

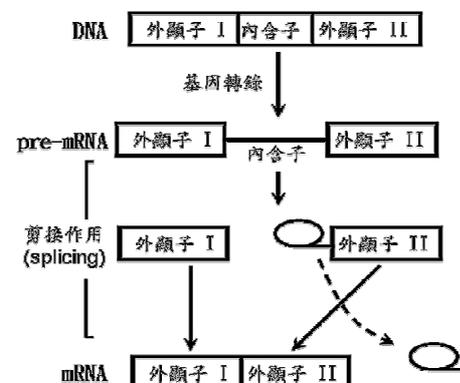
知識天地

RNA 剪接作用上的新發現及生技應用

邱紹智、楊寧蓀（國防醫學院生命科學研究所博士班、農生中心特聘研究員）

2006 年又是核糖核酸（RNA）大放光彩的一年，諾貝爾化學獎頒給了美國生化學家 Roger D. Kornberg，以表彰他過去在真核基因轉錄（Transcription）成 RNA 研究的卓越貢獻。同年，諾貝爾生理醫學獎則頒給了 2 位醫學院教授：Andrew Z. Fire 和 Craig C. Mello，表彰他們在 RNAi（RNA interference）及基因消音（Gene Silencing）現象的研究領域上做出了突破性的貢獻。

1950 年代中期，科學家發現了生命的遺傳物質顯然是雙螺旋的去氧核糖核酸（DNA），之後的 10 多年，科學家們才發現了 RNA 也很重要，因它是聯繫 DNA 和蛋白質的重要樞紐，細胞內的信使 RNA（Messenger RNA, mRNA）、轉運 RNA（Transfer RNA, tRNA）和核糖體 RNA（Ribosomal RNA, rRNA）扮演了重要的彼此互動而表達功能的角色。它們在基因轉錄、蛋白質轉譯的過程中，藉用多種非常縝密而精細的調控機制，使得生命現象能忠貞、持續且鉅細靡遺地表現遺傳物質的內涵及生命活力。其後，科學家們進一步發現有些基因之 DNA 序碼與它轉錄後之 mRNA 不相互補，並形成圈環（Loop）。探究其原因，科學家發現乃是在基因轉錄時，DNA 的鹼基一律皆先轉錄成初級之 pre-mRNA（mRNA 先導體），生成之 pre-mRNA 再進一步將它一部份之鹼基序列切除，再將餘下的部份銜接起來，這才合成為成熟的 mRNA。這個 mRNA 調控的過程稱為 mRNA 剪接（Splicing）。在 pre-mRNA 中一般切除掉不會表現為氨基酸的序列部分，這些序列在原來 DNA 基因中被稱為介入順序（Intervening Sequence），或稱為內含子（Intron）；而其他可提供蛋白質或其他功能分子之序列部份則稱為外顯子（Exon）。因此真核基因是斷性而非完全連續的，它是由內含子和外顯子相間排列而成的（見圖一）。這真是一項革命性的大發現，不是嗎？此一認知徹底的改變了人們原先認定的簡單的基因結構。也因此使得美國兩位生化學家 Philip Sharp 和 Richard Roberts 以發現 DNA 中 Intron 的重大研究，獲頒了 1993 年的諾貝爾生理醫學獎，而 P. Sharp 教授去年亦訪問本院，其演講廣受歡迎！近來越來越多研究顯示，RNA 似乎正變成了真正的遺傳資訊之決定者。並且在特殊條件下，RNA 還可以反過來產生出 DNA。在生命物質中，因 RNA 也可與蛋白質類似，形成各種分子結構及分子間互動，RNA 真是最多才多藝的。DNA 無法行使蛋白質的功能，而蛋白質亦無法像 DNA 一樣來傳遞生命資訊，而這些卻都是 RNA 所擁有的重要功能。所以當代生物學家近來益發支持「RNA 是生物演化上最早的生命和遺傳物質」的理論。1990 年代末期，Fire 和 Mello 兩位博士的工作進一步發現了 RNAi 干擾現象，並推測這是普遍存在於各種生物體裡的調控與防禦機制。後來，他們及其他科學家們進一步地證明 RNAi 的干擾機制主要是藉由雙股的 RNA 可忠實地干擾其標地 mRNA 之基因表達。近 5 年來，隨著 micro RNA（miRNA）的研究熱潮，再結合 RNAi 干擾的技術，不少生技學家認為已經可以提供未來用 RNAi 干擾的技術來研發治療人類疾病的藥物或醫術。一些 RNAi 干擾的臨床實驗結果，已初步在長尾獼猴上被證明可以是有效的[1]，實質將它應用在人類疾病的治療上，希望也是可期待的。院方同仁或許還記得去年 Sharp 教授來本院演講時曾說：「我們認為 mRNA 剪接之生物技術可應用在新藥發展上，所以我們麻省理工學院的幾位教授已經在波士頓成立了一家生技公司，以研發應用這方面策略之新藥物。」



圖一、mRNA 剪接過程

在大部分的 DNA 轉錄過程中，新生合成的 pre-mRNA 通常在轉錄時馬上就會被剪接形成 mRNA，這個作用是在細胞核內發生的現象。但最近已有新的證據顯示這種 pre-mRNA 的剪接作用也是可以在細胞質中，隨著外界的刺激訊號誘發才被啟動的，並且是具有功能性導向的。近來，Schwartz 博士和 Denis 博士分別在血小板的研究上發現了當血小板在非活化狀態時，便已先轉錄出一些細胞激素（Cytokine）相關的 pre-mRNA 至細胞質內，

