

· 实验研究 ·

高氧致新生鼠慢性肺疾病 HoxB5 SPC AQP5 表达及其意义

许巍, 富建华, 薛辛东

(中国医科大学附属盛京医院儿科, 辽宁 沈阳 110004)

[摘 要] 目的 肺泡上皮损伤是慢性肺疾病(CLD)主要病理改变之一,HoxB5 基因是在肺发育过程中表达强烈的基因之一。该文探讨高浓度氧致新生鼠肺损伤时肺泡上皮损伤及修复能力,研究 HoxB5 在这一损伤中的动态表达规律及其与前者的关系。方法 建立高氧诱导新生鼠 CLD 模型,80 只早产鼠被随机分为实验组及对照组,分别应用免疫组化及 RT-PCR 技术测定肺组织 HoxB5,SPC,AQP5 蛋白及 mRNA 表达。结果 实验组肺组织 HoxB5 表达 7 d 后逐渐减少;高氧肺损伤 SPC 3 d 表达明显减少,7 d 后开始增多,14 d、21 d 明显高于对照组;而 AQP5 随着肺损伤加重表达量进行性下降。结论 高氧肺损伤新生鼠肺泡上皮细胞损伤明显,根据 SPC,AQP5 表达结果提示 I 型肺泡上皮细胞(AECI)损伤更甚且未得到正常修复,II 型肺泡上皮细胞(AECII)虽然数量有所增加但其分化转化能力明显下降,而 HoxB5 表达量减少可能致使大量的 AECII 失去了分化为 AECI 的功能。

[中国当代儿科杂志,2009,11(1):51-55]

[关键词] HoxB5;SPC;AQP5;慢性肺疾病;肺泡上皮细胞;大鼠

[中图分类号] R-33 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2009)01-0051-05

Expression of HoxB5, SPC and AQP5 in neonatal rats with hyperoxia-induced chronic lung disease

XU Wei, FU Jian-Hua, XUE Xin-Dong. Department of Pediatrics, Second Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China (Xue X-D, Email: xdxue@163.com)

Abstract: Objective Alveolar epithelium impairment is one of pathological changes associated with chronic lung disease (CLD). Hoxb5 is one of the few homeobox genes strongly expressed in the developing lung. This study investigated the expression of HoxB5, SPC and AQP5 in rats with CLD in order to explore the role of Hoxb-5 in impairment and reparation of alveolar epithelium. **Methods** Eighty neonatal rats were randomly exposed to hyperoxia (model group) or to room air (control group) (n=40 each). The CLD model was induced by hyperoxia exposure. The expression of HoxB5, SPC and AQP5 protein and mRNA in the lung tissue was detected by immunohistochemistry and RT-PCR 1, 3, 7, 14 and 21 days after exposure. **Results** In the model group HoxB5 expression significantly decreased 7, 14 and 21 days after hyperoxia exposure. SPC expression decreased 3 days after hyperoxia exposure but increased significantly 7, 14 and 21 days after hyperoxia exposure as compared to the control group. AQP5 expression was progressively reduced with prolonged hyperoxia exposure. **Conclusions** Hyperoxia exposure may lead to alveolar epithelial cell (AEC) damage in neonatal rats. The increased SPC expression and decreased AQP5 expression suggested that the ability of differentiation and transformation of AECII into AECI decreased in neonatal rats with CLD. The decreased HoxB5 expression following hyperoxia exposure might contribute to a decreased ability of differentiation of AECII. [Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (1):51-55]

Key words: HoxB5; SPC; AQP5; Chronic lung disease; Alveolar epithelial cell; Rats

随着极低体重儿抢救成活率的提高,其慢性肺疾病(CLD)的发生率有逐渐上升的趋势,虽发病机制及病理过程尚未完全清楚,但吸入高浓度氧已被认为是早产儿 CLD 发生的最常见原因和最危险因素。肺泡上皮细胞损伤和晚期肺纤维化是 CLD 主要病理特征,肺泡上皮细胞损伤后修复障碍是这一病理改变的主要原因之一。Hox 基因在包括人类的很多物种中表达,这些基因首先在果蝇的立体结构

