

VPS13A 基因突变致舞蹈病 – 棘红细胞增多症的诊断及家系研究*

姚念廷^{1**}, 郑乾¹, 冯占辉¹, 尹建红¹, 徐子茜¹, 焦玲^{1***}, 张春林²

(1. 贵州医科大学附院 神经内科, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学 基础医学院, 贵州 贵阳 550004)

[摘 要] **目的:** 探讨舞蹈病 – 棘红细胞增多症(ChAc)的诊断方法及家系特点,为 ChAc 的精准诊断提供可行合理的策略。**方法:** 选取 1 例临床疑似 ChAc 患者(先证者)作为研究对象,收集其临床资料和家系资料并绘制遗传家系图;采用扫描电镜检测棘红细胞,利用全外显子目标序列捕获 2 代测序技术筛查 ChAc 易患性基因及其突变类型。**结果:** 先证者主要临床表现为不自主伸舌、磨牙、扮鬼脸、头部及四肢舞蹈动作及口唇自噬动作,外周血肌酶和转氨酶均增高,头颅 MRI 可见尾状核轻度萎缩;其兄生前具有与先证者同样的临床表现,其父母及姐姐均体健;先证者外周血检测到典型棘红细胞,检测出液泡蛋白分类同源物 13A(VPS13A)基因,且 VPS13A 基因存在 c. 9403C>T 纯合突变,引起氨基酸改变 p. R3135X,为无义突变;先证者的父亲和母亲均为 c. 9403C>T 杂合突变。**结论:** 结合临床表现及扫描电镜检查可以高度怀疑 ChAc,但全外显子目标序列捕获 2 代测序技术可准确检测 VPS13A 基因突变,并可结合遗传家系特点,作为 ChAc 首选确诊手段。

[关键词] 诊断;棘红细胞;基因表达;舞蹈病 – 棘红细胞增多症;高通量 2 代测序技术;VPS13A 基因

[中图分类号] R446. 11 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2020)03-0350-06

DOI:10. 19367/j. cnki. 1000-2707. 2020. 03. 020

Diagnosis and Family Study of Chorea-Acanthocytosis Induced by VPS13A Gene Mutation

YAO Nianting¹, ZHENG Qian¹, FENG Zhanhui¹, YIN Jianhong¹,
XUN Ziqian¹, JIAO Ling¹, ZHANG Chunling²

(1. Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China;
2. School of Basic Medical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the diagnosis method and family characteristics of chorea-acanthocytosis(ChAc), and provide feasible and reasonable strategies for accurate diagnosis of ChAc. **Methods:** A clinically suspected ChAc patient (proband) was selected as the study object, the clinical and family datas of the proband were collected and a genetic family map was drawn. Then, acanthocytes were detected by scanning electron microscopy, and the susceptibility genes and mutation types of ChAc were screened by total exon target sequence capture next-generation sequencing technology. **Results:** The main clinical manifestations of this proband were involuntary tongue extension, molar grinding, grimace, head and limb dance movements, and lip autophagy. Creatine kinase and aminotransferases were increased, brain MRI showed slight atrophy of the caudate nucleus. His brother had the same clinical manifestations as the proband before his death, and his parents and sister were healthy. Typical acanthocytes were detected by scanning electron microscopy in peripheral

*[基金项目] 传染病预防控制国家重点实验室自主研究开放课题(2018SKLID307); 贵州省卫生健康委科学技术基金项目(gzwmkj2019-1-065); 贵州省科技厅[黔科合平台人才(2017)5718]; 贵阳市科技计划项目[筑科合同(2017)30-30]
** 贵州医科大学 2017 级硕士研究生
*** 通信作者 E-mail:jiaoling5151@sina.com

blood. More importantly, the vacuolar protein sorting homolog 13A(*VPS13A*) gene was detected, and there was c.9403C > T homozygous mutation in *VPS13A* gene, which caused changes in p. R3135X, thereby it was a nonsense mutation; his parents displayed a heterozygous mutation of the same genetic mutation. **Conclusion:** ChAc can be highly suspected by clinical data and acanthocytes. However, total exon target sequence capture next-generation sequencing technology can accurately detect *VPS13A* gene mutation, and can be combined with the characteristics of genetic families. Therefore, it can be used as the first choice for diagnosis of ChAc.

