

DOI:10.3969/cjz.j.issn.1002-2694.2014.08.015

中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)的研究进展

阮红梅,张健之

摘要:中东呼吸综合征冠状病毒(Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus, MERS-CoV)是继 SARS 冠状病毒(SARS-CoV)之后发现的一种能引起人严重急性呼吸道疾病且具有高致死率的新型病毒。目前还没有有效的抗病毒治疗药物或疫苗。现已从主要流行的中东地区逐渐蔓延至多个国家,具有全球流行的潜在趋势,引起了世界各国的极大关注及众多的调查研究。本文主要对 MERS-CoV 的传播源及途径、致病机理和抗病毒药物及疫苗等的研究进展做一综述,以期对研制特异的抗病毒药物及疫苗和实施切实有效的预防及控制措施提供参考。

关键词:中东呼吸综合征冠状病毒;病毒传播;临床治疗;抗病毒药物;疫苗

中图分类号:R373

文献标识码:A

文章编号:1002-2694(2014)08-0848-07

Research progress of Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus (MERS-CoV)

RUAN Hong-mei, ZHANG Jian-zhi

(Department of Clinical Laboratory Sciences, the University of Texas Medical Branch, Galveston, TX 77555, USA)

ABSTRACT: Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus (MERS-CoV) is a novel coronavirus which can cause severe acute respiratory illness with a high mortality rate. There is no proven medication or vaccine for MERS-CoV. Currently MERS-CoV has spread from the main epidemic area, the Middle East area, to many other countries including United States of America and has the potential of global endemic. It has raised global public health concerns regarding the current situation and its future evolution. This review will mainly focus on the research progress of MERS-CoV about the animal reservoir and transmission, infection mechanisms and development of anti-viral drugs or vaccine. The goal is to provide with useful references to the development of specific drug and vaccine and an effective control and prevention of MERS-CoV infection.

KEY WORDS: Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus (MERS-CoV); transmission; treatment; anti-viral drug; vaccine

中东呼吸综合征冠状病毒(Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus, MERS-CoV)是2012年9月在沙特阿拉伯首次发现的一种新型高致病性冠状病毒^[1]。冠状病毒能感染人及多种动物,并可导致人罹患从普通感冒到严重的急性呼吸综合征等疾病。MERS-CoV感染可引起严重的呼吸道疾病,其症状包括发烧、咳嗽及呼吸急促,并伴有较高比率的急性肾衰竭和死亡^[1-2]。因其临床症状和2003年爆发的SARS-CoV很相似,故初期曾将其称为“类SARS病毒”。该病毒主要在中东地区流行,但目前在欧洲、亚洲和北美等地均先后出现感染病例及传播,且病例均和中东有直接或间接的

联系,如来自中东或有过中东旅行史等。截至2014年6月26日,世界卫生组织(WHO)累计统计结果显示全球感染病例已达707例,其中252例死亡,死亡率约为36%^[3],高于SARS病毒流行期间10%的致死率。目前对其感染尚无特效疗法,也无有效的预防疫苗。初步的流行病学研究表明,MERS-CoV是由动物传染给人,然后通过和被感染者的密切接触而在人与人之间传播。2014年以来在美国确诊的病例对MERS-CoV有可能造成全球流行的趋势再次引起了世界各国的重视和担忧。本文主要对MERS-CoV的结构分类、传播源及途径、致病机理、临床特点、诊断治疗、抗病毒药物和疫苗研发等作一综述,以便能引起人们对该病毒有一定的了解和认识,这对实施有效的预防控制及尽快开发出特异的抗病毒药物及疫苗提供重要参考。

作者单位:Department of Clinical Laboratory Sciences, The University of Texas Medical Branch, Galveston, TX 7755 USA.

1 命名、结构和分类

在初期报道中, MERS-CoV 被称为 Human Coronavirus Erasmus Medical Center/2012 (HCoV-EMC/2012)、新型冠状病毒(Novel Coronavirus, nCoV)、类 SARS 病毒、或沙特 SARS 等。为了便于相互交流及报道, 2013 年 5 月 15 日, 国际病毒分类委员会冠状病毒研究小组决定将此新型冠状病毒统一命名为 Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus, 即 MERS-CoV^[4]。和其它冠状病毒类似, MERS-CoV 形态结构为圆形或卵圆形, 病毒颗粒直径大约 60-220 nm, 核心为单股正链 RNA, 病毒的衣壳外面包含有糖蛋白组成的刺突样的结构, 因其覆盖表面而使得整个病毒粒子在电镜下如皇冠样的形状, 因而得名冠状病毒。冠状病毒科主要有 α 、 β 、 γ 和 δ 四种类型, 其中 β 属冠状病毒又分为 A、B、C 和 D 四个谱系^[5]。迄今, 有 6 个冠状病毒能引起人类疾病, 包括: α 类 CoV-229E 及 CoV-NL63; β 类 A 谱系 CoV-OC43 和 CoV-HKU1、B 谱系 SARS-CoV; 及当前的 MERS-CoV。对 MERS-CoV 遗传及系统进化分析结果显示, 它属于 β 类冠状病毒属 C 谱系的一个新种^[6-7]。和 SARS-CoV 相比, MERS-CoV 和同属 β 类 C 谱系的扁颅蝠冠状病毒 HKU4 和伏翼蝙蝠冠状病毒 HKU5 的亲缘关系更为相近^[6-7]。MERS-CoV 全基因组大小约为 30.1 Kb, 至少包含有 10 个开放阅读框(Open reading frame, ORF), 分别编码一个大的复制酶多聚蛋白(ORF1a/ORF1b)、表面刺突糖蛋白(Spike, S)、小包膜蛋白(Envelope, E)、外膜蛋白(Membrane, M)、核衣壳蛋白(Nucleocapsid, N)、及 5 个非结构蛋白(ORF 3、4a、4b、5 and 8b)等^[6]。其中由 ORF1a/ORF1b 编码的复制酶多聚蛋白包含两个多聚蛋白 PP1a 和 PP1ab, 然后由蛋白酶剪切为 15 或 16 个非结构蛋白(Nonstructural protein, NSP)产物 NSP1-NSP16, 而 NSP12 即为 RNA 依赖的 RNA 聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase, RdRp)^[6]。

