

• 论 著 •

肠道病毒 71 型手足口病患儿血清 miR-494、miR-155 的表达及其临床意义*

徐祝富, 丁宝发, 吴彬彬, 王晓玲, 高改宏
江苏省海安市中医院儿科, 江苏海安 226600

摘要:目的 探讨肠道病毒 71 型手足口病(EV71-HFMD)患儿血清微小 RNA(miR)-494、miR-155 的表达,并分析血清 miR-494、miR-155 对 EV71-HFMD 的临床意义。方法 选取 2021 年 5 月至 2023 年 5 月该院收治的 145 例 EV71-HFMD 患儿,根据病情严重程度分为轻症组($n=81$)及重症组($n=64$)。另选取同期 73 例于该院体检健康的儿童纳入健康组,检测并比较 3 组血清 miR-494、miR-155 水平及辅助性 T 细胞 17 (Th17)、调节性 T 细胞(Treg)及 Th17/Treg。采用 Pearson 相关分析血清 miR-494、miR-155 表达水平与 Th17、Treg 及 Th17/Treg 的相关性。收集 EV71-HFMD 患儿的临床资料,采用多因素 Logistic 回归模型分析 EV71-HFMD 严重程度的影响因素。结果 与健康组比较,轻症组及重症组血清 miR-494、miR-155、Th17 及 Th17/Treg 均升高, Treg 水平降低($P<0.05$),与轻症组比较,重症组血清 miR-494、miR-155、Th17 及 Th17/Treg 均升高($P<0.05$), Treg 水平降低($P<0.05$); Pearson 相关性分析显示, Th17 及 Th17/Treg 与血清 miR-494、miR-155 表达水平呈正相关($P<0.05$), Treg 与血清 miR-494、miR-155 表达水平呈负相关($P<0.05$);重症组体温峰值、发热时间 ≥ 3 d 占比、咽峡部出疹均高于轻症组($P<0.05$);多因素 Logistic 回归结果显示,发热时间 ≥ 3 d 占比、咽峡部出疹占比、miR-494 高表达及 miR-155 高表达是重症 EV71-HFMD 的危险因素($P<0.05$)。结论 血清 miR-494、miR-155 在 EV71-HFMD 患儿中异常升高,二者水平变化与 Th17/Treg 失衡密切相关。血清 miR-494、miR-155 水平升高是影响重症 EV71-HFMD 的危险因素。

关键词:肠道病毒 71 型; 手足口病; 微小 RNA-494; 微小 RNA-155; Th17/Treg 失衡; 严重程度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.02.010 **中图法分类号:**R446.5;R725.1

文章编号:1673-4130(2025)02-0180-06 **文献标志码:**A

Relationship between serum miR-494, miR-155 expression and Th1/Th2 cytokines and severity in children with Enterovirus 71 hand-foot-mouth disease*

XU Zhufu, DING Baofa, WU Binbin, WANG Xiaoling, GAO Gaihong

Department of Pediatrics, Hai'an Traditional Chinese Medicine Hospital of Jiangsu Province, Hai'an, Jiangsu 226600, China

Abstract: Objective To investigate the expression of serum microRNA (miR)-494 and miR-155 in children with Enterovirus type 71 hand-foot-mouth disease (EV71-HFMD), and to analyze the clinical significance of serum miR-494 and miR-155 in EV71-HFMD. **Methods** A total of 145 children with EV71-HFMD treated in this hospital from May 2021 to May 2023 were selected. According to the severity of the disease, they were divided into mild group ($n=81$) and severe group ($n=64$). In addition, 73 healthy and disease-free children in the hospital were included in the health group. Serum expression levels of miR-494 and miR-155 as well as helper T cell 17 (Th17), regulatory T cell (Treg) and Th17/Treg in the three groups were detected and compared. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between the expression levels of serum miR-494, miR-155, Th17 and Treg, as well as Th17/Treg. The clinical data of children with EV71-HFMD were collected, and the factors influencing the severity of EV71-HFMD were analyzed by multivariate Logistic regression model. **Results** Compared with healthy group, serum miR-494, miR-155, Th17 and Th17/Treg in mild and severe groups were increased, and Treg were decreased ($P<0.05$). Compared with mild group, serum miR-494, miR-155, Th17 and Th17/Treg in severe group were increased, and Treg was decreased ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that Th17 and Th17/Treg were positively correlated with the expression levels of serum miR-494 and miR-155, while Treg was negatively correlated with the expression lev-

