

## 出血热病毒感染呼吸道研究进展

张凯玄<sup>1</sup> 梁燕<sup>2,3</sup> 石红妍<sup>1,2</sup> 郑煦暘<sup>2</sup> 连建奇<sup>2</sup> 张欠欠<sup>1</sup>

**【摘要】**病毒性出血热(VHFs)是一类由多种病毒感染引起的以发热、休克和出血等为主要临床表现的急性传染病。VHFs在全球广泛分布,部分病死率较高,严重危害人类健康。近年来,登革热、肾综合征出血热、埃博拉病毒病等VHFs仍持续流行或出现局部暴发,成为全球严重的公共卫生威胁。目前有关VHFs感染发病机制的研究仍不尽完善,且多数此类疾病尚无特异性治疗手段。呼吸道既是人体暴露于出血热病毒的重要途径,也是机体对其产生免疫反应的重要,还是多种VHFs出现损伤的重要器官;研究出血热病毒对呼吸道的感染,揭示出血热病毒引起呼吸道病变的机制,对研究VHFs感染发病及其重症化过程、研究防治措施具有重要意义。本文对登革病毒、汉坦病毒和埃博拉病毒等常见出血热病毒对呼吸道的感染及其生物学研究现状进行综述。

**【关键词】**病毒性出血热; 呼吸道; 病毒感染

**Research progress on the infection of hemorrhagic fever viruses to respiratory tract** Zhang Kaixuan<sup>1</sup>, Liang Yan<sup>2,3</sup>, Shi Hongyan<sup>1,2</sup>, Zheng Xuyang<sup>2</sup>, Lian Jianqi<sup>2</sup>, Zhang Qianqian<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Department of Pathogenic Biology, Medicine of Yan'an University School, Yan'an 716000, China; <sup>2</sup>Department of Infectious Diseases, Second Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710038, China; <sup>3</sup>Department of Microbiology, Life Sciences of Northwest University, Xi'an 710038, China  
Corresponding author: Zhang Qianqian, Email: zhangqianyd@163.com

**【Abstract】** Viral hemorrhagic fevers (VHFs) is a group of acute infectious diseases caused by a variety of viruses with fever, shock and hemorrhage as the main clinical symptoms. VHFs are globally spreaded and with a high mortality, posing a serious risk to human health. In recent years, VHFs such as dengue fever, hemorrhagic fever with renal syndrome and Ebola virus disease had continued to be prevalent, posing a serious challenge to global public health security. The pathogenesis of VHFs are still not well studied and there is no specific treatment for most of these diseases. The respiratory tract is not only an important way for the human body to be exposed to hemorrhagic fever virus, but also an important site for the body to produce immune response, and an important organ for damage in various VHFs. It is of great significance to study the infection of respiratory tract and reveal the mechanism of respiratory tract lesions caused by hemorrhagic fever virus, which is of great significance to investigate the pathogenesis of VHFs infection and its severe process, and to research the prevention and treatment measures. This paper reviews the biological status of the infection of respiratory tract caused by common hemorrhagic fever viruses such as dengue virus, hantavirus and Ebola virus.

**【Key words】** Viral hemorrhagic fever; Respiratory tract; Viral infection

病毒性出血热(viral hemorrhagic fevers, VHFs)是由多种病毒感染引起的一类以发热、休克、出血等为主要特征的急性传染病,患者病死率较高,且目前缺乏针对

VHFs的特异性治疗手段,部分VHFs尚无疫苗用于预防。近年来,登革热(dengue fever, DF)、肾综合征出血热(hemorrhagic fever with renal syndrome, HFRS)和埃博拉病毒病(Ebola virus disease, EVD)等多种类型的VHFs在相应疫源地乃至世界范围内广泛传播。据估计,仅DF流行区就居住着全球1/3人口<sup>[1]</sup>。随着气候变化、动物迁徙和人员物资流动性增加,VHFs存在较高扩散风险,严重影响全球公共卫生安全。引起VHFs的病原体即出血热病毒种类较多,较常见的包括黄病毒科中的登革病毒(dengue virus, DENV)和黄热病毒(yellow fever virus, YFV),丝状病

