

# PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$ 信号通路在博来霉素诱导小鼠肺纤维化中的作用机制研究

马爱平<sup>1</sup> 高云周<sup>2</sup> 兰文斌<sup>1</sup> 瞿跃进<sup>1</sup> 刘群<sup>1</sup>

1 厦门大学附属第一医院呼吸内科(福建厦门 360001); 2 中国医学科学院基础医学研究所病理教研室(北京 100005)

**【摘要】** 目的 探讨 PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  信号通路在博来霉素(BLM)诱导的小鼠肺纤维化中的作用机制。方法 56 只 C57BL/6 小鼠随机分为对照组和实验组,实验组通过气管内滴注 BLM (2.5 mg/kg) 建立肺纤维化模型,对照组在相同条件下气管内滴注等量 0.9% 氯化钠溶液。在造模第 21 d 取小鼠肺组织标本行 HE 和 Masson 染色分析肺组织形态学变化;运用 Ashcroft 评分以及检测羟脯氨酸含量评估肺纤维化程度;Western blot 方法检测 PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  信号通路的变化以及肺泡表面活性物质(Pro-SPC)蛋白含量;实时定量 PCR(RT-PCR)法检测胶原蛋白 3(Collagen3) mRNA 表达水平;免疫组织化学法检测肺组织内 Collagen3 蛋白和细胞凋亡数的变化。结果 实验组与对照组相比,肺炎和肺纤维化程度明显加重,肺组织内充填大量炎细胞及纤维病灶。试验组 Ashcroft 评分和羟脯氨酸含量均较对照组显著升高( $P < 0.05$ )。同时,PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  信号通路在实验组肺内明显活化,并伴有 Pro-SPC 蛋白生成减少,Collagen3 蛋白含量及 mRNA 水平增加,以及肺内细胞凋亡数明显增加。结论 PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  信号通路的异常活化促进了肺纤维化形成。

**【关键词】** 肺纤维化; 博来霉素; 缺氧诱导因子 1 $\alpha$ ; 表面活性物质 C

## The Role of PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$ Signaling Pathway in Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis in Mice

Ma Aiping<sup>\*</sup>, Gao Yunzhou, Lan Wenbin, Qu Yuejin, Liu Qun.<sup>\*</sup> Department of Respiratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen, Fujian 360001, China

Corresponding Author: Liu Qun, E-mail: 385653071@qq.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the role of PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  signaling pathway in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. **Methods** Fifty-six C57BL/6 mice were randomly divided into a control group and a bleomycin (BLM) group. The pulmonary fibrosis model was induced by single intratracheal instillation of BLM (2.5 mg/kg) in the BLM group. Similarly 0.9% saline was instilled directly into the trachea in the control group. Then all mice were sacrificed on 21<sup>st</sup> day. The lungs were collected for morphometric analysis with HE and Masson staining. The degree of pulmonary fibrosis was evaluated with Ashcroft score and content of hydroxyproline. The activity of PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  signaling pathway and pro-surfactant protein C (Pro-SPC) were measured by Western blot. The level of collagen3 mRNA was assessed with quantitative real time PCR analysis. Collagen3 protein and numbers of apoptosis cells were observed with immuno-histochemistry. **Results** It was exhibited that the thickening alveolar septa, accumulation of inflammatory cells, and fibrous obliteration in the BLM group but not in the control group. There was a significant difference in Ashcroft score and hydroxyproline content in the BLM group. Meanwhile, the activity of PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  signaling pathway was up-regulated and the protein of Pro-SPC was decreased in the BLM group. It was revealed that the numbers of apoptosis cells, expressions of Collagen3 protein and mRNA were increased in the BLM group. **Conclusion** Aberrant activity of PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  signaling pathway may aggravate the pulmonary fibrogenesis.

