

• 新型冠状病毒肺炎 •

洛匹那韦 / 利托那韦 (LPV/r) 用于 2019 新型冠状病毒肺炎的治疗可能性: 基于既往冠状病毒肺炎研究的快速系统评价

江华^{1,2} 邓洪飞¹ 王宇¹ 刘展¹ 孙明伟^{1,2} 周平^{1,3} 夏琪^{1,4} Charles Damien Lu¹ 曾俊^{1,2}

¹ 电子科技大学附属医院 四川省人民医院 急诊医学与灾难医学研究所; ² 电子科技大学附属医院 四川省人民医院四川省人民医院急救中心; ³ 电子科技大学附属医院 四川省人民医院 急诊 ICU; ⁴ 电子科技大学附属医院 四川省人民医院护理部, 成都 610072
通信作者: 曾俊, Email: cdjianghua@qq.com

【摘要】目的 本研究旨在系统评价基于既往冠状病毒肺炎的研究, 进而探索洛匹那韦 / 利托那韦(LPV/r)用于 2019 新型冠状病毒肺炎的临床可行性。方法 在计算机检索中国期刊全文数据库(CNKI)、维普中文科技期刊全文数据库(VIP)、万方数据库(Wangfang Data)、中国生物医学文献数据库(CBM)、PubMed、Web of Science、EMBASE 等数据库检索相关研究。此外, 检索中文医药类报刊、WHO 以及美国和中国 CDC 网站、已发表文献的相关参考文献等作为辅助。检索时间范围为 2003 年 1 月到 2020 年 1 月 24 日。研究纳入标准: 研究纳入标准: (1) 研究为比较洛匹那韦 / 利托那韦与安慰剂 / 标准治疗方案用于严重急性呼吸综合征(SARS)、中东综合征(MERS)患者; (2) 临床结局进行评价临床队列研究和病例-对照研究; (3) 诊断根据 WHO 公布的确诊或疑似 SARS 或 MERS 病例的诊断标准, 但不排除流行初期诊断为感染的病例; (4) 对同一研究多次发表的报告, 我们从提供最详细信息的报告中提取资料; (5) 指南性文件, 包括: 临床指南、国家级学会 / 团体的专家共识。排除标准: (1) 仅有摘要无全文的文献资料以及数据不完整无法利用的文献; (2) 离体细胞试验。两名评价员独立提取研究设计、对象及诊断标准、干预方案、结局(包括死亡、并发症、症状、生活质量、激素的使用、胸部影像及药物不良反应)等资料进行统计分析。结果 通过文献检索, 发现潜在相关文章 230 篇, 初筛后获得 44 篇文章, 最终纳入 4 个研究。结果提示 LPV/r 的药物方案的早期应用能够降低 SARA 患者病死率, 减少糖皮质激素用量, 对控制患者治疗后期并发症具有重要意义。结论 LPV/r 可以作为一种试验性疗法用于 2019-nCoV 肺炎(尤其是新发感染者)的抗病毒治疗, 并应该为此尽快开展真实世界临床研究, 进一步探索 LPV/r 早期用于 2019-nCoV 新型肺炎的临床效应。

【关键词】 2019 新型冠状病毒; 洛匹那韦 / 利托那韦; 抗病毒治疗; 真实世界临床研究

基金项目: 国家卫健委急诊医学重点专科建设项目、四川省科技厅科技支撑计划项目及重点研究项目(2014FZ0125、2019YFS0534)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2020.02.0011

The possibility of using Lopinave/Litonawe (LPV/r) as treatment for novel coronavirus 2019-nCoV pneumonia: a quick systematic review based on earlier coronavirus clinical studies

Jiang Hua^{1,2}, Deng Hongfei¹, Wang Yu¹, Liu Zhan¹, Sun Mingwei^{1,2}, Zhou Ping^{1,3}, Xia Qi^{1,4}, Charles Damien Lu¹, Zeng Jun^{1,2}

