

探索“甜蜜”疫苗的抗癌之路 ——基于合成寡糖的癌症免疫治疗*

陈国颂**

(复旦大学聚合物分子工程教育部重点实验室 高分子科学系 上海 200433)

摘 要 疫苗是人类与疾病斗争的有力武器。由于特征性糖蛋白和糖脂结构在恶性肿瘤细胞表面过度表达,肿瘤相关糖抗原可用于合成癌症候选疫苗。近年来,通过多步合成得到的寡糖-蛋白缀合物逐步进入临床实验。本文将重点介绍国际上研究工作的最新进展,包括候选疫苗分子的设计思路、寡糖抗原的结构与合成、疫苗载体蛋白、疫苗辅剂等。本文还将讨论寡糖合成、疫苗分子组成及临床前实验中面临的困难和可能的解决方案。

关键词 寡糖 疫苗 免疫治疗 佐剂 合成

中图分类号: O621.3; O629 文献标识码: A 文章编号: 1005-281X(2010)09-1753-07

Exploring “Sweet” Vaccines ——Synthetic Oligosaccharides for Cancer Immunotherapy

Chen Guosong**

(The Key Laboratory of Molecular Engineering of Polymers, Ministry of Education, Department of Macromolecular Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China)

Abstract Vaccines provide a powerful tool to combat devastating human disease. The identification of distinct glycoprotein and glycolipid constructs that are over expressed on the cell surfaces of malignant cells has spurred intense research into exploiting these tumour-associated carbohydrate antigens (TACA) for the development of anticancer vaccines. Recently, some synthetic immunogenic carbohydrate-protein conjugates have been advanced to clinical trials. In this review, the progress of TACA based vaccine molecules will be demonstrated, which including design strategies of vaccines, structure and total synthesis of TACA molecules, vaccine carrier protein and vaccine adjuvants. Problems and solutions related to total synthesis of oligosaccharides, components of vaccine candidates and pre-clinical results are also discussed.

Key words oligosaccharides; vaccines; immune therapy; adjuvants; synthesis

Contents

- 1 Introduction
- 2 Attractive antitumor molecules
- 3 Difficulties for TACA based vaccine design
- 4 Vaccine design strategies

- 5 Carrier protein and adjuvants
- 6 Outlook

1 引言

早在 20 世纪 60 年代,科学家们第一次在脊椎动物的细胞表面观察到一层厚重的糖类物质,当时

收稿: 2009 年 11 月,收修改稿: 2010 年 3 月

* 国家自然科学基金项目 (No. 20904005, 20834004) 资助

** Corresponding author e-mail: guosong@fudan.edu.cn

被称作“细胞外衣 (cell coat)”^[1]。在随后的科学研究中,人们逐渐揭开了它的神秘面纱。实验表明,几乎所有的动物细胞表面都覆盖着大量的糖缀合物,其中包括糖蛋白、糖磷脂等,它们在细胞膜外共同构筑起厚约10nm的、坚实的网络结构(图1),被称作糖萼(glycocalyx)。糖萼不仅是细胞“外衣”,是膜蛋白“卫士”,更在蛋白的折叠与转运、细胞的黏附与周转以及受体的结合与活化等过程中起着举足轻重的作用^[2,3]。特别是糖作为信息分子和调节分子^[4],其结构随细胞的生长、分化以及疾病而变化,成为生命体正常生命活动和病理状态的“晴雨表”^[5]。

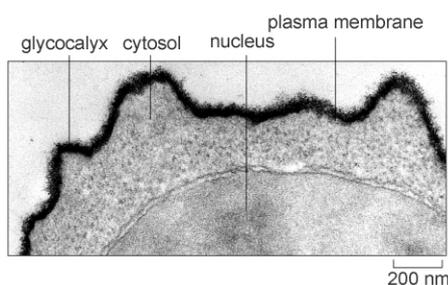


图1 细胞表面糖萼的透射电镜图^[6]

Fig. 1 TEM image of glycocalyx on cell surface^[6]

因此,继迅速发展的基因组学和蛋白组学之后,以上述的糖生物学功能和糖-蛋白、糖-核酸相互作用为研究范畴的糖组学应运而生^[7-9]。诚然,与基因组学和蛋白组学相比,糖组学的研究起步较晚,发展明显滞后,尚处探索阶段。但是,自20世纪末,各种与糖分子相关的合成、分析和药物应用等研究在全世界范围内开始受到广泛关注^[10-13]。在我国,糖化学^[14-17]和糖生物学^[18,19]研究亦以良好的势头蓬勃发展。

