

· 述评 ·

胰岛素发现 100 周年:致敬胰岛素发现艰难历程中前仆后继的拓荒者(一)

郑少雄¹ 陈雨¹ 朱铁虹² 常宝成³

¹天津医科大学第二医院 300211; ²天津医科大学总医院内分泌代谢科 300050; ³天津医科大学朱宪彝纪念医院、天津市内分泌研究所、国家卫健委激素与发育重点实验室、天津市代谢性疾病重点实验室 300134

通信作者:郑少雄, Email:Zheng.sx888@163.com

The 100th anniversary of insulin discovery: pay homage to all the pioneers working hard in the long journey of insulin discovery (1) Zheng Shaoxiong¹, Chen Yu¹, Zhu Tiehong², Chang Baocheng³. ¹The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; ²Department of Endocrinology and Metabolism, the General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300050, China; ³NHC Key Laboratory of Hormones and Development, Tianjin Key Laboratory of Metabolic Diseases, Chu Hsien-I Memorial Hospital & Tianjin Institute of Endocrinology, Tianjin Medical University, Tianjin 300134, China

Corresponding author: Zheng Shaoxiong, Email:Zheng.sx888@163.com

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20210520-05049

胰岛素问世之前,患糖尿病就意味着死亡。1921 年以前,糖尿病导致的酮症酸中毒死亡率为 100%,糖尿病患儿通常在确诊 1 年内死亡,5% 的成年患者 2 年内死亡,生存超过 10 年者不足 20%,未治疗的糖尿病患者将面临酮症酸中毒、高渗昏迷以及失明、截肢、肾功能衰竭、脑卒中、心血管疾病和死亡。1921 年,加拿大多伦多大学的班廷和麦克劳德发现了胰岛素,开创了糖尿病胰岛素治疗的先河,挽救了无数糖尿病患者的生命。时至今日,胰岛素及其类似物产品已达数十种,人胰岛素和人胰岛素类似物,超短效、短效、中效、长效、超长效胰岛素相继问世,给药途径包括单次、多次、连续皮下注射、无针注射、吸入和口服胰岛素等。胰岛素已经成为糖尿病治疗中不可或缺的药物。2021 年,胰岛素发现并用于临床治疗已经整整 100 周年,为了纪念这一伟大发现,特写此文,以纪念那些为胰岛素发现奠定基础的研究者和科学家。他们当中,有的名垂医学领域,被冠名以糖尿病会议各种奖项,有的已经被历史遗忘得一干二净,有的仍然被历史误解,人们对于他们在糖尿病研究领域的贡献一无所知。

1 胰腺和糖尿病的关系——1921 年以前的发现

1.1 保罗·郎格罕(Paul Langerhans)1869 年胰岛的发现 1847 年 7 月 25 日,保罗·郎格罕出生在

柏林,父亲是一名医生,高中就读于当时德国最著名的学校。他是一名优秀的学生,成绩远超他的 25 名同学,也因此被学校免去最终面试。他的医学研究始于耶拿大学(University of Jena),并于 1869 年 2 月在柏林完成毕业论文,题目为《对胰腺显微解剖的贡献》。正如一位论文评审员所说:“他的结论就是没有发现什么新的东西,但他希望他的考官能宽容地看待他的努力。在论文中,他提到了整个腺体中的透明细胞岛,这些细胞的染色特性与周围组织截然不同。他注意到这些区域的神经支配比周围组织更丰富,但不能说明这些区域有没有功能,只是它们可能是淋巴结”。此前一年,还是本科生的他参加了柏林大学组织的一次公开比赛,在发表的一篇题为《人类皮肤神经》的论文中描述了皮肤的表皮细胞、树突状细胞。

1.2 闵科斯基(Minkowski)1890 年的发现 闵科斯基 1858 年 1 月 13 日生于立陶宛,1881 年在科尼斯堡大学完成博士学位。20 世纪 80 年代末成为第一个从活的动物身上切除胰腺的人。当时的医学权威 Claude Bernard 和 von Mering 认为动物不能在全胰腺切除术中存活。von Mering 对糖尿病研究的主要贡献是发现了“根皮苷糖尿病”(实际上是根皮苷使尿糖增加,血糖并不高——酷似肾性糖尿,为后来

发现钠-葡萄糖协同转运蛋白抑制剂奠定了基础)。在 von Mering 的帮助下, 闵科斯基以其精湛的技术进行了第一次狗的全胰腺切除术, 这只狗出现了严重的糖尿病, 表现为多饮、多尿、虚弱和体重减轻。后来又进行了 3 次狗的全胰腺切除, 这些狗都发生了糖尿病。闵科斯基第一次证实了胰腺和糖尿病的关系 (Mering JV, Minkowski O. Diabetes mellitus nach Pankreasexstirpation. Arch Exp Pathol Pharmacol, 1890, 26: 371-387. <https://doi.org/10.1007/BF01831214>)。为了纪念闵科斯基的卓越贡献, 欧洲糖尿病研究会 (EASD) 专门设立了 Minkowski 奖项。

1.3 尤金·奥培 (Eugene Lindsay Opie) 1901 年的发现 美国医生尤金·奥培在证实胰岛和糖尿病的关系方面做出了重大贡献。奥培医生在研究中发现, 糖尿病患者的胰腺的确发生了病变。但是, 他在显微镜下仔细地观察到的是胰腺中的胰岛, 即那些密集成团的细胞出现了明显的形态变化和萎缩, 而并非是整个胰腺都出了问题。由此, 奥培医生认为, 胰腺中具有腺泡细胞与胰岛细胞各有不同的分工: 负责消化功能的是腺泡细胞, 而胰岛的功能则是控制与调节血糖。

