

国外牛白血病文献专辑

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

(1 9 8 3)

前 言

牛白血病是以淋巴细胞的异常增生为主要特征的肿瘤疾病。自1878年由德国学者报导以来，相继在欧、美洲的一些国家发生。最近十余年来，疫情不断扩大，几乎遍及全球。目前，世界上有些国家对本病的研究十分重视，不断出现成果。

我国据初步调查，也有本病的发生，有的牛场污染率较高。为了提高牛白血病的研究水平，促进研究工作的进展，我们搜集了一些国家有关研究牛白血病的文献共二十二篇，组织人员进行了翻译并编辑成册，供同道们参考。

由于我们业务水平，编译能力有限，在编译中难免有缺点和错误，请读者多多提出批评指正。

编 者

一九八三年十一月五日

目 录

关于牛白血病病毒遗传性质的新论据·····	(1)
在牛白血病的发生和扩散中病毒和遗传因素的作用和意义·····	(5)
用核酸分子杂交法成功地复制牛白血病·····	(8)
牛白血病对人类危害的研究·····	(11)
试验感染牛慢性淋巴白血病发展过程多年观察的总结·····	(14)
牛白血病病毒在国际病毒分类中的地位·····	(16)
牛白血病血液淋巴细胞表面免疫化学的研究·····	(19)
用犊牛实验复制牛白血病的试验·····	(21)
论感染白血病奶牛的奶和血液的致白血病因子的特点·····	(24)
酶联免疫吸附试验与早期多核的细胞抑制试验, 琼脂凝胶免疫扩散试验对牛白 血病病毒抗体测定的比较·····	(29)
生物化学的和免疫学的检验法对牛白血病病毒的生前诊断·····	(38)
应用放射免疫法研究牛白血病病毒·····	(40)
在实验性白血病条件下对诊断方法的比较评价·····	(43)
补体结合反应和免疫扩散反应在揭发抗牛白血病病毒抗原的抗体上的敏感性的 比较研究·····	(48)
应用现行诊断方法在立陶宛一些农场检出的牛白血病发病率研究其流行病学的趋势··	(52)
不同的培养条件对牛白血病病毒自牛外周白细胞中释出的影响·····	(55)
用不同的途径接种牛白血病病毒敏感性的研究·····	(59)
白血病牛细胞抗原对异种和同种的动物机体的作用·····	(64)
地方性牛白血病初期病变的病理学研究·····	(66)
非白血性牛白血病病理学研究·····	(71)
公牛的短暂性牛白血病病毒血症·····	(78)
直接检出牛白血病病毒的方法·····	(82)

关于牛白血病病毒遗传性质的新论据

(НОВЫЕ ДАННЫЕ О ВИРУСО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРИРОДЕ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА)

拉脱维亚科学院 Август Кирхенштейн
微生物研究所 Р.А.Кунайн 著

原载 Этиология и иммунодиагностика лейкоза крупного
рогатого скота, 1979, 7~12

贾鹏翔 译 关声寰 校

1945年我国的 Л.А.Зильбер 首先提出了形成肿瘤病毒遗传假说。根据这个假说,病毒的遗传物质与细胞的遗传物质整合在一起,其结果导致恶性转化。当时 Л.А.Зильбер 还不具有足够的实验材料可以证明他提出假说的正确性,因为没有发现逆转录酶,所以不能解释 RNA 肿瘤病毒和细胞 DNA 整合的机理。

肿瘤病毒学,特别是它的分子遗传方面的蓬勃发展完全能够证实肿瘤病毒与细胞互相作用的整合类型。用分子遗传学方法所进行的直接试验表明,在肿瘤细胞的基因组中是和肿瘤病毒基因组整合在一起的形式而存在的。

对大多数研究者来说,意外的事实是在正常细胞的基因组的整合形式中发现有肿瘤病毒基因组。

1969年 Р. Хюбнер 和 Д. Тодаро 只根据免疫学的和电子显微镜研究资料提出了病毒基因的假说。据此,每个正常细胞(包括胚细胞)的基因组中含有整合形式的肿瘤病毒基因组。根据这个假说,组成病毒基因的肿瘤基因是致肿瘤的载体。在正常细胞里病毒基因可能完全被压制。各种不同的因素,无论是外界的还是内部的环境(化学的、生物的、物理的)都能引起病毒基因的部分的和全部的表达。当病毒基因在细胞内全部表达时,就合成完整的致肿瘤侵染的肿瘤病毒。在病毒基因的部分表达时,只是基因的个别部位起作用,只能合成肿瘤病毒结构的蛋白质或者有缺陷的侵染病毒(无肿瘤基因)而不具有致肿瘤的特性。在肿瘤基因表达时,只能使细胞的肿瘤性转化而不产生病毒粒子。病毒基因的作用和细胞的其他基因一样受细胞机制的控制。

Хюбнер—Тодаро 的假说对肿瘤病毒学研究的发展是大有益处的。它的很多原理得到了自己实验的证实。确实,在很多种动物的正常组织里发现有内源性肿瘤病毒。它的基因组与正常细胞基因组整合在一起。内源性病毒的全部的和部分的表达也受到细胞机制的控制。但是到目前为止,在每个正常细胞内存在致肿瘤基因的问题仍是不清楚的。

