儿童手足口病患者EV-71和Cox-A16感染与血清miRNA谱特征的相关性研究

周 延，雷 芳，杨 阳，陈 岑，王廷婷（重庆医科大学附属大足医院儿科，重庆 402360）

摘 要：目的 分析儿童手足口病（HFMD）患者肠道病毒71型（EV-71）或柯萨奇病毒A组16型（Cox-A16）感染的血清微小核糖核酸（miRNA）谱，并探讨其临床意义。**方法** 采用简单随机抽样法，选取2023年11月~2024年8月在重庆医科大学附属大足医院儿科确诊的儿童HFMD患者。发现集包含EV-71或Cox-A16单一感染患儿各8例，采用miRNA微阵列筛选差异表达miRNA，并进行生物信息学分析；验证集包含Cox-A16组、EV-71组以及健康对照组各105例，采用实时荧光定量聚合酶链反应法检测血清miRNA水平。使用受试者操作特征（ROC）曲线开发基于miRNA的诊断模型。**结果** 通过发现集筛选，识别5个差异表达miRNA（miR-21、miR-143、miR-494、miR-146a、miR-221），基因本体论和京都基因和基因组百科全书通路富集证实了这些差异表达miRNA与多种免疫相关通路有关。在验证集中，EV-71组和Cox-A16组患儿血清miR-21、miR-143、miR-494、miR-146a、miR-221水平均显著高于健康对照组，差异具有统计学意义（H=7.714～100.551，均$P<0.05$），且EV-71组血清miR-21、miR-494、miR-143、miR-146a水平高于Cox-A16组（Z=−37.215～−9.443，均$P<0.05$）。调整年龄等临床变量后，miR-21、miR-494、miR-143、miR-221、miR-146a水平升高仍然与HFMD发病显著相关（HR=1.104～1.400，均$P<0.05$）。5种miRNA具有诊断HFMD的能力，ROC曲线下面积（AUC）为0.584～0.874。miR-21、miR-494、miR-146a的组合具有区分诊断EV-71或Cox-A16单一病毒亚型感染的能力，AUC为0.874。**结论** 儿童HFMD患者存在特异性血清miRNA谱，其中3种miRNA组合模型具有区分EV-71或Cox-A16单一亚型感染的能力。

关键词：手足口病；肠道病毒71型；柯萨奇病毒A组16型；儿童患者；微小核糖核酸
中图分类号：R725.1；R373.25；Q52；Q503 **文献标志码：**A **文章编号：**1671-7414(2026)05-020-06
doi:10.3969/**j.issn.**1671-7414.2026.05.004

Study on the Correlation of EV-71 and Cox-A16 Infections with Serum miRNA Profiles in Pediatric Hand-Foot-and-Mouth Disease

ZHOU Yan, LEI Fang, YANG Yang, CHEN Cen, WANG Tingting(*Department of Pediatrics, Chongqing Medical University Affiliated Dazu Hospital, Chongqing* 402360, *China*)

Abstract: Objective To characterize the serum microRNA (miRNA) profile in pediatric hand-foot-and-mouth disease (HFMD) caused by Enterovirus 71 (EV-71) or Coxsackievirus group A type 16 (Cox-A16), and to analyze its clinical significance. **Methods** Using a simple random sampling method, pediatric HFMD patients diagnosed at the Department of Pediatrics of Dazu Hospital Affiliated to Chongqing Medical University from November 2023 to August 2024 were enrolled. The discovery set included 8 children with EV-71 infection, and 8 with Cox-A16 infection. miRNA microarray was performed to screen for differentially expressed miRNAs. And the candidate miRNAs were analyzed by bioinformatics analysis. The validation set included Cox-A16 group, EV-71 group and healthy control group with 105 cases in each group. Serum miRNA levels were detected using real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction. Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to develop a miRNA-based diagnostic model. **Results** In the discovery set, five differentially expressed miRNAs (miR-21, miR-143, miR-494, miR-146a, and miR-221) were identified. Gene Ontology and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway enrichment analysis confirmed that these differentially expressed miRNAs were involved in multiple immune-related pathways. In the validation set, serum levels of miR-21, miR-143, miR-494, miR-146a, and miR-221 were significantly higher in both EV-71 and Cox-A16 groups than in healthy controls (H=7.714~100.551, all $P<0.05$), and serum levels of miR-21, miR-494, miR-143, and miR-146a were significantly higher in the EV-71 group than the Cox-A16 group (Z=−37.215 to −9.443, all $P<0.05$). After adjusting for clinical variables including age, elevated levels of miR-21, miR-494, miR-143, miR-221, and miR-1466 remained significantly associated with the onset of HFMD (HR =1.104~1.400, all $P<0.05$). The five-miRNA panel showed diagnostic capability for HFMD with an area under ROC curve (AUC) values ranging from 0.584 to 0.874. Moreover, the combination of miR-21, miR-494,

