

[文章编号] 1000-4718(2007)07-1306-05

表皮生长因子对新生大鼠高氧损伤肺组织 EGFR 及 EGF mRNA 表达的影响*

柳国胜¹, 刘海英¹, 邱锐琴¹, 聂川⁴, 赵小鹏⁵, 康举龄², 关洁宾³

(暨南大学附属第一医院¹ 儿科,² 病理科, 广东 广州 510632;³ 暨南大学医学院动物所, 广东 广州 510630;

⁴ 广东省妇幼保健院新生儿科, 广东 广州 510010; ⁵ 广州市妇婴医院新生儿科, 广东 广州 510180)

[摘要] 目的: 探讨外源性表皮生长因子(EGF)对新生大鼠高氧损伤肺组织 EGFR 及 EGF mRNA 表达的影响。方法: 取胎龄 21 d 剖宫产出生的新生 Sprague dawley (SD) 大鼠持续吸入 95% 的 O₂ 制作未成熟肺高氧损伤模型, 随机分为高氧表皮生长因子(EGF)组和高氧生理盐水(NS)组, 另设空气 NS 对照组; 所有组按给药(或 NS)时间分为 3 个亚组, 即: a 亚组(1-3 d)、b 亚组(4-6 d)、c 亚组(1-6 d); 各亚组均于生后 3、7、14 d 分批处死取肺组织。应用免疫组化观察各组肺组织 EGF-R 的表达, RT-PCR 方法检测 EGF-mRNA 的表达。结果: EGF mRNA 的表达随着日龄增加而递增, 生后 7、14 d 高氧组 EGF-R 及 EGF mRNA 的表达高于空气对照组, 14 d EGFa 和 c 亚组 EGF-R 的表达均明显高于相应的高氧 NS 组($P < 0.05$), 14 d 时 EGF 组内源性 EGF mRNA 的表达较 NS 组明显增加($P < 0.01$)。结论: 早期应用 EGF 可促进肺泡上皮细胞 EGF-R 的表达, 改善高氧所致肺发育受阻, 对未成熟肺高氧损伤有一定的保护作用。

[关键词] 高氧症; 肺损伤; 表皮生长因子; 大鼠

[中图分类号] R363 **[文献标识码]** A

Effect of EGF on expression of EGFR and EGF mRNA in the injured lung tissue of neonatal premature rats exposed to hyperoxia

LIU Guo-sheng¹, LIU Hai-ying¹, QIU Rui-qin¹, NIE Chuan⁴, ZHAO Xiao-peng⁵, KANG Ju-ling², GUAN Jie-bin³

(¹ Department of Pediatrics, ² Department of Pathology, First Affiliated Hospital of Jinan University, ³ Institution of Animal of Jinan University, Guangzhou 510632, China; ⁴ Department of Neonatology, Maternal and Child Health Hospital of Guangdong Province, 510010, China; ⁵ Department of Neonatology, Maternal and Infant Hospital of Guangzhou, 510180, China. E-mail: tlgs@jnu.edu.cn)

[ABSTRACT] **AIM:** To investigate the effect of exogenous epidermal growth factor(EGF) on expression of EGFR and EGF mRNA of the injured lung tissue of neonatal premature rats exposed to hyperoxia. **METHODS:** The neonatal Sprague-Dawley rats of 21-day gestational age model of hyperoxia induced lung injury were made by continually inhaling 95% oxygen. The model rats were divided into two groups randomly, the EGF trail group and the NS control group. The other rats were taken into the air control group. Each group was divided into three subsets: a (1-3 days), b (4-6 days) and c (1-6 days) according to different application times of EGF or NS. Rats in sub groups were executed and the lung tissues were removed at postnatal 3th, 7th, 14th day respectively. Using immunohistochemistry method, the expression of EGF-R of lung tissues in different groups was observed, and the expression of EGF mRNA was determined by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). **RESULTS:** The expression of EGF mRNA increased by degrees following the increasing postnatal days. Compared with the air control group, the expression of EGF-R and EGF mRNA increased in the hyperxia group at 7th day and 14th day. The expression of EGF-R increased in corresponding hyperxia NS control group at 14th day ($P < 0.05$). The expression of EGF-R in a and c subset of the EGF trail group all increased obviously compared with the corresponding hyperxia NS control group at 14th day ($P < 0.01$). **CONCLUSION:** EGF may facilitate the expression of EGF-R in alveolar epithelial cells, ameliorate the impaired development of lung resulted from hyperoxia, and play a protective role in lung development from hyperoxia induced inhibition.

