

· 综述 ·

新发现的呼吸道病毒:人偏肺病毒

陈勇

副黏病毒科包括副黏病毒亚科及肺病毒亚科,肺病毒亚科包括肺病毒属与偏肺病毒属;肺病毒属中的病毒许多是人类和动物疾病的主要病原体,如人呼吸道合胞病毒(hRSV)。但是,人类以前没有发现偏肺病毒属与哺乳动物的感染或疾病有联系。2001年, Van den Hoogen 等^[1]在荷兰首先从患呼吸道感染的儿童分离到一种以前未被检出的副黏病毒,根据序列同源性和基因群的分析,该病毒被暂时定为偏肺病毒属中的新成员,命名为人偏肺病毒(或称人间质肺病毒, human metapneumovirus, hMPV)。

1. 病原学: hMPV 病毒颗粒形态上与副黏病毒属一致, 粒子呈多形性、球状、丝状, 直径在 150~600 nm, 包膜突起有 13~17 nm, 其中球形粒子尺寸有变化, 但平均直径为 209 nm; 丝状平均为 282×62 nm, 测量与偏肺病毒属和肺病毒属的家庭成员的大小一致。核壳体长度 200~1000 nm, 平均直径为 17 nm。

hMPV 存在 13 kb 的单股负链 RNA, 包含编码核蛋白(N)、磷蛋白(P)、基质蛋白(M)、融合基因(F)、转录延长因子/RNA 合成调节因子(M2)、小疏水(SH)表面蛋白、主要侵袭(G)糖蛋白、多聚合酶(L)亚单位等的基因, 顺序为 3'-N-P-M-F-M2-SH-G-L-5', 与鸟偏肺病毒(APV)相似。对病毒进行的种系分析表明, hMPV 最接近于 APV-C 亚型, 对序列的分析也表明, hMPV 与 APV-C 型的氨基酸同源性也高达 80%。虽然 hMPV 与 APV-C 的亲缘关系最近, 但两者宿主范围不同, 可能与 2 个病毒的 SH 和 G 蛋白的不同有关。

hMPV 有 2 个基因型(A 或 B, group), 型间核酸序列同源性达 90%~100%, 氨基酸同源性达 81%~88%; 同时, 每一型还可分为 2 个小的基因簇(1 或 2, clusters)。存在显著的序列变化, 可能代表该病毒有 2 个亚型。目前的研究表明病毒至少有 2 个血清型, 分别对应 A、B 2 个基因型^[1,2]。

2. hMPV 流行特征: 从 Van den Hoogen 发现了 hMPV 后, 在欧洲、澳大利亚、美洲、亚洲等国相继有报道人类 hMPV 感染的情况^[1,26], 提示该病毒是世界范围内普遍存在的人类致病原, 同时该病毒不是新的病毒; 荷兰 1958 年的血清标本检测表明, hMPV 至少在人群中传播有近半个世纪^[1]。

(1) 季节分布: 目前的研究认为 hMPV 引起的感染主要

发生在冬季和早春, 特别是在 12 月到 1 月份, 是病毒流行及检出的高峰期。夏季 hMPV 极少被检测分离出。但是, 目前的大多数调查研究时间局限在典型的呼吸道病毒发生的期间, 缺少有关 hMPV 夏季或其他季节感染的资料。

(2) 年龄分布: hMPV 能够感染小到 2 月龄的婴儿, 大至 99 岁的老年人^[3], 说明人的一生中均有可能感染, 并且大部分 hMPV 感染都发生在人出生后的第一年^[1,4]。绝大部分的研究针对的是儿童人群, 所以目前认为 hMPV 主要感染儿童, 其中 0~1 岁婴儿的感染率最高。但是, 个别研究却认为年轻人中的感染最常见^[5]。hMPV 感染还与老年人或免疫低下者的严重急性呼吸道感染有关, 同时也是人类社区获得性呼吸道感染的致病原^[6,7]。因此, 今后可以扩大研究人群, 以更好的解释感染的年龄分布。

(3) 人群感染率:

① 儿童人群: 在研究最充分的因呼吸道感染的住院儿童中, 其感染率在 5.5%~43.0%^[8-11]。同时, 似乎较大儿童中感染率开始降低, Viazon 等^[12]在 <2 岁的人群检出率为 17.5% 和 25.0%, 而 Peiris 等^[8]在香港 <5 岁的人群中 5.5% 的检出了 hMPV。其他儿童人群中, 感染率变化也较大。Van den Hoogen 对就诊于大学附属医院的患急性呼吸道感染的患者中有 7% 检测出 hMPV, 巴西的一项研究认为 <3 岁的下呼吸道感染(ALRI)儿童中有 17.0% 为 hMPV 感染, 另外还有 7.0% 合并感染 hRSV^[13]; Vicente 等^[7]发现在社区获得性急性呼吸道感染的儿童中有 4.1% 的患者为 hMPV 感染, 其中 67.1% 需要住院治疗; 但是, 这一研究可能低估了该病毒的感染率, 因为研究是在其他常见呼吸道病毒检测阴性的标本中再检测 hMPV。美国的一项调查认为, <5 岁因呼吸道感染的儿童中有 6.4% 的与 hMPV 感染有关, 这一研究可能也低估了该病毒的感染率, 原因同上^[14]。

② 成年人群: 对 hMPV 在成年人呼吸道感染中的研究不多。Stockton 等^[6]报道了 2.2% 流感样病例(主要是成人) hMPV 阳性, 这可能也低估了, 因为他是在流感病毒和 hRSV 均阴性的标本中再检测 hMPV; 加拿大研究发现 >65 岁的患者 hMPV 感染率分别为 35.1% 和 45.9%^[13]; Falsey 等^[5]对成年人和老年人进行了为期 2 年的前瞻性研究, 第一年与第二年的 hMPV 感染率差异有统计学意义, 分别是 2.0%、7.0%, 2 年中总共有 4.5% 呼吸道感染性疾病与 hMPV 感染有关。同时发现, 老年人群虽然感染率不高, 但感染时的疾病很严重; 身体健康的老年人一般不会留下严重的后遗症, 但对于有心肺疾患、体质虚弱的老年人, 不仅感染时的疾病很严重,

还会留下严重的后遗症;在某些条件下,hMPV 感染可能是老年人因呼吸道感染而住院的主要原因。Bovin 等^[3]与 Van den Hoogen 等^[4]认为 hMPV 感染的成年人中有相当一部分伴有其他潜在的疾患。这似乎提示 hMPV 在成年人中的感染与免疫低下或接受免疫治疗等有关。

③健康或无呼吸道症状人群:Van den Hoogen 等^[1]从 400 例 2 岁以下无呼吸道症状的患儿中没有分离到 hMPV,另据他的报道^[4],在没有呼吸道症状的 622 例病例中,仅有 2 例发现了 hMPV 的 RNA,所以认为儿童中亚临床状态下的 hMPV 感染较少;但是,Falsey 等^[5]针对成年人的队列研究发现,2 年中共有 4.1% 无症状者感染了 hMPV(而仅有 4.5% 疾病与 hMPV 感染有关),甚至在调查的第二年中有 15.0% 的健康年轻人感染了 hMPV,但患者中仅有 9.1% 的为 hMPV 感染。所以他认为对于 hMPV 在成年人急性呼吸道感染致病原的角色需要研究。

④共同感染的问题:有研究认为,如果还有其他病原共同感染,可能会导致更为严重的 hMPV 感染。例如,英格兰的一项研究发现^[15],70% 的需要呼吸机支持的 hRSV 患儿可以分离到 hMPV,似乎提示 hMPV 感染可能是 hRSV 疾病严重程度的决定因素;但是也有报道发现并不因 hMPV 与其他呼吸道病毒同时感染而使支气管肺炎加重^[10]。

与新发现的严重急性呼吸综合征(SARS)冠状病毒共同感染的问题,前一段时间研究的较多。香港的研究发现 48 名疑似 SARS 病例中^[16],52% hMPV 检测阳性。实际上,SARS 流行初期在大量的(并非所有的)SARS 病例中都发现了 hMPV^[17],尽管后来认为 SARS 冠状病毒为 SARS 的致病原,但是 hMPV 感染在 SARS 中的作用不能忽视,需要进一步的研究了解 hMPV 感染在 SARS 病毒感染中的角色。因此,关于共同感染的诊断问题应该谨慎,目前也不能断定共同感染可以加重病情。

