

· 综述 ·

先天性膈疝肺发育不良的研究进展

吉毅 综述,刘文英 审校

(四川大学华西医院小儿外科,四川 成都 610041)

[中图分类号] R725.6;R726.1 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2010)04-0316-05

先天性膈疝 (congenital diaphragmatic hernia, CDH) 是由于单侧或双侧膈肌发育缺损,导致腹腔内脏器官疝入胸腔的一种先天性疾病。其发病率约为 1/2 500 (如包含死产在内,约为 1/2 000)^[1]。CDH 的病因及分子生物学机制尚未明了,目前仍无有效的治疗手段从根本上改变其合并的肺发育不良;临床上,尽管对 CDH 患儿进行了积极的对症支持及相应的外科手术治疗,重症病例的死亡率仍达 50% ~ 60%,而双侧 CDH 患儿的死亡率更是高达 100%^[2-3]。目前,对 CDH 的研究已成为一个热点,其临床治疗的效果常常是衡量新生儿科综合治疗水平的一个重要的指标。本文就目前 CDH 肺发育不良的病因及诊疗进展作如下概述。

1 病因及发病机制

1.1 病因

先天性膈疝肺发育不良的病因不明,可能是由于环境因素作用于易感母体,从而导致胎肺发育异常。除草醚 (Nitrofen) 的摄入及维生素 A 的缺乏均可诱导动物模型胚胎的肺发育不良及膈疝形成。研究发现,CDH 合并其他器官或系统异常的比例在活产婴儿中为 25% ~ 58%,而在 CDH 死胎中则高达 95%,常见为心、肾及中枢神经系统异常等^[3]。此外,CDH 合并各种染色体异常报道也渐增多^[4,6]。因此有学者认为,人类 CDH 并不是由体外某一特定因素的作用或体内某一特定基因的突变而导致的,也不是仅局限于肺及膈发育异常的疾病,而是由多种因素参与的、以肺的发育障碍与膈肌的缺损为基础的一种综合征^[7]。

1.2 肺发育不良与膈肌缺损

目前对 CDH 动物模型肺发育不良与膈肌缺损

的认识逐渐趋于一致,即肺发育不良的程度与膈疝发生的时间和程度密切相关,同时也是影响患儿预后最重要的因素之一。在 Nitrofen 诱导的膈疝动物模型基础上,Keijzer 等^[8]提出了“双重打击”(Dual-hit)学说,即首先是在膈形成之前,未知的遗传及/或环境因素作用于胎肺并影响肺的正常发育;其次,膈肌的缺损致使腹腔器官的疝入,阻碍了胎儿膈侧肺的呼吸运动,两者共同导致了肺的发育不良。“双重打击”学说在随后的研究中得到了进一步的证实:Beckman 等^[9]发现无论有无膈疝形成,在 Nitrofen 诱导的胎鼠肺同样存在着肺发育不良;Jesudason 等^[10]将 Nitrofen 诱导的胎鼠肺在膈肌闭合前进行离体培养,并行动态观察,发现肺芽较对照组明显减少,结构皱缩,说明肺发育不良可以独立于腹腔内脏的疝入而单独存在,甚至早于膈肌缺损的发生。Baglaj 等^[11]通过试验发现胎鼠膈肌缺损的大小以及疝入器官的重量与肺发育不良呈明显相关性。

1.3 分子生物学改变

1.3.1 基因的变化 多种基因的表达在膈疝胎肺中出现异常,其中对肺的发育及成熟起着重要作用的有 TTF-1、Fog-2、GATA-4、GATA-6 等。TTF-1 是体内重要的转录因子,在胚胎发育早期,参与调节气管成型和分枝,在妊娠后期及出生后,TTF-1 能直接调节表面活性蛋白、细支气管细胞分泌蛋白 CC10 的表达及 I、II 型肺泡细胞的分化^[12]。敲除 TTF-1 基因的胎鼠,其肺支气管的分化停留在假腺体期。所以,胎肺中 TTF-1 表达的变化将影响肺的成熟,导致结构与功能的异常。在膈疝胎鼠的肺组织中,TTF-1 的转录水平下调,其蛋白表达明显下降,提示其可能与膈疝肺发育不良的形成有关^[13]。此外,染色体 8q22-23 区带的异常已经被证实与膈疝的发生有关,位于此区带的 Fog-2 基因编码由膈肌、肺、心

