

## 氧化应激反应在流感病毒相关 ARDS 中作用的研究进展

郑永信 黄勇波 刘晓青 黎毅敏

呼吸疾病国家重点实验室, 广州呼吸健康研究院, 广州医科大学附属第一医院呼吸与危重症医学科, 广东广州 510120

通信作者: 黎毅敏, Email: dryiminli@vip.163.com

**【摘要】** 流感病毒是引起急性呼吸道传染病的常见病原体之一, 感染人体后容易导致急性呼吸窘迫综合征 (ARDS), 是造成流感患者死亡的重要原因。流感病毒通过侵入人体的肺上皮细胞, 引起机体广泛的炎症反应及免疫反应, 造成组织损伤及细胞凋亡, 从而诱导 ARDS 的发生发展。此外, 流感病毒还可以引起机体强烈的氧化应激反应, 产生大量活性氧, 破坏肺上皮-内皮屏障, 造成肺水肿。目前, 多项研究已经表明, 抗氧化剂对流感病毒感染具有抑制及治疗作用。因此, 本文针对流感相关 ARDS 的流行病学、相关机制、氧化应激反应在流感相关 ARDS 发生发展中的作用以及抗氧化剂在抗流感病毒感染中的作用进行讨论, 以期有效控制流感患者病情、降低病死率、研发抗流感新药和防控流感流行提供参考。

**【关键词】** 流感病毒; 急性呼吸窘迫综合征; 活性氧; 氧化应激; 抗氧化剂

**基金项目:** 国家自然科学基金 (82070084, 81870069, 81970071)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210609-00854

### Effect of oxidative stress response in acute respiratory distress syndrome caused by influenza

Zheng Yongxin, Huang Yongbo, Liu Xiaoqing, Li Yimin

State Key Laboratory of Respiratory Diseases, Guangzhou Institute of Respiratory Health, Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, Guangdong, China  
Corresponding author: Li Yimin, Email: dryiminli@vip.163.com

**【Abstract】** Influenza virus is one of the common pathogens causing acute respiratory infectious diseases, and is easy to cause acute respiratory distress syndrome (ARDS) after infecting human body, which is an important cause of death of influenza patients. Influenza-induced ARDS results from a combination of overwhelming inflammation and immune response, causing tissue damage and apoptosis. Furthermore, virus-mediated oxidative stress is another important mechanism. Viral infection can produce excessive reactive oxygen species, which damage the epithelial-endothelial barrier with pulmonary edema. In this content, numerous studies have highlighted the importance of antioxidants as a new therapy aimed at blocking both viral replication and virus-induced inflammation. Therefore, this paper summarizes the epidemiology and mechanisms of influenza-induced ARDS, the role of oxidative stress in the occurrence and development of influenza-related ARDS and the role of antioxidants in anti influenza virus infection, in order to provide reference for effective treatment of influenza patients, reducing mortality, developing new anti influenza drugs and preventing and controlling influenza epidemic.

**【Key words】** Influenza virus; Acute respiratory distress syndrome; Reactive oxygen species; Oxidative stress; Antioxidants

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (82070084, 81870069, 81970071)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210609-00854

流感是一种由流感病毒诱发的急性呼吸道传染病, 致病性高, 病死率高<sup>[1-2]</sup>。急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是流感的主要并发症, 是导致流感患者死亡的重要原因<sup>[3]</sup>。近年来研究表明, 流感病毒感染诱发 ARDS 与机体广泛的氧化应激反应有关<sup>[4]</sup>, 促氧化反应与抗氧化反应平衡对于维持机体的正常功能至关重要, 而流感病毒感染引起的氧化应激破坏了细胞内氧化还原平衡, 从而导致宿主防御系统发生重大变化。此时, 机体抗病毒能力减弱, 病毒复制增强, 炎性细胞因子聚集, 进一步加重氧化应激。平衡机体的氧化应激可提高机体抗病毒能力, 且抗氧化药物也具有一定的抑制病毒复制的作用<sup>[5]</sup>。因此, 了解流感诱导的氧化应激在 ARDS 发生发展中的作用以及相关抗氧化治疗, 对于有效控制流感患者病情、降低病死率、研发抗流感新药和防控流感流行具有重要意义。

### 1 流感相关 ARDS 的流行病学

流感主要在冬季暴发或流行, 其特征是突然发作, 包括高热、鼻炎、咳嗽、头痛、虚脱、全身不适, 以及上呼吸道和气管炎症<sup>[1-2]</sup>。我国每年约 (8.42 ~ 9.20) 万例呼吸道疾病患者死亡与流感有关, 占有呼吸道疾病死亡病例的 8.2%<sup>[6]</sup>。ARDS 是流感病毒感染的致命性并发症<sup>[7]</sup>。ARDS 是一种急性炎症性损伤, 由各种肺内、外致病因素导致的急性进行性呼吸衰竭, 是常见的危重症综合征, 伴有弥漫性肺泡损伤、肺泡毛细血管破坏、肺水肿及肺不张形成<sup>[3]</sup>。近几十年来, 虽然对 ARDS 的认识及管理取得了巨大进步, 但其病死率仍高达 35% ~ 40%<sup>[3]</sup>。

