金雕肺的组织结构及 KGF、c Fos 和 Bax 的表达

冯红丽 俞诗源[•] 王 昱 贾艳芳 邓海平 (西北师范大学生命科学学院 兰州 730070)

摘要:为了解金雕(Aguila chrysaetas)肺的组织结构特征,观察角质细胞生长因子(KGF)、eFas 蛋白和 Bax 蛋白在肺中的表达情况,应用生物显微技术和免疫组织化学方法观察了金雕肺的组织结构,检测 KGF、 eFas 和 Bax 蛋白在肺中的表达。结果表明,金雕的肺由各级支气管及其周围的呼吸毛细管组成,肺房呈 辐射状开口于三级支气管周围,呼吸毛细管相互吻合成网状,周围有丰富的毛细血管网。KGF、eFas 和 Bax 在三级支气管、肺房和呼吸毛细管的上皮细胞中呈免疫反应阳性,三者的表达强度有差异。KGF、e Fos 和 Bax 可能发挥不同的功能,它们的协同表达可能调控鸟肺细胞的生长、发育及成熟。 关键词:金雕;肺;组织结构;免疫组织化学;角质细胞生长因子; eFas 蛋白; Bax 蛋白 中图分类号:Q954.4 文献标识码:A 文章编号:0250 3263(2009) 0F 33 06

Histological Structure and Expression of KGF, c-Fos and Bax in the Lung of *Aguila chrysaetos*

FENG Hong-Li YU Shir Yuan^{*} WANG Yu JIA Yan Fang DENG Hair Ping (College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Histological structure was observed by light microscopy and expression of KGF, σ Fos and Bax was examined by immunohistochemical methods in *Aguila chrysaetos* lung. Results showed that the lung was consisted of bronchia and many breathing capillaries (minute trachea) around bronchia; pulmonary atrium radially disposed around tertiary bronchia; many breathing capillaries anastomosed reticulation with each other; and rich pulmonary capillaries distributed around minute trachea. KGF, σ Fos and Bax were expressed in the epithelial cells of the tertiary bronchia, pulmonary atrium and breathin capillaries, but their expression intensities were different. KGF, σ Fos and Bax may have different functions, and their cooperative expression may control the growth, development and maturity of cells in bird lung.

Key words: Aguila chrysaetos; Lung; Histologi cal structure; Immunohistochemistry; KGF; c Fos protein; Bax protein

关于角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)、c Fos 蛋白(proto-oncogene *cfos*, c Fos)和 Bax 蛋白(BcF2 associated X protein, Bax) 在肺中表达的研究主要集中于哺乳类^[1~3]。研 究发现它们参与了正常肺细胞的生长、分化、增 殖与凋亡。Ulich 等^[1]在正常成年大鼠(*Rattus norvegicus*)肺中检测到 KGF 和角质细胞生长因 子受体(keratinocyte growth factor receptor, KGFR) mRNA 的表达,并用 KGF 进行气管内滴入,发现 成年大鼠肺泡 II 型上皮细胞出现明显的剂量依 赖性增殖,分析探讨了内源性的 KGF 可能是通 过旁分泌的方式调节肺泡上皮细胞生长,诱导

基金项目 国家自然科学基金项目(No. 30370163),甘肃自然 科学基金项目(No. ZS03FA 25 005 Z),甘肃省创新人才基金项 目;

* 通讯作者, E mail: syyu006@ nwnu. edu. cn;

第一作者介绍 冯红丽, 女, 硕士研究生; 研究方向: 细胞生物 学; E-mail: fenghl 2009@126. com。

收稿日期: 2008-08-05, 修回日期: 2008-11-07

正常成年大鼠肺泡 II 型上皮细胞的增殖和分化。余鸿等^[2] 研究发现 c Fos 蛋白参与大鼠胎肺组织细胞的正常生长和分化, John 等^[3] 研究发现 Bax 蛋白介导了大鼠胎肺发育过程中的细胞凋亡。但 KGF、c Fos 蛋白和 Bax 蛋白三者是 否参与鸟肺发育的调控, 三者对于肺的发育是 否有协同作用都需要进一步研究。

