



## 諾貝爾獎遺珠之憾--C 肝病毒的背後故事

醫學檢驗暨生物技術學系 方偉宏副教授

2020 年諾貝爾醫學獎公布三位 C 型肝炎病毒(HCV)發現得獎者哈維·亞爾特 (Harvey Alter)，麥克爾·霍頓 (Michael Houghton)，查爾斯·萊斯 (Charles Rice)，之後在醫技系系友之間引發熱議，主要在為本系系友郭勁宏博士當年對 C 肝發現的貢獻抱不平。

郭勁宏 (George Ching-Hung Kuo) 簡歷如下，1961 年畢業於母校醫技系 (第二屆)，在母校細菌學科擔任助教，協助已故楊照雄教授的教學與研究，後赴美深造 1972 年自阿爾伯特·愛因斯坦醫學院取得博士學位。因為發現 NANBH 的病原體，並命名為 C 型肝炎病毒，及研發篩檢 HCV 病人血清的方法，郭博士曾榮獲 1992 年卡爾·蘭德斯泰納紀念獎，1994 年美國腸胃學會頒授的威廉·博蒙特獎，以及 2005 年：美國血庫學會頒授戴爾·A·史密斯紀念獎。

2020 諾貝爾醫學獎得獎人之一麥克爾·霍頓 (Michael Houghton) 與朱桂林 (Qui-Lim Choo) 及郭勁宏三人當年是研究工作的好伙伴，同時也是終身的朋友，有著過命的交情，霍頓因 C 肝病毒的發現獲獎很多，也包括上述郭勁宏共同獲得的三獎項。然而霍頓三十年來一再強調 C 肝病毒的發現是三人共同努力的成果，曾於 2013 年發表聲明婉拒了加拿大最具國際高評價的科學獎蓋爾德納獎 (Gairdner Award)，主要是因為兩位 HCV 共同發現者並未同時入選。霍頓在 2009 年 11 月 Journal of Hepatology 及 2019 年 9

月另篇回顧文章中，分別提出他與郭、朱在當年 C 肝病毒發現時的創見及貢獻。

霍頓得知榮獲諾貝爾獎時，有著憂喜參半的情緒：「能夠得獎是很甜蜜，但是另一方面很苦澀，因為諾貝爾獎並沒有直接認可整個團隊。」由此可見霍頓長期以來爭取兩位同仁在 HCV 研究的功績，在公布諾貝爾獎後的記者會中，他很感性的說：「如果沒有他們的付出，我無法成功。」然而，霍頓得獎者關鍵著作 1989 年 4 月兩篇發表於 Science 論文，第一作者分別是朱桂林及郭勁宏兩人。然而再一次，朱桂林、郭勁宏並未在諾貝爾委員會宣布醫學獎得獎人的新聞稿中被提及。

根據對郭勁宏系友的專訪、最近三人間的 email 往來，以及郭系友本人提供的資訊，讓我們來了解一下在 1980 年代發現 HCV 背後的故事。希望對醫學校區的師生有所啟發。

郭勁宏提供的資料顯示，他在加州大學舊金山分校（UCSF）工作數年後，於 1981 年成為開榮公司（Chiron）資深科學家，開榮初創時期，大部分研究人員都是從 UCSF 生化系出來的，氣氛很像大學，但資源有限，大家都很拼命做事。在肝炎病毒的領域，開榮團隊的成果包括 1. 為 A 肝病毒定序，2. 為默克公司（Merck）發展 B 肝疫苗，3. 選殖到 NANBH 病毒並命名為 HCV，4. 選殖到 HDV，可以說 A, B, C, D 四種肝炎病毒都涵蓋到了。

麥克爾·霍頓於 1982 加入開榮成為資深科學家，主持 NANB 肝炎計畫，實驗室就在郭勁宏隔壁，1984 年朱桂林加入霍頓實驗室，利用來自 CDC 的 NANB 感染黑猩猩的檢體，朱和霍頓用 nucleic acid plus/minus screening，

雖然日以繼夜一周 7 天在實驗室工作，篩測了數以千萬的選殖基因序列，仍找不到任何病毒蹤跡，其它地區的研究者也面對著同樣的困難。

1985 年當郭勁宏的 TNF 計畫完成，也了解隔壁實驗室研究所遭遇的困境，再沒有研究成果公司可能就要他們打包走人，有一天看到無精打彩的朱桂林，就引用 Lewis Carroll 「獵鯊記」中的詩句鼓勵他：

"For the Snark's a peculiar creature, that won't be caught in a commonplace way.

