(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117015375 A
(43)申请公布日 2023.11.07

(21)申请号 202180059368.3

(22)申请日 2021.05.27

(30)优先权数据
63/031551 2020.05.28 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.01.28

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/034494 2021.05.27

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/243007 EN 2021.12.02

(71)申请人 福尔医学公司
地址 美国加利福尼亚州
申请人 理查德·L·张 本·Y·张

(72)发明人 理查德·L·张 本·Y·张

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 任晓华 梅黎

(51)Int.Cl.
A61K 31/047(2006.01)

权利要求书17页 说明书60页

(54)发明名称

用于治疗由冠状病毒引起的急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和炎性病症的组合物和方法

(57)摘要

提供了含有佛波酯或佛波酯衍生物的方法和组合物,其用于预防和治疗突发性急性呼吸综合征(SARS)冠状病毒感染,包括SARS-CoV-2感染和相关的COVID-19疾病。还提供了方法和组合物,其用于预防和治疗急性炎性状况和相关致病性损害,包括在严重SARS-CoV-2/COVID-19病例中可见的急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和细胞因子风暴综合征(CSS)。

CN 117015375 A

1.一种用于治疗或预防哺乳动物受试者中的突发性急性呼吸综合征(SARS)冠状病毒感染的方法,其包括:向处于SARS冠状病毒感染的升高风险中、或呈现有活动性SARS冠状病毒感染的受试者施用抗病毒有效量的TPA化合物,以在所述受试者中引起显著的临床上治疗或预防性的抗病毒应答,其足以预防或减少所述受试者中的SARS病毒感染和/或减少或消除可检测到的SARS病毒载量。

2.权利要求1的方法,其中所述SARS冠状病毒是选自SARS-CoV-2(COVID-19)、SARS-CoV和中东呼吸综合征(MERS)冠状病毒的人SARS(hSARS)冠状病毒。

3.权利要求2的方法,其中所述hSARS冠状病毒是SARS-CoV-2(COVID-19)。

4.权利要求1的方法,其中所述抗病毒TPA化合物在受试者中有效引发抗病毒应答,其足以预防或减少SARS-CoV-2病毒感染和/或减少或消除SARS病毒载量化合物,并且同时预防或减少COVID-19疾病的一种或多种临床症状。

5.权利要求1的方法,其中所述TPA化合物以一定的量和剂型进行施用,所述量和剂型有效减少或消除选自以下的SARS冠状病毒感染严重程度的一种或多种指标:1)受试者的上呼吸道或下呼吸道细胞、组织或样品中的病毒载量或滴度;2)受试者的非呼吸系统ACE-2阳性细胞、组织或样品,或者受试者的血浆中的病毒载量或滴度;3)病毒附着和/或进入肺或其它组织/细胞内;4)受试者的肺或者其它ACE-2阳性细胞、组织或器官中的病毒复制;和/或5)来自受感染的受试者的上呼吸道组织或样品的病毒脱落,所述指标各自可通过与一个或多个可比较的、安慰剂治疗的对照受试者中相同指数的发生率或值相比,观察或测量一个或多个TPA治疗的受试者中的受试者指数的发生率或值来确定。

6.权利要求1的方法,其中所述SARS冠状病毒是选自SARS-CoV-2(COVID-19)、SARS-CoV和中东呼吸综合征(MERS)冠状病毒的人SARS(hSARS)冠状病毒,并且其中所述TPA化合物有效减少所述受试者的上呼吸道和/或下呼吸道中的hSARS病毒载量或滴度。

7.权利要求1的方法,其中所述SARS病毒是选自SARS-CoV-2(COVID-19)、SARS-CoV和中东呼吸综合征(MERS)冠状病毒的人SARS(hSARS)冠状病毒,并且其中所述TPA化合物有效减少所述受试者的非呼吸系统ACE-2阳性细胞、组织或器官中的hSARS病毒载量或滴度。

8.权利要求1的方法,其中所述SARS病毒是SARS-CoV-2(COVID-19),并且其中所述抗病毒TPA化合物在受试者中有效引发抗病毒应答,其预防或减少SARS-CoV-2病毒感染和/或减少或消除SARS病毒载量,如通过从受感染的受试者治疗前和治疗后获取的鼻咽拭子样品中的SARS-CoV-2DNA或SARS-CoV-2水平的其它定量测量所确定的、或者通过比较合适的测试和对照样品所确定的。

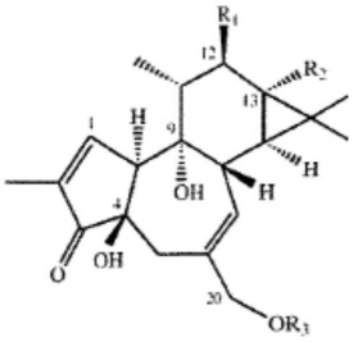
9.权利要求8的方法,其中在来自个体或治疗的患者组的治疗前和治疗后样品之间、或在治疗和安慰剂治疗的对照受试者之间进行比较的,如通过鼻咽拭子样品中的SARS-CoV-2DNA或SARS-CoV-2病毒载量的其它定量测量所确定的病毒载量,在治疗的受试者中平均降低了25-50%或更多。

10.权利要求8的方法,其中在来自个体或治疗的患者组的治疗前和治疗后样品之间、或在治疗和安慰剂治疗的对照受试者之间进行比较的,如通过鼻咽拭子样品中的SARS-CoV-2DNA或SARS-CoV-2病毒载量的其它定量测量所确定的病毒载量,在治疗的受试者中平均降低了75-95%或更多。

11.权利要求8的方法,其中如通过来自在TPA治疗前筛查为SARS-CoV-2感染阳性的受

试者的鼻咽拭子样品中的SARS-CoV-2DNA或SARS-CoV-2载量的其它定量测量所确定的病毒载量，在至少50％的TPA治疗的受试者中，在TPA治疗后两周内降低了100％(对应于上呼吸道中可检测到的SARS-CoV-2病毒的完全清除，指示了非传染性状态)。

12.权利要求1的方法，其中所述抗病毒TPA化合物选自下式I的化合物以及其抗病毒活性类似物、衍生物、复合物、缀合物、盐、对映异构体和混合物：

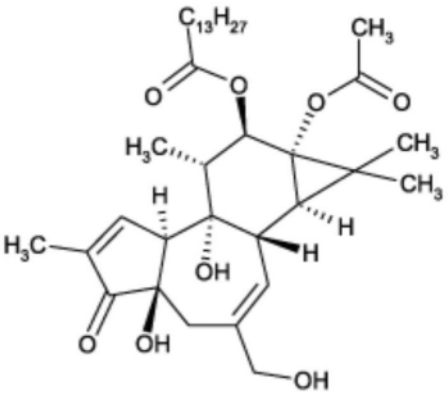


式 I

其中R_1和R_2选自氢；，其中所述烷基含有1至15个碳原子，，，，及其取代衍生物，并且R_3可以是氢、或其取代衍生物，

其中所述“低级烷基”或“低级烯基”可以含有1-7个碳，并且可以是直链或支链的，并且是任选地未取代的，或者由氯、氟或另一种卤素，或者硝基、氨基或其它活性官能团取代的。

13.权利要求1的方法，其中所述抗病毒TPA化合物选自下式I以及其抗病毒活性类似物、衍生物、复合物、缀合物、盐、对映异构体和混合物。



式 II

14.权利要求1的方法，其中所述抗病毒TPA化合物是选自以下的佛波酯：佛波醇13-丁酸酯；佛波醇12-癸酸酯；佛波醇13-癸酸酯；佛波醇12,13-二乙酸酯；佛波醇13,20-二乙酸酯；佛波醇12,13-二苯甲酸酯；佛波醇12,13-二丁酸酯；佛波醇12,13-二癸酸酯；佛波醇12,13-二己酸酯；佛波醇12,13-二丙酸酯；佛波醇12-肉豆蔻酸酯；佛波醇13-肉豆蔻酸酯；佛波醇12,13,20-三乙酸酯；12-脱氧佛波醇13-当归酸酯；12-脱氧佛波醇13-当归酸酯20-乙酸

酯;12-脱氧佛波醇13-异丁酸酯;12-脱氧佛波醇13-异丁酸酯-20-乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-苯乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-苯乙酸酯20-乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-十四烷酸酯;佛波醇12-顺芷酸酯13-癸酸酯;12-脱氧佛波醇13-乙酸酯;佛波醇12-乙酸酯;佛波醇13-乙酸酯;以及其抗病毒活性类似物、衍生物、复合物、缀合物、盐、对映异构体和混合物。

15.权利要求1的方法,其中所述抗病毒TPA化合物是12-O-十四烷酰佛波醇-13-乙酸酯。

16.权利要求1的方法,其中所述SARS病毒是SARS-CoV-2(COVID-19),并且其中所述抗病毒TPA化合物在受试者最初诊断有SARS-CoV-2感染的2周内首次进行施用。

17.权利要求1的方法,其中所述SARS病毒是SARS-CoV-2(COVID-19),并且其中所述抗病毒TPA化合物在受试者最初诊断有SARS-CoV-2感染后7-10天首次进行施用。

18.权利要求1的方法,其中所述SARS病毒是SARS-CoV-2(COVID-19),并且其中所述抗病毒TPA化合物在处于升高风险中的受试者或已知感染的受试者表现选自以下的严重COVID-19疾病的一项或多项指数之前进行施用:1)持续超过2天的发烧;2)肺充血、发闷、呼吸短促和/或低氧血症的下呼吸道症状;3)与急性呼吸窘迫综合征(ARDS)相关的状况或症状,包括细胞因子风暴综合征(CSS);肺外全身性过度炎症综合征(ESHS),和/或4)与受试者中的严重的超免疫或过度炎症应答相关的另一种状况或症状,包括儿童炎症多系统综合征(PIMS);血管充血和血栓形成状况、弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风和/或血小板减少症。

19.权利要求1的方法,其中所述抗病毒TPA化合物与次级治疗或预防药物或药剂一起配制且同时施用,或者在具有次级治疗或预防药物或药剂的协调的、多药预防或治疗方案中协调地同时或序贯施用,所述次级治疗或预防药物或药剂选自:1)常规的抗病毒药物或药剂;2)抗ARDS药物或药剂;3)抗CSS药物或药剂,4)抗PIMS药物或药剂;5)抗ESHS药物或药剂;6)抗DAD药物或药剂;和/或7)抗炎、促免疫、抗细胞病变和/或促凋亡药物或药剂;及其组合。

20.权利要求8的方法,其中所述抗SARS-CoV2TPA化合物与次级抗病毒药物或药剂一起配制且同时施用,或者在具有次级抗病毒药物或药剂的协调的、多药预防或治疗方案中协调地同时或序贯施用。

21.权利要求20的方法,其中所述次级抗病毒药物或药剂选自:阿巴卡韦、阿昔洛韦、阿德福韦、金刚烷胺、安普利近、安普那韦(Agenerase)、阿比朵尔、阿扎那韦、Atripla、巴拉韦、巴洛沙韦玛波西酯(Xofluza)、必妥维、波普瑞韦(Victrelis)、西多福韦、可比司他(Tybost)、双汰芝、达卡他韦(Daklinza)、达芦那韦、地拉韦啶、达可挥、去羟肌苷、二十二烷醇、度鲁特韦、多拉韦林(Pifeltro)、Ecoliever、依度尿苷、依法韦仑、埃替拉韦、恩曲他滨、恩夫韦肽、恩替卡韦、依曲韦林(Intelence)、泛昔洛韦、福米韦生、福沙那韦、膦甲酸、膦乙酸、融合抑制剂、更昔洛韦(Cytovene)、伊巴他滨、伊巴珠单抗(Trogarzo)、碘苷、咪喹莫特、Imunovir、茚地那韦、肌苷、整合酶抑制剂、I型干扰素、II型干扰素、III型干扰素、拉米夫定、莱特莫韦(Prevymis)、洛匹那韦、洛韦胺、马拉韦罗、美替沙腙、吗啉胍、奈非那韦、奈韦拉平、Nexavir、硝唑尼特、诺韦、核苷类似物、奥司他韦(Tamiflu)、聚乙二醇干扰素α-2a、聚乙二醇干扰素α-2b、喷昔洛韦、帕拉米韦(Rapivab)、普可那利、鬼臼毒素、Pyramidine、拉替拉韦、瑞德西韦、逆转录酶抑制剂、利巴韦林、利匹韦林(Edurant)、金刚乙胺、利托那韦、沙

奎那韦、西咪匹韦(Olysio)、索非布韦、司他夫定、替拉瑞韦、替比夫定(Tyzeka)、替诺福韦艾拉酚胺、替诺福韦二吡呋酯、替诺福韦、替拉那韦、三氟胸苷、三协维、曲金刚胺、舒发泰、伐昔洛韦(Valtrex)、缬更昔洛韦、维立韦罗、阿糖腺苷、韦拉米啶、扎西他滨、扎那米韦(Relenza)和齐多夫定及其组合。

22.权利要求20的方法,其中所述次级抗病毒药物或药剂是抗ACE2药物或药剂。

23.权利要求20的方法,其中所述次级抗病毒药物或药剂是抗炎药物或药剂。

24.权利要求23的方法,其中所述抗炎药物或药剂选自非甾体抗炎药物(NSAID)。

25.权利要求24的方法,其中所述NSAID包括:阿司匹林、塞来昔布(Celebrex)、双氯芬酸(Cambia、Cataflam、Voltaren-XR、Zipsor、Zorvolex)、二氟尼柳、依托度酸、布洛芬(Motrin、Advil)、吲哚美辛(Indocin)、塞来昔布(Celebrex)、吡罗昔康(Feldene)、吲哚美辛(Indocin)、美洛昔康(MobicVivlodex)、酮洛芬(Orudis、KetoprofenER、Oruvail、Actron)、舒林酸(Clinoril)、二氟尼柳(Dolobid)、萘丁美酮(Relafen)、奥沙普秦(Daypro)、托美丁(TolmetinSodium、Tolectin)、双水杨酯(Disalcid)、非诺洛芬(Nalfon)、氟比洛芬(Ansaid)、酮咯酸(Toradol)、甲氯芬那酯、甲芬那酸(Ponstel)及其组合。

26.权利要求20的方法,其中所述次级抗病毒药物或药剂是细胞因子抑制剂药物或药剂。

27.权利要求26的方法,其中所述细胞因子抑制剂药物或药剂有效抑制或降低一种或多种促炎细胞因子靶的诱导、合成、激活和/或循环水平,所述促炎细胞因子靶选自:(IL)-1B;IL-2;IL-6,IL-7;IL-8;IL-9;IL-10;成纤维细胞生长因子(FGF);粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF);IFNγ;粒细胞集落刺激因子(G-CSF);干扰素-γ-诱导蛋白(IP10);单核细胞趋化蛋白(MCP1);巨噬细胞炎症蛋白1α(MIP1A);血小板衍生生长因子(PDGF);肿瘤坏死因子(TNFα);以及血管内皮生长因子(VEGF)及其组合。

28.权利要求27的方法,其中用TPA化合物和细胞因子抑制剂药物的协调多药疗法是组合地有效的,以产生改善的、累加的、协同的和/或加强的治疗益处(与通过以相同剂量的单独的任一药物/药剂产生的益处相比),用于减少一种或多种促炎细胞因子靶的诱导、合成、激活和/或循环水平,所述促炎细胞因子靶关于SARS-CoV-2感染、COVID-19疾病、ARDS、SARS、CSS、PIMS、ESHS、DAD或者由SARS-CoV-2感染介导或加剧的另一种过度炎症状况是过度升高的。

29.权利要求20的方法,其中所述次级抗病毒药物或药剂是抗IL-6药物或生物制剂。

30.权利要求29的方法,其中所述抗IL-6药物或生物制剂是抗IL-6单克隆抗体或Fab片段、可溶性IL-6受体或受体类似物、或者其同源抗IL-6特异性结合或失活结构域。

31.权利要求30的方法,其中所述抗IL-6药物或生物制剂选自司妥昔单抗、沙利鲁单抗(Kevzara)和托珠单抗(TCZ)。

32.权利要求29的方法,其中所述抗IL-6药物或生物制剂是直接地阻断或抑制IL-6,或者间接地抑制、降低或改变IL-6的促炎活性的抗IL-6药物。

33.权利要求32的方法,其中所述抗IL-6药物是穿心莲内酯。

34.权利要求20的方法,其中所述次级抗病毒药物或药剂是激酶调节药物或药剂。

35.权利要求34的方法,其中所述激酶抑制剂是激酶调节药物或药剂,其直接地或间接地抑制、降低、激活或改变一种或多种激酶的免疫或炎症活性,所述激酶参与介导或压制炎

症应答，或者调控免疫和/或炎性效应细胞包括淋巴细胞、单核细胞/巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的分化、增殖、激活、炎性细胞因子合成和/或凋亡活性。

36.权利要求35的方法，其中所述激酶调节剂药物调节丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、janus激酶(JAK)和/或蛋白激酶C(PKC)。

37.权利要求36的方法，其中用TPA化合物和激酶调节剂药物协调治疗COVID-19疾病受试者在临床上减少与严重SARS-CoV-2感染相关的一种或多种疾病状况或症状，包括与ARDS、SARS、CSS、PIMS、ESHS和DAD相关的一种或多种状况或症状。

38.权利要求20的方法，其中所述次级抗病毒药物或药剂是抗SARS-CoV-2疫苗药剂。

39.权利要求20的方法，其中所述次级抗病毒药物或药剂是包含条件化天然杀伤(NK)细胞的组合物。

40.权利要求20的方法，其中所述次级抗病毒药物或药剂是包含条件化间充质干细胞(MSC)的组合物。

41.权利要求20的方法，其中所述次级抗病毒药物或药剂是重组干扰素。

42.权利要求20的方法，其中所述次级抗病毒药物或药剂是静脉配制的免疫球蛋白。

43.权利要求20的方法，其中所述次级抗病毒药物或药剂包含SARS-CoV-2特异性中和抗体、Fab片段或抗体结合结构域。

44.权利要求20的方法，其中所述次级抗病毒药物或药剂包含C5a特异性抗体、Fab片段或抗体结合结构域。

45.权利要求20的方法，其中所述次级抗病毒药物或药剂选自沙利度胺、芬戈莫德、抗血管生成药物、羟氯喹和糖皮质激素。权利要求1的方法，其抗病毒地有效介导涉及预防和/或治疗SARS-CoV-2病毒感染的一种或多种显著的临床益处，其选自：1)预防或减少上呼吸道中的病毒感染或滴度；2)预防或减少下呼吸道中的病毒感染或滴度；3)预防或减少非呼吸系统ACE-2阳性细胞和组织中的病毒感染或滴度；4)预防或减少病毒附着和进入肺及其它ACE-2阳性细胞和组织内；5)预防或减少肺及其它ACE-2阳性细胞和组织中的病毒复制；和/或7)预防或减少来自受感染的受试者的上呼吸道的病毒脱落。

46.一种用于治疗哺乳动物受试者中的急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的方法，其包括：向所述受试者施用抗ARDS有效量的TPA组合物，与在可比较的、安慰剂治疗的对照受试者中测量且确定的相同ARDS疾病指示剂/值相比，其足以预防、减少或消除治疗的受试者中的选自以下的一种或多种ARDS疾病状况和/或症状：1)呼吸困难；2)肺中的一种或多种促炎细胞因子的水平过度升高；3)肺实质和/或肺泡区室中的单核细胞/巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的水平过度升高；4)肺内皮和/或上皮屏障的降解或破坏；5)可通过肺中的活性氧类(ROS)的水平升高确定的，肺组织中的氧化性应激的指标升高；和/或6)选自以下的肺损害的一种或多种致病症状：过度炎症、纤维化、弥漫性肺泡损伤(DAD)、巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞浸润到肺实质内、巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞浸润到肺毛细血管内、在肺间质或实质中的广泛的嗜中性粒细胞胞外陷阱(NET)沉积、肺和/或冠状血管血栓形成和血管炎。

47.权利要求46的方法，其中所述ARDS由以下引起：呼吸系统病毒或细菌感染、对肺的热或化学烧伤、肺外伤、或者触发免疫功能障碍或介导广泛的肺损害和功能障碍的超免疫应答的另一种疾病或损害。

48.权利要求46的方法，其中所述ARDS由突发性急性呼吸综合征(SARS)冠状病毒引起。

49.权利要求48的方法，其中所述SARS冠状病毒是选自SARS-CoV-2(COVID-19)、SARS-CoV和中东呼吸综合征(MERS)冠状病毒的人SARS(hSARS)冠状病毒。

50.权利要求46的方法，其中所述抗ARDSTPA化合物有效预防或减少受ARDS影响的受试者中的呼吸困难(费力呼吸、呼吸短促或呼吸不足)、低氧血症和/或需要呼吸机支持的发生率或严重程度。

51.权利要求46的方法，其中所述抗ARDSTPA化合物有效预防或减少肺、血浆或者与ARDS相关的过度炎症相联系的其它细胞、组织或区室中的一种或多种促炎细胞因子的水平过度升高和/或活性。

52.权利要求46的方法，其中所述一种或多种促炎细胞因子选自：(IL)-1B；IL-2；IL-6，IL-7；IL-8；IL-9；IL-10；成纤维细胞生长因子(FGF)；粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)；IFNγ；粒细胞集落刺激因子(G-CSF)；干扰素-γ-诱导蛋白(IP10)；单核细胞趋化蛋白(MCP1)；巨噬细胞炎症蛋白1α(MIP1A)；血小板衍生生长因子(PDGF)；肿瘤坏死因子(TNFα)；以及血管内皮生长因子(VEGF)及其组合。

53.权利要求46的方法，其中所述抗ARDSTPA化合物有效预防或减少受ARDS影响的受试者中的肺实质和/或肺泡区室中的单核细胞/巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的水平过度升高。

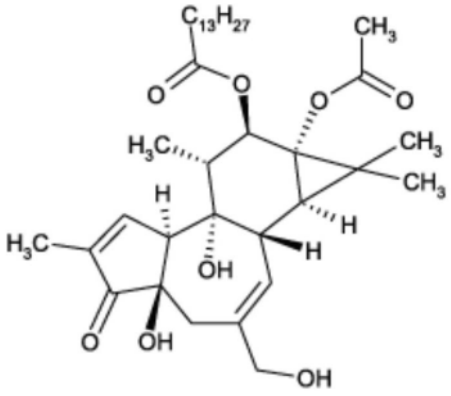
54.权利要求53的方法，其中所述抗ARDSTPA化合物有效预防或减少受ARDS影响的受试者中的肺实质、肺泡区室和/或肺血管中的嗜中性粒细胞的水平过度升高和相关的嗜中性粒细胞胞外陷阱(NET)沉积。

55.权利要求46的方法，其中所述抗ARDSTPA化合物有效预防或减少受ARDS影响的受试者中的肺内皮和/或上皮屏障的降解或破坏。

56.权利要求46的方法，其中所述抗ARDSTPA化合物有效预防或减少受ARDS影响的受试者的肺组织中的氧化性应激，包括通过减少肺中的活性氧类(ROS)。

57.权利要求46的方法，其中所述抗ARDSTPA化合物有效预防或减少受ARDS影响的受试者中的选自以下的肺损害的程度：过度炎症、纤维化、弥漫性肺泡损伤(DAD)、巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞浸润到肺实质内、巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞浸润到肺毛细血管内、在肺间质或实质中的广泛的嗜中性粒细胞胞外陷阱(NET)沉积、肺和/或冠状血管血栓形成和血管炎。

58.权利要求46的方法，其中所述抗ARDSTPA化合物选自下式I以及其抗ARDS活性类似物、衍生物、复合物、缀合物、盐、对映异构体和混合物。



式 II

59.权利要求46的方法,其中所述抗ARDSTPA化合物是选自以下的佛波酯:佛波醇13-丁酸酯;佛波醇12-癸酸酯;佛波醇13-癸酸酯;佛波醇12,13-二乙酸酯;佛波醇13,20-二乙酸酯;佛波醇12,13-二苯甲酸酯;佛波醇12,13-二丁酸酯;佛波醇12,13-二癸酸酯;佛波醇12,13-二己酸酯;佛波醇12,13-二丙酸酯;佛波醇12-肉豆蔻酸酯;佛波醇13-肉豆蔻酸酯;佛波醇12,13,20-三乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-当归酸酯;12-脱氧佛波醇13-当归酸酯20-乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-异丁酸酯;12-脱氧佛波醇13-异丁酸酯-20-乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-苯乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-苯乙酸酯20-乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-十四烷酸酯;佛波醇12-顺芷酸酯13-癸酸酯;12-脱氧佛波醇13-乙酸酯;佛波醇12-乙酸酯;佛波醇13-乙酸酯;以及其抗ARDS活性类似物、衍生物、复合物、缀合物、盐、对映异构体和混合物。

60.权利要求46的方法,其中所述抗ARDSTPA化合物是12-O-十四烷酰佛波醇-13-乙酸酯。

61.权利要求46的方法,其中所述ARDS由突发性急性呼吸综合征(SARS)-2(SARS-CoV-2或COVID-19)冠状病毒引起,并且其中所述抗ARDSTPA化合物在受试者最初诊断有SARS-CoV-2感染的2周内首次进行施用。

62.权利要求46的方法,其中所述ARDS由突发性急性呼吸综合征(SARS)-2(SARS-CoV-2或COVID-19)冠状病毒引起,并且其中所述抗ARDSTPA化合物在受试者最初诊断有SARS-CoV-2感染后7-10天首次进行施用。

63.权利要求46的方法,其中所述ARDS由突发性急性呼吸综合征(SARS)-2(SARS-CoV-2或COVID-19)冠状病毒引起,并且其中所述抗ARDSTPA化合物在风险升高或已知感染的受试者表现选自以下的严重COVID-19疾病的一项或多项指数之前进行施用:1)持续超过2天的发烧;2)肺充血、发闷、呼吸短促和/或低氧血症的下呼吸道症状;3)选自以下的与ARDS相关的状况或症状:细胞因子风暴综合征(CSS);肺外全身性过度炎症综合征(ESHS),和/或4)由受试者中的严重的超免疫或过度炎症应答介导的任何其它状况或症状,包括儿童炎症多系统综合征(PIMS)、血管充血和血栓形成状况、弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风和/或血小板减少症。

64.权利要求46的方法,其中所述抗ARDSTPA化合物有效治疗与(ARDS)相关的一种或多种疾病状况或症状,其选自:1)肺充血、发闷、呼吸短促和/或低氧血症的下呼吸道症状;2)细胞因子风暴综合征(CSS);3)肺外全身性过度炎症综合征(ESHS),和/或4)由受试者中的严重的超免疫或过度炎症应答介导的另一种状况或症状,包括儿童炎症多系统综合征

(PIMS)、血管充血和血栓形成状况、弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风和/或血小板减少症。

65.权利要求46的方法,其中所述抗ARDSTPA化合物与次级治疗或预防药物或药剂一起配制且同时施用,或者在具有次级治疗或预防药物或药剂的协调的、多药预防或治疗方案中协调地同时或序贯施用,所述次级治疗或预防药物或药剂选自:1)常规的抗病毒药物或药剂;2)次级抗ARDS药物或药剂;3)抗CSS药物或药剂,4)抗PIMS药物或药剂;5)抗ESHS药物或药剂;6)抗DAD药物或药剂;和/或7)抗炎、促免疫、抗细胞病变和/或促凋亡药物或药剂;及其组合。

66.权利要求65的方法,其中所述ARDS由突发性急性呼吸综合征(SARS)-2(SARS-CoV-2或COVID-19)冠状病毒引起,并且其中所述抗ARDSTPA化合物与次级抗病毒药物或药剂一起配制且同时施用,或者在具有次级抗病毒药物或药剂的协调的、多药预防或治疗方案中协调地同时或序贯施用。

67.权利要求66的方法,其中所述次级抗病毒药物或药剂选自:阿巴卡韦、阿昔洛韦、阿德福韦、金刚烷胺、安普利近、安普那韦(Agenerase)、阿比朵尔、阿扎那韦、Atripla、巴拉韦、巴洛沙韦玛波西酯(Xofluza)、必妥维、波普瑞韦(Victrelis)、西多福韦、可比司他(Tybost)、双汰芝、达卡他韦(Daklinza)、达芦那韦、地拉韦啶、达可挥、去羟肌苷、二十二烷醇、度鲁特韦、多拉韦林(Pifeltro)、Ecoliever、依度尿苷、依法韦仑、埃替拉韦、恩曲他滨、恩夫韦肽、恩替卡韦、依曲韦林(Intelence)、泛昔洛韦、福米韦生、福沙那韦、膦甲酸、膦乙酸、融合抑制剂、更昔洛韦(Cytovene)、伊巴他滨、伊巴珠单抗(Trogarzo)、碘苷、咪喹莫特、Imunovir、茚地那韦、肌苷、整合酶抑制剂、I型干扰素、II型干扰素、III型干扰素、拉米夫定、莱特莫韦(Prevymis)、洛匹那韦、洛韦胺、马拉韦罗、美替沙腙、吗啉胍、奈非那韦、奈韦拉平、Nexavir、硝唑尼特、诺韦、核苷类似物、奥司他韦(Tamiflu)、聚乙二醇干扰素α-2a、聚乙二醇干扰素α-2b、喷昔洛韦、帕拉米韦(Rapivab)、普可那利、鬼臼毒素、Pyramidine、拉替拉韦、瑞德西韦、逆转录酶抑制剂、利巴韦林、利匹韦林(Edurant)、金刚乙胺、利托那韦、沙奎那韦、西咪匹韦(Olysio)、索非布韦、司他夫定、替拉瑞韦、替比夫定(Tyzeka)、替诺福韦艾拉酚胺、替诺福韦二吡呋酯、替诺福韦、替拉那韦、三氟胸苷、三协维、曲金刚胺、舒发泰、伐昔洛韦(Valtrex)、缬更昔洛韦、维立韦罗、阿糖腺苷、韦拉米啶、扎西他滨、扎那米韦(Relenza)和齐多夫定及其组合。

68.权利要求65的方法,其中所述次级药物或药剂是抗ACE2药物或药剂。

69.权利要求65的方法,其中所述次级药物或药剂是抗炎药物或药剂。

70.权利要求69的方法,其中所述抗炎药物或药剂选自非甾体抗炎药物(NSAID)。

71.权利要求70的方法,其中所述NSAID包括:阿司匹林、塞来昔布(Celebrex)、双氯芬酸(Cambia、Cataflam、Voltaren-XR、Zipsor、Zorvolex)、二氟尼柳、依托度酸、布洛芬(Motrin、Advil)、吲哚美辛(Indocin)、塞来昔布(Celebrex)、吡罗昔康(Feldene)、吲哚美辛(Indocin)、美洛昔康(MobicVivlodex)、酮洛芬(Orudis、KetoprofenER、Oruvail、Actron)、舒林酸(Clinoril)、二氟尼柳(Dolobid)、萘丁美酮(Relafen)、奥沙普秦(Daypro)、托美丁(TolmetinSodium、Tolectin)、双水杨酯(Disalcid)、非诺洛芬(Nalfon)、氟比洛芬(Ansaid)、酮咯酸(Toradol)、甲氯芬那酯、甲芬那酸(Ponstel)及其组合。

72.权利要求65的方法,其中所述次级药物或药剂是细胞因子抑制剂药物或药剂。

73.权利要求72的方法,其中所述细胞因子抑制剂药物或药剂有效抑制或降低一种或多种促炎细胞因子靶的诱导、合成、激活和/或循环水平,所述促炎细胞因子靶选自:(IL)-1B;IL-2;IL-6,IL-7;IL-8;IL-9;IL-10;成纤维细胞生长因子(FGF);粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF);IFNγ;粒细胞集落刺激因子(G-CSF);干扰素-γ-诱导蛋白(IP10);单核细胞趋化蛋白(MCP1);巨噬细胞炎症蛋白1α(MIP1A);血小板衍生生长因子(PDGF);肿瘤坏死因子(TNFα);以及血管内皮生长因子(VEGF)及其组合。

74.权利要求72的方法,其中所述ARDS由突发性急性呼吸综合征(SARS)-2(SARS-CoV-2或COVID-19)冠状病毒引起,并且其中用TPA化合物和细胞因子抑制剂药物的协调多药疗法是组合地有效的,以产生改善的、累加的、协同的和/或加强的治疗益处(与通过以相同剂量的单独的任一药物/药剂产生的益处相比),用于减少一种或多种促炎细胞因子靶的诱导、合成、激活和/或循环水平,所述促炎细胞因子靶关于SARS-CoV-2感染、COVID-19疾病、ARDS、SARS、CSS、PIMS、ESHS、DAD或者由SARS-CoV-2感染介导或加剧的另一种过度炎症状况是过度升高的。

75.权利要求65的方法,其中所述次级药物或药剂是抗IL-6药物或生物制剂。

76.权利要求75的方法,其中所述抗IL-6药物或生物制剂是抗IL-6单克隆抗体或Fab片段、可溶性IL-6受体或受体类似物、或者其同源抗IL-6特异性结合或失活结构域。

77.权利要求75的方法,其中所述抗IL-6药物或生物制剂选自司妥昔单抗、沙利鲁单抗(Kevzara)和托珠单抗(TCZ)。

78.权利要求75的方法,其中所述抗IL-6药物或生物制剂是直接地阻断或抑制IL-6,或者间接地抑制、降低或改变IL-6的促炎活性的抗IL-6药物。

79.权利要求78的方法,其中所述抗IL-6药物是穿心莲内酯。

80.权利要求65的方法,其中所述次级药物或药剂是激酶调节药物或药剂。

81.权利要求80的方法,其中所述激酶调节药物或药剂直接地或间接地抑制、降低、激活或改变一种或多种激酶的免疫或炎症活性,所述激酶参与介导或压制炎症应答,或者调控免疫和/或炎性效应细胞包括淋巴细胞、单核细胞/巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的分化、增殖、激活、炎性细胞因子合成和/或凋亡活性。

82.权利要求81的方法,其中所述激酶调节剂药物或药剂调节丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、janus激酶(JAK)和/或蛋白激酶C(PKC)。

83.权利要求65的方法,其中所述ARDS由突发性急性呼吸综合征(SARS)-2(SARS-CoV-2或COVID-19)冠状病毒引起,并且其中用TPA化合物和激酶调节剂药物协调治疗COVID-19疾病受试者在临床上减少与严重SARS-CoV-2感染相关的一种或多种疾病状况或症状,包括与ARDS、SARS、CSS、PIMS、ESHS和DAD相关的一种或多种状况或症状。

84.权利要求65的方法,其中所述ARDS由突发性急性呼吸综合征(SARS)-2(SARS-CoV-2或COVID-19)冠状病毒引起,并且其中所述次级药物或药剂是抗SARS-CoV-2疫苗药剂。

85.权利要求65的方法,其中所述次级药物或药剂是包含条件化天然杀伤(NK)细胞的组合物。

86.权利要求65的方法,其中所述次级药物或药剂是包含条件化间充质干细胞(MSC)的组合物。

87.权利要求65的方法,其中所述次级药物或药剂是重组干扰素。

88.权利要求65的方法,其中所述ARDS由突发性急性呼吸综合征(SARS)-2(SARS-CoV-2或COVID-19)冠状病毒引起,并且其中所述次级药物或药剂是静脉配制的免疫球蛋白。

