

新冠病毒非结构蛋白氨基酸变异 与疾病严重程度的关系探究

边紫薇, 李东, 黄小丽, 徐映华, 王茜, 刘书洁, 胡贵方, 王海鹰

南方医科大学公共卫生学院流行病学系, 广东 广州 510515

摘要:目的 本研究旨在探讨严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 型(severe acute respiratory syndrome corona coronavirus 2, SARS-CoV-2)非结构蛋白氨基酸变异是否与新型冠状病毒感染(corona virus disease 2019, COVID-19)疾病严重程度有关。方法 对全球共享流感数据倡议组织(GISAID)数据库得到的数据进行分析, 筛选 SARS-CoV-2 序列中突变频率较高的非结构蛋白氨基酸突变。将患者结果分为轻症和重症, 采用 χ^2 检验比较组间基线特征, 逻辑回归检验选择的突变与患者预后之间的关系。结果 共纳入数据 23 498 例, 其中男性 11 444 例(48.70%), 女性 12 054 例(51.30%), 中位数年龄 [$M(P_{25}, P_{75})$] 为 38(26, 53) 岁。男性新冠病毒感染重症率高于女性 ($\chi^2=226.564, P<0.001$); 随着年龄增加 ($\chi^2=6 088.032, P<0.001$), 新冠病毒感染重症率增加。发病年份 ($\chi^2=1 604.070, P<0.001$)、大洲 ($\chi^2=4 520.240, P<0.001$) 与新冠病毒感染严重程度显著相关。确定了 SARS-CoV-2 基因组中几种可能与新冠病毒感染严重程度相关的氨基酸变异, NSP4_T492I ($aOR=0.574, 95\%CI: 0.487 \sim 0.676$)、NSP12_G671S ($aOR=0.657, 95\%CI: 0.458 \sim 0.941$)、NSP6_T77A ($aOR=0.422, 95\%CI: 0.235 \sim 0.759$)、NSP3_P1228L ($aOR=0.124, 95\%CI: 0.080 \sim 0.190$) 与新冠病毒感染重症呈负相关, 而 NSP12_P323L ($aOR=2.126, 95\%CI: 1.531 \sim 2.953$)、NSP13_P77L ($aOR=1.923, 95\%CI: 1.115 \sim 2.369$)、NSP14_A394V ($aOR=20.486, 95\%CI: 9.649 \sim 43.495$) 与新冠病毒感染重症呈正相关。结论 SARS-CoV-2 非结构蛋白氨基酸变异可能与新冠病毒感染严重程度相关, 需要进一步验证筛选可能与新冠病毒感染严重程度相关的非结构蛋白氨基酸变异。

关键词: SARS-CoV-2; 疾病严重程度; 氨基酸变异; 非结构蛋白; 新冠病毒感染

中图分类号: R373.1 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2024)11-2094-06

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202403143

Study on the relationship between amino acid variation of novel coronavirus non-structural protein and disease severity

BIAN Zi-wei, LI Dong, HUANG Xiao-li, XU Ying-hua, WANG Qian, LIU Shu-jie, HU Gui-fang, WANG Hai-ying

Department of Epidemiology, School of Public Health, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China

Abstract: Objective To investigate whether the amino acid variation in the nonstructural protein of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus2 (SARS-CoV-2) is related to the severity of Corona Virus Disease 2019 (COVID-19). **Methods** The data obtained from the Global Shared Influenza Data Initiative (GISAID) database were analyzed, and the nonstructural protein amino acid mutations with high mutation rate in SARS-CoV-2 sequences were screened. The outcomes were divided into mild and severe diseases, and the chi-square test was used to compare the basic characteristics between the groups. The relationship between the mutations selected and the prognosis of the patients was analyzed. **Results** A total of 23 498 cases were included, including 11 444 males (48.70%) and 12 054 females (51.30%). The median age [$M(P_{25}, P_{75})$] was 38 (26-53) years old. The severe infection rate of novel coronavirus in male was higher than that in female ($\chi^2=226.564, P<0.001$). The severe infection rate of novel coronavirus increased with the increase of age ($\chi^2=6 088.032, P<0.001$). The year of onset ($\chi^2=1 604.070, P<0.001$) and continent ($\chi^2=4 520.240, P<0.001$) were significantly correlated with the severity of novel corona virus infection. Several amino acid variations in the SARS-CoV-2 gene group associated with the severity of novel corona virus's sensitive dyeing were determined. NSP4_T492I ($aOR=0.574, 95\%CI: 0.487-0.676$), NSP12_G671S ($aOR=0.657, 95\%CI: 0.458-0.941$), NSP6_T77A ($aOR=0.422, 95\%CI: 0.235-0.759$), and NSP3_P1228L ($aOR=0.124, 95\%CI: 0.080-0.190$) were negatively correlated with novel coronavirus's severe infection. NSP12_P323L ($aOR=2.126, 95\%CI: 1.531-2.953$), NSP13_P77L ($aOR=1.923, 95\%CI: 1.115-2.369$), and NSP14_A394V ($aOR=20.486, 95\%CI: 9.649-43.495$)

