免疫佐剂QS-21的研究进展与挑战

杨树培[1,2], 辛英舜[1,2], 倪蓓蓓[2], 李 蝉[2], 李 健[2], 王大壮[2], 刘姜曼[2], 郝丽莎[2], 李春雷[1,2*]

(1. 河北医科大学药学院, 河北 石家庄 050017; 2. 石药集团中奇制药技术 (石家庄) 有限公司, 河北 石家庄 050035)

摘要: QS-21是一种具有免疫活性的皂苷类免疫刺激剂, 提取自南美皂树 (*Quillaja saponaria*, QS) 树皮, 由皂皮酸、三糖侧链、四糖链及假二聚酰基链四个结构域组成, 包含两种异构体QS-21-Api与QS-21-Xyl, 其中C-4醛基和酰基侧链为佐剂活性关键单元。免疫机制上, QS-21可同时激活Th1/Th2型免疫反应, 增强树突状细胞抗原交叉提呈、激活T细胞MAPK (mitogen activated protein kinase) 通路及NLRP3 (NOD-like receptor protein 3) 炎症小体, 在诱导细胞免疫中表现尤为突出。本文总结了目前已开发的AS01、AS02、Matrix-M、AS15和GLA-LSQ等复合佐剂系统, 在疟疾疫苗Mosquirix、带状疱疹疫苗Shingrix等疫苗中的应用, 对于天然提取存在供应短缺等问题, 化学全合成、半合成及酵母生物合成技术正逐步突破, 包括一些衍生物 (如VSA-1、TQL1055) 策略也为新型疫苗的开发及传染病防控、免疫治疗提供参考。

关键词: QS-21; 免疫; 复合佐剂; 应用; 合成

中图分类号: R914 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)04-1051-11

Research progress and challenges of the immune adjuvant QS-21

YANG Shu-pei[1,2], XIN Ying-shun[1,2], NI Bei-bei[2], LI Chan[2], LI Jian[2], WANG Da-zhuang[2], LIU Jiang-man[2], HAO Li-sha[2], LI Chun-lei[1,2*]

(*1. School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 2. Zhongqi Pharmaceutical Technology (Shijiazhuang) Co., Ltd., CSPC Pharmaceutical Group, Shijiazhuang 050035, China*)

Abstract: QS-21 is an immunologically active saponin-based immunostimulant extracted from the bark of the South American soapbark tree (*Quillaja saponaria*, QS). It consists of four structural domains: Quillaic acid, a trisaccharide side chain, a tetrasaccharide chain, and a pseudodimeric acyl chain. It exists in two isomeric forms, QS-21-Api and QS-21-Xyl, among which the C-4 aldehyde group and the acyl side chain are the key moieties for adjuvant activity. In terms of its immunological mechanism, QS-21 can simultaneously activate Th1/Th2-type immune responses, enhance the cross-presentation of antigens by dendritic cells, and activate the MAPK (mitogen-activated protein kinase) pathway in T cells as well as the NLRP3 (NOD-like receptor protein 3) inflammasome. It exhibits particularly prominent performance in inducing cellular immunity. This article summarizes the currently developed composite adjuvant systems such as AS01, AS02, Matrix-M, AS15, and GLA-LSQ, along with their applications in vaccines including the malaria vaccine Mosquirix and the shingles vaccine Shingrix. Regarding issues such as supply shortages associated with natural extraction, technologies for chemical total synthesis, semi-synthesis, and yeast-based biosynthesis are making gradual breakthroughs, Strategies including some derivatives (such as VSA-1 and TQL1055) also provide references for the development of new vaccines and the prevention and control of infectious diseases as well as immunotherapy.

收稿日期: 2025-09-15; 修回日期: 2025-10-31.
基金项目: 河北省重大科技支撑计划 (242W2701Z).
*通讯作者 Tel: 18106734070, E-mail: 18332193619@163.com
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-1096

Key words: QS-21; immunity; composite adjuvant; application; synthesis

佐剂是一类能够显著增强机体对抗原免疫应答的化合物, 可通过诱导细胞免疫 (Th1) 或体液免疫 (Th2) 应答, 激活先天免疫和适应性免疫系统, 其本身不具备抗原活性[1]。QS-21 是从南美皂树 (*Quillaja saponaria*, QS) 树皮中提取的皂苷, 已被证实在多种人类疫苗中具有显著的免疫增强作用。QS-21 能同时激活 Th1 和 Th2 型免疫反应, 在诱导 Th1 方面表现尤为突出, 因此, 其作为免疫佐剂在癌症疫苗、抗病毒疫苗和抗寄生虫疫苗开发中具有重要应用价值[2]。目前, 已有多种包含 QS-21 的候选疫苗进入临床试验阶段, 可用于治疗黑色素瘤、乳腺癌、前列腺癌、阿尔茨海默病, 预防 HIV、流感、HSV、疟疾和乙肝等疾病, 广泛的适用性和良好的安全性使其成为非铝佐剂的重点研究对象[3]。本文概述了 QS-21 的结构和活性、免疫机制、临床应用、生产技术革新及其类似物策略, 为 QS-21 的深入研究及新型疫苗的开发提供参考。

1 QS-21 的化学结构与生物活性

Kensil 等[4]在对 QS 树皮中提取的皂苷成分进行分离时, 将馏分出的第 21 层命名为 QS-21, 它包含四个结构域: 亲脂性三萜母核皂皮酸 (quillaic acid, QA)、连接在 QA C-3 上的侧链三糖部分、连接在 QA C-28 上的线性四糖链及由阿拉伯呋喃糖封端的独特假二聚酰基链[5], 如图 1 所示。

QS-21 的部分结构特征已被确定与佐剂活性相关, 其中包括其醛基部分及特有的酰基侧链。有研究表明皂酸核心的 C-4 醛部分可与 T 细胞表面受体上的氨基反应, 形成 Schiff 碱, 刺激 T 细胞活化。Fernández-Tejada 等[6]在对 QS-21 化学合成工艺改进时发现, 皂酸核心的 C-4 醛基的缺乏或化学修饰会导致其佐剂活性的丧失, 同时其他带有醛基的皂苷也可显示出免疫刺激特性, 证实了醛基对佐剂活性的影响。QS-21 是罕见的带有酰基侧链的皂苷之一, 该侧链与 QS-21 刺激 Th1 反应的免疫活性密切相关。Wang[7]在酰化对 QS-21 佐剂活性的研究中发现去除其结构中的酰基会导致 QS-21 失去刺激淋巴增殖性反应和细胞毒性 T 细胞反应的能力, 但其增强 Th2 的活性仍然保留。除此之外, QS-21 是由两种异构分子组成的混合物, 即 QS-21-Api 和 QS-21-Xyl (2∶1), 两者的区别在于 C-28 处桥接线性四糖的非还原端不同, 前者为 *β-D*-apiosyl 单元, 后者为 *β-D*-xylosyl 单元, 但 Qi 等[8]的研究表明异构体间的差异不会影响佐剂的活性。

2 QS-21 的免疫激活机制

2.1 抗原呈递增强 QS-21 作为一种免疫刺激型皂苷, 可同时作用于树突状细胞 (dendritic cell, DC) 和 T 细胞, 引起 Th2 介导的体液免疫和 Th1 介导的细胞免疫反应。其激活 DC 的主要机制为[9,10]: 外源性抗原和 QS-21 通过胆固醇依赖的内吞作用进入 DC 并在溶酶体中积累, QS-21 对内体膜胆固醇的高亲和力导致膜的不稳定, 从而破坏内体膜, 使得切割后的蛋白质抗原可以在蛋白酶体的作用下进一步被加工成更小的肽段被呈递到 DC 表面。最后, 通过 T 细胞受体呈递给初始 $CD8^+$ T 细胞, 最终形成细胞毒性 $CD8^+$ T 细胞发挥免疫效应[11](图 2)。

