



# 新型冠状病毒信息 简报

---

第4期（2020年3月22日报）

编译制作：上海科技大学免疫化学研究所生物学大数据平台

联系人：jianglch@shanghaitech.edu.cn 蒋立春

# 内容介绍

分类	标题名称
疫情数据统计结果	1. 2020年3月21日疫情
科研信息	2. 一种可靠的高通量筛查 COVID-19 的快速单步逆转录酶环介导的等温扩增 (RT-LAMP) 体系的开发与验证 3. 逆转录环介导的等温扩增结合基于纳米颗粒的生物传感器协同用于 COVID-19 的诊断 4. SARS-CoV-2 在 COVID-19 患者中的抗体反应: 血清学检测在临床实践中的应用前景 5. COVID-19 患者中的 SARS-CoV-2 特异性抗体应答 6. SARS-CoV-2 治愈者抗病毒免疫特征研究 7. 治疗急性胰腺炎的药物 Nafamostat 有潜力成为 COVID-19 的治疗药物 8. 法匹拉韦 (Favipiravir) 和阿比朵尔 (Arbidol) 的随机对照临床试验 9. 一个可以结合 SARS-CoV-2 棘突蛋白的新型多肽

**免责声明:**

本简报仅作为科研参考之用, 不构成医疗建议, 如您怀疑自己感染新型冠状病毒, 请去正规医院或者咨询医生

## 1. 2020年3月21日疫情

数据来源: WHO

发布时间: 2020年3月21日

链接: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>

根据 WHO 提供的数据, 2020年3月20日全球累计确诊新型冠状病毒病人 265361 例, 当日新增确诊 32000 例, 累计死亡 11177 例, 当日新增死亡 1344 例。

中国累计确诊 81416 例, 累计死亡 3261 例, 当日新增确诊 116 例, 新增死亡 8 例。

## 2. 一种可靠的高通量筛查 COVID-19 的快速单步逆转录酶环介导的等温扩增 (RT-LAMP) 体系的开发与验证

### ——利用 RT-LAMP 方法快速诊断 COVID-19

来源: medRxiv, 预印本。

发布时间: 2020-03-20

链接: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.15.20036376v1>

内容摘要:

最近的 COVID-19 在许多国家已经感染了成千上万的病人, 其致病病毒 SARS-CoV-2 具有高度的传染性。分子诊断工具是控制病毒和开展适当临床护理的核心。理想的筛查诊断方案应该具有快速、用户友好性、高度的灵敏性和特异性等特点。来自浙江省温州医科大学附属第二医院检验科、育英儿童医院, 上海市第二军医大学长征医院分子医学真菌学重点实验室, 河北工程大学附属医院皮肤科, 浙江省平湖市第二人民医院检验科, 上海市浦东新区人民医院检验科, 江苏省无锡市第五人民医院检验科, 以及荷兰 Westerdijk 真菌生物多样性研究所, 因斯布鲁克医科大学卫生与医学微生物学研究所的国内外研究人员, 提出了一种单步逆转录酶 LAMP 分析法 (RT-LAMP), 可以在 30 分钟内完成病毒检测, 灵敏度最低到 500 个拷贝。

研究人员收集了来自 47 例确诊病例和 213 例阴性患者病例的临床样本, 用 RT-LAMP 方法和两种商品化的 qRT-PCR 方法 (检测金标准) 进行对比实验, 比对结果显示 LAMP 方法具有较高的灵敏度和特异性。LAMP 方法比 qRT-PCR 方法快 2.5 倍, 它可以扩展实验室的处理能力, 比 qRT-PCR 多处理 2.5 倍的临床样本, 可用于高通量筛选。而且, LAMP 方法的试剂可以制成干粉状更易于保存和运输。但是, 研究人员表示这种方法也有缺点, 它不能像 qRT-PCR 方法那样定量检测, 而且它的灵敏度也还有待提高。研究人员还指出, 他们会在核酸抽提方面做出改进, 更加缩短检测的周期。

## 3. 逆转录环介导的等温扩增结合基于纳米颗粒的生物传感器协同用于 COVID-19 的诊断

来源: medRxiv, 预印本

发布时间: 2020-03-20

链接: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.17.20037796v1>

内容摘要:

鉴于严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2, 也被称为 2019-nCov) 感染新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 正在全球范围内大规模的爆发和迅速蔓延, 疫情已成为一个巨大的公共卫生问题。因此, 迫切需要快速、准确的方法来诊断 COVID-19, 从而提供及时的治疗并控制感染。来自海南省三亚市人民医院、文昌市人民医院和首都医科大学附属北京市儿童医院的

研究人员成功建立了一种结合纳米颗粒生物传感器(NBS)的一步逆转录环介导等温扩增(RT-LAMP)方法(工作原理如下图1所示),用于 COVID-19 的快速、准确诊断。

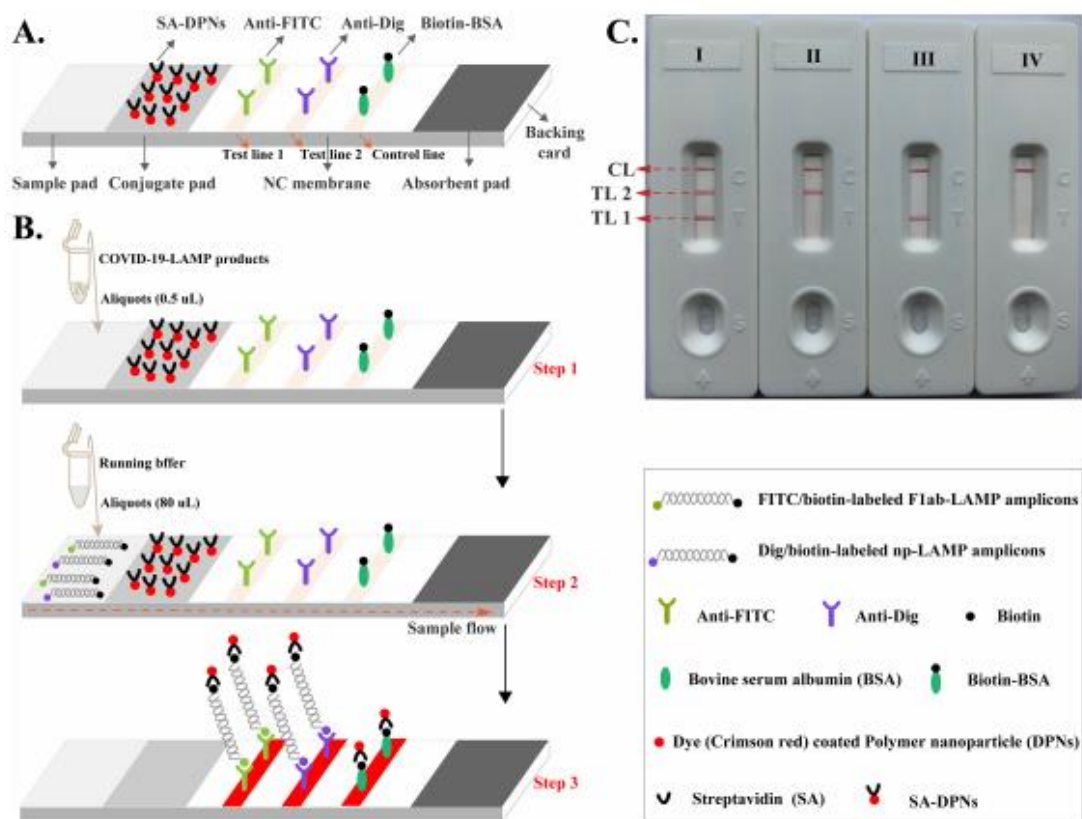


图 1. RT-LAMP 产物在 NBS 上的可视化检测的工作原理

NBS 的组成; B. NBS 的工作原理; C. 结果展示: I, F1ab 和 np 的阳性结果 (TL1、TL2 和 CL 出现在 NBS 上); II, N 的阳性结果 (TL2 和 CL 出现在检测区域上); III, F1ab 的阳性结果 (TL1 和 CL 出现在检测区域上); IV, 阴性 (只有对照线出现在 NBS 上)。

