

第30章 其他病毒、朊粒

第一节 狂犬病病毒

(Rabies virus)

弹状病毒科 (**Rhabdoviridae**)，狂犬病病毒属。

(**Lyssavirus**) 的一种嗜神经性病毒，通过动物咬伤、抓伤感染而引起狂犬病。属弹状病毒科狂犬病病毒属，是人及动物狂犬病的病原体。



临床意义

- 人类狂犬病大多是由病犬咬伤所致，有时也可因猫、狼、带毒动物咬伤而致感染。动物在发病前**5**天唾液中就带有病毒。人被咬伤后，病毒经伤口进入机体内。
- 潜伏期一般为**1~3**个月，但亦有短至一周或长达数年的。潜伏期的长短取决于被咬伤部位距头部的距离、伤口深浅及感染的病毒数量，伤口距头部越近、伤口越深、伤口内感染的病毒量越大，潜伏期越短。

- 进入体内的病毒在肌纤维细胞中增殖，约4~6小时内侵入周围神经，沿传入神经轴索及其外间隙上行，经背根节和脊髓段上至中枢神经系统。病毒在神经细胞内大量增殖并引起中枢神经系统损伤，以脑干、小脑为主。然后又沿传出神经向全身扩散，以唾液腺、舌部味蕾、嗅神经上皮等处为多，还有泪腺、视网膜、角膜及肺、肾等器官。

- 致病机制

首先在伤口局部肌肉细胞内增殖



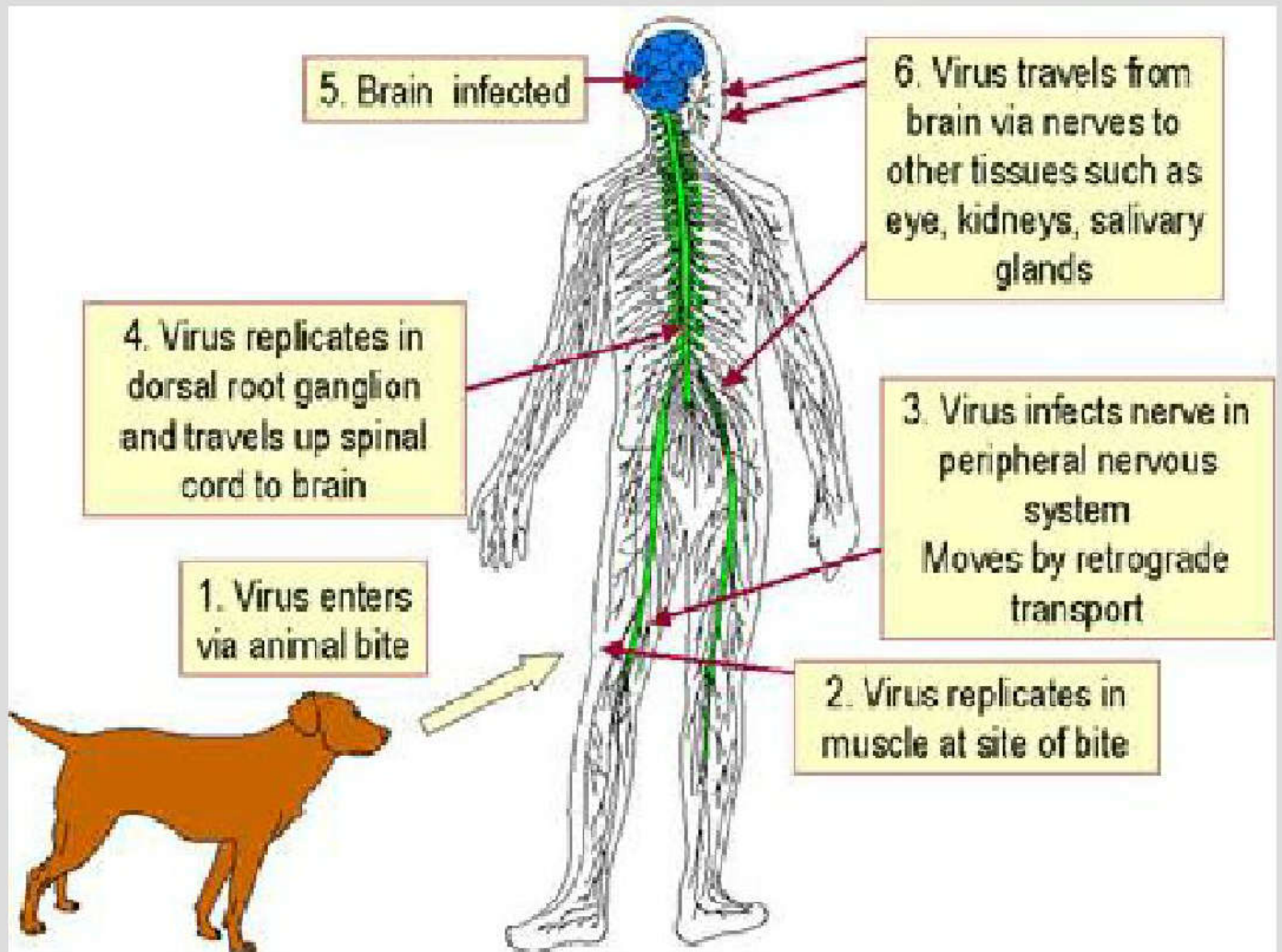
沿感觉神经神经轴索上行



中枢神经系统增殖并引起损伤



沿传出神经扩散至唾液腺及其他组织



生物学特性

- 外形呈子弹状，一端圆尖，另一端平直而凹进，长约100~300nm，直径为75nm。螺旋对称，有包膜及刺突。
- 核心为一条由12000个核苷酸组成的单负链RNA，编码五种蛋白，即：

