

盐酸刺激与机械牵张对人肺上皮细胞向间质转分化的影响

潘莹 毛璞 黄勇波 李建春 许智恒 李希 吴苏龙 施荣华 何为群 刘晓青 黎毅敏
510120 广东广州,广州医科大学附属第一医院,广州呼吸疾病研究所,呼吸疾病国家重点实验室(潘莹、黄勇波、李建春、许智恒、李希、吴苏龙、施荣华、何为群、刘晓青、黎毅敏),医院感染管理科(毛璞)

通讯作者:黎毅敏, Email: dryiminli@vip.163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.06.008

【摘要】 目的 探讨盐酸(HCl)刺激与机械牵张诱导人肺上皮细胞向间质转分化以及对透明质酸(HA)分泌的影响。**方法** 体外培养人肺上皮细胞株 BEAS-2B,取对数生长期的细胞分为磷酸盐缓冲液(PBS)+静止组、HCl+静止组、PBS+牵张组、HCl+牵张组。采用 FX-5000T 细胞应力加载系统向两个牵张组 BEAS-2B 细胞持续 48 h 施加 20% 振幅、频率 0.33 Hz、正弦波的机械牵张。分别于牵张前后用倒置显微镜观察细胞形态变化;用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测细胞上皮标志物 E-钙黏蛋白和细胞角蛋白-8(CK-8)以及间质标志物波形蛋白和 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的蛋白表达;用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测细胞培养上清中 HA 分泌量。**结果** ①镜下观察显示:PBS+静止组 BEAS-2B 细胞呈卵圆形,且细胞紧密相连,细胞间存在极性;单纯 HCl 刺激后细胞形态无明显变化;而单纯给予机械牵张 48 h 后细胞由卵圆形变成长梭形,细胞间隙明显增大;给予 HCl 刺激和机械牵张双重打击后细胞形态改变更为显著。② Western Blot 显示:与 PBS+静止组比较,单纯或联合 HCl 和机械牵张 48 h 后 BEAS-2B 细胞 E-钙黏蛋白、CK-8 表达均下调,波形蛋白、 α -SMA 表达均上调,以 HCl+牵张组表达变化更为明显[以 PBS+静止组表达量(灰度值)为基数 1, E-钙黏蛋白为 0.16 ± 0.08 比 1, CK-8 为 0.10 ± 0.03 比 1,波形蛋白为 3.35 ± 0.38 比 1, α -SMA 为 3.10 ± 0.45 比 1, 均 $P < 0.01$]。③ ELISA 试验显示:与 PBS+静止组比较,单纯 HCl 刺激或机械牵张均可诱导 BEAS-2B 细胞分泌 HA ($\mu\text{g/L}$: 55.763 ± 0.687 、 63.005 ± 0.493 比 49.876 ± 1.867);而 HCl 与机械牵张联合刺激后细胞培养上清液中 HA 分泌量增加更为显著($\mu\text{g/L}$: 78.220 ± 1.085 比 49.876 ± 1.867 , $P < 0.01$)。**结论** HCl 或机械牵张均能诱导人肺上皮细胞发生上皮向间质转分化,同时增加 HA 的分泌量;HCl 刺激和机械牵张双重打击可使人肺上皮细胞向间质转分化更为明显,同时进一步增加 HA 的分泌量。

【关键词】 机械牵张; 上皮间质转分化; 透明质酸; 肺纤维化; 肺上皮细胞

基金项目:国家自然科学基金(81270125);广东省广州市科技计划项目(201400000002)

The effect of hydrochloric acid stimulation and mechanical stretch on epithelial-mesenchymal transition in human lung epithelial cells Pan Ying, Mao Pu, Huang Yongbo, Li Jianchun, Xu Zhiheng, Li Xi, Wu Sulong, Shi Ronghua, He Weiqun, Liu Xiaoqing, Li Yimin

The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou Institute of Respiratory Disease, the State Key Laboratory of Respiratory Disease, Guangzhou 510120, Guangdong, China (Pan Y, Huang YB, Li JC, Xu ZH, Li X, Wu SL, Shi RH, He WQ, Liu XQ, Li YM); Department of Hospital Infection Control, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, Guangdong, China (Mao P)

