

## · 综 述 ·

## 抗人类肠道病毒 71 药物及疫苗研究进展\*

谢小晖<sup>1</sup>, 陈路路<sup>1</sup>, 李超英<sup>2</sup>, 郑惠丹<sup>1</sup>, 张 怡<sup>1</sup>, 陶 玲<sup>1</sup>综述, 徐银兰<sup>1△</sup>审校

(1. 新乡医学院公共卫生学院, 河南 新乡 453003; 2. 新乡医学院外语学院, 河南 新乡 453003)

**[摘要]** 手足口病作为一个全球性的公共卫生问题, 危害巨大, 会引起患儿神经系统疾病, 具有高传染性、传播方式多样、病原体复杂多样等特点。引起小儿手足口病的病原体主要为柯萨奇病毒 A 属和人类肠道病毒 71 (EV71), 作为手足口病主要病原体之一的 EV71, 感染性极强。目前, 已经研制出的抗 EV71 的有效药物, 是预防手足口病的关键途径。该文围绕 EV71 及抗 EV71 药物的研究进展进行了综述, 进而为今后新药物的研发提供有价值的参考。

**[关键词]** 手足口病; 人类肠道病毒 71; 抗 EV71 药物; 综述

**DOI:**10.3969/j.issn.1009-5519.2023.02.024 **中图法分类号:**R512.5;R373.2

**文章编号:**1009-5519(2023)02-0290-05 **文献标识码:**A

**Research progress of anti-EV71 drugs and vaccines\***XIE Xiaohui<sup>1</sup>, CHEN Lulu<sup>1</sup>, LI Chaoying<sup>2</sup>, ZHENG Huidan<sup>1</sup>, ZHANG Yi<sup>1</sup>, TAO Ling<sup>1</sup>, XU Yinlan<sup>1△</sup>

(1. School of Public Health, Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003, China;

2. School of Foreign Languages, Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003, China)

**[Abstract]** As a global public health problem, hand, foot and mouth disease (HFMD) is extremely harmful and can cause neurological diseases in children. It has the characteristics of high infectivity, diverse modes of transmission and complex and diverse pathogens. The pathogens causing HFMD in children are mainly Coxsackie virus A and human enterovirus 71 (EV71). As one of the main pathogens of HFMD, EV71 is highly infectious. At present, the effective drugs against EV71 have been developed, which is a key way to prevent HFMD. This paper summarized the research progress of EV71 and anti-EV71 drugs, so as to provide valuable reference for the research and development of new drugs in the future.

**[Key words]** Hand, foot and mouth disease; Human enterovirus 71; Anti-EV71 drugs; Review

人类肠道病毒 71 (EV71) 属肠道微生物群, 是微小病毒科, 归属于人类肠道病毒 A。在肠道毒菌群中, EV71 是迄今发现最晚的肠道病毒, 主要引起 5 岁以下婴幼儿神经系统疾病, 感染力强且致病率极高<sup>[1]</sup>。部分患者可出现脑水肿、脑炎、脑脊髓炎、循环衰竭等较为严重的脑部疾病。1981 年在我国上海发现该病毒, 1987 年 EV71 在香港流行, 于 2008 年 1 月至 2019 年 6 月中国疾病预防控制中心建立的手足口病监测系统报告了 2 254 万例手足口病病例, 导致 3 704 例患者死亡<sup>[2]</sup>。

目前, 据文献报道, EV71 已有 6 种基因型, 在中国流行的主要是 A、B、C 型。EV71 为二十面体立体结构的单股正链 RNA 病毒, 无包膜和突起球形结构, 直径为 24~30 nm, 基因组大小为 7.4 kb。肠道病毒

