

# 知識天地

## 桿狀病毒與人類

趙裕展研究員（分子生物研究所）

去年，人類乳突病毒（papillomavirus）的研發成果贏得諾貝爾獎，也促成兩個病毒疫苗，默沙東藥廠的 Gardasil 及葛蘭素藥廠的 Cervarix，在全球成功上市，防堵子宮頸癌之發生。此兩疫苗，前者以傳統的基因轉殖酵母菌製成；但後者卻是第一個藉由桿狀病毒生產，應用到人類的商業產品。桿狀病毒本來只是一個有效的微生物殺蟲劑，接著被開發成爲一個高品質蛋白生產系統；後來又被發展成基因療法之工具，現今也可以生產擬人化蛋白，此蛋白近似人類之蛋白，可爲治療用，其應用範圍一再被創新擴大，理論的發展也正方興未艾。

長久以來，昆蟲桿狀病毒即被作爲有效的微生物製劑，防除蔬菜、作物及林木上的蟲害，以避免農藥的使用，對生態保育有很大的貢獻。多年來此病毒通過嚴格試驗，證明對人畜無害，現已爲全世界各國核准使用。目前，台灣也使用在有機蔬菜以及宜蘭青蔥等農田。爲了研究病毒的散佈及治蟲效率，我們曾將螢光蛋白基因引入病毒，做出全螢光昆蟲（圖一），並和農業



圖說 1：家蠶以本實驗室發展出來的桿狀病毒螢光標誌法（Chao et al., Nature 1996. 380, 396-397）標誌，顯示可產出大量的蛋白。此爲 2008 全國生技展，得“大會之星”榮譽之螢光展示蠶，由苗栗區農業改良場和本實驗室共同提供。

藥物毒物所之高穗生博士及中興大學段淑人教授合作，發現這是追蹤病毒最創新有效的方法。同時，由於此病毒可潛伏在昆蟲，造成長期防制之效果。經一系列的研究，我們發現某些桿狀病毒在潛伏感染時除了一個潛伏特異性基因外其他基因的表現完全被關掉。接著發現此潛伏特異性基因只製造一個核 RNA，然後以此 RNA 切斷其他基因表現，逼使病毒進入潛伏感染。此過程十分特異，和目前已知的分子生物機制不同，急需進一步挖掘、探索。

除蟲害防治外，如前述桿狀病毒可以生產有用的蛋白。在 1983 年，美國 Dr. Max Summers, Dr. Lois Miller，以及日本 Dr. Maeda Susumu 幾乎同時注意到使用桿狀病毒上一個很強的多角體素起動子可製造大量高品質的基因工程蛋白。最後由 Summers 爭取到專利。當時 Summers 本來擬將報告發表到 Nature 雜誌，但 Nature 編輯認爲昆蟲系統重要性不足，將之退件。Summers 只好送到 Molecular and Cellular Biology (MCB) 發表。Summers 有一次聊天忿忿不平的說：本來連 MCB 都不太願意接受其文章，但不數年，Summers 即因爲建立此系統得到美國國家科學院院士的榮譽。他大概是少數僅發表到 MCB 層次即當選爲院士的學者，更彰顯此蛋白生產系統具有相當的重要性。

1983 年 Summers 在 MCB 報告發表前，於當年七月份在康乃爾大學舉行之國際無脊椎動物病理學會議上搶先發表了一個事先並沒書面登記的特別演講。那年本人在美國爲研究生，從事昆蟲小病毒的研究，因此也很有興趣的來聆聽此轟動的報告。那次會議中，日本鳥取大學來的 Susumu 坐我旁邊，用最先進，當時只有日本才買得到的超小型錄音機全程錄音。同時，和我一再確認台上 Summers 的研究細節，這些緊張的動作令我不解。聽完演講後他臉色鐵灰，幾乎癱瘓的告訴我他也在做一模一樣的研究，這下子完了。但他留了一句，他還有一個秘密武器，尚未成熟，雖然是好朋友，對不起不能告訴我。Summers 固然成功表現外源蛋白，但細胞株培養非常昂貴。1985 年 Susumu 終於出人意料成功的以此病毒在家蠶表現外源蛋白，這是首度以多細胞生物爲生物反應器生產蛋白的例子，大爲提高生產效率，並降低成本。因此，也突破 Summers 沒能達成的願望，在 Nature 上刊登。後來，Susumu 因爲種種人事不利的因素，必須離開日本到美國加州大學任教，美國沒有蠶業