的发育中给予描述^[1]。在 Hox 基因中存在一个高度保守的同源结构域基因,这个基因表达一种同源结构域蛋白,这种同源结构域蛋白与 DNA 上一个特殊的调控区域相结合,决定细胞的命运和组织结构。大鼠 HoxB5 位于 Hoxb 簇的靠近中间的位置,它是表达于发育中鼠肺中的几个 Hox 基因中的一个,在肺中表达的量仅次于脊髓^[2,3]。大鼠胚胎 14.5 d 之前 HoxB5 主要表达于支气管周围的间充质细胞,之

[收稿日期]2008-03-05;[修回日期]2008-04-08
[作者简介]许巍,男,博士,主治医师。主攻方向:新生儿肺疾病。
[通讯作者]薛辛东,男,教授,中国医科大学附属盛京医院儿科,邮编 110004。

后在肺组织中表达的位置上不清楚^[4]。生后 HoxB5 同样在肺组织中大量表达,且在肺泡上皮细胞中也有较多表达^[3-5]。高氧肺损伤时 AECII 向 AECI 转化障碍是否也有该基因的参与尚不得知。本实验建立高氧新生鼠肺损伤模型应用免疫组织化学方法和 RT-PCR 方法对 HoxB5, SPC, AQP5 检测,主要阐明 HoxbB5 变化与肺泡上皮细胞改变之间的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物

体重 225 ~ 265 g Wistar 大鼠,由我院实验动物部提供,雌雄交配,以孕 21 ~ 23 d 自然分娩的新生大鼠为研究对象。

1.2 动物模型的制备

在生后 12 h 内,每窝鼠仔依据吸入氧浓度的不同随机分为高氧实验组和空气对照组。高氧组置于氧箱中,持续输入氧气,氧浓度维持在 85% ~ 90%,每日用数字式测氧仪监测(美国 OM-25ME 型),用钙石灰吸收 CO₂,使其浓度 < 0.5% (Dapex 气体分析仪),温度 25 ~ 26℃,湿度 60% ~ 70%,每天开箱 0.5 h,喂水及饲料,更换垫料,与空气组互换母鼠以避免母鼠因氧中毒而致护理能力降低;空气组置于同一室内空气中(氧浓度 21%),饲养条件与高氧组相同。

1.3 标本采集

于实验后 1, 3, 7, 14, 21 d 分别从两组中各抽取 8 只,腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉(300 mg/kg)。打开胸腔,取下左肺浸泡于 4% 多聚甲醛中固定,石蜡包埋,常规制备 4 μm 肺组织切片用于 HoxB5, AQP5, SPC 蛋白的免疫组化分析;分离右肺,用冷生理盐水洗净残血,吸干水分, - 80℃ 冷冻保存用于 HoxB5, AQP5, SPC 的 mRNA RT-PCR 检测。

1.4 实验方法

1.4.1 HoxB5 蛋白免疫组织化学 采用 SABC 免疫组织化学方法,以 1:50 稀释的兔抗大鼠 HoxB5 抗体为一抗(购自 uscnlife),按 SABC 方法染色,以细胞浆或/和细胞核中有棕黄色颗粒沉着为阳性细胞。

1.4.2 SPC 蛋白免疫组织化学 采用 SABC 免疫组织化学方法,以 1:160 稀释的羊抗大鼠 SPC 抗体为一抗(购自 Santa Cruz Biotechnology),按 SABC 方法染色,以细胞浆有棕黄色颗粒沉着为阳性细胞。

1.4.3 AQP5 蛋白免疫组织化学 采用 SABC 免疫组织化学方法,以 1:200 稀释的羊抗大鼠 AQP5

抗体为一抗(购自 Santa Cruz Biotechnology),按 SABC 方法染色,以细胞膜和细胞浆有棕黄色颗粒沉着为阳性细胞。

1.4.4 HoxB5, SPC, AQP5 免疫组化结果判定

应用美国 Universal Imaging Porporation 图像分析系统,应用 Meta Morph 软件测定平均积分光密度值,以检测阳性产物的强度。平均积分光密度值越高,其阳性反应产物表达强度越强,表明蛋白的含量越高。