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(31800146)

作者简介: 边紫薇(1997—), 女, 硕士在读, 研究方向: 传染病方向

通信作者: 王海鹰, E-mail: yingzi224926@smu.edu.cn; 胡贵方, E-mail: guif_hu@sina.com; 胡贵方、王海鹰为共同通信作者

were positively correlated with novel coronavirus's severe infection. **Conclusion** The amino acid variation of SARS-CoV-2 nonstructural protein may be related to the severity of COVID-19 virus infection, and it is necessary to screen several nonstructural protein amino acid variants which can be related to the severity of novel coronavirus infection.

Keywords: SARS-CoV-2; Disease severity; Amino acid mutation; Non-structural protein; Novel coronavirus infection

由严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 型(severe acute respiratory syndrome corona coronavirus 2, SARS-CoV-2)引起的新型冠状病毒(corona virus disease 2019, COVID-19)感染于 2019 年 12 月首次被报道^[1-2]。世界卫生组织(WHO)于 2020 年 3 月 11 日宣布新冠病毒感染为全球大流行。SARS-CoV-2 是一种单链正链 RNA 病毒,属于 β 冠状病毒属,基因组约 30 kb,编码 4 种结构蛋白、8 种辅助蛋白和 16 种非结构蛋白(NSP1-NSP16)^[1,3]。非结构蛋白由开放阅读框 1a/1ab(ORF1a/1ab)编码产生,参与病毒复制和组装的各个环节^[4-6]。

新冠病毒感染的严重程度包括无症状感染、轻症到重症和死亡^[2,7-9]。宿主易感性、病毒变异和环境共同决定了新冠病毒感染的病程^[9-11]。识别与疾病严重程度相关的宿主和病毒因素将有助于指导医疗行为和改善患者预后^[12]。有研究发现,年龄和性别可能与新冠病毒感染严重程度相关^[13-18]。随着时间的推移,全球范围内出现越来越多具有遗传多样性的 SARS-CoV-2 变异^[2,19-21]。部分研究认为病毒基因组变异与疾病严重程度无关^[22-27]。也有研究认为虽然病毒基因组变异与疾病严重程度无关,但普遍关注的 S 蛋白 D614G 变异对疾病严重程度的影响在先前研究中结果不一致,认为变异可增加新冠病毒感染重症风险^[28-30],而 Esper 等^[31]认为含有 D614G 的变异与患者住院时的生存率增加相关。关于非结构蛋白氨基酸变异对新冠病毒感染的影响研究发现,NSP12_P323L^[29-30,32]、NSP3_T1198K^[32]、NSP3_S1197R^[32]、NSP7_L71F^[32]、NSP12_A97V^[32]变异可增加新冠病毒感染重症风险^[29-30,32],而 NSP6_L37F^[32-34]、NSP4_F308Y^[32]、NSP9_L42F^[31]可降低新冠病毒感染严重程度。对普遍认为比较保守的非结构蛋白在病毒遗传和进化过程中变异情况如何以及与疾病严重程度的关系如何,缺乏系统研究。

本研究通过对非结构蛋白中变异频率前 15 位的氨基酸变异进行研究,探索 SARS-CoV-2 氨基酸变异与新冠病毒感染严重程度之间的关系,对于评估 SARS-CoV-2 演变带来的风险具有重要意义。本研究旨在探讨 SARS-CoV-2 非结构蛋白氨基酸变异是否与新冠病毒感染严重程度有关。