**【Key words】** Pulmonary fibrosis; Bleomycin; Hypoxia induced factor-1 $\alpha$ ; Surfactant protein C

DOI: 10.7507/1671-6205.2016009

基金项目: 福建省科技局课题(编号: J00162)

通信作者: 刘群, E-mail: 385653071@qq.com

特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 是一种病因未明的弥漫性肺间质疾病,以慢性进行性的肺实质损害和纤维化为主要特征。该病好发于大于 50 岁的老年人,临床表现以慢性咳嗽、渐进性呼吸困难为主,其预后较差,确诊后中位生存期仅为 3~5 年<sup>[1]</sup>。目前临床上尚缺乏有效的药物治疗,探讨 IPF 发病机制有助于临床上寻找有效的治疗方法。近年的研究表明活化的 PI3K/Akt 信号通路参与了肝脏和肾脏纤维化病变,抑制该信号通路可通过减少细胞外基质 (ECM) 的表达以及抑制上皮-间质转化等多种促纤维化途径抑制纤维化形成<sup>[2-5]</sup>。PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  信号通路由磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (Akt)、缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) 组成,参与多种细胞功能,如凋亡、增殖、代谢、生长转化、膜转运、分泌和趋化等,并在炎症、肿瘤、代谢和心血管疾病的发病机制中起重要作用<sup>[6-7]</sup>。PI3K 在生长因素及营养信号的刺激下,磷酸化下游的 Akt 位点, Akt 激活后阻碍周期蛋白 D1 的降解,使细胞周期 G1/S1 转换加快,引起了与增殖相关基因 mRNA 的大量转录,加速细胞的增殖<sup>[7-9]</sup>。在 IPF 患者中,受损的肺泡上皮细胞存在过度增生和持续凋亡并存,PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  通路是否参与肺纤维化发病的调控机制仍未完全清楚。本研究通过构建博来霉素诱导的小鼠肺纤维化模型,探讨该通路在肺纤维化发病的作用机制。

## 材料与方 法

### 一、材料

1. 实验动物及分组: C57BL/6 雄性小鼠,体重 (22 $\pm$ 2) g,由厦门大学实验动物中心提供,饲养于 SPF 级实验动物房。将健康 C57BL/6 雄性小鼠 56 只随机分为对照组 (28 只) 和实验组 (28 只)。

2. 主要试剂及仪器: 博来霉素 (15 mg/支,日本化药株式会社),兔抗小鼠 p-Akt 单克隆抗体 (美国 CST 公司),兔抗小鼠 Akt 单克隆抗体 (美国 CST 公司),小鼠抗小鼠 HIF-1 $\alpha$  单克隆抗体 (美国 Abcam),兔抗小鼠胶原蛋白 3 (Collagen3) 多克隆抗体 (美国 Prosci 公司),兔抗小鼠 Pro-SPC 多克隆抗体 (美国 Minipore 公司),TUNEL 试剂盒 (美国 Roche 公司),兔抗小鼠  $\beta$ -actin 多克隆抗体 (美国 Santa Cruz 公司)、羟脯氨酸试剂盒 (美国 BioVision),Masson 染液试剂盒 (武汉博士德公司),Trizol Reagent (美国 Gibco 公司),逆转录试剂盒,PCR 预混试剂,核酸 Marker DI2000 (日本 Takara 公

司)。HE 染色所需试剂、Western blot 器材、化学发光凝胶成像仪等由厦门大学附属第一医院中心实验室提供。

### 二、方法

1. 博来霉素肺纤维化模型建立: 以 2% 戊巴比妥钠按照 70  $\mu$ g 腹腔注射麻醉小鼠,将小鼠固定于操作台,消毒颈部皮肤,眼科剪剪开颈前皮肤,钝性分离组织暴露气管。实验组以 1 mL 注射器气管内滴注博来霉素 (2.5 mg/kg),对照组给予等剂量 0.9% 氯化钠溶液,拔除注射器,迅速提起小鼠,绕长轴左右旋转,使药物分布均匀,缝合颈部皮肤。此后每日观察活动、测体重以及每日死亡数量,21 d 后处死小鼠,收集肺脏标本。

2. 小鼠肺标本 HE 染色及 Ashcroft 评分: 石蜡切片常规脱蜡至水,苏木精染液中浸染,3.1% 盐酸酒精分色,4.2% 碳酸氢钠溶液返蓝,伊红溶液中浸染,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。光镜下以各肺叶肺组织水肿、出血、炎性细胞浸润和小气道损伤等项病理改变。肺组织纤维化 Ashcroft 评分按文献 [10] 所示。每张片子取 5 个以上视野,计算每只小鼠肺的各项病理改变程度的平均程度,作为肺纤维化分数,然后成组统计分析 Ashcroft 评分。