[KEY WORDS] Hyperoxia; Lung injury; Epidermal growth factor; Rats

[收稿日期] 2006-08-08 [修回日期] 2006-11-13

* [基金项目] 广东省卫生厅科研基金资助项目(No. 2003379); 国家教委教外司[1999]363号基金资助

Tel: 020-85220830; E-mail: tlgs@jnu.edu.cn

EGF 对肺的生长发育功能成熟起重要作用,并对培养的成年大鼠肺泡 II 型细胞增生有明显的调控作用,并呈量效关系^[1]。我们在探究腹腔注射 EGF 对新生大鼠未成熟肺高氧损伤拮抗作用,发现早期应用 EGF 可减轻高氧引起的肺组织损伤,能改善高氧所致肺发育受阻状况,减轻肺组织纤维化程度^[2]。本实验主要观察腹腔注射 EGF 对新生大鼠高氧损伤肺组织 EGFR 及 EGF mRNA 表达的影响,认识 EGF 对新生大鼠高氧损伤肺保护作用的机制。

材 料 和 方 法

1 主要试剂

EGF-R 山羊 IgG 多克隆抗体购自北京中山生物技术有限公司,工作浓度 1:100;免疫组化抗山羊 SP 试剂盒购自福建迈新生物技术有限公司;DAB 试剂盒购自福建迈新生物技术有限公司;Trizol RNA 提取试剂盒购自上海申能博彩生物技术有限公司;RT-PCR 试剂盒(TaKaRa RNA PCR Kit)购自大连宝生物工程有限公司;EGF 和 G3PDH 引物由北京赛百盛生物技术有限公司合成。

2 动物及分组

2.1 实验动物 健康成年雌性 SD 大鼠(体重 250-270 g)40 只,雄性 SD 大鼠(体重 300-350 g)20 只,由广州中医药大学实验动物中心提供。合格证号(粤检证字)第 2003A028 号。

2.2 新生 SD 大鼠的准备和分组 将实验大鼠在良好通风、温度 22-26 °C 的实验室饲养 2 d 后按雄:雌=1:2 合笼过夜,(实验大鼠分批合笼),于孕 21 d 在腹腔麻醉(2%戊巴比妥 2.5 mL/kg)下对孕鼠行剖宫产术,共取出 300 只存活新生大鼠并对其进行编号。将每组新生大鼠按照随机数字表分入高氧 NS 组 100 只、空气 NS 组 100 只,高氧 EGF 组 100 只(EGF 由深圳华生园生物制品公司提供,600 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 腹腔注射),各组又按照给药时间的不同分为 3 个亚组,即 a(1-3 d)、b(4-6 d)、c(1-6 d),将高氧组置入高浓度(>95%)氧箱中饲养;空气组在空气中饲养;所有子鼠均由最近已分娩的母鼠作为代母鼠。

3 方法

3.1 新生大鼠高氧肺损伤模型的复制 本实验采用许峰等^[3]的方法复制高氧肺损伤类支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)的动物模型。将实验组新生大鼠和代母鼠一起置入温度为 23-26 °C、湿度 50%-60% 高浓度氧箱中饲养,从箱的顶端充入氧气,底端的测氧孔接氧浓度监测计,调节氧流量使箱内的氧浓度维持在 95% 以上,箱内放

入钠石灰以吸收大鼠呼出的 CO₂,防止 CO₂ 滞留,CO₂ 浓度低于 0.5%。每日清晨 8:00 开箱 1 次更换饲料,水及垫料,同时将实验组与对照组代母鼠互换。

3.2 标本的收集和处理 生后满 3、7、14 d,将各亚组新生大鼠分别取动物 6 只,固定在蜡盘上,快速剪开胸腔,经导管向左肺注入 10% 甲醛溶液至肺尖膨胀,结扎左支气管,固定 15 min 后取下左肺浸泡于甲醛液中 24 h 内石蜡包埋。右肺在肺门处结扎,迅速取下在冰上操作将组织分为两份,1 份液氮中迅速冷冻放入无 RNA 酶的 EP 管中,用做 RT-PCR 分析;1 份直接放入 EP 管用于羟辅氨酸的测定,组织标本保存于 -80 °C 冰箱备用。

