

## IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 和 IFN- $\gamma$ 对小鼠胰岛 $\beta$ 细胞中 lncRNA 表达谱的影响

孙春涛<sup>1</sup>, 薛丽华<sup>2</sup>, 朱子阳<sup>1</sup>, 张 凡<sup>1</sup>, 杨瑞雪<sup>1</sup>, 袁雪雯<sup>1</sup>, 刘倩琦<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学附属南京儿童医院内分泌科, 江苏 南京 210008; <sup>2</sup>南京医科大学附属第四临床医学院, 江苏 南京 210029)

**[摘要]** 目的:探讨及分析细胞因子[白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和  $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )]干预后小鼠胰岛细胞株 MIN6 中的长链非编码 RNA(lncRNA)表达谱的变化,并进行初步验证。方法:细胞因子干预小鼠胰岛细胞株 MIN6,流式细胞仪检测细胞凋亡,CCK-8 检测细胞活性,采用 Affymetrix GeneChip Mouse Transcriptome Array 1.0 基因芯片筛查细胞因子干预组和正常对照组差异表达的 lncRNA,并采用实时荧光定量 PCR 对筛选出的部分 lncRNA 进行验证。结果:与对照组相比,细胞因子干预组的细胞凋亡增加,细胞活性下降。细胞因子干预组中表达相差 2 倍以上的 lncRNA 有 723 条,其中表达上调有 444 条,表达下调有 279 条。表达相差 5 倍以上的 lncRNA 有 111 条,其中表达上调有 105 条,表达下调有 6 条。表达相差 1.5 倍以上的 mRNA 有 2 180 条。10 条 lncRNA 在细胞因子干预组中的表达经初步证实,结果与芯片趋势一致。结论:细胞因子干预后小鼠胰岛细胞株 MIN6 中 lncRNA 的表达谱发生了显著变化,这些差异表达的 lncRNA 在细胞因子诱导的胰岛细胞凋亡中具有重要作用。

**[关键词]** 细胞因子;长链非编码 RNA;凋亡;1 型糖尿病

**[中图分类号]** R587.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2016)07-788-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20160705

## LncRNA expression profiles in mouse pancreatic $\beta$ cells exposed to IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ and IFN- $\gamma$

Sun Chuntao<sup>1</sup>, Xue Lihua<sup>2</sup>, Zhu Ziyang<sup>1</sup>, Zhang Fan<sup>1</sup>, Yang Ruixue<sup>1</sup>, Yuan Xuwen<sup>1</sup>, Liu Qianqi<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Endocrinology, Nanjing Children's Hospital Affiliated to NJMU, Nanjing 210008; <sup>2</sup>The Fourth School of Clinical Medicine, NJMU, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze lncRNA expression profiles in MIN6 cells, which belong to mouse pancreatic  $\beta$  cells, exposed to cytokines (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ ) and to perform preliminary validation. **Methods:** MIN6 cells were incubated in the presence or absence of the cytokines mentioned above for 24 h. Cell apoptosis was detected by flow cytometry and cell viability was assessed using the Cell Counting kit-8. Affymetrix GeneChip Mouse Transcriptome Array 1.0 was performed to identify differently expressed lncRNA and mRNA in MIN6 cells exposed to cytokines compared with the normal control group. The interesting candidate lncRNAs were verified by Real-time quantitative PCR. **Results:** Cytokines promoted MIN6 cells apoptosis and inhibited the viability of MIN6 cells. A total of 723 differently expressed lncRNAs were identified in the cytokine-stimulated group compared with the control group with a set filter fold-change  $\geq 2.0$ , of which 444 upregulated and 279 downregulated. Additionally, 111 differently expressed lncRNAs were identified with a set filter fold-change  $\geq 5.0$ , of which 105 upregulated and 6 downregulated. And 2 180 differently expressed mRNAs were identified with a set filter fold-change  $\geq 1.5$ . We also found, *via* quantitative PCR, that 10 lncRNAs were aberrantly expressed in the cytokine-stimulated group compared with the control group. The results of the qRT-PCR were consistent with the data from the microarray. **Conclusion:** The results revealed that there are differently expressed lncRNAs in MIN6 cells exposed to cytokines compared with the control group. These lncRNAs may play a key role in cytokine-induced apoptosis of pancreatic  $\beta$  cells.