致肿瘤病毒，特别是致肿瘤的 RNA 病毒—肿瘤病毒生物学的研究允许以新的从实验上获得的事实出发对进展中的病毒—遗传假说进行观察

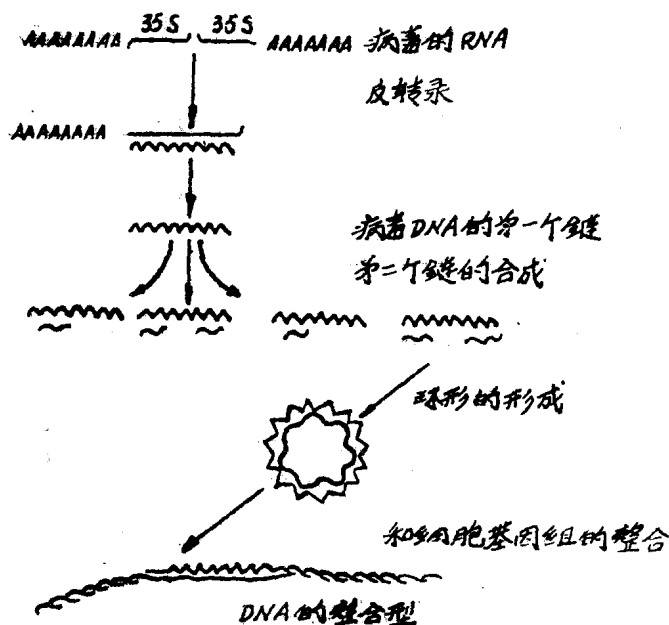


图 1 肿瘤病毒 DNA 复制合成的可能过程和它与细胞 DNA 的整合图

已确定，肿瘤病毒基因组是由 2 个亚单位的 RNA 组成，其沉降常数为 35S。

图 1 是推测 DNA 病毒形成过程和它与细胞 DNA 整合的图解。在病毒粒子中以 RNA 为模板在逆转录酶的作用下合成病毒 DNA 的第一条链，然后合成第二条链并进行原始肿瘤病毒 RNA 的复制。下一步大概是形成环形的 DNA—前病毒和与细胞的染色体 DNA 整合，其结果形成侵染形式的 DNA 细胞。

近年来，在许多实验里详细地研究了某些肿瘤病毒的基因组结构。

鸡和小鼠的 C 型肿瘤病毒基因组的结构研究的更为详细（图 2）。gag 基因的编码可译成病毒粒子结构蛋白质。这种蛋白质具有抗原的特性并对鸡、小鼠等其他的白血病—肉瘤综合症病毒组是组特异的。POL 基因编码可译成逆转录酶；env 基因—合成膜的糖蛋白，Src 基因与蛋白质的特异转化有关。

Л. Дасберг 等指出，肿瘤病毒的致肿瘤的特点与决定肉瘤生长的 Src 基因存在有关或者与决定白血病发展的 Luc 基因存在有关（图 3）。

非病原性肿瘤病毒大概在它的基因组里没有肿瘤基因，所以不能引起肿瘤转化。

在 1977 年 Ларкс 和 Скольник 发表了关于获得 src 基因转译品的研究结果。在体外系统中，用病毒 RNA 得到了分子量为 21000 g 的蛋白质。推测这种蛋白质的表达依赖于细胞因素。

对内源性肿瘤病毒，也就是它的基因存在于宿主的正常细胞里的病毒的深入研究发现，这些病毒对宿主不是危险的，而且大概在生理过程中起一定作用，还对宿主细胞致肿瘤的敏感性有些影响。

病毒的研究表明, 在拉脱维亚褐牛品种实际上健康动物的组织中无论是自发地还是在化学因素作用下, 内源性病毒表现出来是比较容易的。这些材料证明了上述的推测, 内源性病毒的

附表 对不同品种牛血清中牛白血病病毒 P 24 抗体的测定

№пп	品 种	被检动物总数	抗 体 检 出 情 况			抗体检出率
			阳 性 数		被 检 数	
			健 康 的	疑似白血病患者		
1	Англер (西德)	47	0/47	—	—	0
2	黑白荷兰	312	0/312	—	—	0
3	黑花丹麦	290	1/290	—	—	0.34
4	黑花立陶宛	48	5/48	—	—	10.4
5	Гольштинско-Фризская(加拿大)	54	9/48	0/5	0/1	16.6
6	拉脱维亚褐牛	954	81/829	44/79	25/46	95.1
7	黑花(西德)	193	0/193	—	—	0

