

长链非编码 RNA NANCI-NKX2.1 信号通路在 BPD 新生小鼠肺组织中作用的研究

王秀桂,王会芳,张媛,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(lncRNA)NANCI-NKX2.1 信号通路在新生小鼠支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)形成过程中的作用。方法:将 32 只 C57BL/6J 新生小鼠随机分为实验组、阴性对照组、生理盐水对照组和空白对照组,每组 8 只。实验组于生后第 2 天经鼻腔吸入含 lncRNA NANCI 干扰序列的腺病毒 Ad-lnc NANCI shRNA 的生理盐水 1 μ L,阴性对照组将含无关序列发卡结构病毒质粒 Ad-GFP NC 的生理盐水 1 μ L 导入肺内,生理盐水对照组将生理盐水 1 μ L 导入肺内,空白对照组除未予鼻腔吸入以外其他控制因素与上 3 组相同;于出生后 7 d 处死各组小鼠并采集肺组织。采用 HE 染色法察看小鼠肺组织病理变化,采用 RT-qPCR 检测 NANCI 表达量,RT-qPCR 及 Western blot 技术分别检测 NKX2.1、SPC、AQP5 mRNA 和蛋白表达水平。结果:实验组肺组织病理示新隔形成减少,肺泡腔扩大、部分融合,肺泡数目较少,RAC 值下降($P < 0.05$);肺组织 NANCI 表达量下降($P < 0.05$);NKX2.1、SPC 及 AQP5 mRNA 和蛋白的表达量亦下降($P < 0.05$)。结论:NANCI-NKX2.1 信号通路在 BPD 新生小鼠中可能起重要作用。

[关键词] 长链非编码 RNA;NANCI;NKX2.1;SPC;AQP5

[中图分类号] R722.11

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)08-1070-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20180811

The role of long noncoding RNA NANCI - NKX2.1 signaling pathway in lung tissue of neonatal mice with bronchopulmonary dysplasia

Wang Xiugui, Wang Huifang, Zhang Yuan, Tian Zhaofang*

Department of Neonatology, Huai'an First Hospital, NMU; the Pediatric Diagnosis and Treatment Respiratory Key Laboratory of Huai'an, Huaian 223300, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the role of NANCI-NKX2.1 signaling pathway in the process of bronchopulmonary dysplasia (BPD) formation in neonatal mice. **Methods:** A total of 32 neonatal mice (C57BL/6J) were randomly divided into 4 groups: interference group, negative control group, normal saline control group and blank control group, with 8 pups in each group. One microlitre of normal saline with lncRNA NANCI adenovirus and control adenovirus were administered intranasally to lungs of newborn mice in interference group and negative control group at postnatal days 2 respectively. One microlitre of normal saline was administered intranasally to lungs of newborn mice in normal saline control group. No interference treatment was processed in blank control group. The mice were sacrificed 7 days after birth and lung tissue samples were collected. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe pathological changes in lung tissues. RT-qPCR was used to measure the expression of NANCI. RT-qPCR and Western blot were used to measure the mRNA and protein expression of NKX2.1, SPC and AQP5. **Results:** HE staining in interference group showed thinner alveolar septum, increased alveolar cavity and decreased number of alveoli and septum. Lung tissue biopsy also showed decreased RAC values ($P < 0.05$). The relative expression of NANCI decreased ($P < 0.05$); the expression of NKX2.1, SPC and AQP5 mRNA and protein were decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** NANCI-NKX2.1 signaling pathway may play an important role in BPD neonatal mice.

[Key words] long noncoding RNA; NANCI; NKX2.1; SPC; AQP5

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(08): 1070-1076]

[基金项目] 江苏省临床医学专项(BL2014063);淮安市创新平台(HAP2016007)

