لیپیدهای قابل یونیزاسیون ((iLNPs، که تحویل کارآمد mRNA دست نخورده را به سیتوپلاسم سلول‌ها امکان‌پذیر می‌سازد که سپس می‌تواند پروتئین کدگذاری شده را ترجمه کند (Cullis and Hope، 2017). این واکسن‌های mRNA-iLNP اصلاح‌شده با نوکلئوزید در القای پاسخ‌های ایمنی تطبیقی خاص سنبله در انسان، به ویژه خنثی کردن آنتی‌بادی‌ها برای ایمنی محافظتی در برابر عفونت SARS-CoV-2 بسیار مؤثر هستند (بادن و همکاران، 2021؛ گیلبرت و همکاران، 2022). ؛ پولاک و همکاران،

2020؛ وی و همکاران، 2022) و همچنین پاسخ های سلول های T که ایمنی هومورال را تقویت می کنند و ممکن است در پیشگیری از COVID-19 شدید کمک کنند (Bertoletti و همکاران، 2022؛ Kedzierska و Thomas، 2022؛ Sette و کروتی، 2021؛ وری و باروچ، 2022). با این حال، اطلاعات کمی در مورد اینکه کدام جنبه‌های ایمنی ذاتی برای ایجاد پاسخ‌های ایمنی حفاظتی حیاتی هستند و کدام یک غیرقابل استفاده هستند، شناخته شده است. همچنین درک مکانیکی دقیقی از چگونگی تعدیل مسیرهای ایمنی ذاتی ایمنی تطبیقی در پاسخ‌های واکسن mRNA وجود ندارد. در این بررسی، ما بر تحریک ایمنی ذاتی توسط واکسن‌های mRNA-iLNP تمرکز می‌کنیم، بینش‌های اخیر به‌دست‌آمده از مطالعات توصیفی و فرضی محور در مورد پویایی و فعال‌سازی سلول‌های ایمنی ذاتی را مورد بحث قرار می‌دهیم، و مکانیسم‌های مولکولی احتمالی را که به ایمنی‌زایی و کمک به ایمنی کمک می‌کنند، بررسی می‌کنیم. واکنش زایی این پلت فرم واکسن جدید

مروری بر فناوری‌های mRNA و iLNP اصلاح‌شده با نوکلئوزید

واکسن‌های ایمن و مؤثر باید سیستم ایمنی ذاتی را در سطح مناسبی تحریک کنند تا تعادل بین ایمنی‌زایی و واکنش‌زایی ایجاد شود. یعنی سیگنال‌های مورد نیاز برای ایجاد و حفظ پاسخ‌های ایمنی تطبیقی را ارائه می‌کنند و در عین حال از التهاب بیش از حد موضعی یا سیستمیک جلوگیری می‌کنند. از نظر تاریخی، یکی از موانع کلیدی برای استفاده از mRNA مصنوعی به عنوان یک روش واکسن (یا درمانی) ماهیت بسیار التهابی آن است که به دلیل شناسایی مولکول‌های mRNA توسط حسگرهای ذاتی متعدد در بخش‌های درون سلولی متعدد است (علامه و ویزمن، 2022). در حالی که سنجش RNA نقشی حیاتی در پل زدن پاسخ‌های ایمنی ذاتی و سازگار به عفونت‌های ویروسی ایفا می‌کند، همچنین می‌تواند پتانسیل درمانی واکسن‌های mRNA را با سرکوب سنتز آنتی‌ژن کدگذاری‌شده و با ایجاد واکنش‌های نامطلوب محدودکننده دوز، مختل کند .(Verbeke et al., 2019).

برای درک چگونگی دور زدن مشکلات ناشی از تشخیص ایمنی ذاتی mRNA به چندین دهه تحقیق اساسی نیاز بود. یک پیشرفت بزرگ از طریق مطالعات Karikó، Weissman و همکارانش در دهه 2000 به دست آمد، آنها کشف کردند که حضور ریبونوکلئوزیدهای اصلاح شده در مقابل اصلاح نشده به عنوان یک مکانیسم مولکولی عمل می کند که توسط آن حسگرهای RNA سلولی، خود RNA را از RNA خارجی متمایز می کند (Karikó et. همکاران، 2005). به طور خاص، جایگزینی یوریدین با مشتقات طبیعی یوریدین (به

عنوان مثال، پسودوریدین [ ]Ψو مشتقات آن) به mRNA اجازه می دهد تا تشخیص داده شده توسط اکثر حسگرهای ایمنی ذاتی را کاهش دهد و در نتیجه التهاب را کاهش دهد و ترجمه را تا حد زیادی بهبود بخشد (اندرسون و همکاران، 2010، اندرسون و همکاران، 2011؛ کاریکو و همکاران، 2008). این کشف برای موفقیت دو واکسن تایید شده mRNA COVID-19 که در آن همه یوریدین ها با N1-methylpseudouridine (m1Ψ) جایگزین می شوند، اساسی بود.

یکی دیگر از موانع اصلی در توسعه واکسن mRNA، تحویل سیتوزولی ناکارآمد mRNA در داخل بدن بود. این در دهه 2010 با استفاده از فناوری iLNP برای تحویل واکسن mRNA غلبه کرد (Bahl و همکاران، 2017؛ Geall و همکاران، 2012؛ لوتز و همکاران، 2017؛ پاردی و همکاران، 2017؛ ریچنر و همکاران، 2017) . این iLNP ها معمولاً شامل چهار جزء هستند: یک آمینو لیپید کاتیونی "یونیزاسیون" با pKa تقریباً 6.0 تا 6.8، یک لیپید کونژوگه با پلی اتیلن گلیکول ((PEGبرای بهبود پایداری کلوئیدی، کلسترول، و 1،2-- .-distearoyl-sn-3-glycero-فسفوکولین (آنسل و دو، 2017؛ کولیس و هوپ، 2017؛ هاست و همکاران، 2019). لیپید قابل یونیزاسیون برای دستیابی به ساختار iLNP، که لیپوزومی نیست، بلکه دارای یک هسته الکترونی متراکم حاوی کمپلکس‌هایی از mRNA با بار منفی مرتبط با لیپید قابل یونیزاسیون است، حیاتی است. لیپید قابل یونیزاسیون همچنین برای دستیابی به نانوذره‌ای ضروری است که دارای بار سطحی خنثی در pH فیزیولوژیکی است و پس از جذب سلولی در آندوزوم اسیدی بار مثبت می‌شود، و باعث تسهیل در اختلال غشای اندوزوم و فرار mRNA به داخل سیتوزول می‌شود. هر دو واکسن تایید شده COVID-19 mRNA-iLNP از لیپیدهای قابل یونیزاسیون (SM-102 در واکسن Moderna و ALC-0315 در واکسن (Pfizer/BioNTechاستفاده می کنند که دارای پیوندهای استری در دم لیپیدی هستند و بر اساس کارایی تحویل mRNA، تجزیه پذیری زیستی انتخاب شده اند. و تحمل پذیری (آنسل و دو، 2017؛ هاست و همکاران، 2019؛ مایر و همکاران، 2013).

در حالی که mRNA اصلاح شده با نوکلئوزید غیر التهابی طراحی شده است، واکسن های mRNA-iLNP اصلاح شده با نوکلئوزید به وضوح ایمنی خاموش نیستند، همانطور که توسط فعال سازی ایمنی ذاتی قوی مشهود است (Alameh et al., 2021; Li et al.,

. .Tahtinen et al ;2022a ،2022) و مستندسازی عوارض جانبی موضعی و سیستمیک به دنبال واکسیناسیون mRNA COVID-19 در انسان .

در واقع، مزیت قابل توجه پلت فرم mRNA-iLNP این است که برای ایجاد پاسخ های ایمنی محافظتی قوی در برابر پاتوژن های مختلف، نیازی به افزودن ادجوانت بیشتر نیست. یکی دیگر از نقاط قوت ایمنی زایی قوی واکسن‌های mRNA-iLNP در افراد مسن است، زیرا برای سایر واکسن‌ها به خوبی مستند شده است که این جمعیت ممکن است به فرمول‌هایی با کمک‌های قوی‌تر و/یا دوزهای واکسن بالاتر برای رسیدن به حفاظت کافی نیاز داشته باشند (. .(Gartner et al., 2022همانطور که بیشتر مورد بحث قرار خواهد گرفت، تصور می شود که حامل iLNP محرک اصلی کمکی و واکنش زایی واکسن های mRNA-iLNP باشد. سیگنال‌های مختلفی به طور خاص توسط جزء iLNP القا می‌شوند، از جمله کموکاین‌ها و سایتوکین‌های پیش‌التهابی (مانند لیگاند کموکاین 2 موتیف [CCL2] C-C، CCL3، CCL4، فاکتور محرک کلنی گرانولوسیت-ماکروفاژ [[GM-X-CSF، اگر C-C-لیگاند کموکاین 2 [CXCL2]، CXCL10، اینترلوکین β1-[IL]، IL-6، فاکتور نکروز تومور [[TNFو اینترفرون (Alameh et al., 2021; Li et al., 2022a; Ndeupen) γ-[IFN] و همکاران، 2021؛ Tahtinen و همکاران، 2022). بنابراین، فناوری iLNP نه تنها تحویل کارآمد mRNA را به سلول‌های ایمنی ذاتی پس از تجویز واکسن ممکن می‌سازد، بلکه به نظر می‌رسد که دومین نقش کلیدی را در ارائه یک فعالیت کمکی قوی به این پلت فرم واکسن ایفا می‌کند.