正常细胞的糖萼结构通常会随着细胞的发育而变化,某些在细胞生长早期过度表达的糖会随着细胞的成熟而消失^[20]。因此,由于肿瘤细胞的迅速生长,其糖基化反应常现明显异常,使得癌细胞表面的糖萼分布与正常细胞相比有明显区别。某些癌细胞表面更是出现了大量的全新结构的糖蛋白,被称作肿瘤相关糖抗原(tumor-associated carbohydrate antigen, TACA),该抗原可以诱导针对癌细胞的抗体的形成。糖萼的变化使得癌细胞的行为异于正常细胞:其黏着性丧失并容易脱离肿瘤病灶迁移到体内其他部位。

传统的癌症治疗包括外科手术、化疗和放疗等,虽然对许多癌症患者有良好的疗效,但无法避免副

作用的发生,且不能完全遏制癌细胞转移。一个诱人的全新解决方案是癌症的免疫治疗——利用机体的天然免疫应答和获得性免疫应答来选择性清除癌细胞。最初的癌症免疫疗法要追溯到1891年,远远早于人们对其作用机理的认识^[21]:纽约医生Coley将细菌提取物注射至病人皮下,刺激免疫系统并攻破了恶性肿瘤。

此后,人们深入研究癌症免疫治疗的机制,并试图通过癌细胞表面过度表达的肿瘤相关糖抗原(TACA)开发抗原专属性癌症疫苗^[22]。当这些在癌症细胞表面过度表达的糖抗原以适当的方式进入免疫系统后,可能引起免疫系统的应答。产生的免疫效应分子(如抗体)和效应细胞结合并清除肿瘤细胞^[23],从而有可能开发出治疗性肿瘤疫苗。相比使用病人失活的癌细胞,这种疫苗能够引起特异性免疫应答,且治疗过程易于分析和监控。癌症免疫治疗的前景在于辅助已接受初步治疗(化疗、放疗和肿瘤切除等)病人的继续治疗,防止肿瘤扩散和转移。常见的TACA包括GM2, GD2, GD3, 岩藻糖-GM1, Globo-H, Lewis^x (Le^x), T_N-, TF-, 唾液酸化的T_N (ST_N)等,它们是当今全合成癌症疫苗研究的重要内容。

设计并合成癌症疫苗分子通常需考虑如下若干方面:(1)确定所需的糖抗原分子结构;(2)明确糖抗原的合成路线;(3)确定糖分子的大小、数量及糖-蛋白比例以期获得最理想的免疫应答;(4)选择合适的偶联反应并优化反应条件;(5)选择合适的佐剂(adjuvant)及免疫方式。

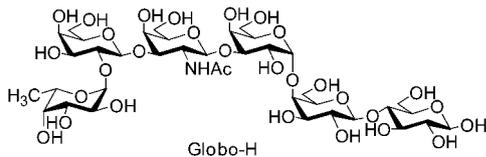
近十年来,随着糖化学研究的发展,从糖抗原-蛋白-佐剂衍生出的治疗性疫苗的合成和临床前研究在探索中不断发展。以Bundle, Danishefsky, Boons^[24], Kunz和Schmidt等小组为代表的多家研究机构在此领域进行了深入研究^[25,26]。本文将介绍目前国际上颇受关注的几种寡糖癌症抗原分子,以及将合成抗原转变成疫苗所需的佐剂和蛋白载体的有关内容。本文的重点在于综述该领域的现状和难点,并展望其未来发展。

2 几种抗癌“明星分子”

正如前所述,肿瘤细胞的表面糖基化通常与正常细胞明显不同,肿瘤细胞相关糖抗原(TACA)的过度表达十分常见。近几年来,连接在磷脂分子上的Globo-H, GM2, GD3和N-乙酰化半乳糖胺(T_N antigen)作为TACA已被广泛认可^[27]。它们经常参

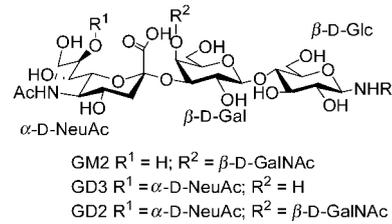
与恶性细胞的黏附和入侵过程,从而导致肿瘤转移。下面我们将分别做介绍。

Globo-H 属于在上皮组织癌细胞(包括乳腺癌、前列腺癌和卵巢癌)表面表达的鞘糖脂(glycosphingo lipid)。最初,它由 Hakomori 及其同事从乳腺癌细胞 MCF-7 中分离得到,并通过谱学方法和酶学降解等方法确定了结构^[28]。随后,Colnaghi 研究组^[29]发现了其对单克隆抗体 MBr1 的结合活性,而 MBr1 正是由通过接触 MCF-7 细胞而免疫的小鼠产生的抗体。这些证据都说明 Globo-H 是乳腺癌抗原^[30]。因此,自 20 世纪 90 年代后期起,关于 Globo-H 的报道逐渐增多。截至目前,已有多个研究小组先后报道了其全合成。它是由 fucose- α -(1-2)-galactose- β -(1-3)-2-deoxy-NAc-galactose- β -(1-3)-galactose- α -(1-4)-glucose- β -(1-4)-glucoside 连接而成的六糖。优化过的合成方法包括通过调整糖基供体上不同异头碳离去基团(如硫代烷基、硫代芳基或氟基)的活性分步正交得到目标分子^[31];或是使用相同的异头碳活化基团(如 STol),但通过调整糖基供体分子上其他保护基团对 STol 基团活性的影响来缩短步骤,提高反应收率^[32]。这两种办法的核心均在于精心设计糖基供体异头碳上的离去基团的活性,使得离去基团可被独立活化,且不被活化时则作为异头碳的保护基使用。



