

• 论 著 •

酒精性脂肪性肝炎差异表达基因的生物信息学分析*

李毅勤¹, 姜 瑶¹, 陶华林^{1△}, 郭永灿^{2▲}

(1. 西南医科大学附属医院检验科, 四川泸州 646000; 2. 西南医科大学附属医院中医医院检验科, 四川泸州 646000)

摘 要:目的 利用生物信息学方法筛选酒精性脂肪性肝炎(ASH)肝组织与正常肝组织间的差异表达基因,为探索 ASH 的关键基因和分子机制提供理论依据。方法 从基因芯片公共数据库下载 ASH 基因芯片数据集 GSE28619 和 GSE103580,共包括 ASH 患者肝组织标本 28 例,正常肝组织标本 7 例。使用 R 软件对芯片数据进行整合并筛选出差异表达基因。采用在线 DAVID 分析软件对差异表达基因进行基因本体论(GO)富集分析,应用 R 软件中 Clusterprofiler 包对差异基因进行 KEGG 信号途径分析,利用 STRING 及 Cytoscape 软件进一步构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,并利用 Cytoscape 软件中的 CytoHubba 插件,综合 12 种拓扑分析方法筛选出前 3 个核心基因。结果 共筛选出 28 个差异表达基因,GO 富集分析发现,差异表达基因参与了皮质醇反应、Wnt 蛋白活性、细胞对细胞外刺激的反应、转录因子活性、转录激活因子活性及 RNA 聚合酶 II 核心启动子近端区序列特异性结合等功能。KEGG 通路分析发现,差异表达基因富集在唯一一个通路——白细胞介素-17(IL-17)信号通路上。PPI 分析得到 3 个核心基因,分别为 CCL20、FOS 及 NR4A2,并且 CCL20 与 FOS 均富集在 IL-17 信号通路上。对 PPI 网络中的节点进行富集分析发现,其功能主要富集在信号转导上。结论 通过生物信息学分析,预测 CCL20、FOS 及 NR4A2 可能是介导 ASH 的核心基因,其中 CCL20 可能通过作用在 IL-17 信号通路上,被诱导激活后促进巨噬细胞、中性粒细胞等炎症细胞的募集,从而介导 ASH 炎症发生。靶向调控 IL-17 信号通路有望成为 ASH 治疗的新型疗法。

关键词:酒精性脂肪性肝炎; 基因芯片; 生物信息学; 差异表达基因

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.15.011

中图法分类号:R575.5

文章编号:1673-4130(2020)15-1839-05

文献标识码:A

Bioinformatics analysis of differentially expressed genes in alcoholic steatohepatitis*

LI Yiqin¹, JIANG Yao¹, TAO Hualin^{1△}, GUO Yongchan^{2▲}

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: Objective To identify the differentially expressed genes between liver tissue of alcoholic steatohepatitis (ASH) and normal liver tissue by bioinformatics methods and provide theoretical basis for exploring the key genes and molecular mechanisms of ASH. **Methods** The ASH gene chip datasets GSE28619 and GSE103580 were downloaded from the Gene Chip Public Database, including 28 liver tissues of ASH patients and 7 normal liver tissues. The R software was used to integrate the chip data and screen for differentially expressed genes. Gene ontology (GO) enrichment analysis was performed by online DAVID analysis software. The KEGG signaling pathway was analyzed by using the Clusterprofiler package in R software. The protein-protein interaction (PPI) network was further constructed by STRING and Cytoscape software. The first three core genes were screened out by using the CytoHubba plug-in in the Cytoscape software and 12 topological analysis methods. **Results** A total of 28 differentially expressed genes were identified. GO enrichment analysis revealed that they were involved in response to corticosterone, Wnt-protein binding, cellular response to extracellular stimulus, transcription factor activity, RNA polymerase II core promoter proximal region sequence-specific binding. The KEGG pathway analysis revealed that differential genes were enriched in the only

