

病毒免疫学

主 编

周瑤玺 蒋慧惠 金锦仁

人 民 卫 生 出 版 社

内 容 简 介

病毒免疫学是基础医学中发展最快领域之一，本书1~17题为总论、18~32题为各论，比较系统地介绍本学科最近5~10年的进展，结合临床，阐述基础理论。本书可供广大传染病学等临床工作者，微生物学、病毒学及免疫学，卫生防疫工作者参考。

病毒免疫学

周瑶玺 蒋慧惠 金锦仁 主编

人民卫生出版社出版

(北京市崇文区天坛西里10号)

北京市房山区印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

787×1092毫米32开本 9 $\frac{1}{2}$ 印张 209千字

1988年12月第1版 1988年12月第1版第1次印刷

印数: .00,001--4,800

ISBN 7-117-00781-8/R·782 定价: 3.55 元

〔科技新书目178--171〕

钱云芬
郭辉玉
曾毅
程立
蒋慧惠

南京医学院
中山医科大学
中国预防医学科学院病毒学研究所
上海医科大学
上海医科大学

前 言

近10年来,病毒学和免疫学均有飞速发展,病毒免疫学发展尤速,这方面的专业参考用书,国内尚无,国外亦少。本书编写的目的是为传染病学医师、医学微生物学、免疫学教师和医学病毒学及医学免疫学研究生提供一本比较系统的小型高级参考书,着重介绍近10年来本学科基本概念的发展,尽可能结合临床,阐明基础理论。本书1~17题为总论,18~42题为各论,由国内有关医学院校和科研单位同行分头执笔,撰文引用的资料主要为最近五年国内外的文献。由于多人分头执笔,在专业名词术语的统一和全书各章的协调方面可能还存在一些问题。由于编者水平所限,内容难免有缺点和错误,敬希广大读者批评指正。

周瑶玺 蒋慧惠 金锦仁

1987年秋

编者 (以姓氏笔划为序)

王懋梁	湖北省医学科学研究所
王明伦	南京医学院
尤丽芬	南京医学院
刘 阳	中国医学科学院基础医学研究所
朱关福	中国人民解放军军事医学科学院
齐文宁	上海医科大学
孙邦华	南京医学院
杜 平	中国人民解放军第二军医大学
陈伯权	中国预防医学科学院病毒学研究所
陈慎宝	南京医学院
邵济钧	青岛医学院
周宝治	南京医学院
周皓白	南京医学院
周瑶玺	南京医学院
金锦仁	南京医学院
顾葆良	河北医学院
朴一普	南京医学院
林远光	南京医学院
姚 莹	南京医学院
闻玉梅	上海医科大学
洪 涛	中国预防医学科学院病毒学研究所
胡善联	上海医科大学
俞富荣	南京医学院

目 录

1. 病毒免疫学概论.....	1
2. 病毒致病机理.....	15
3. 病毒感染中的体液免疫因素.....	24
4. 特异性细胞毒性T细胞的抗病毒作用.....	33
5. 单核吞噬细胞的抗病毒作用.....	44
6. NK细胞和K细胞在抗病毒感染中的作用	54
7. 干扰素.....	65
8. 病毒感染的免疫病理.....	74
9. 病毒的持续性感染.....	84
10. 研究病毒和宿主关系的天然家畜模型.....	95
11. 中枢神经系统病毒感染的免疫机理.....	102
12. 妊娠与病毒感染.....	109
13. 病毒疫苗的研究展望.....	116
14. 抗病毒制剂的临床试治.....	123
15. 电镜技术在病毒免疫学中的应用.....	130
16. 病毒免疫学中标记抗体技术的发展和应.....	138
17. 病毒学和病毒免疫学中单克隆抗体的应用.....	147
18. 乙型肝炎病毒的免疫学.....	155
19. 单纯疱疹病毒的免疫学.....	168
20. 人类巨细胞病毒的致病性和免疫学.....	178
21. EB病毒与肿瘤	189
22. 人乳头瘤病毒的致病性和免疫学.....	199
23. 脊髓灰质炎病毒的免疫学.....	208

