

DOI:10.12113/202003004

肺泡发育及其相关信号通路

陈俏媛,林万华*

(广西高校干细胞与医药生物技术重点实验室(广西师范大学 生命科学学院),广西 桂林 541004)

摘要:肺是由分支的气道和血管组成的复杂结构,它们结合在最远端的肺泡进行气体交换。而肺泡则是由鳞状肺泡 I 型(AT1)细胞和立方状肺泡 II 型(AT2)细胞组成的气体交换囊,其中 AT1 细胞的表面标志物是 T1 α 和水通道蛋白 5(Aqp5),AT2 细胞的表面标志物是 SPC⁺。临床上,肺发育不全是肺疾病中比较常见的一种,其中肺泡发育异常是肺发育不全的最集中表现。始于妊娠晚期的肺泡发育是肺能否发育正常的关键过程。本文介绍了肺发育过程中的各种细胞类型;回顾了肺发育的各个阶段及其异常发育的表现;简述了在肺泡发育过程中 Wnt、FGF 和 RA 等信号通路对肺干/祖细胞群分化的影响;重点综述了肺泡发育的过程及肺泡发育相关的 Wnt、FGF、Notch 和 RA 信号通路的最新研究进展。

关键词:肺;肺泡发育;信号通路

中图分类号:Q493.2 文献标志码:A 文章编号:1672-5565(2020)04-206-09

Alveolar development and its related signaling pathways

CHEN Qiaoyuan, LIN Wanhua*

(Guangxi Universities Key Laboratory of Stem Cell and Biopharmaceutical Technology(College of Life Sciences, Guangxi Normal University), Guilin 541004, Guangxi, China)

Abstract: The lung is a complex structure composed of branched airways and blood vessels, which combine in the farthest alveoli for gas exchange. Alveoli are comprised of squamous alveolar type I (AT1) cells and cubic surfactant secreted alveolar type II (AT2) cells. The surface markers of AT1 cells are T1 α and aquaporin 5 (Aqp5), and the surface markers of AT2 cells are SPC⁺. Clinically, pulmonary hypoplasia is a common lung disease, in which alveolar dysplasia is the most concentrated manifestation of pulmonary hypoplasia. Therefore, alveolar development which begins in the third trimester of pregnancy is the key process of normal lung development. Various cell types in the process of lung development, the stages of lung development and their manifestations of abnormal development, were introduced. The effects of Wnt, FGF, and RA signaling pathways on the differentiation of lung stem/progenitor cells during alveolar development were described which focus on the process of alveolar development and the latest research progress of Wnt, FGF, Notch, and RA signaling pathways relating to alveolar development.

Keywords: Lung; Alveolar development; Signaling pathways

肺是一个复杂的器官,由气管、支气管、细支气管和肺泡组成^[1]。在发育过程中,原始肺经历分支形态发生,形成近端导气管和远端气体交换肺泡腔^[2]。成年小鼠肺含有几种不同的上皮细胞群,具有独特的解剖位置和特殊功能(见图 1)^[3]。近端气道包括软骨气管,由假复层柱状上皮细胞排列,包

括有分泌功能的 CCSP⁺ Clara 细胞,能产生粘液的杯状细胞(Goblet cell)和具有宿主防御功能的 FoxJ1/Actub⁺纤毛细胞(Ciliated cells)。非软骨细支气管,衬有简单的柱状上皮,以有组织的模式从气管分支。分泌性 Clara 细胞还将气道的基底膜与纤毛,神经内分泌细胞和 goblet 细胞群排列一致^[4]。在上皮

收稿日期:2020-03-13;修回日期:2020-05-22.

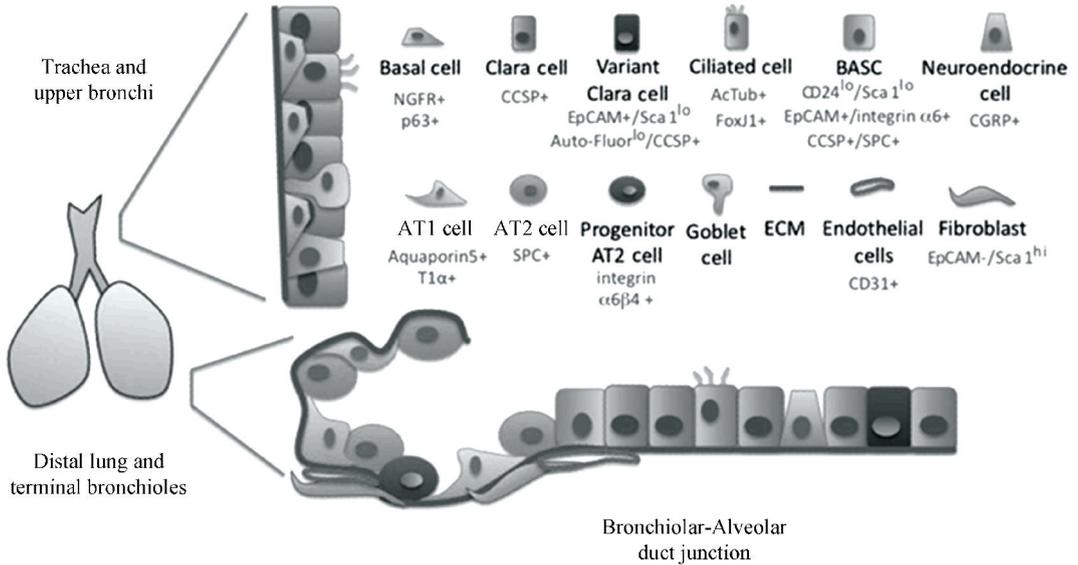
基金项目:国家自然科学基金项目(No.31560248);广西“八桂学者”项目(No.2013A003).

