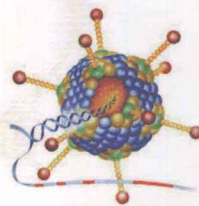
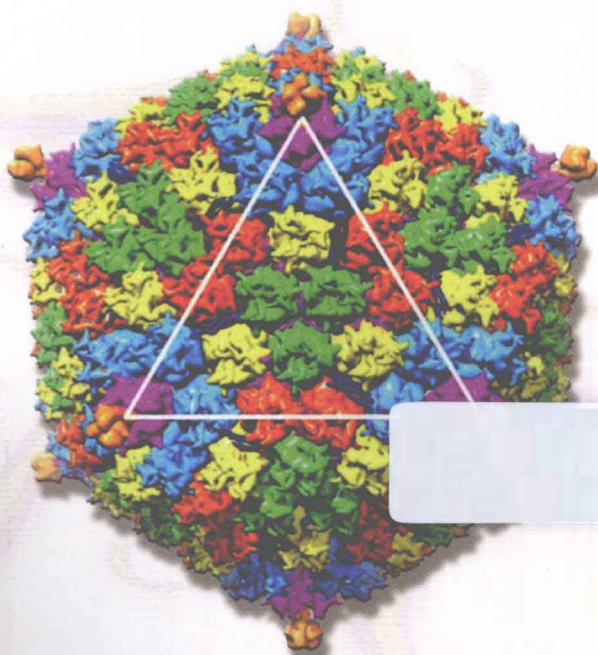


疾病与生命科学前沿研究丛书



谢立 刘社兰 丁华 何宏轩 主编 / 王承民 王玲 高燕 孙昼 副主编

腺病毒 感染



科学出版社

THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS



疾病与生命科学前沿研究丛书

腺病毒感染

主 编 谢 立 刘社兰 丁 华 何宏轩
副主编 王承民 王 玲 高 燕 孙 昼

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

腺病毒宿主谱广泛,人群感染普遍,包括我国在内的全球许多国家和地区有腺病毒感染暴发流行。腺病毒可引起人体多脏器感染和临床症状,还能感染家养动物和多种野生动物,对人体健康、养殖业和野生动物保护造成严重危害。

本书由临床、疾控、科研一线从事腺病毒防治工作的十多位科技工作者编写,是我国首部有关腺病毒感染的专著。内容涉及腺病毒感染的病原学、流行病学、临床诊疗,包括病原学、致病机理、流行病学、诊断与治疗、实验检测、监测、预防与控制、腺病毒疫苗共8个章节。全书参考了大量的相关文献,并融入了作者们在腺病毒防治、科研工作中的实践经验和研究成果,内容丰富,重点突出,图文并茂,文字流畅,为广大读者提供了一本较全面、实用的腺病毒科研、防控、诊疗参考工具书,有助于在腺病毒感染防治和研究中解决实际问题。对从事疾病预防控制的专业人员、临床医生、科研人员、兽医以及高等院校的本科生和研究生来说是一本有益的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

腺病毒感染 / 谢立等主编. —北京:科学出版社,2013.4

(疾病与生命科学前沿研究丛书)

ISBN 978-7-03-037185-0

I. ①腺… II. ①谢… III. ①腺病毒-感染 IV. ①R511.8

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 053192 号

责任编辑:夏 梁 刘 晶 / 责任校对:何艳萍

责任印制:钱玉芬 / 封面设计:王 浩

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

随书印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2013年4月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2013年4月第一次印刷 印张:11 插页:2

字数:258 000

定价:68.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《腺病毒感染》编写委员会

主 编 谢 立 刘社兰 丁 华 何宏轩
副主编 王承民 王 玲 高 燕 孙 昼
秘 书 考庆君
编 者 (按姓氏汉语拼音排序)

丁 华 杭州市疾病预防控制中心
高 燕 北京大学人民医院
何宏轩 中国科学院动物研究所
黄仁杰 杭州市疾病预防控制中心
考庆君 杭州市疾病预防控制中心
刘社兰 浙江省疾病预防控制中心
潘劲草 杭州市疾病预防控制中心
濮小英 杭州市疾病预防控制中心
孙 昼 杭州市疾病预防控制中心
王承民 中国科学院动物研究所
王 婧 杭州市疾病预防控制中心
王 玲 北京大学基础医学院病原生物学系
谢 立 杭州市疾病预防控制中心
杨旭辉 杭州市疾病预防控制中心
于新芬 杭州市疾病预防控制中心
张文辉 杭州市疾病预防控制中心
郑景山 中国疾病预防控制中心免疫规划中心
朱 冰 杭州市疾病预防控制中心

序

腺病毒可引起人畜共患的急性传染病,常侵犯呼吸道及消化道黏膜、眼结膜和淋巴结等。该病毒自 1953 年发现以来,目前已证实有 7 个组 57 种血清型。全球很多国家和地区曾发生腺病毒感染暴发,我国于 20 世纪 60 年代在东北地区曾发生流行,近年来在我国局部地区时有暴发。腺病毒感染流行面广,传播方式多样,临床谱广,但目前尚无特效的治疗方法,腺病毒 4 型与 7 型的联合疫苗只在少数国家应用,且效果并不理想,亟待深入研究。