[收稿日期]2009-09-01;[修回日期]2009-12-02
[作者简介]吉毅,男,硕士研究生,医师。

及睾丸体细胞表达的一种共同调节子,Fog-2 基因的突变可导致人和鼠的膈肌缺损及原发性肺发育不良;另一与 CDH 有关的染色体区带为 8p23.1,其可发生微小的缺失,GATA-4 为位于此关键性区域的基因之一,其编码的转录因子能与 Fog-2 紧密结合并共同促进膈肌与肺等器官的形成与分化^[14]。GTTA-6 是 GATA 家族中的另一个重要的基因,其能与 TTF-1 相结合并激活表面活性蛋白,出生后肺的形态发生也依赖于 GTTA-6 的精密调节,其在维持肺的正常结构和功能方面起着重要作用^[15]。

1.3.2 细胞因子 细胞因子的稳定是维持肺组织正常增值、分化和发育的重要保证。目前,已经证实多种细胞因子在 CDH 胎肺中出现变化,可能与肺发育不良有关的有表皮生长因子(epidermal growth factor,EGF)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor,FGF)等。

EGF 是一种小分子功能蛋白因子,以旁分泌或自分泌的方式作用于各级肺气道上皮细胞及肺泡上皮细胞,在肺发育过程中刺激胚胎前肠形成支气管芽,加速胎肺的出芽和生长,促进支气管成型和分枝,并加速 II 型肺泡上皮细胞结构和功能分化,从而合成表面活性物质,促进胎肺成熟。在 CDH 胎鼠肺中,EGF 在气道近端的表达量明显高于对照组,Lin 等^[14]认为 EGF 的升高为膈疝胎肺组织的代偿性表达,以此弥补肺的发育不良。Li 等^[16]在产前对 nitrofen 诱导的母鼠腹腔注射外源性 EGF,发现可显著的改善胎鼠肺的发育状态,但其具体的作用机制有待进一步研究。

TNF- α 是由激活的单核-巨噬细胞产生的一种可溶性多功能细胞因子,其生物学功能表现为多方面。在肺部,TNF- α 以旁分泌/自分泌的形式作用于局部组织,病理情况下,可与其位于肺泡上皮细胞表面的受体相结合引起细胞代谢改变,这种改变可介导细胞凋亡和细胞坏死,使上皮细胞不断坏死、脱落、再生。此外,TNF- α 能刺激肺成纤维细胞增值,促进胶原生成,同时还能隔离人 II 型肺泡细胞,抑制表面活性蛋白 A 与 B 的生成^[17],其异常增高对胎肺的分化成形有显著的抑制作用。在 CDH 胎鼠肺中,TNF- α 表达明显增多,给予地塞米松后,TNF- α 表达减少,肺发育不良及肺动脉高压明显改善,提示其可能与 CDH 的形成有关^[18]。

FGF 能刺激胎肺上皮细胞进行有丝分裂、增值,促进表面活性物质合成,在 FGF 基因缺陷的小鼠中,胎肺发育迟缓。目前已经证实 FGF-10 能在体

外促进 CDH 肺芽的生长,但其促进肺发育的机制还不甚明确。Jesudason^[19]认为,肺正常的发育依赖于 FGF 及其受体(FGFR)和硫酸乙酰肝素(HS)间的相互作用,任何一个环节的异常都将导致肺的发育障碍。

