

## 论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.17.007

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230714.0912.004\(2023-07-14\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230714.0912.004(2023-07-14))

# CoxA16 感染儿童手足口病患者 IL-6、IFN- $\alpha$ 水平变化及其与 TLR9 基因多态性的相关性\*

罗筱<sup>1</sup>,白宝鑫<sup>2</sup>,王爽<sup>1 $\Delta$</sup> 

(1. 十堰市妇幼保健院检验科,湖北十堰 442000;2. 湖北医药学院,湖北十堰 442000)

**[摘要]** **目的** 探讨柯萨奇病毒 A16 型(CoxA16)感染的儿童手足口病患者外周血白细胞介素-6(IL-6)、 $\alpha$  干扰素(IFN- $\alpha$ )水平变化及其与 Toll 样受体 9(TLR9)基因多态性间的关系。**方法** 选取 2019 年 4 月至 2021 年 10 月十堰市妇幼保健院收治的 201 例 CoxA16 感染的手足口病患儿作为研究对象,根据是否出现中枢神经系统并发症分为轻症组(无中枢神经系统并发症,158 例)和重症组(有中枢神经系统并发症,43 例),选取同期体检的 132 例健康儿童作为对照组。采集各组外周血检测 IL-6、IFN- $\alpha$ 、TLR9 表达水平,采用聚合酶链式反应-限制性内切酶片段长度多态性(PCR-RELP)技术检测 TLR9 基因(rs352140、rs164640、rs187084)位点多态性,分析以上基因多态性与儿童手足口病的相关性。**结果** 轻症组、重症组 IL-6、IFN- $\alpha$ 、TLR9 表达水平高于对照组,且重症组高于轻症组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。TLR9 基因(rs352140、rs164640、rs187084)位点多态性的预期基因型频率均处于 Hardy-Weinberg 平衡( $P > 0.05$ )。3 组 TLR9 基因 rs352140、rs164640 位点基因型分布及等位基因分布比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );而 rs187084 基因位点基因型及 T、C 等位基因分布比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。二元 logistic 回归分析表明,TLR9 基因 rs187084 位点 CC/TC 基因型、C 等位基因是儿童手足口病 CoxA16 感染的危险因素( $P < 0.05$ )。**结论** TLR9 基因 rs187084 位点基因多态性与 CoxA16 型手足口病存在较大关联,并可能是 CoxA16 感染由轻症进展成重症的关键因子。

**[关键词]** 柯萨奇病毒 A16;手足口病;白细胞介素-6; $\alpha$  干扰素;Toll 样受体 9;基因多态性**[中图分类号]** R725.1**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2023)17-2597-05

## Changes of IL-6 and IFN- $\alpha$ levels in children with hand, foot and mouth disease infected by CoxA16 and their correlation with TLR9 gene polymorphism\*

LUO Xiao<sup>1</sup>, BAI Baoxin<sup>2</sup>, WANG Shuang<sup>1 $\Delta$</sup> 

(1. Department of Clinical Laboratory, Shiyan Maternity and Child Health Hospital, Shiyan, Hubei 442000, China; 2. Hubei Medical College, Shiyan, Hubei 442000, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the changes of interleukin-6 (IL-6) and interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) levels in peripheral blood of children with hand, foot and mouth disease (HFMD) infected with coxsackievirus A16 (CoxA16) and their relationship with toll-like receptor 9 (TLR9) gene polymorphism. **Methods** A total of 201 children with HFMD infected with CoxA16 treated in Shiyan Maternal and Child Health Hospital from April 2019 to October 2021 were selected as the study objects, and according to whether there were central nervous system complications, the patients were divided into the mild group (158 cases without central nervous system complications) and the severe group (43 cases with central nervous system complications), and 132 healthy children who underwent physical examination during the same period were selected as the control group. The expression levels of IL-6, IFN- $\alpha$  and TLR9 protein were detected in peripheral blood of each group. The single nucleotide polymorphisms (SNP) of TLR9 gene (rs352140, rs164640, rs187084) were detected by polymerase chain react-restriction enzyme fragment length polymorphism (PCR-RELP), and the correlation between these gene polymorphisms and HFMD in children was analyzed. **Results** The protein expression levels of IL-6, IFN- $\alpha$  and TLR9 in the mild group and the severe group were higher than those in the control group, and the severe group was higher than that in the mild group, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The expected genotype frequencies of SNP at TLR9 gene (rs352140, rs164640, rs187084)

