

非典-SARS-冠状病毒*

王汉中, 丁清泉

(中国科学院武汉病毒研究所, 中国科学院分子病毒学重点实验室, 湖北武汉 430071)

Severe Acute Respiratory Syndrome And Coronaviruses

WANG Han-zhong, DING Qing-quan

(The Key Laboratory of Molecular Virology, Wuhan Institute of Virology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430071, China)

关键词: 非典型肺炎; SARS; 冠状病毒

中图分类号: R373

文献标识码:

文章编号: 1003-5125 (2003) 03-0303-04

2002 年 11 月, 一种神秘不明的疾病出现在我国广东省继而肆虐全球, 世界上有 27 个国家和地区相继报道出现这种疫情。由于这种疾病的症状不同于典型肺炎, 故初期称之为“非典型肺炎”(简称“非典”)并沿用至今。其学名应称为“严重急性呼吸综合征”(Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS)。经过全球科研人员的通力合作, 2003 年 4 月 16 日世界卫生组织正式宣布, 确认冠状病毒的一个变种是引起非典型肺炎的病原体。Peiris 等在 *Lancet* 上发表文章, 以强有力的证据表明 SARS 病原是一种新的从未在人类或动物中发现过的冠状病毒^[1]。研究人员采用经典的病毒培养法、血清学技术和现代分子基因技术, 描述和确定了香港 50 例 SARS 病人的发病原因。至此在世界众多国家流行造成极度恐慌的“非典”原凶终于浮出水面。随后加拿大^[2]、美国和中国科学家几乎同时发表了在不同的国家分离的冠状病毒株的基因组的全序列。病原的发现和病毒全基因组的破译是 SARS 研究的两个重要的里程碑, 这使科学家们能够深入研究 SARS 病毒的分子生物学、分子流行病学、病毒的变异和分子进化等基础理论, 集中全力开发新的特异灵敏的早期诊断试剂, 研制有效疫苗和药物消灭疫情。

一 冠状病毒和 SARS

第一个冠状病毒是 1936 年在鸡内发现的。1965 年, Tyrrell and Bynoe^[3]利用纤毛胚胎支气管细胞在体外增殖了人的冠状病毒 (HCoV), 此后至少有 15

种不同的冠状病毒被发现。目前所知, 冠状病毒科 (*Coronaviridae*) 只感染脊椎动物, 与人和动物的许多疾病有关。

在 SARS 病毒发现之前, 已发现两种人类冠状病毒可感染人类, 分别属于 OC43 和 229E 两个抗原型^[3], 它是引起人类上呼吸道感染的病原, 常引起成人的普通感冒, 有时也感染肠道, 且大多数出现在 1 岁以下的婴儿。

目前所知的 SARS 是一种病毒性肺炎的类型, 不幸的是, 早期临床表现可能不容易与其他常见冬季呼吸道病毒感染相区别。最普通的症状是发热 (94%), 51%~72% 的病人有类似于流感的症状, 例如发冷、不舒服、食欲不振和肌肉疼痛干咳、呼吸短促)、头痛和低血氧浓度。典型的实验室检测标准包括淋巴细胞、白细胞和血小板的数量减少, 转氨酶肌酸激酶水平略为提高 (证明有肝组织损伤)。部分患者表现为包括腹泻、呕吐、腹部疼痛等胃肠症状 (13%)^[4, 5]。

SARS 典型临床过程包括病人在感染的第一个星期内以上描述的综合症将逐步发展, 随后迅速加重, 值得注意的是, 将近 40% 的病人发生了需要辅助通气的呼吸衰竭。研究表明病情可能和病人免疫反应相关而不是和未控制的病毒复制有直接关联。死亡的原因可能是由于肺组织中肺小泡 (alveolar) 损伤引起进行性呼吸失败而导致的^[4, 5]。

SARS 病毒 (SARS-CoV) 是通过病人咳嗽和喷嚏所散发的飞沫传染, 其他传染途径如粪便污染也可能参与, 病毒以聚集传播方式直接传染给密切

收稿日期: 2003-05-10, 修回日期: 2003-05-14

* 基金项目: 湖北省科技厅 SARS 攻关项目[鄂科技发展(2003)28]; 武汉市科技局 SARS 攻关项目(20036101002-01, 20036101003-01)。

