

• 特约专稿 •

## 埃博拉病毒及其致病机制

瞿涤,袁正宏,闻玉梅

复旦大学基础医学院教育部/卫生部医学分子病毒学重点实验室,上海 200032

**摘要:**自 2014 年 2~3 月,西非埃博拉病毒感染的暴发流行已呈播散趋势,受到世界卫生组织的高度重视。我国也提高了防止埃博拉病毒进入国内的警示,并采取了相应措施。现将有关埃博拉病毒的生物学特性、致病机制及相关流行病学与防治策略作简要综述,供参考。

**关键词:**埃博拉病毒;致病机制;流行病学

## Ebola virus and its pathogenesis

QU Di, YUAN Zheng-Hong, WEN Yu-Mei

*Key Laboratory of Medical Molecular Virology of Ministries of Education and Health, School of Basic Medical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China*

**Abstract:** The 2014 outbreak of Ebola virus in West Africa has shown the potential to spread to other regions. This has been highly alerted by World Health Organization, and China also has adopted measures to prevent Ebola virus crossing the border. In this short review, we introduce the virology and pathogenesis of this deadly virus, while the epidemiology and prevention and treatment for Ebola virus infection are also included.

**Key words:** Ebola virus; Pathogenesis; Epidemiology

埃博拉病毒(Ebola virus)与马尔堡病毒(Marburg virus)(genera)因分别首次自扎伊尔(刚果民主共和国)病毒感染暴发所在村庄附近的埃博拉河及德国马尔堡分离而得名。两者同属丝状病毒科(Filoviridae),均可引起人及部分非人类灵长类动物的急性出血,病死率极高。近年来,本病毒科中又增加了一种自西班牙动物中新分离的病毒(Lloviu virus),其与上述两种病毒在基因结构上有所不同,致病性尚在研究中。埃博拉病毒引起的疾病原称为埃博拉出血热(Ebola haemorrhagic fever, EHF),现称为埃博拉病毒病(Ebola virus disease, EVD)。目前 EVD 在西非流行,有扩大的趋势。本综述对埃博拉病毒的生物学特性、致病机制与防治原则作一介绍。

通信作者:闻玉梅

Corresponding author: WEN Yu-Mei, E-mail: [ymwen@shmu.edu.cn](mailto:ymwen@shmu.edu.cn)

### 1 埃博拉病毒的分类

埃博拉病毒属于丝状病毒科丝状病毒属。该属病毒现包括 5 个亚型:本迪布焦埃博拉病毒(Bundibugyo Ebola virus, BDBV)、扎伊尔埃博拉病毒(Zaire Ebola virus, ZEBOV)、雷斯顿埃博拉病毒(Reston Ebola virus, RESTV)、苏丹埃博拉病毒(Sudan Ebola virus, SUDV)和塔伊森林埃博拉病毒(Taï Forest Ebola virus, TAFV)<sup>[1]</sup>。BDBV、ZEBOV 和 SUDV 与非洲 EVD 暴发大流行有关,而 RESTV 和 TAFV 与该病的流行无关<sup>[1]</sup>。

EVD 于 1976 首次出现,在扎伊尔(刚果民主共和国)和苏丹同时暴发流行。所分离的病毒为不同种(species),分别为 ZEBOV 和 SUDV。感染

ZEBOV者病死率为89%，而感染SUDV者病死率为53%<sup>[2]</sup>。ZEBOV和SUDV的毒力很强，感染者从出现症状至死亡平均时间为7~8 d。

BDBV于2007年引起乌干达本迪布焦区EVD暴发流行。TAFV于1994年从非洲科特迪瓦(Cote d'Ivoire)塔伊森林的黑猩猩中发现，主要引起黑猩猩发病，病理检查结果与人EVD相似。RESTV在菲律宾和中国发现，可感染人，但至今尚无其致病和致死的报道。1989年美国从菲律宾进口作为实验动物的食蟹猴(*cynomolgus monkey, macaca fascicularis*)中分离出RESTV<sup>[3]</sup>，在接触这些猴子的工作人员中，有149人被检出感染了RESTV，但无人出现任何不适，提示该病毒对人的致病性弱。随着不断在动物中发现新的急性出血性热病毒，其分类将会有新的变更。

