

急性肺损伤大鼠呼吸膜 AQP1 和 AQP5 的表达

岳胜, 朱平, 岳磊, 乔国华

(郑州大学附属洛阳中心医院急诊科, 河南 洛阳 471000)

【摘要】 目的 确定水通道蛋白 AQP1 及 AQP5 是否在大鼠肺泡毛细血管膜(呼吸膜)表达,进而研究急性肺损伤(ALI)大鼠 AQP1 和 AQP5 的表达调节及激素干预的作用。方法 采用亲和的抗人 AQP1 和 AQP5 抗体,应用免疫组化及免疫电镜的方法研究 AQP1 及 AQP5 在呼吸膜的分布。选用肺泡内灌注脂多糖(LPS)制作大鼠 ALI 动物模型,研究 ALI 时呼吸膜 AQP1 及 AQP5 的变化。结果 免疫染色显示 AQP1 主要表达于正常肺组织的微血管内皮,而 AQP5 主要表达于肺泡 I 型上皮细胞。免疫组化分析进一步表明 LPS 灌注后 4h~48h AQP1 及 AQP5 在呼吸膜的表达均下降;AQP1 蛋白于 LPS 灌注后 24h 及激素干预后有部分恢复($P < 0.05$),而 AQP5 无这种恢复现象。结论 ALI 时 AQP1 及 AQP5 在呼吸膜的表达减少,提示 ALI 时 AQP1 和 AQP5 的下降表达可能与其液体转运的异常有关。

【关键词】 水通道蛋白 1,水通道蛋白 5,急性肺损伤,激素

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016) 08-0070-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2016.08.011

Expression of AQP1 and AQP5 is decreased in the alveolar-capillary membrane in rats with acute lung injury

YUE Sheng, ZHU Ping, YUE Lei, QIAO Guo-hua

(Department of Emergency, Luoyang Central Hospital, the Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Luoyang, Henan 471000, China)

【Abstract】 **Objective** To determine if aquaporin1 (AQP1) and aquaporin5 (AQP5) are expressed in the alveolar-capillary membrane in rats, and to investigate the changes of AQP1 and AQP5 expression in the rat with acute lung injury. **Methods** The distribution of AQP1 and AQP5 in alveolar capillary membrane was investigated by immunohistochemistry and immunoelectron microscopy with affinity-purified antibodies to human AQP1 and AQP5. The possibility that alveolar capillary membrane AQP1 and AQP5 undergo altered regulation was studied by a rat model established using intra-tracheal instillation of lipopolysaccharide (LPS). **Results** Immunolabelling showed that AQP1 was stained primarily in the microvascular endothelium of normal lungs, while AQP5 was expressed in type I pneumocytes. Immunohistochemical analysis showed a significant decrease in the expression of AQP1 and AQP5 in injured lungs at 4-48 h after LPS instillation. AQP1 protein was resumed partly at 24 h after LPS instillation and steroid administration, whereas AQP5 was unchanged. **Conclusions** The decreased expressions of AQP1 and AQP5 in injured lungs suggest that both of them may play a role in abnormal fluid transportation.

【Key words】 Aquaporin 1, AQP1; Aquaporin 5, AQP5; Acute lung injury; Fluid transportation; Steroid; Rat

临床中,肺水肿的形成涉及肺间质和毛细血管的液体转运,近年来关于肺组织中液体转运的分子

机制的研究显示,水通道蛋白(aquaporins, AQP)是一组在哺乳动物体内表达的水选择通道的分子家族,它们可以增强浆膜面水通透力的功能,因而可以提供快速液体转运的通路^[1,2]。在一些病理条件下,其可影响和破坏肺组织流体的运输,造成充血性心力衰竭、呼吸窘迫综合征、肺水肿损伤等。目前,涉及到水通道蛋白调节急性肺损伤(acute lung injury, ALI)的研究还很少。本研究探讨了水通道蛋白家族成员 AQP1 和 AQP5 在大鼠肺泡毛细血管膜的表达,并研究内毒素(LPS)诱导的急性肺损伤(ALI)大鼠模型中 AQP1 和 AQP5 的表达调节及激素干预的作用。

1 材料和方法

1.1 动物

雄性 SD 大鼠共 45 只,均购自上海交通大学动物实验中心(SCXK(沪)2013-0013),体质量(230 ± 15)g,所有大鼠均在郑州大学附属洛阳中心医院动物实验室(SYXK(豫)2011-0076)的清洁环境下饲养观察,普通饲料适应性喂养 1 周后使用。

