

## 高氧肺损伤新生大鼠肺组织中 SPOCK2 基因表达的研究

陈 涛, 胡毓华, 陆 超\*

南京医科大学第一附属医院儿科, 江苏 南京 210029

**[摘要]** 目的:探讨 SPOCK2 基因在高氧肺损伤新生儿支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)大鼠模型中的表达意义。方法:利用高氧肺损伤诱导 BPD 动物模型,将新生 SD 大鼠随机分成空气对照组、高氧模型组。HE 染色观察肺组织病理改变, qPCR 法检测肺组织中 SPOCK2 mRNA 的表达水平,免疫组化法测定肺 SPOCK2 蛋白的表达。同时在体外利用高氧刺激 A549 人肺上皮细胞, qPCR 法检测细胞 SPOCK2 mRNA 的表达水平。结果:成功构建 BPD 新生大鼠模型。HE 染色显示高氧模型组肺组织均产生类似 BPD 的病理损伤,并且生后 10、14 d 高氧模型组大鼠肺组织辐射状肺泡计数(pulmonary radical alveolar counts, RAC)值较空气对照组显著减少,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。免疫组化显示空气对照组大鼠肺组织中 SPOCK2 蛋白表达量高于高氧模型组,生后 10、14 d 空气对照组肺组织 SPOCK2 蛋白表达呈阳性。qPCR 结果示空气对照组大鼠肺组织中 SPOCK2 mRNA 表达量随时间递增,于生后 18 d 时表达量最高,生后 24 d 时仍处于高值( $P < 0.05$ ),成年时下降;与空气对照组比较,高氧模型组大鼠肺组织中 SPOCK2 mRNA 表达量降低,生后 10、14 d 时两组差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。高氧模型组 A549 细胞 SPOCK2 mRNA 表达量高于空气对照组( $P < 0.05$ ),且有先上升后下降的趋势。结论:SPOCK2 基因可能参与肺发育过程,并可能在高氧刺激时对肺组织起保护作用。

**[关键词]** SPOCK2 基因;支气管肺发育不良;MMP16

**[中图分类号]** R725.6

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2018)03-299-06

**doi:**10.7655/NYDXBNS20180304

### Expression of SPOCK2 gene in neonatal rat lung during hyperoxia exposure

Chen Tao, Hu Yuhua, Lu Chao\*

Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of NMU, Nanjing 210029, China

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of SPOCK2 gene in hyperoxia-induced bronchopulmonary dysplasia (BPD) models of neonatal rats. **Methods:** BPD models were induced by 85% O<sub>2</sub> exposure. Newborn SD rats were randomly divided into the air group and the hyperoxia (85% oxygen) group. The pathological changes of pulmonary tissues were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. The expressions of SPOCK2 mRNA were detected by real-time quantitative PCR. The expression of SPOCK2 protein was detected by immunohistochemistry. Meanwhile, A549 lung epithelial cells were stimulated by hyperoxia *in vitro* and the expression levels of SPOCK2 mRNA were detected by qPCR. **Results:** BPD neonatal rat model was successfully constructed. The pathological changes of BPD were found in the pulmonary tissues of the model group by HE staining. The value of pulmonary radical alveolar counts (RAC) in the model group was significantly lower than that of the control group at 10 d and 14 d after birth ( $P < 0.05$ ). As shown with immunohistochemistry, the expression of SPOCK2 protein in the lung tissues of rats in the control group was higher than that in the model group, especially at 10 d and 14 d after birth. The expression of SPOCK2 mRNA in the lung tissues of rats in the control group was higher than that in the model group, which reached its peak on 18 d after birth and decreased in adulthood. Compared with the control group, the expression of SPOCK2 mRNA in the model group decreased. There were significant differences between two groups at 10 d and 14 d after birth ( $P < 0.05$ ). The expression of A549 mRNA in the model A549 cells was higher than that in the control ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** SPOCK2 gene may be involved in pulmonary development process, and may protect lung tissue during hyperoxia stimulation.

