

短髮夾 RNA 基因轉殖在豬隻之應用

異種移植是解決人類器官來源短缺的重要方法之一。目前是以數量多、繁殖容易，而且生理學與解剖構造均與人類接近的豬為主要研發對象，做為人體之異種移植器官來源。但是以普通豬隻器官進行人類異種移植，將引起超急性、急性與慢性排斥反應。

超急性排斥反應造成原因為人類血中所具有的補體與自然抗體；於移植後幾分鐘至幾小時內即發生，造成器官壞死而被排斥掉。

急性排斥反應有兩種：1. 血管性急性排斥反應(acute vascular rejection, AVR)，係因為移植後人血流入豬血管中，豬血管內皮細胞與人類血球接觸，誘發豬內皮細胞活化反應，引起凝血反應或免疫反應，此種反應進而引起血管性阻塞，而造成器官壞死。2. 細胞性急性排斥反應，為 T-細胞與人類自然殺手(nature killer, NK)細胞等，誘發豬血管內皮細胞活化反應，所引起之相關排斥反應。

慢性排斥反應，主要由於人類細胞性免疫系統接觸豬細胞，活化細胞性免疫反應造成之長期排斥作用。

過去近 20 年，全球關於基因改造豬產製之研究重點，主要是以克服超急性排斥為目的，分別產製人類補體蛻變加速因子(human decay accelerating factor, hDAF; CD55)、MCP (membrane cofactor protein, CD46)、與 CD59 等基因轉殖豬之產製，以及產製半乳糖轉移(1, 3-GT)基因剔除豬，可以降低補體及自然抗體所引起之超急性排斥。

最近，國外研發重點增加 CD39 及第一型人類白血球表面抗原 (human leukocyte antigen class I; HLA-I) 基因轉殖豬產製，期望可以分別克服微血管栓篩病變及自然殺手細胞媒介之排斥反應，以及藉短髮夾 RNA (short hairpin RNA, shRNA) 之基因轉殖策略，降低豬隻內源性反轉錄病毒(porcine endogenous retrovirus, PERV) 之釋出，增加將來臨床使用豬隻來源器官或細胞之安全性。

在豬隻基因體 DNA 序列中，含超過 50 套之 PERV 序列。10 年前，基因轉殖豬器官進行人血灌流，證實可克服超急性排斥反應之同時，亦有學者指出 PERV 可感染人類離體培養之細胞，因此警告其危險性。之後在嚴重急性呼吸道症候群(Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS)及禽流感陸續發生，更造成人類對 PERV 之恐懼，雖然目前醫學上已累積至少 200 個臨床使用豬隻細胞或組織之案例，並無病患受 PERV 感染或產生抗體，不過持續有疑慮是無法避免。

前述 PERV 在豬隻體內至少有 50 套核酸序列，因此藉基因剔除技術完全除去 PERV 極難達成，最近一期異種移植雜誌 (Xenotransplantation, 2008, Vol 15: 36-34)德國學者發表將 PERV

特異性之核酸序列，轉殖至豬基因體內，使基因轉殖豬包括心、肝、脾、肺、腎、胰臟及肌肉均表現 shRNA，由此小片段 RNA 與 PERV 大片段之 RNA 產生雜合反應，在尚未組合成 PERV 病毒顆粒前，PERV 之 RNA 迅速於細胞內被遞解(或分解)，此基因轉殖策略達成降低豬隻 PERV 之釋出量，將增加臨床使用豬隻來源器官或細胞之安全性。

針對病毒性病原之預防是否可利用此原理，值得學者省思及研究，此策略所進行基因轉殖之核酸序列，並不表現為任何標的蛋白質。因此將來做為基改食品之可行性及安全性應無疑慮。

(杜清富撰/王仕蓉審)