

陈鑫,赵彬彬,武婧,等. 手足口病从感染到发病的分子机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(1): 101-106.

Chen X, Zhao BB, Wu J, et al. Molecular mechanism of hand, foot and mouth disease: from infection to disease [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(1): 101-106.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.01.018

手足口病从感染到发病的分子机制

陈鑫,赵彬彬,武婧,彭婉君,刘江宁*

(北京协和医学院比较医学中心,中国医学科学院医学实验动物研究所,
国家卫生健康委员会人类疾病比较医学重点实验室,北京 100021)

【摘要】 手足口病(hand, foot and mouth disease, HFMD)是一种常见的儿童传染病,在世界范围内爆发流行,严重危害儿童健康。HFMD由20多种肠道病毒引起,其中最主要的为肠道病毒71(enterovirus 71, EV71)型。大量的研究表明,手足口病取决于病毒、宿主和环境等因素的共同作用。病毒入侵后逃逸宿主天然免疫或获得性免疫反应的监视,引起各种病理反应。这不仅涉及病毒自身的感染特性,也与宿主相关基因,如受体基因、免疫反应基因有密切关系。最近几年,手足口病致病相关宿主基因的研究成为热点,但是这些基因多与地域、种族、人群密切相关,不同地域或者相同地域的不同人群的研究结论常常不尽一致。因此,寻找与HFMD密切关联,广泛适用的致病相关宿主基因很有必要。遗传多样性小鼠(genetic diversity mice)是模拟人群基因多样性、研究复杂性状或疾病的新型工具。本文对已报道的HFMD致病相关宿主基因的研究工作作综述,并对遗传多样性小鼠在HFMD研究的重要作用和意义作展望。

【关键词】 手足口病;致病相关宿主基因;遗传多样性小鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 01-0101-06

Molecular mechanism of hand, foot and mouth disease: from infection to disease

CHEN Xin, ZHAO Binbin, WU Jing, PENG Wanjun, LIU Jiangning*

(Comparative Medicine Center, Peking Union Medical College (PUMC); Institute of Laboratory Animal Sciences,
Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS); Key Laboratory of Human Diseases Comparative Medicine,
National Health Commission, Beijing 100021, China)

【Abstract】 Hand, foot and mouth disease (HFMD), which has spread worldwide, is a common childhood infectious disease and a serious threat to children's health. HFMD is caused by more than 20 enteroviruses, especially enterovirus 71 (EV71). Many studies have shown that HFMD results from the combined effects of virus, host, and environment. After virus invasion, various pathological reactions are caused by escape from surveillance of the host's natural or acquired immune surveillance. This is not only related to the infection characteristics of the virus, but also to host-related genes such as receptor genes and immune response genes. In recent years, pathogenic host genes related to HFMD have become hot spots for researchers. However, some of the pathogenic related host genes are closely related to regions, races, or populations, and the research conclusion regarding HFMD in different populations in different regions are often not consistent. Therefore, it is necessary to find widely applicable host genes that are closely related to HFMD.

【基金项目】 中国医学科学院创新工程(2016-12M-2-006);国家科技重大专项“重大新药开发”(2016ZX09101120-006)。

【作者简介】 陈鑫(1992—),男,硕士研究生,专业:病原生物学。E-mail: 1587334001@qq.com

【通信作者】 刘江宁(1981—),男,副研究员,硕士生导师,研究方向:肠道病毒的病原生物学及比较医学。E-mail: ljn_zb03038@126.com

Genetic diversity mice are a new tool for simulating population genetic diversity and studying complex traits or diseases. In this paper, we review research on HFMD pathogenicity and related host genes, as well as the advantages of genetic diversity mice in HFMD research.

[Keywords] hand; foot and mouth disease; pathogenic related host gene; genetic diversity mouse

手足口病(hand, foot and mouth disease, HFMD)是由多种肠道病毒引起的一种儿童常见传染病,主要病原为肠道病毒 71(enterovirus 71, EV71)型。轻度感染者可在手足口等部位出现疱疹、斑丘疹等症状;重症患儿可造成脑干脑炎、无菌性脑膜炎、神经源性肺水肿等并发症,具有较高的致残率和死亡率。HFMD 被称为 21 世纪的“脊髓灰质炎”,颇受医学界关注。2008 年 5 月至 2011 年 12 月期间,中国大陆地区手足口病发病例数为 500 多万例,其中死亡 1870 例,且呈逐年增加态势^[1]。目前手足口病的致病机制尚不明确,且由于缺乏理想的实验动物模型等原因使得手足口病研究进展缓慢。