作者简介: 王汉中(1956-), 男, 湖北武汉籍, 博士, 主要从事动物和医学病毒研究。

接触者^[6]。

二 SARS 病毒的形态结构

冠状病毒粒子呈不规则形态, 略呈球形, 直径在 60~200nm。有囊膜, 囊膜表面覆盖有长 12~24nm 的突起 (即纤突或钉状物), 纤突末端呈球形, 纤突结构呈花瓣状, 纤突之间有较宽的间隔。由于纤突在病毒粒子的囊膜上有规则地排列成皇冠状故得名为冠状病毒。电子显微镜下的 SARS 病毒具有典型的冠状病毒形态学特征 (图 1)。图 2 为冠状病毒的模式图。



图 1 电镜下的 SARS 病毒

Fig. 1 SARS virus observed by electron microscope

(From Thoms G^[7])

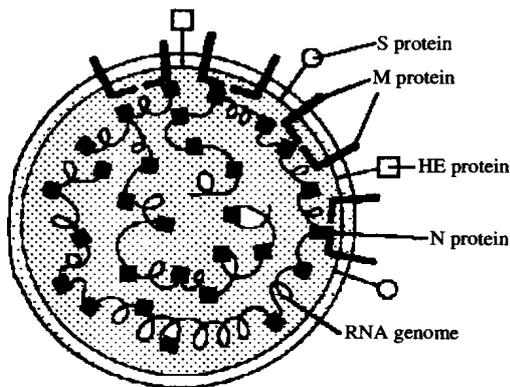


图 2 冠状病毒粒子的结构示意图

Fig.2 Patten of coronavirus particle

(From Microbiology&Immunology: BS3035 Updated:May 15)

三 SARS 病毒基因组的结构特征

冠状病毒的基因组为不分段的正链 ssRNA, 基因组大小在 27~30kb 之间, 是所有 RNA 病毒中最大的。其基因组以 5' 末端有一个帽状结构, 3' 末端 polyA 尾结构为其主要结构特征。

根据包括中国科学家在内的几个实验室公布 SARS-CoV 的全基因组序列的结果可以看出不同地区分离的 SARS-CoV 株的序列仅存在 24 个核苷酸不同的微小差异^[2]。SARS-CoV 的基因组全长为 29727 个核苷酸, G 或 C 含量 41%, 而其他冠状病毒的 G 或 C 的含量在 37%~42% 之间, 基因组成分呈典型的冠状病毒的特征。主要结构蛋白和复制酶基因的排列序列和其他冠状病毒一致。从 5' 至 3' 末端, 基因排列分别为复制酶 (Rep)、纤突蛋白 (S) 囊膜蛋白 (E)、膜蛋白 (M) 和核衣壳蛋白 (N) 的编码区, 在 5' 和 3' 末端含有短的非翻译区 (图 3)。

SARS-CoV 在细胞质内复制, 在敏感的宿主细胞内病毒基因组 5' 端最大的 ORF 编码一个大的多肽, 多肽合成后被病毒基因组自身编码的蛋白酶切割成几种病毒的非结构蛋白, 其中包括依赖 RNA 的 RNA 聚合酶和 ATPase 解旋酶, 随后这些功能蛋白负责复制病毒基因组和产生病毒结构蛋白。

SARS-CoV 的复制酶 1a (265-13398bp) 和复制酶 1b (13398-21485bp) 基因大小为 21.2kb (约占全基因组的 2/3)。在基因组长度和氨基酸序列两方面与其他冠状病毒一样保守。象其他冠状病毒那样, 一个 ORF 的位移可改变蛋白质编码区域, 已分离了 1a 和 1b 的 ORF。在复制酶基因的下流依次排列着 4 个 ORF, 分别为纤突蛋白 (S)、囊膜蛋白 (E)、膜蛋白 (M) 和核衣壳蛋白 (N)。没有发现在 2 组和某些 3 组冠状病毒中存在的 HE 基因。SARS-CoV 基因组的基因间隔区含有五个 ORF: S 和 E 基因之间两个重叠的 ORF 分别编码 X1 (274aa) 和 X2 (154aa) 两种蛋白质, M 和 N 基因之间含有分别编码 X3 (63aa) 和 X4 (122aa) 以及 X5 (84aa)。除此之外, 在 M 和 N 基因之间还存在两个较小 ORF 编码两个较小的多肽 (< 50aa)。

