

陈鑫,赵彬彬,武婧,等. 通过遗传多样性小鼠筛选 EV71 致病相关基因[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(6): 8-13,44.
Chen X, Zhao BB, Wu J, et al. Screening of EV71 pathogenicity-related genes using genetic diversity mice [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(6): 8-13,44.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.06.002

通过遗传多样性小鼠筛选 EV71 致病相关基因

陈鑫,赵彬彬,武婧,彭婉君,牛栋,韩云林,王欣佩,张伶俐,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,国家卫健委人类疾病比较医学重点实验室,新发再发传染病动物模型研究北京市重点实验室,北京市人类重大疾病实验动物模型工程技术研究中心,国家中医药管理局人类疾病动物模型三级实验室,北京 100021)

【摘要】 目的 通过遗传多样性小鼠资源(Genetic Diversity Mice Resources)筛选肠道病毒 71 型(Enterovirus 71,EV71)的致病相关基因,深入理解该病毒的致病机理,对临床诊断、治疗以及预后提供基础。**方法** 10^7 copies EV71 病毒经腹腔感染 4~6 周龄遗传多样性小鼠品系,收集血液和后肢骨骼肌样本,利用实时荧光定量 PCR 技术分析病毒载量,之后利用 The GeneMine 系统遗传学数据库分析感染数据,筛选获得 EV71 致病相关基因。**结果** 通过遗传多样性小鼠感染数据筛选到 53 个与 EV71 致病相关的基因。**结论** 遗传多样性小鼠在模拟人群基因多样性、研究复杂性状疾病等方面具有较大的优势,是筛选致病相关基因理想的动物新资源。

【关键词】 肠道病毒 71 型;致病相关基因;遗传多样性小鼠;手足口病

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 06-0008-06

Screening of EV71 pathogenicity-related genes using genetic diversity mice

CHEN Xin, ZHAO Binbin, WU Jing, PENG Wanjun, NIU Dong, HAN Yunlin, WANG Xinpei, ZHANG Lingyan, 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 Key Laboratory for Animal Models of Emerging and Reemerging Infectious; Beijing Engineering Research Center for Experimental Animal Models of Human Critical Diseases; Key Laboratory of Human Diseases Animal Model, State Administration of Traditional Chinese Medicine; Beijing 100021, China)

【Abstract】 Objective The aim of this study was to screen enterovirus 71 (EV71) pathogenicity-related genes using genetic diversity mice to further understand the pathogenesis of the EV71, and lay the foundation for clinical diagnosis, treatment and prognosis. **Methods** Four-to-six week old genetic diversity mice were challenged with 10^7 copies of enterovirus 71 by intraperitoneal injection. The blood and hind limb skeletal muscles were collected, and the viral load was determined by real-time quantitative PCR. Then, the GeneMine system genetic database was used to analyze the infection data, and EV71 pathogenicity-related genes were screened. **Results** Fifty-three genes related to EV71 infection were screened using genetic diversity mouse infection data. **Conclusions** Genetic diversity mice have significant advantages for simulating population genetic diversity and are a new resource to study complex trait diseases. Most importantly, they are an ideal and efficient resource for the screening of pathogenicity-related genes.

【Keywords】 Enterovirus 71; pathogenicity-related host genes; genetic diversity mice; hand, foot and mouth disease

[基金项目] 中国医学科学院创新工程(2016-12M-2-006;2017-12M-B&R-11); 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,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,博士,研究方向:肠道病毒的病原生物学及比较医学。E-mail: ljn_zh03038@126.com

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,肠道病毒 71 型(enterovirus 71, EV71)是引起 HFMD 的主要病原体之一。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^[1-2]。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^[3]。

