

综述

新型冠状病毒的结构基础与新型冠状病毒肺炎的临床药物治疗

陈海霞, 陈志华, 沈华浩*

浙江省呼吸疾病诊治及研究重点实验室, 浙江大学医学院附属第二医院呼吸与危重症医学科, 杭州 310009

摘要: 新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19)是指由新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)感染导致的肺炎。SARS-CoV-2结合细胞表面受体——血管紧张素转化酶2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)感染肺部细胞, 导致白细胞浸润, 血管和肺泡壁通透性增加, 肺表面活性物质减少, 引起呼吸系统症状。局部的炎症加重引起细胞因子风暴, 造成全身性炎症反应综合征。2019年12月, 武汉市卫生健康委员会报告了多例新型肺炎, 分离并确定了病原体SARS-CoV-2。截至2020年9月13日, 全世界216个国家或地区受累, 2 860余万人确诊COVID-19, 90余万人死于该疾病, 病死率高达3.20%。到目前为止, 尚无特效药物可治疗COVID-19, 因此解析病毒结构, 探索治疗药物显得尤其重要。本文总结了SARS-CoV-2的病毒结构和COVID-19的临床药物治疗, 并分析了他们之间可能的相关性。

关键词: 新型冠状病毒肺炎; 新型冠状病毒; 临床诊疗

中图分类号: R714.253; R373.1

Structure of SARS-CoV-2 and treatment of COVID-19

CHEN Hai-Xia, CHEN Zhi-Hua, SHEN Hua-Hao*

Key Laboratory of Respiratory Disease of Zhejiang Province, Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Second Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310009, China

Abstract: Corona virus disease 2019 (COVID-19) is a new type of coronavirus pneumonia, which is caused by infection of a novel coronavirus, SARS-CoV-2. The virus infects lung cells by binding angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) of cell surface, which leads to leukocyte infiltration, increased permeability of blood vessels and alveolar walls, and decreased surfactant in the lung, causing respiratory symptoms. The aggravation of local inflammation causes cytokine storm, resulting in systemic inflammatory response syndrome. In December 2019, a number of new pneumonia cases were reported by Wuhan Municipal Health Commission, after then a novel coronavirus was isolated and identified as SARS-CoV-2. To the date of Sep. 13th, 2020, COVID-19 is affecting 216 countries or regions, causing 28 637 952 cases, 917 417 deaths, and the mortality rate is 3.20%. This review will summarize the structure of SARS-CoV-2 and the pharmaceutical treatment of COVID-19, and their potential relationships.

Key words: COVID-19; SARS-CoV-2; clinical diagnosis and treatment

1 引言

新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19)是指由新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)感染导致的肺炎。氨基酸序列分析及系统发育分析(GISA-ID accession no. EPI_ISL_402124)表明SARS-CoV-2与SARS病毒(severe acute respiratory syndrome coro-

navirus, SARS-CoV)、MERS病毒(Middle East respiratory syndrome coronavirus, RS-CoV)同属 β 属冠状病毒^[1, 2]。

COVID-19主要表现为轻度至重度的呼吸系统症状, 重症患者通常表现为急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)和继发性噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(secondary hae-

Received 2020-04-23 Accepted 2020-09-16

*Corresponding author. E-mail: huahaoshen@zju.edu.cn

mophaocytic lymphohistiocytosis, sHLH) 导致的多系统损伤, 二者与细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS) 相关^[3]。

SARS-CoV-2 结合口腔上皮细胞、肺泡 II 型上皮细胞和其他呼吸道细胞上的受体——血管紧张素转化酶 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2) 感染细胞, 并开始复制增殖, 引起肺局部损伤, 导致白细胞趋化至感染部位、血管舒张、肺泡壁通透性增加、肺表面活性物质减少、肺泡气体交换功能丧失^[4]。此时, 患者主要表现为呼吸系统及全身症状, 如咳嗽、发烧、呼吸困难等。患者肺组织病理学检查显示弥漫性肺泡损伤并伴有肺泡 II 型上皮细胞增生、肺泡内纤维状液体渗出^[5]。肺部 CT 结果显示典型的毛玻璃样浑浊及斑片影, 间质增厚、纤维条索影和空气支气管征, 双侧受累^[5–7]。

损伤发生时, 单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞被募集至损伤部位并分泌白细胞介素 (interleukin, IL)-6、IL-8 等炎症因子, 如分泌的 IL-6 通过顺式或反式途径与细胞膜表面跨膜蛋白 gp130 结合, 在表达或不表达 IL-6 受体的细胞内激活 JAKs (Janus kinases)-STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) 信号通路或 JAKs-SHP2 (SH2 domain tyrosine phosphatase 2)-MAP (mitogen-activated protein) 激酶通路, 从而导致细胞因子风暴, 转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)、IL-17、IL-8、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等大量产生^[8], 引发全身性炎症反应。COVID-19 患者, 尤其是重症患者, 常表现为高细胞因子生产能力以及循环中迅速增高的炎症因子, 如血清中 IL-6、IL-8 增加, 趋化因子增加并伴有低水平 I 型和 III 型干扰素产生, 最终导致单核巨噬细胞招募不当, 免疫功能失调^[3, 9–11]。

截至 2020 年 9 月 13 日, 来自 WHO 的数据显示 (<https://covid19.who.int/>), 全世界共有 28 637 952 人确诊 COVID-19, 其中 917 417 人死亡, 病死率 3.20%, 216 个国家或地区受累, 带来难以想象的经济、政治、文化等多方面损失。COVID-19 目前没有特效药物, 因此, 本文试图从病毒结构基础和临床治疗两个角度以及二者可能的相互关系来阐述 COVID-19。

2 SARS-CoV-2 病毒结构

冠状病毒是一种带包膜的正链 RNA 病毒, 其

膜表面主要由 3 种结构蛋白组成: 刺突蛋白 (spike protein, S)、包膜蛋白 (envelope protein, E) 和膜蛋白 (membrane protein, M), 病毒膜内是由核衣壳蛋白 (nucleocapsid protein, N) 包裹的负责病毒繁殖的 RNA。1966 年, Tyrell 和 Bynoe 教授首次从普通感冒患者中获得这种病毒^[12]。因其形态如同球形病毒, 具有核壳和类似于太阳日冕的表面突起, 因而它们被命名为冠状病毒 (corona virus, 拉丁语中 corona 意为冠状)。冠状病毒可分为 4 个属, 即 α 、 β 、 γ 和 δ 属冠状病毒。在 β 属冠状病毒中, 影响较大的为 SARS-CoV、MERS-CoV、SARS-CoV-2, 因其结构存在相似性, 在治疗上存在借鉴意义。

病毒进入细胞并且完成复制过程主要包括以下几个步骤 (图 1): 冠状病毒表面 S 蛋白结合宿主表面受体, 并被蛋白酶, 例如丝氨酸蛋白酶 TM-PRSS2 (transmembrane protease serine 2) 活化并切割成 S₁ 和 S₂ 亚基, 从而使病毒进入细胞。然后, 冠状病毒在细胞内分解, 释放 N 蛋白和病毒 RNA, 将 ORF1a/b (open reading frame 1a/b) 翻译成多种用于基因组复制和翻译的前体蛋白。前体蛋白被胰凝乳蛋白酶样蛋白酶 (main chymotrypsin-like protease, M^{pro}) 和木瓜样蛋白酶 (papain-like protease, PL^{pro}) 裂解以产生非结构蛋白 (nonstructural proteins, NSP), 包括 RNA 依赖性 RNA 聚合酶 (RNA-dependent RNA polymerase, RdRp) 和解旋酶, 用于参与病毒复制和转录。以全长正链基因组 RNA 为模板复制形成全长负链 RNA, 用于组合成新的基因组 RNA。随后以负链 RNA 为模板合成 mRNA, 并翻译成结构蛋白和辅助蛋白。N 蛋白和基因组 RNA 组装成螺旋核衣壳与其他结构蛋白形成病毒, 通过胞吐作用释放到胞外^[13]。

目前针对 SARS-CoV-2 的研究主要集中于以下几种蛋白。

2.1 S 蛋白或 S 糖蛋白

冠状病毒进入宿主细胞是由跨膜 S 糖蛋白介导的, 因而 S 蛋白的结构解析和其与目标细胞结合的机制研究对于疫苗研制、治疗性抗体和诊断有重大意义^[13]。Wrapp 等人首先通过冷冻电子显微镜获得 S 蛋白 3.5 Å 分辨率的三维融合前构象, 其主要状态是从病毒表面突出形成三聚体结构, 其中一个受体结合域 (receptor binding domain, RBD) 以受体可结合构象向上旋转^[14]。在感染过程中, 宿主细胞蛋白酶在 S1/S2 切割位点处理三聚体形式的 S 蛋白,