2 传播源及传播途径

自发现 MERS-CoV 病毒以来, 研究人员对其传播源进行多方面的调查及研究。最初, 病毒学家 Ron Fouchier 推测这种病毒可能来源于蝙蝠, 因为蝙蝠体内携带有多种类型的冠状病毒^[8]。遗传及系统进化分析结果也显示 MERS-CoV 在亲缘关系上更接近于亚洲、欧洲、南非、加纳等蝙蝠体内的冠状病毒, 尤其是和扁颅蝠冠状病毒 HKU4 和伏翼蝙蝠

冠状病毒 HKU5 最为接近^[2,6,7]。从沙特的一只蝙蝠粪便内检测到病毒 RNA RdRp 基因的一段包含 190 个核苷酸序列和附近患者体内分离到的 MERS-CoV 序列完全相同^[9]。但该研究样本数太少, 而且蝙蝠与人类的接触十分有限, 因此专家推测, 在蝙蝠和人之间可能还有另一中间宿主作为连接放大器, 能使病毒在其体内大量扩增, 使之更易于传播给人。

研究人员对中东地区的其它动物也进行了研究。Reusken CB 等^[10]在来自中东阿曼的全部 50 头单峰骆驼(100%)和西班牙加那利群岛 105 头骆驼中的 15 头(14%)的血清样本中检测到抗 MERS-CoV 刺突蛋白的特异性抗体, 但在骆驼的血液及粪便中并没有检测到病毒的核酸, 而在当地养殖的绵羊、山羊、牛、及北欧单驼峰的血清样本中未检出抗 MERS-CoV 刺突蛋白的特异性抗体^[10]。Hemida MG 等^[11]对沙特阿拉伯两个区的单峰驼及其它家畜的研究也获得相似的结果, 大部分单峰驼血清内抗体阳性, 绵羊、山羊、牛及鸡的血清内抗体阴性。2014 年 Hemida MG 等^[12]研究了在骆驼体内分离到的 MERS-CoV, 发现且全基因组序列和人体内分离到的病毒序列具有 99.9% 的相似性, 只在 S 蛋白基因的受体结合域(receptor binding domain, RBD)之外发现 6 个核苷酸突变, 但并不影响和细胞表面受体的结合 Hemida MG 等^[12]还在骆驼的鼻拭子样品及粪便内检测到病毒, 且鼻拭子样品内的病毒检测率更高。初步研究还发现, 骆驼体内的 MERS-CoV 预存抗体并不能有效保护动物免受感染^[12]。从沙特全国范围内采集的 200 多头单峰驼血液样本中, 也发现 74% 的样本显示血清抗体阳性; 进一步的病毒核酸检测发现, 病毒主要存在于骆驼的呼吸道中, 部分粪便样品中也能检测到病毒核酸^[13]。对 1992 年至 2010 年间采集的骆驼血液样本的分析表明, 这种病毒在骆驼中存在的历史至少可追溯到 1992 年, 但骆驼没有表现出任何感染症状^[13]。另外, 研究人员也从骆驼的乳汁中发现了 MERS-CoV, 同时还在骆驼养殖场及屠宰场的工人中, 发现 8.7% 的工人体内含有抗 MERS 病毒的抗体, 说明他们可能曾经被 MERS-CoV 感染过, 但并没有表现出严重的症状^[14]。来自美国国家过敏与感染疾病研究所(NIAID)的研究人员也发现, 在未消毒的骆驼奶中, MERS-CoV 在 4 °C 可以存活 72 h, 22 °C 时存活 48 h, 63 °C 加热 30 min 则未检测到活性病毒^[15]。因为有些病例有骆驼接触史, 且骆驼肉和奶都是当地的日常消耗品, 所以研究人员认为