[**Key words**] diagnosis; acanthocytes; gene expression; chorea-acanthocytosis (ChAc); high-throughput next-generation sequencing technology; *VPS13A* gene

舞蹈病—神经棘红细胞增多症 (chorea-acanthocytosis, ChAc) 是一种临床罕见的以舞蹈样动作和外周血棘红细胞增多为典型特征的神经系统退行性疾病, 临床表现主要为口、舌、面不自主运动、进行性舞蹈样运动障碍、精神症状、认知功能下降以及其他多系统损害^[1]。该病临床表现形式多样, 可累及运动、神经、精神以及内分泌等全身多个系统^[2-6], 与麦克劳德综合征 (McLeod neuroacanthocytosis syndrome, MLS)、类亨廷顿病 2 型 (huntington's disease-like 2, HDL2)、泛酸激酶相关的神经退行性 (pantothenate kinase—associated neurodegeneration, PKAN) 等疾病的临床症状、实验室检查及影像学表现上存在较多的重叠, 其临床诊断比较困难^[7]。目前 ChAc 还没有具体的诊断标准, 但 ChAc 的早期诊断至关重要, 外周血棘红细胞是该病的重要特征性的诊断依据, 而分子生物学及基因检测是 ChAc 诊断的金标准^[8-10]。ChAc 是常染色体隐性遗传疾病^[5,7,11], 液泡蛋白分类同源物 13A (vacuolar protein sorting homolog 13 A, *VPS13A*) 基因是目前唯一与 ChAc 相关的致病基因^[10,12], 目前已报道 *VPS13A* 基因突变形式多样化, 包括错义突变、无义突变、移码突变、缺失或插入突变等, 这些不同类型的突变增加了 ChAc 遗传诊断复杂性^[5,13]。因 ChAc 为十分罕见的遗传病, 故本研究通过收集的 1 例疑似 ChAc 病例及其家系的临床资料, 同时利用扫描电镜检测外周血棘红细胞及全外显子目标序列捕获 2 代测序技术鉴定其基因突变点, 探讨 ChAc 的诊断方法, 为 ChAc 的精准诊断提供可行合理的策略, 以期避免误诊或漏诊。

1 对象和方法

1.1 研究对象、主要试剂和仪器

1.1.1 研究对象 收集某院 1 例临床表现疑似

ChAc 先证者及其家系资料, 其中先证者符合以下 ChAc 诊断标准^[5], 即肢体舞蹈样动作, 口周和 (或) 口下颌肌张力障碍及进食性肌张力障碍, 口唇自噬动作, 颅脑 MRI 可见尾状核头萎缩, 血生化提示肌酸激酶 (creatine kinase, CK)、肌酸激酶同工酶 (creatine kinase isoenzymes, CK-MB)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)、谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 及谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 均升高。先证者 (II_3) 29 岁、男性、汉族、既往体健, 先证者父亲 (I_1) 57 岁、汉族, 先证者母亲 (I_2) 55 岁、汉族, 先证者哥哥 (II_1) 35 岁时去世、汉族, 先证者姐姐 (II_2) 32 岁、汉族。

1.1.2 主要试剂和仪器 2.5% 戊二醛固定液 (上海釜诚生物科技有限公司), 0.1 mol/L PBS 缓冲液 (北京百奥莱博科技有限公司), 50%、70%、80%、90% 和 100% 酒精 (北京柏奥易思生物科技有限公司), 标准文库构建试剂盒 (北京迈基诺基因科技股份有限公司), DNA 提取试剂盒 (德国 Qiagen 公司), Illumina 标准测序试剂盒 (美国 NEB 公司); XL-30 扫描电镜 (荷兰 PHILIPS 公司), BAL-TEC SCD 离子溅射仪 (瑞士 BAL-TEC 公司), Covaris S2 超声仪 (美国 Covaris 公司), ABI 3730XL 测序仪 (美国应用生物系统公司), Nanodrop 2000 样本定量检测仪 (美国 Thermo Fisher 科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 先证者临床信息 收集先证者基本临床资料、实验室和影像学结果, 询问并记录家系情况并绘制家系图。

