

# 肠道病毒调控固有免疫的分子机制研究进展

李慧丽<sup>1</sup>, 李晓涵<sup>1</sup>, 王威<sup>1</sup>, 李岩<sup>1</sup>, 魏伟<sup>\*1,2</sup>

1 吉林大学第一医院转化医学研究院, 吉林 长春 130021

2 吉林大学艾滋病与病毒研究所, 吉林 长春 130021

李慧丽, 李晓涵, 王威, 李岩, 魏伟. 肠道病毒调控固有免疫的分子机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(8): 3635-3646.

LI Huili, LI Xiaohan, WANG Wei, LI Yan, WEI Wei. Progress in the regulation of host innate immunity by enteroviruses[J]. Microbiology China, 2023, 50(8): 3635-3646.

**摘要:** 肠道病毒属于小核糖核酸病毒科, 包括脊髓灰质炎病毒等多种重要人类病原体, 已成为全球公共卫生安全的重大威胁之一。固有免疫是机体早期抵御病毒感染的重要防线。不同肠道病毒在进化中已经具备了多种途径躲避免疫识别或诱导固有免疫系统失活。本文重点对肠道病毒调控宿主固有免疫的相关分子机制进行综述, 系统整理了肠道病毒逃避干扰素依赖与干扰素非依赖的抗病毒固有免疫防御的分子特征与作用规律, 为肠道病毒致病机制的探究和抗病毒药物的研发提供参考。

**关键词:** 肠道病毒; 固有免疫; 分子机制; 模式识别受体

## Progress in the regulation of host innate immunity by enteroviruses

LI Huili<sup>1</sup>, LI Xiaohan<sup>1</sup>, WANG Wei<sup>1</sup>, LI Yan<sup>1</sup>, WEI Wei<sup>\*1,2</sup>

1 Institute of Translational Medicine, The First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin, China

2 Institute of Virology and AIDS Research, Jilin University, Changchun 130021, Jilin, China

**Abstract:** Enteroviruses belonging to the family *Picornaviridae* include poliovirus and other major human pathogens and have become one of the major threats to global health. Innate immunity is an important host defense against viral infection. Diverse enteroviruses have evolved multiple ways to evade immune recognition or inactivate the innate immune system. We reviewed the recent studies about the mechanisms of enteroviruses regulating innate immune

资助项目: 国家自然科学基金(81772183, 31800150)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81772183, 31800150).

\*Corresponding author. E-mail: wwei6@jlu.edu.cn

Received: 2022-10-15; Accepted: 2023-01-06; Published online: 2023-02-14

response and systematically introduced the molecular characteristics of enterovirus evasion of interferon-dependent and interferon-independent antiviral innate immune defense, hoping to provide a reference for deciphering enterovirus pathogenesis and developing targeted antiviral drugs.

**Keywords:** enterovirus; innate immunity; molecular mechanism; pattern-recognition receptors

肠道病毒(enterovirus, EV), 属于小核糖核酸病毒科肠道病毒属的一员, 是无囊膜、单股正链 RNA 病毒, 其基因组大小约为 7-8 kb。肠道病毒曾长期被认为仅含有单一开放阅读框(open reading frame, ORF), 用于编码病毒蛋白前体, 经过后期蛋白酶水解加工形成肠道病毒结构蛋白(VP1、VP2、VP3、VP4)和非结构蛋白(2A、2B、2C、3A、3B、3C、3D)<sup>[1]</sup>。肠道病毒颗粒呈正二十面体堆成的球形结构, 由 60 个重复的亚单位组成, 每个亚单位包含 4 种结构蛋白 VP1、VP2、VP3 和 VP4。其中 VP1-VP3 位于病毒粒子外部, 与受体识别、结合及宿主抗病毒免疫反应密切相关<sup>[2]</sup>。此外, 非结构蛋白同样是肠道病毒传播与复制中的重要物质基础, 2A、3C 和 3CD 蛋白均具有半胱氨酸酶活性, 负责病毒前体蛋白的剪切加工; 病毒膜相关蛋白 2B 能够调节细胞膜通透性, 促进子代病毒的释放; 2C、3A 参与病毒复制复合体的形成; 3D 是一种 RNA 依赖的 RNA 聚合酶, 负责完成病毒 RNA 复制中的链延伸<sup>[3]</sup>。我们发现了绝大多数肠道病毒基因组中存在一个新开放阅读框(ORF2), 能够编码一个新病毒蛋白, 我们将之命名为 ORF2p<sup>[4]</sup>。ORF2p 蛋白具备促进病毒从人肠道上皮细胞内释放的功能, 是病毒对肠道组织嗜性的重要决定因素<sup>[4]</sup>。越来越多的研究还表明肠道病毒蛋白不仅直接参与病毒复制周期, 还通过与宿主蛋白相互作用为病毒复制创造有利的复制微环境。

固有免疫是宿主早期抵抗病毒感染的重要

防线。模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRRs)通过识别病原体相关分子模式(pathogen associated molecule patterns, PAMPs)激活固有免疫相关信号通路, 诱导干扰素(interferon, IFN)和促炎细胞因子的产生, 调动细胞进入抗病毒防御状态<sup>[5]</sup>。在肠道病毒与宿主细胞的相互作用中, 肠道病毒蛋白通过靶向免疫信号传导、调控细胞自噬和细胞焦亡等途径, 躲避或者抑制宿主固有免疫反应, 以促进自身的病毒增殖传播。本文将对近期肠道病毒蛋白调控宿主细胞固有免疫研究进展进行综述, 为肠道病毒致病机制的探究以及抗病毒药物的研发提供新的角度与思路。

## 1 肠道病毒调控干扰素信号通路相关的固有免疫反应

干扰素是机体免疫细胞分泌的一种细胞因子, 具有拮抗多种病毒感染与复制的能力。固有免疫系统依赖 PRRs 识别 PAMPs 监测外源病毒感染, 通过活化干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor, IRF3)和 NF- $\kappa$ B 通路诱发干扰素蛋白的产生与分泌, 刺激干扰素-受体-Janus 激酶(janus activated kinase, JAK)/信号传导及转录激活蛋白(signal transducer and activation of transcription, STAT)信号轴, 产生和募集大量具有抗病毒活性的蛋白质, 抵御病毒入侵和复制。近年来, 大量研究已证实肠道病毒具有拮抗干扰素依赖的固有免疫防御的能力。

