

现代白血病学

艾晓雄 罗荣城 乐晓锋 主编

XIANDAI
BAIXUEBINGXUE

人民军医出版社

现代白血病学

XIANDAI BAIXUEBINGXUE

艾辉胜 罗荣城 乐晓峰 主编

ISBN 7-80020-721-8



9 787800 207211 >

人 民 军 医 出 版 社
北 京

(京)新登字 128 号

图书在版编目(CIP)数据

现代白血病学/艾辉胜等主编;王波,吕善根等编著.-北京:人民军医出版社,1997.6
ISBN 7-80020-721-8

I. 现… II. ①艾… ②王… ③吕… III. 白血病-研究 IV. R733.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(96)第 22773 号

人民军医出版社出版

(北京市复兴路 22 号甲 3 号)

(邮政编码:100842 电话:68222916)

人民军医出版社激光照排中心排版

北京京海印刷厂印刷

新华书店总店北京发行所发行

*

开本:787×1092mm 1/16·印张:22.75·字数:551 千字

1997 年 6 月第 1 版 1997 年 6 月(北京)第 1 次印刷

印数:1~5000 定价:46.00 元

ISBN 7-80020-721-8/R·652

〔科技新书目:416-078①〕

(购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换)

内 容 提 要

本书是系统研究白血病基础与临床的学术专著。全书共 19 章,系统论述了白血病的病毒学、病理学、分子生物学、细胞遗传学、分类诊断、化学治疗、造血干细胞移植、残留白血病、多药耐药性和基因治疗等。内容丰富,资料翔实,反映了 90 年代国内外白血病研究的最新进展和成就,凝集了新老两代人的心血和智慧,非常适合于内、儿科临床医师及血液学基础研究人员学习参考。

责任编辑 曾 星 靳纯桥

编审者名单

- 主编** 艾辉胜 军事医学科学院副主任医师
罗荣城 第一军医大学副教授、副主任医师
乐晓峰 北京医科大学副教授
- 主审** 杨天盈 中国医学科学院研究员、协和医科大学教授
陈珊珊 北京医科大学教授

编审(以姓氏笔画为序)

- 刘海川 解放军总医院教授
达万明 兰州军区总医院主任医师
杜德林 军事医学科学院研究员
李超林 解放军总后勤部卫生部副部长
汪月增 解放军总医院教授
楼方定 解放军总医院教授

主要编著者(以姓氏笔画为序)

- 王 波 军事医学科学院主治医师
艾辉胜 军事医学科学院副主任医师
吕善根 解放军总医院教授
乐晓峰 北京医科大学副教授
申建凯 中国医学科学院副主任医师
汤美华 中国医学科学院副研究员
孟凡义 解放军总医院副主任医师
陈 中 中国医学科学院动物研究所讲师
罗荣城 第一军医大学副教授、副主任医师
陈辉树 中国医学科学院副主任医师
张志彪 河南省安阳市人民医院
赵永强 中国协和医科大学副主任医师
骈淮媛 军事医学科学院高级实验师
栾凤君 中国医学科学院助理研究员
黄晓军 北京医科大学副主任医师
程 立 上海医科大学教授
裴雪涛 军事医学科学院副研究员
薛永权 苏州医学院教授

序

1845年Bennett JH和Virchow R先后相差6周分别在英国爱丁堡和德国柏林首次报告了白血病。150年后的今天,人类对白血病的认识已更为深刻,特别是近半个世纪以来,白血病的研究取得了重大进展,长期无病生存的白血病病例已大大增加,治愈白血病已初现曙光。

回溯既往,1865年德国医生Lissauer首先用含砷的Fowler液治疗慢性髓性白血病,开创了化学药物治疗白血病的先河。1932年美国血液学家Forkner来北京协和医院任教,建立了我国第一个血液学试验室,同时也将应用Fowler液的经验介绍到中国。然而,造血系统恶性肿瘤化学治疗的蓬勃发展还应该说始于本世纪40年代。第二次世界大战期间对芥子气的研究导致了氮芥类药物的应用。1948年Farber等首次报告用叶酸拮抗剂氨基蝶呤治疗儿童急性白血病获得成功是白血病化学治疗的重要里程碑。随后,不同作用机制的化疗药物相继问世,从单一用药到联合用药、细胞动力学及最大程度杀灭肿瘤细胞等概念被逐一引入;从普通剂量到强烈化疗;从追求完全缓解到争取长期无病生存等,白血病化疗的水平和疗效不断提高。本世纪70年代以后,造血干细胞移植和生物调节剂等治疗手段的应用和蓬勃发展,给白血病的根治增加了更多的机会和希望。与此同时,白血病的分类诊断水平也不断提高,1976年国际FAB标准的出现开创了白血病分类诊断的新纪元,此后,形态学、免疫学和细胞遗传学相结合的MIC分型,进一步提高了白血病诊断水平。近年来分子生物学和细胞生物学的迅速发展,更有力地推动了白血病基础和临床研究的不断深入。就整体而言,白血病已不再是不治之症。在我国,虽然各地条件不同,但白血病诊断治疗的方针和措施已推广提高,在有条件的单位,白血病的治疗效果并不逊色。与此同时,白血病治疗的成功经验也为治疗其他恶性肿瘤提供了良好的借鉴。过去的历程充分表明:白血病治疗的进步依赖于基础研究及相关学科的进展,基础与临床的相互促进和推动,是白血病研究不断发展的动力和保障。从事白血病研究的人员虽然各有侧重,但都应该系统掌握基础和临床等多方面的知识和信息,并成为行家里手。

