

# 抗 RNA 病毒相关生物材料

姚康德<sup>1</sup>, 尹玉姬<sup>1</sup>, 张宝连<sup>1,2</sup>, 赵立国<sup>1</sup>

(1. 天津大学高分子材料研究所, 天津 300072)

(2. 天津城建学院材料系, 天津 300384)

**[摘要]** 在介绍 RNA 病毒结构、生殖、复制和转录的基础上, 综述了抗病毒策略, 其中包括抗 SARS 药物设计, RNA 干扰, DNA 疫苗释放系统, 调控蛋白与糖胺聚糖衍生物或类似物相互作用, 天然药物及肺部组织工程等。这些实例涵盖了 RNA 病毒与蛋白质、DNA 及多糖等生物材料的相互作用。生物材料作为基质或载体正在向细胞或/和基因活化的第三代生物材料发展, 可望在抗病毒中发挥作用。

**[关键词]** 抗 RNA 病毒; 蛋白质; DNA; 多糖; 生物材料

**[中图分类号]** Q539; Q75; Q78 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1009-1742 (2003) 07-0017-07

## 1 病毒结构与特性

### 1.1 结构与特性

病毒为由包封在蛋白质(有时还会有脂质和糖类)的包衣壳内一个或多个脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)分子组成。它们只能在宿主活细胞内复制, 因而它们必须寄生在细胞内。所有的病毒均是由蛋白质衣壳包络的壳包核酸, 蛋白质衣壳保护病毒基因材料, 并保证它们在宿主细胞间的转移。衣壳结构可以是20面体、螺旋状或更复杂的形状; 衣壳由原聚体(protomer)经超分子自组装构筑。在核衣壳外面是一层膜。病毒的基因组变化甚多, 它们可以是单链或双链DNA或RNA, 核酸链既可为线形也可以是闭环状。病毒可按照其核酸特性、衣壳对称性、宿主、动物和植物病毒引起的疾病或其他性质分类。病毒存在于两相, 即细胞外相和细胞内相。病毒粒体(virion)为细胞外相, 有很少的酶, 离开活细胞不能复制。细胞内相病毒主要以原代复制核酸的性质存在, 它使宿主代谢合成病毒粒体组成物, 最终完成病毒粒子或粒体释放。动物病毒要接种于合适宿主动物体内或受精卵内而培养。病毒粒体的尺度约10~300 nm, 或

400 nm, 所有病毒围绕核酸(DNA或RNA)核壳核心构筑, 其外部有蛋白质衣壳。包膜病毒呈球状, 有时还有一定变形。如图1所示的人流感病毒, 其表面每隔7~8 nm有约10 nm的刺突, 有些刺突为唾液酸苷酶(SA)刺突, 使病毒通过呼吸道上皮粘膜层侵入宿主细胞。另外一些刺突具有血凝素(HA)蛋白, 它们能使病毒粒体与红细胞膜结合, 诱发血细胞凝集。HA可能参与病毒粒体粘附于宿主细胞。蛋白质成分如刺突蛋白暴露在包膜外层, 它们通常为糖蛋白, 而包膜内表面的基质(M)蛋白则使其稳定。在一些动物的包膜病毒还有一些壳体相关的酶, 其中大多数与核酸复制有关。例如, 流感病毒以RNA做其基因材料, 且负载RNA依赖性RNA聚合酶, 它可作为RNA转录酶, 在RNA基因组指导下合成信使m-RNA。虽然病毒不能独立于活细胞而在细胞外真正代谢与复制, 但它们含有对完成其生存周期很重要的一种或多种酶。

动物病毒增殖可分为几个阶段: 吸附、侵入和脱壳、病毒核酸复制、病毒衣壳合成与组装和成熟病毒的释放。

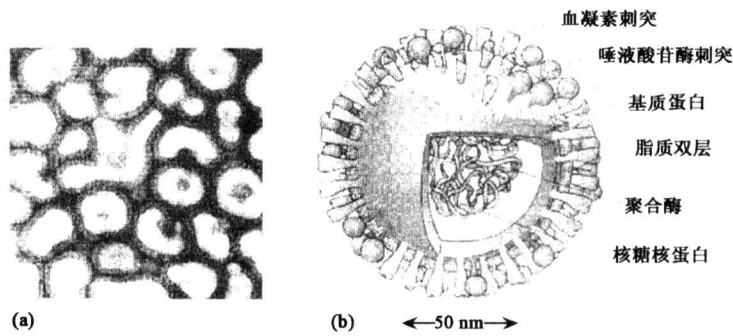


图 1 人流感病毒 (a) 其包膜及从表面投影的刺突 ( $\times 282\ 000$ ); (b) 流感病毒粒子  
 Fig.1 (a) Human influenza virus, Note the flexibility of the envelope and the spikes protecting from its surface ( $\times 282\ 000$ ); (b) Diagram of the influenza virion