Corresponding author: Li Yimin, Email: dryiminli@vip.163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of hydrochloric acid (HCl) stimulation and mechanical stretch on epithelial-mesenchymal transition (EMT) and hyaluronan (HA) production in human lung epithelial cells. **Methods** Human lung epithelial cell line BEAS-2B was cultured *in vitro*, which was divided into phosphate-buffer saline (PBS) + static group, HCl + static group, PBS + stretch group, and HCl + stretch group respectively in the logarithmic phase. The BEAS-2B cells in two stretching groups were challenged by cyclic stretch with 20% amplitude, frequency of 0.33 Hz, sine wave of the FX-5000T system for 48 hours. The morphology changes in cells before and after stretch were observed with inverted microscope. The protein expressions of epithelial markers E-cadherin and cytokeratin-8 (CK-8) as well as mesenchymal markers vimentin and α -smooth muscle actin (α -SMA) were determined by Western Blot. The secretion of HA was determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

Results ① It was shown by microscopic observation that BEAS-2B cells displayed cobblestone morphology, linked closely and cell polarity in PBS + static group, which did not change obviously after HCl stimulation alone. Given purely mechanical stretch after 48 hours, the cells morphology changed from cobblestone shape into long spindle, and increased intercellular space obviously. Double hit of HCl and stretch changed the cells morphology more significantly. ② It was shown by Western Blot that compared with the PBS + static group, HCl alone or combined with purely mechanical stretch after 48 hours, the expressions of E-cadherin and CK-8 were decreased, while those of vimentin and α -SMA were increased, and it was more pronounced in HCl + stretch group [the expression quantity (gray value) as base 1 in PBS + static group, E-cadherin: 0.16 ± 0.08 vs. 1, CK-8: 0.10 ± 0.03 vs. 1, vimentin: 3.35 ± 0.38 vs. 1, α -SMA: 3.10 ± 0.45 vs. 1, all $P < 0.01$]. ③ It was shown by ELISA that both HCl stimulation and stretch could induce BEAS-2B cells secreting HA as compared with PBS + static group ($\mu\text{g/L}$: 55.763 ± 0.687 , 63.005 ± 0.493 vs. 49.876 ± 1.867), and the production of HA increased more remarkably after double hit ($\mu\text{g/L}$: 78.220 ± 1.085 vs. 49.876 ± 1.867 , $P < 0.01$).

Conclusions Both HCl and mechanical stretch could induce EMT and increase HA secretion in human lung epithelial cells *in vitro*. Double hit of HCl stimulation and mechanical stretch induced EMT apparently, and further increased the production of HA.

【Key words】 Mechanical stretch; Epithelial-mesenchymal transition; Hyaluronan; Lung fibrosis; Human lung epithelial cell

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81270125); Guangzhou Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (201400000002)

急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 是一种急性弥漫性肺部炎症反应, 可导致肺血管通透性升高、肺质量增加、参与通气的肺组织减少^[1]。机械通气是救治 ARDS 的重要手段, 但不恰当的机械通气则会加重病情, 甚至导致肺纤维化的发生^[2-3]。上皮间质转分化 (EMT) 是肝、肾、肺等器官发生纤维化的过渡阶段^[4], 多种介质参与了 EMT 过程^[5-6]。已证实 EMT 介导了机械通气诱导的 ARDS 小鼠肺纤维化过程^[7]。本课题组前期研究通过给予人肺上皮细胞株 BEAS-2B 机械牵张作用 48 h 建立细胞 EMT 体外模型^[8], 并证实机械牵张可通过透明质酸 (HA) 激活髓样分化因子 88 (MyD88) 固有免疫通路, 从而促进 EMT 形成^[9]。本实验再次以 BEAS-2B 细胞株为研究对象, 通过体外实验探讨盐酸 (HCl) 刺激及机械牵张对人肺上皮细胞向间质转分化的影响及其机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料: BEAS-2B 细胞株 (美国 Rockville 公司); 鼠抗人细胞角蛋白 -8 (CK-8) 和兔抗人 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 单克隆抗体 (单抗, 美国 Abcam 公司), 鼠抗人 E-钙黏蛋白和波形蛋白单抗 (加拿大 BD 公司), 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的山羊抗兔二抗 (美国 EarthOx 公司) 和山羊抗鼠二抗 (美国 Jackson 公司); HA 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒 (美国 R&D 公司), DMEM/F12 培养基 (美国 HyClone 公司), FX-5000T 细胞应力加载系统、细胞牵拉 6 孔培养板 (美国 Flexcell 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养及分组处理: 将 BEAS-2B 细胞株贴壁生长于含 10% 胎牛血清 (FBS)、1% 青-链霉素的 DMEM/F12 完全培养基, 37 °C、5% CO₂ 孵箱中培养至对数生长期, 然后将细胞分为 4 组, 分别接种于牵拉 6 孔板中, 磷酸盐缓冲液 (PBS) + 静止组和 PBS+ 牵张组接种密度为 2.0×10^5 个, HCl+ 静止组和 HCl+ 牵张组接种密度为 3.5×10^5 个, 在孵箱中继续静置培养 24 h。两个 HCl 刺激组于细胞融合达 80% 以上时加入 pH 4.0 的 DMEM/F12 培养基^[8], 每孔 2 mL; 其他两组每孔加入 pH 7.0 的 DMEM/F12 培养基 1.96 mL 和 PBS 0.04 mL。各组刺激 30 min 后去除培养基, 用 PBS 洗 3 次, 改为 pH 7.0 含 10% FBS 的新鲜完全培养基, 每孔 2 mL, 静置 20 h 后再换成含 0.1% FBS 的 DMEM/F12 培养基继续培养 4 h。