在对 2009 年甲型 H1N1 病毒感染大流行进行的队列研究中发现, 重症监护病房 (intensive care unit, ICU) 住院患者中 49% ~ 72% 有 ARDS 并发症, 病死率高达 14% ~ 17%<sup>[7-8]</sup>。

研究表明,与单纯流感性肺炎患者相比,流感合并 ARDS 患者伴有严重的低氧血症,容易合并休克、脓毒症及多器官功能衰竭,需要长时间机械通气、体外膜肺氧合(extracorporeal membrane oxygenation, ECMO)支持治疗,更频繁地使用抢救疗法<sup>[9-10]</sup>。然而,目前关于流感合并 ARDS 发病率及病死率的流行病学研究较少,且没有可靠的统计数据。因此,未来仍需对流感相关 ARDS 的流行病学开展进一步调查。

## 2 流感诱发 ARDS 的相关机制

流感病毒可以通过多种途径引起 ARDS:① 上皮细胞:肺泡上皮细胞是上皮-内皮屏障的重要组成部分,也是流感病毒感染的主要靶细胞。流感病毒通过表面的血凝素蛋白与上皮细胞表面的唾液酸受体结合,触发病毒的内吞。侵入上皮细胞的流感病毒一方面可以抑制肺泡上皮细胞钠离子通道的钠离子转运,降低肺泡液体清除能力,导致肺泡腔液体聚集<sup>[11]</sup>;另一方面可以诱导上皮细胞凋亡和坏死<sup>[12]</sup>,上皮细胞死亡可使内皮细胞直接暴露于病毒,导致内皮细胞损伤。此外,上皮细胞被感染后还会产生大量的炎性介质,进一步加重组织损伤<sup>[13]</sup>。② 内皮细胞:流感病毒感染导致肺微血管内皮细胞激活,诱导黏附分子[如细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)、E-选择素等]的表达,从而招募大量的炎性细胞进入肺泡,产生大量的炎性因子,造成组织损伤<sup>[14-15]</sup>。流感病毒的直接感染还可以引起内皮细胞死亡,导致上皮-内皮屏障破坏,诱发肺水肿<sup>[16]</sup>。③ 免疫系统过度激活:当流感病毒入侵机体时,引起中性粒细胞和巨噬细胞过度激活,进而产生大量炎性介质[如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、 $\beta$ -干扰素(interferon- $\beta$ , IFN- $\beta$ )、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和活性氧(reactive oxygen species, ROS)],诱发机体的过度炎症反应及氧化应激反应,损伤上皮-内皮屏障<sup>[17-18]</sup>。流感病毒感染还可诱导中性粒细胞产生嗜中性粒细胞外陷阱,造成组织损伤<sup>[19]</sup>。除先天免疫过度激活外,流感病毒还可诱导适应性免疫过度活化。幼稚的 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞及记忆性 T 细胞扩增是机体适应性免疫发挥抗病毒作用的关键。T 细胞活化后,一方面可与流感病毒感染的细胞表面抗原结合,释放细胞毒性颗粒,诱导上皮细胞裂解<sup>[20]</sup>;另一方面与巨噬细胞协同作用,通过释放 TNF- $\alpha$  和肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL),诱导上皮细胞凋亡,破坏上皮-内皮细胞屏障,引起肺水肿<sup>[21]</sup>。此外, T 细胞过度应答还可以释放大量细胞因子[如 TNF- $\alpha$ 、C-C 型趋化因子配体(C-C chemokine ligands, CCL-3、CCL-5)],加重组织损伤<sup>[22]</sup>。

总之,流感病毒诱发 ARDS 的核心机制是上皮-内皮屏障破坏和免疫系统过度激活。流感病毒攻击上皮细胞和内皮细胞,破坏紧密连接,杀伤感染的细胞。同时,感染的细胞可以释放细胞因子,趋化炎性细胞的聚集,诱导 ROS 的产生,并引起“细胞因子风暴”,从而破坏屏障。中性粒细胞及巨噬细胞活化产生大量 ROS,一方面可以杀伤病原体,另一方面可以加重组织损伤,破坏上皮-内皮屏障,是导致流感性

肺炎进展为 ARDS 的重要机制之一,并且越来越受到重视。

## 3 流感诱发的氧化应激反应与 ARDS

氧化应激反应是当机体遭受有害刺激时,体内氧化反应与抗氧化反应失衡,此时机体处于氧化状态,伴有 ROS 的大量增加,造成组织损伤。流感病毒诱发 ARDS 与机体的氧化应激反应密切相关。首先,促氧化反应与抗氧化反应平衡是维持宿主正常功能的关键,而流感病毒引起的氧化应激破坏了细胞内氧化还原平衡,导致大量细胞凋亡。其次,氧化还原环境破坏是流感病毒感染和组织损伤的基础,可以增加宿主上皮细胞对流感病毒的易感性,并促进病毒在细胞间的传播。此外,ROS 的生成还可以引起严重的炎症反应,激活多种炎症反应通路,进一步加重肺损伤<sup>[23]</sup>。