24. 肾病综合征出血热病毒的免疫学.....	218
25. 风疹病毒的致病性、免疫学和特异性预防	224
26. 流感病毒的免疫学.....	232
27. 麻疹病毒的免疫学.....	240
28. 呼吸道合胞病毒的免疫学.....	248
29. 腹泻病毒的致病性和免疫学.....	253
30. 人类T细胞白血病病毒I型的免疫学和致癌 机理.....	263
31. 艾滋病毒的致病性和免疫学.....	271
32. 搔痒病因子的致病性和免疫学.....	288

1. 病毒免疫学概论

病毒学和免疫学作为独立学科，两者都不到一百年的历史。她们都同样地经历了下列三个阶段：①机体水平研究阶段。40年代中叶以前用鸡胚、小白鼠、家兔等动物研究病毒和宿主间的关系，主要手段是用病理学和血清学的方法。②细胞水平研究阶段。40年代末叶开始，组织培养广泛用于病毒的分离和鉴定，亦用于病毒与宿主细胞的关系的研究，病毒增殖和感染周期亦逐渐了解。50年代末期已开始认识淋巴细胞主宰机体免疫功能。到60年代初叶已明确B细胞主宰体液免疫，T细胞主宰细胞免疫。当时研究病毒与宿主关系的常用方法包括：新生期去胸腺的小白鼠；新生期去法氏囊的禽类；致死量射线照射动物，用免疫动物骨髓细胞移植，以获得继承免疫，然后以病毒攻击，用实验感染和实验病理的方法，以观察免疫性。同时也应用了淋巴细胞的体外培养来研究病毒与细胞的相互作用。③分子水平研究阶段在70年代初以来有了突飞猛进的发展。那时起对DNA、RNA病毒的增殖机理才逐步深入了解，病毒化疗已脱离经验主义的研究方式。逐步建立了许多病毒基因组的无性繁殖系，阐明了某些病毒的结构与功能的关系，和一些病毒基因表达调控原理。80年代以来若干动物病毒全部的或部分的基因组的核苷酸序列已逐渐弄清，分子病毒学的理论有所突破，为基因工程疫苗奠定基础。70年代中叶起杂交瘤单克隆抗体技术，80年代初叶起特异性杀伤T细胞克隆传代的成功，都给病毒免疫的研究带来了一次革命。近年来B细胞产生免疫球蛋白

的基因调控, T 细胞表面抗原受体的发现及其基因调控, T 细胞亚群的类别和功能, 细胞间相互作用中的受体, 为数众多的淋巴因子的分离、鉴定和功能研究的进展, 都是使病毒免疫从分子水平进行阐明的基础。本书的目的希望能在科学知识爆炸的现实情况下, 对读者介绍一些近年有关病毒免疫的新概念, 包括: ①病毒感染的特点, ②病毒免疫的特点, ③病毒所致免疫病理的概念, ④近年病毒免疫学新技术及其成就, ⑤病毒免疫学研究前瞻。

一、病毒感染的特点

病毒感染是基因水平的感染。病毒能在宿主细胞内增殖, 并影响宿主细胞的核酸及蛋白质代谢。病毒对宿主细胞感染的后果, 可以分为三个类型。

1. 杀细胞感染 (cytotoxic infection) 病毒在宿主细胞中复制成熟后, 在短时间内一次释放大量病毒, 此时细胞裂解死亡, 释放出的病毒侵犯其他细胞, 开始又一次的感染周期, 直到所有易感的宿主细胞全部死亡。一般无包膜的病毒如灰质炎病毒、ECHO 病毒、鼻病毒、腺病毒等皆属这种类型。但亦有例外, 如甲肝病毒, 杀细胞的作用很弱, 感染周期亦很长, 病毒复制成熟后亦非一次大量释放。

