

冷门学科的坚持与坚守

——2023年诺贝尔生理学或医学奖的启示

李泉秀¹, 宋潇达², 甄橙^{1,3*}

1. 北京大学医学人文学院, 北京 100191
2. 中国药科大学生命科学与技术学院生化系, 南京 210038
3. 北京大学医史学研究中心, 北京 100191

摘要 2023年诺贝尔生理学或医学奖表彰 Katalin Karikó 与 Drew Weissman 关于核苷碱基修饰的发现, 该发现对于新冠 mRNA 疫苗研发至关重要。然而除此之外, 新冠 mRNA 疫苗背后还有其他诸多重要的科研硕果值得关注。梳理了 mRNA 疫苗诞生过程中不可或缺的关键突破, 如 mRNA 的发现、RNA 的人工合成、RNA 的碱基修饰、脂质体的创生和发展以及用于 RNA 递送的脂质纳米颗粒主要成分的确定等。新冠 mRNA 疫苗背后的重大科研突破凸显了坚守冷门而重要研究的难能可贵。指出了应正确认识热门学科与冷门学科的辩证关系, 推动对冷门学科的倾斜支持, 并关注学科发展的均衡配置。

关键词 诺贝尔生理学或医学奖; mRNA 疫苗; mRNA; 脂质递送系统

接种疫苗是控制传染病最为行之有效的手段, 在医学史上疫苗挽救的生命远多于其他任何医疗手段。在与各类传染病的抗争中, 人类接连创造出多种疫苗以抵御其侵害。

人痘接种术在千年之前诞生于中国, 之后逐步向亚欧大陆普及; Edward Jenner 于 1796 年将挤牛奶女工的痘液接种到 8 岁男孩身上标志着牛痘接种法的诞生^[1-2]。1881 年 Louis Pasteur 揭示了减毒

疫苗的原理, 1890 年 Emil von Behring 等开始研究血清疗法, 并因此获得 1901 年首届诺贝尔生理学或医学奖。20 世纪上半叶, 人类见证了诸多疫苗领域的突破: 1921 年卡介苗、1939 年百日咳疫苗、1945 年流感疫苗、1949 年百日咳-白喉-破伤风联合疫苗。

20 世纪 50 年代, 又有 2 项疫苗相关研究获得诺贝尔奖。1937 年 Max Theiler 等开发出了黄热病

收稿日期: 2023-10-25; 修回日期: 2024-04-08

基金项目: 国家社会科学基金冷门绝学专项学术团队项目(22VJXT010)

作者简介: 李泉秀, 博士研究生, 研究方向为医学史, 电子信箱: liqx11@126.com; 甄橙(通信作者), 教授, 研究方向为中西医学比较史、医学专门史、女性与医学的历史、医学博物馆文化, 电子信箱: zhencheng@bjmu.edu.cn

引用格式: 李泉秀, 宋潇达, 甄橙. 冷门学科的坚持与坚守——2023年诺贝尔生理学或医学奖的启示[J]. 科技导报, 2024, 42(18): 124-132; doi:10.3981/j.issn.1000-7857. 2023.10.01597

减毒疫苗,于1951年获得诺贝尔生理学或医学奖。1949年 John Enders、Thomas Weller 和 Frederick Robbins 实现脊髓灰质炎病毒的组织培养,荣获1954年诺贝尔生理学或医学奖。1955年脊髓灰质炎疫苗研发成功。

20世纪下半叶,疫苗领域重大突破则与分子生物学息息相关,乙肝疫苗是历史上第一款基于分子生物学基因重组技术的疫苗。1965年 Baruch Blumberg 鉴定出血液中的乙肝抗原,于1976年获得诺贝尔生理学或医学奖。1979—1982年,William Rutter、Pablo Valenzuela 与同事成功克隆出乙肝病毒表面抗原,为乙肝疫苗在1986年问世打下基础。

时至今日,各类病原体仍持续对人类健康福祉构成威胁,疫苗开发仍是历久弥新的挑战,而疫苗研发的技术创新则不断书写出新的篇章。

2023年诺贝尔生理学或医学奖授予 Katalin Karikó 与 Drew Weissman,以表彰他们在核苷碱基修饰方面的发现。正是这个关键发现扫清了新型冠状病毒感染 mRNA 疫苗开发的最大障碍,最终使新冠 mRNA 疫苗横空出世。全球两个领先的新冠 mRNA 疫苗公司 BioNTech 公司与 Moderna 公司主要产品均使用了 Karikó 与 Weissman 提出的核苷碱基修饰技术,全球新冠 mRNA 疫苗接种数量已超过130亿剂次^[3]。

他们关于 mRNA 疫苗科研突破经历了怎样的发现历程?其成果对于 mRNA 疫苗的诞生以及未来 mRNA 疗法研发有何深远的促进作用?正如 Karikó 所言:“每个人都在添砖加瓦,包括我(Everyone just incrementally added something—including me)^[4]”。