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2023.01.003

基金项目: 陕西省重点研发计划项目(No. 2021SF-230); 榆林市科技项目(No. CXY-2020-064); 校产学研项目(No. CXY202121)

作者单位: 716000 延安市,延安大学医学院病原生物学教研室<sup>1</sup>; 710038 西安市,空军军医大学第二附属医院传染科<sup>2</sup>; 710038 西安市,西北大学生命科学学院微生物学教研室<sup>3</sup>

通信作者: 张欠欠, Email: zhangqianyd@163.com

毒科病毒中的埃博拉病毒(Ebola virus, EBOV)和马尔堡病毒(Marburg virus, MARV), 沙粒病毒科病毒中的拉沙病毒(Lassa virus, LASV), 布尼亚病毒目中的汉滩病毒(Hantaan virus, HTNV)、普马拉病毒(Puumala virus, PUUV)、安第斯病毒(Andes virus, ANDV)、发热伴血小板减少综合征病毒(severe fever with thrombocytopenia syndrome bunyavirus, SFTSV); 披膜病毒科中的基孔肯雅病毒(Chikungunya virus, CHIKV)等。以往研究发现<sup>[2-4]</sup>, DENV、HTNV和ANDV等多种出血热病毒可通过气溶胶和飞沫等形式经呼吸道途径感染机体, 而HTNV、PUUV和EBOV等病毒感染过程中均存在呼吸道损伤, 但上述病毒在宿主呼吸道的感染情况以及以免疫反应为代表的生物学效应尚未完全明确。本文综合现有基础与临床研究资料, 从人体、动物和细胞等多层次对部分出血热病毒对宿主呼吸道组织细胞的感染及其效应研究进展进行综述。

### 一、登革病毒

杨晓燕等<sup>[5]</sup>对广州市598例登革热患者的临床特征进行分析, 其中出现上呼吸道感染症状者116例(19.40%), 伴肺部感染者20例(3.34%)。Qiu等<sup>[6]</sup>为探索DENV经呼吸道传播的可能性, 在出生后3 d的乳鼠鼻腔内接种DENV, 接种后3 d可出现病毒血症, 其脑组织病毒载量在接种后7 d达到峰值, 被感染的小鼠出现兴奋、消瘦、不安和死亡等表现, 以上研究提供了不经蚊虫媒介条件下DENV呼吸道感染的新证据。Lee等<sup>[3]</sup>首次发现DENV可感染原代人肺上皮细胞, 同时以DENV感染肺癌细胞系A549细胞, 在透射电镜下能够在细胞质中清晰地观察到病毒颗粒, 病毒还可释放至细胞培养上清液中, 细胞内DENV RNA在感染后48 h达到峰值, 引起细胞病变。此外, DENV也可感染H23、H14535和Bes2B等肺癌细胞, 并在A549、H23、H14535和Bes2B细胞内促进固有免疫分子如IL-6和RANTES的表达。

### 二、埃博拉病毒

Rojek等<sup>[7]</sup>总结了1 864例EVD患者的临床表现, 发现10%以上(187例)患者出现咳嗽和呼吸困难等呼吸道症状, 部分患者伴肺水肿。一项针对2014至2015年西非疫情中在欧洲和美国接受治疗的27例EBOV阳性患者的研究表明<sup>[8]</sup>, 分别有7例(30%)和5例(22%) EVD患者入院时出现咳嗽和呼吸困难。此外, 在住院期间, 14例患者(52%)出现低氧血症, 12例患者(44%)伴有肺水肿, 7例患者(26%)伴肺炎, 9例患者(33%)出现呼吸衰竭, 其中1个病例因其间质性肺炎表现和支气管样本中检出EBOV, 故被认为是病毒性肺炎引起的急性呼吸衰竭。动物实验方面, 早在1995年, Johnson等<sup>[9]</sup>将EBOV以气溶胶方式通过口鼻感染恒河猴, 发现导致恒河猴死亡仅需吸入400 pfu病毒。2011年, Reed等<sup>[10]</sup>成功建立了扎伊尔型EBOV气溶胶感染猕猴、恒河猴和非洲绿猴的模式(气溶胶感染剂量