2.2 刺激 T 细胞介导的免疫反应 QS-21 能与 T 细胞表面受体结合, 为 T 细胞提供共刺激信号, 激活下游的 MAPK 信号通路实现 T 细胞的激活, 其机制与 DC 细胞和 T 细胞上的 CD28-CD80/86 作用类似。如图 2 所示, QS-21 结构中的 C-4 取代基与 T 细胞表面 CD2 受体的氨基形成亚胺基团, 形成的共刺激信号, 可激发下游丝裂原活化蛋白激酶的酪酰磷酸化。同时, 该信号的形成可以与细胞 K^+ 和 Na^+ 转运的变化共同刺激 $CD8^+$ T 细胞的激活, 从而分泌 Th1 细胞因子产生免疫效应[12]。

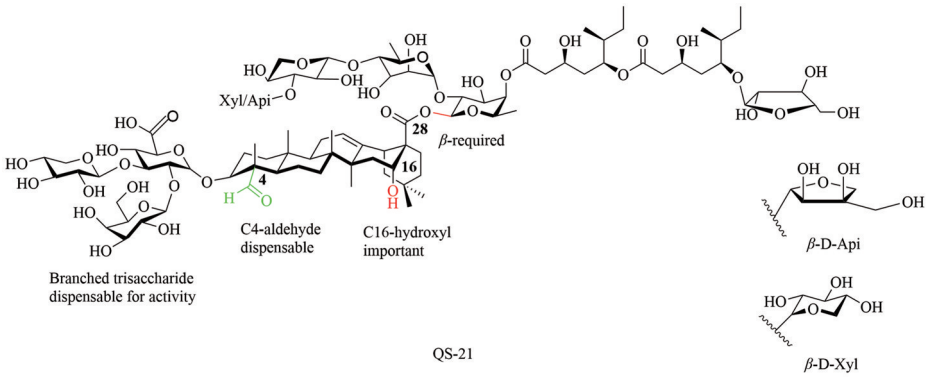


Figure 1 The structure of QS-21

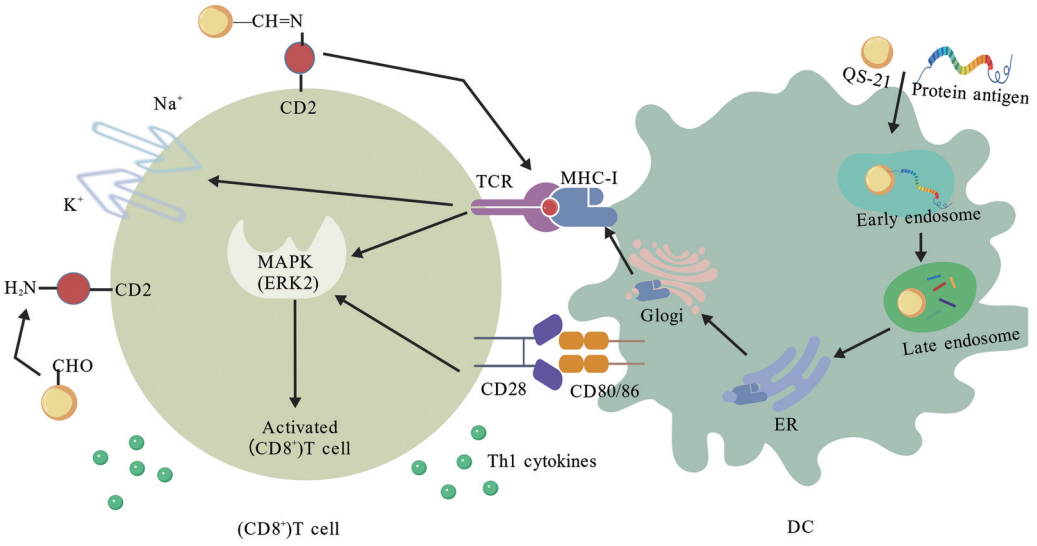


Figure 2 The immune mechanisms of QS-21 simultaneously activates DC and T cell. MAPK: Mitogen activated protein kinases; ERK2: Extracellular regulated protein kinases 2; TCR: T-cell receptor; ER: Endoplasmic reticulum

虽然CD28-CD80/86的相互作用是天然存在的, 但是这些蛋白会随着细胞的衰老而丢失, 因此QS-21介导的替代共刺激信号的传递对于T细胞活化至关重要。

2.3 激活NLRP3炎症小体 与TLR4激动剂3-*O*-脱酰基-4′-单磷酰脂质A (monophosphoryl lipid A, MPLA) 联合使用时, QS-21能够激活NLRP3 (NOD-like receptor protein 3) 炎症小体, 促进Caspase-1依赖性促炎细胞因子IL-1β和IL-18的分泌 (图3); 而MPLA通过激活TLR4信号通路, 诱导IFN-γ等细胞因子的产生。这些细胞因子协同作用, 可促进Th17细胞的成熟, 驱动IFN-γ介导的Th1免疫响应[13]。此外, 引流淋巴结 (draining lymph node, DLN) 中Caspase-1/MyD88 (一种几乎所有TLR的通用衔接蛋白) 通路的激活对QS-21佐剂作用的发挥至关重要, 因为当巨噬细胞缺乏MyD88时, 无论单独使用MPLA还是与QS-21联合使用都无法产生IL-1β。QS-21的佐剂作用可能取决于HMGB1 (高迁移率基团蛋白B1, 属于损伤相关分子模式分子) 的释放, 因为HMGB1也可以与TLR4结合发出信号, 通过细胞内信号级联反应诱导NF-κB转录因子的表达, 这又导致多种促炎细胞因子 (如IL-12、IL-6、IL-1、IL-8和TNF-α) 的产生和分泌, 从而进一步放大炎症反应[14,15]。

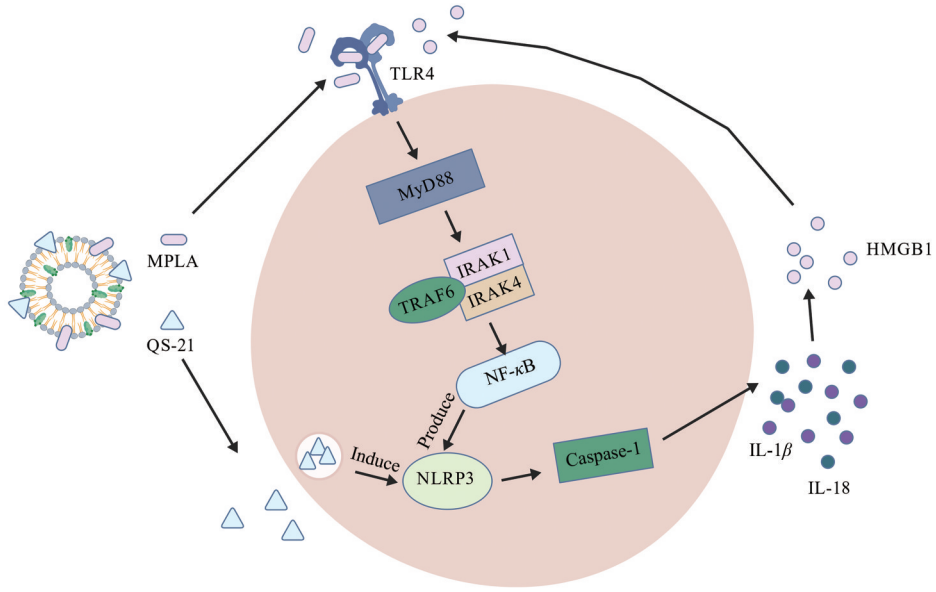


Figure 3 The mechanism of inflammasome activation by the combined application of QS-21 and MPLA**.** MyD88: Myeloid differentiation primary response 88; HMGB1: High-mobility group protein B1; TRAF6: TNF receptor associated factor 6; IRAK1/4: Interleukin-1 receptor-associated kinase 1/4

总之, QS-21作为一种天然的免疫佐剂, 通过多重机制协同激活先天和适应性免疫系统, 展现出独特的优势。其核心作用包括促进抗原呈递、直接激活T细胞信号通路及协同其他免疫激动剂增强免疫应答。多靶点、多通路的免疫激活机制使QS-21成为疫苗研发领域中不可替代的关键佐剂, 为应对传染病和肿瘤等重大健康挑战提供了重要依据。

