

20世纪病毒概念的发展

(代 序)

高尚荫

(武汉大学, 中国科学院武汉病毒研究所, 武汉)

THE DEVELOPMENT OF VIRUS CONCEPTS IN 20TH CENTURY

Gao Shang-yin

(Wuhan university; Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica, Wuhan)

在人们的心目中‘发现’是科学的象征,新发现往往容易受到重视。因此新闻界以新的发展衡量科学。当诺贝尔提出“诺贝尔奖金”条件时是以新的发现为标准,特别是对人类有益的发现。但是如果认为科学仅是事实的累积就会使人发生误解。不论在生命科学或可能同样地,在其他科学,大部分的主要进展是由于引出了新的概念,或改进了已有的概念。认识世界也可以说是通过概念的改进,而不仅是新事实的发现,虽然两者是有联系的。1953年DNA双螺旋结构的发现使基因有了新的概念。从此遗传学从“经典遗传学”发展为“分子遗传学”。因此在科学进展的过程中必须重视概念的发展。

一、过滤性感染因子的发现和两种病毒概念的争论

1892年D. I. Ivanovski在研究烟草花叶病过程中,发现这病的致病因子能通过细菌过滤器。但他认为致病是由于产生毒素的细菌引起的。(1892 Sel Kehz. Lesov 169 (2): 108-121)。1898年M. W. Beijerinck报道烟草花叶病的致病因子具有三个特点:能通过细菌过滤器;仅能在感染的细胞内增殖及在体外不能生长。根据这几个特点他提出这致病因子不是细菌而是一种新的致病因子称之为“感染性活菌液”(原文为“Contagium Virum fluidum”)(1898 Versh. gewene Vergad. wis-en natuurk Afd. K. Akad. wet. Amst. 7: 229-235)。1878年Beijerinck的论文发表后,1903年Ivanovski发表他最后总结有关烟草花叶病的工作。(此后他转向植物生理学不再进行植物病害的研究)。文中他强调过滤性实验的优先权应属于他,但重申他的细菌说。Beijerinck则坚持他的感染性活菌液说。当然Ivanovski首先发现这因子的过滤性是事实;但对病毒概念的发展并没有什么影响。相反的,Beijerinck提出了新的病毒概念。

19世纪末期病毒的概念有两种:微生物概念和非微生物概念。这两种概念并没有澄清任何病毒的本质。由于当时还没有直接研究病毒特征的技术和方法,因此对这两种概念不可能肯定或否定那一种是正确的。但是在19世纪转入20世纪时这两种概念的争论激发了大量有关病毒的研究。到20世纪初期,病毒的微生物概念处于主导地位,因为大多数病毒学工作者是

医学病理学家和细菌学家。他们偏向病菌说，于是很自然地采纳了病毒的微生物概念。至于病毒的过滤性和超显微性，则以体积非常微小来解释；同时病毒不能在体外生长则以还没有找到适合生长的条件为理由。显然Beijerinck的观点走在时代的前面，当然不符合19世纪末期有关传染病的两种学说即“病菌说”和“细胞说”，同时更不符合“细胞生细胞”的观点。（R. Virchow的“Cellulaex Cellula”），正如巴斯德的名言“只有准备好了的头脑才能发现”（“Only the prepared mind makes discovery”）。新生事物往往不易被人接受在科学史上的例子很多！但当时也有人对病毒的微生物概念表示怀疑。他们认为病毒不能在体外培养是Beijerinck学说的核心问题。至于病毒的过滤性和在体外不能生长是两码事，不过是巧合而已。

二、20世纪早期的10—20年代

20世纪早期的病毒研究主要在病毒病，而不在病毒的本质，因为识别某些传染病比识别病原体要容易些。当时病毒研究也还没有取得统一的实验途径。病毒学者分为动物或植物病理学家和细菌学家。后来出现噬菌体工作者，他们各自持有不同的病毒概念分别进行工作。

人和动物病的研究工作者大多数是医学病理学家和细菌学家。他们从细胞说和病菌说为主体，假定这些微小的过滤因子是微生物（或细胞）。到19世纪最后几年，植物病理学家发现有些植物病的病源体是细菌，因此把病毒致病误认为由植物的酶和一些化学介质引起的，因而倾向非微生物概念。至于噬菌体工作者的兴趣在抗细菌性感染的治疗作用，他们并不关心病原体是微生物或非微生物。

