

SARS 病毒的组织嗜性和宿主趋向性

赵百慧,钱冬萌,闫志勇,侯 伟,付 强,王 斌

(青岛大学医学院微生物学教研室,山东 青岛 266021)

[摘要] ①目的 了解 SARS 病毒的组织嗜性和宿主趋向性。②方法 分别将具有明确致病性的 22 种冠状病毒(包括 6 株 SARS 病毒)S 蛋白编码序列和 22 种冠状病毒全基因序列(包括 11 株 SARS 病毒)进行对排并绘制系统发生树,观察具有不同组织嗜性和宿主范围的冠状病毒所处的位置,预测 SARS 病毒的组织嗜性和宿主趋向性。③结果 在依据编码 S 蛋白序列和全基因序列所绘制的系统发生树中各冠状病毒的分支明确,与其在美国国立医学图书馆(NCBI)中的分类相一致。④结论 SARS 病毒是冠状病毒的一个新的变种,具有呼吸道上皮嗜性。

[关键词] SARS 病毒;冠状病毒属;嗜性;系统发生树;宿主趋向性

[中图分类号] R373 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-4488(2003)02-0118-04

A STUDY OF TISSUE TROPISM AND HOST RANGE OF SARS VIRUS ZHAO Bai-hui, QIAN Dong-meng, YAN Zhi-yong, et al (Department of Microbiology, Qingdao University Medical College, Qingdao 266021, China)

[ABSTRACT] **Objective** To study the host range and tissue tropism of SARS coronavirus. **Methods** Spike proteins' sequences, genome sequences of 22 different coronaviruses were aligned and the phylogenetic trees were made. The locations of coronaviruses with different host range and tissue tropism were observed and the tissue tropism and host range were predicted. **Results** Clear divergences of the 22 coronaviruses could be seen from the phylogenetic trees, the classification was coincidence with that of NCBI. **Conclusion** SARS virus is a new variant of coronavirus with tropism of respiratory-tract epithelium.

[KEY WORDS] SARS virus; coronavirus; tropism; phylogeny tree; host range

2002 年 11 月我国广东省报告第 1 例急性严重性呼吸系统综合征(SARS, 又称传染性非典型性肺炎)病人。2003 年 3 月世界卫生组织(WHO)宣布 SARS 病毒是引起非典型性肺炎的病原体^[1], 属冠状病毒科, 能在人群中引起以呼吸道症状为主兼有轻微胃肠道症状的高度接触性传染性疾病^[2]。SARS 病毒的基因为单正链 RNA, 长约 29.7 kb, 共有 11 个开放读码框架(ORF), 编码 23 种蛋白, 包括 4 种主要的结构蛋白: 核蛋白(N)、刺突蛋白(S)、膜蛋白(M)和小包膜蛋白(E)。其中, S 蛋白是突出在病毒表面的糖蛋白, 对病毒侵入宿主细胞至关重要。S 蛋白含有重要的病毒抗原表位, 其氨基酸的改变可显著影响病毒的毒力。而且, 不同冠状病毒株 S 蛋白的变异可导致其宿主范围和组织趋向性发生变异^[3]。本文对 SARS 病毒的组织嗜性和宿主趋向性进行研究, 现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 冠状病毒 S 蛋白序列和全基因序列来源

利用美国国立医学图书馆(NCBI)的 Taxo-

nommy Browser 得到所有冠状病毒(Coronavirus)的分类树, 从中挑选已明确的可引起胃肠道和呼吸道疾病的冠状病毒共 22 株(包括 6 株 SARS 病毒)。从 GenBank 中分别得到编码这 22 株冠状病毒 S 蛋白的序列。另从 GenBank 获得 22 株冠状病毒全基因序列, 包括 11 株最新公布的 SARS 病毒序列。其中, BCCA、TOR2 来自于加拿大, CDCP 来自于美国, CUHK、CUHK-Su10 来自于中国香港, SIN2500、SIN2679、SIN2748、SIN2774、SIN2677 来自于新加坡, BJ01 来自于中国北京。上述两组序列有部分重叠, 共计 37 株冠状病毒。见表 1。