**3.1 氧化应激反应与炎症:**如上所述,流感病毒可引起严重的炎症反应,此时中性粒细胞及巨噬细胞被过度激活,激活状态下的中性粒细胞在还原型辅酶 II(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶(NADPH oxidase, NOX)的作用下产生大量的 ROS,ROS 的产生不仅能杀死流感病毒等病原体,而且会损伤肺泡和上皮-内皮屏障<sup>[24]</sup>;另外,巨噬细胞在一氧化氮合酶的作用下产生一氧化氮(nitric oxide, NO),NO 与过氧化物结合形成过氧硝酸盐,杀死病原体并损伤细胞,诱导肺损伤<sup>[25]</sup>。ROS 作为炎性介质还可以介导“炎性因子风暴”,促进 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、趋化因子等炎性因子的表达,引起病理性炎症反应,破坏肺泡-内皮屏障<sup>[26-27]</sup>。

此外,已有研究表明,ROS 可激活 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)、视黄酸诱导基因蛋白 I(retinoic acid-inducible gene- I, RIG- I)样受体、NOD 样受体等模式识别受体,进一步活化细胞内的核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、c-Jun 氨基末端激酶/细胞外信号调节激酶/p38 丝裂素活化蛋白激酶(c-Jun N-terminal kinase/extracellular signal-regulated kinase/p38 mitogen-activated protein kinase, JNK/ERK/p38MAPK)等炎症反应通路,这些信号通路可能加重流感病毒感染引起的肺损伤<sup>[28]</sup>。总之,流感病毒诱发的氧化应激反应可以进一步放大机体的炎症反应,加重组织损伤,是导致流感性肺炎进展为 ARDS 的重要机制。

**3.2 氧化应激反应与凋亡:**凋亡是最常见的程序性细胞死亡方式,主要由两种途径触发:① 细胞内途径:大多数凋亡的发生是由含天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(caspase)介导的细胞内级联反应。② 细胞外途径:细胞外途径介导的凋亡主要与细胞表面的 TNF- $\alpha$  受体、Fas 配体以及 TRAIL 等跨膜蛋白有关。当流感病毒感染上皮细胞后,一方面可以引起机体释放多种细胞因子,激活细胞表面的死亡受体蛋白;另一方面,在外源性刺激和细胞内源性刺激(如氧化应激、DNA 破坏等)作用下,激活内源性凋亡通路<sup>[29]</sup>。此外,凋亡还与 MAPK、TNF、Bcl-2、p53、NF- $\kappa$ B 等信号通路有关<sup>[30]</sup>。

目前已有研究表明,流感诱导的氧化应激反应与细胞凋亡密切相关,并且在 ARDS 的发生发展中起着重要作用。以往研究证明,多种氧化还原系统参与调节细胞凋亡,如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)<sup>[31]</sup>、硫氧还蛋白<sup>[32]</sup>

等。流感病毒感染后,机体内的 ROS 过度增加,诱导蛋白质氨基酸残基的氧化或硝化、脂质过氧化和 DNA 链断裂,最终在氧化应激状态下产生凋亡信号,诱发细胞凋亡。然而,流感病毒诱发氧化应激的同时,也可激活机体的氧化还原系统。此时,细胞内的 SOD1 表达增加,促进 ROS 的催化降解,保护细胞和组织免受氧化应激损伤,抑制细胞凋亡,同时还可以下调炎症因子的表达,抑制病毒复制<sup>[33]</sup>。因此,氧化应激是诱导凋亡的主要反应,而 ROS 的产生在细胞凋亡级联反应中起着关键作用。

**3.3 氧化应激反应与病毒复制:**流感病毒是反义 RNA 病毒,通过细胞复制其基因组并产生病毒蛋白。因此,一些细胞内因素,如氧化还原状态,可以直接或间接影响病毒感染的进程和结果。以往研究表明,流感病毒诱导 ROS 的过度增加以及谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的产生减少,导致机体处于氧化应激状态,这种条件有利于流感病毒的复制<sup>[34-35]</sup>。ROS 的产生主要由 NOX 介导,该酶由 7 个成员组成,其中,NOX2 和 NOX4 在流感病毒的复制中起着关键作用。研究表明,抑制 NOX2 的活性可以显著减轻肺部炎症和损伤,同时抑制病毒的复制,这表明该酶在控制病毒感染、抑制肺部损伤中起着重要作用<sup>[24]</sup>。此外,NOX4 在流感病毒感染后表达增加,此时 NOX4 衍生的 ROS 激活 p38MAPK 和 ERK1/2,调节病毒的生命周期,促进病毒核蛋白的输出<sup>[34]</sup>。总而言之,细胞内的氧化还原状态对流感病毒的复制具有显著影响。流感病毒的入侵导致宿主细胞处于氧化应激状态,促进自身的复制,加重肺组织的损伤及感染,促进 ARDS 的发生发展。因此,通过恢复感染细胞中的氧化还原状态,从而抑制病毒复制,改善机体的炎症反应及免疫反应,可能是控制病毒感染的有效方法。

