

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.15.012

先天性心脏病新生儿血浆 circRNAs 芯片数据的生物信息学分析*

潘秋亚¹, 赵静^{1#}, 崔玥¹, 张雯婷¹, 恽琪¹, 郑爱斌¹,姚圣连¹, 张伟¹, 陈云^{2△}, 顾猛^{1▲}

1. 常州市儿童医院儿科, 江苏常州 213003; 2. 高邮市中医医院儿科, 江苏扬州 225699

摘要:目的 利用高通量检测技术探讨新生儿先天性心脏病(CHD)的发病机制。方法 将 CHD 新生儿血清与正常健康新生儿血清各 3 份进行配对分析, 用微阵列探针进行环状 RNA(circRNAs)检测。结果 共检测到 1 711 个 circRNAs, 其中差异表达的 circRNAs 375 个, 在 CHD 新生儿血清中表达上调的 circRNAs 115 个, 下调的 circRNAs 260 个(FDR > 2, P < 0.05)。通过美国 Arraystar 公司的微小 RNA(miRNA)结合位点预测软件, 该研究对每个差异表达的 circRNA 预测 5 个高匹配值的 miRNA 结合位点, 375 个差异表达的 circRNAs 预测结合了 1 546 个 miRNAs 对 14 个 miRNAs 的靶基因进行信号通路分析, 其中富集总分位于前 3 位的通路局灶性黏连、肌动蛋白细胞骨架调节、血管平滑肌收缩均与 CHD 的病理相关。通过 hsa_circ_091419/miR-145/mRNA 的网络图构建, 该研究预测 CHD 相关的靶基因共 34 个, 包括 hsa-miR-145-3p 的靶基因 ITGB8。结论 CHD 的发病机制可能与 circRNA 和 miRNA 的上调或下调及 circRNA-miRNA 的共表达密切相关, 具体涉及多种途径和多种细胞分子生物学过程的调控。

关键词: circRNAs; 先天性心脏病; GO 分析; 信号通路; circRNA/miRNA/mRNA 网络

中图分类号: R446.9

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2022)15-2063-05

**Bioinformatics analysis of circRNAs microarray data in plasma of newborns
with congenital heart disease***

PAN Qiuya¹, ZHAO Jing^{1#}, CUI Yue¹, ZHANG Wenting¹, YUN Qi¹, ZHENG Aibin¹,
YAO Shenglian¹, ZHANG Wei¹, CHEN Yun^{2△}, GU Meng^{1▲}

1. Department of Pediatrics, Changzhou Children's Hospital, Changzhou, Jiangsu 213003, China;

2. Department of Pediatrics, the Traditional Chinese Medicine Hospital
of Gaoyou, Yangzhou, Jiangsu 225699, China

Abstract: Objective To explore the pathogenesis of newborns with congenital heart disease (CHD) by high-throughput detection technology. **Methods** In this study, the serum of CHD newborns ($n = 3$) was paired with that of healthy newborns ($n = 3$). circular RNA (circRNAs) were detected by microarray probe. **Results** A total of 1 711 circRNAs were found, among which 375 were differentially expressed, 115 were up-regulated and 260 were down-regulated in CHD group (FDR > 2, $P < 0.05$). By using the microRNA (miRNA) binding site prediction software of Arraystar company, five miRNA binding sites with high matching value for each differentially expressed circRNA were predicted. The prediction of 375 differentially expressed circRNAs combined 1 546 miRNAs. The target genes of 14 miRNAs were analyzed for signal pathways. Among them, the pathways with the top three enriched total scores were focal adhesion, actin cytoskeleton regulation and vascular smooth muscle contraction, which were all related to the pathology of CHD. Through hsa_circ_091419/mir-145/mRNA network construction, the study predicted 34 CHD related target genes, including the target gene ITGB8 of hsa-miR-145-3p. **Conclusion** The pathogenesis of CHD may be closely related to the up-regulation or down-regulation of circRNA and miRNA or the co-expression of circRNA-miRNA, which involves the regulation of multiple pathways and cellular and molecular biological processes.

