

# 肠道病毒 71 型致病机制及免疫反应研究进展

施梅言, 陆彩霞, 代解杰

(中国医学科学院/北京协和医学院医学生物学研究所树鼩种质资源中心, 昆明 650118)

**[摘要]** 肠道病毒 71 型 (enterovirus 71, EV71) 主要经由胃肠道或呼吸道传染人类, 是引起手足口病的主要病原体之一, 还能导致神经系统性疾病, 如神经源性肺水肿, 甚至死亡, 严重威胁婴幼儿生命安全。虽然 EV71 的全病毒灭活疫苗已经上市, 但其感染导致的并发症的致病机制及免疫反应尚未完全明确。本文对 EV71 的致病机制、免疫应答及免疫原性方面的动物实验研究进展进行综述, 为深入研究 EV71 提供理论支持。

**[关键词]** 肠道病毒 71 型; 致病机制; 动物实验; 免疫反应

**[中图分类号]** Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2020)05-0449-07

肠道病毒 71 型 (enterovirus 71, EV71) 是单股正链小 RNA 病毒, 无包膜, 属于肠道病毒科肠道病毒属, 是正二十面体颗粒。EV71 核酸长约 7.4 kb, 两端分别为 5'-UTR 和 3'-UTR, 中间是单一的开放阅读框, 可编码多聚蛋白; 而多聚蛋白可被宿主和病毒蛋白酶水解, 可产生 4 个病毒衣壳结构蛋白 VP1~VP4 和 7 个非结构蛋白 (2A~2C, 3A~3D), 其中 VP1、VP2、VP3 暴露于病毒衣壳的外侧, VP4 包埋于内侧, 抗原决定簇基本位于 VP1~VP3<sup>[1]</sup>。EV71 是引起手足口病 (hand, foot and mouth disease, HFMD) 的主要病原体之一。HFMD 主要发生在 5 岁以下儿童<sup>[2]</sup>, 可通过呼吸道、消化道和密切接触传播。EV71 感染引起的 HFMD, 除了手足口症状外, 还能导致神经系统疾病, 如神经源性肺水肿、脑干

脑炎、无菌性脑膜炎、急性弛缓性麻痹等, 严重威胁儿童的生命健康安全<sup>[3]</sup>。我国自 1981 年在上海发现 HFMD 以后, 北京、河北等十几个省均有报道, 香港地区 1987 年发生过 EV71 流行; 1998 年我国台湾省发生 EV71 引起的感染疾病和疱疹性咽颊炎暴发流行, 在 6 月和 10 月两波流行中, 共监测到 129 106 例, 其中重症患者 405 例, 死亡 78 例, 死亡病例大多为 5 岁以下的儿童<sup>[4]</sup>。自 2008 年开始 HFMD 发病率呈逐年上升趋势, 2013~2014 年增长速度最快, 达到 70.03/10 万<sup>[5]</sup>。然而, 目前关于 EV71 如何入侵神经系统的致病机制尚不明确。本文就 EV71 的致病机制及免疫反应研究进展进行综述, 为今后 EV71 重症患者的救治和疫苗及药物的研发提供理论依据。

## 1 致病机制

EV71 入侵人体后, 若机体未产生足够抗体清除病毒, 病毒随血液循环导致第一次病毒血症。若机体免疫力差, EV71 入侵淋巴结、肝、脾、骨髓等靶器官, 经血液循环, 引发严重病变, 临床表现为脊髓灰质炎、脑炎、无菌性脑膜炎、神经源性肺水肿、急性弛缓性麻痹或心肌炎等<sup>[6-7]</sup>, 其中以脑组织病变最为严重, 提示 EV71 可能由血脑屏障进入神经系统, 或通过周

**[收稿日期]** 2020-03-23

**[基金项目]** 云南省科技人才和平台计划 (2017HC019, 2018HB071); 云南省高层次卫生健康技术人才培养项目 (D-2018026); 昆明市科技计划项目 (2019-1-R24483)

**[作者简介]** 施梅言 (1994—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 病原生物学。E-mail: 1758651731@qq.com

**[通信作者]** 代解杰 (1961—), 男, 博士生导师, 研究方向: 人类疾病动物模型建立及相关研究。

E-mail: dj@imbcams.com.cn

围神经的轴突由逆向轴浆的方式进入。重症 HFMD 患者病情发展迅猛, 甚至导致死亡。有研究表明, 部分成人感染 EV71 后可通过接触传播将病毒传染给儿童使其致病<sup>[8]</sup>。