金雕(Aguila chrysaetos) 是雕属中最大、最 凶猛的一种,属国家一级重点保护野生动物,研 究其器官组织及相关活性物质的表达,对于动 物学和保护生物学研究都有重要意义。目前有 关金雕的研究主要集中于繁殖特点、生活习性 及生态等方面^[4-8]。笔者对金雕肺的组织结构 进行了光镜观察,并运用免疫组织化学方法检 测了 KGF、cFos 蛋白和 Bax 蛋白在其肺中的表 达,旨在搞清金雕肺的组织学结构,探讨 KGF、 cFos 蛋白和 Bax 蛋白在鸟肺中的作用,为比较 组织学研究、动物学研究和分子生物学研究提 供参考。

1 材料与方法

 1.1 实验材料 动物园因伤致残救援无效的 成体金雕(♀)一只,解剖未发现有病理变化, 迅速取其肺作为实验材料。

1.2 光镜观察 将金雕肺切成常规大小的组 织块,投入 10% 福尔马林溶液固定 2 d,常规石 蜡包埋,制成厚 6 ^µm 的切片, H. E 染色后在显 微镜(Olympus, FX: 35WA, Japan) 下观察、测量、 记录特征并拍照。

1.3 免疫组织化学 免疫组织化学 ABC 法 (链霉素抗生物素蛋白 过氧化物酶复合物试剂 盒)。石蜡切片脱蜡至水, 微波处理进行抗原修 复, 3% H₂O₂ 孵育消除内 源性过氧化酶活性, 正常山羊(*Capra genus*)血清室温孵育以封闭非 特异 性反 应位点, 一抗 用兔(*Oryaolagus auniaulus*)抗 KGF(工作浓度为 1: 300)和兔抗 cFos 蛋白、兔抗 Bax 蛋白(稀释度均为 1: 200)。 一抗置 4℃冰箱孵育过夜, 滴加生物素标记的 二抗(羊抗兔 IgG 抗血清), 室温孵育 30 min, 滴 加链霉素抗生物素蛋白 过氧化物酶复合物工 作液,室温孵育 30 min,空白对照用 PBS 代替一抗, DAB 显色,苏木精复染。常规脱水、透明、 封片,光镜观察并拍照。具体操作步骤按试剂 盒说明进行。

实验所用的抗体(一抗均为兔来源的多克 隆抗体)、免疫组织化学试剂盒和 DAB 显色剂 均购于武汉博士德生物工程有限公司。

1.4 体视学测量 随机取每种蛋白照片 5 张 (×400),采用方格测试系统(测试面积 1.512× 10^4 mm^2 ,测试线总长为 7.808× 10^3 mm ,测试线 包括纵线 36 条和横线 28 条,每小格长为 4 mm,相当于实际长度的 10 μ m,两种测线的交点 为测试点,总测试点数为 1 008 个)交点计数法 分别测算金雕肺组织中细胞阳性表达的面密度 值(*Sv*),公式为: *Sv* = 2*Ix*/*Lc*, *Lc* = *Pc*•*a*, 式中, *Ix* 为阳性表达的细胞与测试方格的交点 数, *Pc* 为测试系统落在参照系的点数, *a* 为方 格的两点间距离^[9]。

1.5 图像分析 用 Image proplus 5.0 专业图像 分析软件(Media Cybernetics) 进行图像分析,从 每套免疫组织化学切片中各选一张形态典型对 应切面,检测各活性物质在金雕肺中表达的强 度。测量时保证光源的稳定,并且取图之前预 热 20 min 以上,采图时各项设置包括光源、光 圈大小、白平衡、曝光强度、敏感度、对比度等均 改为手动调节且固定,以保证每次取图时系统 的设置值一致。阳性表达强度以统计场总面积 平均光度值(average optical density, AOD) 表示。 1.6 统计学分析 实验结果以平均值 ±标准 差(Mean ±SD) 表示,采用单因素方差分析,统 计分析过程以 SPSS 11.5 软件完成。

2 结 果

2.1 大体形态 金雕的肺位于胸腔背侧部, 左 右各一, 呈海绵状, 鲜红色, 弹性较差且不分叶, 背侧面嵌入肋间, 在肺背内侧缘形成几条肋沟, 肺门位于腹侧面的前部。肺外支气管入肺后由 前向后纵贯全长, 形成初级支气管, 初级支气管 向后延伸, 其管腔逐渐变小, 其后端出肺连于腹 气囊。从初级支气管上分出前内侧群、后背侧 群、后腹侧群和后外侧群次级支气管。从次级 支气管上又分出许多三级支气管,呈袢状连于 两群次级支气管之间,此外在三级支气管间还 有吻合支存在。因而金雕肺内的支气管分支形 成互相通连的网状管道,而不象兽类的支气管 那样呈树枝状。

