DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.09.037

综述

文章编号:1000-5404(2003)09-0828-03

SARS病毒的研究进展

Advances in the study of SARS virus

王嘉丽,张俊磊 综述,安 静 审校 (第三军医大学微生物学教研室,重庆 400038)

2003年3月15日,世界卫生组织(WHO)将近期开始广泛流行的、发病急、传播快、严重威胁患者生命的"非典型肺炎"命名为严重急性呼吸道综合征(Severe acute respiratory syndrome, SARS),该感染症的潜伏期为2~12 d,主要临床表现有高热(>38 ℃)、头疼和干咳,部分病人有气促等呼吸困难症状,少数进展为呼吸窘迫综合征(ARDS),后者死亡率极高。4月16日,在日内瓦举行的9国科学家会议上,WHO正式确定非典型肺炎的病原体是冠状病毒的一个变种,并将其命名为"SARS病毒"。该病毒相关的研究尚处于起步阶段,现就最新的研究进展作一介绍。

1 SARS病毒的分离与鉴定

在研究初期,由于病原体未知,研究者使用了大量已知的引起呼吸道疾病的微生物(如腺病毒、汉坦病毒、流感病毒、呼吸道合胞病毒、军团菌、支原体、衣原体等)的抗原/抗体和扩增引物,但是免疫组化法、ELISA法和PCR/RT-PCR的结果绝大多数为阴性。美国疾病预防中心用Vero E6、NCI-H292、HeLa等多种细胞株,尝试从可疑病人血液、痰液、咽拭子、死亡病人尸检等临床标本中分离病原体。结果该病原体能够感染Vero E6细胞,并使细胞变圆脱落,产生细胞病变(Cytopathic effect, CPE)。电镜观察出现CPE的Vero细胞,胞浆中可见大量病毒颗粒,外膜呈钉样突起。中国香港大学学者通过随机引物扩增出646 bp的片段,测序后发现其编码蛋白与冠状病毒RNA多聚酶有57%的同源性,再用冠状病毒的特异性引物进行扩增,检测了44例病人的鼻咽拭子标本,其中22例阳性,提示冠状病毒可能是引起SARS的病原体。4月9日,加拿大研究机构首先公布了SARS病毒基因组的30 000余个核苷酸序列,美国随即也公布了病毒的全序列,其中仅有15个核苷酸与加拿大的不同[1~3]。4月16日,中国也完成了4株SARS病毒的部份测序。目前,WHO已公布了扩增该病毒的7对RT-PCR引物,见表1,可以通过检测不同的基因片段,使临床诊断更快速更准确,并为SARS的基础研究提供了方便。

表1 扩增SARS病毒的7对RT-PCR引物(WHO)

研究机构	引物名	序列	大小(bp)
Bernhard-Nocht研究所,德国	BNIoutS/BNoutAs	sense ATGAAT TAC CAA GTC AAT GGT TAC antisense CAT AAC CAG TCG GTA CAG CTA C	195
	BNIinS/BNIAs	sense GAA GCT ATT CGT CAC GTT CG antisense CTG TAGAAA ATC CTA GCT GGA G	110
	SAR1s/SAR1as	sense CCT CTC TTG TTC TTG CTC GCA antisense TAT AGT GAG CCG CCA CAC ATG	150
疾病控制预防中心,美国	IN-2, IN-4	sense GGGTTGGGACTATCCTAAGTGTGA antisense TAACACACAAACACCATCATCA	452
	IN-6, IN-7	sense GGTTGGGACTATCCTAAGTGTGA antisense CCATCATCAGATAGAATCATCATA	440
公共卫生实验中心,香港	COR-1, COR-2	sense CACCGTTTCTACAGGTTAGCTAACGA antisense AAATGTTTAACGCAGGTAAGCGTAAAA	310
玛丽皇后医院,香港	HKU	sense TCAACACCTCAGCGTTG antisense CACGAACGTGACGAAT	182

此外,支持SARS病毒是病原体的具体证据还有[4,5]:①仅在SARS患者血清内检测出了抗SARS病毒的抗体,而健康人中无此抗体。②利用电镜、病毒分离和PCR等方法,在患者的多种标本,如痰、咽拭子、支气管肺泡灌洗液以及肺、肾组织中均检测到了同一种病毒。③收集索引患者(Index patients,流行病学可追溯的第一例患者)以及接触患者(Contact patients,接触索引患者后发病者)的多种标本,在两患者的痰标本中都检出了较高滴度的SARS病毒。④通过RT-PCR发现,多个地区(香港、越南、加拿大、台湾)的SARS病毒编码多聚酶的基因完全相同。这些证据提示人类以前从未接触SARS病毒,呼吸道传播可能是其感染的

