

脊 髓 灰 质 炎

主 编

顾 方 舟

编 者

顾方舟 左启华 李光弼

闻仲权 董德祥 李以莞 卜定方

上海科学出版社

责任编辑 丁 震

脊髓灰质炎

主编 顾方舟

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路450号)

新华书店上海发行所发行 上海东方印刷厂印刷

开本 787×1092 1/32 印张 16.625 字数 367,000

1984年10月第1版 1984年10月第1次印刷

印数 1—7,800

统一书号: 14119·1676 定价: 2.55元

前 言

自 1840 年德国医生 Heine 报告第一例脊髓灰质炎以来已经过去一百四十年了。在这一个多世纪中，许多杰出的科学家为防治此病作出了重要的贡献。Medin 于 1890 年描述了此病第一次流行。1909 年 Landsteiner 及 Popper 用脊髓灰质炎死者脑组织感染猴子成功。1938 年 Trask 等确定了消化道在此病感染中的重要性。1939 年 Armstrong 首次将此病毒适应于啮齿动物。1949 年 Enders 等用人胚胎的皮肤肌肉的成纤维细胞培养脊髓灰质炎病毒获得成功。Bodian 及 Horstmann 于 1952 年证实病毒血症在此病发病机理中的重要意义。1954 年 Dulbecco 及 Vogt 发明了空斑技术。由于这一系列的重大发现和发明，导致 1954 年 Salk 等人发明了灭活疫苗，1961 年 Sabin、Koprowski 及 Cox 发明了减毒活疫苗。这两种疫苗的广泛使用，已使一些国家扑灭了脊髓灰质炎的流行。可以毫不夸大地说，脊髓灰质炎预防问题的解决是医学史上最伟大的成就之一。世界卫生组织已将此病列为二十世纪末要消灭的六个病种之一。

我国对此病的系统研究开始于五十年代末。1960 年借鉴外国的经验制造成功脊髓灰质炎活疫苗成功。从 1965 年，全国范围开展了活疫苗的计划免疫，此病发病率显著下降。但是，由于各地，特别是农村地区防疫工作开展得不平衡，仍有局部暴发流行。所以，要在二十世纪末在我国消灭脊髓灰质炎仍是一项艰巨的任务。

有鉴于此，我们写了这本书。书中对有关问题介绍了一些历史性的资料，以便读者从中了解上述一些关键问题得到解决的科学进程。这可能对研究其他病毒性疾病有些帮助。另外，对此病的临床诊断、鉴别诊断、病理诊断、实验诊断以及疫苗预防、治疗等作了比较详细的介绍，以便从事脊髓灰质炎防治工作的同志能够根据自己的条件进行工作。

限于我们的水平，不可避免会有许多错误。望读者批评指正。

编 者

目 录

前 言

第一章 病原学	顾方舟 闻仲权	1
第一节 病毒的大小与形态		2
第二节 病毒的微细结构		5
第三节 病毒的提纯与结晶		8
第四节 病毒的其他物理性质		16
第五节 病毒的化学组成		17
第六节 病毒对各种理化因素的抵抗力		20
第七节 病毒的型别和型内差异性		32
第八节 病毒的繁殖		43
一、吸附、脱衣、穿入		44
二、病毒的复制		49
三、病毒的装配		55
四、病毒缺损干扰颗粒		56
五、病毒的释放		58
第九节 病毒的生物学性质		60
一、对动物的致病性		60
二、对各种细胞的致病变能力		63
三、病毒的各种特征		72
第十节 柯萨奇(Coxsackie)、埃柯(ECHO)及肠道病毒		78
一、柯萨奇病毒		80
二、ECHO 病毒		84
三、肠道病毒		89
第二章 流行病学	顾方舟 董德祥	106

第一节 脊髓灰质炎的世界分布	106
一、欧洲	109
二、美洲	122
三、亚洲	130
四、非洲	133
五、大洋洲	136
第二节 脊髓灰质炎流行的几个因素	139
一、传播机理	141
二、影响脊髓灰质炎病毒传播的几个因素	147
三、脊髓灰质炎流行的季节性	153
四、脊髓灰质炎患者年龄及性别分布	154
五、脊髓灰质炎流行与病毒型别的关系	156
六、脊髓灰质炎疫情报告的准确性	158
第三章 发病机理	顾方舟 李以莞 167
第一节 引言	167
第二节 病毒的原发繁殖部位	172
第三节 病毒血症	175
第四节 病毒进入中枢神经系统的途径	176
第五节 影响脊髓灰质炎发病的一些因素	182
第四章 病理解剖学	李光弼 187
第一节 概述	187
第二节 脊髓灰质炎的病理形态学变化	189
第三节 脊髓灰质炎的各种病理变化在中枢神经系统中的 分布	230
一、脊髓	231
二、延髓	232
三、桥脑	233
四、中脑	234
五、视丘下部	235

