

从左至右依次为哈维·阿尔特、迈克尔·霍顿和查尔斯·赖斯，图片来源于网络



为人类战胜丙肝奠定基础 ——2020年诺贝尔 生理学或医学奖解读

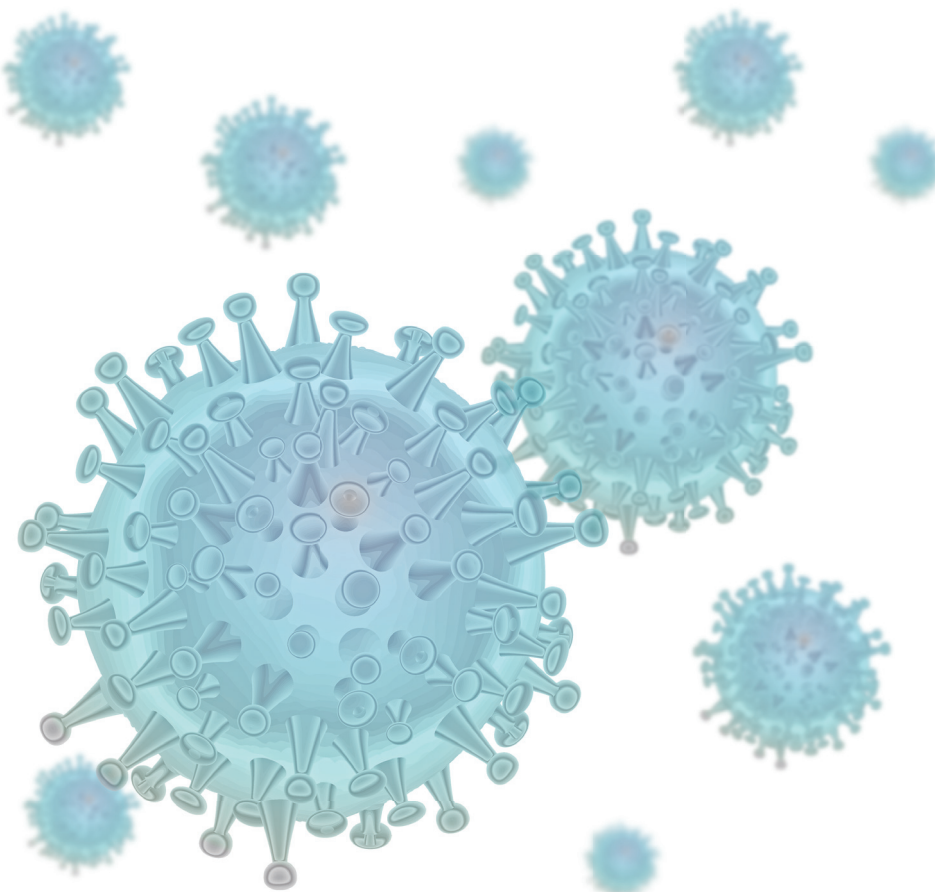
撰文·供图 奇云（李道群，淮南联合大学）

三位英美科学家折桂诺奖！

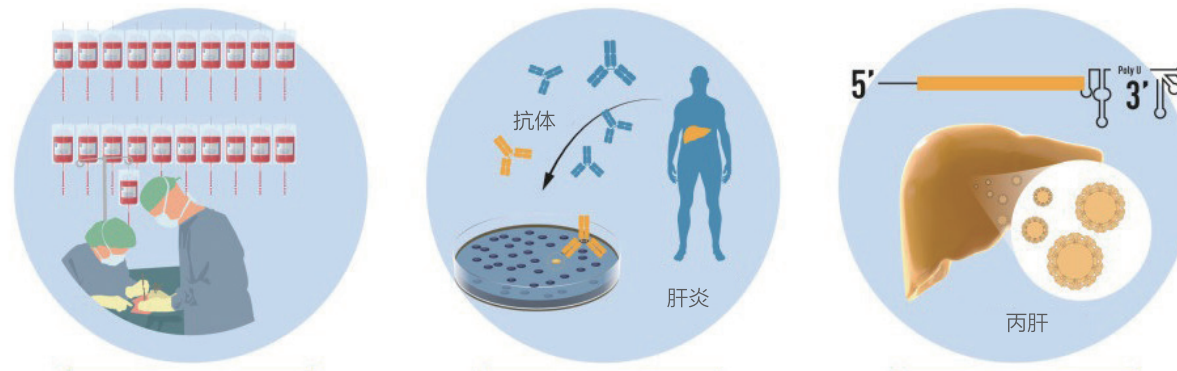
2020年，诺贝尔生理学或医学奖因为新冠疫情的原因比以往更受世人的关注。这一次，诺贝尔生理学或医学奖关注的是对人类健康有严重威胁的病毒——丙型肝炎病毒（英文：Hepatitis C virus，英文缩写：HCV，中文简称：丙肝病毒）。获奖科学家为美国科学家哈维·阿尔特（Harvey J. Alter）、查尔斯·赖斯（Charles M. Rice）和英国科学家迈克尔·霍顿（Michael Houghton），获奖理由是他们在发现丙肝病毒方面做出了重大的贡献。