1.4.5 HoxB5, SPC, AQP5 mRNA RT-PCR 检测

总的 mRNA 从 10 组共 80 例标本中提取(每组 8 例),采用 RT-PCR 技术。以 TR IZOL 提取总 RNA,逆转录合成 cDNA 后进行 PCR 扩增。引物序列如下:β-actin(内参照)上游:5'2 GAT TGC CTC AGG ACA TTTCTG23',下游:5'-GAT TGC TCA GGA CAT TTC TG-3'(690 bp)。PCR 条件:94℃ 变性 3 min, 94℃ 45 s, 58℃ 1 min, 72℃ 1 min,共 35 个循环,72℃ 延伸 7 min。HoxB5 上游:5'-GGG GCA GAC TCC ACA GAT-3'下游:5'-CAC TTC ATG CGA CGG TTC-3'(237 bp);SPC 上游:5'-GCC TTC TCG TCG TGG TTG-3',下游:5'-CAG CAC TGT GCC CTT CTT-3'(309 bp);AQP5 上游:5'-TGT GCT CCC TTG CCT TCT-3',下游:5'-AGT AAT GGC TGG ATT GAT GTG-3'(206bp)。PCR 条件:94℃ 变性 3 min, 94℃ 40 s, 55℃ 1 min, 72℃ 1 min,共 35 个循环,72℃ 延伸 7 min。扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳,溴化乙啶染色,紫外灯下观察结果。以各监测指标与 β-actin 扩增产物的光密度比值表示每个标本的相对 mRNA 水平。

1.5 统计分析

应用 SPSS 10.0 统计软件进行统计学处理,所有数据均以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验。比较结果的差异性均以 *P* < 0.05 为标准。

2 结果

2.1 肺组织形态学的改变(光镜)

空气对照组 1,3 d 均表现为肺泡样结构不规则,肺泡腔小,肺泡间隔较厚;7 ~ 21 d 肺泡结构逐渐规整,大小较均匀,肺泡间隔变薄。高氧实验组 1 d 时较对照组无明显改变;3 d 肺泡腔内有少许红细胞渗出、肺泡间隔有炎性细胞浸润;7 d 时仍可见出血、肺水肿、炎症细胞浸润、间质细胞增多,并出现终末气腔扩张、肺分隔、肺泡数量减少;14 d 时肺泡腔明显增大,少数肺泡融合,肺泡数量进一步减少,

肺间质成纤维细胞明显增加;21 d 正常肺泡结构消失,数量明显减少,肺泡腔直径明显增大,肺分隔明显减少,肺泡壁菲薄,肺间质胶原沉积增加(图1)。

2.2 免疫组织化学检测 HoxB5 蛋白、SPC 蛋白、AQP5 蛋白的表达

HoxB5 在新生鼠肺组织中主要表达肺泡上皮细胞、支气管黏膜细胞和血管内皮细胞下。对照组 1, 3, 7 d 表达强度逐渐增强并且在 7 d 时达到高峰, 14, 21 d 表达稍有下降。实验组 1 d、3 d 表达量较多,与对照组比较无明显差别, 7 d、14 d、21 d 表达明显下降与实验组差异存在显著性($P < 0.01$), 见图2及表1。

SPC 为Ⅱ型肺泡上皮细胞标志蛋白,实验组 3 d 明显低于对照组($P < 0.05$), 1 d、7 d 无明显差异, 14 d、21 d 明显高于对照组($P < 0.05$), 见图3及表2。

AQP5 为Ⅰ型肺泡上皮细胞的标志蛋白,免疫组

化监测显示 1 d、3 d 两组无差异, 7 d、14、21 d 实验组均低于对照组,差异有显著性($P < 0.05$), 见图4及表3。

2.3 RT-PCR 检测 HoxB5、SPC、AQP5 mRNA 表达动态变化

HoxB5 mRNA 在新生鼠肺组织中表达,实验组与对照组之间 1 d、3 d 无明显差异,而 7 d、14 d、21 d 差异有显著性($P < 0.05$), 见表4。