* 基金项目: 江苏省常州市卫生健康委员会重大科技项目(ZD202031)。

作者简介: 潘秋亚, 女, 主管技师, 主要从事先天性心脏病研究。 # 作者简介: 赵静, 女, 副主任医师, 主要从事儿童先天性心脏病的诊疗

和研究。 △ 通信作者, E-mail: 49980666@qq.com。 ▲ 共同通信作者, E-mail: 932335114@qq.com。

Key words: circular RNA; congenital heart disease; gene ontology analysis; signal pathway; circRNA/miRNA/mRNA network

先天性心脏病(CHD)指出生时即存在的心血管结构或功能异常,其发病率在各类出生缺陷疾病中占首位,是中国大城市 5 岁以下儿童的首要死因。出生后严重 CHD 易导致新生儿因呼吸或循环衰竭而死亡,存活者常继发心、肺及脑等重要器官损伤而导致生长发育及智力发展障碍^[1-2]。该病严重威胁婴幼儿生命和健康,给社会和家庭带来了沉重负担,是一类急待解决的优生优育难题。环状 RNA(circRNAs)是一种在哺乳动物细胞中发现的新型非编码 RNA,具有疾病特异性、组织特异性和时序特异性,随着现代科学技术的发展,其调控功能越来越被人们重视^[3]。circRNAs 在 CHD 发生、发展中发挥着重要作用,有望成为一种新的潜在的 CHD 诊疗生物标志物或治疗靶点^[4]。本研究通过人类 circRNA 基因芯片检测 CHD 新生儿和健康体检新生儿血浆中的 circRNAs 表达谱,分析差异表达的 circRNAs,利用生物信息学方法构建新生儿 CHD 的 circRNA-miRNA-mRNA 的调控网络,揭示 miRNA 表达调控机制,探讨新生儿 CHD 的可能发病机制,为预防新生儿 CHD 发生、发展提供新的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究采用病例对照研究设计来进行 CHD 新生儿血浆中 circRNA 芯片数据的生物信息学分析。经常州市儿童医院伦理委员会批准和签署知情同意书,本研究收集 2020 年在常州市儿童医院新生儿科收治的经超声心动图确诊的 CHD 患儿及同期健康新生儿血浆标本各 13 例,为去除非研究目的的相关因素干扰,13 例 CHD 新生儿均经遗传学基因筛查排除遗传性疾病。其中 3 例 CHD 患儿标本和 3 例健康新生儿标本送上海康成生物工程有限公司进行血浆中的 circRNA 进行检测,剩余标本用于验证芯片结果的可靠性。

1.2 方法

1.2.1 芯片分析 应用 Arraystar circRNA 基因芯片(上海康成生物工程有限公司)对 3 例 CHD 新生儿及 3 例健康新生儿血浆标本中的 circRNA 进行检测。

1.2.2 circRNA 的鉴定及注释 根据已有研究关于 circRNA 结构特征及剪接序列特征,采取以下措施进行 circRNA 鉴定:(1) splice sites 两端是 GU/AG; mismatch ≤ 2 ;(2) Back-spliced junctions reads ≥ 2 ;(3) two splice sites ≤ 100 kb。基于 circRNA 在基因组中的位置关系及与蛋白编码基因的关系,对筛选获

得的 circRNA 进行注释,主要分为两个部分, circRNA 位置关系分类及 circRNA 功能注释。circRNA 分类注释主要依据 circRNA 在基因组中基因位点关系进行注释,分为 5 类,即 intronic circRNA、exonic circRNA、antisense circRNA、senseoverlapping circRNA 及 intergenic circRNA。circRNA 功能注释是基于 circRNA 形成机制,主要依据 circRNA 对应的 circRNA-hosting gene 功能进行 circRNA 的 GO 注释及 KEGG 注释。

