评述

抵御新发、突发病病毒性传染病的新思路—— 天然免疫机制的系统医学研究和针对宿主的 广谱抗病毒药物的研发

秦晓峰^{①②*}, 蒋太交^{①②}, 程根宏^{①②*}

① 中国医学科学院基础医学研究所&北京协和医学院基础学院, 系统医学研究中心, 北京 100005;

② 苏州系统医学研究所, 苏州 215123

* 联系人, E-mail: fxfqin1@gmail.com; gcheng@mednet.ucla.edu

收稿日期: 2014-09-10; 接受日期: 2014-10-24; 网络版发表日期: 2015-01-05

卫生部公益性行业科研专项(编号: 201302018)资助

doi: 10.1360/052014-166

摘要 病毒性传染疾病是人类社会的重大威胁, 严重危害人民生命安全和国家、社会安定. 随着国内外经济发展, 城镇化、都市化、全球化的进程加快, 新发和突发病病毒性传染病呈现不断增高的趋势, 如艾滋病病毒、严重急性呼吸综合征病毒、禽流感病毒、甲流感病毒、埃博拉病毒等近年来一次又一次在世界不同地区频繁发生并蔓延、流行. 本次埃博拉病毒在西非的爆发和疫情失控更再次警示我国和国际社会关于发展有效防治新发、突发病病毒性传染病措施的重要性和紧迫性. 天然免疫与宿主抗病研究领域的突破性进展为解决该世界性难题开辟了新的思路和途径.

关键词新发、突发病病毒性传染病
埃博拉病毒
天然免疫
宿主抗病
干扰素
广谱抗病毒药物

人类社会面临众多疾病的威胁, 其中病毒性传染疾病无论在危害程度、波及范围、治疗难度上, 还是在对社会经济、政治稳定造成的影响上, 都值得引起全社会的高度关注. 如艾滋病病毒、严重急性呼吸综合征(简称非典)病毒、禽流感病毒、人流感病毒、埃博拉病毒等近年来一次又一次在世界不同地区频繁发生并蔓延、流行. 2014 年埃博拉病毒在西非的爆发和疫情失控再次警示我国和国际社会发展有效防治新发、突发病病毒性传染病措施的重要性和紧迫性. 疫苗(vaccine)是免疫学对人类最伟大的贡献. 自其发

明以来已成功消灭了天花, 有效控制了脊髓灰质炎(polio)、麻疹(measles)等多种严重传染病. 至今疫苗依旧是防控传染病, 特别是病毒性传染病的利器^[1,2]. 疫苗接种(immunization)防病、抗病的原理是基于人体的适应性免疫功能(adaptive immunity)^[2,3]. 机体的适应性免疫功能是机体通过 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞特异性地识别某种病原体在其侵染过程中产生的特定蛋白分子而激活形成多种免疫应答(immune responses)效应. B 淋巴细胞可产生针对病毒蛋白的特异性抗体而中和或阻断病毒入侵. 被特定抗原激活

引用格式: 秦晓峰, 蒋太交, 程根宏. 抵御新发、突发病病毒性传染病的新思路——天然免疫机制的系统医学研究和针对宿主的广谱抗病毒药物的研发. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 1-9

Qin X F, Jiang T J, Cheng G H. New strategies to fight against emerging viral infectious diseases—systems medicine for innate defense and development of broad-spectrum antiviral therapeutics targeting host factors. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 1-9, doi: 10.1360/052014-166

的效应性 T 淋巴细胞能清除已经被病原体感染的细胞^[3,4]。然而, 疫苗对于新发和突发性病毒传染病的防治作用却非常有限^[5]。其主要原因是: (i) 新生病毒传染病多为突发性, 来势凶猛, 病原体未知或了解不够清楚; (ii) 疫苗研发周期长, 耗资耗力。受经济效益因素的制约, 各国政府和制药企业都不愿投入大量资金用于新发和突发性病毒传染病疫苗的研制。另外, 疫苗对由高突变病毒引起的传染病的保护作用非常有限, 如季节性流感、艾滋病等。因此在世界范围内亟待发展新型广谱抗病毒药物以弥补疫苗在此方面的不足。本文总结了天然免疫在宿主抗病毒免疫应答和效应作用方面的最新研究进展, 从系统调节宿主因子功能的角度提出研发新型广谱抗病毒小分子药物防控新发、突发传染病的新策略和新方法。

1 天然免疫和宿主抗病

天然免疫(innate immunity)是生物体在进化早期即形成的一种保护机体免受外界病原体侵害的机制^[2]。相对于适应性免疫, 天然免疫比较原始, 它不能像 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞那样针对某一病原体产生高度精细和特异性的应答和保护作用。加之疫苗在传染病防控方面取得的重大成效, 天然免疫在抗病毒方面的研究曾一度被忽视, 没有受到像适应性免疫那样的重视^[2,4,6]。然而, 天然免疫是宿主对抗外来病原体的第一道防线, 是高等动物及人类生命得以维系和延续的必要组成部分^[2,7,8]。与适应性免疫系统高度特化并依赖于淋巴细胞不同, 绝大部分人体细胞都具有一定的天然免疫功能。由于缺乏显著的特异性, 免疫学家曾经对天然免疫系统如何识别各类病原体浑然无知。然而自 20 世纪 80 年代末首度发现第一个天然免疫识别受体(innate immune receptor)之后, 天然免疫作用和宿主抗病机制方面的研究突飞猛进。现在, 人们已经非常明确地知道, 天然免疫应答(innate immune responses)的启动依赖于模式识别受体或病原识别受体(pattern recognition receptors or pathogen recognition receptors, PRRs)对被称为病原体相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)的病原体固有分子(具有特定三维结构的蛋白质、多糖分子以及特定序列或结构的核酸)的识别^[9]。Toll 样受体(Toll-like receptors,