基金项目：重庆市科技发展项目（DZKJ2022JSYJ-KWXM1031）。
作者简介：周延（1989−），男，本科，主治医师，研究方向：重症肺炎的诊疗，E-mail：18523489876@163.com。
通讯作者：王廷婷（1990−），女，本科，主治医师，研究方向：手足口病、重症支气管肺炎的诊疗，E-mail：m15310663372@163.com。

and miR-146a demonstrated the ability to differentiate between EV-71 and Cox-A16 single-virus subtype infections, with AUC 0.874. **Conclusions** Pediatric HFMD has a specific serum miRNA profile, and the three-miRNA panel (miR-21, miR-494, and miR-146a) shows potential for distinguishing EV-71 from Cox-A16 infections.

Keywords: hand-foot-mouth disease; enterovirus 71 ; Coxsackievirus group A type 16; pediatric patients; microRNA

手足口病(hand-foot-and-mouth disease，HFMD)属于丙类传染病，5岁以下婴幼儿是主要易感人群[1]。国内HFMD暴发通常与人类肠道病毒71(Enterovirus 71，EV-71)和/或柯萨奇病毒A16(Coxsackievirus group A type 16，Cox-A16)感染有关[2-3]，尤其是EV-71对人类神经系统具有高度亲和力，重症率约为6%[4-6]。了解肠道病毒感染后的宿主反应将有助于解释发病机制。最近，人们注意到微小核糖核酸(miRNA)在病毒和宿主之间复杂的相互作用网络中起着关键效应分子的作用[7-9]。为了鉴定宿主对EV-71或Cox-A16感染产生的不同miRNA反应，本研究通过微阵列分析调查了一组儿童HFMD患者血清miRNA表达特征谱，并通过实时定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction，PCR)鉴定了一组差异表达miRNA作为生物标志物的潜力。

1 材料与方法

1.1 *研究对象* 采用简单随机抽样法，选取2023年11月~2024年8月在重庆医科大学附属大足医院儿科确诊的HFMD患儿。纳入标准：①符合中国卫生部修订的HFMD诊断标准[10]；②症状出现后24 h内入院；③通过双链实时逆转录PCR检测咽或直肠拭子和/或囊泡液病毒RNA，证实EV-71、Cox-A16感染。排除标准：①已接受抗病毒和支持性对症治疗；②混合感染；③其他病原体感染；④存在可能影响HFMD临床表现的其他疾病，如免疫缺陷或恶性肿瘤。纳入在重庆医科大学附属大足医院儿保科定期接受健康检查且未感染的健康儿童作为对照。该项目已获得重庆医科大学附属大足医院临床试验伦理委员会的批准[2023年科伦审第(026)号]，获得书面知情同意。本研究包括两个阶段：①发现阶段：发现集包含EV-71或Cox-A16单一病毒感染者各8例，其中EV-71组儿童平均年龄3.56 ± 2.02岁，男5例和女3例；Cox-A16组儿童平均年龄2.57 ± 1.60岁，男5例和女3例；2组之间年龄和性别相匹配。②验证阶段：验证集包含EV-71组、Cox-A16组和对照组受试儿童各105例，其中Cox-A16组年龄0.08~6.82周岁，男68例和女37例，67例峰值体温≥38.5 ℃；EV-71组年龄0.08~7.00周岁，男57例和女48例，81例峰值体温≥38.5 ℃；健康对照组儿童为体温正常、无肺部湿音、无皮疹和肠道病毒阴性结果的参与者，年龄在0.08~6.75周岁，男67例和女38例；会诊期间总体状况稳定，峰值体温37.5℃～40.5℃，未出现脑炎或脑病症状。