3 QS-21在佐剂系统中的开发和应用

QS-21在碱性条件下化学性质不稳定且在体外显示溶血活性, 单独应用时易引起注射部位的即时疼痛[16]。构建基于脂质体或胆固醇、磷脂复合物的纳米佐剂系统能够改善游离QS-21的应用局限性。这些纳米颗粒制剂不仅能“淬灭”皂苷的溶血活性, 还可以将佐剂靶向递送到吞噬细胞, 改善组织分布, 提高对于效应细胞的刺激活性[17,18]。然而, 面对复杂疾病的多元化免疫需求, 复合佐剂成为了新的研究方向。近年来, 包含QS-21的复合佐剂得到了广泛的研究, 包括AS01 (含有QS-21和MPLA的脂质体佐剂)、AS02 (含有QS-21和MPLA的水包油乳剂)、Matrix-M (含有QS-21和QS-7的纳米颗粒型佐剂)、AS15 (含有QS-21、MPLA和CpG的脂质体佐剂) 和合成的TLR4激动剂葡萄糖吡喃脂质佐剂 (glucopyranosyl lipid adjuvant, GLA) 等[19-22]。本节将重点介绍QS-21复合佐剂系统中开发和应用的现状。

3.1 AS01 AS01是一种基于脂质体的佐剂, 包含两种免疫刺激剂: MPLA和QS-21, 它们可以通过不同的信号通路激活免疫细胞[23]。MPLA是沙门菌属明尼苏达菌株的脂多糖, 是一种高度特异性的TLR4激动剂[24]。MPLA可与中性粒细胞、巨噬细胞、DC和内皮细胞质膜中TLR4结合, 使TLR4通过MyD88依赖的复杂信号通路激活促炎免疫反应, 触发促炎细胞因子的表达和释放, 并直接激活抗原呈递细胞 (antigen-presenting cell, APC)[25]。QS-21则通过激活NLRP3炎症小体, 促进IL-1β和IL-18的释放, 进一步增强炎症反应。两者共同作用, 能够显著增强疫苗的免疫原性。除了MPLA和QS-21两种机制的协同, AS01还与其和抗原的时空共定位相关。Didierlaurent等[26]研究发现AS01注射后会迅速从肌肉引流到达DLN。在免疫后3 h, 注射部位和DLN中都检测到细胞因子的产生, 其中与细胞募集相关的特定趋化因子能够诱导先天免疫细胞向肌肉和DLN中的浸润。具体来说, 树突状细胞和淋巴细胞的数量在DLN中迅速增加, 使APC和T细胞相互作用的频率增加, 并有利于抗原特异性T细胞启动[27]。同时, AS01还能增加DLN中树突状细胞亚群的多样性及它们对关键共刺激分子 (如CD86和CD40) 的表达。总体而言, 这些作用使抗原特异性T细胞有效活化和增殖, 进而支持B细胞的成熟和抗体的产生, 促进体液免疫[28]。

目前, 含QS-21的佐剂已在100多项人体临床试验中进行了评估, 以葛兰素史克公司开发的专利佐剂AS01的研究和应用最为广泛, 其作用在Mosquirix (RTS, S/AS01) 的开发过程中得到证实[29]。Mosquirix的开发过程中对多种候选佐剂类型进行了筛选, 包括明矾佐剂、AS04 (明矾和MPLA的组合)、AS02a (MPLA和QS-21的水包油乳液型佐剂)、AS02、AS03等。在人类疟疾感染 (controlled human malaria infection, CHMI) 的临床试验中[30], AS03和AS04组中表现出等效的抗体反应, AS02a制剂增强了Mosquirix预防CHMI的免疫能力。但AS02a的低稳定性使其不得不制成复溶的冻干RTS, S制剂, 其疗效与液体制剂疗效相当。直到由脂质体、MPLA和QS-21组成的新型佐剂系统AS01的出现, 为提高RTS, S免疫原性提供了机会。Leroux-Roels等[31]对未患疟疾的成年人进行了恶性疟疾疫苗RTS, S/AS01和RTS, S/AS02a的2a期试验, 结果表明AS01与AS02a相比具有更高免疫效果, 且能增加抗CSP抗体和$CD4^+$ T细胞反应。

Mosquirix的成功开发大大促进了AS01在疫苗中的应用。Shingrix是第一种获批用于免疫功能低下人群的带状疱疹疫苗, 目前已在国内上市, 包含AS01佐剂与重组水痘带状疱疹病毒糖蛋白E (gE) 抗原[32]。其中, AS01的加入可显著提高抗体水平和$CD4^+$ T细胞反应, 在预防带状疱疹复发时, Shingrix不仅使老年受试者[33]和免疫功能低下者[34]显示出优异的疗效并且可以维持数年。迄今为止, FDA批准了3种呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV) 疫苗, 包括辉瑞公司开发的二价无佐剂疫苗Abrysvo, Moderna公司开发的mRNA疫苗mResvia和GSK公司开发的含AS01佐剂的疫苗Arexvy[35]。其中Arexvy是有史以来第一个获得批准的RSV疫苗, 包含AS01佐剂和重组融合前RSV-F糖蛋白抗原 (RSV PreF3)[36]。AS01是其诱导强大细胞免疫反应的关键成分, 能使单剂量Arexvy的保护作用延续三个RSV季节 (大约30.6个月)[37], 成功预防RSV感染。

AS01通过双免疫刺激剂协同作用和与抗原的时空共定位, 能有效激活免疫细胞、优化免疫启动过程, 是提升疫苗免疫原性的高效佐剂。本文介绍了AS01在Mosquirix、Shingrix、Arexvy 3款已获批疫苗中的应用, 充分验证了其在不同类型疫苗中的有效性和适用性, 尤其在提升特殊人群 (老年人、免疫低下者) 疫苗疗效上表现突出。AS01佐剂的成功应用, 推动了疫苗领域发展, 为后续针对婴儿、孕妇等弱势群体的靶向疫

苗研发提供了参考, 有助于减轻全球医疗负担。

3.2 AS02 AS02是由AS03组分、QS-21和MPLA组成的一种水包油乳剂, 可增强其免疫原性[38]。接种AS03佐剂仅能诱导Th2偏向的免疫反应和微弱的Th1反应[39]。在AS03中加入QS-21和MPLA不仅诱导了强烈的体液免疫反应, 还能激活和增强T细胞的活性, 促进免疫系统识别并消除感染细胞, 从而增强免疫反应的广度和深度。Chen等[40]将PsaA-PspA23 (肺炎球菌表面蛋白A和肺炎球菌表面抗原A组成的融合蛋白), PspA4分别与Al $(OH)_3$、MF59、AS03和AS02一起配制并进行免疫学评估, 结果表明, 用AS02配制的PsaA-PspA23和PspA4可作为预防致命肺炎球菌感染的亚单位疫苗。AS02除了可应用于预防肺炎球菌感染外, 也可用于预防RSV感染。Zheng等[41,42]在BALB/c小鼠中, 将融合前RSV-F蛋白分别与氢氧化铝、MF59、AS03、AS02和乙二醇壳聚糖一起注射, 对佐剂活性进行了头对头比较, 发现皮下注射AS02佐剂和RSV-F亚单位疫苗可引起高而持久的中和抗体反应和强大的Th1免疫反应, 这表明AS02也可作为RSV-F亚单位疫苗的理想佐剂候选者。但需要进一步研究来说明, 接种疫苗后RSV-F引起的肺部病理学和T细胞转化在炎症过程中的作用。此外, 免疫途径对佐剂RSV-F疫苗疗效的影响正在研究中。

AS02通过组合AS03、QS-21和MPLA, 弥补了AS03单独使用时的免疫反应局限, 实现了体液免疫与细胞免疫的协同增强。现有动物实验和免疫学评估证实, AS02在肺炎球菌和RSV感染预防的亚单位疫苗中具有明确应用潜力。关于AS02佐剂疫苗的肺部病理影响、T细胞作用机制及免疫途径的优化, 仍需更多研究以完善其应用基础。

