

© Коллектив авторов, 2020

Пащенко М.В., Хаитов М.Р.

Иммунный ответ против эпидемических коронавирусов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, 115522, г. Москва, Российская Федерация

Резюме

В декабре 2019 г. в Китае произошла вспышка тяжелой острой респираторной инфекции COVID-19 (CoronaVirus Disease-19), вызванной новым коронавирусом SARS-CoV-2. С момента своего появления вирус распространился почти на все страны мира и заразил более 1 млн человек. Всемирная организация здравоохранения объявила, что вспышка приняла характер пандемии. Эпидемия COVID-19 стала третьей по счету, вызванной коронавирусами, после эпидемий тяжелого острого респираторного синдрома 2002–2003 гг. и ближневосточного респираторного синдрома. В настоящем обзоре кратко суммирована информация о COVID-19. Рассмотрены факторы врожденной и адаптивной иммунной защиты против эпидемических коронавирусов, а также пути их ускользания от иммунного ответа. Рассмотрены возможные механизмы, лежащие в основе главного проявления тяжелых коронавирусных инфекций – экссудативной пневмонии, которая у существенного числа пациентов сменяется интерстициальной пневмонией с развитием острого респираторного дистресс-синдрома. В заключительной части обзора рассмотрены способы иммунопрофилактики и иммунотерапии коронавирусных инфекций.

Ключевые слова: коронавирусы; COVID-19; SARS-CoV-2; тяжелый острый респираторный синдром; ближневосточный респираторный синдром; врожденный иммунитет; адаптивный иммунитет; интерфероны; индукторы интерферонов; вакцины; моноклональные антитела; цитокины

Статья поступила 14.02.2020. Принята в печать 20.02.2020.

Для цитирования: Пащенко М.В., Хаитов М.Р. Иммунный ответ против эпидемических коронавирусов. Иммунология. 2020, 41 (1): 5–18. DOI: 10.33029/0206-4952-2020-41-1-5-18

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции
Пащенко Михаил Владимирович –
доктор медицинских наук,
и.о. заведующего лабораторией
клинической иммунологии
ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии»
ФМБА России, Москва,
Российская Федерация
E-mail: mvpashenkov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6995-1790>

Pashenkov M.V., Khaitov M.R.

Immune response against epidemic coronaviruses

National Research Center Institute of Immunology of the Federal Medical-Biological Agency, 115522, Moscow, Russian Federation

Abstract

In December 2019, an outbreak of severe acute respiratory infection COVID-19 (CoronaVirus Disease-19) caused by a novel coronavirus SARS-CoV-2 occurred in China. Since then, the virus has spread to nearly all countries and infected more than 1 million of people. World Health Organization has declared a pandemic because of the spread of the virus. The COVID-19 epidemic is a third one caused by coronaviruses, the first two being severe acute respiratory syndrome of 2002–2003 and Middle-East respiratory syndrome. In the present review, we briefly summarize information related to COVID-19. We review factors of innate and adaptive immune defense against epidemic-causing coronaviruses as well as mechanisms of viral evasion from the immune response. We also review potential mechanisms underlying the main feature of severe coronavirus infections, namely exudative pneumonia that, in a significant proportion of patients, develops into interstitial pneumonia and acute respiratory distress syndrome. Finally, we provide information concerning potential strategies of immunoprevention and immunotherapy of coronavirus infections.

For correspondence
Mikhail V. Pashenkov – MD, PhD,
Deputy Head of Laboratory
of Clinical Immunology,
NRC Institute of Immunology,
FMBA of Russia,
Moscow, Russian Federation
E-mail: mvpashenkov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6995-1790>

Keywords: coronaviruses; COVID-19; SARS-CoV-2; severe acute respiratory syndrome; Middle-East respiratory syndrome; innate immunity; adaptive immunity; interferons; interferon inducers; vaccines; monoclonal antibodies; cytokines

Received 14.02.2020. Accepted 20.02.2020.

For citation: Pashenkov M.V., Khaitov M.R. Immune response against epidemic coronaviruses. *Immunologiya*. 2020; 41 (1): 5–18. DOI: 10.33029/0206-4952-2020-41-1-5-18 (in Russian)

Funding. The study had no sponsor support.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

1. Введение

В декабре 2019 г. в китайском городе Ухань была зафиксирована вспышка тяжелой острой респираторной инфекции. Заболевание было впоследствии названо COVID-19 (CoronaVirus Disease-19). Возбудитель заболевания был идентифицирован китайскими и международными исследовательскими группами в январе 2020 г. [1–3]. Им оказался новый коронавирус, который был назван SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; другие названия – 2019-nCoV, «уханьский коронавирус»). По состоянию на начало апреля 2020 г. в мире выявлено более 1 млн лабораторно подтвержденных случаев COVID-19; умерли примерно 5,7 % заразившихся. [4]. Вирус SARS-CoV-2 является, таким образом, третьим коронавирусом, вызвавшим эпидемию острой респираторной инфекции. Как известно, в 2002–2003 гг. коронавирус SARS-CoV вызвал эпидемию тяжелого острого респираторного синдрома [severe acute respiratory syndrome (SARS); известен в России как атипичная пневмония] [5], а с 2012 г. по настоящее время протекает эпидемия ближневосточного респираторного синдрома [Middle-East respiratory syndrome (MERS)], возбудителем которого является вирус MERS-CoV [6]. SARS-CoV распространился в основном на территории Китая и других стран Юго-Восточной Азии, MERS-CoV – преимущественно в Саудовской Аравии и Южной Корее. COVID-19, SARS и MERS являются зоонозами; наиболее вероятным природным резервуаром их возбудителей являются летучие мыши, однако все три вируса приобрели способность к передаче от человека к человеку [7, 8]. Помимо трех эпидемических штаммов, известны несколько штаммов коронавирусов, вызывающих сравнительно легкие спорадические респираторные инфекции у человека.

Геном вируса SARS-CoV-2 секвенирован, последовательности нескольких штаммов депонированы в GenBank (NCBI, США) [9]. Наиболее вероятный путь передачи SARS-CoV-2 от человека к человеку – воздушно-капельный, а также контактная передача через загрязненные поверхности и руки [3]. Базовое репродуктивное число SARS-CoV-2, по первым оценкам, составляет 2,2–3,4, что сопоставимо с аналогичным показателем SARS-CoV и вируса гриппа [7, 10] (базовое репродуктивное число – количество людей, заразившихся от одного человека; характеризует скорость распространения инфекции).

Инкубационный период инфекции COVID-19 – от 2 до 14 дней [4, 7]. Заболевание может протекать в различных формах – от бессимптомной до тяжелой. Главным проявлением тяжелой формы COVID-19 является пневмония. Согласно различным публикациям [11–13], основные клинические симптомы COVID-19 у госпитализированных больных – лихорадка (у 83–98 % пациентов), кашель (у 60–82 %), одышка (у 31–55 %), миалгии (у 11–44 %), спутанность сознания (у 9 %). У 75–100 % пациентов при компьютерной томографии выявляется картина двусторонней пневмонии [11–13]. Диагноз подтверждается путем определения вирусной РНК с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) развивается примерно у 16 % пациентов [13]. Медианное время между появлением первых симптомов и признаками дыхательной недостаточности (у тех, у кого она развивается) – 8 суток [12, 13]. Летальность при COVID-19 – примерно 5,7 % [4]. Для сравнения, летальность при SARS составила 9,6 %, при MERS – 34,4 % (хотя последняя цифра может быть завышена из-за невыявления легких форм инфекции) [6, 14]. Средняя летальность от пневмонии любой этиологии в США составляет 13,7 % [15].

2. Характеристики и жизненный цикл коронавирусов

2.1. Общие характеристики коронавирусов

SARS-CoV-2, так же, как вирусы SARS-CoV и MERS-CoV, относится к семейству *Coronaviridae*, роду *Beta-coronavirus*. Коронавирусы – это оболочечные вирусы, имеющие большой (около 30 000 оснований) несегментированный геном, представленный одноцепочечной (+)РНК. Геномная (+)РНК коронавирусов непосредственно служит матрицей для трансляции вирусных белков. В отличие от РНК многих других РНК-вирусов, РНК коронавирусов схожа с клеточной мРНК: имеет кэп-структуру на 5'-конце и полиадениловый хвост на 3'-конце. Формирование кэп-структуры обеспечивается ферментами, кодируемыми в вирусном геноме [16].

Белки коронавирусов подразделяют на структурные (участвующие в формировании вирионов) и неструктурные (обеспечивающие репликацию вируса). К структурным белкам относятся белки N (nucleocapsid), E (envelope), M (membrane) и S (spike). Среди неструктурных

белков основное значение имеют репликаза, протеазы и белки, подавляющие иммунный ответ хозяина. Нуклеокапсид вируса представлен спирально свернутой геномной РНК в комплексе с белком N. Нуклеокапсид окружен фосфолипидной мембраной, в которую встроены белки E, M и S. При разработке средств иммунного противодействия коронавирусам основной мишенью служит белок S, который формирует так называемые спайки (белковые выступы на фосфолипидной мембране вируса) и взаимодействует с клеточным рецептором при заражении клеток-мишеней. Антитела против белка S обладают нейтрализующим действием против вирусов SARS-CoV и MERS-CoV (см. ниже).

2.2. Геном вируса SARS-CoV-2

Геном вируса SARS-CoV-2 на 96 % схож с геномом другого штамма коронавируса – RaTG13, который еще в 2013 г. был выявлен у летучих мышей в китайской провинции Юннань [8], что указывает на вероятный природный источник SARS-CoV-2. Не исключается, что к возникновению штамма SARS-CoV-2, патогенного для человека, привела рекомбинация между коронавирусом летучей мыши и другим неизвестным коронавирусом [17]. Сходство SARS-CoV-2 с вирусом SARS-CoV составляет 79,5 % по нуклеотидной последовательности, с MERS-CoV – около 50 % [2, 3]. Однако в консервативной части фермента репликазы, которая кодируется в вирусном гене Orf1b, сходство между SARS-CoV-2 и SARS-CoV составляет 94,6 % по аминокислотной последовательности [3].

По данным компьютерного моделирования, геном вируса SARS-CoV-2 кодирует 4 структурных белка (N, E, M, S) и 20 неструктурных белков [9, 18]. Примерно 70 % генома SARS-CoV-2 (с его 5'-конца) занимают рамки считывания Orf1a и Orf1b, кодирующие большую часть неструктурных белков (обозначаемых nsp1 – nsp15). Вирусные протеазы кодируются в рамке Orf1a (белки nsp3, nsp5), а ферменты, отвечающие за репликацию и модификацию РНК – в рамке Orf1b. Гены Orf1a и Orf1b транслируются в виде полипротеинов 1a и 1b, которые разрезаются вирусными протеазами на отдельные белки. 3'-часть генома SARS-CoV-2 занимает несколько небольших рамок считывания, в которых кодируются по отдельности все структурные белки (N, E, M, S), а также вспомогательные неструктурные белки, обозначаемые Orf3 – Orf10.

