

• 新型冠状病毒肺炎 •

人冠状病毒的研究现状与进展

马 洲^{1,2}, 曹国君¹, 关 明^{1,3,△}

(1. 复旦大学附属华山医院北院检验科, 上海 201907; 2. 上海健康医学院医学技术学院, 上海 201318; 3. 复旦大学附属华山医院检验医学科, 上海 200040)

摘 要:冠状病毒因其包膜表面有一圈形似日冕的棘突而得名, 广泛存在于自然界中, 是一种呼吸道病毒, 其宿主包括人类、脊椎动物和无脊椎动物。近年来冠状病毒(CoV)的频繁出现和感染暴发表明, 其已成为威胁人类健康的重要因素之一。自 1965 年分离出人 CoV 至今, 共发现了 7 种人 CoV 可使人类致病。从 2003 年的严重呼吸综合征(SARS)-CoV 到 2019 年武汉的新型冠状病毒(SARS-CoV-2), 均反映了 CoV 领域研究的重要性。由于病毒自身的结构特征及宿主众多的特点, 导致该病毒极易发生变异, 产生新类型的 CoV, 给疾病的防治带来了极大难度。近年来诸多学者对 CoV 进行了大量的研究, 包括 CoV 的流行病学调查、检测方法和治疗方案等方面, 本文拟对其研究现状进行综述。

关键词:人冠状病毒; 感染途径; 检测方法; 治疗方案

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.05.002

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2020)05-0518-05

文献标识码:A



1 冠状病毒概述

冠状病毒(CoV)属套氏病毒目, 冠状病毒科, 冠状病毒属, 为有包膜的正股单链 RNA 病毒, 直径为 80~120 nm, 约有 3 万个碱基组成, 其遗传物质是已知 RNA 病毒中最大的。维持如此大的基因组有赖于其含有大量的 3'-5'

核糖核酸外切酶(ExoN), ExoN 的结构域在病毒进化和基因组扩展的过程中能够纠正 RNA 的复制错误, 维持病毒的稳定性^[1]。冠状病毒由核衣壳蛋白(N 蛋白)、受体结合位点的刺突糖蛋白(S 蛋白)、小包膜糖蛋白(E 蛋白)、负责运输营养物质的膜糖蛋白(M 蛋白)、血凝素糖蛋白(HE 蛋白)及核糖核酸(RNA)构成。国际病毒分类命名委员会在 2012 年根据其遗传学差异和血清学特性将冠状病毒分为 α 、 β 、 γ 、 δ 四群, 其中 β 群冠状病毒又进一步分为 A、B、C、D 四个组。 α 、 β 两群易感染哺乳动物, 包含了 7 种对人类致病的冠状病毒, 分别为 HCoV-OC43、HCoV-229E、SARS-CoV、HCoV-NL63、HCoV-HKU1、MERS-CoV 和 SARS-CoV-2; 而 γ 、 δ 两群则主要感染禽类。

冠状病毒是一种常见的、易引发呼吸道疾病的病原体。在引起成人社区获得性肺炎的病毒中, 冠状

毒检出率与其他呼吸道病毒的检出率相似^[2]。其整个感染过程包括吸附入侵、基因合成、成熟病毒包装和病毒释放 4 个步骤。病毒的吸附入侵取决于病毒受体的特异性, 此过程主要依赖于病毒的 S 蛋白。S 蛋白属于 I 型跨膜糖蛋白, 可分为两个结构域: 受体结合亚基 S1 和膜融合亚基 S2。在病毒入侵过程中, S1 负责与宿主细胞表面的受体结合, 然后病毒进行附着, S2 负责融合宿主和病毒的细胞膜, 使病毒基因组进入宿主细胞^[3], 从而形成稳定的结合物, 达到感染宿主细胞的目的。

2 冠状病毒感染的临床表现与感染途径

目前已经发现 7 种致病性人冠状病毒, 它们能感染人类、牲畜和许多其他野生动物的呼吸系统、胃肠道、肝脏和中枢神经系统^[4]。其中严重呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)、中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)曾在人群中大范围传播流行, 证明了冠状病毒在动物间、人与人之间传播的可能性^[5]。研究表明, 蝙蝠身上能携带超过 100 多种病毒, 是许多高致病性病毒的天然宿主, 如狂犬病毒、埃博拉病毒、马尔堡病毒等, 对人类社会造成巨大威胁的 SARS-CoV 正是来自中华菊头蝠^[6]。在中国云南的野外蝙蝠群体中寄生了很多种 SARS 样冠状病毒, 这些病毒的基因重组, 随时可能导致下一次“SARS 疫情”的发生^[7]。2019 年武汉疫情中发现的新型冠状病毒(SARS-