3.3 Matrix-M Matrix-M是一种纳米颗粒型佐剂, 可与抗原、胆固醇和磷脂混合形成具有球形蜂窝状结构的免疫刺激复合物。Matrix-M佐剂由两种不同的纳米颗粒群组成, 以确定的比例混合, 即85%组分A (QS-7)和15%组分C (QS-21)[43]。其佐剂活性的发挥主要依赖于QS-21, 但由于其免疫原性较强, 因此加入了较大比例的QS-7平衡活性和安全性。在没有抗原的情况下, Matrix-M佐剂即可激活局部的瞬时免疫反应, 皮下注射后48 h中枢免疫细胞被激活并募集到DLN。这些作用可能在增强疫苗抗原的摄取和呈递方面发挥作用以引发有效的免疫反应。Matrix-M在DLN免疫微环境中能激活炎症小体通路以介导先天免疫细胞的激活, 从而产生不同的细胞因子和趋化因子, 包括早期产生的IFN-γ, 这对于促进Th1型$CD4^+$ T细胞反应至关重要。Tian等[44]发现, 在注射了含SARS-CoV-2 (严重急性呼吸综合征冠状病毒2)刺突蛋白和Matrix-M佐剂疫苗的动物中, 分泌IFN-γ、TNF-α和IL-2 (即经典Th1细胞因子)的抗原特异性$CD4^+$和$CD8^+$ T细胞显著多于分泌IL-4和IL-5 (即Th2细胞因子)的细胞。与单独接种SARS-CoV-2刺突蛋白的动物中观察到的模式形成鲜明对比, 证实了Matrix-M可以诱导Th1显性反应。Matrix-M还具有通过抗原交叉呈递诱导$CD8^+$ T细胞反应的潜力, 可以提高抗体对抗原反应的强度和质量及产生功能性抗体[45,46]。

Novavax开发了一种针对SARS-CoV-2刺突蛋白的佐剂重组亚单位疫苗NVX-CoV2373, 该疫苗的免疫原性依赖于佐剂Matrix-M, 其具有抗原剂量节约特性并能促进诱导强效体液和细胞免疫反应, 是第一个成功授权的COVID-19亚单位纳米颗粒疫苗的佐剂[47]。Guebre-Xabier等[48]研究发现, 在非人灵长类动物和小鼠模型中, 低剂量NVX-CoV2373和Matrix-M佐剂可诱导B细胞和T细胞反应、引发高抗刺突抗体滴度, 中和病毒, 从而阻断其与人血管紧张素转换酶2受体结合。在小鼠中, 该疫苗在不增强疫苗相关呼吸系统疾病的基础上, 还能预防SARS-CoV-2感染。

除了应用于预防SARS-CoV-2外, Collins等[49]首次阐述了Matrix-M与第二种疟疾疫苗R21的联合应用, 发现R21和Matrix-M一起给药诱导了几乎完全的无菌保护, 并且与R21和MF59一起给药相比, R21和Matrix-M组具有更显著的保护性。在世界卫生组织批准了该疫苗用于预防儿童疟疾后, Arunachalam等[50]比较了3种临床相关的佐剂在非人类灵长类动物中诱导对R21的免疫能力, 分别是Matrix-M、3M-052 + 氢氧化铝 (一种在明矾中配制的TLR7/8激动剂)和GLA-LSQ (在脂质体中与QS-21配制的一种TLR4激动剂)。结果表明, GLA-LSQ在所用剂量下诱导的免疫反应较低, 持续时间较短; Matrix-M和3M-052 + 明矾在骨髓和其他组织 (包括脾脏)中诱导了长寿命浆细胞。此外, Matrix-M在加强疫苗接种后诱导干扰素和Th2相关特征的表达增强。

佐剂Matrix-M通过独特的成分配比 (QS-7 + QS-21)和纳米颗粒结构, 实现了免疫活性与安全性的平衡, 能有效激活Th1偏向的细胞免疫和体液免疫, 具备优异的免疫增强能力。Matrix-M在COVID-19疫苗NVX-CoV2373和疟疾疫苗R21中的应用, 充分验证了其在不同类型疫苗中的有效性, 尤其在低剂量抗原下仍能诱导强效免疫反应, 且保护效果突出。与其他临床相关佐剂相比, Matrix-M在维持免疫反应持续性等方面表现更优, 符合新型佐剂标准, 未来在公共卫生领域具有重要应用价值。

3.4 AS15 AS15佐剂包括TLR4 (MPLA)和TLR9 (CpG)激动剂及皂苷QS-21, 共同形成诱导T细胞的强免疫刺激剂, 这可能是未来疫苗免疫疗法的一部分。在MPL和QS-21中加入CpG进一步增强了抗肿瘤细胞免疫。AS15被证明可以诱导强大的Th1型细胞因子, 从而高效地产生两种原型Th1细胞因子, TNF-α和IFN-γ。这种活性可能与CpG (通过TLR9激活刺激浆细胞样DC)和MPLA的联合作用有关[51]。Melssen等[52]评估了接种AS15后疫苗位点微环境的先天和适应性免疫细胞的积累和基因表达, 发现AS15在激活和调节固有和适应性免疫功能方面具有复杂的调控机制, 可增加DC和T细胞相关基因以及PD-L1和IDO1的持久表达。

目前, AS15佐剂的相关应用主要集中在肿瘤方面, Kruit等[53]评估了两种不同的免疫刺激剂 (AS02、AS15)与MAGE-A3 (肿瘤特异性抗原)蛋白联合使用治疗转移性黑色素瘤的效果, 发现所有患者体内均检测到针对MAGE-A3的抗体, 但AS15组的抗体滴度是AS02组的3倍, AS15组的MAGE-A3特异性细胞的免疫反应也更为显著。因此, AS15佐剂被选中与MAGE-A3蛋白联合进行转移性黑色素瘤III期临床试验。另外, Rioux等[54]研究自身抗原MASH2 (mouse achaete scute homolog 2)联合AS15在结直肠癌小鼠模型中诱导的肿瘤保护作用时, 发现小鼠注射MASH2 + AS15可强烈诱导特异性抗体并产生分泌细胞因子的$CD4^+$ T细胞, 但未检测到$CD8^+$ T细胞反应, 与先前在小鼠中注射AS15和联合编码另一种肿瘤的抗原MAGE-A3蛋白的研究中数据一致。

AS15通过MPLA、CpG、QS-21的协同作用, 诱导强效的Th1型免疫和抗肿瘤细胞免疫反应, 在肿瘤免疫治疗 (如转移性黑色素瘤、结直肠癌)中展现出明确应用价值。现有研究证实, AS15与肿瘤抗原 (MAGE-A3、MASH2)联合, 可有效激发特异性体液免疫和$CD4^+$ T细胞介导的细胞免疫, 为肿瘤免疫疗法提供了可行方向。但AS15在现有研究中均未诱导出$CD8^+$ T细胞反应, 而$CD8^+$ T细胞是抗肿瘤免疫的关键细胞类型之一。未来需考虑搭配更有效的免疫刺激剂, 弥补这一局限, 为癌症患者带来更多临床益处。

3.5 GLA家族 除上述经典的佐剂系统外, 佐剂平台还有已充分表征的GLA家族, 包括GLA-SE、GLA-AF和GLA-LSQ等 (将GLA配制成油包水乳剂时称为GLA-SE, 配制成水基纳米悬浮液称为GLA-AF), 可与多种蛋白联合应用作为预防相应传染病的疫苗[55]。其中, GLA-SE不仅作为预防和治疗结核病的疫苗候选佐剂[56], 并且在GLA-SE的作用下可使一种针对血吸虫 (曼氏裂体吸虫)抗原的重组蛋白疫苗诱导持久的抗体反应和更多的$CD4^+$ T细胞[57]。另外, 在健康志愿者的临床研究中, 用于皮内注射的GLA-AF有效增强了抗体的产生, 成为流感疫苗配方中的候选成分[58]。尽管AS01在多种疫苗已显示出强大的佐剂活性, 但开发替代这种佐剂系统的产品以解决商品成本、商品供应等问题十分重要。GLA-LSQ与AS01系统组成十分相似, 并且Baldwin等[59]研究表明其能诱导特异性Th1细胞免疫, 包括产生表达IFN-γ、TNF和IL-2的$CD4^+$ T细胞及疫苗特异性IgG2抗体反应, 可用于预防结核病感染, 为AS01提供替代方案。Radtke等[60]还将GLA-LSQ和偶联外蛋白A的Pfs25 (一种在疟疾受精卵和卵动蛋白上表达的抗原, 是恶性疟原虫阻断疫苗的候选者)一起配制, 检测其诱导的免疫反应。结果显示, GLA-LSQ制剂诱导了特异性的$CD4^+$ T细胞反应, 在其进行两次免疫后诱导了更强大的Tfh细胞和浆母细胞反应。已知结合疫苗Pfs25/铝佐剂在美国和非洲处于I期临床试验中, 已被证明具有良好的安全性和免疫原性, 而GLA-LSQ佐剂与偶联的Pfs25配制的重组抗原疫苗能产生高出其10倍的抗体滴度。总体来说, 该佐剂提高了疟疾候选疫苗抗体反应的数量和质量, 可以和抗原载体蛋白结合来增强疟疾疫苗介导的保护作用, 可作为AS01系统的替代佐剂。