目前手足口病致病相关基因的报道主要分为三类,病毒特异性受体类、宿主免疫反应类和宿主病理损伤类^[4]。但是,病毒特异性受体类中除 SCARB2 和 PSGL-1 较为明确以外,其它受体的相关研究较少。同样,宿主病理损伤类中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。目前应用于手足口病的动物模型主要是单一遗传背景的小鼠包括特定转基因、基因敲除的小鼠,以研究某一单一基因对该病的影响。然而大部分的疾病都是非单基因疾病,除了受外界环境因素的影响,一般受多遗传因素控制,而单一遗传背景的小鼠无法模拟多基因疾病。

2002 年国际复杂性状联盟(Complex Trait Consortium, CTC)的科学家们设计建立遗传多样性小鼠资源。通过对现有的小鼠近交品系进行进化关系的分析,科学家选出了 8 种小鼠品系作为遗传多样性小鼠的原始亲本(founder): A/J, C57BL/6 J, 129S1Sv/ImJ, NOD/ShiLtJ, NZO/H1LtJ, CAST/EiJ, PWK/PhJ 和 WSB/EiJ。其中前 5 个品系是实验室常用的纯系小鼠,后 3 个是野生型小鼠。它们的遗传物质的多样性基本可以覆盖小鼠整个物种,由于这 8 个品系的亲缘关系相对较远,可以保证遗传多样性小鼠品系遗传位点的分散性。遗传多样性小鼠与传统的单一背景的小鼠最大的差异是它们可以进行复杂数量性状位点的确认,用于复杂性状的研究^[5-7]。在本文中我们将通过遗传多样性小鼠资源,比对遗传多样性小鼠的系统遗传学数据库 The GeneMine^[8],筛选与 EV71 病毒敏感性及其疾病重症程度相关的基因簇,并将这些发现迅速应用于候选治疗方法和疫苗的开发,为以 EV71 为主要病原体的手足口病的预防、控制、治疗和预后提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

SPF 级 4~6 周龄 C57BL/6 小鼠 28 只,雌雄各半,体重 18~22 g,购自北京华阜康实验动物技术有限公司[SCXK(京)2014-0008];25 个品系的清洁级遗传多样性小鼠共计 140 只,雌雄各半,体重 9~25 g,4~6 周龄,由中国医学科学院医学实验动物研究所北方中心[SCXK(京)2014-0011]提供。实验在中国医学科学院医学实验动物研究所动物生物安全二级实验室(ABSL-2)进行。实验动物的使用坚持 3R 原则,并得到中国医学科学院医学实验动物研究所实验动物使用和管理委员会的批准(批准号: LJN18001)。动物在感染 3d 前进入 ABSL-2 适应环境。

感染实验所用病毒为本实验室利用 EV71 病毒 FY0805 病毒株所获得的小鼠传代适应株 MP10 (Accession number: HQ712020),储存病毒载量为 10^8 copies/mL。

1.2 主要试剂与仪器

普通 PCR 仪(PCR Master Cycler Gradient, Eppendorf, 德国);Nano-Zoomer S60 荧光切片扫描仪(日本);超低温冰箱(三洋,日本);低温高速离心机(BECKMAN, 美国),台式离心机(上海安亭离心机厂,中国);实时荧光定量 PCR 仪 Step One Plus (ABI, 美国);电子天平(上海民桥电子天平厂,中国)等。Trizol 试剂(Life Technologies, 美国);cDNA 反转录试剂盒(Thermo Scientific, 美国);实时荧光定量检测染料(Takara, 日本);10%福尔马林中性固定液(南昌雨露实验器材有限公司,中国);75%医用消毒酒精(北京贞玉民生药业有限公司,中国)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组

A 组:25 个品系遗传多样性小鼠(表 1),B 组: C57BL/6 感染对照组(Negative Control, NC),C 组: C57BL/6 空白对照组。每组动物 4~6 只。