1 初心未改:mRNA 的医学发展

从 DNA 到 mRNA 再到蛋白质的遗传信息传递链即奠定了“中心法则”的基础。自从 mRNA 在20世纪60年代初被发现以来,科学家们就开始思考宏大的医学应用场景:如果人体缺少或者需要获得某种蛋白质,例如酶、激素、受体、抗原或抗体等,只

需将对应 mRNA 注射到人体内,经过翻译即可得到想要的蛋白质。而新冠 mRNA 疫苗的成功让我们看到了这个恢宏愿景在医学实践中的曙光。

1.1 石破天惊:mRNA 的发现

20世纪50年代,很多科学家都观察到了蛋白质合成过程中出现存续时间短暂的水溶性 RNA。这可能是早期观测到的 mRNA,然而当时并未引起足够重视与深入探究。

1960年4月,Sydney Brenner 与到访的 Francis Crick 在讨论时,不约而同激动地提出应该存在一种不同于核糖体 RNA 的以 DNA 为模板合成的 RNA。在 Crick 的启发下,1960年6月,Brenner、Jacob 赴 Meselson 在加州理工学院的实验室,通过噬菌体感染细菌实验,采用同位素示踪和密度梯度离心技术,验证了 mRNA 假说模型,明确证实了 mRNA 的存在,并随后向《Nature》投稿^[5]。1961年2月,James Watson 与 Robert Risebrough 领衔的团队也得出了类似的实验结果^[6],当得知 Brenner 等已经领先一步投稿至《Nature》时,Watson 恳求 Brenner 早些发表,以期2篇文章可同时刊出^[7]。Brenner 同意了 Watson 的请求。1961年5月,Brenner 团队与 Watson 团队的2篇文章在《Nature》上以背靠背的形式同时发表^[5-6]。有趣的是,作为合作发现 DNA 双螺旋结构的 Crick 与 Watson 两人,在 mRNA 发现的良性竞争中却分属于两个团队。

为什么在20世纪50年代多位科学家观察到了 mRNA,但都未进行深入鉴定,最终由以 Sydney Brenner 与 Francis Crick、James Watson 与 Robert Risebrough 分别领衔的2个团队完成这个重大发现呢?可能主要的原因是 Crick 和 Watson 在发现 DNA 双螺旋结构的过程中,对于 DNA 到蛋白质的表达过程有着更加深刻的洞察和直觉,从而更自然而然构建起有 mRNA 参与的基因表达理论并深信 mRNA 的存在。

1960年秋天,François Jacob 和 Jacques Monod 首次将该 RNA 称为信使 RNA(messenger RNA),并讨论了 mRNA 参与基因表达的调控机制,将 mRNA 置于理论化的背景之中^[8]。发现 mRNA 石破天惊的开创性工作生物学史上的重要性毋庸置疑,很多

人为 Sydney Brenner 未能因发现 mRNA 获得诺贝尔奖而鸣不平。直至 2002 年, Brenner 才对对线虫器官发育的研究获得诺贝尔奖。

1.2 巧夺天工:mRNA 的人工合成

mRNA 疫苗的研发以 mRNA 序列的人工合成为技术基础, 只有人工合成才能保证 mRNA 疫苗研发所需序列的可及性和准确性。RNA 聚合酶在体外人工合成 mRNA 的反应体系中完成核心催化功能。学术界曾尝试从多种噬菌体中纯化分离 RNA 聚合酶, 然而产量、稳定性和均一性都不理想。1982 年, 加州大学伯克利分校的 Eugene Butler 与 Michael Chamberlin 从 SP6 噬菌体感染细菌中成功分离纯化出了大量、稳定且均一的 RNA 聚合酶, 奠定了体外人工合成 mRNA 的基础^[9]。Michael Green、Tom Maniatis 与 Douglas Melton 于 1983 年使用 SP6 体外转录体系成功合成了人 β 球蛋白的前体 mRNA^[10]。哈佛大学的 Paul Krieg 与 Douglas Melton 进一步表明, 将人工合成的前体 mRNA 注射进卵母细胞, 可在 3' 末端发生准确剪接形成成熟 mRNA^[11]。至此, 体外合成 mRNA 的体系构建成功。

1984 年, Paul Krieg 与 Douglas Melton 报道了 SP6 体外转录体系可以人工合成微克量级的 β 球蛋白 mRNA。将这些 mRNA 注入体外卵母细胞, 可观察到 β 球蛋白的合成^[12]。

Paul Krieg 与 Douglas Melton 等在人工合成 mRNA 早期体系构建过程中发挥了重要的作用^[13]。20 世纪 80 年代后期, 在 SP6 体系之外又诞生了 T7 人工合成体系。人工合成 mRNA 体系的建立堪称巧夺天工, 使人们能够合成几乎任何序列的 mRNA 序列, 为多年后 mRNA 疫苗生产奠定了基础。

1.3 初试牛刀:mRNA 合成蛋白质及医学应用

早期尝试

1969 年辛辛那提大学的 Raymond Lockard 与 Jerry Lingrel 从小鼠体内分离纯化得到 mRNA, 置于体外兔网织红细胞破碎裂解液中, 得到了以血红蛋白 mRNA 为模板合成的血红蛋白 β 链^[14]。Lingrel 在本科时同时修读生物学与化学专业, 为日后经典生物化学研究打下坚实基础。在博士期间, Lingrel 就对蛋白质合成过程中 mRNA 的鉴定与功能这个

