

Clinical Virology

臨床病毒學

編著者 劉建榮 林振文



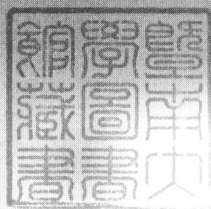
合記圖書出版社 發行

港台書

Clinical Virology

臨床病毒學

編著者 劉建榮 林振文



合記圖書出版社 發行

臨床病毒學 / 劉建榮, 林振文編著. -- 初版. --

臺北市 : 合記, 2011.03

面 ; 公分

ISBN 978-986-126-728-9 (平裝)

1. 病毒學

369.74

100001024

臨床病毒學

編者 劉建榮, 林振文

助理編輯 林慧琬

創辦人 吳富章

發行人 吳貴宗

發行所 合記圖書出版社

登記證 局版臺業字第0698號

社址 台北市內湖區(114)安康路322-2號

電話 (02)27940168

傳真 (02)27924702

網址 www.hochi.com.tw

70磅劃刊紙 53版 424頁

西元 2011 年 03 月 10 日 初版一刷

版權所有・翻印必究

總經銷 合記書局

郵政劃撥帳號 19197512

戶名 合記書局有限公司

北醫店 電話 (02)27239404

臺北市信義區(110)吳興街249號

臺大店 電話 (02)23651544 (02)23671444

臺北市中正區(100)羅斯福路四段12巷7號

榮總店 電話 (02)28265375

臺北市北投區(112)石牌路二段120號

臺中店 電話 (04)22030795 (04)22032317

臺中市北區(404)育德路24號

高雄店 電話 (07)3226177

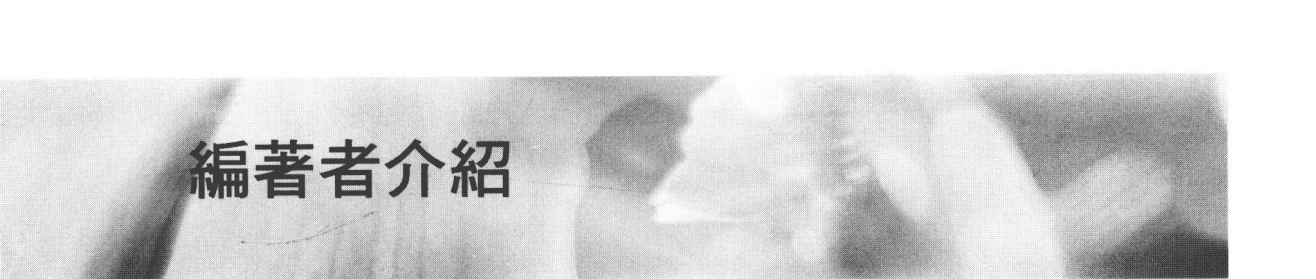
高雄市三民區(807)北平一街 1 號

花蓮店 電話 (03)8463459

花蓮市(970)中山路632號

成大店 電話 (06)2095735

台南市(704)勝利路272號



編著者介紹

劉建榮教授

- 日本國立神戶大學醫學院微生物學科博士
- 曾任台大醫學院醫技系副教授、中台醫事技術學院醫技科主任、長庚醫學院臨床醫學研究中心病毒組及前台灣衛生署預研所卡介苗病菌組研究員
- 著有臨床微生物學相關研究論文共28篇

林振文教授

- 國立清華大學生命科學院生命科學系博士
- 曾任中國醫藥大學醫學檢驗生物技術學系系主任及附設醫院檢驗科組長
- 現任中國醫藥大學醫學檢驗生物技術學系教授及附設醫院檢驗醫學部顧問
- 著有病毒及細菌相關研究論文50篇以上



編著者序

劉建榮教授於 1991 年由美返台，於中臺醫事技術學院（今改制為中臺科技大學）執教，當時覺得雖然給學生們的參考書不少，但要在短時間內使學生們能掌握醫用病毒學的全貌及基本觀念，且便於在第一線工作或應付國家檢覆考試之參考的書並不多，為此萌生撰寫這類參考書之想法。退休後，秉持退而不休之精神，著手規劃著書。

林振文教授則於 2009 年受到劉建榮教授的邀請，參與編著本書，歷經半年撰寫、修潤和審稿，使得此書得以順利出版。

內容主要彙整過去先輩們（如嚴智鍾、楊照雄、張學賢等教授）的知識，以及編著者多年來，在國內外教學、深造及研究工作之經驗，尤其參考近年來在美國出版的書籍，術語儘量採取原文說明，以彌補中文翻譯在臺迄今尚未統一之不足。

此外，特別感謝許多單位所提供寶貴研究資訊，如：疾病管制局、台大醫院檢驗部和性病防治中心之臺灣數據資料；中國香港大學的 K. Y. Yuen 教授及他的研究團隊之禽流感病毒近來研究訊息；台灣疾病管制局病毒組的舒佩芸博士研究團隊之台灣登革熱研究新知；台大醫學院院長陳定信教授率領的研究團隊之 SARS 病毒在台灣研究訊息。對於台大醫院檢驗醫學部薛博仁教授及高全良教授等先輩們不時給予鼓勵與協助，在此亦特地對他（她）們深表謝意。