Do all that you know, and try all that you don't: Not a chance must be wasted today!"

他將這詩句放在桌上常座右銘，這也激發了團隊的靈感以找出 C 肝病毒。郭勁宏提供一些建議：必須改變研究方針，病毒量太少了難以用正在進行的方法測出，建議從感染檢體中收取的 RNA 片段，植入細菌中擴增數量，然後就可以從這些「基因庫」，以感染非 AB 肝炎病人的抗體進行篩檢。

這個方法是寄望於 C 肝病人會產生抗體識別這些病毒序列表達出的蛋白質，讓研究人員可以在蛋白表現「基因庫」中釣出含病毒序列的殖株。

但在尚未確認病人是否會產生抗體前，這個方法風險太高，霍頓有些猶豫，他表示沒聽說有人可以產生 NANB Virus Antibody, 郭則認為因為沒有足夠多的抗原所以才測不出來。以 B 型肝炎為例，HBV 帶原者在血清裡有超過 1mg/mL 的 HBV 表面抗原，因此才能輕易的測出澳洲抗原。因此 Blumberg & Alter 用 Ouchterlony double diffusion 的方法就能看到沉澱線。而 NANB 病毒在血液中的效價最高只有  $10^6$ ，只要計算一下就知道抗原太少了，根本測不出來，所以才會出現「沒有 NANB Virus Antibody」的說法。

郭進一步向霍頓說明，所有人感染病毒都會產生抗體，然而抗體不一定是中和抗體（neutralizing antibodies），這是一個很合理的假設，郭還特別強調如果在病人身上無法產生抗體，那麼就算是已經選殖到病毒了，恐怕也不可能研發出血液篩檢試劑（1980年代在PCR技術還沒被發展出來的，抗原抗體反應是篩檢的主要技術）。

為了爭取時間及提高敏感度，郭建議不要用酵素連結的二次抗體（二抗），因為分不出強陽性或弱陽性，改用放射線標定的二次抗體會比較敏感。

進行正式的實驗前，郭特別選了兩個模式系統確認這個方法的可行性，一是用 $\alpha 1$  antitrypsin，這種蛋白質的 mRNA 估計約為 0.1%，也可以向廠商購買高效價的單一特異性抗血清，團隊從肝臟 RNA 製作 cDNA 基因庫，進行篩檢看看是否可以找到表現 $\alpha 1$  antitrypsin 的菌株，答案是：成功。

團隊先前就選到到 HDV cDNA，將這個菌株混入 cDNA 庫，然後使用「病人」血清進行反應，再用二次抗體看看可不可以找到含 HDV cDNA 的菌株，答案仍然是：成功！

因為研究團隊無法預知 NANBH 病人血清到底有沒有抗體，因此使用 NANBH 病人血清去找 NANB 病毒選植株的方法，就被稱為「盲目篩檢（Blind Screening）」，正式展開實驗後，團隊從培養皿轉漬出西方墨跡實驗（Western blot）只看到幾個陽性株，這是個好現象，表示這個方法以及病人血清抗體的特異性都很好，如果病人血清對多個標的物反應，產生太多的選植株，就需要花費很多時間過濾分析。自此三人團隊日以繼夜的努力，霍頓從感染病患血清製備基因庫，朱桂林進行選植，沒多久就挖到寶，團隊第一次篩測，在編號第 5 得到了陽性株，再進行第二次篩測，編號第 1