回顾丙肝病毒的发现过程，三位科学家的工作构成了一个完整的“探案故事”。

首先，阿尔特是较早“举报”这种未知感染因子的科学家之一。作为内科医生，他在临床中关注了因输血引起的“非甲非乙肝炎”神秘疾病，发现肝炎患者的血液可以把这种疾病传染给黑猩



哈维·阿尔特、迈克尔·霍顿和查尔斯·赖斯的研究成果，让后来者站在“巨人”的肩膀上攻克丙肝，图片来源于网络



猩，这就为下一步“捕猎”丙肝病毒提供了“目标”。

而后，霍顿的主要工作就是让这种未知感染因子“原形毕露”，也就是分离出病毒的遗传序列。在当时的技术条件下，这是一项非常艰巨的工作。他和同事从被感染的黑猩猩血液分离出一种未知物质，用肝炎患者的血清抗体鉴定出这是一种新型RNA病毒。此后，他们成功克隆出这种病毒的基因片段。更重要的是，这一研究成果促成丙肝病毒特异检测方法的问世，最大限度地减少了血液传播丙肝病毒的机会，对全球公共卫生有着重要的影响。

最后，赖斯团队则是完成了对丙肝病毒的“终极审判”，他们成功使用全长克隆技术克隆病毒，并感染黑猩猩，证明了仅仅丙肝病毒本身就可以导致肝炎的“犯罪事实”。

三位科学家的工作可谓环环相扣、承前启后，缺了谁都无法让我们成功揭开丙肝病毒的神秘面纱，更谈不上今天能够看到治愈丙肝的希望。正是三位科学家里程碑式的发现，让后来者站在“巨人”的肩膀上攻克丙肝。他们的发现，为人类战胜丙肝奠定了基础。尽管因为新冠疫情，诺贝尔奖颁布换成线上形式，并取消年底的线下颁奖及晚宴，但是科学的力量却不会因此消减，“对人类做出最大贡献”的获奖者，仍然是万众瞩目的耀眼明星！

人类与肝炎病毒的千年斗争史

肝炎（liver inflammation或hepatitis，后者是希腊语中“肝”和“炎症”的合成词），顾名思义，就是一种发生于肝的炎症性疾病。人类对肝炎的认识能够追溯到两千年前的古希腊医学典籍中。已有报道称，在类人猿化石中，找到了与现代肝炎病毒极为类似的远古肝炎病毒。

人类对肝炎的认识在两次世界大战期间有了较大的突破。这两次规模空前的战争中，参战各方都投入了巨大的兵力。人员集中带来的肝炎大流行，也对各国军队造成了重创。由于经济实力强劲，美国等发达国家的军队有着得天独厚的医疗救护条件，甚至

连当时还处于先进医学手段的输血,在美国军队救治伤员时也经常应用。结果,战地医护中心经常发现肝炎疫情,而且病员们大多都经历过输血。这似乎在向人们暗示,血液中的某种致病微生物是输血性肝炎感染的元凶。而对于亚非等国的参战军队来说,他们往往没有很好的后勤保障和医疗救护。即便这样,在没有接受任何血液治疗的军队中,肝炎同样在流行。不过,肝炎爆发的营地往往有着非常恶劣的饮食和卫生条件。这些事实让当时的医学工作者们认识到,经口传播和血液传播可能是肝炎致病原发生流行的两种主要途径,且这两种肝炎背后存在不同的致病机制。

1947年,英国肝病专家麦卡勒姆(F. O. MacCallum)通过分析得出“至少存在两类肝炎”的结论:

一类经由粪便、污水和食物传播,称为A型肝炎(甲肝)——这一类肝炎一般很少对患者有长期影响(即通常是急性的而非慢性的)。

另一类通过血液和体液传播,称为B型肝炎(乙肝)——这一类肝炎会发展为肝硬化和肝癌。这种形式的肝炎是隐性的,表型健康体可以在严重并发症出现之前静默感染多年,有着高发病率和死亡率。

