

SARS 冠状病毒的起源研究进展*

赵 卫 龙北国** 张文炳

(南方医科大学公共卫生与热带医学学院微生物学教研室 广州 510515)

摘要: SARS 冠状病毒 (SARS-CoV) 是一种新现病毒, 可感染多种动物, 果子狸是人类 SARS-CoV 重要的动物宿主之一, 是已知较理想的实验动物模型。遗传因素在 SARS-CoV 的出现过程中起重要作用, 它很可能是哺乳动物和鸟类冠状病毒之间重组产生的新物种, 但发生基因重组不是 SARS 在人群中暴发的原因。

关键词: SARS 冠状病毒, 宿主, 起源

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 03-0138-04

Advanced in Origin of SARS Coronavirus*

ZHAO Wei LONG Bei-Guo** ZHANG Wen-Bing

(Department of Microbiology, Southern Medical University, Guangzhou 510515)

Abstract: SARS coronavirus is an emerging virus. A lot of animals could be infected by SARS-CoV and Himalayan palm civets, as one of important hosts, is an ideal animal model. Viral genetic factors have been implicated in the emergence of SARS-CoV, with the suggestion that this virus is a recombinant between mammalian and avian coronaviruses. However, the recombination is unlikely to explain the appearance of SARS in humans.

Key words: SARS coronavirus, Host, Origin

传染性非典型肺炎又称严重急性呼吸系统综合症 (severe acute respiratory syndrome, SARS), 是一种新现传染病。2003 年 1 月 2 日在广东省河源市首先被发现, 回顾性的流行病学调查表明, 2002 年 11 月 16 日发生在广东省佛山市的一宗非典型肺炎为首发病例。在经历了 2 个多月的始发期后, 扩散到我国内地 24 个省、市、自治区, 并波及全球 32 个国家和地区, 共造成 8,422 人发病, 916 人死亡。其中, 中国内地发病人数 5,327 例, 死亡 349 例。广东 1,512 例, 死亡 58 例, 死亡率 3.8%。其病原为一种新型冠状病毒——SARS 冠状病毒 (SARS coronavirus, SARS-CoV), 现已测定了来自世界不同国家和地区的数十株 SARS-CoV 基因组全序列^[1], 对重要蛋白的结构和性质也进行了深入研究。但 SARS-CoV 依然存在许多未解之谜, 如何起源就是其中人们迫切想知道答案的一个。

1 SARS-CoV 的动物模型

如果感染人的 SARS-CoV 来源于动物, 除了自然感染外, 应该可以实现天然宿主的人工感染, 从而建立动物模型。2003 年 4 月中旬, 荷兰 Erasmus 大学的研究人员^[2]把从 SARS 病人分离到的 SARS-CoV 接种于猕猴 (Cynomolgus macaques), 发现病毒可在猕猴肺组织中复制, 出现与人 SARS 相似的症状——严重炎症性损伤, 从而证明这种新型冠状病毒

* 广东省 SARS 科技攻关专项基金及广东省医学科技技术研究基金 (No. A2004378)

** 通讯作者 Tel: 020-61648307, E-mail: zhaowhexy@126.com

收稿日期: 2005-08-05, 修回日期: 2005-10-18

是导致 SARS 的病原,建立了 SARS 的第 1 个动物模型。国内学者^[3]用 SARS-CoV BJ-01 株接种食蟹猴和恒河猴,发现病毒能在所有猴体内复制,发生间质性肺炎,其病理学改变与人类感染 SARS-CoV 后肺部病变相似,但严重程度比人类轻得多。

将豚鼠、白化仓鼠、黑线仓鼠、大鼠和雏鸡等小动物以滴鼻途径感染 SARS-CoV BJ-01 株^[3],未出现任何临床症状和病理改变,从大鼠和豚鼠的肺组织中分别扩增出病毒核酸。把 SARS-CoV 喷到小鼠的鼻腔中^[4],小鼠虽然不发病,但病毒能在小鼠体内复制。人工感染 SARS-CoV 的家猫或雪貂可以传播给其它家猫或雪貂。以 SARS-CoV GZ01 和 BJ-01 株分别感染 10 只果子狸^[6],全都表现出持续发热、精神沉郁、食欲不振和攻击性显著降低等临床特点,并在呼吸道分泌物和消化道排泄物中检测到病毒。其临床表现、体内病毒增殖和排毒表征等明显优于其它 SARS-CoV 感染动物模型,是目前最理想的 SARS-CoV 感染动物模型。