1.1.1 病毒吸附 病毒周期的第一阶段为吸附于宿主细胞表面。它是通过病毒粒子与质膜受体位点蛋白(通常是糖蛋白)无规碰撞而发生。因为病毒感染细胞的能力主要取决于它与细胞的结合能力,这些受体蛋白的分布对动物病毒宿主特异性起着重要作用。病毒常由胞吞作用进入细胞。宿主细胞表面蛋白常是与激素和其他对细胞功能很重要的分子结合的受体,如免疫球蛋白超家族,这是一组含有免疫球蛋白结构域分子。大多数免疫球蛋白超家族为表面蛋白质,它们与免疫应答及细胞-细胞相互作用有关。流感病毒的两种刺突:唾液酸苷酶刺突和血凝素刺突,前者与宿主细胞受体位点贴附且识别唾液酸(N-乙酰基神经氨酸)。

1.1.2 侵入和脱壳 病毒吸附后不久就会侵入质膜而进入宿主细胞。在此过程中或侵入后不久病毒脱掉衣壳,释放病毒核酸。侵入和脱壳机会随病毒的不同而异。一些病毒仅注射其核酸,而另一些病毒必需要病毒相关 RNA 或 DNA 聚合酶也随病毒基因组进入宿主细胞。从吸附到最后脱壳历时数分钟或数小时。

大多数包膜病毒可能是由受体介导胞吞吞入形成有被小泡(coated vesicle)。病毒粒子附着于宿主细胞膜上的有被小窝,这是披有网络蛋白的细胞质侧的特异膜区域。它们在网络蛋白质移除后与溶酶体融合,溶酶体酶帮助病毒脱壳,溶酶体的低 pH 常诱发脱壳过程。某些情况下,病毒包膜与溶酶体膜融合,核衣壳释放进入细胞质基质(有些衣壳蛋白已为溶酶体酶移除)。一旦进入细胞质,病毒核酸从衣壳释放,直至脱壳完成或仍贴附在衣壳组分发挥功能(图 2)。

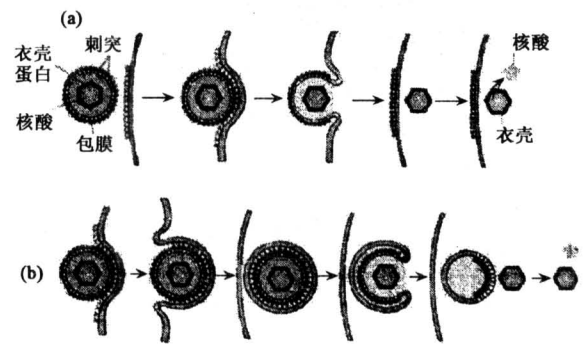


图 2 包膜病毒通过质膜融合 (a) 和包吞作用 (b) 进入宿主细胞示意图

Fig.2 Enveloped virus entry into host cells by fusing with plasma membrane (a), or endocytosis

1.1.3 RNA 病毒中的核酸复制和转录 RNA 病毒根据其复制和转录及它们与宿主基因组的关系可分为四组,即分别为正链单链 RNA 病毒、双链 RNA 病毒、负链单链 RNA 病毒及逆转录病毒。RNA 病毒(除逆转录的病毒)的转录随病毒基因组而异。

1.1.4 病毒衣壳的合成与组装 病毒的晚期基因指导衣壳蛋白质合成且自发地自组装成衣壳,在细胞质内通过构筑新膜,一部分基质闭合逐渐形成衣壳,然后新合成的 DNA 凝聚,穿过膜移至未成熟病毒中央,在膜内构筑核和椭球体。

1.1.5 病毒粒子释放 包膜病毒常常是包膜形成和包膜病毒释放同步进行,而宿主细胞持续病毒粒子释放一定期间。病毒包膜蛋白介入质膜,然后核衣壳自动释放,膜出芽形成包膜(图 3)。首先病毒包膜蛋白(血凝素蛋白和唾液酸苷酶)介入宿主