唾液酸化的神经节苷脂(sialylated ganglioside, SG)因其在脑和外围神经组织中的广泛分布及严格的表达模式,被认为参与了脊椎动物神经系统的发育和分化。从功能上看,组成 SG 的一些简单糖结构(图式 1),亦属 TACA 的范畴^[33]。如人黑色素瘤 melanoma 细胞和组织中大量表达的 GD3。综合 GD3 自身及其合成基因在体内的表达规律,可发现 GD3 有助于黑色素瘤的迅速繁殖。类似地, GD2 和小细胞肺癌(small cell lung cancer)细胞密切相关。此外,一些神经外胚层肿瘤(neuroectodermal cancer, 包括黑色素瘤 melanoma, 神经母细胞瘤 neuroblastoma, 肉瘤 sarcoma)细胞表面的糖脂结构也与 SG 类似。对于 SG,合成中遇到的问题不仅包括糖合成中常见的问题,还包括将神经氨酸(neuraminic acid)连到糖脂上。因为其特殊的结构,

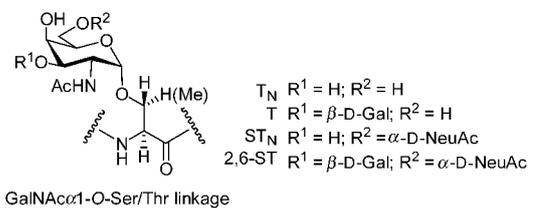
糖苷键将在位阻较大的 C2 位通过缩醛交换生成。不仅如此,自然界中存在的唾液酸多数是 β -C2 的立体化学结构,并以这种非热力学稳定的构象存在。



图式 1 GM2, GD3 和 GD2 的结构

Scheme 1 Structures of GM2, GD3 and GD2

此外,黏蛋白类糖苷(mucin,下文简称黏蛋白)是另外一种与肿瘤细胞相关的糖抗原。它以高分子量的糖蛋白的形式表达于多种上皮细胞的表面,并被认定为以连有 Ser 和 Thr 氨基酸残基的乙酰胺基半乳糖(GalNAc)结构为特征。此类糖结构较为简单,这可归因于肿瘤细胞的糖基转移酶的表达相比正常细胞有所不同,导致寡糖的生物合成被提前终止。没有完成合成过程的单/寡糖以及其肽链展示于肿瘤细胞表面^[34]。Mucin 分子中特有的 GalNAc α -1-O-Ser/Thr 属 C1-C2 顺式的连接方式,需在 C2 引入不参与糖基化反应的基团来获得所需的 α -连接。方法是使用烯糖底物在 C2 获得叠氮,同时活化 C1 羟基以便进行糖基化反应;或是直接制备得到 C2 硝基-烯糖与肽链反应获得。Mucin、SG 和 Globo-H 一起,构成了研究中的可选择性移除肿瘤细胞的疫苗分子的主干。



图式 2 黏蛋白特征结构

Scheme 2 Specific Structure of mucin

3 全合成糖疫苗研究面临的困难

上述癌细胞抗原分子的存在确为发展全合成癌症糖疫苗带来曙光。但是,搞清楚 TACA 的结构和功能仅是合成并筛选癌症候选疫苗的第一步。在癌症免疫治疗的美好前景变成现实之前,如下若干科学问题仍困扰着我们:

(1) 如何得到大量、高纯度、结构单一的抗原分

子? 尚处雏形的糖自动合成仪。由于 TACA 分子在癌细胞表面并非均一分布,因而直接分离提取显得尤为困难。由于糖单元的固有特性,复杂寡糖分子的化学合成常因路线繁琐、反应复杂而令人生畏,其核心技术仍掌握在少数研究组手中。为了优化反应条件、简化反应步骤及提高提纯效率,新的糖基化方法不断涌现。这些方法使得糖基化反应的条件更加温和、适用范围更广、对于异头碳立体构型的控制也更有效。

