

新型冠状病毒变异株研究进展

杨献光,张东伟,胡冰

(河南师范大学 生命科学学院,河南 新乡 453007)

摘要:新型冠状病毒肺炎(Coronavirus disease-19,COVID-19)是由新型冠状病毒(Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2,SARS-CoV-2)引起的一种发病率、致死率极高的新型呼吸系统传染病.由于 SARS-CoV-2 易于突变,不断出现的 SARS-CoV-2 变异株是终结 COVID-19 大流行的巨大阻碍.部分变异株被世界卫生组织划分为“关切变异株”(Variants Of Concern,VOC),其满足以下条件:病毒株的传播能力、致病力或临床表现改变;诊断、疫苗、治疗的有效性降低.截至目前,VOC 有 5 个,分别为 Alpha、Beta、Gamma、Delta 以及 Omicron.一些重要的氨基酸突变在这些变异株中交叉或者同时出现,对这些变异株的流行特点以及变异株中重要氨基酸突变特征进行综述,为 SARS-CoV-2 变异株的药物、抗体和疫苗等研发工作提供科学参考.

关键词:新型冠状病毒;关切变异株;刺突蛋白

中图分类号:Q939.47

文献标志码:A

SARS-CoV-2 是第三种导致人类严重急性呼吸系统疾病的冠状病毒,仅次于 2003 年的 SARS-CoV 和 2012 年的 MERS-CoV^[1].与 SARS-CoV 和 MERS-CoV 相比,由 SARS-CoV-2 引起的 COVID-19 对全球医疗系统造成严重破坏,并夺去数百万人的生命.截至 2022 年 9 月 27 日,新型冠状病毒迅速传播到 200 多个国家,确诊病例数超 6.1 亿,超过 650 万人死亡^[2].

SARS-CoV-2 基因组约 30 kb,编码 4 种结构蛋白,分别为刺突(Spike,S)蛋白、包膜(Envelope,E)蛋白、膜(Membrane,M)蛋白和核衣壳(Nucleocapsid,N)蛋白,6 种辅助蛋白开放阅读框(ORF3a、ORF6、ORF7a、ORF7b、ORF8 和 ORF10)以及 16 种非结构蛋白(Non-Structural Proteins,NSP)(NSP1~NSP16)^[3].SARS-CoV-2 的 S 蛋白被弗林(Furin)蛋白酶裂解为 S1 亚基和 S2 亚基,S1 亚基由 N 末端结构域(N-Terminal Domain,NTD)和受体结合域(Receptor-Binding Domain,RBD)组成,主要负责与宿主细胞血管紧张素转换酶 2(Angiotensin Converting Enzyme 2,ACE2)受体结合.SARS-CoV-2 的 S 蛋白和开放阅读框中发生的氨基酸位点的替换、缺失和插入导致了許多病毒变异株,这些变异株的一些生物学特性可能发生了改变,比如病毒的传播力、致病力及免疫原性^[4].在新冠肺炎大流行期间,SARS-CoV-2 的变异株层出不穷,并在世界各地传播,对目前的疫苗以及治疗方法产生巨大影响^[5].面对这一情况,世界卫生组织(World Health Organization,WHO)将满足以下条件的变异株划分为“关切变异株”(Variants of Concern,VOC):(1)流行病学的传播力增加或有害变化;(2)毒力增加或临床疾病表现变化;(3)公共卫生和社会措施或诊断、疫苗、治疗方法的有效性降低.VOC 变异株有 Alpha、Beta、Gamma、Delta,以及正在全球大流行的 Omicron.本文基于国际最新研究进展,对这些变异株的流行特征和生物学特性以及 S 蛋白关键氨基酸突变特征进行综述.

1 VOC 变异株

1.1 Alpha(α ,B.1.1.7)

Alpha 变异株(别名:B.1.1.7;VOC 202012/01;20I/501Y.V1)最初在英国报道,并很快传播到世界各地.

收稿日期:2022-09-27;修回日期:2022-11-22.

基金项目:国家自然科学基金(U1704182).

作者简介(通信作者):杨献光(1980—),男,河北邯郸人,河南师范大学副教授,博士,硕士生导师,主要研究方向为分子细胞生物学,E-mail:yangxg@htu.edu.cn.

Alpha 变异株在 S 蛋白中有一系列突变,分别为: $\Delta 69-70$ 、 $\Delta 144$ 、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A 和 D1118H(表 1).与原始病毒株相比,Alpha 变异株的传播力增加了 40%~70%,这意味着即使疾病严重程度没有发生变化,病毒仍旧会导致更高的发病率和更多的住院人数^[6].DAVIES 等^[7]评估了英国 220 多万 SARS-CoV-2 确诊病例和 17 452 例相关的死亡病例,观察到感染 Alpha 变异株患者的死亡风险比感染其他变异株高出 61%,表明 Alpha 变异株不仅传播能力更强,对人类健康的威胁也更严重.