1.2.2 机械牵张: 采用 FX-5000T 细胞应力加载系统, 持续以 20% 振幅、频率 0.33 Hz、正弦波机械牵张 48 h。细胞受力值以培养皿底部弹性膜拉伸应变率表示。4 组细胞均置于 37 °C、5% CO₂ 孵箱中培养, 每组选用 3 个样本, 分别来自 3 块牵张板。

1.3 观察指标及方法

1.3.1 细胞形态观察: 分别于机械牵张前及牵张后 48 h 在倒置相差显微镜下观察各组细胞形态变化。

1.3.2 蛋白质免疫印迹试验 (Western Blot) 测定上皮标志物 E-钙黏蛋白、CK-8 及间质标志物波形蛋白、 α -SMA 的蛋白表达量: 各组细胞每孔均加入

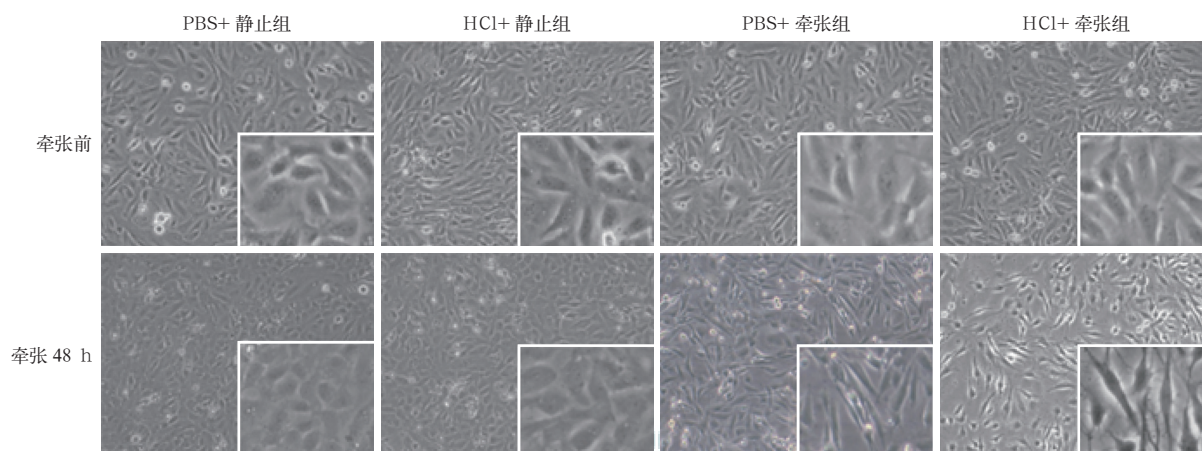


图1 倒置相差显微镜下观察各组人肺上皮细胞 BEAS-2B 的形态学改变。牵张前,两个磷酸盐缓冲液(PBS)组细胞呈卵圆形;而两个盐酸(HCl)刺激组细胞稍伸长,但间隙仍较为紧密。牵张 48 h 后,两个牵张组细胞间隙明显增宽,细胞呈长梭形改变,以 HCl+ 牵张组改变更为显著;而未给予机械牵张两组细胞无明显形态学改变。 $\times 10$ (右下角方框中为 $\times 20$)

