

## 早发性脊柱侧弯合并胸廓发育不良综合征幼猪模型 肺组织学及超微结构

李啟堂<sup>1</sup>, 代兴飞<sup>1</sup>, 张清东<sup>2</sup>, 严荣爽<sup>1</sup>, 潘呈<sup>1</sup>, 费德锐<sup>1</sup>, 马裕俭<sup>1</sup>, 徐世鑫<sup>1</sup>, 张颖<sup>1</sup>  
(1)昆明医科大学第二附属医院骨科, 云南昆明 650101; 2)昆明理工大学附属玉溪医院/  
玉溪市第二人民医院骨科, 云南玉溪 653100)

**[摘要]** **目的** 探究早发性脊柱侧凸(early onset scoliosis, EOS)合并胸廓发育不良综合征(thoracic insufficiency syndrome, TIS)幼猪在生长友好技术治疗前后肺组织学及超微结构变化。**方法** 选择6周龄幼猪, 随机分为对照组( $n=3$ )、模型组( $n=5$ )和治疗组( $n=5$ ), 在6周龄时构建EOS+TIS幼猪模型。在14周龄时解除拴系的同时行矫正治疗。18周龄时对幼猪实施安乐死, 取肺组织行HE染色、Masson染色, 对3组肺组织的肺实质、肺血管发育进行病理学观察; 通过量化放射状肺泡计数(RAC)、肺泡壁厚度(AWT)、肺泡腔面积比(ASDR)、呼吸膜厚度(RFT)、平均胶原纤维量(ACFV)、肺毛细血管密度(PCD)、肺动脉壁厚度比值(WT%) and 肺动脉壁横截面积比值(WA%)指标评价支气管肺发育不良、肺纤维化表现; 同时在透射电镜下观察幼猪模型肺组织超微结构的改变。**结果** 3组幼猪模型病理学观察: 与对照组比较, 模型组表现出支气管肺发育不良及肺纤维化, 治疗组上述表现获得缓解。3组幼猪RAC、AWT、ASDR、RFT、ACFV、PCD组间两两比较, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); WT%、WA%组间两两比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )。透射电镜下模型组细胞结构受到破坏、完整性差, 治疗组细胞结构得到改善。**结论** EOS+TIS幼猪肺组织表现出支气管肺发育不良及肺纤维化的特征; 运用生长友好技术治疗EOS+TIS幼猪, 其支气管肺发育不良及肺纤维化得到一定程度的改善。

**[关键词]** 早发性脊柱侧凸; 胸廓发育不良综合征; 支气管肺发育不良; 肺组织病理学; 透射电镜  
**[中图分类号]** R682.1+3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)05-0023-06

## Histological and Ultrastructural Studies of Lung Tissues in A Piglet Model of Early Onset Scoliosis with Combination of the Thoracic Insufficiency Syndrome

LI Qitang<sup>1</sup>, DAI Xingfei<sup>1</sup>, ZHANG Qingdong<sup>2</sup>, YAN Rongshuang<sup>1</sup>, PAN Cheng<sup>1</sup>,  
FEI Derui<sup>1</sup>, MA Yujian<sup>1</sup>, XU Shixin<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>1</sup>

(1) Dept. of Orthopedics, The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101; 2) Dept. of Orthopedics, Yuxi Hospital Affiliated to Kunming University of Science and Technology/The 2nd People's Hospital of Yuxi, Yuxi Yunnan 653100, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the histological and ultrastructural changes in lung tissues of piglets with the early onset scoliosis (EOS) with the combination of thoracic insufficiency syndrome (TIS) before and after the treatment with the growth-friendly techniques. **Methods** Six-week-old piglets were selected and randomly divided into the control group ( $n=3$ ), the model group ( $n=5$ ) and the treatment group ( $n=5$ ). An EOS+TIS piglet model was constructed at 6 weeks of age. At 14 weeks of age, orthodontic treatment was performed at the same time as the tethering was released. The piglets were euthanized at 18 weeks of age, and the lung tissues were taken for HE