1.2.2 电镜检查 提取先证者保留外周静脉血 1 ~ 2 滴加入 5 mL 新鲜配制的质量分数 2.5% 戊二醛固定液中, 轻轻振荡后静置于 4 ℃ 冰箱 0.5 h, 取

适量已固定好血样置于 1.5 mL 离心管,1 500 r/min 低速离心 15 min 去上清,0.1 mol/L PBS 缓冲液漂洗 3 次、5 min/次,体积分数 50%、70%、80%、90% 及 100% 酒精(2 次)脱水,加入适量无水乙醇混匀,滴于洁净盖玻片上,室温自然干燥;用双面胶带将干燥后的盖玻片粘贴在样品台上,利用 BAL-TEC SCD 离子溅射仪喷金,利用 PHILIPS XL-30 扫描电镜观察棘红细胞。

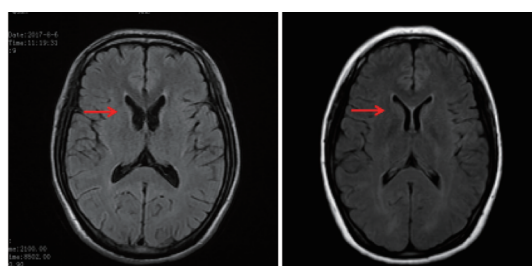
1.2.3 筛查致病基因 (1) DNA 提取、基因组文库构建、基因的捕获及高通量测序:提取先证者保留外周静脉血 2 mL,使用基因组 DNA 提取试剂盒对样本 DNA 进行核酸提取;取先证者的 DNA 3 μ g 稀释,采用 Covaris S2 超声仪进行超声片段化(大小 150 bp);用标准文库构建试剂盒制备全基因组文库,用 Nanodrop 2000 样本定量检测仪进行质控;采用 GenCap 技术(北京迈基诺基因科技有限责任公司)捕获目的基因,用 Illumina NextSeq 500 进行测序。(2)数据筛选和生物信息学分析:目标区域测序后,去除测序数据中的接头和低质量数据(质量值 ≤ 20),运用 BWA 软件比对参考基因组,用 GATK 软件对各个样本的比对数据进行多态性位点的检测,对单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)和插入缺失突变(InDels)等数据进行统计和分析;同时进行测序深度、均一性、探针特异性等数据的统计分析;查找 SNPs 及 InDels 在千人基因组(<http://www.1000genomes.org/>)及 dbSNP132(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>)数据库中频率,利用 PolyPhen-2 软件(<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>)进行 SNPs 及 InDels 致病性分析。(3)Sanger 测序验证:根据需要测序的 DNA 片段合成引物,用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)法进行扩增,用 ABI 3730xl 测序仪以 Sanger 测序法进行测序,测序结果与目标区域捕获测序后的结果进行比对。

2 结果

2.1 先证者的临床资料 and 家系图

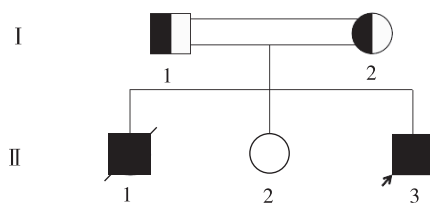
先证者(II_3),29 岁男性,因“进行性口面部、四肢不自主运动 2⁺年,加重半年”于 2018 年 11 月 22 日入院。2⁺年前先证者无明显诱因逐渐出现伸舌、磨牙、扮鬼脸、头部摆动及四肢舞蹈等不自主动作,伴反复下唇咬伤、溃疡,近半年症状逐渐加重,伴吞咽困难,无法进食。神经系统查体:言语欠流

