

## · 热点关注 ·

## 新型冠状病毒中和抗体研究进展

乔春霞, 王 晶, 罗龙龙, 冯健男

(军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所, 北京 100850)

**冯健男**, 研究员, 博士生导师。一直从事计算免疫学与抗体工程研究, 特别是在新型抗体分子的合理设计及优化研究方面积累了丰富的经验, 主持建立了抗原表位合理预测、抗体专家分析系统和抗体分子合理设计等新技术平台。主持国家和省部级重大和重点课题 10 余项, 获省部级奖励 5 项, 发表 SCI 论文 60 余篇, 获授权专利 10 余项。



**摘要:** 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)传染性强, 可引起新型冠状病毒肺炎(COVID-19)。抗 SARS-CoV-2 抗体安全性高, 特异性强, 中和 SARS-CoV-2 的能力显著, 被认为是治疗 COVID-19 的理想药物。鉴于 SARS-CoV-2 突起蛋白(S 蛋白)的核心地位, 目前开发的抗 SARS-CoV-2 抗体基本以 S 蛋白为靶点, 识别表位多位于受体结合域, 少数位于 S2 亚基或 S1/S2 蛋白水解位点。利用单细胞测序、抗体库和转基因小鼠等技术, 多抗(外周血来源)、单抗、抗体融合蛋白和单域抗体等均取得了明显进展, 多个品种已进入临床试验, 某些品种已获得美国 FDA 紧急使用授权。本文综述 SARS-CoV-2 中和抗体的研究进展, 为 COVID-19 疫情防控提供参考。

**关键词:** 新型冠状病毒; 新型冠状病毒肺炎; 中和抗体

中图分类号: R392.11

文献标志码: A

文章编号: 1000-3002-(2021)07-0481-12

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2021.07.001

2019 年 12 月暴发的新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)疫情目前正在全球大流行。2020 年 1 月, 该病毒被成功分离并测序<sup>[1-2]</sup>。2020 年 2 月 11 日, 国际病毒分类委员会将该病毒分类名定为 SARS-CoV-2。世界卫生组织将由该病毒导致的疾病正式命名为新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19)。由于该病毒潜伏期长, 易突变且感染性强, 加之缺乏医疗物资和规范的防护措施, 一些国家和地区的感染病例和死亡人数仍居高位。目前开发的针对 COVID-19 的防治药物主要包括疫苗、抗体和小分子药物(蛋白酶抑制剂、病毒核苷类似物和病毒宿主融合抑制剂)等。其中, 抗体具有安全性高、特异性强、疗效显著且不良反应低等优点, 被认为是治疗 COVID-19 最具潜力的药物

之一。本文综述 SARS-CoV-2 中和抗体的研究进展, 为 SARS-CoV-2 疫情防控提供参考。

## 1 SARS-CoV-2 结构、致病机制和表位

### 1.1 SARS-CoV-2 结构

SARS-CoV-2 是一种单链 RNA 正链包膜  $\beta$  冠状病毒, 同家族成员还包括 SARS-CoV 和中东呼吸综合征冠状病毒(Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV)。SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 基因组序列的同源性约 79.6%<sup>[1]</sup>。

SARS-CoV-2 基因组编码约 16 种非结构蛋白、4 种结构蛋白和 5~8 种辅助蛋白。非结构蛋白包括 3 胰凝乳蛋白酶样蛋白酶(3-chymotrypsin-like protease)、木瓜蛋白酶样蛋白酶(papain-like protease)、解旋酶(helicase)和 RNA 依赖性 RNA 聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase); 结构蛋白包括突起蛋白(spike protein, S 蛋白)、包膜蛋白(envelope protein, E 蛋白)、膜蛋白(membrane protein,

基金项目: 国家自然科学基金(31771010)

通讯作者: 冯健男, E-mail: fengjiannan1970@qq.com

M 蛋白)和核衣壳蛋白(nucleocapsid, N 蛋白),少数病毒还编码血凝素酯酶(haemagglutinin-esterase, HE 蛋白)。其中 E 蛋白和 M 蛋白与病毒装配有关, S 蛋白以三聚体形成突起,伸出包膜表面,使整个病毒外形如王冠状。S 蛋白在病毒的附着、融合、入胞和传播中起着至关重要的作用,成为抗 SARS-CoV-2 药物研发的重要靶点。

### 1.2 致病机制

SARS-CoV-2 疫情暴发之初,科学家通过计算机预测得出 SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 结合相同的受体分子血管紧张素转换酶 2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)。随后,Wrapp 等<sup>[3]</sup>测定结果表明,ACE2 与 SARS-CoV-2 S 蛋白结合的亲和力比其与 SARS-CoV 更强(约为后者的 10~20 倍),这也是 SARS-CoV-2 人际传播能力较 SARS-CoV 强的重要分子基础。SARS-CoV-2 主要导致肺炎和呼吸道感染,发热和咳嗽是主要的临床症状,其他还包括呼吸急促、肌痛(肌肉酸痛)/疲劳、精神错乱、头痛和喉咙痛,甚至急性呼吸窘迫综合征,导致肺或多器官功能衰竭<sup>[4]</sup>。对于患有糖尿病、高血压或心血管疾病的老年患者来说,感染 SARS-CoV-2 可导致致命的呼吸道疾病。SARS-CoV-2 具有较强的人际传播能力,致病性强,且其发病机制未被完全阐明,给疫情的防控带来了巨大的挑战。因此,亟需开发有效的防治药物。在研药物中,与疫苗相比,抗体药物具有安全性高、可感染后给药等优势,成为抗 SARS-CoV-2 特效药物的研发热点。

SARS-CoV-2 的 S 蛋白含 1273 个氨基酸,与 SARS-CoV 的 S 蛋白氨基酸序列同源率为 76.5%<sup>[5-6]</sup>。在 SARS-CoV-2 的 S 蛋白的 S1/S2 交界处存在弗林蛋白酶(furin)裂解位点,这一位点的缺失可能会影响病毒感染细胞。在感染过程中, S 蛋白被宿主蛋白酶切割成 N 端的 S1 亚基(受体结合区)和 C 端的 S2 亚基(细胞膜融合区),促进病毒入侵。S1 亚基又分为 N 端结构域(N terminal domain, NTD)和受体结合域(receptor-binding domain, RBD)。此外, SARS-CoV-2 还结合宿主细胞上 CD147 和 TMPRSS2 等多个受体。SARS-CoV-2 通过其 S1 亚基 RBD 区与宿主细胞上 ACE2 结合,触发 S2 亚基的构象变化, S2 亚基中融合环的暴露诱导 SARS-CoV-2 包膜与宿主细胞膜融合并进入靶细胞<sup>[7-10]</sup>。

3 项独立研究结果均显示, ACE2 与 SARS-CoV-2 RBD 结合的平衡解离常数(equilibrium

dissociation constant,  $K_D$ ) 分别为 15.2, 4.7 和 1.2 nmol·L<sup>-1</sup>, 均高于 SARS-CoV ( $K_D$  分别为 31.0, 15.2 和 5.0 nmol·L<sup>-1</sup>)<sup>[11-13]</sup>。晶体结构显示, 该 2 种病毒 RBD 结构高度相似, ACE2 与 SARS-CoV-2 结合的亲和力( $K_D$  约为 15 nmol·L<sup>-1</sup>)比 SARS-CoV 高 10~20 倍<sup>[14]</sup>。SARS-CoV-2 RBD 与 ACE2 结合的自由能明显低于 SARS-CoV, 这可能是 SARS-CoV-2 比 SARS-CoV 更具感染性的分子基础<sup>[15]</sup>。