**[Key words]** SPOCK2; bronchopulmonary dysplasia; MMP16

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(03):299-304]

**[基金项目]** 江苏省卫生厅医学科技发展项目(FXK201212)

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

支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)是早产儿最常见的慢性呼吸系统疾病,严重影响患儿存活率及生存质量,近年来随着早产儿存活率的提高,BPD发病率也逐年增加。随着一些新疗法的应用,BPD的严重程度已经有所降低,但目前还没有一种方法能够降低其发病率<sup>[1]</sup>。研究表明BPD是由多重因素导致未成熟肺受损,并打断正常肺泡和毛细血管发育。这些因素包括:内因(肺发育不成熟、基因遗传、性别);医源性(高氧和机械通气);外因(产前和产后感染、生长因子失衡、细胞外基质重塑)<sup>[1-2]</sup>。最新研究发现,在控制协变量后,遗传因素占BPD差异的53%~82%,同时SPOCK2(SPARC/osteonectin, CWCV, and Kazal-like domains proteoglycan 2)基因与支气管肺发育不良的发生密切相关<sup>[3]</sup>。据报道,高氧诱导SD新生大鼠是经典BPD模型之一<sup>[4]</sup>。肺泡Ⅱ型细胞是肺泡上皮细胞的前体,在急性肺损伤时可以重塑肺泡上皮,其死亡率与BPD评估相关<sup>[5]</sup>,同时也是高氧肺损伤的重要靶标,但肺泡Ⅱ型上皮细胞体外培养不稳定,易转化为Ⅰ型肺上皮细胞。A549细胞来源于人肺泡Ⅱ型上皮细胞,易于培养。因此,本研究利用高氧诱导BPD新生大鼠模型和高氧刺激A549细胞,进一步探讨SPOCK2基因在肺发育过程中的机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

清洁级Sprague Dawley(SD)大鼠,8周龄,雄6只,雌12只(南京医科大学医药实验动物中心),A549细胞(上海复旦大学细胞库),SPOCK2多克隆抗体(Proteintech公司,美国)。

SD大鼠在动物中心饲养1周后,以雌雄比2:1合笼,观察受孕情况,有6只母鼠在孕21~22 d之间产仔,将出生1 d内新生大鼠随机分成6笼,分为高氧模型组2笼和空气对照组4笼,每笼12只幼仔和1只母鼠。空气对照组设出生1、3、7、10、14、18、24 d和成年8个亚组;高氧模型组设出生3、7、10、14 d 4个亚组。各组及亚组间新生大鼠体重差异无统计学意义。

A549细胞复苏后传代,计数后传6瓶,分空气对照组3瓶和高氧模型组3瓶。每组设3、6、12 h 3个亚组。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 新生大鼠BPD模型和细胞模型的制备

自制密封树脂玻璃氧箱(90 cm×70 cm×70 cm

容器),并设置进气孔、出气孔及测氧孔。根据文献将高氧模型组新生大鼠(连同母鼠)生后即置于氧箱内,氧箱内快速输入氧气(流量为最大),测得氧箱内氧浓度为85%(FARSTAR, FO-3型氧浓度测定仪)时,将氧气流量改为(1 L/min)维持量。每12 h灯照与12 h黑暗交替,用氢氧化钙吸附CO<sub>2</sub>,活性炭吸附氨气等有毒气体,通风系统控制温度22~26℃,除湿盒控制湿度50%~70%。每天开箱1 h,清洁氧箱,更换垫料,添加饲料及饮水,称重。高氧模型组与空气对照组母鼠每24 h互换,以避免母鼠氧中毒进而影响新生大鼠的喂养<sup>[4]</sup>。空气对照组置于清洁级喂养室中,除吸入气体为正常空气外,其余饲养条件与高氧模型组相同。每天观察记录新生大鼠的体重及生存情况<sup>[4]</sup>。

10%FBS-DMED(Hyclone公司,美国)高糖培养液复苏A549细胞,放入5%CO<sub>2</sub>培养箱培养、传代,以1×10<sup>6</sup>个/瓶接种于细胞培养瓶中,24 h后换液。自制双层密封树脂玻璃氧箱(直径30 cm,高15 cm),设有出气孔和进气孔,灭菌水保持湿度。将3瓶高氧模型组对数期细胞放入盒中,冲入氧气使氧浓度大于85%,放入培养箱中培养<sup>[6]</sup>。空气对照组放入5%CO<sub>2</sub>培养箱培养。于3、6、12 h按需换液,观察细胞生长状况并拍照。