150 μ L 蛋白裂解液 RIPA、1.5 μ L 蛋白酶抑制剂苯甲基磺酰氟(PMSF)提取总蛋白。采用 BCA 方法进行蛋白定量后取 20 μ g 总蛋白,经凝胶电泳分离、蛋白电转膜、室温下脱脂牛奶封闭,分别加入一抗和二抗孵育,电化学发光(ECL)试剂显影。以 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)为内参,用 Image J 1.45 软件分析条带灰度值,以目的蛋白与内参蛋白的灰度值比值作为目的蛋白的表达量,以 PBS+ 静止组(对照组)表达量为基数 1,比较各组与对照组的比值。

1.3.3 ELISA 试验测定细胞培养上清液中 HA 含量: 取细胞培养上清液 20 μ L,按 1:10 稀释。用已知浓度标准品吸光度(A)值拟合标准曲线,将待测上清液 A 值带入曲线公式,计算待测样品含量。

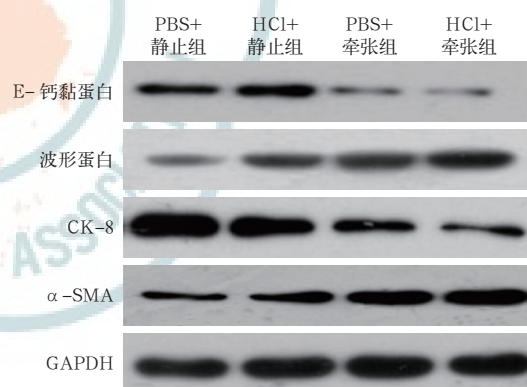
1.4 统计学处理: 采用 GraphPad Prism 6.0 软件处理数据,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HCl 刺激及机械牵张对 BEAS-2B 细胞形态的影响(图 1): 倒置相差显微镜下显示,静止 +PBS 组 BEAS-2B 细胞呈卵圆形,细胞紧密相连,细胞间存在极性。静止 +HCl 组细胞稍伸长,间隙仍较紧密。两个牵张组牵张前细胞形态无明显变化;而牵张后 48 h 细胞间隙均明显增大,由卵圆形变为长梭形,以 HCl+ 牵张组改变尤为明显。

2.2 HCl 刺激及机械牵张对 BEAS-2B 细胞上皮标志物和间质标志物蛋白表达的影响(图 2;表 1): 与 PBS+ 静止组相比,单纯给予 HCl 刺激或机械牵张 48 h 后细胞上皮标志物 E-钙黏蛋白、CK-8 表达均有不同程度的下调,而间质标志物波形蛋白、

α -SMA 表达均明显上调(均 $P < 0.05$);同时给予 HCl 刺激和机械牵张可使细胞上皮标志物和间质标志物表达变化更为显著(均 $P < 0.01$)。



Western Blot 为蛋白质免疫印迹试验,CK-8 为细胞角蛋白-8, α -SMA 为 α -平滑肌肌动蛋白,GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶

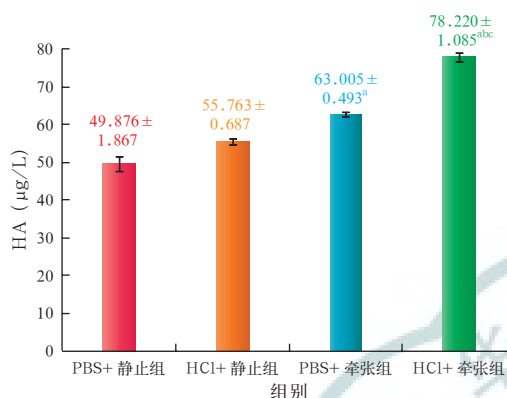
图2 Western Blot 检测盐酸(HCl)刺激或(和)机械牵张对人肺上皮细胞 BEAS-2B 上皮标志物 E-钙黏蛋白、CK-8 及间质标志物波形蛋白、 α -SMA 蛋白表达的影响

表1 HCl 刺激及机械牵张对人肺上皮细胞 BEAS-2B 上皮和间质标志物蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	上皮标志物(灰度值)		间质标志物(灰度值)	
		E-钙黏蛋白	CK-8	波形蛋白	α -SMA
PBS+ 静止组	3	1	1	1	1
HCl+ 静止组	3	0.88 ± 0.05	0.62 ± 0.12^b	1.86 ± 0.08^a	1.52 ± 0.11^a
PBS+ 牵张组	3	0.24 ± 0.09^a	0.19 ± 0.07^a	2.54 ± 0.10^a	2.38 ± 0.28^a
HCl+ 牵张组	3	0.16 ± 0.08^{ac}	0.10 ± 0.03^{ac}	3.35 ± 0.38^{ac}	3.10 ± 0.45^{acd}