核蛋白质（nucleoprotein, N蛋白）

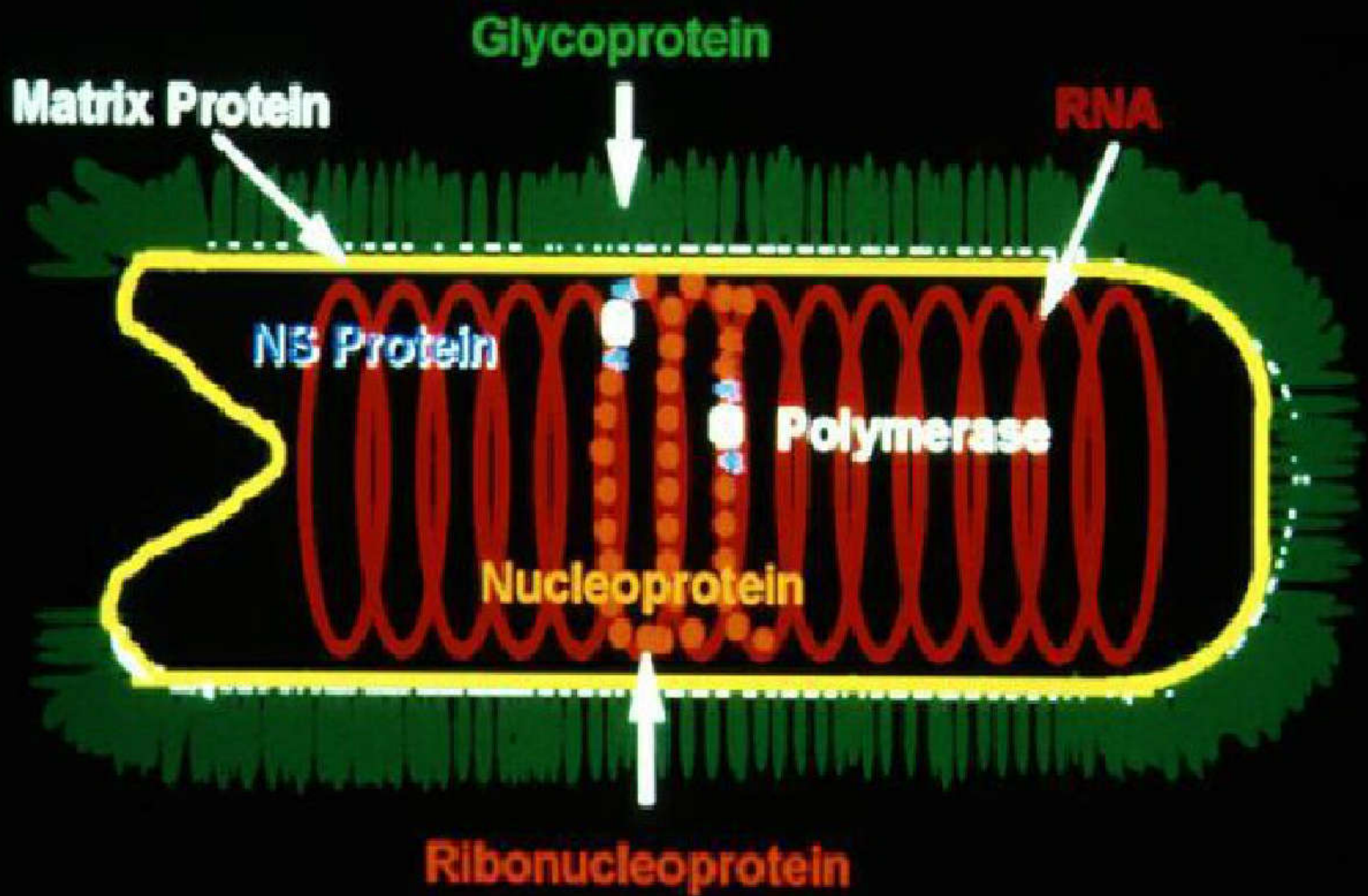
包膜表面糖蛋白（glycoprotein, G蛋白）

病毒衣壳基质蛋白(matrix protein 1, M1)

包膜基质蛋白(matrix protein 2, M2)

