

综 述

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002589

2019-nCoV 入胞机制及其抑制剂的研究进展

师悦媛¹, 汪德强²

(1. 重庆医科大学检验医学院临床检验诊断重点实验室, 重庆 400016;

2. 重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室, 重庆 400016)

【摘要】新型冠状病毒(2019 novel coronavirus, 2019-nCoV)与急性呼吸综合征冠状病毒(severe acute respiratory syndromes coronavirus, SARS-CoV)的核酸和编码的病毒蛋白高度同源, 预示其生物学功能也可能非常相似。2019-nCoV 利用其刺突蛋白(spike protein, S)的 S1 亚基与宿主细胞表面的血管紧张素转换酶 2(angiotensin converting enzyme 2, ACE2)受体结合, 同时利用宿主蛋白酶切割 S 蛋白促进发生膜融合, 进而内吞入胞。阻断 2019-nCoV 入胞过程的抑制剂主要可分为中和抗体/受体抑制剂、蛋白酶抑制剂和内存调节因子抑制剂。目前, 对 2019-nCoV 的认识仍然非常有限。相信随着研究的不断推进, 能够更加深刻地认识病毒的致病机制, 开发出更高效的抗病毒药物。

【关键词】新型冠状病毒; 入胞机制; 入胞抑制剂

【中图分类号】Q71

【文献标志码】A

【收稿日期】2020-03-17

Research advances in invasion mechanism and inhibitors of 2019-nCoV

Shi Yueyuan¹, Wang Deqiang²

(1. Key Laboratory of Clinical Laboratory Diagnosis, Chongqing Medical University; 2. Key Laboratory of Molecular Biology on Infectious Diseases Established by Ministry of Education, Chongqing Medical University)

【Abstract】The pathogen was identified as a new type of coronavirus and named as 2019-nCoV. The nucleic acids and encoded viral proteins of 2019-nCoV and SARS-CoV are highly homologous, indicating that their biological functions may also be very similar. 2019-nCoV uses the S1 subunit of its spike protein binding to the ACE2 receptor on the surface of the host cell, and uses the host protease to cleave the S protein to promote membrane fusion and then endocytosis. Inhibitors that blocking 2019-nCoV invasion can be divided into neutralizing antibody/receptor inhibitors, protease inhibitors, and endocytosis regulator inhibitors. At present, the understanding of 2019-nCoV is still very limited. It is believed that with the continuous advancement of research, we can better understand the pathogenic mechanism of the virus and develop more efficient antiviral drugs.

【Key words】2019 novel coronavirus; invasion mechanism; entry inhibitors

新型冠状病毒(2019 novel coronavirus, 2019-nCoV)在全球迅速传播, 已构成国际关注的突发公共卫生事件。截至 2020 年 5 月 1 日 12 点, 全球共 187 个国家和地区出现感染者, 总人数高达 325.752 万, 死亡人数达 233 398 人, 这一数字还在不断上升(统计数据来源于霍普金斯大学提供的实时数据^[1])。新型冠状病毒肺炎(coronavirus disease 2019, COVID-19)疫情严重威胁全世界人民的身体健康, 给社会带来极大的危害。

1 2019-nCoV 的发现

2020 年 1 月 2 日, 从武汉大学中南医院的 2 名不明肺

炎患者中采集样本进行临床实验室检查, 结合患者的胸部扫描 CT, 表明其可能发生了病毒感染。随后进行常规抗病毒和抗感染治疗, 但症状并未得到缓解, 且病情逐渐恶化。常规实验室检查包括流感病毒、呼吸道合胞病毒、腺病毒、间质肺炎病毒、支原体、衣原体和军团菌, 所有结果均显示阴性。其余样品经 WHO 推荐的急性呼吸综合征冠状病毒(severe acute respiratory syndromes coronavirus, SARS-CoV)特异性 RT-PCR 分析发现, 有一组结果呈阳性, 进一步测序发现病毒序列与 BtCoV/4991 相似度达 97.35%^[2], 且与 SARS-CoV 序列有一定的差异。通过构建样品的 mNGS 库测序分析发现, 这种病毒与冠状病毒相关。完整的基因组比较表明, 它与马蹄蝙蝠中存在的冠状病毒接近, 与 SARS-CoV 高度同源。