对 SARS-CoV-2 的 S 蛋白三聚体的结构研究进一步阐明了其 RBD 识别 ACE2 的分子机制。S 蛋白存在闭合构型和开放构型 2 种构象。闭合构型时, 3 个 RBD 位于同一界面; 开放构型中, RBD 之一向上旋转并暴露与 ACE2 结合的位点。SARS-CoV-2 RBD 与 ACE2 接触面积大于 SARS-CoV, 且 SARS-CoV-2 RBD 与 ACE2 存在更多的分子间氢键相互作用, 涉及 RBD 的 Q<sup>493</sup> 和 G<sup>496</sup> 以及 ACE2 的 K<sup>31</sup>, E<sup>35</sup> 和 K<sup>353</sup> 位点。同时, SARS-CoV-2 RBD 的 F<sup>486</sup> 插入 ACE2 的疏水口袋中, 使得复合物结构比 SARS-CoV 更紧凑<sup>[16]</sup>; ACE2 中的 N<sup>90</sup> 与 RBD 的 R<sup>408</sup> 形成分子间氢键, 且与 SARS-CoV 相比, SARS-CoV-2 含有四残基基序(G-V-E-G<sup>482-485</sup>), 使其结构更加紧凑, 并与 ACE2 的 N 端螺旋形成更好的接触<sup>[17]</sup>。用 X 射线晶体学方法确定 SARS-CoV-2 RBD-ACE2 复合物(2.45 Å 分辨率, 1 Å=0.1 nm)的结构显示, RBD 含有 4 对二硫键, 其中 3 对位于核心(Cys<sup>336</sup>-Cys<sup>361</sup>, Cys<sup>379</sup>-Cys<sup>432</sup> 和 Cys<sup>391</sup>-Cys<sup>525</sup>), 辅助稳定 β 片层结构; 1 对(Cys<sup>480</sup>-Cys<sup>488</sup>)连接 RBD 远端的环。SARS-CoV-2 RBD 的 17 个残基与 ACE2 的 20 个残基作用, 而 SARS-CoV RBD 有 16 个残基与 ACE2 的 20 个残基结合。2 种 RBD 结合的 ACE2 残基中有 17 个相同, 且多数位于 N 端螺旋区; 2 个 RBD 之间则有 8 个残基相同<sup>[11]</sup>。

### 1.3 S 蛋白的免疫表位

抗体发挥中和效应的强度与其所识别的功能表位密切相关。SARS-CoV-2 的表位信息研究为靶向抗体等药物的设计提供了有益参考<sup>[18]</sup>。利用新型预测工具 Q-UEL<sup>[19]</sup>、反向疫苗学、免疫信息学和分子生物学等手段, 可预测病毒结构蛋白上 T 和 B 细胞表位信息, 并验证确定保守的功能表位<sup>[20]</sup>。SARS-CoV-2 的 S 蛋白含有 25 个 B 细胞表位(Ser<sup>438</sup>-Gln<sup>506</sup>, Thr<sup>553</sup>-Glu<sup>583</sup>, Gly<sup>404</sup>-Aps<sup>427</sup>, Thr<sup>345</sup>-Ala<sup>352</sup> 和 Lys<sup>529</sup>-Lys<sup>535</sup>)和 40 个 T 细胞表位(9 个 CD4<sup>+</sup>表位 11 个 CD8<sup>+</sup>表位, 其中 RBD 区 7 个 CD4<sup>+</sup>表位和 9 个 CD8<sup>+</sup>表位, 尾部 2 个 CD4<sup>+</sup>表位和 2 个 CD8<sup>+</sup>表位), SARS-CoV-2 S 蛋白结合 CD4<sup>+</sup> T 细胞

的表位与 SARS-CoV S 蛋白对应<sup>[21]</sup>。Mukherjee 等<sup>[22]</sup>从 SARS-CoV-2 的 5 个免疫原区鉴定出 7 个表位,与宿主细胞主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)等位基因具有高度亲和力,且能够覆盖世界人口,覆盖率>87%,可作为设计 SARS-CoV-2 疫苗的候选抗原。同时,Abdelmageed 等<sup>[23]</sup>也预测了 SARS-CoV-2 的 E 蛋白中 10 个与 MHC I 类或 II 类分子结合的 T 细胞表位,覆盖率分别为 88.5% 和 99.99%。Khurana 团队分析了 SARS-CoV-2 S 蛋白不同结构域的免疫原性,证实 RBD 诱导中和抗体的免疫原性最好,而 S2 区诱导中和抗体的能力较弱<sup>[24]</sup>。除 RBD 外, SARS-CoV-2 S1 区 C 端 548~632 位氨基酸也可良好诱导中和抗体,为疫苗设计及中和抗体研发提供了有益信息。同时, SARS-CoV-2 S 蛋白的 2 个表位被 COVID-19 患者血清特异性识别,其中 S21 覆盖了部分融合肽,在冠状病毒家族中高度保守;S14 位于 RBD 附近,进一步截短的 S14P5 和 S21P2 肽分别与患者血清作用,血清阳性率显著增高,提示 COVID-19 患者体内产生针对这 2 个表位的抗体概率较高,且针对这 2 个表位的血清抗体水平与血清中和 SARS-CoV-2 的能力显著相关,表明 S14P5 和 S21P2 是抗体中和表位<sup>[25]</sup>。尽管 SARS-CoV-2 S 蛋白与 SARS-CoV S 蛋白具有很高的同源性,但新表位约占 85%,推测 SARS-CoV-2 的抗原性发生了显著变化。这可能是大多数针对 SARS-CoV 的抗体对 SARS-CoV-2 均无效的原因,这为 SARS-CoV-2 疫苗的研发提供了有益参考<sup>[26]</sup>。

## 2 SARS-CoV-2 中和抗体

抗 SARS-CoV-2 抗体可以直接与 SARS-CoV-2 S 蛋白结合,阻断 SARS-CoV-2 与宿主细胞 ACE2 结合,抑制 SARS-CoV-2 感染细胞,发挥中和效应。疫情之初,有研究者认为托西珠单抗(tocilizumab, 抗人白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)受体单抗)可能会抑制 SARS-CoV-2 感染者疾病的发展<sup>[27]</sup>;抗 CD147 人源化抗体美珀珠单抗(meplazumab)能与 S 蛋白竞争结合 CD147,可显著抑制 SARS-CoV-2 入侵细胞<sup>[28-29]</sup>;舒泰神公司的抗 C5a 抗体 BDB-001 可抑制炎症反应(于 2020 年 4 月进入临床试验)。同时,与治疗 SARS 类似,使用 COVID-19 完全康复患者恢复期血浆可有效抵抗 SARS-CoV-2<sup>[30]</sup>。为确诊 COVID-19 患者输注高滴度 COVID-19 康复者血浆,患者血清中和抗体滴度迅速增加,临床症

状改善<sup>[31-32]</sup>。目前, COVID-19 患者恢复期血浆已成为临床治疗 COVID-19 的紧急使用药品之一,也为 SARS-CoV-2 基因工程抗体的研发提供了支持。不过,康复者血浆中抗体效价并不稳定,阻碍了血浆疗法的大规模应用,客观上也对单抗的研发提出了迫切需求。

### 2.1 抗 SARS-CoV 抗体用于 COVID-19 治疗的尝试

疫情初期,由于时间所限,研究者从 SARS-CoV 患者中和抗体入手,希望找到能够同时识别并中和 SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 的抗体<sup>[33]</sup>。然而,已知的几种抗 SARS-CoV 单抗如 S230, 80R 和 m396 等均不能结合 SARS-CoV-2<sup>[11,14]</sup>。其中,单抗 S230 对 SARS-CoV 的中和机制为模仿受体结合和促进 S 蛋白融合构象的改变,80R 和 m396 可阻断 RBD 与 ACE2 的相互作用从而中和 SARS-CoV<sup>[34]</sup>。晶体结构显示,抗体中和机制是直接阻断受体结合。然而, SARS-CoV 的 RBD 能被 m396 识别的 21 个表位残基中有 7 个在 SARS-CoV-2 中不保守,80R 识别的 25 个表位中 16 个不保守,这可能是该类抗体缺乏明显的交叉保护性的结构基础<sup>[16]</sup>。