由艾辉胜、罗荣城、乐晓峰主编的《现代白血病学》涉及白血病的基础与临床多方面问题,内容丰富翔实。是一本反映90年代白血病研究成果的专著。本书主要执笔人大都是学有专长的优秀中青年,思维敏捷,较少保守思想,又有长期从事白血病研究工作、学识渊博的老一辈专家担任主审或编审,保证了内容的新颖和可靠。本书实际上凝集了两代人的心血。

当前,白血病面临的研究课题仍很艰巨,需要一批有志之士,为之奋斗终身,以愚公移山的精神,代代相继,不断投入,披荆斩棘,攻克难关。有经验、有成就的老专家作为后盾,把更多杰出的年轻一代推向第一线,鼓励他们勇挑重担,努力奋进。这是科学事业成功和多出人材的必由之路。《现代白血病学》就是本着这种精神完成的。

我欣赏这些中青年骨干,赞成这种成书模式,愿意阅读他们的作品,希望能闻出一些新的气息,也相信本书的出版必将推动我国白血病研究水平的进一步提高。

中国医学科学院 中国协和医科大学

北京协和医院 张之南

1996年2月8日

目 录

第一章 实验性白血病及其病毒病因学	(1)
一、概述	(1)
二、实验性小鼠白血病的分类	(1)
三、逆转录病毒的超微结构和分类	(2)
四、逆转录病毒的生物化学特性	(4)
五、逆转录病毒的抗原性	(6)
六、逆转录病毒的基因组结构和功能	(7)
七、逆转录病毒的复制	(7)
八、逆转录病毒的生物学分类和作用特点	(8)
九、逆转录病毒与动物白血病	(10)
十、我国小鼠白血病病毒学研究	(13)
十一、逆转录病毒致白血病机理	(16)
十二、成人 T 细胞白血病与人类 T 细胞白血病病毒	(17)
第二章 白血病的动物模型和细胞系	(24)
一、动物白血病的分类	(24)
二、常用的白血病动物模型	(27)
三、人类白血病细胞系	(30)
第三章 白血病的细胞遗传学	(41)
一、引言	(41)
二、慢性髓性白血病的染色体改变	(42)
三、慢性淋巴细胞白血病的染色体改变	(46)
四、急性髓性白血病的染色体改变	(49)
五、急性淋巴细胞白血病的染色体改变	(52)
六、治疗相关性白血病	(54)
七、染色体检查的临床和生物学意义	(55)
第四章 白血病的分子生物学	(59)
一、基因概述	(59)
二、基因操作的基本技术	(60)
三、癌基因与白血病	(61)
四、抑癌基因与白血病	(63)
五、程序性细胞死亡与白血病	(65)
六、Ph 染色体与白血病	(66)
七、t(8;21)阳性急性髓性白血病	(67)
八、t(15;17)阳性急性早幼粒细胞白血病	(68)
九、伴第 16 号染色体异常的 M _{1EO}	(69)
十、t(6;9)阳性的急性髓性白血病	(69)
十一、伴 3q26 异常的急性髓性白血病	(70)