#### 1.2.2 标本收集及观察

空气对照组于生后1、3、7、10、14、18、24 d和成年,高氧模型组于生后3、7、10、14 d分别从各组中随机抽取6只新生大鼠,腹腔注射10%水合氯醛(0.33 mL/100 g)麻醉后处死,迅速剪开胸骨柄,暴露大鼠胸腔;提取肺脏组织,剔除心脏及大血管;迅速切取左肺,用生理盐水洗净残血,吸干水分,放于冻存管中液氮速冻后存于-80℃冰箱,用于实时定量PCR检测。

取右肺组织,浸入4%多聚甲醛,固定24 h后石蜡包埋,制成5 μm切片,行苏木素-伊红(HE)染色,HE染色后的肺组织经梯度酒精(70%和95%无水乙醇)常规脱水、甘油封片。每组各时间点随机抽取不同大鼠组织切片4~6张,每张切片于光镜下随机观察5个视野(×100),进行肺形态学观察。

辐射状肺泡计数(radical alveolar counts, RAC): HE染色切片,从呼气性细支气管(没有完整内皮为特征)中心至最近胸膜(或纤维膈)引一垂直线,计数该直线上的肺泡数量即为RAC。100倍光镜下,每张切片计数所有RAC,取平均值<sup>[7]</sup>。

### 1.2.3 免疫组化和半定量分析

将各组石蜡切片固定在60℃烘箱中4h。切片用二甲苯脱蜡,按照说明书(SP免疫组化试剂盒)用梯度乙醇水合,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>阻断内源性过氧化物酶活性。将处理的切片放入EDTA-Tris缓冲溶液中微波处理20min,用血清封闭,并在4℃下用兔抗鼠SPOCK2多克隆抗体(1:200)孵育过夜。滴加HRP酶标二抗孵育,DAB显色,苏木素轻度复染,脱水,封片,显微镜观察<sup>[8]</sup>。免疫组织化学染色以半定量分级如下:阴性(淡黄色颗粒<50%细胞),阳性(黄色颗粒>50%或棕黄色颗粒<50%的细胞)和强阳性(褐黄色颗粒>50%的细胞)。随机选择多个200倍视野评估阳性率<sup>[9]</sup>。

### 1.2.4 实时定量PCR(real-time quantitative PCR, qPCR)

利用TRIzol Reagent(Invitrogen公司,美国)试剂提取肺组织总RNA和A549细胞总RNA,采用琼脂糖凝胶电泳分析RNA的完整度,采用分光光度仪测定RNA的浓度和纯度。应用PrimeScript™ RT Master Mix(TaKaRa公司,日本)试剂,将1μg总RNA逆转录为cDNA。分别以大鼠和人GAPDH作为内参照,用Applied Biosystems扩增仪对制备好的cDNA进行PCR扩增,扩增体系包括SYBR Green Mix 10.0μL, ddH<sub>2</sub>O 6.6μL,上游引物1.0μL,下游引物1.0μL, Rox 0.4μL, cDNA模板1.0μL,总体积20.0μL。扩增完后,行熔解曲线分析。反应在AB StepOnePlus Real-time PCR System中进行。PCR反应条件:95℃预变性5min;95℃变性15s,60℃退火、延伸1min,40个循环。内参大鼠GAPDH上游引物:5'-GCCAGCAAGGATACTGAGA-3',下游:5'-GGGTGCAGCGAAGCTTTATTG-3',182bp;大鼠SPOCK2上游引物:5'-CCATCGGTTGGATGTTCTCT-3',下游:5'-TGTAGGTGTCGCAGGAGTTG-3',132bp;人GAPDH上游引物:5'-TGGTATCGTGAAGGACTCATG-3',下游:5'-TGCCAGTGAGCTTCCCCTTCAGC-3',381bp;人SPOCK2上游引物:5'-ATGGCAAACCAGAGACTTGC-3',下游:5'-GAACATCCAGCCAATGGAGT-3',185bp。

### 1.3 统计学方法

实验数据采用SPSS19.0软件进行统计学分析,结果以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。均数之间的比较采用单因素方差分析(ANOVA)、两因素方差分析(two-way ANOVA),组间比较采用SNK检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠肺组织标本观察