新兴领域表现出浓厚兴趣。Lingrel 在加州理工学院博士后期间关于兔网织红细胞的体系构建训练则打下了技术基础^[15]。类似地, 科学家将从网织红细胞中分离出的血红蛋白 mRNA 注射到爪蟾卵母细胞与卵细胞, 翻译得到血红蛋白^[16]。1990 年 Philip Felgner 与 Robert Malone 团队进行了活体动物的尝试, 将 DNA 与 mRNA 直接注射至活体小鼠肌肉中, 观察到相应蛋白质的表达^[17]。

1992 年, 斯克利普斯研究所的 Gustav Jirikowski 课题组将抗利尿激素 mRNA 注射到患有尿崩症大鼠的下丘脑细胞中。2 个小时后观察到大鼠尿崩症的暂时性症状缓解。尿液渗透压指标缓解可持续 5 天。从下丘脑组织提取的 mRNA 与人工体外合成的 mRNA 两者都有类似的治疗效果^[18]。本实验将人工合成的 mRNA 导入活体哺乳动物细胞, 合成所需蛋白质(抗利尿激素)用于疾病治疗, 堪称 mRNA 医学实践的初试牛刀。

1.4 突破瓶颈:mRNA 修饰碱基可逃过免疫系统的攻击

2023 年诺贝尔生理学或医学奖获得者 Katalin Karikó 与 Drew Weissman 发现, 将体外人工合成 mRNA 注入活体动物细胞时, 动物免疫系统会将人工合成 mRNA 视为外来入侵物, 从而激活强烈免疫反应。例如, 他们在培养皿中进行体外实验时, mRNA 可顺利合成对应的蛋白质。但是, 尝试将 mRNA 注射进活体小鼠细胞内时, 小鼠陷入行动缓慢、食欲下降等病理状态, 甚至死亡。据此推测, 构想中的人工合成 mRNA 疫苗如果注射进人体必然将引发强烈免疫反应, 从而根本无法实现医学应用。如果不能突破这个瓶颈, mRNA 疫苗只能是空中楼阁。这引起了 2 位科学家的好奇和思考, 并进行了以下系统性研究。

第一步, mRNA 含有 4 种碱基, 推测哪种碱基引发免疫反应。

通常 mRNA 含有腺嘌呤(A)、尿嘧啶(U)、胞嘧啶(C)和鸟嘌呤(G)4 种常规碱基。Karikó 猜想, 可能是某种碱基引发了小鼠的体内免疫反应, 导致干扰素的产生以及炎症反应。她从经典文献中寻找答案。她读到首个发现干扰素的科学家 Alick

Isaacs 于 1963 年指出,相较于把 RNA 直接导入细胞的情形,把 RNA 用亚硝酸处理后再导入细胞会增强免疫反应并产生干扰素^[19]。对比亚硝酸处理前后的 RNA 样品,最有可能发生的化学反应即为胞嘧啶水解脱氨而生成尿嘧啶,使样品中尿嘧啶比例增加。推测最有可能是尿嘧啶引发了免疫反应。

第二步, mRNA 修饰碱基替换常规碱基,能否避免免疫反应。

Karikó 和 Weissman 以树突状细胞为研究系统,将人工合成 mRNA 导入细胞,果然引发强烈的免疫反应^[20]。该实验中,除了将人工合成 mRNA 导入细胞之外,他们同时精巧地设置了哺乳动物转运 RNA (tRNA) 对照组。对照组将 tRNA 导入细胞时,几乎完全没有产生免疫反应^[20]。这个特殊的现象提供了突破的线索。

哺乳动物 tRNA 不引发免疫反应,而人工合成 RNA 引发免疫反应。哺乳动物 tRNA 与人工合成 RNA 有什么区别? 在哺乳动物体内, tRNA 大量存在修饰碱基替换常规碱基的情形,例如,伪尿嘧啶 (Ψ)、5-甲基尿嘧啶 (m5U) 或 2-硫代尿嘧啶 (s2U) 替换尿嘧啶 (U), 5-甲基胞嘧啶 (m5C) 替换胞嘧啶 (C), N6-甲基腺嘌呤 (m6A) 替换腺嘌呤 (A) 等。

Karikó 和 Weissman 提出大胆假设: 常规碱基引发动物体体内免疫反应, 修饰碱基则不会引发免疫反应。他们小心求证: 将常规碱基分别采用各类修饰碱基进行替换 (Ψ 、m5U 或 s2U 替换 U, m5C 替换 C, m6A 替换 A), 将含有不同修饰碱基替换的 mRNA 分别注入细胞。结果正如所料, 免疫反应大幅降低或消除^[20]。有趣的是, 对尿嘧啶的替换, 降低免疫应答的效果最为显著, 例如伪尿嘧啶替换尿嘧啶。而对腺嘌呤或胞嘧啶的替换降低免疫应答的效果比较有限。实验证明了尿嘧啶的首要关键性, 呼应并验证了 Karikó 对尿嘧啶引发免疫反应的推测。在 mRNA 序列中, 修饰碱基替换常规碱基的比例越高, 则对免疫应答的抑制效果就越明显^[20]。

