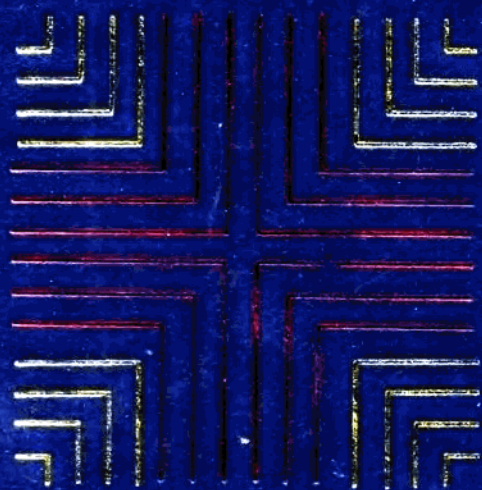


现代医学微生物学

闻玉梅 主编



内 容 提 要

本专著由国内及海外华裔专家共 89 人(其中两院院士 6 人)执笔,全面、系统地对医学微生物学进行了阐述。全书分细菌学、真菌学及病毒学 3 篇共 98 章,书后附有索引。各篇均由总论及各论两大部分组成。作者根据专长除对各章作概括性介绍外,重点撰写发展迅速的新颖内容。全书既深入浅出地加强了对理论性内容的阐述,又有机地联系应用性知识与技术;汇总了我国医学微生物学者科研工作的成果,有丰富的国内资料。本书是可供医学生及研究生使用的大型教学参考书,又可供医学微生物学、传染病学、流行病学、分子生物学、生物制品及防疫学工作者等参阅。

主 编 闻玉梅

副主编 陆德源 何丽芳

编写者 (以姓氏笔画为序)

于修平	万超群	马子行	马文煜	王文凤
王龙妹	王守良	王焕妞	毛江森	石长信
叶元康	叶顺章	卢锦汉	田 波	包幼迪
包其郁	朱关福	朱既明	朱家鸿	朱 雷
刘 江	刘志恒	刘晶星	刘德净	庄玉辉
庄汉澜	庄 辉	关显智	阮 力	李子华
李 凡	李 元	严家新	吴绍熙	何红霞
何丽芳	余传霖	汪 复	宋 干	张礼璧
张昌贤	张振华	张嘉佑	张嘉铭	陆德源
陈家琨	陈新国	邵济钧	林发榕	林特夫
林碧瑚	茅涵文	尚德秋	罗祖玉	罗海波
周瑶玺	郑志明	孟昭赫	赵锦铭	侯云德
段广才	俞永平	俞树荣	闻玉梅	洪 涛
姚 堃	袁曾麟	贾盘兴	徐建国	郭元吉
郭宁如	郭杰炎	郭辉玉	高守一	高杰英
高树德	高巽坤	黄谷良	戚中田	康 白
蒋寒青	焦炳华	童善庆	曾 明	曾 毅
辜清吾	雷祚荣	熊菊贞	貌盼勇	

序

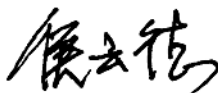
自有人类社会活动以来,人类与传染病的斗争从来就没有停止过。目前,传染病仍受到世界各国的关注,微生物病原体仍是世界上对人类健康的主要威胁,据世界卫生组织报道,1997年全球共有5.190万人死亡,其中1.730万人死于各类传染病,占死亡人数的1/3。在过去的20年中,又发现了30多种新病原。全球的城市化进程以及人口老龄化又为传染病的流行创造了条件。人们看到传染病正在全球复活:肝炎、艾滋病、流感等传染病十分猖獗;痢疾、霍乱等仍威胁着我国人民的健康。近半个世纪以来,流感病毒曾发生过3次大变异,又引起3次世界性大流行。1997年在香港引起禽流感病毒的人群流行而轰动世界,为此,香港自1997年12月29日起销毁了130万只鸡。肺型流行性出血热在美国的流行,引起美国政府的极大重视。1976年在非洲扎伊尔发生埃博拉(Ebola)病毒流行,病死率约67%,现在可能已波及菲律宾等地。1988年上海甲型肝炎大流行,席卷30万人,在经济上蒙受巨大损失。1996年在日本发生了一次世界上最大的由O157:H7大肠杆菌引起的暴发流行。近10多年来结核病又死灰复燃,成为世界性的健康问题。1991年南美发生霍乱大流行,有60万人发病,震惊世界。1994年印度由空气传播的肺鼠疫流行,引起世界人民的极大恐慌。近10年来,多种性传播疾病又迅速蔓延。面向21世纪,控制传染病将是我国医务工作者的一项重要任务。