**[收稿日期]** 2024-01-12

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(82060414); 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助项目(02101AY070001-150); 云南省兴滇英才卫生人才名医专项基金资助项目(XDYCWSRC2022002)

**[作者简介]** 李啟堂(1996~), 男, 云南文山山人, 在读硕士研究生, 主要从事脊柱外科临床工作。

**[通信作者]** 张颖, E-mail: zhangyingYNKM@126.com

staining and Masson staining. Pathological observations were conducted on lung parenchyma and pulmonary vascular development in the three groups. Bronchopulmonary dysplasia and pulmonary fibrosis were evaluated quantitatively with the use of following indicators: radial alveolar count (RAC), alveolar wall thickness (AWT), alveolar septal density ratio (ASDR), respiratory film thickness (RFT), average collagen fiber volume (ACFV), pulmonary capillary density (PCD), pulmonary artery wall thickness ratio (WT%), and pulmonary artery wall cross-sectional area ratio (WA%). At the same time, the ultrastructural changes in the lung tissue of piglets model were observed under the transmission electron microscope. **Results** Compared with the control group, pathological observation of the three piglet groups showed that the model group exhibited the bronchopulmonary dysplasia and pulmonary fibrosis, while the treatment group showed the alleviation of these manifestations. The differences in these groups of young pigs RAC, AWT, ASDR, RFT, ACFV and PCD were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The differences between the WT% and WA% groups were not statistically significant ( $P > 0.05$ ). Under the transmission electron microscopy, the cell structure of the model group was damaged and had the poor integrity, while the cell structure of the treatment group was improved. **Conclusion** The lung tissue of EOS+TIS piglets shows the characteristics of bronchopulmonary dysplasia and pulmonary fibrosis; using growth-friendly technology to treat EOS+TIS piglets, its bronchopulmonary dysplasia and pulmonary fibrosis have been improved to a certain extent.

[**Key words**] Early-onset scoliosis; Thoracic insufficiency syndrome; Bronchopulmonary dysplasia; Lung histopathology; Transmission electron microscopy

早发性脊柱侧凸(early onset scoliosis, EOS)定义为10岁之前因各种病因导致的脊柱侧凸。EOS患儿易快速演变为严重且僵硬的脊柱侧弯,且严重的胸椎侧弯合并肋骨融合导致肺的生长发育受到影响。Campbell等<sup>[1-2]</sup>将其命名为胸廓发育不良综合征(thoracic insufficiency syndrome, TIS),并将其定义为胸部无法支持正常呼吸或肺部生长。TIS特征是胸廓和脊柱畸形或变形导致的呼吸损害、肋骨融合和先天性脊柱侧弯可导致胸廓三维畸形,并随着胸廓发育不良综合征的发展而导致长期的机械抑制肺生长<sup>[1, 3]</sup>,导致病理学上主要表现为支气管肺发育不良及肺纤维化。目前针对EOS的治疗,主要是非融合生长友好型技术<sup>[2, 4]</sup>,虽然这些治疗方式能够在一定程度上改善呼吸功能,但针对肺发育不良及肺纤维化的组织学及超微结构上的变化,在治疗前后的差异尚无相关报道。因此,本实验通过构建早发性脊柱侧凸合并胸廓发育不良综合征幼猪模型,运用新型生长友好装置对其进行治疗,探究早发性脊柱侧凸合并胸廓发育不良综合征幼猪模肺组织学及超微结构的变化。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

本实验设3组[对照组( $n = 3$ )、模型组( $n = 5$ )和治疗组( $n = 5$ )]6周龄幼猪,本研究经昆明医科大学伦理委员会批准(KMMU2020135)。

