IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

سال ۱۴۰۰، دوره ۵، پیاپی ۱۵، صفحه ۵۲-۴۴

مقاله پژوهشی

مونو فسفوریل لیپید-آ میگروگلیاها را به سمت ترشح کموکاین سوق می‌دهد

بهار خشکرودیان، محمد سیاح*، حمید غلامی پور بدیع*

گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

دریافت: ۲۰ تیر ۱۴۰۰ پذیرش: ۲۰ مرداد ۱۴۰۰

چکیده

زمینه و هدف: رایج ترین اشکال بتاآمیلوئید در مرحله اولیه بیماری آلزایمر اولیگومرهای بتاآمیلوئید هستند که برای سلول‌های عصبی بسیار سمی هستند و می‌توانند عملکرد سیناپسی و حافظه را مختل کنند. از طرفی توانایی آن‌ها برای فعال‌کردن میکروگلیاها بحث‌برانگیز است. لیگاندهای قوی و ضعیف گیرنده‌های شبه تول (TLR) میتوانند میکروگلیاها را در ایجاد پروفایل سایتوکاینی و کموکاینی متفاوتی تحریک نمایند. در این مطالعه میزان بیان سیتوکاین اینترلوکین-۶ و کموکاین پروتئین القاء شده با اینترفرون گاما- ۱۰ (IP-10) از رده سلولی میکروگلیایی BV-2 در حضور و عدم حضور بتاآمیلوئید مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: سلول‌های رده BV-2 در پلیت ۲۴ خانه تحت درمان با دوزهای مختلف (۰/۱، ۱ و ۱۰ میکروگرم) مونوفسفوریل لیپید آ (MPL) و لیپوپلی ساکارید (LPS) به‌عنوان لیگاند گیرنده TLR4 و پم-۳-سیس به‌عنوان لیگاند گیرنده TLR2 به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. سپس محیط رویی جمع گردید و سلول‌ها با محیط حاوی یک میکرومول اولیگومر بتاآمیلوئید به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. بیان اینترلوکین-۶ و IP-10 به روش الایزا در محیط رویی در شرایط حضور و عدم حضور بتاآمیلوئید اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: مطالعه ما نشان داد که هر سه لیگاند در دوز ۱۰ میکروگرم/میکرولیتر باعث ترشح معنی‌دار اینترلوکین-۶ شدند و MPL در تمام دوزها دارای کمترین اثر بر ترشح اینترلوکین-۶ از سلول‌های BV-2 میکروگلیا بود. از طرفی پیش درمان سلول‌های BV-2 با MPL به‌عنوان یک لیگاند ضعیف TLR4 باعث آزادسازی مقدار قابل‌توجه کموکاین IP-10 از سلولهای BV-2 قبل از مواجه با بتاآمیلوئید شد.

نتیجه‌گیری: می‌توان گفت با سوق‌دادن میکروگلیاها برای ایجاد پروفایل پیش‌التهابی کمتر و ترشح کموکاینی بیشتر و احتمالاًافزایش قدرت فاگوسیتوزی این سلول‌ها بتوان از رسوب بتاآمیلوئید و در نهایت از پیشرفت بیماری آلزایمر جلوگیری کرد.

واژه‌های کلیدی: بتاآمیلوئید، بیماری آلزایمر، گیرنده شبه تول، مونوفسفوریل لیپید آ، میکروگلیا

مقدمه

بیماری آلزایمر یکی از شایع‌ترین بیماری های تحلیل برنده دستگاه عصبی می‌باشد که در دوران پیری شیوع بالایی دارد. در حال حاضر تخمین زده می‌شود بیش از ۵۰ میلیون نفر از مردم در سراسر جهان دچار این بیماری باشند. این تعداد تقریبا هر ۲۰ سال دو برابر می‌شود و در سال ۲۰۵۰ به ۱۳۱ میلیون نفر خواهد رسید[۱]. از نظر بالینی، بیماری آلزایمر یک نوع اختلال پیش‌رونده و تحلیل برنده عملکرد مغز است که حافظه و مهارت های ذهنی را درگیر می‌کند و موجب اختلال در عملکرد سیناپس ها می‌شود. تحقیقات مختلفی پپتیدهای دخیل در بروز بیماری آلزایمر را مورد بررسی قرار داده‌اند از جمله این پپتیدها بتاآمیلوئید می باشد. مطالعات ژنتیکی نشان می‌دهند که تولید بیش از حد بتاآمیلوئید در مغز از ضروریات اولیه بیماری آلزایمر می‌باشد[۱]. بیماری آلزایمر دارای دو مشخصه آسیب نورونی است که یکی تجمع غیر طبیعی پروتئین بتاآمیلوئید در

* نویسندگان مسئول مکاتبات: sayyahm2@pasteur.ac.ir (ORCID ID: 0000-0003-0603-2444)
h_gholamipour@pasteur.ac.ir (ORCID ID: 0000-0002-7634-7428)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-10]

خارج سلول و دیگری تجمع پروتئین تائو در داخل سلول می‌باشد. تجمعات پروتئینی تشکیل شده در خارج و داخل سلول‌های عصبی سبب ایجاد اختلال در ارتباطات شبکه نورونی و نهایتا تخریب نورون‌های خاصی در مغز می‌شود [۲]. روند آمیلوئیدوژنز (آبشار تولید آمیلوئیدی) باعث تولید مونومرهای بتا آمیلوئید می‌شود. با توجه به داشتن خاصیت آبگریز، تک‌رشته‌های این پپتید با هم واکنش داده و فرم‌های دایمر، الیگومر و فیبریل را می‌سازند و به تدریج در مراحل پیشرفته‌تر بیماری فیبریل‌های آمیلوئید و پلاک‌ها در پارانشیم مغز رسوب می‌کنند [۳]. رسوب بتاآمیلوئید باعث فعال شدن میکروگلیاها برای تولید انواع سایتوکاینها و التهاب عصبی می‌شود و پروفایل کشنده را برای سلول‌های عصبی ایجاد می‌کند.