1.3.2 动物感染和取材

用载量为 1.0×10^8 copies/mL 的 MP10 毒株每只 100 μ L 腹腔感染 A 组遗传多样性小鼠和 B 组 C57BL/6 小鼠,C 组小鼠注射同等剂量的 PBS 作对照。感染 3 d 后,内眦静脉丛处取血约每只 100 μ L 并置于 1 mL 的 Trizol 裂解液中用于后续核酸提取和病毒载量的检测,感染 5 d 后取血每只 100 μ L 并

表 1 动物组别表
Table 1 Animal groups

组别 Groups	品系名称 Strains	感染剂量 Infection dose
遗传多样性小鼠 Genetic diversity mice	FEW、PIPING、DAVIS、BOM、LAM、SEH、SAT、BEM、KAV、LOT、YID、TOFU、 LOD、NUK、POH、JUNIOR、BOON、FIM、LIV、GIG、PWK、NOD、A/J、C57BL/6、129s	100 μL EV71
感染对照组 Negative control	C57BL/6	100 μL EV71
空白对照组 Blank control	C57BL/6	100 μL PBS

置于 1 mL 的 Trizol 裂解液中,脱颈椎处死取双后肢骨骼肌,一份置于 Trizol 裂解液中用于提取核酸进行病毒载量的检测,另一份置于 10%福尔马林中性固定液中用于病理切片分析。

1.3.3 组织病毒载量检测

取约 50 mg 左右后肢骨骼肌置于 1 mL 的 Trizol 裂解液中,用一次性研磨棒研磨匀浆,提取肌肉组织全 RNA,然后用随机引物反转录获得 cDNA,最后用实时定量荧光 PCR 技术进行病毒载量的测定^[9-10]。

1.3.4 组织病理分析

后肢骨骼肌组织置于 10% 中性甲醛固定液中固定 72 h,修块,经梯度酒精脱水后并进行石蜡包埋,切片厚度为 5 μm,进行 HE 染色,染色完成后在显微镜下观察组织病变情况。

2 结果

2.1 血液和组织病毒载量分析

本研究中共有 25 个不同品系的遗传多样性小鼠用于检测感染 EV71 病毒 3 天后血液中的病毒载量,其中有 7 个品系小鼠的血液病毒载量在 10⁴ copies/μL 以上,相较于阴性对照组小鼠,更易被 EV71 病毒感染,归为易感小鼠品系,分别是 FEW、DAVIS、BOM、LAM、POH、LIV、PWK。其它病毒载量在 10⁴ copies/μL 以下的品系,与阴性对照组相比差异不显著,归为不易感小鼠品系结果见图 1 A。而在感染第 5 天,除 PWK 品系小鼠血液中依然维持较高的病毒水平外,其余品系血液中的病毒下降至较低水平(见图 1B)。此外,由于 EV71 病毒属于神经性病毒,可引起小鼠四肢麻痹瘫痪,为此研究人员检测了小鼠后肢骨骼肌病毒载量,发现在感染第 3 天,FEW、DAVIS、BOM、LAM 4 个品系小鼠的骨骼肌中病毒载量同样维持在 10⁴ copies/μL 以上,与血液中的水平一致(见图 1C)。但在感染第 5 天,该 7 个品系骨骼肌中的病毒均下降至较低水平(见图 1D)。

综上所述,遗传多样性小鼠在感染 EV71 病毒后表现出明显的差异性,7 个品系(FEW、DAVIS、BOM、LAM、POH、LIV、PWK)具有更强的易感性,可建立非基因修饰的易感小鼠模型。此外,由于 EV71 病毒属于儿童手足口病病原体之一,只能在儿童中致病,在成人中不具致病性,成人只携带病毒但不发病,这与成年人完善成熟的免疫系统有关,该现象在小鼠中同样适用。因此虽然 EV71 感染遗传多样性小鼠后在第 3 天大量增殖,但 4~6 周龄小鼠免疫系统已经发育成熟,病毒在第 5 天时便很快被小鼠体内免疫系统清除。