以上实验结果构成目前新冠 mRNA 疫苗的两个核心要素: 其一, 修饰碱基替换常规碱基; 其二, 首要针对尿嘧啶进行替换, 采用伪尿嘧啶替换尿嘧啶。这项科学发现具有广泛而激动人心的应用前

景, 意味着合成 mRNA 导入人体预计将不再引发强烈免疫反应, 突破了 mRNA 疫苗研发的最大瓶颈。

第三步, mRNA 修饰碱基替换常规碱基, 对于蛋白质合成的影响。

Karikó 和 Weissman 发现, 伪尿嘧啶替换尿嘧啶之后, mRNA 翻译效率大幅提高^[21]。常规序列 mRNA 可以激活 RNA 依赖性蛋白激酶, 该激酶磷酸化翻译起始因子 eIF-2 α , 造成 mRNA 翻译过程的抑制; 伪尿嘧啶替换后的修饰序列对该激酶激活作用较弱, mRNA 翻译过程受到抑制较小, 蛋白质合成增加^[22]。因此, 将 mRNA 当中尿嘧啶替换为伪尿嘧啶, 不仅可以使 mRNA 逃过免疫应答, 而且还能增加蛋白质产量, 有一石二鸟之功。

综上所述, Karikó 和 Weissman 的系统性研究体现出问题导向的连贯性特征, 遵循了大胆假设并小心求证思路, 是经典的假设演绎法逻辑, 体现出专注课题、深入挖掘、抽丝剥茧、层层递进的研究特点。

2 步步为营: 脂质递送系统的演进

mRNA 疫苗脂质递送系统研究肇始于 20 世纪 60 年代, 经历了从脂质体到脂质纳米颗粒步步为营的演进。在 mRNA 疫苗的生产过程中, mRNA 的人工合成与脂质递送系统的制备是独立的过程, 最终将 mRNA 成功装入脂质递送系统, 才完成两者的珠联璧合。

2.1 概念肇始: 脂质体的发现与描述

对于脂质体 (liposomes) 的研究可追溯至 20 世纪 60 年代。Alec Bangham 早年是一位医生, 曾经随英国军队在以色列驻扎^[23]。他在医学实践中观察到血滴形成奇妙的形状, 这激发了他的好奇心。为什么在显微镜下血液涂片常显示出多种精美的形状? 为什么血小板常分布于涂片边缘^[24]? 在这份好奇心的强烈驱使下, 加之他的父亲是一位表面化学家, Alec Bangham 最终将研究兴趣由病理解剖学转向液体表面形状的物理化学研究, 最终指向了脂质体的发现和构建。

Alec Bangham 及其他科学家观察到脂质体电

子显微镜图像展现出球状闭合膜结构^[25-27]。成果发表后,纽约大学医学院的Gerald Weissmann是最早到访Alec Bangham实验室的科学家之一。Gerald Weissmann饶有兴致地听完Bangham介绍,他认为Bangham描述的这种新颖的封闭囊泡状膜结构,应当有个更加通俗的描述性名称,于是将其命名为“脂质体”^[23-28]。1965年Bangham及其同事指出,脂质体的脂质双分子层非常类似于生物膜结构,能够维持一定的离子梯度,并且发现添加类固醇等物质时,脂质体膜的变化类似于生物膜^[29-30]。Bangham在脂质体概念肇始的探索中扮演了奠基性角色。脂质体的后续研究开启了药物递送领域的新篇章,同时在兰蔻、迪奥等品牌化妆品中得到广泛的产业化应用。

2.2 承上启下:mRNA的早期递送实践

1978年8月31日,《Nature》同时刊载的2篇论文具有相似的分析思路、实验方法和研究结论。他们都将脂质体包裹的mRNA成功运送到细胞中,并顺利完成了相应蛋白质的表达。英国国家医学研究所Giorgos Dimitriadis用脂质体包裹兔球蛋白mRNA,导入鼠脾淋巴细胞,在放射性氨基酸培养基中完成mRNA翻译过程,检测到带有放射性兔球蛋白的生成^[31]。伊利诺伊大学芝加哥分校的Sheldon Dray团队将从兔网织红细胞提取的兔球蛋白mRNA包裹在脂质体中,将其导入细胞系,观察到兔球蛋白的表达^[32]。这2个开创性实验成果在mRNA疫苗发展历程中具有承上启下的意义,标志着脂质体包裹mRNA在导入动物细胞实践中的可行性。

2.3 别具匠心:阳离子脂质的引入

1978年的实验尽管成功地将包裹mRNA的脂质体导入细胞,然而导入效率不高。1987年Philip Felgner敏锐指出:如果在脂质体中掺入阳离子脂质,则可能大幅提高脂质体导入细胞的效率。带有正电荷的阳离子脂质更容易包裹带负电荷的核酸,更容易与表面带负电的细胞膜融合,提高转导入效率。1987年他率领团队将含有阳离子脂质的脂质体与DNA混合,发现两者快速融合,几乎100%的DNA都包裹在脂质体中,脂质体导入小鼠细胞