转录酶蛋白（large protein, L蛋白）

RABIES STRUCTURE



病毒在易感动物或人中中枢神经细胞(主要是大脑海马回的锥体细胞)中增殖,形成胞质内嗜酸性包涵体,又称内基小体(Negri body),具有诊断价值。

病毒能在敏感细胞中培养,如鼠神经母细胞瘤(murine neuroblastoma)细胞。

本病毒存在于病兽或患者的神经组织和唾液中,对外界抵抗力不强,病毒对热敏感,加热40℃约4h或60℃ 30min可灭活,在冰冻干燥或-70℃能存活数年。

微生物检验

人狂犬病根据咬伤史及典型症状即可诊断

（一）标本直接检查

1. 抗原检查

（1）免疫荧光技术：此法快速、敏感、特异性高。

（2）ELISA法

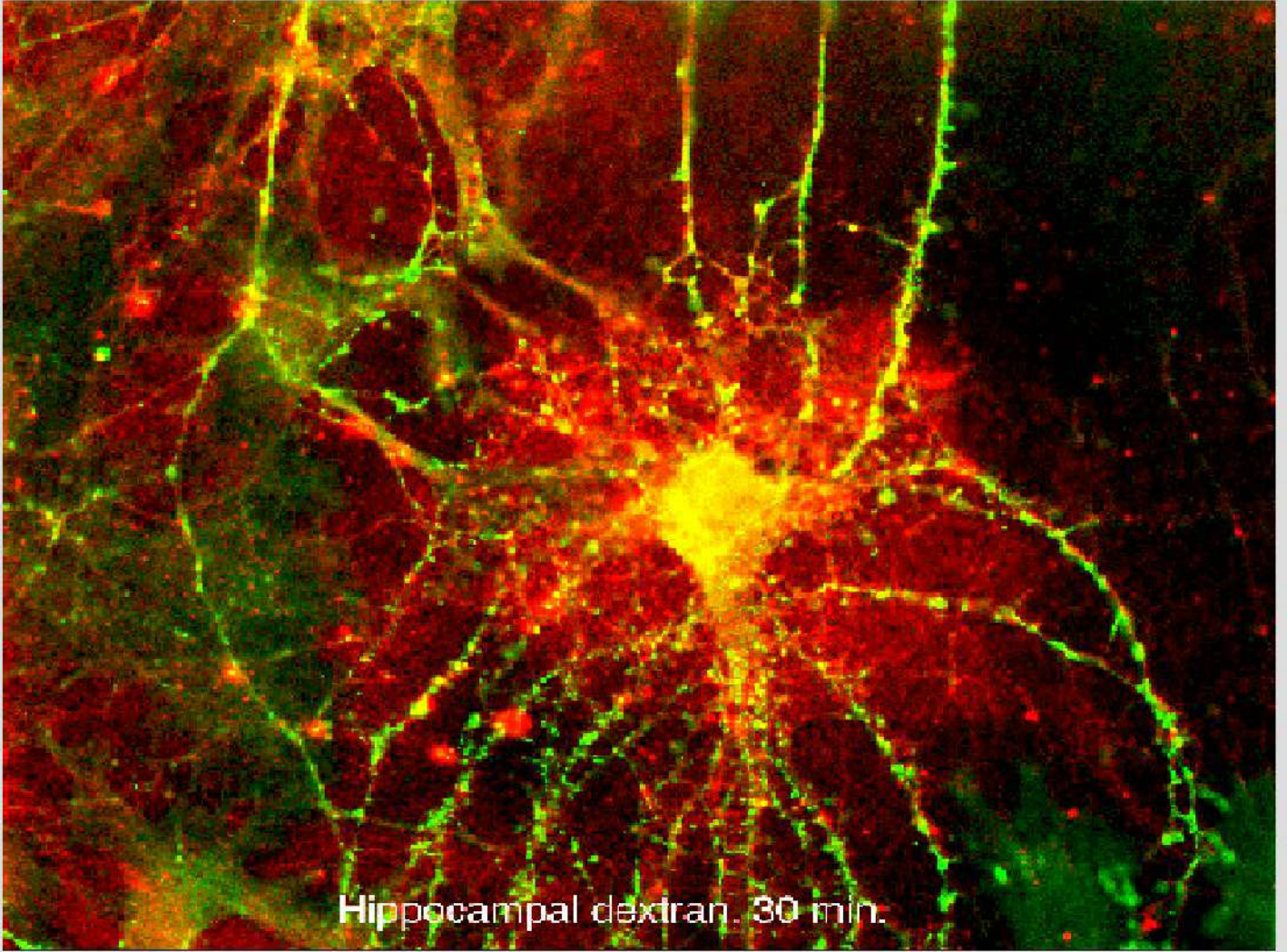
2. 核酸检查

运用RT-PCR法检测标本中狂犬病病毒RNA。

（二）抗体检测

（三）分离培养

（四）捕捉动物观察



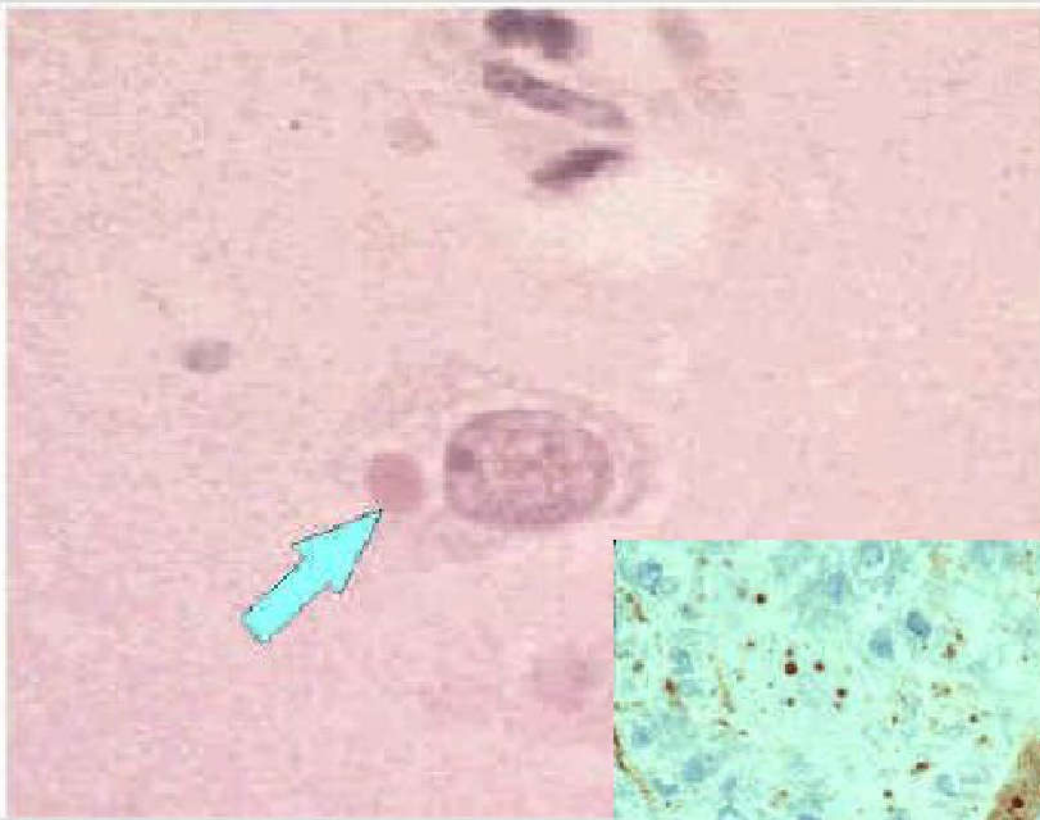
神经细胞中的狂犬病毒（绿色荧光）

（四）捕捉动物观察

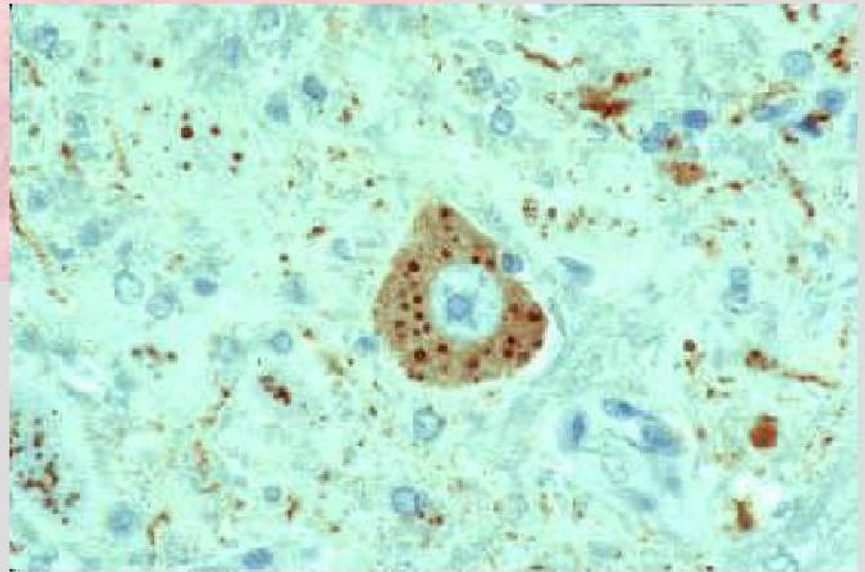
人被咬伤后，检查动物是否患病十分重要

1.判断动物是否患狂犬病：观察7~10d 发病否，不发病为非病犬或咬人时唾液中无病毒。

2.发病杀死后，检查脑内有无内基小体（**Negri body**），海马回胞质嗜酸性包涵体（70%~90%）。

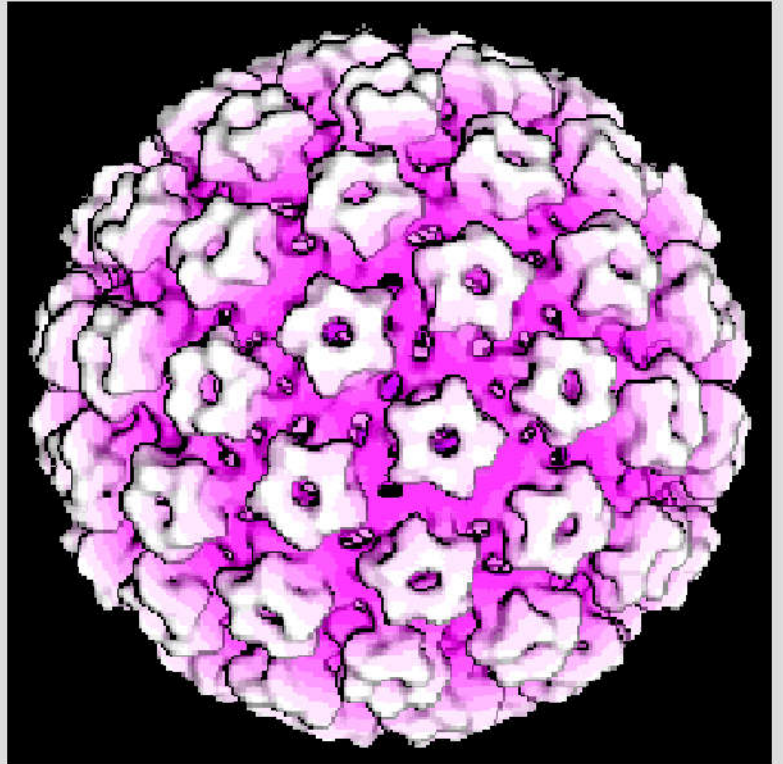


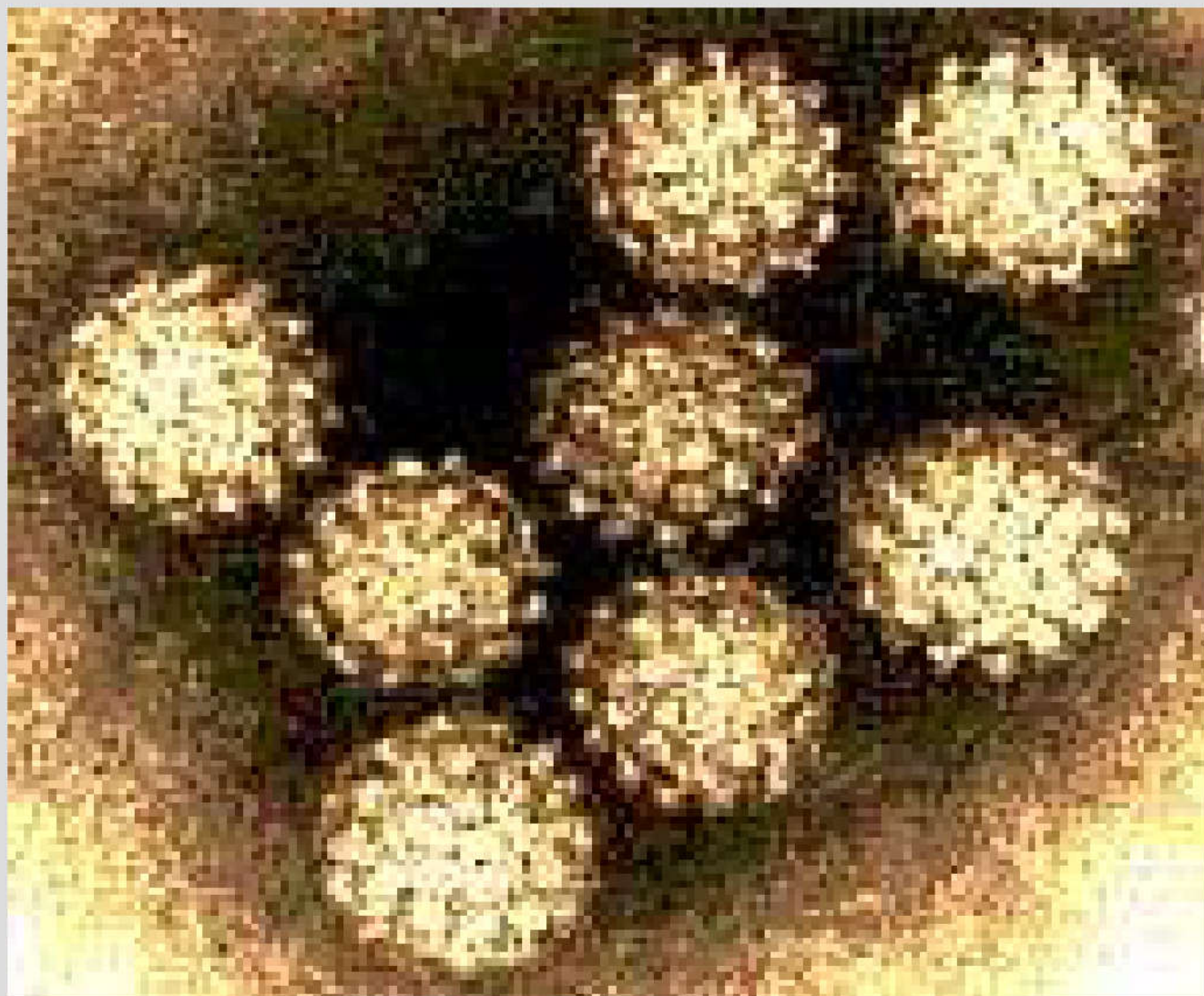
Negri body



第二节 人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV)

属乳多空病毒科致病者为人乳头瘤病毒(HPV)，球形，50~55nm，20面体，无包膜，环状dsDNA。