十二、t(1;19)阳性的急性淋巴细胞白血病	(70)
十三、t(17;19)阳性的急性淋巴细胞白血病	(71)
十四、伴 11q23 染色体异常的白血病	(71)
第五章 白血病的病理学	(73)
一、概述	(73)
二、各类型白血病的组织学特点	(73)
三、淋巴瘤细胞白血病的病理学特点	(77)
四、白血病的一般病理变化	(78)
五、白血病病人各系统的病理变化	(79)
六、白血病治疗后的病理变化	(84)
七、类白血病反应的病理变化	(85)
八、骨髓增生异常综合征	(86)
九、淋巴细胞白血病与恶性淋巴瘤的关系	(86)
第六章 程序性细胞死亡与白血病治疗	(89)
一、概述	(89)
二、程序性细胞死亡的分子机理	(89)
三、正常造血与白血病时的 PCD 现象	(91)
四、程序性细胞死亡与白血病治疗	(92)
第七章 白血病细胞多药耐药性及其逆转	(95)
一、白血病细胞多药耐药性的定义及机理	(95)
二、白血病多药耐药的临床检测	(106)
三、逆转白血病多药耐药的方法	(111)
第八章 微量残留白血病	(117)
一、微量残留白血病检测的意义	(117)
二、微量残留白血病的实验研究	(118)
三、微量残留白血病的检测方法	(120)
四、髓性白血病 MRLC 的检测	(123)
五、淋巴系白血病 MRLC 的检测	(128)
第九章 白血病的现代诊断与分型	(133)
一、概述	(133)
二、白血病的诊断及鉴别诊断	(134)
三、FAB 的诊断分型	(139)
四、免疫学分型及应用	(149)
五、急性白血病的形态学(M)、免疫学(I)和细胞遗传学(C)分型	(161)
六、难分类急性白血病	(163)
七、白血病的基因分型	(166)
第十章 急性白血病化学治疗总论	(171)
一、治疗总则	(171)
二、白血病的预后因素	(179)
三、常用抗白血病药物及细胞动力学	(184)
四、白血病细胞体外药敏试验	(188)
五、髓外白血病的诊断和治疗	(194)

第十一章 急性髓性白血病的现代化疗	(202)
一、概述	(202)
二、AML 的诱导缓解治疗	(202)
三、缓解后治疗	(204)
四、老年 AML 的治疗	(207)
五、难治和复发 AML 的治疗	(209)
六、急性早幼粒细胞白血病的治疗	(216)
第十二章 急性淋巴细胞白血病的现代化疗	(227)
一、成人急性淋巴细胞白血病化疗的主要进展	(227)
二、成人与儿童急性淋巴细胞白血病的预后	(229)
三、急性淋巴细胞白血病的现代化疗策略	(230)
四、难治或复发急性淋巴细胞白血病的治疗	(234)
五、成人高危型急性淋巴细胞白血病的治疗	(236)
六、老年急性淋巴细胞白血病的治疗	(237)
七、细胞因子在化疗中的应用	(238)
八、结束语	(239)
第十三章 小儿急性白血病	(218)
一、预后因素和治疗原则	(248)
二、急性淋巴细胞白血病的现代化疗	(219)
三、急性髓性白血病(AML)的化疗	(254)
四、复发白血病的治疗	(255)
五、支持治疗及并发症防治	(257)
六、小儿白血病的骨髓移植	(257)
第十四章 慢性白血病	(260)
一、慢性髓性白血病	(260)
二、慢性淋巴细胞白血病	(267)
第十五章 白血病的支持治疗	(270)
一、支持治疗的病理生理基础	(270)
二、主要并发症	(271)
三、支持治疗的措施	(272)
第十六章 骨髓增生异常综合征	(284)
一、病名的演变	(281)
二、病因和发病机理	(285)
三、临床表现	(286)
四、实验室检查及其意义	(286)
五、诊断及分型	(289)
六、特殊亚型	(290)
七、治疗	(291)
八、转归及预后	(295)
第十七章 白血病的异基因骨髓移植	(297)
一、概述	(297)
二、骨髓移植前的准备	(298)

三、主要组织相容性抗原与基因配型	(300)
四、骨髓移植的预处理	(309)
五、骨髓的采集、处理和输注	(310)
六、骨髓移植的营养及支持治疗	(312)
七、骨髓移植的早期并发症及防治	(314)
八、骨髓移植的晚期并发症及防治	(323)
九、骨髓移植后的造血重建和植入证据	(326)
十、骨髓移植后的白血病复发	(328)
第十八章 自体干细胞移植和脐血造血干细胞移植	(330)
一、概述	(330)
二、自体干细胞的来源及采集方法	(330)
三、自体造血干细胞的保存、复苏和回输	(332)
四、移植前自体干细胞的纯化及残留白血病细胞的净化	(333)
五、自体干细胞移植的适应证与疗效	(336)
六、自体造血干细胞移植的预处理方案	(339)
七、自体干细胞移植后的支持治疗	(340)
八、脐血造血干细胞移植	(341)
第十九章 白血病的基因治疗	(346)
一、基因治疗概述	(346)
二、白血病的基因治疗	(348)

第一章 实验性白血病及其病毒病因学

一、概 述

动物白血病模型对研究人类白血病的病因学、发病学和实验治疗学等方面都具有重要的意义。除动物自发性白血病外,应用物理、化学和生物性致癌因素均可诱发不同动物产生白血病,并已进行了广泛的研究。但是以白血病病毒病因学研究最为深入,并获得了有意义的结果,国外已有专著予以介绍。

