

第 16 章 猪巨细胞病毒

Kyoung-Jin Yoon 和 Neil Edington

猪巨细胞病毒(porcine cytomegalovirus, PCMV)感染起源于“包涵体鼻炎”这一术语,因为在患鼻炎的猪鼻甲骨黏膜的巨细胞发现了嗜碱性核内包涵体(Done, 1955)。电子显微镜观察表明是一种在鼻甲骨黏膜腺、泪腺、唾液腺和肾小管上皮存在的疱疹病毒(Duncan 等, 1964)。此病毒在细胞培养时生长缓慢,并产生巨细胞,带有细胞核内包涵体(Booth 等, 1967; L'Ecuyer 和 Corner, 1966),因此把该病毒称之为巨细胞病毒(Plummer, 1973)。

对成年动物,PCMV 病原通常是隐性感染,而对幼年动物,则常常诱发致命性的全身感染,尤其是仔猪先天性感染或者是临产期感染(Edington 等, 1976a)。对易感猪群,该病毒能够引起胎儿和仔猪死亡、发育迟缓、鼻炎和肺炎(Cameron-Stephen, 1961; Corner 等, 1964; Duncan 等, 1964; Edington 等, 1977; L'Ecuyer 等, 1972; Orr 等, 1988; Rac, 1961; Smith, 1997; Yoon 等, 1996)。该病毒还能引起神经系统疾病(Stephano-Hornedo 和 Edington, 1987)。

在使用猪的活体细胞、组织和器官来进行器官移植的研究中对 PCMV 的关注越来越深入(xenotransplantation)。PCMV 普遍存在于猪群中,常诱发潜伏性感染,类似于人类和灵长类动物的巨细胞病毒(CMV) (Garkavenko 等, 2004; Tucker 等, 1999)。曾有报道,在猪与灵长类动物之间的异种移植时 PCMV 可进行交叉种间传播(Mueller 等, 2002),但是 PCMV 对人类受体感染的危险性仍未确定。

病原学

PCMV (疱疹病毒 2) 属于疱疹病毒科 β -疱疹病毒亚科巨细胞病毒属的成员(Roizman, 1982)。PCMV 基因组呈线形双股 DNA, 质量为 $130-150 \times 10^6 \text{ kD}$ 。全长序列和病毒基因组的结构仍不清。近年来,对聚合酶、糖蛋白 B (gB) 和主要的核衣壳蛋白基因的分子研究表明,PCMV 遗传性比巨细胞病毒更接近于人疱疹病毒 6 型和 7 型(人疱疹病毒属)(Rupasinghe 等, 1999, 2001; Widen 等, 1999, 2001)。

PCMV 在形态上是一种典型的疱疹病毒(Duncan 等, 1965; Shirai 等, 1985; Valicek 和 Smid, 1979),病毒的直径约为 $120-150 \text{ nm}$,具有电子致密核心(直径 $30-70 \text{ nm}$),其外围是衣壳蛋白构成的二十面体核衣壳(直径 $80-120 \text{ nm}$)。在宿主细胞核中的病毒核衣壳有一个电子致密外套,该外套以一个半透明带与包膜分隔。包膜通过宿主细胞核膜或高尔基体膜发育

获得。细胞外和细胞质的病毒粒子的包膜有 10nm 的表面投射部。应用 CsCl 平衡密度离心法测得 PCMV 病毒粒子的密度为 1.275g/mL (Shirai 等, 1985)。

虽然一些遗传变异的现象在不同 PCMV 分离株的聚合酶和 gB 基因中有所体现, 但是其血清型或基因型还未确定 (Goltz 等, 2000; Widen 等, 2001)。抗原变异的可能性已经有报道 (Tajima 和 Kawamura, 1998)。