在这些年代里对病毒的概念虽然没有什么改变，但当时对病毒的认识是有进展的：例如对黄热症（1901），脊髓灰白质炎（1909）和其他由过滤性因子能引起许多疾病。

长期以来注意到细胞的内涵物和某些传染病相关。20世纪初期这问题引起相当大的争论。内涵物在光学显微镜下能显示是病毒存在的证据，但它们究竟是真正的病原体呢？还是原生动物的细胞内生命过程的一个阶段呢？或者仅仅是细胞的反应产物？换句话说，内涵物虽然能在显微镜下看得到，但它们究竟是什么并不清楚。从病毒概念说，包涵体的研究对病毒的本质并未说明什么问题。但也不能否认根据它们的生物学共性（如作为细胞内的内涵物）比以纯物理性质如过滤性和大小是超显微的进行分类似更有意义。

1908年 V. Ellermann和O. Bang (Centbl. Bakt. Parasit. 1908, Abt. 1, 46: 595-609) 发现通过滤器制备的白血病肿瘤无细胞滤液能引起小鸡发病。他们对病原体未加解释，仅仅说是“有组织的”(Organized)。1911年 P. Rous (J. Am. Med. Assoc. 1911, 56: 198) 证实家禽肉瘤也同样地能通过宿主传递。由于这病原体是过滤性所以认为是病毒。

Rous的发现激发了人们对肿瘤的本质及其与癌之间的可能关系的兴趣。它们是有生命的或是新生的？究竟是肿瘤引起病毒还是病毒引起肿瘤？虽然Rous本人坚持这种肉瘤的病原体是有生命的，但也有人相信它们的来源是受伤的宿主细胞的一种无生命的物质对正常细胞起了还不了解的作用。在相当时间内Rous的工作未受到应有的重视，也就说明在1911年他发现这病毒，过了55年之后在1966年才获得诺贝尔奖金。Rous的发现提出了一个新的概念：病毒能引起肿瘤。

1915年 F. W. Twort发表一篇短文“超显微病毒本质的研究”(Lancet 1915, 2: 1241—1243)。这篇论文标志着病毒研究的一个新的阶段。这篇论文对病毒的概念以及生物学的一些基本问题具有深远的影响。Twort描述一种能裂解细菌的“过滤性要素”(filtrable Principle)。这裂解现象能传递给新的细菌培养,这是第一次表明细菌和动物或植物一样,也有感病性。由于Twort本人当时还不能肯定自己的发现,以及第一次世界大战对科学工作的干扰,他的重要贡献默默无闻地过去了。

1917年 F. d' Herelli又发现 Twort的裂解现象,并证明裂解因子在传递中还能增殖(C. R. hebdomadaire Seances Acad. Sci. Paris 1917, 165: 373-375)。他认为这是由具有抗 Shiga 痢疾的菌超微性微生物引起的。他命名这种因子为细菌噬菌体属于“过滤性病毒”(filtrable virus)。

d' Herelli的噬菌体工作如Rous的肉瘤病毒工作引起了广泛的兴趣和热烈的争论。当然当时不是所有的人都同意 d' Herelli的观点即噬菌体是有生命的。有些人认为是细菌的酶,被刺激后合成更多的酶,最后使细菌裂解。另外也有人则坚持细菌自发地释放噬菌体。当时人们对噬菌体的注意力在利用它们治疗细菌感染的可能性。这一愿望未能实现。但是噬菌体的发现开阔了病毒研究的一个新领域,对病毒的概念和生物学的一些基本问题特别有关基因的本质具有极其深远的影响。

20世纪早期人们对过滤性感染因子的知识逐渐增多了,但它们的大小致病性以及物理和化学因子的抵抗能力等还存在着明显的差别,因而提出它们可能不是同源的生物群,有些属于原生动物或细菌。

在工作的进程中认识到根据过滤性和超显微大小作为鉴定病毒的标准是不适当的,第一,过滤性因子不一定是超显微如牛胸膜炎,第二,有些亚显微致病因子并不无例外能通过滤器,这并不仅是滤器孔径和过滤物之间的关系,其他因子如培养基的性质,分子引力和毛细管作用以及过滤的持续时间和压力等也应加以考虑。因此过滤性或显微大小并不能作为区别病毒和其他感染性因子的准则。可是“过滤性病毒”这名称在20世纪还持续出现在文献中。