**4 抗氧化剂在抗流感病毒治疗中的应用**

由于机体的氧化应激状态显著影响流感相关 ARDS 的发生发展,因此,抗氧化药物治疗流感也越来越受到重视。我们总结了常用于抗流感病毒的小分子抗氧化剂(表 1),其中 GSH 及其前体 N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)是最具有治疗潜力的抗氧化药物。

**4.1 NAC:** NAC 是一种天然的抗氧化剂,是半胱氨酸及 GSH 的前体,其硫醇基团可以直接清除 ROS。NAC 具有多种生物学功能,如抗氧化、抗细胞凋亡及干扰自由基产生<sup>[53]</sup>。此外,多项研究表明,NAC 还可以通过抑制流感病毒的复制降低促炎细胞因子的表达,并抑制病毒诱导的细胞凋亡,从而抑制流感相关 ARDS 的发生发展<sup>[36,54]</sup>。Geiler 等<sup>[35]</sup>的研究表明,NAC 的应用可以抑制流感病毒感染诱导的肺上皮细胞损伤,减少细胞凋亡,降低病毒载量及炎症因子 [CXCL 型趋化因子配体 (C-X-C chemokine ligands, CXCL-8、CXCL-10)、CCL-5 和 IL-6] 表达。在动物实验方面,Zhang 等<sup>[36]</sup>通过在 BALB/c 小鼠鼻内接种流感病毒发现可诱发急性肺损伤,而使用 NAC 干预可以显著减轻小鼠肺部炎症反应及肺水肿;此外,该研究者还发现,NAC 可通过显著抑制肺组织中 TLR4 蛋白的表达,从而减轻肺部损伤。尽管 NAC 已表现出对流感性肺炎良好的治疗作用,但有关 NAC 的临床研究仍相对较少。目前,仅有 1 例病例报告指出,每日高剂量连续静脉输注 NAC 可以有效降低患者的 C-反应蛋白及氧需求<sup>[55]</sup>;然而该病例联合使用了大量奥司他韦,因此不能完全解释为 NAC 的治疗作用。由于 NAC 容易获取且不良反应(如咳嗽、呼吸困难)较少<sup>[56]</sup>,因此有必要开展更多关于 NAC 治疗流感的临床研究。

**4.2 GSH:** GSH 是一种含巯基小分子肽,是生物体内重要的抗氧化物质。GSH 在机体内可以清除 ROS,抑制由氧自由基、

表 1 常用于抗流感病毒的小分子抗氧化剂

小分子抗氧化剂	对流感病毒感染的影响	
	体外	体内
多酚类化合物		
NAC	抑制流感病毒复制;抑制流感病毒诱导的细胞凋亡;降低炎症因子表达 <sup>[35]</sup>	减轻小鼠肺部炎症及肺水肿 <sup>[36]</sup> ;口服 100 mg/kg 对 H1N1 具有预防作用 <sup>[37]</sup>
GSH	抑制病毒基质蛋白表达,降低病毒滴度 <sup>[38]</sup> ;抑制 caspase 蛋白激活及 Fas 蛋白上调,减少细胞死亡 <sup>[39]</sup>	口服 50 mmol/L 可降低小鼠气道及肺部病毒滴度 <sup>[39]</sup>
类黄酮	显著抑制病毒复制 <sup>[40]</sup> ;抑制 NF-κB 通路的活化;抑制 TLR 介导的信号转导 <sup>[41]</sup>	降低流感小鼠的死亡率;降低小鼠肺部病毒滴度;抑制流感病毒 HA 和 NA 蛋白活性;抑制炎症因子表达并增加 IFN-γ 的水平 <sup>[40]</sup>
白藜芦醇	抑制病毒核糖核蛋白的核转移,降低病毒滴度 <sup>[42]</sup> ;提高细胞内的 GSH 水平 <sup>[43]</sup>	显著提高小鼠生存率;降低肺部病毒滴度 <sup>[42]</sup>
EGCG	破坏病毒膜完整性,抑制病毒颗粒与细胞膜融合;抑制病毒 NA 蛋白活性 <sup>[44]</sup> ;显著抑制细胞 ROS 生成 <sup>[45]</sup>	抑制 TLR4 通路;减轻肺水肿;降低肺部 MAO 及炎症因子的表达 <sup>[46]</sup>
维生素		
维生素 C	对病毒复制的抑制较弱;脱氢抗坏血酸由于毒性作用而具有很强的抗病毒活性 <sup>[47]</sup>	早期使用维生素 C 可以降低流感小鼠死亡率,抑制 TNF-α 及 IL-α/β 的表达,提高 IFN-α/β 的水平 <sup>[48-49]</sup>
维生素 E		抑制流感病毒诱导的小鼠肺组织脂质过氧化 <sup>[50]</sup> ;通过喂食维生素 E 增强老龄小鼠抗病毒活性 <sup>[51]</sup> ;提高 Th1 细胞应答 <sup>[51]</sup> ;降低老龄小鼠肺部病毒滴度 <sup>[52]</sup>