1.3.3 肺表面活性物质 目前,关于表面活性蛋白(surfactant protein, SP)与双饱和磷脂酰胆碱(Di-saturated phosphatidyl choline, DSPC)在 CDH 胎肺中是否存在量的异常还存在争议。Xu 等^[20]利用透射电镜发现 Nitrofen 诱导的 CDH 胎鼠肺中 II 型肺泡上皮细胞微绒毛显著减少,提示其可能存在 II 型肺泡上皮细胞胞吐和胞吞作用的减弱及 SP 的重吸收障碍。Thébaud 等^[21]研究证实,在 CDH 胎鼠肺中 SP 与 DSPC 的表达均有不同程度的下降,产前给予维生素 A 可以显著地提高其 SP-A、C 及 DSPC 的表达。但 Van Tuyl 等^[22]报道,SP-A、B、C 无论是转录水平还是蛋白表达,在膈疝组与对照组及膈疝侧与非膈疝侧肺组织里都没有明显的不同。Cogo 等^[23]报道在 CDH 新生儿的气管抽取液里,SP-A 与 DSPC 的量显著低于无膈疝组;Boucherat 等^[24]发现 CDH 胎儿肺中的 SP 量与同龄正常胎儿相似,并在妊娠后期表达渐渐增多。也有学者认为 CDH 胎儿肺中只是存在“相对的”SP 表达的减少,这种减少是因肺发育不良而导致的肺泡表面积减少所引起的,或者是由于出生后给予机械通气而导致的^[25]。

1.3.4 离子通道 在出生前几小时,胎肺中充满了由肺上皮细胞分泌的等渗液,正常情况下,这些无蛋白质的肺泡液都能被肺上皮细胞以重吸收的方式进行清理,从而保证出生后肺泡的扩张及氧合能顺利地进行。研究证实,肺上皮细胞对肺泡液的吸收依赖于其细胞膜上 β 肾上腺素受体的兴奋及对 Na^+ 的吸收。Folkesson 等^[26]发现在 CDH 胎鼠肺中,肺上皮细胞细胞膜顶端 Na^+ 通道的表达明显低于对照组,肺上皮细胞丧失了吸收能力并仍旧处于分泌期,从而加重了肺的发育不良。Ringman 等^[27]认为 CDH 胎鼠肺不仅存在因缺乏 Na^+ 通道而导致的肺泡液吸收困难,同时还存在着因缺乏 $\text{Na}^+ \text{-K}^+ \text{-Cl}^-$ 共转运体而引起的肺泡液生成障碍。

2 产前诊断及预后评估

二维超声是产前诊断 CDH 最为有效、最为常用的检测手段,具有无创、安全、可重复等特点,便于早期诊断及随访观察,并可以较好的显示膈疝的大小、疝入器官的性质及肺受压的情况,评估患儿的预后。

三维超声,利用其旋转多维成像技术,可以较好的评估 CDH 胎儿肺容积的变化,对胎肺特别是患侧胎肺发育的情况及患儿的预后评估准确性较高。此外,MRI 在产前诊断中也有非常重要的作用;由于拥有较高的空间分辨率及高速的成像技术,MRI 不仅可以用于肥胖病人的产前诊断,还能排除母体呼吸的干扰,准确地反映胎儿双侧肺的容积及发育状况^[28]。

通常认为,对确诊的 CDH 胎儿,如其胎龄 < 25 周,有羊水过多、肝/胃疝入或为双侧膈疝,均提示预后不良。肺发育不良的程度是决定预后最重要的因素,而胎儿右肺直径-头围比(LHR)可以较好地反映出其肺部的发育状况,因此可以利用超声或 MRI 对 LHR 进行测量,以此评估预后。Jani 等^[29-31]在 LHR 基础上提出了实际测得 LHR 与期望 LHR 比值法(O/E LHR),及依靠 MRI 获得的实际全肺容积与期望全肺容积比法(O/E TFLV),两种方法均可以很好地对患儿的预后进行评估,受胎龄的影响较小,肝脏是否疝入也作为直接的评定指标;其中 O/E LHR 在妊娠 22 ~ 23 周与 32 ~ 33 周时预测可信度最高,而 O/E TFLV 则几乎不受胎龄的影响,在妊娠 22 ~ 38 周均适用^[32]。

