

综述

## Claudin-18 对早产儿支气管肺发育不良作用的研究进展

左敬叶 佟雅洁 综述 岳冬梅 审校

(中国医科大学附属盛京医院新生儿科, 辽宁沈阳 110004)

**[摘要]** 支气管肺发育不良 (bronchopulmonary dysplasia, BPD) 早期以肺水肿为主要表现, 晚期出现特征性的肺泡化受阻和微血管发育不良, 可能由肺上皮屏障的结构和功能破坏引起。Claudin 蛋白是紧密连接的主要成分, 参与调节细胞旁离子和溶质渗透性。Claudin-18 是目前唯一已知的肺特异性紧密连接蛋白, 其缺乏可导致肺部屏障功能障碍和肺泡发育受损, 其敲除可出现 BPD 的特征性组织学病理变化。该文将从肺上皮通透性、肺泡发育及肺部祖细胞稳态 3 个方面阐释 Claudin-18 在 BPD 发生发展中扮演的重要角色, 旨在对 BPD 的发病机制研究和临床治疗提供新思路。

[中国当代儿科杂志, 2021, 23(5): 542-546]

**[关键词]** 支气管肺发育不良; Claudin-18; 紧密连接; 肺泡化障碍; 早产儿

### A review on the effect of Claudin-18 on bronchopulmonary dysplasia in preterm infants

ZUO Jing-Ye, TONG Ya-Jie, YUE Dong-Mei. Department of Neonatology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China (Yue D-M, Email: yuedm@sj-hospital.org)

**Abstract:** Bronchopulmonary dysplasia (BPD) has the main manifestations of pulmonary edema in the early stage and characteristic alveolar obstruction and microvascular dysplasia in the late stage, which may be caused by structural and functional destruction of the lung epithelial barrier. The Claudin family is the main component of tight junction and plays an important role in regulating the permeability of paracellular ions and solutes. Claudin-18 is the only known tight junction protein solely expressed in the lung. The lack of Claudin-18 can lead to barrier dysfunction and impaired alveolar development, and the knockout of Claudin-18 can cause characteristic histopathological changes of BPD. This article elaborates on the important role of Claudin-18 in the development and progression of BPD from the aspects of lung epithelial permeability, alveolar development, and progenitor cell homeostasis, so as to provide new ideas for the pathogenesis and clinical treatment of BPD.

[Chin J Contemp Pediatr, 2021, 23(5): 542-546]

**Key words:** Bronchopulmonary dysplasia; Claudin-18; Tight junction; Alveolarization disorder; Preterm infant

支气管肺发育不良 (bronchopulmonary dysplasia, BPD) 是早产儿最常见的慢性呼吸系统疾病。炎症反应导致的肺损伤是关键环节<sup>[1-2]</sup>, 典型病理特征是肺泡和微血管发育中断, 早期以肺水肿为主要表现<sup>[3]</sup>。肺泡上皮屏障是由蛋白质复合物形成的相邻上皮细胞之间的密封界面, 它的功能依赖紧密连接。紧密连接是一种跨膜蛋白复合体, 对构建上皮屏障和上皮极性至关重要。密封蛋白 (Claudin)

家族在紧密连接的结构和功能上发挥着核心作用。本文主要对 Claudin-18 在 BPD 中的作用进行综述。

### 1 肺的屏障功能

肺泡上皮主要功能是提供屏障, 其选择通透性的实现主要依靠两个转运途径: 跨细胞转运和细胞旁转运。肺部细胞间连接主要包括紧密连

[收稿日期] 2021-01-07; [接受日期] 2021-02-19

[基金项目] 2020 年度辽宁省重点研发计划联合项目 (2020JH2/10300128); 辽宁省自然科学基金 (201602873)。

[作者简介] 左敬叶, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 岳冬梅, 女, 副教授。Email: yuedm@sj-hospital.org。

接、黏附连接、间隙连接和桥粒。紧密连接是影响上皮屏障功能的最关键因素，它主要由闭合蛋白、Claudin、紧密连接相关蛋白（zonula occludens, ZO）构成，其中Claudin蛋白对紧密连接细胞旁通透性发挥决定性作用<sup>[4]</sup>。紧密连接的功能包括调节离子、小分子和水的细胞旁运输，除了选择性屏障的常见功能，有证据表明紧密连接可以影响细胞增殖、分化和基因表达的细胞内信号传导途径<sup>[5]</sup>，它们支持紧密连接作为细胞功能的动态调节器而发挥作用，而不仅仅是充当静态通道或者屏障。