表达与内源性肿瘤病毒和宿主细胞 DNA 整合过程的缓和有关。拉脱维亚褐牛对牛白血病病毒的感染有较高的敏感性, 大概与内源性病毒的表达有关。

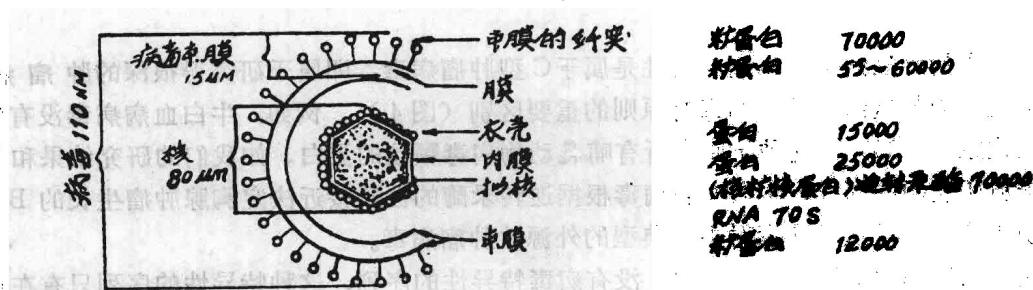


图 4 牛白血病病毒颗粒图

对所获得的资料分析表明, 必须对牛白血病发展过程中的内源性和外源性肿瘤病毒的相互作用进一步加以研究。

(参考文献从略)

在牛白血病的发生和扩散中病毒和遗传因素的作用和意义

(РОЛЬ И ЗНАЧЕНИЕ ВИРУСНОГО И ГЕНЕТИЧЕСКОГО ФАКТОРОВ В ВОЗНИКНОВЕНИИ И РАСПРОСТРАНЕНИИ ЛЕЙКОЗА КРУЛНОГО РОГАТОГО СКОТА)

苏联农业部全苏国家兽医药品科学—监察所
苏联农业部兽医管理总局А.М.Лактионов等

原载 Этиология и Иммунодиагностика лейкоза
крупного рогатого скота, 1979, 13~19

贾鹏翔 译 关声寰 校

近年来,由于兽医和医学科研工作者的合作,在牛白血病的病原学和诊断问题上获得了重要资料。其中在患白血病的牛的淋巴细胞中发现有C型病毒粒子,并在其血清中含有抗这种病毒粒子所制备的抗原的抗体。在苏联和在国外许多研究者成功地对犏牛,甚至羔羊进行了白血病的实验发病。必须指出,进行实验性白血病的试验已有很长的历史。在本世纪七十年代以前很多作者报导的试验结果均为阴性。近年来,发表了许多关于成功地复制白血病试验的报告。这些报告多为美国研究者和拉脱维亚科学院АВГУСТ КИРХЕНШТЕЙН微生物研究所科学家们所著。在这些研究者的试验中,把氢化可的松作为免疫抑制剂。还早一些,在1967年全苏实验兽医研究所在Краснодарский 兽医卫生科研所人员(А.М. Лактионов, П.В. Филатов, Г.С.Петровский, Л. А. Князев)的参加下,进行试验。他们把ИМУРАН作为免疫抑制剂。在两个平行的对犏牛的试验中,把患白血病动物的原血和器官的浸出液注入犏牛的肌肉和胸骨内,试图复制白血病。在第1组动物中,有16头新生犏牛,第2组有9头新生犏牛。对第1组犏牛经过4.5年的观察,没有发现任何异常状态。这是经过剖杀结果和器官的组织学检查材料所证实。第2组犏牛除注射被感染的病料外,还用了имуран作为免疫抑制剂。对第2组犏牛的观察中(试验中9头有2头由于其他原因被淘汰),一些牛在3~4年间开始出现白细胞增多。在第5年有4个动物出现异常指标,其变化与慢性型白血病相符。经过7年,这组牛中有1头死亡(脾破裂)。以后,对其余牛只迫杀时,用组织学方法证实是感染了白血病。这可能是因为免疫抑制剂对机体防御系统的抑制,从而导致实验性复制白血病的阳性结果。

在牛白血病问题上还有许多问题不清楚。诸如,不给健康动物注射患病动物的病料而由于其他原因发生白血病;在临床健康的动物体内发现C型病毒粒子的情况;不仅在牛而且在其他种动物也存在有抗它们的抗体等,所有这些暂还没有根据认为病毒是本病的唯一原因。

要阐明这些问题还要做大量的工作，如不仅有50%感染白血病的病猫，而且有30%的健康猫发现有C型病毒粒子，它们中的40%也有抗体存在。在患皮肤型和甲状腺型白血病动物和患白血病的年青动物没有抗体的原因至今尚未清楚。必须指出，上述情况给现阶段应用免疫诊断方法对这个问题的研究带来困难。然而，现实要求制定有科学根据的措施，这种措施能够限制甚至停止牛白血病的扩散。

病毒学和免疫学的研究，诊断方法和发病机理以及白血病预防措施的研究是医学和兽医学的共同任务，但是，以兽医学上的研究条件更为有利，因为有可能用同种动物（牛）进行试验。此外，在畜牧业上对幼畜施行提高经济效益的管理，有助于对本病传给后代的特点进行跟踪观察。其中对系谱的调查研究和关于白血病遗传给后代的大量文献资料以及直接的观察表明，在研究牛白血病防治措施时，必须重视遗传因素。以此为目标的细胞核的研究结果，就是说在患白血病的动物可观察到染色体数目异常，即与健康动物的区别是染色体数量增多，高于正常指标。在对健康和患白血病牛的骨髓细胞染色体组型的比较研究中表明，健康动物非整倍性染色体的细胞数量波动在8~9%范围之内。患白血病牛可见非整倍性染色体，中期数量显著增多（40%）并伴有整倍数染色体过多的组出现。这在健康动物没有发现过。据此，应对本病发病学的遗传观点给以一定的注意。

