

新生儿呼吸系统疾病的 诊治进展与争议

The Newborn Lung:
Neonatology Questions and Controversies

原著 Eduardo Bancalari
Richard A. Polin

主译 杜立中



新生儿呼吸系统疾病的 诊治进展与争议

The American Lung
Association Committee on Infant Care Development

主编 王惠文
副主编 王惠文
主审 王惠文

中国医药出版社

新生儿呼吸系统疾病的诊治进展与争议

The Newborn Lung:
Neonatology Questions and Controversies

原 著 Eduardo Bancalari Richard A. Polin

主 译 杜立中

人 民 卫 生 出 版 社

The Newborn Lung: Neonatology Questions and Controversies

By Eduardo Bancalari, Richard A. Polin

ISBN: 1-4160-3166-9 / 978-1-4160-3166-6

Copyright © 2008 by Elsevier. All rights reserved.

Authorized Simplified Chinese translation from English language edition published by the Proprietor.

ISBN: 981-272-339-0 / 978-981-272-339-0

Copyright © 2010 by Elsevier (Singapore) Pte Ltd. All rights reserved.

Elsevier (Singapore) Pte Ltd.

3 Killiney Road

#08-01 Winsland House I

Singapore 239519

Tel: (65) 6349-0200

Fax: (65) 6733-1817

First Published 2010

2010 年初版

Printed in China by People's Medical Publishing House under special arrangement with Elsevier (Singapore) Pte Ltd. This edition is authorized for sale in China only, excluding Hong Kong SAR and Taiwan. Unauthorized export of this edition is a violation of the Copyright Act. Violation of this Law is subject to Civil and Criminal Penalties.

本书简体中文版由人民卫生出版社与 Elsevier (Singapore) Pte Ltd. 在中国大陆境内合作出版。本版仅限在中国境内(不包括香港特别行政区及台湾)出版及标价销售。未经许可之出口,视为违反著作权法,将受法律之制裁。

图书在版编目(CIP)数据

新生儿呼吸系统疾病的诊治进展与争议 / 杜立中主译. —北京:
人民卫生出版社, 2010.4

ISBN 978-7-117-12668-7

I. ①新… II. ①杜… III. ①小儿疾病: 呼吸系统疾病—
诊断—研究 IV. ①R725.604

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 028012 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

图字: 01-2009-3754

新生儿呼吸系统疾病的诊治进展与争议

主 译: 杜立中

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E-mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 北京汇林印务有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 28

字 数: 688 千字

版 次: 2010 年 4 月第 1 版 2010 年 4 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-12668-7/R·12669

定 价: 72.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

译者序

经过历时近一年的努力,《新生儿呼吸系统疾病的诊治进展与争议》一书终于翻译完毕,得以出版。该书是“新生儿的问题和争议”丛书里的其中一册,丛书另外五册分别阐述液体和电解质、心血管和血流动力学、血液病学、免疫和感染性疾病、胃肠病学和神经系统疾病,几乎包含了新生儿监护工作中的所有重要问题。第一次翻阅该丛书时就惊喜地发现丛书每一章节的作者都是该领域的领军人物,每一个名字都如雷贯耳。该丛书不仅详述了每一个领域的最新进展,并就一些争议和热点问题展开了详尽的讨论,每一卷都具有极高的学术价值和临床指导意义。但囿于我们的时间和精力,最终我们只能选择其中的《新生儿呼吸系统疾病的诊治进展与争议》分册进行翻译。

《新生儿呼吸系统疾病的诊治进展与争议》分四部分:第一部分主要讨论肺发育的相关问题,后面几部分着重讨论了新生儿呼吸系统疾病诊治、监护的新进展及争议性问题,并最大限度地提供了循证医学证据。

该书的翻译过程也是对我们各位译者的极大挑战。为了尽量精准地表达原著者高水平的文字和风格,我们精心挑选的译者都具有海外培训背景以及较高的专业英语水准,最终还花费了大量精力将译稿集中进行校对。

翻译从来就不是一件轻松的事,尽管我们在整个过程中尽可能仔细,但限于学识和水平,译稿中难免有遗漏和失误之处,还望读者不吝指正。

最后,我由衷地感谢每一位利用业余时间辛勤工作的译者,希望本书会受到广大新生儿专业人士的喜爱,并对大家有所帮助。

杜立中

2010年1月

前言

在过去的 20 多年来,医学上很少有学科像新生儿监护领域那样经历了如此明显的变化,新生儿预后的改善和变化绝大多数与早产儿呼吸护理的进展有关。这些进展与对呼吸系统正常发育的机制、导致呼吸衰竭的原因和新生儿呼吸系统疾病的多种结局等知识的深入了解有关。由于新生儿监护的进步,使得更多的未成熟婴儿存活率改善,该群体因其存在多种器官不成熟和长期后遗症的易感性等,对临床医生来讲成为具有很大挑战性的问题。