作者简介:陈俏媛,女,硕士研究生,研究方向:疾病的分子机理. E-mail:1750383997@qq.com.

* 通信作者:林万华,男,博士,副教授,研究方向:基因的功能. E-mail: lwh@gxnu.edu.cn.

的基底边缘是 NGFR⁺/p63⁺ 基底细胞,其被认为能够在修复和培养期间产生 Clara 和纤毛细胞。在较远端的细支气管中,有纤毛和克拉拉细胞散布着 CGRP⁺ 神经内分泌细胞。神经内分泌细胞单独存在以及称为神经内分泌体的簇,其可能在感测气道腔内的刺激中起作用^[5]。末端细支气管形成远端肺泡腔,其含有产生表面活性剂的肺泡 II 型

(AT2) 细胞和气体交换的肺泡 I 型(AT1) 细胞^[6]。表达 T1 α 和水通道蛋白 5(Aqp5) 的肺泡上皮 1 型细胞(AT1 细胞)和 SPC+肺泡上皮 2 型细胞(AT2 细胞)排列发生气体交换的肺泡空间。在支气管肺泡(Bronchioalveolar)管道交界处,称为在支气管肺泡上皮细胞(BASC),认为 BASC 能够在受伤后产生 Clara 和 AT2 细胞谱系。



(引自 LEEMAN K T, et al, 2014^[31])

图 1 肺中的细胞类型

Fig.1 Cell types in lung

肺发育分为胚胎期,胎儿期和产后,每个阶段都至关重要,若异常发育会引起胎儿肺发育不全甚至死亡(见表 1)。

在肺泡发育的过程中,涉及到一组进化上保守的核心信号通路,由 WNT、成纤维细胞生长因子(Fibroblast growth factor, FGF) 和维甲酸(Retinoic acid, RA) 等驱动的信号通路组成,其中维生素 A 是调节肺分化成熟的主要因素,而且它的活性代谢物维甲酸(RA)是胚胎发育和出生后肺泡化的关键调节因子。此外,WNT 信号通路和 FGF 信号通路对于气道分化和肺泡形成也是很重要的。WNT 信号通路的抑制促进了 HSC(造血干细胞)的发展;WNT 信号通路也促进 AT2 细胞生长并抑制肺泡发生期间 AT1 细胞的分化;在肺泡形成过程中 WNT 信号通路还具有平衡 AT2-AT1 细胞比例的作用^[17-22]。FGF 信号通路是肺泡再生所必需的^[23]。成年鼠远端肺中有多个干/祖细胞群,包括基底细胞、支气管肺泡上皮细胞(BASCs)、Club 细胞、AT2 细胞。在肺泡中,肺泡 II 型(AT2) 细胞群或其中的 AT2s^{Axin2} 亚群被认为是主要的上皮祖细胞,能够在损伤后自我更新和产生肺泡 I 型(AT1) 细胞^[22-26]。通过下调

RA 信号通路能够完成肺上皮祖细胞分化程序的后续步骤,最终形成成熟的 I 型和 II 型细胞^[27]。

1 肺泡发育:肺发育的高潮

在肺部发育期间,必须形成导气管和较大的气体交换表面积,以向生物体提供足够的氧气并去除二氧化碳。肺发育包括三个主要不同的机制。首先,呼吸道的传导以及部分呼吸是由分支形态发生形成的。其次,在肺泡化过程中,在已存在的隔膜增加新隔膜,气体交换表面会进一步扩大,并将现有的空域细分为较小的单元,即肺泡。第三,为优化气体交换,将所有隔膜的双层毛细血管网络减少为单层毛细血管网络(微血管成熟)。

肺泡发育始于妊娠晚期,因为内皮丛与远端上皮囊紧密相关。底部是带有球囊的末端细支气管,而顶部面板在移除球囊以显露内腔后具有更高的放大率。在 E16.5 左右,小鼠的肺发育从分支形态发生转变为小管期和囊状期。这些导致最终的肺泡形成过程(也称为肺泡形成),产生用于气体交换的功能单元(见图 2)^[2]。原始肺泡发育的时间因物种

的不同而不同。在小鼠中,它发生在 E17.5~P5,但在人类中,一些原始肺泡在出生前就已经形成,而且这个过程在出生后持续了许多月。值得注意的是,极低出生体重早产儿(VLBW)的肺部在分娩时可能

