

知識天地

多功能的細胞表面醣分子

曾政豪博士後研究、鄭丞博博士後研究、洪上程特聘研究員(基因體研究中心)

摘要

細胞表面的醣分子在生物系統中扮演非常重要的角色，與病毒和細菌的感染、細胞成長和分化、癌細胞轉移、免疫機制、以及腦神經方面的課題息息相關。由於不易從天然來源取得這些結構複雜的醣分子，有關醣與蛋白質之間的作用關係仍有很多不明瞭之處。本篇文章將著重在「一鍋化」化學方法在醣合成的介紹，以及應用這個方法來製備與流感病毒和疱疹病毒感染有關的醣體。

前言

「醣」又稱為「碳水化合物」，近年來常常登上各大新聞媒體的版面，它的創新研究與發展，格外引人注目。醣領域被科學家喻為「最後的疆界」，它的複雜度比另二類生物巨分子「蛋白質」和「核苷酸」還高，可想而知要深入探討這些醣生物分子是非常具有挑戰性的。最近二、三十年來，由於多項精密分析儀器的開發和微量化合物的純化與分析方法的建立，這些謎樣的複雜醣結構才被陸續解開，讓科學家發現這些醣分子對人類生物系統的影響無遠弗屆，國內成立的醣基、醣聯、浩鼎、泉盛、中天、基亞等生技公司，也紛紛投入醣分子和醣蛋白藥物的研究，預期未來將會掀起一波新藥的革命。

基本介紹

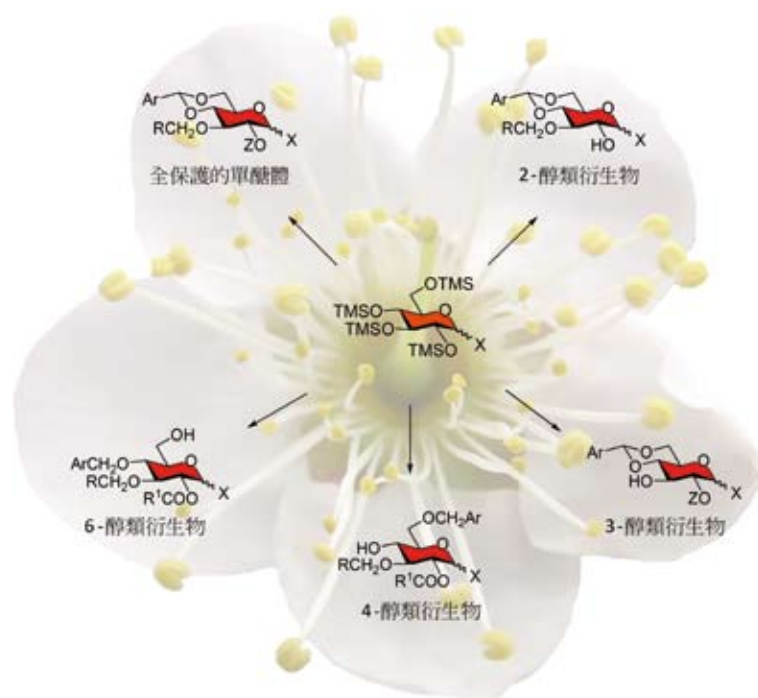
碳水化合物是自然界中含量最豐富的有機化合物，依據它的連接數目，可簡單地分為單醣（一個醣單元，如葡萄糖、半乳糖、甘露和果糖等）、雙醣（兩個醣單元，如麥芽糖、乳糖和蔗糖等）、寡醣（三至十個醣單元，如寡木糖等）、以及多醣（十個醣單元以上，如澱粉、肝醣、纖維素和靈芝多醣體等）。除此之外，還有一些含葡萄糖胺醣單元的多醣體，包括構成蝦、蟹和昆蟲外殼的甲殼素（又名幾丁質）、美容保溼用品且為關節液成分的玻尿酸、保持關節滑順的硫酸軟骨素、指甲成分的硫酸角質素、抗血栓的肝素等。除了這些常見的醣分子外，人類細胞的表面亦廣布許多不同的醣蛋白和醣脂質，這些曝露在細胞表面的複雜醣分子在生物機制中扮演多樣的角色，它就像一把特定的「鑰匙」，開啟了細胞外和內、以及細胞與細胞之間的訊息傳遞，並且作為細胞與外來生物分子交互作用的橋樑，包括細菌、病毒、癌細胞、抗體、酵素、毒素、凝集素、荷爾蒙、以及生長因子等等，只要能找到與它們結合的特定「鑰匙」，就有機會研發新的藥物或疫苗來治療疾病。另外，若能合成不同組合的醣分子庫，進而開發成醣晶片，將有助於疾病的篩選。