注: HCl 为盐酸, PBS 为磷酸盐缓冲液, CK-8 为细胞角蛋白-8, α -SMA 为 α -平滑肌肌动蛋白;与 PBS+ 静止组比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$;与 HCl+ 静止组比较,^c $P < 0.05$;与 PBS+ 牵张组比较,^d $P < 0.05$

2.3 HCl 刺激及机械牵张对 BEAS-2B 细胞培养上清液 HA 分泌水平的影响(图 3):与 PBS+ 静止组相比,单纯给予 HCl 刺激或机械牵张后 HA 水平均升高,以双重打击组升高更明显(均 $P < 0.01$)。



注: HCl 为盐酸, HA 为透明质酸, PBS 为磷酸盐缓冲液;
与 PBS+ 静止组比较, ^a $P < 0.01$; 与 HCl+ 静止组比较, ^b $P < 0.01$;
与 PBS+ 牵张组比较, ^c $P < 0.01$

图 3 HCl 刺激及机械牵张对人肺上皮细胞 BEAS-2B 分泌 HA 的影响

3 讨论

机械牵张可影响细胞炎性因子的表达^[10],而后可促进 EMT 形成^[11]。EMT 是完全分化的上皮细胞转变成间充质细胞的表型,包括形态变长、迁徙和侵袭性能力增强,以及细胞外基质(ECM)成分的产生大量增加^[12-13]。ECM 是由大分子葡糖氨基葡聚糖和蛋白聚糖构成的三维网络结构,参与调控炎症反应^[14]、维持结构的稳态和功能^[15]、影响组织修复和重塑^[16]等肺部病理生理进程,在肺实质生物力学方面亦发挥重要作用^[17]。HA 是 ECM 中含量最丰富的非硫酸化葡糖氨基葡聚糖,参与组织的修复过程^[18]。严重的肺纤维化需要由 HA 及其受体 CD44 调控侵袭性纤维母细胞表型^[19]。研究表明,HA 可通过激活 Toll 样受体(TLR)信号通路促进急性肺损伤(ALI)的修复^[20];同时可能作为损伤相关分子模式分子(DAMP)而通过与细胞膜表面的 TLR4 结合^[21],激活 TLR4-核转录因子- κ B(NF- κ B)途径^[22],介导细胞 EMT 的发生。HA 诱导正常上皮细胞向间充质转分化可能是通过与其受体 CD44 的交互作用所致。Heise 等^[9]持续给予小鼠 II 型肺泡上皮细胞(AEC II)15% 的牵张力 4 d,发现 AEC II 发生了向间质的转分化,其机制是增加小分子质量的 HA,并促进其与 CD44 结合,从而激活了 MyD88 依赖的细胞固有免疫通路。本研究在前期研究基础上,从蛋白水平发现,肺上皮细胞经机械牵张后上皮

标志物表达下调,间质标志物表达上调,HA 分泌量增加;而 HCl 与牵张的双重打击可使 EMT 更加明显,HA 分泌量进一步增加,可能是由于 HCl 改变了细胞外微环境,增加了细胞通透性,使 HA 更容易从细胞孔隙结构释放到 ECM^[23];而在机械牵张外力作用下,大分子质量 HA 降解成小分子质量 HA^[24],反作用于细胞膜表面受体,进一步加剧了 EMT。

本研究还发现,单纯给予 HCl 刺激对人肺上皮细胞向间质转分化及 HA 分泌量的影响并不明显,联合机械牵张双重打击方能使细胞发生 EMT 及增加 HA 分泌。Cabrera-Benítez 等^[7]给小鼠气管内滴注 HCl 后进行机械通气,发现上皮标志物蛋白表达降低及间质标志物蛋白表达升高水平均较单纯 HCl 刺激或机械牵张组更加明显,提示细胞发生 EMT 可能是由多重效应引起。HCl 亦可用于体外模拟反流的胃内容物对 ARDS 患者的影响,当胃液 pH < 4.0 时,胃酸反流的发生更频繁。因此,本研究中采用 pH 4.0 的 HCl 更接近生理水平,符合临床实际。此外,我们发现单纯 HCl 刺激 30 min 对 BEAS-2B 细胞的形态学改变及上皮和间质蛋白的表达影响均不明显,可能是由于上皮细胞具有应激及自我修复的功能。

