•专题报道•

细菌多糖疫苗研究进展

黄荷淇[1,2], 金 倩[1], 王娟娟[3], 张敬仁[1*]

(1. 清华大学基础医学院传染病中心, 北京 100084; 2. 清华大学−北京大学生命科学联合中心, 北京 100084;
3. 中国农业大学动物医学院, 北京 100193)

摘要: 荚膜多糖与脂多糖是细菌关键毒力因子, 也是重要疫苗靶标。细菌多糖疫苗的发展已跨越一个多世纪, 对全球细菌性疾病的预防作出了巨大贡献。本文回顾了细菌多糖疫苗的起源, 以及多糖和多糖结合疫苗两个阶段的发展历程, 重点介绍了肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟球菌、流感嗜血杆菌多糖疫苗的研发进程与应用, 总结了当前细菌多糖疫苗的保护机制、面临的挑战和未来多糖疫苗研发趋势。

关键词: 病原菌; 荚膜多糖; 脂多糖; 多糖疫苗; 多糖结合疫苗

中图分类号: R966 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2025)07-1965-13

Advances in bacterial polysaccharide vaccines

HUANG He-qi[1,2], JIN Qian[1], WANG Juan-juan[3], ZHANG Jing-ren[1*]

(*1. Center for Infection Biology, School of Basic Medical Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. Tsinghua-Peking Center for Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 3. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China*)

Abstract: Capsular polysaccharides and lipopolysaccharides are crucial bacterial virulence factors and key vaccine antigen targets. Over the past century, the development of bacterial polysaccharide-based vaccines has significantly advanced global efforts to prevent bacterial infections. This review outlines the historic milestones of bacterial polysaccharide vaccines, with an emphasis on the development and application of capsular polysaccharide-based vaccines against three human pathogens: *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, and *Haemophilus influenzae*. Moreover, this article summarizes the protective mechanisms and perspectives of polysaccharide-based vaccines.

Key words: invasive bacteria; capsular polysaccharide; lipopolysaccharide; polysaccharide vaccine; polysaccharide conjugate vaccine

1 前言

细菌性感染是威胁全球公共卫生的重要因素, 随着细菌耐药性问题日益严峻, 预防性疫苗接种在感染控制中的作用愈发凸显[1]。细菌表面糖类物质种类繁多, 主要包括细胞壁多糖 (cell wall polysaccharide, CWPS)、革兰阴性菌特有的脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 以及包裹于荚膜细菌最外层的荚膜多糖 (capsular polysaccharide, CPS)。LPS 作为革兰阴性菌外膜的结构组分, 由脂质 A、核心多糖和 O 多糖 (O polysaccharide, OPS) 三部分组成, OPS 亦称 O 抗原[2]。CPS 构成荚膜 (capsule) 的主体结构, 该结构以高含水量和黏稠松散为特征[3], 可存在于革兰阳性与革兰阴性菌中 (图 1)。

CPS 和 OPS 由高度重复的寡糖单元聚合而成, 其糖基组成、糖苷键连接方式和重复单元数目是细菌血清型分型的分子基础 (图 2)[4]。流行病学调查显示, 当前临床流行的侵袭性致病菌普遍携带荚膜, 尤以肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*, *S. pneumoniae*)、金

收稿日期: 2025-03-14; 修回日期: 2025-05-15.
基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (82330071).
*通讯作者 Tel: 86-10-62773469, E-mail: zhanglab@mail.tsinghua.edu.cn
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0294

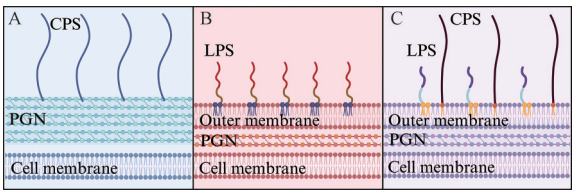


Figure 1 Capsular polysaccharide and lipopolysaccharide structures. A: Encapsulated Gram-positive bacteria; B: Unencapsulated Gram-negative bacteria; C: Encapsulated Gram-negative bacteria. CPS: Capsular polysaccharide; LPS: Lipopolysaccharide; PGN: Peptidoglycan (Created with BioRender.com)

黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)、肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella pneumoniae*, *K. pneumoniae*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*)、鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii, A. baumannii*) 为代表[5]。此类病原体多呈现广泛耐药表型, 给临床治疗带来严峻挑战。现有细菌多糖疫苗的研发主要聚焦于CPS和LPS两大靶点。需指出的是, 当前上市疫苗均以CPS为抗原成分, 基于LPS的疫苗仍处于临床或临床前研究阶段。本文旨在梳理细菌多糖疫苗的发展历程, 总结研发过程中的关键性突破, 并基于前沿技术展望疫苗未来的研发方向。

2 细菌多糖疫苗的发展历程

2.1 细菌多糖疫苗的起源 对荚膜结构的科学认知始于早期细菌分离技术和显微形态学的突破。1880年, Eberth[6]首次发现引起伤寒的病原菌, 该菌后被命名为伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhi*, *S. typhi*)。1881年, Pasteur和Sternberg[7,8]分别于法国和美国独立分离出*S. pneumoniae*。Pasteur在其分离的*S. pneumoniae*外周观察到一圈明亮结构, 称其为“光晕” (aureole), 即后来所称的荚膜[7,9]。

早期荚膜相关研究多集中于*S. pneumoniae*。Avery和洛克菲勒研究所的科学家们为CPS的研究作出巨大贡献。在荚膜化学性质尚未阐明时, Kruse和Pansini[10]便发现荚膜缺陷的*S. pneumoniae*侵袭性降低, 提示荚膜与*S. pneumoniae*毒力密切相关。1917年, Avery和Dochez[11]成功分离荚膜物质, 称之为“特异性可溶性物质” (specific soluble substance, SSS)。1920年代, Felton和Bailey[12]发现SSS能中和*S. pneumoniae*免疫血清的保护作用, 该现象揭示了SSS的免疫原性, 随后Heidelberger和Avery的研究[13,14]阐明SSS的化学本质为多糖。1927年, 科赫研究所的Schiemann与Casper[15]采用3型*S. pneumoniae*首次证实CPS具有免疫原性。1931年, Dubos和Avery[16,17]进一步发现, 经酶分解去除荚膜后的3型*S. pneumoniae*丧失侵袭能力, 证明了CPS是决定*S. pneumoniae*毒力的关键因素。1944年, Avery等[18]利用研究荚膜对肺炎链球菌毒力重要性的契机, 发现了DNA是遗传物质。

关于LPS的研究最早可追溯至霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*), 系统性研究则聚焦于沙门氏菌。1892年, Pfeiffer在霍乱弧菌中发现一种外毒素性质迥异的强毒性物质, 由此首次提出“内毒素”的概念以区别外毒素[19,20]。早期医学实践中, 内毒素曾用于发热疗法, 因其发热效应被视为治疗有效的标志。但Morgan[21]后续研究发现, 人体在反复内毒素刺激后发热反应减弱, 即产生耐受, 表明内毒素具有抗原性。法国科学家Boivin以鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*, *S. typhimurium*) 为主要研究对象, 对内毒素展开深入研究。1933年, Boivin与Mesrobeanu夫妇通过三氯乙酸萃取法首次从*S. typhimurium*中分离内毒素, 并鉴定其为一种含有多糖和脂质成分的葡萄糖脂质抗原

Streptococcus pneumoniae serotype 1 CPS: →3)-*α*-*D*-AATGal*p*-(1→4)-*α*-*D*-Gal*p*A-(1→3)-*α*-*D*-Gal*p*A-(1→

Streptococcus pneumoniae serotype 6A CPS: →2)-*α*-*D*-Gal*p*-(1→3)-*α*-*D*-Glc*p*-(1→3)-*α*-*L*-Rha*p*-(1→3)-*D*-Rib-ol-(5→P→

Haemophilus influenzae type b CPS: →3)-*β*-*D*-Ribf-(1→1)-*D*-Rib-ol-(5→P→

Neisseria meningitidis group A CPS: →6)-*α*-*D*-Man*p*NAc-(1→P→

Salmonella typhi Vi antigen CPS: →4)-*α*-*D*-Gal*p*NAcA3$_{0.75}$Ac-(1→

Shigella flexneri 2a OPS: *α*-*D*-Glc*p*-(1→4)⌐↓ →2)-*α*-*L*-Rha*p*-(1→2)-*α*-*L*-Rha*p*-(1→3)-*α*-*L*-Rha*p*-(1→3)-*β*-*D*-Glc*p*NAc-(1→

Figure 2 Structures of the repeating units of selected capsular polysaccharides and O polysaccharide. AATGal: 2-Acetamido-4-2, 4, 6-trideoxy-*D*-galactose; Gal: Galactose; GalA: Galacturonic acid; GalNAc: *N*-Acetylglucosamine; Glc: Glucose; Rha: Rhamnose; Ribf: Ribofuranose; Rib-ol: Ribitol; ManNAc: *N*-Acetylmannosamine; Ac: Acetate; P: Phosphate; *p*: Pyranose; OPS: O polysaccharide. Structurers were obtained from reference[4]