临床意义

尖锐湿疣 (condyloma acuminatum , CA)，又称生殖器疣、性病疣，是由人乳头瘤病毒 (HPV-6、11型等) 引起的一种性传播性疾病，占我国性病第二位。

宫颈癌和宫颈上皮内瘤变 (CIN) 由高危型HPV (high-risk HPV types-HPV16、18型) 感染。

致病性

- HPV 直接接触，对皮肤和黏膜上皮细胞高度亲嗜，诱导上皮增殖形成乳头状瘤（疣）

HPV-6, 11

尖锐湿疣

HPV-1, 2, 4

寻常疣

HPV- 3, 4

扁平疣

HPV-16, 18, 31, 34

宫颈癌



■ Verruca vulgaris;
HPV

生物学特性

- 1.形态结构 HPV呈球形，直径为52~55nm，20面体立体对称、核衣壳由72个壳微粒组成，无包膜。
- 2.基因组及其编码产物 病毒基因组为双链环状DNA，以共价闭合的超螺旋结构、开放的环状结构及线性分子等三种形式存在，含有3个基因区：
 - 早期区（ER）：6个早期开放读框（E1、E2、E4~E7 ORFs）；
 - 晚期区（LR）：有2个ORF。
 - 上游调控区（URR）：是一个无编码基因区，含有病毒DNA的复制起点和基因表达的调控元件。

微生物检验

- 多聚酶链反应（PCR）
- 原位滤膜杂交或点杂交
- 原位杂交：适用于经甲醛溶液固定过的组织
- DNA印迹
- 免疫学检查：采用免疫组化法检测病变组织中的HPV抗原。反之可用晚期蛋白L1和L2，或用病毒样颗粒（VLP）检测病人血清中抗HPV的型特异性抗体。

第三节 细小病毒B19

细小病毒B19 属细小病毒科、细小病毒亚科、红病毒属的病毒。

细小病毒亚科包括三个属

- 1.细小病毒属(**Parvovirus**) 代表种为小鼠细小病毒
- 2.依赖性病毒属(**Dependovirus**) 腺病毒伴随病毒2型
- 3.红病毒属 代表种为细小病毒B19。