研究人员设计了两套 LAMP 引物,同时扩增和检测 SARS-CoV-2 的 F1ab (开放阅读框 1a/b) 和 np (核蛋白) 基因,它能实现一步法的单管反应,而且结果很容易被 NBS 解读。SARS-CoV-2 的 RT-LAMP-NBS 的灵敏度为每反应 12 个拷贝 (每个检测目标),而且与非 SARS-CoV-2 模板不会产生交叉反应。在临床确诊的 COVID-19 患者中,SARS-CoV-2 在咽拭子标本中的分析灵敏度为 100% (33/33),对非 COVID-19 患者的临床标本的分析特异性为 100% (96/96)。从样本采集到出结果的总诊断时间约为 1h。总之,RT-LAMP-NBS 是一线、公共卫生和临床实验室,特别是资源匮乏地区诊断 SARS-CoV-2 感染的一种有前途的工具。

编者注:与来自浙江省温州医科大学附属第二医院等研究人员建立的 RT-LAMP 方法相比(详见本简报“一种可靠的高通量筛查 COVID-19 的快速单步逆转录酶环介导的等温扩增 (RT-LAMP) 体系的开发与验证”一文),本方法实现了在单管中同时检测多个目的基因,而且结合了 NBS 后结果展示更准确、更直观,相反的,上一篇文章中提到的 LAMP 方法是在荧光定量 PCR 仪 (型号: ABI 7500) 上进行检测分析,检测方法更简单,而且成本相对较低。

#### 4. SARS-CoV-2 在 COVID-19 患者中的抗体反应: 血清学检测在临床实践中的应用前景

来源: medrxiv

发布时间: 2020-03-18

来源链接: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.18.20038018v1>

内容摘要:

该文研究了 COVID-19 患者急性抗体反应的概况, 能为临床实践中的抗体检测提供建议。该研究采用多中心横断面研究 (285 例) 和单中心随访研究 (63 例) 的方法, 探讨了 SARS-CoV-2 急性抗体反应的特点。该研究也纳入了 52 名 COVID-19 疑似和 64 名密切接触者, 用来评估抗体检测的潜力。症状发作后 20 天左右 IgG 阳性率达到 100%。IgG 和 IgM 实现血清转换的中位天数为在症状出现后的第 13 天。IgM 的血清转换可能与 IgG 的血清转换同时, 也可能早于或晚于 IgG 的血清转换。100% 的患者 (19/19) 的 IgG 水平在血清转换后 6 天内进入平台期。“IgG 血清转换的标准”以及“序贯标本中 IgG 滴度增加 4 倍及以上”能够诊断出 82.9% (34/41) 的患者。抗体检测能够从 52 名 RT-PCR 测试为阴性的疑似患者中诊断出 4 名 COVID-19 患者, 另外, 148 名 RT-PCR 为阴性的密切接触者中有 7 名患者通过抗体检测被确诊。该文认为感染早期应同时检测 IgM 和 IgG。“血清转换的血清学诊断标准”或“IgG 滴度的  $\geq 4$  倍增加”适合于大多数 COVID-19 患者。血清学检测有助于诊断 SARS-CoV-2 感染的嫌疑人和密切接触者。

编者注: 机体的免疫系统在受到抗原 (包括细菌、病毒、甚至自身肿瘤细胞等) 刺激后会产生产生抗体, 我们从免疫细胞 (B 细胞) 开始产生抗体算起, 将血清中无法检测到抗体至能够检测到抗体的这个“转换点”定义为血清转换 (信息来源于百度百科)。

## 5. COVID-19 患者中的 SARS-CoV-2 特异性抗体应答

来源: medrxiv, 预印本

发布时间: 2020-03-18

来源链接: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.18.20038059v1>

内容摘要:

该研究开发了利用棘突蛋白 (S 蛋白) 和核衣壳的特异性中和性抗体进行的 SARS-CoV-2 血清学检测。该研究针对不同的抗原, 用经过 PCR 确诊的 SARS-CoV-2、其他冠状病毒或其他呼吸道致病感染患者的血清样本, 对用内部开发以及商业化的 ELISA 试剂盒进行了测试和验证。该团队开发的 ELISAs 证明大多数经 PCR 确诊的 SARS-CoV-2 感染样本中已发生血清转换。研究还表明商业化的 S1 IgG 或 IgA ELISAs 的特异性都较低, 其中 IgA 比 IgG 的敏感性更高。总之, 经过该研究验证的检测可以对诊断中检测 SARS-CoV-2 的特异性抗体, 血清流行病学和疫苗评估研究发挥作用。