2.3. Жизненный цикл коронавируса

Клеточным рецептором, который используется вирусами SARS-CoV-2 и SARS-CoV для входа в клетки-мишени, служит ангиотензин-превращающий фермент 2 [angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)] [3, 19, 20]. Рецептором для MERS-CoV является антиген CD26, или дипептидилпептидаза-4 (DPP-4), представленный на эпителиальных клетках бронхов и различных клетках иммунной системы [21]. Все три вируса связываются с рецепторами с помощью белка S. Вход вируса в клетку осуществляется через стадию эндоцитоза вирионов [22]. Кроме того, с помощью белка S вирусы

SARS-CoV и, вероятно, SARS-CoV-2 могут прикрепляться к рецептору DC-SIGN (CD209) на поверхности дендритных клеток (ДК), не инфицируя их, в результате чего ДК превращаются в «разносчиков» вируса по организму [22, 23]. Аналогичный механизм ранее был описан для ряда других вирусов, в том числе ВИЧ [24].

После входа вируса в клетку на матрице геномной (+)РНК вируса транслируется вирусная репликаза (РНК-зависимая РНК-полимераза), которая синтезирует (-)РНК, комплементарную геномной РНК. В состав вирусного репликазного комплекса входят экзонуклеазы, исправляющие ошибки РНК-полимеразы (proofreading activity), в связи с чем частота мутаций в геноме коронавируса сравнительно невелика [25]. На матрице (-)РНК та же репликаза синтезирует новые копии геномной (+)РНК, которые включаются в новые вирионы, а также более короткие субгеномные (+)РНК, служащие матрицами для трансляции вирусных белков. Продукция новых вирионов происходит путем их отпочковывания в просвет клеточных везикулярных структур, занимающих промежуточное положение между эндоплазматическим ретикуломом (ЭПР) и комплексом Гольджи [26]. Отпочковавшиеся вирионы экзоцитируются [27].

Вирус SARS-CoV хорошо реплицируется в эпителиальных клетках дыхательных путей и альвеол, тогда как инфекция гемопоэтических клеток носит abortивный характер [28]. Вирус MERS-CoV реплицируется также в макрофагах, дендритных клетках и в активированных Т-клетках [28], что, возможно, обусловлено тропизмом вируса к антигену CD26, который экспрессируется клетками гемопоэтического происхождения.

2.4. Цитопатическое действие коронавируса

Вирусы SARS-CoV и MERS-CoV обладают выраженным цитопатическим действием на клетки-мишени. Характерной чертой этого действия становится образование везикул, окруженных двойной мембраной [29]. Эти везикулы, по-видимому, являются аутофагосомами, которые не сливаются с лизосомами [30]. Цитопатическое действие SARS-CoV воспроизводится вспомогательными белками Orf3a и Orf6 [31, 32]. Orf3a, кроме того, взаимодействует с клеточным белком RIP3, что приводит к индукции некроптоза [33]. Выраженным цитопатическим эффектом обладает также белок E вируса SARS-CoV, который формирует ионный канал в мембранах комплекса Гольджи, что приводит к ионному дисбалансу в клетке и активации NLRP3-инфламмосомы [34]. Варианты вируса SARS-CoV с делецией или мутациями гена E при заражении мышей реплицируются так же эффективно, как и вирус дикого типа, но вызывают значительно меньшее повреждение клеток, менее выраженное воспаление и отек легочной ткани, что в совокупности предотвращает развитие ОРДС и гибель животных [35].

3. Иммунный ответ против вируса SARS-CoV-2

Литературных данных по иммунному ответу против SARS-CoV-2 на момент написания обзора мало. Со-

гласно первым сообщениям, антитела класса IgM против белка N вируса выявляются у пациентов уже на 7-е сутки заболевания, антитела класса IgG против этого же антигена – после 7-х суток и их уровень возрастает к 10-м суткам [3]. У 63–70 % пациентов выявляется лимфопения [12, 13]. С помощью мультиплексного анализа в плазме госпитализированных больных выявлены повышенные уровни большого количества цитокинов и хемокинов: ИЛ-1 β , ИЛ-1RA, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-9, ИЛ-10, ИЛ-13, FGF β , Г-КСФ, ГМ-КСФ, ИФН- γ , IP-10, MIP-1 α , MIP-1 β , ФНО, VEGF, PDGF β [12]. Из них уровни ИЛ-2, ИЛ-10, Г-КСФ, IP-10, MIP-1 α и ФНО положительно коррелируют с тяжестью заболевания [12]. Такая картина указывает на развитие «цитокинового шторма», отражающего тяжесть воспаления в органе-мишени. Лимфопения и повышение сывороточных уровней различных цитокинов и хемокинов были ранее обнаружены у пациентов с SARS и MERS [5, 36, 37].

Оценивая возможные характеристики иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2, на данном этапе приходится ориентироваться на многочисленные работы по вирусу SARS-CoV, учитывая достаточно высокую степень гомологии между двумя вирусами и скудость информации о SARS-CoV-2.

4. Врожденный иммунный ответ против эпидемических коронавирусов

4.1. Распознавание коронавирусов системой врожденного иммунитета

РНК-вирусы могут распознаваться несколькими рецепторами врожденного иммунитета: эндосомальными рецепторами TLR3, TLR7 и TLR8 из семейства Toll-подобных рецепторов [Toll-like receptors (TLR)], а также цитозольными рецепторами RIG-I и MDA5 из семейства RIG-подобных рецепторов [RIG-like receptors (RLR)]. В соответствии с локализацией рецепторы семейства TLR распознают РНК-вирусы на стадии их входа в клетку (эндоцитоза), а RLR – на стадии репликации. Общим результатом активации этих рецепторов является индукция выработки интерферонов (ИФН) I и III типов, а также провоспалительных цитокинов.

4.1.1. Роль TLR

Рецепторы TLR3 и TLR8 экспрессируются в клетках миелоидного ряда, TLR7 – в плазматитоидных ДК [38]. Поскольку эти рецепторы находятся в эндосомах, контакт коронавирусной РНК с ними возможен при разрушении вирионов в эндосомах, а также при эндоцитозе фрагментов соседних разрушенных клеток, содержащих активно реплицирующийся вирус. TLR3 распознает двуспиральную РНК [39]. В случае коронавирусной инфекции лигандами TLR3 могут служить вторичные структуры вирусной РНК. TLR3 передает активационный сигнал при помощи адаптера TRIF, киназ TBK-1 и IKK- ϵ и факторов транскрипции

IRF3 и NF- κ B, результатом чего является индукция выработки ИФН- β и провоспалительных цитокинов [39, 40]. У мышей C57BL/6 с нокаутом гена *Trif* по сравнению с мышами дикого типа при интраназальном заражении SARS-CoV повышен титр вируса в легких, более выражено повреждение легких, более выражена воспалительная реакция с привлечением нейтрофилов и моноцитов. Мыши *Trif*^{-/-}, в отличие от мышей C57BL/6 *Trif*^{+/+}, погибают от инфекции [41]. У мышей с нокаутом гена *Tlr3* инфекция протекает легче, чем у мышей *Trif*^{-/-} (вирусная нагрузка у мышей *Tlr3*^{-/-} выше, чем у мышей *Tlr3*^{+/+}, но эти мыши выживают) [41]. Более тяжелое течение заболевания у *Trif*^{-/-}-мышей указывает на возможную защитную роль рецептора TLR4, который тоже использует адаптер TRIF для передачи сигнала [42]. Действительно, у *Tlr4*^{-/-}-мышей резистентность против SARS-CoV снижена примерно в той же мере, что и у *Tlr3*^{-/-}-мышей [41], однако природа вирусных лигандов, распознаваемых TLR4, неясна.

Рецепторы TLR7 и TLR8 распознают одноцепочечную РНК [43, 44]. Участки РНК SARS-CoV, богатые гуанином и урацилом, являются мощными активаторами TLR7 и TLR8 [45]. Самое важное значение имеет TLR7, который избирательно экспрессируется в плазматитоидных ДК [38]. При активации TLR7 в плазматитоидных ДК запускается сигнальный каскад, включающий адаптерный белок MyD88, киназы IRAK-4 и IRAK-1, убиквитинлигазы TRAF3 и TRAF6 и фактор транскрипции IRF7, что приводит к активации транскрипции генов ИФН, в первую очередь ИФН- α [43, 44]. Также в рамках TLR7-зависимого сигнального пути происходит активация NF- κ B и индукция экспрессии провоспалительных генов [43, 44]. Плазматитоидные ДК способны вырабатывать очень высокие, системные количества ИФН I типа при инфекции коронавирусами; при этом коронавирусы плохо реплицируются в плазматитоидных ДК [46]. На модели интраперитонеального заражения коронавирусом – возбудителем мышинного гепатита – показано, что TLR7-индуцированная продукция ИФН I типа плазматитоидными ДК обеспечивает контроль инфекции, тогда как TLR3 не играет решающей роли [46]. С этим согласуется и высокая летальность мышей C57BL/6, нокаутных по гену *MyD88*, при инфекции SARS-CoV [47].

4.1.2. Роль RLR

RLR есть практически во всех клетках организма, они распознают цитозольную РНК, несущую признаки чужеродности (двуспиральность, наличие 5'-трифосфата, отсутствие кэпа на 5'-конце). Семейство RLR представлено рецепторами RIG-I (DDX58), MDA5 (IFIH1) и LGP2 (DHX58) [48, 49]. RIG-I и MDA5 являются сигнальными рецепторами, а LGP2 играет по отношению к ним регулируемую роль [50]. Фибробласты с двойным нокаутом по RIG-I и MDA5 не вырабатывают ИФН I типа при инфекции РНК-вирусами [51]. Агонистом RIG-I является одноцепочечная РНК, не имеющая кэп-структуры и несущая 5'-трифосфатную группировку,

а также сравнительно короткие двухцепочечные РНК (по различным данным, длиной от 10 до 2000 н.п.) [49–51]. Оптимальными агонистами MDA5 являются двухцепочечные молекулы РНК длиной более 2000 пар оснований н.п., а также высокоупорядоченные сетчатые структуры РНК [50, 51]. Клеточная мРНК, содержащая кэп-структуру, не распознается RLR, однако не имеющие кэпа фрагменты клеточной мРНК, которые образуются под действием РНКазы L при переходе клеток в так называемое противовирусное состояние, могут активировать RLR [52].

