

万千宠爱集于一身: 2015年诺贝尔生理学或医学奖解读

曾庆平

广州中医药大学热带医学研究所, 广州 510405

E-mail: qpzeng@gzucm.edu.cn

2015年诺贝尔生理学或医学奖(以下简称“诺奖”)由抗疟疾新疗法发现者屠呦呦与抗丝虫病新疗法发现者 William C. Campbell 及大村智共同分享, 这是屠呦呦继 2011 年获得拉斯克-德贝基临床医学奖后, 再次因发现青蒿素而获得的最具国际声誉的科学荣誉, 也是中国本土科学家首次获得的自然科学领域最高奖。

在得悉获奖消息时, Campbell 竟然不相信那是真的, 他率性地冲着电话那头喊道: “你一定是在开玩笑吧!” 大村智似乎对自己获奖并不感到意外, 但他还是以日本人惯用的恭敬口吻说道: “我谦卑地接受这个奖”。在接受诺奖委员会采访时, 正值中国国庆节长假期间, 屠呦呦把诺奖的宣布形容为庆祝“国庆节的好消息”。

在随后发表获奖感言时, 屠呦呦表示: “青蒿素是传统中医药送给世界人民的礼物, 对防治疟疾等传染性疾病、维护世界人民健康具有重要意义。青蒿素的发现是集体发掘中药的成功范例, 由此获奖是中国科学事业、中医中药走向世界的一个荣誉”。诺奖今日“名花有主”, 它把国际学术界对中国科学家的“万千宠爱”汇集在其杰出代表屠呦呦一人身上!

1 褒奖科学发现, 更弘扬人道主义精神

今年的诺奖颁给了 3 位寄生虫病防治领域的资深科学家, 美、日学者都是抗丝虫病专家, 中国学者则是抗疟疾专家, 显见寄生虫防治领域的研究取得了突破性成就, 并对保护人类健康具有重大意义。阿维菌素可治愈河盲症和橡皮病, 而青蒿素挽救了成千上万疟疾患者的宝贵生命。毋庸讳言, 此次诺奖更青睐“接地气”的应用成果, 而不是一味追捧新奇结论, 同时也体现了诺奖评委会遴选获奖成果时一贯的时滞属性。这两项成果都是 20 世纪 70 年代问世的, 而它们却经历了 40 年后才赢得诺贝尔奖。

河盲症、橡皮病和疟疾都是多发于热带地区的寄生虫病, 而这些地区的大多数居民都生活在最不发达国家, 收入处于贫困线以下。由于饥寒交迫、缺医少药, 他们生病后只能听天由命、自生自灭。幸而, 在科学家的艰苦努力下, “救命药”伊维菌素和青蒿素被相继成功地研制出来。在人道主义的强烈感召下, 国际组织、发达国家和跨国公司



曾庆平 广州中医药大学热带医学研究所研究员, 曾留学芬兰赫尔辛基大学, 长期从事青蒿素合成生物学及分子药理学研究。在国家自然科学基金连续资助下, 发现了青蒿素具有延寿抗衰老和减肥抗糖尿病等新药理作用, 报道了青蒿素靶向线粒体呼吸链复合物

促进线粒体再生的分子证据, 研究成果已在国内外公开发表, 并已写入 Springer 出版的 *Artemisinin and Nitric Oxide* 英文版专著中。在解析青蒿素合成与积累分子机理基础上, 相继成功培育高产青蒿素转基因青蒿植株及基因工程酵母菌。在老一辈青蒿素抗疟疾临床药物学家李国桥教授带领下, 曾主持研制疟原虫速测试剂盒, 配合在非洲科摩罗开展的全民“灭源灭疟”活动。