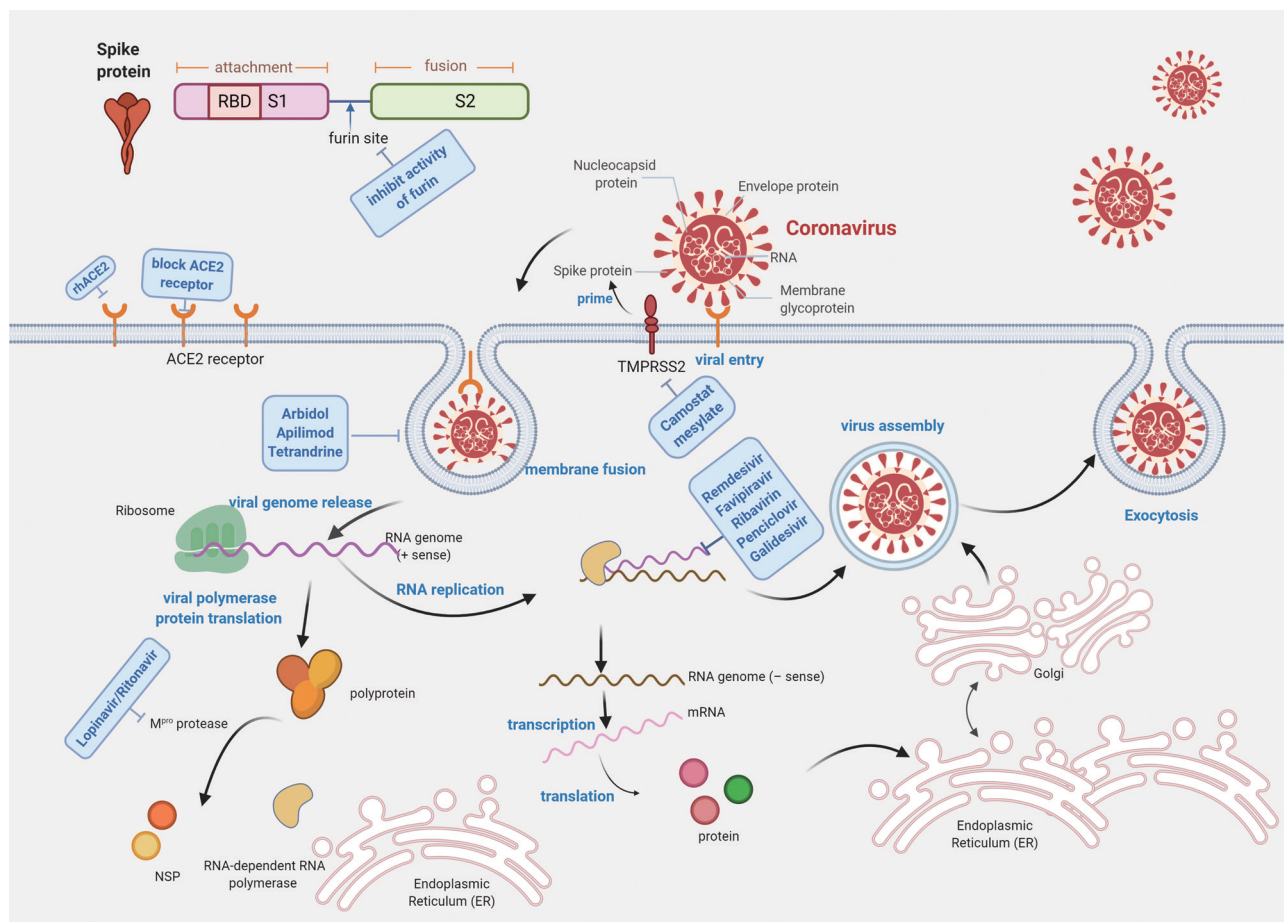


图 1. SARS-CoV-2的复制与治疗药物

Fig. 1. SARS-CoV-2 replication cycle and therapeutic drugs. The structure of SARS-CoV-2 contains spike proteins (protrude from the virus surface), envelope proteins and membrane glycoproteins (transmembrane glycoproteins), nucleocapsid proteins (package of the RNA) and other non-structural proteins. The spike proteins consist of two parts: attachment S1, fusion S2, and a specific site-furin site which is cleaved by protease furin. Then spike protein binds to ACE2 receptor, priming by TMPRSS2, mediating virus entry and membrane fusion. Then the RNA genome (+ sense) is translated into polyproteins, which are cleaved into RdRp to form RNA replicase-transcriptase complex. Those complex drives the production of RNA genome (- sense). The negative-sense RNA works as templates to produce mRNA and positive-sense RNA. mRNA is translated into proteins, which are assembled into structural proteins, packing RNA in the form of new virus. The present therapeutic drugs were designed to inhibit these important processes, such as the combination of virus and ACE2, the viral membrane fusion, the synthesis of RNA and translation and mature of proteins, hoping to protect cell against virus-induced distinct types of damage. ACE2, angiotensin-converting enzyme 2; TMPRSS2, transmembrane protease serine 2; RdRp, RNA-dependent RNA polymerase; NSP, non-structural proteins.

切割后 (也称为启动或激活), 该蛋白质被分为一个 N 末端 S_1 胞外域 (S_1 亚基, 该结构域识别相关的细胞表面受体) 和一个 C 末端 S_2 膜锚定的蛋白质 (S_2 亚基), 与细胞膜融合, 参与病毒进入^[15]。Yan 等进一步研究解析了由中性氨基酸转运体 B^0AT1 稳定的人 ACE2 与 S 蛋白结合的结构, 发现 ACE2- B^0AT1 复合体形成异二聚体结构, 在这个过程中 B^0AT1 本身不参与二聚化, ACE2 的胞外肽酶结构域主要通过极性残基识别 RBD, 而二聚体 ACE2 可

以容纳两个 S 蛋白三聚体^[16]。体外研究和结构分析等都提示 SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 的 S 蛋白共用同样的细胞受体——ACE2^[2, 17-20], 而不使用其他目前已知的冠状病毒受体, 如氨基肽酶 N 和二肽基肽酶 4 等^[2, 19]。研究人员通过表面等离子共振技术量化 ACE2 与病毒相互作用的动力学, 发现 ACE2 可与 SARS-CoV-2 胞外区结合, 亲和力比 ACE2 与 SARS-CoV 结合高 4~10 倍^[14, 21]。类似的研究也显示, ACE2 和 SARS-CoV-2 RBD 结合的平衡解离常数为

4.7 nmol/L, 而与 SARS-CoV RBD 结合的平衡解离常数为 31 nmol/L^[22]。SARS-CoV-2 与 ACE2 的高亲和力结合可能是该病毒传染性强的原因之一。

S 蛋白结合 ACE2 需要细胞 TMPRSS2 启动, 因而可以被 TMPRSS2 抑制剂所阻断^[20], 并且在 S₁ 和 S₂ 之间存在一个与其他冠状病毒截然不同的福林蛋白酶 (furin) 切割位点^[17, 23]。通常 furin 高表达于肺部, 是呼吸道病毒进入细胞的原因之一^[24, 25], furin 切割位点活化 S 蛋白是病毒感染倾向性和致病性的关键因素之一^[26], 与其裂解特异性的病毒包膜糖蛋白有关, 可增强病毒与宿主细胞膜的融合, 增强病毒感染能力^[27], 如人类冠状病毒 OC43 (human coronavirus OC43, HCoV-OC43) 的 furin 位点降低了其神经毒性, 但潜在地改变了病毒的传播方式^[28], MERS-CoV furin 位点增强了病毒的感染能力, 降低了病毒进入宿主细胞对低 pH 值的需要^[29]。

Ou 等使用假病毒颗粒模拟感染过程, 结果显示, 当 S 蛋白被切割活化后, SARS-CoV-2 通过胞吞作用进入细胞, 在此过程中, 磷脂酰肌醇 3-磷酸 5-激酶 (phosphatidylinositol 3-phosphate 5-kinase, PIKfyve) 用于早期的磷酸肌醇 (与内体成熟有关) 合成, 而溶酶体中的通道蛋白 TPC2 则是下游效应器, 但是需要注意的是, 即使没有蛋白酶, 合胞体依然可以形成^[18]。

2.2 RdRp

RNA 病毒在复制中需要自身编码的 RdRp 来复制基因组 RNA, 完成后续的病毒复制过程。RdRp, 又称 NSP12, 在病毒复制和转录过程中占据了核心位置之一, 它参与选择模板 RNA 和 RNA 合成起始位点, 启动或维持 RNA 合成的延伸, 正确区分基因组 RNA 复制与 mRNA 转录, 修饰产物 RNA 5' 帽或 3' 聚腺苷酸尾, 并具有其他功能, 如 RNA 沉默^[30]。此前的研究显示, 在 SARS-CoV 中, NSP7 和 NSP8 为辅助因子, 形成 NSP7/NSP8/NSP12 复合物^[31]。

研究人员通过冷冻电子显微镜的方式, 确定了 NSP12 和其辅助因子的结构, NSP12 包括了右侧的 RdRp 结构域和与 nidovirus RdRp 相关的核苷酸转移酶 (NiRAN) 特征结构域, 在其 N 端还有一个独特的 β 发卡结构域, 同时, NSP12 与 NSP7、NSP8 组成了转录复制的核心机器^[32]。后续的研究显示, 该复合物呈载体蛋白形式, NSP12 的催化活性位点由 7 个保守基序组成, 29 个氨基酸残基直接参与模

板链 RNA 结合, 而 NSP7、NSP8 并未直接介导 RNA 的相互作用^[19]。进一步的研究显示, 复合物参与两轮以上的 RNA 模板产物, NSP12 的活性位点缺口结合第一轮复制的 RNA, 并通过保守残基介导 RdRp 活性, NSP8 结合至活性位点对位, 并定位第二个 RNA。NSP8 结构中的长螺旋部分沿着 RNA 双链体从 RdRp 退出的一侧伸出, 形成带正电荷的“滑动电极”, NSP8 和 NSP7 赋予了 NSP12 对 RNA 的可加工性^[33]。

2.3 M^{pro}蛋白酶

另外一个研究热门的蛋白酶则是在 NSP4–11/16 之间的 M^{pro}^[34]。与木瓜蛋白酶相似, 该蛋白酶对于病毒 RNA 翻译成多蛋白过程至关重要^[35], 包括自动加工 NSP4–5 和 NSP5–6 的多蛋白成熟以及浓度和底物诱导的自组装成活性二聚体单元^[36, 37]。研究人员通过对人冠状病毒晶体结构、SARS-CoV M^{pro} 同源性模型的研究发现, SARS-CoV-2 M^{pro} 与 SARS-CoV 高度相似, 其底物结合位点非常保守, 形成相互垂直的二聚体结构, 在其 A 分子的结构域 II 和 B 分子的 NH₂ 末端残基间存在接触界面^[38]。考虑到通常情况下, M^{pro} 其底物 P1 位点需要谷氨酰胺, 而在人体的同类型蛋白酶中不存在此特异性, 是良好的药物构建靶点, 并且能排除大部分副作用^[35]。同时, 基于 SARS-CoV 的研究显示, M^{pro} 在不同 pH 值下, 其晶体结构不同, 在 pH 7.3–8.5 结构中具有高活性^[39]。