在《新生儿呼吸系统疾病的诊治进展与争议》一书中,我们非常幸运地吸引了一流的、在新生儿诊治领域作出很大成绩的科学家和临床医生进行撰写。这本书的目的并不是打算囊括与新生儿肺有关的所有问题,但在书中讨论的领域都是较新或有争议的,或者与新生儿呼吸监护进展关联密切的问题。虽然前几章以新生儿发育问题为主,但在以后的章节中涉及了新生儿学科目前面临的最重要的一些临床问题。因此,本书无论对发育生物学家或临床新生儿医生来讲,都是十分有用的。

我很高兴能与所有编者一起编写该书,阅读他们在本书中的高水平作品。我希望读者可以分享我对每一个章节的出色质量所表示的赞赏。

最后,谨以此书献给我的妻子 Teresa,和我的孩子们 Eduardo、Claudia、Alejandro 和 Pilar,以作为永恒的鼓励。

Eduardo Bancalari, MD

目 录

第一部分 肺发育	1
第 1 章 正常和异常肺发育的分子基础	3
第 2 章 遗传性疾病与新生儿肺泡稳定状态的关系	37
第 3 章 肺循环的发育: 机制和临床意义	44
第 4 章 表面活性物质: 临床治疗策略的基础	64
第二部分 肺发育过程中的损伤	89
第 5 章 未成熟肺对氧化和机械性损伤的易感性	91
第 6 章 炎症 / 感染: 对胎儿 / 新生儿肺的影响	108
第 7 章 新生儿发育和肺疾病状态的肺液平衡	128
第 8 章 炎症在新生儿急性和慢性肺部疾病发病机制中所起的作用	150
第 9 章 支气管肺发育不良的临床表现、发病机制、流行病学和预防的新进展	169
第 10 章 药物预防和治疗支气管肺发育不良的证据	188
第 11 章 支气管肺发育不良的定义和预测因素	212
第 12 章 新生儿肺动脉高压发病机制及治疗进展	220
第 13 章 围产期肺损伤对远期的影响	273
第三部分 呼吸衰竭的处理	287
第 14 章 关于氧气或空气进行新生儿复苏的争议	289
第 15 章 早产儿适宜的氧合水平: 对近期预后和远期预后的影响	302
第 16 章 无创呼吸支持: 早产儿机械通气的另一种选择	326
第 17 章 高频通气在新生儿呼吸衰竭的应用	342
第 18 章 新生儿机械通气的新进展	356
第 19 章 肺功能监测在新生儿机械通气中的作用	384
第四部分 早产儿呼吸控制和呼吸暂停	409
第 20 章 新生儿的呼吸调节和早产儿呼吸暂停	411
第 21 章 早产婴儿呼吸暂停发作的预防策略: 应用呼吸兴奋剂是否利大于弊?	422

第一部分

肺 发 育

第1章

正常和异常肺发育的分子基础

Martin Rutter, BSc • Martin Post, PhD

发育分期
生长因子
形态发生素
受体
转录因子
肺发育的物理决定因子
血管发育
结语

如同水一样,氧气分子是我们周围中一种最必不可少的成分之一,因为它对提供我们能量的分子反应至关重要。我们不但依靠这种能量四处活动,还使得基本的细胞机器运转而让我们能够活下去。当其他低等动物设法依靠简单的气体交换器官或甚至用它们的皮肤来吸收氧气维持生存时,高等哺乳动物的代谢需要要求有一个更为完善的系统。为满足这种需要,靠这种简单的皮肤弥散的方式就不太现实,尽管我们的皮肤仍然具有这种功能。成年人的肺每天交换将近 12 000L 的空气,在两种截然不同的介质中转运氧气。有相当多的物理机制参与使得这种气体交换过程发挥作用,而且一种独特的三分层的结构在脊柱动物的种族发生中逐渐进化构成哺乳动物的肺。事实上,有人认为没有哪种分子比氧对我们的进化发育产生更大的影响(1)。为了使环境中的氧气弥散到我们的血液中,一个巨大的分支气道网络经过被称为分支形态生成的过程得以形成。同时还建立双重血管网络,其中之一是给肺的非呼吸部分提供氧合血,另一个将从呼吸上皮中摄取氧气。这两套系统中的后者叫做肺血管系统,将经历复杂的形成及重塑过程,以适应不断生长的气道并与它们尽可能地接近。气道和血管的发育通过众多的分子的和物理因子精巧地加以控制。这些因子包括转录调节因子、生长因子、形态发生素和细胞外的基质分子(ECM),所有这些必须同时在时间上和空间上严格控制以形成能行使正常功能的肺,并在胎儿过渡到新生儿的过程中履行气体交换的关键任务。假使其中某些因子没有在适当的时间和/或适当的部位发挥作用肺的缺陷就会发生,并可导致肺功能下降或由于出生时的呼吸衰竭而死亡。