### 1.2 外科手术

依已获得成功的造模技术建立模型<sup>[5]</sup>。在14周龄时解除拴系的同时行矫正治疗。对3组幼猪分别在造模前(6周龄)、造模后8周(14周龄)、矫治后2周(16周龄)、矫治后4周(18周龄)行脊柱正侧位X线片、CT扫描检查。18周龄时对幼猪实施安乐死,取3组肺组织进行病理分析。

### 1.3 肺组织形态学观察

对3组肺组织应用苏木精-伊红染色、Masson 3色染色。肺组织用4%多聚甲醛固定,脱水,石蜡包埋。对每块肺组织进行连续切片,使用切片机((RM2235; Leica, Wetzlar, DE))将石蜡块切成厚度4  $\mu\text{m}$ 薄片。脱蜡用二甲苯和不同浓度的乙醇(100%、95%、80%、70%)各10 min。脱蜡后,参照苏木精-伊红染色试剂盒(Solarbio, CN)和Masson 3色染色试剂盒(Solarbio)的说明进行HE和Masson染色切片制备。Pannorama MIDI病理扫描仪(3DHISTECH, Budapest, HU)用于扫描HE和Masson染色的切片。光镜下每组取各取5张切片,在10X倍镜下每张切片选取左上、右上、左下、右下4个视野,按文献方法测量放射状肺泡计数<sup>[6]</sup>:呼吸性细支气管至胸膜的垂线,计算该线穿过的肺泡数;肺泡壁厚度:测量每个视野内相邻两肺泡之间最短距离,最后取平均值。肺泡腔面积比:视野内肺泡腔面积/每个视野面积。呼吸膜厚度:测量每个视野内肺毛细血管与肺泡I型上皮细胞之间的最短距离。平均胶原纤维量:视野内胶原纤维量面积/每个视野面积。肺毛细血

管密度: 每组各取 5 张切片, 计算出整张切片内毛细血管数量, 除以切片面积, 再取千分比。在 20X 倍镜下选择外直径为 50 ~ 150 μm 的肺动脉, 测量肺动脉壁厚比值(WT%)和肺动脉壁横截面积比值(WA%),  $WT\% = (\text{外径} - \text{内径}) / \text{外径}$ ,  $WA\% = (\text{总横截面积} - \text{内横截面积}) / \text{总横截面积}$ 。上述测量均使用 Image Pro Plus 6.0 进行计算。

透射电镜: 肺组织取 1 mm<sup>3</sup> 大小使用电镜固定液(索莱宝; P1126)固定, 4 °C 固定保存及运输, 使用磷酸缓冲液 PB(pH7.4)漂洗后, 再使用 1% 锇酸(Ted Pella Inc)避光室温固定。组织依次入逐渐递增酒精浓度梯度上行脱水, 随后 100% 丙酮(国药集团化学试剂有限公司)置换乙醇两次。使用丙酮: 812 包埋剂(SPI)不同比例、不同条件下进行渗透包埋、渗透过夜, 在 37 °C 烤箱下使用纯 812 包埋剂过夜, 随后放于在 60 °C 烤箱条件下内聚合 48 h。超薄切片: 将树脂块放于超薄切片机(Leica UC7)40 ~ 70 nm 超薄切片。在 2% 醋酸铀饱和和酒精溶液条件下对铜网进行避光染色, 依次使用 70% 酒精、超纯水清洗; 然后使用 2.6% 枸橼酸铅溶液避二氧化碳染色, 在室温下干燥过夜。最后透射电子显微镜(HITACHI HT7800/HT7700)下观察并采集图像分析。

#### 1.4 统计学处理

测量资料采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析, 计量资料用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 组间均数两两比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为