*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、尤其是极低和超低出生体重儿呼吸系统常见的慢性肺疾病。经典型BPD主要是基于机械通气和氧气支持造成的肺损伤;而新型BPD定义为纠正胎龄36周仍需氧气支持或者氧气治疗超过28 d,主要病理改变为未成熟肺的肺泡和毛细血管发育异常^[1]。新的研究表明,BPD的发病机制涉及肺多能间充质基质细胞功能紊乱^[2]、肺巨噬细胞异常^[3]、细胞外超氧化物歧化酶的缺陷^[4]、早产儿出生时肺微生物群多样性降低^[5-6]等;在BPD中普遍存在白细胞介素1 β 与白细胞介素1受体拮抗剂比值上升的情况^[7];分子生物学研究发现多个与BPD密切相关的基因,如血管内皮生长因子 α (vascular endothelial growth factor- α , VEGF- α)、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、类胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factors-1, IGF-1)、纤维连接蛋白1(fibronectin 1)、p21等^[8]。长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)是当今学界的研究热点之一,同时也成为探索BPD机制的新方向。本课题组前期研究结果显示在BPD模型小鼠肺组织中Nanci表达下调^[9];Nanci可能主要参与未成熟肺组织的发育,Nanci、NKX2.1 mRNA和蛋白表达水平与肺损伤程度相关^[10];故本实验进一步研究活体内沉默Nanci对小鼠肺泡发育的影响,探索Nanci-NKX2.1信号通路在新生小鼠BPD形成过程中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

新生C57BL/6J(B6)小鼠32只购自南京医科大学江宁校区动物房。实验中,用于Western blot实验的主要试剂:ECL试剂盒、SDS-PAGE凝胶试剂盒、电泳和转膜缓冲液、PVDF膜、兔抗鼠NKX2.1多克隆抗体一抗、兔抗鼠AQP5多克隆抗体一抗、兔抗鼠SPC多克隆抗体一抗、兔抗鼠 β -actin单克隆抗体一抗(Abcam公司,美国),山羊抗兔多克隆抗体二抗(徐州维科曼得生物工程公司)。RT-qPCR实验的主要试剂:TRIzol、逆转录试剂盒、SYBR Green试剂盒(徐州维科曼得生物工程公司)。

含lncRNA Nanci小干扰序列的腺病毒Ad-lnc Nanci shRNA和阴性对照Ad-GFP NC(上海汉恒生物科技有限公司),lnc Nanci shRNA干扰的目的序列为:5'-AATTCGCATCAGCTGCAGGACAAATATT-TCAAGAGACATCAGCTGCAGGACAAATATTTTCT-

TG-3'。重组腺病毒TCID₅₀法测定感染性滴度:Ad-lnc Nanci shRNA为 1.58×10^{11} PFU/mL、Ad-GFP NC对照为 1.26×10^{11} PFU/mL。进行动物实验前,从-80℃超低温冰箱内取出所需病毒1管,置冰上溶解。

1.2 方法

1.2.1 动物分组

将32只新生B6小鼠(出生时间30 min以内)随机分为实验组、阴性对照组、生理盐水对照组和空白对照组,每组8只(性别、体重均无差异)。

1.2.2 腺病毒处理动物方法

实验组新生小鼠于生后第2天经鼻腔吸入含Ad-lnc Nanci shRNA的生理盐水1 μ L,感染性滴度稀释为 1.58×10^9 PFU/mL,共予吸入2次,间隔24 h。手持小鼠使其直立,以微量移液器用10 μ L枪头将病毒液滴入小鼠鼻腔,同时以拇指托住下颌封闭口腔使其被迫用鼻腔呼吸20~30 s,以保证病毒液能进入肺内;阴性对照组按上述时间点和方法将含无关序列发卡结构病毒Ad-GFP NC(1.26×10^9 PFU/mL)的等量生理盐水导入肺内。生理盐水对照组按上述时间点和方法将生理盐水1 μ L导入肺内,而空白对照组除未予鼻腔吸入以外其他控制因素与上3组相同。

1.2.3 标本采集

于出生后7 d处死各组小鼠并采集肺组织。3.5%水合氯醛以0.01 mL/g(10% 4 mg/kg)腹腔注射麻醉,解剖所用器械均无菌处理,右上肺立即送至南京医科大学附属淮安第一医院病理科处理,部分做成冰冻空白切片检测荧光表达;余下部分浸入4%多聚甲醛,做成HE染色病理切片。4℃ PBS清洗剩余肺组织,储存于无酶EP管并立即置入液氮灌,转存至-80℃冰箱。

1.2.4 肺组织形态分析

参照本实验室先前的方法进行辐射状肺泡计数(RAC):即呼吸性细支气管中心至最近纤维隔或胸膜垂直线上的肺泡数目)评估肺泡化程度,反映终末呼吸单位所含肺泡数目^[9]。每标本3张切片,光学显微镜下每片取5个视野计数,计算RAC,取平均值。

1.2.5 RT-qPCR检测Nanci和NKX2.1、SPC、AQP5 mRNA表达

取(50~100 mg mRNA于-80℃冰箱冻存的小鼠肺组织,加1 mL TRIzol以备总RNA提取。然后将提取的总RNA使用Vic qRT Super Kit试剂盒逆转录成cDNA后用SYBR Green试剂盒应用qPCR技术检测Nanci和NKX2.1、SPC及AQP5 mRNA的相对表达

