

CVA10 致手足口病的流行情况与疫苗研究进展

高微捷 岳 磊 谢忠平

摘 要 手足口病主要由两种类型的肠道病毒,柯萨奇病毒 A 组 16 型 (coxsackievirus A16, CVA16) 和新型肠道病毒 71 型 (enterovirus 71, EV71) 引起。1997 年,手足口病在一些国家和地区以及我国的多个省市暴发流行,其中柯萨奇病毒 A 组 10 型 (coxsackievirus A10, CVA10) 引起的手足口病发生率及重病率明显增多。因此, CVA10 流行情况以及相关疫苗的研究对预防手足口病至关重要。现就以上方面的研究进展做一综述。

关键词 手足口病 柯萨奇病毒 A 组 10 型 流行病学 疫苗

中图分类号 R574

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.09.003

手足口病 (hand, foot, and mouth disease, HFMD) 是由多种肠道病毒引起的一类常见的急性传染病,多发生于 5 岁以下儿童,主要经粪-口途径传播。感染某种肠道病毒而导致手足口病,无论是显性感染还是隐性感染,都能够获得相对应的特异性免疫力,且产生的抗体可在体内存留较长时间^[1]。柯萨奇病毒 A 组 10 型 (CVA10) 是近几年除 EV71、CVA16 和 CVA6 外,又一个引起全球范围内手足口病散发或暴发的病毒。日本、美国、新加坡、西班牙、芬兰、印度、法国、泰国等国家,以及中国河北、山东、福建、湖北、河南、广东等省份,均发生了不同程度的 CVA10 流行。笔者认为应该更加关注 CVA10 感染所致疾病以及 CVA10 疫苗的研制。

一、CVA10 致手足口病的流行概况

1. CVA10 致手足口病的临床表现:不同病毒感染引起的手足口病临床表现也略有差异。EV71 感染的患儿临床表现常累及神经系统,同时还伴有严重的并发症;CVA16 感染的患儿临床症状相对较轻,常为自限性疾病,预后较好,神经系统受累较轻,但会有心肌受损出现;CVA6 感染的患儿主要表现为发热、皮疹和脱甲症^[2,3]。CVA10 感染后,一般只引起轻度 and 自限性疾病症状,如发烧、口腔溃疡、手脚上的皮疹或水疱疹等,也会发生如指甲脱落、疱疹性咽峡炎、甲状腺肿瘤、神经脊髓炎、脑膜炎、心肌炎等严重的手足口病并发症,或者出现死亡^[4]。曾有报道称,日本发现

1 例因患脊髓灰质炎综合征而死亡的患者,血清学鉴定为 CVA10 感染^[5]。

2. CVA10 致手足口病的流行病学概况:国外曾报道过 CVA10 感染而导致手足口病暴发的事件。2005 年,日本爱知县发现由肠道病毒引起的疱疹性咽峡炎病例 64 例,在对这些患者的粪便和咽拭子标本进行肠道病毒基因检测时发现,病毒核酸阳性率达 46.9% (30/64),进一步的基因测序分析表明,在 30 份核酸阳性标本中,19 份检测为 CVA10,占比 63.3%。该研究结果表明,CVA10 是导致 2005 年爱知县疱疹性咽峡炎的主要病原体^[6]。根据美国 2006 年的统计,CVA10 血清型是最常报道的 15 种造成手足口病的肠道病毒血清型之一 (第 15 位),占比为 1.4%^[7]。2007 年,日本神奈川县从 46 份以疱疹性咽峡炎为主要症状的患者的咽拭子标本中,分离出 14 株 CVA10 分离株^[8]。2008 年,新加坡发生手足口病流行,经检测分析,由 CVA10 导致的手足口病占全部病例的 11.8%^[9]。2008 年 6 月,西班牙瓦伦西亚发生手足口病疫情,被感染的患儿都不同程度地发生指甲脱落症状,并且从这些患儿的标本中分离出 CVA10,分离率为 49%^[10]。2008 年秋季,芬兰发生了全国性的手足口病疫情,相当数量的临床诊断患者为成年人,许多患者在手足口病急性期几周后同样也出现指甲脱落症状,在从患者标本中分离病毒时发现,28% 的致病原体为 CVA10^[11]。2009 ~ 2010 年,印度检测到 CVA10 的致病率为 2.4%^[12]。2010 年 4 ~ 12 月份,法国出现手足口病,且 CVA10 的分离率为 39.9%,调查发现,在 4 ~ 7 月份这段时间里,CVA10 是分离最多的导致手足口病的病原体,达到了 47.9%,患儿年龄集中在 0 ~ 4 岁^[13]。2012 年,在