六、大脑半球	235
七、小脑	236
八、其他部位	236
第五章 临床症状	左启华 卜定方 240
第一节 脊髓灰质炎各期的症状	241
一、潜伏期	241
二、前驱期	241
三、麻痹前期	243
四、麻痹期	247
五、恢复期	252
六、后遗症期	254
第二节 脊髓灰质炎的临床类型	255
第三节 脊髓灰质炎呼吸障碍	270
一、分型	270
二、临床症状	271
三、呼吸障碍的发展过程	273
四、诊断	274
五、预后	275
第四节 特殊年龄期的脊髓灰质炎	276
一、婴儿期脊髓灰质炎的特点	276
二、新生儿脊髓灰质炎	278
三、先天性脊髓灰质炎	278
四、妊娠期脊髓灰质炎	280
第六章 柯萨奇及 ECHO 病毒感染的	
临床表现	左启华 卜定方 284
第一节 发病机理	284
第二节 临床表现的特点	285
第三节 无菌性脑膜炎	288
第四节 肌肉麻痹	294

第五节	流行性胸痛症	296
第六节	心肌炎和心包炎	297
第七节	新生儿严重全身性感染	299
第八节	皮疹及粘膜疹	300
第九节	婴儿流行性腹泻	302
第十节	上呼吸道感染	303
第十一节	急性出血性结膜炎	303

第七章 临床诊断、鉴别诊断与

治疗	左启华 卜定方	307
第一节 临床诊断		308
一、脑脊液检查		308
二、肌电图检查		309
三、肌力的检查		311
第二节 鉴别诊断		323
第三节 脊髓灰质炎的治疗		328
一、隔离		328
二、休息		329
三、药物治疗		329
四、发病早期麻痹肢体的护理		331
五、按摩和体操		332
六、物理疗法		337
七、针灸疗法		339
八、呼吸麻痹的治疗		341

第八章 脊髓灰质炎灭活疫苗及减毒活

疫苗	顾方舟 董德祥	349
第一节 引言		350
第二节 Salk 灭活疫苗		352
第三节 减毒活疫苗		359
一、减毒活疫苗研究史		359

二、减毒活疫苗的安全性	377
三、减毒活疫苗的免疫原性	393
四、减毒活疫苗的流行病学效果	409
第四节 合理使用灭活疫苗及减毒活疫苗	413
第九章 实验诊断 顾方舟 闻仲权 李以莞	432
第一节 细胞培养	433
一、猴肾的消化及培养方法	433
二、人胚肾消化及培养	443
三、人羊膜消化及培养	445
四、HeLa 细胞培养法	449
五、人全胚消化及培养	451
六、Hep-2 细胞的培养	453
七、Vero 细胞培养法	455
八、人胎肺二倍体细胞的培养	455
九、细胞的冻存和复苏	457
十、附录	458
第二节 病毒的分离与鉴定	469
一、标本的来源	469
二、标本的采集及保存	469
三、标本的运送	470
四、标本的处理	470
五、病毒分离	472
六、病毒的鉴定	473
七、附录	476
第三节 血清学诊断	478
一、中和试验	478
二、补体结合试验	489
三、絮状反应	501
四、附录	508

第一章 病 原 学

第一章 内 容 提 示

脊髓灰质炎病毒发现于 1909 年。电子显微镜下所见病毒呈球形。内有一致密核心，外有一层蛋白质衣壳，由 60 个结构相同的蛋白质亚单位组成。呈一对称的 20 面体。每个亚单位由病毒蛋白——VP₁、VP₂、VP₃ 和 VP₄ 四种多肽组成。衣壳内包一单股核糖核酸，形成完整的病毒毒粒。其直径为 24~30 毫微米。脊髓灰质炎病毒是一种核酸蛋白质。核酸含量为 22~30%。病毒核酸有感染力。病毒经高度提纯后可以析出结晶。脊髓灰质炎病毒对各种理化因素有较强的抵抗力。但不耐干燥。在 pH3~10 范围内病毒活性相当稳定。有三个血清型，即 I 型、II 型和 III 型。它们的大小、沉降系数、密度、分子量、化合水等理化性质无明显区别。脊髓灰质炎病毒的动物敏感范围较窄。除猩猩、猴子等灵长类外，还有棉鼠和小白鼠，但这二种动物只对某些 II 型病毒敏感。病毒可在体外用人及猴等灵长类的各种细胞加以培养。非灵长类动物的细胞都不敏感。可用许多体外试验初步鉴别脊髓灰质炎病毒的嗜神经毒力的强弱。除脊髓灰质炎病毒可以引起人发生脊髓灰质炎外，还有柯萨奇病毒、ECHO 病毒和其他肠道病毒也可引起脊髓灰质炎。