司都行动起来了, 多年来为广大患者免费提供了大量治疗药物。假如这 3 位科学家今年获得的是诺贝尔和平奖, 人们一点也不会感到奇怪。

2 细胞内感染使抗寄生虫病战役取胜艰难

恶性疟疾主要由恶性疟原虫(*Plasmodium falciparum*)引起, 但间日疟原虫(*Plasmodium vivax*)、三日疟原虫(*Plasmodium malariae*)和卵形疟原虫(*Plasmodium ovale*)也能分别引起间日疟、三日疟和卵形疟。它们经按蚊叮咬进入人体后, 先感染肝细胞再感染红细胞^[1], 属于细胞内感染性寄生虫病。河盲症是由盘尾丝虫(*Onchocerca volvulus*)感染皮肤组织所致^[2], 橡皮病(或称淋巴丝虫病)是班氏丝虫(*Wuchereria bancrofti*)和马来丝虫(*Brugia malayi*)感染淋巴组织所致^[3], 均属于组织内感染性寄生虫病。正如病毒性细胞内感染(如艾滋病等)一样, 人们在与寄生虫病的长期博弈中各有胜负, 即使将来也不一定完胜。

首先, 细胞内病原体是无法用常规疫苗进行预防的, 它们的生活史几乎全部在细胞内完成, 抗原很少会释放到

血液中诱生中和抗体,而人工诱发的中和抗体又无法进入细胞内杀灭它们,这就是为什么疟疾疫苗至今尚未研制成功的原因.若将目标抗原锁定在肝细胞与红细胞“窗口期”,倒是有获得成功的可能.葛兰素史克推出的重组疟疾疫苗 Mosquirix (RTS, S),针对红细胞前期环孢子蛋白研制,其最新临床试验数据表明,它能将学龄前儿童和婴幼儿的疟原虫感染率分别降低 50%和 25%^[4].

其次,细胞内病原体较易形成耐药性,它们把宿主细胞当作“庇护伞”,在宿主细胞解毒的同时,它们也得以蒙混过关,并苟延残喘.红细胞膜上的“药泵”可把抗疟药从细胞内抽到细胞外,这样栖身其中的疟原虫就只会接触到很低剂量的抗疟药,于是耐药性便产生了^[5].青蒿素的过氧桥易被细胞的抗氧化酶所破坏,一旦细胞经亚致死剂量青蒿素反复刺激后,就会在其中积累大量抗氧化酶,使得疟原虫可以搭上抗氧化酶这辆“顺风车”逃之夭夭,导致青蒿素对细胞内疟原虫的杀伤力减弱,甚至变得毫无杀伤力,于是青蒿素耐药性就产生了.这就是为什么青蒿素绝对不能在同一个患者身上单方用药且反复用药的道理^[6].

3 集体攻关快马加鞭,个人努力稳操胜券

回顾青蒿素发现的历史,不难看出当年举全国之力成立的“523”项目^[7],确实为广大科研人员研制新型抗疟药提供了施展才华的巨大舞台,让他们能在这个舞台上大刀阔斧,各显神威.经过一段时间的攻关,先后获得了有一定抗疟活性的青蒿素、常山乙碱、鹰爪甲素、仙鹤草素和暗罗素等单体化合物,这体现了在党和政府领导下发动群众,依靠群众,“集中力量办大事”的威力.

为什么后来只有青蒿素被成功开发为抗疟药呢?青蒿素^[8]与鹰爪甲素^[9]都属于倍半萜类,两者都是含有过氧桥结构的内酯化合物,但后来它们的命运大相径庭,一个发扬光大,另一个弃之不用.当然,这一方面可能与不溶于水的青蒿素被改造成可溶于水的青蒿琥酯、双氢青蒿素、蒿甲醚等有关,但另一方面屠呦呦作为科研组长在制备高收量和高抗疟效率的青蒿素冷乙醚提取物中付出的勤奋和努力是功不可没的.