质膜; 然后核衣壳进入膜内表面与其结合; 同时病毒蛋白聚集在此位点, 宿主膜蛋白被占领; 最后, 质膜自动出芽形成病毒包膜而释放成熟的病毒颗粒。在某些病毒家族, 特异 M 蛋白或基质蛋白与质膜贴附使其出芽。内质网、高尔基体和其他内膜亦能参与包膜形成, 而肌动蛋白丝有助于病毒颗粒释放。

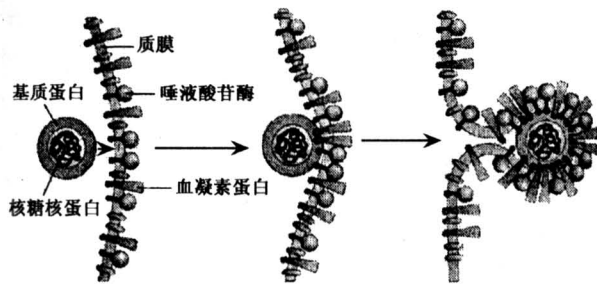


图 3 流感病毒由质膜出芽释放过程

Fig.3 Release of influenza virus by plasma membrane budding

## 1.2 动物病毒的杀细胞感染

感染导致的细胞死亡称为杀细胞感染。动物病毒可以许多方式损伤宿主细胞, 导致细胞死亡。其可能机理如下:

- 1) 许多病毒能抑制宿主 DNA, RNA 和蛋白质合成, 杀细胞病毒 (如小 RNA 病毒、疱疹病毒、腺病毒), 在这方面很活跃;
- 2) 细胞溶酶体损伤, 释放水解酶, 细胞破坏;
- 3) 通过病毒特异蛋白插入发生病毒感染, 质膜发生很大变化, 使感染细胞为免疫系统攻击;
- 4) 一些病毒 (如腮腺炎病毒和流感病毒) 的高浓度蛋白质对细胞与有机体有毒性;
- 5) 许多病毒感染过程中在细胞内形成包涵体, 它们源自核或细胞内亚单元或病毒颗粒的团簇化, 此类包涵体直接干扰细胞结构;
- 6) 染色体破坏;
- 7) 宿主细胞被消灭或转变成恶性细胞。

## 1.3 SARS 病毒

非典型性肺炎, 所谓重度急性呼吸综合征 (the severe acute respiratory syndrome, SARS) 是由冠状 (CoV) SARS 病毒引起。此冠状病毒是包膜病毒, 它在动物宿主细胞中复制, 其单链正义 RNA 基因组长度约 30 kb (千碱基), 具有 5' 末端有帽结构和 3' 多聚腺苷酸序列。一旦转染一适宜的宿主细胞, 病毒基因组的 5' 大多数开放读码框

(ORF) 被编译成一个多蛋白, 它再被病毒编码蛋白酶切割释放某些非结构性蛋白, 包括 RNA 依赖性 RNA 聚合酶 (Rep)、腺苷三磷酸酶 (ATPase) 和解旋酶 (Hel)。这些蛋白质按次序响应以复制病毒基因组, 且产生嵌套转录物, 后者可用于病毒蛋白质的合成。此类次基因组的 mRNA 形成机理目前尚不清楚。最新的研究结果确认, 在每个基因 5' 末端的转录调控序列 (TSRs) 产生一些信号以调控次基因组的 mRNAs (sgm RNAs) 的不连续转录。TSRs 包括部分保守核序列 (CS), 对某些冠状病毒为 5'-CUAAAC-S' (C-胞嘧啶, U-尿嘧啶, A-腺嘌呤)。病毒膜蛋白, 主要包括刺突 S 蛋白和膜 M 蛋白插入内质网高尔基体中间区室 (ERGIC), 而全长度复制的 RNA (+ 链) 与核衣壳 N 蛋白组装。RNA 蛋白复合物再和埋置在内质网 (ER) 膜中的 M 蛋白缔合, 核衣壳芽进入 ER 时形成病毒粒子, 病毒再从高尔基体复合物迁移, 最后可能通过胞吐作用从细胞离去, 病毒的宿主细胞黏附位点在 S 蛋白上。