分别为234.6 pfu、1 011 pfu和712 pfu), 感染后6~8 d, 动物均出现明显症状, 感染率为100%。此外, 有研究人员通过气溶胶途径使猪鼻腔黏膜暴露于EBOV后, 发现EBOV可在猪呼吸道中复制且能够达到较高水平。仔猪经口鼻接种EBOV后, 将其转移到另一个房间, 该房间内有一个透气但无法进入的笼子, 笼中饲养有猕猴, 结果在所有猕猴的血液、口鼻拭子和肺组织中均检测到EBOV RNA。另外, 猪感染EBOV后肺部病理变化最为突出, 可累及70%以上肺组织, 主要特征为支气管间质性肺炎(broncho interstitial pneumonia, BIP), 细胞因子如白介素(interleukin, IL)-5、IL-6、IL-8、IL-22、IL-26、IL-27、L选择素(L-selectin, SELL)、抵抗素(recombinant resistin, RETN)、鼻上皮癌关联蛋白(palate, lung and nasal epithelial clone, PLUNC)和IL-10等也在EBOV感染的猪肺中表达上调<sup>[11-12]</sup>。

### 三、普马拉病毒

一项对27例PUUV感染者的回顾性分析发现, 15例进行了支气管镜检查的住院患者, 支气管黏膜活检显示上皮和黏膜下CD8<sup>+</sup> T细胞数量增加, 黏膜下CD4<sup>+</sup> T细胞数增加, 表明肺部产生了局部免疫反应<sup>[13-14]</sup>。Hägele等<sup>[15]</sup>为探索PUUV对呼吸道不同部位的感染性, 将PUUV分别接种至原代人肺微血管内皮细胞(human pulmonary microvascular endothelial cells, HPMEC)、人小气道上皮细胞(human small airway apithelial cells, HSAEpC)、人支气管上皮细胞(human bronchial epithelial cells, HBEpC)和人肺泡上皮细胞(human pulmonary alveolar epithelial cells, HPAEpC), 其中HPMEC、HSAEpC和HPAEpC在接种后第2~4 d可见病毒大量复制并释放, 而HBEpC在接种后第4 d开始释放病毒, 表明人呼吸道细胞可能成为PUUV感染靶点。Bourquain等<sup>[16]</sup>应用人肺上皮A549细胞探索呼吸道细胞对PUUV的免疫反应, 结果发现A549细胞感染PUUV 14 d后仍能检测到抗黏液病毒1(myxo-virus resistance 1, MX1)的表达。

### 四、汉滩病毒

Wei等<sup>[4]</sup>分析2020年11月西安市9例成年男性HFRS患者流行病学资料, 发现患者均于一处有啮齿动物栖息的工地上工作, 9例患者中3例参与搬运白菜, 4例经常倒垃圾, 4例常去帐篷仓库, 并在卷心菜、帐篷和垃圾场发现了鼠类活动痕迹, 还在该区域黑线姬鼠中检出了HTNV; 该研究支持HTNV可通过气溶胶等形式经呼吸道吸入而感染人体。Mayor等<sup>[17]</sup>和Torriani等<sup>[18]</sup>为探索HTNV感染人呼吸道上皮细胞的机制, 应用带有HTNV包膜糖蛋白的假病毒颗粒感染A549细胞, 通过对激酶抑制剂库的筛选发现, HTNV进入与巨胞饮之间可能存在联系, 并需招募特定的调节因子。T细胞免疫球蛋白和黏蛋白1(T cells immunoglobulin

domain and mucin domain protein-1, TIM-1)可以促进一系列包膜病毒感染,有研究发现使用抗体阻断A549细胞表面TIM-1,可显著抑制HTNV感染。HTNV感染的A549细胞暴露于化学诱导凋亡剂星形孢菌素(staurosporine, STS)时,较未感染细胞细胞凋亡减少,其机制可能包括抑制了颗粒酶B和半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)活性。HTNV感染细胞后还能够抑制Caspase-8和Caspase-9的激活,抑制细胞色素C从线粒体释放到细胞质中,并诱导B淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)的表达<sup>[19]</sup>。

