

亲环素 A 对冠状病毒复制的影响及其抑制剂的抗病毒作用研究进展

田璐^{1,2}, 刘文军^{1,2}, 孙蕾^{1,2}

1 中国科学院微生物研究所 病原微生物与免疫学重点实验室, 北京 100101

2 中国科学院大学, 北京 100049

田璐, 刘文军, 孙蕾. 亲环素 A 对冠状病毒复制的影响及其抑制剂的抗病毒作用研究进展. 生物工程学报, 2020, 36(4): 605–611.

Tian L, Liu WJ, Sun L. Role of cyclophilin A during coronavirus replication and the antiviral activities of its inhibitors. Chin J Biotech, 2020, 36(4): 605–611.

摘要: 亲环素 A (CypA) 是一种在生物界中广泛分布, 并具有高度保守性的蛋白质, 具有肽基脯氨酰顺/反异构酶活性, 是免疫抑制药物环孢素 A (CsA) 的细胞内受体。冠状病毒是具有包膜的、单股正链 RNA 病毒, 目前已知有 7 种冠状病毒可以感染人类, 其中包括致命的 SARS-CoV、MERS-CoV 以及新型冠状病毒 (SARS-CoV-2)。已有研究表明, CypA 在 SARS-CoV、CoV-229E、CoV-NL63 以及 FCov 等多种冠状病毒的复制中是必不可少的, 而且 CypA 的抑制剂 CsA 及其衍生物 (ALV、NIM811 等) 对多种冠状病毒具有明显的抑制作用, 暗示 CypA 是潜在的抗冠状病毒药物靶点, CsA 这种老药有可能是一种抗冠状病毒的药物。2019 年底, 新型冠状病毒突然肆虐中国, 严重威胁人民生命健康并造成巨大经济损失。鉴于此, 文中介绍了 CypA 对冠状病毒复制的影响, 并阐述了其抑制剂的抗病毒作用, 旨在为抗新型冠状病毒药物的研发提供科学依据及思路。

关键词: 亲环素 A, 环孢素 A, 冠状病毒, 新型冠状病毒

Role of cyclophilin A during coronavirus replication and the antiviral activities of its inhibitors

Lu Tian^{1,2}, Wenjun Liu^{1,2}, and Lei Sun^{1,2}

1 Key Laboratory of Pathogenic Microbiology and Immunology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Cyclophilin A (CypA) is a widely distributed and highly conserved protein in organisms. It has peptidyl-prolyl cis/trans isomerase activity and is a receptor for cyclosporin A (CsA). Coronaviruses are enveloped, single-stranded, positive-sense RNA viruses. Seven types of coronaviruses are currently known to infect humans, among which SARS-CoV,

Received: February 1, 2020; **Accepted:** February 20, 2020

Supported by: National Natural Science Foundation of China (Nos. 31672531, 31972657).

Corresponding author: Lei Sun. Tel: 86-10-64807503; E-mail: sunlei362@im.ac.cn

国家自然科学基金 (Nos. 31672531, 31972657) 资助。

MERS-CoV, and SARS-CoV-2 are fatal for humans. It is well established that CypA is essential for the replication of various coronaviruses such as SARS-CoV, CoV-229E, CoV-NL63, and FCoV. Additionally, CsA and its derivatives (ALV, NIM811, etc.) have obvious inhibitory effects on a variety of coronaviruses. These results suggest that CypA is a potential antiviral target and the existing drug CsA might be used as an anti-coronavirus drug. At the end of 2019, SARS-CoV-2 raged in China, which seriously threaten human health and causes huge economic losses. In view of this, we describe the effects of CypA on the replication of coronaviruses and the antiviral activities of its inhibitors, which will provide the scientific basis and ideas for the development of antiviral drugs for SARS-CoV-2.