¹Institute for Emergency and Disaster Medicine, Sichuan Provincial People's Hospital, School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610072 China; ²Emergency Medical Center, Sichuan Provincial People's Hospital, School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610072 China; ³Emergency Intensive Care Unit, Sichuan Provincial People's Hospital, School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China,

Chengdu 610072 China;⁴Nursing Department, Sichuan Provincial People's Hospital, School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610072 China
Corresponding author: Zeng Jun, Email: cdjianghua@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the possibility of using Lopinave/Litonawe (LPV/r) as treatment for novel coronavirus 2019-nCoV pneumonia by systematically review earlier coronavirus studies. **Methods** Systematically retrieve relevant clinical studies from Chinese and English databases such as CNKI, VIP, Wangfang Data, CBM, PubMed, Web of Science, EMBASE. In addition, information from Chinese biomedical journals, WHO, US CDC, Chinese CDC websites and the references from published relevant articles were retrieved. The inclusion period is from January 2003 to January 24, 2020. The criteria for inclusion are: (1) studies that aim to compare LPV/r and placebo/standard for SARS, MERS; (2) studies that include at least one clinical outcome; (3) studies with diagnosis criteria meeting WHO requirement on SARS or MERS; (4) data from multiple reports but originated from one study, where we extract information from all reports; (5) guidelines, includes: national or academic guidelines/experts' consensus. The exclude criteria are: 1) only have abstracts but no full information; 2) in vitro studies. Two reviewers independently review articles and extract data on study design, patients, diagnosis criteria, regimen, and clinical outcomes (mortality, morbidity, quality of life, steroids dosage, chest image and adverse responses). **Results** Two hundred and thirty potential article were found by screening, and narrow down to forty-four articles for evaluation and finally four studies were included. The results of included studies indicate the early use of LPV/r regimen can reduce the mortality of SARS and MERS, and reduce steroids dosing. **Conclusions** LPV/r can be used as a component of experimental regimen for treat 2019-nCoV pneumonia. It strongly suggests that initiating real world studies to explore the true clinical effects of LPV/r on 2019-nCoV patients.

【Keywords】 2019-nCoV; Lopinave/Litonawe (LPV/r); S¹ Anti-virus regimen; Systematical review; Real world study

Fund program: State Key Project for Emergency Medicine Department by National Health Commission of the People's Republic of China; Science and Infrastructure Program by Department of Science and Technology of Sichuan Province(2014FZ0125 and 2019YFS0534)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2020.02.0011

2019 年 12 月 12 日在湖北省武汉市发现了首例由新型冠状病毒引起的肺炎, 随后出现多名华南海鲜市场暴露史和家庭聚集的患者, 后研究人员证实该肺炎由一种新型冠状病毒所致^[1]。2020 年 1 月 12 日, 世界卫生组织将该新型冠状病毒命名为 2019 新型冠状病毒(2019-nCoV)。随着疫情的进一步蔓延, 无华南市场暴露史的病例和无武汉旅行史的病例在进一步增加, 截止 2020 年 1 月 23 日 24 时, 全国累计报告新型冠状病毒感染的肺炎确诊病例共计 850 例, 重症 177 例, 死亡 25 例(并已出现武汉以外的死亡病例)^[2]。现该疾病已被纳入乙类传染病, 采取甲类管理。根据国家卫健委发布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(第三版)》^[3], 目前主要是针对患者症状进行对症治疗, 尚无有效的抗病毒药物。寻找到合适的抗病毒药物、以及合理的用药时机, 对于治疗患者、控制疫情的蔓延、降低病死率具有重要意义。在国家卫健委的第三版版诊疗方案中提到: 可尝试使用 α -干扰素雾