量。所用qPCR引物为上海生工生物工程公司设计并合成,各引物序列如下:NANCI F:5'-CAGTCAATGGTGGCTCACAG-3', NANCI R:5'-CA-ACGTAACGACAAGCATGG-3';NKX2.1 F:5'-ACCAAAGTCTGGACGACTT-3', NKX2.1 R:5'-GGAGGAGGAGGAGGAGAAGA-3';SPC F:5'-ATGGACATGAGTAGCAAAGAGGT-3', SPC R:5'-CACGATGA-GAAGGC-GTTTGGAG-3'; AQP5 F:5'-AGAAGGAGGTGTGTTTCAGTTGC-3', AQP5 R:5'-TAATGGCCGGAT-TGATGTGGC-3';GAPDH F:5'-ACCAGCCTCAAGATCATCAGC-3', GAPDH R:5'-TGCTAAGCAGTTGTGGTGC-3'。qPCR过程于20 μ L的反应体系中进行,各试剂上样量参考SYBR Green试剂盒,具体如下:2 \times SuperReal PreMix Plus 10 μ L,上下游引物(10 μ mol/L)各0.6 μ L,逆转录后的cDNA模板1 μ L, RNase-free ddH₂O补足至20 μ L。反应在罗氏480PCR仪上进行,具体的反应条件为:95 $^{\circ}$ C 15 min;95 $^{\circ}$ C 10 s;64 $^{\circ}$ C(NANCI)、60 $^{\circ}$ C(NKX2.1、SPC、AQP5)20 s,40个循环。各样本平行设3个复孔,最终结果以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示各目的基因mRNA的相对表达量,阴性对照组标化为1。

1.2.6 Western blot法检测NKX2.1、SPC、AQP5蛋白表达

取新鲜肺组织(50~100 mg)加入RIPA裂解液和PMSF混合液(100:1)后手动匀浆裂解肺组织,4 $^{\circ}$ C 12 000 r/min离心15 min后取上清,留用测蛋白浓度;BCA法测上清液蛋白浓度,后加入等体积2 \times SDS上样缓冲液并于100 $^{\circ}$ C煮沸10 min变性,蛋白留做后续实验或-80 $^{\circ}$ C冻存。每孔取10 μ g总蛋白量上样,于8%SDS-PAGE胶以浓缩胶电压100 V,分离胶电压150 V进行电泳分离,250 mA 1 h转PVDF膜,5%脱脂奶粉封闭2 h,洗膜后与目标蛋白的特异性抗

体(稀释度为1:2 000)孵育杂交,4 $^{\circ}$ C过夜,洗膜3次后,加辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育1.5 h,洗膜后以ECL化学发光液曝光,于Bio-Rad凝胶成像软件系统法检测蛋白表达。

1.3 统计学方法

最终数据使用SPSS 20.0软件进行统计学分析,计量资料(正态分布)用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠一般情况

各组小鼠均反应良好,自主活动多,食欲正常;处死前称重,体重增长无差异。

2.2 肺组织免疫荧光

新生小鼠以鼻内吸入法吸入腺病毒载体,1周后实验组及阴性对照组肺组织冰冻切片可见绿色荧光^[11-12];生理盐水及空白对照组未见荧光(图1)。

2.3 肺组织NANCI表达水平

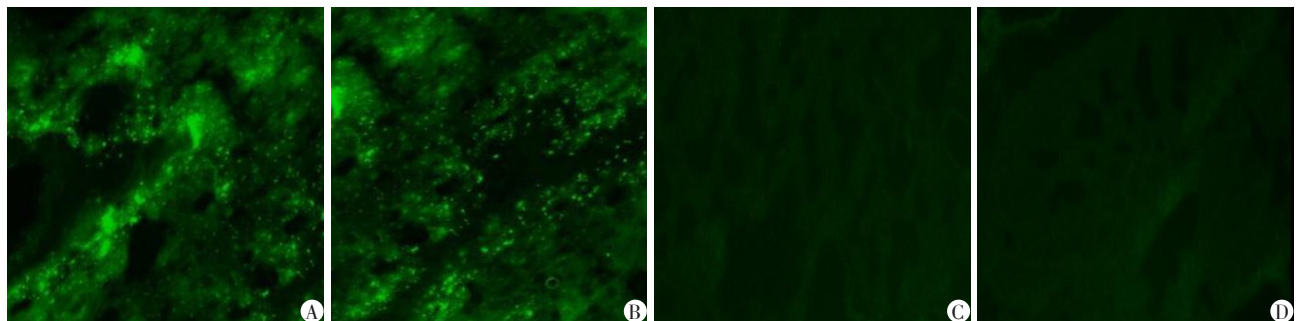
各组间差异有显著性, $F=37.96$,实验组NANCI相对表达量均低于各对照组,为阴性对照组的0.26($P < 0.05$);与阴性对照组相比,生理盐水及空白对照组NANCI相对表达量均无显著差别($P > 0.05$,表1)。