1908年丹麦学者 Ellermann 和 Bang 首先应用禽白血细胞增生症(Avian Leukosis)组织制备的无细胞滤液注射健康鸡诱发了白血病,为白血病病毒病因学研究奠定了实验基础。在以后几十年中,虽然相继发现了鸡 Rous 肉瘤病毒(RSV,1911)、猫肉瘤病毒(FeSV,1914)和小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV,1936)等其它肿瘤病毒,但在白血病研究方面进展缓慢,直到1951年美国 Gross 报道从 AK 近交系小鼠自发性白血病分离出可连续传递的小鼠白血病病毒后,才促使白血病病毒病因学的研究迅速发展。此后国外又先后分离出了猫白血病病毒(FeLV,1964)、牛白血病病毒(BLV,1974)和长臂猿白血病病毒(GaLV,1972)等。80年代的研究结果表明,成人 T 细胞白血病(ATL)的发生与人类 T 细胞白血病病毒(HTLV)有病因学上的联系。因此,当今国内外的研究动向都把白血病作为人类肿瘤病毒病因最有希望的突破口之一。应该指出,在实验室病毒病因学研究中,以小鼠白血病模型的使用最为广泛。这是由于小鼠造血系统的特点与人类极为相似,人类血液系统恶性肿瘤如淋巴细胞、粒细胞、干细胞、单核细胞白血病和淋

巴瘤均可在小鼠获得相应的模型提供研究。此外,还由于小鼠饲养条件容易控制,近交系小鼠遗传背景一致,实验结果可比性强,实验周期短,可进行动态性和前瞻性研究。因此,小鼠实验性白血病的研究一直是一个十分活跃的领域。

本章除着重叙述国内外主要的动物白血病外,还介绍人类 T 细胞白血病的病毒病因学研究新的进展。

二、实验性小鼠白血病的分类

一般可根据发生的来源和诱发的方法将实验小鼠白血病分为下面三类。

(一)自发性白血病

这是指小鼠未接触人工致白血病因素而在其生活过程中自然发生的白血病。1920年美国 Little 等建立的黑色近交系小鼠和1930年 Furth 培育的白色 AK(或 AKR)近交系小鼠,在鼠龄一年左右时,其自发性白血病发生率可达80%以上。迄今国内尚未有高白血病近交系小鼠的报道。

(二)诱发性白血病

根据诱发因素可以分为以下三组:

1. 化学性因素诱发的白血病 多环碳氢化合物(如甲基胆蒎;7,12-二甲基苯蒎,DMBA)和亚硝基脲类等化学致癌因素均可诱发小鼠、大鼠和豚鼠发生白血病。某些化疗药物,如马利兰(Myleran)三乙烯三聚氰胺(TEM)、6-MP 和雌激素也有诱发白血病作用。一般说来,化学致癌因素诱发白血病以年幼动物、多次投药的效果为佳。荷兰 Van-

Beckkum 应用 DMBA 建成 Brown Norway 大鼠粒细胞白血病(BNML);1981 年褚建新等应用马利兰诱发 615 系小鼠产生 L₇₈₁₁ 淋巴细胞白血病(腹水型)。

2. 射线诱发的白血病 X 射线、 γ 射线和中子的全身照射,以及某些内脏积蓄的同位素(如 ^{32}P)都可引发白血病。C 3 H, C 57 BR 和 C 57 BL 等近交系小鼠都对全身 X 线照射敏感,白血病发生率可达 60%~90%。Gross 认为射线的致白血病作用可能与激活小鼠体内的潜伏病毒有关。

3. 病毒诱发的白血病 1951 年 Gross 应用 AK 近交系小鼠自发性白血病组织的无

细胞滤液,注射 C 3 H 近交系新生乳鼠,分离得到一株可连续传代的小鼠白血病病毒(Gross-MuLV),以后其它学者又相继从移植性肿瘤中分离出多株 MuLV(表 1-1)。进一步研究表明,大鼠、猫、牛和猿等动物的白血病/淋巴瘤也与病毒有病因学上的联系。所有这些动物的白血病病毒在形态上均为 C 型颗粒,都属于逆转录病毒科(Retroviridae)。近年来对逆转录病毒的基因组结构、编码产物和功能等方面都进行了深入的研究,在分子水平上探讨了白血病的发病机制和基因治疗。

表 1-1 国内外主要的小鼠白血病病毒

MuLV 名称	分离年份	起源细胞	白血病类型
国外 Gross	1951	AK 近交系小鼠自发性白血病	T 淋巴细胞白血病
Graffi	1955	小鼠 Ehrlich 腹水瘤	粒细胞白血病
Friend	1957	小鼠 Ehrlich 腹水瘤	红白血病
Kaplan	1959	X 线诱发小鼠胸腺瘤	T-淋巴细胞白血病
Moloney	1960	小鼠肉瘤 37(S37)	T-淋巴细胞白血病
Rauscher	1962	Swiss 小鼠淋巴细胞瘤	红白血病,淋巴细胞白血病
Abelson	1972	Moloney 病毒诱发白血病	B 细胞白血病
国内 T ₆₃₈	1963	小鼠 ARS 腹水瘤	T-淋巴细胞白血病
L ₆₅₆₅	1965	小鼠 ARS 腹水瘤	T-淋巴细胞白血病