* 基金项目:江苏省卫生健康委医学科立项项目(20210266)。

作者简介:徐祝富,男,副主任医师,主要从事儿科疾病诊疗及研究。

els of serum miR-494 and miR-155 ($P < 0.05$). The peak temperature, duration of fever ≥ 3 d proportion and eruption of isthmus in severe group were higher than those in mild group ($P < 0.05$). Multivariate Logistic regression results showed that the duration of fever ≥ 3 d, eruption in the isthmus, the high expression level of miR-494 and the high expression level of miR-155 were risk factors for severe EV71-HFMD ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum miR-494 and miR-155 are abnormally elevated in children with EV71-HFMD, and the changes in their levels are closely related to Th17/Treg imbalance. Increased expression levels of serum miR-494 and miR-155 are risk factors for severe EV71-HFMD.

Key words: Enterovirus 71; hand-foot-mouth disease; microRNA-494; microRNA-155; Th17/Treg imbalance; severity

手足口病(HFMD)是由肠道病毒引起的一种常见急性传染病,多发生于5岁以下儿童^[1]。肠道病毒71(EV71)型是HFMD常见的病原体,在HFMD病原体中占比高达63.8%,感染后可导致病情发展迅速,致使HFMD病情向重症进展,危及患儿健康,预后较差^[2]。因此,探寻可早期识别重症EV71-HFMD的相关预测指标对于延缓EV71-HFMD患儿病情进展意义重大。

EV71-HFMD的感染机制复杂,有学者认为EV71-HFMD的病情进展与机体免疫功能紊乱有关^[3]。微小RNA(miRNA)是一类小分子非编码单链RNA,已有报道证实,miRNA可通过调控蛋白的表达,在HFMD的发生与发展中发挥了重要的调节作用^[4]。有研究发现,miR-494能够调控组织中巨噬细胞参与的经典炎症信号通路,调节机体免疫稳态,在炎症性肠病中发挥重要作用,可作为炎症性肠病诊断和治疗的靶点^[5]。miR-155可参与调节细胞增殖、分化等多种生物学行为,参与病毒性疾病的发生与发展^[6]。研究表明,辅助性T细胞17(Th17)与调节性T细胞(Treg)均在机体免疫功能调节中发挥关键作用^[7],Th17/Treg失衡参与EV71-HFMD的病情进展^[8]。目前关于miR-155、miR-494与Th17、Treg细胞及其与EV71-HFMD患儿严重程度的研究较少。本研究拟探讨患儿血清miR-494、miR-155在EV71-HFMD中的临床价值,为临床治疗提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2021年5月至2023年5月本院收治的145例EV71-HFMD患儿作为EV71-HFMD组,其中89例合并呼吸道感染,21例支原体阳性,30例EB病毒阳性。纳入标准:(1)符合《手足口病诊疗指南(2018年版)》^[9]中HFMD的诊断标准;(2)EV-A71核酸检测阳性;(3)临床资料完整;(4)均为首次发病;(5)HFMD发病至入院时间 ≤ 48 h。排除标准:(1)患有其他传染性疾病;(2)患有血液系统疾病;(3)患有免疫系统疾病;(4)合并其他出疹性疾病;(5)近期注射过大剂量的维生素D制剂;(6)患有凝血功能障碍;(7)患有精神类疾病;(8)存在心、肝、肾功能不全;(9)患有呼吸系统疾病。另同期选取73例健康体检儿童纳入健康组,EV71-HFMD患儿与健