**[Key words]** cytokines; lncRNAs; apoptosis; type 1 diabetes

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(07):788-793]

**[基金项目]** 南京市卫生青年人才培养工程(2012018)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: 18951769617@163.com

研究表明,1 型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM) 的发病与胰岛  $\beta$  细胞的过度凋亡密切相关<sup>[1]</sup>。T1DM 是一种在遗传易感基础上由环境因素触发的自身免疫性疾病,主要是由 T 淋巴细胞通过激活其他效应细胞分泌白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、 $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )等细胞因子参与胰岛  $\beta$  细胞的凋亡<sup>[1-2]</sup>。近年来,长链非编码 RNAs(lncRNAs)的作用引人注目。通常认为,lncRNA 是一类长度>200 个核苷酸的非编码 RNA<sup>[3]</sup>。lncRNA 能够广泛参与基因组调节,如 X 染色体失活、基因组印迹、染色质修饰、转录、剪接、翻译、降解、转运等,从而广泛参与调控个体的生长发育以及细胞凋亡、增殖、分化等生命活动,并与包括肿瘤、肥胖、糖尿病等在内的许多疾病相关<sup>[4-5]</sup>。本研究采用基因芯片技术,筛选出可能与小鼠胰岛细胞株 MIN6 细胞凋亡相关的 lncRNA,并对筛选出的 lncRNA 进行验证。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

DMEM 培养基、胎牛血清、双抗(Gibco 公司,美国), $\beta$ -巯基乙醇(Sigma 公司,美国),IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ (PeproTech 公司,美国)。MIN6 细胞系由南京医科大学第一附属医院肝胆外科实验室馈赠。流式凋亡检测试剂盒(BD 公司,美国),CCK-8 试剂盒(上海碧云天公司),TRIzol、逆转录试剂盒 Prime-Script<sup>TM</sup> RT Master Mix、PCR 试剂盒 SYBR Premix Ex Taq<sup>TM</sup>(TaKaRa 公司,日本),基因芯片 Affymetrix GeneChip Mouse Transcriptome Array 1.0(上海其明信息技术有限公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养

MIN6 细胞完全培养液为高糖型 DMEM(含有 10%胎牛血清、50  $\mu$ mol/L  $\beta$ -巯基乙醇、100 U/mL 青霉素、100  $\mu$ g/mL 链霉素)<sup>[6]</sup>,细胞贴壁生长,隔天换液,每 5 d 1:3 传代。

#### 1.2.2 细胞因子干预

MIN6 细胞生长到对数生长期时,胰酶消化,培养液稀释,然后离心收集细胞,分别种植在 6 孔板及 96 孔板中,待细胞密度达 80%左右时,培养基中加或不加入细胞因子混合物(5 ng/mL IL-1 $\beta$ ,25 ng/mL TNF- $\alpha$  和 25 ng/mL IFN- $\gamma$ ),放入 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 h。实验设立空白对照组、细胞因子干预组。

#### 1.2.3 细胞凋亡检测以及细胞活性检测

6 孔板中的细胞经上述分组处理 24 h 后,吸取上清液于离心管中,PBS 冲洗,用不含 EDTA 的 0.25%胰酶消化后显微镜下观察,以完全培养液终止消化,吹打细胞,转入上述对应的离心管中,1 200 r/min 离心 5 min,按流式检测试剂盒说明书处理细胞后流式细胞仪检测细胞凋亡。96 孔板中的细胞经上述处理 24 h 后,每孔加入 CCK-8 试剂 10  $\mu$ L,放入培养箱中温育 4 h 后,置于全自动酶标仪中,在 450 nm 波长处测定吸光度。

