DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20220825.001
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20220825.1018.002.html

四种FDA批准药物抑制发热伴血小板减少综合征病毒的作用研究

王田田[1,2],尹志芸[1,2],邓雅丽[1],朱 琼[1],周 敏[1],胡思靖[1],吴巧丽[1],靳佳音[1],张丹娜[1],刘希佳[1],蒋柏勇[1],沈 姝[1],邓 菲[1],史君明[1]✉
(1.国家病毒资源库,中国科学院武汉病毒研究所,湖北 武汉 430071;2.南开大学药学院,天津 300071)

[摘要] **目的**:对从FDA(food and drug administration)批准的1 430个化合物中通过微复制子系统筛选出对发热伴血小板减少综合征病毒(severe fever with thrombocytopenia syndrome virus, SFTSV)起抑制作用的药物,并解析药物抗病毒的作用阶段。**方法**:利用SFTSV微复制子初步筛选出对SFTSV复制转录系统具有抑制作用的药物,通过药物浓度梯度抑制实验确定各药物的半数抑制浓度(IC_{50})。再利用SFTSV感染细胞模型,使用药物分别与病毒孵育后再感染细胞、与病毒共同和细胞孵育、在病毒与细胞孵育后作用于细胞、以及在病毒感染细胞全过程(entire stage)使用药物,并采用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)对感染细胞上清中病毒进行定量,分析药物对病毒感染细胞的整个过程的不同阶段,包括:病毒颗粒稳定性(virion stability)、病毒感染入侵(entry stage)、病毒进入细胞后的复制过程(post-entry)的抑制作用,并与药物作用于病毒感染细胞整个过程的抑制作用相比较,初步揭示药物抑制SFTSV感染的作用机制。**结果**:吗替麦考酚酯、麦考酚酸、硝唑尼特、Vidofludimus 4种药物对SFTSV具有较好的抑制效果,4种药物对微复制子系统的半数抑制浓度IC_{50}分别为0.014、0.627、1.283、0.059 μmol/L;4种药物对SFTSV的抑制作用发生在病毒入侵细胞后的阶段。**结论**:吗替麦考酚酯、麦考酚酸、硝唑尼特、Vidofludimus具有较好的抗发热伴血小板减少综合征病毒效果。

[关键词] 发热伴血小板减少综合征病毒;药物筛选;抗病毒作用;抑制阶段
[中图分类号] R965 [文献标识码] A [文章编号] 1007-1237(2022)23-1771-08

Four FDA-approved drugs exhibited inhibition effect on severe fever with thrombocytopenia syndrome virus *in vitro*

WANG Tian-tian[1,2], YIN Zhi-yun[1,2], DENG Ya-li[1], ZHU Qiong[1], ZHOU Min[1], HU Si-jing[1], Wu Qiao-li[1], JIN Jia-yin[1], ZHANG Dan-na[1], LIU Xi-jia[1], JIANG Bo-yong[1], SHEN Shu[1], DENG Fei[1], SHI Jun-ming[1]✉
(1. *National Virus Resource Conservation Center, Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan* 430071, *China*; 2. *School of Pharmacy, Nankai University, Tianjin* 300071, *China*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by Key Program of the Joint Fund of the National Natural Science Foundation of China* (*U20A*20135)
[*Author*]: *WANG Tian-zhong, E-mail*: 2056280947@qq.com.
[*Correspondence to*]: *SHI Jun-ming, Ph.D., E-mail*: *sjm@wh.iov.cn.*
Received: 2022-06-15 *Revised*: 2022-08-21 *JHMU*, 2022;28(23):1771-1778

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] **Objective**: To screen the anti-SFTSV drugs from 1 430 FDA-approved drugs *via* mini-genome system, and to investigate which stage of the infection process could be suppressed by the identified drugs. **Methods**: The SFTSV mini-genome system was used to screen drugs with inhibitory effect on SFTSV replication and transcription, and the 50% inhibitory concentration (IC_{50}) of each drug was calculated by drug concentration gradient inhibition experiment. Drugs were used to pre-incubate with virus and then incubate with cells, to incubate with virus and cells simultaneously, to incubate with cells after virus invading into

[基金项目] 国家自然科学基金联合基金重点项目(U20A20135)
[作者简介] 王田田,E-mail:2056280947@qq.com。
[通讯作者] 史君明,博士,博士后,E-mail:sjm@wh.iov.cn。
[收稿日期] 2022-06-15 [修回日期] 2022-08-21 网络出版时间:2022-08-25 13:44:06

cells, or to incubate during the whole infection process, and then qRT-PCR was used to measure the viral RNA copies in the culture supernatant. These experiments were performed to quantitatively determine the inhibition effects of drugs on SFTSV indifferent stages of the whole process including virion stability, entry and post-entry stages , so as to clarify the inhibition mechanism of these drugs. **Results**: Four drugs including Mycophenolate mofetil, Mycophenolic acid, Nitazoxanide, and Vidofludimus were identified having efficient inhibitory effects on SFTSV RNA replication *via* minigenome system, with the IC_{50} of 0.014 μmol/L, 0.627 μmol/L, 1.283 μmol/L, and 0.059 μmol/L, respectively. All four drugs showed effective inhibition when adding during the whole SFTSV infection process as well as the post-entry stage. **Conclusion**: Mycophenolate mofetil, Mycophenolic acid, Nitazoxanide and Vidofludimus show efficient anti-viral effects on SFTSV infection.

