doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2026.09.002

❖基础医学研究❖

丁酸调控EV71感染相关肠上皮屏障功能的机制研究

陆田田,朱苏月
(南京鼓楼医院集团宿迁医院儿科,江苏 宿迁 223800)

【摘要】目的: 探讨丁酸在肠道病毒71型(EV71)感染过程中对肠上皮屏障功能的调控作用及其分子机制。**方法:** 采用Transwell小室构建Caco-2/HT29-MTX共培养体外肠上皮屏障模型并建立EV71感染体系,设置对照组、EV71组、EV71+丁酸组、ANT(GPR41/43拮抗剂)+EV71组及ANT+EV71+丁酸组。采用Western blot检测GPR41、GPR43及紧密连接蛋白Occludin、Claudin-1、ZO-1表达水平;采用ELISA检测黏蛋白2分泌水平;采用实时荧光定量PCR检测Transwell下室EV71 RNA水平。**结果:** 与对照组相比,EV71组GPR41、GPR43及紧密连接蛋白Occludin、Claudin-1、ZO-1表达水平均降低($P<0.05$),MUC2分泌水平明显下降($P<0.05$);与EV71组相比,EV71+丁酸组上述蛋白表达及MUC2分泌水平均升高($P<0.05$);与EV71+丁酸组相比,ANT+EV71+丁酸组的GPR41、GPR43、Occludin、Claudin-1、ZO-1蛋白表达和MUC2分泌水平均下降($P<0.05$)。RT-qPCR显示,EV71+丁酸组较EV71组的EV71 RNA表达降低($P<0.05$),而ANT+EV71+丁酸组较EV71+丁酸组升高($P<0.05$)。**结论:** 丁酸可通过GPR41/43相关信号通路增强肠上皮屏障功能并减少EV71跨上皮穿透,其机制可能与上调紧密连接蛋白表达及促进MUC2分泌有关。

【关键词】 丁酸;肠道病毒71型;紧密连接;黏蛋白2;肠上皮屏障
【中图分类号】 R725.1;R915 **【文献标志码】** A

Mechanism of butyric-mediated regulating EV71 infection associated intestinal epithelial barrier injury

LU Tian-tian, ZHU Su-yue
(*Department of Pediatrics, Nanjing Drum Tower Hospital Group Suqian Hospital, Suqian* 223800, *Jiangsu, China*)

【Abstract】 Objective: To investigate the regulatory effect of butyrate on intestinal epithelial barrier function during enterovirus A71 (EV71) infection and to explore the underlying molecular mechanisms. **Methods:** An in vitro intestinal epithelial barrier model was established using a Caco-2/HT29-MTX co-culture in Transwell inserts, and an EV71 infection system was subsequently developed. The cells were divided into a control group, an EV71 group, an EV71 + butyrate group, an ANT (GPR41/43 antagonist) + EV71 group, and an ANT + EV71 + butyrate group. Western blot was used to detect the protein expression of GPR41, GPR43, and the tight junction proteins Occludin, Claudin-1, and ZO-1. The secretion level of mucin 2 (MUC2) was measured by ELISA. RT-qPCR was used to measure EV71 RNA levels in the lower chamber of the Transwell system. **Results:** Compared with the control group, the EV71 group showed decreased expression levels of GPR41, GPR43, and the tight junction proteins Occludin, Claudin-1, and ZO-1 ($P<0.05$), along with a marked reduction in MUC2 secretion ($P<0.05$). Compared with the EV71 group, the EV71 + butyrate group exhibited increased expression of the above proteins and elevated MUC2 secretion levels ($P<0.05$). Compared with the EV71 + butyrate group, the ANT + EV71 + butyrate group exhibited lower expression of GPR41, GPR43, Occludin, Claudin-1, and ZO-1, together with reduced MUC2 secretion ($P<0.05$). RT-qPCR results showed that EV71 RNA expression was lower in the EV71 + butyrate group than in the EV71 group ($P<0.05$), whereas it was higher in the ANT + EV71 + butyrate group than in the EV71 + butyrate group ($P<0.05$). **Conclusion:** Butyrate may enhance intestinal epithelial barrier function and reduce EV71 transepithelial passage through GPR41/43-related signaling, possibly by upregulating tight junction protein expression and promoting MUC2 secretion.

