

续表

科	属	常见病毒
腺病毒科	多瘤病毒	鼠、兔和狒狒病毒
	乳腺腺病毒	人腺病毒
		其他哺乳动物腺病毒
嗜肝病毒科	鸟类腺病毒	鸟病毒
	嗜肝病毒	B 型肝炎病毒
		东方土拨鼠肝炎病毒, 北京鸭肝炎病毒 地松鼠肝炎病毒
疱疹病毒科		
α 疱疹病毒亚科	单纯疱疹病毒	I 型、II 型人单纯疱疹病毒
		牛乳腺炎病毒
		猴 B 型疱疹病毒
	带状疱疹病毒	水痘带状疱疹病毒(III 型人单纯疱疹病毒)
		伪狂犬病病毒
β 疱疹病毒亚科	未分类病毒	马鼻肺炎病毒
		家禽马氏病疱疹病毒
		鼠、猴疱疹病毒及人疱疹病毒 8 型
	巨细胞病毒	人巨细胞病毒
	鼠巨细胞病毒	鼠巨细胞病毒
γ 疱疹病毒亚科	玫瑰疹病毒	人类疱疹病毒 6 型
	<i>Lymphocryptovirus</i>	EB 病毒(人疱疹病毒 4 型)
彩虹病毒科	虹彩病毒	害虫彩虹病毒
		非洲猪瘟病毒(?)
	蛙病毒	蛙类病毒
	<i>Piscinivirus</i>	鱼类病毒
痘病毒科		
脊椎动物痘病毒亚科	正痘病毒	痘苗病毒
		天花病毒
		低等动物痘病毒
	副痘病毒	口疮病毒及挤奶工结节病毒
	鸡类痘病毒	禽痘病毒和其他鸟病毒
	山羊痘病毒	绵羊及山羊痘病毒
	兔痘病毒	兔黏液痘病毒
		兔及松鼠纤维痘病毒
	猪痘病毒	猪痘病毒
	Yata 痘病毒	Yata 痘病毒和良性表皮猴痘病毒
	轮状痘病毒	传染性软疣病毒
昆虫痘病毒亚科		吸血昆虫(害虫)痘病毒

鼻病毒属 115 种以上病毒可感染人。第 3 个病毒属是心病毒属，其模式病毒是小鼠脑心肌炎病毒，已证明该病毒也可感染人。小 RNA 病毒科中第四属病毒是口蹄疫病毒属，包括有重要经济意义的牛口蹄疫病毒。

通过几十年的研究，人们已将甲肝病毒归于小 RNA 病毒科的成员，称甲肝病毒属。尽管甲肝病毒具备许多肠道病毒特征，但其氨基酸序列与肠道病毒有较大差异，而且对热稳定，而一般肠道病毒对热敏感。

小 RNA 病毒的基因组为线状单股正链 RNA，分子质量较低(大约 2.5×10^6)，RNA 具感染性，同时也起 mRNA 作用指导蛋白质翻译。病毒颗粒直径 27nm。共有 60 个壳粒，每一个壳粒由 4 种多肽构成。肠道病毒及心病毒均对酸稳定，在氯化铯中的浮密度为 1.34g/cm^3 ，相反鼻病毒、口蹄疫病毒则对酸不稳定且浮密度较高为 1.4g/cm^3 ，本科各代表病毒的基因组序列已被测定，病毒颗粒的三维结构也已获得。

小 RNA 病毒引起的疾病包括，从麻痹性脊髓灰质炎到无菌性脑膜炎、肝炎、胸膜炎、心肌炎、皮疹、感冒。隐性感染也非常多见。不同的病毒可引起同样的症状。一种小 RNA 病毒也可引起几种不同的症状。脊髓灰质炎病毒的株间差异在医学病毒学及公共健康有重大意义。1945 年人们知道脊髓灰质炎病毒有 3 种血清型，目前这些病毒的基因组已被阐明，但是，长期应用的疫苗株对脊髓灰质炎病毒野毒株一直有非常好的免疫作用。

61.2 杯状病毒科

杯状病毒科包括猪、牛、海狮(sea lions)和人类病毒，在患有胃肠炎病人粪便中已观察到杯状病毒颗粒的存在。诺瓦克病毒也属于杯状病毒。人的杯状病毒目前尚不能人工培养，但诺瓦克病毒已被克隆，其衣壳蛋白已在杆状病毒系统获得表达，所得到的壳蛋白无论分子质量及形态均与诺瓦克病毒极为相似。这种不含核酸的空病毒颗粒，为病毒的诊断及流行病学研究提供了有力的工具。具有相同形态学特征，而且也可引起急性胃肠炎的杯状病毒还有：Hwain 病毒、Moutgomery 病毒、Snow motain 病毒等，它们是以流行区域命名的，它们可能属于杯状病毒的不同血清型病毒。引起人类肝炎的 E 型肝炎病毒也属于杯状病毒。

61.3 布尼亚病毒科

布尼亚病毒科含 220 种病毒，其中 145 种属于布尼亚维拉病毒亚组，与虫媒病毒有血清型学关系。起初根据病毒的生态学及血清学关系将布尼亚病毒确定为虫媒病毒，目前根据病毒生物物理特性及生物化学特性已将其归为布尼亚病毒科。本科病毒中的 Hantaan 病毒可引起人类疾患，包括远东地区的韩国出血热及其变异株(scandinavian)和东部欧洲国家的流行性肾病(epidemic nephropathy)。目前统称为“出血热肾病综合征”，或“muroid 病毒性肾病”。汉塔病毒具囊膜，属于单链 RNA 病毒，基因组分 3 个节段，自然界的宿主主要是鼠(在韩国)和田鼠(在欧洲)。在远东及欧洲发生数例实验室工作人员

处理感染性大鼠而患病的病例。1993 年美国西部也发生汉塔病毒感染,主要表现为呼吸系统症状,引起这种疾病的病毒被命名为“Sin Nombre”病毒。

61.4 呼肠病毒科

除呼肠病毒科以外所有 RNA 病毒均属于单链 RNA 病毒,呼肠病毒中的 3 个血清型病毒可感染人、猴、狗和牛,此外至少有 5 种禽呼肠病毒也有感染性。

Coltivirus 病毒属、Kemerovo 病毒属和 Orbivirus 病毒是重要的人类致病因素,轮状病毒中的兰舌病毒可感染羊,并可引起非洲马瘟病(african horse sickness)。

呼肠病毒中有数种可引起人类疾患及多种哺乳动物发病的病毒。如猴病毒 SA-11 和 Nebraska 牛腹泻病毒。呼肠病毒被认为是引起人类非细菌性腹泻的重要病原体。呼肠病毒性急性胃肠炎是全世界最常见的一种儿童性疾病,也是发展中国家婴幼儿死亡的重要原因。但成人感染呼肠病毒通常无症状或较少引起反应。

61.5 反转录病毒

反转录病毒科包含有 6 个病毒属,不仅包含 RNA 性的肿瘤病毒(C 型反转录病毒),也包含 maedi-visna 组的慢病毒和泡沫病毒(Foamy),这些病毒均可形成细胞病变。人类免疫缺陷病毒(HIV)属于慢病毒。

反转录病毒具有 RNA 依赖性 DNA 聚合酶,病毒基因组是单股、线性、正链 RNA 的二聚体。病毒 RNA 的复制涉及 DNA 前病毒(DNA Provirus),其被整合到宿主细胞的 DNA 中。

通常情况下反转录病毒的基因并不表达,但这些基因可被物理化学因素或其他反转录病毒甚至是疱疹病毒的再感染而激活并在体内表达。反转录病毒属于细胞内的肿瘤基因。一般来说,反转录病毒为种属特异性病毒,在禽、鼠和猫引起白血病或肉瘤的病毒。另一类则属于鼠源性哺乳类动物肿瘤病毒和灵长类动物病毒。

目前反转录病毒按病毒形态学、病毒抗原性及酶学差异分为几种类型。鼠源哺乳动物类肿瘤病毒 B 型反转录病毒属于哺乳动物禽和爬行纲动物。HTLV-BLV 属包括 I 型和 II 型人 T 细胞嗜淋巴细胞病毒,猴 T 细胞嗜淋巴细胞病毒和牛的白血病病毒。

泡沫病毒属的泡沫病毒并不引起肿瘤或细胞转化,但无论在自然界或试验性的宿主动物均可引起无症状性、持续性感染。泡沫病毒或合胞体病毒(Syncytial virus)被认为可感染包括人类在内的哺乳类动物。

像其他反转录病毒一样,根据形态学及化学特性,呼吸困难病病毒(Maedi virus)组病毒被归为慢病毒。但这类病毒不引起肿瘤。羊的消耗病毒(Visna 病毒)可引起猫瘟性脑炎(Panleukoencephalitis)。血清学上相关的病毒可引起间隙性肺炎,在某些国家称 Maedi 肺炎或称为进行性肺炎。