阿尔特寻找隐匿的肝炎病毒

1970年,在透射电子显微镜的帮助下,英国科学家丹纳(D.S.Dane)发现了乙肝病毒的真身。1973年,美国科学家史蒂文·费斯通(Steven Feinstone)小组鉴定出了甲肝病毒。两种病毒的鉴定具有重要的意义。首先是检测方法的建立,为减少病毒污染提供了保证,如1977年美国因乙肝病毒引起的肝炎血液传播比例几乎降低为零。其次是疫苗的开发成功,20世纪80年代前后,美国微生物学家莫里斯·希尔曼(Maurice Hilleman)先后



哈维·阿尔特, 图片来源于诺贝尔奖官网

研制出甲肝和乙肝疫苗,进一步强化了肝炎的预防成果。

就在大家信心百倍,认为肝炎问题基本解决,以后可高枕无忧的时候,新问题出现了:仍有很多肝炎病例无法解释。

当时,哈维·阿尔特是美国国立卫生研究院(NIH)的教授,他参与血库质控工作,以减少肝炎通过输血传染。阿尔特在工作中发现,尽管在血液中去除了乙肝病毒,输血仍可导致很大比例的肝炎发生。对这些感染患者进行甲肝和乙肝病毒检测,结果也均为阴性,从而否定了甲肝和丙肝病毒的漏检。

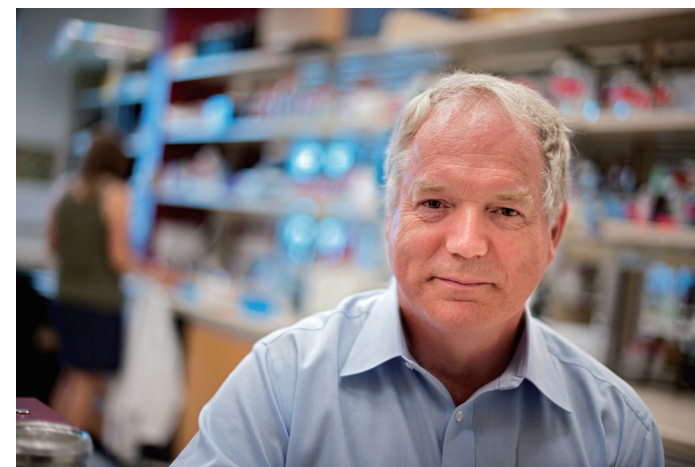
借助黑猩猩进行实验后阿尔特发现,这些肝炎患者的血液可以将疾病传播给黑猩猩。也就意味着,可能存在第三种肝炎病毒以血液等体液为传播途径,隐匿在人群中无声地传播,成为影响输血乃至人类健康的潜在风险,就像乙肝病毒一样。1975年,这种神秘的病毒被阿尔特命名为“非甲非乙型肝炎病毒”(为慎重考虑,他并未直接称为丙肝)。阿尔特与他人合作借助黑猩猩进行实验,进一步证明了导致这种肝炎的病毒是一种新型病毒。

在之后长达15年的时间里,受当时医学研究手段所限,阿尔特和他的团队都没能看到第三种肝炎病毒的真容。但是,他们依然尽其所能给世界竖起了安全的防护墙——通过增加输血检测指标,将输血后病毒性肝炎的感染从33%降低至4%;并为病毒的发现留下了线索——在黑猩猩身上培养神秘的第三种肝炎病毒的感染血清,将它留给能破解密码的接任者。

霍顿发现丙肝病毒的真面目

1987年,机会到了迈克尔·霍顿身边。他当时在美国凯龙疫苗公司(Chiron Corporation)工作,与美国疾控中心的科学家丹尼尔·布拉德利(Daniel W. Bradley)合作,采用分子克隆的方法发现了一种新型病毒。

迈克尔·霍顿, 图片来源于阿尔伯塔大学网站



一年之后,阿尔特团队证实这种新型病毒存在于“非甲非乙型肝炎”患者的血样中。1989年,霍顿利用分子生物学克隆技术,分离出新型病毒的RNA片段,并将这一病毒更名为“丙肝病毒”。

也就是说:“非甲非乙型肝炎”确实存在,正是丙型肝炎;导致丙型肝炎的罪魁祸首,就是丙肝病毒!不久就建立了丙肝病毒检测方法,最大

限度地避免了丙肝病毒的传染。

1990年血库开启常规丙肝测试，1992年进一步启用高灵敏检测方法，从而使丙肝病毒基本从血库中消除，减少了丙肝病毒通过输血传播的可能。

赖斯建立丙肝病毒体外培养系统

丙肝病毒的发现虽可减少传染机会，但并未从根本上消除丙肝，而疫苗和药物的开发才是根本。

故事本应沿着“从确定分子，到寻找靶点，再到对症下药”的常规路线顺利走下去，但很快踌躇满志的科学家就遇到了新麻烦：丙肝病毒极难在实验室环境下进行复制。巧妇难为无米之炊，得不到实验材料的科学家要如何研究丙肝的病毒构成和生命周期呢？又要用什么来研发针对性的抗病毒药物呢？

