

· 基础研究 ·

## 高氧肺损伤新生小鼠肺组织中 GM15886 和 HIPK1 的表达研究

吴蝉桐, 王 维, 王会芳, 包天平, 田兆方\*

南京医科大学附属淮安第一医院新生儿科, 淮安市小儿呼吸诊疗重点实验室, 江苏 淮安 223300

**[摘要]** **目的:**探讨长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) GM15886 在高氧诱导新生小鼠支气管肺发育不良 (bronchopulmonary dysplasia, BPD) 肺组织中表达水平的变化, 及其可能的作用机制。**方法:**选取 BPD 模型小鼠肺组织 lncRNA 基因芯片中高表达的 GM15886 进行验证, 应用 IntaRNA、Multi Experiment Matrix 和 Ensemble 数据库预测其靶基因; 将 64 只新生 C57BL/6J 小鼠随机分为高氧组和空气组, 每组各 32 只; 高氧组新生小鼠置于 95% 高氧环境下, 空气组暴露于空气环境下, 分别于生后第 0、3、5、7 天处死小鼠取肺组织, HE 染色评价肺组织病理变化; 采用 qPCR 检测 GM15886 和同源结构域相互作用蛋白激酶 1 (homeodomain-interacting protein kinase 1, HIPK1) 表达水平; 免疫组化检测 HIPK1 表达情况。**结果:**IntaRNA 预测 GM15886 碱基序列能够和 HIPK1 第 2 个外显子碱基序列完全结合。qPCR 示高氧组第 3、5、7 天 GM15886 表达量升高, 分别为  $1.91 \pm 0.28$ 、 $2.12 \pm 0.38$ 、 $2.35 \pm 0.43$ , 与第 0 天相比, 差异均具有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.05$ ); HIPK1 在第 3、5、7 天相对表达量分别为  $1.16 \pm 0.33$ 、 $0.92 \pm 0.31$ 、 $3.12 \pm 0.46$ , 第 7 天表达量高于第 0、3、5 天 ( $P$  均  $< 0.05$ ); HIPK1 免疫组化表现与 RNA 表达的结果相对应。**结论:**随着高氧暴露时间的延长, 肺组织 GM15886 表达量增加; GM15886 可能靶向 HIPK1 参与 BPD 的发病机制。

**[关键词]** 长链非编码 RNA; 支气管肺发育不良; 高氧; 新生; 小鼠; GM15886

**[中图分类号]** R722.6

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2020)07-969-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20200707

## Expressions of GM15886 and HIPK1 in lung tissues of neonatal mice with hyperoxia-induced lung injury

WU Chantong, WANG Wei, WANG Huifang, BAO Tianping, TIAN Zhaofang\*

Department of Neonatology, the Affiliated Huai'an No.1 People's Hospital of Nanjing Medical University, Key Laboratory of Pediatric Respiratory Diagnosis and Treatment of Huai'an, Huai'an 223300, China

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression level of long non-coding RNA (lncRNA) GM15886 in lung tissues of bronchopulmonary dysplasia (BPD) induced by hyperoxia in neonatal mice and its mechanism in BPD. **Methods:** High expressed GM15886 was selected by previous lncRNA microarray. IntaRNA, Multi Experiment Matrix and Ensemble database were applied to predict GM15886 target genes. Sixty-four newly born C57BL/6J mice were randomly divided into the hyperoxic group and the air group, with 32 mice in each group. Newborn mice in the hyperoxia group were exposed to 95% oxygen, while those in the air group were exposed to air. Mice were sacrificed on day 0, day 3, day 5 and day 7, respectively, and the pathological changes of pulmonary tissues were analyzed via HE staining, the expression levels of GM15886 and homeodomain-interacting protein kinase 1 (HIPK1) mRNA was detected by using QPCR, the expression of HIPK1 at different time points was detected by immunohistochemistry. **Results:** IntaRNA predicted the end of GM15886 sequence overlaps with the gene HIPK1. The expression of GM15886 in neonatal mice in the hyperoxia group increased gradually on day 3, day 5 and day 7, ( $1.91 \pm 0.28$ ,  $2.12 \pm 0.38$ , and  $2.35 \pm 0.43$ , respectively), and the differences were statistically significant compared with day 0 (all  $P < 0.05$ ). The relative expressions of HIPK1 on day 3, day 5 and day 7 were  $1.16 \pm 0.33$ ,  $0.92 \pm 0.31$ , and  $3.12 \pm 0.46$ , respectively. The expression level on day 7 was higher than that on day 0, day 3, day 5 (all  $P < 0.05$ ). The expression of HIPK1 protein changed in the same way as mRNA. **Conclusion:** With the extension of hyperoxic exposure time, the expression of GM15886 in lung tissues increased gradually. GM15886 might participate in the pathogenesis of BPD by repressing HIPK1 expression.