میکروگلیاها بخشی از ساختار حمایتی دستگاه عصبی مرکزی را تشکیل می‌دهند و ماکروفاژهای ساکن سیستم عصبی مرکزی هستند. میکروگلیاها ۵ تا ۲۰ درصد کل جمعیت سلول‌های گلیایی را تشکیل می‌دهند [۳]. آن‌ها به عنوان یک سد دفاعی مهم در برابر آسیب‌زایی مغز و نورون ها عمل می‌کنند و در نواحی آسیب دیده مغز تجمع پیدا می‌کنند. مطالعات صورت گرفته نشان داده است که پپتیدهای بتاآمیلوئید با فعال‌کردن میکروگلیاها تولید سایتوکاین‌ها وکموکاین‌ها را موجب می‌شوندکه آن‌ها نیز به‌نوبه‌خود با ایجاد التهاب عصبی باعث تخریب نورون‌های مغزی می‌شوند. اما این سلول‌ها از سوی دیگر در پاکسازی بتاآمیلوئید نقش مفیدی دارند. میکروگلیاهای فعال شده توانسته‌اند با فاگوسیتوز بتاآمیلوئید از تجمع آن کم کنند. چندین گیرنده میکروگلیایی برای فعال‌سازی و پاکسازی بتاآمیلوئید پیشنهاد شده است. یکی از این‌ها گیرنده پیوند دهنده پروتئین G به نام گیرنده پپتید فرمیل (FPR) است که باعث فعالیت کموتاکتیک در میکروگلیاهای متصل شونده به بتاآمیلوئید می‌شود [۴]. یکی دیگر از گیرنده‌های میکروگلیایی، گیرنده‌های شبه تول (TLR)[1] هستند که از خانواده‌ی پروتئین‌های غشایی بیان شونده توسط میکروگلیاها هستند.

خانواده TLR دارای ۱۱ زیرواحد هستند که به محض فعال شدن می‌توانند باعث راه اندازی فاگوسیتوز و رهاسازی سایتوکاین‌های التهابی شوند [۵]. بتاآمیلوئید با راه‌انداختن سیگنالینگ داخل سلولی از طریق TLR منجر به تولید مولکول‌های پیش التهابی می‌شود. TLR2 و TLR4 نقش مهمی درپاتوژنز بیماری آلزایمر ایفا می‌کنند. در این راستا، سطوح بالایی از TLR2 mRNA و TLR4 در محل رسوب پلاک‌های آمیلوئیدی در مغز بیماران آلزایمری مشاهده شده است [۶، ۷]. فعال‌سازی میکروگلیاها از طریق گیرنده‌های TLR2 می‌تواند سبب راه‌اندازی و شروع فاگوسیتوز بتاآمیلوئید شود [۶]. کموکاین CXCL10 که به عنوان پروتئین القاءشده با اینترفرون گاما–۱۰ (IP-10) نیز شناخته می‌شود یک پروتئین ۸/۷ کیلودالتونی است که در انسان توسط ژن CXCL10 رمز گذاری می‌شود . IP-10 یک کموکاین قوی برای فعالیت فاگوسیتی میکروگلیاها می‌باشد [۸].

اولیگومرهای محلول بتاآمیلوئید به‌تنهایی قادر به تحریک میکروگلیا نیستند اما برای سلول‌های عصبی سمی هستند. نشان داده شده است که تحریک میکروگلیاها از طریق گیرنده‌ها TLR2 و TLR4 می‌تواند آن‌ها را نسبت به الیگومرهای بتاآمیلوئید حساس نماید [۹]. در مطالعه قبلی ما دریافتیم که MPL[2] به‌عنوان اگونیست نسبی TLR4 می‌تواند قدرت فاگوسیتوزی به اندازه LPS[3] ایجاد کند [۹]. ممکن است که این لیگاند میکروگلیاها را به سمت افزایش ترشح کموکاینی و در نهایت فاگوسیتوز بیشتر سوق داده باشد. به این ترتیب، هدف از این مطالعه بررسی میزان رهاسازی سیتوکاینی و کموکاینی توسط سلول‌های میکروگلیایی تیمار شده با الیگومر بتاآمیلوئید در حضور و عدم حضور لیگاندهای TLR نوع ۲ و ۴ بود.