康儿童性别、年龄、体重等一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。所有参与儿童家属均签署知情同意书。本研究已通过本院医学伦理委员会审批(伦理批号:LLSC2021-32)。

表1 EV71-HFMD患儿与健康儿童临床资料比较
[n(%)或 $\bar{x} \pm s$]

组别	n	性别		年龄(岁)	体重(kg)
		男	女		
EV71-HFMD组	145	86(59.31)	59(40.69)	3.21 \pm 0.95	3.26 \pm 1.04
健康组	73	39(53.42)	34(46.58)	3.35 \pm 1.24	3.39 \pm 1.16
χ^2/t			0.688	0.924	0.838
P			0.407	0.356	0.403

1.2 方法

1.2.1 血清 miR-494、miR-15 表达水平检测 EV71-HFMD患儿入院确诊后(健康儿童体检时)采集外周静脉血液样本3 mL,室温环境下进行离心(3 500 r/min,10 min),分离上层血清用于检测miR-494、miR-155水平。采用TRIzol试剂盒提取总RNA,检测RNA浓度及纯度后,采用逆转录试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)经逆转录得到cDNA,按照荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)试剂盒(美国赛默飞公司)设定循环参数:95 $^{\circ}$ C,30 s,60 $^{\circ}$ C,15 s,72 $^{\circ}$ C,10 s,共循环40次。以U6为内参,按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算血清miR-494、miR-155表达水平。引物由赫澎(上海)生物科技有限公司设计合成,引物序列见表2。

表2 引物序列

基因	引物序列
miR-494	正向:5'-TGAAGCCTGAATGGCTTCGT-3'
	反向:5'-GTTAAGCGACTGTATGTGAG-3'
miR-155	正向:5'-GATCACTCTAGTGCCATTC-3'
	反向:5'-AGCAGCTAGACCATGTACTG-3'
U6	正向:5'-TTGGAGCCGCATACACGAA-3'
	反向:5'-AGCACCTTGCACATGGATA-3'

1.2.2 Th17、Treg 细胞比例检测 EV71-HFMD患儿入院确诊后(健康儿童体检时)取全血样本2份,抗

凝剂为乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂),采用流式细胞仪检测 Th17、Treg 细胞。

Th17 细胞:标记试管后取 250 μL 全血样本,并向全血中依次加入 CD3-PC 抗体 5 μL 及 CD8-FITC 抗体 5 μL,混匀后室温孵育 30 min,用破膜稀释液破膜后弃去上清液,加入白细胞介素(IL)-17-PE 抗体 10 μL,静置 30 min 后再次破膜,弃去上清液。加入磷酸盐缓冲液(PBS)清洗液 400 μL,混匀后上机,检测 Th17 细胞(CD3⁺CD8⁺IL-17⁺细胞)。

Treg 细胞:标记试管后取 100 μL 全血样本,并向全血中依次加入 CD4-FITC 20 μL 及 CD25-APC 25 μL(以 PC5-IgG2 为对照),混匀后孵育 30 min,采用破膜稀释液破膜后弃去上清液,加入 Foxp3-PE 抗体 5 μL,静置 30 min 后再次破膜,弃去上清液;加入 PBS 400 μL,混匀后上机,检测 Treg(CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺细胞)。

1.2.3 临床资料收集 收集患儿的临床资料,包括性别、年龄、病程、体温峰值、发热时间(≥3 d、<3 d)、居住地(城市、农村)、是否母乳喂养、合并症(呼吸道感染、支原体阳性、EB 病毒阳性)、典型皮疹、出疹类型(斑疹、疱疹、丘疹)、出疹部位(手、足、口、臀、颊部及咽峡部出疹)、C 反应蛋白(CRP, ≥10 mg/L、<10 mg/L)、降钙素原(PCT, ≥0.05 μg/L、<0.05 μg/L)等情况。

