DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.08.030

新型冠状病毒假病毒感染hACE2转基因小鼠的模型建立及评价

张天宇[1],吴振起[2,3],李晓芳[4],杨馥语[1],王语馨[1]
(1.辽宁中医药大学,辽宁 沈阳 110847;2.辽宁中医药大学附属医院,辽宁 沈阳 110032;
3.沈阳市中医外感病实验室,辽宁 沈阳 110034;4.辽宁中医药大学附属第二医院,辽宁 沈阳 110034)

摘要:目的 采用含有刺突蛋白(spike,S)质粒、表达荧光素酶(Luciferase)和绿色荧光蛋白(GFP)的新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2,SARS-CoV-2)假病毒感染K18-hACE2转基因小鼠,探索建立并评价一种可用的动物模型,为后续有效药物靶点筛选提供基础。方法 (1)将12只K18-hACE2转基因小鼠随机分为对照组和模型组,模型组小鼠通过移液器滴鼻50 μL 1×10^9 PFU/只的病毒液,对照组小鼠予等量空载体病毒液;(2)于造模后第3天观察小鼠Luciferase活体荧光检测后取材;荧光显微镜下观察肺组织GFP荧光强度;光镜下观察小鼠肺组织病理切片;透射电镜观察肺组织超微结构;qPCR法检测肺组织S蛋白表达;ELISA法检测血清中白细胞介素-6(interleukin 6,IL-6)、白细胞介素-10(interleukin 10,IL-10)含量;Western Blot法检测肺组织血管紧张素转换酶2(angiotensin converting enzyme 2,ACE2)蛋白表达。结果 (1)活体成像可观察到模型组小鼠鼻咽部及双肺有较大荧光面积,肺组织冷冻切片中可见大量绿色荧光,肺组织病理切片及超微结构观察可见病理改变,对照组小鼠肺内未见荧光表达及病理改变;(2)模型组小鼠肺内可见S蛋白mRNA表达($P<0.01$);(3)与对照组小鼠相比,模型组小鼠血清中IL-6表达升高,IL-10表达降低($P<0.01$);(4)与对照组小鼠相比,模型组小鼠肺组织中的ACE2受体含量下降($P<0.01$)。结论 本项研究建立并评价了一种SARS-CoV-2假病毒感染hACE2转基因小鼠的模型,模型的优化仍需后续进一步完善。

关键词:SARS-CoV-2假病毒;K18-hACE2小鼠;动物模型;刺突蛋白
中图分类号:R229 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)08-0145-07

Modeling and Evaluation of SARS-CoV-2 Pseudovirus Infection in hACE2 Transgenic Mice

ZHANG Tianyu[1], WU Zhenqi[2,3], LI Xiaofang[4], YANG Fuyu[1], WANG Yuxin[1]
(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning, China;
2. The Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, Liaoning, China;
3. Shenyang Laboratory of Chinese Medicine and External Diseases, Shenyang 110034, Liaoning, China;
4. The Second Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, Liaoning, China)

Abstract: *Objective* To use severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) pseudovirus containing spike protein (S) particles and expressing Luciferase luciferase and GFP fluorescent proteins to infect K18-hACE2 transgenic mice, to explore the establishment and evaluation of a usable animal model, and to provide ideas for the subsequent screening of effective drug targets. *Methods* (1) Twelve K18-hACE2 transgenic mice were randomly divided into control and model groups. The mice in the model group were given 50 μL of 1×10^9 PFU/each viral solution by pipette drops, and those in the control group were given an equal amount of empty vector viral solution. (2) On the 3rd day after modeling, Luciferase in vivo fluorescence was observed and the samples were collected. The lung tissue GFP was observed under fluorescence microscopy. The lung tissue pathology was observed under light microscope. The lung tissue ultrastructure was observed under transmission electron microscope. S protein expression in lung tissue was detected by qPCR. The levels of interleukin 6 (IL-6) and interleukin 10 (IL-10) in serum were detected by ELISA. Western Blot assay was used for angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) protein expression in lung tissue. *Results* (1) In vivo imaging revealed a large fluorescence area in the nasopharynx and both lungs of the model mice, a large amount of green fluorescence in frozen sections of lung tissue, and pathological changes in lung histopathological sections and ultramicroscopic findings, while no fluorescence expression or pathological changes were observed in the lungs of the control mice. (2) S protein mRNA expression was seen in the lungs of the model mice ($P<0.01$). (3) Compared with those of the control mice, the expression of IL-6 in the serum of the model mice was increased and the expression of IL-10 was decreased ($P<0.01$). IL-6 expression was increased and IL-10 expression was decreased in the serum of mice in the model group compared with those in the control group ($P<0.01$). (4) ACE2 receptor content was decreased in lung tissues of the mice in the model

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82074494)
作者简介:张天宇(1996-),女,辽宁大连人,助理研究员,博士,研究方向:中医药防治小儿感染性疾病。
通讯作者:吴振起(1974-),男,辽宁庄河人,主任医师,博士研究生导师,博士,研究方向:中医药防治小儿感染性疾病。E-mail:zhenqiwu@163.com。

group compared to that in the control group($P<0.01$). *Conclusion* In this study, a model of SARS-CoV-2 pseudovirus infection in hACE2 transgenic mice was established and evaluated, and the optimization study of the model still needs to be followed up for further improvement.