2 2019-nCoV 的组成与生命周期

冠状病毒在基因上主要被分为 4 个属: α 冠状病毒、 β 冠状病毒、 γ 冠状病毒和 δ 冠状病毒^[3]。目前已确定的 7 种感染人类的冠状病毒(包括新近发现的 2019-nCoV), 均属于 β 冠

作者介绍: 师悦媛, Email: 719795314@qq.com,

研究方向: 乙型肝炎病毒的发病机制。

通信作者: 汪德强, Email: Wangdq@cqmu.edu.cn。

基金项目: 新型冠状病毒抗原抗体设计制备与临床应用资助项目(编号: cstc2020jscx-fyzz0050)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200629.1646.004.html> (2020-07-01)

状病毒^[4]。它们在病毒结构、基因结构、感染过程上具有一定的相似性。冠状病毒颗粒常为多形性,直径为 60~140 nm。病毒粒子最外层是一层包膜,主要由脂质和糖蛋白构成,其上包含 3 种糖蛋白,分别为刺突蛋白(spike protein,S),是受体的结合位点和主要的抗原表位;小包膜蛋白(envelope protein,E),质量较小,数量也较少,是与包膜结合的蛋白;膜蛋白(membrane protein,M),主要负责营养物质的跨膜运输、新生病毒出芽释放及病毒包膜的形成。包膜内是由核衣壳蛋白(nucleocapsid protein,N)组成的核衣壳,其内包含病毒的核心——基因组。2019-nCoV 的基因组是一段长约 29.8 kb 的正链 RNA,可编码产生 29 种蛋白质,包括 16 种非结构蛋白(nps1~10,nps12~16,nps11)、4 种结构蛋白(S、E、M、N)和 9 种辅助蛋白(ORF3a、ORF3b、ORF6、ORF7a、ORF7b、ORF8、ORF9b、ORF9c、ORF10)^[5]。通过 2019-nCoV 完整基因组序列的测定和溯源比对发现,2019-nCoV 和 SARS-CoV 的核酸序列相似度高达 79%。有研究通过计算机模型评估发现,二者的关键蛋白(S 蛋白)同源率达 76.47%^[6]。这提示二者在生物学上极其相似,有望为该病毒的生物学功能特性、致病机制等提供有探索价值的线索。

3 2019-nCoV 的感染与入胞分子机制

冠状病毒感染宿主细胞始于与细胞表面受体结合,受体结合是冠状病毒感染宿主和组织特异性的主要决定因素。部分人冠状病毒以细胞表面酶作为受体,如 HCoV-229E 以氨肽酶 N(aminopeptidase N,APN)为受体^[7],HCoV-NL63 和 SARS-CoV 以血管紧张素转换酶 2(angiotensin converting enzyme 2, ACE2)为受体^[8-9],MERS-CoV 以双肽酶 4(dipeptidyl peptidase 4,DPP4)为受体^[10]。另外 2 种人冠状病毒 HCoV-OC43 和 HCoV-HKU1 将 9-O-乙酰化唾液酸(9-O-acetylated sialic acid)作为受体^[11]。由于研究时间尚短,目前对 2019-nCoV 的认识尚不够深入,但是鉴于 2019-nCoV 与 SARS-CoV 之间的序列同源性,因此 SARS-CoV 的研究成果对 2019-nCoV 的研究具有极大的参考意义。目前的研究认为 2019-nCoV 进入细胞主要分为 3 个步骤:一是病毒包膜上的 S 蛋白被细胞表面的受体识别,结合后病毒附着固定在细胞表面;二是启动膜融合激活机制,病毒包膜与细胞膜融合;三是病毒通过内吞途径进入细胞。2019-nCoV 进入宿主细胞主要由 S 蛋白介导,该糖蛋白形成了病毒表面突起的同型三聚体。S 蛋白主要含 2 个亚基,分别为具有受体功能的 S1 亚基[其中包含 1 个受体结合结构域(receptor-binding domain,RBD)]和可以与宿主膜融合的 S2 亚基^[12]。分析发现 2019-nCoV RBD 中的受体结合基序(receptor-binding motif,RBM)与 SARS-CoV 具有 50% 的同一性^[13]。Letko 等^[14]证明 2019-nCoV 也可以与宿主细胞表面的 ACE2 结合。ACE2 广泛分布在各组织,尤其在肺部组织细胞中高表达。Wrapp 等^[15]利用表面等离子共振技术检测发现,2019-nCoV 的 S 蛋白与 ACE2 的平衡解离常数 K_D (15 nmol/L)远小于 SARS-CoV (325.8 nmol/L),这意味着 2019-nCoV 与 ACE2 的亲合力约为 SARS-CoV 的 22 倍,预示 2019-nCoV 有较强的感染致病力。