SPC mRNA 的表达不呈直线改变,实验组与对照组比较, 3 d 时明显减少, 7 d、14 d、21 d 时其表达有明显增多,且相对量多于对照组,两组间差异有显著性($P < 0.05$), 见表5。

AQP5 mRNA 表达量实验组逐渐减少, 14 d、21 d 变化减缓;对照组逐渐增加且趋势平缓。两组间除 1 d 外其他各组差异均存在显著性($P < 0.05$), 见表6。

表 1 两组新生鼠肺组织中 HoxB5 表达的平均积分光密度值变化 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

分组	日龄(d)				
	1	3	7	14	21
对照组	15.10 ± 4.31	16.38 ± 4.92	36.73 ± 10.11	23.95 ± 7.01	20.69 ± 5.41
实验组	14.09 ± 4.21	17.32 ± 5.01	12.24 ± 3.92 ^a	9.46 ± 2.83 ^a	6.33 ± 1.21 ^a

a: 与对照组比较, $P < 0.01$

表 2 两组新生鼠肺组织中 SPC 表达的平均积分光密度值变化 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

分组	日龄(d)				
	1	3	7	14	21
对照组	2.52 ± 0.51	3.09 ± 0.67	3.22 ± 0.76	3.31 ± 0.81	3.35 ± 0.82
实验组	2.46 ± 0.48	1.23 ± 0.14 ^a	3.12 ± 0.71	4.99 ± 0.96 ^a	6.37 ± 1.12 ^a

a: 与对照组比较, $P < 0.05$

表 3 两组新生鼠肺组织中 AQP5 表达的平均积分光密度值变化 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

分组	日龄(d)				
	1	3	7	14	21
对照组	3.58 ± 0.69	3.92 ± 0.86	4.46 ± 0.97	5.32 ± 1.11	5.71 ± 1.02
实验组	3.66 ± 0.72	3.86 ± 0.84	3.35 ± 0.73 ^a	2.06 ± 0.21 ^a	1.43 ± 0.36 ^a

a: 与对照组比较, $P < 0.05$

表 4 两组新生鼠肺组织中 HoxB5 mRNA 表达水平的比较 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

分组	日龄(d)				
	1	3	7	14	21
对照组	1.27 ± 0.09	1.29 ± 0.10	1.45 ± 0.13	1.52 ± 0.12	1.49 ± 0.15
实验组	1.32 ± 0.11	1.26 ± 0.12	0.92 ± 0.09 ^a	0.71 ± 0.06 ^a	0.41 ± 0.05 ^a

a: 与对照组比较, $P < 0.05$

表 5 两组新生鼠肺组织中 SPC mRNA 表达水平的比较 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

分组	日龄(d)				
	1	3	7	14	21
对照组	1.24 ± 0.12	1.27 ± 0.12	1.29 ± 0.14	1.28 ± 0.13	1.30 ± 0.13
实验组	1.26 ± 0.13	0.45 ± 0.06 ^a	1.31 ± 0.11 ^a	1.42 ± 0.15 ^a	1.52 ± 0.14 ^a

a: 与对照组比较, $P < 0.05$

表 6 两组新生鼠肺组织中 AQP5mRNA 表达水平的比较 (n = 8, $\bar{x} \pm s$)

