

病毒

王用楫

(北京生物制品研究所)

应用病毒这个名词,至今还不到百年。近千年前,我国劳动人民已使用“种花”的办法来预防天花。“种花”就是从轻症天花病人采取干燥痂皮,种到健康人鼻内;当时并不知道所种的“花”是一种病毒。就当前的了解,可以认为病毒是一种形小体微、结构简单、寄生在细胞内的微生物。在研究疾病和病毒的关系中,以往都是先认识疾病,后寻找有关的病毒;找到的当然都是那些致病的病毒。1950年以后建立和使用了细胞培养分离病毒的技术,从正常人或动物的粪便、呼吸道分泌物以及从蚊虫的体内,分离得到多种多样的病毒,其中对其宿主动物大都没有致病作用。一些这样病毒曾命名为孤儿病毒,指的就是那些不致病的病毒。由此看来,细胞培养的应用,既丰富了病毒的知识,又扩大了病毒的概念。现在已认识到:除致病的病毒外,还有无害的病毒存在;机体携带病毒不一定必然引起疾病;自然界多种生物体内,已证明带有这样或那样的病毒;只要有细胞存在,就可能有病毒伴随;随着测知病毒方法的改进,可检出的病毒种类必然会日益增多。研究病毒的重要性和必要性已经从医学、兽医学的范畴扩展到分子生物学、分子遗传学的领域,将会把病毒、核酸和基因三者汇拢起来。

全国解放以来,在病毒研究方面,以流行性乙型脑炎为主要课题,对其病原学、血清学、免疫学、流行病学、预防和治疗开展了大量、系统、深入的研究,从而使

病毒工作者的队伍成长壮大起来。在病毒应用方面,在伟大领袖毛主席革命卫生路线指引下,病毒性疫苗对防病、灭病起着越来越大的作用;在文化大革命中建立起来的、以赤脚医生和车间红医员为主力的社会主义医疗卫生基础上,由于病毒性疫苗的人群接种,使广阔的农村和城镇已经消灭了天花,小儿麻痹、麻疹的流行也在逐步控制和消灭中,其它一些病毒性疾病的发病率也在大幅度降低。

根据侵犯宿主的不同,通常将病毒区分为脊椎动物病毒、昆虫病毒、植物病毒、细菌病毒(噬菌体)。本文从医学病毒学的观点出发,主要讨论脊椎动物病毒,首先是侵犯人的和介绍有关病毒的一些基本知识。

一、什么是病毒

最简单的病毒是由核酸和蛋白质组成。各种病毒只含一种核酸,脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)。核酸外面包以病毒蛋白质外套。病毒蛋白质不仅可保护病毒核酸,而且还可协助核酸,使其易于进入宿主细胞。通常认为核酸在病毒颗粒中央,形成核心;但核酸与其蛋白质外套之间相互关系的确切真象,目前还不了解。

病毒与细菌不同,只能在其宿主细胞内复制,不能在人工培养基中生长,能通过除菌过滤器,除少数大型病毒外,在光学显微镜下不能看见。微生物中衣原体、

表 1 病毒与其它微生物性质的比较

比较项目	病 毒	衣 原 体	立 克 次 体	枝 原 菌	细 菌
培养方法	宿主细胞	宿主细胞	宿主细胞	人工培养基	人工培养基
体积大小	< 250 毫微米	250—500毫微米	500 毫微米	> 500 毫微米	> 500 毫微米
可见性	电子显微镜	光学显微镜	光学显微镜	光学显微镜	光学显微镜
过滤性	能过滤	能过滤	不能过滤	不能过滤	不能过滤
繁殖方式	复制	二均分裂	二均分裂	二均分裂	二均分裂
核酸种类	DNA 或 RNA	DNA + RNA	DNA + RNA	DNA + RNA	DNA + RNA
对抗菌素	不敏感	敏 感	敏 感	敏 感	敏 感
对干扰素	敏 感	敏 感	不 敏 感	不 敏 感	不 敏 感