人类免疫缺陷病毒(HIV)为慢病毒属病毒,分为两种亚型, I 型 HIV 传播范围广且毒力更强。HIV 病毒为外源基因型病毒,但人类感染 HIV 病毒后,前病毒 RNA 则被整合

到感染细胞的 DNA 中。目前已分离到许多型与 HIV 相关的猴慢病毒。各地区分离的 HIV 病毒分离物存在较大差异, 编码病毒膜蛋白的基因差异更大。Visna 病毒是慢病毒属的代表病毒。在与宿主免疫反应(持续性感染)上也存在进行性变异。

61.6 细小病毒科

表 61.2 所列出的所有 DNA 病毒均为双链 DNA 基因组。只有细小病毒科病毒为单链 DNA 病毒。细小病毒科病毒种类并不多。病毒基因组 DNA 只有 4~6kb, 较痘病毒的 130~375kb 基因组 DNA 要小的多。细小病毒科中有些病毒具有耐热特性(56℃ 1h)。

细小病毒科病毒可感染包括人类在内的许多脊椎动物。红病毒属(*Erythrovirus*)与人类疾病相关, 该病毒也称“细小病毒 B19”。通过杀伤晚期红细胞祖细胞而使红细胞的生成暂时受阻。已患溶细胞性贫血的患者感染这种病毒则可引起“再生障碍性贫血”。

猫的传染性粒细胞缺乏症病毒的宿主范围已经发生了变异, 可以引发像狗细小病毒引起的一样的疾病, 猫瘟病毒可使幼犬发生心肌炎, 青年及成年犬可引发伴有白细胞减少症的急性肠炎。全世界各地的动物种群均有这种病毒的感染。

腺病毒伴随病毒属于依赖病毒属(*Dependovirus*), 目前已知道几种血清型的腺病毒伴随病毒对人类有感染性, 但并不引起人类疾病。在缺少腺病毒时, 腺病毒伴随病毒并不复制, 腺病毒起辅助病毒作用。腺病毒伴随病毒颗粒内的单链 DNA 是以正链或负链两种形式存在于不同的病毒颗粒, 正、负链 DNA 形成双链螺旋卷曲。

61.7 嗜肝病毒科

嗜肝病毒科, 顾名思义这类病毒基因组为 DNA 并且病毒的复制发生在肝细胞。病毒基因组长度为 3200 个核苷酸, 病毒具环形双链 DNA 基因组。

人的乙型肝炎病毒和三种与之相似的病毒如地松鼠肝炎病毒、东方土拨鼠肝炎病毒和北京鸭肝炎病毒具有许多共同的特征。如相似的病毒形态和相似的对宿主感染行为。血中主要为 22nm 直径的病毒壳蛋白, 以圆形或管形形式存在(称为乙肝病毒表面抗原), 病毒在肝细胞复制并伴有急慢性肝炎。全世界约有 3 亿人口为肝炎病毒携带者, 而且极有可能发展为慢性肝炎甚至肝癌。东方土拨鼠 B 型肝炎病毒同样可引起相应的自然宿主的肝癌。丁型肝炎病毒属于亚病毒致病因子, 它只能侵袭已经感染了肝炎病毒的肝细胞, 有人称之为“卫星病毒”。

61.8 新进展

可以通过国际病毒命名委员会的网站查到有关病毒学分类的最新信息, 其主页的网址为: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTV>。

参考文献

1. Andrewes, C. H., H. G. Pereira, and P. Wildy. 1978. *Viruses of Vertebrates*, 4th ed. Macmillan Publishing Co., New York, N.Y.
2. Brown, F. 1989. The classification and nomenclature of viruses: summary of the results of meetings of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Edmonton, Canada, 1987. *Intervirology* 30:181-186.
3. Fenner, F. 1976. Classification and nomenclature of viruses: second report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Intervirology* 7:1-16.
4. Fields, B. N., D. M. Knipe, R. M. Chanock, J. L. Melnick, B. Roizman, and T. P. Monath (ed). 1990. *Virology*, 2nd ed. Raven Press, New York, N.Y.
5. Francki, R. I. B., C. M. Fauquet, D. L. Knudson, and F. Brown. 1991. Classification and nomenclature of viruses: fifth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch. Virol. Suppl.* 2, p. 1-450.
6. Matthews, R. E. F. 1979. Classification and nomenclature of viruses: third report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Intervirology* 12:129-296.
7. Matthews, R. E. F. 1982. Classification and nomenclature of viruses: fourth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Intervirology* 17:1-199.
8. Melnick, J. L. 1966-1982. Summaries on viral taxonomy. *Prog. Med. Virol.*, vol. 6 through 28. (Published annually.)
9. Murphy, F. A., C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, S. A. Ghabrial, A. W. Jarvis, G. P. Martelli, M. A. Mayo, and M. D. Summers. 1995. *Virus Taxonomy*, sixth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch. Virol. Suppl.* 10, p. 1-586.
10. Wildy, P. 1971. Classification and nomenclature of viruses. First report of the International Committee on Nomenclature of Viruses. *Monogr. Virol.* 5:1-81.

第 62 章 病毒的检测与鉴定

Robert H. Yolken, David A. Lennette, Thomas F. Smith,
Joseph L. Waner

病毒的种类繁多，引起的疾病也是各种各样的，这种多样性为病毒的实验室诊断带来极大的挑战。因此，病毒感染的临床检测及病毒的分类鉴定对病毒性疾病的预防及患者的治疗变得越来越重要。病毒的细胞培养是大多数临床实验室诊断的常规方法，但是由于病毒种类不同，宿主细胞的敏感性也不同，仅使用细胞培养的方法对病毒做出诊断将产生较大误差。例如，有些病毒在人工培养细胞不复制或产生可见的细胞病变，因此，需要使用更直接的诊断方法，以获得正确鉴定。病毒对机体的影响与其进入机体的量有关，同样，病毒抗原对于诊断试剂的反应存在差异，而病毒感染后病毒诱导机体免疫反应的能力也各不相同，所有这些因素都会导致临床实验室对病毒学诊断的差异。病毒分为 DNA 病毒与 RNA 病毒两种，从核酸角度看病毒又有较为一致的特性，理论上通过检测体内病毒的核苷酸可以使病毒感染得到鉴定，无论 DNA 病毒或 RNA 病毒。PCR 扩增技术的广泛应用使得病毒核酸鉴定更为可行。然而这项检测技术也受一些因素的影响，如化学试剂的质量，操作人员的经验，实验室条件的限制等，否则会出现假阳性或假阴性。

病毒的实验室诊断要考虑多种因素，如患者的病情，实验室所具有的条件及最可能需要鉴定的病毒种类等。表 62.1 汇总了有关病毒的最常用的检测方法及其应用途径。需要说明的是这只给出了病毒诊断的一种初步印象，对于各病毒诊断的详细内容要查阅本书中各病毒的相应章节，并应考虑特异性检测的有关知识。此外，病毒学诊断技术发展非常快，许多新的诊断技术和诊断试剂盒层出不穷，因此工作人员在选择诊断方法的同时也应充分考虑不断发展的新方法。

表 62.1 病毒的鉴定方法^a

病毒	检测方法 ^b					说 明
	细胞培养	酶联免疫检测	显微镜检测	核酸检测	免疫反应	
腺病毒	A	A	B	C	B	呼吸道标本可用于细胞培养，粪便标本可用于酶免疫检测，条件好的实验室粪便标本也可做电子显微镜检测
虫媒病毒	C	D	C	B	A	虫媒病毒培养应在 CDC-NIH 所规定的生物安全规范 2~4 级水平的实验室进行培养。有条件的地方可进行电子显微镜观察，虫媒病毒的诊断及其流行病学调查主要用血清学方法
杯状病毒及相关病毒	C	B	A	B	C	星状病毒可细胞培养；酶联免疫试验是本科病毒最有效的检测方法；有条件的实验室可做电子显微镜检测