分组	日龄 (d)				
	1	3	7	14	21
对照组	0.93 ± 0.09	1.02 ± 0.10	1.13 ± 0.11	1.20 ± 0.14	1.18 ± 0.15
实验组	0.94 ± 0.11	0.88 ± 0.08 ^a	0.64 ± 0.07 ^a	0.53 ± 0.05 ^a	0.52 ± 0.06 ^a

a: 与对照组比较, P < 0.05

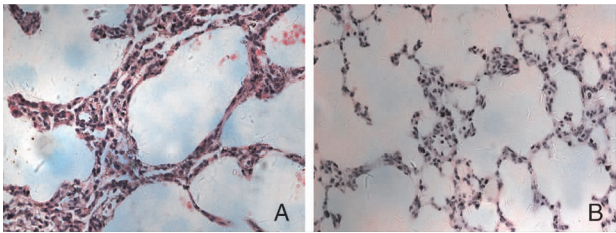


图 1 两组 21 d 肺组织病理图 (×400)。A: 实验组 21 d 肺组织可见肺泡腔明显增大, 肺泡融合, 肺泡数量减少, 肺泡壁显著增厚, 肺间质成纤维细胞明显增加; B: 对照组 21 d 肺组织可见肺泡结构基本规整, 小较均匀, 肺泡间隔变薄。

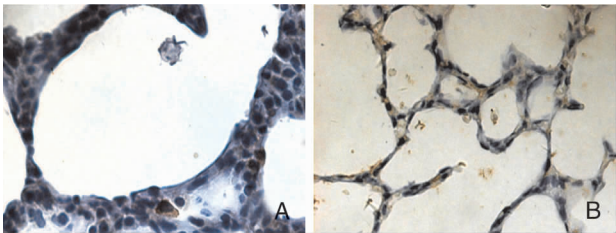


图 2 两组 7d 肺组织 HoxB5 蛋白表达 (SABC 免疫组化 ×400)。(胞浆/胞核有棕黄色颗粒沉着即为阳性细胞)。A: 实验组可见出血、肺水肿、炎症细胞浸润、间质细胞增多, 并出现终末气囊扩张、肺分隔、肺泡数量减少。HoxB5 蛋白在肺上皮细胞和支气管上皮细胞表达减少。B: 对照组肺组织可见肺泡结构逐渐规整, 大小逐渐均匀, 肺泡间隔变薄。HoxB5 蛋白在上皮细胞大量表达。

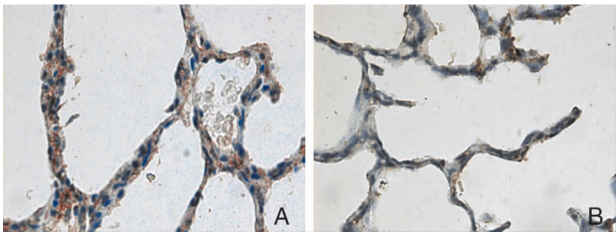


图 3 两组 21 d 肺组织 SPC 蛋白表达 (SABC 免疫组化 ×400)。(胞浆有棕黄色颗粒沉着即为阳性细胞)。A: 实验组 21 d 肺组织 SPC 蛋白在肺泡上皮细胞大量表达; B: 对照组 21 d 肺组织 SPC 蛋白在肺泡上皮细胞正常表达。

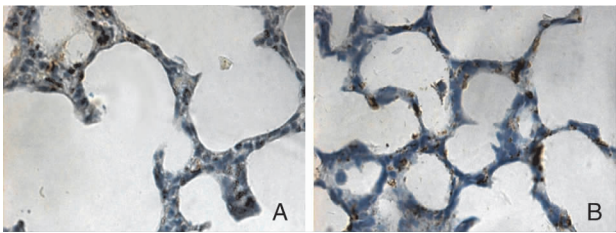


图 4 两组 7 d 肺组织 AQP5 蛋白表达 (SABC 免疫组化 ×400)。(胞浆/胞膜有棕黄色颗粒沉着即为阳性细胞)。A: 实验组 7 d 肺组织 AQP5 蛋白在肺泡上皮细胞表达明显减少; B: 对照组 7 d 肺组织 AQP5 蛋白在肺泡上皮细胞正常表达。

3 讨论

新生鼠高氧肺损伤模型的成功建立对实验数据的可信性提供了客观依据。我们的数据显示高氧所致肺损伤时 HoxB5, AQP5, SPC 的变化还是很明显的, 这些数据的改变和肺损伤的严重程度相关。AEC II 是上皮细胞的干细胞, 其为立方状, 起源于胚胎期的多潜能干细胞。AEC II 能够产生表面活性物质, 并能按需求分化为 AEC I, 或者自身分化增殖, 修复受损肺泡上皮, 在肺的生长、发育、损伤、修复过程中发挥重要作用^[6,7]。