本書適合作為大專院校病毒學之教材，以及提供給教學者課程設計之參考。

但著者素為薄學淺識，本書中難免有許多謬誤之處，由衷盼望從事於醫用病毒學的前輩們及可畏可敬的後生們，賜於不吝嚴評及指正，則為不勝感激之至。



前言

本書共有三篇，首篇《病毒的一般性狀》敘述病毒的一般性狀及生物學性狀，如基本形態、核酸種類及外套等分類依據，病原性，宿主防禦機制，抗病毒製劑的種類及其作用機制，以及病毒疫苗發展等事項。

於第二篇《臨床上重要病毒以及其感染途徑》敘及日常遇見的各種病毒，比如有無外套的 DNA 或 RNA 病毒，特有形態與複製方式，引起的疾病及預防治療之問題。由前人發現的事實累積，現在了解有些致癌病毒確實與動物及人類發生癌症具有密切關係。較難了解的原體 (prion)，則簡述其引起的疾病（如牛的狂牛症）與引起人類疾病的相互關係，與其體內運作的獨特複製方式等。

本書第三篇《病毒的分離培養與鑑定》前段內容提到組織培養細胞的選擇、評價、品管及保養法，檢體採取、輸送、品管貯存上應注意事項，接種前的前處理法，分離培養上應注意的事項，細胞病變 (CPE) 的鑑定法，檢體的直接偵測法等。第三篇的後段內容敘述每種病毒簡述它的採取檢體法，檢體直接偵測法，慣例的分法，病毒的鑑定法、分子生物學法及血清學診斷法等。

唯病毒檢驗在一般檢驗室裡並不普遍，探究其原因大致為：

- (1) 臨床醫生們一般認為此檢驗為回憶性 (retrospective) 的工作，等得到報告時大部分病人早已痊癒或早過世，對他們診斷或治療上無多大的幫助。
- (2) 這種檢驗需要許多較昂貴的設備，對一般小規模醫院而言無法負擔得起，換言之，它是成本高 (cost ineffective) 的檢驗項目。
- (3) 檢驗的慣例步驟比較繁雜且費時，又有受到實驗室感染的危險性，以致一般技術員工不願意擔任。

近來有些病人因免疫機能減低，而使感染病毒機率大增；另外，已有不少抗病毒製劑問世，因而大幅地提高診斷臨床病毒的重要性。由於病毒也與細菌一樣會對這些藥物產生抗藥性而使療效降低，有鑑於此，對分離病毒株之抗藥性的檢驗，也變成病毒檢驗裡的重要項目之一。

為此，本書著重於臨床病毒學的快速診斷法，如分子診斷法 (molecular diagnosis)，提升病毒檢驗時效與安全及所需之專業知識及經驗。由衷期望將來醫技科系畢業生們，能多參加這一行列，以提升台灣這方面的水準。

目錄

CONTENTS

編著者介紹	III
編著者序	V
前 言	VII

第一篇 病毒的一般性狀

第 1 章	病毒的生物學	003
第 2 章	病毒遺傳學及基因療法	023
第 3 章	病毒的繁殖法	027
第 4 章	病毒的病原性	029
第 5 章	宿主的防禦	037
第 6 章	抗病毒藥劑	043
第 7 章	病毒疫苗及免疫法	052

第二篇 臨床上重要病毒以及其感染途徑

第 8 章	套膜DNA病毒	059
第 9 章	無套膜DNA病毒	071
第10章	套膜RNA病毒	083
第11章	無套膜模的RNA病毒	099
第12章	肝炎病毒	109
第13章	節肢動物媒介的病毒（節攜病毒）	123
第14章	齧齒動物媒介的病毒症及未知媒介的病毒症	131
第15章	人類免疫缺陷病毒	135
第16章	腫瘤病毒	145
第17章	慢性病毒及原毒體	157

第18章	一般注意事項.....	163
第19章	病毒培養之細胞培養選擇、評價、品管及維持.....	171
第20章	檢體的採取、選擇、輸送、品管及貯存.....	177
第21章	接種檢體的前處理.....	181
第22章	病毒分離、培養與細胞病變觀察.....	187
第23章	病毒的分離鑑定法.....	197
第24章	檢體之直接偵測法.....	207
第25章	腺病毒.....	215
第26章	節肢動物攜帶病毒（節攜病毒）.....	225
第27章	沙狀病毒及絲狀病毒.....	235
第28章	漢他病毒.....	241
第29章	腸病毒群.....	245
第30章	人單純疱疹病毒.....	253
第31章	水痘帶狀疱疹病毒.....	267
第32章	艾布斯坦因－巴病毒.....	267
第33章	人巨細胞病毒.....	279
第34章	人疱疹病毒－6、7、8型.....	285
第35章	引起胃腸炎的病毒.....	293
第36章	呼吸道感染病毒群.....	299
第37章	肝炎病毒.....	329
第38章	人類反轉錄病毒群.....	347
第39章	人的小DNA病毒.....	371
第40章	人乳頭狀瘤（濕疣）病毒.....	375
第41章	人多發性瘤病毒（BK及JC病毒）.....	383
第42章	痘病毒科.....	387
第43章	狂犬病病毒.....	395
第44章	德國麻疹（風疹病毒或三天麻疹）.....	401
參考文獻.....		405
索引.....		411