TLRs)家族分子即第一类被发现的 PRR, 主要分布于细胞表面或内膜系统(endosome), 是受到广泛研究的一类膜定位的模式识别受体。TLRs 不仅能够识别病原体所产生的保守的分子模式, 并且可以触发广泛的防御性反应。这些反应包括产生促炎症的细胞因子(proinflammatory cytokines), 活化抗原递呈细胞, 提高共刺激分子的表达, 重组细胞骨架和起始适应性免疫反应, 因此天然免疫有效地连接了特异性和广谱性抗病的作用机制^[2,10]。

2 干扰素和干扰素诱导分子在宿主抗病中的新机制

干扰素(interferon, IFN)特别是 I 型干扰素(包括 IFN- α 和 IFN- β)是哺乳动物和人体抵御病毒侵染天然免疫反应的关键细胞因子, 干扰素产生不足或功能缺陷会导致宿主因无法控制病毒侵染及蔓延而死亡^[2]。宿主体内各类细胞(包括上皮细胞、间质细胞、内皮细胞、免疫细胞等)在遭受病毒入侵的早期即会紧急表达分泌干扰素。干扰素可通过自分泌(auto-crine)或旁分泌(paracrine)的方式诱导宿主细胞进入抗病毒状态, 此过程是启动天然免疫反应的关键核心机制^[11,12]。干扰素研究工作在国际上始终是方兴未艾, 令人振奋的新发现不断涌现, 尤其是近年来在天然免疫应答诱导、调控干扰素的产生方面的研究取得了重大突破性的进展^[13]。在发现 Toll 样受体可激活产生干扰素的基础之上又发现了多个在宿主细胞浆内识别病毒核酸物质的天然免疫受体分子(nucleic acid sensors), 包括识别 RNA 分子的受体 RIG-1 (retinoic acid-inducible gene 1), MDA-5(melanoma differentiation associated gene-5)和 LGP2 (RIG-I-like receptor), 识别 DNA 分子的受体 DAI (DNA-dependent activator of IFN regulatory factors), IFI16 (γ -interferon-inducible protein Ifi-16), DDX3(the DEAD-box helicase), cGAS (cGAMP synthase)等^[14,15]。多种受体的发现诠释了宿主如何识别种类繁多和结构各异的各类病原体, 进而厘清了核酸识别受体信号转导的关键通路, 包括鉴定和发现了 MAVS (mitochondrial antiviral signaling protein, 别名 VISA, IPS-1 或 Cardif), STING (stimulator of interferon genes, 别名 MITA, ERIS)核心信号转导分子^[16-19], 并通过基因敲除小鼠(*Mus musculus*)的研究工作证实了这些信

号转导分子在体内抗病毒天然免疫反应中的重要作用. 在机体固有免疫调控机制方面, 发现了众多可正向或负向调控天然免疫受体功能及其下游信号转导的宿主自身及病原体编码蛋白分子. 其中, ISG56 (IFN-stimulated gene 56), TRIM56(tripartite motif family protein 56)等与信号转导分子 MAVS 和 STING 形成多分子复合物, 进而调节信号转导的强度和持续性^[20-22]; 病毒编码分子与信号转导分子 TRIF (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β), MAVS, TNF(the tumor necrosis factor), TRAF6 (receptor-associated factor 6)等作用, 进而阻断其信号转导功能, 导致免疫逃避. 此外, 干扰素刺激产生的天然免疫效应作用的研究近年来也取得了重要进展. 多种基因芯片分析和高通量功能筛选的研究工作, 阐明了干扰素抗病毒作用需要通过其所诱导表达基因(interferon stimulated genes, ISGs)所产生的各类效应分子来完成^[21-24]. 利用基因芯片对基因表达谱进行系统性分析, 本课题组发现了在巨噬细胞中, IFN- α 及 IFN- γ 刺激了约 300 个 ISG 分子的表达上调. 进一步通过体外细胞抗病毒功能性筛选体系和高通量 ISG 过表达和下调表达的研究, 发现 ISG 分子可在多环节、多层次、多位点发挥广泛的抗病毒作用, 从而抑制病毒的入侵、复制、释放和传播^[22-24]. 同本课题组的研究结果一致, 美国洛克菲勒大学 Charles Rice 教授的研究小组也揭示了 ISG 分子的多种全新抗病功能, 例如, ISG15 被发现具有类泛素样(ubiquitin-like)功能, 可共价耦联在许多不同的蛋白分子上而改变其功能、稳定性或细胞内定位等^[23]; Mx 家族分子被发现可作用于病毒颗粒的转运和组装过程而抑制病毒颗粒成熟与释放^[25,26]; ZAP(retroviral restriction factors)蛋白能抑制病毒蛋白的表达等^[27-29]. 此外, cGAS, IFI16, ISG56, TRIM56 等 ISG 分子被证实也参与天然免疫识别、感应的初始过程以及信号转导的放大和调控^[30](表 1).