专家简介:关明, 博士生导师、教授、研究员, NIH 博士后, 华山医院检验医学科主任、华山医院中心实验室主任、中华医学会检验医学分会常委兼秘书长、上海医学会检验医学分会主任委员、Clinica Chimica Acta 编辑、《中华检验医学杂志》副总编辑、《国际检验医学杂志》副总编辑、国家自然科学基金委二审专家、上海市优秀学术带头人、上海市领军人才、上海市医务青年管理十杰、上海市青年科技启明星、第三届“国之名医”, 主持 6 项国家自然科学基金项目, 在 Clin Cancer Res、Oncogene 等著名期刊上以第一或通信作者发表文章 50 多篇, 以第一完成人获得上海医学科技二等奖一项。△ 通信作者, E-mail: guanming88@yahoo.com。

本文引用格式:马洲, 曹国君, 关明. 人冠状病毒的研究现状与进展[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(5): 518-523.

CoV-2)就属于蝙蝠 SARS 样冠状病毒和 MERS-CoV 的病毒群,根据冠状病毒的系统发生树,SARS-CoV-2 与 bat-SL-CoVZC45(同源性达 85%以上)关系密切^[8]。研究显示,蝙蝠携带的 SARS 样冠状病毒除了可利用来自人类、果子狸及中华菊头蝠的血管紧张素转换酶 II (ACE2)受体之外,还可利用来自浣熊犬 ACE2 受体分子入侵细胞。这意味着将有更多种的传播途径跨宿主感染人类^[9]。同时,数据显示 ACE2 不仅在肺 AT2 细胞中高表达,也在回肠和结肠的吸收肠上皮细胞中表达。因此消化系统是 SARS-CoV-2 除了呼吸系统外存在的另一条潜在传播途径^[10]。除了呼吸道、消化道传播途径外,家庭聚集性传播也是很重要的影响因素,有研究报告了 1 例 1 户 7 人家庭中 6 人都罹患新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的案例,提示 SARS-CoV-2 具备人传人的能力^[11]。由于 SARS-CoV 的 S 蛋白和 M 蛋白具有极强的变异性,这为跨物种传播提供了重要的物质基础^[12],该病毒对于外界的抵抗能力和稳定性也强于一般的人冠状病毒。MERS-CoV 的中间宿主则是单峰骆驼,有 20% 的病例是由于患者接触单峰骆驼所导致的^[13]。除飞沫、直接接触传播之外,袁国勇教授的课题组用大量的实验数据证明,粪-口传播无论是在骆驼传染人类还是人类之间的相互传染中都是一条重要的 MERS-CoV 传播新途径^[14]。

7 种致病性人冠状病毒中 HCoV-OC43、HCoV-229E、HCoV-NL63、HCoV-HKU1 主要引起相对温和的急性上呼吸道感染症状,如咳嗽、发热、咽喉痛、流鼻涕等,患者起病症状轻微,可无发热症状,多数患者为轻、中度,预后良好。有研究表明,HCoV-HKU1 易感染免疫力低下人群,如老人、儿童,尤其是患有基础疾病的患者常因病情加重而住院^[15]。而 SARS-CoV、MERS-CoV、2019-nCoV 这 3 种病毒引起的病症则较为严重,在有原发疾病的前提下,会引起更严重的呼吸系统疾病,如急性呼吸窘迫综合征^[8]。由于 SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 都是以其他生物的 ACE2 为受体以达到感染宿主的目的^[16],而 ACE II 主要位于人肺部深处的肺细胞上,因此更易引发肺炎等重症疾病。MERS-CoV 的识别受体则为二肽激肽酶-4 (DPP4),DPP4 受体细胞在下呼吸道中比较常见,在上呼吸道比较少见,就能解释病毒为何更易导致肺部病变而不像一般感冒病毒那样仅侵犯鼻咽部。SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 临床症状极为相似,均会引起患者高热、咳嗽、进行性呼吸困难及低氧血症等症状,而胃肠道症状比较少见。研究表明只有 43.8% 的 SARS-CoV-2 感染者入院时存在发热的症状,87.9% 则在住院后出现发热症状^[17]。因此早期诊断时发热并不能作为筛查标准,应结合 CT 检查结果和其他临床症状进行综合判断。组织病理学检查中,患者肺部病变常表现为非特异性炎症反应,肺泡上皮细

