

DOI: 10.13376/j.cblls/2018031

文章编号: 1004-0374(2018)03-0241-07

EV71和CA16研究进展综述

宋 杰, 胡雅洁, 董少忠*

(中国医学科学院&北京协和医学院医学生物学研究所, 云南省重大传染病疫苗研发重点实验室, 昆明 650118)

摘 要: 手足口病 (hand-foot and mouth disease, HFMD) 是一种全球性的传染病, 其主要病原体为肠道病毒 71 型 (enterovirus 71, EV71) 和柯萨奇病毒 A 组 16 型 (cosackievirus A 16, CA16)。EV71 与 CA16 同属于小核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA) 病毒科 (Picornaviridae) 肠道病毒属 (*Enterovirus*) 肠道病毒 A 型 (*Human enterovirus A*) 的成员, 两者在病原学、感染和复制特征以及感染导致的临床症状和免疫反应有相似的方面, 但也有明显不同的方面。现将对 EV71 和 CA16 相关的病原学、感染和复制特征以及临床症状和免疫反应研究进行综述。

关键词: 肠道病毒 71 型; 柯萨奇病毒 A 组 16 型; 手足口病; 免疫反应

中图分类号: R373; R512.5 文献标志码: A

Summary of EV71 and CA16 research progress

SONG Jie, HU Ya-Jie, DONG Shao-Zhong*

(Yunnan Key Laboratory of Vaccine Research & Development on Severe Infections Disease, Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medicine Science and Peking Union Medical College, Kunming 650118, China)

Abstract: Hand-foot and mouth disease, which was predominantly caused by human enteroviruses, especially enterovirus 71 (EV71) and coxsackievirus A 16 (CA16), is a global and serious epidemic disease. EV71 and CA16 both belong to the *Human enterovirus A* (HEV-A) species of the Picornaviridae family. In terms of etiology, infection and replication characteristics, as well as clinical symptoms and immune response, EV71 and CA16 have similar aspects. However, there are also significant differences between the two viruses. In this paper, we will review progress on EV71 and CA16 related etiology, infection and replication characteristics, as well as clinical symptoms and immune response.

Key words: enterovirus 71; coxsackie virus A 16; hand-foot and mouth disease; immune response

自 20 世纪 70 年代以来, 全球数十个国家或地区爆发了多场大规模的手足口病 (hand-foot and mouth disease, HFMD)。手足口病是以手、足、口部呈现皮疹、疱疹、水疱等为特征, 多伴有发热、厌食、精神萎靡等症状的急性儿科传染病。多数手足口病病例的病情轻且具有自限性, 但也有少数手足口病病例进展迅速, 并伴随严重的中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 并发症, 一旦病情急剧恶化则可导致患者死于心肺衰竭^[1]。近年来, 流行病学调查显示, 手足口病在中国大陆、台湾以及新加坡和其他亚太地区 (Asia-Pacific region) 仍然呈现高发态势; 由手足口病导致的严重病例及死亡病例的日益

增长也引起了全球的广泛关注, 它不仅严重威胁着全球范围内儿童的健康, 而且也给手足口病患儿家庭带来了沉重的疾病负担和经济负担^[2]。因此, 手足口病成为全球重大的公共卫生问题。

导致手足口病的病原体属于人类肠道病毒属 (*Human enterovirus*, HEV), 根据其血清型分类, 它主要可分为 HEV-A、HEV-B、HEV-C 和 HEV-D 四

收稿日期: 2017-09-18; 修回日期: 2017-11-09

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2017-I2M-2-006); 国家自然科学基金青年科学基金项目(31700153)

*通信作者: E-mail: dsz@imbcams.com.cn

个亚型(表1)。在多次手足口病流行中发现,肠道病毒A组71型(enterovirus 71, EV71)和柯萨奇病毒A组16型(coxsackie virus A 16, CA16)为主要致病原,两者都归属于A型肠道病毒^[3]。