مواد و روش‌ها

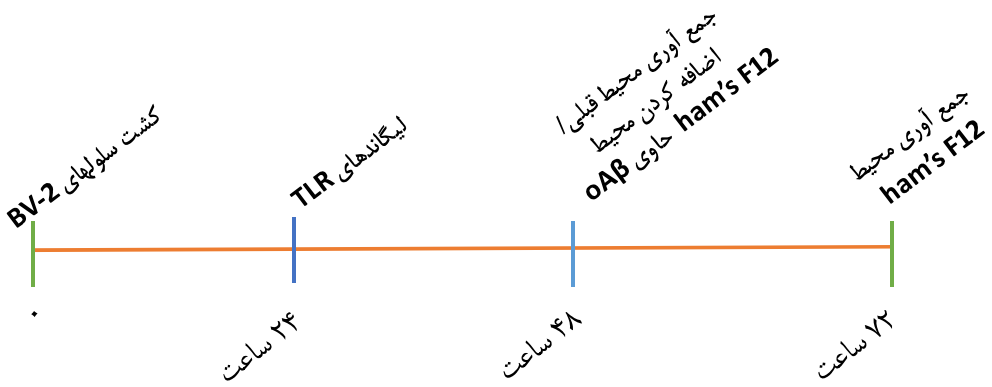
آماده سازی بتاآمیلوئید

بتاآمیلوئید اولیگومریک مورد استفاده در این تحقیق از بتاآمیلوئید ۴۲–۱ سنتتیک (ساخت شرکت ابکم، آمریکا) ساخته شد. به‌طورخلاصه ابتدا بتاآمیلوئید در یک میلی‌لیتر هگزا فلوئورو ایزوپروپانول[4] (ساخت شرکت سیگماآلدریچ، آلمان) حل شد و سپس به مدت یک شب در دمای محیط قرار گرفت تا خشک شود و بعد در دمای منفی ۷۰ درجه تا زمان استفاده نگهداری شد. روز قبل از آزمایش دی متیل سولفوکساید (DMSO) (ساخت شرکت سیگماآلدریچ، آلمان) به استوک‌های بتاآمیلوئید

[1] Toll-like receptor

[2] Monophosphoryl lipid A
[3] Lipopolysaccharide
[4] Hexafluoroisopropanol

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-10]



شکل ۱–برنامه زمانی کشت سلول‌های BV-2 و درمان با لیگاند TLR و بتا آمیلوئید.

خشک شده اضافه گردید تا به غلظت ۵ میلی‌مول برسد. سپس به آن‌ها محیط کشت Hams-F-12 فاقد سرم جنین گاوی (FBS) اضافه شد تا به غلظت نهایی ۱۰۰ میکرومول برسد. این محلول به مدت ۲۴ ساعت در دمای یخچال نگهداری شد.

کشت سلول BV-2 و درمان با لیگاند TLR و بتاآمیلوئید

سلول‌های میکروگلیا از نوع BV-2 (ساخت شرکت ICLC AT03001، ایتالیا) در محیط کشت (DMEM)[5] حاوی ۱۰ درصد FBS ، ۲میلی‌مول ال-گلوتامین ، ۱۰۰ U/ml پنی‌سیلین،۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین کشت داده شد و در دی‌اکسیدکربن ۵ درصد در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس آن‌ها را در یک پلیت ۲۴ خانه با غلظت صدهزار سلول/میلی‌لیتر/چاهک ریخته و بعد از ۲۴ ساعت با MPL (ساخت شرکت سیگماآلدریچ، آلمان)، Pam3cys[6] (ساخت شرکت ابکم، آمریکا) و LPS (ساخت شرکت سیگماآلدریچ، آلمان) به مدت ۲۴ ساعت تحت تیمار قرار گرفتند. غلظت‌های استفاده شده برای لیگاندهای TLR ۰/۱، ۱ و ۱۰ بود. سپس محیط رویی جمع‌آوری در تانک ازت منجمد و در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد. سلول‌های BV-2 با بافر فسفات تحت شست‌وشو قرار گرفتند و به مدت ۲۴ ساعت با ۳۰۰ میکرولیتر از Hams-F-12 حاوی یک میکرومول از بتا آمیلوئید–۴۲ اولیگومریزه شده انکوبه شدند. محیط رویی جمع‌آوری شد و مانند قبل در دمای ۷۰– درجه سانتی گراد تا زمان استفاده نگهداری شدند (شکل ۱).

اندازه‌گیری غلظت با روش الایزا

غلظت اینترلوکین–۶ و IP-10 در محیط رویی قبل و بعد از تیمار سلول‌ها با الیگومرهای بتاآمیلوئید توسط کیت‌های الایزا (ساخت شرکت ای‌بیوساینس، اتریش) و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شدند.

آنالیز داده ها

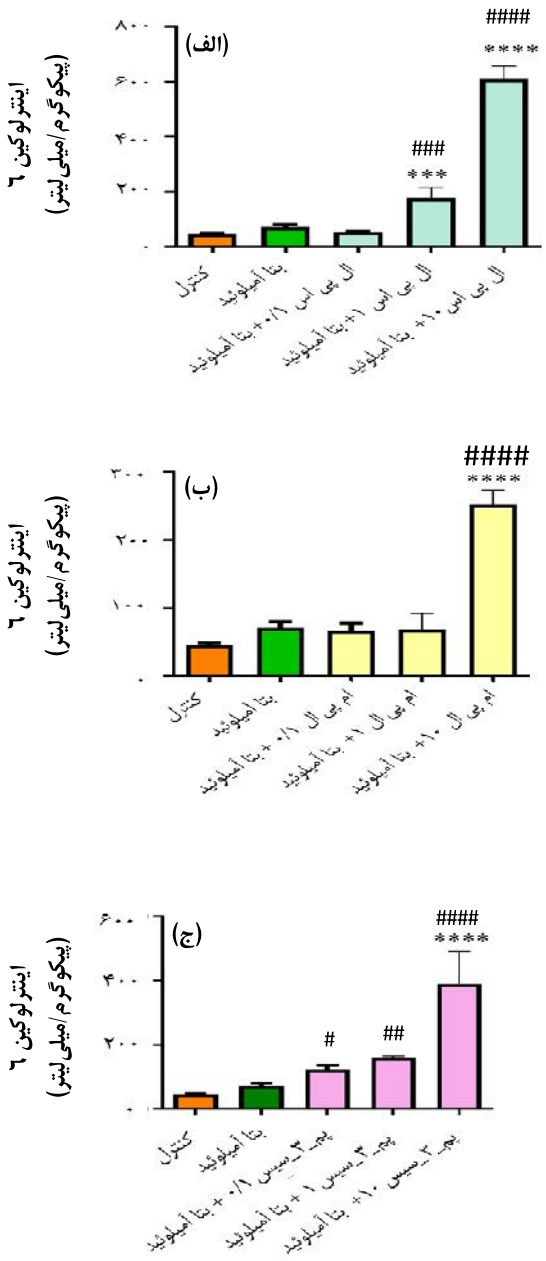
برای تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One way ANOVA) استفاده شد. به دنبال مقدار F معنی دار، از تست متعاقب توکی مقایسه بین گروه‌ها استفاده شد. داده‌ها بصورت میانگین ± خطای استاندار نمایش داده شدند. عدد پی کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Graphpad prism نسخه ۶ انجام شد.