#### 1.2.4 总 RNA 抽提和鉴定

细胞经上述处理后,按照 TRIzol 说明书抽提总 RNA,使用 NanoDrop 测定 RNA 在分光光度计 260、280 和 230 nm 的吸收值,以计算浓度并评估纯度。采用甲醛变性琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 纯度及完整性。

#### 1.2.5 RNA 标记和芯片杂交

以 1  $\mu$ g 含有 T7 启动子序列的 RNA 为模板合成 cDNA,反应结束后立即进行体外转录合成 cRNA,并使用 RNeasy Mini Kit(Qiagen 公司,美国)纯化 cRNA,NanoDrop 检测 cRNA 质量及浓度。随后以 cRNA 为模板反转录合成第二链 sscDNA,然后使用 RNase H 水解 RNA,纯化及评估 sscDNA 后,将其片段化及标记,接着进行芯片杂交、固定。

#### 1.2.6 芯片数据分析

采用 GeneChip Scanner 3000 7G 扫描洗涤后的芯片,应用 Affymetrix<sup>®</sup> Expression Console<sup>TM</sup> 软件进行数据分析。数据经过标准化后得出细胞因子干预组与对照组标记的信号比值,根据信号比值筛选出两组间差异表达的 mRNA。使用 Cluste 软件 3.0 进行聚类分析。

#### 1.2.7 实时荧光定量 PCR

lncRNA 逆转录依据 PrimeScript<sup>TM</sup> RT Master Mix 说明书合成 cDNA,以样本 cDNA 为模板按照 SYBR Premix Ex Taq<sup>TM</sup> 说明书在 ABI7500 上进行实时荧光定量 PCR 验证。根据 qRT-PCR 扩增曲线,由 7500 Software v2.0.1 软件得到每个 PCR 循环反应的阈值(cycle threshold,Ct),并以  $\beta$ -actin 为内参,目的基因相对于内参基因的表达用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算和标准化。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成(表 1)。

### 1.3 统计学方法

应用 SPSS20.0 统计学软件对实验数据进行处理。实验数据以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组数据间比较采用独立样本  $t$  检验。 $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

表 1 PCR 基因引物序列表  
Table 1 The primers' sequences for PCR reaction

基因名称	上游引物序列(5'→3')	下游引物序列(5'→3')
NONMMUT067923	TGTCTTCACGGTGCAGAAAGAA	TCGAACAGATCATGAGCACCC
NONMMUT042324	GCCAGCTCTGCTGTTTTGAG	CACCTGGTGGCACTAATGGT
NONMMUT009389	ATGGGGCTCAGGTCCTTGTA	CCAAAGCACAGGGCACATTC
NONMMUT053106	ATCAGCTCTGTTGGCCCTGAC	CTCCCCAGACCACCATTTC
NR_038116	ATAGCCCTGGCTGCAATATCT	CTTTGTCCGAGCCGTTACTC
NONMMUT045556	CTGTCCACATGACACCCGAT	ACATTCCCTGCCACCTGTTT
NONMMUT032524	TGCCAGACAATGGAAATCCT	GCTCATCTCCCTTAGTTCTACC
Igf2as	GCGTGCATGATAACAGAGCC	GGGGACGAGGTGAGGGATAA
NONMMUT043757	GTGATTGCTGCCACAGTGAG	CATATTGGTAGGTGCCCGGA
NONMMUT001686	TGTGAAGTGTGTGGCTAGG	ACTTGGTCCCCGAGTTGTC
β-actin	AGAGGGAAATCGTGCGTGAC	CCATACCCAAGAAGGAAGGCT