重重挑战之下，来自美国华盛顿大学圣路易斯分校的著名病毒学家查尔斯·赖斯登场了。20世纪90年代初，赖斯着手研究丙肝病毒的基本特征和生存模式，试图攻克“让活细胞被丙肝病毒感染”这个难题。初期，赖斯小组发现，丙肝病毒难以在黑猩猩肝细胞中增殖的原因，在于其基因组部分特殊结构未被完全认知。经过弥补这些缺陷，他们终于在1997年实现了黑猩猩体内丙肝病毒大规模制备，为认识这种新型病毒打开了一扇大门。然而，因为黑猩猩饲养和费用等诸多问题，不适宜做大规模研究，所以很有必要开发更为简易的丙肝病毒培养系统。

拉尔夫·巴滕施拉格（Ralf Bartenschlage）教授是德国海德堡大学的病毒学家，他与学生沃尔克·洛曼（Volker Lohmann）对丙肝病毒也有着浓厚的兴趣。洛曼对建立丙肝病毒培养系统信心满满，冒着无法正常毕业的风险选择了该研究课题。经过多次尝试，最终于1999年在赖斯发现的基础上开发出了一种可在人肝癌细胞内进行繁殖的丙肝病毒体外培养系统，极大地简化了实验操作。

2000年，赖斯教授也在美国《科学》杂志上报道了由他的团队独立开发出的全新细胞系。因为可从体外培养的肝癌细胞中快速获取大量丙肝病毒，所以极大地推动了丙肝病毒的各项研究。借助体外