1.2 试剂和仪器

山羊抗人 AQP1 多克隆抗体,大鼠抗人 AQP5 单克隆抗体,小鼠抗人 β -actin 单克隆抗体购自美国 Sigma 公司,免疫组化 S-P 试剂盒, DAB 显色试剂盒均购自北京中杉生物技术公司。RPMI Medium 1640 培养基, Western-blot 转印仪,蛋白电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司。另备 24 孔板、MEM 培养液、DMSO、酶标仪、漩涡振荡器、移液枪等。

1.3 急性肺损伤动物模型的制备

将 SD 大鼠随机分为 3 组,即 NS 组(对照组)($n = 10$),脂多糖(LPS)组($n = 20$)和激素组($n = 15$)。将 3 组大鼠均用七氟烷麻醉,暴露气管,将 NS 对照组($n = 10$)按 0.5 mL/kg NS 灌注大鼠气管,12 h 后观察其生命体征和肺组织变化。将 LPS (E. coli serotype 055: B5 LPS, Sigma, USA)按 200 μ g/kg 溶于无菌 NS,使用 25 号针头予大鼠 0.5 mL/kg 气管注射,观察气管注射 LPS 后 4 h、12 h、24 h 和 48 h 等不同阶段($n = 5$)的大鼠肺组织变化,激素组大鼠给予 0.5 mL/kg LPS(200 μ g/kg)气管内注射,并同时给予甲基强的松龙(30 mg/kg)尾静脉注射。观察注射后 4 h、12 h、24 h 等不同阶段($n = 5$)的大鼠肺组织变化。

1.4 样本检测

将大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg),颈动脉插管监测血压。将大鼠放血处死,暴露肺组织和气管。采用 2.5 mL 的 37℃ 无菌无热原的磷酸盐缓冲溶液(PBS)进行经右主气管进行灌洗肺组织,共计 9 次。丢弃第 1 次的灌洗液,将其他 8 个 2.5 mL 灌洗液馏分回收和汇总。使用标准法计算其总细胞数。

将细胞固定并行 HE 染色。将 BAL 在 1 000 r/min 离心 10 min,并收集。BAL 中的白蛋白浓缩 5 倍并用溴甲酚绿法测定。右下肺部分用 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,每个肺切片常规用苏木精染色处理,光镜下观察。对大鼠左上肺行免疫组化研究,通过电子显微镜和免疫电子显微镜检查,左肺的其余部分进行称量,获得肺湿重,然后将其放置于 60℃ 温箱内干燥脱水 5 d。待其重量不再变化时称其干重。

1.5 免疫组织化学和免疫电镜观察

AQP1 和 AQP5 在肺组织中的表达:(1)免疫组化染色:按试剂盒说明书操作。抗 AQP1 抗体浓度 1:1000,抗 AQP5 抗体浓度 1:1000。图像分析测 AQP1 和 AQP5 阳性染色的平均吸光度(A)。(2)免疫电镜染色:抗 AQP5 抗体浓度 1:1000。(3)肺组织胞膜蛋白 AQP1 及 AQP5 分析:免疫印迹法一抗(抗 AQP1 抗体 1:1000;抗 AQP5 抗体,1:500),4℃ 过夜孵育,二抗(碱性磷酸酶标记,1:2000)孵育后显色。阳性显色为棕黄色,经 UVP 扫描仪扫描成像,计算曲线下面积的 A 值。

1.6 免疫组化染色结果判定

AQP1 和 AQP5 在肺组织中的表达强度依阳性细胞数分为四级:(1)阴性(-):阳性细胞数 < 5%;(2)弱阳性(+):阳性细胞数 5% ~ 20%;(3)阳性(++):阳性细胞数 20% ~ 60%;(4)强阳性(+++):阳性细胞数 > 60%。

1.7 Western-blot 检测各组肺组织中 AQP1 和 AQP5 蛋白含量

各组肺组织块称重,加入蛋白裂解液以及 PMSF(50 μ L PMSF + 3 mL 蛋白裂解液),用匀浆器研磨组织;4℃ 裂解 30 min,置入 4℃ 恒温离心机,以离心半径 10 cm、12 000 r/min 离心 15 min。收集上清液,BCA 试剂盒检测蛋白浓度。将样品蛋白 8 μ g 在 5% ~ 17% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳后,转 PVDF 膜, PBS 液加 0.05% Tween-20 (PBS-T)洗涤,2% 脱脂奶粉室温封闭 2 h;再用