89.权利要求65的方法,其中所述ARDS由突发性急性呼吸综合征(SARS)-2(SARS-CoV-2或COVID-19)冠状病毒引起,并且其中所述次级药物或药剂包含SARS-CoV-2特异性中和抗体、Fab片段或抗体结合结构域。

90.权利要求65的方法,其中所述次级药物或药剂包含C5a特异性抗体、Fab片段或抗体结合结构域。

91.权利要求65的方法,其中所述次级药物或药剂选自沙利度胺、芬戈莫德、抗血管生成药物、羟氯喹和糖皮质激素。

92.权利要求65的方法,其中所述ARDS由突发性急性呼吸综合征(SARS)-2(SARS-CoV-2或COVID-19)冠状病毒引起,并且其中抗ARDSTPA化合物和次级药物或药剂组合地有效介导涉及预防和/或治疗SARS-CoV-2病毒感染和COVID-19疾病的一种或多种显著的临床益处,其选自:1)预防或减少上呼吸道中的病毒感染或滴度;2)预防或减少下呼吸道中的病毒感染或滴度;3)预防或减少非呼吸系统ACE-2阳性细胞和组织中的病毒感染或滴度;4)预防或减少病毒附着和进入肺及其它ACE-2阳性细胞和组织内;5)预防或减少肺及其它ACE-2阳性细胞和组织中的病毒复制;和/或7)预防或减少来自受感染的受试者的上呼吸道的病毒脱落。

93.一种用于治疗哺乳动物受试者中的免疫功能障碍或过度炎症状况的方法,所述受试者患有细胞因子风暴综合征(CSS)、儿童炎症多系统综合征(PIMS)、一般的肺外全身性过度炎症综合征(ESHS)、或者由过度炎症引起的血管充血或血栓形成状况,包括弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风、血小板减少症和/或坏疽,所述方法包括:向所述受试者施用抗炎有效量的TPA化合物。

94.权利要求93的方法,其中所述受试者处于突发性急性呼吸综合征(SARS)-2(SARS-CoV-2或COVID-19)冠状病毒的升高风险中或感染所述冠状病毒,并且其中所述抗炎TPA化合物有效介导所述受试者中的抗CSS应答。

95.权利要求94的方法,其中所述抗CSS应答包括预防或减少治疗的受试者中的选自以下的一种或多种CSS相关状况或症状:1)肺或者过度炎症的另一个组织或器官部位中的一种或多种促炎细胞因子的水平过度升高;2)肺实质、肺泡区室或者过度炎症的其它组织或器官部位中的单核细胞/巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的水平过度升高;3)肺或者过度炎症的其它组织或器官部位中的内皮和/或上皮屏障的降解或破坏;4)可通过活性氧类(ROS)的水平升高确定的,肺或者过度炎症的其它组织或器官部位中的氧化性应激的指标升高;和/或5)选自以下的组织或器官损害的一种或多种致病症状:过度炎症、纤维化、弥漫性肺泡损伤(DAD)、巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞浸润到肺实质或者过度炎症的其它组织或器官部位内、巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞浸润到肺或者过度炎症的另一个组织或器官部位的毛细血管内、在肺间质或实质或者过度炎症的其它组织或器官部位中的广泛的嗜中性粒细胞胞外陷阱(NET)沉积、肺和/或冠状血管血栓形成和/或血管炎。

96.权利要求93的方法,其中所述受试者呈现有CSS并且所述TPA化合物是抗CSS有效的TPA化合物,其引发选自以下的与CSS相关的一种或多种状况、症状或诊断指数的至少25%减少:1)受CSS影响的细胞或组织中的过度升高的促炎细胞因子激活、表达和/或水平;2)肺

实质、肺泡气腔或者另一种受CSS影响的组织或器官中的巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的浸润增加和/或数目升高;3)以淋巴细胞的数目下降为标记的淋巴细胞减少症;4)升高的氧化性应激标记物;5)对肺或者另一种受CSS影响的组织或器官中的内皮和/或上皮屏障的炎性损害;6)对肺或者另一种受CSS影响的组织或器官/器官的致病性纤维化或其它病理性炎性损害;7)淋巴结的炎性损害、丧失或萎缩;8)脾的炎性损害或萎缩;9)脓毒症;10)中毒性休克综合征(TSS);11)氧化性应激症状;和/或12)选自以下的组织或器官损害的一种或多种致病症状:过度炎症、纤维化、弥漫性肺泡损伤(DAD)、巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞浸润到肺实质或者过度炎症的其它组织或器官部位内、巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞浸润到肺或者过度炎症的另一个组织或器官部位的毛细血管内、在肺间质或实质或者过度炎症的其它组织或器官部位中的广泛的嗜中性粒细胞胞外陷阱(NET)沉积、肺和/或冠状血管血栓形成和/或血管炎(其中每个指示剂/值在治疗的受试者中进行测量且确定,与在类似的、安慰剂治疗的对照受试者中测量且确定的相同指示剂/值形成对比)。

97.权利要求96的方法,其中所述抗CSSTPA化合物有效预防或减少与CSS相关的促炎细胞因子的失调和过度升高,其中治疗的受试者显示了一种或多种促炎细胞因子的水平过度升高的至少25%减少。

98.权利要求94的方法,其中所述抗炎TPA化合物有效预防或减少肺、血浆或者与ARDS相关的过度炎症相联系的其它细胞、组织或区室中的一种或多种促炎细胞因子的过度升高的水平和/或活性。

99.权利要求98的方法,其中所述一种或多种促炎细胞因子选自:(IL)-1B;IL-2;IL-6,IL-7;IL-8;IL-9;IL-10;成纤维细胞生长因子(FGF);粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF);IFNγ;粒细胞集落刺激因子(G-CSF);干扰素-γ-诱导蛋白(IP10);单核细胞趋化蛋白(MCP1);巨噬细胞炎症蛋白1α(MIP1A);血小板衍生生长因子(PDGF);肿瘤坏死因子(TNFα);以及血管内皮生长因子(VEGF)及其组合。

100.权利要求94的方法,其中所述抗炎TPA化合物有效预防或减少受CSS影响的受试者中的肺实质、肺泡区室或者过度炎症的其它组织或器官部位中的单核细胞/巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的水平过度升高。

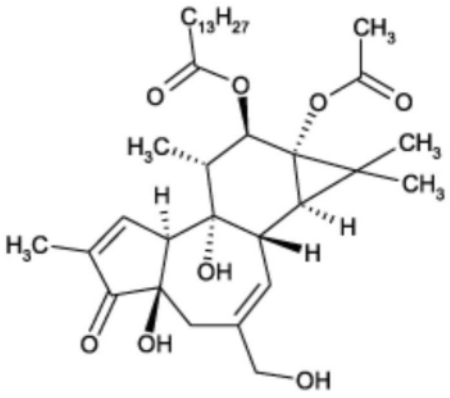
101.权利要求94的方法,其中所述抗炎TPA化合物有效预防或减少受CSS影响的受试者中的肺实质、肺泡区室、肺血管或者过度炎症的其它组织或器官部位中的嗜中性粒细胞的水平过度升高和相关的嗜中性粒细胞胞外陷阱(NET)沉积。

102.权利要求94的方法,其中所述抗炎TPA化合物有效预防或减少受CSS影响的受试者中的肺或者过度炎症的其它组织或器官部位中的内皮和/或上皮屏障的降解或破坏。

103.权利要求94的方法,其中所述抗炎TPA化合物有效预防或减少受CSS影响的受试者中的肺或者过度炎症的其它组织或器官部位中的氧化性应激。

104.权利要求94的方法,其中所述抗炎TPA化合物有效预防或减少受CSS影响的受试者中的选自以下的过度炎性组织或器官损害的程度:过度炎症、纤维化、弥漫性肺泡损伤(DAD)、巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞浸润到肺实质或者过度炎症的其它组织或器官部位内、巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞浸润到肺或者过度炎症的其它组织或器官部位的毛细血管内、在肺间质或实质或者过度炎症的其它组织或器官部位中的广泛的嗜中性粒细胞胞外陷阱(NET)沉积、肺和/或冠状血管血栓形成和血管炎。

105.权利要求94的方法，其中所述抗炎TPA化合物选自下式I以及其抗炎活性类似物、衍生物、复合物、缀合物、盐、对映异构体和混合物。



式 II

106.权利要求94的方法，其中所述抗炎TPA化合物是选自以下的佛波酯：佛波醇13-丁酸酯；佛波醇12-癸酸酯；佛波醇13-癸酸酯；佛波醇12,13-二乙酸酯；佛波醇13,20-二乙酸酯；佛波醇12,13-二苯甲酸酯；佛波醇12,13-二丁酸酯；佛波醇12,13-二癸酸酯；佛波醇12,13-二己酸酯；佛波醇12,13-二丙酸酯；佛波醇12-肉豆蔻酸酯；佛波醇13-肉豆蔻酸酯；佛波醇12,13,20-三乙酸酯；12-脱氧佛波醇13-当归酸酯；12-脱氧佛波醇13-当归酸酯20-乙酸酯；12-脱氧佛波醇13-异丁酸酯；12-脱氧佛波醇13-异丁酸酯-20-乙酸酯；12-脱氧佛波醇13-苯乙酸酯；12-脱氧佛波醇13-苯乙酸酯20-乙酸酯；12-脱氧佛波醇13-十四烷酸酯；佛波醇12-顺芷酸酯13-癸酸酯；12-脱氧佛波醇13-乙酸酯；佛波醇12-乙酸酯；佛波醇13-乙酸酯；以及其抗炎活性类似物、衍生物、复合物、缀合物、盐、对映异构体和混合物。

107.权利要求94的方法，其中所述抗炎TPA化合物是12-O-十四烷酰佛波醇-13-乙酸酯。

108.权利要求94的方法，其中所述抗炎TPA化合物在受试者最初诊断有SARS-CoV-2感染的2周内首次进行施用。

109.权利要求94的方法，其中所述抗炎TPA化合物在受试者最初诊断有SARS-CoV-2感染后7-10天首次进行施用。

110.权利要求94的方法，其中所述抗炎TPA化合物在风险升高或已知感染的受试者表现选自以下的严重COVID-19疾病的一项或多项指数之前进行施用：1)持续超过2天的发烧；2)肺充血、发闷、呼吸短促和/或低氧血症的下呼吸道症状；3)选自以下的与ARDS相关的状况或症状：细胞因子风暴综合征(CSS)；肺外全身性过度炎症综合征(ESHS)，和/或4)由受试者中的严重的超免疫或过度炎症应答介导的任何其它状况或症状，包括儿童炎症多系统综合征(PIMS)、血管充血和血栓形成状况、弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风和/或血小板减少症。

111.权利要求94的方法，其中所述抗炎TPA化合物有效治疗与急性呼吸窘迫综合征(ARDS)相关的一种或多种疾病状况或症状，其选自：1)肺充血、发闷、呼吸短促和/或低氧血症的下呼吸道症状；2)肺外全身性过度炎症综合征(ESHS)，和/或3)由受试者中的严重的超免疫或过度炎症应答介导的另一种状况或症状，包括儿童炎症多系统综合征(PIMS)、血管充血和血栓形成状况、弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风和/或血小板减少症。

112.权利要求94的方法,其中所述抗炎TPA化合物与次级治疗或预防药物或药剂一起配制且同时施用,或者在具有次级治疗或预防药物或药剂的协调的、多药预防或治疗方案中协调地同时或序贯施用,所述次级治疗或预防药物或药剂选自:1)常规的抗病毒药物或药剂;2)次级抗CSS药物或药剂;3)抗ARDS药物或药剂,4)抗PIMS药物或药剂;5)抗ESHS药物或药剂;6)抗DAD药物或药剂;和/或7)抗炎、促免疫、抗细胞病变和/或促凋亡药物或药剂及其组合。

113.权利要求94的方法,其中所述抗炎TPA化合物与次级抗病毒药物或药剂一起配制且同时施用,或者在具有次级抗病毒药物或药剂的协调的、多药预防或治疗方案中协调地同时或序贯施用。

114.权利要求113的方法,其中所述次级抗病毒药物或药剂选自:阿巴卡韦、阿昔洛韦、阿德福韦、金刚烷胺、安普利近、安普那韦(Agenerase)、阿比朵尔、阿扎那韦、Atripla、巴拉韦、巴洛沙韦玛波西酯(Xofluza)、必妥维、波普瑞韦(Victrelis)、西多福韦、可比司他(Tybost)、双汰芝、达卡他韦(Daklinza)、达芦那韦、地拉韦啶、达可挥、去羟肌苷、二十二烷醇、度鲁特韦、多拉韦林(Pifeltro)、Ecoliever、依度尿苷、依法韦仑、埃替拉韦、恩曲他滨、恩夫韦肽、恩替卡韦、依曲韦林(Intelence)、泛昔洛韦、福米韦生、福沙那韦、膦甲酸、膦乙酸、融合抑制剂、更昔洛韦(Cytovene)、伊巴他滨、伊巴珠单抗(Trogarzo)、碘苷、咪喹莫特、Imunovir、茚地那韦、肌苷、整合酶抑制剂、I型干扰素、II型干扰素、III型干扰素、拉米夫定、莱特莫韦(Prevymis)、洛匹那韦、洛韦胺、马拉韦罗、美替沙腙、吗啉胍、奈非那韦、奈韦拉平、Nexavir、硝唑尼特、诺韦、核苷类似物、奥司他韦(Tamiflu)、聚乙二醇干扰素α-2a、聚乙二醇干扰素α-2b、喷昔洛韦、帕拉米韦(Rapivab)、普可那利、鬼臼毒素、Pyramidine、拉替拉韦、瑞德西韦、逆转录酶抑制剂、利巴韦林、利匹韦林(Edurant)、金刚乙胺、利托那韦、沙奎那韦、西咪匹韦(Olysio)、索非布韦、司他夫定、替拉瑞韦、替比夫定(Tyzeka)、替诺福韦艾拉酚胺、替诺福韦二吡呋酯、替诺福韦、替拉那韦、三氟胸苷、三协维、曲金刚胺、舒发泰、伐昔洛韦(Valtrex)、缬更昔洛韦、维立韦罗、阿糖腺苷、韦拉米啶、扎西他滨、扎那米韦(Relenza)和齐多夫定及其组合。

115.权利要求112的方法,其中所述次级药物或药剂是抗ACE2药物或药剂。

116.权利要求112的方法,其中所述次级药物或药剂是抗炎药物或药剂。

117.权利要求116的方法,其中所述抗炎药物或药剂选自非甾体抗炎药物(NSAID)。

118.权利要求117的方法,其中所述NSAID包括:阿司匹林、塞来昔布(Celebrex)、双氯芬酸(Cambia、Cataflam、Voltaren-XR、Zipsor、Zorvolex)、二氟尼柳、依托度酸、布洛芬(Motrin、Advil)、吲哚美辛(Indocin)、塞来昔布(Celebrex)、吡罗昔康(Feldene)、吲哚美辛(Indocin)、美洛昔康(MobicVivlodex)、酮洛芬(Orudis、KetoprofenER、Oruvail、Actron)、舒林酸(Clinoril)、二氟尼柳(Dolobid)、萘丁美酮(Relafen)、奥沙普秦(Daypro)、托美丁(TolmetinSodium、Tolectin)、双水杨酯(Disalcid)、非诺洛芬(Nalfon)、氟比洛芬(Ansaid)、酮咯酸(Toradol)、甲氯芬那酯、甲芬那酸(Ponstel)及其组合。

119.权利要求112的方法,其中所述次级药物或药剂是细胞因子抑制剂药物或药剂。

120.权利要求119的方法,其中所述细胞因子抑制剂药物或药剂有效抑制或降低一种或多种促炎细胞因子靶的诱导、合成、激活和/或循环水平,所述促炎细胞因子靶选自:(IL)-1B;IL-2;IL-6,IL-7;IL-8;IL-9;IL-10;成纤维细胞生长因子(FGF);粒细胞-巨噬细

胞集落刺激因子(GM-CSF)；IFNγ；粒细胞集落刺激因子(G-CSF)；干扰素-γ-诱导蛋白(IP10)；单核细胞趋化蛋白(MCP1)；巨噬细胞炎症蛋白1α(MIP1A)；血小板衍生生长因子(PDGF)；肿瘤坏死因子(TNFα)；以及血管内皮生长因子(VEGF)及其组合。

121.权利要求112的方法，其中用TPA化合物和细胞因子抑制剂药物的协调多药疗法是组合地有效的，以产生改善的、累加的、协同的和/或加强的治疗益处(与通过以相同剂量的单独的任一药物/药剂产生的益处相比)，用于减少一种或多种促炎细胞因子靶的诱导、合成、激活和/或循环水平，所述促炎细胞因子靶关于SARS-CoV-2感染、COVID-19疾病、ARDS、SARS、CSS、PIMS、ESHS、DAD或者由SARS-CoV-2感染介导或加剧的另一种过度炎症状况是过度升高的。

122.权利要求112的方法，其中所述次级药物或药剂是抗IL-6药物或生物制剂。

123.权利要求122的方法，其中所述抗IL-6药物或生物制剂是抗IL-6单克隆抗体或Fab片段、可溶性IL-6受体或受体类似物、或者其同源抗IL-6特异性结合或失活结构域。

124.权利要求122的方法，其中所述抗IL-6药物或生物制剂选自司妥昔单抗、沙利鲁单抗(Kevzara)和托珠单抗(TCZ)。

125.权利要求122的方法，其中所述抗IL-6药物或生物制剂是直接地阻断或抑制IL-6，或者间接地抑制、降低或改变IL-6的促炎活性的抗IL-6药物。

126.权利要求125的方法，其中所述抗IL-6药物是穿心莲内酯。

127.权利要求112的方法，其中所述次级药物或药剂是激酶调节药物或药剂。

128.权利要求127的方法，其中所述激酶调节药物或药剂直接地或间接地抑制、降低、激活或改变一种或多种激酶的免疫或炎症活性，所述激酶参与介导或压制炎症应答，或者调控免疫和/或炎性效应细胞包括淋巴细胞、单核细胞/巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的分化、增殖、激活、炎性细胞因子合成和/或凋亡活性。

129.权利要求127的方法，其中所述激酶调节剂药物或药剂调节丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、janus激酶(JAK)和/或蛋白激酶C(PKC)。

130.权利要求127的方法，其中用TPA化合物和激酶调节剂药物协调治疗COVID-19疾病受试者在临床上减少与严重SARS-CoV-2感染相关的一种或多种疾病状况或症状，包括与ARDS、SARS、CSS、PIMS、ESHS和DAD相关的一种或多种状况或症状。

131.权利要求112的方法，其中所述次级药物或药剂是抗SARS-CoV-2疫苗药剂。

132.权利要求112的方法，其中所述次级药物或药剂是包含条件化天然杀伤(NK)细胞的组合物。

133.权利要求112的方法，其中所述次级药物或药剂是包含条件化间充质干细胞(MSC)的组合物。

134.权利要求112的方法，其中所述次级药物或药剂是重组干扰素。

135.权利要求112的方法，其中所述次级药物或药剂是静脉配制的免疫球蛋白。

136.权利要求112的方法，其中所述次级药物或药剂包含SARS-CoV-2特异性中和抗体、Fab片段或抗体结合结构域。

137.权利要求112的方法，其中所述次级药物或药剂包含C5a特异性抗体、Fab片段或抗体结合结构域。

138.权利要求112的方法，其中所述次级药物或药剂选自沙利度胺、芬戈莫德、抗血管

生成药物、羟氯喹和糖皮质激素。

139.权利要求112的方法，其中所述抗炎TPA化合物和次级药物或药剂组合地有效介导涉及预防和/或治疗SARS-CoV-2病毒感染和COVID-19疾病的一种或多种显著的临床益处，其选自：1)预防或减少上呼吸道中的病毒感染或滴度；2)预防或减少下呼吸道中的病毒感染或滴度；3)预防或减少非呼吸系统ACE-2阳性细胞和组织中的病毒感染或滴度；4)预防或减少病毒附着和进入肺及其它ACE-2阳性细胞和组织内；5)预防或减少肺及其它ACE-2阳性细胞和组织中的病毒复制；和/或7)预防或减少来自受感染的受试者的上呼吸道的病毒脱落。

140.一种抗病毒组合物或试剂盒，其用于呈现有由SARS-CoV-2病毒介导的COVID-19疾病的医学风险因素的人受试者、或呈现有被SARS-CoV-2病毒感染的阳性诊断的患者中，所述抗病毒组合物或试剂盒包含与次级抗病毒药物或药剂一起配制或包装的抗病毒有效的TPA化合物。

141.权利要求140的抗病毒药物组合物或试剂盒，其中所述次级抗病毒药物或药剂选自：阿巴卡韦、阿昔洛韦、阿德福韦、金刚烷胺、安普利近、安普那韦(Agenerase)、阿比朵尔、阿扎那韦、Atripla、巴拉韦、巴洛沙韦玛波西酯(Xofluza)、必妥维、波普瑞韦(Victrelis)、西多福韦、可比司他(Tybost)、双汰芝、达卡他韦(Daklinza)、达芦那韦、地拉韦啶、达可挥、去羟肌苷、二十二烷醇、度鲁特韦、多拉韦林(Pifeltro)、Ecoliever、依度尿苷、依法韦仑、埃替拉韦、恩曲他滨、恩夫韦肽、恩替卡韦、依曲韦林(Intelence)、泛昔洛韦、福米韦生、福沙那韦、膦甲酸、膦乙酸、融合抑制剂、更昔洛韦(Cytovene)、伊巴他滨、伊巴珠单抗(Trogarzo)、碘苷、咪喹莫特、Imunovir、茚地那韦、肌苷、整合酶抑制剂、I型干扰素、II型干扰素、III型干扰素、拉米夫定、莱特莫韦(Prevymis)、洛匹那韦、洛韦胺、马拉韦罗、美替沙腙、吗啉胍、奈非那韦、奈韦拉平、Nexavir、硝唑尼特、诺韦、核苷类似物、奥司他韦(Tamiflu)、聚乙二醇干扰素α-2a、聚乙二醇干扰素α-2b、喷昔洛韦、帕拉米韦(Rapivab)、普可那利、鬼臼毒素、Pyramidine、拉替拉韦、瑞德西韦、逆转录酶抑制剂、利巴韦林、利匹韦林(Edurant)、金刚乙胺、利托那韦、沙奎那韦、西咪匹韦(Olysio)、索非布韦、司他夫定、替拉瑞韦、替比夫定(Tyzeka)、替诺福韦艾拉酚胺、替诺福韦二吡呋酯、替诺福韦、替拉那韦、三氟胸苷、三协维、曲金刚胺、舒发泰、伐昔洛韦(Valtrex)、缬更昔洛韦、维立韦罗、阿糖腺苷、韦拉米啶、扎西他滨、扎那米韦(Relenza)和齐多夫定及其组合。

142.一种用于预防或治疗哺乳动物受试者中的急性呼吸系统综合征(ARDS)的药物组合物或试剂盒，其包含与选自以下的次级治疗或预防药物或药剂一起配制或包装的抗ARDS有效的TPA化合物：1)常规的抗病毒药物或药剂；2)次级抗ARDS药物或药剂；3)抗CSS药物或药剂，4)抗PIMS药物或药剂；5)抗ESHS药物或药剂；6)抗DAD药物或药剂；和/或7)抗炎、促免疫、抗细胞病变和/或促凋亡药物或药剂；及其组合。

143.一种用于预防或治疗哺乳动物受试者中的急性呼吸系统综合征(ARDS)的药物组合物或试剂盒，其包含与选自非甾体抗炎药物(NSAID)的次级治疗或预防药物或药剂一起配制或包装的抗ARDS有效的TPA化合物。

144.权利要求143的药物组合物，其中所述NSAID包括：阿司匹林、塞来昔布(Celebrex)、双氯芬酸(Cambia、Cataflam、Voltaren-XR、Zipsor、Zorvolex)、二氟尼柳、依托度酸、布洛芬(Motrin、Advil)、吲哚美辛(Indocin)、塞来昔布(Celebrex)、吡罗昔康

(Feldene)、吲哚美辛(Indocin)、美洛昔康(MobicVivlodex)、酮洛芬(Orudis、KetoprofenER、Oruvail、Actron)、舒林酸(Clinoril)、二氟尼柳(Dolobid)、萘丁美酮(Relafen)、奥沙普秦(Daypro)、托美丁(TolmetinSodium、Tolectin)、双水杨酯(Disalcid)、非诺洛芬(Nalfon)、氟比洛芬(Ansaid)、酮咯酸(Toradol)、甲氯芬那酯、甲芬那酸(Ponstel)及其组合。

145.一种用于预防或治疗哺乳动物受试者中的急性呼吸系统综合征(ARDS)的药物组合物或试剂盒,其包含与选自细胞因子抑制剂药物和药剂的次级治疗或预防药物或药剂一起配制或包装的抗ARDS有效的TPA化合物。

146.权利要求145的药物组合物或试剂盒,其中所述细胞因子抑制剂药物或药剂有效抑制或降低一种或多种促炎细胞因子靶的诱导、合成、激活和/或循环水平,所述促炎细胞因子靶选自:(IL)-1B;IL-2;IL-6,IL-7;IL-8;IL-9;IL-10;成纤维细胞生长因子(FGF);粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF);IFNγ;粒细胞集落刺激因子(G-CSF);干扰素-γ-诱导蛋白(IP10);单核细胞趋化蛋白(MCP1);巨噬细胞炎症蛋白1α(MIP1A);血小板衍生生长因子(PDGF);肿瘤坏死因子(TNFα);以及血管内皮生长因子(VEGF)及其组合。

147.一种用于预防或治疗哺乳动物受试者中的急性呼吸系统综合征(ARDS)的药物组合物或试剂盒,其包含与选自抗IL-6药物和生物制剂的次级治疗或预防药物或药剂一起配制或包装的抗ARDS有效的TPA化合物。

148.权利要求147的药物组合物或试剂盒,其中所述抗IL-6药物或生物制剂是抗IL-6单克隆抗体或Fab片段、可溶性IL-6受体或受体类似物、或者其同源抗IL-6特异性结合或失活结构域。

149.权利要求147的药物组合物或试剂盒,其中所述抗IL-6药物或生物制剂选自司妥昔单抗、沙利鲁单抗(Kevzara)和托珠单抗(TCZ)。

150.权利要求147的药物组合物或试剂盒,其中所述抗IL-6药物或生物制剂是直接地阻断或抑制IL-6,或者间接地抑制、降低或改变IL-6的促炎活性的抗IL-6药物。

151.权利要求150的药物组合物或试剂盒,其中所述抗IL-6药物是穿心莲内酯。

152.一种用于预防或治疗哺乳动物受试者中的急性呼吸系统综合征(ARDS)的药物组合物或试剂盒,其包含与选自激酶调节药物和药剂的次级治疗或预防药物或药剂一起配制或包装的抗ARDS有效的TPA化合物。

153.权利要求152的药物组合物或试剂盒,其中所述激酶调节药物或药剂直接地或间接地抑制、降低、激活或改变一种或多种激酶的免疫或炎症活性,所述激酶参与介导或压制炎症应答,或者调控免疫和/或炎性效应细胞包括淋巴细胞、单核细胞/巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的分化、增殖、激活、炎性细胞因子合成和/或凋亡活性。

154.权利要求152的药物组合物或试剂盒,其中所述激酶调节剂药物或药剂调节丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、janus激酶(JAK)和/或蛋白激酶C(PKC)。

155.一种用于预防或治疗哺乳动物受试者中的急性呼吸系统综合征(ARDS)的药物组合物或试剂盒,其包含与选自突发性急性呼吸综合征(SARS)-2(SARS-CoV-2或COVID-19)冠状病毒疫苗药剂的次级治疗或预防药物或药剂一起配制或包装的抗ARDS有效的TPA化合物。

156.一种用于预防或治疗哺乳动物受试者中的急性呼吸系统综合征(ARDS)的药物组

合物或试剂盒,其包含与选自以下的次级治疗或预防药物或药剂一起配制或包装的抗ARDS有效的TPA化合物:干扰素药物或药剂;静脉配制的免疫球蛋白;SARS-CoV-2特异性中和抗体、Fab片段或抗体结合结构域;C5a特异性抗体、Fab片段或抗体结合结构域;沙利度胺;芬戈莫德;抗血管生成药物;羟氯喹;和糖皮质激素及其组合。

用于治疗由冠状病毒引起的急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和炎性病症的组合物和方法

技术领域

[0001] 本发明涉及用于治疗肺病毒感染以及由病毒感染及其它药剂介导的肺及其它器官的相关炎性和免疫性疾病状况的治疗和预防组合物和方法。在某些实施方案中,本发明涉及用于治疗由病毒病原体、细菌病原体、腐蚀剂、外伤、烧伤或者肺或免疫系统损害或炎性损害或刺激的其它来源引起的急性呼吸窘迫综合征(ARDS)或严重急性呼吸综合征(SARS)的方法和组合物。在更具体的实施方案中,本发明涉及用于治疗和预防肺病毒感染以及相关的肺和炎性疾病症状、由SARS冠状病毒或其它呼吸道病毒引起的ARDS/SARS的组合物和方法。

背景技术

[0002] 急性呼吸窘迫综合征(ARDS)(又名“成人呼吸窘迫综合征”)是一种严重的病理状况,其经常最终导致肺功能衰竭、住院治疗和重症监护。ARDS可以由各种肺部和非肺部原因触发,所述原因例如病毒性或细菌性肺炎、吸入胃内容物、吸入热气体或腐蚀剂、肺挫伤或其它肺外伤、脓毒症、急性胰腺炎及其它原因。当前最引人注目的ARDS病因已来自由SARS冠状病毒SARS-CoV-2引起的持续COVID-19疾病大流行。

[0003] 冠状病毒是有包膜的正义单链RNA病毒。它们在已知RNA病毒中具有最大的基因组(26-32kb)。冠状病毒感染广泛范围的鸟类和哺乳动物物种,包括人。在六种已知的人冠状病毒中,其中四种(HCoV-OC43、HCoV-229E、HCoV-HKU1和HCoV-NL63)已每年在人群中循环数世纪,并且一般引起轻度呼吸系统疾病,尽管严重程度在婴儿、老年人和免疫受损的人中可以是更大的。

[0004] 相比之下,最近几次冠状病毒暴发已造成了在人中的严重健康和经济影响。这些“新型”冠状病毒在严重情况中都已引发ARDS(在冠状病毒疾病的背景下,具体地被称为“严重急性呼吸综合征”(SARS))。所有SARS/MERS冠状病毒都引发作为涉及衰弱性呼吸道感染的最严重疾病情况的近因的ARDS。

[0005] 在过去20年内,SARS冠状病毒(SARS-CoV、MERS-CoV和SARS-CoV-2)各自通过人畜共患病从其它哺乳动物物种转移到人,并且已导致伴随高病死率的暴发。菊头蝠被视为这些新型冠状病毒的主要宿主,并且将病毒传播给人的中间宿主已被鉴定为关于SARS-CoV的果子狸和关于MERS-CoV的单峰骆驼。在当前COVID-19大流行来袭之前许多年,SARS-CoV和MERS-CoV的高致病性和空气传播能力产生了关于另一次冠状病毒大流行的可能性的担忧。

[0006] COVID-19病毒通过空气传播(呼出的飞沫)和接触传播是高度传染性的,并且目前已知可通过症状前和无症状的携带者传播。在2020年3月11日,世界卫生组织(WorldHealth Organization)(WHO)将COVID-19暴发宣布为大流行病。截至2020年5月17日,已鉴定了超过475万例COVID-19病例,负责在大约213个国家的超过314,000例死亡。

[0007] COVID-19肺炎的临床过程显示出广谱的严重程度和进展模式。在一些患者中,呼吸困难(呼吸短促)在发病后8天的中值内(范围为5-13天)发展,而在其它患者中,可能不存

在呼吸窘迫。大致3-30％的患者需要进入重症监护。严重患病的患者可能显示出快速进展至多器官功能障碍且甚至死亡。呈现有呼吸短促和低氧血症的那些患者可以在数天(通常为约一周)内迅速进展为急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、严重脓毒症伴休克以及甚至多器官功能障碍。ARDS已在大致15-30％的COVID-19住院患者中得到记录，平均起来在症状开始后8天出现(Tu等人，2020)。

[0008] 虽然COVID-19疾病在大多数人中可能是中度或甚至无症状的，但约20％的受感染的受试者发展严重症状。COVID-19的发病率和死亡率在老年人以及患有潜在肺病、心脏病、糖尿病、癌症或其它严重健康状况的受试者中特别高。呈现有ARDS/SARS的少数患者发展为致命情况，最终导致呼吸衰竭，经常伴随着脓毒性休克和多器官衰竭。

[0009] ARDS/SARS的发病机制涉及肺实质的炎症、嗜中性粒细胞浸润到肺泡气腔(airspaces)内、氧化性应激、内皮和上皮屏障的破坏、对上皮衬里的损伤和后续肺纤维化，以及其它炎症、免疫和组织/器官损害。

[0010] 尽管我们关于ARDS的机制和发病机制相当多的了解，但20多年的深入临床研究未能产生有效的治疗来预防ARDS或基本上减少其死亡率(Fanelli等人，2013)。一线ARDS治疗仍然主要是支持性的，由患者氧合或通气以及严格控制患者体液平衡组成。

[0011] 在COVID-19疾病的情况下，我们的调查及其它人的调查指出了导致重症COVID-19患者中的ARDS的关键炎症机制。严重COVID-19疾病的常见症状包括：1)在一到两周后疾病的快速恶化；2)淋巴细胞，尤其是血液中的天然杀伤(NK)细胞的显著下降；3)升高的促炎细胞因子(IL-6、TNFα、IL-8及其它)及其它炎症因子例如C反应蛋白(CRP)；以及4)以脾和淋巴结萎缩以及淋巴样器官中的淋巴细胞下降为标记的严重免疫损害。在重症COVID-19患者中通常观察到的其它后遗症包括单核细胞和巨噬细胞浸润到肺病变内，伴随最低限度的淋巴细胞浸润，以及伴随着高凝状态和多器官损伤的血管炎形式。

[0012] 目前已在感染COVID-19的儿童的小子集中鉴定了紧急的过度炎症状况，目前被称为儿童炎症多系统综合征(PIMS)。这种川崎样疾病在全球COVID-19大流行期间出现，如通过意大利的初步报告以及New York、New Jersey、Massachusetts和英国的类似病例的平行报告所证明的。虽然罕见，但PIMS的效应是严重且潜在地危及生命的。

[0013] 新出现的数据揭示了，PIMS是对SARS-CoV-2感染的异常免疫应答，导致遗传易感的儿科患者中的川崎样病。COVID-19相关的PIMS的常见症状包括发烧、皮疹、红眼、口干或裂纹嘴、手掌和脚底发红以及腺体肿胀。约四分之一的儿童患有心脏并发症。COVID-19相关的PIMS中的异常免疫反应导致血管的炎症和肿胀，有时伴随冠状动脉瘤。

