

医学科学译丛

麻疹专辑

1963

上海市医学科学技术情报研究站 編
上海市科委医药专业委员会传染病专题小组

上海科学技术出版社

医学科学译丛

麻疹专輯

上海市医学科学技术情报研究站 編
上海市科委医药专业委员会传染病专题小组

上海科学技术出版社

內 容 提 要

本輯介紹 1960~1962 年間用俄、英、德、日等文字發表的麻疹病毒學、麻疹疫苗、麻疹流行病學及麻疹臨床四方面的一些研究動向及成就,可供微生物學、衛生學及兒科學工作者參考。

醫學科學譯叢

麻 疹 專 輯

上海市醫學科學技術情報研究站 編
上海市科委醫藥專業委員會傳染病專題小組

上海科學技術出版社出版 (上海瑞金二路 450 號)

上海市書刊出版業營業許可証出 093 號

上海洪興印刷廠印刷 新華書店上海發行所發行

開本 787×1092 1/16 印張 12 4/16 排版字數 361,000

1963 年 12 月第 1 版 1963 年 12 月第 1 次印刷

印數 1~5,000

統一書號 14119·1123 定價(十四) 1.70 元

編者的話

近年来由于組織培养技术的发展及麻疹病毒分离的成功,麻疹病毒的生物学特性不仅有了更加詳尽的研究,且也为麻疹发病机制的研究和麻疹疫苗的制造奠定了基础。因此,控制这个危害儿童健康最广的急性传染病——麻疹,为期当不太远。

为了能够及时地介紹国际上关于麻疹的新的科学研究成就,供国内有关方面参考,特組織本市专业人員翻譯俄、英、德、日等文字的医学科学論著44篇。它們是从几百篇中挑选出来质量較高的論文,并且都是根据原著全文譯出,使讀者能窺其全貌。

本輯內容分为四部分:第一部分为病毒学,主要介紹麻疹病毒的生物学特性和血清学診斷方法;第二部分为麻疹疫苗,主要介紹灭活与弱毒活疫苗的制造和应用;第三部分为流行病学,主要介紹人群麻疹抗体的分布;第四部分为临床,主要介紹麻疹对中枢神經系統的影响及有关激素疗效的評價。

本專輯的完成,首先是与上海市科学技术委员会医学专业委员会传染病专题組的紧密合作和許多譯者、校审者积极努力分不开的。在选题,补充选题到集稿的具体工作中,承余鼎新医师热忱襄助;在脫稿后,又承上海科学技术出版社編輯同志們的細致加工,使本專輯的质量有所提高。特此,向以上各方面致以誠摯的謝意!

編者 1963年12月

目 录

一、病 毒 学

1. 麻疹病毒的历史回顾、分离及在各种系统中的表现.....张 箐譯(1)
2. 麻疹疫苗病毒株生物学特性的研究张 詠譯(4)
3. 出现在感染麻疹病毒的細胞培养中的一种干扰素张 箐譯(7)
4. 不同組織培养对麻疹病毒敏感性的比較研究陈宗舜譯(11)
5. 麻疹病毒在組織培养中的研究 III. 活的与死的麻疹病毒在不易感宿主內的
 抗原性张 箐譯(14)
6. 麻疹病毒在人与猴子白細胞悬液中的繁殖沈鼎鴻譯(21)
7. 猴腎組織培养中分离出的猴类麻疹病毒的研究孙福佩譯(24)
8. 猴实验性麻疹病理过程的机轉曹錫坤譯(27)
9. 麻疹有毒株与无毒株的鉴别黄关林譯(32)
10. 麻疹血清学試驗的标准陈宗舜譯(39)
11. 麻疹病毒的血細胞凝集和血細胞吸附黄关林譯(45)
12. 应用血凝抑制試驗滴定麻疹抗体陈宗舜譯(49)

二、疫 苗

13. 麻疹减毒疫苗的研究 I. 疫苗的进展和制备:
 檢驗接种效果的方法.....顾祖万、黄关林譯(51)
14. 苏联麻疹疫苗的生产和检定陈宗舜譯(56)
15. 麻疹活疫苗的效价检定顾祖万譯(58)
16. 麻疹弱毒活疫苗的研究李祖蔚譯(60)
17. 麻疹弱毒疫苗的研究 VIII. 疫苗接种結果的总结与评价葛韻娥譯(69)
18. 麻疹弱毒活疫苗的研究 I. 集体儿童的临床和免疫学反应刘湘云譯(72)
19. 麻疹弱毒活疫苗的研究 II. 集体儿童的临床及免疫学反应唐思琛譯(78)
20. 麻疹弱毒活疫苗的研究 III. 大规模免疫接种实用方法的发展金式文譯(83)
21. 麻疹弱毒活疫苗之研究 IV. 几种不同途径的疫苗接种观察翁維楷譯(87)
22. 用吸入法接种鸡胚传代的麻疹疫苗唐姚珍譯(91)
23. 麻疹的預防接种 I. 弱毒活疫苗的制备及检定陈宗舜譯(93)
24. 合并应用 Enders 氏麻疹弱毒活疫苗与人免疫球蛋白余鼎新譯(97)
25. 麻疹弱毒活疫苗并用人体免疫球蛋白的效力余泽璵譯(106)
26. 麻疹弱毒活疫苗用于乳儿期被动抗体在免疫接种中作用的研究余鼎新譯(113)
27. 接种預防麻疹活疫苗的儿童免疫状况胡方远譯(116)
28. 麻疹弱毒活疫苗对心脏病儿童的接种問題余鼎新譯(122)
29. 在囊腫纖維变性病儿接种麻疹弱毒活疫苗余鼎新譯(124)
30. 麻疹弱毒活疫苗对急性白血病儿童的接种問題余鼎新譯(128)
31. 麻疹灭活疫苗胡齐全譯(131)
32. 麻疹病毒灭活疫苗 II. 疫苗对天然和实验性麻疹的預防余泽璵譯(135)

33. 麻疹灭活病毒疫苗 III 在幼小学童中的实地试验 余泽爱译(140)