大家已经知道，遗传的基础是把物质因素传给后代，这种物质因素是以出现与父母特征相似的新陈代谢类型或者是机体发育的趋向作为条件。但是，后代遗传缺陷特征的出现，有时要经过长时间才可能发现。例如，从美国引进到日本的公马Суперб是某些缺陷基因的携带者，这种基因使其后代的结肠肠管闭锁，经过40年才被确定。由荷兰引进到瑞典的名叫Принц—Апольф的公牛，经过很长时间，才将无毛的缺陷遗传给后代。还发现引进到芬兰的公牛Данлоп—Талисман将脑水肿遗传给后代。这头公畜将黑色素肉瘤传给很多后代的事实，在长时期内并未予以注意。不论是动物还是人，在有血缘关系的家族中，父或母，他们的儿子和女儿以及姑或叔，祖父或祖母患有白血病不能认为是偶然的。对系谱始祖上数百例后代的资料分析以及对孪生子，特别是嵌合体（一个卵的）患白血病的医学研究的观察证实了白血病的基因特性。根据白血病的基因原理，可以令人信服地说明这样一个实例：即在蒙古人样白痴（Down）病由三染色体所引起的（在第21对染色体多一个染色体），而患白血病时，其染色体比个体正常染色体组高20倍。

在研究拉脱维亚褐牛品种的形成和对其后代系谱的分析结果确定，拉脱维亚的种公牛主要是从丹麦引进的，而这个国家的牛只患有白血病，因此，在引进的公牛中也带有病牛。

当前所观察和分析的资料是从许多大畜牧场收集的。这些牧场中饲养有各种品种的牛，红色立陶宛、褐色拉脱维亚、红色爱沙尼亚、黑花，特别是红色草原品种牛约占苏联种畜的23%。这些资料表明，在它们当中很早就存在着近亲繁殖。可以毫不怀疑，在苏联的一些地区白血病的扩散是由丹麦和德意志民主共和国引进的牲畜带进的。例如，在1957~1963年及其以后由丹麦引进到立陶宛的Хойягер和Еске品种公牛中，有17头为白血病阳性动物（28%）。在某个农场，用2头患白血病的公牛精液配种，其后代经检查判定为白血病阳性的一些母牛予以迫杀，其中有34头是这些公牛的女儿。在另外一个农场，用另一头患白血病的丹麦公牛的精液配种，所产母牛中有24头白血病牛被迫杀。公牛的3个儿子和它的弟兄也因患白血病被杀掉。这头公牛弟兄的精液被用于立陶宛的一个农场，在这个农场被迫杀的白血病牛当中有57%是它的女儿。

在“Булдур”农场（拉脱维亚）有36头奶牛与16头公牛杂交。在这些牛的后代中有11头患了白血病。根据家谱以及血族和半血族关系状态的分析比较，可作如下结论：16头种公牛中，8头牛有白血病的遗传性。这种情况在很大程度上危及了名叫 Рудме-Данис 和 Диментс-Грестис 公牛的名誉。毫无疑问，在褐色拉脱维亚品种牛的遗传结构上，表现有从丹麦引进的患白血病的种公畜的遗传因子。

В. А. Бусол 的文献报导说明遗传因素的作用对牛白血病的扩散有着重要意义。他在分析700例白血病中确定，有36例由于血族关系而患白血病，50例是母亲和女儿患病，4例是母—女儿—孙女3代均发病。在103例中，系谱始祖的傍系一叔、侄也发现了白血病。其他苏联作者的报导也证明了遗传因素的作用。

还可以举出在牲畜繁育中，由于近亲繁殖而发生白血病的类似例子。大量的资料完全可以证明垂直传播是本病的基本方式（垂直传播方式不只包括经病牛胎盘、奶和初乳传给它的犊牛）。

对白血病起因的遗传理论有如下几种观点：

1) 病毒的、2) 遗传的、3) 病毒遗传的。

第一种情况，应把白血病看作是外部因子（病毒）进入细胞内和作用于代谢过程的结果，随着这种因子在细胞系统内的复制而发生病理性的细胞生长。第二种情况，是白血病基因本性过程的表现。第三种情况，白血病的发生是由于带有病毒RNA的新的遗传信息的细胞DNA的形成和在逆转录酶作用下，具有核酸内切酶和脂酶参与病毒基因工程的结果。

在现代水平上，研究白血病还不能排除白血病的发生是有潜在病毒诱导的结果。同时，不该忘记，致肿瘤病毒能长期处于“休眠状态”和在其他诱导因素的作用下，如物理的、化学的以及能改变激素平衡应激等的活动。因此，必须注意研究肿瘤病毒粒子的来源问题，它们是否是外部来源的或者把它们看成是处于前病毒（провирус）形式存在的组成成分和是细胞的直接衍生物。