总的说来,样本人群不同,采样时间不同,判断 hMPV 感染的标准不同,其他病毒的流行强度不同(如调查期间流感病毒流行较上年强或弱),都可能影响 hMPV 的感染率调查。但是,在 hMPV 相关的大部分研究中,仅仅在标本中检测到了 hMPV,而没有发现其他的病原,结合其他的证据,大部分研究符合 Koch 假设,可以认为 hMPV 为呼吸道致病原。

(4)血清流行病学研究:荷兰 5 岁以下儿童的血清学检测几乎全部阳性^[1],可能所有的儿童均感染过该病毒。以色列的一项研究也表明 2 岁以下儿童只有部分(8.0%)血清学检测为阴性;其中 2 月龄以下小儿的感染率较高(80.0%),研究认为原因最有可能是从母体传递而来的抗体,同时也反映了成年人中 hMPV 的感染率可能也较高^[18]。总的说来,血清流行病学的资料有限。

(5)2 个基因型的流行:研究证明,hMPV 的 2 个基因型在同一季节可以共同流行^[1,7,9,19],但资料有限,尚不能比较两者的相对患病率和致病性。有研究发现同一儿童在两个冬季(间隔 10 个月)中相继感染了 hMPV 的 2 个基因型,第

二年分离的病毒对 10 个月前由另一型病毒感染引起的免疫应答不反应^[9,20]。另外,成年人中严重的 hMPV 感染病例和免疫低下者的再感染病例说明,在人的一生中都可以再次感染此病毒。

3. hMPV 临床特征:潜伏期尚不明确。临床表现差别很大。儿童中从上呼吸道感染到下呼吸道感染均与 hMPV 感染有联系,可以从轻度的呼吸道疾病到严重的咳嗽、支气管炎、肺炎等,因研究设计不同可能被诊断为喘鸣、呼吸困难、肺炎、支气管炎、结膜炎和中耳炎。其中被诊断为细支气管炎伴有或不伴有肺炎,是最常见的报道。另外,相当一部分(超过 50.0%)的感染儿童还有中耳炎^[10,21]。主要的症状有咳嗽、鼻炎、发热、呼吸困难、喘鸣、进食困难、换气过度、心动过速、发绀等^[3];也有研究认为咳嗽、咽喉痛、鼻炎和高热是最普遍的症状。

hMPV 感染的成人,其临床症状不明显,表现出普通的感冒样症状,主要有鼻塞、呼吸困难、喘鸣、咳嗽等,有时还发热;老年人群中,呼吸困难、喘鸣多于青壮年,而青壮年中声音嘶哑多于老年人^[5,6]。在住院儿童、有其他潜在疾患的患者、免疫抑制病患者和体弱老年人等人群中,hMPV 感染的症状更重,常带有更为严重的后果。

目前尚没有合适的疫苗来预防。在治疗方面,有根据保守的病毒 F 蛋白开发的单克隆抗体来治疗 hMPV 感染的研究,Wyde 等^[22]发现,三(氮)唑核苷(病毒唑)和一种多克隆静脉内免疫球蛋白对 hMPV 感染和 hRSV 感染在体外试验有共同的效果,这些研究都还需要进一步的深入。

平均住院日的研究不多,因该病毒感染的急性喘鸣儿童患者(平均年龄 7 月龄),平均住院日是 2-5 天(± 1.6)^[23],香港的研究认为 hMPV 感染比 hRSV 感染后的住院时间长。

总之,从目前关于临床表现较少且不完整的资料来看,hMPV 感染是人类急性呼吸道感染重要的致病原,也是社区获得性急性呼吸道感染的致病原^[6],同时与某些人群的严重急性呼吸道感染有关^[6,20]。

4. hMPV 实验室检测:对 hMPV 的检测主要有传统的病毒分离与逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)技术,免疫学检验尚需发展。