یافته‌ها

آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان آزادسازی IL-6 از سلول‌های BV-2 بین گروه کنترل و بتاآمیلوئید وجود ندارد. همچنین پیش‌تیمار با غلظت ۰/۱ میکروگرم بر لیتر هر سه لیگاند TLR تغییری در میزان رهایش IL-6 یا IP-10 ایجاد نکرد (نمودارهای ۱ و ۲).

[5] Dulbecco's Modified Eagle Medium
[6] tri-palmitoyl-S-glyceryl-cysteine

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-10]



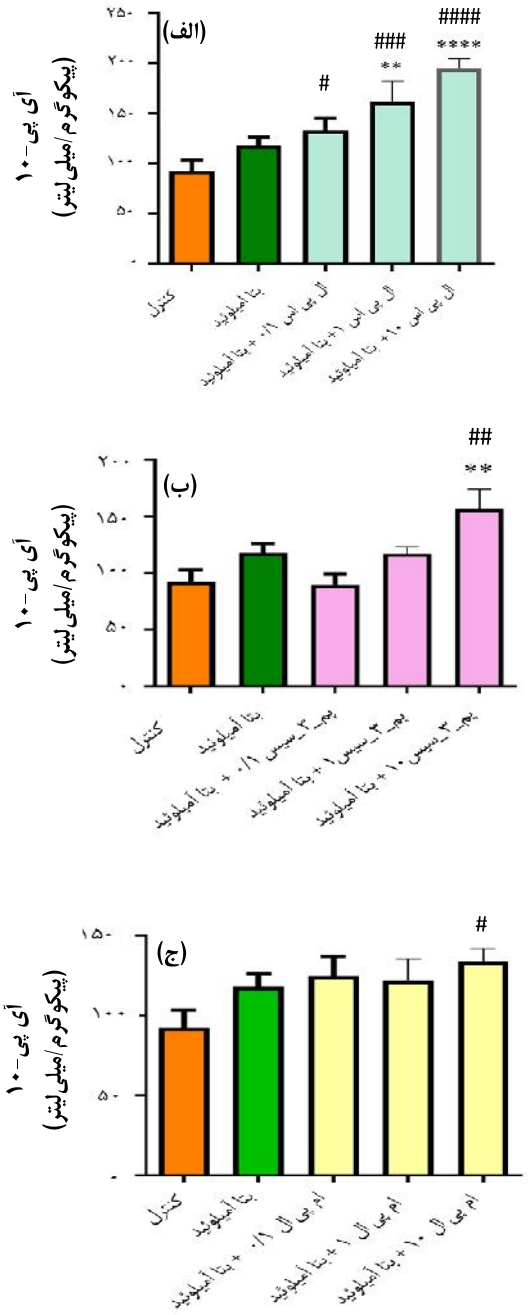
نمودار ۱– آزاد سازی IL-6 از سلول‌های BV-2 پیش‌تیمارشده با لیگاندهای TLR. بتاآمیلوئید ۱ میکرومولار به‌تنهایی موجب ترشح معنی‌دار IL-6 نشد .در دوز ۱ میکروگرم فقط ال پی اس توانست سطح IL-6 را بطور معنی‌دار نسبت به گروه بتا آمیلوئید افزایش دهد (الف). اما ام‌پی‌ال و پم–۳– سیس در دوز یک میکرومولار موجب ترشح معنادار IL-6 نشدند (ب، ج). پیش‌تیمار میکروگلیاها با هر سه لیگاند در دوز ۱۰ میکرومولار باعث افزایش معنی‌دار سطح این سایتوکاین در پاسخ به بتاآمیلوئید شد. **: تفاوت معنی‌دار با گروه بتا آمیلوئید با $p < ۰/۰۱$، ***: $p < ۰/۰۰۱$ و ****: $p < ۰/۰۰۰۱$. #: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با $p < ۰/۰۵$، ##: $p < ۰/۰۱$، ###: $p < ۰/۰۰۱$ و ####: $p < ۰/۰۰۰۱$.

