

DOI: 10.14188/j.1671-8852.2024.0509

文章编号 1671-8852(2025)02-0142-05

NKT细胞缺乏通过促进树突状细胞肺部募集 减轻肺损伤

竹雪¹ 刘世平¹ 王慧娟¹ 张云龙¹ 潘明亮¹ 张召才² 宋振举³ 王璐¹ 詹丽英¹

¹武汉大学人民医院重症医学科 湖北 武汉 430060;

²浙江大学医学院附属第二医院重症医学科/浙江省急危重症临床医学研究中心

浙江 杭州 310009;

³复旦大学附属中山医院急诊科/复旦大学应急救援与急危重症研究所 上海 200032

摘要 目的:探讨自然杀伤T(NKT)细胞促进急性呼吸窘迫综合征(ARDS)肺损伤的机制。方法:利用野生型C57BL/6和CD1d基因敲除小鼠(NKT细胞缺乏),采用气管滴注脂多糖(LPS)的方式构建ARDS模型,分为WT-Control组、WT-ARDS组、CD1d^{-/-}-Control组和CD1d^{-/-}-ARDS组。观察肺组织病理损伤;检测肺组织湿干重比、肺泡灌洗液蛋白浓度及中性粒细胞比例、肺组织树突状细胞(DC)比例及炎症因子变化。结果:与WT-ARDS组相比,CD1d^{-/-}-ARDS组病死率降低,HE染色显示肺组织病理损伤减轻,肺损伤评分减低,肺毛细血管内皮通透性降低($P<0.05$);而且缺乏NKT细胞ARDS小鼠肺组织DC细胞比例升高,促炎性细胞因子IL-6、TNF- α 减少,抑炎性细胞因子IL-10增多($P<0.05$)。结论:NKT细胞通过抑制DC细胞肺部募集加重ARDS肺损伤。

关键词 自然杀伤T细胞;树突状细胞;急性呼吸窘迫综合征;CD1d

中图分类号 R34

文献标识码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



NKT cells promote lung injury by inhibiting lung recruitment of DC cell

ZHU Xue¹, LIU Shiping¹, WANG Huijuan¹, ZHANG Yunlong¹, PAN Mingliang¹, ZHANG Zhaocai²,
SONG Zhenju³, WANG Lu¹, ZHAN Liying¹

¹Dept. of Critical Care Medicine, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei, China;

²Dept. of Critical Care Medicine, The Second Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine & Zhejiang Province Clinical Research Center for Emergency and Critical Care Medicine, Hangzhou 310009, Zhejiang, China;

³Dept. of Emergency, Zhongshan Hospital Fudan University & Institute of Emergency Rescue and Critical Care, Fudan University, Shanghai 200032, China

Abstract

Objective: To investigate the mechanism of Natural Killer T (NKT) cells promoting lung injury in acute respiratory distress syndrome (ARDS). **Methods:** In this study, ARDS mouse models were induced in wild-type (C57BL/6) and CD1d knockout (KO) mice by intratracheal instillation of lipopolysaccharide (LPS). The mice were divided into four groups: the WT-Control, the WT-ARDS, the

课题来源:国家重点研发计划(编号:2021YFC2501800);国家自然科学基金面上项目(编号:82272226);武汉市知识创新专项项目(编号:2023020201010165);武汉大学人民医院交叉创新人才项目(编号:JCRCZN-2022-017)

作者简介:竹雪,女,2001—,医学硕士,主要从事ARDS炎症反应研究,E-mail: 2023283020118@whu.edu.cn

通信作者:詹丽英,女,1971—,医学博士,主任医师,主要从事ARDS炎症反应研究,E-mail: zhanliying@whu.edu.cn

CD1d^{-/-}-Control, and the CD1d^{-/-}-ARDS. We observed the pathological changes in lung tissue and measured the wet/dry (W/D) weight ratio of the lung. Protein concentration and neutrophil ratio in bronchoalveolar lavage fluid (BALF), the proportion of dendritic cells (DCs) and inflammatory factor levels in the lung were also measured. **Results:** Compared with those in the WT-ARDS group, the mortality, lung injury score and pulmonary capillary permeability all decreased significantly in the CD1d^{-/-}-ARDS group ($P < 0.05$). HE staining showed that the pathological state of the lung tissues improved obviously in CD1d KO mice. Besides, levels of pro-inflammatory cytokines (IL-6 and TNF- α) were decreased and the expression of anti-inflammatory cytokine (IL-10) was increased ($P < 0.05$). The proportion of DCs in lung tissues was increased after CD1d gene KO ($P < 0.05$). **Conclusion:** NKT cells aggravate ARDS lung injury by inhibiting lung recruitment of DCs.

