

Epstein-Barr 病毒与感染宿主间的平衡关系

姚庆云 黄玫玲

(中山医科大学肿瘤研究所, 广州)

THE RELATIONSHIP OF THE EPSTEIN-BARR VIRUS-HOST BALANCE

Yao Qing-yun Huang Mei-ling

(Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Cancer Research Institute, Guangzhou)

正常人群中普遍存在着 Epstein-Barr Virus (EBV) 感染, 国内普查证实 3 ~ 5 岁健康儿童的感染率已达 90.4%^[1]。原发感染在儿童期通常无明显临床症状, 青春期后感染者则约有 50% 的人发生传染性单核细胞增多症。原发感染之后, 无论有无临床表现, 均可终生携带该病毒。病毒在宿主体内潜伏, 并导致机体产生一系列特异性免疫反应^[2]。一方面是感染病毒的持续存在, 另一方面宿主对该病毒又有一定的自控能力, 从而使宿主与病毒之间保持共生的平衡状态。在一个免疫宿主体内病毒何以能持续存在? 其平衡关系又何以维持? 这是一个令人感兴趣的问题, 加上 EBV 与鼻咽癌及 Burkitt 氏淋巴瘤之间的密切关系, 这个问题就更显得重要。

一、病毒与宿主间的相互作用

实验证实 EBV 能感染人类和某些灵长类动物的 B 淋巴细胞, 上述 B 淋巴细胞的表面具有特异性的 EBV 受体, 很可能是 C₃α 或与之有关的受体^[3]。病毒在 B 细胞内复制, 并可以表达出一系列和 EB 病毒有关的抗原及病毒基因组。

1. EBV 相关的核抗原 (EBV associated nuclear antigen—EBNA): 是最先检测到的一种非结构性蛋白抗原, 以小颗粒的形式存在于感染细胞的核内, 与细胞的 DNA 结合, 在 EBV 感染和转化的细胞核内一般都可检出。业已证实, EBNA 与可溶性补体结合抗原, 及免疫扩散沉淀法测定的 S 抗原是一致的。

2. 淋巴细胞发现的膜抗原 (Lymphocyte detected membrane antigen—LYDMA): 是病毒复制周期中早期产物, 通常与 EBNA 同时出现, 存在于感染细胞的细胞膜上, 至今尚未发现有相应的抗体, 只能用致敏了的 T 杀伤细胞的细胞毒反应来检测。

如果感染细胞的病毒复制周期停留在早期阶段, 不再继续, 则仅有 EBNA 和 LYDMA

表达,不能释放出成熟的病毒颗粒,叫做非产病毒性感染(Nonproductive infection)。感染的病毒可在细胞内长期处于隐伏状态,或者使淋巴细胞发生母细胞转化(transforming),在试管内形成能连续传代的淋巴母细胞株。在宿主体内由于免疫机制失调,有可能发展为淋巴组织增生性疾病,或者由于特异性细胞遗传差错而成为单克隆的淋巴瘤。如果病毒继续在感染细胞内复制,则进而表达出以下抗原。

3. 膜抗原(Membrane antigen-MA):在感染细胞的细胞膜上出现,是病毒包膜的结构成份,不含病毒核酸成份,对制造抗EBV疫苗有一定的意义。按膜抗原在病毒复制周期中所出现的早晚,又可分为早期膜抗原(EMA)和晚期膜抗原(LMA)。

4. 早期抗原(Early antigen-EA):是病毒复制过程开始时形成的一种非结构性蛋白。根据其在感染细胞内的分布情况又分为:弥漫型(D型),抗原弥散地分布在感染的胞浆与胞核内;局限型(R型),抗原仅见于胞浆内,且呈团块状。EA抗原的出现可以抑制宿主细胞的DNA、RNA复制及蛋白质合成,因此当宿主细胞表达出EA抗原之后,就不可避免地裂解死亡。

5. 病毒壳抗原(Viral capsid antigen-VCA):是EBV的结构蛋白,存在于感染细胞的胞核和胞浆内。VCA的出现与病毒的形成是一致的,最后合成完整的新病毒颗粒,释放到细胞外,宿主细胞随之裂解死亡,这就是产病毒性感染(Productive infection)。