1.2.3 差异基因的筛选 将原始数据导入 SAM 软件分析,采用 *t* 检验计算 *P* 值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。对芯片原始结果用 R 软件包进行标准化和数据分析。通过 *P* 值/FDR 筛选组间差异表达 circRNAs ($FDR > 2.0, P < 0.05$)。将数据导入 Pusanmen1.10 和 Cluster 3.0 软件进行系统聚类分析,软件输出聚类图及火山图来显示新生儿 CHD 血清中差异 circRNAs 的情况。

1.2.4 基因本体分析和信号通路分析 将差异表达基因导入 DAVID 和 Pathway Studio 5.0 分析软件,计算分类种类、每个种类的基因数及 *P* 值等内容,并且根据 *P* 值大小依次输出。Fisher 确切概率法检验两个小数据分类的关联,*P* 值表示 GO 富集差异表达基因的意义,*P* 值越低,差异性越大($P < 0.05$)。借助 KEGG 数据库对 CHD 差异表达基因进行研究。

1.2.5 circRNA/miRNA 结合位点分析 每个 $FDR > 2$ 的 circRNA 均用美国 Arraystar 公司的 miRNA 结合位点预测软件预测 5 个高匹配值的 miRNA 结合位点。通过部分序列互补分析 circRNA 结合的 miRNA,形成 circRNA-miRNA 关系网络图。

1.2.6 miRNA 靶基因预测 利用 GCBI 网站(<http://www.targetscan.org>)进行 miRNA 的靶基因预测。

1.2.7 应用 Cytoscape 软件构建网络图 构建每个 $FDR > 2$ 的 circRNA 与之预测结合的前 5 位高匹配值的 miRNA 的 CircRNA/miRNA 网络图;构建前 5 位的 miRNA 至少有一个是文献报道与 CHD 相关的 miRNA 的 circRNA/miRNA 网络图;通过靶基因预测与参考文献结合选取结合 CHD 相关的 miRNA 数目最多的 hsa_circRNA_091419,来构建 circRNA/miRNA 或 circRNA/miRNA/mRNA 网络图。

1.3 统计学处理 以 CircRNA 芯片结果为基础,采用 SPSS20.0 统计软件进行数据处理及统计分析,采

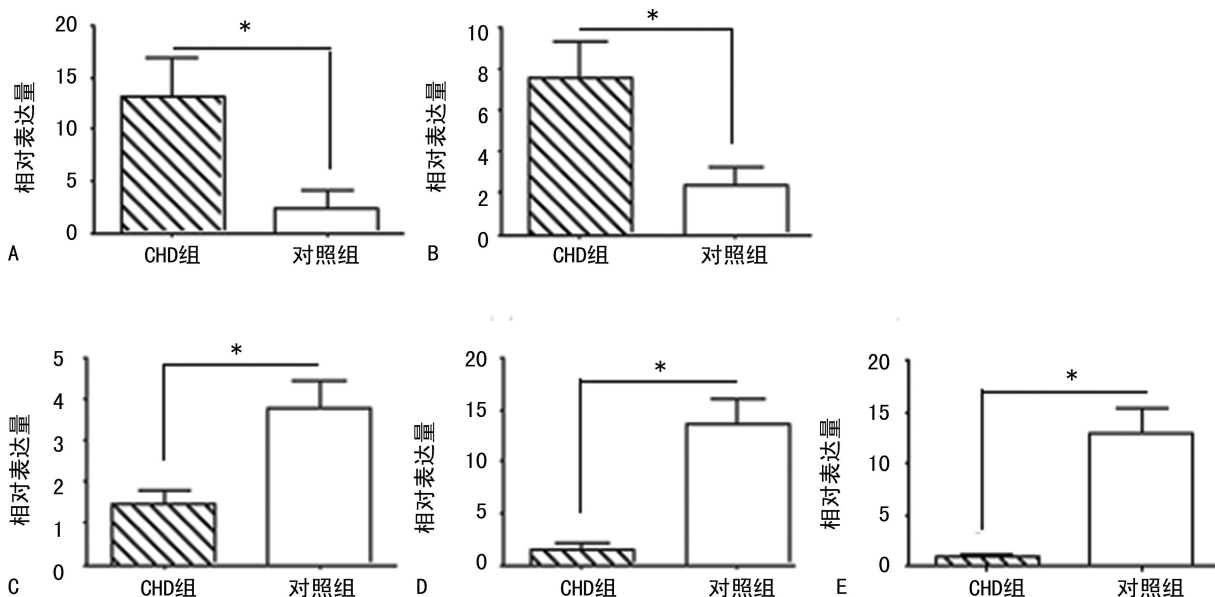
用 *t* 检验,筛选出组间 FDR>2 的基因为表达显著上调基因,所有差异性基因均满足 $P<0.05$ 。同时将所有差异性表达基因导入 R 软件包后,得出 GO 分析和信号通路分析结果。