1.2 序列比较

利用国际各大实验室公认的 CLUSTAL X1.81 软件分别对 22 株冠状病毒的 S 蛋白序列和 22 株冠状病毒的全基因序列进行对排。

1.3 系统发生树绘制

利用 Phylip 软件包(SEQBOOT、DNAPARE、CONSENSE、TREEVIEW 等), 采用最大简约性方法进行系统发生树的绘制。所有 Replicate 均选择大于 1 000。

2 结 果

2.1 序列分析结果

[收稿日期] 2003-05-23; **[修订日期]** 2003-06-10

[基金项目] 青岛市科技局重大科技专项(03-1-NY-15, 03-1-jy-17)

[作者简介] 赵百慧(1978-), 女, 硕士。

11 株来自世界各地的 SARS 毒株之间的差异较小,来自同一地区的毒株序列基本一致,只有个别碱基的不同,如来自新加坡的 SIN2500、SIN2677、SIN2679、SIN2748、SIN2774 这 5 株 29 711 个碱基中仅有 19 个不同,约占 0.64%。新型的 SARS 病毒与以前的 Group 2 冠状病毒差异最小,其同源性约为 67%。

2.2 系统发生树

22 种冠状病毒 S 蛋白的系统发生树分成三大

支:其中可导致胃肠道疾病(宿主包括猪、猫)的冠状病毒位于一支;可导致呼吸道疾病(宿主主要为家禽和鸟类)的冠状病毒与 SARS 病毒位于一支;可导致人肠道疾病的冠状病毒单独为一支(见图 1)。图 2 为利用 22 种冠状病毒的全基因序列绘制的系统发生树。不同地区分离到的 11 株 SARS 病毒形成一个分支,与其他不同属的冠状病毒并无交叉,鼠、牛、猪和禽类的冠状病毒形成不同的分支,彼此之间无交叉。

表 1 37 株冠状病毒的名称、NCBI 分类和相应 GenBank 序列号

名称	NCBI 分类	致病器官	GenBank 序列号
Avian infectious bronchitis virus isolate ZJ971			AF352311
Avian infectious bronchitis virus isolate AR/9093/01			AY113182
Avian infectious bronchitis virus isolate LH2/01/10	Avian infectious bronchitis virus	呼吸道(气管、 支气管)	AY180958
Avian infectious bronchitis virus isolate LX4			AY189157
Avian infectious bronchitis virus			NC_001451
Porcine transmissible gastroenteritis virus			AF298211
Porcine transmissible gastroenteritis virus			AF302263
Porcine epidemic diarrhea virus strain CV777			AF353511
Porcine epidemic diarrhea virus			AF500215
Transmissible gastroenteritis virus			TGA271965
Porcine epidemic diarrhea virus strain Chinju99			AY167585
Transmissible gastroenteritis virus isolate TH-98	Group 1 species	胃肠道(胃炎、 肠炎、腹泻)	AF494337
Porcine transmissible gastroenteritis virus			M94099
Transmissible gastroenteritis virus			NC_002306
Porcine epidemic diarrhea virus			NC_003436
Feline enteric coronavirus			X80799
Porcine transmissible gastroenteritis virus			Y15447
Porcine transmissible gastroenteritis virus			Y15449
Murine hepatitis virus strain 2			AF201929
Murine hepatitis virus strain ML-10			AF208067
Murine hepatitis virus	Group 2 species	鼠肝炎病毒可导 致肝炎,牛冠状病 毒致病不明	NC_001846
Bovine coronavirus strain Quebec			AF220295
Bovine coronavirus			NC_003045
Bovine coronavirus strain Mebus			BCU00735
Human enteric coronavirus 4408	Group 3 species	胃肠道	L07748
SARS coronavirus TOR2-BCCA			NC_004718
SARS coronavirus BJ01			AY278488
SARS coronavirus Urbani-CDCP			AY278741
SARS coronavirus CUHK-W1			AY278554
SARS coronavirus CUHK-Su10			AY282752
SARS coronavirus HKU-39849			AY278491
SARS coronavirus TOR2	SARS coronavirus	呼吸道症状为主, 兼有胃肠道症状	NC_004718
SARS coronavirus isolate SIN2500			AY283794
SARS coronavirus isolate SIN2677			AY283795
SARS coronavirus isolate SIN2679			AY283796
SARS coronavirus isolate SIN2748			AY283797
SARS coronavirus isolate SIN2774			AY283798