Claudin属于四跨膜蛋白家族，是紧密连接通透性的结构和功能基础<sup>[6-7]</sup>，可以形成具有不同特异性和通透性的细胞旁离子通道。Claudin的胞外结构域与相邻的胞外结构域相互作用形成屏障<sup>[8]</sup>，C末端结构域与支架蛋白相互作用，可以直接连接到肌动蛋白细胞骨架，ZO-1和ZO-2是最具特征的支架蛋白，能促进和调节紧密连接中Claudin的结合<sup>[9]</sup>。紧密连接也受其他跨膜蛋白的控制，例如四跨膜蛋白Occludin与Claudin相互作用可以调节紧密连接装配和屏障功能<sup>[10]</sup>。虽然Claudin蛋白家族只是紧密连接蛋白复合物的一部分，但它们作为控制细胞旁通透性和紧密连接屏障的主要结构成分发挥重要作用。

## 2 肺中Claudin蛋白的表达

### 2.1 Claudin结构

目前已经发现27种人类Claudin蛋白，大小为207~305个氨基酸。基于序列同源性，所有Claudin蛋白具有相同的二级结构——4个跨膜域：4个紧密的螺旋束和细胞外片段（extracellular segment, ECS）1和2，靠近膜表面的含有5条β链（β1~β5）的β折叠，被比作具有5个手指的人类左手<sup>[11]</sup>。结晶学研究表明，邻近细胞之间的Claudin相互作用可能是基于ECS1和ECS2中暴露最多的可变区1和可变区2的细胞间相互作用<sup>[12]</sup>，其中ECS1和ECS2的特异性取决于氨基酸序列的差异。有研究证实，细菌产气荚膜梭菌肠毒素的C末端片段通过ECS1和ECS2区域仅结合特定的Claudin，并且对Claudin-3、4、6~9、14和19具有不同的亲和力<sup>[13]</sup>。然而，可变区的独特的基本框架和附着在膜上的细胞外β折叠可能是所有

Claudin蛋白种类的共同特征<sup>[14]</sup>。

基于Claudin分子结构的最新突破，有学者提出了假设的“反平行双列模型”，该模型阐明Claudin如何以线性方式聚合并形成具有细胞旁屏障和通道功能的紧密连接链<sup>[15]</sup>。在分类上，哺乳动物的Claudin被细分为经典Claudin和非经典Claudin<sup>[16]</sup>，经典Claudin包括Claudin-1~10、14、15、17和19，它们显示出高度的结构相似性，通常具有短的胞质C末端结构域，这种相似性在第二胞外域尤为明显；非经典Claudin包括Claudin-11~13、16、18和20~24，第二胞外域具有更高的异质性<sup>[17]</sup>，有更长的C末端结构域，因此细胞质支架蛋白相互作用的机会更大。

Claudin还根据它们的功能分为成孔蛋白和封闭蛋白<sup>[18]</sup>，Claudin-2、7、10、15和16在紧密连接上形成更多的空隙，使细胞旁阳离子的渗透性增加，而肺上皮细胞倾向于表达封闭蛋白，如Claudin-1、3、4、5、7和18<sup>[19]</sup>。Claudin蛋白不会孤立地起作用，它们会与其他跨膜蛋白，包括Claudin蛋白家族、MARVELD蛋白、免疫蛋白超家族和支架蛋白等形成复合物，除了作为细胞旁通道外，还可通过与不同类别的支架蛋白相互作用作为信号枢纽的一部分<sup>[20]</sup>。

### 2.2 Claudin在肺中表达

在整个人类肺组织中，最丰富的Claudin转录物是Claudin-1、3~5、7、8、10、12、18和23<sup>[21]</sup>。使用细胞类型特异性标记物和荧光激活细胞分选术从大鼠肺中纯化肺泡上皮细胞（alveolar epithelial cell, AEC）I和AECII，结果发现两种细胞类型主要表达Claudin-3、4和18<sup>[22]</sup>，但两种细胞类型表达Claudin蛋白的比例不同：Claudin-18在AECI表达最丰富，Claudin-3在AECII表达最丰富，两种细胞都表达相对高水平的Claudin-4。其中，只有Claudin-18.1是肺独有的<sup>[23]</sup>，表明其具有肺特异性。Claudin-1、5、7、12、15和23在肺泡上皮细胞中呈低水平表达<sup>[22]</sup>，可能对肺泡上皮屏障有所贡献。