发育分期

典型的肺发育分为五期：胚胎期，假腺体期，小管期，囊泡期和最后的肺泡期。但最近肺泡期又一分为二，第六期则定义为微血管成熟期(2, 3)。每一期都用一种特异的发育标志来限定，而且每一期都需要一套独特的发育因子来实现它的特异的最终目标(表 1-1)。我们对肺发育的很多了解来自于对啮齿动物的研究。鼠类和人类肺发育有相当大的共同性，只有两大方面的例外。在人类胚胎发育过程中，我们的肺分成了五个肺叶，两个肺叶起源于左侧初级支气管，三个来自于右侧。这种非均衡的分布被认为是给心脏留出空间。但鼠的肺分叶有不同的方式。虽然它们也有五个次级支气管(每个次级支气管都是每个肺叶的原发性基干)，但它们只有一个肺叶来源于左侧初级支气管，而有四个起源于右侧(图 1-1)。鼠和人类肺发育的第二个大的区别涉及各个发育阶段的时间范围。人类肺发育在出生时几乎完成，生后只发生部分的肺泡化和微血管的成熟。相反的，鼠出生时只具有囊

表 1-1 肺形成和主要结构发育的分期及其分子介质

发育分期	胎龄		形成 / 诱导	分子介质
	人类(周)	鼠(天)		
胚胎期	3.5~7	9.5~14.2	最初的芽胞长出 气管 初级支气管 主要的气道	SHH, PTC, GLI's, RA, RARs FGF10, FGF9, FGF7, FGFR2 LEFTY1, LEFTY2, PITX2, NODAL SPRY2, SPRY4, BMP4, HOXA5 TBX4/5, TITF1, FOX's, CLISPLD2
假腺体期	5~17	14.2~16.6	前腺泡支气管树	SHH, PTC, TGFB, BMP4, RA, RARs FGF7, FGF9, CRISPLD2, TBX4/5 GATA6, SMADs, TITF1, FOX's
小管期	16~26	16.6~17.4	传导性气道完成 肺腺泡和气体交换 面积 毛细血管床增加 上皮分化开始	VEGF, FLT1, FLK1 HIF1A, ARNT, HIF2A GATA6, TITF1, ASCL1, HES1 FGF7, FOX's, MDK ANGPT1, ANGPT2, TIE1, TEK
囊泡期	24~38	17.5d~5dpm	囊泡 肺泡导管和气囊 表面活性物质	VEGF, FLT1, FLK1 HIF1A, ARNT, HIF2A FOX's, HOXA5, MDK ANGPT1, ANGPT2, TIE1, TEK
肺泡期	36~2ypn	4~14dpm	次级隔膜和肺泡	FGFR3, FGFR4, RA, RARs, MDK ANGPT1, ANGPT2, TIE1, TEK
微血管成熟期	出生~3ypn	14~21dpm	肺泡间隔变薄 肺血管重塑 毛细血管双层融合	VEGF, FLT1, FLK1 ANGPT1, ANGPT2, TIE1, TEK FOX's

dpm: 生后日龄; ypn: 生后年龄

泡期的肺, 因此它们必须以相对于人类来说较不成熟阶段的肺在呼吸空气的环境中发挥作用。在这一章中, 我们将肺发育的六个期归为早期(胚胎期和假腺体期)、中期(小管期和囊泡期)和后期(肺泡和微血管成熟期)。