三、流行病学

34. 不同人群中麻疹抗体的分布 余鼎新译(147)
35. 麻疹的血清流行病学观察 贾芝芳译(153)
36. 应用丙种球蛋白后的隐性麻疹 余鼎新译(154)

四、临床

37. 在儿童时期“无并发症”的疾患中所见的脑电图异常 苏祖斐译(162)
38. 麻疹弱毒活疫苗免疫儿童的脑电图研究 余鼎新译(168)
39. 感染麻疹猴子的脑电图 余鼎新译(169)
40. 超变应在麻疹脑炎的地位 蔡博渊译(170)
41. 麻疹脑炎——应用皮促素及皮质酮治疗之评价 蔡博渊译(173)
42. 麻疹“肺泡内疹”的发病机制 沈时霖译(179)
43. 麻疹患儿上呼吸道细菌群 刘湘云译(184)
44. 麻疹的 Arakawa 氏疫苗疗法 沈时霖译(187)

一、病毒学

1. 麻疹病毒的历史回顾、分离及在各种系统中的表现

作者 J. F. Enders

譯自美国 "Amer. J. Dis. Child." 163 (3): 282~287, 1962

引言

麻疹是在紀元 900 年間由阿拉伯医师 Rhazes 氏作为一个临床疾病而定名, 仅于距今七年前在技术上才确定能将病原培养出来, 有了这些技术方容許对麻疹病毒的本质及其表现作系统的研究; 在另一方面, 由此而获得的知識为本病的自动免疫的老問題提供了新的解答途径。

为了对下一个会議中将要提出的麻疹免疫现代研究的背景提供一些材料, 我将回顾一下麻疹病毒现代历史中的主要标志, 然后简单地叙述从病人分离麻疹病毒及其在細胞系统中的表现。

历史摘要

概述麻疹病毒历史的迅速途径, 是思考一下 1939 年間, 关于它的本质的研究成就, 在該时, 我回顾了文献以及我們自己关于病原問題的試驗, 并归結为下列的叙述。

近年来病毒研究方法的发现, 显著地增加了我們对某些重要疾病如: 流感及黄热病的知識, 但是将这些新获得的技术試用到麻疹病原的研究上, 到目前为止并没有帮助我們对其本质和特性获得明晰的概念。

然而在那个时候起就积累了宝贵的資料, 有力地指出了它的病原体是一种病毒, 这些資料中較重要的可概括如下: 1905 年 Hektoen 氏显示易感的志愿者在接种急性期病人的无菌血液后出现麻疹。1911 年, Anderson 及 Goldberger 二氏用麻疹病人的血液或咽洗液接种獼猴, 約有半数发生类似麻疹的临床症状, 用已受过感染的獼猴的滤过血清进行传代, 有一只獼猴获得成功。继而許多学者报告以麻疹病人的无菌材料接种猴子而使其产生輕型麻疹的症状, 然而这些結果常常是不规律的, 甚或完全阴性, 在阳性結果的报告中, Blake 及 Trask 二氏在 1921 年重复地以滤过的鼻咽洗液从一个猴子传布麻疹至另一个猴子的实验最为令人信服。在进行这些研究工作的同时, 曾试图在許多較低等的动物造成感染, 大多数常用的实验动物的易感性都曾被研究过, 其中包括家兔、豚鼠、小白鼠、大白鼠、獾鼠、狗、猫、田鼠、沙土鼠、甚至鸽子, 虽时有阳性发现的报告, 但均未得到証实。

1930 年初 Woodruff 及 Goodpasture 二氏发展了鸡胚技术。这一成就导致驟然出現許多描述麻疹病人的血液和咽洗液接种绒毛尿囊膜后出现病变的报告, 然而, 均未能清晰的指示出病变的特异性, 用組織培养来培养麻疹病毒的可能性該时正在进行探索。1938 年 Plotz 氏单独报告在鸡胚培养中培养病原成功, 我們在 Zinsser 氏的实验室中会同 Plotz 企图重复这些試驗, 但没有获得明确的結果。

尽管在鸡胚系统中有着这些不统一的发现, 为了再审查鸡胚及鸡胚細胞是否能維持麻疹病毒的繁

殖, Rake, Shaffer, Stokes 及其同工們在 1939 年左右开始进行了一系列的試驗。这些研究者报告用不同代数的鸡胚及組織培养材料接种猴子能誘发麻疹, 将鸡胚繁殖的病毒接种幼儿在有些例子中可出現輕型麻疹症状, 有鉴于此, 在較大人群中研究了这个看来是減弱了的鸡胚病毒的預防效果, 这些幼儿中有一部分人在接种疫苗后出現輕型麻疹症状, 但对此后接触麻疹的保护力極微, 因而未再試作进一步試驗, 在这个时候, 愈来愈明白, 如果没有更可靠的分离和繁殖麻疹病毒的方法, 没有更多的檢出特异抗体的技术, 很少有机会能获得进一步的进展。

抱着这种想法, 我們和 Peebles 氏便在 1954 年試驗人腎細胞旋轉培养对麻疹病毒的繁殖能力, 这个系統近来已証明适用于骨髓灰质炎病毒的培养及在体外培养中显出它們的致細胞病变作用。

将麻疹病人的血液或咽洗液种入这些培养, 培养数天, 在上皮单层細胞內出現多核巨細胞或融合細胞(multinuclear giant cells or syncytia), 在染色标本中融合細胞核及胞浆中有明显的嗜伊紅性包涵体。将麻疹病人的早期材料接种于猴腎細胞內亦可见基本上相同的变化, 在人腎細胞內連續传递几代后麻疹病毒便可适应于原代人羊膜細胞, 在羊膜細胞系統內, 除巨大細胞外, 尚形成另一种类型的細胞病变, 即所謂紡錘形細胞的細胞轉变(spindle-cell transformation), 这种紡錘形細胞变态将由 McCarthy 氏在以后提出討論。