GLA家族 (GLA-SE、GLA-AF、GLA-LSQ)在多种传染病疫苗中展现出明确免疫增强作用, 可通过诱导体液免疫 (如持久抗体)和细胞免疫 (如$CD4^+$ T细胞、Th1反应), 为传染病预防提供有效的佐剂支持。GLA-LSQ与AS01系统组成相似, 且在结核病、疟疾疫苗中的免疫效果优异, 能有效解决AS01可能存在的成本高、供应受限等问题, 是AS01佐剂系统的重要替代候选者。GLA家族可通过与不同抗原 (如血吸虫抗原、流感抗原、疟疾Pfs25抗原)结合, 灵活适配多种疫苗研发需求, 未来在传染病预防领域具有广泛的应用前景。

QS-21复合佐剂通过“多成分协同作用 + 剂型优化”, 有效解决了QS-21单独使用的局限性, 显著提升了疫苗的免疫原性、安全性与适用范围。不同佐剂各有侧重: AS01应用最成熟, Matrix-M在低剂量抗原下效果突出, AS15聚焦肿瘤领域, GLA家族则是AS01的重要替代选择。已获批疫苗 (如Mosquirix、Shingrix)和临床前研究证实, QS-21复合佐剂在传染病预防与肿瘤免疫治疗中均有重要价值, 为弱势群体 (老年人、免疫低下者)靶向疫苗研发提供了参考。

4 QS-21生产工艺技术革新

QS皂苷, 包含QS-21, 最初是1980年从QS树皮的水提取物中天然提取和分离出来的, 但是QS-21含量

极其有限, 同时, QS皂苷含量会随气候和环境的因素变化, 其成分包含大量与QS-21结构相似的杂质, 提取纯化的人工成本较高, 皂树皮的过度开采还会导致生态损害和供应短缺等问题, 这使得QS-21难以满足其深入研究和广泛投入疫苗应用的需求。因此, 能实现QS-21大规模生产的技术亟待开发, 目前其化学全合成、半合成及酵母生物合成等策略正在探索, 本部分将对这些策略的研究现状展开论述。

4.1 化学合成 通过化学合成进行精确的化学控制对QS-21分子进行结构修饰, 是一种有吸引力的开发皂苷变体的方法。这一领域的进展得益于Gin团队[61,62]对QS-21两种异构体 (QS-21-api和QS-21-xyl)的全合成, 以及后续的半合成策略。他们以七叶皂苷为起始原料, 通过加氢脱硫、二碘化钐介导的α-脱氧、钯介导的还原脱氧等反应, 构建皂皮酸结构, 优化皂皮酸合成路线和糖苷键构建技术, 减少了部分反应步骤, 提高了全合成的步骤经济性。该路线结构精准可控, 技术成熟, 但适合实验室规模制备, 规模化难度较大; 虽然存在步骤多 (76步), 成本高昂 (每公斤数亿美元), 总收率低 (约为8.4%) 等缺陷, 但相比传统的提取方法已大幅提高, 为后续的半合成策略提供了技术基础。鉴于全合成的复杂性和高昂的成本, 他们开发了一种半合成策略[63], 旨在提高合成效率并降低成本。该策略主要基于以下创新: 将QS-21的合成分解为糖链模块、脂肪链模块和三萜核心模块, 分别优化各模块的合成路线, 采用水解的皂苷元混合物作为起始原料, 替代了全合成中需要分离的单一皂皮酸。该策略减少了皂皮酸分离纯化的步骤, 提高了整体收率, 使半合成策略的步骤数从全合成的76步减少至约30～40步, 显著提高了步骤经济性。并且通过优化各模块的合成路线, 总收率可能提升至15%～20%, 相比全合成的收率有明显提高。半合成策略虽降低了原料成本, 但仍受限于皂皮酸的获取和分离, 导致规模化潜力有限。

4.2 酵母生物合成 考虑到QS-21的市场需求预计将达到数十亿剂的规模, 化学合成技术显然无法满足这一需求。2024年, Marchal团队[64]在工程酵母中实现了QS-21的完整生物合成, 代表了合成生物学在复杂天然产物制备领域的重大突破。他们首先通过在烟草中瞬时表达荧光融合蛋白, 以及在酵母中进行蛋白质亚细胞定位研究, 确定酶的活性和功能; 然后, 以葡萄糖和半乳糖等简单糖为起始物, 通过整合来自6个生物体的38个不同基因, 模拟植物从内质网膜到细胞质的亚细胞区隔环境, 成功地在酵母中构建了QS-21的生物合成途径[65]。基因的平衡表达是生物合成成功的关键, 而亚细胞区隔化大大提高了酶的活性和产物的合成效率。虽然QS-21的酵母生物合成产量约为0.001 2%, 略低于天然皂树 (0.003 2%), 但其生产速度远快于皂树提取 (约1 000倍), 且成本更低、更环保, 具有很大的开发前景。对于工程化酵母合成的QS-21的免疫活性的影响尚无相关研究, 总的来说, 作为QS-21最新的技术突破, 其步骤少、收率稳定、可扩展性强, 代表了未来规模化生产的方向。且发酵工艺易于放大, 未来通过进一步优化发酵条件和酶的表达平衡, 产量有望大幅提升, 为QS-21在疫苗中应用提供生产技术支持。

随着全球疫苗需求的增长, QS-21的合成工艺创新将继续受到关注。无论是追求结构精确控制的化学合成路线, 还是注重规模化生产的生物合成路线, 都将为疫苗佐剂的可持续供应和临床应用提供重要支持。

5 QS-21衍生物的开发

在QS-21的获取与应用体系中, 仅靠已有的合成方法难以完全匹配疫苗产业对高效佐剂的规模化需求。而QS-21衍生物的开发, 可作为一条更具针对性的优化路径, 不仅为疫苗佐剂领域提供了超越传统合成品的多元化选择, 更通过精准的分子结构改造解决了原生QS-21的关键痛点, 例如部分衍生物如 (VSA-1、TQL1055) 可在保留核心佐剂活性的同时, 有简化的生产步骤、降低的溶血性和大幅提升的稳定性。

5.1 VSA-1 皂苷的大量SAR研究表明, 与去脂化QS皂苷相比, 一种更可行的方式是将酰胺侧链引入免疫无活性或活性较弱的皂苷中, 因此人们发现了源自苦瓜皂苷 (*momordica* saponin I, MS I) 的半合成免疫增强佐剂VSA-1[66], MS I和VSA-1的结构如图4。MS I是一种天然的双脱脂皂苷前体, 可以从可持续来源中获得。与QS树皮提取物相比, MS I的种子提取物的成分相对简单, MS I的含量也较高。这种高含量使得MS I的分离更加经济和高效, 相比QS皂苷成本效益更高。VSA-1能够有效增强抗原特异性体液免疫和细胞免疫反应, 其效果与QS-21相当。Bhatnagar等[67]在一项小鼠研究中, 比较了VSA-1、QS-21和明矾在灭活分裂流感病毒疫苗中诱导免疫反应的能力, 评估了VSA-1佐剂流感疫苗加强免疫的效果。结果表明, 与其他组相比, 使用VSA-1或QS-21佐剂疫苗加强免疫可产生更高滴度的病毒特异性IgG、IgG1、IgG2b和IgG2c抗体。小鼠注射2周后的HAI (血凝抑制) 滴度水平遵循VSA-1 > QS-21 > 明矾 > 无佐剂的顺序。除对流感病毒疫苗的研究外, Kim等[68]在一项针对糖缀合肺炎球菌疫苗研究中发现, VSA-1和QS-21均显著提高了IgG和调理抗体的滴度, 在对肺炎球菌14型和19A型的免疫反应中, VSA-1甚至表现出更强的免疫增强效果。