续表

病毒	检测方法 ^b					说 明
	细胞培养	酶联免疫检测	显微镜检测	核酸检测	免疫反应	
巨细胞病毒	A	D	B	B	A	检测 IgM 抗体确定患者初始感染, 特别对于新生儿; IgG 抗体可测定初始感染的易感性和测定已感染过病毒的病人对病毒的反应性, shell vial 方法可用于病毒复制的快速诊断
肠道病毒	A	D	D	A	C	某些肠道病毒不能在常用的细胞传代培养, 中枢神经系统感染可用 PCR 扩增方法检测
EB 病毒	D	D	B	B	A	检测病毒与肿瘤的关系可用原位杂交法; PCR 检测适用于中枢神经系统感染; 也可用特异性抗体确定病毒成分
丝状病毒与沙粒病毒	B	C	B	B	A	病毒培养及其检测试验需在较高级别的生物安全实验室进行, 有条件的实验室可做电子显微镜检测
甲型肝炎病毒	C	B	C	B	A	IgG 和 IgM 抗体检测
乙型肝炎病毒	D	A	B	B	A	乙型肝炎病毒特异抗原抗体的检测可进行诊断并监测病程
丙型及庚型肝炎病毒	D	B	D	B	A	病毒感染的检测及流行病学监测主要用血清学方法, 有条件实验室可做核酸扩增检测
丁型肝炎病毒	D	C	C	C	B	丁型肝炎总是伴随有乙型肝炎病毒感染, 肝活检可进行丁型肝炎的核酸扩增检测
戊型肝炎病毒	D	C	B	C	A	需要特殊诊断试剂, 有条件的实验室可做电子显微镜
单纯疱疹病毒	A	B	A	B	B	Shell vial 方法可用于病毒复制的快速诊断免疫荧光可用于皮损标本中病毒抗原的检测, PCR 可检测中枢神经系统感染, 血清学可用于检测疾病的易感性
疱疹病毒 6,7,8 型	C	C	C	B	C	病毒的组织培养不稳定, 8-型疱疹病毒不能培养; 免疫检测可以应用但是一般不用; 显微镜检测可用于流行病学调查研究
人免疫缺陷病毒	B	B	D	A	A	p24 核心抗原可作为早期诊断和监测指标, 病毒 RNA 的定量检测可以监测抗病毒治疗的疗效
人乳头瘤病毒	D	C	B	A	C	组织活检标本中的空凹细胞和病毒晚期结构抗原的检测可用于乳头瘤病毒感染诊断。如果实验室具备相应的条件与试剂, 可以用 PCR 法直接检测病毒核酸
人细小病毒	D	C	C	A	A	条件允许可直接检测病毒核酸, 血清学方法是最常用的病毒诊断及流行病学调查的方法
人 T 淋巴细胞性病毒	C	C	D	B	A	血清学方法是病毒诊断及流行病学调查最常用
流感病毒	A	A	A	C	B	鼻分泌物标本中的免疫荧光及酶联免疫试验检测可做出快速诊断, 血清学方法一般用于流行病学调查
麻疹病毒	B	C	B	B	A	血清学检测可用于检测疾病的易感性和对病毒的免疫反应, 中枢神经系统感染可选用 PCR 检测方法
腮腺炎病毒	A	C	B	B	A	免疫荧光可用于检测呼吸道分泌物的病毒抗原; 中枢神经系统感染可用 PCR 方法, 血清学可用于检测疾病的易感性和对病毒感染的免疫反应
副流感病毒	A	C	A	C	C	鼻分泌物的免疫荧光检测可做出快速诊断
多瘤病毒	D	D	C	A	D	DNA 原位杂交可检测组织中病毒; PCR 用于血液及脑脊液 JC 病毒检测
痘病毒	B	D	B	B	A	病毒在组织细胞培养的表现有较大差异; 有条件实验室可做电子显微镜检测; 血清学检测是最常用的方法, 但要特殊试剂及有经验人员操作

续表

病毒	检测方法 ^b					说 明
	细胞培养	酶联免疫检测	显微镜检测	核酸检测	免疫反应	
狂犬病病毒	D	D	B	C	C	细胞培养可检测到脑组织中的病毒抗原
呼吸道合胞病毒	A	A	A	C	C	免疫荧光法可用于检测呼吸道分泌物中的病毒抗原
鼻病毒	A	C	C	C	D	病毒培养的酸稳定试验可区别于其他肠道病毒
轮状病毒	D	A	B	C	D	有条件实验室可做电子显微镜检查
风疹病毒	B	D	C	B	A	IgM 抗体检测可用于原发性感染,特别是检测新生儿双份血清 IgG 抗体水平,可以检测疾病的易感性和血清阳转情况
传染性海绵脑病病毒	D	D	C	D	D	有条件实验室可做动物接种或其他试验检测
水痘带状疱疹病毒	A	D	A	C	B	shell vial 用于病毒复制的快速诊断;免疫荧光用于皮肤疱疹的检测;血清学方法用于检测对感染的易感性

^a 细胞培养: 临床标本用敏感细胞系直接扩增病毒。酶联免疫检测: 临床标本的病毒抗原的检测, 包括 ELISA、凝集试验、放射免疫试验等。显微镜检测: 包括光学显微镜及电子显微镜检测两种, 光学显微镜检测指免疫荧光免疫过氧化物酶及相关方法检测, 电子显微镜检测指复染或免疫电子显微镜。核酸检测: 从临床标本提取病毒核酸, 经 PCR 扩增, 用杂交或测序方法测定病毒核酸。免疫反应: 涉及病毒感染的诊断, 可以是综合性抗体检测也可以是特异性抗体检测。从患者血液或各种体液检测出病毒感染的方法很多, 详见各章节。

^b A, 可做出明确诊断的方法; B, 某些情况下使用, 或特殊感染方式的诊断, 见表右侧的简要说明或详见各章节; C, 极少使用, 除非用于流行病学研究或极特殊情况的诊断; D, 一般不用于病毒感染的实验室诊断。

译者注(1): CDC-NIH: 美国疾病控制中心与美国国立卫生研究院的简称, CDC-NIH 所规定的实验室生物安全规范共分 4 级(1~4 级)级别越高, 表示防护要求越严格。

译者注(2): shell vial 方法, 为近年发展的一种检测病毒复制的新方法。在扁状小瓶底部有一载玻片, 载玻片上覆有一层组织培养细胞, 试验时将病毒接种于载玻片的细胞, 然后进行细胞培养。数天之后将载玻片取出进行荧光染色, 酶联免疫试验等病毒学检测。这种方法的最大特点是检测前病毒先得到扩增, 大大增加了检测的准确程度, 这一点对于临床采集的标本量较少时意义更为重要。目前国外已有商品化的 shell vial 出售, 可以提供覆有不同种类组织培养细胞的全套试验材料。

梁国栋 董小平译

第 63 章 人类免疫缺陷病毒

Jörg Schüpbach

63.1 临床背景

人类免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus, HIV)1 型和 2 型(HIV-1, HIV-2)是艾滋病的致病因子。艾滋病是一个长期的致病过程,在这一过程中,患者的免疫系统及其抵御感染或恶性增生性疾病的能力被摧毁。

63.1.1 急性反转录病毒综合征

最初的临床表现可在感染病毒后几天到几周时间内出现,伴随一过性疾病,通常称为“急性反转录病毒综合征”,该综合征在 50%~70%的感染病人中出现,特征为出现免疫激活和多系统功能紊乱的临床体征,患者多以流感样或传染性单核细胞增多症样疾病就诊,表现为全身性淋巴结炎、咽喉炎、关节痛、疲劳、出疹和体重下降,出疹包括斑丘疹,特别是躯干部的斑丘疹,随后转变为水疱性丘疹。口腔黏膜溃疡也经常见到。偶尔会出现腹泻、胰腺炎、轻度肝功能异常、细菌性脓毒症、血小板减少症、会厌炎、淋巴细胞性肺炎或自限性神经性疾病如脑膜炎、脑炎、多神经病或脊髓病。机会性感染通常只见于晚期的免疫缺陷患者,如食管念珠菌病。这些症状一般 5~30d 内消退。

63.1.2 临床潜伏

急性感染之后是长时间的无“疾病”临床潜伏期。然而临床潜伏与病毒潜伏是不平行的,这已被血浆、甚至是淋巴组织中高浓度的病毒颗粒所证实^[24,50,94,140]。胞质中病毒颗粒的半衰期大约只有 6h,而病毒颗粒复制一个周期需要 2.6d,这进一步证明在临床潜伏期病毒的产生确实是非常活跃的。每天可产生和清除 10^{10} 个病毒颗粒。同样的,被感染的 $CD4^+$ T 淋巴细胞的更新也很快,该群体的半衰期估计为 $(1.1 \pm 0.4)d$ 。相应地,每天有 $3.5 \times 10^6 CD4^+$ T 细胞被从血液中清除,而每天全身共有 1.8×10^9 个细胞被更新^[67,97,148]。

63.1.3 艾滋病

经过多年 HIV 蛋白的持续产生(通过产毒性感染细胞中病毒的持续复制维持)和宿主细胞的不断清除最终导致免疫系统的破坏,临床表现为机会性感染和肿瘤的发生(附录 1 和附录 2)。此外,中枢神经系统的感染可能导致明显的 HIV 相关疾病,包括 HIV 相关痴呆综合征、空泡性脊髓病变及感觉神经病变^[109]。在早期感染和以后的时间点存在的病毒载量与临床症状高度相关的事实,进一步表明了 HIV 病毒在艾滋病中的致病作用^[71,87]。