2 结果

2.1 CHD 新生儿血浆标本中差异表达 circRNAs 谱的表达特征 将 CHD 新生儿血清($n=3$)与正常健康新生儿血清($n=3$)进行配对分析,用微阵列探针共检测得到 1 711 个 circRNAs,其中差异表达的 circRNAs 375 个,在 CHD 新生儿血清中表达上调的 circRNAs 115 个,下调的 circRNAs 260 个($FDR>2$, $P<0.05$)。

2.2 差异表达 circRNAs 的验证 为保证芯片结果的

准确可靠性,从差异表达前 20 条 circRNAs 中随机选取 5 条 circRNAs(hsa-circ-091419、hsa-circ-402458、hsa-circ-406494、hsa-circ-016545、hsa-circ-102016),采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)对 10 对标本(10 例 CHD 新生儿血浆和 10 例健康新生儿血浆)中的该 5 条 circRNAs 水平进行检测,结果以 GAPDH 为内参进行标定。相对表达量通过扩增产物所需的循环次数 Ct 值计算,应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法,其中 $\Delta Ct = Ct_{\text{标本}} - Ct_{\text{GAPDH}}$ 。结果显示,PCR 的折叠变化与芯片结果虽有所不同,但其表达的趋势与芯片相同,说明两种方法结果的一致性良好,表明芯片结果是可靠的,可以用于后续的研究,结果见图 1。



注:A~E 分别为 CHD 组与对照组 hsa-circ-406494、hsa-circ-402458、hsa-circ-102016、hsa-circ-091419、hsa-circ-016545 circ RNAs 相对表达量,*表示 $P<0.001$ 。

图 1 5 条差异表达 circRNAs 的验证

2.3 circRNA/miRNA 的结合位点分析 circRNA 具有 miRNA 的分子海绵作用,通过作用于疾病相关的 miRNA,影响疾病的发生、发展。通过美国 Arraystar 公司的 miRNA 结合位点预测软件,对每个差异表达的 circRNA 预测 5 个高匹配值的 miRNA 结合位点。375 个差异表达的 circRNAs 预测结合了 1 546 个 miRNAs,其中包括 14 个 CHD 相关的 miRNAs。

2.4 信号通路及 circRNA/miRNA 相互作用的网络构建 对差异表达的 14 个 miRNAs 的靶基因进行信号通路分析,结果显示富集总分排名前 3 位的通路局灶性黏连、肌动蛋白细胞骨架调节、血管平滑肌收缩均与 CHD 的病理相关。在这 14 个 CHD 相关的 miRNAs 中,对应结合了 24 个 circRNAs,有的 miR-

NA 不止结合一个 circRNA,如 hsa-miR-208-a-5p;而一个 circRNA 也结合了多个 miRNA,其中 hsa_circRNA_102410 结合了 5 个 miRNA,包括 hsa-miR-92a-1-5p、hsa-miR-92b-5p、hsa-miR-612、hsa-miR-181d-3p、hsa-miR-890。通过 hsa_circ_091419/miR-145/mRNA 的网络图构建,预测的 CHD 相关靶基因 34 个,包括 hsa-miR-145-3p 的靶基因 ITGB8。