企图将病毒在人工培养基上培养,连续遭到失败,是因为许多学者当时没有认识到,病毒不能在生活细胞外复制是它们特性之一。

三、20世纪的30—50年代

30年到50年代病毒的研究主要在病毒本质的确定,噬菌体工作的再起和新技术的发展。

当时研究病毒的科学家往往将病毒的本质与病毒的大小联系在一起。他们认为病毒的本质问题就是病毒是有生命的还是无生命的。生命的单位究竟有多少蛋白质单位?如大分子那样大小的病毒具有生命的特征吗?归根到底还是生命与无生命的区别。20世纪早期利用火棉胶膜测定口蹄疫病毒的直径,认为这样小的病毒不可能是有生命的。当又发现比口蹄疫病毒大好几倍的痘病毒以及噬菌体的大小也很不相同就认为较大的病毒是微小的微生物,较小的是感染性化学物质。

40年代量子物理学家E. Schrodinger所著的“生命是什么”一书出版后(1944, Cambridge Univ. Press),吸引了许多物理学家的兴趣,并转向生命科学。他们坚信生命的最后秘密也就是基因的本质和复制方式,可以从物理学和化学规律解释,在科学上是可以

了解的。这思想在这些物理学家之一的 Max Delbruck 在“一个物理学家看生物学”一文中表达出来了 (“A Physicist looks at biology,” Trans. Conn. Acad. Sci.Arts 38 : 173-190)。Delbruck 选择噬菌体为对象研究遗传的机理,把噬菌体研究引向遗传学问题并和 S.E.Luria 与 A.Hershey 组成“噬菌体小组”。这小组吸收各学科的科学家人分工合作进行噬菌体工作,使噬菌体研究出现一个崭新的局面。他们有明确的目的,独立的见解,切合实际的方法,主要工作包括病毒的感染,突变和遗传重组等。他们的技术和理论为分子生物学的形成奠定了基础。1978年祝贺 Delbruck 60岁寿辰时,他们出版的“噬菌体和分子生物学的起源”专著概括了他们的主要贡献。

1935年 W.M.Stanley 在美国科学促进会年会上宣读一篇论文“具有烟草花叶病毒性物质的一种结晶体蛋白质的分离”(1935, Science 81 : 644-645)报告他成功地分离并结晶了烟草花叶病毒,在报告中提出烟草花叶病毒可以认为是自催化的蛋白质,目前可假设为需要生活的细胞存在时才能增殖。”Stanley 将病毒的生物活性联系化学实体,证明病毒可以从生化和经典的微生物学观点进行研究。过去对病毒的兴趣是以病毒作为传染病病原体,但现在转向探索病毒的组成,感染和复制现象,进行病毒的生化研究。但又重提病毒是生物还是非生物的老问题。一般说病理学家和微生物学家认为病毒是生命体,但理化科学家争辩它们是无生命的化学物质。在这种争论中可以看到 Stanley 的烟草花叶病工作开辟了病毒研究的新方向,对病毒提出了新概念:病毒作为生物体或化学物质能引起传染病。

Stanley 最初以为烟草花叶病毒是大的蛋白质分子,但在 1937年 F. C. Bawden 和 N. W. Pirie 报道这病毒也含有核酸是核蛋白分子对病毒的概念又进了一步。(Proc. Roy. Soc. 1937, B, 128 : 274-320)。

技术方法在 20世纪早期的基础上进一步的应用而发展了。组织培养的广泛利用不仅使病毒依赖生活细胞才能增殖的概念得到普遍接受,并又发现脊髓灰白质炎病毒能在非神经组织中培养。空斑技术的发明有利于动物病毒的滴定和有利于病毒的感染和免疫在细胞水平上的研究。电镜术随金属投影,超薄切片,负染色等技术以及最近结晶学电镜术(1982年 Crystallographic electron Microscopy)的应用增加了分辨率进一步明确病毒的结构与功能的关系。

总的说来 20世纪病毒的概念在下列几个方面得到了发展:

1、所有的病毒有一个共同的物质结构 一个基本概念的改变是认识到虽然病毒在形态上,宿主特异性上以及病理活性上有很大的区别,但是所有的病毒都有一个共同的结构,那就是病毒只有一个外部的蛋白质外壳和一个内部核酸核心,核酸类型要就是 DNA 或者是 RNA 但不是两者兼有。在此概念上病毒首次能够作准确的定名和分类了。Lwoff 等(1942年)根据上述原则为病毒分类提出了“病毒系统包括了病毒核酸的类型(DNA或RNA);螺旋对称或立方对称以及衣壳是裸露的还是囊膜包围的等。他们的提案于 1965年及最近被病毒分类委员会修改并采纳了。