胞严重脱落,肺泡间隔增宽,肺间质小动脉壁的损伤,都表明炎症反应在整个疾病过程中起着重要作用,患者可因呼吸衰竭而死亡。MERS-CoV 是继 SARS 后的又一种能引发人类严重呼吸道感染甚至死亡的病原体,病例多集中在中东地区。MERS-CoV 感染可产生高热、寒战、咳嗽、肌肉酸痛等症状,部分伴有腹泻腹痛、恶心呕吐等消化道症状。重症病例可在肺炎的基础上伴有其他并发症,如肝、肾衰竭等,这可能与 MERS-CoV 的受体 DPP4 在人体中分布较为广泛有关。与 SARS-CoV 患者相比,MERS-CoV 患者的病死率更高,因为该病毒可感染患者体内的 T 淋巴细胞并诱导其凋亡。而 SARS-CoV 的受体为 ACE2,且其在患者体内的表达量较少,因此 SARS-CoV 不会感染 T 淋巴细胞^[18]。

3 冠状病毒的检测

目前冠状病毒的检测主要有两个发展趋势:方法的多样性和多种方法互补联合使用。冠状病毒的主要检测方法有细胞培养、血清学检测、核酸检测、电镜检测等,具体介绍如下。

3.1 细胞培养 传统的细胞分离培养是在体外模拟体内环境获得大量细胞的过程,37 °C 模拟人体环境,待 75% 的细胞发生病变后,冻融细胞 3 次获得病毒。可利用非洲猴肾传代细胞(VERO E6)来培养 SARS 患者血液、粪便和呼吸道分泌物标本中的病毒^[19]。细胞培养的优点:此法是病毒检测的金标准,能顺利进行下一步对细胞的信号转导、合成代谢等特性的研究。缺点:多数细胞培养出现病变需要 5~10 d^[19],培养周期长,灵敏度低且不易观察,不能用于快速诊断,因此不能作为首选的检测手段。

3.2 血清学检测 目前血清学检测法包括免疫层析法、酶联免疫吸附试验(ELISA)等^[20]。

抗原、抗体检测是临床常用的初筛方法,例如免疫层析法和利用 MERS-CoV 的 N 蛋白建立的双抗体夹心 ELISA 法^[21],通过采集患者标本与已知抗体发生特异性结合来检测抗原。国际上常用的抗体检测方法是 ELISA,在抗原抗体结合反应的基础上,利用酶催化和信号放大作用,借助光学仪器进行病毒阴、阳性的判断。目前已有公司针对 SARS-CoV-2 研制出了 POCT 快速检测试剂盒,运用免疫胶体金层析技术对患者血清或全血标本中的病毒 IgM/IgG 抗体进行体外定性检测,可在 15 min 内得到结果。该方法的优点:试剂盒易于标准化和商品化,具有操作方便、快捷的特点,适用于隐性感染及大规模人群的筛查。同时,血清学检测不仅能作为感染诊断依据,还可以用于体内特异性抗体的变化监测和既往感染规律、人群易感程度等流行病学数据研究,为疾病的防治与疫苗研发提供参考依据。缺点:需要已知的特异抗原、抗体成分,而病毒种类繁多,难以完全满足抗原、抗体需求。而且从病毒的感染到抗体的产生存在窗口期,

容易出现假阴性,检测灵敏度相对较低。

3.3 核酸检测 核酸检测具有灵敏度高、特异性强的特点,已成为冠状病毒检测的主流方法。目前对检测区域的筛选和基因变异的分析是研究的重点,尤其是针对 SARS-CoV、MERS-CoV 这种具有巨大社会危害性的传染性病毒。