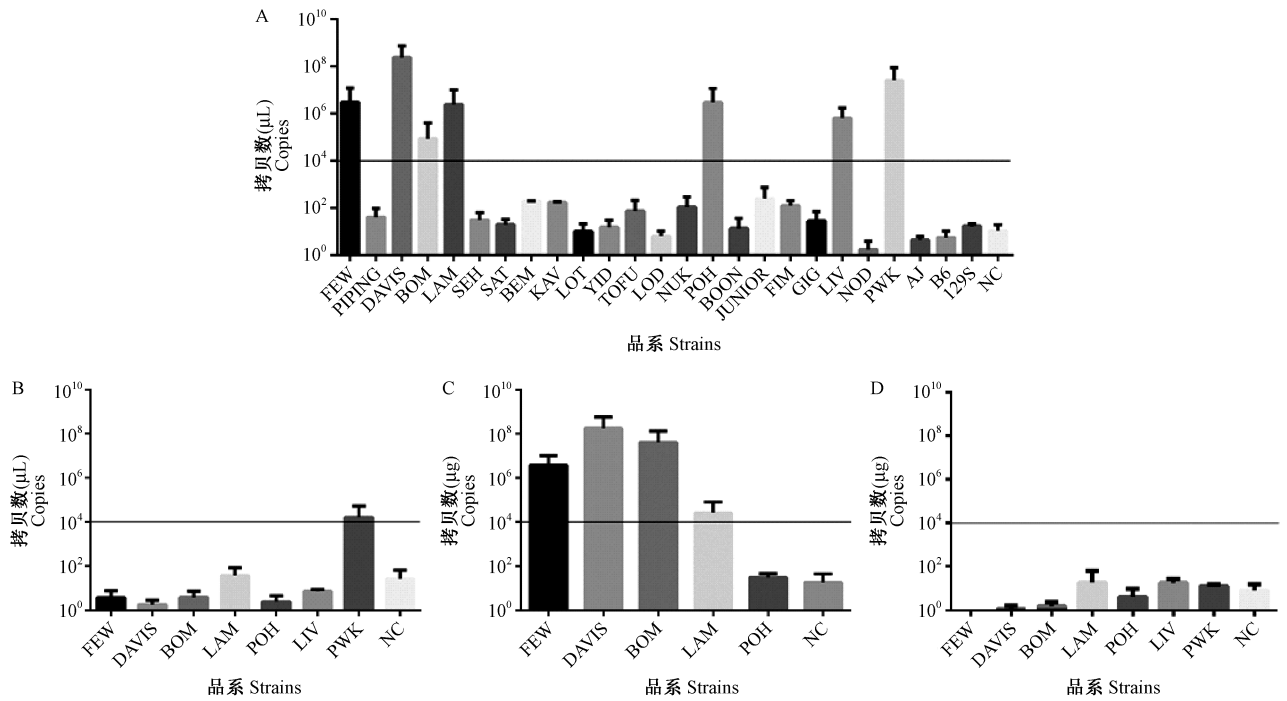
2.2 感染小鼠的组织病理变化

通过组织病理分析,发现 EV71 易感的遗传多样性小鼠感染 3 天后,后肢骨骼肌会出现明显的病理性损伤,主要表现为骨骼肌细胞萎缩或变性、间质炎细胞浸润或间质水肿、肌细胞坏死等。图 2A 为易感品系 POH 小鼠感染 EV71 后出现局灶性肌细胞变性坏死、炎细胞浸润。而不易感品系和阴性对照的病理性损伤明显较弱。图 2B 为 EV71 不易感品系 SAT 感染 EV71 后出现肌肉间质少量炎细胞浸润。图 2C 为空白对照组小鼠 C57BL/6 品系正常肌肉细胞。

由此可见,EV71 易感品系在感染 EV71 后表现出更为严重的病理损伤,但是由于成年小鼠具有完善的免疫系统,可以迅速将 EV71 病毒清除,因此病理损伤程度弱于乳鼠的损伤情况,也未观察到明显的临床症状。

