

人类高致病性冠状病毒的增殖和传播机制研究进展

何叶艳¹, 郑婵颖^{2,3,4}

1. 浙江农林大学动物科技学院·动物医学院, 浙江 杭州 311300
2. 浙江大学医学院系统神经与认知科学研究所, 浙江 杭州 310029
3. 浙江大学生物医学工程与仪器科学学院 浙江大学生物医学工程教育部重点实验室, 浙江 杭州 310027
4. 浙江省心脑血管检测技术与药效评价重点实验室, 浙江 杭州 310027

[摘要] 严重急性呼吸系统综合征病毒(SARS-CoV)、中东呼吸综合征病毒(MERS-CoV)和严重急性呼吸综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)是目前已知的三种人类高致病性冠状病毒,由非结构蛋白、结构蛋白和附属蛋白组成。病毒粒子通过冠状病毒的刺突糖蛋白(S蛋白)识别宿主受体,以膜融合方式进入宿主细胞,通过大型复制转录复合体在宿主细胞内复制,并通过干扰和抑制宿主的免疫应答来促进增殖。人类高致病性冠状病毒的宿主是人和脊椎动物,病毒粒子通过飞沫、接触、气溶胶等途径感染肺部细胞,也可能通过消化道、尿液、眼部等其他途径传播。本文基于现有研究结果讨论人类高致病性冠状病毒的增殖和传播机制,以期为阻断其传播和致病提供依据。

[关键词] 冠状病毒;严重急性呼吸系统综合征病毒;中东呼吸综合征病毒;严重急性呼吸综合征冠状病毒2;2019冠状病毒病;病毒复制;传播

[中图分类号] R373.1 **[文献标志码]** A

Replication and transmission mechanisms of highly pathogenic human coronaviruses

HE Yeyan¹, ZHENG Chanying^{2,3,4} (1. College of Animal Science and Technology · College of Veterinary Medicine, Zhejiang Agriculture and Forestry University, Hangzhou 311300, China; 2. Interdisciplinary Institute of Neuroscience and Technology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310000, China; 3. College of Biomedical Engineering and Instrument Science, Key Laboratory of Biomedical Engineering of Ministry of Education, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China; 4. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Cardio-Cerebral Vascular Detection Technology and Medicinal Effectiveness Appraisal, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

收稿日期:2020-03-23 接受日期:2020-04-03 在线优先出版日期:2020-04-16

第一作者:何叶艳(1997—),女,大学生,主要从事动物科学研究;E-mail: yeyanhe1997@163.com; <https://orcid.org/0000-0001-9558-9572>

通信作者:郑婵颖(1978—),女,博士,副研究员,硕士生导师,主要从事脑功能和蛋白质分子机制研究;E-mail: zhengchanying@zju.edu.cn; <https://orcid.org/0000-0001-8389-2101>

Corresponding author: ZHENG Chanying, E-mail: zhengchanying@zju.edu.cn, <https://orcid.org/0000-0001-8389-2101>

[Abstract] The three known human highly pathogenic coronaviruses are severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV), Middle East respiratory syndrome coronavirus, (MERS-CoV), and severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Human highly pathogenic coronaviruses are composed of non-structural proteins, structural proteins and accessory proteins. Viral particles recognize host receptors via spike glycoprotein (S protein), enter host cells by membrane fusion, replicate in host cells through large replication-transcription complexes, and promote proliferation by interfering with and suppressing the host's immune response. Human highly pathogenic coronaviruses are hosted by humans and vertebrates. Viral particles are transmitted through droplets, contact and aerosols or likely through digestive tract, urine, eyes and other routes. This review discusses the mechanisms of proliferation and transmission of highly pathogenic human coronaviruses based on the results of existing research, providing basis for future study on interrupting the transmission and pathogenicity of human highly pathogenic coronaviruses.

[Key words] Coronavirus; Severe acute respiratory syndrome coronavirus; Middle East respiratory syndrome coronavirus; Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; Corona virus disease 2019; Virus replication; Transmission

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2020,49(2):??-??.]

冠状病毒是自然界广泛存在的一大类病毒,病毒包膜外周有冠状排列的纤突。冠状病毒最早从鸡身上分离得到。1965年,Tyrrell和Bynoe第一次从人身上分离出冠状病毒^[1]。冠状病毒属于套式病毒目(Nidovirales),冠状病毒科(Coronaviridae),冠状病毒亚科(Coronavirinae),冠状病毒属(Coronavirus)^[2]。2014年,国际病毒学分类委员会将冠状病毒科分为四个属,即 α 、 β 、 γ 和 δ 属^[3]。 α 和 β 属的冠状病毒能够引起人类感染, γ 和 δ 属主要引起禽类感染。其中 β 属冠状病毒又可分为四个独立的亚群,即A、B、C和D亚群。在2019冠状病毒病(corona virus disease 2019, COVID-19)出现之前,能引起人类感染的六种冠状病毒分别为人冠状病毒229E(human coronavirus 229E, HCoV-229E)、人冠状病毒OC43(human coronavirus OC43, HCoV-OC43)、严重急性呼吸综合征冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV)、人冠状病毒NL63(human coronavirus NL63, HCoV-NL63)、人冠状病毒HKU1(human coronavirus HKU1, HCoV-HKU1)和中东呼吸综合征冠状病

毒(Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV)。其中HCoV-229E与HCoV-NL63属于 α 属冠状病毒,HCoV-OC43和HCoV-HKU1属于 β 属冠状病毒A亚群,SARS-CoV属于 β 属冠状病毒B亚群,MERS-CoV属于 β 属冠状病毒C亚群。HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-NL63和HCoV-HKU1四类冠状病毒通常引起普通感冒;SARS-CoV引起2002—2003年中国广东省严重急性呼吸道综合征^[4];MERS-CoV引起2012年沙特阿拉伯中东呼吸综合征^[5],两者均会感染下呼吸道,常常导致人类严重的呼吸综合征^[6]。2019年发现的严重急性呼吸综合征冠状病毒2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)也属于 β 属冠状病毒,现已被鉴定为第七种可以引起人类感染的冠状病毒。

1 人类高致病性冠状病毒的发现

1.1 SARS-CoV

2002年11月,中国佛山出现了第一例严重急性呼吸系统综合征,该病由SARS-CoV引起^[7]。根据美国疾病预防控制中心的数据,SARS总计

确诊病例 8273 例,死亡 775 例,病死率为 9%,大多数病例和死亡病例都发生在中国^[8],其中老年人更容易患 SARS,且病死率超过 50%。研究人员认为,SARS-CoV 来源于蝙蝠,其所致严重急性呼吸系统综合征为人畜共患传染病^[9],潜伏期为 2~14 d(平均 4 d),临床症状表现为高热、畏寒、头痛、咳嗽,肺部出现传染性非典型肺炎,重型病例出现急性呼吸窘迫综合征、器官功能衰竭等。SARS 的主要传播方式为近距离飞沫传播和直接接触传播^[10],存在超级传播事件。有调查显示,中山大学附属第二医院的医务人员在与一名患者接触后,出现了第一、二、三代患者,最终有 81 名医护人员确诊感染^[11]。

1.2 MERS-CoV

2012 年 6 月,沙特阿拉伯一名男子死于急性肺炎和肾功能衰竭。从他的痰液中分离出的冠状病毒^[12]。2015 年,MERS 以人传人的方式在韩国流行。根据 WHO 公布的数据,截至 2019 年 11 月 30 日,MERS 共确诊 2494 例,死亡 858 例,病死率为 34%^[13]。该病潜伏期为 2~15 d(平均 5 d),临床早期表现为发热、咳嗽、呼吸急促、肺炎,肺部病变以严重肺炎为主,重型病例出现急性呼吸窘迫综合征、器官衰竭等。相比较而言,MERS 患者比 SRAS 患者出现消化道症状和急性肾损伤的比例更高,器官衰竭也发生的更早^[14-16]。MERS 同样也存在超级传播者,据报道韩国 1 例患者感染 85 例^[17]。

1.3 SARS-CoV-2

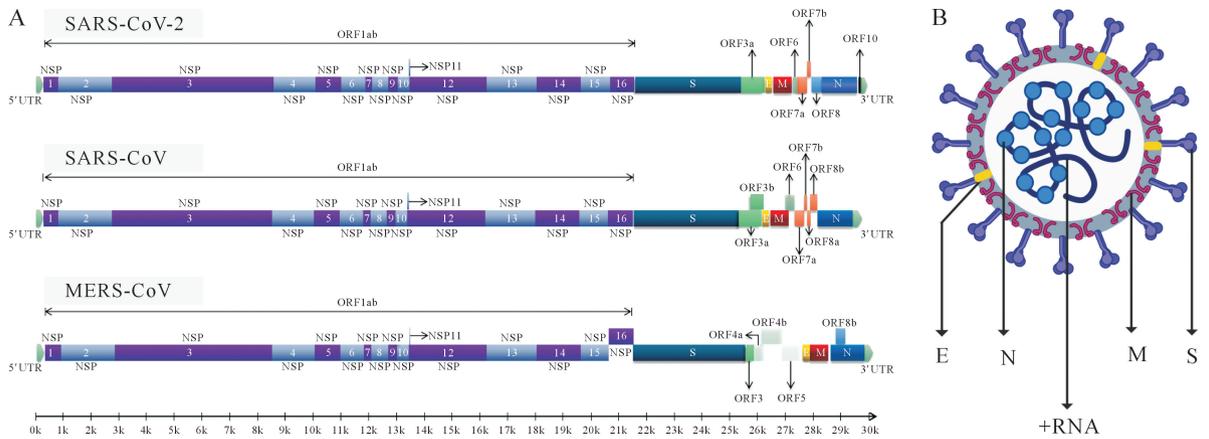
2020 年 1 月 9 日,武汉出现中国首例 COVID-19 死亡病例。截至 2020 年 4 月 8 日,中国累计确诊 81 865 例,治愈 77 370 例,死亡 3335 例^[18];境外国家累计确诊逾 137 万例,治愈逾 23 万例,死亡近 8 万例。基于目前的流行病学调查结果,该病潜伏期为 1~14 d,多为 3~7 d。临床表现以发热、干咳、乏力为主要表现,少数患者伴有鼻塞、流涕、咽痛、肌痛和腹泻等症状。重型患者多在发病一周后出现呼吸困难和/或低氧血症,严重者可快速进展为急性呼吸窘迫综合征、脓毒症休克、难治性代谢性酸中毒、出凝血功能障碍及多器官功能衰竭等。值得注意的是重型、危重型患者病程中可为中低热,甚至无明显发热;轻型患者仅表现为低热、轻微乏力等,无肺炎表现;部分患者甚至无任何临床表现。多数患者预后良好,