Key Words Natural Killer T Cells; Dendritic Cells; Acute Respiratory Distress Syndrome; CD1d

急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是由多种原因 (如严重感染、创伤、烧伤和大手术等) 引起的强烈炎症反应导致的肺部损伤。尽管国内外进行了大量的基础和临床研究, ARDS 目前尚无有效的药物治疗, 关键在于 ARDS 炎症反应的机制尚未完全阐明。自然杀伤 T (natural killer T cell, NKT) 细胞是一类独特的淋巴细胞亚群, 通常分为 I 型和 II 型, 只能通过识别 CD1d 分子递呈的糖脂抗原而激活^[1]。激活的 NKT 细胞产生大量细胞因子, 导致细胞因子风暴^[2]。我们前期研究表明 NKT 细胞能够促进 ARDS 炎症反应^[3], 但具体机制不清。

树突状细胞 (dendritic cells, DC) 是一组形态、结构和功能异质性的专职抗原递呈细胞, 也是迄今为止发现的功能最强的抗原递呈细胞, 它可经体循环进入炎症部位, 调节 T 细胞和 B 细胞应答, 在免疫应答和免疫耐受中起重要作用^[4-5]。研究表明, NKT 细胞通过 DC 细胞激活, 然后反馈性调节 DC 细胞的活化、分化及功能^[6]。目前有多项研究^[5, 7]利用模型抗原证实 NKT 细胞对 DC 细胞的影响。但在 ARDS 发生发展过程中 NKT 细胞与 DC 细胞的交互作用尚未阐明。本研究利用 CD1d 基因敲除小鼠探究 NKT 细胞和 DC 细胞在 ARDS 炎症反应中的相互作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验试剂 anti-CD45、anti-CD11b、anti-Ly6G、anti-CD3、anti-CD11c (BD Pharmingen, 美国), LPS (Sigma-Aldrich, 美国), BCA 试剂盒 (塞维, 中国), TRIzol (TaKaRa Bio, 日本)、NanoDrop

分光光度计、RT-PCR 试剂盒 (Monad Bio, 中国)、RIPA 缓冲液 (塞维尔, 中国)、BCA 蛋白检测试剂盒 (塞维尔, 中国)。

1.2 实验动物 6~8 周 SPF 级雄性野生型 C57BL/6 和 CD1d 基因敲除小鼠, 体重 20~25 g, 购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司。在武汉大学第一临床学院实验动物中心进行适应性喂养 72 h, 维持昼夜节律为 12 h:12 h。所有实验程序严格按照中国实验动物管理立法规定进行, 该实验经武汉大学人民医院动物研究伦理委员会批准 (WDRM No. 20230312B), 本研究中进行的所有动物实验均符合实验动物保护和指南。

1.3 实验动物模型构建 将 WT 小鼠及 CD1d 基因敲除小鼠分为四组 (每组 5 只), 分别为 WT-Control 组、WT-ARDS 组、CD1d^{-/-}-Control 组和 CD1d^{-/-}-ARDS 组。通过腹腔注射 2% 戊巴比妥钠 50 mg/kg 麻醉小鼠, 用微量注射器气道内注射 LPS 30 mg/kg 构建 ARDS 模型。仰卧固定小鼠于实验台上, 消毒后逐层暴露气管, 用微量注射器朝向心端穿过气管软骨环间隙刺入, 若回抽有气体溢出则将 LPS 或生理盐水注入气管内。术毕迅速将小鼠上下及左右分别旋转 20 次, 使药液均匀分布于肺内后放回笼中饲养。造模成功 24 h 后取材并进行指标检测。