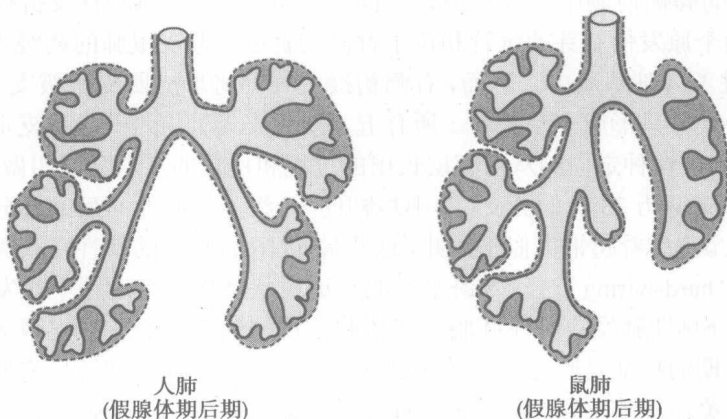


图 1-1 说明人和鼠之间不同的肺叶形成前视模型图。人类肺左侧两叶, 右侧三叶。鼠肺左侧一叶, 右肺四叶

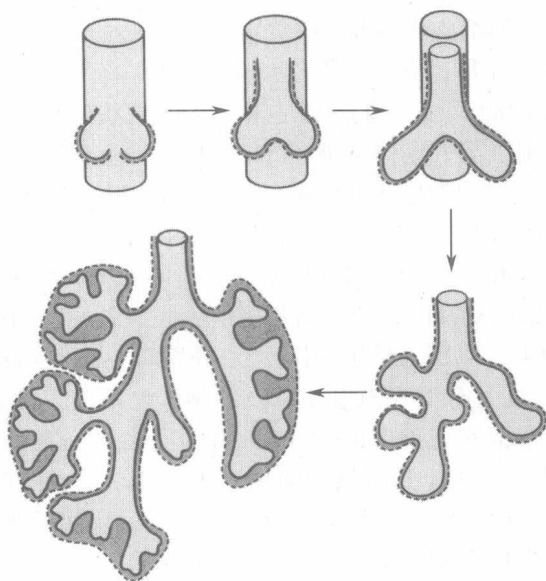


图 1-2 早期鼠肺分支形态发生的前视模型图。在 9.5dpc 时初级肺芽从初级前肠中开始长出进入到周围的基质中

早期肺发育

人类肺起源于胚胎第四周初级前肠形成的内胚层腹侧凹陷。内胚层芽体然后变长, 向尾侧生长, 在那里分成两支成为左右原发性肺芽。同时原始憩室的位置朝嘴侧移动, 把前肠分成两个管子, 即背侧的食道和腹侧的气管。两个肺芽(初级支气管)向后腹侧生长进入内脏的基质中, 它们在那里再分支, 左侧支气管形成两支次级支气管, 右侧支气管形成三支

次级支气管。这些次级支气管的每一支都代表将来成熟肺的一叶,并经历进一步的分支,这样在每个肺叶中扩展成为主要的气道。

在鼠中发生过程略为不同。鼠肺开始于 9.5dpc(days post coitum)时的两个内胚层芽体,从胃正前面的腹侧前肠中出芽形成。在同一部位,单一的前肠管反折拧成两根分离的管子形成包含两个原发性肺芽的气管和位于背侧的食道。两支鼠肺的初级支气管像人类那样向深处生长进入内脏基质中。然而,右侧初级支气管将形成四支次级支气管,而左侧在这一部位将不分支并只形成一个肺叶。所有五支次级支气管将进一步分支形成成熟的气道树状结构(图 1-2)。这种定向的从内胚层长出的过程和反复的气道分支叫做分支形态生成。在这一过程中肺将经历 23 代的分支,其中最初的 16 级是复制的而后的部分似乎是更随机的分布。曾有人认为,看起来也似乎如此,这些最初 16 级复制的特性在人类是遗传上预程序化的,因此用“hard-wiring”这一术语来说明气道树状结构发育过程中在发育上预先确定的构建(4)。区分早期肺发育阶段胚胎期和假腺体期的依据是气道分支网络扩张时细胞分化的开始。胚胎期的特征是肺芽、气管、初级支气管和主要气道的形成,它们都被未分化的柱状上皮细胞所覆盖。肺发育的假腺泡期起始于人类妊娠的第五周期间(在鼠 14.2dpc 时),一直持续到所有传导性气道从支气管树直到终末支气管的全部形成。然而,一个关键性的发育过程将肺生长的这一时期与胚胎期相区分,那就是细胞分化的过程。肺的分化可以分解成四个主要类别:近端气道上皮,远端气道上皮,近端间质和远端间质。每一组别的细胞群都经历分化成为特殊的细胞类型和/或负责将信息传递给其他组别引起细胞分化或形态的变化。分化的主要目标是建立传导性气道(支气管系统)和呼吸性气道(呼吸性腺泡)的功能体征。传导性气道的近端上皮最初是未分化的柱状上皮,并将分化成为无纤毛的柱状细胞(Clara 细胞)、肺神经内分泌细胞(PNECs)和纤毛细胞。远端的呼吸上皮性质上是低柱状或立方细胞,并将分化成为 II 型肺泡上皮细胞,以后自那里产生 I 型肺泡上皮细胞(5, 6)。间质细胞将分化成软骨细胞、成纤维细胞和成肌细胞。间质细胞类型的特异化(specification)开始于气管和初级支气管周围形成软骨环来支撑大的气道的时候,然后向远端延伸在外周的间质中形成复杂的血管网络和脏层胸膜。肺发育的最基本导向原则之一是上皮-间质细胞相互作用。常常描述为“相互沟通联系”,这两种组织层面的相互作用对于正常肺的发育至关重要,而且分支形态发生以及细胞分化都极大地依赖于这一过程。应用组织移植方法的早期实验证实,远端间质具有独特的能力,当自身间质暴露出来时从气管诱导上皮出芽(7, 8)。另一方面,当将气管间质移植到远端肺上皮时就不能诱导出芽。进一步的实验揭示不但分支形态生成而且细胞分化均可被远端间质所激发(9)。这些简单的实验证实,近端和远端间质在诱导发育中肺上皮的生长和分化上具有不同的生理学作用。上皮-间质相互沟通联系的论题及其重要性将在后面肺发育部分如 sonic hedgehog (SHH) 及成纤维细胞生长因子(FGF)信号传递时讨论。