(antigène glucido-lipidique) [22]。1934 年, White 和 Kauffmann 在对沙门氏菌属的系统分类研究中, 首次以“O 抗原”描述沙门氏菌表面抗原[23]。Boivin 后续研究发现, “O 抗原”与其分离的内毒素具有相似的血清交叉反应性, 更重要的是, 他观察到失去 O 抗原的 *S. typhi* 毒性减弱, 直接证明了 O 抗原在致病机制中的关键作用。直至 20 世纪 50 年代, O 抗原才被最终确认为多糖类物质[24,25]。LPS 这一术语最早见于 1943 年, 最初用于描述一种具有抗肿瘤活性的细菌毒素[26]。1979 年, Lindberg 课题组[27]通过将 *S. typhimurium* 的 O 抗原与白喉毒素和外膜孔蛋白 (porins) 共价偶联, 发现免疫后小鼠能产生 LPS 特异性抗体, 并可显著预防小鼠血流感染。历经几十年, 科学家们最终确认 LPS 即为内毒素, 但其位于细菌表面而非细胞内, 且 OPS 是决定 LPS 毒力和免疫原性的关键因素。这些发现为基于 LPS 的疫苗研发奠定了理论基础。

2.2 多糖疫苗的发展 科学家对细菌多糖的潜在临床应用高度关注。早在 1930 年代, Felton 便尝试用自研的二价肺炎球菌多糖疫苗接种 12 万名男性受试者, 但未获得明确结论[28]。1937 年, 美国马萨诸塞州一精神病院应用莱德利实验室 (Lederle Laboratories) 制备的 1 型肺炎球菌多糖疫苗控制了院内大叶性肺炎的流行[29], 成为 CPS 疫苗临床应用的首个成功案例。1946 年, 施贵宝公司 (Squibb) 曾推出分别针对成人和儿童的两款六价肺炎球菌多糖疫苗[30], 但很快被抗生素取代而撤市。当时抗生素一度被视为“特效药”, 但后续流行病学监测显示, 抗生素的广泛使用不仅未能显著降低 *S. pneumoniae* 感染的死亡率, 反而加速了耐药菌株的出现和进化[31], 金黄色葡萄球菌、脑膜炎奈瑟球菌 (*Neisseria meningitidis*, *N. meningitidis*)、结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 等病原体也出现类似情况[32]。这些问题促使科学家们重新审视疫苗在感染防控中的价值, 为疫苗后续发展提供契机。

20 世纪下半叶, 细菌多糖疫苗迎来了黄金发展时期。在此期间, 许多政府机构、研究所、医药企业开始合作, 共同推进细菌多糖疫苗研发 (表 1)。基于肺炎球菌多糖疫苗的成功经验及荚膜细菌引发的重大公共卫生威胁, 细菌多糖疫苗的研发主要聚焦于 CPS 疫苗领域。1963 年, 世界卫生组织 (World Health Organization, WHO)、法国梅埃厄研究所 (Institut Mérieux) 和法国陆军医疗服务热带医学研究所 (Institut de médecine tropicale du service de santé des armées, IMTSSA) 联合启动 A 群脑膜炎球菌多糖疫苗研发; 沃尔特·里德陆军研究所 (Walter Reed Army Institute of Research, WRAIR) 于 1966 年开展针对 A 群和 C 群 *N. meningitidis* 的多糖疫苗临床试验取得积极结果[33]。1974 年, 首个 A 群 *N. meningitidis* 单价多糖疫苗上市[34], 随后二价、四价脑膜炎球菌多糖疫苗相继问世。在肺炎链球菌疫苗领域, 1968 年, 美国国家过敏和传染病研究所与礼来公司 (Eli Lilly) 签订合同共同开发肺炎球菌多糖疫苗, 礼来在 1975 年停止疫苗研发[35], 而默沙东公司 (Merck Sharp & Dohme) 和莱德利实验室在无政府资金支持的情况下独立研发, 并先后推出了各自研发的覆盖 14 种 *S. pneumoniae* 血清型的多糖疫苗。1983 年, 默沙东和莱德利实验室再创突破, 各自推出二十三价肺炎球菌多糖疫苗 (23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine, PPV23), 涵盖了美国 87% 的 *S. pneumoniae* 流行血清型, 至今仍在全球广泛使用。同年, 英国史克必成公司 (Smith Kline) 研发的十七价肺炎球菌多糖疫苗也获得上市批准[36]。

肺炎球菌和脑膜炎球菌多糖疫苗的成功为其他病原菌多糖疫苗的研发提供重要范式。1950 年代,

Table 1 The development of bacterial capsular polysaccharide vaccines. *S. pneumoniae*: *Streptococcus pneumoniae*; *N. meningitidis*: *Neisseria meningitidis*; *H. influenzae*: *Haemophilus influenzae*; *S. typhi*: *Salmonella typhi*; CIBP: Chengdu Institute of Biological Products; LIBP: Lanzhou Institute of Biological Product; MSD: Merck Sharp & Dohme

Pathogen	Serotype	Target	Developer	Year
S. pneumoniae	1, 2, 3, 5, 7, 8	Adult	Squibb	1946
	1, 4, 6, 14, 18, 19	Child	Squibb	1946
	1, 2, 3, 4, 5, 6A, 7F, 8, 9N, 12F,18C, 19F, 23F, 25F	Child	MSD	1977
		Child	Lederle	1979
	1, 2, 3, 4, 6A, 7F, 8, 9N, 11A, 12F, 14, 15F, 17F, 18C, 19F, 23F, 25	Child	Smith Kline	1983
	1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19F,	Child	MSD	1983
	19A, 20, 22F, 23F, 33F	Child	Lederle	1983
		Child	CIBP	2006
N. meningitidis	A	Child	Mérieux	1974
	A, C, Y, W-135	Child	Sanofi Pasteur	1981
H. influenzae	b	Child	Praxis	1985
S. typhi	/	Child	Sanofi Pasteur	1989
		Child	LIBP	1992

Landy等曾在动物及人体中测试了*S. typhi* CPS (Vi抗原) 的保护效果, 但因抗原制备工艺缺陷导致效果不理想[37]。1974年, Wong等[38]借鉴*S. pneumoniae*和*N. meningitidis*的CPS提取技术, 获得完整的Vi抗原并确证其免疫保护效力。1984年后, 美国国立卫生研究院与巴斯德梅里厄康纳公司 (Pasteur Mérieux Connaught) 合作重启Vi荚膜多糖疫苗研发, 最终于1989年推出全球首支Vi荚膜多糖疫苗——Typhim Vi[37]。1992年, 中国食品药品检定研究院联合6家科研单位, 也成功研制出面向国人的Vi荚膜多糖疫苗[39]。

在CPS疫苗快速发展的同时, LPS疫苗的研发也实现了重要突破, 其中志贺氏菌属疫苗的研究处于领先地位。目前全球范围内唯一获批的LPS疫苗是Shigellvak, 但其使用范围仅限于俄罗斯, 主要活性成分为宋内志贺菌 (*Shigella sonnei*, *S. sonnei*) 的LPS[40]。2000年, WRAIR的研究人员从福氏志贺菌 (*Shigella flexneri*, *S. flexneri*) 中分离出含LPS与高保守性毒力蛋白IpaB和IpaC的复合物, 将其命名为Invaplex, 并以此为基础开发亚单位疫苗[41]。第三代疫苗Invaplex$_{AR\text{-}DETOX}$[42]采用*S. flexneri* 2a的低酰化LPS和重组毒力蛋白, 该策略在降低毒性的同时能够增强免疫原性, 疫苗在2019年的临床试验中展现出良好的耐受性和保护性, 且可诱导免疫记忆。

2.3 多糖结合疫苗的发展 1985年, b型流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenzae* type b, *H. influenzae* b) 荚膜多糖疫苗成功上市[43]。然而, 后续研究发现, 该疫苗及其他多糖疫苗均在免疫系统发育不完善的婴幼儿群体中存在免疫原性不足的问题[44]。因此, 如何提高疫苗免疫原性及延长保护时限成为当时的研究焦点。细菌多糖结合疫苗是解决该困境的主要策略 (表2)。细菌结合疫苗的研发灵感最早源于20世纪20年代末Avery的开创性研究[45], 他通过将半乳糖苷、葡糖苷与马血清球蛋白和卵清白蛋白偶联, 发现偶联物的免疫原性显著提高。

