

## 儿童腺病毒肺炎发病机制的研究进展

### Research progress in pathogenesis of adenoviral pneumonia in children

车红明, 马瑜聪, 张璐, 石永娟, 刘丽  
(吉林大学第一医院小儿呼吸一科, 吉林 长春 130021)

**[摘要]** 腺病毒是一种无包膜的双链DNA病毒, 目前已知其至少有90个基因型和70多个血清型, 有A~G共7个亚属, 是引起儿童肺炎的常见病原体之一。儿童腺病毒肺炎的发病机制复杂, 首先腺病毒通过与细胞表面的受体结合而实现病毒颗粒的内化、内吞作用或胞饮作用, 最终被转运至核孔进入细胞核完成复制并释放, 这能够启动下游通路进行信号传导, 刺激导致肺组织损伤的炎症细胞因子和趋化因子的大量释放, 进而引起机能障碍。同时细胞免疫在腺病毒感染中发挥重要作用, M $\phi$ 、DC细胞、CD4+T淋巴细胞和CD8+T淋巴细胞等免疫细胞参与腺病毒感染。M $\phi$ 和DC细胞主要发挥免疫抗原的提呈功能, 在适应性免疫过程中不可或缺, 而免疫应答过程中有CD4+T淋巴细胞和CD8+T淋巴细胞参与。体液免疫与细胞免疫同时进行, 其是抗原刺激B淋巴细胞产生抗体的一种免疫反应, 主要由B淋巴细胞完成。现综述儿童腺病毒肺炎的发病机制, 探讨通过阻断腺病毒入侵靶细胞、复制和抑制细胞因子的产生、体内诱导CD4+T淋巴细胞和CD8+T淋巴细胞产生或体外补充CD4+T淋巴细胞及CD8+T淋巴细胞治疗儿童腺病毒肺炎的重要意义, 为腺病毒肺炎的治疗提供依据。

**[关键词]** 腺病毒肺炎; 儿童; 发病机制; CD4+T淋巴细胞; CD8+T淋巴细胞

**[中图分类号]** R725.6;R511.8 **[文献标志码]** A

腺病毒是儿童呼吸道感染的常见病原体之一, 6个月~2岁小儿易感<sup>[1]</sup>。近年来, 儿童腺病毒感染率总体降低, 但其演化特点和严峻程度均无明显改变, 2019年呈现出暴发趋势<sup>[2]</sup>。腺病毒引起的肺炎病情程度轻重不一, 在儿童重症肺炎中, 腺病毒肺炎约占1/3, 由于缺乏特殊抗病毒药物, 腺病毒肺炎病情发展快, 肺内外并发症多, 后遗症的发生率和患者病死率均相对较高<sup>[3-4]</sup>。因而研究儿童腺病毒肺炎的发病机制对于寻找治疗方向、提高诊治水平、早期识别危重症和降低发病率及病死率至关重要。现从以下几个方面对儿童腺病毒肺炎的发病机制进行探讨。

#### 1 腺病毒病原学特点

腺病毒是一种无包膜的双链DNA病毒, 直径为65~80 nm, 由基因核心和蛋白衣壳组成。腺病毒的DNA位于核心部位, 全长为32 000~36 000 bp, 分为早、中和晚期3个部分。早期基因组包括E1~E4等4个转录家族, 能够利用宿主细胞的原料合成子代病毒。而晚期基因组包含L1~L5等5个转录家族, 能够指导新病毒的组装和成熟。而病毒DNA的转入、复制和包装主要由核心部位的IV a2、V、VII、X、Tp和抗病毒蛋白(antiviral protein, AVP)等6种核心蛋白完成<sup>[5]</sup>。病毒外周主要有六邻体基体、五邻体基体和纤维蛋白突起3种主要衣

**[收稿日期]** 2021-05-18

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金项目(81700018)