在我国人民面临各类传染病威胁的情况下,医学微生物学这一既是古老,又是新兴的学科就显得更为重要。1980年我国著名学者余瀛教授曾主编出版了《医学微生物学》一书,对促进我国这一学科的发展和传染病的防治起了重要作用。近20年来,在生命科学飞速发展的推动下,医学微生物学又有了很大进展,特别是微生物基因组图谱的构建是美国《Science》杂志评出的1997年世界十大科技进展之一。1998年4月,国际上已完成了572株病毒基因组全序列的测定,当今已经进入病毒后基因组研究时期,也就是说在继续阐明新病毒基因组序列的同时,开始大规模研究基因结构与功能的关系。在细菌群中,已经完成基因组序列测定的已有10多种,包括基因组长达13Mb的啤酒酵母菌,目前正在进行的还有60余种。在分子水平上研究微生物病原体的变异规律、毒力和致病性对于传统微生物学来说,是一场革命。

我国著名病毒学家闻玉梅教授主编的《现代医学微生物学》全面概括了近 20 年来在医学微生物学方面的重要进展,系统地介绍了细菌学、真菌学和病毒学的总论和各论,不仅内容新颖,而且文字流畅;不仅可作为生命科学领域大专院校的教材,而且也是广大微生物学研究工作必不可少的参考书,实为一本高水平的巨著。

我相信《现代医学微生物学》一书的出版,是我国微生物学工作者的一个喜讯,必将促进我国医学微生物学的发展和传染病的防治,为“科教兴国”作出贡献。

中国工程院副院长、工程院院士



1998 年 9 月 6 日于北京

病毒基因工程国家重点实验室

前言

医学微生物学是医学及生物学领域中的一项重要学科。微生物引起的感染及其诊断与治疗涉及临床医学各个学科。预防微生物感染的疫苗(牛痘苗)使人类历史上首次成功地消灭了一种疾病——天花。通过研究微生物(大肠杆菌、肺炎链球菌、噬菌体等)的遗传,人们揭示了DNA是遗传物质,并阐明了基因的传递、调控、表达等诸多规律。生物技术的核心之一:基因重组技术的建立、发展与应用也是基于微生物的质粒、酶(限制性内切酶、连接酶等)和发酵等研究。微生物(细菌、酵母菌、病毒等)基因组的研究作为人类基因组研究的模型也已获得有意义的成果。严重威胁人类健康的微生物(人类免疫缺陷病毒、O139霍乱弧菌、O157大肠杆菌等)和朊病毒(又称传染性蛋白颗粒)等新型微生物致病性的研究已成为医学微生物学发展的热点。人类生活环境的变化所导致的微生物生态平衡也已列为医学微生物学的内容。随着人类对宇宙的探索与开发,将会进一步拓宽医学微生物学的范围。医学微生物学从广度和深度两个方面均有飞跃性的进展。

本书从阐述现代医学微生物学的角度,组织国内及海外华裔医学微生物学专家,根据各自专长撰写有关章节。在内容选择方面,既考虑全面性和基础性,又突出近年来医学微生物学的发展和应用,注意新颖性和应用性。在格式方面既保持各章节间的统一性和平衡性,又实事求是地根据各类医学微生物发展的特点而确定章节的划分及其篇幅。医学微生物学是基础性医学学科,因此适当地增强了基础理论部分:如细菌的代谢、质粒与转座子、病毒的遗传、持续性病毒感染、病毒与宿主细胞的相互作用等章。医学微生物学又是应用基础性学科,对诊断、预防、治疗微生物引起的感染有重要的指导作用,为此,增强了联系实际应用的章节:如微生物的生物制品、抗菌药物的作用机制和细菌耐药性、真菌毒素、干扰素等。为反映医学微生物学的发展趋势,单独撰写了朊病毒及类病毒章。为启迪读者思维,撰写中尽量描述重要结论获得的构思及实验设计,并在各章末列出展望。

自1980年余瀛教授主编出版了大型参考书《医学微生物学》以来,我国学者在医学微生物学的许多领域进行了大量的理论性及应用性的研究,取得了重要的成就。本书力求通过各作者的共同撰写,将这些成就系统地汇总成专著,供国内、外学者学习及参考。因此,这一专著是我

国老、中、青微生物学工作者多年工作的结晶,也是在建国 50 年之际向国家及人民的献礼。在此,感谢汪家禄、范英、武力同志分别在本书的编辑、校稿及编制索引工作中给予的帮助。

在党中央“科教兴国”的战略方针指引下,愿本书既作为我国微生物学工作者的工作总结,又是激励、鞭策我们继续为医学微生物学作出新贡献的起点。由于编者的水平所限,本专著不妥之处,恳请读者不吝指正。

闻玉梅

1999 年 3 月

目 录

1 绪论	1
------------	---

第一篇 细 菌 学

细菌学总论	11
2 细菌的结构及其功能	11
3 细菌的代谢	24
4 细菌的遗传	39
5 质粒与转座子	52
6 细菌的 L 型	71
7 噬菌体	82
8 正常微生物群	97
9 细菌的分类和命名	112
10 细菌内毒素	123
11 细菌外毒素	134
12 细菌的感染与免疫	148
13 微生物的生物制品	172
14 抗菌药物作用机制和细菌耐药性	193
15 细菌感染的诊断	209
细菌学各论	223
16 葡萄球菌属	223
17 链球菌属	240
18 奈瑟菌属	256
19 淋病奈瑟菌	267
20 肠杆菌科	275
21 大肠埃希菌属	293
22 沙门菌属	310
23 志贺菌属	321
24 弧菌属	331
25 螺杆菌属	352
26 弯曲菌属	369