2.2 组织结构 肺表面都覆盖有一层扁平上 皮细胞,上皮之下为薄层致密结缔组织膜。肺 实质由各级支气管、肺小叶、小叶间结缔组织和 血管构成。三级支气管与所属的呼吸毛细管 (微气管)构成一个个分界不明显的多面棱柱形 的肺小叶。在肺小叶间结缔组织内可见有较大 的动脉、静脉以及丰富的淋巴组织(图版 I: 1)。

初级支气管的起始部有透明软骨,向后逐 渐变少以至消失。次级支气管的黏膜上皮为单 层柱状纤毛上皮,黏膜形成许多皱襞,平滑肌很 发达,呈螺旋状排列或形成一层完整的肌层,无 软骨片。三级支气管位于肺小叶的中心,相当 于哺乳动物的肺泡管,平均直径约为 164.44 µm,三级支气管黏膜表面被覆为单层扁平上皮 细胞,上皮下为不连续的环行平滑肌。肺房为 大小不等、形状不规则的囊腔,直径平均约为 65.56 µm,肺房呈辐射状排列在三级支气管周 围,每一肺房连接着若干呼吸毛细管(微气管), 呼吸毛细管直径平均约为 25.41 µm,呼吸毛细 管相互吻合成网状,肺房和呼吸毛细管的管壁 均衬以单层扁平上皮细胞,呼吸毛细管外面包 围有丰富的毛细血管(图版I:2)。

2.3 KGF、c Fos 和 Bax 的表达 免疫组织化 学显示,阳性表达部位被染成棕色或棕黄色。 肺三级支气管、肺房、呼吸毛细管的上皮细胞胞 膜与胞质中呈 KGF 免疫反应阳性(图版 I: 3), 平均光密度值为 127.159 2±17.908 7; c Fos 在 肺三级支气管、肺房壁、呼吸毛细管中呈阳性表 达,阳性物质主要集中于上皮细胞胞质和胞核 中(图版 I: 4),平均光密度值为 108.728 7± 22.977 3;肺三级支气管、肺房、呼吸毛细管上 皮细胞呈 Bax 免疫反应阳性,阳性物质主要集 中于细胞质和部分细胞核内(图版 I: 5),平均 光密度值为 95.696 7±14.092 9。阴性对照无 棕黄色反应物(图版I:6)。

2.4 体视学测量 金雕肺中 KGF 表达部位的 面密度值最大,平均为 0.060 9 ±0.002 8; c Fos 在金雕肺中的表达部位的面密度值比 KGF 的 小,平均为 0.052 4 ±0.003 1; 而 Bax 表达部位 的面密度值最小,平均为 0.034 4 ±0.003 5。

3 讨 论

3.1 组织结构特点 金雕肺组织结构与其他 鸟类肺结构相似^[10-12]主要由各级支气管、肺小 叶、小叶间结缔组织和血管构成,呼吸毛细管周 围有丰富的毛细血管网,这对于保证血液与外 界的气体交换具有重要作用。但在肺小叶形 态、三级支气管直径等方面又与黄腹角雉 (*Tragapon caboti*)等鸟类存在着一定差异,黄腹 角雉的肺小叶为一个近似六边形的结构,肺小 叶之间的界限不清楚^[11],金雕的肺小叶为多面 棱柱形,小叶间有少量结缔组织存在;黄腹角雉 三级支气管的平滑肌层较薄,三级支气管的直 径平均为492.70 ¹⁴m,而金雕三级支气管的平滑 肌层较厚,三级支气管的直径比黄腹角雉的小, 平均约为164.44 ¹⁴m,提示鸟类肺组织存在种间 差异。