自 1981 年首次报道艾滋病以来,已经提出了几种该病的分类方法^[56]。这些较早的分类法的一部分在非临床研究文献中仍被沿用,故在此予以简述。1985 年美国疾病控制和预防中心(the Centers for Disease Control and Prevention, CDC)的分类法使用了描述性名词:无症状血清阳性(asymptomatic seropositive),淋巴结炎相关综合征(lymphadenopathy-associated syndrome, LAS),较轻艾滋病(lesser AIDS, L-AIDS)和艾滋病(AIDS)。1986 年的 CDC 分类法和 1987 年的修订版分别使用了 I-IV 组分别代表急性感染、无症状感染,持续性全身淋巴结病变和其他疾病。它们与 A~E 各亚组联结(以组依赖的方式),后者详细说明病理实验室调查结果的有无、体质或神经状况、继发性感染或肿瘤,或其他 HIV 相关疾病^[4]。1986 年沃特·里德(Walter Reed)分类法依据慢性淋巴结病变的有无、CD4⁺ T 细胞计数是高于还是低于 400、迟发型超敏试验的反应、口疮的有无或是否分别有机会性感染,定义了从 WR0(血清阴性)至 WR6 的七个连续阶段^[111]。最近使用的 CDC93 分类法(表 63.1)依据临床和 CD4⁺ T 细胞计数类别的合并结果,将病程分为 9 个相互独立的阶段^[8]。

表 63.1 CDC93 分类^a

CD4 ⁺ T 细胞类别	临床类别		
	A [无症状, 急性(初期)HIV 或 PGL]	B (有症状, 不符合 A 或 C 的情况)	C (艾滋病指示性状况)
1. $\geq 500/\mu\text{l}$ (\geq 淋巴细胞数的 29%)	A1	B1	C1
2. 200~499/ μl (淋巴细胞数的 14%~28%)	A2	B2	C2
3. $<200/\mu\text{l}$ ($<$ 淋巴细胞数的 14%)	A3	B3	C3

^a 关于临床类别的定义见附录 1 和附录 2。

63.1.4 艾滋病的潜伏时间

未经治疗的成年艾滋病患者潜伏期的中位数一般为 10~11 年,同性恋和吸毒者是相似的。潜伏期的变异相当大。5%~10%的病情快速进展者,感染病毒后 2~3 年即发展成艾滋病;而另一方面,5%~10%的患者病程进展缓慢,患者感染 7~10 年后仍无症状且有

稳定的 $CD4^+$ T 细胞计数(尽管数量明显低于未感染对照组)。较大数量的前瞻性队列研究得到的数据提示,大约 13% HIV 阳性的同性恋者在血清抗体阳转后 20 年仍不发展成艾滋病^[88]。在母源性传播的儿科感染中,疾病的发展看起来服从两种分布模式:一部分婴儿感染后大约在 5 月龄就快速发展成艾滋病,20% 的感染婴儿 12 个月内发展成艾滋病^[48]。从出生到出现严重症状的平均时间估计为 6.3~6.6 年^[11,105],到死亡的时间估计为 6.3~9.4 年^[11]。在 2148 例围产期感染的婴儿中,无症状感染期的平均持续时间是 10 个月(CDC1994 儿科分类的 N 期^[23]),A 期为 4 个月(出现轻度体征或症状),B 期为 65 个月(出现中度体征或症状),C 期(出现严重体征和症状)为 34 个月。尽管儿童通常在出生第二年就出现中度症状,但病情一般长期不进展^[11],一个研究估计 1/3 的儿童 15 岁时仍未发展成艾滋病^[105]。

63.2 HIV 概述

63.2.1 灵长类慢病毒

HIV-1 和 HIV-2 是反转录病毒科慢病毒属成员。它们是有包膜的正链 RNA 病毒,直径约 110nm。感染性病毒颗粒或毒粒有 2 个相同的单链 RNA 拷贝,长约 9~10kb,被结构蛋白包绕,构成核衣壳和基质外壳,后者附着有从宿主细胞膜上获得的脂质包膜。糖蛋白寡聚体插入该包膜中,可介导病毒对宿主细胞膜的吸附和穿透(图 63.1)。

HIV-1 于 1983 年被发现^[12],次年证实它在病毒学和血清学上与艾滋病的早晚期相关^[53,78,108,115,127]。HIV-1 具有更强的感染力,是形成艾滋病大流行的原因。HIV-2 于 1986 年被鉴别^[29,30],其致病力明显低于 HIV-1。HIV-2 的母婴传播率低,临床上以潜伏感染为主,偶尔也可引起艾滋病^[40,81]。

一组相关病毒——猴免疫缺陷病毒(SIV),分布于不同种的旧世界猴和黑猩猩中(图 63.2)。有人认为这些灵长类慢病毒可能在几百万年前产生于有尾猕猴(*Cercopithecus*)。这些病毒可被分为五个谱系,其中也包括 HIV 病毒。谱系 1 包括 HIV-1 的各种分离株,分为 M(main, 主要)和 O(outlier, 局外)两组(见下文)。很明显, M 组(如 HIV-1/LAI)与黑猩猩的 SIV 亲缘关系比与 O 组分离株(如 HIV-1/ANT70)更近一些;谱系 2 包括 HIV-2 的不同分离株,与感染乌黑白眉猴的病毒(SIV_{sm})关系较近,这种病毒可自然传播给短尾猴。已阐明一个 HIV 毒株(HIV-2/ST)与其 SIV 类似物的差异要小于它与其他人类病毒的差异。这一点连同 SIV 感染其自然宿主-猿猴不引起疾病的事实,可使我们得出这样一个结论: HIV-1 和 HIV-2 的流行不但是猿-人跨种传播的结果,而且也表明是人畜共患的感染。序列比较表明这种猿-人传播只发生在相对近期和几种不同的偶然机会中(综述见参考文献[132])。

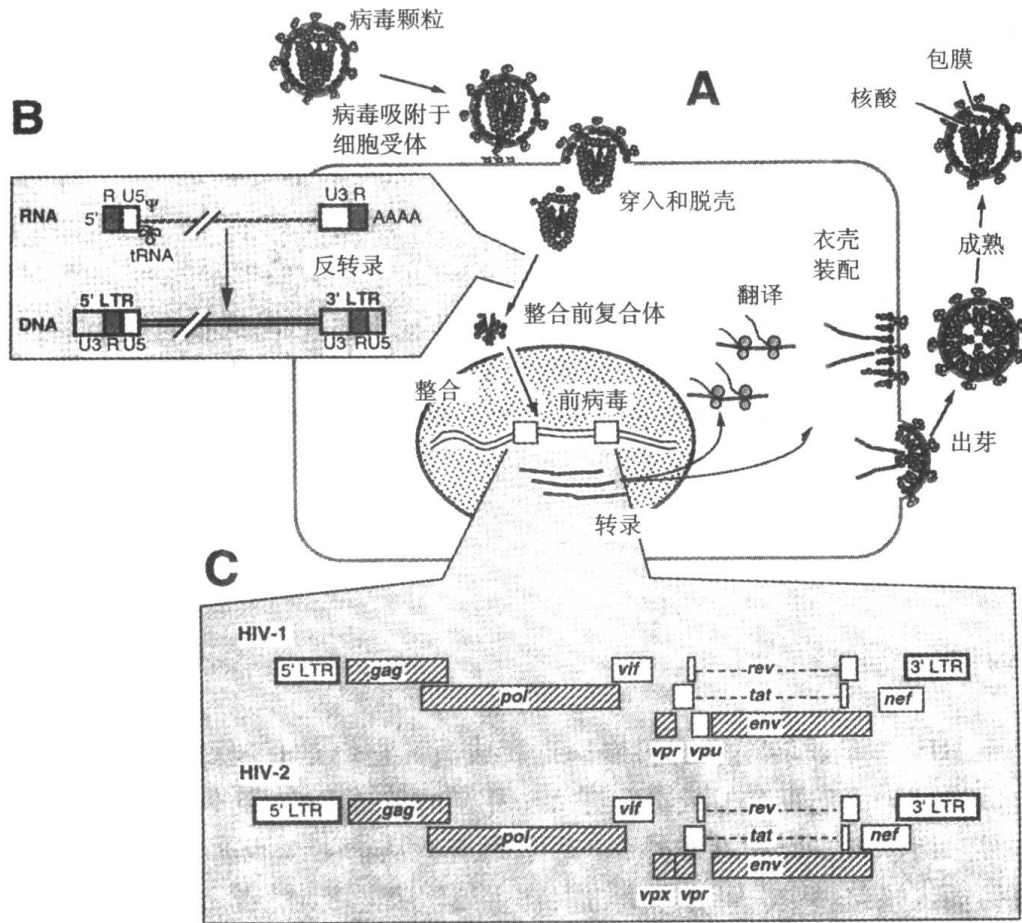


图 63.1 HIV 的复制周期。(A) 概括。(B) 反转录。毒粒中包含的基因组由 RNA 组成。其显著特征是具有末端重复序列(R)、U5(5'非翻译序列)、U3(3'非翻译序列)、3'聚腺苷酸化信号、反转录引物 tRNA^{Lys3}的结合位点和加衣壳信号Ψ。在反转录过程中 RNA 被反转录成双链 DNA 并且末端序列部分重复形成由 U3-R-U5 组成的 LTR。(C) HIV-1 和 HIV-2 原病毒基因组的组织。基因组编码的结构蛋白和酶(带阴影线的盒子)被包装到毒粒中而附属或调控的蛋白(开放的盒子)不以明显的量被包装