## 1.1 阻断模式识别受体信号传导

### 1.1.1 抑制 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs) 信号通路活化

TLR 是识别肠道病毒的重要模式识别受体<sup>[6]</sup>, 依赖 IFN- $\beta$  TIR 结构域衔接蛋白(TIR-domain-containing adaptor inducing interferon- $\beta$ , TRIF)或髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88)诱导 IFN 和促炎细胞因子的产生, 参与抗病毒先天免疫反应。截至目前, 在哺乳动物中发现共有 13 种 TLR, 其中位于细胞内的 TLR3、TLR7、TLR8、TLR9 是病毒核酸的效应器<sup>[7]</sup>。Chen 等<sup>[8]</sup>前期发现 TLR3 缺陷的小鼠巨噬细胞对 EV-A71 表现出更高的易感性, 提示 TLR3 依赖的固有免疫信号影响 EV-A71 体内感染。Chi 等<sup>[9-11]</sup>的研究表明 TLR7 和 TLR8 在 EV-A71、柯萨奇病毒 B3 (coxsackievirus B3, CV-B3)、人鼻病毒(human rhinovirus, HRV)的识别中均发挥着决定性作用。

相反地, 近期多项研究表明肠道病毒蛋白可阻断 TLR 信号通路关键基因的表达, 以抑制宿主细胞抗病毒反应活化, 为病毒复制提供有利条件。首先, 肠道病毒自身编码蛋白酶可直接参与切断 TLR 信号转导。Mukherjee 等<sup>[12]</sup>发现 CV-B3 3C 蛋白依赖自身蛋白酶活性对宿主 TRIF 蛋白进行剪切, 干扰了 I 型干扰素的产生。其次, 肠道病毒还可间接调控 TLR 信号通路抑制因子表达。Gu 等<sup>[13]</sup>研究表明 EV-A71 病毒感染可特异性上调泛素特异性蛋白酶 19 (ubiquitin-specific protease 19, USP19)的蛋白表达, 通过 USP19 去泛素化活性下调肿瘤坏死因子受体相关因子 3 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 3, TRAF3)蛋白泛素化水平, 进而抑制 TLR 信号传导。此外, 肠道病毒还可以操纵宿主细胞 MicroRNAs 负调控宿主细胞免疫系统。CV-B3 通过上调 miR-146a 表达,

负调节内源性 TLR3 和 TRAF6 蛋白表达, 最终阻断 TLR3-NF- $\kappa$ B 信号通路的激活<sup>[14]</sup>。EV-A71 感染增强了 miR-21 对 MyD88 和 IRAK1 表达抑制作用<sup>[15]</sup>; 此外, EV-A71 还通过上调 miR-30a 来抑制 MyD88 表达<sup>[16]</sup> (图 1)。

### 1.1.2 拮抗 RIG-I 样受体(RIG-I like receptors, RLRs)信号通路活化

RIG-I 与 RIG-I 类似受体(RIG-I-like Receptor, RLR)能够识别异常进入细胞内的外源 RNA, 从而介导固有免疫活化。肠道病毒属于 RNA 病毒, 在复制过程中不可避免地产生大量的病毒 RNA。通过识别胞质内病毒 RNA, 引发 RIG-I 和黑色素分化瘤基因 5 (melanoma differentiation-associated gene 5, MDA5)分子结构发生改变, 与下游线粒体抗病毒信号适配器(mitochondrial antiviral signaling adaptor, MAVS)的互作激活了 TRAF3、蛋白激酶  $\epsilon$  (IKK- $\epsilon$ )和 TANK 结合激酶 1 (TANK-Binding Kinase 1, TBK1)等下游信号分子, 诱导 I 型干扰素基因的表达<sup>[17]</sup>。因此, 肠道病毒调控 RLR 信号通路对于病毒复制至关重要。前期研究已证实 MDA5 介导的干扰素信号通路在抵御 CV-B3、EV-A71 感染的过程中发挥关键作用, MDA5-MAVS 信号轴缺陷的小鼠感染 CV-B3 后具有更高的死亡率<sup>[18]</sup>, 体外过表达 MDA5 或 RIG-I 显著增强 EV-A71 病毒感染诱发干扰素的产生<sup>[19]</sup>。

在肠道病毒与宿主免疫之间“军备式”(host-virus arms races)竞争进化过程中, 肠道病毒同样获得了多种途径抑制 RLR 信号通路中识别受体的活化。首先, 依赖肠道病毒蛋白酶进行直接剪切。Barral 等<sup>[20]</sup>发现 PV 3C 蛋白酶可靶向 RIG-I 蛋白进行切割, 导致 RIG-I 丧失免疫信号传导的活性。Feng 等<sup>[21]</sup>发现 CV-B3、EV-A71、PV 等病毒编码的另一种蛋白酶 2A 可直接切割免疫识别因子 MDA5, 以干扰 RLR 信