在花背蟾蜍(Bufo raddei) 等两栖类^[13] 囊状 肺的内壁上仅有网状隔膜及少量的次级隔膜。 尽管在网状隔膜、次级隔膜、肺泡隔及肺泡上均 有丰富的毛细血管,能提高气体交换率,改善供 氢状况,但其呼吸的总有效面积有限;密点麻蜥 (Eremias multiocellata)、黄脊游蛇(Coluber spinalis) 等爬行动物^[13,14] 肺壁内表面不仅有次 级隔膜,还有三级隔膜,比花背蟾蜍等两栖动物 肺有较大的内表面积,更有利于进行气体交换, 具有较高的呼吸效率,以满足机体对氧气的需 求,因而比花背蟾蜍等两栖动物能更好地适应 陆生生活。金雕、红腹锦鸡(Chrysolophus pictus)、黄腹角雉等鸟类^[10~12]的肺由复杂的三 级支气管及其周围的微气管组成,微气管周围 又有丰富的毛细血管网,故呼吸表面积显著增 加,充分显示出鸟类肺结构比两栖类和爬行类 动物更有利于气体交换的特点。金丝猴 (Rhinqpithecus roxellana)、东北虎(Panthera tigris altaica) 等^[15,16] 哺乳动物肺结构比较复杂, 形成 各级支气管树,具有发达的支气管系统及大量 的肺泡,金雕等鸟类的肺则不形成支气管树,各 级支气管间互相连结成相通的管道网, 鸟肺通 过支气管与外界相通,易受吸入性毒物及病原 微生物的侵害和损伤,肺内含有丰富的淋巴组 织,对干整个机体的免疫和防御起着重要作用。 而且鸟肺的各级支气管壁上有显著的平滑肌, 这些平滑肌的收缩和松弛不仅可以改变支气管 的管径,还可以调节肺房开口的大小。因此,这 些肌组织的功能状态对肺内空气的流量和分配 有着很大的影响。支气管周围有无数的呼吸毛 细管,鸟类的呼吸毛细管相当于哺乳动物的肺 泡,但在结构上又有本质的区别,即肺泡是微细 支气管终端的盲囊,而呼吸毛细管则与保持有 畅通新鲜气流的平行支气管连通,致使肺的气 体交换总面积相对比哺乳类大得多,显示出鸟 类肺的结构更有利于支持鸟类较高的代谢率所 需氧气供应的特点。

在人(Homo sepiens) 和哺乳动物的肺泡(相 当于鸟类的呼吸毛细管) 壁具有I、II型两种上 皮细胞, I型细胞扁平, II型细胞体积较大, 较 高突, 嵌于I型细胞之间, 胞质含板层小体。 II 型细胞除分泌表面活性物质外, 还能进行自我 更新, 分裂增殖转化为I型肺泡细胞^[17]。朱平 等^[2]研究发现在丹顶鹤(Grus japonensis) 肺的呼 吸毛细管壁上仅见到相当于I型上皮的细胞, 相当于人类肺的 II型上皮细胞主要分布在肺房 及漏斗壁上, 胞质内除一般细胞器外尚含有特 征性板层小体, 而在金雕肺呼吸毛细管壁上是 否存在 II型上皮细胞尚需通过电镜观察进一步 研究。

3.2 KGF、c Fos 和 Bax 的表达 角质细胞生 长因子是 1989 年由 Rubin 等^[18] 首先从人胚胎 肺成纤维细胞的生长培养液中分离出来的, 它 属于成 纤维 细胞 生长因 子 (fibroblast growth factor, FGF) 超家族成员, 除在人胚胎肺成纤维 细胞中表达之外, KGF 还在成年人的肺、皮肤、 乳腺、胃、膀胱和前列腺中表达。KGF 是多功 能的生长因子, 它对于上皮细胞的生长、分化、 迁移等都起重要作用, 进而影响组织、器官发 育^[19, 20], 在肺的发育和损伤修复的过程中, KGF 也起重要作用。本研究中 KGF 主要表达于三 级支气管、肺房和呼吸毛细管的上皮细胞浆中, 与以往研究不同的是 KGF 可以在鸟肺的上皮 细胞中表达, 而在人、鼠等哺乳动物中 KGF 主 要在成纤维细胞中表达, 上皮细胞中未见 KGF 的表达, 可见 KGF 在鸟类与哺乳动物肺中的表 达位置还存在着一定的种属差异性。KGF 具有 促进肺上皮细胞增殖的作用, 因此, 对正常个体 而言, KGF 的表达越强说明肺损伤修复机制越 好, 个体的器官越健康, KGF 在金雕肺中的高表 达, 说明 KGF 在鸟肺中也起着重要作用, 它有 可能也参与鸟肺的发育和损伤修复。

