doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2020.04.013

· 综述 ·

严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 致病机制研究进展

阳海平,王墨,李秋(国家儿童健康与疾病临床医学研究中心,重庆医科大学附属儿童医院,重庆　400014)

[中图分类号]R978.7　　[文献标识码]A　　[文章编号]1672-108X(2020)04-0040-03

Process of Pathogenesis of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

Yang Haiping, Wang Mo, Li Qiu (*National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing* 400014, *China*)

从 2019 年 12 月开始,在我国湖北武汉出现新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19)[1],疫情迅速传播,在全国及境外多个国家蔓延,形式十分严峻。随着该病毒基因组序列公布,被确认为一种新型冠状病毒。为此,世界卫生组织(WHO)将该病毒暂时命名为"2019 新型冠状病毒(2019 novelcorona viurs,2019-nCoV)",后被国际病毒分类学委员会(ICTV)命名为严重急性呼吸综合征冠状病毒 2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)。现已明确其具有强烈的人传人能力,主要传播方式包括飞沫传播和接触传播,COVID-19 临床症状有发热、咳嗽、肌痛、呼吸困难等,严重时出现呼吸衰竭甚至死亡[2]。目前,对于 SARS-CoV-2 如何进入人类世界、入侵宿主、发病机制及介导组织器官损害等尚不清楚,现就其研究进展作一综述。

1　SARS-CoV-2 的自然宿主和中间宿主

SARS-CoV-2 基因组序列显示共有 29 000 多个核苷酸碱基,与 2002 年 11 月我国暴发的严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS)的 SARS 冠状病毒(SARS-CoV)有 79.5% 的一致性。研究人员将它与已知冠状病毒(CoVs)家族其他成员进行了比较,发现其与蝙蝠来源 CoVs 关系最密切。与在云南采集到的中菊头蝠体内检测到的 Bat-Cov-RaTG13 冠状病毒株基因序列进行比较,发现两者基因组序列一致性高达 96.2%,这一研究将 SARS-CoV-2 的自然宿主锁定为中菊头蝠[3-4]。但 RaTG13 序列与 SARS-CoV-2 仍有近 1 100 个碱基序列的差异。这种差异不太容易导致病毒从 Bat-CoV RaTG13 直接感染给人,这意味着 SARS-CoV-2 从蝙蝠传播至人之间还存在中间宿主。

系统发育分析显示 Bat-CoV-RaTG13 与 SARS-CoV-2 有非常近的亲缘关系,与其他 CoVs 比较形成明显世系,但又有相对独立的分支。进一步研究发现,SARS-CoV-2 和马来亚穿山甲 CoVs 宏基因组测序相似性为 90.5%,该穿山甲 CoVs 与 SARS-CoV-2 在 S 蛋白的基因序列同源性为 89%,而 S 蛋白氨基酸同源性高达 98%,推测穿山甲是目前最可能的 SARS-CoV-2 潜在中间宿主[5]。明确病毒的自然宿主和中间宿主,进而识别 SARS-CoV-2 的系统进化特点,是科学有效地制定预警和防控策略的基础。然而,从 SARS-CoV-2 的自然宿主到中间宿主,再到人传人传播仍然有许多环节尚待更多研究阐明。

2　SARS-CoV-2 入侵途径及致病机制

2.1　SARS-CoV-2 通过受体蛋白血管紧张素转化酶 2 入侵宿主

研究已证明 SARS-CoV-2 和 SARS-CoV 一样,均通过识别血管紧张素转化酶 2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)蛋白进入宿主细胞。SARS-CoV-2 入侵宿主细胞,主要依靠其棘突表面的 S 蛋白。S 蛋白与宿主细胞表面的 ACE2 受体结合,是病毒进入宿主的关键[6-7]。SARS-CoV-2 和 SARS-CoV 在 S 蛋白的内含受体结合区(receptor binding domain, RBD)位点存在差异,这是 SARS-CoV-2 在致病能力与 SARS-CoV 有差异的分子基础[8]。进一步通过与 SARS-CoV 的结构比较发现,SARS-CoV-2 的 S 蛋白结合人体 ACE2 的亲和力高于 SARS-CoV[8],这解释了为什么 SARS-CoV-2 传染性要比 SARS-CoV 强。