2.4 NKX2.1 mRNA和蛋白表达水平

各组间NKX2.1 mRNA相对表达量差异有显著性, $F=20.38$,实验组低于各对照组,为阴性对照组的0.50($P < 0.05$);与阴性对照组相比,生理盐水及空白对照组NKX2.1 mRNA相对表达量均无显著差别($P > 0.05$,表1)。实验组肺组织的NKX2.1蛋白表达低于各对照组(图2)。

2.5 SPC mRNA和蛋白表达水平

各组间SPC mRNA相对表达量差异有显著性,



A:实验组;B:阴性对照组;C:生理盐水对照组;D:空白对照组。

图1 各组肺组织荧光表达(冰冻切片, $\times 100$)

Figure 1 Fluorescence expression of lung tissues in each group (frozen section, $\times 100$)

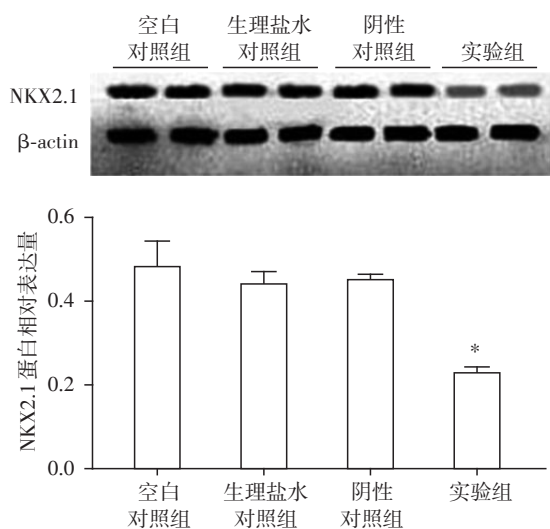


图2 各组NKX2.1蛋白表达量

Figure 2 NKX2.1 protein expression in each group

$F=18.28$, 实验组低于各对照组,为阴性对照组的0.46 ($P < 0.05$);与阴性对照组相比,生理盐水及空白对照组SPC mRNA相对表达量均无显著差别 ($P > 0.05$,表1)。实验组肺组织的SPC蛋白表达低于各对照组(图3)。

2.6 AQP5 mRNA和蛋白表达水平

各组间AQP5 mRNA相对表达量差异有显著性, $F=21.84$, 实验组低于各对照组,为阴性对照组的0.48 ($P < 0.05$);与阴性对照组相比,生理盐水及空白对照组AQP5 mRNA相对表达量均无显著差别 ($P > 0.05$,表1)。实验组肺组织的AQP5蛋白表达低于各对照组(图4)。

2.7 肺组织形态病理学分析

实验组肺组织新隔形成减少,肺泡腔扩大、部分融合,肺泡数目较少。阴性对照组、生理盐水对照组和空白对照组肺泡大小基本均一,形态尚规整,间隔变薄,肺泡腔内可见较多冠状突起,为新生肺泡隔延伸(图5)。实验组RAC(6.38 ± 0.43)个与