于生后3、7、10、14d处死各组大鼠获取标本。空气对照组大鼠肺部发育正常,肺部呈粉红色。高氧模型组大鼠肺发育迟缓,体积较对照组缩小,肺组织外观色泽暗淡,可见散在小片状或点状出血,分布于一叶或多叶,肺扩张尚均匀。

### 2.2 各组大鼠肺组织标本HE染色和免疫组化结果

HE染色结果显示,空气对照组生后肺组织可见结构均一肺泡,细胞核和细胞质清晰,分布均匀。与空气对照组相比,高氧模型组产生了类似BPD的病理损伤,表现为肺泡壁薄、结构简单化、肺泡数目减少、有些肺泡腔融合,肺泡大小不均;部分肺间隔明显增厚,间质增生,血管扩张,纤维化增生。以上提示肺泡产生了类似BPD的病理损伤,随高氧暴露时间的延长,高氧模型组上述病理损害加重(图1)。

高氧模型组肺RAC值较空气对照组明显减少,生后10、14d时两组差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,图2)。

各组肺组织免疫组化结果显示,空气对照组生后各时间点肺组织SPOCK2蛋白表达量高于高氧模型组,生后10、14d时空气对照组出现棕色颗粒,结果呈阳性,其余组结果均为阴性(或弱阳性),SPOCK2蛋白主要存在于肺组织细胞质以及细胞外基质(图3)。

### 2.3 各组大鼠肺组织标本qPCR分析

空气对照组生后肺组织SPOCK2 mRNA的表达量随肺发育而增加,生后18d时达到高峰,生后24d时持续高位,成年时下降至低水平。与出生1d大鼠比较,其中生后10、14、18、24d的表达量升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,图4)。与空气对照组比较,高氧模型组SPOCK2 mRNA的表达量显著降低,其中高氧模型组生后10、14d的表达量与空气对照组相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,图5)。

### 2.4 A549细胞生长情况和SPOCK2 mRNA表达分析

倒置相差显微镜观察细胞形态:空气对照组A549细胞绝大多数胞体明亮,紧贴瓶底,呈良好生长状态。与空气对照组比较,高氧模型组部分细胞形态变圆,失去原有上皮样多角形态,生长状态不良,并随高氧暴露时间延长出现悬浮细胞(图6)。

A549细胞qPCR结果显示,与空气对照组比较,高氧模型组各时间段SPOCK2 mRNA表达量显著增高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,图7),高氧暴