研究手足口病致病相关基因可以为手足口病的预防、控制、治疗和预后判断提供依据,同时也可作为新疗法、新药物提供基础^[2]。但是目前与手足口病致病相关基因的研究报道较少,缺乏手足口病致病特异基因的研究。在本文中,将对已发现的 EV71 致病相关基因作一综述。同时,也将介绍遗传多样性小鼠,其复杂的遗传性状优势将在手足口病致病相关基因的研究中发挥重要作用^[3]。

1 手足口病致病相关基因

目前,已经报道的手足口病致病相关基因主要有三大类,病毒特异性受体类、宿主免疫反应类和宿主病理损伤类。研究者发现这些基因与 EV71 感染和病情严重程度密切相关。下面将对这些致病相关基因作详细阐释。

1.1 病毒特异性受体类

1.1.1 清道夫受体 B2(Scavenger receptor class B member 2, SCARB2)基因

SCARB2 蛋白是一种膜蛋白,属于 CD36 分子家族,主要表达于溶酶体和内含体^[4]。SCARB2 是人类肠道病毒 71 的功能性受体,其主要负责 EV71 病毒的附着或脱壳。在中性和酸性条件下 SCARB2 结构的差异,表明 SCARB2 经历了关键的 pH 依赖性构象变化,其打开脂质转移通道以介导疏水性口袋因子从病毒体中排出,完成病毒脱壳过程^[5]。研究者还确定了 VP1 蛋白与 SCARB2 连接所必需的关

键残基, EV71 病毒 VP1 蛋白第 145 位的谷氨酸(VP1-145E)。VP1 蛋白第 145 位为 VP1-145E 的 EV71 病毒比 VP1-145G/Q 的 EV71 病毒在食蟹猴和 SCARB2 转基因小鼠中的毒力更强,且对宿主产生的抗体更具抗性^[6]。Chen 等^[7]证实 EV71 病毒表面的壳蛋白 VP1 蛋白可与宿主受体 SCARB2 结合,能使病毒粒子的构象发生改变,这种变化在宿主内吞病毒的过程中显著增加而使病毒衣壳变形肢解,最终导致病毒基因组 RNA 释放到宿主细胞而完成感染。

有研究者发现, EV71 病毒分布与 SCARB2 具有组织相关性,含病毒抗原的细胞几乎都有 SCARB2 的表达分布,中枢神经系统、呼吸系统、消化系统可能是 EV71 侵染的重要部位^[8]。姚莎等^[9]证明了 SCARB2 在重症手足口病患者、正常儿童以及成人的肺组织的支气管上皮、细支气管上皮、肺泡上皮细胞及炎症细胞中表达无统计学差异,提示 SCARB2 可能在重症肺水肿 HFMD 的感染过程中具有一定的作用。目前,未有其它文献报道 SCARB2 与手足口病病情严重程度有关。

综上, SCARB2 与 EV71 结合,在 EV71 的侵染、复制、释放等感染过程中起重要作用。SCARB2 受体与 HFMD 病情严重程度关系仍不是十分明确,有待于进一步深入研究。

1.1.2 P 选择素糖蛋白配体 1(P-selectin glycoprotein ligand 1, PSGL-1)基因

PSGL-1 是具有同源二聚体结构的一种黏附分子,并且是表达于几乎所有白细胞表面的一种跨膜糖蛋白。PSGL-1 是选择素 P 的配体,其通常与选择素 P 和趋化因子相互作用在炎症的早期阶段起作用。PSGL-1 已被证明为 EV71 的功能性受体, EV71 的衣壳蛋白 VP1 与硫酸化的 PSGL-1 特异性相互作用以促进病毒入侵^[10]。SCARB2 和 PSGL-1 两种受体的功能上有很大的差异,研究人员构建了转入人 hSCARB2 基因的 L-SCARB2 细胞和转入人 hPSGL-1 基因的 L-PSGL-1 细胞,再用 EV71 病毒株分别感染两种细胞,比较两种细胞感染 EV71 效率及结合 EV71 能力的差异。结果发现, L-PSGL-1 细胞比 L-SCARB2 细胞能结合更多的 EV71。然而, L-