受干扰素诱导的 IFITM1~IFITM3 家族蛋白的研

究所取得的成果尤为令人瞩目^[31-41]. IFITM1~IFITM3 属跨膜类 ISG 分子, 在很多细胞都有基础表达, IFN 能进一步使其表达水平显著增高. IFITM1~IFITM3 能够通过抑制不同形式的病毒融合过程来发挥抑制病毒的效应, 能抑制诸如甲型流感病毒、登革热病毒以及西尼罗河病毒晚期胞内体阶段的膜融合^[33]. 而 IFITM1 则倾向于抑制埃博拉病毒和 SARS 病毒的胞内体阶段的融合^[37,38]. IFITM3 对机体抑制流感病毒尤为重要, *IFITM3* 基因缺失小鼠在被流感病毒感染后表现出更为严重的病理学特征^[32]. 然而, IFITM1-3 通常不在胞膜或者循环内体来影响融合, 其主要分布于细胞的胞质囊泡, 可有效调控晚期胞内体和溶酶体的 pH 或者是其脂质组成来发挥对病毒膜融合的抑制作用. IFITM1~IFITM3 家族中的 IFITM1 在细胞受到 IFNs 刺激后也会分布在胞膜上. 因此, IFITM1 也同样能够高效地抑制细胞与细胞的融合, 如 HCV (hepatitis C virus)共受体的相互作用以及 HIV(human immunodeficiency virus)的后续复制过程等. 最近, 研究者又提出 IFITM1~IFITM3 抑制病毒的半融合作用的机制. IFITM1, IFITM2 或者 IFITM3 的表达能抑制任何病毒融合诱导的胞膜融合. 油酸能够改变胞膜的组成, 因此负调控了胞膜的半融合从而克服了 IFITM 介导的细胞融合抑制作用. IFITM 的表达同样改变了胞膜的生物物理特征. 通过荧光偏振的方法发现表达 IFITM 的细胞的胞膜具有更强的脂质包被功能. 这些膜流动性的改变能通过升高自由能抑制膜的半融合^[39]. IFITM3 抑制半融合的机制被认为是同型或异型聚肽的相互作用导致的. 应用拓扑学分析 IFITM3 的转录后修饰表明, IFITM3 的 N 和 C 末端都是胞质和侧面 2 个膜内结构域, 由 1 个保守的胞质环将两者分开^[40]. 第一个胞内结构域连接这个保守的胞质环组成的 CD225 结构域, 代表了大约 300 种蛋白. 对 IFITM3 的突变研究表明, N 末端的胞内结构域和 CD225 结构域是 IFITM3 的功能性结构域.

表 1 广谱抗病毒的宿主因子

宿主因子	抑制的机理	参考文献
CH25H(cholesterol 25-hydroxylase)	通过产物 25 羟基胆固醇抑制病毒膜融合	[22,23]
IFITM3(interferon-induced transmembrane protein 3)	抑制病毒膜融合	[31~41]
ZAP(retroviral restriction factors)	抑制病毒蛋白 mRNA 转录	[27~29]
Mx(myxovirus resistance)	阻止病毒颗粒的转运和组装等	[25,26]
TRIM(tripartite motif)家族蛋白	蛋白泛素化修饰, 增强干扰素信号通路等	[42~44]
ISG15(interferon-induced 17 kD protein)	ISG 化蛋白, 抑制宿主蛋白转录及激活抗病效应信号转导	[45,46]

IFITM1~IFITM3 分子之间的自我交联导致 IFITM3 的相互作用来改变内膜的流动和弯曲, 而其胞内的 CD225 结构域对 IFITM3 的这个功能发挥至关重要的作用^[41]. 此外, IFITM1-3 分子的功能还涉及阻碍胞内脂的转运. 酵母双杂交系统显示, 膜泡相关膜蛋白相关蛋白 A(vesicle-associated membrane protein-associated protein A, VAPA)能与 IFITM3 发生相互作用. VAPA 与氧甾酮结合蛋白(oxysterol-binding protein, OSBP)相互作用将胆固醇从内质网转运到其他细胞器或者囊泡. IFITM1 和 IFITM3 都可以通过第二个转膜结构域与 VAPA 结合, 而 IFITM3 和 VAPA 的结合则受到 OSBP 的影响, OSBP 通过和 VAPA 的相互作用来影响 IFITM3 与 VAPA 的作用^[47]. IFITM3 的过表达能改变胞内胆固醇的水平, 一旦 IFITM3 表达升高, 胆固醇和 LBPA(lysobisphosphatidic acid)在晚期内体和多泡小体的募集将会增多. 而胆固醇和 LBPA 的增多又能够阻断病毒融合. IFITM3-VAPA 的相互作用对水泡性口炎病毒(Vesicular stomatitis virus, VSV)和 A 型流感病毒(Influenza A viruses, IAV)的进入发挥至关重要的作用. 在 VSV 的感染过程中, IFITM3 的表达促使 VSV 在 MVBs(multivesicular bodies)的募集, 表明融合过程被阻断. 因此, IFITM1-3 家族分子与 VAPA 相互作用从而募集到内体来转运胆固醇和 LBPA, 这样就创造了一种脂的环境从而使得病毒融合被抑制.

综上所述, ISG 分子抗病作用机制方面的系统研究成果对广谱抗病毒药物研发具有重大指导意义. ISG 介导的广泛有效的抗病作用在于阻断、抑制病毒侵入和在宿主细胞内转录、复制、转运、组装和释放的多个共通性环节、位点. 这提示, 可针对 ISG 作用位点, 模拟 ISG 的作用方式来阻断病毒蛋白与宿主分子的相互作用, 或改变宿主细胞的代谢途径和细胞活动、功能状态来设计药物, 达到广谱、高效的抗病效果.