1.4 肺泡灌洗术 安乐死处死小鼠后, 仰卧固定小鼠, 逐层暴露气管和胸腔, 结扎右肺, 用 1 mL 注射器吸取 0.4 mL 生理盐水缓慢注入气道内, 可见肺组织膨胀, 维持 15 s 后缓慢回抽灌洗液, 支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 回收率达 70% 以上为灌洗有效, 重复 3 次; 300 g 5 min, 离心收集细胞及上清, 上清保存于 -80 °C 冰箱内, 收集

的细胞行流式细胞术。

1.5 肺组织 HE 病理染色 将小鼠左肺上叶组织固定、包埋和切片后进行苏木精-伊红(HE)染色,然后高倍镜下拍照,采用 Smith 评分评估肺损伤程度。

1.6 BCA(Bicinchoninic acid)法检测 BALF 蛋白浓度 按照 BCA 试剂盒说明书检测肺泡灌洗液蛋白浓度。

1.7 肺组织湿干重(wet-to-dry, W/D)比值的测定 用生理盐水清洗肺组织,滤纸吸干表面水分,称量并记录肺湿重后,把肺组织放入 60℃ 恒温烘箱内烘烤 48 h,称量并记录相应肺组织干重;在 Excel 中输入公式计算肺组织 W/D 比值,以评价肺组织水肿程度。

1.8 q-PCR 法检测肺组织炎症因子水平 使用 TRIzol 试剂(TaKaRa)提取肺组织总 RNA。使用逆转录酶试剂盒合成 cDNA,实时荧光定量法检测靶基因 IL-6、TNF- α 、IL-10、GAPDH 的表达,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 mRNA 的相对表达量。

1.9 流式细胞术检测肺组织 DC 细胞的比例和 BALF 中性粒细胞的比例 取出肺脏组织后放入含有 1 mL 2% FBS 的 EP 管内,置于冰上,剪碎碾磨制备成单细胞悬液。取相同数目细胞进行表面染色,加入相应表面抗体 CD45、CD11b、CD11c、Ly6g,混匀后 4℃ 冰箱内孵育 40 min,注意避光;加入 2 mL PBS 混匀洗涤;300 g $\times$ 5 min 4℃ 离心;轻轻弃掉上清,将 100 μ L 2% 多聚甲醛加入试管内固定细胞;应用流式细胞仪上调好电压条件后收集细胞,应用 Flowjo 软件进行数据分析。

1.10 统计学方法 运用 Graphpad 8.0 软件分析处理数据并绘制柱状图。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组样本间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学

意义。

2 结果

2.1 NKT 细胞缺乏降低 ARDS 病死率 应用 CD1d 基因敲除小鼠探讨 NKT 细胞对 ARDS 病死率的影响。构建 ARDS 模型后,每天观察并记录死亡的小鼠数量,如图 1 所示。在第 2 天,WT-ARDS 组小鼠存活率为 75%,CD1d^{-/-}-ARDS 组小鼠存活率为 83.3%;在第 7 天,WT-ARDS 组小鼠存活率为 25%,而 CD1d^{-/-}-ARDS 组小鼠存活率为 66.7%,故 NKT 细胞缺乏 ARDS 小鼠与 WT 小鼠相比,病死率显著降低($P < 0.05$)。

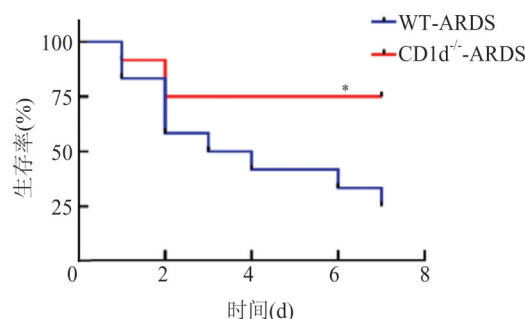


图 1 NKT 细胞缺乏降低 LPS 诱导的 ARDS 小鼠病死率
生存率曲线图, * $P < 0.05$

2.2 NKT 细胞缺乏减轻 ARDS 肺损伤 应用 CD1d 基因敲除小鼠探讨 NKT 细胞对 ARDS 肺损伤的影响。WT-Control 组 HE 染色显示肺组织结构正常(图 2A)。WT-ARDS 组肺组织中白细胞浸润增多、肺泡充血/出血,伴有肺泡塌陷和肺泡壁增厚(图 2A)。与 WT-ARDS 组相比,CD1d^{-/-}-ARDS 组肺部形态学损伤较轻,表现为白细胞浸润减少、肺泡充血/出血减轻、肺泡塌陷和肺泡壁增厚面积减少(图 2A)、肺损伤评分(图 2B)明显减低($P < 0.001$)。