也十分顺利^[33]。

受到上述包裹DNA实验的启发,1989年索尔克研究所的Robert Malone与Philip Felgner等合作,尝试让含有阳离子脂质的脂质体包裹RNA:将萤光素酶mRNA装入含有阳离子脂质的脂质体,并导入细胞中,细胞顺利表达出萤光素酶蛋白。含有阳离子脂质的脂质体包裹mRNA并导入细胞成为适用于不同种类细胞的通用型实验技术^[34-35]。正电荷脂质别具匠心的应用,在mRNA疫苗诞生路径上是重大的阶段性创新。Philip Felgner与Robert Malone在这个环节贡献突出。

2.4 初露锋芒:mRNA疫苗的雏形

20世纪90年代初,脂质体包裹DNA的早期疫苗研究率先取得进展^[36]。在此启发下,1993年,法国国家健康与医学研究院的Frédéric Martinon与在业界推动疫苗研发的Pierre Meulien等在体外转录得到流感病毒核蛋白mRNA,将包裹有该mRNA的脂质体注射到小鼠体内。流感病毒核蛋白在小鼠体内产生,引发免疫应答。此后模拟流感病毒感染,将流感病毒血凝素注入小鼠,小鼠体内免疫反应强烈,产生大量细胞毒性T淋巴细胞^[37]。1995年,阿拉巴马大学伯明翰分校的David Curiel团队在体外合成了癌胚抗原mRNA,将该mRNA包裹在脂质体中,分多次注射至小鼠细胞,使小鼠产生免疫能力。之后对小鼠模拟抗原入侵,向小鼠体内注射能产生癌胚抗原的肿瘤细胞。检测表明实验组小鼠大多产生癌胚抗原抗体^[38]。以上2个实验是mRNA疫苗的早期初露锋芒的研发尝试,针对流感与肿瘤,分别显现出预防性mRNA疫苗与治疗性mRNA疫苗的雏形。

2.5 柳暗花明:脂质递送系统4种成分的确

尽管阳离子脂质体通过静电作用促进对mRNA的包裹,然而时刻携带正电荷的脂质体存在严重副作用和细胞毒性,易引发细胞凋亡和炎症反应。能否找到更完美的脂质递送载体:在体外携带正电荷方便包裹mRNA,在人体血液中则不带电荷?

Pieter Cullis完成了这项开创性工作。Cullis在加拿大英属哥伦比亚大学获得物理学博士,为脂质生物物理研究打下坚实基础。之后他在牛津大

学从事脂质相关博士后研究,对脂质形态的多变性产生浓厚的兴趣。20世纪80年代,Cullis回到英属哥伦比亚大学成立实验室,继续在该领域深耕^[39]。

Cullis在20世纪70年代末敏锐地意识到脂质体表面电荷的关键性^[40],尝试构建对环境酸碱度敏感的脂质体^[41]。2001年Cullis首次创造性地采用了可电离阳离子脂质构建脂质体^[42]。可电离阳离子脂质具有特殊性质:在酸性环境下结合氢离子而带有正电荷,在中性环境下失去氢离子而不带电荷。实践中优点如下。第一步,脂质体包裹mRNA过程中,保持酸性环境,在静电作用下带有正电的脂质体可以顺利包裹带负电的mRNA。各个脂质体表面因带正电荷而相互排斥,避免聚集沉淀。第二步,将包裹有mRNA脂质体注射体内,如在血液的中性环境,脂质体不带电荷而更加稳定,避免了电荷对细胞的影响,且抵御RNA酶分解。第三步,脂质体与细胞膜融合后,细胞膜内凹形成的内涵体包裹着脂质体,通过内吞作用进入细胞。在成熟内涵体的酸性环境下脂质体带有正电荷,与负电荷内涵体相互作用而破裂,释放mRNA进入细胞质,完成蛋白质的合成。

Cullis发现聚乙二醇脂质掺入脂质体,可促进脂质体对核酸的包裹、促进脂质体与细胞膜的融合^[43-44]。Cullis发现胆固醇、辅助脂质有利于脂质体与细胞膜融合、增进脂质体与内涵体的相互作用而促进核酸释放^[45]。Cullis确定了脂质递送系统4种主要成分:可电离阳离子脂质、聚乙二醇脂质、胆固醇和辅助脂质。

20世纪90年代末,随着纳米技术的兴起,脂质体被性能更加优良的脂质纳米颗粒代替,沿袭了以上4种组分,并最终被用于新冠mRNA疫苗。至此,脂质递送系统迎来了柳暗花明的成熟路径。

近年来,诸多国际奖项(2021年泰国玛希隆王子奖 Prince Mahidol Award、2021年越南纳未来大奖 VinFuture Grand Prize、2022年加拿大盖尔德纳国际奖 Canada Gairdner International Award、2022年中国台湾唐奖 Tang Prize)同时授予 Katalin Karikó、Drew Weissman 与 Pieter Cullis 3位科学家。Katalin Karikó 与 Drew Weissman 荣获 2023 年诺贝