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30170848);国家人事部、教育部回国人员启动基金(2002)
作者简介:王嘉丽(1977—),女,重庆市人,硕士研究生,助教,主要从事病毒致病机制方面的研究 电话:(023)68752239
通信作者:安 静,电话:(023)68752239, E-mail:anjing60@yahoo.com.cn
收稿日期:2003-04-29;修回日期:2003-04-30
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

首要途径, 其流行符合由一点爆发、继而向外扩散的模式。

2　SARS 病毒的特点

SARS 病毒呈球形, 直径在 100 nm 左右, 是有包膜的单股正链 RNA 病毒, 是目前所知道的最大的 RNA 病毒。与其它的冠状病毒一样, SARS 病毒包膜上也有排列较宽、形如日冕的刺突蛋白(Spike protein), 见图 1[3]。冠状病毒的刺突蛋白主要有 S、M、HE、N 蛋白。S 蛋白是该病毒的主要抗原成分和病毒与受体结合的部位, 同时与病毒引起的细胞融合(Cell fusion)有关。M 蛋白是一种膜糖蛋白, 参与病毒的出芽(Budding)和包膜的形成(Envelope formation)。N 蛋白是一种磷酸蛋白, 功能尚不清楚, 可能参与病毒核酸的合成。HE 蛋白仅见于少数几种毒株, 可能与某些毒株的血凝特性有关, 见图 2。但由于对 SARS 病毒的研究刚刚起步, 其刺突蛋白种类及功能与其它冠状病毒的异同尚待研究。中国根据所完成的 4 株 SARS 病毒的基因序列, 初步认为该病毒至少含有 5 个开放阅读框, 分别编码病毒的基质糖蛋白 M、纤突蛋白 E2 或 S、小外壳蛋白 E 或 SM、核衣壳蛋白和一个可产生数个蛋白的 orflab(引自陈竺等 22 位中国科学院院士联名向国务院提出的建议: 非典型肺炎防治为切入点构筑我国预防医学创新体系)。

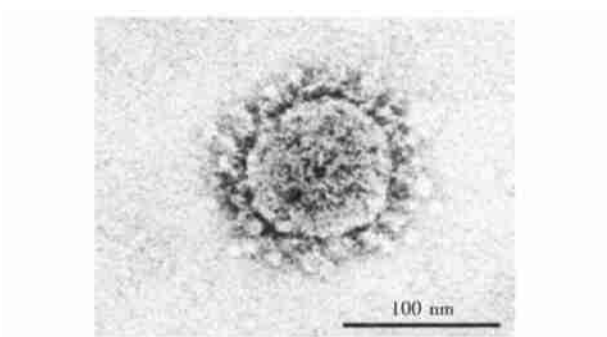


图 1　电镜下的 SARS 病毒

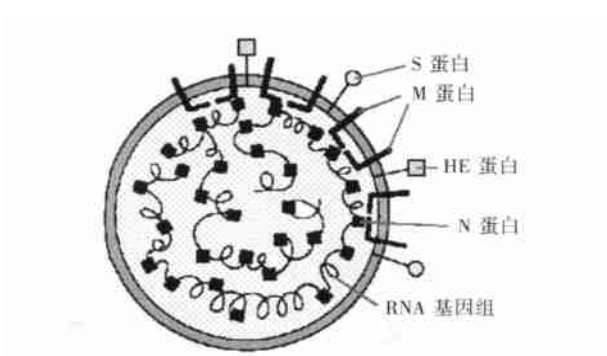


图 2　冠状病毒结构模式图

冠状病毒的基因由 27 000~30 000 个核苷酸组成, 现已发现数十个毒株。由于病毒聚合酶基因为保守基因, 能够较忠实地反应病毒的进化关系, 因此根据 RNA 依赖的 RNA 多聚酶序列分析, 按进化关系的远近将冠状病毒分为 3 组: 第 1 组的代表株为 229E 株; 第 2 组的代表株为 OC43 株; 第 3 组为禽类冠状病毒; 因 SARS 病毒基因序列与上述 3 组有明显不同, 被列为第 4 组, 见图 3[3]。