3 针对宿主因子的新型广谱抗病毒药物

如上所述, 脂类分子和脂质结构在病毒生命周期的所有阶段都发挥着重要作用, 包括初期的病毒粒子与宿主细胞的相互作用, 包膜融合, 细胞膜的改变并建立病毒复制位点, 病毒粒子的组装, 细胞代谢, 并协调病毒粒子组装和出芽、释放^[48,49]. 因此, 这些细胞组成结构是天然免疫防御和治疗药物所针对的

有效靶点. 囊膜病毒(envelop viruses)包含了多种造成人类重大病毒性疾病的病毒, 如艾滋病、严重急性呼吸综合征、流感、埃博拉、乙型肝炎、丙型肝炎等病毒. 囊膜病毒的感染主要是病毒的磷脂双分子层(lipid bilayer)与细胞膜的融合, 将病毒的基因组释放到细胞质中, 是一种脂质依赖的相互作用. 这个过程可以在质膜发生或在不同的内体膜上发生, 部分病毒膜展现出对融合物 pH 的依赖性^[50]. 通常, 病毒包膜蛋白与宿主细胞膜上的受体结合后发生构象变化, 释放其融合肽(fusion peptide), 并产生足够的能量, 促进膜融合. 在病毒与质膜融合的情况下, 融合蛋白的构象改变与受体结合后产生的能量足以驱动膜融合. 当病毒与内体融合, 融合蛋白的质子与内体 pH 的酸化也发挥了促进融合的作用. 此外, 核内体或溶酶体(lysosome)蛋白酶裂解融合蛋白, 或者内体的脂质和蛋白受体都可以促进膜融合的过程^[51]. 一旦融合蛋白已定位于病毒包膜并靠近细胞膜, 处于半融合状态, 这时病毒的外叶和细胞的磷脂双分子层会融合, 半融合发生后, 早期的融合孔逐渐形成, 然后扩大到后期融合孔, 伴随着病毒核衣壳释放至细胞质中. 融合过程特别是半融合状态, 对影响膜的弯曲度和流动性的脂质组成物很敏感. 因此, 改变膜的脂质成分是抑制病毒的膜融合的一种可行方法. 膜的组成成分的改变可经由调节脂质代谢合成、加工或运输脂质的路径来实现^[48].

最近数项研究工作揭示了抑制甾醇(sterol)生物合成途径可以作为干扰素抗病毒效果的重要方式. 利用基因芯片分析经 IFN- γ 刺激或鼠巨细胞病毒(mCMV)感染的巨噬细胞, 结果显示, 抑制了甾醇生物基因表达, 细胞内胆固醇的水平显著减少^[22-23,52]. 他汀类药物通过抑制 HMG-CoA(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA)还原酶来影响胆固醇的合成, 而 HMG-CoA 还原酶是胆固醇中间体甲羟戊酸合成所必需的. 辛伐他汀处理的细胞可以抵抗巨细胞病毒的感染, 用甲羟戊酸培养的细胞可以扭转这种局势. 基因沉默 *Hmgcs1* 或者 *Hmgc*, 会减少巨细胞病毒的感染. 这些研究指出, 对于甾醇生物合成上游发挥作用的甲羟戊酸能调节 mCMV 感染. 推测 mCMV 感染的情况下, 病毒或宿主细胞的蛋白需要被异戊烯化. 干扰素会通过减少固醇调控元件结合蛋白 2(sterol regulatory element binding protein, SREBP2, 一种调控甾醇生物合成的转录调节因子)的表达来抑制甾醇

生物合成^[53].

研究、探索干扰素诱导抗病毒的机制进一步揭示 25-羟基胆固醇(25HC)具有抗病毒甾醇脂效应物的作用. 25HC 是来自于胆固醇, 并在侧链上天然存在一个羟基的甾固醇. 胆固醇 25-羟化酶(CH25H)会将胆固醇催化合成 25HC. 采用过表达的实验设计来确定干扰素诱导抗病毒效应, 发现了 CH25H 抗病毒的作用. CH25H 在 293T 细胞中的异位表达赋予细胞对 2 种包膜病毒(小鼠的 γ 疱疹病毒 6 型(DNA 病毒)和水疱性口炎病毒(RNA 病毒))较强的抗病毒能力^[23]. 后续研究阐述了 CH25H 抗病毒活性的机制. 使用 shRNA 下调 CH25H 的表达或者直接在 CH25H 敲除的小鼠中实验, 发现高效的控制 VSV 复制需要 CH25H. 通过一系列的介导转移实验, 证明了 CH25H 表达产生了一种非 I 型干扰素的可溶性抗病毒因子 25HC. 实际上, 给细胞外源性添加 25HC 抑制了 VSV 的感染. 值得注意的是, 25HC 是一种天然产物, 它的抗病毒效果被证明对包膜病毒包括 HIV-1、MHV68(murine gamma herpesvirus)、单纯疱疹病毒 1 型(herpes simplex virus, HSV-1)、埃博拉病毒、裂谷热病毒和尼帕病毒都是有效的^[23]. 25HC 对无包膜的腺病毒没有抑制效果, 这表明, 25HC 的抗病毒效果可能是特定于包膜病毒, 对其他无包膜病毒是否无效仍然有待鉴定. 25HC 的抗病毒效力强弱取决于病毒的滴度, 随病毒滴度的变化, 作用效果有 2~10 倍的差异. 25HC 对 VSV 感染的抗病毒效果相对于其他胆固醇是选择性的, 同时独立于其他已知的 25HC 的功能, 包括 SREBP2 的调节、甲羟戊酸的产生、或者蛋白质异戊烯化. 25HC 并不阻遏 VSV 或 HIV 结合到宿主细胞, 而是通过影响病毒和细胞的融合来影响细胞膜的一些特性. 在细胞与细胞的膜融合实验中仅使用尼帕病毒融合蛋白 F 和附着蛋白 G, 25HC 被证实能降低合胞体的形成. 该实验表明, 类似的机制可能同样发生在病毒与宿主膜界面. 25HC 对 VSV 的抗病毒作用可以通过培养含有 25HC 与包含 VSV 孵育过的类似细胞膜脂质的人工脂质体进行竞争. 这些竞争实验进一步表明, 25HC 可以直接改变细胞膜, 从而影响病毒的侵入. 同时, 25HC 抑制艾滋病病毒在人源化小鼠模型中的复制, 并且 CH25H 基因敲除的小鼠与野生型小鼠相比, 前者对 MHV68 更敏感, 从而证实了此甾醇途径在体内具有广泛抗病毒免疫功能活性. 25HC 也被发现可以作为一个干扰素诱导的