27	假单胞菌属	383
28	厌氧芽胞梭菌属	394
29	无芽胞厌氧菌属	414
30	需氧芽胞杆菌属	434
31	布氏菌属	455
32	耶尔森菌属	470
33	嗜血杆菌属	485
34	鲍特菌属	493
35	分枝杆菌属	504
36	麻风杆菌	526
37	棒状杆菌属	537
38	军团菌属	544
39	其他细菌	556
40	衣原体	570
41	支原体	592
42	立克次体	603
43	恙虫病立克次体	620
44	Q 热立克次体	627
45	螺旋体	639
46	钩端螺旋体	651
47	放线菌	666

第二篇 真菌学

	真菌学总论	677
48	概述	677
49	真菌的生物学	678
50	真菌的分子生物学	685
51	真菌的展望	694
	真菌学各论	696
52	概述	696
53	浅部真菌	698
54	深部真菌	709
55	真菌毒素	728

第三篇 病毒学

	病毒学总论	749
56	病毒的形态和结构	749

57	病毒的增殖	763
58	病毒的遗传	774
59	持续性病毒感染	790
60	病毒与宿主细胞的相互作用	800
61	病毒与免疫系统的相互作用	809
62	干扰素	821
63	抗病毒制剂	841
64	病毒的诊断	852
65	病毒的分类	862
	病毒学各论	872
66	痘病毒科	872
67	疱疹病毒	886
68	EB 病毒	910
69	巨细胞病毒	925
70	腺病毒科	938
71	乳多空病毒科	949
72	嗜肝 DNA 病毒科	971
73	细小病毒科	992
74	正粘病毒科	1005
75	副粘病毒科	1021
76	呼肠病毒科	1036
77	轮状病毒	1047
78	冠状病毒	1059
79	弹状病毒科	1068
80	布尼亚病毒科	1086
81	汉坦病毒	1100
82	黄病毒科	1117
83	登革病毒	1127
84	丙型肝炎病毒与庚型肝炎病毒	1143
85	嵌杯病毒科	1159
86	戊型肝炎病毒	1168
87	披膜病毒科	1181
88	乙型脑炎病毒	1193
89	小 RNA 病毒科	1205
90	脊髓灰质炎病毒	1213
91	柯萨奇病毒、埃可病毒和新肠道病毒 68~72 型	1227
92	甲型肝炎病毒	1245
93	鼻病毒	1256
94	逆转录病毒科	1261

95	人类免疫缺陷病毒	1289
96	病毒与肿瘤	1302
97	朊病毒——传染性蛋白颗粒	1312
98	类病毒	1321
索 引		1330

1.1 医学微生物学的过去与现在

1.2 展望

1.1 医学微生物学的过去与现在

(1) 微生物的分类

微生物是体形微小、构造简单的单细胞、多细胞以及无细胞结构的为数众多的一大群生物。在生物界中最具有多态性的就属微生物。它们不仅形态多样性,新陈代谢及生长、繁殖多样性,与动物及人体和外周环境的关系也千变万化。经过对各种微生物的长期研究与分析,并结合生物化学、遗传学及生态学等交叉学科的理论与技术,到 20 世纪后期,对于微生物的分类,多数学者已将病毒独立于原核细胞及真核细胞型微生物以外。

病毒及类病毒、朊病毒都必须依赖宿主细胞进行增殖,因此从进化角度考虑,甚至可以把病毒看作是宿主细胞基因的扩大或延伸。一般情况下,病毒的基因向宿主细胞提供信息,病毒在细胞内复制,产生并释放大量的病毒拷贝。有些情况下,病毒的基因可整合入宿主

细胞 DNA,而起细胞 DNA 的作用。类病毒主要在植物中进行传播并引起疾病,是小的单链以共价键相连的闭环杆状 RNA 分子。近年发现的丁型肝炎病毒也是类病毒,显示类病毒与人类疾病相关。根据类病毒的基因有末端重复序列与转座因子及逆转录病毒相似,提出了类病毒可能起源于转座因子等观点。由于羊痒疫及牛海绵状脑病(俗称疯牛病)的发生与流行,朊病毒已日益受到重视。这类微生物直径 $<50\text{nm}$,能耐受核酸酶的灭活作用,但却能被蛋白酶所灭活。对于这类微生物的特征及致病机制尚在研究中。