少数患者病情危重,特别是高龄且合并基础疾病的患者^[19],儿童病例症状相对较轻^[20]。与 SARS、MERS 比较,COVID-19 的发病人多、全球覆盖率高,但病死率低于前两者。有研究者对 SARS-CoV-2 的基本再生数(R_0 值)进行估计, R_0 的估计值为 3.77(95%CI:3.51~4.05)~6.47(95%CI:5.71~7.23)^[21-22]。

2 人类高致病性冠状病毒的结构

SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 都属于 β 属冠状病毒 B 亚群^[23],两者同源性超过 80%。MERS-CoV 属于 C 亚群,与 SARS-CoV-2 的同源性超过 50%^[24-25]。这三种人类高致病性冠状病毒都呈球形或卵圆形。SARS-CoV 病毒粒子直径为 80~120 nm,基因组全长约 29.7 kb;MERS-CoV 病毒粒子直径为 60~220 nm,基因组全长约 30.1 kb;SARS-CoV-2 病毒粒子直径为 60~140 nm^[26],基因组全长约 29.9 kb(图 1A)。它们的基因组 RNA 均由复制酶基因、结构基因和附属基因组成。位于基因组 5'端且占基因组全长三分之二的序列是复制酶基因,为开放阅读框(open reading frame, ORF)1ab,可编码两种多聚蛋白,即多聚蛋白 1a 和多聚蛋白 1ab,这两种蛋白与病毒 RNA 的复制和转录有关。位于基因组 3'端且约占全长三分之一的序列是结构基因,可编码病毒的四种结构蛋白:刺突糖蛋白(spike glycoprotein, S)、小包膜蛋白(envelope protein, E)、包膜蛋白(membrane protein, M)和核衣壳蛋白(nucleocapsid protein, N)(图 1B)。附属基因存在于结构基因之间,编码附属蛋白,其对于病毒的装配并非必需^[27]。

病毒通过在宿主体内复制和转录以达到自我增殖的目的,该过程需要巨大的复制转录复合体。人类高致病性冠状病毒的复制转录复合体由 16 个成熟的非结构蛋白(non-structure protein, NSP)组装而成。以 SARS-CoV-2 为例,其非结构蛋白功能如下:NSP1 是前导蛋白;NSP2 目前不详,在其他冠状病毒中可与宿主细胞相互作用,抑制早期宿主免疫反应;NSP3 据预测有磷酸酯酶和木瓜样蛋白酶活性,在其他冠状病毒中参与形成复制转录复合体支架蛋白;NSP4 和 NSP6 均含跨膜区,在其他冠状病毒中可将复制转录复合体锚定在质膜上;NSP5 具有 3C 样蛋白酶活性,介导



A: SARS-CoV-2, SARS-CoV 和 MERS-CoV 基因组结构示意图。在 SARS-CoV-2、SARS-CoV 和 MERS-CoV 基因组中, ORF1ab 为复制酶基因, 可编码两个多聚体蛋白 1a 和 1ab, 1a 和 1ab 经蛋白酶裂解, 产生 16 个非结构蛋白。结构基因可依次编码 S、E、M、N 这四种结构蛋白。附属基因在三个冠状病毒分子的位置不同, 可编码附属蛋白。B: SARS-CoV-2、SARS-CoV 和 MERS-CoV 颗粒结构示意图。S、M、E 三种结构蛋白位于病毒包膜上, N 蛋白位于包膜内, 与病毒基因组 RNA 结合。SARS-CoV-2: 严重急性呼吸综合征冠状病毒 2; SARS-CoV: 严重急性呼吸综合征冠状病毒; MERS-CoV: 中东呼吸综合征冠状病毒; NSP: 非结构蛋白。

图 1 SARS-CoV-2、SARS-CoV 和 MERS-CoV 的结构(在 Biorender 网站绘制)

Figure 1 Schematic illustration of SARS-CoV-2, SARS-CoV and MERS-CoV genomes

NSP4 下游的剪切, 对三维结构起决定性作用; NSP7 目前不详, 在其他冠状病毒中可能与病毒复制的调节、转运和病毒粒子的组装有关; NSP8 目前不详, 在其他冠状病毒中可延伸带有引物的 RNA 模板; NSP9 是单链 RNA 结合蛋白, 有稳定新生核酸的作用; NSP10 调节转录, 是生长因子样蛋白; NSP11 目前不详; NSP12 有 RNA 依赖性 RNA 聚合酶活性; NSP13 是锌结合结构域, 有核苷水解酶/解旋酶活性和 RNA5' 三磷酸酶活性; NSP14 有 3'→5' 核糖核酸外切酶活性, 参与 RNA 帽子的形成; NSP15 具有尿苷酸特异性核酸内切酶活性; NSP16 具有 2'-O-甲基转移酶活性, 介导腺苷甲硫氨酸的甲基转移到第一个转录的核苷酸上, 也参与 RNA 帽子的形成^[28]。

四种结构蛋白在病毒复制周期中有不同的功能。S 蛋白位于病毒表面, 以三聚体的形态存在, 每个单体分为胞外区、跨膜区和胞内区。S 蛋白由 S1 和 S2 两个亚基构成。S1 亚基位于 S 蛋白的氨基端, 属于胞外区, 包含受体结合结构域, 可特异性识别宿主受体并与其结合^[29]。S2 亚基位于 S 蛋白的羧基端, 包括胞外区、跨膜区和胞内区。S2 亚基的胞外部分包含融合肽段和两个疏水螺旋重复区 (heptad repeat, HR) HR1 和 HR2, 其主要功能是介导病毒与宿主的膜融合。E 蛋白是最小的结构蛋白, 也是最神秘的, 由 76~109 个氨基酸组成。在病毒复制周期中, 虽然 E 蛋白在

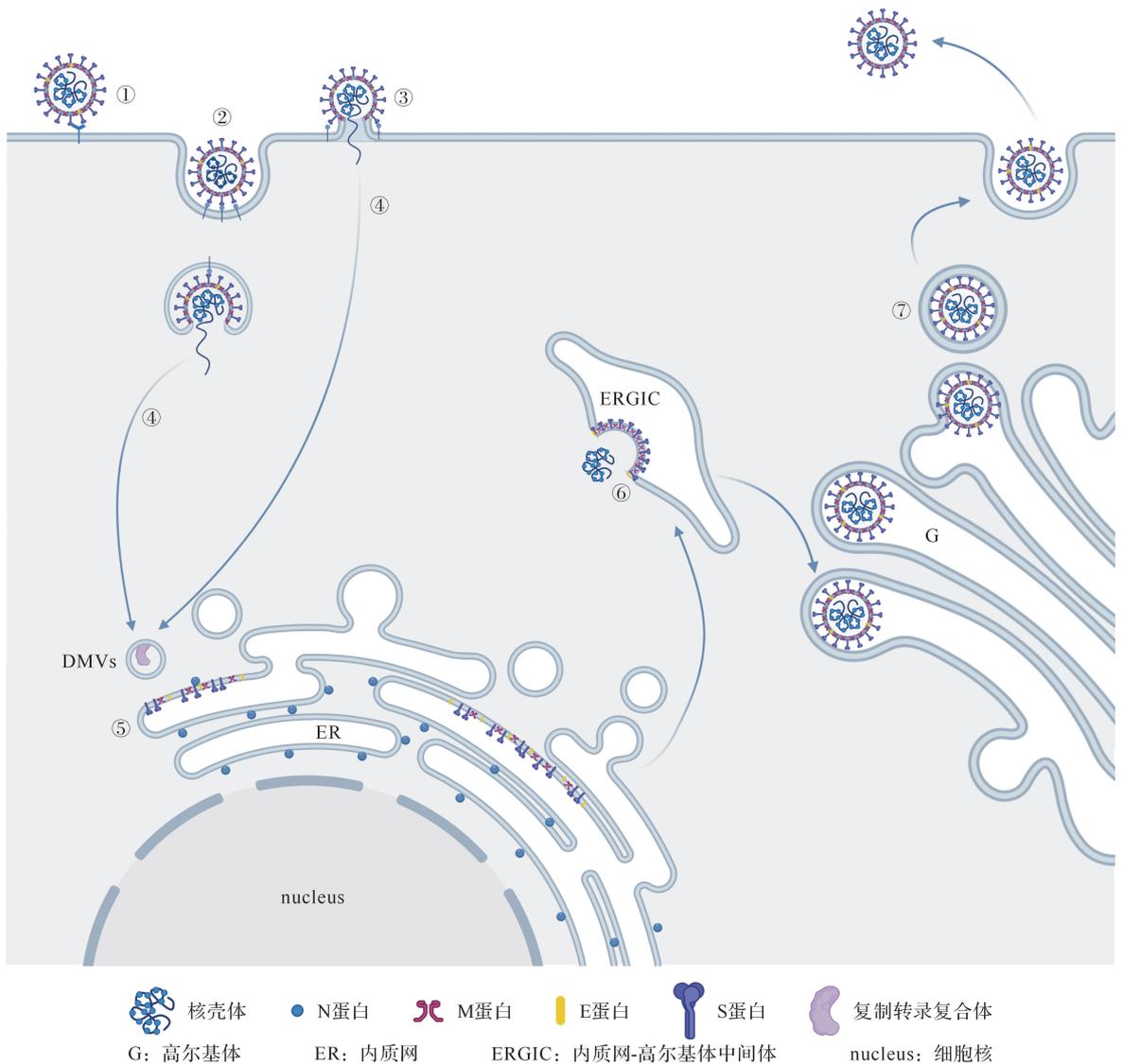
宿主细胞中被大量表达, 但只有一小部分可作为病毒包膜的组成成分^[30]。E 蛋白主要定位于内质网、高尔基体和内质网-高尔基体中间体, 参与病毒组装、出芽和细胞内转运^[31]。E 蛋白不仅具有从宿主细胞释放病毒粒子的功能, 还具有离子通道活性^[32]。M 蛋白是病毒结构中最重要蛋白之一, 被认为是冠状病毒组装的中心组织者, 可以与其他结构蛋白相互作用, 即 M-M、M-S、M-N、M-E 蛋白之间相互作用^[33]。例如 M 蛋白与 E 蛋白共同协调病毒的组装以及参与成熟病毒包膜的形成^[34]。N 蛋白的作用是与病毒 RNA 紧密结合, 这是病毒 RNA 包装到病毒粒子中的前提条件, 从而保护病毒基因组^[35]。