1 EV71与CA16的病原学特征

EV71于1969年从美国加利福尼亚一名患有神经系统疾病的患儿粪便中首次分离得到,而CA16的发现实际上早于EV71,于1958年由加拿大科学家从患者的粪便和咽拭子中分离得到^[4]。EV71和CA16病毒的颗粒都为二十面体立体对称的球形结构,直径为24~30 nm,表面无包膜和突出(图1)^[3]。EV71与CA16的病毒基因组是一个由7400多个核苷酸组成的单股正链RNA分子(single strand positive RNA),仅具有一个开放阅读框(open reading frame, ORF),在ORF的两端为保守的非编码区(untranslated regions, UTR)(图1)^[3]。5'-UTR较长,由746个核苷酸编码,可与一个小分子蛋白Vpg共价结合后形成6个茎环结构(stem-loops),茎环结构I为三叶草结构,参与病毒RNA的合成,茎环结构II~VI包含内部核糖体进入位点(internal ribosomal entry site, IRES)。IRES主要是与转录起始因子结合,并通过帽子非依赖方式(cap-independent manner)起始病毒蛋白的翻译及病毒基因组的装配。3'-UTR则是一个多聚腺苷酸(polyA)尾,它能够形成一个二级结构,与病毒RNA的合成有关。如果去除3'-UTR处的polyA尾或使基因组出现断裂,可导致EV71与CA16基因组RNA的感染性消失,但去除5'-UTR处的共价连接蛋白对EV71与CA16基因组RNA的感染性没有明显影响。而EV71与CA16基因组中的ORF可编码一个多聚前体蛋白,该多聚前体蛋白可进一步水解为3个前体蛋白P1~P3。P1前体蛋白编码4个病毒外壳蛋白VP1~VP4,其中VP1、VP2、VP3暴露于病毒表面形成衣壳,构成了病毒抗原多

样性,且VP1蛋白是最主要的衣壳蛋白,具有重要的细胞受体结合位点及最多型的特异性中和位点,直接决定病毒的抗原性,而VP4则是定位在衣壳内部。P2和P3前体蛋白可编码7个非结构蛋白,即2A(特异蛋白水解酶)、2B(在研究中很少报道其功能,但仍被认为对病毒复制很重要)、2C(作为一种多功能蛋白,参与核苷三磷酸腺苷活性及RNA负链合成)、3A(高度保守,作为病毒RNA复制复合物的支架)、3B(即病毒的Vpg蛋白,与基因组5'端结合)、3C(特异蛋白水解酶)、3D(RNA依赖的RNA聚合酶)。尽管这7个非结构蛋白不是病毒颗粒的组成部分,但在病毒感染和复制过程中发挥非常重要的作用^[5-6]。

2 EV71与CA16的感染和复制

人是EV71与CA16目前已知的自然源性宿主,和其他肠道病毒一样,EV71与CA16完整的生命周期包括病毒吸附、脱壳,病毒基因组的复制、转录和翻译,病毒衣壳的组装,病毒成熟和病毒释放(图2)^[1]。首先,EV71与CA16病毒与其相应的细胞受体结合是病毒实施感染的第一关键步骤,目前研究已证实的EV71与CA16受体主要有清道夫受体2(human scavenger receptor class B, member 2, SCARB2;主要分布于细胞的内体和溶酶体,也表达于多种细胞表面)、P选择素配体1糖蛋白(human P-selectin glycoprotein ligand-1, PSGL-1/CD162;多表达于白细胞表面)、O型链接的唾液酸化糖蛋白或糖脂(是一种吸附性受体,多存在于大肠上皮细胞表面)、Anx2(膜联蛋白家族成员)、树突状细胞特异性细胞间黏附分子-3-捕获非整合素(dendritic cell specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin, DC-SIGN;表达于树突状细胞表面)及硫酸肝素等^[7-12]。一旦病毒与其受体结合后,其衣壳蛋白的构象发生改变,病毒颗粒VP4结构蛋白

表1 人类肠道病毒属的血清型分类

血清型分类	各类血清型中含有的病毒
HEV-A型	CV-A2~8、CV-A10、CV-A12、CV-A14、CA16、EV71、EV76、EV89~92
HEV-B型	CV-A9、CV-B1~6、E1~7、E9、E11~21、E24~27、E29~33、EV69、EV73、EV74~75、EV77~88、EV93、EV97、EV98、EV100、EV101、EV106、EV107
HEV-C型	CV-A1、CV-A11、CV-A13、CV-A17、CV-A19~22、CV-A24、EV95、EV96、EV99、EV102、EV104、EV105、EV109、PV1~3
HEV-D型	EV68、EV70、EV94