1.4 乔治·佐勒尔 (George Ludwig Zuelzer) 1906 年的发现 德国医生乔治·佐勒尔把大量牛胰腺磨碎, 去除不溶于水的沉淀之后, 得到了一些非常粗糙的提取液。1906 年, 他进行了一项临床研究, 对象是 8 例糖尿病患者, 他冒险把这种自行提取的液体注射给这些受试者。其中一位濒临死亡的糖尿病患者在接受了注射之后, 血糖真的有所降低。他的发现注册了美国专利 (美国专利号 1027790)。遗憾的是, 他所制备的这些提取物, 在实验中出现严重的不良反应, 因此阻碍了他更深入的研究。

1.5 恩斯特·里曼·斯考特的发现 1911—1912 年 恩斯特·里曼·斯考特在哥伦比亚大学硕士论文中论述了他的研究。在研究过程中他结扎了狗的胰腺管, 而且曾经使用酒精从整体胰腺中提取出了降血糖的物质, 但是难以复制。1912 年, 斯考特发表文章说明了自己的成果。斯考特在他的研究结论后分析: 以前从胰腺分离降糖分泌液失败是由于消化酶的干扰。他的研究证实了他的设想, 4 次实验有 3 次证明了他提取出了有效物质。后来证实, 1912 年斯考特使用的胰腺管结扎的方法, 就是班廷在 1921 年研究中使用的方法, 他在讨论中的分析也是完全正确的。

1.6 尼古拉·康斯坦丁·保罗斯库 (Nicolas Constantin Paulescu) 1912 年的发现 尼古拉·康斯坦丁·保罗斯库在分离“胰腺内分泌” (internal secretion of the pancreas) 方面取得积极的结果。1912 年, 保罗斯库在班廷和麦克劳德之前就发现了胰腺提取物质的降血糖作用。他分析了糖尿病患者和执行全胰腺切除术后的狗的临床和生化变化, 除了高血糖和糖尿 (碳水化合物代谢) 外, 还注意到脂质和蛋白质代谢的变化。他将这种有效降低血糖的物质命名为胰腺素 (pancreine)。1916 年, 他开始了这项实验, 从他最初的方法中提取胰腺提取物, 并将其静脉注射到患有糖尿病的狗身上。他的第一个实验结果显示注射到外周静脉的胰腺提取物产生以下作用: (1) 糖尿病狗的血糖下降至正常, 甚至出现低血糖。(2) 糖尿减少甚至暂时被抑制。(3) 血尿素减少, 尿液中尿素也减少, 换句话说, 静脉注射胰腺提取物也能使糖尿病症状消失。缓解糖尿病综合征的作用在注射后立即开始, 2 h 后作用达到最大值, 并持续约 12 h。他总结到: “这一发现为糖尿病的发病机制研究提供了光明的前景, 同时也为我们提供了治疗这种综合征的关键。”

1921 年, 在班廷和贝斯特于 1922 年 2 月首次出版有关胰岛素的论文前 8 个月, 保罗斯库在两家著名的法国期刊上发表了数据。很明显, 胰岛素已经在欧洲被发现。保罗斯库的文章未使用英文发表, 没有被学术界认识, 也没有遇上急需救治的像伊丽莎白·休斯 (美国前国务卿的女儿, 她的姐姐死于糖尿病) 那样“重要的糖尿病患者”, 这是学术界的悲剧, 也是诺贝尔奖的遗漏或者偏见。至今也少有人提起保罗斯库当年的重要贡献, 他是被学术界不该遗忘但却遗忘的人。

1914—1918 年第一次世界大战前后, 欧洲多个实验室已经基本证明: 胰腺粗提物确能降低血糖。但是这些胰腺粗提物即使能降血糖, 却有明显的不良反应, 特别是发热, 甚至有毒性。当年所有分离胰岛素的尝试都没有成功。如何从胰腺粗提物中纯化出真正可作药物的胰岛素, 便成了那个年代科学家们追求的新目标。

2 胰岛降血糖物质的发现——1920 年 10 月—1923 年

因为胰岛降血糖物质胰岛素 (Isletin) 的发现, 1923 年诺贝尔生理学奖授予加拿大多伦多大学的弗雷德里克·格兰特·班廷 (Frederick Grant Ban-

ting)和约翰·詹姆斯·理查德·麦克劳德(John James Rickard Macleod)。班廷没有参加瑞典斯德哥尔摩的颁奖仪式,获奖后他将他自己的那一份奖金与查尔斯·贝斯特(Charles Herbert Best)分享。麦克劳德也没有参加颁奖仪式,他和詹姆斯·科利普(James Bertram Collip)分享了他的那一份。4人分享2个人的诺贝尔生理学奖,世上绝无仅有,曾一时被传为美谈。实际上胰岛素的发现,饱含巨大争议。近百年来,各种报刊杂志、数不清的媒体,甚至电影剧本,层出不穷的赞赏、接二连三的笔伐,混淆了诸多的事实,也让人们产生了诸多误解。有些不贴边的传说,掩盖了人心善恶,酿造了无尽心酸,也留下了苦涩无边的回忆。

