

综述 编译

超高压对病毒影响的研究进展

白求恩医科大学病原生物教研室 (长春 130021) 姜春玲 李淑红综述 李 凡审校

[摘要] 超高压技术是一种有效的灭菌、消毒的物理手段。本文主要综述了近几年来有关超高压技术的研究进展,探讨了超高压技术对病毒的影响及有关机制。已报道的研究表明:超高压对病毒具有明显的灭活作用,且其灭活程度在一定范围内与压强高度及作用时间呈正比。超高压的这种灭活作用主要与其破坏病毒包膜结构、降低病毒吸附性等机制有关。同时人们还发现,在病毒感染性降低过程中其免疫原性保存不变。许多学者利用超高压技术的这种特性将其应用于疫苗制备及血液等生物制品的筛选净化过程,为防治某些病毒的感染寻找到一种较理想的方法。

自1895年Rogar等首次报道了超高压可以杀死微生物以来^[1],有关应用超高压技术的研究报道在国外陆续出现。超高压技术作为一种有效的灭菌消毒的物理手段已成功地应用于生物工程的多个领域,如转化大分子结构、修饰酶活性、改变微生物代谢及基因表达^[2],尤其近年来欧、日等将超高压技术应用于食品加工工业以来,它的应用领域进一步扩展,但应用超高压技术对病毒影响的研究只不过几年的历史。现就有关方面的进展作一简要概述。

1 超高压对不同病毒的影响

1992年Silva^[3]等应用超高压对泡状口炎病毒(VSV)进行研究。他们将VSV用不同压力、不同时间处理后加入单层BHK-21细胞,经空斑试验分析得出:经260MPa处理12小时的病毒其感染性大大降低。

同年,Nakagami^[4]等在25℃作用25分钟的相同条件下比较了不同压力对单纯疱疹病毒(HSV-1)和人巨细胞病毒(HCMV)的影响。他们将处理的病毒分别加入HELA和Vero细胞,空斑试验分析发现:在300MPa以下时对HSV-1和HCMV的感染性影响不大,但当压强达到300MPa时则感染性大大降低;400MPa以上时HSV-1和HCMV感染性分别降7Log_s和4Log_s单位。电镜分析经1小时吸附的感染细胞表明:300MPa处理的病毒不能吸附于细

胞表面,而较低压强处理的病毒则仍有吸附能力。电镜分析HSV-1悬浮液发现:300MPa处理的病毒悬浮液中看不到病毒体,而常压下则有79.6%病毒体完整。这说明超高压对病毒包膜有强大破坏作用。

对猿免疫缺陷病毒^[5]和猿轮状病毒^[6]等的研究也发现,250MPa左右的压强已使病毒感染性大大降低,且其降低程度与压强升高程度及作用时间呈正比。

也有研究表明,超高压对降低人免疫缺陷病毒(HIV-1)的感染性极为有效,Shigehisa等将不同毒株的HIV-1在25℃下高压处理10分钟,空斑分析得出:感染性降低程度随压强增高而增大,且相同压强对HIV-1不同毒株的影响不同。350MPa时虽然HIV-1所有毒株感染性均有明显降低,但KK-1、KK-2较III_b毒株减少的程度小,在400MPa时III_b减少4Log_s单位, KK-1、KK-2分别减少1.5Log_s和1.25Log_s, 500MPa时III_b减少5Log_s, KK-1、KK-2分别减少3.75Log_s和2.75Log_s。电镜分析表明:500MPa时III_b毒株有蛋白外漏现象,可能导致逆转录酶的失活^[7-9]。

以上实验均表明:超高压可以降低病毒的感染性。而Silva^[3]等通过体内实验进一步得出超高压并不改变病毒免疫原性的结论。他们发现,经260MPa 12小时处理的病毒可诱发同天