骆驼是人类感染 MERS-CoV 的真正源头,但这些研究仍然不能确定病毒如通过何种途径传播给人的,也不能提供直接的证据。

最近的一篇研究报告则为该病毒是从骆驼传染给人提供了一个直接的证据^[16]。该研究报告了 2013 年 11 月死于 MERS-CoV 的一名 44 岁沙特男子的研究结果。研究发现这名男子饲养有 9 头骆驼,其中 4 头骆驼生病流鼻水,病人曾在发病前为一头患病骆驼的鼻子抹药治疗,7 天之后这名男子就患上了 MERS。研究人员对从病骆驼中发现的病毒和致该男子死亡的病毒进行了比对,发现它们的基因组是一致的。因此,研究人员相信,这一 MERS-CoV 的致死病例是因为与患病骆驼密切接触而被传染所致。虽然骆驼有很大可能是 MERS-CoV 感染人类的主要来源,但对具体的传播途径仍不十分清楚。鉴于 MERS-CoV 在中东地区仍持续发生,2014 年 4 月 24 日,WHO 呼吁赴沙乌地阿拉伯、阿拉伯联合大公国等中东地区旅游者,应注意个人卫生及手部清洁,于人潮密集或空气不流通处可配戴口罩,并避免骑乘或接触骆驼,以降低受感染的可能性^[17]。

Cotton 等对阿拉伯的 21 个 MERS-CoV 病例的遗传序列进行了比较和分析,结果显示了病毒的遗传多样性,说明病毒可能是从多个点的动物源传播给人,随后在人与人之间传播^[18]。集群性的传播感染多出现在家庭成员、病人与医护人员之间,尤其是医护人员的防护措施不到位的时候^[19-21]。MERS-CoV 潜伏期通常是 5 天,但最长的可达 14 天^[19-20]。到目前为止,这种集群感染还较有限,没有扩大到社区范围内,且二次传播病例多显示无症状或症状温和^[21]。另外,两个研究组通过对确诊病例的基本再生系数(R_0)的研究分析显示,MERS-CoV 目前还没有普遍流行的潜能^[22,23]。

3 致病机理

MERS-CoV 能感染多种细胞,它是利用表面 S 蛋白和细胞相互作用而进入靶细胞。在病毒感染过程中,S 蛋白能诱导产生中和抗体、T 细胞免疫应答及保护性免疫。S 蛋白是一型跨膜蛋白,包含两个功能性的亚基:位于膜外 N 末端的 S1 亚基和近膜端的 S2 亚基,S1 决定细胞的极性和与靶细胞相互作用,S2 则介导病毒囊膜与细胞膜融合。对几种人类冠状病毒的 S 蛋白的序列和模型分析显示,MERS-CoV 的 S 蛋白具有一个受体结合域(RBD)^[24]。由于 MERS-CoV 和 SARS-CoV 有很

高的临床相似性,所以初期认为 MERS-CoV 也和 SARS-CoV 一样,使用血管收缩素转化酶 2 (angiotensin converting enzyme 2, ACE2)为细胞受体,但随后的研究发现 ACE2 重组抗体的中和作用并不能阻止 MERS-CoV 的感染^[25]。进一步的研究发现二肽基肽酶-4 (dipeptyl peptidase 4, DPP4, 亦称为 CD26)能特异性地和 MERS-CoV 的受体结合 S1 域纯化出来,且 DPP4 在非敏感细胞内重组表达能使之变成易感细胞,DDP4 的抗体能阻断病毒的感染,说明 DPP4 是 MERS-CoV 的功能受体^[26]。在人体细胞内,DDP4 在哺乳动物中高度保守,主要表达于肺肾肝小肠胰腺等上皮细胞表面及激活的淋巴细胞表面^[27]。MERS-CoV 通过其 S 蛋白上的 RBD 与细胞表面受体 DPP4 相互作用,介导病毒吸附于细胞,随之与细胞的膜融合及进入到细胞内,启动病毒感染。我国的研究人员从分子水平研究了 MERS-CoV RBD 与 DPP4 的结合与相互作用,以及所形成的复合物晶体结构^[28,29]。研究结果均显示 MERS-CoV RBD 是由一个核心亚区和一个外部的受体结合亚区组成,且核心亚结构域与 SARS-CoV 刺突分子高度同源,但外部亚结构域则具有高度变异性,这种变异可能有利于实现病毒的特异性致病过程,如受体识别。进一步的突变研究还确定了 RBD 的几个关键残基,对病毒结合 DPP4 以及进入靶细胞至关重要。这些病毒与受体相互作用的分子水平研究,能为开发新型的治疗药物及疫苗提供非常重要的参考。