该书是我国首部有关腺病毒感染的专著,包括腺病毒的病原学、致病机理、流行病学、暴发、监测、临床诊治、实验诊断、防控、免疫和健康教育等章节。全书内容丰富,重点突出,图文并茂,文字流畅,注重内容的先进性、系统性,同时书中列举了一些案例,具有较强的实用价值。

参加该书编写的作者多是从事腺病毒基础研究、临床治疗、实验室检测以及传染病预防控制的第一线专家,具有深厚的基础理论和丰富的实践经验。他们查阅了国内外大量有关腺病毒感染的最新文献,并结合自己多年来积累的实践经验,经过去粗取精、去伪存真、由此及彼、由表及里的归纳分析写成此书。因此,该书的学术水平较高,不仅对从事疾病预防控制的专业人员、临床医生、科研人员、畜医有较高的参考价值,而且对高等院校的本科生和研究生来说也是一本很好的参考书。

我衷心祝贺该书的及时面世。相信该书的出版将极大地推动我国腺病毒感染的防治和研究工作!

庄辉

2012 年 12 月于北京

前 言

人类腺病毒能引起多脏器感染和临床症状,可引起急性发热性呼吸道感染、咽结膜热、肺炎、流行性角结膜炎、胃肠炎等疾病。腺病毒在自然界分布广泛,人群腺病毒感染相当普遍,全球多个国家和地区都有腺病毒暴发流行的报道,各地的暴发主要集中在高度密闭、拥挤和潮湿的环境,如入伍新兵营、寄宿制学校、托幼机构、养老院等。20 世纪 50~60 年代,我国腺病毒引起的疫情流行十分严重,华北、东北、西北发生大规模的婴幼儿腺病毒肺炎流行,病死率一度高达 10%~20%。同时腺病毒还感染多种脊椎动物,其宿主谱广泛,除了家养动物外,还有多种野生动物被感染,对养殖业和野生动物保护造成危害。

近几年国内部分地区发生多起具有社会影响的腺病毒局部暴发流行,这些暴发疫情的发现、诊断、检验、调查、处置环节涉及知识面广,技术环节复杂。然而许多基层防治和管理工作者对腺病毒认识不足,难于有效应对腺病毒感染的诊断治疗与疫情防控。为此我们组织从事腺病毒临床、疾控、科研一线防治工作的十多位专家、教授编写了本书,以便为广大读者提供一本较全面、实用的参考工具书,旨在帮助大家在腺病毒感染防治和研究中解决实际问题。

本书作者参考了国内外已发表的大量相关文献外,还融入了作者们在腺病毒诊断治疗、预防控制、科学研究工作中的实践经验和研究成果。全书共分为 8 章,内容涉及腺病毒感染的病原学、致病机理、流行病学、诊断与治疗、实验检测、监测、预防与控制、腺病毒疫苗。

由于自然界广泛存在腺病毒,且致病谱广,传播快,其本质和规律亦在不断探索的过程中,加上编者水平有限,书中难免存在不足之处,恳请广大读者批评指正,以便我们在今后的修订中予以完善。

本书的编写得到了我国著名微生物学家、中国工程院院士、北京大学基础医学院病原生物学系庄辉教授的热情帮助,他对本书的编写给予了很多具体指导,谨在此表示衷心的感谢!各章节编写作者单位对编辑工作给予了充分理解与支持,一并致谢。

谢 立

2012 年 12 月

目 录

序

前言

第 1 章 腺病毒病原学	(1)
1.1 绪论	(1)
1.2 腺病毒的结构及化学组成	(1)
1.3 病毒的培养与复制	(5)
1.4 腺病毒受体	(8)
1.5 腺病毒的分型.....	(10)
主要参考文献	(11)
第 2 章 腺病毒致病机理	(12)
2.1 致病性.....	(12)
2.2 感染过程.....	(16)
2.3 病理改变.....	(17)
2.4 腺病毒的免疫.....	(20)
主要参考文献	(26)
第 3 章 腺病毒流行病学	(29)
3.1 全球腺病毒流行概况.....	(29)
3.2 腺病毒流行特征.....	(39)
3.3 动物腺病毒的流行病学.....	(48)
主要参考文献	(58)
第 4 章 腺病毒感染的诊断与治疗	(62)
4.1 概述.....	(62)
4.2 腺病毒感染的临床表现.....	(62)
4.3 诊断与鉴别诊断.....	(66)
4.4 腺病毒感染的治疗.....	(67)
4.5 腺病毒感染的预后	(69)
主要参考文献	(69)
第 5 章 腺病毒实验检测	(71)
5.1 标本采集、保存及运送	(71)
5.2 检测方法.....	(72)
5.3 实验室工作规则、生物安全	(80)
主要参考文献	(82)
第 6 章 腺病毒的监测	(84)
6.1 监测的目的.....	(84)
6.2 监测的类型.....	(85)