**[作者简介]** 车红明(1994—), 女, 吉林省松原市人, 在读硕士研究生, 主要从事小儿呼吸系统疾病基础和临床方面的研究。

**[通信作者]** 刘丽, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师(E-mail: lli01@jlu.edu.cn)

壳蛋白及4种次要衣壳蛋白(Ⅲa、Ⅳ、Ⅴ和Ⅵ),其共同构成二十面体对称结构。六邻体上有含血清型特异的抗原决定簇,而五邻体上的Fiber蛋白球部有种属特异性抗原决定簇,这3种主要衣壳蛋白主要介导病毒进入宿主细胞<sup>[6]</sup>。腺病毒目前已至少有90个基因型和70多个血清型,有A~G 7个亚属<sup>[7-8]</sup>,其中B亚属中的HAdV-3和HAdV-7是导致全球婴幼儿下呼吸道感染的主要类型<sup>[9-10]</sup>。目前我国北方地区比较流行的2种血清型是HAdV-3和HAdV-7,2007—2012年HAdV-3和HAdV-7分别占全部血清类型的49.0%和26.3%,2014—2016年HAdV-3和HAdV-7分别占全部血清类型的30.8%和26.9%;而南方地区流行的优势型从2009年1月—2013年12月的HAdV-3(37.5%)和HAdV-7(50.0%)转变为2014年1月—2016年12月的HAdV-3(44.4%)及HAdV-2(22.2%)<sup>[11]</sup>。HAdV-3型和HAdV-7型感染易并发其他病原感染,毒力强,常引起肺外各系统受累,容易以肺部为原发病灶引起全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和(或)脓毒症,进而发展到脏器功能衰竭的序贯状态甚至多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),治疗更困难,患者病死率更高<sup>[11-12]</sup>。

## 2 腺病毒引起肺炎的发病机制

**2.1 腺病毒入侵细胞、完成复制并释放** 腺病毒入侵细胞、完成复制并释放是一个复杂的过程。首先,腺病毒与细胞表面受体结合。大多数腺病毒的主要免疫受体是柯萨奇腺病毒受体(coxsackie adenovirus receptor, CAR),是免疫球蛋白超家族中的重要成员之一,参与了各种细胞如极化上皮细胞之间紧密连接的形成<sup>[13]</sup>。大多数B亚群与CD46结合,B亚群是一种广泛表达的膜补体调节分子,其中HAdV-3型和HAdV-7型亦能够与CD80或CD86结合,除CD46、CD80和CD86外,HAdV-3型可能还与其他受体结合<sup>[14]</sup>。而除B亚群以外的A、C、D、E和F亚群均可与CAR受体相互作用<sup>[15]</sup>,D亚群的成员(ad37、ad8和ad19)也可以利用唾液酸受体<sup>[16]</sup>,有报道<sup>[17]</sup>显示:C亚群的Ad2和Ad5病毒可与硫酸肝素糖胺聚糖(heparan sulfate glycosaminoglycan, HSGAGs)结合。腺病毒与这些初始受体结合的同时,戊子基上的RGD肽(L-proline, glycyl-L-arginylglycyl-L-a-aspartyl-

L-asparaginyl-, RGD)与细胞 $\alpha v\beta 3/\alpha v\beta 5$ 整合素结合<sup>[14]</sup>。RGD是一种三肽分子序列,整合素通过识别RGD与配体蛋白结合,从而导致细胞和胞外基质相互黏附,同时能够进行信号传导,参与诸多重要的生命活动。整合素,即整联蛋白,是一类跨膜受体,广泛表达于细胞表面。迄今为止,已经成功发现24种整合素,与RGD结合的整合素研究<sup>[18]</sup>最多。整合素可以诱导多种细胞反应,如磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)和Rho GTP酶的激活<sup>[17]</sup>,然后通过依赖网格蛋白的途径直接完成内吞作用,由网格蛋白轻链重链形成一种类似三角状小型复合体分子结构,该结构在PI3K激酶及Rho GTP酶的作用下被输送至细胞外表面,并使细胞膜内陷形成内陷小窝。在动力蛋白的作用下,内陷小窝最终从细胞膜上完全脱出,形成包裹小泡,并最终将内吞物质传递给内体。初级内体的不断酸化成熟形成次级内体<sup>[19-21]</sup>,最终次级内体释放腺病毒六邻体、蛋白质Ⅲa和蛋白质Ⅵ,并直接暴露腺病毒的核心蛋白,在蛋白质Ⅵ与内质膜的相互作用下,内体最终破裂,释放腺病毒的核心蛋白,最终由核孔转运至细胞核<sup>[17]</sup>。进入细胞核后,腺病毒以自身核酸为控制中心,利用宿主细胞的合成系统,即原料、核糖体和能源系统等,合成子代病毒核酸与蛋白质等组成成分,然后组装成具有侵袭力的子代病毒,完成复制并释放,释放的同时,宿主细胞短时间内受到伤害并死亡<sup>[22]</sup>。可见腺病毒入侵靶细胞和完成复制是一个复杂的过程,阻断这些过程对于治疗腺病毒肺炎具有重要意义。