【Key words】 Butyrate; Enterovirus 71; Tight junction; Mucin 2; Intestinal epithelial barrier

肠道病毒71型(enterovirus A71,EV71)是引起儿童手足口病重症及死亡病例的主要病原体[1-2]。病毒经消化道进入机体后首先在肠上皮细胞中复制、扩增,因此肠上皮屏障既是EV71启动感

基金项目: 江苏省高校重点实验室开放课题(XZSYSKF 2024040);宿迁市科技计划资助(No. K202428)
作者简介: 陆田田(1986—),女,硕士,副主任医师。E-mail:544681238@qq.com
通讯作者: 朱苏月。E-mail:zsyzsy7878@163.com

染的关键界面，也是限制病毒扩散的重要防线[3-4]。该屏障主要由上皮细胞层、细胞间紧密连接复合体及覆盖其表面的黏液层共同构成，其中 Occludin、Claudin-1 和 ZO-1 等紧密连接蛋白维持细胞间连接稳定，而以黏蛋白 2(mucin-2，MUC2)为主要成分的黏液层可在上皮表面形成物理屏障，减少病原体与上皮细胞的直接接触[5-6]。上述结构协同维持肠上皮屏障的完整性。课题组前期研究[7-10]证实，手足口病与人体菌群密切相关，其中丁酸产生菌减少是 EV71 型特征性肠道菌群结构变化，提示丁酸代谢失衡可能影响疾病的发生与发展。丁酸是肠道菌群代谢产生的重要短链脂肪酸，不仅是结肠上皮细胞的重要能量底物，还可通过 G 蛋白偶联受体 GPR41 或 GPR43 介导的信号调控炎性反应和肠上皮屏障稳态[11-12]。然而，在 EV71 感染背景下，肠上皮屏障损伤是否可被丁酸干预改善，及丁酸的保护作用是否与 GPR41/43 信号通路相关，尚缺乏直接的实验依据。基于此，本研究构建 Caco-2/HT29-MTX 共培养的体外肠上皮屏障模型并建立 EV71 感染体系，系统评价丁酸对肠上皮屏障功能及 EV71 跨上皮穿透的影响，并进一步探讨 GPR41/43 信号通路在其中的介导作用。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　主要仪器　本研究所用主要仪器包括 CO_2 恒温培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、5417R 型离心机(德国 Eppendorf 公司)、HH-2 型数显恒温水浴锅(上海力辰邦西仪器科技有限公司)、PowerPac 电泳仪及 Mini-PROTEAN 电泳转膜系统(美国 Bio-Rad 公司)、ChemiDoc XRS+化学发光成像系统(美国 Bio-Rad 公司)、ABI 7500 RT-qPCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司)、Multiskan FC 酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司)、NanoDrop 2000 微量分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)及 Transwell 细胞培养小室(孔径 0.4 μm，美国 Corning 公司)。

1.1.2　主要药品与试剂　EV71 病毒株来源于本院手足口病住院患儿粪便标本，经病毒分离、培养及鉴定后获得，现由本实验室保存并用于后续实验。丁酸及 GPR41 拮抗剂 3-羟基丁酸购自美国 Sigma-Aldrich 公司，GPR43 拮抗剂 GLPG0974 购自英国 Tocris 公司。高糖 DMEM 培养基、RPMI-1640 培养基、胎牛血清及青霉素-链霉素双抗购自美国 Gibco 公司。TRIzol 总 RNA 提取试剂购自美国 Invitrogen 公司，逆转录试剂盒及 SYBR Green 荧光定量 PCR 试剂盒购自日本 Takara 公司。RIPA 裂解液及 BCA 蛋白定量试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司，PVDF 膜购自美国 Millipore 公司，ECL 化学发光检测试剂盒购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。Occludin、Claudin-1、ZO-1、GPR41、GPR43 一抗及 HRP 标记二抗均购自美国 Cell Signaling Technology 公司。MUC2 酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA)试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。