3 讨论

CHD 是胚胎发育过程中最为常见的出生缺陷之一,在活产新生儿中发病率为 4%~5%,是婴幼儿期非感染死亡的首位病因^[1]。研究人员认为 CHD 的发生、发展与基因突变等遗传因素密切相关,但具体发病机制仍不清楚。目前,诊断胎儿 CHD 没有金标准,只能依赖超声心动图,虽然其诊断特异度高,但其漏

诊率却相当高。

心脏发育异常是一个涉及多因素共同作用的复杂过程,其病理机制至今尚不清楚。从基因水平看,CHD的发生、发展与 Nkx2-5、GATA4、SRF 等基因在不同时空通过 Notch、Wnt 等信号通路进行调控及相互作用有关^[4-5]。分子生物学为理解 CHD 的发生、发展提供了线索和依据,目前的研究仅限于发现 CHD 差异表达的基因,但对这些基因差异表达的上游调控机制研究甚少。随着高通量检测技术的成熟和转录组学的发展,有研究表明,微小 RNA(miRNA)、长链非编码 RNA(lncRNA)和 circRNAs 等非编码 RNA 可参与细胞生长、分化调控及细胞增殖与凋亡等生物学过程,在心脏发育中发挥重要作用^[6-8]。

高通量的筛查手段,如 circRNAs 芯片或测序技术使研究疾病中 circRNAs 的差异表达成为可能,为后续 circRNAs 功能研究或生物标志物筛选提供了极大的便利,circRNAs 及其相关结合蛋白的转录、表达、结构和调控的异常,可能是肿瘤、心血管疾病等多种疾病发生、发展的重要原因。

circRNAs 主要通过竞争性吸附 miRNA、调控剪接或转录过程及调节 RNA 结合蛋白等形式来影响生理过程,如组织发育、胰岛素分泌和衰老,且参与了心血管病变、心脏成纤维细胞、心肌肥大、神经系统疾病及癌症等病理过程^[9]。circRNAs 因自身闭合结构对核酸酶不敏感,要比线性 RNA 更为稳定,可作为潜在的诊断心血管疾病和癌症的生物标志物^[3,10]。

许多心血管疾病和冠状动脉疾病都与 circRNAs 有关。有研究表明,敲除 CIRC DHCR24 可以减轻血管平滑肌细胞的增殖、迁移和表型转换,从而预防血管阻塞性狭窄^[11]。circMGAT1 可通过调节 miR-34a/YAP1 轴,抑制细胞凋亡,促进细胞增殖,为冠心病的治疗提供靶点^[12]。有研究结果表明,miR-22-3p 的缺失再现了 circMap3k5 对血管平滑肌细胞的抗增殖作用^[13-14]。在 SMC 特异性 Tet2 基因敲除小鼠中,Tet2 的缺失消除了 circMap3k5 介导的血管平滑肌细胞的抗增殖作用。circMAP3K5 是 TET2 介导的血管平滑肌细胞分化的主要调控因子。靶向 circ-MAP3K5/miR-22-3p/TET2 轴可能提供了一个潜在的内膜增生相关疾病的治疗策略,包括再狭窄和动脉粥样硬化^[13]。文献报道,circRNA-miRNA 网络的作用对冠心病具有重要影响,如心肌肥厚、心肌纤维化和心力衰竭^[14]。中药也具有抗动脉粥样硬化、抑制凋亡、保护心肌和心肌细胞等作用,可通过调节 miRNAs 促进细胞生长和保护血管系统^[15]。