این نشان دهنده یک تغییر پارادایم است.

iLNP، نانوذرات لیپیدی قابل یونیزاسیون؛ RIG-I، ژن القایی با رتینوئیک اسید I. IFIT1، پروتئین ناشی از اینترفرون با تکرار تتراتریکوپپتید. dsRNA، RNA دو رشته ای. ssRNA، RNA تک رشته ای. PRR، گیرنده تشخیص پاتوژن. TLR، گیرنده تلفن مانند. MDA5، پروتئین مرتبط با تمایز ملانوما 5. PKR، پروتئین کیناز R. OAS، سنتتاز 2'-5'-oligoadenylate. Ψ، سودوریدین؛ m1Ψ، N1-methylpseudouridine. m5U، 5-methyluridine. IL، اینترلوکین؛ PEG، پلی اتیلن گلیکول. جزء لیپید کمکی iLNP به دلیل عدم وجود اطلاعات کافی در مورد نقش آن در فعال سازی سیستم ایمنی ذاتی در جدول ذکر نشده است.

فارماکوکینتیک واکسن‌های mRNA-iLNP اصلاح‌شده با نوکلئوزید و پویایی سلول‌های ایمنی اولیه ذاتی

واکسن‌های mRNA-iLNP بسته به فرمول iLNP و مسیر تجویز در بدن منتشر می‌شوند (Bahl et al., 2017; Carrasco et al., 2021; Hassett et al., 2019; Liang et al., 2017a; Pardi et al. همکاران، 2015). تجویز داخل عضلانی واکسن‌های mRNA COVID-19 و سایر واکسن‌های مشابه طراحی شده منجر به جذب واکسن و تولید آنتی‌ژن کدگذاری شده در محل تزریق و تخلیه غدد لنفاوی (LNsمی‌شود، اما گسترش محدود mRNA و/یا لیپید نیز قابل تشخیص است. در بافت های دیگر مانند کبد، ریه ها، طحال و LN های غیر تخلیه کننده (آژانس داروهای اروپا، 2020، آژانس دارویی اروپا، 2021؛ هاست و همکاران، 2019؛ لی و همکاران، 2022 الف) (شکل 1). بنابراین تجویز واکسن‌های mRNA COVID-19 در عضله دلتوئید در انسان به احتمال زیاد منجر به تولید بیشتر آنتی‌ژن در محل تزریق و تخلیه LNهای زیر بغل، آپیکال و فوق ترقوه می‌شود (Roltgen et al., 2022). توزیع زیستی مشابهی برای انواع واکسن های مرسوم، مانند زیر واحدهای پروتئین کمکی دیده می شود (لیانگ و همکاران، b2017؛ اولس و همکاران، 2020؛ سگال و همکاران، 2015). نکته جالب توجه این است که مقدار کمی از پروتئین SARS-CoV-2 در پلاسمای موش‌ها و انسان‌هایی که واکسن BNT162b2 دریافت می‌کنند یافت می‌شود (لی و همکاران، a2022؛ رولتگن و همکاران، 2022). این نشان می‌دهد که پروتئین اسپایک یا الگوی mRNA آن (به عنوان mRNA-iLNP یا mRNA مرتبط با سلول) می‌توانند پس از تزریق عضلانی به صورت سیستمیک پخش شوند.

در مطالعات پیش بالینی، تولید پروتئین پس از تزریق mRNA-iLNP زود شروع می شود، به سرعت پس از 4-24 ساعت به اوج خود می رسد و سپس به تدریج کاهش می یابد. این بسته به دوز mRNA، پروتئین کدگذاری شده، نوع iLNP و مسیر تجویز mRNA-iLNP می‌تواند چندین روز یا بیش از یک هفته طول بکشد (Carrasco et al., 2021; Elia et al., 2021؛ هاست و همکاران، 2019؛ پردی و همکاران، 2015). هم پروتئین اسپایک و هم mRNA کدکننده سنبله تا 60 روز پس از دوز دوم BNT162b2 یا mRNA-1273 در انسان‌های واکسینه شده، در مراکز ژرمینال (GCsدر LNهای زیر بغل در حال ردیابی قابل تشخیص هستند، اگرچه طول مدت بیان آنتی‌ژن باید بیشتر باشد. تایید شد (رولتگن و همکاران، 2022). در حالی که در دسترس بودن آنتی ژن بالا و پایدار با پاسخ های آنتی

بادی قوی تر همراه است ((Tam et al., 2016، هنوز باید نشان داده شود که آیا تولید پروتئین پایدار از واکسیناسیون mRNA به افزایش پاسخ های ایمنی در مقایسه با سایر پلت فرم های واکسن کمک می کند یا خیر.

واکسن‌های mRNA-iLNP اصلاح‌شده با نوکلئوزید، پاسخ‌های سلولی کمکی فولیکولی T (Tfh) قوی و تشکیل GCها را القا می‌کنند، که برای تولید آنتی‌بادی پایدار و با میل ترکیبی بالا مورد نیاز است (شکل 1) (Lindgren et al., 2017; Pardi et al.، 2018). در تخلیه LN انسان های واکسینه شده با BNT162b2، پاسخ سلول های GC B و سلول Tfh تا 6 ماه پس از دوز دوم با 30 mRNA میکروگرم باقی می ماند (Mudd et al., 2022; Roltgen et al., 2022; Turner et al.، 2021) و در تولید سلول های B حافظه بالغ با میل ترکیبی و سلول های پلاسمایی ساکن مغز استخوان با عمر طولانی به اوج خود می رسند (کیم و همکاران، 2022). در انسان، واکسن‌های mRNA COVID-19 سلول‌های Tfh در گردش آنتی‌ژن خاص، و همچنین سلول‌های CD4+ T را با پلاریزاسیون T helper 1 (Th1) و سلول‌های CD8+ T تولیدکننده IFN-γ را القا می‌کنند که تا 6 ماه پس از آن قابل شناسایی باقی می‌مانند. افزایش واکسیناسیون (گوئل و همکاران، 2021؛ گوئررا و همکاران، 2021؛ اوبرهارت و همکاران، 2021؛ پینتر و همکاران، 2021؛ ژانگ و همکاران، 2022).

تغییرات سطحی iLNPs مورد استفاده برای تحویل واکسن mRNA ممکن است بر توزیع زیستی، انتقال لنفاوی و جذب سلولی توسط سلول‌های ایمنی ذاتی تأثیر بگذارد. تزئین سطح نانوذرات با PEG به طور گسترده ای به عنوان یک استراتژی برای جلوگیری از تجمع نانومواد و پشتیبانی از توزیع در سیستم لنفاوی استفاده می شود، در حالی که فرآیندهای اپسونیزاسیون را کاهش می دهد و پاکسازی سلول های فاگوسیتی را کاهش می دهد (Suk et al., 2016). با این حال، iLNPها در واکسن‌های mRNA COVID-19 با لیپیدهای حاوی PEG با یک لنگر آبگریز کوتاه مهندسی شده‌اند. بنابراین، انتظار می‌رود که این لیپیدهای PEG به سرعت از iLNP ها دفع شوند و متعاقباً به پروتئین‌های درون‌زا و لیپیدهای موجود در فضای خارج سلولی اجازه می‌دهند تا به طور مؤثری متصل شوند و یک "تاج بیومولکولی" در اطراف iLNP تشکیل دهند (Dilliard et al., 2021; Mok et al.، 1999). قطعات کمپلمان، ایمونوگلوبولین‌ها و لیپوپروتئین‌ها از فراوان‌ترین پروتئین‌هایی هستند که پس از قرار گرفتن در معرض مایعات مشتق از خون به mRNA-iLNPs متصل

می‌شوند (.(Francia et al., 2020اگرچه اطلاعات کمی در مورد نقش برهمکنش پروتئین/iLNP در انتقال لنفاوی و سلولی وجود دارد، ممکن است که opsonization mRNA-iLNPs شناسایی و جذب با واسطه گیرنده توسط سلول‌های ایمنی ذاتی را تحریک کند. به عنوان مثال، پس از تحویل داخل وریدی mRNA-iLNPs، آپولیپوپروتئین E (ApoE) اتصال و جذب ذرات با واسطه گیرنده را توسط گیرنده لیپوپروتئین با چگالی کم ((LDL-Rبه سلول‌های کبدی امکان‌پذیر می‌سازد (;Akinc et al., 2010; Dilliard همکاران، 2021). مطابق با این، انکوباسیون iLNPs با ApoE باعث افزایش انتقال mRNA به سلول‌های دندریتیک ((DCsدر آزمایش‌های کشت سلولی می‌شود (Pardi et al., 2015).اندازه ذرات همچنین جذب سلولی و انتقال نانوذرات به LN ها را تعیین می کند (Maisel et al., 2017; Manolova et al., 2008; Oussoren and Storm, 2001; Reddy et al., 2006).به طور کلی، نانوذرات PEGylated تا 100 تا 200 نانومتر می توانند به طور غیرفعال در لنف پخش شوند تا به LNs دقیقه پس از تزریق برسند، در حالی که ذرات بزرگتر ممکن است در عوض توسط DCها یا سایر سلول های ایمنی درون سلولی که در طی چند ساعت به LN ها مهاجرت می کنند، درونی شوند (. Manolova et al.، 2008؛ ردی و همکاران، 2006).