[0014] 根据意大利的首个观察性队列研究(通过Verdoni等人于2020年5月13日在Lancet中公开的)，在2020年3月17日至4月14日之间诊断有PIMS的10个儿童中的8个对于COVID-19检测呈阳性(具有对于剩余两个受试者的假阴性SARS-CoV-2检测的强烈可能性)。意大利研究将这个COVID-19队列的数据针对过去5年大流行前诊断有川崎病的19个儿童的数据进行比较。在大流行之前，平均起来每3个月在同一辖区群体中鉴定了1个川崎病患者，指示了在COVIDO-19暴发过程中的研究期间PIMS的30倍增加。

[0015] 在COVID-19大流行期间诊断有PIMS的意大利研究中的儿童呈现有比过去5年就经典川崎病治疗的儿童更严重的症状。10个新患者中的6个(60％)显示出心脏并发症，与之前治疗的川崎患者中的19个患者中的仅2个(11％)相比。在COVID-19大流行期间诊断的意大

利研究中的10个儿童中的5个(50％)显示出中毒性休克综合征(TSS)的症状,需要液体复苏以校正低血压,而在COVID-19暴发之前诊断的19个川崎受试者无一遭受这种并发症。TSS是一种罕见的危及生命的疾病,通常由细菌感染引起,特征在于高烧、低血压和皮疹。

[0016] 意大利研究中的PIMS患者的治疗涉及免疫球蛋白疗法,其中10个患者中的8个还需要类固醇治疗(与COVID-19前的19个川崎研究组中的仅3个相比)。在意大利的大流行期间住院治疗的儿童也比先前诊断的儿童更大(平均年龄7.5相对于3岁)。10个儿童中的7个是男孩。

[0017] 美国疾病控制与预防中心(US Centers for Disease Control and Prevention)(CDC)目前已确认了PIMS和COVID-19之间的联系。迄今为止,NewYorkCity的卫生部门已鉴定了145例PIMS(可替代地被称为儿童多系统炎症综合征(MISC))儿童病例。

[0018] 理解PIMS中涉及的机制将帮助对于成人和儿童两者更一般地阐明人SARS-CoV-2免疫应答,以指导可用于减轻两组中的多种COVID-19疾病症状的抗炎治疗工具和方法的调查和开发。

[0019] 在COVID-19疾病的严重情况下引发的促炎细胞因子的过度活性已普遍被称为“细胞因子风暴”。术语“细胞因子风暴综合征”(CSS)(也称为“细胞因子释放综合征”或CRS)一般指示了促炎细胞因子及其它炎症因子的过度、不受控制的释放,导致过度和潜在地危及生命的炎症。CSS与各种传染病、风湿性疾病、自身免疫性病症以及经历肿瘤免疫治疗的一些受试者相关联。

[0020] 在传染病的情况下,CSS通常源于局灶性感染区域,但可以快速扩散到全身。COVID-19及其它SARS冠状病毒(SARS-CoV和MERS)在严重情况下表现为快速病毒复制、广泛的炎症细胞浸润和CSS,导致ARDS/SARS(急性肺炎症和损害,在最严重的情况下最终导致肺衰竭和死亡)。与COVID-19疾病相关的CSS还可以导致全身炎症、血管炎、多器官衰竭和高凝状态,在严重情况下潜在地导致中风。

[0021] 重症COVID-19患者显示出升高的促炎细胞因子谱,类似于先前在SARS-CoV和MERS受试者中观察到的CSS症状。Huang等人(2020)报告了,在患有严重COVID-19疾病的患者中,各种各样的促炎细胞因子及其它炎症因子是升高的。在41个COVID-19住院患者(13个ICU和28个非ICU)中,Huang及同事报告了增加水平的白细胞介素(IL)-1B、IL-1RA、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、成纤维细胞生长因子(FGF)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、IFNγ、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、干扰素-γ-诱导蛋白(IP10)、单核细胞趋化蛋白(MCP1)、巨噬细胞炎症蛋白1α(MIP1A)、血小板衍生生长因子(PDGF)、肿瘤坏死因子(TNFα)和血管内皮生长因子(VEGF)。在更严重的ICU患者中,Huang及同事报告了,IL-2、IL-7、IL-10、G-CSF、IP10、MCP1、MIP1A、TNFα高于非ICU患者(Huang等人,2020;Conti等人,2020]。值得注意的是,在Huang等人的研究中,没有报告关于ICU和非ICU患者之间的血清IL-6水平的差异。

[0022] 促炎细胞因子例如白细胞介素1(IL-1)是局部和全身炎症中的重要介质。当受到病毒感染的刺激时,IL-1在组织炎症、发烧和纤维化中起基础作用。IL-1激活巨噬细胞,其对受感染和死亡的细胞执行吞噬活性并且释放其它炎症因子。像这样,细胞因子诱导的巨噬细胞在COVID-19过度炎症和伴随的肺发病机制中起核心作用。

[0023] 其它促炎细胞因子牵涉由CSS介导的SARS-CoV和COVID-19疾病的临床进展。在这些细胞因子中,干扰素-α(IFNα)、肿瘤坏死因子(TNF)和IL-1一直被视为关键参与者(Ho等

人,2003,Auyeung等人,2005,Chousterman等人,2017)2,18-19)。提议为在介导SARS相关的CSS中具有可能作用的其它促炎细胞因子包括IL-8、IL-6及其它。

[0024] IL•1是研究最透彻的细胞因子,具有与炎性疾病包括由病毒感染引起的那些炎性疾病有关的性质。IL-1的受控合成和释放在CoV-19与Toll样受体(TLR)结合后发生。该受体的激活导致促炎"级联",其始于IL-1前体的合成,所述IL-1前体然后被半胱天冬酶-1切割,随后为炎性小体激活(Chen等人,2006)。高水平的三磷酸腺苷(ATP)与P2X7受体(一种嘌呤能2受体)的激活相关联,所述P2X7受体介导炎性小体激活。半胱天冬酶-1酶原及其它因子驱动溶酶体中的IL-1b合成,然后IL-1b被分泌到巨噬细胞外,介导与易感COVID-19患者中的严重呼吸系统问题相关的肺炎症、发烧和纤维化。免疫细胞被IL-8吸引到感染位点,所述IL-8是在炎症部位处生成的一种趋化因子,在严重情况下进一步加剧细胞因子"风暴"。

[0025] 炎症通常是进化为对抗损害并抵御引入体内的外来物质和病原体的适应性应答。相比之下,如果不加以控制,则在与COVID-19疾病及其它炎性状况相关的CSS的情况下的过度炎症是非常有害的。在促炎细胞因子水平与COVID-19和SARS-CoV病毒复制和疾病严重程度之间记录的相关已促使许多研究人员建立以下理论:抗炎细胞因子可能提供有用的治疗剂来对抗这些疾病和状况。在该上下文中考虑的主要"抗炎细胞因子"包括白细胞介素(IL)-1受体拮抗剂(IL-1Ra)、IL-4、IL-10、IL-11和IL-13。关于IL-1、肿瘤坏死因子-α和IL-18的特异性细胞因子受体也表征为"抗炎"因子,充当促炎细胞因子的抑制剂。因此,IL-1Ra、IL-37或IL-13已被提议为减轻严重COVID-19疾病中的肺和全身炎症和发烧两者的候选物。

[0026] 高病死率、复杂的病因学和流行病学、以及针对冠状病毒的疫苗或治疗工具的缺乏,已产生了关于有效的预防和治疗工具的迫切需要,以预防且治疗由这些病原体介导的感染和疾病。疫苗和相关治疗剂。

[0027] 开发预防或治疗COVID-19疾病的有用药物和方法的努力已部分地因SARS病毒基因组的复杂性及其混杂的疾病病因学而受挫。SARS-CoV、MERS-CoV和SARS-CoV-2具有大型单链正义RNA基因组(27-32kb),编码6-10个基因。基因次序通常是高度保守的,其中第一个是复制和转录相关的,而剩余的基因是结构相关的。通过由核糖体移码翻译的重叠开放读码框(ORF),复制和转录相关基因被翻译成两种大型非结构多蛋白。结构蛋白包括构成病毒外壳的刺突蛋白(S)、包膜蛋白(E)和膜蛋白(M),以及包装病毒基因组的核衣壳蛋白(N),都由亚基因组RNA进行翻译。这些蛋白质中的一些经历在宿主高尔基体中的糖基化,以形成糖蛋白。

[0028] SARS冠状病毒刺突(S)糖蛋白介导病毒与宿主细胞的结合,以允许细胞内定植。S蛋白由宿主细胞蛋白酶引发并且由细胞受体识别。人丝氨酸蛋白酶TMPRSS2负责引发SARS-CoV和SARS-CoV-2两者的S蛋白,而血管紧张素转换酶2(ACE2)作为这两种病毒进入的受体而参与。关于MERS-CoV,它与另一种受体二肽基肽酶4(DPP4)特异性结合。

[0029] SARS冠状病毒的不同病因学和流行病学部分地涉及在个体和群体之间在ACE2表达水平方面的差异,并且还很可能涉及个体之间的ACE-2结构差异。儿童和较年轻的个体一般表达较低水平的ACE-2,这可能促成其对严重COVID-19疾病的相对抗性。几种ACE-2遗传变体已在人群中得到鉴定,其可能进一步影响病毒感染和致病性,然而,在牵涉SARS-CoV-2病毒S蛋白结合的ACE-2残基中没有发现异质性,指示了该病毒很可能利用高度保守的附

着/进入位点,其与SARS-CoV-2跨越各大洲和不同人群的快速扩散相关联(Cao等人,2020)。鉴于这些报告,ACE-2已被广泛视为干预开发抗COVID-19预防和治疗工具的潜在靶,尽管沿着这条开发路径取得成功仍然存在重大障碍。

[0030] 关于针对COVID-19管理的创新的另一条挑战性路径涉及使用抗炎细胞因子以及相关抑制剂和免疫调节剂,以治疗COVID-19患者中的病毒介导的ARDS和CSS。这些目标因关于抑制有益的抗病毒免疫和炎症功能的关注而复杂化。众多靶已考虑用于细胞因子调节作为对抗SARS-CoV感染和发病机制的手段。非常近期的研究已确认了,重症COVID-19患者显示出高红细胞沉降率(erythematosus sedimentation rate)(ESR),以及持续高水平的C反应蛋白(CRP)、IL-6、TNFα、IL-1β、IL-8、IL2R(Tu等人)。这些及其它促炎标记物与ARDS、高凝状态和弥散性血管内凝血(DIC)(在严重情况下表现为血栓形成、血小板减少症和四肢坏疽)临床上相关。CSS的这些及其它后遗症加剧肺损伤,并且可以导致全身性CSS相关病,被称为"肺外全身性过度炎症综合征"(ESHS),其可以导致妊娠受试者中的胎儿并发症。

[0031] 何时以及如何阻断CSS以介导抗炎疗法的问题对于减少COVID-19受试者的死亡率是关键的。在这方面,重要的是考虑由SARS冠状病毒介导的潜在免疫损害。淋巴细胞减少症是关于COVID-19最突出的诊断标记物之一。COVID-19患者中的T细胞和NK细胞两者均基本上减少,而白细胞计数升高。在危重病患者中,NK细胞是极低,甚至无法检测的,并且记忆辅助T细胞和调节性T细胞是显著降低的(Hui等人,2019)。引人注目的COVID-19尸检发现还揭示了,次级淋巴组织在严重情况下也被破坏--与典型CSS疾病的明显区别。经常观察到脾萎缩,与脾中降低的淋巴细胞、显著的细胞变性、局灶性出血性坏死、巨噬细胞增殖和巨噬细胞吞噬作用相关联。类似地,观察到淋巴结萎缩和减少数目的淋巴结、以及脾和淋巴结中的降低数目的CD4+T细胞和CD8+T细胞[Hui等人,2019]。另外,在具有特征性弥漫性肺泡损伤(DAD)的肺中,主要浸润细胞为单核细胞和巨噬细胞,中等多核巨细胞,伴随极少的淋巴细胞。大多数浸润淋巴细胞是CD4+T细胞。重要的是,即使当血液或咽拭子中的PCR检测呈阴性时,在II型肺泡上皮和巨噬细胞中仍检测到病毒包涵体(Zu等人,2020;De Wit等人,2016;Chan等人,2015B)。这一发现与主要由肺泡巨噬细胞、上皮细胞和内皮细胞引发的,由病毒感染诱导的所谓的"原发性细胞因子风暴"一致,而不是在病毒感染的晚期阶段或T细胞吸引疗法(T cell-engaging therapies)的并发症中,通过激活T淋巴细胞的不同子集诱导的"继发性细胞因子风暴"(Chan等人,2012;Kanne等人,2020)。

[0032] 一般与ARDS严重程度相关联的严重COVID-19疾病的又一种并发症是嗜中性粒细胞浸润到肺毛细血管内的现象,加上嗜中性粒细胞胞外陷阱(NET)的形成,如最近发表的几份COVID-19尸检中鉴定的。嗜中性粒细胞是血流中最常见的白血细胞(WBC)类型,并且是在炎症的急性期过程中从血液迁移到损害或感染部位的吞噬细胞。通过由激活的内皮细胞、肥大细胞和巨噬细胞表达的细胞因子(如白细胞介素8(IL-8)、C5a、fMLP、白三烯B4和H2O2)吸引,嗜中性粒细胞从感染一开始通过趋化性自由移动进入并通过血管和间质区室。一旦定位,嗜中性粒细胞自身就表达并释放细胞因子,其作用于通过募集和激活其它细胞类型来放大炎症反应。嗜中性粒细胞在数目上相当大地超过单核细胞/巨噬细胞吞噬细胞,并且一般被视为早期急性炎症的标志。

[0033] 除募集和激活免疫系统的其它细胞之外,嗜中性粒细胞还在对抗病原体的第一线防御中起关键作用。嗜中性粒细胞具有用于直接攻击病毒和细菌病原体的三种方法:吞噬

作用(摄入)、脱颗粒(释放可溶性抗微生物剂)和嗜中性粒细胞胞外陷阱(NET)的生成。似乎越来越有可能,在一般的ARDS和更具体的SARS-CoV感染的情况下,嗜中性粒细胞的这些通常有益的免疫/炎症功能中的至少一些被破坏性地误用(miscued)或过度激活。

[0034] 嗜中性粒细胞的脱颗粒通常从三种不同类型的颗粒中释放各种蛋白质。嗜天青颗粒(或"初级颗粒")释放髓过氧化物酶、杀菌/渗透性增加蛋白(BPI)、防御素和丝氨酸蛋白酶嗜中性粒细胞弹性蛋白酶和组织蛋白酶G。特异性颗粒(或"二级颗粒")释放碱性磷酸酶、溶菌酶、NADPH氧化酶、胶原酶、乳铁蛋白、组胺酶和组织蛋白酶抑制素(cathelicidin)。三级颗粒释放组织蛋白酶、明胶酶和胶原酶。当异常过表达或过度激活时,这些各种酶和抗微生物剂可以对组织和细胞外组分具有严重的有害作用,包括通过破坏血管、肺和肾中存在的基本"屏障"组分,所述组分保存其结构完整性、病原体抗性和功能。

[0035] COVID-19疾病中的过量嗜中性粒细胞数目、浸润和激活的一个更重要的致病结果似乎涉及嗜中性粒细胞胞外陷阱(NET)的生成。NET是通常由嗜中性粒细胞释放的染色质、杀微生物蛋白、氧化酶和细胞因子的网络,以抑制感染。然而,当不正确地调控时,NET似乎传播炎症并引起微血管血栓形成,很可能促成肺衰竭/ARDS,并且在显示出CSS和PMIS的COVID-19患者中的血管炎和继发性器官衰竭中起类似作用。已知由NET引起的各种其它疾病呈现有类似的症状,包括气道中的粘稠粘液分泌物和血块的发展,如ARDS/SARS中可见的。

[0036] 血液嗜中性粒细胞的水平升高预示着COVID-19中的较差预后,而NET的作用似乎最重要。在最近的一项研究中,Zuo及同事(2020)报告了,嗜中性粒细胞增加浸润到肺的毛细血管内和NET的过表达与COVID-19患者中的病毒性肺炎/ARDS的严重程度强烈相关联。来自重症COVID-19患者的血清显示出升高水平的细胞游离DNA、髓过氧化物酶(MPO)-DNA和瓜氨酸化组蛋白H3(Cit-H3),指示了升高的NET水平。细胞游离DNA水平也与急性炎症期反应物强烈相关联,所述反应物包括C反应蛋白、D-二聚体和乳酸脱氢酶。MPO-DNA与细胞游离DNA和绝对嗜中性粒细胞计数两者相关,而Cit-H3与血小板水平和观察到的NET的促血栓(血块形成)效应相关联。重要的是,细胞游离DNA和MPO-DNA两者在接受机械通气的住院患者中均高于能够独立呼吸的那些患者。最后,来自患有COVID-19的个体的血清在体外触发了来自对照嗜中性粒细胞的NET释放。这些数据揭示了,重症COVID-19患者中的高水平的嗜中性粒细胞和NET很可能显著促成这些患者中的CSS、ARDS、血管炎和血栓形成。其它研究明确地将NET的升高与更一般的ARDS相联系,与对于严重SARS-CoV感染的这些发现可比较。

[0037] 重要的是要注意,嗜中性粒细胞可能在病毒感染或疾病的一个时期过程中有益地运转,然后当误用或过度激活时,在另一个时期过程中破坏性地运转。在α1-抗胰蛋白酶缺乏症的疾病中,通常对于控制发病机制有益的重要的嗜中性粒细胞酶弹性蛋白酶,并未被α1-抗胰蛋白酶充分抑制,并且因此在正常的适应性炎症应答期间造成过度的组织损伤(如在肺气肿中发生的)。在显然包括COVID-19疾病的其它背景下,嗜中性粒细胞的过度激活将弹性蛋白酶及其它破坏性酶释放到细胞外区室内,促成肺屏障破坏和急性肺损害。受调控和不受调控的功能的这种二元性反映了出错的适应过程,很可能指示了该过程被主题病原体劫持或误用,或者是由于进行性疾病过程的新的、不断变化的病因学。

[0038] 存在通过病毒和细菌实施的宿主靶向分子策略的许多实例,以禁用、误导或甚至挪用宿主免疫和炎症过程,以使病原体受益。在嗜中性粒细胞的重要情况下,这些关键效应

细胞与其靶向病原体之间的分子相互作用可以显著地改变嗜中性粒细胞的增殖和寿命。病毒和细菌病原体两者均已证明能够延长嗜中性粒细胞的寿命，或在吞噬作用后加速嗜中性粒细胞裂解。肺炎衣原体(Chlamydia pneumoniae)和淋病奈瑟球菌(Neisseriagonorrhoeae)均已显示了抑制嗜中性粒细胞凋亡。已知其它病原体通过破坏自发性凋亡和通过抑制吞噬作用诱导的细胞死亡(PICD)两者来延长嗜中性粒细胞的寿命。另一方面，一些病原体通过加速细胞裂解和/或细胞凋亡(导致组织坏死的一类嗜中性粒细胞“过度激活”)直接改变在吞噬作用后的嗜中性粒细胞命运。

[0039] 病毒和细菌也可能直接攻击且破坏宿主免疫系统或炎症控制机制的要素。如上文注意到的，严重的COVID-19疾病以淋巴细胞数目的显著减少为标记，并且在这种疾病中丧失的NK细胞及其它关键的淋巴细胞可能被SARS-CoV病毒直接侵入且破坏是完全有可能的。另一方面，这些细胞的破坏可能是间接的，作为CSS的伴随后果。由于COVID-19病毒似乎主要经由血管紧张素转换酶2(ACE2)感染靶细胞，并且在淋巴细胞上不存在ACE2表达，因此这些特定细胞很可能沦为CSS破坏机制的受害者。

[0040] 与这些机制相关的血管炎和血栓形成，加上内皮损伤，是重症COVID-19患者中的突出特征。许多危重病COVID-19患者具有血管炎样表现，经常伴随四肢坏疽。尸检揭示了肺血管(与肺泡隔相关)是充血和水肿的，具有在血管内和周围的单核细胞及其巨噬细胞后代的浸润。小血管显示了增生、管壁增厚、管腔狭窄、闭塞和局灶性出血。在严重情况下发现了微血管的透明血栓(Zu等人，2020;Hui等人，2019;Chan等人，2015B)。血管损伤的潜在机制可能涉及内皮细胞通过病毒的直接损害或下游CSS影响，导致DIC、抗磷脂综合征(APS)和血管炎的模拟。也可能涉及由抗病毒免疫引发的病理性“自身免疫”应答。

[0041] 显示出高凝状态的COVID-19患者包括PIMS受试者。这些并发症的常见后遗症包括凝血酶原时间延长、D-二聚体和纤维蛋白原的水平升高以及接近正常的活化部分凝血活酶时间。少数患者进展为明显的弥散性血管内凝血(DIC)。Tang等人(2020)报告了，71.4％的非存活者和0.6％的COVID-19存活者显示了明显DIC的证据。甚至更多的非存活患者显示出潜伏的DIC，其特征在于在尸体解剖中的高凝状态(通过纤维蛋白血栓形成所证明的)。在恶化的COVID-19患者中也观察到高比例的肢端缺血，指示了在明显DIC的发作之前的高凝状态。

[0042] 几个因素可能促成COVID-19患者中的凝血障碍。重症和危重COVID-19患者中的持续炎症状态充当凝血级联的重要触发因素。某些细胞因子，包括IL-6，可以激活凝血系统并且压制纤维蛋白溶解系统。在COVID-19的背景下，由于直接病毒攻击的肺和外周内皮损害可能是高凝状态的关键诱导物。内皮细胞损害经由组织因子的暴露及其它途径强烈激活凝血系统。侵略性免疫和炎症应答可能依次又通过凝血功能障碍而加剧，其中这两个过程以一种反馈回路朝向不受控制的终点起作用。最后，COVID-19患者中的抗磷脂抗体的出现可能加剧其凝血病，因为在COVID-19患者中已检测到抗心磷脂和抗β2GP1抗体Zhang等人，2020)。

[0043] 虽然抗病毒和支持性治疗是COVID-19疾病管理的关键组分，但使用抗炎疗法阻断CSS代表了COVID-19疾病的治疗和管理的一个关键的、未实现的目标。各种抗炎药物治疗是本领域众所周知的，其可能可用于COVID-19治疗，例如尤其是非甾体抗炎药物(NSAID)、糖皮质激素和氯喹/羟氯喹。还广泛考虑的是免疫抑制剂、促炎细胞因子拮抗剂(例如IL-6R单

克隆抗体、TNF抑制剂、IL-1拮抗剂、janus激酶(JAK)抑制剂等)及其它免疫调节剂,以减少肺和全身炎症。

[0044] 尽管这种大量整体可用的抗炎剂,但在ARDS和COVID-19疾病的背景下,这些无一关于其功效和不良副作用的可能性不存在不确定性。按照是否以及何时用抗炎方案治疗受试者,用于COVID-19疾病患者的抗炎疗法呈现基础的风险/收益关注。这些基础问题仍处于激烈辩论中,没有达成共识。一个主要的关注在于抗炎药物治疗,如皮质类固醇,可能延迟或损害有益的抗病毒防御,和/或同时增加继发感染的风险,特别是在面临预先存在的免疫系统损害或由病毒本身介导的损害的受试者中。其它问题在靶向促炎细胞因子的生物制剂的情况下出现,所述生物制剂可能仅抑制一种特定的炎症因子,并且从而未能一般地抑制CSS。可替代地,与类固醇一样,抗炎药可能损害有益的免疫功能。例如,JAK抑制剂可能发挥有力的抗炎效应,同时损害由INF-a介导的关键免疫机制。又一个基础的混淆问题涉及抗炎治疗的最佳时间窗,其在COVID-19疾病的情况下显得至关重要。重症患者通常已显示了长时期的初始、中度症状,随后为在发作后1-2周的突然恶化,这之后抗炎疗法可能无法实现有利的治疗应答。

[0045] 更详细地检查SARS病毒病因学,SARS-CoV-2显示了对于上呼吸道组织的向性并且在其中活跃地复制。如同SARS-CoV,SARS-CoV-2使用血管紧张素转换酶2(ACE2)作为其用于细胞进入的主要受体,其在血管内皮、呼吸上皮、肺泡单核细胞和巨噬细胞中广泛表达(Lu等人,2020)。主要传播途径是通过直接或间接的呼吸道暴露(如通过来自咽拭子的活病毒分离以及在上呼吸道细胞中的病毒亚基因组信使RNA(sgRNA)的检测所证实的)(Wolfel等人,2020)。即使当症状是最低限度的且局限于上呼吸道时,对于上呼吸道组织的向性经由病毒的持续咽部脱落也促进了SARS-CoV-2的更高传染性。在病程后期,SARS-CoV-2在病毒复制推进到下呼吸道方面类似于SARS-CoV,随后为在严重情况下针对肺和表达ACE2的其它靶器官(包括心脏、肾、胃肠道和远端脉管系统)的广泛攻击。病毒扩散的这种程度和持续时间与临床恶化相关联,主要在疾病发作之后的第二周发生。然而,在严重情况下通过晚期阶段的疾病加重并不仅仅归于直接病毒损伤,而是另外涉及由SARS-CoV-2诱导的免疫介导的损害。在COVID-19疾病的这一阶段过程中的重症和危重患者的两个显著特征是炎症的进行性增加和高凝状态的异常趋势。

[0046] 毫无疑问的是,免疫介导的炎症在严重COVID-19发病机制的这个后期阶段起重要作用,就像SARS-CoV情况一样。COVID-19的进展涉及淋巴细胞计数的持续降低,伴随嗜中性粒细胞的显著升高、浸润和过度激活,加上炎症标记物(包括C反应蛋白、铁蛋白、白细胞介素(IL)-6、IP-10、MCP1、MIP1A和TNFα)的广泛升高。减少的淋巴细胞计数以及升高水平的铁蛋白、IL-6和D-二聚体在各种研究中报告为与COVID-19患者的死亡率增加直接相关。尽管B细胞、T细胞和天然杀伤(NK)细胞的降低在严重情况下都更为突出,但重症和危重COVID-19患者中的进行性淋巴细胞减少的潜在机制仍不明确。其它研究已报告了,尽管CD8+T细胞计数的减少,但CD8+T细胞活化的水平增加(通过CD38和HLA-DR表达的比例测量的)。淋巴细胞减少也是SARS-CoV疾病进展的一个重要特征,并且CD4+和CD8+T淋巴细胞两者的下降经常与致病性放射学变化相关联。尽管通过一项研究指示了巨噬细胞和淋巴细胞被SARS-CoV的直接感染,但SARS-COV-1中的淋巴细胞计数的快速减少进一步归于两种机制:循环淋巴细胞的重新分布或者淋巴细胞通过细胞凋亡或焦亡的耗竭。在COVID-19患者的外周血单核细

胞(PBMC)中并未观察到病毒基因表达,并且正常病毒转运蛋白ACE2并不在淋巴细胞上表达。然而,Wang等人(2020)提示了,通过刺突蛋白触发的内吞作用,T淋巴细胞可能对SARS-CoV-2比SARS-CoV更许可。其它报告指示了在COVID-19患者的PBMC中存在细胞凋亡、自噬和p53途径的上调(Xiong等人,2020),而其他人报告了NK和CD8+T细胞通过NKG2A的过表达在COVID-19患者中在功能上耗尽(Zheng等人,2020)。

[0047] 上述共同发现指示了,作为直接和旁观者效应的组合结果,免疫紊乱在COVID-19疾病早期起始。特别是在轻度和中度情况下,COVID-19的进行性致病性变化通过及时干预可能是可逆的,然而,这种疾病的复杂性和难治性质呈现了许多障碍。SARS-CoV-2感染的临床过程可以在概念上分成三个阶段:病毒血症期、急性期(肺炎期)和严重或恢复期。具有有效的免疫功能、没有严重危险因素(老年、主要并存病等)的患者可能在第一阶段或第二阶段生成有效和足够的免疫应答来压制病毒,而不表现CSS、ARDS或PIMS的超免疫/过度炎症症状。相比之下,具有免疫功能障碍的患者可能具有初始阶段失败和成为严重或危重类型的更高风险,具有更高的发病率和死亡率。因而,COVID-19的治疗应该包括患者的细致分类和分期,以在第一阶段和第二阶段之间完成对于高危受试者的治疗,潜在地通过临床恶化的观察指导(例如,通过检测突然的过度炎症、淋巴细胞减少的阈值水平、高凝状态等)

[0048] 鉴于前文,本领域迫切需要更有效的工具和方法来对抗急性呼吸窘迫综合征(ARDS),包括由冠状病毒介导的严重急性呼吸综合征(SARS)、细胞因子风暴综合征(CSS)及其它过度炎症疾病,包括儿童炎症多系统综合征(PIMS)、川崎病、肺外全身性过度炎症综合征(ESHS),以及与之相关的血管充血和血栓形成状况,包括弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风、血小板减少症和坏疽,以及伴随这些状况的广泛范围的细胞、组织和器官损害。

[0049] 关于对抗由COVID-19和相关SARS冠状病毒介导的显著破坏的相关需要仍然严重地未得到满足,所述冠状病毒在过去二十年中已三次作为新型病原体出现,并且很可能再次出现。关于治疗和管理COVID-19疾病的未实现的目标是众多且复杂的,跨越由COVID-19介导的大范围的致病性、免疫性和炎性损伤,其包括在严重情况下的ARDS/SARS、CSS、PIMS、ESHS、DIC。

[0050] 为了满足这些需求并克服伴随的障碍,需要发现和开发有力且创新的工具,包括多活性和多靶向药物和疗法,例如能够损害病毒功能和调控超免疫和过度炎症应答的药物,同时增强或至少不损害有益的宿主免疫和炎症能力和应答。另外,这些目标将通过开发互补药物和治疗方法的新型组合来最有利地实现,所述组合类似地到达多重靶并引发多重(例如,抗病毒、促免疫和抗炎)效应。通过相对于在患者特异性基础上呈现的疾病病因学的离散指标,对治疗形式、剂量和模式进行定时且计量,对抗COVID-19及其多种致病性后遗症的成功方法将对于个别患者进行进一步优化。

[0051] 本发明的示例性实施方案的概括

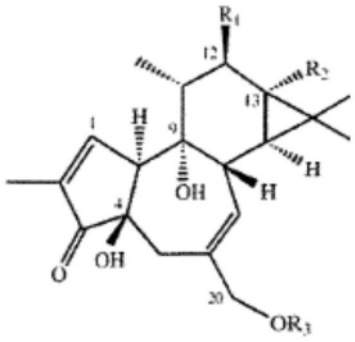
[0052] 本发明通过“TPA”化合物以及相关组合物和方法治疗和/或预防哺乳动物受试者中的急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的新型和有力的用途,来实现前述目标且满足另外的目标和优点。所述急性呼吸窘迫综合征包括由COVID-19及其它SARS冠状病毒介导的在人中的严重急性呼吸综合征(SARS)。本发明的相关方面采用临床上有效的TPA化合物、组合物和方法来预防和/或治疗超免疫和过度炎症状况,包括一般的“细胞因子风暴综合征”(CSS),以及许多其它过度炎症疾病,包括但不限于与COVID-19疾病相关的儿童炎症多系统综合征

(PIMS)、称为川崎病的相关儿童期状况、肺外全身性过度炎症综合征(ESHS)、以及由过度炎症引起的血管充血和血栓形成状况，例如弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风、血小板减少症和坏疽。

[0053] 本发明的另外方面采用TPA化合物、组合物和方法来有效地限制或治疗广泛范围的细胞、组织和器官损害，其伴随ARDS、SARS、CSS、PIMS、ESHS、DIC以及可以伴随这些状况的其它免疫和炎性损害或疾病状态。

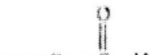
[0054] 本发明的进一步方面涉及采用TPA化合物的组合物和方法，以治疗和/或预防在人中由SARS冠状病毒(例如SARS-CoV、SARS-CoV-2(COVID-19)和中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV))引起的COVID-19疾病和相关疾病状况和症状。在示例性实施方案中，本发明提供了预防和/或治疗严重COVID-19疾病受试者中的ARDS/SARS的临床上有效的TPA化合物、组合物和方法。在其它示例性实施方案中，本发明的组合物和方法采用TPA化合物或组合物，以有效地治疗和/或预防超免疫和过度炎症状况，以及伴随严重COVID-19疾病的相关的细胞、组织和器官损害和功能障碍，包括CSS、PIMS、ESHS、DIC以及可能伴随这些状况的其它免疫和炎性损害或疾病状态，例如血管充血和血栓形成状况，包括但不限于弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风、血小板减少症和坏疽。

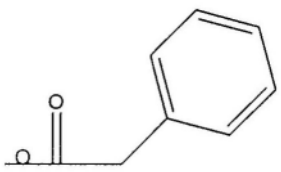
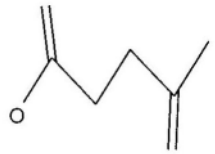
[0055] 在本发明的方法和组合物内有效的TPA化合物包括根据下式I的佛波酯和衍生物：

[0056] 

式 I

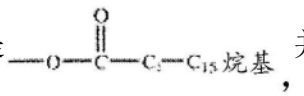
[0057] 其中R_1和R_2可以是氢；羟基；烷基，其中所述烷基含有1至15个碳原子；

低级烯基，其中低级烯基含有1至7个碳原子；

苯基；苄基；；；并且

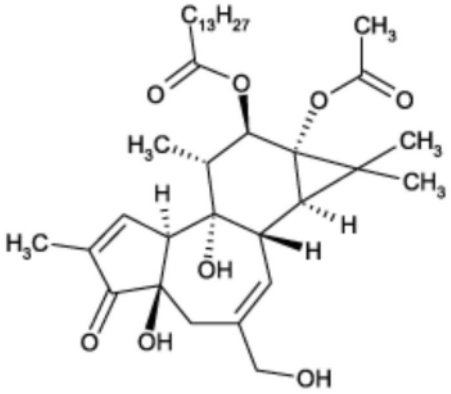
[0058] 其中R_3可以是氢或低级烯基。

[0059] 在一些实施方案中，R_1和R_2中的至少一个不是氢，并且R_3是氢或低级烯基

及其取代的衍生物。在其它实施方案中，R_1或R_2中的任一个是，并且剩下的R_1或R_2是，其中低级烷基具有1至7个碳，并且R_3是氢。

[0060] 本文分子式的烷基、烯基、苯基和苄基可以是未取代的，或者由卤素优选氯、氟或溴，硝基，氨基和/或类似类型的原子团取代的。

[0061] 在其它实施方案中，本发明采用下式II的示例性佛波酯：

[0062] 

式 II。

[0063] 用于在本发明的组合物和方法内使用的佛波酯应理解为包括式I和式II化合物的药学上可接受的活性类似物和衍生物，包括合理设计的化学类似物和衍生物，其具有应用于式I或式II内的母体化合物结构的官能团的所选取代、缺失或添加，以及所述化合物的盐、异构体、对映异构体、多晶型物、溶剂化物、水合物和/或前药。

[0064] 本发明的示例性实施方案的详细描述

[0065] 提供下述说明书以通过示例性实施方案的解释，来说明本发明的基础手段和原理。通过本说明书并不预期本发明的限制。本领域的普通技术人员将了解，此处描述的对象、材料和原理的变更、修改、取代、改进和进一步应用落入本公开内容和所附权利要求的发明范围内。

