

· 基础研究破解新型冠状病毒谜题 ·

COVID-19 诱发的免疫损伤机制研究支撑疫情防控

陈永文 吴玉章*

陆军军医大学 基础医学院, 重庆 400038

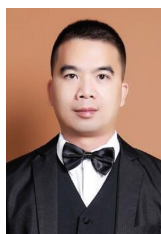
[摘要] SARS 冠状病毒 2 型 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, SARS-CoV-2) 感染导致新型冠状病毒肺炎 (Coronavirus Disease 2019, COVID-19), 主要特征是同一病毒感染导致迥然不同的临床后果, 而同一病毒在不同机体诱导不同的免疫反应是其根本原因。SARS-CoV-2 及其变异株感染导致重症、危重症具有与其他重症感染共性损伤机制, 如高炎症反应、I 型干扰素两相反应及补体系统过度活化等。针对 COVID-19 的特殊免疫损伤机制, 我们在国际上率先发现急性病毒感染诱导的 T 细胞应答可导致老年人“急性 T 细胞功能耗竭”, 该耗竭状态不但是外周耗竭, 表现为 T 细胞减少和功能降低, 还表现为中枢耗竭即中枢免疫器官对外周自稳的机制缺失, 而通过药物增加胸腺输出可减轻疾病严重度及减少死亡; 发现 SARS-CoV-2 感染引起的免疫反应还可攻击二级淋巴器官如脾脏和淋巴结及肺以外的靶器官—肾脏; 结合保护性免疫机制的认识, 我们研发了新冠病毒抗原诊断试剂盒及治疗性单克隆抗体等。后期将围绕冠状病毒感染的免疫损伤和免疫保护机制进行深入研究, 为新型疫苗和免疫治疗技术的发展提供科学依据。

[关键词] COVID-19; SARS-CoV-2; 淋巴细胞减少症; 急性 T 细胞耗竭; 免疫损伤

在已发现的冠状病毒 4 个属中, α 和 β 属已经传播到人类, γ 及 δ 属尚在动物间传播。 α -属感染导致轻微类似于“普通感冒”的临床症状, 而 β -属则引起比较严重的疾病, 如严重急性呼吸综合征 (SARS)、中东呼吸综合征 (MERS)、新型冠状病毒肺炎 (Coronavirus Disease 2019, COVID-19) 等。COVID-19 是冠状病毒 β 属的 SARS 冠状病毒 2 型 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, SARS-CoV-2) 感染所致, 已在全球造成超 4.5 亿人感染、600 余万人死亡。冠状病毒的显著特征包括: (1) 不同病毒通过不同受体感染不同宿主; (2) 同一病毒感染不同个体导致从无症状、轻症、重症、危重症、死亡等不同临床后果^[1, 2]。SARS-CoV-2 的显著特征是自限性感染, 并通过感染“内皮、真皮、上皮”细胞损伤多个器官和组织。其自限性感染过程、疾病自然史提示 COVID-19 是一种典型的免疫病: 病毒清除与病理损伤是由免疫反应决定的。因此, 免疫防控是最根本手段, 而区分 SARS-CoV-2 人体感染后



吴玉章 中国免疫学会理事长、国家免疫生物制品工程技术研究中心主任、国家重点领域创新团队带头人、国家创新人才培养示范基地负责人。从事免疫学研究 35 年, 围绕“特异性免疫应答调控”, 以第一、通讯或共通讯作者身份在 *Nature* 等国际顶尖知名杂志发表论著 180 余篇, 研究成果入选“中国十大科技进展”“ESI 高引论文”“中国百篇卓越论文”等, 先后获得全国创新争先奖、何梁何利科学与技术进步奖、国家技术发明奖二等奖、中华医学奖一等奖各 1 项及省部级一等奖 4 项。



陈永文 教授, 中国人民解放军总后勤部科技新星称号获得者、中国免疫学会理事、*Frontiers in Medicine* 副编辑。获得国家自然科学基金优秀青年科学基金资助, 主持国家自然科学基金委员会与美国国立卫生研究院生物医学合作研究课题、国家自然科学基金面上项目、教育部留学回国人员科研启动基金等课题 10 余项。研究方向: 1) 自身免疫性疾病免疫干预新靶点的鉴定及转化医学研究; 2) 病毒感染与宿主免疫。迄今为止, 以第一/通讯作者身份在 *Science Advances*, *Nature Communications*, *Clinical Infectious Diseases*, *Gut*, *PLoS Pathogens* 等刊物发表论著 40 余篇。

收稿日期: 2022-03-16; 修回日期: 2022-07-29

* 通信作者, Email: wuyuzhang@tmmu.edu.cn

本文受到国家自然科学基金项目 (81971478, 82001693) 资助。

诱导的保护性免疫与损伤性免疫是免疫诊、防、治的基础。鉴于 SARS-CoV-2 是细胞致病病毒,感染本身造成原发损害、损伤性免疫应答造成继发损害,本文探讨该病毒特性和免疫损伤独特机制,以期为 COVID-19 诊治提供科学基础。