3. 肺部 Masson 染色检测肺部纤维化程度: 切片常规脱蜡至水,Weigent 氏苏木精液染核,1% 盐酸分化,丽春红-品红溶液洗,1% 醋酸水溶液洗,1% 磷钼酸分化直到各种成分被染清晰,1% 醋酸水溶液洗,2% 淡绿液染 2 min。常规脱水、透明、封片。

4. 羟脯氨酸含量的测定: 取冻存的肺组织湿质量 10 mg,采用碱水解法测定,严格按照试剂盒说明书进行,明确胶原总体水平,评定纤维化病变程度。

5. 免疫组织化学检测: 取各组小鼠肺组织,石蜡包埋切片水化,阻断内源性过氧化物酶的活性,抗原修复,封闭,用一抗 Collagen3 抗体 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜。滴加相应的二抗 2 h,再滴加 DAB 显色,苏木精复染,脱水,透明,封片,高倍镜下检测 Collagen3 阳性的细胞数。

6. 凋亡细胞检测: 按试剂盒说明书,用 Proteinase K 工作液处理水化的石蜡切片 37  $^{\circ}$ C, 15 min,漂洗。用 50  $\mu$ L TdT + 450  $\mu$ L 荧光素标记的 dUTP 液混匀滴加于玻片上,37  $^{\circ}$ C, 5 min; 玻片干后,加 50  $\mu$ L TUNEL 反应混合液,暗湿盒中反应 37  $^{\circ}$ C, 1 h; 加 50  $\mu$ L converter-POD 于标本上,暗湿盒中反应 37  $^{\circ}$ C, 30 min。加入 50  $\mu$ L DAB 底物,反应 15 min。苏木精复染,酒精脱水、二甲苯透明,中

性树胶封片。

7. Western blot 测定 PI3K/Akt/HIF-1α 信号通路蛋白表达: 每份样品取 30 g 上样, 经 SDS-PAGE 电泳后, 将蛋白转到聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上, 用封闭液 5% 牛血清白蛋白 (BSA) 的 TBST 缓冲液在室温封闭 2 h, 用 TBST 1:1 000 稀释兔抗鼠 p-Akt、Akt、HIF-1α、Pro-SPC、β-actin 一抗, 将膜置于一抗溶液中 4 °C 过夜。次日将膜取出洗涤后置于 TBST 1:5 000 稀释的 HRP 的二抗溶液中 4 °C 反应 2 h。洗膜后, 暗室中应用化学发光凝胶成像仪曝光, 以 β-actin 蛋白作为上样量的参照。

8. 小鼠肺组织 Collagen3 mRNA 表达检测: 取左肺组织 100 mg 按试剂盒说明书用 Trizol 提取总 RNA, 紫外分光光度计测量总 RNA 浓度并调整 RNA 浓度为 100 ng/μL, 逆转录合成互补脱氧核糖核酸 (cDNA), 再进行 PCR 扩增。Collagen3 上游引物 5'-CAAATGGCATCCCAGGAG-3', 下游引物 5'-CATCTCGGCCAGGTTCTC-3'。GAPDH 上游引物 5'-CAGCAAGGACACTGAGCAAGA-3', 下游引物 5'-GCCCTCTCTGTTATTATGGGG-3'。PCR 反应条件: 95 °C 预变性 10 min 95 °C 变性 30 s 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s。NAPDH 为基准进行相对定量。

### 三、统计学处理

所有数据应用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。两组间比较采用 *t* 检验或非参数检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、小鼠肺纤维化评价

1. 小鼠肺组织病理形态学变化: 生理盐水干预的对照组未见明显肺内结构异常 (图 1a), 而博来霉素干预的实验组小鼠中, 造模 21 d 的肺组织病理切片可见肺组织结构被明显破坏, 肺泡间隔增厚并伴有较多炎症细胞浸润 (图 1b)。Masson 染色中, 对照组未见明显阳性蓝染 (图 1c)。实验组肺组织可见弥漫的肺间质纤维化形成, 蓝色索条状胶原纤维以气道周围和胸膜下分布为主, 肺泡间隔明显增宽, 肺泡腔缩小, 肺纤维化明显 (图 1d)。