## 2 埃博拉病毒的特性

埃博拉病毒为有包膜的单负链RNA病毒，基因组为18.9 kb，编码7个结构蛋白和1个非结构蛋白。基因组中基因的排列为：3'-leader-NP-VP35-VP40-GP/sGP-VP30-VP24-L-trailer-5'。结构蛋白包括核蛋白(nucleoprotein, NP)、包膜刺突糖蛋白(glycoprotein, GP)、VP30、VP35、VP24、VP40和L(RNA依赖性RNA聚合酶)。基质蛋白VP40和VP24位于病毒包膜与核衣壳之间。NP是核衣壳的主要成分，与VP30、VP35和L共同组建成核蛋白复合物(ribonucleoprotein complex, RNP complex)，负责病毒的复制与转录。它们在病毒体的装配与出芽过程中发挥作用，同时也决定了感染宿主的范围。GP基因中含有剪接位点(edit site)，在基因转录过程中加入碱基A。GP(GP0)合成后，经加工切割，形成GP1和GP2。GP1是突出在病毒体表面的包膜糖蛋白，而GP2是可锚定在细胞膜上的糖蛋白，首先通过双硫键连接形成异二聚体(heterodimer)，然后以三聚体棘突的形式覆盖在病毒体包膜的表面。GP1与GP2是带有中和表位的糖蛋白，埃博拉病毒对内皮细胞及单核细胞入侵是通过GP1中的17肽与受体结合；该17肽在宿主细胞凋亡及免疫病理作用中发挥重要作用。埃博拉病毒GP基因的原始产物是分泌型糖蛋白(secretory glycoprotein, sGP)，为非结构蛋白。sGP与GP1和GP2有共同的中和表位。在疾病早期，大量分泌sGP是病毒逃逸中和抗体作用的一种机制<sup>[4]</sup>。

作为有包膜的病毒，埃博拉病毒较易被灭活，

60℃处理60 min可使其失去感染性。对于非一次性使用的物件，可浸泡在2%~5%次氯酸钠中消毒，用过的器械应先煮沸20 min或高压灭菌后再清洗。此外，紫外线、甲醛、β-丙内酯也可灭活埃博拉病毒<sup>[5]</sup>。

## 3 埃博拉病毒的致病机制及EVD的临床表现

埃博拉病毒一般通过黏膜表面、擦伤的皮肤或污染的针头进入人体。病毒通过宿主细胞表面C型凝集素(C-type lectin)DC-SIGN或其他受体，首先在局部的巨噬细胞、树突细胞(dendritic cell, DC)等抗原呈递细胞(antigen-presenting cell, APC)中复制，导致APC失去原有功能，而不能表达共刺激分子或激活T细胞。VP24与VP35可阻断I型干扰素的抗病毒作用。已知这两种蛋白是通过阻断宿主细胞核积聚STAT1与损坏IRF-3、IRF-7而发挥作用。VP35还可阻止干扰素产生所需的依赖双链RNA的蛋白激酶活化。由于DC失能，临幊上出现大量淋巴细胞凋亡<sup>[3]</sup>。埃博拉病毒感染单核细胞与巨噬细胞后，大量促炎症因子释放，包括白细胞介素1β(interleukin 1β, IL-1β)、IL-2、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor α, TNF-α)、单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)等<sup>[6]</sup>。细胞因子的大量释放又可吸引更多APC至感染部位并增加病毒复制，最后出现晚期病变，包括内皮细胞通透性增加、血管漏出增加，使感染病毒的APC播散至全身多个器官，包括次级淋巴器官、肝、肺等。

在感染埃博拉病毒后的恢复者中发现，病程早期仅有短暂和中度的IL-1β、IL-6、TNF-α、巨噬细胞炎性蛋白(macrophage inflammatory protein, MIP)-1α和MIP-1β升高，表明在疾病早期，需短暂、可控的炎症反应帮助抑制病毒复制，并激发特异性免疫<sup>[7]</sup>。研究者还发现，不同种埃博拉病毒的致病作用也有所不同。比较SUDV感染死者与存活者的细胞因子发现，两组TNF-α、γ干扰素(interferon γ, IFN-γ)与IL-2并无显著差异，而有意义的是高水平血清IFN-α与存活相关。由BDBV引起的流行中，死亡病例的促炎症反应细胞因子如IL-1β、IL-1α、IL-6等水平低下，但IL-10升高，提示BDBV感染者出现了免疫抑制，病毒大量复制和播散是致病机制。因此，可以认为在埃博拉病毒感染中，细胞因子与趋化因子的致病作用具有种的特

异性<sup>[8]</sup>。

EVD 患者的潜伏期为 2~21 d,发病早期类似流行性感冒(简称流感)症状,只是发热,以后迅速进展为严重呕吐、腹泻、呼吸困难、低血压、出血及昏迷,最终导致死亡。这些临床表现均与上述病毒的感染、复制及致病机制相关<sup>[9]</sup>。