* 基金项目:西南医科大学青年基金(2018-ZRQN-125)。

作者简介:李毅勤,女,技师,主要从事临床检验诊断方面的研究。△ 通信作者, E-mail: lzyxyjyx@163.com。▲ 共同通信作者, E-mail: guoyongcan_2004@163.com。

本文引用格式:李毅勤,姜瑶,陶华林,等.酒精性脂肪性肝炎差异表达基因的生物信息学分析[J].国际检验医学杂志,2020,41(15):1839-1843.

pathway, which was the interleukin-17 (IL-17) signaling pathway. PPI analysis showed three core genes, namely CCL20, FOS and NR4A2, and both CCL20 and FOS were enriched in the IL-17 signaling pathway. The enrichment analysis of the nodes found that the main enrichment was on signal transduction. **Conclusion** Bioinformatics analysis predicts that CCL20, FOS and NR4A2 may be the core genes of ASH. CCL20 may act on the IL-17 signaling pathway and promote the recruitment of inflammatory cells such as macrophages and neutrophils after induction and activation, thereby mediating the occurrence of ASH inflammation, providing new ideas for understanding the molecular mechanism of ASH. IL-17 signaling pathway is expected to become a new targeting treatment for ASH.

Key words: alcoholic steatohepatitis; gene chip; bioinformatics; differentially expressed genes

酒精性肝病是全球慢性肝病的主要疾病之一,其主要包括单纯性脂肪变性、酒精性脂肪性肝炎(ASH)、进行性肝纤维化(通常始于肝小叶的周围区域)、肝硬化和肝癌^[1-2]。ASH 其病理表现为脂肪变性、肝细胞气球样变性和多形核中性粒细胞炎性浸润共存。虽然,ASH 病理改变与非酒精性脂肪性肝炎(NASH)病理改变类似,然而与 NASH 比较,ASH 具有更严重的临床表现和组织学病变^[3]。患重度 ASH 患者 1 个月病死率可达 30%~40%^[4]。目前,ASH 发生和发展的确切分子机制尚不完全清楚。因此,探索 ASH 的关键基因及其分子机制,对发现更有效的诊断及治疗靶点非常重要。随着计算机技术的普及和发展,高通量平台在医学领域得到广泛应用,微阵列技术和新一代测序分析作为用于基因表达分析的工具,具有巨大的临床价值,目前已普遍应用于突变基因检测、差异基因筛查、肿瘤分型、多态性检测等多个方面^[5-6]。本研究通过生物信息学方法,从基因芯片公共数据库(GEO)筛选出 ASH 相关差异表达基因,并对其进行基因本体论(GO)富集分析和 KEGG 通路分析,同时分析其蛋白互作网络结构,以明确差异表达基因的生物学功能,进一步探索与 ASH 相关的潜在基因和相关分子机制,为 ASH 的诊疗提供新的靶标。

1 材料与方法

1.1 材料 本研究应用 2 个 ASH 相关基因芯片数据 GSE28619^[7]和 GSE103580^[8]进行整合分析,均从 Gene Expression Omnibus(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)数据库下载^[9],其中 GSE28619 的微阵列数据包括 15 例 ASH 肝组织标本和 7 例正常肝组织标本,GSE103580 包括 13 例 ASH 肝组织标本。

1.2 数据处理及差异表达基因分析 将原始数据转换成表达矩阵,随后使用 perl 软件对 2 个芯片进行数据合并。使用 R 软件(版本 3.5.3,<https://www.r-project.org/>)和 Bioconductor 软件包(<http://www.bioconductor.org/>)进行合并后对数据进行分析,首先使用 R 软件中 sva 包中 Combat 功能对数据进行批次校正。随后使用 R 软件中 limma 包筛选 ASH 肝组织和正常肝组织间的差异表达基因。*P* 值及其余参数计算采用经验性贝叶斯方法。其中 $|\log_2\text{FoldChange}| > 1.2$ 且

adjusted $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.3 差异表达基因的功能富集分析 在线分析软件 DAVID 数据库(david.abcc.ncifcrf.gov/knowledge-base)是为研究人员提供的一套全面的功能注释工具。本研究使用 DAVID 工具对差异表达基因进行 GO 富集分析(包括生物过程、细胞成分和分子功能类别)。应用 R 软件中 Clusterprofiler 包对差异表达基因进行京都基因和基因组百科全书(KEGG)途径富集分析,以明确其生物学功能及参与的信号调控网络。选择 $P < 0.05$ 为功能富集分析差异有统计学意义。

