

博尔纳病毒感染的研究进展

姚能云 徐平

【关键词】 博尔纳病毒；感染

Progress on the study of Borna disease virus infection YAO Neng-yun, XU Ping. Department of Neurology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China
Corresponding author: XU Ping, Email: xuping527@sohu.com

【Key words】 Borna disease virus; Infection

博尔纳病(Borna disease, BD)最早见于 19 世纪的德国,是一种在战马中流行的伴有神经精神症状的脑膜脑炎,致死率较高,这种疾病首次在德国萨克森州博尔纳镇暴发,后以该镇名字来命名。20 世纪初确定 BD 的病原体为一种新型病毒,即博尔纳病毒(BDV),是一种新分类的非分节段的单股负链有包膜 RNA 病毒,其具有高度的嗜神经性,在细胞内呈低拷贝、非溶性复制,一般认为不引起明显的细胞病变^[1]。BDV 能感染包括兔、猴、鸡等多种脊椎动物并引起神经系统的疾病,病毒的宿主范围广泛,几乎包括所有的温血动物。感染后动物可以出现急性的致死性脑炎或慢性轻微的神经过与精神行为异常,也可以长期携带病毒而不表现出任何症状。在人类,国内外的报道主要与神经精神疾病有关,如精神分裂症、慢性疲劳综合征、迟发型运动障碍等。现对 BDV 的研究进展综述如下。

1. BDV 感染的流行病学状况:目前仍缺乏大样本的流行病学调查资料,主要是依靠检测血清中抗 BDV 抗体和外周血单核细胞(PBMCs)中 BDV RNA。人和动物普遍易感,世界各地都有报道;在人类主要与神经精神疾病有关。一般而言,血清中的抗 BDV 抗体滴度不高, PBMCs 中的 BDV RNA 亦系微量,与采用的技术灵敏度不同有关,患者抗体阳性率约为 0%~50%, RNA 阳性率约为 0%~64%^[2]。如 Iwashashi 等^[3]通过对日本 67 例精神分裂症患者的 PBMCs 进行了 RNA 和抗病毒抗体的检测,发现患者的病毒抗体和(或) RNA 的阳性率达 45%,王振海等^[4]检测 52 例病毒性脑炎患者外周血的 BDV P24 阳性率为 9.6%。

2. BDV 的分子生物学特点:BDV 是球形颗粒、有包膜、非分节段、单股负链的 RNA 病毒,大小介于 85~125 nm 之间,有严格的嗜神经性,呈低产量、非溶细胞性复制。其基因组为 8.9 kb,有 6 个开放读码框(ORF),分别编码核蛋白(P40)、磷蛋白(P24)、基质蛋白(gp18)、糖蛋白(P57)、非糖基化蛋白(P10)和 L-聚合酶,这些特征表明 BDV 是单股负链

RNA 病毒目、博尔纳病毒科的典型代表^[5]。该病毒对脂溶剂如醚、氯仿或丙酮、紫外线照射等均十分敏感,在 pH 值的范围是 5~12,加热 56℃,30 min 就会失去活性。

3. 感染的可能途径:在自然感染中, BDV 一般通过动物的唾液和鼻腔分泌物等进行传播的,为此有人提出了嗅觉、三叉神经传播路线^[6];根据病毒 RNA 及蛋白在 PBMCs 中的出现指出病毒还可能经血液传播^[7];在表现典型 BD 症状的母马及其胎马的脑组织中分别检测出了具有相同 ORF-II 序列的 BDV RNA,这提示 BDV 还可能通过垂直途径传播^[6]。体外实验表明 BDV 开始在轴索内播散,然后到达中枢神经系统(CNS),神经元细胞和非神经元细胞均对 BDV 敏感,其确切的传播途径还没有统一论。

4. 感染后的病理变化:根据动物或人感染 BDV 后的病理变化和临床表现,一般将 BD 分为两型:脑炎型博尔纳疾病(EBD)和行为型博尔纳疾病(BBD)。前者病理变化主要是脑膜非特异性炎症,后者神经系统损害不明显,主要是慢性持续性感染。通常自然发生的 BD 主要侵犯中枢神经系统和视网膜^[8],中枢神经系统损害不明显,部分病例仅见轻微的脑充血和脑组织的肿胀。组织病理学上显示 BD 为严重的非化脓性脑脊髓炎,在受累部位有由巨噬细胞、淋巴细胞以及浆细胞组成的血管袖形成^[9]。光镜下:在患 BD 动物的脑组织中可观察到不同程度的炎症改变,在海马的锥细胞胞核中常见一个或多个大小不等的嗜酸性包涵体。电镜下:可以见到 BDV 感染的神经细胞部分神经丝断裂、线粒体肿胀与断裂、细胞表面脂膜叶片增多等病理学改变,脑血管周围有大量的淋巴细胞、浆细胞和单核细胞浸润,并可发生星形细胞增生。胞浆中偶尔见到细纤维集合体外,未发现有显著的超微结构改变。