3.3 免疫组织化学染色 石蜡包埋后的组织标本连续切成 4 μm 厚的切片,按常规 SP 法进行免疫组化染色。

3.4 免疫组化染色结果的量化 为确保实验结果的真实性和客观性,染色结果判定由专人单盲阅片。阳性细胞胞膜和胞浆呈棕黄色,每个切片随机取 5 个高倍($\times 400$)视野,计数肺泡上皮细胞 EGF-R 阳性细胞率,求其均数作为该切片的阳性细胞率,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3.5 引物的设计 在 GenBank 中找到鼠 EGF 基因序列(序列号 BC062030),采用 primer premier 5.0 软件分析序列并设计大鼠 EGF 引物:上游引物 5'-GTGGCGTGTGCATGTATGTT-3',下游引物 5'-CT-CACGTTGCTGCTTGACTC-3'。内参照用管家基因甘油三磷酸脱氢酶(G3PDH)。G3PDH 引物:上游引物 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3',下游引物 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'。

3.6 逆转录聚合酶链反应(RT-PCR) 采用 Trizol RNA 提取试剂盒,按使用说明提取肺组织总 RNA。采用 RT-PCR 试剂盒(TaKaRa RNA PCR kit),按照说明分别扩增 EGF(扩增片段 276 bp)和内参照 G3PDH(扩增片段 439 bp)进行 RT-PCR 反应。常规电泳并对各条带进行密度扫描分析,分别计算各组 EGF mRNA/G3PDH 扩增量的比值。

3.7 PCR 产物分析 取 5 μL PCR 扩增产物,在 2% 的琼脂糖凝胶(含 0.5 mg/L 溴化乙锭)中电泳做扩增产物检测分析,电压 75 V,30-45 min,紫外灯下拍摄观测电泳条带,凝胶成像系统分析扫描照片。计算曲线下峰面积(积分吸光度)作为 PCR 产物含量,用下列公式计算 EGF mRNA 的表达水平: $A = \text{EGF 电泳曲线下峰面积} / \text{G3PDH 电泳曲线下峰面积}$ 。

4 统计学处理

用 SPSS 11.0 统计软件处理数据。数值以均数

± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,并做两两比较,若方差不齐采用秩和检验; t 检验比较组间差别。

结 果

1 肺组织中 EGF-R 的表达

免疫组化发现各组大鼠肺组织血管内皮细胞、肺泡上皮细胞和巨噬细胞中均可见 EGF-R 表达的阳性细胞,呈棕黄色表达于细胞膜和细胞质中,部分细胞胞膜着色强于胞浆。EGF-R 在肺组织血管内皮细胞呈广泛强阳性表达,沿血管内皮串珠状沉积(图 1),巨噬细胞也可见 EGF-R 阳性表达(图 2),但支气管上皮细胞、肺间质及支气管周围结缔组织中很少见表达。EGF-R 在肺泡上皮细胞中分散表达。各组新生大鼠生后 3、7、14 d 肺泡上皮细胞 EGF

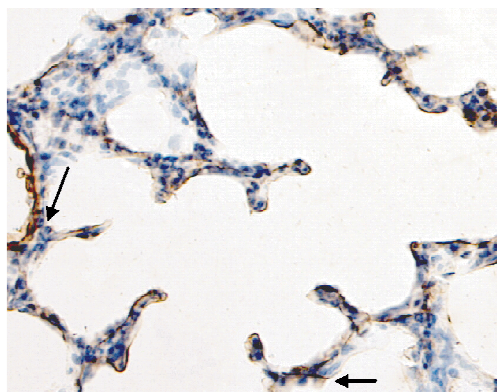


Fig 1 The expression of EGF-R in the cytoplasm of the alveolar epithelial cells (\leftarrow); the string of beads deposit can be seen in the vascular endothelial cells (\blacktriangledown) (SP, $\times 400$).