1 SARS-CoV-2 的抗原与变异

1.1 SARS-CoV-2 的抗原

冠状病毒是一种直径为 60~140 nm 的囊膜球形单链 RNA 病毒,其囊膜表面有 9~12 nm 的刺状突起,呈放射状排列,外观形似日冕。基于系统发育和基因组结构分类法,SARS-CoV-2 与先前鉴定的非典病毒(SARS-CoV)和中东呼吸综合征冠状病毒(Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus, MERS-CoV)同属 β -冠状病毒属^[3]。SARS-CoV-2 基因组主要包括 6 个开放阅读框(Open Reading Frame, ORF),从基因组 5' 端到 3' 端依次为编码病毒复制相关非结构蛋白的 ORF1a/1b 和 5 个结构蛋白基因,分别编码 5 个主要抗原:刺突蛋白(Spike Protein, S 蛋白)、膜蛋白(Membrane Protein, M 蛋白)、包膜蛋白(Envelope Protein, E 蛋白)、核衣壳蛋白(Nucleocapsid Protein, N 蛋白)和血凝素酯酶(Hemagglutinin-esterase, HE)。S 抗原是病毒外的跨膜蛋白,Furin 蛋白酶(Furin Protease)可将 S 抗原切割为 S1 和 S2 两个亚基,其中 S1 亚基有病毒受体结合结构域(Receptor Binding Domain, RBD)。病毒利用跨膜丝氨酸蛋白酶 2 (Transmembrane Protease, Serine 2, TMPRSS2)作为 S 蛋白引物,S1 亚基通过借助血管紧张素转化酶 2 (ACE2)受体促进病毒颗粒与宿主细胞的结合。N 抗原主要位于内质网高尔基体区域并结合病毒 RNA,参与病毒复制及病毒抗宿主免疫应答。M 抗原结合冠状病毒 RNA,决定病毒 RNA 复制并参与病毒的组装和出芽;而 E 抗原在病毒颗粒的成熟中发挥重要调节作用;HE 抗原为 β 属冠状病毒特有,结合糖蛋白上的唾液酸,具有乙酰酯酶活性^[4, 5]。

在人体,S 抗原活化滤泡辅助性 T 细胞(Tfh 细胞)的能力强,主要引起抗体应答;M 和 N 抗原主要活化 Th1 或 Th17 细胞,似乎主要引起细胞免疫应答,E 和 HE 抗原的免疫特性鲜有研究^[6]。疫苗和治疗性抗体的研制主要依据保护性抗原诱导的保护性免疫反应,因此抗原(免疫原)的选择是关键,但更为关键的是保护性免疫反应,是以表位特异性为基础的。在感染队列发现表位特异性免疫反应,在此

基础上设计免疫原可望设计出更优的疫苗、治疗用抗体或免疫细胞。

1.2 SARS-CoV-2 的变异与免疫逃逸

在宿主免疫压力下,SARS-CoV-2 不断发生变异。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)根据变异株的传播性、毒力、突破免疫屏障可能性的不同,将 SARS-CoV-2 变异株分为“关切变异株(variants of concern, VOC)”及“关注变异株(variants of interest, VOI)”。自 2021 年 2 月至今,WHO 一共认定 5 个 VOC 变异株,分别为 Alpha 变异株(B. 1. 1. 7)、Beta 变异株(B. 1. 351)、Gamma 变异株(P. 1)、Delta 变异株(B. 1. 617. 2)和 Omicron 变异株(B. 1. 1. 529)。这些变异株均发生多个抗体表位和 T 细胞表位变异,可以在不同程度上逃逸对原始株的免疫保护机制,理论上可造成更广泛流行。新型冠状病毒突变株及其突变位点个数如表 1 所示。

S 蛋白的 D614G 点突变是 Alpha 变异株的主要特征,该位点的碱基突变可打开 RBD 结构域并增强 Furin 蛋白酶对 S 蛋白切割裂解的敏感性,进而使得 S 蛋白更高效地与 ACE2 受体结合^[7]。除 D614G 突变外,Alpha 变异株 S 蛋白还同时携带有 HV69-70del、Y144del、N501Y、A570D、P681H、T716 I、S982A 和 D1118H 等其他 8 个位点的突变^[8]。值得关注的是,N501Y 突变也提高了突变株 S 蛋白结合 ACE2 受体的能力^[9]。因此,这些突变增强了 Alpha 变异株的传播力、感染住院率和死亡

表 1 新型冠状病毒突变株及其突变位点个数

突变株名称	突变位点个数
Alpha (B. 1. 17)	20
Beta (B. 1. 351)	17
Gamma (P. 1)	22
Epsilon (B. 1. 429)	10
Lota (B. 1. 526. 1)	17
Delta (B. 1. 617. 2)	18
Omicron (B. 1. 1. 529)	42
P. 2	10
P. 3	20
B. 1. 618	16
B. 1. 526. 2	18
B. 1. 617. 1	15
B. 1. 617. 3	14
总数	239

的风险。Beta 变异株主要包括 L18F、D80A、D215G、LAL242-244del、K417N、E484K、N501Y 和 A701V 等共 10 个位点的氨基酸突变,其中 N501Y、K417N、E484K 突变位于病毒的 RBD 区域^[7]。N501Y 突变增强 Beta 变异株的传播能力,而 E484K 突变则增强其免疫逃逸能力^[8, 10]。Gamma 变异株主要在 S 蛋白发生 L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、H655Y、T1027I、V1176F 和 S681H 等位点的氨基酸突变。与 Alpha 及 Beta 变异株不同,K417T 和 L18F 突变可使 Gamma 变异株获得逃避抗体中和作用^[11, 12]。Delta 变异株最初在印度发现,病毒 S 蛋白主要有 10 个位点的氨基酸位点 (T19R、G142D、156del、157del、R158G、L452R、T478K、R681R、D950N 和 S417N) 突变。其中,L452R、E484Q 以及 P681R 三个突变位于 RBD 结构域,这些突变使变异株病毒 S 蛋白结合中和性抗体的能力显著下降甚至完全无效;此外 P681R 突变可增加 S1/S2 裂解来增强病毒对靶细胞的感染^[12]。新近发现的 Omicron 变异株在病毒 S 蛋白有 32 个位点的氨基酸位点,其中 T478K、E484A 和 Q493R 三个位点的突变是 Omicron 变异株特有。其中 N501Y 和 Q493R 突变增加了 Omicron 变异株与 ACE2 受体结合的亲和力,因此 Omicron 变异株的传播速度远远超过其他变异株^[13]。