**[Key words]** lncRNA; bronchopulmonary dysplasia (BPD); hyperoxia; neonatal; mice; GM15886

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81801495); 淮安市创新平台项目(HAP201607) [J Nanjing Med Univ, 2020, 40(07):969-974]

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: lyh0729@163.com

支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)是早产儿常见的慢性肺部疾病之一,现阶段我国超低出生体重儿中,BPD发病率约80%。随着我国新生儿科重症诊治水平和管理日益精进,极早产儿的存活率已有显著提高,但随之而来的BPD发病率也呈现出持续上升的趋势。BPD以肺生长停滞和基质重塑为特征<sup>[1]</sup>,会造成长期的呼吸、心血管和神经系统发育不良。不幸的是,BPD肺生长的永久停止可能会导致终生的功能异常<sup>[2]</sup>。目前BPD缺乏有效的治疗方法,其发病机制一直是新生儿科研究的热点。

BPD的发病机制涉及肺泡和血管性肺发育受阻、纤维化和慢性炎症等<sup>[3-4]</sup>,与遗传背景有着巨大关系<sup>[5]</sup>。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是非编码RNA的一个亚群,其长度超过200个核苷酸,没有蛋白编码能力,但可调节mRNA的翻译、稳定和降解,可以作为竞争性内源性RNA,靶向microRNA和蛋白因子,抑制其活性,促进mRNA的翻译等<sup>[6-7]</sup>,在机体的生理活动中有着积极的调节作用,如调节氧化应激、凋亡、炎症等<sup>[8-9]</sup>。近年来研究发现lncRNA可参与BPD的发生发展<sup>[10]</sup>,本课题组在先前研究中发现lncRNA AK033210、NANCI等参与BPD的发病机制<sup>[11-12]</sup>。GM15886是由lncRNA芯片技术筛选的高表达于BPD小鼠肺组织中的1条lncRNA,生物信息学预测HIPK1可能是其调控靶点。本研究将构建小鼠BPD模型,验证BPD肺组织中GM15886在BPD发生过程中的表达情况,并利用生物信息学技术分析其保守性序列所在基因组位置,继而研究其可能的靶基因HIPK1在BPD小鼠肺组织表达情况,为BPD发病机制的研究提供新思路。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

于扬州大学比较医学中心购得孕18 d C57BL/6J小鼠16只。本研究符合实验动物伦理学原则,并经医院伦理委员会批准。测氧仪xp-3118(无锡FARSTAR医学设备有限公司);液氧由淮安市第一人民医院供氧室提供。利用Primer Premier设计引物(上海生工生物工程有限公司合成);SYBR Green qPCR Master Mix试剂盒、逆转录试剂盒(苏州吉玛公司)。Roche Light Cycler480 II实时荧光定量PCR仪(罗氏公司,瑞士);兔抗鼠HIPK1多克隆抗体(北京博奥森公司);Max Vision试剂盒(兔)(福州迈新生物科技有限公司);lncRNA芯片由Arraystar公司中

国代理商上海康成生物工程有限公司提供。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 生物信息学分析

在PubMed数据库中查找GM15886的序列和所在染色体位置(GRCm38.p6版本);在UCSC数据库(<http://genome.ucsc.edu>)中输入GM15886,可以获得GM15886保守性;选择Public Hubs标签,输入jaspar搜索GM15886所在区域的转录因子结合位点。IntaRNA(<http://rna.informatik.uni-freiburg.de/IntaRNA>)、Multi Experiment Matrix数据库(<https://biit.cs.ut.ee/mem/index.cgi>)和Ensemble数据库(<https://asia.ensembl.org/>)预测GM15886的可能靶基因。