育種單位的幫忙，只能致力於較基礎的研究，應用方面則長期延遲了下來。

由於桿狀病毒蛋白生產系統所生產之蛋白品質比細菌、酵母菌所生產者佳，產量也比其他高品質蛋白生產系統，如哺乳類系統高，因此，應用日廣。但此系統一直被當為學術研究的工具，應用方面的研究雖多，但因為是新系統，直到最近五年，才開始有一些動物疫苗被多國政府核准上市。而前年起，用昆蟲細胞生產子宮頸癌疫苗之商業使用，距 Summers 發表報告已隔 24 年。

另外，最近數年家蠶系統表現出的蛋白質--動物之干擾素等，也終於開始在日本及歐洲上市。一旦開始，將有機會創造此產業之榮景。事實上台灣的家蠶也有相當特殊的優勢。在日據時代，台灣為全日本最適合養蠶的地方，因此，日人撤退後，台灣因而保留有最好的蠶種及技術；國民政府來台時，也帶來大陸各地極佳的蠶種及技師，因此，台灣家蠶的品種及技術相當完備而頂尖。台灣氣溫較高，桑葉供應幾乎全年無缺，是整個大中華圈少數最適合發展養蠶工業的地方。由於傳統養蠶織布的產業標的相同，都是製造絲綢，較難和外面他國廉價勞工競爭；但桿狀病毒能在家蠶生產各種蛋白產品，歧異度大，價位又高，競爭的是科技實力與專利，而非廉價勞力。我們國家事實上有實力可重新振興家蠶養殖，發展基因工程蛋白產業，成為未來台灣生技發展之一個主力。

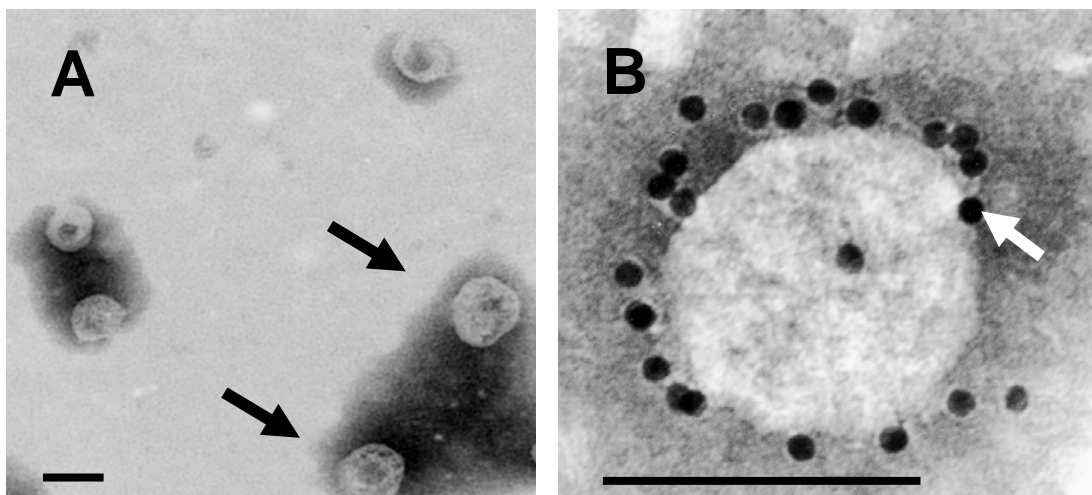
桿狀病毒可在細胞製造蛋白，也可將蛋白直接表現在其表面上。在 2003 年我們嘗試將流行性感冒之血球凝集素 (hemagglutinin, HA) 表現在桿狀病毒套膜 (envelope) 上，發現表現量良好。由於 HA 是膜蛋白，

不易與細胞分離(亦即難以純化)；但若結合到桿狀病毒的套膜上，則因為病毒是可溶的微胞體，可變成容易純化取得之疫苗。2007 年以來，此 HA 結合到桿狀病毒的膜表面上的做法已被世界各國多篇報導，並顯示此為製造禽流感疫苗之非常有效的方式，未來此法大概會是經濟有效且廣為使用的主流疫苗。