3 COVID-19临床特征与诊断

3.1 临床症状

COVID-19 患者是否具有性别差异, 目前尚未有定论, 大样本分析显示, 似乎此种差异较小 (51.4% 为男性)^[40]。尽管该疾病中位年龄或平均患病年龄在各个研究报道中有所不同, 包括 47 岁^[41]、49 岁^[42]、55 岁^[43], 但基本集中于 40–60 岁之间。

患者一般在患病 2 周内进展, 发烧、咳嗽、呼吸困难为主要症状^[41, 44]。此外, 肌肉疼痛、乏力、吐痰也较为常见^[42, 44, 45], 较少见的症状是鼻塞、喉咙痛、头痛、咯血和腹泻, 部分患者出现肾损伤以及急性心肌损伤^[41, 42, 46, 47]。

3.2 一般检查

COVID-19 的临床特征为白蛋白降低、淋巴细胞减少, C 反应蛋白、乳酸脱氢酶、血沉升高^[41, 44]。

肺部主要影像学特征为毛玻璃样浑浊及斑片

影，常见于双侧肺中部和下部^[6, 48-50]。进展过程中可出现纤维条索影和空气支气管征^[7, 48]。重症患者可出现白肺，但皮下气肿一般少见^[49]。

肺组织病理学检查主要表现为肺泡上皮细胞增生并伴有透明膜形成，肺泡内存在渗出性炎和间质炎^[5, 51]。

此外，患者脾脏淋巴细胞减少，骨髓三系细胞减少，肝脏、脾脏、胃肠道可见部分破坏，但这些部位均未检测到 SARS-CoV-2^[51]。

3.3 诊断标准

根据中国发布的 COVID-19 诊疗方案（试行第七版）(<http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202003/46c9294-a7dfe4cef80dc7f5912eb1989/files/ce3e6945832a438-eaae415350a8ce964.pdf>) 和 WHO 发布的诊断标准 (<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance>)，有流行病学史且符合临床表现，可以判为疑似病例，而确诊病例需要有病原学或血清学证据，如逆转录聚合酶链反应 (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 检测阳性、病毒基因测序与已知序列高度同源、特异性抗体 IgM 和 IgG 阳性。

4 COVID-19治疗

目前尚无批准用于治疗人类冠状病毒的药物，但目前登记在 WHO 约有 665 项药物试验，其中 561 项药物试验与中国相关，美国 9 项，伊朗 8 项，法国 7 项，英国 4 项。

基于干扰病毒识别 ACE2 进入细胞，抑制 RNA 复制合成、蛋白质翻译等生物学过程以及广谱抗病毒等不同策略，将治疗 COVID-19 的药物分为以下几类（图 2）。

4.1 抑制病毒识别宿主 ACE2

按照 SARS-CoV-2 进入细胞需要 S 蛋白与 ACE2 结合，并且 S 蛋白无活性，需经过切割活化，将其分为以下几类。

4.1.1 阻断 ACE2 受体

由于 ACE2 与 SARS-CoV-2 相结合，并且其结合能力是 SARS-CoV 的数倍以上。既往研究已经表明，SARS-CoV 通过 S 蛋白结合 ACE2，下调 ACE2 表达，从而引起肺损伤^[52, 53]。因此可以通过抗体或者小分子抑制剂竞争性拮抗该受体靶位。例如 SARS-CoV S 蛋白介导的多克隆抗体可以中和 SARS-CoV-2 S 蛋白介导的进入宿主细胞效应^[17]。

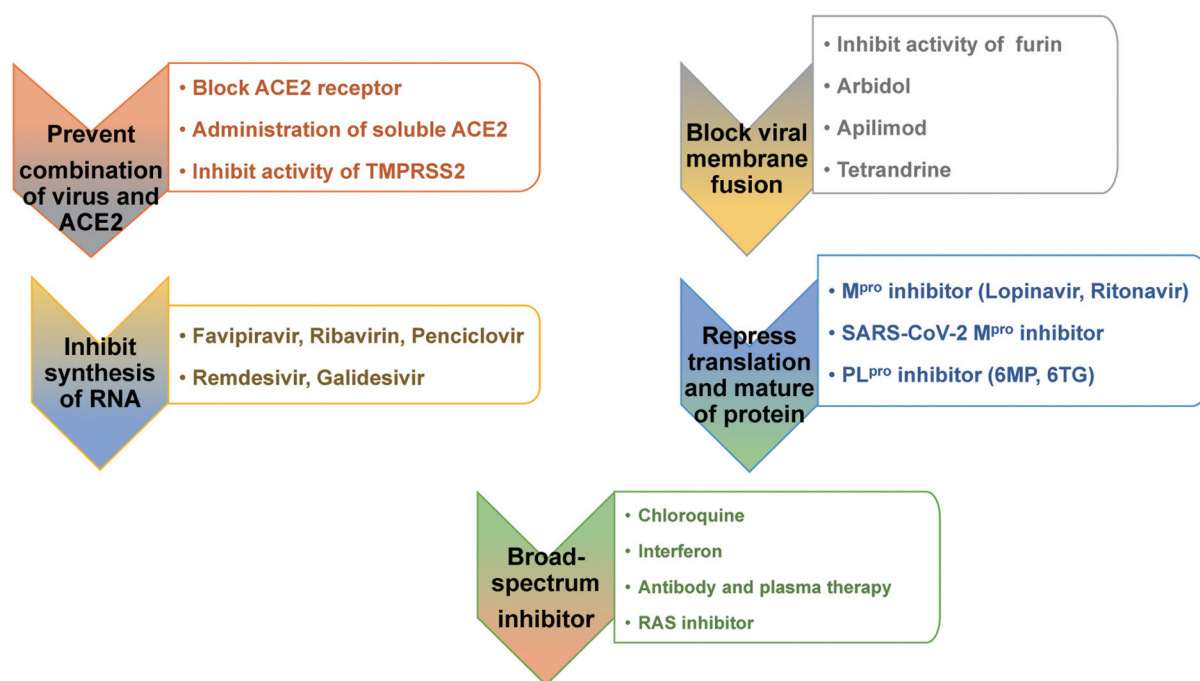


图 2. COVID-19治疗药物分类

Fig. 2. Classification of therapeutic drugs of COVID-19. ACE2, angiotensin-converting enzyme 2; TMPRSS2, transmembrane protease serine 2; M^{pro}, main chymotrypsin-like protease; PL^{pro}, papain-like protease; 6MP, 6-mercaptopurine; 6TG, 6-thioguanine; RAS, renin-angiotensin system.

但也有研究表明, SARS-CoV 多克隆抗体能抑制 SARS-CoV S 蛋白进入细胞, 但不能抑制 SARS-CoV-2 S 假病毒颗粒^[18]。

4.1.2 外源性给予可溶性ACE2

ACE2 是一种膜结合酶, 其可溶性形式在血液含量极低^[54]。过量的 ACE2 能中和 SARS-CoV-2 表面的 S 蛋白从而抑制病毒进入细胞。研究显示, 使用人重组可溶性 ACE2 抑制病毒附着于细胞上, 并且能抑制人类毛细血管样类器官和肾脏类器官的病毒感染^[55]。同时, 外源性给予 ACE2 能负向调节肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS), 缓解肺损伤^[53]。ACE2 敲除而不是 ACE 敲除可以加剧吸入酸性物质和败血症引起的小鼠肺损伤, 给予外源性重组人 ACE2 对小鼠有明显保护作用^[56]。但是也有研究表明, 外源性补充 ACE2, 如 GSK2586881, 对 ARDS 患者的氧合指数、器官功能衰竭等没有明显作用^[57]。

4.1.3 抑制TMPRSS2活性

基于 S 蛋白结合 ACE2 本身不存在活性位点, 需 TMPRSS2 启动^[20, 58], 因此, TMPRSS2 抑制剂, 如卡莫司他, 是一种有效的丝氨酸蛋白酶抑制剂, 已经在体外实验中证明了有效性, 其可以显著降低细胞内 SARS-CoV-2 的表达, 减少病毒进入细胞, 半最大效应浓度 (concentration for 50% of maximal effect, EC₅₀) 为 1 μmol/L^[20]。来自于 ClinicalTrials.gov 的数据显示, 目前关于卡莫司他有 12 项临床试验 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=camostat+mesilate&term=&cntry=&state=&city=&dist=>)。

4.2 抑制病毒膜融合

S 蛋白 S₁ 和 S₂ 之间存在特殊切割位点——furin 位点。细胞蛋白酶 furin 可以在此位点切割 S 蛋白, 该切割对于 S 蛋白介导的病毒与细胞融合并进入人肺细胞至关重要^[59]。此前已有研究提示, 抑制 furin 可有效抑制病毒复制。如 furin 抑制剂可以抑制登革热病毒 (Dengue virus, DENV) 和西尼罗河病毒 (West Nile virus, WNV) 的复制^[60], 拟肽 furin 抑制剂 MI-701 和奥司他韦、利巴韦林等联用可以阻断高致病性禽流感病毒 (highly pathogenic avian influenza viruses, HPAIV) 繁殖, 并延迟细胞对奥司他韦的耐药^[61]。由于 furin 参与多种细胞功能途径, 药物应该避免产生系统性抑制以及额外的细胞毒性。