1.1.3　实验细胞　人结肠腺癌细胞系 Caco-2 及人结肠黏液分泌细胞系 HT29-MTX 购自美国 ATCC 公司。

1.2　方法

1.2.1　细胞培养　Caco-2 细胞及 HT29-MTX 细胞均采用高糖 DMEM 完全培养基培养，培养基中含 10% 胎牛血清及 1% 青霉素-链霉素双抗，于 37 ℃、5% CO_2 饱和湿度培养箱中常规培养。待细胞生长至 80%～90%融合时进行消化传代。构建体外肠上皮屏障模型时，将 Caco-2 细胞与 HT29-MTX 细胞按 9∶1 的细胞数比例混合后接种于孔径 0.4 μm 的 Transwell 上室，培养期间每 2 d 同步更换上下室培养基，待细胞形成稳定、致密的单层后用于后续感染及干预实验。

1.2.2　EV71 感染与丁酸处理　待 Caco-2/HT29-MTX 细胞在 Transwell 上室形成稳定致密单层后进行分组处理。实验共分为 5 组：对照组(正常培养)、EV71 组(EV71 感染)、EV71＋丁酸组(EV71 感染后给予丁酸干预)、ANT(GPR41/43 拮抗剂)＋EV71 组(ANT 预处理后感染 EV71)及 ANT＋EV71＋丁酸组(ANT 预处理后感染 EV71 并于病毒吸附结束后给予丁酸干预)。

EV71 按感染复数为 1 接种于细胞单层，37 ℃条件下吸附 1 h 后弃去病毒液，并以 PBS 轻柔洗涤 1 次，随后加入新鲜培养基继续培养。丁酸终浓度为 2 mmol/L，均在 EV71 病毒吸附结束后立即加入。各组于感染后继续培养 24 h。为抑制 GPR41/43 信号通路，在 EV71 感染前 1 h 分别加入 GPR43 拮抗剂 GLPG0974(终浓度为 0.1 μmol/L)，及 GPR41 拮抗剂 3-羟基丁酸(终浓度为 3 mmol/L)，进行预处理。各组处理结束后设置平行培养孔，分别用于后续 Western blot、ELISA 及 RT-qPCR 检测。

1.2.3　Western blot 检测蛋白表达　各组处理结束后，收集 Transwell 上室细胞用于蛋白提取。加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液，冰上裂解

30 min,4 ℃、12 000 r/min 离心 15 min,取上清液。采用 BCA 法测定蛋白浓度后,取 30 μg 总蛋白加入 5×SDS 上样缓冲液,95 ℃金属浴变性 5 min,经 SDS-PAGE 电泳分离后,用湿转法以恒流 300 mA 转移 90 min 至 PVDF 膜。

转膜完成后,将 PVDF 膜置于 5%脱脂奶粉配制的 TBST 封闭液中室温封闭 1 h。随后分别加入 Occludin(1∶1 000)、Claudin-1(1∶1 000)、ZO-1(1∶1 000)、GPR41(1∶1 000)及 GPR43(1∶1 000)一抗,于 4 ℃孵育过夜。次日用 TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,随后加入 HRP 标记二抗(1∶5 000)室温孵育 1 h。再次洗膜后加入 ECL 化学发光试剂显色,并于化学发光成像系统下成像。以 β-actin(1∶5 000)为内参蛋白,采用 Image Lab 软件对蛋白条带灰度值进行半定量分析,以目标蛋白与 β-actin 灰度值之比表示其相对表达水平。

1.2.4 MUC2 检测 收集 Transwell 上室培养上清,4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min 去除细胞碎片,取上清备用。采用 MUC2 酶联免疫吸附测定试剂盒,严格按照说明书步骤进行检测。将标准品按梯度稀释配制标准曲线。每孔加入 100 μL 标准品或样品,37 ℃孵育 1 h 后弃去孔内液体;用洗板液洗板 5 次,每次静置 1 min。随后每孔加入生物素标记抗体工作液 100 μL,37 ℃孵育 1 h 后再次洗板;再加入 HRP 标记酶结合物 100 μL,37 ℃孵育 30 min。洗板后加入显色液 A、B 各 50 μL,避光反应 15 min,随后加入终止液 50 μL 终止反应。采用酶标仪于 450 nm 波长下测定各孔吸光度值,并根据标准曲线计算样品中 MUC2 浓度。所有样本均设 3 个复孔。