基金项目:云南省重点新产品开发计划项目 (2015BC008)

作者单位:650118 昆明,中国医学科学院/北京协和医学院医学生物学研究所

通讯作者:谢忠平,电子信箱: xzp218@126.com

泰国发现的手足口病中, CVA10 的分离率为 1.1%^[14]。详见表 1。

表 1 CVA10 致手足口病的国外流行病学概况

时间(年)	地点	发生率(%)	分离率(%)
2005	日本	30.0	63.3
2006	美国	—	1.4
2007	日本	8.0	30.0
2008	新加坡	11.8	31.6
	西班牙	—	49.0
	芬兰	—	28.0
2009	印度	2.4	—
2010	法国	28.1	39.9
2012	泰国	—	1.1

自 2008 年起,手足口病开始在中国大部分地区流行,各地也均出现了关于 CVA10 感染发病的报道。2008~2009 年,在对山东省 760 例手足口病患儿的临床标本进行病毒分离和基因测序的过程中,共分离出 330 株病毒,其中 10 株为 CVA10,分离率 1.32%,基因进化分析表明 CVA10 存在着两个共同循环的基因型^[15]。在对河南省、山东省、重庆市 2009~2011 年间发生的手足口病研究中发现,CVA10 的流行季节为每年的 4~8 月份,并在 5 月份达到高峰(51.2%),且多数患儿的年龄为 25 个月^[16]。2010~2012 年,广州市收集到的样本中,检测到 CVA10 在 8 月份感染率达到高峰(4.3%),年龄构成在 0 岁组的感染率最高(3.7%)^[17]。济南市由 CVA10 引起手足口病的发生率分别为 20.99%、11.69% 和 38.18%,感染季节为春季和夏季,秋季和初冬出现轻微高峰。感染年龄在 1~2 岁儿童中最常见(64.38%),2 岁时为高峰(42.47%),且男女性别比例为 1.52:1^[18]。石家庄市分别在 2010 年和 2012 年暴发了两次由 CVA10 导致的手足口病,且 2010 年感染 CVA10 的流行率较高,5、6 月份两个月出现感染高峰,占实验室确诊病例的 4.7%。重要的是,在重症当中,CVA10 感染占 4.8%,是继 EV71 血清型之后第 2 个引起严重手足口病的病原体^[19]。2011~2012 年在对阜阳地区手足口病临床实验检测过程中,CVA10 的检出率为 18.8%^[20]。2012~2013 年,上海市通过对手足口病患者的肠道病毒类型进行分析,发现感染 CVA10 占到 7.5%,患儿男性:女性为 1.77:1,年龄在 0~3 岁之间^[21]。武汉市在此期间暴发手足口病,经鉴定,CVA10 是流行率最高的病原体(52.8%),并在 2013 年 4 月取代 EV71 和 CVA16,成为最主要的手足口病

相关病原体^[22]。2011~2014 年,CVA10 病例在福建省手足口病病原谱的年度构成比分别为 11.0%、6.0%、18.4% 和 9.2%^[23]。2015 年贵阳市共收集到 607 份诊断为手足口病的标本,其中检测到 CVA10 阳性病例 71 例(11.7%),患儿的年龄多在 3 岁以下,以 1~2 岁为主,占病原体别总数的 30.99%(22/71),同时发现 CVA6+CVA10 混合感染 1 例^[24]。另外,厦门市 CVA10 感染率占手足口病病例的 6.8%,占严重手足口病病例的 38.9%。基于 VP1 基因序列的系统发育分析表明,CVA10 感染与严重手足口病病例的增加可能与厦门当前流行毒株(进化枝 E)中一个新谱系(谱系 A)的出现有关,该菌株的结构蛋白和非结构蛋白中存在有 5'UTR,它的 4 个核苷酸发生改变,5 个氨基酸被取代。2016 年,湖北省部分地区的 CVA10 阳性检出率为 22.9%^[25]。统计分析表明,2009、2010 和 2012 年这 3 年,深圳市 CVA10 感染患者的平均年龄低于感染 EV71 的患者的平均年龄,这说明 CVA10 感染人群可能逐渐幼龄化^[26]。

虽然国内有报道的 CVA10 感染流行时间晚于国外,但流行率逐年上升,流行范围逐渐扩大,人们的关注程度也越来越高。在手足口病暴发期间,除发现 CVA10 感染外,还检测出 CVA6、EV71 和(或)CVA16 的混合感染,这在很大程度上增加了手足口病的感染强度和病毒基因重组的概率。