cFos 蛋白是 cfos 基因的表达产物, cfos 基因是即刻早期基因(immediate earlygene, IEG) 之一、正常情况下参与细胞生长、分化、信息传 递和记忆等生理过程,在大多数正常细胞中表 达水平较低,但炎症介质、炎症细胞、细胞因子 等多种刺激均可引起 cfas 基因的快速表达,其 表达产物可作为转录因子参与对目的基因表达 的调控,发挥第三信使作用^[2]。罗自强等^[22]研 究发现 cfas 基因在内皮素-1 促肺泡Ⅱ型细胞 表面活性物质合成中起着重要作用,朱凤磊 等^[23]研究发现喘安对哮喘大鼠肺组织原癌基 因 cfas 表达有一定的影响,苏晓丽等^[24] 也发 现在正常人肺组织中有恒定的 cFos 蛋白表 达。而 c Fos 蛋白在鸟肺中的表达至今还未见 报道,本研究发现在正常的金雕肺中也有c Fos 蛋白的表达,这说明 c Fos 蛋白存在于鸟肺中 并可能参与鸟肺上皮细胞的生长与分化。

Bax 基因是近年来新发现的一种促凋亡基因,属 Bcl 2 同一家族基因,其表达产物为 Bax 蛋白。Bax 蛋白不但具有拮抗 Bcl 2 蛋白抑制 细胞凋亡的作用,而且有直接促进细胞凋亡的 功能。Bax 蛋白过量表达则细胞死亡^[25], *Bax* 作为细胞死亡基因的代表,对生物体的正常生 长、发育具有重要的意义。丁续红等^[25]研究发 现肺癌组织中 *Bax* 过量表达。王樯等^[27]发现 Bax 是小鼠肺发育中细胞凋亡的相关调控基因 之一。白巨利等^[29]研究了吸入 SO₂ 的大鼠肺 中 Bax 大量表达,从而说明 SO₂ 具有促进细胞 凋亡的作用。李彩霞等^[29]进一步研究发现人 胎肺发育过程中 Bax 通过调控凋亡的方式参与 胎肺发育与成熟。本实验发现 Bax 蛋白在金雕 肺中也有表达,表明它可能参与正常鸟肺细胞 凋亡的调节。

KGF、c Fos 蛋白和 Bax 蛋白在金雕肺中均 有表达,表明它们的协同表达可能调控着鸟肺 细胞的生长、发育及成熟。但这 3 种蛋白在鸟 肺中的确切作用机制还有待进一步的研究。

参考文献

- Ulich T R, Yi E S, Longmuir K, et al. Keratinocyte growth factor is a growth factor for type II pneumocytes in *vivo*. J Clin Invest, 1994, 93: 1 298~ 1 306.
- [2] 余鸿,刘敦玉,吴雨岭等. e Fos 和巢蛋白在鼠胚肺内的 表达及缺氧对其影响.中国现代医学杂志,2006,16 (16):2457~2460.
- [3] John J E, Kunal K. The ex vivo differential expression of apoptosis signaling cofactors in the developing perinatal lung: essential role of oxygenation during the transition from placental to pulmonary-based respiration. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2001, 281 (2): 311~ 316.
- [4] 邱富才,张龙胜,刘焕金.芦芽山自然保护区金雕的繁 殖习性.山西林业科技,1998,27(2):17~18.
- [5] 隋金玲,郑超怡,王荣等.北京松山国家级自然保护区金雕育雏期间日活动行为研究.四川动物,2008,27(3): 363~366.
- [6] 王建平,王俊田,康继忠.金雕的数量、栖息地及食物的研究.运城学院学报,1990,8(4):43~47.
- [7] 田德雨. 蟒河自然保护区金雕数量及其保护研究. 山西 林业, 1998, **19**(3): 20~21.
- [8] 刘荣, 王本瑞, 侯永平. 金雕种群密度的调查. 动物学杂志, 1995, 30(2): 23~24.
- [9] 陈玉琴, 俞诗源, 张虎林等. 红腹锦鸡肾的组织结构及 EGFR, TGF^β, AQP 2 在肾中的表达. 动物学报, 2008, 54
 (2): 332~ 341
- [10] 俞诗源,夏冰芝,陈玉琴等. 红腹锦鸡肺的组织结构与 微血管构筑.动物学杂志,2006,**41**(5):98~102.
- [11] 王水莲, 刘进辉, 陈小军等. 黄腹角雉的肺解剖及组织
 形态观察. 动物医学进展, 2006, 27(7): 82~85.