脊髓灰质炎是古老的疾病。它是由病毒引起的。脊髓灰质炎病毒对人类曾是危害很大的致病病毒。最严重的病例可致死。患病后留有可怕和悲惨的麻痹后遗症，造成肢体畸形。现今，使用良好的灭活或活疫苗，进行了广泛的人群免疫，此

病得到控制。许多国家已无病例。

脊髓灰质炎病毒是核糖核酸病毒。在病毒分类上,属于小核糖核酸病毒科(Picornaviridae),肠道病毒属(Genus Enterovirus)。脊髓灰质炎病毒有三个血清型,即 I、II 和 III 型病毒。本章叙述脊髓灰质炎病毒的病原学。

第一节 病毒的大小与形态

Theiler 及 Bauer (1934)、Elford 等 (1935) 用超过滤法测出脊髓灰质炎病毒的大小是 8~12 毫微米。但 Gard (1955) 指出,由于 Elford 氏公式的某些错误,这个数字并不是脊髓灰质炎病毒真正大小。超过滤方法本身还有一些技术困难,某些因素常常影响测定结果。因此,自 1934 到 1951 年间,用动物神经组织中的脊髓灰质炎病毒作材料,各人用超过滤法所得的结果,相差甚大。

Sabin 等 (1954) 及 Melnick (1955) 用超过滤法测定组织培养液中脊髓灰质炎病毒为 30 毫微米。Benyesh 等 (1958) 用超过滤法测出 Mahoney、LSc (I 型)、MEF-1 (II 型) 及 Saukett (III 型) 毒株的直径为 24~32 毫微米。

Loring 等 (1946) 首先利用 Williams 及 Wyckoff 的喷涂投影术 (1945) 研究了 Lansing 株感染的大白鼠鼠脑组织。他们在电子显微镜下发现一种圆棒状颗粒。直径为 12~34 毫微米。Gollan 及 Marvin (1948) 在 MV 株感染的小白鼠鼠脑组织中,也发现类似的物体,其直径为 10~20 毫微米。但上述作者都未用正常组织作对照。后来, Rhian 等 (1949) 在正常鼠脑中看到这种颗粒。因此认为,在此以前所发表的脊髓灰质炎病毒的电子显微镜照片,都有疑问。因为照片

中所显示的颗粒大小、形状很不一致。并且未能证明这种颗粒与感染力之间的关系。再者,非感染性材料中,也有这种颗粒。由此看来,解决电子显微镜测量病毒大小的关键在于病毒感染材料的提纯问题。

1951年 Leyon 研究了 FA 鼠脊髓灰质炎病毒的形态,获得了比较可靠的材料。他的提纯材料的沉降常数几乎一致,并有很高的特异性感染力。在电子显微镜下所看到的只是一种正圆形颗粒,直径为 20 毫微米。

自 Enders 等(1949)发现脊髓灰质炎病毒可以在组织培养物中生长繁殖并能引起病理变化之后,许多人就用组织培养的感染材料研究脊髓灰质炎病毒的形态及大小。用组织培养法所得的感染材料中所含各种蛋白颗粒比动物的神经组织少,用它来提纯病毒手续也简单得多。

在脊髓灰质炎病毒形态学研究史中, Bachrach 及 Schwerdt (1954)的工作有很重要意义。他们首次用电子显微镜分析摄影法,证明了病毒颗粒与病毒感染力之间的关系。他们发现,一个致死量(LD_{50})的 Lansing 株,含有 21,000 个病毒颗粒。后来 Taylor 等将电子显微镜下测出的物理性病毒颗粒数目与用生物学方法测出的感染性颗粒数目的比例提高到 30:1。颗粒直径为 28 毫微米,形态呈球形。镜下只见这一种颗粒。从此,脊髓灰质炎病毒物理性质的均一性,就被确定下来。这一点对研究脊髓灰质炎病毒的形态及理化性质非常重要。1955 年前后,病毒的提纯方法也有改进。由于这些成就,使得后人顺利地解决了脊髓灰质炎病毒大小的问题。