#### 1.2.2 BPD小鼠模型构建

选择出生时间相近的自然分娩小鼠64只,将其随机分为高氧组和空气组,每组32只。据文献构建BPD模型<sup>[13]</sup>,高氧组放置于60 cm×50 cm×50 cm大小的自制塑料氧箱,维持箱内氧浓度>95%(测氧仪监测)。空气组暴露于空气中,适时补充饲料和水,更换垫料。每24 h将高氧组和空气组母鼠互换,防止其氧中毒影响哺乳效果。

#### 1.2.3 小鼠肺组织采集

高氧组和空气组同时于实验的不同时点(第0、3、5、7天)随机选取新生小鼠8只,4%水合氯醛麻醉后处死,打开小鼠胸腔,取左上肺叶置于4%多聚甲醛中固定并石蜡包埋,制备苏木精-伊红染色病理切片,余下肺组织经液氮速冻后转存于-80℃冰箱备用。

#### 1.2.4 肺发育评估

以辐射状肺泡计数(radical alveolar counts, RAC)评估肺泡发育程度,在100倍光镜视野下,随机选取5个视野,计数肺泡数并取其均值。

#### 1.2.5 实时荧光定量PCR

TRIzol法提取小鼠肺组织中的总RNA,检测RNA纯度和浓度,据逆转录试剂盒说明逆转录为cDNA。qPCR反应体系为20 μL,2×Real-time PCR Master Mix(SYBR)10 μL,上下游引物(10 μmol/L)各0.4 μL,cDNA 2 μL,ddH<sub>2</sub>O 7 μL。反应条件为95℃预变性3 min,95℃变性12 s,62℃退火40 s,40个循环。GAPDH作内参,采用相对定量法,每次实验设3个复孔,并重复3次。扩增引物序列为GM15886上游:5'-CCGGCTGGTTCTGGAATGAC-3',GM15886下游:5'-TTGCCTCTGAGGAAGGGAGC-3';HIPK1上游:5'-TCCCCATACTACGAGAAGGGT-3',HIPK1下游:5'-ATGTCCCCACCCCTAGTACC-3';

GAPDH 上游:5'-GGGGAGCCAAAAGGGTCAT-3',  
GAPDH 下游:5'-GAGTCCTTCCACGATACCAA-3'.

### 1.2.6 免疫组织化学染色和评分标准

将石蜡包埋的组织切片常规脱蜡、水合、二甲苯浸泡5 min 2次,梯度乙醇水合,PBS浸洗3次,将切片放入盛有抗原修复缓冲液的染色盒内,放至微波炉中加热10 min,浸入流水,自然冷却后用PBS浸洗3次。接着每张切片滴加2滴3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-甲醇溶液,室温(15~25 °C)下封闭10 min。滴加1%BSA 75 μL,室温孵育20 min。加兔抗鼠HIPK1多克隆抗体(1:100)在4 °C下孵育过夜,滴加羊抗兔聚合物50 μL,室温湿盒孵育20 min。然后DAB染色操作,苏木素染液,自来水冲洗后返蓝,在切片上加中性树胶,加盖玻片。免疫组化结果通过组织切片在光学显微镜下的染色程度进行评估(0~3分分别为阴性着色、淡黄色、浅褐色、深褐色),随机选取5个视野评估阳性细胞百分比,计算平均阳性细胞比,分数相乘视为免疫组化评分。评分范围为0~300分<sup>[14]</sup>。

### 1.3 统计学方法

应用SPSS 20.0统计软件进行数据分析。正态

分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组比较采用*t*检验。*P* < 0.05为差异有统计学意义。