6.3	监测对象与监测内容.....	(85)
6.4	监测病例定义.....	(86)
6.5	监测网络的建立.....	(86)
6.6	监测网络的管理.....	(91)
6.7	监测系统的运转与评价.....	(92)
6.8	国外腺病毒监测现状.....	(92)
	主要参考文献	(99)
第7章	腺病毒感染的预防与控制.....	(101)
7.1	腺病毒感染暴发流行病学调查方法	(101)
7.2	腺病毒暴发疫情的风险沟通	(106)
7.3	腺病毒感染健康教育	(111)
7.4	社区防控	(116)
7.5	消毒、隔离与防护.....	(123)
7.6	腺病毒感染疫情案例分析	(129)
	主要参考文献.....	(141)
第8章	腺病毒疫苗.....	(143)
8.1	疫苗概述	(143)
8.2	人用腺病毒疫苗	(144)
8.3	腺病毒载体疫苗	(153)
	主要参考文献.....	(159)
	缩略词.....	(163)
	图版	

第 1 章 腺病毒病原学

1.1 绪 论

1953 年,Rowe 和他的同事们用患者的扁桃体组织,拟分离“流感病毒”,但意外发现培养出的单层细胞中有一些出现了细胞病变(cytopathic effect,CPE),后来证明细胞病变是由潜伏在腺样组织内的新病毒所致。1962 年该新病毒被正式命名为腺病毒,并分为两个属,分别为哺乳动物腺病毒属(*Mastadenovirus*)和禽腺病毒属(*Aviadenovirus*)。目前腺病毒共有 100 多个血清型,其中对人类致病的有 57 个血清型,分别命名为 Ad1~Ad57。根据其生物学性状可将人腺病毒(human adenovirus,HAdV)分为 A~G 等 7 组(或亚属)。

腺病毒通常在呼吸道、眼部、胃肠道和尿道等部位增殖并引起疾病,也可在淋巴样和腺样组织中潜伏感染,并持续数月。主要临床表现为急性发热性呼吸道感染、咽结合膜热、流行性角结膜炎、胃肠炎和腹泻等疾病,有的血清型还可引起动物肿瘤。严重感染常见于免疫抑制/免疫功能低下人群,如器官移植患者、艾滋病患者和先天性或联合免疫缺陷者等。腺病毒作为机会性病原长期存在于人群中,尤其在居住密集场所如军营、学校、养老院等易出现急性发热性呼吸道感染等的暴发流行。

(王 玲 刘社兰 何宏轩)

1.2 腺病毒的结构及化学组成

1.2.1 腺病毒结构

腺病毒为二十面体立体对称、无包膜的球形双链 DNA 病毒。腺病毒粒子为 $T=25$ 的二十面体,直径 70~100nm,在感染的细胞核内常呈晶格状排列(图 1-1)。病毒衣壳呈二十面体对称,由 252 个直径 8~10nm 的壳粒组成,壳粒排列在三角形的面上,每边 6 个,其中 240 个为六邻体(hexon,非顶点壳粒),另 12 个为五邻体(penton,顶点壳粒)。每个六邻体是六邻体蛋白的同源三聚体,三聚体的六邻体分子有一个三角形的塔尖和五面体的基底,塔区由 4 个环构成,即 loop1、loop2、loop3 和 loop4;基底包含两个区域,即 P1 区和 P2 区。六邻体上的表位(epitope)是诊断不同血清型的标准,它包括哺乳动物腺病毒属的抗原成分,是病毒体对免疫选择压力最敏感的部位。每个五邻体基底上结合着 1 根(哺乳动物腺病毒)或 2 根(禽腺病毒)长 9~77.5nm 的纤维突起(antennal fiber,纤突),这些纤维以五邻体蛋白为基底由衣壳面伸出,纤维顶端形成头节区(顶球),纤突有血清特异性,且含有负责体外血细胞凝集的种属特异性抗原决定位点(图 1-2)。

每个腺病毒颗粒包含一个 36kb 的线性双链 DNA。腺病毒基因组的两端各有一段 100bp 的反向末端重复序列(inverted terminal repeat,ITR),是复制的起始位点。在左端 ITR 的 3'端有一段长约 300bp 的包装信号(ψ)介导腺病毒基因组包装入病毒衣壳(图 1-3)。

对腺病毒而言,只有包括两端的 ITR 和包装信号(ψ)的约 0.5kb 的序列是顺式作用元件,也就是说必须由腺病毒载体自身携带,而其他的 30 余种蛋白质都可以通过辅助病毒(或细胞)反式补足。基因组包含早期表达的与腺病毒复制相关的 E1~E4 基因和晚期表达的与腺病毒颗粒组装相关的 L1~L5 基因。线状双股 DNA 与核心蛋白形成直径为 60~65nm 的髓芯,被包裹于衣壳内(图 1-4)。

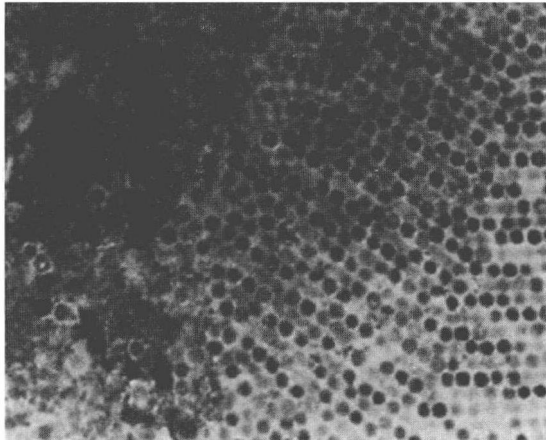


图 1-1 晶格状排列的人腺病毒(放大倍数 237 200 $\times$)