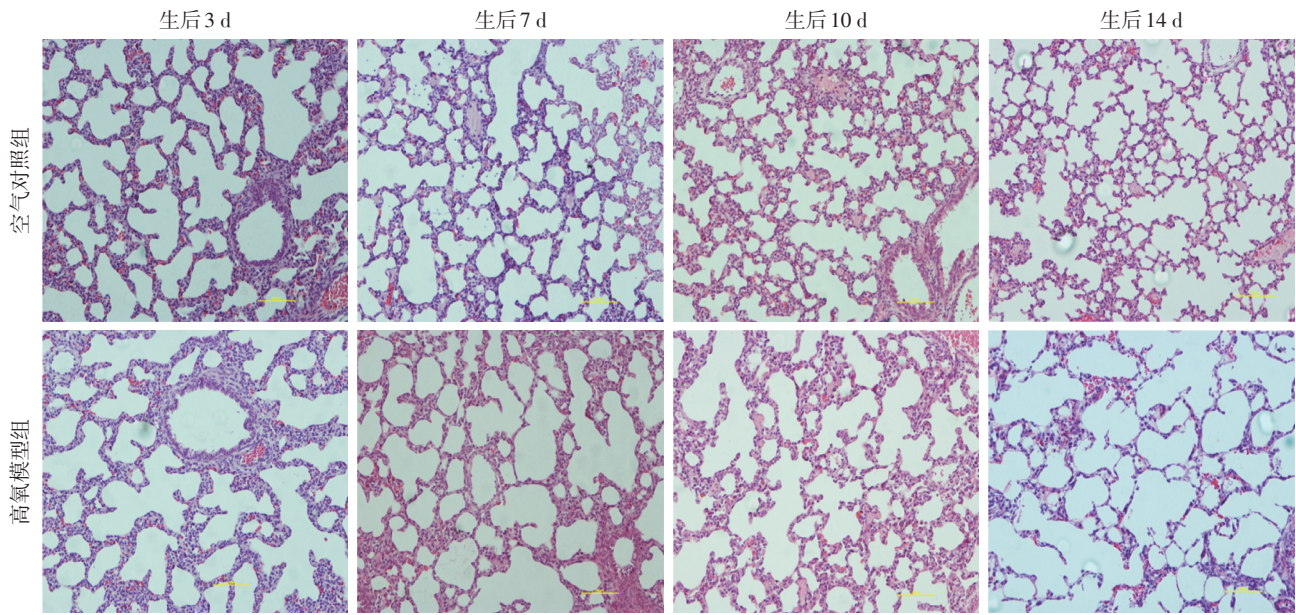


图1 肺组织的病理变化(HE,×100)

Figure 1 Pathological changes of lung tissues under microscope(HE,×100)

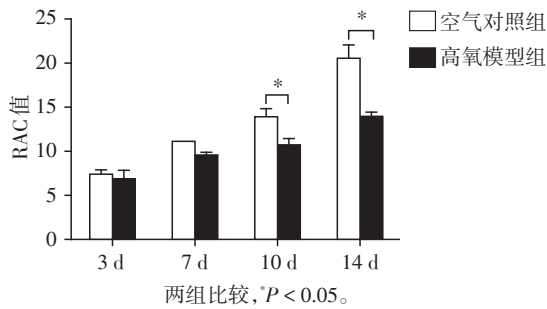


图2 新生大鼠肺组织 RAC 值

Figure 2 Value of RAC in lung tissues of newborn rats

露 3 h SPOCK2 mRNA 表达升高明显,6 h 达到高峰,12 h 开始下降。

### 3 讨论

BPD 是早产儿最具特征性的并发症,也是婴幼儿最常见的呼吸系统慢性疾病之一<sup>[10]</sup>。近年来,由于产前和新生儿重症监护的发展使 24~26 周出生的肺发育非常不成熟婴儿的存活率明显改善,这正是肺泡和远端血管开始迅速发生发育的时期。极