因而在被活化後的血小板的血栓形成過程中，有能力可以很快速地產生製造出相關之蛋白質因子。此一發現打破了過去生物界對於基因轉錄和剪接是同時發生的普通認知，且有所不同[2, 3]（見圖二）。這也開啟了一個新的觀念，即在對於基因表現訊息的調控機制上，除了在 DNA 轉錄、mRNA 的穩定性和蛋白質轉譯過程上，又多了一個可能對 pre-mRNA 剪接上有效的調控。

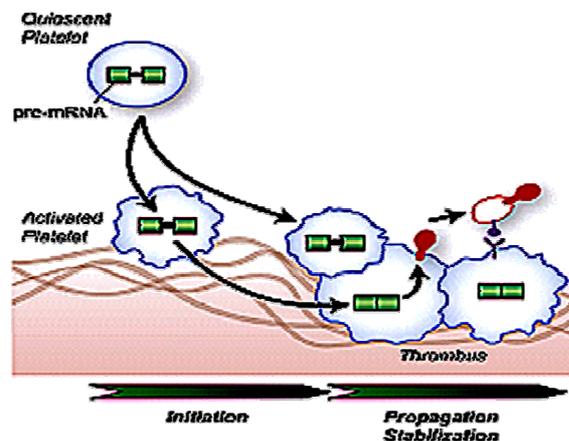
更有趣的是，這一類的調控有可能是直接經由 RNA 本身來控制的。因為直接經由 RNA 的調控應該可比經由蛋白質分子所造成的調控還來得更快速。當細胞或個體生理反應需要很快速地作用時（如發炎反應或凝血反應），某些 RNA 分子也許可以提供最快速的反應機制。舉另一個例子，在急性發炎反應下產生的極為重要之腫瘤壞死因子（TNF- α ），Kaempfer 教授的團隊發現了部分 TNF- α 的 pre-mRNA 本身之二級結構，可以活化 PKR (Double-Stranded RNA-Activated Protein Kinase) 分子，而此可進一步幫助加速 mRNA 生成的作用[4]。這些實驗成果提供了 RNA 一個新的生理意義，即它可以在感知外界訊號的刺激後而快速反應，以進一步完成蛋白質／基因之表達效果，而此途徑卻不須經由費時間的 DNA 轉錄的過程。

細胞內對於外界的刺激反應的過程顯然是分區、分步驟的方式來進行的，以達到有效率、快速的反應，而且也具多層次的調控機制。目前我們還並不很了解外界的刺激是如何經由各種訊息傳遞機制以傳遞到細胞內，使其相對應的 pre-mRNA 可產生剪接作用。我們最近的研究論文發現了一個可能具有這樣潛力的植物化合物，叫紫草素（Shikonin），它是由中草藥中，具抗發炎效果之紫草中萃取得到的。我們發現此一紫草素可以在很低濃度精確影響 TNF- α mRNA 的剪接作用[5]，這是我們在研究幾種發炎反應中觀察到的現象。即不少發炎反應，均需要快速且大量表現 TNF- α mRNA，而隨即著此一 TNF- α mRNA 之表達，將會在紫草素（Shikonin）這一植物化合物作用下，使 TNF- α pre-mRNA 的剪接作用會被快速中斷，進而使 TNF- α 蛋白的表現量快速減少。此種 Shikonin 化合物之作用，我們認為是經由影響到 PKR 活化的過程而調控的，這使得 TNF- α pre-mRNA 之剪接作用可極快地被有效抑制，而此一作用是具有很高的專一性的（見圖三），因 Shikonin 就不會去影響另一個叫 IL-8 pre-mRNA 之剪接作用。

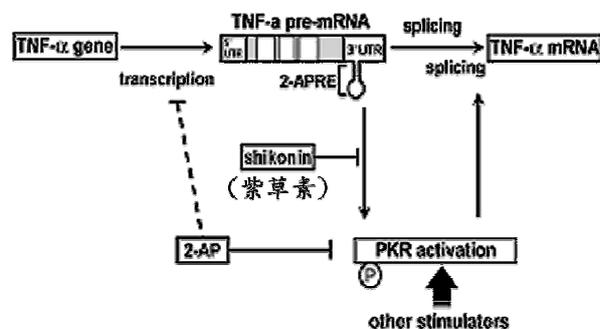
上面對 RNA 的簡要介紹，顯示了 RNA 作為生化分子之重要性，不僅是作為將遺傳訊息傳遞轉換至生理現象的橋樑，也顯示了未來可能作為疾病治療的可能標的，在此，我們提供有興趣的同仁們參考。而近來的各方學者之研究，對於外界訊息調控特定 pre-mRNA 的剪接上，也提供了未來在篩選抗發炎藥物的一個新的方向：即多種跟發炎作用相關之因子（如：細胞激素 Cytokine）都需要很快速且有效率的表現，所以靠 RNA 層次的調控就越顯重要。我們期望未來這項研究方向有可能幫助找出專一性高的抗發炎藥物，希望這些藥物可協助減低目前抗發炎藥物所產生的多種副作用。

參考文獻：

1. Zimmermann, *et al.*, 2006 *Nature* 441: 111-114



圖二、血栓形成過程中，特殊 cytokine pre-mRNA 可因細胞被刺激產生剪接作用，進而快速生成蛋白質（紅色）



圖三、我們之研究證明一種植物化合物，叫紫草素（shikonin）可經由 PKR 之活化機制而影響 TNF- α 的 mRNA 的 splicing（剪接）功能，進而快速影響細胞／組織的發炎作用之生理功能。

2. Schwertz, *et al.*, 2006, *J. Experimental Medicine* 203: 2433-2440
3. Denis, *et al.*, 2005, *Cell* 122: 379-391
4. Kaempfer, 2003, *EMBO report* 4: 1043-1047
5. Chiu and Yang, 2007, *Mol Pharmacol*, *in press*