第一篇

病毒的一般性狀



1 病毒的生物學

Biology of Viruses

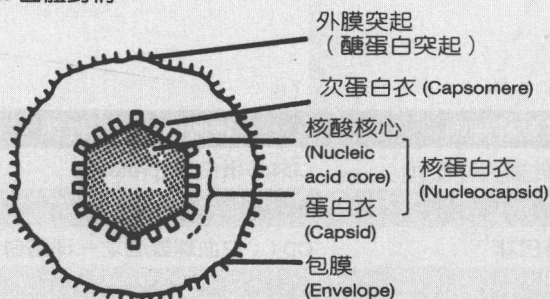
第一節

病毒的基本觀念

1. 它們是絕對性細胞內寄生體 (obligate intracellular parasites)，繁殖時必須利用宿主細胞的新陳代謝機構。
2. 它們的基因核酸成分不是 DNA 就是 RNA，絕不含 DNA 及 RNA 兩者在一起。
3. 病毒的形態基本上分內及外部構造。內部有核酸核心 (nucleic acid core) 及蛋白衣 (capsid)，兩者構成核蛋白衣 (nucleocapsid)，兩者構成核蛋白衣 (nucleocapsid)。

psid)，外面有些病毒被一群獲得於宿主細胞膜的醣蛋白 (glycoprotein) 或脂蛋白質 (lipoprotein) 包圍構成外套 (envelope)。核蛋白衣 (nucleocapsid) 的結構主要分兩種對稱型 (symmetry)。一種為 20 面體對稱 (icosahedral symmetry)，一種為螺旋對稱 (helical Symmetry)，圖 1.1 是其基本構造的平面圖解。

(A) 20 面體對稱



(B) 螺旋對稱

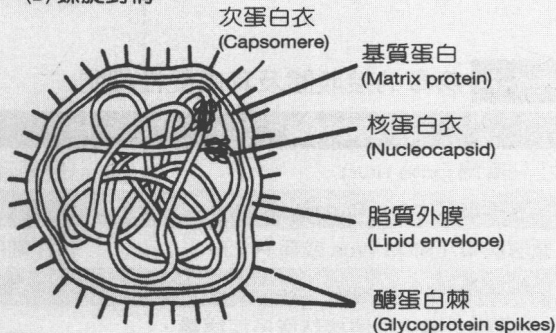


圖 1.1 (A) 病毒二十面體對稱構造模型圖 (B) 病毒螺旋對稱模型圖。

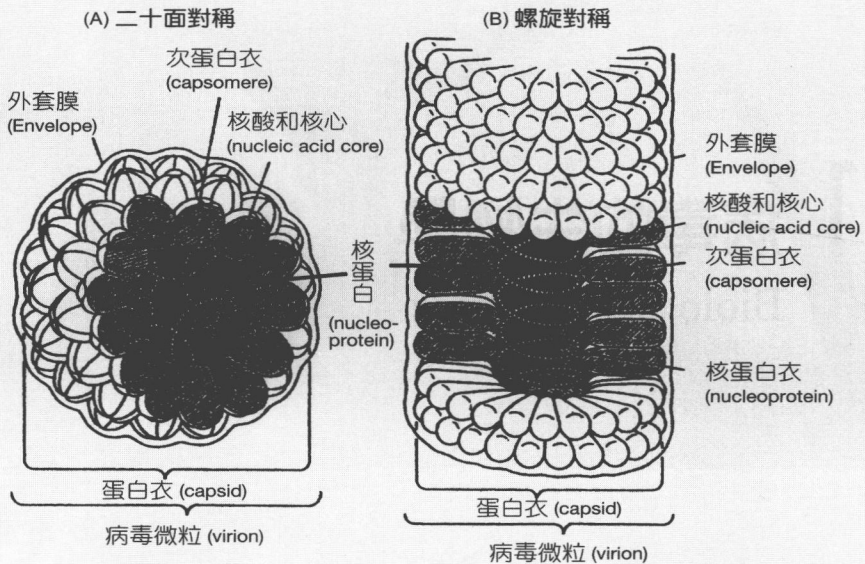


圖 1.2

病毒之結構具井然有序的配置；中央的核酸中心被蛋白衣包圍，蛋白衣由次蛋白衣所組成，有些病毒具醣蛋白質的外套膜。最常見的對稱有二十面體對稱 (A) 及螺旋對稱 (B) 兩種。光學觀察時二十面體對稱病毒，雖然有時可見其次蛋白衣的面，但呈現出球狀。