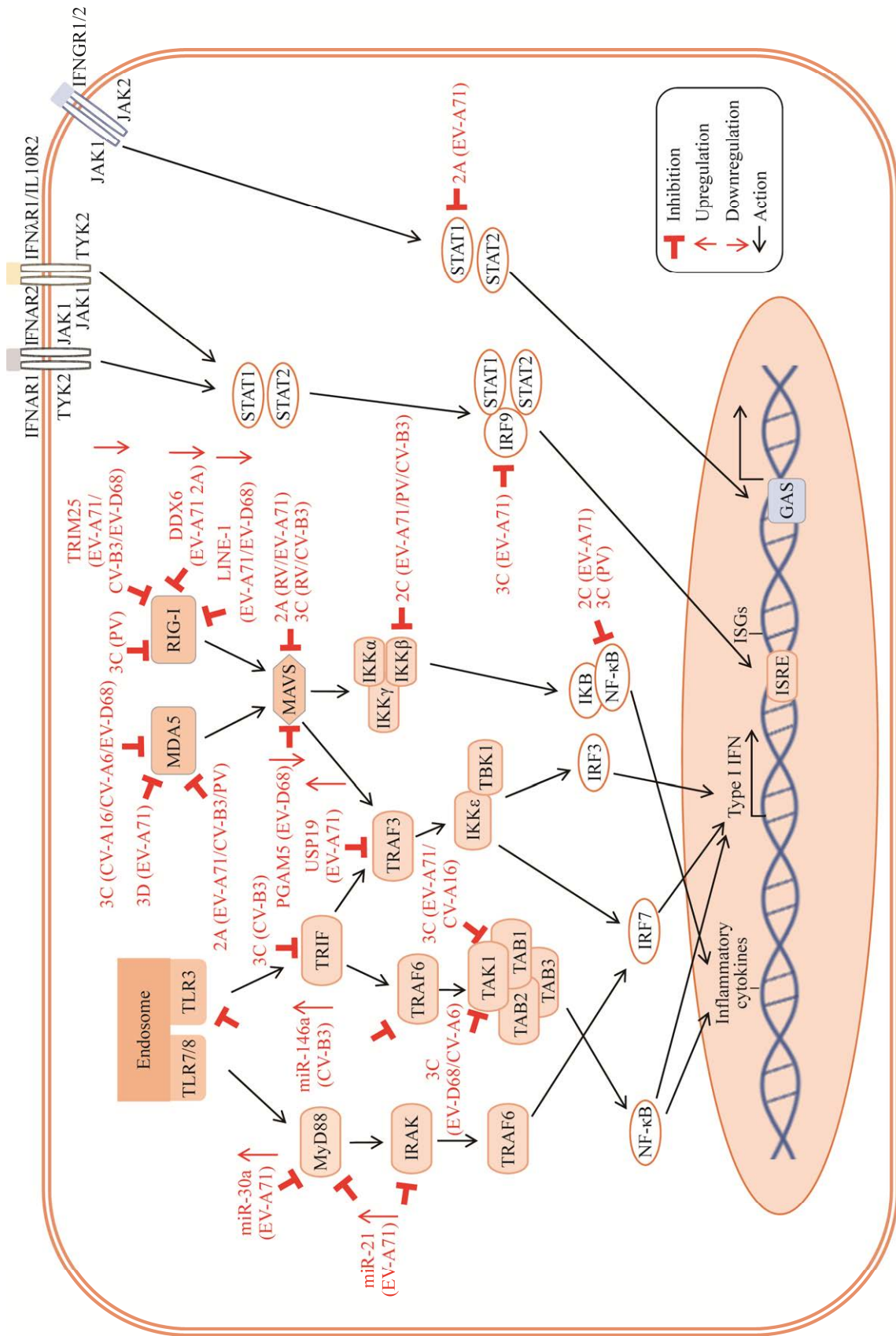


图 1 肠道病毒调控固有免疫的主要分子机制  
 Figure 1 The main molecular mechanism of enterovirus in regulating innate immunity response.

号活化。我们发现肠道病毒 3C 蛋白除了依赖自身蛋白酶剪切 RLR 信号通路中的关键蛋白外, 还通过直接结合 MDA5 蛋白, 抑制 MDA5 与下游接头蛋白 MAVS 的相互作用, 抑制免疫信号传导<sup>[22]</sup>。其次, 肠道病毒还通过调控 RLR 识别受体的关键辅助因子的表达, 发挥逃避固有免疫的作用。EV-A71、CV-B3、EV-D68 等病毒编码的 3C 蛋白能特异地下调三基序蛋白 25 (tripartite motif protein 25, TRIM25)来抑制 RIG-I 蛋白泛素化修饰水平, 该作用干扰了 RIG-I 半胱氨酸招募结构域(caspase-recruitment domain, CARD)的暴露, 阻断 RIG-I 对 MAVS 的招募<sup>[23]</sup>。EV-A71 病毒蛋白 2A 可选择性地诱导 DEAD-box 解旋酶 6 (dead-box helicase, DDX6)蛋白降解, 破坏 RIG-I-DDX6 复合物形成, 阻断免疫信号活化<sup>[24]</sup>。此外, 肠道病毒聚合酶 3D 参与病毒逃逸 RLR 信号通路。EV-A71 3D 不仅能识别并结合 MDA5 CARD 结构域, 抑制 MDA5 介导的抗病毒反应, 还通过与 RLR 信号通路负调节因子 苜蓿素 1 (beclin1)相互作用, 发挥抑制 I 型干扰素产生的作用<sup>[25-26]</sup>。

MAVS 是 RIG-I 和 MDA5 所共用的下游适配器, 肠道病毒还可通过靶向 MAVS 来阻断 RLR 信号通路。研究发现, CV-B3 通过 3C, HRV 通过 2A、3C, 以及 EV-A71 通过 2A 等蛋白酶切割 MAVS 蛋白, 中止了固有免疫信号传导<sup>[12,27-28]</sup>。而且 Feng 等<sup>[21]</sup>发现 CV-B3 和 EV-A71 能够诱导相同的 MAVS 裂解模式, 并且产生相似的 MAVS 裂解物。EV-D68 的 3D 蛋白同样参与抑制 MAVS 蛋白功能。Yang 等<sup>[29]</sup>发现 EV-D68 感染通过下调磷酸甘油酸变位酶 5 (phosphoglycerate Mutase 5, PGAM5)增强线粒体融合蛋白 2 (mitofusin 2, MFN2)的表达, 而 MFN2 与 MAVS 的相互作用负调节 RLR 通路的激活(图 1)。

## 1.2 阻断固有免疫下游 NF- $\kappa$ B 信号通路

NF- $\kappa$ B 信号通路是 TLR 和 RLR 信号转导的重要下游组成, 在介导宿主细胞固有免疫活化与抑制肠道病毒复制中发挥着重要作用(图 1)。转化生长因子激酶 1 (transforming growth factor  $\beta$ -activated kinase 1, TAK1)是 NF- $\kappa$ B 信号通路中的关键因子, 参与形成 TAK1/TAB1/TAB2/TAB3 蛋白复合物, 以激活 NF- $\kappa$ B 信号, 诱导干扰素与细胞因子的产生; EV-A71 3C 蛋白可直接切割 TAK1 蛋白, 导致关键因子失活, 抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路传导<sup>[30]</sup>。与此一致的是, 我们的研究发现多种肠道病毒 CV-A16、CV-A6 和 EV-D68 编码的 3C 蛋白均能够对 TAK1 进行剪切, 提示 TAK1 作为肠道病毒 3C 蛋白保守识别底物, 是肠道病毒家族逃避宿主固有免疫激活的共性特征<sup>[22]</sup>。PV 3C 蛋白则通过切割 p65/RelA 蛋白来抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路<sup>[31]</sup>。除了蛋白酶剪切关键信号传导蛋白外, EV-A71 病毒的 2C 蛋白通过直接识别 p65 的 IPT 结构域, 干扰 P65/P50 异二聚体的形成<sup>[32]</sup>。多种肠道病毒(如 PV、CV-B3、EV-A71)的 2C 蛋白还通过招募蛋白磷酸酶 1 (protein phosphatase 1, PP1)和 I $\kappa$ B 酶  $\beta$  (I $\kappa$ B kinase  $\beta$ , IKK $\beta$ )形成复合物来抑制 IKK $\beta$  磷酸化, 进一步切断 NF- $\kappa$ B 信号通路传导<sup>[33]</sup>。因此, 阻断 NF- $\kappa$ B 信号通路也是肠道病毒逃逸宿主固有免疫的常用策略之一(图 1)。

## 1.3 拮抗干扰素-干扰素受体-JAK/STAT 信号通路传导

I 型干扰素产生并分泌到细胞外之后, 可识别干扰素受体(interferon receptor)以诱导 JAK1 和酪氨酸激酶 2 (tyrosine kinase 2, TYK2)活化, 导致 STAT1 和 STAT2 蛋白磷酸化后形成异二聚体, 随后与干扰素调节因子进一步组成干扰素刺激基因因子 3 (IFN-stimulated gene factor 3, ISGF3)蛋白复合物, 在转录水平上激活