仅进展到小管阶段,这突出了保护器官免受损害的临床挑战。几乎没有人知道是什么控制了假腺期的结束,而且对随后的发育背后的形态发生机制仍然知之甚少^[28-29]。

表 1 肺发育的阶段及其时间尺度

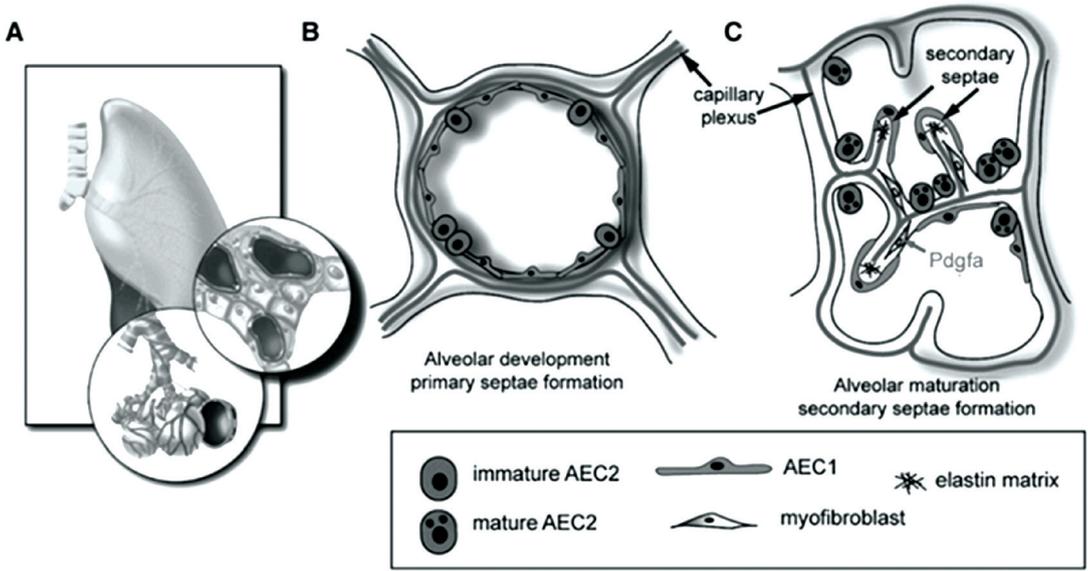
Table 1 Stages of lung development and their time scale

发育期	发育阶段	持续时间	特点	异常发育	参考文献
胚胎期	胚胎期	小鼠:E9.5-E12 人:E26-E49 (4-7周*)	两肺原基;器官发生,主要气道和胸膜的形成。	肺发育不全、气管发育不全/狭窄/闭锁和喉/气管痿 先天性大叶囊肿	[7-11]
	假腺期	小鼠:E12-E16.5 人:E35-E119 (5-17周*)	支气管树和大部分预期的呼吸实质的形成;腺泡的形成,即使腺泡上皮细胞尚未分化。	异位肺叶,肺隔离,肺发育不全,先天性囊腺瘤性畸形,先天性膈疝	[7-11]
胎儿期	小管期	小鼠:E12-E16.5 人:E112-E182 (16-26周*)	最远端的气道形成,分支形态发生的完成;第一道空气屏障;由于上皮分化,可检测到表面活性剂,腺泡的出现。	肺发育不全	[7,9-11]
	囊状期	小鼠:E17.5-P4 人:E168-E266 (24-38周*)	(未来)空域的扩大。	肺发育不全,RDS,肺泡毛细血管发育不良	[9-12]
产后	肺泡化,经典 肺泡化(第一阶段)	小鼠:P4-P21 人:E252 (36周早产) -3年	次生隔膜的形成(隔膜)导致肺泡的形成;大多数肺泡隔膜仍未成熟,含有双层毛细血管网络。根据物种的不同,肺泡化在出生前或出生后开始。	RDS,胎粪吸入,由加速肺成熟引起的最终肺泡数量减少,肺泡化中断	[11,13]
	肺泡化,持续 肺泡化(第二阶段)	小鼠:P14-60 人类:2岁-青年 (17-21岁)	形成次级隔膜(隔膜),但现在脱落成熟的肺泡隔膜,内含单层毛细血管网络。		[11,13-16]
	微血管成熟	小鼠:P14-21 人:~3-21年 (时间不确定)	肺泡间隔和毛细血管床的重塑和成熟(双层毛细血管网络转变为单层网络)。它与肺泡化平行发生。	肺泡隔双毛管层 过早融合,肺发育过早停止	[11,13-14]

注:E:胚胎;P:产后;*自交配时算起。

在小管期和囊状期,末端或腺泡管变窄,产生小球囊。这些囊壁,即初级纵隔,与血管丛紧密相连,细胞外基质富含弹性蛋白,间质细胞类型尚未明确,包括肌成纤维细胞的前体细胞。发育中的球囊/原发性间隔的上皮细胞分化成在成熟肺泡中发现的几种重要细胞类型。这些包括扁平的 AT1 细胞(成熟的 AT1 细胞表达 Aqp5 和 T1 α),以及更大的立方 AT2 细胞。这些细胞类型彼此紧密并置,并且 AT1 细胞与下面的血管内皮形成紧密的相互作用。内胚层开始分化为未来肺泡的两种主要的特殊细胞类型——肺泡上皮 I 型细胞和 II 型细胞(AT1 和 AT2)(见图 2)^[2]。成熟的 AT2 细胞分泌丰富的表面活性蛋白和脂质,这些蛋白质和脂质被运输到由 ACBC3 转运蛋白标记的

层状体细胞表面。肺泡室的成熟伴随着次级间隔的产生,其涉及肺泡嵴的生长。在肺泡化的过程中,囊被称为次生隔膜的脊状或尖顶的内生部分。肌成纤维细胞祖细胞和内皮细胞都迁移到这些峰顶,基质蛋白支架被沉积,在顶端富集了弹性蛋白。毛细血管单元最初是双倍的,但随着肺泡的成熟,毛细血管重新形成一个单元,血管内皮细胞紧密地附着在 AT1 细胞上,从而实现了有效的气体交换(见图 2)^[2]。因此肺泡形成是肺发育中最关键的步骤之一,需要多个细胞谱系的精确时间和空间协调。这使得该过程特别容易受到细胞应激,子宫内感染甚至营养限制的破坏可能导致诸如肺气肿和肺泡毛细血管发育不良等不易逆转的病症。



(引自 MORRISEY E E, et al, 2013^[21])