这两种不同的細胞病变作用现已为这一領域的工作者所熟悉, 无需作更多的敘述, 它們被証实为病毒繁殖的可靠标志, 而为病毒分离、病毒感染力測定及中和抗体測定的方便和快速方法提供了基础, 在具有这些感染现象的培养液中发现有一种能和麻疹病人的恢复期血清进行补体結合的抗原, 因此又有一种可用于血清診斷及探查以往感染的快速方法, 最近, 法国 Peries 和 Chang 二氏及美国 Rosen 氏等証明感染的組織培养材料能凝集灵长类的紅細胞, Rosanoff 氏并証明有紅細胞吸附现象, 还发现血細胞吸附及血凝抑制試驗的結果和补体結合試驗的結果是接近平行的。

在細胞培养內分离麻疹病毒的說明

許多工作者的經驗指出原代人腎細胞最适合于病毒的初代分离, 其他細胞系統对直接取自人的病毒的感染較不易感或竟抗拒感染。Ruckle 及 Bech 二氏应采用人腎和人羊膜細胞的試驗結果指出, 虽然偶而能在羊膜細胞培养中檢得病毒, 但檢得率較腎細胞系統为少。Wright 氏报告用人羊膜及絨毛膜細胞培养成功地分离得病毒, 但没有数量的报告。我們實驗室曾在几年內試用人羊膜細胞分离病毒, 很少成功, 如 Katz 在 43 次試驗中仅 2 次分离得病毒。

許多研究者, 包括我們用传代細胞株分离病毒, 未能成功, 然而 Frankel 及 West 二氏报告在人羊膜細胞 FL 传代系統中成功地分离得病毒, 但没有詳細的报告。Toyoshima 及其同工們用这些細胞成功地自 19 个血清及咽洗液中分离得 2 株病毒, 尽管有这 2 个阳性結果的报告, 目前似乎有理由认为, 虽然传代細胞株对組織培养适应毒株可能是高度易感的, 但对于初代分离是不适合的。

在咽洗液或血液以外的材料中发现麻疹病毒时, 我們和其他的学者來說都是感到很有兴趣的, 我們實驗室早先曾試从急性期患者的大便中檢出病毒, 但未能获得成功, 同样地 Ruckel 及 Rogers 二氏也未能証实大便悬液中有病毒, 然而 Frankel 氏报告从这些材料中分离出 4 个毒株, 所以, 肠道中是否存在病毒的問題仍未能得到解答。

最近 Gresser 及 Katz 二氏在 11 例无合并症的麻疹病人中有 6 例尿液中檢出病毒, 这一发现表明麻疹病毒常从患者的尿液中排出。曾对 8 例出疹 48 小时內的麻疹患者的尿液进行檢驗, 6 例的尿液中有病毒排出, 有 1 例在咽洗液和血液未能檢出病毒后两天, 在其尿液中檢出病毒, 这些发现提示尿道系統感染是麻疹常见的表现, 它的持續時間可长于血液和上呼吸道的感染。

如下表所指出(它已摘要地记录从我前面提到过其他来源試行分离病毒的情况), 病毒也很易从早期病人的結膜中檢出, 近来 Katz 氏曾从 15 例結膜拭液中的 11 例檢出病毒, 这些試驗系应用人腎細胞培养, 从流行病学观点来看, 这个部位經常存在病毒显然不是沒有兴趣的。同样地关系到能更詳細地了解麻疹的眼合并症。

人腎組織培養內細胞病變的出現：顯示細胞病變的百分率

Edmonston 病毒	接 種 後 天 數					
	5	7	10	13	17	20
人腎 20	28	46	82	—	—	—
人羊膜 32	0	14	32†	41	50	90
雞胚細胞(疫苗 A 毒種)	0	10	14†	21‡	35§	—
雞胚 30	0	0	—	10	37*	37

* 22 個培養接種每株病毒 8 ID₅₀ (人胚腎)。

† 18 天。

‡ 12 天。

§ 18 天。

有了可靠的分離方法，就有希望能澄清這一重要和長期存在的問題——病毒在麻疹腦炎中的作用問題，可是失望的是在 Ruckle 氏和我們的未發表的實驗中曾一再試圖從脊髓液或神經組織中分離病毒都未獲得結果。Ruckle 氏檢查了 9 個病人的材料均未獲得成功，在我們手中 5 例的脊髓液以及 3 例的神經組織都沒有檢出病毒。另一方面 Frankel 氏在 1957 年曾簡單地描述了在 9 個脊髓液標本中的 4 個分離出麻疹病毒，因為其他人的完全陰性結果，此時很難衡量 Frankel 氏的報告的意義，然而顯然只要有機會，就應努力判定在有腦炎合併症症狀的病人的神經系統中，是否有麻疹病毒存在。

麻疹病毒在某些系統中的表現

對我提出的最後一個題目——麻疹病毒在不同宿主系統中的表現，是不可能作詳細討論的。麻疹病毒在一系列體外培育的哺乳動物細胞中的作用已予前節述及。一旦經過人或靈長類的原代培養進行傳代，再適應到各種正常及惡性的人細胞系統就很少會遇到困難，在這些系統的繁殖，一般地較快而有較早出現的細胞病變，這些病變，經常包括部分融合細胞內有包涵體，但常常伴有細胞變圓，細胞團縮 (pyknosis) 以及分解等現象，紡錘形細胞的轉變也可以觀察到，傳代細胞系統中的感染滴度趨向於高於原代培養中者。

將原代細胞培養中繁殖的病毒適應到其他動物的細胞會出現一定程度的困難，從實用觀點出發，其中最有意義的是適應於雞胚、犬腎及豚鼠腎細胞，因為在這些系統中培養的病毒近來已在日本、蘇聯及美國作為預防製品進行人體試驗。

麻疹病毒在實驗室動物中的致病性除猴以外，近來很少進行研究。我將在以後的論文中摘要報告對猴的試驗結果。這裡我們可以敘述一下 Imagawa 及 Adams 二氏用 Edmonston 毒株以腦內注射法適應於乳鼠的實驗，在繼續傳代時大多數接種動物出現致死疾患，傳代毒株經體外、體內中和試驗，表明與麻疹病毒是一致的，這些結果與 Arakawa 氏報告的結果聯繫起來是頗為有趣的，Arakawa 早在 1948 年即描述了幼鼠接種早期麻疹患者血清而導致致死的腦炎。Taniguchi 氏報告 Arakawa 氏小鼠病毒——此後在適應雞胚系統前和適應於雞胚系統後被用作疫苗在細胞培養中表現出與 Edmonston 株者相似的細胞致病性，並出現交叉補體結合反應。在哺乳田鼠中 Burnstein 氏及其同工報告腦內注射病毒會誘發致死的感染。總的來說這些發現提示麻疹病毒對幼齡小鼠及田鼠是具有致病性的，最後的評價還須依據其他學者的實驗証實。

