

doi:10.3969/j.issn.1673-6184.2019.03.003

• 论著 •

细菌脂多糖对肠道病毒 71 型感染影响的初步研究

周昕, 龙健儿

复旦大学上海医学院基础医学院病原生物学系, 教育部、卫健委、医科院医学分子病毒学重点实验室, 上海 200032

摘要: 肠道病毒 71 型(enterovirus 71, EV71)感染常导致婴幼儿手足口病(hand, foot and mouth disease, HFMD), 细菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)在多种肠道病毒感染过程中起重要作用。本研究旨在探讨细菌 LPS 对 EV71 感染的影响。将 EV71 与 LPS 共孵育, 测定病毒被热处理后残留病毒的活力, 以及病毒感染过程中病毒基因拷贝数的变化。结果显示, 热处理后病毒活力逐渐丧失, 而经 LPS 处理的病毒活力丧失的速度减缓, 且残留病毒活力与 LPS 浓度呈正相关; LPS 处理后的病毒在黏附、侵入、胞内复制及释放过程中基因拷贝数较对照组均降低; 免疫印迹分析表明 LPS 与抗 VP1 单克隆抗体可竞争性结合 EV71, 且粪便中的 EV71 可被抗大肠埃希菌抗体识别。上述结果提示, LPS 可增强 EV71 热稳定性, 抑制 EV71 感染过程, 且 LPS 可能与 EV71 结合。

关键词: 肠道病毒 71 型; 脂多糖; 热稳定性; 病毒感染

Preliminary study on the effect of bacterial lipopolysaccharide on EV71 infection

ZHOUXin, LONG Jianer

Department of Medical Microbiology and Parasitology, Key Laboratory of Medical Molecular Virology (MOE/NHC/CAMS), School of Basic Medical Sciences, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China

Abstract: Enterovirus 71 (EV71) infection mainly causes hand-foot-mouth disease (HFMD) in infants and young children. There are many commensal bacteria in the environment of viral infection. It was reported that lipopolysaccharide (LPS) plays an important role in some enterovirus infections. This study aims to investigate the effects of LPS on EV71 infection. EV71 was co-incubated with LPS to determine its impact on the viral viability and infectivity. Results showed that LPS-incubated EV71 lost their viability slower than that of the EV71 control in a LPS concentration-dependent manner. In contrast, the infectivity of EV71 decreased when the virus was pretreated by LPS. The immunoblotting assay showed that LPS could bind with EV71 competitively with anti-VP1. EV71 from HFMD patients can be detected by anti-*E. coli* antibodies. The observations indicated that LPS can increase the thermal stability of EV71 and inhibit viral infection. Both effects might be ascribed to the capability of LPS binding with the virus.

基金项目:国家自然科学基金(31570156)

通信作者:龙健儿

Correspondence to: Long Jianer E-mail: longjianer@fudan.edu.cn

Keywords: Enterovirus 71; Lipopolysaccharide; Thermal stability; Viral infection

肠道病毒 71 型(enterovirus 71, EV71)为小 RNA 病毒科肠道病毒属(*Enterovirus*)成员, 是单股正链 RNA 病毒^[1]。EV71 主要感染 5 岁以下的婴幼儿, 可导致婴幼儿手足口病(hand, foot and mouth disease, HFMD)。重症患者可表现为无菌性脑膜炎、脑炎、脊髓灰质炎样麻痹, 甚至神经源性肺水肿和肺出血^[2-3]。目前 EV71 的致病机制尚不清楚, 也没有针对 EV71 感染有效的抗病毒药物^[4-5]。

肠道病毒主要通过粪-口途径和密切接触传播, 在其传播和感染环境中存在着数量巨大的细菌群体^[6]。有研究表明细菌可影响多种肠道病毒的感染和传播, 菌体脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)被认为起着非常重要的作用^[7]。

LPS 又称为内毒素, 是革兰阴性细菌细胞壁的结构组分, 主要由疏水性的脂质 A 和亲水性的多糖(包括核心多糖和 O 特异性多糖)组成。已有研究报道, LPS 可影响多种肠道病毒的稳定性, 如脊髓灰质炎病毒、鼠乳腺肿瘤病毒、呼肠孤病毒等^[7-8]。在 EV71 的感染和传播的环境中也存在大量细菌, 因此, 本研究对细菌 LPS 是否影响 EV71 的稳定性和感染能力进行了初步探究。