\* 基金项目:湖北省科技项目(2019CFB326);湖北省十堰市引导性科研项目(21Y05)。 作者简介:罗筱(1989-),主管检验技师,硕士,主要从事检验医学研究。 $\Delta$  通信作者, E-mail: wangshuang4842@163.com。

were in Hardy-Weinberg equilibrium ( $P > 0.05$ ). There were no significant differences in the genotype distribution and allele distribution of TLR9 gene rs352140 and rs164640 between the experimental group and the control group ( $P > 0.05$ ), but there were significant differences in the genotype distribution and T and C allele distribution of rs187084 gene locus ( $P < 0.05$ ). Further binary Logistic regression analysis showed that CC/TC genotype and C allele of TLR9 rs187084 were independent risk factors for CoxA16 infection in children with HFMD ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The rs187084 polymorphism of TLR9 gene is associated with CoxA16 HFMD, and may be a key factor in the progression of CoxA16 infection from mild to severe.

**[Key words]** coxsackievirus A16; hand, foot and mouth disease; interleukin-6; interferon- $\alpha$ ; toll-like receptor 9; genetic polymorphism

手足口病是一类肠道病毒感染引起的传染性疾病,儿童是该病的易感人群,引发手足口病的肠道病毒有多种(型),其中以肠道病毒 71 型和柯萨奇病毒 A16 型(CoxA16)最为常见。随着近几年肠道病毒 71 型灭活疫苗的接种,肠道病毒 71 型感染的儿童手足口病占比减少。虽然 CoxA16 感染后大部分患儿临床症状较轻,但发病率较高,引起越来越多的关注<sup>[1-2]</sup>。CoxA16 感染的患儿临床表现轻重不一,轻症者仅为发热、皮疹、口腔黏膜散在疱疹等,重症者可出现中枢神经系统损害、心肺功能不全等<sup>[3-6]</sup>,CoxA16 感染的发病机制至今没有完全阐明,可能与其感染导致的异常免疫反应有关<sup>[7-8]</sup>。机体的非特异性免疫系统在抗感染过程中发挥重要功能,其通过模式识别受体识别具有病原体相关分子模式(PAMP),快速启动机体的免疫反应从而抵抗病原微生物的进一步感染<sup>[9-11]</sup>。Toll 样受体(TLR)是模式识别受体的一种,TLR 具有单个的跨膜的蛋白,可识别来源于微生物的具有保守结构的 PAMP 分子,是参与非特异性免疫的一类重要蛋白质分子,也是连接非特异性免疫和特异性免疫的桥梁<sup>[12-13]</sup>。有研究认为,TLR 基因多态性与多种病毒的免疫激活过程密切相关,并对患者病情预后有一定的影响<sup>[14-16]</sup>。作为 TLR 家族成员之一

的 TLR9 近年来受到研究者的广泛关注,TLR9 基因多态性与 CoxA16 易感性、患儿病情预后之间的关联尚不明确。本研究旨在探讨 CoxA16 感染儿童手足口病患者外周血白细胞介素-6(IL-6)、 $\alpha$  干扰素(IFN- $\alpha$ )水平及其与 TLR9 基因多态性的相关性,为 CoxA16 手足口病的诊疗提供新的思路,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2018 年 4 月至 2021 年 10 月十堰市妇幼保健院收治的 201 例 CoxA16 感染的儿童手足口病患者作为观察组,选取同期 132 例健康儿童作为对照组。纳入标准:(1)患儿肛拭子标本 CoxA16 核酸检测为阳性,诊断参照 2018 年版《手足口病诊疗指南》<sup>[17]</sup>。(2)入院前患儿无药物治疗史。排除标准:(1)患儿合并其他的病毒感染所致疾病。(2)患儿有自身免疫缺陷症疾病或先天性疾病。根据患儿是否出现中枢神经系统并发症,将观察组分为轻症组(无中枢神经系统并发症,158 例)和重症组(有中枢神经系统并发症,43 例)。3 组一般资料比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性,见表 1。本研究通过医院伦理委员会审查,所有患儿家属均签署知情同意书。