多种干扰素刺激基因表达<sup>[34]</sup>。Hung 等<sup>[34]</sup>发现 EV-A71 感染过程中, 3C 蛋白酶诱导 IRF9 的裂解, 引起干扰素信号失活。Kastan 等<sup>[35-36]</sup>的近期研究表明肠道病毒编码的 2A 蛋白通过切割 JAK-STAT1 信号正向调节因子 YTH 结构域家族蛋白 3 (YTH domain family protein 3, YTHDF3), 抑制宿主固有免疫反应; 2B 蛋白通过激活半胱氨酸蛋白酶-3 (cysteiny l aspartate specific proteinase-3, caspase-3) 增强其介导的核转运蛋白- $\alpha$ 1 (karyopherin- $\alpha$ 1, KPAN1) 的裂解, 阻断 p-STAT1/2 与 KPAN1 复合体的形成, 协同拮抗 JAK-STAT 抗病毒反应。

肠道病毒同样具有躲避和干扰 II 型和 III 型干扰素信号通路的作用。Wang 等<sup>[37]</sup>发现 EV-A71 病毒依赖自身蛋白酶 2A 和 3D 通过不同机制干扰 IFN- $\gamma$  活性: 2A 通过抑制 STAT1 的磷酸化, 而 3D 主要通过抑制 IFN- $\gamma$  蛋白表达。肠道病毒 2A 和 3C 蛋白酶具有抑制肠上皮细胞(intestinal epithelial cells, IECs)的 III 型干扰素受体 IFN- $\lambda$ R 表达的功能<sup>[38]</sup>。肠道病毒调控不同干扰素信号通路, 通过拮抗干扰素诱导基因编码产物调控抗病毒机制是一个高度错综交叉的互作网络, 未来的研究将会进一步拓展我们对该过程复杂程度的认识。

#### 1.4 抑制内源性逆转座核酸元件介导干扰素信号通路活化

越来越多的研究显示细胞内逆转座元件在转座过程中所产生的核酸物质会激活细胞内固有免疫识别受体, 引发细胞抗病毒免疫反应。Yu 等<sup>[39]</sup>的研究表明逆转录转座子 LINE-1 (long interspersed elements-1) 的逆转座活性与 IFN- $\beta$  的表达呈正相关。Zhao 等<sup>[40]</sup>的研究进一步发现, LINE-1 RNA 通过诱导 RIG-I 和 MDA5 的激活引发固有免疫反应。

近期, 我们的研究发现肠道病毒感染能够

显著抑制 LINE-1 转座能力, 抑制 LINE-1 转座产生的核酸物质积累。研究显示, EV-D68 2A、3A、3C 以及新发现的 EV-A71 ORF2p 蛋白通过不同机制拮抗 LINE-1 转座的多个关键环节, 形成了肠道病毒特异的 LINE-1 负调控网络; ORF1p 和 ORF2p 是 LINE-1 编码的两种功能蛋白, 在 LINE-1 逆转座过程中发挥重要作用, 同时也是肠道病毒抑制 LINE-1 的重要作用靶点; EV-D68 2A 蛋白显著抑制 LINE-1 ORF1p 的表达并削弱了 LINE-1 ORF2p 的逆转录酶功能; EV-D68 3A、3C 蛋白则依赖对 LINE-1 ORF2p 逆转录酶活性的负调节发挥抑制 LINE-1 活性的作用; EV-A71 ORF2p 蛋白则是通过降低 ORF1p 的表达限制 LINE-1 的逆转座<sup>[41]</sup>。这些研究提示我们细胞内移动核酸元件在固有免疫反应中发挥着重要的信号传导作用, 病毒在进化中已经具备拮抗策略, 但相关分子机理仍有待进一步研究。

## 2 肠道病毒逃避干扰素非依赖的抗病毒免疫防御

除了干扰素依赖的抗病毒通路以外, 哺乳细胞内还存在 RNA 干扰(RNA interference, RNAi)、应激颗粒形成(stress granules, SGs)、自噬反应和炎症小体活化等固有途径靶向病毒复制。为了有效感染并产生子代病毒, 肠道病毒通过自身编码蛋白调控削弱了宿主细胞相关抗病毒防御。

### 2.1 逃逸 RNAi 抗病毒免疫

RNAi 是一种非常古老的真核生物抗病毒机制, 在植物、真菌和无脊椎动物中均发挥着关键的抗病毒作用。病毒 RNA 复制中所产生的双链 RNA 能够被宿主 Dicer 蛋白识别并切割成 21-23 nt 小片段 RNA, 此类病毒感染衍生的小

片段 RNA 可以作为小干扰 RNA (siRNA) 转移到 RNA 诱导沉默复合体上, 介导被侵入细胞内病毒 RNA 的降解; EV-A71 3A 蛋白能够特异性结合病毒 RNA, 保护 RNA 不被 Dicer 识别和剪切, 抑制病毒小干扰 RNA 的产生, 也证实了哺乳细胞内 RNAi 抗肠道病毒免疫防御的重要性<sup>[42]</sup>。同时, 近期研究进一步通过设计多肽类抑制剂特异性靶向肠道病毒 RNAi 抑制子 3A, 恢复了细胞内 RNAi 的抗病毒能力, 在体内外均展现出较好的抗病毒活性, 为治疗手足口病等肠道病毒感染疾病提供了重要的药物新靶标<sup>[43]</sup>。

## 2.2 抑制应激颗粒形成

病毒感染可诱发应激颗粒形成, 影响宿主细胞内正常蛋白质翻译水平, 在固有免疫反应中发挥调节作用。Reineke 等<sup>[44]</sup>发现参与 SGs 成核的关键蛋白 G3BP1 可作为免疫反应的激活剂, 能够激活 NF- $\kappa$ B 和 JNK 介导的抗病毒信号。Cheng 等<sup>[45]</sup>进一步确证了应激颗粒形成对 EV-D68 病毒复制的抑制作用, 还发现 SGs 相关蛋白通过与 EV-D68 RNA 3'UTR 互作抑制病毒复制。