有些病毒的核酸是單股 (single stranded)，有些是雙股 (double stranded)，這是分類病毒依據項目之一。圖 1.2 是病毒基本構造的立體圖解。

4. 病毒感染有感受性 (susceptible) 的宿主細胞 (host cells) 後，可有破壞殺死 (lytic)、慢性化 (chronic) 及潛伏 (latent) 等不同的模式及結果。
5. 病毒感染細胞時的六個複製 (replication) 階段 (lytic 模式中的階段) 如下：

- A. 附著 (attachment)
- B. 穿透 (penetration)
- C. 脫外套 (uncoating)
- D. 複製 (replication)
- E. 集合 (assembly)
- F. 釋放 (release)

有感受性細胞的表面必須有接收體 (receptor) 才能使病毒附著而開始有附著階段。表 1-1 簡述部分病毒接收體的化學性質及具感受性細胞。

表 1-1 病毒的接收體及其感受性細胞

病毒種類	感受性細胞	接收體的化學性質
小兒麻痺 (polio virus)	神經及其他纖維母細胞	CD155蛋白質 (proteins)
黏液病毒類 (Myxoviruses)	呼吸道黏膜及其他細胞	寡醣類
愛滋病毒 (AIDS virus 或稱 HIV)	TH 輔助淋巴球	CD4 (白血球表面之一種蛋白)
瘋狗病毒 (Rabies virus)	神經細胞	醋膽素 (acetylcholine)
E-B病毒 (傳染性單核球增多症病毒, infectious mononucleosis virus)	B淋巴球	C3補體接收體 (C3 Receptor)

圖 1.3 是 Semliki Forest virus 對感受性細胞
附著 (attachment)、胞飲 (engulfment)、穿進
(penetration) 的一連串超薄切片電子顯微鏡
檢圖 (五個階段)。穿進後可能不久就發
生脫外套 (uncoating) 的現象, 把外套或蛋

白衣脫去 (可能是物理性分離, 但有些病
毒如: 痘病毒, 可能要靠一種水解酶作用
才可脫外套), 外套脫去後就開始進到複
製、集合、釋放的階段。病毒的複製依病
毒種類的不同, 其方式有很大的差異。

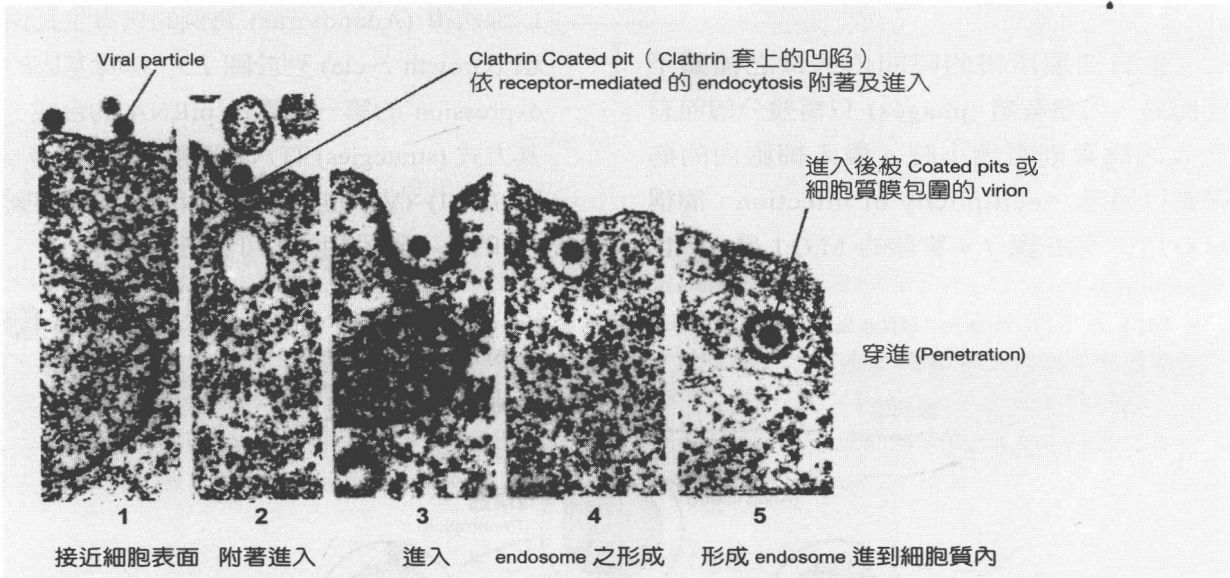


圖 1.3 Semliki Forest virus (一種蟲媒病毒 (Arbo virus)) 穿進細胞內的五個階段, 病毒被 clathrin 包進後受含virus 的 endosome。