PBS-T 洗膜,加 AQP1 和 AQP5 一抗,4℃ 孵育过夜, PBS-T 洗涤,二抗(羊抗兔/鼠 IgG)室温孵育 2 h, PBS-T 洗膜,用 ECL 方法在暗室显影,X 线片曝光。采用 Image Pro Plus 图像分析软件分析结果。

1.8 统计学方法

应用 SPSS 18.0 软件:计数资料采用 *t* 检验,计量资料采用方差分析, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺损伤的严重程度

3 组中所有大鼠均存活。LPS 组大鼠呼吸正常,和 NS 对照组大鼠的平均动脉压 95 ± 2.6 mmHg 比较,LPS 组大鼠的平均动脉压明显降低,4 h 和 12 h 的平均动脉压分别为 68 ± 6.6 mmHg 和 71 ± 6.8 mmHg,其差异具有统计学意义($P < 0.05$)。24 h 和 48 h 大鼠的平均动脉压分别为 83 ± 10.4 mmHg 和 87 ± 7.9 mmHg,虽有部分恢复,但和 NS 对照组大鼠相比,差异仍具有统计学意义($P < 0.05$)。

LPS 灌注后,大鼠的肺湿干重比在显著增加 4 h 和 12 h 时显著增加,分别为 6.73 ± 0.68 和 6.50 ± 0.59 ,和 NS 对照组大鼠(4.48 ± 0.37)比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。和 NS 对照组大鼠(4.48 ± 0.37)比较,LPS 组大鼠 24 h 和 48 h 时肺湿干重比的差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 LPS 组的组织学检查

组织学检查显示,LPS 注入大鼠气管后,4 h 和 12 h 后,大鼠肺间质水肿,肺组织明显中性粒细胞浸润。电镜显示大鼠肺组织 I 型肺泡上皮肿胀,细胞膜突出像是肺泡腔空间的泡沫,同时,II 型细胞绒毛干枯脱落。在 24 h 和 48 h 后,在肺组织中检测

到类似的组织学变化,在脂多糖灌注后,肺间质水肿缓解。电镜观察肺泡毛细血管膜尚连续,但厚度不均匀。

2.3 AQP1 和 AQP5 在正常肺组织细胞中的分布

在 NS 对照组,免疫标记法显示 AQP1 主要分布在肺组织微血管的内皮细胞膜,以及少部分分布在肺上皮细胞膜(图 1)。检测显示 AQP5 主要表达在 I 型肺泡膜上表达(图 2),但不在 II 型肺泡上皮细胞、血管内皮细胞和间质细胞内分布。免疫电镜显示 AQP1 在微血管内皮细胞的顶端和基底膜上,而 AQP5 主要存在于 I 型肺泡上皮细胞的顶膜(图 3)。

2.4 不同组间 AQP1 和 AQP5 的表达

气管内灌注 LPS 4 h ~ 48 h 后,免疫组化分析大鼠肺组织中 AQP1 和 AQP5 的表达。与 NS 对照组比较,LPS 组 AQP1 和 AQP5 在细胞中表达的位置和特异性染色的细胞类型不变。但是,和 NS 对照组比较,LPS 组各个阶段的 AQP1 表达均降低(图 1 和 4)。与 4 h ~ 12 h 阶段的 LPS 组大鼠相比,24 h ~ 48 h 后,LPS 组大鼠的 AQP1 表达部分恢复(表 1)。另一方面,LPS 组大鼠肺组织 AQP5 表达 4 h ~ 48 h 各个阶段均有所降低,24 h ~ 48 h 后也没有任何的恢复(图 5)。

此外,结果显示,和 LPS 组相比,激素组大鼠在气管内灌注 LPS 联合甲基强的松龙的注射 4 h ~ 12 h 后,大鼠肺组织微血管内皮细胞 AQP1 的表达增强,差异有统计学意义($P < 0.05$),但 I 型肺泡细胞中 AQP5 的表达则不受甲基强的松龙的影响(表 1)。此外,激素组大鼠在注射甲基强的松龙 4 h ~ 12 h 后,BAL 液中白蛋白浓度和 PMN% 显著下降,证明激素组肺泡毛细血管膜通透性部分恢复。