注:NAC 为 N-乙酰半胱氨酸,GSH 为谷胱甘肽,caspase 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶,NF-κB 为核转录因子-κB,TLR 为 Toll 样受体,HA 为血凝素,NA 为神经氨酸酶,IFN-γ 为 γ-干扰素,EGCG 为表没食子儿茶素没食子酸酯,ROS 为活性氧,MAO 为单胺氧化酶,TNF-α 为肿瘤坏死因子-α,IL-α/β 为白细胞介素-α/β,Th1 为辅助性 T 细胞 1;空白代表未查阅到相关文献



超氧化物、脂质过氧化物和重金属等引起的组织损伤<sup>[57]</sup>。此外,GSH还可以抑制流感病毒的复制。Cai等<sup>[39]</sup>的研究表明,GSH可以抑制病毒基质蛋白的表达,并抑制病毒诱导的caspase激活和Fas上调,减少细胞死亡;同时,GSH的应用还可以降低小鼠肺部及气道的病毒滴度,表明抗氧化剂GSH在体外及体内均具有抗流感活性。然而,尽管GSH在抗病毒活性方面取得了较好的效果,但是由于GSH不容易转运到细胞和组织中,因此必须使用大剂量的GSH才能达到较好的治疗效果。为了解决这一问题,一些具有不同长度疏水链的衍生物被合成,其中,N-丁酰基GSH衍生物(如GSH-C4)等可以有效抑制流感病毒的复制<sup>[5]</sup>。

**4.3 其他抗氧化剂药物:**除NAC及GSH外,目前已发现多种具有抗病毒作用的抗氧化剂,如多酚类化合物、维生素C等,可通过多种途径显著抑制流感引起的组织损伤。多酚类化合物可通过形成稳定的化学络合物并抑制自由基的进一步反应来清除机体内产生的ROS。此外,有研究者指出,多酚类化合物还可通过形成过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)来保护机体免受氧化应激的影响,此时H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>作为信号分子参与调控机体的免疫反应<sup>[58]</sup>。维生素C是一种强大的抗氧化剂,机体通过补充维生素C可以有效抵抗病原微生物的感染;然而,维生素C也可以作为促氧化剂,与机体内的铁、铜等反应,形成羟基自由基,这可能与维生素C的使用阈值及时间有关<sup>[59-60]</sup>。因此,应用维生素C治疗流感性肺炎还有待进一步研究。

## 5 小结与展望

ARDS是流感的致命性并发症,它所引起的急性呼吸衰竭是流感患者死亡的重要原因。流感病毒通过侵入人体呼吸道上皮细胞,引起机体广泛的炎症反应及免疫反应,造成组织损伤。同时,流感病毒感染还会引起强烈的氧化应激反应,介导机体的炎症反应、细胞凋亡及流感病毒的复制,加重组织损伤,破坏肺上皮-内皮屏障,诱导ARDS的发生发展。因此,开发阻断氧化应激的新化合物对于基础研究和临床应用均有重大意义。然而,由于机体氧化应激反应的复杂性及小分子抗氧化物的多样性,目前我们对于抗氧化剂在抗流感病毒感染中的作用及机制还不完全清楚;此外,每种抗氧化剂的使用剂量、对氧化还原通路的调控能力以及在其中起作用的微环境的氧化还原状态等,都是未来亟待解决的问题。

综上所述,氧化应激是导致流感性肺炎进展为ARDS的重要原因,提高对流感病毒引起的氧化应激相关机制的了解,开展抗氧化剂治疗流感病毒感染的相关研究,将有助于减轻流感病毒引起的组织损伤,降低病死率,为预防和控制流感提供新的治疗思路。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

[1] 谢周华,林艳荣,陈跃华.重症与危重症甲型H1N1流感的临床特征分析[J].中华危重病急救医学,2019,31(9):1154-1157. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.09.019.  
Xie ZH, Lin YR, Chen YH. Analysis of clinical characteristics of severe and critically ill influenza A (H1N1) [J]. Chin Crit Care Med, 2019, 31 (9): 1154-1157. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.09.019.

[2] Krammer F, Smith GJD, Fouchier RAM, et al. Influenza [J]. Nat Rev Dis Primers, 2018, 4 (1): 3. DOI: 10.1038/s41572-018-0002-y.

[3] Bellani G, Laffey JG, Pham T, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries [J]. JAMA, 2016, 315 (8): 788-800. DOI: 10.1001/jama.2016.0291.

[4] Short KR, Kroeze EJBV, Fouchier RAM, et al. Pathogenesis of influenza-induced acute respiratory distress syndrome [J]. Lancet Infect Dis, 2014, 14 (1): 57-69. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70286-X.

[5] Amatore D, Celestino I, Brundu S, et al. Glutathione increase by the n-butanoyl glutathione derivative (GSH-C4) inhibits viral replication and induces a predominant Th1 immune profile in old mice infected with influenza virus [J]. FASEB Bioadv, 2019, 1 (5): 296-305. DOI: 10.1096/fba.2018-00066.

[6] Li L, Liu YN, Wu P, et al. Influenza-associated excess respiratory mortality in China, 2010-15: a population-based study [J]. Lancet Public Health, 2019, 4 (9): e473-e481. DOI: 10.1016/S2468-2667(19)30163-X.