在總結這些關於麻疹病毒的表現的零星成果時，我願提及我們實驗室中最近進行的兩項研究工作，這兩項工作最終將被證明與麻疹發病機制的進一步分析，以及至今尚未充分明了的及傳染僅限於早期的進一步了解有一定關係。在第一項研究工作中 Berg 及 Rosenthal 二氏顯示病毒在白細胞懸液中繁殖迅速，獲得的感染滴度可與組織細胞培養中者相比擬。單核細胞肯定是參予的，雖然病毒在多核白細胞內繁殖的可能性也不能除外。在這些資料的基礎上，可以設想病毒自入口途徑通過白細胞內的繁殖

和运输而向全身播散,还可能进一步设想,感染后的白细胞减少与病毒对白细胞或其前身的损害作用有关。

在第二项研究工作中, DeMaeyer 及 Anders 二氏发现在感染麻疹病毒的细胞培养中产生了显著浓度的干扰素。这一观察的有关问题尚未深入研究,然而,原代细胞培养中的感染进展得比较缓慢,似乎可能部分是由于这个因素,再者也可能系由于麻疹感染引起的特征性细胞形态学的变态,在活的动物体内感染区内干扰素的迅速动员可能限制了病毒的繁殖。与此有关令人感到兴趣的是 DeMaeyer 氏已获得启示性的证据,在感染弱毒的适应于鸡胚的 Edmonston 麻疹毒株——现正作为疫苗试用——的组织培养中干扰素的产生要较感染毒力强的毒株的相应组织培养为多。假如此项观察能被证实且扩展到活的动物,我们便可以更清楚地了解,至少在目前仍是神秘的弱毒现象中的一个因素。

(张 箴译 贺适民、钱本余校)

2. 麻疹疫苗病毒株生物学特性的研究

作者 С. А. Демидова

译自苏联“Вопросы Вирусологии”(4): 419~422, 1961

麻疹病毒在各种细胞中培养的可能性,被 Enders 氏确立以来,开辟了研究麻疹新的远景,对创立新疫苗毒株也有了展望。

近二年来,在苏联曾应用过下列 3 种类型的麻疹疫苗:(1)繁殖在猴肾组织培养中的福马林灭活疫苗(Admonston 株);(2)鸡胚成纤维细胞培养的列宁格勒(Ленинград)株的活疫苗;(3)猴肾组织培养的活疫苗(苏联 СССР_{ss} 株、英国 England_{ss} 株)。

本工作即研究这些疫苗毒株病毒,在各种组织细胞中的致病作用,及其在 4°C 和干燥情况下的病毒的稳定性。

材料与方 法

采用 4 株病毒作试验:(1) Edmonston 株,为 1954 年 Enders 氏所分离,曾在他的实验室内,于人肾细胞中传递 24 代,自 1957 年在苏联适应于猴肾组织细胞,我们采用了第 21 代材料进行研究;(2) Ленинград 株病毒为 1958 年于列宁格勒的一病孩中分离,适应传代于人肾、人羊膜及鸡胚成纤维细胞;(3) СССР_{ss} ТАЧ₄ 株系 1958 年于莫斯科所分离,分离后在人羊膜培养中传递 4 代;(4) England_{ss} ТАЧ₄ 株,系 1958 年于英国自病人咽洗液中分离,曾通过人羊膜细胞培养传递 4 代。

应用的细胞为 Нер-2、人羊膜、СОЦ 细胞、СК 细胞(系由病毒制品研究所 Орлова 氏自人胚肺细胞分离),羊肾传代细胞 ЦКБ-га 系,系 Тарасевич 国家生物制品检定所 Гаварилов 所分离。

单层细胞培养所用的营养液为 199 或 0.5% 水解乳白蛋白,加 5~10% 灭能小牛血清,24~48 小时内细胞即生长,然后接种病毒,感染病毒后观察结果 14 天,每隔 4~5 天换液一次,培养于 37°C。

测定麻疹病毒的感染度,采用不同稀释度病毒在 Нер-2 细胞中滴定,在组织培养中种入按 log 0.5 系数稀释的病毒液体 1 毫升,病毒的滴度,按照 Reed-Muench 氏方法计算。

中和试验,采用标准马匹免疫血清(得自列宁格勒巴斯德研究所),自 1:4~1:512、按 4 倍稀释,病毒采用新鲜培养物内含 50~100 个 TCID₅₀ 与血清等量相混,接种生长良好的细胞管 4 管,接种量为 1 毫升,观察细胞致病作用,为期 10 天。

用做干燥的原始材料,系经培养 5~7 天或 9 天的感染病毒的羊肾细胞培养物,培养液中含有 0.5% 水解乳白蛋白及 10% 小牛血清。在获得病毒液之前,先振荡几次,使大量细胞脱落,然后连同细胞及培

养物經无菌試驗后分裝入安瓿瓶,每瓶1毫升。眞空干燥时,先在 -65°C , -70°C 冰冻30分钟,然后在眞空度 $30\sim 60\mu$ 的情况下抽气,温度不超过 20°C ,連續抽气干燥4小时20分(I);及23小时(II),含水量不超过0.2%,滴定原始材料及干燥后之病毒滴度。

研究結果

經 Ленинград₄株病毒感染的 Hep-2 及人胚羊膜传代株細胞,3~4天后規律性出現細胞病变,部分的組織明亮区域及巨細胞的出現,核形模糊的融合細胞及空泡的堆積。在融合細胞出現的同时,于細胞漿及核內出現包涵体,此外可见到細胞的变长,状如纖維母細胞。

應該指出,开始經過15~20代传代时出現明显而典型的細胞病变及巨細胞,以后的代数中明亮区域内的巨細胞显著变小,尽管在接种后3~4天出現細胞病变或1周之內致病作用逐漸显著,但核內包涵体的出現,仍需要7~12天后細胞明显破坏时产生。