这是糖化学领域在 20 世纪已取得的成果,但是相比核酸与蛋白质,寡糖的来源仍十分有限,尤其是缺少快速、便捷的合成途径与商品化的自动合成仪。这严重地阻碍了寡糖生物功能的研究,是糖组学的发展严重滞后于基因组学和蛋白组学的重要原因,也是 21 世纪的糖化学研究所面临的重大挑战。前面介绍的对于 Globo-H 的优化合成方法俗称“一锅法”,将多步化学反应在一步内完成,简化了寡糖的合成路线和提纯步骤,缩短了合成周期,这对于糖组学的发展意义深远。然而,一锅法仍局限于对某个特定的寡糖分子量身定制的阶段,不具普适意义。发展类似于 DNA 和蛋白的商品化高通量合成仪势在必行。ETH 的 Seeberger 课题组^[35]在 2001 年首次报道了糖的自动化固相合成,并采用该方法连续报道了若干复杂寡糖分子的合成工作^[36-38]。令人遗憾的是,由于糖结构的复杂性,其固相自动合成相比核酸和多肽难度高出若干倍,存在检测困难、浪费糖基供体和立体选择性控制能力差等诸多问题,距离真正的商品化尚存较大差距。笔者在美研究期间所在课题组多年来致力于发展基于氟相萃取技术的寡糖液相自动合成方法,由于利用氟-氟相互作用对于产物进行分离,溶剂用量少,操作简单;此外,所有合成步骤均在溶液中进行,可克服固相反应导致的若干问题,更具广阔的发展空间^[39]。

(2) 放大和调控免疫应答信号,克服 TACA 的抗原弱性。由于多数糖抗原仅能引起短时间的 IgM 抗体响应,该响应缺乏记忆性且不能引发 T 细胞响应,独立使用难以得到令人满意的实验结果。此外,因为 TACA 也可能在正常细胞表面表达,它们可被免疫系统认作“自我抗原”,免疫系统对 TACA 具有一定的耐受性,抗原性差。由此,引发专属 TACA 的 IgG 抗体响应显得更具挑战性和实际意义。目前,有观点认为引发高滴度的 IgG 抗体免疫响应的能力是癌症疫苗分子的“圣杯”^[40]。我们在后文中还将介绍高滴度 IgG 响应研究方面的最新成果。

(3) 建立免疫应答与化学结构之间的关系,尝试新的糖-蛋白化学连接方法。通常来讲,载体蛋白与 TACA 的连接率愈高,所引发的免疫响应愈强。化学合成 TACA 的优势在于选择适合的化学连接方法,避免因不适合的化学结构带来的负面影响。例如,马来酰亚胺与巯基的反应由于其反应效率高、选择性好,且经常在中性条件下发生而被广泛用作蛋白连接反应。但是,Boons 等^[41]在研究中发现,该反应所得到的刚性五元环链能明显抑制小鼠对于抗原 Le^y 的免疫响应。事实上,实验中所得到的大部分 IgM 和 IgG 抗体是马来酰亚胺链所引发的。同时,小鼠对 Le^y 的免疫响应被抑制,无法得到预期的抗癌效果。在改用其他连接反应,以另一种柔性链连接后,该分子所引发的针对 Le^y 的免疫应答明显增强。

4 疫苗分子设计

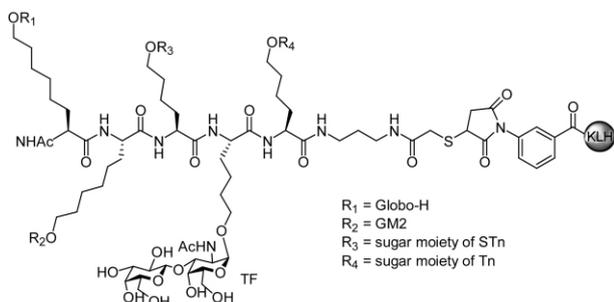
最初的合成疫苗可被称为“单一”抗原疫苗,由一种特定结构的抗原糖分子和蛋白分子连接而得。将前面几种抗原分别和相应的蛋白分子连接,所得分子即可不同程度地引发免疫反应。其中,KLH (keyhole limpet hemocyanin) 蛋白作为载体(该蛋白的特点我们将在后文做详细介绍)使用的最多。所用到的糖抗原分子包括前面提到的 Globo-H, Fuc (岩藻糖)-GM1。这些候选疫苗在早期的临床实验中显示出良好前景,如带有 KLH 的 Globo-H 在本世纪初就已经进入了一期临床实验^[42]。

这些相对简单的“糖 + 蛋白”分子虽能不同程度地产生免疫反应,但不够高效,为克服这一困难,人们开始研究“复合”疫苗分子。多个寡糖抗原间既可通过化学键连接;也可将它们通过脂质体制备技术制成小单层脂质体 (small unilamellar vesicle, SUV),以 SUV 为载体的寡糖抗原蛋白缀合物能够大幅提高寡糖自身刺激免疫应答的能力。由于篇幅所限,本文将综述重点放在前者,对于后者将不介绍。下面举例来说明“复合”疫苗分子的多种共价键连接模式。