阿比朵尔 (arbidol) 是一种吡啶衍生物, 结合在血凝素 (hemagglutinin, HA) 三聚体的疏水腔, 该疏

水腔位于中和抗体结合抗原保守表位的远端, 阿比朵尔可以与结合位点形成疏水作用, 并且导致某些构象重排, 例如盐桥产生, 从而稳定 HA 融合前构象, 抑制病毒介导的膜融合, 抑制病毒进入细胞^[62], 因而被广泛应用于流感病毒的预防。阿比朵尔治疗组 (12 名患者) 比起未使用组 (6 名患者), 患者死亡率降低^[63]。此外, 单一治疗组 (17 名患者) 与阿比朵尔和洛匹那韦/利托那韦联合治疗组 (16 名患者) 比较, 后者在病毒 RNA 负荷、临床症状等方面都得到了明显的改善^[64]。但此类实验都为小样本。并存在一定偏倚性。来自于 ClinicalTrials.gov 的数据显示, 目前关于阿比朵尔有 14 项临床试验 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=Arbidol+&cntry=&state=&city=&dist=>), 其中中国有 9 项 (NCT03787459, NCT03851991, NCT04260594, NCT04252885, NCT04273763, NCT04286503, NCT04333589, NCT04306497, NCT04261907)。

虽然已有研究显示, SARS-CoV-2 需要通过胞吞进入细胞, 其中 PIKfyve 抑制剂 apilimod、TPC2 抑制剂 tetrandrine 在体外都有良好的作用效果, 但是并没有明确的体内数据及临床实证^[18]。

4.3 抑制病毒RNA合成

腺嘌呤或鸟嘌呤衍生物形式的核苷类似物能靶向结合 RdRp, 广谱地阻断病毒新生 RNA 链合成, 减少病毒复制, 通常对多种冠状病毒或者其他病毒具有广谱活性^[65]。已被批准使用的核苷类似物法匹拉韦 (favipiravir)、利巴韦林 (ribavirin)、喷昔洛韦 (penciclovir) 和在试验中的类似物瑞德西韦 (remdesivir)、加利地西韦 (galidesivir) 被认为是有希望的治疗药物。多项分子对接研究均显示, 该类核苷类似物能结合 SARS-CoV-2 RdRp, 阻断 RNA 复制转录过程^[66, 67]。体外实验表明核苷类似物利巴韦林 [EC₅₀ = 109.50 μmol/L, 半数细胞毒性浓度 (half-cytotoxic concentration, CC₅₀) > 400 μmol/L, 选择指数 (selectivity index, SI) > 3.65]、喷昔洛韦 (EC₅₀ = 95.96 μmol/L, CC₅₀ > 400 μmol/L, SI > 4.17) 和法匹拉韦 (EC₅₀ = 61.88 μmol/L, CC₅₀ > 400 μmol/L, SI > 6.46) 能有效减少病毒感染^[68]。

瑞德西韦是一种腺苷类似物, 可以整合到新生的病毒 RNA 链并导致其过早终止^[69]。研究显示, 在病毒 RNA 复制的第一个碱基对处, 瑞德西韦共价结合到病毒 RNA 引物链 3' 端, 引起非专性 RNA 链终止, 抑制病毒 RdRp 活性^[70]。体外实验表明,

瑞德西韦 $EC_{50} = 0.77 \mu\text{mol/L}$, $CC_{50} > 100 \mu\text{mol/L}$, $SI > 129.87$ 。之前的研究显示, 在恒河猴模型中 10 mg/kg 静脉输注瑞德西韦可维持血液活性形式在 $10 \mu\text{mol/L}$, 并显著减少埃博拉病毒感染^[50, 69]。瑞德西韦目前的有效性尚有争议, 一项基于 61 例患者的单臂同情用药研究显示, 68% 患者得到临床改善^[71], 另一项同情用药也显示, 使用瑞德西韦能使 ICU 以外的住院患者获益^[72]。基于 397 名患者的随机、开放性研究显示, 瑞德西韦 5 天疗程和 7 天疗程没有明显差异, 但由于该试验没有安慰剂对照组, 无法确定获益程度^[72]。但在随机对照试验 (randomized controlled trial, RCT) 研究方面, 不同研究团队给出了结果。基于 1 063 名患者的研究结果显示, 瑞德西韦较安慰剂缩短了患者的康复时间^[73], 而另一项 237 名患者的 RCT 研究显示, 瑞德西韦对于重症患者无明显改善^[74]。该药物目前已有 49 项临床试验 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=remdesivir&cntry=&state=&city=&dist=>), 其中中国有两项 (NCT04252664, NCT04257656)。

4.4 抑制翻译成熟过程

M^{pro} 与 PL^{pro} 可以加工非结构蛋白成熟, 从而参与后续的 RNA 转录与翻译过程。而 SARS-CoV-2 M^{pro} 与 SARS-CoV M^{pro} 存在高度相似, 因此可依据 SARS-CoV M^{pro} 设计筛选药物。目前已批准使用的 M^{pro} 蛋白酶抑制剂主要包括洛匹那韦利托那韦片 (lopinavir/ritonavir) 等, 因其对 SARS-CoV 和 MERS-CoV 具有抗病毒活性, 被认为是目前可能的潜在治疗手段。

洛匹那韦和利托那韦是人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 天冬氨酸蛋白酶抑制剂, 二者联用可以抑制 SARS-CoV M^{pro} , 抑制病毒 RNA 翻译形成的多蛋白的后续加工过程^[75]。在治疗 COVID-19 方面, 一项来自新加坡的经验治疗显示, 5 名需要吸氧的患者接受洛匹那韦利托那韦片治疗后, 3 名患者出现症状缓解, 2 名出现恶化^[76]。早期给予洛匹那韦利托那韦片治疗能缩短病毒脱落时间^[48]。但进一步的双盲随机试验显示, 洛匹那韦利托那韦片组 (99 例) 和标准治疗组 (100 例) 临床改善或死亡率、病毒 RNA 负荷无明显区别, 而由于不良反应, 13.8% 洛匹那韦利托那韦片治疗组患者早期即停用该药物^[77]。但是需要注意的是, 由于该研究总体死亡率高于一般住院 COVID-19 患者死亡率, 提示该试验招募了大量的重症患者, 可

能对结果产生影响^[77]。多项研究表明, 洛匹那韦利托那韦片、干扰素 1β 、利巴韦林三联用药较单独用药效果更佳^[78, 79]。同时, 鉴于 HIV 和 SARS-CoV-2 具有不同的 M^{pro} , 其特异性与实用性受到质疑。洛匹那韦利托那韦片现有 85 项临床试验 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=COVID&term=lopinavir%2Fritonavir&cntry=&state=&city=&dist=>), 其中中国有 8 项 (NCT04255017, NCT04286503, NCT04261907, NCT04295551, NCT04275388, NCT04251871, NCT04276688, NCT04306497)。

另一种潜在的蛋白酶抑制剂是靶向性 SARS-CoV-2 M^{pro} 的抑制剂, 此类抑制剂由于人体内不存在对应作用位点, 不太可能有毒性。多种带有亲电部位的拟肽类药物, 如某些醛类、 α 、 β - 环氧酮 (Michael 受体复合物)、腈类、邻苯二甲酰酮类可能抑制 M^{pro} 半胱氨酸活性位点^[35]。同时, 研究人员改良了 α - 酮酰胺抑制剂, 将 P3-P2 酰胺键隐藏在吡啶酮环内以提高半衰期, 并引入疏水性较小的基团增强其溶解度, 并为此构建了 13a、13b、13c 等化合物, 结果显示, 化合物 13b 在 $20 \mu\text{mol/L}$ 时即可完全抑制病毒在细胞中复制 [半抑制浓度 (50% inhibiting concentration, IC_{50}) = $(0.67 \pm 0.18) \mu\text{mol/L}$], 并且可在肺中长时间停留, 应用于小鼠未显示不良反应^[38]。但由于该类物质尚未经过临床检验, 其应用仍有很长的路要走。

此外, PL^{pro} 蛋白酶不仅参与病毒蛋白翻译成熟过程, 而且具有去泛素化酶活性, 可以抑制宿主免疫应答, 抑制 PL^{pro} 活性的相关蛋白酶^[80], 如 6- 巯基嘌呤 (6-mercaptopurine, 6MP) 和 6- 巯鸟嘌呤 (6-thioguanine, 6TG) 可在体外抑制 MERS-CoV 蛋白酶活性^[81], SARS-CoV PL^{pro} 抑制剂在体外能有效抑制 SARS-CoV-2 复制^[80]。但由于 SARS-CoV-2 的 PL^{pro} 晶体结构尚未正式获得, 目前其能否应用至 COVID-19 的治疗仍存在异议。

4.5 广谱类

4.5.1 氯喹

氯喹 (chloroquine) 是一种广泛使用的抗疟疾和自身免疫性疾病药物, 最近被报道是潜在的广谱抗病毒药物。有研究表明, 氯喹能有效地抑制禽流感病毒 H5N1、乙型流感病毒等复制^[82]。

但是对于氯喹的抗病毒作用机制目前仍未有定论, 包括抑制醌还原酶从而抑制唾液酸形成, 减少病毒与 ACE2 结合^[83]; 提高溶酶体的 pH 值, 从而

抑制病毒的内吞作用进入细胞^[83]；抑制多种免疫学过程，例如抑制抗原提呈，抑制促炎细胞因子分泌，抑制 Toll 样受体等从而缓解了 ARDS 症状^[84]。体外实验表明，氯喹对 SARS-CoV-2 的 EC_{50} 为 6.90 $\mu\text{mol/L}$ ，并且在病毒进入细胞阶段和进入细胞以后都有一定的作用^[68]。但体外的多组临床研究都提示，氯喹对患者的预后无明显帮助^[85–87]。基于 14 888 名患者的多中心研究显示，无论是氯喹还是羟氯喹，都无法确定是否对患者结局有益处，但该研究由于样本信息提供不足被撤回^[88]。目前有 72 项关于氯喹的临床试验 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=covid&term=chloroquine&cntry=&state=&city=&dist=>)，其中中国有 2 项 (NCT04286503, NCT04306497)。