抗病毒分子, 具有独特的代谢途径. 液相色谱-质谱(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)分析表明, 当小鼠的巨噬细胞受到病毒感染或者 IFN 刺激后, 胆固醇会选择性地识别 25HC 后上调, 体外抗病毒实验证明了外源 25HC 对多种包膜病毒具有抗病毒作用, 但对非包膜病毒, 如腺病毒没有影响. 25HC 可能并不影响病毒的感染性, 而是损害了病毒的传播能力. 在对水痘带状疱疹病毒感染的研究工作中发现, 经 25HC 处理后病毒的后续感染受到抑制, 可能作用在细胞与细胞间传播的阶段. 此外, 研究工作也发现 25HC 可通过改变膜复制间隔或蛋白质异戊二烯化的脂质组成成分从而干扰 HCV 的复制. 25HC 抑制其他包膜病毒如 mCMV 可能也是通过该分子机制. 因此, 25HC 在宿主细胞控制病毒感染的许多层面都产生了重要的作用^[23].

除 CH25H 通路之外, 脂质代谢调节可能成为一种广谱的抗病毒方法, 不仅在天然免疫而且在适应性免疫反应中通过调节改变宿主因子而发挥多种抗病毒作用. 已有数个脂质组分和代谢产物在体外实验中呈现潜在广谱膜病毒抑制活性(表 2). 这些组分大多能够靶向不同的病毒融合过程. 如阿比朵尔(Arbidol)已经被批准用于 A 型和 B 型流感病毒的治疗, 机制可能是通过调节融合相关的蛋白与磷脂的相互作用来阻断融合所需要的蛋白组装^[54]. 角鲨胺是一种阳离子两亲性氨基固醇, 在体内体外都具有抗病毒的能力. 它同样是和磷脂相互作用从而达到阻断病毒融合过程^[55]. 调控脂膜的组成来调控病毒融合说明了生物物理学能力对病毒颗粒的融合非常重要. 一种类似于磷脂的融合抑制剂被提出作为抗病毒的方法. 这种合成的物质被称作亲脂融合抑制子(rigid amphipathic fusion inhibitors, RAFIs), RAFIs 和溶血磷脂极为相似, 也同样呈现出融合抑制作用和改善的毒理和药物代谢动力学的特征^[58]. 这些具有抑制作用的组分插入到胞膜后能在膜外表面产生正性的膜弯曲, 从而抑制病毒的半融合作用. LJ001 是一种罗丹明衍生物, 其化学特征异于 RAFIs, 它同样也能抑制通过靶向胞膜组分的膜病毒的复制. 有意思的是, 它发挥功能的机制不是简单的模拟脂质形状, 它与脂双层相互作用发挥着光敏感受器的作用, 并羟基化不饱和脂肪酸的磷脂链. 这样使得脂膜的生理学特征发生改变, 引起病毒融合被抑制^[59]. 与此同时, 另一种改变胞内脂组分的方法是直接靶向

表 2 针对宿主因子的新型广谱抗病毒药物

名称	抑制的机理/针对的宿主因子	参考文献
辛伐他汀(Simvastatin)	胆固醇合成/HMG-CoA 还原酶	[53]
阿比朵尔(Arbidol)	病毒与宿主膜融合	[54]
角鲨胺(Squalamine)	病毒与宿主膜融合	[55]
依替米贝(Ezetimibe)	胆固醇吸收/NPCL1	[56,57]

胞内脂的合成以及摄取通路发挥病毒抑制作用。NPCL1(Neimann Pick C1 (NPC)-like 1)是一种胆固醇摄取受体,其在肝细胞或者肠上皮细胞都有表达。使用美国食品及药物管理局(food and drug administration, FDA)批准的药物 Ezetimibe 能抑制对胆固醇的摄取从而阻断 HCV 和 HBV 的感染。在 HCV 的感染过程中,虽然具体的机制还不是很清楚,但是它通过一种胆固醇依赖模式抑制病毒的进入。抑制甾醇的生物合成也同样具有潜在的抗病毒治疗效果。尤其是病人能很好耐受他汀类药物,同时他汀类药物在体外又具有广谱的抗病毒作用。越来越多的证据表明,他汀类药物在治疗 HCV 和流感病毒的感染中有很好的疗效,作用机制是通过它们的抗病毒作用或者是通过改变免疫调节作用而发挥抑制病毒复制的功能^[56,57]。纵观这方面的最新研究成果,脂类化合物针对宿主因子在天然免疫和适应性应答反应中都发挥着多层次的抗病毒作用,在广谱抗病毒治疗药物发展方面具有巨大的潜力。

