

氯喹抗病毒作用及机制研究进展

李浩林, 代宇, 方仁东, 叶超*

西南大学 动物医学院, 动物健康与动物性食品安全国际合作联合实验室, 重庆

李浩林, 代宇, 方仁东, 叶超. 氯喹抗病毒作用及机制研究进展[J]. 微生物学报, 2026, 66(1): 92-103.

LI Haolin, DAI Yu, FANG Rendong, YE Chao. Research progress in the antiviral effects and mechanisms of chloroquine[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2026, 66(1): 92-103.

摘要: 氯喹是一种价格低廉的传统抗疟药物, 因其广泛的研究基础以及潜在的抗肿瘤、抗病毒特性而备受关注。氯喹在体外对多种人类和动物致病病毒具有广谱抑制作用, 在体内对寨卡病毒以及猫冠状病毒也具有抗病毒效果。氯喹的作用机制主要包括: 抑制病毒与宿主细胞的结合及内化过程, 调控病毒核酸识别通路, 阻断自噬体成熟, 以及调节细胞因子分泌等免疫应答。本文系统综述了氯喹的抗病毒作用及其分子机制, 为后续将氯喹及其衍生物开发为抗病毒药物提供了理论参考。

关键词: 氯喹; 病毒; 机制

Research progress in the antiviral effects and mechanisms of chloroquine

LI Haolin, DAI Yu, FANG Rendong, YE Chao*

Joint International Research Laboratory of Animal Health and Animal Food Safety, College of Veterinary Medicine, Southwest University, Chongqing, China

Abstract: Chloroquine, a low-cost antimalarial agent, has garnered significant interest due to its extensive research foundation and potential anti-tumor and antiviral properties. Chloroquine exhibits broad-spectrum inhibitory effects against diverse human and animal pathogenic viruses *in vitro*. Its antiviral efficacy has been demonstrated against Zika virus and feline coronavirus *in vivo*.

资助项目: 国家自然科学基金(32372982); 国家生猪技术创新中心项目(NCTIP-XD/C17); 重庆现代农业产业技术体系(CQMAITS202512)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32372982), the National Center of Technology Innovation for Pigs (NCTIP-XD/C17), and the Chongqing Modern Agricultural Industry Technology System (CQMAITS202512).

*Corresponding author. E-mail: yechao123@swu.edu.cn

Received: 2025-07-17; Accepted: 2025-08-23; Published online: 2025-09-11

The primary action mechanisms of chloroquine include inhibition of viral binding to host cells and subsequent internalization, modulation of viral nucleic acid recognition pathways, blockade of autophagosome maturation, and regulation of cytokine secretion in the immune response. This review systematically summarizes the antiviral effects and mechanisms of chloroquine, providing a theoretical foundation for the future development of chloroquine and its derivatives as antivirals.

Keywords: chloroquine; viruses; mechanisms

传染病是人类发病与死亡的主要原因之一,也是阻碍全世界人民发展与福祉提升的巨大障碍。在困扰全球的传染病疫情中病毒病占一半以上^[1]。开发具有广谱抗病毒活性的药物对于病毒病疫情的防控具有重要意义。氯喹(chloroquine, CQ)作为疟疾的传统治疗药物已在临床应用多年。由于其对自噬的抑制作用以及其免疫调节等特性,氯喹显示出治疗癌症和病毒性传染病的潜力^[2],并被报道为一种潜在的广谱抗病毒药物。它可在体外抑制多种病毒的复制,如埃博拉病毒(ebolavirus, EBOV)、基孔肯雅热病毒(chikungunya virus, CHIKV)、寨卡病毒(Zika virus, ZIKV)等,并且氯喹在小鼠体内对寨卡病毒、在猫体内对猫传染性腹膜炎病毒(feline infectious peritonitis virus, FIPV)均显示出抗感染活性。因此氯喹具有良好的抗病毒应用前景。

1 氯喹的特性

氯喹类药物属于4-氨基喹啉衍生物,氯喹的硫酸盐、磷酸盐均已被制成商品化的抗疟药^[3],主要通过疟原虫食物泡中积累,升高pH值来发挥抗疟作用^[4]。此外,氯喹还可用于治疗系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)、类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)等自身免疫性疾病^[5]。通过对氯喹进行结构修饰研究,在其结构中引入羟基合成了羟氯喹(hydroxychloroquine, HCQ),研究发现羟氯喹的毒性较氯喹更低,作为氯喹的替代品也得到了广泛应用^[6]。氯喹和羟氯喹均可被胃肠道快速吸收,口服后2-3h血药浓度即可达到峰值,且能渗透到大多数组织中,生物利用度可达

70%-80%^[7]。氯喹是一种二元弱碱,能以带电(质子化)和不带电(去质子化)2种形式存在。去质子化的氯喹可自由、快速地扩散穿过细胞膜和细胞器膜^[8]。一旦质子化,氯喹便无法再自由扩散,会滞留在pH值较低的内体、高尔基体和溶酶体等细胞器中,升高这些细胞器的pH值,影响细胞器中酶的活性,进而影响其生物学功能,最终产生抗病毒效应。

2 氯喹抗病毒作用

2.1 医学临床相关病毒

埃博拉病毒(Ebola virus, EBOV)是一种具有包膜的单股负链RNA丝状病毒,属于丝状病毒科(Filoviridae),主要通过体液接触传播,具有高死亡率^[9]。Dowall等^[10]发现氯喹可减少人肺原代成纤维细胞(medical research council cell strain-5, MRC-5)中EBOV的复制,但无法预防豚鼠感染EBOV。Falzarano等^[11]证实,以对氯喹的最大耐受剂量(90 mg/kg)治疗EBOV感染的小鼠并未改变其存活率,在仓鼠模型中由于氯喹毒性较大,较高剂量(90 mg/kg)的氯喹会直接导致仓鼠死亡;当以较低剂量(50 mg/kg)的氯喹与多西环素和阿奇霉素合用时仓鼠存活率也未发生改变。尽管氯喹在体外细胞实验中显示出抑制EBOV复制的效果,但在多种动物模型(豚鼠、小鼠、仓鼠)的体内试验中氯喹均未能表现出预防感染或提高存活率的治疗效果。

基孔肯雅热病毒(chikungunya virus, CHIKV)是一种有包膜的单股正链RNA病毒,属于甲病毒科(Alphavirus),起源于非洲,自2005年以来,该病毒在世界范围内多次暴发^[12]。CHIKV

在感染的晚期阶段可于巨噬细胞(如滑膜巨噬细胞)中持续存在,导致组织损伤、凋亡、纤维化和极化炎症反应^[13]。Roques 等^[14]证实无论使用何种浓度(1–50 $\mu\text{mol/L}$)的氯喹均可抑制 CHIKV 在巨噬细胞中的复制,但经氯喹处理的几只猕猴在感染 CHIKV 后症状更加严重。氯喹在体外细胞实验中能够抑制 CHIKV 在易感细胞中的复制,但在以猕猴进行的体内试验中氯喹未表现出治疗效果,反而加重了症状。氯喹在其他实验中显示出抑制 I 型干扰素(type I interferon, IFN-I)的作用^[15],而 IFN-I 对 CHIKV 复制有抑制作用^[16],这可能是导致氯喹在体内实验中无法产生抗 CHIKV 效果的原因。