1 材料与方法

1.1 材料

横纹肌肉瘤(rhabdomyosarcoma, RD)细胞、人结肠癌细胞(HT-29 细胞)细胞购自中国科学院上海生命科学研究院。EV71 病毒株(GenBank 登录号: HQ891927, 064-Shanghai)由本实验室分离并保存。反转录试剂盒 PtimeScript RT reagent Kit 购自 TaKaRa 公司, Hieff qPCR SYBR Green Master Mix (No Rox) 购自上海翊圣生物科技有限公司, LPS(# L2880) 购自 Sigma 公司, EV71-VP1(# MAB1255-M05) 抗体购自 Abnova 公司, β-actin(# 8H10D10) 抗体购自 Cell Signaling Technology 公司, 抗大肠埃希菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)抗体(anti-*E. coli* 抗体)(# ab68450) 购自 Abcam 公司, 辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记山羊抗鼠 Ig(H + L)(# WB0177) 购自上海威奥生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 RD 细胞用含 10% 胎牛血清的 DMEM/HG 培养基培养, HT-29 细胞用含 10% 胎牛血清的 McCoy 5A 培养基培养。细胞均置于 5% CO₂、37 °C 恒温细胞培养箱中培养, 当细胞生长融合至 95%~100% 单层时进行传代。

1.2.2 病毒 TCID₅₀ 的测定 病毒液处理: ①等量 EV71 与相同浓度 LPS(1 000 μg/ml) 在 42 °C 分别热处理 0、0.5、1、2、4、6 h; ②等量 EV71 与不同浓度 LPS(0、50、100、500、1 000 μg/ml) 在 42 °C 分别热处理 2 h; ③等量 EV71 与相同浓度灭活 *E. coli* (*OD* = 0.5) 在 42 °C 分别热处理 0、0.5、1、2、4、6 h; ④等量 EV71 与不同浓度灭活 *E. coli* (*OD* = 0、0.1、0.5、1) 在 42 °C 分别热处理 2 h。RD 细胞以 1 × 10⁴ 个/孔的密度接种于 96 孔板中, 将上述处理后的病毒液分别以 10 倍梯度进行稀释, 不同稀释度的病毒感染 RD 细胞, 72 h 后通过 MTT 法测定细胞活力。定义细胞活力 <50% 认为有明显的 CPE 且超过半数感染, 通过细胞活力变化检测病毒 TCID₅₀^[9]。

1.2.3 实时聚合酶链反应检测病毒基因的拷贝数

为检测 LPS 对 EV71 黏附、侵入及复制过程的影响, 将 EV71(MOI = 0.5) 与不同浓度 LPS(0、50、100、500、1 000 μg/ml) 在 37 °C 温育 1 h, 然后①黏附阶段, EV71 与 LPS 的混合液在 4 °C 分别温育 RD 细胞和 HT-29 细胞 2 h, 弃病毒液, TRIZOL 收集细胞; ②侵入阶段, EV71 与 LPS 的混合液在 37 °C 分别感染 RD 细胞和 HT-29 细胞 2 h, 弃病毒液, TRIZOL 收集细胞; ③复制阶段, EV71 与 LPS 的混合液在 37 °C 分别感染 RD 细胞和 HT-29 细胞 12 h, 弃病毒液, TRIZOL 收集细胞。为检测 LPS 对 EV71 释放过程的影响, 将 EV71(MOI = 0.5) 与 LPS(500 μg/ml) 的混合液在 37 °C 温育 1 h 后, 分别感染 HT-29 细胞 0、24、48、72、96 h, TRIZOL 分别收集感染不同时间点的细胞和培养上清液。抽提 RNA, 按 TaKaRa 反转录试剂盒 PtimeScript RT reagent Kit 说明书进行 cDNA 合成, 按上海翊圣生物科技有限公司 Hieff qPCR SYBR Green Master Mix (No Rox) 说明书进行聚合酶链反应, 并用 2^{-ΔΔCt} 方法计算 mRNA 的相对表达量。病毒蛋白

VP1 和内参基因 β -actin 的 mRNA 引物设计如下:
 VP1-F(5'-AGGAGATAGCGTGAGCAGAG-3');
 VP1-R(5'-GCTGGAACCTTGCCGTAT-3');
 β -actin-F(5'-GAAGTACCCCATCGAGCACG-3');
 β -actin-R (5'-GGATAGCACAGCCTGGATAG-CA-3')。

