

• 论 著 •

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.12.001

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210528.1503.006.html\(2021-05-28\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210528.1503.006.html(2021-05-28))

阻断肝脏 Notch1/Jagged1 通路对大鼠肝移植急性排斥反应的影响^{*}

白 赫¹,赖 星²,闫 宇^{3△}

(1. 西安医学院附属第一医院普外科,西安 710000;2. 重庆市潼南区人民医院肝胆甲状腺乳腺外科 402660;
3. 西安交通大学第一附属医院乳腺外科,西安 710061)

[摘要] **目的** 探讨阻断肝脏 Notch1/Jagged1 通路对大鼠肝移植急性排斥反应的影响。**方法** 建立大鼠肝移植急性排斥反应模型,分为 4 组,每组 15 对。SHAM 组:不做任何处理建立肝缺血再灌注模型;NS 组:肝缺血再灌注术前 14 d 尾静脉注射 100 μL 的生理盐水作为对照;shRNA-Jagged1 组:肝缺血再灌注术前 14 d 尾静脉注射 100 μL 1×10¹² PFU 慢病毒;shRNA-GFP 组:肝缺血再灌注术前 14 d 尾静脉注射 100 μL 1×10¹² PFU 空载慢病毒。检测各组丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBiL)水平,ELISA 检测血清中炎症因子水平,PCR、Western blot 检测肝组织 Jagged1、Notch1 表达,Western blot 检测白细胞介素(IL)-6、IL-1、p-JNK、cleaved-caspase3、PTEN、p-P65 等表达,HE 染色评估大鼠肝移植情况。**结果** 肝移植后 Notch1、Jagged1 表达在 24 h 最高。shRNA-Jagged1 组 AST、ALT、TBiL 水平明显高于 NS 组和 shRNA-GFP 组($P<0.05$),排斥反应评分明显高于 NS 组($P<0.05$)。shRNA-Jagged1 组 IL-1、IL-6 水平明显高于 NS 组,IL-10、TGF-β 水平明显低于 NS 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 NS 组比较,shRNA-Jagged1 组 p-JNK、cleaved-caspase3、PTEN、p-P65 表达明显升高,而 p-AKT 表达明显降低;NS 组及 shRNA-GFP 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 阻断肝脏 Notch1/Jagged1 通路可能是通过激活 PTEN/AKT/TLR4/NF-κB 通路加重肝移植炎症反应损伤,以及激活 JNK 通路从而加重肝细胞凋亡导致肝移植后发生急性排斥反应。

[关键词] 肝移植;急性排斥反应;Jagged1;Notch1;核因子 κB
[中图法分类号] R605 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)12-1981-07

Effects of blocking liver Notch1/Jagged1 pathway on acute rejection in rat liver transplantation^{*}

BAI He¹,LAI Xing²,YAN Yu^{3△}

(1. Department of General Surgery,First Affiliated Hospital of Xi'an Medical College,Xi'an,Shaanxi 710000,China;2. Department of Hepatobiliary Thyroid Breast Surgery, Tongnan District People's Hospital,Chongqing 402660,China;3. Department of Breast Surgery,First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University,Xi'an,Shaanxi 710061,China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of blocking Notch1/Jagged1 pathway on acute rejection in rat liver transplantation. **Methods** The rat liver transplantation acute rejection models were established and divided into 4 groups,15 pairs in each group. The SHAM group had no any treatment and established the liver ischemic reperfusion model;the NS group was injected 100 μL of normal saline by the caudal vein on 14 d before liver ischemic reperfusion as the control; the shRNA- Jagged1 group was injected by 100 μL of 1×10¹² PFU lentivirus by the caudal vein on 14 d before liver ischemic reperfusion;the shRNA-GFP group was injected by 100 μL of 1×10¹² PFU no-load lentivirus. The levels of ALT,AST and TBiL were detected in each group. ELISA was used to detect the levels of serum inflammatory factors. The expressions of liver tissues Jagged1 and Notch1 were detected by PCR and Western blot. The expressions of IL-6,IL-1 p-JNK cleaved-caspase3,PTEN and p-P65 were detected by Western blot. The HE staining was used to evaluate the rat liver graft situation. **Results** After liver transplantation,the expression levels of Notch1 and Jagged1 were the highest at

^{*} 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(81500497)。 作者简介:白赫(1994—),住院医师,硕士,主要从事肝移植、肝脏缺血再灌注损伤研究。 △ 通信作者,E-mail:15934847534@163.com。

24 h. The levels of ALT,AST and TBiL in the shRNA-Jagged1 group were significantly higher than those in the NS group and shRNA-GFP group ($P<0.05$);the rejection reaction score of the shRNA-Jagged1 group was significantly higher than that of the NS group ($P<0.05$). The levels of IL-1 and IL-6 in the shRNA-Jagged1 group were significantly higher than those in the NS group,while the levels of IL-10 and TGF- β were significantly lower than those in the NS group,and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Compared with the NS group,the expression levels of p-JNK,cleaved-caspase3,PTEN and p-P65 in the shRNA-Jagged1 group were significantly increased,while the expression level of p-AKT was significantly reduced. There was no statistically significant difference between the NS group and shRNA-GFP group ($P>0.05$).