СССР₅₅株及 England₅₅株对这些細胞的致病作用不規律,約需至9~10天出現。

Edmonston 株介于这些毒株之間,对上述細胞的致病作用約在5~6天出現。

所有研究用的麻疹毒株,接种于 СОЦ 及 СК 細胞时,第1代培养均不出现病变,必需經10~12代适应期之后方产生病变。

最敏感的細胞为 ПКБ-ла 細胞(传代羊腎細胞——譯者注),第1代培养即出現細胞病变。必須指出,該株細胞代謝較慢,培养液 pH 的改变迟緩,其性质很适宜于作为中和試驗之用。

各株麻疹病毒在 Hep-2 細胞培养內感染滴度(log TCID₅₀)的繁殖曲綫见图。自48小时开始滴定病毒,以后每隔24小时滴定一次,曲綫的每一点为4次試驗的平均数。如图1所示,病毒滴度一般只在2~4之間,最高的滴度为 Ленинград₄(4.0),最低的为 СССР₅₅(1.5~2.0),Edmonston 的最高滴度为3.0。液体內病毒的多少,与細胞病变的出現不完全相平行。如病毒在48小时內潜伏期时病变不明显;而于細胞病变最明显时(Ленинград₄为5~10天),病毒滴度达4.0,但未见到更高的滴度。推测細胞释放病毒后,部分病毒受温度的影响而灭活。

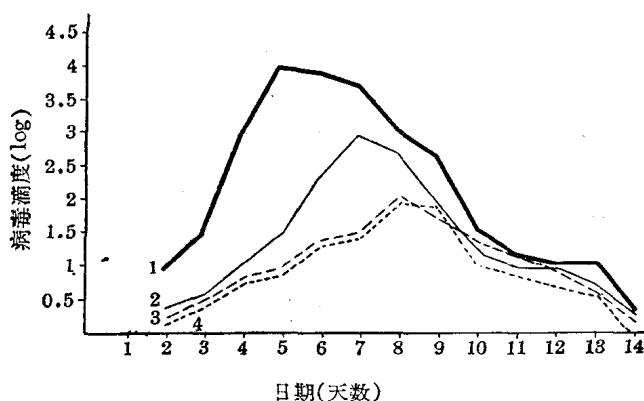


图1 各株病毒在 Hep-2 細胞中繁殖曲綫

1—Ленинград₄ 株; 2—Edmonston 株; 3—СССР₅₅ 株;
4—England 株。

此外又研究了病毒在 4°C 及冻干保存的可能性。各毒株保存在 4°C 的情况下經過5~120天,測定病毒的活力,結果如表1。

从表1所见,Edmonston、СССР₅₅ ТАЧ₄及 England₅₅ ТАЧ₄株在 4°C 条件下經10~15天后,在 Hep-2 細胞中已不能測出病毒;而 Ленинград₄保存2个月后滴度減为 log 2.0,4个月后滴度仍保持相当水平,1:10 稀释仍能见到細胞病变。

冻干試驗中,不論冻干時間的长短,如表2所示,病毒的活力沒有差別。在冻干后滴度下降 log

表1 含病毒液体材料保存4°C时病毒滴度的变化

毒 株	保存温度 (°C)	每 毫 升 病 毒 滴 度 (log)							
		原始滴度	保 存 天 数						
			5	10	15	30	60	90	120
Edmonston	4	2.0	2.0	1.0	—	未 测 定			
CCCP ₅₈	4	1.5	1.0	—	—	未 测 定			
England ₅₈	4	2.0	—	—	—	未 测 定			
Ленинград ₄	4	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	2.0	1.5	1.0

表2 含血清的病毒材料經冻干后,在4°C下保存不同时期后病毒滴度的变化(log TCID₅₀)

冻 干 前	冻 干 后				
	2 天	1 月	2 月	4 月	5 月
3.5	2.8	2.0	2.0	1.5	1.5
4.5	4.0	4.0	3.5	3.0	2.5

0.5~0.7,經4个月后減低至 log 1.5~2.0, 5个月后为 log 2.0。

研究証明,仅 Ленинград₄ 能于4°C及冻干状态下,长期保存。

作为研究麻疹毒株,引起細胞的典型病变,是具有显著特征的,但細胞受損的程度,包括核内包涵体的产生,及巨細胞出現的多少,又取决于病毒株与細胞系統的不同而异。所有用来研究的各种細胞,其形成病毒的数量均較少,有一些細胞,初次传代时并不产生病变,例如 СОЦ、СК 細胞,而經過若干次传代后,方产生明显病变,此点与文献报告相符。

在 Нер-2 細胞中,各株麻疹病毒的感染滴度,动搖在 log 2.0~4.0 之間,滴度最稳定的为 Ленинград₄,且此株病毒在4°C下保存的时间也較长,其他3株病毒(Edmonston、CCCP₅₈ ТАЧ₄及 England₅₈ ТАЧ₄) 15天后均丧失传染性,而必須以冻干的方法来保存。

以往有些工作証明冰冻真空可以长期保存麻疹病毒,我們的資料支持了早期的研究結果。

根据实验材料,得到以下的印象: Ленинград₄ 株病毒对各株細胞的适应性較强,且較另外几株病毒易成固定毒。

結 論

(1) 4株疫苗株麻疹病毒,在 Нер-2 細胞、人胚羊膜、СК、СОЦ 及 ПКБ-ла 細胞中繁殖后,呈现不同程度的細胞的致病作用。

(2) Ленинград₄ 株于3~4天即規律地出現明显的細胞致病作用,而 CCCP₅₈ 及 England₅₈ 两株的細胞致病作用較弱且不規則(一般于8~10天出現)。

(3) 仅 Ленинград₄ 株病毒能在4°C下保存較长的时间,冻干的过程中,下跌滴度 log 0.5~0.7,冻干后保存在4°C的情况下,經過5个月而不改变其传染性。

(张 詠譯 沈鼎鴻校 张 簪、徐泉更审)