综上所述,本研究证实机械牵张可诱导人肺上皮细胞发生 EMT,同时增加 HA 的分泌,提示 HA 可能作为临床治疗 ARDS 肺纤维化的靶分子,为救治 ARDS 肺纤维化的机制提供有力依据。但机械牵张对人肺上皮细胞向间质转分化的影响是否通过增加 HA 的分泌量并进一步激活固有免疫通路有待进一步研究验证。

参考文献

- [1] Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition [J]. JAMA, 2012, 307 (23): 2526-2533. DOI: 10.1001/jama.2012.5669.
- [2] Martin C, Papazian L, Payan MJ, et al. Pulmonary fibrosis correlates with outcome in adult respiratory distress syndrome. A study in mechanically ventilated patients [J]. Chest, 1995, 107 (1): 196-200. DOI: 10.1378/chest.107.1.196.
- [3] Papazian L, Doddoli C, Chetaille B, et al. A contributive result of open-lung biopsy improves survival in acute respiratory distress syndrome patients [J]. Crit Care Med, 2007, 35 (3): 755-762. DOI: 10.1097/01.CCM.0000257325.88144.30.
- [4] Guarino M, Tosoni A, Nebuloni M. Direct contribution of epithelium to organ fibrosis: epithelial-mesenchymal transition [J]. Hum Pathol, 2009, 40 (10): 1365-1376. DOI: 10.1016/j.humpath.2009.02.020.
- [5] 赵爱青, 张晓明, 侯恒, 等. 姜黄素对单侧输尿管梗阻大鼠肾小管上皮细胞转分化影响的研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2007, 14 (6): 348-351. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2007.06.008. Zhao AQ, Zhang XM, Hou H, et al. Effect of curcumin on trans-differentiation of renal tubular epithelial cells in rats with unilateral