Boons 等^[43]报道了一个全合成的“三重疫苗”,可引发高滴度的 IgG 免疫反应。顾名思义,它包括了引起强 IgG 免疫应答的三种必需媒介 (mediator): 从 MUC1 衍生出的 B 型肿瘤相关糖蛋白,常见的辅助性 T 细胞的 MHCII 肽链和 Toll 样受体 (TLR) 刺激单元。一旦糖单元被 B 细胞识别,整个结构可被其吞噬,并被分解。同时,T 助段也通过重要组织相

容性复合物分子 (MHC) 递呈到 T 细胞。这一过程引发 T 细胞分泌细胞因子 (cytokine), 而细胞因子是免疫 B 细胞成熟和分化的必需条件。此外, “三重疫苗”中 TLR 配体部分可与 TLR 结合, 增强了 TACA 与蛋白缀合疫苗对免疫系统的活化作用。这种疫苗注射至小鼠体内后, 各种因素协同作用, 效果良好。

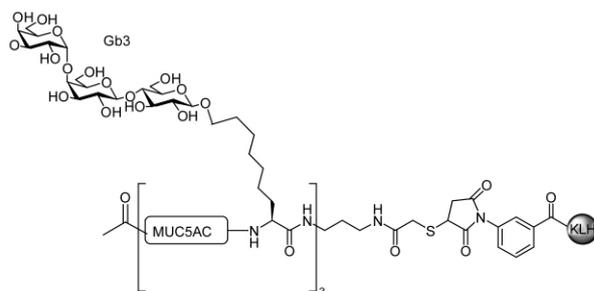
另一种多组分疫苗的途径是将多种不同的糖抗原单元先后连到一条短肽链上, 再和一个蛋白分子相连, 得到“多重疫苗”。将疫苗分子和 QS-21 佐剂 (后文将详细介绍) 连接后, 多次注射给小鼠, 通过 ELISA 实验发现在不同时间段 (第一次免疫前一周、第三次免疫后一周和第四次免疫后一周) 小鼠血清中 IgM 和 IgG 抗体滴度明显上升, 说明所合成的疫苗能明显引起免疫反应, 且无一例外地为 IgM 类^[44]。另外, 流式细胞仪实验说明免疫反应所引起的抗体和癌细胞 MCF-7 表面确有结合能力。该分子即将进入临床一期实验。



图式 3 多重疫苗^[36]

Scheme 3 Pentavalent vaccine^[36]

正如前面所述, 肿瘤细胞表面的寡糖分子属病人的自我抗原, 容易被免疫系统接纳而不引发我们所期望的免疫反应。此外, 病人的免疫系统因病处于抑制状态, 这使得引起免疫应答的难度加大。在完善几种分子的全合成的同时, 科学家们更多的是利用它们之间的协同作用来获得免疫反应。这引出了复合疫苗的第三种形式: 同一种糖单元在一个疫苗分子中重复出现, 以期获得更明显的免疫反应效果。由于以黏蛋白为代表的糖蛋白在肿瘤细胞表面经常以簇形式 (cluster, 即 2—5 个单元糖结构相邻并协同作用) 存在, 基于黏蛋白的 Gb3 结构被连接到辅助性 T 蛋白的 MUC5AC 单元上, 以共价键重复连接 3 次后与 KLH 相连。整个分子中糖基处于簇状态, 可发挥多价协同 (multivalency) 作用^[45]。人们希望基于黏蛋白的寡糖簇结构能够扮演 T 细胞的



图式 4 黏蛋白重复单元作为候选疫苗^[37]

Scheme 4 Vaccine candidate with mucin repeating units^[37]