注: CV-A: coxsackievirus A(柯萨奇病毒A组); CV-B: coxsackievirus B(柯萨奇病毒B组); EV: enterovirus(肠道病毒); E: echovirus(艾柯病毒); PV: poliovirus(脊髓灰质炎病毒)。

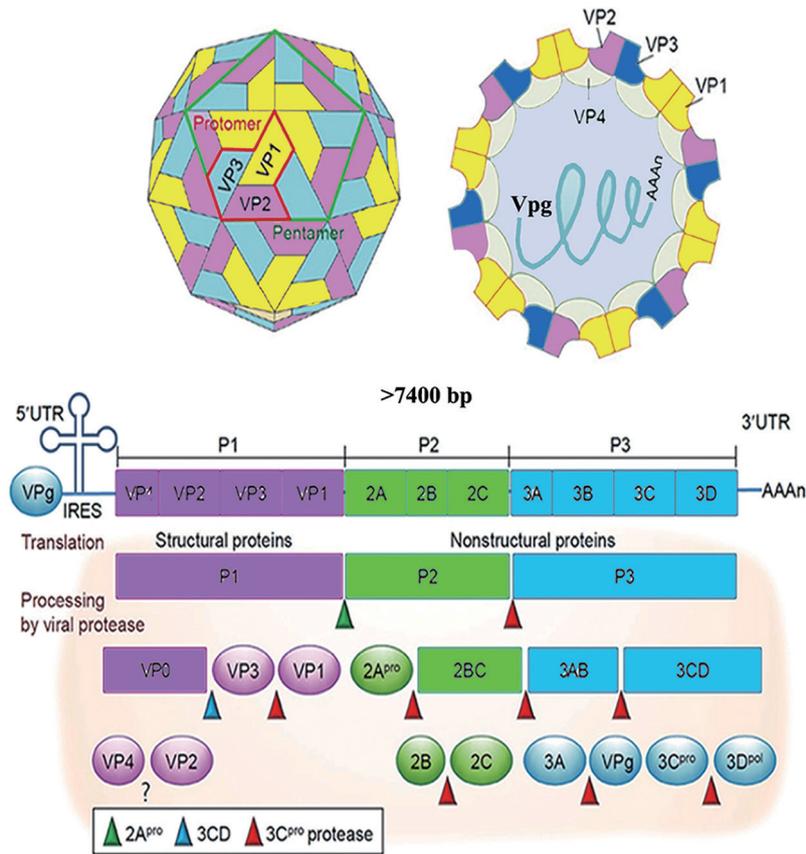


图1 EV71与CA16病毒基因组结构示意图^[5]

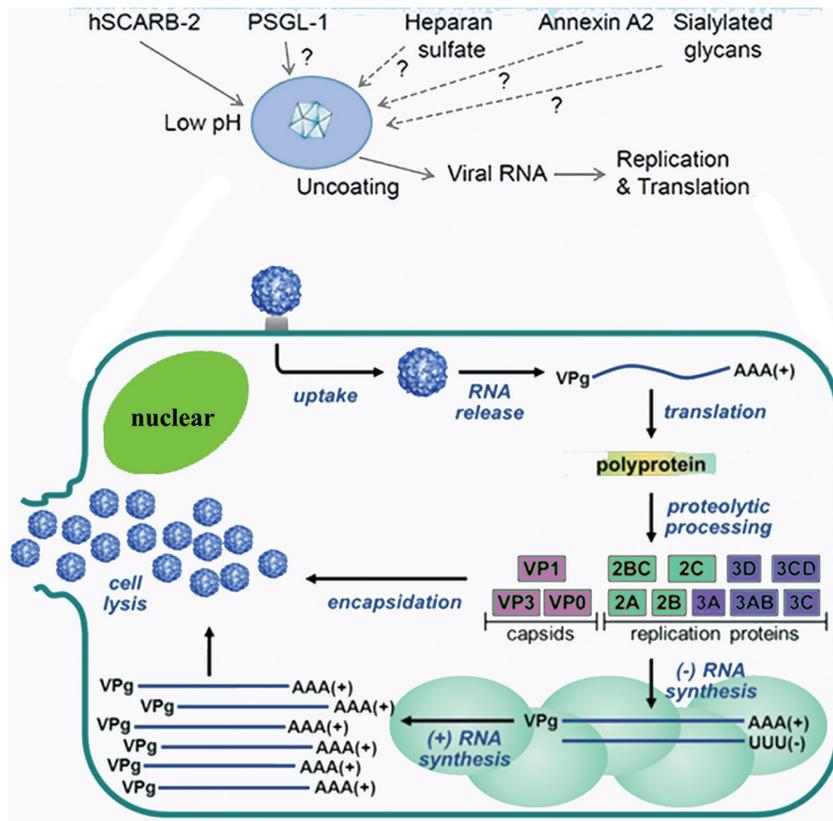


图2 EV71与CA16的复制周期^[1]