图 1 EGF-R 在肺泡上皮细胞胞质中表达(\leftarrow), 血管内皮细胞亦可呈串珠样沉积(\blacktriangledown)

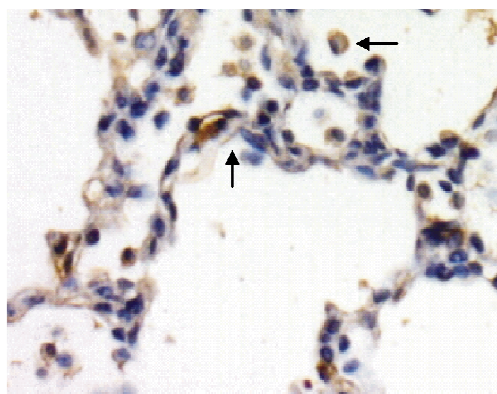


Fig 2 In EGF b group of the 14th day. EGF-R expression in the cytoplasm of the alveolar epithelial cells (\uparrow) and macrophage (\leftarrow) (SP, $\times 400$).

图 2 14 d EGFb 组, EGF-R 在肺泡上皮细胞胞质中表达(\uparrow), 巨噬细胞中可见 EGF-R 表达(\leftarrow)

表 1 各组肺泡上皮细胞 EGF-R 阳性细胞表达率

Tab 1 The expression rate of EGF-R alveolar epithelial cells of lung tissues in different groups(% . $\bar{x} \pm s$. $n = 6$)

| Group | n | The 3th day | The 7th day | The 14th day |
|---------------------|----|-------------------------------------|--|-------------------------------|
| EGF a | 6 | 4.08 \pm 0.32 ** \blacktriangle | 6.51 \pm 0.29 * \blacktriangle | 9.57 \pm 0.82 * \triangle |
| EGF b | 6 | — | 5.42 \pm 0.86 * $\blacktriangle\blacktriangle$ | 7.41 \pm 1.41 * |
| EGF c | 6 | — | 6.43 \pm 0.50 * \blacktriangle | 9.44 \pm 0.56 * \triangle |
| O ₂ NS a | 6 | 4.83 \pm 1.43 * | 6.78 \pm 0.91 * | 7.21 \pm 2.15 * |
| O ₂ NS b | 6 | — | 7.85 \pm 0.77 * | 8.55 \pm 1.67 * |
| O ₂ NS c | 6 | — | 7.03 \pm 1.16 * | 6.23 \pm 1.65 ** |
| Air a | 6 | 2.45 \pm 0.97 | 3.57 \pm 0.85 | 2.65 \pm 0.90 |
| Air b | 6 | — | 3.23 \pm 0.67 | 3.46 \pm 1.18 |
| Air c | 6 | — | 3.15 \pm 0.62 | 3.21 \pm 0.70 |
| EGF | 18 | — | 6.12 \pm 0.76 \triangle | 8.80 \pm 1.38 \triangle |
| O ₂ NS | 18 | — | 7.22 \pm 1.02 | 7.33 \pm 1.98 |

* $P < 0.01$, ** $P < 0.05$ vs the corresponding air control group; $\triangle P < 0.05$ vs the corresponding O₂NS control group; $\blacktriangle P < 0.01$ vs the 7th day and(or) the 14th day in the same group; $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.05$ vs the 14th day in the same group(a;1-3 d;b;4-6 d;c;1-6 d).

-R 阳性细胞表达率: 空气各组肺泡上皮细胞中 EGF-R 表达较少, 氧气各组 EGF-R 表达较多, 3、7、14 d 高氧各组 EGF-R 的表达均高于空气对照组 ($P < 0.05$); 3、7、14 d 高氧 NS 组 EGF-R 的表达均高于空气对照组, 但并没有观察到随时间而有明显增加; 3、7 d 高氧各 EGF 组与 NS 组间 EGF-R 的表达无显著差异, 14 d 时 1-3 d 与 1-6 d EGF 组表达量高于对照组, 且从总体来看应用 EGF 后受体的表达可增加。

2 肺组织中 EGF mRNA 的表达

正常肺组织与高氧损伤后肺组织均可见 EGF mRNA 的表达, 各组电泳图见图 3、图 4 和图 5; 各组 EGF mRNA 的相对表达量见表 2: 高氧暴露 3 d 后各组 EGF mRNA 的表达量无显著差别, 7 d 时 EGFa、EGFc、所有 O₂NS 组与相应空气组比较, 差异显著 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 14 d 时除 O₂NSa 组外其余各组与相应空气组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 实验观察到除高氧 7 d O₂NSa 外, 所有实验组 EGF mRNA 的表达有随着时间的延长而递增的趋势, 且空气组增加的幅度较大, 各 EGF 组与相应 NS 组间无显著差异, 但从总体水平考虑, EGF 组在 14 d 时内源性 EGF mRNA 的表达较 NS 组明显增加 (1.0294 ± 0.3997 vs 0.7076 ± 0.2665 , $P < 0.01$)。本实验并没有见到高氧各给药组之间有显著差异, 此外可以看出, 虽然氧气各组均值高于空气 NS 对照, 但空气组随时间延长内源性 EGF mRNA 的表达量增加的幅度较