4 临床症状

WHO 的 MERS-CoV 研究团队^[2]对感染病例的研究显示,临床症状开始通常表现为发热、咳嗽、畏寒、喉咙、肌肉及关节痛,随之呼吸困难,然后迅速发展为肺炎,通常需要机械通气辅助呼吸及其它内脏器官保护治疗。严重者很快在肺炎基础上迅速发展为呼吸衰竭、急性呼吸窘迫综合征(ARDS),肾脏衰竭等甚至危及生命。其中大约 50% 的病人发展成肺炎,超过 10% 的病人发展为 ARDS,约 1/3 的病人显示出胃肠道症状,如呕吐、腹泻。免疫抑制病人临床症状不典型,初期可仅表现为发热、腹痛和腹泻至后期的肺炎。大多数感染患者存在临床合并症,且具有慢性疾病或免疫力低的人群很易被感染,并有较高的几率发展为严重后果及死亡。

胸部 X 光片的结果和局限性肺炎和 ARDS 的结果一致,如双侧肺门浸润,单侧或双侧片状增厚、分割或肺叶混浊,毛玻璃样外观,胸膜积液等。下部

肺叶比上部肺叶受损程度更大。CT 扫描则显示间质性浸润和实病。患者通常表现为白细胞减少,尤其是淋巴球减少症。另外患者的血、尿及粪便中均能检测到病毒 RNA,但远少于呼吸道内的病毒量,且上呼吸道中的病毒量通常也比下呼吸道量少。在一些病患中发现有其它呼吸道病毒共感染,在机械通气的病患中也出现医院获得性细菌感染。

WHO 于 2013 年 7 月 3 日更新 MERS-CoV 感染的诊断标准疑似病例需满足以下 3 条标准:具有发热性的急性呼吸道感染,且临床、影像学或组织病理学证实存在肺实质疾病(如肺炎或 ARDS);实验室检测结果不确定;与确诊患者有密切接触^[30]。确诊病例则需要 MERS-CoV 实验室检测阳性。

5 实验室检测

细胞培养检测 MERS-CoV 仍为实验室检测的金标准,但常规不推荐此法。目前,MERS-CoV 主要是通过实时定量逆转录 PCR (Real-time RT-PCR, rRT-PCR)的方法,对呼吸道、血液和粪便样品进行病毒核酸的检测。目前 rRT-PCR 主要检测病毒的三个基因序列^[31-33]:E 蛋白上游基因(upE), ORF 1b 基因和,ORF1a 基因。upE 基因序列检测高度敏感性,适用于对 MERS-CoV 样品的筛选检测;ORF 1b 基因和 upE 基因序列检测具有同等的敏感性;ORF1a 基因检测,敏感性比前二者低,但特异性更高。另外,在 MERS-CoV 的基因组序列中位于 RdRp 和 N 基因内有两个适于验证的靶序列^[33]。美国疾病控制及预防中心(CDC)目前采用靶向病毒核衣壳蛋白(N)基因及 upE 的 rRT-PCR 进行样品筛选检测,然后再用另一靶向 N 基因的引物对单一或双阳性 PCR 结果进行进一步验证^[34]。确认的阳性结果需满足两个条件:有两种特异性 PCR 靶向扩增结果呈阳性;或者一种 PCR 结果阳性,另一种 PCR 产物序列测定结果与已知序列相符合。检测时要尽量排除各种原因(如样品质量差,病毒基因突变等)造成的假阴性结果。当 PCR 检测为阴性,但患者具有 MERS-CoV 感染的临床症状或流行病学特点时,可用血清学方法进行检测。其它的检测方法也在研究之中。

6 临床治疗

自 SARS 后,感染控制、分子诊断及国际公共卫生等都有了很大的改善,但目前对冠状病毒的治疗,仍然没有特异性药物及疫苗,因此对 MERS-CoV 感染病人的治疗主要是对内脏器官支持与保

护,缓解病人的症状,并降低并发症的出现^[2,35]。例如对 ARDS 患者实施肺保护性通气策略,心血管的支持及保护,使用广谱抗菌素降低机会病原的共感染,对急性肾衰竭患者采用肾脏替代治疗,实施外膜肺氧和(ECMO)等。目前,已有一些治疗 MERS-CoV 可能的选择方案,但大多是从治疗 SARS 和流感等的临床经验而来的,如使用恢复期的血清、干扰素(Interferon, IFN)、利巴韦林(Ribavirin)、皮质类固醇(Corticosteroids)等^[35-36]。有的医院对一些病情严重的患者采用了高剂量的皮质类固醇来治疗,目的是为了阻止呼吸窘迫的发展并防治肺部纤维化,但治疗效果并不成功,同时还可能由于其它原因造成治疗不当。从治疗 SARS 及 H1N1 的结果来看,这种疗法也被证明是有害而无益。因此 WHO 并不推荐用此法来治疗 MERS-CoV 感染,除非患者有哮喘或升压顽固性休克^[2]。在治疗过程中,还需对病人实施密切监测、有效的隔离和必要的防护措施。

7 抗病毒药物及疫苗的研发

当前,各国学者都在寻找抗 MERS-CoV 的有效药物,由于新药物的研发时间较为漫长,研究人员正试图从现有的药物来筛选,以尽快解决当前的迫切需要。药物的选择主要基于几个方面:能阻断病毒的入侵及扩散、抑制病毒核酸复制及病毒蛋白合成、调节机体的抗病毒免疫和联合性治疗等,目前已有一些可喜的研究结果,为感染患者带来新的希望^[36]。