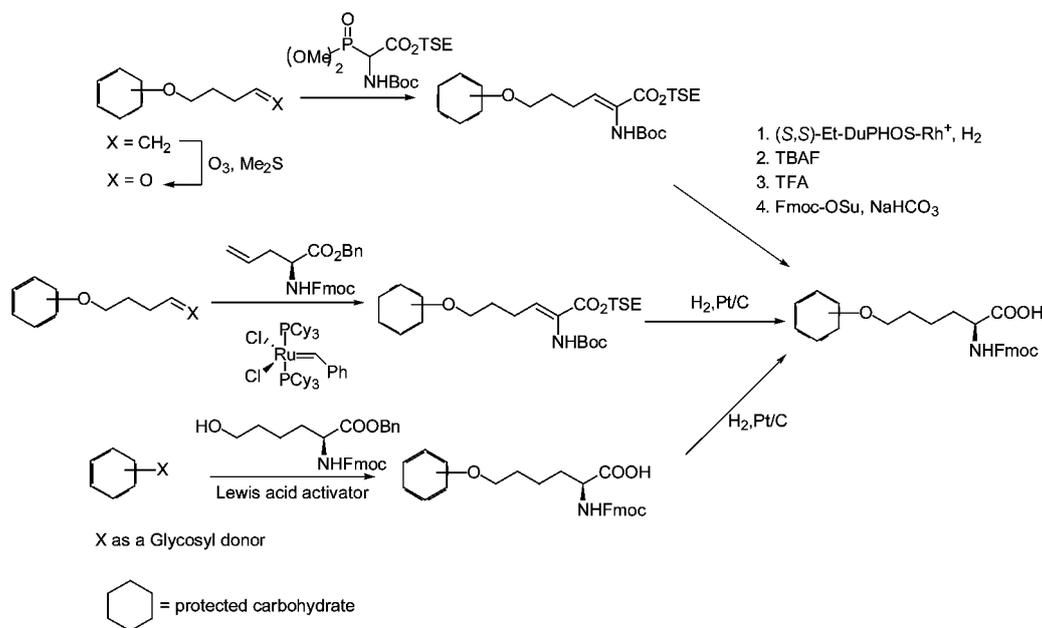
角色, 引发足够强的免疫应答。

5 载体蛋白和疫苗佐剂

虽然大量寡糖分子的提取与合成仍是世界性难题, 但得到少量抗原分子也并非无法实现, 只是造价偏高、步骤冗长。很多抗原如 GM2, 岩藻糖-GM1, GD2 和 GD3 可从自然界中提取; 但对其他抗原的需求如 Globo-H, ST_N, T_N 和 T 抗原等仍依赖于化学合成。化学糖基化能够驾驭合成寡糖所需的复杂化学反应。不仅如此, 通过化学合成的方法还能得到全新的抗原-载体 (如蛋白) 共价连接体系。为了与蛋白载体分子相连, 化学家们需要在实验室建立起行之有效的糖基前体分子的合成路线。图式 5 中即是 Danishefsky 组发展的三种合成保护糖基氨基酸的方法^[23]。所选用的载体应是能够选择性地引起细胞和体液免疫反应的蛋白分子。

另外, 虽然糖抗原疫苗可不同程度地引起免疫反应, 但前文各例中全部使用了蛋白载体或其他佐剂。由于寡糖的抗原弱性, 载体蛋白和佐剂显得必不可少。事实上, 载体蛋白与佐剂的组合方式与免疫应答的效果直接相关。目前, 公认的最理想体系仍以 KLH 为载体蛋白, QS-21 为辅剂的组合方式。

KLH 是从 *Megathura crenulata* 中提取的, 作为载体蛋白被广泛应用于免疫反应的相关研究。免疫抗原性差的寡糖分子和它连接后, 其免疫抗原性明显提高。KLH 分子量大 (200kDa 以上)、典型的外源性和多处易于修饰的赖氨酸结构使其成为目前最有效的抗原载体蛋白。将 KLH 和各种小分子或大分子连接在一起的反应种类很多, 选择合适的偶联反应成为关键。这主要取决于所选择的被修饰的氨基酸位点的结构和活性^[46]。

图式 5 Danishefsky 的氨基酸糖基化合成路线^[23]Scheme 5 Danishefsky's synthesis strategy of glycosylated amino acid^[23]

但是, KLH 也给疫苗带来很多负面影响^[47]: 首先蛋白载体和糖分子连接后, 无论是组成还是结构均不完全清晰, 这给重复实验带来了困难; KLH 自身的非肿瘤外源特征, 使其自身也能引起免疫响应, 产生的抗体在整个分子产生的抗体中占主要部分, 给研究工作带来困难。整个分子由于 KLH 的存在并不均一和纯粹, 也不具明确的结构。总之, 以 KLH 作载体的疫苗结构并不理想。

将抗癌疫苗分子带入临床实验尚需佐剂分子的帮助, 虽然它自身并不能引入免疫响应, 但它可将合成的抗原-蛋白分子所引起的免疫应答放大。QS-21A 是在癌症疫苗中最常用的一种, 它是从南美州的 *Quillaja saponaria* Molina 树中提取的皂草苷 (saponin)。在抗癌和抗病毒疫苗实验中, 毫克级的 QS-21A 即可同时放大抗体和细胞介导的免疫应答。值得一提的是, QS-21A 所属的皂草苷类分子, 是一大类具有抗肿瘤、抗感染活性的三萜类天然寡糖分子。由于可从多种中草药中提取得到, 以及其广泛的用途, 我国科学家对它关注的时间较长^[48-50], 近期亦有其作为疫苗佐剂的综述^[51], 相关的全合成也被多次报道^[52, 53]。