高氧组大。本实验并没有见到高氧各给药组之间有显著差异,此外可以看出,虽然氧气各组均值高于空气 NS 对照,但空气组随时间延长内源性 EGF mRNA 表达量增加的幅度较高氧组大。

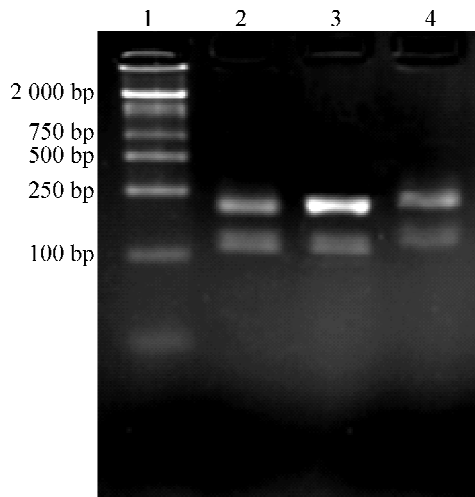


Fig 3 Electropherogram of RT - PCR product of the 3th day in different groups. Lane 1 ; marker; Lane 2: the hyperoxia EGFa group; Lane 3: the hyperoxia NSa group; Lane 4: the air NSa group.

图 3 3 d 各组 RT - PCR 电泳图

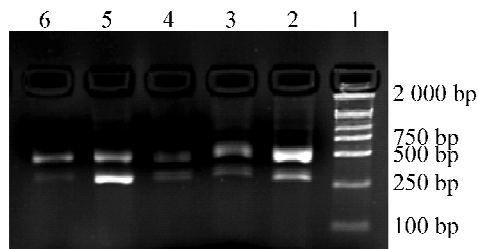


Fig 4 Electropherogram of RT - PCR product of the 7th day in different groups. Lane 1 ; marker; Lane 2: the hyperoxia EGFa group; Lane 3: the hyperoxia EGFb group; Lane 4: the hyperoxia EGFc group; Lane 5: the hyperoxia NS group; Lane 6: the air NS group.

图 4 7 d 各组 RT - PCR 电泳图

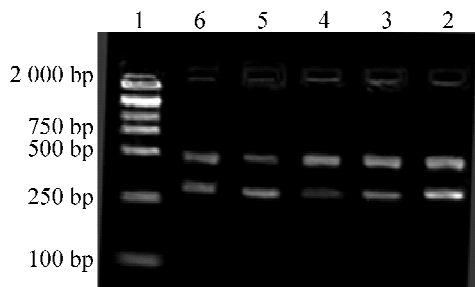


Fig 5 Electropherogram of RT - PCR product of the 14th day in different groups. Lane 1 ; marker; Lane 2: the hyperoxia EGFa group; Lane 3: the hyperoxia EGFb group; Lane 4: the hyperoxia EGFc group; Lane 5: the hyperoxia NS group; lane 6: the air NS group.

图 5 14 d 各组 RT - PCR 电泳图

表 2 各组 EGF mRNA 的相对表达量

Tab 2 The quantity of correspondence expression of EGF mRNA in different groups (A value. $\bar{x} \pm s$)