2. 小鼠肺纤维化程度评估: 对小鼠肺组织病理切片进行 Ashcroft 评分, 结果显示实验组较对照组的纤维化评分明显增高 [(1.23 ± 0.17) 分比 (4.75 ± 0.44) 分 *P* < 0.000 1]。同时, 与对照组相比, 实验组小鼠肺组织中羟脯氨酸含量明显增高 [(0.22 ± 0.03) μg/well 比 (0.54 ± 0.09) μg/well *P* < 0.05]。

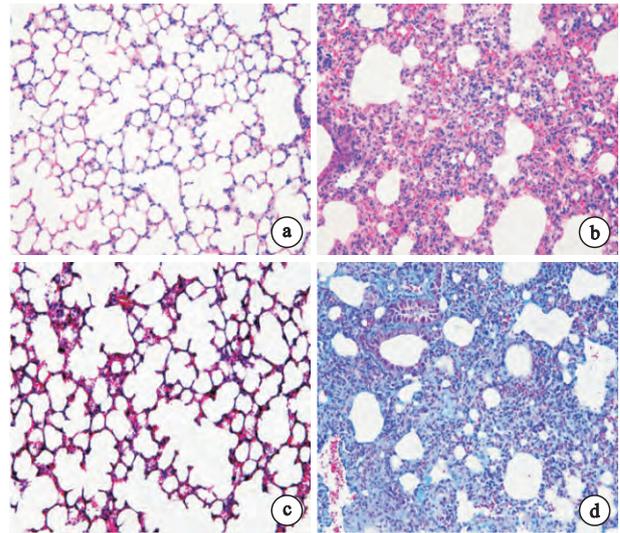


图 1 博来霉素诱导的小鼠肺纤维化肺组织病理学变化 (× 200) a. 对照组肺组织 HE 染色; b. 实验组肺组织 HE 染色; c. 对照组肺组织 Masson 染色; d. 实验组肺组织 Masson 染色

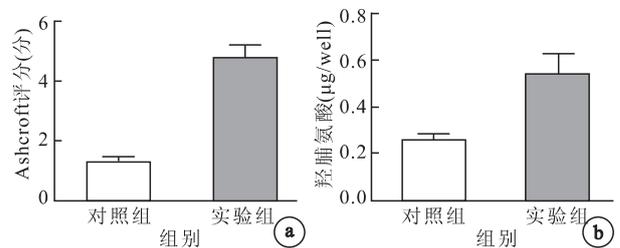


图 2 小鼠肺纤维化程度评估 a. Ashcroft 评分; b. 小鼠肺组织中羟脯氨酸含量比较

### 二、PI3K/Akt/HIF-1α 信号通路在小鼠肺纤维化发病中的作用

1. PI3K/Akt/HIF-1α 信号通路在纤维化肺组织中的表达: Western blot 检测小鼠肺组织中 p-Akt、HIF-1α 和 Pro-SPC 蛋白的表达量变化。实验组小鼠肺组织的 p-Akt 较对照组表达明显升高, HIF-1α 表达亦明显增加, 而 Pro-SPC 蛋白表达量则较对照组明显减少 (*P* < 0.05) 结果见图 3。

2. 肺组织中 Collagen3 的表达: 与对照组相比, 实验组小鼠肺组织切片中 Collagen3 蛋白的表达量明显增加, 同时 Collagen3 的 mRNA 表达量较对照组亦显著升高 (*P* < 0.05) 结果见图 4。

3. 肺纤维化组织中的细胞凋亡情况: 在实验组中可见肺组织中凋亡细胞数明显增加, TUNEL 染色阳性细胞显示细胞核棕色, 固缩成团, 主要分布在核边缘, 结构完整, 多位于肺泡间隔上。对照组凋亡细胞数明显低于实验组。结果见图 5。