当班廷得知获奖者是他和麦克劳德两人时,愤怒不已,他认为获奖者应该是他和助手贝斯特,不应该是麦克劳德,他认为麦克劳德没有任何贡献,只提供了实验室平台和派其学生贝斯特做助手后就去欧洲度假了,直到班廷和贝斯特发现胰岛提取物的降血糖作用,麦克劳德才从欧洲回到加拿大多伦多大学。麦克劳德是当年世界著名的学者,在糖尿病代谢领域卓有贡献,但他不是加拿大人,仅仅是在1918年被多伦多大学聘请做生理学系教授,他在美国和加拿大享有盛名。班廷,第一次世界大战退役的外科医生,他既不是麦克劳德的学生,也不是多伦多大学的职工,只是机缘巧合,对糖尿病和胰腺的关系发生极大的兴趣,申请到麦克劳德的实验室工作,以图实现他的梦想。贝斯特是麦克劳德生理学系的实习生,麦克劳德让他协助班廷的研究。科利普(Collip),化学系副教授,多伦多大学为期一年的洛克菲勒访问学者,经麦克劳德同意,参与纯化胰腺提取物。没有任何共事基础的松散的4人组合,开创了世界奇迹,首次将胰腺提取液成功用于人类糖尿病的治疗。

2.1 弗雷德里克·格兰特·班廷 弗雷德里克·格兰特·班廷,1891年11月14日生于加拿大安大略省的阿里斯顿。高中毕业后在多伦多大学学习神学,后因母亲病故转学医学。1916年提前毕业,后参军,随即加入了加拿大陆军医疗队,并在第一次世界大战期间在法国服役。1918年在坎布雷战役中负伤,1919年他因在炮火下的英勇行为而被授予军事十字勋章。

1919年战争结束后,班廷回到加拿大,在安大略省伦敦开诊所,门诊月收入最多数十美元,生意惨

淡,入不敷出。后来在多伦多儿童医院任外科住院医师。1920—1921年,他在加拿大的西安大略大学生理学系从事教学示范工作,每小时2美元。生理学系主任弗雷德里克·米勒教授给了班廷一个外科学和生理学系讲者的职位,每周能增加10美元薪水,当时他很失落,课程不熟悉,课堂上找不到感觉。

2.1.1 从焦虑、彷徨、无所定向到看到一丝曙光

1920年10月31日,班廷将在西安大略大学示范讲述碳水化合物代谢与胰腺的关系。在准备上课的前一天晚上,他花了一整天的时间备课。凌晨1点他终于坐定,因为儿童医院的C.L斯塔教授曾经提到《外科、妇科与产科》期刊中有一篇文章可能对他有帮助,于是翻阅了那篇长达12页的文章,题为《胰岛与糖尿病的关系:通过胰腺结石案例所作的研究》。文章的作者是美国病理学家、任职于明尼苏达大学的摩西·巴伦(Moses Barron)。巴伦在文中提到一个特殊的胰腺结石病例,是他在例行尸体解剖中碰到的。他注意到所有制造消化酶的腺泡细胞都已萎缩,但大部分分泌激素的细胞,也就是胰岛细胞完好。这一观察促使班廷产生一种设想,就是将胰管结扎,使分泌消化酶的细胞萎缩,可能是成功提取胰岛降血糖物质的前提(事实的确如此!)。深夜,他从床头柜上拿过一本黑色封面的笔记本,写下了一行字:糖尿病,狗胰管结扎。令狗存活,直到腺泡从胰岛中去除。试图分离出它们的内分泌液,以排泄糖尿(短短的几行字,竟有两处拼写错误)。班廷的基本想法是:通过结扎胰管,让胰腺中的腺泡组织在6周内逐渐坏死,消除消化酶的破坏性影响,分离出胰岛组织,提取降低血糖的分泌物质。班廷的这一设想正是当时不能提取有效降糖物质的问题所在。班廷坚信解决了这个问题,就有可能提取出有效降糖成分。班廷没有读过多少有关胰腺和糖尿病关系的文献,他的这种想法早有不少学者想到过、研究过,并且实践过(如果阅读过,知其难度,也许就不那么执着了)。班廷看了这篇文章,有了充分的信心,次日去找生理学系主任弗雷德里克·米勒教授,米勒认为自己无生物化学和代谢方面的特长,推荐他去找多伦多大学的著名教授麦克劳德,他所在的生理学系当时刚刚获得100万美元的科研经费。

2.1.2 从执着、坚持、勇往直前到大获成功 1920年11月初,班廷走进了麦克劳德的办公室。麦克劳德重视素未谋面的班廷,因为班廷是加拿大军医,主动报名上战场,并且获得十字勋章。麦克劳德的弟

弟是英国皇家军医,也曾获得十字勋章。麦克劳德认真听取了班廷的汇报,告诉他已经有不少人做了相关的研究,也有和班廷相似的设想,而且还有付诸实验的研究,对此班廷一无所知,但是执着的理念让他无所顾忌,一往直前。他说:“我更感兴趣的是找到糖尿病的治愈方法,而不是去读他人屡试屡败的故事”“而且也没有人曾经用过胰管结扎的胰腺”。麦克劳德同意考虑,让班廷查阅文献,然后再写信给他本人,他本人要为大学负责。班廷 1921 年 3 月 8 日写信给麦克劳德,希望 5 月 15 日开始工作。仅在 3 d 后麦克劳德回复班廷(高效率的麦克劳德!),同意他来多伦多大学实现他的梦想。当时班廷并不是一心一意想去麦克劳德的实验室工作,他曾经申请石油勘探队随行医生的职位但未果,足足 1 个多月后,他才在 4 月 18 日回信给麦克劳德,同意去多伦多。1921 年 5 月 15 日,班廷来到多伦多大学(也是班廷的大学母校),到麦克劳德的实验室正式开始了他的研究。经过初步协商,麦克劳德提供实验室和实验动物(10 只狗),并派贝斯特作为助手协助班廷工作(麦克劳德支付实习费用)。说实话,一个在多伦多大学既无编制又不是研究生的外科医生,获得麦克劳德的支持,已经很例外了,但是班廷并没有意识到这一点。