2.3 利用 The GeneMine 筛选 EV71 致病相关基因

The GeneMine (<http://130.95.9.22/Geniad2/>) 是一个专门用于遗传多样性小鼠复杂性状研究的系统遗传学数据库,可以分析表型与基因型之间的关系。将上述感染小鼠 3 d 血液中的病毒载量数据输入 The GeneMine 中,系统自动计算分析输入的数据,并给出分析结果。图 3A 为 EV71 致病相关基因

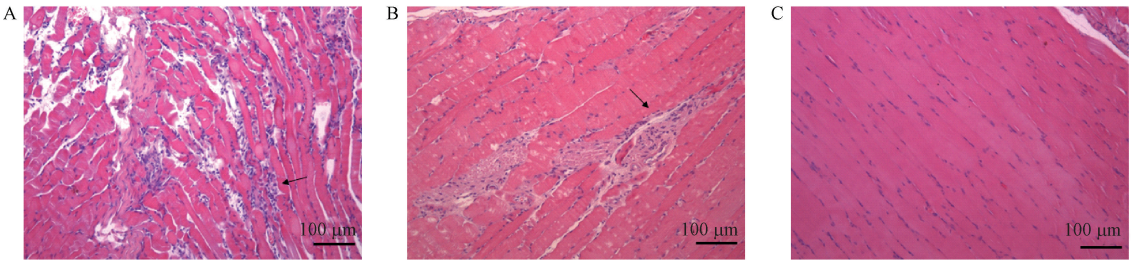


注：A:25 个品系感染 EV71 后 3 天血液病毒载量。B:7 个易感品系感染 EV71 后 5 天后血液病毒载量。C:5 个易感品系感染 EV71 后 3 天肌肉病毒载量。D:7 个易感品系感染 EV71 后 5 天后肌肉病毒载量。NC:阴性对照。

图 1 遗传多样性小鼠不同品系血液和肌肉的病毒载量

Note. A; Blood viral load of 25 strains 3 days after challenged with EV71. B; Blood viral load of 7 strains 5 days after challenged with EV71. C; Muscle viral load of 5 strains 3 days after challenged with EV71. D; Muscle viral load of 5 strains 5 days after challenged with EV71. NC; Negative control.

Figure 1 Viral load of blood and muscle of different strains of the genetic diversity mice



注：A:易感遗传多样性小鼠 POH 品系骨骼肌；B:不易感遗传多样性小鼠 SAT 品系骨骼肌；C:空白对照组 C57BL /6 品系骨骼肌。

图 2 遗传多样性小鼠肌肉组织病理改变

Note. A, Skeletal muscle of susceptible genetic diversity mouse POH strain; B, Skeletal muscle of less susceptible genetic diversity mouse SAT strain; C, Skeletal muscle of blank control group C57BL /6 strain.

Figure 2 Pathological changes in the muscle of genetic diversity mice

在小鼠 20 对染色体上的分布峰图,如图所示,发现在 3 号、5 号、10 号、11 号、15 号、16 号、19 号染色体均有显著峰值,其中 LOD 值为 P 值得对数值,LOD 值越大,统计学差异越大,由图可知 11 号染色体附近峰值最为突出,推测与 EV71 感染引起手足口病的主效应基因主要集中在 11 号染色体上。图 3B 是 11 号染色体峰值附近放大后的图示,可以发现该峰值较宽,包含了约 6 Mbp 的核苷酸序列,与 EV71 致

病相关的基因就分布在该段核苷酸序列内。图 3C 显示的是该核苷酸序列区域的基因与 8 个亲本之间的相关性,正值代表正相关,负值代表负相关,数值越大相关性越大。从图中可以发现主效应基因与亲本 CAST /EiJ 相关性最大,与亲本 WSB /EiJ 相关性最小。