2 结果

2.1 细胞因子对 MIN6 细胞凋亡及活性的影响

利用流式细胞仪检测细胞凋亡,结果显示细胞因子干预组的细胞凋亡率为(15.12 ± 2.65)%,对照

组细胞凋亡率为 (4.96 ± 1.74)%,CCK-8 检测细胞活性,细胞因子干预组吸光度为 1.155 ± 0.286,对照组为 1.823 ± 0.334。与对照组相比,干预组细胞凋亡率明显升高( $P < 0.05$ ),细胞活性下降( $P < 0.001$ ),差异具有统计学意义(图 1,2)。

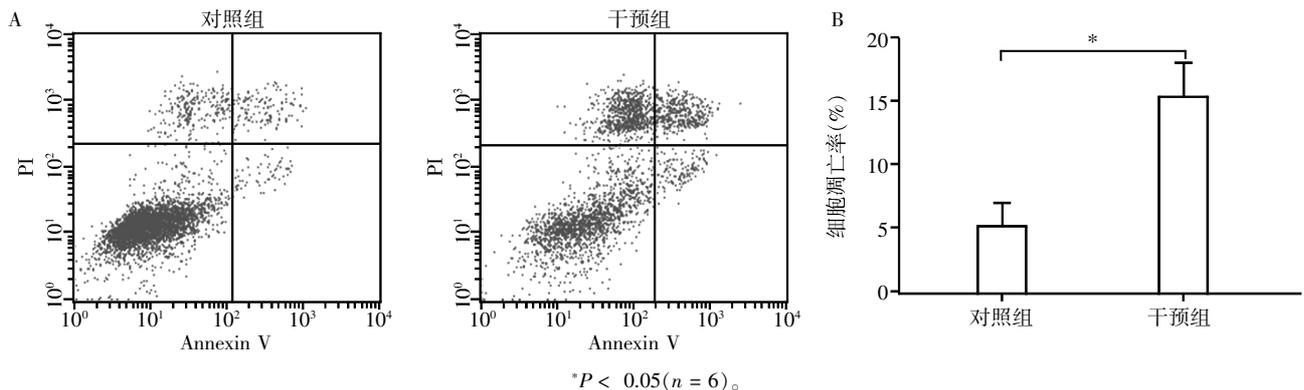


图 1 对照组及细胞因子干预组细胞凋亡率的变化

Figure 1 The effect of cytokines on apoptosis of MIN6 cells

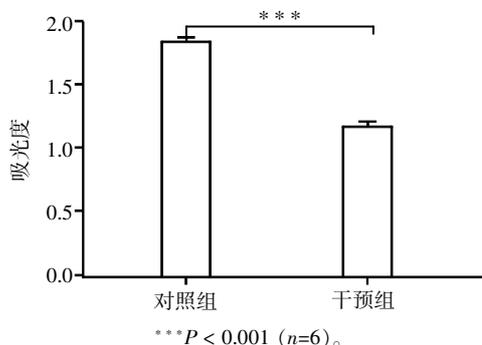


图 2 对照组及细胞因子干预组细胞活性的变化

Figure 2 The effect of cytokines on viability of MIN6 cells

2.2 芯片分析结果

2.2.1 差异 lncRNA 的筛选

与对照组相比,细胞因子干预组中表达相差 2 倍以上的 lncRNA 有 723 条,其中表达上调 444 条,表

达下调 279 条。表达相差 1.5 倍以上的 mRNA 2180 条。为进一步筛选出两组之间差异表达的 lncRNA,提高了差异表达 lncRNA 的筛选标准,以表达倍数 > 5 倍且  $P < 0.05$  的标准进行筛选,共获得差异表达 lncRNA 111 条,其中表达上调 105 条,表达下调 6 条。表 2 列举了 12 条有明显差异表达的 lncRNA。

