

刺山柑总生物碱对系统性硬皮病模型小鼠 Notch 通路的影响[△]

李 伟*, 卢 军, 阿依提拉·麦麦提江, 康小龙*(新疆医科大学附属中医医院药学部, 乌鲁木齐 830000)

中图分类号 R965.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)23-3205-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.23.07

摘要 目的:研究刺山柑总生物碱对系统性硬皮病(SSc)模型小鼠 Notch 通路相关蛋白 Notch2、Delta-like 3(DLL3)、Jagged1 和 Notch 胞内段 1(NICD1)的影响。方法:将 BALB/c 小鼠随机分为空白对照组、模型组、阳性对照组(青霉胺 125 mg/kg)和刺山柑总生物碱低、中、高剂量组(225、450、900 mg/kg),每组 16 只。除空白对照组外,其余各组小鼠皮下注射博来霉素 4 周复制 SSc 模型,刺山柑总生物碱各剂量组小鼠外敷相应剂量的刺山柑总生物碱乳膏,阳性对照组小鼠灌胃相应剂量的青霉胺,空白对照组和模型组小鼠外敷不含药的乳膏基质,每天 1 次,连续给药 8 周。末次给药后 4 h,取各组小鼠给药区皮肤,采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)法检测皮肤组织中 Notch2、NICD1 mRNA 表达,酶联免疫吸附法测定皮肤组织中 DLL3 含量,免疫组化法检测皮肤组织中 Jagged1 蛋白表达。结果:与空白对照组比较,模型组小鼠皮肤组织中 Notch2、NICD1 mRNA 及 DLL3 含量、Jagged1 蛋白表达均显著升高,差异均有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,刺山柑总生物碱中、高剂量组和阳性对照组小鼠皮肤组织中 NICD1 mRNA、DLL3 含量、Jagged1 蛋白表达均显著降低,刺山柑总生物碱高剂量组和阳性对照组小鼠皮肤组织中 Notch2 mRNA 表达显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论:刺山柑总生物碱可抑制 SSc 模型小鼠皮肤组织中 Notch2、NICD1、DLL3 及 Jagged1 的异常表达,对 SSc 模型小鼠 Notch 通路的过度激活有一定的抑制作用。

关键词 刺山柑总生物碱;系统性硬皮病;Notch2;Notch 胞内段 1;Delta-like 3;Jagged1;小鼠

Effects of *Capparis spinosa* Total Alkaloid on Notch Pathway in Mice with Systemic Sclerosis

LI Wei, LU Jun, Ayitila · Maimaitijiang, KANG Xiaolong (Dept. of Pharmacy, TCM Hospital of Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of *Capparis spinosa* total alkaloid on Notch pathways related protein Notch2, Delta-like 3 (DLL3), Jagged1 and Notch intracellular domain 1 (NICD1) in mice with systemic sclerosis (SSc). METHODS: BALB/c mice were randomly divided into blank control group, model group, positive control group (penicillamine 125 mg/kg), *C. spinosa* total alkaloid low-dose, medium-dose and high-dose groups (225, 450, 900 mg/kg), with 16 mice in each group. Except for blank control group, other groups were given bleomycin subcutaneously for 4 weeks to induce SSc model. *C. spinosa* total alkaloid groups were given relevant dose of *C. spinosa* total alkaloid cream for external use. Positive control group was given relevant dose of penicillamine intragastrically. Blank control group and model groups were given cream matrix without drug, once a day, for consecutive 8 weeks. 4 h after last administration, the skin of the administration area of each group of mice was collected. mRNA expression of Notch2 and NICD1 was detected by real-time PCR; the content of DLL3 was measured by ELISA; the protein expression of Jagged1 in skin tissue was detected by immunohistochemistry. RESULTS: Compared with blank control group, mRNA expression of Notch2 and NICD1, DLL3 content, protein expression of Jagged1 were markedly increased, with statistical significance ($P<0.01$). Compared with model group, mRNA expression of NICD1, DLL3 content and protein expression of Jagged1 were decreased significantly in *C. spinosa* total alkaloid medium-dose and high-dose groups, positive control group, mRNA expression of Notch2 in skin tissue were decreased significantly in *C. spinosa* total alkaloid high-dose group and positive control group, with statistical significance ($P<0.05$ or $P<0.01$). CONCLUSIONS: *C. spinosa* total alkaloid can inhibit the abnormal expression of Notch2, NICD1, DLL3 and Jagged1 in skin tissue of SSc model mice, and inhibit over activation of Notch pathway in SSc model mice.