由此可知,The GeneMine 系统遗传学数据库可快速高效地分析表型与基因型之间的关系,在本研

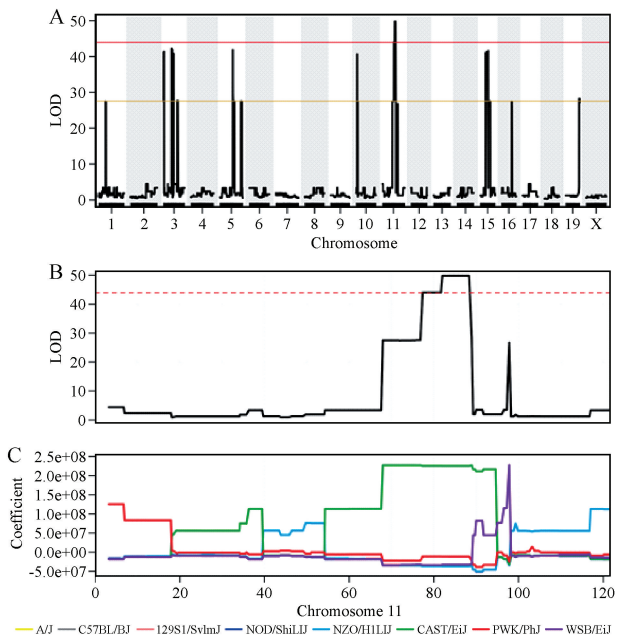


图3 The GeneMine MugaQTL 遗传分析图
Figure 3 The GeneMine MugaQTL genetic analysis

究中也即感染 EV71 小鼠 3 d 血液病毒载量与 EV71 易感基因之间的关系,并获得与 EV71 易感相关的候选基因,为后续建立基因敲除小鼠,验证这些候选基因与 EV71 致病性的关联工作提供基础。

2.4 EV71 致病相关基因分析

利用 The GeneMine 数据库计算分析,获得了 66 个 EV71 致病相关候选基因。通过进一步筛查发现有 13 个是目前没有研究的基因,删除这些基因后,最终确定了 53 个 EV71 致病相关候选基因。按照生物学功能对这 53 个基因进行分类,可分为免疫相关类、代谢相关类、肿瘤相关类、复制转录相关类和其它类(见表 2)。同时,对这五类基因在所有候选基因中所占比例进行做图(见图 4)。其中免疫相关类所占比例为 28.30%,癌症相关类和复制转录相

关类占比相等,均为 16.98%,代谢相关类占比为 15.09%,其它类占比为 22.64%。从图 4 我们发现这五类基因所占比例相差不大,其中免疫相关类占比最高,提示在 EV71 易感性方面,宿主免疫反应是很重要的影响因素之一,应该着重关注。

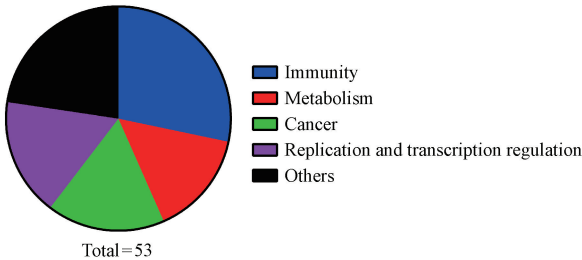


图4 各类 EV71 致病相关候选基因占比
Figure 4 Proportion of candidate genes related to EV71

3 讨论

遗传多样性小鼠资源提供了一个独特的平台,在复杂性状的研究领域具有很大优势。遗传多样性小鼠资源不仅可以用于复杂数量性状位点的确认,得到的遗传多样性小鼠自身的特点有很大的差异,表现为不同疾病的易感性差异。例如 Rogala 等^[11]发现,遗传多样性小鼠中的 CC011/Unc 品系,表现为自发结肠炎,是新型的自发结肠炎动物模型。此外,具有遗传多样性小鼠在疾病的发生发展过程中能够体现临床表现的个体差异性,比如通过遗传多样性小鼠建立埃博拉疾病模型,研究者在遗传多样性小鼠中成功筛选到易感品系和抵抗品系,并且易感品系出现明显的体重下降以及出血热症状包括长期凝血、内出血、咖啡色血液、脾肿大、肝变色和质地软化等,最终死于致命感染^[12]。因此,遗传多样性小鼠的繁育和发展可以为人类多种疾