Robbins和Schneerson[46]从Avery的研究中获得启发, 将白喉类毒素 (diphtheria toxoid, DT) 与*H. influenzae* b的CPS (图2)——多聚核糖基核糖醇磷酸 (polyribosyl ribitol phosphate, PRP) 共价偶联。1987年12月, 首支*H. influenzae* b荚膜多糖结合疫苗——ProHIBiT上市[47]。ProHIBiT开创了结合疫苗新纪元, 解决了先前多糖疫苗对婴幼儿免疫原性不足的困境, 在此之后, 不同病原菌的结合疫苗相继问世。1999年, 首款针对C群*N. meningitidis*的结合疫苗Meningitec在英国上市, 蛋白载体采用的是DT的无毒变体CRM197[48]。2005年, 赛诺菲巴斯德公司 (Sanofi Pasteur) 推出了一款以DT为载体的四价脑膜炎球菌结合疫苗Menactra。2001年, 帕斯适宜卫生科技组织 (Program on Appropriate Technology of Health, PATH) 和WHO启动脑膜炎疫苗计划, 专为非洲地区研发了以破伤风类毒素 (tetanus toxoid, TT) 为载体, 针对A群*N. meningitidis*的结合疫苗——MenAfriVac[49], 并于2010年上市。2000年, 惠氏公司 (Wyeth Pharmaceuticals Inc.) 的全球首款七价肺炎球菌结合疫苗 (7-valent pneumococcal conjugate vaccine, PCV7) 获批入市, 覆盖了7种儿童易

Table 2 The development of bacterial capsular polysaccharide conjugate vaccines. TT: Tetanus toxoid; DT: Diphtheria toxoid; HiD: *Haemophilus influenzae* protein D; OMP: Meningococcal outer membrane protein complex; GSK: GlaxoSmithKline; CIGB: The Center for Genetic Engineering and Biotechnology; SII: Serum Institute of India

Pathogen	Serotype	Carrier	Target	Developer	Year
S. pneumoniae	4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F	CRM197	Infant	Wyeth	2000
	1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F, 23F	TT/DT/HiD	Infant	GSK	2009
	1, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 19A, 19F, 23F	CRM197	Infant	SII	2019
	1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 23F	CRM197	Infant	Wyeth	2010
		TT	Infant	Walvax	2020
		TT/DT	Infant	MINHAI	2021
	1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F, 33F	CRM197	Infant	MSD	2021
	1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F, 33F	CRM197	Infant	Pfizer	2021
	3, 6A, 7F, 8, 9N, 10A, 11A, 12F, 15A, 15C, 16F, 17F, 19A, 20A, 22F, 23A, 23B, 24F, 31, 33F, 35B	CRM197	Adult only	MSD	2024
N. meningitidis	C	CRM197	Infant	Wyeth	1999
		CRM197	Infant	Chiron	2000
		TT	Infant	Baxter	2000
	A, C, W135, Y	DT	Infant	Sanofi Pasteur	2005
	A	TT	Infant	SII	2010
H. influenzae	b	DT	Infant	Connaught	1987
		OMP	Infant	MSD	1989
		TT	Infant	CIGB	2004
S. typhi	/	TT	Infant	Bharat Biotech	2018

感的 *S. pneumoniae* 血清型。2010 年, 惠氏/辉瑞 (Pfizer) 再次推出在全球广泛使用的十三价肺炎球菌结合疫苗 (PCV13)——沛儿 13 (Prevnar 13)[50]。沛儿 13 在 2017 年的市场销售额高达 56.9 亿美元, 占全球疫苗市场份额的 20%。中国沃森生物自主研发的 PCV13——沃安欣, 于 2020 年成功获批[51], 标志着我国在该领域的重大突破。

结合疫苗中的经典载体蛋白包括 DT、TT 和 CRM197。DT 和 TT 分别是白喉杆菌毒素和破伤风梭菌毒素经甲醛脱毒处理后的类毒素。CRM197 是白喉毒素的变体, 它的第 52 位谷氨酸被突变为甘氨酸, 保留免疫原性且无须脱毒处理, 安全性更强。随着结合疫苗种类及覆盖血清型的增多, 以上三种载体蛋白的频繁使用可能导致载体抑制效应, 影响疫苗效力。近些年来, 部分结合疫苗的研发也会选择其他新型载体蛋白, 如流感嗜血杆菌蛋白 D (*Haemophilus influenzae* protein D, HiD)、脑膜炎球菌外膜蛋白复合物 (outer membrane protein complex, OMP) 及重组铜绿假单胞菌外毒素 A (recombinant *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A, EPA)。双载体或多载体疫苗也逐渐受到重视, 如 2009 年葛兰素史克公司 (GlaxoSmithKline) 推出的十价肺炎球菌结合疫苗 Synflorix 同时使用 TT、DT、HiD 三种载体; 我国 2021 年也获批了同时使用 TT 和 DT 的双载体 PCV13 维民菲宝。

为提高疫苗免疫原性, 多数基于 LPS 的在研疫苗也采用与载体蛋白偶联的策略, 且仅保留了毒性弱的 OPS 抗原, 称为 OPS 疫苗。如前所述, 志贺氏菌疫苗在 LPS 疫苗领域的发展相对领先。LimmaTech 公司研发的 Shigella4V[52]含有四种常见致病志贺氏菌的 OPS, 包括 *S. flexneri* 血清型 2a、3a、6 和 *S. sonnei*, 该疫苗于 2024 年 10 月被美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 授予快速通道资格, 是 OPS 疫苗发展的一大里程碑。智飞绿竹公司 (Zhifei Lvzhu) 研发的二价结合疫苗 ZF0901[53]包含 *S. flexneri* 2a 和 *S. sonnei* 的 OPS, 正在推进 III 期临床试验。Flexyn2a 是针对 *S. flexneri* 2a 的生物合成单价 OPS 结合疫苗, 采用 EPA 载体, 2021 年已完成 IIb 期临床试验[54]。SF2a-TT15 是由巴斯德研究所 (Institut Pasteur) 研发的 *S. flexneri* 2a 单价 OPS 结合疫苗, 目前已完成 II 期临床试验[52]。除志贺氏菌外, 近年来高度耐药病原菌的 OPS 疫苗研发也有所进展。针对肠外致病性大肠杆菌 (extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, ExPEC) 的四价 OPS 疫苗 ExPEC4V, 2019 年已完成 II 期临床试验[55]。Bahy 等[56]将 *K. pneumoniae* 和铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 的 LPS 与牛血清白蛋白偶联, 在小鼠体内进行了初步评价, 结果表明免疫后的小鼠可以抵御致死剂量的细菌感染。

3 细菌多糖疫苗与疾病

3.1 肺炎链球菌 *S. pneumoniae* 为革兰阳性菌, 定植在人体鼻咽部, 引起肺炎链球菌疾病 (pneumococcal diseases, PD), 包括中耳炎、鼻窦炎等非侵袭性肺炎链球菌疾病 (non-invasive pneumococcal diseases, NIPD) 以及肺炎、败血症和脑膜炎等侵袭性肺炎球菌性疾病 (invasive pneumococcal disease, IPD)[57], 易感人群集中于 5 岁以下儿童及 65 岁以上老人。荚膜基因高度可变, 目前已鉴定一百多种血清型[58]。

肺炎球菌疫苗的使用显著降低 IPD 的发生。肺炎链球菌结合疫苗保护效率显著优于肺炎球菌多糖疫苗。Dunne 等[59]基于九份来自三个发达国家的观察性报告, 分析总结发现, PCV13 对疫苗涵盖血清型的肺炎球菌性肺炎的保护效力为 41%～71%, 而 PPV23 为 2%～6%, 进一步证实了 PCV13 的优越性。在 PCV7 和 PCV13 获批后的几年内, 美国 5 岁以下儿童 IPD 发生率分别下降了 76% 和 67%[60,61]。PCV13 对儿童中耳炎以及老年人社区获得性肺炎也有保护效果[62,63]。

但 *S. pneumoniae* 依然是造成细菌性感染的主要病原菌, 2019 年全球因 *S. pneumoniae* 感染死亡病例仍高达 82.9 万[5]。究其原因, 一方面在于中低收入国家疫苗接种率仍较低, 另一方面在于血清型置换 (serotype replacement) 现象无法避免。疫苗在降低疫苗血清型流行率的同时, 也让非疫苗血清型有机可乘。中国引入 PCV13 前, 流行的血清型以 19F、19A、23F、14 和 6B 为主[64], 而 2016 年 PCV13 疫苗引入后非 PCV13 血清型引起的病例也显著增加, 如 15A[65]。其他国家非 PCV13 血清型 8、9N、10A、12F、15A 的流行率明显上升[66,67]。这些发现表明, 疫苗需持续优化以应对细菌的适应性进化。

提高疫苗血清型覆盖率是缓解血清型置换的主要策略。近年来, 更高价多糖结合疫苗的研发取得显著进展。2021～2024 年间, FDA 先后批准十五价、二十价和二十一价肺炎球菌结合疫苗上市 (表 2)。在可及性方面, 印度血清研究所 (Serum Institute of India) 于 2019 年推出完全自主研发的 PCV10——PNEUMOSIL[68], 有效降低了中低收入国家的疫苗成本。我国推出首个国产 PPV23 后, 沃森生物、民海生物、科兴和智飞绿竹也相继推出各自研发的肺炎球菌疫苗 (表 3), 成功打破进口疫苗的垄断, 降低疫苗价格。还有许多国产结合疫苗正处于不同的研发阶段, 如康希诺的双载体 PCV13 已在申请上市, 复星安特金的 PCV13 正在 III 期临床招募, 智飞绿竹和坤力生物正分别推进十五价