立克次氏体、枝原菌三者的性质，介于病毒和细菌之间。表 1 列出这几种微生物的主要性质，以资比较。

多年来对于病毒是否属于微生物的范畴争论不休。1935 年当 Stanley 氏使烟草花叶病病毒结晶后，首次提出这一争论；1956 年 Gierer 和 Schramm 二氏证明纯化的病毒核酸具有病毒的感染性时，争论再次提出。由于病毒与细菌在性质上的区别，导致理论和实际中的差异。例如有些病毒借助于与其宿主细胞 DNA 的聚合作用 (integration)，可潜伏在细胞内，甚至使细胞转化，而细菌则无此种潜伏能力；病毒使细胞转化可能是某些致癌性病毒的致病机理。又如病毒在代谢上不活动，对抗生素无敏感性，而抗生素可阻止细菌的代谢过程，可用以治疗细菌性感染。

二、病毒的形态

(一) 研究病毒的物理方法

在病毒学的发展过程中，用于研究病毒的物理方法有：除菌过滤器、电子显微镜、磷钨酸钾负染技术和 X-线衍射的应用。多年来已知病毒比细菌更加微小。1898 年 Loeffler 和 Frosch 二氏证明，用通过除菌过滤器的病理材料滤液，可传播牛的口蹄病。这类微小的病原体曾称做“过滤性病毒”。除痘类病毒外，病毒在光学显微镜下都不能看见，因而又称为“超视性病毒”。只有在电子显微镜问世后，大部分病毒才可看见，其大小在 20—250 毫微米之间。最小的病毒体积与最大的蛋白质分子相当。

到 1959 年 Brenner 和 Horne 二氏应用负染技术至病毒电镜术时，才能观察病毒的超显微结构，即使用具有电子密度的磷钨酸钾，充填到病毒表面的间隙，在电子照片上显出前所未有的详细结构。X-线衍射技术提供的证据表明，病毒外壳的蛋白质分子以对称形式围绕着核酸分子规则排列。负染技术最明确地证实，核酸分子与蛋白质分子的排列关系。

(二) 病毒结构

病毒的最小形态单位为子粒 (capsomere)，它以对称形式排列，从而构成病毒的外壳，称为壳体 (capsid)。壳体内有病毒核酸存在，二者连合称为核壳体 (nucleo-capsid) (图 1)。有些大型病毒的核壳体为一个脂肪体或脂肪蛋白的封套 (envelope) 所包围；全部结构统名为病毒体 (virion) 或完整的病毒颗粒 (图 1)。无封套的病毒仅仅由核壳体组成 (图 1)。

每个子粒 (形态学单位) 由一个或几个多肽链 (化学单位) 组成。X-线衍射技术表明这些化学单位分子排列有对称性，而电镜技术则显示形态学单位子粒的规则性排列。

从遗传学观点推论，壳体由一种或少数几种多肽链构成，为形成完整的外壳以保护病毒核酸不与核酸

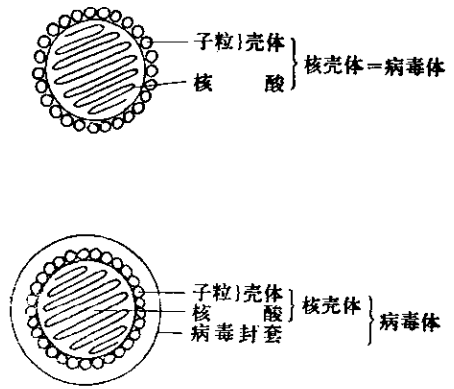


图 1 病毒结构示意图

酶接触而被灭活，这些多肽分子必须对称排列，方能使耗用物质最少而获得体积最大的效果。在壳体中已知只有立体 (20 面体) 和螺旋 (盘旋) 两种对称。

立体对称：即 20 面体对称。20 面体是几何学中一种立体型，有 12 个顶端和 20 个面，每个面为一个等边三角形 (图 2)。围绕边缘、平面、顶端分别旋转，20 面体有 2 重、3 重、5 重旋转的对称轴 (图 2)。已知的 DNA 病毒类全部为立体对称，RNA 病毒类中细小 RNA 病毒、披盖病毒、呼肠孤病毒为立体对称。