1.3 新冠疫苗对 SARS-CoV-2 病毒变异株的保护作用

目前对 SARS-CoV-2 疫苗研发的投入和效率超过了以往任何一种传染病,各国都将阻断 SARS-CoV-2 大流行的希望寄托在疫苗的使用上。其中超过 200 种基于传统或新型的疫苗平台开发的候选疫苗正在研发过程中,其中灭活疫苗、腺病毒载体疫苗、信使 RNA(mRNA)疫苗和重组亚单位蛋白疫苗等 8 种疫苗已经在多个国家广泛应用,然而不断出现的变异株则对疫苗的免疫效力提出了挑战。

针对灭活疫苗能否对变异毒株保持免疫效力,对来自国药集团中国生物北京生物制品研究所的 BBIBP-CorV 和北京科兴公司 CornoraVac 疫苗接种者的血清开展病毒的中和实验,发现 BBIBP-CorV 对 Alpha 变异株的几何平均滴度(Geometric Mean Titers, GMTs)与野生株基本一致,但是这些血清对 Beta 变异株的中和效率显著下降甚至完全失去中和活性^[14];此外 Ai 等研究表明,Omicron 变

异株相比其他变异株更容易突破 BBIBP-CorV 疫苗诱导的免疫保护^[15]。来源于 CoronaVac 疫苗接种者的血清对 Alpha 和 Beta 变异株中和作用都有略有下降但对 Gamma 变异株则完全无效,提示 Gamma 变异株对 CoronaVac 疫苗形成了免疫逃逸^[14]。中国人民解放军军事医学科学院—康希诺生物联合研发的 5 型人腺病毒载体疫苗 Ad5-nCoV、牛津大学-英国制药商阿斯利康研发的猴腺病毒载体疫苗(AZD1222)和俄罗斯的人腺病毒疫苗(Sputnik V)是目前全球使用较多的腺病毒载体疫苗。研究发现 Ad5-nCoV 疫苗除了对 Beta 变异株的中和效力略有下降,对于其他变异株仍然具有中和效力,提示其对变异株的保护效力较好^[16]。对 AZD1222 疫苗的研究显示其针对 Alpha 变异株的中和效力下降为 70.4%^[17]。而 Wall 等的研究则显示 AZD1222 疫苗对其他变异株如 Delta 变异株依然有很好的保护作用^[18]。然而对 Sputnik V 疫苗的研究则显示,该疫苗产生的抗血清对 Alpha 变异株和 Beta 变异株的中和作用比较差^[19]。

辉瑞和百欧恩泰(BioNTech)研发的 BNT162b2 和莫德纳研发的 mRNA-1273 是两款紧急获批上市使用的 mRNA 疫苗。研究显示 BNT162b2 疫苗对于 Alpha 和 Gamma 变异株的中和效率相较于野生株有 3~6 倍的下降,而对于 Beta 变异株则下降了超过 40 倍。另一研究提示 BNT162b2 疫苗接种者可再次感染 Delta 变异株,推测 BNT162b2 疫苗可能丧失对 Delta 变异株的长期保护作用^[20];新近一项 mRNA-1273 疫苗评价结果发现,3 剂量的 mRNA-1273 疫苗可有效预防 Delta 感染但对 Omicron 的有效性较低^[21]。相似的来自 12 例经 BNT162b2 疫苗免疫的人血清,其抗体对 Omicron 的中和效力降低了约 40 倍^[22]。混合疫苗方案中,两剂量的 mRNA-1273 疫苗注射后使用 BNT162b2 增强免疫,发现该免疫策略可提高疫苗接种者血清针对 Omicron 变异株的中和作用^[23]。ZF2001 是由中国科学院微生物研究所高福院士团队联合安徽智飞龙科马制药公司联合开发的新冠重组亚单位蛋白疫苗,该疫苗以新冠病毒刺突蛋白(S 蛋白)的串联重复二聚体 RBD 作为抗原,并以氢氧化铝作为佐剂生产。在大规模成人队列中,全程接种疫苗后至少 6 个月内,ZF2001 疫苗是安全的,并且可有效预防有症状以及重症至危重症 COVID-19^[24]。最近的研究发现在第三针同源(灭活疫苗)或异源接种后,抗体滴度显著升高,抗体阳性率达到至少 75%^[25]。因

此对于适宜接种的人群,推广疫苗加强针注射仍然是预防 SARS-CoV-2 传播,特别是应对奥密克戎株传播的有效手段之一。

2 新冠肺炎引起的机体免疫损伤新机制

免疫损伤机制是指导临床救治和免疫防治的重要依据。已有研究显示:SARS-CoV-2 感染人体不但引起其他病原感染也具有“高炎症反应”、I 型干扰素分泌延迟及补体系统过度活化损伤;该病毒还直接感染宿主的天然免疫细胞和二级淋巴器官,造成免疫耗竭;在老年人和免疫力低下感染者引起“急性 T 细胞耗竭”导致感染失控,临床上表现为危重症或死亡。分述如下:

2.1 SARS-CoV-2 感染导致天然免疫损伤

2.1.1 高炎症反应

与入侵呼吸系统的甲型流感病毒 H3N2、人鼻病毒和呼吸道合胞病毒等不同,病毒除感染人肺泡 I 型上皮细胞外,天然免疫系统主要由天然免疫细胞如单核—巨噬细胞、中性粒细胞及其分泌的细胞因子组成,是宿主抵抗病毒感染的第一道防线之一。SARS-CoV-2 感染可导致血清和支气管肺泡灌洗液中多种细胞因子(IL-6、TNF- α 、M-CSF、IL-1 β 和 IL-10 等)及趋化因子(如 MCP-1、IL-8 和 CXCL10 等)累积,虽然其强度低于无菌性败血症的“细胞因子风暴”,但可导致毛细血管细胞通透性增高、肺泡积液,影响通气功能,导致重症患者出现毛细血管渗漏综合症或多器官损伤,表现为毛细血管通透性增加、低血压、水肿和急性呼吸衰竭。因此“高炎症反应”被认为是 COVID-19 病情进展的不良预后指标^[26]。而早期采用托珠单抗阻断 IL-6/IL-6R 通路活性并阻断“细胞因子风暴”,对 COVID-19 重症患者开展救治并取得了一定的效果^[27]。需要指出的是:每个患者和同一患者的不同时相细胞因子并不相同,精准阻断可望取得更好效果。

2.1.2 I 型干扰素分泌延迟

I 型干扰素(IFN-I)主要有天然免疫细胞产生,其可抑制病毒复制因而在抗病毒免疫中有关键作用。研究发现 SARS-CoV-2 蛋白可抑制调控 I 型干扰素基因(*Ifn-I*)转录通路中的多个关键分子表达。例如,SARS-CoV-2 的 M 蛋白可阻断 ISGs 的激活而抑制宿主 *Ifn-I* 基因转录^[28];病毒 NP 蛋白可抑制视黄酸(维甲酸)诱导基因蛋白 I(Retinoic Acid Inducible Gene-1, RIG-I)通路下游的关键信号传导分子从而拮抗 β 型干扰素(IFN- β)的产生。此外,

COVID-19 危重患者 IFN-I 信号通路的过度激活也可导致干扰素分泌延迟^[29]。而 SARS-CoV-2 的微小核糖核酸(MicroRNA, miRNA) SCV2-miR-ORF1ab-1-3p 和 SCV2-miR-ORF1ab-25p 通过靶向 IFN-I 信号通路中的多个基因来发挥逃逸作用^[30]。需要指出的是:I 型干扰素在病程早期是保护作用,而在后期是损伤作用,精准操控 I 型干扰素才会取得更好的疗效。

2.1.3 补体系统过度激活

补体是天然免疫系统的重要组成部分,其适当激活可引起入侵病原体裂解或被吞噬,而过度的补体系统激活可加剧炎症反应,导致肺部和内皮损伤、血栓微血管病变和血栓形成,从而引起患者多器官功能衰竭^[31]。例如:COVID-19 患者肺 II 型上皮细胞有补体 C3a、C5a 和 sC5b-9 沉积;此外,C5a-C5aR1 可激活中性粒细胞和单核细胞分泌炎症因子形成“高炎症反应”,因此使用抗 C5aR1 单抗治疗可抑制 COVID-19 重症患者的急性肺损伤,因此阻断 C5a-C5aR1 是一种有效的 COVID-19 重症救治新策略^[32]。

2.2 SARS-CoV-2 感染导致获得性免疫损伤

2.2.1 淋巴细胞减少

获得性免疫应答对机体的保护作用主要通过 T 细胞及中和抗体获得。其中 T 细胞免疫应答发挥关键保护作用。COVID-19 患者在症状出现前的第 2 天可检测到针对病毒 S 蛋白的特异性 CD3⁺/Granzyme B⁺/perforin⁺ 细胞毒性 T 细胞(Cytotoxic T Lymphocyte, CTL)。此外,在 COVID-19 中度/无症状感染者及恢复期患者体内,也发现有 CD45RA⁺/CCR7⁻ 记忆性 T 细胞,可拮抗 SARS-CoV-2 的再次感染^[33]。在一些 COVID-19 患者体内,新近发现有高效抗 SARS-CoV-2 感染的 A2/S₂₆₉₋₂₇₇ HLA-A * 02:01 及 NP₁₀₅₋₁₁₃-B * 07:02 表位特异性 CTL,这些 CTL 也可拮抗病毒多种变异株感染^[34, 35]。然而在疾病的早期阶段,COVID-19 患者常表现为外周血白细胞总数正常或减少,50%~83% 的重症 COVID-19 患者出现淋巴细胞计数减少,出现“淋巴细胞减少症”。进一步的研究发现炎症因子可直接诱导 T 细胞凋亡、焦亡或炎性坏死,特别是体内有抗病毒活性的 IFN- γ ⁺/TNF- α ⁺/IL-2⁺/granzyme B⁺/CD4⁺ T 细胞和记忆性 CD3⁺/CD45RO⁺/CD4⁺ T 细胞数量严重减少,因此“淋巴细胞减少症”是 COVID-19 重症患者不良预后的关键因素^[36, 37]。

2.2.2 急性 T 细胞功能耗竭

除“淋巴细胞减少症”的获得性免疫损伤外，COVID-19 重症患者还伴着急性 T 细胞功能耗竭。SARS-CoV-2 急性感染导致的 COVID-19 重症患者，其外周血单个核细胞 (Peripheral Blood Mononuclear Cell, PBMC) 中 CD3⁺ T 细胞高表达 PD-1、TIM-3 和 LAG-3 等抑制性受体分子^[38, 39]；而重症/死亡 COVID-19 患者外周血中 NKG2A⁺/PD-1⁺/CTLA-4⁺/TIGIT⁺耗竭样 CTL 频率显著高于中度/轻度患者，其与患者的不良预后相关^[40]。随后的单细胞转录组测序 (Single Cell RNA Sequencing, scRNA-seq) 分析发现，COVID-19 重症患者 T 细胞有耗竭特征，包括表达组织定居及记忆表型 (ZNF683⁺ 和 ITGAE⁺)；高表达抑制分子 PD-1、TIM-3、HAVCR2、LAG3 和 CTLA-4；高表达促炎因子 CD70、COTL 和 HMGB1 及应激相关分子包括 HSPD1、HSP90AA1 和 BIRC5 等^[41]。表明 SARS-CoV-2 可通过诱导重症患者急性耗竭性 T 细胞而引起免疫逃逸。