1.4 差异表达基因编码蛋白的相互作用分析 蛋白质相互作用关系数据库(String)是最大的蛋白质数据库之一,通过 String 分析工具,可以预测蛋白质之间的关系并可视化,找出关键蛋白质。MIRYALA 等^[10]作为一种生物图形可视化工具,主要用于生物网络的研究与设计,如基因表达调控网络及蛋白互作网络等。利用 String 评估差异表达基因之间的相互作用关系,再使用 Cytoscape 软件构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络图,利用 Cytoscape 软件中插件 CytoHubba,综合 12 种拓扑分析方法的得分排序筛选出分数最高的前 3 个作为核心基因。最后再次使用 DAVID 数据库对 PPI 网络中包含的基因进行 GO 功能富集分析。

2 结果

2.1 ASH 差异表达基因的筛选 对数据集 GSE28619 和 GSE103580 进行联合分析,筛选 ASH 患者与正常对照组间的差异表达基因,共筛选出 28 个差异表达基因,见表 1。与对照组比较,ASH 组中共 21 个上调基因,7 个下调基因。

表 1 数据集 GSE28619 和 GSE103580 的 28 个差异表达基因

基因名称	差异倍数	<i>P</i>
KRT23	6.811 623 566	0.002
CCL20	6.363 374 323	0.005
MMP7	4.563 011 448	0.003
EPCAM	4.073 800 425	0.001

续表 1 数据集 GSE28619 和 GSE103580 的 28 个差异表达基因

基因名称	差异倍数	P
CTHRC1	3.336 915 061	0.002
PCDH17	2.481 717 276	0.009
C12orf75	2.454 611 269	0.021
FAM169A	2.435 246 744	0.001
SLC22A15	2.324 189 731	0.001
ELOVL7	2.305 324 535	0.007
FGF13	2.260 214 075	0.003
CLDN10	2.141 130 855	0.047
ANXA3	2.111 984 363	0.002
TMEM200A	2.021 587 158	0.023
FZD6	1.852 826 793	0.005
RAD51AP1	1.802 539 381	0.001
APOBEC3B	1.794 217 061	0.008
MFS6	1.468 020 566	0.022
SULT1C2	1.385 276 604	0.009
SLC39A10	1.365 403 670	0.021
CRNDE	1.233 440 217	0.001
CD69	-1.322 977 254	0.021
RGS1	-2.206 530 983	0.013
DIRAS3	-2.273 845 764	0.001
LGSN	-3.809 775 470	0.001
NR4A2	-4.789 997 076	0.001
FOSB	-5.094 718 324	0.001
FOS	-6.765 273 103	0.001

2.2 ASH 差异表达基因的 GO 富集分析和 KEGG 通路分析 利用 DAVID 软件对 28 个差异表达基因进行 GO 富集分析见表 2。GO 富集分析结果表明,在生物过程方面,差异表达基因参与了细胞对细胞外刺激的反应及对皮质醇的反应。分子功能方面参与 Wnt 蛋白结合、转录因子活性、转录激活因子活性及 RNA 聚合酶 II 核心启动子近端区序列特异性结合等功能。应用 R 软件中 Clusterprofiler 包对差异表达基因进行 KEGG 通路分析发现,差异表达基因仅富

集在唯一一个通路——白细胞介素-17(IL-17)信号通路上。

2.3 差异表达基因 PPI 分析 通过 STRING 在线数据库评估 28 个差异表达基因间相互作用关系,再应用 Cytoscape 构建蛋白互作网络分析图,见图 1。利用 Cytoscape 中插件 CytoHubba 筛选出核心基因为 FOS、CCL20 及 NR4A2,见图 2。对 PPI 网络中的节点进一步进行 GO 富集分析发现,差异表达基因的功能最主要富集在信号转导上。