Hamming 等^[16]通过对各个个体器官组织中 ACE2 蛋白的

表达水平进行定量检测发现,ACE2 在肺上皮细胞和小肠肠上皮细胞表面显著高表达,尽管 2019-nCoV 感染后通常以呼吸道症状为特征,但在 Xu 等^[17]报道的 10 例儿科感染者中,没有人需要呼吸支持或重症监护,所有人都没有肺炎症状,其中 8 例在鼻咽检查为阴性的情况下,直肠拭子检测呈阳性。另外,Pan 等^[18]统计的 204 例患者中,有 103 例(50.5%)以消化系统症状为主要症状。Xiao 等^[19]在胃、十二指肠和直肠上皮细胞内检测病毒核衣壳蛋白,免疫荧光染色结果证明 2019-nCoV 感染了这些胃肠道细胞。尽管 2019-nCoV 与胃肠道相互作用的确切机制仍未可知,但根据现有研究推测 2019-nCoV 感染引起的胃肠道症状可能是由于病毒对肠道的直接损害而不是宿主肺部感染的免疫反应引起的。

病毒附着后,需要通过细胞蛋白酶启动 S 蛋白,需要在 S1/S2 分界点和 S2' 位点切割 S 蛋白。参与酶切过程的蛋白酶主要有跨膜丝氨酸蛋白酶 2(transmembrane serines protease 2, TMPRSS2)和体内半胱氨酸蛋白酶组织蛋白酶 B 和 L(endosomal cysteine proteases cathepsin B/L,CatB/L)^[20]。此外,Walls 团队^[21]发现 2019-nCoV 在 S1/S2 边界处插入了 4 个氨基酸(P-R-R-A),从而引入了一个弗林蛋白酶切位点。弗林蛋白酶样蛋白酶加工的多元裂解位点(RRAR)常常存在于几种高致病性禽流感病毒和致病性新城疫病毒中^[22-23]。同时,弗林蛋白酶样蛋白酶几乎无处不在地表达,扩大了 2019-nCoV 对组织细胞的感染能力,并且增加了其传播性和致病性。Walls 等^[21]通过对 2019-nCoV 的 S 糖蛋白进行单分子低温冷冻电镜研究,3D 结果显示 S1 亚基顶点内的 RBD 处于部分开放状态,没有发现完全闭合的三聚体。在高致病性的冠状病毒中发现,S 糖蛋白三聚体都是以部分打开的状态存在;而与普通感冒相关的冠状病毒中,三聚体基本保持闭合状态。S1 亚基的开放状态暴露了更多的 S1 和 S2 交界面,使得 S 蛋白变得更不稳定,有利于驱动病毒膜和宿主膜融合。S 蛋白裂解促进病毒包膜和宿主细胞膜的融合,进一步推动了病毒内吞入胞。AP2 相关蛋白激酶 1(AP2-associated protein kinase 1,AKK1)是一种内吞调节因子,是内吞过程的调节器,可以促进病毒颗粒向细胞内部传递^[24]。

4 2019-nCoV 入胞抑制剂与抗病毒药物开发

目前尚无足够的证据表明任何现有的抗病毒药物能够有效治疗 2019-nCoV,但一些潜在抗病毒治疗的研究正在进行中。这些药物大多最初是为其他病原体设计的,并迅速用于当前的 2019-nCoV 试验中。根据靶向目标可以分为 2 大类:一类是直接作用于病毒,通过抑制病毒复制的关键酶或阻止病毒进入细胞;另一类是调节免疫系统,通过增强先天免疫应答或抑制引起肺损伤的炎症过程。其中,病毒进入宿主细胞的过程是药物干预的重要环节。利用靶向入胞抑制剂联合其他病毒复制阶段的药物,构成所谓的“鸡尾酒”疗法,在更高效地治疗 2019-nCoV 感染的同时降低各个药物的毒副作用。