## 3 Claudin-18与BPD的关系

### 3.1 Claudin-18的分子结构

人类Claudin-18基因全长35 kb，位于22号

染色体长臂 q3 上, 并由 6 个外显子和 5 个内含子组成<sup>[23]</sup>。它有两种剪接变体, 一种主要在肺中表达 (Claudin-18.1), 另一种主要在胃中表达 (Claudin-18.2), 就基因结构和核苷酸序列而言, Claudin-18 同工型在系统发育上高度保守<sup>[23]</sup>。

### 3.2 Claudin-18 在 BPD 肺损伤中的角色

Claudin-18 是唯一已知的肺特异性紧密连接蛋白, 是 AECII 细胞中最丰富的 Claudin 蛋白, 提示其在调节肺屏障功能和肺泡发育中起关键作用<sup>[24]</sup>。Claudin18 在肺发育过程中的时空表达模式是精确的, 从小鼠胚胎期 16.5 d 到生后 15 d, 其表达呈上升趋势, 且在生后 15 d 达峰<sup>[25]</sup>。早产胎肺 ( $n=6$ , 胎龄 23~24 周) 和足月儿正常肺 ( $n=7$ , 0~3 月龄) 相对于出生后的时期, 胎肺中的 Claudin-18 表达水平显著降低。因此我们可以推断: 在 BPD 危险期内出生的极早产儿可能存在 Claudin-18 缺乏症<sup>[24]</sup>。各种诱导肺损伤模型中, Claudin-18 表达降低已经被认为肺屏障损伤的标志<sup>[26-28]</sup>。卵清蛋白诱导哮喘小鼠模型中的 Claudin-18 水平显著升高, 可以激活磷酸化蛋白激酶 B 和磷酸化磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 (phosphoinositide-dependent protein kinase 1, PDK1) 信号通路并影响气道高反应性和炎症<sup>[29]</sup>。缺血性急性肾损伤后 4 h 和 24 h, 肺泡灌洗液中蛋白含量增多, 增加的浸润和凋亡可能由 Claudin-4、Claudin-18 和连接黏附分子-A (junctional adhesion molecule-A, JAM-A) 表达减少引起, 同时上皮屏障渗漏增加, 肺泡液清除功能减弱, 这也可以解释急性肾损伤和肺炎患者中菌血症的高发生率<sup>[30]</sup>。在铜绿假单胞菌诱导急性肺损伤模型中, Claudin-3、4 和 18 在 24 h 后 RNA 表达增加, 肺泡灌洗液中相关蛋白增加, 并且与肺泡上皮破坏和肺损伤的严重程度平行<sup>[31]</sup>。在高氧诱导 BPD 模型中, Claudin-18 可能参与早期肺水肿的形成和晚期肺泡发育障碍过程<sup>[32]</sup>, 我们将从肺泡上皮通透性、肺泡发育和祖细胞稳态 3 个方面来阐释 Claudin-18 在 BPD 发病机制中的作用。

**3.2.1 Claudin-18 影响肺泡上皮通透性** 为了研究 Claudin-18 在肺发育及屏障功能中的作用, LaFemina 等<sup>[24]</sup>制作了 Claudin-18 (第 2 外显子和第 3 外显子) 敲除 (knockout, KO) 小鼠, 结果发现与野生型小鼠相比, Claudin-18 KO 小鼠在高氧所致 BPD 模型中, 肺损伤和肺水肿程度呈时间依

赖性, 肺泡上皮屏障通透性增加。在紧密连接形态方面, 空气组紧密连接超微结构正常, 高氧暴露 7 d, 肺泡上皮细胞回缩, 可见明显的细胞旁间隙, 紧密连接不规则增宽, 呈开放状态<sup>[24]</sup>。这种紧密连接形态学和功能上的改变与高氧所致 BPD 大鼠模型变化十分相似——肺泡数目更少, 体积更大, 肺泡间隔增宽, 肺泡形成受损。此外, 对人类样本的分析表明, 相对于足月新生儿和婴儿, 极早产儿肺 Claudin-18 表达降低<sup>[24]</sup>。