寨卡病毒(Zika virus, ZIKV)是一种有包膜的单股正链 RNA 病毒,属于黄病毒属(Flavivirus),具有嗜神经毒性,每年导致数百万例感染^[17]。感染 ZIKV 的母亲所生儿童的出生缺陷率比正常人高出约 20 倍^[18]。Delvecchio 等^[19]发现氯喹以剂量依赖性方式抑制了 Vero 细胞中 ZIKV 的复制,且主要对病毒复制周期的早期有抑制作用,使用氯喹处理神经祖细胞形成的神经球时,ZIKV 的复制也被抑制。缺乏 I 型(α/β)和 II 型(γ) IFN 受体的 AG129 小鼠感染 ZIKV 后症状最严重,是研究 ZIKV 体内感染的理想小鼠模型^[20],氯喹延长了被 ZIKV 感染的 AG129 小鼠的平均寿命且减轻了小鼠的症状^[17]。Swiss Jim Lambert (SJL)小鼠模型常用于研究高剂量 ZIKV 感染引发的胎儿传播^[21],可用于测试可抑制病毒垂直传播的药物。氯喹处理 ZIKV 感染的 SJL 小鼠可使母体血液和胎儿大脑中的 ZIKV 滴度降低约 95%^[17]。氯喹不仅在体外显示出抑制 ZIKV 的能力,而且在 AG129 小鼠模型中也能有效抑制 ZIKV 复制并减轻感染症状,尤其能显著降低母婴传播模型中胎儿的病毒载量,显示出潜在的治疗价值。

登革热病毒(dengue virus, DENV)是一种有包膜的单链 RNA 病毒,属于黄病毒属(Flavivirus),是全球分布最广泛的虫媒病毒,目

前近半数世界人口面临感染登革热病毒的风险^[22]。氯喹可抑制 DENV 在 U937 细胞和 Vero 细胞中的复制,但不会抑制 DENV 在白纹伊蚊(*Aedes albopictus*) C6/36 细胞中的复制^[23–24]。Farias 等^[25]观察到氯喹可缩短感染 DENV 的夜猴(*Aotus trivirgatus*)的病毒血症持续时间,但夜猴模型不会像人类感染 DENV 那样出现登革热(dengue fever, DF)、登革出血热(dengue hemorrhagic fever, DHF)以及登革休克综合征(dengue shock syndrome, DSS)等症状,因此该结果不足以充分证明氯喹在体内具有显著的抗病毒作用。Borges 等^[26]研究表明氯喹治疗 3 d 可改善登革热患者的症状,但不会改变疾病或发热的持续时间。Tricou 等^[27]同样使用氯喹治疗 3 d,治疗组患者的病毒血症清除时间、退烧时间以及炎性细胞因子等相较于对照组均无显著差异。因此氯喹在体内对登革热病毒可能仅具有轻微甚至无抗病毒活性。

严重急性呼吸综合征冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV)是有包膜的单股正链 RNA 病毒^[28],属于 Beta 冠状病毒属(Betacoronavirus),于 2002 年首次出现后的几个月内迅速传播到至少 30 个国家,最终确定病原体为 SARS-CoV^[29]。Vincent 等^[30]在 SARS-CoV 感染 Vero 细胞前用不同浓度的氯喹预处理,结果显示病毒抗原阳性细胞以剂量依赖性减少,并且 10 $\mu\text{mol/L}$ 的氯喹可完全抑制 SARS-CoV 感染。在病毒感染后加入氯喹,病毒抗原阳性细胞的数量急剧下降,且感染几乎不会向邻近细胞扩散。Barnard 等^[31]用不同浓度的氯喹预处理小鼠,结果显示不同剂量的氯喹不具备对 SARS-CoV 的复制产生影响。虽然氯喹在体外模型中可有效抑制 SARS-CoV 复制与扩散,但在体内实验未观察到其对 SARS-CoV 的显著抗病毒效应。

严重急性呼吸系统综合征冠状病毒 2 型(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)是一种有包膜的单股正链 RNA 病

毒, 属于 Beta 冠状病毒属(Betacoronavirus), 潜伏期短、传播迅速, 较难控制, 且感染后会导导致患者死亡^[32]。Wang 等^[33]使用氯喹对 SARS-CoV-2 感染的 Vero 细胞进行全过程处理、入侵前处理、入侵后处理, 抑制率分别达到了 80%、60%、40%, 这表明氯喹主要在 SARS-CoV-2 的侵入阶段发挥作用。尽管氯喹在体外可有效抑制 SARS-CoV-2 的复制, 但目前相关研究结果显示氯喹对 SARS-CoV-2 的无症状感染者和有症状感染者几乎无作用^[34-35]。

单纯疱疹病毒 1 型(herpes simplex virus type 1, HSV-1)是有包膜的双链 DNA 病毒, 属于疱疹病毒科(Herpesviridae), 可引发原发性和复发性水疱性病变^[36]。HSV-1 穿入细胞以及细胞与细胞之间的传播都需要糖蛋白 D (glycoprotein D, gD), 其对 HSV-1 的感染具有重要作用。Singh 等^[37]研究表明虽然氯喹(150 $\mu\text{mol/L}$)不能有效阻止 HSV 对细胞的吸附或侵入, 并且在亚效应剂量下氯喹和干扰素单独使用不会阻断 HSV-1 的 gD 蛋白的运输, 也不会对 HSV-1 的感染性产生影响, 但当它们联合使用时 gD 蛋白在药物处理过的细胞中出现积累, 并且 HSV-1 的感染性也降低。Maheshwari 等^[38]发现干扰素会提高高尔基体反面囊膜的 pH 值, 阻断蛋白从反式高尔基体到质膜的运输。氯喹可能通过增强这一过程增强了干扰素对 gD 蛋白运输的阻断作用。

2.2 兽医临床相关病毒

猪流行性腹泻病毒 (porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)是有包膜的单股正链 RNA 病毒, 属于 α 冠状病毒属(Alphacoronavirus), 可引起新生仔猪的急性腹泻、呕吐、脱水和高死亡率^[39]。Wang 等^[40]证实 PEDV 感染显著增加了自噬体和自噬溶酶体的数量, 氯喹处理减少了 PEDV 感染的 Vero 细胞中自噬溶酶体的数量, 并降低了 Vero 细胞裂解液中的猪流行性腹泻病

毒 S 蛋白和 N 蛋白水平以及病毒滴度。

牛病毒性腹泻病毒 (bovine viral diarrhea virus, BVDV)是有包膜的单股正链 RNA 病毒, 属于黄病毒科(Flaviviridae), 可导致牛出现腹泻、呼吸道症状以及生殖功能障碍^[41]。研究显示 BVDV 可以诱导自噬^[42]。Wang 等^[43]在使用氯喹处理阻断牛肾细胞 (madin-darby bovine kidney, MDBK)的自噬时, BVDV E2 蛋白的表达减少, 病毒复制受到抑制。

猫杯状病毒(feline calici virus, FCV)是无包膜的单股正链 RNA 病毒, 属于杯状病毒科(Caliciviridae), 具有高度传染性, 高毒力 FCV 可诱发严重的全身性疾病, 并伴有高死亡率^[44]。Kreutz 等^[45]证明在 FCV 感染猫肾细胞的初期阶段加入氯喹能够抑制感染性病毒的产生, 但如果在感染后 2 h 加入则不能产生明显抑制作用, 并且氯喹的作用是可逆的, 当从培养基中移除氯喹后病毒复制可以继续。Stuart 等^[46]也表明氯喹并不会影响 FCV 与细胞的结合, 而是在病毒结合后、病毒 RNA 释放之前的早期阶段起作用。因此氯喹可能主要通过抑制 FCV 的进入发挥抗病毒作用。

猫冠状病毒(feline coronavirus, FCoV)是有包膜的单股正链 RNA 病毒, 属于 α 冠状病毒属(Alphacoronavirus), FCoV 有 2 种血清型, 即猫肠道冠状病毒(feline enteric coronavirus, FECV) (无毒 FCoV)和猫传染性腹膜炎病毒(feline infectious peritonitis virus, FIPV) (毒性 FCoV), FIPV 是一种致死性强的病毒, 并且目前对 FIPV 感染尚无有效疫苗和特异性治疗药物^[47]。Takano 等^[48]证实氯喹显著抑制单核细胞中 FIPV 的增殖以及炎性细胞因子 mRNA 的水平, 然而用氯喹处理已经感染 FIPV 的细胞并不会产生抗病毒效果; FIPV 感染猫经氯喹治疗后的临床评分优于未治疗组, 这表明氯喹对感染 FIPV 的猫具有治疗效果。