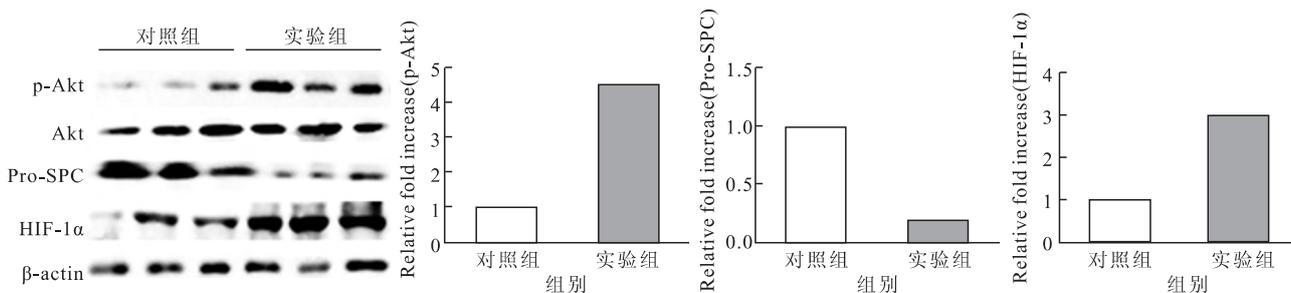


图3 Western blot 检测小鼠肺组织中 PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  信号通路及 Pro-SPC 蛋白的表达量

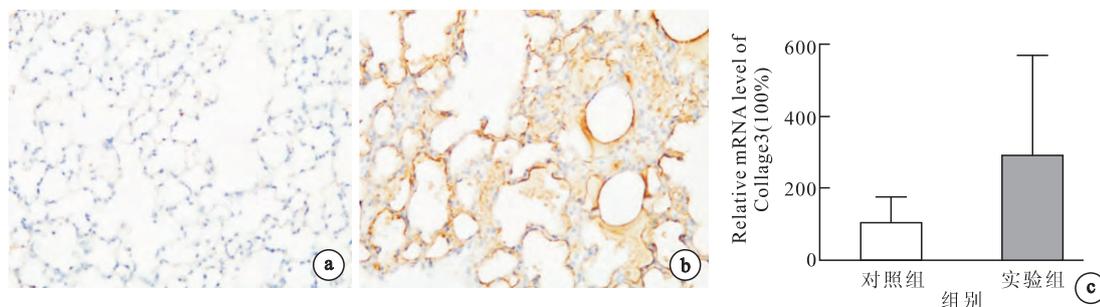


图4 小鼠肺组织内 Collagen3 蛋白及 mRNA 表达 a. 对照组肺组织 Collagen3 蛋白的免疫组织化学染色(  $\times 400$  ); b. 实验组肺组织 Collagen3 蛋白的免疫组织化学染色(  $\times 400$  ); c. 实验组肺组织 Collagen3 的 mRNA 表达量较对照组显著升高

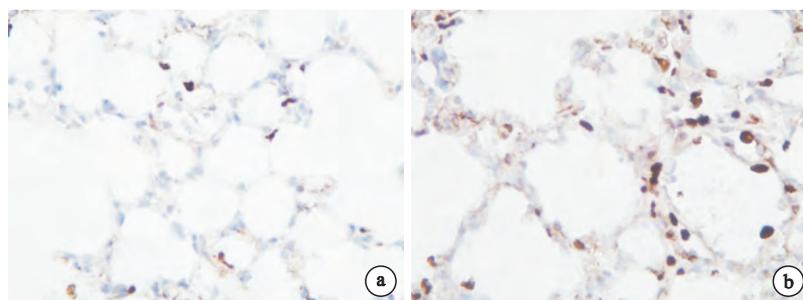


图5 肺组织内 TUNEL 凋亡细胞检测 a. 对照组肺内凋亡细胞染色(  $\times 600$  ); b. 实验组凋亡细胞染色(  $\times 600$  )

### 讨论

本研究旨在阐明 PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  信号通路在肺纤维化发病中的作用机制。结果表明纤维化的小鼠肺组织存在 Akt 的过度活化,活化的 Akt 通过激活下游的 HIF-1 $\alpha$  加重了肺纤维化形成过程。其可能机制与表面活性物质的生成减少,细胞增生与凋亡的失衡,进而促进了胶原蛋白的合成有关。若干预该调节通路上的任一环节可能是潜在的治疗肺纤维化的新方向。