随着病毒在感染细胞内的复制和上述一系列有关抗原的表达,宿主必然出现一系列免疫反应,以期将感染控制。

1. 体液免疫:形成特异性抗体。

(1)EBNA抗体:通常在急性感染的恢复期才可以测到,随后滴度下降到一定水平,终生维持,尤其是IgG抗体更为明显。常规的间接免疫荧光法检查阳性率很低,故要用更为敏感的抗补体免疫荧光法来测定。

(2)MA抗体:这一抗体要用产病毒的活细胞株作抗原,通过荧光标记的参考人血清来作免疫荧光阻断试验来测定,其操作较繁,且结果不稳定,故少采用。

(3)EA抗体:主要是抗D成份的抗体,在急性感染期中约有70~80%感染者可测到此抗体,恢复期下降直到阴性,健康人EA抗体通常为阴性,故EA抗体阳性可以说明EBV感染仍处于活跃状态。鼻咽癌病人中EA抗体的特异性很高,尤其是IgA,但阳性率较低。根据中山医科大学肿瘤研究所的检测,在225例鼻咽癌中EA-IgA阳性者占26.67%,正常对照组40人无一例阳性^[4]。

(4)VCA抗体:人体感染EBV后,最先测到的是VCA-IgM抗体,一个月后逐渐下降以至消失。随后,形成VCA-IgG抗体,且滴度很高,恢复期虽可下降,但终生维持,故凡VCA-IgG抗体阳性者均可确定曾经感染过EBV。如果VCA-IgG抗体阳性,而EBNA抗体阴性,则可能是EBV的急性感染。大约有5%的血清抗体阳性健康人中可能测到VCA-IgA抗体,但滴度通常都不高;而大约90%的鼻咽癌患者有高滴度的VCA-IgA抗体,并可以随着病情的进展而增高,故VCA-IgA抗体的检测在血清学普查及鼻咽癌的临床诊断中均有重要的意义^[5]。

胎儿可以从母体获得VCA、EBNA的IgG抗体,约可维持半年左右,以后抗体逐渐消失,开始原发感染。

2. 细胞免疫:

(1) 细胞毒T细胞: 也叫T杀伤细胞, 具有杀伤携带有EBNA及表面具有LYDMA的B细胞的能力, 尤其是在血清阳性个体内, 特异性的细胞毒T细胞, 即长寿命记忆细胞, 当感染病毒的B细胞表达出LYDMA时就可以将其消灭, 对体内潜伏感染的自控作用非常重要。免疫抑制剂环孢菌素A (Cyclosporin A) 可以取消这一作用^[6]。

(2) 抑制T细胞: 可以控制携带EBV基因组的B细胞, 使之不能无限制增殖。

(3) 自然杀伤细胞(NK细胞)及K细胞(ADCC效应细胞)等。

上述细胞毒T细胞是细胞免疫的第一道防线, 但也有少数靶细胞可以逃脱它的免疫监视, 而使EBV的感染进入产病毒周期, 此时则靠NK细胞及K细胞发挥控制作用, 加上干扰素与各种血清抗体直接作用于有关的抗原决定簇, 从而控制EBV的感染在体内扩散。

二、EBV的持续感染以及病毒与宿主间的平衡关系

EBV一次感染之后, 病毒可以非产病毒性感染的方式长期潜伏于宿主体内, 以致终生携带该病毒。其证据首先是持续终生的血清抗体阳性, 尤其是VCA及EBNA的IgG抗体, 长期稳定于某一水平。其次是文献中报道, 大约有10~25%的血清阳性健康人口腔中不定期地有感染性EBV排出, 用过滤后无细胞的咽洗液能在实验室中使脐血淋巴细胞转化成为淋巴母细胞株^[7,8]。此外, 取血清阳性个体的外周血或淋巴组织的淋巴细胞体外培养, 未加任何外源性病毒, B细胞可能“自发性转化”成为携带病毒基因持续生长的淋巴母细胞株。Rocchi等用定量法检测, 证明在血清抗体阳性健康人的淋巴细胞培养中, 大约每1,000万个中, 有1个发生转化, 而传染性单核细胞增多症的患者, 则每5,000个淋巴细胞中即可有1个转化^[9]。