3 人类高致病性冠状病毒的增殖机制

人类高致病性冠状病毒和其他感染性病毒一样, 需要通过自我复制得以增殖。冠状病毒的基因组是已知 RNA 病毒中最大的, 其基因组在宿主内的表达机制也相对复杂。当入侵宿主细胞后, 病毒依赖于宿主细胞的酶系统、原料和能量复制核酸, 借助宿主细胞的核糖体翻译病毒蛋白质。复制过程可分为五步: 吸附、穿入、脱壳、生物合成以及装配释放(图 2)。

3.1 吸附

吸附是指病毒附着于敏感细胞的表面, 这是感染的起始期, 也是关键步骤之一。病毒与宿主



①: 吸附, 病毒通过 S 蛋白与宿主细胞表面的受体识别并结合; ②③④: 穿入与脱壳, 病毒通过内吞途径(②)或者直接膜融合途径(③)穿入, 此过程需要在 S 蛋白的介导下引起膜融合, 完成脱壳和遗传物质释放(④); ⑤⑥⑦: 生物合成、组装和释放, 以病毒基因组 RNA 为模板, 合成复制转录复合体, 并被锚定在双膜囊泡(DMV)中。在复制转录复合体的作用下, 合成新的病毒的基因组 RNA 和亚基因组 RNA。亚基因组作为 mRNA 被宿主细胞粗面内质网上的核糖体识别翻译, 生成相应的结构蛋白。S、M、E 三种结构蛋白插入内质网和内质网-高尔基体中间体, N 蛋白与基因组 RNA 结合形成核衣壳(⑤)。核衣壳在内质网-高尔基体中间体与其他三种结构蛋白完成组装(⑥)。完整的病毒粒子通过高尔基体的囊泡被运输到宿主细胞外(⑦)。

图 2 人类高致病性冠状病毒的自我复制模式图

Figure 2 Self-replication of human highly pathogenic coronaviruses

受体结合的效率是冠状病毒传播速度的决定性因素之一。细胞与病毒的相互作用始于偶然碰撞和静电作用造成的可逆联结, 随后冠状病毒通过表面的 S 蛋白与细胞表面特异性的蛋白受体结合, 并吸附在宿主细胞上。

不同的人类高致病性冠状病毒能特异性识别不同的宿主受体。MERS-CoV 的受体是二肽基肽酶(dipeptidyl peptidase 4, DPP4)^[36]。MERS-CoV

S 蛋白的受体结合结构域与宿主细胞表面的 DPP4 受体结合, 介导 MERS-CoV 吸附在宿主细胞表面。SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 的受体结合位点相似度较高, 两者的受体都是血管紧张素转换酶 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)^[37-38]。SARS-CoV、MERS-CoV 和 SARS-CoV-2 都利用 S 蛋白的羧基端结构域(S1-C-terminal domain)来识别受体^[39-41]。对于正在全球蔓延的 SARS-CoV-2

病毒,研究者们已解析了其 S1 亚基与 ACE2 受体的结合位点、S1 与 ACE2 蛋白复合物的晶体结构和其受体 ACE2 的全长结构^[42-43]。

人类高致病性冠状病毒与宿主受体的结合效率直接影响其增殖效率。有动物实验表明, SARS-CoV S 蛋白的受体结合区 479 和 487 位点的改变会导致更快速的畜-人或人-人传播过程^[44]。冷冻电镜观察结果显示, SARS-CoV-2 的 S 蛋白的预融合构象三聚体中,每个单体上都有细胞受体结合点位,其中一个单体构象呈向上螺旋突出,使 S 蛋白具有容易与宿主受体 ACE2 结合的空间构象。此外,电镜负染结果显示, ACE2 蛋白与 SARS-CoV-2 的亲合力是 ACE2 与 SARS-CoV 的亲合力的 10 到 20 倍。以上结果可以解释 SARS-CoV-2 传染性如此之高的原因^[45]。

3.2 穿入与脱壳

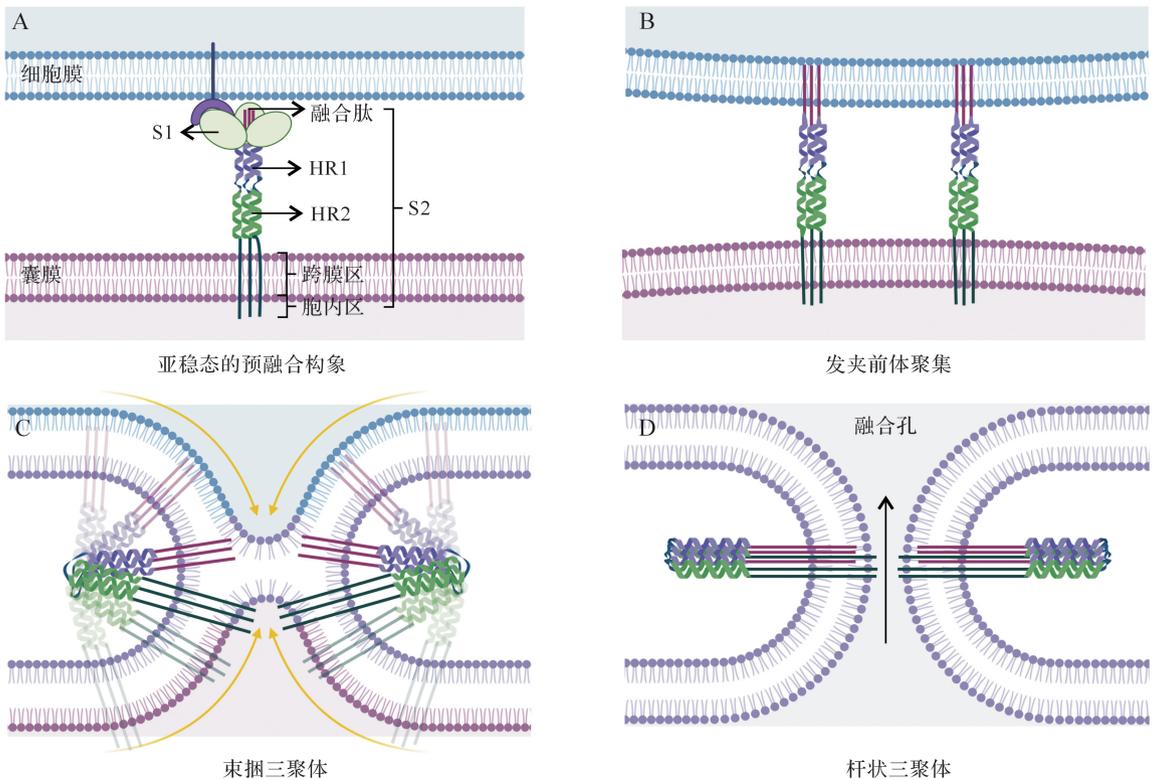
穿入是指病毒核酸或感染性核衣壳穿过细胞膜进入细胞质,开始病毒感染宿主的细胞内阶段。人类高致病性冠状病毒穿入宿主细胞可能存在两个途径。具体采用哪种方式穿入取决于组织和细胞类型的特异性,和局部微环境如受体和蛋白酶的可用性。途径一是病毒被宿主细胞内吞。冠状病毒与宿主细胞受体结合后,病毒周围的宿主细胞膜内陷,以内吞的形式形成含病毒的内体小泡,内体中的细胞酶如组织蛋白酶 B 和组织蛋白酶 L (cathepsin B and L, CatB/L) 被酸性环境活化后,在特定区域裂解 S 蛋白,进而激活 S 蛋白并使 S2 亚基构象发生改变,暴露出 S2 的融合肽,从而促使病毒包膜与宿主细胞膜融合,释放病毒 RNA 到被感染的细胞中^[46]。途径二是病毒的脂质包膜与宿主细胞膜直接膜融合,并释放病毒 RNA 到宿主细胞的细胞质中。

穿入过程中的关键步骤是病毒包膜与宿主细胞膜的融合。膜融合反应可以分别或者同时被环境酸碱值、受体与 S 蛋白的结合所激活,可发生在内体中或细胞表面。膜融合过程分为三步:①病毒 S 蛋白处于亚稳态的预融合构象;②S1 亚基与宿主受体特异性结合,细胞酶在两个区域裂解 S 蛋白^[47]。这两个区域分别位于 S1 亚基与 S2 亚基的交界区(S1/S2 位点)和 S2 亚基融合肽的附近(S2'位点)^[48]。S1/S2 位点被特异性蛋白酶作用后,前体 S 蛋白被裂解为两个成熟蛋白,包括含受体结合结构域的 S1 亚基和含融合结构域的 S2

亚基。S2'位点的裂解会使 S2 亚基氨基端的疏水融合肽暴露出来,使其插入宿主细胞膜中,像伸出的手臂抓住宿主细胞膜,形成发夹前体状态。③当多个发夹前体在融合位点聚集时,S2 的螺旋结构七肽重复 HR1 和 HR2 发生反向折叠,形成六螺旋束,六螺旋束由束捆三聚体前体形态,转变为束捆三聚体形态,最终形成稳定的杆状三聚体发夹。在整个构象变化过程中,病毒包膜与宿主细胞膜越来越近,最终包膜与细胞膜融合,并形成允许病毒遗传物质通过的大融合孔^[29](图 3)。近期研究表明,跨膜丝氨酸蛋白酶 2 (transmembrane protease, serine 2, TMPRSS2) 抑制剂可以抑制 SARS-CoV-2 进入宿主细胞^[49],由此推测,SARS-CoV-2 与另两种人类高致病性冠状病毒一样,也以膜融合方式进入宿主细胞。