图2 肺泡发育示意图

Fig.2 Schematic diagram of alveolar development

2 肺泡发育相关信号通路

2.1 WNT 信号通路

WNT 家族的分泌型糖蛋白控制着多种发育过程,包括细胞命运指定、增殖、极性和迁移。胚胎发育期间 WNT 信号的错误调节会导致肺发育缺陷。Wnt 分子分为经典类 (Wnt1、Wnt3、Wnt3a、Wnt7a、Wnt7b、Wnt8 等) 和非经典类 (Wnt5a、Wnt4、Wnt11 等)^[30]。在 WNT 信号转导过程中,至少有三条信号通路,其中经典的信号通路是依赖于 β -catenin 的信号通路。在没有 WNT 信号的情况下,糖原合成酶激酶 (GSK-3) 是活跃的,磷酸化 β -catenin^[31]。磷酸化的 β -catenin 的目的是泛素化和 26S 蛋白酶体介导的降解,从而降低 β -catenin 的胞浆水平。在 WNT 分子存在下,Wnt 与细胞表面受体 Frizzleds (FZ) 及共同受体低密度脂蛋白相关蛋白 (LRP) 5/6 结合,形成 Wnt-Fz-LRP6 复合物,导致胞浆散乱蛋白三个结构域的磷酸化 (Dvl) 的激活,抑制 GSK-3,使 β -catenin 稳定,从而导致胞内积累。积累的 β -catenin 转运到细胞核,在细胞核中 β -catenin 与 T 细胞因子家族成员 (LEF1/TCF1, TCF3, TCF4)^[32]、转录因子家族成员 PITX2 和 SOX17^[33] 和转录启动子 p300^[34] 形成活性转录复合物,激活靶基因,如基质金属蛋白酶 (MMP2、MMP3、MMP7 和 MMP9)^[35]、细胞周期蛋白 D1^[36]、c-myc、c-jun^[37] 等。

经典 WNT 信号通路中心分子 β -catenin 定位于

细胞质,也定位于未分化的原始上皮 (PE)、分化的肺泡上皮 (AE) 和邻近的间质的细胞核^[38]。 β -连环蛋白的条件性基因敲除的研究揭示了 β -连环蛋白依赖的信号对于肺的气道的形成是必不可少的,负责进行气体交换^[39]。另外,非经典信号通路也很重要。在 Wnt5a^{-/-} 动物中,肺的形态比野生型要小,并且有增厚的间质,虽然没有阻止肺泡发育,但肺泡发育迟缓^[40]。

2.2 FGF 信号通路

成纤维细胞生长因子 (FGF) 信号是调控肺发育的基因调控网络的重要组成部分。FGF 配体通过结合和激活单次跨膜受体酪氨酸激酶 (RTK) 的 FGF 受体 (FGFR) 家族,同时 FGF 配体与硫酸乙酰肝素的结合^[41],稳定 Fgf/FgFR 信号转导复合物,诱导受体二聚化和受体胞浆激酶结构域中特定酪氨酸残基的磷酸化,有助于募集配体蛋白,激活 FGF 下游信号级联,包括 MAPK (丝裂原活化蛋白激酶), PI3K/AKT (磷脂酰肌醇-4,5-双磷酸 3-激酶)/AKT 和磷脂酶 C/Ca²⁺ 途径^[42],维持祖细胞群体、上皮和间充质的形态和分化以及分支形态的形成。FGF10 是初始肺形成所必需的,表达 Fgf10 的细胞代表一群间充质祖细胞,它们可以分化为气道和血管平滑肌细胞以及脂肪成纤维细胞^[43]。FGF 或 FGF 受体的缺失会导致肺发育异常,FGF10 在未来出现肺芽的部位的腹膜下间充质中表达,与表达 FGFR2b 的上皮细胞结合,通过引发趋化/迁移反应诱导芽突起,并保持远端上皮祖细胞处于未分化状态^[44]。

缺乏 FGF10 或其受体 FGFR2b 的小鼠仍然发育气管,但表现出完全的肺发育不全^[45]。

FGF 调节多种信号传导途径基因的表达。肺间充质中的 FGFR 信号调节肺间充质中 WNT- β -catenin 信号的水平。在肺发育的假腺体阶段,FGF 和 WNT 信号通路共同起支持间质生长和协调上皮形态发生的作用^[45]。Sonic Hedgehog (SHH) 和骨形态发生蛋白 4 (BMP4) 也调节肺间充质和上皮的发育。BMP4 在远端上皮中表达,在远端上皮中似乎具有促进远端上皮分化和拮抗 FGF 介导的上皮出芽的主要作用,BMP4 在体外和体内由 FGF10 上调^[46]。在肺中,FGF10 和 SHH 形成反馈环,其中在间充质中产生的 FGF10 向远端上皮发出信号以上调 SHH 表达,促进分支,同时 SHH 反馈以抑制相邻间充质中的 FGF10 表达^[47-48]。在此过程中 ETV 因子通过作用于 FGF 此,ETV 的损失使得 FGF-SHH 反馈回路的平衡倾斜,导致分支周期性改变,导致尖端尺寸增加和尖端数量减少^[49]。