在一个免疫宿主体内EB病毒的感染为何可以长期持续存在呢? 有人认为是由于该病毒能以潜伏感染的方式存在于淋巴组织内, 这些感染了病毒的B细胞又可以由于各种因素的影响而重新激活, 进入产病毒周期, 产生少量的病毒VCA、MA及感染性EB病毒, 并可以从口腔中断地排出病毒。这些病毒抗原可刺激宿主不断产生抗体, 使宿主终生保持一定的抗体水平^[10]。其实上述可能性并不大, 因为人体内存在着强大的免疫性T细胞系统, 可以及时将感染了病毒的B细胞消灭。Miller氏认为, 由于淋巴细胞能限制EBV的复制, 故它不可能是EBV复制的主要场所^[11]。Morgan等由腮腺导管内插管收集的唾液标本也能使脐血淋巴细胞转化, 从而认为病毒可能来自腮腺的腺上皮或导管的柱状上皮^[12]。Wolf等用原位核酸杂交法证实了腮腺导管上皮细胞含有EBV的DNA^[13]。Lemon收集传染性单核细胞增多症患者的唾液标本离心沉淀, 在大量的上皮细胞中, 也证实有EBV的DNA^[14]。曾毅等发现在正常人鼻咽部的正常柱状上皮细胞和增生的细胞中有EBNA^[15]。Sixbey等发现在传染性单核细胞增多症患者的唾液中可能有两种生物学活性的EBV^[16], 一种潜伏在淋巴细胞内, 并能导致淋巴细胞转化, 另一种则能在上皮细胞内复制。据此Miller氏认为, EBV的表现形式部分地决定于其感染细胞的类型, 口腔及腮腺导管的上皮细胞可以支持EBV的复制, 而淋巴细胞则可能隐藏病毒。这一情况可能类似

鸡的Marek's氏病,疱疹病毒隐藏于淋巴细胞内导致大量的淋巴细胞增生及淋巴瘤,而该病毒却在毛囊上皮组织中复制^[11]。然而迄今为止,还未能确定咽部上皮细胞具有EBV的受体,那么上皮细胞又如何能够感染EBV呢? Lenoir等^[17]提出有三种可能性:(1)正常上皮细胞具有EBV受体,但在体外培养中受体可能丧失,或受体基因被抑制;(2)正常鼻咽上皮细胞对EBV无感受性,但在某些因素导致上皮细胞恶变或恶变之前,可能接受EBV感染;(3)带EBV基因组的B细胞与上皮细胞形成细胞间桥,B细胞中EBV核酸能“转染”(transfect)上皮细胞。邓正文等^[18]用EBNA阴性的人鼻咽癌上皮细胞株(CNE)与产病毒的B₉₅₋₈细胞共同培养后可以使前者出现EBNA阳性反应。章海婴^[19]进一步证实受EBV重感染的Raji细胞能与CNE细胞融合,从而显示了EBV进入上皮细胞的可能途径。EBV如何进入上皮细胞的问题虽然目前尚无定论,但对于EBV能够感染上皮细胞这一事实却是无疑的。

基于上述,对于EBV感染终生持续比较恰当的解释是:EBV可以在咽部某些容许性细胞中,很可能是某种上皮细胞内长期慢性地复制,部分复制的病毒随唾液在口腔中排出,成为人群中病毒水平传播的来源。另一部分病毒通过咽部上皮组织与淋巴组织的密切关系,感染循环中的B细胞,并可将病毒携带到身体其他部位的淋巴组织,成为潜伏性的病毒感染。当感染了EBV的B细胞表达出LyDMA抗原时,即会被细胞毒T细胞所消灭。此外,NK细胞与K细胞及血清抗体也参与免疫机制。这样,一方面有EBV的不断