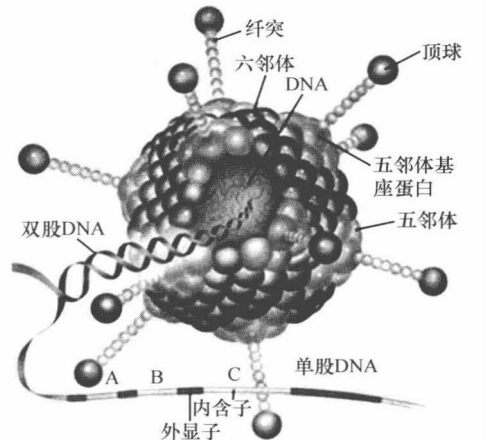


图 1-2 腺病毒结构示意图

图片来源: <http://www.life-line.cn/news/diseaseprevention/control/20120306150232243.html>

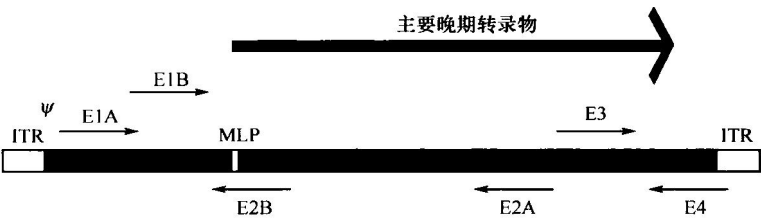


图 1-3 Ad5 基因组简化示意图

ITR, 反向末端重复序列; ψ , 病毒包装原件; MLP, 主要晚期启动子; E1~E4, 早期表达的与腺病毒复制相关的基因 (晚期表达的与腺病毒颗粒组装相关的 L1~L5 基因未标示)

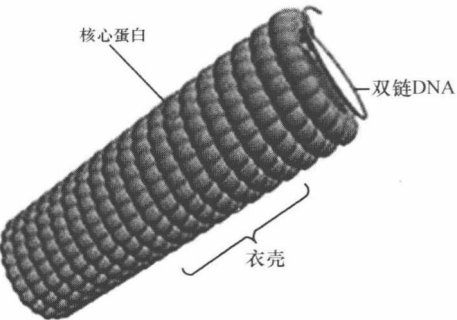


图 1-4 腺病毒核心蛋白及衣壳

图片来源: <http://www.nbpmp.com/fw1a10.asp>

1.2.2 腺病毒的化学组成

腺病毒的病毒蛋白约 11 种(TP 和 PI-PX), 其中有 4 种蛋白质(病毒多肽 PV、PVII、末端蛋白 TP、酶蛋白 PX)与病毒基因(双股线性 DNA)构成病毒核心, 多肽 PII 是主要的核心蛋白, 包裹着病毒基因 DNA。构成病毒衣壳的有 7 种蛋白质, 其中多肽 PII 是病毒衣壳中最丰富和最主要成分, 六邻体由 3 个 PII 分子紧密相连组成。多肽 PVI、PVIII 在六邻体与病毒和心之间形成连接桥, 并与多肽 PIX 一起稳定着六邻体分子的晶

格排列。5个分子多肽PIII相连构成五邻体的基座蛋白,PIIIa为五邻体的周围蛋白,也参与衣壳的组成,五邻体通过PV与病毒核心相连。多肽PIV主要构成病毒三聚体纤突,纤突与病毒血凝活性相关,因血凝素(纤突)具有型特异性,常用血凝抑制实验(HI)对临床分离株进行分型。纤突和五邻体基座在病毒衣壳和宿主细胞表面相互作用方面起重要作用(图1-5)。此外,病毒颗粒含有大约10个拷贝的腺病毒半胱氨酸蛋白酶,可在病毒成熟期切割结构性蛋白。

腺病毒的基因组以线性的双链DNA形式存在,由蛋白VII和一种称为mu的小蛋白紧密地环绕在其周围,起到类组蛋白样的作用。另一种蛋白V将这种DNA-蛋白复合物连接起来,并通过蛋白VI与病毒衣壳连接在一起。在两条链的5'端各以共价键结合着一个被称为DNA末端蛋白(precursor terminal protein,pTP)复合物(DNA-TPC,DNA-precursor terminal protein complex)的特化的结构,与腺病毒复制密切相关(图1-6)。