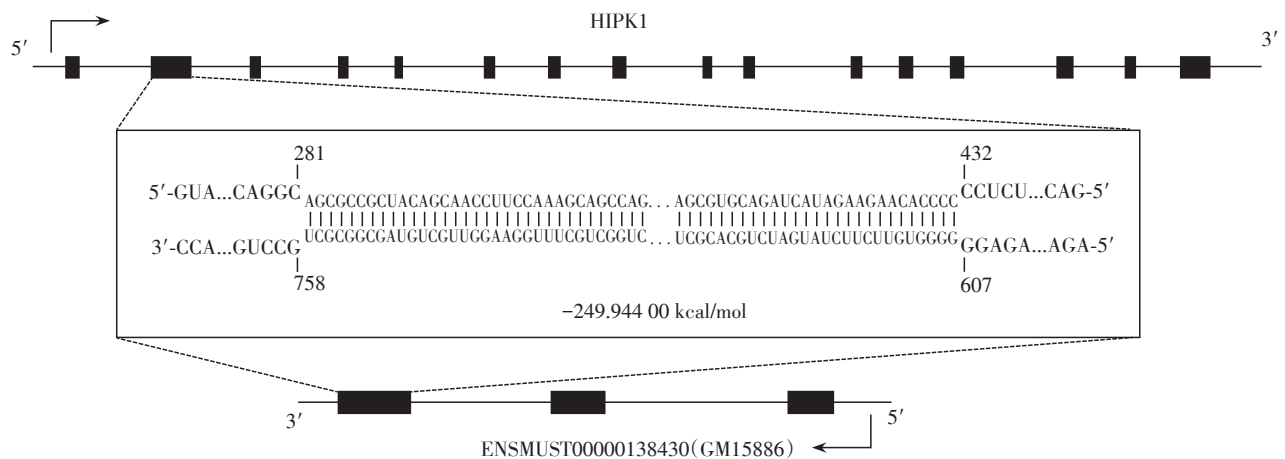
## 2 结 果

### 2.1 GM15886生物信息学分析

GM15886全长3 072 bp,位于染色体3qF2.2,通过UCSC数据库发现GM15886在哺乳动物中有高度的保守性,应用UCSC和Ensemble基因组浏览工具对其表观遗传调控线索进行分析,发现GM15886序列所在染色体区域存在众多转录因子结合位点。在Multi Experiment Matrix数据库输入GM15886,查询到HIPK1为其可能靶点;IntaRNA网站查询发现GM15886碱基序列能够和HIPK1第2个外显子碱基序列完全结合并相互作用(图1),提示HIPK1可能为GM15886靶点基因。

### 2.2 BPD小鼠模型构建成功

与同时期空气组相比,第7天高氧组小鼠反应变差,体重变轻[(1.95±0.09)g vs. (3.48±0.18)g, *P* < 0.05]。病理组织切片显示高氧组随着高氧时间延长,肺泡直径扩大、肺泡间隔增宽、肺泡数目变少;



GM15886碱基序列能够和HIPK1第2个外显子碱基序列完全结合并相互作用。

图1 GM15886生物信息学分析

Figure 1 Bioinformatics analysis of GM15886

高氧组第7天RAC值大于空气组[(9.1±0.4)个 vs. (6.1±0.3)个, *P* < 0.05,图2A、B],提示BPD小鼠模型构建成功。

### 2.3 GM15886在BPD形成过程中表达上调

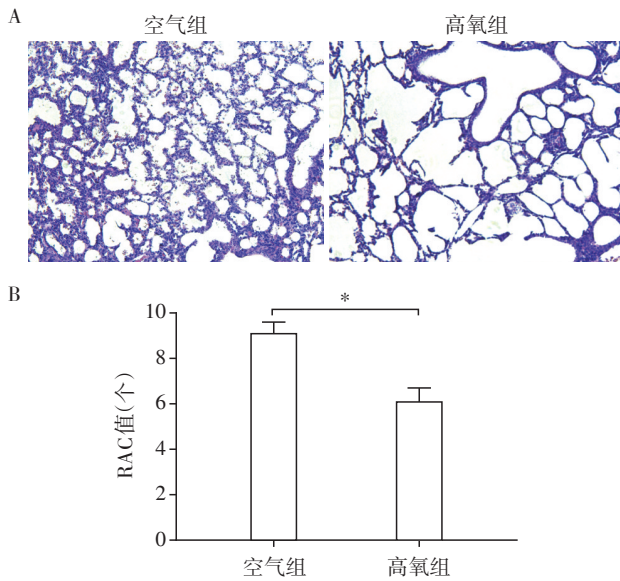
将第0天小鼠肺组织中GM15886的表达水平量化为1.00,GM15886在高氧第3、5、7天的表达量分别为1.91±0.28、2.12±0.38、2.35±0.43,随高氧暴露时间的延长,GM15886表达量升高,第5、7天表达水平是第0天的两倍以上(*P*均 < 0.05)。空气组不同时