该病毒对氯仿和乙醚敏感 (Booth 等, 1967), 在 0℃ 以下保存具有传染性 (Booth 等, 1967)。

L'Ecuyer 和 Corner (1966) 将一株巨细胞病毒在猪肺原代细胞上传了几代。Watt (1973) 等发现只有猪肺巨噬细胞 (PLM) 对首次分离和连续传代的病毒高度敏感。其它的培养方法包括猪原代睾丸 (ST) (Shirai 等, 1985; Kanitz 和 Woodruff, 1976)、猪输卵管 (PFT) 细胞系 (Bouillant 等, 1975; Kawamura 等, 1992)、PK-15 细胞系 (Kanitz 和 Thacker, 1974) 和猪鼻甲骨 (PT) (Yoon 等, 1996)。

通常接种后 3-14 天, 被感染的细胞中可看到巨细胞形成、嗜碱性细胞核内包涵体, 偶尔可在细胞浆内看到小的嗜酸性包涵体 (图 16.1) (Watt 等, 1973)。感染病毒后的细胞体积极度增大, 约达正常细胞的 6 倍, 线粒体、内质网和高尔基体也出现膨胀 (Duncan 等, 1965)。

病毒复制的最高滴度是在接种 PCMV 后 11-14 天, 可达 10^{5-6} TICD₅₀ / mL。在细胞系中复制病毒的产量比在原代细胞中复制的产量低。在可以证实病毒生长的免疫组织化学染色的细胞培养物中看不到细胞溶解酶的细胞病变 (图 16.2)。

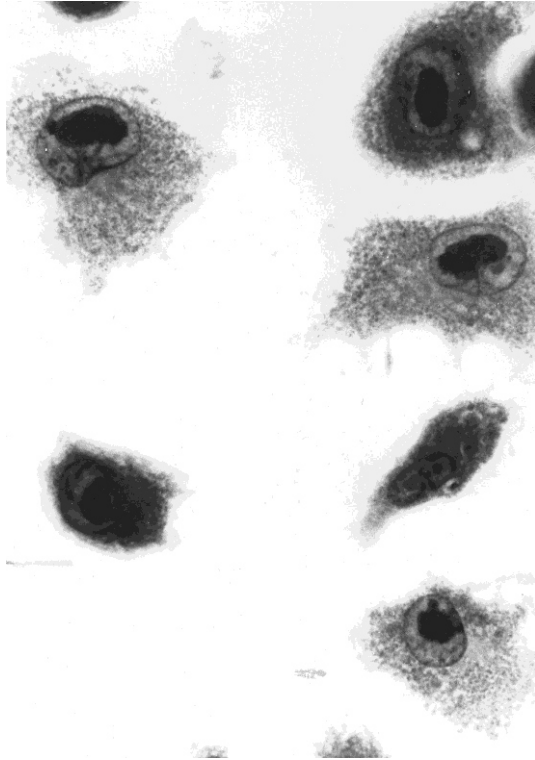


图 16.1 用 PCMV 感染 11 天后的猪肺巨噬细胞。在肿大的细胞中嗜碱性核内包涵体清晰可见。
(May-Grunwald-Giemsa; $\times 720$) (R.G.Watt 赠)