表 1 SARS-CoV-2 密切关注株

Tab. 1 SARS-CoV-2 variants of concern

变异株	起源	影响	传播
Alpha(B.1.1.7)	英国,2020 年 12 月	传播能力增加;	欧洲,日本,南非,美国
Beta(B.1.351)	南非,2020 年 10 月	传播能力增加;病毒载量升高;部分单克隆抗体失去中和作用;疫苗免疫者血清的中和活力下降;	巴西,美国,中国香港
Gamma(P.1)	巴西,2021 年 1 月	传播能力增加;死亡率略微有所增加;部分单克隆抗体失去作用;疫苗免疫者血清的中和活性降低;	45 个国家
Delta(B.1.617.2)	印度,2021 年 5 月	传播能力增加;病毒载量升高;疾病严重程度升高;少部分单克隆抗体失去作用;	世界各地
Omicron(B.1.1.529)	南非,2021 年 11 月	传播能力增加;大部分单克隆抗体失去作用;疫苗免疫者及恢复者血清的中和活力显著下降;	世界各地

基于 S 蛋白的 NVX-CoV2373 疫苗(Novavax 公司)免疫者血清对 Alpha 变异株的假病毒的中和活性略有降低,该疫苗对 Alpha 变异株的保护率也从针对原始 SARS-CoV-2 病毒株的 95.6%下降到 85.6%;接种了以腺病毒载体为基础的牛津/阿斯利康疫苗免疫者血清对 Alpha 变异株活病毒的中和活性下降了 57%~89%,该疫苗对 Alpha 变异株的有效率为 61.7%^[8];辉瑞 mRNA 疫苗免疫者血清对 Alpha 变异株的假病毒中和活性下降了 41.2%,对活病毒中和活性下降了 41.2%~71.5%,该疫苗对预防 Alpha 变异株感染的有效性为 89.5%,对预防重症或死亡病例的有效性为 97.4%^[9].英国牛津大学的一项研究表明,恢复者血清对 Alpha 变异株活病毒的中和活性下降 65.6%,对假病毒的中和活性降低 38.7%,而感染 Alpha 变异株的恢复者血清对野生型毒株的中和活性几乎无变化^[9].目前使用的单克隆抗体 Imdevimab、Casirivimab、REGN10989 和 Bamlanivimab 都保持着对 Alpha 变异株的中和能力^[10],这些结果证明,目前的疫苗和治疗手段对 Alpha 变异株的有效性并没有明显改变.

1.2 Beta(β , B.1.351)

Beta 变异株(别名:VOC 202012/02;20H/501Y.V2)属于 B.1.351 谱系,在 S 蛋白中有 10 个突变位点,分别为 D80A、D215G、 $\Delta 241-243$ 、K417N、E484K、N501Y、D614G 和 A701V,其中 RBD 中的 2 个突变位点 N501Y 和 D614G 同样出现在 SARS-CoV-2 Alpha 变异株中,而 K417N 在 SARS-CoV-2 Alpha 变异株中不存在^[11].SARS-CoV-2 Beta 变异株于 2020 年 10 月在南非出现,研究显示,Beta 变异株的传播能力比野生型病毒高 50%,感染 Beta 变异株的样本中病毒载量更高,所以 Beta 变异株很快就传播到世界各地^[12].

研究显示牛津/阿斯利康疫苗免疫者血清对 Beta 变异株活病毒的中和活性降低了 76%~97%,对预防轻至中度症状的保护力仅为 10.4%;辉瑞 mRNA 疫苗对 Beta 变异株的作用同样有所降低,疫苗免疫者血清对 Beta 变异株的假病毒中和活性下降了 87.3%,对活病毒中和活性下降了 87.0%~90.4%,该疫苗对 Beta 变异株感染的有效性为 75.0%,对重症或死亡病例的有效性为 97.4%^[9].南非的一项研究显示,当 90%以上的新冠肺炎病例由 Beta 变异株引起时,NVX-CoV2373 疫苗的有效性为 60%^[13].英国牛津大学的一项研究表明,感染野生型毒株的恢复者血清对 Beta 变异株活病毒的中和活性下降了 92.5%,而感染 Alpha 变异株的恢复者血清对 Beta 变异株活病毒的中和活性下降了 77.3%^[13].单克隆抗体 Imdevimab 和 Casirivimab 对 Beta 变异株失去了部分中和能力,这 2 种抗体的混合物(REGN-COV2)有效地抑制 Beta 变异株 S 蛋白介导的进入,抗体 REGN10989 和 Bamlanivimab 完全失去了对 Beta 变异株的中和能力^[10].

1.3 Gamma(γ , P.1)

Gamma 变异株(别名:P.1;20J/501Y.V3)是 B.1.1.28 谱系的一个分支,首次在巴西发现,并很快成为巴

西的优势变异株^[14].Gamma 变异株在 S 蛋白中有 12 个突变,分别为 L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、D614G、H655Y、T1027 和 V1176F.计算建模表明,Gamma 变异株的传播能力是野生型病毒的 1.7~2.4 倍.除此之外,有研究表明,随着越来越多的年轻人因该病毒出现晚期疾病并死亡,Gamma 变异株可能导致疾病更加严重,比较 Gamma 变异株出现之前和流行期间的病死率发现,Gamma 流行期间整体的死亡率比 Gamma 变异株流行之前有所增加,其中 20~39 岁个体的死亡率增加最多,是之前的 2.7 倍^[15].