1 对象与方法

1.1 数据来源 从全球共享流感数据倡议组织(GISAID)数据库(<https://www.gisaid.org>)下载了 2020

年 2 月 20 日—2022 年 12 月 24 日的 SARS-CoV-2 的基因组序列和新冠病毒感染患者临床数据集,选择 Complete(序列长度 >29 000 bp)、High coverage(序列中不明确的碱基数量小于 1%)、Collection date complete(有明确收集日期)、w/Patient status(包含病人病情信息),宿主为人类。根据患者数据集,将所有存在信息缺失的样本排除。根据病人状态分组,排除病人状态为住院、出院、活着、有症状、未知等无法确定病人病情的患者;轻症组纳入:未住院、发烧、轻症、无症状;重症组纳入:死亡、重症监护室、严重、肺炎。数据收集及筛选过程见图 1。利用数据库中现有的氨基酸变异数据,根据氨基酸变异频率排序,选择变异频率为前 15 位的非结构蛋白氨基酸变异,分析其与新冠病毒感染严重程度的关系。

1.2 统计分析 采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验比较组间基线特征。采用逻辑回归分析,计算粗比值比(OR)和校正比值比(aOR)及其 95% 置信区间,使用单变量逻辑回归分析前 15 位非结构蛋白氨基酸变异与新冠病毒感染严重程度的关系,单变量逻辑回归分析中 $P < 0.1$ 的变量纳入多变量逻辑回归分析。选择以下协变量纳入多变量对逻辑回归模型进行调整:年龄、性别、大洲、诊断年份、S 蛋白变异、M 蛋白变异、E 蛋白变异、N 蛋白变异。数据处理和分析采用 SPSS 20.0 版本。双侧检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 基线特征结果 如图 1 所示,截至 2022 年 12 月 24 日,在 GISAID 数据库中共发现符合条件病例 237 121 例,因病情不明确排除 213 623 例,共纳入 23 498 例,其中男性 11 444 例(48.70%),女性 12 054 例(51.30%);中位数年龄 [$M(P_{25}, P_{75})$] 为 38(26, 53) 岁;包括来自亚洲的 2 658 例,北美的 10 445 例,南美洲的 1 757 例,欧洲的 7 774 例,非洲地区的 864 例。根据病人疾病严重程度分组,轻症组 17 566 例,重症组 5 932 例。

表 1 显示轻症组与重症组的基线特征比较, χ^2 检验结果显示,不同性别和年龄的人新冠病毒感染严重程度差异有统计学意义($\chi^2 = 226.564, P < 0.001$),其中男性重症率高于女性;随着年龄增加,新冠病毒感染重症率增加($\chi^2 = 6 088.032, P < 0.001$), >75 岁年龄阶段重症率最高。不同发病年份的新冠病毒感染重症率差异有统计学意义($\chi^2 = 1 604.070, P < 0.001$),与 2020

年新冠病毒相比,2021 年新冠病毒感染重症率明显降低,2022 年新冠病毒感染重症率最低。不同大洲发生的新冠病毒感染严重程度有明显差异($\chi^2=4\ 520.240$, $P<0.001$),以非洲为对照,南美洲新冠病毒感染重症率最高,北美洲新冠病毒感染重症率最低。

2.2 前 15 位非结构蛋白氨基酸变异与新冠病毒感染严重程度的相关性 与序列 hCoV19/Wuhan/WIV04/2019 相比,所有非结构蛋白氨基酸变异中突变频率前 15 位的氨基酸变异见表 2,其中 NSP12_P323L 突变频率最高。单因素逻辑回归分析结果显示,NSP4_T492I、NSP12_G671S、NSP13_P77L、NSP6_T77A、NSP3_P1469S、NSP14_A394V、NSP4_V167L、NSP3_A488S、NSP3_P1228L 与新冠病毒感染严重程度有显著关联($P<0.05$)。多因素逻辑回归模型 1 为未调整的多因素分析,结果显示 NSP4_T492I、NSP13_P77L、NSP3_P1228L 与新冠病毒感染重症呈负相关,而 NSP12_G671S、NSP3_P1469S、NSP14_A394V 与新冠病毒感染重症呈正相关。多因素逻辑回归模

型 2 调整了可能的混杂因素,调整性别、年龄、确诊年份、大洲、S 蛋白变异、M 蛋白变异、E 蛋白变异、N 蛋白变异,结果显示 NSP4_T492I、NSP12_G671S、NSP6_T77A、NSP3_P1228L 与新冠病毒感染重症呈负相关,而 NSP12_P323L、NSP13_P77L、NSP14_A394V 与新冠病毒感染重症呈正相关。

