

## SARS 病毒的發現與鑑定

---

### SARS 病毒的發現與鑑定

蘇勳璧 1 鄧振華 2 蘇治原 3

1 疾病管制局研究檢驗組副組長 2 現代中醫聯合診所 3 衛生署新營醫院副院長

世界衛生組織(WHO)在 1996 年世界衛生報告中指出：“我們正處於一場傳染性疾病全球危機的邊緣，沒有一個國家可以倖免，也沒有一個國家可以高枕無憂”，並且將 1997 年世界衛生日的主題定為“全球警惕、採取行動---防範新興傳染病”，新興傳染病具有不確定性，不知何時何地發生何種新的傳染病，無法事先做好特異性的準備，現今傳染病的變化趨勢是：(1)少數傳染病將被消滅(2)一些過去已經基本控制的傳染病會捲土重來(3)發現新的傳染病也就是說我們將面臨新興和再浮現傳染病的雙重威脅[1,2]。

以前認為微生物的進化是緩化產生新的病原體，需要時間比較長，但現在發現病原體可以在短時間內發生大片段基因的水平轉移---“gain”，使細菌獲得新的特徵，適應新環境。或發生大片段基因的缺失---“lose”，失去某些可能是多餘的基因，使病原體能更適應新環境使生命力更強，這二種方式均可使病原體獲得毒力或致病性增強，產生新的病原[3]。而所謂的新興傳染病是指近二十年來，人類傳染病感染發生率增加，或者可能在未來對人類有影響之傳染病。每一次所發生的新興或再浮現傳染病，均造成該國或全世界經濟、生命的重大損失，如 90 年代發生在中非地區的伊波拉病毒，1997 年香港的禽流感病毒，1999 年馬來西亞的立百(Nipah)病毒，1999 年美國紐約市的西尼羅(West Nile)病毒感染病例，以及 2001 年英國狂牛症損失高達 35 億英鎊，和此次的 SARS 疫情都是新興傳染病的例子。

早在 2002 年 11 月中國大陸就傳出爆發類似肺炎流行病例，2003 年 3 月 12 日 WHO 發布全球衛生警訊，並特此症命名為“嚴重急性呼吸道症候群(severe acute respiratory syndrome; SARS)”，在此次疫病的調查過程中，曾被提出的疑似病原體有禽流感病毒、披衣菌、副黏液病毒和冠狀病毒、人類間質性病毒等[4-6]，但要確定何種病原體是引起該疾病的致病原，須符合 Henle-Koch 四項條件，即(1)在相應疾病患者中也許檢出該病原體(必要病因)，而在其他疾病的患者中，不能檢出該病原體(充分病因)，(2)該病原體能被分離培養到，(3)該培養物接種至易感動物能產生同樣病症，(4)該培養病原體可以人工感染實驗動物，並在其體內重新獲得該病原體。所以美、加、德、香港等地實驗室以電子顯微鏡技術、免疫螢光法、免疫組織化學法和 RT-PCR 等技術，先後排除一些可能的致病原後，加拿大收集來自 6 個國家患者的咽喉、鼻咽、血清和組織檢體以 VeroE6、NCI-H292、HELA、HUT-292、LLC-MK2、B95-8 cell line 和 ICR 乳鼠進行接種培養，觀察細胞病變(CPE)，結果在 Vero E6 cell line 發現一例患者咽喉檢體在第六天出現 CPE，電子顯微鏡下發現其具有日冠狀外圍的冠狀病毒顆粒，而在冠狀病毒屬中只有豬傳染性胃腸炎能在 Vero cell 生長，故設計一對冠狀病毒通用引子，對細胞培養陽性病毒進行擴增，所得片段再設計特異性引子，對該疾病的聚合酶基因 ORF1b 的 405 核苷酸片段進行 RT-PCR 擴增定序[7,8]，而 Peiris 等人隨後