1.2.4 病毒纯化 ① RD 细胞接种于 75 cm^2 细胞瓶中,用 MOI = 1 的病毒液感染细胞 2 h,弃病毒液,PBS 洗涤细胞 3 次,加入含 4% FBS 的 DMEM 培养基,待细胞完全病变后收集培养上清液;② 取适量 HFMD 患者粪便,研钵研磨粪便并用 PBS 稀释,离心后收集上清液。在①、②收集的上清液中分别加入终浓度 10% 的聚乙二醇,4 °C 放置过夜。离心,弃上清液,4 °C 溶解。离心,弃沉淀物,收集上清液。离心管底部加 30% 的蔗糖溶液作垫层,将收集的病毒液加于垫层上,超速离心。弃上清液,用适量 PBS 重悬沉淀物,4 °C 溶解后于 -80 °C 保存。

1.2.5 蛋白斑点杂交 将 EV71(总质量为 100 ng)和不同浓度 LPS(0、50、100、500、1 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$)的混合液(总体积为 10 μl)在 37 °C 温育 1 h,然后尼龙膜上点样,并使液体自然风干。尼龙膜在室温封闭 2 h,与相应的一抗 4 °C 孵育过夜,再与相应的辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的二抗在室温孵育 1 h,用化学发光液(enhanced chemiluminescence, ECL)检测。

1.2.6 蛋白免疫印迹法 收集的细胞样品蛋白定量后,用含十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)的缓冲液处理,煮沸 10 min。将上述制备好的蛋白样品经 10% 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,电转移法转印到聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上,在室温封闭 2 h,与相应的一抗 4 °C 孵育过夜。次日,与相应的 HRP 标记的二抗在室温孵育 1 h,用化学发光液检测。

1.3 统计学分析

统计分析采用 Graphpad Prism 6 软件,数据以均数 \pm 标准差(SD)表示,用两独立样本均数 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LPS 对 EV71 热稳定性的影响

为研究 LPS 对 EV71 热稳定性的影响,将相同

浓度 LPS 与等量 EV71 温育后,再经 42 °C 热处理,分别测定不同时间的热处理后残留的病毒活力。结果显示,随着热处理时间延长,病毒活力逐渐丧失,但经 LPS 处理过的与未经 LPS 处理的相比,病毒活力丧失速度减缓(图 1A)。将不同浓度 LPS 与等量 EV71 温育后再经 42 °C 热处理 2 h,以不加 LPS 且未热处理的病毒活力定义为 100%。结果显示,不加 LPS 的病毒被热处理后活力丧失 50%,而经 LPS 处理的病毒残留活力与 LPS 浓度呈正相关:用低浓度 LPS 处理,残留病毒活力较低;而以高浓度 LPS 处理,残留病毒活力较高(图 1B)。

由于 LPS 是细菌菌体的重要组分,为确认细菌菌体对 EV71 热稳定性的影响能力,将热灭活的 *E. coli* 与 EV71 温育,再经热处理后测定残留病毒活力。结果显示,热处理 2 h 后,病毒的活力显著丧失,但经 *E. coli* 处理后的病毒,活力丧失速度减缓(图 1C);且残留病毒活力与加入 *E. coli* 的剂量呈正相关(图 1D)。上述结果表明, LPS 及灭活的 *E. coli* 菌体均可增强 EV71 的热稳定性。

2.2 LPS 对 EV71 感染过程的影响

EV71 对细胞的感染包括黏附、侵入、胞内复制、释放过程。为确认 LPS 对 EV71 感染过程的影响,将不同浓度 LPS 与等量 EV71 温育,并以不加 LPS 的病毒作为对照。在黏附阶段,混合液与细胞在 4 °C 作用 2 h。结果显示,经 LPS 处理后,黏附在细胞表面的病毒基因拷贝数较对照组均降低(图 2A、B)。在侵入阶段,混合液在 37 °C 感染细胞 2 h。结果显示,经 LPS 处理后,细胞内病毒基因拷贝数较对照组均显著降低(图 2C、D)。在细胞复制阶段,混合液在 37 °C 感染细胞 12 h。结果显示,经 LPS 处理后,细胞中病毒基因拷贝数较对照组均降低(图 2E、F)。在释放过程阶段,等量 EV71 与相同浓度 LPS 温育,然后感染 HT-29 细胞 0、24、48、72、96 h,并以未加 LPS 的病毒作为对照。结果显示,经 LPS 处理后,细胞内病毒基因拷贝数均低于对照组,在感染 72 h 后释放于培养上清液中的病毒滴度也显著低于对照组(图 2G、H)。以上结果表明, LPS 可抑制 EV71 的黏附、侵入、胞内复制及释放过程。