### 1.1 EV71 感染对神经系统的致病机制

目前 HFMD 动物模型主要包括 BALB/c 小鼠模型、ICR 小鼠模型、免疫缺陷小鼠模型、中缅树鼩模型及猕猴模型等。Caine 等<sup>[9]</sup>成功建立了免疫缺陷小鼠模型, 并通过腹腔注射途径感染时小鼠出现神经系统病变, 表现为肢体瘫痪和死亡, 在其肠道和中枢神经系统中均能检测到病毒蛋白。EV71 感染的重症患者中, 发现脑组织病变最为严重。李军等<sup>[10]</sup>通过 EV71 感染小鼠模型发现, EV71 存在中枢神经系统的病变部位, 提示 EV71 可直接造成中枢神经系统 (CNS) 损伤。Lin 等<sup>[11]</sup>通过对 EV71 感染死亡患儿的尸解发现, 脑膜表面有中性粒细胞浸润, 脑实质有大范围中性粒细胞, 神经元细胞坏死, 脑干和脊髓严重受累。郝博等<sup>[12]</sup>通过尸检在感染者 CNS 中发现 EV71 及炎症存在。Khong 等<sup>[13]</sup>通过口服途径感染小鼠时, 缺乏外源性抗体的 AG129 小鼠出现肢体瘫痪和死亡, 肠道感染和口腔感染的中枢神经系统均检测到病毒蛋白。Liou 等<sup>[14]</sup>通过 EV71 感染杂交小鼠时出现了肢体瘫痪, 但在肌肉中没有检测到病毒 RNA 或蛋白质, 仅在中脑和脊髓等中枢神经系统中显示出高密度的病毒蛋白, 这表明瘫痪仅仅是由中枢神经系统损伤引起的, 而不是肌炎和肌肉破坏。有学者<sup>[15-16]</sup>推测 EV71 侵入机体后可能通过逆向轴突运输途径累及 CNS, 这可能与 EV71 具有嗜神经性及病毒衣壳蛋白有关。Fu 等<sup>[17]</sup>通过小鼠实验也证实, 神经通路的逆行轴突运输可能是 EV71 累及 CNS 的主要方式。病毒感染后激发机体免疫反应, 释放多种细胞因子, 形成“风暴”引起全身炎症反应, 导致多脏器功能衰竭。患者的 CD4、CD8、T 细胞和自然杀伤 (NK) 细胞耗竭。在脑干脑炎患儿中, 神经系统炎症反应伴有白细胞介素 10 (IL-10)、IL-13 和干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 产生以及淋巴细胞损耗, 导致机体的免疫功能下降, 病情加重。因此, 对 EV71 致病机制的深入探索有利于重症患者的治疗。

### 1.2 EV71 感染对神经源性肺水肿的致病机制

Dong 等<sup>[18]</sup>通过静脉、呼吸道途径感染 3~3.5 岁猕猴, 成功建立了 EV71 猕猴模型, 均能引起中枢神经、呼吸系统明显的病理改变, 表现为肺气肿、肺出血、神经元损伤和炎性细胞浸润等特点。神经源性肺水肿是 HFMD 患儿死亡的主要原因之一, 神经源性肺水肿的发生是一个复杂的病理生理过程, 主要与 CNS 损伤后神经因素、体液因素、生物活性因子等有关。动物实验和病理检查发现, EV71 感染的肺组织表现为肺部充血水肿并伴有局灶性出血, 并且从中未分离到 EV71 病原体, 另外心脏组织病理检查无明显炎症改变, 结合肺水肿发生过程中伴有神经性尿潴留、肠麻痹、多汗、失眠和心动过速等自主神经功能失调表现, 推测 EV71 感染后的肺水肿是神经源性<sup>[19]</sup>。王文广等<sup>[20]</sup>采用滴鼻、灌胃等途径感染中缅树鼩, 成功制备了 HFMD 模型并出现与人类相似的症状, 如心、肺、肠、脾和肾等部位出现组织变性坏死、水肿、炎性细胞浸润等病理改变。杨坤等<sup>[21]</sup>研究认为, EV71 感染后所致神经源性肺水肿的发病机制可能是 EV71 入侵 CNS 后并发脑干脑炎, 造成视丘下部和延髓孤束核功能紊乱, 机体的应激反应导致交感神经兴奋, 血中儿茶酚胺 (肾上腺素、去甲肾上腺素等) 含量显著增高, 进而全身血管收缩, 血流动力学急剧变化, 动脉血压急剧增高, 体循环内大量血液进入肺循环; 一方面肺毛细血管床有效滤过压急剧增高, 大量体液滞留在肺组织间隙, 从而形成肺水肿; 另一方面血流冲击造成血管内皮细胞损伤, 同时体内血管活性物质 (如组织胺和缓激肽等) 大量释放, 使血管通透性增加, 大量血浆蛋白外渗, 导致急性肺水肿进一步加重。