康复期的血清来自于遭受过 MERS-CoV 感染但已经康复的病人,可能含有能中和病毒的抗体,因此是推荐治疗的首选^[35-36]。目前已在一康复患者的血清内,检测到了高水平的抗 MERS-CoV 的抗体^[35]。在德国两个 MERS-CoV 病人血清内也检测到特异性抗体的存在,其滴度达 1:640^[37-38]。目前还没有使用该疗法对 MERS 病人的治疗数据,且可获得性非常受限,但它能证明中和细胞外病毒的方法是否是最佳疗法,同时也能促进抗体研究的发展。从以前治疗 SARS 的临床结果来看,可能有很多因素干扰了康复期血清的治疗,如病人的并存疾病及其程度、其它治疗药物的干扰等,导致治疗效果无法确定^[39]。

选择能有效抑制 MERS-CoV RBD 和 DPP4 结合的药物也为治疗提供了新的希望。研究发现,DPP4 的结合蛋白腺苷脱氨酶(Adenosine deaminase)能竞争性的拮抗病毒与受体的结合,从而抑制

MERS-CoV 的细胞感染^[40]。抗 DPP4 的多克隆抗体在体外研究中显示有对 MERS-CoV 感染的抑制^[26]。人源性的抗 DPP4 单克隆抗体 (mAbYS110) 能识别 DPP4 的 6 个不同的抗原决定簇, 对 MERS-CoV 感染显示明显的抑制作用, 是治疗 MERS 的一个很好的候选者^[41]。最近, 清华大学的研究团队^[29]也分离到两株抗 MERS-CoV RBD 的具高效中和能力的单克隆抗体 MERS-4 和 MERS-27, 二者均可在纳摩尔浓度下, 通过阻断 RBD 和细胞表面受体 DPP4 的作用, 进而特异性的抑制假型病毒和活性病毒的细胞感染。同时 MERS-4 和 MERS-27 还具有明显的相互协同作用, 可以大大加强抗 MERS-CoV 及其在感染及传播过程中产生的变异病毒的效果, 从而提高抗病毒的活性和广谱性。美国研究人员也筛选出 7 株抗 MERS-CoV RBD 特异性中和抗体, 能特异结合刺突蛋白和 DPP4 结合界面的 3 个抗原决定簇, 进而阻断病毒对细胞吸附; 其中一株抗体 3B11 表现出了最高的中和活性, 被认为最有医学应用潜力^[42]。这些研究结果有望为病情严重的 MERS-CoV 感染者提供一条快速有效的特异性治疗途径。

病毒复制的抑制剂也是治疗 MERS-CoV 的可能药物。利巴韦林是抑制核苷类似物, 能通过抑制 RNA 的复制而具有广谱的抗病毒活性^[43]。环孢多肽 A (Cyclosporin A) 能有效抑制 SARS-CoV、MERS-CoV 等冠状病毒的在细胞内复制^[44]。霉酚酸 (Mycophenolic acid) 是一种能抑制淋巴细胞增殖、阻止病毒 RNA 复制的免疫抑制剂, 具有很强的体外抗 MERS-CoV 的活性^[45]。当联合应用霉酚酸及 IFN- β 时, 其 EC₅₀ 值较应用每个单药时低了 1-3 倍, 因此也可考虑为 MERS 的实验性治疗方案^[43,45]。冠状病毒在非结构蛋白基因 14 (nsP14) 内表达 3' 到 5' 的核糖核酸外切酶 (Exoribonuclease, ExoN)。最近的研究发现 ExoN 也可能是一个很好的抑制靶向, 它的小分子抑制剂联合利巴韦林或 RNA 突变剂使用时可抑制冠状病毒的复制, 因此可能成为一个潜在的治疗所有冠状病毒的方法^[46]。洛匹那韦 (Lopinavir) 和利托那韦 (Ritonavir) 是蛋白抑制剂, 在 SARS 治疗过程中, 发现二者和利巴韦林联合使用时, 比单独使用利巴韦林时, 对病人的临床结果有明显改善作用^[47], 这对 MERS 治疗也有借鉴作用。

机体的免疫调节也是发展抗 MERS-CoV 治疗药物另一方法。聚乙二醇化的 IFN- α 抑制 MERS-CoV 的效率是 SARS-CoV 的 50-100 倍^[35]。相较于

SARS-CoV, IFN-I(α, β) 和 IFN-III(λ) 能更有效地降低 MERS-CoV 在人气道上皮细胞中的复制^[48]。Hart 等则比较了 IFN- α 2b、IFN- β 、IFN- γ 和 IFN- α 2a 等的效应, 结果显示 IFN- β 对 MERS-CoV 具有最强的抑制效应^[45]。另一体外研究显示加入 IFN- β 后, 导致明显的抗 MERS-CoV 效应, 并能使病毒量降低 3 个指数级, 至不可检测的水平^[49]。这些结果均能为 MERS 治疗提供更多可能的选择。另外, 从 SARS-CoV 的临床经验中, IFN 被单独使用或联合利巴韦林使用^[35]。