干扰素(interferon, IFN)由活化的T细胞和NK细胞产生,分为三大类:I型、II型和III型。IFN-I家族由IFN- $\alpha$ (含13个亚型)、IFN- $\beta$ 、IFN- $\delta$ 、IFN- $\epsilon$ 、IFN- $\kappa$ 、IFN- $\tau$ 和IFN- $\omega 1-3$ 组成<sup>[23]</sup>,IFN-II仅含IFN- $\gamma$ 一个成员<sup>[24]</sup>,IFN-III(也被称为IFN- $\lambda$ )家族包括IFN- $\lambda 1$ 、IFN- $\lambda 2$ 和IFN- $\lambda 3$ <sup>[25-26]</sup>。I型干扰素中的干扰素 $\alpha$ 具有广谱抗病毒效果,还可对机体免疫过程起调节作用,对腺病毒感染有一定的作用。IFN- $\alpha$ 可以通过多种信号转导途径促使AVP产生,最常见的为JAK-STAT途径。而AVP可以通过2-5A合成酶/RNase L通道、蛋白激酶通道和Mx蛋白通道等通道发挥作用,导致病毒ds-DNA降解、病毒蛋白无法复制和抑制病毒转录<sup>[27]</sup>,目前临床上常应用于雾化吸入

治疗。研究<sup>[28]</sup>显示：采用IFN雾化治疗儿童腺病毒肺炎，可以有效缓解患儿症状，且尚未发现患儿出现不良反应。但加入IFN治疗能否切实改善患儿腺病毒肺炎病情，还有待进一步临床观察。

## 2.2 细胞因子释放引起组织损伤和器官功能障碍

腺病毒被细胞释放的同时，能够启动下游通路进行信号传导，刺激可以导致肺组织损伤的炎性细胞因子和趋化因子的大量释放，进而引起机能障碍。腺病毒感染后 Toll 样受体 9 (Toll-like receptor-9, TLR-9) 可以识别DNA病毒中尚未被甲基化的 CpG DNA，进而激活核因子  $\kappa$ B 等转录因子，这主要依赖于 MyD88 信号传导系统，如白细胞介素 1 (interleukin-1, IL-1)、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 等<sup>[29]</sup>。IL-1 主要由巨噬细胞分泌，能够在腺病毒感染初期阶段发挥作用<sup>[30]</sup>，促进 T 细胞的增殖和分化，也能够提高 CD8+T 淋巴细胞的杀伤力<sup>[31]</sup>。IL-6 与疾病的严重程度有密切关联，在重症腺病毒肺炎患儿中发挥重要的治疗作用，IL-6 不仅可以促进 B 淋巴细胞活化产生抗体，发挥体液免疫作用，还可以促进肝脏合成多种急性蛋白<sup>[32]</sup>，可导致低血压、持续高热和惊厥发作等<sup>[33-34]</sup>。IL-8 作为主要的中性粒细胞趋化因子，通过聚集中性粒细胞在炎症部位而发挥作用<sup>[35]</sup>。血清 IL-8 水平与儿童腺病毒肺炎的预后呈正相关关系<sup>[33]</sup>，其水平越高，患儿预后越差，病情越重。TNF- $\alpha$  能够促进中性粒细胞的趋化和激活、促进其他炎性介质释放、诱导被侵袭的细胞如肿瘤细胞及病毒感染细胞等发生凋亡，TNF- $\alpha$  主要由活化的单核/巨噬细胞产生，可以与其他细胞因子协同作用，引发更为严重的炎症反应；急性期腺病毒肺炎患儿肺部炎症反应重于全身炎症反应，而重症患儿表现为更为强烈的局部炎症反应，与轻症患儿也有所不同，TNF- $\alpha$  和 IL-6 可能作为预测重症腺病毒肺炎的指标<sup>[36]</sup>。

研究<sup>[12]</sup>显示：在 HAdV-7 和 HAdV-3 感染后 24 或 48 h，干扰素诱导蛋白 10 (inducible protein-10, IP-10)、巨噬细胞炎性蛋白 1 $\beta$  (macrophage inflammatory protein 1 $\beta$ , MIP-1 $\beta$ )、膜结合免疫球蛋白 (membrane-bound immunoglobulin, MIG)、巨噬细胞炎性蛋白 1 $\alpha$  (macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$ , MIP-1 $\alpha$ )、单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-6、IL-10 和 TNF- $\alpha$  等细胞因