RLR узнают вирусную РНК с помощью РНК-хеликазных доменов. За передачу активационного сигнала отвечают два CARD-домена, расположенные на N-конце молекул RIG-I и MDA5 [53]. CARD-домены этих рецепторов связываются с адаптерным белком IPS-1 (interferon- β promoter stimulator 1, другие названия – MAVS, VISA), находящимся на наружной мембране митохондрий, где и происходит сборка сигнального комплекса [54]. В состав этого комплекса входит также убиквитинлигаза TRAF3 и киназы TBK1 и IKK- ϵ . Последние фосфорилируют и активируют транскрипционные факторы IRF3 и IRF7, ответственные за индукцию экспрессии ИФН [54]. Таким образом, сигнальный путь RLR в своей «дистальной» части схож с сигнальным путем TLR3. При стимуляции RLR индуцируется преимущественно продукция ИФН- β , который высвобождается в небольших количествах и действует главным образом ауто- и паракринно. Также при стимуляции RLR в эпителиальных клетках происходит индукция ИФН III типа [55]. Помимо индукции интерфероновой ответа, RLR через NF- κ B-зависимый сигнальный путь индуцируют экспрессию провоспалительных цитокинов [56, 57].

Различные виды коронавирусов могут распознаваться рецепторами RIG-I и MDA5 [58]; в частности, MDA5 играет критическую роль в защите мышей от мышинового коронавируса [59]. Однако патогенные для человека коронавирусы SARS-CoV и MERS-CoV блокируют функциональную активность RLR, что является одним из факторов их вирулентности (см. ниже).

4.2. Роль ИФН в защите от коронавирусов

ИФН I типа, действуя аутокринно, паракринно и дистантно по отношению к клеткам-продуцентам, активируют экспрессию большого числа противовирусных генов, препятствуя репликации вируса и повышая резистентность еще не зараженных клеток, а также мобилизуют защитные иммунные механизмы, направленные на борьбу с вирусом [60]. Все ИФН I типа связываются с единственным рецептором – IFN- α R. Основную роль в передаче активационного сигнала от рецептора в ядро играет фактор транскрипции STAT1 [60].

Экспериментальные данные о роли ИФН I типа в защите от коронавирусной инфекции *in vivo* довольно противоречивы. У молодых мышей линий C57BL/6 и 129, зараженных интраназально штаммом SARS-CoV, адаптированным к мышам, инфекция течет бла-

гоприятно с полным выздоровлением и элиминацией вируса из легких к 9-м суткам после заражения [61, 62]. У мышей этих же линий с нокаутом гена *Stat1* (*Stat1*^{-/-}) инфекция протекает значительно тяжелее: увеличены пиковые титры вируса в легких на 2-е сутки заболевания; не происходит элиминация вируса к 9-м суткам; отмечается не разрешение воспаления в легких, а его нарастание с привлечением макрофагов, нейтрофилов и эозинофилов, развитием интерстициальной пневмонии и медиастинаита; происходит диссеминация вируса в печень и селезенку, что в конечном итоге приводит к гибели мышей [61–64]. Одной из возможных причин неблагоприятного течения инфекции у *Stat1*^{-/-}-мышей является активация макрофагов по альтернативному типу и развитие Th2-подобного иммунного ответа, не защищающего от вируса, но способствующего развитию интерстициальной пневмонии и фиброза [64].

В то же время у мышей 129 и C57BL/6 с нокаутами рецепторов к ИФН I, II и III типов (*Ifnar1*^{-/-}, *Ifngr*^{-/-}, *Il28r*^{-/-}) клинические проявления и титры вируса при интраназальном заражении SARS-CoV не отличаются от таковых у мышей дикого типа [61]. У *Ifnar1*^{-/-} мышей, инфицированных SARS-CoV, сохранена экспрессия ИФН-индуцибельных генов в легких, что указывает на индукцию этих генов через другие рецепторы [64]. Двойной нокаут *Ifnar1*^{-/-}*Il28r*^{-/-} также не влияет на клинические проявления инфекции SARS-CoV, хотя вирусная нагрузка у этих мышей повышена в той же степени, что и у *Stat1*^{-/-}-мышей [63]. В целом, эксперименты на нокаутных мышках линий C57BL/6 и 129 показывают, что вклад отдельных видов ИФН в защиту от SARS-CoV не является критическим, в то время как STAT1 играет важную роль, возможно, не связанную с непосредственным участием STAT1 в интерфероновом ответе на инфекцию.

Отличие от молодых мышей C57BL/6 и 129, молодые мыши линии BALB/c погибают при инфекции адаптированным штаммом SARS-CoV [47, 65]. Патоморфологические проявления инфекции у мышей BALB/c дикого типа схожи с таковыми у *Stat1*^{-/-}-мышей C57BL/6 и 129, однако динамика элиминации вируса не отличается от таковой у мышей C57BL/6 (вирус элиминируется к 9-м суткам). У мышей BALB/c отмечен отсроченный интерфероновый ответ, который запаздывает по отношению к росту вирусной нагрузки [66]. Отсроченная продукция ИФН I типа не защищает от вируса, а наоборот, способствует развитию воспаления за счет усиления продукции хемокинов в инфицированном легком. У мышей BALB/c, нокаутных по *Ifnar1*, наблюдается почти 100 % выживаемость при инфекции SARS-CoV при сопоставимой вирусной нагрузке с мышками дикого типа [66].

С другой стороны, профилактическая индукция интерфероновой ответа путем стимуляции TLR повышает резистентность клеток и животных к последующему заражению коронавирусами. Обработка мышинных макрофагов агонистом TLR3 (poly-I:C) перед заражением

мышинным коронавирусом *in vitro* индуцирует экспрессию ИФН- β и препятствует репликации вируса [67]. Интраназальное введение агониста TLR3 пожилым мышам C57BL/6 (у которых, в отличие от молодых мышей этой же линии, инфекция SARS-CoV является смертельной) обеспечивает 90–100 % защиту от последующего заражения летальной дозой SARS-CoV [68]. Агонисты рецепторов TLR7, TLR9 и TLR4 у этих мышей тоже эффективны, хотя и в меньшей степени [68].

Таким образом, вклад ИФН I типа в патогенез инфекции SARS-CoV, по всей вероятности, зависит как от стадии заболевания, так и от генетических факторов.

4.3. Механизмы противодействия коронавирусам интерфероновому ответу

Коронавирусы SARS-CoV, MERS-CoV и, вероятно, SARS-CoV-2, подавляют интерфероновый ответ как на стадии его индукции, так и на стадии реализации. Блокирование интерфероновому ответу является важным фактором вирулентности коронавируса.

4.3.1. Ингибирование RLR-зависимого распознавания

Механизмы, препятствующие распознаванию коронавируса RLR-рецепторами, можно условно разделить на активные и пассивные. К пассивным относится маскировка коронавирусной РНК под клеточную мРНК. В геноме коронавируса кодируются ферменты гуанин-N7-метилтрансфераза и 2'-О-метилтрансфераза, формирующие кэп-структуру на 5'-конце вирусной РНК по аналогии с клеточной мРНК. Наличие кэпа затрудняет распознавание РНК рецепторами семейства RLR. Мутации гена, кодирующего 2'-О-метилтрансферазу, резко повышают способность коронавируса индуцировать продукцию ИФН- β путем активации RIG-I и/или MDA5 [69, 70]. Тем не менее, даже при наличии кэпа рецепторы RIG-I и MDA5 могут распознавать вторичные шпильчатые и сетчатые структуры в составе коронавирусной РНК [50], а также двуспиральные молекулы РНК, временно возникающие при репликации коронавируса [71]. Однако эндорибонуклеаза коронавируса способна расщеплять временные двойные спирали РНК, дополнительно препятствуя активации RLR [71].

Несколько белков SARS-CoV и MERS-CoV активно препятствуют распознаванию вирусной РНК рецепторами семейства RLR и/или ингибируют сигнальный путь RLR – IPS-1 – TRAF3 – TBK-1/IKK- ϵ – IRF3, ответственный за индукцию ИФН I типа [72]. Так, структурный белок М вируса SARS-CoV связывается с одним или несколькими компонентами этого сигнального пути, препятствуя сборке RLR-зависимого сигнального комплекса на мембране митохондрий [73]. Белок N SARS-CoV ингибирует E3-убиквитинлигазу TRIM25, что нарушает убиквитинирование и активацию RIG-I [74]. По некоторым данным, активация RIG-I и MDA5 зависит от их взаимодействия с белком PACT, тогда как белок N SARS-CoV препятствует этому взаимодействию и нарушает RLR-зависимую индукцию

интерфероновому ответу [75]. Также белок N ингибирует RLR-зависимую активацию NF- κ B [76]. Ингибирующим действием на синтез ИФН- β в инфицированных клетках обладают также вспомогательные белки Orf3b и Orf6 SARS-CoV [76]. Папаин-подобная протеаза SARS-CoV тоже ингибирует активацию сигнального пути TRAF3 – TBK-1/IKK- ϵ – IRF3, возможно путем снижения уровня убиквитинирования этих белков [77].

Схожие данные получены и в отношении вируса MERS-CoV. Белок Orf4a MERS-CoV подавляет активацию MDA5, возможно путем «экранирования» вирусной РНК от рецептора [78, 79]. Белок Orf4b MERS-CoV связывается с киназами TBK-1 и IKK- ϵ , препятствуя их взаимодействию с IPS-1 и нарушая активацию фактора транскрипции IRF3 [80, 81]. Белок Orf8b MERS-CoV вызывает снижение уровня MDA5 и ингибирует передачу активационного сигнала от RIG-I и MDA5 [82]. Кроме того, белки Orf8b и Orf8a вызывают деградацию фактора транскрипции IRF3 [83].

4.3.2. Ингибирование TLR-зависимого распознавания

Папаин-подобная протеаза SARS-CoV способна ингибировать функцию убиквитинлигаз TRAF3 и TRAF6 и тем самым подавлять передачу сигнала от TLR7 в моноцитозидных клеточных линиях [84]. Тем не менее, поскольку в естественных условиях TLR7 экспрессируется преимущественно в плазматозидных ДК [38] и поскольку эти клетки по неизвестным пока причинам плохо поддерживают репликацию коронавируса [46, 85], TLR7-зависимое распознавание сравнительно слабо ингибируется коронавирусами. SARS-CoV и в особенности MERS-CoV индуцирует мощную выработку интерферонов I и III типов плазматозидными ДК, но не В-клетками, макрофагами и миелоидными ДК [85]. Более мощный интерферогенный эффект MERS-CoV, вероятно, объясняется тропизмом вируса к гемопоэтическим клеткам через рецептор CD26.