量化评估法易受到羊水过少、胎儿体位及治疗水平等因素的干扰,同时对合并有染色体异常,或伴其他系统器官严重畸形的胎儿是否适用还尚存争议^[33-34]。不过,产前如能诊断出 CDH 并对肺发育不良的程度进行较为准确的评估,患儿父母则可选择是否终止妊娠,是否给予产前干预,或是否在产后行相应的对症支持治疗等^[35]。

3 肺发育不良的治疗

肺发育不良是影响 CDH 患儿预后最重要的因素,是大多数患儿的直接死因。传统的治疗手段如产后膈疝修补术等并不能改变已经存在的肺发育不良,促进患儿的肺发育,改善肺的通气与换气。产前诊断水平的提高,产前干预方法的发展与完善,使在产前进行治疗,从而改善患儿的肺发育不良成为可能。

3.1 产前糖皮质激素治疗

动物 CDH 模型发现,产前使用糖皮质激素(glucocorticoid, GC)能促进肺表面活性蛋白成熟,增强 SP 在 II 型肺泡上皮细胞的表达,降低肺泡表面张力,减少肺泡间隔密度,增大肺泡直径,增加肺的容量和顺应性^[18]。GC 改善 CDH 胎肺发育不良的

机制目前还不完全清楚。动物试验中,产前给予 GC 能显著地改变 CDH 胎肺内一系列与肺发育密切相关的因子的表达—无论是在转录还是在蛋白水平,并能显著提高胎仔的存活率^[36]。文献报道,GC 能抑制 CDH 胎肺中 TNF- α 及 IGF-1 等的表达,而这些因子的增高可能会抑制胎肺的正常发育;另一方面,GC 又能增强一些肺发育所需要的因子的表达,如 TGF- β 、bFGF、PDGF 等^[37]。在临床运用的早期,Ford 等^[38]报道了 3 例产前诊断的 CDH 孕妇(胎儿孕 < 25 周,LHR < 1.0,均有肝脏疝入),于妊娠 24 ~ 26 周开始肌注 GC,患儿的预后明显改善。虽然在此后 GC 得到进一步推广,但一直颇受争议。Lally 等^[39]发现,产前给予 GC 的疗效受妊娠时间的影响较明显,如在孕 34 周后给予 GC,并不能促进肺的发育,改善患儿的预后。此外,产前使用 GC 可导致羊膜早破,增加宫内感染机会,还可引起胎儿心室内出血及脑室周围软化,这些都限制了 GC 的临床应用^[40]。

3.2 胎儿气管阻塞

早期研究证实,患先天性喉闭锁的患儿通常伴有肺的膨胀性增长。受此启发,有学者对 CDH 羊胎行气管结扎,发现通过阻止肺管腔内肺泡液的正常溢出,可以促进组织伸展,改善肺发育不良。此后,相关试验也证实气管结扎能促进 CDH 胎肺组织形态的成熟和功能的完善,增加肺重/重体比、肺 DNA 含量及肺泡面积^[41]。临床上,胎儿气管阻塞术获得较大进步,由早期的剖宫胎儿气管结扎术、内窥镜气管结扎术,发展到了目前的胎儿镜腔内气管阻塞术(fetal endoluminal tracheal occlusion, FETO)。

FETO 由四维超声引导,在局麻下作皮肤小切口,利用 1.2 mm 胎儿镜对气管行球囊封闭,手术时间通常不超过 20 min,不仅对母体创伤小,同时还能避免对胎儿喉返神经的损伤。临床上,通常在置入球囊 48 h 后,超声即可见胎儿肺部的回声增强,1 周后可见 LHR 值增高^[42]。FETO 的指征很重要,单胎妊娠,孕 26 ~ 28 周,胎儿肝脏疝入胸腔且 LHR < 1.0 被认为是纳入标准^[43]。此外,球囊放置的持续时间也很关键,研究发现如果放置时间过长可导致 II 型肺泡细胞数量减少,肺表面活性物质缺乏^[44]。目前,多在妊娠 34 周时,用胎儿镜取出球囊,或在超声引导下刺穿球囊,避免长时间放置,同时也不用再在产时给与“子宫外产时处理”^[45]。