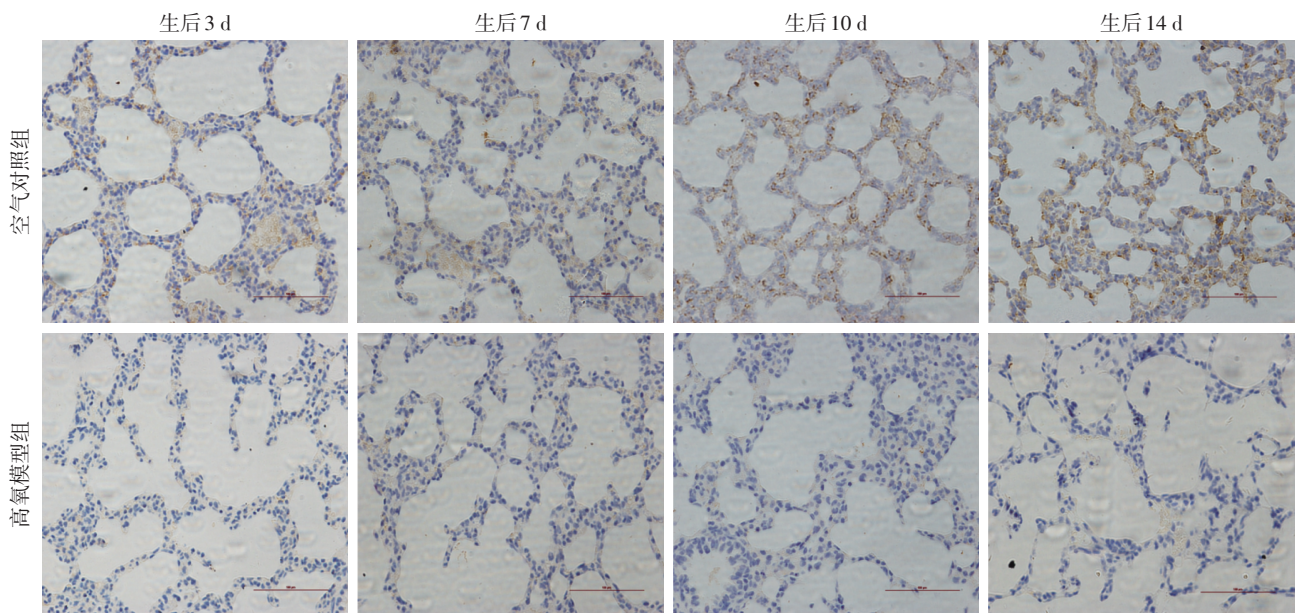


图3 新生大鼠肺组织 SPOCK2 蛋白免疫组化(×200)

Figure 3 Immunohistochemistry of SPOCK2 protein in lung tissues of neonatal rats(×200)

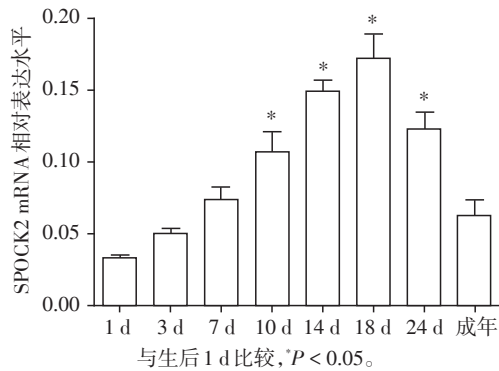


图4 空气对照组大鼠各时间段 SPOCK2 mRNA 表达  
Figure 4 The expression of SPOCK2 mRNA in the air control group

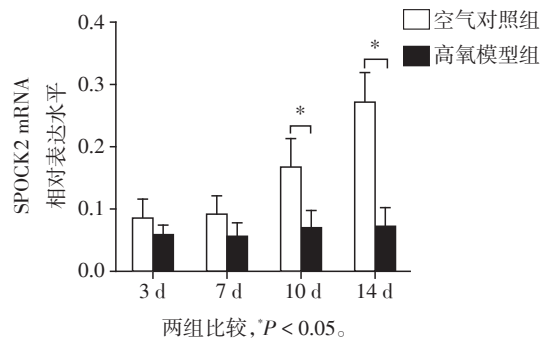
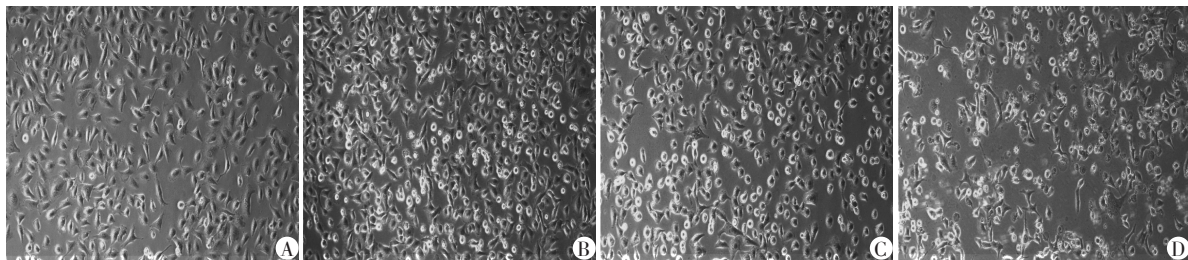


图5 空气对照组与高氧模型组大鼠各阶段 SPOCK2 mRNA 表达  
Figure 5 Expression of SPOCK2 mRNA in the air group and the model group



A: 空气对照组; B: 模型组(高氧暴露 3 h); C: 模型组(高氧暴露 6 h); D: 模型组(高氧暴露 12 h)。

图6 倒置显微镜观察各组 A549 细胞形态学特征(×100)

Figure 6 Morphological characteristics of A549 cells under inverted phase contrast microscope(×100)