| Group | n | The 3th day | The 7th day | The 14th day |
|---------------------|----|-------------------|--------------------------------|------------------------------|
| EGF a | 6 | 0.0921 ± 0.0375 * | 0.2877 ± 0.1043 * [△] | 0.8696 ± 0.3179 [△] |
| EGF b | 6 | — | 0.2018 ± 0.1159 * | 1.0801 ± 0.2378 [△] |
| EGF c | 6 | — | 0.3131 ± 0.1671 * [▲] | 1.1386 ± 0.5808 [▲] |
| O ₂ NS a | 6 | 0.0986 ± 0.0137 * | 0.3413 ± 0.1452 [△] | 0.5326 ± 0.2398 |
| O ₂ NS b | 6 | — | 0.3451 ± 0.1024 * [△] | 0.6995 ± 0.1798 [△] |
| O ₂ NS c | 6 | — | 0.3470 ± 0.1368 * [▲] | 0.8906 ± 0.2731 [△] |
| Air a | 6 | 0.0691 ± 0.0187 * | 0.0462 ± 0.0131 * | 0.216 5 ± 0.0426 |
| Air b | 6 | — | 0.074 3 ± 0.024 3 * | 0.200 3 ± 0.063 1 |
| Air c | 6 | — | 0.066 8 ± 0.023 5 * | 0.312 7 ± 0.172 3 |
| EGF | 18 | — | 0.267 5 ± 0.133 2 | 1.029 4 ± 0.399 7 ** |
| O ₂ NS | 18 | — | 0.344 4 ± 0.121 7 | 0.707 6 ± 0.266 5 |

* P < 0.01 vs the 14th day in the same group; ▲ P < 0.05, △ P < 0.01 vs the corresponding control group; ** P < 0.01 vs the corresponding O₂NS control group.

讨 论

表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 是一种具有酪氨酸激酶活性的膜表面传感器,广泛表达于人体的表皮细胞和基质细胞^[4]。大量研究^[5]指出肺损伤时 EGF 水平升高,参与损伤的修复并且还有助于消除肺水肿。EGF 家族大多成员可参与氧化应激引起的损伤,外源性的或细胞内活性氧可引起 HB - EGF 蛋白和基因表达水平上调^[6],氧化应激引起的急性肺损伤可诱导成纤维细胞合成释放 TGF - α^[7],可增加 EGF - R 的酪氨酸磷酸化激活引起细胞增生^[5]。实验证明用 EGF 治疗发育不良的肺可促进肺的生长,增加 EGF - R 的表达,加速肺的成熟和上皮细胞的增生分化^[8]。有研究表明表皮生长因子 (EGF) 对胎儿肺成熟均有促进作用,产前给予 EGF 处理可增加表面活性物质产生,减少动物 RDS 的发生^[9]。因此在本实验中我们观察了在高氧肺损伤的过程中 EGF - R 的表达情况。研究表明在正常和高氧刺激下肺泡上皮细胞和巨噬细胞均可表达 EGF - R,正常情况下表达较少,高氧时表达增加,推测高氧肺损伤发生后 EGF 可能会促进肺上皮细胞增生来及时修复受损组织;当持续给予外源性的 EGF 后,体内 EGF - R 的表达有所提高,且 14 d 时 EGFa 组和 EGFc 组 EGF - R 表达量高于对照组,提示高氧肺损伤过程中早期给予 EGF 可能对 EGF - R 的表达增加更有效。

EGF 被认为对血管新生起着关键作用^[10],部分是因为与受体结合上调 VEGF mRNA 的表达而调节血管发生^[11]。有研究指出 EGF 和 EGF - R 持续结

合,可引导 EGF - R 进入降解^[12]。我们研究发现在正常组织和高氧肺损伤时血管内皮细胞均可见 EGF - R 强阳性表达,沿血管内壁呈条索状分布,与文献报道^[13]一致。由我们的实验结果和众多的文献报道得知 EGF 可能参与生后肺血管生成进而促进肺泡化形成。

有研究表明,在肺发育的囊泡期和肺泡期,EGF 的表达主要集中在肺泡 II 型细胞和肺泡巨噬细胞^[14]。在我们的研究中亦观察到 EGF - R 可表达在正常的肺泡上皮细胞、巨噬细胞以及血管内皮细胞中;且各组大鼠肺内 EGF mRNA 的表达量随着日龄的增加有逐渐增多的趋势,空气各组随着生后日龄的增加,肺内 EGF mRNA 的表达量逐渐增加,可能是因为生后肺发育成熟,在肺泡上皮细胞等内部产生较多的 EGF mRNA。这与文献报道^[15]结果基本一致。高氧环境下可影响肺发育,肺发育不良时 EGF 表达较少,可是在我们的实验中观察到高氧大部分组 7 d 和 14 d 时 EGF mRNA 的量不但没有减少反而较空气组明显增高,且都有随着时间增加而逐渐增多的趋势。我们认为由组织损伤引起的 EGF 增多占绝对优势可能是造成高氧环境下 EGF mRNA 的量显著高于空气组的主要原因。