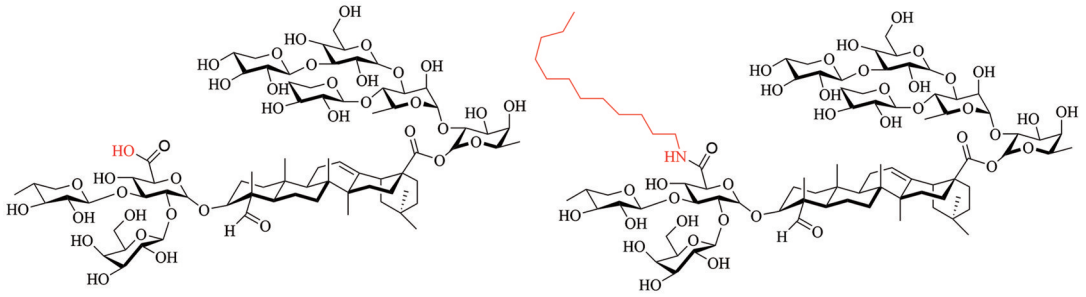


Figure 4 The structure of MS I and VSA-1

VSA-1通过半合成方式开发, 其前体MS I来源可持续、提取成本低, 解决了QS皂苷获取难、成本高的问题, 具备产业化优势。在流感和肺炎球菌疫苗中, VSA-1的免疫增强效果与QS-21相当甚至更优, 能有效提升抗原特异性体液免疫 (抗体滴度) 和细胞免疫反应。

5.2 TQL1055 另外一种通过广泛的SAR研究开发的新实体是TQL1055 (图5), 是由带羧酸的C12侧链替代QS-21的复杂假二聚酰基脂质侧链得到的半合成皂苷, 是天然皂苷佐剂的简化稳定版, 对多种疫苗抗原具有临床前优势[69]。由于它是半合成的, 所以具有更高的纯度收率、稳定性和成本效益, 因此TQL1055可能是一种优于QS-21的皂苷基佐剂。Buzz等[70]在小鼠中将QS-21和TQL1055分别与百日咳毒素抗原联合使用时发现, TQL1055相较于QS-21更显著地增强了对商业化无细胞百日咳疫苗的抗体反应。此外, TQL1055的耐受性优于QS-21, 在接种后没有出现体重下降的情况。这些发现表明, TQL1055可能在不增加反应原性的情况下提高无细胞百日咳疫苗的免疫效果。在TQL1055单独用于疫苗的基础上, Ahmed等[71]将其与TLR4激动剂PHAD (MPLA模拟物) 联合使用模拟AS01佐剂, 给小鼠肌肉注射结核分枝杆菌 (Mtb) 抗原、PHAD和增加剂量的TQL1055 (分别是5、15和30 μg) 所制成的疫苗, 结果显示接种15 μg TQL1055的疫苗组小鼠显示出平衡的Th1/Th2反应, 并且诱导的抗体反应也增强。上述研究有力地支持了TQL1055可单独或联合用于流感疫苗、肺炎链球菌疫苗及后续研究中的疫苗。

TQL1055通过结构简化 (替换QS-21复杂侧链) 实现了性能优化, 具备高纯度、高稳定性、高成本效益及良好耐受性的综合优势, 是优于QS-21的皂苷基佐剂。临床前研究证实, TQL1055单独使用可增强百日咳疫苗免疫效果, 与PHAD联合可优化结核相关疫苗的免疫反应, 未来还可拓展至流感疫苗、肺炎链球菌疫苗等领域。

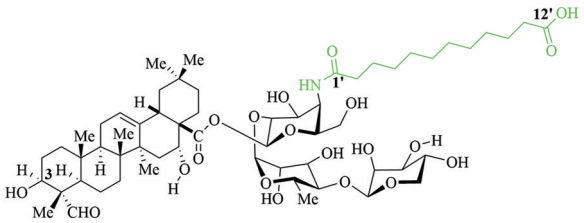


Figure 5 The structure of TQL1055

结合易于获取、可持续供应、低毒性、高化学稳定性等优势, VSA-1和TQL1055被认为是实用的免疫刺激剂, 可用于开发新型安全有效的疫苗, 它们不仅解决了QS-21供应短缺的问题, 还为获取结构明确、成分均一的皂苷佐剂提供了新路径, 推动了皂苷类佐剂的产业化与多样化发展。

6 总结与展望

本文系统阐述了QS-21作为疫苗佐剂的研究进展, 包括其免疫机制、复合型佐剂系统的应用、生产工艺的革新及其类似物策略。随着对QS-21分子机制研究的深入, 其在调控先天免疫信号通路NLRP3、T细胞代谢及膜扰动方面的作用逐渐被揭示。这些新发现不仅揭示了QS-21的免疫增强机制, 也为其在新型疫苗平台 (如mRNA疫苗、个性化肿瘤疫苗) 中的应用提供了理论基础。

在复合佐剂系统开发中, QS-21的应用已实现临床转化突破: AS01作为核心佐剂, 成功支撑了疟疾疫苗Mosquirix、带状疱疹疫苗Shingrix及呼吸道合胞病毒 (RSV) 疫苗Arexvy的研发, 显著提升了疫苗在特殊人群 (老年人、免疫低下者) 中的保护效价与持续时间; AS02可作为预防致命肺炎球菌感染的亚单位疫苗, 也可作为RSV-F亚单位疫苗的理想佐剂候选者; Matrix-M凭借抗原剂量节约特性, 在COVID-19疫苗NVX-CoV2373与疟疾疫苗R21中展现出强效Th1型免疫诱导能力; AS15则在黑色素瘤、结直肠癌等肿瘤

疫苗中表现出优异的抗肿瘤细胞免疫激活潜力, 为肿瘤免疫治疗提供新策略; 另外GLA-LSQ有着与AS01相似的成分, 可用于预防结核病和疟疾的疫苗, 是AS01的重要替代候选佐剂。

生产工艺方面, 针对天然提取 (含量低、杂质多、生态风险大) 的瓶颈, 技术革新已取得多方向进展: 通过精确的化学控制分别实现了QS-21异构体的全合成和半合成, 提高了合成效率和步骤经济性; 酵母生物合成当前产量虽略低于天然提取, 但生产效率提升约1 000倍, 且兼具环保与低成本优势, 为规模化生产奠定基础。

在性能优化层面, 通过结构改造开发的VSA-1、TQL1055等QS-21类似物是关键方向, 在维持强效免疫应答的同时, 大幅降低了原生QS-21的溶血活性, 为提高疫苗使用剂量、拓展应用场景提供了可能, 进一步拓宽了QS-21类佐剂在多类型疫苗研发中的适配性。

展望未来, QS-21的研究需聚焦药学领域关键科学问题与技术需求: ① 生产工艺优化是核心, 需通过酵母工程菌株改造 (如强化三萜合成酶表达、优化糖基化修饰通路) 提升生物合成产量, 结合流动化学技术简化化学合成步骤, 推动产业化进程; ② 作用机制深化是突破点, 需进一步解析QS-21对T细胞代谢重编程、DC膜扰动的分子细节, 阐明其与新型疫苗载体 (如mRNA脂质纳米颗粒、病毒样颗粒) 的相互作用机制, 为佐剂–抗原协同递送设计提供理论支撑; ③ 临床应用拓展是目标, 需针对复合佐剂的注射部位反应、长期安全性开展系统评价, 探索QS-21在个性化肿瘤疫苗、广谱抗病毒疫苗中的适配性, 同时开发口服、黏膜给药等非注射剂型, 提升疫苗可及性。相信随着结构生物学、合成生物学与免疫学的交叉融合, QS-21及其衍生物将成为下一代疫苗佐剂的核心组分, 为传染病防控与肿瘤免疫治疗提供关键技术支撑, 助力全球公共卫生安全体系建设。

作者贡献: 杨树培负责文献收集、综述撰写和修改; 李蝉和倪蓓蓓负责提供撰写思路和意见; 辛英舜、王大壮、李健、郝丽莎和刘姜曼负责提供修改思路和意见; 李春雷负责全程指导。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

Reference

[1] Lacaille-Dubois MA. Updated insights into the mechanism of action and clinical profile of the immunoadjuvant QS-21: A review [J]. Phytomedicine, 2019, 60: 152905.