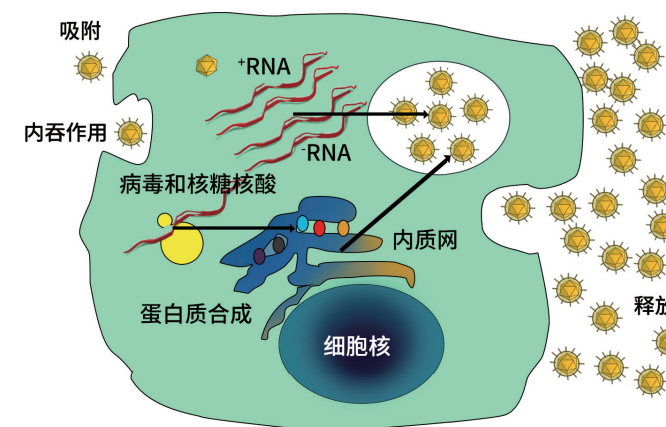
查尔斯·赖斯，图片来源于网络诺贝尔奖官网

培养技术，科学家对丙肝病毒特征、生活周期、致命弱点（可作为药物治疗的靶点）有了清晰的认识，为接下来的疫苗开发和药物研制奠定了坚实的基础。

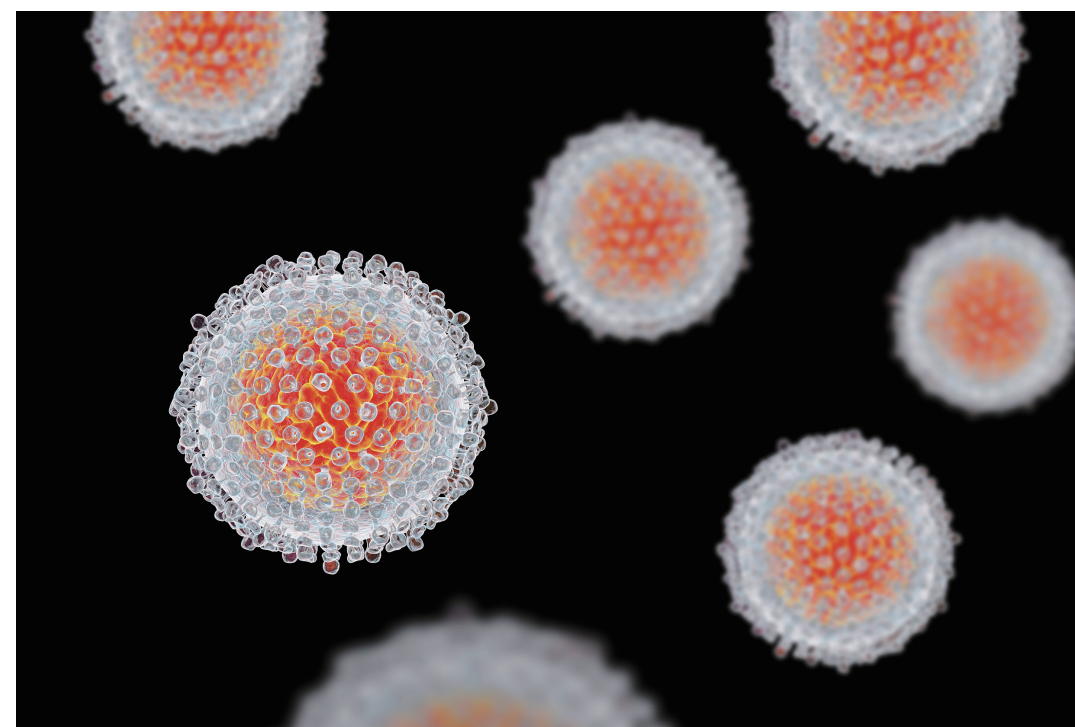
揭开丙肝病毒的神秘面纱

丙肝病毒是通过血液或者被血液制品污染的医疗设备感染的。进入人体的丙肝病毒会在肝里无声无息地定居下来，导致慢性感染和肝纤维化。在经历了约20年的慢性丙型肝炎病程后，约20%的患者最后会发展成肝硬化，而其中每年有5%的患者会患上肝癌。

上：丙肝病毒的复制过程
绘图 / 赵春秀
下：丙肝病毒的数码图形
供图 / 视觉中国



丙肝病毒会把肝向血液输出的脂质颗粒当作“特洛伊木马”，向身体各处传播并感染其他细胞。这些颗粒会和细胞膜上的某个受体结合，并通过内吞作用（endocytose）进入细胞。内吞作用是细胞汲取营养的一种机制，而遇到携带着丙肝病毒的脂质颗粒时，细胞膜会凹陷，将其整个包裹起来形成一个小囊泡，接



着这个小囊泡和细胞膜分离，将病毒粒子运送到细胞内部。护送病毒的脂质颗粒的包膜和小囊泡的膜融合，使病毒RNA被释放到细胞内。接着，病毒RNA被翻译为蛋白质。其中的一些蛋白质会复制病毒RNA。当病毒RNA和蛋白质累积到一定程度时就会装配成新的病毒，接着通过肝细胞的经典脂质颗粒分泌途径被分泌或释放出来。

通过长期以来对丙肝病毒分子生物学的研究，人们对丙肝病毒的基因组结构和相关基因表达产物有了深入的了解。

丙肝病毒体呈球形，它的直径通常小于80纳米，比如在肝细胞中为36~40纳米，在血液中为36~62纳米。丙肝病毒的基因组编码了10种蛋白质，其中3种属于结构蛋白，可以组装病毒的衣壳，从而将病毒RNA包裹起来；另外的7种蛋白质，其功能是复制病毒。

丙肝病毒的基因组在结构和表型特征上与人类的黄病毒相似，将其归为黄病毒科丙肝病毒属。其基因组为单股正链RNA，易变异。所谓的“单股”，就是一条链的意思。所谓的“正链”，意味着丙肝病毒基因组RNA和mRNA的顺序是一样的，意味着这种单股正链RNA进入细胞以后，细胞具备进行蛋白质合成的整套体系。也就是说，仅仅需要丙肝病毒的RNA进入细胞，细胞就会自己产生丙肝病毒的病毒颗粒。

丙肝病毒主要有7个基因型，不同基因型的基因序列之间的差别至少有30%，而且还有不少基因亚型存在，亚型间的序列差别也有20%。在一个丙型肝炎患者体内，每个病毒粒子均略有不同，因为病毒基因组的复制并不完全忠实于原版。