尔奖生理学或医学奖,而 Pieter Cullis 与诺贝尔奖失之交臂。有观点认为 Cullis 理应同时获得诺贝尔奖。mRNA 疫苗包括了内在的 mRNA 与外在的脂质递送系统,两者一内一外,同等重要。

近年来 mRNA 疫苗及药物的产业进程也开始加速。2012年,首个脂质纳米颗粒包裹呼吸道合胞病毒融合糖蛋白(RSV-F)RNA的疫苗在小鼠身上进行了活体实验^[46]。2013—2016年,狂犬病 mRNA 疫苗开展 I 期临床试验并达到预期,这是首个传染病 mRNA 疫苗的临床实验^[47]。2015—2016年,首个预防流感的 mRNA 疫苗 I 期临床试验顺利开展并达到预期效果^[48]。2018年,首个脂质纳米颗粒包裹小分子干扰 RNA (siRNA) 的药物 Patisiran (商品名:Onpatro) 获得美国食品药品监督管理局批准,用于治疗多发性神经病。2020年1月,中国科学家发布新冠病毒基因序列后, BioNTech 公司在短短几个小时内完成疫苗设计, Moderna 公司在2天内完成疫苗设计,随即分别进行大规模临床试验,2个公司新冠 mRNA 疫苗有效性分别达 95% 和 94%^[49-50]。2020年底,这两个疫苗获准紧急使用。

3 结论

新冠 mRNA 疫苗的诞生体现了学科交叉的深度融合与协同创新,展示出基础科研的产业转化与临床应用。然而,最值得深思的则是学者对冷门学科的专注坚守与深耕不辍。

1985年, Katalin Karikó 初到美国的天普大学从事涉及 RNA 的博士后研究工作。在其后30年的 RNA 研究中,她从事课题为冷门领域,申请经费被屡次拒绝。她被宾夕法尼亚大学多次降职降薪,失去终身教职机会。1997年, Katalin Karikó 巧遇 Drew Weissman。Weissman 作为助理教授刚来到宾夕法尼亚大学,希望在艾滋病研究领域有所突破,而艾滋病病毒正是一种 RNA 病毒。Weissman 具有足够的免疫学知识积淀以及 RNA 研究的迫切课题需求, Karikó 积累了深厚的 RNA 实验技术储备,两人兴趣相投,背景互补。2005年,他们在《Immunity》发表论文报道了修饰核苷可降低免疫反应

的成果^[20]。2012年, Weissman在宾夕法尼亚大学晋升为教授,但 Karikó 却被解雇。面对学术生涯的挫折与打击, Karikó 的经验是:“不要专注于你无法改变的事情。因为你被解雇了,所以不要开始为自己感到难过。你只需要专注于接下来的事情,因为那是你可以改变的(Don't focus on what you cannot change. Because you are fired, don't start to feel sorry for yourself. You just have to focus on what's next because that's what you can change)^[51]。”这份乐观的矢志不渝,让几十年门可罗雀的领域,在新冠 mRNA 疫苗问世后炙手可热。

脂质体研究本是另一个冷门领域,也经历了从问者寥寥到新冠 mRNA 疫苗诞生后万众瞩目的转变。20世纪60年代, Alec Bangham 等在好奇心的驱使下发现了脂质体,人们曾经将脂质体称作 Bangham 氏体(Banghasomes)。Alec Bangham 在后续几十年持续沉浸于脂质体研究,2009年,88岁高龄仍然撰文评述脂质体领域研究工作^[24],这份摒弃功利、纯粹兴趣驱动的执着令人敬佩。Philip Felgner 与 Robert Malone 将阳离子脂质引入脂质体,在脂质体发展历程中起到了承上启下的作用。Pieter Cullis 团队确定了脂质递送系统的4种主要成分,创造性地采用了可电离阳离子脂质,使脂质递送系统在酸性环境带正电、在中性环境不带电,完美满足了 mRNA 疫苗研发需求。

由上可知,学术热点固然值得关注,然而对冷门研究的坚守亦同等重要。其一,应正确认识热门与冷门的辩证关系,两者互相依存,协同发展。专注与坚持可以将冷门领域逐渐推动成为热门学科。其二, Karikó 早期对 RNA 的研究实属冷门,申请经费屡次受挫导致科研曾一度陷入停顿。建议可推动对冷门学科适度的资金倾斜支持。其三,应关注热点学科与小众学科的均衡配置,鼓励引导冷门方向的拓展,进而推动整体学科体系的良性互动与均衡发展。

参考文献(References)