寡醣分子的製備利器

醣為多醇類化合物，每一單醣分子都含有幾個不同位置的醇基團，它們都有機會與另一個單醣分子進行鏈結，且每一醣苷鍵形成時，都有上或下二種可能的立體位向，造成醣類化合物結構的多樣性與複雜性。當研究學者想從天然來源取得寡醣分子時，卻遭遇到極大的困難，因為量少、純化不易、且為混合物，無法再做進一步的研究，要解決這個問題，化學合成提供一條可行的途徑。然而，傳統的醣化學製備方法，需要先將每一個醣分子上面不進行反應的醇基團先保護起來，只留下想要鏈結的位置，然後將每一個醣單元依序串連起來，如此反覆操作形成寡醣的骨架，最後將這些保護基全部移除，得到所要的寡醣分子。但是這樣的作法有一些缺點，包括（一）每個單醣建構單元的製備常須開發一條獨立的合成途徑，且每條途徑約需四至七項反應步驟來完成；（二）每步反應常有異構物產生，產物的純化分離不容易；（三）步驟繁瑣加上每步產生之不要的異構物，往往使得總產率下降；（四）每項步驟都需純化，且分離時需使用相當量的有機溶劑和矽膠，會產生可觀的廢棄物；（五）需要大量的人力和時間來完成目標物的合成，通常進展相當緩慢。

有鑑於此，洪上程博士實驗室著手探討單醣分子的「一鍋化保護反應」，亦即在單一反應瓶裡依序加入不

同的化學試劑來進行多項反應步驟、且不需要分離每項步驟的中間體，只要在最後進行產物的純化即可。除此之外，這個策略的優點是以一個便宜且易取得的單醣分子為起始物，可以依照反應的設計，經由「一鍋化保護反應」的操作，高選擇性地將單醣的每個位置的醇基團都保護起來得到全保護的衍生物，或者是僅保護其中幾個醇基團，只留下想要鏈結的部位，分別得到第二、三、四或六號碳位置有醇基團的衍生物（圖一），依此方式，可以任意安裝互不干擾的保護基，得到上百個不同的單醣建構單元[1]。之後，再應用翁啟惠院長提出之「一鍋化醣鏈結反應」的策略，將這些單醣建構單元在單一反應瓶裡連接成所要的寡醣分子骨架，這兩項利器的結合是醣化學技術上的重大突破，有助於解決長久以來合成寡醣所遭遇到的瓶頸。



圖一：利用「一鍋化保護」策略合成各種單醣建構單元

聞之色變的流感病毒

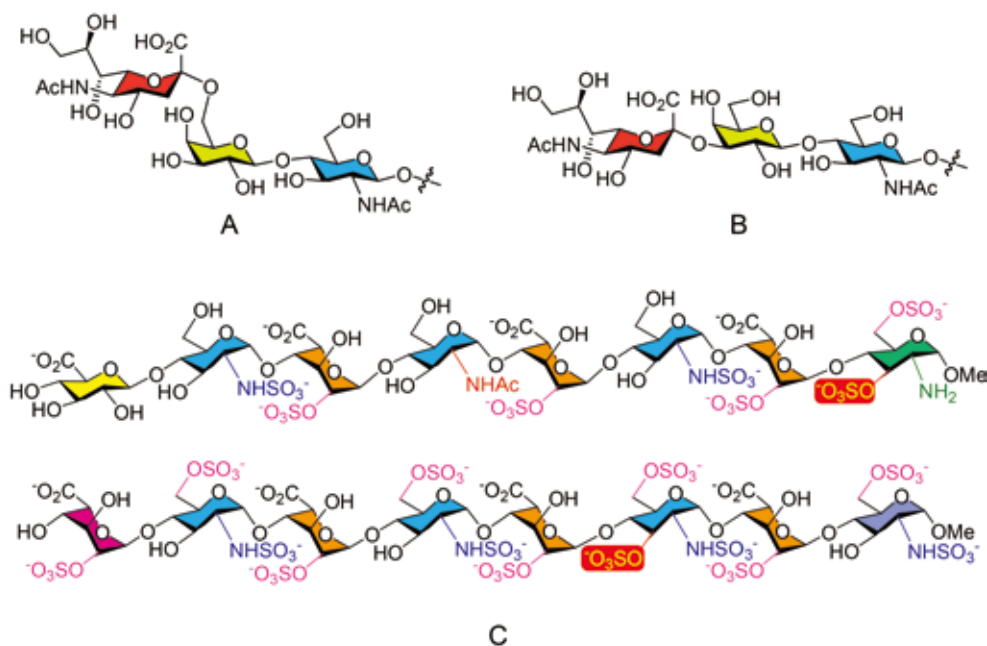
引起感冒的病毒有許多種，其中流行性感冒（簡稱流感）是經由流感病毒引起的急性呼吸道感染，其傳染力非常強勁，兩者的症狀並不相同，一般感冒大都只是喉嚨痛、咳嗽等上呼吸道症狀，但流感的全身性症狀比較嚴重，包括發燒、頭痛、肌肉痛、疲倦、流鼻涕、喉嚨痛及咳嗽等，其痊癒的時間通常比一般感冒長，有時會引起併發症，例如肺炎，嚴重的甚至會導致死亡。