疫苗免疫者血清对 Gamma 变异株的中和活性都有不同程度的降低,其中辉瑞 mRNA 疫苗免疫者血清对 Gamma 变异株的活病毒中和活性降低 56.6%~61.6%,对假病毒中和活性下降 80.0%;牛津/阿斯利康疫苗免疫者血清对 Gamma 变异株活病毒的中和活性下降了 65.6%^[9,13].法国一项对 mRNA 疫苗(辉瑞 mRNA 和 mRNA-1273)有效性的研究显示,接种 2 剂 mRNA 疫苗之后,预防 Gamma 变异株感染的有效性估计为 77%.此外,中国科兴疫苗(接种 2 剂)针对 Gamma 变异株的预防住院的有效率为 55.0%,预防死亡率为 61.2%,而牛津/阿斯利康疫苗预防住院的有效率为 87.6%,预防死亡率为 93.6%^[16].研究发现感染原始病毒株的康复者血清对 Gamma 变异株的假病毒中和活性降低了 79.2%,而感染 Alpha 变异株的恢复者血清对 Gamma 变异株的活病毒中和活性降低了 44.5%,对野生型活病毒的中和活性几乎无变化^[10].单克隆抗体 Imdevimab 可以有效阻碍 Gamma 变异株 S 蛋白驱动的进入,Casirivimab 对 Gamma 变异株失去部分中和能力,2 种抗体的混合物(REGN-COV2)能有效地抑制 Gamma 变异株 S 蛋白介导的进入,抗体 REGN10989 和 Bamlanivimab 完全失去对 Gamma 变异株的中和能力^[10].

1.4 Delta(δ ,B.1.617.2)

Delta(B.1.617.2)变异株属于 B.1.617 的子分支,该分支还含有 2 个分支,分别为 B.1.617.1(Kappa)和 B.1.617.3,这些分支含有不同的变异株,其中 Delta 变异株的 S 蛋白出现 10 个氨基酸突变(T19R、G142D、 Δ 156-157、R158G、L452R、E484Q、T478K、D614G、P681R、D950N).研究显示 Delta 变异株的传染性不仅比高传染性的 Alpha 变异株高出约 60%,感染 Delta 变异株患者的病毒载量比感染野生型病毒株高约 1 000 倍,表明感染早期存在更快的病毒复制和更高的传染性^[17].加拿大的一项回顾性研究显示,感染 VOC 变异株(B.1.1.17,B.1.351 和 P.1)比非 VOC 病毒株的住院风险高 52%,重症监护室(Intensive Care Unit, ICU)入住率高 89%,死亡风险高 51%;感染 Delta 变异株比非 VOC 病毒株的住院风险高 108%,ICU 入住风险高 235%,死亡风险高 133%^[18].

疫苗免疫者血清和恢复者血清对 Delta 变异株的中和活性降低,其中辉瑞 mRNA 疫苗免疫者血清对 Delta 变异株活病毒的中和活性降低 56.6%~82.8%,对假病毒的中和活性降低 71.5%,接种加强针的疫苗免疫者血清对 Delta 变异株活病毒的中和活性降低 23.1%~78.8%;而接种 Moderna 公司的 mRNA-1273 疫苗的免疫者血清对 Delta 变异株活病毒的中和活性降低 67.8%~90.0%,接种加强针的免疫者血清对 Delta 变异株活病毒的中和活性降低 75%;康复者血清对 Delta 变异株活病毒的中和活性下降 50%~80%^[19].研究显示接种 2 剂辉瑞疫苗对预防 Delta 变异株感染的有效性为 51.9%,对预防 Delta 变异株导致的重症或死亡的有效性为 93.4%;接种 2 剂 Moderna 公司的 mRNA-1273 疫苗对预防 Delta 变异株感染的有效性为 73.1%,对预防 Delta 变异株导致的重症或死亡的有效性为 96.1%^[19].以上结果表明,虽然现有疫苗对预防 Delta 变异株感染的有效性略有降低,但仍然能很好地预防重症以及死亡.目前的几种单克隆抗体 Etesevimab, Casirivimab, Imdevimab, Tixagevimab, Regdanvimab, Cilgavimab, Adintrevimab 和 Sotrovimab 都对 Delta 变异株有良好的中和能力,只有 Bamlanivimab 失去对 Delta 变异株的中和能力^[20].

1.5 Omicron(\omicron ,B.1.1.529)

2021 年 11 月 24 日,南非向 WHO 报告了一个新的变异株 Omicron(B.1.1.529),随后 WHO 将 Omicron 划分为 VOC.在此之后,Omicron 变异株在短短几周内迅速传播到近 150 个国家,并推动了全球 COVID-19 确诊病例的第 4 次高峰,Omicron 变异株已经取代了以前占主导地位的 Delta 变异株,在世界上拥有最大的流行度.Omicron 变异株包括 BA.1、BA.2、BA.3、BA.4 和 BA.5 亚型,其中 BA.1 和 BA.2 是全球发现的最普遍的亚型^[21].文中提到的 Omicron 变异株是指 BA.1,除非另有说明.由于 BA.2 亚型变异株的传播能力和免疫逃逸能力比 BA.1 变异株更强,感染过 BA.1 亚型变异株的个体仍能再次被 BA.2 亚型变异株感

染^[22].BA.2 变异株在进化过程中产生了新的亚型(例如 BA.4,BA.5,BA.2.75),这些病毒亚型在 S 蛋白上积累了新的突变,并表现出更强的免疫逃逸能力,感染这些变异株的患者数量进一步增加,并逐渐占据优势地位(图 1).