SARS-CoV-2 感染诱导的天然免疫系统及获得性免疫系统损伤总结如图 1 所示。

3 本团队在 COVID-19 揭示免疫损伤新机制

针对人体免疫力，本团队从免疫自稳角度揭示 SARS-CoV-2 感染导致严重损害的机制，以期为

COVID-19 的免疫防控提供理论和技术支持。

3.1 在国际上率先发现 SARS-CoV-2 急性感染可导致重症患者“急性 T 细胞功能耗竭”

拉斯克奖 (Lasker prize) 获得者 雅克·米勒 (Jacques Miller) 70 年前发现细胞毒性 T 细胞是清除病毒的关键细胞。20 年前，诺贝尔奖得主 罗夫·辛克纳吉 (Rolf M. Zinkernagel) 则发现 CTL 在慢性持续性感染中发生耗竭、造成疾病迁延不愈。慢性耗竭是由于抗原的长期持续刺激，T 细胞逐渐丧失分泌 IL-2、TNF- α 、IFN- γ 和穿孔素等效应能力，同时负调信号如 PD-1、TIM-3、CTLA-4 及 TIGIT 表达升高，导致 CTL 耗竭性失能^[42]。我们团队于国际上率先发现：SARS-CoV-2 急性感染也可导致急性 T 细胞功能耗竭，这导致老年患者或免疫老化患者更易发生重症或危重症甚至死亡^[43]。既往只在慢性感染或肿瘤发生的 T 细胞耗竭，也可发生在免疫自稳能力差的急性感染中。随后美国和德国研究人员使用 scRNA-seq 技术对 COVID-19 患者外周血进行研究，进一步证实并验证了我们的新发现^[44, 45]。Chang Moon 教授在 *Nature Reviews Immunology* 的研究亮点 (Research highlight) 板块撰写题为“Fighting COVID-19 exhausts T cells”文章，深入分析了我们的研究结果并指出 COVID-19 治疗需要逆转急性 T 细胞耗竭；美国科学院院士 Miriam Merad 在 *Immunity* 等刊物撰写综述对我们的工作进行了肯定，认为我们的研究成果是迄今

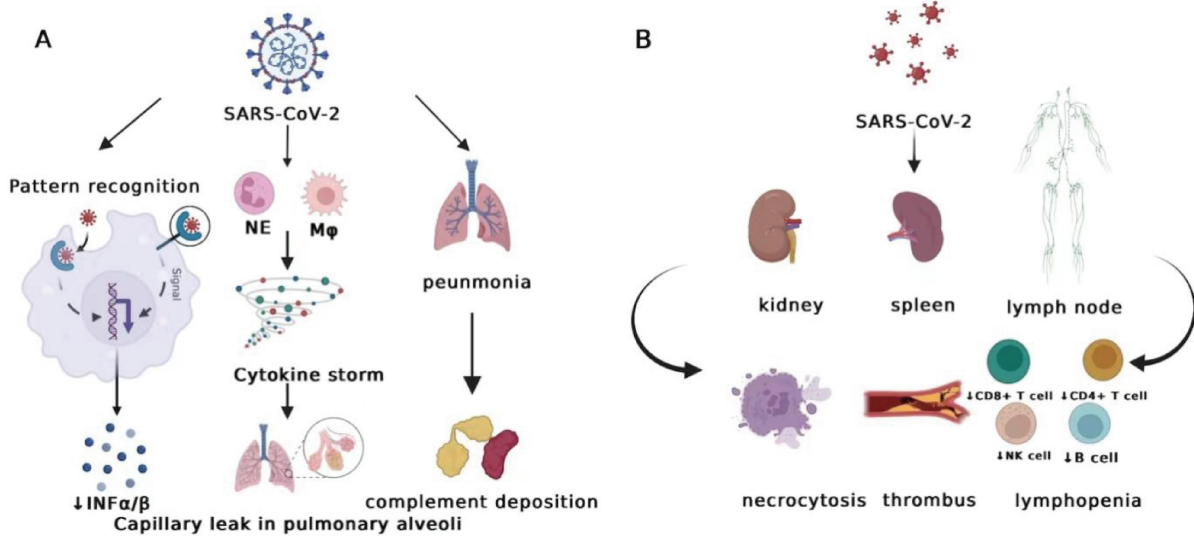


图 1 SARS-CoV-2 感染诱导天然免疫系统 (A) 及获得性免疫系统 (B) 损伤

为止在 COVID-19 领域最重要的免疫学发现,并指出逆转急性 T 细胞耗竭有可能应用于 COVID-19 的重症救治。我们这一重要发现还写入《中国成人 2019 冠状病毒病的诊治与防控指南》中的发病机制部分,对新冠肺炎的诊断、预防及治疗提供重要的依据^[5]。截至 2021 年 12 月,该论著正面他引 1932 次(谷歌学术),并入选 SCI 高被引论文。最近,德国团队的一项回顾性分析也发现,PD-1 单抗治疗的 13 名黑色素瘤患者在 SARS-CoV-2 感染后均为轻症或无症状^[18]。由此可见逆转急性 T 细胞耗竭应用于 COVID-19 的重症救治是有效且安全的。

3.2 在国际上率先提出促进胸腺输出可拯救“急性 T 细胞功能耗竭”