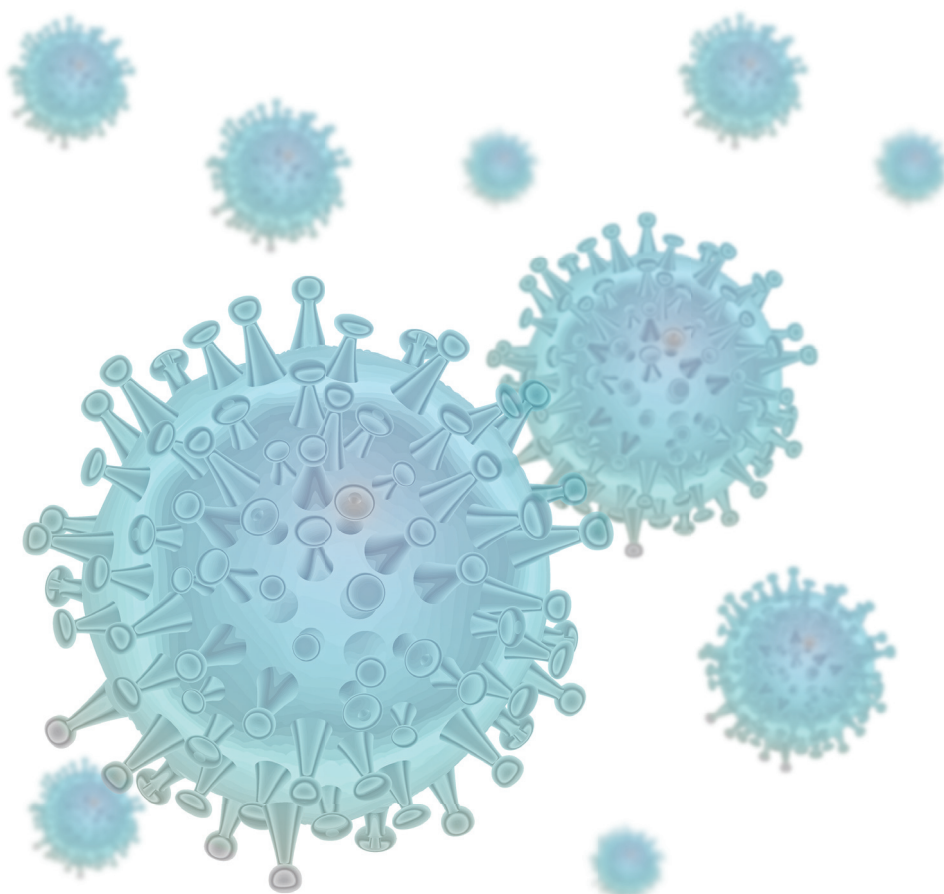
各种类型丙肝病毒所采取的治疗手段不尽相同，目前尚无有效的预防性丙肝疫苗可供使用。丙肝疫苗迟迟不能问世的根本原因在于：

(1) 病毒变化多端

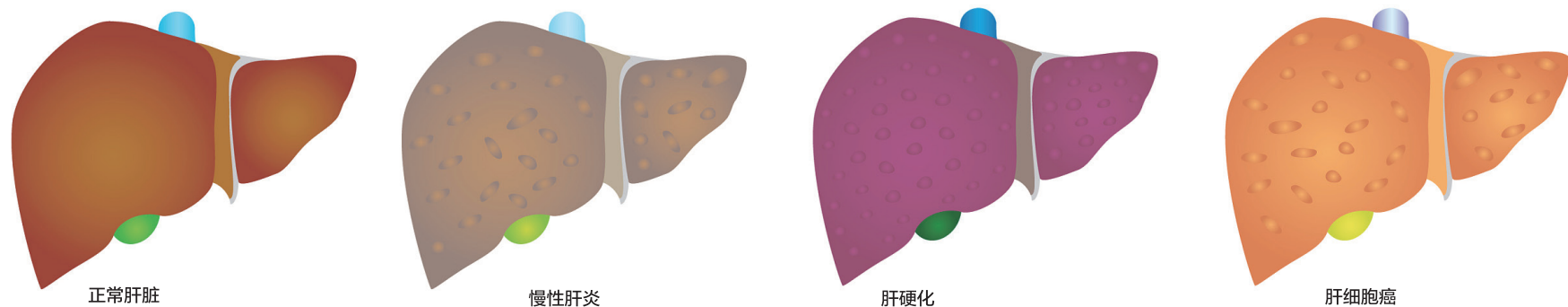
丙肝病毒存在7种不同的基因型（基因亚型多达67种），基因型之间的核苷酸差异度高达30%~35%。丙肝疫苗需要对这7个基因型都有防疫效果，难度可想而知。相比之下，乙肝病毒不同基因型之间的差异仅有8%左右。而且，丙肝病毒对突变的容忍率较高，同样的基因变异可能让其他病毒无法存活，但是丙肝病毒却安然无恙。

(2) 病毒不易培养

有许多病毒不仅可以从患者体内分离出来，在体外多种细胞中都能培养，也能在体外感染多种细胞。丙肝病毒却是个例外，不仅无法进行体外细胞培养，就连体外感染细胞都做不到，扩增就更不行了。因为这个特性，在20世纪70年代阿尔特发现“非甲非乙肝炎”后，十几年间都没能成功分离出丙肝病毒。最后，霍顿运用分子生物学的方法，克隆出了这种新型病毒。由于不能用细胞培养的方法获



最初感染丙肝病毒后，55%至85%的人发展为慢性肝炎。在慢性肝炎的患者中，20%至30%会发展成为肝硬化。丙型肝炎相关肝硬化患者每年有2%至5%的风险发展为终末期肝病（ELSD）或肝癌（HCC） 供图/视觉中国