Liao 等<sup>[22]</sup>发现用 EV71 感染小鼠时, 会产生一些炎症因子, 如 IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$ 。Chen 等<sup>[23]</sup>研究发现, EV71 重症患者中被感染的免疫细胞可使促炎因子大量释放, 而促炎因子也与肺水肿有关。人类树突状细胞会在病毒感染的条件下释放促炎因子 IL-6、IL-12 和肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )<sup>[24]</sup>, 也可诱使人类 T 细胞、巨噬细胞和人类单核细胞产生促炎因子, 如 TNF $\alpha$  和巨噬细胞迁移抑制因子<sup>[25]</sup>。Jin 等<sup>[26]</sup>建立了 EV71 感染的

小鼠模型,发现EV71感染后,小鼠的大脑、肺和骨骼肌中均可见肥大细胞的积累、激活和过敏性炎症,在小鼠的肺中IL-4、IL-5、IL-13和TNF $\alpha$ 水平升高。细胞因子“风暴”的发生对机体的免疫耐受产生严重的影响,也是引起EV71重症患者死亡的重要原因。EV71入侵机体后,首先破坏脑中中具有特定功能的调节结构,引发神经功能紊乱,最终导致神经源性肺水肿的发生。因此,对重症患者的细胞因子水平进行严密监测,有助于患者治疗,进一步降低EV71的致死率。

## 2 EV71感染引起的固有免疫反应

固有免疫是机体抵御病毒入侵的第一道防线,病毒入侵后,会被模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRR)如Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)、维甲酸诱导的基因I样受体[retinoid acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptors, RLR]识别,激活固有免疫系统,使其产生促细胞因子和I型干扰素,对病毒进行抵御和清除。Lei等<sup>[27]</sup>研究发现,当EV71重症感染时,I型干扰素缺失,而其他细胞因子水平异常增高,这表明固有免疫反应失衡。Khong等<sup>[13]</sup>发现,免疫缺陷的AG129小鼠缺乏I型和II型干扰素受体时,可通过腹腔注射和口服途径感染非小鼠适应的EV71,受感染的小鼠在死亡前表现出肢体瘫痪。越来越多的病毒感染致病机制研究表明,机体的固有免疫应答具有抵抗病毒感染的能力,是通过活化PRR通路,产生干扰素,PRR(包括TLR和RIG-I)通过识别不同途径的病毒核酸,招募特异接头蛋白,激活一系列信号级联反应,引发I型干扰素和促炎因子的产生。研究表明,IFN- $\alpha$ 的表达能显著降低EV71的感染率。

固有免疫的调控需要免疫细胞的参与,包括吞噬细胞、NK细胞、自然杀伤T(NKT)细胞、 $\gamma\delta$ T细胞和B1细胞等。在EV71重症患者的血清和脑脊液中能够检测到包括IL-6、IL-10、IL-13、TNF $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-8等在內的大量炎症因子和趋化因子的异常增高<sup>[28-32]</sup>。TLR和RLR通过对病原相关分子模式(pathogen-associated

molecular patterns, PAMP)的识别,触发下游固有免疫,激活相关信号通路,主要包括丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、核转录因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)、TANK结合蛋白激酶1-干扰素调节因子3信号通路和激活蛋白1(activator protein 1, AP-1)信号通路<sup>[33]</sup>。EV71感染时,在激酶活化下,TAK1结合蛋白1(TAK1-binding protein 1, TAB1)能够使I $\kappa$ B激酶(I $\kappa$ B kinase, IKK)复合物磷酸化,最后激活NF- $\kappa$ B和AP-1,两者均可调控前炎症因子的基因转录过程<sup>[34]</sup>,同时产生IL-6、IL-8和IL-1 $\beta$ 及相关炎症因子,抵御EV71感染。研究表明,当EV71入侵时,TLR3通过招募干扰素诱导型含TIR结构域的接头分子(TRIF),经泛素化激活下游信号转化生长因子活化激酶1(TAK1),继而使IKK $\alpha$ 、IKK $\beta$ 磷酸化,最终活化NF- $\kappa$ B,从而介导MyD88非依赖性信号通路<sup>[35]</sup>,诱导细胞因子及干扰素的表达,从而抑制EV71的复制。