子/趋化因子明显激活<sup>[12]</sup>。HAdV-7 较 HAdV-3 复制能力强，感染 HAdV-7 后，细胞因子更加活跃，炎症反应更重，病情更严重。感染后 24 h，经 HAdV-7 感染的肺组织中 IL-10 水平明显高于经 HAdV-3 感染的肺组织。感染后 48 h，经 HAdV-7 感染的肺组织中 MIP-1 $\alpha$  和 MIP-1 $\beta$  水平明显高于经 HAdV-3 感染的肺组织。感染 HAdV-7 和 HAdV-3 后，重症肺炎患儿的血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-8 水平明显高于上呼吸道感染患儿，尤其在 HAdV-7 感染患儿中更为明显<sup>[37]</sup>。在腺病毒感染后期，IP-10 和 MCP-1 作为单核细胞和淋巴细胞趋化因子，在单核细胞和淋巴细胞浸润中发挥重要作用<sup>[38]</sup>，说明经 HAdV-7 感染后，单核巨噬系统能够通过特异性趋化因子（如 IP-10 和 MCP-1）在抗原呈递引发的从先天到适应性免疫应答的过度过程中起更重要的作用，而不仅仅局限于先天性免疫应答。HAdV-7 感染和抗原暴露之后，上皮细胞参与免疫反应，上述趋化因子和细胞因子在黏膜下层释放，最终引发炎症反应<sup>[39]</sup>。在炎症反应中，细胞因子起到了不可或缺的作用，因此抑制细胞因子的产生可减轻组织损伤并改善患者的病情和预后。糖皮质激素既可以抑制 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\beta$  等炎症因子的表达<sup>[40]</sup>，又可以下调 IL-8、MIP-1 $\beta$ 、MIP-3 $\beta$ 、MCP-2、MCP-3 和 MCP-4 等炎症趋化因子，现在临床上已广泛应用<sup>[41-42]</sup>。但目前糖皮质激素在重症腺病毒肺炎的治疗中的循证依据不足，尚存在争议，重症腺病毒肺炎患儿多有不同程度的免疫损伤，容易并发其他病原体感染，故使用时应严格遵循用药指征，谨慎应用。研究<sup>[43]</sup>显示：腺病毒肺炎早期应用激素容易导致呼吸衰竭的发生。如有以下情况出现时，可小剂量应用：①中毒症状明显、有脑炎或脑病和噬血细胞综合征等并发症；②脓毒症；③有持续喘息，影像学以细支气管炎为主。药物选择<sup>[44]</sup>：甲泼尼龙 1~2 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 或等量氢化可的松，经静脉注射。

2.3 细胞免疫介导适应性免疫应答 腺病毒感染过程中，细胞免疫发挥重要作用，M $\phi$  淋巴细胞、DC 细胞、CD4+T 淋巴细胞和 CD8+T 淋巴细胞等免疫细胞参与了腺病毒感染。M $\phi$  淋巴细胞和 DC 细胞主要发挥免疫抗原的提呈功能，在适应性免疫中不可或缺，而免疫应答过程主要有 CD4+T 淋巴细胞和 CD8+T 淋巴细胞参与。CD8+T 淋巴细胞能够帮助 CD4+T 淋巴细胞在免疫应答过程

中起主导作用<sup>[45]</sup>,反之,DC细胞可以许可CD4+T淋巴细胞对HAdV特异的CD8+细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)进行活化,也能分泌Th1细胞因子,进而维持CD8+T淋巴细胞的功能<sup>[46-47]</sup>,HAdV特异性CD4+T淋巴细胞可以使人白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA) I类分子的表达增加,从而使感染细胞被CD8+T淋巴细胞的溶解作用增强。研究<sup>[48]</sup>显示:重症腺病毒肺炎急性期的患儿INF- $\gamma$ 水平明显升高,这可能是外周血中CD8+T淋巴细胞数明显升高所致,因此推测CD8+T淋巴细胞在早期杀伤病毒过程中起主要作用。免疫功能低下的患儿常常发生严重的腺病毒感染,一方面由于小儿的免疫功能发育尚不完善,免疫应答反应较弱,另一方面由于腺病毒可以对T淋巴细胞造成损伤,不仅能引起T淋巴细胞数量降低,还可使CD4+/CD8+T淋巴细胞比例降低和Th1/Th2比例失衡,进而使细胞免疫功能部分抑制、促炎细胞因子和抗炎细胞因子失衡,严重者可引起脓毒症、多系统脏器损伤和噬血细胞综合征等<sup>[31, 49]</sup>。研究<sup>[17]</sup>显示:在无胸腔积液患者中CD4+T淋巴细胞和CD8+T淋巴细胞计数明显高于存在胸腔积液患者,提示腺病毒肺炎中出现胸腔积液是机体免疫功能下降的标志。当患儿出现胸腔积液时,要及时提高免疫力。