Keywords: SARS-CoV-2 pseudovirus; K18-hACE2 mice; animal model; spike protein

新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2,SARS-CoV-2)是引起新型冠状病毒感染(coronavirus disease 2019,COVID-19)的主要病原体,其在全球范围内的大流行曾使公共卫生面临巨大挑战[1]。SARS-CoV-2是一种单链的RNA病毒,通过刺突蛋白(spike,S)、血管紧张素转换酶2(angiotensin converting enzyme 2,ACE2)和跨膜丝氨酸蛋白酶2(transmembrane protease serines 2,TMPRSS2)之间的作用机制感染宿主细胞[2]。治疗COVID-19主要采取抗病毒、抗炎和支持治疗,随着SARS-CoV-2的持续变异,Omicron变异株及其亚型能够规避先前宿主获得的免疫保护,导致病毒传播力增强、感染率上升以及重新感染的风险增加[3-5]。中医药在COVID-19的防治过程中发挥了重要作用,诸多临床实践已证实中药复方在改善患者症状、缩短病程、延缓疾病进展、减少重症转化率、降低病死率等方面体现出明显优势[6-8]。目前已发现数十种中草药和数百种天然中药成分具有广谱抗病毒活性,可对抗SARS-CoV-2等冠状病毒[9],在临床中也筛选出了以"三药三方"为代表的有效组方[10]。由于高致病性病原体的研究需要高级别的生物安全防护设施,天然病毒获取困难以及不同宿主种属间巨大的生理差异也阻碍了高致病性冠状病毒的研究。同时临床样本受到诸多安全性因素影响,COVID-19所涉及的机制以及中医药有效干预的靶点难以在临床试验中开展,建立感染条件可控的病毒替代模型及模拟人类感染过程的宿主模型显得尤为重要。

腺病毒包装技术已被用于研究高致病性传染病,将SARS-CoV-2的S蛋白基因转移到腺病毒载体中,由于腺病毒的基因缺陷,其本身并不能复制,但基因内的S蛋白基因会启动产生S蛋白,并从细胞内转移到细胞外,这个过程也类似于感染过程,而不能复制的腺病毒会被免疫机制消灭,实验安全性良好[11]。因此,本项研究拟通过滴鼻途径,采用含有携带SARS-CoV-2的S蛋白质粒和Luciferase荧光素酶及GFP荧光蛋白的SARS-CoV-2假病毒感染K18-hACE2转基因小鼠,探索建立一种可用的SARS-CoV-2假病毒感染动物模型,为后续有效中医药靶点筛选提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及SARS-CoV-2假病毒 12只6~8周龄SPF级K18-hACE2小鼠,雌雄各半,体质量18~22 g,由江苏集萃药康生物科技有限公司[SCXK(苏)2018-0008]在C57BL/6品系基础上进行构建,由辽宁长生生物技术股份有限公司[SCXK(辽)2020-0001]进行代繁代育。小鼠分笼饲养于辽宁中医药大学实验动物中心[SYXK(辽)2019-004],饲料和饮用水均经过高温高压灭菌后使用。饲养环境为湿度(50±2)%,室温(22±2)℃,12 h/12 h明暗周期。过表达SARS-CoV-2 S蛋白的假病毒由上海和元生物公司进行包装、滴度测定及表达检测,所有操作均符合辽宁中医药大学实验伦理学要求(审批号:21000042022041)。

1.1.2 试剂与仪器 动物用异氟烷(瑞沃德,R510-22-10,中国);4%多聚甲醛(赛国生物,BL539A,中国);HE染色试剂盒(索莱宝,G1121-4,中国);Minute Cultured Cells and RNAiso Plus(Invitrogen,9109,美国);PrimeScript™ RT reagent Kit(宝生物,RR037A,日本);TB Green Premix Ex Taq Ⅱ(宝生物,RR820A,日本);D-Luciferin potassium salt(碧云天,ST196,中国)抗荧光衰减封片剂(含DAPI)(索莱宝,S2110,中国),D-PBS缓冲液(索莱宝,D1040,中国);白细胞介素-6(interleukin 6,IL-6)ELISA试剂盒(欣博盛,EMC004.96,中国);白细胞介素-10(interleukin 10,IL-10)ELISA试剂盒(欣博盛,EMC001b.96,中国);OCT包埋剂(SAKURA,4583,日本)。

自动组织脱水处理机(LEICA,TP1020,德国);双人超净工作台(环中,LJH-4,中国);低温高速离心机(Heraeus,Biofuge 28RS,美国);石蜡包埋机(LEICA,EG1150,德国);手动石蜡切片机(LEICA,RM2235,德国);电子显微镜(HITACHIH,HITACHIH-600);倒置荧光显微镜(Nikon,Ti2U,日本);顶级小动物活体光学成像系统(PE,IVIS Spectrum,美国);冷冻切片机(Leica,CM1950,德国);电子显微镜(HITACHI,H-600,日本);实时荧光定量PCR仪(Applied Biosystems 7500,美国);超纯水系统(Heal Force,NW10LVF,中国)。

1.2 方法

1.2.1 SARS-CoV-2假病毒的包装纯化及滴度测定 质粒信息:空白质粒:pADV-EF1-Luc2-MCMV-EGFP-3xFLAG;目的质粒:pADV-EF1-Luc2-MCMV-2019-nCov-S-P2A-EGFP-3xFLAG,分别将空白质粒和目的穿梭质粒与腺病毒骨架质粒共转染到HEK293细胞中重组获得病毒,经大量扩增后纯化,检测滴度和目的基因表达水平后备用,该步骤由上海和元生物公司进行。应用AdMax系统转染HEK293细胞,待出现病毒空斑且完全病变后收集上清液。取滴度为10^7~10^8 PFU/mL的病毒液感染HEK293细胞进行扩大培养,用密度为1.30 g/mL和1.40 g/mL CsCl溶液超速离心纯化病毒,-80 ℃保存备用。以5.0×10^5 HEK293细胞接种于24孔板,依次加入10^{-5}~10^{-8}稀释的病毒液,感染48 h,固定封闭后,加入一抗孵育洗涤后,加入HRP标记二抗孵育洗涤,后进行DAB显色。每孔随机选择5个视野,光学显微镜下计算每孔阳性细胞平均个数和病毒滴度。计算公式为病毒滴度(PFU/mL)=阳性细胞平均数×视野数×稀释倍数/0.1 mL。