针对病毒核酸的检测,普遍应用的方法是实时荧光定量 PCR 法。它通过对标本中的特定核酸序列进行扩增获得足够的核酸数量后,通过荧光检测等常规方法进行检测^[22]。除此之外,目前有研究基于 Tn5 转染体具有直接分解 RNA/DNA 异源复合体的能力开发了一种转录组测序快速建库方法——Sequencing HEteRo RNA-DNA-hybrid (SHERRY)^[23]。与已有的其他方法相比,其建库的过程更简单,标本的用量更少,不仅可以用于高质量的单细胞转录组测序,也可以用于目前正在肆意蔓延的 SARS-CoV-2 的检测。牛培华等^[24]在 2014 年建立了一种实时荧光定量 PCR 毛细管电泳仪,单管内同时实现检测 6 种人类冠状病毒的检测,该检测方法具有良好的特异性与灵敏度。耿合员等^[25]发明了一种四重荧光定量检测试剂盒,能够同时检测 HCoV-229E、HCoV-NL63、HCoV-OC43 和 HCoV-HKU1 4 种病毒,具有良好的检测效果。这些试剂盒的出现使病毒的检测更加的方便、高效,但是目前 SARS-CoV-2 PCR 试剂盒的检测性能不尽人意。据 2020 年 1 月 30 日《人民日报》报道,天津 1 例新型冠状病毒患者,经 4 次核酸检测后才显示核酸结果阳性^[26]。有学者认为导致其阳性率低的因素有很多^[22,27],包括标本运输及采样不规范,核酸提取质量的差别,不同试剂盒之间的差异,扩增仪器的精密度,以及对于该病毒了解、认知较缺乏和无法进行定标质控等多方面因素。但并不能否定核酸检测对于 COVID-19 的价值,国家卫生健康委员会公布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)》中,核酸检测仍是确诊指标^[28]。

3.4 电镜检测 需要与其他方法相结合才能将电镜观察的优势最大化,如人类呼吸道病原体在人呼吸道上皮细胞培养基上繁殖后,与电子显微镜观察和全基因组测序相结合,能成功地检测出 SARS-CoV-2,并将其可视化。在此基础上,研究者获得了 3 个基因组,进一步设计了针对 SARS-CoV-2 基因组 ORF1ab、n 和 e 区的特异性、灵敏性较高检测方法^[29],用于检测临床标本中的病毒 RNA。电子显微镜检测的优点:可直接观察到病毒形态。缺点:需要先分离出病毒才能在镜下观察,且无法确认其基因型。

4 冠状病毒感染患者的治疗

对于冠状病毒感染患者的治疗,机制尚不明确,目前尚未研制出特效药,现有的治疗方案以对症和支持治疗为主。最近研究发现以下几种药物对冠状病

毒感染的治疗有一定效果。

4.1 腺苷类似物 腺苷类似物是一种化学合成的嘌呤和嘧啶类似物,在进入感染细胞后迅速被磷酸化,致使病毒的 RNA 聚合酶将药物产生的核苷三磷酸掺入延伸的 RNA 链中,引起链延伸终止,从而抑制病毒的复制。目前用于治疗慢性和急性病毒感染性疾病。例如 BCX4430 能够直接发挥作用,对包括 SARS-CoV 和 MERS-CoV 在内的多种 RNA 病毒具有体外抑制活性^[30]。

瑞德西韦(Remdesivir,又称 GS-5734)是一种具有药理活性的核苷三磷酸,以病毒的 RNA 聚合酶为靶点,能有效阻止病毒的 RNA 复制,目前已证明对 MERS-CoV 感染的控制有效^[31]。有研究显示该药物用于治疗感染病毒的恒河猴时,能够提高其生存率达 100%^[31]。因此 GS-5734 是一种非常有前景的广谱抗病毒药物。目前有研究对利巴韦林、喷昔洛韦、硝唑尼特、萘伐他汀、氯喹、GS-5734 和法匹拉维对 SARS-CoV-2 的抗病毒效果进行了分析。结果提示:GS-5734 和氯喹在控制 SARS-CoV-2 感染方面是非常有效的^[32]。

有研究者发现丙型肝炎病毒和冠状病毒的病毒基因组复制的机制类似,由此推断治疗丙型肝炎的药物索磷布韦/维帕他韦对包括 SARS-CoV-2 在内的冠状病毒也可能有良好的抑制作用^[30]。

4.2 萘莫司他 萘莫司他是一种丝氨酸蛋白酶抑制剂^[33],对于 S 蛋白介导的膜融合,如与跨膜蛋白酶丝氨酸 2(TMPS2)与 S 蛋白的融合,具有强力的抑制作用。1%浓度的萘莫司他就能有效抑制 MERS-CoV S 蛋白介导的膜融合,从而达到阻止病毒感染宿主的目的。