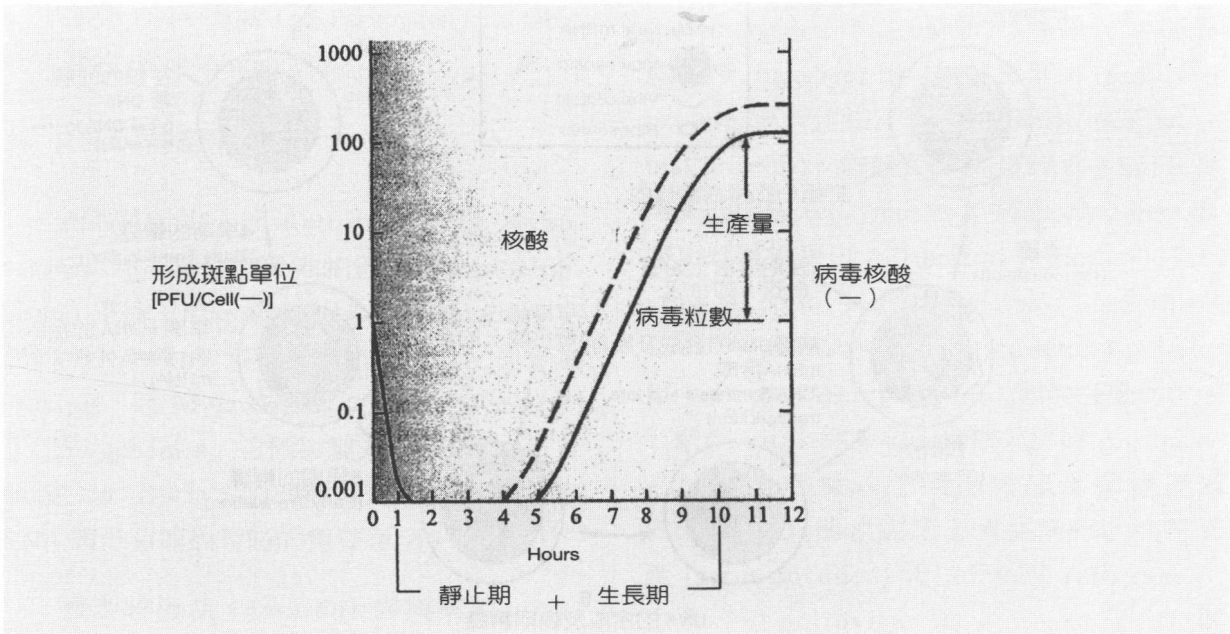


圖 1.4 病毒的生長曲線於靜止期測不出病毒的出現, 一旦進入生長期就呈現對數式的生長期, 病毒數目與核酸成正比地增加。

6. 病毒的生長曲線 (Growth curve of virus) :
典型的生長曲線列於圖 1.4。靜止期 (Eclipse period) 是病毒侵入細胞後，在細胞質內測不出任何病毒的時間，而潛伏期 (latent period) 是病毒侵入後到可測出感染性病毒之出現所需要的時間，故後者比前者為長。

生長循環所需的時間依病毒之種類不同而異，如噬菌體 (phages) 只需幾分鐘而有些人的病毒則需幾小時。侵入細胞內的病毒數目另稱「multiplicity of infection, 簡稱 M.O.I」。如在圖 1.4 實驗的 M.O.I 是 1，也

就是 1 個病毒感染單位／細胞 (infectious unit / cell)。潛伏期以後的宿主細胞形態的變化，依病毒種類之不同而異，這些變化常稱細胞病變 (cytopathic effect, CPE)，可拿來做鑑定病毒的一種指標。

7. 病毒生長循環、基因表現與基因組複製：
以腺病毒 (Adenovirus) 為例的病毒生長循環 (Growth cycle) 列於圖 1.5。病毒基因的 expression 的第一步驟是 mRNA 的合成，其方式 (strategies) 有六種圖解示於圖 1.6。圖 1.6 (I)~(VI) 的 virus mRNA 合成前與圖 1.5 的 1~6 階段相同，可參考該圖解。