整理好实验室,班廷和贝斯特开始按照麦克劳德的指示,回顾相关文献,讨论摩西·巴伦的文章、凡·梅林(Josef Freiherr von Mering)和闵科斯基(Oskar Minkowski)的论著,阅读了麦克劳德的书和糖尿病学家艾伦(Allen)自费出版的图书《糖尿与糖尿病》。1921 年 6 月初,班廷和贝斯特开始对 10 条狗做胰腺管结扎,第 1 条狗麻醉死亡,第 2 条狗出血死亡,第 3 条狗死于伤口感染,7 条狗结扎后存活。7 月初,打开狗的腹腔,竟然发现 5 条胰腺完好无损,结扎完全失败。他们又重新结扎,有 4 条狗二次手术后死亡,7 周的研究,除了狗的尸体,他们一无所获。班廷和贝斯特又购买用作试验的狗。7 月 11 日,班廷和贝斯特摘除了一条狗(410 号)的胰腺,狗没有死,血糖升高至 0.20(正常狗血糖水平 0.08 ~ 0.13;当时并没有国际单位);7 月 30 日,他们摘除了另一条狗(391 号捐献狗)的胰脏,按照预期,胰腺组织萎缩,他们按照麦克劳德提取液的获取方法,制备了胰腺提取液,注射给那只摘除胰腺还在生存的 410 号狗,奇迹出现了,注射 1 h 后,血糖从 0.20 下降至 0.12,下降 40%! 再过 1 h,第二次注射,血糖

下降至 0.11。他们看到了成功的希望!他们将这种有效提取液名之为 Isletin。7 月 30 日,班廷和贝斯特用两条切除胰腺的狗做试验,92 号注射胰岛素,409 号不注射胰岛素,结果显而易见,92 号神气活现,409 号站不起来。他们曾试验新鲜完整的胰腺(未接扎胰腺管)提取液注射给 92 号狗,血糖下降了,比结扎胰腺管的狗的胰腺提取液还有效,遗憾的是他们没有重视这一点,也没有继续采用这种方法提取。92 号狗没有胰腺提取液供应,逐渐衰弱。8 月 19 日,班廷绞尽脑汁,创立了一种办法,使用十二指肠分泌的肠促胰液素“榨干”腺泡中的消化酶——胰蛋白酶,然后切除胰腺,制备提取液,注射给 92 号狗,结果证实,有显著的降血糖效果,92 号狗恢复了体力。麻烦的是需要切除一段肠管,制备肠促胰液素,但班廷获得了初步成功。班廷写信给正在度假的麦克劳德,提出了薪资要求,配备饲养动物的工人,并且改造实验室,以适应实验要求,未获麦克劳德的认可。9 月下旬,麦克劳德从苏格兰度假归来,补贴贝斯特 170 美元(学生助理的津贴),补贴班廷 150 美元(班廷没有大学的编制)。麦克劳德要求班廷、贝斯特重复所做的实验,验证他们的发现(非常严谨的科学态度,非常重要的研究程序,非常及时的试验安排,是成功取得学界认可的基石,但是当时班廷并不以为然)。班廷没有得到麦克劳德薪资的承诺(即便是在当时,大学的编制不是教授完全说了算的事儿),但却接受了药理学系维尔因·亨德森讲师所在科室的空缺位置,月薪 250 美元。班廷在麦克劳德实验室的工作还在继续。1921 年 11 月,班廷又贡献了一个新的创意:牛的胚胎从母牛获得营养,出生之前不需要消化腺。班廷获得启发,从一个农场拿到 9 头牛的胚胎,用其完整的胰腺制备提取液,给摘除胰腺的狗注射,狗的血糖明显下降了,重复实验,获得了相同的结果。麦克劳德终于被打动了,他要求班廷和贝斯特写出总结报告,在多伦多大学的期刊发表并宣读;同时麦克劳德扩充研究小组,纳入科利普和克拉克·诺博(Edward Clark Noble,贝斯特的同学,两个人同时是多伦多大学生理系学习,最初只能选一个作为班廷的助手,他们以投掷硬币的方式决定谁先协助班廷工作,结果,贝斯特优先)。他们的论文发表在《实验室和临床医学期刊》(1922 年 2 月),署名班廷和贝斯特,没有麦克劳德的名字,他的名字只被列在参考文献之中(麦克劳德不同意签署自己的名字,认为这是班廷和贝斯