研究结果显示,博来霉素诱导的小鼠肺纤维化组织中,磷酸化的 Akt 表达量较正常肺组织明显增加,并伴有 HIF-1 $\alpha$  的表达增多。HIF-1 $\alpha$  受低氧诱导,常氧下被泛素蛋白酶所降解。HIF-1 $\alpha$  能在缺氧等条件下通过核转位从胞质进入胞核,形成稳定的

异二聚体后才有活性,活化的 HIF-1 $\alpha$  在其靶基因的转录起始部位形成一个转录起始复合物,进而启动靶基因的转录,而这些基因调控与细胞的增殖与凋亡相关<sup>[11-12]</sup>。近期研究表明在小鼠的慢性阻塞性肺病模型中,HIF-1 $\alpha$  介导了支气管及肺泡上皮向间质细胞的转化<sup>[13]</sup>。PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  通路的下游靶基因涉及代谢、细胞增殖/生存应激、血管生物学、红细胞生成等<sup>[14-15]</sup>。百草枯中毒大鼠的急性肺损伤模型中,肺组织早期即出现肺纤维化、HIF-1 $\alpha$  蛋白增加以及胶原沉积增加,提示 HIF-1 $\alpha$  参与了肺纤维化的形成<sup>[16-17]</sup>。另在异丙肾上腺素致大鼠心肌肥厚模型中,p-PI3K 和 p-Akt 表达均较对照组升高,并参与了心肌纤维化的发生和发展<sup>[18]</sup>。还有研究表明血管紧张素 II (Ang II) 可能通过下调脯氨酸羟化酶 2 (PHD2) 的表达而减少肾小管上皮细胞中

HIF-1 $\alpha$ 的降解,从而上调 HIF-1 $\alpha$  的表达,参与肾间质纤维化(RIF)的发生机制<sup>[19]</sup>。而在本研究中,肺组织 Akt 的活化伴随了 HIF-1 $\alpha$  的表达增多并与肺纤维化形成有关,提示两者有相关性。在随后的实验中,我们将进一步验证抑制 Akt 的活化能否减少 HIF-1 $\alpha$  的表达并缓解肺纤维化的发生。

此外,我们还观察了纤维化的肺组织中细胞的增生与凋亡情况,结果发现纤维化的肺泡间质中凋亡细胞数明显增加并伴有表面活性物质 SPC 蛋白的减少。表面活性物质多由肺泡上皮细胞合成,在肺泡上皮细胞的反复损伤和异常修复中发挥重要作用<sup>[19-20]</sup>。表面活性物质合成不足伴受损肺泡上皮细胞的过度凋亡和异常增殖,导致了无效的肺泡上皮重构<sup>[21-22]</sup>。因此,我们推测活化的 PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  通路主要通过引起肺内细胞的异常增生与凋亡,影响肺泡表面活性物质的合成,产生慢性缺氧的内环境,使受损细胞发生异常增生和修复,最终导致 Collagen3 蛋白的合成增加和纤维化形成。

综上所述,我们认为异常活化的 PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  通路调控了细胞的过度凋亡,从而影响了肺泡表面活性物质的产生和肺泡上皮细胞的正常修复,加重了肺纤维化的形成过程。若能抑制该通路的异常活化则可缓解肺纤维化胶原形成,达到抑制肺纤维化进展的目的。

参 考 文 献

- 1 Raghu G ,Collard HR ,Egan JJ ,et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med* 2011 ,183: 788-824.
- 2 Lu Y ,Azad N ,Wang L ,et al. Phosphatidylinositol-3-kinase/Akt regulates bleomycin-induced fibroblast proliferation and collagen production. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2010 ,42: 432-441.
- 3 Du R ,Xia L ,Ning X ,et al. Hypoxia-induced Bmi1 promotes renal tubular epithelial cell-mesenchymal transition and renal fibrosis via PI3K/Akt signal. *Mol Biol Cell* 2014 ,25: 2650-2659.
- 4 Qin J ,Xie YY ,Huang L ,et al. Fluorofenidone inhibits nicotinamide adeninedinucleotide phosphate oxidase via PI3K/Akt pathway in the pathogenesis of renal interstitial fibrosis. *Nephrology ( Carlton )* , 2013 ,18: 690-699.
- 5 相炜宏 ,王立锋 ,苗运博 ,等. 博来霉素诱导小鼠肺纤维化模型的差异基因表达谱分析. *中国呼吸与危重监护杂志* ,2015 ,14: 242-249.
- 6 Zhang J ,Guo H ,Zhu JS ,et al. Inhibition of phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway decreases hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  expression and increases therapeutic efficacy of paclitaxel in human hypoxic gastric cancer cells. *Oncol Lett* 2014 ,7: 1401-1408.