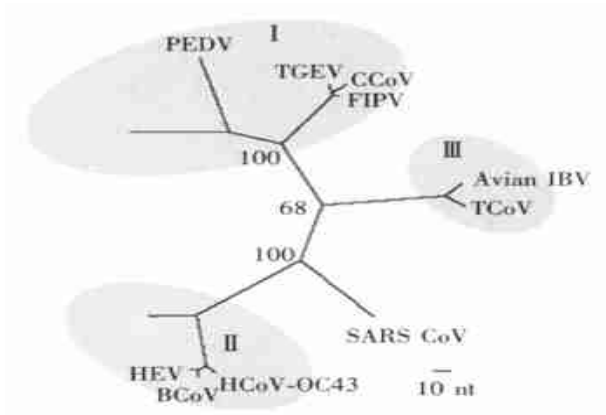


图 3　冠状病毒进化树

目前, 在 GENEBANK 上登陆的 SARS 病毒共有 11 株, 其中 HKU-39849(香港)、Urbani(美国)、TOR2(加拿大)和 CUHK-W1(香港)等 4 株已经完成了全基因组测序。将 HKU-39849 株的核酸序列输入 BLAST 服务器(美国生物技术信息中心)进行检索, 结果如图 4 所示。图中每一行均代表一种病毒株, 它们与 HKU-39849 株的同源性从上往下递减。其中第 1 行至第 11 行属于新发现的 SARS 病毒, 分别是 HKU-39849 株、Urbani 株、TOR2 株、CUHK-W1 株、BJ02 株、BJ03 株、BJ01 株、GZ01 株、BJ04 株、Taiwan 株和 Vietnam 株。第 12 行至第 33 行是以前发现的各种冠状病毒, 如鼠肝炎病毒 ML-10 株(第 14 行)、猪流行性腹泻病毒 CV777 株(第 20 行)等, 结果中未显示任何冠状病毒属以外的病毒。如图可知, 前 9 株 SARS 病毒的序列高度同源(Taiwan 株和 Vietnam 株仅完成了约 400 bp 的 RNA 聚合酶基因的测序), 但个别区域仍有差异, 初步认为 SARS 病毒株较易变异; SARS 病毒基因序列与以往发现的冠状病毒的同源性较低, 提示 SARS 病毒基因序列比较独特, 推测在感染人类之前, SARS 病毒在自然界可能已经存在了相当长的时间, 其感染人类的机制尚不清楚。

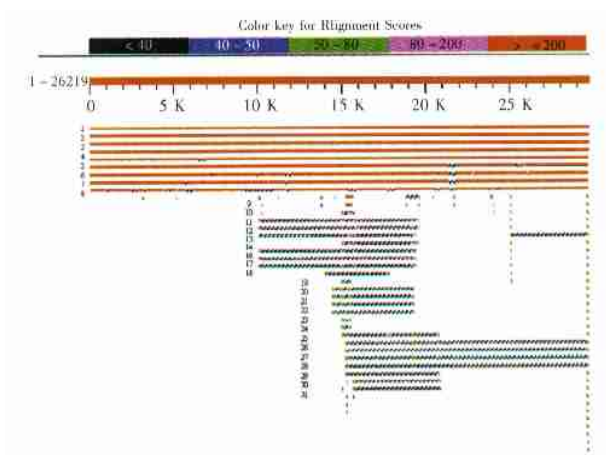


图 4　SARS 病毒 HKU34849 株基因序列 BLAST 结果

3　展望

在全球研究者的共同努力下, SARS 病毒的研究已经取得一定的进展, 但仍有许多问题有待阐明。

SARS 病毒的来源。一种假说认为: 当人类长期接触携带病

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

毒的动物后，病毒可能通过某种途径进入人体，在病毒与人体漫长的相互作用过程中，原本不致病的病毒可能发生了变异，使得某种组织细胞成为其容纳细胞，最后引起人类疾病。另一种假说认为：冠状病毒基因组较易发生重组，这种重组可以发生在冠状病毒的不同毒株之间，也可以发生在冠状病毒与其它病毒之间，故当两种冠状病毒或冠状病毒与其它病毒同时感染一个宿主时，基因之间可以发生重组而产生新的毒株，进而引起感染症的爆发流行。然而，值得注意的是SARS基因序列的前10 000个核苷酸与其他已知的序列几乎检测不到同源性。因此，仅凭目前的测序结果仍无法确定SARS病毒的来源，对病毒等生物进化的深入研究可能有助于阐明SARS爆发的原因。

SARS病毒的致病机制。SARS疾病是病毒的直接破坏作用还是病毒引起的免疫病理作用所致，目前还不清楚。在一些患者发生病变的肺组织中可见融合巨细胞，但用电镜并没有观察到病毒颗粒，并且免疫组化法或PCR法结果也为阴性[6]。提示有两种可能：一是由于收集标本过迟，患者通常已发病超过14～20 d，所以胞内的病毒很可能被机体的免疫系统所清除，导致检测结果阴性；二是SARS患者的呼吸系统症状可能并非由SARS病毒直接感染肺部而引起。可能是在病毒的刺激下，免疫系统产生大量的细胞因子，单独或协同病毒影响肺功能——即免疫病理作用。相信SARS病毒致病机制的阐明，将为SARS的预防和治疗开辟新的途径。