中期肺发育

在人类胚胎的第 16 周(鼠为 16.6dpc),肺发育步入正道,胎肺系统进入到小管期。这一时期肺发育的主要特征是呼吸上皮的生长和呼吸性细支气管以及预期的肺腺泡的形成。这一时期第二个主要的发育是远端肺毛细血管床的大量增加。在小管期末,人类胎儿早产出生已能够存活,因为有足够的呼吸上皮和相关联的血管床来提供最低的但能够存活的与外界的气体交换。这时候主要的传导性气道分支型式已经完成,肺发育开始集中于建立促

进气体交换的必要的功能成分。首要的是通过在原始的肺介质中毛细血管形成使得肺血管系统快速增长。其次,远端上皮处立方状的Ⅱ型细胞分化出扁平的Ⅰ型细胞(6)。这些细胞类型的分化是一个重要的步骤,因为将需要Ⅱ型细胞产生和分泌表面活性物质,而Ⅰ型细胞形成薄的细胞层支持将来的气体交换。在妊娠第24周,随着外周空间(airspaces)的扩张和周围间质协同性退化,肺开始在显微镜下显示肺泡结构,标志着肺发育的囊泡期和终末肺泡期的开始。进一步细胞分化同时发生在传导性和呼吸性上皮上,也发生在近端和远端的间质。显著性表现是近端上皮中纤毛细胞、无纤毛 Clara 细胞、基质细胞(basal)和神经内分泌细胞的不断出现,以及远端上皮的Ⅰ型和Ⅱ型细胞的成熟。在这一时期,在变薄的介质中弹性纤维形成以及肺血管的肌肉化,肺支撑结构开始形成(2)。

后期肺发育

在人类发育过程中肺泡化的开始部分在宫内发生,后期的肺发育包括肺泡化和微血管成熟,主要发生在生后在呼吸空气的环境中。终末囊泡的继发性嵴(crest)的形成主要担负将终末空间分成更小的单位,是成熟肺泡正常形成的首要条件。继发性的嵴仍然包含双层的毛细血管,还需要经历进一步的修饰以获得气体和血液之间有效的弥散距离。在人类全肺的完全肺泡化是一个长期的过程历尽数年,因此它与微血管成熟时期很大程度的重叠。当肺泡形成的过程在肺的一个区域完成,它将进入下一个微血管成熟的时期,而肺的另外一些区域可能继续进行肺泡形成的过程。在肺的形成过程中微血管的成熟是最后一个步骤,对于形成有效的气体交换表面是非常必要的。这时包含双层毛细血管的肺泡间隔将变薄,在融合的过程中双层毛细血管融合成为单层的网络系统,这时成熟血液脉管系统距离内在的肺泡腔仅有 $0.1\mu\text{m}$ 。

生长因子

生长因子是发育中至关重要的信号分子,在许多各不相同的种系经历进化中保守存在。哺乳动物的肺也不例外,当它们的自然表达发生变化时可以产生轻度直至严重程度的后果。FGF 是一类分泌型的多肽配体,当与它们的酪氨酸激酶受体(FGFR)结合时,在胚胎期、胎儿和生后脊柱动物的发育过程中调节很多的细胞进程(10)。FGF 还参与肺发育的很多方面,跨越肺形态发生的各个发育时段。除非特别提及,所有涉及形态发生素、转录和生长因子或任何其他发育因子影响肺发育的表达形式和对发育作用的讨论都特异的指鼠肺;这些因子功能上的作用理论上推测也存在于人类的肺,尽管还没有得到证实。

早期生长因子

一种单一的生长因子如何能够规范肺的发育这种惊人的效应可以在 *Fgf10* 去除时看到。*Fgf10* 缺失的鼠有气管的形成,但肺完全缺如(肺不发育),气管末端只是一团杂乱的间质细胞,其中看不到基本的肺芽(11, 12)。这些鼠出生时死于呼吸衰竭,伴有其他严重的发育缺陷如前肢后肢完全截断。检查气管的远端内胚层,没有发现 *Shh* 或骨骼形态发生蛋白4(*Bmp4*)的表达。而且,wingless-type MMTV 整合部位家族成员2(*Wnt2*)的转录从突变肺中胚层周围中消失。涉及早期肺发育的其他因子的缺失提示,FGF10 是到目前为止所发现的最上游的肺发育调节因子(12)。为理解 FGF10 在肺发育信号传递过程中的重要作用,我