表 1 LPS 组各阶段 BALF 中 PMN% 和肺组织中 AQP1 和 AQP5 含量($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Content of AQP5 and AQP1 in the lung tissue and PMN% of BALF of the LPS group at each stage($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups	支气管肺泡灌洗液 中的清蛋白含量 Albumin in BALF	支气管肺泡灌洗液中 中性粒细胞比例 PMN% in BALF	水通道蛋白 AQP1 灰度值 AQP1 grayscale (A)	水通道蛋白 AQP5 灰度值 AQP5 grayscale (A)
NS 对照组 (NS control group)	0.15 ± 0.03	7.3 ± 2.3	33.5 ± 5.3	$24.6 \pm 3.6^*$
LPS 4 h	$0.54 \pm 0.16^*$	$89.6 \pm 7.3^*$	$20.8 \pm 3.4^*$	20.9 ± 2.5
12 h	$0.59 \pm 0.15^*$	$87.9 \pm 6.9^*$	$21.4 \pm 3.6^*$	20.4 ± 3.8
24 h	$0.37 \pm 0.12^{\#}$	$88.3 \pm 10.7^*$	$26.7 \pm 4.3^{\#}$	18.3 ± 1.9
48 h	$0.31 \pm 0.11^{\#}$	$64.2 \pm 8.2^{\#}$	$27.6 \pm 5.1^{\#}$	18.4 ± 2.7
激素组 4 h (Hormone group)	$0.32 \pm 0.10^{\#}$	$60.5 \pm 7.7^{\#}$	$26.9 \pm 4.7^{\#}$	21.1 ± 2.6
12 h	$0.27 \pm 0.06^{\#}$	$62.4 \pm 6.8^{\#}$	$26.8 \pm 4.8^{\#}$	20.7 ± 4.3
24 h	$0.28 \pm 0.07^{\#}$	$59.3 \pm 7.2^{\#}$	$27.5 \pm 4.9^{\#}$	18.2 ± 2.9

注: * $P < 0.05$, vs. NS 对照组; # $P < 0.05$, vs. LPS 4 h ~ 12 h 组。

Note: * $P < 0.05$, vs. the NS control group; # $P < 0.05$, vs. the LPS 4 - 12 h groups.

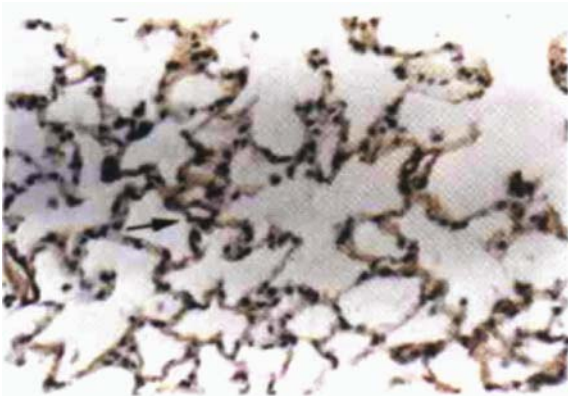


图 1 NS 组 AQP1 主要在肺组织微血管内皮细胞中表达(箭头示,SABC, ×40)

Fig.1 The expression of AQP1 in NS group was mainly expressed in microvascular endothelial cells in the lung tissue. Arrowhead indicates SABC. ×40



图 2 免疫组织化学染色显示 AQP5 在 I 型肺泡细胞内表达(箭头示 SABC, ×100)

Fig.2 Immunohistochemical staining shows that AQP5 is expressed in type I alveolar cells. Arrowhead indicates SABC. ×100



图 3 免疫电镜显示,I 型肺泡上皮细胞顶膜型中表达 AQP5。(箭头示,SABC,标尺 = 20 μm)

Fig.3 AQP5 is expressed in the apical membrane of type I alveolar epithelial cells, shown by immunoelectron microscopy. Arrowhead indicates SABC. Bar = 20 μm

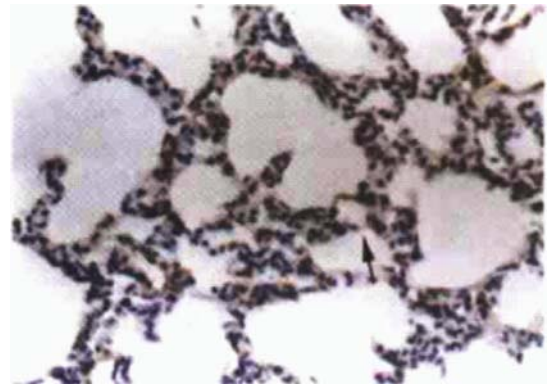


图 4 免疫组织化学显示:气管内灌注 LPS 4 h 后,肺组织微血管内皮细胞的 AQP1 表达显著降低。(箭头示,SABC, ×40)