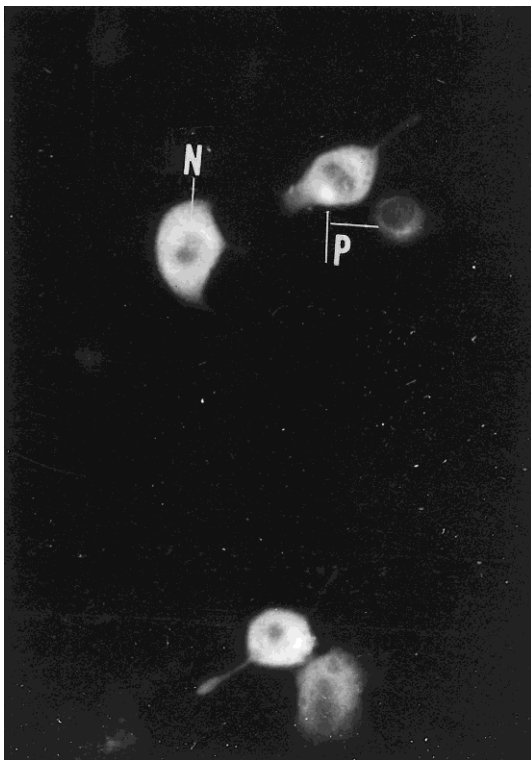


图 16.2 用特异性 PCMV 抗血清作间接免疫荧光染色后，出现荧光的肺巨噬细胞，核膜染色最深 (N)，也可

看到细胞浆荧光及零散的核旁荧光（P）（×480）

流行病学

PCMV遍布全国（Corner等，1964），其传染性也是普遍存在的，在欧洲、北美和日本，90%以上的猪群曾受到过感染。在感染的猪群中，98%以上的猪血清呈阳性（Goltz等，2000；Hamel等，1999；Kanitz 和Woodruff，1976；Rondhuis等，1980；Tajima等，1993）。

PCMV可通过口腔鼻腔水平传播，但是垂直传播也有报道（Edington等，1977，1988b；L'Ecuyer等，1972）。在商业农场中，感染此病毒常常发生在围产期或刚出生之后（Plowright等，1976；Watt，1978）。

在鼻和眼分泌液、尿液和子宫颈液体中都可以分离出PCMV（Booth等，1967；Edington等，1976a-c，1977）。1日龄无菌猪在外界环境中达一个月时，鼻腔可排出病毒，在相同条件下老龄猪短期内（9天）在外界环境中也可排出病毒。在猪场中，大多数猪在3-8周龄间经由鼻腔分泌物可排毒（Plowright等，1976）。

公猪可发生没有明显临床症状的感染，Shirai等（1985）从睾丸和附睾中分离出PCMV。精液中是否存在该病毒还未被证实。

疱疹病毒PCMV的典型性在于其潜伏感染可以恢复，并且导致排毒（Edington等，1976c；Narita等，1985）。

PCMV在体内外有高度的宿主特异性，仅猪感染，尚未发现其他动物和节肢动物感染的报道。该病毒在小鼠、兔、狗、牛和鸡胚中均不能复制。然而，Mueller等（2002）发现该病毒可以在狒狒组织中复制。

在自然环境中，PCMV的稳定性和持久性仍不确定。还没有发现针对该病毒的特效消毒剂。

发病机理

病毒复制的最初部位是在鼻粘膜腺、泪腺或副泪腺（哈氏腺）。经病毒接种的3周龄猪在感染后14-21天可检测到病毒血症，在新生猪中病毒血症的检出期延长，在感染后5-19天可检出病毒血症（Edington等，1976c；Edington等，1977）。败血症之后，病毒从鼻腔、咽或眼结膜分泌物、尿中排出（Booth等，1967；Edington等，1976c，1977）。该病毒在鼻腔排泄物中持续存在10-30天。先天感染的猪终生排毒（Edington等，1977）。

实验感染妊娠中期和晚期的母猪，可从子宫颈洗液中分离到PCMV，随后不久在鼻腔排

泄物中也可分离到该病毒（感染后30-35天）。在此阶段的子宫颈或子宫内膜中均未查到病毒和包涵体，这说明了子宫颈排出的病毒是胎源性的。子宫颈洗液的排泄物中发现死胎，这暗示病毒又经过14-20天在胎儿体内进一步复制。

病毒复制的次级部位随着年龄的变化而变化。在猪舍或正在生长的猪（Edington等，1976a，1977；Kelly，1967；Plowright等，1976；Shirai等，1985），病毒主要扩散到上皮部位，尤其是鼻粘膜腺、泪腺、副泪腺和肾小管，附睾和食管的黏液腺较少，肝细胞和十二指肠上皮细胞更少。

在胚胎或新生猪，病毒比较容易侵染网状内皮组织细胞，尤其是毛细血管内皮和淋巴样组织的窦状隙，进而引起全身性损伤（Edington等，1977，1988a）。当妊娠早期胚胎形成时，PCMV首先在脑膜、枯否氏细胞、腹膜巨噬细胞和骨膜细胞内复制（Edington等，1988b）。胚胎植入后短时间内即被感染，引起胚胎死亡。