2、第二个基本的改变是认识到所有病毒都以两种形式之一而存在。一种是无代谢活力的,但能传递的病毒粒子(Virion)另一种是营养性病毒它也是宿主细胞有活力的组成;例如,噬菌体的生长周期可分为 5个阶段:病毒粒子吸附于细菌表面,核酸侵入细胞,在被感染细胞内 DNA 复制,病毒成熟和释放于细胞外。在感染的细胞内是营养性病毒,成熟后释放的是病毒粒子。这个例子一方面说明了病毒在细胞水平的复制,同时更清楚地阐明病毒

与细胞的相互关系。

3、第三个基本概念的改变是在分子水平上所有的病毒都有一个共同复制机理。这机理不但在病毒学中而且在整个生物学中占有重要地位，就是通过基因组的复制才能保证遗传信息世代相传。核酸分子复制的正确性决定于双链DNA分子中二条链碱基顺序互补的正确性。因此只要有了一条链的顺序，就可用这条链作模板，来合成互补链。不论是对双链或单链DNA或RNA基因组来说都是一样的。

类病毒和羊瘙痒因子

1971年T.O. Diener (Virology 1971, 45: 411-428) 在马铃薯纺垂形块基病中抽提出一种感染性物质。最初以为是病毒，但通过一系列检测，证明这是一种新的病原体和一般病毒不同。它是分子量很低的RNA，并且没有蛋白质的存在。Diener称它为类病毒 (Viroid) 类病毒必须依赖宿主的生物合成系统才能复制，因为没有发现一种介于中间的类病毒复制的“辅助”病毒。类病毒的发现不仅给亚显微感染性因子一种新的概念，同时给微生物学增加了一个新的领域。类病毒是较病毒更小，更简单的复制单位，能在植物中引起病害，并且在动物中也可能存在这类因子。

羊瘙痒病因子 (Scrapie agent)

两个世纪以来对羊瘙痒病的病因的讨论都未得到确切的答案。直到1980年S. B. Prusiner等 (1980, Biochemistry 19: 4884-4891) 报道羊瘙痒病是由一种蛋白质感染因子引起的并命名为“Prion” (有人译为“朊病毒”) 这个报道使人们震惊，因为它与“中心法则”是背道而驰的。但是最近Oesch (1985) 的工作表明Prion蛋白在感染前就被宿主细胞基因编码，并在感染前和感染后已被充分地表达，是正常细胞的一个组分，但Prion专一性的核酸尚未找到。Oesch的实验结果对Prion的研究深入了一步，但有些重要问题尚未澄清，例如，Oesch既证明Prion是正常细胞的一个组成，那么这种Prion蛋白在细胞的什么地方？它起什么作用？Oesch的结果还没有揭示羊瘙痒病因子的本质。这因子的性质是否仅在宿主编码的Prion的蛋白决定，是否需要其它成份；如果Prion蛋白单独就能决定，为什么不在所有的细胞中产生病变？当然关键的问题是羊瘙痒病因子到底含不含核酸。不论将来这些答案是什么，如果明确了Prion蛋白质的基因，必然会改变我们对这因子的想法和了解。如果说这因子没有核酸，是一种新的致病因子，这是非常了不起的新概念！如果说存在着核酸，这种因子也值得注意。对这问题目前应采取慎重的态度。

病毒学作为一门独立学科的出现是在20世纪50年代后，为什么这样说呢？（一）病毒是一种特殊的传染病因子，不同于一般微生物；（二）病毒研究需要特殊的技术和方法；（三）病毒学工作者也认为自己是“病毒学家”，不是病理学家，生物化学家或微生物学家。既有病毒学家当然应有“病毒学”这门学科；（四）动物，植物，昆虫和细菌病毒学工作者更注意病毒的本质，病毒的结构与功能的相似性和特点，较少注意它们引起的疾病。近年来出版的病毒学教本如Luria, Gould和Sanger的“普遍病毒学”反映了这种病毒学研究方向的调整。（五）国外有关病毒学专门刊物相继发行了，如1939年出版的第一种病毒专刊“Archiv für die Gesamte Virusforschung”，1955年“Virology”，1967年Journal of General Virology“等，相继发行，国内1979年出版“病毒学集刊”现为“病毒学杂志”，1985年又病毒学杂志 1(1). 1986