بینش هایی در مورد نقش سلول های ایمنی ذاتی در جذب mRNA-iLNP، ترجمه و برخی جنبه های ایمنی زایی وجود دارد. در مدل رزوس ماکاک، التهاب موضعی در محل تزریق واکسن‌های mRNA-iLNP اصلاح‌شده با نوکلئوزید یا اصلاح‌نشده، با نفوذ چندین نوع سلول ایمنی مانند نوتروفیل‌ها، DCs و مونوسیت‌ها رخ می‌دهد (لنارت و همکاران، 2022؛ لیانگ). و همکاران، 2017 .(aبه طور مشابه، mRNA-iLNP که به صورت داخل پوستی در ماکاک ها یا موش ها تجویز می شود منجر به التهاب موضعی می شود (لیانگ و همکاران، 2017a؛ Ndeupen و همکاران، 2021). نوتروفیل ها بخش بزرگی از سلول های ایمنی را تشکیل می دهند که به محل های تزریق نفوذ می کنند. جالب توجه است که نوتروفیل ها می توانند به طور موثر iLNP های برچسب گذاری شده با فلورسنت را درونی کنند اما تولید ضعیفی از پروتئین گزارشگر کدگذاری شده را نشان می دهند (لیانگ و همکاران، 2017 .(aبنابراین ممکن است نوتروفیل ها بتوانند با سایر سلول های ایمنی برای جذب واکسن های mRNA-iLNP رقابت کنند. در مقابل، مونوسیت ها و زیرمجموعه های DC به طور موثر mRNA-iLNPs را جذب و ترجمه می کنند (لنارت و همکاران، 2022؛ لیانگ و همکاران، 2017 .(aمطابق با این، تجزیه و تحلیل توالی RNA تک سلولی تخلیه

LN های موش های واکسینه شده با BNT162b2 نشان می دهد که mRNA سنبله عمدتاً در خوشه های سلولی میلوئید DC، مونوسیت و ماکروفاژ یافت می شود (Li et al., 2022a). در این مطالعات، فرکانس مونوسیت‌ها و/یا ماکروفاژها و زیر مجموعه‌های DC میلوئیدی در LNهای تخلیه‌کننده افزایش می‌یابد و بیانگر افزایش نشانگرهای تحریک‌کننده مانند CD80 و CD86 را در مقایسه با سلول‌ها در LNهای غیر تخلیه‌کننده طرف مقابل نشان می‌دهند. نوتروفیل‌ها برای پاسخ‌های سلول‌های Tfh و GC B در موش‌هایی که به صورت داخل جلدی با واکسن mRNA-iLNP کدکننده هماگلوتینین ویروس آنفولانزا (HAواکسینه شده‌اند، بدون تفاوت قابل‌توجهی در ایمونوگلوبولین ضد HA سرم [Ig]G یا محافظت در برابر عوارض ناشی از چالش ویروس آنفولانزا، غیرقابل مصرف هستند. (Ndeupen و همکاران، 2022). در مقابل، سلول‌های DC و لانگرهانس نوع 1 معمولی به پاسخ‌های بهینه سلول‌های Tfh و GC B کمک می‌کنند، اگرچه موش‌هایی که فاقد هر دو نوع سلول هستند، پاسخ‌های آنتی‌بادی را به طور متوسط کاهش می‌دهند.

در مجموع، مونوسیت‌های فعال، ماکروفاژها و DCها از جمله حیاتی‌ترین انواع سلولی هستند که مسئول جذب موفقیت‌آمیز mRNA-iLNP، سنتز پروتئین کدگذاری‌شده و ارائه آنتی‌ژن در بافت لنفاوی برای هدایت پاسخ ایمنی تطبیقی هستند. با این وجود، هنوز جنبه های ناشناخته زیادی از جذب mRNA-iLNP توسط این سلول های ایمنی وجود دارد و اینکه چگونه پارامترهای فیزیکوشیمیایی مانند اندازه، ترکیب سطح و مورفولوژی iLNP ها می توانند بر فارماکوکینتیک این واکسن ها تأثیر بگذارند.

تشخیص ایمنی mRNA اصلاح نشده و نوکلئوزیدی اصلاح شده

سه دسته اصلی حس ایمنی ذاتی mRNA مصنوعی عبارتند از :

(1) تشخیص وابسته به یوریدین گونه‌های مختلف) RNAتانجی و همکاران، 2015؛ ژانگ و همکاران، 2016)،

(2) تشخیص RNA دو رشته‌ای (dsRNA).) (Alexopoulou et al., 2001; Balachandran et al., 2000; Mitoma et al., 2013; Yoneyama et al., 2004, Yoneyama et al., 2005)و

(3) شناخت انتهای 5' mRNA در صورت عدم پوشش مناسب (عباس و همکاران، 2017؛ دوارکار و همکاران، 2016؛ شوبرث-واگنر و همکاران، 2015). در حال حاضر، کمبود

قابل توجهی از مطالعات وجود دارد که به طور مستقیم ایمنی زایی و اثربخشی پلت فرم های مختلف واکسن) mRNAبه عنوان مثال، mRNA اصلاح شده با نوکلئوزید در مقابل mRNA اصلاح نشده) را مقایسه می کند. با این حال، واضح است که واکسن‌های mRNA اصلاح‌شده با نوکلئوزید در حال حاضر موفقیت بالینی و گسترش گسترده‌تری را تجربه کرده‌اند (هوگان و پاردی، 2022).

جایگزینی نوکلئوزیدهای اصلاح شده خاص، مانند پسودوریدین یا مشتق m1Ψ آن، به جای یوریدین در mRNA مصنوعی حداقل دو مزیت مهم دارد:

تولید پروتئین از mRNA را افزایش می‌دهد و حس ایمنی را توسط تعدادی از حسگرهای RNA داخل سلولی کاهش می‌دهد (.Karikó et همکاران، 2005، Karikó و همکاران، 2008). بهترین حسگر توصیف‌شده RNA تک رشته‌ای اصلاح‌نشده ((ssRNAو محصولات تخریب‌کننده آن گیرنده شبه Toll (TLR) 7 است که به طور همزمان به گوانوزین و UUU سه ریبونوکلئوتیدی متصل می‌شود ((Zhang et al., 2016و TLR8.)در انسان‌ها فعال است اما در موش‌ها فعال نیست)، که به یوریدین و دی نوکلئوتید UG متصل می‌شود (تانجی و همکاران، 2015). نوکلئوزیدهای اصلاح شده همچنین می توانند فعال سازی حسگرهای dsRNA مختلف از جمله TLR3، ژن القایی با رتینوئیک اسید I (RIG-I)، پروتئین مرتبط با تمایز ملانوم 5 ((MDA5، پروتئین کیناز R (PKR) و 2'-5'- را کاهش دهند. الیگوآدنیلات سنتتاز () (OASاندرسون و همکاران، 2010، اندرسون و همکاران، 2011؛ کاریکو و همکاران، 2005؛ مو و همکاران، 2018). شناسایی RNA حاوی یوریدین با افزایش بیان سیتوکین های پیش التهابی، به ویژه IFN نوع I مرتبط است ((Karikó et al., 2005, Karikó et al., 2011که بیان حسگرهای RNA را حتی بیشتر می کند و می تواند منجر به مهار بیان آنتی ژن از mRNA از طریق فعالیت های PKR و OAS..

اصلاح نوکلئوزید برای اثربخشی بالای واکسن حداقل در برخی شرایط لازم است. به عنوان مثال، واکسن mRNA-iLNP که ویروس آنفولانزا HA را کد می‌کند، سلول‌های Tfh قوی، سلول‌های GC B و پاسخ‌های آنتی‌بادی را در موش‌ها تنها زمانی ایجاد می‌کند که mRNA اصلاح شده باشد و نه زمانی که اصلاح نشده باشد (.(Pardi et al., 2018هنوز دقیقاً مشخص نیست که آیا و چگونه اصلاح نوکلئوزیدی به خودی خود باعث افزایش واکنش‌های

GC در مقایسه با mRNA اصلاح نشده می‌شود، اما در اینجا چندین نظریه ارائه می‌کنیم که متقابلاً منحصر به فرد نیستند: (1) پروتئین حاصل از mRNA اصلاح‌شده عموماً در سطح بالاتر و برای مدت طولانی تر از mRNA اصلاح نشده. به عنوان مثال، بیان لوسیفراز کرم شب تاب از mRNA-iLNP اصلاح نشده را می توان به مدت 8 روز پس از تزریق داخل جلدی در موش تشخیص داد، در حالی که لوسیفراز از mRNA-iLNP اصلاح شده با m1Ψ برای 13 روز و در سطوح کل حدود 10 برابر قابل تشخیص است (. .Pardi et al، 2018). دومی سینتیک های مطلوب تری را برای هدایت واکنش های GC فراهم می کند، که با در دسترس بودن طولانی مدت آنتی ژن ترویج می شود (2) .(Tam et al., 2016) این امکان وجود دارد که تفاوت اساسی بین mRNA اصلاح شده و اصلاح نشده (تنها) بیان پروتئین کلی نباشد، بلکه بیان متفاوت در انواع سلول های کلیدی ارائه دهنده آنتی ژن، مانند مونوسیت ها، ماکروفاژها و DCها باشد (لنارت و همکاران. ، 2022؛ لی و همکاران، a2022؛ لیانگ و همکاران، 2017 .(aاین نوع سلول‌ها ممکن است به‌ویژه به اثرات بازدارنده ترجمه mRNA اصلاح‌نشده به دلیل بیان بالاتر حسگرهای) RNAمانند TLR7/8)حساس باشند، که به طور بالقوه مانع از یک مسیر کلیدی پرایمینگ سلول T می‌شوند: ارائه مستقیم آنتی‌ژن‌های ترجمه شده به +CD4و .+CD8سلول های) Tمیلر و همکاران، 2015؛ اوکسنبین و همکاران، 2001). (3) محیط سیتوکین تولید شده توسط mRNA-iLNP اصلاح شده (که در ادامه با جزئیات بیشتر مورد بحث قرار گرفته است) ممکن است برای واکنش های GC مطلوب تر از محیط القا شده توسط mRNA-iLNP اصلاح نشده باشد.