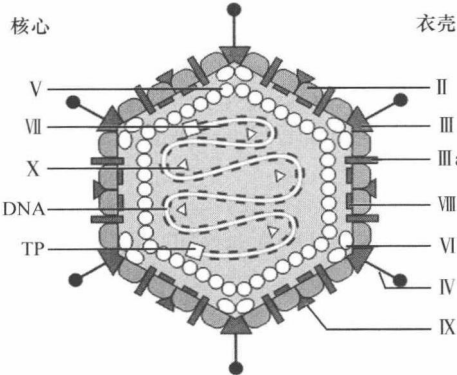


图 1-5 腺病毒蛋白结构示意图

图片来源:jpkc. hrbmu. edu. cn

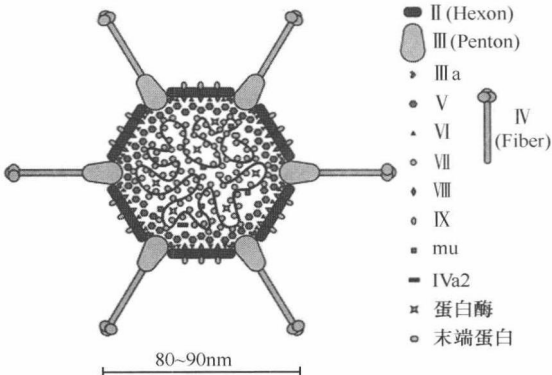


图 1-6 腺病毒蛋白结构示意图

图片来源:jpkc. hrbmu. edu. cn

腺病毒 DNA 和蛋白质的含量分别为 13% 和 87%,病毒体相对分子质量约为 175×10^6 。Ad12、Ad18 和 Ad31 型的 DNA 组成中,(G+C)mol%最低(48%~49%),属于对动物具有高致癌性的血清型;Ad1、Ad2、Ad4、Ad5、Ad8 等型的(G+C)mol%较高(61%),致癌性反而较低或无。这也是人腺病毒分离株的分组标准,据此可将腺病毒分为 A~G 共 7 组。

1.2.3 病毒基因结构与功能

腺病毒复制过程中基因组转录产生 mRNA,已知的病毒基因产物至少有 5 种,各自执行着不同的生物学功能(图 1-7)。

E1 区基因表达产物:可以进一步分为 E1A 和 E1B。E1A 主要由两种成分构成,分别为 289R(或 13S)和 243R(或 12S)。这些 E1A 蛋白的主要功能是调节细胞代谢,使细胞对病毒复制更易感。E1B 19K 与细胞 Bcl-2 基因的表达产物同源,可以通过灭活和清除 Bax 家族成员来防止细胞发生凋亡或坏死。E1B 55K 基因产物可以下调 p53 基因的转录水平,当然这种调节功能不是绝对的,其他一些腺病毒基因(如 E4 ORF6)也参与了这一过程。另外,E1B 55K 基因产物还与病毒复制、病毒晚期 mRNA 的转录以及病毒 RNA 的转运有关。

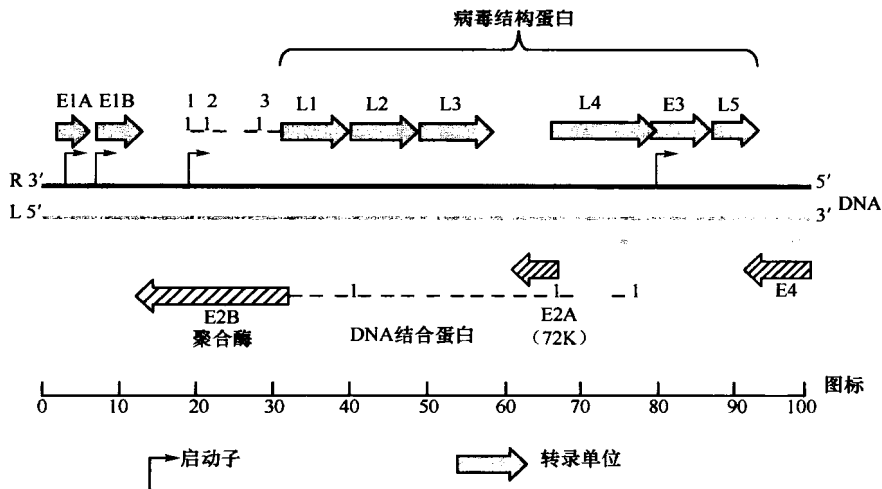


图 1-7 人腺病毒基因组结构示意图

图中上方的双线代表腺病毒的线性双链 DNA, 长度为 36kb; 每个箭头代表一个转录单位, 转录方向为箭头所指方向, 除 E3 和 E4 外, 各转录单位的功能均标示在图中。主要后期转录单位包括起始的“1”、“2”、“3”及 L1、L2、L3、L4 和 L5 基因

E1A 和 E1B 基因产物还可刺激细胞进入 S 期, 使其成为病毒 DNA 复制的理想环境, 因此被认为是致癌基因。

E2 区基因表达产物: 可分为 E2A 和 E2B。其中, E2A(72K)即 DNA 结合蛋白(DNA binding protein, DBP); E2B 主要产物有两种, 分别是末端蛋白前体(precursor terminal protein, pTP)和病毒 DNA 聚合酶(DNA polymerase, pol)。三种蛋白质与至少三种细胞内的因子相互作用, 启动腺病毒 DNA 复制以及病毒晚期基因的转录和翻译过程。

E3 区基因表达产物: 主要功能是破坏宿主的免疫防御机制, 而与病毒基因组的复制无关。E3 基因的产物之一——腺病毒死亡蛋白(adenovirus death protein, ADP)分子质量为 11.6kDa, 可以在病毒感染的晚期裂解细胞并释放病毒颗粒。Gp 19K 蛋白可以在内质网上与 MHC-I 类分子的重链结合阻止其转运到细胞表面, 并且可以延缓 MHC-I 的表达。RID_{α&β} 可以抑制由 TNF 诱发的细胞凋亡, 促进 Fas 降解, 下调 TNF 受体水平。