[7] ANZIC Influenza Investigators. Critical care services and 2009 H1N1 influenza in Australia and New Zealand [J]. N Engl J Med, 2009, 361 (20): 1925-1934. DOI: 10.1056/NEJMoa0908481.

[8] Kumar A, Zarychanski R, Pinto R, et al. Critically ill patients with 2009 influenza A (H1N1) infection in Canada [J]. JAMA, 2009, 302 (17): 1872-1879. DOI: 10.1001/jama.2009.1496.

[9] 罗海丽,王绍红,沈锋,等.无创机械通气对重症人感染H7N9禽流感合并ARDS的救治作用[J].中华危重病急救医学,2018,30(5):477-480. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.05.016.  
Luo HL, Wang SH, Shen F, et al. Role of noninvasive mechanical ventilation in patients with severe avian influenza A (H7N9) complicated with acute respiratory distress syndrome [J]. Chin Crit Care Med, 2018, 30 (5): 477-480. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.05.016.

[10] 宋美君,许兆军,陈碧新,等. ECMO治疗甲型H1N1流感病毒感染致ARDS的临床研究[J].中华医院感染学杂志,2019,39(4):485-488. DOI: 10.11816/cn.j.issn.2019-181325.  
Song MJ, Xu ZJ, Chen BX, et al. Use of extracorporeal membrane oxygenation for the treatment of the adult respiratory distress syndrome associated with influenza A (H1N1) infection [J]. Chin J Nosocomiol, 2019, 29 (4): 485-488. DOI: 10.11816/cn.j.issn.2019-181325.

[11] Brand JD, Lazrak A, Trombley JE, et al. Influenza-mediated reduction of lung epithelial ion channel activity leads to dysregulated pulmonary fluid homeostasis [J]. JCI Insight, 2018, 3 (20): e123467. DOI: 10.1172/jci.insight.123467.

[12] Fujikura D, Miyazaki T. Programmed cell death in the pathogenesis of influenza [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19 (7): 2065. DOI: 10.3390/ijms19072065.

[13] Kalil AC, Thomas PG. Influenza virus-related critical illness: pathophysiology and epidemiology [J]. Crit Care, 2019, 23 (1): 258. DOI: 10.1186/s13054-019-2539-x.

[14] Sugiyama MG, Gamage A, Zyla R, et al. Influenza virus infection induces platelet-endothelial adhesion which contributes to lung injury [J]. J Virol, 2015, 90 (4): 1812-1823. DOI: 10.1128/JVI.02599-15.

[15] Zeng H, Pappas C, Belsler JA, et al. Human pulmonary microvascular endothelial cells support productive replication of highly pathogenic avian influenza viruses: possible involvement in the pathogenesis of human H5N1 virus infection [J]. J Virol, 2012, 86 (2): 667-678. DOI: 10.1128/JVI.06348-11.

[16] Short KR, Kuiken T, Van Riel D. Role of endothelial cells in the pathogenesis of influenza in humans [J]. J Infect Dis, 2019, 220 (11): 1859-1860. DOI: 10.1093/infdis/jiz349.

[17] Geiler J, Michaelis M, Sithisarn P, et al. Comparison of pro-inflammatory cytokine expression and cellular signal transduction in human macrophages infected with different influenza A viruses [J]. Med Microbiol Immunol, 2011, 200 (1): 53-60. DOI: 10.1007/s00430-010-0173-y.

[18] Narasaraju T, Yang E, Samy RP, et al. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonitis [J]. Am J Pathol, 2011, 179 (1): 199-210. DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.03.013.

[19] Zhu L, Liu L, Zhang Y, et al. High level of neutrophil extracellular traps correlates with poor prognosis of severe influenza A infection [J]. J Infect Dis, 2018, 217 (3): 428-437. DOI: 10.1093/infdis/jix475.

[20] Koutsakos M, Illing PT, Nguyen THO, et al. Human CD8<sup>+</sup> T cell cross-reactivity across influenza A, B and C viruses [J]. Nat