SCARB2 的感染率却显著高于 L-PSGL-1 细胞,表明 EV71 的感染效率不由病毒与受体的结合能力决定^[11]。

在重症 HFMD 患者肺组织中受体表达的研究中,与 SCARB2 相比,PSGL-1 只分布于成人肺组织支气管上皮、细支气管上皮、肺泡上皮细胞及炎症细胞,在重症肺水肿 HFMD 患者和正常儿童中不表达^[9]。由此推测,PSGL-1 可能不参与重症 HFMD 的感染过程。

EV71 受体的相关研究中,除 SCARB2 与 PSGL-1 是两种相对明确的受体,也报道了其它相关受体。例如,O2 型聚糖通过与唾液酸化的葡聚糖如唾液酸连接(SA-linked O-glycan)可作为 EV71 受体介导 EV71 感染 DLD-1 肠细胞^[12]。总之,很可能存在更多未知的 EV71 受体,有待于更近一步的研究。

1.2 宿主免疫反应类

1.2.1 人类白细胞介素 4(Interleukin-4,IL-4)基因

IL-4 主要由活化的 T 细胞产生,是 Th2 细胞的特征性细胞因子,当宿主遭到感染后介导机体体液免疫反应。EV71 研究中发现重组 VP1 蛋白能够诱导高水平的 Th2 细胞反应^[13]。Hoebee 等^[14]的研究发现普通组及重症组手足口病患儿 IL-4 水平均高于对照组,且重症组明显高于普通组。由此可见,IL-4 可能是 EV71 患儿病情加重的一项重要指标。此外,基因测序分析发现 IL-4 基因中存在多个单核苷酸多态性基因座(Single nucleotide polymorphisms, SNPs),如存在于启动子区域的 *IL-4-589CT* 基因 SNP。该 SNP 的功能主要与 IL-4 的产生、活性及功能有关,同时发现与 EV71 患者重症程度也有相关性。在 EV71 重症患儿当中,*IL-4-589CC* 基因型和 C 型等位基因显著高于健康儿童^[15]。另外基因型为 *IL-4-589CC* 和 *IL-4-589CT* 的患儿的血浆中的 IL-4 水平明显比基因型为 *IL-4-589TT* 的患儿要高,但是 IFN- γ 和 IFN- γ /IL-4 的比率要比 TT 基因型要低。

研究还发现基因型 *IL-4-589CC* 和 *IL-4-589C* 的等位基因在 EV71 脑炎患儿中的频率更高^[16]。这些研究说明 IL-4 作为重要的细胞因子介导 EV71 病毒感染的整个过程,而 IL-4 基因多态性又与患儿病症的严重程度密切相关。因此,早期筛查儿童 IL-4 基因多态性可能对预防该地区 EV71 爆发具有重要指导意义。

1.2.2 γ 干扰素(Interferon- γ ,IFN- γ)基因

IFN- γ 是水溶性二聚体细胞因子,是 II 型干扰

素的唯一成员,是 Th1 细胞的特征性细胞因子,主要由 CD4⁺ T 细胞、CD8⁺T 细胞和 NK 细胞产生。IFN- γ 在抗病毒免疫过程中可以抑制病毒的复制,还可以调节其它免疫细胞的活动,诱导抗病毒蛋白在其他免疫细胞中的表达,在抗病毒效应和调节免疫应答中起着重要作用。EV71 重症患儿中 IFN- γ 可以降低内皮屏障并增加血管通透性。此外,重症手足口病肺水肿患儿脑脊液中 IFN- γ 水平明显高于其他组织,提示 IFN- γ 可能与 EV71 感染造成的神经性病理损害有关。动物实验表明,感染 EV71 的小鼠经 IFN- γ 干预会发生肺水肿,说明 IFN- γ 在 EV71 感染患儿的病理过程中起重要作用,其水平高低可能与病情的严重程度有关^[17]。另有研究表明,在 HFMD 患儿恢复期,IFN- γ 水平下降,再次证明 IFN- γ 对 HFMD 病情进展的影响^[14]。因此,在临床诊断和治疗过程中,IFN- γ 水平具有非常重要的参考价值。