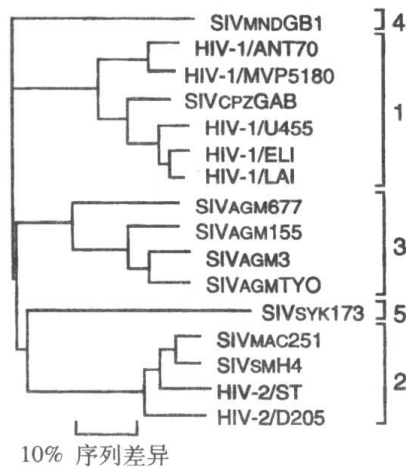


图 63.2 源于 Pol 蛋白序列的灵长类慢病毒的系统发生树。右侧的括弧指示的是 5 个主要的世系。HIV-1/U455 是 M 组 A 亚型的分离株, ELI 为 D 亚型而 LAI 为 B 亚型。ANT70 和 MVP5180 代表 O 组。MND, 山魈; AGM, 非洲绿猴; SYK, 塞克斯氏(Sykes')猴; SM, 乌黑白眉猴(简化自参考文献[132])

63.2.2 HIV 的组和亚型

主要由于快速突变和重组而形成的 HIV 的非凡变异性导致病毒形成不同的组、亚型以及地理分布。已发现 HIV-1 中存在 M 和 O 两个组, M 组可进一步被分为 A-J 亚型; O 组分离株彼此之间的差异和它们与 M 组不同亚型病毒间的差异是相同的, 而且 O 组分离株数量有限, 因此无法再分亚型。HIV-2 可分为 A-E 5 个亚型。HIV-1 B 亚型造成了北美洲、欧洲、大洋洲和其大陆中心城市的首次流行, E 亚型在泰国和东南亚地区最为流行, F 亚型发现于巴西和罗马尼亚, 而 G 亚型则在俄罗斯流行。在撒哈拉以南非洲地区发现了几乎所有的 HIV-1 亚型, 在该大陆 A、C 和 D 亚型是最流行的。C 亚型在印度也常见。M 组病毒, 是形成艾滋病大流行的原因, 在世界范围内迅速传播, 而 O 组病毒则很少被分离到, 实际上只局限于加蓬、喀麦隆或非洲西部一些赤道国家^[132]。最近的调查表明, 在各个欧洲国家发生的新型 HIV-1 感染的相当一部分是由非 B 亚型引起的, 而且这一部分在未来可能会扩大。

对全长基因组的序列分析表明, HIV-1 的 A、B、C、D 亚型在整个基因组中可被主要地(如果不是全部地)区别开来, 尚无证据表明亚型间存在重组。相反, 所有可获得的 E 亚型(来自东南亚和中非)和 G 亚型的序列都与 A 亚型重组。这些亚型未发生重组的亲代分离株尚未被鉴别出来。E、G 亚型和一些 A/D 重组的分离株仍保留了 A 亚型 gp41 的细胞质结构域。F、H、I、J 亚型的全长序列仍未得到。一些重组体含有一个亚型的基质和核心及另一个亚型的外膜, 为功能类似性假型^[85]。HIV-2 超感染和重组的证据已有报道^[132]。

63.2.3 病毒稳定性、安全防范、消毒和损伤

HIV 被归类为具有中度危险性的致病因子。实验室感染这些病毒的危险性主要来自于传染性血液或其他体液对手和眼、鼻、口腔黏膜的污染。尚无 HIV 通过空气传播的证据。

严格遵守本书第 9 章第 II 部分或世界卫生组织(World Health Organization, WHO)手册^[7]中列出的安全防范措施, 对于医院感染的预防是极为重要的。总是要戴高质量的手套和穿试验防护服。保护眼睛避免接触喷溅的液体, 使用不能被打破的一次性塑料器皿, 永远不要使用玻璃或其他尖锐、易破的物品。当不能避免使用锐利的工具时, 应用不锈钢链盔甲或凯弗勒(Kevlar)手套保护非支配手。

对喷溅物或实验室表面的污染必须立即消毒。无论何时, 当处理可能含有传染性病毒的患者样品时, 应尽可能使用 2 型层流生物安全柜(laminar flow biological safety cabinet, LFBSC)。对于分离病毒的工作, 使用 LFBSC 是强制性的。离心机, 包括那些只在实验室内进行血清学检测的离心机, 应配备密封的离心桶。针对 HIV 及其病毒产物的研究要求使用生物安全等级为 3 级的实验室, 该实验室有受限制的入口、可维持空气负压和方向性气流的抽气通风系统以及其他安全性措施。

HIV 可被对其他有包膜病毒有效的去污剂和消毒剂很快地灭活。另外,病毒相对稳定。尸检时,至死后 16.5d 仍可从各种组织中分离到病毒^[47]。在含蛋白的病毒悬液及干燥标本中病毒也相对稳定^[141]。在 pH7.1(最适 pH)时,病毒半衰期在 37℃ 大约为 24h,而在 -75℃ 保存 6 个月以上仍没有明显损失。在玻璃表面干燥和冷冻分别使病毒活力下降 5~12 倍和 4~5 倍。而存在于干燥过的标本中的病毒与储存在缓冲液中的同样稳定^[141]。在另一研究中,存在于培养液、海水、污水和脱氯自来水(均经过消毒并被保存于 16℃ 暗处)中的病毒失活 1log 分别需要 1.3d、1.6d、2.9d 和 1.8d,在最初的 4d 过后失活开始变慢(1log 病毒失活分别需要 4.3d、2.6d、5.7d 和 4.6d)。HIV 比单纯疱疹病毒稳定但次于脊髓灰质炎病毒^[117]。这些数据并不表明 HIV 可通过接触水传播,因为还毫无根据,但应该使我们清楚,在接触 HIV 时,对溅出物或污染物进行快速消毒是重要的。

推荐用于表面污染的消毒剂是 0.5%次氯酸溶液(5g/L, 5000ppm)。对于 HIV 培养物和病毒制剂,推荐浓度更高的 1%有效氯^[7,145]。新配制的 2%碱性戊二醛溶液也有效,但将其用于 HIV 有关的有机物质的消毒时,要注意溶液不能太稀或不能变得陈旧。碘溶液和去污剂(2% Jodopax)也可去除所有可被检测到的 HIV-1 活性。相反,70%的工业乙醇或 70%乙醇在合理的时间长度内不能灭活被干燥过的、蛋白丰富的无细胞或与细胞有关的 HIV 溅出物,完全灭活需要至少 20min^[141,144]。

暴露于被 HIV 污染的血液的针头刺破皮肤,感染 HIV 的危险度估计为 0.13%~0.5%。由这类事故发生感染的危险度取决于穿透的深度[皮肤损伤的相对危险度(relative risk, RR)为 16.1、带血的刺伤物上是否有可见的污染(RR=5.2)、此前是否用于静脉或动脉注射(RR=5.1)及患者所处的疾病期(和病毒载量)(RR=6.4)^[9]。

发生针刺或其他刺伤、割伤和皮肤被标本材料的溢出物或溅出物污染时,应用肥皂水和清水进行彻底冲洗,然后用无刺激性消毒剂消毒(不应吸引免疫系统的细胞!)。鼓励从任何伤口放血。万一皮肤被刺穿,就应立即开始抗反转录病毒的预防性治疗。暴露后的叠氮胸苷单一治疗可将感染危险度降低 80%^[9]。目前推荐的是暴露后的三联化学预防,包括两种反转录酶(reverse transcriptase, RT)抑制剂和一种高效蛋白酶抑制剂。该治疗应给予至少 2 周、但不超过 4 周。当完整皮肤接触了血液或含血的体液时,不推荐进行化学预防。

63.2.4 HIV 复制周期

图 63.1A 概括了 HIV 的复制过程。像所有反转录病毒一样,HIV 有一种特征性的酶,反转录酶(RT)。该酶从一种前体蛋白被另一种反转录病毒酶——病毒蛋白酶(protease, PR)切割而被激活。RT 有三种不同的酶学功能:作为 RNA 依赖的 DNA 聚合酶(按字面意义的 RT 活性)、作为 RNA 酶 H 和作为 DNA 依赖的 DNA 聚合酶。HIV 感染宿主细胞后,RT 的不同功能依次为合成病毒 RNA 的 cDNA、消化掉 cDNA-RNA 异源双链中的 RNA 和复制 cDNA 链服务。调控序列位于病毒 RNA 的两端(R-U5 位于 5'端, U3-R 位于 3'端),它们以互补并部分重复的方式产生所谓的“长末端重复序列”(long terminal repeats, LTR)。它们都包含了 U3-R-U5 并位于病毒双链 DNA(double stranded DNA, dsDNA)的两

个末端(图 63.1B)。dsDNA 与整合前复合物中的一些蛋白结合, 迁移到细胞核, 在那里它可以在第三种反转录病毒酶——整合酶的作用下整合入宿主基因组中。整合入基因组的反转录病毒 DNA 被称为“原病毒”。