3. CVA10 致手足口病的基因分型概况:目前,国际上并没有统一的 CVA10 基因分型标准,通常根据 VP1 或 VP4 基因的差异性来对毒株进行分类。

有报道称,中国大陆地区 CVA10 流行毒株的基因型以 C 型为主,从 GenBank 核苷酸序列数据库中检索出 2004~2016 年间具有完整 VP1 基因核苷酸序列(894bp)的分离株 273 株,包括北京市、深圳市、石家庄市、山东省、长沙市、云南省、安阳市等中国大陆地区流行株 218 株;以及法国和美国等国外流行株 55 株^[27]。通过一定方法对 VP1 基因核苷酸序列进行分析,构建系统进化树,将 CVA10 毒株划分为 4 个基因型(A~D 型),其中 B 型和 C 型毒株均为中国大陆分离株,且有 210 株属于 C 型分离株。还有研究者根据 VP1 基因的差异性 $\geq 15\%$,将 CVA10 毒株划分为 7 个基因型(A~G 型)^[28]。2008~2012 年间,深圳市 60 株 CVA10 菌株,除 2 株属于基因型 F(2009 年被分离)外,其余均属于基因型 C^[17]。2009~2012 年间,石家庄市分离株有少数属于基因型 B,其余均为基因型 C。

有研究者运用最大似然法在 VP4 全基因 (207bp) 的基础上构建系统发育树,从武汉市 2012 ~ 2013 年的临床标本中分离出 190 株 CVA10 菌株,对其 VP4 基因进行测序^[22]。结果表明,其中 187 株 CVA10 菌株的核苷酸序列相同,另外 3 株 CVA10 菌株属于另一个核苷酸序列,但它们全部属于系统发育树中的中国菌株的进化枝。

CVA10 基因分型需要一个统一的标准,这样不仅有利于流行病学的研究,同时对 CVA10 致手足口病疫苗的研发也至关重要。

二、CVA10 致手足口病的预防性疫苗

CVA10 疫苗的研发主要集中在灭活疫苗以及病毒样颗粒疫苗等方面,目前均处于实验室研究阶段。

1. 灭活疫苗: 甲醛灭活或 β -丙内酯灭活的 CVA10 全病毒疫苗,可以在成年小鼠中诱导免疫应答,在母体中获得的中和抗体能够传递给新生小鼠,提供免疫保护^[4]。最近有研究发现,甲醛灭活的全病毒 CVA6 和 CVA10 2 价疫苗,通过皮下注射可以诱导抗原特异性全身免疫应答,不仅可以保护主动免疫或被动免疫的小鼠,还可以在母体中诱导高水平的中和抗体,并传递给新生小鼠。结果表明这两种抗原之间在诱导病毒特异性免疫反应方面没有免疫干扰^[29]。研究发现,用甲醛灭活的 EV71、CVA6、CVA10 和 CVA16 多价疫苗候选物的组合在小鼠和兔子免疫原性研究中均引发中和抗体应答。用这种四价 HFMD 候选疫苗免疫的小鼠和兔子虽然观察到有相互轻微的抗原干扰,但都产生了 EV71、CVA6、CVA10 和 CVA16 的抗血清^[30]。这表明了利用甲醛灭活多价疫苗的可行性,但需要进一步研究确定多价 HFMD 疫苗中各种抗原成分的最佳比例。有研究者通过比较在不同条件下,将甲醛或 β -丙内酯(BPL)对 CVA10、CVA6 和 CVA16 这 3 种病毒进行灭活,发现 CVA6 用这两种方法灭活后,可以诱导相似的免疫应答;而 CVA10 和 CVA16 的免疫功效则是 BPL 灭活比甲醛灭活效果更好。研究发现,用 BPL-灭活(BPL-inactivation, BI)的单价疫苗接种的小鼠,对异源菌株没有足够的交叉反应性或交叉保护性;而用 BI-3 价接种的小鼠,诱导了足够的中和抗体和细胞介导的免疫应答,表明了 BI-CVA6、CVA10 和 CVA16 是潜在的多价疫苗候选物^[30]。