[0066] 本发明提供了作为药物试剂并且用于药物组合和方法中的“TPA化合物”，以介导新型、多样且经常多功能的疗效。本发明的TPA化合物和相关组合物和方法有效治疗且预防在人及其它哺乳动物中由异常、超免疫和过度炎症应答介导的各种各样的难治性疾病状况。本发明的TPA化合物、组合物和方法有力地发挥一种或多种有效活性，包括抗病毒、抗炎和免疫调控活性，以改善由病毒和细菌感染、烧伤、外伤及其它损害引起的免疫功能失调和过度炎症疾病和状况，所述其它损害触发通常有益的免疫和炎症机制的有害损害、误导或扩大。

[0067] 在此处描述的关于TPA化合物的新型和有力的用途中，本发明提供了有效的临床工具和方法来预防且治疗以前难治的称为急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的状况。ARDS是由复杂的致病因素和机制介导的一种复杂的免疫功能失调和过度炎性疾病。ARDS可能由对肺的烧伤或化学损害、对肺的外伤性损害、或者肺通过病毒或细菌因子的暴发性感染及其它原因引起。ARDS的统一特征包括肺实质的显著炎症、过量数目的破坏性嗜中性粒细胞和巨噬

细胞浸润到肺组织和肺泡空间内、氧化性应激、内皮和上皮屏障的破坏、对肺上皮衬里的损伤和肺纤维化。这些致病性发展对患者的影响导致受限、费力的呼吸，低氧血症和最终的肺衰竭，长期纤维化及其它病理损害，以及在严重情况下的死亡。在本发明的相关方面内，TPA方法和组合物用于治疗由SARS冠状病毒(包括COVID-19病毒)介导的ARDS形式，称为严重急性呼吸综合征(SARS)。

[0068] 在本发明的其它方面内，有效的TPA化合物、组合物和方法用于预防且治疗过度炎症状况，包括一般的“细胞因子风暴综合征”(CSS)、与COVID-19疾病相关的儿童炎症多系统综合征(PIMS)、川崎病、一般的肺外全身性过度炎症综合征(ESHS)，以及由过度炎症引起的血管充血和血栓形成状况，包括弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风、血小板减少症和坏疽。

[0069] 本发明的又另外的方面采用TPA化合物和方法，以直接预防或抑制通过冠状病毒，特别是SARS冠状病毒的生产性感染。如通过TPA在COVID-19疾病受试者中引发抗SARS-CoV-2免疫调控、免疫增强和/或抗炎应答的能力证明的，本发明的TPA化合物在人受试者中有效治疗且预防SARS-CoV-2感染和疾病。本文所述的TPA化合物的多重抗病毒活性有效预防或减少SARS-CoV-2感染--通过减少上呼吸道和下呼吸道中的病毒载量;降低非呼吸系统ACE-2阳性细胞和组织中的病毒滴度;预防或减少病毒附着和进入肺及其它ACE-2阳性细胞和组织内;预防或减少肺及其它ACE-2阳性细胞和组织中的病毒复制;和/或通过预防或减少来自受感染的受试者的上呼吸道的病毒脱落。这些抗病毒效应可能是直接的或间接的，尽管抗病毒结果特定性预防或限制治疗的受试者中的病毒感染、复制、致病性、传播性和相关的COVID-19疾病严重程度。

[0070] 本发明的更详细的方面涉及采用TPA化合物、组合物或方法的组合物和方法，以治疗和/或预防由SARS冠状病毒(SARS-CoV、SARS-CoV-2(COVID-19)、或中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV))引起的COVID-19疾病和/或相关的不利状况和症状。

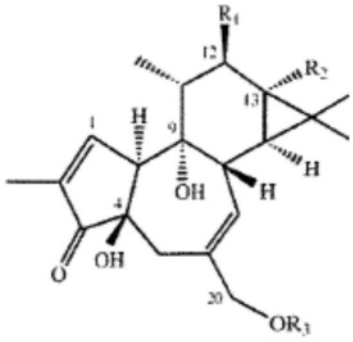
[0071] 在示例性实施方案中，本发明提供了临床上有效的TPA化合物，其充当“抗病毒”药物。如本文使用的，抗病毒活性包括例如减少靶向细胞、组织或区室中的病毒载量/滴度，或者损害或以其它方式限制病毒功能(例如，病毒附着，病毒进入细胞内，病毒复制，病毒脱落，针对宿主抗病毒机制的病毒防御，病毒对宿主细胞完整性、生理学、基因表达、免疫活性、炎症活性、生命周期/寿命等的致病影响)。这些和相关的抗病毒方法和组合物将预防和/或高风险、暴露于病毒的受试者中的COVID-19感染和/或伴随疾病症状。在其它示例性实施方案中，本发明的组合物和方法采用TPA化合物或组合物，以有效地治疗和/或预防超免疫和过度炎症状况，以及伴随严重COVID-19疾病的相关的细胞、组织和器官损害和功能障碍，包括CSS、PIMS、ESHS、DIC以及可能伴随这些状况的其它免疫和炎性损害或疾病状态，例如血管充血和血栓形成状况，包括但不限于弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风、血小板减少症和坏疽。

[0072] 在某些实施方案中，本发明采用一种或多种TPA或TPA样化合物，或者是母体TPA化合物(12-O-十四烷酰佛波醇-13-乙酸酯(TPA);也称为佛波醇-12-肉豆蔻酸酯-13-乙酸酯(PMA))，或者这种母体TPA化合物的结构上相关的功能类似物、衍生物、盐或其它衍生物形式。在本发明内采用的TPA化合物可用于施用于受试者的组合物和方法中，以介导抗病毒、抗ARD、抗CSS、抗炎、抗细胞病变、促免疫和细胞凋亡调控效应，以及其它临床上有关的活

性。这些活性在不同的疾病背景下个别或协同有效，以介导一系列ARDS和SARS病毒(例如COVID-19)疾病状况、症状以及伴随的免疫、细胞、组织和器官损害和功能障碍的预防和/或治疗。

[0073] 用于在本发明内使用的TPA化合物包括式I和/或式II的一种或多种佛波酯化合物，其有效施用以预防和/或治疗如本文所述的靶向病毒感染、疾病、状况或症状。在示例性实施方案中，母体或原型TPA化合物，佛波醇12-肉豆蔻酸酯-13-乙酸酯(“PMA”，在本文中可替代地被称为12-O-十四烷酰佛波醇-13-乙酸酯“TPA”))用作本发明的药物组合物和方法中的临床上有效的药剂，用于说明性目的。然而，应认识到，本公开内容提供了根据下文对于式I和式II化合物描述的结构基础的许多另外的药学上可接受的佛波酯化合物，其形式为天然或合成化合物、化合物的复合物、类似物、衍生物、盐、溶剂化物、异构体、对映异构体、多晶型物和前药。

[0074] 佛波醇是一种天然的、植物衍生的二萜类的惕各烷家族的多环醇。它于1934年首次作为巴豆油的水解产物得到分离，所述巴豆油衍生自巴豆(Croton tiglium)的种子。它在大多数极性有机溶剂和水中是充分可溶的。佛波醇的酯具有下式I的一般结构：

[0075] 

式 I

[0076] 其中R_1和R_2选自氢；，其中所述烷基含有1至15个碳原子；，，及其取代衍生物，并且R_3可以是氢、或其取代衍生物。

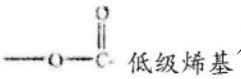
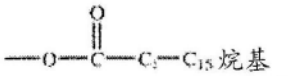
[0077] 如本文使用的，术语“低级烷基”或“低级烯基”意指含有1-7个碳原子的部分。在式I的化合物中，烷基或烯基可以是直链或支链的。在一些实施方案中，R_1或R_2中的任一个或两者是长链碳部分(即，式I是癸酸酯或肉豆蔻酸酯)。

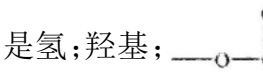
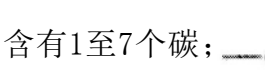
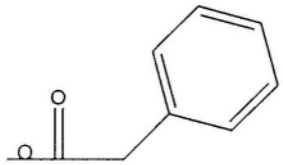
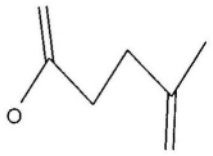
[0078] 本文分子式的烷基、烯基、苯基和苄基可以是未取代的，或者例如由卤素(例如，氯、氟或溴)、硝基、氨基及其它官能团取代的。

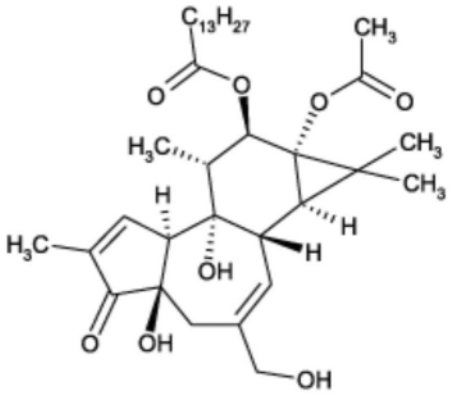
[0079] 佛波酯的有机和合成形式，包括来自草本来源如巴豆的任何制剂或提取物，被视为用于在本文的实施方案内使用的包含佛波酯(或佛波酯类似物、相关化合物和/或衍生物)的有用组合物。用于在本发明内使用的有用的佛波酯和/或相关化合物通常具有根据式I的结构，尽管此类化合物的功能上等价的类似物、复合物、缀合物和衍生物也由本领域技

术人员理解为属于本发明的范围内。

[0080] 在更详细的实施方案中，选择根据上式I的说明性结构修饰，以提供有用的候选化合物，用于治疗和/或预防COVID-19感染或疾病，一般的ARDS、SARS、CSS、PIMS以及本文描述的其它靶向感染、疾病、状况和症状。在此处考虑的式I化合物的各种修饰中，示例性的类似物和衍生物可以照常规进行构建且测试，其中：

[0081] R_1和R_2中的至少一个不是氢，并且R_3选自氢、及其取代的衍生物。在另一个实施方案中，R_1或R_2中的任一个是，剩下的R_1或R_2是，并且R_3是氢。

[0082] 可替代地，可以构建根据式II的某些合理设计的类似物和衍生物，其中R_1和R_2可以是氢；羟基；，其中所述烷基含有1至15个碳原子；，其中烯基含有1至7个碳；；；；，及其取代衍生物；并且其中R_3可以是氢或。

[0084] 

式 II

[0085] 涵盖了其药学上可接受的活性盐、活性异构体、对映异构体、多晶型物、糖基化衍生物、溶剂化物、水合物和/或前药。

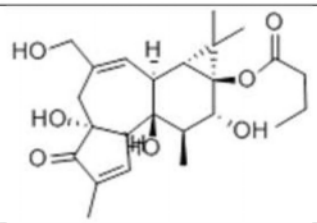
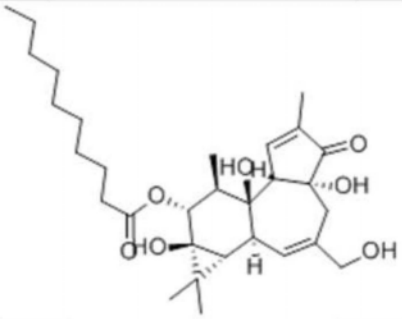
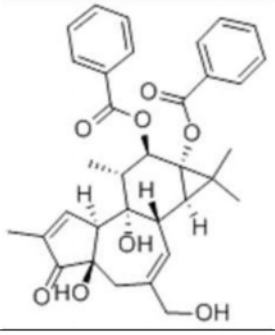
[0086] 用于在组合物内使用的另外示例性佛波酯并不限于佛波醇13-丁酸酯；佛波醇12-癸酸酯；佛波醇13-癸酸酯；佛波醇12,13-二乙酸酯；佛波醇13,20-二乙酸酯；佛波醇12,13-二苯甲酸酯；佛波醇12,13-二丁酸酯；佛波醇12,13-二癸酸酯；佛波醇12,13-二己酸酯；佛

波醇12,13-二丙酸酯;佛波醇12-肉豆蔻酸酯;佛波醇13-肉豆蔻酸酯;佛波醇12,13,20-三乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-当归酸酯(angelate);12-脱氧佛波醇13-当归酸酯20-乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-异丁酸酯;12-脱氧佛波醇13-异丁酸酯-20-乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-苯乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-苯乙酸酯20-乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-十四烷酸酯;佛波醇12-顺芷酸酯(tigliate)13-癸酸酯;12-脱氧佛波醇13-乙酸酯;佛波醇12-乙酸酯;以及佛波醇13-乙酸酯。

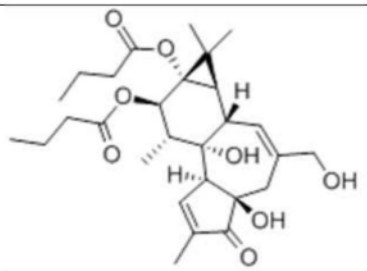
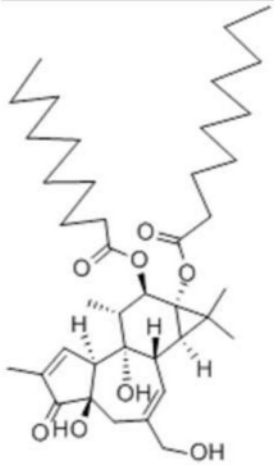
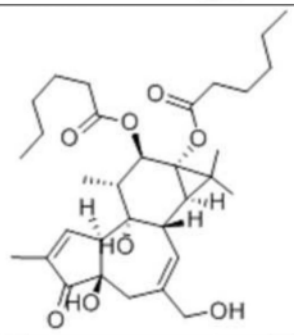
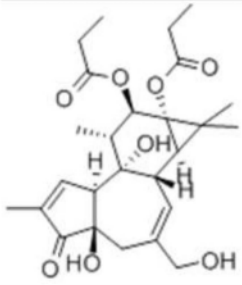
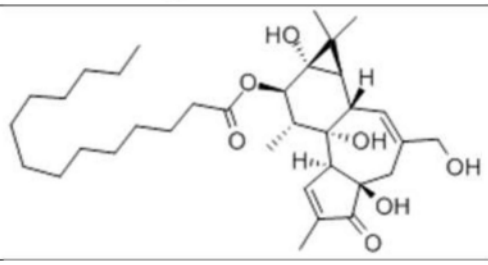
[0087] 为了在本发明的抗病毒、抗ARDS、抗CSS及其它主要治疗组合物和方法中使用,可以通过根据合理的设计化学实施的结构修饰来制备另外的TPA化合物,以改善此类有关的药理性质如溶解度,亲脂性,生物利用度,体内半衰期,对内源性酶的抗性或敏感性,制剂对于特定递送形式、模式和递送靶/区室的顺应性,贮存期限稳定性等。在本发明的制剂和方法内的另外有用的佛波酯和相关化合物和衍生物包括但不限于所述化合物的其它药学上可接受的活性盐,以及所述化合物的活性异构体、对映异构体、多晶型物、糖基化衍生物、溶剂化物、水合物和/或前药。用于在本发明的组合物和方法内使用的佛波酯的进一步示例性形式包括但不限于佛波醇13-丁酸酯;佛波醇12-癸酸酯;佛波醇13-癸酸酯;佛波醇12,13-二乙酸酯;佛波醇13,20-二乙酸酯;佛波醇12,13-二苯甲酸酯;佛波醇12,13-二丁酸酯;佛波醇12,13-二癸酸酯;佛波醇12,13-二己酸酯;佛波醇12,13-二丙酸酯;佛波醇12-肉豆蔻酸酯;佛波醇13-肉豆蔻酸酯;佛波醇12,13,20-三乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-当归酸酯;12-脱氧佛波醇13-当归酸酯20-乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-异丁酸酯;12-脱氧佛波醇13-异丁酸酯-20-乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-苯乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-苯乙酸酯20-乙酸酯;12-脱氧佛波醇13-十四烷酸酯;佛波醇12-顺芷酸酯13-癸酸酯;12-脱氧佛波醇13-乙酸酯;佛波醇12-乙酸酯;以及佛波醇13-乙酸酯。关于母体佛波酯化合物的合理设计的化学修饰的这些不同靶的说明是表1中显示的结构。

[0088] 表1示例性的佛波酯

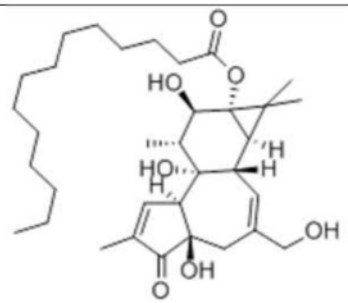
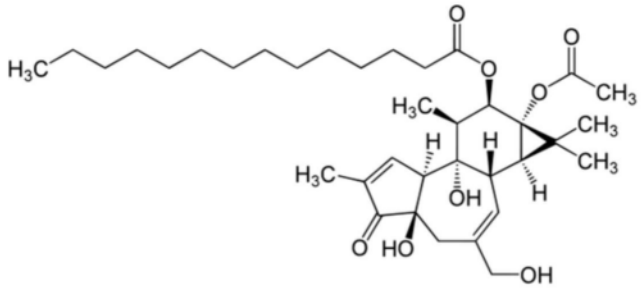
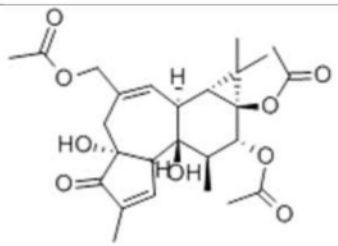
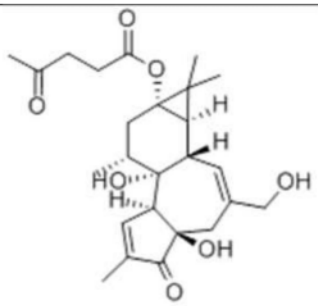
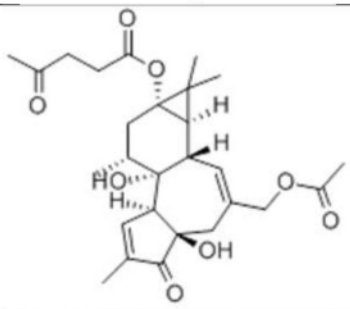
[0089]

佛波醇 13-丁酸酯	
佛波醇 12-癸酸酯	
佛波醇 12,13-二苯甲酸酯	

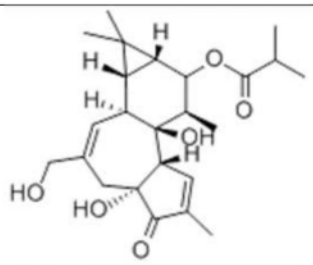
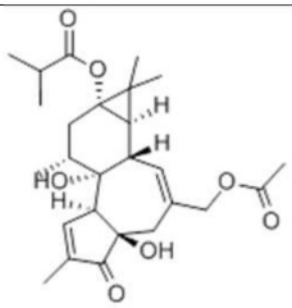
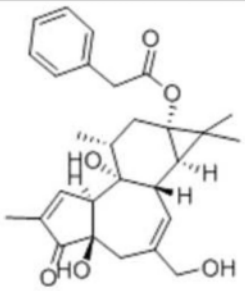
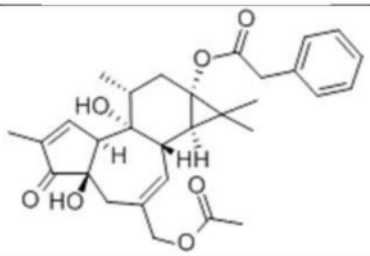
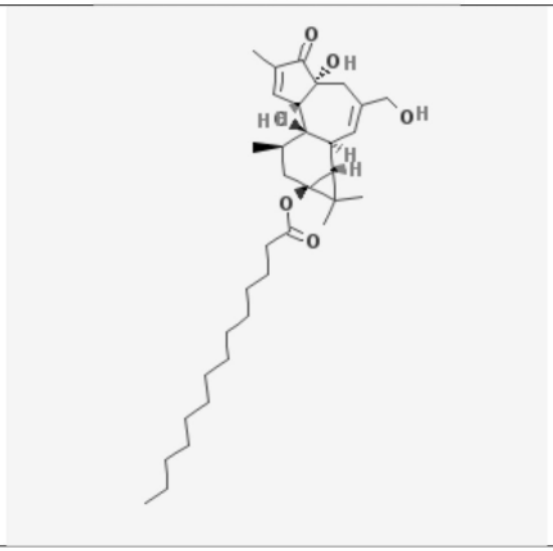
[0090]

佛波醇 12,13-二丁酸酯	
佛波醇 12,13-二癸酸酯	
佛波醇 12,13-二己酸酯	
佛波醇 12,13-二丙酸酯	
佛波醇 12-肉豆蔻酸酯	

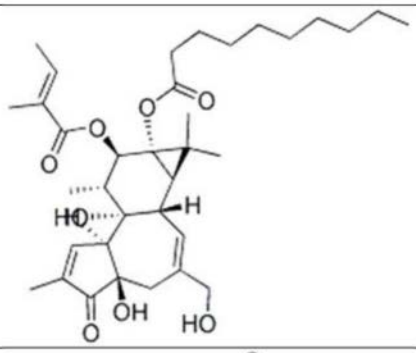
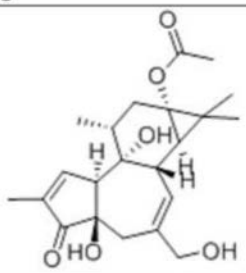
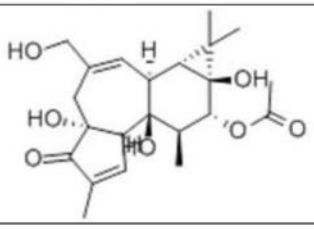
[0091]

佛波醇 13-肉豆蔻酸酯	
佛波醇 12-肉豆蔻酸酯-13-乙酸酯(也称为 TPA、或 PMA)	
佛波醇 12,13,20-三乙酸酯	
12-脱氧佛波醇 13-当归酸酯	
12-脱氧佛波醇 13-当归酸酯 20-乙酸酯	

[0092]

12-脱氧佛波醇 13-异丁酸酯	
12-脱氧佛波醇 13-异丁酸酯-20-乙酸酯	
12-脱氧佛波醇 13-苯乙酸酯	
12-脱氧佛波醇 13-苯乙酸酯 20-乙酸酯	
12-脱氧佛波醇 13-十四烷酸酯	

[0093]

佛波醇 12-顺芷酸酯 13-癸酸酯	
12-脱氧佛波醇 13-乙酸酯	
佛波醇 12-乙酸酯	

[0094] 抗病毒组合物和方法

[0095] 本发明提供了用于治疗和预防病毒感染和相关疾病的新型工具和方法，包括治疗和预防SARS-CoV-2感染和伴随的COVID-19疾病。在示例性实施方案中，向处于变得感染SARS-CoV-2的风险中的受试者以及对于病毒测试呈阳性的受感染的受试者施用抗病毒有效量的TPA化合物，其足以引发针对SARS-CoV-2的抗病毒应答，和/或预防或减少COVID-19疾病的一种或多种临床症状。在某些实施方案中，TPA化合物以一定的量和剂型进行施用，所述量和剂型有效减少或消除选自以下的病毒感染严重程度的一种或多种指标：1)受试者的上呼吸道或下呼吸道细胞、组织或样品中的病毒载量/滴度；2)受试者的非呼吸系统ACE-2阳性细胞、组织或样品，或者受试者的血浆中的病毒载量/滴度；3)病毒附着和/或进入肺或其它组织/细胞内；4)受试者的肺或者其它ACE-2阳性细胞、组织或器官中的病毒复制；和/或5)来自受感染的受试者的上呼吸道组织或样品的病毒脱落(其中每个指示剂/值在治疗的受试者中进行测量且确定，与在类似的、安慰剂治疗的对照受试者中测量且确定的相同指示剂/值形成对比)。

[0096] 通过治疗和对照受试者的临床评价确定受试者中的病毒“载量”来证实TPA的抗病毒功效，定量比较了测试和对照生物样品(例如鼻咽拭子样品)中的SARS-CoV-2病毒粒子的计数或估计“滴度”、DNA或SARS-CoV-2水平的其它定量测量。各种测定方法和材料得到公开且是广泛已知的，并且为此目的照常规实施。根据本文的教导，与类似地处于SARS-CoV-2的风险中或被SARS-CoV-2感染的安慰剂治疗的对照受试者相比，用本发明的抗病毒TPA组合物和方法治疗的患者将显示可检测的病毒载量/滴度的至少20％减少，经常是25-50％减少，在许多情况下，75-95％或更多的减少，直到100％消除。同样地，对于其它SARS冠状病毒(SARS-CoV和MERS)以及在人受试者中引起或促成ARDS、CSS或PIMS的其它病毒和病原体提

供了可比较的临床功效。

[0097] 本发明的相关组合物和方法涉及SARS-CoV-2阳性患者的抗病毒治疗，治疗性TPA组合物能够在治疗之后的1-2周内至少从上呼吸道中消除或清除病毒。特别地，来自在TPA治疗前对于SARS-CoV-2感染筛查为阳性的受试者的鼻咽拭子样品中的SARS-CoV-2水平的DNA或其它定量测量，在TPA治疗后的两周内，在至少25-50％、50-75％、高达90％或更多的TPA治疗的受试者中降低100％(对应于在上呼吸道中可检测到的SARS-CoV-2病毒的完全清除，指示了非传染性状态)。

[0098] 在相关实施方案中，小心地监测(例如，通过关于细胞因子的血液检测、肺功能和低氧血症检测、关于肺部致病性病变的扫描等)对于SARS-CoV-2检测呈阳性或呈现有已知的COVID-19疾病的升高风险因素的患者，以确保在受试者发展选自以下的严重COVID-19疾病的一项或多项指数之前(或之后尽快)启动抗COVID-19TPA治疗：1)持续超过2天的发烧；2)严重的下呼吸道症状，包括肺充血、发闷、呼吸短促和/或低氧血症；和/或3)以下的任何症状：急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、细胞因子风暴综合征(CSS)；儿童炎症多系统综合征(PIMS)；肺外全身性过度炎症综合征(ESHS)，和/或与受试者中的超免疫过度炎症应答相关的任何其它状况或症状，包括血管充血和血栓形成状况、弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风和/或血小板减少症。

[0099] 不希望受理论的束缚，本发明的TPA化合物在治疗的受试者中发挥直接和间接的多重抗病毒活性，其在治疗的受试者中有效介导预防(即，预防或减少实际感染的发生率或程度)和治疗(减少或消除病毒载量，且从而降低疾病严重程度)影响和应答两者。

[0100] TPA化合物的某些抗病毒效应涉及其与蛋白激酶的促免疫和抗炎相互作用。蛋白激酶是生物信号应答途径的主要组分，其“调控”针对病毒及其它病原体的免疫和炎症应答。在本发明的一个方面，在TPA化合物与涉及免疫调控和炎症的一种或多种蛋白激酶之间的相互作用介导了有力的抗病毒效应，以预防且治疗SARS-CoV-2感染。

[0101] 蛋白激酶C(PKC)是用于调控人中的免疫功能和炎症的重要激酶。如本文使用的，“调控”意指通过激活、压制和/或选择特异性免疫或炎症信号或触发因素(例如，细胞因子或趋化信号)来有益地控制细胞、机制或途径。在PKC的背景下，本发明的TPA化合物结合并激活PKC，其在SARS-CoV-2患者中的结合和激活介导了干扰素刺激基因(ISG)的转录激活，所述基因涉及免疫效应子功能的促免疫信号传导和下游激活。在示例性实施方案中，TPA激活的PKC刺激编码能够干扰病毒复制和扩散的产物的ISG，包括通过减缓细胞代谢且激活适应性免疫。可被TPA激活的其它ISG包括模式识别受体(PRR)，其进一步使细胞对以下敏感：病原体，降低膜流动性和渗透性的蛋白质(抑制膜融合且损害病毒进入和流出)，以及抑制涉及病毒细胞进入、复制和释放/脱落循环的特定靶的其它抗病毒因子(Schneider等人，2014;Totura等人)。

[0102] 人干扰素包含帮助调控免疫系统的活性的一大群蛋白质。一般地，干扰素(IFN-1)提供了有力的抗病毒效应。在COVID-19感染中，IFN-1由免疫细胞、上皮细胞和内皮细胞在对病毒感染的早期应答中产生。1型干扰素(IFN-I)用于COVID-19治疗的潜在用途最近以来已通过Sallard等人(2020)进行调查。在通过模式识别受体(PRR)识别病毒组分后，IFN-1在大多数病毒感染期间产生的首批免疫效应分子中。IFN-1被存在于不同细胞类型中的质膜处的IFNAR受体识别。IFN-1与IFNAR的结合诱导转录因子(如STAT1和STAT2)的磷酸化，并且

将其定位导向核,在其中它们激活干扰素刺激基因(ISG)。

[0103] ISG编码负责调控多种免疫应答的一系列重要分子,所述免疫应答包括炎症、细胞因子信号传导和免疫调节。某些ISG通过各种机制干扰病毒复制和扩散(Schneider等人,2014;Totura等人)。同时,IFN-1激活刺激下游促炎细胞因子,其产生了关于IFN-s引发或促成细胞因子风暴综合征(CSS)的潜力的一些关注。

[0104] 本发明调控IFN-1激活(通过PKC的TPA激活),产生安全和离散的抗病毒效应。特别地,TPA组合物和方法增强了通过IFN介导的抗病毒保护,而不增加炎症或压制其它有益的免疫功能。

[0105] 单独以及与以下组合的IFN-I治疗已针对MERS-CoV和SARS-CoV(在Stockman等人,2006中综述)进行调查:洛匹那韦/利托那韦(Chan等人,2015;Sheahan等人,2020)、利巴韦林(Chen等人,2004;Morgenstern等人,2005;Omrani等人,2014)、瑞德西韦、皮质类固醇(Loutfy等人,2003)或IFNγ(Sainz等人,2004;Scagnolari等人,2004)。据报告IFNα和β在体外和某些动物模型中显示了抗病毒活性(Chan等人,2015),但未能显著改善人中的疾病(Stockman等人,2006)。针对MERS-CoV的IFNβ与洛匹那韦/利托那韦的组合的确改善了肺功能,但并未显著减少病毒复制或肺发病机制(Sheahan等人,2020)。IFNα2a与利巴韦林的组合延迟但并未显著减少最终的死亡率(Omrani等人,2014)。IFNα2b与利巴韦林的组合在恒河猴中给出了积极结果(Falzarano等人,2013),但在人中没有定论(Arabi等人,2017)。

[0106] 在这些先前的研究中未能证实用IFN-I治疗的显著疾病改善可能涉及通过MERS-CoV和SARS-CoV的IFN信号传导途径的病毒抑制,研究中使用的受试者的有限数目,或当与其它药物组合使用时,分辨IFN-I的个别效应的困难(Sallard等人,2020)。也可能是下述情况:IFN在缺乏并存病的患者中更有效(Al-Tawfiq等人,2014;Shalhoub等人,2015)。IFN亚型多样性可能是这些研究之间注意到的不一致的另一种解释。已重复显示了IFNβ是比IFNα更有力的冠状病毒抑制剂(Scagnolari等人,2004;Stockman等人,2006)。这种亚型优势可能涉及IFNβ1在肺中的保护活性,其中IFNβ1上调肺内皮细胞中的分化簇73(CD73),促进抗炎腺苷的分泌并支持内皮屏障功能的维持。这些有益效应与在用IFNβ1a治疗的ARDS患者中观察到的血管渗漏减少相关联(Bellingan等人,2014),尽管这种效应单独不足以降低ARDS死亡率(Ranieri等人,2020)。

[0107] 最近的研究提示了,在SARS冠状病毒疾病发展过程中IFN-I施用的时机可能在决定治疗结果方面起关键作用。在一项研究中,如果在感染后不久施用IFN-I,则观察到积极效应,但当以后施用时,IFN-I未能抑制病毒复制并引发消极负作用(Channappanavar等人,2019)。

[0108] 通过本发明人的先导研究指示了,TPA的早期施用将产生临床上有益的针对SARS-CoV-2抗病毒效应。通常,一旦患者被确诊并转诊用于治疗,就开始TPA治疗。然而,如果诊断和转诊发生得非常早,则可能期望暂停治疗,直到发展明显的症状。例如,如果患者对于上呼吸道中的病毒呈阳性,但没有严重感染的体征(例如发烧、费力呼吸/低氧血症),则治疗可能延迟直到此类体征首次出现(通常在症状发作后的第7-8天左右)。这种延迟可能是有益的,以便最佳地安排治疗时间以对抗疾病升级,同时并不过早耗尽免疫机制,特别是淋巴细胞储备。

[0109] 使用本文所述的TPA化合物来刺激PKC和IFN-1是特别有希望的,因为这种机制应

该避开SARS病毒的反免疫策略。据报告，SARS-CoV能够破坏其宿主中的某些免疫信号传导途径。例如，SARS-CoV的Orf6蛋白破坏核转运蛋白转运，且因而抑制转录因子包括STAT1输入核内，因此损害宿主STAT-1介导的干扰素应答。类似地，SARS-CoV的Orf3b蛋白抑制IRF3的磷酸化，所述IRF3是涉及IFN激活的另一种因子(Frieman等人，2007；Kopecky-Bromberg等人，2007)。然而，SARS-CoV-2的Orf6和Orf3b蛋白是截短的，这可以解释为何SARS-CoV-2在体外展示了对IFNα的高度敏感性(Lokugamage等人，2020)。SARS-CoV-2基本上比SARS-CoV对IFN-I更敏感，提示了IFN-I治疗可能是针对COVID-19疾病更有效的。支持这一假设的是，已报告了IFNα2b喷雾剂可以减少SARS-CoV-2的感染率(Shen和Yang，2020)。IFN-I预防SARS-CoV-2的这份报告与干扰素预治疗针对SARS-CoV-2病毒的体外功效报告的数据一致(Lokugamage等人，2020)。

[0110] 有利于产生用于SARS-CoV-2的早期TPA治疗，我们强调了COVID-19的病理学涉及在严重情况下的广泛肺病变。一些研究人员已将这些病变与IFN药物疗法的过度使用相关的某些“干扰素病”(例如，在多发性硬化患者中)进行比较。进一步可能的是SARS-CoV-2病毒在更一般的“细胞因子风暴”应答内诱导过度的IFN应答，从而促成在严重情况下的CSS和肺损害(Siddiqi和Mehra，2020；Zhang等人，2020)。因此，尽管认为根据本发明的TPA治疗激活IFN-1和ISG，而不将细胞因子过度(过度炎症)刺激到与CSS、ARDS和PIMS相关的水平，但TPA治疗经常针对SARS-CoV-2感染的早期阶段。通常，TPA治疗将在诊断之后的前7-10天启动。在一些情况下，当ARDS和CSS风险升高或观察到症状时，TPA治疗可能同时或其后不久终止(例如，当观察到促炎细胞因子的显著升高水平时，和/或当观察到显著ARDS症状时的点)。在本发明的其它方面，TPA化合物在SARS-CoV-2感染的第一阶段过程中的所选点进行施用(例如在注意到通过阳性鼻咽SARS-CoV-2确认的上呼吸道症状后3-7天)，然后维持1-5天的时期，然后在症状发作后10-12天(或当观察到促炎细胞因子的显著升高水平时，和/或者当观察到显著的ARDS症状时开始)与抗干扰素药物组合使用。