抗 SARS-CoV 单抗 CR3022 也能与 SARS-CoV-2 的 RBD 高亲和力结合,但在高达  $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的浓度下仍不能中和 SARS-CoV-2。3.1 Å 分辨率的晶体结构显示, CR3022 靶向 SARS-CoV RBD 上 1 个高度保守的表位,远离受体结合位点,使得该抗体可以交叉结合 SARS-CoV-2<sup>[12]</sup>。同时,只有当 SARS-CoV-2 三聚体 S 蛋白上至少有 2 个 RBD 打开处于“向上”构象并轻微旋转时, CR3022 才能与 SARS-CoV-2 三聚体 S 蛋白结合<sup>[35]</sup>。该抗体识别 SARS-CoV-2 的 28 个表位残基中, 24 个与 SARS-CoV 相同,但该抗体与 SARS-CoV-2 的亲和力比 SARS-CoV 低 2 个数量级(部分原因可能是 SARS-CoV 的 N<sup>370</sup> 糖基化形成了复合聚糖,增加了抗体接触面积)<sup>[12,35-36]</sup>。即使该抗体识别的表位在这 2 种病毒中均保守,静电表位计算结果也显示, SARS-CoV-2 的 RBD 蛋白与 ACE2 结合的亲和力远高于 SARS-CoV。因此,针对 SARS-CoV 的能够与 ACE2 竞争的抗体可能很难完全阻断 SARS-CoV-2 的 RBD 与 ACE2 的相互作用<sup>[16,37]</sup>。

即使如此,部分抗 SARS-CoV 抗体也能显示良好的中和 SARS-CoV-2 的效应。人源抗 SARS-CoV 单抗 S309 能够与 SARS-CoV2 S 蛋白的 RBD 结合,可中和 SARS-CoV-2 和 SARS-CoV 假病毒及 SARS-CoV-2 真病毒。冷冻电子显微镜结果显示, S309 识别了 SARS-CoV 病毒的 1 个包含聚糖的非



受体结合表位,且该表位在病毒亚属中是保守的。S309 对 SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 假病毒的中和效应相近, S309  $79 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  即可有效中和 SARS-CoV-2 真病毒(2019n-CoV/USA\_WA1/2020)<sup>[38]</sup>。在抗埃博拉病毒单抗研发过程中,从康复患者记忆 B 细胞库中获得的 mAb114 单抗可以显著中和埃博拉病毒<sup>[39-40]</sup>。类似的, Wec 等<sup>[41]</sup>从恢复期 SARS 患者记忆 B 细胞库中鉴定出 9 个中和抗体,其中 8 个识别 RBD, 1 个识别 NTD。假病毒研究结果显示, 4 个抗体识别的 RBD 表位与人 ACE2 (human ACE2, hACE2) 和 CR3022 识别的 RBD 表位重叠, 其他 4 个识别的 RBD 表位与 hACE2 表位重叠。体外中和实验表明, 这些抗体对 SARS-CoV 的半数抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 为  $0.05 \sim 1.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 而对 SARS-CoV-2 的  $\text{IC}_{50}$  为  $0.004 \sim 0.060 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。真病毒体系结果与此类似。其中, SARS-CoV 单抗 ADI-55689 可能与 hACE2 竞争, 似乎结合在 hACE2 结合位点的边缘, 靠近 SARS-CoV RBD 结构更保守的核心结构域。SARS-CoV 单抗 ADI-56046 能够竞争 hACE2, 与 SARS-CoV RBD 的柔性远端结合。Tai 等<sup>[42]</sup>鉴定了 6 种与 SARS-CoV-2 RBD 存在交叉反应的抗 SARS-CoV 抗体, 其中 18F3 和 7B11 可中和 SARS-CoV-2 假病毒,  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时中和率均可达到 80%。18F3 识别 SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 RBD 上保守的中和表位 ( $\text{D}^{392}$  和  $\text{V}^{394}$ ), 与 ACE2 结合位点不重叠。而 7B11 识别 SARS-CoV-2 RBD 上不完全保守的表位 ( $\text{I}^{428}$ ,  $\text{A}^{430}$  和  $\text{K}^{439}$ ), 接近 ACE2 结合位点, 因此可以阻断 SARS-CoV-2 RBD 与 ACE2 的结合。

然而更多情况下, 从 SARS-CoV 感染的康复者血浆获得的抗体能够保护 SARS-CoV-2 感染的概率较小。如 SARS-CoV 感染康复者的 7 份血浆样本中有 5 份可中和 SARS-CoV, 效价在  $1:40 \sim 1:320$ , 但无 1 份可交叉中和 SARS-CoV-2。同样, 15 例 SARS-CoV-2 感染患者血浆只有 1 例可以交叉中和 SARS-CoV, 且效价很低 ( $1:10$ )<sup>[43]</sup>。提示 SARS-CoV 与 SARS-CoV-2 的抗原表位并不完全相同, 引起的免疫反应也具有明显差异。

## 2.2 抗 SARS-CoV-2 抗体研究

随着对 SARS-CoV-2 研究的深入, 单细胞测序和转基因小鼠等技术被合理地用于筛选 SARS-CoV-2 中和抗体<sup>[44]</sup>, 特别是单细胞测序技术在抗 SARS-CoV-2 抗体研发中发挥了重要作用, 陆续筛选得到众多功能优良的候选抗体。鉴于 S 蛋白的核心地位, 目前开发的抗 SARS-CoV-2 抗体基本以 SARS-CoV-2 的 S 蛋白为靶点, 且识别表位多位于

RBD 区, 少数位于 S2 亚基或 S1/S2 蛋白水解位点。抗体来源包括康复者外周血、转基因小鼠和噬菌体抗体库等。抗体种类主要包括多抗(血浆来源, 如美国 Sab Biotherapeutics 开发的 SAB-185, 是利用转基因牛研发的多抗)、单抗、抗体融合蛋白和单域抗体等, 均取得了明显进展(表 1)。其中进展较快的品种为 GSK 公司的 S309 单抗及礼来公司的双抗体鸡尾酒疗法, 均已获得了 FDA 的紧急使用授权<sup>[45-53]</sup>。

### 2.2.1 单抗

#### 2.2.1.1 国外研究进展

荷兰乌得勒支大学的 Wang 等<sup>[54]</sup>用 SARS-CoV-2 S 蛋白免疫转基因 H2L2 小鼠, 获得 51 株抗 SARS-CoV-2 S 蛋白杂交瘤, 其中 47D11 表现出对 SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 假病毒感染的交叉中和活性,  $\text{IC}_{50}$  值均为  $0.061 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 在 SARS-CoV-2 真病毒感染细胞模型中, 其  $\text{IC}_{50}$  值分别为 0.19 和  $0.57 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。47D11 靶向 RBD, 与 SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 结合的亲和力接近 ( $K_D$  分别为 16.1 和  $9.6 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),  $\text{EC}_{50}$  值分别为 0.02 和  $0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。47D11 不能竞争 ACE2 受体与 SARS-CoV-2 S 蛋白的结合, 但可抑制 SARS-CoV-2 形成融合必须的合胞体。47D11 识别 1 个保守的表位, 这是其具有交叉中和 SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 的分子基础。2020 年 12 月, 美国艾伯维公司 (AbbVie) 宣布将继续推动 HBM9022 (初名 ABBV-47D11) 的临床开发。