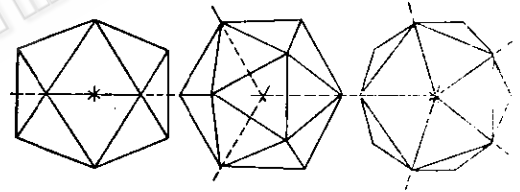


图 2 20 面体 2 重、3 重、5 重旋转对称轴

螺旋对称：RNA 病毒核壳体中表现为螺旋对称的有粘液、副粘液、白血、弹状四组病毒。病毒核酸分子与子粒蛋白分子绕在一起形成螺旋，每个子粒只含单一的多肽分子。杆形植物病毒主要由螺旋对称的、无封套的核壳体所组成；而脊椎动物病毒的管状核壳体则绕成螺旋对称，外面包有一层疏松的脂肪蛋白封套。

三、病毒化学组成

(一) 纯化病毒的方法

分析病毒化学组成的首要工作为纯化病毒颗粒。病毒与其所寄生的细胞间的密切关系，使从细胞碎屑中清出病毒体颇有困难。另外，病毒体的感染性对温度、酸碱度有时对脂肪溶剂非常敏感。因此，在纯化过程中，应保持病毒在中性 pH 和 4℃ 条件下，带封套的病毒还要避免与脂肪溶剂接触。

病毒释放：纯化过程第一步为从宿主细胞释放病毒。感染细胞培养物的上清液是病毒体最纯净的来

源,但有些病毒必须以超声振动、乳化或反复冻融等措施处理细胞,才能将病毒释放出来。

化学纯化法:病毒体表面由蛋白质组成,有时还伴有脂肪。因此,以化学方法纯化病毒时,必须避免蛋白变性。硫酸铵或酒精可沉淀病毒,病毒亦可吸附在二乙基胺基乙基纤维素(DEAE)、磷酸钙、氢氧化铝凝胶体、离子交换树脂、葡聚糖凝胶(sephadex)的柱上或红血球上,然后以不同pH和离子强度的缓冲剂使病毒解离。

物理纯化法:在以化学方法初步纯化、浓缩后,病毒颗粒经离心沉淀与可溶性污染物分开。分级离心法即先低速离心使大型污染颗粒沉淀,然后高速离心以纯化、浓缩病毒体。

(二) 核酸

病毒只含有一种核酸,即DNA或RNA。自然界中RNA病毒是以RNA携带遗传信息的唯一例证。此种RNA与病毒的DNA相似,可以单股或双股存在。乳多空病毒的DNA为环形,有“超螺旋”的结构。病毒核酸的分子量在二百万到一亿六千万之间。通常大型病毒含有较多的核酸。用分散剂或酚可从病毒体提取核酸。所提取的核酸非常脆弱,但从小型病毒提取的核酸分子,当接种到细胞甚至动物内,仍可证明其感染性。双股的核酸分子在电镜下可以识别出来。

(三) 蛋白质

所有病毒的主要成分为蛋白质。其主要作用似乎是保护病毒核酸。病毒体表面上的蛋白质,对易感性细胞表面存在的相应受体,具有一种特殊的亲和力。蛋白质还含有抗原性决定簇,机体针对此决定簇可产生抗感染的免疫反应。大部分病毒体含有几种不同的多肽链。简单的病毒只有一、二种,在最复杂的痘类病毒中多肽链达20种以上。每个子粒是由1—6个同种多肽分子组成的;但病毒体上不同部位的子粒,可由不同的多肽链组成。病毒封套上的表面突出物,是由其它多肽链组成的。