病毒遗传理论，假定病毒的和细胞的基因组合并（инкорпорация）并产生新的生命系统和特性，同时开辟自己的双重的遗传编码。发生牛白血病的病毒遗传理论是合理的，并被多数研究者承认。但同时这不能排除承认白血病也是遗传上决定的伴有隐性经过的疾病。对遗传的意义不能低估。但是，在基因水平上基因装置的变化是找不到的，可能只有用间接办法才能证明。在远亲出现牛白血病或者隔代（奶奶～孙女）出现本病证明，患白血病的素质或者本病的出现是按 Мендель 规律遗传隐性形质。但至少应该注意到两种情况：第一、隐性基因，更准确些是它的遗传等位基因，如果它所在的那对是和自己相同时，它可能表现出来，也就是说处于同质结合状态（纯合子）。第二、在没有应激（在良好的外界条件下）和纯合子隐性特殊的“不完全显性”时，隐性基因可能表现出来。如果考虑到等位基因性，我们就排除了纯合子隐性。以这样的假定帮助我们理解白血病表现的多种形式以及不同的（按剧烈程度和长短等等）形式的病程。

近年来有很多关于发现抗C型类病毒粒子抗体的报导。从此有了利用这种情况进行白血病诊断的可能。为此目的我们试图着手对白血病血清学诊断进行研究。与常规血液学检查同时试验了丙烯塑料颗粒凝集反应。此反应提供了很有希望的结果。在患有白血病的场中，它比血液学分析多揭发了大量的不安全动物。凝集反应阳性动物的病理形态学检查结果与血液学阳性反应动物比较表明，乳胶（латекс）凝集反应比血液学检查结果有较大的可靠性。但

是这一有前途的反应没有取得进一步的推广，因为没有可能制备必须提供的足够量的聚苯乙烯和聚甲基丙烯酸（ПОЛИМЕТАКРИЛАТНЫЙ）乳胶进行长时间大量地检验这种方法的实用价值。

因此，确定C型病毒粒子作用、研究特异的血清学诊断和在考虑到遗传是本病扩散主导因素的基础上制定康复国家畜牧场的措施等问题是近期内研究牛白血病问题上的主要方向。

（参考文献从略）

用核酸分子杂交法成功地复制牛白血病

(ПОДТВЕРЖДЕНИЕ УСПЕШНОГО ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ
ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ
НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ)

拉脱维亚科学院АВГУСТ КИРХЕНШТЕЙН 微生物研究所

苏联医学科学院实验病理和内科科学研究所 А.Г.ДЬЯЧЕНКО等 著

原载 ЭТИОЛОГИЯ И ИММУНОДИАГНОСТИКА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО
РОГАТОГО СКОТА, 1979, 42~45

贾鹏翔 译 张永江 校

根据牛白血病研究所获得的材料，提出了在本病中被称为牛白血病病毒的C型肿瘤病毒的病原学作用的推测。病毒粒子在形态上与C型肿瘤病毒一样，并经常在白血病患牛的淋巴细胞中检出。

复制牛白血病的实验表明，在注射病畜材料时，本病不仅能垂直感染，而且也能水平感染。并且，从病牛白细胞短期培养物中分离出的牛白血病病毒能够在犊牛、绵羊和其他动物体上诱发出临床上类似白血病的疾病。

在感染白血病的牛中以及在本病污染严重的牛群中所进行的大量血清-流行病学调查证明，在大多数的被检动物体内存在有抗牛白血病病毒的抗体。

由于在白血病牛体内发现了白血病病毒的特异性序列，但同时健康动物体内几乎完全不存在，因而推测牛白血病病毒是外源性的。用放射免疫分析（RIA）和核酸交叉杂交方法进行的研究表明，在牛白血病病毒和其他已知的C型肿瘤病毒之间没有发现共同抗原簇与核酸的同源性。

应用核酸分子杂交法能够实现自然发病动物或实验复制白血病动物细胞DNA中存在的白血病病毒特异性序列的比较研究，以及这种信息在患病动物的细胞中的表达。

应用聚合琼脂糖亲和层析方法,从 $\Phi P-1$ 传代细胞短期培养的白细胞培养物中和病牛血浆中获得了牛白血病病毒的聚(a)—RNA。利用从培养液中分离出的牛白血病病毒的聚(a)—RNA,在放线菌素D存在下,借助AMV—多聚酶合成 3H -DNA复制物。如果采纳了在DNA—产物中含有等量的全部4个核苷酸,所获得的 3H -DNA—转录物就会有成比率力的放射性,强度为 1.2×10^7 脉冲/分MKS。进行 3H -DNA产物与细胞DNA和RNA的杂交反应有两种方式:在含有5 SSC (标准盐酸柠檬酸盐渗液)和50%甲酰胺(37℃)溶液中和在0.5M磷酸缓冲液中含有0.05% SDS (十二烷基硫酸钠)(66℃)的硅酮树油层下进行。为了测定在细胞DNA中病毒复制的数量,研究了细胞DNA重复结合的动力学。为此,利用了健康犊牛的胸腺DNA(试验的重复数值以低染色效应为准)和母牛胚胎成纤维细胞的 3H -DNA。借助核酸酶 S_1 进行了将双链序列分解成单链序列DNA的试验。将不溶于三氯醋酸中的物质收集在微孔滤膜上,用 β -闪烁计数器测定放射性。分析结果时没有对 Na^+ 离子浓度进行校正。