1.2.5 RNA 提取与 RT-qPCR 检测 收集各组 Transwell 下室培养液样本,用于 EV71 RNA 提取。采用 TRIzol LS 试剂按照说明书操作提取样本总 RNA。使用 NanoDrop 2000 微量分光光度计检测 RNA 浓度及纯度,当 A260/A280 比值为 1.8～2.0 时认为 RNA 质量符合后续实验要求。取 1 μg 总 RNA,按照逆转录试剂盒说明书进行反转录反应,合成 cDNA。随后采用 SYBR Green 法进行 RT-qPCR 检测,并在 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪上完成扩增反应。以 EV71 RNA 为检测目标进行扩增分析。各样本均设 3 个复孔,根据各组 Ct 值换算结果,评价 Transwell 下室 EV71 RNA 水平。

1.3 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据分析。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,在总体差异有统计学意义的基础上,采用 Tukey 法进行组间两两比较。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 GPR41 和 GPR43 蛋白表达水平比较

Western blot 结果显示,与对照组相比,EV71 组中 GPR41 和 GPR43 蛋白表达水平均降低($P<0.05$);与 EV71 组相比,EV71+丁酸组中两种受体蛋白表达均升高($P<0.05$);ANT+EV71 组中 GPR41 和 GPR43 表达进一步降低,但无统计学差异($P>0.05$)。此外,与 EV71+丁酸组相比,ANT+EV71+丁酸组中 GPR41 和 GPR43 表达均降低($P<0.05$)。见图 1。

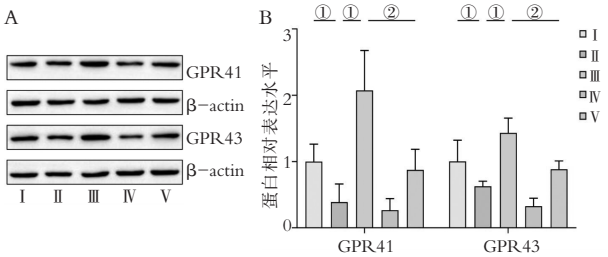


图 1 丁酸及 ANT 对 EV71 感染后 GPR41 和 GPR43 蛋白表达的影响(n=3)

A. 蛋白表达电泳图;B. 各组蛋白表达水平比较。Ⅰ:对照组;Ⅱ:EV71 组;Ⅲ:EV71+丁酸组;Ⅳ:ANT+EV71 组;Ⅴ:ANT+EV71+丁酸组。①P<0.05,与 EV71 组比较;②P<0.05,与 EV71+丁酸组比较。

2.2 各组 Occludin、Claudin-1 及 ZO-1 蛋白表达水平比较

Western blot 结果显示,与对照组相比,EV71 组中 Occludin、Claudin-1 及 ZO-1 蛋白表达水平均降低($P<0.05$);与 EV71 组相比,EV71+丁酸组中上述三种蛋白表达均升高($P<0.05$);ANT+EV71 组中 Occludin、Claudin-1 及 ZO-1 表达进一步降低,但无统计学差异($P>0.05$)。此外,与 EV71+丁酸组相比,ANT+ EV71+丁酸组中 Occludin、Claudin-1 及 ZO-1 蛋白表达均降低($P<0.05$)。见图 2。

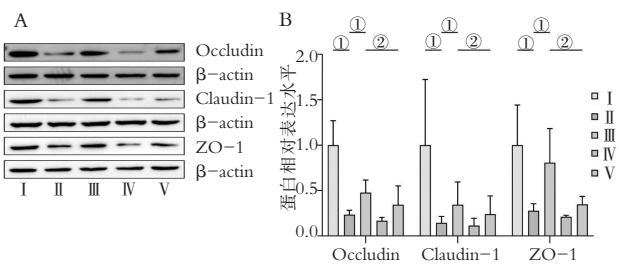


图 2 丁酸及 ANT 对 EV71 感染后 Occludin、Claudin-1 和 ZO-1 蛋白表达的影响(n=3)