2.2.2 lncRNA 与 mRNA 共表达

根据差异表达 lncRNA 及 mRNA 的相关性,通过细胞因子干预组及对照组芯片实测值计算样本-基因矩阵,分别构建基因和 lncRNA 在细胞因子干预组与对照组的共表达网络,并按照网络中基因度及聚类系数的大小,得出了在样本中具有重要表达能力的基因/lncRNA。表 3、4 分别列举了细胞因子干预组与对照组中 10 条有重要表达能力的基因/lncRNA。

### 2.3 qRT-PCR 验证结果

获得这些差异表达的 lncRNA 后,以差异倍数高、组内样本间表达异质性小、芯片中的绝对信号值大为原则,选择差异表达显著的 10 条 lncRNA 在细胞因子干预组及对照组中进行 real-time PCR 验证,其中 7 条为上调 lncRNA,3 条为下调 lncRNA,结果与芯片表达趋势一致(图 3A、B)。

### 3 讨论

大规模的流行病学研究表明,全球儿童青少年 T1DM 发病率逐年上升<sup>[7-9]</sup>。然而,T1DM 的病因和发病机制较为复杂,至今仍未完全阐明。长期胰岛素注射、急慢性并发症又给儿童青少年患者带来极大的身心创伤。因此探讨 T1DM 发病的相关分子机制及干预

表 2 部分有明显差异表达的 lncRNA

Table 2 Part of differently expressed lncRNAs

lncRNA 名称	来源数据库	类型	染色体	差异倍数(干预组/对照组)
NONMMUT009539	NONCODE	上调	chr11	292.56
NONMMUT045556	NONCODE	上调	chr3	168.11
NONMMUT032524	NONCODE	上调	chr18	161.65
NONMMUT009535	NONCODE	上调	chr11	105.30
NONMMUT067923	NONCODE	上调	chr9	83.43
NONMMUT053106	NONCODE	上调	chr5	80.04
NONMMUT032520	NONCODE	上调	chr18	77.63
NONMMUT026433	NONCODE	上调	chr16	65.41
NONMMUT011061	NONCODE	上调	chr11	58.06
ENSMUST00000131638	ENSEMBL	上调	chr18	51.52
NONMMUT010938	NONCODE	上调	chr11	51.03
NR_038116	RefSeq	上调	chr5	47.44

表 3 细胞因子干预组中部分有重要表达能力的基因/lncRNA

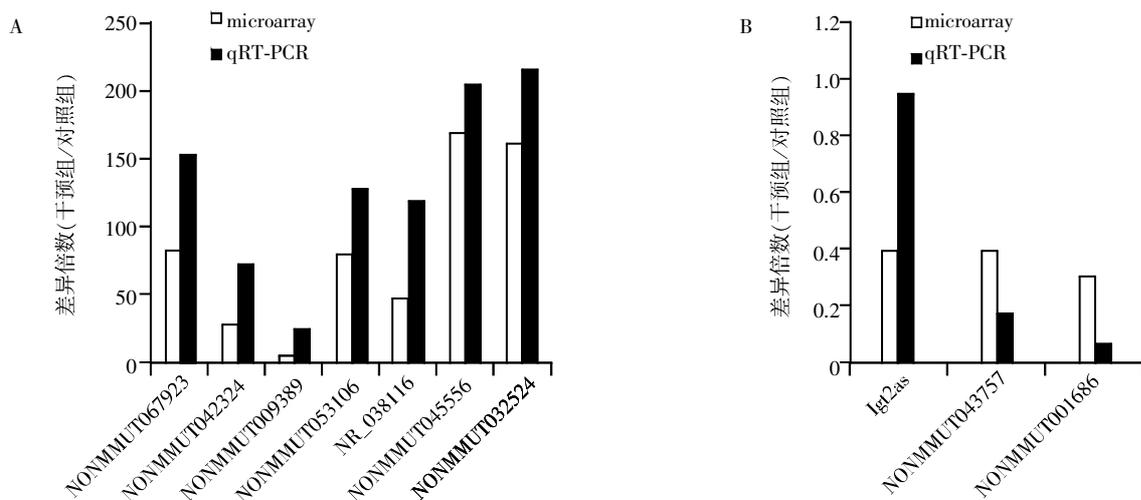
Table 3 Part of important expressed gene/lncRNA in cytokine stimulation group