4.3.3. Ингибирование биологических эффектов ИФН I типа

Вирус SARS-CoV ингибирует не только продукцию, но и биологические эффекты ИФН I типа в инфицированных клетках, причем некоторые вирусные белки ингибируют и продукцию, и эффекты интерферонов. Ингибирующим действием на IFN- α β R и его сигнальные пути обладают белки Orf3a, Orf3b, Orf6, nsp1 и папаин-подобная протеаза SARS-CoV. В частности, белок Orf6 блокирует ядерную транслокацию STAT1 [32, 76, 86]; папаин-подобная протеаза и белок nsp1 ингибируют ИФН-индуцированное фосфорилирование STAT1 [87, 88]; белок Orf3a SARS-CoV вызывает деградацию субъединицы IFNAR1 рецептора к интерферону I типа [89]. Как следствие, SARS-CoV высокорезистентен к противовирусному состоянию, индуцируемому ИФН I типа.

MERS-CoV, в отличие от SARS-CoV, не подавляет ядерную транслокацию STAT1 [29]. Соответственно, MERS-CoV в 50-100 раз более чувствителен к ИФН

I типа *in vitro*, чем SARS-CoV [29]. Тем не менее, несколько белков MERS-CoV (M, Orf4a, Orf4b, папаин-подобная протеаза) способны частично ингибировать сигнальные пути рецептора ИФН I типа, что способствует уходу вируса от врожденного иммунного ответа [90].

4.3.4. Ингибирование прочих эффекторных механизмов

Двуспиральная вирусная РНК активирует олигонуклеотидсинтетазы (OAS), которые полимеризуют АТФ с образованием 2'-5'-олигоаденилата. Последний активирует РНКазу L (ИФН-индуцибельный белок), которая неизбирательно разрушает РНК, в том числе вирусную РНК, в цитоплазме. В геноме MERS-CoV кодируется 2'-5'-фосфодиэстераза (nsp4b), которая расщепляет 2'-5'-олигоаденилат [91]. Другой клеточный фермент – протеинкиназа R – тоже активируется при распознавании двуспиральной РНК и фосфорилирует фактор инициации трансляции eIF2 α , что ингибирует трансляцию белков, в том числе вирусных. Белок Orf4a MERS-CoV препятствует взаимодействию двуспиральной РНК с PKR [92]. Таким образом, белки nsp4b и Orf4a MERS-CoV ингибируют ключевые аспекты противовирусного состояния клеток.

4.4. Коронавирусы как активаторы инфламмы

Инфламмосома – это мультимолекулярный комплекс, где происходит превращение про-каспазы-1 в активную каспазу-1 [93]. Каспаза-1 необходима для процессинга проциитокинов про-ИЛ-1 β и про-ИЛ-18 до физиологически активных, секретируемых цитокинов. Инфламмосома состоит из мультимеров сенсорного белка (например, NLRP3), адаптерного белка (например, ASC) и про-каспазы-1 [93]. Механизмы активации инфламмы не до конца понятны. В общем виде – триггером активации являются различные виды нарушения клеточного гомеостаза [93].

Несколько белков SARS-CoV вызывают активацию инфламмы. Так, вспомогательный белок Orf8b формирует в клетках нерастворимые агрегаты, вызывая стресс ЭПР, повреждение лизосом и активацию аутофагии. В эпителиальных клетках агрегаты Orf8b в конечном итоге вызывают апоптоз, а в макрофагах – взаимодействуют с NLRP3 и вызывают мощную активацию NLRP3-инфламмы и пироптоз [94].

Белок Orf3a SARS-CoV активирует экспрессию про-ИЛ-1 β наряду с активацией NLRP3-инфламмы, хотя различные группы описывают различные механизмы активации инфламмы под действием Orf3a [33, 95, 96]. Согласно одному из сценариев, белок Orf3a олигомеризуется и встраивается эндосомальные и лизосомальные мембраны, нарушает их проницаемость, вызывает выход калия из цитозоля, что является сигналом к активации NLRP3-инфламмы [33, 96].

Структурный белок E, как упоминалось выше, формирует ионный канал в мембранах комплекса Гольджи, что тоже приводит к развитию ионного дисбаланса в клетке. Ионный дисбаланс участвует в развитии цито-

патического эффекта SARS-CoV, а также является триггером для активации NLRP3-инфламмы [34].

Интересно, что в макрофагах летучих мышей активация NLRP3-инфламмы при инфекции MERS-CoV снижена по сравнению с макрофагами человека и мыши, что не влияет на репликацию вируса, но способствует минимизации воспаления и выживанию животных, внося вклад в формирование природного резервуара инфекции [97].

4.5. Механизмы развития воспалительного ответа на коронавирусы

Воспаление – наиболее мощная защитная реакция врожденного иммунитета, однако чрезмерное воспаление может быть причиной повреждения тканей и органов. Характерной чертой инфекций, вызванных SARS-CoV-2, SARS-CoV и MERS-CoV является выраженная воспалительная реакция в ткани легких, отражением чего является «цитокиновый шторм», т.е. высвобождение больших количеств цитокинов [12, 28]. По данным аутопсии умерших пациентов с SARS, в острый период (примерно до 10-х суток заболевания) в патоморфологической картине преобладает многоочаговое или диффузное экссудативное поражение альвеол со смешанной моноцитарно-лимфоцитарной инфильтрацией. Позднее острое экссудативное воспаление сменяется картиной диффузной интерстициальной пневмонии, являющейся морфологическим субстратом ОРДС, а затем и фиброзом легкого [98, 99]. Если в первые 10 суток причиной смерти больных SARS в основном является декомпенсация сопутствующих заболеваний, то на более поздних сроках – ОРДС, развивающийся на фоне падения вирусной нагрузки [100]. Аналогичные результаты получены и на восприимчивых к инфекции SARS-CoV мышцах BALB/c, у которых развитие интерстициальной пневмонии на 7-е сутки инфекции коррелирует с падением вирусной нагрузки [101]. По предварительным данным, полученным на мышках, трансгенных по человеческому ACE2, вирус COVID-2019 тоже вызывает интерстициальную пневмонию примерно в те же сроки [102]. Причины высокой частоты ОРДС при коронавирусных инфекциях не до конца ясны. Экспериментальные данные позволяют предположить, что причиной развития интерстициального воспаления и ОРДС является не только сам вирус, но и развивающийся против него иммунный ответ.

Наряду с ингибированием продукции ИФН во многих типах клеток (кроме плазмацитоидных ДК), SARS-CoV и MERS-CoV стимулируют выработку провоспалительных цитокинов, особенно хемокинов, различными типами клеток *in vitro* (макрофагами, классическими и плазмацитоидными ДК, эпителиальными клетками) [103–106] и *in vivo* у мышей [66]. Повышенные уровни цитокинов и хемокинов выявлены также в сыворотке пациентов с SARS и MERS [36, 37]. Таким образом, при коронавирусных инфекциях воспалительный аспект врожденного иммунного ответа преобладает над непосредственно противовирусным.

Учитывая вышеизложенное, можно выделить несколько факторов, способствующих развитию избыточного воспаления в легких при инфекциях, вызванных эпидемическими коронавирусами.

1. Корonavирусы создают высокую вирусную нагрузку, чему способствует их многоуровневое ингибирующее действие на систему интерферонов. Пик вирусной нагрузки у мышей достигается уже на 2-е сутки после заражения SARS-CoV [61, 66]. Высокая вирусная нагрузка способствует локальной TLR-зависимой гиперактивации клеток врожденного иммунитета с продукцией ими больших количеств цитокинов и хемокинов («цитокиновый шторм»).

2. Корonavирусы инфицируют не только эпителий бронхов, но также альвеолоциты и клетки иммунной системы (особенно при MERS), что увеличивает масштаб поражения легких и способствует гиперпродукции цитокинов и хемокинов. У мышей линий C57BL/6 и 129, характеризующихся легким течением инфекции SARS-CoV, вирус реплицируется только в эпителиоцитах бронхов, тогда как у тяжело болеющих мышей BALB/c – также в альвеолоцитах [28].

3. Активация инфламмосомы в инфицированных клетках приводит к высвобождению мощных провоспалительных цитокинов – ИЛ-1 β и ИЛ-18.

4. Цитопатическое действие вирусов приводит к гибели клеток с высвобождением аларминов, дополнительно активирующих клетки врожденного иммунитета.

5. Цитокины, вырабатываемые в ответ на инфекцию, включая ФНО, ИЛ-1 β и ИФН I типа (при их поздней индукции), дополнительно способствуют гиперпродукции хемокинов [66, 104]. У мышей BALB/c, восприимчивых к инфекции SARS-CoV, на 2–3-и сутки наблюдается массивная выработка провоспалительных цитокинов и хемокинов в легких [66, 101]. Хемокины привлекают моноциты, нейтрофилы и плазмацитоидные ДК из кровотока, усиливая воспалительную реакцию [66, 101]. Удаление моноцитов/макрофагов, нейтрализация провоспалительных цитокинов или отсутствие рецептора ИФН I типа резко повышает выживаемость мышей BALB/c при инфекции SARS-CoV [66].

6. Пожилой возраст способствует гиперпродукции цитокинов, развитию ОРДС и увеличивает риск летального исхода, что отмечается как при эпидемиологических исследованиях, так и в экспериментах на мышах [107, 108]. Также вероятна и роль генетических факторов в вероятности развития ОРДС.

Избыточный и извращенный врожденный иммунный ответ на коронавирусную инфекцию может приводить к последствиям, определяющим неблагоприятный исход заболевания [28, 98]:

1) цитокин-опосредованному повреждению эпителиоцитов и эндотелиоцитов, повышению сосудистой проницаемости;

2) активации макрофагов по альтернативному типу (M2), который не является протективным при вирусных инфекциях, но способствует развитию интерстициальной пневмонии и фиброза легкого;

3) дифференцировка Т-клеток по Th2-типу, что также не обеспечивает защиту;

4) развитию ОРДС;

5) поражению других органов и тканей.