4.3 通过免疫机制治疗 抗病毒药物治疗范围狭窄,且容易产生耐药性,因此疫苗和免疫治疗是替代抗病毒药物较好的备选方案,疫苗是防止病毒传播的最佳保护措施,然而由于疫苗的开发要耗费大量的资金和时间,难度较大,因此利用自身免疫反应系统采取有效的治疗措施显得更加方便、快捷。

冠状病毒入侵人体免疫系统,感染巨噬细胞并激活分化 T 细胞后,免疫细胞及组织细胞大量释放细胞因子用于免疫反应扩增。在 SARS 患者肺间质浸润性炎症细胞中约有 80% 是 CD8⁺ T 细胞,CD8⁺ T 细胞具有细胞毒性,能清除感染细胞中的冠状病毒并诱导免疫损伤^[34],在抵抗病毒感染过程中发挥重要作用。在病毒感染过程中,CD8⁺ T 细胞并不会受到 SARS-CoV 的影响,CD4⁺ T 细胞则易受到 MERS-CoV 感染^[18]。还有研究表明,T 细胞对 S 蛋白和其他结构蛋白的反应具有持久性,此特点为将来疫苗的研发提供了突破口^[35]。

4.4 干扰素、抑制剂 干扰素是宿主的主要抗病毒分子,能够抑制病毒的传播,发挥免疫调节作用,促进

巨噬细胞对抗原的吞噬。因此,干扰素的产生对病毒在宿主体内能否存活有直接影响^[35]。研究发现应用干扰素 $\beta 1b$ 联合霉酚酸对 MERS-CoV 具有体外抗病毒活性,可以为 MERS 患者提供更具针对性的治疗方案^[36]。

洛匹那韦-利托那韦——一种用于治疗艾滋病毒的蛋白酶抑制剂,在体外试验中也显示对 MERS-CoV 有抑制作用^[37]。目前针对 SARS-CoV-2 开展的洛匹那韦和利托那韦联合应用的随机对照试验已经在指定医院展开,以评估洛匹那韦和利托那韦联合应用于 SARS-CoV-2 感染住院患者的疗效和安全性。

4.5 SARS-CoV-2 治疗方案 鉴于 SARS-CoV-2 是一种新出现的病毒,尚未开发出特效药,除了应用上述提到的抗病毒药物以外,目前以吸氧和辅助对症为主,有 38% 的患者接受了吸氧治疗^[17]。轻、中度患者应当注意隔离和卧床休息,监测各项指标,维持体内环境的稳定,留意血氧饱和度变化,根据相关实验室数据及时调整治疗方案。例如,有细菌感染出现时要及时给予抗菌治疗,但要避免盲目的抗菌药物治疗,尤其是广谱抗菌药物的联合应用要慎重。危重症病例的治疗原则是在对症治疗的基础上,防止并发症和继发性感染,并进行器官功能支持,同时,要注意加强患者的心理疏导,避免产生恐惧焦虑等负面情绪的影响。

5 冠状病毒感染的预防

针对冠状病毒的感染,目前尚缺乏有效的疫苗,因此了解其传播途径,并采取有效的预防措施至关重要。SARS-CoV-2 致病性要低于 SARS^[29],其死亡病例大多是有原发疾病且免疫力低下的人群,但其传播能力极强,有模型预测,武汉感染患者可能高达 75 800 例^[38]。目前被 SARS-CoV-2 感染的患者中,约 26% 的患者未去过武汉或接触武汉相关人员^[17],所以无法排除“超级传播者”的存在,因此切断传播途径、保护易感人群是目前能够控制疫情的最佳方案。SARS-CoV-2 与 2003 年 SARS 疫情相似,都与出售野生动物和肉类的市场有关^[29]。这给人们深刻的警示:未来要进一步规范市场管理,养成良好的生活习惯,一旦发现疫情,应及时切断传染源,把疫情控制在最小的范围内然后及时将其“消灭”^[38]。疫情期间不参加群体类活动,减少外出,防止发生聚集性感染事件,外出应正确佩戴口罩。加强室内空气的流通,勤洗手,保持个人良好的卫生习惯,不食用生食,尽量不接触野生动物,注重锻炼,增强体质和自身免疫力。此外,就医时应做好防护措施,避免交叉感染,医护人员要采取分级防护原则,避免院内感染的发生,上述措施有助于控制疫情进一步扩散。