基因/lncRNA 名称	聚类系数	基因度	类型	类别
NONMMUT074454	0.738 961 04	56	上调	NonCoding
NONMMUT046764	0.738 961 04	56	上调	NonCoding
uc009evb.1	0.725 974 03	56	下调	NonCoding
Colgalt2	0.718 831 17	56	下调	Coding
Arsb	0.709 090 91	56	下调	Coding
NONMMUT074097	0.672 727 27	56	下调	NonCoding
NONMMUT053106	0.672 727 27	56	上调	NonCoding
NONMMUT054284	0.828 282 83	55	上调	NonCoding
NONMMUT042465	0.827 609 43	55	下调	NonCoding
Slco1a5	0.827 609 43	55	下调	Coding

表 4 对照组中部分有重要表达能力的基因/lncRNA

Table 4 Part of important expressed gene/lncRNA in the control group

基因/lncRNA 名称	聚类系数	基因度	类型	类别
Shmt2	0.707 744 11	55	上调	Coding
NONMMUT069313	0.716 282 32	54	上调	NonCoding
Vimp	0.716 282 32	54	下调	Coding
NONMMUT068653	0.715 583 51	54	上调	NonCoding
Asap3	0.724 238 03	53	上调	Coding
NONMMUT001721	0.722 786 65	53	下调	NonCoding
NONMMUT067923	0.722 060 96	53	上调	NonCoding
Flna	0.730 769 23	52	上调	Coding
XR_141418	0.730 015 08	52	下调	NonCoding
Ganab	0.728 506 79	52	下调	Coding



A: 上调 lncRNA 的 RT-PCR 验证结果与芯片结果的比较; B: 下调 lncRNA 的 RT-PCR 验证结果与芯片结果的比较。

图 3 差异 lncRNA 的 RT-PCR 验证结果与芯片结果的比较

Figure 3 Comparison between microarray data and RT-PCR result for differentially expressed lncRNAs

措施已成为内分泌研究领域的当务之急。

随着科学技术的发展和相关研究的不断深入,迄今已经发现成千上万 lncRNA,但是只有很少一部分 lncRNA 的功能得到注释。目前有关 lncRNA 与糖尿病的研究报道尚不多,已有的研究指出 lncRNA 可能参与维持胰岛  $\beta$  细胞功能和胰岛素信号转导,从而影响糖尿病的发生发展<sup>[10]</sup>。Moran 等<sup>[11]</sup>发现一些胰岛组织特异性表达的 lncRNA,在  $\beta$  细胞成熟过程中呈现动态调控,推测可能是  $\beta$  细胞分化成熟必不可少的一部分。本研究揭示了细胞因子干预后小鼠胰岛细胞株 MIN6 中的 lncRNA 表达谱,对于进一步研究和探讨 T1DM 的发病机制有重要的作用和意义。

本实验借助芯片技术,采用 Affymetrix GeneChip Mouse Transcriptome Array 1.0 基因芯片筛查细胞因子干预小鼠胰岛细胞株 MIN6 和正常对照组差异表达的 lncRNA,共筛选出 lncRNA 723 条,其中细胞因子干预组表达上调的 444 个,下调的 279 个;高表达大于 5 倍以上的 lncRNA 有 111 条。选择差异表达显著的 10 条 lncRNA 进行 real-time PCR 验证,结果与芯片表达趋势一致,提示芯片筛查结果可信。并由此推测,lncRNA 与 1 型糖尿病之间存在着极其错综复杂的关联,某些异常高表达或低表达的 lncRNA 可能直接或间接影响了 1 型糖尿病的发生及发展。