(1)病毒的细胞培养:hMPV 在第三代猴肾细胞(tMK)和恒河猴肾细胞(LLC-MK2)中生长,在绿猴肾细胞(vero)和人肺腺癌细胞(A-549)中复制较差,其他细胞中不生长或不出现细胞病变效应(CPE)^[1,3,9]。香港学者利用 SARS 患者的鼻咽抽取物标本进行病毒分离,病毒仅在 LLC-MK2 中出现 CPE,在 Hep-2 细胞、MDCK 细胞中不出现 CPE 但可以生长^[16]。

总体而言,病毒的细胞培养较难,在培养呼吸道病毒的大部分细胞中不增殖,其敏感的细胞较少。在敏感细胞中的复制也较为缓慢,且培养需要的时间较长。所以目前对 hMPV 的检测更多的是利用分子生物学的技术。

(2)分子生物学检测:Van den Hoogen 最先利用了 RT-

PCR 技术对病毒进行检测。现在该技术已经成为诊断研究 hMPV 感染的主要手段。同时,实时 RT-PCR 也已经建立,与传统 RT-PCR 相比,其敏感性更强、更快^[24,25]。目前,大部分的研究扩增的是 F、N 和 L 基因。但由于病毒有 2 个基因型,如果引物设计不合理,可能导致 hMPV 的检出率不准确。有研究认为,建立在 L 基因的保守序列的 RT-PCR,比细胞分离鉴定病毒敏感 10~100 倍,也可以区分 hMPV 的不同基因型。另外,建立在 N 基因上的 RT-PCR 可能更敏感^[3]。所以,Cotes 等^[26]认为建立在 N 和 L 基因上的 RT-PCR 最适合 hMPV 的检测;但 Maertzdorf 等^[25]认为 RT-PCR 中,只有建立在 L 和 F 基因的引物可以有效地检测 hMPV 的 2 个血清型,同时认为,建立在 N 基因上的引物由于错配可能对于血清 B 型的病毒的敏感度较低。

5. 小结:目前国际上正在加紧开展与该病毒相关的研究,也发表了一些文章,但是相当一部分是选择儿童或住院儿童为研究人群,也很少设立对照,同时,关于 hMPV 本身、感染的临床症状和流行病学的相关信息都不多,因此有必要在各个方面开展对 hMPV 的研究。例如,积极摸索病毒的分离与鉴定技术;血清学检验方法中,对病毒特异的 IgA、IgM 和 IgG 水平的定量检测技术和用于直接或间接免疫荧光试验抗体的制备,都需要进一步的研究与发展,以完善目前用于 hMPV 的诊断技术;病毒的致病机理、宿主的特异性反应等基础性问题仍需进一步的研究;另外,病毒的血清型研究还不多,需要对从世界不同地区得到的分离株进行序列分析并结合详细的血清学研究才能够下结论。另外,目前的研究类型也有需要进一步改进的地方,特别是目前回顾性研究较多,可能存在着选择偏倚。所以,需要进行大规模的有合适对照的前瞻性研究,并在世界各地进行 hMPV 的分离与研究,以最终明确 hMPV 在人类呼吸道疾病中的角色。

参 考 文 献

- 1 Van den Hoogen BG, Jong JC, Groen J, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nature Medicine*, 2001, 7: 719-724.
- 2 Van den Hoogen BG, Herfst S, Sprong L, et al. Antigenic and genetic variability of human metapneumoviruses. *Emerg Infect Dis*, 2004, 10: 658-666.
- 3 Bovin G, Abed Y, Pelletier G, et al. Virological feature and clinical manifestations association with human metapeumovirus; a new paramyxovirus responsible for acute respiratory-tract infections in all age groups. *J Infect Dis*, 2002, 186: 1330-1334.
- 4 Van den Hoogen BG, van Doornum GJJ, John CK, et al. Prevalence and clinical symptoms of human metapeumovirus infection in hospitalized patients. *J Infect Dis*, 2003, 188: 1571-1578.
- 5 Falsey AR, Erdman D, Anderson LJ, et al. Human metapeumovirus infection in young and elderly adults. *J Infect Dis*, 2003, 187: 785-790.
- 6 Stockton J, Stephenson I, Fleming D, et al. Human metapeumovirus as a cause of community-acquired respiratory illness. *Emerg Infect Dis*, 2002, 8: 897-901.
- 7 Vicente D, Cilla G, Montes M, et al. Human metapeumovirus and