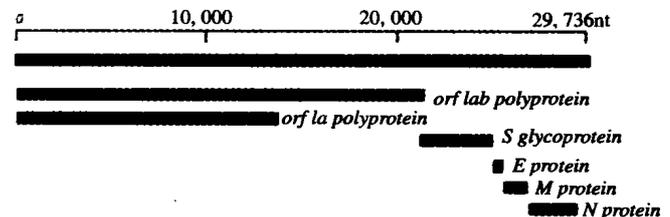


图 3 SARS-CoV 基因组的结构特征

Fig.3 Characteristics of SARS virus genome structure

具有 5' 末端帽结构和 3' 末端 polyA 尾结构的

SARS 病毒基因组可以直接作为 mRNA, 翻译成相关的功能蛋白和结构蛋白。病毒进入细胞后迅速以 (+) RNA 基因组的 5' 端 20kb 的序列为模板翻译成病毒多聚酶, 这种 RNA 聚合酶以 (+)RNA 基因组为模板合成全长的 (-) RNA。(-) RNA 被用来作为模板, 以套式转录 (Nested set of transcripts) 的方式产生不同大小和种类的 mRNA。所有新产生 mRNA 在 5' 端都具有相同的 72 nt 非翻译前导序列和同样的 3' Poly A 尾结构。每一种 mRNA 是单顺反子 (monocistronic), 最长的 mRNA 从基因的 5' 末端开始转录。这些大小不同的 mRNA 不是由拼接 (转录后的修饰) 而是在转录期间由多聚酶直接产生的。每一个基因之间存在一个重复序列 -UCUAAAC, 基因间序列同转录酶和细胞因子相互作用, 将前导序列拼接到每一 ORF 起始位点。然而, 最近有证据表明每个基因 5' 末端的转录调节序列 (TSR) 调节亚基因组 mRNA 的不连续转录。TSR 包括和其他冠状病毒相同的保守核心序列 5' -CUAAAC- 3'

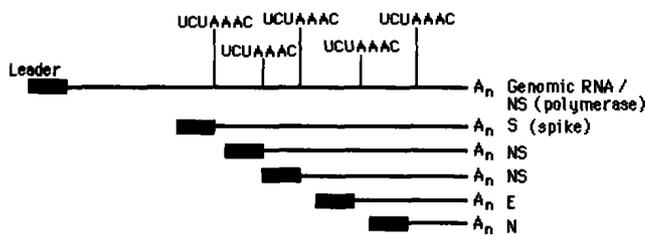


图 4 SARS-CoV 基因转录的模式图

Fig.4 Transcription pattern of SARS virus gene

(from: Microbiology&Immunology:BS3035 Updated:May 15)

四、SARS 病毒的结构蛋白和分子发育树

S 基因编码一个长 1255aa 的表面突起糖蛋白是冠状病毒的结构蛋白, S 蛋白中氨基酸的变化能急剧地改变病毒的毒力和宿主范围。在冠状病毒中成熟 S 蛋白插入在病毒的囊膜内, 构成暴露在病毒表面的主要蛋白。S 蛋白是主要的细胞受体结合蛋白和细胞融合蛋白, 也是重要的诱生中和抗体的抗原决定簇。S 蛋白的分子形态构成了这类病毒家族特征性的包膜子粒和冠状结构。

E (16117-26347nt) 基因编码 76aa 的蛋白质为小的囊膜蛋白。BLAST 和 FASTA 的比较明显地显

示 SARS 病毒同几种冠状病毒的多种囊膜蛋白相一致。蛋白质的 PFAM 分析显示所产生的蛋白有明显的 NS3_EnvE 蛋白质家族特征。InterProScan 分析表明这种蛋白是病毒囊膜成分, 其保守序列也在其他冠状病毒 (胃肠炎病毒和小鼠肝炎病毒) 中发现。