1.2.2 动物分组及模型建立 常规适应性饲养1周后,将12只K18-hACE2小鼠随机分为两组,即对照组和模型组($n=6$),对各组小鼠进行标记称重并记录。各组小鼠经异氟烷麻醉后,模型组小鼠通过移液器滴鼻50 μL 1×10^9 PFU/只的病毒液,对照组小鼠予等量空载体病毒液,将小鼠头后仰30°~45°,使病毒液随小鼠自主呼吸到达下呼吸道。于模型建立后第3天禁食、禁水4 h后取材。

1.2.3 荧光素酶(Luciferase)活体荧光检测 应用含有Luciferase的病毒质粒滴鼻后第3天,每组取2只小鼠应用生物发光活体成像仪观察肺内荧光素酶的表达情况。通过腹腔注射150 μg/g的D-Luciferin荧光素酶底物,等待7 min,将小鼠置于含有异氟烷的动物气体麻醉机下麻醉后放置于活体动物检

测仪密闭的暗箱中成像,光强度强表达显示为红色,弱表达显示为蓝色。

1.2.4 绿色荧光蛋白(GFP)肺组织荧光检测 将固定好的肺组织置于蔗糖溶液中梯度脱水,Leica 冷冻切片机制备 10 μm 肺组织切片,置于 -80 ℃冰箱保存。取肺组织冷冻切片复温 30 min,PBS 冲洗,加入含 DAPI 抗荧光衰减封片剂避光染色 5 min,荧光显微镜下观察肺组织 GFP 荧光强度。

1.2.5 光镜下病理组织观察 将4%多聚甲醛固定的肺组织用石蜡包埋机包埋成蜡块,再用切片机切成约 5 μm 的薄片,在光镜下观察经 HE 染色后的肺组织病理学改变情况。根据严重程度进行双盲分数评估,分数为 0 表示肺部基本无病变情况;1 分表示肺部少于 25% 病变;2 分表示肺部有 25% ~50% 的病变;3 分表示肺部有 51% ~75% 的病变;4 分表示肺部有超过 75% 的病变。

1.2.6 肺组织超微结构的观察 对照组和模型组各取 2 ~3 块肺组织(1 mm^3),经 2.5% 戊二醛及 1% 锇酸固定后,进行丙酮逐级脱水,应用环氧树脂浸透和包埋后进行切片,乙酸双氧铀、枸橼酸铅双层染色,置 H -7650 型透射电镜下观察肺组织超微结构的变化。

1.2.7 qPCR 法检测肺组织 S 蛋白表达 引物由大连宝生物公司设计并合成,S 蛋白上游引物:5' -CCTACTAAATTAAATGATCTCTGCTTTACT';下游引物:5' -CAAGCTATAACGCAGCCTGTA -3';将小鼠肺组织制备成细胞悬液,加入 Trizol 提取 RNA,解析 RNA 的纯度、完整性,在 RNA 质量检测合格后进行反转录,再以反转录产物为模板,添加 S 蛋白的引物,进行 qPCR 检测。

1.2.8 ELISA 法检测血清中 IL -6、IL -10 表达 小鼠眼球取血,3000 r/min 离心 20 min,分离血清于无菌 EP 管中,存于 -80 ℃冰箱备用,检测程序按照 ELISA 试剂盒说明书进行。

1.2.9 Western blot 法检测肺组织 ACE2 表达 称取肺组织,提取总蛋白,BCA 试剂盒测定蛋白浓度,调整蛋白浓度为统一浓度。提取液中加入 5 ×SDS 的上样缓冲液,于 100 ℃沸水中变性 5 min。每孔加 10 μL 的蛋白上样,10% SDS -聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,转膜 30 min,加入封闭奶粉后置于摇床上室温封闭 2 h。ACE2 一抗按照 1∶1000 稀释,GAPDH 抗体为内参抗体,37 ℃孵育 2 h。T -BST 洗膜 3 次,每次 10 min。加入二抗摇床上室温孵育 1 h,T -BST 洗膜 3 次,每次 10 min,共 3 次。加入适量 ECL 发光液,调试曝光仪器进行曝光,结束后保存图片。

1.3 统计学分析

采用 GraphPad Prism 6 统计学软件进行统计分级及绘图处理,结果采用 Mean ± S 表示,对于符合正态性和方差齐性的计量资料,两组间差异比较,采用两独立样本的 t 检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 腺病毒包装及滴度测定

在第 17 天出现病毒空斑,待完全病变后收集上清液进行大量扩增与纯化。本次实验在显微镜下 5 个视野中计算的阳性细胞平均数为 13,病毒稀释了 10^7 倍,根据公式得出病毒滴度为 1.02×10^{11} PFU/mL,见插页XXV图1。