腺病毒容易导致重症肺炎,特别是HAdV-3型和HAdV-7型腺病毒,治疗时不应仅限于控制感染,调节免疫功能也是治疗重症腺病毒肺炎的重要手段。体内诱导CD4+T淋巴细胞和CD8+T淋巴细胞产生或体外补充CD4+T淋巴细胞及CD8+T淋巴细胞对该病具有一定的疗效。过继性T淋巴细胞转移疗法为体外补充CD4+T淋巴细胞和CD8+T淋巴细胞的一种,是指将健康个体获得的腺病毒特异性T淋巴细胞从体内提纯,在体外进行克隆复制后输入至患者体内,补充患者体内T细胞的数量,修复受损的免疫功能<sup>[50]</sup>。CD4+T淋巴细胞和CD8+T淋巴细胞靶向治疗费用较为昂贵,目前临床上仅在肿瘤治疗方面应用较广泛,其能否适用于重症腺病毒肺炎的治疗有待进一步研究。

**2.4 体液免疫介导病毒抗体复合物形成** 体液免疫是抗原刺激B淋巴细胞产生抗体的一种免疫反应,主要由B淋巴细胞完成,与细胞免疫同时进行。而足够有效的抗体在体液免疫中至关重要<sup>[51]</sup>,

抗体的主要功能是中和病毒抗原,其主要作用于游离病毒,其次是病毒感染细胞。抗体中和游离病毒的机制:抗体与病毒包膜或衣壳蛋白结合,覆盖了病毒的结合位点,从而阻止病毒对易感靶细胞吸附。腺病毒感染后,B淋巴细胞主要分泌IgG抗体和IgM抗体,其早期也分泌部分IgA抗体。HAdV和抗体结合以后,能够进入非免疫细胞中,IgG和IgM的Fc段会募集病毒抗体形成的复合物<sup>[52]</sup>。抗体能够加强对病毒粒子的吞噬和溶解作用,病毒与非中和抗体形成抗原-抗体复合物,可与巨噬细胞Fc受体结合,从而加强巨噬细胞吞噬病毒的能力;同时抗体可对感染细胞造成破坏,除补体协同作用溶解受感染细胞外,还可通过抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用杀伤细胞。HAdV包括纤维、五邻体和六邻体3个抗原,抗体通过结合这3个抗原结构使其失活。招募病毒主要由抗纤维(抗Fi)抗体完成<sup>[53]</sup>;抗五邻体(抗Pb)抗体主要起中和作用,这能够阻止病毒体从核内质移出至胞浆中;而抗六邻体(抗Hx)抗体既能募集病毒,又能在酸性环境下(pH值5.0~6.0)使部分病毒发生构象改变,起到中和作用;抗Hx抗体能够形成较强的中和作用<sup>[54]</sup>,抗Fi抗体及抗Pb抗体可以协助抗Hx抗体完成中和反应。因此在对机体不造成不良影响的情况下,将体液免疫的环境pH值维持在5.0~6.0,或许能够使体液免疫更好地发挥作用,但目前临床上尚无特异性方法能够使体液免疫环境pH值维持在上述水平。综上,中和抗体只能够在细胞外发挥作用,细胞中的腺病毒无法被中和抗体中和。一般情况下,在免疫应答的初期阶段,出现的抗体均为与腺病毒亲和力较低的低亲和力抗体,其形成的抗原-抗体复合物容易解离,解离后腺病毒又可以重新活化,重新感染细胞,因此低亲和力抗体发挥的作用相对较弱。在免疫应答晚期阶段,会出现能够与腺病毒紧密结合的高亲和力抗体,其中和能力较强,能够维持抗原-抗体结合状态,有效控制病毒感染。

机体免疫过程中产生大容量抗体库及高亲和性抗体的过程:首先抗体原始基因组合性重排生成多样性的最初抗体库,经抗原刺激后部分抗体被选择出来,接着通过细胞的高频突变和进一步选择,获得大容量的抗体库和高亲和性的抗体<sup>[55-56]</sup>。重组多样性、连接可塑性和细胞高频突变促使抗体容量库生成,而细胞高频突变和抗原选择则产生高亲和性

抗体。B淋巴细胞在抗原刺激下进行增殖和分裂,紧接着体细胞高频突变,生成高亲和性的抗体,这些B淋巴细胞能够优先增殖分裂,最终形成B淋巴细胞优势群,具有高亲和性,其继续分泌高亲和性的抗体,形成良性循环,因此能够有效地产生高亲和性抗体,对于腺病毒感染的免疫应答尤为重要。目前体外即可培养高亲和力抗体,即多样性B细胞群体、克隆选择和亲和力成熟等方法,均属于能够模拟体内生成高亲和性抗体的关键步骤抗体库方法,抗体库方法能够回避体内生成抗体的复杂过程,加速抗体生成,成本较低,能够从大容量抗体库中快速挑选并大量制备高亲和性的特异性抗体<sup>[57]</sup>。但抗体库方法现尚存在一些问题,如在不破坏抗体库多样性和保持高效率的前提下,如何提高抗体产量和库存量等问题。