1.2 *仪器与试剂* TruSeq small RNA文库制备试剂盒(货号：RS-122-2001)、Illumina Hi-seq 2000平台系统(美国Illumina公司)；miRcute增强型miRNA cDNA第一链合成试剂盒(货号：KR211)、荧光定量检测试剂盒(货号：FP411)(中国北京天根生化科技有限公司)；实时热循环系统(型号：ABI PRISM 7300，美国Applied Biosystems公司)。

1.3 *方法*

1.3.1 样本采集：入院后2h内(开始治疗前)采集血液样本，出现症状至采血时间为2.0~26.0 h。促凝样本采集后立刻4℃下2 184r/min(离心半径10cm)离心15 min分离上层血清，−20℃保存48 h后转移至−80℃长期保存用于批量检测。

1.3.2 miRNA微阵列芯片分析：采用发现集血清样本，经常规质量控制合格后，提取样本总RNA并完成纯度与完整性检测，基于miRNA微阵列芯片技术开展样本miRNA表达谱检测。通过芯片扫描获取原始表达数据，经背景校正、标准化等预处理后，完成数据质控与过滤。本研究差异表达miRNA的筛选阈值设定为：Benjamin Hochberg校正P值(q值)＜0.1、基因$\log_2$倍数变化(fold change，FC)绝对值＞1.5。在基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus，GEO)中检索GSE85829队列中基因表达谱数据，该队列包含了EV-71感染或Cox-A16感染的16HBE(人支气管上皮细胞)中miRNA表达数据，将本研究的差异表达miRNA谱与GSE85829队列数据进行韦恩图交集分析以筛选候选miRNA。

1.3.3 生物信息学分析：使用miRanda和RNAhybrid预测候选差异表达miRNA的靶基因，进行基因本体论(Gene Ontology，GO)富集和京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG)通路富集，GO富集分析包括生物过程(biological processes，BP)、分子功能(molecular function，MF)和细胞成分(cellular component，CC)。

1.3.4 血清实时荧光定量PCR检测miRNA：使用验证集血清样本进行实时荧光定量PCR。使用第一链合成试剂盒进行逆转录，通过荧光定量PCR扩增定量了阵列分析中的候选miRNA和内部对照U6 snRNA的表达水平。引物序列见表1。

1.4 *统计学分析* 数据分析采用sangerbox 3.0、SPSS 26.0以及Prism 8.0 软件。连续变量均不符合正态分布，以中位数(四分位间距)[M(P_{25}，P_{75})]表示，组间比较采用Kruskal-Wallis检验或者Mann-Whitney

U检验。计数资料以n(%)表示，组间采用χ^2检验。使用热图表示发现集中健康对照组和HFMD患儿差异表达miRNA。受试者操作特征(ROC)曲线用于开发基于miRNA的诊断模型。使用二元Logistic回归分析与HFMD发病有关的独立临床因素。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

表1 引物列表

基因	正向引物	反向引物
miR-21	5'-CTGTGCCGGGTAGAGAGGG-3'	5'-CATGCTGGGTGGAGAAGGTG-3'
miR-143	5'-CAGTGCTGCATCTCTGGTCA-3'	5'-TGCAGAACAACTTCTCTCTTCCT-3'
miR-494	5'-CTCGAAGGAGAGGTTGTCCG-3'	5'-AAAAAGAGGTTTCCCGTGTATGT-3'
miR-146a	5'-ACTGAATTCCATGGGTTGTGTC-3'	5'-TGACAGAGATATCCCAGCTGAAG-3'
miR-221	5'-TTTCCAGGTAGCCTGAAACCC-3'	5'-GGCATGAACCTGGCATACAA-3'
U6 snRNA	5'-CAGGAGACGGGAACGACAAA-3'	5'-CGTGAAAGACCGCAGCAAAA-3'