2.2 小鼠肺内 Luciferase 荧光素酶和 GFP 荧光蛋白表达

生物发光活体成像观察了造模后对照组和模型组小鼠肺内的荧光表达情况。模型组小鼠活体成像可观察到鼻咽部及双肺有较大荧光面积,肺组织冷冻切片中可见大量绿色荧光,表示含 S 蛋白的重组病毒质粒进入肺内且正常表达。结果见插页XXVI图2。

2.3 肺组织病理学观察

对照组小鼠肺组织形态结构相对完整,未见炎细胞浸润。模型组小鼠大部分肺泡结构破坏,肺泡间隔增宽,可见有炎性细胞渗出,病理评分显示模型组较对照组升高($P<0.01$)。结果见插页XXVI图3。

2.4 肺组织超微结构的观察

对照组小鼠肺泡壁完整,胞质均匀,核膜完整,游离面可见少量微绒毛;模型组小鼠Ⅱ型肺泡细胞游离面微绒毛增粗、排列紊乱,线粒体肿胀,肺泡间薄层结缔组织、基膜可见增厚。结果见插页XXVI图4。

2.5 肺组织中 S 蛋白 mRNA 表达及血清中 IL -6、IL -10 表达

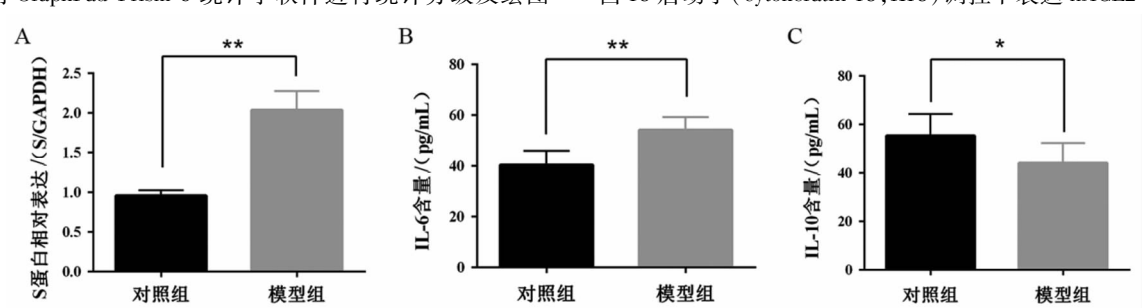
在 SARS -CoV -2 假病毒滴鼻后,模型组小鼠肺内可见 S 蛋白 mRNA 表达($P<0.01$)。与对照组小鼠相比,模型组小鼠血清中 IL -6 表达升高,IL -10 表达降低($P<0.01$)。结果见图5。

2.6 小鼠肺组织中 ACE2 的蛋白表达

在 SARS -CoV -2 假病毒造模后,模型组小鼠肺组织中的 ACE2 蛋白表达较对照组下降($P<0.05$),且差异有统计学意义($P<0.05$),结果见图6。

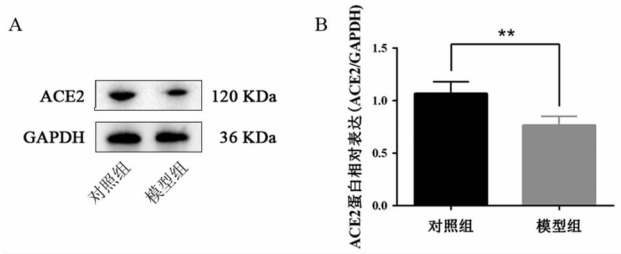
3 讨论

人血管紧张素转换酶 2(human angiotensin converting enzyme 2,hACE2)是 SARS -CoV -2 进入细胞的功能受体,而小鼠的 ACE2 受体(mice angiotensin converting enzyme,mACE2)并不能有效地支持 SARS -CoV -2 的感染[12-13]。在人细胞角蛋白 18 启动子(cytokeratin 18,K18)调控下表达 hACE2 的 K18 -



注:A:肺组织中 S 蛋白 mRNA 相对含量;B:血清中 IL -6 含量;C:血清中 IL -10 含量。**与对照组相比,$P<0.01$,*与对照组相比,$P<0.05$。

图5 肺组织中 S 蛋白 mRNA 相对含量及血清中 IL -6、IL -10 含量



注：**与对照组相比，$P<0.01$。

图6 肺组织中ACE2的蛋白表达

hACE2转基因小鼠可表现出对SARS－CoV－2感染的易感性[14]。在病毒感染过程中，K18－hACE2转基因小鼠出现了高病毒复制并伴有肺部炎症、体质量明显减轻、体温下降等表现，这种转基因小鼠模型已被广泛应用于评估新型冠状病毒感染疫苗和治疗药物的疗效研究中[13,15－17]。秦川教授团队以SARS－CoV－2病毒株感染表达hACE2的转基因小鼠，观察到了模型小鼠的体质量减轻和肺部病毒复制，证实了SARS－CoV－2在hACE2小鼠中的致病性[18]。有研究表明，hACE2小鼠模型可以用来研究SARS－CoV－2引起的肺部病理变化，有助于了解新冠疾病的发病机制，可用于评估预防和治疗策略，以及药物的疗效和安全性[19]。