原核细胞型微生物的共同特征为,只有原始的类核式 DNA 盘旋而构成的核区,无核膜和核仁,不进行有丝分裂,无细胞器,其中包括细菌、衣原体、立克次体、支原体、螺旋体和放线菌。近年来,结合 Bergey (1994 年版)对细菌的分类,Jawetz 等(1995 年)提供了根据革兰染色、细胞壁的有无及真细菌与古细菌作为医学细菌的主要分类,兹选择部分归纳如表 1-1。

表 1-1 与医学有关细菌的分类

1 革兰阴性有细胞壁的真细菌	致病菌举例
组 1 螺旋体	苍白螺旋体、包柔体、钩端螺旋体
组 2 需氧/微需氧的可运动细菌	螺杆菌、弯曲菌等
组 4 需氧/微需氧的球菌或杆菌	奈瑟菌属、假单胞菌属、布氏菌属等
组 5 兼性厌氧杆菌	沙门菌属、埃氏菌属、弧菌属、耶尔森菌属等
组 6 专性厌氧杆菌	类杆菌属等
组 9 立克次体与衣原体	斑疹伤寒立克次体、沙眼衣原体等
1. 革兰阳性有细胞壁的真细菌	致病菌举例
组 17 革兰阳性球菌	葡萄球菌属、链球菌属等
组 18 有芽胞杆菌	需氧芽胞杆菌属、厌氧芽胞梭菌属
组 19 形态规则,无芽胞杆菌	李斯特菌属

(续上表)

组 20 形态不规则的无芽胞杆菌	棒状杆菌属等
组 21 分枝杆菌属	分枝杆菌
组 22 放线菌属	诺卡菌等
Ⅲ. 无细胞壁的真细菌	致病菌举例
组 30 支原体	脲原体等
Ⅳ. 古细菌	致病菌举例
组 31 甲基化菌	} 未发现
组 34 无细胞壁古细菌	
组 35 极端嗜热菌等	

细菌可分为两大类:真细菌及古细菌。真细菌中包括大多数致病菌。古细菌与真细菌的区别在于古细菌不合成真细菌中存在的肽聚糖[peptidoglycan(或粘肽)],而且古细菌有特殊的新陈代谢,故可在极端环境下(如高温、高盐或pH很低)生存,还可以产生一些特殊的代谢产物(如甲醇等)。耐耐高温菌(thermus aquaticus)中分离到的酶,即Taq DNA聚合酶,已被普遍用于聚合酶链反应(PCR),成为医学微生物学中的重要新技术。由于古细菌是有待开发和应用的一大类微生物,而且与海洋微生物以及其他星球中存在的生命现象有关,古细菌学已显示有其特殊的重要地位。Pace(1996年)提出了一个新的观点,即不根据原核细胞及真核细胞类型对微生物作分析,而是根据生物界进化速度慢的16S或18S rRNA的序列变化,从种系发生学上进行分类。由于地球上绝大多数微生物并不能用常规方法进行培养,故仅从表型(微生物的形态、结构、生长特性)来分析微生物有很大的局限性。他根据已有的近5000个已知的rRNA序列作分析,发现“进化树”上的真细菌、古细菌及真核型微生物间的距离相似,即微生物可分为上述三大主要组别。根据这一观点,真细菌与古细菌及真核细胞型微生物应分别地同样受到重视。

真核细胞型微生物主要包括真菌(单细胞真菌、多细胞真菌)、藻类以及原虫等。本型微生物不仅有完整核,进行有丝分裂,其遗传物质可以通过单倍体生殖细胞融合成双倍体细胞后传给子代细胞,即有性繁殖形式;但也可通过孢子形式作无性繁殖。伴随着机会感染率的增多,真菌在医学中的地位已日益被重视,一些原来被认为不致病的酵母菌或酵母样菌已逐渐被确认为传染源。因此这类微生物的新型鉴定技术(包括菌落颜色、同化试验、尿素酶、硝酸盐还原试验等)及抗真菌药品和制剂的研究在近年来已成为研究热点。

(2) 医学微生物学的发展历史

医学微生物学是微生物学的一个分支,起源于19世纪,即实验微生物时期的细菌生理学阶段。法国科学家巴斯德(Pasteur)在其著名的“S形曲颈瓶”实验证明微生物不是“自然生成”以后,对当时流行的霍乱、鸡霍乱、炭疽及狂犬病的病原体等进行了理论联系实际的研究。受巴斯德工作的启发,英国医生李斯特(Lister)认识到伤口感染可能与微生物有关,采用了石炭酸消毒,并利用加热法处理手术用器械,收效显著,创立了无菌外科手术。在密切联系临床及预防医学的同时,德国医生郭霍(Koch)用固体培养基分离出纯培养的细菌,开始了医学微生物学的实验研究。郭霍所分离的第1种病原菌是炭疽杆菌。为证实该菌是病原菌,郭霍将其接种于健康动物,引起同样疾病后,再从被感染的动物体内分离出同样细菌,提出了证实微生物致病性的“郭霍定律”,奠定了研究微生物致病性的基础,并被沿用至今。此后,学者们在1882~1894年间,分离出了多种重要的病原菌,诸如结核杆菌、霍乱弧菌、肺炎链球菌、脑膜炎球菌、白喉杆菌等,可称为细菌学发展的“黄金时代”。