A. 蛋白表达电泳图;B. 蛋白表达水平比较。Ⅰ:对照组;Ⅱ:EV71 组;Ⅲ:EV71+丁酸组;Ⅳ:ANT+EV71 组;Ⅴ:ANT+EV71+丁酸组。①P<0.05,与 EV71 组比较;②P<0.05,与 EV71+丁酸组比较。

2.3　各组 MUC2 蛋白水平比较

ELISA 检测显示，与对照组（339.19±18.14 pg/mL）相比，EV71 组 MUC2 水平降低（105.76±9.55 pg/mL，$P<0.05$）；与 EV71 组相比，EV71＋丁酸组 MUC2 水平升高（247.39±13.79 pg/mL，$P<0.05$），而 ANT＋EV71 组 MUC2 水平则进一步降低，但无统计学差异（85.12±8.44 pg/mL，$P>0.05$）。此外，与 EV71＋丁酸组相比，ANT＋EV71＋丁酸组 MUC2 水平下降（205.16±17.08 pg/mL，$P<0.05$）。见图 3。

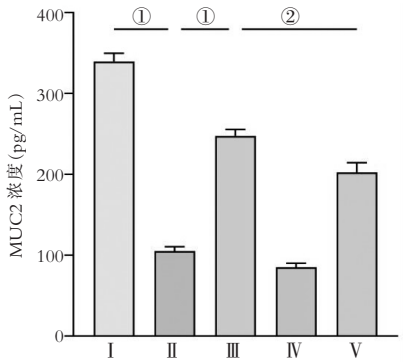


图 3　丁酸及 ANT 对 EV71 感染后 MUC2 分泌水平的影响

Ⅰ：对照组；Ⅱ：EV71 组；Ⅲ：EV71+丁酸组；Ⅳ：ANT+EV71 组；Ⅴ：ANT+ EV71+丁酸组；①$P<0.05$，与 EV71 组比较；②$P<0.05$，与 EV71+丁酸组比较。

2.4　各组 EV71 RNA 相对表达水平比较

RT-qPCR 结果显示，对照组未检测到 EV71 RNA 表达，以 EV71 组为归一化参照组进行分析。与 EV71 组相比，EV71＋丁酸组 EV71 RNA 表达水平降低（$P<0.05$）；ANT＋EV71 组 EV71 RNA 表达水平略有升高，但差异无统计学意义（$P>0.05$）。此外，与 EV71＋丁酸组相比，ANT＋EV71＋丁酸组 EV71 RNA 表达水平升高（$P<0.05$）。见图 4。

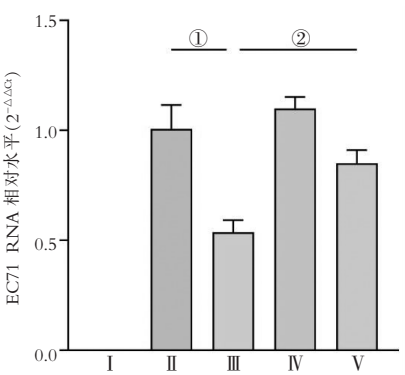


图 4　丁酸及 ANT 对 EV71 复制水平的影响

Ⅰ：对照组；Ⅱ：EV71 组；Ⅲ：EV71+丁酸组；Ⅳ：ANT+EV71 组；Ⅴ：ANT+ EV71+丁酸组。①$P<0.05$，与 EV71 组比较；②$P<0.05$，与 EV71+丁酸组比较。

3　讨论

紧密连接是维持肠上皮屏障完整性的关键结构基础[6]。Occludin、Claudin-1 和 ZO-1 共同参与细胞间连接复合体的组装、稳定与功能维持，其同步下降通常提示上皮旁细胞通透性限制能力减弱。已有研究[13]表明，多种病毒可通过干扰紧密连接蛋白定位或表达削弱上皮屏障功能，从而为跨屏障扩增创造条件。本研究中的 Occludin、Claudin-1 及 ZO-1 一致性下调同样也提示 EV71 感染所致损伤并非局部、孤立的连接蛋白波动，而是紧密连接系统整体稳定性下降。这种变化不仅说明肠上皮结构完整性受到破坏，也为病毒由顶端向基底侧穿透提供了更有利的结构基础。