杀细胞感染中细胞死亡的原因主要为: 细胞大分子合成的停止、扰乱染色体的功能、病毒包涵体的形成和细胞膜的损伤。

2. 稳定状态感染 (steady state infection) 相对地毒力较低的病毒在相对地易感性较低的细胞培养中有可能形成稳定状态的感染, 在相当长的一段时间内细胞和病毒并存, 并同时增殖。有时受染的细胞还可增殖, 病毒可以传给子代

细胞, 或通过直接接触, 感染邻近的细胞。80年代以前组织培养稳定状态感染模型均为有包膜的病毒, 最近几年无包膜病毒如灰质炎、柯萨奇、鼻病毒、甲肝病毒 (Vallbracht, 1984)^[1]的模型亦已建立。

严格言之, 稳定状态感染和带毒状感染 (carrier's cultures) 多少有些区别。后者中只有一部份细胞发生增殖性感染 (productive infection), 而前者中每个细胞都受染, 可能由于其他因素的存在, 如缺陷性干扰颗粒 (DIP)、温敏变种 (Ts) 或干扰素等而限制了病毒增殖和病变的程度。

3. 病毒基因携带 (viral genome carriage) 又称整合感染 (integrated infection)。病毒的DNA或病毒RNA的cDNA或整合于宿主细胞的染色体, 或非整合于染色体而以质粒的形式存在于细胞质内。一般言之, 病毒并不增殖, 而细胞有一定的变化: 或为形态的变化, 或为代谢的变化, 或为细胞内或表面带有新的抗原, 或为体外易于建株。但是它们有共同点, 即都能用核酸分子杂交技术, 即通常所说的探针 (probe), 从细胞中检出其同源的病毒核酸。EB病毒、人类多瘤病毒 (BKV, JCV) 和人类逆转录病毒 (HTLV-I, HTLV-II, HIV 即 HTLV-III) 都是这类感染的典型代表。

Haywood (1986)^[2]总结人类持续感染的病毒种类如下:

- ①风疹病毒;
- ②疱疹病毒组包括巨细胞病毒、EB病毒、单纯疱疹I型和II型病毒、带状疱疹病毒;
- ③人类乳多空病毒组包括乳头瘤病毒、BK病毒、JC病毒;
- ④腺病毒;
- ⑤乙肝病毒;
- ⑥引致SSPE的麻疹病毒;
- ⑦人类逆转录病毒组包括HTLV-I, HTLV-II和HTLV-III;
- ⑧非常规病毒组包括Kuru因子, Creutzfeldt-Jakob病因子。

病毒长期潜伏，往往是引起人类恶性肿瘤的原因之一。Zur Hausen (1986)^[3]估计 HBV 感染开始到肝癌出现约需 30~50 年；HTLV-I 感染到成人 T 细胞白血病约需 20~50 年；EBV 感染开始到 Burkitts 淋巴瘤约需 3~12 年；EBV 感染开始到鼻咽癌约需 30~40 年；HPV5 或 8 型感染开始到皮肤鳞状细胞癌约需 5~15 年；HPV16 或 18 型感染开始到宫颈癌约需 5~25 年；HPV16 或 18 型感染开始到阴茎龟头癌及阴唇癌约需 20~50 年。

从世界范围估计，男性恶性肿瘤大约 10% 为病毒所引起，其中半数以上为肝癌。而女性恶性肿瘤大约 20% 为病毒所致，其中半数以上为宫颈癌。肿瘤相关病毒感染者中，总是只有一少部分人 (0.01~1%) 发生肿瘤，大部分人并不发生肿瘤。