6 展望

合成糖抗原疫苗不仅用于治疗癌症, 针对其他疾病如霍乱和疟疾的疫苗也在研究之中, 在此不一

一赘述。迄今为止, 第一例商品化的全合成糖抗原疫苗 Quimi-Hib 已于 4 年前在古巴上市, 用于防治儿童 b 型流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenzae* type b)。与之相比, 全合成抗癌糖疫苗的商品化之路异常艰难: 用于防治恶性黑色素瘤的疫苗 GMK (商品名, GM2 为主要结构), 令人遗憾地失败于三期临床; 而使用 sTn 及其载体蛋白 KLH 的抗乳腺癌疫苗 Theratope^R 在经过前景良好的一期和二期临床后, 亦未通过三期临床, 原因是在对抗乳腺癌转移中未达预定的治疗阶段目标和总存活率。

虽然 Theratope 和 GMK 均失败于三期临床实验, 但已有多种基于生物提取的非全合成糖抗原癌症疫苗已经上市。如治疗黑色素瘤的 Melacine 已在加拿大获批准, 而针对结肠癌 (colorectal cancer) 的 OncoVAX (Intracel) 亦在荷兰获批。这也预示着全合成糖基癌症疫苗未来广阔的发展空间。

全合成糖基疫苗还是一个年轻且跨学科的领域。如果没有坚实而系统的包括生命科学在内的多学科合作, 它的发展将无法想象。虽然直至目前, 人们并不清楚一个有可能在医学上能实现的合成疫苗的必需结构, 文献中关于免疫应答的描述也经常不一致^[54]; 但却积累了糖-蛋白连接化学和免疫学的相关基础。全合成糖基疫苗全面商品化的路还很长, 需要解决的问题不胜枚举。最重要的有以下几点: 如何打破免疫系统对自身抗原的免疫耐受性?

如何选择载体蛋白以提高免疫应答效率? 引入蛋白后, 整个分子的纯度和结构如何? 提高糖抗原比例能否引发免疫应答? 还有多步合成导致疫苗造价上扬; 分子中各糖抗原的数量、连接方式、空间距离; 佐剂的使用等。此外, 还有本文没有涉及的剂型问题: Biomira 公司绝大多数疫苗分子都采用了脂质体剂型, 脂质体不仅能够装载药物及其附剂, 还可提高疫苗的免疫应答能力。研制高效、低成本、短生产周期的疫苗, 并最终实现商品化, 造福千万癌症患者, 是本领域科研的终极目标。