## 6. SARS-CoV-2 治愈者抗病毒免疫特征研究

来源: medrxiv, 预印本

发布时间: 2020-03-17

来源链接: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.17.20036640v1>

内容摘要:

世卫组织宣布 SARS-CoV-2 爆发为国际关注的公共卫生紧急事件。但是, 目前几乎没有描述病人免疫反应的报道, 特别是对 SARS-CoV-2 感染的适应性免疫反应。在本研究中, 我们收集了最近出院, 体内不再有 SARS-CoV-2 病毒的 12 名治愈者的血液。我们分析了他们的 SARS-CoV-2 特异性抗体和 T 细胞反应。我们观察到了 SARS-CoV-2 特异性体液免疫和细胞免疫。两者均在新出院患者中检测到, 这说明特异性体液免疫和细胞免疫都参与了免疫介导的对病毒感染的保护。但是出院后 2 周的随访治愈者体内的 IgG 抗体滴度高, 但是病毒特异性 T 细胞水平低, 这表明病毒特异性的 T 细胞可能进入静止状态。我们的工作为进一步分析 SARS-CoV-2 的保护性免疫, 了解 COVID-19 的发病机制, 特别是重症的发生机制, 以及设计预防

和治疗 SARS-CoV-2 感染的疫苗打下了基础。

## 7. 治疗急性胰腺炎的药物 Nafamostat 有潜力成为 COVID-19 的治疗药物

链接: <https://www.u-tokyo.ac.jp/content/400133690.pdf> (日文), 本研究尚未发表在学术期刊上

概述:

近日, 日本东京大学医学科学研究所井上淳一郎教授等人在东京大学网站发布了一项有潜力成为 COVID-19 治疗药物的研究成果。

他们的研究提示用于治疗急性胰腺炎的 Nafamostat 可以通过防止 SARS-CoV-2 病毒外膜与被感染细胞的细胞膜融合, 进而有效阻止病毒入侵过程。在今年 3 月初, 德国小组宣布了一种与 Nafamostat 相似的药物 Camostat 能抑制 SARS-CoV-2 病毒外膜与被感染细胞的细胞膜融合 (参考文献 1)。之前也有日本课题组曾经研究表明这两种药物能够抑制 MERS 冠状病毒和人体细胞的融合并抑制病毒感染 (参考文献 2)。

对于 SARS-CoV-2 如何感染人体细胞, 以往的研究表明: 首先病毒表面的棘突 spike 蛋白 (S 蛋白) 与人细胞质膜上的 ACE2 受体结合; 然后 S 蛋白被人体弗林蛋白酶切割为 S1 和 S2。; 接着, S1 与受体 ACE2 受体结合。最后 S 蛋白的 S2 被人细胞表面丝氨酸蛋白酶 TMPRSS2 切割, 导致膜融合, 病毒成功感染细胞。

在这项研究中, 研究者们开发了一种利用海肾荧光素酶分裂酶和 GFP 分裂蛋白 (DSP1-7, DSP8-11) 的嵌合蛋白系统定量地评估病毒外膜与细胞膜融合的膜融合测量系统。他们将该系统表达至 293FT 细胞和 Calu3 细胞。其中 293FT 是人胚胎肾细胞, 本身不表达 ACE2 和 TMPRSS2。Calu3 是一种人肺腺癌细胞, 源于肺上皮细胞, 该细胞内源性表达 ACE2 和 TMPRSS2。除了膜融合系统的蛋白, 研究人员还在 293FT 细胞异位表达病毒的 S 蛋白。当这两种细胞共培养发生膜融合时, 两种细胞的报告蛋白分别发出荧光和光, 因此可以定量观察膜融合。研究团队测定了 Nafamostat 和 Camostat 对这个细胞膜融合的抑制作用。他们发现与 Camostat 相比, 十分之一或者更低浓度的 Nafamostat 就可以抑制病毒入侵过程。Nafamostat 能在 10 至 1000nM 的浓度范围内浓度呈现浓度梯度抑制细胞的融合。