[**KEYWORDS**] Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus; Drug screening; Antiviral effect; Inhibition phase

发热伴血小板减少综合征病毒(severe fever with thrombocytopenia syndrome virus, SFTSV)是发热伴血小板综合征(SFTS)的病原体,属于布尼亚病毒目(*Bunyavirales*)、白纤病毒科(*Phenuiviridae*)、班大病毒属(*Bandavirus*)[1,2]。SFTSV感染的主要临床症状包括发热、胃肠道症状、肌痛、局部淋巴结病、血小板减少、肝酶水平升高等,严重者可发展为多器官衰竭或死亡,其病死率为13%～30%,被世界卫生组织列为十大优先传染病之一[1,3]。目前发热伴血小板减少综合征的临床治疗主要以对症支持性治疗为主,包括:通过注射丙种球蛋白冲击治疗法(临床个案治疗有效)或激素联合免疫球蛋白(临床个案治疗有效)增强机体免疫力,以及激素冲击疗法(临床个案治疗有效)、血浆置换(临床治疗有效)等[4-6]。由于针对SFTS尚无有效疫苗和特效药,特异性抗病毒药物的研发成为亟待解决的科学问题。

SFTSV的基因组由3个单链负义RNA片段构成,分别为大片段(L)、中等片段(M)和小片段(S)。其中L片段编码RNA聚合酶RdRp,M片段编码糖蛋白Gn和Gc,S片段编码核蛋白NP和非结构蛋白NSs[3]。与大部分负链RNA病毒转录复制机制类似,SFTSV基因组UTR区存在保守基序,能够与RdRp和NP形成RNA-蛋白复合物(RNP)负责SFTSV的基因复制和转录[7-9]。RNP是SFTSV基因复制转录最简需求,基于这一理论前期笔者成功构建了能表达eGFP荧光蛋白的SFTSV微复制子报告系统[10]。微复制子系统通过质粒转染细胞能够有效体现病毒RNA的转录复制过程,启动报告基因的表达,通过读取报告基因表达水平分析病毒RNA转录复制的效率,是研究RNA病毒转录复制机制以及筛选特异性靶向RNA复制过程药物的重要手段[11,12]。

迄今为止,已有研究报道过几种具有对SFTSV抗病毒效果的药物,包括:(1)抗病毒类:广谱抗病毒药物利巴韦林(细胞实验和动物实验有效)、干扰素联合利巴韦林用药(细胞实验有效)、血浆置换联合利巴韦林(临床个案治疗有效)、法匹拉韦(动物实验有效);(2)钙通道阻滞剂(CCBs)类:盐酸贝尼地平和硝苯地平(临床回顾性发现有效)[4]。这些药物对SFTSV抗病毒作用的发现均是从"老药新用"的角度,通过对其他病毒具有抗病毒作用的药物针对SFTSV抑制作用进行评估或针对临床SFTS案例给药记录进行回顾分析而被确定。从FDA批准药物中筛选抗SFTSV药物能极大缩短研发周期、降低研发成本。本研究利用SFTSV微复制子系统,对FDA批准的1 430个化合物进行抗病毒药物筛选。进一步通过活病毒感染细胞体系对筛选获得的药物抗SFTSV效果进行评估,并确定药物作用的具体阶段。本研究的发现将为微复制子用于SFTSV抗病毒药物研发提供重要的理论参考,促进SFTSV特效药的开发。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞、病毒 Vero细胞(ATCC no. CCL-81)、HEK293T(ATCC no. CRL-3216),均购于美国模式培养物集存库(ATCC),由本实验室保存;病毒种子液SFTSV(WCH/97/HN/China/2011 strain;S/M/L GenBank no.:JQ341190,JQ341189,JQ341188)来自于中国科学院武汉病毒研究所国家病毒资源库。

1.1.2 化合物 Vidofludimus、硝唑尼特、麦考酚酸、吗替麦考酚酯等1430个FDA批准化合物,购于Selleck生物科技有限公司,化合物均由二甲基亚砜(DMSO)配制母液,使用时用含2% FBS的DEME培养基稀释成所需浓度。

1.1.3 质粒和检测试剂 SFTSV微复制子系统需要的质粒pRF42-SFTSV-MeGFP、pCAGGs-SFTSV-NP、pCAGGs-SFTSV-RdRp均由实验室自行构建[13];质粒转染试剂采用Lipofectamine 3000

(ThermoFisher,美国);鼠抗SFTSV-NP多克隆抗体为本实验室免疫制备[13]。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 Vero细胞、HEK-293T细胞用含10% FBS的DMEM培养基,于37 ℃、5% CO_2培养箱中培养。