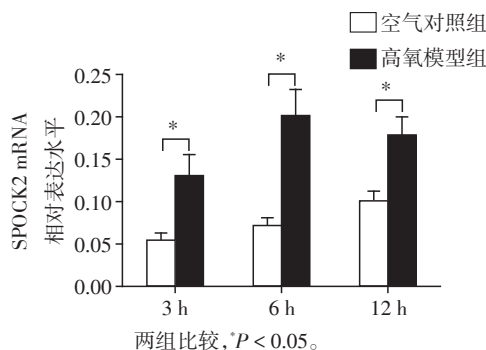


图7 空气对照组与高氧模型组 A549 细胞各阶段 SPOCK2 mRNA 表达  
Figure 7 Expression of SPOCK2 mRNA in A549 cells of the air group and the model group

不成熟的肺由于妊娠中断导致肺泡化受损, 血管发生畸形和肺泡壁纤维增生, 由此产生“新型 BPD”。“旧型 BPD”是由于高氧和机械通气产生的呼吸道内皮损伤和广泛纤维化, 而“新型 BPD”中肺泡数量减少, 肺泡扩大、简化, 肺微血管生长迟滞。同时肺泡 I 型上皮细胞的改变导致血气屏障增厚, 影响肺换气<sup>[10-11]</sup>。BPD 是由多因素共同作用的结果, 目前没有有效治疗手段, 只能通过对症治疗来缓解症状<sup>[12]</sup>。Buczynski 等<sup>[13]</sup>强调了基因、氧气、肺上皮细胞对 BPD

的综合作用。Hadchouel 等<sup>[3]</sup>利用全基因组测序分析, 确定了 SPOCK2 基因是 BPD 的敏感基因。

SPOCK2 也称为睾丸蛋白聚糖(testican-2), 是骨黏连蛋白(osteonectin)家族的细胞外基质钙黏连蛋白, 包含硫酸软骨素/硫酸乙酰肝素两个侧链<sup>[14]</sup>。编码 424 个氨基酸的糖蛋白, 由信号肽、卵泡抑素样结构域、Ca<sup>2+</sup> 结合结构域、甲状腺球蛋白样结构域和两个黏多糖附着位点的 C 端区域组成, 主要表达于脑、肺、睾丸和内分泌腺等组织<sup>[15]</sup>。Testican 可能作用于细胞外蛋白酶级联的调节<sup>[15]</sup>。有资料表明, testican-1 和 testican-3 通过基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-14 或 MMP-16 抑制 MMP-2 前体的活化, 而 testican-2 能消除其他家族成员的抑制<sup>[16]</sup>。同时, 肺泡化需要细胞外基质重塑、上皮形态发生和毛细血管生长的共同作用, 该过程涉及 MMP。资料表明, MMP-14 在肺泡化中起主要作用; MMP16C/T(rs2664352)的 TT 基因型和 MMP-16 A/G(rs2664349)的 GG 基因型均免于 BPD, 在正常人和大鼠肺发育过程中 MMP-16 在小管和囊泡期相对低表达, 而在肺泡期 mRNA 和蛋白质水平都明显增加, 在 2 例新生大鼠模型中, 肺组织 MMP-16 mRNA 水平均低于正常值的 50%; MMP-2 在损伤后的肺发

育和修复中起关键作用<sup>[17]</sup>。

本研究发现对照组大鼠在肺发育(生后 1~24 d)时 SPOCK2 mRNA 的表达逐渐升高并在生后 18 d 出现峰值,生后 24 d 时仍处在高值,而大鼠肺发育的肺泡期也处在这一时期(囊泡期:孕 20~产后 5 d;肺泡期:产后 5~30 d)<sup>[4]</sup>,与 SPOCK2 表达一致。同时模型组大鼠(1~14 d)SPOCK2 mRNA 的表达低于对照组,表明高氧可能阻断了大鼠肺从囊泡期向肺泡期的正常发育,肺泡形成受阻,相互印证了 SPOCK2 基因可能在大鼠肺泡形成过程中起一定作用。A549 细胞在高氧刺激下,SPOCK2 mRNA 的表达高于对照组,于高氧暴露 12 h 开始下降,可能是因为细胞活性降低,也初步排除了 SPOCK2 基因表达升高是由于参与氧化应激导致。根据之前的结果,A549 细胞 SPOCK2 mRNA 的高表达或为试图抵消环境不良影响,以此来保护细胞。大鼠肺组织和 A549 细胞 SPOCK2 基因表达量的差异是由于:①大鼠肺起于囊泡期而 A549 为成熟细胞;②造模机制不同。最新研究发现,SPOCK2 基因表达下调与 BPD 严重程度相关,并且其表达量随孕龄增大而增高<sup>[18]</sup>,这与本研究结果相符合。