从这些动物实验看,猴、雪貂、猫、小鼠、大鼠、豚鼠及果子狸等均可能被 SARS-CoV 感染,这些亲缘关系较远的动物模型的建立表明 SARS-CoV 可能有一个较广泛的储存在。

2 SARS-CoV 的自然宿主

2.1 早期 SARS 病例可能与接触动物有关 对广东省早期病例的资料分析表明^[7],2003 年 1 月以前的首发病例无明确接触史;佛山、中山、江门、广州、深圳等市首例之间均未能发现有流行病学意义的联系,广东省可追溯到的可能源头全部分布在珠三角和香港地区。早期 135 例无明确接触史的社区散发病例中,从事与动物相关职业(如厨师、酒家采购员、卖蛇者、卖鸽者等)者 11 例,占 8.14%,明显偏高。对广州市 3 家大型野生动物市场从业人员 SARS-CoV 抗体检测结果表明,经营野生畜类(狸、山猪)和家禽(鸡、鸭、鸽子)者阳性率明显高于其它从业人员,且有统计学意义^[8]。

2003 年 12 月发生的 4 例 SARS 病例中,3 例与同一经营果子狸的餐馆(TDL)有关^[7],其中一患者为该餐厅服务员。从 TDL 餐馆采集 6 只果子狸的 20 份标本,检测结果均为阳性,所扩增的基因序列与第 2 例患者(该酒店工作人员)的基因序列高度同源。对 TDL 餐馆的环境,如果子狸笼周围、笼表面、厨房、通风系统等处采样,采用 RT-PCR 法检测 SARS-CoV M、N 基因,在笼子表面和厨房分别检出 5 份和 1 份阳性。

这些调查资料提示 SARS-CoV 的最初宿主可能为动物,其中果子狸很可能充当了 SARS-CoV 传递给人的中介。

2.2 自然界的动物中可能存在 SARS-CoV 2003 年 5 月,广东省深圳市疾病预防控制中心和香港大学对广东省某野生动物市场中动物携带 SARS-CoV 的情况进行了研究,普查了多种动物,主要是哺乳动物,包括果子狸、猪獾、鼠獾、貉、海狸鼠、猫、兔等^[9]。结果从 6 只果子狸标本中分离到 3 株 SARS 样病毒,从 1 只貉标本中分离到 1 株 SARS 样病毒。对其中 1 株果子狸分离株进行了基因组全序列测定,发现与人类 SARS-CoV 有 99% 以上的同源性,其它病毒株的 S 蛋白与人类 SARS-CoV 则仅有 11 个氨基酸的差异。为揭示人及果子狸来源的 SARS-CoV 之间的分子差异,Song 等^[10]对 2003/2004 年度广州地区两种来源的 SARS-CoV 基因组序列进行了系统发生分析,发现该次 SARS 流行是 SARS-CoV 从动物传人人导致的独立事件。在总共 202 个单核苷酸突变(除单个突变外)中,有 17 个仅存在于果子狸分离株中。1 年时间内的不同地域果子狸

分离株中非同义突变/同义突变的核苷酸替换率高,提示果子狸中 SARS-CoV 蛋白进化进程非常快,与 2002~2003 年它们在人间传播时的适应过程很相似。许多基因突变,特别 S 基因的突变对发生从动物——人和人——人的传播可能非常重要。