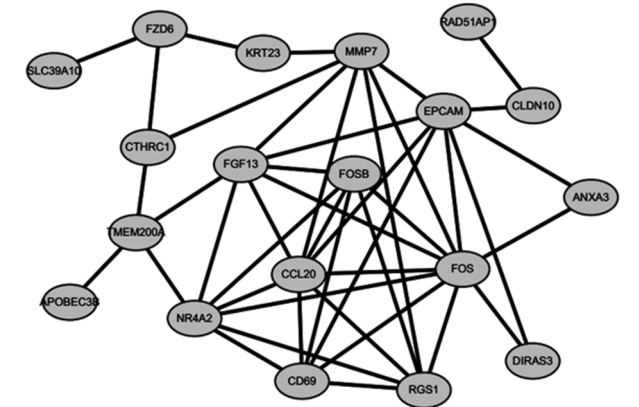


图 1 差异表达基因的 PPI 网络

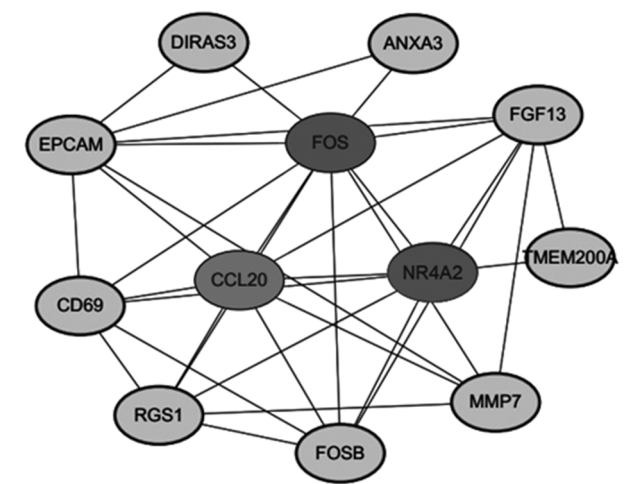


图 2 核心基因的相互作用网络

表 2 差异表达基因的 GO 富集分析

条目	功能富集	基因数	P
GO0051412	response to corticosterone	2	0.022 3
GO0031668	cellular response to extracellular stimulus	2	0.022 3
GO0000982	transcription factor activity,RNA polymerase II core promoter proximal region sequence-specific binding	2	0.029 6
GO0001077	transcriptional activator activity,RNA polymerase II core promoter proximal region sequence-specific binding	3	0.037 4
GO0017147	Wnt-protein binding	2	0.039 7

3 讨 论

ASH 是一种严重的临床综合征,主要表现为黄疸、肝大和腹痛^[11]。由于对 ASH 肝脏炎症的病理生

理学仍未完全了解,治疗方案受限,患者往往预后较差。因此,了解 ASH 进展的分子机制对其诊断和治疗至关重要。目前,对于 ASH 大多数研究都是单个

队列研究,较少有多个队列研究。而多个队列研究往往比单一队列研究具有更低的假阳性率和假阴性率^[12],因此,本研究从 GEO 数据库下载 2 个芯片数据集进行研究,分别为 GSE28619 和 GSE103580,由于 GSE 103580 未做对照组的基因芯片^[8],其对照组数据主要参考 GSE28619 对照组芯片数据进行分析。因此,可直接对 GSE28619 中 15 个 ASH、7 个对照组芯片数据及 GSE103580 中 13 个 ASH 芯片数据进行分析合并数据分析。由于不同芯片数据会存在批次效应,故使用 R 软件 sva 包中的 Combat 功能来消除本研究中的批次效应^[13],以此提高差异表达基因鉴定的可信度。对两组芯片进行联合分析,共筛选出 28 个差异表达基因,包括 21 个上调基因和 7 个下调基因。为了解差异表达基因的生物学意义,本研究对其进行了 GO 富集分析和 KEGG 通路分析。GO 富集分析发现,差异表达基因参与了对皮质醇反应、Wnt 蛋白活性、细胞对细胞外刺激的反应、转录因子活性、转录激活因子活性及 RNA 聚合酶 II 核心启动子近端区序列特异性结合等功能。由于 R 软件中 Clusterprofiler 对数据的更新速度比 DAVID 数据库更快,为得到最新的通路分析结果,因此,采用 R 软件中的 Clusterprofiler 进行 KEGG 通路分析,最后得到一个富集通路,即差异表达基因富集在唯一通路——IL-17 信号通路上。