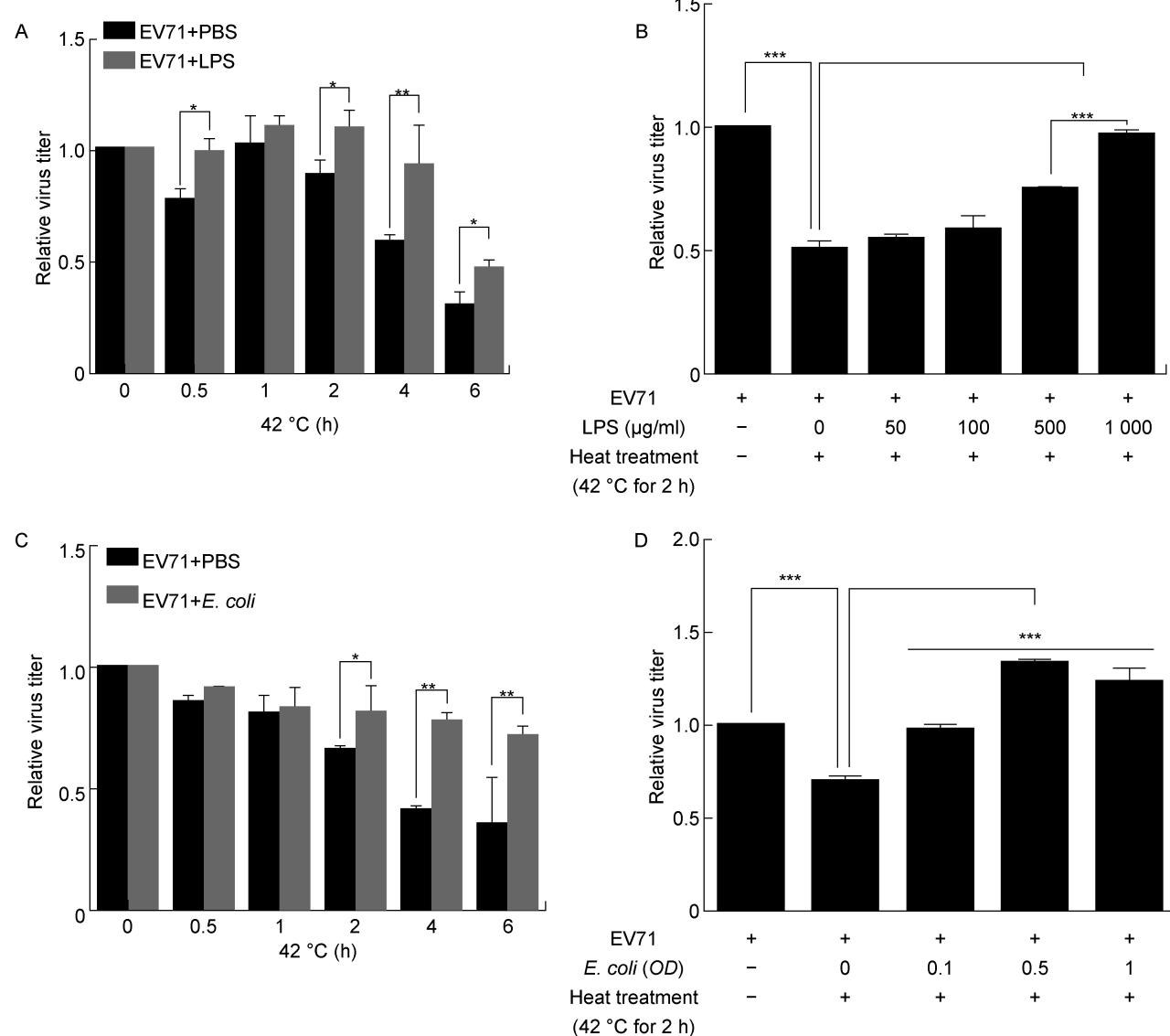
2.3 LPS 与 EV71 的结合可能性分析

LPS 可以增强 EV71 的热稳定性并抑制 EV71 的感染过程,推测其可能与 EV71 相结合。为检测

LPS 能否与 EV71 相结合, 将等量 EV71 与不同浓度 LPS 温育, 然后用不同的抗体进行蛋白斑点杂交实验。结果显示, 当抗体为 anti-*E. coli* 时, 斑点印迹的深浅与 LPS 浓度呈正相关; 当抗体为 anti-VP1 时, 斑点印迹的深浅与 LPS 浓度呈负相关(图 3A)。