关于单一细胞中两种病毒的联合感染值得重视。急性呼吸道感染病毒感染中大约 2~5% 为混合感染，用免疫标记抗体染色或电子显微镜可以证明在同一个细胞内有二种病毒颗粒，如单疱病毒和流感病毒，腺病毒和鼻病毒。在慢性感染中亦有类似的情况如扁桃体内经常有腺病毒和腺病毒相关病毒 (AAV) 长期共存。慢性活动性乙型肝炎中肝细胞内常有 HBV 和 Delta 因子的长期共存。1984 年证实艾滋病口腔白斑病灶中有 EB 病毒和乳头瘤病毒的长期共存。同年发现从日本成年人白血病病人建株的淋巴细胞中 HTLV-I 抗原和 EB 病毒的 EBNA (即 EB 病毒核抗原) 的长期共存，1985 年证实艾滋病 (AIDS) 中 HIV 和 HBV 基因的共存于 T 细胞。1986 年证实 HTLV-I 和 HIV 长期共存于体外培养的 T 细胞株 (MT-2 和 MT-4)。1986 年 Happer 等^[4]报导 HTLV-I 和 HIV 联合感染的病例。此种病例极为罕见，

迄今仅此一例。北非突尼斯人，男性，65岁。从发病到死亡，共历10年。估计先感染 HTLV-I，以后感染 HIV。生前临床表现，主要为淋巴细胞增殖症。死亡前血液淋巴细胞培养 HIV RNA 阳性细胞为0.001~0.01%，HTLV-I RNA 阳性细胞为20~33%。

二、病毒免疫的特点

原发性免疫缺陷中病毒感染的情况有助于病毒免疫特点的阐明。例如：缺丙球蛋白血症即抗体缺陷症中除频发严重的细菌感染外，腺病毒的呼吸道感染加重，灰质炎和 ECHO 病毒所致中枢神经系统感染发病严重，排毒时间长，死亡率高。反之，T细胞缺陷症中麻疹特别严重，常发生巨细胞肺炎而死亡；种牛痘后常发生进行性坏疽痘而死亡，CMV、EBV、HSV，或引起严重病灶，或引起长期带毒。上例说明机体对无包膜病毒的抵抗力主要来自抗体。对有包膜病毒的抵抗力，主要来自细胞免疫，当然抗体亦起一定的作用，尤其对病毒在宿主体内播散的限制，以及对再感染的抵抗力。

有包膜的病毒侵犯细胞后，在感染周期的后半期，病毒包膜抗原就出现在细胞膜上，此时这一感染细胞成为靶细胞，能被T和B细胞识别，亦能被T细胞和抗体攻击。

简言之，体液免疫主要作用于游离的病毒，而细胞免疫主要作用于病毒感染的靶细胞。抗体中和病毒这一事实在半个世纪以前已被确认，而对病毒感染靶细胞的杀伤或破坏，方式多样，机理复杂，最近十多年来的研究进展迅速，但尚有许多问题没有弄清。

抗病毒感染的细胞介导的免疫反应中，最重要的成员是细胞毒T细胞 (CTL 或称 T_c)。与此种细胞活性有关的因

素主要有：①主要组织相容性 (MHC) 约束性，②CTL 的生成，③CTL 对病毒抗原的识别，④ CTL 和 T_H 及 $M\phi$ 的关系(详后)。

急性病毒感染中病毒特异的 CTL 的出现，比抗体产生的细胞略早。小鼠实验流感肺炎中，抗流感病毒的 CTL 克隆细胞的被动输入能抑制 MHC 相同的感染鼠肺中病毒的增殖，此种被动输入的效应细胞除能杀伤病毒感染的靶细胞外， γ 型干扰素的分泌可能也是次要因素之一。EBV 特异的 CTL 克隆株和 HSV 特异的 CTL 克隆株在体内和体外都被证明能杀伤感染的靶细胞而抑制病毒增殖。

其次为自然杀伤细胞 (NK 细胞)，其特点为不需要抗原刺激，亦无 MHC 的约束性，其活性能被干扰素大为强化。NK 杀伤靶细胞大致经历下列 5 步骤：①识别靶细胞表面的受体并与之结合；②NK 细胞被靶细胞的特定定位点启动；③NK 细胞释放某种细胞毒因子(NKCF)；④这些细胞毒因子插入靶细胞膜；⑤靶细胞裂解。

CTL 和 NK 细胞杀伤靶细胞的机理是大致相仿的，都经历脱颗粒，释放细胞毒因子，通过蛋白质微管 (protein channel) 进入靶细胞膜。所不同的在于 CTL 和 NK 细胞对靶细胞表面上的识别位点有所不同(详后)。