علیرغم مزایای نوکلئوزیدهای اصلاح شده، mRNA اصلاح نشده همچنین می تواند به بیان پروتئین قوی ((Thess et al., 2015و پاسخ های آنتی بادی خنثی کننده دست یابد (Lutz et al., 2017). CureVac یک استراتژی مهندسی توالی برای کاهش تشخیص توسط گیرنده‌های تشخیص الگو با تغییر استفاده از کدون با تغییرات مترادف ایجاد کرد که یوریدین را به حداقل می‌رساند و محتوای GC را افزایش می‌دهد، بنابراین بیان آنتی‌ژن قوی و ایمنی‌زایی را ارتقا می‌دهد. این رویکرد مطمئناً می‌تواند التهاب ناشی از یوریدین را پس از تحویل mRNA کاهش دهد، اما بعید است که یک mRNA ایمنی ایمنی ایجاد کند زیرا همه یوریدین‌ها را نمی‌توان از توالی mRNA حذف کرد. شاید این (حداقل تا حدی) تفاوت در واکنش زایی و ایمنی زایی واکسن mRNA کووید-19 CureVac در مقابل واکسن

Moderna و Pfizer/BioNTech را توضیح دهد (بادن و همکاران، 2021؛ کرمسنر و همکاران، 2022؛ پولاک و همکاران، 2020).

یکی دیگر از اجزای واکسن mRNA که می تواند به طور قابل توجهی به شناسایی مضر ایمنی ذاتی کمک کند dsRNA است. رونویسی در شرایط آزمایشگاهی ((IVTتوسط T7 RNA پلیمراز نه تنها به mRNA مورد نظر، بلکه انواع گونه‌های RNA ناخواسته، از جمله رونوشت‌های مختلف کوتاه‌مدت ناقص و همچنین RNAهای ضد حس رونویسی شده از انتهای بدون پروموتر الگوی DNA نیز تمایل دارد. کاریکو و همکاران، 2011؛ مو و همکاران، 2018). این می‌تواند منجر به تشکیل dsRNA شود که از طریق شناسایی گیرنده‌های درون سلولی مختلف (OAS، PKR، RIG-I، MDA5، TLR3، DHX33، و غیره، یک پاسخ التهابی قوی و محاصره ترجمه را القا می‌کند) (اندرسون و همکاران، 2010). ، اندرسون و همکاران، 2011؛ دوربین و همکاران، 2016؛ کاریکو و همکاران، 2011؛ میتوما و همکاران، 2013).

ساختارهای ثانویه و سوم دو رشته ای نیز می توانند بر اساس توالی mRNA تشکیل شوند. مهم ترین حسگرهای dsRNA با توجه به محاصره ترجمه، سنسورهای سیتوزولی القایی با IFN OAS و PKR هستند. هنگامی که OAS به dsRNA متصل می شود، RNase L را فعال می کند، که به نوبه خود تمام ssRNA را در سلول می شکند، بنابراین هر گونه mRNA درمانی را از بین می برد. علاوه بر این، هنگامی که PKR توسط dsRNA یا سایر لیگاندهای RNA فعال می شود ((Anderson et al., 2010، فاکتور شروع ترجمه eIF2α را فسفریله و غیرفعال می کند، بنابراین سنتز پروتئین را متوقف می کند. این پاسخ های ایمنی ذاتی مضر را می توان حداقل با دو روش کاهش داد. اول، همانطور که در بالا ذکر شد، گنجاندن نوکلئوزیدهای اصلاح شده می تواند فعال شدن PKR و OAS را کاهش دهد (Anderson et al., 2010, Anderson et al., 2011). دوم، dsRNA را می توان از mRNA ژن IVT با روش های خالص سازی خاصی حذف کرد. در حالی که dsRNA با روش‌های رایج رسوب الکلی حذف نمی‌شود، می‌توان آن را با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ((HPLCیا روش‌های ساده‌تر مانند جذب روی سلولز (Karikó et al., 2011) (Baiersdorferیا RNase به میزان قابل توجهی کاهش داد.

به نظر می رسد کاهش dsRNA از mRNA IVT اصلاح نشده برای دستیابی به سطح بالایی از تولید پروتئین در شرایط آزمایشگاهی یا in vivo در موش حیاتی باشد، اما ممکن است برای mRNA IVT اصلاح شده با m1Ψ حیاتی باشد .

ادغام m1Ψ و حذف dsRNA می‌تواند پاسخ‌های IFN نوع I را پس از تجویز داخل وریدی محصولات mRNA-iLNP در موش کاهش دهد.. جالب توجه است، ادغام نوکلئوزیدهای اصلاح شده خاص مانند Ψ، m1Ψ، و 5-متیل سیتیدین همچنین می تواند تشکیل محصولات جانبی dsRNA را در آماده سازی mRNA رونویسی شده با T7 کاهش دهد (Mu et al., 2018).کاهش غلظت) +Mg2از 30 میلی‌مولار به 5 میلی‌مولار) در مخلوط واکنش IVT و انجام IVT در دمای بالاتر (50-55 درجه سانتی‌گراد در مقابل 37 درجه سانتی‌گراد) با یک T7 RNA پلیمراز پایدار در برابر حرارت، آلاینده‌های dsRNA را نیز کاهش می‌دهد. واکنش IVTو از نظر تئوری ممکن است که آنزیم T7 جهش یافته یا با یک RNA پلیمراز جایگزین شود که dsRNA کمتری تولید می کند یا اصلاً تولید نمی کند، بنابراین این امر اقتصادی را تسهیل می کند. ساخت mRNA با کیفیت بالا و عملکرد خوب تولید .(GMP.

در نهایت، استراتژی 5’-capping نیز بر عملکرد (ترجمه‌پذیری و فعال‌سازی ایمنی) mRNA IVT تأثیر دارد. یک کلاهک 5' که می تواند به راحتی توسط آنزیم پوشاننده ویروس واکسینیا اضافه شود، ساختار cap0 (m7GpppN) است، اما این توسط RIG-I)دوارکار و همکاران، 2016؛ شوبرث-واگنر و همکاران، 2015) و توسط پروتئین القا شده با IFN انسانی با تتراتریکوپپتید پروتئین 1 ((IFIT1را تکرار می کند، که با رقابت با کمپلکس eIF4F فاکتور شروع اتصال کلاهک، ترجمه را مهار می کند (عباس و همکاران، 2017). بنابراین، برای درمان‌های mRNA رایج است که از ساختار cap1 (m7GpppNm) استفاده کنند، که دارای متیلاسیون در اولین نوکلئوتید کلاهک پروگزیمال است و نشانه‌ای از «خود» در یوکاریوت‌های بالاتر است. Cap1 را می توان با درمان 2'-O-methyltransferase cap0-mRNA (Pardi et al., 2013) یا با رونویسی همزمان با روش) CleanCapهندرسون و همکاران، 2021) به دست آورد.

به طور خلاصه، استفاده از یوریدین‌های اصلاح‌شده جنبه کلیدی اثربخشی واکسن‌های mRNA COVID-19 در نظر گرفته می‌شود، اگرچه هم قابلیت ترجمه و هم ظرفیت التهابی

جزء mRNA را می‌توان تحت تأثیر عوامل متعدد دیگری قرار داد. متأسفانه، اطلاعات عمومی کمی در مورد روش‌های دقیق آماده‌سازی (RNAرونویسی، دربندی، و خالص‌سازی) مورد استفاده توسط Moderna، Pfizer/BioNTech و سایر شرکت‌های mRNA در دسترس است که تحقیقات اساسی در این زمینه را پیچیده می‌کند.

نانوذرات لیپیدی قابل یونیزاسیون فعالیت کمکی قوی را ارائه می دهند

iLNP ها بیشتر از عوامل تحویل کار می کنند. در واقع، هم iLNP های خالی و هم کمپلکس های mRNA-iLNP به عنوان کمک های بسیار موثر عمل می کنند. iLNP های خالی با موفقیت برای واکسن های کمکی حاوی ویروس هپاتیت B یا آنتی ژن های پروتئین ویروس دنگی استفاده شد (Swaminathan et al., 2016a, Swaminathan et al., 2016bو mRNA-iLNP های اصلاح شده که کد کننده پروتئین لوسیفراز قویاً وافلوانین HA بودند استفاده شد. (پردی و همکاران، 2018). اخیراً نشان داده شده است که iLNP های خالی مخلوط با پروتئین های دامنه اتصال گیرنده میخچه (RBDآنفولانزا HA یا SARS-CoV-2 باعث ایجاد پاسخ های ایمنی بسیار قوی تری نسبت به واکسن های پروتئین کمکی با AddaVax می شوند (Alameh et al., 2021.شایان ذکر است، واکسن‌های پروتئین کمکی iLNP و mRNA-iLNP پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال مشابهی از جمله پاسخ‌های قوی سلول‌های Tfh و GC B را القا می‌کنند. جزء لیپیدی قابل یونیزاسیون برای این اثر کمکی حیاتی است، زیرا LNPهای خالی بدون لیپید قابل یونیزاسیون پاسخ آنتی بادی قوی را القا نمی کنند (Alameh et al., 2021.یک درک مکانیکی برای فعالیت کمکی قوی iLNP ها و محیط التهابی که آنها تحریک می کنند، تازه شروع به ظهور کرده است. در تخلیه LN موش های ایمن شده، هم iLNP های خالی و هم mRNA-iLNP های اصلاح شده با نوکلئوزید باعث تولید چندین کموکاین (از جمله CXCL1، CXCL2، CXCL5، CXCL10، CCL3، CCL4)و سیتوکین های IL-6bit، IL-6b می شوند. فاکتور (LIFو GM-CSF در سطوح بسیار بیشتر از پروتئین HA به اضافه AddaVax (Alameh et al., 2021). iLNP های خالی یا iLNP های حاوی RNA غیر کدکننده، تولید قوی همان مجموعه ای از واسطه های ایمنی را در پوست موش های واکسینه شده داخل جلدی و همچنین نفوذ سلول های ایمنی قوی در بافت های تزریق شده را تحریک می کنند (Ndeupen et al., 2021.تولید سریع و قوی IL-6، یک تنظیم کننده کلیدی بیولوژی سلولی Tfh در موش (چوی و همکاران، 2013)، ممکن است القای کارآمد سلول های Tfh و سلول های GC B توسط پروتئین خالی ادجوانت با iLNP و mRNA اصلاح شده را توضیح دهد. واکسن های iLNP مطالعات مکانیکی در موش‌های دارای کمبود (-/-Il6) IL-6

و آزمایش‌هایی با استفاده از آنتی‌بادی‌های مسدودکننده ضد IL-6، نیاز به IL-6 القا شده با iLNP را در برانگیختن پاسخ‌های بهینه سلول‌های Tfh و سلول‌های GC در موش نشان می‌دهند (علامه و همکارانش). همکاران، 2021).