3 氯喹抗病毒机制

3.1 通过干扰病毒与细胞受体结合发挥抗病毒作用

唾液酸(sialic acid, SA)是一类含有 9 碳骨架的酸性糖类物质的总称,广泛存在于真核生物细胞的细胞表面糖蛋白、糖脂和游离寡糖的糖链非还原末端^[49]。SA 参与多种病毒感染和传播周期的多个阶段。许多病毒利用 SA 末端聚糖作为主要受体或辅助受体介导与宿主细胞结合和内化^[50]。Helander 等^[51]证明 SA 对于呼肠孤病毒(reovirus, ReoV) T1L 血清型黏附兔 M 细胞具有重要作用; Desforges 等^[52]表明 SA 可以与人冠状病毒 OC43 (human coronavirus OC43, HCoV-OC43)的 S 蛋白发生相互作用促进 HCoV-OC43 的吸附; Liu 等^[53]证明 SA 作为人类肠道病毒 D68 (human enterovirus D68, EV-D68)的功能性细胞受体,诱导病毒构象变化以启动病毒脱壳和进入细胞。氯喹被证明可以抑制参与 SA 生物合成的醌还原酶 2 (quinone oxidoreductase 2, QR2)^[54]。因此氯喹可通过抑制 QR2 干扰唾液酸的合成抑制病毒进入前步骤。

SARS-CoV 可通过结合易感细胞膜上的血管紧张素转换酶 2 (angiotensin converting enzyme 2, ACE2)受体感染细胞^[55]。Vincent 等^[30]证明在氯喹的有效抗 SARS-CoV 浓度下细胞表面的 ACE2 表达量无显著变化,但其末端糖基化受损。氯喹预处理可能导致糖基化不足的 ACE2 在细胞表面表达。Wang 等^[56]证实氯喹和羟氯喹会与 ACE2 结合,这表明氯喹可能通过竞争性抑制来阻止 SARS-CoV-2 和 ACE2 的结合,从而抑制病毒感染。因此氯喹预处理可能导致细胞表面表达糖基化不足的 ACE2,并通过竞争性抑制阻止病毒和 ACE2 的结合,降低其与病毒刺突蛋白的结合,从而抑制病毒感染易感细胞。

3.2 通过影响内体功能发挥抗病毒作用

病毒可通过经内吞作用进入胞内的内体,

进入内体后许多病毒会因 pH 值下降和酸性内体蛋白酶(尤其是组织蛋白酶 L 和组织蛋白酶 B)的水解切割导致穿透能力变化,触发穿透过程进入胞质^[57]。氯喹可使溶酶体 pH 值升高^[58],抑制了需要酸化环境才能从内体到达细胞质的病毒感染过程。ZIKV 的 E 蛋白与宿主细胞受体结合可促进病毒颗粒与内体膜融合,释放到宿主细胞胞质中^[59]。Zhang 等^[60]发现在用氯喹处理的 Vero 细胞中大多数 ZIKV 与早期内体共定位,极少数病毒颗粒与溶酶体共定位,证实氯喹阻止了病毒从内体释放到胞质进行复制的过程,抑制了 ZIKV 的复制。SARS-CoV-2 的 S 蛋白在蛋白酶的作用下暴露出 S2 融合肽区,促进病毒囊膜和内体膜发生融合^[61],从而将病毒基因组释放到胞质中,而氯喹可抑制内体酸化过程,这可能会抑制溶酶体蛋白酶的活性,从而干扰病毒和宿主膜的融合^[62]。氯喹还可直接抑制病毒内化发挥抗病毒作用, Diaz-Griffero 等^[63]证实禽白血病毒(avian leukosis virus, ALV) B 亚型是需要内吞作用才能到达内体的 pH 依赖性病毒,使用氯喹可将进入细胞的 ALV-B 减少了 79.8%。因此氯喹可通过抑制病毒释放到胞质和内化过程发挥抗病毒作用。

3.3 通过干扰病毒蛋白的翻译后修饰发挥抗病毒作用

Chiang 等^[64]表明氯喹可抑制 T 细胞和单核细胞中人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV)-1 糖蛋白-gp120 的翻译后修饰。Randolph 等^[65]也证实氯喹会抑制黄病毒(flavivirus, FLAV) prM 蛋白水解加工为 M 蛋白。因此氯喹可通过升高酸性区室(如内质网、反式高尔基体网络)的 pH 值抑制依赖酸性环境的蛋白酶与糖基转移酶活性,从而干扰病毒蛋白的翻译后修饰(如糖基化、蛋白水解)及病毒颗粒组装^[66]。氯喹也可抑制高尔基体的出芽过程。在 HSV-1 模型中氯喹会升高高尔基体囊泡的 pH^[67],并抑制高尔基体的出芽,导致非感染性

HSV-1 颗粒在反式高尔基体网络中积累^[68-69], 从而抑制合成的病毒蛋白的翻译后修饰。

3.4 通过宿主免疫调节调控抗病毒免疫应答

3.4.1 调控病毒核酸识别通路关键靶点蛋白

机体的先天免疫系统可以通过模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)识别病毒的病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)。Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR)是研究最深入的 PRR 之一, 位于内体的 TLR (主要是 TLR3、TLR7、TLR9)可识别病毒的单链 RNA (single-stranded RNA, ssRNA)、双链 RNA (double-stranded RNA, dsRNA)和富含 CpG 岛的 DNA, 在机体的先天免疫应答中发挥着重要作用; TLR 识别病毒核酸后会激活核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B)等激酶, 最终调节细胞因子、趋化因子和 IFN 的表达^[70]。TLR3、TLR7 和 TLR9 在细胞内表达于内质网、内体、多泡体和溶酶体中, 激活仅发生在酸化的内体, 而氯喹可以通过升高内体 pH 影响 TLR 的激活过程^[71-72], 氯喹还可以通过结合内体内的病毒核酸阻止内体 TLR 与其配体的相互作用^[73], 从而干扰 TLR 下游信号通路。

细胞质 DNA 感受器环鸟苷酸-腺苷酸合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)可以识别细胞质中的双链 DNA, 催化合成第二信使 2'3'-环鸟苷酸-腺苷酸(2'3'-cyclic-GMP-AMP, cGAMP)^[74]。cGAMP 随后结合并激活内质网驻留蛋白干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING), 激活的 STING 转位至高尔基体, 募集并激活抑制因子激酶(inhibitor of kappa B kinase, IKK)和 TANK 结合激酶 1 (TANK-binding kinase 1, TBK1), 分别磷酸化激活 NF- κ B 和干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3)。这些转录因子入核诱导 IFN-I 和细胞因子表达, 介导抗病原体免

疫^[75-77]。氯喹会显著抑制 HSV-1 诱导的 cGAS 的降解^[78], Ma 等^[79]发现伪狂犬病病毒(pseudorabies virus, PRV)的 UL21 通过自噬-溶酶体途径降解 cGAS 抑制 cGAS-STING1 介导的先天免疫, 并且氯喹抑制了这个过程。Jiao 等^[80]证实氯喹显著减弱了 SARS-CoV-2 的非结构蛋白 6 (nonstructural protein 6, NSP6)对 STING1 表达的抑制效果, 并消除了 NSP6 在 HEK293T 细胞中对 cGAS-STING1 激活的 IFN- β 表达的抑制作用。因此氯喹可通过抑制病毒感染中 cGAS-IFN-I 信号通路关键蛋白的降解维持 cGAS-IFN-I 信号通路激活。