EV71 的复制周期包括吸附、进入、脱壳、蛋白翻译、多聚蛋白加工、基因组 RNA 复制及病毒组装和释放。现将目前 EV71 的治疗与预防研究现状综述如下。

**1 抗 EV71 药物研究进展**

**1.1 抑制病毒复制过程** 利巴韦林属于人工合成的核苷类广谱抗病毒药物, 作用位点为病毒核糖核酸聚合酶。利巴韦林可对次黄嘌呤脱氢酶产生抑制作用, 加速细胞内三磷酸鸟苷库的消耗, 使细胞内能量调控异常, 直接对病毒翻译起始及肽链延伸阶段产生影响, 抑制病毒核酸复制过程, 与喜炎平联用可提高小儿手足口病治愈率, 减轻临床症状, 降低不良反应发生率<sup>[3]</sup>。然而利巴韦林的大量使用, 导致药物不良反应发生率上升, 临床表现多种多样, 其中药物不良反应常见表现有恶心、呕吐、胸闷和瘙痒, 目前已停止使

\* 基金项目: 河南省科学技术厅科技攻关项目(222102310641, 222102310701); 新乡医学院人才(博士)支持计划项目(XYBSKYZZ202168); 河南省高等学校重点科研项目(23A320040)。

△ 通信作者, E-mail: xuyinlan2009@163.com。

用。瑞德西韦(RDV)是一种腺苷小分子类化合物,发挥抗病毒效果的形式为磷酸化的三磷酸,通过抑制病毒中 RNA 依赖性的 RNA 聚合酶活性从而发挥作用<sup>[4]</sup>。有研究发现,RDV 可以识别并与一些病毒的 RNA 转录酶相作用,显著降低小鼠横纹肌肉瘤中的病毒载量<sup>[5]</sup>。药物发挥作用也能通过阻断 EV71 复制过程中的丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路来实现,WANG 等<sup>[6]</sup>发现的延胡索碱在一定浓度范围内可抑制 p38-MAPK 和 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)-MAPK 信号通路,造成环加氧酶 2 表达量发生变化,进而发挥抗 EV71 感染的作用。3D 蛋白酶又称为依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶,是 EV71 基因组复制的关键酶。2'-脱氧-2'-β-氟-4'-叠氮胞苷是一种小核苷类似物抑制剂,通过靶向竞争 EV71 3D 蛋白酶抑制 EV71 的复制及 RNA 的合成,体外抗病毒活性显著。每 2 天用 1 mg/kg 剂量进行 1 次 2'-脱氧-2'-β-氟-4'-叠氮胞苷治疗可显著增强小鼠对 EV71 的抵抗力,降低小鼠组织中 EV71 载量,对小鼠起到很好的保护作用<sup>[7]</sup>。

**1.2 抑制病毒翻译过程** EV71 的翻译过程依靠内部核糖体进入位点(IRES),其是病毒翻译过程中的关键位点,黄酮类化合物山萘酚能抑制病毒依赖的 IRES 的翻译过程,降低 IRES 水平发挥抗病毒作用。作为一种黄病毒抑制剂,腺苷类似物 NITD008 能阻断病毒 RNA 的合成,具有强大的抗 EV71 作用。NITD008 在体外对几种杯状病毒表现出低毒性,低浓度即可产生较强的抗病毒活性,该化合物作为治疗开发的支架将具有相当大的益处,具有广泛的应用前景<sup>[8]</sup>。

**1.3 抑制 EV71 多聚蛋白关键酶** 3C 蛋白酶是 EV71 结构的关键酶,首先 EV71 基因组会翻译出多聚蛋白,3C 蛋白酶需要对合成后的多聚蛋白进一步切割加工,使多聚蛋白成为更小的结构蛋白和非结构蛋白,同时,其还可诱导细胞凋亡并帮助 EV71 逃避宿主免疫系统的追杀。槲皮素是一种类黄酮化合物,对多种病毒具有抗病毒活性,槲皮素可使 EV71 3C 蛋白酶活性降低,同时,不影响其他关键酶的活性。YAO 等<sup>[9]</sup>研究表明,在横纹肌肉瘤和 Vero 细胞中槲皮素会出现低细胞毒性,50% 组织细胞感染量大于 200 μm,与利巴韦林比较,槲皮素有更好的抗 EV71 活性和更低的细胞毒性作用。EV71 3C 蛋白酶抑制剂——NK-1.8k 是近年来研发的抗 EV71 药物, EV71 3C 蛋白酶结构是一种开放性构象,与其他小 RNA 病毒的结构有所差异。NK-1.8k 与 EV71 3C 蛋白酶中的活性位点发生反应,使 3C 蛋白酶无法发挥其功能,能较好地抑制 EV71 活性,抗 EV71 效果显