درحالی‌که سلول‌های BV-2 پیش‌تیمارشده با غلظت ۱ ($p < ۰/۰۱$) و ۱۰ ($p < ۰/۰۱$) میکرو گرم بر میکرولیتر LPS و Pam3Cys در پاسخ به بتاآمیلوئید سطوح بالایی از IL-6 آزاد کردند (نمودار ۱). در حالی‌که MPL فقط در غلظت ۱۰ میکروگرم بر میکرولیتر سلول‌های BV-2 را وادار به آزادسازی سطح معنی‌دار IL-6 نمود ($p < ۰/۰۰۱$) (نمودار ۱ب). بنابراین در میان این سه لیگاند، MPL دارای اثر ضعیف‌تری در تحریک سلول‌های BV-2 بر آزادسازی IL-6 بود. همچنین نمودار ۲ نشان می‌دهد که سلول‌های تیمار شده با بتا آمیلوئید به تنهایی مقدار کمی کموکاین IP-10 ترشح کرده‌اند، درحالی‌که این سلول‌ها که ۴۸ ساعت قبل در معرض غلظت ۱ میکروگرم بر میکرولیتر MPL و Pam3Cys قرار گرفته بودند مقدار IP-10 متفاوتی نسبت به گروه کنترل یا بتاآمیلوئید نداشتند (نمودار ۲). این در حالی است که پیش‌درمانی با غلظت ۱ و ۱۰ میکروگرم بر میکرولیتر LPS توانست به‌طور معنی‌داری آزاد سازی IP-10 را افزایش دهد ($p < ۰/۰۱$) (نمودار ۲الف). نمودار ۳ میزان IL-6 (الف) و IP-10 (ب) در محیط رویی جمع شده از سلول‌های BV-2 تیمارشده با ۱۰ میکروگرم بر میکرولیتر LPS، MPL و Pam3Cys به مدت ۲۴ ساعت را نشان می‌دهد. LPS باعث آزادسازی معنی‌دار IL-6 و IP-10 نسبت به گروه کنترل شد. شایان توجه است که در اینجا هنوز سلول‌ها در معرض بتاآمیلوئید قرار نگرفته‌اند. Pam3Cys و MPL باعث افزایش غیرمعنی‌دار IL-6 شدند اما میزان بیان IP-10 را به‌طور بارزی نسبت به گروه کنترل افزایش دادند. این نتیجه نشان می‌دهد که MPL مانند LPS باعث افزایش ترشح کموکاین IP-10 می‌شود درحالی‌که در القاء بیان IL-6 ضعیفتر از LPS عمل می‌کند و نتوانست به‌طور معنی‌دار بیان این سایتوکاین را القاء نماید (نمودار ۳).

بحث

مطالعه ما نشان داد که LPS در مقایسه با Pam3cys و MPL به‌عنوان لیگاند اختصاصی TLR2 و TLR4 پاسخ التهابی بیشتری در سلول‌های BV-2 میکروگلیا ایجاد می‌کند و از طرفی MPL کمترین اثر التهابی را دارد. اولیگومر بتاآمیلوئید به‌تنهایی نتوانست سلول‌های BV-2 را وادار به آزادسازی IL-6

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-10]



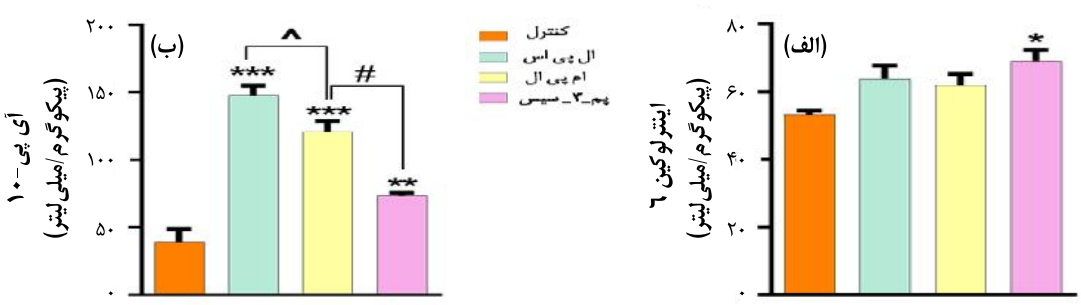
نمودار ۲- آزاد سازی IP-10 توسط غلظت یک میکروگرم/میلی‌لیتر لیگاندهای TLR در سلولهای تیمار شده با بتاآمیلوئید. تیمار سلول‌های BV-2 با ۱۰ میکرومولار بتاآمیلوئید باعث ترشح معنی‌دار IP-10 در گروه ال پی اس و پم-۳-سیس گردید (الف و ب). پیش تیمار این سلولها با غلظت یک میکروگرم/میلی‌لیتر لیگاندهای TLR ام پی ال و پم-۳ -سیس تغییری در میزان ترشح این کموکاین نسبت به گروه بتاآمیلوئید ایجاد نکرد (ب و ج). **: تفاوت معنی‌دار با گروه بتا آمیلوئید با $p < ۰/۰۱$، ***: $p < ۰/۰۰۱$ و ****: $p < ۰/۰۰۰۱$. #: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با $p < ۰/۰۵$، ##: $p < ۰/۰۱$، ###: $p < ۰/۰۰۱$ و ####: $p < ۰/۰۰۰۱$.

کند اما سلول‌های آماده شده[7] با لیگاندهای TLR توانستند IL-6 و IP-10 بیشتری در پاسخ به بتاآمیلوئید آزاد کنند. ازطرفی، پیش‌تیمار سلول‌های BV-2 با لیگاندهای TLR2 و TLR4 باعث آزاد سازی مقدار زیادی کموکاین IP-10 شد. می‌توان گفت MPL در تمام دوزها دارای کمترین اثر بر ترشح اینترلوکین-۶ از سلولهای BV-2 میکروگلیا بود. از طرفی پیش‌تیمار سلول‌های BV-2 با MPL (به‌عنوان یک لیگاند ضعیف TLR4) باعث آزاد سازی مقدار قابل توجه کموکاین IP-10 از سلول‌های BV-2 در زمان مواجه با بتاآمیلوئید شد.