SARS－CoV－2主要含有4个结构蛋白以及16个非结构蛋白，其中以结构蛋白S最为重要，其S1亚基内包含的受体结构域（receptor binding domain，RBD）可以使受体细胞与病毒结合[20－23]。TSENG S H[24]等用含有HIV Gag和Pol的包装质粒、表达荧光素酶的慢病毒和携带SARS－CoV－2 S蛋白的质粒共转染后分离纯化的SARS－CoV－2假病毒感染AdV－hACE2小鼠，证明了该系统可在小鼠模型中模拟SARS－CoV－2感染。本项研究为了特异性产生含有SARS－CoV－2 S蛋白的病毒质粒来模拟SARS－CoV－2的感染，应用了以人5型复制缺陷腺病毒（human adenovirus serotype－5，HAdv－5）为载体的腺病毒系统，该系统可在腺病毒基因组的特定区域插入外源基因后仍能正常地表达且在接种动物体内不进行复制，相比于上述的慢病毒系统，具有病毒滴度高、载体容量较大的特点，可以实现最小使用体积而达到足够病毒用量，尤适用于动物实验[25]。SARS－CoV－2的病毒嗜性依赖于ACE2的组织表达和分布，在支气管上皮和人类Ⅱ型肺泡上皮细胞中存在高水平的ACE2表达，除了可以作为SARS－CoV－2进入人体的受体，ACE2同时也可介导部分免疫及炎性损伤[26]。为探索构建对假病毒的感染能力，本次实验研究通过滴鼻途径观察小鼠体内Luciferase荧光素酶和GFP荧光蛋白以及肺组织中S蛋白mRNA的表达情况来判断SARS－CoV－2假病毒能否在肺内稳定表达，实验结果说明含S蛋白的重组病毒质粒可以通过滴鼻方式进入肺内且正常表达。通过肺组织病理观察判定假病毒对小鼠靶器官的病理损伤程度，感染后的小鼠肺泡结构破坏，肺泡间隔增宽，可见有炎性细胞渗出，电镜观察可见模型组小鼠Ⅱ型肺泡细胞排列紊乱，肺泡间薄层结缔组织、基膜增厚。血清中IL－6含量升高以及IL－10的表达下降表明模型小鼠肺内存在炎症改变，结果表明了基于腺病毒穿梭质粒载体的含有SARS－CoV－2 S蛋白假病毒的感染能力。为了进一步证明S蛋白是否与肺内的ACE2受体结合，进行了Western Blot实验，检测了肺组织内ACE2蛋白受体的表达情况，结果表明在假病毒滴鼻后，模型组小鼠肺组织中的ACE2受体较对照组减少，表明了S蛋白ACE2受体的结合。

本项研究应用的腺病毒包装系统提供了病毒进入的工具，但它不能完全概括病毒感染的所有方面。病毒的缺陷性限制了对于发病机制的研究，仅表达病毒的刺突蛋白可能不适用于研究病毒感染的后续事件。且本项研究仅探讨了滴鼻感染途径，虽然可以研究小鼠鼻咽部和肺部感染，但它不足以研究其他肺外感染。对于病毒的感染滴度，虽然通过预实验进行了探索，但由于腺病毒存在免疫原性高的缺点，如何甄别不同病毒滴度感染情况下，模型炎症损伤的特异性，仍需在未来的研究中探索。

综上，本项研究提供并评价了一种SARS－CoV－2假病毒感染动物模型建立方法，模型的优化研究仍需后续进一步完善。

参考文献

[1] ZHANG G M, ZHANG J, WANG B W, et al. Analysis of clinical characteristics and laboratory findings of 95 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a retrospective analysis[J]. Respir Res, 2020, 21(1): 74.

[2] KHAN S, SHAFIEI M S, LONGORIA C, et al. SARS－CoV－2 spike protein induces inflammation *via* TLR2－dependent activation of the NF－κB pathway[J]. eLife, 2021, 10: e68563.

[3] CAO Y L, YISIMAYI A, JIAN F C, et al. BA.2.12.1, BA.4 and BA.5 escape antibodies elicited by Omicron infection[J]. Nature, 2022, 608(7923): 593－602.

[4] TUEKPRAKHON A, NUTALAI R, DIJOKAITE－GURALIUC A, et al. Antibody escape of SARS－CoV－2 Omicron BA.4 and BA.5 from vaccine and BA.1 serum[J]. Cell, 2022, 185(14): 2422－2433.

[5] GRUELL H, VANSHYLLA K, KORENKOV M, et al. SARS－CoV－2 Omicron sublineages exhibit distinct antibody escape patterns[J]. Cell Host Microbe, 2022, 30(9): 1231－1241.

[6] 王誉儒，王亚勤，李英杰，等. 中医药治疗新冠病毒轻型感染用药规律及疗效分析[J]. 中华中医药学刊，2024，42(5)：8－13，262.

[7] 黄振峰，陈卫衡，李绪贵，等. 中药对新型冠状病毒感染患者预后及后遗症影响的单中心双向队列研究[J]. 中华中医药杂志，2023，38(11)：5158－5162.

[8] 钱秋红，吕红，舒君，等. 新型冠状病毒感染病例临床特征及中药治疗疗效分析[J]. 中国病原生物学杂志，2024，19(8)：941－945.

[9] XIAN Y F, ZHANG J, BIAN Z X, et al. Bioactive natural compounds against human coronaviruses: a review and perspective[J]. Acta Pharm Sin B, 2020, 10(7): 1163－1174.

[10] 高洁，肖光旭，樊官伟，等. “三药三方”治疗COVID－19的临床和药理研究进展[J]. 科学通报，2022，67(27)：3296－3310.

[11] 马建，贺鹏飞，赵晨燕，等. SARS和MERS中和抗体假病毒检测方法的建立[J]. 病毒学报，2019，35(2)：189－195.

[12] SHANG J, YE G, SHI K, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS－CoV－2[J]. Nature, 2020, 581(7807): 221－224.