最近加拿大 M.A. Marra 等报道了 SARS 相关动物冠状病毒的基因序列, 是经 Tor2 分离的 29 751 碱基的基因组序列<sup>[2]</sup>; 而德国 P.A. Rota 等同时报道了 SARS-CoV 是一类多变的大的包膜正链 RNA 病毒<sup>[3]</sup>, 其基因组约会有 29 727 个核苷酸, 有 11 个开放读码框架 (ORF), 基因组结构与其他冠状病毒相似, 但系统发育分析和序列比较表明, SARS-CoV 却与以前表征过的冠状病毒没有相关性。

## 2 抗病毒策略

### 2.1 抗病毒药物设计基础

冠状病毒为正链 RNA 病毒, 其 RNA 基因组是迄今最大的, 有 2 731 kb (千碱基)。人冠状病毒 229E 复制酶基因包括 20 000 核苷酸, 编码两个重叠多蛋白 ppla (复制酶 la, ~450 kDa) 和 pplab (复制酶 lab, ~750 kDa), 它们介导病毒复制和转录所需全部功能。pplab 的 COOH 邻近部分的表达要 (-1) 核糖体移码。深程度蛋白酶解加工使功能多肽从多蛋白中释放出来。这主要由 33.1-kDa 人冠状病毒 (HCoV) 229E 主蛋白酶 (M<sup>pro</sup>) 完成, 它有时亦称为 3C-状蛋白酶 (3CL<sup>pro</sup>)。M<sup>pro</sup> (3CL<sup>pro</sup>) 在亮氨酸-谷氨酰胺 (Leu-Gln) ↓ (丝氨酸, 丙氨酸, 甘氨酸, Ser, Ala, Gly) 序列至

少 11 个保守位点切割多蛋白, 而这个过程由 ppla 和 pplab 酶的自溶切割开始。从 SARS 冠状病毒 (CoV) 基因组序列确认  $M^{pro}$  的切割模式恒定。SARS-CoV 多蛋白在 P2 位上有 3 个含苯丙氨酸 (Phe)、甲硫氨酸 (Met) 或缬氨酸 (Val) 非正常  $M^{pro}$  切割位点, 这与其他冠状病毒的切割位点则不同。 $M^{pro}$  在病毒生存周期的功能重要性使此蛋白酶成为抗 SARS 和其他冠状病毒药物开发的主要治疗靶。由于主要蛋白酶  $M^{pro}$  控制冠状病毒复制复合物的活性, K. Anand 等测定了人冠状病毒 (毒株 229E)  $M^{pro}$  的结晶结构<sup>[4]</sup>。分辨率 0.245 nm (2.54Å) 的 HCoV 229E  $M^{pro}$  结构表明,  $M^{pro}$  分子由 3 个结构域组成 (图 4)。结构域 I 和 II (分别有 8~99 和 100~183 个残基) 为六链反平行  $\beta$ -桶, 结合在一起犹如胰凝乳蛋白酶和小 RNA 病毒的 3C 蛋白酶构造, 其底物结合位点处于这两个结构域间裂缝。184~199 个残基的长环将结构域 II 和  $COOH^-$  末端结构域 III (200~300 残基) 连接。后者是由 5 个螺旋结构组成的球状团簇, 它与  $M^{pro}$  的蛋白酶的活性有关。HCoV 229E  $M^{pro}$  的结构和

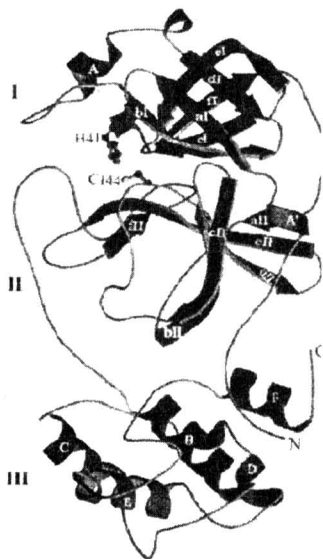


图 4 人冠状病毒全蛋白酶  $M^{pro}$  单体结晶结构

Fig. 4 Three dimensional structure of  $M^{pro}$  monomer human coronavirus main proteinase

第四类冠状病毒蛋白酶 TGE  $M^{pro}$  很相近。K. Anand 等对此提出了一个三维模型, 且合成底物类似氯甲基酮抑制剂苄氧基羰基-缬氨酸-天冬氨酸-丝氨酸-苏氨酸-氯氨酸-谷氨酰胺-CMK (Cbz-Val-Asn-Ser-Thr-Leu-Gln-CMK), 并发现抑制剂和酶的