1.2.3 α 肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor, TNF- α)基因

TNF- α 是能直接杀伤肿瘤细胞而对正常细胞无明显毒性的细胞因子,主要由巨噬细胞和单核细胞产生。研究表明,随着手足口病患儿病情的加重,TNF- α 水平明显升高,与病情严重程度呈正相关。刘松等^[18]发现在 EV71 感染脑干脑炎和肺水肿患儿的外周血和脑脊液中 TNF- α 等炎症因子明显升高,随着病情加重,TNF- α 持续升高,再次表明 TNF- α 的水平与病情的严重程度有关。刘培培等^[19]发现 *TNF- α* 基因启动子区域 308 位点基因多态性与 EV71 中枢感染有相关性,*TNF- α -308GG* 基因型可能为 EV71 的抵抗基因,保护儿童不受 EV71 的感染。当 *TNF- α* 基因的启动子区-308 位点发生单核苷酸突变,G 被 A 代替,阅读框内密码子发生改变,进而被限制性内切酶 *NotI* 识别,阻断了 TNF- α 的表达,则有该类突变的儿童对 EV71 相对易感。综上,TNF- α 在临床上可以作为评价患儿病情严重程度和预后的重要指标。

1.2.4 人类白细胞介素 8(Interleukin-8,IL-8)基因

IL-8 是人体免疫应答产生的重要趋化因子,当感染 EV71 时,体内的巨噬细胞分泌 IL-8,这可使趋化性 T 细胞、嗜碱性粒细胞、中性粒细胞等到达炎症部位。并且它在启动天然免疫和获得性免疫介导的抗感染、抗肿瘤等方面起重要作用^[20]。研究人员发现,手足口病患儿血清 IL-8 水平与疾病严重程

度呈正相关,提示血清 IL-8 水平是 EV71 感染的关键因素之一,提示 IL-8 可作为临床上 EV71 感染严重程度的辅助诊断指标。Wang 等^[21-22]的研究进一步发现,虽然轻度 EV71 感染患儿与对照组之间的 IL-8-251 位点基因型分布以及等位基因频率无显著性差异,然而 EV71 脑炎重症组 A 等位基因频率明显高于轻度症状组。因此,携带有 IL-8-251 A 等位基因的感染患者发展成为重症患者的概率明显高于 T 等位基因携带者^[23]。然而,IL-8-251 基因多态性与 EV71 脑炎患者易感性和病情严重程度之间的关系目前并不十分确切,需要进一步研究。

1.2.5 人类白细胞抗原 (Human lymphocyte antigen, HLA) 基因

HLA 是人体已知的最复杂的基因系统,基因多态性使得不同的个体表达不同的 HLA-I 类和 HLA-II 类等位基因。HLA 多态性的主要意义在于扩大个体可以应答的抗原范围并防止感染在人群中传播。一般认为 HLA 的多态性与传染病流行所施加的压力有关。目前研究发现手足口病与 HLA 基因之间存在明显的相关性。Chang 等^[24]发现 HLA-A33, HLA-DR17 与 EV71 感染密切相关,HLA-A33 基因型在亚洲人群中普遍存在,在白种人中却很少发现。多变量分析发现,携带 HLA-A33 基因的儿童感染 EV71 患脑炎的几率更高,表明 HLA-A33 是重要的 EV71 致病相关基因。而 HLA-A2 基因则与患儿的心肺衰竭相关。HLA-G 在病理生理条件下被认为是一种重要的免疫耐受分子,并且 HLA-G 在母婴免疫耐受反应中起关键作用^[25]。Zheng 等^[26]研究者发现手足口病重症患儿的血浆中 sHLA-G 水平明显比对照组要高,并且在危重 EV71 感染患儿血浆中 sHLA-G 水平比重度 EV71 感染患儿中更高。由此可见,HLA-G 基因的多态性与儿童对 EV71 的易感性紧密相关,说明在临床诊断过程中,sHLA-G 水平可以作为辅助指标用于重症 EV71 感染患儿的诊断。

1.3 宿主病理损伤类

1.3.1 细胞自噬 (Autophagy)

细胞自噬广泛存在于真核细胞内,是一种溶酶体依赖性降解途径,是细胞程序性死亡的方式之一,涉及细胞内成分及外源病原微生物的吞噬、降解,是机体内重要的保护和防御机制。近年来,研究发现细胞自噬在病毒感染中起着复杂作用。一方面,自噬可以通过识别、呈递病毒抗原,激活免疫应答和降解病毒,从而达到清除病毒的目的^[27];另