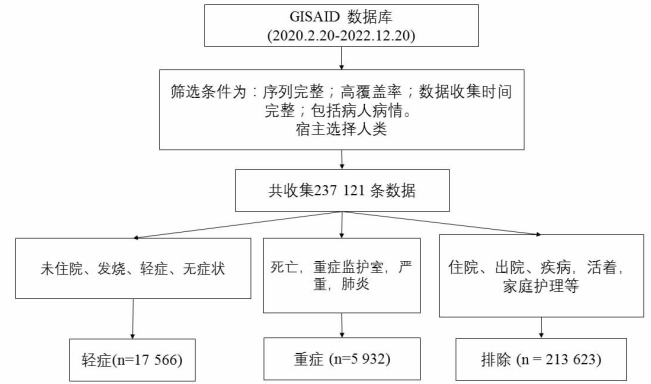


图 1 数据筛选过程

Figure 1 Data screening process

表 1 新冠病毒感染轻症组与重症组基线特征比较

Table 1 Comparison of baseline characteristics between the mild and severe disease groups

分类	病例数量	比例(%)	COVID-19			
			重症	重症率(95%CI)	χ^2 值	P 值
总数	23 498	100.0	5 932	0.252(0.247 ~ 0.258)		
性别					226.564	<0.001
女性	11 444	48.7	2 388	0.209(0.201 ~ 0.216)		
男性	12 054	51.3	3 544	0.294(0.286 ~ 0.302)		
年龄(岁)					6 088.032	<0.001
<18	1 737	7.4	75	0.043(0.034 ~ 0.053)		
18 ~ 45	10 277	43.7	778	0.076(0.071 ~ 0.081)		
46 ~ 60	4 747	20.2	1 184	0.249(0.237 ~ 0.262)		
61 ~ 75	3 776	16.1	1 935	0.512(0.496 ~ 0.528)		
>75	2 961	12.6	1 960	0.662(0.645 ~ 0.679)		
年份(年)					1 604.070	<0.001
2020	3 173	13.5	1 525	0.481(0.463 ~ 0.498)		
2021	18 326	78.0	4 103	0.224(0.218 ~ 0.230)		
2022	1 999	8.5	304	0.152(0.136 ~ 0.168)		
大洲					4 520.240	<0.001
非洲	864	3.7	179	0.207(0.180 ~ 0.234)		
亚洲	2 658	11.3	1 504	0.566(0.547 ~ 0.585)		
欧洲	7 774	33.1	1 663	0.214(0.205 ~ 0.223)		
北美洲	10 445	44.5	1 297	0.124(0.118 ~ 0.130)		
南美洲	1 757	7.5	1 289	0.734(0.713 ~ 0.754)		

表 2 非结构蛋白氨基酸变异与新冠病毒感染严重程度的相关性

Table 2 Correlation of amino acid variants in non-structural proteins with severe novel coronary pneumonia

氨基酸变异	突变数量(%)		单因素逻辑回归		多因素逻辑回归模型 1		多因素逻辑回归模型 2	
	轻中度	严重	OR 值(95%CI)	P 值	OR 值(95%CI)	P 值	aOR 值(95%CI)	P 值
总数	17 566(100.0)	5 930(100.0)						
NSP12_P323L	17 339(98.7)	5 835(98.4)	0.788(0.620 ~ 1.001)	0.051			2.126(1.531 ~ 2.953)	<0.001
NSP4_T492I	10 146(57.8)	1 806(30.4)	0.321(0.301 ~ 0.341)	<0.001	0.26(0.235 ~ 0.287)	<0.001	0.574(0.487 ~ 0.676)	<0.001
NSP12_G671S	8 888(50.6)	1 938(32.7)	0.474(0.445 ~ 0.504)	<0.001	1.411(1.037 ~ 1.92)	0.028	0.657(0.458 ~ 0.941)	0.022
NSP13_P77L	8 901(50.7)	1 921(32.4)	0.466(0.438 ~ 0.496)	<0.001	0.377(0.276 ~ 0.515)	<0.001	1.625(1.115 ~ 2.369)	0.012

(续表)