同样,阿维菌素的开发也是依赖集体的智慧才获得成功的.1978年,日本北里大学的大村智把从当地分离的一株链球菌交给 Campbell 领导的默克公司 Sharp & Dohm 研究实验室进行鉴定.最初他们发现,该菌发酵液对小鼠旋形线虫有效,而且 8 倍用量也无明显毒性.随后研究团队从发酵液中分离出一系列杀线虫活性物质,即 16 员大环内酯抗生素衍生物,总称为阿维菌素^[10].

4 青蒿素的发现既是偶然也是必然

青蒿素是中药还是西药?按现有药物分类标准,青蒿

素显然属于西药,但青蒿却是地地道道的中药.李时珍所著《本草纲目》中已有用青蒿治疗“小便淋通”、“便前有血”、“气热咳嗽”、“崩中漏下”等病的记载.葛洪《肘后备急方》中精准介绍了青蒿治疟的具体用法:“青蒿一握,以水二升渍,绞取汁,尽服之”.

用青蒿治“打摆子”(疟疾的俗称)在我国民间早已有之,江苏高邮县就流传着一句顺口溜:“得了疟疾不用焦,服用红糖加青蒿”.可以说,假如我国民间没有祖传的青蒿治疟经验,那么青蒿素就很难与抗疟药联系起来.假如我国古代中医典籍中没有介绍青蒿治疟时的制法,那么屠呦呦小组大量制备青蒿素的时间一定会更晚一些.

青蒿素的发现竟然得益于 2 个偶然因素.首先,古书上写的是将青蒿用“水渍”,而屠呦呦小组却先用高温“醇提”,后因收率不高改为低温“醚提”,但用的都是有机溶剂.把水改为有机溶剂也许没有什么依据,但他们确实“蒙”对了,因为青蒿素就贮存在青蒿植株上分布的充满芳香油的腺毛中^[11],它易溶于油而不溶于水,适合用有机溶剂提取,而水提的收量极低.

其次,屠呦呦小组发现用整株青蒿提取的青蒿素含量不如用青蒿叶片提取的青蒿素含量高.于是,在青蒿选材时,他们毫不吝惜地舍弃占大头的茎秆和根系,只留下少量叶片用于青蒿素提取.后来的研究表明,青蒿素主要分布在叶片、花蕾和果实中,其他部位的含量甚微^[12].

5 中国失去青蒿素专利权的反思

在发现青蒿素后的很长一段日子里,我国尚未建立知识产权制度,也就无专利申请可言,加之我国科研人员保密意识淡薄,无意中泄露了青蒿素的结构与功能等核心机密,致使青蒿素的专利落入他人之手.这就是为什么我国作为青蒿素创始国,同时又是青蒿素生产大国,但却在世界青蒿素类药物销售市场上只占有区区 1% 的份额.

虽然这个结局令人遗憾和痛心,但俗话说得好,“塞翁失马,焉知非福”.作为唯一的青蒿素原料国,中国失去青蒿素专利权或许不一定是坏事,这是因为疟疾主要发生在老少边穷地区,只有为药厂提供没有巨额利润的青蒿素原料,才能生产出低价甚至免费供应的抗疟药,及时挽救生活在贫困线以下的广大疟疾患者的生命,奉行真正的人道慈善义举.

尽管国际上有遭遇突发疾病时允许仿制专利药的共识,但某些高科技企业利用高新技术生产的青蒿素类药物,今后恐怕因严格专利保护再也难以仿制.据报道,世界制药巨头赛诺菲已在意大利投资设厂,利用专利全覆盖的酵母基因工程菌生产青蒿酸,然后通过化学转化反应合成青蒿素^[13].目前这种工业化生产的青蒿素年产量已达数十吨,而且价格几乎与用青蒿提取的青蒿素相当,制成的复方青蒿素成品药也已运抵非洲疟疾流行区^[14].这将大大挤压我

国青蒿素产业的生存空间,甚至可能让我国农业化生产的青蒿素毫无用处,这才是未来可能出现的真正的“青蒿素危机”!