M (26398-27063nt) 基因编码一个 221aa 的蛋白质为主要膜糖蛋白。BLAST 和 FASTA 分析 M 蛋白明显地结合在大多数冠状病毒的基质糖蛋白上。S 糖蛋白同 M 蛋白在病毒装配的位点聚集结合, 形成病毒的囊膜。信号肽氨基酸的序列分析表明信号序列不可能被切割。TMHMM Tmpred 分析证明三个转膜螺旋结构的存在, 他们分别位于 15~37, 50~72 和 77~99 氨基酸残基位点。在病毒粒子内部有一个 21 个氨基酸残基的亲水结构域, 是同核衣壳相互作用的位点。

N 基因 (28120-29388nt) 编码一个大小为 422aa 的蛋白质是核衣壳蛋白。根据氨基酸的组成成分, N 蛋白带有较强的电荷, 在蛋白质分子中部有 7 个连续亲水残基。虽然冠状病毒 N 基因的核苷酸的同源性较低, 但在所有的冠状病毒 N 蛋白的氨基末端存在一个高度保守的氨基酸序列 (FYLLGTGP), SARS-CoV 同样如此^[8]。

大多数人冠状病毒不易在体外细胞培养中生长, 因此, 目前对人冠状病毒的研究开展的不多。幸运的是 SARS-CoV 能在 vero E6 细胞内繁殖并能引起明显的细胞病变。SARS-CoV 病毒能被用来作为研究冠状病毒的理想实验模型, 将极大推动冠状病毒的分子生物学研究。

Paul A^[9] 等依据 SARS-CoV 的核苷酸序列和氨基酸序列, 比较了 SARS-CoV 和其他已知冠状病毒的相互关系, 分别绘出不同冠状病毒复制酶、S、M、E、等基因的系统发育树的局部解析图, 发现这些基因的系统发育树竟然惊人的相似 (图 5)。这一结果证明 SARS-CoV 和以前所发现的 3 组冠状病毒没有紧密的相关性, 是一种新的冠状病毒。

五 结束语

在 SARS 爆发后短短的 4 个月内, 科学家不仅查清 SARS 的病原, 同时很快解析了病毒的全基因组序列, 取得了惊人的成就。但我们应该看到最终战胜 SARS 还有待以下研究取得重大进展: 1) 加快开发快速、特异和灵敏的临床诊断试剂, 建立早期预警预报系统, 有效防止和监督病毒病原的扩散。2) 尽快研制有效安全的疫苗和抗 SARS-CoV 的有效药物的开发, 为预防和治疗 SARS 提供有效