此外，2003-2004 年嚴重急性呼吸道症候群(SARS) 爆發流行，感染 SARS 病毒會引發激素風暴，患者因而致死，大家都迫切想要追查此病毒主要是以何種蛋白引發激素風暴。當時台大陳青周教授來電，希望我們用桿狀病毒生產其棘蛋白 (spike)，以釐清此蛋白是否為造成激素風暴的元凶。但棘蛋白也是一種膜蛋白，會卡在細胞膜上，難以純化。於是我們實驗室反向思考，不直接製造棘蛋白本身，利用我們發展的技術反將其“黏貼”在桿狀病毒套膜上。陳教授試測後發現此桿狀病毒模擬 SARS 的效果非常好，可在人類各種肺表皮細胞激發大量的激素，終於證實激素風暴主要是由棘蛋白所激發。

同時，我們也發現桿狀病毒可在昆蟲細胞做出和 SARS 病毒一模一樣但無感染危險性的病毒顆粒 (圖二)，將可作為安全有效的“類病毒”疫苗。因此，經過精心設計，桿狀病毒不只生產蛋白，也可為獨特而銳利的研究工具，解決危險或一般方法無法完成的實驗。

桿狀病毒不感染也不會脊椎動物繁殖，因此利用其高安全性，1995 年 Drs. Hofmann 及 Boyce 等人成功發展桿狀病毒為有效的載體，將基因導入某些哺乳類細胞，使桿狀病毒成為基因療法之工具。此部分隨後經由清華大學之胡育誠教授將桿狀病毒基因療法應用於



圖說 2：桿狀病毒可以基因工程方法製造出“類 SARS 病毒”。A. 黑箭號顯示所產出的類病毒顆粒。B. 白箭號所指者為黃金顆粒，用來標誌並確定放大之類病毒上有棘蛋白，可增加免疫效率。A 及 B 圖下面之黑線代表 100 nm 之長度 (Ho et al. 2004. Biochem. Biophys. Res. Comm. 318:833-838)。

軟硬骨組織工程之研發與應用，有許多突破與發現。同時，因桿狀病毒在昆蟲表現的蛋白量雖高，但後修飾和人類者仍有差異，若桿狀病毒進入哺乳類細胞為載體，則可以生產擬人化之蛋白，可是生產量相當低。為了增加蛋白產量，目前科學家曾開發出多種做法，譬如加入轉錄促進的成分，如丁酸鈉 (Sodium butyrate)，或在病毒表面加上有助於其進入哺乳類細胞之蛋白，等等。然而，這些方法效果較有限。本實驗室經過一系列的篩選，最近發現桿狀病毒有一個轉錄活化子 IE2，可大量增加此病毒載體在哺乳類細胞之蛋白表現量近百倍，更進一步使桿狀病毒有機會成為製造擬人化蛋白之新型的工具。

**結語：**桿狀病毒經長期研究發展，已由傳統發現式的生物分析漸次進入一個創新的新境界。在基礎研究打開人類疫苗商業應用的第一扇門後，預期各國政府將更易接受其他應用成果。世界各國科學家長期利用納稅人的錢所資助的研究顯然已開始開花結果，將使此病毒漸次應用到醫學、疫苗、飼料添加物、工業、實驗室用蛋白等等各高科技、高價值之不同層次的領域，創造出龐大的產業，造福人生。相對於全球之桿狀病毒研究，台灣綜合水準非常高，創新而有競爭力，但目前在國內欲將理論研究轉換成應用成果有相當的困難。主要的瓶頸是我們的法規相當遲滯不合時宜，基本上是繁瑣，過度防弊，難以興利之程序管理，而較不是目標導向之政策。政府及學研界應全面檢討法規並快速強化此轉換的機制。由於台灣土地狹小，勞工昂貴，只有科技立國，以創新的理論發展具領先性的知識經濟產業，我們才有長遠的生存之道。

**後記：**當初競爭研發桿狀病毒蛋白生產系統的三個人，繼 Summers 之後十數年，Miller 也因對桿狀病毒研究的重大貢獻得到美國國家科學院院士的榮銜，可惜兩年後以 54 歲的年齡因病去世。Miller 在世時曾兩度來本所，參與分生所年度檢討。Susumu 人在美國，雖然英文較無根基相當吃虧，但極為努力，在美國得到各種極高的榮銜，並在十幾年前終於讓日本政府瞭解到家蠶及桿狀病毒系統的重要性，遂賦予重任合聘其到高級研究所，即著名的理化學研究所 (RIKEN)，主掌蛋白表現部門研發，同時負責解析家蠶全基因體 DNA 序列之工作。但不數年，因美國及日本兩頭奔波，勞累過度，有一天竟一覺不醒而英年早逝，得年僅 48，令人扼腕。