有传染性的病毒持续在肺巨噬细胞、血液单核细胞和CD8+T细胞中存在（Edington等，1977；Guedes等，2004）。体内使用皮质类激素（Edington等，1976c；Narita等，1985）或体外使用异源协同培养（Guedes等，2004）均可以激活潜伏感染。

临床症状

如果不并发或继发其它感染的话，3周龄以上的猪PCMV感染通常不表现出临床症状，但若胎儿或新生仔猪感染，可能为致死性的。感染的病猪出现呼吸症状（例如：打喷嚏、流鼻涕和咳嗽）、鼻炎或神经疾病（Cameron-Stephen，1961；Corner等，1964；Done，1955；Duncan等，1964；Orr等，1988；Rac，1961）。PCMV感染并不诱发萎缩性鼻炎（Rondhuis等，1980）。

易感猪群中PCMV感染的另一特点是生殖性问题（Edington等，1977，1988b；L'Ecuyer等，1972；Smith，1997；Yoon等，1996）。病毒感染的潜伏期是10-20天（Edington等，1977；Goodwin和Whittlestone，1967）。在短期的病毒血症阶段，病畜倦怠、厌食，但体温并不上升。一些先天性或新生的被感染的仔猪常常死亡，未表现出明显的临床症状。另一些仔猪常常表现为颤抖、打喷嚏和呼吸困难的症状，增重较慢，鼻炎。如果没有其它并发症，病情通常能够得到控制。发病率为100%；自然猪群中平均死亡率约为10%，有时可高达50%。

虽然感染母猪在妊娠始终除了倦怠、厌食之外未表现出任何异常，但是生产仔猪时木乃伊胎和死胎的数量常常增加。仔猪的死亡率也在增加。一窝仔猪中损失可高达25%，其余的仔猪表现为发育不良。仔猪全身苍白，有不同程度的水肿，水肿最明显部位是颞和跗关节周

围。

尽管早期研究领域表明PCMV和支气管炎博德特菌协同感染可以使萎缩性鼻炎严重恶化（Cameron-Stephen, 1961; Corner等, 1964），但是在实验条件下协同作用不能再生（Edington等, 1976b）。使用其它工具还没有发现并发感染和可能的协同作用。然而一项田间对照试验表明，感染PCMV的猪比未感染PCMV的猪更易患呼吸性疾病（Yoon等, 1998）。

病理变化

对老龄动物上皮组织的弥散性感染，以及胎儿或新生动物网状内皮组织的全身性感染这两种情形进行区别是有意义的（Edington等, 1976a）。

上皮病变

上皮组织无肉眼可见的病变。组织学上，在鼻黏膜腺（图 16.3）、副泪腺及泪腺的腺泡和导管上皮、肾小管上皮中可看到嗜碱性细胞核内包涵体及巨细胞，在这些组织中可能有大量的细胞被感染。在食管的黏膜腺、附睾导管上皮、生精细胞上皮以及十二指肠和空肠的上皮很少见到孤立的包涵体。复制的主要部位表现为局灶状淋巴样组织增生（图 16.4）。肾的病变为间质性肾炎（Kelly, 1967）。在中枢神经系统可见到稀疏的局灶性胶质细胞增生，偶尔在神经胶质细胞中可看到包涵体。