视黄酸诱导基因 -I 样受体(RIG-I-like receptor, RLR)在几乎所有有核细胞中表达, 是识别 RNA 病毒的主要胞质 PRR, 是抵御多种病毒家族的第一道防线^[81-82]。RIG-I caspase 募集结构域(caspase recruitment domain, CARD)和 MDA5 CARD 通过 CARD-CARD 介导的相互作用与线粒体抗病毒信号转导蛋白(mitochondrial antiviral signaling protein, MAVS)结合, 最终激活 NF- κ B 和 IFN-I 信号通路^[83]。Liu 等^[84]发现氯喹完全抑制了稳态铁调节因子(hemochromatosis protein, HFE)蛋白(抗病毒先天免疫的负调节因子)通过选择性自噬-溶酶体途径介导的 MAVS 降解。猪繁殖与呼吸综合征病毒(porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV)的非结构蛋白 Nsp5 会依赖自噬-溶酶体途径诱导 RLR 信号通路的 MAVS、TBK1、IRF3 和 IRF7 等多个关键蛋白降解, 而氯喹抑制了 Nsp5 介导的 RLR 信号通路蛋白降解^[85]。因此氯喹可通过抑制自噬-溶酶体途径介导的 RLR 信号通路关键蛋白的降解, 增强针对 RNA 病毒感染的先天免疫反应。

3.4.2 阻断自噬体成熟

自噬体与内体和溶酶体的囊泡融合通过酸性蛋白酶清除被自噬体吞噬的物质^[86]。自噬是免疫的主要参与者, 它通过调节 IFN 的产生和炎性小体活性来减轻炎症^[87], 还可通过降解病

毒粒子发挥抗病毒作用^[86]。自噬能够清除细胞内病原体，然而自噬又是一把“双刃剑”，在某些情况下会促进病毒的存活和复制。O'Donnell 等^[88]证明口蹄疫病毒(foot-and-mouth disease virus, FMDV)会触发自噬，并促进病毒进入细胞，进而增强病毒复制。人类 B19 细小病毒在其具备病毒复制能力之前诱导自噬，从而促进感染细胞的存活，使其能够在细胞崩溃之前完成病毒复制^[89]。自噬体可作为脊髓灰质炎病毒(poliovirus, PV)复制的膜性支撑结构，也可作为小鼠肝炎病毒(mouse hepatitis virus, MHV)复制的位点^[90]，最终促进病毒复制。氯喹可沿 pH 梯度进入溶酶体并在溶酶体中积累，通过升高 pH 值抑制溶酶体酶的活性，从而抑制自噬溶酶体中货物的降解^[91]。氯喹还会影响自噬体-溶酶体融合，Mauthe 等^[92]通过观察氯喹处理后的细胞中 LC3 与 LAMP2 的共定位情况证实氯喹损害了自噬体与溶酶体的融合。这最终可抑制依赖宿主自噬促进自身复制的病毒。进入细胞后的日本脑炎病毒(Japanese encephalitis virus, JEV)会被靶向运送至自噬溶酶体进行病毒脱壳，Li 等^[93]敲低自噬必需基因自噬相关蛋白 5 (autophagy related 5, ATG5)以及使用磷脂酰肌醇-3 激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA)后 LC3-II 水平降低，JEV 复制减少。Zhang 等^[94]发现在 JEV 感染小鼠模型中使用氯喹处理可导致脑组织中 LC3 与 JEV 共定位的神经元数量减少，并减轻了小鼠的症状，因此氯喹可通过阻断自噬抑制病毒的复制。ZIKV 感染可高效诱导 LC3-I 向 LC3-II 转化，促进自噬。Zhang 等^[60]发现 ZIKV 在 ATG5 缺陷的小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts, MEFs)中的复制完全被抑制，而氯喹可逆转 ZIKV 诱导的 p62 降解，并且在野生型 MEFs 中对 ZIKV 产生的抑制效果与 ATG5 缺陷 MEFs 中对 ZIKV 复制的抑制效果相当。

3.4.3 抑制细胞因子风暴

病毒感染宿主会导致不同的免疫细胞异常激活，这些激活的免疫细胞产生大量促炎细胞因子和趋化因子，会通过正反馈进一步促进其他免疫细胞的激活^[95]，而这种过度激活的免疫反应会对宿主产生负面影响。在 SARS-CoV-2 导致的细胞因子风暴中促炎细胞因子水平升高并伴有广泛的肺部炎症和肺部损伤^[96]。Tang 等^[95]认为抗病毒药物和适当的免疫调节疗法(控制过度激活的炎症反应)的组合可能是对抗 COVID-19 的重要策略。Satarker 等^[97]认为羟氯喹可通过预防细胞因子风暴抑制 SARS-CoV-2 的复制。因此氯喹可能通过调控过度激活的炎症反应在减轻病毒感染对宿主的进一步损伤方面发挥重要作用。氯喹能以剂量依赖性方式诱导细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 p21 的转录，抑制 CD4⁺ T 细胞增殖，还会通过影响 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)/转录因子活化蛋白-1 (activator protein-1, AP-1)信号传导影响 T 细胞亚群细胞因子的分泌，显著减少 Th1 细胞分泌 IFN- γ 和 Th17 细胞分泌白细胞介素-17 (interleukin-17, IL-17)^[98-99]。氯喹还以剂量依赖性方式抑制 TLR9 诱导的 B 细胞增殖、浆母细胞形成以及 IgG 的分泌，并对分泌 IL-10 的调节性 B 细胞(regulatory B cell, Breg)的抑制作用较颗粒酶 B 阳性 B 细胞(granzyme B-secreting B cells, GrB-secreting B cells)更为显著，其在临床浓度下可强烈抑制所有 B 细胞亚群产生诸如 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 等炎症细胞因子^[100-101]。由此可见，氯喹通过其免疫调节作用可减少病毒感染过程中的免疫细胞过度激活，从而抑制细胞因子风暴并减轻宿主损伤。

4 总结与展望

寻找价格低廉的抗病毒药物对于兽医领域病毒性传染病的防控至关重要。本课题组 Dai 等^[102]研究发现，抗疟药氯喹能显著抑制 PRV 在猪肾细胞(porcine kidney-15, PK-15)中的感染，

并通过阻断病毒吸附和内化发挥抗病毒作用；该研究通过阐明氯喹抗伪狂犬病病毒的作用与机制为伪狂犬病的药物防治奠定了理论基础。因此本文对氯喹的抗病毒作用和抗病毒机制进行了梳理，希望为深入研究和开发氯喹的抗病毒作用提供理论参考。

有研究显示氯喹与大环内酯类药物联合使用并不能对感染 SARS-CoV-2 的患者起到治疗作用，但 Singh 等^[37]研究表明氯喹会增强干扰素对 HSV-1 的抑制作用，因此氯喹也可能通过与其他药物联合用药取得良好的抗病毒作用。大量实验表明氯喹在体外显示出抗病毒作用，并且主要是在病毒感染的吸附和侵入阶段发挥作用。将氯喹开发为靶向病毒感染早期的抗病毒药物，并通过联用其他抗病毒药物可能获得更好的疗效。氯喹在发挥抗病毒作用的同时，还会对机体产生免疫抑制作用并抑制炎症细胞因子的释放，而氯喹对于机体的免疫抑制作用可能正是其体内抗病毒作用不理想的原因。寻找与氯喹联用的药物以平衡氯喹的抗病毒与免疫抑制作用可提升其体内抗病毒效果。对氯喹分子本身进行结构优化，或许也能实现氯喹的体内抗病毒作用。其衍生物羟氯喹就是一个成功先例，它作为抗疟药具有更低毒性和更高安全性。通过进一步的结构修饰降低氯喹对肝、肾及心脏等器官的毒性，有望在提高临床使用剂量的同时实现更佳的体内抗病毒效果。