畅、吐词含混,张口稍受限,口唇及舌尖有多处咬伤、溃疡;眼周、口周、颈部、四肢可见不自主运动;颈部肌张力增高,双上肢肌力减退,四肢腱反射减弱,四肢共济运动欠稳准。辅助检查 CK、CK-MB、LDH、ALT 及 AST 均升高。神经传导检查回示感觉性周围神经损害,颅脑 MRI 可见尾状核头轻度萎缩。先证者哥哥(II_1),35 岁去世,生前症状与先证者一致;先证者父亲(I_1),先证者母亲(I_2),近亲结婚,体健;先证者姐姐(II_2),体健。见图 1、图 2。



先证者 正常人
注:箭头所指为尾状核头。

图 1 先证者与正常人的颅脑 MRI 图像对比
Fig. 1 Comparison of MRI images between the proband's and normal human's brain



注:■●常染色体隐性基因携带者,○正常女性,■男性死于本病,■先证者。

图 2 先证者家系图

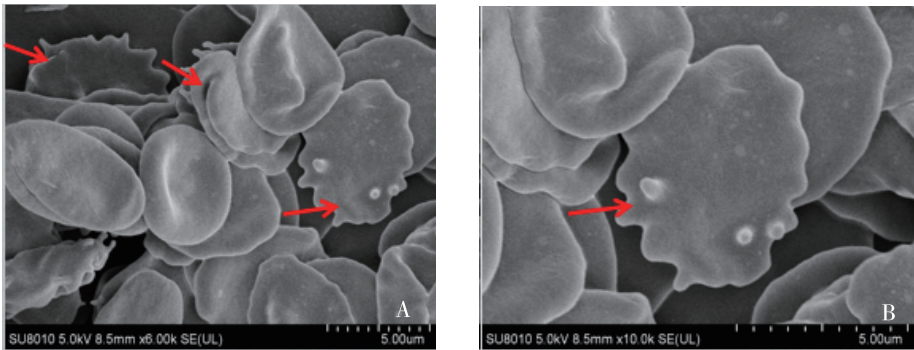
Fig. 2 Family map of the proband

2.2 先证者外周血红细胞的扫描电镜

先证者外周血扫描电镜结果可见典型棘红细胞(正常人外周血无棘红细胞)。见图 3。

2.3 致病基因筛查

通过高通量全外显子测序和突变位点生物信息学分析结果表明,先证者检测出 VPS13A 基因且存在 c. 9403C>T 纯合突变(基因型为 TT 纯合子),引起 chorein 蛋白 p. R3135X 突变,为无义突变;SIFT 数据库预测结果为“damaging”,PolyPhen-2 数据库预测结果为“probably damaging”。先证者的父亲和母亲均为 c. 9403C>T 杂合突变。见图 4。



注:A 为放大倍数 6 000 × ,B 为放大倍数 10 000 × ;箭头所示为典型棘红细胞。

图 3 先证者外周血红细胞扫描电镜结果

Fig.3 Scanning electron micrograph of peripheral blood red blood cells in the proband

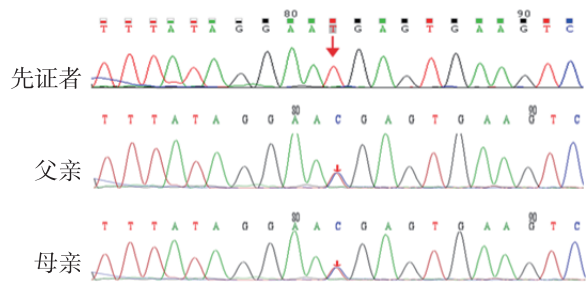


图 4 先证者及其父母 VPS13A

基因核苷酸 c. 9403C > T 突变位点测序结果

Fig.4 Sequencing of nucleotide mutations c. 9403C > T in the VPS13A gene of proband and his parents