[2] Fleck JD, Betti AH, Da Silva FP, et al. Saponins from *Quillaja saponaria* and *Quillaja brasiliensis*: Particular chemical characteristics and biological activities [J]. Molecules, 2019, 24: 171.

[3] Yuan W, Wang ZM, Zou YN, et al. Design and synthesis of immunoadjuvant QS-21 analogs and their biological evaluation [J]. Biomedicines, 2024, 12: 469.

[4] Kensil CR, Patel U, Lennick M, et al. Separation and characterization of saponins with adjuvant activity from *Quillaja saponaria* Molina cortex [J]. J Immunol, 1991, 146: 431-437.

[5] Fuentes R, Aguinagalde L, Pifferi C, et al. Novel oxime-derivatized synthetic triterpene glycosides as potent saponin vaccine adjuvants [J]. Front Immunol, 2022, 13: 865507.

[6] Fernández-Tejada A, Tan DS, Gin DY. Development of improved vaccine adjuvants based on the saponin natural product QS-21 through chemical synthesis [J]. Acc Chem Res, 2016, 49: 1741-1756.

[7] Wang PF. Natural and synthetic saponins as vaccine adjuvants [J]. Vaccines (Basel), 2021, 9: 222.

[8] Qi YZ, Fox CB. A two-step orthogonal chromatographic process for purifying the molecular adjuvant QS-21 with high purity and yield [J]. J Chromatogr A, 2021, 1635: 461705.

[9] Marciani DJ. New Th2 adjuvants for preventive and active immunotherapy of neurodegenerative proteinopathies [J]. Drug Discov Today, 2014, 19: 912-920.

[10] Welsby I, Detienne S, N'Kuli F, et al. Lysosome-dependent activation of human dendritic cells by the vaccine adjuvant QS-21 [J]. Front Immunol, 2016, 7: 663.

[11] Beck Z, Matyas GR, Alving CR. Detection of liposomal cholesterol and monophosphoryl lipid A by QS-21 saponin and limulus polyphemus amebocyte lysate [J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1848: 775-780.

[12] Marciani DJ. Elucidating the mechanisms of action of saponin-derived adjuvants [J]. Trends Pharmacol Sci, 2018, 39: 573-585.

[13] Marty-Roix R, Vladimer GI, Pouliot K, et al. Identification of QS-21 as an inflammasome-activating molecular component of saponin adjuvants [J]. J Biol Chem, 2016, 291: 1123-1136.

[14] Detienne S, Welsby I, Collignon C, et al. Central role of $CD169^{+}$ lymph node resident macrophages in the adjuvanticity of the QS-21 component of AS01 [J]. Sci Rep, 2016, 6: 39475.

[15] Colavita L, Ciprandi G, Salpietro A, et al. HMGB1: A pleiotropic activity [J]. Pediatr Allergy Immunol, 2020, 31: 63-65.

[16] Bigaeva E, Doorn EV, Liu H, et al. Meta-Analysis on randomized controlled trials of vaccines with QS-21 or ISCOMATRIX adjuvant: Safety and tolerability [J]. PLoS One, 2016, 11: e154757.

[17] Didierlaurent AM, Laupeze B, Di Pasquale A, et al. Adjuvant system AS01: Helping to overcome the challenges of modern vaccines [J]. Expert Rev Vaccines, 2017, 16: 55-63.

[18] Alving CR, Peachman KK, Matyas GR, et al. Army liposome formulation (ALF) family of vaccine adjuvants [J]. Expert Rev Vaccines, 2020, 19: 279-292.

[19] Smith CL, Richardson B, Rubsamen M, et al. AS01 activates human monocytes for costimulation and systemic inflammation

[J]. Vaccine, 2024, 42: 229-238.

[20] Yihunie W, Kebede B, Tegegne BA, et al. Systematic review of safety of RTS, S with AS01 and AS02 adjuvant systems using data from randomized controlled trials in infants, children, and adults [J]. Clin Pharmacol, 2023, 15: 21-32.

[21] Datoo MS, Natama HM, Somé A, et al. Efficacy and immunogenicity of R21/Matrix-M vaccine against clinical malaria after 2 years' follow-up in children in Burkina Faso: A phase 1/2b randomised controlled trial [J]. Lancet Infect Dis, 2022, 22: 1728-1736.

[22] Delannois F, Planty C, Giordano G, et al. Signal management in pharmacovigilance and human risk assessment of CpG 7909, integrating embryo-fetal and post-natal developmental toxicity studies in rats and rabbits [J]. Reprod Toxicol, 2018, 75: 110-120.

[23] Stylianou VV, Bertram KM, Vo VA, et al. Innate immune cell activation by adjuvant AS01 in human lymph node explants is age independent [J]. J Clin Invest, 2024, 134: e174144.

[24] Romerio A, Peri F. Increasing the chemical variety of small-molecule-based TLR4 modulators: An overview [J]. Front Immunol, 2020, 11: 1210.

[25] O'Hagan DT, Lodaya RN, Lofano G. The continued advance of vaccine adjuvants- 'we can work it out' [J]. Semin Immunol, 2020, 50: 101426.

[26] Didierlaurent AM, Collignon C, Bourguignon P, et al. Enhancement of adaptive immunity by the human vaccine adjuvant AS01 depends on activated dendritic cells [J]. J Immunol, 2014, 193: 1920-1930.

[27] Roman F, Burny W, Ceregido MA, et al. System AS01: From mode of action to effective vaccines [J]. Expert Rev Vaccines, 2024, 23: 715-729.

[28] Bosteels C, Fierens K, De Prijck S, et al. CCR2- and Flt3-dependent inflammatory conventional type 2 dendritic cells are necessary for the induction of adaptive immunity by the human vaccine adjuvant system AS01 [J]. Front Immunol, 2020, 11: 606805.

[29] Coccia M, Collignon C, Herve C, et al. Cellular and molecular synergy in AS01- adjuvanted vaccines results in an early IFN γ response promoting vaccine immunogenicity [J]. NPJ Vaccines, 2017, 2: 25.

[30] Laurens MB. RTS, S/AS01 vaccine (Mosquirix): An overview [J]. Hum Vaccin Immunother, 2020, 16: 480-489.

[31] Leroux-Roels G, Leroux-Roels I, Clement F, et al. Evaluation of the immune response to RTS, S/AS01 and RTS, S/AS02 adjuvanted vaccines [J]. Hum Vaccin Immunother, 2014, 10: 2211-2219.

[32] Chlibek R, Bayas JM, Collins H, et al. Safety and immunogenicity of an AS01-adjuvanted varicella-zoster virus subunit candidate vaccine against herpes zoster in adults ≥50 years of age [J]. J Infect Dis, 2013, 208: 1953-1961.

[33] Voic H, de Vries RD, Sidney J, et al. Identification and characterization of $CD4^+$ T cell epitopes after Shingrix vaccination [J]. J Virol, 2020, 94: e1641-20.

[34] Anderson TC, Masters NB, Guo A, et al. Use of recombinant zoster vaccine in immunocompromised adults aged ⩾ 19 years: Recommendations of the advisory committee on immunization practices—United States, 2022 [J]. Am J Transplant, 2022, 22: 986-990.

[35] Alandijany TA, Qashqari FS. Evaluating the efficacy, safety, and immunogenicity of FDA-approved RSV vaccines: A systematic review of Arexvy, Abrysvo, and mResvia [J]. Front Immunol, 2025, 16: 1624007.

[36] Leroux-Roels I, Davis MG, Steenackers K, et al. Safety and immunogenicity of a respiratory syncytial virus frefusion F (RSVPreF3) candidate vaccine in older adults: Phase 1/2 randomized clinical trial [J]. J Infect Dis, 2023, 227: 761-772.