4.5.2 干扰素

干扰素 (interferon) 是有效的细胞因子，在控制病毒感染和引发适应性免疫应答中起了重要作用。I 型干扰素可以有效抑制 MERS-CoV、SARS-CoV 复制，其作用在体外模型和小鼠及恒河猴模型中都得到了验证^[89, 90]。而 II 型干扰素虽然具有一定的抗病毒活性，但与 I 型相比，它更像是一种免疫调节剂^[91]。

I 型干扰素具有全面的抗病毒活性，包括抵抗病毒进入、病毒聚合酶功能、宿主细胞蛋白翻译、RNA 使用、RNA 稳定性等，也增强了宿主本身的先天性和适应性免疫。同时，有研究表明，SARS-CoV 会抑制 I 型干扰素的产生，从而导致肺中促炎性单核巨噬细胞和细胞因子活化，造成肺损伤，并且病毒也会抑制干扰素信号传导，增强干扰素抵抗性^[92]。因此，中国第七版《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》提议将洛匹那韦利托那韦片与干扰素联合使用治疗 COVID-19。但是多数研究中所有患者都接受了干扰素治疗^[93, 94]，无法判断疗效是来自干扰素还是其他药物又或者是病程本身转归的作用。

4.5.3 抗体和血浆疗法

此前已有研究显示，输注恢复期患者血浆和 / 或抗体可能治疗埃博拉病毒病^[95]，流感病毒感染^[96, 97]、SARS-CoV 感染^[98]等。该疗法的优点在于，如果恢复期的患者拥有足够高的抗体滴度并且愿意捐献血液，其应用门槛低，并且合理、安全。依据 32 项关于 SARS 或严重流感研究的荟萃分析显示，使用恢复期血浆后，患者死亡率显著降低^[98]，但是这些研究的质量通常被评价为低或者非常低，并且没有对照组，偏倚性风险高。目前有一项研究显示，

5 名重症患者接受恢复期患者血浆输血，其 SARS-CoV-2 特异性抗体 (IgG) 结合效价大于 1:1 000，中和效价大于 40，输血后 12 天内病毒载量变为阴性，4 名患者 ARDS 症状消失，提示输注恢复期患者的血浆可能部分治疗重症患者^[99]，另一项小样本研究也有此结论^[100]，但该疗法仍需在临床中进一步完善。

4.5.4 RAS 抑制剂

目前有部分假设认为，由于 SARS-CoV-2 受体结构域为 ACE2，ACE2 被耗尽导致 RAS 系统失衡，引起多系统炎症。RAS 抑制剂，例如 ACE1 抑制剂和血管紧张素 I 型受体 (angiotensin receptor 1, AT1R) 抑制剂可以在控制血压的情况下用于治疗 COVID-19 患者，特别是合并基础疾病，如高血压、糖尿病、冠心病等，并可能降低肺部的炎症反应和死亡率^[101, 102]。但是有研究表明，AT1R 抑制剂奥美沙坦可能会独立提高患者尿液 ACE2 水平^[103]，氯沙坦会增加大鼠肾脏 ACE2 表达^[104]。因此患者处于罹患 COVID-19 风险增加和免受急性肺损伤的动态平衡中，但是对于合并高血压、糖尿病、冠心病等重症患者，可以尝试使用 RAS 抑制剂保持 RAS 稳态^[101, 105]。

5 展望与未来

自 2019 年 12 月开始流行的 COVID-19 仍处于全世界范围大流行中，其病死率从 1%~12% 不等。我们需要面对的问题还很多，特殊的 furin 位点是否是 SARS-CoV-2 强传染性原因之一？S 蛋白触发的细胞内吞作用是否确实可不依赖蛋白酶？SARS-CoV-2 PL^{pro} 结构是否与 SARS-CoV、MERS-CoV 相似？部分基于小样本研究的治疗方法，如血浆与抗体输注、干扰素等能否通过临床 RCT 研究？以及目前所有人最为关注的问题，COVID-19 的疫苗和特效药究竟何时能够研制成功并投入临床使用？我们需要警惕的是，在没有疫苗的前提下，或出现病毒的亚型和变异，SARS-CoV-2 可能会卷土重来，甚至成为季节性流行病。

参考文献

- 1 Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, Si HR, Zhu Y, Li B, Huang CL, Chen HD, Chen J, Luo Y, Guo H, Jiang RD, Liu MQ, Chen Y, Shen XR, Wang X, Zheng XS, Zhao K, Chen QJ, Deng F, Liu LL, Yan B, Zhan FX, Wang YY, Xiao GF, Shi ZL. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*

- 2020; 579(7798): 270–273.
- 2 Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, Wang W, Song H, Huang B, Zhu N, Bi Y, Ma X, Zhan F, Wang L, Hu T, Zhou H, Hu Z, Zhou W, Zhao L, Chen J, Meng Y, Wang J, Lin Y, Yuan J, Xie Z, Ma J, Liu WJ, Wang D, Xu W, Holmes EC, Gao GF, Wu G, Chen W, Shi W, Tan W. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 2020; 395(10224): 565–574.
- 3 Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, Uhl S, Hoagland D, Møller R, Jordan TX, Oishi K, Panis M, Sachs D, Wang TT, Schwartz RE, Lim JK, Albrecht RA, Tenover BR. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. *Cell* 2020; 181(5): 1036–1045.e9.
- 4 Akhmerov A, Marbán E. COVID-19 and the heart. *Circ Res* 2020; 126(10): 1443–1455.
- 5 Zhang H, Zhou P, Wei Y, Yue H, Wang Y, Hu M, Zhang S, Cao T, Yang C, Li M, Guo G, Chen X, Chen Y, Lei M, Liu H, Zhao J, Peng P, Wang CY, Du R. Histopathologic changes and SARS-CoV-2 immunostaining in the lung of a patient with COVID-19. *Ann Intern Med* 2020; 172(9): 629–632.
- 6 Chen T, Wu D, Chen H, Yan W, Yang D, Chen G, Ma K, Xu D, Yu H, Wang H, Wang T, Guo W, Chen J, Ding C, Zhang X, Huang J, Han M, Li S, Luo X, Zhao J, Ning Q. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ* 2020; 368: m1091.
- 7 Xiong Y, Sun D, Liu Y, Fan Y, Zhao L, Li X, Zhu W. Clinical and high-resolution CT features of the COVID-19 infection: Comparison of the initial and follow-up changes. *Invest Radiol* 2020; 55(6): 332–339.
- 8 Kang S, Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Targeting interleukin-6 signaling in clinic. *Immunity* 2019; 50(4): 1007–1023.
- 9 Zhang X, Tan Y, Ling Y, Lu G, Liu F, Yi Z, Jia X, Wu M, Shi B, Xu S, Chen J, Wang W, Chen B, Jiang L, Yu S, Lu J, Wang J, Xu M, Yuan Z, Zhang Q, Zhang X, Zhao G, Wang S, Chen S, Lu H. Viral and host factors related to the clinical outcome of COVID-19. *Nature* 2020; 583(7816): 437–440.
- 10 Acharya D, Liu G, Gack MU. Dysregulation of type I interferon responses in COVID-19. *Nat Rev Immunol* 2020; 20(7): 397–398.
- 11 Giamarellos-Bourboulis EJ, Netea MG, Rovina N, Akino-soglou K, Antoniadou A, Antonakos N, Damoraki G, Gkavogianni T, Adami ME, Katsaounou P, Ntaganou M, Kyriakopoulou M, Dimopoulos G, Koutsodimitropoulos I, Velissaris D, Koufargyris P, Karageorgos A, Katrini K, Lekakis V, Lupse M, Kotsaki A, Renieris G, Theodoulou D, Panou V, Koukaki E, Koulouris N, Gogos C, Koutsoukou A. Complex immune dysregulation in COVID-19 patients with severe respiratory failure. *Cell Host Microbe* 2020; 27(6): 992–1000.e3.
- 12 Tyrrell DA, Bynoe ML. Cultivation of viruses from a high proportion of patients with colds. *Lancet* 1966; 1(7428): 76–77.
- 13 Zumla A, Chan JF, Azhar EI, Hui DS, Yuen KY. Coronaviruses - drug discovery and therapeutic options. *Nat Rev Drug Discov* 2016; 15(5): 327–347.
- 14 Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, Graham BS, McLellan JS. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* 2020; 367(6483): 1260–1263.
- 15 Tortorici MA, Veisler D. Structural insights into coronavirus entry. *Adv Virus Res* 2019; 105: 93–116.
- 16 Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science* 2020; 367(6485): 1444–1448.
- 17 Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veisler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell* 2020; 181(2): 281–292.e6.
- 18 Ou X, Liu Y, Lei X, Li P, Mi D, Ren L, Guo L, Guo R, Chen T, Hu J, Xiang Z, Mu Z, Chen X, Chen J, Hu K, Jin Q, Wang J, Qian Z. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat Commun* 2020; 11(1): 1620.
- 19 Yin W, Mao C, Luan X, Shen DD, Shen Q, Su H, Wang X, Zhou F, Zhao W, Gao M, Chang S, Xie YC, Tian G, Jiang HW, Tao SC, Shen J, Jiang Y, Jiang H, Xu Y, Zhang S, Zhang Y, Xu HE. Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from SARS-CoV-2 by remdesivir. *Science* 2020; 368(6498): 1499–1504.
- 20 Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu N-H, Nitsche A, Müller MA, Drosten C, Pöhlmann S. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 2020; 181(2): 271–280.e8.
- 21 Wang Q, Zhang Y, Wu L, Niu S, Song C, Zhang Z, Lu G, Qiao C, Hu Y, Yuen KY, Wang Q, Zhou H, Yan J, Qi J. Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2. *Cell* 2020; 181(4): 894–904.e9.
- 22 Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, Zhang Q, Shi X, Wang Q, Zhang L, Wang X. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature* 2020; 581(7807): 215–220.
- 23 Coutard B, Valle C, De Lamballerie X, Canard B, Seidah NG, Decroly E. The spike glycoprotein of the new corona-

