

· 综 述 ·

# 中西医抗流感病毒研究进展

姜昕汝 王于莉 郑月娟

流感病毒导致每年数百万人发生上呼吸道感染,诱发产生急性肺炎甚至死亡<sup>[1]</sup>,据 WHO 统计,世界范围内每年流感感染约导致 300 万~500 万例严重疾病,造成约 25 万~50 万例死亡<sup>[2]</sup>。流感病毒是 RNA 病毒,每年的流感病毒株都在发生改变<sup>[3]</sup>。由于流感病毒株的不确定性突变,导致人们已有的免疫力不能针对突变后的流感病毒,从而引起广泛发病。而其中危害最大的是流感病毒突变后的耐药性,导致已有的抗流感病毒药物对其失去效力。目前,治疗和预防流感病毒的药物主要有两类:M2 离子通道阻滞剂(如烷胺类药物)和神经氨酸酶抑制剂<sup>[4]</sup>。

因此,了解流感病毒致病的机制,产生耐药性突变的突变位点以及机体免疫反应在抗流感病毒方面的作用,对于寻找新的抗病毒思路和研制新型抗病毒药物有重要意义。

## 1 流感病毒概述

1.1 流感病毒病原学 流感病毒是分节状负链 RNA 病毒,属于正黏病毒科,其结构自外而内分为包膜、基质蛋白以及核心三部分。根据核蛋白的抗原性,流感病毒分为甲、乙和丙(即 A、B 和 C)三型。甲型和乙型病毒,病毒颗粒的脂质层上嵌合着三种膜蛋白,即血凝素(hemagglutinin, HA)、神经氨酸酶(neuraminidase, NA)和膜蛋白(M2)。丙型病毒只有一种表面糖蛋白,即血凝素酯酶(hemagglutinin-esterase, HE)。HA 促使病毒包膜与宿主细胞膜融合,使病毒核衣壳释放入胞浆<sup>[5]</sup>;NA 则在感染后期参与病毒的释放与扩散<sup>[6]</sup>;M2 调控着病毒内部的遗传物质进入宿主细胞内并进行复制组装<sup>[7]</sup>。甲型流感病毒由于表面刺突糖蛋白 HA 或 NA 的不同,分为多种不同亚型,包括 17 个 HA 和 9 个 NA 亚型;乙和丙型流感病毒则不分型<sup>[6,8]</sup>。

1.2 流感病毒致病机制 流感病毒入侵的部位主要是上、下呼吸道的上皮细胞。病毒 HA 通过与细胞表面糖蛋白或糖脂相连的唾液酸残基结合(人类流感病毒优先与半乳糖  $\alpha 2,6$  位点上的唾液酸结合,而禽流感病毒优先与半乳糖  $\alpha 2,3$  位点上的唾液酸结合),启动受体介导的细胞内吞作用完成新的病毒颗粒的复制组装。随后,以出芽方式释放入气道的新的病毒体,在病毒 NA 裂解唾液酸的作用下,从宿主细胞表面释放,进入呼吸道并在其中扩散<sup>[5]</sup>。

2 流感病毒耐药性突变概况 目前临床上使用的抗流感病毒药物主要是阻滞 M2 质子通道或抑制 NA,通过抑制流感病毒在宿主细胞内复制或从宿主细胞上释放,发挥抗病毒作用。流感病毒 M2 或 NA 上的有关位点发生基因突变,对已有的药物产生抵抗,导致耐药性突变的现象发生。

2.1 流感病毒的 M2 质子通道发生耐药性突变 Lee HK 等<sup>[4,9]</sup>研究发现,甲型流感病毒 H3N2 和高致病性禽流感病毒 H5N1 主要是 M2 蛋白 N 端第 31 位氨基酸发生 S31N 替代,导致对金刚烷胺耐药。Tosh C 等<sup>[10]</sup>研究发现,高致病性禽流感病毒 H5N1 的 M2 蛋白上发生 Val27Ala 基因突变,从而对金刚烷胺耐药。