Omicron 变异株的 S 蛋白除 D614G 突变外还包括 NTD 中的 8 个突变(A67V、 Δ 69-70、T95I、G142D、 Δ 141-143、 Δ 211、L212I 和 Ins214EPE),RBD 中的 15 个突变(G339D、S371L、S373P、S375F、K417N、N440K、G446S、S477N、T478K、E484A、Q493R、G496S、Q498R、N501Y 和 Y505H),T547K 突变,3 个靠近 Furin 裂解位点的突变(H655Y、N679K 和 P681H)以及 S2 区域的 6 个突变(N764K、D796Y、N856K、Q954H、N969 和 L981F)^[20].Delta 变异株的基本传播数(Basic reproduction number, R_0)在 3.20 和 8.36 之间,Omicron 变异株的传播能力约是 Delta 变异株的 3.2 倍,倍增时间约为 3 d.相较于其他变异株(Alpha、Beta 和 Delta),Omicron 变异株在小鼠上呼吸道和下呼吸道的复制显著降低,感染 Omicron 变异株引起的疾病严重程度下降,肺部的病理情况也有所改善,体质量减轻最少,死亡率也下降很多^[24],在临床上也观察到类似的情况.对南非豪登省早期病例的研究表明,Omicron 变异株流行时,住院病人的死亡率约为 4.5%,明显低于 Beta 或 Delta 变异株流行时住院病人的死亡率,并且 Omicron 变异株大流行时,重症降低了 73%,与在南非西开普省的研究结果相似,住院和死亡的风险分别降低约 28%和 59%.英国的一项研究表明,感染 Omicron 变异株住院的风险约是感染 Delta 变异株的 1/3,在法国和挪威的研究也得到类似的结果^[25].此外,自发现 Omicron 变异株以来,观察到感染 Omicron 变异株的无症状感染者比之前更多,这可能表明该突变株的症状较轻^[26].先前的感染和疫苗接种提高了群体免疫水平,此外,在感染 Omicron 变异株的患者中,年轻患者的比例更高,这些都可能会导致 Omicron 变异株的致病性被低估^[19].

疫苗对 SARS-CoV-2 相关的严重疾病和死亡具有极高的保护水平,然而,疫苗诱导的中和抗体对 Omicron 变异株的敏感性明显降低,保护效力也大大下降.mRNA-1273 疫苗免疫者血清对 Omicron 变异株假病毒的中和活性降低 97.5%,对活病毒的中和活性降低 97.6%;辉瑞疫苗免疫者血清对 Omicron 变异株假病毒

的中和活性降低 97.3%,对活病毒的中和活性降低 95.7%;牛津/阿斯利康疫苗免疫者血清对 Omicron 假病毒的中和活性降低 95.3%^[27].南非的一项研究显示,Omicron 变异株出现之后,辉瑞疫苗对预防住院的有效性从 93%下降到 70%,此外,只有约 1/3 康复者血清对 Omicron 变异株具有中和作用.研究人员接种 2 剂辉瑞疫苗和康复的儿童和青少年(2~17 岁)体内的中和抗体进行评估,结果显示,只有 38.2%的疫苗接种者和 26.7%的康复者体内的中和抗体滴度达到或高于检测阈值,针对 Omicron 变异株的中和抗体滴度大大低于针对原始病毒株产生的中和抗体^[28].以上结果证明:相较于之前的变异株,疫苗接种者和康复者更容易被 Omicron 变异株再次感染.

研究显示,接种过牛津/阿斯利康疫苗的人群中,13/21 的免疫者血清中可检测到对 Omicron 变异株的中和活性,而辉瑞疫苗接种组只有 5/20.此外,接种第 3 剂 mRNA 疫苗可以产生较强的抗体中和反应,改善

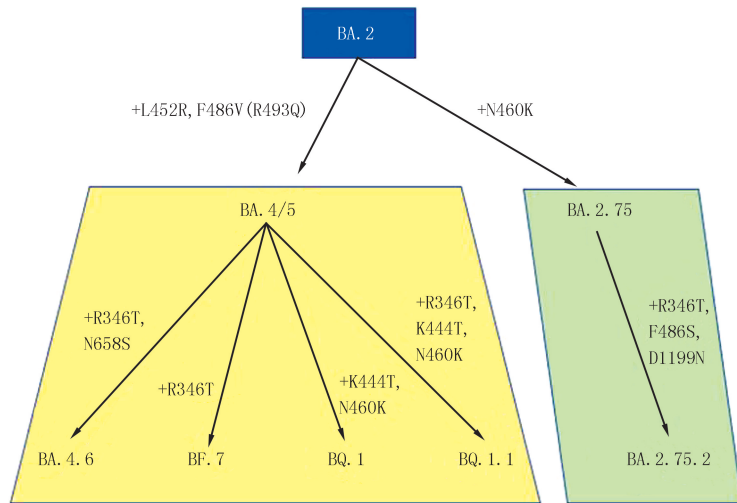


图1 Omicron BA.2变异株进化示意图^[23]

Fig.1 Schematic diagram of evolution of Omicron BA.2 mutant^[23]