- virus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res* 2020; 176: 104742.
- 24 Bassi DE, Zhang J, Renner C, Klein-Szanto AJ. Targeting proprotein convertases in furin-rich lung cancer cells results in decreased *in vitro* and *in vivo* growth. *Mol Carcinog* 2017; 56(3): 1182–1188.
 - 25 Mbikay M, Sirois F, Yao J, Seidah NG, Chrétien M. Comparative analysis of expression of the proprotein convertases furin, PACE4, PC1 and PC2 in human lung tumours. *Br J Cancer* 1997; 75(10): 1509–1514.
 - 26 Millet JK, Whittaker GR. Host cell proteases: Critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Res* 2015; 202: 120–134.
 - 27 Izaguirre G. The proteolytic regulation of virus cell entry by furin and other proprotein convertases. *Viruses* 2019; 11(9): 837.
 - 28 Le Coupanec A, Desforges M, Meessen-Pinard M, Dubé M, Day R, Seidah NG, Talbot PJ. Cleavage of a neuroinvasive human respiratory virus spike glycoprotein by proprotein convertases modulates neurovirulence and virus spread within the central nervous system. *PLoS pathogens* 2015; 11(11): e1005261.
 - 29 Millet JK, Whittaker GR. Host cell entry of Middle East respiratory syndrome coronavirus after two-step, furin-mediated activation of the spike protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(42): 15214–15219.
 - 30 Ahlquist P. RNA-dependent RNA polymerases, viruses, and RNA silencing. *Science* 2002; 296(5571): 1270–1273.
 - 31 Subissi L, Posthuma CC, Collet A, Zevenhoven-Dobbe JC, Gorbalenya AE, Decroly E, Snijder EJ, Canard B, Imbert I. One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(37): E3900–E3909.
 - 32 te Velthuis AJW, Arnold JJ, Cameron CE, Van Den Worm SHE, Snijder EJ. The RNA polymerase activity of SARS-coronavirus nsp12 is primer dependent. *Nucleic Acids Res* 2010; 38(1): 203–214.
 - 33 Hillen HS, Kokic G, Farnung L, Dienemann C, Tegunov D, Cramer P. Structure of replicating SARS-CoV-2 polymerase. *Nature* 2020; 584(7819): 154–156.
 - 34 Anand K, Ziebuhr J, Wadhwani P, Mesters JR, Hilgenfeld R. Coronavirus main proteinase (3CLpro) structure: basis for design of anti-SARS drugs. *Science* 2003; 300(5626): 1763–1767.
 - 35 Hilgenfeld R. From SARS to MERS: crystallographic studies on coronaviral proteases enable antiviral drug design. *FEBS J* 2014; 281(18): 4085–4096.
 - 36 Hsu MF, Kuo CJ, Chang KT, Chang HC, Chou CC, Ko TP, Shr HL, Chang GG, Wang AH, Liang PH. Mechanism of the maturation process of SARS-CoV 3CL protease. *J Biol Chem* 2005; 280(35): 31257–31266.
 - 37 Xia B, Kang X. Activation and maturation of SARS-CoV main protease. *Protein Cell* 2011; 2(4): 282–290.
 - 38 Zhang L, Lin D, Sun X, Curth U, Drosten C, Sauerhering L, Becker S, Rox K, Hilgenfeld R. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors. *Science* 2020; 368(6489): 409–412.
 - 39 Yang H, Yang M, Ding Y, Liu Y, Lou Z, Zhou Z, Sun L, Mo L, Ye S, Pang H, Gao GF, Anand K, Bartlam M, Hilgenfeld R, Rao Z. The crystal structures of severe acute respiratory syndrome virus main protease and its complex with an inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(23): 13190–13195.
 - 40 Zavascki AP, Falci DR. Clinical characteristics of Covid-19 in China. *N Eng J Med* 2020; 382(19): 1859.
 - 41 Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, Liu L, Shan H, Lei CL, Hui DSC, Du B, Li LJ, Zeng G, Yuen KY, Chen RC, Tang CL, Wang T, Chen PY, Xiang J, Li SY, Wang JL, Liang ZJ, Peng YX, Wei L, Liu Y, Hu YH, Peng P, Wang JM, Liu JY, Chen Z, Li G, Zheng ZJ, Qiu SQ, Luo J, Ye CJ, Zhu SY, Zhong NS; China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Eng J Med* 2020; 382(18): 1708–1720.
 - 42 Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395(10223): 497–506.
 - 43 Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H, Wang T, Zhang X, Chen H, Yu H, Zhang X, Zhang M, Wu S, Song J, Chen T, Han M, Li S, Luo X, Zhao J, Ning Q. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest* 2020; 130(5): 2620–2629.
 - 44 Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguin-Rivera Y, Escalera-Antezana JP, Alvarado-Arnez LE, Bonilla-Aldana DK, Franco-Paredes C, Henao-Martinez AF, Paniz-Mondolfi A, Lagos-Grisales GJ, Ramírez-Vallejo E, Suárez JA, Zambrano LI, Villamil-Gómez WE, Balbin-Ramon GJ, Rabaan AA, Harapan H, Dhama K, Nishiura H, Kataoka H, Ahmad T, Sah R. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis* 2020; 34: 101623.
 - 45 Li LQ, Huang T, Wang YQ, Wang ZP, Liang Y, Huang TB,

- Zhang HY, Sun W, Wang Y. COVID-19 patients' clinical characteristics, discharge rate, and fatality rate of meta-analysis. *J Med Virol* 2020; 92(6): 577–583.
- 46 Fan C, Li K, Ding Y, Lu W, Wang J. ACE2 expression in kidney and testis may cause kidney and testis damage after 2019-nCoV infection. *medRxiv* 2020; DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.02.12.20022418>.
 - 47 Driggin E, Madhavan MV, Bikdeli B, Chuich T, Laracy J, Bondi-Zoccai G, Brown TS, Nigoghossian CD, Zidar DA, Haythe J, Brodie D, Beckman JA, Kirtane AJ, Stone GW, Krumholz HM, Parikh SA. Cardiovascular considerations for patients, health care workers, and health systems during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. *J Am Coll Cardiol* 2020; 75(18): 2352–2371.
 - 48 Li Y, Xia L. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Role of chest CT in diagnosis and management. *AJR Am J Roentgenol* 2020; 214(6): 1–7.
 - 49 Li M, Lei P, Zeng B, Li Z, Yu P, Fan B, Wang C, Li Z, Zhou J, Hu S, Liu H. Coronavirus disease (COVID-19): Spectrum of CT findings and temporal progression of the disease. *Acad Radiol* 2020; 27(5): 603–608.
 - 50 Zhao W, Zhong Z, Xie X, Yu Q, Liu J. Relation between chest CT findings and clinical conditions of coronavirus disease (COVID-19) pneumonia: A multicenter study. *AJR Am J Roentgenol* 2020; 214(5): 1072–1077.
 - 51 Yao XH (姚小红), Li TY, He ZC, Ping YF, Liu HW, Yu SC, Mou HM, Wang LH, Zhang HR, Fu WJ, Luo T, Liu F, Chen C, Xiao HL, Guo HT, Lin S, Xiang DF, Shi Y, Li QR, Huang X, Cui Y, Li XZ, Tang W, Pan PF, Huang XQ, Ding YQ, Bian XW. A pathological report of three COVID-19 cases by minimally invasive autopsies. *Chin J Pathol (中华病理学杂志)* 2020; 49: E009 (in Chinese with English abstract).
 - 52 Kuba K, Imai Y, Rao S, Gao H, Guo F, Guan B, Huan Y, Yang P, Zhang Y, Deng W, Bao L, Zhang B, Liu G, Wang Z, Chappell M, Liu Y, Zheng D, Leibbrandt A, Wada T, Slutsky AS, Liu D, Qin C, Jiang C, Penninger JM. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat Med* 2005; 11(8): 875–879.
 - 53 Kuba K, Imai Y, Ohto-Nakanishi T, Penninger JM. Trilogy of ACE2: a peptidase in the renin-angiotensin system, a SARS receptor, and a partner for amino acid transporters. *Pharmacol Ther* 2010; 128(1): 119–128.
 - 54 Serfozo P, Wysocki J, Gulua G, Schulze A, Ye M, Liu P, Jin J, Bader M, Myöhänen T, García-Horsman JA, Batlle D. Ang II (Angiotensin II) conversion to Angiotensin-(1-7) in the circulation is POP (Prolyloligopeptidase)-dependent and ACE2 (Angiotensin-converting enzyme 2)-independent. *Hypertension* 2020; 75(1): 173–182.
 - 55 Monteil V, Kwon H, Prado P, Hagelkrüys A, Wimmer RA, Stahl M, Leopoldi A, Garreta E, Hurtado Del Pozo C, Prosper F, Romero JP, Wirnsberger G, Zhang H, Slutsky AS, Conder R, Montserrat N, Mirazimi A, Penninger JM. Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2. *Cell* 2020; 181(4): 905–913.e7.
 - 56 Imai Y, Kuba K, Rao S, Huan Y, Guo F, Guan B, Yang P, Sarao R, Wada T, Leong-Poi H, Crackower MA, Fukamizu A, Hui CC, Hein L, Uhlig S, Slutsky AS, Jiang C, Penninger JM. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature* 2005; 436(7047): 112–116.
 - 57 Khan A, Benthin C, Zeno B, Albertson TE, Boyd J, Christie JD, Hall R, Poirier G, Ronco JJ, Tidswell M, Hards K, Powley WM, Wright TJ, Siederer SK, Fairman DA, Lipson DA, Bayliffe AI, Lazaar AL. A pilot clinical trial of recombinant human angiotensin-converting enzyme 2 in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care* 2017; 21(1): 234.
 - 58 Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Shimizu Y, Hasegawa H, Takeda M, Nagata N. TMPRSS2 contributes to virus spread and immunopathology in the airways of murine models after coronavirus infection. *J Virol* 2019; 93(6): e01815–18.
 - 59 Hoffmann M, Kleine-Weber H, Pöhlmann S. A multibasic cleavage site in the spike protein of SARS-CoV-2 is essential for infection of human lung cells. *Mol Cell* 2020; 78(4): 779–784.e5.
 - 60 Kouretova J, Hammamy MZ, Epp A, Hards K, Kallis S, Zhang L, Hilgenfeld R, Bartenschlager R, Steinmetzer T. Effects of NS2B-NS3 protease and furin inhibition on West Nile and Dengue virus replication. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2017; 32(1): 712–721.
 - 61 Lu Y, Hards K, Dahms SO, Böttcher-Friebertshäuser E, Steinmetzer T, Than ME, Klenk HD, Garten W. Peptidomimetic furin inhibitor MI-701 in combination with oseltamivir and ribavirin efficiently blocks propagation of highly pathogenic avian influenza viruses and delays high level oseltamivir resistance in MDCK cells. *Antiviral Res* 2015; 120: 89–100.
 - 62 Kadam RU, Wilson IA. Structural basis of influenza virus fusion inhibition by the antiviral drug Arbidol. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017; 114(2): 206–214.
 - 63 Wang Z, Yang B, Li Q, Wen L, Zhang R. Clinical features of 69 cases with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis* 2020; 71(15): 769–777.
 - 64 Deng L, Li C, Zeng Q, Liu X, Li X, Zhang H, Hong Z, Xia J. Arbidol combined with LPV/r versus LPV/r alone against Corona Virus Disease 2019: A retrospective cohort study. *J Infect* 2020; 81(1): e1–e5.