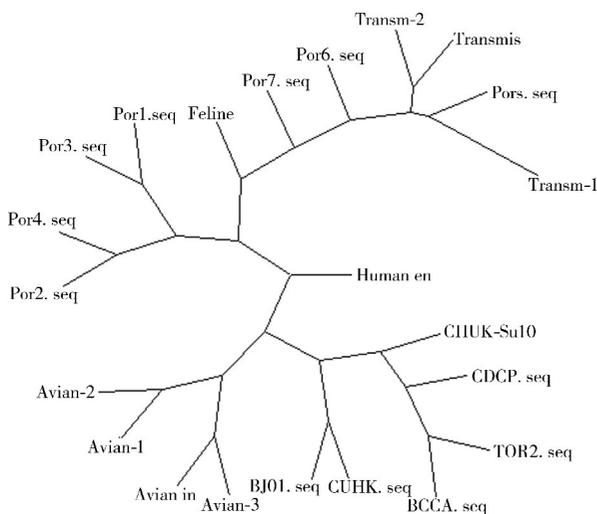


图 1 22 株冠状病毒 S 蛋白序列系统发生树

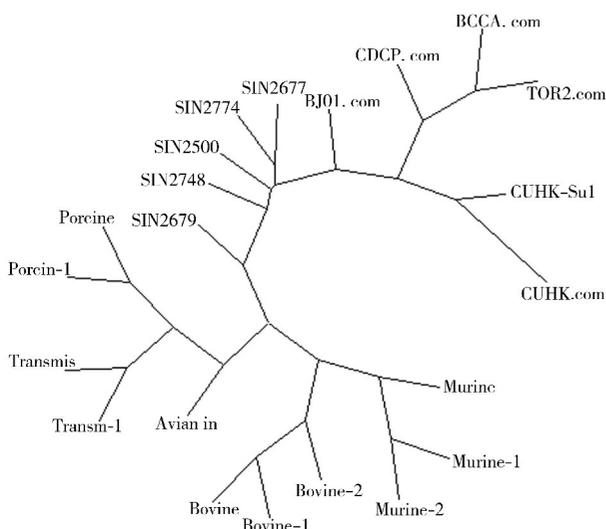


图 2 22 株冠状病毒全基因组序列系统发生树

3 讨 论

一种人类过去从未发现的新型冠状病毒目前被确认是引起传染性非典型肺炎即 SARS 的病原^[4]。WHO 已正式将此病毒命名为 SARS 病毒。它所引起的传染性非典型肺炎具有起病急、传播快、人群普遍易感和病死率较高等特点,特别是该病很快在我国香港以及世界 30 多个国家和地区流行,引起全球民众、各国政府和科研人员的高度关注。我们从冠状病毒 S 蛋白和全基因序列入手,查得 GenBank 上所有明确导致胃肠道和呼吸道疾病的冠状病毒 S 蛋白序列和已知的冠状病毒全基因序列,对其进行分析并绘制系统发生树以分析冠状病毒是否有较明确的组织嗜性和宿主范围,通过 SARS 病毒所处的