临床意义

1981年发现细小病毒B19与儿童镰状细胞贫血所致的造血障碍有关。还发现与传染性红斑病(erythema infectiosum)、先天感染所致自发性流产(spontaneous abortion)及胎儿畸形等有关。还可出现皮疹及关节炎等。

受细小病毒B19感染的妇女大部分是正常的，但妊娠妇女可造成胎儿严重贫血、心衰、流产、畸形、死亡。慢性症状有慢性贫血、神经病变及脉管炎等。

生物学特性

呈小球形、无包膜、直径约为18~26nm，有VP₁及VP₂两种衣壳蛋白。基因组为单链DNA分子，为正或负链，5.6kb长，呈线状，有两个大ORF及许多小ORF。

病毒主要在细胞核内复制。

1. 自主复制型病毒 在分裂旺盛细胞中复制
2. 复制缺陷型病毒 需辅助病毒存在才复制
如腺病毒伴随病毒(AAV)

微生物检验

检测细小病毒B19是诊断再障有效指标

1. 检测细小病毒B19抗体(IgM早期抗体)
2. 检测病毒颗粒 如电子显微镜
3. 检测抗原 对流免疫电泳、RIA或EIA
4. 检测核酸 核酸杂交、原位杂交、PCR
5. 检测细小病毒B19抗体(IgG)

第四节 朊粒

- 朊粒（prion）来源于蛋白性感染颗粒（proteinaceous infection particle）的英文缩写，是引起传染性海绵状脑病（TSE）的病原体。
- TSE是一特征性致死性的中枢神经系统慢性退化性疾患，临床上相应出现痴呆、共济失调、震颤等症状，随即昏迷死亡。

分类与命名

- Prion感染人和动物引起TSE

1. 常见动物TSE

- 羊瘙痒病（Scrapie）

- 牛海绵状脑病（BSE）

2. 人类TSE

- 库鲁病（Kuru disease）

- 克雅病（Creutzfeldt –Jakob disease, CJD）等。

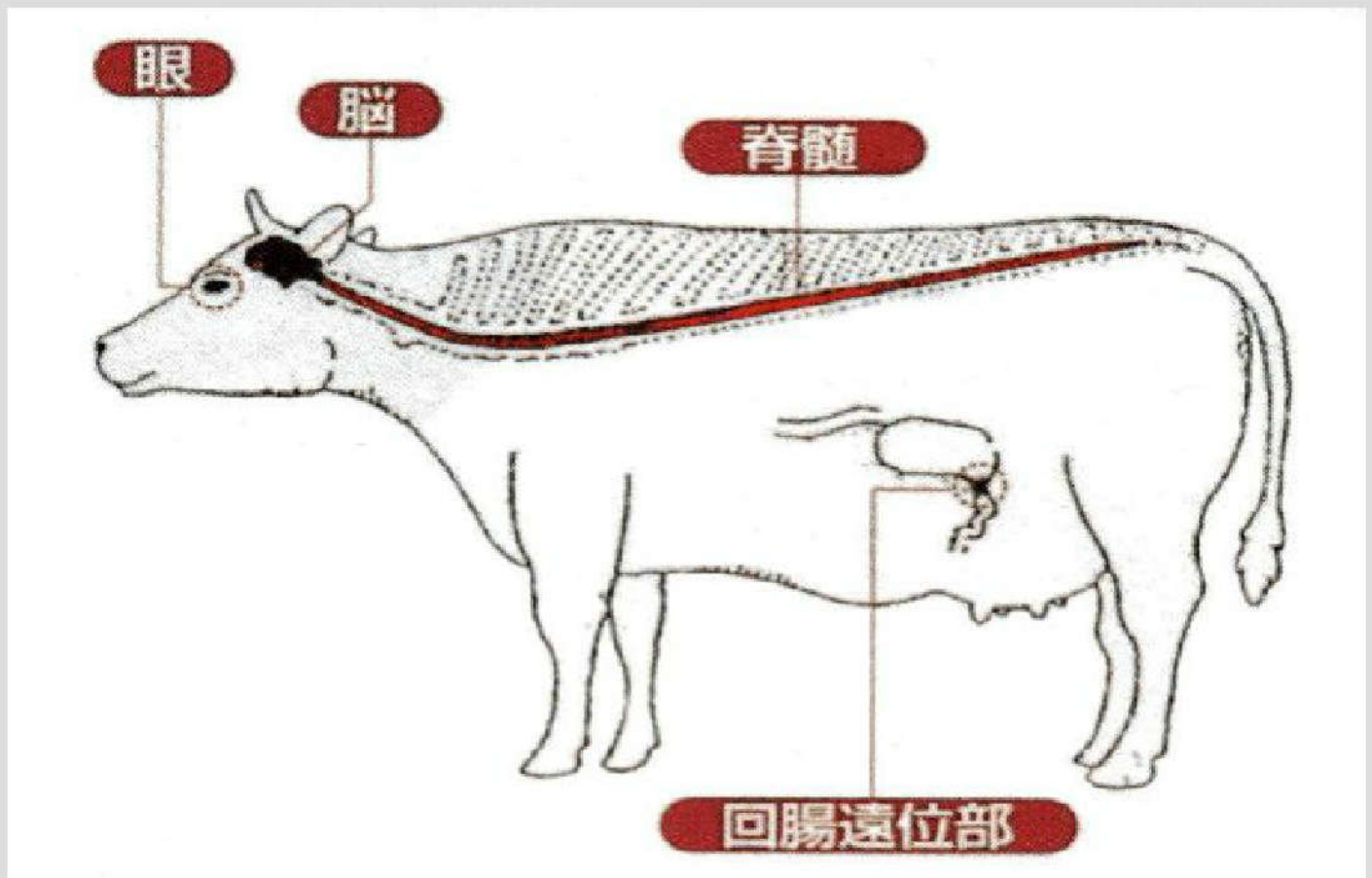
关于Prion在生物学领域中的定位至今尚未定论。

临床意义

(一) 动物TSE

1. 瘙痒病 (Scrapie) 皮肤瘙痒摩擦, 脱毛, 慢性消耗性, 致死性疾病。

2. 疯牛病 (mad cow disease) 牛海绵状脑病 (BSE)



朊粒存在的部位

(二) 人TSE—克雅病及克雅病的新变种

1. 克雅病的分型

传染型：约占10%，主要由医源性传播，如：角膜移植和硬脑膜移植等，或使用污染的手术器械，或使用人垂体制备的生长激素等；

家族遗传型：占10%~15%

GSS综合征

致死性家族性失眠症

散发型：克雅病在三型中最常见，约占75%~80%。

2. 克雅病 (CJD)

是一种致命性人海绵状脑病，又称传染性痴呆 (transmissible dementia)。潜伏几十年发病，精神与感觉方面症状，随后运动失调，晚期肌肉痉挛伴痴呆，多在5~12个月内死亡。发病率 $1/10^6$ ，年龄均50岁以上。脑海绵体病变类似羊瘙痒病的羊脑。PrP^{CJ}类似PrP^{SC}推测CJD因子来源于瘙痒病。1968年 CJD转移给动物成功，现已证实，PrP^{res}大量沉积脑组织→淀粉样斑块→CNS退行性变