流感病毒依據病毒內部的蛋白質性質可以分成A型、B型、C型三大類，再根據病毒表面突起的兩種蛋白質血球凝集素（Hemagglutinin）及神經胺酸酶（Neuraminidase）來區分亞型，通常B型與C型流感病毒只會感染人類，但不會造成強的病症徵狀，相較於A型而言較為單純，不易有太大變化，然而A型病毒就比較複雜，最新研究發現，已有17種不同的血球凝集素（H1-H17）及9種不同的神經胺酸酶（N1-N9），以兩者的組合來命名感染株，例如H1N1、H5N1、H7N9等等，所以共有153種A型流感病毒，目前已確定H1N1、H2N2、H3N2這三種會感染人類，另外H5N1和H7N9禽流感雖然暫時未有人類之間相互傳染的證據，但世界各衛生部門正密切關注其引起全球大流行的可能性。

根據衛生署疾病管制局的統計，在1999~2004年間，每年約有4,500人死於流感及其併發症，其中超過80%為65歲以上的老人。由於流感疫情總是在短時間內造成大規模感染，例如2004年爆發的禽流感H5N1及2009年的新流感H1N1，即造成社會大眾的恐慌，主因是致死率極高，當今的治療方式大都是服用一個禮拜的克流感，雖然有一些抗藥性的例子被報導，仍是目前最有效的方法。除此之外，衛生署亦會儲備流感疫苗讓年長者施打，能降低感染的機率。

有關流感病毒感染宿主細胞的機制已被廣泛探討，主要是利用流感病毒上的血球凝集素與宿主細胞表面含有唾液酸的醣體結合，進而達到感染的目的。人類和禽類細胞表面之流感病毒的三醣受體結構分別表示在圖二(A)和

(B)，洪博士團隊利用醣之「一鍋化保護反應」及「一鍋化鏈結反應」的策略，合成出含有唾液酸之三醣分子庫，初步的成果顯示其中的一個三醣體可以有效地阻隔病毒的感染[2]。



圖二：(A)人類細胞表面之流感病毒的三醣受體結構；(B)禽類細胞表面之流感病毒的三醣受體結構；(C)人類細胞表面之疱疹病毒的肝素八醣受體結構

擾人不休的疱疹病毒

疱疹病毒科 (herpesviridae) 在分類上屬於DNA病毒，含有超過100種以上的病毒，其中第一型與第二型單純疱疹病毒是人體中最常見的類型。前者常引起腰部以上感染，尤其是眼睛與口腔部位；後者則引起腰部以下感染，尤其是生殖器部位。根據統計，台灣有高達八成以上的成年人口曾經感染過第一型單純疱疹病毒，而且一旦感染便無法痊癒，雖然市面上已有多種藥物能暫時舒緩或控制病情，但仍無法完全根治及有效地預防。

依據文獻上的報導，第一型單純疱疹病毒是利用人類細胞表面的肝素寡醣分子作為受體，如圖二 (C) 所列的兩個八醣分子結構，洪博士團隊分別以57和47項步驟分別完成這兩個複雜八醣的全合成[3]，經與本院分子生物研究所張雯教授實驗室合作阻隔細胞感染的活性測試，實驗結果顯示這兩個合成物的濃度分別在每毫升3.9及5.4微克即可抑制過半的病毒感染細胞。

結語

有別於以往毒殺病毒的藥物開發，常因病毒突變而造成抗藥性的產生，上述的策略是合成宿主細胞表面的醣受體，能將病毒有效地阻隔在細胞之外，使其無法進入胞內進行複製，以達到預防感染的目的，這項新思維為未來的抗病毒藥物研發提供一條新的方向。

延伸閱讀

- [1] “Regioselective One-pot Protection of Carbohydrates”, Wang, C.-C.; Lee, J.-C.; Luo, S.-Y.; Kulkarni, S. S.; Huang, Y.-W.; Lee, C.-C.; Chang, K.-L.; Hung, S.-C. *Nature* 2007, 446, 896–899.
- [2] “One-Pot Synthesis of N-Acetyl- and N-Glycolylneuraminic Acid-Capped Trisaccharides and Evaluation of Their Influenza A(H1N1) Inhibition”, Hsu, Y.; Ma, H.-H.; Lico, L. S.; Jan, J.-T.; Fukase, K.; Uchinashi, Y.; Zulueta, M. M. L.; Hung, S.-C. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014, 53, in press.
- [3] “Synthesis of 3-O-Sulfonated Cell-Surface Heparan Sulfate Octasaccharides that Inhibit Herpes Simplex Virus Type 1 Host-Cell Interaction”, Hu, Y.-P.; Lin, S.-Y.; Huang, C.-Y.; Zulueta, M. M. L.; Liu, J.-Y.; Chang, W.; Hung, S.-C. *Nature Chemistry* 2011, 3, 557–563.