疫苗诱导的抗体对 Omicron 变异株中和活性下降的问题.接种加强针之后,疫苗免疫者血清对 Omicron 变异株的中和活性比之前高 23 倍,与接种 2 剂疫苗的免疫者血清对原始病毒的中和活性相当^[29].101 位科兴疫苗免疫者在接种加强针之前,其血清对 Omicron 变异株无中和作用,接种 mRNA 疫苗加强针之后,80% 的参与者血清对 Omicron 变异株有部分的中和作用.虽然接种加强针的免疫者血清对 Omicron 变异株的中和活性与原始病毒株相比有所降低,但都表现出针对 Omicron 变异株的中和能力^[19,27].其中,接种辉瑞疫苗加强针后,疫苗免疫者针对 BA.1 变异株的平均抗体滴度显著增加,从低于 20 增加到 1 066;针对 BA.2 变异株的平均滴度从低于 20 增加到 776.接种 mRNA-1273 疫苗加强针的结果与接种辉瑞疫苗加强针类似.文献使用人源化的仓鼠,模拟人感染病毒后的病理过程,结果显示 BA.2、BA.4 和 BA.5 变异株在支气管和肺泡都不会引起肺部病理损伤,感染这些变异株的仓鼠 100% 存活.此外,研究显示 BA.2、BA.4 和 BA.5 变异株在鼻和肺中复制显著低于 Delta 变异株,尤其是 BA.4 几乎不会在肺中复制,证明 BA.5 变异株的毒力比 Delta 变异株弱^[30].QU 等^[26]的研究显示接种疫苗加强针的免疫者血清对 BA.4.6、BF.7、BQ.1、BQ.1.1、(BA.4, BA.5)、BA.2.75.2、BA.2.75 变异株的中和活性与含 D614G 突变的变异株相比显著下降.此外,感染 BA.1 变异株的免疫者血清对 BA.4.6、BF.7、BQ.1、BQ.1.1、(BA.4, BA.5)、BA.2.75.2、BA.2.75 变异株的中和活性分别显著降低,证明 BA.1 变异株免疫者仍有再次感染的风险.

总之,虽然 Omicron 变异株降低了疫苗的保护效率,但是接种加强针仍可以降低重症的住院率与死亡率,针对新的变异株开发新的疫苗加强针,可以进一步提高疫苗的保护率.6 种单克隆抗体 Bamlanivimab、Etesevimab、Casirivimab、Imdevimab、Tixagevimab 和 Regdanvimab 失去对 Omicron 变异株的中和作用,Cilgavimab 和 Adintrevimab 对 Omicron 变异株的中和作用显著降低(约 95%),只有 Sotrovimab 保持着良好的中和能力^[20].

2 SARS-CoV-2 变异株 S 蛋白关键氨基酸突变的生物学特性

2.1 RBD 区域氨基酸突变

2.1.1 K417N/T 突变

K417N/T 出现在 Beta, Delta, Omicron, Gamma 等变异株中,研究人员用假病毒模型证明,该突变轻微地降低了 RBD 与 ACE2 的结合亲和力(表 2).此外,有研究显示疫苗诱导的单克隆抗体中有 5/17 对携带 K417N 突变的假病毒活性比野生型假病毒活性降低 90%;6/17 对携带 K417N 或 K417N-N501Y 突变的假病毒的中和活性降低 75%^[31].

表 2 SARS-CoV-2 的 S 蛋白重要突变生物学特性

Tab. 2 Biological characteristics of key mutations in the S protein of SARS-CoV-2

突变氨基酸	氨基酸所在位置	VOC	特点
K417N/T	RBD	Beta, Delta, Omicron, Gamma	降低与 ACE2 的亲和力; 轻微的降低疫苗诱导的中和抗体活性;
L452R	RBD	Delta	增加感染性,传播能力,致病力;免疫逃逸;
E484K	RBD	Beta, Gamma	降低恢复者血清和疫苗免疫者血清的中和活性; 导致部分单克隆抗体失去作用;
T478K	RBD	Delta, Omicron	T478K 突变会增加 RBD 与 ACE2 的结合亲和力;
N501Y	RBD	Alpha, Beta, Gamma, Omicron	通过增强 RBD 与 ACE2 的亲和力增加感染性;毒力增强;
D614G	RBD	Alpha, Beta, Gamma, Delta, Omicron	该突变导致病毒与 ACE2 受体的亲和力增强, 也增加病毒的复制与传播能力;
HV69-70del:	S1;NTD	Omicron	增加变异株的感染性;
P681H/R	S1:S1/S2 弗林蛋白酶切割位点	P681H 存在于 Alpha 和 Omicron 变异株中,P681R 存在于 Delta 变异株中.	P681H 和 P681R 可能会增加弗林蛋白酶对 S1/S2 的切割,并增强病毒-宿主细胞膜的融合;

2.1.2 L452R 突变

L452R 突变位于 RBD 区域,出现于 Delta, Kappa(B.1.617.1)和 Epsilon(B.1.427/9)等变异株中,该突变

增加 RBD-ACE2 复合物的稳定性,还导致免疫逃逸,这两个因素可能增加病毒的传播能力、感染性与致病率.对 SARS-CoV-2 S 蛋白的分析表明,L452 残基不直接接触 ACE2 受体,而是和 F490、L492 等残基在 S 蛋白的 RBD 表面形成疏水结构,L452R 突变使疏水结构破坏,并与 ACE2 受体直接接触,导致 RBD-ACE2 复合物的稳定性增强.美国加利福尼亚大学的一项研究显示,携带 L452R 突变的假病毒进入稳定表达 ACE2 和跨膜丝氨酸蛋白酶(TMPS2)的 293T 细胞的效率比携带 D614G 突变的假病毒高 6.7~22.5 倍,携带 L452R 突变的假病毒进入稳定表达 ACE2 的人气管类器官的效率比携带 D614G 突变的假病毒高 5.8~14.7 倍^[32].此外,研究人员发现携带 L452R 突变的假病毒降低恢复者血浆的中和活性,并且对单克隆抗体 X593 和 P2B-2F6 具有显著的抗性,具有 L452R-E484Q 双重突变的 B.1.167 变异株与宿主细胞受体 ACE2 具有更强的结合亲和力,并具有逃避体液免疫的能力^[33].