中国科学院的研究人员^[11]在广西、广东、湖北和天津 4 个地区采集了 3 个科 6 个属 9 个种共 408 只蝙蝠的血样、粪便、咽喉分泌物,在菊头蝠属 4 个种的标本中发现 SARS-CoV 的抗体和基因,其中大耳菊头蝠显示 70% 以上的抗体阳性率。蝙蝠类 SARS-CoV 与人 SARS-CoV 的基因组序列同源性达 92%。香港大学^[12,13]也报道了类似的发现,在 2004 年夏季至 2005 年春季,分别于香港 11 处地点,捕捉 127 只蝙蝠、60 只啮齿类动物及 20 只猴子,采集呼吸道和粪便标本。结果从中华菊头蝠标本中分离出类似人的 SARS-CoV,全序列分析表明蝙蝠 SARS-CoV 和人 SARS-CoV 有 93% 氨基酸和 88% 核氨基酸序列同源。基因检测发现 39% 的中华菊头蝠肛门样本阳性。研究者认为菊头蝠可能有助于将病毒传染给其它动物,包括人类。

上述研究结果表明,野生或饲养动物中可能存在多种 SARS-CoV 宿主。蝙蝠更可能是 SARS-CoV 的自然宿主,但尚需更多的证据证明蝙蝠类 SARS-CoV 与人类 SARS 之间的关系。果子狸尽管可能是 SARS-CoV 最主要的易感宿主,但还不能据此认定果子狸是 SARS 的源头。广东人喜食果子狸已有相当长的时间,难以解释为什么以前没有引起人类 SARS,当然有可能是当 SARS 样病毒传给人时发生了变异或与未知病毒进行了重组,但也不能排除是人把 SARS-CoV 传给果子狸的可能性,也许它更可能只是 SARS-CoV 的扩增宿主。虽然还不能断定果子狸是 SARS 的源头,但在确认果子狸可携带 SARS 样病毒后,加强对果子狸的管理和检疫是必要的。

3 SARS-CoV 的出现是重组的结果吗?

越来越多的证据表明, RNA 病毒可以象突变一样通过重组产生适应性更好的毒株,冠状病毒就是这样的类群,已知其表面的刺突糖蛋白可发生重组。有研究者认为 SARS-CoV 可能是不同种冠状病毒间的重组体^[14],并已通过多种重组分析,提出多个重组过程,重组方案大致相同,即一个 1 组(如人冠状病毒 229E)或 2 组(如人冠状病毒 OC43 或鼠肝炎病毒)的哺乳动物冠状病毒与一个 3 组(如感染性支气管炎病毒)的鸟冠状病毒发生重组,产生以 SARS-CoV 为代表的较远进化种系。如在以复制酶多蛋白 1a 和刺突糖蛋白为靶构建的系统发生树上, SARS-CoV 是 2 组冠状病毒的姊妹组,因此这两类蛋白可能起源于哺乳动物;在以膜蛋白和衣壳蛋白为靶构建的系统发生树上, SARS-CoV 与 3 组冠状病毒最接近,因为这两类蛋白可能起源于鸟类。如果最终证实 SARS-CoV 确实是一个重组体,它将成为亲缘关系较远的遗传事件在病毒出现起主要作用的代表。

余振苏等^[15]建立了研究基因序列进化的随机替代模型,通过对 SARS-CoV 及其它 3 类冠状病毒基因组进行全序列分析,并计算保守的编码蛋白基因序列中同义替代位点的最近共同祖先序列以及分歧进化后的累计同义替代数目,发现 SARS-CoV 的进化时间约为 230 ± 35 年,与其它冠状病毒相对于它们最近共同祖先的进化距离相同。

对 SARS-CoV 的进化历史研究结果并不一致,以不同基因区段为靶可构建不同的系统发生树,因此应该慎重评价系统发生树对揭示重组过程的参考价值。首先已可确定的是 SARS-CoV 代表了一个独立的进化系统,理应作为冠状病毒的第 4 组,因为不论以