为进一步检测 HFMD 患者体内的 EV71 能否与肠道中菌体 LPS 结合, 将从病毒感染细胞后增殖

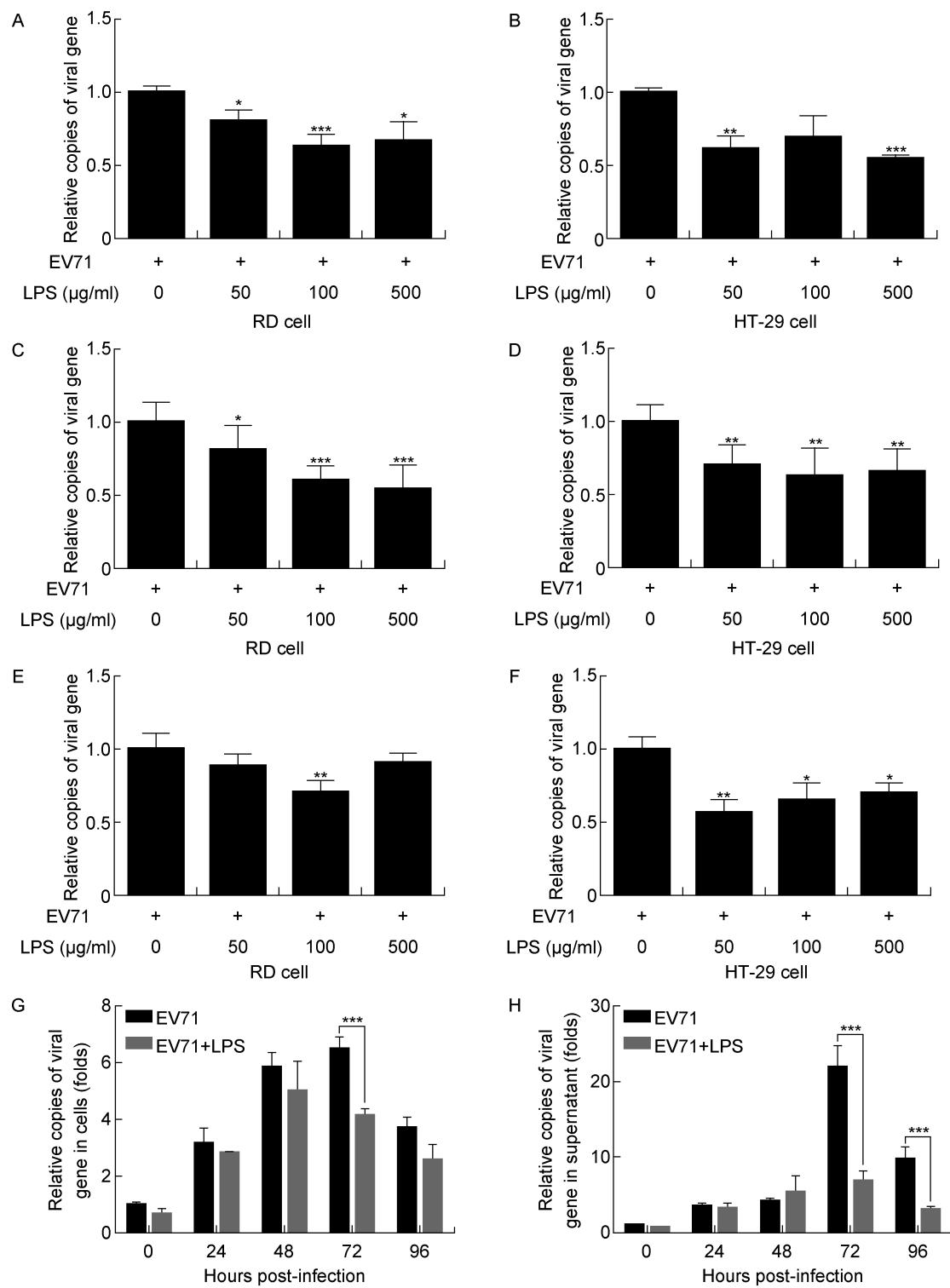
产生的上清液及 HFMD 患者粪便中分离纯化的 EV71, 用免疫印迹试验检测纯化病毒液与 anti-VP1 和 anti-*E. coli* 抗体的结合情况。结果显示, 上清液和粪便中纯化出的病毒液均可被 anti-VP1 抗体识别(图 3B), 但只有粪便中纯化出的病毒液可被 anti-*E. coli* 抗体识别(图 3C)。上述结果提示, LPS 可能与 EV71 结合。