在成年人中氯喹的剂量超过 20 mg/kg 即表现出毒性，超过 40 mg/kg 可致命^[103]。相比之下，小鼠可耐受 90 mg/kg 的氯喹，仓鼠能耐受 50 mg/kg 的氯喹^[11]。这表明不同物种对氯喹的耐受性存在显著差异。目前针对大型经济动物(如家畜)的氯喹药代动力学研究仍较为缺乏。现有动物实验中所观察到的耐受剂量普遍高于人类耐受剂量，因此大型经济动物可能对氯喹具有更高的耐受剂量，这可能使氯喹的体内抗病毒作用更易实现，这仍需通过进一步的药代动力学与药效学实验加以验证。此外，药代动力

学研究显示，氯喹主要分布在脑脉络丛区域、心脏浦肯野细胞、支气管上皮细胞、II 型肺泡细胞以及肺泡壁表面^[104]，提示氯喹可能对主要感染脑、支气管以及肺的病毒更易实现体内抗病毒作用。

作者贡献声明

李浩林：提出概念，撰写文章，撰写、审阅；代宇：提出概念，审阅；方仁东：审阅，获取基金；叶超：获取基金，撰写、审阅。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] NII-TREBI NI, MUGHOGHO TS, ABDULAI A, TETTEH F, OFOSU PM, OSEI MM, YALLEY AK. Dynamics of viral disease outbreaks: a hundred years (1918/19–2019/20) in retrospect—loses, lessons and emerging issues[J]. *Reviews in Medical Virology*, 2023, 33(6): e2475.
- [2] AL-BARI MAA. Targeting endosomal acidification by chloroquine analogs as a promising strategy for the treatment of emerging viral diseases[J]. *Pharmacology Research & Perspectives*, 2017, 5(1): e00293.
- [3] TOURET F, de LAMBALLERIE X. Of chloroquine and COVID-19[J]. *Antiviral Research*, 2020, 177: 104762.
- [4] ZHOU WM, WANG H, YANG YQ, CHEN ZS, ZOU C, ZHANG JY. Chloroquine against malaria, cancers and viral diseases[J]. *Drug Discovery Today*, 2020, 25(11): 2012-2022.
- [5] FERREIRA A, OLIVEIRA-E-SILVA A, BETTENCOURT P. Chronic treatment with hydroxychloroquine and SARS-CoV-2 infection[J]. *Journal of Medical Virology*, 2021, 93(2): 755-759.
- [6] YUSUF IH, SHARMA S, LUQMANI R, DOWNES SM. Hydroxychloroquine retinopathy[J]. *Eye*, 2017, 31(6): 828-845.
- [7] LEI ZN, WU ZX, DONG SW, YANG DH, ZHANG LT, KE ZF, ZOU C, CHEN ZS. Chloroquine and hydroxychloroquine in the treatment of malaria and repurposing in treating COVID-19[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2020, 216: 107672.
- [8] SOLOMON VR, LEE H. Chloroquine and its analogs: a new promise of an old drug for effective and safe cancer therapies[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2009, 625(1/2/3): 220-233.
- [9] LIU CH, HU YT, WONG SH, LIN LT. Therapeutic strategies against Ebola virus infection[J]. *Viruses*, 2022, 14(3): 579.
- [10] DOWALL SD, BOSWORTH A, WATSON R, BEWLEY

- K, TAYLOR I, RAYNER E, HUNTER L, PEARSON G, EASTERBROOK L, PITMAN J, HEWSON R, CARROLL MW. Chloroquine inhibited Ebola virus replication *in vitro* but failed to protect against infection and disease in the *in vivo* guinea pig model[J]. *The Journal of General Virology*, 2015, 96(12): 3484-3492.
- [11] FALZARANO D, SAFRONETZ D, PRESCOTT J, MARZI A, FELDMANN F, FELDMANN H. Lack of protection against Ebola virus from chloroquine in mice and hamsters[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2015, 21(6): 1065-1067.
- [12] De LIMA CAVALCANTI TYV, PEREIRA MR, de PAULA SO, FRANCA RFO. A review on chikungunya virus epidemiology, pathogenesis and current vaccine development[J]. *Viruses*, 2022, 14(5): 969.
- [13] HOARAU JJ, JAFFAR BANDJEE MC, KREJBICH TROTOT P, DAS T, LI-PAT-YUEN G, DASSA B, DENIZOT M, GUICHARD E, RIBERA A, HENNI T, TALLET F, MOITON MP, GAUZÈRE BA, BRUNIQUET S, JAFFAR BANDJEE Z, MORBIDELLI P, MARTIGNY G, JOLIVET M, GAY F, GRANDADAM M, et al. Persistent chronic inflammation and infection by chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response[J]. *The Journal of Immunology*, 2010, 184(10): 5914-5927.
- [14] ROQUES P, THIBERVILLE SD, DUPUIS-MAGUIRAGA L, LUM FM, LABADIE K, MARTINON F, GRAS G, LEBON P, NG LFP, de LAMBALLERIE X, Le GRAND R. Paradoxical effect of chloroquine treatment in enhancing chikungunya virus infection[J]. *Viruses*, 2018, 10(5): 268.
- [15] SILVA MC, GUERRERO-PLATA A, GILFOY FD, GAROFALO RP, MASON PW. Differential activation of human monocyte-derived and plasmacytoid dendritic cells by West Nile virus generated in different host cells[J]. *Journal of Virology*, 2007, 81(24): 13640-13648.
- [16] HER Z, MALLERET B, CHAN M, ONG EKS, WONG SC, KWEK DJC, TOLOU H, LIN RTP, TAMBYAH PA, RÉNIA L, NG LFP. Active infection of human blood monocytes by chikungunya virus triggers an innate immune response[J]. *The Journal of Immunology*, 2010, 184(10): 5903-5913.
- [17] SHIRYAEV SA, MESCI P, PINTO A, FERNANDES I, SHEETS N, SHRESTA S, FARHY C, HUANG CT, STRONGIN AY, MUOTRI AR, TERSKIKH AV. Repurposing of the anti-malaria drug chloroquine for Zika virus treatment and prophylaxis[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 15771.
- [18] CRAGAN JD, MAI CT, PETERSEN EE, LIBERMAN RF, FORESTIERI NE, STEVENS AC, DELANEY A, DAWSON AL, ELLINGTON SR, SHAPIRO-MENDOZA CK, DUNN JE, HIGGINS CA, MEYER RE, WILLIAMS T, POLEN KND, NEWSOME K, REYNOLDS M, ISENBURG J, GILBOA SM, MEANEY-DELMAN DM, MOORE CA, BOYLE CA, HONEIN MA. Baseline prevalence of birth defects associated with congenital Zika virus infection—Massachusetts, north Carolina, and Atlanta, Georgia, 2013–2014[J]. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2017, 66(8): 219-222.
- [19] DELVECCHIO R, HIGA LM, PEZZUTO P, VALADÃO AL, GARCEZ PP, MONTEIRO FL, LOIOLA EC, DIAS AA, SILVA FJM, ALIOTA MT, CAINE EA, OSORIO JE, BELLIO M, O'CONNOR DH, REHEN S, de AGUIAR RS, SAVARINO A, CAMPANATI L, TANURI A. Chloroquine, an endocytosis blocking agent, inhibits zika virus infection in different cell models[J]. *Viruses*, 2016, 8(12): 322.
- [20] MORRISON TE, DIAMOND MS. Animal models of zika virus infection, pathogenesis, and immunity[J]. *Journal of Virology*, 2017, 91(8): e00009-17.
- [21] CUGOLA FR, FERNANDES IR, RUSSO FB, FREITAS BC, DIAS JLM, GUIMARÃES KP, BENAZZATO C, ALMEIDA N, PIGNATARI GC, ROMERO S, POLONIO CM, CUNHA I, FREITAS CL, BRANDÃO WN, ROSSATO C, ANDRADE DG, de P FARIA D, GARCEZ AT, BUCHPIGEL CA, BRACONI CT, et al. The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models[J]. *Nature*, 2016, 534(7606): 267-271.
- [22] KULARATNE SA, DALUGAMA C. Dengue infection: global importance, immunopathology and management[J]. *Clinical Medicine*, 2022, 22(1): 9-13.
- [23] FARIAS KJS, MACHADO PRL, de ALMEIDA JUNIOR RF, de AQUINO AA, Da FONSECA BAL. Chloroquine interferes with dengue-2 virus replication in U937 cells[J]. *Microbiology and Immunology*, 2014, 58(6): 318-326.
- [24] FARIAS KJS, MACHADO PRL, Da FONSECA BAL. Chloroquine inhibits dengue virus type 2 replication in Vero cells but not in C6/36 cells[J]. *The Scientific World Journal*, 2013, 2013: 282734.
- [25] FARIAS KJS, MACHADO PRL, MUNIZ JAPC, IMBELONI AA, Da FONSECA BAL. Antiviral activity of chloroquine against dengue virus type 2 replication in *Aotus* monkeys[J]. *Viral Immunology*, 2015, 28(3): 161-169.
- [26] BORGES MC, CASTRO LA, FONSECA BA. Chloroquine use improves dengue-related symptoms[J]. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 2013, 108(5): 596-599.
- [27] TRICOU V, MINH NN, VAN TP, LEE SJ, FARRAR J, WILLS B, TRAN HT, SIMMONS CP. A randomized controlled trial of chloroquine for the treatment of dengue in Vietnamese adults[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2010, 4(8): e785.
- [28] STADLER K, MASIGNANI V, EICKMANN M, BECKER S, ABRIGNANI S, KLENK HD, RAPPUOLI R. SARS: beginning to understand a new virus[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2003, 1(3): 209-218.
- [29] KSIAZEK TG, ERDMAN D, GOLDSMITH CS, ZAKI SR, PERET T, EMERY S, TONG SX, URBANI C, COMER JA, LIM W, ROLLIN PE, DOWELL SF, LING AE, HUMPHREY CD, SHIEH WJ, GUARNER J, PADDOCK CD, ROTA P, FIELDS B, DeRISI J, et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2003, 348(20): 1953-1966.
- [30] VINCENT MJ, BERGERON E, BENJANNET S, ERICKSON BR, ROLLIN PE, KSIAZEK TG, SEIDAH NG, NICHOL ST. Chloroquine is a potent inhibitor of