Claudin-18 KO 小鼠虽然没有明显的呼吸功能障碍, 但是缺乏 Claudin-18 的小鼠离子渗透性 ( $K^+$ 、 $Na^+$  和  $Cl^-$ ) 更高, 对小溶质 (5-羧基荧光素) 和大溶质 (三羧基葡聚糖) 也有更高的渗透性, 可能与肺泡上皮钠通道和  $Na^+/K^+$  ATP 酶活性增加及囊性纤维化跨膜传导调节因子氯通道的激活有关<sup>[33]</sup>。BPD 早期以肺水肿为主要表现, 肺泡通透性增加, 清除率降低, 炎性物质渗出增加。但是, Claudin-18 调控离子通道具体机制尚不明确。

Claudin 蛋白之间的相互作用可以改变 Claudin 与支架蛋白的相互作用, 直接影响屏障的渗透功能。酒精暴露会引起 Claudin-5 表达增加, 使含有 Claudin-18 的紧密连接尖峰增加, Claudin-5 与 Claudin-18 结合增强抑制了 Claudin-18 与 ZO-1 的相互作用, 降低 ZO-1 和 Claudin-18 的共定位, 弱化紧密连接的相关结构, 导致细胞旁渗漏增加<sup>[34]</sup>, 这可能由于 Claudin-18 构象改变, 使其他因素取代 ZO-1 与 Claudin-18 作用<sup>[20]</sup>。Claudin-18 的调控可能嵌入在 JAM-A 轴中。JAM-A 是糖原合成激酶-3 $\beta$  (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ ) 的假定抑制剂<sup>[35]</sup>, JAM-A 低表达小鼠对肺损伤的敏感性增加<sup>[36]</sup>。这些结果假定 JAM-A 在急性肺损伤期间刺激肺泡上皮紧密连接, 因而具有保护功能。嘌呤能受体 P2X7 代表 ATP 门控离子型受体, 在损伤条件下, P2X7 受体影响肺泡上皮细胞中的 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路。P2X7<sup>-/-</sup> 小鼠肺中 Claudin-18 表达显著增加, 肺泡上皮细胞 GSK-3 $\beta$  蛋白水平及其非活性形式表达增加, 提示 Claudin-18 与 P2X7 受体表达呈负相关, 与 GSK-3 $\beta$  表达呈正相关<sup>[37]</sup>。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的精确协调激活对于正常的肺发育至关重要, 有证据证明人 BPD 组织和 BPD 高氧模型中存在异常激活的  $\beta$ -catenin 模式, 肺部高氧损伤囊状期间充质 Wnt5a 的增加会促进 BPD

患者的肺泡化和间隔增厚<sup>[38]</sup>。但是,对于Wnt通路如何具体调控Claudin-18表达尚不清楚。

**3.2.2 Claudin-18影响肺泡发育** 肺发育过程中,小鼠胚胎肺组织的Claudin-18从胚胎期14.5 d至18.5 d表达不断增加。经过皮质类固醇类似物处理后,小鼠肺上皮细胞表达Claudin-18和表面活性物质A、B、C明显增多,沉默Claudin-18会有效抑制皮质类固醇类似物诱导表面活性物质B和C的表达<sup>[39]</sup>。因此,Claudin-18与周围肺上皮细胞的成熟有关,炎症介质会特异性地使Claudin-18表达下降,促进肺成熟的药物会在人胎肺泡上皮细胞中特异性诱导Claudin-18并促进肺泡发育<sup>[39]</sup>。同时有研究表明Claudin-18的表达受甲状腺转录因子2.1的调控,甲状腺转录因子2.1是肺发育的重要转录因子,提示Claudin-18可能是肺成熟的潜在重要调节因子<sup>[40]</sup>。

Claudin-18 KO小鼠是肺泡上皮屏障功能障碍和肺泡化受损的新型模型:出生后第3天和第4周的组织学和基因表达分析发现小鼠肺泡化障碍,其他证据包括获得性AECI损伤,细胞旁通透性增加<sup>[24,41]</sup>。Claudin-18 KO小鼠会特异性出现肺泡上皮结构异常,电子显微镜显示紧密连接的ZO-1区域表现出更大的间隙,正常紧密连接形态减少<sup>[41]</sup>。紧密连接形态的变化与肌动蛋白细胞骨架的变化有关,Claudin-18 KO小鼠AEC形成时,核细胞质膜相连的放射状纤维的核周聚集物形成增加<sup>[31]</sup>。急性肺损伤时,高氧诱导新生大鼠出现明显的肺泡化障碍<sup>[24,31]</sup>。胎龄为23~24周的人胎肺发育处于小囊泡期,肺泡尚未发育成熟,呈现肺不张状态,肺泡间隔增宽,肺泡液渗出增多,是发生支气管肺不典型增生的危险期<sup>[42]</sup>,这可能与Claudin蛋白的异常表达有关,进而出现肺的异常发育及水、离子和代谢物在顶室和底室之间的泄漏。