丢失, 最终脱去病毒外壳并释放病毒基因组 RNA 进入细胞质; 随后, 进入宿主细胞的病毒 RNA 首先作为信使 RNA 被翻译成病毒多聚前体蛋白, 随后在病毒 3D 蛋白的参与下开始病毒基因组 RNA 的复制, 当病毒基因组 RNA 及病毒的结构蛋白和非结构蛋白被大量合成后, 它们再通过进一步的组装而形成新一代的病毒颗粒。一般情况下, 肠道病毒的前病原颗粒 (provirion) 是不具有感染性的, 需经过蛋白酶的再加工才能形成有感染性的病毒颗粒, 最终被释放出细胞^[2, 13]。

3 EV71与CA16感染诱发手足口病的临床特征

尽管肠道病毒属均具有上述相似的病原学特征, 甚至在感染过程中具有类似的病毒复制模式, 但不同肠道病毒属在机体内诱发的疾病呈现不同的临床特征, 甚至在发病机制上也具有相应的差异性^[14]。EV71 在手足口病的多次流行中一直占据主导地位, 不同个体在 EV71 感染后临床症状表现颇为复杂, 多数患者表现轻微, 但也有部分患者急性发作后引发 CNS 并发症, 如无菌性脑膜炎 (aseptic meningitis)、脑干脑炎 (brainstem encephalitis)、脑脊髓炎 (encephalomyelitis)、神经源性心肌炎 (neurogenic myocarditis)、急性弛缓性麻痹 (acute flaccid paralysis, AFP)、神经源性肺水肿 (neurogenic pulmonary edema, NPE) 等, 甚至导致死亡^[15]。另外, 最近基于小鼠模型的研究显示, EV71 感染可以损害雌性小鼠的生殖能力。CA16 感染症状与 EV71 略有不同, 且 CA16 在世界范围内引发手足口病大规模流行也有报道, 其感染多表现为温和的自限性感染^[13]。但近些年发现: CA16 感染所致手足口病患者进展至重症阶段时, 其临床症状基本与 EV71 一致, 只是相比于 EV71 重症患者, CA16 所致重症患儿的年龄更低, 而且 CA16 感染往往还会引起反复性的感染, 使得患儿持久不愈^[14, 16]。正因 EV71 感染在临床上频频导致严重病例及死亡病例的发生, 因此, 开发安全且有效的 EV71 疫苗一直是许多研究者在过去几十年研究中的重中之重。目前, 由中国医学科学院医学生物学研究所、北京科兴生物制品有限公司和北京微谷生物医药有限公司分别研发的 EV71 灭活疫苗已经成功上市, 这无疑给千万儿童带来了福音; 然而这些疫苗虽然对 EV71 感染具有很好的保护作用, 但对 CA16 感染导致的手足口病却没有交叉保护作用^[17-18]。关于 CA16 疫苗的研究多数处于临床前阶段, 且以病毒样颗粒 (virus like particle, VLP)

疫苗为主, 这些 VLP 候选疫苗在小鼠模型上均显示了良好的保护效果^[19-20], 但是目前还缺乏在灵长类动物模型上的评价效果以及更进一步的临床研究数据, 距离上市还有较长时间。此外, 厦门大学夏宁邵研究团队最新的研究结果显示, 将 EV71 VP1 的 210~225 表位替换成 CA16 的相应表位, 以此来构建的嵌合病毒灭活疫苗在小鼠模型中对 EV71 和 CA16 均有良好的保护作用, 这为研发 EV71 和 CA16 的双价疫苗提供了很好的参考价值^[21]。

4 EV71与CA16感染所引起的免疫反应

EV71 与 CA16 病毒进入宿主细胞后, 宿主细胞为了维持自身细胞内稳态和细胞活力, 会激活机体的免疫反应而对 EV71 与 CA16 的入侵做出相应的抵制。与此同时, EV71 与 CA16 需要借助宿主细胞内与基因组复制和蛋白质翻译相关的成分来保障自身的复制, 并逃逸宿主的免疫反应。因此, 病毒与宿主细胞之间的这场博弈是一个多分子参与且又极为复杂的过程, 而且该过程的结果是疾病发生与否的关键^[22-23]。