[37] Anastassopoulou C, Medic S, Ferous S, et al. Development, current, and remaining challenges for respiratory syncytial virus vaccines [J]. Vaccines (Basel), 2025, 13: 97.

[38] Facciola A, Visalli G, Lagana A, et al. An overview of vaccine adjuvants: Current evidence and future perspectives [J]. Vaccines (Basel), 2022, 10: 819.

[39] Zhao TM, Cai YL, Jiang YJ, et al. Vaccine adjuvants: Mechanisms and platforms [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8: 283.

[40] Chen XR, Li B, Yu JF, et al. Comparison of four adjuvants revealed the strongest protection against lethal pneumococcal challenge following immunization with PsaA-PspA fusion protein and AS02 as adjuvant [J]. Med Microbiol Immunol, 2019, 208: 215-226.

[41] Zheng Y, Bian LJ, Zhao HT, et al. Respiratory syncytial virus F subunit vaccine with AS02 adjuvant elicits balanced, robust humoral and cellular immunity in BALB/c Mice [J]. Front Immunol, 2020, 11: 526965.

[42] Bian LJ, Zheng Y, Guo XH, et al. Intramuscular of AS02 adjuvanted respiratory syncytial virus (RSV) F subunit vaccine shows better efficiency and safety than subcutaneous inoculation in BALB/c mice [J]. Front Immunol, 2022, 13: 938598.

[43] Castrodeza-Sanz J, Sanz-Munoz I, Eiros JM. Adjuvants for COVID-19 vaccines [J]. Vaccines (Basel), 2023, 11: 902.

[44] Tian JH, Patel N, Haupt R, et al. SARS-CoV-2 spike glycoprotein vaccine candidate NVX-CoV2373 immunogenicity in baboons and protection in mice [J]. Nat Commun, 2021, 12: 372.

[45] Stertman L, Palm AE, Zarnegar B, et al. The Matrix-M™ adjuvant: A critical component of vaccines for the 21st century [J]. Hum Vaccin Immunother, 2023, 19: 2189885.

[46] Zarnegar B, Carow B, Eriksson J, et al. Matrix-M adjuvant triggers inflammasome activation and enables antigen cross-presentation through induction of lysosomal membrane permeabilization [J]. NPJ Vaccines, 2025, 10: 184.

[47] Wilkinson B, Patel KS, Smith K, et al. A brighton collaboration

standardized template with key considerations for a benefit/risk assessment for the novavax COVID-19 vaccine (NVX-CoV2373), a recombinant spike protein vaccine with Matrix-M adjuvant to prevent disease caused by SARS-CoV-2 viruses [J]. Vaccine, 2023, 41: 6762-6773.

[48] Guebre-Xabier M, Patel N, Tian JH, et al. NVX-CoV2373 vaccine protects cynomolgus macaque upper and lower airways against SARS-CoV-2 challenge [J]. Vaccine, 2020, 38: 7892-7896.

[49] Collins KA, Snaith R, Cottingham MG, et al. Enhancing protective immunity to malaria with a highly immunogenic virus-like particle vaccine [J]. Sci Rep, 2017, 7: 46621.

[50] Arunachalam PS, Ha N, Dennison SM, et al. A comparative immunological assessment of multiple clinical-stage adjuvants for the R21 malaria vaccine in nonhuman primates [J]. Sci Transl Med, 2024, 16: eadn6605.

[51] Pradhan P, Toy R, Jhita N, et al. TRAF6-IRF5 kinetics, TRIF, and biophysical factors drive synergistic innate responses to particle-mediated MPLA-CpG co-presentation [J]. Sci Adv, 2021, 7: eabd4235.

[52] Melssen MM, Pollack KE, Meneveau MO, et al. Characterization and comparison of innate and adaptive immune responses at vaccine sites in melanoma vaccine clinical trials [J]. Cancer Immunol Immunother, 2021, 70: 2151-2164.

[53] Kruit WH, Suciu S, Dreno B, et al. Selection of immunostimulant AS15 for active immunization with MAGE-A3 protein: Results of a randomized phase II study of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Melanoma Group in Metastatic Melanoma [J]. J Clin Oncol, 2013, 31: 2413-2420.

[54] Rioux CR, Clapper ML, Cooper HS, et al. Self-antigen MASH2 combined with the AS15 immunostimulant induces tumor protection in colorectal cancer mouse models [J]. PLoS One, 2019, 14: e210261.

[55] Reed SG, Carter D, Casper C, et al. Correlates of GLA family adjuvants' activities [J]. Semin Immunol, 2018, 39: 22-29.

[56] Fiore-Gartland A, Srivastava H, Seese A, et al. Co-regulation of innate and adaptive immune responses induced by ID93 + GLA-SE vaccination in humans [J]. Front Immunol, 2024, 15: 1441944.

[57] Santini-Oliveira M, Machado Pinto P, Santos TD, et al. Development of the Sm14/GLA-SE schistosomiasis vaccine candidate: An open, non-placebo-controlled, standardized-dose immunization phase Ib clinical trial targeting healthy young women [J]. Vaccines (Basel), 2022, 10: 1724.

[58] Carter D, van Hoeven N, Baldwin S, et al. The adjuvant GLA-AF enhances human intradermal vaccine responses [J]. Sci Adv, 2018, 4: e9930.

[59] Baldwin SL, Reese VA, Larsen SE, et al. Prophylactic efficacy against tuberculosis using ID93 and lipid-based adjuvant formulations in the mouse model [J]. PLoS One, 2021, 16: e247990.

[60] Radtke AJ, Anderson CF, Riteau N, et al. Adjuvant and carrier protein-dependent T-cell priming promotes a robust antibody response against the *Plasmodium falciparum* Pfs25 vaccine candidate [J]. Sci Rep, 2017, 7: 40312.

[61] Wang PF, Kim Y, Navarro-Villalobos M, et al. Synthesis of the potent immunostimulatory adjuvant QS-21A [J]. J Am Chem Soc, 2005, 127: 3256-3257.

[62] Deng K, Adams MM, Damani P, et al. Synthesis of QS-21-xylose: Establishment of the immunopotentiating activity of synthetic QS-21 adjuvant with a melanoma vaccine [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2008, 47: 6395-6398.

[63] Fernández-Tejada A, Walkowicz WE, Tan DS, et al. Semisynthesis of analogues of the saponin immunoadjuvant QS-21 [J]. Methods Mol Biol, 2017, 1494: 45-71.

[64] Marchal I. Engineered yeast produces the plant-based vaccine adjuvant QS-21 [J]. Nat Biotechnol, 2024, 42: 847.

[65] Liu YZ, Zhao XX, Gan F, et al. Complete biosynthesis of QS-21 in engineered yeast [J]. Nature, 2024, 629: 937-944.

[66] Bai D, Kim H, Wang PF. Development of semisynthetic saponin immunostimulants [J]. Med Chem Res, 2024, 33: 1292-1306.

[67] Bhatnagar N, Kim K, Subbiah J, et al. Adjuvant effects of a new saponin analog VSA-1 on enhancing homologous and heterosubtypic protection by influenza virus vaccination [J]. Vaccines (Basel), 2022, 10: 1383.

[68] Kim H, Yu JG, Bai D, et al. Potentiating pneumococcal glycoconjugate vaccine PCV13 with saponin adjuvant VSA-1 [J]. Front Immunol, 2022, 13: 1079047.

[69] Bennett SR, Martin T. Safety of the synthetic saponin adjuvant TQL1055: Preliminary results from a first-in-humans trial [J]. Open Forum Infect Dis, 2021, 1: S614.

[70] Buzz C, Ragupathi G, Bennett RS, et al. The novel semisynthetic saponin adjuvant TQL1055 enhances the antibody response to pertussis vaccine with an improved tolerability profile over QS-21 [J]. Open Forum Infect Dis, 2020, 7: S638.

[71] Ahmed M, Farris E, Swanson RV, et al. Saponin TQL1055 adjuvant-containing vaccine confers protection upon *Mycobacterium tuberculosis* challenge in mice [J]. Hum Vaccin Immunother, 2024, 20: 2302070