- [1] 甄橙. 程之范医学史[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2023: 64-65.
- [2] Jenner E. An inquiry into the causes and effects of the variolae vaccinae[M]. London: Sampson Low, 1798.
- [3] Press release for the Nobel Prize in Physiology or Medicine 2023[EB/OL]. [2023-10-16]. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2023/press-release>.
- [4] Dolgin E. The tangled history of mRNA vaccines[J]. Nature, 2021, 597(7876): 318-324.
- [5] Brenner S, Jacob F, Meselson M. An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis[J]. Nature, 1961, 190(4776): 576-581.
- [6] Gros F, Hiatt H, Gilbert W, et al. Unstable ribonucleic acid revealed by pulse labelling of Escherichia coli[J]. Nature, 1961, 190(4776): 581-585.
- [7] Cobb M. Who discovered messenger RNA?[J]. Current Biology, 2015, 25(13): R526-R532.
- [8] Jacob F, Monod J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins[J]. Journal of Molecular Biology, 1961, 3(3): 318-356.
- [9] Butler E T, Chamberlin M J. Bacteriophage SP6-specific RNA polymerase. I. Isolation and characterization of the enzyme[J]. Journal of Biological Chemistry, 1982, 257(10): 5772-5778.
- [10] Green M R, Maniatis T, Melton D A. Human β -globin pre-mRNA synthesized in vitro is accurately spliced in Xenopus oocyte nuclei[J]. Cell, 1983, 32(3): 681-694.
- [11] Krieg P A, Melton D A. Formation of the 3' end of histone mRNA by post-transcriptional processing[J]. Nature, 1984, 308(5955): 203-206.
- [12] Krieg P A, Melton D A. Functional messenger RNAs are produced by SP6 in vitro transcription of cloned cDNAs [J]. Nucleic Acids Research, 1984, 12(18): 7057-7070.
- [13] Krieg P A, Melton D A. *In vitro* RNA synthesis with SP6 RNA polymerase[J]. Methods in Enzymology, 1987, 155: 397-415.
- [14] Lockard R E, Lingrel J B. The synthesis of mouse hemoglobin beta-chains in a rabbit reticulocyte cell-free system programmed with mouse reticulocyte 9S RNA[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1969, 37(2): 204-212.
- [15] Lingrel J B. How I became a biochemist[J]. IUBMB Life, 2007, 59(10): 685-687.
- [16] Gurdon J B, Lane C D, Woodland H R, et al. Use of frog eggs and oocytes for the study of messenger RNA and its translation in living cells[J]. Nature, 1971, 233(5316): 177-182.
- [17] Wolff J A, Malone R W, Williams P, et al. Direct gene

- transfer into mouse muscle in vivo[J]. *Science*, 1990, 247(4949): 1465–1468.
- [18] Jirikowski G F, Sanna P P, Maciejewski-Lenoir D, et al. Reversal of diabetes insipidus in Brattleboro rats: Intrahypothalamic injection of vasopressin mRNA[J]. *Science*, 1992, 255(5047): 996–998.
- [19] Isaacs A, Cox R A, Rotem Z. Foreign nucleic acids as the stimulus to make interferon[J]. *Lancet*, 1963, 2(7299): 113–116.
- [20] Karikó K, Buckstein M, Ni H P, et al. Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors: The impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA[J]. *Immunity*, 2005, 23(2): 165–175.
- [21] Karikó K, Muramatsu H, Welsh F A, et al. Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability[J]. *Molecular Therapy*, 2008, 16(11): 1833–1840.
- [22] Anderson B R, Muramatsu H, Nallagatla S R, et al. Incorporation of pseudouridine into mRNA enhances translation by diminishing PKR activation[J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38(17): 5884–5892.
- [23] Deamer D W. From "Banghasomes" to liposomes: A memoir of Alec Bangham, 1921–2010[J]. *FASEB Journal*, 2010, 24(5): 1308–1310.
- [24] Bangham A. The physical chemistry of self/non-self: Jigsaws, transplants and fetuses[J]. *FASEB Journal*, 2009, 23(11): 3644–3646.
- [25] Bangham A D, Horne R W. Action of saponin on biological cell membranes[J]. *Nature*, 1962, 196(4858): 952–953.
- [26] Glauert A M, Dingle J, Lucy J. Action of saponin on biological cell membranes[J]. *Nature*, 1962, 196(4858): 953–955.
- [27] Bangham A D, Horne R W. Negative staining of phospholipids and their structural modification by surface-active agents as observed in the electron microscope[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1964, 8(5): 660–668.
- [28] Sessa G, Weissmann G. Phospholipid spherules (liposomes) as a model for biological membranes[J]. *Journal of Lipid Research*, 1968, 9(3): 310–318.
- [29] Bangham A D, Standish M M, Watkins J C. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1965, 13(1): 238–252.
- [30] Bangham A D, Standish M M, Weissmann G. The action of steroids and streptolysin S on the permeability of phospholipid structures to cations[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1965, 13(1): 253–259.
- [31] Dimitriadis G J. Translation of rabbit globin mRNA introduced by liposomes into mouse lymphocytes[J]. *Nature*, 1978, 274(5674): 923–924.
- [32] Ostro M J, Giacomoni D, Lavelle D, et al. Evidence for translation of rabbit globin mRNA after liposome-mediated insertion into a human cell line[J]. *Nature*, 1978, 274(5674): 921–923.
- [33] Felgner P L, Gadek T R, Holm M, et al. Lipofection: A highly efficient, lipid-mediated DNA-transfection procedure[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1987, 84(21): 7413–7417.
- [34] Malone R W, Felgner P L, Verma I M. Cationic liposome-mediated RNA transfection[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1989, 86(16): 6077–6081.
- [35] Malone R W. mRNA transfection of cultured eukaryotic cells and embryos using cationic liposomes[J]. *Focus*, 1989, 11(1): 61–66.
- [36] Tang D C, DeVit M, Johnston S A. Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response [J]. *Nature*, 1992, 356(6365): 152–154.
- [37] Martinon F, Krishnan S, Lenzen G, et al. Induction of virus-specific cytotoxic T lymphocytes in vivo by liposome-entrapped mRNA[J]. *European Journal of Immunology*, 1993, 23(7): 1719–1722.
- [38] Conry R M, LoBuglio A F, Wright M, et al. Characterization of a messenger RNA polynucleotide vaccine vector [J]. *Cancer Research*, 1995, 55(7): 1397–1400.
- [39] Horejs C. From lipids to lipid nanoparticles to mRNA vaccines[J]. *Nature Reviews Materials*, 2021, 6(12): 1075–1076.
- [40] Cullis P R, de Kruijff B. Lipid polymorphism and the functional roles of lipids in biological membranes[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1979, 559(4): 399–420.
- [41] Hafez I M, Ansell S, Cullis P R. Tunable pH-sensitive liposomes composed of mixtures of cationic and anionic lipids[J]. *Biophysical Journal*, 2000, 79(3): 1438–1446.
- [42] Semple S C, Klimuk S K, Harasym T O, et al. Efficient encapsulation of antisense oligonucleotides in lipid vesicles using ionizable aminolipids: Formation of novel small multilamellar vesicle structures[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2001, 1510(1/2): 152–166.