4.1 EV71与CA16感染触发的固有免疫反应

固有免疫反应是宿主抵御病毒入侵机体的第一道防线, 其核心是宿主细胞模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 识别病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular pattern, PAMP) 后, 通过一系列信号转导途径而触发 I 型干扰素 (type I interferon, IFN-I) 和炎症细胞因子的产生, 进而募集免疫相关细胞, 使得机体进入抗病毒免疫状态, 以限制、抵抗或清除病毒的入侵^[24]。Zhang 等^[25]研究表明, EV71 与 CA16 感染横纹肌肉瘤细胞 (rhabdomyosarcoma cells, RD) 时使得 IFN 通路相关基因呈现差异性表达模式。在 EV71 感染 RD 时, IFN α/β 介导的 JAK-STAT 信号通路及 IFN 刺激基因 (interferon stimulated genes, ISGs) 的表达受到了明显抑制; 而在 CA16 感染 RD 时, 上述基因的表达被显著激活。说明 EV71 感染较 CA16 感染具有更强的抵抗 IFN α/β 的抗病毒作用, 这一结果也可能间接暗示 EV71 感染可能会造成更严重的临床症状。EV71 逃逸宿主固有免疫反应的相关机制已被大量研究证实^[26]。例如: Wang 等^[27]发现, EV71 的 2A 蛋白靶向于线粒体抗病毒信号蛋白 (mitochondrial antiviral signaling protein, MAVS), 使之从线粒体上切割而释放出来, 最终抑制 IFN-I 产生; Lei 等^[28]研究表明, EV71-3C 蛋白与维甲酸诱导基因 I (retinoic

acid-inducible gene-I, RIG-I) 相互作用, 从而无法招募下游接头分子 MAVS, 最终抑制了下游信号分子 IFN 调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3) 的激活及 IFN-I 的产生; Luo 等^[29] 的研究表明, 外泌体来源的 miR-146a 可以抑制 EV71 感染过程中 IFN-I 的产生。另外, 一些蛋白酶底物也参与了 EV71 感染过程。例如: Luo 等^[30] 的研究表明, 酪氨酸激酶底物 (tyrosine kinase substrate, HRS) 介导了 EV71 感染过程中对 TLR7 信号通路引起的炎症和抗病毒天然免疫反应的调控。而关于 CA16 的免疫逃逸机制的研究则没有受到研究者的关注。此外, 本实验室也对 EV71 和 CA16 感染呼吸道上皮细胞和外周血单核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 中 IFN-I 相关基因进行了分析。研究发现, EV71 感染呼吸道上皮细胞后, TLR3、TLR7、RIG-I、MDA5、MAVS、MyD88、IRF3、IRF7、IFN α 和 IFN β 的基因表达量均显著上调; 而在 CA16 感染后, 仅 MDA5 显著上调, TLR3 和 IRF3 的基因表达水平显著下降, 其他基因表达水平无显著变化^[31]。然而, 在 PBMC 中却发现了相反趋势的结果: 在 EV71 感染 CD1c⁺ DC 后, TLR7、MyD88、IFN- α 、IFN- β 基因的表达量显著下降, IRF7、TLR3、MAVS 基因的表达量无显著变化; 在 CA16 感染 CD1c⁺ DC 后, TLR7、MyD88、IRF7、IFN- α 、TLR3、IRF3、IFN- β 、MAVS 基因的表达量显著上升^[32]。这些结果提示, EV71 和 CA16 感染不同的靶细胞会造成不同的后果, 且两者对呼吸道细胞屏障和免疫细胞屏障的影响是不一样的。本实验室的研究发现, 由 EV71 与 CA16 感染的恒河猴婴猴中的炎性相关因子 (如 IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 等) 均可被诱导释放, 且 EV71 感染的恒河猴婴猴体内上述因子上调程度较 CA16 感染的恒河猴婴猴高^[33]。IL-6 是一种重要的细胞因子, 具有促炎与抗炎的双相效应, 其表达量在正常人体内通常较低, 但在感染患者及炎症患者体内均呈现高表达, 且 IL-6、TNF- α 及 IFN- γ 的上调水平与疾病的严重程度密切相关^[23]。这些结果说明, EV71 感染可能会诱发较 CA16 感染更为严重的临床特征。另外, 本实验室在对 EV71 与 CA16 感染的恒河猴婴猴 PBMC 进行基因芯片分析时发现: EV71 感染时由 IFN γ 所介导的 JAK-STAT 信号通路有上调趋势, 而 CA16 感染时该通路却呈现下调趋势^[34-35]。上述研究结果提示, IFN 在 EV71 与 CA16 感染中呈现了显著的差异, 但这一差异与 EV71 及 CA16 感染诱发的手足口病