2.2 流感病毒的 NA 发生耐药性突变 Mishel P 等<sup>[11,12]</sup>研究发现,甲型流感病毒 pH1N1 和甲型流感病毒(H1N1)pdm09 的 NA 上第 275 位组氨酸发生突变(即 H275Y),导致对奥司他韦和帕拉米韦产生耐药。魏燕楠等<sup>[13]</sup>研究发现,重组甲型禽流感病毒 H7N9(A/Hangzhou/1/2013) NA 上 R292K 位点发生基因突变,会对奥司他韦、扎那米韦等神经氨酸酶抑制剂产生多重耐药。Qi Y 等<sup>[14]</sup>研究发现,H7N9 禽流感病毒分离株 A/shanghai/1/2013 的 NA 的耐药位点发生 R294K 突变,导致对奥司他韦耐药。Baek YH 等<sup>[15]</sup>研究发现,当 2009 年流行的高致病性禽流感病毒 H5N1 的 NA 上的四个位点(E119D, E119A/D/G-H274Y)发生单个或者多个突变,所形成的重组 H5N1 病毒,都会对神经氨酸酶抑制剂产生耐药。

## 3 流感治疗现状

3.1 流感病毒防治现状 流感病毒对人类的健康构成威胁,目前临床上防治流感病毒的方法常用两种:

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81471537);教育部博士点基金(新教师类, No. 20113107120014);上海市青年科技启明星计划(No. 14QA1403400)

作者单位:上海中医药大学基础医学院病原教研室(上海 201203)

通讯作者:郑月娟, Tel: 13641776412, E-mail: 13641776412@

163.com

DOI: 10. 7661/j.cjtm. 20180412. 016

(1) 注射流感病毒疫苗。据 WHO 介绍, 流感病毒疫苗的制备需要先流行的病毒中发现突变病毒, 再与标准的实验室病毒株组合成混合病毒, 保证混合病毒株既安全, 又能产生突变病毒株的外蛋白, 但整个研制过程需要 5~6 个月<sup>[16]</sup>, 并且当季疫苗对人群的保护率仅为 62%<sup>[17]</sup>; (2) 使用抗病毒药物, 但现在临床上使用的一线抗流感病毒药物却面临着病毒耐药性严重突变的问题<sup>[18]</sup>。因此, 研制新的抗流感病毒药物, 或者寻找新的治疗方法, 对于流感病毒的治疗显得尤为关键。

**3.2 抗流感病毒新靶点的发现** Babar MM 等<sup>[19]</sup>研究发现, 流感病毒聚合酶 PB1 亚基稳定性达到 95%~99%, 突变率极低, 可以作为一个新的抗病毒药物作用靶点。HA 介导流感病毒与宿主细胞膜的融合, Dang Z 等<sup>[20]</sup>研究发现, 罗汉松酸衍生物 (phenolic diterpenoid derivatives) 以调节膜融合的 HA 为靶点, 抑制流感病毒与宿主膜融合起到抗流感的作用。

**3.3 中医药防治流感** 组方金花清感颗粒由麻杏石甘汤和银翘散合方加减所得, 具有疏风宣肺、清热解毒的功效。李国勤等<sup>[21]</sup>通过临床双盲随机对照研究发现, 临床常规剂量的金花清感颗粒能明显缩短流行性感风热犯肺证患者的退热时间, 提高中医证候疗效显效率以及患者的痊愈率, 证实了该药物抗流感的有效性。在探究中医复方抗流感病毒的实验中, 魏文扬等<sup>[22]</sup>研究发现, 出自张仲景《伤寒论》的经方麻黄汤 (由麻黄、桂枝、杏仁及炙甘草组成) 能够通过阻断病毒侵入细胞以及病毒的生物合成, 发挥抗流感的效应。

**4 研制针对机体免疫反应的抗流感病毒药物是研究的新方向**

流感病毒广泛耐药性突变的出现, 使流感在临床上难以得到及时有效地治疗。在临床上, 重症流感患者出现的器官衰竭, 甚至死亡, 主要是因为机体对流感病毒产生过强免疫反应, 激活机体释放大量促炎性细胞因子, 出现“细胞因子风暴 (cytokine storm)”, 发生了全身炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS)。显然, 这种“细胞因子风暴”不仅不能有效抑制病毒复制, 反而增加机体的免疫损伤。因此, 调控机体对流感病毒的免疫反应, 不失为筛选有效抗流感药物的方法。

Du CY 等<sup>[23]</sup>研究发现, 玉屏风散能够调控机体的炎症反应和吞噬作用, 因此在机体固有免疫中发挥抗病毒作用。Peng XQ 等<sup>[24]</sup>研究发现, 以麻黄汤为主要成分的我国传统中药颗粒银花平感颗粒能够抑制小鼠体内流感病毒 H1N1 的复制, 并能够通过抑制炎症细胞因子的产生, 减轻肺部损伤, 对流感感染的急性肺炎小鼠展现良好的保护作用。王遥等<sup>[25]</sup>研究发现有效剂量的