[13] HOFFMANN M, KLEINE－WEBER H, SCHROEDER S, et al. SARS－CoV－2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor[J]. Cell, 2020, 181(2): 271－280.

DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.08.031

山柰素的药理作用及其机制研究进展

甘颖盈,胡敏,程静漪,柴智,樊慧杰
(山西中医药大学多发性硬化益气活血重点研究室/神经生物学研究中心,山西 晋中 030619)

摘要:山柰素(Kaempferide,KFD)作为许多中药的活性成分之一,在各个系统具有广泛的药理作用,其机制包括通过诱导细胞凋亡来抑制癌细胞增殖;通过提高脑源性神经营养因子的浓度和减轻氧化应激反应来起到神经保护作用;通过增强抗氧化基因的表达和抑制活性氧的释放来减轻氧化应激反应;通过抑制促炎因子的表达来抗光老化;通过抗炎、抗氧化、抗凋亡发挥对心脏的保护作用;通过抑制肾小管上皮细胞3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A合酶2的过度表达,减轻肾间质纤维化,来发挥对肾脏的保护作用等。综合近年来相关文献,对山柰素的药理作用及其机制研究进行总结,以期为山柰素进一步开发成为单体药物提供理论依据。

关键词:山柰素;药理作用;抗癌作用
中图分类号:R285 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)08-0149-04

Research Progress on Pharmacological Effects and Mechanism of Kaempferide

GAN Yingying, HU Min, CHENG Jingyi, CHAI Zhi, FAN Huijie
(Key Laboratory of Multiple Sclerosis, Nourishing Qi and Activating Blood, Shanxi University of Chinese Medicine/Neurobiology Research Center, Jinzhong 030619, Shanxi, China)

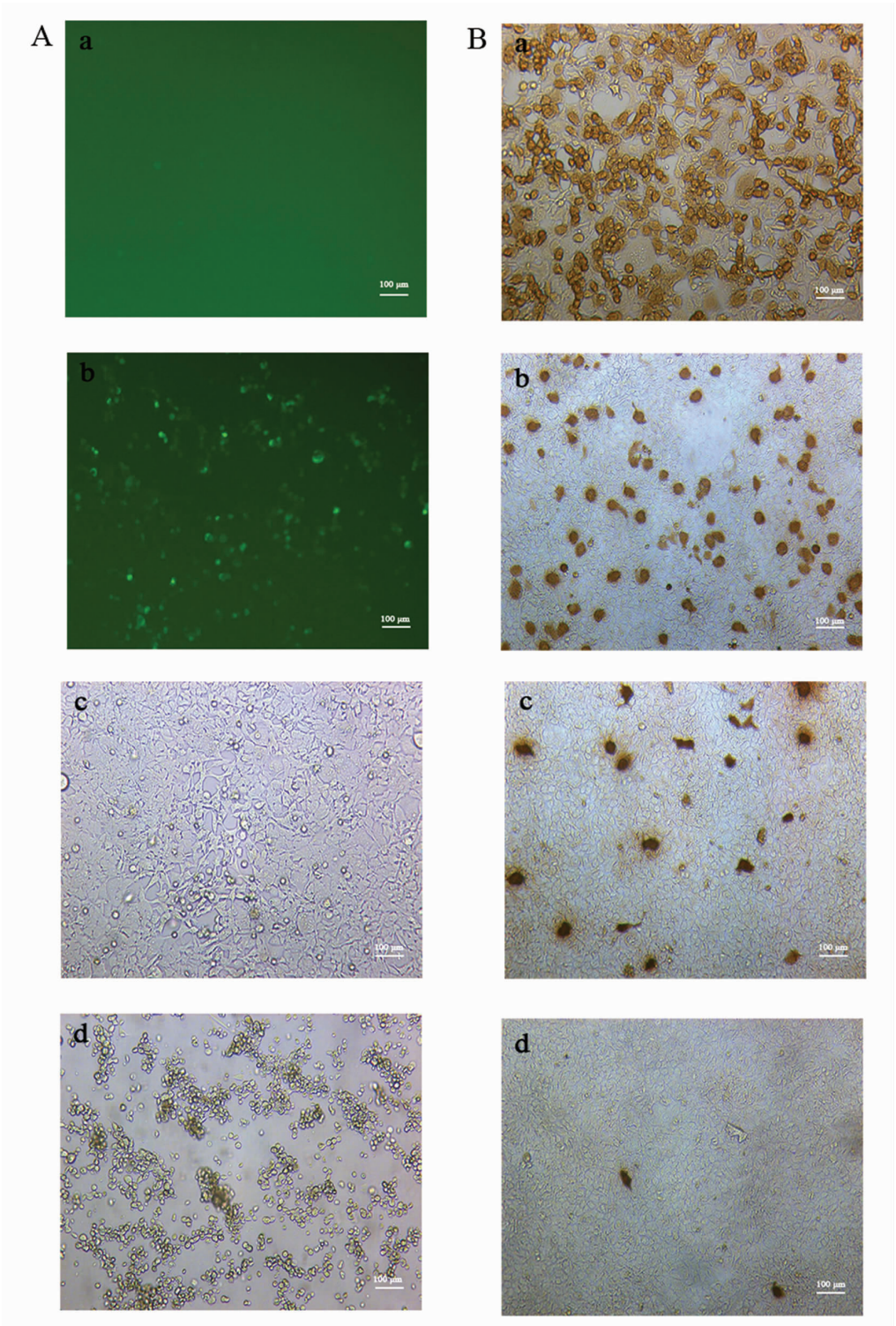
基金项目:国家自然科学基金项目(81703978);国家中医药管理局青年岐黄学者培养项目(国中医药人教函〔2022〕256号);山西省重点科技创新人才团队专项(202304051001019);山西省重点国别科技合作项目(202204041101002);山西省青年拔尖人才支持计划项目(晋组办字〔2019〕35号文);山西省卫生健康委员会中医药重点研究室建设专项(zyyyjs2024022);山西省卫生健康委员会中医药创新团队建设专项(zyytd2024022);山西省卫生健康委员会"四个一批"科技兴医创新计划项目(2023XM018);山西中医药大学科技创新能力培育计划项目(2022PY-TH-16,2024PY-JL-8-02);山西中医药大学科技创新团队建设项目(2022TD1013)