- [12] 王朱平,迟月明,边晓燕等.丹顶鹤肺脏组织结构光镜 及电镜观察.东北林业大学学报,1991,19(2):123~127.
- [13] 俞诗源,司克媛,刘忠虎等.麻蜥和蟾蜍肺微血管铸型
 的比较观察.西北师范大学学报,2004,40(2):55~58.
- [14] 俞诗源. 黄脊游蛇肺微血管铸型的扫描电镜观察. 动物 学报, 1997, **43**(2): 214~215.
- [15] 俞诗源.金丝猴肺毛细血管和肺泡铸型的扫描电镜观察.兽类学报,1997,17(4):301~302.
- [16] 向建洲,刘进辉,刘自逵等.东北虎肺组织结构的解剖 观察.湖南农业大学学报(自然科学版),2002,28(3): 227~229.
- [17] 高英茂. 组织学和胚胎学彩色图谱和纲要. 北京: 科学 出版社, 2006, 92~96.
- [18] Rubin J S, Osada H, Finch P W, *et al.* Purification and characterization of a newly identified growth factor specific for epithelial cells. *PNAS*, 1989, 86: 802~ 806.
- [19] 王小华,余争平,程天民.角质细胞生长因子.国外医学临床生物化学与检测学分册,2000.21(4):213~214.
- [20] Ware L B, Matthay M A. Keratinocyte and hepatocyte growth factors in the lung: roles in lung development, inflammation and repair. Am J Physiol Lung Mol Physiol, 2002, 282: L924 ~ L940.
- [21] Morgan J I, Curran T. Immediate early genes: ten years on. Trends in Neurosciences, 1995, 18: 66~ 67.
- [22] 罗自强,孙秀泓,秦晓群. cf as 基因在内皮素1促肺泡
 II 型细胞表面活性物质合成中的作用.生理学报,1999, 51(3):241~245.
- [23] 朱凤磊,石富娟,胡俊玲.喘安对哮喘大鼠肺组织原癌基因 cfac 表达的影响. 绍兴文理学院学报, 2004, 24 (9): 70~72
- [24] 苏晓丽,吴鄂生,海镇环.肺癌与非恶性疾病患者的肺 组织 cf as, c jun 基因表达研究.中国现代医学杂志, 2000,10(9):49~50.
- [25] Bemecker O Y, Huq F, Heist E K, *et al.* Apoptosis in heart failure and the senescent heart. *Cardiwasc Toxicol*, 2003, 3 (3):183~190.
- [26] 丁续红,吴小军,李清泉等. 肺癌组织中 bel 2 和 Bax 的 表达. 肿瘤研究与临床, 1999, **11**(6): 374~376.
- [27] 王樯,黄中新,夏潮涌.小鼠肺发育中细胞增殖与凋亡 及相关调控基因的表达.解剖学报,2000,**31**(4):372~ 375.
- [28] 白巨利,孟紫强.SO₂吸入对大鼠肺 P53、bax、bcł 2 mRNA 和蛋白表达的影响.环境与职业学, 2006, 23(2):100~ 104.
- [29] 李彩霞, 卢晓晔, 黄中新等. 人胎肺发育过程中 P53 和 Bax 的表达及意义. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2006, 15(5): 487~490.





 金雕肺组织,示毛细血管(↑),H.E染色,标尺=400 μm;2.金雕肺组织,示毛细血管(↑)及单层扁平上皮细胞(↑),H.E染色,标尺=100 μm;3.示KGF在金雕肺组织中的表达(↑),标尺=100 μm;4.示 eFos 在金雕肺组织中的表达(↑),标尺=100 μm;5.示 Bax 在金雕肺组织中的表达(↑),标尺=100 μm;6.阴性对照。 TB.三级支气管;PA.肺房;C.呼吸毛细管;IP.淋巴组织。

1. Light microscope structure of lung in *Aguila chrysaetos*, H. E staining, showing capillary (\uparrow), Bar = 400 µm; 2. Light microscope structure of lung in *A*. *drysaetos*, H. E staining, showing capillary (\uparrow), simple squamous epithelium cell(\Uparrow), Bar = 100 µm; 3. Arrow showing expression of KCF in *A*. *chrysaetos* lung(\uparrow), Bar = 100 µm; 4. Arrow showing expression of c Fos in *A*. *chrysaetos* lung(\uparrow), Bar = 100 µm; 5. Arrow showing expression of Bax in *A*. *chrysaetos* lung(\uparrow), Bar = 100 µm; 6. Negative control. TB. Tertiary bronchus; PA. Pulmonary atrium; C. Breathing capillaries; IP. Lymphoid tissue.