- 7 Courtney R ,Ngo DC ,Malik N ,et al. Cancer metabolism and the Warburg effect: the role of HIF-1 and PI3K. *Mol Biol Rep* 2015 ,42: 841-851.
- 8 Carnero A ,Paramio JM. The PTEN/PI3K/AKT pathway in vivo , cancer mouse models. *Front Oncol* 2014 ,4: 252.
- 9 Nakanishi A ,Wada Y ,Kitagishi Y ,et al. Link between PI3K/AKT/PTEN pathway and NOX protein in diseases. *Aging Dis* 2014 ,5: 203-211.
- 10 Ashcroft T ,Simpson JM ,Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale. *J Clin Pathol* , 1988 ,41: 467-470.
- 11 Niemi H ,Honkonen K ,Korpisalo P ,et al. HIF-1 $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$  induce angiogenesis and improve muscle energy recovery. *Eur J Clin Invest* 2014 ,44: 989-999.
- 12 Huang SW ,Kao JK ,Wu CY ,et al. Targeting aerobic glycolysis and HIF-1 $\alpha$  expression enhance imiquimod-induced apoptosis in cancer cells. *Oncotarget* 2014 ,5: 1363-1381.
- 13 Eurlings IM ,Reynaert NL ,van den Beucken T ,et al. Cigarette smoke extract induces a phenotypic shift in epithelial cells; involvement of HIF1 $\alpha$  in mesenchymal transition. *PLoS One* 2014 ,9: e107757.
- 14 Jiao M ,Nan KJ. Activation of PI3 kinase/Akt/HIF-1 $\alpha$  pathway contributes to hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition and chemoresistance in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* , 2012 ,40: 461-468.
- 15 Raja R ,Kale S ,Thorat D ,et al. Hypoxia-driven osteopontin contributes to breast tumor growth through modulation of HIF1 $\alpha$ -mediated VEGF-dependent angiogenesis. *Oncogene* ,2014 ,17 ,33: 2053-2064.
- 16 王瑞兰 ,唐雪 ,吴欣 ,等. 缺氧诱导因子 1 $\alpha$  与百草枯中毒致急性肺损伤早期肺纤维化的关系. *中华劳动卫生职业病杂志* , 2012 ,30: 273-277.
- 17 黄赛 ,王瑞兰 ,陆伦根. 缺氧诱导因子 1 $\alpha$  在急性肺损伤中的作用. *中国呼吸与危重监护杂志* 2015 ,14: 114-117.
- 18 穆灵敏 ,闫晓晓 ,张光谋 ,等. 大鼠心肌肥厚中磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶和磷酸化蛋白激酶 B 蛋白表达与心肌纤维化的关系. *解剖学杂志* 2014 ,37: 296-299.
- 19 唐琳 ,郭青 ,张翠翠 ,等. 缺氧诱导因子 1 $\alpha$  介导的信号通路在血管紧张素 II 诱导肾间质纤维化中的作用. *肾脏病杂志* 2011 ,3: 194-197.
- 20 Ketko AK ,Donn SM. Surfactant-associated proteins: structure , function and clinical implications. *Curr Pediatr Rev* 2014 ,10: 162-167.
- 21 Yang J ,Wheeler SE ,Velikoff M ,et al. Activated alveolar epithelial cells initiate fibrosis through secretion of mesenchymal proteins. *Am J Pathol* 2013 ,183: 1559-1570.
- 22 Sakai N ,Tager AM. Fibrosis of two: Epithelial cell-fibroblast interactions in pulmonary fibrosis. *Biochim Biophys Acta* ,2013 ,1832: 911-921.

( 收稿日期: 2015-08-14 修回日期: 2015-11-16)  
( 本文编辑: 梁宗国)