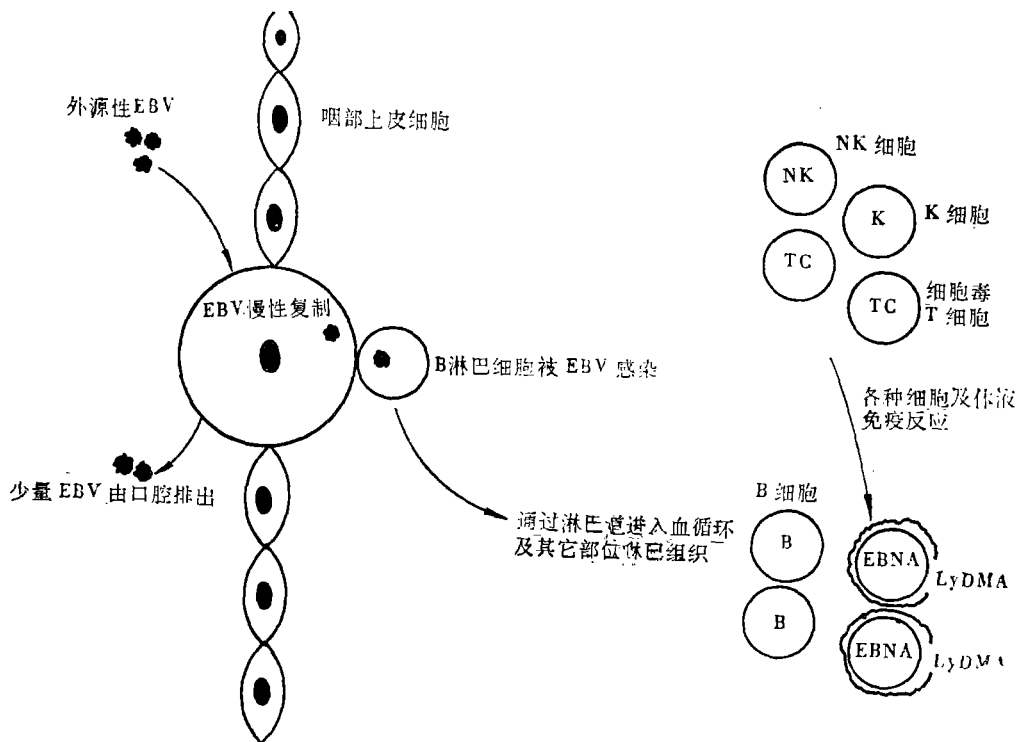


图: EB病毒携带者病毒与宿主相互关系模式图
Fig. EBV—host interactions in healthy virus carriers

复制, 另一方面又有感染了病毒的B细胞不断地被消灭, 从而维持病毒与宿主间的平衡关系^[20]。故EBV在咽部某些容许性细胞内的低度慢性复制是维持病毒持续感染的关键。这一关系可以用模式图来表示。

三、EBV 与感染宿主间平衡关系的检测:

目前有四项指标可以用来检测EBV与感染宿主间的平衡关系^[21]:

1. 感染性EBV在咽部复制后向口腔中的排出情况。
2. 外周血培养中, 淋巴细胞自发性地转化为EBV基因阳性的淋巴母细胞株的频率。
3. 血清中EBV抗体的水平。
4. 外周血循环中EBV特异的细胞毒 T 细胞的水平。

根据以上指标, Yao等曾对一组24名血清阳性健康人作了15个月的前瞻性研究, 每2—3个月收集一次咽洗液及外周血标本, 以分析EB病毒与感染宿主间的相互关系。通过超速离心, 使标本浓缩20倍, 并选用高敏感的脐血细胞作为转化试验的指示剂, 大大提高了口腔中EBV排出的检出率^[22], 24人中有22人连续或间断地排出病毒。与此同时, 取外周血分离淋巴细胞, 观察外周血中感染了病毒的B细胞自发性转化的情况, 实验中采用了免疫抑制剂环孢菌素A(每毫升培养液中含0.1 μ g), 使“自发性转化”的阳性率及转化细胞的频率大大高于Rocchi氏的报道, 24人中有23人为阳性, 且在仅有 1.2×10^5 细胞数的培养孔中也出现了转化灶^[21]。将上述两项结果比较, 作者发现: 口腔中EBV排出率高者, 其外周血“自发性转化”的阳性率也高; 口腔中病毒排出率低者, 其“自发性转化”阳性率亦随之下降, 在大多数情况下, 两者呈正相关。而口腔中EBV排出情况与血清中抗体水平及特异性细胞毒T细胞的水平则无关。故作者认为: 人体内EBV感染的水平主要应根据口腔中病毒排出情况和外周血培养中“自发性转化”的结果来判断, 而不是根据体液及细胞免疫反应来估价,