5. BDV 感染的可能致病机制:

(1) 细胞免疫:在 BD 发病过程中,脑内有大量的淋巴细胞浸润,主要是 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 淋巴细胞,其中 CD₄⁺T 淋巴细胞主要聚集在血管周围,而 CD₈⁺T 淋巴细胞则主要聚集于脑实质内^[10]。从动物实验中证实:脑中 CD₈⁺T 淋巴细胞的出现与疾病的发作和脑细胞的损害相一致;缺乏 CD₈⁺T 淋巴细胞时疾病被阻断^[11];穿孔素是 CD₈⁺T 淋巴细胞介导细胞破坏的主要因子,脑细胞的破坏与穿孔素 RNA 的出现相关联^[12]。由此可见,CD₈⁺T 淋巴细胞在细胞介导的免疫反应中对 CNS 损害起关键作用,感染的神经元在其表面表达 MHC-I 类分子,这种分子与病毒肽结合(主要是 P40,其次是 gp84),从而诱导 CD₈⁺T 淋巴细胞介导针对病毒核蛋白

基金项目:贵州省科技基金及贵州省省长基金资助项目(2055)

作者单位:563003 遵义医学院附属医院神经内科

通讯作者:徐平, Email: xuping527@sohu.com

P40 的强烈的细胞免疫导致神经元的溶解,造成对脑细胞的损害,进一步引起了脑炎的发生^[10]。

(2) 体液免疫:通常认为博尔纳脑炎是一种免疫介导性疾病,主要是细胞免疫,体液免疫只发挥次要的作用。BDV 可溶抗原 P40 和 P24 是激活体液免疫反应的主要成分,两者产生的抗体无中和作用,而只有诊断价值^[12]。针对 gp18 和 gp94 糖蛋白的抗体可能具有中和作用,但这在抗病毒方面并不重要,没有限制和阻止病毒复制的作用^[12]。但也有研究认为中和抗体可使病毒感染仅限于神经系统,而缺乏中和抗体的则可发生多器官感染,究竟是什么因素使感染局限于神经系统还不清楚,这提示 BD 还可能其他的发病机制。

(3) BDV 持续性感染的机制:BD 是一种主要由免疫介导的疾病,根据宿主状态的不同,BDV 感染后动物可以患严重免疫介导疾病 BD,亦可以症状轻微或者为健康携带者,造成持续感染,可能的机制有以下几个方面:①研究认为 BDV 感染可以导致细胞微环境的改变,进而导致细胞的增殖水平和免疫等功能改变。其中细胞免疫功能降低,对病毒抵抗和清除能力的下降是持续感染 BDV 的主要原因之一。已有研究证实 BDV-P 可以抑制受 BDV 感染细胞的干扰素 (IFN)- α 或 β 表达和分泌^[13],而 IFN- α/β 的表达和分泌是高等脊椎动物抵抗病毒感染最主要方式之一。Bourteele 等^[14]发现豚鼠 CRL 细胞系感染 BDV 后,核转录因子 κ B (transcription factor- κ B, NF- κ B) 的表达增强,而 NF- κ B 是免疫反应的至关重要的调节物,能够激活抗凋亡基因和 C-Myc 基因的表达,导致细胞凋亡。而 Ohtaki 等^[15]认为星形(胶质)细胞-衍生的炎症蛋白-S100B 降低,从而减少血管的炎症反应,导致免疫功能降低,引起 BDV 的持续感染。②研究认为细胞感染 BDV 容易出现持续性感染主要在于其自身的低度复制^[16],干扰了细胞的正常代谢,从而使细胞溶解、死亡。而 BDV 有可能通过对其各个组分的调节和控制,控制各病毒蛋白复合物在细胞内的运转,对其复制进行影响。这就表明 BDV 有可能在其持续感染阶段通过对其 RNA 的修饰限制了病毒的扩增,或者使扩增的病毒毒力下降,也限制了病毒在组织内的大面积播散,不仅保证了宿主细胞的存活,也避免了大量抗原存在于血清当中引起宿主剧烈的免疫反应,从而有利于病毒的持续性感染^[16]。

虽然目前尚不能肯定 BDV 持续感染的原因,但是这些事实说明 BDV 很有可能通过一定的方式干扰了神经元的正常防御功能和营养代谢,导致神经损害,对神经元的生存造成了影响,导致持续感染的发生和临床症状的出现。