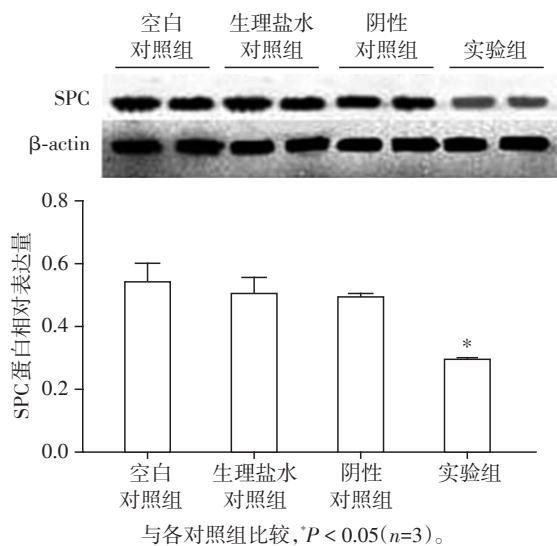


图3 各组SPC蛋白表达量

Figure 3 SPC protein expression in each group

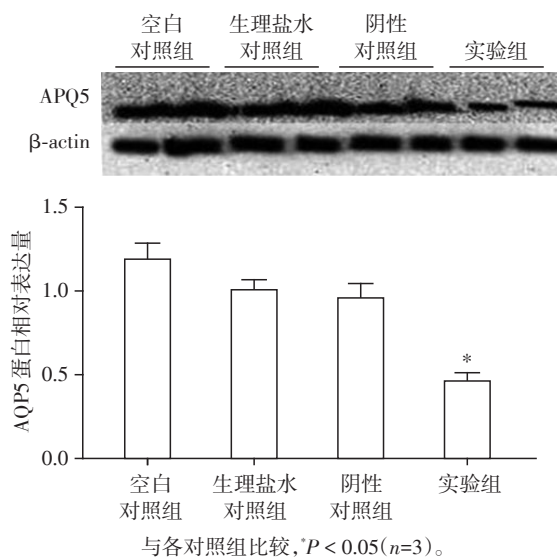


图4 各组AQP5蛋白表达量

Figure 4 AQP5 protein expression in each group

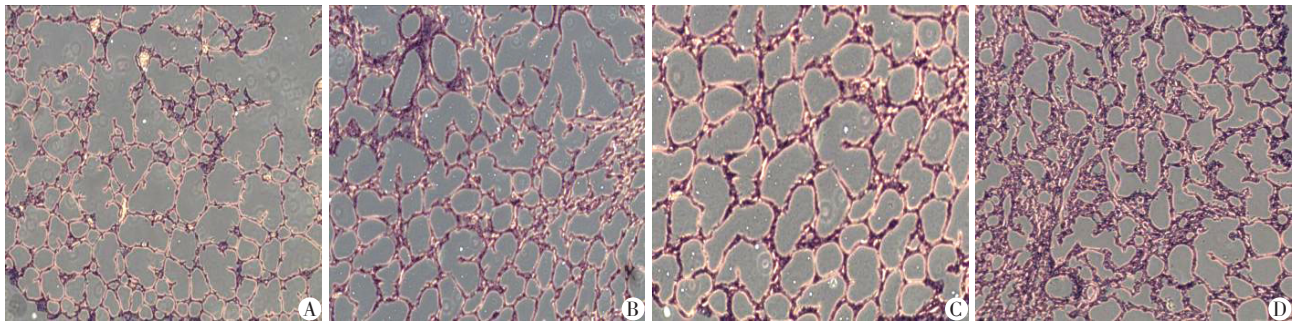
其他3组[(6.87 ± 0.36)、(7.02 ± 0.36)、(7.22 ± 0.36)个]相比均有统计学意义 ($P < 0.05$);与阴性对照组相比,生理盐水及空白对照组RAC值均无显著差异

表1 肺组织Nanci及NKX2.1,SPC,AQP5 mRNA相对表达量

Table 1 The relative expression of Nanci and NKX2.1, SPC, AQP5 mRNA in lung tissues ($\bar{x} \pm s$)

分组	Nanci	NKX2.1	SPC	AQP5
实验组	$0.26 \pm 0.11^*$	$0.50 \pm 0.20^*$	$0.46 \pm 0.22^*$	$0.48 \pm 0.21^*$
阴性对照组	1.00	1.00	1.00	1.00
生理盐水对照组	1.05 ± 0.20	1.09 ± 0.23	1.13 ± 0.30	1.11 ± 0.25
空白对照组	1.10 ± 0.29	1.19 ± 0.23	1.22 ± 0.26	1.21 ± 0.22
F值	37.96	20.38	18.28	21.84
P值	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

与阴性对照组比较, * $P < 0.05$ 。



A:实验组;B:阴性对照组;C:生理盐水对照组;D:空白对照组。

图5 各组肺组织病理(HE,×100)

Figure 5 Pathological changes of lung tissues in each group(HE,×100)