多个团队宣布利用单细胞测序技术获得了能够良好抑制 SARS-CoV-2 的中和抗体。Rogers 等<sup>[55]</sup>鉴定了 3160 个抗原结合阳性的 B 细胞, 克隆和表达了 2045 个抗体。其中与 RBD 结合的抗体较少, 但大部分能中和 SARS-CoV-2 假病毒。其中单抗 CC12.19 似乎与针对 2 个不同表位的抗体 (RBD-B 和 S-A) 竞争, 表明该单抗识别表位可能较宽, 跨越了 RBD-B 和 S-A 表位。最有效的中和抗体是识别 RBD-A 表位的抗体, 包括 CC6.29 和 CC6.30, 中和 SARS-CoV-2 的  $\text{IC}_{50}$  为 2.0 和  $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 提示表位 RBD-A 是诱导中和抗体的首选靶点, 且单抗亲和力增加中和能力相应提高。仓鼠体内保护实验数据表明, 仓鼠 iv 给予较高剂量 RBD-A 中和抗体 (每只 125, 500 或  $2000 \mu\text{g}$ ), 其 SARS-CoV-2 载量较低; 而 iv 给予 S-B 表位抗体, 3 个浓度均无保护作用。Gils 团队鉴定了 84 个高亲和力单抗, 7 个中和效应良好 ( $\text{IC}_{50}$  为  $0.1 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 靶向 RBD 的抗体 COVA1-18 和 COVA2-15 的中和效应最佳 ( $\text{IC}_{50}$  分别为 0.007 和  $0.009 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 它们可与 ACE2 竞争结合抗原。有趣的是, 与抗 RBD 抗体相比, 不识别

表 1 用于治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的部分中和抗体和类抗体融合蛋白(截至 2021 年 6 月 20 日)

研发企业或单位	中和抗体或类抗体融合蛋白名称	来源和靶点	研发阶段	参考文献
美国 Lilly, 加拿大 Abcellera	巴尼韦单抗(bamlanivimab) (LY-CoV555)	康复者外周血来源的抗 S 蛋白 IgG 抗体	临床Ⅲ期	[45]
美国 Sab Biotherapeutics	SAB-185	牛多克隆抗体	临床试验	
美国 Regeneron	REGN-COV2(含 REGN10987 和 REGN10933)	COVID-19 康复者外周血来源的鸡尾酒抗体	临床Ⅱ/Ⅲ期	[45]
韩国 Celltrion	CT-P59	单抗, 识别表位位于 S 蛋白与 ACE2 结合的区域	临床Ⅲ期	[46]
英国 Glaxosmithkline, 美国 Vir Biotechnology	S309(VIR-7831), sotrovimab(VIR-7832, GSK4182136)	抗 S 蛋白抗体	获得美国 FDA 紧急使用授权用于轻中度 COVID-19 治疗	[47]
英国 Astrazeneca	AZD7442(含 COV2-2196 和 COV2-2130)	COVID-19 康复者外周血来源的单抗组合	临床Ⅲ期	[48]
美国 AbbVie	HBM9022(ABBV-47D11)	转基因小鼠来源的人源抗体	-	
德国 Yumab 生物技术公司	COR-101	噬菌体抗体库来源的 Fc 工程单抗	体内外药效评价阶段	[49]
瑞士 Novartis, 美国 Molecular Partners	ensovibep(MP0420), MP0423	靶向多个表位的 DARPin 蛋白	临床Ⅱ期	
中国 Systimmune(百利药业)	SI-F019	双价 ACE2 融合蛋白	申报临床	
美国 Xencor, 美国 Vir Biotechnology	-	Fc 工程抗体	-	
美国 Lilly, 中国君实生物	埃特司韦单抗(etesevimab)(JS016, LY-CoV016)与巴尼韦单抗(LY-CoV555)联用的双抗体疗法	抗 S 蛋白人源抗体	获得 FDA 紧急使用授权用于治疗 COVID-19	[50]
美国 Atreca, 中国百济神州, 美国 IGM Biosciences	-	识别新表位的 IgM 或 IgA 抗体	-	
美国 Amgen, 美国 Adaptive Biotechnologies	-	COVID-19 康复者外周血来源的单抗	-	
美国 Ossianix	-	抗 S 蛋白单域 VNAR 抗体	-	
美国 Sorrento	STI-4398(COVIDTRAP)	ACE2 融合蛋白	-	
美国 Sorrento	STI-1499, STI-2020(COVI-AMG)	来源于抗体库的人源抗体	临床Ⅰ期	
美国 Mount Sinai Health System, 美国 Sorrento	COVI-SHIELD(含 STI-1499)	含 3 种人源 Fc 工程抗体的鸡尾酒抗体	临床Ⅰ期	
中国百济神州, 北京丹序生物	DXP593, DXP604	COVID-19 康复者外周血来源的单抗	临床Ⅱ期	
北京大学	BD-368-2	COVID-19 康复者外周血来源的单抗	临床Ⅰ期	[51]
清华大学, 深圳市第三人民医院	P2C-1F11	COVID-19 康复者外周血来源的单抗	临床Ⅰ期	[52]
军事科学院军事医学研究院, 西湖大学	4A8	COVID-19 康复者外周血来源的单抗, 识别 S 蛋白 N 端非受体结合域	-	[53]

ACE2:血管紧张素转换酶2; -: 未查到相关信息..

RBD 的抗体均具有更长的重链 CDR3 区<sup>[56]</sup>。同时, Sun 等<sup>[57]</sup>用 SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 RBD 分别免疫小鼠,检测免疫小鼠血清与 RBD 的结合,并检测了多株杂交瘤抗体对假病毒的中和效应,从中筛选出抗 SARS-CoV-2 人源抗体 HA001。实验结果显示,HA001 能够中和 SARS-CoV-2,但未能识别 SARS-CoV。同时,HA001 识别表位包括 A<sup>475</sup>,V<sup>483</sup>,F<sup>486</sup> 和 S<sup>494</sup>,其中 A<sup>475</sup> 和 F<sup>486</sup> 更是 RBD 结合 HA001 或 hACE2 的关键点。HA001 通过竞争 RBD 与受体结合的关键残基以中和 SARS-CoV-2。Hansen 等<sup>[44]</sup>经单细胞分选、基因扩增从 SARS-CoV-2 免疫人源化小鼠和 COVID-19 患者康复期外周血中获得了 200 多个中和单抗。其中 9 种最有效的单抗中和效价为 7~99  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,均结合 SARS-CoV-2 的 RBD 区,阻断 RBD 与 ACE2 的相互作用。这些抗体与单体 SARS-CoV-2 的 RBD ( $K_D$  为 0.56 ~ 45.20  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )或二聚体 SARS-CoV-2 的 RBD ( $K_D$  为 5.7 ~ 42.8  $\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )均能特异性结合。假病毒实验结果显示,其中多个抗体中和活性良好,比重组 ACE2 高 1000 倍。中和活性最好的 4 种单抗中和活性接近,彼此间无协同中和效应。他们还从这 4 个抗体选择了 REGN10987 和 REGN10933 组成鸡尾酒抗体,以获得最佳的抗病毒效应,同时将病毒逃逸的概率降低。REGN10933 Fab 区从顶部方向与 RBD 结合,靶向 RBD 上与 ACE2 作用界面的棘状环区域,与 ACE2 的结合位点广泛重叠。而 REGN10987 的结合表位远离 REGN10933 的结合表位,与 ACE2 结合位点几乎无重叠。单粒子冷冻电镜结果显示,抗体 REGN10987 和 REGN10933 可同时结合 SARS-CoV-2 RBD 的不同区域。

基于以上工作,美国 Regeneron 公司推动鸡尾酒抗体 REGN-COV2 (含有 REGN10987 和 REGN10933)进入临床试验。结果显示,REGN-COV2 能够明显降低 COVID-19 患者的病毒载量,安全性高<sup>[58]</sup>。此外,Seydoux 等<sup>[59]</sup>从 COVID-19 患者血清中分离并制备了 45 株 S 蛋白特异性单抗,其中 3 株 CV5,CV30 和 CV4 可结合 RBD。CV30 功能最佳,可结合 RBD 并阻止 RBD 与 ACE2 结合。抗体 CV1 不识别 RBD,但可中和 SARS-CoV-2。CV5 和 CV43 与 CR3022 类似,识别表位远离 ACE2 结合位点。ACE2 和 CV30 以相近的亲和力( $K_D$  分别为 4.4 和 3.6  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )结合 RBD,然而动力学参数有明显不同,ACE2 与 RBD 的结合率和解离率均高于 CV30。AZD7442 (含 COV2-2196 和 COV2-2130 单抗)是从 SARS-CoV-2 感染患者恢复期外周血中筛到的 2 株