Keywords: cyclophilin A, cyclosporin A, coronaviruses, SARS-CoV-2

2019年12月初,武汉华南海鲜市场开始集中出现新型冠状病毒(SARS-CoV-2)所致肺炎(WHO定名:COVID-19)疫情,后来迅速蔓延至全国。截至2020年2月20日,我国确诊病例已累计7万余例,死亡2000余人。2020年1月30日,世界卫生组织宣布该疫情构成国际关注的突发公共卫生事件。疫情发生后,全国多省市陆续启动重大突发公共卫生事件I级响应,多省市大中小学幼儿园和单位延期开学、开工,旅游业暂停,部分交通设施及各类娱乐场所暂时关闭。新型冠状病毒肺炎的暴发严重威胁了人民的生命健康并且为我国经济发展带来了重创。严峻形势下,我们急需探究针对此病毒的新型药物以及有效的防控措施。本文主要介绍了亲环素A对冠状病毒复制的影响及其抑制剂的抗病毒效果,旨在为抗新型冠状病毒药物的研发提供科学依据及思路。

1 亲环素 A

亲环素 A (Cyclophilin A, CypA) 属于 Cyclophilin (Cyp) 家族成员,该家族成员具有顺反异构酶活性,在生物界中广泛分布,并具有高度保守性。CypA 最早于 1984 年由 Handchumcher 等从牛胸腺中提取出来并进行提纯^[1],并发现其作为胞内蛋白对具有免疫抑制功能的环孢菌素 A (Cyclosporin A, CsA) 具有极高的亲和性。同年, Fischer 等^[2]发现了具有肽基脯氨酰顺/反异构酶 (PPIase) 活性的蛋白,进一步研究表明该 PPIase 活性蛋白即为 CypA 蛋白,随后亲环素家族的其他成员相继被发现。目前已经在人体内发现了 16 种

结构不同的 CyPs 家族成员 (CypA、CypB、CypC、CypD、CypE、Cyp40、CypNK 等),其中,含量最多的是 CypA,其含量约占细胞质蛋白总含量的 0.1%–0.6%^[3]。它们都具有由约 109 个氨基酸构成的亲环素样结构域 (Cyclophilin-like domain, CLD)^[4-5],在哺乳动物、植物、昆虫、细菌、真菌甚至病毒中均有存在。CsA 的免疫抑制作用是通过 CsA、CypA 和钙调磷酸酶形成三元复合物来实现的。CsA 在进入体内后先与 CypA 结合,CsA-CypA 复合物结合并抑制钙调神经磷酸酶,使其底物激活的 T 细胞核因子 (Nuclear factor of activated T cells, NF-AT) 等不能被去磷酸化,导致其不能从细胞质向细胞核转位,从而在转录水平阻断淋巴细胞活化,使 T 细胞活化必需的一些细胞因子表达受阻^[6]。大量研究发现,CypA 除了作为免疫抑制剂 CsA 的受体蛋白以外,还参与细胞凋亡、转录调控、信号转导、病毒复制等多种生命过程^[7-9]。

CypA 能够调控多种病毒的复制。CypA 可与丙肝病毒 (HCV) 的 NS2 蛋白^[10]、NS5A 蛋白^[11]和 NS5B 蛋白产生相互作用,并被证明是 HCV 复制所必需的宿主因子^[12]。现有的抗 HCV 药物 Alisporivir 即是阻碍了 CypA 和 NS5A 的结合,从而影响了 HCV 的复制。无免疫抑制特性的 CyPs 抑制剂如 NIM811、Debio-025 和 SCY-635 已经进入临床试验中^[13],有望成为今后有效的治疗药物。CypA 也被发现可与人类免疫缺陷病毒 (HIV-1) 的 Gag 蛋白相互作用^[14],CypA-Gag 相互作用对于人类细胞中 HIV-1 的复制至关重要,CsA 通过阻止 CypA-Gag 相互作用抑制 HIV-1 感染^[15],在 Gag

的 CypA 结合区中引入突变也可减少 HIV-1 的感染。我们实验室的研究发现, CypA 也可与甲型流感病毒 (IAV) 的 M1 蛋白相互作用, 并整合到流感病毒粒子中^[16], M1 蛋白在流感病毒的复制周期中起到多种功能, 包括病毒的脱衣壳、转录、组装和释放^[17]。CypA 主要通过加速 M1 蛋白的降解从而在翻译后水平上影响流感病毒的复制^[18]。同时, CypA 还能够通过靶向 RIG-I 和 MAVS 的泛素化来调控 RIG-I 介导的 I 型干扰素的产生, 从而影响 IAV 等病毒的复制^[19]。此外, CypA 还与多种其他病毒的复制有关。例如: CypA 的稳定性在 VV 感染的细胞中显著增加, CypA 会重新定位到细胞核的外周区域, 与病毒产生共定位, 然后掺入病毒颗粒中并特异性地定位于核心^[20]; CypA 与 VSV 的核衣壳蛋白相互作用, 并且与 VV 类似, 可以掺入 VSV 病毒颗粒中, 它可能充当核衣壳蛋白的分子伴侣, 包裹基因组 RNA 以产生转录的功能模板^[21]; 轮状病毒 (RV) 感染是全世界 5 岁以下婴幼儿急性脱水性腹泻的主要原因。RV 感染可引发 CypA 蛋白的暂时增加。在 RV 感染的细胞中, CypA 被募集到 RV 的病毒体中, 并且与 RV 结构蛋白 VP2 相互作用以抑制 RV 感染细胞并通过其 PPIase 活性抑制 RV 复制^[22]。