1.2.2 病毒培养 用T-75培养瓶培养Vero细胞,待细胞生长量达到80%左右弃去旧培养基并加6 mL含2%FBS的DMEM培养基覆盖细胞表面,加入100 μL SFTSV WCH/97/HN/China/2011毒株种子液,此时MOI约为0.1,于37 ℃、5% CO_2培养箱中孵育1 h,期间每15 min轻轻晃动培养瓶。孵育完成后补充6 mL新鲜的含2% FBS的DMEM培养基继续培养,5 d后收集培养瓶中的上清于4 ℃、3 000 g/min离心10 min,然后取上清500 μL/管分装于冻存管并−80℃保存待用。

1.2.3 病毒滴度$TCID_{50}$(50%组织培养感染剂量)测定 将Vero细胞稀释到密度约10^5/mL密度用于96孔板铺板,每孔100 μL,于37 ℃、5% CO_2培养箱中培养24 h。待测滴度的病毒原液用含2 % FBS的DEME培养基进行10倍梯度稀释,将病毒从10^{-1}稀释至10^{-10},并做3组重复,其中从10^{-3}到10^{-10}的病毒稀释液将用于下一步检测。将96孔板中的旧培养基弃去,每孔加入100 μL的病毒稀释液,每个梯度6个复孔,共做3组重复,置于37 ℃、5% CO_2培养箱培养5 d,随即通过免疫荧光检测病毒感染孔。通过观察记录每个病毒稀释梯度下产生绿色荧光的孔的数量,若孔中有荧光则记为阳性,孔中没有荧光则记为阴性,以Reed & Muench法计算出该病毒液的$TCID_{50}$。

1.2.4 免疫荧光检测 弃去96孔细胞培养板中旧培养基,每孔加100 μL 4 % 多聚甲醛,避光固定30 min;用水冲洗3遍;随后每孔加入100 μL 0.2% Triton X-100透化细胞15 min;用水冲洗3遍;用PBS配制的含5%牛血清白蛋白(Bovine albumin,BSA)封闭液于37 ℃封闭1 h或4 ℃过夜封闭,每孔100 μL;弃掉封闭液,每孔加入100 μL稀释好的一抗孵育液(抗体1∶2 000稀释)37 ℃孵育2 h或4 ℃过夜孵育;弃掉一抗稀释液,用水冲洗3次;用含1% BSA的PBS按1∶2 000稀释FITC标记的山羊抗兔血清,每孔加入100 μL二抗稀释液37 ℃孵育1 h;弃掉二抗稀释液,用水冲洗3次后即可使用荧光显微镜观察记录。

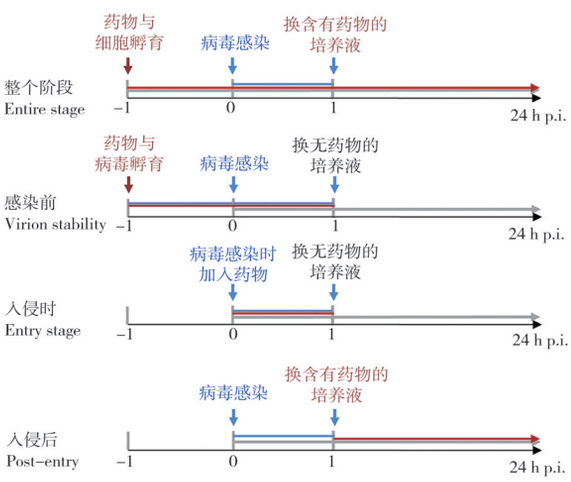
1.2.5 药物细胞半数毒性浓度(CC_{50})的确定 Vero细胞按照细胞密度约1.0×10^4个/孔铺入96孔板,每孔100 μL体积,放入37 ℃培养箱24 h后待细胞汇合度达到90 %左右;弃除旧培养基,将梯度稀释好的药物(100、50、25、12.5、6.25、3.125 μmol/L),按照每孔100 μL的体积加入到细胞孔中,每个药物梯度做3个实验复孔,放在37 ℃细胞培养箱预孵育24 h;将96孔板从培养箱中取出,按照每孔10 μL的体系加入CCK-8试剂,放置37 ℃细胞培养箱中继续孵育1 h;最后通过酶标仪在450 nm处检测实验组与阴性对照组的细胞活性百分比。以药物浓度为横坐标,细胞活性百分比为纵坐标,利用GraphPad Prism 8.0.软件绘制细胞活性的剂量依赖曲线并进行回归,计算细胞半数毒性浓度(CC_{50})。