Meng等<sup>[36]</sup>研究发现,在EV71轻症、重症感染患者和健康对照人群的外周血单核细胞(PBMC)中,有8 541个长链非编码RNA(lncRNA)发生差异表达变化,其中大量lncRNA与固有免疫和炎症反应密切相关,提示lncRNA在EV71感染固有免疫调控过程中也可能扮演重要角色。研究EV71感染与其触发的固有免疫反应之间的相互作用机制,寻找EV71致病过程中关键的宿主分子或病毒蛋白等作为靶标,对疫苗和药物的研发有积极的推动作用。近年来研究取得了一定的进展,如Liao等<sup>[37]</sup>采用小鼠适应EV71株(MP4)感染的7日龄ICR小鼠模型,探讨二甲胺四环素治疗EV71感染的抗炎抗病毒作用,发现二甲胺四环素降低了细胞病理效应(CPEs)、病毒蛋白表达、病毒滴度、IL-6和IL-8的水平,证明二甲胺四环素在感染和炎症神经系统疾病模型中具有抗炎和免疫调节特性;另有研究<sup>[38]</sup>发现,以NF- $\kappa$ B通路为作用靶点可以抑制EV71的复制。近年来,随着EV71感染固有免疫反应调控研究的不断深入,人们对免疫调控有了更深入的认识,为今后深入研究EV71感染引起的固有免疫反应提供了新思路。

### 3 EV71 感染引起的适应性免疫

病毒入侵机体后,可诱发机体产生适应性免疫,包括T细胞介导的细胞免疫与B细胞介导的体液免疫,主要依靠特异性T细胞活化发挥免疫效应,以及依靠B细胞产生特异性的抗体发挥免疫效应,达到清除病毒的目的。有研究发现,在感染前或感染后对小鼠注射一种EV71特异性中和抗体,可以在B细胞缺乏的C57BL/6来源小鼠中显著降低小鼠致死率和组织中的病毒载量<sup>[11]</sup>。T细胞膜表面有100多种特异性抗原,两群辅助性T细胞(Th)克隆均能诱导抗原提呈细胞(APC)表达主要组织相容性复合体(MHC)II类抗原,Th1通过IFN- $\gamma$ 诱导巨噬细胞(macrophages, M $\phi$ )表达Ia抗原,而Th2通过IL-4对M $\phi$ 和B细胞Ia抗原表达起正调节作用,对抗病毒免疫应答进行调节<sup>[39]</sup>。细胞毒性T细胞表面表达CD8,这类细胞可以通过MHC I类抗原直接结合识别内源性抗原,对靶细胞产生直接杀伤作用,进行病毒清除。

刘莉等<sup>[40]</sup>研究表明,感染EV71可通过凋亡引起NK细胞、CD3<sup>+</sup>T细胞等淋巴细胞减少,对机体免疫反应产生抑制作用。B细胞不仅表达MHC I类抗原,而且表达较高密度的MHC II类抗原,B细胞表面的MHC II类抗原在B细胞与T细胞相互协作时起重要作用,此外,还参与B细胞作为辅佐细胞的抗原提呈作用。B细胞表面的CD40与T细胞表面的CD40L交联,能诱导B细胞免疫应答,促进细胞因子释放。Johnson等<sup>[41]</sup>研究表明,缺乏IFN的AG129小鼠,也能产生有效的体液和细胞免疫。据报道,滤泡辅助性T细胞(一种新的CD4<sup>+</sup>T细胞亚群Tfh),在抗体产生过程中发挥着重要的作用,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<sup>[42]</sup>。有研究表明,Th1向Th2细胞转变,从而产生免疫抑制效果,同时也是促进HFMD发展的重要机制之一<sup>[43]</sup>。Imura等<sup>[44]</sup>发现,用甲醛溶液灭活的EV71皮下接种免疫成年转基因小鼠,该疫苗在免疫小鼠中诱导了足够水平的中和抗体,大多数免疫小鼠存活,无临床症状或组织病理学损伤,免疫小鼠的病毒复制明显