由于人体在四岁以后胸腺开始萎缩,而 80 岁以上老年患者的胸腺输出功能基本丧失,抗病毒感染仅依靠外周 T 细胞自稳能力,难以维持 6~8 周的抗病毒反应。如何逆转急性 T 细胞功能耗竭呢? 我们团队根据前期的研究结果提出使用胸腺素 $\alpha 1$ (Thymosin $\alpha 1$, T $\alpha 1$) 促进胸腺输出、拯救急性 T 细胞耗竭的治疗方案。在 77 名 COVID-19 重症患者队列连续注射七天 T $\alpha 1$ 后,CD8⁺ T 细胞小于 400/ μ L 和 CD4⁺ T 细胞小于 650 个/ μ L 的老年患者胸腺输出明显增加、T 细胞数量明显上升、T 细胞耗竭得以逆转;相应的损伤性给氧还是无创性给氧治疗明显减少、重症患者的死亡率明显降低^[46]。这种通过增加中枢免疫器官的一过性免疫细胞输出、增强外周免疫自稳的策略,可以拯救急性 T 细胞耗竭,是 COVID-19 重症救治的有效策略,也可能是其他危重症疾病的有效救治策略。文章发表后被推荐为 COVID-19 全球社区阅读文章。

3.3 发现 SARS-CoV-2 可直接侵犯二级淋巴器官和肾脏

已知 SARS-CoV-2 感染同时表达血管收缩素转化酶 2 (Angiotensin-converting Enzyme 2, ACE2) 和 TMPRSS2 的细胞,如呼吸道杯状细胞、纤毛上皮细胞、II 型肺泡上皮细胞、肠上皮细胞等。SARS-CoV-2 是否也可攻击机体的免疫大本营——二级淋巴器官呢? 有作者通过 scRNA-seq 技术观察到肺灌洗液及外周血中的 T 细胞和 B 细胞也有病毒的 RNA,然而尚无直接证据表明 SARS-CoV-2 可感染 T 细胞、B 细胞或其他免疫细胞^[47]。我们对 COVID-19 的尸检组织进行检测,发现 SARS-CoV-2 可以直接侵犯重症死亡患者的二级淋巴器官脾

脏和淋巴结。在其脾脏/淋巴结中可见 ACE2 主要表达于巨噬细胞和树突状细胞,这个感染路径可导致被感染细胞分泌 IL-6、TNF- α 等炎症因子导致免疫细胞的坏死和凋亡,进而促进淋巴细胞的减少^[48]。

肾脏是 ACE2 和 TMPRSS2 高表达器官,我们团队从疫情早期就关注肾脏是否是感染受累器官。临床观察发现:蛋白尿和血尿是 COVID-19 患者入院时常见的表现;进一步对 COVID-19 患者及死亡患者尸检组织进行了肾组织的病理学检查,发现 SARS-CoV-2 通过 ACE2 受体直接感染人肾脏并介导急性肾损伤;在 COVID-19 患者的尸检肾组织病理学切片中可见严重的肾小管损伤;肾小管上皮细胞含有大量的病毒包涵体即病毒的 N 抗原和病毒样颗粒,并有大量淋巴细胞的浸润和补体复合物沉积,从而造成肾脏的免疫损伤^[49]。

3.4 发明 COVID-19 抗原诊断试剂盒

早发现、早诊断与早治疗在抗击新冠疫情中至关重要。抗原—抗体特异性反应可用于诊断 SARS-CoV-2 感染。鉴于机体感染 SARS-CoV-2 病毒后,抗体在暴露后 18~20 天左右才会出现中位血清转化,所以抗体诊断无法实现早期诊断。我们团队与珠江医院检验科及企业合作,于 2020 年 3 月开发出基于 N 抗原的 SARS-CoV-2 荧光快速检测方法,通过对武汉 253 人鼻咽拭子标本进行聚合酶链式反应(PCR)检测比对研究,证明检测准确率 100%、特异性 99%,操作简便、10 分钟出结果,在出现症状前 1 天即可诊断。该方法也是达到世界卫生组织(World Health Organization, WHO)诊断技术标准^[50],获得中国、欧盟等多个国家证书。

4 展 望

SARS-CoV-2 已造成全球超过几亿人感染,600 多万人死亡,给人类健康、社会 and 经济发展造成了巨大损失,冠状病毒感染也可能成为流感同样重要的一类疾病。实际上,近二十年以来已发生了 15 种无法治疗的新病毒病;未来新突发传染病是未来经济社会安全必须应对的挑战。免疫诊治作为该类疾病的根本防控措施,阐明免疫损伤、免疫保护机理则是发展这些高质量有效手段的基础。而基于现代免疫学前沿理论反哺疫苗学成为正在发生的第三次疫苗革命的主题。一方面,免疫学作为抗疫前沿学科,在疫情发生时第一时间进入抗疫一线,尽快阐明

免疫保护、损伤机理,为免疫防治奠定基础;另一方面,免疫学研究技术方法应更接近实战,革新更适合人群的快速、高效、实用的科学研究、产品研发、评价技术和方法势在必行。自疫情爆发来,我们团队启动了国际上首个冠状病毒通用疫苗的研究,涵盖了 SARS-CoV-2 及其主要变异株、SARS 病毒以及蝙蝠中已发现的冠状病毒。基于 SARS-CoV-2 免疫保护、免疫损伤反应的最新认知,采用我们团队原创的蛋白质抗原工程理论和技术体系及大数据技术、免疫信息学技术、分子设计技术等从头设计通用疫苗免疫原,针对病毒与受体结合、病毒与细胞膜、保护性体液免疫、保护性细胞免疫、粘膜免疫、病毒突进进而有可能逃避免疫监视等关键节点,设计、筛选出通用疫苗免疫原,采用新佐剂和鼻喷递送,在动物实验取得良好保护效果。此外,我们针对 COVID-19 重症患者的高炎症反应,制备了高炎症反应全套的细胞因子(IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、MCAF 能够阻止炎症损伤,抗 TGF- β 能够阻止肺纤维化)抗体。以上工作为后期疫情防控形成了技术储备。