抗体单独作用于感染病毒的靶细胞一般并不发生效应，有时可见由于抗体的加入而使靶细胞表面的抗原集中，而形成帽状 (capping)。如与补体同时作用，则可发生溶细胞效应。如抗体与 K 细胞同时作用于靶细胞，则可发生 ADCC 反应。以上两种抗体介导的溶细胞反应，在体内起多少作用尚属疑问。对病毒感染的恢复作用，一般认为作用不大。

干扰素是细胞产生的多功能蛋白，有 α 、 β 、 γ 三类。

这三类干扰素的基因结构和蛋白质一级结构都已在近年弄清, 且应用基因工程制备以上三种干扰素, 均已告成。三者作用于细胞均能使之产生“抗病毒状态”。其中, γ 型干扰素是一种多功能的免疫调节剂, 是T细胞的产物, 对NK细胞活性的加强、对M ϕ 表面Fc受体密度的增加和功能的增强、对所有有核细胞MHC I类抗原表达的增强、对内皮细胞和成纤维细胞MHC I类抗原的阳转等在慢性病毒感染中的作用尤为显著。

激活的巨噬细胞分泌精氨酸酶作用于受染的靶细胞, 抑制病毒合成, 而细胞不死(详后)。

总之, 宿主对病毒感染的免疫反应极为复杂, 现就保护性免疫反应, 即免疫清除而言, 主要包括三个方面: ①对游离病毒的清除; ②对病毒感染靶细胞的清除; ③对感染周期

表1-1 抗病毒免疫因素和对病毒的清除功能

功 能	免 疫 因 素
游离病毒的清除: 抑制病毒的吸附和穿入	①主要依赖于中和抗体 ②补体和吞噬细胞有辅助作用
病毒感染的靶细胞的杀死: 主要通过靶细胞膜的破坏	①Tc细胞 ②NK细胞 ③ADCC(抗体介导, 有Fc受体的细胞K、M ϕ 、PMNL参与) ④抗体和补体的溶细胞反应
抑制感染细胞中病毒的增殖	干扰素作用于细胞, 使之产生抗病毒蛋白(即抑制病毒合成的核酸酶和蛋白酶), 建立抗病毒状态
感染细胞大分子代谢的抑制, 从而病毒不能增殖	激活的巨噬细胞分泌精氨酸酶, 作用于受染的靶细胞抑制病毒合成, 而受染的细胞不死

的中断或抑制病毒大分子物质的合成。病毒感染过程中参与免疫反应的细胞和功能, 见表 1-1 和表 1-2。

表 1-2 病毒感染中参与免疫反应的细胞
和功能举例

细胞种类	主要功能举例
细胞毒性T细胞(Tc或CTL)	1. 识别和杀伤表面有病毒抗原表达的靶细胞 2. 抗原刺激, 使克隆扩大, 有记忆性 3. 受T_H、T_S和$M\phi$的调节 4. 分泌γ干扰素
迟发变态反应T细胞(T_d)	与靶抗原接触而分泌MAF等淋巴因子
辅助性或诱导性T细胞(T_H)	1. 分泌IL-2、PCGF、BCDF等淋巴因子 2. 促进T细胞和B细胞的增殖和分化
抑制性T细胞(T_S)	分泌某些因子, 抑制T细胞和B细胞的免疫反应
B细胞	1. 有识别功能 2. 抗原刺激后, 克隆扩大, 分化, 分泌抗体, 有记忆性 3. 受T_H、T_S和$M\phi$的调节 4. 分泌α干扰素
杀伤性淋巴细胞(K细胞)	1. 缺乏T细胞表面标记 2. 有Fc受体和C₃受体 3. 参与ADCC反应 4. 抗原刺激后, 无克隆扩大, 无记忆性
NK细胞, (或LGL)	1. 不用预先致敏, 有不依赖抗体的细胞杀伤作用 2. 抗原刺激后, 无克隆扩大, 无记忆性 3. 有Fc受体 4. 被干扰素激活
巨噬细胞($M\phi$)	1. 有吞噬活性