ACE2 广泛表达于呼吸道上皮细胞、肺泡细胞、肺泡单核细胞和巨噬细胞,同时在血管内皮细胞、肠黏膜细胞、肾小管上皮细胞也有表达。按照脏器 ACE2 细胞表达水平,从高到低排序:回肠>心脏>肾>膀胱>食道>肺>气管[9]。ACE2 是 SARS-CoV-2 入侵宿主的门户,但 ACE2 的表达水平是否意味着该器官更易受病毒攻击,这一问题尚不明确。

2.2　SARS-CoV-2 经 ACE2 通路侵入宿主的调控机制

SARS-CoV-2 经 ACE2 入侵宿主过程:宿主 ACE2 与肠道内的一个氨基酸转运蛋白 B0AT1 结合,形成稳定二聚体形式,这一构象对于病毒识别至关重要,该结构的构象变化可以影响与冠状病毒 S 蛋白的相互识别,从而调控病毒侵入宿主细胞[10]。ACE2 二聚体与 SARS-CoV-2 的 S 蛋白结合形成三聚体,激活其下游信号通路,促进病毒与宿主细胞膜的融合或者内吞机制,其内在机制尚待进一步研究。

研究表明 ACE2 的胞外区如果被切割,将会更有效地促进 SARS-CoV-2 的入侵,但是 ACE2 与 B0AT1 的复合物结构显示 B0AT1 的存在,有可能阻碍蛋白酶靠近这个切割位点,避免进一步切割,从而解释了为什么病毒入侵宿主主要发生在没有 B0AT1 表达的肺部更加严重[11],这也可能是尽管 ACE2 在人体多种组织器官心脏、肝脏、肾脏等组织器官均有高水平表达,但相比肺部损伤,其他组织器官损害相对较轻的原因。上述研究可能阐明了 SARS-CoV-2 靶器官损伤具有组织特异性内在分子机制。SARS-CoV-2 的 S 蛋白构象及其与 ACE2/B0AT1 二聚体结构相互作用的分子机制解析,将有助于理解 SARS-CoV-2 进入靶细胞的结构基础和功能特征,对创新发现和优化阻断进入细胞的靶向药物、疫苗研发具有重要作用。

2.3　SARS-CoV-2 通过影响宿主细胞 ACE2 介导组织损伤

作者简介:阳海平(1981-),男,博士,副主任医师,主要从事儿童肾脏疾病研究,E-mail: oyhp0708@163.cm。
通讯作者:李秋(1963-),女,教授,主任医师,主要从事儿童肾脏疾病研究,E-mail: liqiu809@126.cm。

2.3.1 ACE2 在肾素-血管紧张素系统中的作用 ACE2 是人类血管紧张素转换酶(ACE)同源物,是一种锌金属蛋白酶。肾素在肾脏产生,血管紧张素原在肝脏产生,血管紧张素原在肾素的作用下分解为血管紧张素Ⅰ(AngⅠ),AngⅠ通过血液循环来到肺脏,在 ACE 作用下生成血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)作用于肺部组织及血管,而血管内皮细胞及肾脏来源的 AngⅡ有明显缩血管升高血压的作用。ACE2 其实是 ACE 同工酶,其作用与 ACE 相反,可以水解 AngⅡ生成血管紧张素 1~7(Ang 1~7),产生舒张血管、降低血压作用。事实上,临床常用降压药 ACE 抑制剂(ACEI,如卡托普利、依那普利等),就是通过抑制 ACE 从而减少 AngⅡ生成,发挥降血压作用。

2.3.2 SARS-CoV-2 通过 ACE2 影响肾素-血管紧张素系统,介导组织器官损害 研究发现 ACE2 在肺泡细胞、气道上皮细胞、内皮细胞和巨噬细胞表达[12],病毒入侵致 ACE2 功能紊乱。SARS 病毒感染时,ACE2 的水平下调(舒张血管作用),而 ACE 水平不受影响(收缩血管)[13],引起肺水肿和损害肺功能,继而导致急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。临床发现 COVID-19 患者有高达 30% 合并高血压[14],这可能是由于 SARS-CoV-2 侵入机体,导致 ACE2 水平下降,影响 Ang 1~7 的舒血管作用,天平向 AngⅡ/AT1R 轴倾斜,进而发生高血压。尽管 ACE2 是 SARS-CoV-2 入侵宿主的"门户",但其在后续肺损伤中发挥保护作用[15],但这一保护作用可能随着 SARS-CoV-2 的入侵而受到抑制。