三种人高致病性冠状病毒的 S 蛋白裂解区域均能被特异性识别,因此造成的不同的膜融合效率会影响病毒的增殖效率。MERS-CoV 的 S1/S2 位点能被弗林蛋白酶 (furin) 裂解^[50],S2'位点可能通过 TMPRSS2 和组织蛋白酶 L 裂解^[51]。SARS-CoV 的 S1/S2 区域可以被多种蛋白酶如弗林蛋白酶、胰蛋白酶 (trypsin) 和组织蛋白酶 L 识别并裂解^[52-53],S2'裂解位点能被胰蛋白酶识别并裂解^[54]。SARS-CoV-2 和 SARS-CoV 在 S1/S2 区域有相同的潜在裂解位点^[55],均能被组织蛋白酶 B 和组织蛋白酶 L 裂解^[52]。近期研究表明 SARS-CoV-2 有一处 SARS-CoV 没有的潜在弗林蛋白酶样蛋白酶切割位点,这个位点位于 S1/S2 位点的氨基端,并在病毒生物合成过程中被加工。该切割位点的精氨酸对病毒膜融合以及蛋白成熟过程起着关键作用,该切割位点的脯氨酸使主链原子产生转角结构,可能导致在多碱基酶切位点侧面增加 O-连接聚糖结构。该酶切位点可区分 SARS-CoV-2 和 SARS-CoV 的 S 蛋白。由于弗林蛋白酶的广泛表达,研究者们推测该位点的存在可能参与扩大 SARS-CoV-2 的宿主趋向性和组织嗜性,以及增加传播性,改变致病性^[38]。

病毒的脱壳是指病毒感染性核酸从衣壳内释放出来的过程。以内吞方式进入细胞的病毒,经蛋白酶降解,先后脱去包膜和衣壳。以直接膜融合方式侵入的病毒,其包膜在与细胞膜融合时即已脱掉,衣壳被移至脱壳部位并在酶的作用下进一步脱壳。



A: S1 亚基的存在,有利于 S2 亚基保持亚稳态的预融合构象。当 S1 亚基与受体结合, S 蛋白在中性 pH(处于细胞表面)或酸性酸碱度环境(处于内体之中)的诱导,会促使 S 蛋白构象发生改变。B: S1 亚基与受体结合后,并在细胞酶的作用下, S2 亚基构象发生改变,暴露出 S2 亚基的融合肽,并将融合肽插入宿主细胞膜。此时, S 蛋白处于发夹前体状态,多个发夹前体在融合位点聚集。C: S2 的螺旋结构 HR1 和 HR2 开始发生反向折叠(束捆三聚体前体形态),融合肽与跨膜结构域相互靠近, HR1 和 HR2 逐渐达到反平行状态(束捆三聚体形态),从而使病毒包膜和宿主细胞膜逐渐融合。D: 形成稳定的六螺旋束结构(稳定的杆状三聚体发夹),包膜与宿主细胞相互融合,逐渐形成融合孔,最终膜融合完成并形成大融合孔,病毒的遗传物质便可从大融合孔中进入宿主细胞。

图 3 S 蛋白介导下的膜融合

Figure 3 Schematic illustration of membrane fusion mediated by S protein

3.3 生物合成、组装和释放

冠状病毒的基因组 RNA 为单链正义 RNA^[56],具有 mRNA 功能,因此它的基因组 RNA 进入宿主细胞后,可被细胞质中的核糖体识别,直接作为 mRNA 指导蛋白质的合成;另一方面,基因组 RNA 也可以通过 RNA 聚合酶的作用合成负链,再以负链为模版合成正链,进行复制。新生成的正链也可作为 mRNA 指导蛋白质的合成。

人类高致病性冠状病毒合成时,首先以病毒基因组 RNA 5' 端的一段序列为模板,翻译出特有的大型复制转录复合体,并完成后续的病毒基因组 RNA 和亚基因组 RNA 的合成。以 SARS-CoV 为例:核糖体通过移码机制从 ORF1ab 的起始密码子开始翻译,编码两个多聚蛋白 1a 与 1ab(此时的多聚蛋白处于无转录活性的非成熟结构状态),经具有木瓜样蛋白酶活性的非结构蛋白 NSP3 和具有 3C 样蛋白酶活性的 NSP5 剪切,得

到成熟的非结构蛋白 NSP1-NSP16。非结构蛋白可诱导细胞膜重排,形成双膜囊泡,非结构蛋白的合成发生在双膜囊泡及其附近的小泡之中^[57]。NSP3 负责 NSP1-NSP4 之间特异性位点的切割,NSP5 则负责 NSP4 ~ NSP16 之间的切割。被切割后,16 个成熟的非结构蛋白构成复制转录复合体,并被锚定在双膜囊泡上^[58]。

复制过程中,首先以基因组 RNA 为模板,在复制转录复合体的介导下,先产生与病毒基因组长度互补的负链基因组 RNA。随后,以生成的负链基因组 RNA 为模板,合成新的病毒基因组 RNA 和亚基因组 RNA。其中,基因组 RNA 进入新的循环^[59],该 RNA 复制过程被认为发生在双膜囊泡上^[60]。

合成的亚基因组作为 mRNA 被宿主细胞粗面内质网上的核糖体识别翻译,生成相应的结构蛋白。N 蛋白被合成后,首先与新合成的基因组

RNA 包裹形成核壳体,然后核壳体与插入内质网和内质网-高尔基体中间体上的 S 蛋白、M 蛋白和 E 蛋白结合,病毒的组装在内质网-高尔基体中间体内完成^[61]。当基因组 RNA 和结构蛋白组装,出芽形成囊泡,并转运到高尔基体时,TMPRSS2 会对 S 蛋白剪切,形成有活性的新病毒。

当囊泡到达细胞表面时,新病毒在 TMPRSS2 帮助下释放^[62]。每个被感染的细胞会产生成千上万个新病毒粒子,蔓延到气管、支气管,最终到达肺泡,引发肺炎。通过人体的三对唾液腺,可以分泌混有病毒的唾液,病毒随着喷嚏和咳嗽传播到空气并停留在外界环境中,从而有机会接触他人的黏膜细胞致其感染。

3.4 调控

和其他许多病毒一样,人类高致病冠状病毒在宿主细胞内进行合成和组装过程中,会干扰和拮抗宿主的免疫反应及其信号转导,影响宿主蛋白质的合成,并促进病毒的细胞内合成。病毒在宿主内大量合成,造成宿主细胞器应激反应,特别是内质网严重负荷后进入应激模式,进而导致宿主蛋白质翻译关闭,而病毒仍能通过特有的机制继续合成。

现有研究认为,冠状病毒通过三个潜在的过程诱导内质网应激^[63]:①大量冠状病毒结构蛋白的翻译、折叠和修饰,特别是大量高度糖基化的 S 蛋白的过表达,会导致宿主细胞内质网压力增大,诱发内质网应激,激活未折叠蛋白应答^[64]。②为了组装复制转录复合物,冠状病毒诱导内质网膜重排为双膜囊泡,导致大量膜结构的重排^[65]。当 SARS-CoV 在宿主细胞中过表达非结构蛋白 NSP3、NSP4 和 NSP6,可观察到双膜囊泡的形成,表明它们参与冠状病毒诱导的膜重构^[66]。③成熟病毒粒子的形态发生和出芽会导致内质网膜大量消耗,增加内质网的负担^[67-68]。

人体在病毒侵入后,会产生免疫应答来抵抗病毒。而人类高致病性冠状病毒可以通过清除巨噬细胞、单核细胞、T 淋巴细胞等免疫细胞来抑制宿主固有和特异性免疫应答^[69],促使人体大量产生多种细胞因子和趋化因子,启动细胞因子风暴,导致全身病灶部位炎症和水肿。细胞因子风暴是引起急性呼吸窘迫综合征和多器官衰竭的重要原因,甚至导致患者死亡^[70]。SARS 患者过度分泌的细胞因子有 IL-1 β 、IL-6、IL-12、 γ 干扰素、趋化

因子 CXCL10 及单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein 1, MCP-1) 等;MERS 患者过度分泌的细胞因子有 γ 干扰素、TNF- α 、IL-15、IL-17、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 等^[71-74];COVID-19 患者过度分泌的细胞因子有 IL-1 β 、 γ 干扰素、诱导蛋白 10 (IP-10) 和 MCP-1 等^[75]。相较于非重型 COVID-19 患者而言,重型患者的 IL-2、IL-7、IL-10、粒细胞集落刺激因子、IP-10、MCP-1 等水平明显升高^[76]。

SARS-CoV 和 MERS-CoV 为了更好地在宿主细胞中生存,采用多种策略来避免免疫应答。冠状病毒在进行 RNA 复制时,由于双膜囊泡表面不含有模式识别受体(模式识别受体可以识别进化上保守的病原微生物结构,是病原微生物的感应器),因此可以避免宿主对病毒双链核糖核酸的检测^[77]。SARS-CoV 和 MERS-CoV 可能利用 NSP10 和 NSP16 组成的复合物辅助病毒 mRNA 形成帽子结构,以避免宿主细胞识别病毒 mRNA^[78-79]。SARS-CoV 和 MERS-CoV 的 NSP1 都具有防止宿主蛋白合成和抑制宿主固有免疫反应的功能^[80],并能通过诱导宿主 mRNA 的降解和抑制其翻译^[81]。SARS-CoV 和 MERS-CoV 均可有效抑制宿主抗病毒免疫系统,如 SARS-CoV 的 N 蛋白、ORF3b 和 ORF6 蛋白^[82],MERS-CoV 的辅助蛋白 ORF4a、ORF4b、ORF5 和 M 蛋白^[83]。MERS-CoV 感染后与抗原呈递相关的基因表达被下调^[84]。

4 人类高致病冠状病毒的传播途径

SARS-CoV、MERS-CoV 和 SARS-CoV-2 的宿主都是人和脊椎动物。SARS-CoV 的原始宿主是蝙蝠^[85],中间宿主很可能是果子狸^[86],存在“蝙蝠-人”和“蝙蝠-果子狸-人”两种传播途径。MERS-CoV 的原始宿主是蝙蝠,中间宿主是单峰骆驼(*Dromedary*)^[87]。

SARS-CoV-2 的原始宿主目前有多种推测,比较集中的是蝙蝠和穿山甲。中国科学院武汉病毒研究所石正丽研究团队发现 SARS-CoV-2 与云南省一种蝙蝠(*Rhinolophus affinis*)所携带的冠状病毒(BatCoV RaTG13)的核苷酸同源性高达 96.2%,推测 SARS-CoV-2 的自然宿主可能是蝙蝠^[88]。浙江大学医学院附属第一医院肖永红团队根据深度学习算法模拟得出的数据推测 SARS-CoV-2 与