2 冠状病毒简介

值得关注的是 CypA 在多种冠状病毒的复制中必不可少。冠状病毒是一类具有包膜的单股正链 RNA 病毒, 可引起多种哺乳动物 (人类、蝙蝠、猫和小鼠等) 以及鸟类不同程度的呼吸道、胃肠道及中枢神经系统疾病^[23]。冠状病毒主要分为 4 种属: α 属、 β 属、 γ 属和 δ 属^[24]。已知可感染人类的冠状病毒有 7 种, 分别是 HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-NL63、HCoV-HKU1、SARS-CoV、MERS-CoV 以及 SARS-CoV-2。在冠状病毒感染过程中起作用的蛋白主要有 6 种, 分别为核衣壳蛋白 (N)、刺突糖蛋白 (S)、小包膜糖蛋

白 (E)、膜糖蛋白 (M)、多聚酶以及 3CL 水解酶^[25], 其中 S、E、M 和 N 蛋白为冠状病毒的结构蛋白。在冠状病毒中, 三分之二的基因组位于基因组 5' 区域内, 该区域包含开放阅读框 1a (ORF1a) 和开放阅读框 1b (ORF1b)^[26], 它们编码 RNA 依赖性 RNA 聚合酶 (RdRp)、解旋酶和其他非结构蛋白 (Nsp)。在基因组的其余三分之一中, 结构蛋白的基因以固定顺序编码: S-E-M-N, 这些基因之间存在数量可变的 ORF 编码辅助蛋白^[27]。

HCoV-229E、HCoV-OC43 于 20 世纪 60 年代被发现, 主要造成普通感冒, 一般不会引起严重病症。SARS-CoV 是一种高度侵袭性的人类病原, 可引起严重呼吸系统窘迫综合征, 通常具有致命的后果^[25]。该病毒在越过物种壁垒 (最有可能从蝙蝠到果子狸再到人类) 后, 于 2003 年开始流行, 是第一种已知的有可能导致人类高发病率和高死亡率的疾病发生的冠状病毒^[28], 造成 8 098 例感染及 774 例死亡^[29]。由于没有高效的治疗方法, 该流行病最终可以通过有效的传统公共卫生措施进行隔离得以控制。CoV-NL63、HCoV-HKU1 分别于 2004 年^[30]和 2005 年^[31]被发现, 易感染儿童, 可能会引起严重的下呼吸道感染, 如支气管炎和肺炎。2012 年, 中东地区出现了一种新的人类冠状病毒 MERS-CoV, 与 SARS-CoV 同样可能导致肾衰竭和急性肺炎, 但死亡率更高, 约为 50%^[24]。2019 年 12 月初, 武汉华南海鲜市场开始集中出现不明原因的肺炎疫情, 该流行病的病原体被确认为 SARS-CoV-2, 属于 β 属冠状病毒, 将其全基因组核苷酸序列与 β 属的 SARS-CoV 和 MERS-CoV 进行比对, 发现相似性分别约为 70% 和 40%。值得注意的是, SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 都是主要通过 S-蛋白与人血管紧张素转换酶 2 (ACE2) 互作来感染人的呼吸道上皮细胞^[32]。