成功实施 FETO 的患儿,其肺发育状态与不需要行 FETO 的患儿接近^[46],但其临床运用也受到质疑,部分学者认为胎儿可因手术刺激而早产,还有研

究发现行 FETO 的患儿,其远期存活率并未得到明显提高。此外,产前手术所带来的伦理和道德冲突也是无法回避的^[47-48]。

3.3 其他产前治疗方法

部分学者致力于寻求创伤小、副作用少的产前干预方法,并取得一定的进展。汉防己甲素(tetrandrine, TET)是一种从防己科植物粉防己根中提取的生物碱。其药理作用非常广泛,具有调节血管舒缩、抗纤维化、清除自由基、减轻自由基所致的损伤,同时还能抑制多种炎症的产生^[49]。文献报道^[15,20,50]通过对 nitrofen 诱导的 CDH 大鼠的研究,发现在产前给与 TET 灌胃后,不仅胎鼠肺组织结构发育更加成熟,肺各细胞的亚微结构也显示出分化更接近于成熟状态,其作用机制可能与调节肺内一些生长因子及 II 型肺泡上皮细胞的胞吞胞吐作用有关。

维甲酸(retinoic acid, RA)是维生素 A 的活性代谢物,为肺各发育阶段所必需的物质。其能促进新生与成年大鼠肺的支气管发生与上皮的成熟,增强 SP 的生物合成^[51]。在 CDH 大鼠胎肺中,维生素 A 类的储存量减少,其传导通路中下游基因的表达增多,提示其缺乏可能是导致膈疝产生的环节之一。产前给予 RA 能减少肺泡容积而增多肺泡数量,扩大换气面,促进 II 型肺泡细胞的分化及 I 型肺泡细胞的成熟^[52]。

此外,产前对动物 CDH 模型注射一些外源性的生长因子,如 EGF 等也能在一定程度上促进胎肺的发育^[16]。

4 展望

目前,通过各种方式的实验研究及临床探索,研究者们不仅对 CDH 肺发育不良的病因及发病机制有了新的认识,同时在诊断与治疗肺发育不良方面也有了新的提高。但是,由于 CDH 病因复杂,合并症多,对其认识依旧有限,胎儿存活率仍无明显升高。未来的研究及治疗可能将继续基于对肺发育不良机制的认识上,孕前/产前药物干预或许是治疗的突破口之一,而孕前/产前给药的理想效果,则是从根本上预防这一高致死性人类疾病的发生。

[参 考 文 献]