3. 克雅病新变种(A variant of CJD, vCJD)

多发生青年人(平均年龄26岁), 病程14个月。

临床特点:

开始精神与感觉异常, 随后运动失调, 后肌肉痉挛与痴呆, 神经病理特点呈现大量PrP^{cj}沉积。

牛海绵状脑病(BSE)通过污染饲料在牛群中流行, 迹象表明, 此损害可以通过食物链传给人。提出nvCJD和BSE由同一致病因子引起假说。

（三）库鲁（Kuru）病

Kuru(颤抖)病是第一个被认为由**prion**引起的人的传染性海绵状脑病（**TSE**）,发生于巴布亚新几内亚宗教性食尸恶习，患者多为妇女，儿童。潜伏期**4~30**年，患者小脑受损，产生共济失调和震颤。

进行性小脑综合症伴痴呆，一旦发病，一年内（**6~9**个月）内死亡。

(四) **GSS综合征与致死性家族性失眠症**

- **GSS综合征**是一种罕见的人类传染性海绵状脑病，为常染色体显性遗传性疾病，主要与**PrP**基因**102位密码子(Pro-Leu)**突变有关。
- **致死性家族性失眠症**是另一种罕见的人类传染性海绵状脑病，为常染色体显性遗传性疾病，主要为**PrP**基因**178位密码子(Asp-Asn)**突变。

生物学特性

(一) PrP的蛋白结构

PrP^c (Cellular isoform of PrP)

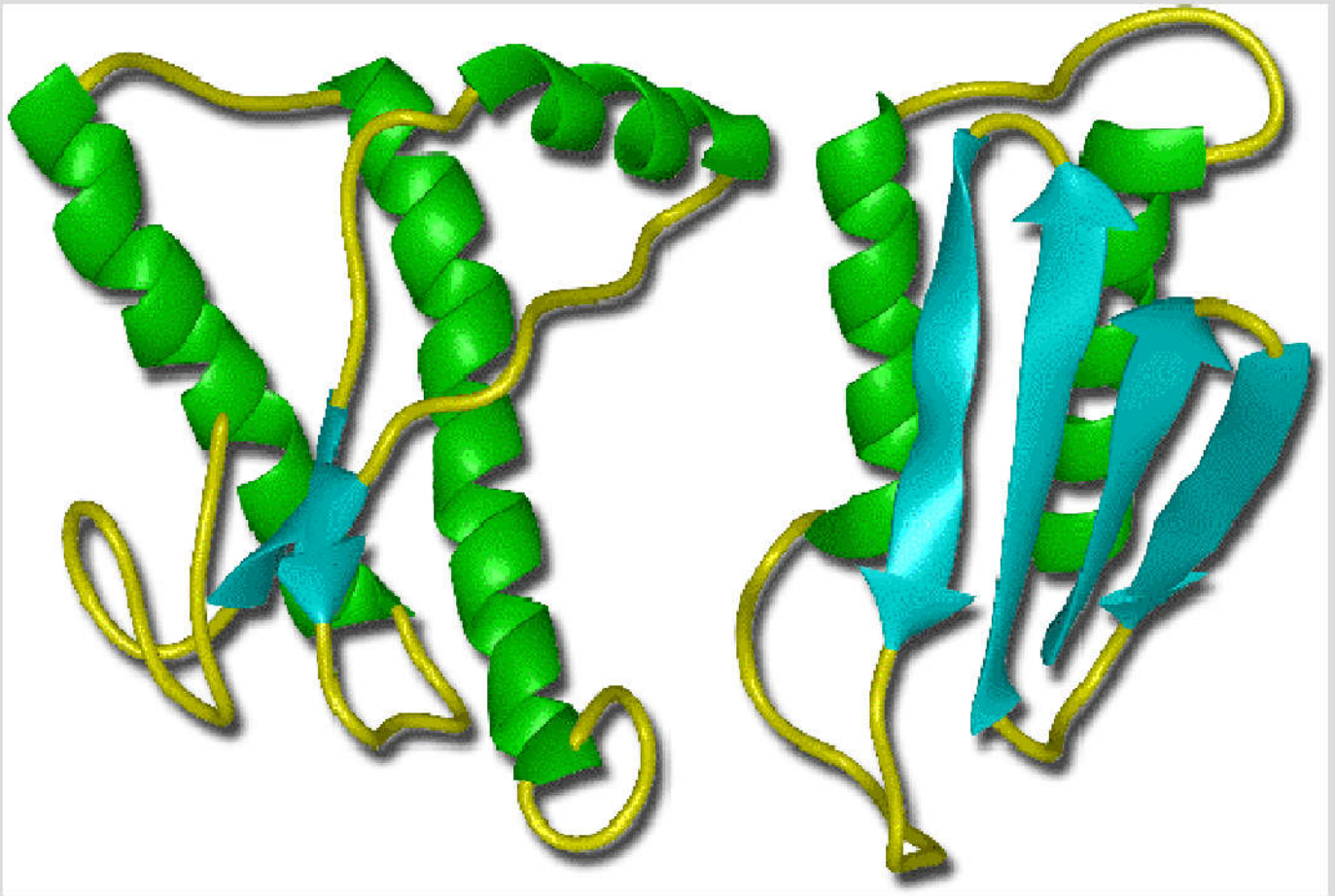
分子量 $(33\sim35) \times 10^3$, PrP^{33~35}

4个 α -螺旋区(42%)、几乎无 β -折叠(3%)