- SARS coronavirus infection and spread[J]. *Virology Journal*, 2005, 2: 69.
- [31] BARNARD DL, DAY CW, BAILEY K, HEINER M, MONTGOMERY R, LAURIDSEN L, CHAN PKS, SIDWELL RW. Evaluation of immunomodulators, interferons and known *in vitro* SARS-CoV inhibitors for inhibition of SARS-CoV replication in BALB/c mice[J]. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*, 2006, 17(5): 275-284.
- [32] ALEEBRAHIM-DEHKORDI E, SOVEYZI F, DERAVI N, RABBANI Z, SAGHAZADEH A, REZAEI N. Human coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 in children[J]. *Journal of Pediatric Nursing*, 2021, 56: 70-79.
- [33] WANG ML, CAO RY, ZHANG LK, YANG XL, LIU J, XU MY, SHI ZL, HU ZH, ZHONG W, XIAO GF. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) *in vitro*[J]. *Cell Research*, 2020, 30(3): 269-271.
- [34] MITJÀ O, CORBACHO-MONNÉ M, UBALS M, ALEMANY A, SUÑER C, TEBÉ C, TOBIAS A, PEÑAFIEL J, BALLANA E, PÉREZ CA, ADMELLA P, RIERA-MARTÍ N, LAPORTE P, MITJÀ J, CLUA M, BERTRAN L, SARQUELLA M, GAVILÁN S, ARA J, ARGIMON JM, et al. A cluster-randomized trial of hydroxychloroquine for prevention of COVID-19[J]. *New England Journal of Medicine*, 2021, 384(5): 417-427.
- [35] GELERIS J, SUN YF, PLATT J, ZUCKER J, BALDWIN M, HRIPCSAK G, LABELLA A, MANSON DK, KUBIN C, BARR RG, SOBIESZCZYK ME, SCHLUGER NW. Observational study of hydroxychloroquine in hospitalized patients with COVID-19[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2020, 382(25): 2411-2418.
- [36] RICE SA. Release of HSV-1 cell-free virions: mechanisms, regulation, and likely role in human-human transmission[J]. *Viruses*, 2021, 13(12): 2395.
- [37] SINGH AK, SIDHU GS, FRIEDMAN RM, MAHESHWARI RK. Mechanism of enhancement of the antiviral action of interferon against herpes simplex virus-1 by chloroquine[J]. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 1996, 16(9): 725-731.
- [38] MAHESHWARI RK, SIDHU GS, SINGH AK, SIVARAM SS, KINCHINGTON PR, HAY J, FRIEDMAN RM. Defective transport of herpes simplex virus glycoprotein in interferon-treated cells: role of intracellular pH[J]. *Journal of Interferon Research*, 1994, 14(6): 319-324.
- [39] JUNG K, SAIF LJ, WANG QH. Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV): an update on etiology, transmission, pathogenesis, and prevention and control[J]. *Virus Research*, 2020, 286: 198045.
- [40] WANG JX, KAN XJ, LI XM, SUN J, XU XL. Porcine epidemic diarrhoea virus (PEDV) infection activates AMPK and JNK through TAK1 to induce autophagy and enhance virus replication[J]. *Virulence*, 2022, 13(1): 1697-1712.
- [41] KHODAKARAM-TAFTI A, FARJANIKISH GH. Persistent bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in cattle herds[J]. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 2017, 18(3): 154-163.
- [42] TESSERAUD S, AVRIL P, BONNET M, BONNIEU A, CASSAR-MALEK I, CHABI B, DESSAUGE F, GABILLARD JC, PERRUCHOT MH, SEILIEZ I. Autophagy in farm animals: current knowledge and future challenges[J]. *Autophagy*, 2021, 17(8): 1809-1827.
- [43] WANG J, YANG GH, ZHANG LL, ZHANG JL, WANG J, ZOU YJ, WANG JF. Berbamine hydrochloride inhibits bovine viral diarrhoea virus replication *via* interfering in late-stage autophagy[J]. *Virus Research*, 2022, 321: 198905.
- [44] HOFMANN-LEHMANN R, HOSIE MJ, HARTMANN K, EGGERINK H, TRUYEN U, TASKER S, BELÁK S, BOUCRAUT-BARALON C, FRYMUS T, LLORET A, MARSILIO F, PENNISI MG, ADDIE DD, LUTZ H, THIRY E, RADFORD AD, MÖSTL K. Calicivirus infection in cats[J]. *Viruses*, 2022, 14(5): 937.
- [45] KREUTZ LC, SEAL BS. The pathway of feline calicivirus entry[J]. *Virus Research*, 1995, 35(1): 63-70.
- [46] STUART AD, BROWN TDK. Entry of feline calicivirus is dependent on clathrin-mediated endocytosis and acidification in endosomes[J]. *Journal of Virology*, 2006, 80(15): 7500-7509.
- [47] DELAPLACE M, HUET H, GAMBINO A, le PODER S. Feline coronavirus antivirals: a review[J]. *Pathogens*, 2021, 10(9): 1150.
- [48] TAKANO T, KATOH Y, DOKI T, HOHDATSU T. Effect of chloroquine on feline infectious peritonitis virus infection *in vitro* and *in vivo*[J]. *Antiviral Research*, 2013, 99(2): 100-107.
- [49] 陆晓龙, 谢臻城, 冯罡, 汪之珉. 唾液酸的生物活性与检测技术[J]. *卫生研究*, 2024, 53(4): 683-686, 689.
- [50] WASIK BR, BARNARD KN, PARRISH CR. Effects of sialic acid modifications on virus binding and infection[J]. *Trends in Microbiology*, 2016, 24(12): 991-1001.
- [51] HELANDER A, SILVEY KJ, MANTIS NJ, HUTCHINGS AB, CHANDRAN K, LUCAS WT, NIBERT ML, NEUTRA MR. The viral sigma1 protein and glycoconjugates containing alpha2-3-linked sialic acid are involved in type 1 reovirus adherence to M cell apical surfaces[J]. *Journal of Virology*, 2003, 77(14): 7964-7977.
- [52] DESFORGES M, DESJARDINS J, ZHANG CS, TALBOT PJ. The acetyl-esterase activity of the hemagglutinin-esterase protein of human coronavirus OC43 strongly enhances the production of infectious virus[J]. *Journal of Virology*, 2013, 87(6): 3097-3107.
- [53] LIU Y, SHENG J, BAGGEN J, MENG G, XIAO C, THIBAUT HJ, van KUPPEVELD FJM, ROSSMANN MG. Sialic acid-dependent cell entry of human enterovirus D68[J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 8865.
- [54] DEVAUX CA, ROLAIN JM, COLSON P, RAOULT D. New insights on the antiviral effects of chloroquine against coronavirus: what to expect for COVID-19[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2020, 55(5): 105938.
- [55] LI WH, MOORE MJ, VASILIEVA N, SUI JH, WONG SK, BERNE MA, SOMASUNDARAN M, SULLIVAN JL, LUZURIAGA K, GREENOUGH TC, CHOE H, FARZAN M. Angiotensin-converting enzyme 2 is a