HIV-1 和 HIV-2 原病毒的基因组结构见图 63.1C。像所有的反转录病毒一样, HIV 有 *gag* 和 *env* 两个可读框(open reading frame, ORF), 分别编码病毒的结构蛋白, 即病毒衣壳和包膜的前体蛋白; 另有 *pol* 基因编码病毒的多种酶。另外, 重叠的 ORF 编码反式作用转录激活因子(trans-acting transcriptional activator, Tat)和病毒表达调控蛋白(regulator of viral expression, Rev), 两者对病毒的复制都至关重要, 此外两种病毒型都含有编码附属或辅助蛋白的 ORF, 包括 HIV-1 的 Vif、Vpr、Vpu 和 Nef 以及 HIV-2 的 Vif、Vpx、Vpr 和 Nef。

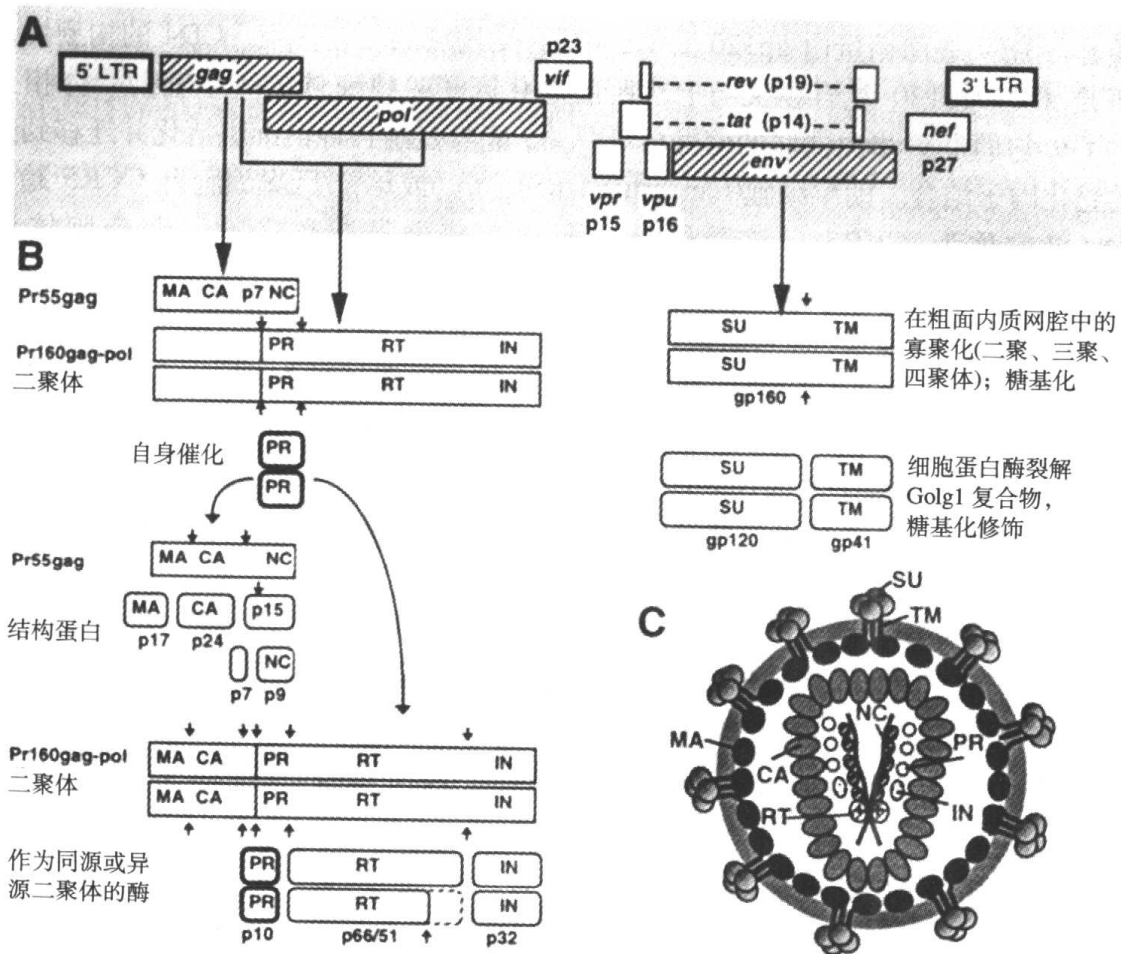


图 63.3 HIV-1 的翻译和颗粒组成。(A) HIV-1 的可读框。开放的盒子代表附属蛋白 Tat、Rev、Nef、Vif、Vpr 和 Vpu 的 ORF, 它们被直接翻译成最终大小的蛋白。带阴影线的盒子代表被翻译成前体蛋白的 ORF。(B) *gag*、*pol* 和 *env* 的翻译产物。这些基因的产物是以多蛋白前体的形式合成的。主要的 Gag 前体 Pr55^{Gag} 被病毒蛋白酶(PR)裂解成基质(MA)蛋白 p17、衣壳(CA)蛋白 p24 和一种 C 端蛋白 p15, 后者随后被裂解为 p7 和核衣壳(NC)p9。Pr160^{Gag-Pol} 的裂解是通过 *gag-pol* 接合部位的核糖体移框产生的, 产物为 PR、RT 和整合酶(IN)。在裂解后所有三种酶均保持二聚体化。RT 首先形成同源二聚体 p66/66, 随后被修饰成异源二聚体: p66/p51。Env 的前体 gp160 被细胞蛋白酶裂解成表面(SU)蛋白 gp120 和较小的跨膜(TM)蛋白 gp41。小箭头指示的是蛋白酶的裂解位点。(C) 成熟毒粒的蛋白组成

尽管宿主细胞的感染和原病毒的整合在很大程度上是由毒粒本身携带的蛋白介导的,但是病毒 RNA、结构蛋白和酶的产生也与细胞内转录和翻译的相关酶有关,此外还涉及大量的病毒调控蛋白,如 Tat、Rev、Nef 和 Vpr。病毒颗粒被聚集到细胞膜上,仍然以不成熟、无感染性的状态存在,以出芽的方式释放。为了完全成熟为有感染性的颗粒,病毒的 Gag 和 Gag-Pol 前体蛋白必须被 PR 裂解成不同的亚单位蛋白。不同蛋白及其在成熟病毒颗粒中的位置见图 63.3。

63.2.5 病毒的侵入

为了感染宿主细胞,毒粒必须与位于细胞膜上的病毒受体结合,对于 HIV 是 CD4^[39,73]。CD4 位于 CD4⁺T 淋巴细胞和巨噬细胞、树突细胞以及其他抗原提呈细胞的表面。随着与 HIV 表面糖蛋白 gp120 的 CD4 结合结构域的相互作用,CD4 的构型发生变化,于是 CD4-gp120 复合物又与七次跨膜趋化因子受体家族的一个辅助受体相互作用^[2,45,49,51]。它们是 G 蛋白偶联的信号传导受体,能与控制各种白细胞活化并迁移到感染部位的趋化因子结合。朗罕细胞(Langerhans cell, LC)或单核/巨噬细胞有 CCR5 趋化因子受体(以前称为 CKR5),该受体允许通常在感染早期存在的、非合胞体诱导(non-syncytium-inducing, NSI)表型的、M(macrophage,巨噬细胞)嗜性病毒造成感染^[2,45,49]。这种相互作用可被 CCR5 的天然配体β-趋化因子 RANTES、MIP-1α和 MIP-1β抑制,对它们是 HIV 抑制因子的鉴别导致了长期寻找的辅助受体的发现^[31]。与此形成对照,CD4⁺T 细胞系上的辅助受体是 CXCR4 分子[以前称为 LESTR 或融合素(fusin)],它只结合嗜 T 细胞、合胞体诱导(syncytium inducing, SI)的分离株,其天然配体是 SDF-1^[13,89]。初始 CD4⁺T 细胞有两种辅助受体:CCR5 和 CXCR4,因此可被嗜 M 和嗜 T 的病毒同时感染。

不是所有可被 HIV 感染的细胞都表达可被检测的 CD4,如星形细胞。在这些细胞中,半乳糖神经酰胺已被描述为病毒 gp120 的替代受体。可能与直肠感染有关的肠黏膜 M 细胞也是 CD4 阴性,但半乳糖神经酰胺为阳性^[60,84]。同样的,小肠或阴道的上皮细胞、精子、少突细胞都是 CD4 阴性,均可通过半乳糖神经酰胺或相关的糖脂受体发生感染。

63.2.6 病毒的传播和感染的建立

HIV 的感染受与其他感染因子相同的基本原理的支配。传播的可能性取决于与传染源接触的密切程度和暴露频率,更取决于感染剂量。HIV 病毒主要通过没有防护的性交、母婴间的先天联系和胃肠道外接种传播。当双方都有生殖器感染时,性传播的效率明显提高,因为此时病毒供者生殖器分泌物中的感染细胞数量增加或在存在生殖器感染时病毒受者的易感性靶细胞数目增多。而且,局部感染能增强免疫激活,这有利于病毒的复制。