著<sup>[10]</sup>。EV71 2A 蛋白酶主要参与多蛋白的加工、抑制宿主蛋白合成、逃避先天免疫和诱导细胞死亡等,以目标 2A 蛋白基因为目标序列合成的小干扰 RNA (SiRNA)可专一地作用于 2A 蛋白酶,进而产生抗 EV71 的作用。当 SiRNA 浓度为 60 nm 时能让 EV71 感染细胞达到最高的转染效率,用 SiRNA-2Apro 处理后病毒蛋白含量和 RNA 含量均会明显低于对照组<sup>[11]</sup>。

**1.4 抑制病毒脱衣壳** EV71 VP1 蛋白是其关键蛋白,具有 EV71 标志物的作用,抗原识别位点也于此处。普可那利是一种广谱抗肠道病毒和鼻病毒药品,作为病毒衣壳结合剂能与 VP1 蛋白结合,抑制其构象的改变及 EV71 进入宿主细胞的过程,但存在很大的安全性问题。LI 等<sup>[12]</sup>基于普可那利的母核设计出的 DBPR103 安全浓度较高。灵芝的活性成分有很多,如有机酸、氨基酸等,其主要活性成分为灵芝三萜。灵芝三萜类化合物可与 EV71 颗粒相互作用,阻断 EV71 的吸附过程,破坏病毒的脱衣壳过程。

**1.5 抑制病毒的吸附和穿入** 两性霉素 B 与附着物相作用,抑制 EV71 在细胞中的内化过程,清道夫受体 II 是 EV71 的细胞受体,能感染人体细胞,在病毒的早期感染中发挥关键作用。JIN 等<sup>[13]</sup>构建的 EV71 小鼠模型中小鼠脑组织和脊髓在病毒感染后 7 d 呈现出局灶性变化,神经细胞和胶质细胞的变性增生,炎症反应强烈。ZHANG 等<sup>[14]</sup>构建了一种抗人类清道夫受体 2(SCARB2)的单克隆抗体,称为 JL2。JL2 单克隆抗体对 EV71 的感染具有抑制作用,通过 3 个螺旋 α2、α5、α14 与人类 SCARB2 结合,抑制 EV71 的吸附与穿入过程。阿卡波糖作为一种潜在的药物,可有效阻断 EV71 从肠道向全身的动态转移,FENG 等<sup>[15]</sup>研究表明,小肠被证实是 EV71 感染部位,回肠是 EV71 在小鼠体内增殖和运输部位,阿卡波糖通过抑制 EV71 与细胞表面受体的结合发挥抗 EV71 作用。

**1.6 天然化合物** 传统中草药价格低廉,易于获得,便于培植,还具有广谱抗病毒优点。很多中药单体均是天然化合物,抗 EV71 作用较好。使用中草药发挥抗病毒的效果将会是一个广泛的应用前景。开发和研究传统中草药抗 EV71 作用具有重要的临床实用意义。

**1.6.1 姜黄素** 姜黄素是姜黄的主要活性成分,具有许多方面的作用,如抗氧化、抗炎、抗肿瘤、抗纤维化等,还拥有较为广泛的抗病毒活性。姜黄素广泛使用在临床中医药治疗中,由于具有抗氧化等特性,在抗感染、抗肿瘤、抗病毒感染中发挥作用<sup>[16]</sup>。姜黄素具有显著的抗病毒效应,可抑制猪圆环病毒 2 型(PCV2)诱导的线粒体凋亡,降低细胞凋亡率,缓解

PCV2 诱导的线粒体凋亡<sup>[17]</sup>。姜黄素不调节 EV71 的吸附与内化过程,仅可以对 EV71 的复制具有抑制作用,与  $\alpha$  干扰素(IFN- $\alpha$ )联用可显著增强 IFN- $\alpha$  的抗 EV71 活性。有研究发现,EV71 会降低 SH-SY5Y 细胞中 I 型干扰素受体水平,姜黄素通过抑制 SH-SY5Y 细胞中干扰素受体水平的降低增强 IFN- $\alpha$  的抗 EV71 活性<sup>[18]</sup>。