表 2 53 个 EV71 致病相关候选基因
Table 2 53 candidate genes related to EV71 pathogenicity

类别 Category	基因名称 Gene name
免疫相关类 Immune related genes	<i>Slfn5</i> 、 <i>Slfn9</i> 、 <i>Slfn8</i> 、 <i>Slfn1</i> 、 <i>Slfn4</i> 、 <i>Slfn3</i> 、 <i>Slfn14</i> 、 <i>Mmp28</i> 、 <i>Ccl9</i> 、 <i>Ccl6</i> 、 <i>Ccl4</i> 、 <i>Gas2l2</i> 、 <i>Car4</i> 、 <i>Pthr2</i> 、 <i>Rnf43</i>
代谢相关类 Metabolic related genes	<i>Pex12</i> 、 <i>Acaca</i> 、 <i>Dhrs11</i> 、 <i>Pigw</i> 、 <i>Myo19</i> 、 <i>Med13</i> 、 <i>Mtmr4</i> 、 <i>Lpo</i>
癌症相关类 Cancer related genes	<i>Rffl</i> 、 <i>Nle1</i> 、 <i>Ggnbp2</i> 、 <i>Usp32</i> 、 <i>Ppm1d</i> 、 <i>Bcas3</i> 、 <i>Brip1</i> 、 <i>Cuedc1</i> 、 <i>Rad51</i> 、 <i>d</i>
复制转录调控类 Replication and transcription regulation related genes	<i>Zfp830</i> 、 <i>Lig3</i> 、 <i>Taf15</i> 、 <i>Ddx52</i> 、 <i>Synrg</i> 、 <i>Tada2a</i> 、 <i>Aatf</i> 、 <i>Tbx4</i> 、 <i>Hsf5</i>
其它类 Other genes	<i>Unc45b</i> 、 <i>Ints2</i> 、 <i>Tubd1</i> 、 <i>Cltc</i> 、 <i>Tex14</i> 、 <i>Sept4</i> 、 <i>Mpo</i> 、 <i>Mks1</i> 、 <i>Mrps23</i> 、 <i>Tmem132e</i> 、 <i>Epx</i> 、 <i>Mrm1</i>