1.2.6 微复制子系统上抗病毒药物的筛选 按2×10^5/孔将HEK-293T细胞铺入24孔板,每孔500 μL,置于37 ℃、5% CO_2培养箱培养24 h后进行下一步实验;将pCAGGs-SFTSV-RdRp、pRF42-SFTSV-MeGFP、pCAGGs-SFTSV-NP 3种质粒按照质量比2∶1∶1的比例进行混合,参照Lipofectamine 3000转染试剂说明书每孔2 μg进行转染,37 ℃培养。将药物母液用含2% FBS的DMEM培养基进行2倍梯度稀释,弃去转染6 h后细胞培养板中的旧培养基,每孔中加入200 μL对应浓度的药物稀释液,对照孔为仅含DMSO(药物最高浓度时所加的量)的药物稀释液,继续培养42 h。随后用高内涵分析仪进行eGFP计数,用GraphPad Prism 8.0.1软件的非线性回归方法计算药物的半数抑制浓度。

1.2.7 活病毒体系上药物抑制SFTSV不同感染阶段的定量分析 按每孔5×10^4将Vero细胞铺入24孔板,每孔500 μL体积,于37 ℃、5%CO_2条件培养24 h待用。用含2% FBS的DMEM培养基将药物稀释成所需浓度,用含2% FBS的DMEM培养基将病毒稀释成滴度为1×10^5 pfu/mL,每孔加入500 μL病毒稀释液感染细胞,按照如下方式开展药物抑制实验(图1),具体包括:(1)药物作用于整个病毒感染阶段:感染前1 h细胞培养孔中加入稀释好的药物,随后加入稀释好的SFTSV病毒液共孵育1 h后弃去旧培养基,换新的含有药物的培养基继续培养;(2)药物作用于病毒感染前:稀释好的药物与病毒液共孵育1 h后感染细胞,且病毒与细胞孵育1 h后换上不含药物的培养基继续培养;(3)药物作用于病毒入侵阶段:病毒与药物同时加到细胞培养孔

孵育1 h后弃去旧培养基换上新的不含药物培养基继续培养；(4)药物作用于病毒入侵后阶段：病毒感染细胞1 h后弃去旧的培养基，随后换上含有药物的培养基继续培养。细胞培养23 h后，弃掉孔中旧培养基，用无菌PBS润洗3遍，每孔加入400 μL Trizol作用5 min后，用移液器吹打混匀并吸取到1.5 mL EP管中，进行后续的RNA提取和绝对定量分析。

RT-qPCR定量检测SFTSV所用引物为HEX染料标记的序列：HEX-TTCTGTCTTGCTG-GCTCCGCGC-BHQ-2，检测试剂盒为HiScript II One Step qRT-PCR Probe Kit（诺唯赞，南京，中国）。



红色线条表示药物作用阶段，蓝色线条表示病毒与细胞或/和药物共孵育的阶段，灰色线条代表细胞培养时间。

图1　药物抑制SFTSV不同感染阶段的给药流程图

Fig 1　Flowchart of drug administration in different stages of SFTSV infection

2　结果

2.1　药物细胞半数毒性浓度(CC_{50})

使用CCK-8法检测了候选的4种药物对细胞活性的影响，结果显示各作用浓度时，细胞活性仍大于80 %，回归分析显示各药物的CC_{50}均＞100 μmol/L(表1)。因而进一步在＜100 μmol/L的浓度范围内研究药物对病毒感染的抑制效果并确定药物的IC_{50}。

2.2　微复制子系统上抗病毒药物的筛选

通过高内涵扫描分析1 430个FDA批准药物对SFTSV微复制子的影响，共筛选出4种能起显著抑制作用的药物，分别为吗替麦考酚酯、麦考酚酸、硝唑尼特、Vidofludimus。药物梯度抑制实验表明随着药物浓度的增高，药物对SFTSV的抑制效果逐渐增强，表现出强的剂量相关性(图2)。计算分析显示吗替麦考酚酯、麦考酚酸、硝唑尼特、Vidofludimus 4种药物在微复制子系统上的半数抑制浓度分别为0.014、0.627、1.283、0.059 μmol/L。结合药物的CC_{50}，各药物的治疗指数(TI)均＞10，表明这些药物安全性高(表2)。

表1　4种候选药物的细胞半数毒性浓度(CC_{50})