们必须完整地理解它的表达形式。*Fgf10* 高水平的表达最初在 14dpc 大鼠肺间质细胞上发现(13)。Bellusci 及其同事(14)用原位杂交的方法进一步研究了 *Fgf10* 在鼠肺的表达。他们证实 *Fgf10* 在鼠 9.75dpc 肺发育的开始时表达,即在脏层间质包绕从腹侧前肠长出的细支气管芽时。他们还注意到在比较大的右侧肺芽周围其表达显得更高,可能是由于右侧不久将形成四支次级支气管而左侧只形成一支。大约一天以后,在 10.5dpc 左右,发现 *Fgf10* 被限制在两个主要支气管的远端间质。自此 24 小时后,其表达限制在新的次级支气管的发育末端。随着时间的推移,发育中的肺芽长入间质中,在围绕肺芽的区域 *Fgf10* 的表达水平提高。这一过程同时伴有在间质区域下一个肺芽将要形成的部位表达增加。这种空间-时间(spatial-temporal)表达的模式提示 *Fgf10* 引导分支气道的向外生长,然后移动到形态发生过程中将来新的分支的部位。这也提示发育中的内胚层将信号传回间质来调节 *Fgf10* 的表达,可能是通过与 SHH 途径的相互作用。SHH 通路将在后面讨论。

在发育中的肺中发现了 FGF2 受体 FGFR2b(FGFR2-IIIb)的一种编接变异(a splice variant)(15)。因为有显示 FGF10 结合 FGFR2b,这表示它是一种理想的缺失的目标,用来检测它对肺发育的作用(14, 16)。早期的实验应用人表面活性蛋白 C(SFPC)启动子造成的 *Fgfr2* 显著性负性变异的过度表达建立一种正常肺完全丧失的鼠模型,导致围生期的死亡(17)。已证实 SFTPC 启动子早在 10dpc 时促使原始肺芽上皮细胞的下游基因结构的表达。这种表达在 13~16dpc 期间被限制于分支中支气管小管的远端上皮成分中,最后在孕后期的肺中限制于终末肺泡囊的 II 型细胞中(18, 19)。这些表达显著性负性 *Fgfr2* 结构的鼠仅有两个未分化的上皮管道。不幸的是 *Fgfr2* 受体敲除由于远在肺发育之前滋养外胚层缺陷已导致胚胎的早期死亡,因此对肺的任何作用就难以阐明(20)。这一难题被 Arman 及其同事们解决(21)。他们通过一种融合嵌合体建立一种鼠胚胎使得这些鼠能够活到足月。他们的发现非常有意思,因为造成的表型与 *Fgf10* 缺失的鼠几乎完全一样。正常的气管能够形成,但突然中断没有肺,气道的缺陷限制于支气管树。一种 *Fgfr2b* 同工型-特异性缺失鼠被建立,能够保留 *Fgfr2b* 编接变异的正常功能,使这一发现进一步得到明确(22)。与导致同时丧失 *Fgfr2* 同工型的鼠不同,不表达 *Fgfr2b* 的鼠能够存活到出生,但仍然遭受各种的发育缺陷,而且出生时死于呼吸衰竭。作者发现就像过去报道的 *Fgf10* 缺失和嵌合型 *Fgfr2⁺* 鼠那样,没有肺的形成,仅有气管芽没有初级支气管的建立。这强烈提示 FGFR2b 是肺形态发生过程中传递来自 FGF10 信号的受体,促使最初的初级分支的形成。但是,新的证据提示事情可能并非如此,因为发现同时表达 *Fgf10⁺* 和 *Fgfr2b⁺* 的鼠在 11.5dpc 原发性的分支开始发生(23)。*Fgfr2b* 缺失的鼠显示右侧初级肺芽的继续生长,并在 13.5dpc 时在左右初级支气管之间可见裂口,但 *Fgf10* 缺失鼠则不会。在 13.5dpc 时, *Fgf10* 敲除的鼠只显示右侧支气管,没有可见的裂口提示一个分开的左支气管。

另一个对早期肺发育起作用的 FGF 家族成员是 FGF9。*Fgf9* 的表达在 10.5dpc 时在呼吸道上皮和脏层胸膜上被检测到,在 12.5dpc 时显示仅限制于胸膜(24)。Colvin 等(25)建立一种 *Fgf9* 缺失的鼠,它具有严重的肺发育不良并在分娩后不久死亡。通过细致的检查揭示这些肺的气道分支减少且间质也减少。有趣的是,仍然有相当量的远端空泡的形成和肺细胞分化。作者提出 FGF9 和 FGF10 通过上皮-间质信号传递机制来实施对肺发育的控制作用,而 FGF9 们的主要功能是对间质增殖的调节(25)。最近的进展进一步阐明 FGF9 在肺发育中的作用,提示 FGF9 可能比原先认为的作用要更显著。先前的报道指出在 12.5dpc 时 *Fgf9* 的表达从肺上皮中消失,新的证据显示在 14.5dpc 上皮中 *Fgf9* 仍有显著水平的表