A: LPS increased the thermal stability of EV71. Mixture of EV71 and LPS (1 000 µg/ml) or PBS was heated at 42 °C for the indicated hours, then the virus TCID₅₀ was detected. B: LPS increased the viral thermal stability in a LPS concentration-dependent manner. EV71 was treated by LPS at indicated concentrations, then incubated at 42 °C for 2 h, then the virus TCID₅₀ were detected. C: The inactivated *E. coli* increased the thermal stability of EV71. The inactivated *E. coli* (OD = 0.5) were mixed with EV71 and heated at 42 °C for the indicated hours, then the virus TCID₅₀ was detected. D: The thermal stability of EV71 was dependent on *E. coli* OD values. EV71 was treated by inactivated *E. coli* at indicated concentrations, then incubated at 42 °C for 2 h, then the virus TCID₅₀ were detected. Data showed as the relative folds in comparison with that of input virus without treatment by heat and LPS or *E. coli*. * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001.

图 1 LPS 可增强 EV71 的热稳定性

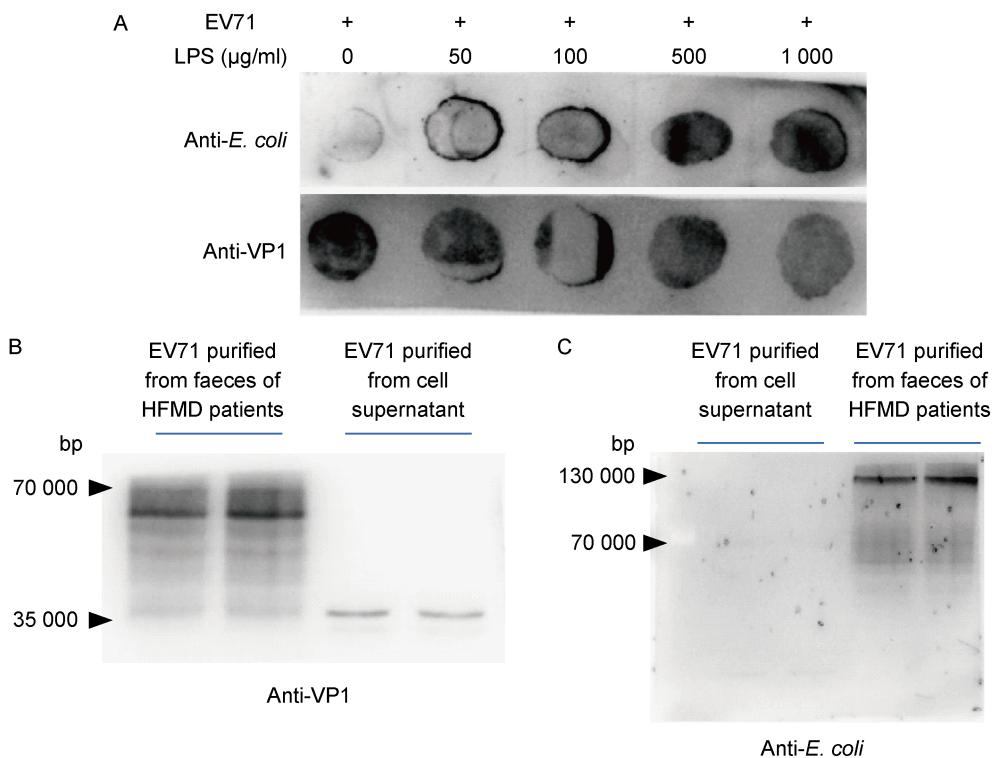
Fig. 1 LPS increased the thermal stability of EV71



A: Effect of LPS on the attachment of EV71 to RD cells. B: Effect of LPS on the attachment of EV71 to HT-29 cells. C: Effect of LPS on the entry of EV71 into RD cells. D: Effect of LPS on the entry of EV71 into HT-29 cells. E: Effect of LPS on EV71 replication in RD cells. F: Effect of LPS on EV71 replication in HT-29 cells. G: Relative viral genome copies in RD cells. H: Relative viral genome copies in HT-29 cell culture supernatant. The data showed the relative folds of viral genome copies normalized by β -actin. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

图 2 LPS 抑制 EV71 的感染过程

Fig. 2 LPS inhibited the infection process of EV71



A: LPS binding to virus detected by dot-blot. Purified EV71 (100 ng in each dot) were incubated with LPS at indicated concentrations for 1 h to the protein dot blot hybridization. B: Western blot to detect the viruses from HFMD patients and the cell culture supernatant by anti-VP1 antibodies. C: Western blot to detect the viruses from HFMD patients and the cell culture supernatant by anti-*E. coli* antibodies.