氨基酸变异	突变数量(%)		单因素逻辑回归		多因素逻辑回归模型 1		多因素逻辑回归模型 2	
	轻中度	严重	OR 值(95%CI)	P 值	OR 值(95%CI)	P 值	aOR 值(95%CI)	P 值
NSP6_T77A	6 916(39.4)	1 293(21.8)	0.429(0.401 ~ 0.460)	<0.001			0.422(0.235 ~ 0.759)	0.004
NSP3_P1469S	6 896(39.3)	1 293(21.8)	0.431(0.403 ~ 0.462)	<0.001	2.034(1.236 ~ 3.345)	0.005		
NSP14_A394V	6 882(39.2)	1 275(21.5)	0.425(0.397 ~ 0.455)	<0.001	6.887(3.723 ~ 12.741)	<0.001	20.486(9.649 ~ 43.495)	<0.001
NSP4_V167L	6 880(39.2)	1 276(21.5)	0.426(0.397 ~ 0.456)	<0.001				
NSP3_A488S	6 877(39.1)	1 277(21.5)	0.426(0.398 ~ 0.457)	<0.001				
NSP3_P1228L	6 888(39.2)	1 222(20.6)	0.402(0.375 ~ 0.431)	<0.001	0.145(0.1 ~ 0.209)	<0.001	0.124(0.08 ~ 0.19)	<0.001
NSP3_T183I	2 101(12.0)	677(11.4)	0.948(0.865 ~ 1.04)	0.258				
NSP3_I1412T	2 070(11.8)	674(11.4)	0.96(0.875 ~ 1.052)	0.382				
NSP3_A890D	2 038(11.6)	677(11.4)	0.982(0.895 ~ 1.077)	0.693				
NSP3_P822L	1 838(10.5)	652(11.0)	1.057(0.961 ~ 1.162)	0.254				
NSP4_A446V	1 820(10.4)	636(10.7)	1.039(0.944 ~ 1.143)	0.433				

注:模型 1 未调整的多因素逻辑回归模型,未调整可能的混杂因素;模型 2 调整后的多因素逻辑回归模型,调整可能的混杂因素包括性别、年龄、确诊年份、大洲、S 蛋白变异、M 蛋白变异、E 蛋白变异、N 蛋白变异。

3 讨论

感染新冠病毒后,大多数患者仅表现为轻症,但仍有患者出现严重临床表现,甚至死亡。关于氨基酸变异对新冠病毒感染严重程度的影响目前尚不明确,并且普遍认为比较保守的非结构蛋白在病毒遗传和进化过程中变异情况如何以及与疾病严重程度的关系如何,缺乏系统研究。本研究比较了轻症组与重症组基线数据并分析了突变频率排名前 15 位的非结构蛋白氨基酸变异与新冠病毒感染严重程度的相关性。结果表明男性重症风险高于女性,随着年龄增加,新冠病毒感染重症的风险增加,不同发病时间、不同大洲发生的新冠病毒感染严重程度有明显差异。研究发现了与新冠病毒感染重症相关的几种变异,NSP4_T492I、NSP12_G671S、NSP6_T77A、NSP3_P1228L 与新冠病毒感染重症呈负相关,而 NSP12_P323L、NSP13_P77L、NSP14_A394V 与新冠病毒感染重症呈正相关,这些变异的功能意义还有待进一步研究。

研究发现,男性新冠病毒感染重症率高于女性,随着年龄增加,新冠病毒感染重症率增加,这与先前研究结果一致^[13-18]。大量证据表明,高龄是严重新冠病毒感染的重要风险因素,可能是由于老年人免疫力下降^[35-36]。本研究结果还发现不同发病时间的新冠病毒感染严重程度有明显差异,可能与不同时间流行的变异株不同有关,不同变异株可影响疾病严重程度^[37-42]。不同大洲发生的新冠病毒感染严重程度有明显差异,不同大洲医疗资源、卫生经济条件不同,可能对疾病严重程度产生影响。

本研究发现 NSP12_P323L、NSP13_P77L、NSP14_A394V 与新冠病毒感染重症呈正相关。之前有研究认为 NSP12_P323L 变异与较高的病死率显著正相关^[29,43],并且在重症病例中比在轻症病例中更常见^[30],与我们的结果一致,这可能与其有助于病毒