(三)细胞移植性白血病

这是应用自发的或诱发的白血病动物的造血器官(如脾)或血液的白血病细胞,在同基因或同类动物中进行移植(皮下、腹腔或静脉)而建立的模型,能长期连续传代,动物的存活时间短而有规律,移植成功率高(可达 100%),无自发缓解,可进行白血病细胞增殖动力学、筛选抗癌药物和发病机制等研究。国外常用的小鼠为 L₁₂₁₀ 和 P 388 淋巴细胞白血病细胞系等。国内可移植性白血病已建成 10 余个模型。比较常用的如 L₆₁₅ 瘤株是应用 T₆₃₈ 白血病小鼠的无细胞滤液在 615 近交系

诱发的移植性白血病;L₇₈₁₁ 为马利兰药物诱发的腹水型白血病模型;而 L₇₂₁₂、L₇₇₁₂ 等则为 615 系小鼠自发性白血病用腹水液或脾细胞进行移植的小鼠模型。

三、逆转录病毒的超微结构和分类

逆转录病毒能诱发动植物产生不同类型的白血病。逆转录病毒的分类比较复杂,可按照形态学分类(A 型、B 型、C 型、D 型)、发病学分类(致瘤性病毒、慢病毒和泡沫病毒)和传播方式分类(内源性和外源性)等。逆转录病

毒(Retrovirus)在自然界普遍分布对动物的致癌作用非常广泛,包括从爬虫类(蛇)、禽类到哺乳类和灵长类动物均可诱发白血病、肉瘤、淋巴瘤和乳腺癌等。本节着重讨论逆转录病毒与白血病的关系。

动物或人类的T细胞白血病的超薄切片中,电镜下观察到病毒颗粒,其形态基本相似,呈圆形或椭圆形。成熟的病毒颗粒有一个电子密度较深的核心,内含RNA和逆转录酶等,为壳粒(capsomere)组成的衣壳(capsid)所包绕,通常把逆转录病毒的核心核壳称为类核(Nucleoid)。类核外由完整的包膜(envelope)所包围。病毒的类核通过细胞膜芽生(budding)过程形成完整的病毒颗粒。按照在电镜下观察到的超微结构分为四种不同的类型。

(一)A型病毒

具有两层电子密度较深的包膜,但是膜的界限不清,中央部分为电子密度较淡的透亮区。颗粒直径约为70~90 nm。A型病毒仅见于细胞内,按其分布可为池内型(intracis-ternal form)和胞浆型(intracytoplasmic form)两种形式。在小鼠良性和恶性肿瘤细胞及仓鼠、豚鼠细胞内,以及我国建立的L₆₁₅、L₇₅₉和L₇₈₃等白血病瘤株和SRS淋巴瘤细胞内均曾见到池内A型病毒颗粒。但是迄今尚未证实池内A型的致癌作用。关于胞浆型A型病毒认为可能是B型病毒的前体。

(二)B型病毒

典型的B型病毒具有层膜状结构的病毒包膜,其表面有较多的刺突(spike),并有电子密度较深的圆形类核,位于病毒颗粒的

一侧(偏心位)。B型病毒常分布于细胞间隙,也可在胞质空泡内见到,其直径平均为105 nm。这类病毒与小鼠乳腺癌的发生有密切关系,称为小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV)。已分离出MMTV-S、MMTV-P、MMTV-L、MMTV-O和MMTV-Y等不同的病毒株,它们诱发乳腺癌的作用也异。

(三)C型病毒

这是逆转录病毒科中数量最多的一型病毒。根据宿主的不同可分为三组:爬虫类、禽类和哺乳类逆转录C型病毒,能相应地诱发蛇、鸡、小鼠、大鼠、猫、牛和猴等发生白血病或(和)淋巴瘤和肉瘤。成熟的C型病毒形态呈圆形或椭圆形,其特点是有一个电子密度较高的呈中央位类核和清晰的双层结构的包膜。小鼠白血病病毒C型颗粒的直径约100 nm左右,分布在细胞间隙和胞质内。上海医科大学病理生理学教研室和中国医学科学院天津血液学研究所分离的L₆₅₆₅、SRS和T₆₃₈小鼠白血病病毒均为典型的C型病毒,并证明具有致白血病活性。

(四)D型病毒

这是从猴乳腺癌细胞发现的逆转录病毒,称为MPMV(Mason-pfizer Monkey Virus),分布在细胞内外,其形态特点是具有电子密度较高呈偏位的棒状小体状类核,迄今尚未证实MPMV对动物的致癌作用。近年来观察发现人类艾滋病的人类免疫缺陷病毒(HIV)的形态也似D型。HIV性质也是属于逆转录病毒科病毒,有人将其归纳于该病毒科中的慢病毒组内(Lentivirinae)表1-2。