1.2.4 分组方法 参考《手足口病诊疗指南(2018 年版)》^[9],根据 EV71-HFMD 患儿病情严重程度分为轻症组(81 例)、重症组(64 例)。重症病例纳入标准:

(1)持续高热且退热效果不佳;(2)呼吸加快或减慢,节律不齐(呼吸频率 > 30~40 次/分);(3)出现头疼、精神萎靡、呕吐、四肢发抖、无力等神经系统表现;(4)循环功能障碍;(5)白细胞计数 > 15 × 10⁹/L;(6)空腹血糖 > 8.3 mmol/L;(7)血乳酸 > 2.0 mmol/L。出现上述 1 项及以上症状的患儿可纳入重症组,其余患儿纳入轻症组。

1.3 统计学处理 采用 SPSS26.0 软件分析数据,符合正态性分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本比较采用 *t* 检验或校正 *t* 检验,多样本比较采用单因素方差分析和 LSD-*t* 检验;计数资料用例数及百分率[*n*(%)]表示,组间比较采用 χ^2 检验或校正 χ^2 检验。采用 Pearson 检验分析血清 miR-494、miR-155 与 Th17/Treg 失衡的相关性。多因素 Logistic 回归模型分析 EV71-HFMD 严重程度的危险因素。检验水准 $\alpha=0.05$,均为双侧检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组 miR-494、miR-155 表达水平及 Th17、Treg、Th17/Treg 比较 145 例患儿中,病情严重程度为重症的患儿有 64 例,纳入重症组,其余 81 例患儿均纳入轻症组。与健康组比较,轻症组及重症组血清 miR-494、miR-155、Th17 细胞及 Th17/Treg 均升高,Treg 细胞降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与轻症组比较,重症组血清 miR-494、miR-155、Th17 细胞及 Th17/Treg 均升高,Treg 水平降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 3 组 miR-494、miR-155 表达水平及 Th17、Treg、Th17/Treg 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-494	miR-155	Th17 细胞(%)	Treg 细胞(%)	Th17/Treg
健康组	73	1.12 ± 0.32	0.96 ± 0.21	2.24 ± 0.74	6.71 ± 1.13	0.33 ± 0.09
轻症组	81	2.09 ± 0.38 ^a	1.59 ± 0.38 ^a	4.48 ± 1.06 ^a	3.80 ± 0.65 ^a	1.18 ± 0.56 ^a
重症组	64	2.77 ± 0.51 ^{ab}	1.93 ± 0.43 ^{ab}	9.63 ± 1.59 ^{ab}	2.68 ± 0.48 ^{ab}	3.59 ± 0.63 ^{ab}
<i>F</i>		288.798	137.265	721.620	465.695	406.139
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与健康组比较,^a $P<0.05$;与轻症组比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 血清 miR-494、miR-155 表达水平与 Th17、Treg 及 Th17/Treg 的相关性 Pearson 相关性分析显示,Th17 及 Th17/Treg 与血清 miR-494、miR-155 表达水平呈正相关($P<0.05$),Treg 与血清 miR-494、miR-155 表达水平呈负相关($P<0.05$)。见表 4。

2.3 轻症组与重症组患儿临床资料比较 两组 EV71-HFMD 患儿在性别、年龄、病程、居住地(城市/农村)、是否母乳喂养、合并症(呼吸道感染、支原体阳性、EB 病毒阳性)、典型皮疹、出疹类型、出疹部位(手、足、口、臀、颊部及咽峡部出疹)、CRP ≥10 mg/L 及 PCT ≥0.05 μg/L 比较,差异无统计学意义($P>0.05$);重症组体温峰值、发热时间 ≥3 d 占比、咽峡部