E4 区基因表达产物: E4 区的基因产物通常被称为 ORF 1-6/7, 主要与病毒 mRNA 的代谢有关, 还有促进病毒 DNA 复制以及关闭宿主蛋白合成的功能。研究发现, 一些 E4 产物可以与 DNA 激活的蛋白激酶结合, 防止病毒 DNA 发生串联。由于该激酶可以激活 p53 基因, 因此认为一些 E4 区基因产物可以抑制细胞凋亡。许多 E1B 和 E4 基因产物都与拮抗 E1A 蛋白功能有关。例如, E4 ORF4 抑制 E1A 对 E2F 启动子的激活; E4 ORF3VA RNA 是一些由腺病毒转录的非翻译 RNA, 与腺病毒抵抗宿主细胞免疫有关。

L 基因表达产物: 所有晚期表达(L)基因都是由 R 链上的单一启动子翻译的, 并形成占腺病毒基因组长度约 80% 的 RNA 产物, 出现的多重拼接可产生至少 18 个不同的 mRNA, 这些 mRNA 根据所使用的 5 个不同的多聚腺苷酸位点而被分为 5 组。所有晚期 mRNA 均翻译成子代病毒颗粒装配所需蛋白质。除了由 RNA 多聚酶 II 翻译的这些基因外, 还有

1 或 2 种被称为腺病毒基因(VA),是由宿主 RNA 多聚酶 III 转录的。它们的主要功能是抑制宿主的干扰素系统。

(王 玲 刘社兰 何宏轩)

1.3 病毒的培养与复制

1.3.1 病毒的体外培养

腺病毒在体外只能在人源的组织细胞中增殖,人胚肾细胞易感,在 293 细胞系、HEP-2、HeLa 等细胞中生长良好,可引起细胞肿胀、变圆、聚集成葡萄串状等典型细胞病变(CPE)(图 1-8),实验室常用上述细胞进行病毒的分离鉴定。

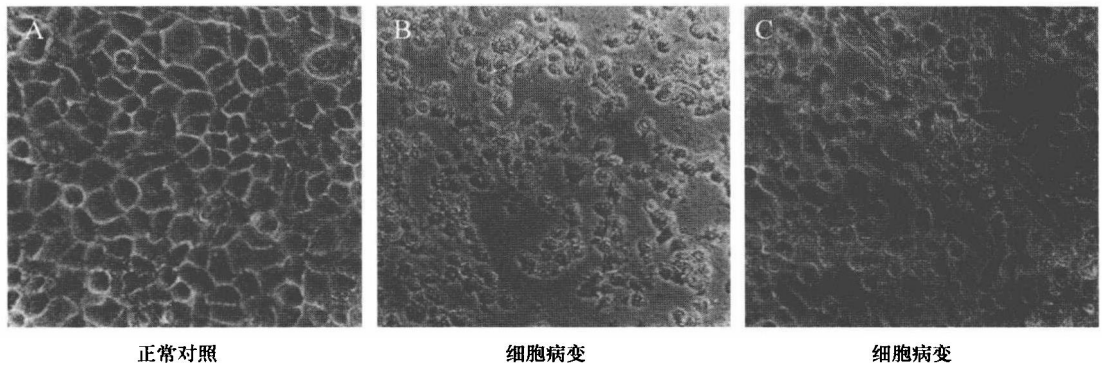


图 1-8 腺病毒体外培养的细胞病变(CPE)

常用 A549、Hep-2 和 HeLa 细胞来培养临床标本中的腺病毒。除 Ad40 和 Ad41 型外,其他腺病毒血清型在人上皮细胞系上生长良好,会导致细胞圆缩,出现核内包涵体聚集成串等病变现象,2~7d 可见细胞病变,并可持续到 28d。

1.3.2 病毒的复制

腺病毒的生活周期可以分为两个截然不同却又不能割裂开来的阶段。第一阶段包括腺病毒颗粒黏附和进入宿主细胞,将基因组释放到宿主细胞核中,以及有选择性地转录和翻译早期基因。在这个阶段,细胞为病毒基因组复制和腺病毒晚期基因表达并最终释放成熟的感染颗粒(即第二阶段)做好了准备。第一阶段将在 6~8h 内完成,第二阶段则更快,只需 4~6h(图 1-9)。

第一阶段(病毒黏附和进入细胞):腺病毒感染细胞的过程是从腺病毒纤毛的头节区黏附到细胞表面的特异性受体开始的。因为人腺病毒主要与柯萨奇 B 病毒共用一种受体,因此这种受体被称为柯萨奇/腺病毒受体,即 CAR。接下来病毒纤毛基底部五邻体表面的三肽 RGD 与细胞表面的 $\alpha v \beta 3$ 和 $\alpha v \beta 5$ 整合素结合,通过内吞作用将腺病毒内化到细胞中并进入溶酶体。在溶酶体的酸性环境下,腺病毒衣壳的构象将发生变化,被从溶酶体中释放出