本研究采用 Arraystar circRNA 基因芯片对

CHD 新生儿及健康新生儿血清中 circRNAs 进行筛查,旨在寻找众多基因在表达上的差异性和相似性规律,找出在 CHD 发病中起重要作用的基因或通路。以 circRNAs 表达谱芯片结果为基础筛选出表达显著上调和显著下调的 circRNAs,通过生物信息学手段进一步分析得出差异 circRNAs 线性基因 GO 分析,以美国 Arraystar 公司的 miRNA 结合位点预测软件,对每个差异表达的 circRNAs 预测 5 个高匹配值的 miRNA 结合位点,375 个差异表达的 circRNAs 预测结合了 1 546 个 miRNAs,其中包括 14 个 CHD 相关的 miRNAs,hsa-miR-145-3p、hsa-miR-499-a-3p、hsa-miR-208-a-5p、hsa-miR-199-a-5p 等已被证实参与 CHD 的相关病理过程^[16-19]。应用 KEGG 数据库对差异表达 circRNAs 进行功能预测,同时对可能与 CHD 相关的 miRNAs 进行生物信号通路分析,最后,以结合 CHD 相关 miRNAs 数目最多的 hsa-circRNA-091419 为例,应用 Cytoscape 软件构建了 hsa-circRNA-091419/miR-145/mRNA 的网络图。已有文献报道,miR-145-5p 在冠心病患者中低表达,其过度表达可通过抑制 Smad4 有效减轻 H/R 诱导的 CMEC 损伤^[16]。提示 hsa-circRNA-091419 通过作用海绵吸附 miR-145,作用于其靶基因 ITGB8 来影响心肌标志物心钠素、心肌肌钙蛋白 I 的表达,从而影响心肌的发育。

本研究仍有一定的局限性,本研究仅通过生物信息学预测 hsa_circ_091419 可能在心脏发育过程中发挥作用,但没有通过试验进行验证,其与靶基因 ITGB8 及吸附靶 miR-145 之间的关系也需要进一步的验证。

参考文献

- [1] ZENG Z D,ZHANG H W,LIU F L,et al. Current diagnosis and treatment for critical congenital heart defects [J]. *Exp Ther Med*,2016,11(5):1550-1554.
- [2] CHAKRABORTY A,GORLA S R,SWAMINATHAN S. Impact of prenatal diagnosis of complex congenital heart disease on neonatal and infant morbidity and mortality [J]. *Prenat Diagn*,2018,38(12):958-963.
- [3] GURIA A,SHARMA P,NATESAN S,et al. Circular RNAs—the road less traveled[J]. *Front Mol Biosci*,2019,6:146.
- [4] GU M,ZHENG A B,JIN J,et al. Cardioprotective effects of Genistin in rat myocardial ischemia-reperfusion injury studies by regulation of P2X7/NF-κB pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*,2016,2016:5381290.
- [5] CLOETE E,BLOOMFIELD F H,SADLER L,et al. Antenatal detection of treatable critical congenital heart disease is associated with lower morbidity and mortality[J].