Tab 1　Median cytotoxic concentration (CC_{50}) of four drug candidates

药物	CC_{50}(mol/L)
吗替麦考酚酯	＞100
麦考酚酸	＞100
硝唑尼特	＞100
Vidofludimus	＞100

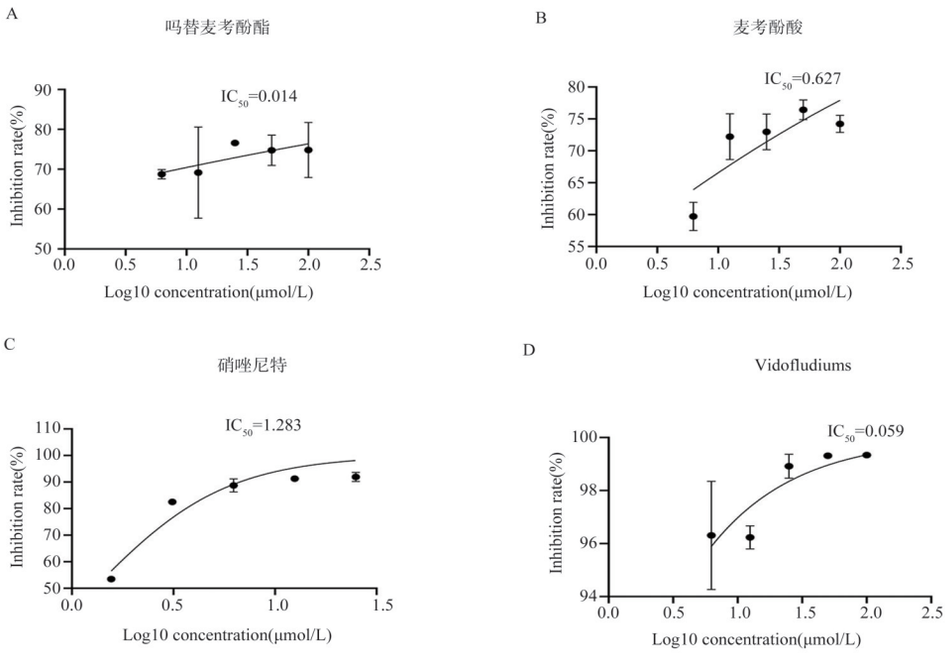
表2　微基因组系统上4种药物不同浓度下对SFTSV的抑制效果和安全性

Tab 2　Inhibitory effect and safety of the four drugs at different concentrations to SFTSV infection

药物	IC_{50}(μmol/L)	TI
吗替麦考酚酯	0.014	＞10
麦考酚酸	0.627	＞10
硝唑尼特	1.283	＞10
Vidofludiums	0.059	＞10

2.3　活病毒体系上4种药物抑制SFTSV不同感染阶段的定量分析

为进一步确定药物对病毒感染的作用阶段，本研究在细胞水平开展了4种不同的给药方式：药物全程作用于SFTSV(entire stage)、药物作用于SFTSV感染前(virion stability)、药物作用于SFTSV感染入侵时(entry stage)、药物作用于SFTSV入侵细胞后(post-entry)。结果如图3和表2所示：药物全程作用于SFTSV时，4种药物在3种浓度下对SFTSV均有显著抑制效果；用药物对SFTSV进行预处理时，4种药物对SFTSV增值不起抑制作用；药物作用于SFTSV入侵细胞时，只有吗替麦考酚酯在较高浓度下对SFTSV有若的抑制效果，其余3种药物对SFTSV没有抑制效果(图3A)；当药物作用于SFTSV入侵细胞后阶段，4种药物对SFTSV的增值抑制效果显著，值得注意的



误差是3次重复均值的标准差。

图2　微基因组系统上4种药物不同浓度下对SFTSV的抑制作用

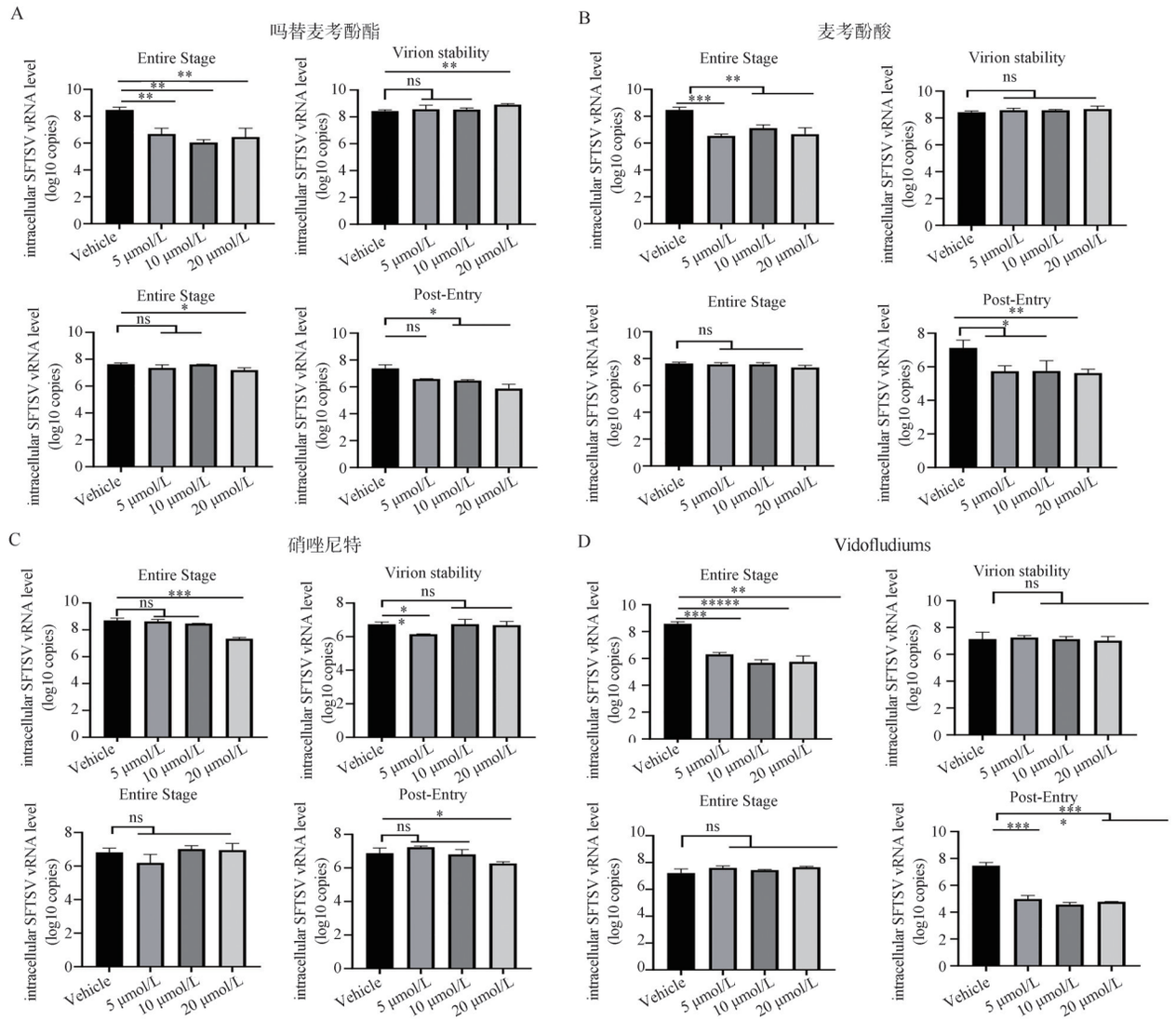
Fig 2　Inhibition of SFTSV by the four drugs at different concentrations on the mini-replicon system