Sabin 等(1954)测出 Mahoney 株(I 型)直径为 30 毫微米, Y-SK(II 型)为 27 毫微米, Leon (III 型)为 41 毫微米。Schwerdt 等(1954)用提纯的 MEF-1 (II 型)病毒测定,结

果：空气干燥后，单个病毒颗粒的直径为 37 毫微米，平均为 27 毫微米；冷冻干燥的病毒颗粒直径则为 27 毫微米(图 I-1)。Schwerdt 及 Schaffer (1955) 用颗粒密度测定法，测出 MEF-1 毒株直径为 22~28 毫微米。Taylor 及 McCormick (1956) 用火棉胶膜—琼脂制片法，测出 Mahoney、MEF-1 及 Saukett 病毒颗粒直径为 30 毫微米。1955 年 Hampton 等测得小白鼠鼠脑的 MEF-1 提纯病毒直径为 30.5 毫微米。1958 年 Steere 及 Schaffer 研究脊髓灰质炎病毒的结晶碎片，测出 Mahoney 株的直径为 27 ± 1.4 毫微米。

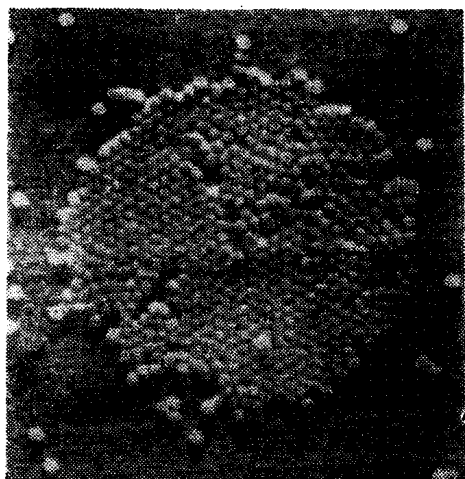


图 1-1 脊髓灰质炎第 II 型病毒(MEF-1 株)
在电子显微镜下的形态($\times 63,000$) (Schwerdt
等, 1954)

从以上材料看出，1954 年以后用电子显微镜测定脊髓灰质炎病毒颗粒的直径都在 26~31 毫微米之间。这是一个接近真实的数字。1979 年国际病毒命名委员会 (ICTV) 确定为 24~30 毫微米。

第二节 病毒的微细结构

由于电子显微镜摄影技术,超薄切片,以及X线衍射技术的发展,使我们对脊髓灰质炎病毒的微细结构有了了解。

Taylor 及 McCormick (1956)用火棉胶膜—琼脂制片法摄得脊髓灰质炎病毒颗粒的照片。他们发现无投影照片中,病毒颗粒直径为 30 毫微米,它有一个致密的核心。核心的直径为 20 毫微米。在有投影的照片中, Saukett (III 型) 株在长期脱水后,它的颗粒呈扁平状,外面有膜,膜上有凹陷,中央部分突出。因此, Taylor 及 McCormick 假设:脊髓灰质炎病毒颗粒具有细胞样的结构。中央致密部分是核,它含有核酸。外面是一层可以透水的膜。因为,用甘油处理后,大部分颗粒由 30 毫微米缩小为 20 毫微米。Taylor 等人所得结果未能在其它试验室被重复。Schaffer 及 Schwerdt (1959)用透析法除去甘油,或者将病毒稀释成较低的浓度后作直接喷涂,但他们在电子显微镜照片中并未发现病毒颗粒分解或者体积上有何差异。Schaffer 等认为,盐类和干燥的作用可以解释 Taylor 及 McCormick 的观察结果。这种电子致密核心,可能是在干燥后盐类聚集所产生的。Hampton 等 (1955)用相当剧烈的方法处理标本:空气干燥,真空喷涂,湿润,再干燥,再喷涂。他看到一种直径为 15 毫微米大小的颗粒。他认为这种小颗粒是病毒基本颗粒的亚单位。但他并没有发现颗粒外有膜。

1955 年 Schaffer 及 Schwerdt 第一次获得脊髓灰质炎病毒(MEF-1)的结晶体。但这个晶体较小。后来, Steere 及 Schaffer (1958)获得了 Mahoney 株较大的结晶体。1959 年

Finch 及 Klug 用 X 线衍射法研究了 this 病毒晶体的构造。他们根据 X 线衍射的照片，推测脊髓灰质炎病毒颗粒与芜菁黄花叶病毒相似。它的外壳呈一种对称的 20 面体。也就是说，蛋白衣壳是由 60 个结构近似的蛋白质亚单位组成的。每个蛋白亚单位的直径约 $60\sim 65\text{\AA}$ ，并推测病毒的核糖核酸 (RNA) 是包在蛋白衣壳里面 (图 1-2)。