KEYWORDS *Capparis spinosa* total alkaloid; Systemic sclerosis; Notch2; Notch intracellular domain 1; Delta-like 3; Jagged1; Mice

△ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81760560)

* 副主任中药师。研究方向:中药药理学。电话:0991-5853365。

E-mail:408705201@qq.com

通信作者:副主任药师,博士。研究方向:中药药理学。电话:

0991-5853365。E-mail:kangxiaolong_163@163.com

Mice

系统性硬皮病(Systemic sclerosis, SSc)病理表现为多组织、多器官纤维化,免疫系统失衡及血管异常^[1]。刺

山柑(*Capparis spinosa* L.)为白花菜科(Capparaceae)山柑属(*Capparis Tourn. ex L.*)植物,系新疆道地药材之一。其性味辛苦温,具有祛风散寒、除湿、消肿止痛、扩张血管的功效。有研究表明,SSc患者I型胶原的合成及成纤维细胞增殖可被刺山柑乙醇提取物抑制^[2];硬皮病模型小鼠的胶原沉积、真皮增厚等病理改变可被刺山柑流浸膏抑制^[3];刺山柑乙酸乙酯和乙醇提取物能抑制硬皮病模型小鼠真皮增厚及I型胶原、转化生长因子 β_1 过表达^[4]。刺山柑总生物碱系本课题组从刺山柑中提取的有效部位,前期研究表明,给SSc模型小鼠外用刺山柑总生物碱乳膏后,小鼠皮肤纤维化等病理改变得到改善^[5],增厚的真皮鳞状上皮变薄,并可下调皮肤组织中羟脯氨酸及I、III型胶原表达^[6-7],提示刺山柑总生物碱可抑制SSc的胶原合成、改善组织纤维化。刺山柑总生物碱乳膏已于2010年获得医院制剂批准文号:20050024HZ。本文以博来霉素复制SSc模型小鼠,研究刺山柑总生物碱对SSc模型小鼠皮肤组织纤维化密切相关的Notch通路相关蛋白Notch2、Delta-like 3(DLL3)、Jagged1和Notch胞内段1(NICD1)表达的影响,以为探讨刺山柑总生物碱改善SSc组织纤维化的作用机制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Multiskan Spectrum 酶标仪、Multifuge X1R 低温离心机(美国 Thermo Fisher 公司);DFC360 FX 显微镜、RM2245 切片机(德国 Leica 公司);C1000 Thermal Cycler 实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 药品与试剂

刺山柑原药材由新疆麦迪森维药饮片厂提供,由新疆药物研究所何江研究员鉴别为真品;注射用盐酸博来霉素(浙江海正辉瑞制药有限公司,批号:17001711,规格:15 mg);青霉胺片(上海上药信谊药厂,批号:052160901,规格:0.125 g);兔抗小鼠Jagged1抗体、辣根过氧化物酶标记羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)二抗(美国 Cell Signaling Technology 公司);免疫组化染色试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);高纯总RNA快速提取试剂盒、SYBR real-time PCR 试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司);小鼠DLL3酶联免疫试剂盒(武汉华美生物工程有限公司);二喹啉甲酸法(BCA法)蛋白定量试剂盒(江苏碧云天生物技术有限公司);小鼠qPCR的Notch2、NICD1和内参Rn18s特异性引物(上海生物工程股份有限公司合成)。

1.3 动物

BALB/c 小鼠96只,♀,SPF级,体质量18~22 g,购自北京维通利华实验动物公司,生产许可证号:SCXK

(京)2016-0006。所有小鼠均在环境温度(24±1)℃、相对湿度45%~65%、光照时间12 h的环境中饲养1周后进行实验,饲养期间小鼠自由进食标准饲料和饮水。本实验方案通过新疆医科大学附属中医医院动物实验伦理审查。