差异性的临床症状及病理形成又有何联系, 仍然需要进一步探究。

4.2 EV71与CA16感染触发的适应性免疫反应

适应性免疫是固有免疫的延续, 主要是通过 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞特异性识别入侵的病毒并将其清除的过程。对 EV71 与 CA16 感染的恒河猴婴猴 PBMC 进行基因芯片分析的结果也表明, EV71 感染时树突状细胞 (dendritic cells, DCs) 成熟相关因子及其与 T 细胞形成的免疫突触相关分子均较 CA16 感染时显著性上升, 说明 EV71 感染时可能更易激活 T 细胞反应^[34-35]。抗体的产生在机体的适应性免疫中起着至关重要的作用, 然而, 在 EV71 与 CA16 感染的恒河猴婴猴中, 两者感染触发的适应性免疫反应最大的差别在于: EV71 感染的恒河猴婴猴体内可产生有效的中和抗体, 而 CA16 感染的恒河猴婴猴体内产生的抗体却不具保护作用^[33], 这或许与 T 细胞是否被激活及 T 细胞激活后是否能够承接后续 B 细胞免疫反应有关。临床研究发现, 与正常儿童相比, EV71 感染所致手足口病患者外周血中 T 细胞亚群失衡, 患儿体内 Th1/Th2 比率和 Th17/Treg 比率显著上升, 表明 EV71 感染已经扰乱了机体的免疫系统; 但手足口病中、重度患儿体内的 Th1/Th2 比率是无差异的, 这说明 Th1/Th2 的失衡可能触发手足口病的发生, 而 Th17/Treg 的失衡可能参与到 EV71 感染所致手足口病的疾病进程^[36]。对 EV71 和 CA16 感染的临床样品的检测中也发现 Th2 相关细胞因子在 EV71 感染的手足口病患者中显著上调, Th1 相关细胞因子在 CA16 感染的手足口病患者中显著上调, 这也说明 EV71 与 CA16 感染触发的免疫反应有显著的差异^[37]。研究发现, 滤泡辅助性 T 细胞 (follicular helper T cells, Tfh) 作为一种新的 CD4⁺ T 细胞亚群, 在抗体产生过程中发挥着重要作用, 其主要功能是辅助 B 细胞增殖、分化, 继而参与到抗体产生及体液免疫应答^[38]。Wu 等^[39] 研究发现, 在中、重度手足口病患者急性感染早期, 体内循环中 Tfh 细胞数量较正常人有显著性升高, 并伴随着血清中 IL-6、IL-21、Bcl-6 及中和抗体的升高, 且 Tfh 细胞数量与血清中的 IL-6、IL-21、Bcl-6 及中和抗体具有正相关性, 说明 Tfh 细胞及其相关的细胞因子在 EV71 感染所致的手足口病病理形成过程中可能起到重要的体液免疫调节作用。因此, 对于 EV71 与 CA16 感染时抗体产生过程的差异究竟是 DCs 在激活 T 细胞反应时出了障碍, 还是 Tfh 细胞辅助 B 细胞的过程出现了问题, 仍然需要进一步探索。

5 结语与展望

近年来, CA6 和 CA10 等也成为手足口病的重要致病原, 但是 EV71 与 CA16 作为主要病原体在手足口病流行中依旧占据主要地位^[40-42], 它们在机体内的感染过程、感染机制及其在机体中诱发的固有免疫和适应性免疫过程的差异性极有可能是该两种病毒可导致不同的临床症状及不同程度的手足口病的主要原因。因此, 深入研究 EV71 及 CA16 感染诱发的手足口病的特点及其感染所导致的免疫调节反应的差异, 可为手足口病临床治疗措施提供更充足的理论依据, 也可为研制广谱的手足口病疫苗或抗病毒药物提供新的策略。