2 结果

2.1 miRNA在HFMD中的表达谱鉴定 在发现集中，EV-71组患儿(n=8)和Cox-A16组患儿(n=8)共筛选出768个miRNA。两组比较，EV-71组患儿的血清样本中有108个miRNA表达上调和30个miRNA表达下调，进一步与GSE85829队列数据进行韦恩图分析，得到5种交叉重叠的差异表达miRNA：miR-21、miR-143、miR-494、miR-146a、miR-221，将这5种差异表达miRNA作为候选生物标志物进行下一步验证。

2.2 差异表达miRNA的生物信息学分析 使用miRanda和RNAhybrid预测，这5种miRNA的靶基因数量分别为1 284个和1 309个，其中共同靶基因为849个。使用DAVID在线软件，对预测靶基因进行GO富集和KEGG通路富集，GO富集的主要结果：BP主要为生物黏附、生物调节、细胞黏附、细胞通讯；MF主要为调控区核酸结合、调控区DNA结合和转录调控区DNA连接；CC主要为核质、染色体/端粒区域和胞质。KEGG通路富集主要包括3条上调通路(钙黏蛋白信号通路、Wnt信号通路和血管生成)和6条下调通路(凋亡信号通路、B细胞活化、趋化因子和细胞因子介导的炎症信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用、造血细胞谱系、IgA产生的肠道免疫网络等)。

2.3 血清miRNA水平分析 在验证集中，与健康对照组相比，Cox-A16组和EV-71组血清miR-21、miR-143、miR-494、miR-146a、miR-221水平均显著升高(均$P<0.05$)；与Cox-A16组比较，EV-71组血清miR-21、miR-494、miR-143、miR-146a水平升高更明显(Z=−37.215、−11.082、−9.443、−21.195，均$P<0.05$)；但是血清miR-221在Cox-A16组和EV-71组之间差异无统计学意义(Z=−2.889，P=0.195)。见表2。

表2 健康对照组、EV-71组和Cox-A16组5种差异表达miRNA水平比较[M（P_{25}，P_{75}）]

项目	健康对照组（n=105）	Cox-A16组（n=105）	EV-71组（n=105）	H	P值
miR-21	1.32（0.78，1.86）	1.77（0.98，2.99）[a]	5.70（2.45，21.15）[ab]	100.551	<0.001
miR-494	1.23（0.35，2.65）	1.80（0.79，4.04）[a]	3.64（1.52，6.25）[ab]	35.604	<0.001
miR-143	2.46（1.92，4.89）	3.42（2.27，6.29）[a]	6.39（2.56，9.98）[ab]	18.279	<0.001
miR-221	1.04（0.96，4.67）	2.67（1.48，5.58）[a]	4.07（0.93，7.90）[a]	7.714	0.021
miR-146[a]	1.21（0.02，2.25）	1.99（0.02，4.19）[a]	6.42（2.50，11.79）[ab]	80.975	<0.001

注：与健康对照组比较，[a]$P<0.05$；与Cox-A16组比较，[b]$P<0.05$。

2.4 血清miRNA对HFMD的诊断价值 调整年龄、性别后，miR-21、miR-494、miR-143、miR-221、miR-146a水平升高仍然与HFMD发病显著相关(均$P<0.05$)，见表3。ROC曲线分析示，血清miR-21、miR-143、miR-494、miR-146a、miR-221都具有诊断HFMD的价值，AUC均>0.500(均$P<0.05$)，其中miR-146a诊断准确率最高(0.838)，miR-494次之(0.738)，其他miRNA的诊断能力准确率，AUC=0.584～0.627。见表4。

表3 调整混杂因素后差异表达miRNA与HFMD多因素Logistic回归分析

变量	β	SE	Wald	P	HR（95%CI）
miR-21（每增加1个单位）	0.336	0.081	17.013	<0.001	1.400（1.193~1.642）
miR-494（每增加1个单位）	0.287	0.063	20.756	<0.001	1.332（1.177~1.507）
miR-143（每增加1个单位）	0.145	0.037	15.415	<0.001	1.156（1.075~1.242）
miR-221（每增加1个单位）	0.099	0.036	7.468	0.006	1.104（1.028~1.186）
miR-146a（每增加1个单位）	0.284	0.054	27.362	<0.001	1.328（1.194~1.477）