体内 EGF 的生物合成可能受 EGF 家族配体的影响,因此本实验也研究了外源性的 EGF 应用是否可促进体内内源性 EGF 的产生。结果显示高氧各给药组与相应 NS 组比较 EGF mRNA 的水平并无明显差异,但从总体考虑,EGF 组在 14 d 时内源性 EGF mRNA 的表达较 NS 组明显增加,且同时亦可见到各给药组均值较对照组高,提示外源性应用 EGF 后可促进体内产生一定量的 EGF mRNA,从而对未成熟肺高氧损伤起到一定的保护作用。高氧肺损伤的发生机制复杂,EGF 只是参与高氧损伤发生发展过程中众多因素中的一个,其具体作用机制有待于更进一步的研究。

[参 考 文 献]

[1] Shankaran S, Szego E, Eizert D, et al. Severe bronchopulmonary dysplasia[J]. Predictors of survival and outcome [J]. Chest, 1984, 86(4): 607 - 610.

[2] 柳国胜, 文 妍, 邱锐琴, 等. 表皮生长因子改善新生大鼠未成熟肺高氧损伤形态学和肺发育的作用[J]. 中华围产医学杂志, 2006, 9(5): 346 - 347.

[3] Xu F, Fok TF, Yin J. Hyperoxia induced lung injury in premature rat : description of a suitable model for the study of lung diseases in newborns [J]. Chin Med J, 1998, 111(7): 619 - 624.

[4] Marmor MD, Skaria KB, Yarden Y. Signal transduction and onco - genesis by ErbB/HER receptors[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2004, 58(3): 903 - 913.

[5] Heger RJ, Baybutt RC. Regulation of polyamine synthesis and transport by retinoic acid and epidermal growth factor in cultured adult rat type II pneumocytes[J]. J Nutr Biochem, 1999, 10(9): 518 - 524.

[6] Ingram JL, Rice AB, Santos J, et al. Vanadium - induced HB - EGF expression in human lung fibroblasts is oxidant dependent and requires MAP kinases[J]. Am J Physiol, 2003, 284(5): L774 - L782.

[7] Vivekananda J, Lin A, Coalson JJ, et al. Acute inflammatory injury in the lung precipitated by oxidant stress induces fibroblasts to synthesize and release transforming growth factor - alpha[J]. J Biol Chem, 1994, 269(40): 25057 - 25061.

[8] Yoshimura S, Masuzaki H, Miura K, et al. Effect of epidermal growth factor on lung growth in experimental fetal pulmonary hypoplasia [J]. Early Human Development, 2000, 57(1): 61 - 69.

[9] Iji J, Hu T, Liu W, et al. Effect of epidermal growth factor on pulmonary hypoplasia in experimental diaphragmatic hernia[J]. J Pediatr Surg, 2004, 39(1): 37 - 42.

[10] Pansulaia I, Tro. mov S, Kobylansky E, et al. Heritability of circulating growth factors involved in the angiogenesis in healthy human population[J]. Cytokine, 2004, 27(6): 152 - 158.

[11] Valter MM, Wiestler OD, Pietsch T. Differential control of VEGF synthesis and secretion in human glioma cells by IL - 1 and EGF[J]. Int J Devl Neurosci, 1999, 17(5 - 6): 557 - 577.

[12] 王明国, 王中和. 表皮生长因子受体[J]. 国外医学: 分子生物学分册, 2002, 24(2): 82 - 85.

[13] 冉丕鑫, 段生福, 刘绍春. 大白鼠肺内表皮生长因子的免疫组织化学定位[J]. 同济医科大学学报, 1994, 23(1): 76 - 77.

[14] Guarino N, Solari V, Shima H, et al. Upregulated expression of EGF and TGF - α in the proximal respiratory epithelium in the human hypoplastic lung in congenital diaphragmatic hernia[J]. Pediatr Surg Int, 2004, 19(12): 755 - 759.

[15] Currie AE, Vyas JR, MacDonald J, et al. Epidermal growth factor in the lungs of infants developing chronic lung disease[J]. Eur Respir J, 2001, 18(5): 796 - 800.