相互作用与人鼻病毒 (HRV) 血清型 23  $C^{pro}$  酶抑制剂 AG7088 复合物 (图 5) 的相互作用类似。不过 AG7088 抑制剂有一乙烯基乙酯而不是一个 CMK 基, AG7088 抑制剂的对氟苯丙氨酸侧链太长, 不适合与冠状病毒的 S2 口袋结合, 而未修饰的苄基可与之匹配, 因而可以制备冠状病毒主要蛋白酶的有效生物抑制剂。作为广谱性抗病毒药物, 它们具有 Gln↓ (Ser, Ala, Gly) 特异性, 以抑制病毒蛋白酶包括 SARS 冠状病毒酶的活性<sup>[4]</sup>。

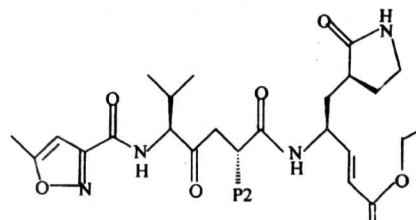


图 5 AG7088 复合物的结构

Fig. 5 The structure of AG7088

## 2.2 RNA 干扰 (RNAi)

流感 A 病毒的毒性源于它的气体悬浮粒子易传播; 它常改变病毒抗原 (抗原漂变); 两个不同的种类病毒间 RNA 重配或混合周期性涌现新的强毒株 (抗原转变)。现流感的疫苗由灭杀病毒或重组表面糖蛋白组成, 只能诱发弱的免疫球蛋白 G (IgG) 应答, 结果其保护作用在 6 个月后衰退。且现有疫苗每年要改变组成, 因为诱发保护抗体的病毒抗原血凝素 (HA) 和唾液酸苷酶 (NA) 常常变化, 使几年前的疫苗对任何新病毒亚型的效果不确定。美国已批准治疗和/或预防流感的 4 种抗流感药物, 然而因严重副作用, 且可能出现的病毒耐药性, 其应用仍有限。

各国学者竞相研究抗病毒的新策略以解决呼吸道病毒感染疾患, 而 RNA 干扰 (RNAi) 就是其中之一。双链 RNA (dsRNA) 指导信使 RNA (mRNA) 序列的特异降解就是 RNAi 过程; 它为 dsRNA 特异内切核酸酶 Dicer-RDE-1 诱发。Dicer-RDE-1 不断地将长 dsRNA 在 21 和 25 n 中间切割成双链片段, 称为短干扰 RNA (siRNA)。然后 siRNA 介入蛋白质复合物, 它识别且切割靶 mRNAs。哺乳动物细胞研究表明可通过向细胞引入合成型 21 siRNA 双链体而诱发 RNAi。流感病毒 A 有一区段基因组, 8 个 RNA 区段中的 3 个编码 RNA 转录酶的三个组分 (PA, PB1 和 PB2),



另3个区段编码主要糖蛋白HA, NA和核衣壳蛋白(NP), 其余的2个RNA区段编码基质蛋白M1或M2和NS1或NS2, 它们或作为病毒结构蛋白或在病毒生存周期内发挥功能。流感病毒A有15个HA亚型和9个NA亚型。美国MIT的Jianzhu Chen 研究组<sup>[5]</sup>设计了分别对NP, PA, PB1, PB2, M和NS基因有特异性的20个siRNA, 用Madin-Darby犬肾(MDCK)细胞考察了siRNA对病毒RNAs的抑制积累作用。结果表明: a. siRNAs有抑制流感病毒产生的功能; b. 某些siRNA不仅能干扰mRNA积累, 还可干扰其他病毒RNAs而发挥其抑制效应。特别是对靶向核衣壳(NP)和RNA转录酶的组分特别有效, 仅需 $10^{-12}$ 摩尔即有效。此工作为开发用于治疗流感病毒感染的siRNA提供了条件。流感病毒感染上呼吸道及肺部的上皮细胞, siRNA可通过鼻腔或肺部给药。此类NP蛋白特异siRNA抑制感染细胞中所有病毒RNAs积累, 这可能是因为在NP特异siRNA存在下, 新转录的NP mRNA被降解, 从而抑制NP蛋白合成, 且进一步阻断新病毒粒体产生所需病毒转录和复制。RNA转录酶组分(PA)特异siRNA存在下, 新转录的PA mRNA被降解, 使PA蛋白质合成受到抑制, 因而NP-和PA-特异siRNA为流感病毒感染特别有效的抑制剂。