出疹占比均高于轻症组($P<0.05$)。见表 5。

表 4 血清 miR-494、miR-155 表达水平与 Th17、Treg 及 Th17/Treg 的相关性

指标	miR-494		miR-155	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
Th17 细胞	0.561	<0.001	0.486	<0.001
Treg 细胞	-0.559	<0.001	-0.530	<0.001
Th17/Treg	0.595	<0.001	0.617	<0.001

2.4 多因素 Logistic 回归模型分析 EV71-HFMD 严重程度的影响因素 将发热时间及体温峰值、咽峡部出疹、miR-494 及 miR-155 作为自变量(赋值见表 6),

EV71-HFMD 严重程度为因变量(重症 = 1, 轻症 = 0), 纳入多因素 Logistic 回归方程分析, 结果显示, 发热时间 ≥ 3 d、咽峡部出疹、miR-494 高表达及 miR-155 高表达是重症 EV71-HFMD 的危险因素 ($P < 0.05$)。见表 6。

表 5 轻症组与重症组患儿临床资料比较 [$\bar{x} \pm s$ 或 $n(\%)$]

因素	轻症组 ($n=81$)	重症组 ($n=64$)	χ^2/t	P
性别			0.483	0.487
男	46(56.79)	40(62.50)		
女	35(43.21)	24(37.50)		
年龄(岁)			0.265	0.606
<3	32(39.51)	28(43.75)		
≥ 3	49(60.49)	36(56.25)		
病程(d)	4.02 \pm 1.31	3.67 \pm 1.05	1.740	0.084
体温峰值($^{\circ}\text{C}$)	38.91 \pm 0.68	39.16 \pm 0.73	-2.128	0.035
发热时间(d)			6.289	0.012
≥ 3	43(53.09)	47(73.44)		
<3	38(46.91)	17(26.56)		
居住地			2.256	0.133
城市	53(65.43)	34(53.13)		
农村	28(34.57)	30(46.88)		
母乳喂养	23(28.40)	22(34.38)	0.487	0.485
合并症				
呼吸道感染	49(60.49)	40(62.50)	0.061	0.805
支原体阳性	10(12.35)	11(17.19)	0.677	0.411
EB 病毒阳性	15(18.52)	15(23.44)	0.527	0.468
典型皮疹	78(96.29)	61(95.31)	0.087	0.768
出疹类型				
斑疹	20(24.69)	22(34.38)	1.629	0.202
疱疹	41(50.62)	35(54.69)	0.237	0.626
丘疹	36(44.44)	20(31.25)	2.625	0.105
出疹部位				
手部	66(81.48)	53(82.81)	0.043	0.836
足部	58(71.60)	52(81.25)	1.816	0.178
口部	59(72.84)	51(79.69)	0.916	0.339
臀部	23(28.40)	22(34.38)	0.597	0.440
颊部	36(44.44)	29(45.31)	0.011	0.917
咽峡部	20(24.69)	29(45.31)	6.795	0.009
CRP ≥ 10 mg/L	23(28.40)	13(20.31)	1.251	0.263
PCT ≥ 0.05 $\mu\text{g/L}$	16(19.75)	10(15.63)	0.414	0.520

表 6 多因素 Logistic 回归模型分析 EV71-HFMD 严重程度的影响因素

指标	赋值	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
常数	—	-0.070	0.062	3.796	0.045	—	—
发热时间	≥ 3 d = 1; < 3 d = 0	0.739	0.349	4.484	0.035	1.125	1.035~2.436
体温峰值	连续数值原值输入	0.889	0.426	3.267	0.072	0.086	0.549~1.957

续表 6 多因素 Logistic 回归模型分析 EV71-HFMD 严重程度的影响因素

指标	赋值	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
咽峡部出疹	有=1;无=0	0.521	0.227	5.107	<0.001	1.496	1.203~2.046
miR-494	连续数值原值输入	0.441	0.195	5.115	<0.001	1.473	1.029~3.341
miR-155	连续数值原值输入	0.605	0.263	5.292	<0.001	1.506	1.264~3.012