幸而我国有关科研机构及某些药企正在“复制”青蒿素半合成生产线,并独创了从青蒿酸合成青蒿素的非光化学催化法,让中国的青蒿素产业现出一线曙光.今后如何规避专利壁垒,不让中国“壳”、外国“芯”的产品生产模式重演,是值得业界通盘考虑的问题^[15].

6 闯出有中国特色的高产青蒿素之路

我国西南地区分布的青蒿植株中的青蒿素含量是世界上最高的,具有良好的遗传素质和栽培基础,若采用杂交育种、多倍体育种等传统育种技术进行品种改良,有可能培育出青蒿素含量更高的优良青蒿品系^[16].

针对双氢青蒿酸含量高的青蒿素品系,可采用物理诱导(如低温、老化)或化学诱导(如水杨酸、茉莉酸甲酯处理)^[17-19],促进双氢青蒿酸向青蒿素转化.双氢青蒿酸也可先提取出来,然后用青蒿无细胞抽提液进行离体转化^[20].

鉴于青蒿的遗传图谱已绘制完成^[21],青蒿的转基因育种将更上一层楼.目前,青蒿的基因改造主要有“开源节流”两条思路:一是打开通往青蒿素方向的碳流,二是关闭通往其他代谢产物(如鲨烯)的碳流^[22].此外,有人还培育出专门合成青蒿酸的转基因烟草^[23],由此分离的青蒿酸可用生物法或化学法在体外转化成青蒿素.

7 青蒿素研究需要承先启后继往开来

青蒿素对人类健康已经做出的贡献是在氯喹几近失效后抗击氯喹耐药性疟疾,而它作为具有过氧桥结构的独特分子在未来可能用作抗肥胖、抗衰老、抗炎、抗癌和抗菌的潜在药物或辅助药物.如果说青蒿素抗疟研究是屠呦呦、罗泽渊、李国桥等前辈涉猎的先驱领域,那么青蒿素拓展应用研究将具有承先启后继往开来的指标性意义.

目前对于青蒿素的拓展应用研究尚处于探索阶段,但已经露出可喜的苗头,并在减肥(抗糖尿病)、延寿(抗衰老)、祛痛(抗风湿病)、抗癌、抑菌等方面取得一些初步研究成果.青蒿素之所以能发挥多重药效,是因为它能结合含血红素的蛋白质和酶,如细胞色素氧化酶、一氧化氮合酶、过氧化氢酶等.下面简单介绍这方面的最新研究进展.

脂肪组织从形态上可分为褐脂组织与白脂组织,前者线粒体较多,而后者线粒体较少.青蒿素可以靶向结合线粒体呼吸链复合物,模拟 2,4-二硝基苯酚的解偶联机制,通过一氧化氮信号转导,促进线粒体再生,使脂肪组织褐化,加速脂肪的氧化分解,从而发挥降脂减肥作用,并降

低患 II 型糖尿病及非酒精性脂肪肝病的风险^[24].

衰老的主要原因是线粒体功能异常.节食可以促进线粒体增殖活性,增强细胞抗氧化能力,同时钝化合成代谢,活化分解代谢,使细胞依赖自噬维持基础代谢功能.青蒿素能模拟节食促进线粒体增殖与强化代谢转变的效果,发挥一氧化氮的有益效应,最终起到抗衰老及延寿作用^[25,26].

慢性炎症能诱导一氧化氮迸发而使细胞出现代谢性缺氧,导致新血管形成,由此将炎症物质带到缺氧敏感部位,如关节滑膜组织,从而出现关节红肿、疼痛、软骨及骨损伤等类风湿性关节炎症状.青蒿素可以有效抑制一氧化氮合成,使缺氧不再发生,关节损伤也就戛然而止^[27].

癌细胞依赖一氧化氮抵御抗癌药物的攻击,通过修饰抗癌药物降低其原有活性.当青蒿素与癌细胞内一氧化氮合酶的血红素结合后,就能强力抑制一氧化氮合成,使癌细胞和细菌对抗癌药物与抗生素的敏感性大大提高^[28].