2.3 NOTCH 信号通路

NOTCH 信号是一种高度保守的细胞-细胞信号通路,NOTCH 信号是通过与相邻细胞直接接触来传输的,非常适合于极短距离的细胞通信。这条通路由 4 个受体 (Notch1, Notch2, Notch3 和 Notch4) 和 5 个典型配体 (Jagged1 和 Jagged2),以及 Delta 样配体 (Dll1, Dll3 和 Dll4) 组成。NOTCH 受体的胞外结构域受到糖基转移酶介导的修饰,O-岩藻糖基转移酶 1 (Pofut1) 是该途径的一个附加成分,它连接 O-岩藻糖与 NOTCH 受体的 EGF 重复序列,从而实现有效的 NOTCH-配体相互作用。配体与受体直接结合,NOTCH 胞内域 (NICD) 被 γ 分泌酶从 NOTCH 受体上切割出来,NICD 移位到细胞核中。NICD 通过与 Rbpj 和 Maml1-3 的相互作用激活 NOTCH 靶基因的表达,靶基因包括 *CyclinD1* (细胞周期启动子)、*c-myc* (增殖相关基因)、*Bcl-2* (抗凋亡基因)、*HER-2* 基因、*Deltex-1*、*p21Cip1/Waf1*、*Notch* 调节的锚蛋白重复蛋白 (Nrap) 和前 T 细胞受体基因等^[50-51],调控分化、发育、增殖和凋亡。如 Hes 家族 bHLH 转录因子 1 (Hes1),这是靶向特定 DNA 位点所必需的^[52]。在 Hes1 缺失的肺中,发现肺神经内分泌细胞 (PNECs) 群体的扩大和棒状细胞的减少。

NOTCH 信号通过调节肺泡上皮分化和毛细血管形成来协调肺泡发育^[53]。Jagged1-Notch2 信号在编排不同的细胞命运和形成棒状细胞和纤毛状细胞的镶嵌模式中起主要作用,而 Notch1 在这些过程中起辅助作用^[54]。Notch2 信号是 II 型肺泡上皮细胞增殖和成熟所必需的,在远端肺上皮中破坏

NOTCH 信号会导致 PDGF-A 的表达减少,而 PDGF-A 是远端间充质中肺泡肌纤维母细胞 (AMyFs) 发育所必需的,从而导致肺泡发育缺陷^[55]。NOTCH 信号是免疫细胞分化和功能的重要调节剂。NOTCH 信号参与 CD4⁺ 淋巴细胞向 Th1, Th2, Th17 和调节性 T 细胞的调节和分化。NOTCH 对 T 细胞的作用不仅通过规范的 RBPJ κ 依赖性 NOTCH 途径,但也通过非 RBPJ κ 的非典型途径,抑制 RBPJ κ 敲除小鼠的 NOTCH 显著降低了 T 细胞活化,增殖和分化^[56]。具有 Th2 细胞因子模式的 CD4⁺ 淋巴细胞在哮喘的发病机制中起着关键作用^[57]。此外,许多已知在非小细胞肺癌中起作用的因素通过对 NOTCH 信号的调节促进或抑制非小细胞肺癌的发展。特别是 WNT 和转化生长因子- β 信号通路在非小细胞肺癌进展和转移过程中的调节作用。

2.4 RA 信号通路

维甲酸 (RA) 是一种由维生素 A 衍生而来的亲脂小分子,它与其他可扩散的细胞信号因子不同。FGF 和 WNT 等蛋白质因子与细胞表面受体结合,启动细胞内信号通路,而 RA 通过核受体进入细胞核并直接与目标基因结合,直接影响发育过程。维生素 A 影响发育的能力是通过酶控制维生素 A (视黄醇) 的醇形式首先转化为醛 (维 A 醛),然后转变为羧酸 (维甲酸; RA)。视黄醇被肝脏分泌的视黄醇结合蛋白 (RBP4) 携带于血清中,通过一种特定的受体 Ser6 进入细胞,而细胞内的视黄醇结合蛋白 (Crbp) 则促进了视黄醇转化为视黄醇酯,以供储存。在产生 RA 的组织中,视黄醇被乙醇脱氢酶 (ADH) 或视黄醇脱氢酶 (RDH) 氧化为视黄醛^[58],视黄醛被维甲酸脱氢酶 (RALDH) 氧化为 RA。然后 RA 被释放并被周围的细胞吸收。一些 RA 靶细胞表达细胞性 RA 结合蛋白 (CRABP),促进 RA 的摄取并转运到 RA 与 RA 受体 (RAR) 结合的细胞核。RA 是结合 DNA 并直接调控转录的两个核受体家族的配体:(1) RA 受体 (RAR α , RAR β 和 RAR γ) 结合了形式 RA,称为全反式 RA;(2) 维甲酸 X 受体 (RXR α , RXR β 和 RXR γ) 结合了一个称为 9-cis-RA 的异构体^[59]。RA 受体- β 缺陷型小鼠在远端空域发育方面存在缺陷,并逐渐丧失呼吸功能。事实上,增加和减少 RA 信号都会损害肺泡发育^[3]。通过在上皮细胞中表达显性活性 RAR α 受体,增加 RA 信号,导致肺发育不成熟,阻止远端上皮成熟,并且不能识别 AT1 细胞的发育^[18]。相反,维生素 A 缺乏会损害啮齿类动物的肺上皮功能,并导致人类支气管肺发育不良。另外,RA 信号通路的抑

制能够通过激活 YAP 通路和间充质 FGF 通路刺激小鼠肺上皮细胞增殖,同时也能够抑制肺泡和气道分化。RA 需依赖于 FGF 通路诱导肺泡分隔,而 FGF 信号通路是肺泡再生所必需的^[23]。在肺泡中,肺泡 II 型(AT2)细胞群或其中的 AT2sAxin2 亚群被认为是主要的上皮祖细胞,能够在损伤后自我更新和产生肺泡 I 型(AT1)细胞^[24-26]。通过下调 RA 信号通路能够完成肺上皮祖细胞分化程序的后续步骤,最终形成成熟的 I 型和 II 型细胞^[27]。