یک علامت التهابی مشابه شامل /CCL4، CXCL10، IL-6، IFN-α، و IFN-γ در سرم موش ها پس از واکسیناسیون با BNT162b2 مشاهده می شود (.(Li et al., 2022aدر موش‌ها، امضاهای IFN نوع I و ژن تحریک‌شده با IFN (ISG) در انواع مختلف سلولی (ماکروفاژها، مونوسیت‌ها، DCs، سلول‌های کشنده طبیعی [[NKکه توسط پروفایل رونویسی تک‌سلولی در تخلیه LN تجزیه و تحلیل شدند) به اوج خود می‌رسد. و تا روز 7 به حالت اولیه باز می گردند، در حالی که سلول های NK و سلول های T افزایش مستمری را در بیان ژن های مرتبط با چرخه سلولی و رونویسی نشان می دهند (,.Li et al .(2022aشایان ذکر است، IFN-γ سرم 6 ساعت پس از تجویز دومین دوز واکسن، بیشتر (8.6 برابر) است که عمدتاً از سلول‌های +CD4 Tو +CD8می‌آید، در مقایسه با 6 ساعت پس از اولین دوز که بیشتر IFN-γ مشتق می‌شود. از سلول های NK در این تنظیمات، سیگنال دهی IFN-γ سلول های ارائه دهنده آنتی ژن را فعال می کند، اما در کمال تعجب برای سلول های +CD4و T +CD8 یا پاسخ های آنتی بادی لازم نیست. سیگنال‌دهی IFN نوع I برای پاسخ‌های قوی سلول‌های T +CD8 مورد نیاز است، اما بیشتر برای پاسخ‌های آنتی‌بادی اتصال قوی غیرقابل استفاده است، اگرچه پاسخ‌های سلول‌های Tfh و GC B و سطوح آنتی‌بادی خنثی‌کننده اندازه‌گیری نشدند (.(Li et al., 2022aمشخص نیست که کدام جزء از واکسن mRNA-iLNP مسئول القای IFN های نوع I است، اما DC های پلاسماسیتوید تنها زمانی که در معرض mRNA-iLNPs و نه iLNP های خالی، IFN-α تولید می کنند، که نشان می دهد جزء mRNA ممکن است برای IFN نوع I مهم باشد. القاء (لیانگ و همکاران، 2017(a.

داده های محدودتری در مورد فعال سازی ایمنی ذاتی در انسان به دنبال واکسیناسیون mRNA-iLNP در دسترس است، اما مطالعات تا به امروز تا حد زیادی با مطالعات حیوانی فوق موافق است. CXCL10 و IFN-γ به طور قابل توجهی در خون داوطلبان انسانی یک روز پس از دریافت واکسن BNT162b2، به ویژه پس از ایمن سازی دوم، افزایش می یابد (.(Arunachalam et al., 2021جالب است که این مطالعه القای قابل توجهی از IFN-α

)اندازه‌گیری شده ≤1 روز پس از تزریق) را در انسان شناسایی نکرد، که می‌توان با این واقعیت توضیح داد که IFN-α در گردش در موش‌های تزریق شده بسیار گذرا است (کمتر از 1 روز). با همان واکسن و به طور بالقوه همچنین با تفاوت در پاسخ IFN-α بین گونه ها (.(Li et al., 2022aمطابق با یافته‌های موش‌ها ((Li et al., 2022a، غلظت IFN-γ پس از تجویز دوز دوم واکسن بیشتر است و این همزمان با افزایش فعال‌سازی سلول‌های میلوئیدی است (.(Arunachalam et al., 2021سطح بالاتر فعال‌سازی کلی سیستم ایمنی پس از تقویت با این مشاهدات مطابقت دارد که عوارض جانبی پس از تجویز دوز دوم هر دو واکسن mRNA COVID-19 تأیید شده، به‌ویژه برای واکنش‌های سیستمیک، بیشتر است (چاپین-باردالز و همکاران، 2021). ؛ روزنبلوم و همکاران، 2022).

آروناچلام و همکاران و لی و همکاران فرض بر این است که افزایش فعال شدن سلول‌های میلوئید و سلول‌های T پس از تجویز دوز دوم واکسن ممکن است منعکس‌کننده یک تداخل بین لنفوسیت‌ها و سلول‌های میلوئیدی باشد که شامل تغییرات اپی ژنتیکی در سلول‌های میلوئیدی است که پاسخ‌دهی آن‌ها به برخوردهای بعدی واکسن را افزایش می‌دهد (.(Arunachalam et al., 2021؛ لی و همکاران، 2022 .(aاین همچنین این سوال را مطرح می‌کند که آیا واکسن‌های mRNA-iLNP می‌توانند اثرات تقویت‌کننده طولانی‌مدت در سلول‌های میلوئیدی (ایمنی آموزش‌دیده) ایجاد کنند که ممکن است بر محافظت در برابر COVID-19 یا سایر بیماری‌های عفونی تأثیر بگذارد (کوبیاما و ایشی، 2022؛ لی و همکاران .، 2022b؛ Mantovani و Netea، 2020).

سلول های تک هسته ای خون محیطی انسان ((PBMCsدر شرایط آزمایشگاهی با mRNA-iLNP های اصلاح شده با m1Ψ فرموله شده با IL-1β، IL-6، TNF، CCL5، فاکتور تحریک کننده کلونی گرانولوسیت ((G-CSF، اندوتلیال عروقی SM-102 فرموله شده اند. فاکتور رشد A (VEGF-A) و سایر مولکول ها IL-1β .(Tahtinen et al., 2022) با توجه به اینکه به عنوان یک واسطه مرکزی ایمنی ذاتی در نظر گرفته می شود از اهمیت خاصی برخوردار است (چان و شرودر، 2020)، از جمله واکنش زایی و تب، و باعث تحریک تولید بسیاری از سایتوکین های التهابی دیگر تحریک شده توسط mRNA-iLNP، مانند به عنوان IL-6، IFN-γ، TNF، و کموکاین های مختلف (,.Mantovani et al .(2019جالب اینجاست که PBMC های انسانی سطوح پایه پایین تری از آنتاگونیست گیرنده (IL-1ra) IL-1 ترشح می کنند که یک تنظیم کننده منفی سیگنالینگ IL-1α/β است، در مقایسه با موش ها و پستانداران غیر انسانی. این ممکن است توضیح دهد که چرا سلول

های انسانی چنین پاسخ های قوی IL-1β را در واکنش به واکسن های اصلاح شده -mRNA iLNP ایجاد می کنند و نشان می دهد که ممکن است تفاوت های مهم وابسته به گونه در پاسخ های IL-1β وجود داشته باشد که باید هنگام آزمایش واکسن ها در مدل های حیوانی در نظر گرفته شود، اما به وضوح تحقیقات بیشتری در مورد این موضوع مورد نیاز است.

تشخیص ایمنی ذاتی نانوذرات لیپیدی قابل یونیزاسیون

چگونه iLNP ها توسط سیستم ایمنی ذاتی حس می شوند؟ جزء(های) واکسن که باعث پاسخ ایمنی ذاتی می شود می تواند شامل (1) کل نانوذره یا سایر ساختارهای چند مولکولی، (2) لیپیدهای منفرد (به عنوان مثال، لیپید قابل یونیزاسیون) باشد (Alameh et al., 2021; Ndeupen et al.، 2021)، کلسترول (Anand، 2020)، یا (3) محصولات لیپیدی تغییر یافته و/یا متابولیزه شده (به عنوان مثال، ناخالصی های اکسیداتیو لیپید قابل یونیزاسیون Packer et al., 2021]] [یا فسفولیپیدهای اکسید شده Weismann and Binder, 2012]همچنین ممکن است مولکول‌های درون‌زا (مانند ApoE یا پروتئین‌های مکمل) که پس از تحویل واکسن mRNA به iLNPs متصل می‌شوند، نه تنها در جذب با واسطه گیرنده توسط سلول‌های ایمنی ذاتی نقش داشته باشند، بلکه به مکانیسم‌های حسی نیز کمک می‌کنند. احتمال دیگر این است که یک گیرنده سلولی مانند TLR وجود داشته باشد که به طور خاص iLNP ها را تشخیص می دهد، زیرا لیپوزوم های کاتیونی خاص و LNP ها توسط TLR4 (Tanaka et al., 2008)، TLR2 (Lonez et al., 2014)، نوکلئوتید حس می شوند. دامنه اتصال و پروتئین حاوی تکرار حاوی پیرین غنی از لوسین 3 ,.Lonez et al) (NLRP3) (2014)، و محرک ژن های اینترفرون .(Miao et al., 2019) (STING)

بینش جدیدی در مورد مسیرهای سیگنال دهی وجود دارد که حس ایمنی واکسن های mRNA-iLNP اصلاح شده با نوکلئوزید را منتقل می کند. فعالیت کمکی iLNPs در واکسیناسیون زیرواحد پروتئین به MyD88 یا MAVS بستگی ندارد، همانطور که با استفاده از سویه‌های موش -/-Myd88و -/-Mavsنشان داده شده است. با این حال، موش‌های -/-Myd88پاسخ ایمنی سلول‌های Tfh و GC B تا حدی کم‌رنگ به واکسن mRNA-iLNP اصلاح‌شده و خالص‌شده نشان می‌دهند (.(Alameh et al., 2021بنابراین، این امکان وجود دارد که) mRNAتغییر شده با m1Ψ و تهی شده از (dsRNAیا محصولات تخریب کننده آن هنوز به نوعی توسط حسگرهایی که از طریق MyD88 سیگنال می دهند، مانند TLR7، شناسایی شوند. ایمنی زایی واکسن) BNT162b2آنتی بادی و پاسخ سلول T (+CD8در غیاب TLR2، TLR4، TLR5، TLR7، پروتئین لکه مانند مرتبط با آپوپتوز که