差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 冠、矢状位 Cobb 角与左肺容积

6 周龄时 3 组幼猪冠、矢状位 Cobb 角、左肺容积差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。18 周龄时, 模型组冠状位 Cobb 角( $23.00 \pm 3.16$ )° 显著大于对照组( $3.00 \pm 1.00$ )°; 模型组左侧肺容积( $664.22 \pm 19.45$ )mL 显著低于对照组( $1162.20 \pm 33.62$ )mL。对照组矢状位 Cobb 角表现为脊柱后凸( $21.67 \pm 2.08$ )°, 模型组则出现了明显的脊柱前凸( $-32.20 \pm 4.32$ )°, 治疗后冠状位 Cobb 角( $8.40 \pm 1.14$ )°、矢状位 Cobb 角( $-10.00 \pm 1.58$ )°、左侧肺容积( $844.06 \pm 39.01$ )mL 得到改善, 差异均具有统计学意义( $P < 0.001$ )。

### 2.2 HE 和 Masson 染色

与对照组相比, 在 HE 染色下模型组肺组织结构紊乱, 肺泡间隔增厚, 且肺泡融合增大, 数量减少, 分布不均匀, 大小不一, 肺组织可见炎性细胞浸润, 成纤维细胞增多、肥大, 可见部分血管中层 SMCs 肥大, 导致血管壁增厚、血管腔狭窄、畸形或闭塞。与模型组相比, 治疗组肺组织可见炎症细胞浸润减少, 肺泡间隔厚度降低, 肺泡数量增多, 血管 SMCs 形态正常化, 管腔面积稍增大, 见图 1。

在 Masson 染色下, 对照组仅在肺泡间隔区域

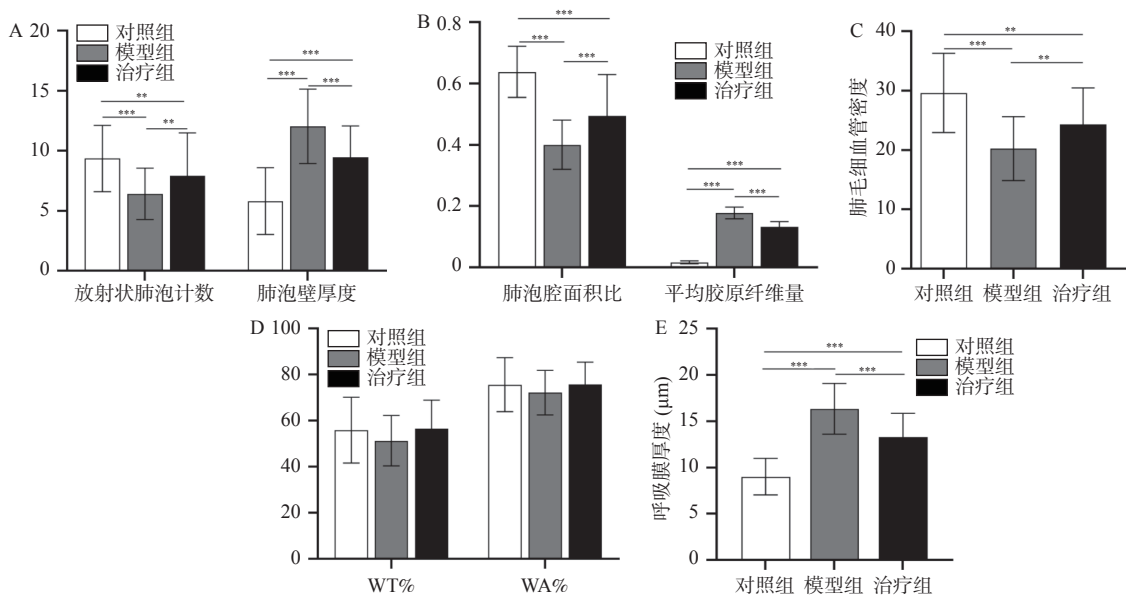


图 1 3 组幼猪肺组织 HE 和 Masson 染色统计结果对比

Fig. 1 Comparison of HE and Masson staining results in 3 groups of piglet lung tissues

A: 3 组幼猪放射状肺泡计数、肺泡壁厚度统计图; B: 3 组幼猪肺泡腔面积比、平均胶原纤维量统计图; C: 3 组幼猪肺毛细血管密度统计图; D: 3 组幼猪 WT%、WA% 统计图; E: 3 组幼猪呼吸膜厚度统计图; \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ 。