化吸入或洛匹那韦/利托那韦(LPVR)进行抗病毒治疗。

冠状病毒(Coronaviruses, CoVs)是一种有包膜的正单链 RNA 病毒, 其包膜有特有的太阳帽状刺突。冠状病毒亚科被分为 α 、 β 、 γ 和 δ 四个属, 此前的中东综合征相关冠状病毒(MERSr-CoV)、严重急性呼吸综合征相关冠状病毒(SARSr-CoV)以及本次 2019-nCoV 均属于 β 属冠状病毒。冠状病毒包膜表面可见到膜蛋白(membrane protein, M 或 E1)、突起蛋白(spike protein, S 或 E2)和 E 蛋白(envelope protein)三种膜糖蛋白。其中, M 蛋白决定并影响病毒出芽, S 蛋白通过于敏感细胞(如呼吸道上皮细胞)的受体结合引发急性细胞感染。此外, 病毒颗粒中央的病毒基因组上结合有核壳体蛋白(nucleocapsid protein, N)也是主要结构蛋白之一, 与病毒 RNA 复制和病毒的出芽、成熟相关^[4]。冠状病毒是所有 RNA 病毒中最长的, 长约 30kb, 其 5' 端帽子结构之后有 60-80 个碱基

的先导序列和 200–500 个碱基的非编码区，3' 端有 poly (A) 尾。这一结构与真核 mRNA 十分相似，是 RNA 自身即可发挥翻译模板作用的结构基础^[5,6]。

LPV/r 作为一种在抗 HIV 治疗中应用多年的蛋白酶抑制剂，人们对于其在抑制 RNA 病毒复制中的机理已有充分认识。LPV/r 是由洛匹那韦和利托那韦共同组成的一种复方制剂，其中的洛匹那韦用于阻止 HIV 的 Gag-Pol 聚蛋白分裂；利托那韦的作用位点是病毒的天冬氨酰蛋白酶，通过抑制 HIV 蛋白酶使该酶无法处理 Gag-Pol 多聚蛋白的前体。上述两种成分的共同作用下，导致病毒复制最终产生的是不具有再生能力的非成熟形态的 HIV 颗粒，从而达到降低 HIV 病毒载量的作用。同时，利托那韦还是洛匹那韦的增强剂，其可抑制 CYP3A 介导的洛匹那韦在肝脏的降解，从而在血液中产生更高的洛匹那韦浓度。

为了尽快给临床一线应用 LPV/r 治疗 2019-nCoV 感染者提供循证医学最佳证据，笔者开展了本研究。旨在通过检索 LPV/r 在既往冠状病毒感染疫情(即非典型肺炎-SARS 和中东呼吸综合征-MERS) 临床诊疗过程中的研究，探讨其在抗 2019-nCoV 中的作用。

1 资料与方法

1.1 检索策略

计算机检索中国期刊全文数据库 (CNKI)、维普中文科技期刊全文数据库 (VIP)、万方数据库 (Wangfang Data)、中国生物医学文献数据库 (CBM)、PubMed、Web of Science、EMBASE 等数据库，此外，检索了中文医药类报刊、WHO 以及美国和中国 CDC 网站、发表文献的参考文献。然后再用文献追溯和人工查阅文献等方法作为辅助。检索关键词包括非典型肺炎、非典、严重急性呼吸综合征、SARS、MERS、冠状病毒、洛匹那韦 / 利托那韦、Lopinavir/ritonavir、LPV/r 等，检索年限为 2003 年 1 月至 2020 年 1 月。各数据库的检索策略见表 1。

1.2 文献筛选

研究纳入标准：研究纳入标准：(1) 研究为比较洛匹那韦 / 利托那韦与安慰剂 / 标准治疗方案用于严重急性呼吸综合征 (SARS)、中东综合征 (MERS) 患者；(2) 临床结局进行评价临床队列研究和病例-对照研究；(3) 诊断根据 WHO 公布的确诊或疑似 SARS 或 MERS 病例的诊断标准，但不排除流行初期诊断为感染的病例；(4) 对同一研究多次发表的报告，我们从提供最详细信息的报告中提取资料；(5) 指南性文件，包括：临床指南、国家级学会 / 团体的专家共识。

表 1. 文献检索策略、数据库与关键词
Table 1 Literature retrieve strategy, databases and key words