本研究所验证的 10 条 lncRNA 中的 1 条 lncRNA NONMMUT053106,因其在物种间呈高度保守性,并显著高表达于细胞因子诱导凋亡的胰岛细胞株而引起我们的注意。lncRNA NONMMUT053106 全长 1 312 kb,定位于小鼠染色体 chr5,且该条

lncRNA 位于 CXC 趋化因子配体 10(CXCL10)基因内,转录方向与 CXCL10 相反。CXCL10 属于 CXC 趋化因子超家族的一员,通过与 CXCR3 结合发挥其功能,活化的 T 细胞、单核细胞、成纤维细胞等均可表达 CXCL10。此外亦发现人及鼠类胰岛  $\beta$  细胞可分泌 CXCL10。CXCL10 在 T1DM 等多种自身免疫性疾病中发挥着重要的作用<sup>[12-16]</sup>。Shigihara 等<sup>[17]</sup>发现未受损的胰岛并不表达 CXCL10,胰岛炎前期胰岛  $\beta$  细胞开始表达 CXCL10,在发展为显性糖尿病前,血清 CXCL10 水平已很高。He 等<sup>[18]</sup>研究发现,链脲佐菌素(STZ)诱导的 T1DM 大鼠模型中 CXCL10 及其受体的表达被抑制后,胰岛细胞的凋亡减少。Lasch 等<sup>[19]</sup>研究发现在病毒诱发的糖尿病(RIP-LCMV)鼠及非肥胖糖尿病(NOD)鼠中,抑制 CXCL10 的表达抑制补抑制后,可阻止胰岛特有的 T 细胞进入胰岛,从而阻止了胰岛的破坏,获得 T1DM 长期的缓解。这些研究表明,CXCL10 及其受体是引发胰岛炎症和参与 T 细胞介导胰岛  $\beta$  细胞凋亡的关键分子。因此推测 lncRNA NONMMUT053106 可能通过对 CXCL10 的调控而在 T1DM 的发生发展中发挥重要作用。另 1 条 lncRNA NONMMUT042324 也高表达于细胞因子诱导凋亡的胰岛细胞株,其全长 1 214 kb,定位于小鼠染色体 chr3,位于肿瘤坏死因子超家族 10(Tnfsf10)基因内。Tnfsf10 又称肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL),是免疫系统的重要组成部分,表达于包括胰腺在内的各种组织和细胞中。Dirice 等<sup>[20]</sup>用 STZ 加速 NOD 小鼠形成糖尿病后,发现 TRAIL 的表达显著增高。Mi 等<sup>[21]</sup>研究发现,抑制 TRAIL 的表达后,加速了 NOD 小鼠 T1DM 的发生。

这些结果说明了 TRAIL 是 T1DM 发展中的重要免疫调节剂。由此也推测 lncRNA NONMMUT042324 可能通过对 TRAIL 的调控而在 T1DM 的发生发展中发挥重要作用。

本研究主要通过芯片技术筛查了细胞因子干预后小鼠胰岛细胞株 MIN6 中 lncRNA 的表达谱,并进行了初步验证。下一步研究中,将建造 T1DM 模型小鼠,对筛选出的 10 条 lncRNA 进一步验证,尤其对 lncRNA NONMMUT053106,拟采用过表达与敲低技术,明确其在胰岛  $\beta$  细胞凋亡中的功能,以期进一步了解 T1DM 的发病机制。

#### [参考文献]

[1] Kikodze N,Pantsulaia I,Rekhviashvili Kh,et al. Cytokines and T regulatory cells in the pathogenesis of type 1 diabetes[J]. Georgian Med News,2013,222:29-35

[2] Riboulet-Chavey A,Diraison F,Siew LK,et al. Inhibition of AMP-activated protein kinase protects pancreatic beta-cells from cytokine-mediated apoptosis and CD8+ T-cell-induced cytotoxicity[J]. Diabetes,2008,57(2):415-423

[3] Caley DP,Pink RC,Trujillano D,et al. Long noncoding RNAs,chromatin,and development[J]. ScientificWorldJournal,2010,10:90-102