- [1] Robinson PD, Fitzgerald DA. Congenital diaphragmatic hernia [J]. Paediatr Respir Rev, 2007, 8(4):323-334.
- [2] Stege G, Fenton A, Jaffray B. Nihilism in the 1990s: the true mortality of congenital diaphragmatic hernia [J]. Pediatrics, 2004, 113(4): 917.
- [3] Brownlee EM, Howatson AG, Davis CF, Sabharwal AJ. The hidden mortality of congenital diaphragmatic hernia; a 20-year review [J]. J Pediatr Surg, 2009, 44(2):317-320.
- [4] Jay PY, Bielinska M, Erlich JM, Mannisto S, Pu WT, Heikinheimo M, et al. Impaired mesenchymal cell function in Gata4 mutant mice leads to diaphragmatic hernias and primary lung defects [J]. Dev Biol, 2007, 301(2): 602-614.
- [5] Clugston RD, Zhang W, Greer JJ. Gene expression in the developing diaphragm: significance for congenital diaphragmatic hernia [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2008, 294(4): L665-675.
- [6] Donahoe PK. A pediatric surgeon retools in genetics and genomics to study congenital diaphragmatic hernia [J]. J Pediatr Surg, 2009, 44(2): 307-311.
- [7] Hösgor M, Tibboel D. Congenital diaphragmatic hernia; many questions, few answers[J]. Paediatr Respir Rev, 2004, 5 Suppl A: S277-282.
- [8] Keijzer R, Liu J, Deimling J, Tibboel D, Post M. Dual-hit hypothesis explains pulmonary hypoplasia in the nitrofen model of congenital diaphragmatic hernia [J]. Am J Pathol, 2000, 156(4):1299-1306.
- [9] Beckman DL, Cummings JJ, Katwa LC, Whitehurst ME. Can maternal vitamin supplementation prevent lung hypoplasia in the nitrofen-induced rat model of congenital diaphragmatic hernia? [J] Pediatr Res, 2005, 57(3): 392-395.
- [10] Jesudason EC, Connell MG, Fernig DG, Lloyd DA, Losty PD. Does the developing liver inhibit early lung growth in congenital diaphragmatic hernia? [J]. Pediatr Surg Int, 2001, 17(4): 288-293.
- [11] Baglaj SM, Czernik J. Nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia in rat embryo: what model? [J]. J Pediatr Surg, 2004, 39(1): 24-30.
- [12] 孔祥永, 杜江, 封志纯. 甲状腺转录因子-1 在人胎肺和新生儿肺上皮细胞中的时序表达 [J]. 中国当代儿科杂志, 2006, 8(1): 30-32.
- [13] Chapin CJ, Ertsey R, Yoshizawa J, Hara A, Sbragia L, Greer JJ, et al. Congenital diaphragmatic hernia, tracheal occlusion, thyroid transcription factor-1, and fetal pulmonary epithelial maturation [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 289(1): L44-52.
- [14] Lin H, Wang Y, Xiong Z, Tang Y, Liu W. Effect of antenatal tetrandrine administration on endothelin-1 and epidermal growth factor levels in the lungs of rats with experimental diaphragmatic hernia [J]. J Pediatr Surg, 2007, 42(10):1644-1651.
- [15] Takayasu H, Sato H, Sugimoto K, Puri P. Downregulation of GATA4 and GATA6 in the heart of rats with nitrofen-induced diaphragmatic hernia [J]. J Pediatr Surg, 2008, 43(2):362-366.
- [16] Li J, Hu T, Liu W, Xiang B, Jiang X. Effect of epidermal growth factor on pulmonary hypoplasia in experimental diaphragmatic hernia [J]. J Pediatr Surg, 2004, 39(1): 37-42.
- [17] Väyrynen O, Glumoff V, Hallman M. Regulation of surfactant proteins by LPS and proinflammatory cytokines in fetal and newborn lung [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2002, 282(4): L803-810.
- [18] Taira Y, Shima H, Miyazaki E, Ohshiro K, Puri P. Antenatal dexamethasone administration inhibits smooth-muscle-cell DNA synthesis in pulmonary-arterial media in nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia in rats [J]. Pediatr Surg Int, 2000, 16(5-6): 414-416.
- [19] Jesudason EC. Challenging embryological theories on congenital diaphragmatic hernia: future therapeutic implications for paediatric surgery [J]. Ann R Coll Surg Engl, 2002, 84(4): 252-259.
- [20] Xu C, Liu W, Wang Y, Chen Z, Ji Y. Depressed exocytosis and endocytosis of type II alveolar epithelial cells are responsible for