表 1 2 逆转录病毒科病毒的发病学分类

病毒亚科	病毒组	举 例	备 注
致瘤性亚科 (oncovirinae)	禽类白血细 胞增生症	禽白血细胞增生症病毒(ALV)	为外源性,诱发 B 淋巴瘤等
	——肉瘤病 毒	Rous 肉瘤病毒(RSV) 禽成髓细胞增生症病毒(AMV) 禽成红细胞增生症病毒(AEV) Rous 相关病毒 1-50(RAO1-50)	为外源性病毒,含 src 癌基因 为外源性病毒,含 myb 癌基因 为外源性病毒,含 erb-A 和 erb-B 癌基因 为内源性病毒,诱发 B 细胞淋巴 瘤和骨硬化症等
哺乳类 C 型 病毒		Moloney 小鼠白血病毒(Mo-MuLV)	为外源性病毒,诱发 T 细胞淋巴瘤
		Harvey 小鼠白血病毒(Ha-MuLV)	为外源性病毒,含 Ha-ras 癌基因
		Abelson 小鼠白血病毒(Abl-MuLV)	为外源性病毒,含 abl 癌基因
		AKR 小鼠白血病毒(AKR-MuLV)	为内源性病毒
		猫白血病毒(FeLV)	为外源性病毒,诱发 T 细胞淋巴 瘤,免疫缺陷等疾病
哺乳类 B 型 病毒		猴肉瘤病毒(SiSV)	为外源性病毒,含 sis 癌基因
		牛白血病毒(BLV)	为外源性病毒,诱发 B 细胞白血病
		长臂猿白血病毒(GaLV)	为外源性病毒,诱发粒细胞白血病
		小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV)	为内源性和外源性病毒,通过乳汁 传播,主要诱发乳癌或少数 T 淋 巴瘤
哺乳类 D 型 病毒		Mason Pfizer 猴病毒(MPMV)	为外源性病毒,致瘤性不明
		猴艾滋病毒(SAIDS-V)	猴免疫缺陷症
HTLV-BLV 组病毒		人类 T 细胞白血病毒(HTLV)	诱发 T 细胞白血病/淋巴瘤
		牛白血病毒(BLV)	诱发 B 细胞淋巴瘤
慢病毒亚科 (Lentivirinae)	慢病毒	人类免疫缺陷病毒 1 和 2(HIV-1 和 HIV-2)	诱发艾滋病(AIDS)
		猴免疫缺陷病毒(SIV)	在某些猴中诱发艾滋病样疾病
		Visna/Maedi 病毒	在绵羊诱发神经性及肺部疾病
		猫免疫缺陷病毒(FIV)	
		马传染性贫血病毒(EIAV)	
		羊关节-脑炎病毒(CAEV)	
泡沫病毒亚科 (Spumavirinae)	泡沫病毒	在人类和灵长类中分离的多株病毒(如 猴泡沫病毒 SFV 以及牛、猫、人中的 泡沫病毒)	为外源性病毒,大多诱发良性的病 变

四、逆转录病毒的生物化学特性

(一)理化组成

各种致瘤性逆转录病毒的化学组成基本

相似,均含有 60%~70%的蛋白质,30%~40%脂类,1.0%~2.5%的核酸和 2.0%~4.0%的碳水化合物(主要为糖蛋白)。蔗糖密度梯度为 1.16~1.18 g/ml,在氯化铯密度梯度为 1.16~1.21 g/ml。对脂溶剂、去污剂和 56℃ 加热 30min 敏感,而对紫外线和 X

线高度耐受。逆转录病毒可被酸(pH 4.5)和福尔马林(1:4000)灭活,但可保持于一70°C或更低的温度中。我国分离的 L₆₅₆₅-MuLV 的蔗糖密度为 1.16~1.171 g/ml,而 SRS 白血病病毒则为 1.165 g/ml,而 SRS 在氯化铯内的密度则为 1.176 g/ml。在逆转录病毒的类核核壳和包膜中含有一组蛋白质(p)和糖蛋白(gp),它们是由逆转录病毒基因组中相关的基因所编码的。

(二)核酸

一般应用酚提取法,从逆转录病毒得到 2 个主要核酸成分,沉淀快的 60~70 S 和沉淀慢的 4~5 S,此外尚有少量的 28 S、18 S 和 7 S RNA。这些都是单股的 RNA,对胰核酶敏感而被分解。研究表明,60~70 S RNA 是 B 型和 C 型病毒颗粒中核酸的主要成分,分子量为 1×10^7 道尔顿。这种 RNA 为聚集性结构,如加热或二甲亚砜(DMSO)处理,可使其 H 键断裂而分裂为 30~40 S 亚单位和更小的亚单位(如 4 S RNA),4~5 S