6 展 望

由于冠状病毒的感染者缺乏特异性症状和体征,目前其致病机制还有待研究,缺乏有效的检测方法,

以及特效药物,疫苗的研究尚处于初级阶段。但冠状病毒具有较强的传染性和致病性,治疗难度大,目前主要以对症支持治疗为主,难以取得理想的治疗效果。此外,由于冠状病毒是一种 RNA 病毒,相应的错配修复机制不完善,易发生变异。冠状病毒很可能在频繁的变异中获得新的特性,例如感染新的宿主细胞类型或物种,将来可能会暴发新的疫情。冠状病毒感染不仅会对人类的生命安全构成威胁,还会对全球社会经济造成极大损失,需要“未雨绸缪”,积极应对。同时应对其流行病学和致病机制进行深入研究,积极研发新型特效药和疫苗,并开发出更有效的检测手段,把冠状病毒的威胁扼杀于“摇篮”阶段。

参考文献

- [1] OGANDO N S, FERRON F, DECROLY E, et al. The curious case of the nidovirus exoribonuclease: its role in rna synthesis and replication fidelity[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 1813.
- [2] 丁细霞, 陈满君, 潘玉先, 等. 420 例成人流感样患者呼吸道感染病毒感染及其主要病原体分布[J]. *现代预防医学*, 2017, 44(20): 3781-3785.
- [3] LI F. Structure, function, and evolution of coronavirus spike proteins[J]. *Annu Rev Virol*, 2016, 3(1): 237-261.
- [4] CHEN Y, GUO D. Molecular mechanisms of coronavirus RNA capping and methylation[J]. *Virol Sin*, 2016, 31(1): 3-11.
- [5] CUI J, LI F, SHI Z L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(3): 181-192.
- [6] FAN Y, ZHAO K, SHI Z L, et al. Bat coronaviruses in China[J]. *Viruses*, 2019, 11(3): 210.
- [7] 田明明, 魏雪玲, 杨兴, 等. 云南新现蝙蝠 SARS 样冠状病毒密码子偏性及其聚类分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2018, 34(12): 1079-1086.
- [8] CHEN Y, LIU Q, GUO D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis[J/OL]. *J Med Virol*, 2020, 21(1): 1-6 [2020-02-11]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jmv.25681>.
- [9] 郑梅, 郑双丽, 陈丹瑛, 等. 蝙蝠来源的重症急性呼吸综合征样冠状病毒 WIV1 刺突蛋白利用浣熊狗血管紧张素转换酶 II 受体侵入细胞能力的研究[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2019, 13(5): 370-376.
- [10] HAO Z, KANG Z J, GONG H Y, et al. The digestive system is a potential route of 2019-nCoV infection: a bioinformatics analysis based on single-cell transcriptomes[J/OL]. *bioRxiv*, 2020: 1-26 [2020-02-11]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.30.927806v1.full>.
- [11] CHAN J F, YUAN S, KOK K H, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a