数据库	检索策略
中国知网 (CNKI)	((克力芝)或(利托那韦/洛匹那韦)) 和(非典型肺炎)或(中东呼吸综合征) 或(冠状病毒)
维普数据库 (VIP)	((克力芝)或(利托那韦/洛匹那韦)) 和(非典型肺炎)或(中东呼吸综合征) 或(冠状病毒)
万方数据库	((克力芝)或(利托那韦/洛匹那韦)) 和(非典型肺炎)或(中东呼吸综合征) 或(冠状病毒)
中国生物医学文献数据库	((克力芝)或(利托那韦/洛匹那韦)) 和(非典型肺炎)或(中东呼吸综合征) 或(冠状病毒)
PubMed	(lopinavir[Title/Abstract]) AND SARS[Title/Abstract]; (lopinavir[Title/Abstract]) AND MERS[Title/Abstract]
Web of science	标题:(lopinavir) AND 标题:(SARS); 标题:(lopinavir) AND 标题:(MERS)
EMBASE	lopinavir:ab,ti AND sars:ab,ti; lopinavir:ab,ti AND mers:ab,ti

排除标准：(1) 仅有摘要无全文的文献资料以及数据不完整无法利用的文献；(2) 离体细胞试验。此外，本研究也纳入指南性文件，包括：临床指南、国家级学会 / 团体的专家共识。

1.3 文献质量评价

所有原始文献的纳入由 2 名评价员(江华, 邓洪飞) 独立进行，然后交叉核对，存在意见分歧时，由第 3 名研究者参与决定纳入与否。质量评价主要从是否报道了退出和失访、是否进行意向性分析、对比组间是否有可比性等方面进行，并采用 Newcastle-Ottawa-Scale (NOS) 工具对纳入的队列研究文献进行方法学质量评价。资料提取包括研究的样本量、基本情况、干预措施、用药种类、剂量、疗程、随访时间、受试者特征及结果。所有评价指标均用治疗后到随访时间点的有效人数和受试对象总人数表示。

1.4 资料提取与统计分析

两名评价员独立提取以下资料：研究设计、对象及诊断标准、干预方案、结局(包括纯亡、并发症、症状、生活质量、激素的使用、胸部影像及药物不良反应)。

2 结果

经过系统检索，有 230 篇文献进入初筛，经过去重、去除与冠状病毒治疗不相关的研究，并排除体外 / 动物实验后，最终有 4 个研究被纳入本系统评价。文献检索与筛选流程见图 1。

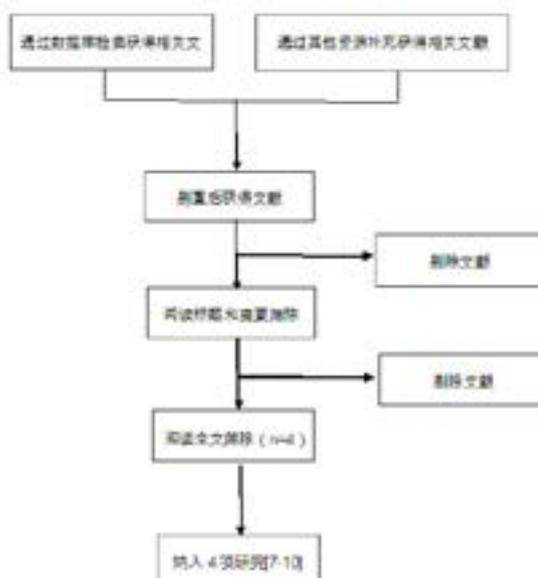


图 1 所示为文献检索与筛选流程

Fig1. Literature screening and selection

对于队列研究采用 Newcastle-Ottawa Scale (NOS) 评价量表对研究进行质量评价, 评价结果见表 2。

纳入研究的特征如表 3 所示, 包括两项队列研究 (均为针对 SARS 患者), 1 个病例报告及 1 项临床

表 2 纳入研究的质量评价结果

Table 2. The quality evaluation of included studies

纳入研究 / 年代	研究类型	1	2	3	4	5	6	7	8	总分
Chan/ 2003	队列研究	a	a	b	a	a	b	a	b	6
Chu/ 2003	队列研究	a	a	c	a	a	b	a	b	6