然病毒相同的抗体滴度。Nakagami^[9]等的研究也得出相同结论。

2 超高压致死病毒且能保留其免疫原性的机制

自然界中的病毒从结构组成方面可分为无包膜病毒和有包膜病毒,无包膜病毒的耐高压性较强,故人们研究较多的是有包膜病毒。

对于有包膜病毒的热力致死主要是由于细胞膜结构破坏、酶失活、蛋白变性、DNA 断裂损伤等原因造成,而其高压致死则主要由于超高压可引起病毒膜结构内部非共价键结合被破坏。膜衣壳蛋白亚单位之间解体,这种解体在减压以后又可逆性重组,但由于病毒颗粒蛋白成分的复杂性,这种重组不能恢复如初,而使膜衣壳蛋白空间结构发生变化,引起膜构象转换,生物活性改变,病毒颗粒丧失感染性;同时又由于超高压并不破坏共价键,作为抗原的单个亚单位不破坏,故其免疫原性不变。Pontes 等曾用电镜、光谱分析等方法检测了轮状衣壳蛋白的重组现象^[2,3,6,10]。

Nakagami 等也曾报道,超高压可显著降低病毒颗粒对正常细胞的吸附能力,使其丧失感染性^[4]。

对于某些逆转录病毒如 H V - 1, 它们的失活除由于以上原因,还有超高压破坏了逆转录酶,使其逆转录被抑制而致死^[8]。

总之,超高压可以通过多种机制致死病毒,而在其导致病毒感染性大大降低的同时,病毒免疫原性保持不变。Jurkiewicz^[5]等也提出在灭活病毒的同时,病毒基因组不变,故不引起可遗传的变异。

3 超高压致死病毒技术的应用

长期以来热力、化学处理等在疫苗制备上一直被普遍应用,但这些技术都存在一些弊端,而超高压技术在这方面则具有广阔的发展前景。用超高压技术处理的病毒可以提供完整的病毒颗粒,这种颗粒不仅丧失了原来的感染性,且保持了原病毒的免疫原性,可以诱导产生与原病毒相同的免疫反应^[3,10],所以超高压

技术在制备疫苗方面有极大的应用潜力。

近几年应用超高压技术研究的热点是用它处理血液及血制品。血液制品中常存在 HBV、HCV、H V 等病毒,虽然人们试图通过抗体筛选、药物净化等手段来保持血液制品的非感染性,但往往由于某些病毒的抗体不能及时出现及病毒基因突变等逃避机制,使一切工作落空,而超高压技术因其能杀死血浆中包括突变株在内的所有病毒,且不影响血浆的主要成分,而在这方面表现出巨大优势。Nakagami^[9]等研究发现 400MPa 下处理 10 分钟的血浆 H V - 1 感染性大大降低,而对血浆蛋白生物活性影响不大,减压后除因子 VIII 完全失活外,因子 IX 100% 恢复,抗血栓 III 92.2% 恢复,γ-球蛋白 100% 恢复。这表明:超高压是一种很有前途的处理血液及血液制品的技术,这种技术很有可能被用来选择性处理 H V - 1 感染者的血浆,达到治疗的目的。

总之,超高压技术为我们提供了一种应用于生物工程方面的安全、简便的方法,与其它技术相比它有许多优点,且在 300MPa 作用下并不明显影响许多生物大分子的四级结构^[5],所以超高压技术很可能成为一种预防、诊断、治疗工作的重要手段。

参考文献

- 1 园池耕一郎 食品工业, 1994; 4: 27~ 32
- 2 Zhaev M, et al Trends Biotechnol, 1994; 12: 493~ 501
- 3 Silva JL, et al J Virology, 1992; 66(4): 2111~ 2117
- 4 Nakagami T, et al J Virology, 1992; 38: 255~ 262
- 5 Jurkiewicz K, et al Proc Natl Acad Sci USA, 1995; 92: 6935~ 6937
- 6 Pontes L, et al Heremans (eds), 1997: 91~ 94
- 7 Shigehisa T, et al Balny (eds), 1996: 273~ 278
- 8 Otake T, et al Heremans (eds), 1997: 233~ 236
- 9 Nakagami T, et al Transfusion, 1996; 36: 475~ 476
- 10 Gross M, et al Eur J Biochem, 1994; 221 (2): 617 ~ 630