3. 出现在感染麻疹病毒的細胞培养中的一种干扰素

作者 E. De Maeyer, J. F. Enders

譯自美国 "Proc. Soc. Exp. Biol. Med." 107(3): 573~578, 1961

近来发现几种病毒-細胞系統会产生能抑制有关或无关的病毒繁殖的物质,这些抑制素的作用方式明显地与病毒成分的干扰有所区别。Isaacs 氏的干扰素 (interferon), Cooper 氏及 Belletts 氏的可传递的干扰成分以及 Ho 和 Enders 二氏的病毒性抑制液好象都是类似的。Ho 及 Enders 二氏曾观察到,感染麻疹病毒后的培养液,能阻止脊髓灰质炎病毒的生长并抑制其細胞病变的效力。我們已經能够确认这些发现,并証明这是由于存在着一种类似于干扰素的作用物,以后就叫做麻疹干扰素。采用这个名称并不意味着它是与 Isaacs 及 Lindemann 二氏叙述的流感干扰素相同的物质,依据我們的意見,这只是代表一类具有同样性质的物质中的一种。以下将陈述支持这个意見的証据。

材料和方法

細胞培养 用胰蛋白酶处理人羊膜以制备人羊膜細胞的原代培养。培养液含有等量的牛羊水及 Hanks 盐液,并用 5% 馬血清来丰富营养。以下称作正规的 BAF 培养基。用 9~10 日龄的鸡胚制备鸡胚細胞培养,生长培养基由正规的 BAF 培养基及 2% 鸡胚浸出液組成。

还用了张医师供給的 1 株 HeLa 細胞和 Thompson 医师供給的 1 株人羊膜传代株——WS 細胞,这些細胞系用前述的改良 Eagle 基础培养基及 10% 牛血清,加入病毒时血清浓度則减为 5%。

病毒 采用适应于羊膜及鸡胚細胞的 Edmonston 麻疹毒株,前者主要观察了第 33 及第 44 代人羊膜传代株以下簡称 HA 病毒,鸡胚适应株主要采用第 14 及第 15 代鸡胚传代株,以下簡称 CE 病毒。

Sindbis 病毒株 AR-339 系由 R. M. Taylor 氏供給。还用了脊髓灰质炎 I 型 (Brunhilde) 及 II 型 (MEF) 病毒,脊髓灰质炎及 Sindbis 病毒毒种均繁殖在人羊膜細胞培养內。**病毒的滴定**: 将病毒悬液作成連續 10 倍的稀释液,每稀释度接种 3 管,每管接种 0.1 毫升,感染滴度以 TCID₅₀/0.1 毫升的对数 10 单位表示。

空斑检定系在 HeLa 或 WS 細胞中进行。**抗血清**: 麻疹抗血清是用 Edmonston 毒株由脑內接种爪哇猴而获得,这血清的补体結合滴度是 1/2048。**补体結合試驗**: 依照 Sredmyr 氏及其同工們改良过的 Fulton 及 Dnmbell 二氏微量法 (drop method)。超离心沉淀是在 Spinco h-型离心沉淀器內进行。在所有的試驗实例中都是用 40 号头。**干扰素的检定**: 干扰素活力的常规检定采用脊髓灰质炎 II 型病毒或 Sindbis 病毒作为試驗病毒。在人羊膜細胞培养中进行,人羊膜細胞培养置于旋轉器由在 36.5°C 下进行孵育,所用的培养都在 14 天以上,在除去培养液之后,每管加入 0.5 毫升新鮮的常规 BAF 培养基。然后加入 0.5 毫升經适当稀释的干扰素测定标本,每稀释度用 2 支培养管,随后立即加入攻击病毒,攻击剂量含有 200 TCID₅₀。脊髓灰质炎病毒或 500 TCID₅₀。脊髓灰质炎病毒或 500 TCID₅₀。Sindbis 病毒,这种浓度的病毒可使对照管的細胞在接种后 3~4 日完全破坏,干扰素滴定系以最高稀释管中至少有一管明显地减少了細胞病变来表示之,通常在較低稀释度中能完全抑制細胞病变,而在終点稀释中則有部分細胞病变出现。

試驗及結果

干扰素的产生 接种适应人羊膜或鸡胚細胞的麻疹病毒后,比較其在培养內的細胞病变及病毒产量,我們发现虽然两种病毒的初时細胞病变大約在同时出现,但其后細胞病变的扩展与病毒产量都有显著的不同,这种观察(将在另一論文中詳細报告),促使我們研究培养液中是否具有出现一种能抑制感染散布及病毒繁殖的物质的可能性。下面是几种比較試驗的一个例子,8 管人羊膜細胞培养均接种 100 TCID₅₀ 的 CE 麻疹病毒。在几个間隔期間收取液体,混合后进行离心沉淀,30,000 rpm 2 小时,以除去感染病毒,并检定其在人羊膜細胞內对 Sindbis 病毒的抑制作用,結果如表 1。同样的抑制作用继而也表现在感染麻疹病毒的 HeLa 或 WS 細胞培养中,这种作用的最初表现經常出现在感染病毒释出的时候,抑制素的量随細胞損害的发展而增加,几个試驗的結果摘要記載于表 2,显示接种 CE 麻疹病毒的人羊膜或 HeLa 細胞培养中的干扰素滴度,滴度系用人羊膜細胞培养測定。

表 1 干扰素在感染 CE 病毒的細胞培养液內的产生

标 本 数	接 种 后 日 数	收 集 时 的 細胞 病 变	干 扰 素 滴 定
1	6	0/±	0
2	11	++	1/16
3	15	+++ / +++	1/32
4	18	++++	1/32

表 2 感染 CE 病毒的細胞培养液的干扰素滴度

試 驗	培养的細胞	收液时的細胞 病 变	收液时的麻疹病毒滴 度 TCID ₅₀ /0.1 毫升	干扰素滴度	攻 击 病 毒
117 E	HeLa	+++	2.5	1/4	MEF ₁
157 E	HeLa	++++	3.5	1/16	MEF ₁
172 E	HeLa	0	0	0	MEF ₁
173 E		+	2.5		
		+++	3.25	1/8	
		++++ / ++++	3.25	1/16	
357 E	HeLa	+	未做	0	MEF ₁
		++	未做	未稀释	
		+++	未做	1/2	
		++++	未做	1/2	
618 E	HeLa	±	未做	1/2	Sindbis
		+	未做	1/4	
		++++	未做	1/8	
674 E	HeLa	+	未做	1/2	Sindbis
		++++	未做	1/32	
766 E	HA	± / +	2.5	1/2	Sindbis
		++	4	1/8	
		+++	4.5	1/16	
		++++	3.5	1/16 1/32	