2.4 SARS-CoV-2 介导免疫应答紊乱,进而发生细胞因子风暴

既往免疫病理学的研究表明,SARS-CoV 和 2012 年暴发的中东呼吸综合征(Middle East respiratory syndrome, MERS)病毒(MERS-CoV)都可导致免疫功能紊乱,这些重症患者体内会出现细胞因子风暴,给机体组织造成严重损伤,严重时引发多器官功能衰竭。细胞因子风暴的相关因子包括干扰素(IFN)、白细胞介素(IL)、趋化因子、肿瘤坏死因子(TNF)等介质,是导致患者病情加重乃至死亡的重要原因。

研究发现 COVID-19 患者外周血总 T 淋巴细胞、$CD4^+$ T 细胞及 $CD8^+$ T 细胞水平均有降低,且与患者存活率呈负相关[16]。2020 年 2 月 21 日《Lancet Respir Med》发表了湖北金银潭医院收治的重 COVID-19 患者的一项单中心、回顾性、观察性的研究,结果发现 80% 的危重患者出现了淋巴细胞减少,而非重症患者只有 35% 患者出现淋巴细胞减少,这表明淋巴细胞减少反映了 SARS-CoV-2 感染的严重程度[17],推测 SARS-CoV-2 具有靶向侵袭,会损伤及介导淋巴细胞坏死或凋亡增多。COVID-19 患者血清 TNF-α、IL-6 和 IL-10 明显增高,而且重症 COVID-19 患者水平进一步增高;T 细胞水平与血清 IL-6、IL-10 和 TNF-α 呈负相关;COVID-19 患者,随着患者从前驱期到明显症状期,T 细胞 PD-1 和 Tim-3 表达增加,这说明 T 细胞耗竭[16]。以上研究表明,SARS-CoV-2 感染的重症患者中,淋巴细胞坏死或凋亡增加,进而导致了病毒免疫逃逸。但进一步研究发现,$CD4^+$ T 细胞亚群中 $CCR4^+CCR6^+$Th17 细胞以及细胞毒性 T 细胞过度活化[11],这些细胞具有强烈的促炎作用,如具有负向调控能力的免疫细胞水平降低或功能受损,则可导致炎症失控,产生大量炎症介质,发生细胞因子风暴,加重疾病进展期的严重免疫损伤。基于这些发现,目前临床上开展针对 COVID-19 重症病例的抗炎治疗,包括激素、羟氯喹以及靶向 IL-6、TNF-α 的单抗等治疗[2]。

3 SARS-CoV-2 可以致人体多器官功能损害,严重时可危及生命

2020 年 2 月 18 日,首份 COVID-19 死亡患者肺脏、心脏、肝脏病理报告发表,发现 COVID-19 患者肺部组织呈弥漫性肺泡损伤伴纤维黏液性渗出、肺泡上皮脱落和肺透明膜形成,发生 ARDS[11]。肺中可见以淋巴细胞为主的单个核细胞炎性浸润,肺泡腔中出现多核巨细胞和非典型增大的肺泡细胞,呈典型病毒性肺炎样改变。在患者的肝脏组织发现中度微血管脂肪变性;心脏组织发现有少量单核细胞浸润。此外,研究发现 COVID-19 患者存在急性肾损伤[17-18],但尚无证据表明 SARS-CoV-2 可以介导持续或慢性肾功能损害。52 例重症患者中大多数患者出现器官功能损伤,包括 35 例(67%)ARDS、15 例(29%)急性肾损伤、12 例(23%)心肌损伤、15 例(29%)的肝功能障碍,这可能与 SARS-CoV-2 受体蛋白 ACE2 在组织器官广泛表达相关。这 52 例重症患者高达 61.5%(32 例)在 28 d 内死亡,表明 COVID-19 重症患者的病死率较高。有合并症和 ARDS 的老年患者(>65 岁)死亡风险增加[16]。