مطالعات از قبل انجام شده در سال ۲۰۱۴ نشان داده است که فعال‌سازی میکروگلیاها باعث فاگوسیتوزیته شدن یا تجزیه پلاک‌های بتاآمیلوئید در مدل موشی آلزایمر شده است [۱۰]. اختلال در عملکرد سیناپس ها یکی از مهمترین خصوصیت بیماری آلزایمر است. نشان داده شده است که در طی بیماری‌هایی مانند آلزایمر میکروگلیاها فعال می‌شوند. می‌توان با قطعیت بیان کرد که فعالیت میکروگلیاها موجب تولید مقادیر زیادی از رادیکالهای آزاد از جمله سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و سایتوکین‌های پیش‌التهابی از جمله IL-1β، TNF- و IL-6 می شوند که به نورون‌ها آسیب رسانده و موجب مرگ نورونی می‌شوند [۱۱]. مطالعه مونش[8] نشان داده است که در بیماری آلزایمر افزایش تعداد میکروگلیاها و ترشح سایتوکاین‌ها موجب ایجاد پاسخ التهابی شده است [۱۲]. هاردی[9] و همکاران نیز در سال ۱۹۹۱ گزارش کردند که میکروگلیا در پاسخ به فیبریل و پلاک‌های آمیلوئیدی فعال شده و این فعالیت موجب آزادسازی نوروتوکسین‌ها و سایتوکاین‌های پیش‌التهابی می‌شود [۱۳]. بتا آمیلوئید می‌تواند تنظیم افزایشی TLR2 و TLR4 در میکروگلیاها را موجب شود و فعالسازی TLR2 و TLR4 می‌تواند جذب بتاآمیلوئید به‌وسیله میکروگلیاها را افزایش دهد. در همین راستا، با مطالعات ایمونوهیستوشیمی صورت‌گرفته توسط فرانک[10] در سال ۲۰۰۹ نشان داده شد که TLR2 موجود در سلول‌های میکروگلیا ارتباط زیادی با پلاک‌های آمیلوئیدی موجود در موش‌های ترانسژنیک APP23 دارد [۷]. همچنین در یک

[7] prime
[8] Münch
[9] Hardy
[10] Frank

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-10]



نمودار ۳- میزان IL-6 و IP-10 در محیط رویی سلولهای BV-2 انکوبه شده با لیگاندهای TLR. انکوبه کردن سلول های BV-2 به مدت ۲۴ ساعت با Pam3cys اما نه MPL و LPS سبب آزادسازی معنی‌دار IL-6 شد. (الف) . هر سه لیگاند بطور بارزی سطح IP-10 را نسبت به گروه کنترل افزایش دادند (ب).
*: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با $p < ۰/۰۵$، **: $p < ۰/۰۱$ و ***: $p < ۰/۰۰۱$.

مدل از موش‌های APP نشان داده شده که مقادیر زیاد بتاآمیلوئید ارتباط زیادی با کاهش رسپتورهای TLR2 دارد. در سال ۲۰۱۶ مطالعه جانسن[11] نشان داده است که میکروگلیاها در مراحل اولیه بیماری آلزایمر فعالیت ندارند [۱۴]. اما به‌تازگی مطالعات با استفاده از اسکن توموگرافی نشر پوزیترون در بیماران دچار بیماری آلزایمر نشان داده است که میکروگلیاها در مراحل اولیه این بیماری فعالیت دارند [۱۵]. با این حال مطالعه غلامی پوربدیع در سال ۲۰۱۸ در ارتباط با نقش بتاآمیلوئید نشان داده است که ۱میکرومول از بتا آمیلوئید اولیگومریک قادر به تحریک میکروگلیا و تولید سایتوکاینهای پیش‌التهابی نمی‌شود [۹].

سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها که به عنوان پروتئین‌های ترشحی شناخته می‌شوند نقش مهمی در تمایز و رشد ایفا می‌کنند. سایتوکاین‌ها در فعالیت‌های التهابی و ضد التهابی آلزایمر نیز درگیر می‌شوند. همچنین در دستگاه عصبی مرکزی می‌توانند از طریق مستقیم یا غیرمستقیم تاثیرات خود را اعمال کنند [۱۶]. اینترلوکین-۶ یک سایتوکاین التهابی می‌باشد که در بیماران آلزایمری بیان زیادی داشته و در این بیماران موجب افزایش رسوب بتا آمیلوئیدی می‌شود. پژوهش‌ها نشان داده است که در افرادی که دچار تشنج می‌شوند ترشح میانجی‌هایی از جمله IL-10، IL-6،IL-1β از سلول‌های گلیا افزایش می‌یابد [۱۷]. انواعی از کموکاین‌ها نیز در پیشرفت بیماری آلزایمر دخیل هستند [۱۸]. مطالعاتی که در سال ۱۹۹۹ توسط ژیا[12] و همکاران صورت گرفت نشان داده است که در افرادی که دچار بیماری نورو دژنراتیو می‌باشند، آستروسیت‌ها قادر هستند سایتوکاین‌هایی مانند اینترلوکین-۶ و کموکاینی مانند IP-10 را بیان و فعال کنند [۱۹]. همچنین مطالعاتی که توسط تاکدا[13] در سال ۲۰۰۴ صورت گرفت نشان داد که LPS به‌عنوان یک لیپوپلی ساکارید شناخته شده با اتصال به گیرنده TLR4 در میکروگلیاها می‌تواند با فعال‌کردن مسیر NF-KB ترشح سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها را افزایش دهد [۲۰].