高氧肺损伤严重病理改变之一为肺泡损伤, AQP5 作为 AEC I 标志蛋白, 其量表达多少代表 AEC I 量的多少, 本实验免疫组织化学测定蛋白表达和 RT-PCR 测定 mRNA 量均呈现下降趋势, 并且与对照组存在显著差异, 这说明高氧致新生鼠肺损伤时 AEC I 损伤坏死, 细胞数量减少, 从而使肺泡面积减少, 肺换气功能下降。如果存在正常数量和正常分化能力的 AEC II 条件合适时肺泡的修复是可能完成的。SPC 作为 AEC II 的标志蛋白客观反映肺损伤时 AEC II 的数量, 根据 SPC 免疫组织化学蛋白检测和 RT-PCR 对其 mRNA 测定结果, 本实验实验组肺损伤早期, AEC II 的数量稍有 (3 d) 减少 (坏死、凋亡), 之后 AEC II 的数量逐渐增多 (代偿性), 并且增长速度超过对照组, 肺损伤中后期其量超过对照组。然而, 随着 AEC II 数量的增多 AEC I 反而减少, 这说明 AEC II 自我生长和增殖能力增强而向 AEC I 分化能力明显下降, 上皮修复障碍。同时, HoxB5 免疫组织化学蛋白检测结果表明实验组 HoxB5 3 d 时曾有一过性增高, 随之迅速下降, 基本趋势为表达进行性减少; RT-PCR 对其 mRNA 测定, 此半定量结果显示 HoxB5 随着肺损伤的加重而减少。HoxB5 表达的减少很可能是 AEC I 数量减少的原因之一; AEC II 代偿性增多, HoxB5 表达量减少, 而 HoxB5 较少的趋势和 AEC I 较少的趋势正相关, 本实验中 HoxB5 基因可能参与了 AEC II 分化功能的调控, 也就是说 HoxB5 表达量减少致使大量的 AEC II 失去了分化为 AEC I 的功能。

高氧致新生鼠肺损伤研究中我们发现,肺损伤发生发展过程中有多种细胞因子或者他们的受体发生改变,以往的研究集中在这些变化和肺损伤时肺纤维化之间的关系。而 HoxB5 表达减少却与肺泡上皮细胞的损伤及修复障碍密切相关。TGFβ1 在肺发育中向来被认为起负调节作用,它在末梢肺组织过度表达抑制正常肺的形成并且通过血管内皮细胞生长因子(水平下降)损害血管内皮^[5]。Chinoy1998 年曾报道,TGFβ1 使体外培养 3 d 的肺组织中 HoxB5 的表达下调,这种 Hox 基因组织特异性抑制机制尚不清楚。信号传导通路是依赖于 Smad 家族蛋白的。另外, TGFβ1 其他超家族中成员如 BMP4 在末梢肺组织中高度表达,可能抑制肺组织中 Hox 基因的表达。

在肺泡上皮细胞的损伤修复中还有很多其他生长因子和他们的受体参与,例如:上皮生长因子、血小板活化生长因子 AA、成纤维细胞生长因子、角化上皮细胞生长因子等^[4,5,8,9]。到目前为止,这些生长因子和他们的受体是如何和同源盒基因相互作用影响肺泡上皮细胞的分化机制尚不清楚。可能是 HoxB5 或者其他的 Hox 基因或者其他的转录因子在肺发育的不同阶段调控肺泡对这些因子的反应。这种反应可能是通过生长因子和受体结合调控转录因子下游的激活或者抑制基因。HoxB5 基因也可能改变了生长因子受体的表达而该变生长因子作用的途径。当然还有很多别的基因参与了 AEC II 分化,这些基因与 HoxB5 相作用可能影响到肺发育不同阶段 HoxB5 表达的位置和强度的不同。例如: Wnt 2, BMP-4, SHH 在肺组织末梢抑制的表达。HNF3 特别是 HoxA5 基因在肺泡上皮细胞发育时对 HoxB5 基因起协同作用^[10]。