是Vidofludimus在3种浓度下对SFTSV的抑制效果均达到99%以上。综合结果表明4种药物对SFTSV的抑制作用主要发生在SFTSV入侵细胞后。

表3　4种药物在SFTSV感染细胞不同阶段的抑制效果统计分析($\bar{x}\pm s$)

Tab 3　Statistical analysis of the inhibitory effects of the four drugs in different stages of SFTSV infected cells($\bar{x}\pm s$)

药物	给药方式	对照组	实验组			t/P		
			5 μmol/L	10 μmol/L	20 μmol/L	5 μmol/L *vs.* Vehicle	10 μmol/L *vs.* Vehicle	20 μmol/L *vs.* Vehicle
吗替麦考酚酯	整个阶段	8.467±0.123	6.042±0.125	6.454±0.38	6.535±0.080	6.425/0.003	13.83/0.000 2	5.034/0.007
	入侵前	8.430±0.058	8.565±0.176	8.539±0.068	8.900±0.050	0.7265/0.500	1.210/0.292	5.984/0.004
	入侵时	7.630±0.055	7.357±0.134	7.610±0.013	7.190±0.100	1.876/0.133	0.350/0.743	3.837/0.019
	入侵后	7.367±0.194	6.590±0.015	6.471±0.048	5.870±0.229	3.972/0.057	4.463/0.047	4.971/0.038
麦考酚酸	整个阶段	8.467±0.123	6.535±0.081	7.113±0.142	6.663±0.276	13.100/0.000	7.19/0.002	5.953/0.004
	入侵前	8.430±0.058	8.580±0.084	8.573±0.038	8.664±0.130	1.463/0.217	2.046/0.110	1.632/0.178
	入侵时	7.630±0.055	7.560±0.077	7.563±0.076	7.326±0.096	0.735/0.503	0.708/0.518	2.739/0.052
	入侵后	7.122±0.269	5.728±0.191	5.743±0.358	5.623±0.136	4.222/0.014	3.076/0.037	4.965/0.008
硝唑尼特	整个阶段	8.707±0.098	8.629±0.086	8.470±0.011	7.341±0.054	0.598/0.582	2.397/0.075	12.160/0.000
	入侵前	6.736±0.080，n=3	6.14±0.011，n=3	6.742±0.164，n=3	6.686±0.127	7.352/0.002	0.032/0.976	0.332/0.756
	入侵时	6.814±0.149	6.191±0.292	7.008±0.120	6.951±0.228	1.898/0.131	1.011/0.369	0.500/0.644
	入侵后	6.874±0.182	7.227±0.046	6.800±0.172	6.261±0.062	1.878/0.123	0.293/0.784	3.185/0.033
Vidofludiums	整个阶段	8.568±0.091	6.294±0.080	5.671±0.133	5.742±0.250	18.610/<0.0001	17.910/<0.0001	10.580/0.001
	入侵前	7.141±0.297	7.254±0.086	7.126±0.115	7.017±0.185	0.363/0.735	0.049/0.963	0.355/0.740
	入侵时	7.216±0.175	7.595±0.088	7.433±0.025	7.647±0.042	1.926/0.127	1.220/0.290	2.381/0.076
	入侵后	7.464±0.136	4.980±0.149	4.563±0.096	4.774±0.013	12.28/0.000	17.37/<0.0001	19.670/<0.0001