由于各种原因造成宿主免疫机能障碍, 原有病毒与宿主间的平衡关系受到干扰, 可使这一平衡移向有利于病毒的一侧, 并可在新的基础上, 重新建立平衡。Yao等在一组55例长期接受免疫抑制剂治疗的同种肾移植受体中, 使用同样的四项指标, 分析了在免疫抑制情况下病毒与宿主间平衡关系的变化^[23], 作者发现: 在免疫抑制的个体中, EBV感染水平明显地升高, 表现为患者血清中的VCA, EA抗体滴度明显高于正常对照组, EBV特异的细胞毒T细胞反应也明显受损, EB病毒在咽的复制增强, 以致口腔中病毒排出率更高, 血循环中病毒感染的B细胞的数量也增加。这一方面是病毒在咽部复制增加, 使更多的B细胞受到感染, 另一方面在免疫功能抑制时, 带有EBV基因的B细胞也较少受到T细胞免疫监视系统的杀灭。这一情况可能解释在长期接受免疫抑制剂治疗的肾移植受体中, 恶性淋巴瘤发病率增高的原因。

鉴于EBV感染与鼻咽癌发生有密切的关系, 我国南方各省是鼻咽癌的高发区, 故研究国内健康人及鼻咽癌患者EBV感染情况, 分析病毒与感染宿主间的相互关系, 尤其是各种原因导致免疫功能降低时, EBV特异性细胞毒T细胞功能受损的情况下, 鼻咽癌发生发展的情况, 无疑是很有意义的。最近黄玫玲等^[24]报告国内35例EBV血清抗体阳性健康人外周血培养中“自发性转化”的情况, 发现有3人在细胞浓度为 6.25×10^4

的培养孔中也有转化集落,说明了EBV感染的B细胞的数量远比Rocchi氏的报道更高。此外在30人未用免疫抑制剂环胞菌素A的对照组有8人仍出现“自发性转化”,而Yao等在24名健康人的101次试验中,对照组无一人阳性。上述国内外报告结果的不同,是否意味着EBV的感染情况存在着种族或地区间的差异,值得进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 广东省中山县肿瘤防治队等, 1978, 中华耳鼻喉科杂志 13:23.
- [2] Epstein, M.A., and Achong, B.G. (ed.), 1979, *The Epstein Barr Virus*, p1—12, Springer—Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- [3] Jondal, M. et al., 1976, Surface markers on human B and T lymphocytes, *Scand. J. Immunol*, 5, 401
- [4] 李振权等主编, 1983, 鼻咽癌临床与实验研究 p107 广东科技出版社.
- [5] 曾毅等, 1979, 中华肿瘤杂志1:2.
- [6] Rickinson, A.B. et al., 1984, *Cellular Immunology* 87:846.
- [7] Gerber, P. et al., 1972, *Lancet*, 2:988.
- [8] Chang, R.S. et al., 1973, *N.Engl. J. Med.* 289:1325.
- [9] Rocchi, G. et al., 1977, *N.Engl. J. Med.* 296:132.
- [10] Klein, G. 1980, *Cancer* 45:2486.
- [11] Miller, G. 1984, Epstein-Barr virus immortalization and replication, *N. Engl. J. Med.* 310:1255.
- [12] Morgan, D.G. et al., 1979, Site of Epstein—Barr virus replication in the oropharynx, *Lancet* 2:1154.
- [13] Wolf, H. et al., 1981, Biologic properties of Epstein—Barr virus, in Grundman, E. ed, *Nasopharyngeal Carcinoma, Cancer Campaign, Vol 15 Stuttgart fischer Verlag*, p101—109.
- [14] Lemon, S.M. et al., 1977, *Nature* 268:268.
- [15] 曾毅等, 1980, 中国医学科学院学报 2:220.
- [16] Sixbey, J.W. et al., 1983, *Nature* 306:480.
- [17] Lenoir, G. et al., 1978, *Nasopharyngeal carcinoma, Etiology and control* (de—The, G. et al. ed.) p127 IARC scientific publ. No.20, Lyon.
- [18] 邓正文等, 1981, 实验生物学报, 14:271.
- [19] 章海婴, 1933, 实验生物学报16:313.
- [20] Rickinson, A.B. et al., 1985, *British Med. Bulletin* 41:75.
- [21] Yao, Q.Y. et al., 1985, *Int. J. Cancer* 35:35.
- [22] 姚庆云等, 1985, 病毒学报 1:1
- [23] Yao, Q.Y. et al., 1985, *Int. J. Cancer* 35:43.
- [24] 黄政玲等, 1986, 病毒学报 2:121.