SARS-CoV、蝙蝠 SARS 样冠状病毒和 MERS-CoV 具有相近的感染力,且蝙蝠冠状病毒与 SARS-CoV-2 更为接近。此外,通过比较脊椎动物宿主(犬、猪、貂、龟和猫)的病毒的感染模式,发现水貂冠状病毒与 SARS-CoV-2 有着更为接近的感染模式。因此推测蝙蝠可能是 SARS-CoV-2 最主要的来源,而水貂可能是中间宿主^[89]。张志刚研究团队研究结果穿山甲冠状病毒基因组与 SARS-CoV-2 基因组的核苷酸同源率为 91.02%^[90]。Silvia Angeletti 团队通过快速无约束贝叶斯近似法和绘制系统进化树的方法,提出 SARS-CoV-2 从蝙蝠进入中间宿主后有可能发生了变异,进而获得了感染人的能力^[91]。综上所述,现有研究还无法确定 SARS-CoV-2 的自然源头宿主和中间宿主,也不能确定 SARS-CoV-2 的发生地^[90]。

人类高致病性冠状病毒均可以通过人与人传播,人群普遍易感。已知的传播途径有以下几种,其中飞沫传播和接触传播是主要的传播途径。

4.1 飞沫传播

呼吸道飞沫和密切接触传播是主要的传播途径。病毒借助飞沫被人体吸入后进入呼吸道。大多数人类冠状病毒,如流感病毒可引起人类轻度上呼吸道疾病,但 SARS-CoV、MERS-CoV 和 SARS-CoV-2 这三类高致病性冠状病毒,会引发患者严重的下呼吸道感染,原因在于这三类病毒的受体在下呼吸道常见,使得病毒入侵肺部,导致肺部病变。

人类高致病性冠状病毒进入呼吸道后,在下呼吸道与特异性受体结合,进而促进其感染和繁殖。MERS-CoV 的受体 DPP4 在支气管上皮细胞、肺泡上皮细胞、内皮细胞等下呼吸道细胞及肾脏、小肠、肝脏等组织细胞表面表达。SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 的受体 ACE2 在肺、肠、心脏、肾脏和睾丸等组织细胞均有表达。正常肺中,ACE2 在鳞片状上皮细胞(alveolar type 1, AT1)和柱状上皮细胞 AT2 细胞中都有表达。在肺泡中,AT1 细胞负责气体交换,AT2 细胞负责表面活性剂的生物合成和自我更新。SARS-CoV-2 主要感染 AT2 细胞,AT2 细胞的数量可能与呼吸道症状的严重程度有关,这可能可以解释无症状 SARS-CoV-2 携带者存在的原因^[92]。

4.2 接触传播

除了直接飞沫传播外,病毒可以通过飞沫污

染物停留在物体表面,如桌椅表面、门把手等,进而人通过接触被污染的手、衣物、食品、物品等被感染。例如 SARS-CoV 能在金属、玻璃和塑料制品中存活至少 2 d^[93]。

4.3 气溶胶传播

气溶胶指固态或液态颗粒悬浮在气体介质中,共同形成的气态多相体系混合物。如烟、粉尘、雾、云、烟雾等都属于气溶胶。病毒粒子可以附着在气溶胶中的颗粒物上,被吸入呼吸道或肺部。直径小于 10 μm 的颗粒物(PM10)可通过口腔和鼻腔进入呼吸道,直径小于 2.5 μm 的颗粒物(PM2.5)可被吸入肺泡。因而理论上,在相对封闭的环境中长时间暴露于高浓度气溶胶中,存在病毒经气溶胶传播的可能。

4.4 粪-口传播

粪-口传播也称消化道传播,引起腹泻的冠状病毒都有可能经肠道散播和粪-口途径传播。在最近的 SARS-CoV-2 研究中,吴冰珊等^[94]对 36 例确诊病例进行病毒核酸检测,结果显示 56% 的 COVID-19 患者的粪便中可检出 SARS-CoV-2 病毒,其中轻型患者粪便的病毒阳性率较低(25%),重型和危重型患者粪便的病毒阳性率较高(分别为 67% 和 63%)。此外,粪中可分离到 SARS-CoV-2^[20]。因此,消化道是人类高致病性冠状病毒的排泄渠道之一。

4.5 眼部传播

据 WHO 报道,泪液是传播 SARS-CoV 病毒的体液之一,病毒可能通过接触结膜的仪器传播^[95]。病毒也可能通过飞沫、接触、气溶胶等途径感染角膜和结膜。少数 COVID-19 患者的结膜分泌物的 SARS-CoV-2 核酸筛查为阳性^[96-97],因此推测 SARS-CoV-2 可能污染眼结膜上皮,引起眼部并发症进而导致呼吸道感染。一种可能的机制是分布在泪小管上皮的 S 蛋白受体 ACE2 吸附了 SARS-CoV-2,进而感染了眼表细胞。但迄今为止并未见到 COVID-19 患者眼表组织中分离出 SARS-CoV-2 的报道。

4.6 无症状感染者

病毒的主要传染源为感染的患者,但无症状感染者也可能成为传染源^[20]。特别是 COVID-19,部分患者携带病毒但不产生临床症状,使得病毒容易通过无症状感染者传播给其家人和接触的正常人群,导致被感染者发病。这也是 COVID-19

更易传播、发病人数远远超过 SARS 和 MERS 的可能原因之一。

4.7 尿液接触传播

尿液中可分离到 SARS-CoV-2,因此尿液对环境可造成气溶胶或接触传播污染^[20]。此外,由于睾丸的肾小管细胞、间质细胞和生精管细胞中可以高表达 ACE2,因此 SARS-CoV-2 可能识别并作用于这些细胞,从而损害患者的肾脏和睾丸组织^[98]。

4.8 其他潜在的传播途径

母婴传播:孕产妇与未怀孕成年人一样,都会感染 SARS-CoV-2。但目前没有直接证据表明,妊娠期感染新冠病毒会导致宫内垂直传播。

血液传播:理论上,血液中存在的感染因子都具有血液传播的潜力,但目前还未见经呼吸道传播的病毒通过血液传播的报道。现有数据表明,在 COVID-19 患者的血浆或血清中可以检测到病毒 RNA。武汉市首批 41 例患者中,6/41 例(15%)患者出现病毒血症^[75]。但目前没有数据表明 SARS-CoV-2 有输血传播的风险。

5 人类高致病性冠状病毒感染的预防和治疗

人类高致病性冠状病毒的攻克难点是没有特效药物,只能对症治疗。对于最近暴发的 COVID-19,目前尚无经过严格临床测试并可用于治疗重症患者的疫苗或特定的抗病毒药物方案,针对性的临床研发和测试正在全球范围内紧急推进。

疫苗的研发过程周期性长,成功研发出 SARS-CoV-2 疫苗可能需要花费数月乃至数年的时间。现在包括中国在内的多个国家都已经成功分离出 SARS-CoV-2 的病毒毒株,为疫苗研究奠定了基础。与 MERS-CoV 和 SARS-CoV 一样,针对 SARS-CoV-2 的疫苗研究热门靶点仍是 S 蛋白的受体结合结构域。正在研发的疫苗种类多种多样,包括灭活疫苗、核酸疫苗、减毒活疫苗、重组蛋白疫苗、病毒载体疫苗等^[99]。

潜在的药物治疗方案分为两类,一类作用于人类高致病性冠状病毒,另一类作用于宿主。作用于冠状病毒的抗病毒疗法的靶点主要是病毒复制过程中起关键作用的酶、冠状病毒的结构蛋白及其遗传物质。例如,洛匹那韦/利托那韦属于蛋白酶抑制剂,能作用于冠状病毒的 3C 样蛋白酶,有研究表明其可抑制 MERS-CoV 和 SARS-CoV 的

复制,起到治疗作用^[100-102]。瑞德西韦是一种核苷类似物,能够抑制 RNA 聚合酶,抑制 MERS-CoV 和 SARS-CoV 核酸的合成^[103]。GSK-2586881 可作为 S 蛋白的抑制剂,通过与 S 蛋白结合,阻断 S 蛋白与 ACE2 受体结合^[104]。作用于宿主的抗病毒疗法主要包括将 ACE2 受体作为靶点、将宿主蛋白酶作为靶点和调节免疫反应等。有研究表明,氯喹通过改变受体 ACE2 的结构,干扰 SARS-CoV 与 ACE2 受体结合^[105]。由于 ACE2 也是 SARS-CoV-2 的受体,推测氯喹也以此机制阻止 SARS-CoV-2 与 ACE2 受体的结合。目前,氯喹已被用于临床试验治疗 COVID-19 患者,且具有一定疗效^[106]。另外,TMPRSS2 特异抑制剂 Camostat 可抑制 SARS-CoV-2、SARS-CoV^[49] 和 MERS-CoV^[107] 进入细胞。干扰素具有免疫调节和干扰病毒的复制与增殖。但是,药物治疗过程中,部分 COVID-19 患者病情突然加重,研究人员认为这可能与细胞因子风暴有关^[108]。因此,除了以往的治疗方法,还需要考虑如何抑制细胞因子风暴。托珠单抗、司妥单抗等 IL-6 拮抗剂,糖皮质激素,依那西普、阿那白滞素等细胞因子阻断剂,心房钠尿肽和 α -甲基酪氨酸等儿茶酚胺调节剂,西波尼莫德等鞘氨醇类似物,乌司他丁,康复者血浆等药物,都具有治疗细胞因子风暴的潜力^[109]。针对人类高致病性冠状病毒,目前还没有特效的抗病毒药物方案。现阶段基础研究的不断深入,病毒的感染机制的进一步明确,为针对性的药物和疫苗的研发奠定了基础。

除了控制传染源,切断传播途径和保护易感人群也至关重要。飞沫传播和接触传播是人类高致病性冠状病毒的主要传播途径。当感染者咳嗽或打喷嚏时病毒会附着在呼吸道飞沫上,因此预防飞沫传播的重要措施之一就是避免与感染者有近距离接触。与患者有密切接触的医护人员,则必须采取相应的预防措施,如佩戴 N95 口罩、护目镜,穿戴隔离衣和手套,以防止病原体传播。经常洗手可以抵御接触传播,在接触可能被感染的人或环境后要避免用手触摸口鼻。便后洗手、注意下水道的通畅,可以防止病毒通过粪-口或尿液接触传播。肥皂作为表面活性剂有破坏细胞膜的作用,用流水和肥皂洗手至少 30 s,有利于使病毒失活并将其冲走^[110]。在接触的表面使用消毒液也是有效的办法,冠状病毒作为一种包膜病毒,当