#### 五、安第斯病毒

在汉坦病毒中,ANDV引起的肺部病变即汉坦病毒心肺综合征(Hantavirus cardiopulmonary syndrome, HCPS)较重。为探究ANDV的传播途径,Martínez等<sup>[20]</sup>对33例HCPS患者进行流行病学调查,结果发现患者1在出现发热和不适的症状时参加了聚会,而后患者1附近的5人在聚会后17~24 d内出现与HCPS一致的症状。患者2在症状发作后16 d死亡,其配偶(患者9)在接诊时出现发热。另有10例与患者9密切接触者于14~40 d内发病,上述研究提供了ANDV人传人的证据,且与拥挤的聚会有关,提示ANDV经呼吸道途径传播的可能性。Sundström等<sup>[21]</sup>在Transwell系统内室加入I型胶原蛋白溶液和人肺成纤维细胞MRC-5,孵育7 d后形成成纤维细胞胶原基质层,然后在形成的基质层中加入人支气管上皮细胞系16HBE14o-,以在成纤维细胞胶原基质上形成汇合层,从而建立人肺组织体外模型,在此模型中,ANDV可感染对人肺成纤维细胞和人支气管上皮细胞(至感染后39 d仍可检测到子代病毒释放),体外感染导致炎症因子干扰素诱导蛋白10(interferon-inducible protein-10, IP-10)、IL-6和IL-8表达升高,同时血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor A, VEGF-A)表达升高。而基于细胞气液界面培养模型研究表明,ANDV对仓鼠杯状气管上皮细胞和Clara细胞的感染未导致可见的细胞损伤,也未能引起细胞分泌功能的改变<sup>[22]</sup>。

#### 六、发热伴血小板减少综合征病毒和基孔肯雅病毒

一项中国东北地区115例SFTSV患者回顾性分析中<sup>[23]</sup>,有6例(5.2%)患者伴有胸痛,在接受胸部X线检查和胸部CT检查的98例患者中有33例(33.7%)患者提示肺炎。33例肺炎患者中有12例(36.4%)胸部CT或X线检查显示磨玻璃样混浊,呈弥漫分布。但上述病变是否与SFTSV感染直接相关尚有待研究。为探索视黄酸诱导基因蛋白1(retinoic acid inducible gene, RIG-1)在人呼吸道细胞抗SFTSV感染中的作用,Min等<sup>[24]</sup>研究了SFTSV感染A549细胞后的固有反应,结果显示感染后干扰素 $\beta$ (interferon-beta, IFN- $\beta$ )、干扰素刺激基因15(interferon-stimulated gene 15, ISG15)、MX1和炎性细胞因子(IL-6和IL-8)均高表达,RIG-1敲低后,SFTSV感染引起IFN- $\beta$ 和肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis

factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )表达水平显著降低,表明RIG-1在A549细胞对SFTSV的固有免疫反应中起重要作用,黑色素瘤分化相关基因5(melanoma differentiation-associated protein 5, MDA5)敲低后IFN- $\beta$ 表达降低,但与RIG-1敲低相比下降程度较小。

Katti等<sup>[25]</sup>对97例CHIKV血清学阳性感染者研究发现,约50%以上患者出现口腔剧烈疼痛和出血等症状,主要为鼻腔出血和烧灼感(54.32%)。De等<sup>[26]</sup>发现,CHIKV感染A549细胞时,A549细胞对CHIKV的复制产生一定抑制,这种现象在CHIKV毒株传至第2代时逐渐消失,传至第8代时完全消失,深度测序发现CHIKV传至第2代时非结构蛋白nsP1(M314V)发生突变,传至第8代时非结构蛋白nsP1(M314V)和nsP2(H687Y)以及结构蛋白E2(T196K)和E2(H232R)发生突变,表明只需有限数量的突变就可使CHIKV适应A549细胞系。此外,CHIKV特定病毒株(ECSA E1: 226V)对人胚肺成纤维细胞MRC-5感染率可达60%~80%,同时引起细胞凋亡<sup>[27]</sup>。