注：因变量将HFMD组赋值1，对照组赋值0；连续型自变量直接纳入，分类自变量“是”赋值1，“否”赋值0。

表 4 差异表达 miRNA 诊断 HFMD 的价值

miRNA	特异度	敏感度	约登指数	AUC（95%CI）	*P* 值	截断值
miR-21	0.810	0.533	0.277	0.627（0.551~0.703）	0.001	1.910
miR-494	0.895	0.524	0.419	0.738（0.670~0.806）	＜0.001	3.595
miR-143	0.695	0.629	0.324	0.603（0.525~0.681）	0.010	3.090
miR-221	0.905	0.419	0.324	0.584（0.502~0.666）	0.035	6.500
miR-146a	0.867	0.724	0.591	0.838（0.783~0.893）	＜0.001	3.035

2.5 血清miRNA对EV-71 vs. Cox-A16的区分诊断价值 经ROC曲线分析，血清miR-21、miR-494、miR-146a均具有区分诊断EV-71组 vs. Cox-A16组的能力，AUC均＞0.600(均$P<0.05$)。3种miRNA联合预测模型具有最高的区分诊断能力(AUC=0.874)。经成对样本区域差异分析，与miR-21、miR-494、miR-146a相比，3种miRNA联合预测模型区分诊断EV-71组 vs. Cox-A16组的AUC均得到显著提升($Z=-3.065$、-4.081、-3.097，均$P<0.001$)，见表5和图1。

表 5 血清 miR-21、miR-494、miR-146a 区分 EV-71 组和 Cox-A16 组的诊断价价

项目	特异度	敏感度	约登指数	AUC（95%CI）	*P* 值	截断值
miR-21	0.362	0.826	0.187	0.751（0.701~0.812）	＜0.001	1.390
miR-494	0.724	0.552	0.276	0.620（0.543~0.697）	0.003	3.330
miR-143	0.548	0.567	0.115	0.529（0.473~0.583）	0.145	2.928
miR-221	0.648	0.467	0.115	0.548（0.491~0.604）	0.107	1.041
miR-146a	0.886	0.562	0.448	0.746（0.701~0.830）	＜0.001	5.605
联合预测	0.724	0.867	0.591	0.874（0.827~0.921）	＜0.001	0.447

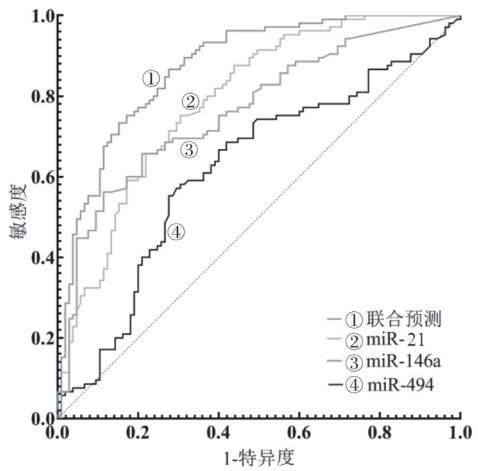

图 1 血清 miR-21、miR-494、miR-146a 区分诊断 EV-71 组和 Cox-A16 组的 ROC 曲线

3 讨论

了解肠道病毒感染后的宿主反应有助于阐述发病机制以及诊断试剂盒的研发。本研究在儿童HFMD患者血清中筛选出5种差异表达miRNA：miR-21、miR-143、miR-494、miR-146a、miR-221，并构建了一种基于3种miRNA(miR-21、miR-494、miR-146a)的联合模型以区分诊断EV-71或Cox-A16单一病毒亚型感染。