3 亲环素 A 对冠状病毒复制的影响

病毒的复制大多需要宿主因子的参与, 至今已

有大量文章报道 CypA 在多种冠状病毒的复制中起着重要的作用。有关 CypA 可能参与冠状病毒复制的提示来自于 SARS-CoV 相关研究。研究人员通过表面等离子体共振生物传感技术发现 CypA 与 SARS-CoV 的 N 蛋白具有非常高的亲和力^[33], 并通过定点突变和亲和力的测定确定了它们的结合位点, 推测 CypA 可能作为 N 蛋白的分子伴侣在复制过程中发挥着重要作用。CD147 是一种 I 型跨膜蛋白, 已被确定为细胞外 CypA 的主要信号受体^[34]。尽管 SARS-CoV 蛋白没有直接与 CD147 分子结合, 但是通过表面等离子共振分析发现 SARS-CoV 的 N 蛋白能够与和 CD147 相互作用的 CypA 结合, 并且 CD147 拮抗剂对 SARS-CoV 具有抑制作用。这些结果表明 CD147 分子在促进 SARS-CoV 入侵宿主细胞中发挥功能性作用^[35], CsA 可能会通过抑制 CypA 的功能进而抑制 SARS-CoV 的复制^[36]。另外, SARS-CoV Nsp1 是一种体内毒力因子, 其作用与免疫应答的早期阶段有关, 包括对干扰素信号传导的拮抗活性和对宿主蛋白质合成的抑制作用^[37-38], 而 CypA 可以与 Nsp1 蛋白的氨基 (N) 末端区域互相作用并可能充当分子伴侣^[39]。这些研究为探究 SARS-CoV 以及其他冠状病毒感染途径提供新的提示, 并进一步为抗 SARS 药物筛选提供一种可行的方法。

研究人员构建了分别敲低 CypA 和 CypB 的 CaCo-2 细胞系, 通过噬斑实验观察到 CaCo-2CypA 细胞完全不支持 CoV-NL63 生长, 表明 CoV-NL63 的复制过程功能性依赖 CypA, 而不是 CypB^[40]。还有研究表明 CypA 在 HCoV-229E 的复制过程中也担任着重要角色^[29]。CypA 不仅对于感染人的冠状病毒发挥着举足轻重的作用, 它对于动物冠状病毒的复制也有一定作用。猫科动物冠状病毒 (FCoV) 的复制也需要 Cyps 的参与, 过表达 CypA 与 CypB 能够明显促进 FCoV 的复制及其蛋白的表达, FCoV 在 CypA 和 CypB 敲除细胞中的病毒载量下降了超过 95% (与其在野生型细胞中相比)^[41]。

4 亲环素 A 抑制剂的抗冠状病毒作用研究

一般来说, RNA 病毒基因组通常以低保真度复制并经历快速的进化变异, 尽管冠状病毒编码一个校对的核糖核酸外切酶 (Nsp14 ExoN), 有校对活动, 可增强其大型基因组的复制稳定性, 但该域内的突变亦会显著提高其突变率^[42]。病毒复制依赖于多种宿主因子, 这些宿主因子是潜在的抗病毒靶点。迄今为止, 既没有针对引起普通感冒的冠状病毒的药物, 也没有针对高致病性冠状病毒的有效治疗药物。抗病毒药物的开发集中在病毒蛋白酶和解旋酶抑制剂的开发上, 且针对病毒靶标的药物通常倾向于快速地产生耐药性。因此, 将病毒复制所需的宿主因子作为靶点, 可能会减少耐药性的产生, 寻找这些靶点和抑制剂是当务之急。

4.1 CsA 对冠状病毒复制的影响

CsA 是一种众所周知的广泛应用于临床的免疫抑制药物, 它与 Cyps 结合以抑制钙调神经磷酸酶 (钙调钙蛋白激活的丝氨酸/苏氨酸特异性磷酸酶)。钙调神经磷酸酶的抑制作用阻止了 NF-AT 从胞质溶胶转移到核中, 从而阻止了编码细胞因子 (如白介素 2) 的基因的转录^[43]。上文中已经阐述了 CypA 在多种冠状病毒的复制过程中担任着举足轻重的角色, 抑制其 PPIase 活性不仅会阻止蛋白的正确折叠, 而且还会抑制许多病毒复制过程中必不可少的病毒蛋白。目前已有大量研究表明 CsA 是某些人类和动物冠状病毒的有效抑制剂^[36,39,41], 一些关于 CsA 抑制机理的研究表明这与 Cyps 参与病毒复制有关。