慢性肝炎

肝硬化

肝细胞癌

正常肝脏

取大量的丙肝病毒颗粒，制造出符合需求的灭活或减毒疫苗就成了“无米之炊”，疫苗的大规模商业生产便无从谈起。

(3) 病毒难以清除

众所周知，抗病毒疫苗就是模拟病毒的自然感染过程，从而激活人体的免疫系统，起到对该病毒的免疫作用。研制抗病毒疫苗，必须考虑到这种病毒在人体内的自然清除率。丙肝病毒疫苗的感染者中，只有20%~40%的感染者能够将病毒自然清除，其余感染者则会遭受持续终身的慢性感染。这样的疫苗当然不能用，这就决定了丙肝疫苗的研发难度。

(4) 缺乏动物感染模型

动物感染模型是丙肝疫苗研发非常重要的工具，但是丙肝病毒的自然宿主很单一，只有人类和黑猩猩能感染。由于动物伦理的争议，2013年美国国立卫生研究院宣布停止使用黑猩猩作为实验动物，让相关动物实验很难开展。目前人们只能用基因编辑小鼠模型等开展研究工作，但是这些动物模型普遍不够理想。

丙肝虽然没有针对性的疫苗，但是特效抗丙肝病毒药物已经取得了巨大的成功，它就是“直接作用抗病毒药物”（direct-acting antiviral agents, DAA）。DAA的问世，改写了丙肝治疗的格局，使得丙肝几乎可以完成治愈，且不用终身服药。既然丙肝的治疗率已经这么高，药企当然缺乏研制丙肝疫苗的积极性。

发现丙肝病毒的重大意义

为什么要把诺奖桂冠授予发现丙肝病毒的三位科学家？换句话说，发现丙肝病毒的意义究竟有多大？要回答这个问题，需要让我们先了解一下丙肝病毒感染的现状。

丙肝是肆虐全世界的瘟神，这种疾病是由一种攻击肝细胞的病毒导致的。继乙肝之后，丙型肝炎是全世界第二大会导致癌症而致人死亡的传染病。据世界卫生组织统计，全球丙肝病毒的感染率约为3%，估计全球约有7100万丙型肝炎患者（我国1000万

左右),其中20%至30%的患者20至30年内会出现肝硬化,每年有2%~5%的肝硬化患者会发展为肝癌。2016年,约有40万人死于丙型肝炎,主要缘于肝硬化和肝细胞癌(原发性肝癌)。

三名获奖者的工作为丙肝病毒的高度准确而有效的血液筛查奠定了基础。如今,在世界许多地方,对血液进行肝炎筛查已使输血后肝炎的发生率接近零。这是一个里程碑式的工作!

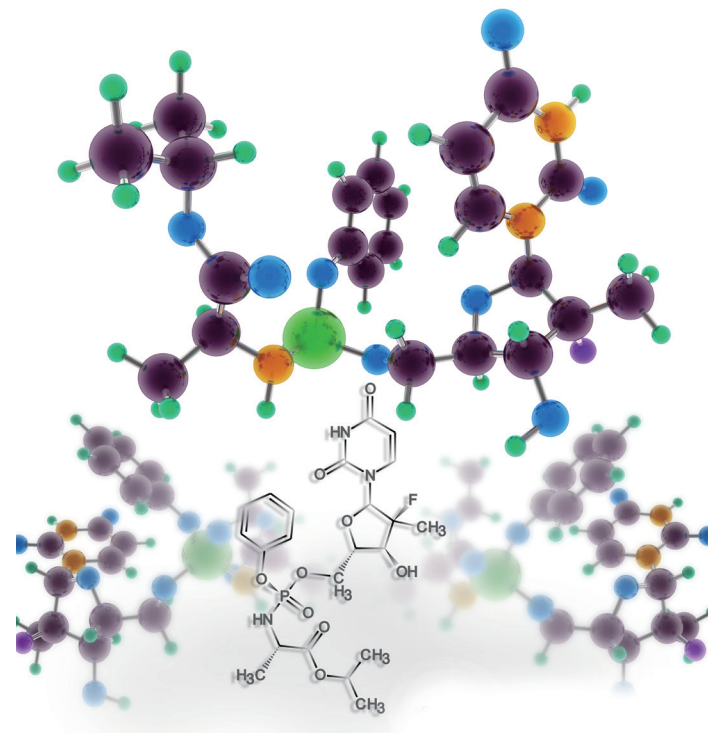
历史上做医学病毒研究的一般规律是,发现一种疾病后,从受感染的组织中将病毒分离出来,在细胞中培养、扩增,通过显微镜观察受感染细胞中的病毒,再进行其他研究,但丙肝病毒的发现不是这样的。20世纪70年代初,阿尔特发现非甲非乙型肝炎后一直找不到病毒,无法在细胞中培养出来。霍顿等人对丙肝病毒的发现是首先找抗体,利用抗体找出抗原及其编码基因,是先发现基因再发现病毒,先建立感染性病毒的全基因组克隆,最后才建立病毒的细胞培养方法。这是利用反向的基因克隆技术来发现新病毒,把发现新病毒的工作从细胞水平带入了分子水平。