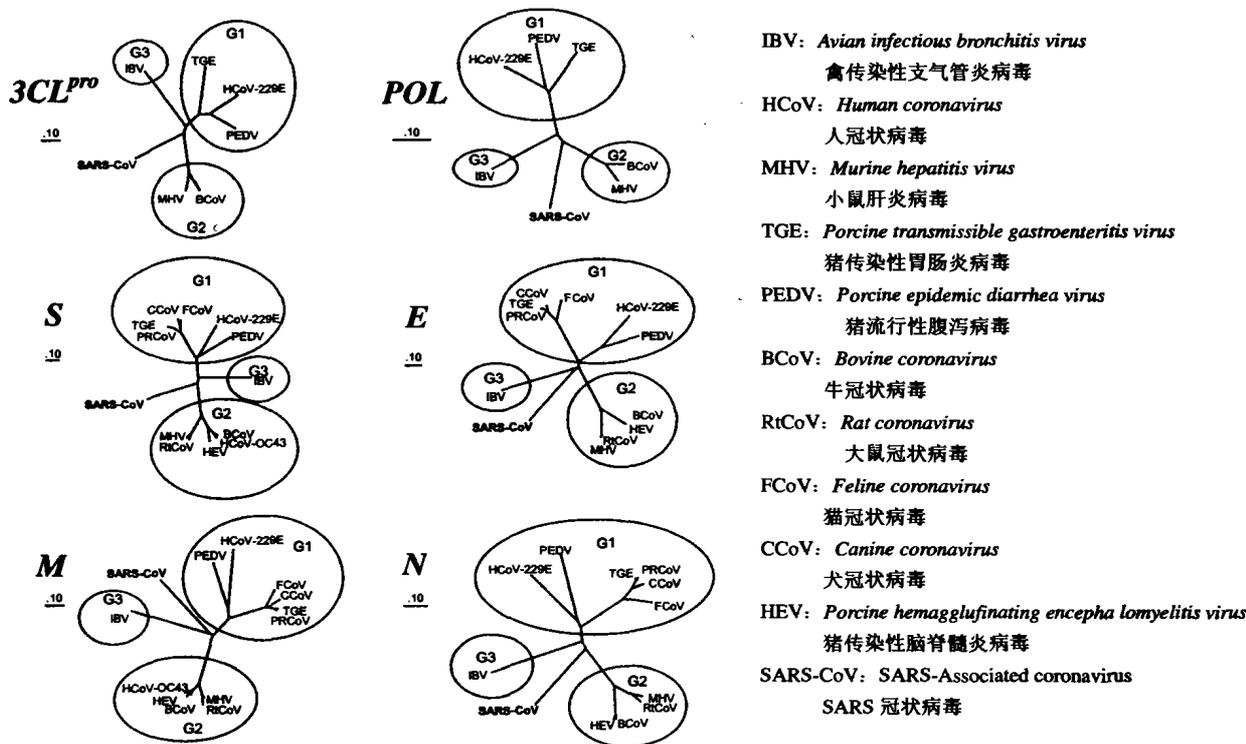


图 5 SARS 病毒和其他冠状病毒的不同基因的分子进化树

Fig.5 Phylogenetic tree of the family *Coronaviridae*
(From Paul A^[9])

手段。3) 利用分子生物学手段确定 SARS 病毒的自然宿主和病毒的起源。SARS 病毒来自何处, 是人冠状病毒和动物冠状病毒的重组还是人畜共患冠状病毒? 是动物冠状病毒经突变后造成人类急性传染的变种冠状病毒还是长期进化过程中产生的一种全新病毒? 这些都有待于科学家进一步探讨。

参考文献

[1] Peiris J S M, Lai S T, Poon M L L, *et al.* Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *The Lancet*, 2003, April 8,
 [2] Complete genomic sequences of three additional SARS-CoV isolates were available on GenBank[DB/OL]. CUHK-W1 ISOLATE, Hong Kong, accession no. ay274119; HKU-39849 isolate, Hong Kong, accession no. ay278491; Tor-2 strain, Canada, accession no. ay274119.
 [3] MacNaughton M R, Davies H A. *Coronaviridae*[A]. In: *Animal virus structure*[C]. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1986. P173-183.
 [4] Poutanen SM, Low D E, Henry B, *et al.* Identification of severe acute

respiratory syndrome in Canada[J/OL]. *The new England Journal of Medicine*, <http://www.nejm.org> on March 31, 2003.
 [5] Lee N, David M D, Hui M D, Wu A, *et al.* A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong[J/OL]. *The new England Journal of Medicine*, <http://www.nejm.org> on April 7, 2003.
 [6] Kenneth W, Tsang M D, Pak L, *et al.* A cluster of case of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong[J/OL]. *The new England Journal of Medicine*. <http://www.nejm.org> on March 31, 2003.
 [7] Thomas G, Ksiazek D V M, Erdman D, *et al.* A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome[J/OL]. *The new England Journal of Medicine*, <http://www.nejm.org> on April 10, 2003.
 [8] Marra M A, Jones S J M, Astell C R, *et al.* The genome sequence of the SARS-Associated Coronavirus [J/OL]. [http:// Scienceexpress/www.Scienceexpress.Org/1 may 2003/page 1/10.1126/science. 1085953](http://Scienceexpress/www.Scienceexpress.Org/1%20may%202003/page%201/10.1126/science.1085953).
 [9] Rota p A, Oberste M S, Monroe S S, *et al.* Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome[J/OL]. [http:// Scienceexpress/www.scienceexpress.org/1 may 2003/page 1/10. 1126/ science. 108595](http:// Scienceexpress/www.scienceexpress.org/1%20may%202003/page%201/10.1126/ science.108595).