逃避宿主抗体介导的免疫反应有关^[44]。NSP13_P77L 变异可增强 NSP13 与 TANK 结合激酶 1(TBK1)的结合从而抑制 IFN- β 的产生以逃避宿主免疫系统^[45],可能导致增加新冠病毒感染重症风险。有研究结果显示 NSP14_A394V 在免疫正常患者治疗后样本中更为常见,表明其可能与病毒耐药性增加有关^[46]。本研究发现,NSP4_T492I、NSP12_G671S、NSP6_T77A、NSP3_P1228L 与新冠病毒感染重症呈负相关。在先前有关研究中发现 NSP4_T492I^[47]、NSP12_G671S 可以增加病毒的复制和有效传播^[48]。还需进一步研究其在降低新冠病毒感染重症风险的作用。NSP6、NSP3 在病毒复制中起到重要作用,我们推断其突变可能通过影响病毒复制进而影响疾病严重程度^[49]。Nagy 等人^[32]的一项研究发现 NSP6_L37F、NSP4_F308Y 与轻症新冠病毒感染相关,NSP12_P323L、NSP3_T1198K、NSP3_S1197R、NSP7_L71F、NSP12_A97V 与重症新冠病毒感染相关。本研究对这些突变进行了分析,得到了与该文献一致的结果(结果未呈现)。NSP3_T1198K、NSP3_S1197R、NSP12_A97V 变异在本研究中不足 100 例,因而未纳入分析。

本研究的数据来自于 GISAID 数据库,数据库信息仅包含有关患者预后的一般信息且存在部分缺失数据,因为只有小部分具有患者疾病情况,我们的发现可能包含抽样偏差。数据库中的患者疾病严重程度的判定很大程度上取决于患者所在国家,不同国家对于新冠病毒感染的严重程度判定不完全一致。另外,不同国家的医疗资源、卫生经济条件及个体免疫力差异都可能影响新冠病毒感染的严重程度,本文对一些潜在的混杂因素,如合并症、免疫力状况、针对新冠病毒感染的治疗等没有纳入分析。我们只分析了突变频率前 15 位的非结构蛋白氨基酸变异,在我们的分析中,可能存在一些潜在影响新冠病毒感染严重