(四) 脂肪体

某些病毒在“发芽”过程中,通过受染细胞的细胞浆膜而获得封套,这个封套的脂肪体保有细胞脂肪体的性质。带封套的病毒能为脂肪溶剂如乙醚、氯仿和胆盐所破坏。痘类病毒在病毒体内含有脂肪体,但不存在于来自细胞的封套之内。

(五) 碳水化合物

有些病毒,除核酸分子的糖外,含有少量的碳水化合物。在粘液病毒及一些披盖病毒的封套表面突出物中,此种碳水化合物以糖蛋白形式存在。

四、病毒灭活

对灭活病毒感染性的了解,不仅关系到如何消毒,而且还涉及到制备疫苗。另外,实验室保存的病毒,包括分离病毒的临床材料,应力求避免种种灭活的条件。

(一) 物理因素

热:病毒怕热。55—60℃温度数分钟内病毒壳体的蛋白即遭变性,结果丧失病毒的感染性。病毒必须低温保存,4℃通常保存1天左右,长期保存需零下温度,例如-70℃。大部分病毒的半生长期:60℃以秒计,37℃以分计,20℃以时计,4℃以天计,-70℃以月计。有封套的病毒比无封套的更为怕热。实验工作常年需要的毒种,可采用下面方法保存:(1)快速冰冻法,即含有保护性蛋白质的小量病毒悬液快速冰冻,然后-70℃保存;(2)冷冻干燥法,即冰冻的病毒悬液在真空条件下脱水,得到的干燥粉末4℃长期保存。

照射:X-线和 γ -线和紫外线均可灭活病毒,其灭活效果随病毒种类不同而异。

(二) 化学因素

脂肪溶剂:带封套的病毒易为脂肪溶剂如乙醚、氯仿或脱氧胆酸钠所破坏。对脂肪溶剂的敏感性,常规用来初步鉴定新分离的病毒。带封套的病毒,在消化道内与胆汁接触即被灭活。

抗菌剂和消毒剂:无封套的病毒能抵抗多种常规用作抗菌消毒剂的化学药品。甲醛、稀的氢氯酸或亚氯酸钠可消毒污染病毒的器具,但与人体接触刺激性太强而实际上不能采用。

氯化饮水常常不能灭活抵抗力较强的病毒如肝炎病毒和肠病毒。氯化作用的效果受水中有机物含量影响,因为蛋白质能保护病毒不被破坏。

五、病毒分类

病毒可寄生在各种生物(如:脊椎动物、无脊椎动物、植物、霉菌、细菌等)体中。还有所谓“卫星”病毒。“卫星”表明此种病毒依赖于相应病毒,如腺病毒伴随病毒对腺病毒的依赖。腺病毒伴随病毒实际上就是寄生在腺病毒内的病毒。但有这样关系的病毒,通常认为是两种病毒寄生在同一宿主细胞。