表 3 纳入研究的基本特征

Table 3. The characteristic of the included studies

研究名称 / 时间	研究类型	患者类型	药物组成	患者数量	LPV/r 早期治疗	LPV/r 抢救治疗	药物剂量	主要结局	次要结局	随访时间	不良反应 / 副作用
Chan/ 2003	队列研究	SARS	LPV/r	75	44	31	400 mg/100 mg, 1次/12h	早期治疗组总病死率下降	氧饱和度下降趋向	10 ~ 14 d	血清转氨酶升高, 血清淀粉酶升高
Chu/ 2003	队列研究	SARS	LPV/r 及利巴韦林	41	41	N/A	400 mg/100 mg, 1次/12h	ARDS 发生率明显降低	类固醇用量下降	21 d	肠胃不适、肝功能不全、头疼、视力模糊
Kim/ 2016	病例报告	MERS	LPV/r+ 干扰素- α 利巴韦林	1	N/A	N/A	400 mg/100 mg, 2 次/d	患者存活, 体温明显下降	N/A	N/A	N/A
Chong/ 2015	诊疗指南	MERS	Lopinavir / ritonavir	N/A	N/A	N/A	400 mg/100 mg, 1 次/12h	N/A	N/A	10	N/A

床指南 (后二者均为针对 MERS 患者)。

经过对纳入队列研究的质量评价, 结果显示质量较高见表 3。经过文献梳理, 发现已有多项研究的结果, 均倾向于 LPV/r 能对引起 SARS、MERS 等呼吸系统疾病的病毒起到抑制作用, 基于 LPV/r 的药物方案能够以极少量抑制 SARS 病毒的细胞变异作用。在 SARS 早期就使用 LPV/r 方案能够有效降低病死率, 晚期使用, 病死率显著增加^[7]。针对 MERS 患者, 也应尽早开展 LPV 治疗方案, 一直持续 10 d 同时笔者注意到有部分研究在治疗中采用了干扰素, 可能会损害骨髓造血功能, 需慎重使用^[10]。

3 讨论

本研究的第一个重要发现是, LPV/r 作为一种抑制病毒颗粒成熟的蛋白酶抑制剂在 2003 年 SARS 及其后 MERS 疫情爆发的临床治疗中, 被临床队列研究证实具有抗冠状病毒的效果。虽然从外部方法学特征看, 本研究纳入的原始研究均为队列研究, 其证据等级无法与高质量 RCT 相比, 然而就本病 (或本类疾病) 而言, 要求开展随机对照试验, 无论是从临床现实还是伦理学上, 都是不允许的。因此, 该等证据, 应被视为目前为止的最佳证据。

2003 年 SARS 爆发后, 一些研究者就开始筛选已

上市应用的抗病毒药物试验性的用于该病治疗,其中就包括了LPV/r^[5-8]。目前,已知感染人类的冠状病毒共有7个,其中SARS冠状病毒(SARS-CoV)、中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)以及本次发现的2019-nCoV对人类危险性最大。基因组研究表明,2019-nCoV与SARS-CoV、MERS-CoV的全基因组对比发现有~70%和~40%的序列相似性,且2019-nCoV通过S-蛋白与ACE2蛋白的相互作用从而感染呼吸道上皮细胞,并在结构上维持了SARS-CoV的S-蛋白与ACE2蛋白相互作用的结构构象^[1,11]。由以上证据,笔者认为目前病毒的蛋白结构已经明确,且与SARS/MERS有很多共同之处,加之LPV/r与SARS病毒有明确结合位点^[12]。因此,可以推断,LPV/r用于SARS、MERS的治疗经验与证据,对于其用于2019-nCoV冠状病毒的抗病毒治疗是有极大借鉴意义的。