**3.2.3 Claudin-18影响肺部祖细胞稳态** AECII被认为是肺部祖细胞,它既可以形成肺表面活性物质,使肺泡保持一定张力,又可以增殖分化为AECI,在肺损伤时发挥重要修复作用。Claudin-18可以抑制PDK1的磷酸化和核定位,从而能抑制A549细胞增殖。Claudin-18缺失会显著降低S期细胞百分比,增加G1期细胞,G2/M期不变,基质金属蛋白酶2和9上调,癌细胞侵袭增加<sup>[33]</sup>。Claudin-18是肺部祖细胞增殖和分化的重要影响

因素,它会抑制肺上皮细胞异常迁移,低水平的Claudin-18可能是高转移潜能的新型标志物<sup>[43]</sup>。

Claudin-18 KO小鼠肺部体积增加是AECII增殖活动加强的结果,且被证明这是由转录调节因子YES相关蛋白(yes-associated protein, YAP)易位至细胞核并诱导增殖途径所驱动<sup>[44]</sup>。当Claudin-18 KO后,细胞以自治的方式加强AECII的增殖活动,分化能力不变,且具有肺上皮细胞特异性。Claudin-18 KO导致肺体积增大,实质扩张,同时会增加远端肺部祖细胞的增殖和丰度。Claudin-18可能是膜上信号分子枢纽,锚定在YAP/TAZ膜上,通过Hippo激酶来调节YAP的磷酸化和激活,促进磷酸化大肿瘤抑制因子与磷酸化YAP的相互作用<sup>[45]</sup>。YAP活化在调控远端肺上皮祖细胞中作用明显,可以抑制肺上皮细胞的存活与成熟,使俱乐部细胞增生,暗示YAP信号通路在肺损伤后支气管上皮的修复中发挥作用<sup>[46]</sup>。因此紧密连接蛋白Claudin-18在调节器官大小和限制远端肺上皮祖细胞能力及增殖中具有潜在新作用<sup>[47]</sup>,这种作用是通过限制YAP活性使AECII静止来调节远端肺上皮祖细胞功能的<sup>[46]</sup>。但是Claudin-18缺失而导致的YAP激活并不会显著影响远端肺上皮细胞的命运<sup>[48]</sup>。

## 4 展望

Claudin蛋白家族的表达变化对BPD具有重要研究意义。一方面,作为紧密连接的重要调节蛋白,它们表达的降低或者上调将直接影响肺上皮细胞屏障的通透性,胎肺处于小管期的早产儿,更容易发生肺水肿。另一方面,新的研究显示Claudin-18具有促进肺泡发育的潜在可能性,这将给我们提供新的研究思路。目前关于Claudin对肺泡发育的调控机制有待于研究,还需要更多的基础和动物实验进行探索和验证。

### [参 考 文 献]

- [1] Kalikkot Thekkeveedu R, Guaman MC, Shivanna B. Bronchopulmonary dysplasia: a review of pathogenesis and pathophysiology[J]. *Respir Med*, 2017, 132: 170-177.
- [2] Papagianis PC, Pillow JJ, Moss TJ. Bronchopulmonary dysplasia: pathophysiology and potential anti-inflammatory therapies[J]. *Paediatr Respir Rev*, 2019, 30: 34-41.