注:—表示无数据。

3 讨论

EV71 引起的 HFMD 早期症状不明显,若未及时诊断并控制会迅速发展为重症型病例,引起严重的神经系统并发症,甚至威胁患儿生命安全^[10-11]。病毒入侵后,T 细胞被激活,在 CD4⁺ 的作用下 T 细胞分化形成 Th17、Treg 等效应 T 细胞,通过发挥免疫抑制作用,维持机体免疫系统稳态^[12-13]。当患儿感染 EV71 后,外周血细胞淋巴细胞亚群比例改变,导致免疫系统紊乱,Th17/Treg 平衡被打破,引发机体炎症反应,随着病情的进一步发展,当病毒累及中枢神经系统时,组织炎症反应程度加重,中枢神经系统的血管内皮损伤,从而引发神经系统并发症^[14]。

miR-494 编码基因位于染色体 14q32.31,能够通过二级结构与染色质及蛋白质的相互作用调节基因的表达,对抗机体感染^[15]。miR-155 位于 21 号染色体的 B 细胞中,在乙型肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒等多种病毒性疾病中均发挥一定的调控作用^[16]。本研究结果显示,轻症组及重症组血清 miR-494、miR-155、Th17 细胞、Treg 细胞及 Th17/Treg 均高于健康组,且重症组各项指标均高于轻症组,表明 miR-494、miR-155 在 EV71-HFMD 患儿血清中异常升高,且水平随着病情程度的加重而升高,提示 EV71-HFMD 患儿机体存在免疫功能紊乱现象。LIU 等^[17] 研究指出,miR-494 是区分健康者、EV71 感染患儿的敏感生物标志物,其中 EV71-HFMD 患儿血清 miR-494 水平与 IL-6 和干扰素 γ (IFN- γ) 的血清水平呈正相关。WU 等^[18] 研究显示,外泌体 miR-155 通过靶向受体细胞中的磷脂酰肌醇网格蛋白组装蛋白 (PICALM) 有效调控 EV-A71 感染。上述结果说明 miR-494、miR-155 均参与 EV71-HFMD 的发生与发展。Th17 能分泌 IL-17、IL-23 等大量促炎因子,其水平过表达可诱导多种炎症性自身免疫性疾病,Treg 则为免疫调节因子,能调节机体免疫应答过程,抑制促炎因子的释放,具有免疫抑制活性及抗炎的作用,调节机体免疫稳态^[19-20]。本研究中,重症组 Th17 细胞、Th17/Treg 升高,可能原因是机体在 EV71 感染后,Th17 细胞分泌大量促炎因子,激活自然杀伤(NK)细胞、抑制炎症反应,从而产生保护反应,然而,机体产生的抗炎因子水平不足以控制高水平的促炎因子,导致机体产生炎性损伤^[21]。Treg 细胞的减少则说明机体免疫杀