作者简介:甘颖盈(2000-),女,四川广安人,硕士,研究方向:神经系统疾病的中西医结合研究。
通讯作者:樊慧杰(1978-),女,山西大同人,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:神经系统疾病的中西医结合研究。E-mail: fanhuijie.happy@163.com。

[14] WINKLER E S, BAILEY A L, KAFAI N M, et al. SARS-CoV-2 infection of human ACE2-transgenic mice causes severe lung inflammation and impaired function[J]. Nat Immunol, 2020, 21(11): 1327-1335.
[15] YINDA C K, PORT J R, BUSHMAKER T, et al. K18-hACE2 mice develop respiratory disease resembling severe COVID-19[J]. PLoS Pathog, 2021, 17(1): e1009195.
[16] OLADUNNI F S, PARK J G, PINO P A, et al. Lethality of SARS-CoV-2 infection in K18 human angiotensin-converting enzyme 2 transgenic mice[J]. Nat Commun, 2020, 11: 6122.
[17] SEO S M, SON J H, LEE J H, et al. Development of transgenic models susceptible and resistant to SARS-CoV-2 infection in FVB background mice[J]. PLoS One, 2022, 17(7): e0272019.
[18] BAO L L, DENG W, HUANG B Y, et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice[J]. Nature, 2020, 583(7818): 830-833.
[19] CHOI C Y, GADHAVE K, VILLANO J, et al. Generation and characterization of a humanized ACE2 mouse model to study long-term impacts of SARS-CoV-2 infection[J]. J Med Virol, 2024, 96: e29349.
[20] WRAPP D, WANG N S, CORBETT K S, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation[J]. Science, 2020, 367(6483): 1260-1263.
[21] BARBOSA L C, GONÇALVES T L, DE ARAUJO L P, et al. Endothelial cells and SARS-CoV-2: an intimate relationship[J]. Vasc Pharmacol, 2021, 137: 106829.
[22] KIM J M, CHUNG Y S, JO H J, et al. Identification of coronavirus isolated from a patient in Korea with COVID-19[J]. Osong Public Health Res Perspect, 2020, 11(1): 3-7.
[23] MORSE J S, LALONDE T, XU S Q, et al. Learning from the past: possible urgent prevention and treatment options for severe acute respiratory infections caused by 2019-nCoV[J]. ChemBioChem, 2020, 21(5): 730-738.
[24] TSENG S H, LAM B, KUNG Y J, et al. A novel pseudovirus-based mouse model of SARS-CoV-2 infection to test COVID-19 interventions[J]. J Biomed Sci, 2021, 28(1): 34.
[25] PJECHOVÁ M, HERNYCHOVÁ L, TOMAŠEC P, et al. Adenoviral vectors in gene therapy[J]. Klin Onkol, 2015, 28(Suppl 2): 2S75-2S80.
[26] CALÒ L A, RIGATO M, SGARABOTTO L, et al. ACE2 and SARS-CoV-2 infection risk: insights from patients with two rare genetic tubulopathies, gitelman's and bartter's syndromes[J]. Front Med, 2021, 8: 647319.