IL-17 是一个重要的促炎症细胞因子,可靶向不同细胞类型以诱导多种促炎介质,同时也参与自身免疫、慢性炎症性疾病、纤维化和肿瘤的发展等过程^[14-15],其可以介导炎症细胞依赖性 T 细胞受体、粒细胞分化抗原-1 及活性氧产生相关氧化酶,从而介导炎症发生^[16]。目前已发现,IL-17 可通过巨噬细胞的极化调控脂肪性肝病炎症发生,加剧并加快肝细胞的损伤,推动脂肪变性到脂肪性肝炎的进展^[17]。因此,推测 IL-17 信号通路可能为促进 ASH 炎性病变过程中的一条重要通路,靶向调控 IL-17 信号通路有望成为 ASH 治疗的新靶点,但尚未找到具体作用于 IL-17 通路的关键基因。随后对差异表达基因进行 PPI 分析,找到 CCL20、FOS 及 NR4A2 3 个核心基因,与对照组比较,CCL20 在 ASH 中上调,FOS、NR4A2 表现为下调。KEGG 通路分析发现,CCL20 及 FOS 均富集在 IL-17 信号通路上,猜想其可能通过作用于 IL-17 信号通路介导 ASH 炎症的发生和发展。

CCL20 是趋化因子家族中的重要成员,是肝脏中重要的促炎和促纤维化的趋化因子。CCL20 表达水平可随肝脏组织学(正常<脂肪变性<炎症<纤维化)变化的严重程度而逐渐上升,目前已被证实是病毒性肝炎、酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪肝等肝损伤共同途径中的重要调控分子^[18]。AFFO 等^[19]研究发现,CCL20 是 ASH 中最上调的趋化因子,并且在 ASH 患者的肝脏及血清水平高于 NASH、丙型肝炎

等其他肝脏疾病,这与本研究结果大致一致,本研究分析得到 CCL20 在 ASH 中高度表达。BERINGER 等^[20]研究发现,IL-17 介导的肝脏炎症主要是通过诱导吸引中性粒细胞的趋化因子,使中性粒细胞发生局部募集而促进肝脏炎症发生,而 CCL20 就是其中一个被 IL-17 诱导的趋化因子。AFFO 等^[21]研究也证实,CCL20 可通过促进巨噬细胞和中性粒细胞的肝脏浸润介导肝损伤后炎症细胞募集。上述研究均表明,CCL20 在肝脏炎症发生过程中扮演着重要角色,且与 IL-17 相关。因此猜想,IL-17 信号通路在 CCL20 介导 ASH 的形成过程中起重要作用。CCL20 通过作用于 IL-17 信号通路,被诱导激活后促进巨噬细胞、中性粒细胞等炎症细胞的募集,从而介导 ASH 炎症发生。