中药杠板归, 通过提高流感病毒 H1N1 (A/Font Monmouth/47) 感染小鼠体内的抗体水平, 降低炎症细胞因子的产生, 能够缓解感染小鼠肺损伤, 发挥抗病毒作用。Wang C 等<sup>[26]</sup>研究发现, 麻杏石甘汤 - 银翘散单用或者与奥司他韦联合应用, 都能明显减少 H1N1 流感患者发热消退的时间, 提示麻杏石甘汤 - 银翘散可作为流感病毒 H1N1 感染的另一种有效治疗方法。

不仅传统中药、中药复方在调控机体免疫方面有优势, 从中药中提取的有效成分及中药单体也有一定优势。笔者发现来自我国传统中药台湾含笑中药单体含笑内酯 (michelolide, MCL) 在调节机体抗感染的炎症反应中, 能够减少炎症细胞因子的分泌, 调控机体的炎症反应, 这将有利于全面平息流感病毒引发的细胞因子风暴, 是可能的抗流感病毒的候选药物<sup>[27,28]</sup>。

## 5 结语

流感病毒是伴随人类的主要致病病毒之一, 常常出现“年年小流行, 三年大流行”的现象。冬季 (尤其是当年 12 月到次年 1 月) 是每年流感高发季节。由 WHO 推进的流感病毒疫苗仍然是预防和控制流感的主要措施之一, 但是人群保护的常规有效率只有 60%。疫苗的局限不仅于此, 因为疫苗设计是针对当年预测的流感流行株进行的, 而预测流行株与当年的实际流行株未必一致, 这就导致的疫苗保护作用的脱靶现象。比如, 2017 年冬季, 我国许多地区流行的优势病毒株为乙型流感的 Yamagata 系病毒, 但今年采用的 WHO 流感三价疫苗仅包含乙型流感的 Brisbane 系病毒, 因此疫苗对今年我国的流感流行株不具有保护力<sup>[29]</sup>。而且, 目前为止, 终身保护的通用型流感疫苗的研究有很大难度, 尚处于基础研究阶段, 这就注定了人类抵抗流感病毒的战斗是一场持久战。

流感疫苗保护的局限性和较低的接种率现状, 加上日益严重的流感病毒耐药性突变问题对临床的流感治疗带来了巨大的挑战。在流感病毒感染中, 机体出现的过强免疫反应——“细胞因子风暴”, 是导致重症流感发生和患者死亡的主要原因。从该病理机制出发, 通过调控机体的免疫反应, 来应对不断变异的流感病毒入侵, 不失为“以不变应万变”的新治疗策略, 也能在一定程度上缓解临床一线药物对流感病毒突变产生的筛选压力。

近年来, 中医中药在抑制病毒复制、调节机体免疫力以及调控流感病毒感染诱导的机体过强免疫反应方面展现出了独特优势<sup>[22-28]</sup>, 使其在流感治疗上不仅能有效地与常规抗流感药物 (奥司他韦、扎那米韦等) 互补, 而且因其与流感病毒蛋白之间多靶标/多组分的网络性相互作用特点, 通过作用于不同流感病毒蛋白亚型或

突变体,能够规避病毒耐药性突变带来的困扰<sup>[30]</sup>。因此,从调控机体免疫反应的独特视角,寻找中药经验方,筛选有效中药成分与临床抗流感药物联合应用,将是抗流感的新策略。