- family cluster[J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 514-523.
- [12] 沈媚, 陈冰清, 于瑞嵩, 等. 冠状病毒 S 蛋白及其受体的结构和功能[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(10): 2452-2462.
- [13] CAUCHEMEZ S, NOUVELLET P, CORI A, et al. Unraveling the drivers of MERS-CoV transmission[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(32): 9081-9086.
- [14] ZHOU J, LI C, ZHAO G, et al. Human intestinal tract serves as an alternative infection route for Middle East respiratory syndrome coronavirus[J]. *Sci Adv*, 2017, 3(11): eaao4966.
- [15] 闫坤龙, 谢志萍, 高寒春, 等. 2009—2011 年南京地区儿童急性呼吸道感染人冠状病毒 HKU1 和 NL63 临床与流行病学特征[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2018, 32(6): 615-619.
- [16] GE X Y, LI J L, YANG X L, et al. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor[J]. *Nature*, 2013, 503(7477): 535-538.
- [17] GUAN W J, NI Z Y, Hu Y, et al. Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China[J/OL]. *medRxiv*, 2020: 1-30 [2020-02-11]. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.06.20020974v1>.
- [18] MACKAY I M, ARDEN K E. Middle East respiratory syndrome: An emerging coronavirus infection tracked by the crowd[J]. *Virus Res*, 2015, 202: 60-88.
- [19] 吴冰洁, 陆柔剑, 谭文杰. 病毒分离培养新技术及其应用[J]. *中国病毒病杂志*, 2017, 7(2): 154-158.
- [20] 马苗苗, 沈晓玲, 谭文杰. 中东呼吸综合征冠状病毒血清学检测方法研究进展[J]. *中国病毒病杂志*, 2018, 8(2): 156-160.
- [21] 王文玲, 杨韧, 宋倩倩, 等. 基于受体结合区(RBD)的 ELISA 在 MERS-CoV 抗体检测中的应用评价[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2019, 39(10): 763-770.
- [22] 王成彬. 关于新型冠状病毒核酸检测阳性率低的一点看法[EB/OL]. [2020-02-11]. <http://cslm.org.cn/cn/news.asp?id=76.html>.
- [23] DI L, FU Y, SUN Y, et al. RNA sequencing by direct tagmentation of RNA/DNA hybrids[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(6): 2886-2893.
- [24] 牛培华, 张晨, 陆柔剑, 等. 同时检测六种人类冠状病毒的单管多重 RT-PCR 方法的建立[J]. *中华预防医学杂志*, 2014, 48(5): 416-419.
- [25] 耿合员, 朱娜, 蔡丽萍, 等. 一种同时检测四种人冠状病毒的四重荧光定量检测试剂盒: CN201910520198. 9[P]. 2019-08-23.
- [26] 陶建, 王浩. 截至 1 月 30 日 6 时 天津市新增 1 例新型冠状病毒感染的肺炎确诊病例 确诊病例增至 28 例[EB/OL]. (2020-01-30) [2020-02-11]. <http://tj.people.com.cn/GB/n2/2020/0130/c375366-33750747.html>.
- [27] 莫茜, 秦炜, 傅启华, 等. 正确认识新冠病毒核酸检测的影响因素[J]. *中华检验医学杂志*, 2020, 43(00): E002-E002.
- [28] 国家卫生健康委办公厅. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)[EB/OL]. (2020-02-05) [2020-02-11]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202002/3b09b894ac9b4204a79db>.
- [29] ZHU N, ZHANG D, WANG W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(8): 727-733.
- [30] PRUIJSSERS A J, DENISON M R. Nucleoside analogues for the treatment of coronavirus infections[J]. *Curr Opin Virol*, 2019, 35: 57-62.
- [31] SHEAHAN T P, SIMS A C, GRAHAM R L, et al. Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses[J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(396): 3653.
- [32] WANG M, CAO R, ZHANG L, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro[J/OL]. *Cell Res*, 2020: 1-3 [2020-02-11]. <https://www.nature.com/articles/s41422-020-0282-0>.
- [33] YAMAMOTO M, MATSUYAMA S, LI X, et al. Identification of nafamostat as a potent inhibitor of middle east respiratory syndrome coronavirus s protein-mediated membrane fusion using the split-protein-based cell-cell fusion assay[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(11): 6532-6539.
- [34] MALOIR Q, GHYSEN K, VON FRENCKELL C, et al. Acute respiratory distress revealing antisynthetase syndrome[J]. *Rev Med Liege*, 2018, 73(7/8): 370-375.
- [35] NG O W, CHIA A, TAN A T, et al. Memory T cell responses targeting the SARS coronavirus persist up to 11 years post-infection[J]. *Vaccine*, 2016, 34(17): 2008-2014.
- [36] CAO L, JI Y, ZENG L, et al. P200 family protein IFI204 negatively regulates type I interferon responses by targeting IRF7 in nucleus[J]. *PLoS Pathog*, 2019, 15(10): e1008079.
- [37] PRUIJSSERS A J, DENISON M R. Nucleoside analogues for the treatment of coronavirus infections[J]. *Curr Opin Virol*, 2019, 35: 57-62.
- [38] WU J T, LEUNG K, LEUNG G M. Nowcasting and forecasting the potential domestic and international spread of the 2019-nCoV outbreak originating in Wuhan, China: a modelling study[J/OL]. *Lancet*, 2020: 1-9 [2020-02-11]. [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30260-9/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30260-9/fulltext).

(收稿日期: 2020-02-12 修回日期: 2020-02-20)