哪一个基因进行分析,它与已知的 1、2 和 3 组冠状病毒有着大致相当的距离^[16]。但也有些研究者认为它更可能与第 2 组哺乳动物冠状病毒分享一个祖先^[17]。其次,已构建的系统进化树没有排除不同组的冠状病毒间可能发生古老的重组事件,但还是有效地排除了 SARS 在人群中出现是由于重组的作用。这一观点主要通过将从人分离的 SARS-CoV 毒株和从果子狸分离的毒株的序列进行系统进化分析,比较它们在系统发生树上的位置,发现这两类病毒在氨基酸水平几乎没有差别(几乎完全相同),与其它组的冠状病毒相比,它们相互之间也更为接近。如果果子狸真是 SARS-CoV 的储存宿主,那么一定是 SARS-CoV 与其它冠状病毒重组发生很长时间后才转移到人群中。

目前已知的冠状病毒的样本量还很小,可能只是自然界中的冠状病毒的一个很小的子集。对这样一个小样本进行分析,必然难以发现 SARS-CoV 的真实进化历程,更难以确定其祖先是否与哺乳动物或鸟类冠状病毒有关。基于此,未来的一个主要任务应是获得更多冠状病毒的基因变异样本。仅根据现有资料判定 SARS-CoV 有一个重组史是不充分的,也没有什么线索显示重组在人类 SARS 出现过程中所起的作用。

4 结语

SARS-CoV 可感染多种动物,果子狸是人类 SARS-CoV 重要的动物宿主之一,是已知较理想的实验动物模型,但目前还不能确定果子狸就是将 SARS-CoV 传递给人类的自然宿主。严格管理野生动物市场,特别是果子狸市场,加强动物检疫,有利于防止 SARS 的重新爆发。

病毒性疾病对人类健康构成严重威胁。当前人口持续增加,人员流动日益频繁,新病毒如 SARS-CoV 的出现不可避免。尽管大多数情况下是由于生态改变才引发了病毒出现,但“SARS 事件”很明显是由于病毒发生了跨种属屏障传播造成的。迄今为止,SARS-CoV 如何起源尚处于推测阶段,病毒进化遗传学的研究有助于理解 SARS-CoV 这一新病毒出现的分子机制。

参考文献

- [1] The Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium. *Science*, 2004, **303** (5664): 1666 ~ 1669.
- [2] Fouchier R A, Kuiken T, Schutten M, *et al.* *Nature*, 2003, **423**: 240.
- [3] 刘伯华, 吴东来, 战大伟, 等. *微生物学报*, 2004, **44** (6): 711 ~ 716.
- [4] Enserink M. *Science*, 2003, **302** (5643): 213.
- [5] Martina B E, Haagmans B L, Kuiken T, *et al.* *Nature*, 2003, **425**: 915.
- [6] Wu D, Tu C, Xin C, *et al.* *J Virol*, 2005, **79** (4): 2620 ~ 2625.
- [7] 米伟. *现代预防医学*, 2005, **32** (7): 749 ~ 750.
- [8] 王鸣, 徐慧芳, 张周斌, 等. *中华流行病学杂志*, 2004, **25** (6): 498 ~ 500.
- [9] Guan Y, Zheng B J, He Y Q, *et al.* *Science*, 2003, **302** (5643): 276 ~ 278.
- [10] Song H D, Tu C C, Zhang G W, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102** (7): 2430 ~ 2435.
- [11] Li W, Shi Z, Yu M, *et al.* *Science*, 2005, **310** (5748): 676 ~ 679.
- [12] Lau S K, Woo P C, Li K S, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102** (39): 14040 ~ 14045.
- [13] Poon L L, Chu D K, Chan K H, *et al.* *J Virol*, 2005, **79** (4): 2001 ~ 2009.
- [14] Stavrinos J, Guttman D S. *J Virol*, 2004, **78** (1): 76 ~ 82.
- [15] 余振苏, 杨铸, 欧阳正清, 等. *北京大学学报(自然科学版)*, 2003, **39** (6): 809 ~ 814.
- [16] Rota P A, Oberste M S, Monroe S S, *et al.* *Science*, 2003, **300** (5624): 1394 ~ 1399.
- [17] Eickmann M, Becker S, Klenk H D, *et al.* *Science*, 2003, **302** (5650): 1504 ~ 1505.