### 3 小结

综上所述,腺病毒感染仍不可忽视,腺病毒通过与细胞表面的受体结合而实现病毒颗粒的内化、内吞作用或大胞饮作用,最终从核心孔进入细胞核完成复制,进而促使炎症因子释放和触发细胞免疫及体液免疫等。IFN- $\alpha$ 可以通过AVP导致病毒ds-DNA降解、病毒蛋白无法复制和抑制病毒转录,目前临床上常应用于雾化吸入治疗。研究<sup>[28]</sup>显示:采用IFN雾化治疗儿童腺病毒肺炎能有效缓解患儿症状。糖皮质激素可以抑制某些炎症因子的表达,也可下调部分炎症趋化因子,现在临床上已广泛应用。但目前糖皮质激素在重症腺病毒肺炎的治疗中疗效的循证依据不足,尚存在争议。重症腺病毒肺炎患儿多有不同程度的免疫损伤,易并发其他病原体感染,故使用时应严格遵循用药指征,谨慎应用。体内诱导CD4+ T淋巴细胞和CD8+ T淋巴细胞产生或体外补充CD4+ T淋巴细胞及CD8+ T淋巴细胞或具有疗效。过继性T淋巴细胞转移疗法可以修复受损的免疫功能。将体液免疫的环境pH值维持在5.0~6.0,或许能使体液免疫更好地发挥作用,但目前临床上尚无特异性方法能够使体液免疫环境pH值维持在上述水平。在机体免疫反应早期,通常出现低亲和性抗体,而在免疫反应后期常常形成高亲和性抗体。抗体库方法能够回避体内生成抗体的复杂过程,加速抗体生成且成本较低。

### [参考文献]

- [1] LIU C, XIAO Y, ZHANG J, et al. Adenovirus infection in children with acute lower respiratory tract infections in Beijing, China, 2007 to 2012 [J]. BMC Infect Dis, 2015, 15(1): 408-417.
- [2] BAKIR J, JUÁREZ M D V, LUCIÓN M F, et al. Clinical and epidemiological study of acute lower respiratory tract infections caused by adenovirus in hospitalized children. Nineteen years of active epidemiological surveillance [J]. Arch Argent De Pediatr, 2020, 118(3): 193-201.
- [3] 安淑华. 儿童腺病毒肺炎临床研究进展[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2020, 47(1): 7-11.
- [4] XIE L, ZHANG B, ZHOU J, et al. Human adenovirus load in respiratory tract secretions are predictors for disease severity in children with human adenovirus pneumonia[J]. Virol J, 2018, 15(1): 123-133.
- [5] PRUSINKIEWICZ M A, MYMRYK J S. Metabolic reprogramming of the host cell by human adenovirus infection[J]. Viruses, 2019, 11(2): 141-162.
- [6] ISMAIL A M, LEE J S, LEE J Y, et al. Corrigendum: adenoviromics: mining the human adenovirus species D genome[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 2178.
- [7] LYNCH J P, KAJON A E. Adenovirus: epidemiology, global spread of novel serotypes, and advances in treatment and prevention [J]. Semin Respir Crit Care Med, 2016, 37(4): 586-602.
- [8] CALVO C, GARCÍA-GARCÍA M L, SANCHEZ-DEHESA R, et al. Eight year prospective study of adenoviruses infections in hospitalized children. comparison with other respiratory viruses [J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0132162.
- [9] SELVARAJU S B, KOVAC M, DICKSON L M, et al. Molecular epidemiology and clinical presentation of human adenovirus infections in Kansas City children [J]. J Clin Virol, 2011, 51(2): 126-131.
- [10] WANG H, ZHENG Y, DENG J, et al. Molecular epidemiology of respiratory adenovirus detection in hospitalized children in Shenzhen, China [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(9): 15011-15017.
- [11] JULIA B, MARIADEL V J, MARIA F L, et al. Clinical and epidemiological study of acute lower respiratory tract infections caused by adenovirus in hospitalized children [J]. Arch Argent Pediatr, 2020, 118(3): 193-201.
- [12] CHEN Q G, LIU J, LIANG W W, et al. Clinical features, replication competence, and innate immune responses of human adenovirus type 7 infection [J].