4 展望

埃博拉出血热是新发病毒性传染病中最致命的传染病之一,病毒通过接触病人或感染动物的血液、体液、分泌物和排泄物等而感染,临床表现主要为突然发热、出血和多脏器损害,死亡率高达 70%。埃博拉出血热于 1976 年在非洲首次发现,主要在乌干达、刚果、加蓬、苏丹等非洲国家流行^[60,61]。本次疫情自 2013 年 12 月在西非的巴布亚新几内亚爆发以来,已蔓延至利比里亚、塞拉利昂和尼日利亚等区域。据世界卫生组织统计,截止 2014 年 8 月 20 日,已报告 2615 例疑似感染案例,其中 1427 例已死亡,其感染及死亡人数都达到历史新高。面对像埃博拉出血热这样传染极强、致死率极高、危害性极大的新发病毒传染性疾

病,需大量人力物力,但受经济效益因素的制约,各国政府和制药企业都不愿投入资金用于这类疫苗的研制,故至今尚无有效疫苗满足防控需求。在没有特效药物和任何其他治疗手段的情况下,美国政府仅能动用其未经临床试验的抗埃博拉病毒抗体,紧急救治在疫区被感染的援助医护人员。此窘境和危机凸显了发展广谱抗病毒药物作为常备应急药物抗击如埃博拉出血热此类致命性突发、新发病毒传染疾病的重要性和迫切性。

与此相对,近年来国际上针对艾滋病毒和丙型肝炎病毒特异性靶点的小分子药物研发已取得了空前的成功,有望在不久的将来全面控制及治愈这两种一度使世界医学界和各国临床医护人员束手无策的重大病毒传染性疾

^[30,62]。这一令人振奋的成就充分展示了除疫苗之外,小分子药物对治疗病毒性疾病的巨大潜力,也彰显了对病原体进行长期深入和系统性研究结合药物开发的重要性。然而,面对众多新发、突发性病毒传染病,由于对造成这些疾病的病原体组成分子结构认识有限,无法在短期内快速研发出针对病原体本身特有靶点的小分子药物,应对之策将是系统性发展靶向宿主因子的新型小分子药物,如上述天然免疫抗病作用的脂类化合物、25HC 等。这类药物针对的目标是阻断众多不同病毒在其入侵、复制、传播过程中所依赖的共同宿主分子,因此可广谱地抑制一类或几大类病毒对人体的感染,从而无需预知病毒本身的分子组成特性而研制高度特异性的药物。同时,由于这类药物针对的靶点是宿主分子,病毒难以通过突变逃逸而产生耐药性,故对突变率高的病毒如艾滋病毒、流感病毒尤为有效。近年来,对天然免疫抗病机制及宿主与病原体相互作用全面深入地认识已为系统研发针对宿主因子的广谱抗病毒药物提供了充分的理论依据。寄望该系统生物学研究和转化应用有机结合的成功模式也将为解决其他疑难、复杂、多样、多型的人类重大疾病如代谢、炎症和老年退行性疾病敞开新的大门。

致谢 感谢中国医学科学院基础医学研究所&北京协和医学院基础学院系统医学研究中心, 苏州系统医学研究所的李春峰和王景锋博士对本文的文字校验及表格整理工作, 感谢中国医学科学院基础医学研究所系统医学研究中心全体人员对本工作的协助.