حاوی دامنه جذب کاسپاز (ASC) [CARD]، NLRP3، کاهش نمی یابد، سیکلیک GMP-AMP سنتاز ((cGAS، یا STING، نشان می‌دهد که این حسگرهای مهم اسیدهای نوکلئیک و لیپیدهای میکروبی، از جمله واسطه‌های التهابی، برای پاسخ ایمنی قوی به این واکسن مورد نیاز نیستند (.(Li et al., 2022aکمبود TLR3 منجر به کاهش متوسط (2.4 برابری) در تیتر آنتی‌بادی خنثی‌کننده شد، اما نه IgG متصل به سنبله، که نشان می‌دهد این حسگر ممکن است نقش کوچکی در کمکی داشته باشد. توجه به این نکته مهم است که برخی از این حسگرها می توانند عملکردهای اضافی ایفا کنند، در این صورت حذف ژن های فردی ممکن است اثری را نشان ندهد. این داده‌ها همچنین نشان می‌دهند که این iLNPها و لیپوزوم‌های کاتیونی حساس به TLR2/4 که در بالا به آنها اشاره شد، با مکانیسم‌های مختلفی حس می‌شوند. قابل توجه، موش -/-Mda5و موش -/-Ifnar1کاهش گسترده ای در فرکانس سلول های CD8+ T اختصاصی آنتی ژن نشان می دهند، اما تنها اثر خفیفی بر پاسخ های آنتی بادی، پس از واکسیناسیون BNT162b2 دارند. این نشان می‌دهد که مسیر سیگنالینگ MDA5-IFN-α ممکن است به جنبه‌های خاصی از پاسخ ایمنی به واکسن‌های mRNA-iLNP اصلاح‌شده با نوکلئوزید مرتبط باشد، مانند پاسخ سلول‌های CD8+ T قوی که برای واکسن BNT162b2 ذکر شده است، اما ممکن است یک کمک کننده کلیدی در حفاظت با واسطه آنتی بادی. MDA5 معمولاً با حس کردن مولکول‌های dsRNA بلند یا ssRNA با ساختارهای ثانویه مرتبط است (.(Pichlmair et al., 2009این احتمال را افزایش می دهد که ساختارهای mRNA ثانویه و سوم یا جنبه(های) خاصی از تولید mRNA) به عنوان مثال، حذف ناقص (dsRNAممکن است در سنجش ایمنی ذاتی این واکسن mRNA نقش داشته باشد.

علاوه بر حسگری که می‌تواند مستقیماً iLNPها (یا محصولات تخریب‌کننده آن‌ها) را حس کند، راه‌های مختلفی وجود دارد که iLNPها را می‌توان به‌طور غیرمستقیم حس کرد یا در غیر این صورت به فعال‌سازی سیستم ایمنی ذاتی کمک کرد. به عنوان مثال، یک پلی سیتیدین (غیر کد کننده) RNA-iLNP بیان یک مجموعه ژن مرتبط با نکروپتوز را تحریک می کند، که نشان می دهد می تواند باعث آزاد شدن الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب التهابی ((DAMPsاز سلول های در حال مرگ شود (. .(Ndeupen et al., 2021ایده جالب دیگر مکانیزمی است که می تواند اختلالات غشایی (غشاهای منحنی، تکه های غشای کاتیونی و غیره) ناشی از همجوشی iLNPs با غشای اندوزومی یا پلاسمایی را حس کند.

چنین مسیری توسط هولم و همکاران پیشنهاد شد. پس از مشاهده اینکه انواع مختلفی از ذرات ویروس مانند و لیپوزوم های کاتیونی قادر به القای DCها برای تولید IFN-β، CXCL10 و سایر واسطه های ایمنی به روشی وابسته به STING و همجوشی غشایی بودند (Holm et al., 2012). کمک‌های اضافی ممکن است از فعال‌سازی مکمل (Szebeni et al., 2022)، اثرات انبار آنتی‌ژن، یا احتمال اینکه iLNPs بتواند mRNA را به انواع سلول‌های خاص یا بخش‌های درون سلولی منتقل کند که حس ایمنی و نمایش آنتی‌ژن را حمایت می‌کنند، باشد.

همانطور که قبلا ذکر شد، یک مسیر سیگنالینگ ایمنی ذاتی که به شدت در اثر کمکی iLNP دخیل است، مسیر IL-1β است، سیتوکینی است که به طور مداوم در انسان ها، حیوانات و PBMC هایی که در معرض mRNA-iLNPs یا iLNP های خالی هستند شناسایی می شود. به طور معمول، IL-1β فعال پس از ادغام دو سیگنال توسط سلول حسگر ترشح می شود: سیگنال 1، که معمولاً از طریق TLR ها ارائه می شود، منجر به رونویسی pro-IL-1β می شود، در حالی که سیگنال 2، معمولاً از طریق سنجش سیتوپلاسمی مولکولی مرتبط با پاتوژن ارائه می شود. الگوهای (PAMPsو DAMPs)، منجر به فعال شدن کاسپاز-1 می شود که سپس pro-IL-1β را به IL-1β فعال می شکافد. سیگنال 2 معمولاً با فعال شدن التهاب زا، یک ساختار الیگومری که در سیتوپلاسم در پاسخ به شناسایی لیگاند جمع می‌شود، به دست می‌آید و در فعال‌سازی پروتئولیتیک کاسپاز-1 به اوج خود می‌رسد. التهاب‌ها می‌توانند شامل انواع گیرنده‌های تشخیص الگو و پروتئین‌های آداپتور باشند و بنابراین می‌توانند به طیف وسیعی از سیگنال‌های خطر پاسخ دهند. برای فعال کردن IL-1β، iLNP ها باید حداقل به دو روش جداگانه (مستقیم و/یا غیرمستقیم) برای ارائه سیگنال 1 و سیگنال 2 حس شوند. اما برخی از بهترین اجزای التهابی توصیف شده برای mRNA به نظر نمی رسد. کمکی -iLNP، یعنی NLRP3 و مولکول آداپتور ASC که به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد (Li et al., 2022a). بنابراین، IL-1β ممکن است توسط iLNPs توسط یک التهاب التهابی مستقل از ASC تحریک شود (Ball et al., 2020; Hanamsagar et al., 2011) و/یا مسیری که به طور کلی التهابات را دور می زند، که چندین مورد از آنها شرح داده شده است (Bossaller et al. همکاران، 2012؛ فیلیپ و همکاران، 2014؛ شندروف و همکاران، 2014؛ ونگ و همکاران، 2014). ماکروفاژهای موش دارای کمبود هر دو کاسپاز-1 و کاسپاز-11 دیگر قادر به تولید IL-1β نبودند که در معرض iLNP های خالی قرار گرفتند، و بهترین شواهد را تا به امروز نشان می دهد که حداقل یکی از این مسیرها مهم است (Ndeupen et al., 2022). همچنین سابقه ای برای

مسیرهای فعال کننده IL-1β وجود دارد که کاملاً مستقل از کاسپاز-1 و سایر اجزای التهابی هستند. به عنوان مثال، سیتوزولی pro-IL-1β را می توان مستقیماً توسط نوتروفیل سرین پروتئاز، پروتئیناز 3 به IL-1β فعال شکافت (Joosten et al., 2009). سناریوی مشابهی ممکن است در شرایط پارگی لیزوزومی به دست آید، که می تواند منجر به آزاد شدن پروتئازهای کاتپسین در سیتوزول شود، جایی که آنها اثرات سیگنالینگ پیش التهابی را اعمال می کنند (هورنونگ و همکاران، 2008). در واقع، از آنجایی که iLNP ها طوری طراحی شده اند که دارای بار مثبت و همجوشی در اندوزوم اسیدی شونده باشند، کاملاً محتمل است که بتوانند غشای اندولیزوزومی را سوراخ کنند. بنابراین، توانایی iLNPs برای انتقال mRNA در سراسر غشای اندولیزوزومی ممکن است ذاتاً با توانایی آنها در انتقال کاتپسین ها یا سایر مولکول های اندولیزوزومی به داخل سیتوزول مرتبط باشد. این به طور بالقوه می تواند به عنوان یک DAMP و یک پروکسی برای همجوشی اندولیزوزوم، یک ویژگی مشترک عفونت های ویروسی باشد. با این حال، این مدل در حال حاضر کاملاً حدس و گمان است.

شناسایی مکانیسم‌های حسگر ایمنی ذاتی mRNA مصنوعی و حامل لیپیدی آن یک وظیفه اصلی در زمینه واکسن mRNA است (شکل 2). درک دقیق مکانیسم‌های مولکولی که توسط آنها iLNP یا اجزای آن حس می‌شوند، طراحی واکسن را در آینده بهبود می‌بخشد.