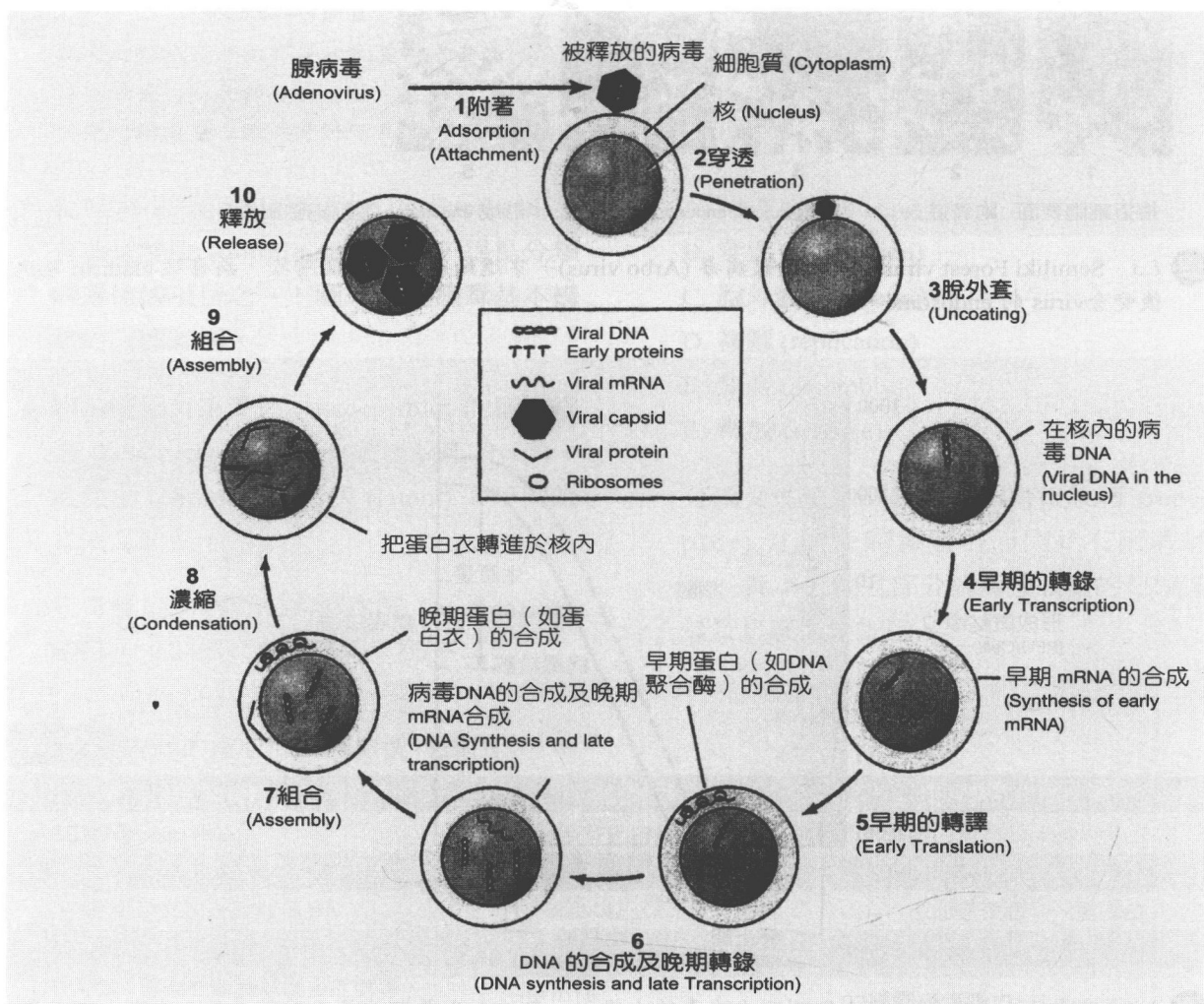
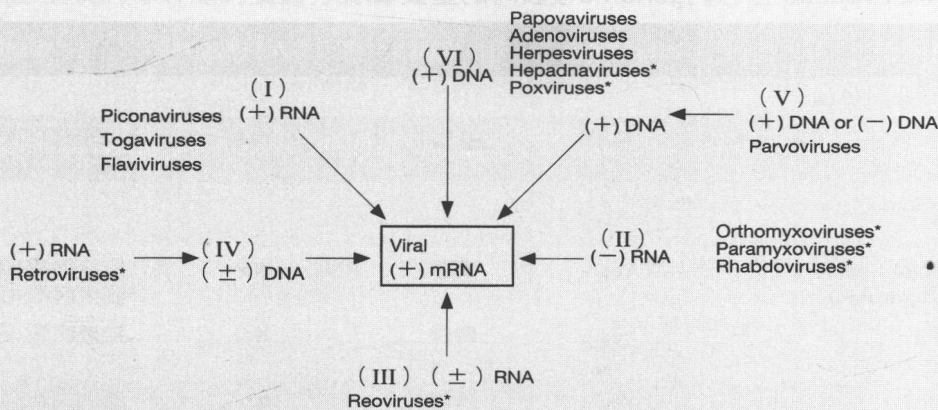


圖 1.5 腺病毒的生長循環，可看到無外套的 DNA 病毒。



- (+) : 與 mRNA 序列相同的單股
 (-) : 與 mRNA 互補的單股
 (±) : 雙股
 * : 這些病毒含聚合酶

圖 1.6 临床上重要病毒的 viral mRNA 的合成，有幾個方式來合成 viral mRNA，如於 (I) 及 (II)，病毒自己是聚合酶進入細胞後以它合成 viral mRNA；於 (III)，它是雙股 RNA，故進細胞內後靠它自己帶進去的酶合成 mRNA；於 (IV)，如 AID 病毒，它本身亦含酶進去後合成雙股 DNA，由它合成 mRNA；於 (V)，如 Parvoivirus，它是單股 DNA，靠細胞的酶合成 viral mRNA；於 (VI)，如雙股 DNA 病毒並靠宿主細胞的酶及自己擁有的酶合成 mRNA。