RNA 起 tRNA 的作用。4 S 与 60~70 S 聚合物中的 30~40 S 亚单位是以 H 键相结合的,它可能在逆转录酶作用下合成 DNA 时起引物的作用;28 S 和 18 S 的 RNA 大小类似于宿主的 RNA,可能是在病毒成熟过程中从宿主摄取的;7 S RNA 也可能起源于细胞,但功能尚不清楚。单易非等应用我国分离的 SRS 白血病病毒(SRSV)进行研究,证明该病毒的核酸组成与上述资料完全一致,并进一步证实 SRSV 的 35 S 和 70 S RNA 在体外均可刺激病毒蛋白的合成。

(三)蛋白质

用凝胶过滤和聚丙烯酰胺凝胶电泳等方法,从不同动物的逆转录病毒颗粒的结构中分离出不同的蛋白质和糖蛋白。对禽类、小鼠和猫、灵长类的 C 型病毒的研究表明,每一类病毒的包膜和类核都有一组相对特异的蛋白质和糖蛋白(表 1-3),因此各类逆转录病毒之间的抗原性也有一定的差异。

表 1-3 逆转录病毒的蛋白质组分

蛋白质的性质	在病毒颗粒中的定位	逆转录病毒的型		
		禽类 C 型	小鼠 C 型	小鼠 B 型
主要疏水性蛋白	类核内或与膜相连系	pp19	p15	p10
主要磷酸化蛋白	在类核与胞膜之间或少量与 RNA 相连系	pp19	pp12	pp21
中度或高度疏水蛋白	类核的主要结构蛋白	p27	p30	p27
强碱性蛋白	在类核内与 RNA 结合	p12	p10	p11
逆转录酶	类核内	p92/p58	p70	p100
疏水性跨膜蛋白	包膜	gp37	p15(E)	gp36
主要糖蛋白	包膜	gp85	gp70	gp52
蛋白酶	类核与包膜之间	p15	?	?

(四)酶类

在逆转录病毒中存在不同的酶,如核糖核酸酶、核苷酸激酶、DNA 连接酶、DNA 内切酶和外切酶等,特别有意义的是含有一种 DNA 多聚酶,在体内外均能逆向转录病毒的

RNA 成为 DNA,称为依赖 RNA 的 DNA 多聚酶(RNA dependent DNA polymerase, RDDP),即为逆转录酶(Reverse transcriptase, RT)分布在逆转录病毒的类核内,也是逆转录科病毒的共同的特点。此外,还有与 RT 的功能密切有关的 RNase H 酶。

RNase H和RT皆是由逆转录病毒同一mRNA编码,位于同一多肽链上,前者位于多肽链偏羧基端,而后者则偏于氨基端,两者的活性具有同一性,共同参与逆转录病毒的复制过程:(1)以逆转录病毒RNA为模板,t-RNA为引物,在RT酶作用下合成负链DNA,形成RNA-DNA杂交双链;(2)继而RNase H发挥作用降解杂交体中的RNA,使负链DNA成为单链模板;(3)再进而在RT酶作用下,复制出正链DNA。不同动物的逆转录病毒类核中的RT酶大小不一致。免疫学研究的结果显示,B型病毒和C型病毒之间的逆转录酶无交叉反应。过去曾认为RT是致瘤性逆转录病毒所特有,但以后的研究证明,那些没有致瘤性但可引起感染的绵羊Visna病毒和进行性胸膜炎病毒(PPV)也皆可以含有RT酶,因此这只有相对的意义。

(五)脂类和碳水化合物

绝大部分脂类分布在逆转录病毒的包膜上。禽类和小鼠的逆转录病毒含有磷脂。逆转录病毒中没有游离的碳水化合物,研究找到的皆是糖蛋白。糖蛋白组成逆转录病毒包膜上的刺突(spike),蛋白酶可使其剥脱,但不破坏病毒的包膜。应该指出的是,病毒包膜上的糖蛋白决定逆转录病毒型的抗原的特异性,可控制病毒对宿主的感染范围。

五、逆转录病毒的抗原性

逆转录病毒的抗原性比较复杂,应用不同的免疫法检测可以将其分为三种类型:

(一)型特异性抗原

(type specific antigen)

这是指应用病毒中和试验检出的在同一

种系动物中的不同的逆转录病毒抗原。这种抗原是由逆转录病毒基因组中的env基因编码的产物,分布在病毒的包膜上,有时也称为包膜抗原(envelope antigen, VeA),是每种病毒内个别病毒株或一组病毒组的特异性抗原,其产生的抗体只对本病毒起免疫反应。不同动物的逆转录病毒的VeA的化学结构各异,如在禽类为两种糖蛋白gp 37和gp 85,而小鼠C型病毒的VeA为gp 70(或gp 69~71)。禽类和小鼠VeA不发生交叉反应,C型和B型病毒之间也无免疫交叉。