续表

细胞种类	主要功能举例
多形核白细胞 (PMNL)	2. 处理和递呈抗原信息 3. 分泌IL-1, 精氨酸酶 4. 被MAF和干扰素激活 5. 有Fc受体参与ADCC 1. 有吞噬活性 2. 有Fc受体和C ₃ 受体 3. 参与早期炎症浸润反应 4. 参与ADCC

三、病毒所致免疫病理的概念

关于病毒所致免疫病理本书有专题, 兹提其梗概如下:

1. 病毒对免疫系统的损伤 许多人类病毒可感染人的淋巴细胞, 从而或多或少地影响其功能, 如 CMV、EBV、HSV 麻疹病毒、风疹病毒、流感病毒、艾滋病毒等。体外试验证明: 麻疹病毒、流感病毒、CMV 感染淋巴细胞后, 细胞对 PHA、ConA、PWM 的细胞增殖反应和免疫球蛋白的产生能力均明显地降低, 而对病毒特异的杀伤活性则差别很大, 流感病毒感染的淋巴细胞几乎和对照组淋巴细胞有同样的活性, 麻疹病毒组的活性中度降低, 而 CMV 感染组活性极度降低(Southern, 1986)⁽⁶⁾。又如感染 CMV 的Mφ和T细胞一起体外培养, T细胞对 ConA 的增殖反应大为降低, 其原因并非由于 Mφ 分泌 IL-1 的减量, 而是由于 Mφ 分泌了另一种物质, 此种物质能抑制 IL-1 的活性, 从而 T 细胞产生的 IL-2大幅度减量 (Borysiewicz, 1986)⁽³⁾。艾滋病毒侵犯 T_H 细胞, 由于 T_H 细胞的大量破坏, 导致严

重的细胞免疫缺陷。

2. 宿主免疫反应引起的免疫病理 例如：①阿留甲青貂病中的高丙球蛋白血症、肾小球肾炎；②慢性乙型肝炎中的肾小球肾炎、结节性血管周围炎；③风疹关节炎(Cunningham, 1985)⁽⁷²⁾；④ LCMV 小白鼠肾小球肾炎，以上都是病毒所致免疫复合物病的典型例子；⑤晚期疱疹性角膜炎；⑥柯萨奇病毒感染后的慢性心肌炎；⑦麻疹恢复期的过敏性脑炎，以上都是T细胞介导的免疫病理；⑧慢性 HSV 脑炎的病变既有Ⅳ型变态反应又有Ⅲ型变态反应；⑨登革热和出血热中非中和性病毒抗体与病毒组成复合物，更易于侵犯单核巨噬细胞，并且在单核巨噬细胞中增殖，然后释放大量的溶酶体酶，最后导致血管通透性增加和弥散性血管内血凝；⑩ HSV 病毒脑炎后期脱髓鞘病变中，单核巨噬细胞的作用比T细胞的作用更大(Townsend, 1985)⁽⁷³⁾。⑨和⑩是单核巨噬细胞介导的免疫病理变化。

四、近年病毒免疫学新技术及其成就

1. 单克隆抗体 对多种病毒均已发展了为数众多的单克隆抗体(McAb)。这些单克隆抗体可应用于分析病毒抗原，更深入细致地了解病毒的抗原决定簇及其生物学作用。单克隆抗体技术的应用可被视为病毒免疫生化研究的一个重要工具。例如对单纯疱疹Ⅰ型病毒的糖蛋白D的研究，通过应用单克隆抗体分析，发现这一蛋白包括有中和抗原与融合抗原。在针对糖蛋白D的单克隆抗体中，发现有的可中和病毒的感染性，有的不能中和病毒的感染性，但可抑制细胞融合。此外，还发现有既不能中和感染性，又不能抑制细胞的融合作用的 McAb，但该 McAb 却可促进病毒的感染性