当下,重症 COVID-19 患者救治给社会各界特别是医护人员带来了巨大的压力与挑战,我国及世界各国临床及基础研究领域一批医护人员、学者及科学家等紧密合作,正奋力攻克 SARS-CoV-2 引发的重大疫情,从病毒进化规律、溯源、传播机制及流行病学趋势、致病机制、抗病毒药物、疫苗的研发及公共卫生防控策略等各个领域积极开展了一系列卓有成效的科学研究。完全相信在不断研究探索前进的道路上,我们定会不断总结惨痛教训,同时也会从中学到对抗重大病疫的宝贵经验,以造福人类生命健康。

参考文献:

[1] 国家卫生健康委员会. 国家卫生健康委关于修订新型冠状病毒肺炎英文命名事宜的通知[EB/OL]. http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/33393aa53d984ccdb1053a52b6bef810.shtml.

[2] 国家卫生健康委员会,国家中医药管理局. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)的通知[EB/OL]. http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml.

[3] WU F, ZHAO S, YU B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China [J]. Nature, 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3.

[4] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin [J]. Nature, 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.

[5] WONG M C, CREGEEN S J, AJAMI N J, et al. Evidence of recombination in coronaviruses implicating pangolin origins of nCoV-2019 [J]. Petrosinobio Rxiv, 2020. doi: https://doi.org/10.1101/2020.02.07.939207.

[6] LU R, ZHAO X, LI J, et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding [J]. Lancet, 2020. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.

[7] WU A, PENG Y, HUANG B, et al. Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China [J]. Cell Host Microbe, 2020. doi: 10.1016/j.chom.2020.02.001.

[8] WRAPP D, WANG N, CORBETT K S, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV ppike in the prefusion conformation [J]. bioRxiv, 2020. doi: https://doi.org/10.1101/2020.02.11.944462.

[9] ZOU X, CHEN K, ZOU J W, et al. The single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to Wuhan 2019-nCoV infection [J/OL]. Frontiers of medicine, 2020. https://doi.org/10.1007/s11684-020-0754-0.

[10] YAN R H, ZHANG Y Y, LI Y N, et al. Structure of dimeric full-length human ACE2 in complex with B0AT1 [J/OL]. bioRxiv, 2020.

doi: https://doi. org/10. 1101/2020. 02. 17. 951848. https://www. biorxiv. org/content/10. 1101/2020. 02. 17. 951848v1.
[11] XU Z, SHI L, WANG Y J, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome [J]. The lancet respiratory medicine, 2020. doi: 10. 1016/s2213-2600(20)30076-x.
[12] ZHAO Y, ZHAO Z X, WANG Y J, et al. Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the putative receptor of Wuhan 2019-nCov [J]. bioRxiv, 2020. doi: https://doi. org/10. 1101/2020. 01. 26. 919985.
[13] KUBA K, IMAI Y, RAO S, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury [J]. Nat Med, 2005, 11(8): 875-879.
[14] ZHANG J J, DONG X, CAO Y Y, et al. Clinical characteristics of 140 patients infected by SARS-CoV-2 in Wuhan, China [J]. Allergy, 2020. doi: 10. 1111/all. 14238.
[15] IMAI Y, KUBA K, RAO S, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure [J]. Nature, 2005, 436 (7047): 112-116.
[16] DIAO B, WANG C H, TAN Y J, et al. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) [J]. medRxiv, 2020. doi: https://doi. org/10. 1101/2020. 02. 18. 20024364.
[17] YANG X B, YU Y, XU J Q, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study [J/OL]. Lancet Respiratory Medicine, 2020. doi: https://doi. org/10. 1016/ S2213-2600(20)30079-5. https://www. thelancet. com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600(20)30079-5/fulltext.
[18] Anti-2019-nCoV Volunteers, LI Z, WU M, et al. Caution on kidney dysfunctions of 2019-nCoV patients [J/OL]. medRxiv, 2020. doi: https://doi. org/10. 1101/2020. 02. 08. 20021212. https://www. medrxiv. org/content/10. 1101/2020. 02. 08. 20021212v1.