目前,对于 NR4A2 和 FOS 在肝脏代谢疾病方面的研究较少,缺乏足够的文献支持。NR4A2 也称为 Nurrl,是孤儿核受体 NR4A 家族的成员,并且充当转录因子,主要分布在调节分化、增殖和凋亡细胞中,已知其是维持肝葡萄糖稳态及脂质代谢的关键转录调节因子,其可调节肝脏脂质平衡及脂肪生成^[22],猜想其可能参与 ASH 形成过程中的脂质代谢。FOS 蛋白的前体 C-FOS 基因属于原癌基因^[23]。单独 FOS 没有功能,主要是和 Jun 家族成员形成异源二聚体组成激活蛋白 1 转录因子,从而参与细胞的增殖、分化及凋亡,以及肿瘤中细胞转化、浸润性生长及远端转移等过程^[24]。目前,对于 C-FOS 的研究主要集中在肿瘤生长、转移、预后方面及神经系统方面对神经元的可塑性及镇痛作用^[25-26]。对于 NR4A2 和 FOS 在 ASH 形成过程中的具体机制尚不清楚,仍有待更多的体内、体外试验进行验证。

4 结 论

本研究发现,IL-17 这一关键信号通路及 3 个核心基因(CCL20、FOS 和 NR4A2)可能在 ASH 的发生和发展中起重要作用,其中 CCL20 可能通过作用在 IL-17 信号通路,被诱导激活后促进巨噬细胞、中性粒细胞等炎症细胞的募集,从而介导 ASH 的炎症发生,为进一步了解 ASH 的分子机制提供了新思路。靶向调控 IL-17 信号通路有望成为 ASH 治疗的新型疗法,但仍需后期试验来验证这种预测结果,充分了解以上基因在 ASH 作用中的机制。

参考文献

- [1] FUSTER D, SAMET J H. Alcohol use in patients with chronic Liver disease[J]. N Engl J Med, 2018, 379(13): 1251-1261.
- [2] GRABHERR F, GRANDER C, ADOLPH T E, et al. Ethanol-mediated suppression of IL-37 licenses alcoholic liver disease[J]. Liver Int, 2018, 38(6): 1095-1101.
- [3] THURSZ M, GUAL A, LACKNER C, et al. EASL clinical practice guidelines: management of alcohol-related liv-