- [3] 李宁,柳澄.从临床到影像认识早产儿支气管肺发育不良[J].中国中西医结合影像学杂志,2020,18(4):427-430.
- [4] Claesson-Welsh L, Dejana E, McDonald DM. Permeability of the endothelial barrier: identifying and reconciling controversies[J]. Trends Mol Med, 2020. DOI: 10.1016/j.molmed.2020.11.006. Epub ahead of print.
- [5] Musante I, Scudieri P, Venturini A, et al. Peripheral localization of the epithelial sodium channel in the apical membrane of bronchial epithelial cells[J]. Exp Physiol, 2019, 104(6): 866-875.
- [6] Hagen SJ. Non-canonical functions of claudin proteins: beyond the regulation of cell-cell adhesions[J]. Tissue Barriers, 2017, 5(2): e1327839.
- [7] Krause G, Protze J, Piontek J. Assembly and function of claudins: structure-function relationships based on homology models and crystal structures[J]. Semin Cell Dev Biol, 2015, 42: 3-12.
- [8] Milatz S, Breiderhoff T. One gene, two paracellular ion channels-claudin-10 in the kidney[J]. Pflugers Arch, 2017, 469(1): 115-121.
- [9] Rahman MT, Ghosh C, Hossain M, et al. IFN- $\gamma$ , IL-17A, or zonulin rapidly increase the permeability of the blood-brain and small intestinal epithelial barriers: relevance for neuro-inflammatory diseases[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 507(1-4): 274-279.
- [10] Berndt P, Winkler L, Cording J, et al. Tight junction proteins at the blood-brain barrier: far more than claudin-5[J]. Cell Mol Life Sci, 2019, 76(10): 1987-2002.
- [11] Suzuki H, Nishizawa T, Tani K, et al. Crystal structure of a claudin provides insight into the architecture of tight junctions[J]. Science, 2014, 344(6181): 304-307.
- [12] Piontek J, Krug SM, Protze J, et al. Molecular architecture and assembly of the tight junction backbone[J]. Biochim Biophys Acta Biomembr, 2020, 1862(7): 183279.
- [13] Hashimoto Y, Yagi K, Kondoh M. Roles of the first-generation claudin binder, Clostridium perfringens enterotoxin, in the diagnosis and claudin-targeted treatment of epithelium-derived cancers[J]. Pflugers Arch, 2017, 469(1): 45-53.
- [14] Suzuki H, Tani K, Tamura A, et al. Model for the architecture of claudin-based paracellular ion channels through tight junctions[J]. J Mol Biol, 2015, 427(2): 291-297.
- [15] Tsukita S, Tanaka H, Tamura A. The claudins: from tight junctions to biological systems[J]. Trends Biochem Sci, 2019, 44(2): 141-152.
- [16] Krause G, Winkler L, Mueller SL, et al. Structure and function of claudins[J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1778(3): 631-645.
- [17] Schlingmann B, Molina SA, Koval M. Claudins: gatekeepers of lung epithelial function[J]. Semin Cell Dev Biol, 2015, 42: 47-57.
- [18] Günzel D, Yu AS. Claudins and the modulation of tight junction permeability[J]. Physiol Rev, 2013, 93(2): 525-569.
- [19] Koval M. Claudin heterogeneity and control of lung tight junctions[J]. Annu Rev Physiol, 2013, 75: 551-567.
- [20] Lynn KS, Peterson RJ, Koval M. Ruffles and spikes: control of tight junction morphology and permeability by claudins[J]. Biochim Biophys Acta Biomembr, 2020, 1862(9): 183339.
- [21] 付泽军,李强. Claudins在急性肺损伤中的研究进展[J].山西医科大学学报,2015,46(3):268-270.
- [22] LaFemina MJ, Rokkam D, Chandrasena A, et al. Keratinocyte growth factor enhances barrier function without altering claudin expression in primary alveolar epithelial cells[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2010, 299(6): L724-L734.
- [23] Türeci O, Koslowski M, Helftenbein G, et al. Claudin-18 gene structure, regulation, and expression is evolutionary conserved in mammals[J]. Gene, 2011, 481(2): 83-92.
- [24] LaFemina MJ, Sutherland KM, Bentley T, et al. Claudin-18 deficiency results in alveolar barrier dysfunction and impaired alveologenesis in mice[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2014, 51(4): 550-558.
- [25] Lewis JB, Jimenez FR, Merrell BJ, et al. The expression profile of claudin family members in the developing mouse lung and expression alterations resulting from exposure to secondhand smoke (SHS)[J]. Exp Lung Res, 2018, 44(1): 13-24.
- [26] Weber B, Mendler MR, Lackner I, et al. Lung injury after asphyxia and hemorrhagic shock in newborn piglets: analysis of structural and inflammatory changes[J]. PLoS One, 2019, 14(7): e0219211.
- [27] Titto M, Ankit T, Saumya B, et al. Curcumin prophylaxis refurbishes alveolar epithelial barrier integrity and alveolar fluid clearance under hypoxia[J]. Respir Physiol Neurobiol, 2020, 274: 103336.
- [28] Reynolds CJ, Quigley K, Cheng XM, et al. Lung defense through IL-8 carries a cost of chronic lung remodeling and impaired function[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2018, 59(5): 557-571.
- [29] Lee PH, Hong JS, Jang AS. N-acetylcysteine decreases airway inflammation and responsiveness in asthma by modulating claudin 18 expression[J]. Korean J Intern Med, 2020, 35(5): 1229-1237.
- [30] Intiazul IM, Asma R, Lee JH, et al. Change of surfactant protein D and A after renal ischemia reperfusion injury[J]. PLoS One, 2019, 14(12): e0227097.
- [31] Jin WT, Rong LY, Liu YK, et al. Increased claudin-3, -4 and -18 levels in bronchoalveolar lavage fluid reflect severity of acute lung injury[J]. Respirology, 2013, 18(4): 643-651.
- [32] Abdul-Hafez A, Mohamed T, Uhal BD. Activation of mas restores hyperoxia-induced loss of lung epithelial barrier function through inhibition of apoptosis[J]. J Lung Pulm Respir Res, 2019, 6(3): 58-62.
- [33] Shimobaba S, Taga S, Akizuki R, et al. Claudin-18 inhibits cell proliferation and motility mediated by inhibition of phosphorylation of PDK1 and Akt in human lung adenocarcinoma A549 cells[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1863(6 Pt A): 1170-1178.
- [34] Schlingmann B, Overgaard CE, Molina SA, et al. Regulation of claudin/zonula occludens-1 complexes by hetero-claudin interactions[J]. Nat Commun, 2016, 7: 12276.
- [35] Bazzoni G, Tonetti P, Manzi L, et al. Expression of junctional adhesion molecule-A prevents spontaneous and random motility[J]. J Cell Sci, 2005, 118(Pt 3): 623-632.
- [36] Mitchell LA, Ward C, Kwon M, et al. Junctional adhesion molecule A promotes epithelial tight junction assembly to