综上所述,SPOCK2 与 MMP-16 可能存在协同作用,共同促进肺泡和肺血管的形成。SPOCK2 基因的具体作用机制以及对肺损伤的修复作用还需进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Ali Z, Schmidt P, Dodd J, et al. Bronchopulmonary dysplasia: a review [J]. Arch Gynecol Obstet, 2013, 288 (2) : 325-333
- [2] Niedermaier S, Hilgendorff A. Bronchopulmonary dysplasia-an overview about pathophysiologic concepts [J]. Mol Cell Pediatr, 2015, 2(1):1-7
- [3] Hadchouel A, Durrmeyer X, Bouzigon E, et al. Identification of SPOCK2 as a susceptibility gene for bronchopulmonary dysplasia [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 184(10):1164
- [4] O'reilly M, Thébaud B. Animal models of bronchopulmonary dysplasia.the term rat models [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2014, 307(12):L948
- [5] Lee HS. Effect of short-term exposure of different concentrations of hyperoxia on fetal alveolar type II cell death [J]. Neonat Med, 2013, 20(2):199
- [6] Huang D, Fang F, Xu F. Hyperoxia induces inflammation and regulates cytokine production in alveolar epithelium through TLR2/4-NF-kappa B-dependent mechanism [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016, 20(7):1399-1410
- [7] Zhang HS, Fang JP, Su HB, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells attenuate lung inflammation of hyperoxic newborn rats [J]. Pediatr Transplant, 2012, 16(6):589-598
- [8] Zhu Y, Fu J, Yang H, et al. Hyperoxia-induced methylation decreases RUNX3 in a newborn rat model of bronchopulmonary dysplasia [J]. Respir Res, 2015, 16(1):75
- [9] Sugino K, Hebisawa A, Uekusa T, et al. Bronchiolitis obliterans associated with Stevens-Johnson syndrome: histopathological bronchial reconstruction of the whole lung and immunohistochemical study [J]. Diagn Pathol, 2013, 8(1):1-6
- [10] Simpson SJ, Hall GL, Wilson AC. Lung function following very preterm birth in the era of 'new' bronchopulmonary dysplasia [J]. Respirology, 2015, 20(4):535-540
- [11] Solaligue DE, Rodriguez-Castillo JA, Morty RE. Recent advances in our understanding of the mechanisms of late lung development and bronchopulmonary dysplasia [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2017, 313 (6) : L1101-L1153
- [12] Strueby L, Thébaud B. Advances in bronchopulmonary dysplasia [J]. Expert Rev Respir Med, 2014, 8(3):327
- [13] Buczynski BW, Maduekwe ET, O'Reilly MA. The role of hyperoxia in the pathogenesis of experimental BPD [J]. Semi Perinatol, 2013, 37(2):69-78
- [14] 凌 岚,管亚飞,马方方,等. mir-124-3p/SPOCK2 在急性呼吸窘迫综合征早产儿血浆中表达的临床研究 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2016, 36(5):615-619
- [15] Schnepf A, Komp LP, Hülsmann H, et al. Mouse testican-2 expression, glycosylation, and effects on neurite outgrowth [J]. J Biol Chem, 2005, 280(12):11274-11280
- [16] Nakada M, Miyamori H, Yamashita J, et al. Testican 2 abrogates inhibition of membrane-type matrix metalloproteinases by other testican family proteins [J]. Cancer Res, 2003, 63(12):3364
- [17] Hadchouel A, Decobert F, Franco-Montoya ML, et al. Matrix metalloproteinase gene polymorphisms and bronchopulmonary dysplasia: identification of MMP16 as a new player in lung development [J]. PLoS One, 2008, 3(9):e3188
- [18] Yang M, Chen BL, Huang JB, et al. Angiogenesis-related genes may be a more important factor than matrix metalloproteinases in bronchopulmonary dysplasia development [J]. Oncotarget, 2017, 8(12):18670-18679

[收稿日期] 2017-08-14