特的工作)。

多伦多大学生理系胰腺提取液成功降血糖的消息不胫而走,传遍加拿大,传遍美国,给糖尿病患者带来了曙光。

2.1.3 从误解、偏执、与麦克劳德反目到获得同情 动物实验初见成效,但是距离人的临床应用还有很远的距离。提取物的纯化至关重要。班廷曾经推荐到多伦多大学进修 1 年的英国化学家科利普副教授加入研究组,最初被麦克劳德拒绝。多次动物实验证实胰腺提取物的降血糖作用增强了麦克劳德的信心。他扩大了研究小组,支持科利普在提取方面获得更好的纯品。要证实提取物的作用,并且用于糖尿病患者的治疗,需要临床验证,要与多伦多大学医院的临床医生合作。班廷想用他和贝斯特的提取液,麦克劳德想使用科利普的更纯化的提取物。班廷大为恼火,认为他们的提取物有动物实验的证据,麦克劳德想占有他的胜利果实。麦克劳德无奈,只好同意使用班廷的提取物,而科利普误认为麦克劳德出卖了他(纯属误解)。如果我们看一份当年的实验记录,会从中悟出当年的真实状况。

1922 年 1 月 11 日,一位患有 1 型糖尿病的 14 岁男孩雷纳德·汤普森接受了 7.5 ml 胰腺提取物注射,称之为“麦克劳德原液”(Macleod serum),尿糖下降,作用中度,且注射部位有脓肿形成,直径达 7.5 cm(这是班廷和贝斯特制备的提取液)。经过化学家科利普进一步纯化,第二剂在 1 月 23 日注射,尿糖迅速下降,尿酮体消失。第二次注射使用的是科利普的提取液,科利普拒绝透露他的提取方法,这一行为激怒了班廷,他竟然对科利普大打出手,失去了医生的尊严。四人激战的序幕从此拉开。特别是第一次使用的注射液命名为“麦克劳德原液”,更让班廷暴怒,他四处申诉,说麦克劳德企图占有他的发明权。

其实事情另有隐情,麦克劳德和科利普都不是临床医生,班廷没有多伦多大学医院行医的资质,也不是多伦多大学的正式职工,想要用之于临床,需要多伦多大学与临床医生签约,以便有了问题追责,麦克劳德作为生理学系主任,与大学医院签约理所当然。多伦多大学药理学系主任也看好班廷的提取液,同情班廷,给了班廷讲师的位置。班廷、麦克劳德、科利普和贝斯特的四人之战,惊动了大学,惊动了加拿大甚至是美国、欧洲的学术界和政界。多伦多大学曾委派专人调查,最后结果是四人与大学签

约,任何一个人都不能私自使用个人专利,专利归大学所有(1 美元卖给多伦多大学,由多伦多大学支配利益分配)。

这是世界上第一次胰腺提取液成功用于人糖尿病的治疗,为胰岛素后来的商业化开发奠定了基础。没有麦克劳德和科利普的努力,班廷和贝斯特的提取液的结局可能和其他发现者一样,不会成为商业化胰岛素生产的动力,也不会有礼来公司和诺和诺德公司如此神速地把胰岛素提供给广大糖尿病患者。

2.2 约翰·詹姆斯·理查德·麦克劳德(John James Rickard Macleod, 1876—1935) 麦克劳德 1876 年 9 月 6 日生于苏格兰的 Clunie Perthshire。毕业于英国 Aberdeen 大学医学院。

2.2.1 年轻有为,早年成才,27 岁任职教授 麦克劳德大学毕业后,获得 18 个月的奖学金在 Leipzig 大学生理学系学习,主攻肌肉磷的代谢,并于 1899 年(22 岁)发表学术论文。1900 年,在伦敦医学中心生理学系工作。1903 年,27 岁的麦克劳德受聘于美国俄亥俄州克利夫兰 Westwen Reserve 大学,任生理学系教授。主要研究碳水化合物代谢。

2.2.2 国际享有盛名,学术严谨,著作颇丰 1907—1914 年间,麦克劳德在美国生理学杂志发表论文 12 篇。他的主要研究成果是,糖尿病的高血糖主要原因是葡萄糖利用受损。在此学术领域,麦克劳德具有极高的声望。他早在 1913 年的一项研究中指出,胰腺提取物不能使血糖下降的原因,可能是在制备过程中胰腺的酶使得胰腺中的激素失活(Macleod JJR, 1913)。麦克劳德当年的著作有《糖尿病与碳水化合物代谢》《现代医学中的生理和生化学》等。

2.2.3 美国待遇优厚,爱国恨战,愤然离美 麦克劳德,苏格兰人,他当时已经是碳水化合物代谢领域世界级的权威专家,全美任何一所大学都以聘请到他执教为荣。麦克劳德因痛恨美国在第一次世界大战时没有及时支持英国而愤怒离开美国克利夫兰,到英联邦加拿大的多伦多大学生理学系任职教授。多伦多大学校长罗伯特·福尔科纳爵士早在 1916 年就动员麦克劳德到多伦多大学工作,1918 年终于成行。福尔科纳没有想到,他的这一举动,为多伦多大学迎来两位诺贝尔奖得主,空前绝后。