伤力增强,而免疫抑制无法有效发挥作用,组织器官损伤加重,导致病情进展,最终发展为重症 HFMD。

本研究 Pearson 相关分析结果显示,Th17 细胞及 Th17/Treg 与血清 miR-494、miR-155 表达水平呈正相关,Treg 与血清 miR-494、miR-155 表达水平呈负相关,提示 miR-494、miR-155 可能通过调控 Th17/Treg 平衡参与机体免疫功能的调节。季艳艳等^[22] 研究报道,miR-494 在脓毒症合并急性肾损伤中高表达,且 miR-494 高表达与肾功能下降和 Th17 细胞占比增加有关,是患者近期死亡的危险因素。龚英峰等^[23] 研究证实,miR-155 在尿毒症患者中高表达,且患者 Th17/Treg 明显升高,经血液透析后,二者水平均明显下降,且具有较强相关性,推测 miR-155 与 Th17/Treg 可能相互影响,促进尿毒症病情进展。在 EV71-HFMD 中 miR-155 可能通过调节 Treg/Th17 平衡参与机体免疫紊乱,从而促进 HFMD 的发展。本研究结果显示,重症组血清 miR-494、miR-155 高于轻症组,且经多因素 Logistic 回归分析结果显示,miR-494 高表达及 miR-155 高表达是导致 EV71-HFMD 严重程度的危险因素。其作用机制可能是 miR-494 高表达及 miR-155 高表达与 Th17/Treg 失衡有关,影响机体正常的免疫功能,增强炎症反应,从而促进病情重症化。分析原因为 EV71-HFMD 患儿机体发生免疫紊乱、Th17/Treg 失衡,导致机体的抗病毒免疫功能逐渐减弱,多种细胞因子之间的相互作用对细胞或组织造成不同程度的损伤,导致病情加重^[13,24]。目前关于 miR-155-5p 调控 Th17/Treg 平衡的机制尚无确切定论,既往研究认为,miR-155-5p 通过靶向调控细胞因子信号转导 1 抑制因子,负调控 IL-2 受体通路,以维持 Treg 细胞亚群的竞争适应性^[25]。基于此推测 EV71-HFMD 患儿 miR-155 表达与 Th17/Treg 失衡密切相关可能与该机制有关。本研究结果还显示,发热时间 ≥ 3 d、咽峡部出疹也是导致 EV71-HFMD 严重程度的危险因素,分析原因为发热时间越长及咽峡部出疹,提示患儿的病情较难控制,导致病情加重。

本研究为单中心研究,且受到样本容量的限制,未来可持续收集更多 EV71-HFMD 患儿的资料,开展多中心大样本研究,进一步探究 miR-494、miR-155 在 EV71-HFMD 的作用,并对 miR-494、miR-155 表达水

平进行干预,分析其对 Th17、Treg 细胞调节的具体机制,为重症 EV71-HFMD 患儿的有效防治及延缓病情提供新的治疗靶点。

综上所述,血清 miR-494、miR-155 在 EV71-HFMD 患儿中异常升高,二者水平变化与 Th17/Treg 失衡密切相关,血清 miR-494、miR-155 表达水平升高是影响重症 EV71-HFMD 的危险因素。

参考文献

[1] ZHU P,JI W,LI D,et al. Current status of hand-foot-and-mouth disease[J]. J Biomed Sci,2023,30(1):15.

[2] NAYAK G,BHUYAN S K,BHUYAN R,et al. Global emergence of Enterovirus 71:a systematic review[J]. Beni Suef Univ J Basic Appl Sci,2022,11(1):78.

[3] 陈天扬,刘正芸,王欢. 肠道病毒 71 型致神经元病变的机制研究进展[J]. 病毒学报,2022,38(1):212-218.

[4] ZHU P,CHEN S,ZHANG W,et al. Essential role of non-coding RNAs in Enterovirus infection; from basic mechanisms to clinical prospects[J]. Int J Mol Sci,2021,22(6):2904.

[5] SONG L,CHANG R,SUN X,et al. Macrophage-derived EDA-A2 inhibits intestinal stem cells by targeting miR-494/EDA2R/ β -catenin signaling in mice[J]. Commun Biol,2021,4(1):213.

[6] JAFARZADEH A,NASERI A,SHOJAIE L,et al. MicroRNA-155 and antiviral immune responses[J]. Int Immunopharmacol,2021,101(Pt A):108188.

[7] AGHBASH P S,HEMMAT N,NAHAND J S,et al. The role of Th17 cells in viral infections[J]. Int Immunopharmacol,2021,2(91):107331.

[8] 陆海荣,徐炜新,赵心怡. 肠道病毒 71 型感染手足口病患儿 Th17/Treg 比例失衡与病情程度的关系[J]. 临床检验杂志,2022,40(11):841-843.