长效单抗组合。母本抗体由美国范德比尔特大学医学中心发现,并于 2020 年 6 月授权给美国阿斯利康。美国阿斯利康采用其专有的半衰期延长技术进行了优化,延长了半衰期,使得单次给药疗效可维持 6~12 个月。AZD7442 获得了美国政府的研发资助。在未接种疫苗的密接者中开展的研究结果显示,与安慰剂对照组相比,AZD7442 使出现 COVID-19 症状的风险降低了 33%,但并未达到有效预防 SARS-CoV-2 密接者感染的主要目标。即使如此,该抗体有助于预防尚未感染的个体在接触 SARS-CoV-2 后出现临床症状<sup>[48]</sup>。

韩国 Celltrion 集团也研发了可以识别 SARS-CoV-2 RBD 的瑞丹维单抗(CT-P59)<sup>[60]</sup>,该抗体能够显著中和包括 Alpha UK 变体(B.1.17)在内的 SARS-CoV-2 野生型和突变型病毒。在体内模型中,CT-P59 可有效降低雪貂、仓鼠和恒河猴 SARS-CoV-2 载量,改善肺部炎症。I 期和 II 期临床试验结果显示,CT-P59 对轻中度 COVID-19 患者具有良好的安全性和耐受性,抗病毒效应显著<sup>[46]</sup>。2021 年 6 月公布的全球 III 期临床试验结果显示,CT-P59 40  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 在轻度至中度 COVID-19 患者中达到所有主要和关键次要终点(1315 例)。与安慰剂相比,CT-P59 将进展为重症 COVID-19 的患者第 28 天的住院或死亡风险显著降低 72%,达到主要有效性终点[3.1% vs 11.1%]。同时,CT-P59 显著降低全部患者的住院或死亡风险,降幅 70%,达到第一个关键次要终点[2.4%]。美国 Vir 公司研发的 2 株单抗 VIR-7831 和 VIR-7832 对 SARS-CoV-2 S 蛋白具有高度亲和力,既能阻断 SARS-CoV-2 进入健康细胞,又能清除被感染的细胞,且英国、南非、巴西和美国加州的变种病毒突变位点均与 VIR-7831 识别的高度保守的表位无重叠,因此 VIR-7831 对变种病毒也具有潜在的中和活性。美国 GSK 公司联合美国 Vir 公司推动 VIR-7831 的临床研究,一项名为 COMET-ICE (COVID-19 Monoclonal Antibody Efficacy Trial-Intent to Care Early)的 III 期临床有效性和安全性中期分析结果显示,VIR-7831 单药治疗具有高住院风险的成人 COVID-19 患者,能够使患者住院或死亡风险减少 85% ( $P=0.002$ ),达到主要终点。随即美国 GSK 公司和美国 Vir 公司向美国 FDA 递交了 VIR-7831 的紧急使用授权(EUA)申请并获得批准,用于治疗轻中度 COVID-19 患者<sup>[47]</sup>。

利用传统的抗体库技术,美国 Sorrento 公司从大容量抗体库中筛到了 12 株中和抗体。2020 年 5 月 16 日,该公司就宣布其中的 1 株抗体 STI-1499 能



100% 抑制 SARS-CoV-2 感染, 4 d 内可清除病毒。随即 STI-1499 获得美国 FDA 批准, 在住院的 COVID-19 患者中进行 I 期临床试验。随后, 该公司与美国 Mount Sinai Health System 合作开发了 COVI-SHIELD, 含有包括 STI-1499 在内的 3 株抗体。这 3 株抗体能共同识别 SARS-CoV-2 S 蛋白的 3 个不同区域, 发挥中和活性。2020 年 10 月 30 日, 美国 Sorrento Therapeutics 公司向学术论文在线快速发布平台 *bioRxiv* 上传了一项研究结果, 证实 STI-2020 单抗在仓鼠体内经鼻内或静脉给药的阳性结果<sup>[60]</sup>。STI-2020 与多种抗药性 SARS-CoV-2 突变株均表现出相似的高亲和力。2020 年 12 月, 美国 Sorrento 公司宣布, 美国 FDA 已接受 STI-2020 (COVI-AMG) 的研究性新药申请 (investigational new drug), 将评估健康志愿者和症状较轻的门诊 COVID-19 患者单次注射 STI-2020 的安全性、药动学和疗效。

### 2.2.1.2 国内研究进展

2020 年 3 月 27 日, 清华大学张林琦团队从 COVID-19 康复者外周血成功分离出 4 株中和抗体, 其中抗体 P2C-1F11 识别表位最广, 亲和力最高, 且最接近 ACE2 的结合表位, 在体外表现出最强的中和活性, 对 SARS-CoV-2 感染的 Ad5-hACE2 小鼠显示了明显的保护效应。有意思的是, P2C-1F11 单抗能够引起病毒表面 S 蛋白的 S1 亚基脱落, 而其余抗体并未显示这一效应<sup>[52]</sup>。2020 年 5 月 9 日, 军事科学院军事医学研究院生物工程研究所陈薇院士团队和西湖大学周强团队从 10 例恢复期 COVID-19 患者外周血中分离并鉴定了 3 株能够中和 SARS-CoV-2 真病毒的单抗, 其中 4A8 对 SARS-CoV-2 真病毒和假病毒均显示了较高的中和活性。4A8 不与 RBD 结合, 而是识别 S 蛋白 NTD 区, 提示 NTD 也可以作为治疗 COVID-19 的良好靶点<sup>[53]</sup>。2020 年 5 月 17 日, 北京大学谢晓亮团队收集了 60 余例恢复期 COVID-19 患者血液样本, 从中筛选出 14 株中和抗体, 其中效果最好的是 BD-368-2, 中和 SARS-CoV-2 假病毒和真病毒的  $IC_{50}$  值分别为 1.2 和  $15.0 \mu g \cdot L^{-1}$ <sup>[51]</sup>。BD-368-2 与 S 蛋白三聚体复合物结合的结构也获得了解析 ( $3.5 \text{ \AA}$ ), 而且不论 RBD 是处于“上”构象还是“下”构象, BD-368-2 均可通过同时占据 3 个 RBD 来完全阻止 S 蛋白三聚体复合物对 ACE2 的识别。丹序生物与谢晓亮团队合作, 鉴定了 DXP-593 和 DXP-604 2 株中和抗体。DXP-593 在假病毒和 SARS-CoV-2 真病毒中分别表现出很强的中和活性,  $IC_{50}$  分别为 1.2 和

$15.0 \mu g \cdot L^{-1}$ ; 在啮齿动物感染模型中, DXP-593 显示了明显的疗效和预防效果。DXP-604 的结合表位不同于 DXP593, 也具有高中和活性, 提示 2 株抗体可以组成鸡尾酒药物。2020 年 8 月 27 日, 百济神州与丹序生物宣布, 合作开发 DXP593 和 DXP604。他们选择高亲和力的 DXP-593 首先进入临床试验, 于 2020 年 8 月 31 日登记了 I 期临床 (NCT04532294), 计划入组 30 例健康志愿者。同年 9 月 16 日登记了 DXP-593 的 II 期临床试验 (NCT04551898), 计划入组 180 例轻中度 SARS-CoV-2 感染者开展试验。