2 方法

2.1 刺山柑总生物碱提取物浓缩液的制备

将晒干粉碎的刺山柑果实,加10倍量95%乙醇80℃水浴回流提取30 min,提取2次,过滤,滤液备用,合并滤液,减压浓缩至药材与药液质量比为2:1。提取物浓缩干燥后经紫外分光光度法测得总生物碱含量占提取物的32%(m/m),高效液相色谱法测得盐酸水苏碱含量占提取物的2.2%(m/m)。

2.2 刺山柑总生物碱乳膏的制备

以单硬脂酸甘油酯、白凡士林、月桂氮草酮、硬脂酸为油相,水浴加热至90℃使熔融;以刺山柑总生物碱提取物浓缩液与甘油混合物为水相,水浴加热至90℃;将羟苯甲酸乙酯、十二烷基硫酸钠加入到适量水中,水浴加热使溶解作为乳化剂;把油相、水相自水浴中取出,温度降至85℃时,在油相中一边加入水相和乳化剂一边搅拌,直至乳化完全。该乳膏中刺山柑总生物碱的含量以盐酸水苏碱计,不得少于16 mg/g。

2.3 分组、造模与给药

96只BALB/c小鼠,采用随机数字表法分为空白对照组、模型组、阳性对照组(青霉胺125 mg/kg,根据临床用量换算而得)^[1,8]和刺山柑总生物碱低、中、高剂量组(225、450、900 mg/kg,分别为人临床用量的4.5、9、18倍),每组16只。剃除各组小鼠背部被毛,除空白对照组背部皮下注射生理盐水外,其余各组小鼠采用博来霉素皮下注射法^[9-10]复制SSc模型,注射博来霉素30 μg/d,连续给药30 d,当小鼠背部注射部位均出现皮肤增厚、弹性变差等变化以及随机抽取各组1只小鼠,取皮肤组织做病理学检查显示出现炎症及纤维化等病变时,即造模成功。造模成功后,刺山柑总生物碱各剂量组小鼠外敷225、450、900 mg/kg的刺山柑总生物碱乳膏,阳性对照组小鼠灌胃给予125 mg/kg的青霉胺,空白对照组和模型组小鼠外敷不含刺山柑总生物碱的乳膏基质,每天给药1次,连续给药8周。

2.4 qPCR法检测皮肤组织中Notch2、NICD1 mRNA表达

末次给药后4 h处死小鼠,每组取5只小鼠背部注射处皮肤,置于冻存管,液氮迅速冷冻10 min,−80℃保存。采用高纯总RNA快速提取试剂盒提取皮肤组织总RNA,操作按试剂盒说明书进行,逆转录获到cDNA,设计Notch2、NICD1特异性引物,以Rn18s为内参,进行qPCR。反应条件:94℃预变性2 min;94℃变性15 s,

56 °C退火 30 s, 72 °C延伸 95 s, 35 个循环; 72 °C最后延伸 5 min。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析 Notch2、NICD1 mRNA 的相对表达量, $\Delta C_t = C_{t\text{目标基因}} - C_{t\text{内参基因}}$, $\Delta\Delta C_t = \Delta C_{t\text{实验组}} - \Delta C_{t\text{对照组}}$ 。qPCR 引物序列见表 1。

表 1 qPCR 引物序列

Tab 1 qPCR primer sequence

基因	引物	产物大小, bp	引物序列(5'→3')
Notch2	上游引物	25	TCATCATCTGTTCTTCATCCTGCT
	下游引物	25	CITCATCATCAACCCAATGTTCACT
NICD1	上游引物	25	ACAGTCTCAAGGCACGGGA AGA AGTC
	下游引物	25	TGGCGAGGCCACATCTGACAAGTAG
Rn18s	上游引物	26	CTATTTTGGTTTTCGGAAGTCTGAG
	下游引物	21	TTGGCA AATGCTTTCGCTCTG