横坐标为不同的药物浓度，纵坐标为药物处理后细胞中SFTSV的基因拷贝数水平均值，误差是3次重复均值的标准差。（A）吗替麦考酚酯，（B）麦考酚酸，（C）硝唑尼特，（D）Vidofludimus。

图3 4种药物在SFTSV感染细胞不同阶段的抑制效果

Fig 3 Inhibitory effects of the four drugs on SFTSV infected cells at different stages

3 讨论

SFTSV流行范围不断扩大，除中国至少15个省，韩国、日本和越南等其他亚洲国家也陆续报道了该病，SFTSV已严重威胁人类公共健康[14]。研发有效的抗SFTSV药物成为急需解决的科学问题。本研究通过微复制子系统对FDA批准的1 430个化合物进行抗SFTSV药物筛选，结果表明吗替麦考酚酯、麦考酚酸、硝唑尼特、Vidofludimus 4种药物对SFTSV具有抑制作用，同时4种药物中硝唑尼特、Vidofludimus具有较好的剂量依赖性，随着浓度的升高对SFTSV的抑制效果增强。活病毒感染细胞模型检测结果显示这4种药物均能明显降低SFTSV的拷贝数，能有效抑制活病毒感染；通过在SFTSV感染过程的不同阶段给药，进一步确定这4种药物主要作用于SFTSV入侵细胞后的阶段，与微复制子系统检测结果一致。微复制子系统能够有效体现病毒基因组的转录复制效率，通过该系统进行药物筛选更能有效精准的靶向病毒的转录复制过程。因此，利用微复制子是不涉及活病毒操作筛选抗RNA病毒药物的重要且安全的手段。

本研究筛选鉴定的对SFTSV具有抑制作用的4种药物的临床应用与抗病毒并不相关。吗替麦考酚酯[15]和麦考酚酸[16]是一种非竞争性、可逆的次黄嘌呤核苷磷酸脱氢酶抑制剂，具有强大的抑制淋巴细胞增殖的作用，主要用于移植术的免疫排斥治疗。基于SFTSV微复制子系统的测试结果显示吗

替麦考酚酯的IC_{50}值最小,在较低的浓度下对SFTSV具有良好的抑制效果,提示吗替麦考酚酯是一种潜在的有效抗SFTSV药物。而这类次黄嘌呤核苷磷酸脱氢酶抑制剂的药物是否具有抗RNA病毒广谱性值得深入探究。硝唑尼特是一种人工合成的硝噻柳酸酰胺的衍生物,主要用于抗原虫、抗肠道寄生虫[17],也有一些研究报道该药物具有好的抗病毒效果,例如抗犬流感病毒(IC_{50}为0.17～0.21 μmol/L),同时表现出对HBV和HCV复制的有效抑制[18]。本研究结果进一步提示硝唑尼特的抗病毒效应可能具有广谱性。Vidofludimus是一种口服的二氢乳清酸脱氢酶(dihydroorate dehydrogenase, DHODH)抑制剂,是一种免疫抑制剂。尽管目前几乎还没有针对该化合物用于抗病毒研究的报道,但该化合物的新一代衍生物Vidofludimus calcium(又被称为IMU-838)可用于治疗一种自身免疫性疾病肌萎缩性脊髓侧索硬化症,并已进入二期临床实验;该衍生物对新冠病毒SARS-CoV-2、人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)、人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency type 1, HIV-1)有抑制作用[15,19-21],提示该药物可能具有广谱的抗病毒作用及潜在应用价值。

解析药物、宿主、病毒之间的复杂关系和作用机制是发现抗病毒作用新靶点,筛选抗病毒药物的重要理论基础。本研究从“老药新用”的角度,基于微复制子和病毒感染细胞模型筛选出具有良好的抗SFTSV效果的4种药物,提示“老药新用”是快速获得有效抗病毒药物的重要手段。

作者贡献度说明:

孙鑫:课题主持人,论文撰写者,完成主要的实验设计,并参与实验造模取材及指标检测等相关工作。王田田、沈姝、邓菲、史君明:实验设计;王田田、尹志芸、朱琼、邓雅丽:实验主要实施;周敏、靳佳音、胡思靖、张丹娜:负责实验研究涉及细胞、试剂耗材;刘希佳、蒋柏勇、吴巧丽:抗体制备;王田田:文章执笔;沈姝、邓菲、史君明:文章审阅和修订。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

1 Seo JW, Kim D, Yun N, et al. Clinical update of severe fever with thrombocytopenia syndrome [J]. Viruses, 2021, 13(7):1213.

2 Sun J, Min YQ, Li Y, et al. Animal model of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 797189.

3 Yu XJ, Liang MF, Zhang SY, et al. Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China [J]. New Engl J Med, 2011, 364(16): 1523-1532.

4 张绍飞. 发热伴血小板减少综合征临床用药效果评价[D]; 军事科学院, 2019.

5 Iwao K, Kawaguchi T, Kimura M, et al. Severe fever with thrombocytopenia syndrome accompanied by invasive pulmonary aspergillosis: An Autopsy Case [J]. Viruses, 2021, 13(6):1086.