مسیر رسیدن به نسل بعدی واکسن‌های mRNA-iLNP

به نظر می‌رسد بیشتر فعال‌سازی ایمنی ذاتی به جزء iLNP واکسن‌های mRNA-iLNP اصلاح‌شده با نوکلئوزید متکی است، زیرا iLNPهای خالی می‌توانند انواع سایتوکاین‌ها از جمله IL-1β، IL-6، GM-CSF و بسیاری از کموکاین‌ها را استخراج کنند. همکاران، 2021؛ Ndeupen و همکاران، 2021؛ Tahtinen و همکاران، 2022). با توجه به جزء mRNA، به نظر می رسد اصلاح نوکلئوزید m1Ψ تحمل واکسن های mRNA-iLNP را با کاهش تشخیص ایمنی ذاتی، با مزایای احتمالی برای کارایی ترجمه و ایمنی تطبیقی، بهبود می بخشد. مشاهدات از چندین مطالعه نشان می‌دهد که واکسن‌های mRNA-iLNP اصلاح‌شده با نوکلئوزید (از جمله واکسن‌های mRNA مجاز SARS-CoV-2) هنوز هم قادر به القای یک پاسخ گذرا به IFN نوع I هستند که احتمال وجود مکمل یا شاید هم افزایی ذاتی را نشان می‌دهد. فعال سازی سیستم ایمنی توسط جزء mRNA (Alameh et al., 2021; Arunachalam et al., 2021; Li et al., 2022a; Liang et al., 2017a). جالب توجه

این است که مسیر سیگنالینگ MDA5-IFN-α برای پاسخ سلول T CD8+ به BNT162b2 در موش مهم است (Li et al., 2022a). در حالی که هنوز باید مشخص شود که چه چیزی مسیر MDA5 را فعال می کند، وسوسه انگیز است که حدس بزنیم که IVT یا سایر ناخالصی های مربوط به فرآیند تولید ممکن است در این امر نقش داشته باشند (آژانس داروی اروپا، 2020؛ Mu et al., 2018)، بنابراین در این امر نقش دارند. به ظرفیت واکسن‌های mRNA COVID-19 برای برانگیختن پاسخ سلول‌های T CD8+. این مشاهدات ممکن است پیامدهایی برای توسعه واکسن mRNA برای سایر بیماری‌های عفونی و سرطان داشته باشد، جایی که سلول‌های T CD8+ برای ایمنی مؤثر حیاتی هستند.

در حال حاضر، مشخص نیست که کدام مسیرهای ایمنی ذاتی به ایمنی محافظتی ناشی از mRNA-iLNP در مقابل که به واکنش زایی آن‌ها کمک می‌کنند و در عین حال برای اثربخشی ضروری هستند، کمک می‌کنند، یا اینکه آیا این دو جنبه از پاسخ ایمنی را می‌توان اصلاً از هم جدا کرد. بیشتر عوارض جانبی گزارش شده پس از واکسیناسیون BNT162b2 و mRNA-1273 از نظر شدت و مدت خفیف تا متوسط بود که معمولاً شامل درد محل تزریق، خستگی، سردرد و لرز بود (بادن و همکاران، 2021؛ پولاک و همکاران، 2020؛ روزنبلوم و همکاران. همکاران، 2022). تاکنون، مطالعات بالینی نشان می‌دهد که تنها ارتباط ضعیفی بین شدت این عوارض جانبی و میزان پاسخ‌های آنتی‌بادی وجود دارد، در حالی که ارتباط کمی بین پاسخ سلول T و واکنش‌زایی وجود دارد (Bauernfeind et al., 2021; Held و همکاران، 2021). این داده ها باید توسط مطالعات بزرگتر و دقیق تر تأیید شوند. با این حال، این نتایج این امید را افزایش می دهد که واکنش های نامطلوب رایج به واکسیناسیون mRNA-iLNP اصلاح شده با نوکلئوزید به طور مکانیکی از ایمنی محافظتی قوی جدا نمی شود. درک عمیق‌تر از منبع واکنش‌زایی ممکن است طراحی نسل بعدی واکسن‌های mRNA-iLNP را امکان‌پذیر کند که پاسخ‌های ایمنی تطبیقی قوی‌تر و بادوام‌تری را تحریک کند و در عین حال واکنش‌های جانبی متوسط و شدیدی را که توسط دریافت‌کنندگان واکسن تجربه می‌شود، از جمله تظاهرات نادر آنافیلاکسی و حاد را کاهش دهد. میوکاردیت/پریکاردیت (روزنبلوم و همکاران، 2022؛ سِبنی و همکاران، 2022).

با توجه به اثربخشی واکسن‌های mRNA-iLNP، یکی از ملاحظات کلیدی طراحی mRNA کدکننده آنتی‌ژن است. این احتمال وجود دارد که توالی کدکننده و غیر کدکننده پروتئین mRNA و همچنین تشکیل ساختار ثانویه، برای به حداکثر رساندن بیان آنتی ژن و پاسخ‌های ایمنی تطبیقی بدون افزایش دوز واکسن، بیشتر بهینه شود. برای مثال، CureVac و GSK توسعه بالینی نسل دوم واکسن mRNA اصلاح‌نشده (CV2CoV) را آغاز کرده‌اند که در

نواحی ترجمه‌نشده 5'- و 3' و دم پلی ((Aاز CVnCoV قدیمی‌تر برای بهبود بیان پروتئین اسپایک متفاوت است. (گبر و همکاران، 2022). در مطالعات تطبیقی، CV2CoV 10 تا 100 برابر آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده بالاتر و محافظت بیشتر در برابر تکثیر SARS-CoV-2 نسبت به CvnCoV در پستانداران غیر انسانی ایجاد می‌کند. CV2CoV همچنین سطوح بالاتری از IFNα2a، CXCL10، و CCL3 را نسبت به CvnCoV القا کرد، بنابراین ارزیابی تحمل‌پذیری و کارایی این واکسن در انسان، به‌طور ایده‌آل در مقایسه سر به سر با واکسن‌های mRNA اصلاح‌شده با نوکلئوزید تایید شده برای -COVIDمهم خواهد بود. 19. در آینده، انواع دیگری از ساختارهای RNA مانند خودتقویت شونده (sa)RNA نیز ممکن است از نظر بالینی مفید باشند (Fuller and Berglund، 2020)، اما نتایج بالینی ناامیدکننده برای دو واکسن COVID-19 مبتنی بر saRNA، یعنی ARCT-021 و به نظر می رسد LNP-nCoVsaRNA نشان می دهد که تلاش های بیشتری برای بهینه سازی این پلت فرم (به عنوان مثال، به حداقل رساندن پاسخ ایمنی ذاتی) مورد نیاز است (Low et al., 2021; Pollock et al., 2022).

به موازات طراحی mRNA، فرصت های زیادی برای بهبود فرمول iLNP وجود دارد. اکثر مطالعات تاکنون بر بهینه سازی لیپید قابل یونیزاسیون متمرکز بوده اند، همانطور که با نحوه انتخاب لیپید SM-102 با غربالگری تجربی برای بهبود بیان آنتی ژن و تحمل پذیری در مدل های بالینی نشان داده شده است (.(Hassett et al., 2019نکته مهم، بیان آنتی ژن به تنهایی ممکن است به طور دقیق ایمنی زایی واکسن های mRNA-iLNP را پیش بینی نکند (.(Hassett et al., 2019درک تأثیر شیمی لیپید قابل یونیزاسیون بر نحوه تعامل فرمول mRNA-iLNP با سلول‌های ایمنی ذاتی و شروع فعال‌سازی آنها می‌تواند بینش بیشتری در مورد بهینه‌سازی این پلت فرم ارائه دهد. اصلاح سایر اجزای لیپید کمکی یا ساختار) mRNA-iLNPsبه عنوان مثال، نسبت مولی لیپید و نسبت لیپید به (mRNAنیز می تواند در نظر گرفته شود. iLNP های فرموله شده با لیپیدهای کونژوگه با پلی سارکوزین به جای PEG باعث کاهش فعالیت سیتوکین های پیش التهابی در آزمایش خون کامل انسان در شرایط آزمایشگاهی می شود و سطوح پایین تری از نشانگرهای سمیت کبدی را پس از تجویز چندگانه داخل وریدی در موش ها ایجاد می کند (.(Nogueira et al., 2020هم انتخاب لیپید قابل یونیزاسیون و هم نسبت لیپید به mRNA در iLNP را می توان برای جلوگیری از توزیع سیستمیک mRNA-iLNP ها پس از تجویز داخل عضلانی بهینه کرد، که ممکن است به عنوان یک استراتژی برای به حداقل رساندن عوارض جانبی سیستمیک مفید باشد (.(Carrasco et al., 2021علاوه بر این، تغییر مسیر تجویز BNT162b2 از

داخل عضلانی به زیر جلدی در مدل موش، پاسخ پیش التهابی را بدون به خطر انداختن کارایی واکسن کاهش می‌دهد (.Syenina et al., 2022)در یک مطالعه فاز اول برای واکسن mRNA-iLNP اصلاح شده با نوکلئوزید علیه ویروس آنفولانزا، مسیر داخل پوستی با نرخ بالاتری از عوارض جانبی خاص همراه بود (.Feldman et al., 2019)

از آنجایی که متغیرهای زیادی وجود دارند که می‌توانند بر واکنش‌زایی و ایمنی‌زایی واکسن‌های mRNA تأثیر بگذارند، مسیرهای متعددی برای کاوش به سمت توسعه واکسن‌هایی با واکنش‌زایی کمتر و مؤثرتر وجود دارد. این فرآیند با گسترش دانش ما در مورد تعاملات اجزای mRNA-iLNP با مکانیسم های ایمنی ذاتی کمک زیادی می کند.