2.5 酶联免疫吸附法检测皮肤组织中 DLL3 含量

取各组 15 只处死小鼠背部皮肤, 加入生理盐水, 组织匀浆机研磨成组织匀浆, 浓度为 10%, 4 000 r/min (离心半径 8.3 cm) 离心 10 min 后提取上清液。按小鼠 DLL3 酶联免疫试剂盒相关操作测定上清液中 DLL3 含量, 并以每 1 mL 上清液中总蛋白含量 (BCA 法蛋白定量试剂盒测定) 校正结果。

2.6 免疫组化法检测皮肤组织中 Jagged1 蛋白表达

各组取 5 只处死小鼠的背部注射区皮肤, 4% 多聚甲醛中固定、脱水、包埋、切片, 脱蜡, 放入柠檬酸钠液中, 微波修复 5 min, 用 3% H₂O₂ 封闭 20 min, 磷酸盐缓冲液冲洗, 加入兔抗小鼠 Jagged1 抗体 (1:100 稀释), 4 °C 孵育过夜, 加入辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG 二抗 (1:100 稀释), 室温孵育 1 h, 二氨基联苯胺法 (DAB) 染色, 苏木精复染。用显微镜摄片后输入计算机, Image Pro Plus 6.0 专业图像分析软件对图片进行分析, 调整图像分析软件在相同条件下计算积分光密度 (IOD) 和组织面积 (area), 再按公式计算平均光密度 (MOD), MOD = IOD/area。各实验组 MOD 与空白对照组 MOD 的比值作为 Jagged1 的相对表达量。

2.7 统计学方法

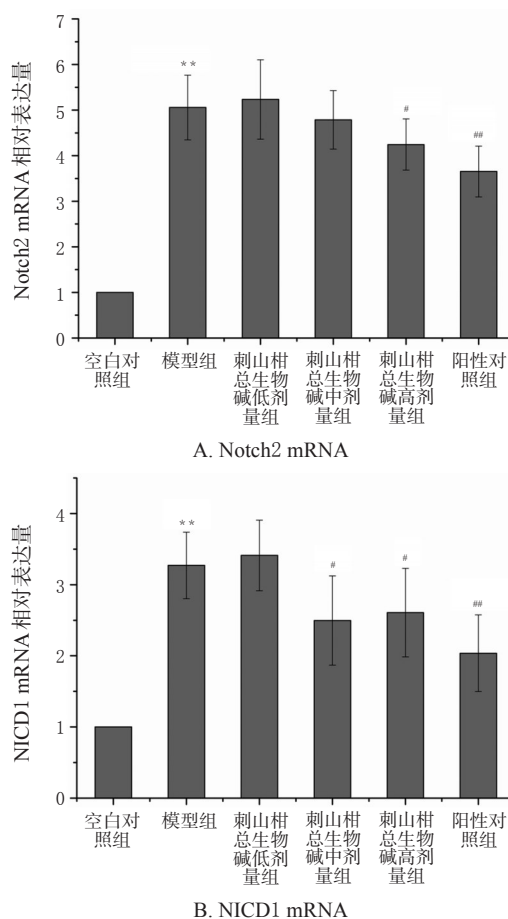
采用 SPSS 11.0 软件进行统计分析。采用方差分析各组差异, SNK-*q* 法分析两组间均数差异。P < 0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 皮肤组织中 Notch2、NICD1 mRNA 相对表达量比较

与空白对照组比较, 模型组皮肤组织中 Notch2、NICD1 mRNA 相对表达量显著升高, 差异均有统计学意义 (P < 0.01)。与模型组比较, 刺山柑总生物碱高剂量组和阳性对照组小鼠皮肤组织中 Notch2 mRNA 相对表达量显著降低, 刺山柑总生物碱中、高剂量组和阳性对照组小鼠皮肤组织中 NICD1 mRNA 相对表达量显著降

低, 差异均有统计学意义 (P < 0.05 或 P < 0.01)。与阳性对照组比较, 刺山柑总生物碱高剂量组小鼠皮肤组织中 Notch2、NICD1 mRNA 相对表达量无明显变化 (P > 0.05)。各组小鼠皮肤组织中 Notch2、NICD1 mRNA 相对表达量的结果见图 1。