کموکاین‌ها خانواده‌ای از سایتوکاین‌های با اندازه کوچک یا پروتئین‌های تولید شده توسط سلولها با چهار سیستئین متصل به سولفید هستند. مطالعات صورت گرفته نشان داده است که کموکاین‌ها در پیشرفت بیماری‌های دژنراتیو دستگاه عصبی مرکزی دخیل هستند [۱۸] .در التهاب عصبی حاد، نقش CCL2 در سکته مغزی نشان داده شده است. همچنین نشان داده شده است که بیماری آلزایمر از تجمع پلاک‌های پیری احاطه شده توسط سلول‌های ایمنی فعال، ایجاد می‌شود. سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها از جمله CCL2 سهم زیادی درالتهاب دارند [۲۱]. بسیاری از سلول‌های مختلف سیستم اعصاب مرکزی از جمله میکروگلیاها، آستروسیت‌ها، نورون‌ها و سلول‌های اندوتلیال به‌عنوان منابع کموکاین شناخته شده‌اند [۲۲]. مطالعات اخیر نشان داده است که سطوح CCL2/MCP-1 و IP10/CXCL10 در مایع مغزی نخاعی بیماران آلزایمری افزایش داشته است [۲۲]. IP-10 یک کموکاین شاخص است که نقش مهمی در پیشرفت بیماری‌های دژنراتیو سیستم اعصاب مرکزی ایفا می‌کند [۱۹]. IP-10 در ایجاد برخی از بیماری‌های التهابی نورولوژیکی و

[11] Janssen
[12] Xia
[13] Takeda

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-10]

خودایمنی نیز دخیل می‌باشد [۲۳]. IP-10 در بیماری آلزایمر نیز به‌میزان زیاد از آستروسیت ها آزاد می‌شود [۲۴] . تزریق پپتید بتاآمیلوئید درون مغز موش نیز موجب ترشح مقادیر زیادی از IP-10 از آستروسیت ها می‌گردد. تغییر رویکرد میکروگلیاها به سمت تولید کموکاین می‌تواند اهمیت بالینی داشته باشد چون از طریق تحریک فاگوسیتوزی کاهش میزان بتاآمیلوئید را به‌دنبال داشته و بدین وسیله ممکن است روند پیشرفت بیماری را آهسته‌تر نماید [۲۵].

نتیجه‌گیری

آماده‌سازی میکروگلیاها با MPL (به‌عنوان اگونیست ضعیف TLR4) با اثر التهابی کمتر می‌تواند قدرت کموکاینی و احتمالا فاگوسیتوزی این سلول‌ها (اما در بازه زمانی کوتاه و معین) را افزایش دهد. با توجه به این‌که در درمان بیماری آلزایمر می‌بایست از یک سو واکنش‌های التهابی را سرکوب نمود و ازسوی‌دیگر با افزایش فعالیت کموکاینی و فاگوسیتوزی میکروگلیاها (در حد معینی که تخریب بافتی ایجاد نکند)، بار بتاآمیلوئید در پارانشیم مغزی را کاهش داد، یافته‌های مطالعه ما می‌تواند در درمان بیماری آلزایمر جالب توجه باشد. با این حال تایید نهایی این دیدگاه نیازمند کارهای تحقیقاتی بیشتر است.

سپاسگزاری

مقاله حاضر بخشی از طرح مصوب انستیتو پاستور ایران می‌باشد. بدینوسیله از آن مرکز بابت پشتیبانی مالی این مطالعه سپاسگزاری می‌گردد.

ملاحظات مالی

این مطالعه از طریق طرح مصوب شماره ۷۰۲ انستیتو پاستور ایران پشتیبانی مالی شده است.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

ب.خ: نگارش مقاله و آنالیز داده‌ها؛ م.س: طراحی، نظارت و ویرایش مقاله؛ ح.غ.پ؛ انجام مطالعه، آنالیز داده‌ها، نگارش مقاله.

فهرست منابع

[1] Cummings J, Aisen PS, DuBois B, Frölich L, Jack CR, Jones RW, Morris JC, Raskin J, Dowsett SA, Scheltens P, Drug development in Alzheimer's disease: the path to 2025. ***Alzheimers Research Ther*** 8 (2016) 1-12.

[2] O'brien RJ,Wong PC, Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. ***Ann Rev Neurosci*** 34 (2011) 185-204.

[3] Damani MR, Zhao L, Fontainhas AM, Amaral J, Fariss RN,Wong WT, Age- related alterations in the dynamic behavior of microglia. ***Aging Cell*** 10 (2011) 263-276.

[4] Iribarren P, Zhou Y, Hu J, Le Y,Wang JM, Role of formyl peptide receptor-like 1 (FPRL1/FPR2) in mononuclear phagocyte responses in Alzheimer disease. ***Immunol Res*** 31 (2005) 165-176.

[5] Jin J-J, Kim H-D, Maxwell JA, Li L,Fukuchi K-i, Toll-like receptor 4-dependent upregulation of cytokines in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. ***J Neuroinflamm*** 5 (2008) 1-10.

[6] Chen K, Iribarren P, Hu J, Chen J, Gong W, Cho EH, Lockett S, Dunlop NM,Wang JM, Activation of Toll-like receptor 2 on microglia promotes cell uptake of Alzheimer disease-associated amyloid β peptide. ***J Biol Chem*** 281 (2006) 3651-3659.

[7] Frank S, Copanaki E, Burbach GJ, Müller UC,Deller T, Differential regulation of toll-like receptor mRNAs in amyloid plaque-associated brain tissue of aged APP23 transgenic mice. ***Neurosci Lett*** 453 (2009) 41-44.

[8] Langmann T, Microglia activation in retinal degeneration. ***J leukoc Biol*** 81 (2007) 1345-1351.

[9] Pourbadie HG, Sayyah M, Khoshkholgh-Sima B, Choopani S, Nategh M, Motamedi F,Shokrgozar MA, Early minor stimulation of microglial TLR2 and TLR4 receptors attenuates Alzheimer's disease–related cognitive deficit in rats: behavioral, molecular, and electrophysiological evidence. ***Neurobiol Aging*** 70 (2018) 203-216.

[10] Salem AM, Ahmed HH, Atta HM, Ghazy MA,Aglan HA, Potential of bone marrow mesenchymal stem cells in management of Alzheimer's disease in female rats. ***Cell Biol Int*** 38 (2014) 1367-1383.