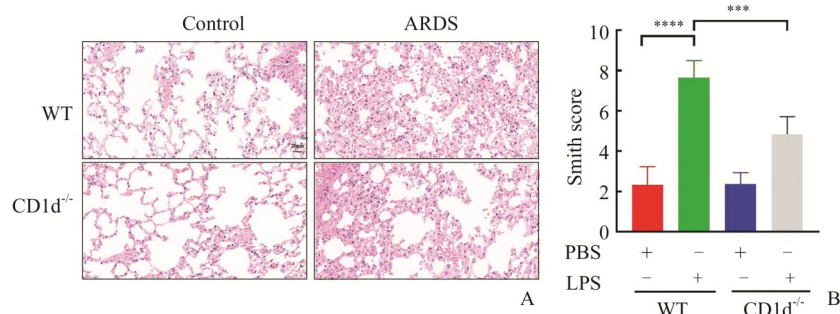


图 2 NKT 细胞缺乏减轻 LPS 诱导的 ARDS 肺病理损伤

气管内注射 LPS 24 h 后留取肺组织。A. 肺组织 HE 染色($n=5$),比例尺=20 μ m;B. 肺病理损伤评分。所示数据为均数 $\pm$ 标准差。*** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

2.3 NKT细胞缺乏降低ARDS肺毛细血管通透性

为了探讨NKT细胞对ARDS肺毛细血管通透性的影响,检测肺组织W/D比值、BALF蛋白浓度及中性粒细胞比例。与WT-Control组相比,WT-ARDS组蛋白浓度增高(图3A)($P<0.0001$),中性

粒细胞比例增多(图3B)($P<0.01$),W/D比值升高(图3C)($P<0.05$);与WT-ARDS组相比,CD1d^{-/-}-ARDS组蛋白浓度及W/D比值均减少(图3A、3C)($P<0.05$),中性粒细胞比例降低(图3B)($P<0.0001$)。

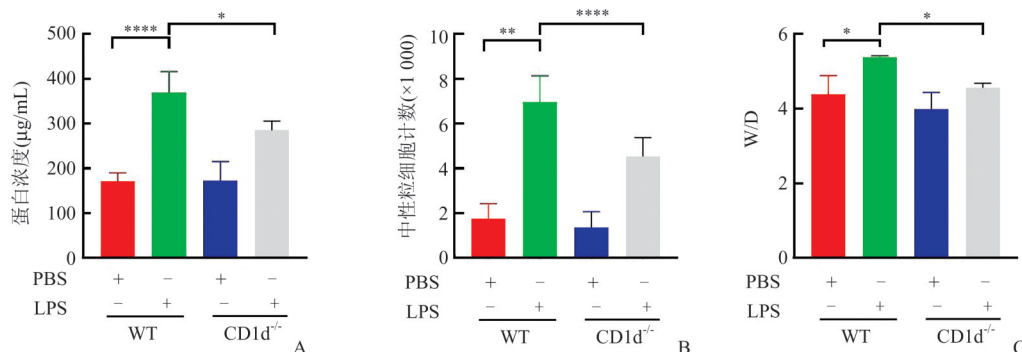


图3 NKT细胞缺乏降低LPS诱导的ARDS小鼠肺毛细血管通透性

气管内注射LPS后24 h取BALF和肺组织检测。A. BALF中的蛋白浓度比较;B. BALF中性粒细胞计数;C. 计算W/D比值以评价小鼠肺水肿程度。所示数据为均数±标准差。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, **** $P<0.0001$

2.4 NKT细胞缺乏减轻ARDS肺部炎症

为了评估NKT细胞对ARDS炎症反应因子表达的影响,我们应用q-PCR法检测肺组织炎症因子mRNA表达水平。与WT-Control组相比,WT-ARDS组肺组

织炎症因子IL-6、TNF- α 均显著增多(图4)($P<0.05$)。与WT-ARDS组相比,CD1d^{-/-}-ARDS组炎症因子IL-6、TNF- α 均显著减少,IL-10显著增多(图4)($P<0.05$)。