出版“病毒学报”：(六)病毒学的专门研究单位国际上有西德的“Max-Planck Institute fur Virusforschung,”美国加州大学的“Virus Laboratory”等。国内有中国预防医学中心病毒学研究所和中国科学院武汉病毒研究所。1978年武汉大学设立了“病毒学系”。

病毒概念的现状

Watson, Tooze和Kurtz在1983年出版的“Recombinant DNA”一书中对病毒作了如下的描述“对这些只能在生活细胞内增殖的微小致病粒子的本质长期来有争论,有些科学家认为它们是裸露的基因,有人认为它们是最小生命形式,只有将它们提纯后在电子显微镜下观察,才能显示它们的本质,它们肯定不是细胞,但在细胞内增殖时失去了它们的身份。可以认为它们是遗传水平上的寄生物,研究它们怎样增殖,对了解基因的结构和功能有很大的帮助”。因此早期关于病毒的微生物概念和非微生物概念的争论早已失去了意义。

R. A. Weinberg在1985年10月发表的“生命的分子”一文中(Scientific American)表示1985年的生物学大大地不同于10年前的生物学,这个变化的原因,归根到底在于“革命性的技术”的出现。事实确实是如此。由于理论研究的需要发展了相应的技术和方法,技术和方法反过来又促进了理论研究的深入,两者是相辅相成的。

1971年限制性内切酶技术(Arber 1965; Smith和Wilcox 1970; Dana和Nathans 1972)的发现为DNA序列分析和整个病毒基因组的定位提供了条件。以这些技术为基础成功地某些病毒如乳多空病毒,腺病毒,疱疹病毒等作了图谱,另一种技术如钙技术(Calcium technology)大大地增加了在真核细菌的DNA转感效率和在体外设计建造突变型(Green等1973),促进了基因转移方法的发展和特异性病毒功能基因的定位,特别是转化基因。七十年代利用Southern blot技术的发展,分析了在转化细胞内整合在细胞DNA的病毒基因的物理性状态(Southern, 1975),以及加快了DNA序列分析过程,(Maxam和Gilbert, 1977, Sanger, 1977)。

此外,1970年代出现的DNA重组技术,使特异性基因能在原核细胞载体中克隆,并在细菌中获得大量的材料,从而可以研究基因的结构。近年来利用病毒作为表达载体生产 β 干扰素,和 β 半乳糖苷酶和疫苗都获得了良好的效果(Summers, 1984, Miller 1981, Smith和Moss 1984),以上的技术促进了病毒学和分子遗传学的发展,也引出了病毒的新概念。

目前对病毒的概念可以说是,病毒是在代谢上无活性,有感染性而不一定有致病性的因子,它们小于细胞,但大于大多数大分子,它们无例外地在生活细胞内繁殖,它们含有一个蛋白质或脂蛋白外壳和一种核酸,DNA或RNA。它们作为大分子似乎太复杂,作为生物体它们的生理和复制方式又太千姿百态,我个人认为A. Lwoff在“病毒的概念”一文中强调病毒的特殊性时说得最确切——“病毒应该就是病毒,因为它们是病毒”。

病毒从来没有改变,而是我们对病毒的认识随着实践中进步在逐步改变。病毒概念的发展无疑地会导致病毒学的发展。

主要参考文献

- Cairns, J. G.等1966 Phage and The Origin of Molecular Biology Cold Spring Harbor Lab, Cold Spring Harbor, N.Y.
- Hughes, S. S. 1977 The Virus : A history of Concepts Heinemann, N.Y.
- Judson, H. F. 1979 The Eighth Day of Creation Simon and Schuster, N. Y.
- Mayr, E. 1982 The Growth of Biological Thought Harvavd Press, Cambridge
- Rapp, F. 1984 The Evolution of virology “生命科学在前进” 武汉大学
- Schrodinger, E. 1944 What is Life? Cambridge univ. Press, Cambridge
- watson, A. P. and Wilkinson,L. 1978 An Introduction of the History of Virology Cambridge Univ. Press, Cambridge
- watson, J. W. 等 1983 Recombinant DNA W, H. Freeman, N.Y.
- Weinberg, R. A. 1985 The molecules of Life.Sci. Amer. 1985. 10.