为了拮抗应激颗粒的抗病毒作用, 肠道病毒发展了相应的策略阻止应激颗粒的形成。White 等<sup>[46]</sup>发现 PV 感染早期虽然会导致 SGs 形成, 但随着病毒复制, SGs 逐步消失; 并且, 该过程与 PV 的 3C 蛋白酶表达存在较高的相关性。随后, Cheng 等<sup>[45,47]</sup>发现 EV-D68、EV-A71、CV-B3 的 3C 蛋白通过切割 G3BP1 蛋白抑制 SGs 形成, 揭示了肠道病毒拮抗 SGs 持续形成的保守机制。近期研究进一步发现肠道病毒 2A 是抑制 SGs 形成的基础; 此外, 2A 蛋白表达会诱导非经典 SGs 的形成, 该类型的应激颗粒仅具有抑制宿主细胞内翻译过程的作用, 对病毒复制不具有抑制作用<sup>[48]</sup>。以上研究提示, 调控应激颗粒形成是肠道病毒篡改宿主细胞固有免

疫微环境的一个重要靶标。

## 2.3 操纵细胞自噬进程

自噬是固有免疫的重要组成部分, 参与 PRRs 识别 PAMPs, 诱导 IFN 介导的抗病毒反应<sup>[49]</sup>。然而, 细胞自噬对肠道病毒复制具有重要的促进作用。Huang 等<sup>[50-52]</sup>发现 CV-B3、EV-A71、PV、EV-D68 等肠道病毒感染均可诱导宿主细胞发生自噬反应, 该过程促进了肠道病毒的复制能力; 自噬抑制剂 3-MA 处理具有抑制肠道病毒复制的作用, 而在病毒感染前通过血清饥饿处理上调早期自噬水平反应则提高了病毒产量。已有研究表明肠道病毒感染通过诱导自噬反应负向调节 TLR7 介导的干扰素相关基因表达, 躲避宿主抗病毒免疫反应<sup>[53]</sup>。

肠道病毒蛋白在精确控制自噬反应进程中发挥着关键作用, EV-A71 2BC 蛋白通过识别突触小体相关蛋白 29 (synaptosome associated protein 29, SNAP29) 诱导自噬体和溶酶体的融合, 引导自噬过程向促进 EV-A71 病毒复制的方向发生<sup>[54]</sup>。此外, EV-A71 VP1 蛋白通过调节 mTOR 信号的磷酸化控制细胞自噬发生, 进而促进病毒在人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 中的增殖能力<sup>[55]</sup>。然而, CV-B3 感染后诱导自噬小体的形成, 但却抑制自噬体和溶酶体的融合, 阻断自溶体的形成以逃避宿主细胞对病毒的清除作用<sup>[56]</sup>。Mohamud 等<sup>[57]</sup>发现 CV-B3 3C 蛋白对参与自溶体形成的 SNAP29 蛋白进行了切割, 使 CV-B3 病毒躲避了晚期自噬反应对病毒复制的不利影响。最近, 刘子薇等<sup>[58]</sup>的数据显示自噬的不同阶段差异影响 EV-A71 复制, 阻断自溶体形成有利于病毒复制, 而对自噬早期阶段的抑制负调节病毒产生。综上所述, 自噬反应对肠道病毒复制至关重要, 而肠道病毒依赖自身编码蛋白特异性调控自噬反应进程, 形成对自身复制有利的细胞微环境。

## 2.4 靶向炎症小体-细胞焦亡信号传导

细胞焦亡是一种新的细胞死亡方式,其经典途径依赖 caspase-1 介导细胞肿胀破裂释放促炎因子白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1  $\beta$ , IL-1 $\beta$ )和 IL-18,参与 NF- $\kappa$ B、JNK 信号的活化,诱导抗病毒固有免疫反应,抑制病毒增殖<sup>[59-61]</sup>。细胞焦亡的发生依赖炎症相关信号激活,其中 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)介导的炎症小体研究最充分,能够与凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)和 pro-caspase-1 相互作用,产生成熟的 caspase-1;活化的 caspase-1 行使切割消皮素 D (gasdermin D, GSDMD)的功能,该过程产生的 GSDMD N 端片段具有在细胞质膜上成孔特性,是细胞焦亡形成所必需的关键环节<sup>[62]</sup>。Wang 等<sup>[63]</sup>的研究表明 EV-A71 2A、3C 蛋白能够靶向 NLRP3 进行切割,抑制炎症信号。此外, EV-A71 3C 蛋白依赖自身蛋白酶活性剪切 GSDMD 蛋白,使之丧失诱导细胞焦亡和抑制肠道病毒复制的能力<sup>[64]</sup>。然而,又有研究表明细胞焦亡在 EV-A71 的致病中发挥作用,病毒感染诱导 caspase-1 依赖的细胞焦亡,并且 caspase 抑制剂的处理显著降低病毒复制水平<sup>[65]</sup>。因此,细胞焦亡在肠道病毒致病过程中的作用效果需要进一步研究,为抗病毒药物的研制提供更安全的抗病毒作用靶标。

## 3 展望

固有免疫作为宿主抵御肠道病毒感染的第一道防线,在机体控制与清除肠道病毒感染中发挥着至关重要的作用。然而在宿主的选择压力下,肠道病毒已经进化出多种策略来阻断固有免疫相关信号通路的激活来促进病毒复制。随着生物技术的迅猛发展,人们对机体固有免

疫系统作用机制的认识在不断深入,除了干扰素-受体-JAK/STAT 等模式识别受体依赖的抗病毒信号转导外,诸如 RNAi、细胞应激反应、细胞自噬、炎症等均在宿主早期应对病毒感染中发挥重要拮抗作用。同时,人们对肠道病毒固有免疫逃逸分子机制的认识也在不断提升。不仅宿主具有非常复杂的固有免疫防御系统,而且种类繁多的肠道病毒可以靶向固有免疫信号传导中的关键效应因子,采用多种途径协同抑制固有免疫反应的激活,构建了一个更为纵横交错的肠道病毒与宿主固有免疫系统的互作网络。因此,系统整理病毒免疫逃逸网络,总结病毒免疫逃逸的共性特征和分子作用规律将为新型抗肠道病毒药物研发提供新靶点与新思路<sup>[66-67]</sup>。同时,新型免疫激活剂的不断发现与优化也将为应对肠道病毒感染的干预手段提供更安全、有效、广谱稳定的候选药物<sup>[68-69]</sup>。

然而,随着肠道病毒在世界范围内频繁暴发,不断有新的流行株病毒被发现。研究发现相较于原始毒株,流行变异毒株在致病机制、传播特性、受体选择和免疫耐受等方面均已出现较显著的改变<sup>[70]</sup>,对抗肠道病毒通用药物的研发产生了巨大挑战。肠道病毒躲避宿主固有免疫是一个动态、复杂、易变的生物学过程,未来应加快融入多学科的新技术与新方法,从不同维度上深层次解析肠道病毒免疫逃逸的分子规律,挖掘病毒复制中的共性特征与关键环节,为今后抗病毒药物研发奠定坚实的理论基础。

## REFERENCES

- [1] BAGGEN J, THIBAUT HJ, STRATING JRPM, van KUPPEVELD FJM. The life cycle of non-polio enteroviruses and how to target it[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(6): 368-381.
- [2] YUAN JJ, SHEN L, WU J, ZOU XR, GU JQ, CHEN JG, MAO LX. Enterovirus A71 proteins: structure and function[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 286.