3 讨论

神经一棘红细胞增多症 (neuroacanthocytosis, NA) 是一类罕见的神经遗传性疾病,具有低患病率和高临床变异性的特点^[9]。NA 可分为 ChAc、MLS、HDL2 和 PKAN4 种亚型^[14-15],其中以 ChAc 最多见^[16]。ChAc 常见于 20 ~ 30 岁人群,临床表现包括^[14,17-18]:(1)运动过多型运动障碍,如肢体舞蹈样动作,口腔、面、舌不自主运动,进食性肌张力障碍、扮鬼脸、怪异表情等为该病最常见症状;(2)口唇自噬动作,表现为不自主唇舌咬伤,伴口腔溃疡,该症状对该病具有特异性诊断价值^[5];(3)磨牙征,表现为不自主牙齿咀嚼行为;(4)帕金森病样表现,如运动迟缓、静止性震颤、肌张力增高;(5)癫痫发作,其中以强直一阵挛发作多见;(6)认知障碍,以注意力和执行功能为主;(7)神经精神症状,表现为淡漠、抑郁及焦虑等;(8)周围神经损害症状,表现为麻木、无力、肌萎缩、腱反射减

弱或消失。ChAc 在影像学检查上可见尾状核(尤其是尾状核头)和豆状核萎缩、低代谢、低灌注,相应可见侧脑室前脚扩大^[17];临床生化检查中可见肌酶、转氨酶增高,其中肌酸激酶增高更具有特异性^[14]。本例患者主要表现为口面部不自主动作、口唇自噬及四肢舞蹈样动作,且相关辅助检查均符合该疾病的特异表现,故根据临床资料高度考虑 ChAc。此外,有研究认为,此类患者外周血涂片或者扫描电镜检测到典型棘红细胞,且典型棘红细胞增多大于 3% 对于 ChAc 具有重要诊断价值^[1,5]。本例患者外周血扫描电镜检测到了典型棘红细胞,比例约 25%,故进一步支持 ChAc 的诊断。但外周血棘红细胞在 MLS 中同样也较为常见^[1,12],故不易鉴别。

根据以上临床资料及扫描电镜结果,目前基本可以明确为 ChAc,但 ChAc 与 NA 其他 3 种亚型在临床特征、实验室检查及影像学表现上存在交叉性,鉴别诊断存在较大困难^[7]。故本研究进一步行基因检测。本例先证者检测到 VPS13A 基因的 c. 9403C > T 点纯合突变(基因型为 TT 纯合子),可导致 chorein 蛋白的 p. R3135X 突变,且系低频变异;SIFT 数据库预测结果为"damaging",Poly-Phen-2 数据库预测结果为"probably damaging",按照 ACMG 发布的最新基因变异解读标准和指南,考虑为可能致病(likely pathogenic)。同时,结合先证者家系资料,其兄生前具有与先证者一致的临床表现,均表现头面部及肢体的舞蹈样动作。而先证者父母均为杂合突变(基因型为 CT 杂合子),并且临床表现无舞蹈症状。因此,说明 VPS13A (c. 9403C > T)点突变在本研究 ChAc 遗传家系中

符合常染色体隐性遗传方式。已有研究表明 ChAc 以常染色体隐性遗传为主,定位于 9q21 的 *VPS13A* 基因是目前公认已知的致病基因,翻译产物是 chorein 蛋白^[19]。红细胞是由膜脂质、膜蛋白及血影蛋白—肌动蛋白骨架协同维持^[20],而 chorein 蛋白参与了肌动蛋白的聚合反应,其功能障碍可能导致细胞膜破裂和异常的红细胞形状^[19]。故 *VPS13A* 基因突变导致 chorein 蛋白的改变对该疾病有重要的诊断价值^[12]。*VPS13A* 基因突变形式多样,不同 *VPS13A* 基因突变可引起 chorein 蛋白功能性缺如或合成减少,最终导致 ChAc 的发生与发展^[5,21]。目前,*VPS13A* 基因测序和 chorein 蛋白定量检测被认为是 ChAc 的确诊性诊断标准^[5]。因此,本文结果与已经报道的 ChAc 遗传家系 *VPS13A* 基因遗传方式相符合^[5,16]。在鉴别诊断方面,MLS 是一种罕见的 X 连锁疾病,由 *XK* 基因突变引起^[22];HDL2 是一种常染色体显性遗传性疾病,由位于 6q24 - 3 染色体的 *JPH3* 基因内的 CTG/CAG 三核苷酸重复扩增引起^[23-24];PKAN 是一种染色体 20p13 上编码泛酸激酶 2 的 *PANK2* 基因突变引起的常染色体隐性遗传疾病^[25-26]。因此,通过基因检测不仅可以准确诊断 ChAc,并且在鉴别诊断方面亦有重要的意义。