### 参 考 文 献

- [1] Droebner K, Haasbach E, Dudek SE, et al. Pharmacodynamics, pharmacokinetics, and antiviral activity of BAY 81-8781, a novel NF- $\kappa$ B inhibiting anti-influenza drug [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 2130.
- [2] Taubenberger JK, Morens DM. Influenza: the once and future pandemic[J]. *Public Health Rep*, 2010, 125(3): 16-26.
- [3] Ikematsu H, Kawai N, Iwaki N, et al. *In vitro* neuraminidase inhibitory activity of four neuraminidase inhibitors against clinical isolates of influenza virus in the Japanese 2012-2013 season [J]. *J Infect Chemother*, 2015, 21(1): 39-42.
- [4] El-Shesheny R, Bagato O, Kandeil A, et al. Re-emergence of amantadine-resistant variants among highly pathogenic avian influenza H5N1 viruses in Egypt[J]. *Infect Genet Evol*, 2016, 46: 102-109.
- [5] Jan C Wilschut, Janet E Mcelhaney, Abraham M Palache 著. 孙晓东, 赵洪鑫, 周雷, 等译. 流行性感冒 [M]. 上海: 第二军医大学出版社, 2011: 17-29.
- [6] 郭潮潭, 陈永灿, 白钰, 等主编. 流行性感冒 [M]. 北京: 科学出版社, 2010: 3-5, 8.
- [7] 黄琳. 甲型流感病毒 M2 质子通道质子传导机理的分子动力学模拟 [D]. 上海: 上海交通大学, 2013.
- [8] Dong G, Peng C, Luo J, et al. Adamantane-resistant influenza A viruses in the world (1902-2013): frequency and distribution of M2 gene mutations [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0119115.
- [9] Lee HK, Tang JW, Loh TP, et al. Molecular surveillance of antiviral drug resistance of influenza A/H3N2 virus in Singapore, 2009-2013 [J]. *PLoS One*, 2015, 10(1): e0117822.
- [10] Tosh C, Nagarajan S, Murugkar HV, et al. Emergence of Val27Ala mutation in M2 protein associated with amantadine resistance in highly pathogenic avian influenza H5N1 viruses in India [J]. *Acta Virol*, 2014, 58(4): 389-392.
- [11] Mishel P, Bychkov D, Kallio-Kokko H, et al. Influenza pH1N1 virus accumulated H275Y mutation in neuraminidase during propagation in MDCK cells [J]. *Genome Announc*, 2014, 2(6): 2889-2897.
- [12] Takashita E, Ejima M, Itoh R, et al. A community cluster of influenza A (H1N1)pdm09 virus exhibiting cross-resistance to oseltamivir and peramivir in Japan [J]. *Euro Surveill*, 2014, 19(1): 4-9.
- [13] 魏燕楠, 张超, 陈勃, 等. H7N9 禽流感病毒野生或突变神经氨酸酶对奥司他韦及扎那米韦敏感性的研究 [J]. *病毒学报*, 2014, 30(4): 396-401.
- [14] Qi Y, Fan H, Qi X, et al. A novel pyrosequencing assay for the detection of neuraminidase inhibitor resistance-conferring mutations among clinical isolates of avian H7N9 influenza virus [J]. *Virus Res*, 2014, 179(1): 119-124.
- [15] Baek YH, Song MS, Lee EY, et al. Profiling and characterization of influenza virus N1 strains potentially resistant to multiple neuraminidase inhibitors [J]. *J Virol*, 2015, 89(1): 287-299.
- [16] World Health Organization. Transcript of WHO Virtual Press Conference of 6 August 2009 with Dr Marie-Paule Kieny, Director of the Initiative for Vaccine Research at WHO Headquarters and Gregory Hartl, Spokesperson for H1N1 [EB/OL]. [http://www.who.int/csr/disease/swineflu/notes/h1n1\\_2009-08-06](http://www.who.int/csr/disease/swineflu/notes/h1n1_2009-08-06).
- [17] World Health Organization. Vaccine preventable disease and vaccines [OL]. <http://www.who.int/ith/ITH-2009Chapter6.pdf> [2010-06-27].
- [18] Monod A, Swale C, Tarus B, et al. Learning from structure-based drug design and new antivirals targeting the ribonucleoprotein complex for the treatment of influenza [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2015, 10(4): 345-371.
- [19] Babar MM, Zaidi NU, Tanir M. Global geno-proteomic analysis reveals cross-continental sequence conservation and druggable sites among influenza virus polymerases [J]. *Antiviral Res*, 2014, 112: 120-131.
- [20] Dang Z, Jung K, Zhu L, et al. Phenolic diterpenoid derivatives as anti-influenza A virus agents [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2015, 6(3): 355-358.
- [21] 李国勤, 赵静, 屠志涛, 等. 金花清感颗粒治疗流行性感冒风热犯肺证双盲随机对照研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2013, 33(12): 1631-1635.
- [22] 魏文扬, 万海同, 虞立, 等. 麻黄汤体外抗甲型 H1N1 流感病毒作用及机制研究 [J/OL]. *中国中药杂志*, 2017: 1-9. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20171113.010
- [23] Du CY, Zheng KY, Bi CW, et al. Yu Ping Feng San, an ancient Chinese herbal decoction, induces gene expression of anti-viral proteins and inhibits neuraminidase activity [J]. *Phytother Res*, 2015, 29(5): 656-661.
- [24] Peng XQ, Zhou HF, Lu YY, et al. Protective effects of Yinhuapinggan granule on mice with influenza viral pneumonia [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 30: 85-93.
- [25] 王遥, 廖尚辉, 栗响, 等. 杠板归对流感病毒感染鼠的防护作用研究 [J]. *新中医*, 2017, 49(11): 1-5.
- [26] Wang C, Cao B, Liu QQ, et al. Oseltamivir compared with the Chinese traditional therapy maxingshigan-yinqiaosan in the treatment of H1N1 influenza: a randomized trial [J]. *Ann Intern Med*,