程度的非结构蛋白氨基酸变异未被纳入分析。

总的来说, 男性新冠病毒感染重症风险高于女性, 随着年龄增加, 新冠病毒感染重症的风险增加。关注的发病时间、大洲与新冠病毒感染严重程度显著相关。本研究确定了 SARS-CoV-2 基因组中几种可能与新冠病毒感染严重程度相关的氨基酸变异, NSP4_T492I、NSP12_G671S、NSP6_T77A、NSP3_P1228L 与新冠病毒感染重症呈负相关, NSP12_P323L、NSP13_P77L、NSP14_A394V 变异增加新冠病毒感染重症风险。本研究初步发现了一些与新冠肺炎疾病严重程度有关的非结构蛋白氨基酸变异, 后续将通过构建含有这些突变位点的质粒, 研究其在天然免疫逃逸中的作用, 探讨这些变异与机体适应性和疾病严重程度的关系。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin [J]. *Nature*, 2020, 579(7798): 270–273.
- [2] Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China [J]. *New England Journal of Medicine*, 2020, 382(18): 1708–1720.
- [3] Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China[J]. *Nature*, 2020, 579(7798): 265–269.
- [4] Stobart CC, Sexton NR, Munjal H, et al. Chimeric exchange of coronavirus nsp5 proteases (3CLpro) identifies common and divergent regulatory determinants of protease activity [J]. *Journal of Virology*, 2013, 87(23): 12611–12618.
- [5] Snijder EJ, Decroly E, Ziebuhr J. The nonstructural proteins directing CoronaCoronavirus RNA synthesis and processing [J]. *Advances in Virus Research*, 2016, 96: 59–126.
- [6] Ellis P, Somogyvári F, Virok DP, et al. Decoding covid-19 with the SARS-CoV-2 genome [J]. *Current Genetic Medicine Reports*, 2021, 9(1): 1–12.
- [7] Long QX, Tang XJ, Shi QL, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections [J]. *Nature Medicine*, 2020, 26(8): 1200–1204.
- [8] Young BE, Ong S, Ng L, et al. Viral dynamics and immune cORrelates of CoronaCoronavirus disease 2019(COVID-19) severity [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2021, 73(9): e2932–e2942.
- [9] Toyoshima Y, Nemoto K, Matsumoto S, et al. SARS-CoV-2 genomic variations associated with mortality rate of COVID-19 [J]. *Journal of Human Genetics*, 2020, 65(12): 1075–1082.
- [10] Nakamichi KJ, Shen JZ, Lee CS, et al. Hospitalization and mortality associated with SARS-CoV-2 viral clades in COVID-19 [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 4802.
- [11] Hodcroft EB, Zuber M, Nadeau S, et al. Spread of a SARS-CoV-2 variant through Europe in the summer of 2020[J]. *Nature*, 2021, 595(7869): 707–712.
- [12] Koutsakos M, Kedzierska K. A race to determine what drives COVID-19 severity[J]. *Nature*, 2020, 583(7816): 366–368.
- [13] Poletti P, Tirani M, Cereda D, et al. Association of age with likelihood of developing symptoms and critical disease among close contacts exposed to patients with confirmed SARS-CoV-2 infection in Italy [J]. *JAMA Netw Open*, 2021, 4(3): e211085.
- [14] Liu Y, Mao B, Liang S, et al. Association between age and clinical characteristics and outcomes of COVID-19[J]. *European Respiratory Journal*, 2020, 55(5): 2001112.
- [15] Biswas M, Rahaman S, Biswas TK, et al. Association of sex, age, and comorbidities with mortality in COVID-19 patients: a systematic review and Meta-Analysis[J]. *Intervirology*, 2020, 32: 1–12.
- [16] Pivonello R, Auriemma RS, Pivonello C, et al. Sex disparities in COVID-19 severity and outcome: are men weaker or women stronger?[J]. *Neuroendocrinology*, 2021, 111(11): 1066–1085.
- [17] Vahidy FS, Pan AP, Ahnstedt H, et al. Sex differences in susceptibility, severity, and outcomes of CoronaCoronavirus disease 2019: Cross-sectional analysis from a diverse US metropolitan area [J]. *PLOS One*, 2021, 16(1): e245556.
- [18] Peckham H, de Gruijter NM, Raine C, et al. Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ICU admission[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 6317.
- [19] Lu RJ, 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.
- [20] Pachetti M, Marini B, Benedetti F, et al. Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant [J]. *Journal of Translational Medicine*, 2020, 18(1): 179.
- [21] Hadfield J, Megill C, Bell SM, et al. Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(23): 4121–4123.
- [22] Zhang XN, Tan Y, Ling Y, et al. Viral and host factors related to the clinical outcome of COVID-19 [J]. *Nature*, 2020, 583(7816): 437–440.
- [23] Korber B, Fischer WM, 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.e19.
- [24] Ozono S, Zhang YZ, Ode H, et al. SARS-CoV-2 D614G spike mutation increases entry efficiency with enhanced ACE2-binding affinity[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 848.
- [25] Everett J, Hokama P, Roche AM, et al. SARS-CoV-2 genomic variation in space and time in hospitalized patients in Philadelphia [J]. *mBio*, 2021, 12(1): e03456.
- [26] Long SW, Olsen RJ, Christensen PA, et al. Molecular architecture of early dissemination and massive second wave of the SARS-CoV-2 virus in a major metropolitan area[J]. *mBio*, 2020, 11(6): 125.
- [27] Stauff CB, Lien CZ, Selvaraj P, et al. The G614 pandemic SARS-CoV-2 variant is not more pathogenic than the original D614 form in adult Syrian hamsters[J]. *Virology*, 2021, 556: 96–100.
- [28] Goyal M, De Bruyne K, van Belkum A, et al. Different SARS-CoV-2 haplotypes associate with geographic origin and case fatality rates of COVID-19 patients [J]. *Infection Genetics and Evolution*, 2021, 90: 104730.
- [29] Flores-Alanis A, Cruz-Rangel A, Rodríguez-Gómez F, et al. Molecular epidemiology surveillance of SARS-CoV-2: mutations and genetic diversity one year after emerging[J]. *Pathogens*, 2021, 10(2): 184.