($P > 0.05$)。

3 讨论

lncRNA 是一类转录本长度大于 200 个核苷酸、小于 10^5 个核苷酸的 RNA 分子,多集中于细胞核,本身缺乏开放阅读框,因此无编码蛋白质的功能;研究已证实 lncRNA 参与了谱系维持、关联推断、基因沉默、分子骨架等的调控作用过程^[13-15]。有关 lncRNA 在肺疾病中的作用与机制研究已成为学者们关注的热点: Huang 等^[16]发现新型 lncRNA - RP11248E9.5、RP11-456D7.1 等及其靶基因可能与肺炎患者的病情进展密切相关;在哮喘患者的气道平滑肌细胞中观察到异常表型与 lncRNA 相关,靶向 lncRNA PVT1(浆细胞瘤变异易位 1)可能有效减少哮喘患者的气道重塑^[17];lncRNA 还可能承担血管发育“诱发者和终结者”(inducers and terminators)的角色,影响内皮细胞的生物学功能^[18]。

NANCI 是 Herriges 等^[19]首次发现的与肺发育相关的基因间 lncRNA,常通过调节转录因子的表达调控基因转录的多个方面,进而调节肺内胚层基因的表达和形态形成。我们前期实验中,采用 lncRNA 芯片技术检测高氧诱导 BPD 模型小鼠及正常小鼠肺组织中 lncRNA 表达谱的变化,发现 NANCI 在 BPD 小鼠肺组织中表达下调^[9];进一步的实验显示:随高氧暴露时间延长肺组织损伤程度加重,NANCI 与肺组织损伤程度呈正相关,提示 NANCI 在高氧诱导 BPD 形成过程中可能起作用^[10]。本研究通过鼻内吸入的方法,于生理情况下对新生小鼠导入外源性基因,沉默 NANCI,结果显示肺组织病理切片 RAC 值下降,类似于新生小鼠 BPD 表现,同时 NANCI 表达下降。

目前认为存在 Wnt/ β -catenin- NANCI-NKX2.1

信号通路^[19];NANCI 处于 Wnt/ β -catenin 信号通路下游、NKX2.1 的上游。NKX2.1 位于染色体 14q13 区带,是最早发现的肺内胚层祖细胞的标志物^[20];NKX2.1 表达于肺形态发育初始阶段的表皮细胞和胚肺发育全过程,是肺部许多特异性基因表达的重要转录因子,包括与肺部防御修复能力密切相关的 SP-A、SP-B 和 Clare 细胞标志物 Clare 细胞分泌蛋白,它通过调节分枝化形态形成而参与肺正常发育^[21],通过调控其靶基因如肺表面活性蛋白(surfactant associated protein, SP, 包括 SP-A、B、C、D)的表达以维持肺泡稳定性及增强宿主防御、修复力,调控水通道蛋白(aquaporin, AQP)稳定肺泡间液体平衡^[22]等。本课题组前期研究发现随高氧暴露时间延长肺组织损伤程度加重, NANCI、NKX2.1 蛋白和 mRNA 表达量与肺组织损伤程度呈正相关等结果也支持这一通路可能在高氧诱导的新生小鼠 BPD 发病机制中具有作用^[10];也有研究认为 NANCI 的单独缺失可能并不足以影响肺发育,而是通过与 NKX2.1 形成基因复合体,产生类似于阻变器的功能而影响 NKX2.1 的表达,进而影响内胚层向肺上皮细胞的转化;这种 NANCI-NKX2.1 基因复合物的断裂可导致围产儿先天性免疫缺陷、组织损伤,以及成人肺的退行性变等^[23]。具体作用机制还有待进一步研究。

本实验显示,沉默 NANCI 可导致 NKX2.1、SPC 及 AQP5 mRNA 和蛋白的表达量下降,支持 Wnt/ β -catenin- NANCI-NKX2.1 信号通路在新生小鼠 BPD 中具有价值。SPC 对新生儿生后呼吸的适应和调节至关重要,参与了多种肺部疾病的发生、发展。SPC 缺失可增加小鼠对细菌、病毒的易感性,还可加重感染后炎症反应^[24]。Hou 等^[25]研究显示,在高氧诱导 BPD 小鼠模型肺组织中 SPC 及 AQP5 的表达均下降。AQP5 主要表达在 I 型和 II 型肺泡上皮细胞顶

膜,和肺泡液的形成有关^[26]。最近的研究表明,AQP5可能在急性肺损伤的发病过程中起重要作用^[27]; Zhang等^[28]研究发现,在新生鼠BPD模型中,AQP5表达下降。