间点GM15886表达水平变化无统计学意义(*P*均 > 0.05,图3)。

### 2.4 HIPK1在BPD形成过程中表达上调

#### 2.4.1 HIPK1 mRNA在BPD形成过程中的表达

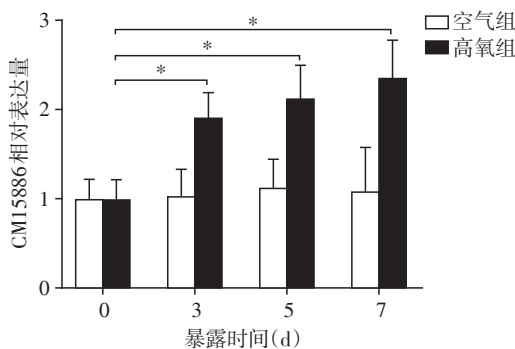
将第0天新生鼠组织中HIPK1的表达水平量化为1.00,第3、5、7天的相对表达量分别是1.16±0.33、0.92±0.31、3.12±0.46,第7天表达量高于第0、3、5天(*P*均 < 0.05),空气组各时间点HIPK1表达水平差异无统计学意义(*P*均 > 0.05,图4)。



A: 高氧组肺组织肺泡壁薄、肺泡数减少,肺泡大小不均一(HE,×100);B: 高氧组与空气组小鼠RAC值比较,\* $P < 0.05$ ( $n=8$ )。

图2 第7天肺组织的病理变化

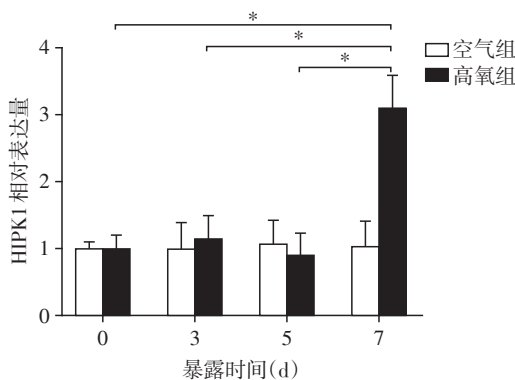
Figure 2 Pathological changes of lung tissues on the seventh day



第0天空气对照组标化为1,\* $P < 0.05$ , $n=8$ 。

图3 不同时间点肺组织GM15886表达

Figure 3 The expression of GM15886 in lung tissues at different time points



第0天空气对照组标化为1,\* $P < 0.05$ , $n=8$ 。

图4 不同时间点肺组织HIPK1表达

Figure 4 The expression of HIPK1 in lung tissues at different time points

### 2.4.2 HIPK1 蛋白在 BPD 形成过程中的表达

HIPK1 蛋白在各组织中均广泛表达,在细胞核和细胞浆中均有分布。HIPK1 在高氧组第7天免疫组化评分为140分,高于高氧组第3天(79分)、第5天(91分),差异具有统计学意义( $P$ 均 $< 0.05$ );而空气组HIPK1第3、5、7天免疫组化评分分别是79、77、81分,各时间点差异无统计学意义( $P$ 均 $> 0.05$ ,图5)。