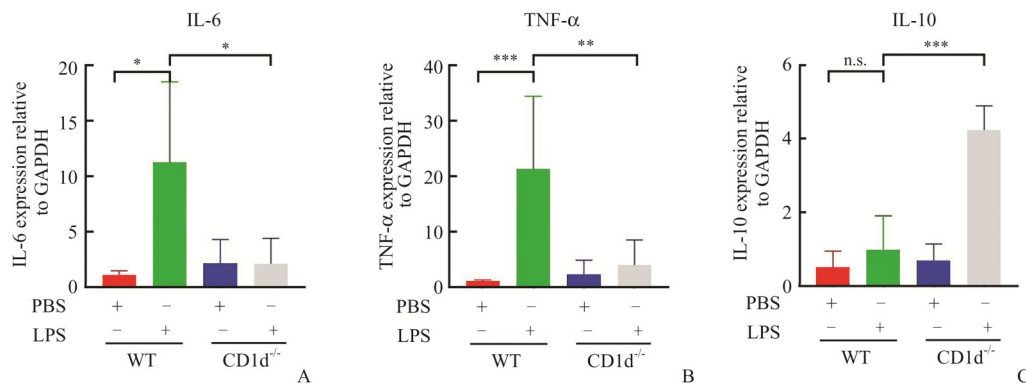


图4 NKT细胞缺乏减轻LPS诱导的ARDS小鼠肺部炎症

ARDS造模后24 h收集肺组织检测。q-PCR法检测小鼠肺组织中的IL-6(A)、TNF- α (B)和IL-10水平(C),以评价炎症因子的表达水平($n=5$)。所示数据为均数±标准差。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, n.s.:差异无统计学意义

2.5 NKT细胞缺乏促进DC细胞在肺部的募集

为进一步探究NKT细胞促进ARDS早期炎症反应的机制,我们应用流式细胞术检测肺组织中固有免疫提呈细胞DC细胞的比例。与WT-Control组相比,WT-ARDS组肺组织DC细胞(CD45⁺-CD11b⁺CD11c⁺)(图5A)比例显著减少(图5B)($P<0.05$);与WT-ARDS组相比,CD1d^{-/-}-ARDS组肺组织DC细胞比例显著增多(图5B)($P<0.001$)。

3 讨论

本研究选用CD1d基因敲除的小鼠,并通过气道滴注LPS构建ARDS模型,深入研究了NKT细胞促进ARDS肺损伤的机制。通过小鼠生存率、肺组织HE染色、炎症因子表达水平和肺毛细血管通透性等发现,NKT细胞抑制DC细胞在肺部的募集,加重肺组织炎症反应,进而降低ARDS小鼠的存活率。

研究表明,NKT细胞浸润促进早期肺部炎症反

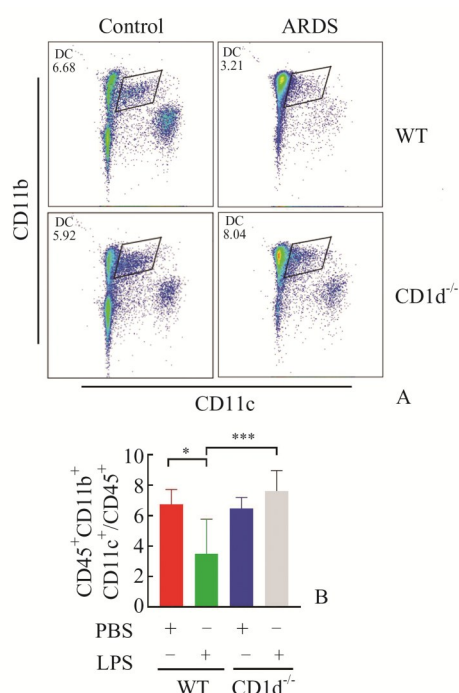


图5 NKT细胞缺乏促进DC细胞在LPS诱导的ARDS小鼠肺组织中募集

气管内注射 LPS 24 h 后取肺脏制备单细胞悬液,并用抗 CD45、抗 CD11b、抗 CD11c 抗体染色。A. 通过流式细胞术检测肺组织中 DC 细胞的比例,DC 细胞定义为 CD45⁺CD11b⁺CD11c⁻(n=5);B. 数据表示为肺脏中 DC 细胞与 CD45⁺细胞的比值(n=3~5)。所示结果来自三个独立实验之一;数据为平均值±标准差;*P<0.05,***P<0.001