及血管周围见少量胶原纤维。模型组中增厚肺泡间隔区和肺间质区可见大量的胶原纤维；与模型组比较，治疗组肺泡间隔区和肺间质区胶原纤维可见减少。

幼猪肺组织的放射状肺泡计数、肺泡腔面积比模型组均较对照组明显减小，治疗后得到明显增加；模型组肺组织的肺泡壁厚度、肺胶原纤维量较对照组明显增大，经治疗后得到明显减小；上述差异均具有统计学意义( $P < 0.001$ )，见表 1、图 1、图 2。

### 2.3 透射电镜

电镜下对照组细胞结构完整，可见肺泡 I、II 型上皮细胞排列整齐，形态规则，边缘清晰可见，线粒体嵴清晰。模型组表现肺泡 II 型上皮细胞结构紊乱，线粒体严重肿胀、空泡化和嵴减少，细胞核外形不规则、畸形。同时伴有中性粒细胞

等炎症细胞的浸润，肺泡腔内可见大量坏死、脱落的上皮细胞；治疗组细胞结构得到一定程度的改善，但仍有线粒体少部分空泡化、细胞结构较完整等，见图 3。

### 3 讨论

EOS+TIS 最显著的特征：部分肋骨融合、脊柱侧弯和出生后支气管肺发育不良、肺纤维化。由于医学伦理的限制，不可能对 EOS+TIS 儿童进行系统的解剖学研究，为了深入了解 TIS 的自然病史，探索 EOS 合并 TIS 导致支气管肺发育不良的机制以及针对其治疗技术开发，动物模型的重要性是显而易见的。早期有研究初步成功构建了 EOS 合并 TIS 的新西兰幼兔动物模型<sup>[7-11]</sup>，但并未对肺组织的病理性改变进行统计分析以及更深

表 1 3 组幼猪左侧肺组织 HE 和 Masson 染色的测量结果( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Measurement results of HE and Masson staining of left lung tissue of three groups of piglets( $\bar{x} \pm s$ )

	对照组( $n=3$ )	模型组( $n=5$ )	治疗组( $n=5$ )	$F$	$P$
放射状肺泡计数(个)	9.35±2.77	6.41±2.14*	7.92±3.56*#	19.92	<0.001**
肺泡腔面积比(%)	63.82±8.34	40.06±8.05*	49.49±13.47*#	95.62	<0.001**
呼吸膜厚度( $\mu\text{m}$ )	9.01±1.97	16.35±2.72*	13.29±2.56*#	160.78	<0.001**
肺泡壁厚度( $\mu\text{m}$ )	5.81±2.78	12.04±3.10*	9.44±2.63*#	89.81	<0.001**
平均胶原纤维量	0.02±0.01	0.18±0.02*	0.13±0.02*#	1921.33	<0.001**
毛细血管密度(%)	29.62±6.66	20.24±5.39	24.36±6.90*#	11.66	<0.001**
肺动脉壁厚度比值(WT%)	55.93±14.29	51.31±10.95	56.56±12.39	1.89	0.156
肺动脉壁横截面积比值(WA%)	75.66±11.68	72.22±9.65	75.81±9.64	1.38	0.257

与对照组比较，\* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ；\*\* $P < 0.001$ 。