- [30] Biswas SK, Mudi SR. Spike protein D614G and RdRp P323L: the SARS-CoV-2 mutations associated with severity of COVID-19[J]. Genomics & Informatics, 2020, 18(4): e44.
- [31] Esper FP, Cheng YW, Adhikari TM, et al. Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 infection during the initial pandemic wave and association with disease severity [J]. JAMA Netw Open, 2021, 4(4): e217746.
- [32] Nagy Á, Pongor S, Györfy B. Different mutations in SARS-CoV-2 associate with severe and mild outcome [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2021, 57(2): 106272.
- [33] Wang R, Chen JH, Hozumi Y, et al. Decoding asymptomatic COVID-19 infection and transmission [J]. Journal of Physical Chemistry Letters, 2020, 11(23): 10007-10015.
- [34] Aiewsakun P, Nilplub P, Wongtrakongate P, et al. SARS-CoV-2 genetic variations associated with COVID-19 pathogenicity [J]. Microb Genom, 2021, 7(12): 000734.
- [35] Chen YI, Klein SL, Garibaldi BT, et al. Aging in COVID-19: vulnerability, immunity and intervention [J]. Ageing Research Reviews, 2021, 65: 101205.
- [36] Mueller AL, Mcnamara MS, Sinclair DA. Why does COVID-19 disproportionately affect older People?[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(10): 9959-9981.
- [37] Lin LX, Liu Y, Tang XJ, et al. The disease severity and clinical outcomes of the SARS-CoV-2 variants of concern [J]. Front Public Health, 2021, 9: 775224.
- [38] Abu-Raddad LJ, Chemaitelly H, Ayoub HH, et al. Severity, criticality, and fatality of the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) beta variant [J]. Clinical Infectious Diseases, 2022, 75(1): e1188-e1191.
- [39] Davies NG, Jarvis CI, Edmunds WJ, et al. Increased mortality in community-tested cases of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7[J]. Nature, 2021, 593(7858): 270-274.
- [40] Funk T, Pharris A, Spiteri G, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 variants of concern B.1.1.7, B.1.351 or P.1: data from seven EU/EEA countries, weeks 38/2020 to 10/2021[J]. Euro Surveillance : Bulletin Europeen sur les Maladies Transmissibles, 2021, 26(16): 2100348.
- [41] Wolter N, Jassat W, Walaza S, et al. Early assessment of the clinical severity of the SARS-CoV-2 omicron variant in South Africa: a data linkage study[J]. The Lancet, 2022, 399(10323): 437-446.
- [42] Iuliano AD, Brunkard JM, Boehmer TK, et al. Trends in disease severity and health care utilization during the early omicron variant period compared with previous SARS-CoV-2 high transmission periods – United States, December 2020–January 2022 [J]. MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report, 2022, 71(4): 146-152.
- [43] Omais S, Kharroubi S, Zaraket H. No association between the SARS-CoV-2 variants and mortality rates in the Eastern Mediterranean Region[J]. Gene, 2021, 801: 145843.
- [44] Mallick GA, Mandal S, Mandal S, et al. Immune escape facilitation by mutations of epitope residues in RdRp of SARS-CoV-2 [J]. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2023, 41 (8): 3542-3552.
- [45] Rashid F, Suleman M, Shah A, et al. Structural analysis on the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 non-structural protein 13 mutants revealed altered bonding network with TANK binding kinase 1 to evade host immune system [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 789062.
- [46] Ahmadi AS, Zadheidar S, Sadeghi K, et al. SARS-CoV-2 intrahost evolution in immunocompromised patients in comparison with immunocompetent populations after treatment [J]. Journal of Medical Virology, 2023, 95(6): e28877.
- [47] Lin XY, Sha Z, Trimpert J, et al. The NSP4 T492I mutation increases SARS-CoV-2 infectivity by altering non-structural protein cleavage [J]. Cell Host & Microbe, 2023, 31(7): 1170-1184.e7.
- [48] Kim SM, Kim EH, Casel MAB, et al. SARS-CoV-2 variants with NSP12 P323L/G671S mutations display enhanced virus replication in ferret upper airways and higher transmissibility [J]. Cell Reports, 2023, 42(9): 113077.
- [49] Ricciardi S, Guarino AM, Giaquinto L, et al. The role of NSP6 in the biogenesis of the SARS-CoV-2 replication organelle [J]. Nature, 2022, 606(7915): 761-768.

收稿日期:2024-03-12

读者·作者·编者

优先征集国家、省部级基金项目 及重点攻关项目论文启事

为了提高本刊的学术水平,促进本刊发展,特向各医学院校、医院、医学科研机构广泛征集国家、省部级自然科学基金资助项目和重点攻关项目的论文,范围包括基础医学、预防医学和临床医学各专业的论著、调查报告、技术与方法等。对上述专业范围的基金项目或攻关项目产出的文稿须在首页下注明项目名称、项目编号,并提交有关证明的复印件,本刊一经审查合格,将优先发表,免收审稿费。

欢迎积极撰文,踊跃投稿。