表 1 3 组一般资料比较

项目	对照组( $n=132$ )	轻症组( $n=158$ )	重症组( $n=43$ )	$\chi^2/F$	$P$
男/女( $n/n$ )	67/65	78/80	22/21	0.076	0.963
年龄( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	7.9 $\pm$ 1.2	8.2 $\pm$ 1.6	8.1 $\pm$ 1.5	1.571	0.209
BMI( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> )	19.9 $\pm$ 3.0	19.6 $\pm$ 3.7	19.2 $\pm$ 3.3	0.752	0.472

## 1.2 方法

### 1.2.1 试剂及材料

IL-6、IFN- $\alpha$  检测试剂盒、DNA 提取试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司,TLR9 检测试剂盒购自上海安为生物科技有限公司,PCR 试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司。低温离心机购自美国 Thermo Scientific 公司,PCR 仪、凝胶成像仪购自美国 Bio-Rad 公司,DYY-6C 电泳仪购自北京六一仪器厂。引物设计及合成购自上海生工生物工程公司。

### 1.2.2 标本采集及处理

于患儿入院 24 h 内采集外周血 3 mL 于乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K<sub>2</sub>)真空抗凝管,混匀,3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆和细胞,-80 °C 低温冰箱保存备用。

### 1.2.3 IL-6、IFN- $\alpha$ 水平测定

采用 ELISA 测定血浆 IL-6、IFN- $\alpha$  水平,测定方法严格按照试剂盒说明书进行操作。

### 1.2.4 TLR9 基因多态性检测

按照试剂盒说明进行操作,快速抽提全血基因组 DNA,NanoDrop 分光光度计检测提取标本的吸光度(A)值, $A_{260}/A_{280}$  介于 1.6~1.8,将提取的标本 DNA 于 -80 °C 低温冰箱保存,采用限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RELP)技术检测 TLR9 基因多态性,上下游引物见表 2。PCR 扩增条件:95 °C 预变性 5 min,95 °C 变性 30 s,58 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,循环 30 次,72 °C 延伸 5 min。PCR 扩增产物用限制性内切酶进行酶切,酶切产物在 2% 琼脂糖凝胶上电泳,然后通过 Bio-Rad 凝胶成像系统观察结果,判断标本的基因型。

1.3 统计学处理

采用 SPSS21.0 软件进行数据分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,比较采用方差分析;计数资料以频数或百分率表示,比较采用  $\chi^2$  检验;应用拟合优度  $\chi^2$  检验分析是否符合 Hardy-Weinberg 平衡,采用二元 logis-

tic 回归分析相关性,以  $P < 0.05$  为差异有统计意义。

2 结 果

2.1 各组 IL-6、IFN- $\alpha$ 、TLR9 表达水平比较

轻症组、重症组 IL-6、IFN- $\alpha$ 、TLR9 表达水平高于对照组,且重症组高于轻症组( $P < 0.05$ ),见表 3。

2.2 TLR9 基因 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验及分布频率的比较

TLR9 基因 rs352140、rs164640、rs187084 位点多态性的预期基因型频率均处于 Hardy-Weinberg 平衡( $P > 0.05$ );各组 rs352140、rs164640 位点的基因型和等位基因分布比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),但 rs187084 位点基因型和等位基因分布比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),其中对照组及轻症组手足口病患儿的 C 等位基因分布率明显低于重症组( $P < 0.05$ ),见表 4。TLR9 基因 rs187084 位点 PCR-RFLP 电泳图谱,见图 1。