(4) 神经化学机制:单胺类递质是神经系统中重要的调节情绪和精神状态的神经递质,其含量和代谢的异常以及相应受体的表达异常等均与多种神经精神疾病密切相关。研究发现 BDV 感染可以影响海马区神经细胞 D_2 受体下降和 5-HT_{2A} 受体上调,提示 BDV 感染引起神经细胞 D_2 受体和 5-HT_{2A} 的变化、受体表达异常可能与病毒感染所致症状有关,推测这些单胺类递质的代谢和作用可能参与 BDV 感染

的过程。如 Pletnikov 等^[17]研究发现,BDV 感染新生 Lewis 大鼠,在出生后 60 d 和 90 d 时其大脑皮质和小脑中 5-HT 的水平显著高于同期非感染动物;董云霞等^[18]用 BDV 感染新生大鼠,结果也发现 BDV 感染动物组织中单胺类受体下调,并且从基因转录水平进一步反映出 BDV 感染动物脑组织中单胺类受体表达相应地减少,进一步提示 BDV 感染可以通过抑制或干扰感染动物大脑组织中的单胺类受体基因转录 mRNA 的水平,影响单胺类受体的表达与分布,来参与其致病过程。

(5) BDV 感染对中枢神经系统神经元可塑性的影响:神经可塑性是指神经系统能够通过改变其功能和形态学特性来适应外界环境的能力。神经可塑性是学习、记忆、认知等高级功能的基础,任何对神经可塑性调控途径的干扰均会使脑的发育和功能产生严重后果。许多学者通过对沙鼠、小鼠、大鼠及转基因鼠等各种 BDV 感染模型的研究,发现 BDV 感染主要通过对星形胶质细胞功能的影响、干预高迁移率基因 B1 (HMGB 1) 蛋白以及神经营养因子信号转导等途径干预神经元的可塑性,影响脑内神经元的功能、存活和发育,从而引起脑功能损害。具可能的机制如下:① BDV 感染直接影响星形胶质细胞的功能,使神经系统的功能受损。Kamitani 等^[19]研究发现 BDV-P 在星形胶质细胞中的表达可引起被感染动物的行为异常和神经元可塑性受损。Peng 等^[20]研究表明 BDV-P 蛋白在星形(胶质)细胞抑制一氧化氮合酶基因的表达,从而影响神经元的功能,影响神经的可塑性。② BDV 干预 HMGB 1 蛋白信号转导,影响神经元的延伸和迁移。Zhang 等^[21]通过实验证实 BDV-P 能与 HMGB 1 蛋白相互作用,从而影响 HMGB 1 的功能,研究发现 HMGB 1 在神经突的外生长、细胞的迁移中、靶细胞的信号传递起重要的作用,还能影响一些生物学通路的传导,其作用机制尚不清楚。这说明 BDV 感染影响了神经元的外生长和迁移,从而影响神经元功能的改变。③ 干预神经营养因子信号转导。Ibrahim 等在实验中观察到神经生长因子 (NGF) 等神经营养因子能够促进 BDV 在神经元和神经胶质细胞系的复制^[22],据此提出 BDV 和神经营养因子可能相互作用,损伤了神经元可塑性相关基因 GAP-43 和突触素的表达,导致了 NGF 诱导的轴突外生长的停止;这主要是由于 NGF 受体下调,导致神经信号转导级联的改变,而影响神经功能。以上说明 BDV 有可能通过对神经营养因子的作用干扰了神经元的功能,甚至使神经元形态发生改变,神经营养因子的信号传导通路,进而对神经元及其功能造成影响。

6. 其他:BDV 感染的人或动物的临床症状主要以精神行为异常为主、脑功能不同程度受损等表现。实验室检查主要是依靠检测血清中抗 BDV 抗体和 PBMCs 中 BDV RNA,从被感染动物或人体中分离到感染性的 BDV 是诊断的“金标准”,但要从体液中分离感染性病毒非常困难。其治疗与一般 CNS 感染性疾病没有差别,预后与病毒感染的严重程度等多因素有关,现还没有统一的结论。

7. 结语:近年来有关 BD 和 BDV 的研究取得了一定的进展,但仍缺乏大宗的流行病学资料,其致病机制尚未完全清楚,有效的检测方法尚有待改进,有效的预防和治疗还未最终定论。但随着人们对于 BD 和 BDV 的认识加深和各种技术手段的不断进步,相信这些问题会逐步得到解决。