达(23)。当重组的 FGF9 加入到 12.5dpc 肺移植培养中来模拟过度表达, 结果导致间质增殖增加, 间质分化受到抑制, 以及上皮细胞扩张和上皮分支的减少。这些作用也发生在上皮和间质肺组织两层相互分开培养时。这提示没有哪一层组织是依赖于另一层以对 FGF9 信号传递起反应。进一步的实验揭示 FGF9 在上皮的信号传递依赖于 FGFR2b, 而不依赖于 *Fgf10* 的信号传递。用一种 *Fgf10* 增强子捕捉物 (enhancer-trap) *nlacZ* 将报道因子基因转入 *Fgf10*^{-/-} 鼠, 发现 FGF10 表达增加, 这一结果与以往 Colvin 及其同事用对 *Fgf10* 原位杂交方法所得的发现不相一致(25)。Del Moral 等(23)也注意到用重组的 FGF9 处理肺 *Fgf10* 表达增加, 并认为这种 FGF9 诱导的 *Fgf10* 表达的上调可能是通过 T-box4 (*TBX4*) 和 *TBX5* 介导。与重组的 FGF9 对培养中的肺的作用相似, 用一种可诱导的系统通过 SFTPC 启动子空间调节所造成的 *Fgf9* 的过度表达在肺发育的早期可以诱导间质的大量增加和上皮分支的减少(26)。有趣的是, 在这些肺中 *Shh* 和 *patched* (*Ptc*) 的表达也显著上调。因为在 *Fgf9*^{-/-} 的肺中可以看到对 *Shh* 和 *Ptc* 的表达有着相反的作用, 提示 FGF9 既是必要又足够诱导 *Shh* 表达和 SHH 信号传递。在 *Fgf9* 过度表达的鼠 *Fgf7* 和 *Fgf10* 的表达也上调, *Fgf10* 转录的空间限制也消失, 这与早先提到的用重组 FGF9 培养实验结果相一致。这些结果提示由于 FGF9 水平增高导致的肺表型可能是通过 FGF7 和 FGF10 信号传递改变来介导。在 *Fgf9* 过度表达的鼠也可以看到 *Sprouty2* (*Spry2*) 和 *Bmp4* 水平的增高, 为上皮-间质之间通过 FGF7 和 FGF10 的 FGF 信号传递是经过 FGF9 的作用介导这一结果提供进一步的证据(26)。

很清楚, FGFs 通过上皮-间质之间的信号传递的相互作用在分支形态发生中起到很重要的作用。在 *Drosophila*, 一种 *sprouty* (*Spry*) 基因突变导致呼吸系统分支增强, 同时发现 *Spry* 基因编码一种蛋白质拮抗 FGF 信号传递(27)。多种 *Spry* 的同类物同时在人类和啮齿类动物身上发现且已证实对肺发育起作用。鼠 *Spry* 的同类物 *Spry2* 的反义寡核苷酸用于培养的胚胎肺移植对于分支形态生成具有极大的作用, 显示上皮分支有 72% 的增加, 上皮分化标志物的表达也增加(28)。这种关系通过应用两个分离的过度表达模型得到进一步的明确。这种模型显示 *Spry2* 表达增加导致肺分支形态发生减少(29)。但是 *Spry* 基因对肺发育的最强有力的作用在表达可诱导肺上皮特异性 *Spry4* 结构的转基因鼠上看到。在这些动物, 当外源性的 *Spry4* 在肺发育过程中表达时, 导致肺叶形成不良和各种缺陷。而且, 外源性 *Spry4* 的致畸作用在其表达时肺发育所处的不同的特异时相而有所变化。当 *Spry4* 在假腺泡期表达则显示严重的发育缺陷导致围产期致死性, 当 *Spry4* 在囊泡期和肺泡期表达导致能够存活只有轻度非炎症性的肺气肿(30)。

BMPs 是分泌生长和分化因子的一个家族, 与转化生长因子(TGFB)超家族相关。几种 BMPs 的表达在发育中的肺内胚层和中胚层来源的组织中被发现。一种 *Bmp7* 缺失的鼠被建立, 并经受大量的发育缺陷, 在生后一个月内死亡。尽管 *Bmp7* 转录在肺的上皮中被检测到, 在发育中的肺芽顶端有轻度的表达增高, 但在缺失的鼠没有看到肺的异常(31)。Bmp5 的表达在 10.5dpc 和 16.5dpc 期间胚胎期鼠肺的基质中检测到。但是 *Bmp5*^{-/-} 的鼠能够存活而且没有明显的肺表型(32)。迄今为止, 最令人感兴趣的有关肺发育的 BMP 家族成员是 BMP4。早在肺发育的早期(11.5dpc), 在发育性上皮肺芽的远端顶点可以看到高水平的 *Bmp4* 的转录。这种表达持续到至少 15.5dpc, 并在临近发育中上皮肺芽顶端的基质中有低水平的表达, 然后, 这种表达在接近 18.5dpc 时逐渐降低(33)。一种 *Bmp4* 缺失的鼠模型被成功地建立, 但这些鼠在孕早期在 6.5~9.5dpc 期间死亡(34)。这一实验清楚地说明