表 2 引物序列

项目	引物序列(5'-3')	PCR 长度(bp)	内切酶	酶切后的片段长度(bp)
rs352140(T>C)	F:CTTGGCTGTGGATGTTGTTG R:TCAATGGCTCCCAGTTCC	237	BstUI	CC:140,97 TC:237,97,140 TT:237
rs164640(A>G)	F:GGAAGAAGCTGCTCCAACAC R:CTGCCCCGTGGTTCTATACT	206	BstYI	GG:119,87 AG:206,119,87 AA:206
rs187084(T>C)	F:CATTTCATTCAGCCCTTCACTCAG R:TATGTCTCTGCTCCCATGTCAC	356	AflII	TT:209,147 TC:356,209,147 CC:356

F:正向;R:反向。

表 3 各组 IL-6、IFN- $\alpha$ 、TLR9 表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)

项目	对照组(n=132)	轻症组(n=158)	重症组(n=43)	F	P
IL-6	93.4 ± 10.5	103.5 ± 11.7 <sup>a</sup>	109.8 ± 13.5 <sup>ab</sup>	44.600	<0.001
IFN- $\alpha$	66.8 ± 7.9	72.5 ± 8.5 <sup>a</sup>	80.3 ± 12.4 <sup>ab</sup>	40.370	<0.001
TLR9	77.3 ± 9.1	83.4 ± 8.3 <sup>a</sup>	87.6 ± 11.5 <sup>ab</sup>	27.270	<0.001

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与对照组比较;<sup>b</sup>:  $P < 0.05$ ,与轻症组比较。

表 4 各组 TLR9 基因 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验及分布频率的比较

项目	对照组(n=132)	轻症组(n=158)	重症组(n=43)	$\chi^2_b$	$P_b$
rs352140 基因					
基因型[实际值/理论值(n/n)]				2.237	0.692
TT	31/30.55	41/31.54	8/9.77		
TC	65/65.90	72/90.93	25/21.45		
CC	36/35.54	45/41.53	10/11.77		
$\chi^2_a$	0.025	1.220	1.180		
$P_a$	0.870	0.270	0.280		
等位基因[n/n(%)]				0.041	0.980
T	127/264(48.11)	154/316(48.73)	41/86(47.67)		
C	137/264(51.89)	162/316(51.27)	45/86(52.33)		
rs164640 基因					

续表 4 各组 TLR9 基因 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验及分布频率的比较

项目	对照组( <i>n</i> =132)	轻症组( <i>n</i> =158)	重症组( <i>n</i> =43)	$\chi^2_b$	<i>P</i> <sub>b</sub>
基因型[实际值/理论值( <i>n/n</i> )]				2.124	0.713
AA	61/57.34	70/67.15	24/21.63		
AG	52/59.32	66/71.71	13/17.73		
GG	19/15.34	22/19.15	6/3.63		
$\chi^2_a$	2.000	1.000	3.060		
<i>P</i> <sub>a</sub>	0.160	0.310	0.080		
等位基因[ <i>n/n</i> (%)]				1.068	0.586
A	174/264(65.91)	206/316(65.19)	61/86(70.93)		
G	90/264(34.09)	110/316(34.81)	25/86(29.07)		
rs187084 基因					
基因型[实际值/理论值( <i>n/n</i> )]				11.690	0.020
TT	41/37.12	29/27.15	8/5.59		
TC	58/65.76	73/76.69	15/19.82		
CC	33/29.12	56/54.15	20/17.59		
$\chi^2_a$	1.840	0.370	2.550		
<i>P</i> <sub>a</sub>	0.180	0.540	0.110		
等位基因[ <i>n/n</i> (%)]				11.220	0.004
T	140/264(53.03)	131/316(41.46)	31/86(36.05)		
C	124/264(46.97)	185/316(58.54)	55/86(63.95)		