通过测定从患白血病病牛血浆(在血浆中发现有大量的C型病毒)分离出的牛白血病病毒聚(a)—RNA的同源性对在牛白血病病毒聚(a)—RNA模板上合成的 3H -DNA产物(沉降常数 $4 \sim 6S$)进行分析。用劳氏小鼠白血病病毒RNA和酵母RNA作对照(图1)。

为了在患白血病病牛的细胞里显现出病毒的基因信息,进行了牛白血病病毒 3H -DNA与细胞DNA杂交试验。表1是用细胞DNA与牛白血病病毒 3H -DNA杂交的结果,其数值为 $cot = 2200 M.C/\Delta$ 。可以明显看出,实验动物白细胞DNA杂交值与自然发病白血病牛DNA杂交相等。

在图2表明了牛白血病病毒 3H -DNA与病牛白细胞DNA杂交试验的动力学变化。其数值为 $c_0t_1/2 = 170 M.C/\Delta$ 。对用作内部标准细胞DNA固有的序列来说, $c_0t_1/2 = 500 M.C/\Delta$ 因此,可以得出结论,在受侵害的白细胞的DNA中,细胞上有3个牛白血病病毒特异的序列复制。

为了阐明被整合的病毒信息的表达,进行了牛白血病病毒 3H -DNA与全部细胞RNA的杂交。孵育进行到 $cot = 2400 M.C/\Delta$,其结果见表2。

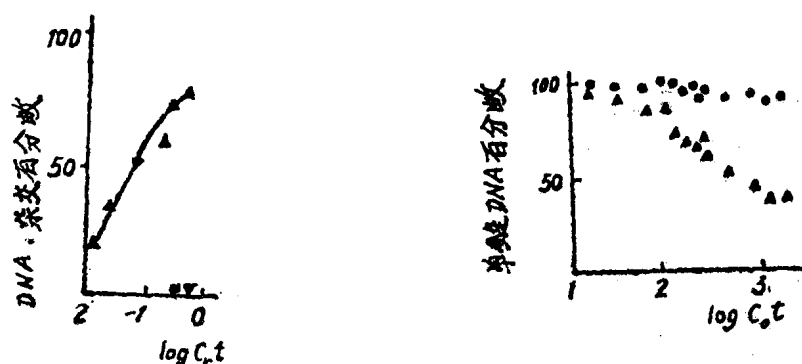


图1 牛白血病病毒 3H -DNA与从白血病牛血浆中分离出的聚(a)—RNA杂交

杂交的混合物(0.1ml)含5,SSC、50%甲酰胺、0.05% SDS (3500脉冲/分)(~ 2.8 hr)

DNA产物: 1mg/ml 鲑鱼精DNA和 4.5MK₂ 牛白血病病毒聚 (a) —RNA (▲) 或者牛白血病病毒RNA或者10MK₂ 酵母RNA (●)。经过规定的间隔时间收回可分量, 检查对S₁—核酸酶复合物的稳定性。所有数值都是两次平均测定值。

图2、公牛DNA与牛白血病病毒³H—DNA杂交的动力学变化, 体积为0.1ml 的杂交的混合物含5000脉冲/分 (~4hr) 的³H—DNA产物和0.32mg白血病细胞DNA (▲) 或犊牛胸腺的正常DNA (●)。在异种酵母4S RNA 存在的情况下以牛白血病病毒³H—DNA 感作方法所确定的2%底数上校正其结果的。

表1 牛白血病病毒³H—DNA与牛白细胞DNA杂交

DNA 的 来 源 ※	杂交的百分数 (%)
实 验 白 血 病	82
实 验 白 血 病	94
实 验 白 血 病	85
实 验 白 血 病	81
自 然 白 血 病	80
正 常 (白 细 胞)	24
正 常 (胸 腺)	17

※主要从动物白细胞分离出的DNA。

表2 牛白血病病毒³H—DNA与牛全部细胞RNA杂交

RNA 来 源	杂交的百分数 (%)
实 验 白 血 病	72
自 然 白 血 病	80
正 常 (白 细 胞)	1
正 常 (白 细 胞)	0.5

根据所进行的研究可以做出如下结论, 在患白血病牛白细胞的基因组内出现了另外一种在正常状态下, 不存在的并和牛白血病病毒有亲缘关系的信息。由此可以自然地提出, 牛白血病病毒的外源性本质和它水平传播的可能性。

牛白血病病毒³H—DNA 产物与实验的和自然淋巴白血病动物细胞核酸杂交的相同水平说明, 在实验条件下复制自然白血病过程模式的成功。

(参 考 文 献 从 略)

牛白血病对人类危害的研究

(十年观察的总结)

(ИЗУЧЕНИЕ ВОПРОСОВ ОПАСНОСТИ ДЛЯ
ЧЕЛОВЕКА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА)

苏联卫生部输血及血液病研究所

М. П. ХОХЛОВА等 著

原载 *Этиология и иммунодиагностика лейкоза крупного рогатого скота*, 1979, 20~24

王振漪 译 关声寰 校

根据病毒性的病因学观点,研究家畜白血病对人类的潜在危害性,是医学上的一项重要任务。研究人与牛白血病及淋巴细胞性白血病 (Гемоблостоз) 之间的相互关系则具有更为现实的意义。牛白血病在世界许多国家广为传播,而且近数十年来,这些疾病的发生更趋频繁。审视这一课题时,必须考虑到以下诸多事实:如在养牛场附近有大量人口集居;职业性接触牲畜(据1970年人口登记资料,在苏联约有五百万人口从事畜牧业和乳、肉品加工业);大量食用乳及肉制品;使用动物原材料制取疫苗和激素制剂等。