参考文献

- 1 Knipe D, Howley P, Griffin D E, et al. *Fields Virology*. 6th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013
- 2 Paul W E. *Fundamental Immunology*. 7th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2012
- 3 Jost S, Altfeld M, Chang J J. Harnessing innate and adaptive immunity for viral vaccine design. *Expert Rev Vaccines*, 2012, 11: 775–777
- 4 Pulendran B, Li S, Nakaya H I. Systems vaccinology. *Immunity*, 2010, 33: 516–529
- 5 Du X, Dong L, Lan Y, et al. Mapping of H3N2 influenza antigenic evolution in China reveals a strategy for vaccine strain recommendation. *Nat Commun*, 2012, 3: 709
- 6 Pulendran B. Learning immunology from the yellow fever vaccine: innate immunity to systems vaccinology. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9: 741–747
- 7 Modlin R L. Innate immunity: ignored for decades, but not forgotten. *J Invest Dermatol*, 2012, 132: 882–886
- 8 Platt A, Wetzler L. Innate immunity and vaccines. *Curr Top Med Chem*, 2013, 13: 2597–2608
- 9 Beutler B. Innate immunity: an overview. *Mol Immunol*, 2004, 40: 845–859
- 10 Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors and their signaling mechanism in innate immunity. *Acta Odontol Scand*, 2001, 59: 124–130
- 11 Tough D F. Type I interferon as a link between innate and adaptive immunity through dendritic cell stimulation. *Leuk Lymphoma*, 2004, 45: 257–264
- 12 Zhao G N, Jiang D S, Li H. Interferon regulatory factors: at the crossroads of immunity, metabolism, and disease. *Biochim Biophys Acta*, 2014, doi: 10.1016/j.bbadis.2014.04.030
- 13 Liu S Y, Sanchez D J, Cheng G. New developments in the induction and antiviral effectors of type I interferon. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23: 57–64
- 14 Shrivastav M, Niewold T B. Nucleic acid sensors and type I interferon production in systemic lupus erythematosus. *Front Immunol*, 2013, 4: 319
- 15 Cai X, Chiu Y H, Chen Z J. The cGAS-cGAMP-STING pathway of cytosolic DNA sensing and signaling. *Mol Cell*, 2014, 54: 289–296
- 16 Ishikawa H, Ma Z, Barber G N. STING regulates intracellular DNA-mediated, type I interferon-dependent innate immunity. *Nature*, 2009, 461: 788–792
- 17 Kawai T, Takahashi K, Sato S, et al. IPS-1, an adaptor triggering RIG-I- and Mda5-mediated type I interferon induction. *Nat Immunol*, 2005, 6: 981–988
- 18 Zhong B, Yang Y, Li S, et al. The adaptor protein MITA links virus-sensing receptors to IRF3 transcription factor activation. *Immunity*, 2008, 29: 538–550
- 19 Zhou Q, Lin H, Wang S, et al. The ER-associated protein ZDHHC1 is a positive regulator of DNA virus-triggered, MITA/STING-dependent innate immune signaling. *Cell Host Microbe*, 2014, 16: 450–461
- 20 Ivashkiv L B, Donlin L T. Regulation of type I interferon responses. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14: 36–49
- 21 Fuchs S Y. Ubiquitination-mediated regulation of interferon responses. *Growth Factors*, 2012, 30: 141–148
- 22 Liu S Y, Sanchez D J, Aliyari R, et al. Systematic identification of type I and type II interferon-induced antiviral factors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 4239–4244
- 23 Liu S Y, Aliyari R, Chikere K, et al. Interferon-inducible cholesterol-25-hydroxylase broadly inhibits viral entry by production of 25-hydroxycholesterol. *Immunity*, 2013, 38: 92–105
- 24 Schoggins J W, Wilson S J, Panis M, et al. A diverse range of gene products are effectors of the type I interferon antiviral response. *Nature*, 2011, 472: 481–485
- 25 Gao S, von der Malsburg A, Paeschke S, et al. Structural basis of oligomerization in the stalk region of dynamin-like MxA. *Nature*, 2010, 465: 502–506
- 26 Haller O, Kochs G. Human MxA protein: an interferon-induced dynamin-like GTPase with broad antiviral activity. *J Interferon Cytokine Res*, 2011, 31: 79–87
- 27 Goff S P. Retrovirus restriction factors. *Mol Cell*, 2004, 16: 849–859
- 28 Zhu Y, Gao G. ZAP-mediated mRNA degradation. *RNA Biol*, 2008, 5: 65–67
- 29 Chen S, Xu Y, Zhang K, et al. Structure of N-terminal domain of ZAP indicates how a zinc-finger protein recognizes complex RNA. *Nat*