[0111] 本发明的新型TPA组合物和方法还通过淋巴细胞的促免疫激活和拯救来介导间接的抗病毒效应，以减少由SARS-CoV-2及其它SARS冠状病毒介导的危重淋巴细胞减少症。也许在COVID-19疾病受试者中观察到的最有害影响是淋巴细胞包括T细胞、B细胞和NK细胞的急剧崩溃。在最严重的COVID-19患者中，NK细胞是极低或不存在的，并且记忆辅助T细胞和调节性T细胞是显著降低的(Hui等人，2019)。这与尸检证据相关联：在致命的COVID-19病例中，次级淋巴组织被破坏且观察到脾萎缩。加上这些发展，重症COVID-19患者显示了淋巴细胞的严重减少，连同脾中的出血性坏死、巨噬细胞增殖和巨噬细胞吞噬作用的证据。类似的致病性变化在重症COVID-19患者的肺中可见，呈现有以淋巴细胞的极低数目、突出的巨噬细胞和嗜中性粒细胞浸润、上皮和内皮屏障破坏、以及肺实质中的弥漫性肺泡损伤(DAD)为标记的ARDS。即使当血液或咽拭子中的PCR检测呈阴性时，这在肺上皮中仍检测到病毒包涵体时发生(Zu等人，2020；DeWit等人，2016；Chan等人，2015B)。这些致病性指标同样地与升高的细胞因子水平相关联，共同地指示了称为“细胞因子风暴综合征”(CSS)的状况。

[0112] 除使巨噬细胞和嗜中性粒细胞的过度炎症活性降到最低之外，本发明的TPA组合物和方法还介导了淋巴细胞的保护(寿命的延长)，并且还直接刺了激淋巴细胞增殖和分化。我们的先导研究显示了TPA对外周血淋巴细胞(占优势地T细胞)的直接的、临床上有效的促有丝分裂作用。由于看起来SARS-CoV-2压倒并耗尽了T、B和NK细胞，证据指示了TPA化

合物和方法将有效地减少或预防COVID-19患者中的淋巴细胞减少症。这种活性将保护且扩大淋巴细胞数目,其依次又介导了有力的抗病毒效应。

[0113] 鉴于前文,本发明提供了新型TPA组合物和方法,其在处于SARS-CoV-2及其它病毒的风险中或者呈现有SARS-CoV-2及其它病毒的受试者中介导了临床抗病毒益处。主题组合物和方法将通过以下基本上减少总体病毒数目,并减轻治疗的受试者中的伴随不良作用:减少上呼吸道或下呼吸道中的病毒载量/滴度;减少非呼吸系统组织和器官中的病毒载量/滴度(例如,在呈现有影响多重器官的CSS或PIMS的受试者中);减少或预防病毒附着和进入细胞内;损害受感染细胞中的病毒复制,和/或5)抑制或阻断来自呼吸道的病毒脱落。

[0114] 抗ARDS组合物和方法

[0115] 在本发明的其它方面,向哺乳动物受试者施用抗ARDS有效量的TPA化合物,以在呈现有急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的受试者中引发抗ARDS应答,所述受试者包括呈现有由人SARS(hSARS)冠状病毒介导的严重急性呼吸综合征(SARS)的受试者。在示例性实施方案中,顺应TPA抗ARDS治疗的受试者将呈现有指示活动性SARS-CoV-2感染的阳性SARS-CoV-2鼻咽或其它检测结果,并且治疗将在初始COVID-19疾病症状(上呼吸道症状,如咳嗽、打喷嚏、喉咙痛或发痒和/或发烧)之后的前1-8天内、以及在严重的下呼吸道COVID-19疾病发展前开始。相对于对照受试者,主题组合物和方法有效减少或消除治疗的受试者中的选自以下的一种或多种ARDS指标:1)呼吸困难(呼吸短促);2)低氧血症;3)肺实质(肺实质是涉及气体转移的肺部分-肺泡、肺泡管和呼吸性细支气管组织)中的一种或多种促炎细胞因子或其它炎症因子的水平升高或;2)肺实质和/或肺泡气腔中的单核细胞、巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的浸润增加和/或水平升高;3)肺内皮和/或上皮屏障的破坏;4)肺中的致病性纤维化和/或免疫原性或过度炎性疾病损害的其它组织病理学指标;5)来自受试者的肺组织或其它组织、器官或生物样品中的氧化性应激的指标升高(其中每个指示剂/值在治疗的受试者中进行测量且确定,与在类似的、安慰剂治疗的对照受试者中测量且确定的相同指示剂/值形成对比)。

[0116] 在本发明的某些实施方案中,本文的TPA化合物和方法通过激活活化B细胞的核因子κ-轻链增强子(NFkB),发挥针对COVID-19、ARDS和CSS的抗病毒以及其它预防和治疗活性。NFkB是调控DNA转录的蛋白质复合物,并且是免疫和炎症功能的关键调节剂。NFkB途径介导重要的细胞过程,例如应激应答、炎症以及适应性和先天性免疫。通过NFkB的异常转录调控已与癌症和自身免疫性疾病相联系。目前明确的是,NFkB的适当调控对于作为整体的健康、平衡的免疫和炎症功能是必需的,包括通过确定重要的免疫和炎症效应细胞的平衡激活、细胞决定(免疫细胞分化的时机和过程、细胞命运、细胞编程、信号应答能力,包括受体表达和功能、细胞寿命和细胞凋亡)。

[0117] 潜伏的、无活性的NFkB二聚体始终存在于大多数细胞的胞质溶胶中。这允许NFkB成为响应病毒及其它刺激的主要转录因子,并且是炎性小体级联中的关键组分(Oeckinghaus等人,2009)。一旦被激活,NFkB通过诱导IL-1β和NLRP3表达来引发NLRP3炎性小体用于激活。信号传导衔接子p62/SQSTM1,经由NFkB激活,已被鉴定为Ras诱导的炎症和肿瘤发生的阳性介质(Duran等人,2008),使得其成为用于癌症疗法的有利靶(Zhang等人,2016)。研究人员目前发现了,NFkB还经由p62/SQSTM1介导的线粒体自噬过程来防止过度炎症。具体地,NFkB通过促进p62/SQSTM1介导的受损线粒体去除来限制其自身在巨噬细胞中

的炎症促进活性(Zhong等人,2016)。这很可能充当控制炎症应答且预防组织损伤的负反馈回路。

[0118] 根据本文的教导,TPA化合物以新型方式充当NFkB的激活物,所述方式维持下游抗病毒效应,同时下调COVID-19、ARDS和CSS治疗受试者中的过度炎症效应。虽然NFkB最初充当炎症的早期引发物,但在过度炎症的不可逆阶段之前的某个点(即,在CSS的发作之前)用TPA及时干预"激活"NFkB,以经由新型线粒体自噬途径下调巨噬细胞和嗜中性粒细胞中的过度炎症。NFkB通过促进p62/SQSTM1介导的受损线粒体去除以这种能力运转,以反馈限制其自身在巨噬细胞中的促炎活性(Zhong等人,2016)。此处的先导研究指示了,当TPA介导的NFkB激活在COVID-19和ARDS的适当阶段应用时(例如,当巨噬细胞和嗜中性粒细胞被激活但尚未过度激活时,以及在由巨噬细胞和嗜中性粒细胞介导的COVID-19和ARDS相关的组织损伤发生之前),这种调控在临床上减少或阻断过度炎症,包括CSS和伴随的组织损伤。

[0119] 在治疗人SARS病毒感染、ARDS、CSS、PIMS以及其它病毒诱导的过度炎症和致病性状况(例如,在COVID-19受试者中)中的TPA功效的另一个重要方面涉及TPA对免疫和炎症调控的激酶激活、信号传导和下游炎症和致病机制的作用。ACE2因SARS-CoV-2的附着而下调,其导致NFκB和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号传导途径变得过度激活,导致肺部炎症和损害。在病毒和宿主之间的这些及其它相互作用与PKC的异常调控、MAPK激活的另一种调节剂和MAPK促炎信号级联相关联。一般而言,TPA能够与PKC相互作用并激活PKC,导致底物磷酸化以传播MAPK炎症级联涉及的信号。

[0120] TPA对MAPK途径的更复杂效应涉及免疫细胞分化和细胞凋亡的TPA调控。我们的研究显示了,示例性TPA化合物12-O-十四烷酰佛波醇-13-乙酸酯不仅激活,而且稳定PKC,实现了MAPK过度刺激的临床上有益的减少(减少的MAPK激活和磷酸化活性,下游MAPK介导的促炎信号传导的传播减弱)。

[0121] 在本发明的某些方面,TPA化合物的促凋亡效应介导了MAPK刺激的靶细胞(包括巨噬细胞和嗜中性粒细胞)中的细胞凋亡增加,进一步限制了MAPK介导的这些靶细胞的过度炎症活性。

[0122] 在相关实施方案中,TPA化合物的促凋亡效应介导了致病性炎症细胞中的细胞凋亡增加,所述细胞经由转化生长因子β(TGF-β)的病毒失调得到过度刺激且重新编程。TGF-β是属于转化生长因子超家族的多功能细胞因子,所述超家族包括三种哺乳动物同种型(TGF-β1至3,HGNC符号TGFB1、TGFB2、TGFB3)和许多其它信号传导蛋白。TGF-β蛋白由所有白血细胞谱系产生。当存在病毒感染时,激活的TGF-β与其它免疫/炎症辅因子形成丝氨酸/苏氨酸激酶复合物,所述复合物结合TGF-β受体。TGF-β受体由1型和2型受体亚单位两者构成。在TGF-β的受体结合后,2型受体激酶使1型受体激酶磷酸化并激活1型受体激酶,激活免疫/炎症信号级联。这加强了多种靶基因和基因产物的合成和/或激活,所述基因和基因产物在免疫和炎症细胞的分化、趋化性、增殖、激活、编程和细胞凋亡中发挥功能。

[0123] TGF-β由许多细胞类型包括巨噬细胞以与其它两种多肽(潜伏的TGF-β结合蛋白(LTBP)和潜伏相关肽(LAP))复合的潜伏形式分泌。血清蛋白酶如纤溶酶催化活性TGF-β从复合物中的释放。这在巨噬细胞的表面上发生,其中潜伏的TGF-β复合物经由其配体血小板反应蛋白-1(TSP-1)与CD36结合。激活巨噬细胞的炎症刺激如病毒感染通过促进纤溶酶的激活来增强活性TGF-β的释放。巨噬细胞还内吞通过TGF-浆细胞分泌的IgG结合的潜伏β复

合物,随后在细胞外释放活性TGF-β。

[0124] 因此,TGF-β的主要功能是作为促炎细胞因子。然而,TGF-β在免疫和炎症细胞的决定和分化中也起着不同的作用。仅少数TGF-β激活途径是目前已知的,而TGF-β激活背后的更广泛机制仍然知之甚少。已知的TGF-β激活物包括蛋白酶、整联蛋白、pH和活性氧类(ROS)。

[0125] 众所周知的是,导致TGF-β激活和信号传导的失调的扰动可以介导过度炎症、自身免疫性病症、纤维化和癌症。这通过TGF-β无效转基因小鼠中无约束的过度炎症得到充分证明。如上所述,COVID-19疾病及其它SARS病毒感染在严重的情况下导致严重的肺部炎症、纤维化和弥漫性肺泡损伤(DAD)。巨噬细胞和嗜中性粒细胞大量浸润到肺实质和肺泡空间内,与重症COVID-19患者中的ARDS相关联。这种病理学经常扩展到包括嗜中性粒细胞浸润到肺毛细血管内、广泛的嗜中性粒细胞胞外陷阱(NET)沉积,与肺纤维化、血栓形成和血管炎相联系。表现为CSS的过度炎症的类似机制在PIMS和晚期阶段的COVID-19中是显而易见的,其中CSS过度炎症和发病机制可能导致多器官受累和衰竭。

[0126] 研究了原始的SARS-CoV冠状病毒,Zhao等人(2008)报告了,SARS-CoV核衣壳(N)蛋白实际上通过某些途径加强了TGF-β介导的过度炎症,同时禁用了诱导成熟免疫/炎症细胞中的细胞凋亡所涉及的关键途径/TGF-β活性。SARS N蛋白特异性诱导纤溶酶原激活物抑制剂-1的表达,同时减弱Smad3/Smad4介导的人外周肺上皮(HPL)细胞的细胞凋亡。SARS N蛋白对TGF-β炎症级联的过度激活作用是Smad3特异性的。N蛋白与Smad3结合并促进Smad3-p300复合物形成,同时它干扰Smad3和Smad4之间的复合物形成(Zhao等人,2008)。这些发现暗示了一种令人惊讶的机制,由此SARS病毒N蛋白破坏并控制TGF-β激活和信号传导的一个特异性途径,以有害地阻断正常细胞凋亡并延长SARS-CoV感染的致病性炎症宿主细胞的寿命(同时平行地激活TGF-β介导的过度炎症的其它机制)。

[0127] 本发明的一个重要目标是预防且减少在严重的情况下,由激活的巨噬细胞和嗜中性粒细胞大量涌入肺实质和肺泡空间内介导的,COVID-19受试者中的肺纤维化及其它损害。本发明的TPA组合物和方法通过逆转TGF-β介导的细胞凋亡的SARS N蛋白阻断,部分地实现了这一临床目标。这种病毒“重新编程”机制被认为负责具有严重CSS和ARDS症状的COVID-19受试者中的激活巨噬细胞和嗜中性粒细胞数目的极端升高。尽管这些炎症/免疫细胞在执行其抗病毒功能(吞噬作用和脱颗粒)后通常经历细胞凋亡,但COVID-19通过延长其寿命(通过TGF-β诱导的细胞凋亡的N蛋白压制)来募集这些细胞,从而错误调控持续的过度炎症以及增强的病毒复制和扩散。致病性巨噬细胞和嗜中性粒细胞通过SARS冠状病毒的这种募集和保护显然是该病毒的病因学和进化策略的部分。尽管循环淋巴细胞(T、B和NK细胞)明显缺乏ACE-2受体,但在COVID-19患者中已检测到表达ACE2的CD68+CD169+巨噬细胞,特别是在脾边缘区和淋巴结的边缘窦中,并且这些巨噬细胞含有SARS-CoV-2核蛋白抗原,并且显示IL-6的上调Feng等人,2020)。这指示了巨噬细胞可以以“特洛伊木马(trojanhorse)”的方式被COVID-19感染,将病毒传送到脆弱的组织和器官,并且从根本上促成在SARS-CoV-2感染期间的过度炎症和激活诱导的淋巴细胞死亡。

[0128] 嗜中性粒细胞是否表达ACE-2受体并且可以被hSARS病毒直接感染尚不明确,但ACE-2在嗜中性粒细胞的SARS-CoV-2过度炎性激活和加强中的作用是明确的。通过Li等人(2020)的研究显示了,ACE2不仅是促进SARS-CoV-2细胞进入和复制的受体,而且还涉及感

染后病毒介导的宿主免疫应答失调、细胞因子表达和炎症。受感染的细胞和组织中的ACE-2水平与通过SARS-CoV-2诱导的ARDS的严重程度相关联，并且与介导CSS和ARDS的促炎细胞因子的过度升高直接相关。更特别地，Li及同事报告了，ACE2的高表达涉及先天免疫应答、适应性免疫应答、B细胞调控和细胞因子分泌的强度，以及由IL-1、IL-10、IL-6和IL-8诱导的过度炎症应答。换言之，介导CSS的免疫系统功能障碍与ACE2的高表达广泛相联系。另外，ACE2的高表达与病毒复制中涉及的基因表达增加，以及SARS-CoV-2感染的上皮细胞的转录组的改变相关联，增强病毒进入、复制和组装。T细胞激活以及由T细胞介导的炎症应答也通过受感染细胞中的转录组的SARS-CoV-2改变进行诱导。感染SARS-CoV-2的患者中的IL1β、IFN-γ、IP10和MCP1的水平增加似乎与T-辅助细胞-1(Th1)细胞应答的过度激活相联系。ACE2还介导了嗜中性粒细胞、NK细胞、Th17细胞、Th2细胞、Th1细胞、树突状细胞和TNFα分泌细胞的激活，导致严重的过度炎症应答。肺组织中的高ACE2表达特别是巨噬细胞的细胞毒性激活、嗜中性粒细胞炎症和Th2主导的免疫应答(Li等人，2020)。有趣的是，ACE2表达在SARS-CoV感染后以时间依赖性方式改变。

[0129] 作为SARS-CoV-2病毒的宿主巨噬细胞和嗜中性粒细胞的“募集和重新编程”的后果，被劫持且“永生化”的炎症效应细胞进展至充满并损害宿主的循环，并且降解且充满间质和肺泡区室(包括通过肺纤维化、NET沉积、上皮和内皮屏障破坏、血管炎和血栓形成)，从根本上限制了宿主产生成功免疫应答的能力(例如，通过阻碍免疫效应细胞和分泌的抗体到达肺及其它器官中的病毒滋生部位)。来自这些失调和劫持过程的影响的终点是ARDS/SARS，伴随着极端的肺部炎症发病机制、循环和气体交换的阻断、低氧血症和最终的肺/心力衰竭。这些是新型(例如人畜共患病)通才病毒(generalist virus)的标志性影响，而不是与其宿主长期共同进化的特殊病毒的微调、减弱的影响。

[0130] 通过采用本发明的TPA组合物和方法，SARS-CoV-2的感染和致病机制得到有效阻断或基本上减少。在示例性实施方案中，采用TPA化合物的抗炎方法减少了SARS-CoV-2诱导的过度炎症、CSS、ARDS、PIMS以及伴随这些致病状况的相关组织和器官损害。在某些实施方案中，本发明的TPA化合物预防或减少宿主巨噬细胞和嗜中性粒细胞中的SARS-CoV-2激活和寿命延长(正常细胞凋亡的N蛋白破坏)，从而限制了CSS、ARDS、DAD、PIMS和ESHS的致病效应，并且因而限制了病毒复制、在宿主内的病毒扩散、病毒脱落和病毒传递。不希望受理论的束缚，本发明的TPA化合物和方法的这些抗炎和“促凋亡”效应可以与PKC、MAPK、NFkB和/或TGF-β靶、机制和途径直接或间接相联系，或者完全不依赖于其。

[0131] 根据本文的教导，用本发明的抗ARDS组合物和方法治疗的患者将显示与ARDS严重程度相关联的一种或多种指标、状况或症状的至少20％减少，经常是25-50％减少，在许多情况下，75-95％或更多的减少，直到100％消除，所述指标、状况或症状例如选自呼吸困难，肺中的一种或多种促炎细胞因子的水平升高，肺实质和/或肺泡气腔中的单核细胞、巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的水平升高，肺内皮和/或上皮屏障的破坏，肺组织中的氧化性应激的指标升高(例如，肺中的活性氧类(ROS)的水平升高，和/或肺损害的一种或多种致病症状(例如，过度炎症，纤维化，弥漫性肺泡损伤(DAD)，巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞浸润到肺实质内，巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞浸润到肺毛细血管内，在肺间质、肺和/或冠状血管血栓形成中的广泛的嗜中性粒细胞胞外陷阱(NET)沉积和血管炎，以及与ARDS损害相关的其它病理指标)。通过与在类似的安慰剂治疗的对照受试者中测量且确定的相同指示剂/值相

比，测量且确定治疗的受试者中的主题指示剂的临床诊断值，对于ARDS的前述指示剂各自确定所请求保护的组合物和方法的功效。

[0132] 本文所述的抗ARDS组合物方法和组合物有效治疗或预防一系列治疗的ARDS受试者中的一种或多种ARDS症状，包括由病毒病原体(例如SARS)、细菌病原体、腐蚀剂、肺损害或外伤、烧伤及其它原因引起的ARDS。

[0133] 抗CSS组合物和方法

[0134] 在进一步的示例性实施方案中，向哺乳动物受试者施用抗CSS有效量的TPA化合物，以在感染SARS病毒、呈现有COVID-19疾病、或以其它方式显示出细胞因子风暴综合征(CSS)的症状的受试者中引发抗CSS应答。关于使用TPA化合物来治疗且预防COVID-19疾病及其它过度炎症状况中的CSS的基本原理、策略和活性机制一般遵循关于抗ARDS组合物和方法的前文描述。

[0135] 根据本发明的这些方面，用本发明的抗CSS组合物和方法治疗的患者将显示与CSS发病率和/或严重程度相关联的一种或多种指标、状况或症状的至少20％减少，经常是25-50％减少，在许多情况下，75-95％或更多的减少，直到100％消除，所述指标、状况或症状例如：受CSS影响的细胞或组织中过度升高的促炎细胞因子的激活、表达和/或水平；肺实质、肺泡气腔或者另一种受CSS影响的组织或器官中的巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的浸润增加和/或数目升高；淋巴细胞减少症(淋巴细胞(T、B和NK细胞)的数目崩溃)；升高的氧化性应激标记物；对肺或者其它受CSS影响的组织或器官中的内皮和/或上皮屏障的炎性损害；对肺或者其它受CSS影响的组织或器官/器官的致病性纤维化及其它病理性炎性损害；淋巴结的炎性损害、丧失或萎缩；脾的炎性损害或萎缩；脓毒症；中毒性休克综合征(TSS)；和/或氧化性应激症状(其中每个指示剂/值在治疗的受试者中进行测量且确定，与在类似的、安慰剂治疗的对照受试者中测量且确定的相同指示剂/值形成对比)。

[0136] 在更详细的方面，本发明的抗CSS方法和组合物令人惊讶地有效减少或消除CSS中的主要致病因子，即促炎细胞因子的失调和过度升高超过通常与有益炎症应答相关的水平。根据本文的教导，用本发明的抗CSS组合物和方法治疗的患者将显示与CSS相关的一种或多种促炎细胞因子的水平过度升高的至少20％减少，经常是25-50％减少，在许多情况下，75-95％或更多的减少，直到100％消除。

[0137] 在示例性实施方案中，TPA治疗的受试者将显示出与COVID-19诱导的CSS相关的关键促炎细胞因子IL-6的基本上减少的水平。在说明性的工作实例中，如本文所述，在治疗开始时呈现有COVID-19疾病加上促炎细胞因子升高及其它CSS症状的TPA治疗的受试者中的IL-6水平，将显示与呈现有可比较的细胞因子水平和CSS症状的安慰剂治疗的对照受试者相比，对应于靶组织或样品(例如，循环血液样品、或者来自活组织检查或尸检的肺组织)中的IL-6水平的至少20％减少、25-50％减少、高达75-95％减少的IL-6治疗性下调。为了证实预防功效，对于可比较的CSS风险因素(例如，所有患者都患有早期诊断的COVID-19疾病)选择患者的测试组和对照组，并且在治疗完成后，TPA治疗组中的更少患者发展CSS症状，包括升高的IL-6水平，并且与CSS阳性、安慰剂治疗的对照受试者中CSS的发生率和严重程度以及IL-6的过度刺激水平相比，所述患者具有更不严重的症状，包括基本上降低的IL-6水平。

[0138] 使用TPA疗法以介导广泛范围的促炎细胞因子靶在靶血浆、细胞或组织中减少的表达或水平，将实现用于预防且减少与CSS相关的过度升高的促炎细胞因子水平的可比较

功效，除IL-6之外，所述促炎细胞因子靶还包括但不限于：(IL)-1B；IL-7；IL-8；IL-9；IL-10；成纤维细胞生长因子(FGF)；粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)；IFNγ；粒细胞集落刺激因子(G-CSF)；干扰素-γ-诱导蛋白(IP10)；单核细胞趋化蛋白(MCP1)；巨噬细胞炎症蛋白1α(MIP1A)；血小板衍生生长因子(PDGF)；肿瘤坏死因子(TNFα)；以及血管内皮生长因子(VEGF)。关于TPA介导的减弱的这些促炎细胞因子靶各自通过Huang等人(2020)报告为在患有严重COVID-19疾病的患者中是异常升高的。在重症ICU患者中，Huang及同事报告了，IL-2、IL-7、IL-10、G-CSF、IP10、MCP1、MIP1A、TNFα高于非ICU患者(Huang等人，2020；Conti等人，2020)。在本发明的示例性实施方案内，TPA疗法靶向减少选自以下的一种或多种CSS相关促炎细胞因子的表达、激活、半衰期和/或水平：IL-10(抑制通过单核细胞/巨噬细胞和嗜中性粒细胞的炎性细胞因子产生，并且抑制TH1型淋巴细胞应答)；IL-11(抑制通过单核细胞/巨噬细胞的促炎细胞因子应答，另外促进Th2淋巴细胞应答)；IL-13(减弱单核细胞/巨噬细胞功能)、IL-37以及CSS中牵涉的其它促炎细胞因子和趋化因子。

[0139] 不希望受理论的束缚，本发明的TPA组合物和方法在细胞水平上(例如，通过减少激活诱导的淋巴细胞减少，导致正常T、B和NK细胞功能的减弱)，并且经由上述涉及PKC、MAPK、NFkB、TGF-β的信号应答途径，以及与正常免疫和炎症调控相关的其它靶、机制和途径，有力地间接减弱伴随CSS的促炎细胞因子的过度激活和过表达。

[0140] 在其它示例性实施方案中，TPA治疗的受试者将显示出基本上升高水平的抗炎细胞因子，所述新型效应依次又介导包括在COVID-19疾病受试者中的CSS症状和病理学的进一步减少。在说明性的工作实例中，如本文所述，在治疗开始时呈现有COVID-19疾病和相关的促炎细胞因子升高以及其它CSS症状的TPA治疗的受试者中的抗炎细胞因子水平，将显示与呈现有可比较的促炎细胞因子水平和CSS症状的安慰剂治疗的对照受试者相比，对应于靶组织或样品(例如，循环血液样品、或者来自活组织检查或尸检的肺组织)中的细胞因子水平的20％增加、25-50％增加、高达75-95％增加的一种或多种抗炎细胞因子的治疗性上调。为了证实预防功效，对于可比较的CSS风险因素(例如，所有患者都患有早期诊断的COVID-19疾病)选择患者的测试组和对照组，其后TPA治疗组中的更少患者发展CSS症状，包括升高的促炎细胞因子水平，并且与安慰剂治疗的对照受试者中CSS的发生率和严重程度以及抗炎和促炎细胞因子谱相比，具有更不严重的症状的那些患者与基本上升高的抗炎细胞因子水平和基本上减少的促炎细胞因子水平相关联。

[0141] 使用TPA疗法对于广泛范围的抗炎细胞因子靶实现用于上调抗炎细胞因子，以预防且减少CSS症状包括过度升高的促炎细胞因子水平的可比较功效，所述抗炎细胞因子靶包括但不限于：IL-1RA(由促免疫细胞和上皮细胞分泌的白细胞介素，其抑制IL1β的促炎效应并调节各种白细胞介素1相关的免疫和炎症应答)；可溶性TNF受体(sTNFR)，包括sTNFR1(膜结合的TNFR1(mTNFR1)的循环对应物，其结合循环中的TNF三聚体，阻止膜结合的TNF受体-TNF配体相互作用)和sTNFR2(mTNFR2的对应物，其结合循环中的TNF三聚体，阻止膜结合的TNF受体-TNF配体相互作用)；可溶性IL-1受体2型(sIL-1RII)(其结合血浆中的循环IL-1配体，阻止IL-1β与IL-1受体1型结合)；膜结合的IL-1受体2型(mIL-1RII)(其充当缺乏细胞内信号转导功能但与1型IL-1R竞争在细胞膜处的IL-1配体结合的“诱饵”受体)；IL-10(抑制Th1细胞因子，包括IL-2和IFN-g，使单核细胞/巨噬细胞促炎细胞因子合成失活，并且下调或抑制单核细胞/巨噬细胞衍生的TNF-α、IL-1、IL-6、IL-8、IL-12、粒细胞集落刺激因子、

MIP-1a、MIP-2a、IL-18BP)；IL-11(通过上调抑制性NF-kB(抑制性NF-kB)来减弱巨噬细胞中的IL-1和TNF合成，其阻断NF-kB的核转位，并且因此损害促炎细胞因子的转录激活，抑制通过CD41 T细胞的IFN-g和IL-2合成，充当Th2型细胞因子，抑制通过Th1淋巴细胞的细胞因子表达)；IL-13(下调通过单核细胞/巨噬细胞的TNF、IL-1、IL-8和MIP-1α产生)；以及TGF-β(具有促炎和抗炎效应两者，充当生物开关来拮抗、加强或修饰其它细胞因子和生长因子的作用，能够将炎症的活跃部位转换成以消退和修复为主的部位，可能充当局部免疫增强剂以及在全身循环中的免疫抑制剂，压制T细胞和B细胞的增殖和分化；下调IL-2、IFN-g和TNF；以类似于IL-10的方式充当单核细胞/巨噬细胞失活物，诱导成熟的免疫/炎症细胞中的细胞凋亡)。

[0142] 在涉及CSS的治疗和预防的本发明的相关实施方案中，本文所述的TPA组合物和方法有效地阻断或减少肺实质、肺泡气腔或者另一种受CSS影响的组织或器官中的巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的浸润和数目增加。TPA化合物的这些效应可能涉及各种机制，包括阻断或减少巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的促炎细胞因子和/或趋化因子信号传导(以阻断或减少其激活、迁移/浸润，阻断或减少巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞促炎细胞因子表达，细胞毒性，上皮和内皮细胞和结构组分的破坏，阻断或减少通过激活嗜中性粒细胞的NET沉积，以及阻断或减少巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的促血栓形成活性和相关致病效应。另外，本发明的TPA组合物和方法介导了对巨噬细胞和嗜中性粒细胞的促凋亡作用，正向调控其正常的炎症活性和及时的细胞凋亡(并且在COVID-19疾病的情况下，破坏由SARS N蛋白对TGF-β的作用介导的这些细胞中的SARS-CoV-2募集和细胞凋亡的重新编程，其致病性地损害正常细胞凋亡以延长寿命和这些细胞的过度炎症效应)。

[0143] 在本发明涉及CSS治疗和预防的另外方面，本发明的TPA化合物和方法也在临床上有效治疗或预防淋巴细胞减少症。淋巴细胞减少症是至少部分通过激活诱导的淋巴细胞死亡来介导的，在严重CSS情况(即，进展为组织/器官发病机制、损害和功能障碍的情况)下观察到的血液、脾和/或淋巴结中的淋巴细胞(T、B和NK细胞)数目的显著减少。

[0144] 在其它实施方案中，本发明的TPA组合物和方法有效治疗或预防与CSS相关的氧化性应激，例如如通过肺组织或者其它受CSS影响的组织或器官中的氧化性应激标记物(例如升高的/ROS水平)的减少所确定的。

[0145] 本发明与CSS相关的其它治疗靶包括预防或减少对肺或者其它受CSS影响的组织或器官中的内皮和/或上皮屏障的炎症损害。这些工作实例中的功效的诊断指标包括已知的组织学检查和组织化学测定，其评估CSS受试者的治疗组和对照组之间的活组织检查和/或尸检结果。

[0146] 本发明的相关TPA治疗方法和组合物涉及预防和治疗肺或者其它受CSS影响的组织或器官/器官中的致病性纤维化和/或免疫原性或过度炎性疾病损害的其它组织病理学指标、淋巴结的消失和/或萎缩、以及脾的炎症和/或萎缩—所有这些都采用常规病理检查、组织学和组织化学方法就功效进行评价。

[0147] 本发明的又另外的实施方案涉及CSS预防和治疗，其涉及减少或阻断脓毒症、中毒性休克综合征(TSS)和/或与CSS相关的氧化性应激症状。此处，常规测定方法也是本领域广泛已知的，用于测量诊断参数用于评价治疗/预防功效。症状。

[0148] 抗炎和免疫调控组合物和方法

[0149] 本发明的另外实施方案包括预防或治疗超免疫或过度炎症状况的TPA组合物和方法，所述超免疫或过度炎症状况包括但不限于与COVID-19疾病相关的儿童炎症多系统综合征(PIMS)、川崎病、肺外全身性过度炎症综合征(ESHS)、或者由过度炎症引起的血管充血或血栓形成状况。血管充血或血栓形成状况可以包括但不限于弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风、血小板减少症和/或坏疽。当将这些组合物和方法施用于处于升高的风险中或者呈现有超免疫或过度炎症状况或病症的人受试者时，临床功效将通过选自以下的一种或多种靶向超免疫或过度炎症状况或症状的显著减少(即至少20％减少、25-50％减少、75-95％减少、高达100％预防/消除)得到证实：1)受试者的受影响的组织、器官或血浆中的一种或多种促炎细胞因子或其它炎症因子的水平升高)；2)受试者的受影响的组织、器官或区室(例如，肺泡、肾或血管腔)中的单核细胞/巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的浸润增加和/或水平升高；3)受试者的受影响的组织或器官的内皮和/或上皮屏障的破坏；4)受试者的受影响的组织或器官中的致病性纤维化和/或免疫原性或过度炎性疾病损害的其它组织病理学指标；5)中毒性休克综合征(TSS)症状；6)来自受试者的受影响的组织、器官或生物样品中的氧化性应激的指标升高；和/或7)选自以下的一种或多种儿童炎症多系统综合征(PIMS)相关症状：突然发烧、皮疹、红眼、口干或裂纹嘴、手掌和/或脚底发红、腺体肿胀、血管肿胀和/或冠状动脉瘤(其中每个指示剂/值在治疗的受试者中进行测量且确定，与在类似的、安慰剂治疗的对照受试者中测量且确定的相同指示剂/值形成对比)。

[0150] 在本发明的相关方面内，将TPA施用于人受试者，以预防或治疗超免疫或过度炎症状况，包括但不限于与COVID-19疾病相关的儿童炎症多系统综合征(PIMS)、川崎病、肺外全身性过度炎症综合征(ESHS)、或者由过度炎症引起的血管充血或血栓形成状况。血管充血或血栓形成状况可以包括但不限于弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风、血小板减少症和/或坏疽。根据这些方面，向处于升高的风险中或者呈现有超免疫或过度炎症状况或病症的人受试者施用免疫调节或抗炎有效量的TPA化合物，其足以减少或预防选自以下的靶向超免疫或过度炎症状况或症状：1)受试者的受影响的组织、器官或血浆中的一种或多种促炎细胞因子或其它炎症因子的水平升高)；2)受试者的受影响的组织、器官或区室(例如，肺泡、肾或血管腔)中的单核细胞/巨噬细胞和/或嗜中性粒细胞的浸润增加和/或水平升高；3)受试者的受影响的组织或器官的内皮和/或上皮屏障的破坏；4)受试者的受影响的组织或器官中的致病性纤维化和/或免疫原性或过度炎性疾病损害的其它组织病理学指标；5)中毒性休克综合征(TSS)症状；6)来自受试者的受影响的组织、器官或生物样品中的氧化性应激的指标升高；和/或7)选自以下的一种或多种儿童炎症多系统综合征(PIMS)相关症状：皮疹、红眼、口干或裂纹嘴、手掌和/或脚底发红、腺体肿胀、血管肿胀和/或冠状动脉瘤(其中每个指示剂/值在治疗的受试者中进行测量且确定，与在类似的、安慰剂治疗的对照受试者中测量且确定的相同指示剂/值形成对比)。