### 2.3 基因疗法

为了从根本上解决病毒引起的疾患, 要从基因水平上寻求阻断、抑制甚至清除病毒是非常重要的。传统意义上的基因治疗是将外源目的基因导入靶细胞, 且与宿主细胞内基因整合后表达目的基因产物(如蛋白质)起治疗作用。近年常采用目的基因转移技术, 此时目的基因和宿主细胞基因不发生整合, 目的基因只是暂时表达, 其表达产物也有一定治疗作用。为了和传统基因治疗区别, 将这种暂时表达产物发挥治疗作用的基因治疗方法称为基因疗法(gene therapeutics)。针对宿主细胞病变及细胞基因采取的措施不同, 又分为基因转换(replacement)、基因修正(correction)、基因修饰(augmentation)、基因失活(inactivation)和基因疫苗(vaccine)等5种。后两者则是阻断和抑制病毒基因复制与表达的重要手段。

呼吸合胞体病毒(RAS)会使1~6个月婴儿及老人感染, 引起细支气管炎而住院, 亦会波及成年人和免疫妥协者。其治疗有赖于呼吸道施加抗原

表位基重组疫苗。细胞毒性T淋巴细胞(CTC, Tc)是效应细胞亚系, 这些 $CD8^+$ 细胞由其受体蛋白附着于病毒感染细胞。它们在表面显示病毒抗原及I型主要组织相容性复合体(MHC), 一旦发生识别, Tc细胞为 $T_H1$ 辅助细胞分泌白介素-2(IL-2), 激发而分裂与增殖,  $T_H2$ 辅助细胞分泌IL-4, IL-5, IL-10和IL-13, 它们刺激 $\beta$ 细胞增殖, 且分泌特异的抗病毒抗体。因此T辅助细胞为巨噬细胞激活。细胞毒性Tc细胞的抗体启动全部免疫防御系统。一旦激活, Tc细胞和 $T_H1$ 细胞释放 $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )有效的细胞因子, 而巨噬细胞和T细胞释放肿瘤坏死因子—— $\alpha$ (IFN- $\alpha$ )。这些细胞因子限制病毒繁殖, 同时激活巨噬细胞和其他吞噬细胞, 从而破坏感染细胞。Tc细胞以两种途径破坏目标细胞。一种为CD95途径, 为细胞表面CD95或fas受体介导, 引起凋亡序列; 另一种是穿孔素途径, 直接使细胞溶解, 它涉及穿孔素和粒酶(由Tc及大颗粒淋巴细胞通过颗粒胞容方式分泌的丝氨酸蛋白酶)的分泌。因而, 疫苗应促进 $CD8^+$ 细胞(细胞毒性T淋巴细胞CTL)应答。M.W.Steward等人将编码抗原决定簇M2: 82~90(表位)的小基团克隆至pSecTagB载体生产DNA疫苗。此DNA疫苗在BALB/C小鼠体内诱发保护性CTL应答, 以抗病毒。此抗原决定簇基DNA疫苗的作用和 $\gamma$ 干扰素IFN(IFN- $\gamma$ )有关。

鼻粘膜是粘膜免疫系统的重要组成部分, 通常它是吸入抗原如呼吸道合胞体病毒(RSV)的第一接触点。鼻腔给药(如疫苗)时体液和细胞介导有效免疫应答, 从而保护性抵抗呼吸道病原体。动物模型确认DNA疫苗靶向粘膜免疫系统特异诱发位点会诱发系统和体液抗体应答, 且增强CTL应答。但将裸DNA释放至粘膜表面一般不易使上皮细胞传染。因裸DNA为大的荷电大分子, 很难经粘膜表面吸收。添加荷正电的脂质体或聚合物, 使DNA自组装成纳米粒子复合物, 可提高DNA疫苗的转染效率。再者, 荷正电的纳米粒子会有粘膜黏连性, 体内消除缓慢, 可有更多机会与淋巴组织接触, 如NALT接触。虽然许多阳离子聚合物可将DNA释放至粘膜表面, 但要选择能形成稳定纳米粒子的DNA载体材料, 随后它可在细胞内去组装(核内体释放, 逃逸等), 使DNA进入细胞核, 且此材料生物相容性良好。壳聚糖(乙酰基葡糖胺和