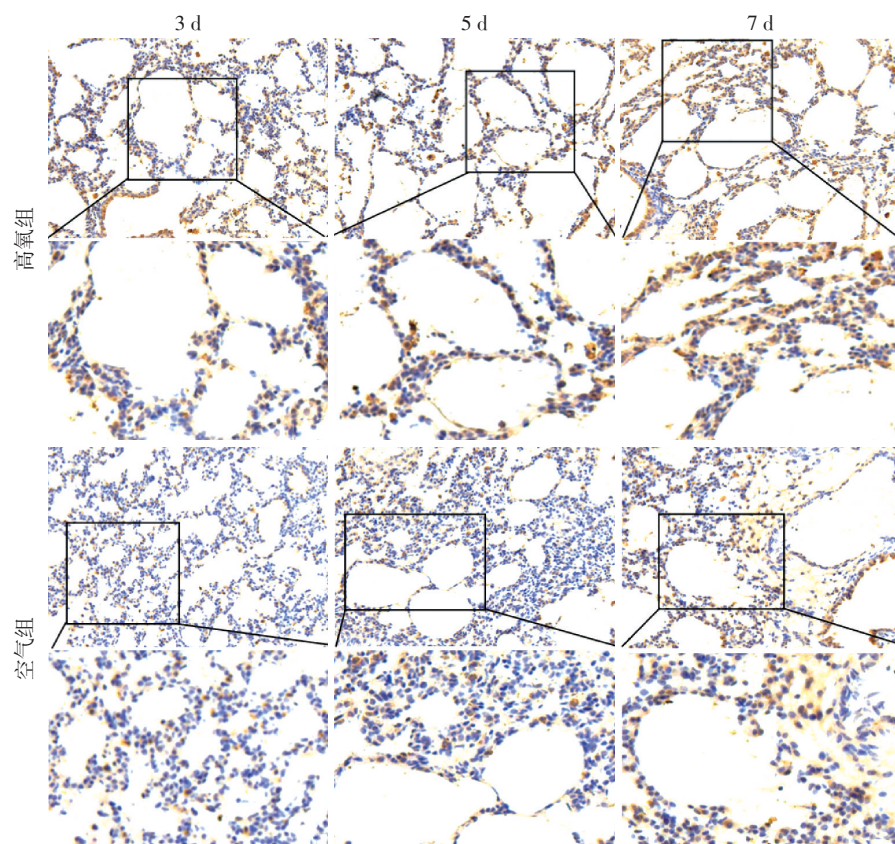
## 3 讨论

随着 RNA 组学研究的日益成熟, lncRNA 的生物学功能也逐渐被人类揭秘。目前,定义 BPD 病理生理学和进展的分子途径和细胞机制仍不成熟。本实验依据组内异质性小、组间差异大等原则,对已建立的 BPD 模型小鼠 lncRNA 基因芯片结果进行筛选,发现 GM15886 差异倍数较大,且已有文献报道其下游基因 HIPK1 参与肺损伤<sup>[15]</sup>,但国内外尚无 GM15886 功能报道。

在分析 GM15886 染色体位置及其邻近基因相关信息时发现,GM15886 具有较高保守性,预示其生物体内有着重要作用。GM15886 所在染色体区域有众多转录因子结合位点,且无论是小鼠还是人,GM15886 均位于 HIPK1 上游,根据 lncRNA 偏好调控其邻近基因特性,设想 GM15886 功能可能与 HIPK1 相关<sup>[13]</sup>。综合考虑影响 RNA 之间相互作用的重要特征——RNA 序列相互作用位置的可结合性,利用 IntaRNA 数据库进行了下游 mRNA 预测,发现 GM15886 的碱基序列能够和 HIPK1 第 2 个外显子碱基序列完全结合,可形成 RNA 二聚体并在特定的结构域发挥作用,从而保护 HIPK1 使之更难被 RNA 酶降解。Multi Experiment Matrix 和 Ensemble 数据库均验证了上述结果,即 HIPK1 为 GM15886 靶基因。

随后 qPCR 检测显示第7天高氧诱导损伤肺组织 GM15886 表达水平高于空气组,提示 GM15886 可能参与高氧诱导新生小鼠 BPD 的发病机制。进一步研究发现随着高氧暴露的时间延长,GM15886 的表达量逐渐增多;HIPK1 mRNA 在生后第7天高氧组小鼠肺组织中明显升高。免疫组化结果显示生后 7 d 高氧组小鼠肺组织 HIPK1 蛋白表达量增加。实验结果表明:随着高氧致肺损伤加重,GM15886 和 HIPK1 的表达均增加,与肺泡发育评价指标 RAC 值变化趋势一致。