[0151] 组合药物疗法和协调治疗方法

[0152] 在本发明的另外方面内，提供了组合制剂和协调治疗方法，其采用有效量的TPA化合物和一种或多种“次级药剂”。次级药剂可以是“次级治疗剂”或“次级预防剂”，并且可以与TPA化合物共配制或协调施用，以产生组合制剂、组合药物疗法或者协调治疗或预防方法，其有效治疗或预防靶向COVID-19感染或疾病、一般的ARDS、SARS、CSS、PIMS或者本文所述的其它靶向感染、疾病、状况和/或症状。例如，用于ARDS的示例性组合制剂和协调治疗/

预防方法包括与有效治疗和/或预防ARDS或者靶向共病疾病、状况或症状的一种或多种次级或辅助治疗剂或预防剂组合的抗ARDS有效TPA化合物。在替代方面，次级药剂可以具有与TPA化合物相同、相似或不同的药理学活性，用于治疗和/或预防靶向或共病状况。

[0153] 在相关实施方案中，本文公开的任何TPA化合物可以用于具有一种或多种次级治疗剂或预防剂的药物组合或组合疗法中，以治疗和/或预防本文所述的任何感染、疾病、状况和/或症状。在示例性实施方案中，抗病毒有效的TPA化合物与常规抗病毒药物组合或协调施用。在其它示例性实施方案中，抗ARDS、抗CSS、抗PIMS、抗ESHS、抗DAD、抗炎、促免疫、抗细胞病变和/或促凋亡TPA化合物与次级药剂组合或与次级药剂协调施用，所述次级药剂介导针对预防或治疗与以下相关的任何疾病、状况、症状，或者患有以下的所选患者中的共病的显著临床益处：治疗的受试者中的病毒感染、过度炎症、ARD、CSS、PIMS、ESHS、DAD、升高的细胞病变活性、免疫压制、免疫和/或炎症细胞的正常凋亡活性的功能障碍，和/或本文所述的任何其它靶症状、状况或指数。

[0154] 本发明的TPA化合物可以与次级药剂同时或序贯施用，并且次级药剂将累加、协同或不同地起作用，以治疗和/或预防TPA化合物对于其进行施用的相同或不同的疾病、状况或症状。TPA化合物和次级药剂可以在单一制剂中组合，或者在相同或不同的时间分开施用。因此，TPA化合物和次级药剂的施用可以同时或以任一次序序贯完成，并且治疗间隔可以包括TPA化合物和次级治疗剂中的仅一种或两者(或全部)个别地和/或共同地发挥其疗效的时间。所有此类协调治疗方法的一个区别方面在于如本文所述，所选TPA化合物发挥针对减轻或预防靶向疾病、状况或症状的至少一些可检测的治疗活性，并且引起有利的临床应答，其可能与由次级治疗剂介导的分开或增强的临床应答相结合或可能不结合。在其它示例性实施方案中，与以相同剂量单独施用TPA化合物或次级药剂之后观察到的临床应答相比，TPA化合物与次级治疗剂的协调施用通常产生更大的治疗应答，伴随减少的副作用。例如，即使当施用TPA化合物和常规抗病毒药物两者的个别亚治疗剂量时，使用抗病毒有效的TPA化合物与常规抗病毒药物组合的协调治疗也可能产生显著的疗效，避免了或减轻了相关的副作用(即，与使用单独的相等治疗剂量的TPA化合物或常规抗病毒药物观察到的副作用相比)。以这种方式，TPA化合物和常规抗病毒药物相互“加强”，在单独的任一药物并不产生可检测的治疗益处的剂量下引发组合治疗功效。TPA与正常(即单独施用时)亚治疗剂量的补充或加强次级治疗药物的令人惊讶的组合功效在消除或基本上减少不良副作用方面提供了重要优点，所述不良副作用可能伴随TPA或次级治疗药物的完全治疗剂量的个别施用。此处采用的这些协调剂量方案，例如根据众所周知的临床和患者特异性参数而变，而术语“治疗剂量”和“亚治疗剂量”具有对于本领域技术人员普通和明确的含义(并且在此处适用于与靶向疾病、状况和症状相关的任何一种症状或症状组合。

[0155] 具有TPA的抗病毒药物组合

[0156] 在其中次级药剂是抗病毒药物的本发明的协调疗法中，次级药剂可以是常规抗病毒剂。例如，抗病毒药物可以选自以下中的任何一种或组合：阿巴卡韦、阿昔洛韦、阿德福韦、金刚烷胺、安普利近、安普那韦(Agenerase)、阿比朵尔、阿扎那韦、Atripla、巴拉韦(Balavir)、巴洛沙韦玛波西酯(Xofluza)、必妥维、波普瑞韦(Victrelis)、西多福韦、可比司他(Tybost)、双汰芝、达卡他韦(Daklinza)、达芦那韦、地拉韦啶、达可挥、去羟肌苷、二十二烷醇、度鲁特韦、多拉韦林(Pifeltro)、Ecoliever、依度尿苷、依法韦仑、埃替拉韦、恩曲

他滨、恩夫韦肽、恩替卡韦、依曲韦林(Intelence)、泛昔洛韦、福米韦生、福沙那韦、膦甲酸、膦乙酸、融合抑制剂、更昔洛韦(Cytovene)、伊巴他滨、伊巴珠单抗(Trogarzo)、碘苷、咪喹莫特、Imunovir、茚地那韦、肌苷、整合酶抑制剂、I型干扰素、II型干扰素、III型干扰素、拉米夫定、莱特莫韦(Prevymis)、洛匹那韦、洛韦胺、马拉韦罗、美替沙腙、吗啉胍、奈非那韦、奈韦拉平、Nexavir、硝唑尼特、诺韦、核苷类似物、奥司他韦(Tamiflu)、聚乙二醇干扰素α-2a、聚乙二醇干扰素α-2b、喷昔洛韦、帕拉米韦(Rapivab)、普可那利、鬼臼毒素、Pyramidine、拉替拉韦、瑞德西韦、逆转录酶抑制剂、利巴韦林、利匹韦林(Edurant)、金刚乙胺、利托那韦、沙奎那韦、西咪匹韦(Olysio)、索非布韦、司他夫定、替拉瑞韦、替比夫定(Tyzeka)、替诺福韦艾拉酚胺、替诺福韦二吡呋酯、替诺福韦、替拉那韦、三氟胸苷、三协维、曲金刚胺、舒发泰、伐昔洛韦(Valtrex)、缬更昔洛韦、维立韦罗、阿糖腺苷、韦拉米啶、扎西他滨、扎那米韦(Relenza)和/或齐多夫定,以及已知且可容易获得用于临床使用的许多其它安全和有效的抗病毒剂。抗病毒剂也可以选自单克隆抗体以及免疫特异性结合或以其它方式使靶病毒无能的其它生物制品,以及类固醇和皮质类固醇例如泼尼松、可的松、氟替卡松和糖皮质激素。

[0157] 在本发明的示例性组合的组合物和方法中,抗SARS-CoV-2有效的TPA化合物与瑞德西韦共配制且递送(例如,在多药iv输注中)、或者与瑞德西韦同时或序贯共施用。瑞德西韦(GS-5734)是目前有希望的抗COVID-19药物,其显示出针对RNA病毒的广谱抗病毒活性。它是一种结构类似腺苷的前药。瑞德西韦掺入新生病毒RNA内,并且还抑制RNA依赖性RNA聚合酶。这导致病毒RNA链的过早终止,并且因而停止病毒基因组的复制。瑞德西韦最初由Gilead Sciences(USA)针对埃博拉病毒开发,并且在刚果民主共和国的最近埃博拉暴发期间经历了临床试验。尽管它在该试验中并未证明有效针对埃博拉,但其对于人的安全性得到确定,允许其进入进行中的临床试验,以确定瑞德西韦针对COVID-19疾病的功效。重要的是,瑞德西韦先前显示了在体外和体内显示出针对不同的冠状病毒(包括SARS-CoV和MERS-CoV)的抗病毒活性。在最近的一项体外研究中,还报告了瑞德西韦抑制SARS-CoV-2(Wang等人,2020)。瑞德西韦目前正在不同国家的多项试验中进行测试,包括在中国的两项随机化III期试验(NCT04252664和NCT04257656)。

[0158] 在本发明的其它示例性组合的组合物和方法中,抗SARS-CoV-2有效的TPA化合物与法匹拉韦共配制且递送、或者与法匹拉韦同时或序贯共施用。如同瑞德西韦,法匹拉韦通过在结构上模拟内源性鸟嘌呤来抑制病毒RNA依赖性RNA聚合酶。通过竞争性抑制,病毒复制的功效可以是基本上受损的。法匹拉韦已被批准用于治疗流感,尽管与瑞德西韦相比,对于法匹拉韦治疗SARS-CoV-2已建立了更少的临床前支持。中国的一项临床研究评估了法匹拉韦加上干扰素-α治疗SARS-CoV-2的功效(ChiCTR2000029600),并且在2020年3月,法匹拉韦被中国国家药品监督管理局(National Medical Products Administration of China)批准为首个安全和有效的抗COVID-19药物。

[0159] 在本发明的其它示例性组合的组合物和方法中,抗SARS-CoV-2有效的TPA化合物与伊维菌素共配制且递送、或者与伊维菌素同时或序贯共施用。伊维菌素是FDA批准的抗寄生虫药物,其证明针对人免疫缺陷病毒(HIV)和登革热病毒两者发挥抗病毒活性。伊维菌素可以使预先形成的IMPα/β1异二聚体解离,所述IMPα/β1异二聚体负责病毒蛋白货物的核转运。由于病毒蛋白的核转运对于复制周期和宿主的抗病毒应答的抑制是必需的,因此靶向

核转运过程可能是针对RNA病毒的一种可行的治疗方法。最近,一项体内研究已证明了,在感染SARS-CoV-2的48小时后,伊维菌素将病毒RNA减少至少1/5,000的能力(Caly等人,2020)。伴随对于抗寄生虫使用的确定的安全性概况,证明伊维菌素用于治疗COVID-19的功效的下一步将涉及确定最佳给药的试验。

[0160] 在本发明的其它示例性组合的组合物和方法中,抗SARS-CoV-2有效的TPA化合物与洛匹那韦和利托那韦共配制且递送、或者与洛匹那韦和利托那韦同时或序贯共施用。人免疫缺陷病毒(HIV)蛋白酶抑制剂洛匹那韦和利托那韦很可能是在用于COVID-19受试者的抗病毒治疗的本发明的TPA方法和组合物内的候选物。天冬氨酰蛋白酶是由HIV的pol基因编码的酶,其切割HIV中的前体多肽,因此在其复制周期中起重要作用。尽管冠状病毒编码不同酶促类别的蛋白酶(半胱氨酸蛋白酶),但证据提示了洛匹那韦和利托那韦也抑制冠状病毒3CL1pro蛋白酶。对SARS和MERS执行的众多临床、动物和体外模型研究确定了,蛋白酶抑制剂的洛匹那韦/利托那韦组合对抗这些分别的病毒。洛匹那韦/利托那韦组合目前处于用于COVID-19患者中的临床试验中(NCT04252885;ChiCTR2000029308),尽管除了Clay标准护理之外,尚未报告明确的益处。

[0161] 具有TPA的抗ACE2药物组合

[0162] 在本发明的其它示例性组合的组合物和方法中,抗SARS-CoV-2有效的TPA化合物与重组人血管紧张素转换酶2(APN01)共配制且递送、或者与重组人血管紧张素转换酶2(APN01)同时或序贯共施用。可溶性重组人血管紧张素转换酶2(rhACE2)预计通过阻断S蛋白与细胞ACE2相互作用来阻断SARS-CoV-2的进入。事实上,在最近的一项研究中,报告了rhACE2可以使细胞和胚胎干细胞衍生的类器官中的SARS-CoV-2复制抑制1/5,000-1/1,000(Monteil等人,2020)。rhACE2很可能通过引导底物远离相关酶ACE来降低血清血管紧张素II。这可能阻止ACE2受体的进一步激活,并且从而保存肺血管完整性并预防ARDS。最初由Apeiron Biologics开发的APN01已经经历了用于ARDS的II期试验。在中国的一项小型先导研究(NCT04287686)目前正在评估rhACE2在COVID-19肺炎中的生物学和生理学作用,特别是作为ARDS的治疗。Apeiron Biologics还已启动了一项安慰剂对照、双盲、剂量递增研究,以评价静脉内APN01的安全性和耐受性。通过测量血管紧张素II和血管紧张素1-7的血浆水平,通过药物干扰的生物产物以及rhACE2在COVID-19肺炎中的生物学和生理学作用将得到进一步阐明。

[0163] 病毒进入抑制剂

[0164] 在本发明的其它示例性组合的组合物和方法中,抗SARS-CoV-2有效的TPA化合物与阿比朵尔共配制且递送、或者与阿比朵尔同时或序贯共施用。阿比朵尔是针对流感和虫媒病毒开发的病毒进入抑制剂。该药物靶向血凝素(HA),在流感病毒的表面上的主要糖蛋白。阿比朵尔阻止在内吞后的病毒膜与内体的融合。目前,它正在经历作为针对SARS-CoV-2的单一药剂的试验(NCT04260594、NCT04255017)。另一项临床试验涉及针对SARS-CoV-2比较阿比朵尔与法匹拉韦(ChiCTR2000030254)。

[0165] 在本发明的其它示例性组合的组合物和方法中,抗SARS-CoV-2有效的TPA化合物与干扰素共配制且递送、或者与干扰素同时或序贯共施用。最近已注册了临床试验,以评估用于治疗COVID-19的皮下施用的洛匹那韦/利托那韦和IFNα2b的组合(ChiCTR2000029387)、或洛匹那韦/利托那韦与利巴韦林和IFNβ1b的组合(NCT04276688)。

通过蒸汽吸入的IFN施用目前是中国的COVID-19治疗的标准护理的部分，提供了特异性靶向呼吸道的优点。IFN施用的静脉内和皮下模式得到充分描述，并且已在几项临床试验中证明是安全的。基于这些组合对于其它冠状病毒报告的增强功效(Sheahan等人，2020)，IFN-I与洛匹那韦/利托那韦、利巴韦林或瑞德西韦的组合可以改善其功效。由于其在呼吸道中的已知保护效应(Lokugamage等人，2020)，III型干扰素也是用于治疗COVID-19的候选物。与洛匹那韦/利托那韦组合的皮下IFNβ1a在DisCoVeRy试验(NCT04315948)中与单独的洛匹那韦/利托那韦、羟氯喹和瑞德西韦进行比较，所述DisCoVeRy试验是WHO Solidarity临床试验组合会的第一项临床试验。

[0166] 具有TPA的抗炎药组合

[0167] 除抗病毒药物组合和协调治疗方法之外，TPA化合物与次级治疗剂和/或预防剂有益地组合，以治疗和/或预防本文描述的作为治疗干预的靶的所有其它疾病、状况和症状。例如，在抗ARDS、抗CSS、抗PIMS、抗ESHS、抗DAD、抗炎、促免疫、抗细胞病变和/或促凋亡药物混合物、协调施用方案和互补的多药治疗方法中，“抗炎”药和生物制品与TPA化合物作为组合有效(例如，互补、累加、协同、加强)有益地组合，以协调治疗与以下相关的一种或多种疾病、状况或症状，或者患有以下的治疗的患者中的共病：病毒感染、过度炎症、ARD、CSS、PIMS、ESHS、DAD、升高的细胞病变活性、免疫压制、免疫和/或炎症细胞的正常凋亡活性的功能障碍，和/或本文所述的任何其它靶症状、状况或指数。

[0168] 在本发明的各个实施方案内，广泛各种抗炎剂将是有用的，包括但不限于：抗炎细胞因子、类固醇、皮质类固醇、糖皮质激素、非甾体抗炎药物(NSAID)、抗氧化剂、前列腺素和抗生素，以及其它抗炎剂。

[0169] 在本发明的示例性组合的组合物和方法中，抗炎有效的TPA化合物与非甾体抗炎药物(NSAID)共配制且递送、或者与非甾体抗炎药物(NSAID)同时或序贯共施用。用于在这些实施方案中使用的示例性NSAID候选物包括但不限于阿司匹林、塞来昔布(Celebrex)、双氯芬酸(Cambia、Cataflam、Voltaren-XR、Zipsor、Zorvolex)、二氟尼柳、依托度酸、布洛芬(Motrin、Advil)、吲哚美辛(Indocin)、塞来昔布(Celebrex)、吡罗昔康(Feldene)、吲哚美辛(Indocin)、美洛昔康(Mobic Vivlodex)、酮洛芬(Orudis、Ketoprofen ER、Oruvail、Actron)、舒林酸(Clinoril)、二氟尼柳(Dolobid)、萘丁美酮(Relafen)、奥沙普秦(Daypro)、托美丁(Tolmetin Sodium、Tolectin)、双水杨酯(Disalcid)、非诺洛芬(Nalfon)、氟比洛芬(Ansaid)、酮咯酸(Toradol)、甲氯芬那酯、甲芬那酸(Ponstel)，以及广泛已知且可用于临床使用的其它安全和有效的NSAID抗炎药。

[0170] 具有TPA的细胞因子抑制剂药物组合

[0171] 在本发明的其它示例性组合的组合物和方法中，抗炎有效的TPA化合物与抗炎药或抗炎剂共配制且递送、或者与抗炎药或抗炎剂同时或序贯共施用，所述抗炎药或抗炎剂直接地或间接地抑制/降低一种或多种促炎细胞因子靶的诱导、合成、激活和/或循环水平，所述促炎细胞因子靶关于SARS-CoV-2感染、COVID-19疾病、ARDS、SARS、CSS、PIMS、ESHS、DAD或者本文所述的任何其它过度炎症状况或症状是过度升高的。在示例性实施方案内，抗炎有效的TPA化合物将与一种或多种次级治疗剂共配制或协调施用，所述次级治疗剂抑制/降低选自以下的一种或多种促炎细胞因子靶的诱导、合成、激活和/或循环水平：(IL)-1B；IL-2；IL-6，IL-7；IL-8；IL-9；IL-10；成纤维细胞生长因子(FGF)；粒细胞-巨噬细胞集落刺激因

子(GM-CSF)；IFNγ；粒细胞集落刺激因子(G-CSF)；干扰素-γ-诱导蛋白(IP10)；单核细胞趋化蛋白(MCP1)；巨噬细胞炎症蛋白1α(MIP1A)；血小板衍生生长因子(PDGF)；肿瘤坏死因子(TNFα)；以及血管内皮生长因子(VEGF)。在本发明的这些方面内，TPA化合物和次级治疗剂组合地有效减少一种或多种靶向促炎细胞因子的表达、激活、半衰期和/或水平，与个别药物的可比较治疗剂量的施用相比，经常伴随减少的副作用。

[0172] 在这些实施方案内用作次级治疗剂的说明性抗炎药候选物包括上述抗炎细胞因子，以及各种药物和生物制剂，其特异性、直接地或间接地靶向、结合、阻断、失活和/或抑制一种或多种促炎细胞因子的合成或活性。

[0173] 抗I1-6生物制品以及具有TPA的药物组合

[0174] 作为本发明的这些方面的例证，TPA化合物在与抗IL-6药物或生物制品组合使用时是组合地有效的，以基本上减少IL-6的诱导、合成、激活和/或循环水平。IL-6一直被视为涉及促炎级联的关键促炎细胞因子，连同具有TNF-α和IL-1的治疗剂。在IL-6的情况下，这种细胞因子被视为炎症效应物的全身激活的标记物。如同许多其它细胞因子，IL-6具有促炎和抗炎性质两者。特别重要的是，IL-6是急性期炎症应答的有力诱导物，并且升高的IL-6水平与患有ARDS的COVID-19患者中的不良预后强烈相关联(IL-6的过度升高与机械通气的需要强烈相关)。IL-6信号传导的经典途径通过IL-6受体发生，所述IL-6受体在嗜中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞及其它白细胞群体上表达。除了与膜结合的IL-6受体(mIL-6R、CD126)结合之外，IL-6还可以结合通过mIL-6R的蛋白酶解切割或mRNA的可变剪接产生的可溶形式的IL-6受体。循环IL-6的水平升高与肺弹性的更快下降和更严重的支气管肺泡炎症相关。因此，IL-6调控的信号传导途径的特异性阻断代表了减弱与COVID-19疾病受试者中的肺损害相关的急性炎症的有希望的方法。

[0175] 在用多药TPA策略靶向IL-6的一个示例性实施方案中，TPA化合物与以下协调施用：抗IL抑制剂、结合剂或失活剂，例如特异性抗IL-6单克隆抗体或Fab片段或者可溶性IL-6受体或受体类似物，以及包含其同源抗IL-6结合或失活结构域的相关生物制品。

[0176] 在某些实施方案中，通过EUSAPharma制备的抗IL-6单克隆抗体司妥昔单抗与TPA化合物一起用于协调抗炎治疗方法中。司妥昔单抗目前处于用于治疗患有ARDS的COVID-19患者的临床调查中。

[0177] 在其它实施方案中，沙利鲁单抗(Kevzara)，一种IL-6受体拮抗剂，与抗炎TPA化合物一起采用，以禁用或削弱IL-6活性，并且从而在患有COVID-19、ARDS、CSS及其它过度炎症状况的受试者中介导临床益处。Kevzara已证明了在治疗关节炎方面的功效，并且Regeneron Pharmaceuticals和Sanofi目前正在重症和危重COVID-19患者中进行关于Kevzara的II期和III期试验(NCT04315298)。

[0178] 在其它实施方案中，托珠单抗(TCZ)，一种重组人抗IL-6单克隆抗体，与抗炎TPA化合物一起采用，以禁用或削弱IL-6活性，并且在患有COVID-19、ARDS、CSS及其它过度炎症状况的受试者中实现临床益处。TCZ特异性结合可溶性和膜结合的IL-6受体(IL-6R)，因此阻断IL-6信号传导和IL-6介导的炎症应答。TCZ已广泛用于风湿性疾病，如类风湿性关节炎中。在2017年，TCZ在美国获批用于由嵌合抗原受体T细胞(CART)免疫疗法引起的严重的危及生命的CSS。目前的一项研究正在评估TCZ在治疗重症和危重COVID-19患者中的效应。初步报告指示了，TCZ减轻发烧及其它ARDS症状，并且75.0％的治疗受试者显示了改善的氧

合。在CT扫描上的不透明肺病变在90.5％的患者中被吸收。另外，外周淋巴细胞水平在52.6％的患者中恢复正常。注册了几项目前的临床试验，以评估托珠单抗在治疗成人住院患者中的严重COVID-19肺炎中的安全性和功效，包括关于托珠单抗在新冠肺炎(NCP)患者中的功效和安全性的多中心、随机化的对照试验(ChiCTR2000029765)，关于托珠单抗的单臂开放多中心研究(ChiCTR2000030796)，以及关于与抗病毒药物组合的托珠单抗的研究(ChiCTR2000030442和ChiCTR2000030894)。

[0179] 在相关实施方案中，抗炎有效的TPA化合物与抗IL-6药物共配制且递送、或者与抗IL-6药物同时或序贯共施用，所述抗IL-6药物直接地阻断或抑制IL-6，或者间接地抑制、降低或改变IL-6的促炎活性。一种此类药物是最初在植物穿心莲(Andrographis paniculata)中鉴定的穿心莲内酯。穿心莲内酯是一种半日花烷型二萜类化合物，其是传统药用植物穿心莲中发现的主要生物活性组分，所述穿心莲在中国和印度广泛用于治疗感染、炎症、感冒、发烧、肺炎及其它状况，以及印度和中国的腹泻。穿心莲内酯显示出广谱的具有治疗重要性的记录的生物活性，包括抗菌、抗炎、抗疟疾和抗癌活性。穿心莲内酯显示出强抗炎活性，包括经由NF-κB信号传导的抑制。穿心莲内酯还压制了诱导型一氧化氮合酶以及与过度炎症相关的活性氧类的产生。穿心莲内酯可以另外通过增加p27的表达且降低细胞周期蛋白依赖性激酶的表达来诱导细胞周期停滞，并且经由半胱天冬酶-8依赖性途径触发细胞凋亡。在鼠腹腔巨噬细胞中，穿心莲内酯经由压制ERK1/2信号传导来抑制TNF-α和白细胞介素-12的产生。

[0180] 与TPA组合的穿心莲内酯药物

[0181] 关于IL-6介导的炎症，穿心莲内酯也已显示具有影响IL-6介导的过度炎症机制和途径的有力抗炎活性。穿心莲内酯在体外和体内两者(包括在Stat3、Akt和ERK1/2途径内)以剂量依赖性方式抑制IL-6产生，并且压制IL-6过度炎症信号传导(Chun，2010)。根据本发明的示例性实施方案，抗炎有效的TPA化合物与穿心莲内酯的协调施用组合地有效阻断或抑制IL-6活性，经常通过多重途径和/或机制，直接地或间接地抑制、降低或改变IL-6的促炎活性，或者校正IL-6的过度炎症或免疫失调效应(例如，免疫和/或炎性效应细胞如淋巴细胞、单核细胞/巨噬细胞和嗜中性粒细胞的分化失调、增殖、激活、炎性细胞因子合成和/或凋亡活性)。

[0182] 具有TPA的激酶调节剂药物组合

[0183] 在本发明的其它示例性组合的组合物和方法中，抗炎有效的TPA化合物与激酶调节剂药物或药剂共配制且递送、或者与激酶调节剂药物或药剂同时或序贯共施用，所述激酶调节剂药物或药剂直接地或间接地抑制、降低、激活或改变一种或多种激酶的免疫或炎症活性，所述激酶参与介导或压制过度炎症应答，或者调控免疫和/或炎性效应细胞(如淋巴细胞、单核细胞/巨噬细胞和嗜中性粒细胞)的分化、增殖、激活、炎性细胞因子合成和/或凋亡活性。在本发明的这些方面内的示例性靶激酶包括丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和janus激酶(JAK)。在示例性实施方案内，用TPA和JAK抑制剂协调治疗COVID-19疾病受试者在临床上减轻了与ARDS、SARS、CSS、PIMS、ESHS、DAD或者本文所述的另一种过度炎症状况或症状相关的一种或多种疾病状况或症状。在一个工作实例中，抗炎有效的TPA化合物与JAK抑制剂、盐酸杰克替尼(Jakotinib hydrochloride)或另一种JAK抑制剂巴瑞替尼共配制或协调施用。

[0184] 本文中的JAK抑制性抗COVID-19治疗策略基于上文详细讨论的ACE2在SARS-CoV-2病因学中的作用。ACE2是在心脏、肾、血管且尤其是肺泡上皮中广泛表达的细胞表面蛋白。SARS-CoV-2显然通过ACE2介导的内吞作用结合并进入细胞。内吞作用的已知调节剂之一是AP2相关蛋白激酶1(AAK1)。AAK1抑制剂可以阻断病毒进入细胞内的通道,且从而削弱病毒感染和复制。巴瑞替尼既是JAK抑制剂又是AAK1抑制剂,已经在COVID-19受试者中证明是安全的。每天2mg或4mg巴瑞替尼的治疗剂量足以引起可测量的SARS-CoV2抑制。关于JAK抑制剂的使用的关注基于JAK抑制各种细胞因子包括INF-a的报告,所述INF-a介导抗病毒免疫应答。存在关于JAK抑制剂盐酸杰克替尼的目前临床试验("盐酸杰克替尼片在治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的重症和急性加重患者中的安全性和功效的研究"(ChiCTR2000030170);以及"用与间充质干细胞组合的鲁索替尼治疗的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)重症患者:一项前瞻性、单盲、随机化的对照临床试验"(ChiCTR2000029580))。

[0185] 具有TPA的抗SARS-CoV-2疫苗组合

[0186] 在本发明的其它示例性组合的组合物和方法中,抗病毒或抗炎有效的TPA化合物与抗SARS-CoV-2疫苗试剂共配制且递送、或者与抗SARS-CoV-2疫苗试剂同时或序贯共施用,以预防或减少病毒感染,且从而预防或减少COVID-19疾病状况和症状。用于在这些协调治疗方法内使用的示例性候选疫苗目前非常众多,因为全世界争先恐后地针对SARS-CoV-2以及其它过去和未来可能的hSARS病毒有效预防。在某些实施方案中,以抗hSARS病毒疫苗形式的次级治疗剂可以包含活减毒的重组hSARS病毒或重组嵌合hSARS病毒、灭活或杀死的hSARS病毒、hSARS病毒的免疫原性亚单位例如由hSARS刺突(S)蛋白的全部或部分构成的亚单位疫苗、以及目前正在调查的许多其它不同的抗hSARS疫苗工具。疫苗在本发明的组合TPA治疗方法和组合物内具有特别的重要性,部分是因为目前仍然没有任何现有的抗病毒药物(作为单一疗法施用的)将有效治疗COVID-19肺炎的足够证据。

[0187] 疫苗开发是预防未来的COVID-19再次暴发的一项关键的长期策略。随着SARS-CoV-2基因组的测序,已提出了多重基于核酸的疫苗候选物,其中许多基于S蛋白编码序列。

[0188] mRNA-1273疫苗

[0189] 在2020年1月初,对SARS-CoV-2的基因组进行测序。Moderna的mRNA-1273疫苗候选物是编码融合前稳定的病毒刺突(S)蛋白的mRNA的合成链。在肌内注射到人体内后,它预计引发特异性针对SARS-CoV-2的刺突蛋白的抗病毒免疫应答。与由灭活或死亡病原体、活减毒的病毒或小免疫原性病毒亚单位制成的常规疫苗不同,Moderna的脂质纳米颗粒包裹的mRNA疫苗不需要任何使用、处理或患者暴露于SARS-CoV-2病毒。因此,它是相对安全的且易于测试的。如果mRNA-1273证明对于人是安全的并通过I期试验,则立即进行其功效的后续评估(NCT04283461)。这种疫苗候选物是如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0190] INO-4800

[0191] INO-4800是由Inovio Pharmaceuticals产生的DNA疫苗候选物。如同Moderna的mRNA-1273,INO-4800也是一种遗传疫苗,其可以递送到人细胞并且翻译成蛋白质以引发免疫应答。与常规疫苗相比,遗传疫苗具有更低的生产成本,并且对于生产和施用更容易且更安全。核酸的简单结构也避免了基于重组蛋白的疫苗中可能发生的错误折叠的风险。然而,递送的质粒的量以及足够的施用间隔和途径是可以影响遗传疫苗的免疫原性的不确定因

素。这种疫苗候选物是如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0192] ChAdOx1 nCoV-19

[0193] 通过Oxford University产生的ChAdOx1 nCoV-19疫苗由非复制型腺病毒载体和SARS-CoV-2的S蛋白的遗传序列构成,目前处于I/II期临床试验中(NCT04324606)。腺病毒在宿主中的非复制性质使得其在儿童和患有基础疾病的个体中相对安全。基于腺病毒的载体的特征在于广泛范围的组织嗜性,其涵盖呼吸道和胃肠道上皮两者,表达SARS-CoV-2的ACE-2受体的两个主要部位。这种疫苗候选物是如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0194] 稳定化的亚单位疫苗

[0195] 有包膜病毒需要病毒膜与宿主细胞膜的融合用于感染。该过程涉及病毒糖蛋白从融合前形式到融合后形式的构象变化。尽管融合前糖蛋白是相对不稳定的,但它们仍能够引发强免疫应答。University of Queensland正在开发基于分子钳技术的针对SARS-CoV-2的稳定化亚单位疫苗,其允许重组病毒蛋白稳定地保持其融合前形式。先前应用于流感病毒和埃博拉病毒的分子钳疫苗已证明其诱导中和抗体产生的能力。它们还据报告在37℃下两周后也是有力的。这种疫苗候选物是如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0196] 基于纳米颗粒的疫苗

[0197] 基于纳米颗粒的疫苗代表了掺入且阻止抗原,以对高危受试者接种疫苗的替代策略。通过包裹或共价功能化,纳米颗粒可以与抗原表位缀合,模拟病毒并激发抗原特异性淋巴细胞增殖以及细胞因子产生。另外,通过鼻内或经口喷雾的粘膜疫苗接种不仅可以刺激在粘膜表面处的免疫应答,还可以激发全身应答。这证实了基于纳米颗粒的疫苗保护人免受引起全身症状的呼吸道病毒的潜力。Novavax,Inc.正在使用衍生自病毒S蛋白的抗原生产基于纳米颗粒的抗SARS-CoV-2疫苗。该蛋白在杆状病毒系统中稳定表达,并且产品预料今年夏天进入I期试验。这种疫苗候选物是如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0198] 病原体特异性人工抗原呈递细胞

[0199] 基于抗原特异性T细胞能够根除癌细胞以及病毒感染的知识,生成具有病毒抗原特异性的大量T细胞可能提供了针对SARS-CoV-2感染的增强抗性。产生大量T细胞的有效方法包括可以激活效应T细胞的适当抗原呈递细胞,以及相应的效应物细胞毒性T细胞的分化和增殖。表达由慢病毒载体递送的病毒结构蛋白的保守结构域的遗传修饰的人工抗原呈递细胞(aAPC)可以诱导幼稚T细胞分化且增殖。多项试验在进行中,以评估单独以及与抗原特异性细胞毒性T细胞组合的aAPC的安全性和免疫原性(NCT04299724、NCT04276896)。aAPC将提供在如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0200] 天然杀伤细胞

[0201] 在老年患者中观察到通过COVID-19造成的最高死亡率,至少部分可归于免疫系统随着年龄的削弱。旨在加强针对SARS-CoV-2的先天抗病毒免疫应答的方法具有巨大的潜力。天然杀伤(NK)细胞构成先天免疫系统的重要组分,介导针对病毒感染的快速应答。先前的研究已显示了,NK细胞和巨噬细胞的肺迁移在SARS-CoV的清除中起重要作用(Chen等人,

2009)。无需来自CD8+T细胞和抗体的帮助,先天应答本身能够通过增加细胞因子和趋化因子的产生来控制SARS-CoV感染。NK细胞的添加是否可以介导COVID-19肺炎中的病毒清除在中国处于I期试验中(NCT04280224),所述试验估计到2020年底完成。几家公司的目标是将其基于NK的抗癌产品重新用于治疗COVID-19。在其中有来自韩国的Green Cross LabCell与来自美国的Kleo Pharmaceuticals联合开发的产品。另外,基于美国的Celularity公司已开发了胎盘造血干细胞衍生的NK细胞,CYNK-001。NK细胞加强方法和组合物将提供在如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0202] 重组干扰素

[0203] I型干扰素由病毒感染的细胞分泌。当单独或与其它药物组合使用时,它们发挥针对HCV、呼吸道合胞病毒、SARS-CoV和MERS-CoV的广谱抗病毒效应。试验目前集中于其在治疗COVID-19肺炎中的安全性和功效(NCT04293887)。I型干扰素将提供在如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0204] 间充质干细胞