葡糖胺共聚物)能满足这些要求。它已用于蛋白质和肽类药物及疫苗的鼻腔释放。研究表明,壳聚糖与表达 RSV 免疫决定簇的 DNA 质粒形成的复合物经小鼠鼻腔给药后能诱发保护性 CTL 应答。这类类似于裸 DNA 的皮下接种,说明质粒 DNA 壳聚糖物复合物利于 DNA 疫苗的鼻腔接种<sup>[6]</sup>。

#### 2.4 多糖对病毒蛋白的调控

人免疫缺损病毒(HIV)分为 HIV-1 和 HIV-2 两种。HIV-1 是艾滋病(AIDS)成因逆转录病毒。虽然某些核苷类衍生物如 3'-叠氮-3'-脱氧胸苷(A2T), 2', 3'-双脱氧肌苷(ddI)和 2', 3'-双脱氧乌苷有一定疗效,但均有一定毒副作用,且会出现耐药性变异病毒。因而需要开发不同于核苷衍生物机理的新型抗 HIV-1 药剂。

众所周知,许多糖胺聚糖(GAGs)对细胞外生物过程有特异的调控作用。因而可利用 GAGs 及其类似物与 HIV-1 的主要包膜糖蛋白(gp120)相互作用,对 HIV-1 初期感染人淋巴细胞进行调控。许多硫酸化多糖对 AIDS 病毒在体外复制显示潜在的抑制效应。S.I.Nishimora 等合成了新型硫酸化多糖 2-乙酰胺基-2-脱氧-3-O-硫酸化-(1→4)-β-D-糖吡喃和(1→4)2-脱氧-2-磺氨基-3-O-硫酸化-(1→4)-β-D-吡喃糖。它们,特别是后者,在较低浓度下即能完全抑制 AIDS 病毒感染 T 淋巴细胞<sup>[7]</sup>。

#### 2.5 天然药物的抗病毒活性

表 1 中列出了抗 HIV 的天然药物及其制剂,说明天然药物具有防止和治疗病毒的潜力,值得进一步研究。

表 1 抗病毒中草药

Table 1 Natural herbal medicines in anti-virus

中草药(活性成分)或成药	病毒抑制	研究者
黄芪苷	抗 HIV 感染与复制	Li B Q <sup>[8]</sup>
天花粉蛋白	I 型核糖体灭活, 蛋白抗 HIV, 抑制转录与反式激活	Chow T P <sup>[9]</sup>
补中益气汤	抗鼠巨细胞病毒(MCMV), 增加 NK 细胞数和干扰素 IFNα/β 早期生成	Takimoto H <sup>[10]</sup>

#### 2.6 肺泡组织工程

病理学研究表明,重症 SARS 患者的肺泡严重受损,肺泡为肺的动能单元。肺泡内皮的主要细胞

有 I 型和 II 型肺泡细胞(肺细胞),它们存在于肺基膜上。I 型肺细胞是高度特异的鳞状细胞,负责进行气体交换。II 型肺细胞是立方形细胞,存在于肺泡中隔凹陷内,分泌肺表面活性剂,还具有离子传输等功能。对肺泡损伤进行修复时 II 型肺细胞分化成 I 型肺细胞,并充满损伤的肺泡内皮。研究表明,内皮细胞与影响功能的成纤维细胞密切相关。因此为构筑肺泡组织需将肺内皮细胞和成纤维细胞共培养。岡野光夫等<sup>[11]</sup>将 4~5 周龄的威斯塔鼠的肺细胞以  $2 \times 10^4$  细胞/cm<sup>2</sup> 密度种植在 35 mm 大小的聚异丙基丙烯酰胺接枝培养板上,在含有胎牛血清、胰岛素、霍乱毒素和氯化可的松的 DMEM/F12 介质中培养至第 13 天将温度降至 20℃ 采集形成的细胞单层,用亲水性结构物修饰的聚偏二氟乙烯(PVDF)膜支撑细胞单层,将其转载至较大的组织培养板上,再于 37℃ 培养 30 分钟。肺细胞增殖并迁移,铺满形成圆顶。I 型和 II 型内皮细胞显示其形态特征。此时,成纤维细胞可由氯化可的松和霍乱毒素的添加量调控,它们还促进内皮细胞的增殖。肺泡内皮细胞用前列腺素 E-2 能抑制成纤维细胞生长。成纤维细胞分泌角质形成细胞生长因子刺激肺泡内皮细胞的粘附、增殖和表达表面活性剂蛋白(SP-A、SP-B 和 SP-D)。因此,这个系统支撑并促进细胞间的相互作用,以保持和谐的肺细胞种群。成纤维细胞近旁的肺泡内皮细胞呈现较高的活性。