一方面,病毒也可以利用某些机制逃避自噬,特别是 RNA 病毒,能够快速进化以应对宿主细胞自噬^[28]。研究者发现 EV71 感染与自噬相互促进,随着感染时间和感染剂量的增加,自噬水平逐渐增强,而自噬诱导剂雷帕霉素又可增强 EV71 复制。张晓延等^[29]发现 EV71 感染可促进 LC3 的型别转换和 P62 的降解,并诱导细胞自噬;当用 3-MA 抑制细胞自噬时,细胞产生的感染性病毒颗粒数量减少。进一步研究发现,EV71 非结构蛋白 2BC 可触发自噬溶酶体形成,利于病毒复制,用自噬抑制剂氯喹阻断自噬溶酶体产生后,EV71 的病毒滴度、病毒拷贝和病毒蛋白均降低^[30]。自噬和 EV71 病毒的研究才刚开始,因此需要进一步研究细胞自噬与手足口病之间的关系。

1.3.2 细胞凋亡 (Apoptosis)

细胞凋亡是指基因控制的细胞自主有序死亡,可及时清除机体内的多余细胞和受损细胞,维持内环境稳定。EV71 对人血管内皮细胞, T 淋巴细胞和神经细胞的感染可引发感染细胞的凋亡并引起相关疾病的症状^[31]。EV71 触发细胞凋亡具有多样性,触发途径因感染的细胞种类不同而异。EV71 感染 T 淋巴细胞,引起 FasL 表达,导致其凋亡。EV71 感染神经细胞,可激活 Abl-Cdk5 信号,并导致其凋亡^[32]。EV71 感染人血管内皮细胞,可引起多种细胞因子升高,参与集体炎症反应,同时也可激活神经酰胺等凋亡信号转导^[31]。EV71 触发细胞凋亡具有偶联性,凋亡信号的转导系统与细胞增殖和分化过程中某些环节有着交叉、偶联。如在 EV71 感染的早期阶段(6 h 内),PI3K/Akt 和 MAPK/ERK 的磷酸化导致 GSK-3 活化的抑制,随后的 BAD、Caspase-9 和 FKHR 无法完成磷酸化,阻止宿主细胞的凋亡。Akt 催化多种底物,其中包括 GSK-3,其通过磷酸化多种转录因子和翻译起始因子,参与细胞代谢,增殖,分化过程^[33]。EV71 触发细胞凋亡具有多途性, EV71 感染可经过多种信号途径触发凋亡,其中并没有起关键枢纽作用的关键点。

细胞凋亡可能是 EV71 感染引起严重疾病的发病机制之一,在目前缺乏特异性、高效的抗病毒药物的情况下,通过切断凋亡相关信号转导途径来抑制 EV71 感染引起的细胞凋亡为治疗提供了新的思路和方向。但是目前相关的研究较少,很多结论仍旧停留在猜想阶段, EV71 引起细胞凋亡的信号转导有待于进一步研究。

2 手足口病致病相关基因研究新工具的应用展望

遗传多样性小鼠(Genetic diversity mice)是通过对现有的小鼠近交品系进行遗传分析,最终选出来 5 个实验室动物品系和 3 个野生动物品系,进行杂交传代而获得^[34]。遗传多样性小鼠具有丰富的性状和丰富的遗传多态性,可以模拟人基因多样性,是研究人类复杂性状的新型工具。能够最大程度地体现不同人群对病因敏感的差异性,可应用于精准医疗、基因功能发现、疾病模型建立和人类复杂性状疾病的研究^[35]。

遗传多样性小鼠作为一种新的动物资源在医学领域的应用越来越多,研究者成功利用遗传多样性小鼠建立了埃博拉病毒的感染模型,让遗传多样性小鼠成功应用于传染病模型的建立^[36]。然而尚未有利用遗传多样性小鼠进行手足口病致病相关基因的研究。相比单一遗传背景的小鼠,遗传多样性小鼠在手足口病致病相关基因的筛选中效率大增。借助 200 多个遗传多样性小鼠品系,利用标准化的方法感染 EV71 病毒,通过 GeneMiner(<http://192.168.1.9/Geniad2/>)分析得到的相关数据,从而获得手足口病易感和抵抗相关的基因簇,再通过其他数据库对获得的基因簇进行分析筛选。之后对选取的候选易感和抵抗相关基因进行基因敲除,利用基因敲除小鼠进行进一步的验证实验。