**1.6.2 苦参碱** 苦参始于神农本草经,含有多种化学成分,其主要成分为苦参碱和氧化苦参碱。在传统医学的观点中苦参具有多种药理学作用,如清热燥湿、利尿、杀虫等作用,现代研究表明,苦参除以上作用外,还可改善心律失常,以及抗病毒、抗瘤等作用<sup>[19]</sup>。苦参碱对 EV71 具有预防作用,安全范围较好,较低浓度可预防 EV71 感染,并且能对 EV71 的活性有很好的抑制作用。XU 等<sup>[20]</sup>研究表明,苦参碱与蛇床子素联合使用可通过降低 PCV2 降解物激活蛋白的表达共同抑制 PCV2 导致的细胞凋亡。

**1.6.3 莪术醇** 莪术醇是从莪术根中提取的一种天然化合物,莪术醇具有多种生物学活性,已用于治疗心肌炎,且可用于抑制脑心肌炎病毒活性。有研究发现,与利巴韦林阳性对照组比较,莪术醇抑制率明显高于利巴韦林,安全浓度较高。莪术醇可增加 T 淋巴细胞内 IFN- $\beta$  蛋白的表达,从而对脑心肌炎病毒的活性产生抑制作用<sup>[21]</sup>。

**1.6.4 黄芩苷** 黄芩苷是黄芩的主要活性成分之一,具有优秀的抗炎作用,还可调整线粒体诱导的细胞凋亡途径,使活化的 T、B 淋巴细胞加速凋亡。黄芩苷对脑心肌炎病毒的最大抑制率高于利巴韦林,同时,选择性指数低于阳性对照组,说明黄芩苷具有良好的抗病毒活性<sup>[22]</sup>。

**1.6.5 片仔癀** 片仔癀具有显著的抗病毒、抗肿瘤作用,在抗 EV71 体外感染过程中可有效抑制多种 EV71 毒株的活性,抑制病毒绿色荧光蛋白质的表达,降低 EV71 的感染能力<sup>[23]</sup>。在病毒吸附前使用槐啶碱可增加细胞对 EV71 的抵抗力。

**1.6.6 金银花** 喂食金银花提取物或接种 micoRNA-let-7a 的 EV71 感染的吸吮小鼠,表现出临床评分降低和存活时间延长等特点,伴有病毒 RNA、蛋白表达和病毒滴度降低<sup>[24]</sup>,表明金银花水提取物可抑制 EV71 在体内、外的复制。

**1.7 抗氧化物** 氧化应激可增强病毒复制能力, EV71 感染会诱导宿主细胞氧化应激能力的提升,从而增强病毒的侵袭能力,故抑制机体氧化应激可抑制 EV71 的感染。

**1.7.1 薄荷** 薄荷可清热解毒,同时,具有药理作用广、毒性低、成本低廉等优点,因此,薄荷的应用价值

是多种多样的。薄荷的成分众多复杂,具有抗氧化作用,其普列薄荷成分具有广泛的抗癌作用<sup>[25]</sup>。

**1.7.2 灵芝类** 近年来,以二氧化碳超临界萃取法制备的灵芝孢子油作为一种新型产品而出现,具有抗脑缺血再灌注损伤和抗氧化、清除自由基等功效,作为灵芝主要活性成分的灵芝三萜是从灵芝菌丝中产生的代谢产物,具有抗病毒、抗癌活性。

**1.7.3 芦丁** 芦丁是一种类黄酮类化合物,广泛分布于各种常见物质中,如水果、蔬菜等,具有一系列广泛的作用,如抗氧化、抗病毒、抗癌等<sup>[26]</sup>。芦丁衍生物的药理活性很多,MECENAS 等<sup>[27]</sup>合成的芦丁乙酸酯具有很好的抗氧化性,可降低感染细胞的氧化应激能力和活性氧含量,且对哺乳动物无毒。