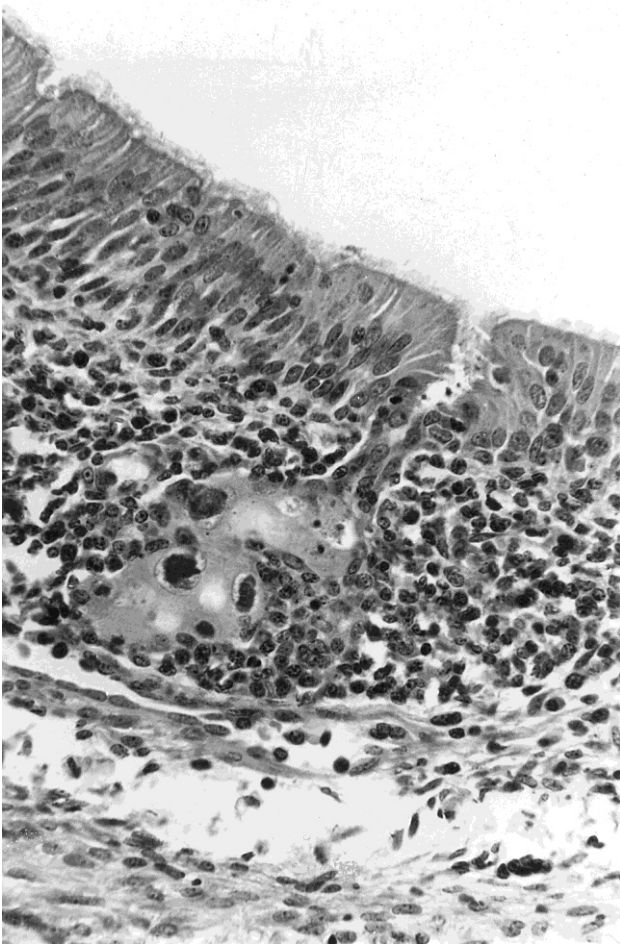


图16.3 鼻内实验接种病毒18天后，在其增大的表层粘膜腺上皮中可见嗜碱性核内包涵体、透明晕环和明显的核膜。H.E；×480

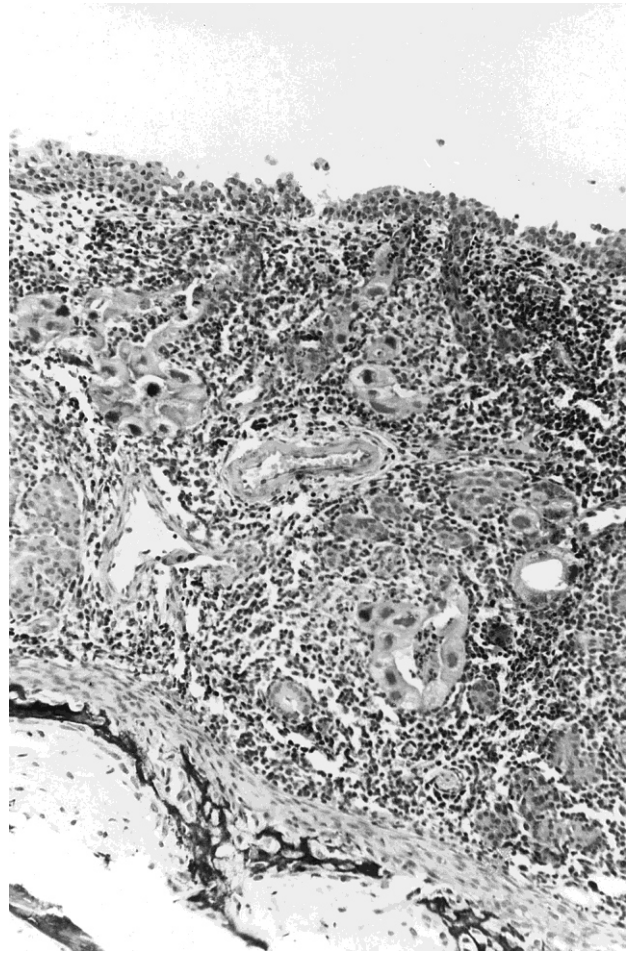


图16.4 感染PCMV后24天，固有层淋巴细胞和浆细胞严重浸润，粘膜腺的许多腺泡仍有巨细胞及明显的包涵体。H.E；×120

全身性病变

青年猪肉眼可见的显著病变是遍布全身的瘀斑和水肿。在喉头及跗关节周围皮下水肿最明显。水肿最常发生在胸腔及皮下组织。在胸腔中可见心周和胸膜渗出液，肺水肿遍及全肺，肺小叶间隔严重扩张，肺小叶腹尖呈紫红色，并实变（图16.5）。所有淋巴结都肿大，水肿并带有瘀点性出血。瘀点在肾特别是肾包膜下最为广泛，以至于肾外观呈斑点状或完全发紫、发黑。