除机械屏障外，MUC2 分泌减少提示 EV71 对肠上皮化学屏障同样具有明显影响。黏液层位于病原体与肠上皮细胞直接接触之前，是肠上皮化学屏障的重要组成部分，其减少可增加病原体黏附并促进其接近上皮表面。因而，MUC2 下降并不只是一个附属指标，而是肠上皮防御能力减弱的重要表现[14-15]。本研究中，紧密连接蛋白下降与 MUC2 分泌不足同步出现，提示 EV71 感染下肠上皮受损更符合“机械屏障—化学屏障”双重削弱的特征。这一结果或许可解释 Transwell 下室 EV71 RNA 升高的部分原因。该指标与紧密连接蛋白下调及 MUC2 减少方向一致，表明 EV71 感染所致的紧密连接松动与黏液防御减弱可为病毒穿透上皮提供更有利的条件。

在上述基础上，丁酸干预后 GPR41、GPR43 表达回升，紧密连接蛋白表达增加，MUC2 分泌恢复，同时下室 EV71 RNA 水平下降，提示丁酸对 EV71 相关肠上皮损伤具有明确的保护效应。而且，这种保护并不局限于单一终点的改善，而是同时体现在受体表达、连接稳态、黏液分泌及病毒穿透等多个层面，提示丁酸的作用本质更接近于对肠上皮稳态的整体维护。另外，在给予 ANT 干预后，ANT＋EV71 组较 EV71 组虽整体呈进一步损伤趋势，但其指标差异均未达到统计学意义，提示单纯阻断 GPR41/43 并未进一步放大损伤趋势。该现象可能解释为：(1)EV71 感染本身已导致 GPR41/43 表达明显下调，提示该信号轴在感染状态下已处于受抑水平，因此，拮抗剂在此基础上进一步削弱其活性的幅度可能有限；(2)EV71 相关肠上皮损伤的形成并不完全依赖 GPR41/43 通路，病毒所致紧密连接蛋白下调、MUC2 分泌减少及跨上皮穿透增加，可能还涉及炎症反应、细胞骨架重塑、能量代谢紊乱及表观遗传调控等多种机制的共同参与[16-19]。进一步

比较发现，与 EV71＋丁酸组相比，ANT＋EV71＋丁酸组中 Occludin、Claudin-1、ZO-1 表达及 MUC2 分泌水平不同程度下降，同时下室 EV71 RNA 水平升高，提示 GPR41/43 相关信号在丁酸维持肠上皮屏障稳态并限制 EV71 跨屏障穿透过程中具有重要介导作用，但尚不足以解释其全部生物学效应；即 GPR41/43 更可能是丁酸作用实现的重要环节之一，而非唯一通路。这一结果更具有明确的机制指向性：在丁酸存在条件下，阻断 GPR41/43 后，丁酸对 Occludin、Claudin-1、ZO-1 和 MUC2 的恢复作用受到削弱，病毒跨上皮穿透抑制作用也随之减弱。由此可见，GPR41/43 与 Occludin、Claudin-1、ZO-1 及 MUC2 之间并非简单的平行变化关系，而更可能是参与丁酸介导肠上皮屏障保护的重要调控轴。从作用路径看，丁酸可能通过激活 GPR41/43 相关信号通路上调紧密连接蛋白表达、促进 MUC2 分泌，进而增强机械屏障和化学屏障协同防御能力，最终减少 EV71 跨上皮穿透。

本研究尚存在一些局限性。首先，体外共培养模型虽较单一细胞模型更接近肠上皮环境，但尚不能完全模拟体内菌群、免疫细胞及炎症微环境的复杂互作。其次，下室 EV71 RNA 虽具有明确的屏障生物学指向，但仍不能完全等同于感染性病毒颗粒数量；后续若结合跨上皮电阻测定、荧光标记葡聚糖通透性实验及病毒滴度检测，将更有助于进一步强化“结构损伤—功能改变—病毒穿透增加”之间的证据链。最后，现有结果虽支持 GPR41/43 参与丁酸保护作用，但尚不足以区分两种受体在不同环节中的相对贡献，后续仍需结合更精细的分子干预手段加以明确。

综上，EV71 可通过减少紧密连接蛋白和 MUC2 表达导致肠上皮机械屏障与化学屏障协同受损并促进病毒跨上皮穿透，而丁酸则可通过 GPR41/43 相关信号通路可部分逆转上述改变。

参考文献

[1] Li Y, Yang J, 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.