- Struct Mol Biol, 2012, 19: 430–435
- 30 Schneider W M, Chevillotte M D, Rice C M. Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annu Rev Immunol*, 2014, 32: 513–545
- 31 Feeley E M, Sims J S, John S P, et al. IFITM3 inhibits influenza A virus infection by preventing cytosolic entry. *PLoS Pathog*, 2011, 7: e1002337
- 32 Bailey C C, Huang I C, Kam C, et al. Ifitm3 limits the severity of acute influenza in mice. *PLoS Pathog*, 2012, 8: e1002909
- 33 Everitt A R, Clare S, Pertel T, et al. IFITM3 restricts the morbidity and mortality associated with influenza. *Nature*, 2012, 484: 519–523
- 34 Amini-Bavil-Olyae S, Choi Y J, Lee J H, et al. The antiviral effector IFITM3 disrupts intracellular cholesterol homeostasis to block viral entry. *Cell Host Microbe*, 2013, 13: 452–464
- 35 Desai T M, Marin M, Chin C R, et al. IFITM3 restricts influenza A virus entry by blocking the formation of fusion pores following virus-endosome hemifusion. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1004048
- 36 Zhu X, He Z, Yuan J, et al. IFITM3-containing exosome as a novel mediator for anti-viral response in dengue virus infection. *Cell Microbiol*, 2014, doi: 10.1111/cmi.12339
- 37 Brass A L, Huang I C, Benita Y, et al. The IFITM proteins mediate cellular resistance to influenza A H1N1 virus, West Nile virus, and dengue virus. *Cell*, 2009, 139: 1243–1254
- 38 Huang I C, Bailey C C, Weyer J L, et al. Distinct patterns of IFITM-mediated restriction of filoviruses, SARS coronavirus, and influenza A virus. *PLoS Pathog*, 2011, 7: e1001258
- 39 Li K, Markosyan R M, Zheng Y M, et al. IFITM proteins restrict viral membrane hemifusion. *PLoS Pathog*, 2013, 9: e1003124
- 40 Yount J S, Karssemeijer R A, Hang H C. S-palmitoylation and ubiquitination differentially regulate interferon-induced transmembrane protein 3 (IFITM3)-mediated resistance to influenza virus. *J Biol Chem*, 2012, 287: 19631–19641
- 41 John S P, Chin C R, Perreira J M, et al. The CD225 domain of IFITM3 is required for both IFITM protein association and inhibition of influenza A virus and dengue virus replication. *J Virol*, 2013, 87: 7837–7852
- 42 Ozato K, Shin D M, Chang T H, et al. TRIM family proteins and their emerging roles in innate immunity. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8: 849–860
- 43 Versteeg G A, Rajsbaum R, Sanchez-Aparicio M T, et al. The E3-ligase TRIM family of proteins regulates signaling pathways triggered by innate immune pattern-recognition receptors. *Immunity*, 2013, 38: 384–398
- 44 Turrini F, Di Pietro A, Vicenzi E. Lentiviral effector pathways of TRIM proteins. *DNA Cell Biol*, 2014, 33: 191–197
- 45 Jain A, Baviskar P S, Kandasamy S, et al. Interferon stimulated gene 15 (ISG15): molecular characterization and expression profile in endometrium of buffalo (*Bubalus bubalis*). *Anim Reprod Sci*, 2012, 133: 159–168
- 46 Zhang D, Zhang D E. Interferon-stimulated gene 15 and the protein ISGylation system. *J Interferon Cytokine Res*, 2011, 31: 119–130
- 47 Chevallier J, Chamoun Z, Jiang G, et al. Lysobisphosphatidic acid controls endosomal cholesterol levels. *J Biol Chem*, 2008, 283: 27871–27880
- 48 Schoggins J W, Randall G. Lipids in innate antiviral defense. *Cell Host Microbe*, 2013, 14: 379–385
- 49 Heaton N S, Randall G. Multifaceted roles for lipids in viral infection. *Trends Microbiol*, 2011, 19: 368–375
- 50 Wisskirchen K, Lucifora J, Michler T, et al. New pharmacological strategies to fight enveloped viruses. *Trends Pharmacol Sci*, 2014, 35: 470–478
- 51 Plemper R K. Cell entry of enveloped viruses. *Curr Opin Virol*, 2011, 1: 92–100
- 52 Blanc M, Hsieh W Y, Robertson K A, et al. The transcription factor STAT-1 couples macrophage synthesis of 25-hydroxycholesterol to the interferon antiviral response. *Immunity*, 2013, 38: 106–118
- 53 Blanc M, Hsieh W Y, Robertson K A, et al. Host defense against viral infection involves interferon mediated down-regulation of sterol biosynthesis. *PLoS Biol*, 2011, 9: e1000598
- 54 Teissier E, Zandomenighi G, Loquet A, et al. Mechanism of inhibition of enveloped virus membrane fusion by the antiviral drug arbidol. *PLoS One*, 2011, 6: e15874
- 55 Zasloff M, Adams A P, Beckerman B, et al. Squalamine as a broad-spectrum systemic antiviral agent with therapeutic potential. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 15978–15983
- 56 Sainz B Jr, Barretto N, Martin D N, et al. Identification of the Niemann-Pick C1-like 1 cholesterol absorption receptor as a new hepatitis C virus entry factor. *Nat Med*, 2012, 18: 281–285
- 57 Lucifora J, Esser K, Protzer U. Ezetimibe blocks hepatitis B virus infection after virus uptake into hepatocytes. *Antiviral Res*, 2013, 97: 195–197
- 58 St Vincent M R, Colpitts C C, Ustinov A V, et al. Rigid amphipathic fusion inhibitors, small molecule antiviral compounds against enveloped viruses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 17339–17344

- 59 Wolf M C, Freiberg A N, Zhang T, et al. A broad-spectrum antiviral targeting entry of enveloped viruses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 3157–3162
- 60 Turner C. Ebola virus disease: an emerging threat. *Nursing*, 2014, 44: 68–69
- 61 Incident Management System Ebola Epidemiology Team, CDC; Ministries of Health of Guinea, Sierra Leone, Liberia, Nigeria, and Senegal; Viral Special Pathogens Branch, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, CDC. Ebola virus disease outbreak—west Africa, september 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2014, 63: 865–866
- 62 Scheel T K, Rice C M. Understanding the hepatitis C virus life cycle paves the way for highly effective therapies. *Nat Med*, 2013, 19: 837–849

New Strategies to Fight Against Emerging Viral Infectious Diseases—Systems Medicine for Innate Defense and Development of Broad-Spectrum Antiviral Therapeutics Targeting Host Factors

QIN XiaoFeng^{1,2}, JIANG TaiJiao^{1,2} & CHENG GenHong^{1,2}

1 Center of Systems Medicine, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100005, China;

2 Suzhou Institute of Systems Medicine, Suzhou 215123, China

Viral diseases are big threats to human beings, jeopardizing people's safety, national security and social stability. Due to rapid economic development, urbanization and globalization, emergent and new emerging viral infectious diseases have shown an alarming increasing trend. Diseases caused by a number of different viruses, such as human immune deficient virus-1, severe acute respiratory syndrome virus, avian influenza virus and Ebola virus, rapidly spread in various parts of the world and occur more and more frequently. The current Ebola outbreak in West Africa and its grievous epidemic situation again warns China and the international community of a pressing need to develop effective measures to combat emergent and new emerging viral diseases. The breakthroughs in the field of innate immunity and host defense now provide us new avenues to solve this global problem.

emergent and new emerging viral infectious diseases, Ebola virus, innate immunity, host defense, interferon, broad-spectrum antiviral drugs

doi: 10.1360/052014-166