2020 年 6 月, 君实生物和中国科学院微生物研究所联合宣布, JS016 已经在复旦大学附属华山医院完成 I 期临床试验的首例健康志愿者给药。这是中国第一个进入临床试验的 SARS-CoV-2 中和抗体。JS016 也是利用单细胞测序技术从 COVID-19 康复者外周血分离得到的抗体, 是继美国 Lilly 公司和美国 AbCellera 公司联合开发的中和抗体巴尼韦单抗 (bamlanivimab) (又名 LY-CoV555), 进入 I 期临床试验后在全球第 2 个进入临床试验的 SARS-CoV-2 中和抗体。值得一提的是, LY-CoV555 抗体也是从 COVID-19 康复者外周血中分离的, 已经完成了 III 期临床试验, 但是由于无证据证实 LY-CoV555 能够改善 COVID-19 患者的临床症状, 该研究一度暂停。但美国 Lilly 公司并未放弃这一抗体, 他们联合君实生物, 推出了埃特司韦单抗 (etesevimab) (JS016 或 LY-CoV016) 及巴尼韦单抗联用的双抗体疗法<sup>[50]</sup>, 于 2021 年 2 月已获得美国 FDA 紧急使用授权用于 COVID-19 的治疗。

### 2.2.2 抗体融合蛋白和小分子抗体

#### 2.2.2.1 抗体融合蛋白

ACE2 是肾素-血管紧张素 (angiotensin, Ang) 系统的重要组成部分。在该系统中, 肾素-Ang 原首先被肾素转化为 Ang I, 然后在 ACE2 的作用下将 Ang I 转化为 Ang II。ACE2 下调 Ang I 和 Ang II 的水平, 后者可与 Ang II 的 I 型受体结合并引起某些类型的肺损伤, 主要是肺动脉高压、肺纤维化和急性肺损伤<sup>[15]</sup>。将 hACE2 胞外区与人 IgG<sub>1</sub> 的 Fc 区域融合获得的重组蛋白在体外可中和 SARS-CoV 假病毒或 SARS-CoV-2 假病毒, 小鼠体内实验也表明其具有良好的中和活性。可溶性 hACE2 还能减少 SARS-CoV-2 载量, 并在感染早期抑制血管和人肾器官中的 SARS-CoV-2 感染, 提示外源性 ACE2 可以阻断 SARS-CoV-2 的早期入侵<sup>[61]</sup>。临床在研药物 GSK2586881 即 ACE2-Fc 融合蛋白,

体外可通过结合 SARS-CoV 的 S 蛋白竞争性阻断该病毒与真核细胞的结合,有效中和 SARS-CoV,  $IC_{50}$  为  $2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。ACE2-Fc 也可以阻断 SARS-CoV-2 与 ACE2 的结合,阻止 SARS-CoV-2 感染细胞,同时 ACE2-Fc 还保留了自身独特的酶催化功能,舒张血管、降低血压的同时保护肺组织,无形中增加了对 COVID-19 患者产生积极治疗作用的可能性<sup>[62]</sup>。SI-F019 是中国 SystImmune 公司在疫情暴发初期启动研发的双价 hACE2-Fc 融合蛋白,可以作为诱饵蛋白竞争结合病毒,具有广义强中和活性,且可改善 COVID-19 患者的肺部呼吸窘迫症状。2020 年 9 月,该公司宣布该品种正处于研究性新药申请阶段,即将申报临床,并预期在当年底在中国和美国开展临床试验。美国 Sorrento 公司也研发了一个 ACE2 融合蛋白 STI-4398/COVIDTRAP,在低浓度下能够完全抑制 SARS-CoV-2 感染非洲绿猴肾上皮细胞 (VERO/E6)。早在 2020 年 6 月,该公司就宣布 STI-4398 获得了美国 FDA 的临床试验指导,用于 COVID-19 患者治疗和预防性使用。

#### 2.2.2.2 小分子抗体

单域抗体仅包含重链可变区 (variable region of heavy chain, VH), 分子质量约为 15 ku, 制备相对容易, 价格经济, 稳定性高, 组织穿透性强, 是近年来抗体分子研究的热点。单域抗体可以用于高效检测, 而且具有作为中和抗体进行疾病防治的潜力。Sun 等<sup>[63]</sup>基于人单抗重链可变区骨架 IGHV3-30 开发了单域抗体,  $37^{\circ}\text{C}$  下稳定, 且聚集  $<1\%$ 。VH ab6 和 m397 只结合 SARS-CoV-2 S 蛋白, 与 ACE2 竞争结合 RBD。为延长体内半衰期和潜在的中和活性, ab6 和 m397 与人 Fc 融合表达, 对 SARS-CoV-2 真病毒显示了很强的抑制活性,  $IC_{50}$  值分别为  $0.35$  和  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 同时, SARS-CoV S 蛋白 S2 亚基的 1 个片段 (1029~1192 位氨基酸) 在 SARS-CoV-2 中高度保守, 而在 MERS-CoV 和引起人类常见感冒的冠状病毒中不存在。Zheng 等<sup>[64]</sup>筛选到 4 株针对这种片段的小鼠单抗, 可识别细胞表面表达的 SARS-CoV-2 S 蛋白, 其中最好的是 mab1a9 (表位位于 1111~1130 位氨基酸), 具有结合和交叉中和人 SARS-CoV、果子狸 SARS-CoV 和 bat-SL-CoV 假病毒的潜能。进一步的配伍实验结果显示, mab1a9 与 CR3022 (识别 SARS-CoV S1 亚基的单抗) 配对, 可检测出低至  $15.6 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的 SARS-CoV-2 S 蛋白, 提示这 2 株抗体可用于开发 SARS-CoV-2 检测试剂盒。

英国 Ossianix 公司拥有 VNAR 抗体库, 正在开发抗 SARS-CoV-2 纳米抗体。相比而言, 瑞士 Molecular Partners 研发的基于骨架蛋白 DARPin 的三价蛋白 MP0423 和 MP0420 进展似乎更快。MP0423 能够同时识别 S 蛋白的 RBD、S1 N 端和 S2, 发挥明显的病毒抑制功能。DARPin 类蛋白分子小, 组织渗透性强, 可同时作用于 6 个不同的靶点, 免疫原性低, 生产简单。瑞士 Novartis 公司于 2020 年 10 月参与了这 2 个品种的应用开发, Molecular Partners 公司负责 2 个候选产品的 I 期临床试验和 MP0423 的所有非临床工作。Novartis 则承诺负责 II 和 III 期临床试验。在 MP0420 的 I 期临床试验中, 23 名健康志愿者均表现出良好的耐受性。2021 年 5 月, Novartis 宣布启动新型 DARPin 蛋白疗法 ensovibep (MP0420) 全球多中心 II/III 期临床研究 EMPATHY, 在处于感染早期的 COVID-19 患者中开展疗效评估, 计划入组 2100 例患者, 初步结果预计在 2021 年 8 月获得。EMPATHY 的结果如显示抗体的良好疗效, 将为 Novartis 通过美国 FDA 的紧急使用授权铺平道路。与此同时, Molecular Partners 继续推动 MP0423 的非临床研究。

### 3 结语

目前 SARS-CoV-2 正处于全球大流行阶段, 全球有数十个疫苗产品陆续被批准用于人体预防免疫, 抗体药物中也出现了被授权紧急使用的品种。然而, 随着疫苗接种的大规模开展, 其不良反应也日益凸显, 包括高热、头痛、肌痛、局部红肿和疲倦等, 甚至对心脑血管和生殖系统产生严重影响。另外, 疫苗接种后产生抗体的比例因人而异 ( $50\% \sim 90\%$ ), 抗体滴度和中和强度均不稳定; 且从理论上推测, 个别接种者甚至可能出现感染 SARS-CoV-2 后病情反而加重的现象, 类似单抗的抗体依赖性增强 (antibody dependent enhancement, ADE) 效应。因此, 可同时发挥防治功能的中和抗体药物的开发显得尤为重要。在抗体研发过程中, 要充分考虑避免表位逃逸、规避 ADE 效应、降低不良反应、提高抗体功能等原则, 适当采用制备抗体鸡尾酒乃至重组多克隆抗体等策略<sup>[65]</sup>。此外, 改造抗体恒定区以提高体内药效、药代特性也值得探索。相信对 SARS-CoV-2 中和抗体的研究将有助于 SARS-CoV-2 感染的防控, 为 COVID-19 治疗提供决定性的技术和产品支持。