Fig.4 Immunohistochemistry shows that the expression of AQP1 in microvascular endothelial cells of lung tissue was significantly decreased at 4 hours after LPS perfusion. Arrowhead indicates SABC. ×40

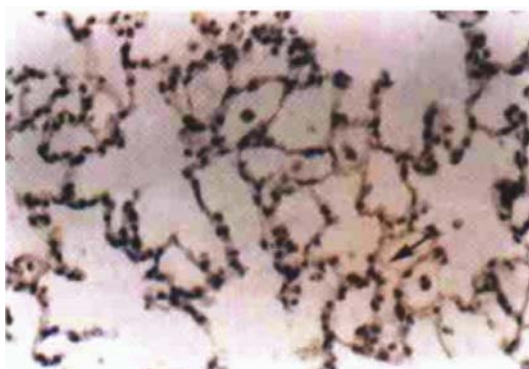


图 5 免疫组化显示:气管内灌注 LPS 12 h 后, I 型肺泡细胞 AQP5 表达降低。(箭头示,SABC, ×40)

Fig.5 Immunohistochemistry shows that the expression of AQP5 in type I alveolar cells is decreased at 12 h after LPS perfusion LPS. Arrowhead indicates SABC. ×40

2.5 Western-blot 检测各组大鼠肺组织 AQP1 和 AQP5 蛋白表达

LPS 组大鼠经 LPS 灌注后 4 h, AQP1 蛋白量减少至 NS 对照组的 $(45.2 \pm 4.4)\%$ ($P < 0.05$)。AQP5 降至 NS 对照组的 $(68.6 \pm 8.9)\%$ ($P < 0.05$, $n = 5$); 24 h 后 AQP1 蛋白量降至 NS 对照组的 $(63.4 \pm 5.9)\%$, AQP5 降至 NS 对照组的 $(61.4 \pm 4.6)\%$, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

水通道蛋白(aquaporins, AQP_s)^[3]是一种存在生物膜上的分子量为 28000 的具有通透水分功能的内在蛋白。水通道蛋白通过减小水越膜运动的阻力而使细胞间水分迁移的速率加快。水通道蛋白

的嵌入使生物膜对水的通透能力大大提高,因此可以通过改变水孔蛋白的活性和调节水孔蛋白在膜上的丰度两种途径来调节膜对水的通透能力^[4]。目前在人类细胞中已发现的 AQP 至少有 12 种,均具有选择性的让水分子通过的特性。在动物中如肾脏、眼、脑中都存在 AQP。而在肺组织中有 6 种 AQP 表达,其中 AQP1 主要分布在肺毛细血管内皮细胞,AQP5 主要分布在肺泡 I 型细胞的顶膜面,这种分布表明 AQP1、AQP5 与肺水的形成和吸收过程密切相关^[5]。

Towne 等^[6]采用免疫组织化学和免疫荧光染色法测银屑患者的皮肤组织中 AQP5 的表达,发现不同于正常表皮,AQP5 在银屑病皮损和皮损周围的表皮中表达下降。使用 Tewameter RTM210 和 Corneometer RCM 820 检测银屑病患者皮损及周围的结果显示:TEWL 增加、水合作用下降。研究者们认为,AQP5 的表达是引起银屑病患者皮损部位的干燥的一个关键因素。Nakakoshi M 等^[7]发现,皮肤鳞状细胞癌强表达 AQP5 蛋白,以及创伤愈合过程中 AQP5 对角质形成细胞起作用等现象,推进了深入研究 AQP5 参与了皮肤肿瘤的过程。研究发现,暴露于肿瘤诱导剂,AQP5 基因敲除鼠未出现皮肤肿瘤,而野生型小鼠则出现多种肿瘤;皮肤乳头瘤状细胞强表达 AQP5,并与增殖标记物 K14 共定位,这一点与皮肤鳞癌类似。在皮肤肿瘤的发生过程中,AQP5 基因敲除小鼠对肿瘤诱导剂导致的皮肤肿瘤有明显的抵抗性^[8]。