(二)组特异性抗原

(group specific antigen,gs)

这是指同一种系动物中不同的病毒共有的抗原,有时也称种特异性抗原(species specific antigen),是由逆转录病毒基因组中gag基因编码的产物,主要应用补体结合试验或凝胶扩散试验等方法进行检测。gs抗原分布在病毒的类核内,主要的gs抗原是一种分子量为30 000道尔顿的碱性蛋白质p 30(动物逆转录病毒gs抗原约为27 000~31 000道尔顿,p 27-p 30),这种抗原是一种动物(如禽、仓鼠、小鼠、猫、猴)内所有C型病毒共有的抗原。但是禽类和哺乳类动物C型病毒的p 30之间不发生交叉,小鼠C型病毒与B型病毒之间的p 30也无免疫反应。

(三)种间抗原

(interspecies antigen)

这是不同种的哺乳类动物的许多C型病毒共有的抗原,包括病毒主要内源性蛋白,病毒性依赖RNA聚合酶和包膜糖蛋白等。鸡与哺乳类动物的B型和D型病毒无种间特异性抗原。逆转录病毒包膜蛋白大都携有这三类抗原决定簇。C型病毒结构蛋白的抗原性见表1-4。

表 1-4 C 型病毒结构蛋白的抗原性

禽类	蛋白质		毒中的定位	抗原特异性		
	小鼠	灵长类		型	组	种间
gp85	gp69/71	gp70	包膜	+	++++	+
gp35	gp45	—	NR**	NR	NR	NR
p110	p70	p70	核心	—	++++	+
p27	p30	p27	核心	+	++++	+
p15	p15	p15	核膜	++++	+	+
p12	p12	p12	核膜	++++	+	—
p10	p10	p10	核心	—	+	—

* 抗原特异性表示:++++为强特异性 +为弱特异性 —为未能检出抗原性

** NR:未报告

六、逆转录病毒的基因组 结构和功能

各种动物逆转录病毒有类似的基因组结构,在自然状态下,病毒颗粒内的基因组是由 2 个 30~35 S RNA 亚单位组成的二聚体,在靠近 5'端处通过 H 键连接成 60~70 S RNA 复合物,加热可使之解聚。二聚体的分子中含有逆转录病毒的全部遗传信息。逆转录病毒的基因组结构总长度约为 10 000 个核苷酸组成。按照基因组从 5'末端到 3'末端次序包括以下基因:(1)gag 基因,也称为主要结构核心抗原基因(major structural core antigen gene),负责编码一种前体蛋白,进一步被切割产生不同分子量的病毒结构蛋白,如小鼠白血病病毒的 gag 基因编码产物为 p10、p12、p15 和 p30 等;(2)pol 基因(polymerase gene):其主要编码产物为依赖 RNA 的 DNA 多聚酶,即逆转录酶;(3)env 基因(envelope gene):负责编码逆转录病毒颗粒包膜表面的糖蛋白,MuLV 为 gp70 和 p15 (E),这类蛋白质与病毒的免疫功能有关。上述 3 种基因片段携带逆转录病毒复制所必需的全部遗传信息,这些基因启动后即可复制出完整的病毒颗粒,所以这类病毒称为具有复制能力的逆转录病毒(replication compe-

tent retrovirus)或称无缺陷性逆转录病毒(nondefective retrovirus)。应该指出在上述三种基因组成的基因组的 5'或 3'端均有长末端重复核苷酸序列(LTR),后者由 U₃-R-U₅ 区域组成。一般认为 LTR 为非翻译区,不编码产生蛋白质产物,但含有启动子(promoter),可影响病毒基因的表达。近年来严冬等研究还证明,SRS-MuLV 3'端 LTR 中的 U₃ 区与病毒致病性能有关。

某些逆转录病毒基因组还可有附加的基因。目前认为这是宿主细胞的 DNA 片段通过重组插入到病毒基因组中的,使这种病毒具有诱发恶性肿瘤/白血病的能力。逆转录病毒基因组内这一片段称为病毒肿瘤基因或病毒癌基因(v-onc),为逆转录病毒基因组中的第 4 个基因,其位置一般在 env 基因与 3'端 LTR 之间(如 RSV 中的 src 癌基因),也可以与 gag 重叠,编码产生融合蛋白(如 p120 v-gag-abl),这类癌基因编码产生转化蛋白与细胞的恶性转化有关。

七、逆转录病毒的复制

逆转录病毒具有特殊的复制模式,是以前病毒 DNA(proviral DNA)形式参与病毒的复制周期整合到宿主细胞的基因组内,并传递它的遗传信息,这一过程是逆转录病毒