- the surfactant deficiency in the lung of newborn with congenital diaphragmatic hernia[J]. *Med Hypotheses*, 2009, 72(2):160-162.
- [21] Thébaud B, Barlier-Mur AM, Chailley-Heu B, Henrion-Caude A, Tibboel D, Dinh-Xuan AT, et al. Restoring effects of vitamin A on surfactant synthesis in nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia in rats[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 164(6):1083-1089.
- [22] Van Tuyl M, Blommaert PE, Keijzer R, Wert SE, Ruijter JM, Lamers WH, et al. Pulmonary surfactant protein A, B, and C mRNA and protein expression in the nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia rat model[J]. *Pediatr Res*, 2003, 54(5):641-652.
- [23] Cogo PE, Zimmermann LJ, Verlato G, Midrio P, Gucciardi A, Ori C, et al. A dual stable isotope tracer method for the measurement of surfactant disaturated-phosphatidylcholine net synthesis in infants with congenital diaphragmatic hernia[J]. *Pediatr Res*, 2004, 56(2):184-190.
- [24] Bouchérat O, Benachi A, Chailley-Heu B, Franco-Montoya ML, Elie C, Martinovic J, et al. Surfactant maturation is not delayed in human fetuses with diaphragmatic hernia[J]. *PLoS Med*, 2007, 4(7):e237.
- [25] Davey M. Surfactant levels in congenital diaphragmatic hernia[J]. *PLoS Med*, 2007, 4(7):e243.
- [26] Folkesson HG, Chapin CJ, Beard LL, Matthay MA, Kitterman JA. Congenital diaphragmatic hernia prevents absorption of distal air space fluid in late-gestation rat fetuses[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2006, 290(3):L478-484.
- [27] Ringman A, Zelenina M, Eklöf AC, Aperia A, Frenckner B. NKCC-1 and ENaC are down-regulated in nitrofen-induced hypoplastic lungs with congenital diaphragmatic hernia[J]. *Pediatr Surg Int*, 2008, 24(9):993-1000.
- [28] Waag KL, Loff S, Zahn K, Ali M, Hien S, Kratz M, et al. Congenital diaphragmatic hernia: a modern day approach[J]. *Semin Pediatr Surg*, 2008, 17(4):244-254.
- [29] Jani J, Nicolaides KH, Keller RL, Benachi A, Peralta CF, Favre R, et al. Observed to expected lung area to head circumference ratio in the prediction of survival in fetuses with isolated diaphragmatic hernia[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2007, 30(1):67-71.
- [30] Jani J, Nicolaides KH, Benachi A, Moreno O, Favre R, Gratacos E, et al. Timing of lung size assessment in the prediction of survival in fetuses with diaphragmatic hernia[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2008, 31(1):37-40.
- [31] Jani J, Cannie M, Sonigo P, Robert Y, Moreno O, Benachi A, et al. Value of prenatal magnetic resonance imaging in the prediction of postnatal outcome in fetuses with diaphragmatic hernia[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2008, 32(6):793-799.
- [32] Deprest JA, Flemmer AW, Gratacos E, Nicolaides K. Antenatal prediction of lung volume and in-utero treatment by fetal endoscopic tracheal occlusion in severe isolated congenital diaphragmatic hernia[J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2009, 14(1):8-13.
- [33] Heling KS, Wauer RR, Hammer H, Bollmann R, Chaoui R. Reliability of the lung-to-head ratio in predicting outcome and neonatal ventilation parameters in fetuses with congenital diaphragmatic hernia[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2005, 25(2):112-118.
- [34] Sinha CK, Islam S, Patel S, Nicolaides K, Greenough A, Davenport M. Congenital diaphragmatic hernia: prognostic indices in the fetal endoluminal tracheal occlusion era. Congenital diaphragmatic hernia: prognostic indices in the fetal endoluminal tracheal occlusion era[J]. *J Pediatr Surg*, 2009, 44(2):312-316.