入胞抑制剂可在感染的急性期和持续期干扰 2019-nCoV。在急性期,即感染发作后不久,此时免疫系统仅能部分控制病原体,此时,抑制剂的进入能够抑制病毒扩散,从而减

少需要由免疫系统清除的细胞数量。在持续性感染期,长期治疗可作为抑制病毒复制的辅助手段,阻止 2019-nCoV 在细胞内复制的同时防止再感染,最终达到彻底清除病毒的目的。2019-nCoV 入胞抑制剂主要分为 3 类,即中和抗体/受体抑制剂、蛋白酶抑制剂和内吞调节因子抑制剂(表 1)。

表 1 2019-nCoV 入胞抑制剂总结

类别	抑制剂	靶点
中和抗体/受体抑制剂	rhACE2	
	SARS-CoV 抗血清	S 蛋白
	S1 重组蛋白抗血清	
	氯喹	
蛋白酶抑制剂	ACE2 抗体	ACE2 受体
	甲磺酸卡莫司他	TMPRSS2
	阿洛司他丁	CatB/L
内吞调节因子抑制剂	巴瑞替尼	AKK1 和 GAK
	舒尼替尼	AKK1
	厄洛替尼	

可溶性重组人血管紧张素转化酶 2(recombinant human soluble ACE2, rhACE2)有望通过阻断 S 蛋白与 ACE2 受体来阻断 2019-nCoV 进入细胞。Monteil 等^[25]证明临床级的 rhACE2 可以显著抑制病毒感染,并且可以将病毒载量降为原来的 0.1%~0.5%。这种作用呈剂量依赖性,但抑制作用并不完全,可能是由于还存在其他共同受体或辅助蛋白,甚至还存在其他入胞机制。

Hoffmann 等^[29]获得了 4 份保存在德国冠状病毒诊断实验室的 SARS-CoV 恢复期患者血清,利用化学发光法检测血清发现主要是针对 S 糖蛋白产生的抗体。将这些血清与 2019-nCoV 假病毒共同孵育后感染细胞,发现抗血清可以明显抑制 2019-nCoV 驱动的进入,且这种抑制作用随稀释倍数减小而明显增加。他们还进一步构建了与人免疫球蛋白 Fc 段融合的 S1 亚基重组蛋白,并将其免疫兔子,将获得的兔血清与 2019-nCoV 共培养感染细胞,结果可以明显降低 2019-nCoV 的入胞率,且呈浓度依赖性。

氯喹是一种广泛应用的抗疟疾药物,主要通过提高病毒与细胞之间膜融合内体中的 pH 来阻止病毒感染。Vincent 等^[27]发现氯喹还可以通过干扰细胞受体 ACE2 的糖基化来抑制 SARS-CoV 与受体结合,从而抑制病毒扩散。Gao 等^[28]报道,2019-nCoV 患者早期使用氯喹可以在显著改善临床结果的同时提高病毒清除率。Gautret 等^[29]也发现氯喹治疗可以显著降低患者的病毒载量。

由于目前研究人员已证实 ACE2 是 2019-nCoV 结合宿主细胞的有效受体,于是将受体 ACE2 的抗体与 2019-nCoV 共孵育后感染细胞,发现其也可以抑制 2019-nCoV 进入细胞,并且也呈浓度依赖性^[26]。

甲磺酸卡莫司他是一种非肽类丝氨酸蛋白酶抑制剂。其主要作用是可以抑制机体的激肽生成系统、纤维蛋白溶解系统、凝血系统和补体系统的酶活性异常亢进,因此它可以作为丝氨酸蛋白酶 TMPRSS2 的一种抑制剂^[30]。Hoffmann 等^[29]用甲磺酸卡莫司他预处理 Calu-3 细胞后感染 2019-nCoV,可