Table 3 Licensed bacterial polysaccharide vaccines by Chinese companies. WIBP: Wuhan Institute of Biological Product

Pathogen	Vaccine category	Developer	Year
S. pneumoniae	23-Valent polysaccharide vaccine	Walvax	2017
		MINHAI	2018
		Sinovac	2020
	13-Valent conjugate vaccine	Walvax	2019
		MINHAI	2021
N. meningitidis	Group A polysaccharide vaccine	LIBP	2001
	2-Valent polysaccharide vaccine	LIBP	2007
		Toyouvax	2007
		Zhifei Lvzhu	2011
		Walvax	2012
	4-Valent polysaccharide vaccine	Toyouvax	2007
		Zhifei Lvzhu	2007
		Walvax	2012
		AIM	2018
	4-Valent conjugate vaccine	CanSino	2021
	2-Valent conjugate vaccine	Royalbio	2006
		Zhifei Lvzhu	2007
		Walvax	2009
		Simcere	2012
		Olymvax	2020
		CanSino	2021
H. influenzae	Type b conjugate vaccine	LIBP	2003
		Walvax	2007
		Zhifei Lvzhu	2011
		MINHAI	2012
		Olymvax	2017
S. typhi	Vi polysaccharide vaccine	WIBP	1992

和二十价结合疫苗的临床研究。

目前涵盖更多血清型的多糖结合疫苗的研发也如火如荼 (表4)[55, 69-76]。Vaxcyte公司的二十四价结合疫苗已获FDA授予的突破性疗法认定, 并仍在继续开发三十一价结合疫苗; Inventprise公司开发的二十五价结合疫苗正在推进II期临床试验。我国的坤力生物、瑞宙生物和科兴中维各自研发的二十四价结合疫苗, 以及智飞绿竹研发的二十六价结合疫苗也已进入临床试验阶段。

3.2 脑膜炎奈瑟球菌 *N. meningitidis*为革兰阴性菌, 是细菌性脑膜炎的主要病原体, 2岁以下婴幼儿和青少年为高危人群。目前共发现13种血清群, 其中A、B、C、W135、X、Y群侵袭性最强[77,78]。

非洲的A群*N. meningitidis*疫情负担最严重, 尤其是撒哈拉以南横跨塞内加尔和埃塞俄比亚之间的“脑膜炎带” (meningitis belt)。引入A群结合疫苗MenAfriVac后, 脑膜炎球菌病发病率急剧下降, 解除了该地区的疫情危机[79]。Trotter等[80]分析了2005～2015年脑膜炎带9个国家的疾病监控数据, 发现疫苗接种群体脑膜炎疑似病例的发生率与未接种群体相比下降了57%。非洲之外, 约一半的脑膜炎球菌性脑膜炎由B群*N. meningitidis*引起, 但由于B群*N. meningitidis*的CPS结构与人体多聚唾液酸相似, 不适合作为疫苗靶标, 目前主要通过蛋白疫苗防控[81,82]。20世纪90年代, C群*N. meningitidis*在英国青少年群体中流行, 美国国家疫苗评估联盟 (National Vaccine Evaluation Consortium) 与百特 (Baxter)、惠氏和巨浪 (Chiron) 三家疫苗制造商合作开发C群结合疫苗[48]。疫苗上市后一年内, 英格兰和威尔士地区C群*N. meningitidis*的确诊病例数与上市前一年同期相比总体下降了81%[48]。2005年起美国引入首支四价多糖结合疫苗后, 十年间11～20岁人群中A、C、W135和Y群*N. meningitidis*的发病率整体下降76%[83]。

全球已有76个国家将脑膜炎球菌疫苗纳入国家免疫规划, 其中有68个国家纳入了结合疫苗[84]。中国已将A群和A/C群多糖疫苗纳入免疫规划, 同时市场上提供多种品牌的二价和四价自费接种疫苗 (表3)。

3.3 流感嗜血杆菌 *H. influenzae*为革兰阴性菌, 可引起细菌性脑膜炎和脓毒症等疾病, 目前可以分为a到f六个荚膜血清型, 超过95%的感染由*H. influenzae* b引起。该菌主要威胁4～12月龄婴幼儿, 可引起脑膜炎等严重疾病, 预后可能遗留中枢神经系统问题, 如癫痫、耳聋甚至智力低下。疫苗极大缓解*H. influenzae* b危机。1991年, *H. influenzae* b结合疫苗应用于2月龄婴儿后, 美国南加州三年内儿童感染率下降95%, 明尼

Table 4 Other representative candidate bacterial polysaccharide vaccines. GRCAS: Genomics Research Center, Academic Sinica; *E. coli*: *Escherichia coli*; *K. pneumoniae*: *Klebsiella pneumoniae*

Pathogen	Vaccine category	Developer	Phase	Status
S. pneumoniae	24-Valent conjugate vaccine	GSK	I/II	Completed[69,70]
		Vaxcyte	II	Completed[71,72]
	25-Valent conjugate vaccine	Inventprise	II	Active
	26-Valent conjugate vaccine	Zhifei Lvzhu	I/II	Recruiting
	31-Valent conjugate vaccine	Vaxcyte	II	Recruiting
	Biosynthetic vaccine	Omnio	/	Preclinical[73]
S. typhi	Protein capsular matrix vaccine	Matrivax	I	Completed[74]
E. coli	Biosynthetic vaccine	Johnson & johnson	II	Completed[55]
K. pneumoniae	Biosynthetic vaccine	VaxNewMo	/	Preclinical[75]
	Chemosynthetic vaccine	GRCAS	/	Preclinical[76]

苏达州和德克萨斯州达拉斯的感染率降低超过80%[85]。

Bencomo和Roy等于1989年启动基于*H. influenzae* b荚膜多糖的化学合成疫苗研究, 耗时14年, Quimi-Hib于2018年成功上市[86]。这是全球首支纯化学合成的细菌多糖疫苗, 产品安全且质优价廉。这对处在当时国际环境下的古巴是一大壮举, 对于全球多糖疫苗研发领域也是一个巨大的突破。*H. influenzae* b疫苗已纳入多国免疫规划政策, 中国暂未纳入, 但有许多上市产品可自费接种 (表3)。

3.4 伤寒和副伤寒沙门氏菌 伤寒沙门氏菌和副伤寒沙门氏菌 (*Salmonella paratyphi*, *S. paratyphi*) 为肠杆菌科沙门氏菌属的革兰阴性菌。两种病原菌展现出高毒力与侵袭性, 主要通过粪–口传播。绝大多数*S. typhi*都表达一种特殊的荚膜多糖, 又称Vi抗原, 由*O*-乙酰化的*N*-乙酰半乳糖糖醛酸残基通过α-1,4糖苷键连接而成 (图2)[87]。*S. paratyphi*则缺乏荚膜结构。临床上副伤寒主要由*S. paratyphi*血清型A、B或C引起, 症状与伤寒类似, 但死亡率较低。全球流行病学监测数据显示, 1990～2017年间伤寒与副伤寒病例从2 590万降至1 430万例, 这可能得益于公共卫生改善和医疗干预[88]。然而, 在资源有限地区, 耐药菌的出现为疫情控制带来新的挑战, 因此针对这两种病原菌的疫苗研发工作仍具有重要的公共卫生价值。

1988年, 首支Vi荚膜多糖疫苗上市, 30年后2018年, 首支伤寒结合疫苗——Typbar TCV成功上市 (表2), 由印度Bharat Biotech公司研制, 在暴发耐药菌伤寒疫情的巴基斯坦地区有良好的保护效果[89]。*S. paratyphi*疫苗开发主要集中于OPS (O:2), 且多采用与伤寒结合疫苗联合的二价疫苗[90], 暂无产品上市。

4 细菌多糖疫苗对人体的保护机制

4.1 疫苗诱导保护性抗体 多糖疫苗的免疫保护主要依赖于抗体介导的体液免疫应答 (图3), CPS和LPS均为胸腺非依赖性抗原 (thymus independent antigen, TI-Ag), 其诱导的免疫应答缺乏T细胞参与, 不形成生发中心, 也不发生抗体类型转换, 最终主要产生低亲和力的IgM[91]。这种免疫特性导致多糖疫苗对免疫系统发育尚未完善的婴幼儿以及免疫功能衰退的老年人群体保护效果有限。