参 考 文 献

- [1] Dai LP, Gao GF. Viral targets for vaccines against COVID-19. *Nature Reviews Immunology*, 2021, 21(2): 73—82.
- [2] ARAF Y, Akter F, Tang YD, et al. Omicron variant of SARS-CoV-2: Genomics, transmissibility, and responses to current COVID-19 vaccines. *Journal of Medical Virology*, 2022, 94(5): 1825—1832.
- [3] Temmam S, Vongphayloth K, Baquero E, et al. Bat coronaviruses related to SARS-CoV-2 and infectious for human cells. *Nature*, 2022, 604(7905): 330—336.
- [4] Abela IA, Pasin C, Schwarzmüller M, et al. Multifactorial seroprofiling dissects the contribution of pre-existing human coronaviruses responses to SARS-CoV-2 immunity. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 6703.
- [5] 中华医学会呼吸病学分会. 中国成人 2019 冠状病毒病的诊治与防控指南. *中华医学杂志*, 2021, 101(18): 1293—1356.
- [6] Tarke A, Coelho CH, Zhang ZL, et al. SARS-CoV-2 vaccination induces immunological T cell memory able to cross-recognize variants from Alpha to Omicron. *Cell*, 2022, 185(5): 847—859. e11.
- [7] Zhu Y. SARS-CoV-2: phylogenetic status, mutations and therapeutic research based on spike protein. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2021, 25(18): 5843—5852.
- [8] Forchette L, Sebastian W, Liu TE. A comprehensive review of COVID-19 virology, vaccines, variants, and therapeutics. *Current Medical Science*, 2021, 41(6): 1037—1051.
- [9] Collier DA, de Marco A, Ferreira IATM, et al. Sensitivity of SARS-CoV-2 B. 1. 1. 7 to mRNA vaccine-elicited antibodies. *Nature*, 2021, 593(7857): 136—141.
- [10] Vasireddy D, Vanaparthi R, Mohan G, et al. Review of COVID-19 variants and COVID-19 vaccine efficacy: what the clinician should know?. *Journal of Clinical Medicine Research*, 2021, 13(6): 317—325.
- [11] Planas D, Veyer D, Baidaliuk A, et al. Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization. *Nature*, 2021, 596(7871): 276—280.
- [12] Tao KM, Tzou PL, Nouhin J, et al. The biological and clinical significance of emerging SARS-CoV-2 variants. *Nature Reviews Genetics*, 2021, 22(12): 757—773.
- [13] Meo SA, Meo AS, Al-Jassir FF, et al. Omicron SARS-CoV-2 new variant: global prevalence and biological and clinical characteristics. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2021, 25(24): 8012—8018.
- [14] Wang GL, Wang ZY, Duan LJ, et al. Susceptibility of circulating SARS-CoV-2 variants to neutralization. *The New England Journal of Medicine*, 2021, 384(24): 2354—2356.
- [15] Ai JW, Zhang HC, Zhang Y, et al. Omicron variant showed lower neutralizing sensitivity than other SARS-CoV-2 variants to immune sera elicited by vaccines after boost. *Emerging Microbes & Infections*, 2022, 11(1): 337—343.
- [16] Zhou W, Xu C, Wang P, et al. Impact of mutations in SARS-COV-2 spike on viral infectivity and antigenicity. *Briefings in Bioinformatics*, 2022, 23(1): bbab375.
- [17] Emary KRW, Golubchik T, Aley PK, 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. *Nature Communications*, 2021, 397(10282): 1351—1362.
- [18] Wall EC, Wu M, Harvey R, et al. AZD1222-induced neutralising antibody activity against SARS-CoV-2 delta VOC. *Lancet*, 2021, 398(10296): 207—209.
- [19] Ikegame S, Siddiquey MNA, Hung CT, et al. Neutralizing activity of Sputnik V vaccine sera against SARS-CoV-2 variants. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 4598.
- [20] Mizrahi B, Lotan R, Kalkstein N, et al. Correlation of SARS-CoV-2-breakthrough infections to time-from-vaccine. *Nature Communications*, 2021, 12(6379): 1—5.
- [21] Tseng HF, Ackerson BK, Luo Y, et al. Effectiveness of mRNA-1273 against SARS-CoV-2 Omicron and Delta variants. *Nature Medicine*, 2022, 28(5): 1063—1071.