研究显示,AQP1 主要表达于肺泡周围的毛细血管内皮细胞^[9]。本实验结果显示,在 NS 对照组,免疫标记法显示 AQP1 主要分布在肺组织微血管的内皮细胞膜,以及少部分分布在肺上皮细胞膜。检测显示 AQP5 主要表达在 I 型肺泡膜上表达,但不在 II 型肺泡上皮细胞、血管内皮细胞和间质细胞内分布。免疫电镜显示 AQP1 在微血管内皮细胞的顶端和基底膜上,而 AQP5 主要存在于 I 型肺泡上皮细胞的顶膜。AQP1、AQP5 在呼吸膜不同的表达位置,推测其可能具有不同的生理功能^[10]。

在本研究中,组织学检查显示,LPS 注入大鼠气管后,4 h 和 12 h 后,大鼠肺间质水肿,肺组织明显中性粒细胞浸润。电镜显示大鼠肺组织 I 型肺泡上皮肿胀,细胞膜突出像是肺泡腔空间的泡沫,同时,II 型细胞绒毛干枯脱落。在 24 h 和 48 h 后,在肺组织中检测到类似的组织学变化,在脂多糖灌注后,

肺间质水肿缓解。电镜观察肺泡毛细血管膜尚连续,但厚度不均匀。气管内灌注 LPS 4 h ~ 48 h 后,免疫组化分析大鼠肺组织中 AQP1 和 AQP5 的表达。与 NS 对照组比较,LPS 组 AQP1 和 AQP5 在细胞中表达的位置和特异性染色的细胞类型不变。但是,和 NS 对照组比较,LPS 组各个阶段的 AQP1 表达均降低。与 4 h ~ 12 h 阶段的 LPS 组大鼠相比,24 h ~ 48 h 后,LPS 组大鼠的 AQP1 表达部分恢复。另一方面,LPS 组大鼠肺组织 AQP5 表达 4 h ~ 48 h 各个阶段均有所降低,24 h ~ 48 h 后也没有任何的恢复。

此外,结果显示,和 LPS 组相比,激素组大鼠在气管内灌注 LPS 联合甲基强的松龙的注射 4 h ~ 12 h 后,大鼠肺组织微血管内皮细胞 AQP1 的表达增强,差异有统计学意义($P < 0.05$),但 I 型肺泡细胞中 AQP5 的表达则不受甲基强的松龙的影响(表 1)。此外,激素组大鼠在注射甲基强的松龙 4 h ~ 12 h 后,BAL 液中白蛋白浓度和 PMN% 显著下降,证明激素组肺泡毛细血管膜通透性部分恢复。

综上所述,AQP1 和 AQP5 虽然均是 AQP 的家族成员,但两者在结构及功能上均有较明显的差异,根据本研究的结果,我们推测它们在完成液体转运的过程中可能通过不同的刺激方式发挥不同的作用。

参考文献:

- [1] Arge P, Preston GM, Smith BL, et al. Aquaporin CHIP: the archetypal molecular water channel [J]. *Am J Physiol*, 1993, 256: F463 - F467.
- [2] Borgnia M, Nielsen S, Engel A, et al. Cellular and molecular biology of the Aquaporin water channel. [J] *Annu Rev Biochem*, 1999, 68: 425 - 458.
- [3] 杨国栋,姚新民. 萘苄类药治疗急性肺损伤的探索和药理学基础 [J]. *中国急救医学*, 2004, 4(4): 48 - 58.
- [4] 张惟才,韩聪译. 蛋白质的 SDS2 聚丙烯酰胺凝胶电泳 [M]. 黄培堂,主译. 分子克隆实验指南(第 3 版). 北京: 科学出版社, 2003: 1713 - 1726.
- [5] King LS, Nielsen S, Agre P. Aquaporins in complex tissues. I. Developmental patterns in respiratory and glandular tissues of rat [J]. *Am J Physiol*, 1997, 273(5 pt1): C1541 - C1548.
- [6] Towne JE, Harrod KS, Krane CM, et al. Decreased expression of AQP 1 and AQP5 in mouse lung after acute viral infection [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2000, 22: 34 - 44.
- [7] Ma T, Fukuda N, Song Y, et al. Role of AQP5 in lung fluid transport [J]. *J Clin Invest* 2000; 105: 93 - 100.
- [8] Rutschman DH, Olivera W, Sznajder JI. Active transport and passive liquid movement in isolated perfused rat lungs [J]. *J Appl Physiol*, 1993, 75: 1574 - 1580. (下转第 90 页)