通过将多糖与载体蛋白偶联, 可将TI-Ag转变为胸腺依赖性抗原 (thymus dependent antigen, TD-Ag)。初次免疫过程中, 多糖–蛋白偶联物被抗原呈递细胞摄入, 于溶酶体内降解为小分子肽段, 肽段与主要组织相容性复合体II (major histocompatibility complex II, MHC II) 结合形成MHC II:肽复合物, 并呈递至细胞表面。在次级淋巴组织中MHC II:肽复合物与初级T细胞受体结合, 使初级T细胞活化为滤泡辅助性T细胞 (follicular helper T cell, Tfh)。与此同时, 初级B细胞通过B细胞受体识别并结合抗原, 内化后同样将抗原肽以MHC II-肽复合物的形式呈递抗原, 并转移至细胞表面等待Tfh。Tfh活化B细胞, 促进B细胞增殖分化, 形成生发中心, 最终产生高亲和力的IgG和记忆性B细胞[92]。另有研究认为偶联物在溶酶体中降解时共价键可能保留, 形成的糖–肽复合物能被同时呈递, 刺激多糖特异性T细胞形成, 最终产生多糖特异性IgG抗体[93]。

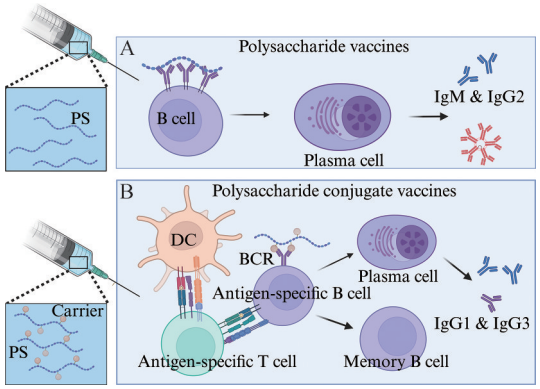


Figure 3 Different mechanisms of bacterial polysaccharide vaccines and conjugate vaccines in inducing antibodies. A: Polysaccharide vaccines; B: Conjugate vaccines. PS: Polysaccharide, BCR: B cell receptor, DC: Dendritic cell (Created with BioRender.com)

疫苗诱导产生的抗体能特异性识别细菌多糖, 通过经典途径激活补体系统, 形成攻膜复合物裂解细菌, 或通过补体–补体受体及抗体Fc片段-Fc受体的结合促进细菌的调理吞噬作用。

4.2 肝脏的清除作用 人们普遍认为, 血源性细菌的清除主要依赖血液循环中的抗体和中性粒细胞, 而最新研究表明, 肝脏对*S. pneumoniae*、*K. pneumoniae*及*E. coli*的体内清除起关键作用[94,95]。肝脏枯否细胞 (Kupffer cells, KCs) 占总巨噬细胞数量的90%[96], 捕获血源性细菌能力强大。无特异性抗体时, KCs可通过唾液酸糖蛋白受体 (asialoglycoprotein receptor, ASGR) 直接识别*S. pneumoniae*血清型7F和14的CPS[95]; 也可经血浆天然抗体间接捕捉病原菌, 如10A、39血清型*S. pneumoniae*和K50血清型*K. pneumoniae*[97]。疫苗诱导的抗体对细菌的清除也依赖于肝脏。Wang等[98]发现, PPV23和PCV13通过不同的机制介导病原菌在肝脏中的捕获 (图4)。PPV23诱导的抗体以IgM为主。IgM可促进补体分子C3在细菌表面的沉积, 并与KCs表面的补体受体CR3和CRIg结合间接捕捉细菌。

PCV13诱导的抗体以IgG为主。IgG可与KCs表面的受体FcγRs和肝窦内皮细胞 (liver sinusoidal endothelial cells, LSECs) 表面的受体FcγRIIB结合, 直接捕捉细菌并介导后续杀伤。该研究以*S. pneumoniae*为代表, 阐释了疫苗保护人体的新机制, 也从新视角解释结合疫苗保护效果更优的关键因素。

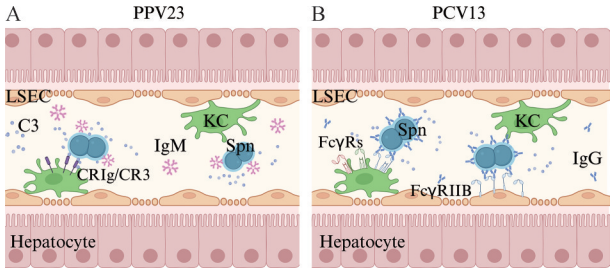


Figure 4 Different mechanisms of PPV23 and PCV13 in liver-based immunoprotection. PPV23: 23-Valent pneumococcal polysaccharide vaccine; LSEC: Liver sinusoidal endothelial cell; KC: Kupffer cell; CR: Compelment receptor; Spn: *Streptococcus pneumoniae* (Created with BioRender.com)

5 未来细菌多糖疫苗的发展

5.1 合成糖疫苗 大多上市及在研产品仍依赖病原菌发酵提取获得细菌多糖, 程序复杂, 生产成本及质控成本都很高, 难以惠及中低收入地区。化学合成和生物合成是两种具有潜力的替代方案。

化学合成多糖技术具有反应条件可控, 无细菌成分残留等优势。继Quimi-Hib上市后, 化学法合成的细菌多糖类型不断拓展。以巴斯德研究所开发的SF2a-TT15针对*S. flexneri* 2a的LPS候选疫苗为例[99], 该疫苗主要成分为化学合成的*S.flexneri* 2a OPS的3个重复单元, 多糖与TT偶联, I期临床试验展现出良好的抗体诱导功能及长久的记忆B细胞反应性。此外, Ravinder等[76]合成了*K. pneumoniae*血清型K2的CPS四糖重复单元, 与载体蛋白DT偶联, 通过逐步延伸糖链的策略, 已筛选出免疫效果最优的七糖偶联物。

生物合成多糖疫苗依托蛋白质糖链偶联技术 (protein glycan coupling technology, PGCT)[100,101], 通过在工程化底盘细胞中完成多糖的生物合成, 并利用不同细菌来源的寡糖转移酶 (oligosaccharyltransferase, OST) 实现蛋白糖基化的精准调控。该技术具有产物均一性高、工艺流程简化、生产成本低且环境友好的优势。目前, 来自弯曲空肠杆菌 (*Campylobacter jejuni*) 的N-糖基化寡糖转移酶PglB[102]以及来自脑膜炎奈瑟球菌的O-糖基化寡糖转移酶PglL[103]已用于LPS疫苗开发, 如前文部分提及的Flexyn2a和ExPEC4V两种OPS疫苗均依赖于PglB生物合成。然而, 两种酶无法催化还原端为葡萄糖的多糖, 而约75%的*S. pneumoniae*以及超过50% *K. pneumoniae*的CPS都含有该结构[9]。Harding等[73,75,100,104]发现的PglS突破了这一瓶颈, 并据此开发出针对*K. pneumoniae*血清型K1和K2的二价结合疫苗, 以及针对8型*S. pneumoniae*的CPS8-EPA^{iGTcc}。动物实验证实, 两款疫苗均能产生特异性IgG抗体并且具有保护效果。

5.2 新型载体蛋白−多糖偶联技术平台 结合疫苗的开发关键在于载体蛋白选择和偶联技术。虽然化学偶联法已较为成熟, 但其随机偶联特性可能破坏抗原表位, 影响免疫原性。为此, 国内外公司积极创新, 引入或自主研发了各种新技术助力疫苗研发, 已有多款疫苗进入临床试验阶段 (表4)。

葛兰素史克公司开发可模块化的多抗原呈递系统 (multiple antigen presenting system, MAPS)[105], 基于生物素−根核亲和素 (biotin-rhizavidin) 的非共价相互作用原理, 将多糖与生物素基团连接, 载体蛋白与根核亲和素融合, 使多糖与载体间接结合。该技术可完整保留载体蛋白的抗原表位, 并可灵活组合不同多糖与蛋白, 或能扩大血清型覆盖率。基于MAPS的疫苗Pn-MAPS24v已完成婴儿I期临床试验[105], 此外, 疫苗采用两种肺炎球菌蛋白的融合载体, 蛋白抗原和多糖抗原协同增强疫苗保护性[69]。

Sutro Biopharma公司开发的无细胞蛋白合成平台XpressCF®利用从细胞提取的转录翻译物质实现体外蛋白合成。Vaxcyte基于XpressCF®优化了CRM197, 将蛋白中的赖氨酸残基替换为非天然氨基酸, 得到增强型载体蛋白eCRM[106]。非天然氨基酸可替代潜在偶联位点, 降低偶联异质性, 还能使蛋白抗原表位稳定暴露而不影响结构完整性。eCRM已应用于肺炎球菌结合疫苗Vax24和Vax31研发。

Thanawastien等[107]的研究显示, 载体蛋白与多糖的共价结合并非将TI-Ag转化为TD-Ag的必要条件。他们开发的蛋白荚膜基质疫苗 (protein capsular matrix vaccines) 通过非共价包埋多糖抗原, 可诱导与结合疫苗相当的免疫反应, 且工艺更简单, 生产成本更低。如针对*S. typhi*的疫苗Typhax, 将Vi多糖包埋于CRM197与*α*-聚-*L*-赖氨酸形成的交联物中, 已完成I期临床试验[108]。