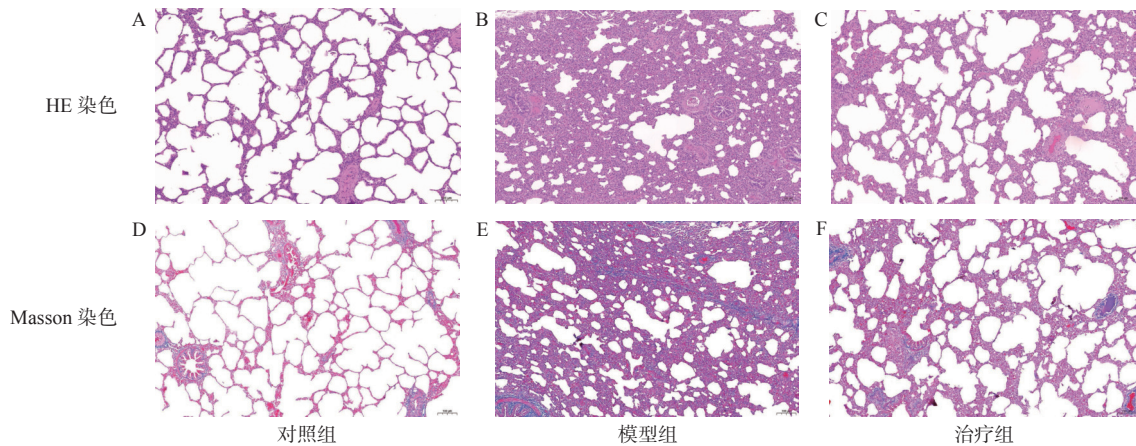


图 2 3 组幼猪肺组织 HE 和 Masson 染色结果比较(胶原纤维呈蓝色，肌纤维、纤维素和红细胞呈红色)(标尺: 100  $\mu\text{m}$ )  
Fig. 2 Comparison of HE and Masson staining results of lung tissue of three groups of piglets (collagen fibers are blue, muscle fibers, cellulose and red blood cells are red) (scale bar: 100  $\mu\text{m}$ )

A: 对照组肺 HE 染色; B: 模型组肺 HE 染色; C: 治疗组肺 HE 染色; D: 对照组肺 Masson 染色; E: 模型组肺 Masson 染色; F: 治疗组肺 Masson 染色。

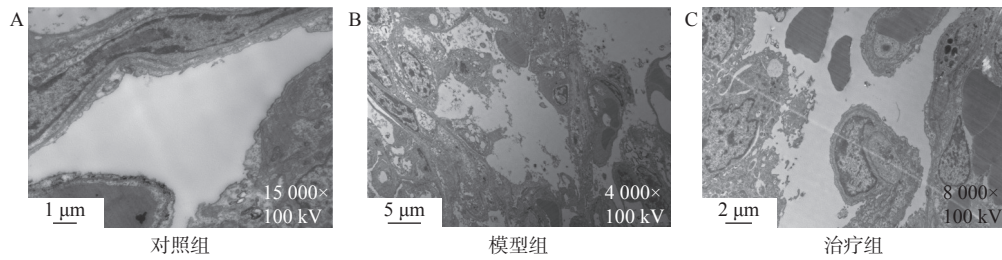


图3 3组幼猪肺组织透射电镜观察结果

Fig. 3 Transmission electron microscope observation results of lung tissue of three groups of piglets

A: 对照组电镜下肺组织; B: 模型组电镜下肺组织; C: 治疗组电镜下肺组织。

入探究。Campbell等<sup>[12-13]</sup>在先天性脊柱侧弯和肋骨融合的儿童中采用垂直可扩展假体钛肋骨 (vertical expandable prosthetic titanium rib, VEP-TR) 治疗。患儿的脊柱侧弯和肺功能得到改善。本实验早期采用单侧后入路脊柱及肋骨栓系构建EOS合并TIS的幼猪模型, 模型组冠状面平均脊柱侧凸Cobb角为 $(23.00 \pm 3.16)^\circ$ , 同时出现矢状面上生理性胸椎后凸消失, 继而出现显著的胸椎前凸 $(-32.20 \pm 4.32)^\circ$ 。治疗组通过植入新型生长友好装置, 脊柱冠状位Cobb角 $(8.40 \pm 1.14)^\circ$ 、矢状位Cobb角 $(-10.00 \pm 1.58)^\circ$ 均得到改善。