6 Yoshikawa T. Vaccine development for severe fever with thrombocytopenia syndrome [J]. Viruses, 2021, 13(4):627.

7 Šantak M, Matić Z. The Role of nucleoprotein in immunity to human negative-stranded RNA viruses &. mdash; Not just another brick in the viral nucleocapsid [J]. Viruses, 2022, 14(3): 521.

8 Li T, Shen QT. Insights into paramyxovirus nucleocapsids from diverse assemblies [J]. Viruses, 2021, 13(12):2479.

9 Bloyet LM. The Nucleocapsid of paramyxoviruses: Structure and function of an encapsidated template [J]. Viruses, 2021, 13(12):2465.

10 Ren F, Shen S, Ning YJ, et al. Non-structural proteins of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus suppress RNA synthesis in a transcriptionally active cDNA-derived viral RNA synthesis system [J]. Front Microbiol 2021, 12: 709517.

11 Covés-Datson EM, Dyall J, DeWald LE, et al. Inhibition of Ebola virus by a molecularly engineered banana lectin [J]. PLoS Neglected Trop Dis, 2019, 13(7): e0007595.

12 Shah MR, Mostafa A, Müller C, et al. Bacterial ribonuclease binase exerts an intra-cellular anti-viral mode of action targeting viral RNAs in influenza a virus-infected MDCK-II cells [J]. Virol J, 2018, 15(1): 5.

13 Xu M, Wang B, Deng F, et al. Establishment of a reverse genetic system of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus based on a C4 strain [J]. Virol Sin, 2021, 36(5): 958-967.

14 Robles NJC, Han HJ, Park SJ, et al. Epidemiology of severe fever and thrombocytopenia syndrome virus infection and the need for therapeutics for the prevention [J]. Clin Exp Vaccine Res, 2018, 7(1): 43-50.

15 Lee YH, Song GG. A network meta-analysis of randomized controlled trials comparing the effectiveness and safety of voclosporin or tacrolimus plus mycophenolate mofetil as induction treatment for lupus nephritis [J]. Z

Rheumatol, 2021. Online ahead of print.

16 Chopade SS, Dhaneshwar SS. Determination of the mitigating effect of colon-specific bioreversible codrugs of mycophenolic acid and aminosugars in an experimental colitis model in Wistar rats [J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(10): 1093-1106.

17 Kiehl IGA, Riccetto E, Salustiano ACC, et al. Boosting bladder cancer treatment by intravesical nitazoxanide and bacillus calmette-guérin association [J]. World J Urol, 2021, 39(4): 1187-1194.

18 Korba BE, Montero AB, Farrar K, et al. Nitazoxanide, tizoxanide and other thiazolides are potent inhibitors of hepatitis B virus and hepatitis C virus replication [J]. Antiviral Res, 2008, 77(1): 56-63.

19 Hahn F, Wangen C, Häge S, et al. IMU-838, a developmental DHODH inhibitor in phase Ⅱ for autoimmune disease, shows anti-SARS-CoV-2 and broad-spectrum antiviral efficacy *In Vitro* [J]. Viruses, 2020, 12(12): 1394.

20 Muehler A, Peelen E, Kohlhof H, et al. Vidofludimus calcium, a next generation DHODH inhibitor for the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis [J]. Mult Scler Relat Disord, 2020, 43: 102129.

21 Muehler A, Kohlhof H, Groeppel M, et al. Tolerability and pharmacokinetics of vidofludimus calcium (IMU-838) after single and multiple ascending oral doses in healthy male subjects [J]. Eur J Drug Metab Pharmacokinet, 2020, 45(5): 557-573.

[**本文编辑**] 邹 洲 宋睿璞 朱 昊

(上接第1770页)

20 Yang X, Li X, Lin Q, et al. Up-regulation of microRNA-203 inhibits myocardial fibrosis and oxidative stress in mice with diabetic cardiomyopathy through the inhibition of PI3K/Akt signaling pathway *via* PIK3CA [J]. Gene, 2019, 715:143995.

21 Zhang X, Ma X, Zhao M, et al. H2 and H3 relaxin inhibit high glucose-induced apoptosis in neonatal rat ventricular myocytes[J]. Biochimie, 2015, 108:59-67.

22 Chen Y, Chen Y, Tang C, et al. RPS4Y1 promotes high glucose-induced endothelial cell apoptosis and inflammation by activation of the p38 MAPK signaling[J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2021, 14:4523-4534.

23 Zhang C, Zhang B, Zhang X, et al. Panax notoginseng saponin protects against diabetic cardiomyopathy through lipid metabolism modulation [J]. J Am Heart Assoc, 2022, 11(4):e023540.

24 Huang X, Zhang KJ, Jiang JJ, et al. Identification of crucial genes and key functions in type 2 diabetic hearts by bioinformatic analysis [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13:801260.

[**本文编辑**] 邹 洲 宋睿璞 朱 昊