- [3] WANG HQ, LI YH. Recent progress on functional genomics research of Enterovirus 71[J]. *Virologica Sinica*, 2019, 34(1): 9-21.
- [4] GUO HR, LI Y, LIU GC, JIANG YH, SHEN SY, BI R, HUANG HL, CHENG T, WANG CX, WEI W. A second open reading frame in human enterovirus determines viral replication in intestinal epithelial cells[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 4066.
- [5] TAKEUCHI O, AKIRA S. Innate immunity to virus infection[J]. *Immunological Reviews*, 2009, 227(1): 75-86.
- [6] LESTER SN, LI K. Toll-like receptors in antiviral innate immunity[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2014, 426(6): 1246-1264.
- [7] BACCALA R, HOEBE K, KONO DH, BEUTLER B, THEOFILOPOULOS AN. TLR-dependent and TLR-independent pathways of type I interferon induction in systemic autoimmunity[J]. *Nature Medicine*, 2007, 13(5): 543-551.
- [8] CHEN KR, YU CK, KUNG SH, CHEN SH, CHANG CF, HO TC, LEE YP, CHANG HC, HUANG LY, LO SY, CHANG JC, LING P. Toll-like receptor 3 is involved in detection of Enterovirus A71 infection and targeted by viral 2A protease[J]. *Viruses*, 2018, 10(12): 689.
- [9] CHI CZ, SUN QY, WANG S, ZHANG ZR, LI X, CARDONA CJ, JIN Y, XING Z. Robust antiviral responses to Enterovirus 71 infection in human intestinal epithelial cells[J]. *Virus Research*, 2013, 176(1/2):53-60.
- [10] RIVADENEYRA L, CHARÓ N, KVIATCOVSKY D, deLa BARRERA S, GÓMEZ RM, SCHATTNER M. Role of neutrophils in CVB3 infection and viral myocarditis[J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2018, 125: 149-161.
- [11] TRIANTAFILOU K, VAKAKIS E, RICHER EAJ, EVANS GL, VILLIERS JP, TRIANTAFILOU M. Human rhinovirus recognition in non-immune cells is mediated by Toll-like receptors and MDA-5, which trigger a synergetic pro-inflammatory immune response[J]. *Virulence*, 2011, 2(1): 22-29.
- [12] MUKHERJEE A, MOROSKY SA, DELORME-AXFORD E, DYBDAHL-SISSOKO N, OBERSTE MS, WANG TY, COYNE CB. The Coxsackievirus B 3C protease cleaves MAVS and TRIF to attenuate host type I interferon and apoptotic signaling[J]. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(3): e1001311.
- [13] GU ZW, SHI WF, ZHANG L, HU ZL, XU C. USP19 suppresses cellular type I interferon signaling by targeting TRAF3 for deubiquitination[J]. *Future Microbiology*, 2017, 12: 767-779.
- [14] FEI YR, CHAULAGAIN A, WANG TY, CHEN Y, LIU JC, YI M, WANG Y, HUANG YK, LIN LX, CHEN SJ, XU WZ, TONG L, WU XY, ZHAO DC, ZHANG FM, ZHAO WR, ZHONG ZH. MiR-146a down-regulates inflammatory response by targeting TLR3 and TRAF6 in Coxsackievirus B infection[J]. *RNA*, 2020, 26(1): 91-100.
- [15] FENG N, ZHOU ZZ, LI YX, ZHAO LF, XUE ZF, LU R, JIA KP. 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.
- [16] WANG Y, ZHANG ST, SONG WJ, ZHANG WX, LI JS, LI CX, QIU YY, FANG YC, JIANG Q, LI X, YAN B. Exosomes from EV71-infected oral epithelial cells can transfer miR-30a to promote EV71 infection[J]. *Oral Diseases*, 2020, 26(4): 778-788.
- [17] THOMPSON AJV, LOCARNINI SA. Toll-like receptors, RIG-I-like RNA helicases and the antiviral innate immune response[J]. *Immunology and Cell Biology*, 2007, 85(6): 435-445.
- [18] WANG JP, CERNY A, ASHER DR, KURT-JONES EA, BRONSON RT, FINBERG RW. MDA5 and MAVS mediate type I interferon responses to Coxsackie B virus[J]. *Journal of Virology*, 2010, 84(1): 254-260.
- [19] KUO RL, KAO LT, LIN SJ, WANG RYL, SHIH SR. MDA5 plays a crucial role in Enterovirus 71 RNA-mediated IRF3 activation[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63431.
- [20] BARRAL PM, SARKAR D, FISHER PB, RACANIELLO VR. RIG-I is cleaved during picornavirus infection[J]. *Virology*, 2009, 391(2): 171-176.
- [21] FENG Q, LANGEREIS MA, LORK M, NGUYEN M, HATO SV, LANKE K, EMDAD L, BHOOPATHI P, FISHER PB, LLOYD RE, van KUPPEVELD FJM. Enterovirus 2A<sup>pro</sup> targets MDA5 and MAVS in infected cells[J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(6): 3369-3378.
- [22] RUI YJ, SU JM, WANG H, CHANG JL, WANG SH, ZHENG WW, CAI Y, WEI W, GORDY JT, MARKHAM R, KONG W, ZHANG WY, YU XF. Disruption of MDA5-mediated innate immune responses by the 3C proteins of Coxsackievirus A16, Coxsackievirus A6, and Enterovirus D68[J]. *Journal of Virology*, 2017, 91(13): e00546-e00517.