5.3 疫苗功能评估方法 疫苗的保护效果主要依赖适应性免疫应答及免疫记忆的持久性。体外评估指标有抗体滴度、抗体介导补体杀伤作用、抗体的中和作用和调理吞噬作用等, 临床前体内评估多基于动物模型[109]。酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 是测量抗体滴度的经典方案, 是判断疫

苗免疫原性的重要依据; 血清杀菌活性测定 (serum bactericidal activity, SBA) 是脑膜炎球菌疫苗检测的金标准, 主要检测体外特异性抗体介导的补体杀菌情况[110]。测定调理吞噬作用的方法不断在更新改进, 最早的调理吞噬细胞杀伤检测 (opsonophagocytic killing assay, OPKA) 所需血清样品量大, 操作繁琐, Nahm等[111]将其改进为多特异性调理吞噬杀伤测定 (multi-specificity opsonophagocytosis killing assay, MSOPKA), 可一次性检测两种血清型细菌的杀伤能力。Bogaert等[112]基于MSOPKA进一步优化, 开发出多重调理吞噬试验 (multiplex opsonophagocytosis assay, MOPA), 一次性检测的血清型高达七种, 已在肺炎球菌疫苗研发领域广泛应用。

然而, 现行评估体系均有局限性[113]。抗体滴度不能代表真实的保护效果, 单一保护阈值也难以适用于所有同类型疫苗。尽管MOPA具有一定有效性, 但仍无法准确反映真实世界的保护效果, 这说明疫苗功能评价体系面临着理论与实际相矛盾的问题。Tian等[114]基于肝脏免疫功能的疫苗保护机制, 建立了一种新的体内疫苗评价系统LOCKS (liver-based opsono-capture and killing system), 通过计算血流细菌清除率、细菌被肝脏捕捉的比例以及被肝窦细胞捕捉的个数, 实现在体内真实评估保护性抗体介导病原菌清除能力。该系统灵敏度高, 适用范围广, 有望为未来的疫苗设计和评价提供功能指导。

6 总结

细菌性疾病作为全球公共卫生面临的重大挑战, 长期以来对人类健康构成持续性威胁。早期细菌疫苗主要采用全细胞疫苗技术, 随着对荚膜多糖和脂多糖免疫原性机制的深入解析, 细菌多糖疫苗逐渐发展为重要研究方向。目前, 针对肺炎链球菌、b型流感嗜血杆菌、脑膜炎奈瑟球菌、伤寒沙门氏菌等病原体的多糖疫苗已成功实现临床应用, 另有多种针对其他致病菌的多糖疫苗正处于临床试验或临床前研究阶段。然而, 多糖疫苗因其T细胞非依赖性免疫特性, 存在免疫原性较弱的缺陷, 尤其在2岁以下婴幼儿及老年人群中无法诱导有效免疫应答。通过将多糖抗原与蛋白载体共价偶联, 可将其转化为胸腺依赖性抗原, 不仅能增强免疫记忆反应, 提高保护持久性, 更能扩展疫苗适用人群范围。

为进一步提高疫苗保护效力和生产成本效益, 近年来涌现出诸多新的化学和生物合成技术及偶联方法。在疫苗评估方面, 现有指标仍存在明显局限性, 因此亟需建立更科学、系统的评估体系。未来, 随着疫苗学理论和技术的持续突破, 将有更多新型的细菌多糖疫苗问世, 为全球传染病防控提供更有效的干预手段。

作者贡献: 黄荷淇负责资料收集、论文撰写、修改与图表绘制; 金倩负责论文修改完善; 王娟娟负责绘图指导及论文修改; 张敬仁负责确定论文选题和写作指导、论文审阅及定稿。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

[1] Micoli F, Bagnoli F, Rappuoli R, et al. The role of vaccines in combatting antimicrobial resistance [J]. Nat Rev Microbiol, 2021, 19: 287-302.

[2] Raetz CRH, Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins [J]. Annu Rev Biochem, 2002, 71: 635-700.

[3] An H, Liu Y, Qian C, et al. Chapter 5-Bacterial capsules [M]// Tang YW, Hindiyeh MY, Liu D, et al. Molecular Medical Microbiology (Third Edition). New York: Academic Press, 2024: 69-96.

[4] Toukach PV. Bacterial carbohydrate structure database 3: principles and realization [J]. J Chem Inf Model, 2011, 51: 159-170.

[5] GBD 2019 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. Lancet, 2022, 400: 2221-2248.

[6] Eberth CJ. The organisms in the organs in abdominal typhus [J]. Arch Pathol Anat Physiol Klin Med, 1880, 81: 58-74.

[7] Pasteur L. Note on the new disease caused by the saliva of a child who died of rabies [J]. Recl Med Vet, 1881, 58: 120-129.

[8] Sternberg GM, Woodward JJ. A Fatal Form of Septicaemia In The Rabbit Produced By The Subcutaneous Injection of Human Saliva: An Experimental Research [M]. Baltimore: John Murphy & Company, 1881.

[9] Geno KA, Gilbert GL, Song JY, et al. Pneumococcal capsules and their types: past, present, and future [J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28: 871-899.

[10] Kruse W, Pansini S. Studies on *Diplococcus pneumoniae* and related Streptococci [J]. J Hyg Infect Dis, 1892, 11: 279-380.

[11] Dochez AR, Avery OT. The elaboration of specific soluble substance by pneumococcus during growth [J]. J Exp Med, 1917, 26: 477-493.

[12] Felton LD, Bailey GH. Biologic significance of the soluble specific substances of pneumococci [J]. J Infect Dis, 1926, 38: 131-144.

[13] Heidelberger M, Avery OT. The soluble specific substance of pneumococcus: second paper [J]. J Exp Med, 1924, 40: 301-317.

[14] Heidelberger M, Avery OT. The soluble specific substance of pneumococcus [J]. J Exp Med, 1923, 38: 73-79.

[15] Schiemann O, Casper W. Are the specifically precipitable substances of the 3 *Pneumococcus* types haptens? [J]. J Hyg

Infect Dis, 1927, 108: 220-257.

[16] Dubos R, Avery OT. Decomposition of the capsular polysaccharide of pneumococcus type III by a bacterial enzyme [J]. J Exp Med, 1931, 54: 51-71.

[17] Avery OT, Dubos R. The protective action of a specific enzyme against type III pneumococcus infection in mice [J]. J Exp Med, 1931, 54: 73.

[18] Avery OT, Macleod CM, Mccarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: introduction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction idolated from pneumococcus type III [J]. J Exp Med, 1944, 79: 137-158.

[19] Cross AS. Hit 'em where it hurts: Gram-negative bacterial lipopolysaccharide as a vaccine target [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2023, 87: e0004522.

[20] Di Lorenzo F, Duda KA, Lanzetta R, et al. A journey from structure to function of bacterial lipopolysaccharides [J]. Chem Rev, 2022, 122: 15767-15821.

[21] Morgan HR. Active immunization with purified somatic antigens of *Eberthella typhosa*, *Salmonella paratyphi*, and *Salmonella schottmuelleri* [J]. Am J Public Health Nations Health, 1945, 35: 614-620.

[22] Cavaillon JM. André Boivin: a pioneer in endotoxin research and an amazing visionary during the birth of molecular biology [J]. Innate Immun, 2020, 26: 165-171.

[23] Salmonella Subcommittee of the Nomenclature Committee of the International Society for Microbiology. The Genus *Salmonella Lignieres*, 1900 [J]. J Hyg (Lond), 1934, 34: 333-350.

[24] Staub AM, Tinelli R, Luderitz O, et al. Immunochemical study of *Salmonella*. V. role of various sugars, especially 3, 6-bis-desoxyhexoses, in the specificity of Kauffmann-White O antigens [J]. Ann Inst Pasteur, 1959, 96: 303-332.

[25] Staub AM, Tinelli R. Attempted identification of O antigens of *Salmonellae* by means of periodic oxidation of specific polysaccharides [J]. C R Hebd Seances Acad Sci, 1956, 243: 1460-1463.

[26] Silipo A, De Castro C, Lanzetta R, et al. Lipopolysaccharides [M]//Konig H, Claus H, Varma A. Prokaryotic Cell Wall Compounds: Structure and Biochemistry. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2010: 133-153. https://doi. org/10.1007/978-3-642-05062-6_4

[27] Svenson SB, Nurminen M, Lindberg AA. Artificial *Salmonella* vaccines: O-antigenic oligosaccharide-protein conjugates induce protection against infection with *Salmonella typhimurium* [J]. Infect Immun, 1979, 25: 863-872.

[28] Grabenstein JD, Klugman KP. A century of pneumococcal vaccination research in humans [J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18: 15-24.

[29] Smillie WG, Warnock GH, White HJ. A study of a type I pneumococcus epidemic at the state hospital at Worcester, Mass [J]. Am J Public Health Nations Health, 1938, 28: 293-302.

[30] Heidelberger M, Mac LC, Di Lapi MM. The human antibody response to simultaneous injection of six specific polysaccharides of pneumococcus [J]. J Exp Med, 1948, 88: 369-372.