- community-acquired respiratory illness in child. *Emerg Infect Dis*, 2003, 9: 602-603.
- 8 Peiris JS, Tang WH, Chan KH, et al. Children with respiratory disease associated with metapeumovirus in Hongkong. *Emerg Infect Dis*, 2003, 9: 628-633.
- 9 Peret TCT, Bovin G, Li Y, et al. Characterization of human metapeumovirus isolated from patients in north American. *J Infect Dis*, 2002, 185: 1660-1663.
- 10 Maggi F, Pifferi M, Vatteroni M, et al. Human metapeumovirus associated with respiratory tract infections in a 3-year study of nasal swabs from infants in Italy. *J Clin Microbiol*, 2003, 41: 2987-2991.
- 11 朱汝南, 钱颖, 邓洁, 等. 北京地区 6 岁以下儿童急性呼吸道偏肺病毒感染. *中华儿科杂志*, 2003, 41: 441-444.
- 12 Viazon S, Ratjen F, Scheidhauer K, et al. High prevalence of human metapeumovirus infection in young children and genetic heterogeneity of the viral isolates. *J Clin Microbiol*, 2003, 41: 3043-3045.
- 13 Cuevas LE, Nsaer AMB, Dove W, et al. Human metapeumovirus and respiratory syncytial virus, Brazil. *Emerg Infect Dis*, 2003, 9: 1626-1628.
- 14 Esper F, Boucher D, Weibel BSC, et al. Human metapeumovirus infection in the United States: clinical manifestations associated with a newly emerging respiratory infection in children. *Pediatrics*, 2003, 111: 1407-1410.
- 15 Greensill J, McNamara PS, Dove W, et al. Human metapeumovirus in severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Emerg Infect Dis*, 2003, 9: 372-374.
- 16 Chan PKS, Tam JS, Lam CW, et al. Human metapeumovirus detection in patients with severe acute respiratory syndrome. *Emerg Infect Dis*, 2003, 9: 1058-1063.
- 17 Kamps, offmann. SARS 医学报告. www.sarsreference.com
- 18 Wolf DG, Roness ZZ, Fadeela A, et al. High seroprevalence of Human metapeumovirus among young children in Israel. *J Infect Dis*, 2003, 188: 1865-1867.
- 19 Bastien N, Ward D, Van Caesele P, et al. Human metapeumovirus in the Canadian Population. *J Clin Microbiol*, 2003, 41: 4642-4646.
- 20 Pelletier G, Dery P, Abed Y, et al. Respiratory tract reinfections by the new Human metapeumovirus in an immunocompromised child. *Emerg Infect Dis*, 2002, 8: 976-978.
- 21 Bovin G, De Serres G, Cote S, et al. Human metapeumovirus infections in hospitalized children. *Emerg Infect Dis*, 2003, 9: 634-640.
- 22 Wyde PR, Chetty SN, Jewell AM, et al. Comprision of the inhibition of human metapeumovirus and respiratory syncytial virus by ribavirin and immune serum globulin in vitro. *Antiviral Res*, 2003, 60: 51-60.
- 23 Jartti T, Van den Hoogen BG, Garofalo RP, et al. Human metapeumovirus and acute wheezing in children. *Lancet*, 2002, 360: 1393-1394.
- 24 Mackie IM, Jacob KC, Woolhouse D, et al. Molecular assays for detection of Human metapeumovirus. *J Clin Microbiol*, 2003, 41: 981-986.
- 25 Maertzdorf J, Wang CK, Brown JB, et al. A real-time RT-PCR assay for the detection of human metapeumovirus from all known genetic lineages. *J Clin Microbiol*, 2004, 42: 981-986.
- 26 Cotes S, Abed Y, Bovin G. Comparative evaluation of real-time PCR assay for detection of the hMPV. *J Clin Microbiol*, 2003, 41: 3631-3636.

(收稿日期: 2004-07-09)
(本文编辑: 尹廉)