#### 4 埃博拉病毒的动物宿主、传播及流行情况

自 1976 年暴发 EVD 后,至 1979 年仅有少数病例;1994 年又开始出现 EVD 暴发流行,直至 1999 年;以后在 2004~2007 年出现了 EVD 暴发流

行,其中 2007 年在刚果民主共和国出现大流行,264 例患者中 187 例死亡,病死率达 71%(表 1)。

流行病学研究发现,2014 年第 1 例 EVD 患者曾购买并食用过新鲜杀死的果蝠(fruit bat)。自 2014 年 3 月开始在几内亚暴发的 EVD 大流行中,患者病死率很高。对病毒的 L 基因序列分析提示,本次暴发的病毒为 ZEBOV。迄今未发现使人致病的 RESTV,但其不仅在灵长类动物中分离到,在菲律宾的猪中也存在。对暴露于 RESTV 的人群检查抗体,发现有 1% 为阳性,表明存在无症状携带者<sup>[10]</sup>。

表 1 以往 EVD 暴发流行的情况 (from WHO)

Tab. 1 Previous Ebola virus disease outbreaks

Year	Country	Ebola virus species	Case	Death	Fatality rate
2012	Democratic Republic of the Congo	Bundibugyo	57	29	51%
2012	Uganda	Sudan	7	4	57%
2012	Uganda	Sudan	24	17	71%
2011	Uganda	Sudan	1	1	100%
2008	Democratic Republic of the Congo	Zaire	32	14	44%
2007	Uganda	Bundibugyo	149	37	25%
2007	Democratic Republic of the Congo	Zaire	264	187	71%
2005	Congo	Zaire	12	10	83%
2004	Sudan	Sudan	17	7	41%
2003 (Nov.-Dec.)	Congo	Zaire	35	29	83%
2003 (Jan.-Apr.)	Congo	Zaire	143	128	90%
2001-2002	Congo	Zaire	59	44	75%
2001-2002	Gabon	Zaire	65	53	82%
2000	Uganda	Sudan	425	224	53%
1996	South Africa (ex-Gabon)	Zaire	1	1	100%
1996 (Jul.-Dec.)	Gabon	Zaire	60	45	75%
1996 (Jan.-Apr.)	Gabon	Zaire	31	21	68%
1995	Democratic Republic of the Congo	Zaire	315	254	81%
1994	Cote d'Ivoire	Taï Forest	1	0	0%
1994	Gabon	Zaire	52	31	60%
1979	Sudan	Sudan	34	22	65%
1977	Democratic Republic of the Congo	Zaire	1	1	100%
1976	Sudan	Sudan	284	151	53%
1976	Democratic Republic of the Congo	Zaire	318	280	88%

From <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/en/><sup>[1]</sup>.

关于埃博拉病毒的动物宿主及传播途径的研究十分庞大、复杂,研究包括了大量猴、啮齿类动物、鸟、昆虫及家畜等。埃博拉病毒通过接触感染动物的血液、分泌物、组织或其他体液进入人体。感染者在接触或处理感染的非洲黑猩猩、大猩猩(gorilla)、果蝠、猴、羚羊(antelope)、箭猪(porcupine)等动物后发病<sup>[1]</sup>。

目前已知非灵长类动物可携带埃博拉病毒并可发病。动物间通过唾液、粪便与分娩的血液传播。然而在实验室中,猴在并无直接接触的情况下也出现了感染,如1989~1990年及1996年在美国进行的猴感染传播实验中,即使将猴之间隔开3 m也出现了感染。在恒河猴及豚鼠实验中,证实气溶胶可引起感染。埃博拉病毒可感染肺组织,表明在一定情况下即使无直接接触也有发生病毒传播的可能性<sup>[11]</sup>。

黑猩猩或猴类接种病毒后,一般在5~7 d后100%死亡。野外自然感染,约有17%的动物生存。虽然豚鼠、蚊、蜱等曾被认为是埃博拉病毒的可能天然宿主,但大多数研究认为蝙蝠是其天然宿主。

关于蝙蝠作为天然宿主的研究,包括流行病学、血清学和病毒学。在对SUDV的流行病学调查中,前6例感染者均在一所棉花厂工作,而工作室中有蝙蝠活动。1994年,在黑猩猩发生TAFV流行时,未感染的黑猩猩在被喂食有果蝠的树枝后2周发病。1980和1987年EVD流行期间,肯尼亚的患者均有去过一个有蝙蝠的洞穴后而发病的病史。1998~2000年,德班(Durba)发生的EVD暴发与栖息有病毒感染蝙蝠的金矿有关。2007和2008年发生的EVD,患者均与矿中有感染的蝙蝠相关。现已在3种蝙蝠中发现埃博拉病毒,聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测阳性率为2.8%~19%,抗体IgG检测阳性率为6.8%~23%<sup>[12]</sup>。也有人认为RESTV的中间宿主可能是猪<sup>[13,14]</sup>。