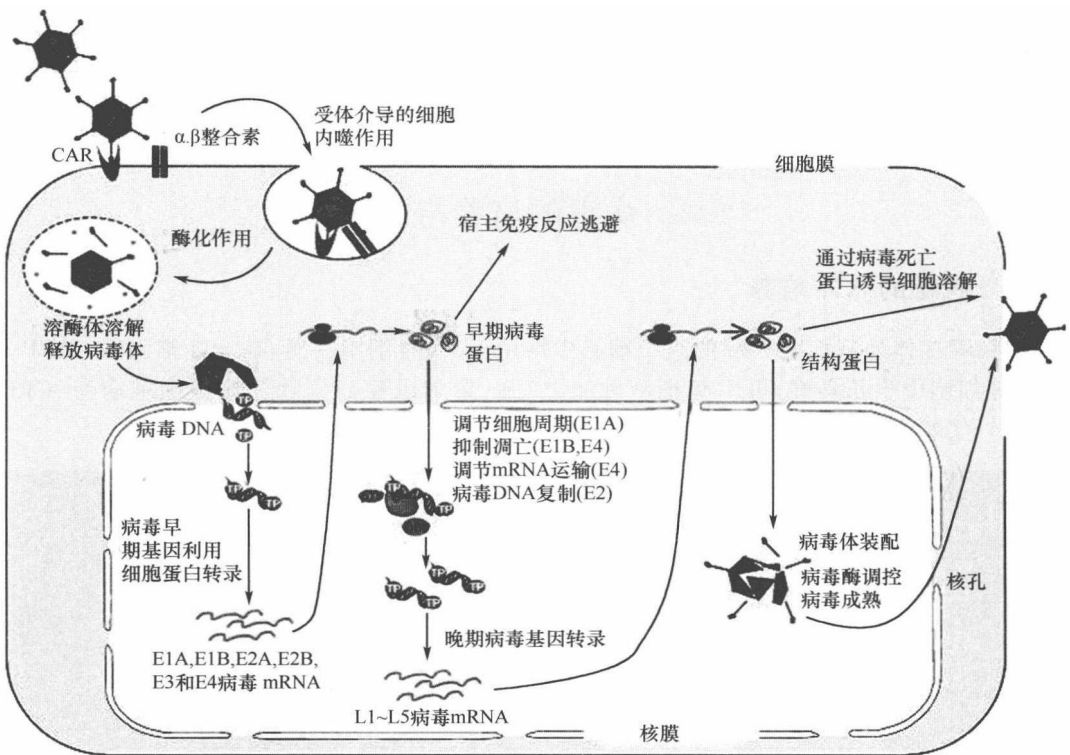


图 1-9 腺病毒复制周期

CAR, 柯萨奇/腺病毒受体

来,躲过溶酶体的消化作用。最后,腺病毒颗粒转位到细胞核,通过核孔将病毒 DNA 释放到细胞核内。相对于脂质体转染,腺病毒基因组进入细胞核是一个非常高效的过程,一般可以达到 40%,虽然核孔释放进入胞质的效率与脂质体转染相当,但后者 DNA 进入细胞核的效率却只有前者的 1/1000。

第二阶段(转录与复制):一旦病毒基因组进入细胞核,就将进行一系列复杂而有序的逐级放大的剪切和转录过程。通常,以病毒 DNA 开始复制为分界线,按转录时间的先后,将腺病毒基因大致区分为早期转录单位(E1~4)和晚期转录单位(L1~5)。各种腺病毒基因又可以进一步地分为更小的转录单位,如 E1 区可以进一步分为 E1A 和 E1B,每个转录单位都至少有一个独特的启动子。腺病毒基因组进入细胞核后,细胞转录因子首先与 E1A 区上游的增强子结合,表达 E1A 蛋白,该蛋白质的作用是调节细胞代谢,使病毒 DNA 更易于在细胞中复制。E1A 蛋白还可以激活其他早期基因(E1B、E2A、E2B、E3 和 E4)的启动子,其中 E2B 驱动另外三个与病毒复制有关的早期基因转录单位末端蛋白前体(precursor terminal protein, pTP)、单链 DNA 结合蛋白(single-stranded DNA binding proteins, ssDBP)及 DNA 聚合酶(DNA polymerase)的表达,这三个基因的表达产物紧密地结合成一个复合物,与至少三种细胞蛋白相互作用,启动病毒基因组的复制。

一般而言,DNA 的复制是由 RNA 启动的,而在腺病毒却是所谓的蛋白启动(protein-

priming)。如前所述,腺病毒双链 DNA 的每条单链的 5'端有 pTP 蛋白结合,pTP 通过其 Ser-OH 与 DNA 5'端的 dCMP 5'磷酸之间形成磷酸二酯键。腺病毒的 DNA 复制首先是以 5'端结合有 pTP 的 dCMP 作为引物,以 3'端的末端反向重复序列(ITR)为模板,进行链置换(strand displacement)合成,置换出腺病毒的单链分子可以自我退火环化,形成锅柄样环形分子,然后这种环形分子再以相同的机制合成出子代双链 DNA 分子。