图 3 LPS 与 EV71 结合的分析

Fig. 3 Analysis of the combination of LPS and EV71

3 讨论

肠道病毒传播和感染时,会接触到大量的细菌^[6, 10]。研究表明,细菌可影响多种肠道病毒的稳定性和感染能力,其菌体组分 LPS 被认为在此过程中起着非常重要的作用^[7]。

细菌 LPS 可影响多种肠道病毒的稳定性。在正常生理条件下,病毒可保持结构稳定;当温度升高时,病毒的稳定性遭到破坏,活力下降,感染能力降低。研究显示,LPS 可通过直接与脊髓灰质炎病毒结合,增强病毒的热稳定性及对氯漂白剂的抵抗能力^[11-13]。LPS 还可增强其他小 RNA 病毒(如埃可病毒 30、柯萨奇病毒 A21 和 B5)的耐热性,对氯漂白剂、紫外线(UV)等的耐受性,使病毒能够稳定存在^[14]。LPS 和革兰阳性菌的成分肽聚糖也可增强呼肠孤病毒的热稳定性,但是具体的分子机制并不清楚^[8]。由于在极端生理条件下,哺乳动物体温有可能达到 42 °C;在实验条件下,42 °C 处理病毒,病毒活性丧失速度减缓,容易检测出病毒的活性变化,因此我们选择了 42 °C 进行实验来检测 LPS 对

EV71 热稳定性的影响。在本研究中,通过将 LPS 处理过的病毒再进行热处理,测定残留病毒活力,发现 LPS 处理组病毒活力丧失速度更慢,且残留病毒活力与 LPS 浓度呈正相关,提示 LPS 可增强 EV71 的热稳定性。利用灭活的 *E. coli* 处理病毒也得到相似的结果,这与上述研究报道的结果一致^[7-8, 11-14]。

LPS 还可影响多种肠道病毒的感染过程。如脊髓灰质炎病毒进入细胞由细胞表面的脊髓灰质炎病毒受体(poliiovirus receptor, PVR)介导,LPS 能够促进病毒与靶细胞表面的 PVR 结合,使病毒黏附在靶细胞表面,从而促进病毒感染细胞^[12];鼠乳腺肿瘤病毒通过结合 LPS 后激活 TLR4 信号通路,刺激细胞产生 IL-6,然后诱导 B 细胞产生 IL-10,建立一个免疫抑制的微环境,从而使病毒能够持续性感染^[15-17]。在本研究中,我们用 LPS 处理的病毒感染不同类型的细胞,观察在病毒黏附、侵入、胞内复制、释放过程中病毒基因拷贝数的变化,发现 LPS 处理组病毒基因拷贝数在病毒感染过程中较对照组均有不同程度的降低,提示 LPS 可以抑制 EV71 的

感染过程,这与已经报道的 LPS 对其他病毒感染影响的结果不同^[12, 15-17]。LPS 抑制 EV71 感染的机制尚不明确,我们分析有以下可能的原因:第一,LPS 与 EV71 的结合阻止了 EV71 黏附在靶细胞上,从而抑制病毒的感染。由于 EV71 黏附细胞需要病毒 VP1 与细胞受体结合,而我们通过蛋白斑点杂交和免疫印迹试验检测发现 LPS 可以竞争性抑制 anti-VP1 抗体与病毒的结合似乎也表明了这一点。第二,LPS 被 Toll 样受体(Toll like receptor, TLR)识别后,可能通过激活 TLR4 信号通路,进一步激活下游的核转录因子(nuclear factor kappa B, NF- κ B)信号通路,诱导产生多种抗病毒细胞因子,例如 TNF- α 和 IFN,阻止病毒的感染。LPS 影响 EV71 感染的作用机制还需进一步的研究。

综上所述,本研究发现细菌 LPS 可增强 EV71 的热稳定性,抑制 EV71 的感染过程,推测 LPS 可能与 EV71 相结合。该结果可以加深我们对 EV71 感染及其致病过程的理解,对临床防治 EV71 感染具有一定的指导意义。