本实验证实通过鼻吸入法活体沉默新生小鼠肺组织Nanci,肺组织AQP5及SPC的表达量均下降;肺组织病理切片也显示RAC值下降;类似BPD效果;因此推测Nanci-NKX2.1信号通路在BPD新生小鼠中发病机制中起重要作用,Nanci有望成为临床BPD患儿早期诊断、治疗及预后的分子标志物或治疗靶点。本实验的不足之处在于还缺乏过表达Nanci之后其NKX2.1及其下游蛋白及相应mRNA的变化,以及是否存在反馈调节等相关研究,这将是本课题组下一步研究的方向。

[参考文献]

[1] Collins JJP, Tibboel D, de Kleer IM, et al. The future of bronchopulmonary dysplasia: emerging pathophysiological concepts and potential new avenues of treatment [J]. *Frontiers in Medicine*, 2017, 4:61

[2] Kumar ME, Bogard PE, Espinoza FH, et al. Defining a mesenchymal progenitor niche at single-cell resolution [J]. *Science*, 2014, 346(6211): 1258810

[3] Jones CV, Williams TM, Walker KA, et al. M2 macrophage polarisation is associated with alveolar formation during postnatal lung development [J]. *Respiratory Research*, 2013, 14(1):41

[4] Delaney C, Wright RH, Tang JR, et al. Lack of EC-SOD worsens alveolar and vascular development in a neonatal mouse model of bleomycin-induced bronchopulmonary dysplasia and pulmonary hypertension [J]. *Pediatric Research*, 2015, 78(6):634-640

[5] Lohmann P, Luna RA, Hollister EB, et al. The airway microbiome of intubated premature infants: characteristics and changes that predict the development of bronchopulmonary dysplasia [J]. *Pediatric Research*, 2014, 76(3): 294-301

[6] Lal CV, Travers C, Aghai ZH, et al. The airway microbiome at birth [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6:31023

[7] Liao J, Kapadia VS, Brown LS, et al. The NLRP3 inflammasome is critically involved in the development of bronchopulmonary dysplasia [J]. *Nature Communications*, 2015, 6:8977

[8] Mailaparambil B, Krueger M, Heizmann U, et al. Genetic and epidemiological risk factors in the development of bronchopulmonary dysplasia [J]. *Dis Markers*, 2010, 29(1):1-9

[9] Bao TP, Wu R, Cheng HP, et al. Differential expression of

long non-coding RNAs in hyperoxia-induced bronchopulmonary dysplasia [J]. *Cell Biochemistry and Function*, 2016, 34(5):299-309

[10] 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

[11] Fu YH, He JS, Qiao W, et al. Intranasal immunization with a helper-dependent adenoviral vector expressing the codon-optimized fusion glycoprotein of human respiratory syncytial virus elicits protective immunity in BALB/c mice [J]. *Virology journal*, 2013, 10(1): 183

[12] Damjanovic D, Zhang X, Mu J, et al. Organ distribution of transgene expression following intranasal mucosal delivery of recombinant replication-defective adenovirus gene transfer vector [J]. *Genetic Vaccines and Therapy*, 2008, 6(1):5

[13] Morceau F, Chateauvieux S, Gaigneaux A, et al. Long and short non-coding RNAs as regulators of hematopoietic differentiation [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(7):14744-14770

[14] Melé M, Mattioli K, Mallard W, et al. Chromatin environment, transcriptional regulation, and splicing distinguish lincRNAs and mRNAs [J]. *Genome Research*, 2017, 27(1):27-37

[15] Chen W, Qi F, Xia R, et al. Long non-coding RNA ANRIL is upregulated in hepatocellular carcinoma and regulates cell proliferation by epigenetic silencing of KLF2 [J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2015, 8(1):57

[16] Huang S, Feng C, Chen L, et al. Identification of potential key long non-coding RNAs and target genes associated with pneumonia using Long non-coding RNA sequencing (lncRNA-Seq): A Preliminary Study [J]. *Medical Science Monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 2016, 22:3394

[17] Austin PJ, Tsitsiou E, Boardman C, et al. Transcriptional profiling identifies the long noncoding RNA plasmacytoma variant translocation (PVT1) as a novel regulator of the asthmatic phenotype in human airway smooth muscle [J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2017, 139(3):780-789

[18] Viereck J, Kumarswamy R, Thum T. Long noncoding RNAs as inducers and terminators of vascular development [J]. *Circulation*, 2015, 131(14):1236-1238