## 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] 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.
- [3] Wrapp D, De Vlieger D, Corbett KS, *et al.* Structural basis for potent neutralization of betacoronaviruses by single-domain camelid antibodies[J]. *Cell*, 2020, 181(5): 1004-1015.
- [4] 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.
- [5] 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, 181(2): 271-280.
- [6] Zhang H, Penninger JM, Li Y, *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target[J]. *Intensive Care Med*, 2020, 46(4): 586-590.
- [7] Abraham J. Passive antibody therapy in COVID-19 [J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(7): 401-403.
- [8] Du L, He Y, Zhou Y, *et al.* The spike protein of SARS-CoV—a target for vaccine and therapeutic development[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2009, 7(3): 226-236.
- [9] Du L, Yang Y, Zhou Y, *et al.* MERS-CoV spike protein: a key target for antivirals[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2017, 21(2): 131-143.
- [10] Premkumar L, Segovia-Chumbez B, Jadi R, *et al.* The receptor binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients[J/OL]. *Sci Immunol*, 2020, 5(48): eabc8413[2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32527802/>. DOI: 10.1126/sciimmunol.abc8413.
- [11] Lan J, Ge J, Yu J, *et al.* Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor[J]. *Nature*, 2020, 581(7807): 215-220.
- [12] Tian X, Li C, Huang A, *et al.* Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 382-385.
- [13] Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, *et al.* Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein[J]. *Cell*, 2020, 181(2): 281-292.
- [14] Wrapp D, Wang N, Corbett KS, *et al.* Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation[J]. *Science*, 2020, 367(6483): 1260-1263.
- [15] Chen B, Tian EK, He B, *et al.* Overview of lethal human coronaviruses[J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 89[2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32533062/>. DOI: 10.1038/s41392-020-0190-2.
- [16] Zhang Y, Kutateladze TG. Molecular structure analyses suggest strategies to therapeutically target SARS-CoV-2[J/OL]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2920 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32533062/>. DOI: 10.1038/s41392-020-0190-2.
- [17] Shang J, Ye G, Shi K, *et al.* Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2[J]. *Nature*, 2020, 581(7807): 221-224.
- [18] Robson B. COVID-19 Coronavirus spike protein analysis for synthetic vaccines, a peptidomimetic antagonist, and therapeutic drugs, and analysis of a proposed Achilles' heel conserved region to minimize probability of escape mutations and drug resistance[J/OL]. *Comput Biol Med*, 2020(121): 103749 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32568687/>. DOI: 10.1016/j.compbio.2020.103749.
- [19] Robson B. Extension of the quantum universal exchange language to precision medicine and drug lead discovery. Preliminary example studies using the mitochondrial genome[J/OL]. *Comput Biol Med*, 2020(117): 103621 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32072972/>. DOI: 10.1016/j.compbio.2020.103621.
- [20] Sarkar B, Ullah MA, Johora FT, *et al.* Immunoinformatics-guided designing of epitope-based subunit vaccines against the SARS coronavirus-2 (SARS-CoV-2)[J/OL]. *Immunobiology*, 2020, 225(3): 151955 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32517882/>. DOI: 10.1016/j.imbio.2020.151955.
- [21] Su QD, Yi Y, Zou YN, *et al.* The biological characteristics of SARS-CoV-2 spike protein Pro330-Leu650 [J]. *Vaccine*, 2020, 38(32): 5071-5075.
- [22] Mukherjee S, Tworowski D, Detroja R, *et al.* Immunoinformatics and structural analysis for identification of immunodominant epitopes in SARS-CoV-2 as potential vaccine targets[J/OL]. *Vaccines (Basel)*, 2020, 8(2): 290 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32526960/>. DOI: 10.3390/vaccines8020290.
- [23] Abdelmageed MI, Abdelmoneim AH, Mustafa MI,

- et al.* Design of a multiepitope-based peptide vaccine against the E protein of human COVID-19: an immunoinformatics approach[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2020 (2020): 2683286 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32461973/>. DOI: 10.1155/2020/2683286.
- [24] Ravichandran S, Coyle EM, Klenow L, *et al.* Antibody signature induced by SARS-CoV-2 spike protein immunogens in rabbits[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(550): eabc3539 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32513867/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.abc3539.
- [25] Poh CM, Carissimo G, Wang B, *et al.* Two linear epitopes on the SARS-CoV-2 spike protein that elicit neutralising antibodies in COVID-19 patients[J/OL]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2806 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32483236/>. DOI: 10.1038/s41467-020-16638-2.
- [26] Zheng M, Song L. Novel antibody epitopes dominate the antigenicity of spike glycoprotein in SARS-CoV-2 compared to SARS-CoV[J]. *Cell Mol Immunol*, 2020, 17(5): 536-538.
- [27] Zhou L, Huntington K, Zhang S, *et al.* Natural killer cell activation, reduced ACE2, TMPRSS2, cytokines G-CSF, M-CSF and SARS-CoV-2-S pseudovirus infectivity by MEK inhibitor treatment of human cells [J / OL]. *bioRxiv*, 2020: 1-64 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32793908/>. DOI: 10.1101/2020.08.02.230839.
- [28] Qiao J, Li W, Bao J, *et al.* The expression of SARS-CoV-2 receptor ACE2 and CD147, and protease TMPRSS2 in human and mouse brain cells and mouse brain tissues[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 533(4): 867-871.
- [29] Peeri NC, Shrestha N, Rahman MS, *et al.* The SARS, MERS and novel coronavirus (COVID-19) epidemics, the newest and biggest global health threats: what lessons have we learned?[J]. *Int J Epidemiol*, 2020, 49(3): 717-726.
- [30] Soo YO, Cheng Y, Wong R, *et al.* Retrospective comparison of convalescent plasma with continuing high-dose methylprednisolone treatment in SARS patients[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2004, 10(7): 676-678.
- [31] Yasui F, Kohara M, Kitabatake M, *et al.* Phagocytic cells contribute to the antibody-mediated elimination of pulmonary-infected SARS coronavirus[J]. *Virology*, 2014, 454-455: 157-168.
- [32] Zohar T, Alter G. Dissecting antibody-mediated protection against SARS-CoV-2[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(7): 392-394.
- [33] He Y, Li J, Li W, *et al.* Cross-neutralization of human and palm civet severe acute respiratory syndrome coronaviruses by antibodies targeting the receptor-binding domain of spike protein[J]. *J Immunol*, 2006, 176(10): 6085-6092.
- [34] Bai C, Warshel A. Critical differences between the binding features of the spike proteins of SARS-CoV-2 and SARS-CoV[J]. *J Phys Chem B*, 2020, 124(28): 5907-5912.
- [35] Yuan M, Wu NC, Zhu X, *et al.* A highly conserved cryptic epitope in the receptor binding domains of SARS-CoV-2 and SARS-CoV[J]. *Science*, 2020, 368(6491): 630-633.
- [36] Xia S, Zhu Y, Liu M, *et al.* Fusion mechanism of 2019-nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein[J]. *Cell Mol Immunol*, 2020, 17(7): 765-767.
- [37] Correa Giron C, Laaksonen A, Barroso da Silva FL. On the interactions of the receptor-binding domain of SARS-CoV-1 and SARS-CoV-2 spike proteins with monoclonal antibodies and the receptor ACE2 [J/OL]. *Virus Res*, 2020(285): 198021 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32275855/>. DOI: 10.1016/j.virusres.2020.198021.
- [38] Pinto D, Park YJ, Beltramello M, *et al.* Cross-neutralization of SARS-CoV-2 by a human monoclonal SARS-CoV antibody[J]. *Nature*, 2020, 583(7815): 290-295.
- [39] Corti D, Misasi J, Mulangu S, *et al.* Protective monotherapy against lethal Ebola virus infection by a potently neutralizing antibody[J]. *Science*, 2016, 351(6279): 1339-1342.
- [40] Levine MM. Monoclonal antibody therapy for Ebola virus disease[J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(24): 2365-2366.
- [41] Wec AZ, Wrapp D, Herbert AS, *et al.* Broad neutralization of SARS-related viruses by human monoclonal antibodies[J]. *Science*, 2020, 369(6504): 731-736.
- [42] Tai W, Zhang X, He Y, *et al.* Identification of SARS-CoV RBD-targeting monoclonal antibodies with cross-reactive or neutralizing activity against SARS-CoV-2[J/OL]. *Antiviral Res*, 2020(179): 104820 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32405117/>. DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104820.
- [43] Seydoux E, Homad LJ, MacCamy AJ, *et al.* Analysis of a SARS-CoV-2-infected individual reveals devel-