- [23] XIAO HM, LI JL, YANG X, LI ZL, WANG Y, RUI YJ, LIU B, ZHANG WY. Ectopic expression of TRIM25 restores RIG-I expression and IFN production reduced by multiple enteroviruses 3C<sup>pro</sup>[J]. *Virologica Sinica*, 2021, 36(6): 1363-1374.
- [24] ZHANG R, CHENG M, LIU BX, YUAN M, CHEN DY, WANG YJ, WU ZW. DEAD-box helicase DDX6 facilitated RIG-I-mediated type-I interferon response to EV71 infection[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11: 725392.
- [25] KUO RL, CHEN CJ, WANG RYL, HUANG HI, LIN YH, TAM EH, TU WJ, WU SG, SHIH SR. Role of enteroviral RNA-dependent RNA polymerase in regulation of MDA5-mediated beta interferon activation[J]. *Journal of Virology*, 2019, 93(10): e00132-e00119.
- [26] XIANG Q, WAN P, YANG G, HUANG SY, QIN MY, YANG H, LUO Z, WU KL, WU JG. Beclin1 binds to Enterovirus 71 3D protein to promote the virus replication[J]. *Viruses*, 2020, 12(7): 756.
- [27] DRAHOS J, RACANIELLO VR. Cleavage of IPS-1 in cells infected with human rhinovirus[J]. *Journal of Virology*, 2009, 83(22): 11581-11587.
- [28] WANG B, XI XY, LEI XB, ZHANG XY, CUI S, WANG JW, JIN Q, ZHAO ZD. Enterovirus 71 protease 2A<sup>pro</sup> targets MAVS to inhibit anti-viral type I interferon responses[J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(3): e1003231.
- [29] YANG ZN, ZHENG HW, LI H, CHEN YL, HOU DP, FAN QQ, SONG J, GUO L, LIU LD. The expression of IFN- $\beta$  is suppressed by the viral 3D polymerase via its impact on PGAM5 expression during Enterovirus D68 infection[J]. *Virus Research*, 2021, 304: 198549.
- [30] LEI XB, HAN N, XIAO X, JIN Q, HE B, WANG JW. Enterovirus 71 3C inhibits cytokine expression through cleavage of the TAK1/TAB1/TAB2/TAB3 complex[J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(17): 9830-9841.
- [31] NEZNANOV N, CHUMAKOV KM, NEZNANOVA L, ALMASAN A, BANERJEE AK, GUDKOV AV. Proteolytic cleavage of the p65-RelA subunit of NF- $\kappa$ B during poliovirus infection[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(25): 24153-24158.
- [32] DU HW, YIN PQ, YANG XJ, ZHANG LL, JIN Q, ZHU GF. Enterovirus 71 2C protein inhibits NF- $\kappa$ B activation by binding to RelA(p65)[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 14302.
- [33] LI Q, ZHENG ZH, LIU Y, ZHANG ZF, LIU QS, MENG J, KE XL, HU QX, WANG HZ. 2C proteins of enteroviruses suppress IKK $\beta$  phosphorylation by recruiting protein phosphatase 1[J]. *Journal of Virology*, 2016, 90(10): 5141-5151.
- [34] HUNG HC, WANG HC, SHIH SR, TENG IF, TSENG CP, HSU JTA. Synergistic inhibition of Enterovirus 71 replication by interferon and rupintrivir[J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2011, 203(12): 1784-1790.
- [35] KASTAN JP, TREMBLAY MW, BROWN MC, TRIMARCO JD, DOBRIKOVA EY, DOBRIKOV MI, GROMEIER M. Enterovirus 2A<sup>pro</sup> cleavage of the YTHDF m<sup>6</sup>A readers implicates YTHDF3 as a mediator of type I interferon-driven JAK/STAT signaling[J]. *mBio*, 2021.
- [36] SUN MH, LIN Q, WANG CY, XING J, YAN KL, LIU ZF, JIN Y, CARDONA CJ, XING Z. Enterovirus A71 2B inhibits interferon-activated JAK/STAT signaling by inducing caspase-3-dependent karyopherin- $\alpha$ 1 degradation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 762869.
- [37] WANG LC, CHEN S, CHANG SP, LEE YP, YU CK, CHEN CL, TSENG PC, HSIEH CY, CHEN SH, LIN CF. Enterovirus 71 proteins 2A and 3D antagonize the antiviral activity of gamma interferon via signaling attenuation[J]. *Journal of Virology*, 2015, 89(14): 7028-7037.
- [38] DONG YM, LIU J, LU N, ZHANG C. Enterovirus 71 antagonizes antiviral effects of type III interferon and evades the clearance of intestinal intraepithelial lymphocytes[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 806084.
- [39] YU QJ, CARBONE CJ, KATLINSKAYA YV, ZHENG H, ZHENG K, LUO MC, WANG PJ, GREENBERG RA, FUCHS SY. Type I interferon controls propagation of long interspersed element-1[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(16): 10191-10199.
- [40] ZHAO K, DU J, PENG YF, LI P, WANG SH, WANG Y, HOU JW, KANG J, ZHENG WW, HUA SC, YU XF. LINE1 contributes to autoimmunity through both RIG-I- and MDA5-mediated RNA sensing pathways[J]. *Journal of Autoimmunity*, 2018, 90: 105-115.
- [41] LI Y, SHEN SY, GUO HR, ZHANG Z, ZHANG LL, YANG QR, GAO YH, NIU JQ, WEI W. Enterovirus infection restricts long interspersed element 1 retrotransposition[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 706241.
- [42] QIU Y, XU YP, ZHANG Y, ZHOU H, DENG YQ, LI XF, MIAO M, ZHANG Q, ZHONG B, HU YY, ZHANG FC, WU LG, QIN CF, ZHOU X. Human