[参 考 文 献]

- [1] Wu KX, Ng MM, Chu JJ. Developments towards antiviral therapies against enterovirus 71. *Drug Discov Today*, 2010, 15: 1041-51
- [2] Wang SM, Liu CC. Update of enterovirus 71 infection: epidemiology, pathogenesis and vaccine. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2014, 12: 447-56
- [3] Solomon T, Lewthwaite P, Perera D, et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71. *Lancet Infect Dis*, 2010, 10: 778-90
- [4] Schmidt NJ, Lennette EH, Ho HH. An apparently new enterovirus isolated from patients with disease of the central nervous system. *J Infect Dis*, 1974, 129: 304-9
- [5] Yi EJ, Shin YJ, Kim JH, et al. Enterovirus 71 infection and vaccines. *Clin Exp Vaccine Res*, 2017, 6: 4-14
- [6] Pourianfar HR, Grollo L. Development of antiviral agents toward enterovirus 71 infection. *J Microbiol Immunol Infect*, 2015, 48: 1-8
- [7] Yamayoshi S, Yamashita Y, Li J, et al. Scavenger receptor B2 is a cellular receptor for enterovirus 71. *Nat Med*, 2009, 15: 798-801
- [8] Nishimura Y, Shimojima M, Tano Y, et al. Human P-selectin glycoprotein ligand-1 is a functional receptor for enterovirus 71. *Nat Med*, 2009: 794-7
- [9] Yang SL, Chou YT, Wu CN, et al. Annexin II binds to capsid protein VP1 of enterovirus 71 and enhances viral infectivity. *J Virol*, 2011, 85: 11809-20
- [10] Tan CW, Poh CL, Sam IC, et al. Enterovirus 71 uses cell surface heparan sulfate glycosaminoglycan as an attachment receptor. *J Virol*, 2013, 87: 611-20
- [11] Yang B, Chuang H, Yang KD. Sialylated glycans as receptor and inhibitor of enterovirus 71 infection to DLD-1 intestinal cells. *Virol J*, 2009, 6: 141
- [12] Ren XX, Ma L, Liu QW, et al. The molecule of DC-SIGN captures enterovirus 71 and confers dendritic cell-mediated viral trans-infection. *Virol J*, 2014, 11: 47
- [13] Mao Q, Wang Y, Yao X, et al. Coxsackievirus A16: epidemiology, diagnosis, and vaccine. *Hum Vaccin Immunother*, 2014, 10: 360-7
- [14] Nassef C, Ziemer C, Morrell DS. Hand-foot-and-mouth disease: a new look at a classic viral rash. *Curr Opin Pediatr*, 2015, 27: 486-91
- [15] Zhao YY, Jin H, Zhang XF, et al. Case-fatality of hand, foot and mouth disease associated with EV71: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiol Infect*, 2015, 143: 3094-102
- [16] Huang PN, Shih SR. Update on enterovirus 71 infection. *Curr Opin Virol*, 2014, 5: 98-104
- [17] Aswathyraj S, Arunkumar G, Alidjinou EK, et al. Hand, foot and mouth disease (HFMD): emerging epidemiology and the need for a vaccine strategy. *Med Microbiol Immunol*, 2016, 205: 397-407
- [18] Li R, Liu L, Mo Z, et al. An inactivated enterovirus 71 vaccine in healthy children. *N Engl J Med*, 2014, 370: 829-37
- [19] Ku Z, Liu Q, Ye X, et al. A virus-like particle based bivalent vaccine confers dual protection against enterovirus 71 and coxsackievirus A16 infections in mice. *Vaccine*, 2014, 32: 4296-303
- [20] Zhao H, Li HY, Han JF, et al. Novel recombinant chimeric virus-like particle is immunogenic and protective against both enterovirus 71 and coxsackievirus A16 in mice. *Sci Rep*, 2015, 5: 7878
- [21] Yang L, Liu Y, Li S, et al. A novel inactivated enterovirus 71 vaccine can elicit cross-protective immunity against coxsackievirus A16 in mice. *Vaccine*, 2016, 34: 5938-45
- [22] Sun L, Wen H, Wang Z. Research into the pathogenicity of enterovirus 71. *Chn J Virol*, 2015, 31: 192-6
- [23] Huang HI, Weng KF, Shih SR. Viral and host factors that contribute to pathogenicity of enterovirus 71. *Future Microbiol*, 2012, 7: 467-79
- [24] Chen N, Xia P, Li S, et al. RNA sensors of the innate immune system and their detection of pathogens. *IUBMB Life*, 2017: 69: 297-304
- [25] Zhang W, Zhang L, Wu Z, et al. Differential interferon pathway gene expression patterns in rhabdomyosarcoma cells during Enterovirus 71 or Coxsackievirus A16 infection. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 447: 550-5
- [26] Pathinayake PS, Hsu AC, Wark PA. Innate immunity and immune evasion by enterovirus 71. *Viruses*, 2015, 7: 6613-30
- [27] Wang B, Xi X, Lei X, et al. Enterovirus 71 protease 2Apro targets MAVS to inhibit anti-viral type I interferon responses. *PLoS Pathog*, 2013, 9: e1003231
- [28] Lei X, Liu X, Ma Y, et al. The 3C protein of enterovirus 71 inhibits retinoid acid-inducible gene I-mediated interferon regulatory factor 3 activation and type I interferon responses. *J Virol*, 2010, 84: 8051-61
- [29] Fu Y, Zhang L, Zhang F, et al. Exosome-mediated miR-146a transfer suppresses type I interferon response and facilitates EV71 infection. *PLoS Pathog*, 2017, 13: e1006611
- [30] Luo Z, Ge M, Chen J, et al. HRS plays an important role for TLR7 signaling to orchestrate inflammation and innate immunity upon EV71 infection. *PLoS Pathog*, 2017, 13:

- e1006585
- [31] 宋杰, 胡雅洁, 李嘉祺, 等. EV71和CA16感染正常人呼吸道上皮细胞诱导差异性IFN-I产生通路相关基因表达的研究. *病毒学报*, 2016, 32: 694-701
- [32] 胡雅洁, 宋杰, 汤贝贝, 等. EV71与CA16感染恒河猴CD1c⁺DC诱导IFN-I产生途径及Th细胞分化相关分子的比较. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2017, 37: 34-41
- [33] Wang J, Qi S, Zhang X, et al. Coxsackievirus A 16 infection does not interfere with the specific immune response induced by an enterovirus 71 inactivated vaccine in rhesus monkeys. *Vaccine*, 2014, 32: 4436-42
- [34] Zhang Y, Yang E, Pu J, et al. The gene expression profile of peripheral blood mononuclear cells from EV71-infected rhesus infants and the significance in viral pathogenesis. *PLoS One*, 2014, 9: e83766
- [35] Song J, Hu Y, Hu Y, et al. Global gene expression analysis of peripheral blood mononuclear cells in rhesus monkey infants with CA16 infection-induced HFMD. *Virus Res*, 2016, 214: 1-10
- [36] Li S, Cai C, Feng J, et al. Peripheral T lymphocyte subset imbalances in children with enterovirus 71-induced hand, foot and mouth disease. *Virus Res*, 2014, 180: 84-91
- [37] Wang J, Pu J, Liu L, et al. Clinical and associated immunological manifestations of HFMD caused by different viral infections in children. *Glob Pediatr Health*, 2016, 3: 2333794X16643723
- [38] Zhang X, Ing S, Fraser A, et al. Follicular helper T cells: new insights into mechanisms of autoimmune diseases. *Ochsner J*, 2013, 13: 131-9
- [39] Wu J, Cui D, Yang X, et al. Increased frequency of circulating follicular helper T cells in children with hand, foot, and mouth disease caused by enterovirus 71 infection. *J Immunol Res*, 2014, 2014: 651872
- [40] Guan H, Wang J, Wang C, et al. Etiology of multiple non-EV71 and non-CVA16 enteroviruses associated with hand, foot and mouth disease in Jinan, China, 2009-June 2013. *PLoS One*, 2015, 10: e0142733
- [41] Lai FF, Yan Q, Ge SX, et al. Epidemiologic and etiologic characteristics of hand, foot, and mouth disease in Chongqing, China between 2010 and 2013. *J Med Virol*, 2016, 88: 408-16
- [42] Chen M, He S, Yan Q, et al. Severe hand, foot and mouth disease associated with Coxsackievirus A10 infections in Xiamen, China in 2015. *J Clin Virol*, 2017, 93: 20-4