包膜被消毒剂破坏后,病毒 RNA 会被降解,从而使病毒失活。气溶胶传播可能存在于长时间相对封闭的空间,当患者咳嗽喷嚏产生的飞沫或是其粪便、尿液暴露于封闭的空间中,病毒就可能以气溶胶的方式进行传播。因此,通风十分关键。尤其在医疗机构和人多的公共场合,通风是影响空气传播的重要因素^[11]。当医护人员身处通风条件差的环境中,需要使用更高级别的呼吸防护器具和个人防护用品。另外,对于其他潜在的传播途径也要做好相应的措施。例如为了预防病毒通过眼部传播,普通人群要注意切勿未洗净双手触摸眼部,医护人员应佩戴护目镜或面部防护罩,严格遵守相关操作规范。对于母婴传播,应加强对孕妇的防护,减少与他人接触,降低感染风险。对于血液传播,要加强对无偿献血者的体格检查,加强问诊,了解献血者是否到疫区,是否与确诊或疑似患者有过密切接触。严格遵守操作规范,保证献血者、受血者和血站医护人员的安全。值得注意的是,在 COVID-19 患者中,存在无症状感染者,他们也可以成为传染源,且更具有隐蔽性。因此,普通人群多居家,减少与他人的接触是稳妥的方式。

6 结 语

本文介绍了人类高致病性冠状病毒的结构和感染机制。病毒粒子通过冠状的 S 蛋白识别宿主受体,以膜融合方式进入宿主细胞,通过大型复制转录复合体在宿主细胞内复制,并通过干扰和抑制宿主的免疫反应来促进增殖。本文讨论了这类传染病的传染源、传播途径和易感人群及其治疗和预防措施。虽然研究者们对人类高致病性冠状病毒已进行了大量研究,但许多问题仍然没有答案。例如冠状病毒编码的非结构蛋白和附属蛋白的结构、功能是怎么样的?它们在病毒复制过程中发挥了什么作用? SARS-CoV-2 起源于哪里?其自然宿主和中间宿主究竟是什么?它又是如何从自然宿主进入到中间宿主再进入到人类? SARS-CoV-2 的致病机制是怎么样的?对人类高致病性冠状病毒的致病机制的深入研究和进一步了解宿主免疫的病理反应机制,将为科学家们设计疫苗和研发特异性药物提供理论基础。虽然道阻且长,但要相信,我们终将会战胜这些疾病。

参考文献

- [1] CHAN P K, CHAN M C. Tracing the SARS-coronavirus[J]. *J Thorac Dis*,2013,5 Suppl 2:S118-S121. DOI:10.3978/j.issn.2072-1439.2013.06.19.
- [2] PERLMAN S, NETLAND J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis[J]. *Nat Rev Microbiol*,2009,7(6):439-450. DOI:10.1038/nrmicro2147.
- [3] JIN L, CEBRA C K, BAKER R J, et al. Analysis of the genome sequence of an alpaca coronavirus[J]. *Virology*,2007,365(1):198-203. DOI:10.1016/j.virol.2007.03.035.
- [4] DROSTEN C, GÜNTHER S, PREISER W, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome[J]. *N Engl J Med*,2003,348(20):1967-1976. DOI:10.1056/NEJMoal030747.
- [5] ZAKI A M, VAN BOHEEMEN S, BESTEBROER T M, et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia[J]. *N Engl J Med*,2012,367(19):1814-1820. DOI:10.1056/NEJMoal211721.
- [6] DING Y, WANG H, SHEN H, et al. The clinical pathology of severe acute respiratory syndrome (SARS): a report from China[J]. *J Pathol*,2003,200(3):282-289. DOI:10.1002/path.1440.
- [7] ZHONG N S, ZHENG B J, LI Y M, et al. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003[J]. *Lancet*,2003,362(9393):1353-1358. DOI:10.1016/S0140-6736(03)14630-2.
- [8] PEIRIS J S, LAI S T, POON L L, et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome[J]. *Lancet*,2003,361(9366):1319-1325. DOI:10.1016/s0140-6736(03)13077-2.
- [9] TU C, CRAMERI G, KONG X, et al. Antibodies to SARS coronavirus in civets[J]. *Emerg Infect Dis*,2004,10(12):2244-2248. DOI:10.3201/eid1012.040520.
- [10] WONG S S, YUEN K Y. The management of coronavirus infections with particular reference to SARS[J]. *J Antimicrob Chemother*,2008,62(3):437-441. DOI:10.1093/jac/dkn243.
- [11] 陈庆瑜,甘小玲,伍卫,等.医务人员 SARS 医院感染爆发的传播链分析[J]. *中国全科医学*,2004,7(5):312-314. DOI:10.3969/j.issn.1007-9572.2004.05.014.
CHEN Qingyu, GAN Xiaoling, WU Wei, et al. Study on transmission chain of severe acute respiratory syndrome in medical staff from a hospital

- outbreak [J]. **Chinese General Practice**, 2004, 7 (5): 312-314. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-9572. 2004. 05. 014. (in Chinese)
- [12] CHAN J F, YAO Y, YEUNG M L, et al. Treatment with lopinavir/ritonavir or interferon- β 1b improves outcome of MERS-CoV infection in a nonhuman primate model of common marmoset [J]. **J Infect Dis**, 2015, 212 (12): 1904-1913. DOI: 10. 1093/infdis/jiv392.
- [13] World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) [EB/OL]. [2020-04-10]. <https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>.
- [14] ARABI Y M, BALKHY H H, HAYDEN F G, et al. Middle East respiratory syndrome [J]. **N Engl J Med**, 2017, 376 (6): 584-594. DOI: 10. 1056/NEJMsrl408795.
- [15] ZUMLA A, HUI D S, PERLMAN S. Middle East respiratory syndrome [J]. **Lancet**, 2014, 40 (7): 995-1007. DOI: 10. 1007/s00134-014-3303-y.
- [16] DROSTEN C, SEILMAIER M, CORMAN V M, et al. Clinical features and virological analysis of a case of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection [J]. **Lancet Infect Dis**, 2013, 13 (9): 745-751. DOI: 10. 1016/S1473-3099(13)70154-3.
- [17] CHOI J Y. An outbreak of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in South Korea, 2015 [J]. **Yonsei Med J**, 2015, 56 (5): 1174-1176. DOI: 10. 3349/ymj. 2015. 56. 5. 1174.
- [18] 中华人民共和国卫生健康委员会. 截至 4 月 8 日 24 时新型冠状病毒肺炎疫情最新情况 [EB/OL]. (2020-04-09) [2020-04-09]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/yqtb/202004/fa7bb40a7fb4b2c8f3989d512fe5b77.shtml>. National Health Commission of the People's Republic of China. An update of COVID-19 outbreak as of 24: 00 on 8 April [EB/OL]. (2020-04-09) [2020-04-09]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/yqtb/202004/fa7bb40a7fb4b2c8f3989d512fe5b77.shtml>. (in Chinese)
- [19] 王凌航. 新型冠状病毒感染的特征及应对 [J/CD]. **中华实验和临床感染病杂志(电子版)**, 2020, 14 (1): 1-5. DOI: 10. 3877/cma. j. issn. 1674-1358. 2020. 01. 001. WANG Linghang. Characteristics and countermeasures of 2019-nCoV infection [J/CD]. **Chinese Journal of Experimental and Clinical Infectious Diseases (Electronic Edition)**, 2020, 14 (1): 1-5. DOI: 10. 3877/cma. j. issn. 1674-1358. 2020. 01. 001. (in Chinese)
- [20] 中华人民共和国卫生健康委员会. 《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)》 [EB/OL]. (2020-3-4) [2020-03-28]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>. National Health Commission of the People's Republic of China. Diagnosis and treatment of novel coronavirus pneumonia (Trial version 7) [EB/OL]. (2020-3-4) [2020-03-28]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>. (in Chinese)
- [21] YANG Y, LU Q, LIU M, et al. Epidemiological and clinical features of the 2019 novel coronavirus outbreak in China [J/OL]. **MedRxiv**, 2020. DOI: 10. 1101/2020. 02. 10. 20021675.
- [22] TANG B, WANG X, LI Q, et al. Estimation of the Transmission Risk of the 2019-nCoV and Its Implication for Public Health Interventions [J]. **J Clin Med**, 2020, 9 (2). DOI: 10. 3390/jcm9020462.
- [23] HUI D S, I AZHAR E, MADANI T A, et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health - The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China [J]. **Int J Infect Dis**, 2020, 91: 264-266. DOI: 10. 1016/j. ijid. 2020. 01. 009.
- [24] REN L L, WANG Y M, WU Z Q, et al. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study [J]. **Chin Med J (Engl)**, 2020. DOI: 10. 1097/CM9. 0000000000000722.
- [25] LU R, ZHAO X, LI J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding [J]. **Lancet**, 2020, 395 (10224): 565-574. DOI: 10. 1016/S0140-6736(20)30251-8.
- [26] 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. DOI: 10. 1056/NEJMoa2001017.
- [27] LAI M M, CAVANAGH D. The molecular biology of coronaviruses [J]. **Adv Virus Res**, 1997, 48: 1-100. DOI: 10. 1007/978-1-4684-5350-8_10.
- [28] 边葶苈, 周继勇, 廖敏. 冠状病毒非结构蛋白的研究进展 [J]. **中国动物传染病学报**, 2013, 21 (04): 67-74. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-6422. 2013. 04. 013. BIAN Tingli, ZHOU Jiyong, LIAO Min. Research advance on nonstructural proteins of coronavirus [J]. **Chinese Journal of Animal Infectious Diseases**, 2013, 21 (04): 67-74. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-6422. 2013. 04. 013. (in Chinese)
- [29] 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. DOI: 10.13344/j.microbiol.china.170256.
- SHEN Mei, CHEN Bingqing, YU Ruisong, et al. Structure and function of coronaviral S proteins and their receptors [J]. **Microbiology China**, 2017, 44 (10): 2452-2462. DOI: 10.13344/j.microbiol.china.170256. (in Chinese)
- [30] VENKATAGOPALAN P, DASKALOVA S M, LOPEZ L A, et al. Coronavirus envelope (E) protein remains at the site of assembly [J]. **Virology**, 2015, 478: 75-85. DOI: 10.1016/j.virol.2015.02.005.
- [31] NIETO-TORRES J L, DEDIEGO M L, ALVAREZ E, et al. Subcellular location and topology of severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein [J]. **Virology**, 2011, 415 (2): 69-82. DOI: 10.1016/j.virol.2011.03.029.
- [32] SCHOEMAN D, FIELDING B C. Coronavirus envelope protein: current knowledge [J]. **Virol J**, 2019, 16(1): 69. DOI: 10.1186/s12985-019-1182-0.
- [33] MASTERS P S. The molecular biology of coronaviruses [J]. **Adv Virus Res**, 2006, 66: 193-292. DOI: 10.1016/S0065-3527(06)66005-3.
- [34] NEUMAN B W, KISS G, KUNDING A H, et al. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology [J]. **J Struct Biol**, 2011, 174(1): 11-22. DOI: 10.1016/j.jsb.2010.11.021.
- [35] HURST K R, KOETZNER C A, MASTERS P S. Identification of *in vivo*-interacting domains of the murine coronavirus nucleocapsid protein [J]. **J Virol**, 2009, 83 (14): 7221-7234. DOI: 10.1128/JVI.00440-09.
- [36] RAJ V S, MOU H, SMITS S L, et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC [J]. **Nature**, 2013, 495 (7440): 251-254. DOI: 10.1038/nature12005.
- [37] YANG X L, HU B, WANG B, et al. Isolation and characterization of a novel bat coronavirus closely related to the direct progenitor of severe acute respiratory syndrome coronavirus [J]. **J Virol**, 2015, 90(6): 3253-3256. DOI: 10.1128/JVI.02582-15.
- [38] WALLS A C, PARK Y J, TORTORICI M A, et al. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein [J]. **Cell**, 2020. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.058.
- [39] LI F, LI W, FARZAN M, et al. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor [J]. **Science**, 2005, 309 (5742): 1864-1868. DOI: 10.1126/science.1116480.
- [40] LU G, HU Y, WANG Q, et al. Molecular basis of binding between novel human coronavirus MERS-CoV and its receptor CD26 [J]. **Nature**, 2013, 500 (7461): 227-231. DOI: 10.1038/nature12328.
- [41] WANG Q H, ZHANG Y F, WU L L, et al. Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2 [J]. **Cell**, 2020. DOI: 10.1016/j.cell.2020.03.045.
- [42] JAIMES J A, MILLET J K, STOUT A E, et al. A tale of two viruses: the distinct spike glycoproteins of feline coronaviruses [J]. **Viruses**, 2020, 12 (1). DOI: 10.3390/v12010083.
- [43] YAN R, ZHANG Y, LI Y, et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2 [J]. **Science**, 2020, 367 (6485): 1444-1448. DOI: 10.1126/science.abb2762.
- [44] LI W, ZHANG C, SUI J, et al. Receptor and viral determinants of SARS-coronavirus adaptation to human ACE2 [J]. **EMBO J**, 2005, 24 (8): 1634-1643. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600640.
- [45] WRAPP D, WANG N, CORBETT K S, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation [J]. **Science**, 2020, 367 (6483): 1260-1263. DOI: 10.1126/science.abb2507.
- [46] IZAGUIRRE G. The proteolytic regulation of virus cell entry by furin and other proprotein convertases [J]. **Viruses**, 2019, 11 (9): 837. DOI: 10.3390/v11090837.
- [47] BELOUZARD S, MADU I, WHITTAKER G R. Elastase-mediated activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein at discrete sites within the S2 domain [J]. **J Biol Chem**, 2010, 285 (30): 22758-22763. DOI: 10.1074/jbc.M110.103275.
- [48] MILLET J K, WHITTAKER G R. Host cell proteases: Critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis [J]. **Virus Res**, 2015, 202: 120-134. DOI: 10.1016/j.virusres.2014.11.021.
- [49] HOFFMANN M, KLEINE-WEBER H, SCHROEDER S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor [J]. **Cell**, 2020. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
- [50] MILLET J K, WHITTAKER G R. Host cell entry of Middle East respiratory syndrome coronavirus after two-step, furin-mediated activation of the spike protein [J]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2014, 111 (42): 15214-15219. DOI: 10.1073/pnas.1407087111.
- [51] KLEINE-WEBER H, ELZAYAT M T, HOFFMANN M, et al. Functional analysis of potential cleavage sites in the MERS-coronavirus spike protein [J]. **Sci Rep**, 2018, 8 (1): 16597. DOI: 10.1038/s41598-018-34859-w.
- [52] FOLLIS K E, YORK J, NUNBERG J H. Furin cleavage of the SARS coronavirus spike glycoprotein