[9] 《手足口病诊疗指南(2018 版)》编写专家委员会. 手足口病诊疗指南(2018 年版)[J]. 中华传染病杂志,2018,36(5):257-263.

[10] 张静,李秀惠,李丽,等. 手足口病病原学和流行病学研究进展[J]. 中华流行病学杂志,2022,43(5):771-783.

[11] SHI H,LIU S,TAN Z,et al. Proteomic and metabonomic analysis uncovering Enterovirus A71 reprogramming host cell metabolic pathway [J]. Proteomics, 2023, 23 (2): e2200362.

[12] ZIENTARSKA A,KACZMAREK M,MOZER-LISEWSKA I,et al. Treg cells in the course of chronic hepatitis C virus infection partially normalize in longitudinal observation after successful DAA treatment regardless of hepatic fibrosis stage [J]. Clin Exp Hepatol,2021,7(2):196-204.

[13] 陈葆国,王跃飞,郑瑞,等. 手足口病患儿调节性 B 细胞和

TH1/TH2/TH17 细胞因子表达水平的动态变化及临床意义[J]. 中国卫生检验杂志,2021,31(6):703-707.

[14] 张文良,甘海忠,吴飞,等. 肠道病毒 71 型感染手足口病患儿 Th1/Th2 细胞因子变化[J]. 中华医院感染学杂志,2020,30(7):1062-1065.

[15] LU P,ZHANG L,LIU T,et al. MiR-494-mediated effects on the NF- κ B signaling pathway regulate lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in mice[J]. Immunol Invest,2022,51(5):1372-1384.

[16] 王刚,王琼,姜昕,等. 呼吸道合胞病毒毛细支气管炎婴幼儿外周血 miR-155 与 PDCD4 表达的相关性研究[J]. 天津医药,2022,50(7):757-761.

[17] LIU J,LU X C,ZHOU W D. Elevated circulating miR-494 in plasma of children with Enterovirus 71 induced hand,foot,and mouth disease and its potential diagnostic value[J]. Acta Virol,2020,64(3):338-343.

[18] WU J,GU J,SHEN L,et al. Exosomal microRNA-155 inhibits Enterovirus a71 infection by targeting PICALM [J]. Int J Biol Sci,2019,15(13):2925-2935.

[19] CHENG Z,YANG L,CHU H. The gut microbiota;a novel player in autoimmune hepatitis[J]. Front Cell Infect Microbiol,2022,11(12):947382.

[20] DHAWAN M,RABAAN AA,ALWARTHAN S,et al. Regulatory T cells (Tregs) and COVID-19; unveiling the mechanisms,and therapeutic potentialities with a special focus on long COVID[J]. Vaccines (Basel),2023,11(3):699.

[21] YI E J,KIM Y I,SONG J H,et al. Intranasal immunization with curdlan induce Th17 responses and enhance protection against enterovirus 71 [J]. Vaccine, 2023, 41 (13):2243-2252.

[22] 季艳艳,张宏艳,朱小英,等. 脓毒症合并 AKI 患者血清 miR-494 表达及其临床意义[J]. 热带医学杂志,2023,23(1):41-45.

[23] 龚英峰,岳福军,宁丹,等. 尿毒症患者血液透析前后血清 miR-155 表达水平及其与 Th17/Treg 细胞平衡的关系 [J]. 国际泌尿系统杂志,2022,42(1):77-81.

[24] YANG X,SHUI X,DAI X,et al. PLAC8 promotes EV71 infected inflammatory lesion by disturbing Th-cell-related cytokines release in neonatal mouse [J]. Virology, 2021, 12(564):39-45.

[25] PRIETO I,KAVANAGH M,JIMENEZ-CASTILLA L,et al. A mutual regulatory loop between miR-155 and SOCS1 influences renal inflammation and diabetic kidney disease [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2023, 27 (34): 102041.