2.5 其他信号通路

许多信号通路和细胞间的相互作用明显地参与了形成肺泡所需的血管和间质成分的产生和分化。肌成纤维细胞的分化及其弹性蛋白的产生受到 Pdgfa 的调节。肾上腺素 B2(ephrinB2)对血管内皮细胞起着重要的作用,在 ephrinB2 信号缺陷突变体中,次级隔膜不能正常发育,几种基质蛋白的沉积被破坏^[60-61]。

3 结 语

肺是一个复杂的器官,肺泡的发育也是一个复杂的过程。我们需要了解更多关于转录因子和信号通路的信息,因为这些通路是肺泡得以正常发育的关键。最近,研究发现 *Sdr9c7* 基因敲除鼠出现肺发育不全导致呼吸困难的现象,下一步拟通过实验弄清楚 *Sdr9c7* 是否通过 RA、WNT、FGF、及 NOTCH 等通路影响肺泡发育,进而对肺泡正常发育有新的理解。

参考文献(References)

- [1] LIU Q, LIU K, CUI G, et al. Lung regeneration by multipotent stem cells residing at the bronchioalveolar-duct junction[J]. *Nature Genetics*, 2019, 51(4): 728-738. DOI: 10.1038/s41588-019-0346-6.
- [2] MORRISEY E E, HOGAN B L. Preparing for the first breath: Genetic and cellular mechanisms in lung development[J]. *Developmental Cell*, 2010, 18(1): 8-23. DOI: 10.1016/j.devcel.2009.12.010.
- [3] LEEMAN K T, FILLMORE C M, KIM C F. Lung stem and progenitor cells in tissue homeostasis and disease[J]. *Current Topics in Developmental Biology*, 2014, 107: 207-233. DOI: 10.1016/b978-0-12-416022-4.00008-1.
- [4] BERTONCELLO I, MCQUALTER J L. Lung stem cells. Do they exist? [J]. *Respirology*, 2013, 18(4): 587-595. DOI: 10.1111/resp.12073.
- [5] VAN LOMMEL A. Pulmonary neuroendocrine cells (PNEC) and neuroepithelial bodies (NEB): Chemoreceptors and regulators of lung development[J]. *Paediatric Respiratory Reviews*, 2001, 2(2): 171-176. DOI: 10.1053/prrv.2000.0126.
- [6] ROCK J R, HOGAN B L. Epithelial progenitor cells in lung development, maintenance, repair, and disease[J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2011, 27: 493-512. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-100109-104040.
- [7] SCHITTNY J C. Development of the lung[J]. *Cell and Tissue Research*, 2017, 367(3): 427-444. DOI: 10.1007/s00441-016-2545-0.
- [8] KITAOKA H, BURRI P H, WEIBEL E R. Development of the human fetal airway tree: Analysis of the numerical density of airway endtips[J]. *The Anatomical Record*, 1996, 244(2): 207-213. DOI: 10.1002/(sici)1097-0185(199602)244:2<207::aid-ar8>3.0.co;2-y.
- [9] MIETTINEN P J, WARBURTON D, BU D, et al. Impaired lung branching morphogenesis in the absence of functional EGF receptor[J]. *Developmental Biology*, 1997, 186(2): 224-236. DOI: 10.1006/dbio.1997.8593.
- [10] HERRIGES M, MORRISEY E E. Lung development: Orchestrating the generation and regeneration of a complex organ[J]. *Development*, 2014, 141(3): 502-513. DOI: 10.1242/dev.098186.
- [11] LEWIN G, HURTT M E. Pre-and postnatal lung development: An updated species comparison[J]. *Birth Defects Research*, 2017, 109(19): 1519-1539. DOI: 10.1002/bdr2.1089.
- [12] BOYDEN E A, TOMPSETT D H. The changing patterns in the developing lungs of infants[J]. *Acta Anatomica*, 1965, 61(2): 164-192. DOI: 10.1159/000142692.
- [13] SCHITTNY J C, MUND S I, STAMPANONI M. Evidence and structural mechanism for late lung alveolarization[J]. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2008, 294(2): L246-L254. DOI: 10.1152/ajplung.00296.2007.
- [14] TAN S Y, KRASNOW M A. Developmental origin of lung macrophage diversity [J]. *Development*, 2016, 143(8): 1318-1327. DOI: 10.1242/dev.129122.
- [15] THURLBECK W M. Postnatal growth and development of the lung[J]. *The American Review of Respiratory Disease*, 1975, 111(6): 803-844. DOI: 10.1164/arrd.1975.111.6.803.
- [16] ZELTNER T B, BURRI P H. The postnatal development and growth of the human lung. II. Morphology [J]. *Respiration Physiology*, 1987, 67(3): 269-282. DOI: 10.