- augment lung barrier function[J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(2): 372-386.
- [37] Barth K, Bläsche R, Neißer A, et al. P2X7R-dependent regulation of glycogen synthase kinase 3 $\beta$  and claudin-18 in alveolar epithelial type I cells of mice lung[J]. *Histochem Cell Biol*, 2016, 146(6): 757-768.
- [38] Sucre JMS, Jetter CS, Loomans H, et al. Successful establishment of primary type II alveolar epithelium with 3D organotypic coculture[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2018, 59(2): 158-166.
- [39] Shi F, Liao Y, Dong YZ, et al. Claudin18 associated with corticosteroid-induced expression of surfactant proteins in pulmonary epithelial cells[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2019, 32(5): 809-814.
- [40] Niimi T, Nagashima K, Ward JM, et al. Claudin-18, a novel downstream target gene for the T/EBP/NKX2.1 homeodomain transcription factor, encodes lung- and stomach-specific isoforms through alternative splicing[J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(21): 7380-7390.
- [41] Li GL, Flodby P, Luo J, et al. Knockout mice reveal key roles for claudin 18 in alveolar barrier properties and fluid homeostasis[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014, 51(2): 210-222.
- [42] Day CL, Ryan RM. Bronchopulmonary dysplasia: new becomes old again![J]. *Pediatr Res*, 2017, 81(1-2): 210-213.
- [43] Hagen SJ, Ang LH, Zheng Y, et al. Loss of tight junction protein claudin 18 promotes progressive neoplasia development in mouse stomach[J]. *Gastroenterology*, 2018, 155(6): 1852-1867.
- [44] Kotton DN. Claudin-18: unexpected regulator of lung alveolar epithelial cell proliferation[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(3): 903-905.
- [45] Luo J, Ching NO, Zhou BY, et al. CLDN18.1 attenuates malignancy and related signaling pathways of lung adenocarcinoma *in vivo* and *in vitro*[J]. *Int J Cancer*, 2018, 143(12): 3169-3180.
- [46] Zhou BY, Flodby P, Luo J, et al. Claudin-18-mediated YAP activity regulates lung stem and progenitor cell homeostasis and tumorigenesis[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(3): 970-984.
- [47] Kage H, Flodby P, Zhou BY, et al. Dichotomous roles of claudins as tumor promoters or suppressors: lessons from knockout mice[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(23): 4663-4672.
- [48] van Soldt BJ, Qian J, Li J, et al. Yap and its subcellular localization have distinct compartment-specific roles in the developing lung[J]. *Development*, 2019, 146(9): dev175810.

( 本文编辑: 万静 )