抗病毒治疗和免疫调节剂的联合治疗曾经是 SARS 治疗的一种模式。联合使用利巴韦林及干扰素- α 2b, 在较低的浓度下就能有效抑制 MERS-CoV 在培养细胞内的复制, 且二者具有协同效应^[50]。当用于处理 MERS-CoV 感染 8 h 的动物模型恒河猴后, 也能降低病毒在体内的复制, 改善临床结果, 如肺部伤害显著减少^[51]。由于利巴韦林和 IFN- α 2b 这两种强抗病毒制剂已在临床上被广泛用于治疗丙肝, 同时也是用于治疗 SARS 病人的一个方法, 因此, 研究专家建议把它们作为 MERS 的一种早期的介入疗法。不过, 最近的一个临床观察结果显示, 该联合疗法可能只对某些诊断早期的病人有效, 而对具有严重感染并含多个并发症的晚期诊断患者并不产生治疗效果^[52]。同时, 施药的时间点也是影响治疗效果的一个重要因素。

另外, 美国马里兰的研究人员^[53]对 290 种已经在美国获批或正在后期临床试用的药物进行了筛选, 发现有 27 种药物能有效对抗 MERS-CoV 和 SARS-CoV 的感染。这些有效的抗病毒药物包括抗癌、抗精神病或抗其它病毒的药物, 如抗肿瘤药物甲磺酸伊马替尼 (Imatinib mesylate) 及达沙替尼 (Dasatinib), 抗精神病药氯丙嗪 (chlorpromazine), 抗线状病毒 (Filoviruses) 及肿瘤药物枸橼酸托瑞米芬 (Toremifene citrate), 抗疟疾药物氯奎 (chloroquine) 等。欧洲的研究人员^[54]也用类似的方法筛选了 348 种 FDA 批准的和政府批准的药物, 发现有四种药物能在相对较低的浓度下对抗 MERS 和 SARS 病毒, 其中包括有在上述研究中得到证实的两种药物: 氯喹和氯丙嗪。另有研究还发现, 能有效抑制 SARS-CoV 繁殖的小分子抑制剂 SSYA10-001, 对 MERS-CoV 也有同样的抑制效果^[55]。这种老药新用的方法, 不仅能尽快解决当前需要, 还可以给新药发展提供新的思路, 大大缩短研发时间。

8 结束语

目前,对 MERS-CoV 还有很多的问题有待解决,如病源动物和人之间可能有哪些直接或间接的传播途径,人与人之间是否具有大规模传播的可能,传播过程中 RNA 病毒的突变及毒力的变化性,如何阻断病毒的传播及发展出有效的抗病毒药物及预防疫苗等。这就需要各国投入更多的调查及研究,以便尽快明确传播病源及传播途径,以便实施有效的预防及监控措施,并尽早研制出特异性的治疗药物及疫苗。

参考文献:

- [1]Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367: 1814-1820.
- [2]The WHO MERS-CoV Research Group. State of knowledge and data gaps of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) in Humans[J]. *PLoS Curr Outbreaks*, 2013. DOI: 10.1371/currents.outbreaks.0bf719e352e7478f8ad85fa30127ddb8.
- [3]World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) update[EB\OL]. [2014-06-30]. http://www.who.int/csr/don/2014_06_26_mers/en/
- [4]de Groot RJ, Baker SC, Baric RS, et al. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV): Announcement of the Coronavirus Study Group[J]. *J Virol*, 2013, 87: 7790-7792.
- [5]Adams MJ, Carstens EB. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses[J]. *Arch Virol*, 2012, 157: 1411-1422.
- [6]van Boheemen S, de Graaf M, Lauber C, et al. Genomic characterization of a newly discovered coronavirus associated with acute respiratory distress syndrome in humans[J]. *MBio*, 2012, 3(6): e00473-12.
- [7]Woo PCY, Lau SKP, Li KSM, et al. Genetic relatedness of the novel human group C betacoronavirus to Tylonycteris bat coronavirus HKU4 and Pipistrellus bat coronavirus HKU5[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2012, 1: e35.
- [8]Douceff M. Holy Bat Virus !Genome Hints At Origin Of SARS-Like Virus[EB\OL]. NPR. [2012-09-29] [2014-06-29]. <http://www.npr.org/blogs/health/2012/09/28/161944734/holy-bat-virus-genome-hints-at-origin-of-sars-like-virus>
- [9]Memish ZA, Mishra N, Olival KJ, et al. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus in bats, Saudi Arabia[J]. *Emerg Infect Dis*, 2013, 19(11): 1819-1823. DOI: 10.3201/eid1911.131172
- [10]Reusken CB, Haagmans BL, Muller MA, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus neutralising serum antibodies in dromedary camels: a comparative serological study[J]. *Lancet Infect Dis*, 2013, 13(10): 859-866. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70164-6
- [11]Hemida MG, Perera RA, Wang P, et al. Middle East respiratory syndrome (MERS) coronavirus seroprevalence in domestic livestock in Saudi Arabia, 2010 to 2013 [J]. *Euro Surveill*, 2013, 18: 20659.
- [12]Hemida MG, Chu DKW, Leo LM, et al. MERS coronavirus in dromedary camel herd, Saudi Arabia[J]. *Infect Dis*, 2014, 20(7). DOI: 10.3201/eid2007.140571
- [13]Alagaili AN, Briesse T, Mishra N, et al. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infection in Dromedary Camels in Saudi Arabia[J]. *MBio*, 2014, 5(2): e00884-14. DOI: 10.1128/mBio.00884-14
- [14]Reusken CB, Farag EA, Jonges M, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) RNA and neutralising antibodies in milk collected according to local customs from dromedary camels, Qatar, April 2014[J]. *Euro Surveill*, 2014, 19(23). pii: 20829.
- [15]van Doremalen N, Bushmaker T, Karesh WB, et al. Stability of Middle East respiratory syndrome coronavirus in milk[J]. *Emerg Infect Dis*, 2014, 20(7): 1263-1264. DOI: 10.3201/eid2007.140500
- [16]Azhar EI, El-Kafrawy SA, Farraj SA, et al. Evidence for camel-to-human transmission of MERS Coronavirus[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(26): 2499-2505.
- [17]WHO RISK ASSESSMENT: Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)[EB\OL]. [2014-04-24] [2014-06-28]. http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/MERS_CoV_RA_20140424.pdf
- [18]Cotten M, Watson SJ, Kellam P, et al. Transmission and evolution of the Middle East respiratory syndrome coronavirus in Saudi Arabia: a descriptive genomic study[J]. *Lancet*, 2013, 382: 1993-2002.
- [19]Memish ZA, Zumla AI, Al-Hakeem RF, et al. Family cluster of Middle East respiratory syndrome coronavirus infections[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(26): 2487-2494.
- [20]Assiri A, McGeer A, Perl TM, et al. Hospital outbreak of Middle East respiratory syndrome coronavirus[J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(5):407-416.
- [21]Omran AS, Matin MA, Haddad Q, et al. A family cluster of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus infections related to a likely unrecognized asymptomatic or mild case[J]. *Int J Infect Dis*, 2013, 17(9): e668-e672.
- [22]Cauchemez S, Fraser C, Van Kerkhove MD, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus: Quantifying the extent of the epidemic, surveillance biases and transmissibility thus far [J]. *Lancet Infect Dis*, 2014, 14(1): 50-56. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70304-9
- [23]Brebner R, Riou J, Fontanet A. Interhuman transmissibility of Middle East respiratory syndrome coronavirus: estimation of pandemic risk[J]. *Lancet*, 2013, 382(9893): 694-699.
- [24]Jiang S, Lu L, Du L, et al. A predicted receptor-binding and critical neutralizing domain in S protein of the novel human coronavirus, HCoV-EMC[J]. *J Infect*, 2013,66:464-466.
- [25]Muller MA, Raj VS, Muth D, et al. Human coronavirus EMC does not require the SARS-coronavirus receptor and maintains broad replicative capability in mammalian cell lines[J]. *MBio*, 2012, 3: e00515-e12.
- [26]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.
- [27]Boonacker E, Van Noorden CJ. The multifunctional or moonlighting protein CD26/DPPIV[J]. *Eur J Cell Biol*, 2003, 82:

- 53-73.
- [28] Lu G, Hu Y, Wang Q, et al. Molecular basis of binding between novel human coronavirus MERS-CoV and its receptor CD26[J]. *Nature*, 2013, 500: 227-231.
- [29] Jiang L, Wang N, Zuo T, et al. Potent neutralization of MERS-CoV by human neutralizing monoclonal antibodies to the viral spike glycoprotein[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(234): 234ra59. DOI: 10.1126/scitranslmed.3008140
- [30] WHO. Revised interim case definition for reporting to WHO—Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) [EB\OL]. [2013-07-28][2014-06-27]. http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/case_definition/en/
- [31] WHO. Laboratory Testing for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus[EB\OL]. [2013-09-26][2014-06-26] http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/MERS_Lab_recos_16_Sept_2013.pdf
- [32] Corman VM, Eckerle I, Bleicker T, et al. Detection of a novel human coronavirus by real-time reverse-transcription polymerase chain reaction[J]. *Euro Surveill*, 2012, 17(39). pii: 20285.
- [33] Corman VM, Muller MA, Costabel U, et al. Assays for laboratory confirmation of novel human coronavirus (hCoV-EMC) infections[J]. *Euro Surveill*, 2012, 17(49). pii: 20334.
- [34] Centers for Disease Control and Prevention. Novel Coronavirus 2012 Real-time RT-PCR Assay[EB\OL]. [2014-06-25]. <http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/Safety/EmergencySituations/UCM355572.pdf>
- [35] Public Health England, ISARIC. Treatment of MERS-CoV: Decision Support Tool. Clinical Decision Making Tool for Treatment of MERS-CoV v. 1.0, 18 June, 2013[EB\OL]. [2013-10-22][2014-06-34]. http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1317139281416
- [36] Al-Tawfiq JA, Memish ZA. What are our pharmacotherapeutic options for MERS-CoV? [J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2014, 7(3): 235-238.
- [37] Buchholz U, Muller MA, Nitsche A, et al. Contact investigation of a case of human novel coronavirus infection treated in a German hospital, October November 2012[J]. *Euro Surveill*, 2013, 18(8). pii: 20406.
- [38] Drosten C, Seilmaier M, Corman VM, et al. Clinical features and virological analysis of a case of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection[J]. *Lancet Infect Dis*, 2013, 13(9): 745-751.
- [39] Stockman LJ, Bellamy R, Garner P. SARS: systematic review of treatment effects[J]. *PLoS Med*, 2006, 3(9): e343.
- [40] Raj VS, Smits SL, Provacia LB, et al. Adenosine deaminase acts as a natural antagonist for dipeptidyl peptidase 4 mediated entry of the middle east respiratory syndrome coronavirus[J]. *J Virol*, 2014, 88(3): 1834-1838. DOI: 10.1128/JVI.02935-13
- [41] Ohnuma K, Haagmans BL, Hatano R, et al. Inhibition of middle east respiratory syndrome coronavirus infection by anti-CD26 monoclonal antibody[J]. *J Virol*, 2013, 87(24): 13892-13899.
- [42] Tang XC, Agnihothram SS, Jiao Y, et al. Identification of human neutralizing antibodies against MERS-CoV and their role in virus adaptive evolution[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(19): E2018-2026. DOI: 10.1073/pnas.1402074111
- [43] Chan JF, Chan KH, Kao RY, et al. Broad-spectrum antivirals for the emerging Middle East respiratory syndrome coronavirus [J]. *J Infect*, 2013, 67(6): 606-616.
- [44] de Wilde AH, Raj VS, Oudshoorn D, et al. MERS-coronavirus replication induces severe in vitro cytopathology and is strongly inhibited by cyclosporin A or interferon- α treatment[J]. *J Gen Virol*, 2013, 94(Pt 8): 1749-1760.
- [45] Hart BJ, Dyall J, Postnikova E, et al. Interferon-beta and mycophenolic acid are potent inhibitors of Middle East respiratory syndrome coronavirus in cell-based assays [J]. *J Gen Virol*, 2014, 95(Pt 3): 571-577. DOI: 10.1099/vir.0.061911-0
- [46] Smith EC, Blanc H, Vignuzzi M, et al. Coronaviruses lacking exoribonuclease activity are susceptible to lethal mutagenesis: evidence for proofreading and potential therapeutics[J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(8): e1003565. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003565
- [47] Chu CM, Cheng VC, Hung IF, et al. Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings[J]. *Thorax*, 2004, 59: 252-256.
- [48] Kindler E, Jonsdo ttir HR, Muth D, et al. Efficient replication of the novel human betacoronavirus EMC on primary human epithelium highlights its zoonotic potential[J]. *MBio*, 2013, 4(1): e00611-12. DOI: 10.1128/mBio.00611-12
- [49] Ziebeck F, Weber M, Eickmann M, et al. Human cell tropism and innate immune system interactions of human respiratory coronavirus EMC compared to those of severe acute respiratory syndrome coronavirus[J]. *J Virol*, 2013, 87(9): 5300.
- [50] Falzarano D, de Wit E, Martellaro C, et al. Inhibition of novel β coronavirus replication by a combination of interferon- α 2b and ribavirin[J]. *Sci Rep*, 2013, 3: 1686.
- [51] Falzarano D, de Wit E, Rasmussen AL, et al. Treatment with interferon- α 2b and ribavirin improves outcome in MERS-CoV-infected rhesus macaques[J]. *Nat Med*, 2013, 19(10): 1313-1317.
- [52] Al-Tawfiq JA, Momattin H, Dib J, et al. Ribavirin and interferon therapy in patients infected with the Middle East respiratory syndrome coronavirus: an observational study[J]. *Int J Infect Dis*, 2014, 20: 42-46. DOI: 10.1016/j.ijid.2013.12.003
- [53] Dyall J, Coleman CM, Hart BJ, et al. Repurposing of clinically developed drugs for treatment of Middle East Respiratory Coronavirus Infection[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, pii: AAC.03036-14.
- [54] de Wilde AH, Jochmans D, Posthuma CC, et al. Screening of an FDA-approved compound library identifies four small-molecule inhibitors of Middle East respiratory syndrome coronavirus replication in cell culture[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, pii: AAC.03011-14.
- [55] Adedeji AO, Singh K, Kassim A, et al. Evaluation of SSYA10-001 as a replication inhibitor of SARS, MHV and MERS Coronaviruses[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, pii: AAC.02994-14.

收稿日期:2014-06-22;修回日期:2014-07-18