- [22] Callaway E. Omicron likely to weaken COVID vaccine protection. *Nature*, 2021, 600(7889): 367—368.
- [23] GeurtsvanKessel CH, Geers D, Schmitz KS, et al. Divergent SARS-CoV-2 Omicron-reactive T and B cell responses in COVID-19 vaccine recipients. *Science Immunology*, 2022, 7(69): eabo2202.
- [24] Dai LP, Gao LD, Tao LF, et al. Efficacy and safety of the RBD-dimer-based covid-19 vaccine ZF2001 in adults. *The New England Journal of Medicine*, 2022, 386(22): 2097—2111.
- [25] Iketani S, Liu LH, Guo YC, et al. Antibody evasion properties of SARS-CoV-2 Omicron sublineages. *Nature*, 2022, 604(7906): 553—556.
- [26] McMahan K, Yu JY, Mercado NB, et al. Correlates of protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Nature*, 2021, 590(7847): 630—634.
- [27] Xu X, Han M, Li T, et al. Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab. *Journal of Internal Medicine*, 2020, 117(20): 10970—10975.
- [28] Zheng Y, Zhuang MW, Han LL, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) membrane (M) protein inhibits type I and III interferon production by targeting RIG-I/MDA-5 signaling. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2020, 5: 299.
- [29] da Silva RP, Gonçalves JIB, Zanin RF, et al. Circulating type I interferon levels and COVID-19 severity: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 657363.
- [30] Zhu YW, Zhang ZY, Song J, et al. SARS-CoV-2-encoded MiRNAs inhibit host type I interferon pathway and mediate allelic differential expression of susceptible gene. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 767726.
- [31] Huber S, Massri M, Grasse M, et al. Systemic inflammation and complement activation parameters predict clinical outcome of severe SARS-CoV-2 infections. *Viruses*, 2021, 13(12): 2376.
- [32] Carvelli J, Demaria O, Vély F, et al. Association of COVID-19 inflammation with activation of the C5a - C5aR1 axis. *Nature*, 2020, 588(7836): 146—150.
- [33] Ferretti AP, Kula T, Wang YF, et al. Unbiased screens show CD8⁺ T cells of COVID-19 patients recognize shared epitopes in SARS-CoV-2 that largely reside outside the spike protein. *Immunity*, 2020, 53(5): 1095—1107. e3.
- [34] Habel JR, Nguyen THO, van de Sandt CE, et al. Suboptimal SARS-CoV-2-specific CD8⁺ T cell response associated with the prominent HLA-A * 02: 01 phenotype. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(39): 24384—24391.
- [35] Peng YC, Mentzer AJ, Liu GH, et al. Broad and strong memory CD4⁺ and CD8⁺ T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nature Immunology*, 2020, 21(11): 1336—1345.
- [36] Zheng HY, Zhang M, Yang CX, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cellular & Molecular Immunology*, 2020, 17(5): 541—543.
- [37] Zheng MJ, Gao Y, Wang G, et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cellular & Molecular Immunology*, 2020, 17(5): 533—535.
- [38] Wauters E, van Mol P, Garg AD, et al. Discriminating mild from critical COVID-19 by innate and adaptive immune single-cell profiling of bronchoalveolar lavages. *Cell Research*, 2021, 31(3): 272—290.
- [39] Zhang JY, Wang XM, Xing XD, et al. Single-cell landscape of immunological responses in patients with COVID-19. *Nature Immunology*, 2020, 21(9): 1107—1118.
- [40] Bobcakova A, Petriskova J, Vysehradsky R, et al. Immune profile in patients with COVID-19; lymphocytes exhaustion markers in relationship to clinical outcome. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11: 646688.
- [41] Shahbazi M, Moulana Z, Sepidarkish M, et al. Pronounce expression of Tim-3 and CD39 but not PD1 defines CD8 T cells in critical COVID-19 patients. *Microbial Pathogenesis*, 2021, 153: 104779.
- [42] Cicin-Sain L, Arens R. Exhaustion and inflation at antipodes of T cell responses to chronic virus infection. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(6): 498—509.
- [43] Diao B, Wang C, Tan Y, et al. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 827.
- [44] Mathew D, Giles JR, Baxter AE, et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. *Science*, 2020, 369(6508): eabc8511.
- [45] Braun J, Loyal L, Frentsch M, et al. SARS-CoV-2-reactive T cells in healthy donors and patients with COVID-19. *Nature*, 2020, 587(7833): 270—274.
- [46] Liu Y, Pan Y, Hu Z, et al. Thymosin alpha 1 reduces the mortality of severe coronavirus disease 2019 by restoration of lymphocytopenia and reversion of exhausted T cells. *Clin Infect Dis*, 2020, 71(16): 2150—2157.

- [47] Ren XW, Wen W, Fan XY, et al. COVID-19 immune features revealed by a large-scale single-cell transcriptome atlas. *Cell*, 2021, 184(7): 1895–1913. e19.
- [48] Xiang Q, Feng ZQ, Diao B, et al. SARS-CoV-2 induces lymphocytopenia by promoting inflammation and decimates secondary lymphoid organs. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 661052.
- [49] Diao B, Wang CH, Wang RS, et al. Human kidney is a target for novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 2506.
- [50] Diao B, Wen K, Zhang J, et al. Accuracy of a nucleocapsid protein antigen rapid test in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Clin Microbiol Infect*, 2021, 27(2): 289. e1–289. e4.

The Immune Damage Caused by SARS-CoV-2 Infection

Yongwen Chen Yuzhang Wu*

Department of Basic Medicine, PLA, Army Medical University, Chongqing 400038

Abstract The coronavirus disease 2019 (COVID-19) severe patients who were suffered from severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection manifested with inflammatory storm, delayed secretion of type I interferon and over-activation of complement system. SARS-CoV-2 induces the dysregulation of innate immune responses, which further reshapes the adaptive immune system, leading to “lymphopenia”, and finally causes delay of virus clearance. Our group has focused on the immune injury mechanism caused by of SARS-CoV-2, we firstly reported that the virus infection can promote “acute T cell function depletion” in the world. Most important, we found that Thymosin- α injection can reverse T cell exhaustion, by thus improves the progress of disease. Moreover, we also found that SARS-CoV-2 directly invades the kidney and secondary lymphoid organs including spleen and lymph nodes. Based on these results, we are developing coronavirus universal vaccine, a diagnostic kit of based on SARS-CoV-2 N antigen etc. In the future, we would cooperate with other groups in China to carry out the immune evaluation of coronavirus vaccines.

Keywords COVID-19; SARS-CoV-2; lymphopenia; acute T cell exhaustion; immune damage.

(责任编辑 吴征天 姜钧译)

* Corresponding Author, Email: wuyuzhang@tmmu.edu.cn