在特定的条件下, 脊柱和肋骨作为一种动态的生物力学结构在呼吸中有效地协同工作<sup>[1, 14-15]</sup>。当胸部受到严重畸形的影响时, 该系统的动力学发生变化, 从而干扰正常的呼吸和肺的发育<sup>[16]</sup>。Abman等<sup>[17]</sup>提出了支气管肺发育不良的假说—“血管发育障碍假说”, 认为这一现象可能源于肺血管发育的异常, 导致肺泡的正常发育受到影响。然而, 在肺未成熟的阶段, 笔者对肺血管发育机制的具体了解仍然有限, 这其中可能牵涉到多种细胞因子及信号通路<sup>[18-19]</sup>的相互作用。BPD的肺结构表现出2个病理特征: 气体交换结构紊乱(包括肺泡总数、肺泡密度和气体交换表面积的变化)以及肺泡壁增厚、纤维化<sup>[20]</sup>。肺纤维化是1种广泛的异质性终末期间质性肺疾病, 其特征主要是细胞外基质过度沉积和肺实质破坏<sup>[21]</sup>。内皮细胞由于其特殊的位置而暴露在各种不同维度的机械力中, 如剪切、挤压和拉伸<sup>[22]</sup>。机械张力的升高激活了AT2细胞中的TGF- $\beta$ 信号环, 从而驱动肺纤维化的进展<sup>[23]</sup>, Mehta等<sup>[11]</sup>同样在新西兰兔上应用扩大胸廓成形术, 观察到肺功能得到改善, 组织学评价显示肺血管增多, 但肺泡数和肺泡密度没有显著增加。本实验栓系了左侧6~10肋骨并使其充分融合成片, 导致幼猪胸廓畸形, 最终引起肺的生长发育受到影响, 融合成片的肋骨在肺发育过程中始终存在机械压迫, 从而表现出肺

组织的发育不良及纤维化。本实验模型组肺组织的出现了肺泡数量减少、肺泡腔面积减少、肺毛细血管减少以及肺泡壁增厚、肺纤维化等变化, 符合支气管肺发育不良及肺纤维化表现, 经治疗后上述表现得到改善, 但肺动脉壁厚度、横截面积比值并未出现统计学差异, 考虑原因为幼猪模型脊柱侧弯角度较小及维持时间短。模型组融合的肋骨对肺始终存在压迫, 导致肺细胞所受到的应力发生改变, 从而促使肺纤维化的形成, 通过植入新型生长友好装置矫正脊柱侧弯及脊柱前凸, 同时切除融合肋骨后, 幼猪肺纤维化情况得到明显改善。在透射电镜下镜下模型组肺泡II型上皮细胞结构紊乱, 细胞器肿胀等情况, 经新型生长友好装置治疗后肺泡II型上皮细胞结构得到改善, 出现了肺泡I型上皮细胞, 肺泡腔内死亡脱落的组织减少。

综上所述, 本研究成功量化了EOS合并TIS导致肺发育不良及肺纤维化的形态学改变, 同时使用新型生长友好装置治疗EOS合并TIS幼猪模型, 其肺发育不良及肺纤维化的情况得到改善, 但出生后肺支气管发育不良的发生具体分子机制尚需进一步研究。新型生长友好装置在动物实验的成功应用, 在未来应用于临床治疗EOS合并TIS患者的道路上迈出关键的一步。同时EOS合并TIS导致肺发育不良及肺纤维化的组织学变化得到统计学证实, 为下一步探究其治疗技术开发及肺发育不良及肺纤维化肺纤维化具体发生机制有着至关重要的作用。

#### [参考文献]

- [1] Campbell R M, Smith M D, Mayes T C, et al. The characteristics of thoracic insufficiency syndrome associated with fused ribs and congenital scoliosis[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2003, 85(3): 399-408.