- J Pediatr, 2019, 204:66-70.
- [6] BARTEL D P. Metazoan microRNAs[J]. Cell, 2018, 173(1):20-51.
- [7] KAZIMIERCZYK M, KASPROWICZ M K, KASPRZYK M E. Human long noncoding RNA interactome; detection, characterization and function[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3):1027.
- [8] ZHOU W Y, CAI Z R, LIU J, et al. Circular RNA: metabolism, functions and interactions with proteins[J]. Mol Cancer, 2020, 19(1):172.
- [9] GUO T Y, HUANG L, YAO W, et al. The potential biological functions of circular RNAs during the initiation of atresia in pig follicles [J]. Domest Anim Endocrinol, 2020, 72:106401.
- [10] LIU H, HU Y, ZHUANG B, et al. Differential expression of circRNAs in embryonic heart tissue associated with ventricular septal defect[J]. Int J Med Sci, 2018, 15(7):703-712.
- [11] PENG W J, LI T, PI S F, et al. Suppression of circular RNA circDHCR24 alleviates aortic smooth muscle cell proliferation and migration by targeting miR-149-5p/MMP9 axis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 529(3):753-759.
- [12] CHEN P Y, ZHOU C R, LI B, et al. Circular RNA MGAT1 regulates cell proliferation and apoptosis in hypoxia-induced cardiomyocytes through miR-34a/YAP1 axis[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2020, 13(10):2474-2486.
- [13] ZENG Z, XIA L X, FAN S Y, et al. Circular RNA circ-MAP3K5 acts as a microRNA-22-3p sponge to promote resolution of intimal hyperplasia via TET2-mediated SMC differentiation[J]. Circulation, 2020, 143(4):354-371.
- [14] LI X, YANG L, CHEN L L. The biogenesis, functions, and challenges of circular RNAs[J]. Mol Cell, 2018, 71(3):428-442.
- [15] LIN F, CHEN H W, ZHAO G A, et al. Advances in research on the circRNA-miRNA-mRNA network in coronary heart disease treated with traditional Chinese medicine[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 2020:8048691.
- [16] LI L L, MAO C D, WANG G P, et al. miR-145-5p alleviates hypoxia/reoxygenation-induced cardiac microvascular endothelial cell injury in coronary heart disease by inhibiting smad4 expression[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(9):5008-5017.
- [17] GUO R, FENG Z, YANG Y, et al. Association of a miR-499 SNP and risk of congenital heart disease in a Chinese population[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2018, 64(10):108-112.
- [18] PINCHI E, FRATI P, AROMATARIO M, et al. miR-1, miR-499 and miR-208 are sensitive markers to diagnose sudden death due to early acute myocardial infarction[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(9):6005-6016.
- [19] LI Z, LIU L, HOU N, et al. miR-199-sponge transgenic mice develop physiological cardiac hypertrophy[J]. Cardiovasc Res, 2016, 110(2):258-267.

(收稿日期:2021-09-16 修回日期:2022-01-08)

(上接第 2062 页)

- [11] ZHU M S. SARS immunity and vaccination[J]. Cell Mol Immunol, 2004, 1(3):193-198.
- [12] CHEN N, ZHOU M, DONG X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China; a descriptive study[J]. Lancet, 2020, 395(10223):507-513.
- [13] 赵宏婷, 彭质斌, 杨孝坤, 等. 新型冠状病毒感染者特异性抗体动态变化特征研究进展[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(1):39-43.
- [14] 王宾, 钟一维. 新冠病毒疫苗安全性和有效性的展望[J]. 中国科学基金, 2020, 34(5):581-586.
- [15] LIU X M, WANG J, XU X L, et al. Patterns of IgG and IgM antibody response in COVID-19 patients[J]. Emerg Microbes Infect, 2020, 9(1):1269-1274.
- [16] 邹明园, 吴国球. 抗原交叉反应对新型冠状病毒血清特异性抗体检测的影响[J]. 临床检验杂志, 2020, 38(3):161-163.
- [17] LI K, HUANG B, WU M, et al. Dynamic changes in anti-SARS-CoV-2 antibodies during SARS-CoV-2 infection and recovery from COVID-19[J]. Nat Commun, 2020, 11(1):6044.
- [18] 武瑞君, 李治非, 张鑫, 等. 新冠病毒抗体药物研发进展及展望分析[J]. 中国生物工程杂志, 2020, 40(5):1-6.
- [19] AMANAT F, KRAMMER F. SARS-CoV-2 vaccines: status report[J]. Immunity, 2020, 52(4):583-589.
- [20] 季云, 巢蓓, 郑国军, 等. 血清 SARS-CoV-2 IgM 和 IgG 抗体阳性患者血常规及肾功能参数分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(10):1390-1392.
- [21] XIA S, DUAN K, ZHANG Y, et al. Effect of an inactivated vaccine against SARS-CoV-2 on safety and immunogenicity outcomes: interim analysis of 2 randomized clinical trials[J]. JAMA, 2020, 324(10):1-10.
- [22] 杨娜, 陈国强, 邱雪平, 等. 新型冠状病毒 IgM 和 IgG 抗体 4 种不同检测试剂的临床应用评价[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(2):137-141.

(收稿日期:2021-09-16 修回日期:2022-01-08)