BMP4 在早期鼠发育中的重要性。但是,为了探究其对肺形成的作用必须采用其他的方法,因为这些鼠远在肺发育的开始之前就已死亡。BMP4 信号传递对肺发育影响的进一步认识来自于用 SFTPC 启动子造成在远端肺上皮表达 *Bmp4* (33)。在 15.5dpc 时的分析显示肺较小,显然是由于细胞分化减少同时细胞死亡增加,分别用 BrdU 和 TUNEL 标记的方法加以证明。这些肺在形态上显示上皮终末肺芽数量很少且很宽大,并被丰富的基质所分开。进一步的研究显示大的上皮囊泡与支气管和气管相延续,最后导致出生时这些肺不能支持正常的肺功能(33)。作者还发现近端气道上皮细胞的分化不受影响,而远端肺上皮细胞分化成 II 型细胞减少。最后,当测试转基因的肺以观察是否有其他已知的参与肺发育的其他调节分子受到影响,结果发现 *forkhead box A2* (*Foxa2*)、*Shh*、*Wnt2* 或 *Bmp7* 的 mRNA 转录水平没有变化。

当 BMP4 对肺发育的强大作用被发现,带来其他的研究来探索控制机制在 BMP 信号中所起的作用。在 Weaver 及其同事们的研究中(35),他们使用 BMP 拮抗剂 *Xnoggin* 以及一种强烈的负性 I 型 BMP 受体叫做 *dnAlk6* 来检验两种抑制 BMP 信号传递的机制。应用 SFTPC 启动子,对每一个构成物都进行单独的检测并发现对 BMP 信号传递都有强大的作用。*Xnoggin* 的过度表达不但引起几乎所有转基因鼠的产前死亡,而且肺容量也显著降低,肺叶形态不规则和近端-远端分化的异常,特别是在远端肺上皮中采用了近端气道的表型。在远端间质包绕近端化的远端小管中还出现 α 平滑肌肌动蛋白(ACTA2)阳性细胞,但血管发生大体上没有异常发现。当 *dnAlk6* 和 SFTPC 启动子异位表达时还导致没有活着出生的幼鼠和正常近-远端分布模式的破坏,但不像 SFTPC-*Xnoggin* 转基因鼠那么严重,因为近端基质显示正常(35)。

BMP4 信号传递的另一种重要的调节因子在过去的几年中显现出来,并使 BMP4 在肺分支形态生成中的作用进一步明了。作为“can”家族的一组重要的调节分子(其名字来源于最初在 *Xenopus Cerberus* 基因[*Cer1*]证实的同源决定域),包含几种重要的发育调节因子,并与其他的影响因子如 TGF β 超家族(参见 Pearce 等(36))密切相关。多种“can”蛋白被证实通过特异性的结合和阻断 BMP2/4 活性来抑制 BMP 的信号传递(37)。有显示在胎儿发育过程中“can”家族成员 *gremlin* (*Grem1*)、*Grem2* (过去为 *Prdc*)、*Cer1* 和 *Nbl1* (过去为 *Dan*) 都在肺部表达(38)。“can”家族对 BMP 信号传递的进一步了解由两个小组提供,他们用不同的方法检测 GREM1 在发育中的肺 BMP4 信号传递的作用。在一个研究中, Lu 和他的同事(38)应用 SFTPC 启动子来使 *Grem1* 在远端肺的过度表达,基于曾经观察发现在肺发育过程中 *Grem1* 在近端气道天然的表达。这些转基因的肺产生远端肺的近端化,证据是远端气道出现平滑肌环绕和在远端上皮中出现近端气道的标志物 *Ccsp* 和 *Foxj1* (38)。来自第二个小组(37)的证据是在肺移植物培养中利用反义寡核苷酸敲除 *Grem1* 的表达,显示由于 *Grem1* 表达的减弱导致了强力的生长和分支增加。因为 GREM1 是 BMP4 强有力的拮抗剂,他们用外源性的 BMP4 作用于野生型的肺移植物培养体系来检测同一原理的另一半,观测到不但有分支的增加还有上皮囊泡数量的增加,这种表型与 *Grem1* 敲除的肺移植物没有什么不同。最后,用重组的腺病毒外源性的表达 *Grem1*,作者证实在肺培养中 BMP4 诱导的分支减少(37)。综合这两个小组的结果充分说明在肺发育过程中 GREM1 介导的 BMP4 调节作用的重要性。这些发现还提示对肺发育的这个领域需要更多的研究,因为有一些在肺中表达的“can”家族成员还没有进行严密的检测,并可能是通过 BMP 调节的介导成为肺发育至关重要的调节因子。