胎儿感染的病变仅仅是繁殖障碍，例如，死产、木乃伊胎儿、胚胎死亡和不育。木乃伊胎儿随机分布，有时随胎龄而异。在这种急性致命性综合征中，大多数包涵体见于毛细血管

内皮细胞和窦状隙细胞中。因此，他们可出现在所有的淋巴和实质组织中。受损的内皮与局部水肿和出血有关，在扩张的细胞外空隙中含有巨噬细胞和红细胞。在血管和脾脏内可见到含有包涵体的单核细胞，受感染的巨噬细胞普遍分布于肺泡组织中。病毒在肝细胞内复制造成肝脏灶状坏死，在肾脏分化的肾组织和肾小球毛细血管内皮中最常见包涵体（图 16.6）。出血和胶质细胞增生遍及整个中枢神经系统，尤其是在脉络丛、小脑和嗅叶（Stephano-Hornedo 和 Edington, 1987）。

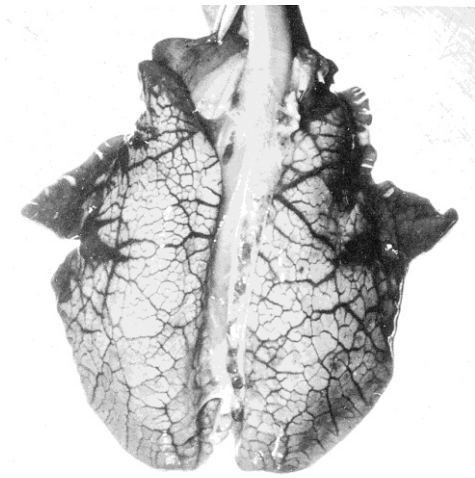


图16.5 此猪于1日龄时接种PCMV，16日龄死亡，出现广泛的瘀点及皮下水肿，肺叶间隔因充盈渗出液而扩张。尖叶、心叶和隔叶的顶端实变。

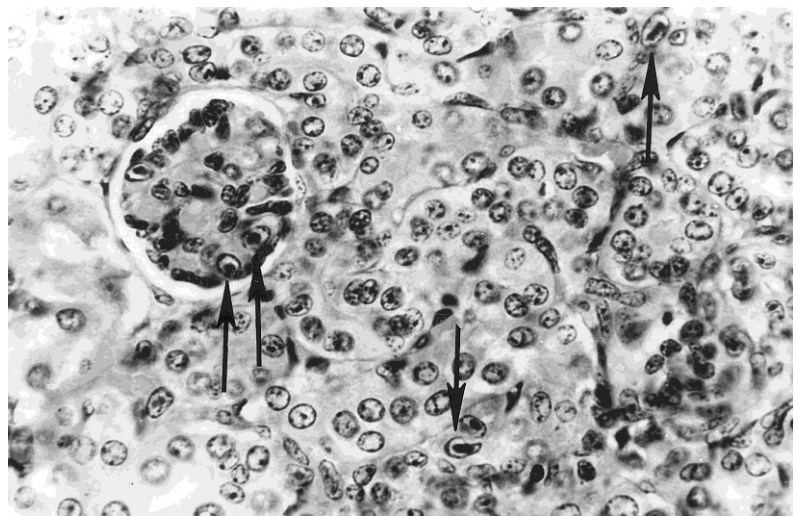


图16.6 仔猪肾切片，肾小球和间质组织毛细血管内皮病毒包涵体（箭头）。感染细胞肿大，但仅达到正常肾小管上皮的体积。H.E；×240

免疫性

实验感染PCMV2-3周后通过间接免疫荧光抗体（IFA）试验可检测到抗体，大约感染后第6周抗体水平达到高峰并一直持续到感染后最少10-11周（Edington 等，1976c，1977）。通过IFA可以发现血清抗体水平增高和病毒血症消失，但是鼻腔排泄物中的病毒仍持续2-3周。排泄物中病毒的长期存在和抗体水平较低有一定关系（Edington等，1988b）。在商业性猪场发现了一个抗体反应类似的模型（Plowright等，1976），抗体持续到23周屠宰时为止。中和抗体增长缓慢，抗体水平很低。