病毒基因组复制通常在感染后数小时开始,同时早期基因的转录和翻译被关闭,晚期基因开始表达。大部分的晚期基因的转录是以一个共同的主要晚期启动子(major late promoter,MLP)调控的。实际上,MLP 的活性与病毒基因组复制密切相关,有研究表明一旦腺病毒基因组开始复制,MLP 的活性将明显增强。晚期基因主要编码腺病毒的结构蛋白。病毒结构蛋白在细胞核内聚集形成病毒衣壳,病毒的基因组被包装进去,形成有感染能力的病毒颗粒,并最终裂解宿主细胞被释放出去,完成腺病毒的生活周期。腺病毒有明显的种属特异性,人的野生型 5 型腺病毒(wtAd5)感染其他的非人类细胞(如鼠类细胞)后可以表达早期基因,基因组也可有一定程度的复制并能够形成一些不成熟的病毒颗粒,却不能形成成熟的病毒颗粒,也不能二次感染其他细胞。

1.3.3 腺病毒复制周期中关键时间点

图 1-10 是腺病毒在感染 HeLa 细胞过程中病毒和宿主细胞所发生的主要变化。由图可见,在感染后约 10h 宿主 DNA 合成开始迅速下降,15h 降到最低水平;而从 15h 开始感染性的病毒量迅速增加,在 30h 达到高峰(10^4 PFU/个细胞)。在感染 25h 后,宿主的蛋白质合成也开始迅速下降,在 30h 后降到最低。在整个感染过程中出现最早的是 E1A、E2A 和 E4 以及其他早期蛋白,在感染 5h 后开始了晚期转录、病毒 DNA 复制、病毒颗粒蛋白质合成以及宿主防御系统的干预等。

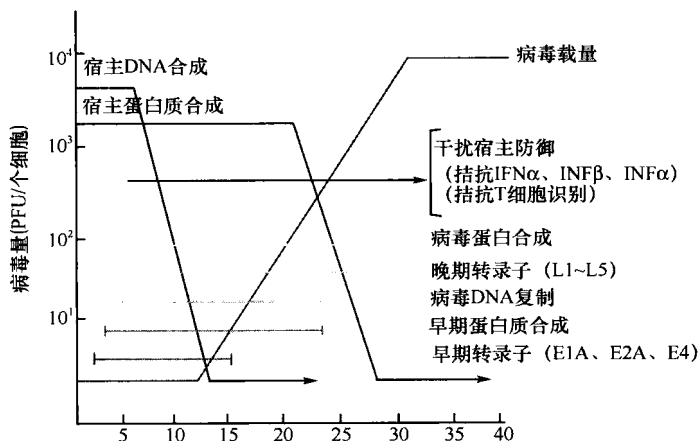


图 1-10 腺病毒感染 HeLa 细胞后各病毒组分变化示意图

1.3.4 病毒抵抗力

腺病毒对酸碱度及温度的耐受范围较宽,非常耐热、耐酸,在 4℃ 环境中保存,可存活 70d;在 -40℃ 环境中保存,可长期存活;36℃、7d 病毒感染力无明显下降,但 56℃、30min 可将其灭活。从北京市的一次腺病毒疫情中采集的标本,间隔 2 个月之久,标本拭子已近干涸,但仍分离到病毒,提示腺病毒在外界环境中的抵抗力较强。腺病毒在低 pH 环境下可稳定存在,有很强的耐物理和化学试剂的能力;对乙醚也有耐性;由于它不含脂肪,对脂溶剂(如胆碱)的抵抗力也很强。将 Ad12、18 和 31 型注入幼小的啮齿动物时,有高度的致癌性(接种到新生的地鼠,经数月后可出现肉瘤),而其他型别的腺病毒则很少有致癌作用。

(王 玲 刘社兰 何宏轩)

1.4 腺病毒受体

近年来对腺病毒受体的研究取得了很大的进展,这些研究进一步揭示了腺病毒在感染过程中与受体的相互作用,以及受体在病毒进入细胞和组织嗜性方面的作用。腺病毒的吸附是通过其表面的纤突与细胞表面高亲和性受体结合。不同组的腺病毒细胞受体有所不同。

腺病毒不同血清型的组织趋向性不同,主要与腺病毒的型别有关(表 1-1)。人类腺病毒 C 组、E 组和部分 B 组病毒通常感染呼吸道,其他部分 B 组感染泌尿道,A 组和 F 组主要感染胃肠道,D 组主要感染眼部。决定病毒趋向性的重要因素是病毒最初进入宿主并与细胞的结合。

表 1-1 腺病毒分组及所致临床相关疾病

病毒 分组	血清型	病毒名 称缩写	病毒 受体	倾向感 染部位	(G+C) mol%	致瘤 潜能	临床疾病
A	12,18,31	HAdV-A	CAR	胃肠道	48%~49%	高度	儿童急性出血性膀胱炎、胃肠炎
B	3,7,14 11,14,21 3,7 11,21 34,35,50,55	HAdV-B	CD64; CD80/86; X	呼吸道、 泌尿道	50%~52%	中度	咽、结膜炎 急性呼吸道疾病 肺炎、咽炎 急性出血性膀胱炎 弥漫性肺炎、尿道滞留
C	1,2,5,6	HAdV-C	CAR HSP	呼吸道	57%~57%	低度 或无	小儿急性发热性咽炎;淋巴组 织的潜伏感染;肝移植后儿 童肝炎
D	8,9,10,13,15,17, 19,20,22~30,32, 33,36~39,42~49, 51,53,54,56	HAdV-D	CAR; SA; CD46	眼部或 其他	57%~61%	低度 或无	胃肠炎、流行性角膜炎