5. Адаптивный иммунный ответ против коронавируса

Данные о роли адаптивного иммунитета в защите от острой коронавирусной инфекции противоречивы. У молодых мышей C57BL/6 с нокаутом гена *Rag1*, не имеющих Т-клеток, инфекция SARS-CoV протекает так же легко, как у мышей *Rag1*^{+/+} [47]. Иная картина наблюдается у восприимчивых к SARS-CoV мышей BALB/c. После первой волны продукции цитокинов и хемокинов в легких, пик которой приходится на 2–3-и сутки после заражения SARS-CoV и которая обусловлена врожденным иммунным ответом, наблюдается вторая волна с пиком на 7-е сутки [101]. Эта вторая волна коррелирует с привлечением Т-клеток в ткань легкого. Привлечение Т-клеток по времени совпадает со снижением вирусной нагрузки и развитием интерстициальной пневмонии, что может указывать как на положительную (элиминация вируса), так и отрицательную (развитие иммунопатологии) роль Т-клеточного ответа. Однако удаление CD8⁺-Т-клеток не влияет на параметры репликации SARS-CoV в легких, тогда как удаление CD4⁺-Т-клеток приводит к уменьшению привлечения лимфоцитов в ткань легких, снижению продукции специфических антител, развитию интерстициальной пневмонии и задержке элиминации вируса [101]. Плазма мышей, гипериммунных к SARS-CoV, обеспечивает элиминацию вируса у мышей, у которых были удалены и CD4⁺, и CD8⁺-Т-клетки. Эти данные указывают на положительную роль Т-хелперного и В-клеточного звена в элиминации вируса и разрешении воспаления [101].

Фактором, препятствующим элиминации вируса у мышей BALB/c, является ингибирующее действие альвеолярных макрофагов на эмиграцию ДК из легких в дренирующие лимфоузлы, что препятствует своевременному развитию адаптивного иммунного ответа [109]. Удаление макрофагов или их активация с помощью агониста TLR3 (poly-I:C), вводимого профилактически за 18–24 ч до заражения, устраняет ингибирующее действие альвеолярных макрофагов на эмиграцию ДК и восстанавливает индукцию Т-клеточного ответа, что коррелирует с повышением выживаемости мышей [109]. Данный механизм, наряду с индукцией ИФН I типа, может объяснять защитное действие агонистов TLR3, наблюдаемое на модели пожилых мышей C57BL/6 и тоже свидетельствует в пользу положительной роли Т-клеток в защите от SARS-CoV [68].

Со своей стороны, коронавирусы обладают механизмами подавления адаптивного иммунного ответа как на стадии его индукции, так и на эффекторной стадии. Например, неструктурный белок nsр6 SARS-CoV ингибирует слияние аутофагосом с лизосомами [30], что может препятствовать представлению вирусных антигенов

ДК в комплексе с молекулами МНС II класса. Белок E MERS-CoV может ингибировать эффекторную стадию Т-клеточного ответа, вызывая апоптоз Т-клеток [110].

Помимо элиминации вируса в острый период инфекции, адаптивный иммунитет обеспечивает длительную защиту против повторного заражения. Нейтрализующие защитные антитела направлены против рецептор-связывающего домена белка S, взаимодействующего с рецепторами ACE2 и CD26 при входе вирусов в клетку [111]. Интересно, что пул вирус-специфических CD8⁺-Т-клеток у людей, переболевших SARS, сохраняется дольше, чем повышенные титры антител [112]. У людей, перенесших SARS, CD8⁺-Т-клетки памяти, специфичные к белкам S, M и N, а также CD4⁺-Т-клетки, специфичные к белку S сохраняются в течение 10 и более лет после инфекции [113, 114]. На модели пожилых мышей C57BL/6 показано, что CD8⁺-Т-клетки памяти, специфичные к белку S SARS-CoV, обеспечивают защиту от вируса [115].

6. Иммунопрофилактика и иммунотерапия коронавирусных инфекций

В данном обзоре мы не будем рассматривать специфические противовирусные препараты, а остановимся на возможных способах профилактики и терапии коронавирусных инфекций путем воздействия на иммунную систему.

6.1. Профилактика

6.1.1. Активаторы врожденного иммунитета

Как упоминалось выше, заблаговременная индукция противовирусного интерферонового ответа с помощью интраназального введения агонистов TLR3, TLR7, TLR9 и TLR4 существенно повышает резистентность мышей к инфекции SARS-CoV [68]. Также эффективно и интраназальное введение ИФН-β и ИФН-γ [68]. Интервал между введением индукторов ИФН и заражением мышей в процитированной работе составил 6 ч. Если эти данные будут подтверждены независимыми исследованиями, то агонисты TLR и рекомбинантные ИФН могут рассматриваться как потенциальные средства экстренной профилактики коронавирусных инфекций.

6.1.2. Вакцины

Одобренных к клиническому применению вакцин против SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 нет, хотя разработано много кандидатных препаратов, которые подробно рассмотрены в недавних обзорах [112, 116, 117]. Кандидатные вакцины относятся к следующим типам [112]:

1) субъединичные вакцины (как правило, на основе рекомбинантного белка S или его рецептор-связывающего домена);

2) ДНК-вакцины на основе генетических конструкций, кодирующих цельный белок S или его рецептор-связывающий домен;

3) векторные вакцины на основе непатогенных вирусов (аденовирусов, вируса *Vaccinia* и др.), в геном которых встроены один или несколько генов коронавирусов;

4) убитые цельновирионные вакцины;

5) ослабленные живые вакцины, полученные путем генно-инженерных модификаций вируса дикого типа, направленных на удаление или инактивацию факторов вирулентности (ингибиторов интерферонового ответа, медиаторов цитопатического эффекта).

Все перечисленные вакцины позволяют создать защитные титры нейтрализующих антител и защитный пул CD8⁺-Т-клеток памяти [118–122]. Наиболее эффективным путем вакцинации представляется интраназальный, позволяющий индуцировать защитные антитела класса IgA [118, 119, 123]. У пациентов с MERS отмечена обратная корреляция между уровнями IgA к MERS-CoV в секретах респираторного тракта и вирусной нагрузкой [124].

В то же время необходимо учитывать возможность антителозависимого усиления проявлений инфекции как *in vitro*, так и *in vivo*. Так, антитела к белку S SARS-CoV могут способствовать инфицированию клеток, экспрессирующих Fc-рецепторы [103, 125]. У мышей, иммунизированных векторной вакциной, кодирующей белок N SARS-CoV, при последующем инфицировании SARS-CoV наблюдается усиление воспаления и продукции провоспалительных цитокинов в легких при отсутствии увеличения вирусной нагрузки [126]. Таким образом, вакцинация может отрицательно влиять на течение инфекции как за счет антителозависимого усиления инфекции, так и за счет усиления иммунопатологии. Интраназальная вакцинация несет меньший риск антителозависимого усиления инфекции, чем парентеральная [118].

6.2. Лечение

Основными задачами этиотропной и патогенетической терапии коронавирусных инфекций являются снижение вирусной нагрузки и/или уменьшение выраженности воспаления в легких. Одобренных этиотропных препаратов против SARS-CoV-2, SARS-CoV и MERS-CoV на сегодня нет, хотя имеется довольно большое количество кандидатных препаратов, протестированных в доклинических исследованиях [127]. Эмпирически применяются препараты, эффективные против других РНК-вирусов, в частности ингибиторы вирусных протеаз (лопинавир) и аналоги нуклеозидов (рибавирин). Применяется также патогенетическая и симптоматическая терапия, направленная на уменьшение выраженности интоксикации и воспалительного процесса в легких, восстановление оксигенации крови, коррекцию водно-солевого баланса и т.д. Хороший эффект при дыхательной недостаточности у пациентов с MERS оказывает экстракорпоральная мембранная оксигенация [128].

6.2.1. Кортикостероиды

Кортикостероиды не обладают сколько-нибудь значимым положительным эффектом при SARS и MERS

[127], а также – по первым наблюдениям – и при COVID-19 [129, 130]. Возможно увеличение вирусной нагрузки на фоне применения кортикостероидов [127].

6.2.2. Интерфероны

ИФН I типа ингибируют репликацию SARS-CoV и MERS-CoV *in vitro* в концентрациях, достижимых в организме в клинических условиях [131]. Тем не менее, если ИФН I типа вводятся запоздало (на фоне высокой вирусной нагрузки), то они могут оказывать отрицательное действие за счет усиления локальной продукции хемокинов в легких [66]. По данным клинических испытаний, при SARS терапия с использованием ИФН- α 1 в сочетании с кортикостероидами обладает значимым положительным эффектом по сравнению с терапией только кортикостероидами [127].

6.2.3. Комбинированные режимы, включающие противовирусные препараты

Комбинация лопинавир + рибавирин + кортикостероиды обладает значимым положительным эффектом при SARS по сравнению с комбинацией рибавирин + кортикостероиды [127]. При MERS показана неэффективность комбинаций рибавирин + ИФН- α и рибавирин + ИФН- β [127], применяемых при лечении инфекций, вызванных РНК-вирусами, в частности – гепатита С.

6.2.4. Переливание плазмы выздоравливающих больных и моноклональные нейтрализующие антитела

Плазма выздоравливающих пациентов с SARS оказывала достоверный положительный клинический эффект при эпидемии SARS 2002–2003 гг. при условии ее переливания до 14-го дня заболевания [132]. На основе

этих результатов был создан ряд человеческих моноклональных нейтрализующих антител против SARS-CoV и MERS-CoV [133], которые – после прохождения соответствующих клинических испытаний – могут быть использованы для иммунотерапии и пассивной иммунопрофилактики. Все эти антитела направлены против рецептор-связывающего домена белка S и позволяют на несколько порядков снизить репликацию вируса *in vitro*, обеспечивают защиту при профилактическом применении у модельных животных, а также оказывают терапевтическое действие при развившейся инфекции у животных [133–136]. Комбинации антител могут обладать синергическим действием, а также предотвращать формирование мутантных вариантов вируса, ускользающих от распознавания антителами [137]. По предварительным данным, некоторые из антител против SARS-CoV эффективны также против SARS-CoV-2 [138]. Плазма выздоравливающих пациентов с COVID-19 тоже эффективна как средство лечения инфекции [139].

7. Заключение

Пандемия COVID-19 еще раз продемонстрировала опасность коронавирусных инфекций как глобальной угрозы человечеству. Имеется насущная потребность как в противовирусных лекарственных средствах, так и в препаратах для иммунопрофилактики и иммунотерапии тяжелых коронавирусных инфекций. Стратегии лечения тяжелых коронавирусных инфекций должны включать воздействие как на вирус, так и на иммунную систему пациента, чтобы погасить чрезмерную воспалительную реакцию в легких, приводящую к развиту ОРДС.