- Immunol, 2019, 20 (5): 613–625. DOI: 10.1038/s41590-019-0320-6.
- [ 21 ] Brauer R, Chen P. Influenza leaves a TRAIL to pulmonary edema [J]. J Clin Invest, 2016, 126 (4): 1245–1247. DOI: 10.1172/JCI86802.
- [ 22 ] Kim TS, Sun J, Braciale TJ. T cell responses during influenza infection: getting and keeping control [J]. Trends Immunol, 2011, 32 (5): 225–231. DOI: 10.1016/j.it.2011.02.006.
- [ 23 ] Liu MM, Chen FZ, Liu T, et al. The role of oxidative stress in influenza virus infection [J]. Microbes Infect, 2017, 19 (12): 580–586. DOI: 10.1016/j.micinf.2017.08.008.
- [ 24 ] To EE, Luong R, Diao JY, et al. Novel endosomal NOX2 oxidase inhibitor ameliorates pandemic influenza A virus-induced lung inflammation in mice [J]. Respirology, 2019, 24 (10): 1011–1017. DOI: 10.1111/resp.13524.
- [ 25 ] Liu H, You LM, Wu J, et al. Berberine suppresses influenza virus-triggered NLRP3 inflammasome activation in macrophages by inducing mitophagy and decreasing mitochondrial ROS [J]. J Leukoc Biol, 2020, 108 (1): 253–266. DOI: 10.1002/JLB.3MA0320-358RR.
- [ 26 ] To EE, Erlich JR, Liang F, et al. Mitochondrial reactive oxygen species contribute to pathological inflammation during influenza A virus infection in mice [J]. Antioxid Redox Signal, 2020, 32 (13): 929–942. DOI: 10.1089/ars.2019.7727.
- [ 27 ] 张艳丽, 蒋澄宇. 细胞因子风暴: 急性呼吸窘迫综合征中的主宰生命之手 [J]. 生命科学, 2015, 27 (5): 554–557. DOI: 10.13376/j.cbls/2015073.
- Zhang YL, Jiang CY. Cytokine storm in ARDS [J]. Chin Bull Life Sci, 2015, 27 (5): 554–557. DOI: 10.13376/j.cbls/2015073.
- [ 28 ] Dai JP, Gu LM, Su Y, et al. Inhibition of curcumin on influenza A virus infection and influenza pneumonia via oxidative stress, TLR2/4, p38/JNK MAPK and NF- $\kappa$ B pathways [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 54: 177–187. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.11.009.
- [ 29 ] Green DR. The coming decade of cell death research: five riddles [J]. Cell, 2019, 177 (5): 1094–1107. DOI: 10.1016/j.cell.2019.04.024.
- [ 30 ] Zaman S, Wang R, Gandhi V. Targeting the apoptosis pathway in hematologic malignancies [J]. Leuk Lymphoma, 2014, 55 (9): 1980–1992. DOI: 10.3109/10428194.2013.855307.
- [ 31 ] Jung KI, Pyo CW, Choi SY. Influenza A virus-induced autophagy contributes to enhancement of virus infectivity by SOD1 downregulation in alveolar epithelial cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 498 (4): 960–966. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.03.089.
- [ 32 ] Tanaka R, Ishima Y, Enoki Y, et al. Therapeutic impact of human serum albumin-thioredoxin fusion protein on influenza virus-induced lung injury mice [J]. Front Immunol, 2014, 5: 561. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00561.
- [ 33 ] Lin X, Wang RF, Zou W, et al. The influenza virus H5N1 infection can induce ROS production for viral replication and host cell death in A549 cells modulated by human Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) overexpression [J]. Viruses, 2016, 8 (1): 13. DOI: 10.3390/v8010013.
- [ 34 ] Amatore D, Sgarbanti R, Aquilano K, et al. Influenza virus replication in lung epithelial cells depends on redox-sensitive pathways activated by NOX4-derived ROS [J]. Cell Microbiol, 2015, 17 (1): 131–145. DOI: 10.1111/cmi.12343.
- [ 35 ] Geiler J, Michaelis M, Naczki P, et al. N-acetyl-L-cysteine (NAC) inhibits virus replication and expression of pro-inflammatory molecules in A549 cells infected with highly pathogenic H5N1 influenza A virus [J]. Biochem Pharmacol, 2010, 79 (3): 413–420. DOI: 10.1016/j.bcp.2009.08.025.
- [ 36 ] Zhang RH, Li CH, Wang CL, et al. N-acetyl-L-cysteine (NAC) protects against H9N2 swine influenza virus-induced acute lung injury [J]. Int Immunopharmacol, 2014, 22 (1): 1–8. DOI: 10.1016/j.intimp.2014.06.013.
- [ 37 ] Garigliany MM, Desmecht DJ. N-acetylcysteine lacks universal inhibitory activity against influenza A viruses [J]. J Negat Results Biomed, 2011, 10: 5. DOI: 10.1186/1477-5751-10-5.
- [ 38 ] Nencioni L, Iuvara A, Aquilano K, et al. Influenza A virus replication is dependent on an antioxidant pathway that involves GSH and Bcl-2 [J]. FASEB J, 2003, 17 (6): 758–760. DOI: 10.1096/fj.02-0508fje.
- [ 39 ] Cai JY, Chen Y, Seth S, et al. Inhibition of influenza infection by glutathione [J]. Free Radic Biol Med, 2003, 34 (7): 928–936. DOI: 10.1016/s0891-5849(03)00023-6.
- [ 40 ] Zhi HJ, Zhu HY, Zhang YY, et al. *In vivo* effect of quantified flavonoids-enriched extract of *Scutellaria baicalensis* root on acute lung injury induced by influenza A virus [J]. Phytomedicine, 2019, 57: 105–116. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.12.009.