位置,推测其可能的组织嗜性和宿主来源。

冠状病毒有着广泛的组织嗜性,可引起人呼吸道、消化道、肝脏等多种脏器的疾病。主要的致病机制为利用病毒的 S 蛋白侵入各脏器的黏膜组织,引起相关疾病。因此认为其 S 蛋白具有组织嗜性^[3]。本文结果表明,导致胃肠道症状的冠状病毒与导致呼吸道症状的冠状病毒分别形成两个不同的大的分支,SARS 病毒与导致禽支气管炎的冠状病毒在同一分支中,这说明 SARS 病毒的 S 蛋白可能具有呼吸道上皮细胞的嗜性。同时还可以看出在 NCBI 分类中处于不同属的病毒形成不同的分支,这或许可以解释为何分类位于 Group 3 组的人肠道冠状病毒并未与 Group 1 组的猪和猫的冠状病毒形成一个大的分支。提示我们 S 蛋白也具有一定的宿主倾向性,而这种倾向性会对分析组织嗜性造成一定影响。为进一步探讨不同的冠状病毒是否具有明显的宿主范围,并避免研究基因组单一片段可能带来的偏差^[3],我们从全基因组入手对 22 株冠状病毒(包括 11 株 SARS 病毒)进行了研究。结果显示不同宿主的冠状病毒形成不同的分支,彼此之间没有交叉,11 株 SARS 病毒形成一个大分支,同一地区来源的 SARS 病毒距离较近,与同一地区 SARS 病毒基因序列变异较小的结果相一致。本文结果还显示,在序列分析中 SARS 病毒与 Group 2 冠状病毒距离最近,在系统发生树中 SARS 病毒与鼠肝炎冠状病毒和牛冠状病毒并无任何交叉,这或许可以说明 SARS 病毒并不是从其他动物宿主转移至人体,或由人源冠状病毒与动物源冠状病毒发生重组而产生的新型冠状病毒,而可能是人体内原本正常存在的某种冠状病毒在外界作用下发生突变所致。当然这一论点只是推测,有待进一步的研究证实。同时我们观察到尽管冠状病毒有较高的变异性,且易发生同源或异源重组,但对 11 株 SARS 病毒的序列比较表明,不同实验室鉴定的 SARS 病毒的基因序列基本一致,这不仅说明世界各地 SARS 病原体流行病学的一致性,而且还提示此病毒基因相当稳定。

SARS 病毒是新发现的冠状病毒变种,在其病原学、流行病学等方面仍存在很多问题尚待探讨。

本文只是从生物信息学的角度,运用相关软件对 SARS 病毒进行了粗略的分析。我们的研究得出以下三点结论:SARS 病毒基因相当稳定,基因变异率不高;SARS 病毒的 S 蛋白具有呼吸道上皮的

(下转第 122 页)

体质量,分次静注,连用 5 d 后减量为每天 2.00 mg/kg 体质量,再过 5 d 后减量为每天 0.50 mg/kg 体质量,连用 3 d 后减量至每天 0.25 mg/kg 体质量,继续用 3 d。如出现临床症状、胸部 X 线片或外周血淋巴细胞示进行性恶化,选用糖皮质激素冲击疗法,冲击剂量为甲基泼尼松龙 1 g/d 分次静脉注射,连续应用 2 d 后改为常规剂量^[9]。

4.2 抗病毒药物

目前尚无有效的抗冠状病毒药物,应用最多的抗病毒药物是利巴韦林,有报道对部分病人有效。治疗 SARS 的推荐疗程为 10~14 d,必须根据病人血清肌酐清除率调整剂量。具体应用方法为:①肌酐清除率 >60 mL/min 时,利巴韦林 1 200 mg/d,分次静注,连用 3 d 后,改为 2 400 mg/d,分 2 次口服,连续用 7~11 d;②肌酐清除率为 30~60 mL/min 时,利巴韦林 600 mg/d,分次静脉注射,连续应用 3 d 后,改为 1 200 mg/d,分 2 次口服,连续应用 7~11 d;③肌酐清除率 <30 mL/min 时,利巴韦林 300 mg/d,分次静脉注射,连续应用 3 d 后,改为 300 mg/d。但是目前缺乏其肯定疗效的证据。有报道认为许多病人出现的中毒样反应与其有关,因此应用时应注意其毒性反应,如溶血性贫血、肝功能及电解质异常等^[10]。