نتایجی که اظهار شده

پلت فرم mRNA-iLNP اصلاح شده با نوکلئوزید نشان دهنده یک جهش چشمگیر در توسعه واکسن است که ارزش خود را در مدت کوتاهی در طول همه گیری COVID-19 ثابت کرده است. مطالعات اخیر به دستیابی به بینش هایی در مورد مکانیسم های عمل این روش جدید واکسن کمک کرده است، و تقریباً مطمئن است که تحقیقات آینده در مسیرهای حسگر ایمنی ذاتی و سیگنال ایمنی فعال شده توسط این واکسن باعث پیشرفت در این فناوری خواهد شد. ما انتظار داریم که در سال‌های آینده، این پیشرفت‌ها منجر به نسل دوم -mRNA iLNP با کارایی، ایمنی و تحمل‌پذیری در مقایسه با BNT162b2 و mRNA-1273 شود. طیف گسترده‌ای از روش‌های درمانی mRNA آینده ممکن است در نهایت ممکن شود زیرا ما یاد می‌گیریم که چگونه mRNA و مولکول‌های حامل را برای فعال کردن ترجیحاً پاسخ سلول) Bمرتبط با عفونت‌های حاد) در مقابل پاسخ سلول) Tمثلاً برای عفونت‌های مزمن و سرطان) فعال کنیم. ((Sahin et al., 2020، برای اینکه کاملاً خاموش شوند (به عنوان مثال، برای ژن درمانی)، و حتی برای القای تحمل ایمنی برای درمان بیماری های خود ایمنی (.Krienke et al., 2021)

قدردانی ها

N.P.توسط موسسه ملی آلرژی و بیماری های عفونی (,R01AI146101
R01AI153064, P01AI158571)و صندوق کمک هزینه تحصیلی Katalin Karikó در توسعه واکسن (دانشگاه پنسیلوانیا) پشتیبانی می شود. .R.Vیک همکار فوق دکترا است که توسط صندوق تحقیقات ویژه ((BOFاز دانشگاه گنت، فلاندر، بلژیک تأمین مالی می شود، و از حمایت BOF21/GOA/033 توسط دانشگاه گنت حمایت می کند. .K.Lتوسط شورای تحقیقات سوئد (2019-01036، 2020-05829) و بنیاد کنات و آلیس والنبرگ (2021-

0018) پشتیبانی می شود. ما از) Sunny Shinدانشگاه پنسیلوانیا)، Katalin Karikó)دانشگاه پنسیلوانیا و دانشگاه (Szeged، و) Caius G. Raduدانشگاه کالیفرنیا، لس آنجلس) برای بازخورد علمی و خواندن انتقادی دست‌نویس تشکر می‌کنیم. نویسندگان از همه همکارانی که به دلیل محدودیت‌های فضا نمی‌توان به مطالعات بزرگشان اشاره کرد عذرخواهی می‌کنند.

اعلام منافع

N.P.در حق ثبت اختراعی که استفاده از mRNA اصلاح شده با نوکلئوزید در نانوذرات لیپیدی را به عنوان پلت فرم واکسن توصیف می کند ((WO2016176330A1نامگذاری شده است. N.P.و م.ج.ح. در حق ثبت اختراعی که یک واکسن mRNA اصلاح شده با نوکلئوزید را علیه ویروس زیکا توصیف می کند ((WO2018132537A1نامگذاری شده است. ما این منافع را به طور کامل به دانشگاه پنسیلوانیا و بیمارستان کودکان فیلادلفیا اعلام کرده‌ایم، و یک طرح تأیید شده برای مدیریت هرگونه تضاد احتمالی ناشی از صدور مجوز برای پتنت‌هایمان داریم. R.V.یک مخترع به نام در حق ثبت اختراع مربوط به طراحی واکسن mRNA (WO2020058239A1) است.

Table 1Features of mRNA-iLNP vaccines that may impact innate immune activation

	Component	Sensing mechanisms	Comments	References
IVT mRNA	5’ cap structure	Cap0 or ppp at the 5’ end of the mRNA are recognized by IFIT1 in ssRNA and by RIG-I in dsRNA.	Cap1 is added enzymatically or co-transcriptionally to reduce immune sensing and increase translation.	(Abbas et al., 2017; Devarkar et al., 2016; Schuberth-Wagner et al., 2015)
	Uridine	Uridine-containing RNA is recognized by TLR7/8.	Modified uridines (for example Ψ, m1Ψ, m5U) or uridine depletion reduce sensing and improve translation.	(Andries et al., 2015; Karikó et al., 2005, Karikó et al., 2008; Lutz et al., 2017; Tanji et al., 2015; Zhang et al., 2016)
	dsRNA byproducts	dsRNA is recognized by various intracellular receptors, e.g., TLR3, RIG-I, MDA5, PKR, OAS.	dsRNA can be removed by stringent purification or RNase III digestion.	(Baiersdorfer et al., 2019; Foster et al., 2019; Karikó et al., 2011; Mu et al., 2018; Nelson et al., 2020)

	Component	Proposed sensing mechanisms	Comments	References
iLNP	Ionizable aminolipid	Specific PRRs, inflammasome, or other IL-1β activating pathways or indirect sensing mechanisms?	The ionizable lipid is critical for the adjuvant activity of iLNPs to induce strong antibody responses, but the mechanism is unknown.	(Alameh et al., 2021; Hassett et al., 2019; Li et al., 2022a; Tahtinen et al., 2022)
	Cholesterol	Cholesterol accumulation in myeloid cells can play a role in the activation of various inflammatory responses.	Not known whether cholesterol in iLNPs can cause or contribute to innate immune effects.	(Anand, 2020)
	PEG-conjugated lipid	Anti-PEG antibodies could contribute to allergic reactions.	Hypothesized to lead to adverse reactions such as anaphylaxis.	(Ju et al., 2022; Szebeni et al., 2022)

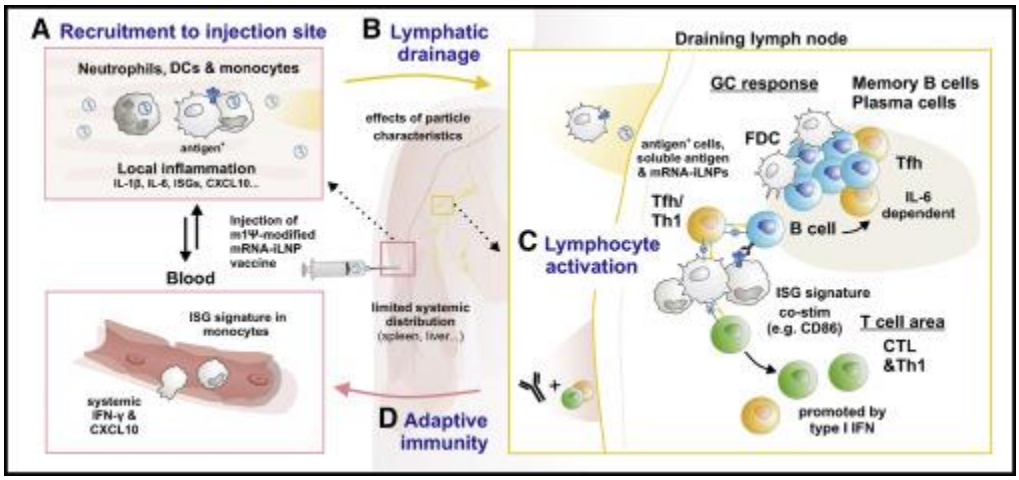

Figure 1Biodistribution and innate immune cell dynamics upon administration of mRNA-iLNP vaccines

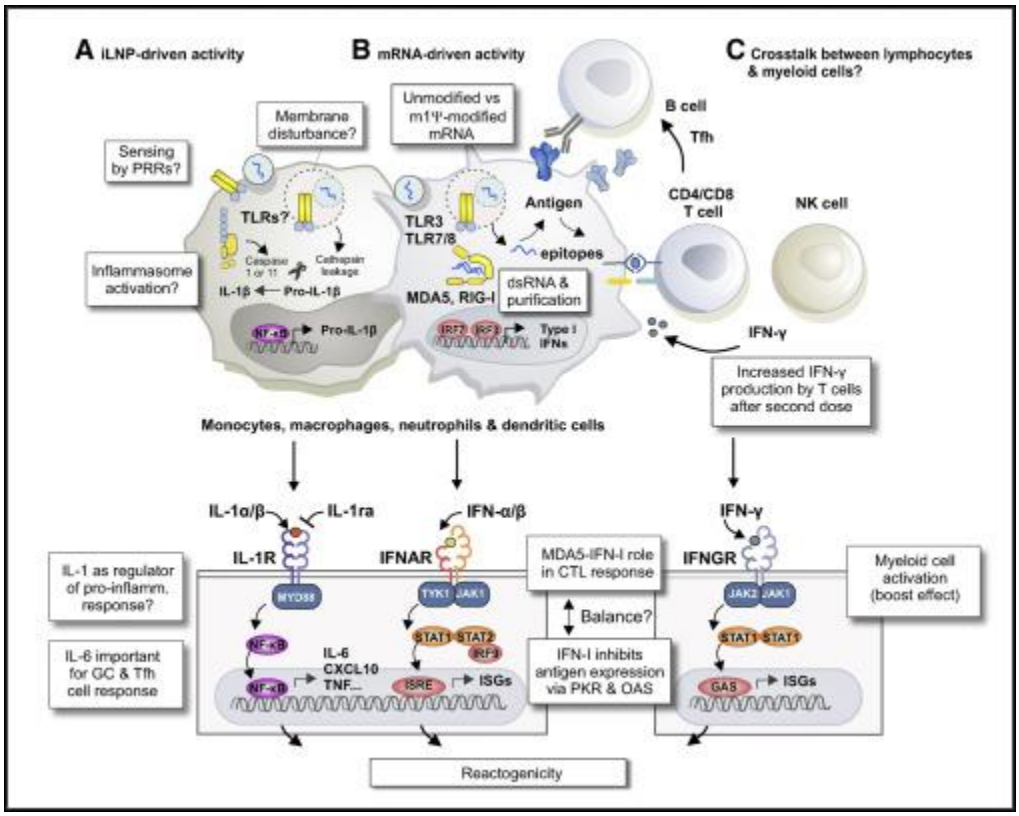

Figure 2Working model of the innate immune mechanisms that contribute to the immunogenicity and reactogenicity of mRNA-iLNP vaccines

https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613(22)00555-6?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1074761322005556%3Fshowall%3Dtrue#.Y3OTfq5VMLA.linkedin