■ Литература/References

- Li X., Zai J., Wang X., Li Y. Potential of large «first generation» human-to-human transmission of 2019-nCoV. *J. Med. Virol.* 2020; 92 (4): 448–54.
- Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H., et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020; 395 (10 224): 565–574.
- Zhou P., Yang X.-L., Wang X.-G., Hu B., Zhang L., Zhang W., et al. Discovery of a novel coronavirus associated with the recent pneumonia outbreak in 2 humans and its potential bat origin. *bioRxiv.* 2020; 2020.01.22.914952.
- World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Situation Report – 78 (April 7, 2020). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200407-sitrep-78-covid-19.pdf?sfvrsn=bc43e1b_2.
- Peiris J.S., Lai S.T., Poon L.L., Guan Y., Yam L.Y., Lim W., et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet.* 2003; 361 (9366): 1319–25.
- World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). URL: <https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>
- Li Q., Guan X., Wu P., Wang X., Zhou L., Tong Y., et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med.* 2020; Jan 29.
- Paraskevis D., Kostaki E.G., Magiorkinis G., Panayiotakopoulos G., Sourvinos G., Tsiordras S. Full-genome evolutionary analysis of the novel corona virus (2019-nCoV) rejects the hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event. *Infect. Genet. Evol.* 2020; 79: 104212.
- URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MN908947.3>.
- Zhao S., Lin Q., Ran J., Musa S.S., Yang G., Wang W., et al. Preliminary estimation of the basic reproduction number of novel coronavirus (2019-nCoV) in China, from 2019 to 2020: a data-driven analysis in the early phase of the outbreak. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 92: 214–7.
- Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020; 395 (10 223): 507–513.
- Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395 (10 223): 497–506.
- Wang D., Hu B., Hu C., Zhu F., Liu X., Zhang J., et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA.* 2020; Feb 7.
- Smith R.D. Responding to global infectious disease outbreaks: lessons from SARS on the role of risk perception, communication and management. *Soc. Sci. Med.* 2006; 63 (12): 3113–23.
- Fine M.J., Smith M.A., Carson C.A., Mutha S.S., Sankey S.S., Weissfeld L.A., et al. Prognosis and outcomes of patients with community-acquired pneumonia. A meta-analysis. *JAMA.* 1996; 275 (2): 134–41.
- Bouvet M., Debarnot C., Imbert I., Selisko B., Snijder E.J., Canard B., et al. *In vitro* reconstitution of SARS-coronavirus mRNA cap methylation. *PLoS Pathog.* 2010; 6 (4): e1000863.

17. Ji W., Wang W., Zhao X., Zai J., Li X. Homologous recombination within the spike glycoprotein of the newly identified coronavirus may boost cross-species transmission from snake to human. *J. Med. Virol.* 2020; 92 (4): 433–40.
18. Structure models of all mature peptides in 2019-nCoV genome by C-I-TASSER. URL: <https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/C-I-TASSER/2019-nCov/>
19. Wan Y., Shang J., Graham R., Baric R.S., Li F. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J. Virol.* 2020; 94 (7).
20. Xu X., Chen P., Wang J., Feng J., Zhou H., Li X., 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 (3): 457–60.
21. Raj V.S., Mou H., Smits S.L., Dekkers D.H., Muller M.A., Djikman R., et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. *Nature.* 2013; 495 (7440): 251–4.
22. Yang Z.Y., Huang Y., Ganesh L., Leung K., Kong W.P., Schwartz O., et al. pH-dependent entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus is mediated by the spike glycoprotein and enhanced by dendritic cell transfer through DC-SIGN. *J. Virol.* 2004; 78 (11): 5642–50.
23. Hofmann H., Hattermann K., Marzi A., Gramberg T., Geier M., Krumbiegel M., et al. S protein of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus mediates entry into hepatoma cell lines and is targeted by neutralizing antibodies in infected patients. *J. Virol.* 2004; 78 (12): 6134–42.
24. Geijtenbeek T.B., Kwon D.S., Torensma R., van Vliet S.J., van Duijnhoven G.C., Middel J., et al. DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell.* 2000; 100 (5): 587–97.
25. Subissi L., Posthuma C.C., Collet A., Zevenhoven-Dobbe J.C., Gorbalenya A.E., Decroly E., et al. One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014; 111 (37): E3900–9.
26. Ujike M., Taguchi F. Incorporation of spike and membrane glycoproteins into coronavirus virions. *Viruses.* 2015; 7 (4): 1700–25.
27. Lai M.M., Cavanagh D. The molecular biology of coronaviruses. *Adv. Virus Res.* 1997; 48: 1–100.
28. Channappanavar R., Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin. Immunopathol.* 2017; 39 (5): 529–39.
29. de Wilde A.H., Raj V.S., Oudshoorn D., Bestebroer T.M., van Nieuwkoop S., Limpens R.W., et al. MERS-coronavirus replication induces severe *in vitro* cytopathology and is strongly inhibited by cyclosporin A or interferon-alpha treatment. *J. Gen. Virol.* 2013; 94 (Pt 8): 1749–60.
30. Cottam E.M., Whelband M.C., Wileman T. Coronavirus NSP6 restricts autophagosome expansion. *Autophagy.* 2014; 10 (8): 1426–41.
31. Freundt E.C., Yu L., Goldsmith C.S., Welsh S., Cheng A., Yount B., et al. The open reading frame 3a protein of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus promotes membrane rearrangement and cell death. *J. Virol.* 2010; 84 (2): 1097–109.
32. Zhou H., Ferraro D., Zhao J., Hussain S., Shao J., Trujillo J., et al. The N-terminal region of severe acute respiratory syndrome coronavirus protein 6 induces membrane rearrangement and enhances virus replication. *J. Virol.* 2010; 84 (7): 3542–51.
33. Yue Y., Nabar N.R., Shi C.S., Kamenyeva O., Xiao X., Hwang I.Y., et al. SARS-Coronavirus Open Reading Frame-3a drives multimodal necrotic cell death. *Cell Death Dis.* 2018; 9 (9): 904.
34. Nieto-Torres J.L., Verdia-Baguena C., Jimenez-Guardeno J.M., Regla-Nava J.A., Castano-Rodriguez C., Fernandez-Delgado R., et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus E protein transports calcium ions and activates the NLRP3 inflammasome. *Virology.* 2015; 485: 330–9.
35. DeDiego M.L., Nieto-Torres J.L., Jimenez-Guardeno J.M., Regla-Nava J.A., Castano-Rodriguez C., Fernandez-Delgado R., et al. Coronavirus virulence genes with main focus on SARS-CoV envelope gene. *Virus Res.* 2014; 194: 124–37.
36. Chien J.Y., Hsueh P.R., Cheng W.C., Yu C.J., Yang P.C. Temporal changes in cytokine/chemokine profiles and pulmonary involvement in severe acute respiratory syndrome. *Respirology.* 2006; 11 (6): 715–22.
37. Wong C.K., Lam C.W., Wu A.K., Ip W.K., Lee N.L., Chan I.H., et al. Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome. *Clin. Exp. Immunol.* 2004; 136 (1): 95–103.
38. Kadowaki N., Ho S., Antonenko S., Malefyt R.W., Kastlein R.A., Bazan F., et al. Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens. *J. Exp. Med.* 2001; 194 (6): 863–9.
39. Alexopoulou L., Holt A.C., Medzhitov R., Flavell R.A. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature.* 2001; 413 (6857): 732–8.
40. Oshiumi H., Matsumoto M., Funami K., Akazawa T., Seya T. TICAM-1, an adaptor molecule that participates in Toll-like receptor 3-mediated interferon-beta induction. *Nat Immunol.* 2003; 4 (2): 161–7.
41. Totura A.L., Whitmore A., Agnihothram S., Schafer A., Katze M.G., Heise M.T., et al. Toll-like receptor 3 signaling via TRIF contributes to a protective innate immune response to severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *mBio.* 2015; 6 (3): e00638-15.
42. Hoebe K., Du X., Georgel P., Janssen E., Tabeta K., Kim S.O., et al. Identification of Lps2 as a key transducer of MyD88-independent TIR signalling. *Nature.* 2003; 424 (6950): 743–8.
43. Diebold S.S., Kaisho T., Hemmi H., Akira S., Reis e Sousa C. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science.* 2004; 303 (5663): 1529–31.
44. Heil F., Hemmi H., Hochrein H., Ampenberger F., Kirschning C., Akira S., et al. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science.* 2004; 303 (5663): 1526–9.
45. Li Y., Chen M., Cao H., Zhu Y., Zheng J., Zhou H. Extraordinary GU-rich single-strand RNA identified from SARS coronavirus contributes an excessive innate immune response. *Microbes Infect.* 2013; 15 (2): 88–95.
46. Cervantes-Barragan L., Züst R., Weber F., Spiegel M., Lang K.S., Akira S., et al. Control of coronavirus infection through plasmacytoid dendritic-cell-derived type I interferon. *Blood.* 2007; 109 (3): 1131–7.
47. Sheahan T., Morrison T.E., Funkhouser W., Uematsu S., Akira S., Baric R.S., et al. MyD88 is required for protection from lethal infection with a mouse-adapted SARS-CoV. *PLoS Pathog.* 2008; 4 (12): e1000240.
48. Yoneyama M., Kikuchi M., Natsukawa T., Shinobu N., Imai-zumi T., Miyagishi M., et al. The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nat. Immunol.* 2004; 5 (7): 730–7.
49. Kato H., Takeuchi O., Sato S., Yoneyama M., Yamamoto M., Matsui K., et al. Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature.* 2006; 441 (7089): 101–5.
50. Streicher F., Jouvenet N. Stimulation of innate immunity by host and viral RNAs. *Trends Immunol.* 2019; 40 (12): 1134–48.
51. Kato H., Takeuchi O., Mikamo-Sato H., Hirai R., Kawai T., Matsushita K., et al. Length-dependent recognition of double-stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-I and melanoma differentiation-associated gene 5. *J. Exp. Med.* 2008; 205 (7): 1601–10.
52. Malathi K., Dong B., Gale M., Jr., Silverman R.H. Small self-RNA generated by RNase L amplifies antiviral innate immunity. *Nature.* 2007; 448 (7155): 816–9.
53. Takeuchi O., Akira S. MDA5/RIG-I and virus recognition. *Curr. Opin. Immunol.* 2008; 20 (1): 17–22.
54. Kawai T., Takahashi K., Sato S., Coban C., Kumar H., Kato H., et al. IPS-1, an adaptor triggering RIG-I- and Mda5-mediated type I interferon induction. *Nat. Immunol.* 2005; 6 (10): 981–8.
55. Khaïtov M.R., Laza-Stanca V., Edwards M.R., Walton R.P., Rohde G., Contoli M., et al. Respiratory virus induction of alpha-, beta- and lambda-interferons in bronchial epithelial cells and peripheral blood mononuclear cells. *Allergy.* 2009; 64 (3): 375–86.
56. Takahashi K., Kawai T., Kumar H., Sato S., Yonehara S., Akira S. Roles of caspase-8 and caspase-10 in innate immune responses to double-stranded RNA. *J. Immunol.* 2006; 176 (8): 4520–4.
57. Zhao X., Chu H., Wong B.H., Chiu M.C., Wang D., Li C., et al. Activation of C-type lectin receptor and (RIG)-I-like receptors contributes to proinflammatory response in middle east respiratory syndrome coronavirus-infected macrophages. *J. Infect. Dis.* 2020; 221 (4): 647–59.