- [35] Casaccia G, Ravà L, Bagolan P, di Cionno VM. Predictors and statistical models in congenital diaphragmatic hernia[J]. *Pediatr Surg Int*, 2008, 24(4):411-414.
- [36] Mann O, Huppertz C, Langwieler TE, Tander B, Bloechle C, Izbiicki JR, et al. Effect of prenatal glucocorticoids and postnatal nitric oxide inhalation on survival of newborn rats with nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia[J]. *J Pediatr Surg*, 2002, 37(5):730-734.
- [37] Oue T, Shima H, Taira Y, Puri P. Administration of antenatal glucocorticoids upregulates peptide growth factor gene expression in nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia in rats[J]. *J Pediatr Surg*, 2000, 35(1):109-112.
- [38] Ford WD, Kirby CP, Wilkinson CS, Furness ME, Slater AJ. Antenatal betamethasone and favourable outcomes in fetuses with 'poor prognosis' diaphragmatic hernia[J]. *Pediatr Surg Int*, 2002, 18(4):244-246.
- [39] Lally KP, Bagolan P, Hosie S, Lally PA, Stewart M, Cotten CM, et al. Corticosteroids for fetuses with congenital diaphragmatic hernia: can we show benefit? [J] *J Pediatr Surg*, 2006, 41(4):668-674.
- [40] Brownfoot FC, Crowther CA, Middleton P. Different corticosteroids and regimens for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008, 8(4):CD006764.
- [41] Ella Missang C, Guyot S, Renard CM. Flavonols and anthocyanins of bush butter, *Dacryodes edulis* (G. Don) H. J. Lam, fruit. changes in their composition during ripening[J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 351(25):7475-7480.
- [42] Ruano R, Okumura M, Zugaib M. Four-dimensional ultrasonographic guidance of fetal tracheal occlusion in a congenital diaphragmatic hernia[J]. *J Ultrasound Med*, 2007, 26(1):105-109.
- [43] Deprest J, Jani J, Cannie M, Debeer A, Vandeveldel M, Done E, et al. Prenatal intervention for isolated congenital diaphragmatic hernia[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2006, 18(2):203-215.
- [44] Kitano Y. Prenatal intervention for congenital diaphragmatic hernia [J]. *Semin Pediatr Surg*, 2007, 16(2):101-108.
- [45] Kern C, Ange M, Morales, Peiry B, Pfister RE. Exutero intrapartum treatment (EXIT), a resuscitation option for intra-thoracic foetal pathologies[J]. *Swiss Med Wkly*, 2007, 137(19-20):279-285.
- [46] Sinha CK, Islam S, Patel S, Nicolaides K, Greenough A, Davenport M. Congenital diaphragmatic hernia: prognostic indices in the fetal endoluminal tracheal occlusion era [J]. *J Pediatr Surg*, 2009, 44(2):312-316.
- [47] Harrison MR, Keller RL, Hawgood SB, Kitterman JA, Sandberg PL, Farmer DL, et al. A randomized trial of fetal endoscopic tracheal occlusion for severe fetal congenital diaphragmatic hernia [J]. *N Engl J Med*. 2003, 349(20):1916-1924.
- [48] Kitano Y. Prenatal intervention for congenital diaphragmatic hernia [J]. *Semin Pediatr Surg*, 2007, 16(2):101-108.
- [49] Xie QM, Tang HF, Chen JQ, Bian RL. Pharmacological actions of tetrandrine in inflammatory pulmonary diseases[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23(12):1107-1113.
- [50] Xu C, Liu W, Wang Y, Chen Z, Ji Y, Luo M, et al. Prenatal tetrandrine treatment can reverse the abnormal conditions in the lung of newborn with congenital diaphragmatic hernia[J]. *Med Hypotheses*, 2009, 72(5):570-573.
- [51] Stinchcombe SV, Maden M. Retinoic acid induced alveolar regeneration: critical differences in strain sensitivity[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2008, 38(2):185-191.
- [52] Sugimoto K, Takayasu H, Nakazawa N, Montedonico S, Puri P. Prenatal treatment with retinoic acid accelerates type 1 alveolar cell proliferation of the hypoplastic lung in the nitrofen model of congenital diaphragmatic hernia[J]. *J Pediatr Surg*, 2008, 43(2):367-372.