- 65 Wróblewski AE, Głowacka IE, Piotrowska DG. 1'-Homo-nucleosides and their structural analogues: A review. *Eur J Med Chem* 2016; 118: 121–142.
- 66 Elfiky AA. Ribavirin, Remdesivir, Sofosbuvir, Galidesivir, and Tenofovir against SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp): A molecular docking study. *Life Sci* 2020; 253: 117592.
- 67 Elfiky AA. SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp) targeting: an *in silico* perspective. *J Biomol Struct Dyn* 2020; doi: 10.1080/07391102.2020.1761882.
- 68 Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, Shi Z, Hu Z, Zhong W, Xiao G. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) *in vitro*. *Cell Res* 2020; 30(3): 269–271.
- 69 Warren TK, Jordan R, Lo MK, Ray AS, Mackman RL, Soloveva V, Siegel D, Perron M, Bannister R, Hui HC, Larson N, Strickley R, Wells J, Stuthman KS, Van Tongeren SA, Garza NL, Donnelly G, Shurtleff AC, Retterer CJ, Gharaibeh D, Zamani R, Kenny T, Eaton BP, Grimes E, Welch LS, Gomba L, Wilhelmsen CL, Nichols DK, Nuss JE, Nagle ER, Kugelman JR, Palacios G, Doerffler E, Neville S, Carra E, Clarke MO, Zhang L, Lew W, Ross B, Wang Q, Chun K, Wolfe L, Babusis D, Park Y, Stray KM, Trancheva I, Feng JY, Barauskas O, Xu Y, Wong P, Braun MR, Flint M, McMullan LK, Chen SS, Fearn R, Swaminathan S, Mayers DL, Spiropoulou CF, Lee WA, Nichol ST, Cihlar T, Bavari S. Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys. *Nature* 2016; 531(7594): 381–385.
- 70 Gao Y, Yan L, Huang Y, Liu F, Zhao Y, Cao L, Wang T, Sun Q, Ming Z, Zhang L, Ge J, Zheng L, Zhang Y, Wang H, Zhu Y, Zhu C, Hu T, Hua T, Zhang B, Yang X, Li J, Yang H, Liu Z, Xu W, Guddat LW, Wang Q, Lou Z, Rao Z. Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. *Science* 2020; 368(6492): 779–782.
- 71 Grein J, Ohmagari N, Shin D, Diaz G, Asperges E, Castagna A, Feldt T, Green G, Green ML, Lescure F-X, Nicastri E, Oda R, Yo K, Quiros-Roldan E, Studemeister A, Redinski J, Ahmed S, Bernett J, Chelliah D, Chen D, Chihara S, Cohen SH, Cunningham J, D'arminio Monforte A, Ismail S, Kato H, Lapadula G, L'her E, Maeno T, Majumder S, Massari M, Mora-Rillo M, Mutoh Y, Nguyen D, Verweij E, Zoufaly A, Osinusi AO, Dezure A, Zhao Y, Zhong L, Chokkalingam A, Elboudwarej E, Telep L, Timbs L, Henne I, Sellers S, Cao H, Tan SK, Winterbourne L, Desai P, Mera R, Gaggari A, Myers RP, Brainard DM, Childs R, Flanigan T. Compassionate use of remdesivir for patients with severe Covid-19. *N Eng J Med* 2020; 382(24): 2327–2336.
- 72 Antinori S, Cossu MV, Ridolfo AL, Rech R, Bonazzetti C, Pagani G, Gubertini G, Coen M, Magni C, Castelli A, Borghi B, Colombo R, Giorgi R, Angeli E, Mileto D, Milazzo L, Vimercati S, Pellicciotta M, Corbellino M, Torre A, Rusconi S, Oreni L, Gismondo MR, Giacomelli A, Meroni L, Rizzardini G, Galli M. Compassionate remdesivir treatment of severe Covid-19 pneumonia in intensive care unit (ICU) and Non-ICU patients: Clinical outcome and differences in post-treatment hospitalisation status. *Pharmacol Res* 2020; 158: 104899.
- 73 Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, Mehta AK, Zingman BS, Kalil AC, Hohmann E, Chu HY, Luetkemeyer A, Kline S, Lopez de Castilla D, Finberg RW, Dierberg K, Tapon V, Hsieh L, Patterson TF, Paredes R, Sweeney DA, Short WR, Touloumi G, Lye DC, Ohmagari N, Oh MD, Ruiz-Palacios GM, Benfield T, Fätkenheuer G, Kortepeter MG, Atmar RL, Creech CB, Lundgren J, Babiker AG, Pett S, Neaton JD, Burgess TH, Bonnett T, Green M, Makowski M, Osinusi A, Nayak S, Lane HC; ACTT-1 Study Group Members. Remdesivir for the treatment of Covid-19 - Preliminary report. *N Engl J Med* 2020; NEJMoa2007764. doi: 10.1056/NEJMoa2007764.
- 74 Wang Y, Zhang D, Du G, Du R, Zhao J, Jin Y, Fu S, Gao L, Cheng Z, Lu Q, Hu Y, Luo G, Wang K, Lu Y, Li H, Wang S, Ruan S, Yang C, Mei C, Wang Y, Ding D, Wu F, Tang X, Ye X, Ye Y, Liu B, Yang J, Yin W, Wang A, Fan G, Zhou F, Liu Z, Gu X, Xu J, Shang L, Zhang Y, Cao L, Guo T, Wan Y, Qin H, Jiang Y, Jaki T, Hayden FG, Horby PW, Cao B, Wang C. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 2020; 395(10236): 1569–1578.
- 75 Yao TT, Qian JD, Zhu WY, Wang Y, Wang GQ. A systematic review of lopinavir therapy for SARS coronavirus and MERS coronavirus-A possible reference for coronavirus disease-19 treatment option. *J Med Virol* 2020; 92(6): 556–563.
- 76 Young BE, Ong SWX, Kalimuddin S, Low JG, Tan SY, Loh J, Ng OT, Marimuthu K, Ang LW, Mak TM, Lau SK, Anderson DE, Chan KS, Tan TY, Ng TY, Cui L, Said Z, Kurupatham L, Chen MI, Chan M, Vasoo S, Wang LF, Tan BH, Lin RTP, Lee VJM, Leo YS, Lye DC; Singapore 2019 Novel Coronavirus Outbreak Research Team. Epidemiologic features and clinical course of patients infected with SARS-CoV-2 in Singapore. *JAMA* 2020; 323(15): 1488–1494.
- 77 Cao B, Wang Y, Wen D, Liu W, Wang J, Fan G, Ruan L, Song B, Cai Y, Wei M, Li X, Xia J, Chen N, Xiang J, Yu T, Bai T, Xie X, Zhang L, Li C, Yuan Y, Chen H, Li H, Huang H, Tu S, Gong F, Liu Y, Wei Y, Dong C, Zhou F, Gu X, Xu J, Liu Z, Zhang Y, Li H, Shang L, Wang K, Li K, Zhou X, Dong X, Qu Z, Lu S, Hu X, Ruan S, Luo S, Wu J, Peng L,