[0205] 间充质干细胞(MSC)已被证明通过降低促炎细胞因子且产生旁分泌因子以修复组织来发挥抗炎功能。临床前证据已显示了,MSC不仅能够恢复内皮渗透性,还能减少炎性浸润。MSC的免疫调节效应已对禽流感病毒得到证明,并且其在治疗COVID-19肺炎中的作用是有希望的。目前,来自脐带和牙髓的MSC正在COVID-19研究中进行临床测试(NCT04293692、NCT04269525、NCT04288102、NCT04302519)。MSC将提供在如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0206] 静脉内免疫球蛋白

[0207] 静脉内免疫球蛋白(IVIG)已广泛应用于神经病学、皮肤病学和风湿病学领域。IVIG对免疫系统发挥多种剂量依赖性作用。在低剂量(0.2-0.4g/kg)下,IVIG可用作抗体缺陷的替代疗法。在更高剂量(高达2g/kg)下,IVIG显示出有力的免疫调节功能,包括通过压制炎症细胞增殖、抑制吞噬作用且干扰抗体依赖性细胞毒性(Jolles等人,2005)。目前的试验正在评估IVIG在COVID-19受试者中的安全性和功效(NCT04261426)。IVIG组合物将提供在如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0208] SARS-CoV-2特异性中和抗体

[0209] 由抗体介导的体液免疫应答对于预防病毒感染是关键性的。特异性病毒表面表位靶向中和抗体的开发是靶向COVID-19的有希望的方法。AbCelera(加拿大)和Eli Lilly and Company(美国)正在共同开发可以中和受感染患者中的SARS-CoV-2的功能性抗体。为此,他们筛选了来自从COVID-19恢复的首批美国患者之一的超过500万个免疫细胞,并且鉴定了500多个有希望的抗SARS-CoV-2抗体序列,其目前正在经历筛选,以寻找最有效的抗体序列。这种方法已成功地应用于制造针对西尼罗河病毒的特异性功能抗体。Vir Biotechnology,Inc.、ImmunoPrecise、Mount Sinai Health System和Harbour BioMed(HBM)也正在筛选,以寻找将结合且中和SARS-CoV-2的单克隆抗体。这些及其它SARS-CoV-2特异性中和抗体将提供在如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0210] 抗C5a单克隆抗体

[0211] 补体激活与急性肺损害相关联,其中细胞因子C5a(从C5中切割的生物活性分子)

牵涉为介导组织损害的关键效应物。C5a的作用包括募集嗜中性粒细胞和T淋巴细胞，以及增加肺血管渗透性。抗C5a治疗已显示通过降低血管渗漏和嗜中性粒细胞流入肺间质和肺泡空间内，来减少肺损害(Guo等人，2005)。在具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中用作次级药剂的示例性抗C5a药物包括由Beijing Defengrei Biotechnology Co.推出的BDB-1，以及由Beijing StaidsonBiopharma和InflaRx生产的IFX-1。

[0212] 沙利度胺

[0213] 最近，沙利度胺已作为抗血管生成、抗炎和抗纤维化药物重新出现，用于多种治疗用途。通过降低TNF-α的合成，沙利度胺已用作用于各种过度炎性疾病，例如克罗恩病和白塞氏病的治疗。沙利度胺通过减少炎症细胞的浸润且抑制或阻断促炎细胞因子的产生，有效治疗H1N1感染的小鼠(Zhu等人，2014)。目前正在进行研究，以调查沙利度胺用于减轻通过对SARS-CoV-2的过度免疫/炎症应答引起的肺损害的免疫调节效应(NCT04273529、NCT04273581)。沙利度胺是在如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0214] 芬戈莫德

[0215] 芬戈莫德是主要用于治疗难治性多发性硬化的经口免疫调节剂。它在结构上类似脂质鞘氨醇-1-磷酸(S1P)，并且可以充当淋巴结T细胞中的S1P1受体的高度有力的拮抗剂。通过有效结合，S1P1受体被内化，并且淋巴结T细胞随后被隔离。T淋巴细胞的降低的肺部流入是目前正在临床试验中研究的，减弱不受控制的免疫发病机制的另一种方法(NCT04280588)。芬戈莫德是在如本文所述的具有TPA的某些组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0216] 具有TPA的抗血管生成药物组合

[0217] 在急性呼吸窘迫综合征患者中观察到血管内皮生长因子(VEGF)的水平升高。VEGF充当炎症介质，其可以诱导内皮损害并增加血管渗透性(Thickett等人，2001)。已开发了各种抗VEGF药物和生物制品用于临床使用。在其中，贝伐珠单抗是能够结合且中和VEGF功能包括阻断血管生成的重组人源化单克隆抗体，其目前在美国获批并广泛用于治疗多重类型的癌症。一项进行中的试验目前正在评估贝伐珠单抗治疗SARS-CoV-2感染的有效性(NCT04275414)。抗血管生成药物和生物制品，包括抗VEGF药物和生物制品，将提供在如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0218] 羟氯喹

[0219] 在本发明的其它示例性组合的组合物和方法中，抗SARS-CoV-2有效的TPA化合物与氯喹或羟氯喹共配制且递送、或者与氯喹或羟氯喹同时或序贯共施用。先前长期用作抗疟疾和抗自身免疫药物，羟氯喹似乎也通过增加病毒与宿主细胞之间的膜融合所需的内体pH来限制病毒感染性。在一项研究中，报告了羟氯喹通过干扰其细胞受体ACE2的糖基化来特异性抑制SARS-CoV的复制。最近的体外研究提示了，羟氯喹有效地减少COVID-19受试者中的SARS-CoV-2的病毒载量/滴度(Lan等人，2020)。多项临床试验在中国迅速开展，其报告了羟氯喹在治疗COVID-19相关肺炎方面是不同程度有效的。在来自法国的一项小型标签公开的非随机化临床试验中，报告了羟氯喹与阿奇霉素组合具有正面作用。美国FDA发布了羟氯喹在美国治疗COVID-19的紧急使用授权，并且此后该药物已在国内广泛地标签外用于此目的。最近以来的研究已发现了，羟氯喹用于治疗COVID-19疾病的基本临床益处的有限证

据，并且关于该药物的心脏安全性关注已导致至少一项主要临床试验的提前结束。

[0220] 糖皮质激素

[0221] 众多临床研究已报告了糖皮质激素用于治疗冠状病毒和流感肺炎的功效。在2003年的SARS流行期间，糖皮质激素是免疫调节疗法的主要药物治疗。糖皮质激素的及时使用可以改善早期发烧，并且减轻肺炎和相关低氧血症的严重程度。然而，一些研究并未发现关于糖皮质激素的有益效应，并且一些报告已涉及免疫压制、延迟的病毒清除和不良反应。根据脓毒症和脓毒性休克管理的国际指南，如果要使用糖皮质激素，则应该仅对于其中足够的液体和血管加压药疗法不能恢复血流动力学稳定的患者应用小剂量和短期应用。

[0222] 全身性糖皮质激素施用已用于严重并发症，以压制患有COVID-19包括ARDS、急性心脏损害、急性肾并发症的患者，以及具有与血栓形成相关的D-二聚体水平升高的患者中的CSS表现。不存在进一步的证据，WHO的临时指南并不支持使用全身性皮质类固醇用于治疗与COVID-19疾病相关的病毒性肺炎和ARDS。

[0223] 尽管全身性糖皮质激素目前在SARS-CoV-2治疗中的使用存在疑问(基于其潜在的免疫压制效应，延长病毒清除)，但关于这些药物在治疗COVID-19疾病的某些方面仍存在有希望的治疗用途。COVID-19肺炎的潜在发病机制由以下构成：通过病毒引起的直接损伤以及通过宿主的超免疫和过度炎症应答引起的显著致病影响两者。甲泼尼龙施用被视为帮助压制过度免疫和炎症反应的示例性糖皮质激素，并且正在进行研究，以探索其在COVID-19受试者中的有效性和安全性(NCT04273321、NCT04263402)。在某些COVID-19和ARDS治疗背景下，以及在靶向和分阶段治疗方案中，糖皮质激素将提供在如本文所述的具有TPA的组合制剂和协调治疗方法中有希望有用的次级药剂。

[0224] 药物组合物、给药、递送和制剂

[0225] 关于本发明的前述说明性方面中的每一个，在某些实施方案中，将采用一种或多种TPA或TPA类化合物，例如上式I或式II的母体TPA化合物，例如12-O-十四烷酰佛波醇-13-乙酸酯(正式名称为“TPA”；也称为佛波醇-12-肉豆蔻酸酯-13-乙酸酯(PMA))，或者母体TPA化合物的结构上相关的功能类似物、缀合物、前药、盐或者其它修饰或衍生物形式。在本发明内采用的TPA化合物可用于施用于受试者的组合物和方法中，以介导抗病毒(例如，抗SARS-CoV-2)、抗炎、抗ARD、抗CSS、抗PIMS、抗ESHS、抗DAD、抗细胞病变、促免疫和/或促凋亡效应，以及其它临床上相关的活性。这些组合物和方法的有力和多样的临床效应个别地且共同地有效治疗和/或预防各种各样的ARDS和COVID-19疾病状况、症状和伴随的免疫、细胞、组织和器官损害和功能障碍。

[0226] 一般地，将临床有效量或剂量的式I或II的TPA化合物施用于顺应TPA治疗的受试者，以在治疗的受试者中有效地引发抗病毒、抗炎、抗ARD、抗CSS、抗PIMS、抗ESHS、抗DAD、抗细胞病变、促免疫和/或促凋亡应答。如上所述，通过比较测试和安慰剂治疗的对照受试者中的治疗前和治疗后的治疗指数来证实临床功效。在示例性实施方案中，有效量的活性TPA化合物将在单一或多重单位剂型中，伴随一定的给药频率以及在治疗干预的所选时期内，产生定量或定性显著的治疗益处，以减轻治疗的受试者中的病毒感染、过度炎症、ARD、CSS、PIMS、ESHS、DAD、升高的细胞病变活性、免疫压制、免疫和/或炎症细胞的正常凋亡活性的功能障碍的一种或多种症状，和/或本文所述的任何其它靶症状、状况或指数。

[0227] 本发明的组合物通常包含与以下一起配制的有效量或单位剂量的式I或II的TPA

化合物:一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂、媒介物、乳化剂、稳定剂、防腐剂、缓冲剂和/或其它添加剂,其可以增强稳定性、递送、吸收、半衰期、功效、药代动力学和/或药效学,减少不良副作用,或对于药物使用提供其它优点。取决于靶向状况以及临床和患者特异性因素,有效剂量很容易由临床医生确定。用于施用于哺乳动物受试者包括人的活性TPA化合物的合适有效单位剂量的量的范围可以是约10至约1500μg、约20至约1000μg、约25至约750μg、约50至约500μg、约150至约500μg、约125μg至约500μg、约180至约500μg、约190至约500μg、约220至约500μg、约240至约500μg、约260至约500μg、约290至约500μg。在某些实施方案中,式I的佛波酯化合物或相关或衍生化合物的疾病治疗有效剂量可以在例如10至25μg、30-50μg、75至100μg、100至300μg、或150至500μg的更窄范围内选择。这些及其它有效单位剂量的量可以以单一剂量或者以每日、每周或每月多重剂量的形式进行施用,例如在包含每天、每周或每月施用的1至5个、或2至3个剂量的给药方案中。在一个示例性实施方案中,每天施用一、二、三、四或五次10至30μg、30至50μg、50至100μg、100至300μg、或300至500μg的剂量。在更详细的实施方案中,每天施用一次或两次50-100μg、100-300μg、300-400μg、或400-600μg的剂量。在一个进一步实施方案中,每隔一天施用50-100μg、100-300μg、300-400μg、或400-600μg的剂量。在替代实施方案中,剂量基于体重进行计算,并且可以例如以约0.5μg/m2至约300μg/m2/天、约1μg/m2至约200μg/m2、约1μg/m2至约187.5μg/m2/天、约1μg/m2/天至约175μg/m2/天、约1μg/m2/天至约157μg/m2/天,约1μg/m2至约125μg/m2/天、约1μg/m2至约75μg/m2/天、1μg/m2至约50μg/m2/天、2μg/m2至约50μg/m2/天、2μg/m2至约30μg/m2/天、或3μg/m2至约30μg/m2/天的量进行施用。

[0228] 在其它实施方案中,剂量可以更不频繁地施用,例如,每隔一天0.5μg/m2至约300μg/m2,每隔一天约1μg/m2至约200μg/m2、约1μg/m2至约187.5μg/m2,每隔一天约1μg/m2至约175μg/m2,约1μg/m2/天至每隔一天约157μg/m2,每隔一天约1μg/m2至约125μg/m2,每隔一天约1μg/m2至约75μg/m2,每隔一天1μg/m2至约50μg/m2,每隔一天2μg/m2至约50μg/m2,2μg/m2至约30μg/m2/天、或3μg/m2至约30μg/m2/天。在另外的实施方案中,剂量可以施用3次/周、4次/周、5次/周、仅在工作日、仅与其它治疗方案一致、连续几天、或在取决于临床和患者特异性因素的任何适当的剂量方案中。

[0229] 本发明的治疗组合物的量、时机和递送模式将在个体的基础上进行常规调整,取决于此类因素如个体的重量、年龄、性别和状况,靶向疾病或状况的急性和严重程度,施用是预防性的还是治疗性的,以及基于已知影响药物递送、吸收、药代动力学和功效的其它因素。有效的剂量和施用方案经常包括在数天、一周或数周、数月或甚至数年的过程中的重复给药。有效的治疗方案还可以涉及在数天、数周、数月或数年的过程中,在每天一次或每天多剂量的基础上施用的预防剂量。

[0230] 本发明的药物组合物可以通过任何临床上可接受的途径和手段进行施用,其达到预期的治疗或预防目的。合适的施用途径包括所有有效的常规递送途径、装置和方法。目前实践的递送方法包括可注射方法,例如静脉内注射和输注、肌内、腹膜内、脊柱内、鞘内、脑室内、动脉内和皮下注射。还考虑的是经口和粘膜固体和液体剂型,以及鼻内和肺内气溶胶递送。

[0231] 本发明的有效剂型经常包括药物配合领域公认为适合于制备剂量单位的赋形剂。此类赋形剂包括但不限于粘合剂、填料、润滑剂、乳化剂、悬浮剂、甜味剂、调味料、防腐剂、

缓冲剂、润湿剂、崩解剂、泡腾剂以及其它常规赋形剂和添加剂。本发明的治疗组合物可以进一步以持续、延迟或其它控制释放形式进行施用，例如通过使用缓释载体或赋形剂，或者缓慢、延迟或控制释放聚合物。

[0232] 本发明的某些TPA组合物通过肠胃外施用有益地递送，所述肠胃外施用例如静脉内、肌内、皮下或腹膜内。这些剂型通常以水性或非水性无菌可注射溶液的形式提供，任选地含有添加剂如抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和/或致使制剂与哺乳动物受试者的血液等渗的溶质。水性和非水性无菌悬浮液可以包括助悬剂和/或增稠剂。制剂可以存在于单位剂量或多剂量容器中。本发明的另外组合物和制剂可以包括聚合物、脂质体、胶束、缀合物及其它试剂，用于改善在特异性靶(例如，肺)处的生物利用度和/或延长在肠胃外施用之后的释放。有用的肠胃外制剂可以是适合于此类施用的溶液、分散体或乳状液。临时注射和输注溶液、乳状液和悬浮液可以根据常规实践，由无菌粉末、颗粒和片剂或其它起始形式进行制备。有用的单位剂型将是日剂量或单位、日亚剂量或在多日期间内有效的治疗剂量。

[0233] 在某些实施方案中，本发明的组合物可以包含用于在微胶囊、微粒或微球体中递送的包裹的式I或II的TPA化合物，所述微胶囊、微粒或微球体例如通过凝聚技术或通过界面聚合进行制备，例如分别在胶体药物递送系统(例如，脂质体、白蛋白微球体、微乳状液、纳米颗粒和纳米胶囊)中或在粗乳状液内的羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊。微囊化过程是众所周知的，并且可以常规实施，以制备含有本文所述的活性安帕金(ampakines)的微粒。

[0234] 如上文注意到的，在某些实施方案中，本发明的方法和组合物采用药学上可接受的盐，以增强溶解度、生物利用度或其它性能标准，例如上述TPA化合物的酸加成盐或碱盐。药学上可接受的加成盐的实例包括无机酸和有机酸加成盐。合适的酸加成盐由形成无毒盐的酸形成，所述无毒盐例如盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、硝酸盐、磷酸盐和磷酸氢盐。另外的药学上可接受的盐包括但不限于金属盐，例如钠盐、钾盐、铯盐等等；碱土金属盐例如钙盐、镁盐等等；有机胺盐例如三乙胺盐、吡啶盐、甲基吡啶盐、乙醇胺盐、三乙醇胺盐、二环己胺盐、N,N'-二苄基乙二胺盐等等；有机酸盐例如乙酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、马来酸盐、富马酸盐、扁桃酸盐、乙酸盐、二氯乙酸盐、三氟乙酸盐、草酸盐和甲酸盐；磺酸盐例如甲磺酸盐、苯磺酸盐和对甲苯磺酸盐；以及氨基酸盐例如精氨酸盐、天冬氨酸盐、谷氨酸盐、酒石酸盐和葡糖酸盐。合适的碱盐由形成无毒盐的碱形成，所述无毒盐例如铝盐、钙盐、锂盐、镁盐、钾盐、钠盐、锌盐和二乙醇胺盐。

[0235] 在其它实施方案中，本发明的方法和组合物采用式I或II的佛波酯的前药。前药被视为在体内释放活性母体药物的任何共价键合的载体。在本发明内有用的前药的实例包括具有羟烷基或氨基烷基作为取代基的酯或酰胺，并且这些可以通过使如上所述的此类化合物与酸酐如琥珀酸酐反应进行制备。本发明的相关方面也应理解为涵盖使用所述化合物的体内代谢产物(在主题前体化合物的施用后在体内生成的，或直接以代谢产物本身的形式施用的)，包含式I或II的佛波酯的方法和组合物。此类产物可以例如起因于前体药物或施用的化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、酯化等等，主要是由于酶促过程。相应地，本发明包括用于制备且使用通过包括以下的过程产生的TPA化合物、衍生物和代谢物的方法和组合物：使式I或II的佛波酯化合物与哺乳动物体液、细胞、组织样品或受试者接触一段时间，其足以产生TPA化合物的代谢产物(例如，从以可检测剂量肠胃外施用于哺乳动物的放射性标

记的化合物开始，允许足够的时间用于新陈代谢发生，并且从尿、血液或其它生物样品中分离标记化合物的转换产物)。

[0236] 本文公开的发明也应理解为涵盖诊断组合物，其用于诊断哺乳动物受试者中的疾病的风险水平、存在、严重程度或治疗指标，或者以其它方式管理疾病，所述疾病包括但不限于病毒感染、过度炎症、ARD、CSS、PIMS、ESHS、DAD、升高的细胞病变活性、免疫压制、免疫和/或炎症细胞的正常凋亡活性的功能障碍，和/或本文所述的任何其它靶症状、状况或指数。示例性诊断方法包括使标记的(例如，同位素标记的、荧光标记的或以其它方式标记的，以允许使用常规方法检测标记的化合物)式I或II的TPA化合物与哺乳动物受试者(例如，细胞、组织、血浆、器官或个体)接触，所述受试者处于危险中或者呈现有一种或多种靶向症状，并且其后使用广泛各种的已知测定和标记/检测方法中的任一种，检测标记的TPA化合物的存在、定位、代谢和/或结合状态。在某些实施方案中，TPA化合物通过将一个或多个原子替换为具有不同原子质量或质量数的原子进行同位素标记。可以掺入所公开的化合物内的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素，例如分别为2H、3H、13C、14C、15N、18O、17O、31P、32P、35S、18F和36Cl。然后根据常规技术，将同位素标记的化合物施用于个体或其它受试者，并且随后如上所述进行检测，产生有用的诊断和/或治疗管理数据。

[0237] 如技术人员将理解的，本发明并不限于本文上文公开的特定化合物、制剂、方法步骤和材料，其仅提供用于说明性目的。遵循作为整体的本发明的发现和教导，这些化合物、制剂、方法步骤和材料可以以等价形式和目的改变、扩展或取代，而无需过度实验。同样地，本文采用的术语仅是示例性的，以描述说明性实施方案，而不预期限制本发明的范围。出于相同的、说明性的和非限制性的目的提供了下述实施例。

实施例I

[0238] TPA化合物有效预防且治疗急性呼吸窘迫综合征(ARDS)，包括伴随严重COVID-19病毒疾病的突发性急性呼吸综合征(SARS)

[0239] 发明人已详细描述了受本发明的活性TPA化合物影响且实现的离散细胞、分子、基因调控、生物化学、生理和致病效应物、机制、靶、途径和应答，用于在患有ARDS、COVID-19疾病以及上文详述的其它过度炎症和免疫失调状况的患者中介导新型和显著的抗病毒、免疫调控和抗过度炎症的临床益处。尝试在该广泛范围的临床效用内举例说明TPA的所有靶和活性将超出艺术家(artist)的实际需要和期望。为了描述的经济和清晰，发明人已通过引用并入了所有方式和形式的细胞、分子、基因调控、生物化学、生理学和病理学研究和临床诊断测定技术、工具和方法，其涉及本文公开的TPA化合物和方法的活性和临床机制的全范围的实践实施。

[0240] 本发明涉及ARDS的某些实施方案一般性地举例说明了TPA化合物的广泛范围的活性和临床益处。在由人SARS冠状病毒SARS-CoV-2(COVID-19)引起的ARDS的特定情况下，用于治疗和预防ARDS的TPA的相关组合物和用途采用并引发了广泛的此类活性和益处。例如，我们调查用于ARDS治疗的TPS化合物和方法的临床优化的先导研究阐明了一系列关键的促免疫和抗炎靶、机制和途径，由此TPA化合物靶向并消除或减少导致免疫功能障碍和过度炎症的异常效应细胞、分子和生物化学效应物和下游影响，而在其它方面，发现本发明的TPA化合物和方法与有益的免疫调控细胞以及其相关的分子和生物化学效应物相互作用并且

诱导或促进其,因此有益地修饰其下游影响。以类似的方式,TPA化合物抑制、预防、促进和/或修饰其它免疫和炎症靶,其已知介导相关的免疫功能障碍和过度炎症状况,例如细胞因子风暴综合征(CSS)、儿童炎症多系统综合征(PIMS)、肺外全身性过度炎症综合征(ESHS)、以及伴随严重COVID-19相关ARDS的血管充血和血栓形成状况(例如,弥散性血管内凝血(DIC)、血栓形成、中风、血小板减少症和坏疽,以及伴随这些状况的其它细胞、组织和器官损害)。

[0241] 与通过发明人进行中的先导研究结合的本公开内容说明了TPA的广泛范围的促免疫和抗炎效应,其将有力地介导ARDS状况和症状、以及与严重COVID-19疾病相关的其它致病状况和症状的减少和/或预防。在这个背景下,TPA化合物具有多重证实的促免疫和抗炎活性,其通过关键的免疫和炎症调控细胞、基因靶以及分子和生物化学靶(如细胞因子、趋化因子和激酶)介导。示例性先导研究已显示了,TPA化合物将有效地治疗且预防淋巴细胞减少症,因为这些化合物促进与淋巴细胞的激活、增殖和存活相关的全范围的促免疫效应。根据进一步的教导,对呈现有ARDS的SARS-CoV-2受试者施用的TPA化合物在临床上支持淋巴细胞(包括已知在严重COVID-19/ARDS情况下严重受损和数目上减少的T细胞和B细胞、以及NK细胞)的正常健康、功能和存活。在相关方面,TPA已显示了通过与免疫调节激酶(如MAPK和JAK)的相互作用发挥促凋亡效应,其将有力地校正嗜中性粒细胞的异常编程和激活,所述嗜中性粒细胞牵涉为病因学或ARDS、CSS、PIMS、ESHS以及与严重COVID-19疾病相关的其它状况中的关键效应物。嗜中性粒细胞显然被SARS-CoV-2蛋白(以及在COVID-19疾病发展的过程中出现的其它新出现的促炎因子)“劫持”并重新编程,导致嗜中性粒细胞免疫和炎症活性的显著失调。这包括嗜中性粒细胞以及其上游调控细胞和信号的一系列过度炎症活性,其包括:促炎细胞因子和趋化因子的过度升高;增加的嗜中性粒细胞和巨噬细胞迁移(外渗)到肺和肺泡区室内(通过血管和内皮屏障的破坏得到辅助);致病性嗜中性粒细胞和巨噬细胞活性的过度升高(包括组织和细胞外基质破坏性脱颗粒,增加细胞和组织的氧化性应激(例如,通过过氧化物及其它ROS的过度释放),过度吞噬作用,以及与肺泡和血管充血以及血栓形成相关的嗜中性粒细胞胞外陷阱(NET)沉积);以及正常嗜中性粒细胞和巨噬细胞凋亡的失调(通过破坏自发性细胞凋亡,并且抑制吞噬作用诱导的细胞死亡(PICD),很可能部分由SARS-CoV-2N蛋白介导),其异常地延长嗜中性粒细胞和巨噬细胞的寿命,并且扩展且以其它方式使其炎症活性失调,显著地促成COVID-19组织和器官的发病机制。

[0242] 然而,通过我们的先导调查确定的TPA的另外活性表明了TPA的显著活性,用于阻断且减少与伴随严重COVID-19疾病的CSS和ARDS密切相关的过度升高的促炎细胞因子激活。TPA化合物通过如所述的各种靶、机制和途径,阻断或削弱直接牵涉CSS和ARDS的促炎细胞因子的过度诱导、过度合成和过度活性。通过这些活性,我们的证据显示了,本发明的抗炎TPA化合物和方法将另外阻断且削弱SARS-CoV-2感染的此类过度炎症后遗症,如淋巴细胞减少症(例如,通过阻断或抑制T、B和NK淋巴细胞的促炎性过度激活,从而减少激活诱导的淋巴细胞死亡),以及肺实质、肺泡气腔以及其它受CSS影响的组织和器官中的破坏性巨噬细胞和嗜中性粒细胞的过度浸润、过度激活和数目上升。限制促炎细胞因子表达和活性的TPA的这些抗炎效应依次又介导COVID-19/CSS/ARDS相关的致病状况的减少,所述致病状况包括:氧化性应激;内皮和上皮屏障破坏;对肺以及其它受CSS影响的组织和器官的纤维化及其它炎性损害;淋巴结的炎性损害、丧失和萎缩;脾的炎性损害和萎缩;脓毒症;中毒性

休克综合征(TSS)及其它病理状况。

[0243] 为了我们描述性经济的目的,发明人已在本说明书各处提供了代表性的科学实例、解释和分析,连同将读者导向出版物的引文,所述出版物提供了已知的、可用的研究和诊断分析工具和方法的另外技术描述(包括全范围的体外基于细胞的、生物化学、分子和基因调控测定,以及体内调查和诊断临床测定)。这些研究测定和临床诊断工具和方法遵循本文对支持性学术论文的详细描述和交叉引用的引文。本文引用的出版物各自为了所有目的而并入,包括用针对本领域已知且容易实践的研究和临床方案和目标的技术材料和方法来补充本说明书。

[0244] 为了进一步阐明本文发明的理解和实践,发明人目前正在将他们的先导研究扩展到动物和人受试者中的临床前和临床试验,集中于抗病毒和抗炎TPA化合物的临床使用,以减少或预防与SARS-CoV-2感染相关的ARDS和CSS。

[0245] TPA化合物用于治疗且预防ARDS的临床前研究

[0246] 本发明的TPA化合物和方法用于介导多重广泛的促免疫和抗炎效应以治疗且预防ARDS的功效,将通过采用众所周知的内毒素诱导的ARDS的小鼠模型的研究得到进一步证明。采用这一模型,将显示了TPA化合物缩小肺部组织病理学变化(包括嗜中性粒细胞的外渗、以肺实质和肺泡气腔中外渗且凝结的红血细胞为标记的血栓形成、以及肺泡壁的增厚。TPA化合物还将抑制研究受试者的支气管肺泡灌洗(BALF)样品中发现的内毒素诱导的蛋白质含量增加,确认了TPA针对内皮和上皮屏障破坏的保护功能。内毒素诱导的促炎细胞因子释放在用TPA治疗的研究受试者中也是减少的,例如,如通过记录的内毒素诱导的肿瘤坏死因子-α(TNFα)的过度刺激所确认的。在这些研究内,来自TPA治疗的受试者的灌洗嗜中性粒细胞也显示了生成较低水平的活性氧类(ROS),进一步证明了TPA化合物的抗炎、促免疫(包括淋巴细胞的保护)和屏障保护效应,其通过本文所述的嗜中性粒细胞调控以及其它免疫影响信号级联靶和途径介导。遵循本文提供的广泛参考文献的相关测定将确认TPA化合物对体外内皮单层抵抗过氧化物诱导的屏障功能障碍的能力的保护效应。这些数据将确认TPA广泛调控促免疫功能并且抑制或"重新编程"过度炎症功能,特别是经由对以下的直接作用:牵涉为严重COVID-19/ARDS发病机制中的关键参与者的免疫和炎症效应细胞(T、B和NK淋巴细胞,单核细胞/巨噬细胞和嗜中性粒细胞),以及上游信号(细胞因子和趋化因子)和分子/遗传调控和"开关"效应物(如MAPK和JAK激酶),其编程并驱动其分化、激活、细胞因子和受体合成/应答活性、迁移和长寿/细胞凋亡。

[0247] 在内毒素诱导的ARDS的小鼠模型中,在内毒素滴注到肺内后4小时,将TPA iv组合物注射到小鼠尾静脉中。在这个时间点,小鼠显示出低温休克,并且肺已经显示了嗜中性粒细胞浸润(炎症)的体征。因此,该模型证实了TPA对进行中的ARDS致病性发展的作用。在注射后24小时和48小时,肺的组织病理学变化在接受TPA化合物的小鼠中受到显著压制。在48小时,TPA的促免疫和抗炎效应将通过减少BALF样品中的蛋白质外渗(包括减少这些样品中的TNFα含量)得到进一步证实。来自接受TPA的研究小鼠的支气管肺泡区室的灌洗嗜中性粒细胞在48小时后将显示ROS生成的显著减少,并且与TPA一起预温育的内皮单层同样地显示出对过氧化物诱导的屏障功能障碍的增加抗性。

[0248] 研究设计为了评价TPA对内毒素诱导的肺损害的作用,将LPS内毒素或盐水递送到异氟烷麻醉的20-25g C57Bl/6小鼠的肺内,如先前描述的(Zhang等人,2013)。根据上文关

于不同研究组的描述选择了嵌套范围的多重TPA剂量，以便评价剂量依赖性安全性和功效，并且在LPS施用后4小时注射到尾静脉内。每2小时测定动物温度。24-48小时后，处死动物用于分析。

[0249] 为了评价血管渗漏和肺炎症，伊文思蓝染料(EBD)-白蛋白缀合物(0.5％EBD的4％BSA溶液)在实验终止前1小时在尾静脉中进行施用(30mg/kg)。在麻醉的动物中，打开胸腔并且通过心脏穿刺取样血液，以确定循环EBD的水平。将肺洗涤用于总体病理检查、组织病理学和灌洗样品的收集。

[0250] 该研究设计允许在ARDS的第一个临床体征后启动治疗干预时跟踪TPA的功效。为了进一步将研究点与人ARDS状态和应答相关联，密切监测BALF中的动物温度和嗜中性粒细胞浸润。小鼠在LPS施用之后的4-6小时经历降温应答峰值。在施用盐水或LPS后测量BALF中的白血细胞(WBC)和嗜中性粒细胞的总细胞数。在LPS施用后的4小时内，与注射盐水的对照受试者形成对比，来自TPA治疗的受试者的BALF中的嗜中性粒细胞存在已经是显著减少的。

[0251] 为了进一步评估该模型中的ARDS发病机制，肺切片的苏木精和伊红染色也证实了过度炎症肺发病机制的TPA抑制。随着LPS触发的肺炎症在48小时进展到更严重的阶段，TPA治疗的受试者将显示进入肺间质空间和肺泡气腔内的嗜中性粒细胞和RBC的显著减少，以及肺泡壁的肿胀减轻。

[0252] TPA对肺渗透性和嗜中性粒细胞浸润的作用也与治疗的受试者中的外渗蛋白和细胞因子的水平减少相关联，如通过LPS诱导的EBD外渗的TPA压制、以及BALF以及肺间质和肺泡气腔的组织学样品中的单核细胞/巨噬细胞和嗜中性粒细胞计数的减少所指示的。BALF TPA治疗的小鼠中的巨噬细胞、淋巴细胞和嗜中性粒细胞之间的平衡也显示了TPA对淋巴细胞的显著保护活性(以改善ARDS中观察到的淋巴细胞减少症)，以及巨噬细胞和嗜中性粒细胞群体的过度刺激和促凋亡调控的压制(由此这些细胞的总数以及与WBC的比率将是减少的)。

[0253] 为了进一步表征TPA针对ARDS的功效，测量了来自TPA和对照小鼠的BALF WBC生成ROS的能力。WBC ROS产生在接受TPA的小鼠中明显更低。

[0254] 该模型进一步提供了TPA对促炎、促免疫、抗炎以及与ARDS疾病发展和保护相关的其它细胞因子效应的作用。该模型中的内毒素诱导的ARDS受试者显示出促炎细胞因子包括IL-10的显著过度炎性增加。TPA将阻断或减少IL-6、IL-10、TNFα、MIP2以及在来自这些受试者的BALF和组织学样品中测量的其它促炎细胞因子的过度升高。

[0255] 为了评估TPA对内皮和上皮屏障完整性的保护作用、以及针对氧化性应激的保护，直接评价了内皮和上皮单层屏障功能。在一个方案中，人肺动脉内皮细胞(HPAEC)在下部室中的TPA的存在下，在胶原化聚酯插入物上以单层生长。在分析之前，将插入物转移到新孔中，以避免直接ROS清除。顶部室装载有FITC-葡聚糖，并且单层用嗜中性粒细胞氧爆作用的水肿产物(edemagenic product)250μM H2O2进行刺激。在对照受试者中观察到响应H2O2的显著的HPAEC屏障功能障碍(通过跨内皮电阻(TER)研究证明的)，所述应答被ASC的TPA治疗显著减弱或阻断。

[0256] 下述示例性方案和材料在当前实施中，以推进本发明的说明性方面。

[0257] 活体(In-Life)工作范围：小鼠中的TPA/ARDS研究

[0258] 1.目标

[0259] 1.1.确定炎症调控药物12-O-十四烷酰佛波醇-13-乙酸酯(TPA)预防成人呼吸窘迫综合征(ARDS)的小鼠模型中的肺过度炎症的功效

[0260] 2.材料和细节

[0261] 2.1.以立即施用形式或原种浓度的测试和对照物品/细胞

[0262] 2.2.关于细胞产品的解冻和稀释的说明书;贮存和稳定性信息

[0263] 2.3.研究方案必须在研究启动之前得到申办者的批准

[0264] 靶数据/可交付成果

[0265] 3.1.活体报告草案,包括所有研究数据在内

[0266] o个别地制表和QC的原始动物观察数据、活体观察、剂量组分配、体重和不良事件

[0267] o验尸发现和肉眼评估

[0268] 3.2组织病理学报告

[0269] 4.体内研究参数一般概述 总的来说,在通过内毒素(脂多糖(LPS))的肺滴注在小鼠中诱

[0270] (由申办者提供) 导ARDS之后,TPA以嵌套范围的剂量静脉内施用于小鼠。对照组接受内毒素诱导,随后为假的盐水注射。在24-76小时的短暂研究期后,对小鼠实施安乐死,并且收集支气管肺泡灌洗液(BALF)、血液和组织的样品,用于各自与ARDS严重程度相关联的细胞、组织学和生物化学测定。