個就是陽性株，第三次篩測也是編號第 1 個就是陽性。於是團隊命名這個 cDNA 選殖株「5-1-1」，這是 HCV 有史以來第一個選殖株。

使用這個片段，團隊可以釣出附近病毒基因的序列，最後將病毒基因體拼湊出來。郭勁宏則立刻使用這些資訊設計一個可以篩檢感染血液的測試。在 1987 年末，團隊成員都認為已鑑定出血液傳染的 NANBH，並命名為 C 型肝炎病毒（HCV），同時提出第一個專利的申請；1989 年團隊在科學雜誌上發表，以朱桂霖為第一作者的論文描述病毒的分離，命名為 C 型肝炎病毒。以郭勁宏為第一作者的論文則列出篩檢 C 肝病毒的步驟。

之後郭勁宏的測試已進入應用，1988 年末日本天皇成為第一位使用郭的檢驗血品的人，日本 1989 許可這個技術，美國在 1990 年許可。成功的找到 C 肝病毒（HCV），這個發現引導出篩測污染血的方法，最後發展出藥物可治癒大部分被感染的病人。

郭勁宏與妻子 Carol（Lan-Fang），加上技術員共三人團隊，花了很短的時間，以有限的人力，十分技巧的選殖到 C 肝病毒，純化了所有 HCV 的重組蛋白，用全世界不同地區病人的血清，研發出血液篩測的方法，郭勁宏很自豪的表示，這是科學界破紀錄的創舉。

朱桂林的近期與霍頓、郭勁宏的通信中也表達了不滿：「2020 年諾貝爾醫學獎公布新聞稿中，三成的參考文獻來自美國 NIH，為 NIH 多年來對 NANBH 的成就得到很好的曝光，但是朱認為這個新聞稿有兩項誤解，第一、看起來 HCV 的發現輕輕鬆鬆，似乎 NIH 早就為 HCV 的發現鋪好路了，僅僅多年在基因庫的篩檢，霍頓及朱就可以找到 C 肝病毒，然而並非如此。第二、新聞稿將霍頓、朱、郭三人的研究描述成只是另一個基因選殖的方

法而已，實際上發表在 1989 年 Science 的論文則是首度教導世人，如何用新的分子選殖方法鑑定一個未知病毒，而且不需要用到 PCR 及其它傳統方法。這個方法並不是原來就存在，而是一個新概念所產生，否則團隊的論文發表不會早別人好幾步，申請到的專利更是無懈可擊。」

霍頓在公布諾貝爾獎時對記者表示：「只要談到給獎方式，就會將整個發現過程的氣氛搞得有點糟。」列舉了好幾位後來參與 C 肝研究的科學家，「這些優秀的人都值得肯定。」諾貝爾獎的規則是同一獎項不能同時給超過三名的得獎者。這項規則是舊世代的遺跡，對於科學界不斷累積的進展幾乎不予肯定，實際上每個里程碑級的新發現，無可避免的立基於許多人多年的努力。即使諾貝爾委員會也在公布得獎隨附的文件中，技術性的肯定後續研究的功勞，包括 C 型肝炎的發現加上發展出第一個有效的疫苗，其中包括數十位研究者姓名，而能站在台上接受表揚的人則僅有三人。

當諾貝爾獎新聞公布時，郭勁宏表示有點失望，但他進一步表示：「得獎從來不是目的，我的動機來自於有個夢想，做出不一樣的事，幫助到全世界的人，在許多案例中，則是救了許多人的命。我也想教育我們的後輩，對於自己感覺震動心弦的事業，全力的投入是很重要的。」

朱桂林與郭勁宏與諾貝爾獎失之交臂，但他們也感謝 2020 年 10 月 19 日 Nature 刊登的一篇評論“THE UNSUNG HEROES OF NOBEL-WINNING HEPATITIS C DISCOVERY”，這是世界級的科學雜誌在公布諾貝爾得獎名單後，史無前例的替應得獎而未獲獎者仗義直言，實屬難能可貴。