细菌也能依赖一氧化氮阻断抗生素的追杀,其机理是对抗生素进行结构修饰,使其丧失天然活性.青蒿素一方面可以与细菌的一氧化氮合酶结合,令其失去合成一氧化氮的能力,另一方面青蒿素又可以与细胞的过氧化氢酶结合,使过氧化氢无法被分解,使细菌因缺乏一氧化氮保护及受过氧化氢损害而被抗生素迅速抑杀而死亡^[29].

从以上青蒿素的药理机制可知,一氧化氮在其中发挥作用的重要性不言而喻.1992年, *Science* 杂志把一氧化氮遴选为“年度分子”.1998年,Lois J. Ignarro, Robert F. Furchgott 和 Ferid Murad 因开创一氧化氮研究领域,并阐明一氧化氮的生理功能而问鼎诺贝尔生理学或医学奖.

8 结语

本文从回顾与前瞻的角度介绍了 2015 年度诺贝尔生理学或医学奖获奖者的重大科学贡献及其对未来研究的启迪,并由此引申出 3 点思考:一是在肯定集体合作攻关积极意义的基础上,应该突出个人努力在原创性科学发现中的重要作用.二是要反思中医宝库对青蒿素发现的贡献和新药研发的专利保护.三是提出了今后我国拓展青蒿素应用新思路.个人贡献与集体成就对原创性科学研究同样重要,每位研究人员应该勇于创新,刻苦钻研,并长期坚持既定的研究方向.同时,也需要推陈出新的创新机制推进中药研发的新思路.

另外,有关青蒿素抗疟以外的拓展研究目前还停留在动物实验阶段,离临床试验及应用还有一段距离.随着研究的不断深入,青蒿素在抗疟以外领域中的应用将逐步提上议事日程,尤其是在青蒿素被授予诺奖后,更可能掀起一股深入挖掘青蒿素广谱药用价值的热潮.当然,青蒿素用途拓展是否会导致疟原虫对青蒿素的敏感性降低,也是未来值得认真对待和深入研究的问题.