2.1.3 E484K 突变

E484K 突变位于 RBM 中,存在于 Beta,Gamma,Eta(B.1.525),Iota(B.1.526),Theta(P.3)和 Zeta(P.2) 变异株中.研究表明,E484K 突变不仅降低恢复者血清和 mRNA 疫苗免疫者血清对病毒的中和活力,还导致多个单克隆抗体完全失去治疗作用(如 REGN10989、REGN10934、2-15、LY-CoV555、C121),E484K 突变与 K417N 突变结合显著降低单克隆抗体 REGN10933 的中和活性^[34].

2.1.4 T478K 突变

与 B.1.617.1 和 B.1.617.3 相比,Delta 变异株缺少 E484Q 突变,在 S 蛋白中具有独特的 T478K 突变,对 S 蛋白结构进行计算机分子动力学研究预测,T478K 突变会增加 RBD 与细胞表面 ACE2 的结合亲和力^[35].Delta 变异株含有的 T478K 突变与基因组中其他突变的组合似乎提供更大的适应性优势,截至 2021 年 6 月 12 日,B.1.617.1 和 B.1.617.3 变异株在全球的流行率小于 0.5%,而 Delta 变异株的流行率为 2.0%.

2.1.5 N501Y 突变

N501Y 突变出现于 Alpha、Beta、Gamma 和 Omicron 等变异株中,该突变通过增强 RBD 与 ACE2 的结合亲和力和紧密度来增加感染性.GU 等^[36]开发了一种小鼠模型(MASCp6)来评估 SARS-CoV-2 的传染性和毒力,观察到 N501Y 突变增加了 RBD 与 ACE2 受体的亲和力,有利于病毒进入,从而导致毒力增强.研究人员通过结构模型证明 N501Y-RBD 与 ACE2 的结合紧密度是野生病毒株的 10 倍,有趣的是,N501Y-RBD 与 ACE2 的结合亲和力远高于 K417N/T-E484K-N501Y-RBD.N501Y 突变对疫苗免疫者血清和恢复者血清的中和活性基本无影响,显著降低部分单克隆抗体的中和作用^[37].

2.1.6 D614G 突变

D614G 突变存在于所有 VOC 中,研究显示,D614G 突变增加 RBD 与 ACE2 的结合亲和力,具有 D614G 突变的病毒基因表达比野生型病毒高 0.5~2.0 倍,感染 D614G 变异株的临床样本具有高滴度的 SARS-CoV-2 RNA.在病毒感染的早期阶段,具有 D614G 突变的病毒在仓鼠之间表现出明显更快的液滴传播,这也解释了首次出现 D614G 变异株之后,该变异株在几个月内成为全球主要流行株^[38].以上研究结果证明,该突变导致病毒与 ACE2 受体的亲和力增强,也增加病毒的复制与传播能力.除此之外,研究结果表明 D614G 突变并不影响临床结果以及恢复期患者以及疫苗诱导的抗体活性^[5].

2.2 其他区域氨基酸突变

2.2.1 HV69-70del(Δ 69-70)突变

HV69-70del 存在于 Alpha 和 Omicron 变异株中,通常在某些可增加 S 蛋白与 ACE2 受体结合亲和力或导致免疫逃逸的突变后出现,例如 N501Y、N439K、Y453F.通过假病毒模型发现,HV69-70del 通过增加 S1/S2 切割和提高细胞与细胞膜融合的速率来增加变异株的感染性,并不影响恢复者血清的中和作用.此外,体外实验表明 D796H 突变产生免疫逃逸但降低感染性,当 D796H 和 HV69-70del 同时出现在 SARS-CoV-2 变异株时,HV69-70del 可以补偿由 D796H 突变引起的感染性降低^[39].

2.2.2 P681H/R 突变

弗林蛋白酶切割位点位于 SARS-CoV-2 刺突蛋白的 S1 和 S2 亚基之间,其中包含氨基酸位点:681~685,该区域的切割是病毒进入人类宿主细胞的关键.P681H 存在于 Alpha、Omicron 和 Theta 变异株中,P681R 存在于 Delta 和 Kappa 变异株中.研究显示,P681H 和 P681R 可能会增加弗林蛋白酶对 S1/S2 的切

割,并增强病毒与宿主细胞膜的融合^[40]。

2.3 Omicron 变异株的关键氨基酸突变

G446S 与 S477N 突变可能降低某些单克隆抗体和恢复期血浆的中和作用,Q493R 和 Y505H 突变可能会增强病毒与 ACE2 的结合亲和力并增加其感染性,H655Y 和 N679K 突变可能有利于病毒进入宿主细胞,增强病毒的传染性和致病性,提高了其免疫逃逸能力.N460K 和 F486S 突变增强细胞间的融合以及增加 S1/S2 切割来增强感染性,并似乎与恢复期血浆的中和作用降低有关^[26,41-42]。