低于未免疫小鼠。总之,固有免疫和适应性免疫在EV71感染过程中被激活时,二者通过协同作用对病毒进行清除,两者密不可分,互相影响。

### 4 免疫原性

预防性疫苗的研发是控制EV71感染引起HFMD最有效的方法,目前中国医学科学院医学生物研究所(IMBCAMS)和北京科兴生物制品有限公司(Inovac)研发的EV71灭活疫苗已经实现量产。免疫原性研究疫苗的种类包括灭活疫苗、杆状病毒表达的病毒样颗粒(VLP)疫苗和大肠埃希菌表达的VP1亚单位疫苗,评价模型一般选择小鼠、猕猴等动物。

EV71灭活疫苗通常选择毒力较高的毒株作为疫苗候选株,具有良好的免疫原性及遗传稳定性,并在动物实验中具有交叉保护作用。EV71疫苗原液的免疫原性要显著低于铝佐剂疫苗<sup>[45]</sup>,目前进入临床的灭活疫苗均使用铝作为疫苗佐剂。Bek等<sup>[46]</sup>对用C4a亚型毒株制备的2种灭活疫苗进行小鼠攻毒保护研究,结果显示,小鼠接种2种疫苗3~5周后均产生高滴度的IgG抗体以及针对C4和B3亚型毒株的中和抗体。此外,小鼠可抵御B3亚型EV71攻击病毒株(MP-26M)的攻击。但部分中和抗体滴度较低的母鼠产生的子代乳鼠也可在攻毒后得以存活,故认为除中和抗体外,体液免疫应答的调节功能在动物保护中也可能发挥了重要作用。Chou等<sup>[47]</sup>用甲醛溶液灭活的EV71毒株免疫小鼠可引起高水平的病毒特异性抗体,具有交叉中和活性,并保护免疫的宿主对抗病毒EV71在小鼠模型中的致死性攻击。

EV71灭活疫苗在动物实验中具有良好的免疫原性,为临床试验阶段的研究提供了重要的依据。通过杆状病毒表达系统表达的VLP可诱导小鼠产生体液免疫和细胞免疫,对小鼠有一定的保护能力,但是还缺乏VLP交叉保护的研究<sup>[48]</sup>。Foo等<sup>[49]</sup>通过研究EV71的T细胞和B细胞表位,并成功从VP1中鉴定出3个表位,且实验结果证实这3个表位均可以促进CD4<sup>+</sup>T细胞的分化,产生大量的IL-2和IFN- $\gamma$ 。Lin等<sup>[50]</sup>应用制备的VLP疫苗免疫猕猴,结果显示,VLP疫苗和EV71灭活病毒均可诱生大量的抗EV71抗体,且均可诱

导 T 细胞和 B 细胞应答,但 VLP 疫苗诱导的中和抗体滴度低于 EV71 灭活病毒组,可能是 VLP 中 VP1 的构象与天然病毒有差异。虽然猕猴对 EV71 疫苗产生抗体反应,与在人类身上观察到的类似,但是它们不适合研究神经毒力和肺水肿并发症,并且它们的使用受到伦理和经济的限制<sup>[51]</sup>。VP1 是中和表位的主要聚集区,具有作为抗病毒亚单位疫苗的潜力,动物实验结果表明此类重组 VP1 亚单位疫苗具有一定的免疫原性<sup>[52-55]</sup>,且大肠埃希菌中表达的 VP1 蛋白融合完全佐剂能在小鼠体内诱导中和和抗体效应,增强辅助 T 细胞增殖,诱导产生高水平的 IL-10 和 IFN- $\gamma$ ,对小鼠有一定保护作用。Liu 等<sup>[56]</sup>研究发现,用 EV71 截短肽生成的候选融合蛋白疫苗免疫可以保护小鼠免受致命性 EV71 的感染。以上研究为 HFMD 安全性疫苗的研发奠定了基础。

## 5 展望

近年来,关于 EV71 致病机制及免疫反应方面的研究已经取得了一定进展。这些研究从 EV71 逃逸干扰素反应、EV71 抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路、EV71 与天然免疫细胞相互作用等方面对 EV71 与宿主固有免疫系统之间的关系进行了深入剖析。同时, EV71 的免疫调控过程也受到宿主 RNA 表达谱的影响;部分研究还揭示了 EV71 致病过程中关键的宿主分子或病毒蛋白等靶标,这对疫苗和药物的研发有积极推动作用。