- functional receptor for the SARS coronavirus[J]. *Nature*, 2003, 426(6965): 450-454.
- [56] WANG N, HAN SL, LIU R, MENG LS, HE HZ, ZHANG YJ, WANG C, LV YN, WANG J, LI XW, DING YY, FU J, HOU YJ, LU W, MA WN, ZHAN YZ, DAI BL, ZHANG J, PAN XY, HU SL, et al. Chloroquine and hydroxychloroquine as ACE2 blockers to inhibit viropexis of 2019-nCoV Spike pseudotyped virus[J]. *Phytomedicine*, 2020, 79: 153333.
- [57] MARSH M, HELENIUS A. Virus entry: open sesame[J]. *Cell*, 2006, 124(4): 729-740.
- [58] 张豪博, 张莹. 巨噬细胞极化在单纯疱疹病毒1型感染中的作用研究进展[J]. *病毒学报*, 2023, 39(6): 1757-1767. ZHANG HB, ZHANG Y. Research progress on the role of macrophage polarization in herpes simplex virus type 1 infection[J]. *Chinese Journal of Virology*, 2023, 39(6): 1757-1767 (in Chinese).
- [59] AGRELLI A, de MOURA RR, CROVELLA S, BRANDÃO LAC. ZIKA virus entry mechanisms in human cells[J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2019, 69: 22-29.
- [60] ZHANG SN, YI CH, LI CF, ZHANG F, PENG JJ, WANG Q, LIU XL, YE XM, LI PC, WU M, YAN QH, GUO WJ, NIU XF, FENG LQ, PAN WQ, CHEN L, QU LB. Chloroquine inhibits endosomal viral RNA release and autophagy-dependent viral replication and effectively prevents maternal to fetal transmission of Zika virus[J]. *Antiviral Research*, 2019, 169: 104547.
- [61] 谷九龙, 黄石磊, 尹艳玲. 猪肠道冠状病毒的致病机制研究进展[J]. *中国兽医学报*, 2024, 44(12): 2667-2672. GU JL, HUANG SL, YIN YL. Research progress on pathogenesis of swine enteric coronaviruses[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2024, 44(12): 2667-2672 (in Chinese).
- [62] SUN JK, CHEN YT, FAN XD, WANG XY, HAN QY, LIU ZW. Advances in the use of chloroquine and hydroxychloroquine for the treatment of COVID-19[J]. *Postgraduate Medicine*, 2020, 132(7): 604-613.
- [63] DIAZ-GRIFFERO F, HOSCHANDER SA, BROJATSCH J. Endocytosis is a critical step in entry of subgroup B avian leukosis viruses[J]. *Journal of Virology*, 2002, 76(24): 12866-12876.
- [64] CHIANG G, SASSAROLI M, LOUIE M, CHEN HC, STECHER VJ, SPERBER K. Inhibition of HIV-1 replication by hydroxychloroquine: mechanism of action and comparison with zidovudine[J]. *Clinical Therapeutics*, 1996, 18(6): 1080-1092.
- [65] RANDOLPH VB, WINKLER G, STOLLAR V. Acidotropic amines inhibit proteolytic processing of flavivirus prM protein[J]. *Virology*, 1990, 174(2): 450-458.
- [66] SAVARINO A, GENNERO L, SPERBER K, BOELAERT JR. The anti-HIV-1 activity of chloroquine[J]. *Journal of Clinical Virology*, 2001, 20(3): 131-135.
- [67] 庞素秋. 2020年湖北省某医院救治 SARS-CoV-2 患者的抗病毒药物使用分析[J]. *药学实践与服务*, 2022, 40(6): 583-586. PANG SQ. Analysis of the use for antiviral drugs in the treatment of COVID-19 patients in a Hubei hospital in 2020[J]. *Journal of Pharmaceutical Practice and Service*, 2022, 40(6): 583-586 (in Chinese).
- [68] KLUMPERMAN J, LOCKER JK, MEIJER A, HORZINEK MC, GEUZE HJ, ROTTIER PJ. Coronavirus M proteins accumulate in the Golgi complex beyond the site of virion budding[J]. *Journal of Virology*, 1994, 68(10): 6523-6534.
- [69] HARLEY CA, DASGUPTA A, WILSON DW. Characterization of herpes simplex virus-containing organelles by subcellular fractionation: role for organelle acidification in assembly of infectious particles[J]. *Journal of Virology*, 2001, 75(3): 1236-1251.
- [70] KAWASAKI T, KAWAI T. Toll-like receptor signaling pathways[J]. *Frontiers in Immunology*, 2014, 5: 461.
- [71] BLASIUS AL, BEUTLER B. Intracellular Toll-like receptors[J]. *Immunity*, 2010, 32(3): 305-315.
- [72] ROUTY JP, ANGEL J, PATEL M, KANAGARATHAM C, RADZIOCH D, KEMA I, GILMORE N, ANCUTA P, SINGER J, JENABIAN MA. Assessment of chloroquine as a modulator of immune activation to improve CD4 recovery in immune nonresponding HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy[J]. *HIV Medicine*, 2015, 16(1): 48-56.
- [73] IN'T VELD AE, JANSEN MAA, CIERE LCA, MOERLAND M. Hydroxychloroquine effects on TLR signalling: underexposed but unneglectable in COVID-19[J]. *Journal of Immunology Research*, 2021, 2021: 6659410.
- [74] GAO P, ASCANO M, WU Y, BARCHET W, GAFFNEY BL, ZILLINGER T, SERGANOV AA, LIU YZ, JONES RA, HARTMANN G, TUSCHL T, PATEL DJ. Cyclic [G(2',5')pA(3',5')p] is the metazoan second messenger produced by DNA-activated cyclic GMP-AMP synthase[J]. *Cell*, 2013, 153(5): 1094-1107.
- [75] ABLASSER A, GOLDECK M, CAVLAR T, DEIMLING T, WITTE G, RÖHL I, HOPFNER KP, LUDWIG J, HORNING V. cGAS produces a 2'-5'-linked cyclic dinucleotide second messenger that activates STING[J]. *Nature*, 2013, 498(7454): 380-384.
- [76] GAO P, ASCANO M, ZILLINGER T, WANG WY, DAI PH, SERGANOV AA, GAFFNEY BL, SHUMAN S, JONES RA, DENG L, HARTMANN G, BARCHET W, TUSCHL T, PATEL DJ. Structure-function analysis of STING activation by c[G(2',5')pA(3',5')p] and targeting by antiviral DMXAA[J]. *Cell*, 2013, 154(4): 748-762.
- [77] TAO JL, ZHANG XW, JIN JS, DU XX, LIAN TF, YANG J, ZHOU X, JIANG ZF, SU XD. Nonspecific DNA binding of cGAS N terminus promotes cGAS activation[J]. *The Journal of Immunology*, 2017, 198(9): 3627-3636.
- [78] 郭云云. 去泛素化酶 USP27X 在抗 DNA 病毒天然免疫中的功能与机制研究[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2020. GUO YY. Function and molecular mechanism of USP27X in the innate antiviral immunity against DNA Virus. Jinan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2020 (in Chinese).
- [79] MA ZC, BAI J, JIANG CL, ZHU HX, LIU DP, PAN MJ, WANG XW, PI J, JIANG P, LIU X. Tegument protein UL21 of alpha-herpesvirus inhibits the innate immunity by triggering CGAS degradation through TOLLIP-