目前已经开发了各种实验室方法来诊断肠道病毒感染，但都存在一定的局限性[11-15]。最常用的病毒分子诊断方法，如逆转录PCR，取决于特定病原体的基因序列，病毒基因的突变可能会导致假阴性结果[14-15]。最近，宿主反应性循环miRNA作为一种新的非侵入性诊断和预后标志物得到了广泛的研究[16-17]。据报道，EV-71或Cox-A16单一病毒亚型感染对于宿主miRNA谱的改变存在差异[17-19]。本研究通过2个队列的筛选和确认，共鉴定出5种差异表达miRNA，与健康对照组相比，HFMD患儿血清miR-21、miR-143、miR-494、miR-146a、miR-221水平显著上调。为了评估这些失调miRNA在诊断肠道病毒感染方面的能力，为每种miRNA构建了ROC曲线。5种miRNA均显示出有效区分HFMD组和健康对照组的良好能力，AUC范围为0.584～0.838；此外，miR-21、miR-494、miR-146a具有可以区分诊断EV-71组vs Cox-A16组的能

力，3种miRNA组合模型的AUC高达0.874。这些数据表明，选定的宿主miRNA组合不仅为肠道病毒感染创造了独特的特征，而且显著提高了诊断效率。

从机制方面分析，细胞miRNA通过降解靶mRNA或抑制与靶mRNA特异性结合后的mRNA翻译来调节超过60%的人类基因，影响多种细胞过程，其失调与各种疾病的发展和进展有关[20-21]。GO富集和KEGG通路富集也证实了这些差异表达miRNA参与了许多免疫相关通路，如钙黏蛋白信号通路、Wnt信号通路、血管生成、凋亡信号通路、B细胞活化、趋化因子和细胞因子介导的炎症信号通路等，这与既往研究一致：即肠道病毒可以利用宿主miRNA通过直接或间接靶向感染期间与免疫系统过程相关的宿主分子来增强或抑制其存活[17,19,22-26]。这些数据都有助于阐明miRNA在EV-71和Cox-A16感染进展过程中不同的宿主-病原体相互作用机制，尤其是包括miR-21、miR-143、miR-494、miR-146a在内的一些miRNAs在EV-71感染者血清中的上调可能与诸多神经系统细胞损伤的重要分子机制，如靶向髓样分化因子88和白细胞介素-1受体相关激酶1、调控PI3K/Akt信号通路等有关[24-26]，这也部分解释了EV-71感染患儿预后更差的原因。

本研究的局限性包括：①仅在单一病毒亚型感染患儿中测量了血清miRNA浓度，缺少miRNA功能实验验证，无法深入分析其因果机制；②相对较小的样本量会影响统计分析能力，特别是对于多因素回归模型；③单中心研究，未包含其他肠道病毒亚型，外部泛化性需验证；④在发现集中患儿的采血时间为出现症状后的2.0~26.0h，时间跨度相对较长，这可能会造成筛选出的差异miRNA过多或过少；⑤缺乏动态监测miRNA与病程关联的数据。总的来说，目前的发现需要基于更大样本量的进一步匹配研究来证实。

综上，本研究鉴定了一组与HFMD发病相关的血清miRNA表达谱，其中3种miRNA（miR-21、miR-494、miR-146a）具有区分诊断EV-71或Cox-A16单一亚型感染的能力。因此，EV-71或Cox-A16感染伴随的宿主血清miRNA水平变化可能是一个重要指标，这将有助于理解肠道病毒感染的miRNA介导机制。

参考文献：

[1] ZHANG X L, ZHANG Y F, LI H, et al. Hand-foot-and-mouth disease-associated enterovirus and the development of multivalent HFMD vaccines[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 24(1): 169.

[2] LI Y, YANG J M, LIANG L, et al. Clinical characteristics and severity of hand, foot, and mouth disease by virus serotype: a prospective hospital-based cohort study[J]. PLOS Neglected Tropical Diseases, 2025, 19(5): e0013039.

[3] XIA M Y, ZHU Y, LIAO J, et al. Clinical, aetiological, and epidemiological studies of outpatient cases of hand, foot, and mouth disease in Chengdu, China, from 2019 to 2022: a retrospective study[J]. BMC Public Health, 2024, 24(1): 3427.