已经知道的病毒有500种,而尚未被发现的必然还很多。为了系统的研究和了解,就需要对病毒依其某些共同性质进行分类。

(一) 根据理化性质分类

按照已知的理化性质,可将动物病毒归并为若干“组别”,各“组别”的命名主要参考病毒在宿主动物体

表 2 动物病毒的形态

组 别	形 状	直径(毫微米)	封 套	对称性	子粒数目	核壳体直径 (毫微米)
DNA 病毒						
细小病毒 (Parvovirus)	球 形	20	-	立 体	32	—
腺病毒伴随病毒 (Adeno-associated virus)	球 形	20	-	立 体	?	—
乳多空病毒 (Papovavirus)	球 形	40—55	-	立 体	72	—
腺 病 毒 (Adenovirus)	球 形	70—80	-	立 体	252	—
疱疹病毒 (Herpesvirus)	球 形	150—200	+	立 体	162	—
痘类病毒 (Poxvirus)	砖 状	100×200×300	-	—	—	—
RNA 病毒						
细小 RNA 病毒 (Picornavirus)	球 形	20—30	-	立 体	62(?)	—
披盖病毒 (Togavirus)	球 形	50—60	+	立 体	?	—
粘液病毒 (Myxovirus)	球形或丝状	80—120	+	螺 旋	—	6—9
副粘液病毒 (Paramyxovirus)	球形或丝状	100—300	+	螺 旋	—	18
冠 状 病 毒 (Coronavirus)	球 形	80—120	+	?	—	—
白血病毒 (Leukovirus)	球 形	100—120	+	螺 旋	—	—
弹 状 病 毒 (Rhabdovirus)	弹 形	70—180	+	螺 旋	—	5
呼肠弧病毒 (Reovirus)	球 形	70—80	-	立 体	180 或 270	—

内存在的部位或所致的疾病。动物病毒主要组别的形态学和化学组成见表 2、3。病毒体形态的分类标准有：形状和大小、有无封套、核壳体的对称性。核酸化学的分类标准有：核酸种类、结构、分子量。主要病毒的形态见图 3。

(二) 从流行病学分类

动物病毒可由吞咽、吸入、注射或接触而传播。因此,当讨论病毒感染的流行病学和发病机理时,经常使用下列的词汇作为病毒分类的辅助标准。

1. 肠道病毒：这类病毒通过胃肠道进入身体,在胃肠道初步繁殖;其中包括细小 RNA 病毒组中对酸和胆汁有抵抗力的肠病毒亚组以及腺病毒、呼肠弧病毒。

2. 呼吸道病毒：这类病毒由呼吸道进入身体,且在呼吸道进行繁殖。呼吸道病毒一词常常用于仅在身体局部存在的病毒。这类病毒包括粘液病毒、副粘液病毒以及细小 RNA 病毒中的鼻病毒;还有腺病毒、呼肠弧病毒和一些亦能在肠道中生长的肠病毒。

3. 虫媒病毒(昆虫传播的病毒)：这类病毒能感染吸血昆虫,并在昆虫体内繁殖,然后由叮咬把病毒传

表3 动物病毒的化学组成

组别	核酸 类型	核酸 结构	核酸 分子量 (百万)	蛋白质 病毒体 多肽数	脂肪体
DNA 病毒					
细小病毒	DNA	单股	2	?	0
腺病毒伴随病毒	DNA	单股	2	?	0
乳多空病毒	DNA	双股	3—5	2或3	0
腺病毒	DNA	双股	20—25	9—10	0
疱疹病毒	DNA	双股	70—100	许多	+
痘类病毒	DNA	双股	160—200	约20	+
RNA 病毒					
细小RNA病毒	RNA	单股	2—3	4	0
披盖病毒	RNA	单股	3—4	3	+
粘液病毒	RNA	单股	3	5	+
副粘液病毒	RNA	单股	7	6	+
冠状病毒	RNA	单股	?	?	+
白血病毒	RNA	单股	10—12	?	+
弹状病毒	RNA	单股	5	6	+
呼肠弧病毒	RNA	双股	15	7	0

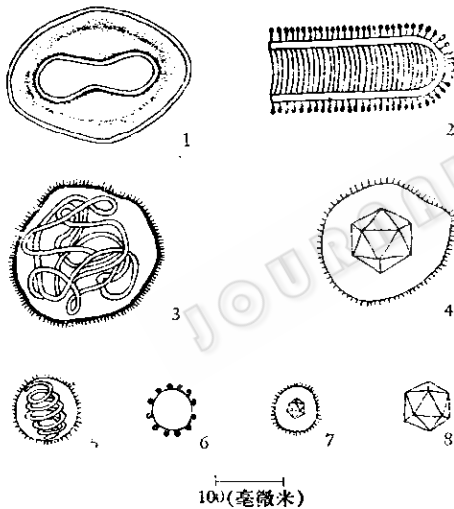


图3 主要病毒形态示意

- 1. 痘类病毒;
- 2. 弹状病毒;
- 3. 副粘液病毒;
- 4. 疱疹病毒;
- 5. 粘液病毒;
- 6. 冠状病毒;
- 7. 披盖病毒;
- 8. 乳多空病毒。