[0271] 测试系统 未经治疗的WT C57BL/6小鼠-8-10周龄

[0272] 研究中的N＝50,雌性

[0273] 来源:Jackson Labs

[0274] 适应环境 在研究启动前至少1周,或按照ASC的SOP

[0275] 食物和水是无限制提供的

[0276] 研究的持续时间 ～4天(以不同的交错执行)

[0277] 治疗 第1阶段:ARDS诱导

[0278] -来自大肠杆菌(Escherichia coli)055:B5的内毒素(LPS)(15mg/kg,Sigma-Aldrich,St.Louis,MO,USA)或单独的PBS媒介物(各自)

[0279] -途径:鼻内输注或吸取到喉咙底部内

[0280] -ASC将购买LPS(假设PBS中的简单制剂)

[0281] 第2阶段:TPA治疗

[0282] -在LPS施用后1-4小时(待确定),TPA或PBS将经由尾静脉注射(i.v.)进行施用

[0283]

实验设计

I. 第 1 阶段：ARDS 诱导

- 为了诱导 ARDS，8 至 10 周龄的雌性 C57BL/6 小鼠通过吸入与氧混合的 2%异氟醚蒸气进行麻醉。

- 麻醉的小鼠通过其颅门牙进行悬挂，并且将舌拔出至完全伸展以防止吞咽反射。

-将 50-75 µl 来自大肠杆菌 055:B5 的 LPS (15 mg/kg, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)或单独的 PBS 媒介物(各自)吸取到喉咙底部内，并且将鼻孔夹紧，以迫使通过口呼吸和吸入液体。

- 最多 N=50 只小鼠(在研究中的 40 只加上额外作为替换的 10 只)将用于如下文概述的 LPS 诱导的 ARDS：

- 诱导将以多重交错执行(确切的交错信息例如注射的小鼠数目，将在研究方案中详细说明)

N	治疗和剂量	途径	终点
50	PBS 中的 15 mg/kg LPS	气管内，或吸取到喉咙底部	选择总共 N=40 小鼠，用于第 2 阶段，TPA 治疗

第 2 阶段：主要研究，测试物(TPA)治疗

- LPS 施用后～2 小时，测试物(TPA)或 PBS 将经由尾静脉注射进行施用

- 动物将在 LPS 暴露后 48 小时和 72 小时通过在麻醉下放血进行处死，终末血液样品将经由心脏穿刺进行收集

- 处理肺用于支气管肺泡灌洗(BAL)收集、RNA 或蛋白质分离或组织学

组分配表 2：

组	N	剂量	途径	终点
1	10	PBS	LPS 诱导后 2 小时的单次，i.v.注射	终止 N=5 各自在：LPS 施用后 48 小时和 72 小时 - 收集 BALF - 终末血液 - 肺样品 (分成两半，每 1 半快速冷冻，而另一半在固定剂中
2	10	TPA，低		
3	10	TPA，中		
4	10	TPA，高		

[0284]

笼边观察	每天两次
临床观察和体重	在LPS施用之前和处死前
支气管肺泡灌洗	收集支气管肺泡灌洗液(BALF)样品； **II.** 紧在放血后，用20号静脉导管对肺进行插管(或气管内插管)，并且用补充有0.4 mM EDTA (GIBCO)和蛋白酶抑制剂混合物(Roche, Indianapolis, IN, USA)的1 ml (全肺) PBS，序贯地轻轻洗涤五次 **III.** 来自所有五次灌洗收集的细胞贮存用于细胞计数(参见下文)，同时将灌洗上清液贮存于-80°C下用于生物化学分析。
验尸和组织收集	在处死时(LPS后48小时和72小时)，将通过气管收集肺样品并将其分成两半(右和左) **III.** 一半将置于指定的固定剂(10%中性缓冲福尔马林)内，并且贮存于4℃下，直到组织病理学分析 **IV.** 第二半将以2份分开进行快速冷冻并贮存，直到运送到申办者指定的实验室，用于在蛋白质和RNA水平(PCR)下的下游炎症标记物表达分析
一般肺解剖学和组织学	将在处死时记录关于一般肺解剖的肉眼发现 - 肺样品将进行处理和H&E染色，并且在显微镜下评估肺组织学，包括在测试和对照样品中的免疫浸润、血管变化、间隔增厚等 组织学将在ASC合作实验室(StageBio)执行 - 组织学实验室将收到在固定剂中的来自40只小鼠的肺。还将提供所有研究相关的记录(例如，总体发现、方案、方案修正等)。 - 来自所有动物的肺都进行修剪、处理、在石蜡中包埋并进行显微切片。所有组织都用H&E进行染色并且盖上盖玻片。载玻片将用显微镜进行质量检查。 - ACVP兽医病理学家将用显微镜评估所有H&E染色的切片。 - 病理报告草案，由制表的显微数据以及值得注意的变化的讨论组成，从接收组织和记录需要～4-5周来完成。实际时间线将基于组织和相关研究记录到达时可用的组织学和病理学资源进行制定。 - 将拍摄显微照片并进行注释用于作为病理学报告的附录包括。根据需要，将包括最多10张图像来描绘代表性的微观变化。费用仅应用于满足要求所需的实际图像数目。

[0285] TPA治疗调控且减弱免疫/炎症应答的证实，包括通过相对于Th2激活，使这些应答偏向Th1

[0286] 通过调控且减弱病毒诱导的超免疫和过度炎性激活，包括CSS(通过阻断或减少与炎症信号传导和细胞应答的过度激活相关的促炎细胞因子的过表达)，TPA使严重Covid-19疾病的可能性降到最低。在某些实施方案中，TPA将介导与超免疫和过度炎症活性相关的

Th2 T细胞应答的减弱的、免疫选择性抑制，并且将介导对有益的Th1偏向的T辅助细胞分化和标记物表达的中性或加强作用。各种测定可用于证实对动物或人受试者的TPA施用将介导调控/减弱的免疫应答，相对于Th2通常偏向Th1特异性细胞因子/趋化因子/生长因子表达模式(与在未治疗的对照受试者中确定的模式形成对比)。在一种说明性测定中，分析来自ARDS诱导的、SARS-CoV-2感染的或hCoV假病毒暴露的受试者(包括细胞和/或组织)的外周血单核细胞，伴随或不伴随TPA治疗(即，在ARDS诱导、或者病毒或假病毒暴露/激活之前、期间或之后的治疗)，以评价TPA治疗相对于未治疗的对照样品中的免疫细胞的标记物表达、组织学、组织化学和分化。在某些测定中，PBMC样品在ARDS诱导(例如，使用内毒素诱导)之后，从不存在病毒的动物受试者中进行分离，而其它有用的测定将采用来自暴露于hCoV-2的受试者、或者来自暴露于CoV假病毒的动物或人受试者的样品，以评估Th1偏向相对于Th2偏向的T细胞分化和标记物表达。在示例性研究中，可以使用多色T细胞ELISpot(例如，如由CTL Laboratories提供的)，来评估TPA治疗的测试受试者和未治疗的对照模型受试者中的细胞免疫应答。例如，CD4+Th1应答可以通过测量IFN-γ进行辨别，而CD4+Th2应答可以通过测量IL-5以及其它有用的激活/分化标记进行鉴定。TPA将介导调控的、减弱的免疫/炎症应答，其偏向Th1 T细胞激活/分化，并且与对照组相比具有抑制Th2激活/分化的特征，降低与CSS和ARDS相关的超免疫和过度炎性激活。

[0287] 酶联免疫吸附斑点(ELISpot)是一种高度灵敏和特异性的测定，其定量测量通过单一细胞的细胞因子或免疫球蛋白分泌的频率。ELISpot已广泛应用于调查感染、癌症、过敏和自身免疫性疾病中的特异性免疫应答。具有低至100,000中的一个细胞的检测水平，ELISpot在目前可用的最灵敏的细胞测定中。FluoroSpot Assay是ELISpot测定的变化，使用荧光来分析单个孔中的多重细胞因子。ELISpot测定在96孔板中进行，并且使用自动化ELISpot阅读器用于分析。因此，该测定是稳固、易于执行且适合于大规模试验的。T细胞ELISpot广泛应用于传染病、癌症、过敏和自身免疫性疾病中的特异性免疫应答的调查。在本发明内，T细胞ELISpot测定可特别用于指导开发且监测TPA和相关化合物的功效和安全性，以介导对SARS-CoV-2及其它呼吸系统病毒感染的健康、平衡和减弱的免疫和炎症应答，以降低ARDS以及如本文所述的其它相关状况(例如肺炎、血管炎、血栓形成等)的风险和发生率。

[0288] CSS测定

[0289] 另外的测定将阐明TPA用于预防CSS和相关的不良超免疫和/或过度炎症应答的有力活性，所述应答促成COVID-I9患者中的ARDS。鉴于尚未完全理解的，伴随SARS-CoV-2感染和COVID-19疾病的复杂和不确定的免疫和炎症相互作用，这些测定的靶是基础的—集中于Ii-Key-SARS-CoV-2肽诱导与CSS相关的促炎细胞因子表达的潜力。

[0290] 示例性细胞因子测定采用修改的细胞计数珠阵列(CBA)筛选，使用适合同时定量例如在细胞培养上清液(SN)中、或在生物学流体例如血清或血浆中的多重细胞因子的流式细胞术系统。CBA系统使用通过流式细胞术提供的荧光检测的宽动态范围，连同抗体包被的珠以有效捕获分析物。阵列中的每个珠具有独特的荧光强度，使得捕获不同分析物的珠可以在单个管中混合并同时运行。与传统的ELISA和蛋白质印迹技术比较，这种方法显著减少了样品体积和出结果的时间。

[0291] 简言之，靶细胞因子通过与珠缀合的捕获抗体从裂解物、血清或上清液中进行捕

获。用荧光染料标记的检测抗体与各种捕获的细胞因子结合，并且荧光信号通过流式细胞仪在样品采集过程中进行记录。信号的强度取决于每种细胞因子的浓度，并且可以用于使用蛋白质标准曲线计算特定细胞因子的浓度。对于不同的捕获细胞因子使用不同大小和荧光的珠，对于不同细胞因子记录的信号可以通过关于一种测试样品中的多重分析物的流式细胞术分析进行区分。

[0292] 由通过抗体包被的珠捕获并用检测抗体标记的每种细胞因子提供的荧光信号定义为平均荧光强度(MFI)。该值可以使用标准曲线转换成关于测试样品中的每种细胞因子的浓度，所述标准曲线通过测量来自标准(具有给定分析物的已知浓度的样品)的MFI而生成。当细胞在ARDS诱导或者病毒或假病毒暴露后分泌细胞因子时，在细胞培养上清液中检测到细胞因子的浓度增加，允许将TPA治疗值与对照值进行比较(例如，以证实TPA基本上减少多重促炎细胞因子的激活/表达，所述多重促炎细胞因子否则响应ARDS诱导和/或自然或人工病毒感染得到激活或升高(在对照受试者/样品中)。

[0293] 这些筛选测定用于证实TPA化合物的功效和最佳给药的效用将允许定期的预防和治疗性治疗，以预防或减少人中的针对SARS-CoV-2及其它病毒感染的超免疫和过度炎症应答。这些测定预计进一步证明了TPA可与SARS-CoV疫苗接种计划结合使用，以减少疫苗诱导的超免疫或炎症应答的风险。特别地，TPA将有效减少SARS-CoV-2疫苗接种者中的“抗原依赖性增强”(ADE)。在后续自然暴露于疫苗的靶病毒后，相对于未接种疫苗的受试者，ADE已显示了在接种疫苗者中促成超免疫和过度炎症应答的更大风险。这已在接种疫苗者中对于登革热及其它病毒得到证实，并且ADE预测为很可能是冠状病毒疫苗计划中的并发症。已注意到，更严重的COVID-19情况与先前地方性hCoV病毒感染的暴露增加相关(包括成人通过引起普通感冒的四种地方性hCoV中的任一种的定期、2-3年周期性感染，所述hCoV很可能与在较年长、暴露程度较高的成人中促成ADE的SARS-CoV-2交叉反应。在疫苗功效减弱后(在疫苗接种者中的中和性抗SARS-CoV-2抗体的预计下降之后)，在以后的野生型病毒攻击后对于超免疫和过度炎症应答性的相同倾向很可能在Covid-19疫苗接种之后，并且也可能伴随加强疫苗接种。TPA治疗将在显示免疫下降的疫苗接种者中减弱这些异常的ADE应答，减轻ADE风险或严重程度，所述疫苗接种者再次处于自然SARS-CoV-2感染的风险中，以及在加强疫苗接种时。

[0294] 充分确定的是，促炎细胞因子和趋化因子(CSS)的增加和不受调控的表达介导ARDS(包括伴随严重COVID-19疾病的ARDS)中的器官和组织的过度损伤。在炎症和传染病的急性期过程中经常观察到CSS。在重症COVID-19疾病患者中上调并且很可能促成器官和组织损伤的细胞因子已报告为尤其包括IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-17、CCL2(MCP-1)、CXCL9(Mig)和CXCL10(IP-10)。例如，促炎细胞因子在CSS和组织/器官损伤中的功能作用包括下述：

[0295] IL-6、IL-8、CCL2-嗜中性粒细胞和单核细胞的激活/募集

[0296] IL-17-自身免疫性疾病(MS、IBD)中的组织炎症

[0297] CXCL趋化因子(例如Mig、IP-10)-将NK和T细胞募集到器官/组织内

[0298] 为了校正且阐明用于在本发明内使用的CBA测定的结果(例如，阐明用于减少CSS可能性的微调TPA功效和剂量)，关于已知与重症COVID-19患者中的CSS和ARDS相关的促炎细胞因子的实验对象组的表达水平进行测试，并且如所述的在测试受试者和对照受试者之

间进行比较(例如,使用ARDS诱导的动物,或者SARS-CoV-2或假病毒感染的动物或人细胞或个别受试者)。测试的促炎细胞因子的实验对象组包括例如人IL-6、IL-8、IL-10、IL-17、IFN-γ、TNF、MCP-1(CCL2)和Mig(CXCL9)。测定根据众所周知的公开方法执行,经常包括关于在健康对照样品中测量的促炎细胞因子的基线建立,以及在未治疗的测试受试者中测量的每种主题炎性细胞因子的升高表达水平的示例性概况。

[0299] TPA化合物用于治疗且预防人中的ARDS的临床研究

[0300] 关于TPA组合物和方法在人中的抗病毒和抗ARDS功效的临床研究将直接集中于SARS-CoV-2阳性受试者,其处于关于以下的升高风险中或在研究开始时呈现有以下:如所述的过度炎症、CSS和/或ARDS的一种或多种症状。美国疾病控制与预防中心(CDC)建议使用来自上呼吸道(例如,使用鼻咽或口咽拭子)和下呼吸道(气管内插管或支气管肺泡灌洗液)两者的标本,来诊断SARS-CoV-2感染。COVID-19相关ARDS的诊断将主要基于标本的RT-PCR分析。如果RT-PCR不可用,则使用血清学测试。目前,美国食品与药物管理局(U.S.Food and Drug Administration)(FDA)已批准了来自Roche的SARS-CoV-2商业测试系统(cobas® SARS-CoV-2)。这种定性测试需要来自鼻咽或口咽拭子的样品,并且需要3.5小时以得出结果。基于RT-PCR方法,cobas SARS-CoV-2检测是双重靶测定,既检测特异性SARS-CoV-2RNA,也检测Sarbecovirus亚属的所有成员中不变的E基因的高度保守片段。该测定具有全程阴性对照、阳性对照和内部对照,以确保特异性和准确度。在2020年3月21日,FDA向来自Cepheid Inc(USA)的Xpert® Xpress SARS-CoV-2(可以在45分钟内得出结果的定性测试)授予另一个紧急使用授权。该测试可以利用来自鼻咽拭子、鼻洗液或抽吸标本的样品,并且突出显示了无需干预的自动化样品处理。如果检测到存在多于一种靶向基因,则结果应该被视为阳性的。

[0301] 虽然目前的SARS-CoV-2筛查方法依赖于样品中丰富的病毒基因组,但研究已显示了,在发病后5天,IgM抗体水平在有症状和亚临床患者两者中均很高。因此,IgM ELISA测定可以与PCR组合,以增强检测灵敏度,改善本文所述的研究方法和实用临床方法两者(例如,在逐个患者的基础上改进确定用于优化TPA施用的时机)。

[0302] 关于我们的人TPA临床研究方案的患者管理标准强调了支持性护理的重要性,以预防并发症和医院内传播。当患者经历呼吸窘迫时,立即提供氧或呼吸机支持。除非存在组织灌注不足的迹象,否则液体复苏将受到限制,以避免肺水肿和低氧血症的恶化。对于所有研究人员推荐标准预防措施,包括呼吸和眼保护。只有当特定研究受试者显示了相隔至少24小时的连续两次阴性RT-PCR测试,指示了SARS-CoV-2病毒的临床恢复/清除时,才允许这些预防措施的去除。

[0303] 关于通过SARS-2介导的ARDS中的TPA的人临床试验的早期重点放在一致且容易评价的诊断指标上,包括与COVID-19疾病严重程度相关联的放射学特征。用于评估COVID-19/ARDS严重程度的放射学检查程序和解释方案,包括胸部X光(CXR)和胸部计算机断层成像(CT)扫描,是众所周知并广泛公开的,包括关于COVID-19、SARS-CoV和MERS-CoV相关肺炎的成像发现。大量(高达75%)SARS-CoV-2ARDS受试者显示了双侧肺炎,而剩余的为单侧的。约14%的患者显示了多发斑点和磨玻璃影。这些异常的占优势模式是外周的(54%),尽管它们可能在下叶中发生、或者是边界不清的。双侧多发性实变通常在更严重的情况下发生。

[0304] 胸部CT在检测处于COVID-19早期阶段的肺炎方面更有效。在胸部CT扫描中最常见的COVID-19模式包括多重GGO病变(56.4%)和双侧斑片状阴影(51.8%)。其它模式由局部斑片状阴影(28.1%)和间质异常(4.4%)组成。与非重症病例相比,重症病例在胸部CT扫描中产生更突出的放射学发现,例如更多的双侧斑片状阴影(82%)、更多的多重GGO病变(60%)和更多的局部斑片状阴影(55.1%)。在17.9%的非重症病例和2.9%的重症病例中并未鉴定到CXR或胸部CT异常。纯GGO病变可以在早期阶段中发现。局灶性或多灶性GGO病变可能进展为实变或GGO病变,伴随在疾病进展过程中作为疯狂铺路模式的叠加的小叶间/小叶间隔增厚,并且实变的扩大代表疾病进展。纯实变性病变相对较不常见。还报告了肺空洞病变、胸腔积液和淋巴结病,尽管很罕见。

[0305] 随着另外的人临床研究进展,将对于TPA治疗和对照COVID-19/ARDS受试者收集这些肺致病性数据,连同关于上文阐述的COVID-19/ARDS严重程度和TPA功效的每个指标的平行数据。

[0306] 尽管为了清楚理解的目的已通过示例的方式详细描述了前述发明,但对于技术人员显而易见的是,可以在所附权利要求的范围内实践某些变化和修改,所述权利要求通过说明而不是限制的方式呈现。在该上下文中,各种出版物及其它参考文献已与前述公开内容一起引用用于描述的经济。这些参考文献各自通过引用以其整体并入本文用于所有目的。

[0307] 参考文献

[0308] Arabi Y.M.,Alothman A.,Balkhy H.H.,Al-Dawood A.等人,Treatment of Middle East Respiratory Syndrome with a combination of lopinavir-ritonavir and interferon-β1b(MIRACLE trial):study protocol for a randomized controlled trial.Trials.2018;19:1-13.

[0309] T.W.Auyeung,J.S.Lee,W.K.Lai,C.H.Choi,H.K.Lee,J.S.Lee等人,The use of corticosteroid as treatment in SARS was associated with adverse outcomes:a retrospective cohort study,J.Inf.Secur.51(2005)98-102.

[0310] Bellingan G.,Maksimow M.,Howell D.C.等人,The effect of intravenous interferon-beta-1a(FP-1201)on lung CD73 expression and on acute respiratory distress syndrome mortality:an open-label study.Lancet Respir.Med.2014;2:98-107.

[0311] Bogatcheva NV,Adyshev D,Mambetsariev B,Moldobaeva N,Verin AD.Involvement of microtubules,p38,and Rho kinases pathway in 2-methoxyestradiol-induced lung vascular barrier dysfunction.Arn J Physiol Lung Cell Mo!Physiol.2007;292(2):L487-99.

[0312] Caly,L.,Druce,J.D.,Catton,M.G.等人,The FDA-approved Drug Ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro.Antivir.Res.2020,104787.

[0313] R.C.Chen,X.P.Tang,S.Y.Tan,B.L.Liang,Z.Y.Wan,J.Q.Fang等人,Treatment of severe acute respiratory syndrome with glucosteroids:the Guangzhou experience,Chest 129(2006)1441-1452.

[0314] Chan,J.F.-W.;Li,K.S.;To,K.K.等人,Is the discovery of the novel human

betacoronavirus 2c EMC/2012(HCoV-EMC)the beginning of another SARS-like pandemic?J.Infect.2012,65,477-489.

[0315] Chan J.F.W.,Chan K.H.,Kao R.Y.T.,To K.K.W.,Zheng B.J.,Li C.P.Y.,Li P.T.W.,Dai J.,Mok F.K.Y.,Chen H.,Hayden F.G.,Yuen K.Y.Broad-spectrum antivirals for the emerging Middle East respiratory syndrome coronavirus.J.Infect.2013;67:606-616.

[0316] Chan,J.F.-W.;Lau,S.K.;To,K.K.等人,Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus:Another Zoonotic Betacoronavirus Causing SARS-Like Disease.Clin.Microbiol.Rev.2015A,28,465-522.

[0317] Chan J.F.W.,Yao Y.,Yeung M.L.,Deng W.,Bao L.,Jia L.,Li F.,Xiao C.,Gao H.,Yu P.,Cai J.P.,Chu H.,Zhou J.,Chen H.,Qin C.,Yuen K.Y.Treatment with lopinavir/ritonavir or interferon-β1b improves outcome of MERSCoV infection in a nonhuman primate model of common marmoset.J.Infect.Dis.2015B;212:1904-1913.

[0318] Channappanavar R.,Fehr A.R.,Zheng J.等人,IFN-I response timing relative to virus replication determines MERS coronavirus infection outcomes.J.Clin.Invest.2019;129:3625-3639.

[0319] Chen F.,Chan K.H.,Jiang Y.,Kao R.Y.T.,Lu H.T.,Fan K.W.,Cheng V.C.C.,Tsui W.H.W.,Hung I.F.N.,Lee T.S.W.,Guan Y.,Peiris J.S.M.,Yuen K.Y.In vitro susceptibility of 10 clinical isolates ofSARS coronavirus to selected antiviral compounds.J.Clin.Virol.2004;31:69-75.

[0320] Chen,J.;Lau,Y.F.;Lamirande,E.W.等人,Cellular Immune Responses to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus(SARS-CoV)Infection in Senescent BALB/c Mice:CD4+T Cells Are Important in Control ofSARS-CoV Infection.J.Virol.2009,84,1289-1301.

[0321] J Chun,R Tummala,N Nadiminty等人,Andrographolide,an Herbal Medicine,Inhibits Interleukin-6Expression and Suppresses Prostate Cancer Cell Growth.Genes&Cancer 1(8)868-8762010.

[0322] B.G.Chousterman,F.K.Swirski,G.F.Weber,Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis,Semin.Immunopathol.39(2017)517-528.

[0323] Cao,Y.;Li,L.;Feng,Z.等人,Comparative genetic analysis of the novel coronavirus(2019-nCoV/SARS-CoV-2)receptor ACE2 in different populations.Cell Discov.2020,6,1-4.

[0324] P.Conti,G.Ronconi,A.Caraffa,C.E.Gallenga,R.Ross,I.Frydas等人,Induction of pro-inflammatory cytokines(IL-1and IL-6)and lung inflammation by Coronavirus-19(COVI-19or SARS-CoV-2):anti-inflammatory strategies,J.Biol.Regul.Homeost.Agents 34(2020),https://doi.org/10.23812/CONTI-E.

[0325] De Wit,E.;Van Doremalen,N.;Falzarano,D.;Munster,V.SARS and MERS:Recentinsights into emerging coronaviruses.Nat.Rev.Genet.2016,14,523-534.

[0326] Duran A,Linares JF,Galvez AS等人,The signaling adaptor p62 is an importantNF-kappaB mediator in tumorigenesis.Cancer Cell.2008Apr;13(4):343-54.

[0327] Fanelli V,Vlachou A,Ghannadian S,Simonetti U,Siutsky A S,Zhang H.Acute respiratory distress syndrome:new definition,current and future therapeutic options.Journal ofthoracic disease.2013;5(3)326-34.

[0328] Feng,Z.等人,The novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)directly decimates human spleens and lymph nodes.Preprint at medRxiv https://doi.org/10.1101/2020.03.27.20045427(2020)

[0329] Frieman M.,Yount B.,Heise M.,Kopecky-Bromberg S.A.,Palese P.,Baric R.S.Severe acute respiratory syndrome coronavirus ORF6antagonizes STAT1 function by sequestering nuclear import factors on the rough endoplasmic reticulum/golgi membrane.J.Virol.2007;81:9812-9824.

[0330] Guo,R.-F.;Ward,P.A.Role ofc5a in inflammatory responses.Annu.Rev.Immunol.2005,23,821-852.

[0331] J.C.Ho,G.C.Ooi,T.Y.Mok,J.W.Chan,I.Hung,B.Lam等人,High-dose pulse versus nonpulse corticosteroid regimens in severe acute respiratory syndrome, Am.J.Respir.Crit.Care Med.168(2003)1449-1456.

[0332] C.Huang,Y.Wang,X.Li,L.Ren,J.Zhao,Y.Hu等人,Lancet 395(2020)497-506.

[0333] Hui,D.S.;Zumla,A.Severe Acute Respiratory Syndrome.Infect.Dis.Clin.North Am.2019,33,869-889.

[0334] Jolles,S.;Sewell,W.A.C.;Misbah,S.A.Clinical uses of intravenous immunoglobulin.Clin.Exp.Immunol.2005,142,1-11.

[0335] Kanne,J.P.,Radiology 2020,295,16-17.

[0336] 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;81:548-557.

[0337] LamT T,ShumM H,Zhu H.-C.等人,Identifying SARS-CoV-2related coronaviruses in Malayan pangolins.Nature 2020,1-6.

[0338] Lan,L.;Xu,D.;Ye,G.;Xia,C.;Wang,S.;Li,Y.;Xu,H.Positive RT-PCR Test Results in Patients Recovered From COVID-19.JAMA 2020.

[0339] G Lia,X Hea,L Zhanga等人,Assessing ACE2 expressionpatterns in lung tissues in the pathogenesis of COVID-19.J.Autoimmunity,April 10,2020,https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102463

[0340] Lokugamage K.G.,Schindewolf C.,Menachery V.D.SARS-CoV-2 sensitive to type I interferon pretreatment.BioRxiv.2020[Google Scholar]

[0341] Loutfy M.R.,Blatt L.M.,Siminovitch K.A.,Ward S.,WolffB.,Lho H.,Pham D.H.,Deif H.,LaMere E.A.,Chang M.,Kain K.C.,Farcas G.A.,Ferguson P.,Latchford

M.,Levy G.,Dennis J.W.,Lai E.K.Y.,Fish E.N.Interferon alfacon-1 plus corticosteroids in severe acute respiratory syndrome:a preliminary study.J.Am.Med.Assoc.2003;290:3222-3228.

[0342] Lu,R.等人,Lancet 395,565-574(2020).

[0343] Monteil,H.K.,Patricia,P.,Astrid,H.等人,Inhibition ofSARS-CoV-2infections in engineeredhuman tissues using clinical-grade soluble human ACE2.Cell Press 2020.

[0344] Morgenstern B.,Michaelis M.,Baer P.C.,Doerr H.W.,Cinatl J.Ribavirin and interferon-βsynergistically inhibit SARS-associated coronavirus replication in animal and human cell lines.Biochem.Biophys.Res.Commun.2005;326:905-908.

[0345] Oeckinghaus A,Ghosh S.The NF-κB Family of Transcription Factors and Its Regulation.Cold Spring Harb Perspect Biol.2009 Oct;1(4):a000034.

[0346] Omrani A.S.,Saad M.M.,Baig K.,Bahloul A.,Abdul-Matin M.,Alaidaroos A.Y.,Almakhlafi G.A.,Albarrak M.M.,Memish Z.A.,Albarrak A.M.Ribavirin and interferon alfa-2a for severe Middle East respiratory syndrome coronavirus infection:a retrospective cohort study.Lancet Infect.Dis.2014;14:1090-1095.

[0347] Ranieri V.M.,Pettilä V.,Karvonen M.K.等人,Effect ofintravenous interferonβ-1a on death and days free from mechanical ventilation among patients with moderate to severe acute respiratory distress syndrome:a randomized clinical trial.JAMA,J.Am.Med.Assoc.2020;323:725-733.

[0348] Sainz B.,Mossel E.C.,Peters C.J.,Garry R.F.Interferon-beta and interferon-gamma synergistically inhibit the replication of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus(SARS-CoV)Virology.2004;329:11-17.

[0349] E Sallard,F-X Lescure,Y Yazdanpanah,b,F Mentre,N Peiffer-Smadjab,Type 1interferons as a potential treatment against COVID-19,Antiviral Res.2020 Jun;178:104791,online 2020 Apr 7.doi:10.1016/j.antiviral.2020.104791PMCID:PMC7138382;PMID:32275914

[0350] Scagnolari C.,Vicenzi E.,Bellomi F.,Stillitano M.G.,Pinna D.,Poli G.,Clementi M.,Dianzani F.,Antonelli G.Increased sensitivity of SARS-coronavirus to a combination ofhumantype I andtype II interferons.Antivir.Ther.2004;9:1003-1011.

[0351] Schneider W.M.,Chevillotte M.D.,Rice C.M.Interferon-stimulated genes:a complex web ofhost defenses.Annu.Rev.Immunol.2014;32:513-545.

[0352] Shen K.L.,Yang Y.H.Diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus infection in children:apressing issue.World J.Pediatr.2020:6-8.

[0353] Sheahan T.P.,Sims A.C.,Leist S.R.等人,Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir,ritonavir,and interferon beta against MERS-CoV.Nat.Commun.2020;11

[0354] Siddiqi H.K.,Mehra M.R.COVID-19illness in native and immunosuppressed states:a clinical-therapeutic staging proposal.J.Heart Lung Transplant.2020 [Google Scholar]

[0355] Sroussi H Y,Lu Y,Zhang Q L,Villines D,Marucha P T.S100A8 and S100A9 inhibit neutrophil oxidative metabolismin-vitro:involvement of adenosine metabolites.Free radical research.2010;44(4):389-96.

[0356] Stockman L.J.,Bellamy R.,Garner P.SARS:systematic review of treatment effects.PLoS Med.2006;3:1525-1531.

[0357] Tang,N.,Li,D.,Wang,X.&Sun,Z.J.Thromb.Haemost.18,844-847(2020).

[0358] Thickett,D.;Armstrong,L.;Christie,S.J.等人,Vascular Endothelial Growth Factor May Contribute to Increased Vascular Permeability in Acute Respiratory Distress Syndrome.Am.J.Respir.Crit.Care Med.2001,164,1601-1605.

[0359] Totura A.L.,Baric R.S.SARS coronavirus pathogenesis:host innate immune responses and viral antagonism of interferon.Curr.Opin.Virol.2012;2:264-275.

[0360] Y F Tu,C S Chien,A A Yarmishyn等人,A Review ofSARS-CoV-2and the Ongoing Clinical Trials.Int.J.Mol.Sci.2020,21,2657;doi:10.3390/ijms21072657

[0361] Verdoni L,Mazza A,Gervasoni A,Martelli L,Ruggeri M Ciuffreda M等人An outbreak of severe Kawasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2epidemic:an observational cohort study The Lancet,May 13,2020,online first DOI:https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31103-X.

[0362] Wang,X.等人,Cell Mol.Immunol.https://doi.org/10.1038/s41423-020-0424-9(2020).

[0363] Wang,M.;Cao,R.;Zhang,L.等人,Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus(2019-nCoV)in vitro.Cell Res.2020,30,269-271.

[0364] Wölfel,R.等人,Nature https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x(2020).

[0365] Xiong,Y.等人,Emerg.Microbes Infect.9,761-770(2020).

[0366] Zhang S,Danchuk SD,ImhofKM等人,Comparison ofthe therapeutic effects ofhuman and mouse adipose-derived stem cells in a murine model oflipopolysaccharide-induced acute lung injury.Stem Cell Res Ther.2013;4(1):13.

[0367] Zhang J,Yang Z,Dong J.P62:An emerging oncotarget for osteolytic metastasis.J Bone Oncol.2016Feb 3;5(1):30-7.

[0368] Zhang W.,Zhao Y.,Zhang F.等人,Theuse ofanti-inflammatory drugs in the treatment ofpeople with severe coronavirus disease 2019(COVID-19):the perspectives ofclinical immunologists from China.Clin.Immunol.2020;214:108393.

[0369] Zhang,Y.等人,N.Engl.J.Med.https://doi.org/10.1056/NEJMc2007575(2020).

[0370] X Zhao 1,JM Nicholls,YG Chen.Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus Nucleocapsid Protein Interacts With Smad3 and Modulates Transforming Growth Factor-Beta Signaling.J Biol Chem.2008Feb 8;283(6):3272-80.doi:10.1074/jbc.M708033200.Epub2007Nov 30.PMID:18055455DOI:10.1074/jbc.M708033200

[0371] Zheng,M.等人,Cell Mol.Immunol.https://doi.org/10.1038/s41423-020-0402-2(2020).

[0372] Zhong Z,Umemura A,Sanchez-Lopez E等人,NF-κB Restricts Inflammasome Activation via Elimination ofDamaged Mitochondria.Cell.2016Feb 25;164(5):896-910.

[0373] Zhu,H.;Shi,X.;Ju,D.;Huang,H.;Wei,W.;Dong,X.Anti-Inflammatory Effect of Thalidomide on H1N1 Influenza Virus-Induced Pulmonary Injury in Mice.Inflamm.2014,37,2091-2098.

[0374] Zu,Z.Y.;Di Jiang,M.;Xu,P.P.等人,Coronavirus Disease 2019(COVID-19):A Perspective from China.Radiology 2020,200490.

[0375] Y Zuo,S Yalavarthi,1H Shi等人,Neutrophil Extracellular Traps in Covid-19.Online April 24,2020https://insight.jci.org/articles/view/138999