注: 与空白对照组比较, **P < 0.01; 与模型组比较, #P < 0.05, ###P < 0.01

Note: vs. blank control group, **P < 0.01; vs. model group, #P < 0.05, ###P < 0.01

图 1 各组小鼠皮肤组织中 Notch2、NICD1 mRNA 相对表达量的结果 (n = 5)

Fig 1 Results of mRNA relative expression of Notch2 and NICD1 in skin tissue of mice in each group (n = 5)

3.2 皮肤组织中 DLL3 含量比较

与空白对照组比较, 模型组皮肤组织中 DLL3 含量显著升高, 差异有统计学意义 (P < 0.01)。与模型组比较, 刺山柑总生物碱低、中、高剂量组和阳性对照组小鼠皮肤组织中 DLL3 含量显著降低, 差异均有统计学意义 (P < 0.05 或 P < 0.01)。与阳性对照组比较, 刺山柑总生物碱中、高剂量组小鼠皮肤组织中 DLL3 含量无明显变化 (P > 0.05)。各组小鼠皮肤组织中 DLL3 含量测定结果见表 2。

表2 各组小鼠皮肤组织中DLL3含量测定结果($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

Tab 2 Results of content determination of DLL3 in skin tissue of mice in each group($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

组别	剂量,mg/kg	DLL3,ng/mg prot
空白对照组		1.64 ± 0.35
模型组		2.93 ± 0.50**
刺山柑总生物碱低剂量组	225	2.56 ± 0.57#
刺山柑总生物碱中剂量组	450	2.12 ± 0.31##
刺山柑总生物碱高剂量组	900	2.28 ± 0.38##
阳性对照组	125	1.80 ± 0.53##

注:与空白对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$

Note: vs. blank control group, ** $P<0.01$; vs. model group, # $P<0.05$,## $P<0.01$

3.3 皮肤组织中Jagged1蛋白相对表达量比较

与空白对照组比较,模型组皮肤组织中Jagged1蛋白相对表达量显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,刺山柑总生物碱中、高剂量组和阳性对照组小鼠皮肤组织中Jagged1蛋白相对表达量显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与阳性对照组比较,刺山柑总生物碱高剂量组小鼠皮肤组织中Jagged1蛋白相对表达量无明显变化($P>0.05$)。各组小鼠皮肤组织中Jagged1蛋白表达的免疫组化图见图2,相对表达量的结果见图3。

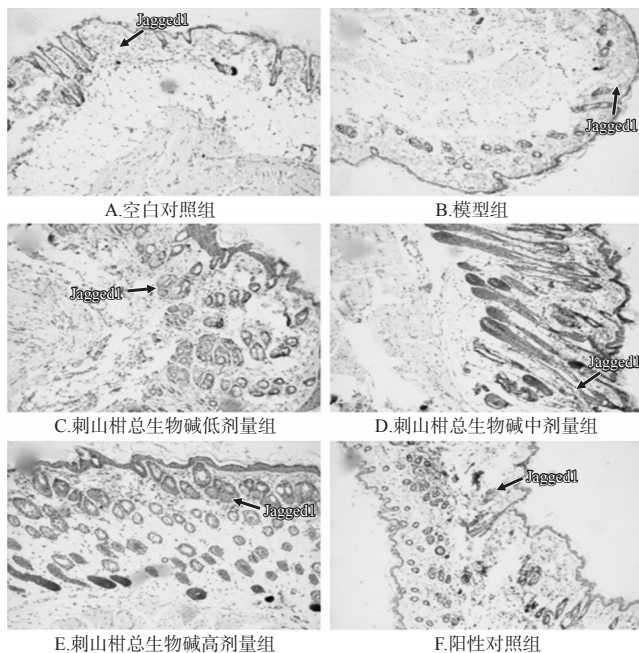
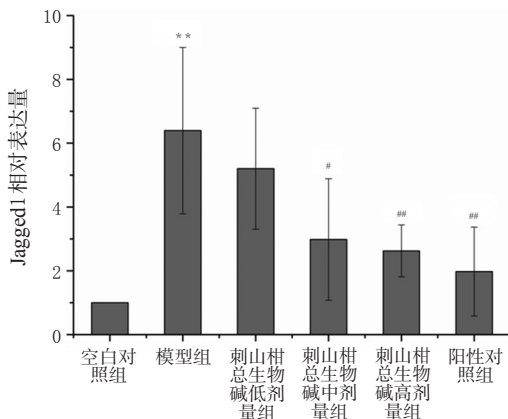