下列試驗显示細胞病变的抑制也反映病毒产生的减少,把 HeLa 細胞制备的干扰素液体均分加入 4 管羊膜細胞培养中,另外 4 管加入未感染病毒的 HeLa 細胞液以作为对照,然后所有的培养管均接种

500 TCID₅₀ 的 Sindbis 病毒, 观察其細胞病变作用, Sindbis 病毒的产量則用人羊膜細胞培养中的滴度来判定, 結果如表 3, 对照培养管在 3 天后便完全被破坏, 病毒产量高至 10^{5.5} TCID₅₀/0.1 毫升, 有干扰素的培养管即使过了 20 天, 亦不现出任何細胞病变现象, 有些病毒在这些管内仍有繁殖, 然而比对照管还是相当 (1,000X) 减少。在这阶段中培养液换过 2 次, 将与試驗开始时相同的剂量的干扰素加至新的培养液中。作用的方式: 下列两个試驗証实干扰素并不使病毒灭活, 未稀释的由 HeLa 細胞制备的干扰素与未稀释的 Sindbis 病毒毒种混合孵育 37°C 90 分钟, 然后在人羊膜細胞中滴定具有感染性的病毒量, 終点計算的結果与对照組沒有差别, 表明并未出现病毒的直接中和作用, 在第二个試驗中, 将病毒干扰素混合液放在 37°C 1 小时, 后来又保存在 ± 4 °C 过一晚, 在鸡胚細胞培养中进行感染度的滴定, 同样沒有发现病毒的直接中和作用的証据, 这便指出了 HeLa 細胞产生的干扰素不能保护鸡胚細胞抵抗 Sindbis 病毒的感染。

表 3 麻疹干扰素对 Sindbis 病毒在人羊膜細胞培养*中繁殖的影响

接种后小时	在培养液中的病毒量		細胞病变	
	对 照	干 扰 素	对 照	干 扰 素
0	2.5	2.5	0	无細胞病变现象
6	0.75	1.25	0	
12	3.5	2.75	0	
24	4.25	2.25	0	
36	5.25	3.25	+/++	
48	5.5	2.5	++/+++	
60	5.25	2.75	+++	
72	3.75	2.5	++++	
96		1.5		
120		1.5		
168		2		
216		0		
360		0		

* 有或无干扰素的培养中接种同量的 Sindbis 病毒, 在指明的間隔時間后记录細胞病变程度及确定培养液內的感染滴度。滴度的表示为 log₁₀ TCID₅₀/0.1 毫升。

此后又研究了增加試驗病毒量对干扰素提供的保护程度的影响, 4 个不同浓度的羊膜細胞产生的干扰素分別对 5 个 10 倍递增剂量的 I 型脊髓灰质炎病毒进行了試驗, 对于抑制細胞病变所需要的干扰素浓度, 随攻击病毒的浓度而有所不同。

从感染顆粒及补体結合抗原中分离干扰素 在有病毒繁殖的系統內就可以获得这种抑制物质, 因

表 4 不同浓度干扰素和攻击病毒的结果

加入的病毒量 (ID ₅₀ /0.1 毫升)	培 养 內 的 干 扰 素 浓 度				对照培养
	1/4	1/8	1/16	1/32	
10 ⁶	2	4	4	4	4
10 ⁵	±	4	4	4	4
10 ⁴	±	±	4	4	4
10 ³	0	0	±	1	4
10 ²	0	0	0	0	4

注: 培养前加入所指明的干扰素量孵育 2 小时, 然后加入 10 倍递增的攻击病毒(脊髓灰质炎 I 型病毒) 每天观察細胞病变, 上表记录接种后 3 天的观察結果(4=100%細胞病变, 3=75%細胞病变, 余类推)。

此必需研究抑制素与病毒的感染及补体结合性质的关系。

超速离心沉淀 30,000 轉/分 2 小时足以沉淀感染颗粒及补体结合抗原,但并不显著降低上清液的抑制作用,这些结果是和 Benyesh 及其同工們用其他方法所测定的麻疹病毒及补体结合颗粒的大小相符合的。

用 millipore 滤膜过滤,显示感染补体结合及干扰素的颗粒在滤过性上有所不同,3 个 5 毫升 HeLa 细胞培养的 CE 麻疹病毒的液体分别通过平均 100、50 及 10 $m\mu$ 大小孔径的滤膜,液体的 pH 在 7.1 及 7.2 之間。然后检定这 3 个滤液的传染,补体结合及抑制作用。在通过 100 $m\mu$ 膜孔以后所有的感染性都已除去(表 5),补体结合抗原的量随孔径的大小而降低,但是即使通过 10 $m\mu$ 膜孔的滤液仍留下某些作用,相反地干扰素的浓度即使通过最小的孔径也仍照原保留没有减少。

表 5 孔径大小对于感染,补体结合作用,及干扰素滴度* 的影响

感 染 力 空斑滴度/0.5 毫升	补 体 结 合 作 用		干 扰 素 滴 度
	未 稀 释	稀 释 1/2	
过滤前 3140	+	+	1/8
过滤后 100 $m\mu$ 孔径 0	+	±	1/8
50 $m\mu$ 孔径 0	+	0	1/8
10 $m\mu$ 孔径 0	±	0	1/8

* 这个试验的液体是从以前接种过 CE 麻疹病毒的 HeLa 细胞培养瓶中得来的,在最高度细胞病变时收液,低速沉淀后加入等量磷酸盐缓冲液,用如已指明孔径大小的 millipore 滤膜进行过滤。