**1.7.4 漆黄素** 漆黄素是一种较常见的类黄酮多酚物质,广泛分布于水果、黄枥、蔬菜和漆树中。漆黄素分子结构中存在自由的羟基和羰基具有良好的抗氧化作用,可通过多酚氧化酶发挥自由基清除作用,也可抑制活性氧生成,保护细胞<sup>[28]</sup>。

**1.8 细胞因子** 肿瘤坏死因子- $\alpha$  是一种功能强大的细胞因子,在免疫活动中具有强大的适应性,促炎细胞因子——肿瘤坏死因子- $\beta$  参与了多种炎症、抗病毒和免疫刺激反应。白细胞介素-4 由先天淋巴细胞如自然杀伤 T 细胞和髓样细胞(如嗜碱性粒细胞和肥大细胞)产生,是 2 型免疫反应的标志性细胞因子,也具有非免疫功能<sup>[29]</sup>。

## 2 疫苗研究进展

防控 EV71 最有效的措施还是注射疫苗,抗 EV71 的疫苗主要包括以下几种。

**2.1 减毒活疫苗** 减毒活疫苗是将完整病原体进行活疫苗的减毒,可诱导细胞免疫及体液免疫,给机体带来更长久的保护,但存在多种安全性问题。

**2.2 灭活疫苗** 灭活疫苗是将病原体灭活得到的疫苗,相比于减毒活疫苗,不良反应较小,产生抗体的能力强,有效性和安全性较好。2015 年我国成功研制出 EV71 全病毒灭活疫苗,并于 2016 年开始投入使用<sup>[30]</sup>,在后期的临床调查中发现,被观察者体内干扰素、白细胞介素、免疫球蛋白 G 等水平均得到上调,疫苗的保护周期长、安全性高、免疫原性强<sup>[31]</sup>。FAN 等<sup>[32]</sup>研发的二价灭活 EV71/柯萨奇病毒 A16 型(CA16)疫苗可使小鼠体内免疫相关趋化因子表达上调,可提高小鼠对 EV71、CA16 感染的有效免疫力。

**2.3 病毒样颗粒(VLP)疫苗** YANG 等<sup>[33]</sup>在毕赤酵母中制备了 EV71 VLP 疫苗,当 EV71 VLP 为每剂 1~5  $\mu\text{g}$ 、佐剂为每剂 225  $\mu\text{g}$  时可引发强大的保护性中和抗体反应,并针对小鼠提供强有力免疫屏障。WANG 等<sup>[34]</sup>发现,接种在皮基亚牧羊犬中产生的重

组 EV71 样颗粒疫苗小鼠的免疫血清也表现出对 EV71 异源亚型的交叉中和活性。LUO 等<sup>[35]</sup>制备的 EV71 VLP 及其嵌合体疫苗可诱导机体产生较强的免疫应答,保护小鼠抵抗致死性 EV71、CA16 感染。

### 3 小 结

预防 EV71 感染,疫苗防控仍是目前的主流手段,但安全性问题较多,保护效果不佳,存在毒力恢复等安全性问题,且大多数疫苗均是针对的 EV71 C4 亚型,加之目前尚无特效药品治疗 EV71 感染,现在使用的药物多少均存在着一些不良反应,有些药物还容易引起病毒的耐药性,开发新的、不良反应少的抗 EV71 药物迫在眉睫。传统中草药具有价格低廉、易于获得、便于培植、广谱抗病毒等许多优点。天然化合物的联合使用可减少病毒耐药性的产生,还可减少药物用量,可能成为新的抗 EV71 的研究方向。