#### 七、小结

综上,多种出血热病毒可引起人体呼吸系统特别是肺部病变,DENV、EBOV和HTNV等VHFs病原体能够引起咳嗽、鼻腔出血、肺水肿和呼吸困难等呼吸道症状,但是否与病毒直接感染有关尚待明确。在动物和细胞水平,部分出血热病毒可形成感染、释放子代病毒并激活免疫反应,或影响凋亡等生物学过程。其中EBOV、HTNV和ANDV等有较明确的实验证据可经呼吸道吸入感染。但目前研究局限性主要包括:①源自非小细胞肺癌的人肺腺癌A549细胞已被广泛用作病毒感染研究中肺泡上皮细胞模型,但A549细胞系在基因表达、生物学行为等方面与体内实际情况可能存在较大差异。②现有研究大部分是在细胞培养环境中进行,而病毒通过呼吸道进入体内时,接触的呼吸道细胞应处于气-液界面环境,但目前类器官等体外模型在出血热病毒中的应用仍然较少,同时进行气溶胶等呼吸道途径感染操作的生物安全要求较高,普及存在困难。③因多数病毒性出血热具有地域性,病例数整体较少,故与呼吸道感染有关的流行病学调查和临床资料可能尚不完善,且因病情所限,呼吸道样本获取存在困难。笔者认为,未来研究一方面应关注VHFs患者呼吸道症状随疾病进展的改变,采集其呼吸道深部样本,研究呼吸道病变与病毒感染的相关性;另一方面应建立更为完善的VHFs呼吸道感染模型,以便更加深入地了解出血热病毒在呼吸道感染、引起免疫反应和其他生物学效应的机制。

#### 参 考 文 献

- [1] Yu X, Cheng G. Contribution of phylogenetics to understanding the evolution and epidemiology of dengue virus[J]. Animal Model Exp