播到敏感的脊椎动物，在脊椎动物体内亦可繁殖，如此，在昆虫、动物间病毒循环不已。至少有两组病毒可归于这类病毒，即披盖病毒和弹状病毒。

(三) 主要的 DNA 病毒

1. 乳多空病毒：乳多空病毒是乳头瘤、多发瘤、空泡病毒的缩写，属小型、无封套、20 面体的病毒，在脊椎动物细胞核内复制。在病毒体中，其核酸表现为

环型双股分子。乳多空病毒的主要医学意义在于，多瘤病毒和猴空泡病毒 40 (SV40) 接种乳鼠引起恶性肿瘤，可以作为研究病毒致癌的模式。

2. 腺病毒：腺病毒是无封套，20 面体的病毒，在受染细胞的核内繁殖。腺病毒存在于多种动物中，已经认识的人类腺病毒有31种血清型。人的腺病毒平常伴有呼吸道，偶尔伴有眼的感染。大部分的特征为长期潜伏。亦可在肠道繁殖，经常发现在粪便中。人的或其它动物的部分腺病毒，如果接种到新生的地鼠体内，可引起恶性肿瘤，已广泛用于肿瘤发生机理的实验研究。

3. 腺病毒伴随病毒：腺病毒的实验室毒株许多都污染有腺病毒伴随病毒，其直径约20毫微米，呈立体对称，已知有四个亚型。此类病毒系缺陷性 (defective) 病毒，不能复制，除非有“帮助者”腺病毒存在，才可繁殖。

人群中存在有抗腺病毒伴随病毒的抗体；从同时由粪便和喉头排出腺病毒的儿童中，已分离出此种病毒。尚未发现此种病毒可引起的疾病。

4. 疱疹病毒：疱疹病毒是 20 面体的 DNA 病毒，在受染细胞的核内繁殖。此种病毒通过核膜，以发芽方式成熟，在发芽成熟过程中获得封套。

重要的人类疱疹病毒疾病中有单纯性疱疹、水痘和带状疱疹，其病变特征为皮肤水泡。巨细胞病毒偶尔可产生严重的先天性感染。传染性单细胞增多症是由一种新发现的 EB 疱疹病毒引起的。疱疹病毒感染的特点为长期潜伏，由于机体内在的生理或病理原因而引起反复的临床疾病。

5. 痘类病毒：痘类病毒是体积最大而结构最复杂的脊椎动物病毒，含有最大的 DNA 分子。病毒体含有砖状的 DNA 核心，围绕以数层薄膜。痘类病毒在细胞浆内繁殖，此点与哺乳动物的其它 DNA 病毒不同。

有几种不同亚组痘类病毒可感染人类。天花、类天花和接触性软疣是特异性只感染人类的疾病，而人类偶尔也可受到绵羊痘和挤奶员节结病的感染。后两种疾病通常只侵犯动物。上述这些疾病都产生皮肤病变，天花和类天花则是严重的全身性疾病。

(四) 主要的 RNA 病毒

1. 细小 RNA 病毒：细小 RNA 病毒包括大多数脊椎动物的病毒种类。这类病毒为小型、无封套、20 面体的病毒，含单一分子的单股 RNA，在细胞浆内繁殖。

这组病毒可分为两大亚组：即肠病毒和鼻病毒。肠病毒中有小儿麻痹病毒 3 个型别，人肠细胞病变孤儿病毒 33 个型别，考克赛基病毒 30 个型别，这些型别的病毒通常只引起隐性的肠道感染。但是，小儿麻痹病毒亦可引起麻痹，而其它的肠病毒有时伴随脑膜炎、发疹、心肌炎、肌炎或轻型上呼吸道感染。鼻病毒已知有 90 个型别，是伤风的主要原因。