- ureteral obstruction [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2007, 14 (6): 348-351. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2007.06.008.
- [6] 王勤, 王建春, 李玉英, 等. 甲基- β -环糊精对II型肺泡上皮细胞增殖与转分化的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2011, 23 (4): 204-207. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2011.04.005.
- Wang Q, Wang JC, Li YY, et al. Effects of methyl- β -cyclodextrin on the proliferation and transdifferentiation of type II alveolar epithelial cells [J]. Chin Crit Care Med, 2011, 23 (4): 204-207. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2011.04.005.
- [7] Cabrera-Benítez NE, Parotto M, Post M, et al. Mechanical stress induces lung fibrosis by epithelial-mesenchymal transition [J]. Crit Care Med, 2012, 40 (2): 510-517. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31822f09d7.
- [8] 张容, 毛璞, 傅威, 等. 机械牵张对人肺上皮细胞转分化的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25 (8): 455-459. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.08.002.
- Zhang R, Mao P, Fu W, et al. Effects of cyclic stretch on the induction of the transdifferentiation in human lung epithelial cells [J]. Chin Crit Care Med, 2013, 25 (8): 455-459. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.08.002.
- [9] Heise RL, Stober V, Chelvaraju C, et al. Mechanical stretch induces epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelia via hyaluronan activation of innate immunity [J]. J Biol Chem, 2011, 286 (20): 17435-17444. DOI: 10.1074/jbc.M110.137273.
- [10] 傅威, 毛璞, 张容, 等. 机械牵张对人肺动脉内皮细胞中细胞因子及细胞间黏附分子-1表达的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25 (8): 484-488. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.08.009.
- Fu W, Mao P, Zhang R, et al. Effects of cyclic stretch on expression of cytokines and intercellular adhesion molecule-1 in human pulmonary artery endothelial cell [J]. Chin Crit Care Med, 2013, 25 (8): 484-488. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.08.009.
- [11] 刘青娟, 史永红, 刘淑霞, 等. 白细胞介素-1 β 在人肾小管上皮细胞转分化中的作用及Janus激酶2抑制剂AG490的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2010, 22 (12): 747-749. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.12.014.
- Liu QJ, Shi YH, Liu SX, et al. The effect of Janus kinase 2 inhibitor AG490 on renal tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation induced by interleukin-1 β [J]. Chin Crit Care Med, 2010, 22 (12): 747-749. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.12.014.
- [12] Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis [J]. J Clin Invest, 2003, 112 (12): 1776-1784. DOI: 10.1172/JCI20530.
- [13] Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15 (3): 178-196. DOI: 10.1038/nrm3758.
- [14] Lu P, Weaver VM, Werb Z. The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression [J]. J Cell Biol, 2012, 196 (4): 395-406. DOI: 10.1083/jcb.201102147.
- [15] Hilgendorff A, Parai K, Ertsey R, et al. Lung matrix and vascular remodeling in mechanically ventilated elastin haploinsufficient newborn mice [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2015, 308 (5): L464-478. DOI: 10.1152/ajplung.00278.2014.
- [16] Morales MM, Pires-Neto RC, Inforsato N, et al. Small airway remodeling in acute respiratory distress syndrome: a study in autopsy lung tissue [J]. Crit Care, 2011, 15 (1): R4. DOI: 10.1186/cc9401.
- [17] Pelosi P, Rocco PR. Effects of mechanical ventilation on the extracellular matrix [J]. Intensive Care Med, 2008, 34 (4): 631-639. DOI: 10.1007/s00134-007-0964-9.
- [18] 刘效仿, 张健, 侯蕾, 等. 透明质酸促进撞击性膝关节软骨损伤修复的实验研究[J]. 中华创伤骨科杂志, 2014, 16 (12): 1094-1098. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-7600.2014.12.017.
- Liu XF, Zhang J, Hou L, et al. Repairing effects of hyaluronate on cartilage impact injury of the knee [J]. Chin J Orthop Trauma, 2014, 16 (12): 1094-1098. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-7600.2014.12.017.
- [19] Li Y, Jiang D, Liang J, et al. Severe lung fibrosis requires an invasive fibroblast phenotype regulated by hyaluronan and CD44 [J]. J Exp Med, 2011, 208 (7): 1459-1471. DOI: 10.1084/jem.20102510.
- [20] 左文琼. TOLL样受体与重症感染后急性肺损伤[J]. 国际儿科学杂志, 2010, 37 (4): 378-380. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2010.04.014.
- Zuo WQ. Toll-like receptors and acute lung injury by severe infection [J]. Int J Pediatr, 2010, 37 (4): 378-380. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2010.04.014.
- [21] Van Crombruggen K, Jacob F, Zhang N, et al. Damage-associated molecular patterns and their receptors in upper airway pathologies [J]. Cell Mol Life Sci, 2013, 70 (22): 4307-4321. DOI: 10.1007/s00018-013-1356-7.
- [22] 张秋蕊, 周敏, 万欢英, 等. 固有免疫在慢性阻塞性肺疾病发病机制中的作用[J]. 国际呼吸杂志, 2013, 33 (1): 44-47. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2013.001.012.
- Zhang QR, Zhou M, Wan HY, et al. The role of innate immune in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Int J Respir, 2013, 33 (1): 44-47. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2013.001.012.
- [23] Weigel PH, Hascall VC, Tammi M. Hyaluronan synthases [J]. J Biol Chem, 1997, 272 (22): 13997-14000. DOI: 10.1074/jbc.272.22.13997.
- [24] Stern R, Asari AA, Sugahara KN. Hyaluronan fragments: an information-rich system [J]. Eur J Cell Biol, 2006, 85 (8): 699-715. DOI: 10.1016/j.ejcb.2006.05.009.

(收稿日期: 2016-02-25)

(本文编辑: 孙茜, 李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊对基金项目标注的有关要求

基金项目指论文产出的资助背景, 例如国家自然科学基金、国家高技术研究发展计划(863计划)、国家科技攻关计划、国家重点基础研究发展计划(973计划); 行业专项基金列出提供基金的单位, 如国家卫生和计划生育委员会科研基金, 临床重点专项基金建设项目可只列出国家临床重点学科建设项目、中医药管理局临床重点学科建设项目或各省市自治区临床重点专科建设项目等。各省市基金标注方法同上。基金项目采用双语著录, 分别置于中、英文摘要关键词下方。

示例:

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)(2013CB532002); 国家自然科学基金(30271269)

Fund program: National Key Basic Research Program of China (973 Program) (2013CB532002); National Natural Science Foundation of China (30271269)