致谢 衷心感谢“523”项目青蒿素临床试验主要负责人、广州中医药大学青蒿研究中心李国桥教授在本文写作过程中提供的资料以及给予的指导。

参考文献

- 1 Malaria fact sheet N 94. World Health Organization, March 2014
- 2 Onchocerciasis fact sheet N 374. World Health Organization, March 2014
- 3 Lymphatic filariasis fact sheet N 102. World Health Organization, March 2014
- 4 RTS, S Clinical Trials Partnership. A phase 3 trial of RTS, S/AS01 malaria vaccine in African infants. *New Engl J Med*, 2012, 367: 2284–2295
- 5 Shweta S, Bikash M, Rakesh S. Challenges of drug-resistant malaria. *Parasite*, 2014, 21: 61
- 6 White N J. Qinghaosu (artemisinin): the price of success. *Science*, 2008, 320: 330–334
- 7 张剑方. 迟到的报告——五二三项目与青蒿素研发纪实. 广州: 羊城晚报出版社, 2006
- 8 刘静明, 倪慕云, 樊菊芬, 等. 青蒿素(Artemisinin)的结构和反应, *化学学报*, 1979, 37: 129–143
- 9 梁晓天, 于德泉, 吴伟良, 等. 鹰爪甲素的化学结构. *化学学报*, 1979, 37: 231–240
- 10 Burg R W, Miller B M, Baker E E, et al. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: Producing organism and fermentation. *Antimicrob Agents Chemother*, 1979, 15: 361
- 11 Lommen W J M, Schenk E, Bouwmeester H J, et al. Trichome dynamics and artemisinin accumulation during development and senescence of *Artemisia annua* leaves. *Planta Med*, 2006, 72: 336–345
- 12 Brown G D. The biosynthesis of artemisinin (Qinghaosu) and the phytochemistry of *Artemisia annua* (Qinghao). *Molecules*, 2010, 15: 7603–7698
- 13 Zeng Q P, Qiu F, Yuan L. Production of artemisinin by genetically-modified microbes. *Biotechnol Lett*, 2008, 30: 581–592
- 14 Joël T, Frédéric G, Ronan G, et al. Semisynthetic artemisinin, the chemical path to industrial production. *Org Proc Research Devel*, 2014, 18: 417–422
- 15 曾庆平, 鲍飞. 青蒿素合成生物学及代谢工程研究进展. *科学通报*, 2011, 56: 2289–2297
- 16 Lin X, Zhou Y, Zhang J, et al. Enhancement of artemisinin content in tetraploid *Artemisia annua* plants by modulating the expression of genes in artemisinin biosynthetic pathway. *Biotechnol Appl Biochem*, 2011, 58: 50–57
- 17 Feng L L, Yang R Y, Yang X Q, et al. Synergistic re-channeling of mevalonate pathway for artemisinin overproduction in transgenic *Artemisia annua*. *Plant Sci*, 2009, 177: 57–67
- 18 Yang R Y, Zeng X M, Feng L L, et al. Senescent leaves of *Artemisia annua* are the most active organs for over-expression of artemisinin biosynthesis responsible genes upon burst of singlet oxygen. *Plant Med*, 2010, 76: 734–742
- 19 Guo X X, Yang X Q, Yang R Y, et al. Salicylic acid and methyl jasmonate but not Rose Bengal up-regulate artemisinin biosynthetic genes through invoking burst of endogenous singlet oxygen. *Plant Sci*, 2010, 178: 390–397
- 20 Zeng Q P, Zeng L X, Lu W J, et al. Enhanced artemisinin production from engineered yeast precursors upon biotransformation. *Biocat Biotrans*, 2012, 30: 190–202
- 21 Graham I A, Besser K, Blumer S, et al. The genetic map of *Artemisia annua* L. identifies loci affecting yield of the antimalarial drug artemisinin. *Science*, 2010, 327: 328–331
- 22 Yang R Y, Feng L L, Yang X Q, et al. Quantitative transcript profiling reveals downregulation of a sterol pathway relevant gene and overexpression of artemisinin biogenetic genes in transgenic *Artemisia annua* plants. *Planta Med*, 2008, 74: 1510–1516
- 23 van Herpen T W, Cankar K, Nogueira M, et al. *Nicotiana benthamiana* as a production platform for artemisinin precursors. *PLoS One*, 2015, 5: e14222
- 24 Gao Q, He J, Liao T, et al. 2,4-dinitrophenol downregulates genes for diabetes and fatty liver in obese mice. *J Biosci Biomed*, 2015, 3: 44–51
- 25 Wang D T, Wu M, Li S, et al. Artemisinin mimics calorie restriction to extend yeast lifespan via a dual-phase mode: a conclusion drawn from global transcriptome profiling. *Sci China Life Sci*, 2015, 58: 451–465
- 26 Wang D T, He J, Wu M, et al. Artemisinin mimics calorie restriction to trigger mitochondrial biogenesis and compromise telomere shortening. *Peer J*, 2015, 3: e822
- 27 Bao F, Wu P, Xiao N, et al. Nitric oxide-driven hypoxia initiates synovial angiogenesis, hyperplasia and inflammatory lesions in mice. *PLoS One*, 2012, 7: e34494
- 28 Zeng Q P, Zhang P Z. Artesunate mitigates proliferation of tumor cells by alkylating heme-harboring nitric oxide synthase. *Nitric Oxide*, 2011, 24: 110–112
- 29 Zeng Q P, Xiao N, Wu P, et al. Artesunate potentiates antibiotics by inactivating heme-harboring bacterial nitric oxide synthase and catalase. *BMC Res Notes*, 2011, 4: 223