4.3 机械通气

应用机械通气是治疗重症 SARS 病人的重要措施之一,早期及时应用无创通气是抢救的关键。多数病人应用无创通气后可迅速改善血氧饱和度(SaO_2),使气管插管机会大为减少。当病人出现以下情况之一应及时应用无创通气:①呼吸 >30 min⁻¹;②吸氧 3~5 L/min, $\text{SaO}_2<0.95$;③病人自觉明显呼吸困难。应用持续气道正压通气(CPAP),压力 0.4~1.0 kPa,或压力支持通气+呼气末正压(PSV+PEEP),PEEP 水平一般为 0.4~1.0 kPa,吸气压力一般为 1.0~2.0 kPa。无创通气应持续应用,中间暂停时间应 $<15\sim 30$ min,直到病情缓解。应用无创通气治疗时,除密切注意病人呼吸、 SaO_2 变化及胸部 X 线影像变化外,还要注意对呼出气的消毒与灭菌,避免造成院内感染。如无创通气无效,病人 SaO_2 改善不满意, $\text{PaO}_2<8.0$ kPa,或 $\text{SaO}_2<0.90$,

或不能耐受无创通气者,应及时进行有创正压通气^[2,11]。

[关键词] 严重急性呼吸综合征;诊断;治疗学;综述

[中图分类号] R563.1 [文献标识码] A

[文章编号] 1672-4488(2003)02-0121-02

[参考文献]

- [1] 肖正伦,黎毅敏,陈荣昌,等.78 例传染性非典型肺炎病例临床分析[J].中华结核和呼吸杂志,2003,26:334.
- [2] 赵子文,张复春,许敏,等.2003 年春广州地区传染性非典型肺炎暴发流行 190 例临床分析[J].中华医学杂志,2003(待发表).
- [3] Donnelly CA, Ghani AC, Leung GM, et al. Epidemiological determinants of spread of casual agent of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong[J]. *The Lancet*, 2003, 361: 1761.
- [4] 曾庆思,陈苓,胡文清,等.传染性非典型肺炎的影像表现[J].中华结核和呼吸杂志,2003,26:347.
- [5] Nicolaou S, Al-Nakshabandi NA, Muller NL. Images in clinical medicine. Radiologic manifestations of severe acute respiratory syndrome[J]. *N Engl J Med*, 2003,348:2006.
- [6] 尹焯标,张复春,唐小平,等.93 例传染性非典型肺炎病人外周血 T 淋巴细胞亚群变化及临床意义[J].中华结核和呼吸杂志,2003,26:343.
- [7] 国家 SARS 防治紧急科技行动北京组.传染性非典型肺炎的血清学研究[J].中华结核和呼吸杂志,2003,26:339.
- [8] 林江涛.传染性非典型肺炎治疗中糖皮质激素应用的几个问题[J].中华结核和呼吸杂志,2003,26:326.
- [9] So LKY, Lau ACW, Yam LYC, et al. Development of a standard treatment protocol for severe acute respiratory syndrome[J]. *The Lancet*, 2003, 361:1615.
- [10] Koren G, King S, Knowles S, et al. Ribavirin in the treatment of SARS: a new trick for an old drug[J]? *CMAJ*, 2003,168: 7.
- [11] 中华医学会呼吸分会.传染性非典型肺炎临床诊治标准专家共识[J].中华结核和呼吸杂志,2003,26:323.

(本文编辑 马伟平)

(上接第 120 页)

嗜性;SARS 病毒是一个新的变种,可能由人体内正常的冠状病毒在外界选择作用下变异而来。

[参考文献]

- [1] Paul AR, Syeven O, Stephan SM, et al. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome[J]. *Science*, 2003,5(2):1126.
- [2] Mareo AM, Steven JM, Jones CR, et al. The genome sequence

of the SARS-associated coronavirus[J]. *Science*, 2003,5(2): 1308.

- [3] Yijun 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 [J]. *The Lancet*, 2003, 5(1):367.
- [4] WHO. Update 31-coronavirus never before seen in human is the cause of SARS[J]. *The Lancet*, 2003, 4(2):215.

(本文编辑 黄建乡)