图2 各组小鼠皮肤组织中Jagged1蛋白表达的免疫组化图($\times 100$)

Fig 2 Immunohistochemistry plots of protein expression of Jagged1 in skin tissue of mice in each group($\times 100$)

4 讨论



注:与空白对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$

Note: vs. blank control group, ** $P<0.01$; vs. model group, # $P<0.05$,## $P<0.01$

图3 各组小鼠皮肤组织中Jagged1蛋白相对表达量的结果($n=5$)

Fig 3 Results of relative expression of Jagged1 protein in skin tissue of mice in each group($n=5$)

SSc是一种多组织呈现慢性炎症和纤维化的自身免疫性疾病,目前认为SSc病因是由于成纤维细胞活化,合成胶原、纤维连接蛋白等增多,造成细胞外基质沉积,引发组织纤维化^[11-12]。目前,SSc的治疗缺乏明确有效的药物,多以免疫抑制、抗纤维化及对症治疗为主,青霉胺是目前临床上治疗系统性硬皮病较经典和常用的药物^[1,8],故本文选择青霉胺做为阳性对照药物。

Notch信号通路是一种进化上高度保守,广泛存在于多种组织细胞中的,对细胞的生长、发育、凋亡等发挥重要作用的信号通路^[13]。Notch信号通路的异常激活参与了多种器官纤维化疾病,调节Notch信号通路可能对治疗纤维化疾病有一定作用^[14]。哺乳动物Notch信号的受体有4种,分别是Notch1、Notch2、Notch3、Notch4,而Notch的配体蛋白共有5种,分别是Jagged1、Jagged2、DLL1、DLL3和DLL4^[15]。Notch受体与配体相互作用而激活,两者的结合导致受体构象发生改变,在整合素金属蛋白酶(ADAM)蛋白酶的作用下,释放出NICD, NICD发生核转位,可激活影响细胞的分化、增殖和凋亡的基因如Hes和Hey等的转录^[16-17]。

有研究提示,Notch信号通路参与了SSc纤维化的形成,发生纤维化的SSc患者皮肤组织和成纤维细胞的Notch通路被激活,Notch配体Jagged1过表达及NICD蓄积,可以导致SSc患者皮肤组织的纤维化,并可引起免疫功能紊乱和自身抗体的失衡^[18-19];用次氯酸、博来霉素诱导的SSc模型鼠及紧皮鼠(Tsk-1鼠)皮肤和肺组织也发现了NICD表达增高^[18];用Notch SiRNA抑制Notch表达可改善SSc小鼠皮肤增厚和纤维化^[20]。Notch信号通

路与SSc成纤维细胞活化相关,用重组的Jagged1可以刺激SSc成纤维细胞向肌成纤维细胞转化,表达高水平的 α -平滑肌肌动蛋白,产生大量的胶原和细胞外基质^[19]。本研究结果发现,模型组小鼠皮肤组织中Notch2、NICD1 mRNA和DLL3含量、Jagged1蛋白表达升高,提示SSc模型小鼠存在Notch通路的异常激活;450、900 mg/kg的刺山柑总生物碱可明显降低Notch2、NICD1 mRNA和DLL3含量、Jagged1蛋白表达,提示刺山柑总生物碱可抑制Notch受体与配体的相互作用,抑制NICD蓄积及核转位,对SSc小鼠Notch通路的异常激活有一定抑制作用。

综上所述,刺山柑总生物碱可抑制SSc模型小鼠皮肤组织中Notch2、NICD1、DLL3及Jagged1的异常表达,结合本课题组前期研究结果:刺山柑总生物碱可改善SSc模型小鼠皮肤纤维化^[5-7],提示刺山柑总生物碱可能通过抑制Notch通路的异常激活,抑制胶原生成,降解细胞外基质,改善SSc皮肤纤维化。

参考文献

[1] 闫小宁,张建荣,李文彬,等.温阳除痹汤对硬皮病模型小鼠CTGF的影响[J].中国中西医结合皮肤性病学杂志,2013,12(1):13-16.