- mediated selective autophagy[J]. *Autophagy*, 2023, 19(5): 1512-1532.
- [80] JIAO PT, FAN WH, MA XY, LIN RS, ZHAO YN, LI YB, ZHANG H, JIA XJ, BI YH, FENG XL, LI MH, LIU WJ, ZHANG K, SUN L. SARS-CoV-2 nonstructural protein 6 triggers endoplasmic reticulum stress-induced autophagy to degrade STING1[J]. *Autophagy*, 2023, 19(12): 3113-3131.
- [81] AN J, WOODWARD JJ, SASAKI T, MINIE M, ELKON KB. Cutting edge: antimalarial drugs inhibit IFN- β production through blockade of cyclic GMP-AMP synthase-DNA interaction[J]. *The Journal of Immunology*, 2015, 194(9): 4089-4093.
- [82] THORESEN D, WANG WS, GALLS D, GUO R, XU L, PYLE AM. The molecular mechanism of RIG-I activation and signaling[J]. *Immunological Reviews*, 2021, 304(1): 154-168.
- [83] NAESENS L, HAERYNCK F, GACK MU. The RNA polymerase III—RIG-I axis in antiviral immunity and inflammation[J]. *Trends in Immunology*, 2023, 44(6): 435-449.
- [84] LIU J, WU XP, WANG HL, WEI JY, WU Q, WANG XB, YAN Y, CUI J, MIN JX, WANG FD, ZHOU JY. HFE inhibits type I IFNs signaling by targeting the SQSTM1-mediated MAVS autophagic degradation[J]. *Autophagy*, 2021, 17(8): 1962-1977.
- [85] 王静. PRRSV非结构蛋白Nsp5通过ER自噬拮抗宿主固有免疫反应机制研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2024. WANG J. PRRSV non-structural protein 5 inhibits antiviral innate immunity through ER-Phagy. Yangling: Northwest A&F University, 2024 (in Chinese).
- [86] KE PY. Autophagy and antiviral defense[J]. *IUBMB Life*, 2022, 74(4): 317-338.
- [87] ARBOGAST F, GROS F. Lymphocyte autophagy in homeostasis, activation, and inflammatory diseases[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 1801.
- [88] O'DONNELL V, PACHECO JM, LaROCCO M, BURRAGE T, JACKSON W, RODRIGUEZ LL, BORCA MV, BAXT B. Foot-and-mouth disease virus utilizes an autophagic pathway during viral replication[J]. *Virology*, 2011, 410(1): 142-150.
- [89] NAKASHIMA A, TANAKA N, TAMAI K, KYUUMA M, ISHIKAWA Y, SATO H, YOSHIMORI T, SAITO S, SUGAMURA K. Survival of parvovirus B19-infected cells by cellular autophagy[J]. *Virology*, 2006, 349(2): 254-263.
- [90] ESPERT L, CODOGNO P, BIARD-PIECHACZYK M. Involvement of autophagy in viral infections: antiviral function and subversion by viruses[J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2007, 85(8): 811-823.
- [91] SCHREZENMEIER E, DÖRNER T. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology[J]. *Nature Reviews Rheumatology*, 2020, 16(3): 155-166.
- [92] MAUTHE M, ORHON I, ROCCHI C, ZHOU XD, LUHR M, HIJLKEMA KJ, COPPES RP, ENGEDAL N, MARI M, REGGIORI F. Chloroquine inhibits autophagic flux by decreasing autophagosome-lysosome fusion[J]. *Autophagy*, 2018, 14(8): 1435-1455.
- [93] LI JK, LIANG JJ, LIAO CL, LIN YL. Autophagy is involved in the early step of Japanese encephalitis virus infection[J]. *Microbes and Infection*, 2012, 14(2): 159-168.
- [94] ZHANG JH, HAN W, XIE CQ, GAO MX, WANG XG, HU XY, ZHANG WP, CAO SB, LIU XL, CHENG GF, GU CQ. Autophagy inhibitors alleviate Japanese encephalitis virus-induced cerebral inflammation in mice[J]. *Archives of Virology*, 2022, 167(3): 849-859.
- [95] TANG L, YIN ZN, HU Y, MEI H. Controlling cytokine storm is vital in COVID-19[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 570993.
- [96] MEHTA P, McAULEY DF, BROWN M, SANCHEZ E, TATTERSALL RS, MANSON JJ, HLH Across speciality collaboration, UK. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression[J]. *The Lancet*, 2020, 395(10229): 1033-1034.
- [97] SATARKER S, AHUJA T, BANERJEE M, E VB, DOGRA S, AGARWAL T, NAMPOOTHIRI M. Hydroxychloroquine in COVID-19: potential mechanism of action against SARS-CoV-2[J]. *Current Pharmacology Reports*, 2020, 6(5): 203-211.
- [98] SCHMIDT RLJ, JUTZ S, GOLDHAHN K, WITZENEDER N, GERNER MC, TRAPIN D, GREINER G, HOERMANN G, STEINER G, PICKL WF, BURGMANN H, STEINBERGER P, RATZINGER F, SCHMETTERER KG. Chloroquine inhibits human CD4⁺ T-cell activation by AP-1 signaling modulation[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 42191.
- [99] OH S, SHIN JH, JANG EJ, WON HY, KIM HK, JEONG MG, KIM KS, HWANG ES. Anti-inflammatory activity of chloroquine and amodiaquine through p21-mediated suppression of T cell proliferation and Th1 cell differentiation[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2016, 474(2): 345-350.
- [100] TORIGOE M, SAKATA K, ISHII A, IWATA S, NAKAYAMADA S, TANAKA Y. Hydroxychloroquine efficiently suppresses inflammatory responses of human class-switched memory B cells *via* Toll-like receptor 9 inhibition[J]. *Clinical Immunology*, 2018, 195: 1-7.
- [101] MA X, DAI Y, WITZKE O, XU SL, LINDEMANN M, KRIBBEN A, DOLFF S, WILDE B. Chloroquine suppresses effector B-cell functions and has differential impact on regulatory B-cell subsets[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 818704.
- [102] DAI Y, LIU YY, JIANG LH, NIU JY, LI HL, TANG J, FANG RD, YE C. Antiviral activity of chloroquine against pseudorabies virus *in vitro* and *in vivo*[J/OL]. *Pakistan Veterinary Journal*, 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.29261/pakvetj/2025.216>.
- [103] KARALIS V, ISMAILOS G, KARATZA E. Chloroquine dosage regimens in patients with COVID-19: safety risks and optimization using simulations[J]. *Safety Science*, 2020, 129: 104842.
- [104] KOREEDA A, YONEMITSU K, KOHMATSU H, MIMASAKA S, OHTSU Y, OSHIMA T, FUJIWARA K, TSUNENARI S. Immunohistochemical demonstration of the distribution of chloroquine (CQ) and its metabolites in CQ-poisoned mice[J]. *Archives of Toxicology*, 2007, 81(7): 471-478.