2.2.4 不计个人得失,宽宏大度,且善待后生 班廷到他的实验室谈论他的“独到”见解,麦克劳德的态度是善待、容忍,尽管他很清楚,班廷的说法已有

不少人尝试过,但是他还是给了班廷机会,让他多读一些过去已经做过试验并发表的文章。他同意班廷到他的实验室工作,提供试验基地,给了实验动物,安排助手并设计了提取方法。1921 年 5 月 17 日,麦克劳德向班廷和贝斯特娴熟地示范了完整胰腺摘除的方法,即赫敦两步法。第一步切除大部分胰腺,留一小部分,然后将小部分拉出来,缝合到皮下的合适位置,发挥部分胰腺功能,以免狗在伤口痊愈之前患上糖尿病死亡。狗的伤口愈合之后,切除这一小部分胰腺,如果不加治疗,狗会在 1 周内死亡,如果给狗注射的胰腺提取物有效,狗就不会死亡,这就是整个试验过程。麦克劳德精妙娴熟的手术令班廷惊讶不已。他在班廷动物实验初步成功后,采取严谨、审慎的态度,让科利普参加研究小组,纯化提取物,才能考虑用于人的糖尿病治疗。事实也证明,班廷和贝斯特的提取物用于第一个糖尿病患者收效甚微,而且有直径 7.5 cm 的脓肿形成,而科利普的提取物效果显著。

2.2.5 面对班廷的误解,沉默忍让,但实事求是当班廷误解麦克劳德抢占他的胜利果实时,麦克劳德并没有排挤、打击班廷,而是给了他很多机会。开始写的两篇文章,麦克劳德没有签署自己的名字。在 1921 年美国生理学会召开时,麦克劳德鼓励班廷参会。推送论文时,班廷请求加上麦克劳德的名字,增加入选的机会,论文的题目是:《特定胰腺提取液对摘除胰腺导致的糖尿病的疗效》。麦克劳德同意署名,并且让当时不是美国生理学会成员的班廷发表演说。在 1921 年 12 月 30 日的大会上,班廷介绍自己的工作,他不善演讲,使人们不能完全理解他讲的内容,麦克劳德做了充分的解释,获得全场热烈欢呼。他们的研究成果,惊动了美国,也惊动了在场的糖尿病学界的专家。班廷之所以讲演吞吐,是因为当时胰岛素的提取遇到了重大困难,科利普的成功提取没有留取详细的记录,后来多次不能重复,班廷当时几乎失去了信心,所以发言时表现出不自信。会后,麦克劳德沉浸在成功的喜悦中,全然不知班廷已经对他恨之入骨。在回多伦多的火车上,班廷抱怨后续提取的失败,不能给等待救命的糖尿病患者提供胰腺提取液,完全归罪于麦克劳德,他对贝斯特讲,如果有一天他完蛋了,他会带上麦克劳德。贝斯特大惑不解,你发现了胰岛素,你成功了呀!

在美国生理学会期间,美国制药商礼来公司的全权代表(握有生产项目选择权)亚力克·克鲁斯

拜访了坐在角落里的班廷和贝斯特。他告诉班廷,礼来公司能够提供全面的支持,包括资金、提纯设备、批量生产、销售等,希望能够合作,班廷同意了。克鲁斯给忙碌的麦克劳德留了便条,表达了希望合作生产药用型产品的想法,麦克劳德对美国企业的商业利益持怀疑态度,加之与多伦多大学校长的共识,麦克劳德在便条后面写道:非常感谢你的关心和慷慨,但是多伦多大学自己具备商业生产设施——康诺特实验室。他回绝了克鲁斯的建议。他认为多伦多大学应该掌握专利权,并且控制胰岛素的开发和生产。然而麦克劳德高估了康诺特的生产能力。他的回复给礼来公司留下了阴影。但是对于麦克劳德的回绝,克鲁斯没有气馁,他发给礼来老板的电报只有 3 个字:“就是它”。指的是班廷发现并提取的降血糖物质——胰岛素!

面对班廷的指责和激烈的纷争,多伦多大学曾经委派董事艾尔伯特·古德汉姆介入调查,要求班廷、麦克劳德和贝斯特 3 人各写一份详细的书面报告(没有科利普),以明确纷争的根源,谁是胰岛素的真正发现者。在班廷的版本中,认为麦克劳德从一开始就没有信心,他们艰苦卓绝的研究期间,麦克劳德全然不在场,他不给薪资,没有提供像样的实验室,不配备照看动物的工人。等到大部分工作已经完成,麦克劳德从天而降,夺取他们的胜利果实。麦克劳德实事求是,他写道:创意完全归功于班廷,但是没有他的悉心指导和帮助,断无可能如此神速取得进展。麦克劳德认为,科室主管在下属人员的研究论文中署名已经是惯例。麦克劳德拒绝为班廷发表的前两篇文章署名,是因为他认为这一研究完全归功于班廷和贝斯特。贝斯特是和 3 个人都能说得上话的人,他认为:科利普自私自利,班廷是个疯子,麦克劳德又无能为力处理这些纠纷,他对他们的尊敬荡然无存。如果多伦多大学非要让他选边战队,他选择站在他自己一边。3 人言之凿凿,鲜有共同之处。

1922 年 5 月,鉴于康诺特实验室生产能力的局限、经过克鲁斯细致而周密的工作,礼来公司副总裁艾利·礼来、法律顾问、克鲁斯等到多伦多与多伦多大学法律顾问等就“胰岛素”发现的专利权进行交涉签约,班廷拒绝与专利有任何瓜葛(遵循希波克拉底宣言),研究小组决定专利以贝斯特和科利普的名义提交胰岛素工艺流程的专利申请权。成立胰

岛素委员会, 麦克劳德牵头, 成员有班廷、贝斯特、康诺特实验室主任德夫列斯博士、多伦多大学医学系主任顿肯·格拉汉姆、卫生系主任艾尔伯特·古德汉姆董事、校长罗伯特·福尔纳爵士, 决定有关胰岛素所有重大事宜。班廷胰腺提取液成功后, 将提取液命名为: Isletin, 麦克劳德将其命名为胰岛素 (Insulin), 他认为比利时学者 1906 年虚拟命名的胰岛降血糖物质最为恰当。礼来公司要求生产产品的冠名权, 名之为: Isletin。

随着科利普 5 月底的离开, 胰岛素研究小组的消息, 麦克劳德于 1922 年 6 月中旬离开了多伦多大学。多伦多大学有关胰岛素的所有声音, 只有班廷和贝斯特了。因此, 我们看到的宣传画卷, 只有他们二人, 没有了科利普和麦克劳德的身影, 悲哀至极!