- J Infect Dis, 2021, 223(8): 1390-1399.
- [13] ANDERSSON B, TOMKO R P, EDWARDS K, et al. Putative regulatory domains in the human and mouse CVADR genes[J]. Gene Funct Dis, 2000, 1(2): 82-86.
- [14] RUSSELL W C. Adenoviruses: update on structure and function[J]. J Gen Virol, 2009, 90(1): 1-20.
- [15] ROELVINK P W, LIZONOVA A, LEE J G M, et al. The coxsackievirus-adenovirus receptor protein can function as a cellular attachment protein for adenovirus serotypes from subgroups A, C, D, E, and F [J]. J Virol, 1998, 72(10): 7909-7915.
- [16] ARNBERG N, KIDD A H, EDLUND K, et al. Initial interactions of subgenus D adenoviruses with A549 cellular receptors: sialic acid versus alpha (v) integrins [J]. J Virol, 2000, 74(16): 7691-7693.
- [17] DECHECCHI M C, MELOTTI P, BONIZZATO A, et al. Heparan sulfate glycosaminoglycans are receptors sufficient to mediate the initial binding of adenovirus types 2 and 5[J]. J Virol, 2001, 75(18): 8772-8780.
- [18] 曲宏, 王相成, 王城, 等. RGD肽的研究进展及临床应用[J]. 内蒙古医科大学学报, 2019, 41(6): 660-663.
- [19] CHENG C Y, SHIH W L, HUANG W R, et al. Bovine ephemeral fever virus uses a clathrin-mediated and dynamin 2-dependent endocytosis pathway that requires Rab5 and Rab7 as well as microtubules [J]. J Virol, 2012, 86(24): 13653-13661.
- [20] SUN Y, TIEN P. From endocytosis to membrane fusion: emerging roles of dynamin in virus entry [J]. Crit Rev Microbiol, 2013, 39(2): 166-179.
- [21] WHITE J M, WHITTAKER G R. Fusion of enveloped viruses in endosomes [J]. Traffic, 2016, 17(6): 593-614.
- [22] 陈伶俐, 胡雪峰. 病毒的复制及各类病毒的增殖过程概述 [J]. 生物学教学, 2018, 43(7): 4-5.
- [23] WANG W, XU L, SU J, et al. Transcriptional regulation of antiviral interferon-stimulated genes [J]. Trends Microbiol, 2017, 25(7): 573-584.
- [24] ALSPACH E, LUSSIER D M, SCHREIBER R D. Interferon  $\gamma$  and its important roles in promoting and inhibiting spontaneous and therapeutic cancer immunity [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2019, 11(3): a028480.
- [25] SHEPPARD P, KINDSVOGEL W, XU W, et al. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R [J]. Nat Immunol, 2003, 4(1): 63-68.
- [26] KOTENKO S V, GALLAGHER G, BAURIN V V, et al. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex [J]. Nat Immunol, 2003, 4(1): 69-77.
- [27] CHOUDHARY S, GAO J, LEAMAN D W, et al. Interferon action against human parainfluenza virus type 3: involvement of a novel antiviral pathway in the inhibition of transcription [J]. J Virol, 2001, 75(10): 4823-4831.
- [28] 刘峻峰. 干扰素雾化治疗儿童腺病毒肺炎60例疗效观察 [J]. 医药论坛杂志, 2013, 34(10): 127, 132.
- [29] TANG Z Z, ZANG N, FU Y X, et al. HMGB1 mediates HAdV-7 infection-induced pulmonary inflammation in mice [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 501(1): 1-8.
- [30] NAZIR S A, METCALF J P. Innate immune response to adenovirus [J]. J Investig Med, 2005, 53(6): 292-304.
- [31] COX M A, KAHAN S M, ZAJAC A J. Anti-viral CD8 T cells and the cytokines that they love [J]. Virology, 2013, 435(1): 157-169.
- [32] SUN J P, XIAO Y J, ZHANG M Y, et al. Serum inflammatory markers in patients with adenovirus respiratory infection [J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 3848-3855.
- [33] MISTCHENKO A S, DIEZ R A, MARIANI A L, et al. Cytokines in adenoviral disease in children: Association of interleukin-6, interleukin-8, and tumor necrosis factor alpha levels with clinical outcome [J]. J Pediatr, 1994, 124(5): 714-720.
- [34] KAWASAKI Y, HOSOYA M, KATAYOSE M, et al. Correlation between serum interleukin 6 and C-reactive protein concentrations in patients with adenoviral respiratory infection [J]. Pediatr Infect Dis J, 2002, 21(5): 370-374.
- [35] KUNKEL S L, STANDIFORD T, KASAHARA K, et al. Interleukin-8 (IL-8): the major neutrophil chemotactic factor in the lung [J]. Exp Lung Res, 1991, 17(1): 17-23.
- [36] PATEL J A, NAIR S, OCHOA E E, et al. Interleukin-6-174 and tumor necrosis factor  $\alpha$ -308 polymorphisms enhance cytokine production by human macrophages exposed to respiratory viruses [J]. J Interferon Cytokine Res, 2010, 30(12): 917-921.
- [37] YAO L H, WANG C, WEI T L, et al. Human adenovirus among hospitalized children with respiratory tract infections in Beijing, China, 2017-2018 [J]. Virol J, 2019, 16(1): 1-8.
- [38] WU W, BOOTH J L, DUGGAN E S, et al. Human lung innate immune cytokine response to adenovirus type 7 [J]. J Gen Virol, 2010, 91(Pt 5): 1155-1163.
- [39] 樊慧峰, 卢秉泰, 黄莉, 等. 儿童腺病毒肺炎患儿部分细胞因子水平及临床意义 [J]. 贵州医科大学学报,