[4] 潘虹，陈小玲，文奇，等. 2018-2023年新余地区手足口病流行特征及其CVA6型病毒分子特征研究[J]. 病毒学报，2025, 41(3): 645-651.
PAN H, CHEN X L, WEN Q, et al. Analysis of epidemiological characteristics of HFMD and molecular features of CVA6 in Xinyu from 2018 to 2023[J]. Chinese Journal of Virology, 2025, 41(3): 645-651.

[5] CHOOI W H, WINANTO, ZENG Y, et al. Enterovirus-A71 preferentially infects and replicates in human motor neurons, inducing neurodegeneration by ferroptosis[J]. Emerging Microbes & Infections, 2024, 13(1): Article: 2382235.

[6] SUN Y H, QIAN S S, DU Y X, et al. A single amino acid mutation in VP1 of coxsackievirus A6 determining efficiency of VP0 cleavage and proliferation[J]. Journal of Virology, 2025, 99(6): e0012825.

[7] CHEN W, LI J W, LI J, et al. Roles of non-coding RNAs in virus-host interaction about pathogenesis of hand-foot-mouth disease[J]. Current Microbiology, 2022, 79(9): 247.

[8] ZHU P Y, CHEN S Y, ZHANG W G, et al. Essential role of non-coding RNAs in enterovirus infection: from basic mechanisms to clinical prospects[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(6): 2904.

[9] LIU G, ZHU D, FENG K, et al. The neurological damage caused by enterovirus 71 infection is associated with hsa_circ_0069335/miR-29b/PMP22 pathway [J]. Journal of Virology, 2025, 99(1): e0084424.

[10] 《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.
Expert Committee for *Guidelines for the diagnosis and treatment of hand, foot, and mouth disease (2018 Edition)*. Guidelines for the diagnosis and treatment of hand, foot, and mouth disease (2018 Edition)[J]. Chinese Journal of Infectious Diseases, 2018, 36(5): 257-263.

[11] 朱磊，徐妍妍，盛利平，等. 手足口病患儿血清FGF-21与GDF-15水平检测的临床诊疗应用研究[J]. 现代检验医学杂志，2023, 38(5): 180-184.
ZHU L, XU Y Y, SHENG L P, et al. Research on the application of serum FGF-21 and GDF-15 in clinical diagnosis and treatment of children with hand, foot and mouth disease[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2023, 38(5): 180-184.

[12] 张颖，秦红，刘凤霞，等. 手足口病患儿血清LTB4和COX2水平表达与疾病严重程度及预后的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志，2022, 37(5): 143-147.
ZHANG Y, QIN H, LIU F X, et al. Correlation between serum LTB4 and COX-2 levels expression and disease severity, prognosis in children with hand-foot-and-