参考文献

- [1] Ramburg A, Leblond C P. *J. Cell. Biol.*, 1967, 32: 27—53
- [2] Blow N. *Nature*, 2009, 457: 617—620
- [3] Bertozzi C R, Kiessling L L. *Science*, 2001, 291: 2357—2364
- [4] 蔡孟深 (Cai M S), 李中军 (Li Z J). 糖化学——基础、反应、合成、分离及结构 (Carbohydrate chemistry: Fundamentals, Reactions, Synthesis, Isolation and Structures). 北京: 化学工业出版社 (Beijing: Chemical Industry Press), 2006. 412
- [5] Pohl N L. *Chem. Biol.*, 2004, 11: 891—892
- [6] *Molecular Biology of the Cell*, 4th Edition Garland Science Publishing.
- [7] Raman R, Raghuram S, Venkataraman G, Paulson J C, Sasisekharan R. *Nature Med.*, 2005, 2: 817—824
- [8] Timmer M S M, Stocker B L, Seeberger P H. *Curr. Opin. Chem. Bio.*, 2007, 11: 59—65
- [9] An H J, Kronewitter S R, de Leoz M L A, Lebrilla C B. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2009, 13: 601—607
- [10] Seeberger P H, Warez D B. *Nature*, 2007, 446: 1046—1051
- [11] Murray H E, Hsieh-Wilson L C. *Chem. Rev.*, 2008, 108: 1708—1731
- [12] Laughlin S T, Bertozzi C R. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2009, 106: 12—17
- [13] Pilobello K T, Mahal L K. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2007, 11: 300—305
- [14] 曾佑林 (Zeng Y L), 孔繁祚 (Kong F Z). 化学进展 (Progress in Chemistry), 2006, 18: 907—926
- [15] 钱兆生 (Qian Z S), 周传健 (Zhou C J), 曹玲华 (Cao L H). 化学进展 (Progress in Chemistry), 2006, 18: 429—439
- [16] Ye X S, Sun F, Liu M, Li Q, Wang Y, Zhang G, Zhang L H, Zhang X L. *J. Med. Chem.*, 2005, 48: 3688—3691
- [17] Su D M, Eguchi H, Yi W, Li L, Wang P G, Xia C. *Org. Lett.*, 2008, 10: 1009—1012
- [18] 黄毅 (Huang Y), 黄金花 (Huang J H), 谢青季 (Xie Q J), 姚守拙 (Yao S Z). 化学进展 (Progress in Chemistry), 2008, 20: 942—950
- [19] 薛彦峰 (Xue Y F), 王秀奎 (Wang X K), 侯信 (Hou X), 姚康德 (Yao K D). 化学进展 (Progress in Chemistry), 2008, 20: 148—154
- [20] Zhu J, Warren J D, Danishefsky S J. *Expert. Rev. Vaccines*, 2009, 8: 1399—1413
- [21] Coley W. *Am. J. Med. Sci.*, 1893, 105: 487—511
- [22] Le Poole I C, Gerber M E T, Kast W M. *Curr. Opin. Oncol.*, 2002, 14: 641—648
- [23] Keding S J, Danishefsky S J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 101: 11937—11942
- [24] Buskas T, Thompson P, Boons G J. *Chem. Commun.*, 2009, 5335—5349
- [25] Bettahi I, Dasgupta G, Renaudet O, Chentoufi A A, Zhang X, Carpenter D, Yoon S, Dumy P, BenMohamed L. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58: 187—200
- [26] Wondimu A, Zhang T, Kieber-Emmons T, Gimotty P, Sproesser K, Somasundaram R, Ferrone S, Tsao C Y, Herlyn D. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57: 1079—1089
- [27] Hecht M L, Stallforth P, Silva D V, Adibekian A, Seeberger P H. *Curr. Opin. Chem Biol.*, 2009, 13: 354—359
- [28] Kannagi R, Levery S B, Ishijamik F, Hakomori S, Schevinsky L H, Knowles B B, Solter D. *J. Biol. Chem.*, 1983, 258: 8934—8942
- [29] Ménard S, Tagliabue E, Canevari S, Fossati G, Colnaghi M I. *Cancer Res.*, 1983, 43, 1295—1300
- [30] Park T K, Kim J I, Hu S, Bilodeau M T, Randolph J, Kwon O, Danishefsky S J. *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118: 11488—11500
- [31] Zhu T, Boons G J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1999, 38: 3495—3497
- [32] Burkhart F, Zhang Z, Wacowich-Sgarbi S, Wong C H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, 40: 1274—1277
- [33] Furukawa K, Hamamura K, Aixinjueluo W, Furukawa K. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2006, 1086: 185—198
- [34] Westerlind U, Hobel A, Gaidzik N, Schmitt E, Kunz H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, 47: 7551—7556
- [35] Plante O J, Palmacci E R, Seeberger P H. *Science*, 2001, 291: 1523—1527
- [36] Seeberger P H. *Chem. Soc. Rev.*, 2008, 37: 19—28
- [37] Stallforth P, Lepenies B, Adibekian A, Seeberger P H. *J. Med. Chem.*, 2009, 52: 5561—5577
- [38] Werz D B, Castagner B, Seeberger P H. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129: 2770—2771
- [39] Jaipuri F A, Pohl N L. *Org. Biomol. Chem.*, 2008, 6: 2686—2691
- [40] Bundle D R. *Nat. Chem. Biol.*, 2007, 3: 604—606
- [41] Buskas T, Li Y H, Boons G J. *Chem. Eur. J.*, 2004, 10: 3517—3524
- [42] Gilewski T, Ragupathi G, Bhuta S, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98: 3270—3275
- [43] Ingale S, Wolfert M A, Gaekwad J, Buskas T, Boons G J. *Nat. Chem. Bio.*, 2007, 3: 663—667
- [44] Zhu J, Wan Q, Lee D, Yang G, Spassova M K, Ouerfelli O, Ragupathi G, Damani P, Livingston P O, Danishefsky S J. *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131: 9298—9303
- [45] Zhu J, Wan Q, Ragupathi G, George C M, Livingston P O, Danishefsky S J. *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131: 4151—4158
- [46] Gauthier M A, Klok H A. *Chem. Commun.*, 2008, 2591—2611
- [47] Freire T, Bay S, Vichier-Guerre S, Lo-Man R, Leclerc C. *Mini. Rev. Med. Chem.*, 2006, 6: 1357—1373
- [48] Sun J H, Hu S, Song X M. *Vaccine*, 2007, 25: 1114—1120
- [49] Chen W H, Qi H Y, Shi Y P. *J. Nat. Prod.*, 2009, 72: 1410—1413
- [50] Cheng S, Du Y, Ma B, Tan D. *Org. Biomol. Chem.*, 2009, 7: 3112—3118
- [51] Sun H X, Xie Y, Ye Y P. *Vaccine*, 2009, 27: 1787—1796
- [52] Li M, Yu B. *Org. Lett.*, 2006, 8: 2679—2682
- [53] Zhu C, Tang P, Yu B. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130: 5872—5873
- [54] Bewley C A. *Protein-Carbohydrate Interactions in Infectious Diseases*. RSC Publishing. 2006