综上所述,虽然结合临床表现及扫描电镜检查可以高度怀疑 ChAc,但全外显子目标序列捕获 2 代测序技术可准确检测 *VPS13A* 基因突变,并结合遗传家系特点,可作为 ChAc 首选确诊手段。

4 参考文献

- [1] RAMPOLDI L, DANEK A, MONACO A P. Clinical features and molecular bases of neuroacanthocytosis [J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2002, 80(8):475 - 491.
- [2] VERKKONIEMIAHOLA A, KUULUVAINEN L, KIVIRIKKO S, et al. Chorea-acanthocytosis associated with two novel heterozygous mutations in the *VPS13A* gene [J]. *Journal of the Neurological Sciences*, 2019, 408:116555.
- [3] NISHIDA Y, NAKAMURA M, URATA Y, et al. Novel pathogenic *VPS13A* gene mutations in Japanese patients with Chorea-acanthocytosis [J]. *Neurology Genetics*, 2019, 5(3):e332.
- [4] PEIKERT K, DANEK A, HERMANN A. Current state of knowledge in Chorea-acanthocytosis as core Neuroacanthocytosis syndrome [J]. *European Journal of Medical Genetics*, 2018, 61(11):699 - 705.
- [5] SHEN Y, LIU X, LONG X, et al. Novel *VPS13A* gene mutations identified in patients diagnosed with Chorea-acanthocytosis (ChAc): case presentation and literature review [J]. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2017, 9:95.
- [6] MENTE K, KIM S A, GRUNSEICH C, et al. Hippocampal sclerosis and mesial temporal lobe epilepsy in Chorea-acanthocytosis: a case with clinical, pathologic, and genetic evaluation [J]. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 2017, 43(6):542 - 546.
- [7] 万亚楠, 陶雯, 顾晓苏, 等. 舞蹈病 - 棘红细胞增多症 (附 1 例报告及文献复习) [J]. *中国临床神经科学*, 2018, 26(5):555 - 558;587.
- [8] XIANG Y, LI S, LIU X, et al. Neuroacanthocytosis: a case report of Chorea-acanthocytosis [J]. *Journal of Integrative Neuroscience*, 2019, 18(2):197 - 201.
- [9] ZHU H, FENG X M, ZHAO T, et al. Neuroacanthocytosis with unusual clinical features [J]. *Medicine*, 2019, 98(2):e14050.
- [10] LIU Y, LIU Z Y, WAN X H, et al. Progress in the diagnosis and management of Chorea-acanthocytosis. [J]. *Chinese Medical Sciences Journal*, 2018, 33(1):53 - 59.
- [11] YI F, LI W, XIE N, et al. Chorea-acanthocytosis in a Chinese family with a pseudo-dominant inheritance mode [J]. *Frontiers in Neurology*, 2018, 9:594.
- [12] ROULIS E, HYLAND C, FLOWER R, et al. Molecular basis and clinical overview of McLeod syndrome compared with other Neuroacanthocytosis syndromes: a review [J]. *JAMA Neurology*, 2018, 75(12):1554 - 1562.
- [13] 孙一恣, 章悦. 遗传性舞蹈病的诊断思路和基因筛查策略 (附 3 例报告及文献复习) [J]. *中国临床神经科学*, 2017, 25(5):519 - 527.
- [14] 郭丹丹, 柏雪. 神经 - 棘红细胞增多症 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(82):297 - 298.
- [15] WALKER R H. Untangling the thorns: advances in the Neuroacanthocytosis syndromes [J]. *Journal of Movement Disorders*, 2015, 8(2):41 - 54.
- [16] BENNINGER F, AFAWI Z, KORCZYN A D, et al. Seizures as presenting and prominent symptom in Chorea-acanthocytosis with c. 2343del *VPS13A* gene mutation [J]. *Epilepsia: Journal of the International League against Epilepsy*, 2016, 57:549 - 56.
- [17] PELUSO S, BILO L, ESPOSITO M, et al. Chorea-acanthocytosis without chorea: expanding the clinical phenotype [J]. *Parkinsonism & Related Disorders*, 2017, 41:124 - 126.
- [18] WEBER J, FRINGS L, RIJNTJES M, et al. Chorea-acanthocytosis presenting as autosomal recessive epilepsy in a