- [43] Fenske D B, Palmer L R, Chen T, et al. Cationic poly (ethyleneglycol) lipids incorporated into pre-formed vesicles enhance binding and uptake to BHK cells[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2001, 1512(2): 259–272.
- [44] Maurer N, Wong K F, Stark H, et al. Spontaneous entrapment of polynucleotides upon electrostatic interaction with ethanol-destabilized cationic liposomes[J]. *Biophysical Journal*, 2001, 80(5): 2310–2326.
- [45] Hafez I M, Maurer N, Cullis P R. On the mechanism whereby cationic lipids promote intracellular delivery of polynucleic acids[J]. *Gene Therapy*, 2001, 8(15): 1188–1196.
- [46] Geall A J, Verma A, Otten G R, et al. Nonviral delivery of self-amplifying RNA vaccines[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(36): 14604–14609.
- [47] Alberer M, Gnad-Vogt U, Hong H S, et al. Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: An open-label, non-randomised, prospective, first-in-human phase 1 clinical trial[J]. *Lancet*, 2017, 390(10101): 1511–1520.
- [48] Feldman R A, Fuhr R, Smolenov I, et al. mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses of pandemic potential are immunogenic and well tolerated in healthy adults in phase 1 randomized clinical trials [J]. *Vaccine*, 2019, 37(25): 3326–3334.
- [49] Polack F P, Thomas S J, Kitchin N, et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA covid-19 vaccine[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2020, 383(27): 2603–2615.
- [50] Baden L R, El Sahly H M, Essink B, et al. Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2021, 384(5): 403–416.
- [51] Nobel Prize winner Katalin Karikó was 'demoted 4 times' at her old job. How she persisted: 'You have to focus on what's next'[EB/OL]. [2023-10-16]. <https://www.cnb.com/2023/10/06/nobel-prize-winner-katalin-karik-on-being-demoted-perseverance-.html>.

Perseverance and dedication of unpopular subjects: Insights from the 2023 Nobel Prize in Physiology or Medicine

LI Quanxiu¹, SONG Xiaoda², ZHEN Cheng^{1,3*}

1. School of Health Humanities, Peking University, Beijing 100191, China

2. Department of Biochemistry, School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China

3. Center for History of Medicine, Peking University, Beijing 100191, China

Abstract The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2023 was awarded to Katalin Karikó and Drew Weissman for their discovery of nucleoside base modifications, which was crucial for the development of COVID-19 mRNA vaccines. In addition, there are many other significant scientific achievements behind the novel coronavirus mRNA vaccine that deserve attention. This article reviewed the crucial breakthroughs of the mRNA vaccine, such as the initial discovery of mRNA, in vitro RNA synthesis, RNA base modifications, the creation and development of liposomes, and the determination of the major components of lipid nanoparticles for RNA delivery. The seminal scientific advancement which enabled COVID-19 mRNA vaccine underscored the inherent value of pursuing unpopular but important research. We should correctly understand the dialectical relationship between popular and unpopular fields of study, and rally preferential support for unpopular subjects, while ensuring a balanced allocation of resources across the spectrum of subject areas.

Keywords Nobel Prize in Physiology or Medicine; mRNA vaccines; mRNA; lipid-based delivery systems ●



(责任编辑 王丽娜)