- [2] Yang S, Andras L M , Redding G J, et al. Early-onset scoliosis: A review of history, current treatment, and future directions[J]. *Pediatrics*, 2016, 137(1): e20150709.
- [3] Mayer O H. Management of thoracic insufficiency syndrome[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2009, 21(3): 333–343
- [4] Cunin V. Early-onset scoliosis: Current treatment[J]. *Orthop Traumatol Surg Res*, 2015, 101(1 Suppl): S109–118.
- [5] Zhang Y, Shi Z, Li W , et al. A porcine model of early-onset scoliosis combined with thoracic insufficiency syndrome: Construction and transcriptome analysis[J]. *Gene*, 2023, 858(23): 147202.
- [6] Cooney T P, Thurlbeck W M. The radial alveolar count method of emery and mithal: A reappraisal 2--intrauterine and early postnatal lung growth[J]. *Thorax*, 1982, 37(8): 580–583.
- [7] Olson J C, Kurek K C, Mehta H P , et al. Expansion thoracoplasty affects lung growth and morphology in a rabbit model: A pilot study[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2011, 469(5): 1375–1382.
- [8] Olson J C, Glotzbecker M P, Takahashi A, et al. Expansion thoracoplasty in rabbit model: Effect of timing on preserving pulmonary growth and correcting spine deformity[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2018, 43(15): E877–E884.
- [9] Olson J C, Takahashi A, Glotzbecker M P, et al. Extent of spine deformity predicts lung growth and function in rabbit model of early onset scoliosis[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0136941.
- [10] Mehta H P, Snyder B D, Callender N N, et al. The reciprocal relationship between thoracic and spinal deformity and its effect on pulmonary function in a rabbit model: A pilot study[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2006, 31(23): 2654–2664.
- [11] Mehta H P, Snyder B D, Baldassarri S R, et al. Expansion thoracoplasty improves respiratory function in a rabbit model of postnatal pulmonary hypoplasia: A pilot study[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2010, 35(2): 153–161.
- [12] Campbell R M, Smith M D, Hell-Vocke A K. Expansion thoracoplasty: The surgical technique of opening-wedge thoracostomy. Surgical technique[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2004, 86(A Suppl 1): 51–64.
- [13] Campbell R M, Smith M D, Mayes T C, et al. The effect of opening wedge thoracostomy on thoracic insufficiency syndrome associated with fused ribs and congenital scoliosis[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2004, 86(8): 1659–1674.
- [14] Tepper R S, Morgan W J, Cota K, et al. Physiologic growth and development of the lung during the first year of life[J]. *Am Rev Respir Dis*, 1986, 134(3): 513–519.
- [15] Harding C O, Green C G, Perloff W H, et al. Respiratory complications in children with spondyloepiphyseal dysplasia congenita[J]. *Pediatr Pulmonol*, 1990, 9(1): 49–54.
- [16] Dimeglio A. Growth of the spine before age 5 years[J]. *Pediatr Orthop*, 1993, 1(2): 102–107.
- [17] Abman S H. Bronchopulmonary dysplasia: "A vascular hypothesis"[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 164(10 Pt 1): 1755–1756.
- [18] Gaengel K, Genov é G, Armulik A, et al. Endothelial-mural cell signaling in vascular development and angiogenesis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(5): 630–638.
- [19] Morrisey E E, Hogan B L. Preparing for the first breath: Genetic and cellular mechanisms in lung development[J]. *Dev Cell*, 2010, 18(1): 8–23.
- [20] Nardiello C, Mižíková I, Silva D M, et al. Standardisation of oxygen exposure in the development of mouse models for bronchopulmonary dysplasia[J]. *Dis Model Mech*, 2017, 10(2): 185–196.
- [21] Lederer D J, Martinez F J. Idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(19): 1811–1823.
- [22] Wu D, Birukov K. Endothelial cell mechano-metabolomic coupling to disease states in the lung microvasculature[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2019, 7(5): 172.
- [23] Wu H, Yu Y, Huang H, et al. Progressive pulmonary fibrosis is caused by elevated mechanical tension on alveolar stem cells[J]. *Cell*, 2020, 180(1): 107–121.