HIPK1 是细胞应激反应的调节因子,是参与调控包括细胞生长和凋亡在内多个过程的核蛋白激



高氧组生后3、5、7 d,免疫组化评分分别为79分、91分、140分;空气组生后3、5、7 d,免疫组化评分分别为79分、77分、81分;低倍镜:×200,高倍镜:×400。

图5 新生小鼠肺组织HIPK1蛋白免疫组化

Figure 5 Immunohistochemistry of HIPK1 protein in lung tissues of neonatal mice

酶之一。之前的研究认为HIPK1介导细胞凋亡和DNA损伤修复,它在众多疾病的细胞应激和损伤中起重要作用<sup>[16]</sup>。HIPK1可通过磷酸化丝氨酸-15与p53相互作用,从而促进p53的活化<sup>[16]</sup>。而p53的耗竭、抑制或丢失会进一步增强细胞自噬,并改善细胞对损伤的应激反应。干扰HIPK1可以通过细胞自噬改善炎症、氧化应激并减少肺损伤<sup>[14]</sup>。HIPK1在胚胎发育期也参与血管生成基因的表达调控<sup>[17]</sup>,血管生成是肺泡化所必不可少的,肺血管生成异常也将促进BPD的发生。研究还发现HIPK1参与调控Wnt/ $\beta$ -catenin通路,而Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路在早期肺发育过程中起着重要作用<sup>[18]</sup>。HIPK1作为信号输出的调制器和不同应激信号通路的连接器,具有塑造许多下游效应通路的能力,这常常意味着它们在纤维化等增生性疾病中有一定作用<sup>[19]</sup>,这与BPD的组织病理学特征相符。

HIPK1表达量升高使肺上皮细胞凋亡增加,而未发育成熟肺损伤会导致肺泡化进程阻滞,使肺失去正常结构和正常的呼吸功能,这是BPD重要的致病因素,这也符合BPD以肺泡上皮细胞凋亡增加为

主的肺泡发育阻滞的病理特点。且HIPK1表达量上升在肺纤维化中也有重要意义,与BPD肺纤维化特点相符。据此,我们推测在BPD形成过程中GM15886可能正向调控HIPK1表达。但GM15886与HIPK1功能相关性还需要进一步实验验证。

综上,GM15886在高氧诱导的肺损伤中表达水平升高,同时其可能靶向HIPK1使其表达水平上升,造成肺泡发育障碍。目前本文只针对GM15886进行了表达量变化研究及其可能靶基因HIPK1生物信息学分析预测,本课题组下一步将验证两者的直接相关性,但其具体的作用机制以及对肺上皮细胞的影响还需进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] WILL J P, HIRANI D, THIELEN F, et al. Strain-dependent effects on lung structure, matrix remodeling, and Stat3/Smad2 signaling in C57BL/6N and C57BL/6J mice after neonatal hyperoxia [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2019, 317(1):R169-R181
- [2] SILVA D M, NARDIELLO C, POZARSKA A, et al. Recent advances in the mechanisms of lung alveolarization

and the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 309(11): L1239-L1272

[3] LECARPENTIER Y, GOURRIER E, GOBERT V, et al. Bronchopulmonary dysplasia: crosstalk between PPARgamma, WNT/beta-catenin and TGF-beta pathways; The potential therapeutic role of PPARgamma agonists[J]. *Front Pediatr*, 2019, 7:176

[4] NAEEM A, AHMED I, SILVEYRA P. Bronchopulmonary dysplasia: an update on experimental therapeutics [J]. *Eur Med J(Chelmsf)*, 2019, 4(1):20-29

[5] HADCHOUEL A, DELACOURT C. Bronchopulmonary dysplasia and genetics [J]. *Med Sci (Paris)*, 2013, 29(10):821-823

[6] DIAZ-LAGARES A, CRUJEIRAS A B, LOPEZ-SERRA P, et al. Epigenetic inactivation of the p53-induced long noncoding RNA TP53 target 1 in human cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(47):E7535-E7544

[7] VIERECK J, THUM T. Circulating noncoding RNAs as biomarkers of cardiovascular disease and injury [J]. *Circ Res*, 2017, 120(2):381-399