$\chi^2_a/P_a$ : Hardy-Weinberg 遗传平衡检验;  $\chi^2_b/P_b$ : 基因型或等位基因频率比较。

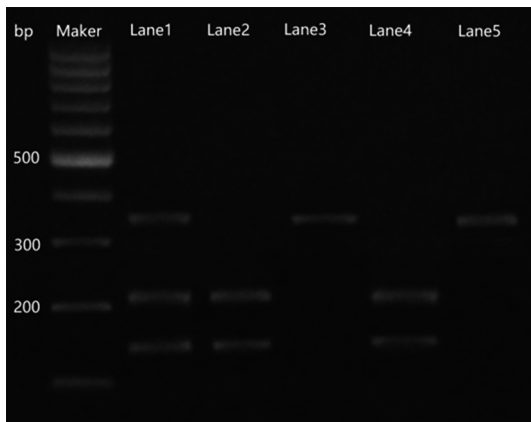


图 1 TLR9 基因 rs187084 位点 PCR-RFLP 电泳图谱

### 2.3 二元 logistic 回归分析 TLR9 基因 rs187084 位点基因型与儿童手足口病的相关性

TLR9 基因 rs187084 位点 CC/TC 基因型、C 等位基因是儿童手足口病 CoxA16 感染的危险因素 ( $P < 0.05$ ), 见表 5。

表 5 logistic 回归分析 TLR9 基因 rs187084 位点与 CoxA16 型手足口病的关系 (*n*)

项目	对照组 ( <i>n</i> =132)	观察组 ( <i>n</i> =201)	OR	95%CI	<i>P</i>
共显性模型					0.010
TT	41	37	1.000		
TC	58	88	1.682	0.972~2.925	
CC	33	76	2.552	1.399~4.667	

续表 5 logistic 回归分析 TLR9 基因 rs187084 位点与 CoxA16 型手足口病的关系 (*n*)

项目	对照组 ( <i>n</i> =132)	观察组 ( <i>n</i> =201)	OR	95%CI	<i>P</i>
显性模型					0.008
TT	41	37	1.000		
TC+CC	91	164	1.997	1.996~3.336	
隐性模型					0.015
TT+TC	99	125	1.000		
CC	33	76	1.824	1.122~2.966	

### 3 讨论

CoxA16 感染主要引起儿童手足口病, CoxA16 感染后大部分患儿临床症状较轻, 但有小部分患儿可能会出现严重的中枢神经系统和心肺功能病变而转变成重型患儿, 进而威胁生命安全。目前 CoxA16 感染的发病机制至今没有完全阐明, 有学者认为, 可能与 CoxA16 感染后导致的异常免疫反应和免疫损伤有关<sup>[15-16]</sup>。有研究表明, TLR9 途径可触发核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 信号通路的活化, 进而释放炎症介质如 IL-6、IFN- $\alpha$  等<sup>[17-18]</sup>, IL-6、IFN- $\alpha$  是重要的炎症介质, 二者与感染密切相关, 其表达情况受基因水平、转录水平及转录后水平的调控<sup>[19]</sup>, 但国内外关于 TLR9 与手足口病的相关性研究较少, 因此, 本研究旨在探讨 CoxA16 感染的手足口病患儿外周血 IL-6、IFN- $\alpha$  水平及其与 TLR9 基因多态性的相关性, 为 CoxA16 手足口病的诊疗提供新的思路。



本研究选取 201 例符合纳入标准的 CoxA16 手足口病患儿进行分析,结果显示,重症组、轻症组 IL-6、IFN- $\alpha$ 、TLR9 表达水平高于对照组,且重症组高于轻症组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),表明在 CoxA16 感染过程中,炎症反应在手足口病的进展中发挥着重要的影响,IL-6、IFN- $\alpha$ 、TLR9 可能是 CoxA16 感染由轻症进展成重症的关键因子。通过进一步研究 TLR9 基因 rs352140、rs164640、rs187084 位点多态性,发现 TLR9 基因 rs352140、rs164640 位点基因型分布及等位基因分布比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而 rs187084 基因位点基因型及 T、C 等位基因分布比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),且对照组及轻症组手足口病患儿的 C 等位基因分布率明显低于重症组。进一步用二元 logistic 回归统计分析,结果表明 rs187084 位点 CC 基因型是儿童手足口病 CoxA16 感染的危险因素,CC 基因型人群是 TT 基因型人群患病风险的 2.552 倍,是 TT+TC 基因型人群患病风险 1.824 倍,表明 TLR9 基因 rs187084 位点基因多态性与 CoxA16 型手足口病存在较大关联。但本研究纳入的病例数较少,且并未进行多因素的分层分析,后续还有待增加样本量,探讨不同因素对 TLR9 基因多态性与 CoxA16 感染手足口病相关性的影响。