由于近年来发现了牛白血病病毒,以及试验证明这一病毒可通过不同途径(主要通过牛乳、初乳和皮内接种)在动物间进行水平感染,这对本病的深入研究起着巨大的推动作用。

流行病学调查在研究牛白血病对人类潜在性危害的问题中占据重要地位。60年代初就已经开始了这方面的研究。由于缺少资料,而且现有资料也相互矛盾,促使我们于1967年会同兽医专家开始了本项课题的研究。中央输血及血液病研究所白血病流行病学和组织病理学研究室在主持这项研究工作过程中,采用了苏联卫生部1976年批准的“人白血病与动物疾病关系的流行病学调查”规程中所推荐的各种方法。

工作第一阶段比较分析了本病多发地——波罗的海沿岸各加盟共和国牛和人白血病的地区分布。在比较各区的死亡率时,并未发现人和牛白血病的流行有明显平行关系。在丹麦、瑞士、法国和乌克兰按省和地区比较观察时,也都得到了类似的结果。以行政——地理大区为单位,在德意志民主共和国、德意志联邦共和国和波兰人民共和国发现人和牛白血病之间传播频率有相互关系。然而由于分析大区所得的平均结果并看不出地域条件的差异,这是因为不仅统计了农场附近的,而且也统计了距农场相当远的居民发病情况。为此,我们进一步又按较小的地区,如对村苏维埃和集体农庄做了比较分析。此时,我们得到的是阴性结果。就

流行病学观点而言,最有价值的还是按居民点研究疾病的比较分布。对此,只有美国和波兰的个别学者做了些工作,然而就这些工作,在很多情况下,也是建立在缺少充足的材料基础之上的。

我们在莫斯科地区(约有250,000农业人口)的5个区内按居民点,对人和动物白血病分布作了详尽的分析。全部工作共进行了5次考察收集材料。从1965年至1973年登记了284名白血病患者,这些患者都是首次检出的。这项工作是与全苏实验兽医研究所(ВИЭВ)工作人员共同完成的。收集人和牛白血病病例资料的方法列于表1。

在莫斯科地区观测区内共有661个居民点,其中440个居民点中没有牧场。其余的221个中有牧场。在72个场中发现有的牛患白血病。须说明的是,这些畜牧场或位于居民点内,或与居民点相距不远(10~200米)。根据5个区农业居民发病总数,计算出居民点每个组预计白血病患者数。在鉴别患者人数和预计人数的差别时,要根据“比森氏的少见现象”的规定来考虑疾病的地区分布。对上述居民点各组内被观察的病例和预计病例的人数之间并未发现有统计学上的明显差异。如在患有白血病农场附近的居民中发现有49例患者,而预计患者数为55.8例(相对危险率,亦即观察人数与预计数之比极近于1)。众所周知,在小居民点内,农场就是基本经济单位,居民大多数服务于养牛业。而大村庄,按其结构则接近于城市型的村镇。基于这一点,我们分别在人数不同的居民点认真地进行了分析(300人、700人以至1500人以上)。从经过处理的资料来看,在调查的居民组中并未显示出白血病发病危险性的提高。

表1 莫斯科地区人和牛白血病资料收集方法

人的资料(ЦНИТПК)	动物的资料(ВИЭВ)
I、发病情况 研究区或地区医疗机构的档案。 II、职业以及接触动物的情况 研究村苏维埃。单位干部处的档案。 到居民区查询患者和对照人员。 III、人口统计学资料 研究区和地区统计机关的资料。	I、流行病学状态 研究临床—血清学和组织学检查材料 (区和地区兽医机构ВИЭВ)。 II、具体发病情况的情报(农场、部门、确诊时间)。 去农场研究兽医档案。

鉴于饲养管理过程中人与牛只接触密切,而且直接从事护理牲畜人员较其它农业人口饮用生牛奶的机会更多,因而调查这些人员的白血病发病率具有更重要的意义。经按户询问,我们搜集到接触牲畜的257位患者(16岁以上)的病历资料,对照组是选自同一居民点的293位居民。不管是在农场,还是在家庭,只要参与饲养牛只的都属于“接触”之例。用Мантель和Хеншель氏的改良法对材料进行统计学分析,这一方法借助标准化可以排除患者和对照居民的性别、年龄和职业对于所研究相对关系的影响。同时又分别分析了接触时间的长短,发病前10年和在10年前具有接触史的。所得结果经过处理后表明,农业居民患有白血病和在发病前接触牛只并无相关。从分析在白血病患者总数中有7人是在牛白血病病场工作

的,而10名患者来自对照组,这一事实可以证明这些差异没有统计学意义。

我们收集到的详细材料得以将白血病患者和对照组居民按职业进行对比。按 χ^2 准则进行分析表明在从事农业生产,特别是从事畜牧业生产的居民中并没有本质区别(表2)。业已查明,加里福尼亚州兽医人员中白血病和淋巴瘤造成的死亡率并不高于该州全体居民中的死亡率。