### 参考文献

- [1] CASAS-ALBA D, DE SEVILLA M F, VALERO-RELLO A, et al. Outbreak of brainstem encephalitis associated with enterovirus-A71 in Catalonia, Spain (2016): A clinical observational study in a children's reference centre in Catalonia[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2017, 23(11): 874-881.
- [2] CHEN M Y, HE S Z, YAN Q, et al. Sporadic hand, foot, and mouth disease cases associated with non-C4 enterovirus 71 strains in Xiamen, China, from 2009 to 2018[J]. *Arch Virol*, 2021, 166(8): 2263-2266.
- [3] 冯宏达. 喜炎平联合利巴韦林治疗小儿手足口病的疗效[J]. *医学信息*, 2021, 34(9): 156-158.
- [4] 陆泓雨, 张彦. 瑞德西韦的合成, 作用机制与应用[J]. *生物技术通讯*, 2020, 31(1): 1446-1454.
- [5] BROWN A J, WON J J, GRAHAM R L, et al. Broad spectrum antiviral remdesivir inhibits human endemic and zoonotic deltacoronaviruses with a highly divergent RNA dependent RNA polymerase[J]. *Antiviral Res*, 2019, 169(9): 104541-104551.
- [6] WANG H Q, HU J, YAN H Y, et al. Corydallin inhibits enterovirus 71 replication by regulating COX-2 expression[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2017, 19(11): 1124-1133.
- [7] HYUNJU K, CHONSAENG K, DONG-EUN K, et al. Synergistic antiviral activity of gemicitabine and ribavirin against enteroviruses[J]. *Antiviral Res*, 2015, 124(10): 1-10.
- [8] DANIEL E T, TULLIO M F, NATALIE E N, et al. The adenosine analogue NITD008 has potent antiviral activity against human and animal caliciviruses[J]. *Viruses*, 2019, 11(6): 496-508.
- [9] YAO C, XI C, HU K, et al. Inhibition of enterovirus 71 replication and viral 3C protease by quercetin[J]. *Virology*, 2018, 15(1): 116-129.
- [10] 徐雷, 王灵智, 孟晗, 等. EV71 3C 蛋白酶抑制剂 NK-1.8k 的合成与优化[J]. *国际药学研究杂志*, 2020, 47(7): 555-559.
- [11] 陈建国, 刘海冰, 赵培培, 等. 靶向 2A 蛋白酶基因抑制 EV71 病毒复制的研究[G/OL]. 中华医学会, 中华医学会 2014 全国微生物学与免疫学学术年会论文汇编, 成都, 2014. (2014-08-20) [2022-24-21]. [https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=CPFD&dbname=CPFD0914&filename=ZHYX201408004285&uniplatform=NZKPT&v=0f2LFnN3jFz2XvZUIFXnl98xWHutTglx\\_SPnBDN825ShS8vfcPhMQKIR-VtAupuwNvA\\_SXzgUQ%3d](https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=CPFD&dbname=CPFD0914&filename=ZHYX201408004285&uniplatform=NZKPT&v=0f2LFnN3jFz2XvZUIFXnl98xWHutTglx_SPnBDN825ShS8vfcPhMQKIR-VtAupuwNvA_SXzgUQ%3d).
- [12] LI P, YU J, HAO F, et al. Discovery of potent EV71 capsid inhibitors for treatment of HFMD[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2017, 8(8): 841-846.
- [13] JIN Y F, SUN T T, ZHOU G Y, et al. Pathogenesis study of enterovirus 71 using a novel human SCARB2 knock-in mouse model[J]. *mSphere*, 2021, 6(2): e01048-e01064.
- [14] ZHANG X, YANG P, WANG N, et al. The binding of a monoclonal antibody to the apical region of SCARB2 blocks EV71 infection[J]. *Protein Cell*, 2017, 8(8): 590-600.
- [15] FENG Q Y, ZHOU H T, ZHANG X Y, et al. Acarbose, as a potential drug, effectively blocked the dynamic metastasis of EV71 from the intestine to the whole body[J]. *Infect Genet Evol*, 2020, 81(7): 104210-104246.
- [16] 陈美霓, 郭巍, 郝琴, 等. 姜黄素的药理作用、临床应用及机制研究进展[J]. *延安大学学报(医学科学版)*, 2021, 19(3): 96-99.
- [17] XU Y L, ZHENG J G, SUN P P, et al. Cepharanthine and curcumin inhibited mitochondrial apoptosis induced by PCV2[J]. *BMC Vet Res*, 2020, 16(1): 345-356.
- [18] WANG Y F, DAN K, XUE X L, et al. Curcumin assists anti-EV71 activity of IFN- $\alpha$  by in-