综上所述,CoxA16 型手足口病患儿 IL-6、IFN- $\alpha$ 、TLR9 表达水平升高,TLR9 基因 rs187084 位点基因多态性与 CoxA16 型手足口病存在较大关联,并可能是 CoxA16 感染由轻症进展成重症的关键因子。

## 参考文献

- [1] YI L, ZENG H, ZHENG H, et al. Molecular surveillance of Coxsackievirus A16 in southern China, 2008-2019[J]. Arch Virol, 2021, 166(6): 1653-1659.
- [2] 赵寒,李勤,杨琳,等.重庆市 2014-2018 年学校突发公共卫生事件流行特征分析[J].重庆医学, 2020, 49(13): 2201-2205.
- [3] GUERRA A M, ORILLE E, WASEEM M. Hand foot and mouth disease[M]. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022.
- [4] HOFFMANN A J, LATROUS M, LAM J M. Atypical hand-foot-and-mouth disease [J]. CMAJ, 2020, 192(3): E69.
- [5] ZHOU Y, ZHOU J, YANG J, et al. Comparison of neutralizing antibody response kinetics in patients with hand, foot, and mouth disease caused by Coxsackievirus A16 or Enterovirus A71: a longitudinal cohort study of Chinese children, 2017-2019[J]. J Immunol, 2022, 209(2): 280-287.
- [6] LI J F, ZHANG C J, LI Y W, et al. Coxsackievirus A6 was the most common enterovirus serotype causing hand, foot, and mouth disease in Shiyang city, central China[J]. World J Clin Cases, 2022, 10(31): 11358-11370.
- [7] MENG D, XU J, ZHAO J. Analysis and prediction of hand, foot and mouth disease incidence in China using random forest and XGBoost[J]. PLoS One, 2021, 16(12): e0261629.
- [8] CUI B, CAI F, GAO F, et al. A uniform quantitative enzyme-linked immunosorbent assay for Coxsackievirus A16 antigen in vaccine[J]. Hum Vaccin Immunother, 2021, 17(2): 381-388.
- [9] 韩阳,弭杰,刘超,等.肠道病毒 71 型感染手足口病患儿 TLR7、 $\alpha$  干扰素、IL-6 水平及 TLR7 基因多态性[J].中华医院感染学杂志, 2020, 30(18): 2721-2725.
- [10] SABER M M, MONIR N, AWAD A S, et al. TLR9: a friend or a foe[J]. Life Sci, 2022, 307: 120874.
- [11] LI D, WU M. Pattern recognition receptors in health and diseases[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 291.
- [12] LIAO Z, SU J. Progresses on three pattern recognition receptor families (TLRs, RLRs and NLRs) in teleost [J]. Dev Comp Immunol, 2021, 122: 104131.
- [13] HU Y F, JIA L P, YU F Y, et al. Molecular epidemiology of coxsackievirus A16 circulating in children in Beijing, China from 2010 to 2019 [J]. World J Pediatr, 2021, 17(5): 508-516.
- [14] MANISEKARAN R, AVILA R, LOPEZ-MARIN L M. Pathogen associated molecular pattern-decorated mesoporous silica: a colloidal model for studying bacterial-host cell interactions[J]. Biointerphases, 2020, 15(4): 041003.
- [15] FITZGERALD K A, KAGAN J C. Toll-like receptors and the control of immunity[J]. Cell, 2020, 180(6): 1044-1066.
- [16] DUAN T, DU Y, XING C, et al. Toll-like receptor signaling and its role in cell-mediated immunity [J]. Front Immunol, 2022, 13: 812774.
- [17] 《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.
- [18] YI Z, PEI S, SUO W, et al. Epidemiological characteristics, routine laboratory diagnosis, clinical signs and risk factors for hand, foot(下转第 2605 页)