3 结论与展望

病毒进化是一个持续的过程,SARS-CoV-2 变异株给世界各地的医疗工作者和科学家带来了新的挑战。VOC 变异株不仅可以部分或完全逃避免疫反应,损害基于单克隆抗体和恢复期血浆的治疗效果,严重影响疫苗的有效性,还会造成感染过病毒的个体再次感染。可以通过以下措施来对抗新冠疫情的大流行以及降低 SARS-CoV-2 变异株造成的危害:(1)在全球范围内快速大规模接种疫苗,以减少 SARS-CoV-2 的感染,在某些无法大规模接种疫苗的地区可以采取严格的公共卫生措施和有效的策略来阻止或减少病毒传播(例如戴口罩、勤洗手以及保持社交距离)。(2)对新出现的变异株进行监测和识别,确定疫苗和中和抗体对新的变异株的有效性。高效的检测系统可以快速检测、隔离和应对新的变异株,避免不受控制的传播。(3)监测已经接种疫苗或以前感染过的个体的突破性感染,评估新的变异株潜在的免疫逃逸。(4)接种加强针来增加中和抗体滴度,提高疫苗的保护力。

综上所述,伴随着新冠病毒的进化趋势,疫苗的研发工作也应随之改变:(1)开发混合疫苗,最大程度覆盖新冠病毒更新的突变株;(2)开发针对横跨冠状病毒保守抗体表位和 T 细胞表位的泛冠状病毒疫苗,以预防新的突变株出现;(3)开发诱导呼吸道黏膜免疫的黏膜免疫疫苗。

参 考 文 献

- [1] GRAHAM R L, BARIC R S. Recombination, reservoirs, and the modular spike: mechanisms of coronavirus cross-species transmission[J]. *Journal of Virology*, 2010, 84(7): 3134-3146.
- [2] WHO. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic[EB/OL]. [2022-09-27]. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>.
- [3] LU R J, 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.
- [4] TIAN D D, SUN Y H, ZHOU J M, et al. The global epidemic of SARS-CoV-2 variants and their mutational immune escape[J]. *Journal of Medical Virology*, 2022, 94(3): 847-857.
- [5] KORBER B, FISCHER W M, GNANAKARAN S, et al. Tracking changes in SARS-CoV-2 spike: evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus[J]. *Cell*, 2020, 182(4): 812-827.
- [6] DAVIES N G, ABBOTT S, BARNARD R C, et al. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England[J]. *Science*, 2021, 372(6538): eabg3055.
- [7] DAVIES N G, JARVIS C I, EDMUNDS W J, et al. Increased mortality in community-tested cases of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7[J]. *Nature*, 2021, 593(7858): 270-274.
- [8] EMARY K R W, GOLUBCHIK T, ALEY P K, et al. Efficacy of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine against SARS-CoV-2 variant of concern 202012/01 (B.1.1.7): an exploratory analysis of a randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2021, 397(10282): 1351-1362.
- [9] LUSTIG Y, ZUCKERMAN N, NEMET I, et al. Neutralising capacity against Delta (B.1.617.2) and other variants of concern following Comirnaty (BNT162b2, BioNTech/Pfizer) vaccination in health care workers, Israel[J]. *Euro Surveillance*, 2021, 26(26): 2100557.
- [10] HOFFMANN M, ARORA P, GROß R, et al. SARS-CoV-2 variants B.1.351 and P.1 escape from neutralizing antibodies. *Cell*, 2021, 184(9): 2384-2393.
- [11] RAMAN R, PATEL K J, RANJAN K. COVID-19: unmasking emerging SARS-CoV-2 variants, vaccines and therapeutic strategies[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(7): 993.
- [12] TEGALLY H, WILKINSON E, GIOVANETTI M, et al. Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa[J]. *Nature*, 2021, 592(7854): 438-443.
- [13] DEJNIRATTISAI W, ZHOU D M, SUPASA P, et al. Antibody evasion by the P.1 strain of SARS-CoV-2[J]. *Cell*, 2021, 184(11):

2939-2954.