- 1016/0034-5687(87)90058-2.
- [17] FRANK D B, PENG T, ZEPP J A, et al. Emergence of a wave of Wnt signaling that regulates lung alveologenesis by controlling epithelial self-renewal and differentiation [J]. *Cell Reports*, 2016, 17(9): 2312-2325. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.11.001.
- [18] MADEN M, HIND M. Retinoic acid in alveolar development, maintenance and regeneration [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2004, 359(1445): 799-808. DOI: 10.1098/rstb.2004.1470.
- [19] NG-BLICHFELDT J P, SCHRIK A, KORTEKAAS R K, et al. Retinoic acid signaling balances adult distal lung epithelial progenitor cell growth and differentiation [J]. *EBioMedicine*, 2018, 36: 461-474. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.09.002.
- [20] NABHAN A N, BROWNFIELD D G. Single-cell Wnt signaling niches maintain stemness of alveolar type 2 cells [J]. *Science*, 2018, 359(6380): 1118-1123. DOI: 10.1126/science.aam6603.
- [21] BIESALSKI H K, NOHR D. Importance of vitamin-A for lung function and development [J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2003, 24(6): 431-440. DOI: 10.1016/s0098-2997(03)00039-6.
- [22] CHANDA B, DITADI A, ISCOVE N N, et al. Retinoic acid signaling is essential for embryonic hematopoietic stem cell development [J]. *Cell*, 2013, 155(1): 215-227. DOI: 10.1016/j.cell.2013.08.055.
- [23] PERL A K, GALE E. FGF signaling is required for myofibroblast differentiation during alveolar regeneration [J]. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2009, 297(2): L299-308. DOI: 10.1152/ajplung.00008.2009.
- [24] ZHENG D, SOH B S, YIN L, et al. Differentiation of club cells to alveolar epithelial cells in vitro [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 41661. DOI: 10.1038/srep41661.
- [25] NIKOLIC M Z, SUN D, RAWLINS E L. Human lung development: Recent progress and new challenges [J]. *Development*, 2018, 145(16): dev163485. DOI: 10.1242/dev.163485.
- [26] DESAI T J, BROWNFIELD D G, KRASNOW M A. Alveolar progenitor and stem cells in lung development, renewal and cancer [J]. *Nature*, 2014, 507(7491): 190-194. DOI: 10.1038/nature12930.
- [27] WONGTRAKOOL C, MALPEL S, GORENSTEIN J, et al. Down-regulation of retinoic acid receptor alpha signaling is required for sacculation and type I cell formation in the developing lung [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(47): 46911-46918. DOI: 10.1074/jbc.M307977200.
- [28] BOURBON J, BOUCHERAT O, CHAILLEY-HEU B, et al. Control mechanisms of lung alveolar development and their disorders in bronchopulmonary dysplasia [J]. *Pediatric Research*, 2005, 57(5 Pt 2): 38r-46r. DOI: 10.1203/01.pdr.0000159630.35883.be.
- [29] BOURBON J R, BOUCHERAT O, BOCZKOWSKI J, et al. Bronchopulmonary dysplasia and emphysema: In search of common therapeutic targets [J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2009, 15(4): 169-179. DOI: 10.1016/j.molmed.2009.02.003.
- [30] TORRES M A, YANG-SNYDER J A, PURCELL S M, et al. Activities of the Wnt-1 class of secreted signaling factors are antagonized by the Wnt-5A class and by a dominant negative cadherin in early *Xenopus* development [J]. *The Journal of Cell Biology*, 1996, 133(5): 1123-1137. DOI: 10.1083/jcb.133.5.1123.
- [31] YAMAMOTO H, KISHIDA S, KISHIDA M, et al. Phosphorylation of axin, a Wnt signal negative regulator, by glycogen synthase kinase-3beta regulates its stability [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(16): 10681-10684. DOI: 10.1074/jbc.274.16.10681.
- [32] VAN NOORT M, CLEVERS H. TCF transcription factors, mediators of Wnt-signaling in development and cancer [J]. *Developmental Biology*, 2002, 244(1): 1-8. DOI: 10.1006/dbio.2001.0566.
- [33] BRIATA P, ILENGO C, CORTE G, et al. The Wnt/ β -catenin \rightarrow Pitx2 pathway controls the turnover of Pitx2 and other unstable mRNAs [J]. *Molecular Cell*, 2003, 12(5): 1201-1211. DOI: 10.1016/s1097-2765(03)00407-6.
- [34] LABALETTE C, RENARD C A, NEUVEUT C, et al. Interaction and functional cooperation between the LIM protein FHL2, CBP/p300, and beta-catenin [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2004, 24(24): 10689-10702. DOI: 10.1128/mcb.24.24.10689-10702.2004.
- [35] TAMAMURA Y, OTANI T, KANATANI N, et al. Developmental regulation of Wnt/beta-catenin signals is required for growth plate assembly, cartilage integrity, and endochondral ossification [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(19): 19185-19195. DOI: 10.1074/jbc.M414275200.
- [36] HE T C, SPARKS A B, RAGO C, et al. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway [J]. *Science*, 1998, 281(5382): 1509-1512. DOI: 10.1126/science.281.5382.1509.