[2] Li XW, Ni X, Qian SY, *et al*. Chinese guidelines for the diagnosis and treatment of hand, foot and mouth disease (2018 edition)[J]. World Journal of Pediatrics, 2018, 14(5): 437－447.

[3] 张建华，徐莲，黄慧琪，等. 肠道病毒 71 型感染致中枢神经系统损害的免疫发病机制[J]. 中国免疫学杂志，2019，35(10)：1266－1270.

[4] You Q, Wu J, Liu R, *et al*. 6-thioguanine inhibits EV71 replication by reducing BIRC3-mediated autophagy[J]. BMC Microbiology, 2025, 25(1): 53.

[5] 诸骁丽，潘永跃，江荣林. 重症感染与肠黏膜紧密连接蛋白的相关性[J]. 浙江临床医学，2024，26(12)：1893－1896.

[6] Otani T , Furuse M . Tight junction structure and function revisited[J]. Trends in Cell Biology, 2020, 30(10): 805－817.

[7] Shen N, Wu R, Lu T, *et al*. Characterization of oral microbiota of children with hand, foot, and mouth disease caused by enterovirus A 71[J]. BMC Infectious Diseases, 2024, 24(1): 1331.

[8] Zhu SY , Jiang YZ , Shen N , *et al* . Changes in the intestinal microbiota of children with hand, foot, and mouth disease under 3 years old[J]. Medicine, 2023, 102(18): e33687.

[9] 朱苏月，沈男，周永英，等. EV71 型手足口病的肠道菌群结构特征分析[J]. 徐州医科大学学报，2022，42(5)：353－357.

[10] 吴让，朱苏月，乔继冰，等. 婴幼儿手足口病的肠道菌群结构变化分析[J]. 徐州医科大学学报，2023，43(4)：258－262.

[11] Kim MH, Kang SG, Park JH, *et al*. Short-chain fatty acids activate GPR41 and GPR43 on intestinal epithelial cells to promote inflammatory responses in mice[J]. Gastroenterology, 2013, 145(2): 396－406. e10.

[12] Zhou J, Yang Q, Wei W, *et al*. Codonopsis pilosula polysaccharide alleviates ulcerative colitis by modulating gut microbiota and SCFA/GPR/NLRP3 pathway[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2025, 337: 118928.

[13] Tugizov S. Virus-associated disruption of mucosal epithelial tight junctions and its role in viral transmission and spread [J]. Tissue Barriers, 2021, 9(4): 1943274.

[14] Hussain M, Umair Ijaz M, Ahmad MI, *et al*. Meat proteins in a high-fat diet have a substantial impact on intestinal barriers through mucus layer and tight junction protein suppression in C57BL/6J mice [J]. Food & Function, 2019, 10(10): 6903－6914.

[15] Van der Sluis M, De Koning BAE, De Bruijn ACJM, *et al*. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection[J]. Gastroenterology, 2006, 131(1): 117－129.

[16] Andronik A, Lewandowski D, Sulik A, *et al*. The host immune response to enterovirus A71 (EV-A71): from viral immune evasion to immunopathology and prognostic biomarkers of severe disease-a narrative review[J]. Viruses, 2025, 17(12): 1540.

[17] Moshiri J, Craven AR, Mixon SB, *et al*. Mechanosensitive extrusion of Enterovirus A71-infected cells from colonic organoids[J]. Nature Microbiology, 2023, 8(4): 629－639.

[18] Allen CNS, Arjona SP, Santerre M, *et al*. Hallmarks of metabolic reprogramming and their role in viral pathogenesis[J]. Viruses, 2022, 14(3): 602.

[19] Hao H, Liu W, Miao Y, *et al*. N4-acetylcytidine regulates the replication and pathogenicity of enterovirus 71[J]. Nucleic Acids Research, 2022, 50(16): 9339－9354.

(**收稿日期**：2026－03－02　　**修回日期**：2026－05－12)