伴随医学微生物学的发展,人们对所迫切要求的抗微生物(主要是抗菌)治疗和预防传染病的措施提出了新的课题,由此衍生对传染病的化学疗法(简称化疗)和抗生素药物的研究及应用得到了迅速的发展。最早发现的化学治疗剂“606”,是由德国化学家欧立希(Ehrlich)经过605次实验失败,但在第606次时才获得成功的砷剂用于治疗梅毒。抗生素则是由英国细菌学家弗来明(Fleming)于1929年首先发现污染的青霉菌在固体培养基上可拮抗葡萄球菌生长的现象。由于含杂质过多,Fleming应用的青霉菌滤液不能用于临床治疗;直到1940年,弗洛瑞(Florey)等联合了基础学科及临床医生协同研究,经过提纯,方获得首次可供

人体注射用的青霉素 G。为预防肆虐人类的天花,1798 年英国乡村医生詹纳(Jenner)发明了种牛痘的预防方法,是近代抗感染免疫学的开端。此后,狂犬减毒活疫苗、猪霍乱弧菌死疫苗及类毒素的应用等均有效地被用于预防传染病。大量实践又推进了理论发展,药理学、抗生素学及免疫学又各自独立地形成了学科。

1892 年俄国学者伊凡诺夫斯基(Ивановский)在研究烟草花叶病时发现该“因子”可通过除菌滤器;6 年后 Beijernick 用稀释后过滤证明该“因子”是活的可以增殖的“传染因子”,开创了对病毒的认识。对人致病的病毒首先被证实的是黄热病病毒,虽然至 1931 年已证实一些疾病(如狂犬病、鸡痘、口蹄疫等)是由病毒引起,但对病毒特性的研究可认为是自 20 世纪 30 年代才开始。通过应用电子显微镜,开展了鸡胚接种技术,以及 40 年代末被应用的组织培养技术等,对病毒的复制才有了较明确的认识。我国学者黄桢祥在 30 年代研究马脑炎病毒时,发现有病毒增殖的组织块培养液的 pH 与无病毒增殖的培养液有显著差别,提出了有可能利用组织培养病毒。在这一发现的基础上,安德斯(Enders)成功地在非神经组织中培养了脊髓灰质炎病毒,并进一步研制了脊髓灰质炎疫苗。安德斯在诺贝尔奖获得者的报告会上还特别提及黄桢祥的有关工作。一度曾出现过认为噬菌体与动物病毒有不同生命活动规律的观点,直到 20 世纪 50 年代后期,才由洛沃夫(Lwoff)所统一。他在 1957 年下的定义:“病毒是由核酸和蛋白质组成的传染性因子,不能独立繁殖”,直到 90 年代仍被广泛认可。

我国学者汤飞凡是我国第 1 代病毒学家,是世界上第 1 个分离出沙眼病原体的学者。虽然日本学者野口(1928 年)声称从沙眼患者中分离出所谓“沙眼杆菌”,但汤飞凡认为沙眼病原体是近似立克次体的大病

毒。1955 年他采用鸡胚卵黄囊接种和抗生素抑菌的研究技术,成功地分离出沙眼“病毒”(以后被定名为沙眼衣原体)。1958 年他又将该“病毒”接种于自己的眼睛,造成人工感染并坚持 40d 才接受治疗,以便观察典型的病理过程,并从本人眼内分离出“病毒”,证明了病原体的致病性。此后,这一方法被许多学者用于研究其他衣原体。作为我国的杰出微生物学家,他一生献身科学事业,而且是一个有强烈民族自尊心的伟大爱国者。

中国科学院院士、著名病毒学家朱既明在微生物学与病毒学研究中作出了卓越贡献。1943~1945 年在昆明用自己分离的菌种成功地研制出注射用青霉素,是我国第 1 位研制成功青霉素的学者。以后,在国际上首次将流感病毒裂解为亚单位,提出了病毒结构图像,为以后研究亚单位疫苗提供了原理和方法。他所发现的流感病毒抑制因子被国际学术界称为“朱氏抑制素”。他还在仙台病毒、腺病毒及麻疹病毒的研究中作出了重大贡献。

回顾医学微生物学发展的历史,可以得到以下启示:

1) 人类在认识世界与改造世界实践中的问题是学科发展的源泉与动力。

2) 在解决实际问题的过程中将会引发一些涉及基础理论问题,应同时加强对这些理论的研究。

3) 技术方法的改革或创新是推动学科发展的一个重要方面。科学和技术的密切相关性决定了两者均不可偏废。

4) 科技工作者的献身科学精神、敏锐观察力、持之以恒的工作态度和主动加强与相关学科的联系与合作是取得成功的关键。

历史上,在医学微生物学及相关学科中因有突出贡献而获得诺贝尔奖的科学家近 60 名,见表 1-2。

表 1-2 对微生物学发展有贡献的诺贝尔奖获得者

年份	诺贝尔奖获得者	对微生物学的贡献
1901	von Behring, EA (德国)	白喉抗毒素和其他血清疗法
1905	Koch, HR (德国)	结核病的研究和旧结核菌素
1908	Ehrlich, P (德国)	抗体形成的体液学说及其在免疫中的地位
	Metchnikoff, E (俄国)	吞噬作用及其在免疫中的作用
1912	Carrel, A (法国)	关于血管和器官移植的研究
1913	Richet, CR (法国)	过敏反应
1919	Bordet, J (比利时)	补体结合和免疫
1928	Nicolle, CJ (法国)	斑疹伤寒研究
1930	Landsteiner, K (美国)	发现人类血型
1939	Domagk, G (德国)	百浪多息药物的抗菌作用

(续上表)

年份	诺贝尔奖获得者	对微生物学的贡献
1945	Chain, EB (英国) Fleming, A (英国) Florey, HW (英国)	发现及改进青霉素
1946	Northrop, JH (美国) Stanley, WM (美国) Sumner, JB (美国)	酶及病毒蛋白纯品制备, 酶的结晶作用
1946	Muller, HJ (美国)	用 X 线辐射产生突变
1948	Tiselius, AW (瑞典)	应用电泳技术发现血清蛋白组成多样性
1951	Theiler, M (南非)	黄热病疫苗
1952	Waksman, SA (美国)	发现链霉素
1954	Enders, JF (美国) Robbins, FC (美国) Weller, TH (美国)	脊髓灰质炎病毒在非神经组织中培养
1958	Beadle, GW (美国) Tatum, EL (美国) Lederberg, J (美国)	微生物遗传方面多种贡献
1960	Burnet, FM (美国) Medawar, PB (英国)	获得性免疫耐受性
1962	Crick, FH (英国) Watson, JD (美国) Wilkins, HF (英国)	DNA 分子结构及其在生物体中遗传信息传递的关系
1966	Rous, FP (美国)	病毒复制(合成)调节过程中小鼠肿瘤病毒的发现
1968	Holley, RW (美国) Khorana, HG (美国) Nirenberg, MW (美国)	遗传密码决定细胞功能
1969	Delbrück, M (美国) Hershey, AD (美国) Luria, SE (美国)	病毒复制中病毒基因结构及其作用机制
1972	Edelman, GM (美国) Porter, R (英国)	揭示了抗体的化学结构
1975	Dulbecco, R (美国) Baltimore, D (美国) Temin, HM (美国)	发现肿瘤病毒和细胞遗传物质间的相互作用 发现逆转录酶在引起癌变开始阶段的作用
1976	Blumberg, B (美国) Gajdusek, DC (美国)	发现澳大利亚抗原 库鲁(Kuru)病和克-雅病的慢病毒病因
1977	Yalow, R (美国)	发展放射免疫测定法
1978	Arber, W (瑞士) Smith, HO (美国) Nathans, D (美国)	发现和提纯限制性内切酶用于遗传工程
1980	Snell, G (美国) Benacerraf, B (美国) Dausset, J (法国)	发现与人体免疫反应密切关联的基因“主要组织相容性复合体”
1984	Köhler, G (德国) Milstein, C (阿根廷) Jerne, N (英国)	用杂交瘤技术生产单克隆抗体 免疫网络学说
1987	Tonegawa, S (日本)	免疫球蛋白的基因结构
1989	Bishop, JM (美国) Varmus, E (美国)	逆转录病毒癌基因的细胞起源
1996	Doherty, PC (美国) Zinkernagel, RM (瑞士)	细胞介导的特异免疫应答
1997	Prusiner, SB (美国)	朊病毒: 一种具有传染性的异常构型蛋白

(3) 近代医学微生物学的发展

自 70 年代后期以来,医学微生物学有了飞跃性的发展,在日新月异的多种进展中,核心是对微生物的基因结构和功能在理论与应用的研究进展,以及结合免疫学新进展的抗感染免疫进展。分子生物学及基因重组技术推进了微生物全基因组或部分基因片段的结构与功能研究。免疫学中的细胞因子、免疫调控及抗原呈递等新进展,推动了对微生物致病因子、保护性抗原及机体抗微生物免疫应答的研究与应用。