mouth disease[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2022, 37(5): 143-147.
[13] SHRESTHA S, MALLA B, HARAMOTO E. Monitoring hand foot and mouth disease using long-term wastewater surveillance in Japan: quantitative PCR assay development and application[J]. Sci Total Environ, 2023, 901: 165926.
[14] 朱义芳 , 孙照华 , 蔡晶娟 , 等 .IgM 胶体金法与 RT-PCR 法对手足口病诊断及随访的价值分析 [J]. 四川医学 , 2021, 42(2): 123-126.
ZHU Y F, SUN Z H, CAI J J, et al. Value of IgM colloidal gold method and RT-PCR method in diagnosis and follow-up of hand-foot-mouth disease[J]. Sichuan Medical Journal, 2021, 42(2): 123-126.
[15] HUANG C Y, SU S B, CHEN K T. A review of enterovirus-associated hand-foot and mouth disease: preventive strategies and the need for a global enterovirus surveillance network[J]. Pathogens and Global Health, 2024, 118(8): 538-548.
[16] TIAN X Y, LIU B X, LI L R, et al. Microvesicles carrying EV71 virions cross BBB through endocytic pathway to induce brain injury[J]. Cell Communication and Signaling, 2025, 23(1): 183.
[17] FU L, ZHANG X Y, JIN W P, et al. Identification of a conserved, linear epitope on VP3 of enterovirus a species recognized by a broad-spectrum monoclonal antibody[J]. Viruses, 2023, 15(4): 1028.
[18] PIERI M, VAYIANOS P, NICOLAIDOU V, et al. Alterations in circulating miRNA levels after infection with SARS-CoV-2 could contribute to the development of cardiovascular diseases: what we know so far[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(3): 2380.
[19] CAVALLONE D, ORNOS E D B, RICCO G, et al. The circulating miRNA profile of chronic hepatitis D and B patients is comparable but differs from that of individuals with HBeAg-negative HBV infection[J]. Viruses, 2023, 15(11): 2257.
[20] WANG L L, WANG H, LIU T J, et al. METTL3-mediated m6A modification of circCSDE1 promote Coxsackievirus replication by regulating the miR-891b/BAG3 axis[J]. International Immunopharmacology, 2025, 159: 114905.
[21] TANG C Y, CHEN Y, JIN H J, et al. MiR-342-5p targets CTNNBIP1 to promote enterovirus 71 replication[J]. Microbial Pathogenesis, 2023, 182: 106259.
[22] FENG N, ZHOU Z Z, LI Y X, et al. Enterovirus 71-induced has-miR-21 contributes to evasion of host immune system by targeting MyD88 and IRAK1[J]. Virus Research, 2017, 237: 27-36.
[23] 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 Virologica, 2020, 64(3): 338-343.
[24] WANG Y X, SHAO L J, ZHAO Z G, et al. Simultaneous detection of dual microRNAs related to EV71 using ICP-MS based on metal nanoparticle labeling with hybridization chain reaction[J]. Anal Chim Acta, 2024, 1294: 342272.
[25] YANG W X, LI L, LI G L, et al. Blocking CCL3-mediated neutrophil recruitment into the brain alleviates immunopathology following severe enterovirus 71 infection[J]. iScience, 2024, 27(12): 111388.
[26] GUO H Z, ZHU Y Y, ZOU Y, et al. Enterovirus 71 induces pyroptosis of human neuroblastoma SH-SY5Y cells through miR-146a/ CXCR4 axis[J]. Heliyon, 2023, 9(4): e15014.

收稿日期：2025-11-13
修回日期：2025-12-23

（上接第 13 页）

[14] PRICE E J, BENJAMIN S, BOMBARDIERI M, et al. British society for rheumatology guideline on management of adult and juvenile onset sjögren disease[J]. Rheumatology, 2025, 4(2): 409-439.
[15] ROMERO-SÁNCHEZ C, CALIXTO O J, ROMERO-ALVAREZ V, et al. Analysis of ANA/DFS70 pattern in a large cohort of autoimmune/autoinflammatory diseases compared with first degree relatives and healthy controls evaluated from Colombia[J]. Diagnostics Basel Switzerland, 2022, 12(9): 2181.
[16] CHENG C F, LAN T Y, KAO J H, et al. The significance of dense fine speckled pattern in antinuclear antibody-associated rheumatic disease and coexisting autoantibodies: a propensity score-matched cohort study[J]. International Journal of Rheumatic Diseases, 2023, 26(9): 1667-1675.
[17] 王娇,杜利君,赵佳,等.系统性红斑狼疮患者 ANA 免疫荧光核型分布及其与病情发展的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志 , 2023, 38(6): 42-47, 130.
WANG J, DU L J, ZHAO J, et al. Correlation between ANA immunofluorescence karyotype distribution and disease development in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2023, 38(6): 42-47, 130.
[18] PISETSKY D S, LIPSKY P E. New insights into the role of antinuclear antibodies in systemic lupus erythematosus[J]. Nature Reviews Rheumatology, 2020, 16(10): 565-579.
[19] TANAKA A. Current understanding of primary biliary cholangitis[J]. Clinical and Molecular Hepatology, 2021, 27(1): 1-21.
[20] 中华医学会肝病学分会.原发性胆汁性胆管炎的诊断和治疗指南 (2021)[J].中华内科杂志 , 2021, 60(12): 1024-1037.
Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association. Guidelines on the diagnosis and management of primary biliary cholangitis (2021)[J]. Chinese Journal of Internal Medicine, 2021, 60(12): 1024-1037.

收稿日期：2026-03-31
修回日期：2026-05-11