Conclusion Blocking the liver Notch1/Jagged1 pathway aggravates the inflammatory response damage of liver transplantation possibly by activating the PTEN/AKT/TLR4 pathway and activating the JNK pathway to aggravate liver cell apoptosis and cause acute rejection after liver transplantation.

[Key words] liver transplantation;acute rejection;Jagged1;Notch1;NF- κ B

原位肝移植是治疗晚期肝病的有效方法,但免疫排斥是肝移植后的关键障碍^[1-2]。尽管在肝移植患者中广泛应用免疫抑制剂能明显改善预后,但潜在的严重不良反应和急性排斥反应的发生仍然是肝移植患者生活质量低的主要因素^[3]。

Notch 通路在肝脏发挥免疫耐受功能中是必不可少的^[3-5]。Notch 在多种细胞类型的多个阶段中起着至关重要的作用,包括免疫细胞。哺乳动物家族中的 Notch 蛋白包括 4 种受体(Notch1~4)和一组包含 Jagged(Jag1、2)、Delta 样成员(DLL1、3 和 4)的配体^[6-7]。Notch 受体和配体是跨膜蛋白和细胞外结构域所需的细胞外结构域,这是紧密配体、受体相互作用的结果。这种细胞间相互作用导致受体的切割序列由蛋白酶介导,导致 Notch 细胞内结构域(NICD)释放到细胞核中^[8-9]。

大量实验证明^[7,10-11],阻断 Notch1/Jagged1 通路可以加强肝脏疾病的炎性反应。在 Jagged1 与 Notch1 受体结合后,带切口的 NICD 可以被释放并转移到细胞核中,并且可以诱导靶基因的激活,分裂 Hairy 和 split-1 的增强子(Hes1),进而调节下游炎症因子的表达。这些效应与 Notch1/Jagged1 通路效应一致^[12]。本研究探讨阻断肝脏 Notch1/Jagged1 通路对大鼠肝移植急性排斥反应的影响。

1 材料与方法

1.1 动物及主要试剂

雄性 Lewis 大鼠 60 只,BN 大鼠 60 只,5~6 周龄,体重 180~220 g,由重庆医科大学动物中心提供。

Jagged1、Notch1、P65、p-P65、GAPDH、白细胞介素(IL)-1、IL-6 抗体均购自英国 Abcam 公司;PTEN、AKT、p-AKT、JNK、p-JNK、cleaved-caspase3 抗体均购自美国 CST 公司;RNeasy 96 试剂盒,PCR 试剂盒购自德国 DBI 公司;逆转录试剂盒、SYBR Green PCR Master MIXPCR 试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司;含有针对 SHRNA-SHMT2 的纯化滴度为 1×10^{12} PFU 的慢病毒购自汉恒生物有限公司;TUNEL 检测试剂盒购自罗氏公司。PCR 基因引物

序列由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,见表 1。

表 1 PCR 引物		
基因	引物序列 (5'-3')	产物长度 (bp)
Jagged1		
上游引物	TGAGGACTACGAGGGCAAGA	20
下游引物	GCACCCCTTCAGGAGTATCG	20
Notch1		
上游引物	CAATGGCACAGGGGCTATGA	20
下游引物	TTAGCGGGTTGTACTGGCTG	20
β -actin		
上游引物	GCTCTGGCTCCTAGCACCAT	20
下游引物	GCCACCGATCCACACAGAGT	20

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立及分组

建立大鼠肝移植急性排斥反应模型。供体手术:将大鼠进行腹腔麻醉,麻醉后将大鼠固定在消毒后的手术台上,在手术区消毒处理。沿腹白线切开,术中避免肠管损伤。开腹后寻找剑突标志物并将其外翻,止血钳固定皮肤,以彻底暴露手术视野。无菌湿棉签将肠管轻刨至腹腔外。剥离胆总管,胆总管支架插入胆总管内,进一步固定。微量泵将 4℃ 乳酸林格氏液灌注至肝脏。灌注液从下腔静脉流出,待肝脏变为黄色,取下供肝。整修供肝后放入 4℃ 冰箱保存备用。

受体手术:乙醚吸入麻醉大鼠,将四肢固定于自制的手术台上,消毒处理。开腹后游离肝脏结扎门静脉,注入生理盐水,将肝脏里的血液推进全身以保证大鼠不休克,结扎下腔静脉,进入无肝期。沿肝脏上缘剪断肝上上腔静脉。剪断门静脉及肝下下腔静脉,受体取肝结束。移植供肝:11/0 缝线缝合受体肝上下腔静脉。门静脉、肝上下腔静脉套管吻合结扎固定。结束无肝期,恢复灌注后变为鲜红色。仔细检查是否渗血,胆总管套管套入受体并结扎固定。温热生理盐水冲洗腹腔,帮助复温,关腹^[13-14]。