虽然目前对 EV71 的研究已经取得了很大进展,但 EV71 感染重症患者的免疫失衡机制以及致弛缓神经系统麻痹机制等问题未完全阐明。展望未来,今后关于 EV71 的研究热点和方向主要是 EV71 的致病机制及其与宿主细胞的免疫反应机制,对这些问题的阐释有助于为 EV71 重症患者有效药物的研发提供理论基础。

### 参考文献:

- [1] McMinn PC. An overview of the evolution of enterovirus 71 and its clinical and public health significance [J]. FEMS Microbiol Rev, 2002, 26(1):91-107.
- [2] 白江涛,许少坚,任燕,等. 2015—2016 年深圳市龙华区手口病流行病学和病原学特征[J]. 中华疾病控制杂志, 2017, 21(7):732-736.
- [3] Huang CC, Liu CC, Chang YC, et al. Neurologic complications in children with enterovirus 71 infection[J]. N Engl J Med, 1999, 341(13):936-942.
- [4] Liu CC, Tseng HW, Wang SM, et al. An outbreak of enterovirus 71 infection in Taiwan, 1998: Epidemiologic and clinical manifestations[J]. J Clin Virol, 2000, 17(1): 23-30.
- [5] 李鹏,葛淼,王聪霞,等. 2008—2014 年中国大陆手足口病的时空变化规律[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2018, 38(3):380-385.
- [6] Sun L, Wen H, Wang Z. Research into the pathogenicity of enterovirus 71[J]. Bing Du Xue Bao, 2015, 31(2):192-196.
- [7] Ong KC, Wong KT. Understanding enterovirus 71 neuropathogenesis and its impact on other neurotropic enteroviruses[J]. Brain Pathol, 2015, 25(5):614-624.
- [8] Yang Q, Ding J, Cao J, et al. Epidemiological and etiological characteristics of hand, foot, and mouth disease in Wuhan, China from 2012 to 2013: Outbreaks of coxsackieviruses A10[J]. Med Virol, 2015, 87(6):954-960.
- [9] Caine EA, Partidos CD, Santangelo JD, et al. Adaptation of enterovirus 71 to adult interferon deficient mice[J]. PLoS One, 2013, 8:e59501.
- [10] 李军,姜琴,孟红,等. 肠道病毒 71 型感染后组织病理改变实验研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2013, 28(7):540-542.
- [11] Lin YW, Chang KC, Kao CM, et al. Lymphocyte and antibody responses reduce enterovirus EV71 lethality in mice by decreasing tissue viral loads[J]. J Virol, 2009, 83(13):6477-6183.
- [12] 郝博,高迪,汤大为,等. 肠道病毒 71 型在脑干脑炎婴幼儿脑干中的分布及感染机制[J]. 法医学杂志, 2012, 28(2):85-88, 91.
- [13] Khong WX, Yan B, Yeo H, et al. A non-mouse-adapted enterovirus 71 (EV71) strain exhibits neurotropism, causing neurological manifestations in a novel mouse model of EV71 infection[J]. J Virol, 2012, 86(4):2121-2131.
- [14] Liou AT, Wu SY, Liao CC, et al. A new animal model containing human SCARB2 and lacking stat-1 is highly susceptible to EV71[J]. Sci Rep, 2016, 6:31151.
- [15] Teng S, Wei Y, Zhao SY, et al. Intestinal detoxification time of hand-foot-and-mouth disease in children with EV71 infection and the related factors [J]. World J Pediatr, 2015, 11(4):380-385.
- [16] Wong KT, Munisamy B, Ong KC, et al. The distribution of inflammation and virus in human enterovirus 71 encephalomyelitis suggests possible viral spread by neural pathways [J]. Neuropathol Exp Neurol, 2008, 67(2):162-