为了进一步了解干扰素和病毒本身间的关系,我們测定了麻疹抗血清的影响,混合等量的干扰素及 1/10 稀释的抗血清。在一个试验中,此混合液在 37°C 孵育 2 小时,然后试验其对 Sindbis 病毒的作用。在第二个试验中,混合液先在 37°C 孵育,在测定前保存在 4°C 过一晚,发现抗血清对抑制作用没有影响,麻疹干扰素的某些化学性质: 鉴于其他学者用同样物质所得的结果,我們用胰蛋白酶处理干扰素以探讨其是否可能是 1 种蛋白质,干扰素液体中加入同等容量的 0.25% 结晶胰蛋白酶,在 pH 7.4 及 37°C 接触 30 分钟后便完全破坏了抑制作用,如用胰蛋白酶原处理,则标本的活力没有改变。

用核糖核酸酶或者去氧核糖核酸酶在 100 r/1 毫升的浓度内孵育 30 分钟不产生影响。室温接触乙醚(按 20% 容量) 1 小时,并不破坏干扰素。干扰素被证明能完全或部分地抵抗氟碳化合物 (fluoro-carbon) 或氯仿辛醇(chloroform-ctanol)的处理。等量地混合 Genetron(trifluorotrichloroethane) 及干扰素,在室温中用力振荡 5 分钟,然后离心 1,000 轉/分 5 分钟,检查其液体部分,发现活力损失很少,然而经过一次氯仿辛醇提取后,大约仅有 50% 的活力遗留在液体中。加热 56°C 2 小时对干扰素滴度没有影响,而麻疹病毒的感染性在这个条件下则迅速破坏。麻疹干扰素对几种物理及化学处理的抵抗力摘要如表 6。同样条件下病毒的感染性和补体结合成分的表现也列入表 6。

表 6 麻疹干扰素的某些物理和化学性质并以感染及补体结合颗粒作比较

	干 扰 素	感 染 滴 度	补 体 结 合 抗 原
用胰蛋白酶减能	+	+	0
用核糖核酸酶或去氧核糖核酸酶减能	0	0	0
乙醚减能	0	+	0
Genetron 减能	0	+	0
56°C 二小时减能	0	+	0
100,000 g 2 小时离心沉淀后	0	+	+
100 $m\mu$ 孔径过滤 (Millipore 滤板)	0	+	0

* 在 1 次提取后仅遗留下原有的 10% 活力。+ 未完全减能(原表中无此符号,可能遗漏——譯者注)。

討 論

这些資料提供了出现在感染麻疹病毒的組織培养中的一种病毒活力抑制素的本质和特性的报道。抑制素的产生和释放明显地与感染病毒的产生和释放同时发生,抑制的程度随攻击病毒的量而有所不同,抑制素能与感染单位鉴别。試驗資料証明它比补体結合抗原小,由于不受特异麻疹抗体影响,所以也不同于这两种病毒成分,它的作用方式大部分仍不知道,因为我們发现它并不与試驗病毒直接地結合,所以它可能类如其他干扰素系作用于細胞方面。

本文并没有研究抑制素在产生它的系統中对感染扩散的影响,然而抑制素的某些化学性质已被确定,它能被胰蛋白酶消化表明它是一种蛋白质,或者是最低限度作用的一部分是由于蛋白质。用乙醚或 Genetron 处理不降低其活力,在一次氯仿辛醇提取后有一些損失,56°C 加热 2 小时沒有影响,这种性质对試驗其在某些物质如血液或粗制組織浸液中的存在与否可能有价值。

这个物质的物理和化学性质及获得的方法与流感的干扰素 VIF (病毒抑制液) 和可传递的干扰成分有某些相似处和不同点。例如所有这些因子均可被胰蛋白酶减能而不为特异血清所中和,如麻疹的干扰素一样,流感及水疱性口炎病毒所产生的干扰素,在产生抑制物质的量和細胞的感染程度之間有直接关系,然而,Ho 及 Enders 发现适应于鸡胚的脊髓灰质炎 II 型病毒,在最高量病毒产生阶段前就能得到 VIF 的最高产量。另一方面,在某些例子中流感干扰素仅产生在病毒高峰后,另一不同点是流感干扰素較麻疹干扰素易被乙醚处理所破坏,有趣的是麻疹和流感病毒的传染成分对乙醚都是敏感的。

尽管麻疹的干扰素、流感的干扰素、TIC (可传递的病毒成分) 及 VIF 等虽有所不同,但有理由认为它們是有关的,虽然不是完全一致的物质,不管它們的最后关系怎样,显然这些因素代表試管中細胞抵抗病毒感染的机制的一部分,可能在体内也如此,它們在病毒感染的局限化中具有一定的作用。

摘 要

在接种活麻疹病毒的細胞培养內出现一种病毒活力抑制素,这种抑制素可与同一培养內的感染顆粒及补体結合抗原分离,它不被麻疹抗血清所中和,它和病毒混合后不能使其灭活,但能减少細胞病变及病毒的产量。

(张 簪譯 賀适民、錢本余校)

4. 不同組織培养对麻疹病毒敏感性的比較研究

作者 Л. С. Лозовская, С. В. Лохова

譯自苏联 "Вопросы Вирусологии" (5): 576~581, 1962

目下組織培养已十分广泛地应用于病毒的增殖和病毒与細胞相互作用的研究,因之組織培养对于病毒株的敏感性問題,在生物学特性的研究方面取得了一定的意义。

在我們所能查閱的文献中,未找到关于被用来分离与研究麻疹病毒的各种組織培养对本病毒的敏感性的比較資料。只有 Ruckle 等氏 1957 年提到用人羊膜与人腎組織从病人分离麻疹病毒的成功率接近一致,而以相同的病人材料感染兔腎組織培养时,則从未发现任何特殊变化。随后又有 Schwarz 等氏在 1960 年报告,曾用人心传代細胞培养自受减毒麻疹活疫苗接种的儿童与猿猴的鼻咽液、血液分离麻疹病毒。但是以同一病毒材料接种原代人羊膜組織,未能分离成功。

我們所拥有的几个毒株有些是从麻疹病人分离的麻疹病毒,也有从自发地感染的猴腎上皮中得到的类麻疹病毒。本文将談到各种敏感組織培养对以上几个毒株易感程度的比較。