Edington等（1988a）证明有低水平荧光免疫抗体的母猪的二重感染与胎盘感染有关，表明了高水平的荧光免疫抗体具有免疫保护性。

先天性和新生的仔猪病毒感染不产生抗体，但是仍然排毒，发生致命的全身性感染（Edington等，1977）。仔猪获得母源抗体而得到保护，但是在PCMV呈地方性流行的饲养单位，似乎在循环母源抗体存在时才释放病毒（Plowright等，1976）。出生后母源抗体大约持续两个月（Tajima等，1994）。

免疫性重要方面（例如不同分离株系之间的交叉保护性或细胞介导的免疫反应）的应用还没有报道。

诊断

PCMV感染引起的呼吸和生殖的疾病必须同猪古典发热病毒、肠道病毒、细小病毒、猪繁殖与呼吸综合征（PRRS）病毒和伪狂犬病毒的感染做出鉴别诊断。包涵体鼻炎（IBR）仅发生于仔猪。IBR最初的症状是打喷嚏、少数猪流鼻涕、很少咳嗽。有时眼结膜过多的分泌物导致黑眼圈。临床感染的母猪产出较小的幼仔，包括木乃伊胎儿和死胎。先天性或围产期感染的仔猪呈现出肉眼可见的广泛性瘀点和水肿。老龄猪没有肉眼可见的变化。要确定PCMV为鼻炎的一种病原时，必须分离出和观察到病毒。临床上，定量或定性检测病毒DNA的PCR技术可以取代病毒分离（Fryer等，2001；Hamel等，1999；Widen等，1999）。临死前可以从鼻腔分泌物或鼻黏膜刮削屑和全血采样（Edington等，1976a；Watt等，1973）。死后首选采样鼻甲骨黏膜、肺、肺部灌洗液和肾（Edington等，1976c；Watt，1978）。早期繁殖障碍中，胎儿的脑、肝脏和骨髓有时会分离出PCMV（Edington等，1977，1988a，1988b）。

先前描述过在原代细胞或继代细胞完成病毒的分离。把离心和接种病毒联合起来可以增加病毒分离率（Yoon等，1998）。据Kawamura和Matsuzaki（1996）报道，十四烷酰佛波醇乙酸酯（12-O-tetradecanoylphorbol 12-acetate）在猪输卵管细胞系中可加速病毒复制。

如果尸体冷冻保存，在病毒感染性丧失后至少24小时可在这些组织的冰冻切片上用免疫染色法检测到病毒抗原。另外，组织切片可检查到具有诊断意义的包涵体和巨细胞。

使用随机抽取血清样品进行血清学检测是最易证实猪群中PCMV存在的方法。用丙酮固定感染的PLM、ST、PK-15或PT细胞，再用IFA试验对其进行检测，这种方法也已有介绍（Plowright等，1976；Kanitz和Thacker，1974；Kanitz和Woodruff，1976）。商品猪血清的IFA滴度通常可达1:64—1:128，有时达1:1024。酶联免疫吸附试验（ELISA）也可进行血清学检测（Assaf等，1982；Tajima等，1993），还可鉴别出IgG和IgM反应（Tajima等，

1994)。子宫感染病毒后并不会引起 PCMV 抗体的产生。因此，在缺乏初乳的新生仔猪血清中没有抗体存在。

防制措施

迄今尚未有有效的PCMV疫苗或特效的治疗方法。在体外，一些抗病毒核苷类似物，如更昔洛韦（ganciclovir），已经被证实可以抑制PCMV复制（Fryer等，2004；Mueller等，2003），但是这些药物的疗效仍未证实。应用6-氮杂尿苷（6-azauridine）和5-碘脱氧尿苷（5-iododeoxyuridine）对PCMV没有疗效（Steffenhagen等，1976）。可以使用药物控制细菌的并发或继发感染（Cameron-Stephen，1961；Corner等，1964）。引进新种很危险，因为它可以激发潜伏感染或引起易感猪群的原发感染。通过剖腹产可建立无病毒猪群（Clark等，2003），但应该考虑和监控PCMV通过胎盘感染的可能。

（孙艳明 译 杨利峰 校）