### 3 结语

微生物、高等生物以及人类均由蛋白质、糖和核酸等生物大分子按复杂的阶层结构构成。它们均是开放系统,在其内部与环境间进行着物质、能量和信息的交换,相互间存在双向多重相互作用,保持动态平衡。病毒从古到今日,不但与人类共存,也始终在威胁着人类健康。对病毒从基因、分子、细胞和组织水平上认知,借鉴抗 AIDS 的 HIV-1 病毒、流感病毒和肝炎等病毒等手段以及对比其他类型冠状病毒,可望提供有效的抗 SARS 手段。为此,要利用工程科学与生命科学的原理与方法构筑预防及抗病毒的复杂系统工程,且从基因工程、蛋白质工程、中医药工程和组织工程层面上实施综合治理,创建富有特色的对病毒的高效防治系统。

## 参考文献

- [1] Prescott L M, Harley J P, Klein D A. Microbiology [M], 4th ed, Boston: WCB McGraw-Hill, 1999. 336~355
- [2] Marra M A, Jones S J M, Astell C R, et al. The genome sequence of the SARS-associated coronavirus [J]. Science, 2003, 300(30):1399~1404
- [3] Rota P A, Oberste M S, Monroe S S, et al. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome[J]. Science, 2003, 300:1394~1399
- [4] Anand K, Ziebuhr J, Wadhwani P, et al. Coronavirus main proteinase (3CL<sup>pro</sup>) structure: basis for design of anti-SARS drugs [J]. Science, 2003, 300: 1763 ~ 1767
- [5] Ge Q, McManus M T, Nguyen T, et al. RNA interference of influenza virus production by directly targeting mRNA for degradation and indirectly inhibiting all viral RNA transcription [J]. Proc Natl Acad Science, 2003, 100:2718~2723
- [6] Iqbal M, Lin W, Jabbal-Gill I, et al. Nasal delivery of chitosan-DNA plasmid expressing epitopes of respiratory syncytial virus (RSV) induces protective CTL responses in BALB/c mice [J]. Vaccine, 2003, 21:1478~1485
- [7] Nishimura S I, Kai H, Shinada K, et al. Regioselective syntheses of sulfated polysaccharides: specific anti-HIV-1 activity of novel chitin sulfates [J]. Carbohydrate Research, 1998, 306:427~433
- [8] Li B Q, Fu T, Yan Y D, et al. Inhibition of HIV infection by baicalin-a flavonoid compound purified from Chinese herbal medicine [J]. Cell Mol Biol Res, 1993, 39(2): 119~124
- [9] Chow T P, Feldman R A, Lovett M, et al. Isolation and DNA sequence of a gene encoding alpha-trichosanthin, a type I ribosome-inactivating protein [J]. J Biol Chem, 1990, 265(15): 8670~8674
- [10] Hossain M S, Takimoto H, Hamano S, et al. Protective effects of hochu-ekki-to, a Chinese traditional herbal medicine against murine cytomegalovirus infection [J]. Immunopharmacology, 1999, 41: 169~181
- [11] Yamato M, Konno C, Utsumi M, et al. Thermally responsive polymer-grafted surfaces facilitate patterned cell seeding and co-culture [J]. Biomaterials, 2003, 23: 561~567

## Anti RNA Viruses Related Biomaterials

Yao Kangde<sup>1</sup>, Yin Yuji<sup>1</sup>, Zhang Baolian<sup>1,2</sup>, Zhao Liguo<sup>1</sup>

(1. Research Institute of Polymeric Materials, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

(2. Materials Department of Tianjin Institute of Urban Construction, Tianjin 300384, China)

**[Abstract]** The structure, reproduction, replication and transcription of RNA viruses were introduced. Anti-virus strategies including design of anti-SARS drugs, RNA interference, DNA vaccine delivery system, modulation of interaction of envelop glycoprotein with glycosaminoglycan derivatives or analogues, natural herbal medicine and alveolus tissue engineering were reviewed. These examples imply the interactions of RNA viruses with proteins, DNA, and polysaccharides. Nowadays biomaterials matrixes or vectors are developing toward the third generation, i. e. cell or/and activated ones. It is sure that biomaterials will play a crucial role in fighting against SARS viruses and the like.

**[Key words]** Anti-RNA viruses; protein; DNA; polysaccharide; biomaterials