- 169.
- [17] Fu YC, Chi CS, Lin NN, et al. Comparison of heart failure in children with enterovirus 71 rhombencephalitis and cats with norepi-nephine cardiotoxicity[J]. *Pediatr Cardiol*, 2006, 27(5):577-584.
- [18] Dong CH, Wang JJ, Liu LD, et al. Optimized development of a candidate strain of inactivated EV71 vaccine and analysis of its immunogenicity in rhesus monkeys[J]. *Hum Vaccin*, 2010, 6(12):1028-1037.
- [19] 何颜霞, 付丹. EV71 感染相关神经源性肺水肿和心肺衰竭[J]. *临床儿科杂志*, 2008, 26(12):1087-1090.
- [20] 王文广, 黄晓燕, 徐娟, 等. EV71 可感染幼龄中缅树鼩[J]. *动物学研究*, 2012, 33(1):7-13.
- [21] 杨坤, 赵东赤. EV71 感染致重症手足 E1 病的研究进展[J]. *国际儿科学杂志*, 2010, 37(2):199-202.
- [22] Liao CC, Liou AT, Chang YS, et al. Immunodeficient mouse models with different disease profiles by *in vivo* infection with the same clinical isolate of enterovirus 71[J]. *J Virol*, 2014, 88(21):12485-12499.
- [23] Chen CS, Yao YC, Lin SC, et al. Retrograde axonal transport: a major transmission route of enterovirus 71 in mice[J]. *J Virol*, 2007, 81(17):8996-9003.
- [24] Chen LC, Yeh TM. Enterovirus 71 infection of human immune cells induces the production of proinflammatory cytokines [J]. *J Biomed Lab Sci*, 2009, 21: 82-90.
- [25] Lin YW, Wang SW, Tung YY, et al. Enterovirus 71 infection of human dendritic cells[J]. *Exp Biol Med*, 2009, 234:1166-1173.
- [26] Jin Y, Zhang C, Wang H, et al. Mast cells contribute to Enterovirus 71 infection-induced pulmonary edema in neonatal mice[J]. *Lab Invest*, 2018, 98(8):1039-1051.
- [27] Lei X, Cui S, Zhao Z, et al. Etiology, pathogenesis, antivirals and vaccines of hand, foot, and mouth disease[J]. *Natl Sci Rev*, 2015, 2(3):268-284.
- [28] Wang SM, Lei HY, Yu CK, et al. Acute chemokine response in the blood and cerebrospinal fluid of children with enterovirus 71 associated brainstem encephalitis[J]. *J Infect Dis*, 2008, 198(7):1002-1006.
- [29] Zhang Y, Liu H, Wang L, et al. Comparative study of the cytokine/chemokine response in children with differing disease severity in enterovirus 71-induced hand, foot and mouth disease[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6):e67430.
- [30] Chen Z, Li R, Xie Z, et al. IL-6, IL-10 and IL-13 are associated with pathogenesis in children with Enterovirus 71 infection [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(9):2718-2723.
- [31] Han J, Wang Y, Gan X, et al. Serum cytokine profiles of children with human enterovirus 71 associated hand, foot and mouth disease[J]. *J Med Virol*, 2014, 86(8):1377-1385.
- [32] Lee JY, Son M, Kang JH, et al. Serum interleukin-6 levels as an indicator of aseptic meningitis among children with enterovirus 71 induced hand, foot and mouth disease[J]. *Postgrad Med*, 2018, 130(2):258-263.
- [33] Cao X. Self-regulation and cross-regulation of pattern-recognition receptor signalling in health and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(1):35-50.
- [34] 尹卫国, 肖建华. IRAK 家族在 TLR 介导的信号通路中的功能和意义[J]. *中南医学科学杂志*, 2012(2):109-115.
- [35] Choi YJ, Im E, Pothoulakis C, et al. TRIF modulates TLR5 dependent responses by inducing proteolytic degradation of TLR5 [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(28):21382-21390.
- [36] Meng J, Yao Z, He Y, et al. Long non-coding RNA expression profiles in different severity EV71-infected hand foot and mouth disease patients[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 493(4):1594-1600.
- [37] Liao YT, Wang SM, Chen SH. Anti-inflammatory and antiviral effects of minocycline in enterovirus 71 infections [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118:1-10.
- [38] Chen D, Tian X, Zou X, et al. Harmine, a small molecule derived from natural sources inhibits enterovirus 71 replication by targeting NF- $\kappa$ B pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 60:111-120.
- [39] 饶翠琼. 水溶性维生素在利巴韦林治疗小儿手足口病中的疗效 [J]. *临床医学工程*, 2012, 19(11):1913-1914.
- [40] 刘莉, 李青, 冯淑琴, 等. 静注人免疫球蛋白治疗手足口病合并脑炎患儿的疗效观察[J]. *中国全科医学*, 2012, 15 (30):3516-3518.
- [41] Johnson AJ, Roehrig JT. New mouse model for dengue virus vaccine testing[J]. *J Virol*, 1999, 73(1):783-786.
- [42] Zhang X, Ing S, Fraser A, et al. Follicular helper T cells: New insights into mechanisms of autoimmune diseases[J]. *Ochsner J*, 2013, 13(1):131-139.
- [43] 刘威龙, 吴伟刚, 陈圆圆, 等. 基于枯草芽孢杆菌系统制备的 EV71 VP1 重组抗原诱导小鼠免疫应答的研究[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2013, 27(6):410-412.
- [44] Imura A, Sudaka Y, Takashino A, et al. Development of an enterovirus 71 vaccine efficacy test using human scavenger receptor B2 transgenic mice[J]. *Virology*, 2020, 94(6):1-14.
- [45] 王一平, 李政颖, 高帆, 等. 氢氧化铝佐剂对肠道病毒 71 型灭活疫苗诱导小鼠细胞免疫应答的影响[J]. *中国生物制品学杂志*, 2012, 25(8):939-942.
- [46] Bek EJ, Hussain KM, Phuektes P, et al. Formalin-inactivated vaccine provokes cross-protective immunity in a mouse model of human enterovirus 71 infection [J]. *Vaccine*, 2011, 29(29/30):4829-4838.
- [47] Chou AH, Liu CC, Chang JY, et al. Formalin-Inactivated