一般说来,没有防护的性交造成的女性阴道感染是最常见的传播途径。1987 年提出树突状 LC 可能参与阴道感染,这一说法随后由于证明可从 HIV 阳性个体的皮肤中分离

到 HIV 感染的 LC 而被证实^[18], 且 LC 在阴道或男性包皮上皮内密度相对较高^[68]。在体外, LC 和 T 淋巴细胞可从人皮肤移植物中游走出来并形成紧密的结合物, 该结合物容易被 HIV-1 的各种原代或细胞系适应的分离株感染。在由记忆性 T 细胞和 LC 组成的结合物甚或是合胞体中, 可见到大量病毒的产生, 而单独的 LC 几乎不释放病毒^[107]。用 SIV 在短尾猴体内进行的研究表明, 游离病毒能够穿透正常的阴道上皮, 而且位于阴道上皮的 LC 是最早被感染的细胞^[136]。除了无细胞感染, 病毒还由能感染上皮细胞的精液中存在的被 HIV 感染的细胞传播^[139]。然后, 病毒从这些细胞中释放出来并可感染位于二线的树突细胞或巨噬细胞。男性生殖器的感染可由阴茎包皮中较高密度的 LC 介导, 存在于尿道上皮中的单核/巨噬细胞可作为病毒的替代靶细胞。

在直肠感染中, 病毒最初的靶细胞可能是肠黏膜中高频存在的 M 细胞, 但没有树突细胞的有关报道^[3,68,119]。M 细胞通过肠上皮细胞衬的内吞作用转运颗粒状抗原物质, 如细菌或病毒, 将这些物质运送到肠黏膜下肠相关淋巴组织的淋巴细胞、巨噬细胞和树突细胞。来自小鼠和兔淋巴集结(派氏斑)的黏膜移植物表明, HIV-1 颗粒可黏附到两种动物的 M 细胞网膜上从而被内化并运送到含淋巴细胞与巨噬细胞的上皮间隙中^[3]。或者, 病毒可能感染肠上皮细胞。已证实, 在体外共表达 CXCR4 和半乳糖神经酰胺, 而不是表达 CD4 的人肠上皮细胞系也可感染 HIV-1^[43]。CXCR4 的存在有利于有毒力的 T 嗜性 HIV 的感染, 这可以解释为什么肛交与艾滋病的进展较快有关^[101]。另外, 已观察到其他辅助受体的高表达, 如小肠中的 Bonzo/STRL33, 结肠中的 130B/GPR15^[46]。

已证明经口传染见于与母乳喂养有关的母婴传播, 还牵涉一些在口交是唯一危险因素的情况下的传播^[118]。另外, 最近给新生短尾猴口服接种 SIV 的研究证实了这种途径的有效性, 其效率虽然比静脉传播低 830 倍, 但比直肠传播高 6000 倍^[10]。

63.2.7 病毒的繁殖和感染的普遍化

LC 是源于骨髓的专业化抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC), 为 CD4、Fc γ 受体和 HLA-2 类抗原阳性, 分布于许多不同的组织, 包括皮肤和除尿道与直肠以外的所有黏膜上皮^[68]。一旦与抗原接触, LC 就从输入淋巴管迁移到局部淋巴结, 将抗原提呈给 T 细胞。自行感染的 LC 看来不能很好地复制 HIV 病毒。然而在体外, 如果将 CD4⁺ T 细胞加入 LC 细胞中, 就会看到病毒的复制非常活跃^[25,107,150]。在具有树突细胞标志的多核巨细胞及 HIV 阳性个体的肥大咽扁桃体的黏膜表面都发现有大量病毒产生^[52]。这些现象提示, 在抗原提呈所需的 CD4⁺ T 细胞与树突细胞紧密接触的过程中, 病毒在抗原提呈细胞中被激活并被传输到 CD4⁺ T 细胞, 复制的场所是两种细胞的结合物或甚至可能是两种细胞的融合产物, 这得到了相互激活的支持(图 63.4)。两种细胞的这种遭遇导致了病毒产生的激增可出现于病毒侵入处的黏膜下组织、输入淋巴管和最终的淋巴结滤泡的皮质区, 这些都是 CD4⁺ T 细胞定居的场所。在缺乏有效免疫反应时, 高度聚集的 CD4⁺ T 细胞导致病毒的大量产生, 其结果是游离的病毒颗粒以及病毒感染的细胞通过输出淋巴管离开淋巴结, 进一步感染下游淋巴结并进入外周循环。这一过程导致所有的淋巴组织和中枢神经系统被普遍感染。中枢神经系统的感染可能是由具有穿过血-脑屏障能

力的、已被感染的单核/巨噬细胞介导的。

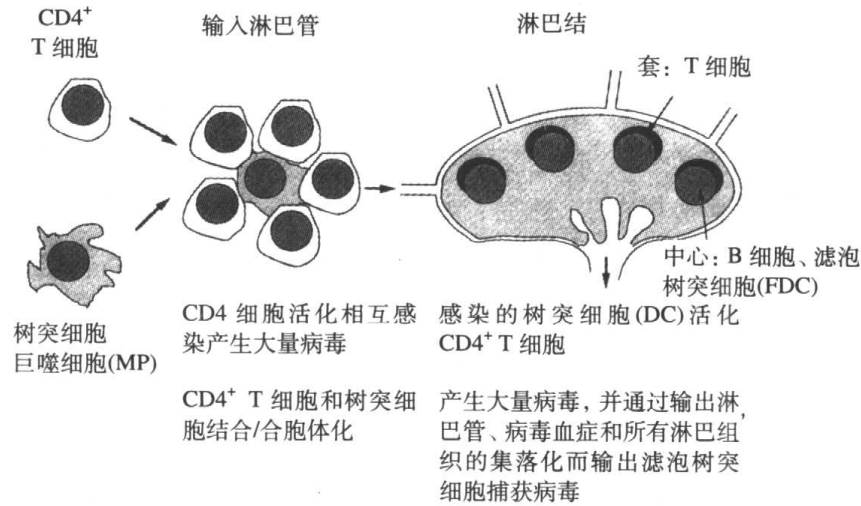
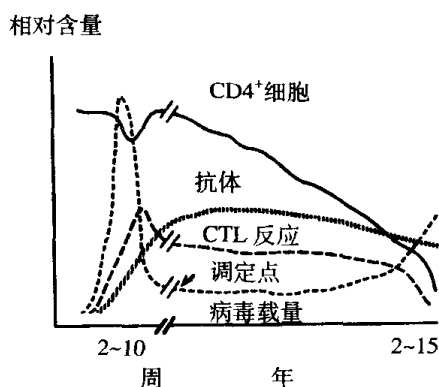


图 63.4 HIV 从侵入口到淋巴和血流的繁殖

63.2.8 急性感染和慢性化

图 63.5 归纳了 HIV 急慢性感染中的病毒学和免疫学状况。血源性传播导致了体内所有淋巴组织的感染。特异性免疫反应缺乏时, HIV 在淋巴管中的复制导致了病毒颗粒与病毒感染细胞的产生和释放的快速增加。在血液中, 这将导致无细胞或与细胞有关的感染性病毒、病毒 RNA、p24 抗原和细胞相关 DNA 水平的伴随性爆升^[28,38,57,74,103]。HIV 传播后看到的最早的病毒群体通常是 NSI 表型且其基因型有很高的同质性^[44,153], 即使在接种混合的 NSI/SI 表型之后也是如此^[36]。在急性感染后进行的淋巴结组织活检表明, 皮质部浆细胞增多, 生发中心增生, 滤泡树突细胞的网状组织网络增生, 皮质部 B 细胞丰富, 副皮质部 CD4⁺ T 细胞及交指状细胞丰富。白细胞介素(interlukin, IL)-1、IL-2、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 及干扰素(interferon, IFN)- γ 表达量增加。在血液中, 严重的初期 HIV 感染以原始淋巴细胞减少为特征, 继而有 CD8⁺淋巴细胞增多和 CD4/CD8 比例倒置。随后, CD8⁺细胞计数逐渐恢复正常, 但 CD4/CD8 比例仍然持续倒置, 因为 CD4⁺细胞的数目相对较低。初次感染后继发对丝裂原和抗原长期的、严重的细胞反应不良^[96,134]。

产生抗病毒免疫反应即生成 HIV 特异性的细胞毒性 T 淋巴细胞时, 病毒水平下降^[32,74,93](图 63.5)。可感染细胞的减少也可能导致病毒载量的降低^[102]。尽管在这一时间点没有中和抗体, 体液免疫反应(即抗体依赖的细胞毒作用)也可引起病毒载量的下降^[32]。

图 63.5 HIV 感染典型过程中的病毒学和免疫学参数^[95]

病毒载量下降后，血液中病毒的浓度稳定在一定的水平，这个水平因人而异，称为调定点(set-point)或转变点，它与疾病的转归密切相关^[65,71,87]。这个调定点是病毒、宿主细胞和免疫因子相互作用的结果。这种平衡在急性期后可维持几个月到 2 年。因而，它可能也受到中和抗体的影响，后者一般在这个阶段可逐渐被检测到。血浆中病毒的滴度几乎长时间不变，这与临床潜伏期相对应。在这段时间中，CD4⁺细胞的计数继续减少，减少速率因人而异。只有在免疫缺陷晚期，才可见到血浆中病毒 RNA 水平的明显上升，这时 CD4⁺细胞计数已经降低到低于 200。