应^[8-9]。本研究结果显示,CD1d 基因敲除的 ARDS 小鼠肺组织 W/D 比值降低、肺泡灌洗液中中性粒细胞比例及蛋白浓度减少,促炎性细胞因子 IL-6、TNF- α 减少,抑制性细胞因子 IL-10 增多,这些结果也提示了 NKT 细胞促进 ARDS 肺损伤,增加 ARDS 病死率。

目前已知一些 NKT 细胞表达不变的 T 细胞受体 α 链,被称为恒定自然杀伤 T 细胞^[10](invariant natural killer T cells, iNKT)。Bourgeois 等^[11]的研究发现,iNKT 细胞能够防御肺部病毒性感染,在癌症、自身免疫性疾病中起重要作用。但在本研究中,我们观察到 CD1d 基因敲除的 ARDS 小鼠病死率降低,肺组织病理损伤减轻。因此我们推测,NKT 细胞在肺部炎症反应中的调节作用较为复杂。

多项研究^[12-14]表明,在呼吸道衣原体感染中 NKT 细胞能够反馈性调节 DC 细胞的表型和功能。NKT 细胞缺乏小鼠肺组织中 DC 细胞的数量、表型和细胞因子谱发生显著改变^[13]。我们的实验结果也显示,NKT 细胞能够抑制 DC 细胞在肺部的募

集,在 NKT 细胞缺乏的 ARDS 小鼠肺组织 DC 细胞募集显著增多。

我们的研究具有一定的局限性:首先本研究利用的是气道内注入 LPS 30 mg/kg 构建 ARDS 模型^[15],然而该模型不能完全反映肺外性因素(如休克、大手术等)或者其他非革兰阴性菌感染等所导致的 ARDS。其次本研究仅在 ARDS 动物模型上观察到 NKT 能够抑制 DC 细胞在肺部的募集,但仍需进一步的动物实验以及临床研究进行验证并阐明其潜在的机制,为我们更好地理解 ARDS 发病机制奠定基础。

综上所述,NKT 细胞可以通过抑制 DC 细胞在肺部的募集从而促进 ARDS 炎症的发生。该研究为我们深入了解 NKT 细胞和 DC 细胞在 ARDS 早期炎症反应中的交互作用奠定了基础,同时也有助于我们更好地理解 ARDS 炎症反应机制。

参考文献

- [1] Almeida C F, Sundararaj S, Le Nours J, et al. Distinct CD1d docking strategies exhibited by diverse Type II NKT cell receptors [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 5242.
- [2] van Kaer L, Parekh V V, Wu L. The response of CD1d-restricted invariant NKT cells to microbial pathogens and their products [J]. Front Immunol, 2015, 6: 226.
- [3] Zou L, Dang W, Tao Y, et al. The IL-33/ST2 axis promotes acute respiratory distress syndrome by natural killer T cells [J]. Shock, 2023, 59(6): 902-911.
- [4] Mildner A, Jung S. Development and function of dendritic cell subsets [J]. Immunity, 2014, 40(5): 642-656.
- [5] Del Prete A, Salvi V, Soriani A, et al. Dendritic cell subsets in cancer immunity and tumor antigen sensing [J]. Cell Mol Immunol, 2023, 20(5): 432-447.
- [6] Zhao L, Yang X. Cross talk between natural killer T and dendritic cells and its impact on T cell responses in infections [J]. Front Immunol, 2022, 13: 837767.
- [7] Hermans I F, Silk J D, Gileadi U, et al. Dendritic cell function can be modulated through cooperative actions of TLR ligands and invariant NKT cells [J]. J Immunol, 2007, 178(5): 2721-2729.
- [8] Hodge G, Hodge S. Therapeutic targeting steroid resistant pro-inflammatory NK and NKT-like cells in chronic inflammatory lung disease [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(6): 1511.