SARS病毒的靶细胞不明。SARS疾病主要出现呼吸系统临床表现，但一些患者发病后第9天可有血清谷丙转氨酶（ALT）和乳糖脱氢酶（LDH）的水平明显升高[2]，提示SARS病毒可能也在呼吸道以外的组织中复制增殖，引起相应的细胞损伤。然而究竟那种或哪些细胞是SARS病毒的靶细胞，有待进一步的研究。

目前，SARS病毒的病原学，致病机制等的研究虽然刚刚起步，但已经取得了一些令人振奋的结果，期望人类能够早日揭开SARS病毒的神秘面纱，为临床防治SARS以及其他病毒性疾病提供有力的依据，研制出特异的抗病毒疫苗或靶向药物，解除病毒性疾病引起的人类病痛。

关键词：SARS；冠状病毒；非典型性肺炎
中图法分类号：R373.1；R563.1　　文献标识码：A

参考文献：

[1] Peiris J, Lai S, Poon L, *et al*. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome[J]. Lancet, 2003, 361(9366): 1319—1325.
[2] Lee N, Hui D, Wu A, *et al*. A Major Outbreak of Severe Acute Respiratory Syndrome in Hong Kong[J]. N Engl J Med, 2003, 14 [epub ahead of print]
[3] Ksiazek T G, Erdman D, Goldsmith C S, *et al*. A Novel Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome[J]. N Engl J Med, 2003, 348(20): 1947—1958
[4] Drosten C, Gunther S, Preiser W, *et al*. Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome[J]. N Engl J Med, 2003, 10 [epub ahead of print].
[5] Tsang K W, Ho P L, Ooi G C, *et al*. A Cluster of Cases of Severe Acute Respiratory Syndrome in Hong Kong[J]. N Engl J Med, 2003, 11 [epub ahead of pri nt].
[6] Poutanen S M, Low D E, Henry B, *et al*. Identification of Severe Acute Respiratory Syndrome in Canada[J]. N Engl J Med, 2003, 10 [epub ahead of print].

（编辑　张　宁）

综述

文章编号：1000-5404(2003)09-0830-03

血管紧张素-(1-7)抗高血压作用的研究进展

Advances in the studies of antihypertensive action of angiotensin-(1-7)

钟　健　综述，祝之明　审校　（第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所高血压内分泌科、重庆市高血压研究所，重庆 400042）

肾素血管紧张素系统（Renin-angiotensin system, RAS）在高血压的发生发展中有重要作用，以往对RAS的研究多局限于血管紧张素Ⅱ（Angiotensin Ⅱ，AngⅡ），认为AngⅡ既有强烈的缩血管作用，又可刺激血管平滑肌细胞（Vascular smooth muscle cell, VSMC）增殖，是RAS的最终活性产物，而RAS的其它多肽，如血管紧张素-(1-7)[Angiotensin-(1-7), Ang-(1-7)]缺乏收缩血管、刺激醛固酮释放和致渴作用，被认为是RAS的无活性片段。然而，近期研究表明Ang-(1-7)与AngⅡ作用相反，有扩血管和抑制VSMC增殖的作用，作为AngⅡ的内源性拮抗因子，参与RAS对血压的调节。

1　Ang-(1-7)的生成与降解

Ang-(1-7)是由天冬氨酸，精氨酸，缬氨酸，酪氨酸，异亮氨酸，组氨酸，脯氨酸组成的七肽。在体内Ang-(1-7)的生成途径有两条：①十肽AngⅠ在中性肽链内切酶（NEP）24.11、24.15和脯氨酰肽链内切酶作用下水解掉3个氨基酸残基生成Ang-(1-7)，这是Ang-(1-7)的主要生成途径；②八肽AngⅡ在羟脯酰肽链内切酶或羟脯酰羧肽酶作用下生成Ang-(1-7)。此外，AngⅠ在血管紧张素转化酶（Angiotensin-converting enzyme, ACE）和食糜酶的作用下还可生成AngⅡ，但对AngⅠ向AngⅡ或Ang-(1-7)途径转化的调控因素仍不清楚。组织和血浆Ang-(1-7)可进一步被ACE水解为血管紧张素-(1-5)[1]。

作者简介：钟　健（1975—），女，河北省沧州市人，博士研究生，医师，主要从事高血压的发生及防治方面的研究。电话：(023)68757745
收稿日期：2002-10-27；修回日期：2003-02-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net