- [ 41 ] Ling LJ, Lu Y, Zhang YY, et al. Flavonoids from *Houttuynia cordata* attenuate H1N1-induced acute lung injury in mice via inhibition of influenza virus and Toll-like receptor signalling [J]. Phytomedicine, 2020, 67: 153150. DOI: 10.1016/j.phymed.2019.153150.
- [ 42 ] Palamara AT, Nencioni L, Aquilano K, et al. Inhibition of influenza A virus replication by resveratrol [J]. J Infect Dis, 2005, 191 (10): 1719–1729. DOI: 10.1086/429694.
- [ 43 ] Fioravanti R, Celestino I, Costi R, et al. Effects of polyphenol compounds on influenza A virus replication and definition of their mechanism of action [J]. Bioorg Med Chem, 2012, 20 (16): 5046–5052. DOI: 10.1016/j.bmc.2012.05.062.
- [ 44 ] Kim M, Kim SY, Lee HW, et al. Inhibition of influenza virus internalization by (–)-epigallocatechin-3-gallate [J]. Antiviral Res, 2013, 100 (2): 460–472. DOI: 10.1016/j.antiviral.2013.08.002.
- [ 45 ] Ling JX, Wei F, Li N, et al. Amelioration of influenza virus-induced reactive oxygen species formation by epigallocatechin gallate derived from green tea [J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33 (12): 1533–1541. DOI: 10.1038/aps.2012.80.
- [ 46 ] Xu MJ, Liu BJ, Wang CL, et al. Epigallocatechin-3-gallate inhibits TLR4 signaling through the 67-kDa laminin receptor and effectively alleviates acute lung injury induced by H9N2 swine influenza virus [J]. Int Immunopharmacol, 2017, 52: 24–33. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.08.023.
- [ 47 ] Furuya A, Uozaki M, Yamasaki H, et al. Antiviral effects of ascorbic and dehydroascorbic acids *in vitro* [J]. Int J Mol Med, 2008, 22 (4): 541–545. DOI: 10.3892/ijmm\_00000053.
- [ 48 ] Li W, Maeda N, Beck MA. Vitamin C deficiency increases the lung pathology of influenza virus-infected gulo-/- mice [J]. J Nutr, 2006, 136 (10): 2611–2616. DOI: 10.1093/jn/136.10.2611.
- [ 49 ] Kim Y, Kim H, Bae S, et al. Vitamin C is an essential factor on the anti-viral immune responses through the production of interferon- $\alpha/\beta$  at the initial stage of influenza A virus (H3N2) infection [J]. Immune Netw, 2013, 13 (2): 70–74. DOI: 10.4110/in.2013.13.2.70.
- [ 50 ] Mileva M, Bakalova R, Tancheva L, et al. Effect of vitamin E supplementation on lipid peroxidation in blood and lung of influenza virus infected mice [J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2002, 25 (1): 1–11. DOI: 10.1016/s0147-9571(01)00010-8.
- [ 51 ] Han SN, Wu D, Ha WK, et al. Vitamin E supplementation increases T helper 1 cytokine production in old mice infected with influenza virus [J]. Immunology, 2000, 100 (4): 487–493. DOI: 10.1046/j.1365-2567.2000.00070.x.
- [ 52 ] Hayek MG, Taylor SF, Bender BS, et al. Vitamin E supplementation decreases lung virus titers in mice infected with influenza [J]. J Infect Dis, 1997, 176 (1): 273–276. DOI: 10.1086/517265.
- [ 53 ] De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F, et al. Mechanisms of N-acetylcysteine in the prevention of DNA damage and cancer, with special reference to smoking-related end-points [J]. Carcinogenesis, 2001, 22 (7): 999–1013. DOI: 10.1093/carcin/22.7.999.
- [ 54 ] Garozzo A, Tempera G, Ungheri D, et al. N-acetylcysteine synergizes with oseltamivir in protecting mice from lethal influenza infection [J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2007, 20 (2): 349–354. DOI: 10.1177/039463200702000215.
- [ 55 ] Lai KY, Ng WY, Osburga Chan PK, et al. High-dose N-acetylcysteine therapy for novel H1N1 influenza pneumonia [J]. Ann Intern Med, 2010, 152 (10): 687–688. DOI: 10.7326/0003-4819-152-10-201005180-00017.
- [ 56 ] Tarrant BJ, Le Maitre C, Romero L, et al. Mucoactive agents for chronic, non-cystic fibrosis lung disease: a systematic review and meta-analysis [J]. Respirology, 2017, 22 (6): 1084–1092. DOI: 10.1111/resp.13047.
- [ 57 ] Valko M, Jomova K, Rhodes CJ, et al. Redox- and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease [J]. Arch Toxicol, 2016, 90 (1): 1–37. DOI: 10.1007/s00204-015-1579-5.
- [ 58 ] Cory H, Passarelli S, Szeto J, et al. The role of polyphenols in human health and food systems: a mini-review [J]. Front Nutr, 2018, 5: 87. DOI: 10.3389/fnut.2018.00087.
- [ 59 ] Hemilä H, Chalker E. Vitamin C for preventing and treating the common cold [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2013, 2013 (1): CD000980. DOI: 10.1002/14651858.CD000980.pub4.
- [ 60 ] Sgarbanti R, Amatore D, Celestino I, et al. Intracellular redox state as target for anti-influenza therapy: are antioxidants always effective? [J]. Curr Top Med Chem, 2014, 14 (22): 2529–2541. DOI: 10.2174/1568026614666141203125211.