## 5 EVD的病原学诊断

目前EVD的病原学诊断分为病毒学诊断与免疫学诊断。虽然通过病毒分离与接种实验动物可确诊,且可了解病毒的种与致病性,但鉴于该病毒操作必须在生物安全四级(biosafety level 4, BSL-4)实验室中进行,因此均采用核酸诊断方法。核酸诊断前,标本应先经过灭活。2001年,有报道以GP为靶序列设计荧光反转录PCR(reverse transcription-PCR, RT-PCR),用于检测埃博拉病毒,可区别

ZEBOV与SUDV,并在1 h内出结果,可用于现场检测<sup>[15]</sup>。近年来,有报道用一种复合的PCR诊断试剂可对多种有生物威胁性的病原体进行检测,其中包括埃博拉病毒,适用于发展中国家<sup>[16]</sup>。我国学者也研发了用实时PCR检测马尔堡病毒与埃博拉病毒的方法,选用的靶位是病毒的NP,可测出10<sup>3</sup>拷贝的病毒<sup>[17]</sup>。

应用免疫学方法也可检测埃博拉病毒抗原及抗体。抗原检测适用于检测急性期患者,但必须注意采样时有受到感染的危险;也可用于检测脏器内的病毒抗原。检测抗体则用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA),其抗原包括NP、VP30、VP40、GP1-694(去除跨膜部分)<sup>[18]</sup>。缺点是有些患者直至死亡前抗体也没有出现。

## 6 EVD的预防与治疗

因灭活疫苗无效,目前疫苗研究重点主要是发展重组疫苗,表达GP,同时加入NP,或加入其他VP,疫苗的重组载体为腺病毒5型、疱疹性口炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)等。也有采用加强免疫的方法,包括DNA疫苗等<sup>[4,19]</sup>。评估疫苗的效果主要在小动物如小鼠、豚鼠及猴体中进行,一般均用免疫后攻击试验,通过动物感染率及死亡率判定疫苗的预防效果。仅少数研究进入临床试验阶段,目前主要集中于安全性评价及抗体产生。多数研究疫苗均有一定的预防效果。鉴于以前EVD仅在非洲流行,开发疫苗的经济效益不高,多数由政府从反恐的角度予以资助。对于疫苗是否可用于暴露后治疗也在研究中。

目前更受到重视的是用恢复期患者的抗体、特异性免疫的马抗体以及单克隆抗体(简称单抗)作为预防或治疗。然而,各方报道结果不一,有些认为有很好的效果,有的则宣称无效,尚不能作出决定性的判断。应用多种单抗的鸡尾酒疗法,可能是一个有价值的方案<sup>[20,21]</sup>。埃博拉病毒诱生的抗体具有持久性,EVD恢复者体内的抗体可持续10年<sup>[22]</sup>。目前,抗埃博拉病毒药物的研究相当滞后,有报道认为给予干扰素早期治疗可能有一定效果;而对晚期患者则进行针对脏器衰竭及抗体克等对症治疗。

## 7 结语

鉴于人类商业、旅游、学术交流等活动日益频繁,全球已成为一个不可分割的整体,应加强对“地

域性”的埃博拉病毒和相关病毒及其所致疾病的医学培训,并在医学微生物学教学中加以关注。开发对多种生物恐怖相关病原体的综合性疫苗及多元性诊断试剂是发展中国家值得注意与发展的方向。越来越多出现的人畜病交叉,需迅速发展人医、兽医、环境医学之间的沟通与合作,加强人畜共患病病原及宿主、免疫学和药物等的研究。由于蝙蝠已成为多种病原体的储存宿主,对于野外活动较多的工种或探险应予以警示。应提倡不食用野生动物,防止疾病。加强国际合作,包括与非洲和美国等有关部门的合作,以获得第一手资料,对诊断、药物和疫苗等进行评价。