Wu 等^[11]在研究卵巢癌中基因甲基化时发现 HoxB5 基因等基因属于超甲基化基因。Hershko 等^[12]在对 HoxA5 和 HoxB5 基因甲基化在肺发育中作用的研究中发现,这些基因甲基化的发生是有组织特异性的,这种甲基化和基因的活性因组织的不同而不同。这可能也反映了 Hox 基因在发育中所起的特异性功能。本研究中可能存在 HoxB5 基因激活障碍,是否也与基因的甲基化有关还有待研究。

以前很多的研究集中在 HoxB5 基因和支气管形态研究,本实验证实了该基因与肺泡上皮细胞的

分化和发育关系密切。影响这一转化的可能原因是 HoxB5 基因表达的改变而改变了细胞间的信息交流,使得细胞的转化障碍。

我们还观察到, HoxB5 表达的位置也很有特异性,主要表达于肺泡的连接处和拐角处,而此处也是 AEC II 较多的部位^[6],另外在支气管黏膜下和肺血管表达也较多,该基因可能与肺损伤时支气管和血管的损伤修复有关系。

[参 考 文 献]

- [1] Gehring WJ, Affolter M, Bürglin T. Homeodomain proteins[J]. Annu Rev Biochem, 1994, 63:487-526.
- [2] Manzanares M, Wada H, Itasaki N, Trainor PA, Krumlauf R, Holland PW. Conservation and elaboration of Hox gene regulation during evolution of the vertebrate head[J]. Nature, 2000, 408(6814):854-857.
- [3] Golpon HA, Geraci MW, Moore MD, Miller HL, Miller GJ, Tudor RM, et al. HOX Genes in human lung; altered expression in primary pulmonary hypertension and emphysema[J]. Am J Pathol, 2001, 158(3):955-966.
- [4] Volpe MV, Martin A, Vosatka RJ, Mazzoni CL, Nielsen HC. Hoxb-5 expression in the developing mouse lung suggests a role in branching morphogenesis and epithelial cell fate[J]. Histochem Cell Biol, 1997, 108(6):495-504.
- [5] Rottier R, Tibboel D. Fetal lung and diaphragm development in congenital diaphragmatic hernia[J]. Semin Perinatol, 2005, 29(2):86-93.
- [6] Crapo JD, Barry BE, Gehr M. Cell number and cell characteristics of the normal human lung[J]. Am Rev Resp, 1982, 126(2):332-337.
- [7] Lesur O, Arsalane K. Lung alveolar epithelial cell migration in vitro: modulators and regulation processes[J]. Am J Physiol, 1996, 370(3 Pt 1):311-319.
- [8] Souza P, Tanswell AK, Post M. Different roles for PDGF-alpha and-beta receptors in embryonic lung development[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1996, 15(4):551-562.
- [9] Nielsen HC, Martin A, Volpe MV, Hutzis D, Vosatka RJ. Growth factor control of growth and epithelial differentiation in embryonic lungs[J]. Biochem Mol Med, 1997, 60(1):38-48.
- [10] Zhao JJ, Lazzarini RA, Pick L. The mouse Hox 1.3 gene is functionally equivalent to the Drosophila Sex combs reduced gene[J]. Genes Dev, 1993, 7(3):343-354.
- [11] Wu Q, Lothe RA, Ahlquist T, Silins I, Tropé CG, Micci F, et al. DNA methylation profiling of ovarian carcinomas and their in vitro models identifies HOXA9, HOXB5, SCGB3A1, and CRABP1 as novel targets[J]. Molecular Cancer, 2007, 6:45.
- [12] Hershko AY, Kafrit T, Fainsod A, Razin A. Methylation of HoxA5 and HoxB5 and its relevance to expression during mouse development[J]. Gene, 2003, 302(1-2):65-72.

(本文编辑:吉耕中)