- Med,2022,5(5):410-417.
- [2] Crowcroft NS, Infuso A, Ilief D, et al. Risk factors for human hantavirus infection: Franco-Belgian collaborative case-control study during 1995-6 epidemic[J]. *BMJ*,1999,318(7200):1737-1738.
- [3] Lee YR, Su CY, Chow NH, et al. Dengue viruses can infect human primary lung epithelia as well as lung carcinoma cells, and can also induce the secretion of IL-6 and RANTES[J]. *Virus Res*,2007,126(1-2):216-225.
- [4] Wei X, Meng B, Peng H, et al. Hemorrhagic fever with renal syndrome caused by destruction of residential area of rodent in a construction site: epidemiological investigation[J]. *BMC Infect Dis*,2022,22(1):761.
- [5] 杨晓燕, 聂俊峰, 赵莹, 等. 2015-2019年广州市番禺区598例登革热患者感染特征[J]. *热带医学杂志*,2021,21(12):1597-1600.
- [6] Qiu M, Zhao L, Zhang J, et al. Effective infection with dengue virus in experimental neonate and adult mice through the intranasal route[J]. *Viruses*,2022,14(7):1394.
- [7] Rojek A, Horby P, Dunning J. Insights from clinical research completed during the west Africa Ebola virus disease epidemic[J]. *Lancet Infect Dis*,2017,17(9):e280-e92.
- [8] Uyeki TM, Mehta AK, Davey RT, et al. Clinical management of Ebola virus disease in the United States and Europe[J]. *N Engl J Med*,2016,374(7):636-646.
- [9] Johnson E, Jaax N, White J, et al. Lethal experimental infections of rhesus monkeys by aerosolized Ebola virus[J]. *Int J Exp Pathol*,1995,76(4):227-236.
- [10] Reed DS, Lackemeyer MG, Garza NL, et al. Aerosol exposure to Zaire ebolavirus in three nonhuman primate species: differences in disease course and clinical pathology[J]. *Microbes Infect*,2011,13(11):930-936.
- [11] Weingartl HM, Embury-Hyatt C, Nfon C, et al. Transmission of Ebola virus from pigs to non-human primates[J]. *Sci Rep*,2012,2(1):811.
- [12] Nfon CK, Leung A, Smith G, et al. Immunopathogenesis of severe acute respiratory disease in Zaire ebolavirus-infected pigs[J]. *PLoS One*,2013,8(4):e61904.
- [13] Rasmuson J, Lindqvist P, Sørensen K, et al. Cardiopulmonary involvement in Puumala hantavirus infection[J]. *BMC Infect Dis*,2013,13:501.
- [14] Rasmuson J, Pourazar J, Linderholm M, et al. Presence of activated airway T lymphocytes in human puumala hantavirus disease[J]. *Chest*,2011,140(3):715-722.
- [15] Hägele S, Nussbag C, Müller A, et al. Cells of the human respiratory tract support the replication of pathogenic Old World orthohantavirus Puumala[J]. *Virology*,2021,18(1):169.
- [16] Bourquain D, Bodenstein C, Schürer S, et al. Puumala and Tula virus differ in replication kinetics and innate immune stimulation in human endothelial cells and macrophages[J]. *Viruses*,2019,11(9):855.
- [17] Mayor J, Torriani G, Rothenberger S, et al. T-cell immunoglobulin and mucin (TIM) contributes to the infection of human airway epithelial cells by pseudotype viruses containing Hantaan virus glycoproteins[J]. *Virology*,2020,543(4):54-62.
- [18] Torriani G, Mayor J, Zimmer G, et al. Macropinocytosis contributes to hantavirus entry into human airway epithelial cells[J]. *Virology*,2019,531(6):57-68.
- [19] Solà-Riera C, García M, Ljunggren HG, et al. Hantavirus inhibits apoptosis by preventing mitochondrial membrane potential loss through up-regulation of the pro-survival factor BCL-2[J]. *PLoS Pathog*,2020,16(2):e1008297.
- [20] Martínez VP, Di Paola N, Alonso DO, et al. "Super-spreaders" and person-to-person transmission of Andes virus in Argentina[J]. *N Engl J Med*,2020,383(23):2230-2241.
- [21] Sundström KB, Nguyen Hoang AT, Gupta S, et al. Andes Hantavirus-infection of a 3D human lung tissue model reveals a late peak in Progeny virus production followed by increased levels of proinflammatory cytokines and VEGF-A[J]. *PLoS One*,2016,11(2):e0149354.
- [22] Rowe RK, Pekosz A. Bidirectional virus secretion and nonciliated cell tropism following Andes virus infection of primary airway epithelial cell cultures[J]. *J Virol*,2006,80(3):1087-1097.
- [23] Deng B, Zhou B, Zhang S, et al. Clinical features and factors associated with severity and fatality among patients with severe fever with thrombocytopenia syndrome Bunyavirus infection in Northeast China[J]. *PLoS One*,2013,8(11):e80802.
- [24] Min YQ, Ning YJ, Wang H, et al. A RIG-I-like receptor directs antiviral responses to a bunyavirus and is antagonized by virus-induced blockade of TRIM25-mediated ubiquitination[J]. *J Biol Chem*,2020,295(28):9691-711.
- [25] Katti R, Shahapur PR, Udupudi KL. Impact of Chikungunya virus infection on oral health status: an observational study[J]. *Indian J Dent Res*,2011,22(4):613.
- [26] De Caluwé L, Heyndrickx L, Coppens S, et al. Chikungunya virus' high genomic plasticity enables rapid adaptation to restrictive A549 cells[J]. *Viruses*,2022,14(2):282.
- [27] Wikan N, Sakoonwatanyoo P, Ubol S, et al. Chikungunya virus infection of cell lines: analysis of the East, Central and South African lineage[J]. *PLoS One*,2012,7(1):e31102.

(收稿日期: 2022-12-27)

(本文编辑: 孙荣华)

张凯玄, 梁燕, 石红妍, 等. 出血热病毒感染呼吸道研究进展 [J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2023, 17(1): 12-15.