2.3 詹姆斯·伯特伦·科利普 (James Bertram Collip, 1893—1965) 科利普, 加拿大安大略省人, 1913 年完成硕士学位, 发表第一篇学术论文, 时年 21 岁。1916 年获得多伦多大学生物化学博士学位, 导师为 A. B. Macallum 教授。1915 年, 科利普博士还没毕业, 就获得了埃德蒙顿艾伯塔大学生物化学讲师的位置。1921 年, 当他加入麦克劳德团队, 和班廷、贝斯特共同致力于纯化胰岛素时, 27 岁的科利普已经是艾伯塔大学的生物化学副教授, 发表了 24 篇文章。1921 年 4 月, 洛克菲勒旅行奖学金把科利普带回多伦多大学, 在病理化学系做研究。1921 年科利普加入了纯化胰腺提取物的工作, 以便将其应用于人类。科利普在纯化胰腺提取物方面做出了卓越的贡献, 并且成功用于人糖尿病的治疗。当年他前几次成功的提取, 被用于患者治疗, 效果远远超过班廷和贝斯特的提取物, 激怒了班廷, 曾经对他大打出手, 但是他没有留下详细的实验记录, 以致不能重复, 班廷抱怨都是科利普造成的。1922 年 5 月底, 科利普离开多伦多大学, 回到阿尔伯塔大学, 担任生物化学系主任。1922—1927 年间, 科利普发表论文 40 余篇, 获阿尔伯塔大学理学学士学位 (1924) 和医学博士学位 (1926)。1925 年, 他成功地分离出甲状旁腺的活性成分——甲状旁腺激素, 不幸的是, 这一发现与胰岛素的发现一样, 在优先权问题上引起了争议。1928 年科利普到蒙特利尔的麦吉尔大学工作, 1928—1939 年是科利普科学生涯中最重要的时期; 科利普在麦吉尔实验室最著名的发现是分离促肾上腺皮质激素 (ACTH), 这是一种

由垂体产生的影响肾上腺皮质作用的激素。1938 年, 科利普被邀请加入国家研究委员会医学研究协理委员会。1939 年, 科利普被任命为委员会副主席, 1941 年科利普成为委员会主席。科利普获得了许多奖项, 包括: 加拿大皇家学会院士 (1925, 1933)、加拿大皇家学会弗拉维尔勋章 (1936)、卡梅伦奖 (1937) 及银掌自由勋章 (1947)。他曾两任加拿大生理学会会长 (1936, 1952)。1922 年 6 月 2 日, 科利普和贝斯特两人前往美国礼来公司把他们掌握的所有胰岛素的制备技术传授给礼来公司的化学专家, 手把手地指导礼来公司化学专家走过了整个工艺流程。之后, 他就直接回到亚伯达。科利普离开之后, 胰岛素研究小组无声无息地消失了。2 个月之后, 礼来公司建议, 只需贝斯特 1 人申请专利, 只因科利普不是多伦多大学的人, 只是洛克菲勒奖学金的访问学者。好在麦克劳德不曾忘怀科利普的贡献, 把自己所获得的诺贝尔奖奖金的一半与科利普分享。

2.4 查理·赫伯特·贝斯特 (Charles Herbert Best, 1899—1978) 贝斯特, 加拿大人, 生于 1899 年 2 月, 1915 年高中毕业后, 在多伦多大学学习, 1918 年, 他加入加拿大陆军, 1919 年回到多伦多, 完成了生理学和生物化学课程的本科学位。1920 年 7 月, 贝斯特和克拉克·诺博在麦克劳德教授的指导下担任研究助理。1921 年春, 贝斯特和诺博毕业。第二年, 两人都将在多伦多大学开始硕士研究项目。麦克劳德给贝斯特和诺博提供了一个机会, 让他们在夏天的部分时间里与班廷博士一起工作, 帮助他进行去腺狗的实验。贝斯特和诺博通过掷硬币的方式决定谁先开始。贝斯特获得优先权, 并立即开始与班廷合作。诺博本应在同年 7 月份接替贝斯特, 但在此之前的某个时候, 他和贝斯特达成一致, 已经在手术上精通的贝斯特将留任至夏季结束。贝斯特开发出一种方法, 生产一种可以安全地用于人类的胰腺提取物。1922 年 1 月 11 日, 贝斯特的胰腺提取物 (当时命之为麦克劳德原液) 被注射到伦纳德·汤普森体内, 但临床效果甚微。在 1 月 23 日, 由科利普纯化的提取物被证明是成功的。4 月份之后科利普突然失去了提纯一线有效成分的能力 (成功提取时没有详细记录当时的各种条件), 贝斯特在康诺特实验室不知疲倦地工作, 到 5 月中旬终于找回了制备胰岛素的能力, 而科利普却仍在苦苦挣扎中。