研究人员用 CsA 处理感染了 SARS-CoV 的 Vero-E6 细胞和 293/ACE2 细胞 (可稳定表达 SARS-CoV 的受体 ACE2) 以及感染了 HCoV-229E-GFP 的 Huh7 细胞和感染了 MHV-GFP 的 17CL1 细胞, 结果表明 CsA 可以抑制 SARS-CoV、HCoV-229E 和 MHV 的复制, 其中对于 HCoV-229E 的抑制效果最好^[36]。SARS-CoV Nsp1 的过度表达

或 SARS-CoV 感染会大大增强 NF-AT 通路的信号传导,并增强对 IL2 的诱导,表明 NF-AT 信号通路对免疫细胞的活化有影响,从而解释了严重 SARS 病例中观察到的细胞因子失调和免疫依赖性发病机制。有研究表明,CsA 与细胞内 CyPs 结合并阻断 NF-AT 途径,CyPs-CsA 复合物也可能抑制病毒复制所需的 CyPs 的其他功能^[44]。此外,研究人员发现 CsA 抑制了其他 CoV 成员的复制。MERS-CoV 感染细胞后,病毒 RNA 合成迅速增加,在感染后的 13–24 h 开始出现不同程度的细胞病理学改变,加入 CsA 后,细胞病理现象有明显改善^[45]。CsA 可以明显地抑制 HCoV-NL63 的复制以及病毒蛋白的合成^[40],猪传染性胃肠炎病毒 (TGEV)、禽传染性支气管炎病毒 (IBV) 及 FCoV 的复制也可被 CsA 明显抑制^[39,41]。

4.2 CsA 衍生物对冠状病毒复制的影响

对于具有较低致病性的病毒感染的治疗,我们希望利用 CsA 能够抑制 PPIase 活性这一特点,并且希望它不抑制免疫活性,所以目前已经开发出很多满足这些标准的 CsA 衍生物,包括 ALV^[46]、NIM811、复合物 3^[47]等。研究人员通过用 ALV、NIM811 以及复合物 3 处理转染了 HCoV-229E-GFP 的人类肝癌细胞 (利于 HCoV-229E 的稳定生长),发现这 3 种非免疫抑制性的 CsA 衍生物可以明显地抑制 HCoV-229E 的复制。同时,ALV 也可明显地抑制 HCoV-NL63 的复制^[40]。另外一种新型环孢霉素衍生物 STG-175,不具有免疫抑制作用,在已知同类化合物中是一个活性很高的 CyPs 抑制剂,也有可能是一种潜在的抗冠状病毒药物^[48]。

5 展望

严峻形势下,我们急需探究针对新型冠状病毒的新型药物以及有效的防控措施。基于已有研究结果,可以发现 CypA 与冠状病毒等多种病毒的关键蛋白互相作用,并且参与了多种病毒的复制过程。尽管尚不能确定 CsA 等 CypA 抑制剂抗冠状病毒

的确切机制,但该类药物可能通过干扰病毒蛋白与多个蛋白家族的一个或多个成员之间的功能相互作用从而抑制冠状病毒的复制。而且,CsA 是一种广泛应用于临床的老药,安全、有效、质量可控,如果能用于治疗冠状病毒引起的疾病,将大大缩短其进入临床的时间。总之,CypA 在多种冠状病毒复制过程中发挥重要作用,其抑制剂将是一类非常有潜力的广谱抗冠状病毒的候选药物。CypA 及其抑制剂在新型冠状病毒复制过程中的作用还有待进一步研究。