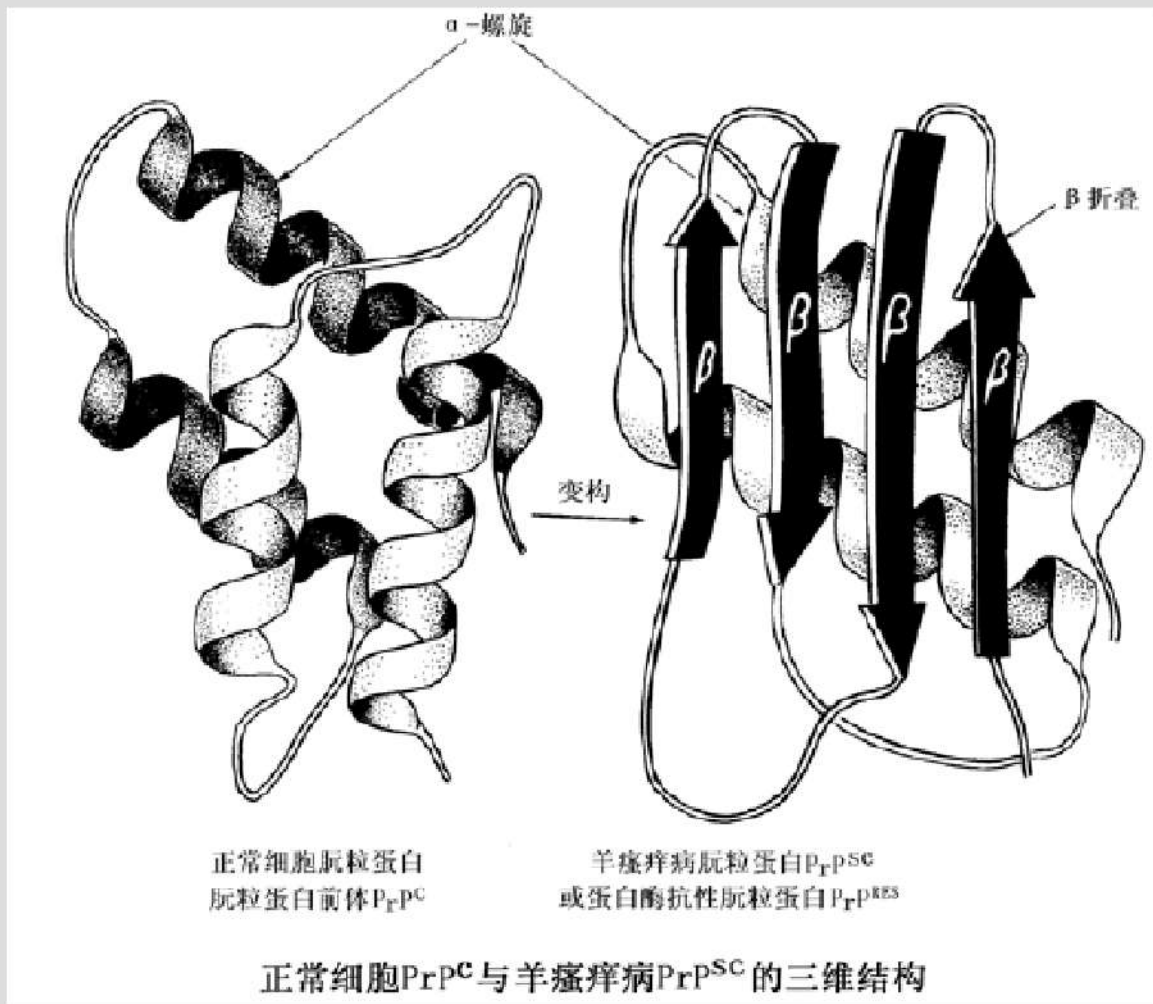
PrP^{sc} (Scrapie isoform of PrP, PrP^{sc})

分子量 $(27\sim30) \times 10^3$, PrP^{27~30}

2个 α -螺旋(30%)、4个 β -折叠(43%)



左为正常protein, 右为prion

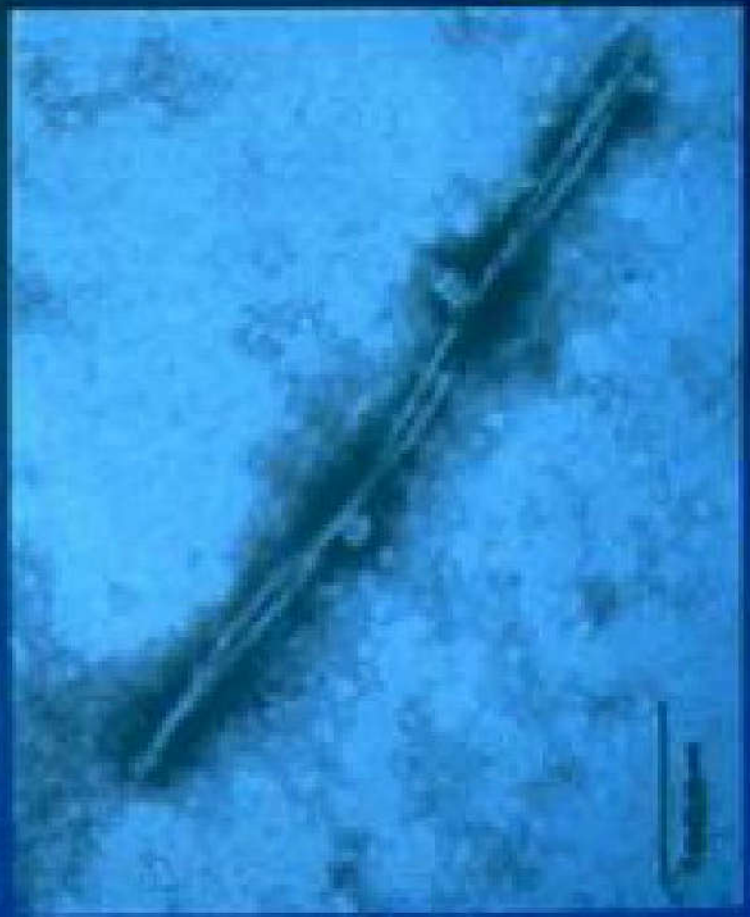
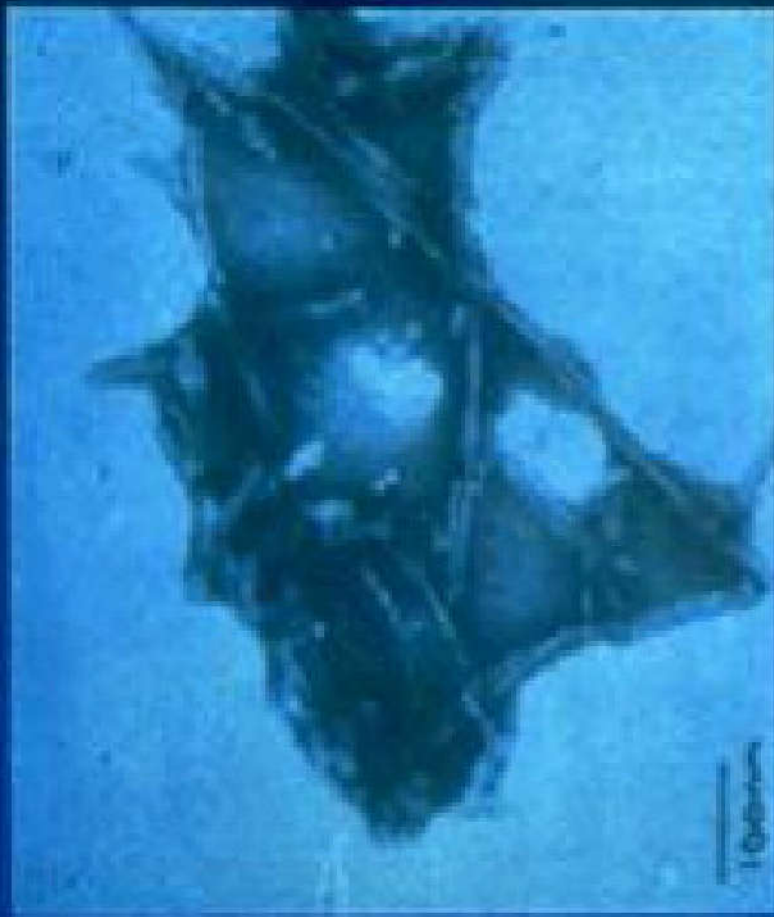