- opment of potent neutralizing antibodies with limited somatic mutation[J]. *Immunity*, 2020, 53(1): 98-105.
- [44] Hansen J, Baum A, Pascal KE, *et al*. Studies in humanized mice and convalescent humans yield a SARS-CoV-2 antibody cocktail[J]. *Science*, 2020, 369(6506): 1010-1014.
- [45] Lundgren JD, Grund B, Barkauskas CE, *et al*. A neutralizing monoclonal antibody for hospitalized patients with COVID-19[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(10): 905-914.
- [46] Kim C, Ryu DK, Lee J, *et al*. A therapeutic neutralizing antibody targeting receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein[J / OL]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 288 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33436577/>. DOI: 10.1038/s41467-020-20602-5.
- [47] Starr TN, Czudnochowski N, Zatta F, *et al*. Antibodies to the SARS-CoV-2 receptor-binding domain that maximize breadth and resistance to viral escape[J/OL]. *bioRxiv*, 2021: 1-36 [2020-11-12]. <https://pub-med.ncbi.nlm.nih.gov/33851154/>. DOI: 10.1101/2021.04.06.438709.
- [48] Dong J, Zost SJ, Greaney AJ, *et al*. Genetic and structural basis for recognition of SARS-CoV-2 spike protein by a two-antibody cocktail[J / OL]. *bioRxiv*, 2021: 1-56 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33532768/>. DOI: 10.1101/2021.01.27.428529.
- [49] Dübel S, Herrmann A, Schirmann T, *et al*. COR-101, ein menschlicher Antikörper gegen COVID-19[J/OL]. *Biospektrum* (Heidelb), 2021, 27(1): 46-48 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33612989/>. DOI: 10.1007/s12268-021-1512-x.
- [50] Gottlieb RL, Nirula A, Chen P, *et al*. Effect of bamlanivimab as monotherapy or in combination with etesevimab on viral load in patients with mild to moderate COVID-19: a randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2021, 325(7): 632-644.
- [51] Cao Y, Su B, Guo X, *et al*. Potent neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 identified by high-throughput single-cell sequencing of convalescent patients' B cells[J]. *Cell*, 2020, 182(1): 73-84.
- [52] Ge J, Wang R, Ju B, *et al*. Antibody neutralization of SARS-CoV-2 through ACE2 receptor mimicry[J/OL]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 250[2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33431856/>. DOI: 10.1038/s41467-020-20501-9.
- [53] Chi X, Yan R, Zhang J, *et al*. A neutralizing human antibody binds to the N-terminal domain of the spike protein of SARS-CoV-2[J]. *Science*, 2020, 369(6504): 650-655.
- [54] Wang C, Li W, Drabek D, *et al*. A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection[J/OL]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2251 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32366817/>. DOI: 10.1038/s41467-020-16256-y.
- [55] Rogers TF, Zhao F, Huang D, *et al*. Isolation of potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model[J]. *Science*, 2020, 369(6506): 956-963.
- [56] Brouwer PJM, Caniels TG, van der Straten K, *et al*. Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability[J]. *Science*, 2020, 369(6504): 643-650.
- [57] Yi C, Sun X, Ye J, *et al*. Key residues of the receptor binding motif in the spike protein of SARS-CoV-2 that interact with ACE2 and neutralizing antibodies[J]. *Cell Mol Immunol*, 2020, 17(6): 621-630.
- [58] Weinreich DM, Sivapalasingam S, Norton T, *et al*. REGN-COV2, a neutralizing antibody cocktail, in outpatients with COVID-19[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(3): 238-251.
- [59] Seydoux E, Homad LJ, MacCamy AJ, *et al*. Analysis of a SARS-CoV-2-infected individual reveals development of potent neutralizing antibodies with limited somatic mutation[J]. *Immunity*, 2020, 53(1): 98-105.
- [60] Fu Y, Maruyama J, Singh A, *et al*. Protective effects of STI-2020 antibody delivered post-infection by the intranasal or intravenous route in a Syrian golden hamster COVID-19 model[J/OL]. *bioRxiv*, 2020: 1-21 [2020-11-12]. <https://www.researchgate.net/publication/346558620>. DOI: 10.1101/2020.10.28.359836.
- [61] Monteil V, Kwon H, Prado P, *et al*. Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2[J]. *Cell*, 2020, 181(4): 905-913.
- [62] Datta PK, Liu F, Fischer T, *et al*. SARS-CoV-2 pandemic and research gaps: understanding SARS-CoV-2 interaction with the ACE2 receptor and implications for therapy[J]. *Theranostics*, 2020, 10(16): 7448-7464.
- [63] Sun Z, Chen C, Li W, *et al*. Potent neutralization of SARS-CoV-2 by human antibody heavy-chain variable domains isolated from a large library with a new stable scaffold[J/OL]. *MAbs*, 2020, 12(1): 1778-1788 [2020-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32544372/>. DOI: 10.1080/19420862.2020.1778435.
- [64] Zheng Z, Monteil VM, Maurer-Stroh S, *et al*. Monoclonal antibodies for the S2 subunit of spike of



SARS-CoV-1 cross-react with the newly-emerged SARS-CoV-2[J]. *Eur Surveill*, 2020, 25(28): 19-28.  
[65] Baum A, Fulton BO, Wloga E, *et al.* Antibody cock-

tail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies [J]. *Science*, 2020, 369(6506): 1014-1018.

## Research progress in anti-severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 neutralizing antibodies

QIAO Chun-xia, WANG Jing, LUO Long-long, FENG Jian-nan

(*Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China*)

**Abstract:** Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is so contagious that it has caused a global pandemic known as COVID-19. Anti-SARS-CoV-2 antibodies are safe and specific, and have satisfactory neutralizing activities against the virus. As the spike glycoprotein (S protein) of SARS-CoV-2 is critical to virus infection, it is the most important target of neutralizing antibodies. Most of their epitopes are located in the receptor binding domain, while others are located in S2 subunit or S1/S2 hydrolysis site. Serum-derived polyclonal antibodies, monoclonal antibodies, Fc fusion proteins and single-domain antibodies can be screened out using single-cell sequencing, antibody library, and transgenic mice technologies. A number of antibodies have entered clinical trials, some of which have been authorized by US Food and Drug Administration for emergency use. Here the current developments of anti-SARS-CoV-2 neutralizing antibodies are reviewed, which will be of benefit to COVID-19 treatment.

**Key words:** severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; coronavirus disease 2019; neutralizing antibodies

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China(31771010)

**Corresponding author:** FENG Jian-nan, E-mail: fengjiannan1970@qq.com

(收稿日期: 2020-11-13 接受日期: 2021-07-18)

(本文编辑: 齐春会)