[8] LU W, HUANG S Y, SU L, et al. Long noncoding RNA LOC100129973 suppresses apoptosis by targeting miR-4707-5p and miR-4767 in vascular endothelial cells[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:21620

[9] ZENG Q, WANG Q, CHEN X, et al. Analysis of lncRNAs expression in UVB-induced stress responses of melanocytes[J]. *J Dermatol Sci*, 2016, 81(1):53-60

[10] WANG J, YIN J, WANG X, et al. Changing expression profiles of mRNA, lncRNA, circRNA, and miRNA in lung tissue reveal the pathophysiological of bronchopulmonary dysplasia (BPD) in mouse model [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(6):9369-9380

[11] BAO T P, WU R, CHENG H P, et al. Differential expression of long non-coding RNAs in hyperoxia-induced bronchopulmonary dysplasia [J]. *Cell Biochem Funct*, 2016, 34(5):299-309

[12] 张 媛,程怀平,包天平,等. 高氧诱导肺损伤新生小鼠肺组织中长链非编码RNANANCI的表达及对NKX2.1的调控作用[J]. *中国当代儿科杂志*, 2017, 19(2):215-221

[13] ENGREITZ J M, HAINES J E, PEREZ E M, et al. Local regulation of gene expression by lncRNA promoters, transcription and splicing [J]. *Nature*, 2016, 539(7629):452-455

[14] 张 喆,贾立周,唐 奇,等. TROP2和VEGFR2在三阴性乳腺癌中的表达及与临床病理因素的相关性研究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(10):1453-1458

[15] MENG L, ZHAO X, ZHANG H. HIPK1 interference attenuates inflammation and oxidative stress of acute lung injury via autophagy[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25:827-835

[16] REY C, SOUBEYRAN I, MAHOUCHE I, et al. HIPK1 drives p53 activation to limit colorectal cancer cell growth [J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(12):1879-1891

[17] SHANG Y, DOAN C N, ARNOLD T D, et al. Transcriptional corepressors HIPK1 and HIPK2 control angiogenesis via TGF-beta-TAK1-dependent mechanism[J]. *PLoS Biol*, 2013, 11(4):e1001527

[18] SUCRE J M, VIJAYARAJ P, AROS C J, et al. Posttranslational modification of beta-catenin is associated with pathogenic fibroblastic changes in bronchopulmonary dysplasia[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2017, 312(2):L186-L195

[19] SCHMITZ M L, RODRIGUEZ-GIL A, HORNUNG J. Integration of stress signals by homeodomain interacting protein kinases[J]. *Biol Chem*, 2014, 395(4):375-386

[收稿日期] 2019-10-29

(上接第949页)

*Med(Berl)*, 2009, 87(12):1191-1205

[8] GITELMAN S E, BLUESTONE J A. Regulatory T cell therapy for type 1 diabetes: May the force be with you[J]. *J Autoimmun*, 2016, 71:78-87

[9] TARBELL K V, PETIT L, ZUO X, et al. Dendritic cell-expanded, islet-specific CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> regulatory T cells restore normoglycemia in diabetic NOD mice [J]. *J Exp Med*, 2007, 204(1):191-201

[10] ZHAO L, CAO Y J. Engineered T cell therapy for cancer in the clinic[J]. *Front Immunol*, 2019, 10:2250

[11] MACDONALD K G, HOEPPLI R E, HUANG Q, et al. Alloantigen-specific regulatory T cells generated with a chimeric antigen receptor[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(4):1413-1424

[12] ANDERSSON C, VAZIRI-SANI F, DELLI A, et al. Triple specificity of ZnT8 autoantibodies in relation to HLA and other islet autoantibodies in childhood and adolescent type 1 diabetes[J]. *Pediatr Diabetes*, 2013, 14(2):97-105

[13] STECK A K, DONG F, WAUGH K, et al. Predictors of slow progression to diabetes in children with multiple islet autoantibodies[J]. *J Autoimmun*, 2016, 72:113-117

[14] WILLIAMS C L, LONG A E. What has zinc transporter 8 autoimmunity taught us about type 1 diabetes?[J]. *Diabetologia*, 2019, 62(11):1969-1976

[收稿日期] 2020-01-13