[31] Weisblum B. Pneumococcus resistant to erythromycin and lincomycin [J]. Lancet, 1967, 1: 843-844.

[32] Whitehead JE. Bacterial resistance: changing patterns of some common pathogens [J]. Br Med J, 1973, 2: 224-228.

[33] Baylac-Paouly B. Vaccine development and collaborations: lessons from the history of the meningococcal A vaccine (1969-73) [J]. Med Hist, 2019, 63: 435-453.

[34] Erwa HH, Haseeb MA, Idris AA, et al. A serogroup A meningococcal polysaccharide vaccine: studies in the Sudan to combat cerebrospinal meningitis caused by *Neisseria meningitidis* group A [J]. Bull World Health Organ, 1973, 49: 301-305.

[35] United States Congress Office of Technology Assessment. A review of selected federal vaccine and immunization policies [R]. Washington DC: Govt Printing Office, 1979.

[36] Tillmann W, Burow M, Schröter W. Infection prevention following splenectomy: protective effect of a new 17-valent pneumococcal vaccine [J]. Mon J Pediatr, 1983, 131: 848-852.

[37] Hessel L, Debois H, Fletcher M, et al. Experience with *Salmonella typhi* Vi capsular polysaccharide vaccine [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1999, 18: 609-620.

[38] Wong KH, Feeley JC, Northrup RS, et al. Vi antigen from *Salmonella typhosa* and immunity against typhoid fever. I. Isolation and immunologic properties in animals [J]. Infect Immun, 1974, 9: 348-353.

[39] Yang HH, Wu CG, Xie GZ, et al. Efficacy trial of Vi polysaccharide vaccine against typhoid fever in south-western China [J]. Bull World Health Organ, 2001, 79: 625-631.

[40] Raso MM, Arato V, Gasperini G, et al. Toward a *Shigella* vaccine: opportunities and challenges to fight an antimicrobial-resistant pathogen [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24: 4649.

[41] Turbyfill KR, Hartman AB, Oaks EV. Isolation and characterization of a *Shigella flexneri* invasin complex subunit vaccine [J]. Infect Immun, 2000, 68: 6624-6632.

[42] Turbyfill KR, Clarkson KA, Oaks EV, et al. From concept to clinical product: a brief history of the novel *Shigella* Invaplex vaccine's refinement and evolution [J]. Vaccines (Basel), 2022, 10: 548.

[43] Hib vaccine introduced, guidelines on usage given [N]. AAP News, 1985, 1: 3-8.

[44] Granoff DM, Cates KL. *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide vaccines [J]. J Pediatr, 1985, 107: 330-336.

[45] Avery OT, Goebel WF. Chemo-immunological studies on conjugated carbohydrate-proteins: II. Immunological specificity of synthetic sugar-protein antigens [J]. J Exp Med, 1929, 50: 533.

[46] Schneerson R, Barrera O, Sutton A, et al. Preparation, characterization, and immunogenicity of *Haemophilus influenzae* type b

polysaccharide-protein conjugates [J]. J Exp Med, 1980, 152: 361-376.

[47] Ward J. Prevention of invasive *Haemophilus influenzae* type b disease: lessons from vaccine efficacy trials [J]. Vaccine, 1991, 9 Suppl: S17-S24; discussion S25.

[48] Miller E, Salisbury D, Ramsay M. Planning, registration, and implementation of an immunisation campaign against meningococcal serogroup C disease in the UK: a success story [J]. Vaccine, 2001, 20: S58-S67.

[49] Tiffay K, Jodar L, Kieny MP, et al. The evolution of the meningitis vaccine project [J]. Clin Infect Dis, 2015, 61 Suppl 5: S396-S403.

[50] Duggan ST. Pneumococcal polysaccharide conjugate vaccine (13-valent, adsorbed) [prevenar 13®] [J]. Drugs, 2010, 70: 1973-1986.

[51] Zhao Y, Li G, Xia S, et al. Immunogenicity and safety of a novel 13-valent pneumococcal vaccine in healthy Chinese infants and toddlers [J]. Front Microbiol, 2022, 13: 870973.

[52] Cohen D, Atsmon J, Artaud C, et al. Safety and immunogenicity of a synthetic carbohydrate conjugate vaccine against *Shigella flexneri* 2a in healthy adult volunteers: a phase 1, dose-escalating, single-blind, randomised, placebo-controlled study [J]. Lancet Infect Dis, 2021, 21: 546-558.

[53] Mo Y, Fang W, Li H, et al. Safety and immunogenicity of a *Shigella* bivalent conjugate vaccine (ZF0901) in 3-month- to 5-year-old children in China [J]. Vaccines (Basel), 2021, 10: 33.

[54] Clarkson KA, Talaat KR, Alaimo C, et al. Immune response characterization in a human challenge study with a *Shigella flexneri* 2a bioconjugate vaccine [J]. EBioMedicine, 2021, 66: 103308.

[55] Frenck RW Jr, Ervin J, Chu L, et al. Safety and immunogenicity of a vaccine for extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ESTELLA): a phase 2 randomised controlled trial [J]. Lancet Infect Dis, 2019, 19: 631-640.

[56] Bahy R, Fatyan E, Saafan AE, et al. Preparation and evaluation of a new combined conjugated vaccine against *Klebsiella pneumonia* and *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Appl Microbiol, 2022, 133: 1543-1554.

[57] Drijkoningen JJC, Rohde GGU. Pneumococcal infection in adults: burden of disease [J]. Clin Microbiol Infect, 2014, 20: 45-51.

[58] Ganaie F, Saad Jamil S, Mcgee L, et al. A new pneumococcal capsule type, 10D, is the 100th serotype and has a large *cps* fragment from an oral streptococcus [J]. mBio, 2020, 11: e00937-20.

[59] Dunne EM, Cilloniz C, Von Mollendorf C, et al. Pneumococcal vaccination in adults: what can we learn from observational studies that evaluated PCV13 and PPV23 effectiveness in the same population? [J]. Arch Bronconeumol, 2023, 59: 157-164.

[60] Centers for Disease Control and Prevention. Invasive pneumococcal disease in young children before licensure of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine-United States, 2007 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2010, 59: 253-257.

[61] Gierke R. Current epidemiology of pneumococcal disease and pneumococcal vaccine coverage among children, United States [C] // Proceedings of the Advisory Committee on Immunization Practices Meeting. Atlanta: ACIP Meeting Pneumococcal Vaccines, 2022.

[62] Aliberti S, Mantero M, Mirsaeidi M, et al. The role of vaccination in preventing pneumococcal disease in adults [J]. Clin Microbiol Infect, 2014, 20 Suppl 5: 52-58.

[63] Bonten MJ, Huijts SM, Bolkenbaas M, et al. Polysaccharide conjugate vaccine against pneumococcal pneumonia in adults [J]. N Engl J Med, 2015, 372: 1114-1125.

[64] Lyu S, Hu HL, Yang YH, et al. A systematic review about *Streptococcus pneumoniae* serotype distribution in children in mainland of China before the PCV13 was licensed [J]. Expert Rev Vaccines, 2017, 16: 997-1006.

[65] Che J, Bai P, Xu J, et al. Prevalence of *Streptococcus pneumoniae* serotypes causing pneumococcal diseases in the Chinese mainland: a systematic review and meta-analysis [J]. Hum Vaccin Immunother, 2024, 20: 2416763.

[66] Belman S, Lefrancq N, Nzenze S, et al. Geographical migration and fitness dynamics of *Streptococcus pneumoniae* [J]. Nature, 2024, 631: 386-392.

[67] Lo SW, Gladstone RA, Van Tonder AJ, et al. Pneumococcal lineages associated with serotype replacement and antibiotic resistance in childhood invasive pneumococcal disease in the post-PCV13 era: an international whole-genome sequencing study [J]. Lancet Infect Dis, 2019, 19: 759-769.

[68] Alderson MR, Sethna V, Newhouse LC, et al. Development strategy and lessons learned for a 10-valent pneumococcal conjugate vaccine (PNEUMOSIL®) [J]. Hum Vaccin Immunother, 2021, 17: 2670-2677.

[69] Borys D, Rupp R, Smulders R, et al. Safety, tolerability and immunogenicity of a novel 24-valent pneumococcal vaccine in toddlers: a phase 1 randomized controlled trial [J]. Vaccine, 2024, 42: 2560-2571.

[70] Chichili GR, Smulders R, Santos V, et al. Phase 1/2 study of a novel 24-valent pneumococcal vaccine in healthy adults aged 18 to 64 years and in older adults aged 65 to 85 years [J]. Vaccine, 2022, 40: 4190-4198.

[71] Wassil J, Sisti M, Fairman J, et al. Evaluating the safety, tolerability, and immunogenicity of a 24-valent pneumococcal conjugate vaccine (VAX-24) in healthy adults aged 18 to 64 years: a phase 1/2, double-masked, dose-finding, active-controlled, randomised clinical trial [J]. Lancet Infect Dis, 2024, 24: 308-318.