基于推测对接触白血病牛的工作人员患白血病危险性可能更大,所以我们在拉脱维亚共和国和立陶宛共和国对挤奶员做了预防性检查(在畜牧业的平均工龄为8年),其结果并未发现白血病前期所特有的血液学变化。与白血病患牛接触和与健康牛接触人员的血液象指标也没有发现有统计学意义的差异。其它学者也曾得出过相似的结果。由于这类居民中白血病和淋巴瘤相对极为少见,因此,调查工作应基于大量材料的积累,也要求长时期观测被检人员。

表2 白血病患者和对照人员按职业的对比(莫斯科地区的5个区)

职业性质	患者组(%)	对照组(%)
农业工作人员	25.0	24.2
其中畜牧工作者	11.2	10.9
工人、职员、学员	44.0	48.8
服务的工作人员	8.0	9.9
退休人员、家庭妇女	23.0	17.1

现在我们已经是在莫斯科地区的观测范围内组织了畜牧工作者预定观察组(共6000人)。对每个工作人员都建立卡片,上面注明性别、年龄、居住和工作(农场)地址、专业、工会。按职责、畜牧工作人员大致分类如下:挤奶员——48.0%,饲养工人——34.5%,农场负责人、兽医和技术人员——9.2%,其它专业的代表——8.3%。今后,计划研究这些居民总数中患白血病的危险性。

发现病毒和分离出病毒,使得有可能进行血清学——流行病学调查。近年某些研究工作试图在人体检出牛白血病病毒的抗体。经分析患白血病的兽医工作者、农场工人和肉、乳制品加工企业工作人员的血清并未发现这种病毒的抗体。在这些工作中曾使用多种免疫学方法:琼脂免疫扩散反应,免疫荧光反应,放射免疫试验。据发表的资料认为,被检人数还嫌太少。另外,也应考虑到上述检测抗体方法的敏感性实际上还有区别。

最近,做为对照观察,我们和莫斯科兽医学院的白血病试验室共同协作,开始研究输血者是否存在抗牛白血病病毒抗体。观察所得结果公布于本集В.Т.Кумков, В.А.Кумков, А.Р.Маргиросов, В.П.Шишков, М.П.Хохлова, Б.З.Иткин的文章中,题目是“人血清中是否含有牛肿瘤病毒抗体的血清学检查结果”。

综上所述,我们做的综合性流行病学调查结果,以及许多学者所得到的研究结果,都未得以证实牛白血病对人类具有危险性。但同时,考虑这一问题的现实意义及其复杂性,要取得最终结论,还必须继续进行综合性研究,其中包括血清学和流行病学调查所用的许多方法。

(参考文献从略)

实验感染牛慢性淋巴白血病

发展过程的多年观察总结

(ИТОГИ МНОГОЛЕТНИХ НАБЛЮДЕНИЙ
РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО
ИНДУЦИРОВАННОГО ХРОНИЧЕСКОГО
ЛИМФОЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА)

苏联拉脱维亚加盟共和国科学院 АВГУСТ КИРХЕНШЕЙНА

微生物研究所 Р. А. Кунайн 等 著

原载 ЭТИОЛОГИЯ И ИММУНОДИАГНОСТИКА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО
РОГАТОГО СКОТА. 1979, 36~39

王振漪 译

关声寰 校

近年来,在牛白血病的病毒性本质方面已经取得了大量研究成果。但是,这一问题仍然是现代肿瘤学的迫切任务之一。因为白血病继续侵袭着各种动物和人类。以前我们已经多次报导过病毒对牛白血病病原作用的试验结果。

本文列举了对实验性感染淋巴白血病牛多年研究和全面检查的结果。1970年在拉脱维亚加盟共和国科学院 Август Кирхеншейна 微生物研究所进行了复制牛白血病的首批试验。感染用的原材料采自5头供试牛,它们都是原发性淋巴白血病牛,并在淋巴细胞中含有C型肿瘤病毒。全部试验动物根据接种材料分成三个组:

第一组 28头犍牛接种了全血、血浆、白细胞和白细胞提取物。

第二组 11头犍牛接种了蔗糖密度梯度浓缩和提纯的牛白血病病毒(БЛВ),病毒分离自外周血白细胞短期培养物的培养液。

第三组 4头犍牛接种了从原发性淋巴白血病患牛的牛乳中分离出的细胞БЛВ。

各组都设有相应的对照组。给对照动物接种血液学检查系健康牛的相应材料,以及经加热灭活的БЛВ。

给不同龄的动物(初生的、10~14日龄、6月龄和一年龄)经腹腔内、静脉内、肌肉接种的被检材料中加入水解肾上腺皮质激素。全部试验共用43头犍。

目前还有33头动物正在观察中。观察动物的时间由2年到4~7.5年。试验期内对所有动物都进行严格的临床血液学、病毒学和免疫学的监测。

试验结果表明,全部材料(其中包括提纯病毒),不管是由自然感染的,还是由实验感染白血病的动物分离出来的,都能使牛感染白血病。也就是说本病能够继代移植。试验中共进行了3次继代移植。实验性淋巴白血病的特点是潜伏期较短,白血病过程进展缓慢。