REFERENCES

- [1] Handschumacher RE, Harding MW, Rice J, et al. Cyclophilin: a specific cytosolic binding protein for cyclosporin A. *Science*, 1984, 226(4674): 544–547.
- [2] Fischer G, Bang H, Mech C. Determination of enzymatic catalysis for the cis-trans-isomerization of peptide binding in proline-containing peptides. *Biomed Biochim Acta*, 1984, 43(10): 1101–1111.
- [3] de Wilde AH, Pham U, Posthuma CC, et al. Cyclophilins and cyclophilin inhibitors in nidovirus replication. *Virology*, 2018, 522: 46–55.
- [4] Marks AR. Cellular functions of immunophilins. *Physiol Rev*, 1996, 76(3): 631–649.
- [5] Rajiv C, Davis TL. Structural and functional insights into human nuclear cyclophilins. *Biomolecules*, 2018, 8(4): 161.
- [6] Smart EJ, Ying YS, Donzell WC, et al. A role for caveolin in transport of cholesterol from endoplasmic reticulum to plasma membrane. *J Biol Chem*, 1996, 271(46): 29427–29435.
- [7] Watashi K, Shimotohno K. Cyclophilin and viruses: cyclophilin as a cofactor for viral infection and possible anti-viral target. *Drug Target Insights*, 2007, 2: 9–18.
- [8] Terajima M, Taga Y, Cabral WA, et al. Cyclophilin b deficiency causes abnormal dentin collagen matrix. *J Proteome Res*, 2017, 16(8): 2914–2923.
- [9] Brazin KN, Mallis RJ, Fulton DB, et al. Regulation of the tyrosine kinase Itk by the peptidyl-prolyl isomerase cyclophilin A. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(4): 1899–1904.

- [10] Ciesek S, Steinmann E, Wedemeyer H, et al. Cyclosporine A inhibits hepatitis C virus nonstructural protein 2 through cyclophilin A. *Hepatology*, 2009, 50(5): 1638–1645.
- [11] Chatterji U, Bobardt M, Selvarajah S, et al. The isomerase active site of cyclophilin A is critical for hepatitis C virus replication. *J Biol Chem*, 2009, 284(25): 16998–17005.
- [12] Chatterji U, Lim P, Bobardt MD, et al. HCV resistance to cyclosporin A does not correlate with a resistance of the NS5A-cyclophilin A interaction to cyclophilin inhibitors. *J Hepatol*, 2010, 53(1): 50–56.
- [13] Lawitz E, Godofsky E, Rouzier R, et al. Safety, pharmacokinetics, and antiviral activity of the cyclophilin inhibitor NIM811 alone or in combination with pegylated interferon in HCV-infected patients receiving 14 days of therapy. *Antiv Res*, 2011, 89(3): 238–245.
- [14] Franke EK, Yuan HEH, Luban J. Specific incorporation of cyclophilin A into HIV-1 virions. *Nature*, 1994, 372(6504): 359–362.
- [15] Thali M, Bukovsky A, Kondo E, et al. Functional association of cyclophilin A with HIV-1 virions. *Nature*, 1994, 372(6504): 333–365.
- [16] Liu XL, Sun L, Yu MR, et al. Cyclophilin A interacts with influenza A virus M1 protein and impairs the early stage of the viral replication. *Cell Microbiol*, 2009, 11(5): 730–741.
- [17] Rossman JS, Lamb RA. Influenza virus assembly and budding. *Virology*, 2011, 411(2): 229–236.
- [18] Liu XL, Zhao ZD, Xu CF, et al. Cyclophilin A restricts influenza A virus replication through degradation of the M1 protein. *PLoS ONE*, 2012, 7(2): e31063.
- [19] Liu W, Li J, Zheng WN, et al. Cyclophilin A-regulated ubiquitination is critical for RIG-I-mediated antiviral immune responses. *elife*, 2017, 6: e24425.
- [20] Castro APV, Carvalho TMU, Moussatché N, et al. Redistribution of Cyclophilin A to viral factories during vaccinia virus infection and its incorporation into mature particles. *J Virol*, 2003, 77(16): 9052–9068.
- [21] Bose S, Mathur M, Bates P, et al. Requirement for cyclophilin A for the replication of vesicular stomatitis virus New Jersey serotype. *J General Virol*, 2003, 84(7): 1687–1699.
- [22] He HY, Zhou DJ, Fan WP, et al. Cyclophilin A inhibits rotavirus replication by facilitating host IFN-I production. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 422(4): 664–669.
- [23] Perlman S, Netland J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*, 2009, 7(6): 439–450.
- [24] De Groot RJ, Baker SC, Baric RS, et al. Middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS Cov): announcement of the coronavirus study group. *J Virol*, 2013, 87(14): 7790–7792.
- [25] Drosten C, Günther S, Preiser W, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Eng J Med*, 2003, 348(20): 1967–1976.
- [26] Namy O, Moran SJ, Stuart DI, et al. A mechanical explanation of RNA pseudoknot function in programmed ribosomal frameshifting. *Nature*, 2006, 441(7090): 244–247.
- [27] Sawicki SG, Sawicki DL, Siddell SG. A contemporary view of coronavirus transcription. *J Virol*, 2007, 81(1): 20–29.
- [28] Li WD, Shi ZL, Yu M, et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*, 2005, 310(5748): 676–679.
- [29] Von Brunn A, Ciesek S, Von Brunn B, et al. Genetic deficiency and polymorphisms of cyclophilin A reveal its essential role for Human Coronavirus 229E replication. *Curr Opin Virol*, 2015, 14: 56–61.
- [30] Van Der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, et al. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med*, 2004, 10(4): 368–373.
- [31] Woo PCY, Lau SKP, Chu CM, et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol*, 2005, 79(2): 884–895.
- [32] Xu XT, Chen P, Wang JF, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Sci China Life Sci*, 2020, 63, <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1637-5>.