- EV71 vaccine candidate induced cross-neutralizing antibody against subgenotypes B1, B4, B5 and C4A in adult volunteers[J]. PLoS One, 2013, 8(11):e79783.
- [48] Chung YC, Ho MS, Wu JC, et al. Immunization with virus-like particles of enterovirus 71 elicits potent immune responses and protects mice against lethal challenge[J]. Vaccine, 2008, 26(15):1855-1862.
- [49] Foo DG, Alinso S, Phoon MC, et al. Identification of neutralizing linear epitopes from the VP1 capsid protein of enterovirus 71 using synthetic peptides[J]. Virus Res, 2007, 125(1):61-68.
- [50] Lin YL, Yu CI, Hu YC, et al. Enterovirus type 71 neutralizing antibodies in the serum of macaque monkeys immunized with EV71 virus-like particles[J]. Vaccine, 2012, 30(7): 1305-1312.
- [51] Wang YF, Yu CK. Animal models of enterovirus 71 infection: applications and limitations[J]. J Biomed Sci, 2014, 21(1):31-41.
- [52] Chen HF, Chang MH, Chiang BL, et al. Oral immunization of mice using transgenic tomato fruit expressing VP1 protein from enterovirus 71[J]. Vaccine, 2006, 24 (15):2944-2951.
- [53] Premanand B, Prabakaran M, Kiener TK, et al. Recombinant baculovirus associated with bilosomes as an oral vaccine candidate against EV71 infection in mice[J]. PLoS One, 2013, 8(2):e55536.
- [54] Wang M, Jiang S, Wang Y. Recombinant VP1 protein expressed in *Pichia pastoris* induces protective immune responses against EV71 in mice[J]. Biophys Res Commun, 2013, 430(1):387-393.
- [55] Zhang J, Dong M, Jiang B. et al. Antigenic characteristics of the complete and truncated capsidproteins VP1 of enterovirus 71[J]. Virus Res, 2012, 167(2):337-342.
- [56] Liu J, Zhao B, Xue L, et al. Immunization with a fusion protein vaccine candidate generated from truncated peptides of human enterovirus 71 protects mice from lethal enterovirus 71 infections[J]. Virol J, 2020, 17(1):1-9.

## Progress in Pathogenesis and Immune Response of Enterovirus 71

SHI Meiyang, LU Caixia, DAI Jiejie

(Tree Shrew Germplasm Resource Center, Institute of Medical Biology,  
Chinese Academy of Medicine Sciences & Peking Union Medical College, Kunming 650118, China)

Correspondence to: DAI Jiejie, dj@imbcams.com.cn

**[Abstract]** Enterovirus 71 (EV71) mainly infects humans through the gastrointestinal or respiratory tracts, which is one of the main pathogens of hand, foot and mouth disease. It can also cause neurological diseases such as neurogenic pulmonary edema and even death, threatening the safety of infants and young children. Although the whole-virus inactivated vaccine of EV71 has been marketed, the pathogenesis and immune response of complications caused by its infection have not been fully clarified. This article reviews the pathogenesis, immune response and immunogenicity response of EV71, which will pave the way for further research on EV71.

**[Key words]** Enterovirus 71; Pathogenesis; Animal experiment; Immune response