- 400–407.
- [2] Prokocimer M, Barkan R, Gruenbaum Y. Hutchinson-Gilford progeria syndrome through the lens of transcription [J]. *Aging Cell*, 2013, 12(4): 533–543.
- [3] Scaffidi P, Gordon L, Misteli T. The cell nucleus and aging: tantalizing clues and hopeful promises [J]. *PLoS Biol*, 2005, 3(11): e395.
- [4] Al-Saaidi R, Bross P. Do lamin A and lamin C have unique roles? [J]. *Chromosoma*, 2015;124(1): 1–12.
- [5] Davidson PM, Lammerding J. Broken nuclei — lamins, nuclear mechanics, and disease [J]. *Trends Cell Biol*, 2014, 24(4): 247–256.
- [6] Kind J, van Steensel B. Stochastic genome-nuclear lamina interactions: modulating roles of Lamin A and BAF [J]. *Nucleus*, 2014, 5(2): 124–130.
- [7] Shu LP, Zhou ZW, Zhou T, et al. Ectopic expression of Hoxb4a in hemangioblasts promotes hematopoietic development in early embryogenesis of zebrafish [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2015, 42(12): 1275–1286.
- [8] 刘静, 何嘉玲, 暴国, 等. 应用 TALEN 技术敲除 *gata4* 基因建立斑马鱼先天性心脏病模型 [J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(4): 1–7, 13
- [9] Ibrahim MX, Sayin VI, Akula MK, et al. Targeting isoprenylcysteine methylation ameliorates disease in a mouse model of progeria [J]. *Science*, 2013, 340(6138): 1330–1333.
- [10] Liu B, Zhou Z. Lamin A/C, laminopathies and premature ageing [J]. *Histol Histopathol*. 2008, 23(6):747–763.
- [11] Camozzi D, Capanni C, Cenni V, et al. Diverse lamin-dependent mechanisms interact to control chromatin dynamics. Focus on laminopathies [J]. *Nucleus*, 2014, 5(5): 427–440.
- [12] Hirtle-Lewis M, Desbiens K, Ruel I, et al. The genetics of dilated cardiomyopathy: a prioritized candidate gene study of LMNA, TNNT2, TCAP, and PLN [J]. *Clin Cardiol*, 2013, 36(10): 628–633.
- [13] Barthélémy F, Navarro C, Fayek R, et al. Truncated prelamin A expression in HGPS-like patients: a transcriptional study [J]. *Eur J Hum Genet*, 2015, 23(8):1051–1061.
- [14] Hadj-Rabia S, Mashiah J, Roll P, et al. A new lamin A mutation associated with acrogeria syndrome [J]. *J Invest Dermatol*, 2014, 134(8): 2274–2277.
- [15] Malashicheva A, Bogdanova M, Zbirnyk A, et al. Various lamin A/C mutations alter expression profile of mesenchymal stem cells in mutation specific manner [J]. *Mol Genet Metab*, 2015, 115(2–3): 118–127.
- [16] Yang SH, Procaccia S, Jung HJ, et al. Mice that express farnesylated versions of prelamin A in neurons develop achalasia [J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(10): 2826–2840.
- [17] Berman JN, Kanki JP, Look TA. Zebrafish as a model for myelopoiesis during embryogenesis [J]. *Exp Hematol*, 2005, 33: 997–1006.
- [18] Davidson AJ, Zon LI. The ‘definitive’ (and ‘primitive’) guide to zebrafish hematopoiesis [J]. *Oncogene*, 2004, 23(43): 7233–7246.
- [19] 舒莉萍, 何志旭, 姚冬静, 等. 野生型斑马鱼胚胎中 *hoxd3* 基因 mRNA 的表达谱 [J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2012, 41(1): 69–74.
- [修回日期]2016–04–18

(上接第 74 页)

- [9] Bai C, Fukuda N, Song Y, et al. Lung fluid transport in aquaporin-1 and aquaporin-4 knockout mice [J]. *J Clin Invest*, 1999, 103: 555–561.
- [10] Delclaux C, Rezaiguia RS, Delacourt C, et al. Alveolar neutrophils in endotoxin-induced and bacteria-induced acute lung injury in rats [J]. *Am J Physiol*, 1997; 273: L104–L112.
- [修回日期]2016–05–30