以有效地抑制 2019-nCoV 驱动的进入,且呈剂量依赖性。

阿洛司他丁(E-64d)也是一种蛋白酶抑制剂,是一种具有膜穿透性的不可逆的半胱氨酸蛋白酶抑制剂,可以用来抑制半胱氨酸蛋白酶 CatB/L 的酶活性。研究发现,E-64d 也可以抑制 2019-nCoV 感染细胞,E-64d 与卡莫司他联合使用对 2019-nCoV 的进入抑制率远高于其中任意一种单独使用^[26]。

Benevolent AI 知识图是一个庞大的结构化医学信息库^[31]。在这个知识图谱中,关于内吞调节因子 AKK1 的抑制剂有 378 种,其中 6 种与 AKK1 高度亲和。这些药物包括多种抗肿瘤药物,如舒尼替尼和厄洛替尼。这 2 种药物均已被证明可以通过抑制 AKK1 来抑制细胞的病毒感染^[32]。然而研究发现,高剂量使用这 2 种药物在有效抑制 AKK1 的同时会带来严重的副作用,因此限制了其临床使用^[33]。相比之下,巴瑞替尼则更有优势。它是一种 JAK 激酶抑制剂,不仅可以高亲和力结合 AKK1,还可以结合另一种内吞调节因子 cyclin G 相关激酶,治疗性给药 2 mg/d 或 4 mg/d 一次即可达有效血药浓度,因此巴瑞替尼可能是一种潜在的抗病毒药物^[34]。

5 挑战与机遇

前文所提及的各种抑制剂尚处于研究阶段,甚至仅停留在体外实验的验证阶段,更为可靠的疗效评价有赖于进一步在动物模型、临床实验中展开研究。另外,2019-nCoV 是一种 RNA 病毒,具有潜在的遗传变异性和极高的变异率,对疫苗的开发和抗病毒药物的研究带来极大的困难。

目前对 2019-nCoV 的研究时间尚短,认识尚不够深入。随着研究的不断深入,或许会发现 2019-nCoV 在宿主细胞膜表面不止 ACE2 一个受体,可能还存在更多可识别受体,可能存在更高亲和力的受体。与 SARS-CoV 相比,2019-nCoV 具有更强的传染性,在组织中也存在更广泛的传播能力。另外,鉴于目前已有相当多的治愈患者,通过分离恢复期个体记忆 B 细胞产生的抗体,对其进行蛋白结构、生物功能等方面的研究或许能为抗病毒药物的研发提供帮助。

6 小 结

COVID-19 疫情暴发 3 个月来,无数科研人员夜以继日取得了诸多研究成果,囊括方方面面,包括流行病学、临床特征与治疗、基础研究、儿童/孕妇防护、心理防护、疫情防控管理,等等。据统计,2020 年 2 月 6 日单日 COVID-19 相关的论文发表多达 50 篇^[35]。由于时间有限,目前对 2019-nCoV 的认识仍很有限,还需要更深入地探索病毒的致病机制,寻找更高效的抗病毒靶点,对于尚处于研究阶段的各种抗病毒药物也需要进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Coronavirus COVID-19(2019-nCoV), 2020[EB/OL]. (2020-05-01)[2020-05-01]. <https://www.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6>.