[2] 曹越兰,李欣,郑敏.槲果藤对进行性系统性硬化症患者成纤维细胞增殖和I型胶原产生的影响[J].中国中药杂志,2008,33(5):560-562.

[3] 曹越兰,李欣,王群.槲果藤对硬皮病小鼠模型皮肤硬化抑制作用的实验研究[J].中国中药杂志,2008,33(2):215-217.

[4] 李凡,赵娜,华伟,等.槲果藤乙醇提取物对体外培养的人皮肤成纤维细胞生长的影响[J].中国皮肤性病学杂志,2009,23(8):475-477.

[5] 阿依提拉·麦提江,卢军,姜林,等.刺山柑总生物碱对系统性硬皮病小鼠WNT通路相关蛋白表达的影响[J].中国中医药信息杂志,2019,26(4):53-56.

[6] 康小龙,何承辉,刘晶,等.刺山柑总生物碱对系统性硬皮病小鼠III型胶原表达的影响[J].中国医科大学学报,2016,45(8):688-691.

[7] 康小龙,何承辉,田红林,等.刺山柑总生物碱乳膏外用对系统性硬皮病小鼠组织纤维化的改善作用[J].中国现代应用药学,2016,33(1):32-35.

[8] 杨欢欢,吕军影,黄李平,等.红花水煎液内服对硬皮病小鼠皮肤血管内皮生长因子表达的影响[J].风湿病与关节炎,2014,3(4):26-30.

[9] WU T, CHU H, TU W, et al. Dissection of the mechanism

of traditional Chinese medical prescription: Yiqihuoxue formula as an effective anti-fibrotic treatment for systemic sclerosis[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2014, 14(1): 224-231.

[10] HAO ZF, SU YM, LIU JY, et al. Astragalus polysaccharide suppresses excessive collagen accumulation in a murine model of bleomycin-induced scleroderma[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(3):3848-3854.

[11] BEYER C, DISTLER JW. Morphogen pathways in systemic sclerosis[J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2012, 15(1): 299-306.

[12] FANG F, OOKA K, SUN X, et al. A synthetic TLR3 ligand mitigates profibrotic fibroblast responses by inducing autocrine IFN signaling[J]. *J Immunol*, 2013, 191(6): 2956-2966.

[13] 孙志欣,张莹.桔皮素对人肝癌HepG2细胞体外增殖和侵袭的影响及机制研究[J].中国药房,2016,27(34):4800-4803.

[14] KAVIAN N, SERVETTAZ A, WEILL B, et al. New insights into the mechanism of Notch signalling in fibrosis[J]. *Open Rheumatol J*, 2012.DOI: 10.2174/1874312901-206010096.

[15] ZHOU XL, LIU JC. Role of Notch signaling in the mammalian heart[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2014, 47(1):1-10.

[16] FORTINI ME. Notch signaling: the core pathway and its posttranslational regulation[J]. *Dev Cell*, 2009, 16(5): 633-647.

[17] ANDERSSON ER, SANDBERG R, LENDAHL U. Notch signaling: simplicity in design, versatility in function[J]. *Development*, 2011, 138(17):3593-3612.

[18] KAVIAN N, SERVETTAZ A, MONGARET C, et al. Targeting ADAM-17/notch signaling abrogates the development of systemic sclerosis in a murine model[J]. *Arthritis and Rheumatism*, 2010, 62(11):3477-3487.

[19] DEES C, TOMCIK M, ZERR P, et al. Notch signalling regulates fibroblast activation and collagen release in systemic sclerosis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(7): 1304-1310.

[20] DEES C, ZERR P, TOMCIK M, et al. Inhibition of Notch signaling prevents experimental fibrosis and induces regression of established fibrosis[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(5):1396-1404.

(收稿日期:2019-07-30 修回日期:2019-10-11)

(编辑:邹丽娟)