(二) PrP的基因结构

人PrP基因位于第20号染色体的短臂
基因全长为759bp，编码253个aa

(三) PrP抵抗力

PrP抵抗力强，对甲醛、 β -羟丙酸、 β -内酶，乙醇，蛋白酶k等具有抗性
高压灭菌202Kpa, 134°C, 1h灭活。

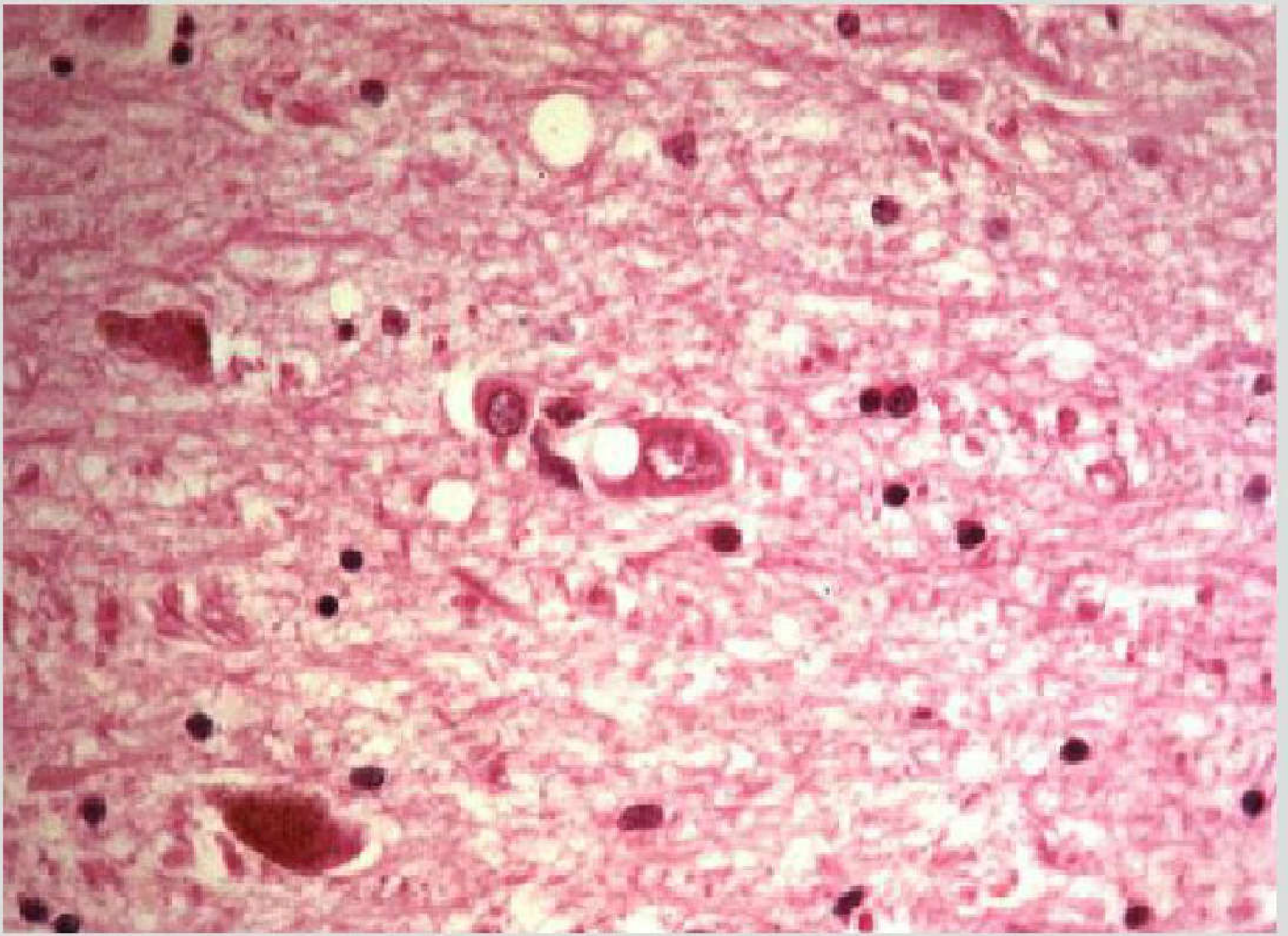


Prion , EM

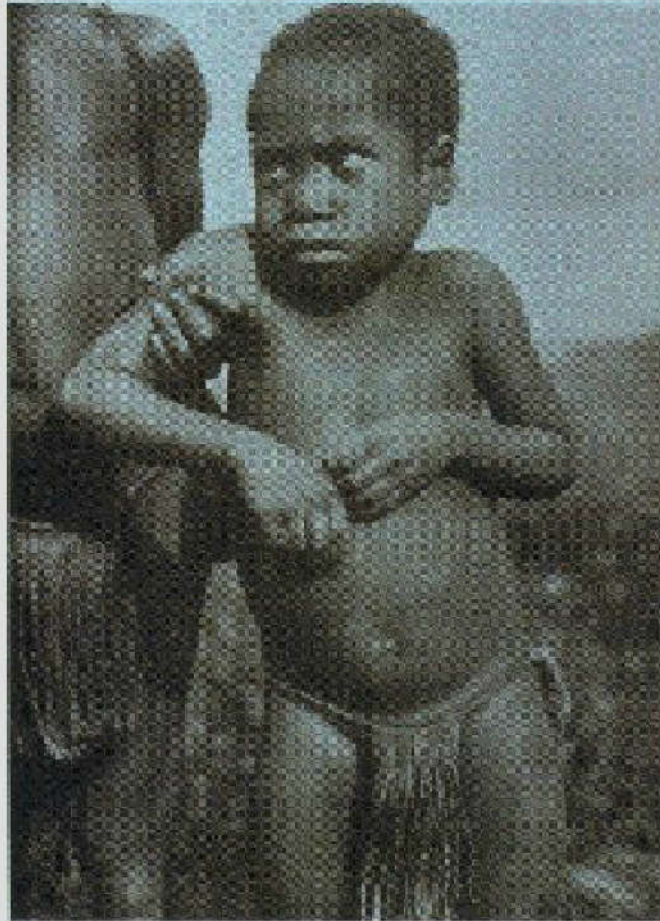
微生物检验

对人的**TSE**诊断以监测PrP^{Pres}为诊断标志

1. 电镜 羊瘙痒病相关纤维（SAF）是朊粒感染的标志之一。
2. 神经病理检查 诊断朊粒感染的主要依据 海绵状空泡、神经元消失、淀粉样斑块
3. 免疫学方法 PrP^{sc}或PrP^{CJ}
4. PrP基因检测 20号染色体，找出突变位点。
5. **Prion**分离 用转（**PrP**）基因小鼠分离，但慢发病毒需**200**天以上



脑组织海绵样改变，空泡形成



Kuru disease