- Cheng F, Pan L, Zou J, Jia C, Wang J, Liu X, Wang S, Wu X, Ge Q, He J, Zhan H, Qiu F, Guo L, Huang C, Jaki T, Hayden FG, Horby PW, Zhang D, Wang C. A Trial of Lopinavir-Ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19. *N Eng J Med* 2020; 382(19): 1787–1799.
- 78 Hung IF, Lung KC, Tso EY, Liu R, Chung TW, Chu MY, Ng YY, Lo J, Chan J, Tam AR, Shum HP, Chan V, Wu AK, Sin KM, Leung WS, Law WL, Lung DC, Sin S, Yeung P, Yip CC, Zhang RR, Fung AY, Yan EY, Leung KH, Ip JD, Chu AW, Chan WM, Ng AC, Lee R, Fung K, Yeung A, Wu TC, Chan JW, Yan WW, Chan WM, Chan JF, Lie AK, Tsang OT, Cheng VC, Que TL, Lau CS, Chan KH, To KK, Yuen KY. Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir-ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet* 2020; 395(10238): 1695–1704.
 - 79 Ye XT, Luo YL, Xia SC, Sun QF, Ding JG, Zhou Y, Chen W, Wang XF, Zhang WW, Du WJ, Ruan ZW, Hong L. Clinical efficacy of lopinavir/ritonavir in the treatment of Coronavirus disease 2019. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020; 24(6): 3390–3396.
 - 80 Freitas BT, Durie IA, Murray J, Longo JE, Miller HC, Crich D, Hogan RJ, Tripp RA, Pegan SD. Characterization and noncovalent inhibition of the deubiquitinase and deISGylase activity of SARS-CoV-2 papain-like protease. *ACS Infect Dis* 2020; 6(8): 2099–2109.
 - 81 Lei J, Mesters JR, Drosten C, Anemüller S, Ma Q, Hilgenfeld R. Crystal structure of the papain-like protease of MERS coronavirus reveals unusual, potentially druggable active-site features. *Antiviral Res* 2014; 109: 72–82.
 - 82 Yan Y, Zou Z, Sun Y, Li X, Xu KF, Wei Y, Jin N, Jiang C. Anti-malaria drug chloroquine is highly effective in treating avian influenza A H5N1 virus infection in an animal model. *Cell Res* 2013; 23(2): 300–302.
 - 83 Kwiec JJ, Haystead TA, Rudolph J. Kinetic mechanism of quinone oxidoreductase 2 and its inhibition by the antimalarial quinolines. *Biochemistry* 2004; 43(15): 4538–4547.
 - 84 Haładyj E, Sikora M, Felis-Giemza A, Olesińska M. Antimalarials - are they effective and safe in rheumatic diseases? *Reumatologia* 2018; 56(3): 164–173.
 - 85 Molina JM, Delaugerre C, Le Goff J, Mela-Lima B, Ponscarne D, Goldwirt L, de Castro N. No evidence of rapid antiviral clearance or clinical benefit with the combination of hydroxychloroquine and azithromycin in patients with severe COVID-19 infection. *Med Mal Infect* 2020; 50(4): 384.
 - 86 Mahévas M, Tran VT, Roumier M, Chabrol A, Paule R, Guillaud C, Fois E, Lepeule R, Szwebel TA, Lescure FX, Schlemmer F, Matignon M, Khellaf M, Crickx E, Terrier B, Morbieu C, Legendre P, Dang J, Schoindre Y, Pawlotsky JM, Michel M, Perrodeau E, Carlier N, Roche N, de Lastours V, Ourghanlian C, Kerneis S, Ménager P, Mouthon L, Audureau E, Ravaud P, Godeau B, Gallien S, Costedoat-Chalumeau N. Clinical efficacy of hydroxychloroquine in patients with covid-19 pneumonia who require oxygen: observational comparative study using routine care data. *BMJ* 2020; 369: m1844.
 - 87 Tang W, Cao Z, Han M, Wang Z, Chen J, Sun W, Wu Y, Xiao W, Liu S, Chen E, Chen W, Wang X, Yang J, Lin J, Zhao Q, Yan Y, Xie Z, Li D, Yang Y, Liu L, Qu J, Ning G, Shi G, Xie Q. Hydroxychloroquine in patients with mainly mild to moderate coronavirus disease 2019: open label, randomised controlled trial. *BMJ* 2020; 369: m1849.
 - 88 Mehra MR, Desai SS, Ruschitzka F, Patel AN. RETRACTED: Hydroxychloroquine or chloroquine with or without a macrolide for treatment of COVID-19: a multinational registry analysis. *Lancet* 2020; S0140-6736(20)31180-6.
 - 89 Totura AL, Baric RS. SARS coronavirus pathogenesis: host innate immune responses and viral antagonism of interferon. *Curr Opin Virol* 2012; 2(3): 264–275.
 - 90 Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, Mack M, Zhao J, Meyerholz DK, Perlman S. Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice. *Cell Host Microbe* 2016; 19(2): 181–193.
 - 91 Schneider WM, Chevillotte MD, Rice CM. Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annu Rev Immunol* 2014; 32: 513–545.
 - 92 Kindler E, Thiel V, Weber F. Chapter seven - Interaction of SARS and MERS coronaviruses with the Antiviral interferon response. In: Ziebuhr J (ed). *Advances in Virus Research*. Academic Press, 2016, 219–243.
 - 93 Wan S, Xiang Y, Fang W, Zheng Y, Li B, Hu Y, Lang C, Huang D, Sun Q, Xiong Y, Huang X, Lv J, Luo Y, Shen L, Yang H, Huang G, Yang R. Clinical features and treatment of COVID-19 patients in northeast Chongqing. *J Med Virol* 2020; 92(7): 797–806.
 - 94 Qiu H, Wu J, Hong L, Luo Y, Song Q, Chen D. Clinical and epidemiological features of 36 children with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Zhejiang, China: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis* 2020; 20(6): 689–696.
 - 95 Kraft CS, Hewlett AL, Koepsell S, Winkler AM, Kratochvil CJ, Larson L, Varkey JB, Mehta AK, Lyon GM, Friedman-Moraco RJ, Marconi VC, Hill CE, Sullivan JN, Johnson DW, Lisco SJ, Mulligan MJ, Uyeki TM, McElroy AK, Sealy T, Campbell S, Spiropoulou C, Ströher U, Crozier I, Sacra R, Connor MJ, Sueblinvong V, Franch HA, Smith PW, Ribner BS. The use of TKM-100802 and convalescent

- plasma in 2 patients with Ebola virus disease in the United States. *Clin Infect Dis* 2015; 61(4): 496–502.
- 96 Van Griensven J, Edwards T, De Lamballerie X, Semple MG, Gallian P, Baize S, Horby PW, Raoul H, Magassouba NF, Antierens A, Lomas C, Faye O, Sall AA, Fransen K, Buyze J, Ravinetto R, Tiberghien P, Claeys Y, De Crop M, Lynen L, Bah EI, Smith PG, Delamou A, De Weggheleire A, Haba N. Evaluation of convalescent plasma for Ebola virus disease in guinea. *N Eng J Med* 2016; 374(1): 33–42.
 - 97 Luke TC, Kilbane EM, Jackson JL, Hoffman SL. Meta-analysis: convalescent blood products for Spanish influenza pneumonia: a future H5N1 treatment? *Ann Intern Med* 2006; 145(8): 599–609.
 - 98 Mair-Jenkins J, Saavedra-Campos M, Baillie JK, Cleary P, Khaw FM, Lim WS, Makki S, Rooney KD, Nguyen-Van-Tam JS, Beck CR; Convalescent Plasma Study Group. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis. *J Infect Dis* 2015; 211(1): 80–90.
 - 99 Shen C, Wang Z, Zhao F, Yang Y, Li J, Yuan J, Wang F, Li D, Yang M, Xing L, Wei J, Xiao H, Yang Y, Qu J, Qing L, Chen L, Xu Z, Peng L, Li Y, Zheng H, Chen F, Huang K, Jiang Y, Liu D, Zhang Z, Liu Y, Liu L. Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. *JAMA* 2020; 323(16): 1582–1589.
 - 100 Bloch EM, Shoham S, Casadevall A, Sachais BS, Shaz B, Winters JL, Van Buskirk C, Grossman BJ, Joyner M, Henderson JP, Pekosz A, Lau B, Wesolowski A, Katz L, Shan H, Auwaerter PG, Thomas D, Sullivan DJ, Paneth N, Gehrie E, Spitalnik S, Hod EA, Pollack L, Nicholson WT, Pirofski LA, Bailey JA, Tobian AA. Deployment of convalescent plasma for the prevention and treatment of COVID-19. *J Clin Invest* 2020; 130(6): 2757–2765.
 - 101 Hanff TC, Harhay MO, Brown TS, Cohen JB, Mohareb AM. Is there an association between COVID-19 mortality and the renin-angiotensin system? A call for epidemiologic investigations. *Clin Infect Dis* 2020; 71(15): 870–874.
 - 102 Sun ML (孙美丽), Yang JM, Sun YP, Su GH. Inhibitors of RAS might be a good choice for the therapy of COVID-19 pneumonia. *Chin J Tubercul Respirat Dis (中华结核与呼吸杂志)* 2020; 43(3): 219–222 (in Chinese with English abstract).
 - 103 Furuhashi M, Moniwa N, Mita T, Fuseya T, Ishimura S, Ohno K, Shibata S, Tanaka M, Watanabe Y, Akasaka H, Ohnishi H, Yoshida H, Takizawa H, Saitoh S, Ura N, Shimamoto K, Miura T. Urinary angiotensin-converting enzyme 2 in hypertensive patients may be increased by olmesartan, an angiotensin II receptor blocker. *Am J Hypertens* 2015; 28(1): 15–21.
 - 104 Klimas J, Olvedy M, Ochodnicka-Mackovicova K, Kruzliak P, Cacanyiova S, Kristek F, Krenek P, Ochodnický P. Perinatally administered losartan augments renal ACE2 expression but not cardiac or renal Mas receptor in spontaneously hypertensive rats. *J Cell Mol Med* 2015; 19(8): 1965–1974.
 - 105 Gurwitz D. Angiotensin receptor blockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics. *Drug Dev Res* 2020; 81(5): 537–540.