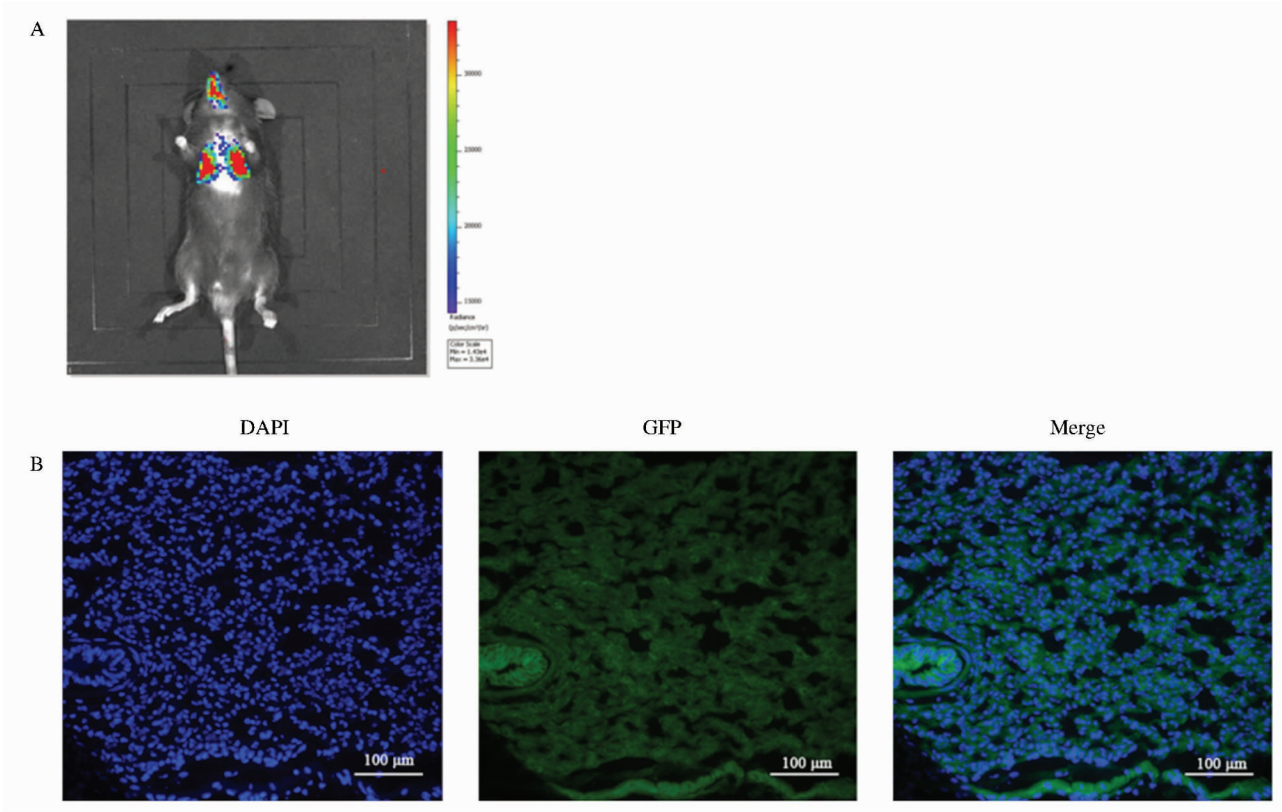
新型冠状病毒假病毒感染 hACE2 转基因小鼠的模型建立及评价

（正文见 145 – 149 页）



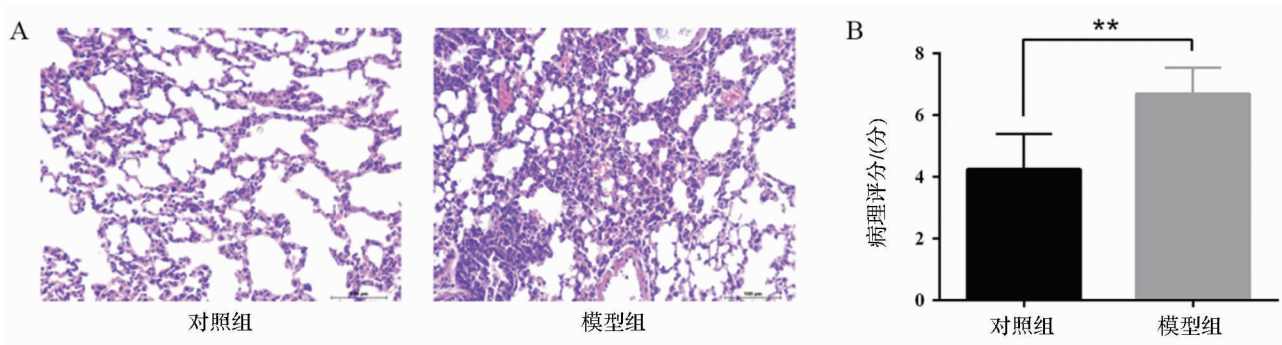
注：A：SARS – CoV – 2 假病毒包装情况，a：第 7 天荧光显微镜下观察；b：第 17 天荧光显微镜下观察；c：第 7 天光镜下观察；d：第 17 天光镜下观察。B：腺病毒滴度检测，a：稀释度为 10^{-5}；b：稀释度为 10^{-6}；c：稀释度为 10^{-7}；d：稀释度为 10^{-8}。

图 1　SARS – CoV – 2 假病毒的包装及滴度检测（100 ×）



注：A：小鼠体内 Luciferase 荧光素酶表达情况；B：小鼠肺组织 GFP 荧光蛋白表达情况。

图 2　小鼠肺内 Luciferase 荧光素酶和 GFP 荧光蛋白表达



注：A：光镜下观察两组小鼠肺组织病理改变；B：两组小鼠肺组织病理评分。＊＊与对照组相比，$P<0.01$。

图 3　两组小鼠肺组织病理结构改变及病理评分（HE，100 ×）

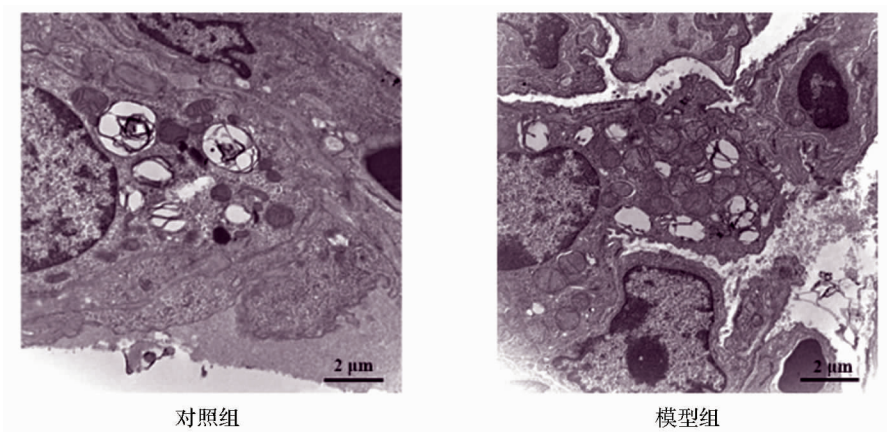


图 4　肺组织超微结构的观察（透射电镜，12 000 ×）