- enhances cell-cell fusion but does not affect virion entry[J]. **Virology**, 2006, 350(2): 358-369. DOI: 10.1016/j.virol.2006.02.003.
- [53] BOSCH B J, BARTELINK W, ROTTIER P J. Cathepsin L functionally cleaves the severe acute respiratory syndrome coronavirus class I fusion protein upstream of rather than adjacent to the fusion peptide [J]. **J Virol**, 2008, 82(17): 8887-8890. DOI: 10.1128/JVI.00415-08.
- [54] BELOUZARD S, CHU V C, WHITTAKER G R. Activation of the SARS coronavirus spike protein via sequential proteolytic cleavage at two distinct sites [J]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2009, 106(14): 5871-5876. DOI: 10.1073/pnas.0809524106.
- [55] COUTARD B, VALLE C, DE LAMBALLERIE X, et al. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade[J]. **Antiviral Res**, 2020, 176: 104742. DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104742.
- [56] FEHR A R, PERLMAN S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis [J]. **Methods Mol Biol**, 2015, 1282: 1-23. DOI: 10.1007/978-1-4939-2438-7_1.
- [57] BLANCHARD E, ROINGEARD P. Virus-induced double-membrane vesicles [J]. **Cell Microbiol**, 2015, 17(1): 45-50. DOI: 10.1111/cmi.12372.
- [58] 郝一鸣. 人冠状病毒 HCoV-229E 非结构蛋白 nsp10 的结构研究和 SARS 抗病毒药物开发[D]. 天津: 南开大学, 2011.
HAO Yiming. Structural study of human coronavirus 229E non-structural protein 10 and development of antiviral drugs for SARS [D]. Tianjin: Nankai University, 2011. (in Chinese)
- [59] 赵琪. 冠状病毒复制酶系结构与功能研究[D]. 北京: 清华大学, 2010.
ZHAO Qi. Structural and functional studies of coronavirus replicases [D]. Beijing: Tsinghua University, 2010. (in Chinese)
- [60] PERLMAN S, NETLAND J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis [J]. **Nat Rev Microbiol**, 2009, 7(6): 439-450. DOI: 10.1038/nrmicro2147.
- [61] ASHOUR H M, ELKHATIB W F, RAHMAN M M, et al. Insights into the recent 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) in light of past human coronavirus outbreaks [J]. **Pathogens**, 2020, 9(3). DOI: 10.3390/pathogens9030186.
- [62] SHEN L W, MAO H J, WU Y L, et al. TMPRSS2: A potential target for treatment of influenza virus and coronavirus infections [J]. **Biochimie**, 2017, 142: 1-10. DOI: 10.1016/j.biochi.2017.07.016.
- [63] FUNG T S, HUANG M, LIU D X. Coronavirus-induced ER stress response and its involvement in regulation of coronavirus-host interactions [J]. **Virus Res**, 2014, 194: 110-123. DOI: 10.1016/j.virusres.2014.09.016.
- [64] CHAN C P, SIU K L, CHIN K T, et al. Modulation of the unfolded protein response by the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein [J]. **J Virol**, 2006, 80(18): 9279-9287. DOI: 10.1128/JVI.00659-06.
- [65] MAIER H J, HAWES P C, COTTAM E M, et al. Infectious bronchitis virus generates spherules from zippered endoplasmic reticulum membranes [J/OL]. **mBio**, 2013, 4(5): e00801-13. DOI: 10.1128/mBio.00801-13.
- [66] ANGELINI M M, AKHLAGHPOUR M, NEUMAN B W, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural proteins 3, 4, and 6 induce double-membrane vesicles [J]. **mBio**, 2013, 4(4). DOI: 10.1128/mBio.00524-13.
- [67] KLUMPERMAN J, LOCKER J K, MEIJER A, et al. Coronavirus M proteins accumulate in the Golgi complex beyond the site of virion budding [J]. **J Virol**, 1994, 68(10): 6523-6534. DOI: 10.1128/JVI.68.10.6523-6534.1994.
- [68] STERTZ S, REICHEL T, SPIEGEL M, et al. The intracellular sites of early replication and budding of SARS-coronavirus [J]. **Virology**, 2007, 361(2): 304-315. DOI: 10.1016/j.virol.2006.11.027.
- [69] LIM Y X, NG Y L, TAM J P, et al. Human coronaviruses: a review of virus-host interactions [J]. **Diseases**, 2016, 4(3). DOI: 10.3390/diseases4030026.
- [70] CLARK I A, VISSEL B. The meteorology of cytokine storms, and the clinical usefulness of this knowledge [J]. **Semin Immunopathol**, 2017, 39(5): 505-516. DOI: 10.1007/s00281-017-0628-y.
- [71] KINDLER E, THIEL V, WEBER F. Interaction of SARS and MERS coronaviruses with the antiviral interferon response [J]. **Adv Virus Res**, 2016, 96: 219-243. DOI: 10.1016/bs.aivir.2016.08.006.
- [72] CHANNAPPANAVAR R, FEHR A R, VIJAY R, et al. Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice [J]. **Cell Host Microbe**, 2016, 19(2): 181-193. DOI: 10.1016/j.chom.2016.01.007.
- [73] CHANNAPPANAVAR R, PERLMAN S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology [J]. **Semin Immunopathol**, 2017, 39(5): 529-539. DOI: 10.1007/s00281-017-0629-x.
- [74] LAU S, LAU C, CHAN K H, et al. Delayed induction of proinflammatory cytokines and