参考文献

- [1] Solomon T, Lewthwaite P, Perera D, Cardosa MJ, McMinn P, Ooi MH. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71 [J]. *Lancet Infect Dis*, 2010, 10 (11): 778-790.
- [2] Chang LY, Huang LM, Gau SS, Wu YY, Hsia SH, Fan TY, Lin KL, Huang YC, Lu CY, Lin TY. Neurodevelopment and cognition in children after enterovirus 71 infection [J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(12): 1226-1234.
- [3] Huang CC, Liu CC, Chang YC, Chen CY, Wang ST, Yeh TF. Neurologic complications in children with enterovirus 71 infection [J]. *N Engl J Med*, 1999, 341(13): 936-942.
- [4] Zhou Y, Li JX, Jin PF, Wang YX, Zhu FC. Enterovirus 71: a whole virion inactivated enterovirus 71 vaccine [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2016, 15(7): 803-813.
- [5] Wu KX, Ng MM, Chu JJ. Developments towards antiviral therapies against enterovirus 71 [J]. *Drug Discov Today*, 2010, 15(23-24): 1041-1051.
- [6] Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, Mende DR, Li J, Xu J, Li S, Li D, Cao J, Wang B, Liang H, Zheng H, Xie Y, Tap J, Lepage P, Bertalan M, Batt JM, Hansen T, Le Paslier D, Linneberg A, Nielsen HB, Pelletier E, Renault P, Sicheritz-Ponten T, Turner K, Zhu H, Yu C, Li S, Jian M, Zhou Y, Li Y, Zhang X, Li S, Qin N, Yang H, Wang J, Brunak S, Doré J, Guarner F, Kristiansen K, Pedersen O, Parkhill J, Weissenbach J; MetaHIT Consortium; Bork P, Ehrlich SD, Wang J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing [J]. *Nature*, 2010, 464 (7285): 59-65.
- [7] Karst SM. The influence of commensal bacteria on infection with enteric viruses [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(4): 197-204.
- [8] Berger AK, Yi H, Kearns DB, Mainou BA. Bacteria and bacterial envelope components enhance mammalian reovirus thermostability [J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13 (12): e1006768.
- [9] Lu J, He YQ, Yi LN, Zan H, Kung HF, He ML. Viral kinetics of enterovirus 71 in human abdominosarcoma cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(36): 4135-4142.
- [10] Norman JM, Handley SA, Virgin HW. Kingdom-agnostic metagenomics and the importance of complete characterization of enteric microbial communities [J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(6): 1459-1469.
- [11] Kuss SK, Best GT, Etheridge CA, Pruijssers AJ, Frierson JM, Hooper LV, Dermody TS, Pfeiffer JK. Intestinal microbiota promote enteric virus replication and systemic pathogenesis [J]. *Science*, 2011, 334(6053): 249-252.
- [12] Robinson CM, Jesudhasan PR, Pfeiffer JK. Bacterial lipopolysaccharide binding enhances virion stability and promotes environmental fitness of an enteric virus [J]. *Cell Host Microbe*, 2014, 15(1): 36-46.
- [13] Walter TS, Ren J, Tuthill TJ, Rowlands DJ, Stuart DI, Fry EE. A plate-based high-throughput assay for virus stability and vaccine formulation [J]. *J Virol Methods*, 2012, 185 (1): 166-170.
- [14] Waldman P, Meseguer A, Lucas F, Moulin L, Wurtzer S. Interaction of human enteric viruses with microbial compounds: implication for virus persistence and disinfection treatments [J]. *Environ Sci Technol*, 2017, 51 (23): 13633-13640.
- [15] Kane M, Case LK, Kopaskie K, Kozlova A, MacDearmid C, Chervonsky AV, Golovkina TV. Successful transmission of a retrovirus depends on the commensal microbiota [J]. *Science*, 2011, 334(6053): 245-249.
- [16] Jude BA, Pobezinskaya Y, Bishop J, Parke S, Medzhitov RM, Chervonsky AV, Golovkina TV. Subversion of the innate immune system by a retrovirus [J]. *Nat Immunol*, 2003, 4(6): 573-578.
- [17] Wilks J, Lien E, Jacobson AN, Fischbach MA, Qureshi N, Chervonsky AV, Golovkina TV. Mammalian lipopolysaccharide receptors incorporated into the retroviral envelope augment virus transmission [J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 18(4): 456-462.

(收稿日期:2019-04-15)