2. 病毒样颗粒疫苗: 与灭活的全病毒疫苗方法比较,病毒样颗粒(VLP)缺乏病毒核酸、复制和感染性,与其同源病毒的衣壳体相似,在形态上类似于真正的

病毒,具有天然病毒的类似嗜性,可以在重组表达系统中产生,能被细胞摄取并在细胞内运输,激发全面免疫反应,用作疫苗非常安全。有研究曾分别在巴斯德毕赤酵母中产生了 EV71、CVA16 和 CVA6 的重组病毒样颗粒(VLP),并在临床前研究中证明了它们能够诱导针对小鼠被同源病毒攻击的保护性免疫^[29]。同样,CVA10 的重组病毒样颗粒(VLP)也可以有效地诱导小鼠中的抗原特异性血清抗体,且抗 VLP 血清能够有效地中和同源和异源性 CVA10 菌株,保护新生小鼠免于致死性 CVA10 感染。有研究发现,使用杆状病毒-昆虫细胞表达系统分别产生 EV71-VLP、CVA16-VLP、CVA6-VLP 和 CVA10-VLP,然后将这 4 种病毒样颗粒(VLP)组合以配制 4 价 VLP 疫苗,并将 4 价 VLP 疫苗的免疫原性和保护效力与单价 VLP 疫苗进行比较。小鼠免疫研究表明,四价疫苗可引发持久的血清抗体反应,且被动免疫的小鼠能够针对 EV71、CVA16、CVA10 和 CVA6 病毒的单一或混合感染产生有效的保护。这为未来开发手足口病多价疫苗提供了重要的信息和参考。

三、展 望

肠道病毒的感染严重影响儿童的健康。我国 2008 年后手足口病的持续高流行态势以及 2011 年后手足口病病原谱的改变,造成手足口病的病毒类型在逐渐发生着变化,对防控严重手足口病提出了新的挑战。手足口病的发生由多种病原体导致,理想的疫苗应能对多种病原体感染产生长时间的保护。目前,正式投入市场的 EV71 型灭活疫苗,接种后可刺激机体产生抗 EV71 的免疫力,用于预防 EV71 感染所致的手足口病。但它不能预防其他肠道病毒(包括 CVA16、CVA6、CVA10 等病毒)感染所致的手足口病。所以,进一步研发单独的 CVA10 疫苗,或研发 EV71、CVA16、CVA6 和 CVA10 多价疫苗,或研究不同病原体之间的共性,对研发广谱高效疫苗具有重要意义。

参考文献

- 1 冀天娇. 引起手足口病的柯萨奇病毒 A 组 10 型在中国的流行及基因特征[D]. 中国疾病预防控制中心, 2014: 9
- 2 姚学君, 金鹏飞, 嵇红, 等. 肠道病毒 71 型和柯萨奇病毒 A 组 16 型所致手足口病相关特征分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2015, 19(4): 385-388
- 3 何鑫, 杨婷, 谢忠平. 柯萨奇病毒 A6 所致手足口病研究现状[J]. 中华疾病控制杂志, 2018, 3: 312-316
- 4 Shen C, Liu Q, Zhou Y, et al. Inactivated coxsackievirus A10 experimental vaccines protect mice against lethal viral challenge[J]. Vaccine, 2016, 34(41): 5005-5012