58. Li J., Liu Y., Zhang X. Murine coronavirus induces type I interferon in oligodendrocytes through recognition by RIG-I and MDA5. *J. Virol.* 2010; 84 (13): 6472–82.
59. Zalinger Z.B., Elliott R., Rose K.M., Weiss S.R. MDA5 is critical to host defense during infection with murine coronavirus. *J. Virol.* 2015; 89 (24): 12 330–40.
60. Hervas-Stubbs S., Perez-Gracia J.L., Rouzaut A., Sanmamed M.F., Le Bon A., Melero I. Direct effects of type I interferons on cells of the immune system. *Clin. Cancer Res.* 2011; 17 (9): 2619–27.
61. Frieman M.B., Chen J., Morrison T.E., Whitmore A., Funkhouser W., Ward J.M., et al. SARS-CoV pathogenesis is regulated by a STAT1 dependent but a type I, II and III interferon receptor independent mechanism. *PLoS Pathog.* 2010; 6 (4): e1000849.
62. Hogan R.J., Gao G., Rowe T., Bell P., Flieder D., Paragas J., et al. Resolution of primary severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection requires Stat1. *J. Virol.* 2004; 78 (20): 11 416–21.
63. Mahlakoiv T., Ritz D., Mordstein M., DeDiego M.L., Enjuanes L., Muller M.A., et al. Combined action of type I and type III interferon restricts initial replication of severe acute respiratory syndrome coronavirus in the lung but fails to inhibit systemic virus spread. *J. Gen. Virol.* 2012; 93 (Pt 12): 2601–5.
64. Zornetzer G.A., Frieman M.B., Rosenzweig E., Korth M.J., Page C., Baric R.S., et al. Transcriptomic analysis reveals a mechanism for a profibrotic phenotype in STAT1 knockout mice during severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *J. Virol.* 2010; 84 (21): 11 297–309.
65. Roberts A., Deming D., Paddock C.D., Cheng A., Yount B., Vogel L., et al. A mouse-adapted SARS-coronavirus causes disease and mortality in BALB/c mice. *PLoS Pathog.* 2007; 3 (1): e5.
66. Channappanavar R., Fehr A.R., Vijay R., Mack M., Zhao J., Meyerholz D.K., et al. Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice. *Cell Host Microbe.* 2016; 19 (2): 181–93.
67. Mazaleuskaya L., Veltrop R., Ikpeze N., Martin-Garcia J., Navas-Martin S. Protective role of Toll-like Receptor 3-induced type I interferon in murine coronavirus infection of macrophages. *Viruses.* 2012; 4 (5): 901–23.
68. Zhao J., Wohlford-Lenane C., Fleming E., Lane T.E., McCray P.B. Jr, Perlman S. Intranasal treatment with poly(I:C) protects aged mice from lethal respiratory virus infections. *J. Virol.* 2012; 86 (21): 11 416–24.
69. Züst R., Cervantes-Barragan L., Habjan M., Maier R., Neuman B.W., Ziebuhr J., et al. Ribose 2-O-methylation provides a molecular signature for the distinction of self and non-self mRNA dependent on the RNA sensor Mda5. *Nat. Immunol.* 2011; 12 (2): 137–43.
70. Menachery V.D., Debbink K., Baric R.S. Coronavirus non-structural protein 16: evasion, attenuation, and possible treatments. *Viruses Res.* 2014; 194: 191–9.
71. Deng X., Hackbart M., Mettelman R.C., O'Brien A., Mielech A.M., Yi G., et al. Coronavirus nonstructural protein 15 mediates evasion of dsRNA sensors and limits apoptosis in macrophages. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2017; 114 (21): E4251–60.
72. Spiegel M., Pichlmair A., Martinez-Sobrido L., Cros J., Garcia-Sastre A., Haller O., et al. Inhibition of Beta interferon induction by severe acute respiratory syndrome coronavirus suggests a two-step model for activation of interferon regulatory factor 3. *J. Virol.* 2005; 79 (4): 2079–86.
73. Siu K.L., Kok K.H., Ng M.H., Poon V.K., Yuen K.Y., Zheng B.J., et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus M protein inhibits type I interferon production by impeding the formation of TRAF3-TANK-TBK1/IKKepsilon complex. *J. Biol. Chem.* 2009; 284 (24): 16 202–9.
74. Hu Y., Li W., Gao T., Cui Y., Jin Y., Li P., et al. The severe acute respiratory syndrome coronavirus nucleocapsid inhibits type I interferon production by interfering with TRIM25-mediated RIG-I ubiquitination. *J. Virol.* 2017; 91 (8).
75. Ding Z., Fang L., Yuan S., Zhao L., Wang X., Long S., et al. The nucleocapsid proteins of mouse hepatitis virus and severe acute respiratory syndrome coronavirus share the same IFN-beta antagonizing mechanism: attenuation of PACT-mediated RIG-I/MDA5 activation. *Oncotarget.* 2017; 8 (30): 49 655–70.
76. Kopecky-Bromberg S.A., Martinez-Sobrido L., Frieman M., Baric R.A., Palese P. Severe acute respiratory syndrome coronavirus open reading frame (ORF) 3b, ORF 6, and nucleocapsid proteins function as interferon antagonists. *J. Virol.* 2007; 81 (2): 548–57.
77. Chen X., Yang X., Zheng Y., Yang Y., Xing Y., Chen Z. SARS coronavirus papain-like protease inhibits the type I interferon signaling pathway through interaction with the STING-TRAF3-TBK1 complex. *Protein Cell.* 2014; 5 (5): 369–81.
78. Niemeyer D., Zillinger T., Muth D., Zielecki F., Horvath G., Suliman T., et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus accessory protein 4a is a type I interferon antagonist. *J. Virol.* 2013; 87 (22): 12 489–95.
79. Siu K.L., Yeung M.L., Kok K.H., Yuen K.S., Kew C., Lui P.Y., et al. Middle east respiratory syndrome coronavirus 4a protein is a double-stranded RNA-binding protein that suppresses PACT-induced activation of RIG-I and MDA5 in the innate antiviral response. *J. Virol.* 2014; 88 (9): 4866–76.
80. Yang Y., Ye F., Zhu N., Wang W., Deng Y., Zhao Z., et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus ORF4b protein inhibits type I interferon production through both cytoplasmic and nuclear targets. *Sci. Rep.* 2015; 5: 17554.
81. Lee J.Y., Bae S., Myoung J. Middle East respiratory syndrome coronavirus-encoded accessory proteins impair MDA5-and TBK1-mediated activation of NF-kappaB. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2019; 29 (8): 1316–23.
82. Lee J.Y., Kim S.J., Myoung J. Middle East respiratory syndrome coronavirus-encoded ORF8b inhibits RIG-I-like receptors in a differential mechanism. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2019; 29 (12): 2014–21.
83. Wong H.H., Fung T.S., Fang S., Huang M., Le M.T., Liu D.X. Accessory proteins 8b and 8ab of severe acute respiratory syndrome coronavirus suppress the interferon signaling pathway by mediating ubiquitin-dependent rapid degradation of interferon regulatory factor 3. *Virology.* 2018; 515: 165–75.
84. Li S.W., Wang C.Y., Jou Y.J., Huang S.H., Hsiao L.H., Wan L., et al. SARS coronavirus papain-like protease inhibits the TLR7 signaling pathway through removing Lys63-linked polyubiquitination of TRAF3 and TRAF6. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17 (5).
85. Scheuplein V.A., Seifried J., Malczyk A.H., Miller L., Hocker L., Vergara-Alert J., et al. High secretion of interferons by human plasmacytoid dendritic cells upon recognition of Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J. Virol.* 2015; 89 (7): 3859–69.
86. Frieman M., Yount B., Heise M., Kopecky-Bromberg S.A., Palese P., Baric R.S. Severe acute respiratory syndrome coronavirus ORF6 antagonizes STAT1 function by sequestering nuclear import factors on the rough endoplasmic reticulum/Golgi membrane. *J. Virol.* 2007; 81 (18): 9812–24.
87. Li S.W., Lai C.C., Ping J.F., Tsai F.J., Wan L., Lin Y.J., et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus papain-like protease suppressed alpha interferon-induced responses through downregulation of extracellular signal-regulated kinase 1-mediated signalling pathways. *J. Gen. Virol.* 2011; 92 (Pt 5): 1127–40.
88. Wathelet M.G., Orr M., Frieman M.B., Baric R.S. Severe acute respiratory syndrome coronavirus evades antiviral signaling: role of nsp1 and rational design of an attenuated strain. *J. Virol.* 2007; 81 (21): 11 620–33.
89. Minakshi R., Padhan K., Rani M., Khan N., Ahmad F., Jameel S. The SARS Coronavirus 3a protein causes endoplasmic reticulum stress and induces ligand-independent downregulation of the type I interferon receptor. *PLoS One.* 2009; 4 (12): e8342.
90. Shokri S., Mahmoudvand S., Taherkhani R., Farshadpour F. Modulation of the immune response by Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J. Cell. Physiol.* 2019; 234 (3): 2143–51.
91. Thornbrough J.M., Jha B.K., Yount B., Goldstein S.A., Li Y., Elliott R., et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus NS4b protein inhibits host RNase L activation. *mBio.* 2016; 7 (2): e00258.
92. Rabouw H.H., Langereis M.A., Knaap R.C., Dalebout T.J., Canton J., Sola I., et al. Middle East respiratory coronavirus accessory protein 4a inhibits PKR-mediated antiviral stress responses. *PLoS Pathog.* 2016; 12 (10): e1005982.
93. Tschopp J., Schroder K. NLRP3 inflammasome activation: The convergence of multiple signalling pathways on ROS production? *Nat. Rev. Immunol.* 2010; 10 (3): 210–5.
94. Shi C.S., Nabar N.R., Huang N.N., Kehrl J.H. SARS-Coronavirus Open Reading Frame-8b triggers intracellular stress pathways and activates NLRP3 inflammasomes. *Cell Death Discov.* 2019; 5: 101.