- suppression of innate antiviral response by the novel Middle East respiratory syndrome coronavirus; implications for pathogenesis and treatment [J]. **J Gen Virol**, 2013, 94 (Pt 12): 2679-2690. DOI: 10.1099/vir.0.055533-0.
- [75] HUANG C, WANG Y, LI X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. **Lancet**, 2020, 395 (10223): 497-506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- [76] TISONCIK J R, KORTH M J, SIMMONS C P, et al. Into the eye of the cytokine storm [J]. **Microbiol Mol Biol Rev**, 2012, 76 (1): 16-32. DOI: 10.1128/MMBR.05015-11.
- [77] SNIJDER E J, VAN DER MEER Y, ZEVENHOVEN-DOBBEJ, et al. Ultrastructure and origin of membrane vesicles associated with the severe acute respiratory syndrome coronavirus replication complex [J]. **J Virol**, 2006, 80 (12): 5927-5940. DOI: 10.1128/JVI.02501-05.
- [78] BOUVET M, DEBARNOT C, IMBERT I, et al. *In vitro* reconstitution of SARS-coronavirus mRNA cap methylation [J/OL]. **PLoS Pathog**, 2010, 6 (4): e1000863. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000863.
- [79] MENACHERY V D, DEBBINK K, BARIC R S. Coronavirus non-structural protein 16: evasion, attenuation, and possible treatments [J]. **Virus Res**, 2014, 194: 191-199. DOI: 10.1016/j.virusres.2014.09.009.
- [80] TOHYA Y, NARAYANAN K, KAMITANI W, et al. Suppression of host gene expression by nsp1 proteins of group 2 bat coronaviruses [J]. **J Virol**, 2009, 83 (10): 5282-5288. DOI: 10.1128/JVI.02485-08.
- [81] LOKUGAMAGE K G, NARAYANAN K, NAKAGAWA K, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus nsp1 inhibits host gene expression by selectively targeting mRNAs transcribed in the nucleus while sparing mRNAs of cytoplasmic origin [J]. **J Virol**, 2015, 89 (21): 10970-10981. DOI: 10.1128/JVI.01352-15.
- [82] 鲁小璐. SARS 冠状病毒 N 蛋白抑制 beta 干扰素产生的分子机制研究 [D]. 武汉: 武汉大学, 2010.
LU Xiaolu. Molecular mechanisms of the inhibition of interferon-beta induction by the nucleocapsid protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus [D]. Wuhan: Wuhan University, 2010. (in Chinese)
- [83] YANG Y, ZHANG L, GENG H, et al. The structural and accessory proteins M, ORF 4a, ORF 4b, and ORF 5 of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) are potent interferon antagonists [J]. **Protein Cell**, 2013, 4 (12): 951-961. DOI: 10.1007/s13238-013-3096-8.
- [84] MENACHERY V D, SCHÄFER A, BURNUM-JOHNSON K E, et al. MERS-CoV and H5N1 influenza virus antagonize antigen presentation by altering the epigenetic landscape [J/OL]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2018, 115 (5): E1012-E1021. DOI: 10.1073/pnas.1706928115.
- [85] HU B, ZENG L P, YANG X L, et al. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus [J/OL]. **PLoS Pathog**, 2017, 13 (11): e1006698. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006698.
- [86] WANG M, YAN M, XU H, et al. SARS-CoV infection in a restaurant from palm civet [J]. **Emerg Infect Dis**, 2005, 11 (12): 1860-1865. DOI: 10.3201/eid1112.041293.
- [87] HAAGMANS B L, AL DHAHIRY S H, REUSKEN C B, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus in dromedary camels: an outbreak investigation [J]. **Lancet Infect Dis**, 2014, 14 (2): 140-145. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70690-X.
- [88] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin [J]. **Nature**, 2020, 579 (7798): 270-273. DOI: 10.1038/s41586-020-2012-7.
- [89] GUO Q, LI M, WANG C, et al. Host and infectivity prediction of Wuhan 2019 novel coronavirus using deep learning algorithm [J/OL]. **medRxiv**, 2020. DOI: 10.1101/2020.01.21.914044.
- [90] ZHANG T, WU Q, ZHANG Z. Probable pangolin origin of SARS-CoV-2-associated with the COVID-19 outbreak [J/OL]. **Cur Biol**, 2020, 30 (7): 1346-1351. e2. DOI: 10.1016/j.cub.2020.03.022.
- [91] BENVENUTO D, GIOVANETTI M, CICOZZI A, et al. The 2019-new coronavirus epidemic: Evidence for virus evolution [J]. **J Med Virol**, 2020, 92 (4): 455-459. DOI: 10.1002/jmv.25688.
- [92] ZHANG H, KANG Z, GONG H, 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. DOI: 10.1101/2020.01.30.927806.
- [93] 李敬云, 鲍作义, 刘思扬, 等. SARS 病毒在外界环境物品中生存和抵抗能力的研究 [J]. **中国消毒学杂志**, 2003, 20 (2): 33-35. DOI: 10.3969/j.issn.1001-7658.2003.02.009.
LI Jinyun, BAO Zuoyi, LIU Siyang, et al. Survival study of sars virus *in vitro* [J]. **Chinese Journal of Disinfection**, 2003, 20 (2): 33-35. DOI: 10.3969/j.issn.1001-7658.2003.02.009. (in Chinese)
- [94] 吴冰珊, 俞婷婷, 黄枝妙, 等. 新型冠状病毒肺炎确诊病例粪便标本的病毒核酸检测 [J]. **中国人兽共患病学报**, 2020. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2020.00.027.

- WU Bingshan, YU Tingting, HUANG Zhimiao, et al. Nucleic acid detection of fecal samples from confirmed cases of COVID-19 [J]. **Chinese Journal of Zoonoses**, 2020. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2020.00.027. (in Chinese)
- [95] World Health Organization. Update 27-One month into the global SARS outbreak; status of the outbreak and lessons for the immediate future [EB/OL]. (2003-04-11) [2020-04-03]. https://www.sogou.com/link?url=hedJjaC291MBsopmKjvwb7EWvqaSlzWaLJZ78NPm3eySRluHO33c8K5uUQSYqvxvqJxT_UGcAmOl.
- [96] LU C W, LIU X F, JIA Z F. 2019-nCoV transmission through the ocular surface must not be ignored [J]. **Lancet**, 2020, 395 (10224): e39. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30313-5.
- [97] XIA J, TONG J, LIU M, et al. Evaluation of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection [J]. **J Med Virol**, 2020. DOI: 10.1002/jmv.25725.
- [98] FAN C, LI K, DING Y H, et al. ACE2 expression in kidney and testis may cause kidney and testis damage after 2019-nCoV infection [J/OL]. **medRxiv**, 2020. DOI: 10.1101/2020.02.12.20022418.
- [99] 吕鹏, 李登峰, 刘刚. 冠状病毒的致炎机制研究进展及疫苗研发特点 [J]. **厦门大学学报(自然科学版)**, 2020.
LYU Peng, LI Dengfeng, LIU Gang. Research progresses of inflammatory mechanism and vaccine development of coronavirus [J/OL]. **Journal of Xiamen University (Natural Science)**, 2020. (in Chinese)
- [100] WU C Y, JAN J T, MA S H, et al. Small molecules targeting severe acute respiratory syndrome human coronavirus [J]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2004, 101 (27): 10012-10017. DOI: 10.1073/pnas.0403596101.
- [101] KIM U J, WON E J, KEE S J, et al. Combination therapy with lopinavir/ritonavir, ribavirin and interferon-alpha for Middle East respiratory syndrome [J]. **Antivir Ther**, 2016, 21 (5): 455-459. DOI: 10.3851/IMP3002.
- [102] ZUMLA A, CHAN J F W, AZHAR E I, et al. Coronaviruses-drug discovery and therapeutic options [J]. **Nat Revs Drug Disc**, 2016, 15 (5): 327-347. DOI: 10.1038/nrd.2015.37.
- [103] AGOSTINI M L, ANDRES E L, SIMS A C, et al. Coronavirus susceptibility to the antiviral remdesivir (GS-5734) is mediated by the viral polymerase and the proofreading exoribonuclease [J]. **mBio**, 2018, 9 (2). DOI: 10.1128/mBio.00221-18.
- [104] HEMNES A R, RATHINASABAPATHY A, AUSTIN E A, et al. A potential therapeutic role for angiotensin-converting enzyme 2 in human pulmonary arterial hypertension [J]. **Eur Respir J**, 2018, 51 (6). DOI: 10.1183/13993003.02638-2017.
- [105] KEYAERTS E, VIJGEN L, MAES P, et al. *In vitro* inhibition of severe acuterespiratory syndrome coronavirus by chloroquine [J]. **Biochem Biophys Res Commun**, 2004, 323 (1): 264-268. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.08.085.
- [106] GAO J, TIAN Z, YANG X. Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies [J]. **Biosci Trends**, 2020, 14 (1): 72-73. DOI: 10.5582/bst.2020.01047.
- [107] SHIRATO K, KAWASE M, MATSUYAMA S. Middle East respiratory syndrome coronavirus infection mediated by the transmembrane serine protease TMPRSS2 [J]. **J Virol**, 2013, 87 (23): 12552-12561. DOI: 10.1128/JVI.01890-13.
- [108] HUANG C, WANG Y, WANG X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. **Lancet**, 2020, 395 (10223): 497-506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- [109] 张竞文, 胡欣, 金鹏飞. 新型冠状病毒引起的细胞因子风暴及其药物治疗 [J]. **中国药学杂志**, 2020.
ZHANG Jingwen, HU Xin, JIN Pengfei. Cytokine storm induced by SARS-CoV-2 and the drug therapy [J]. **Chinese Pharmaceutical Journal**, 2020. (in Chinese)
- [110] CONLEY L, TAO Y, HENRY A, et al. Evaluation of eco-friendly zwitterionic detergents for enveloped virus inactivation [J]. **Biotechnol Bioeng**, 2017, 114 (4): 813-820. DOI: 10.1002/bit.26209.
- [111] QIAN H, ZHENG X. Ventilation control for airborne transmission of human exhaled bio-aerosols in buildings [J]. **J Thorac Dis**, 2018, 10 (Suppl 19): S2295-S2304. DOI: 10.21037/jtd.2018.01.24.

[本文审编 范 骏 严 杰 沈 敏]