3 结语

综上所述,手足口病致病相关基因的报道主要可以分为三大类,病毒特异性受体类、宿主免疫反应类和宿主病理损伤类。本文认为,病毒特异性受体除 SCARB2 和 PSGL-1 较为明确以外,其它受体的相关研究较少,应加大探索研究力度,寻找更多特异性受体。同样,细胞凋亡和细胞自噬与手足口病致病机制的相关研究处于初期阶段,需要进一步的深入研究。遗传多样性小鼠丰富的性状差异和丰富的遗传多态性优势,是研究手足口病非常好的动物资源,它可以高效地筛选手足口病相关致病基因,对于揭示手足口病的致病机理、新药物干预靶点的研究、指导临床诊断、治疗和预后以及手足口病的预防和应对都有着非常重要的作用和意义。

参考文献:

[1] 杨芳,于石成,张菊英,等. 2008—2011 年我国大陆地区重症手足口病流行特征分析[J]. 疾病监测, 2013, 28(11): 888

-893.

- [2] Pathinayake Prabuddha S, Hsu Alan C-Y, Wark Peter AB. Innate immunity and immune evasion by enterovirus 71 [J]. *Viruses*, 2015, 7(12): 6613-6630.
- [3] Churchill GA, Airey DC, Allayee H, et al. The Collaborative Cross, a community resource for the genetic analysis of complex traits [J]. *Nat Genet*, 2004, 36(11): 1133-1137.
- [4] Ikemoto M, Arai H. Scavenger receptor class B [J]. *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, 1999, 44(44): 1268-1276.
- [5] Dang M, Wang X, Wang Q, et al. Molecular mechanism of SCARB2-mediated attachment and uncoating of EV71 [J]. *Protein Cell*, 2014, 5(9): 692-703.
- [6] Fujii K, Sudaka Y, Takashino A, et al. VP1 amino acid residue 145 of enterovirus 71 is a key residue for its receptor attachment and resistance to neutralizing antibody during cynomolgus monkey infection [J]. *J Virol*, 2018, pii: JVI.00682-18.
- [7] Chen P, Song Z, Qi Y, et al. Molecular determinants of enterovirus 71 viral entry: cleft around GLN-172 on VP1 protein interacts with variable region on scavenger receptor B 2 [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(9): 6406-6420.
- [8] 李明,孔小平,刘宏,等. 婴幼儿脑干脑炎 EV71-VP1、PSGL-1 和 SCARB2 的表达 [J]. 法医学杂志, 2015, 31(2): 97-101.
- [9] 姚莎,潘红波,侯碧海,等. EV71 受体 SCARB2 和 PSGL-1 在重症手足口病患者肺组织中的表达 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2015, 31(7): 780-783.
- [10] Wang CC, Shanmugan S, Chen CK, et al. Specific unbinding forces between mutated human P-Selectin glycoprotein ligand-1 and viral protein-1 measured using force spectroscopy [J]. *J Phys Chem Lett*, 2017, 8(21): 5290-5295.
- [11] Yamayoshi S, Ohka S, Fujii K, et al. Functional comparison of SCARB2 and PSGL1 as receptors for enterovirus 71 [J]. *J Virol*, 2013, 87(6): 3335-3347.
- [12] Yang B, Chuang H, Yang KD. Sialylated glycans as receptor and inhibitor of enterovirus 71 infection to DLD-1 intestinal cells [J]. *Viol J*, 2009, 6: 141.
- [13] Zhang F, Hao C, Zhang S, et al. Oral immunization with recombinant enterovirus 71 VP1 formulated with chitosan protects mice against lethal challenge [J]. *Viol J*, 2014, 11(1): 1-9.
- [14] 孔慧霞,王凯,段红宝,等. EV71 感染手足口患儿血清 IFN- γ 及 IL-4 水平探讨 [J]. 临床儿科杂志, 2017, 35(10): 796-797.
- [15] Hoebee B, Rietveld E, Bont L, et al. Association of severe respiratory syncytial virus bronchiolitis with interleukin-4 and interleukin-4 receptor α polymorphisms [J]. *J Infect Dis*, 2003, 187(1): 2-11.
- [16] Li F, Liu XP, Li JA, et al. Correlation of an interleukin-4 gene polymorphism with susceptibility to severe enterovirus 71 infection in Chinese children [J]. *Arch Virol*, 2015, 160(4): 1035-1042.
- [17] 徐延玲,张明明,周盈,等. 静注人免疫球蛋白对重症手足口病患者 IFN- γ 与 IL-4 表达的影响及其相关性研究 [J]. 中国医药指南, 2017, 15(9): 34-35.