亦從肺組織和鼻咽檢體接種恆河猴胎腎細胞(fetal Rhesus kidney cell)培養物中，分離到二株病毒，電子顯微鏡型態亦有日冠狀外圍，RT-PCR 擴增產物(646 bp)定序與冠狀病毒同源性高[9]，同時，Drosten 也用同法證實 SARS 病原[10]，隨後加拿大 Smith 基因科學中心首次公佈 SARS 病毒基因圖譜，Derisi 等用自製的病毒晶片與 SARS 患者檢體進行雜交反應，該晶片上點陣 12,000 個代表約 1,000 種病毒 NA 片段，結果顯示鳥傳染性支氣管炎病毒和牛冠狀病毒呈強陽性反應[11,12]，故推測 SARS 是病毒間的結合重組導致新型病毒的出現，但此推測尚須進一步證實。為證實 SARS 病原，荷蘭 Osterhaus 進行短尾猴的動物實驗，第一組感染新型冠狀病毒，第二組感染人類間質性肺炎病毒，第三組先感染冠狀病毒，再感染人類間質性肺炎病毒，結果第一組猴子感染後症狀與死于非典型肺炎患者一樣，第二組猴子症狀不明顯，第三組猴子病情並不比第一組更嚴重，由此證明冠狀病毒就是引起 SARS 主兇。

WHO 正式將此病毒命名為 SARS 病毒，單股正鏈 RNA，約 29,713 核苷酸，20 面立體對稱，有包膜，多呈圓型或橢圓形直徑為 80-160nm，表面有約 20nm 長的棒狀或花瓣狀突物，如同日冠狀[11]。冠狀病毒屬中可侵襲人體的兩種病毒為 229E 型和 OC43 型，一般只引起普通感冒，另有 10 多種冠狀病毒可侵襲不同種類的動物，如：犬冠狀病毒、牛冠狀病毒、貓傳染性腹瀉病毒、豬傳染性胃腸炎病毒、鳥傳染性支氣管炎病毒、鼠肝炎病毒、火雞冠狀病毒等。

此病毒具有較高的變異性，易發生同源或異源重組而產生新型冠狀病毒，冠狀病毒屬的分類如圖一，SARS 病毒基因如圖二。

現將 SARS 病毒的特性敘述如下：感染 SARS 病毒後其臨床症狀特徵為發生瀰漫性間質肺炎及呼吸衰竭進而導致死亡。它們會令人體免疫系統產生過敏反應，連人體健康的肺細胞也攻擊吞噬，甚至導致患者死亡。其亦損害骨髓、脾臟、肌肉及免疫系統。一般而言，冠狀病毒科除了會感染人類外，還會感染某些鼠類、豬、貓、犬、雞、牛等動物，但動物間不會互相傳染[13,14]。人類冠狀病毒主要侵襲呼吸系統中的支氣管、鼻及肺泡的纖毛細胞，還有肝炎，有一至二成的人類急性上呼吸道感染的病原是屬於冠狀病毒(常引起普通感冒或傷風)，而這次的 SARS 病毒序列與雞、牛的冠狀病毒接近，可能為新的 Group 4 病毒[9,15,16]。冠狀病毒是一具封套之病毒，其基因體為單股正向的 RNA，5'端有 cap，3'端有 poly(A)<sub>n</sub> 尾，具有感染性。此次造成人類大流行之 SARS-CoV 基因組約有 30,000 個核苷酸組成。它的基因組結構和其他的冠狀病毒非常相似。本身呈多切面型狀，有一個脂肪外套，此脂肪外套向細胞表面突出，使得病毒本身看起來類似冠狀，而稱之為「冠狀病毒」。冠狀病毒表面有幾種醣蛋白，主要是 S、M、H 和 HE 蛋白。而冠狀病毒核心部分則是 RNA 基因序列碼和一種鹼性磷酸蛋白(C)[17]。冠狀病毒侵入人體後，在細胞質內生存繁殖。其中分子量最大的蛋白為 S 蛋白約 150-180 kda，可區分成兩個次單元(S1 及 S2)，主要與宿主細胞接受體的結合及誘發免疫有關；穿膜 M 蛋白為病毒顆粒含量最多的蛋白質，與 S 共同形成病毒的封套膜[18-20]；HE(hemagglutinin-esterase)醣蛋白具有血球凝集及切除 receptor 之 acetyl group 功能，與病毒感染進入細胞及釋出有關，但非病毒複製之絕對必需；最小的封套蛋白為 E 由 76 個胺基酸組成，於 murine coronavirus 之細胞培養為細胞凋亡的誘發物可誘發細胞產生凋亡[21-24]。