[19] Herriges MJ, Swarr DT, Morley MP, et al. Long noncoding RNAs are spatially correlated with transcriptin on factors and regulate lung development [J]. *Genes & Development*, 2014, 28(12):1363-1379

[20] Kimura S, Hara Y, Pineau T, et al. The T/ebp null mouse: thyroid-specific enhancer-binding protein is essential for

- the organogenesis of the thyroid, lung, ventral forebrain, and pituitary [J]. *Genes & Development*, 1996, 10(1): 60-69
- [21] Minoo P, Hamdan H, Bu D, et al. TTF-1 regulates lung epithelial morphogenesis [J]. *Developmental Biology*, 1995, 172(2): 694-698
- [22] Kim JG, Son YJ, Yun CH, et al. Thyroid transcription factor-1 facilitates cerebrospinal fluid formation by regulating aquaporin-1 synthesis in the brain [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(20): 14923-14931
- [23] Herriges MJ, Tischfield DJ, Cui Z, et al. The Nkx2-1 gene duplex buffers Nkx2-1 expression to maintain lung development and homeostasis [J]. *Genes & Development*, 2017, 31(9): 889-903
- [24] Glasser SW, Witt TL, Senft AP, et al. Surfactant protein C-deficient mice are susceptible to respiratory syncytial virus infection [J]. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2009, 297(1): L64-L72
- [25] Hou A, Fu J, Yang H, et al. Hyperoxia stimulates the trans-differentiation of type II alveolar epithelial cells in newborn rats [J]. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2015, 308(9): L861-L872
- [26] Ablimit A, Hasan B, Lu W, et al. Changes in water channel aquaporin 1 and aquaporin 5 in the small airways and the alveoli in a rat asthma model [J]. *Micron*, 2013, 45(1): 68-73
- [27] Vassiliou AG, Maniatis NA, Orfanos SE, et al. Induced expression and functional effects of aquaporin-1 in human leukocytes in sepsis [J]. *Critical Care*, 2013, 17(5): R199
- [28] Zhang H, Fang J, Wu Y, et al. Mesenchymal stem cells protect against neonatal rat hyperoxic lung injury [J]. *Expert opinion on biological therapy*, 2013, 13(6): 817-829
- [收稿日期] 2017-09-27

(上接第 1021 页)

- 2015, 10(12): e0144509
- [5] Shiohira S, Komatsu M, Okazaki M, et al. Effect of taurine on hemodiafiltration in patients with chronic heart failure [J]. *Ther Apher Dial*, 2016, 20(1): 20-26
- [6] Wu QD, Wang JH, Fennessy F, et al. Taurine prevents high-glucose-induced human vascular endothelial cell apoptosis [J]. *Am J Physiol*, 1999, 277(6 Pt 1): C1229-1238
- [7] 剑白, 漓肖, 永韩, 等. 牛磺酸对肝纤维化模型小鼠肝组织超氧化物歧化酶和丙二醛的影响 [J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(27): 4379-4383
- [8] Burtenshaw D, Hakimjavadi R, Redmond EM, et al. Nox, reactive oxygen species and regulation of vascular cell fate [J]. *Antioxidants(Basel)*, 2017, 6(4): 90
- [9] Nguyen Dinh Cat A, Montezano AC, Burger D, et al. Angiotensin II, NADPH oxidase, and redox signaling in the vasculature [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 19(10): 1110-1120
- [10] van Thiel BS, van der Pluijm I, Te RL, et al. The renin-angiotensin system and its involvement in vascular disease [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 763(Pt A): 3-14
- [11] Bluthgen N, Legewie S. Systems analysis of MAPK signal transduction [J]. *Essays Biochem*, 2008, 45: 95-107
- [12] Ashkani-Esfahani S, Zarifi F, Asgari Q, et al. Taurine improves the wound healing process in cutaneous leishmaniasis in mice model, based on stereological parameters [J]. *Adv Biomed Res*, 2014, 3: 204
- [13] Luo X, Liu J, Zhou H, et al. Apelin/APJ system: A critical regulator of vascular smooth muscle cell [J]. *J Cell Physiol*, 2017
- [14] Trovati M, Doronzo G, Barale C, et al. Leptin and vascular smooth muscle cells [J]. *Curr Pharm Des*, 2014, 20(4): 625-634
- [15] Kamato D, Burch ML, Piva TJ, et al. Transforming growth factor-beta signalling: role and consequences of Smad linker region phosphorylation [J]. *Cell Signal*, 2013, 25(10): 2017-2024
- [收稿日期] 2017-12-27