- family with a novel *VPS13A* mutation[J]. *Frontiers in Neurology*, 2018,9:1168.
- [19] ALESUTAN I, SEIFERT J, PAKLADOK T, et al. Chorein sensitivity of actin polymerization, cell shape and mechanical stiffness of vascular endothelial cells[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2013, 32: 728 – 42.
- [20] RZEPNIKOWSKA W, FLIS K, MUNOZ-BRACERAS S, et al. Yeast and other lower eukaryotic organisms for studies of *VPS13* proteins in health and disease[J]. *Traffic*, 2017,18(11):711 – 719.
- [21] GLAB H, PAL A, REINHARDT P, et al. Defective mitochondrial and lysosomal trafficking in Chorea-acanthocytosis is independent of src-kinase signaling[J]. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 2018,92:137 – 148.
- [22] WEAVER J, SARVA H, BARONE D, et al. McLeod syndrome: five new pedigrees with novel mutations[J]. *Parkinsonism & Related Disorders*, 2019,64:293 – 299.
- [23] ANDERSON D G, WALKER R H, CONNOR M, et al. A systematic review of the Huntington disease-like 2 phenotype[J]. *Journal of Huntingtons Disease*, 2017, 6: 37 – 46.
- [24] FERREIRACORREIA A, ANDERSON D G, COCKCROFT K, et al. The neuropsychological deficits and dissociations in Huntington disease-like 2: a series of case-control studies[J]. *Neuropsychologia*, 2020,136:107238.
- [25] SCHIESSLWEYER J, ROA P, LACCONE F, et al. Acanthocytosis and the c. 680 A > G mutation in the *PANK2* gene: a study enrolling a cohort of PKAN patients from the dominican republic[J]. *Plos One*, 2015, 10: e0125861.
- [26] ZHANG Y, ZHOU D, YANG T. Novel *PANK2* mutation in a Chinese boy with *PANK2*-associated neurodegeneration: a case report and review of Chinese cases[J]. *Medicine*, 2019,98(4):14122.
- (2020-01-12 收稿, 2020-02-23 修回)
中文编辑: 严征; 英文编辑: 冉海勇
- [19] ANDERSON D G, WALKER R H, CONNOR M, et al. A

(上接第 349 页)

- [15] 陈玉, 李青, 代玥, 等. 儿童重症监护病房急性重症肺炎常见病原菌分析[J]. *中国小儿急救医学*, 2017,24(6):455 – 458.
- [16] 李闰琴. 小儿重症肺炎的病原学分析与对策[J]. *北方药学*, 2015(2):131 – 132.
- [17] 陈金妮. 600 例儿童社区获得性肺炎病原学特点分析[J]. *中国病原生物学杂志*, 2016, 11(12):1126 – 1130.
- [18] 安建荣. 长春市 166 例小儿重症肺炎的病原分析[D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [19] 陈金霞. 抗生素降阶梯治疗小儿重症肺炎疗效观察[J]. *当代医学*, 2014,20(32):127 – 128.
- [20] 马力忠, 莫庆仪, 梁桂明, 等. 支气管肺泡灌洗术在小儿重症肺炎支原体肺炎患者抢救中的临床应用价值[J]. *中国现代医生*, 2015,53(5):44 – 46;49.
- [21] 刘燕. 小儿重症肺炎 50 例血糖变化的临床价值分析[J]. *糖尿病新世界*, 2015(9):101 – 102.
- (2020-01-20 收稿, 2020-02-28 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 张启芳