疾管局在此波 SARS 疫情中，在第一時間內即由行政院成立跨部會之 SARS 防治及紓困委員會，並結合臨床醫師、公衛流病專家和實驗室專家組成專家學者快速病歷審查委員會和快速建置檢驗偵測系統如 RT-PCR、Real-TimePCR、IFA、Neutralization、One-step test 等方法，使疫情在短短 42 天內即受到控制，與其他疫情國家相比，台灣的疫情控制可謂快速，但秋冬之際如何預防 SARS 病毒再患，相信經過此事件，國人和政府部門都能以更積極的態度，充分準備好面對下一次可能醞釀的疫情。

#### 參考文獻

- 1.Wilson ME: Emerging infections and disease emergence. Emerg Infect Dis 1999;5:308-9.
- 2.Alleyne GA: Emerging diseases-what now? Emerg Infect Dis 1998;4:498-500.
- 3.Young DB, Robertson BD. TB vaccines: global solutions for global problems. Science 1999;284:1479-80.
- 4.Lee N, Hui D, Wu A, et al: (2003, April 7). A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. Online Journal of Issues in N Engl J Med. Available at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/348/20/1986>
- 5.Tsang KW, Ho PL, Ooi GC, et al: (2003, Mar 31). A cluster of cases of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. Online Journal of Issues in N Engl J Med. Available at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/348/20/1977>
- 6.Poutanen SM, Low DE, Henry B, et al: (2003,Mar 31). Identification of severe acute respiratory syndrome in Canada. Online Journal of Issues in N Engl J Med. Available at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/348/20/1995>
- 7.MMWR Outbreak of severe acute respiratory syndrome-worldwide, 2003. Mortal Wkly Rep 2003;52:226-8.
- 8.Thormns G, Ksiasek DVM, Eroman D, at al: A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. N Engl J Med 2003;348:1947-58.
- 9.Peiris JSM, Lai AT, Poon LLM, et al: Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. Lancet 2003;361:1319-25.
- 10.Drosten C, Gunther S, Preiser W, et al: (2003, April 10). Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. Online Journal of Issues in N Engl J Med. Available at <http://www.nejm.org/>

11. WHO. Update 31-cornavirus never before seen in human is the cause of SARS, 16, April, 2003.
12. Yuun R, Chia LW, Ling AE, et al: Comparative full-length genome sequence analysis of 14 SARS coronavirus isolates and common mutations associated with putative origins of infection. *Lancet* 2003;361:1779-85.
13. Wege H, Siddell S, ter Meulan V: The biology and pathogenesis of coronaviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 1982;99:165-200.
14. Compton SR, Barthold SW, Smith AL: The cellular and molecular pathogenesis of coronaviruses. *Lab Anim Sci* 1993;43:15-28.
15. Drosten C, Gunther S, Preiser W, et al: Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003;348:1967-76.
16. Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, et al: A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003;348:1953-66.
17. Marra MA, Jones SJ, Astell CR, et al: (2003, May 7). The genome sequence of the SARS associated coronavirus. *Online Journal of Issues in N Engl J Med*. Available at <http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/300/5624/1399> on, 2003.
18. Jackwood, MW, Hilt DA: Production and immunogenicity of multiple antigenic peptide (MAP) constructs derived from the S1 glycoprotein of infectious bronchitis virus (IBV). *Adv Exp Med Biol* 1995;308:213-9.
19. Callenbaut P, Enjuanes L, Pensaert M: An adenovirus recombinant expressing the spike glycoprotein of porcine respiratory coronavirus is immunogenic in swine. *J Gen Virol* 1998;77:309-13.
20. Gomez N, Carrillo C, Salinas J, et al: Expression of immunogenic glycoprotein Spolypeptides from transmissible gastroenteritis coronavirus in transgenic plants. *Virology* 1998;249:352-8.
21. Yu, X, Bi W, Weiss SR, et al: Mouse hepatitis virus gene 5b protein is a new virion envelope protein. *Virology* 1994;202:1018-23.
22. An S, Chen CJ, Yu X, et al: Induction of apoptosis in murine coronavirus-infected cultured cells and demonstration of E protein as an apoptosis inducer. *J Virol* 1999;73:7853-9.

23. Yokomori K, Asanaka M, Stohlman SA, et al: Neuropathogenicity of mouse hepatitis virus JHM isolates differing in hemagglutinin-esterase protein expression. *JNeurovirol* 1995;1: 330-9.

24. Junko M, Repass JF, Maeda A, et al: Membrane Topology of coronavirus Eprotein. *Virology* 2001;281:163-9.