- 与便秘患者排便障碍症状及分型的相关性研究[J]. 临床内科杂志, 2019, 36(3):178-181.
- [6] 周香雪, 李洵桦, 黄海威, 等. 肝豆状核变性神经症状评价量表-改良 Young 量表[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2011, 37(3):171-175.
- [7] LIM Y H, KIM D H, LEE M Y, et al. Bowel dysfunction and colon transit time in brain-injured patients[J]. *Ann Rehabil Med*, 2012, 36(3):371-378.
- [8] GAUTHIER L, CHARBONNIER P, CHEVALLET M, et al. Development, formulation, and cellular mechanism of a lipophilic copper chelator for the treatment of Wilson's disease[J]. *Int J Pharm*, 2021, 609:121193.
- [9] CHEN J, JIANG Y, SHI H, et al. The molecular mechanisms of copper metabolism and its roles in human diseases[J]. *Pflugers Arch*, 2020, 472(10):1415-1429.
- [10] ZACCAK M, QASEM Z, GEVORKYAN-AIRAPETOV L, et al. An EPR study on the interaction between the Cu(I) metal binding domains of ATP7B and the Atox1 metallochaperone[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15):5536.
- [11] 刘引莲, 王萍芝, 王晓成, 等. 颅脑损伤、脑出血、(上接第 2601 页)
- and mouth disease: a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2022, 17(4): e0267716.
- [19] LI J F, ZHANG C J, LI Y W, et al. Coxsackievirus A6 was the most common enterovirus serotype causing hand, foot, and mouth disease in Shiyan City, central China[J]. *World J Clin Cases*, 2022, 10(31):11358-11370.
- [20] KANO N, ONG G H, ORI D, et al. Pathophysiological role of nucleic acid-sensing pattern recognition receptors in inflammatory diseases[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 910654.
- [21] WANG Y, ZHANG S, LI H, WANG H, et al. Small-molecule modulators of Toll-like receptors[J]. *Acc Chem Res*, 2020, 53(5):1046-1055.
- [22] FORCINA L, FRANCESCHI C, MUSARO A. The hormetic and hermetic role of IL-6[J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 80:101697.
- [23] SABER M M, MONIR N, AWAD A S, et al. TLR9: a friend or a foe[J]. *Life Sci*, 2022, 307: 120874.
- [24] LEUNG A K C, LAM J M, BARANKIN B, et al. Hand, foot, and mouth disease: a narrative review[J]. *Recent Adv Inflamm Allergy Drug Discov*, 2022, 16(2):77-95.
- [25] ZHANG Y, LIU J, WANG C, et al. Toll-like receptors gene polymorphisms in autoimmune disease[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:672346.
- [26] DVORNIKOVA K A, BYSTROVA E Y, PLATONOVA O N, et al. Polymorphism of Toll-like receptor genes and autoimmune endocrine diseases[J]. *Autoimmun Rev*, 2020, 19(4): 102496.
- 脑梗死病人肠道菌群失调与降钙素原的关系[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(17): 3246-3249.
- [12] 卞静, 杨怡尧, 易兰, 等. 轻型卒中后排便障碍危险因素分析[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(22): 3729-3733.
- [13] GAO B, CHI L, MAHBUB R, et al. Multi-Omics reveals that lead exposure disturbs gut microbiome development, key metabolites, and metabolic pathways[J]. *Chem Res Toxicol*, 2017, 30(4): 996-1005.
- [14] 邓罡, 徐丽姝, 张晓南, 等. 高龄老年功能性便秘患者三维高分辨肛门直肠测压及生物反馈治疗的应用[J]. 中华老年医学杂志, 2021, 40(5): 618-622.
- [15] 严天军, 陈友琼, 刘惠, 等. 排粪造影检查对出口梗阻型便秘的影像诊断价值探讨[J]. 西南军医, 2010, 12(2):285-286.
- [16] 隋思蓓. 帕金森病伴便秘高分辨率肛门直肠测压特点分析[D]. 大连: 大连医科大学, 2017.

(收稿日期:2022-11-23 修回日期:2023-04-25)

(编辑:唐 璞)

(收稿日期:2022-12-26 修回日期:2023-04-28)

(编辑:袁皓伟)