[11] Ali I, Chugh D, Ekdahl CT, Role of fractalkine–CX3CR1 pathway in seizure-induced microglial activation, neurodegeneration, and neuroblast

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-10]

production in the adult rat brain. ***Neurobiol Dis*** 74 (2015) 194-203.

[12] Münch G, Schinzel R, Loske C, Wong A, Durany N, Li J, Vlassara H, Smith M, Perry G,Riederer P, Alzheimer's disease–synergistic effects of glucose deficit, oxidative stress and advanced glycation endproducts. ***J Neural Transm (Vienna)*** 105 (1998) 439-461.

[13] Hardy J,Allsop D, Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. ***Trends Pharmacol Sci*** 12 (1991) 383-388.

[14] Janssen B, Vugts DJ, Funke U, Molenaar GT, Kruijer PS, van Berckel BN, Lammertsma AA,Windhorst AD, Imaging of neuroinflammation in Alzheimer's disease, multiple sclerosis and stroke: Recent developments in positron emission tomography. ***Biochim Biophys Acta*** 1862 (2016) 425-441.

[15] Hemonnot A-L, Hua J, Ulmann L,Hirbec H, Microglia in Alzheimer disease: well-known targets and new opportunities. ***Front Aging Neurosci*** 11 (2019) 233.

[16] Borish LC, Steinke JW, 2. Cytokines and chemokines. ***J Allergy Clin Immunol*** 111 (2003) S460-S475.

[17] Vezzani A, Epilepsy and inflammation in the brain: overview and pathophysiology: epilepsy and inflammation in the brain. ***Epilepsy Curr*** 14 (2014) 3-7.

[18] Baggiolini M, Dewald B, Moser B, Human chemokines: an update. ***Ann Rev Immunol*** 15 (1997) 675-705.

[19] Xia M, Hyman BT, Chemokines/chemokine receptors in the central nervous system and Alzheimer's disease. ***J Neurovirol*** 5 (1999) 32-41.

[20] Takeda K,Akira S. TLR signaling pathways. In Seminars in immunology, edited by.: Elsevier. (2004).

[21] Bose S, Cho J, Role of chemokine CCL2 and its receptor CCR2 in neurodegenerative diseases. ***Arch Pharm Res*** 36 (2013) 1039-1050.

[22] Cartier L, Hartley O, Dubois-Dauphin M,Krause K-H, Chemokine receptors in the central nervous system: role in brain inflammation and neurodegenerative diseases. ***Brain Res Rev*** 48 (2005) 16-42.

[23] Antonelli A, Ferrari SM, Corrado A, Di Domenicantonio A,Fallahi P, Autoimmune thyroid disorders. ***Autoimmun Rev*** 14 (2015) 174-180.

[24] Xia MQ, Bacskai BJ, Knowles RB, Qin SX,Hyman BT, Expression of the chemokine receptor CXCR3 on neurons and the elevated expression of its ligand IP-10 in reactive astrocytes: in vitro ERK1/2 activation and role in Alzheimer's disease. ***J Neuroimmunol*** 108 (2000) 227-235.

[25] Lee CD,Landreth GE, The role of microglia in amyloid clearance from the AD brain. ***J Neural Transm (Vienna)*** 117 (2010) 949-960.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-10]

Research paper

Monophosphoryl lipid A switches microglia to secrete chemokines

Bahar Khoshkroodian, Mohammad Sayyah*, Hamid Gholami Pourbadie*

Department of Physiology and Pharmacology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Received: 11 July 2021 Accepted: 11 August 2021

Abstract

Background and aims: Soluble amyloid beta (Aβ) oligomers are the most common forms of Aβ in early stage of Alzheimer disease (AD). They are highly toxic to the neurons, but their capability to activate microglia remains controversial. Synaptic function and memory performance are disrupted by soluble form of Aβ. Full and partial toll like receptor (TLR) ligands can stimulate microglia to produce different cytokine and chemokine profiles. This study was designed to investigate the expression of interlukin-6 (IL-6) as a cytokine and protein 10 interferon gamma (IP-10) as a chemokine from BV-2 microglia cell line in the presence and absence of Aβ.

Methods: The BV-2 cell line was cultured in a 24-well plate, treated for 24 h with different doses (0.1, 1, 10 µg) of Monophosphoryl lipid A (MPL), Lipopolysaccharide (LPS) as TLR4 ligands, and Pam3cys as a TLR2 ligand. Then supernatant was collected and cells were incubated with 1µM Aβ oligomer for 24 h. IL-6 and IP-10 expression was measured by ELISA in the supernatant before and after Aβ treatment.

Results: LPS and Pam3cys 10µg/µl induced a robust release of IL-6 from BV-2 microglia cells. However, MPL at all doses had a lowest effect on secretion of IL-6 from BV-2 microglia cells. On the other hand, pretreatment of BV-2 cells with MPL as a partial TLR4 ligand caused release of significant amount of IP-10 chemokine from BV-2 cells.

Conclusion: It can be said that priming microglia to produce less pro-inflammatory cytokines while showing higher chemokine or phagocytic activity leads to decrease in Aβ deposition and might prevent AD progression.

Keywords: Beta amyloid, Alzheimer's disease, Toll-like receptor, Monophosphoryl lipid A, Microglia

Please cite this article as follows:

Khoshkroodian B, Sayyah M, Gholami Pourbadie H, Monophosphoryl lipid A switches microglia to secrete chemokines. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 5 (2021) 44-52.

*Corresponding authors: sayyahm2@pasteur.ac.ir (ORCID ID: 0000-0003-0603-2444);
h_gholamipour@pasteur.ac.ir (ORCID ID: 0000-0002-7634-7428)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-10]