95. Siu K.L., Yuen K.S., Castano-Rodriguez C., Ye Z.W., Yeung M.L., Fung S.Y., et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus ORF3a protein activates the NLRP3 inflammasome by promoting TRAF3-dependent ubiquitination of ASC. *Faseb J.* 2019; 33 (8): 8865–77.
96. Chen I.Y., Moriyama M., Chang M.F., Ichinohe T. Severe acute respiratory syndrome coronavirus viroporin 3a activates the NLRP3 inflammasome. *Front Microbiol.* 2019; 10: 50.
97. Ahn M., Anderson D.E., Zhang Q., Tan C.W., Lim B.L., Luko K., et al. Dampened NLRP3-mediated inflammation in bats and implications for a special viral reservoir host. *Nat. Microbiol.* 2019; 4 (5): 789–99.
98. Ng W.F., To K.F., Lam W.W., Ng T.K., Lee K.C. The comparative pathology of severe acute respiratory syndrome and avian influenza A subtype H5N1 – a review. *Hum. Pathol.* 2006; 37 (4): 381–90.
99. Nicholls J., Dong X.P., Jiang G., Peiris M. SARS: clinical virology and pathogenesis. *Respirology.* 2003; 8 (Suppl): S6–8.
100. Peiris J.S., Chu C.M., Cheng V.C., Chan K.S., Hung I.F., Poon L.L., et al. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *Lancet.* 2003; 361 (9371): 1767–72.
101. Chen J., Lau Y.F., Lamirande E.W., Paddock C.D., Bartlett J.H., Zaki S.R., et al. Cellular immune responses to severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection in senescent BALB/c mice: CD4+ T cells are important in control of SARS-CoV infection. *J. Virol.* 2010; 84 (3): 1289–301.
102. Bao L., Deng W., Huang B., Gao H., Ren L., Wei Q., et al. The Pathogenicity of 2019 Novel Coronavirus in hACE2 Transgenic Mice. *bioRxiv.* 2020.02.07.939389.
103. Tynell J., Westenius V., Ronkko E., Munster V.J., Melen K., Osterlund P., et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus shows poor replication but significant induction of antiviral responses in human monocyte-derived macrophages and dendritic cells. *J. Gen. Virol.* 2016; 97 (2): 344–55.
104. Zhou H., Zhao J., Perlman S. Autocrine interferon priming in macrophages but not dendritic cells results in enhanced cytokine and chemokine production after coronavirus infection. *mBio.* 2010; 1 (4).
105. Law H.K., Cheung C.Y., Ng H.Y., Sia S.F., Chan Y.O., Luk W., et al. Chemokine up-regulation in SARS-coronavirus-infected, monocyte-derived human dendritic cells. *Blood.* 2005; 106 (7): 2366–74.
106. Cheung C.Y., Poon L.L., Ng I.H., Luk W., Sia S.F., Wu M.H., et al. Cytokine responses in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected macrophages *in vitro*: possible relevance to pathogenesis. *J. Virol.* 2005; 79 (12): 7819–26.
107. Roberts A., Paddock C., Vogel L., Butler E., Zaki S., Subbarao K. Aged BALB/c mice as a model for increased severity of severe acute respiratory syndrome in elderly humans. *J. Virol.* 2005; 79 (9): 5833–8.
108. Nagata N., Iwata N., Hasegawa H., Fukushi S., Harashima A., Sato Y., et al. Mouse-passaged severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus leads to lethal pulmonary edema and diffuse alveolar damage in adult but not young mice. *Am. J. Pathol.* 2008; 172 (6): 1625–37.
109. Zhao J., Van Rooijen N., Perlman S. Evasion by stealth: inefficient immune activation underlies poor T cell response and severe disease in SARS-CoV-infected mice. *PLoS Pathog.* 2009; 5 (10): e1000636.
110. Yang Y., Xiong Z., Zhang S., Yan Y., Nguyen J., Ng B., et al. Bcl-xL inhibits T-cell apoptosis induced by expression of SARS coronavirus E protein in the absence of growth factors. *Biochem. J.* 2005; 392 (Pt 1): 135–43.
111. Zhou T., Wang H., Luo D., Rowe T., Wang Z., Hogan R.J., et al. An exposed domain in the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein induces neutralizing antibodies. *J. Virol.* 2004; 78 (13): 7217–26.
112. Enjuanes L., Zuniga S., Castano-Rodriguez C., Gutierrez-Alvarez J., Canton J., Sola I. Molecular basis of coronavirus virulence and vaccine development. *Adv. Virus Res.* 2016; 96: 245–86.
113. Ng O.W., Chia A., Tan A.T., Jari R.S., Leong H.N., Bertoletti A., et al. Memory T cell responses targeting the SARS coronavirus persist up to 11 years post-infection. *Vaccine.* 2016; 34 (17): 2008–14.
114. Yang L.T., Peng H., Zhu Z.L., Li G., Huang Z.T., Zhao Z.X., et al. Long-lived effector/central memory T-cell responses to severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) S antigen in recovered SARS patients. *Clin. Immunol.* 2006; 120 (2): 171–8.
115. Channappanavar R., Fett C., Zhao J., Meyerholz D.K., Perlman S. Virus-specific memory CD8 T cells provide substantial protection from lethal severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *J. Virol.* 2014; 88 (19): 11 034–44.
116. Mubarak A., Alturaiki W., Hemida M.G. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): infection, immunological response, and vaccine development. *J. Immunol. Res.* 2019; 2019: 6491738.
117. Xu J., Jia W., Wang P., Zhang S., Shi X., Wang X., et al. Antibodies and vaccines against Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Emerg. Microbes Infect.* 2019; 8 (1): 841–56.
118. Du L., Zhao G., Lin Y., Sui H., Chan C., Ma S., et al. Intranasal vaccination of recombinant adeno-associated virus encoding receptor-binding domain of severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) spike protein induces strong mucosal immune responses and provides long-term protection against SARS-CoV infection. *J. Immunol.* 2008; 180 (2): 948–56.
119. Kim M.H., Kim H.J., Chang J. Superior immune responses induced by intranasal immunization with recombinant adenovirus-based vaccine expressing full-length Spike protein of Middle East respiratory syndrome coronavirus. *PLoS One.* 2019; 14 (7): e0220196.
120. Lan J., Yao Y., Deng Y., Chen H., Lu G., Wang W., et al. recombinant receptor binding domain protein induces partial protective immunity in rhesus macaques against Middle East respiratory syndrome coronavirus challenge. *EBioMedicine.* 2015; 2 (10): 1438–46.
121. Wang L., Shi W., Joyce M.G., Modjarrad K., Zhang Y., Leung K., et al. Evaluation of candidate vaccine approaches for MERS-CoV. *Nat. Commun.* 2015; 6: 7712.
122. Jimenez-Guardeno J.M., Regla-Nava J.A., Nieto-Torres J.L., DeDiego M.L., Castano-Rodriguez C., Fernandez-Delgado R., et al. Identification of the mechanisms causing reversion to virulence in an attenuated SARS-CoV for the design of a genetically stable vaccine. *PLoS Pathog.* 2015; 11 (10): e1005215.
123. Ma C., Li Y., Wang L., Zhao G., Tao X., Tseng C.T., et al. Intranasal vaccination with recombinant receptor-binding domain of MERS-CoV spike protein induces much stronger local mucosal immune responses than subcutaneous immunization: Implication for designing novel mucosal MERS vaccines. *Vaccine.* 2014; 32 (18): 2100–8.
124. Muth D., Corman V.M., Meyer B., Assiri A., Al-Masri M., Farah M., et al. Infectious Middle East respiratory syndrome coronavirus excretion and serotype variability based on live virus isolates from patients in Saudi Arabia. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53 (9): 2951–5.
125. Wang S.F., Tseng S.P., Yen C.H., Yang J.Y., Tsao C.H., Shen C.W., et al. Antibody-dependent SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014; 451 (2): 208–14.
126. Yasui F., Kai C., Kitabatake M., Inoue S., Yoneda M., Yokochi S., et al. Prior immunization with severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus (SARS-CoV) nucleocapsid protein causes severe pneumonia in mice infected with SARS-CoV. *J. Immunol.* 2008; 181 (9): 6337–48.
127. Zumla A., Chan J.F., Azhar E.I., Hui D.S., Yuen K.Y. Coronaviruses - drug discovery and therapeutic options. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2016; 15 (5): 327–47.
128. Alshahrani M.S., Sindi A., Alshamsi F., Al-Omari A., El Tahan M., Alahmadi B., et al. Extracorporeal membrane oxygenation for severe Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Ann. Intensive Care.* 2018; 8 (1): 3.
129. Russell C.D., Millar J.E., Baillie J.K. Clinical evidence does not support corticosteroid treatment for 2019-nCoV lung injury. *Lancet.* 2020; 395 (10 223): 473–5.
130. Kui L., Fang Y.Y., Deng Y., Liu W., Wang M.F., Ma J.P., et al. Clinical characteristics of novel coronavirus cases in tertiary hospitals in Hubei Province. *Chin. Med. J. (Engl.)*. 2020; Feb 7.
131. Strayer D.R., Dickey R., Carter W.A. Sensitivity of SARS/MERS CoV to interferons and other drugs based on achievable serum concentrations in humans. *Infect. Disord. Drug Targets.* 2014; 14 (1): 37–43.

132. Cheng Y., Wong R., Soo Y.O., Wong W.S., Lee C.K., Ng M.H., et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2005; 24 (1):44–6.
133. Sui J., Li W., Roberts A., Matthews L.J., Murakami A., Vogel L., et al. Evaluation of human monoclonal antibody 80R for immunoprophylaxis of severe acute respiratory syndrome by an animal study, epitope mapping, and analysis of spike variants. *J. Virol.* 2005; 79 (10): 5900–6.
134. Houser K.V., Gretebeck L., Ying T., Wang Y., Vogel L., Lamirande E.W., et al. Prophylaxis with a Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)-specific human monoclonal antibody protects rabbits from MERS-CoV infection. *J. Infect. Dis.* 2016; 213 (10): 1557–61.
135. van Doremalen N., Falzarano D., Ying T., de Wit E., Bushmaker T., Feldmann F., et al. Efficacy of antibody-based therapies against Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) in common marmosets. *Antiviral Res.* 2017; 143: 30–7.
136. Pascal K.E., Coleman C.M., Mujica A.O., Kamat V., Badithe A., Fairhurst J., et al. Pre- and postexposure efficacy of fully human antibodies against Spike protein in a novel humanized mouse model of MERS-CoV infection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2015; 112 (28): 8738–43.
137. Ying T., Li H., Lu L., Dimitrov D.S., Jiang S. Development of human neutralizing monoclonal antibodies for prevention and therapy of MERS-CoV infections. *Microbes Infect.* 2015; 17 (2): 142–8.
138. Tian X., Li C., Huang A., Xia S., Lu S., Shi Z., et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *bioRxiv.* 2020: 2020.01.28.923011.
139. Zhang L., Liu Y. Potential interventions for novel coronavirus in China: a systematic review. *J. Med. Virol.* 2020; 92 (5): 479–90. DOI: 10.1002/jmv.25707.