- [33] Luo C, Luo HB, Zheng SX, et al. Nucleocapsid protein of SARS coronavirus tightly binds to human cyclophilin A. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 321(3): 557–565.
- [34] Yurchenko V, Zybarth G, O'Connor M, et al. Active site residues of cyclophilin A are crucial for its signaling activity via CD147. *J Biol Chem*, 2002, 277(25): 22959–22965.
- [35] Chen ZN, Mi L, Xu J, et al. Function of HA18G/CD147 in invasion of host cells by severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Infect Dis*, 2005, 191(5): 755–760.
- [36] de Wilde AH, Zevenhoven-Dobbe JC, van der Meer Y, et al. Cyclosporin A inhibits the replication of diverse coronaviruses. *J General Virol*, 2011, 92(11): 2542–2548.
- [37] Wathelet MG, Orr M, Frieman MB, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus evades antiviral signaling: role of nsp1 and rational design of an attenuated strain. *J Virol*, 2007, 81(21): 11620–11633.
- [38] Züst R, Cervantes-Barragán L, Kuri T, et al. Coronavirus non-structural protein 1 is a major pathogenicity factor: implications for the rational design of coronavirus vaccines. *PLoS Pathog*, 2007, 3(8): e109.
- [39] Pfefferle S, Schöpf J, Kögl M, et al. The SARS-coronavirus-host interactome: identification of cyclophilins as target for pan-coronavirus inhibitors. *PLoS Pathog*, 2011, 7(10): e1002331.
- [40] Carbajo-Lozoya J, Ma-Lauer Y, Malešević M, et al. Human coronavirus NL63 replication is cyclophilin A-dependent and inhibited by non-immunosuppressive cyclosporine A-derivatives including Alisporivir. *Virus Res*, 2014, 184: 44–53.
- [41] Tanaka Y, Sato Y, Sasaki T. Feline coronavirus replication is affected by both cyclophilin A and cyclophilin B. *J General Virol*, 2017, 98(2): 190–200.
- [42] Smith EC, Denison MR. Coronaviruses as DNA wannabes: a new model for the regulation of RNA virus replication fidelity. *PLoS Pathog*, 2013, 9(12): e1003760.
- [43] Quesniaux VFJ, Schreier MH, Wenger RM, et al. Cyclophilin binds to the region of cyclosporine involved in its immunosuppressive activity. *Eur J Immunol*, 1987, 17(9): 1359–1365.
- [44] Brockway SM, Denison MR. Mutagenesis of the murine hepatitis virus nsp1-coding region identifies residues important for protein processing, viral RNA synthesis, and viral replication. *Virology*, 2005, 340(2): 209–223.
- [45] 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 Gen Virol*, 2013, 94(8): 1749–1760.
- [46] Gally PA, Lin K. Profile of alisporivir and its potential in the treatment of hepatitis C. *Drug Des Devel Ther*, 2013, 7: 105–115.
- [47] Ma-Laurer Y, Zheng Y, Malešević M, et al. Influences of cyclosporin A and non-immunosuppressive derivatives on cellular cyclophilins and viral nucleocapsid protein during human coronavirus 229E replication. *Antiviral Res*, 2020, 173: 104620.
- [48] Gally PA, Chatterji U, Bobardt MD, et al. Characterization of the anti-HCV activities of the new cyclophilin inhibitor STG-175. *PLoS ONE*, 2016, 11(4): e0152036.

(本文责编 陈宏宇)