

## 動物反應器抵抗化學武器

第一隻帶有外源性功能基因之轉殖小鼠，於1980年代發表，當時研究人員將生長激素基因植入小鼠體內，呈現不正常生長。之後，轉殖技術的進步，使得研究人員更能控制外源基因在表現量、時間、組織或細胞的分布、及基因產物的表現位置。轉殖技術有了重大的進展，如產製帶有外源基因的兔子、綿羊、豬、山羊及牛，使其在乳汁表現外源蛋白質。

研發人員利用顯微注射產製基因轉殖動物，利用超級排卵並收集受精卵，此時期雄原核(父源性)及雌原核(母源性)尚未融合，以顯微注射技術將高純度DNA注入任一個原核中，然後將注射後之原核於體外授精培養使其進一步發育。存活下來的胚，移置於偽懷孕的受胎者輸卵管，待完成懷孕、生出活畜再篩選是否帶轉殖基因。雖然，受動物種別及轉殖基因構造的影響，此技術的成功率取約為注射胚數的1~5%左右，其他相關基因轉殖技術，包括卵之反轉錄基因轉殖及其細胞質內精子注射，也可增加基因轉殖的成功率。

體細胞核轉置是另一個新發展出來的方法，對於複製已帶有外源基因的轉殖動物，以及可供無胚幹細胞的動物進行種別基因定位轉殖，包括利用長期培養體細胞可連續進行基因修飾、定位嵌入DNA與進行人造染色體之轉殖。利用體細胞核轉置產製存活後代的技術，在1999年複製山羊、在2000年複製牛，兩者均是利用成體皮膚纖維母細胞。這些成功，開啟了生醫研究及基因轉殖動物發展，在農業及製藥工業有極大的應用價值。

特別是以產乳動物表現轉殖基因，可以類似生物反應器的概念，在乳汁中生產大量的基因重組蛋白質，藉由合適的轉譯後修飾，獲得具有完整活性，純化後供作醫療用途。此已用在山羊及牛乳生產組織血纖維蛋白溶原活化劑(tissue plasminogen activator, tPA)、顆粒球群落刺激生長因子(granulocyte colony-stimulating factor, GCSF)、免疫蛋白(immunoglobulin)及乳鐵蛋白(lactoferrin)等。利用山羊乳汁生產的基因重組人類抗凝血酶(antithrombin III, AT-III)已經在歐盟獲准上市(美國已經通過人體試驗，但尚未獲准上市使用)，用於遺傳性抗凝血酶病人，防止外科手術時產生血塊栓塞。這是基因轉殖動物生產之藥品，使用在人體的第一個案例。另外，2007年美國科學院發行之期刊發表成功產製基因轉殖動物的成果，是利用轉殖山羊乳汁生產大量基因重組蛋白質，具預防性處理有機磷(organophosphate, OP)的去毒效用。此一計畫以山羊 $\beta$ -酪蛋白啟動子調控人類丁酰基膽鹼酯化酶(butyrylcholinesterase, rBChE)基因之表現，結果發現：

1. 在山羊乳汁中可以表現該蛋白達 5 g/L；
2. 高表現量之 rBChE，可以經由性腺傳承或複製方式傳至子代；
3. 純化具活性之 rBChE 可達公斤級產量，足可保護人類免於 OP 的毒害；
4. 經 PEG 修飾過或 rBChE 雙單元體，在天竺鼠實驗中可延長血漿中半衰期達 7 倍；
5. rBChE 可以保護天竺鼠抵抗致死劑量之 OP 神經毒劑攻擊而無明顯之毒性產生。

rBChE 可見於正常人類血漿，其作用與神經傳導抑制物-乙醯膽鹼酯酶(acetylcholinesterase, AChE)相類似。因此，rBChE 可以改變 OP 化合物不可逆地抑制 AChE 的活性，如 Sarin、Somain 及 VX 等具有神經毒性的化合物會消耗 AChE，造成神經傳導物質-乙醯膽鹼大量累積，進而刺激神經。注射 rBChE 可以增加血漿中 BChE 濃度，進而捕抓血液中 OP 化合物，防止其毒性產生。但即使是 1:1 的結合，仍需大量 rBChE。

成功發展出的基因轉殖動物模式，可以產製大量純化的 rBChE，作為不同毒性化合物的阻斷劑，其中有些化合物已經使用在軍事及恐怖攻擊上。分析該基因構築在小鼠身上的蛋白質表現量、特性及轉譯後修飾，接著沿用相同策略產製基因轉殖山羊，經由自然配種及複製（雖然有些複製山羊具有不同套數，即來自初代基因轉殖山羊的不同體細胞群，顯示其轉殖基因具有鑲嵌表現的現象）及分析活性、半衰期等，結果顯示基因轉殖山羊可以生產足夠具活性之 rBChE 來防護人類曝露於 OP 化合物之風險。

就應用及未來展望而言，rBChE 如何在實驗動物模式發揮功效，是值得探討的問題。如在明顯具毒性環境之下，或甚至已經曝露於多種致命毒性劑量之 Vx 或 Sorain，經 PEG 修飾的 rBChE 均可以保護天竺鼠免於受到毒害。當然，任何新藥研發，在使用到人體之前，仍有一段長遠的路要走，尤其是要釐清：血漿中 rBChE 濃度上升，是否會對人體健康造成危害。但任何周密的人體試驗，實難以進行。雖然這種治療方式主要應用在軍事用途，但仍可能用在一般民眾身上，如化學工廠工人、殺蟲劑使用者、災難及恐怖攻擊時的第一線人員。因此，法規單位會如何看待此種無法完全證明其功效之治療方式，值得觀察。另外，研發此種對抗化學攻擊之目的，可以使攻擊性化學武器失去其效用，或至少可以降低想發動此種攻擊者的意願。這也是一個值得支持及鼓勵的目標。

(周佑吉摘譯/杜清富編審 PNAS, 104(35):13859-13860, 2007)