由于病毒的基因组小,便于克隆和进行核苷酸序列分析,早在 1978 年已进行了对猴病毒 40(SV40 病毒)的基因克隆,物理图谱分析及以后的全基因组测序。SV40 病毒属乳多空病毒科,因其持续性感染,污染了用以制备脊髓灰质炎疫苗的猴肾细胞,已被注入人体,故作为一种医学微生物,进行了基因的结构与功能分析,明确了复制起始点,编码的 T 与 t 抗原功能以及其基因组中的启动子、增强子等。此后,许多病毒的全部或部分基因经过克隆、序列分析及编码蛋白的表达,获得了新的有关病毒复制及蛋白功能的资料。在 1995 年,一种流感嗜血杆菌的全基因组 DNA 序列分析作为第 1 个细菌的全基因组分析已经完成,以后生殖道支原体 *Mycoplasma genitalium*、大肠杆菌、枯草杆菌以及非致病菌 *Methanobacterium thermoautotrophicum* 等亦进行了全基因组测序。这些工作将导致对启动子、DNA 的蛋白结合位点及 DNA 结合蛋白的全面了解,从而可以揭示微生物一些新的生命活动规律。基因水平的研究在病毒中已揭示了某一核苷酸的变异与致病性降低的相关性,正在研究不同变异株在医学中的作用。细菌菌毛、粘附因子及毒素的编码基因或质粒也进行了大量研究。克隆的微生物基因作为探针已被用于诊断传染病及揭示微生物引起疾病的发病机制。根据微生物基因中的保守片段设计引物,利用聚合酶链反应(PCR)已可快速地诊断一些传染病。根据微生物基因中编码保护性抗原的片段,进行克隆、基因重组及在原核或真核细胞中表达抗原制成的基因工程疫苗已开始生产并应用。从分子水平分析细菌的耐药性已获得有价值的结果,有些医院已开展对耐药质粒谱的分析,试图了解耐药菌出现的动向及可能规律。这些分子水平的研究进展已对微生物致病性、致病机制、病原体的诊断及防治措施的改进或更新等,产生了深刻的影响。

另一方面,免疫学基础理论的发展,特别是对内源性抗原及外源性抗原两种抗原呈递方式的研究,使人们对微生物感染中胞内菌、胞外菌感染,病毒感染及

死、活疫苗分别诱导不同类型免疫应答的理论有了进一步的认识。T 辅助细胞(Th1 和 Th2 细胞类型)、T 杀伤细胞(Tc 细胞)在不同微生物感染中的作用以及体液免疫的作用也分别进行了不同层次的研究。细胞因子(单核因子和淋巴因子)在其基因克隆、重组表达获得纯产品基础上正在进行分析其作用。单克隆抗细胞因子抗体及转基因鼠、基因剔除(gene knock-out)鼠的应用也为研究微生物的致病机制提供了工具与模型。近年来被称为“人类新瘟疫——艾滋病”的病原(人类免疫缺陷病毒)分离工作就是利用白细胞介素-2(IL-2)在体外培养 T 细胞成功的基础上获得的。人类免疫缺陷病毒的研究大大促进了抗感染免疫工作,因此近年来抗感染免疫又成为医学微生物学与免疫学交叉的研究热点。伴随因机体免疫低下而出现的大量机会微生物的感染,以及一些原已降低了发病率的传染病(如结核病)又开始在人群中传播。这些“旧仇”和新发现的“新瘟”在近代医学微生物学领域中,正在进行着新的挑战。

1.2 展望

20 世纪的后半期,医学微生物学经历了分子水平的突破,但对微生物基因的结构与功能研究仅仅是开始。核酸必然要通过其指导编码的蛋白在细胞或整体内发挥作用,因此对微生物基因信息的认识还需致力于对基因表达及调控的研究。微生物作为一大群多态性显著的生物将可作为人类基因组或动物基因组研究的较原始的模型。因此,微生物还将作为生物界中研究生命现象与规律的对象。医学微生物因与人的生命活动相关,在研究微生物与人类、环境的相互作用中更有其重要意义。

然而,医学微生物学毕竟研究的是与医学有关的,主要是病原微生物的生物学特性、致病性、机体与微生物的相互作用,以及特异的诊断、预防及治疗,因此除向分子水平发展外,还需重视从机体整体水平进行研究与发展。脱离了宿主,医学微生物学的发展将会受到挫折。因此医学微生物学与相关学科(细胞生物学、病理学、传染病学、流行病学、免疫学、生物化学等)间应有联系及交流。

展望未来,医学微生物学可能从以下方面发展:

1) 新现(emerging)与再现(re-emerging)感染微生物的研究 根据霍乱弧菌(O139)、大肠杆菌(O157)、汉坦病毒及多重耐药结核杆菌等的出现和再现,可以预料这类微生物引起的感染将是全球性研究的重要方面。由于这类感染可由新发现的微生物为病