在现有证据中提示的重要线索还包括,LPV/r的抗冠状病毒效果主要显现于早期应用,可降低患者病死率和减少糖皮质激素用量。但若错过了早期治疗窗,晚期应用则其并无显著疗效。综上所述,LPV/r可以作为一种试验性疗法用于新型冠状病毒治疗,尤其是用于新发感染者的早期治疗。并值得立即快速开展真实世界临床研究(即对无用药禁忌症的新发感染者进行试验性用药治疗,并采用回顾性数据进行匹配对照),笔者推测,这对于减少患者病死率和激素相关副作用,将是十分重要的。

总之,笔者建议将LPV/r作为一线治疗用药纳入更新版的治疗指南,并在患者确诊后尽早开始治疗,建议治疗剂量为LPV/r 400 mg/100 mg,1次/12 h,治疗周期不少于10 d。并尽快基于真实世界研究方法,开展临床验证研究。

致谢:北京计算科学研究中心研究生雷成,电子科技大学医学院研究生陈欣、李庭、李地欢,川北医学院研究生王璐的文献检索以及文稿修改,中国医学科学院北京协和医院临床营养科陈伟教授,四川大学基础与法医学院彭谨教授的指导与帮助。

参 考 文 献

- [1] Xu XT, Chen P, Wang JF, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission[J/OL]. *Sci China Life Sciences*:1-4[2020-01-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5841.Q.20200121.1917.002.html>.
- [2] 中华人民共和国国家卫生与健康委员会. 2020年1月24日新型冠状病毒感染的肺炎疫情情况 <http://www.nhc.gov.cn/xcs/yqfkdt/202001/c5da49c4c5bf4bcfb320ec2036480627.shtml>.
- [3] 中华人民共和国国家卫生与健康委员会. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案. http://110.191.181.102/2Q2W68EB31C8F7C97E4DDC87F558C206114B4224F334_unknown_B21873A523424FE80FACA9920AB57B014EBEFF98_10/www.nhc.gov.cn/zycgj/s7653p/202001/f492c9153ea9437bb587ce2ffcbce1fa/files/39e7578d85964d8e81117736dd789d8f.pdf.
- [4] Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis[J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1282:1-23. DOI: doi:10.1007/978-1-4939-2438-7_1.
- [5] 向倩, 王睿, 周筱青. 冠状病毒感染特点与防治[J]. *中国药物应用与监测*, 2003, 18(5):1097-1100.
- [6] 芮伟, 张其鹏, 石磊, 等. SARS冠状病毒基因组、蛋白质与侵入宿主细胞过程的研究近况[J]. *中华医学杂志*, 2003(11):21-29. DOI: 10.3760/j.issn:0376-2491.2003.11.005.
- [7] Chan K, Lai S, Chu C, et al. Treatment of severe acute respiratory syndrome with lopinavir/ritonavir: A multicentre retrospective matched cohort study[J]. *Hong Kong Med J*, 2003, 9(6):399-406.
- [8] Chu MC. Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings[J]. *Thorax*, 2004, 59(3):252-256. DOI: 10.1136/thorax.2003.012658.
- [9] Kim UJ, Won EJ, Kee SJ, et al. Combination therapy with lopinavir/ritonavir, ribavirin and interferon-alpha for Middle East respiratory syndrome: a case report[J]. *Antiviral Therapy*, 2015, 21(5):455-459. DOI: 10.3851/IMP3002.
- [10] Pil CY, Young SJ, Bin SY, et al. Antiviral treatment guidelines for middle east respiratory syndrome[J]. *Infect Chemother*, 2015, 47(3):212-222. DOI: 10.3947/ic.2015.47.3.212.
- [11] 陈嘉源, 施劲松, 丘栋安, 等. 武汉2019冠状病毒基因组的生物信息学分析[J]. *生物信息学*. 2020-01-20. DOI:10.12113/202001007.
- [12] Nukoolkarn V1, Lee VS, Malaisree M, et al. Molecular dynamic simulations analysis of ritonavir and lopinavir as SARS-CoV 3CL(pro) inhibitors[J]. *J Theor Biol*, 2008, 254(4): 861-867. DOI: 10.1016/j.jtbi.2008.07.030.

(收稿日期: 2020-01-24)

(本文编辑: 何小军)