[4] Ponting CP,Oliver PL,Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs[J]. Cell,2009,136(4):629-641

[5] Ma H,Hao Y,Dong X,et al. Molecular mechanisms and function prediction of long noncoding RNA[J]. Scientific-WorldJournal,2012,2012:541786

[6] Kong X,Wang GD,Ma MZ,et al. Sesamin ameliorates advanced glycation end Products-Induced pancreatic  $\beta$ -Cell dysfunction and apoptosis[J]. Nutrients,2015,7(6):4689-4704

[7] Dabelea D,Mayer-Davis EJ,Saydah S,et al. Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009 [J]. JAMA,2014,311(17):1778-1786

[8] Bendas A,Rothe U,Kiess W,et al. Trends in incidence rates during 1999-2008 and prevalence in 2008 of childhood type 1 diabetes mellitus in Germany-Model-Based National estimates[J]. PLoS One,2015,10(7):e0132716

[9] Patterson CC,Gyuerues E,Rosenbauer J,et al. Trends in childhood type 1 diabetes incidence in Europe during 1989-2008:evidence of non-uniformity over time in rates

of increase[J]. Diabetologia,2012,55(8):2142-2147

[10] Morún I,Akerman I, Van De Bunt M,et al. Human  $\beta$  cell transcriptome analysis uncovers lncRNAs that are tissue-specific,dynamically regulated,and abnormally expressed in type 2 diabetes[J]. Cell Metab,2012,16(4):435-448

[11] Pullen TJ,Rutter GA. Could lncRNAs contribute to  $\beta$ -cell identity and its loss in Type 2 diabetes? [J]. Biochem Soc Trans,2013,41(3):797-801

[12] Antonelli A,Ferrari SM,Corrado A,et al. CXCR3,CXCL10 and type 1 diabetes[J]. Cytokine Growth Factor Rev,2014,25(1):57-65

[13] Ruffilli I,Ferrari SM,Colaci M,et al. CXCR3 and CXCL10 in autoimmune thyroiditis[J]. Clin Ter,2014,165(3):e237-e242

[14] Mazzi V,Ferrari SM,Giuggioli D,et al. Role of CXCL10 in cryoglobulinemia[J]. Clin Exp Rheumatol,2015,33(3):433-436

[15] Toyoda Y,Tabata S,Kishi J,et al. Thymidine phosphorylase regulates the expression of CXCL10 in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes[J]. Arthritis Rheumatol,2014,66(3):560-568

[16] Antonelli A,Ferrari SM,Giuggioli D,et al. Chemokine(C-X-C motif)ligand (CXCL)10 in autoimmune diseases[J]. Autoimmun Rev,2014,13(3):272-280

[17] Shigihara T,Oikawa Y,Kanazawa Y,et al. Significance of serum CXCL10/IP-10 level in type 1 diabetes[J]. J Autoimmun,2006,26(1):66-71

[18] He J,Lian C,Fang Y,et al. Effect of CXCL10 receptor antagonist on islet cell apoptosis in a type I diabetes rat model[J]. Int J Clin Exp Pathol,2015,8(11):14542-14548

[19] Lasch S,Müller P,Bayer M,et al. Anti-CD3/Anti-CXCL10 antibody combination therapy induces a persistent remission of type 1 diabetes in two mouse models[J]. Diabetes,2015,64(12):4198-4211

[20] Dirice E,Kahraman S,Elpek GO,et al. TRAIL and DcR1 expressions are differentially regulated in the pancreatic islets of STZ-versus CY-applied NOD mice[J]. Exp Diabetes Res,2011,2011:625813

[21] Mi QS,Ly D,Lamhamed-Cherradi SE,et al. Blockade of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand exacerbates type 1 diabetes in NOD mice[J]. Diabetes,2003,52(8):1967-1975

[收稿日期] 2016-03-01