- 2019, 44(5): 606-611.
- [40] ASHWELL J D, LU F W M, VACCHIO M S. Glucocorticoids in T cell development and function [J]. *Annu Rev Immunol*, 2000, 18(1): 309-345.
- [41] JAHNSEN F L, HAYE R, GRAN E, et al. Glucocorticosteroids inhibit mRNA expression for eotaxin, eotaxin-2, and monocyte-chemotactic protein-4 in human airway inflammation with eosinophilia [J]. *J Immunol*, 1999, 163(3): 1545-1551.
- [42] PYPE J L, DUPONT L J, MENTEN P, et al. Expression of monocyte chemotactic protein (MCP)-1, MCP-2, and MCP-3 by human airway smooth-muscle cells [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1999, 21(4): 528-536.
- [43] 梁金鑫, 曲东, 任晓旭, 等. 儿童腺病毒肺炎临床及相关危险因素分析 [J]. *中华全科医学*, 2012, 10(8): 1169-1171.
- [44] 国家卫生健康委员会, 国家中医药管理局. 儿童腺病毒肺炎诊疗规范(2019年版) [J]. *传染病信息*, 2019, 32(4): 293-298.
- [45] LHOMME E, RICHERT L, MOODIE Z, et al. Early CD4+T cell responses are associated with subsequent CD8+T cell responses to an rAd5-based prophylactic prime-boost HIV vaccine strategy [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0152952.
- [46] SCHOENBERGER S P, TOES R E, VOORT E IVAN DER, et al. T-cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD40-CD40L interactions [J]. *Nature*, 1998, 393(6684): 480-483.
- [47] JANSSEN E M, LEMMENS E E, WOLFE T, et al. CD4+T cells are required for secondary expansion and memory in CD8+ T lymphocytes [J]. *Nature*, 2003, 421(6925): 852-856.
- [48] MATSUBARA T, INOUE T, TASHIRO N, et al. Activation of peripheral blood cd8+ t cells in adenovirus infection [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2000, 19(8): 766.
- [49] MISTCHENKO A S, KOCHER, KAJON A E, et al. Lymphocyte subsets and cytokines in adenoviral infection in children [J]. *Acta Paediatr*, 1998, 87(9): 933-939.
- [50] KAEUFERLE T, KRAUSS R, BLAESCHKE F, et al. Strategies of adoptive T-cell transfer to treat refractory viral infections post allogeneic stem cell transplantation [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 13.
- [51] MOORE M L, MCKISSIC E L, BROWN C C, et al. Fatal disseminated mouse adenovirus type 1 infection in mice lacking B cells or bruton's tyrosine kinase [J]. *J Virol*, 2004, 78(11): 5584-5590.
- [52] MALLERY D L, MCEWAN W A, BIDGOOD S R, et al. Antibodies mediate intracellular immunity through tripartite motif-containing 21 (TRIM21) [J]. *PNAS*, 2010, 107(46): 19985-19990.
- [53] REA D, HAVENGA M J, ASSEM MVAN D E N, et al. Highly efficient transduction of human monocyte-derived dendritic cells with subgroup B fiber-modified adenovirus vectors enhances transgene-encoded antigen presentation to cytotoxic T cells [J]. *J Immunol*, 2001, 166(8): 5236-5244.
- [54] MOLINIER-FRENKEL V, LENGAGNER, GADEN F, et al. Adenovirus hexon protein is a potent adjuvant for activation of a cellular immune response [J]. *J Virol*, 2002, 76(1): 127-135.
- [55] BOEHM T, BLEUL C C. The evolutionary history of lymphoid organs [J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(2): 131-135.
- [56] HARWOOD N E, BATISTA F D. New insights into the early molecular events underlying B cell activation [J]. *Immunity*, 2008, 28(5): 609-619.
- [57] WARK K L, HUDSON P J. Latest technologies for the enhancement of antibody affinity [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2006, 58(5/6): 657-670.