- [14] SABINO E C, BUSS L F, CARVALHO M P S, et al. Resurgence of COVID-19 in Manaus, Brazil, despite high seroprevalence[J]. *Lancet*, 2021, 397(10273): 452-455.
- [15] FREITAS A R R, BECKEDORFF O A, DE GÓES CAVALCANTI L P, et al. The emergence of novel SARS-CoV-2 variant P.1 in Amazonas(Brazil) was temporally associated with a change in the age and sex profile of COVID-19 mortality; a population based ecological study[J]. *Lancet Regional Health Americas*, 2021, 1: 100021.
- [16] RANZANI O T, HITCHINGS M D T, DORION M, et al. Effectiveness of the CoronaVac vaccine in older adults during a gamma variant associated epidemic of covid-19 in Brazil; test negative case-control study[J]. *BMJ*, 2021, 374: n2015.
- [17] CALLAWAY E. Delta coronavirus variant; scientists brace for impact[J]. *Nature*, 2021, 595(7865): 17-18.
- [18] FISMAN D N, TUIITE A R. Evaluation of the relative virulence of novel SARS-CoV-2 variants; a retrospective cohort study in Ontario, Canada[J]. *CMAJ*, 2021, 193(42): 1619-1625.
- [19] CARREÑO J M, ALSHAMMARY H, TCHEOU J, et al. Activity of convalescent and vaccine serum against SARS-CoV-2 *Omicron* [J]. *Nature*, 2022, 602(7898): 682-688.
- [20] PLANAS D, SAUNDERS N, MAES P, et al. Considerable escape of SARS-CoV-2 *Omicron* to antibody neutralization[J]. *Nature*, 2022, 602(7898): 671-675.
- [21] MAHASE E. Covid-19; what do we know about omicron sublineages? [J]. *BMJ*, 2022, 376: o358.
- [22] IKETANI S, LIU L H, GUO Y C, et al. Antibody evasion properties of SARS-CoV-2 *Omicron* sublineages[J]. *Nature*, 2022, 604(7906): 553-556.
- [23] QU P K, EVANS J P, FARAONE J, et al. Distinct neutralizing antibody escape of SARS-CoV-2 *Omicron* subvariants BQ.1, BQ.1.1, BA.4, 6, BF.7 and BA.2.75.2[EB/OL]. [2022-09-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9603827>.
- [24] SHUAI H P, CHAN J F W, HU B J, et al. Attenuated replication and pathogenicity of SARS-CoV-2 B.1.1.529 *Omicron* [J]. *Nature*, 2022, 603(7902): 693-699.
- [25] ULLOA A C, BUCHAN S A, DANEMAN N, et al. Estimates of SARS-CoV-2 *Omicron* variant severity in Ontario, Canada[J]. *JAMA*, 2022, 327(13): 1286-1288.
- [26] GARRETT N, TAPLEY A, ANDRIESEN J, et al. High rate of asymptomatic carriage associated with variant strain omicron[EB/OL]. [2022-09-27]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8764727/>.
- [27] CAMERONI E, BOWEN J E, ROSEN L E, et al. Broadly neutralizing antibodies overcome SARS-CoV-2 *Omicron* antigenic shift[J]. *Nature*, 2022, 602(7898): 664-670.
- [28] CHEN L L, CHUA G T, LU L, et al. *Omicron* variant susceptibility to neutralizing antibodies induced in children by natural SARS-CoV-2 infection or COVID-19 vaccine[J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2022, 11(1): 543-547.
- [29] MUIK A, LUI B G, WALLISCH A K, et al. Neutralization of SARS-CoV-2 *Omicron* by BNT162b2 mRNA vaccine-elicited human sera [J]. *Science*, 2022, 375(6581): 678-680.
- [30] URAKI R, HALFMANN P J, IIDA S, et al. Characterization of SARS-CoV-2 *Omicron* BA.4 and BA.5 isolates in rodents[J]. *Nature*, 2022, 612(7940): 540-545.
- [31] WANG Z J, SCHMIDT F, WEISBLUM Y, et al. mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants[J]. *Nature*, 2021, 592(7855): 616-622.
- [32] DENG X D, GARCIA-KNIGHT M A, KHALID M M, et al. Transmission, infectivity, and neutralization of a spike L452R SARS-CoV-2 variant[J]. *Cell*, 2021, 184(13): 3426-3437.
- [33] LIU Z M, VANBLARGAN L A, BLOYET L M, et al. Identification of SARS-CoV-2 spike mutations that attenuate monoclonal and serum antibody neutralization[J]. *Cell Host & Microbe*, 2021, 29(3): 477-488.
- [34] WEISBLUM Y, SCHMIDT F, ZHANG F W, et al. Escape from neutralizing antibodies by SARS-CoV-2 spike protein variants[J]. *eLife*, 2020, 9: e61312.
- [35] HARVEY W T, CARABELLI A M, JACKSON B, et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(7): 409-424.
- [36] GU H J, CHEN Q, YANG G, et al. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy[J]. *Science*, 2020, 369(6511): 1603-1607.
- [37] COPIN R, BAUM A, WLOGA E, et al. The monoclonal antibody combination REGEN-COV protects against SARS-CoV-2 mutational escape in preclinical and human studies[J]. *Cell*, 2021, 184(15): 3949-3961.
- [38] DANILOSKI Z, JORDAN T X, ILMAIN J K, et al. The Spike D614G mutation increases SARS-CoV-2 infection of multiple human cell types[J]. *eLife*, 2021, 10: e65365.
- [39] KEMP S A, COLLIER D A, DATIR R P, et al. SARS-CoV-2 evolution during treatment of chronic infection[J]. *Nature*, 2021, 592(7853): 277-282.

- [40] GARCIA-BELTRAN W F, LAM E C, ST DENIS K, et al. Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity[J]. *Cell*, 2021, 184(9):2372-2383.
- [41] GREANEY A J, LOES A N, CRAWFORD K H D, et al. Comprehensive mapping of mutations in the SARS-CoV-2 receptor-binding domain that affect recognition by polyclonal human plasma antibodies[J]. *Cell Host & Microbe*, 2021, 29(3):463-476.
- [42] SINGH A, STEINKELLNER G, KÖCHL K, et al. Serine 477 plays a crucial role in the interaction of the SARS-CoV-2 spike protein with the human receptor ACE2[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1):4320.

Research advances in SARS-CoV-2 variants

Yang Xianguang, Zhang Dongwei, Hu Bing

(College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is a novel respiratory infectious disease with high incidence and mortality rate caused by the novel coronavirus severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Because SARS-CoV-2 is prone to mutation, the continuous emergence of SARS-CoV-2 variant strain has caused a great impediment to ending the covid-19 pandemic. Some variants are defined by the World Health Organization as 'Variants Of Concern (VOC)'. VOC fulfilled the following conditions: transmissibility, pathogenicity or altered clinical expression; reduced effectiveness of diagnostics, vaccines, and treatments. Up to now, there are five VOC, namely Alpha, Beta, Gamma, Delta and Omicron. Some amino acid mutations are shared or shifted by multiple VOC. This review mainly provides an overview of the prevalent characteristics of these variants as well as the characteristics of the important amino acid mutations in these variants, which may provide a scientific reference for research and development of drugs, antibodies, and vaccines.

Keywords: SARS-CoV-2; variants of concern; spike protein

[责任编辑 刘洋 杨浦]