2. 披盖病毒：在 260 种已知的虫媒病毒中，约有

200种可归并在30多个抗原组内,其余的尚未能分组。披盖病毒是根据其理化性质定名的,并不是依据在节足动物中的繁殖能力。这类病毒为球型、有封套的RNA病毒,在立体对称的核心内含有单股RNA,在细胞浆内繁殖,由细胞膜以发芽方式成熟。

在自然界中,披盖病毒使哺乳类、鸟类或爬虫类动物产生隐性感染、伴随病毒血症,通过节足动物类的虫媒传播,在虫媒体内亦可繁殖。当人类或家畜受到叮咬,一般结果为隐性感染,但亦可引起严重的全身性疾病,如乙型肝炎、森林脑炎、出血热、黄热病。

3. 粘液病毒: 粘液病毒以球形或丝状的病毒体出现,其管形核壳包围在封套内。封套是在病毒通过细胞浆膜以发芽方式成熟时形成的。封套上连有两种表面突出物,一是病毒的血凝素,另一为神经氨酸酶。

就目前所知这组病毒,包括引起流感的各型病毒。甲型流感除人类外,在鸟粪、马、猪都已有所发现;乙型和丙型流感病毒仅对人类有致病性。

4. 副粘液病毒: 副粘液病毒与粘液病毒相似,大致亦呈球形或丝状,有封套,内含管状核壳。

一些副粘液病毒,如副流感和呼吸道合胞体病毒,引起人的呼吸道的局限性感染。另一些,如腮腺炎、麻疹病毒,则产生儿童常见的全身性疾病。

5. 冠状病毒: 冠状病毒为中等大小的病毒,形状有些多变,在其脂肪蛋白质封套上有梅花形的表面突出物。封套内含有RNA的核心,其对称性未定。这组病毒包括鸡的传染性支气管炎病毒、小鼠肝炎病毒以及引起人类伤风的几种病毒。

6. 白血病毒: 白血病毒呈多形性、有封套的RNA病毒,其成熟方式为由细胞浆膜发芽。这类病毒可分为三个亚组,即鸡白血病毒、小鼠白血病毒和乳腺肿瘤病毒。从牛和猫已发现一些可能属于白血病毒组的病毒。目前从人类尚未发现这类病毒。

白血病毒的大部分感染,在相当长久的时期内呈现潜在状态,到最后可引起致死性疾病,一般表现为淋巴样或造血系统的肿瘤。少数病毒株可引起发展迅速的肿瘤,明显的例子有鸡的Rous氏肉瘤病毒、小鼠的Moloney氏和Harvey氏肉瘤病毒。

7. 弹状病毒: 弹状病毒是大型、弹状、有封套、单股的RNA病毒,核壳为螺旋对称,封套上有表面突出物。病毒体在细胞浆膜成熟。研究比较深入的弹状病毒为水疱性口炎病毒,这是一种感染马匹的虫媒病毒。

在鱼类、昆虫甚至植物中,已发现在形态学上相似的病毒。能感染人类的弹状病毒为狂犬病病毒,由疯兽咬伤而传播至人。

8. 呼肠孤病毒: 这组病毒的命名是呼吸道和肠道的孤儿病毒的缩写,表明这类病毒存在于人类及多种兽类的呼吸道和肠道内,但尚未发现伴随有任何疾病。这类病毒的特点在于含有双股的RNA。病毒为20面体,无封套,有双层同心子粒蛋白壳,在细胞浆内繁殖。

(五) 未能分类的病毒

有些病毒,在医学或兽医学虽属重要,尚不了解其结构和成分,目前不能分类。明显的例子有肝炎病毒、马传染性贫血病毒