- er disease[J]. J Hepatol, 2018, 69(1): 154-181.
- [4] SINGAL A K, KAMATH P S, GORES G J, et al. Alcoholic hepatitis: current challenges and future directions [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2014, 12(4): 555-564.
- [5] KUO F C. Next generation sequencing in hematolymphoid neoplasia[J]. Semin Hematol, 2019, 56(1): 2-6.
- [6] YUANTING Z, TAO Q, YUNJIE S, et al. Standardization efforts enabling next-generation sequencing and microarray based biomarkers for precision medicine[J]. Biomark Med, 2015, 9(11): 1265-1272.
- [7] SILVIA A, MARLENE D, JUAN JOSÉ L, et al. Transcriptome analysis identifies TNF superfamily receptors as potential therapeutic targets in alcoholic hepatitis[J]. Gut, 2013, 62(3): 452-460.
- [8] TRÉPO E, GOOSSENS N, FUJIWARA N, et al. Combination of gene expression signature and model for end-stage liver disease score predicts survival of patients with severe alcoholic hepatitis[J]. Gastroenterology, 2018, 154(4): 965-975.
- [9] CLOUGH E, BARRETT T. The gene expression omnibus database[J]. Methods Mol Biol, 2016, 1418: 93-110.
- [10] MIRYALA S K, ANBARASU A, RAMAIAH S. Discerning molecular interactions: a comprehensive review on biomolecular interaction databases and network analysis tools [J]. Gene, 2018, 642(5): 84-94.
- [11] YELURU A, CUTHBERT J A, CASEY L, et al. Alcoholic hepatitis: risk factors, pathogenesis, and approach to treatment[J]. Alcohol Clin Exp Res, 2016, 40(2): 246-255.
- [12] GOMEZVILLEGAS M A, SALAZAR I, SANZ L A. Bayesian decision procedure for testing multiple hypotheses in DNA microarray experiments[J]. Stat Appl Genet Mol Biol, 2014, 13(1): 49-65.
- [13] PRICE E M, ROBINSON W P. Adjusting for batch effects in DNA methylation microarray data, a lesson learned[J]. Front Genet, 2018, 9(16): 83-89.
- [14] HU Z, LUO D, WANG D, et al. IL-17 Activates the IL-6/STAT3 signal pathway in the proliferation of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43(6): 2379-2390.
- [15] SUN Q, WANG Q, FENG N, et al. The expression and clinical significance of serum IL-17 in patients with primary biliary cirrhosis[J]. Ann Transl Med, 2019, 7(16): 389-395.
- [16] HE Q, LI F, LI J, et al. MicroRNA-26a-interleukin (IL)-6-IL-17 axis regulates the development of non-alcoholic fatty liver disease in a murine model[J]. Clin Exp Immunol, 2017, 187(1): 174-184.
- [17] 杨毅. 白细胞介素 17 通过促进巨噬细胞 M1 型极化调控小鼠非酒精性脂肪性肝病组织炎症反应的机制[J]. 中华肝病杂志, 2018, 26(12): 916-921
- [18] CHU X, JIN Q, CHEN H, et al. CCL20 is up-regulated in non-alcoholic fatty liver disease fibrosis and is produced by hepatic stellate cells in response to fatty acid loading [J]. J Translational Med, 2018, 16(1): 108-109.
- [19] AFFO S, MORALESIBANEZ O, RODRIGOTORRES D, et al. CCL20 mediates lipopolysaccharide induced liver injury and is a potential driver of inflammation and fibrosis in alcoholic hepatitis[J]. Gut, 2014, 63(11): 1782-1792.
- [20] BERINGER A, THIAM N, MOLLE J, et al. Synergistic effect of interleukin-17 and tumour necrosis factor- α on inflammatory response in hepatocytes through interleukin-6-dependent and independent pathways[J]. Clin Exp Immunol, 2018, 193(2): 221-233.
- [21] AFFO S, RODRIGOTORRES D, BLAYA D, et al. Chemokine receptor ccr6 deficiency alters hepatic inflammatory cell recruitment and promotes liver inflammation and fibrosis[J]. PLoS One, 2015, 10(12): e0145147.
- [22] RANHOTRA H S. The NR4A orphan nuclear receptors: mediators in metabolism and diseases[J]. J Recept Signal Transduct Res, 2015, 35(2): 184-188.
- [23] 蒋铭, 杨现会, 王军, 等. C-fos 基因在麻醉中的功能分析及相关调控网络的构建[J]. 南昌大学学报(医学版), 2019, 59(1): 13-16.
- [24] KRISHNA A, BHATT M L B, SINGH V, et al. Differential expression of c-fos proto-oncogene in normal oral mucosa versus squamous cell carcinoma [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2018, 19(3): 867-874.
- [25] QU X, YAN X, KONG C, et al. C-Myb promotes growth and metastasis of colorectal cancer through c-fos induced epithelial mesenchymal transformation [J]. Cancer Science, 2019, 110(10): 3183-3196.
- [26] JAWORSKI J, KALITA K, KNAPSKA E. C-Fos and neuronal plasticity: the aftermath of Kaczmarek's theory [J]. Acta Neurobiol Exp, 2018, 78(4): 287-296.

(收稿日期: 2019-09-27 修回日期: 2020-02-06)

(上接第 1838 页)

- [5] 孙芳. 血清淀粉样蛋白 A 联合 C 反应蛋白检测在手足口病患儿中的诊断价值[J]. 中外医疗, 2017, 36(30): 193-195.
- [6] SANDERS S, BARNETT A, CORREA-VELEZ I A, et al. Systematic review of the diagnostic accuracy of C-Reactive protein to detect bacterial infection in nonhospitalized infants and children with fever[J]. J Pediatr, 2008, 153(4): 570-574.
- [7] 周素芽, 王丽娜, 周琴, 等. 血清降钙素原与超敏 C-反应蛋白在新生儿感染性疾病中的表达及其临床评价[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(12): 2837-2839.
- [8] 陈凤华, 欧红玲, 刘晨, 等. SAA 检测在感染性疾病诊断中的临床应用价值[J]. 西北国防医学杂志, 2017, 38(5): 291-294.

(收稿日期: 2020-02-15 修回日期: 2020-04-28)