原,也可能由已有的微生物为病原,因此需加强微生物特异诊断技术的建立、人员培训以及国际合作与信息网络的建立。目前我国尚不能广泛地建立医学微生物学诊断中心的条件下,可考虑建立一至数个有较完善装备及合格检验试剂的诊断中心,并加强这些中心与国外的联系网络。新现与再现感染的微生物除可引起某些疾病的流行或暴发外,还可来自医院内感染或由条件致病性微生物所引起。因此,在少数医院内加强微生物学检验及感染性疾病的病原学研究也是发展医学微生物学学科的重要策略。从危害性严重程度考虑,对于性传播及经输血和血制品传播的微生物应优先考虑;其次,则应加强对经消化道传播的微生物学特性及上述微生物对外界环境的抵抗力研究。这类研究的特点是必须结合临床及流行病学,因此应与医院及防疫站工作互相配合。

2) 规范化的微生物学诊断方法及技术的建立

由于微生物基因诊断方法的建立,核酸杂交、PCR及用合成肽或重组微生物抗原为基础的血清学诊断方法与技术已被广泛采用。此外,原有的鉴别细菌生化反应的方法已有试剂盒或自动化仪器。各种方法均有利弊,而且如何根据不同情况选择不同的微生物学诊断方法亦很重要。基因诊断方法有快速、敏感、特异性较高等优点,但如操作不当可出现假阳性或假阴性。此外,对于不明病原进行诊断时,单用基因诊断并不能解决问题,分离出能生长、繁殖的微生物方能对其生物学特性进行研究。对现有的微生物疫苗在监测其效果及了解微生物野毒株与疫苗株的关系方面,也需要获得有生命活性的微生物。从今后发展趋势来看,人与微生物及环境与微生物都有所联系,卫生微生物学涉及自环境(空气、水等)中分离并检测微生物。因此根据不同要求,发展并建立规范化的微生物诊断方法及技术也将是医学微生物学发展的另一个重要方面。

3) 新型微生物疫苗的基础理论与应用基础理论研究

医学微生物学的基因水平研究为发展新型微生物疫苗奠定了基础。今后将发展重组疫苗(单价或多价)及嵌合疫苗(微生物抗原与佐剂或细胞因子嵌合表达的疫苗)。随之发展的将是重组疫苗效果及不良反应的研究。重组疫苗与传统的微生物死(灭活)疫苗及减毒活疫苗的比较,特别是在诱生体液免疫(抗体的类别与亚类)、细胞免疫及可能产生的变态反应等方面的优缺点均需要进行深入的抗微生物感染的研究。核酸免疫(又称基因免疫)已显示可诱生较强的细胞及体液免疫的特点。微生物和(或)质粒中固有的某些核苷酸序列具有很强的诱生免疫应答作用,将是深入研究核酸

作为佐剂和编码特异性抗原成分的DNA免疫学的起点。微生物抗原呈递的研究也将对发展新型疫苗作出贡献。根据实验研究确认不同微生物的T、B细胞表位,组建嵌合合成肽疫苗等也可能有所进展。发展新型疫苗的基础是分子微生物学与抗感染免疫学科技工作者的协作与交流。

4) 新型治疗措施的研究与开发 抗微生物药物将继续沿着化学治疗剂及抗生素两大方面发展,其中的重点将是对抗病毒药物的研制与开发。抑制人类免疫缺陷病毒的药物开发已有了初步结果,因此从抑制病毒基因的复制与表达入手,特别是选择性地抑制病毒所特有的酶将是重要方面。微生物耐药性的机制研究与对策也是治疗措施中的一项重要内容。利用我国的中药,分析其有效成分及结构,从分子水平阐明其抗微生物的机制将是发展我国特有的抗微生物制剂的方向。近年来,由微生物(放线菌等)代谢产物中筛选出的抗生素不仅有抗菌作用,通过运用其他筛选模型,有的已证明有抗肿瘤作用及抑制免疫应答作用。在发现新的微生物药物的基础上,利用重组技术还有可能发展源自微生物的新一代重组药物。在基因治疗中,多种病毒(逆转录病毒、腺病毒、单纯疱疹病毒等)及少数细菌(如卡介苗)均已被考虑作为传递基因的载体而构成基因治疗的组成成分。由于治疗涉及微生物与宿主两个方面,除抗微生物外,利用微生物成分、抗原或代谢产物作免疫调控治疗,也是新型治疗措施的组成部分。

5) 微生物致病性的分子机制研究 医学微生物学发展的基础理论必然包括微生物致病机制的研究。通过开展微生物基因结构与功能的研究,将逐渐揭示微生物的致病基因或致病相关基因。这类研究将是医学微生物学特有的分子水平研究。在这类研究的基础上,将可从分子水平更有效地设计抑制致病基因的新策略。此外,还可通过构建缺失致病基因的人工突变株以建立新的无毒活疫苗株。

我国医学微生物学工作者在过去近半个世纪的研究中已为发展我国的医学微生物学作出了贡献,相信展望未来,在21世纪中还将取得更大成就。

(上海医科大学 闻玉梅)

参考文献

1. Melnick JL. 缅怀黄桢祥教授. 国外医学微生物学分册, 1993, 16: 271
2. 袁正宏. 病毒及其相关疾病. 国外医学微生物学分册, 1996, 19: 7