► DNA 病毒的複製

所有 DNA 病毒（除 Parvovirus）的 DNA 均為雙股 (double-stranded)。

► RNA 病毒的複製

複製的地點，除 Retroviruses 與 Myxoviruses 外，其他均於細胞質內 (intracytoplasm) 進行，Retroviruses 嵌入 (integrate) 它們的 DNA copy 到宿主細胞的 DNA 裡變為 provirus，而 Myxoviruses 則在核內合成它們子代的 genomes。它們複製方式 (strategy) 有如圖 1.6 (I)~(IV) 的四種方式，而表 1-3 是 RNA 病毒有關複製時的重要事項。

複製時導產 (encode) 參與複製 viral genome 的聚合酶 (polymerase) 之基因的來源 (origin) 示於表 1-4：

不管是 DNA 或 RNA 病毒，一旦複製它們的 viral mRNA 後，皆靠上述的聚合酶 (polymerase) 在宿主細胞的核糖體 (ribosome) 處轉譯 (translate) 出早期病毒蛋白 (early viral proteins)，它們是非結構性蛋白 (non-structural proteins)，當參與複製出 viral genome 所需要的酶類 (enzymes)，然後靠 viral genome 製出結構性蛋白 (structural proteins)。有些 virus 如 poliovirus、rhinovirus 及 hepatitis A virus 的 mRNA，轉譯出的 structural proteins 是 precursor polypeptides (前驅多胜肽)，它要經 virus 導產出的蛋白分解酶 (protease) 之分解，以變成不同種的病毒結構性蛋白，表 1-5 簡述临床上重要病毒的病毒導產 (virus-encoded) 蛋白分解酶 (protease)；由表可知 poliovirus 的 protease 是由整個 genomic mRNA 導產出來，而 precursor single polypeptides 之分解在細胞質內進行。這一點

表 1-3 RNA viruses 在它們genome複製時的重要事項

RNA 基因	指向 ^⑤	病毒聚合酶	mRNA 的感染	基因導入的感染性 ^⑥	病毒的原型
prototype Human Virus					
I. Single strand, nonsegmented	+	No	基因	Yes	小兒麻痺病毒 (Poliovirus) 披衣病毒 (Togavirus),
II. 單股的 (Single strand)					
(a) 不分節的 (Nonsegmented)	—	Yes	轉錄	No	麻疹病毒 (Measles virus) 狂犬病毒 (Rabies virus)
(b) 分節的 (Segmented)	—	Yes	轉錄	No	流感病毒 (Influenza virus)
III. 雙股分節的 (Double strand, segmented)	±	Yes	轉錄	No	輪狀病毒 (Rotavirus)
IV. 單股雙套的 (Single strand, diploid)	+	Yes ^①	轉錄 ^②	No ^③	愛滋病毒 (HTLV, HIV ^④)

- ① Retro病毒含有 RNA-dependent 的 DNA 聚合酶，亦稱反轉錄酶 (reverse transcriptase)。
- ② mRNA 由 DNA 的中間產物來轉錄。
- ③ retroviral 之 genome RNA 雖無感染性，但它導產 (encode) 的 DNA 中間產物是具感染性。
- ④ HTLV, human T cell leukemia virus; HIV human immunodeficiency virus.
- ⑤ 正指向定義為病毒 RNA 基因組序列如同 mRNA，而負指向則為病毒 RNA 基因組序列與 mRNA 互補。例如 mRNA 序列為 AC-U-G，則負指向 RNA 序列為 U-G-A-C，而正指向 RNA 序列為 A-C-U-G。
- ⑥ 具單股正指向 (polarity) 的 RNA genome (如 poliovirus 或 Togavirus)，侵入細胞後直接當 viral mRNA 靠宿主細胞的 polymerase 進行複製，它的 purified genome 可用傳染 (transfection) 法，使它進入原來對它無感染性的細胞內複製而產生完整的 virion，但此 virion 對原來沒有感受性的細胞則不再有感染性，只對原來感受性的細胞發揮其感染性。

表 1-4 導產複製病毒基因用的聚合酶之基因

Type of Polymerase	Polymerase Encoded by	Medically Important Viruses
DNA	細胞的基因 (Cell genome)	小DNA B19病毒及人乳頭狀瘤病毒 (Parvovirus B19, human papilloma virus)
DNA	病毒的基因 (Virus genome)	疱疹病毒群 (Herpesviruses) (HSV, VZV, CMV, EBV)，腺病毒 (ovirus)，B型肝炎病毒 (hepatitis B virus)，天花病毒 (smallpox virus)
RNA	Cell genome	HIV, HTLV (愛滋病毒及人嗜 T 淋巴球白血病病毒)
RNA	Virus genome	小兒麻痺 (Poliovirus)，A 與 C 型肝炎 (HAV, HCV)，流感 (influenza virus)，麻疹 (measles virus)，呼吸道融合細胞病毒 (respiratory syncytial virus)，rabies virus, rubella virus, rotavirus, Ebola virus, arenavirus, hantavirus

• HSV: herpes simplex virus • VZV: varicella-zoster virus • CMV: cytomegalovirus • EBV: Epstein-Barr virus • HIV: Human immunodeficiency virus • HTLV: human T-cell leukemia virus • HAV: hepatitis A virus • HCV: hepatitis C virus.