## 参考文献

- [1] World Health Organization. Ebola virus disease [R/OL]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/en/>.
- [2] World Health Organization. Ebola hemorrhagic fever in Sudan, 1976: report of a WHO/International Study Team [J]. Bull WHO, 1978, 56(2): 247-270.
- [3] CDC. Ebola virus infection in imported primates—Virginia, 1989 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 1989, 38(48): 831-832, 837-838.
- [4] Choi JH, Croyle MA. Emerging targets and novel approaches to Ebola virus prophylaxis and treatment [J]. BioDrugs, 2013, 27(6): 565-583.
- [5] Schou S, Hanse AK. Marburg and Ebola virus infections in laboratory non-human primates: a literature review [J]. Comp Med, 2000, 50(2): 108-123.
- [6] Wong G, Kobinger GP, Qiu X. Characterization of host immune responses in Ebola virus infections [J]. Expert Rev Clin Immunol, 2014, 10(6): 781-790.
- [7] Hutchinson KL, Rollin PE. Cytokine and chemokine expression in humans infected with Sudan Ebola virus [J]. J Infect Dis, 2007, 196(Suppl 2): S357-S363.
- [8] Gupta M, MacNeil A, Reed ZD, Rollin PE, Spiropoulou CF. Serology and cytokine profiles in patients infected with the newly discovered Bundibugyo ebolavirus [J]. Virology, 2012, 423(2): 119-124.
- [9] Feldmann H, Geisbert TW. Ebola haemorrhagic fever [J]. Lancet, 2011, 377(9768): 849-862.
- [10] Rollin PE, Williams RJ, Bressler DS, Pearson S, Cottingham M, Pucak G, Sanchez A, Trappier SG, Peters RL, Greer PW, Zaki S, Demarcus T, Hendricks K, Kelley M, Simpson D, Geisbert TW, Jahrling PB, Peters CJ, Ksiazek TG. Ebola (subtype Reston) virus among quarantined nonhuman primates recently imported from the Philippines to the United States [J]. J Infect Dis, 1999, 179 (Suppl 1): S108-S114.
- [11] Jaax N, Jahrling P, Geisbert T, Geisbert J, Steele K, McKee K, Nagley D, Johnson E, Jaax G, Peters C. Transmission of Ebola virus (Zaire strain) to uninfected control monkeys in a biocontainment laboratory [J]. Lancet, 1995, 346(8991-8992): 1669-1671.
- [12] Olival KJ, Hayman DT. Filoviruses in bats: current knowledge and future directions [J]. Viruses, 2014, 6(4): 1759-1788.
- [13] Weingartl HM, Embury-Hyatt C, Nfon C, Leung A, Smith G, Kobinger G. Transmission of Ebola virus from pigs to nonhuman primates [J]. Sci Rep, 2012, 2: 811.
- [14] Weingartl HM, Nfon C, Kobinger G. Review of Ebola virus infections in domestic animals [J]. Dev Biol (Basel), 2013, 135: 211-218.
- [15] Gibb TR, Norwood DA Jr, Woollen N, Henchal EA. Development and evaluation of a fluorogenic 5' nuclease assay to detect and differentiate between Ebola virus subtypes Zaire and Sudan [J]. J Clin Microbiol, 2001, 39 (11): 4125-4130.
- [16] Euler M, Wang Y, Heidenreich D, Patel P, Strohmeier O, Hakenberg S, Niedrig M, Hufert FT, Weidmann M. Development of a panel of recombinase polymerase amplification assays for detection of bioterror agents [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(4): 1110-1117.
- [17] Huang Y, Wei H, Wang Y, Shi Z, Raoul H, Yuan Z. Rapid detection of filoviruses by real-time TaqMan polymerase chain reaction assays [J]. Virol Sin, 2012, 27 (5): 273-277.
- [18] Recombinant proteins from filoviruses and their use [P]. US patent 0120065371 A1.
- [19] Feldmann H, Jones S, Klenk HD, Schnittler HJ. Ebola virus: from discovery to vaccine [J]. Nat Rev Immunol, 2003, 3(8): 677-685.
- [20] Saphire EO. An update on the use of antibodies against the filoviruses [J]. Immunotherapy, 2013, 5(11): 1221-1233.
- [21] Sobarzo A, Perelman E, Groseth A, Dolnik O, Becker S, Lutwama JJ, Dye JM, Yavelsky V, Lobel L, Marks RS. Profiling the native specific human humoral immune response to Sudan Ebola virus strain Gulu by chemiluminescence enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Clin Vaccine Immunol, 2012, 19(11): 1844-1852.
- [22] Sobarzo A, Groseth A, Dolnik O, Becker S, Lutwama JJ, Perelman E, Yavelsky V, Muhammad M, Kuehne AI, Marks RS, Dye JM, Lobel L. Profile and persistence of the virus-specific neutralizing humoral immune response in human survivors of Sudan ebolavirus (Gulu) [J]. J Infect Dis, 2013, 208(2): 299-309.

(收稿日期:2014-08-09)