- hibiting IFNAR1 reduction in SH-SY5Y cells [J]. *Gut Pathogens*, 2022, 14(1):8-17.
- [19] 张明发, 沈雅琴. 苦参碱类生物碱抗病毒的临床药理作用研究进展[J]. *抗感染药学*, 2018, 15(2):185-191.
- [20] XU Y L, SUN P P, WAN S X, et al. The combined usage of matrine and osthole inhibited endoplasmic reticulum apoptosis induced by PCV2[J]. *BMC Microbiol*, 2020, 20(1):303-316.
- [21] ZHENG J G, XU Y L, KHAN A, et al. Curcumin inhibits encephalomyocarditis virus by promoting IFN- $\beta$  secretion [J]. *BMC Vet Res*, 2021, 17(1):318-327.
- [22] ZHENG J G, XU Y L, AJAB K, et al. In vitro screening of traditional Chinese medicines compounds derived with anti-encephalomyocarditis virus activities [J]. *Biotechnol Bioproc Engineer*, 2020, 25(2):181-189.
- [23] 林锦霞, 于娟, 陈志亮, 等. 片仔癀抗 EV71 型肠道病毒的研究[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(5):1343-1349.
- [24] LEE Y R, CHANG C M, YEH Y C, et al. Honey-suckle aqueous extracts induced let-7a suppress EV71 replication and pathogenesis in vitro and in vivo and is predicted to inhibit SARS-CoV-2 [J]. *Viruses*, 2021, 13(2):308-330.
- [25] 蓝培元. 薄荷的主要化学成分和药理作用研究进展[J]. *医学食疗与健康*, 2020, 18(17):208-209.
- [26] 李珂, 冯亚莉, 曹瑞梅, 等. 芦丁的结构修饰及生物活性研究进展[J]. *中草药*, 2021, 52(20):6413-6424.
- [27] MECENAS A S, ADAO MALAFAIA C R, SANGENITO L S, et al. Rutin derivatives obtained by transesterification reactions catalyzed by Novozym 435: Antioxidant properties and absence of toxicity in mammalian cells [J]. *PLoS One*, 2018, 13(9):e0203159-e0203178.
- [28] LI Z X, WANG Y, ZHANG Y, et al. Protective effects of fisetin on hepatic ischemia-reperfusion injury through alleviation of apoptosis and oxidative stress [J]. *Arch Med Res*, 2021, 52(2):163-173.
- [29] LI S J, WANG L J, ZHANG Y L, et al. Role of interleukin-4 (IL-4) in respiratory infection and allergy caused by early-life chlamydia infection [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2021, 31(8):1109-1114.
- [30] MAO Q Y, WANG Y P, BIAN L L, et al. EV71 vaccine, a new tool to control outbreaks of hand, foot and mouth disease (HFMD) [J]. *Expert Review of Vaccines*, 2016, 15(5):599-606.
- [31] DU Z C, HUANG Y, BLOOM M S, et al. Assessing the vaccine effectiveness for hand, foot, and mouth disease in Guangzhou, China: A time-series analysis [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2021, 17(1):217-223.
- [32] FAN S T, LIAO Y, JIANG G R, et al. Efficacy of an inactivated bivalent vaccine for enterovirus 71 and coxsackievirus A16 in mice immunized intradermally [J]. *Vaccine*, 2021, 39(3):596-604.
- [33] YANG Z J, GAO F, WANG X L, et al. Development and characterization of an enterovirus 71 (EV71) virus-like particles (VLPs) vaccine produced in *Pichia pastoris* [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2020, 16(7):1602-1610.
- [34] WANG Z Y, ZHOU C L, GAO F, et al. Preclinical evaluation of recombinant HF-MD vaccine based on enterovirus 71 (EV71) virus-like particles (VLP): Immunogenicity, efficacy and toxicology [J]. *Vaccine*, 2021, 39(31):4296-4305.
- [35] LUO J, HUO C L, QIN H, et al. Chimeric enterovirus 71 virus-like particle displaying conserved coxsackievirus A16 epitopes elicits potent immune responses and protects mice against lethal EV71 and CA16 infection [J]. *Vaccine*, 2021, 39(30):4135-4143.

(收稿日期:2022-05-14 修回日期:2022-09-20)