参 考 文 献

- [1] Cubitt B, de la Torre JC. Borna disease virus (BDV), a nonsegmented RNA virus, replicates in the nuclei of infected cells where infectious BDV ribonucleoproteins are present. *Virology*, 1994, 68(3):1371-1381.
- [2] 朝長啓造. 博尔纳病毒感染与中枢神经系统疾病. 日本医学介绍, 2006, 27(4):168-170.
- [3] Iwahashi K, Watanabe M, Nakamura K, et al. Clinical investigation of the relationship between Borna disease virus (BDV) infection and schizophrenia in 67 patients in Japan. *Acta Psychiatr Scand J*, 1997, 96(6):412-415.
- [4] 王振海, 谢鹏, 杨平, 等. 病毒性脑炎患者血液和脑脊液博尔纳病毒 p24 的检测. *中华神经科杂志*, 2006, 39(2):105-108.
- [5] Perez M, Clemente R, Robison CS, et al. Generation and characterization of a recombinant expressing the glycoprotein of borna disease virus. *Virology*, 2007, 81(11):5527-5536.
- [6] Hagiwara K, Kamitani W, Takamura S, et al. Detection of Borna disease virus in a pregnant mare and her fetus. *Vet Microbiol J*, 2000, 72(324):207-216.
- [7] Miranda HC, Nunes SO, Calvo ES, et al. Detection of Borna disease virus p24 RNA in peripheral blood cells from Brazilian mood and psychotic disorder patients. *Affect Disord J*, 2006, 90(1):43-47.
- [8] Dietzel J, Kuhrt H, Stahl T, et al. Morphometric analysis of the retina from horses infected with the Borna disease virus. *Vet Pathol J*, 2007, 44(1):57-63.
- [9] Ovanosov MV, Sauder C, Rubin SA, et al. Activation of microglia by Borna disease virus infection: in vitro study. *Virology*, 2006, 80(24):12141-12148.
- [10] Engelhardt KR, Richter K, Baur K, et al. The functional avidity of virus-specific CD8⁺ T cells is down-modulated in Borna disease virus-induced immunopathology of the central nervous system. *Eur Immunol J*, 2005, 35(2):487-497.
- [11] Jürgen Hausmann, Karen Baur. Vaccine-induced protection against Borna disease in wild-type and perforin-deficient mice. *General Virology J*, 2005, 86:399-403.
- [12] Ibrahim MS, Watanabe M, Palacios JA, et al. Varied persistent life cycles of Borna disease virus in a human oligodendrogloma cell line. *Virology*, 2002, 76(8):3873-3880.
- [13] Unterstab G, Ludwig S, Anton A, et al. Viral targeting of the Interferon- β -inducing Traf family member-associated NF- κ B activator (TANK)-binding kinase-1. *Proc Natl Acad Sci USA J*, 2005, 102:13640-13645.
- [14] Bourteele S, Oesterle K, Pleschka S, et al. Constitutive activation of the transcription factor NF- κ B results in impaired Borna disease virus replication. *Virology*, 2005, 79(10):6043-6051.
- [15] Ohtaki N, Kamitani W, Watanabe Y, et al. Downregulation of an astrocyte-derived inflammatory protein, S100B, reduces vascular inflammatory responses in brains persistently infected with Borna disease virus. *Virology*, 2007, 81(11):5940-5948.
- [16] 刘庆军, 谢鹏. 博尔纳病毒持续感染的原因及意义. *中国人兽共患病学报*, 2006, 22(10):992-994.
- [17] Pletnikov MV, Rubin SA, Schwartz GJ, et al. Effects of neonatal rat Borna disease virus (BDV) infection on the postnatal development of the brain monoaminergic systems. *Brain Res Dev Brain Res J*, 2000, 119(2):179-185.
- [18] 董云霞, 李小光, 宋武琦, 等. 博尔纳病毒感染对新生大鼠脑内单胺类受体基因转录的影响. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2006, 20(4):321-323.
- [19] Kamitani W, Ono E, Yoshino S, et al. Glial expression of Borna disease virus phosphoprotein induces behavioral and neurological abnormalities in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA J*, 2003, 100(15):8969-8974.
- [20] Peng G, Zhang F, Zhang Q, et al. Borna disease virus P protein inhibits nitric oxide synthase gene expression in astrocytes. *Virology*, 2007, 81(2):1446-1452.
- [21] Zhang G, Kobayashi T, Kamitani W, et al. Borna disease virus phosphoprotein represses p53-mediated transcriptional activity by interference with HMGB 1. *Virology*, 2003, 84(22):12243-12251.
- [22] 赵立波, 李亚军, 张小东, 等. 博尔纳病毒感染对神经元可塑性影响的研究进展. *微生物学报*, 2006, 46(4):676-679.

(收稿日期:2007-07-26)

(本文编辑:尹廉)