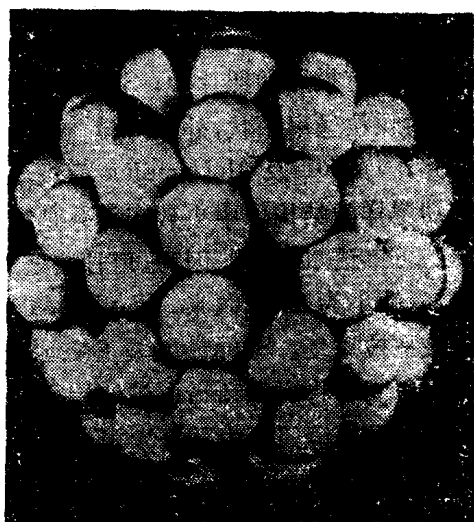


图 1-2 脊髓灰质炎病毒结构模式图。由 60 个蛋白质亚单位形成的蛋白壳。每个蛋白质亚单位直径约 $60\sim 65\text{\AA}$ (Finch 及 Klug, 1959)

Finch 及 Klug 所设想的脊髓灰质炎病毒颗粒的外形结构，和 Fogh 及 Stuart (1960a) 在人羊膜细胞 (FL 株) 及 HeLa 细胞 (1960b) 内所见的 I 型脊髓灰质炎病毒的形态，有相符之处。他们将病毒感染的细胞，于不同时间制成超薄切片。在胞浆中发现了一种结晶状的，规则排列的圆形颗粒，直径 24 毫微米。内部有一致密的核，直径为 4 毫微米，周围有一个

16 毫微米厚的带包围着。Horne 等(1959)观察证明了 Finch 及 Klug 的设想。Brenner 及 Horne (1959) 利用磷钨酸钾阴性反差染色的电子显微镜制片法清晰地看到脊髓灰质炎病毒颗粒表面的亚单位(图 1-3)。病毒颗粒的直径为 $300\text{\AA}$ 。每个亚单位直径为 $50\text{\AA}$ 。三个型病毒测量结果相同。



图 1-3 脊髓灰质炎病毒用阴性反差染色技术在电子显微镜下呈现的亚单位(Horne 等, 1959)

总之,脊髓灰质炎病毒的微细结构是:中心部为 RNA 核心,外面包裹着蛋白质衣壳,构成毒粒,即完整的病毒颗粒(Virion),无包膜。毒粒表面的蛋白质有 60 个亚单位,呈 20 面体结构。衣壳蛋白的亚单位就是壳粒(Capsomere)。这些蛋白质亚单位呈对称性排列,但对称的详细排列情况用磷钨

酸盐法还不能在电子显微镜下清晰地分辨出来。Summers等(1965)发现,衣壳蛋白由四种多肽构成,即 VP_1 、 VP_2 、 VP_3 、 VP_4 。Maizel 及 Summers (1968) 测出它们的分子量各为 35,000、28,000、24,000、5,000~6,000。Granbouban 等(1969)及 Tannock 等(1970)测出毒粒的分子量为 6.8×10^6 , RNA 为单股线型,其分子量约 2.6×10^6 。

第三节 病毒的提纯与结晶

在研究病毒的理化性质时,病毒标本的纯度愈高,所获得的结果也愈精确。对脊髓灰质炎病毒也一样,以前,研究脊髓灰质炎病毒时,只能用灵长类,如猴、猩猩以及某些啮齿动物,如小白鼠、棉鼠等作为繁殖病毒之用。由于中枢神经系统中病毒的物理浓度低,并且含有大量正常的,大分子的组织颗粒。这些颗粒的理化性质与病毒不易分开。所以,使脊髓灰质炎病毒的提纯工作受到很大障碍。直到 Enders (1949)发现用组织培养法可以培养脊髓灰质炎病毒之后,提纯的工作才有了迅速的进展。组织培养不仅能保证提供丰富的病毒材料,而且杂质较少。此外,还可以用 Dulbecco 及 Vogt (1954)发明的组织培养空斑法准确地测定在提纯各阶段脊髓灰质炎病毒的感染力。

提纯的过程和一般大分子蛋白质及酶的提纯方法相仿。其中包括物理及化学的方法,如超速离心、超过滤、吸附、洗脱、用盐类或酒精沉淀、等电点沉淀、用有机溶媒作选择性的蛋白质变性以及用酶消化非病毒蛋白质及核酸等。

自 1935 年 Stanley 将烟草斑纹病的病毒提纯并获得结晶成功以后,大家就纷纷利用化学方法提纯病毒。Brown 及