(编辑:梁颖文)
(收稿日期:2020-02-24)

doi:10. 13407/j. cnki. jpp. 1672-108X. 2020. 04. 014

· 综述 ·

儿童 2019 冠状病毒病抗病毒药物治疗选择与思考

唐雨一　综述,刘恩梅　审校 (重庆医科大学附属儿童医院,国家儿童健康与疾病临床研究中心,重庆　400014)

[中图分类号]R725. 1　　[文献标识码]A　　[文章编号]1672-108X(2020)04-0042-04

Selection and Consideration of Antiviral Therapy for Corona Virus Disease 2019 in Children

Tang Yuyi, Liu Enmei (*Children's Hospital of Chongqing Medical University, National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Chongqing* 400014, *China*)

2019 年末,中国湖北省武汉市出现一组不明原因肺炎病例,并在全国乃至世界范围内迅速蔓延,随后被证实是由一种新型冠状病毒引起。2020 年 2 月 11 日,国际病毒分类委员会宣布其正式分类名为严重急性呼吸综合征冠状病毒 2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2,SARS-CoV-2)。世界卫生组织(WHO)同日宣布,由这一病毒导致的疾病的正式名称为 2019 冠状病毒病(COVID-19)[1]。截至北京时间 2020 年 2 月 19 日 24 时,全国共 31 个省累计报告确诊 74 576 例,儿童确诊病例最小年龄仅出生 30 h[2]。儿童患者多以发热、咳嗽为主要表现,与成人相比病情更轻,但也有危重型病例报道[3]。目前对于 SARS-CoV-2 的认识尚不全面和深入,且尚无预防和治疗的特效药物,临床上大多以经验性治疗、支持治疗和控制并发症为主。本文结合 SARS-CoV-2 的特性与临床实践提出儿童新型冠状病毒感染的抗病毒药物治疗选择与未来研发思考。

1　SARS-CoV-2 的特性

冠状病毒是一种有包膜的单股正链 RNA 病毒,其得名来自于病毒脂质层外面分布的由棘突蛋白(S 蛋白)构成的日冕状突起。根据基因组和血清学特征,冠状病毒可以分为 α、β、γ 和 δ 四个属[4]。HCoV-229E 和 HCoV-NL63 属于 α 属冠状病毒,HCoV-OC43、HCoV-HKU1、严重急性呼吸综合征相关冠状病毒(SARS-CoV)和中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)和 SARS-CoV-2 均为 β 属冠状病毒。SARS-CoV 和 MERS-CoV 曾在世界范围内引起致病性的暴发流行,而 HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-HKU1、HCoV-NL63 在免疫能力强的个体中普遍存在,通常仅引起轻微的感冒症状[5]。本次 SARS-CoV-2 的流行是由于冠状病毒发生抗原性变异所致,人群缺少对变异病毒株的免疫力,因此人群普遍易感。目前认为 SARS-CoV-2 主要传播途径是通过呼吸道飞沫和密切接触传播,儿童患者多因与感染者或无症状隐性感染者密切接触而患病[6]。基因组研究表明,SARS-CoV-2 与 SARS-CoV、MERS-CoV 的全基因组对比有 79% 和 50% 的序列相似性,且 SARS-CoV-2 的 S 蛋白与 SARS-CoV 的 S 蛋白在受体结合域上具有几乎相同的三维结构,SARS-CoV-2 也通过 S 蛋白与宿主细胞表面的血管紧张素转化酶 2(ACE2)结合而感染细胞[7-8]。

2　现有 COVID-19 的抗病毒药物分类与药理作用

目前针对 COVID-19 可能有效的抗病毒药物主要包括干扰素、洛匹那韦/利托那韦、利巴韦林、瑞德西韦、氯喹与羟氯喹、阿比多尔及恢复期血浆,各类药物的作用机制及相关特性见表 1。

作者简介:唐雨一(1997. 08-),女,硕士在读,主要从事儿童呼吸系统疾病研究,E-mail: tyy792567@163. com。