(下转第 165 页)

- ferroptosis *via* p53/slc7a11 pathway[J]. Shock, 2024, 61(1): 105-111.
- [8] Murata T, Ishiwa S, Lin X, et al. The *Citrus* flavonoid, nobiletin inhibits neuronal inflammation by preventing the activation of NF- κ B[J]. Neurochem Int, 2023, 171: 105613.
- [9] Huang X, Zhang R, Fan G, et al. Incidence and outcomes of acute respiratory distress syndrome in intensive care units of mainland China: A multicentre prospective longitudinal study [J]. Crit Care, 2020, 24(1): 515.
- [10] Zhang J, Zheng Y P, Wang Y, et al. YAP1 alleviates sepsis-induced acute lung injury *via* inhibiting ferritinophagy-mediated ferroptosis[J]. Front Immunol, 2022, 13: 884362.
- [11] Fernández A, Ordóñez R, Reiter R J, et al. Melatonin and endoplasmic reticulum stress: Relation to autophagy and apoptosis[J]. J Pineal Res, 2015, 59(3): 292-307.
- [12] Li X, Xiao C, Yuan J, et al. Rhein-attenuates LPS-induced acute lung injury *via* targeting NFATc1/Trem2 axis[J]. Inflamm Res, 2023, 72(6): 1237-1255.
- [13] Yang X S, Deng Y D, Tu Y L, et al. Nobiletin mitigates NAFLD *via* lipophagy and inflammation[J]. Food Funct, 2022, 13(19): 10186-10199.
- [14] Wang Z Q, Yang B, Chen X P, et al. Nobiletin regulates ROS/ADMA/DDAHII/eNOS/NO pathway and alleviates vascular endothelium injury by iron overload [J]. Biol Trace Elem Res, 2020, 198(1): 87-97.
- [15] Wang H H, Sun Y N, Qu T Q, et al. Nobiletin prevents *D*-galactose-induced C2C12 cell aging by improving mitochondrial function[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(19): 11963.
- [16] Li W F, Zhao R Q, Wang X M, et al. Nobiletin-ameliorated lipopolysaccharide-induced inflammation in acute lung injury by suppression of NF- κ B pathway *in vivo* and *vitro*[J]. Inflammation, 2018, 41(3): 996-1007.
- [17] Zeng M C, Sang W H, Chen S, et al. 4-PBA inhibits LPS-induced inflammation through regulating ER stress and autophagy in acute lung injury models[J]. Toxicol Lett, 2017, 271: 26-37.
- [18] Chen X Z, Wang Y L, Xie X, et al. Heme oxygenase-1 reduces sepsis-induced endoplasmic reticulum stress and acute lung injury[J]. Mediators Inflamm, 2018, 2018: 9413876.

(2024-07-10 收稿)

编辑 沈建国

(上接第 146 页)

- [9] Kim D M, Seo J W, Kim Y, et al. Eosinophil-mediated lung inflammation associated with elevated natural killer T cell response in COVID-19 patients [J]. Korean J Intern Med, 2022, 37(1): 201-209.
- [10] Crosby C M, Kronenberg M. Tissue-specific functions of invariant natural killer T cells [J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(9): 559-574.
- [11] Bourgeois E A, Levescot A, Diem S, et al. A natural protective function of invariant NKT cells in a mouse model of innate-cell-driven lung inflammation [J]. Eur J Immunol, 2011, 41(2): 299-305.
- [12] Zhao L, Gao X, Bai H, et al. The important role of dendritic cell (DC) in iNKT-mediated modulation of NK cell function in chlamydia pneumoniae lung infection [J]. Mediators Inflamm, 2019, 2019: 4742634.
- [13] Shekhar S, Joyee A G, Gao X, et al. Invariant natural killer T cells promote T cell immunity by modulating the function of lung dendritic cells during chlamydia pneumoniae infection [J]. J Innate Immun, 2015, 7(3): 260-274.
- [14] Shekhar S, Joyee A G, Gao X, et al. Invariant NKT cells preferentially modulate the function of CD8 α^+ dendritic cell subset in inducing type 1 immunity against infection [J]. J Immunol, 2010, 184(4): 2095-2106.
- [15] Wang L, Wang T, Li H, et al. Receptor interacting protein 3-mediated necroptosis promotes lipopolysaccharide-induced inflammation and acute respiratory distress syndrome in mice [J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0155723.

(2024-07-07 收稿)

编辑 孙孝云