- virus-derived small RNAs can confer antiviral immunity in mammals[J]. *Immunity*, 2017, 46(6): 992-1004.e5.
- [43] FANG Y, LIU ZZ, QIU Y, KONG J, FU YH, LIU YJ, WANG C, QUAN J, WANG Q, XU W, YIN L, CUI J, XU Y, CURRY S, JIANG SB, LU L, ZHOU X. Inhibition of viral suppressor of RNAi proteins by designer peptides protects from enteroviral infection *in vivo*[J]. *Immunity*, 2021, 54(10): 2231-2244.e6.
- [44] REINEKE LC, LLOYD RE. The stress granule protein G3BP1 recruits protein kinase R to promote multiple innate immune antiviral responses[J]. *Journal of Virology*, 2015, 89(5): 2575-2589.
- [45] CHENG JY, GAO S, ZHU C, LIU SH, LI JY, KANG J, WANG ZY, WANG T. Typical stress granule proteins interact with the 3' untranslated region of Enterovirus D68 to inhibit viral replication[J]. *Journal of Virology*, 2020, 94(7): e02041-e02019.
- [46] WHITE JP, CARDENAS AM, MARISSIN WE, LLOYD RE. Inhibition of cytoplasmic mRNA stress granule formation by a viral proteinase[J]. *Cell Host & Microbe*, 2007, 2(5): 295-305.
- [47] FUNG G, NG CS, ZHANG JC, SHI JY, WONG J, PIESIK P, HAN L, CHU F, JAGDEO J, JAN E, FUJITA T, LUO HL. Production of a dominant-negative fragment due to G3BP1 cleavage contributes to the disruption of mitochondria-associated protective stress granules during CVB3 infection[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e79546.
- [48] YANG XD, HU ZL, FAN SS, ZHANG Q, ZHONG Y, GUO D, QIN YL, CHEN MZ. Picornavirus 2A protease regulates stress granule formation to facilitate viral translation[J]. *PLoS Pathogens*, 2018, 14(2): e1006901.
- [49] OH JE, LEE HK. Pattern recognition receptors and autophagy[J]. *Frontiers in Immunology*, 2014, 5: 300.
- [50] HUANG LH, YUE JB. The interplay of autophagy and enterovirus[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2020, 101: 12-19.
- [51] JACKSON WT, GIDDINGS TH Jr, TAYLOR MP, MULINYAWA S, RABINOVITCH M, KOPITO RR, KIRKEGAARD K. Subversion of cellular autophagosomal machinery by RNA viruses[J]. *PLoS Biology*, 2005, 3(5): e156.
- [52] CORONA AK, SAULSBERY HM, CORONA VELAZQUEZ AF, JACKSON WT. Enteroviruses remodel autophagic trafficking through regulation of host SNARE proteins to promote virus replication and cell exit[J]. *Cell Reports*, 2018, 22(12): 3304-3314.
- [53] SONG J, HU YJ, LI JQ, ZHENG HW, WANG JJ, GUO L, SHI H, LIU LD. Suppression of the toll-like receptor 7-dependent type I interferon production pathway by autophagy resulting from Enterovirus 71 and coxsackievirus A16 infections facilitates their replication[J]. *Archives of Virology*, 2018, 163(1): 135-144.
- [54] LAI JKF, SAM IC, VERLHAC P, BAGUET J, ESKELINEN EL, FAURE M, CHAN YF. 2BC non-structural protein of Enterovirus A71 interacts with SNARE proteins to trigger autolysosome formation[J]. *Viruses*, 2017, 9(7): 169.
- [55] LIU ZW, ZHUANG ZC, CHEN R, WANG XR, ZHANG HL, LI SH, WANG ZY, WEN HL. Enterovirus 71 VP1 protein regulates viral replication in SH-SY5Y cells via the mTOR autophagy signaling pathway[J]. *Viruses*, 2019, 12(1): 11.
- [56] KEMBALL CC, ALIREZAEI M, FLYNN CT, WOOD MR, HARKINS S, KIOSSES WB, WHITTON JL. Coxsackievirus infection induces autophagy-like vesicles and megaphagosomes in pancreatic acinar cells *in vivo*[J]. *Journal of Virology*, 2010, 84(23): 12110-12124.
- [57] MOHAMUD Y, SHI JY, QU JY, POON T, XUE YC, DENG HY, ZHANG JC, LUO HL. Enteroviral infection inhibits autophagic flux via disruption of the SNARE complex to enhance viral replication[J]. *Cell Reports*, 2018, 22(12): 3292-3303.
- [58] 刘子薇, 张文强, 宋绍霞, 赵丽, 王志玉, 温红玲. EV71 诱导不完整的细胞自噬促进自身复制[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2019, 33(5): 449-453.
- LIU ZW, ZHANG WQ, SONG SX, ZHAO L, WANG ZY, WEN HL. EV71 induces incomplete cellular autophagy to promote self-replication[J]. *Chinese Journal of Experimental and Clinical Virology*, 2019, 33(5): 449-453 (in Chinese).
- [59] 邵青青, 陈琢, 段倩旎, 刘桐, 黄聪. 炎症小体介导的焦亡在宿主细胞抵御病毒感染中的作用及机制[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2019, 48(4): 488-491, 496.
- SHAO QQ, CHEN Z, DUAN QN, LIU T, HUANG C. Role and mechanism of focal death mediated by inflammatory corpuscles in host cells' resistance to virus infection[J]. *Acta Medicinæ Universitatis Scientiæ et Technologiæ Huazhong (Medical Edition)*, 2019, 48(4): 488-491, 496 (in Chinese).
- [60] JORGENSEN I, MIAO EA. Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens[J]. *Immunological Reviews*, 2015, 265(1): 130-142.

- [61] GARLANDA C, DINARELLO CA, MANTOVANI A. The interleukin-1 family: back to the future[J]. *Immunity*, 2013, 39(6): 1003-1018.
- [62] SHI JJ, ZHAO Y, WANG K, SHI XY, WANG Y, HUANG HW, ZHUANG YH, CAI T, WANG FC, SHAO F. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death[J]. *Nature*, 2015, 526(7575): 660-665.
- [63] WANG HB, LEI XB, XIAO X, YANG CF, LU WL, HUANG Z, LENG QB, JIN Q, HE B, MENG GX, WANG JW. Reciprocal regulation between Enterovirus 71 and the NLRP3 inflammasome[J]. *Cell Reports*, 2015, 12(1): 42-48.
- [64] LEI XB, ZHANG ZZ, XIAO X, QI JL, HE B, WANG JW. Enterovirus 71 inhibits pyroptosis through cleavage of gasdermin D[J]. *Journal of Virology*, 2017, 91(18): e01069-e01017.
- [65] 林乐勋, 陈阳, 郎秀娟. 细胞焦亡在肠道病毒 A71 型感染中的作用[J]. *病毒学报*, 2020, 36(6): 1043-1049. LIN LX, CHEN Y, LANG XJ. Pyroptosis supports Enterovirus A71 infection[J]. *Chinese Journal of Virology*, 2020, 36(6): 1043-1049 (in Chinese).
- [66] YUAN S, FAN KY, CHEN ZH, SUN Y, HOU H, ZHU L. Structure of the HRV-C 3C-rupintrivir complex provides new insights for inhibitor design[J]. *Virologica Sinica*, 2020, 35(4): 445-454.
- [67] MUSHARRAFIEH R, MA CL, ZHANG JT, HU YM, DIESING JM, MARTY MT, WANG J. Validating Enterovirus D68-2A<sup>pro</sup> as an antiviral drug target and the discovery of telaprevir as a potent D68-2A<sup>pro</sup> inhibitor[J]. *Journal of Virology*, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.02221-18>.
- [68] WANG YF, DAN KN, XUE XL, CHEN BT, CHEN C. Curcumin assists anti-EV71 activity of IFN- $\alpha$  by inhibiting IFNAR1 reduction in SH-SY5Y cells[J]. *Gut Pathogens*, 2022, 14(1): 8.
- [69] ZHANG Q, ZHAO BB, CHEN X, SONG N, WU J, LI GC, YU P, HAN YL, LIU JN, QIN C. GS-9620 inhibits Enterovirus 71 replication mainly through the NF- $\kappa$ B and PI3K-AKT signaling pathways[J]. *Antiviral Research*, 2018, 153: 39-48.
- [70] WEI W, GUO HR, CHANG JL, YU YZ, LIU GC, ZHANG NN, WILLARD SH, ZHENG S, YU XF. ICAM-5/telencephalin is a functional entry receptor for Enterovirus D68[J]. *Cell Host & Microbe*, 2016, 20(5): 631-641.