与科利普将制备出来的胰岛素直接上交给多伦多大学不同的是,贝斯特在显然未与菲茨杰拉德和麦克劳德洽商的情况将胰岛素直接交给了班廷,供给班廷的私人诊所使用。

1925 年,贝斯特以全班第一的成绩从医学院毕业,从而获得了艾伦·米克尔奖学金。贝斯特在伦敦国家医学研究所所长戴尔的监督下完成了研究生工作。1928 年,贝斯特从伦敦大学获得理学博士学位,并回到多伦多,这次是作为生理学系主任,填补了麦克劳德离开后留下的空缺。麦克劳德本人推荐贝斯特为最佳人选。麦克劳德没有想到,贝斯特在麦克劳德(1935)和班廷(1941)之后,将胰岛素发现的功劳归功于他自己!班廷之所以在他的人生后几年与科利普冰释前嫌,与贝斯特交恶,可能他知道了什么!

3 诺贝尔奖金的获得者(班廷和麦克劳德)——1923 年

3.1 胰岛素发现专利的归属 多伦多大学胰岛素发现的激烈纷争急剧扩散,多伦多的学术界、政界、医学界重要人物卷入其中,后又通过媒体风传至全世界。1922 年 11 月,多伦多大学的胰岛素专利申请被美国专利商标局驳回,理由是 1922 年 5 月 28 日专利局已经授予德国学者乔治·佐勒尔(专利号 1027790),同样内容的专利,不能授予两个人。专利问题律师对驳回案进行申诉,要求召开听证会,收集胰岛素提取工艺流程,临床医生和申请者所在科室提供证据。麦克劳德火速赶往华盛顿作证(专利申请人不包括麦克劳德本人,充分体现了麦克劳德的人格)。班廷请求时任美国国务卿的查尔斯·埃文斯·休斯(Charles Evans Hughes)给予帮助,因为休斯的第一个女儿因糖尿病死亡,第二个女儿伊丽莎白·休斯在班廷的治疗下几近完全康复。

3.2 众人不知的内部操作 查尔斯·埃文斯·休斯在 1922 年 11 月 24 日写信给美国专利局局长托马斯·罗伯森,注明私人信件,用的是美国国务院信笺。信中说他的小女儿伊丽莎白·休斯患糖尿病(长女患糖尿病已经离世),8 月份在多伦多经过班廷的治疗获得了很好的疗效,他希望,只要符合专利局的紧急办事程序,能以最快的速度处理此项专利申请。2 个月后,1923 年 1 月 23 日,胰岛素工艺流程和产品,两项专利权的申请人班廷、贝斯特和科利普获得了美国专利权。麦克劳德没有参加专利的申

请。1922 年 11 月底,丹麦生物学家古斯塔·克罗格(August Krogh)莅临多伦多,主要是为准备诺贝尔颁奖而来,他的妻子患有糖尿病,他带着制备胰岛素的配方,回到了丹麦,是麦克劳德给他的,丹麦的诺和诺德是目前国际上最大的胰岛素生产基地,也是由此发展而来的。麦克劳德功不可没!

3.3 1923 年诺贝尔生理学奖的评审 因为胰岛降血糖物质 Isletin 的发现,1923 年诺贝尔生理学或医学奖授予弗雷德里克·格兰特·班廷和詹姆斯·麦克劳德。克利夫兰的乔治·华盛顿·克莱尔和弗朗西斯·本尼迪克特提名班廷;G. N. 斯图亚特提名麦克劳德;诺贝尔奖获得者,丹麦人奥古斯塔·克罗格同时提名班廷和麦克劳德,各方意见不一,争执不下。诺贝尔奖委员会召集两次独立评估会议,最终 19 人不记名投票,表决结果班廷和麦克劳德同时获得 1923 年诺贝尔生理学奖(当时还未设立生理医学奖)。诺贝尔奖委员会没有听取班廷的一面之词,委派专家到多伦多大学调查,给了麦克劳德公平的待遇,而麦克劳德将奖金与科利普分享,也给了科利普较为公平的待遇。班廷将他的奖金与贝斯特分享。

胰腺提取液降血糖,并且成功应用于人类糖尿病的治疗,挽救了无数生命。伊丽莎白·休斯借助胰岛素的治疗,健康恢复,结婚生子,而且是 5 个孩子的祖母。班廷、麦克劳德、科利普和贝斯特的贡献可谓是震惊世界。没有班廷的执着、屡败屡战的坚持、反复尝试各种提取方法;没有麦克劳德丰富的经验、悉心的指导、强大的国际影响力;没有贝斯特和科利普反复试验、精心的提取,就不会在短短的 1 年多的时间做出如此大的创举。没有美国前国务卿休斯的鼎力相助,他们的发现注册专利是不可能的。

尽管他们的发现伟大,但是人们对胰岛素本身还是所知甚少,在以后的几十年里仍然处于动物提取的年代。真正的划时代发现,是英国学者桑格(Frederick Sanger)发现胰岛素的结构,他曾自费研究,十年磨一剑,终于确定了胰岛素 A、B 链的结构,他也因此获得诺贝尔奖。他也是医学界仅有的一位获得两次诺贝尔生理-医学奖的学者。请看下篇《胰岛素发现 100 周年:致敬胰岛素发现艰难历程中前扑后继的拓荒者(二)》。

(收稿日期:2021-05-20)

(本文编辑:刘欣)