- 2011, 155(4): 217-225.
- [27] Qin X, Jiang X, Jiang X, et al. Micheliolide inhibits LPS-induced inflammatory response and protects mice from LPS challenge [J]. Sci Rep, 2016, 6: 23240.
- [28] Jiang X, Wang Y, Qin Y, et al. Micheliolide provides protection of mice against Staphylococcus aureus and MRSA infection by down-regulating inflammatory response [J]. Sci Rep, 2017, 7: 41964.
- [29] 吴斌, 今年流感真的更流行吗? 疾控专家详解: 接种流感疫苗是最有效预防[N]. 南方都市报, 2018-1-9, SA33 专题.
- [30] Gu S, Yin N, Pei J, et al. Understanding molecular mechanisms of traditional Chinese medicine for treatment of influenza viruses infection by computational approaches [J]. Mol BioSyst, 2013, 9(11): 2696-2700.
- (收稿: 2017-02-02 在线: 2018-05-13)  
责任编辑: 赵芳芳

## 中国中西医结合学会慢病防治与管理专业委员会 成立大会会议纪要

2018 年 11 月 30 日—12 月 2 日,“中国中西医结合学会慢病防治与管理专业委员会成立大会”在河南省郑州紫荆山宾馆隆重召开,中国中医科学院西苑医院陈可冀院士、河南中医药大学第三附属医院国医大师张磊教授、中国中西医结合杂志社陈维养教授、中国中西医结合学会慢病防治与管理专业委员会主任委员中国中医科学院西苑医院副院长李浩教授、河南中医药大学第三附属医院李发枝教授、日本杏林中医药情报研究所所长袁世华教授以及来自全国的众多知名中西医结合专家、学者、医师参加了此次大会。

大会以“新时代·推进老年慢病防治与管理”为主题,开幕式由河南中医药大学第一附属医院徐立然教授主持。大会主席李浩教授指出,慢病的特点为隐蔽性强、致病因素复杂、病程长等,严重时可导致患者功能严重减退或丧失。在我国,主要的慢性病主要有心脑血管疾病、糖尿病、恶性肿瘤、慢性呼吸系统疾病等。目前,中国已有超过 2.6 亿确诊的慢性病患者,约占总人口的 19%,防治形式非常严峻。他希望中西医结合学会慢病防治与管理专业委员会的成立,能够进一步发挥桥梁和纽带作用,以大型三级甲等西医院、中医院和中西医结合医院为依托,团结部分中型医院和基层医疗卫生机构,“三位一体”致力于具有中西医结合特色与优势的慢病防治与管理相关技术在全国社区范围的推广工作,建立并推广有效的中西医结合社区慢病防治与管理模式,提升社区慢病防治管理水平,降低慢性病对我国公众健康的危害。

在大会主会场报告中,陈可冀院士就《人类寿命与慢性疾病的防治策略》做了报告。陈院士认为,老化是一个 20~30 年或更长的过程,有自立、介助、介护、临终等阶段。对于老年慢性疾病在临床治疗时当细细权衡及采取相应的施治策略,并就延长寿命的三种卓越状态进行了阐述,总结出了“人生四然”。“今天会过去,明天会到来,新的一天会开始”,鼓励大家建设健康中国,推进健康老龄化。张磊国医大师就“老年疾病临床治疗的注意点”进行了生动而深入的讲解,并将参加本次大会有感赋诗一首“老年多病并疑难,幸有专家体得安。不忘初心圆大梦,喜看红叶满同峦。”李发枝教授从《金匱》方治疗哮喘临床应用举隅,详细介绍了在临床实践中采用“方证辨证”和“辨病与辨证”相结合的方法,应用《金匱要略》相关方药的临床经验。袁世华教授以《日本特色抗衰老食材和健康食品》为题,详细介绍了日本人长寿原因及老化原因与健康食品间的相互关系与作用,为我国在老年慢病防治、保健食品开发等方面提供了借鉴。

在大会交流研讨学术交流中,参会代表从老年慢病防治与管理所涉及相关内容的新进展、新思路、新问题进行了深入的探讨与交流,为建立符合我国国情的慢病防治与管理模式和策略、中西医结合慢病防治适宜技术的推广等奠定了基础。

(刘龙涛 整理)