病的研究提供适用的动物模型。

本研究利用遗传多样性小鼠资源丰富的遗传多样性、清晰的遗传背景和简单的实验设计步骤等优势,快速高效地筛选到 EV71 引起的手足口病致病相关的数量性状基因,利用 The GeneMine 数据库计算分析获得了 53 个 EV71 致病相关候选基因,按照生物学功能对这 53 个基因进行分类,分为免疫相关类、代谢相关类、肿瘤相关类、复制转录相关类和其它类。免疫相关类基因在 EV71 感染致病的过程中起重要作用,是未来建立基因敲除小鼠,做进一步验证实验重点关注的对象。特别是免疫相关类的干扰素调节蛋白基因 *Slfn*,其表达产物是干扰素调节蛋白(SLFN),SLFN 在调节 T 细胞的发育和活化中起重要作用^[13]。*Slfn* 家族成员包括 *Slfn5*, *Slfn1*, *Slfn8*, *Slfn9*, *Slfn14*, *Slfn3*, *Slfn4*, *Slfn14* 等,其中 *Slfn8* 基因和 *Slfn9* 基因参与调节 T 细胞在胸腺中的生长、发育、成熟和分化^[14],在宿主遭遇外界抗原刺激并经抗原提呈细胞表面特异性抗原肽及其他信号的共同刺激时,成为效应和记忆性 T 细胞,参与适应性免疫应答和免疫记忆的维持。此外, *Ccl* 基因表达的 CCL 又称为巨噬细胞炎症蛋白(MIP),其家族成员有 CCL3, CCL4, CCL9 / 10 和 CCL15,主要由巨噬细胞、树突状细胞和淋巴细胞产生。MIP-1 蛋白可通过与 G 蛋白偶联的细胞表面受体(CCR1, 3, 5)起作用,起趋化和促炎的作用,但也可促进同源性稳态。其中的 *Ccl9* 基可诱导 CD4⁺T 细胞克隆和脾脏中 CD4⁺T 细胞的趋化性和 Ca²⁺ 离子流^[15]。发现的 53 个 EV71 致病相关基因中,其中有 15 个是与免疫相关的基因,占比 28.30%,在几类基因中所占比例最高,由此推测,免疫反应类相关基因在手足口病致病过程中具有重要意义。因此,研究人员下一步的工作将挑选免疫相关类候选基因做基因敲除小鼠,验证该基因在 EV71 感染致病性中的确切作用。

此外,研究人员还发现了手足口病易感小鼠,遗传多样性小鼠在感染 EV71 病毒后表现出明显的差异性,其中有 7 个品系分别是 FEW、DAVIS、BOM、LAM、POH、LIV、PWK 对 EV71 病毒具有易感性,突出表现在感染 3 d 后血液病毒载量高,后肢骨骼肌出现明显病理损伤等,与阴性对照组具有明显的统计学差异。易感小鼠的发现将有助于建立非基因修饰的易感小鼠模型。

综上所述,本研究筛选到了 EV71 引起的手足口病致病相关的数量性状基因,也发现了易感小鼠品系。一方面扩展了手足口疾病动物模型,另一方面也有助于更深的了解病毒与宿主相互作用的关系,有助于发现手足口病疾病的发病机制及疾病转归。但是,相关实验仍需进一步补充完善,候选致病基因的验证工作是必要的,下一步我们将建立基因敲除小鼠,验证候选致病基因的功能。

参考文献:

- [1] Chumakov M, Voroshilova M, Shindarov L, et al. Enterovirus 71 isolated from cases of epidemic poliomyelitis-like disease in Bulgaria [J]. Arch Virol, 1979, 60(3-4):329-340.
- [2] Wang SM, Lei HY, Huang KJ, et al. Pathogenesis of enterovirus 71 brainstem encephalitis in pediatric patients: roles of cytokines and cellular immune activation in patients with pulmonary edema [J]. J Infect Dis, 2003, 188(4):564-570.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] Chesler EJ, Miller DR, Branstetter LR, et al. The collaborative cross at Oak Ridge National Laboratory: developing a powerful resource for systems genetics [J]. Mamm Genome, 2008, 19(6):382-389.
- [6] 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.
- [7] Ram R, Mehta M, Balmer L, et al. Rapid identification of major-effect genes using the collaborative cross [J]. Genetics, 2014, 198(1):75-86.
- [8] 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.
- [9] Zhang Y, Tan XJ, Wang HY, et al. An outbreak of hand, foot, and mouth disease associated with subgenotype C4 of human enterovirus 71 in Shandong, China [J]. J Clin Virol, 2009, 44(4):262-267.
- [10] Yang CF, De L, Yang SJ, et al. Genotype-specific in vitro amplification of sequences of the wild type 3 polioviruses from Mexico and Guatemala [J]. Virus Res, 1992, 24(3):277-296.
- [11] Rogala AR, Morgan AP, Christensen AM, et al. The collaborative cross as a resource for modeling human disease: CC011/Unc, a new mouse model for spontaneous colitis [J]. Mamm Genome, 2014, 25(3-4):95-108.