- 5 Yoshimura K, Kurashige T. A case of poliomyelitis – like syndrome [J]. Brain Dev, 1998, 20(7): 540 – 542
- 6 Yamashita T, Ito M, Taniguchi A, *et al.* Prevalence of coxsackievirus A5, A6, and A10 in patients with herpangina in Aichi Prefecture, 2005 [J]. JPN J Infect Dis, 2005, 58(6): 390 – 391
- 7 Fuschino ME, Lamson DM, Rush K, *et al.* Detection of coxsackievirus A10 in multiple tissues of a fatal infant sepsis case [J]. J Clin Virol, 2012, 53(3): 259 – 261
- 8 Sano T, Saito T, Kondo M, *et al.* Enterovirus detection status of patients with herpangina and hand, foot and mouth disease in epidemic season 2007, Kanagawa Prefecture, Japan [J]. Jpn J Infect Dis, 2008, 61(2): 162 – 163
- 9 Wu Y, Yeo A, Phoon MC, *et al.* The largest outbreak of hand; foot and mouth disease in Singapore in 2008: the role of enterovirus 71 and coxsackievirus A strains [J]. Int J Infect Dis, 2010, 14(12): e1076 – 1081
- 10 Davia JL, Bel PH, Ninet VZ, *et al.* Onychomadesis outbreak in Valencia, Spain associated with hand, foot, and mouth disease caused by enteroviruses [J]. Pediatr Dermatol, 2011, 28(1): 1 – 5
- 11 Blomqvist S, Klemola P, Kaijalainen S, *et al.* Co – circulation of coxsackieviruses A6 and A10 in hand, foot and mouth disease outbreak in Finland [J]. J Clin Virol, 2010, 48(1): 49 – 54
- 12 Gopalkrishna V, Patil PR, Patil GP, *et al.* Circulation of multiple enterovirus serotypes causing hand, foot and mouth disease in India [J]. J Med Microbiol, 2012, 61(Pt 3): 420 – 425
- 13 Mirand A, Henquell C, Archimbaud C, *et al.* Outbreak of hand, foot and mouth disease/herpangina associated with coxsackievirus A6 and A10 infections in 2010, France: a large citywide, prospective observational study [J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(5): E110 – 118
- 14 Puenpa J, Mauleekoonphairoj J, Linsuwanon P, *et al.* Prevalence and characterization of enterovirus infections among pediatric patients with hand foot mouth disease, herpangina and influenza like illness in Thailand, 2012 [J]. PLoS One, 2014, 9(6): e98888
- 15 Tao Z, Wang H, Li Y, *et al.* Molecular epidemiology of human enterovirus associated with aseptic meningitis in Shandong Province, China, 2006 – 2012 [J]. PLoS One, 2014, 9(2): e89766
- 16 Lu QB, Zhang XA, Wo Y, *et al.* Circulation of Coxsackievirus A10 and A6 in hand – foot – mouth disease in China, 2009 – 2011 [J]. PLoS One, 2012, 7(12): e52073
- 17 Zhen R, Zhang Y, Xie H, *et al.* Sequence analysis of VP1 region of coxsackievirus A4 and coxsackievirus A10 in Guangzhou city, 2010 – 2012 [J]. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi, 2014, 48(6): 445 – 450
- 18 Guan H, Wang J, Wang C, *et al.* Etiology of multiple non – EV71 and non – CVA16 enteroviruses associated with hand, foot and mouth disease in Jinan, China, 2009 – June 2013 [J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0142733
- 19 Tian H, Zhang Y, Shi Y, *et al.* Epidemiological and aetiological characteristics of hand, foot, and mouth disease in Shijiazhuang City, Hebei province, China, 2009 – 2012 [J]. PLoS One, 2017, 12(5): e0176604
- 20 赵蕾, 陈敬贤, 王明丽. 阜阳市手足口病柯萨奇病毒 A10 型 VP4 区基因特征分析 [J]. 中华疾病控制杂志, 2013, 6: 480 – 483
- 21 Xu M, Su L, Cao L, *et al.* Genotypes of the enterovirus causing hand foot and mouth disease in Shanghai, China, 2012 – 2013 [J]. PLoS One, 2015, 10(9): e0138514
- 22 Yang Q, Ding J, Cao J, *et al.* Epidemiological and etiological characteristics of hand, foot, and mouth disease in Wuhan, China from 2012 to 2013: outbreaks of coxsackieviruses A10 [J]. J Med Virol, 2015, 87(6): 954 – 960
- 23 Chen W, Weng Y, He W, *et al.* Molecular epidemiology of hand – foot – mouth disease associated pathogen Coxsackievirus A10 identified in Fujian province, 2011 – 2014 [J]. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi, 2016, 37(4): 563 – 567
- 24 杨兴林, 洪章萍, 王艺, 等. 贵阳地区 2015 年手足口病柯萨奇病毒 A6、A10 型的检测分析 [J]. 重庆医学, 2018, 3: 374 – 376, 380
- 25 李静, 张婷, 邹文菁, 等. 2016 年湖北省部分地区手足口病肠道病毒病原谱及柯萨奇病毒 A6 型和 A10 型基因特征分析 [J]. 疾病监测, 2017, 6: 462 – 466
- 26 He YQ, Chen L, Xu WB, *et al.* Emergence, circulation, and spatio-temporal phylogenetic analysis of coxsackievirus a6 – and coxsackievirus a10 – associated hand, foot, and mouth disease infections from 2008 to 2012 in Shenzhen, China [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(11): 3560 – 3566
- 27 姚学君, 管书慧, 刘秀兰, 等. 中国大陆地区 2004 – 2016 年柯萨奇病毒 A 组 10 型的分子流行病学特征分析 [J]. 中华疾病控制杂志, 2017, 11: 1111 – 1114, 1127
- 28 崔博沛, 毛群颖, 梁争论. 柯萨奇病毒 A 组 10 型研究进展 [J]. 微生物学免疫学进展, 2018, 2: 1 – 4
- 29 Zhang Z, Dong Z, Wang Q, *et al.* Characterization of an inactivated whole – virus bivalent vaccine that induces balanced protective immunity against coxsackievirus A6 and A10 in mice [J]. Vaccine, 2018, 36(46): 7095 – 7104
- 30 Lim H, In HJ, Lee JA, *et al.* The immunogenicity and protection effect of an inactivated coxsackievirus A6, A10, and A16 vaccine against hand, foot, and mouth disease [J]. Vaccine, 2018, 36(24): 3445 – 3452

(收稿日期: 2018 – 12 – 21)

(修回日期: 2019 – 02 – 23)