- [2] Chen LJ, Liu WY, Zhang Q, et al. RNA based mNGS approach identifies a novel human coronavirus from two individual pneumonia cases in 2019 Wuhan outbreak[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 313–319.
- [3] Li F. Structure, function, and evolution of coronavirus spike proteins[J]. *Annu Rev Virol*, 2016, 3(1): 237–261.
- [4] Tang Q, Song YL, Shi MJ, et al. Inferring the hosts of coronavirus using dual statistical models based on nucleotide composition[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 17155.
- [5] Wu AP, Peng YS, Huang BY, et al. Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China[J]. *Cell Host Microbe*, 2020, 27(3): 325–328.
- [6] Xu XT, Chen P, Wang JF, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission[J]. *Sci China Life Sci*, 2020, 63(3): 457–460.
- [7] Kawase M, Shirato K, Matsuyama S, et al. Protease-mediated entry via the endosome of human coronavirus 229E[J]. *J Virol*, 2009, 83(2): 712–721.
- [8] Hofmann H, Pyrc K, Hoek LVD. Human coronavirus NL63 employs the severe acute respiratory syndrome coronavirus receptor for cellular entry[J]. *PNAS*, 2005, 102: 7988–7993.
- [9] Li WH, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus[J]. *Nature*, 2003, 426: 450–454.
- [10] Raj VS, Mou H, Smits SL, et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC[J]. *Nature*, 2013, 495(7440): 251–254.
- [11] Hulswit RJG, Lang YF, Bakkers MJG, et al. Human coronaviruses OC43 and HKU1 bind to 9-O-acetylated sialic acids via a conserved receptor-binding site in spike protein domain A[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(7): 2681–2690.
- [12] 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.
- [13] Wan YS, Shang J, Graham R, et al. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan; an analysis based on decade-long structural studies of SARS[J]. *J Virol*, 2020[Epub ahead of print]. DOI: 10.1128/JVI.00127-20.
- [14] Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses[J]. *Nat Microbiol*, 2020[Epub ahead of print]. DOI: 10.1038/s41564-020-0688-y.
- [15] Wrapp D, Wang NS, Corbet KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation[J]. *Science*, 2020, 9: 1260–1263.
- [16] Hamming I, Timens W, Bulthuis MLC, et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis[J]. *J Pathol*, 2004, 203: 631–637.
- [17] Xu Y, Li XF, Zhu B, et al. Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding[J]. *Nat Med*, 2020, 26(4): 502–505.
- [18] Pan L, Mu M, Yang PC, et al. Clinical characteristics of COVID-19 patients with digestive symptoms in Hubei, China; a descriptive, cross-sectional, multicenter study[J]. *Am J Gastroenterol*, 2020[Epub ahead of print]. DOI: 10.14309/ajg.0000000000000620.
- [19] Xiao F, Tang MW, Zheng XB, et al. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158: 1831–1833.
- [20] 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[Epub ahead of print]. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
- [21] Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, et al. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein[J]. *Cell*, 2020[Epub ahead of print]. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.058.
- [22] Klenk HD, Garten W. Host cell proteases controlling virus pathogenicity[J]. *Trends Microbiol*, 1994, 2: 39–43.
- [23] Steinhauer DA. Role of hemagglutinin cleavage for the pathogenicity of influenza virus[J]. *Virology*, 1999, 258: 1–20.
- [24] 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.
- [25] 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[Epub ahead of print]. DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.004.
- [26] Liu W, Fontanet A, Zhang PH, et al. Two-year prospective study of the humoral immune response of patients with severe acute respiratory syndrome[J]. *J Infect Dis*, 2006, 193: 792–795.
- [27] Vincent MJ, Bergeron E, Benjane S, et al. Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread[J]. *Virol J*, 2005, 2: 69.
- [28] Gao JJ, Tian ZX, Yang X. Breakthrough: chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies[J]. *Biosci Trends*, 2020, 14(1): 72–73.
- [29] Gautret P, Lagier JC, Parola P, et al. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19; results of an open-label non-randomized clinical trial[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2020[Epub ahead of print]. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105949.
- [30] Kawase M, Shirato K, Hoek LVD, et al. Simultaneous treatment of human bronchial epithelial cells with serine and cysteine protease inhibitors prevents severe acute respiratory syndrome coronavirus entry[J]. *J Virol*, 2012, 86(12): 6537–6545.
- [31] Segler MHS, Preuss M, Waller MP. Planning chemical syntheses with deep neural networks and symbolic AI[J]. *Nature*, 2018, 555(7698): 604–610.
- [32] Pu SY, Xiao F, Schor S, et al. Feasibility and biological rationale of repurposing sunitinib and erlotinib for dengue treatment[J]. *Antiviral Res*, 2018, 155: 67–75.
- [33] Richardson P, Griffin I, Tucker C, et al. Baricitinib as potential treatment for 2019-nCoV acute respiratory disease[J]. *Lancet*, 2020[Epub ahead of print]. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30304-4.
- [34] Chen NS, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study[J]. *Lancet*, 2020[Epub ahead of print]. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
- [35] 张龙浩, 李柏宏, 贾鹏, 等. 新型冠状病毒 SARS-CoV-2 全球研究现状分析[J]. *生物医学工程学杂志*, 2020[Epub ahead of print]. DOI: 10.7507/1001-5515.202002034.

(责任编辑: 周一青)