他们认为该研究为 Nafamostat 对防止新冠病毒感染人体细胞提供了证据, 鉴于 Nafamostat 和 Camostat 都是在日本开发的, 并且在日本作为处方药已经销售多年。临床已经积累了足够的关于这两种药物安全性的数据, 他们推荐尽快将该药推进临床试验。

[参考文献]

1. Hoffmann 等人, Cell 181, 1-10 (2020)
2. Yamamoto 等人, Antimicrob Agents Chemother 60, 6532-6539 (2016)

联系人:

东京大学医学科学研究所行政部公共关系小组电子邮件: [koho@ims.u-tokyo.ac.jp](mailto:koho@ims.u-tokyo.ac.jp)

## 8. 法匹拉韦 (Favipiravir) 和阿比朵尔 (Arbidol) 的随机对照临床试验

来源: medRxiv, 预印本

发布时间: 2020 年 3 月 20

<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.17.20037432v1>

武汉中南医院 20 日在 medRxiv 发布了关于法匹拉韦和阿比朵尔的随机对照临床试验结果。该试验比较了两种药物治疗 COVID-19 时的安全性和有效性。该试验是一个多中心, 开放式的随机对照前瞻性的优效试验。

招募的病人是从 2 月 20 日至 3 月 12 日入院的新冠病毒肺炎确诊病人。

医疗干预: 标准治疗加法匹拉韦或者阿比朵尔。

临床主要终点：临床 7 天恢复比例。

对病人进行一周的随访以收集药物安全性数据。

每组招募 120 例病人，实际有效病例数法匹拉韦组为 116 例，阿比朵尔组为 120 例子。

对于无基础病病人，阿比朵尔组 7 天康复率为 55.86%，而法匹拉韦组 71.43%( $P = 0.0199$ )。

普通病人以及有高血压或者糖尿病的病人中，法匹拉韦能显著缩短退烧和咳嗽改善所花的时间 ( $p$  数值均小于 0.001)。但是病人的吸氧和呼吸机需要的比例在两组中无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

阿比朵尔组相比法匹拉韦组，更多病人发生肝功能不正常，不良心理反应，消化道系统不良反应或者高血清尿酸（阿比朵尔组 3 例 [2.50%]，法匹拉韦 16 例 [13.79%]， $P < 0.0001$ ）。

结论：在未经过抗病毒药物治疗过的普通 COVID-19 病人中，法匹拉韦疗效胜过阿比朵尔。有更高比例的经过法匹拉韦治疗的病人在 7 天内临床康复，另外，法匹拉韦治疗组更少发生不良反应。

该临床试验在中国的注册号 ChiCTR200030254。

编者注：

法匹拉韦一种病毒 RNA 聚合酶 (RNA polymerase) 抑制剂

阿比朵尔是一种通过抑制流感病毒脂膜与宿主细胞的融合而阻断病毒的复制的流感治疗药物

## 9. 一个可以结合 SARS-CoV-2 棘突蛋白的新型多肽

来源：bioRxiv, 预印本

发布时间：2020 年 3 月 20

链接：<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.03.19.999318v1>

MIT 团队于 20 日在 bioRxiv 上发布一个关于可以结合 SARS-CoV-2 的新型多肽的研究结果。棘突蛋白的受体结合区域和人体细胞 ACE2 蛋白结合是 SARS-CoV-2 进入人体细胞的第一步。阻断 SARS-CoV-2 的受体结合区域和 ACE2 的结合进而阻断病毒进入人细胞，是研发抗 SARS-CoV-2 新药的一个新思路。研究团队对 ACE2 和 SARS-CoV-2 的 RBD 共结晶结构的基础上进行分子动力学分析，发现 ACE2 的肽酶区域  $\alpha 1$  螺旋对和 SARS-CoV-2-RBD 发生结合很重要。该团队合成和纯化了位于 ACE2 的肽酶区域  $\alpha 1$  螺旋上的 23 个氨基酸的多肽 (IEEQAKTFLDKFNHEAEDLFYQS)。生物膜干涉技术分析表明这个多肽和 SARS-CoV-2 S 蛋白的 RBD 区域有纳摩尔级别的亲和力。这个多肽有潜力作为对抗 COVID-19 的药物，另外也为诊断提供了新的原材料。