- [37] MANN B, GELOS M, SIEDOW A, et al. Target genes of beta-catenin-T cell-factor/lymphoid-enhancer-factor signaling in human colorectal carcinomas[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1999, 96(4): 1603–1608. DOI: 10.1073/pnas.96.4.1603.
- [38] TEBAR M, DESTR E O, DE VREE W J, et al. Expression of Tcf/Lef and sFrp and localization of beta-catenin in the developing mouse lung[J]. Mechanisms of Development, 2001, 109(2): 437–440. DOI: 10.1016/s0925-4773(01)00556-1.
- [39] MUCENSKI M L, WERT S E, NATION J M, et al. β -catenin is required for specification of proximal/distal cell fate during lung morphogenesis[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(41): 40231–40238. DOI: 10.1074/jbc.M305892200.
- [40] LI C, XIAO J, HORMI K, et al. Wnt5a participates in distal lung morphogenesis [J]. Developmental Biology, 2002, 248(1): 68–81. DOI: 10.1006/dbio.2002.0729.
- [41] SCHLESSINGER J, PLOTNIKOV A N, IBRAHIMI O A, et al. Crystal structure of a ternary FGF-FGFR-heparin complex reveals a dual role for heparin in FGFR binding and dimerization[J]. Molecular Cell, 2000, 6(3): 743–750. DOI: 10.1016/s1097-2765(00)00073-3.
- [42] VOLCKAERT T, DE LANGHE S P. Wnt and FGF mediated epithelial-mesenchymal crosstalk during lung development[J]. Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists, 2015, 244(3): 342–366. DOI: 10.1002/dvdy.24234.
- [43] EL AGHA E, HEROLD S, AL ALAM D, et al. Fgf10-positive cells represent a progenitor cell population during lung development and postnatally[J]. Development, 2014, 141(2): 296–306. DOI: 10.1242/dev.099747.
- [44] HYATT B A, SHANGGUAN X, SHANNON J M. FGF-10 induces SP-C and Bmp4 and regulates proximal-distal patterning in embryonic tracheal epithelium [J]. American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology, 2004, 287(6): L1116–L1126. DOI: 10.1152/ajplung.00033.2004.
- [45] VOLCKAERT T, CAMPBELL A, DILL E, et al. Localized Fgf10 expression is not required for lung branching morphogenesis but prevents differentiation of epithelial progenitors[J]. Development, 2013, 140(18): 3731–3742. DOI: 10.1242/dev.096560.
- [46] MAILLEUX A A, KELLY R, VELTMAAT J M, et al. *Fgf10* expression identifies parabronchial smooth muscle cell progenitors and is required for their entry into the smooth muscle cell lineage [J]. Development, 2005, 132(9): 2157–2166. DOI: 10.1242/dev.01795.
- [47] MENSHYKAU D, KRAEMER C, IBER D. Branch mode selection during early lung development[J]. PLoS Computational Biology, 2012, 8(2): e1002377. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1002377.
- [48] IBER D, MENSHYKAU D. The control of branching morphogenesis[J]. Open Biology, 2013, 3(9): 130088. DOI: 10.1098/rsob.130088.
- [49] HERRIGES J C, VERHEYDEN J M, ZHANG Z, et al. FGF-regulated ETV transcription factors control FGF-SHH feedback loop in lung branching[J]. Developmental Cell, 2015, 35(3): 322–332. DOI: 10.1016/j.devcel.2015.10.006.
- [50] TAKEBE N, NGUYEN D, YANG S X. Targeting notch signaling pathway in cancer: Clinical development advances and challenges[J]. Pharmacology & Therapeutics, 2014, 141(2): 140–149. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2013.09.005.
- [51] WAKABAYASHI N, CHARTOUMPEKIS D V, KENSLER T W. Crosstalk between Nrf2 and Notch signaling[J]. Free Radical Biology & Medicine, 2015, 88(Part B): 158–167. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.05.017.
- [52] KAGEYAMA R, OHTSUKA T. The Notch-Hes pathway in mammalian neural development[J]. Cell Research, 1999, 9(3): 179–188. DOI: 10.1038/sj.cr.7290016.
- [53] DANG T P, EICHENBERGER S, GONZALEZ A, et al. Constitutive activation of Notch3 inhibits terminal epithelial differentiation in lungs of transgenic mice[J]. Oncogene, 2003, 22(13): 1988–1997. DOI: 10.1038/sj.onc.1206230.
- [54] KIYOKAWA H, MORIMOTO M. Notch signaling in the mammalian respiratory system, specifically the trachea and lungs, in development, homeostasis, regeneration, and disease[J]. Development, Growth & Differentiation, 2020, 62(1): 67–79. DOI: 10.1111/dgd.12628.
- [55] TSAO P N, MATSUOKA C, WEI S C, et al. Epithelial Notch signaling regulates lung alveolar morphogenesis and airway epithelial integrity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113(29): 8242–8247. DOI: 10.1073/pnas.1511236113.
- [56] ZHANG W, NIE Y, CHONG L, et al. PI3K and Notch signal pathways coordinately regulate the activation and proliferation of T lymphocytes in asthma [J]. Life Sciences, 2013, 92(17–19): 890–895. DOI: 10.1016/j.lfs.2013.03.005.
- [57] MAZZARELLA G, BIANCO A, CATENA E, et al. Th1/Th2 lymphocyte polarization in asthma[J]. Allergy, 2000, 55(S61): 6–9. DOI: 10.1034/j.1398-9995.2000.

00511.x.

- [58] SANDELL L L, SANDERSON B W, MOISEYEV G, et al. RDH10 is essential for synthesis of embryonic retinoic acid and is required for limb, craniofacial, and organ development[J]. *Genes & Development*, 2007, 21(9): 1113–1124. DOI: 10.1101/gad.1533407.
- [59] CHAWLA A, REPA J J, EVANS R M, et al. Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files[J]. *Science*, 2001, 294(5548): 1866–1870. DOI: 10.1126/science.294.5548.1866.
- [60] WILKINSON G A, SCHITTNY J C, REINHARDT D P, et al. Role for ephrinB2 in postnatal lung alveolar development and elastic matrix integrity[J]. *Developmental Dynamics*, 2008, 237(8): 2220–2234. DOI: 10.1002/dvdy.21643.
- [61] NEPTUNE E R, FRISCHMEYER P A, ARKING D E, et al. Dysregulation of TGF-beta activation contributes to pathogenesis in Marfan syndrome[J]. *Nature Genetics*, 2003, 33(3): 407–411. DOI: 10.1038/ng1116.

[责任编辑:吴永英]