Flaviviruses 亦一樣。

tide 分解成它們的結構蛋白（如蛋白衣或酶類）的步驟圖解。

圖 1.7 是 poliovirus 的 precursor polypep-

表 1-5 臨床上重要病毒導產的蛋白分解酶

病毒科名	多蛋白質的性狀	蛋白溶解開的位置	醫學上重要的病毒
小 RNA 病毒 (Picornavirus)	單多胜肽是由整個RNA基因的轉譯而形成的	細胞質	小兒麻痺病毒 (Poliovirus), 鼻病毒 (rhinovirus), A型肝炎病毒 (Hepatitis A virus), 克沙奇病毒 (Coxsackie virus)
黃病毒 (Flavivirus)	同上	細胞質	C型肝炎 (Hepatitis C virus), 黃熱症 (Yellow fever virus), 登革熱 (Dengue virus)
披衣病毒 (Togavirus)	由次基因之mRNA的轉譯形成一種以上的多胜肽	細胞質	東西部馬腦炎 (Eastern and Western equine encephalitis viruses), 風疹 (Rubella virus)
反轉錄病毒 (Retroviruses)	同上	出芽病毒	愛滋病 (Human Immunodeficiency virus), 及人嗜T淋巴球白血病毒 (Human T-cell leukemia virus)

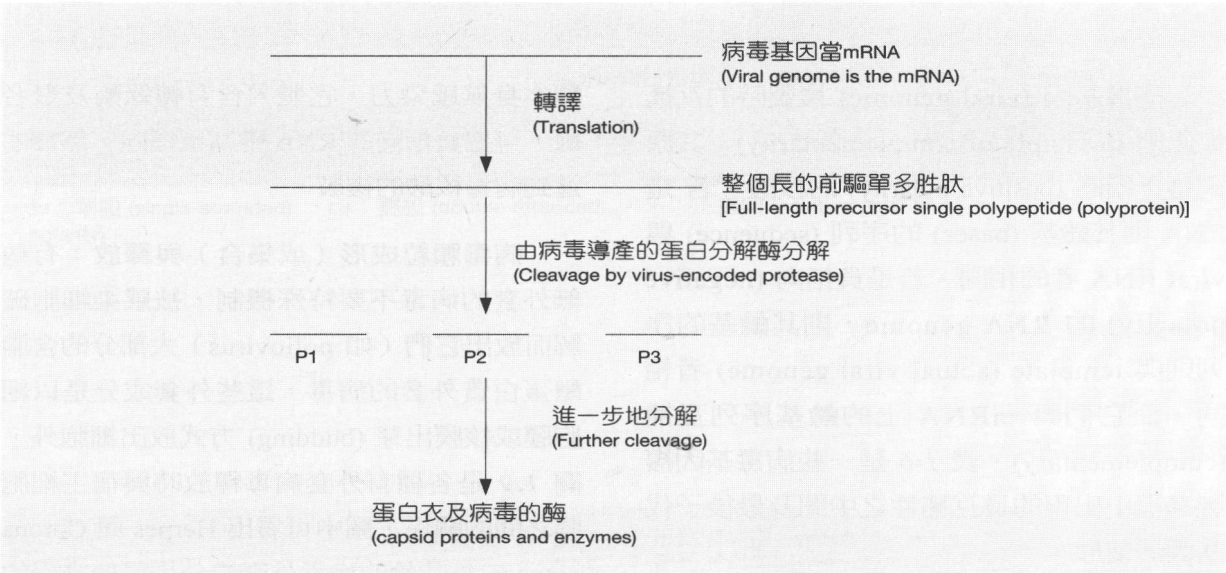


圖 1.7 小兒麻痺病毒 (Poliovirus) 的前驅性的多蛋白質 (precursor polyprotein) 分解成構造性之蛋白質 (structure) [末期蛋白質 (late protein)] 的過程圖。

但 Togaviruses (Arboviruses) 的 precursor multiple polypeptides 是由 virus 的 subgenomic mRNA 轉譯出來，而它們的分解亦在細胞質內進行。至於 Retroviruses (如 HIV、HTLV) 的 precursor polypeptides 的產生是先由嵌入於宿主細胞 DNA 上的 viral RNA genome 之 DNA (如 gag 及 polygenes) copy (複本) 轉錄成導產 gag 及 polproteins

的 mRNA，然後由它轉譯形成 gag 及 pol precursor polypeptides，經 virus 導產的 protease 之分解 (在出芽釋放時進行) 才構成 capsid proteins 及各種 enzymes，圖 1.8 是其過程的圖解。

治療愛滋病的藥 indinavir 就是這 protease 的 inhibitor。