- [18] 刘松, 贾德兴, 冯静, 等. EV71 感染手足口病患儿血清 IL-6、TNF- α 水平的检测及临床意义 [J]. 锦州医科大学学报, 2015, 36(2): 32-34.
- [19] 刘培培, 胡素娟, 刘月荣, 等. HLA-A33 表型、TNF- α /TNF-R II 基因多态性和肠道病毒 71 型脑炎的相关性研究 [J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2012, 6(9): 44-47.
- [20] Li JA, Chen ZB, Lv TG, et al. Genetic polymorphism of CCL2-2518, CXCL10-201, IL8+781 and susceptibility to severity of Enterovirus-71 infection in a Chinese population [J]. *Inflamm Res*, 2014, 63(7): 549-556.
- [21] Wang W, Li W, Yang X, et al. Interleukin-8 is elevated in severe hand, foot, and mouth disease [J]. *J Infect Dev Ctries*, 2014, 8(1): 94-100.
- [22] Li J, Lin A, Yu C. Association of Enterovirus 71 encephalitis with the interleukin-8 gene region in Chinese children [J]. *Infect Dis (Lond)*, 2015, 47(6): 418-422.
- [23] 王媛媛, 李菲, 刘培培, 等. IL-8-251 基因多态性与 EV71 重症脑炎易感性关系 [J]. 青岛大学医学院学报, 2015, 51(5): 536-538.
- [24] Chang LY, Chang IS, Chen WJ, et al. HLA-A33 is associated with susceptibility to enterovirus 71 infection [J]. *Pediatrics*, 2008, 122(6): 1271-1276.
- [25] Zheng XQ, Chen XQ, Gao Y, et al. Elevation of human leukocyte antigen-G expression is associated with the severe encephalitis associated with neurogenic pulmonary edema caused by Enterovirus 71 [J]. *Clin Exp Med*, 2014, 14(2): 161-167.
- [26] 陈晓晴, 王慧燕, 高艳, 等. HLA-G14 bp 基因多态性及血浆 sHLA-G 水平与儿童 EV71 感染的关系研究 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2012, 26(6): 429-431.
- [27] Levine B. Eating oneself and uninvited guests: autophagy-related pathways in cellular defense [J]. *Cell*, 2005, 120(2): 159-162.
- [28] Randow F, Münz C. Autophagy in the regulation of pathogen replication and adaptive immunity [J]. *Trends Immunol*, 2012, 33(10): 475-487.
- [29] 张晓延, 郗雪艳, 赵振东. 自噬抑制剂 3-MA 抑制 EV71 病毒颗粒的产生与释放 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2011, 25(3): 176-178.
- [30] Lai JKF, Sam I, Verlhac P, et al. 2BC non-structural protein of enterovirus A71 interacts with SNARE proteins to trigger autolysosome formation [J]. *Viruses*, 2017, 9(7): 169.
- [31] Liang CC, Sun MJ, Lei HY, et al. Human endothelial cell activation and apoptosis induced by enterovirus 71 infection [J]. *J Med Virol*, 2004, 74(4): 597-603.
- [32] Chen LC, Shyu HW, Chen SH, et al. Enterovirus 71 infection induces Fas ligand expression and apoptosis of Jurkat cells [J]. *J Med Virol*, 2010, 78(6): 780-786.
- [33] Chen TC, Lai YK, Yu CK, et al. Enterovirus 71 triggering of neuronal apoptosis through activation of Abl-Cdk5 signalling [J]. *Cell Microbiol*, 2007, 9(11): 2676-2688.
- [34] Morahan G, Balmer L, Monley D. Establishment of "The Gene Mine": a resource for rapid identification of complex trait genes [J]. *Mamm Genome*, 2008, 19(6): 390-393.
- [35] Iraqi FA, Churchill G, Mott R. The Collaborative Cross, developing a resource for mammalian systems genetics; a status report of the Wellcome Trust cohort [J]. *Mamm Genome*, 2008, 19(6): 379-381.
- [36] Rasmussen AL, Okumura A, Ferris MT, et al. Host genetic diversity enables Ebola hemorrhagic fever pathogenesis and resistance [J]. *Science*, 2014, 346(6212): 987.

[收稿日期] 2018-08-31