发展为艾滋病的时间与感染年龄有关，老年患者免疫系统较弱，病情发展较快，提示了与免疫因子的关联。在病情不进展的患者体内，发现了日益复杂的病毒准种(quasispecies)的发育，而 CD4⁺ T 细胞的迅速减少和艾滋病常与准种的复杂性较低有关。这间接提示，不管是在成人^[44,86,152]还是在儿童^[54]体内，强烈的选择性抗病毒免疫反应与较好的预后有关。而且，大量的主要组织相容性复合物(MHC)的编码基因已被鉴别，它们单独或联合对疾病的进展产生正面或负面的影响(综述见参考文献[61])。在细胞水平上，已证明 CCR5 辅助受体的缺陷可抵抗 M 嗜性病毒的感染^[42,135]。

这些预后因素的共同基础是病毒在宿主细胞内复制所达到的程度。辅助受体的缺陷，强烈的抗病毒免疫反应或弱化的病毒株均有利于限制病毒的复制。另一方面，免疫激活，例如，在慢性传染病(如结核病)时，能增强病毒的产生。因而平衡[即调定点]建立以后产生的病毒载量是最重要的预后因素。

在感染的无症状阶段，淋巴管中感染性病毒的产生持续稳定^[50,94]。在淋巴组织中，病毒被主要位于滤泡皮质部的、发生了潜伏感染的 CD4⁺ T 细胞激活；巨噬细胞也可能是感染性病毒的一个重要来源^[91]。释放的病毒通过滤泡树突细胞网络。已表明滤泡树突细胞网络能诱捕结合于免疫复合物中的病毒颗粒。被诱捕的病毒仍具有感染性，即使在有中和抗体存在的条件下，可感染通过淋巴结移行的 T 细胞^[63]。

63.2.9 病毒复制的动力学

有效的抗反转录病毒药物能使病毒表达细胞产生的大部分病毒变为非传染性的，

因此可以在各种宿主细胞中测定病毒的复制动力学(图 63.6)。大约 99% 的病毒的产生是由感染的产毒性淋巴细胞维持的,在这些细胞中,从感染、病毒产生到细胞死亡之间的时间间距的半衰值(half-time)为大约 1d。为了维持病毒浓度的平衡,每天必须释放大约 10^{10} 个病毒粒子。剧烈产毒的 $CD4^+$ T 细胞中的复制周期估计为 2.6d。每天约有 3.5×10^7 个 $CD4^+$ T 细胞被从血液中清除和替换。在整个机体中,这个数量为大约 1.8×10^9 细胞/d^[67,97,98,148]。

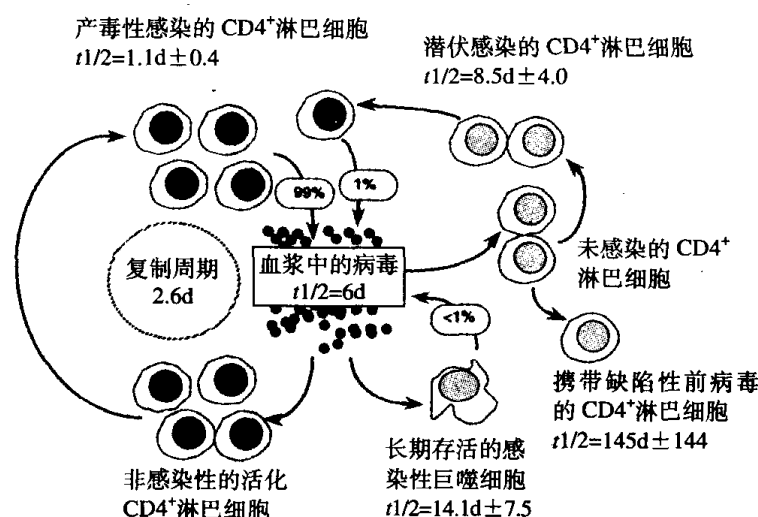


图 63.6 体内 HIV 产生和清除的动力学。根据参考文献[97]和[98]

除了在被剧烈感染的 $CD4^+$ 细胞中产生大量病毒,潜伏感染的 $CD4^+$ 细胞和寿命很长的细胞,如巨噬细胞或 LC 也参与病毒的产生,但它们在未经治疗的患者体内只占 1%。当有效的抗病毒治疗阻断了急性复制周期时,这些比例会发生改变。在这一阶段,这类细胞的半衰期为数周到可能为数月,这就有必要进行连续数年的积极治疗。这些治疗的结果仍不确定。

63.3 HIV 感染的诊断

在 HIV 的诊断中存在的两个主要问题是:首先是一个是否感染了 HIV,其次是如何发生了感染,病毒复制的活力如何?在不久的将来,了解抗反转录病毒药物的敏感性可能会成为另一个重要问题。

HIV 的感染可用各种方法进行检测。使用针对各种病毒组分的试验可对病毒进行直接检测。这些试验包括:病毒蛋白,可用免疫学方法进行特异性检测;RT,其酶活性可用功能性试验检测;病毒 DNA 或 RNA,可用分子生物学试验鉴别。然而,最常用的是,通过评估某一个体的免疫系统是否产生了 HIV 特异性的免疫反应的试验对 HIV 的感染进行诊断。因为已经知道反转录病毒的感染建立后可在生命中持续存在,因此只要证实有 HIV 特异性免疫反应,且它一致性地直接抗各种不同的病毒抗原,就可确信它反映了正

在发生的感染。因此,至少在成年人中,对 HIV 特异性抗体的检测仍然是 HIV 诊断的中流砥柱。在婴儿,因为抗体有可能经胎盘从感染的母亲传给后代,因此检测病毒的组分显然更为可靠。

HIV 的诊断依赖商品化的检测试剂盒。制造商之间的激烈竞争和不同国家管理机构的严格评价与控制,使得我们能得到大量灵敏度高、特异性好、被很好标准化的、在使用者的实验室能连续提供高标准诊断结果的卓越产品。它们通常比使用者实验室建立的方法更好,能产生更一致的结果。因此强烈推荐使用好的商品化试剂盒。在许多国家,将未注册的试剂盒用于普查或某些类型的补充试验是非法的。

下面将仅给出这些试验的概括说明,因为所有的商品化检测试剂盒都含有详细的一步步的介绍。对于非商业化的方法,读者可直接查阅参考文献。本部分目的是指导读者了解大量的可使用的方法并对它们的长处和弱点进行讨论。

63.3.1 HIV 感染的诊断方法

1. HIV 的筛查试验

在 HIV 感染后的数周内便会产生特异性抗体。在抗体的检测中,阳性化(即血清阳转)的时间取决于感染剂量、传播方式和抗体试验的灵敏度。

在一个以第一代试验(见下文)为基础的研究中,估计在感染后平均 45d 出现血清阳转。以 95%的可信度,90%个体的窗口期为少于 20 周^[99]。采用其他试验测得的平均窗口期则缩短,分别估计如下:同时进行的抗 HIV-1 或 HIV-2 的免疫分析,为 -20.3d[95%置信区间(confidence interval, CI)为 8.0~32.5]; p24 抗原和 DNA PCR, -26.4d(95%CI 为 12.6~38.7); RNA PCR, -31.0d(95%CI 为 16.7~45.3)^[21]。现代的第三代抗体筛查试验应该在感染后平均 3 周变为抗体阳性。然而,在更灵敏的试验中,血清阳转时间间隔的上限仍未确定。

有很多商品化检测试剂盒可供筛查使用,对于特定的试剂盒根据制造商提供的信息很难辨别其优缺点。不同的试验方法及其特点在图 63.7 中列出。

用于 HIV 抗体筛查的最重要的试剂盒样式是间接结合试验(indirect binding assay)、抗体捕获试验(antibody capture assay)和双抗原夹心试验(double antigen sandwich assay)。间接结合试验包括所谓的“第一代”酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA),它基于纯化的病毒裂解物;“第二代”方法则基于重组抗原,通常用 Gag 和 TM。第一代间接结合试验不限于 ELISA,还包括免疫荧光和 Western blot(WB)(免疫印迹)。使用重组蛋白的线免疫试验(line immunoassay)可归类为第二代间接结合试验。抗体捕获试验通常使用重组蛋白,其原理与间接结合试验正好相反。双抗原夹心试验(常被称为第三代试验)通常使用重组抗原。颗粒凝集试验,可被看作是双抗原夹心试验的变体,利用了病毒的裂解物。尽管所有这些不同的检测方法都检测抗体,但它们在精确诊断上的问题和答案却各不相同。通过将样品中的 HIV 特异性抗体结合到免疫球蛋白特异的试剂上,间接结合试验和抗体捕获试验核实的,是在这样一个试验中,起反应的