其实也正是基于这三位科学家发现丙肝病毒的基础工作,才有了后来科学家进行的药物研发。如果没有三位科学家发现丙肝病毒,就不会有对丙肝病毒的深入认识,就不会有突破性的抗病毒药物,就不会有这些药物所挽救的生命,消灭丙肝便都成为空谈。另外,如果我们站在全球公共卫生的角度去看的话,科学家的工作使得我们通过有效的血液检测,避免了可能数以千万计甚至上亿的丙肝血液传播;而即便我们现在有了治疗丙肝的药物,由于丙肝病毒是变异力比较高的病毒,感染后无持久保护性免疫,丙肝治愈后仍有再次感染的风险。因此,通过快速、准确地诊断并阻断感染途径,在今天和将来仍有重要的意义。

抗丙肝病毒药物的成长史

2010年,由美国法玛赛特(Pharmasset)公司的迈克尔·索菲亚(Michael Sofia)团队研发的PSI-7977在实验室诞生。这是第一个具有治疗丙肝潜能的“直接作用抗病毒药物”。2011年,吉利德科学公司(Gilead Sciences Inc,下称“吉利德”)以自身市值的三分之一将这家不盈利的公司收购。完成这次收购后,吉利德获得了3个潜在的丙肝药物,PSI-7977就是其中之一。吉利德对PSI-7977进行了一系列改造,诞生了后来成为“丙肝神药”的索非布韦(英文名:Sofosbuvir,另译:索磷布韦,俗称:吉一代,商品名:Sovaldi,中文名:索华迪),并于2013年12月获美国食品药品监督管理局(FDA)批准上市。

该药上市的第一年,销售额便突破103亿美元。能赚来这么多钱是因为索非布韦的价格昂贵,一个疗程的费用是84000美元。算下



Sofosbuvir的分子结构示意图
供图 / dep (汇图网)

来,平均每一粒药的价格超过1000美元。别看索非布韦价格昂贵,但是治愈率接近100%。

此后,吉利德又持续推出三代丙肝新药,终结了全球对丙肝治愈药物的研发需求。其中,索非布韦的升级版“哈瓦尼”(英文名:Harvoni,学名:Ledipasvir&Sofosbuvir,俗称:吉二代,中文名:夏帆宁)是由索非布韦与雷迪帕韦(Ledipasvir,LED)组合,2014年10月获FDA批准上市。

吉利德凭借索非布韦(吉一代)和哈瓦尼(吉二代)在丙肝治疗领域叱咤风云,不仅跻身“2014年全球制药巨头收入排行Top15”前10名,而且凭借179.75亿美元的处方药销售一举击败强生、辉瑞、罗氏、诺华等国际药企巨头。

2016年6月,吉利德研制的革命性产品,“超级重磅炸弹”级新药“吉三代”——丙通沙(Epclusa)获FDA批准上市,一跃成为丙肝市场的绝对领导者。丙通沙片是索非布韦与维帕他韦(Velpatasvir,VEL)组成的复合片剂,适用于治疗各种基因型丙肝,疗效远远地优于吉二代。除此之外,丙通沙副作用极小,疗效快,治疗时间较短。一般患者每天口服一次,12周左右即可治愈。

2018年7月18日,FDA批准吉利德新药Vosevi上市。Vosevi由索非布韦、维帕他韦和伏西瑞韦(Voxilaprevir)组合而成,其中前两种都是先前已获批的药物。索非布韦是“吉一代”,索非布韦+雷迪帕韦是“吉二代”,索非布韦+维帕他韦是“吉三代”,Vosevi自然就顺理成章被称为“吉四代”。简单来说,吉四代在沿用了吉三代的两种有效成分基础上,还新添加了一种全新的药物伏西瑞韦。吉四代和吉三代都能治疗1~6所有基因型,不同的是吉四代治疗范围更广。

在医学史上,只有屈指可数的慢性疾病能够被治愈,丙肝正是其中的一种。如今,世界卫生组织已经把2030年消灭丙肝作为目标。到2036年,丙肝将成为罕见病。一个没有丙型肝炎的新世界已经出现在地平线上。这一美好愿景的实现,将为丙肝研究人员近半个世纪的艰苦努力树立一座丰碑。这一群体的三位杰出代表荣获2020年的诺贝尔生理学或医学奖,自然是实至名归。

(责编 桑新华)