[72] Wassil J, Sisti M, Fairman J, et al. A phase 2, randomized, blinded, dose-finding, controlled clinical trial to evaluate the

safety, tolerability, and immunogenicity of a 24-valent pneumococcal conjugate vaccine (VAX-24) in healthy adults 65 years and older [J]. Vaccine, 2024, 42: 126124.

[73] Aceil J, Paschall AV, Knoot CJ, et al. Immunogenicity and protective efficacy of a prototype pneumococcal bioconjugate vaccine [J]. Vaccine, 2022, 40: 6107-6113.

[74] Cartee RT, Thanawastien A, Griffin Iv TJ, et al. A phase 1 randomized safety, reactogenicity, and immunogenicity study of Typhax: a novel protein capsular matrix vaccine candidate for the prevention of typhoid fever [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2020, 14: e0007912.

[75] Feldman MF, Mayer Bridwell AE, Scott NE, et al. A promising bioconjugate vaccine against hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116: 18655-18663.

[76] Ravinder M, Liao KS, Cheng YY, et al. A synthetic carbohydrate-protein conjugate vaccine candidate against *Klebsiella pneumoniae* serotype K2 [J]. J Org Chem, 2020, 85: 15964-15997.

[77] Harrison OB, Claus H, Jiang Y, et al. Description and nomenclature of capsule locus [J]. Emerg Infect Dis, 2013, 19: 566-573.

[78] Harrison LH. Epidemiological profile of meningococcal disease in the United States [J]. Clin Infect Dis, 2010, 50 Suppl 2: S37-S44.

[79] Dretler AW, Rouphael NG, Stephens DS. Progress toward the global control of *Neisseria meningitidis*: 21st century vaccines, current guidelines, and challenges for future vaccine development [J]. Hum Vaccin Immunother, 2018, 14: 1146-1160.

[80] Trotter CL, Lingani C, Fernandez K, et al. Impact of MenAfriVac in nine countries of the African meningitis belt, 2010-15: an analysis of surveillance data [J]. Lancet Infect Dis, 2017, 17: 867-872.

[81] Finne J, Leinonen M, Makela PH. Antigenic similarities between brain components and bacteria causing meningitis. Implications for vaccine development and pathogenesis [J]. Lancet, 1983, 2: 355-357.

[82] Kim JH. A challenge in vaccine development—*Neisseria meningitidis* serogroup B [J]. N Engl J Med, 2016, 375: 275-278.

[83] Macneil JR, Blain AE, Wang X, et al. Current epidemiology and trends in meningococcal disease—United States, 1996-2015 [J]. Clin Infect Dis, 2017, 66: 1276-1281.

[84] Parikh SR, Campbell H, Bettinger JA, et al. The everchanging epidemiology of meningococcal disease worldwide and the potential for prevention through vaccination [J]. J Infect, 2020, 81: 483-498.

[85] Gilsdorf JR. Hib vaccines: their impact on *Haemophilus influenzae* type b disease [J]. J Infect Dis, 2021, 224: S321-S330.

[86] Kaiser J. Glycobiology. Synthetic vaccine is a sweet victory for Cuban science [J]. Science, 2004, 305: 460.

[87] Hu X, Chen Z, Xiong K, et al. Vi capsular polysaccharide: synthesis, virulence, and application [J]. Crit Rev Microbiol, 2017, 43: 440-452.

[88] GBD 2017 Typhoid and Paratyphoid Collaborators. The global burden of typhoid and paratyphoid fevers: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. Lancet Infect Dis, 2019, 19: 369-381.

[89] Yousafzai MT, Karim S, Qureshi S, et al. Effectiveness of typhoid conjugate vaccine against culture-confirmed *Salmonella enterica* serotype Typhi in an extensively drug-resistant outbreak setting of Hyderabad, Pakistan: a cohort study [J]. Lancet Glob Health, 2021, 9: e1154-e1162.

[90] Martin LB, Simon R, Maclennan CA, et al. Status of paratyphoid fever vaccine research and development [J]. Vaccine, 2016, 34: 2900-2902.

[91] Weintraub A. Immunology of bacterial polysaccharide antigens [J]. Carbohydr Res, 2003, 338: 2539-2547.

[92] Duke JA, Avci FY. Emerging vaccine strategies against the incessant pneumococcal disease [J]. NPJ Vaccines, 2023, 8: 122.

[93] Avci FY, Li X, Tsuji M, et al. A mechanism for glycoconjugate vaccine activation of the adaptive immune system and its implications for vaccine design [J]. Nat Med, 2011, 17: 1602-1609.

[94] Huang X, Li X, An H, et al. Capsule type defines the capability of *Klebsiella pneumoniae* in evading Kupffer cell capture in the liver [J]. PLoS Pathog, 2022, 18: e1010693.

[95] An HR, Qian CY, Huang YJ, et al. Functional vulnerability of liver macrophages to capsules defines virulence of blood-borne bacteria [J]. J Exp Med, 2022, 219: e20212032.

[96] Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease [J]. Liver Int, 2006, 26: 1175-1186.

[97] Tian X, Liu Y, Zhu K, et al. Natural antibodies to polysaccharide capsules enable Kupffer cells to capture invading bacteria in the liver sinusoids [J]. J Exp Med, 2025, 222: e20240735.

[98] Wang J, An H, Ding M, et al. Liver macrophages and sinusoidal endothelial cells execute vaccine-elicited capture of invasive bacteria [J]. Sci Transl Med, 2023, 15: eade0054.

[99] Meron-Sudai S, Asato V, Adler A, et al. A *Shigella flexneri* 2a synthetic glycan-based vaccine induces a long-lasting immune response in adults [J]. NPJ Vaccines, 2023, 8: 35.

[100] Harding CM, Nasr MA, Scott NE, et al. A platform for glycoengineering a polyvalent pneumococcal bioconjugate vaccine using *E. coli* as a host [J]. Nat Commun, 2019, 10: 891.

[101] Kay E, Cuccui J, Wren BW. Recent advances in the production of recombinant glycoconjugate vaccines [J]. NPJ Vaccines, 2019, 4: 16.

[102] Feldman MF, Wacker M, Hernandez M, et al. Engineering N-linked protein glycosylation with diverse O antigen lipopolysaccharide structures in *Escherichia coli* [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102: 3016-3021.

[103] Faridmoayer A, Fentabil MA, Haurat MF, et al. Extreme substrate promiscuity of the *Neisseria* oligosaccharyl transferase involved in protein O-glycosylation [J]. J Biol Chem, 2008, 283:

34596-34604.

[104] Harding CM, Nasr MA, Kinsella RL, et al. *Acinetobacter* strains carry two functional oligosaccharyltransferases, one devoted exclusively to type IV pilin, and the other one dedicated to O-glycosylation of multiple proteins [J]. Mol Microbiol, 2015, 96: 1023-1041.

[105] Malley R, Lu YJ, Sebastian S, et al. Multiple antigen presenting system (MAPS): state of the art and potential applications [J]. Expert Rev Vaccines, 2024, 23: 196-204.

[106] Fairman J, Agarwal P, Barbanel S, et al. Non-clinical immunological comparison of a next-generation 24-valent pneumococcal conjugate vaccine (VAX-24) using site-specific carrier protein conjugation to the current standard of care (PCV13 and PPV23) [J]. Vaccine, 2021, 39: 3197-3206.

[107] Thanawastien A, Cartee RT, Griffin TJT, et al. Conjugate-like immunogens produced as protein capsular matrix vaccines [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112: E1143-E1151.

[108] Honda-Okubo Y, Cartee RT, Thanawastien A, et al. A typhoid fever protein capsular matrix vaccine candidate formulated with Advax-CpG adjuvant induces a robust and durable anti-typhoid Vi polysaccharide antibody response in mice, rabbits and nonhuman primates [J]. Vaccine, 2022, 40: 4625-4634.

[109] Pollard AJ, Bijker EM. A guide to vaccinology: from basic principles to new developments [J]. Nat Rev Immunol, 2021, 21: 83-100.

[110] Borrow R, Balmer P, Miller E. Meningococcal surrogates of protection--serum bactericidal antibody activity [J]. Vaccine, 2005, 23: 2222-2227.

[111] Nahm MH, Briles DE, Yu X. Development of a multi-specificity opsonophagocytic killing assay [J]. Vaccine, 2000, 18: 2768-2771.

[112] Bogaert D, Sluijter M, De Groot R, et al. Multiplex opsonophagocytosis assay (MOPA): a useful tool for the monitoring of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine [J]. Vaccine, 2004, 22: 4014-4020.

[113] Andrews NJ, Waight PA, Burbidge P, et al. Serotype-specific effectiveness and correlates of protection for the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine: a postlicensure indirect cohort study [J]. Lancet Infect Dis, 2014, 14: 839-846.

[114] Tian X, Wang J, Chen H, et al. *In vivo* functional immunoprotection correlates for vaccines against invasive bacteria [J]. Vaccine, 2024, 42: 853-863.