将大鼠肝移植急性排斥模型分为 4 组,每组 15

对。SHAM 组:不做任何处理建立肝缺血再灌注模型;NS 组:肝缺血再灌注术前 14 d 尾静脉注射 100 μL 的生理盐水作为对照;shRNA-Jagged1 组:肝缺血再灌注术前 14 d 尾静脉注射 100 μL 1×10^{12} PFU 慢病毒;shRNA-GFP 组:肝缺血再灌注术前 14 d 尾静脉注射 100 μL 1×10^{12} PFU 空载慢病毒。

1.2.2 肝功能检测

各组大鼠取血 800 μL , 1 200 $\times$ g 离心 10 min, 分离上层血清, 检测丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBiL)水平。

1.2.3 PCR 检测肝组织 Jagged1、Notch1 mRNA 表达

采用 RNeasy 96 试剂盒分别提取各组肝组织的总 RNA, 反转录制备 cDNA, 按照说明书步骤操作。取样本 cDNA, 加入 SYBR Green I 进行定量 PCR。反应条件:预变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s 循环 40 次。

1.2.4 Western blot 检测 Jagged1、Notch1、p-JNK、cleaved-caspase3 等蛋白表达

将收集的各组大鼠肝组织剪碎, 加入 RIPA 裂解液裂解组织, 匀浆器研磨。按照碧云天蛋白质提取说明书提取总蛋白。将提取好的各组蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)2 h, 转膜 2 h, 封闭 1 h 后加入一抗过夜, 24 h 后 TBST 洗涤 3 次, 加入对应的二抗常温孵育 1 h。TBST 洗涤 3 次, 加入显影液拍照。

1.2.5 免疫荧光检测

取标本冰冻切片, PBS 洗片 5 min $\times$ 3 次。消除非特异性背景染色:滴加正常山羊血清封闭液(PBS 稀释)室温封闭 20 min 后甩去液体, PBS 洗片 5 min $\times$ 3 次。滴加一抗于 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下过夜, 37 $^{\circ}\text{C}$ 复温 30 min 或 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h, PBS 洗片 5 min $\times$ 3 次。滴加荧光素标记的二抗 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 60 min。PBS 洗片 5 min $\times$ 3 次。抗荧光淬灭剂封片, 镜检。

1.2.6 TUNEL 法检测肝细胞凋亡水平

新制备的 4% 多聚甲醛溶液固定, 室温 30 min。细胞的通透:PBS 洗片, 与通透液在冰浴中孵育 2 min。标记:PBS 冲洗 2 次, 滴加 50 μL 的 TUNEL 反应混合溶液, 在湿盒中 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 60 min。PBS 冲洗 3 次。信号转化和分析:加入 50 μL 转化剂 POD, 在湿盒中 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min。PBS 冲洗 3 次, 加入 50~100 μL DAB 底物溶液, 室温孵育 10 min, PBS 冲洗 3 次。封片, 在荧光镜下分析结果。在显微镜下, 观察各组细胞核染色的情况, 以细胞核呈棕色为 TUNEL 阳性细胞, 统计高倍镜下阳性细胞数, 评估各组肝细胞凋亡水平。

1.2.7 ELISA 检测 IL-1、IL-6、IL-10、转化生长因子(TGF)- β 水平

根据试剂盒产品说明检测肝匀浆或上清液中炎症细胞因子的水平。0.05 mol/L pH 9 的碳酸盐包被缓冲液将抗体稀释至蛋白质含量为 1~10 $\mu\text{g/mL}$ 。在每个聚苯乙烯板的反应孔中加 0.1 mL, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。次日, 弃去孔内溶液, PBS 洗 3 min $\times$ 3 次。加一定稀释的待检样品 0.1 mL 于上述已包被的反应孔中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h, 洗涤。各反应孔中加入新鲜稀释的酶标抗体 0.1 mL。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 0.5~1.0 h, 洗涤。加入临时配制的 TMB 底物溶液 0.1 mL, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10~30 min。加入 2 mol/L 硫酸 0.05 mL。于 450 nm 处以空白对照孔调零后检测各孔吸光度(A)值, 若大于规定的阴性对照 A 值的 2.1 倍, 即为阳性。

1.2.8 肝组织病理检查

取移植肝组织放入 10% 中性甲醛中固定, 常规脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 3 μm 厚切片, 脱蜡、脱水, HE 染色, 100 倍光学显微镜观察肝组织病变情况; 根据 Banff 等制订的急性排斥反应标准进行病理分级。

1.3 统计学处理

采用 SPSS20.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组比较采用 t 检验, 多组比较采用方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠肝移植后 Notch1、Jagged1 的表达变化

Western blot 检测显示, 在肝缺血再灌注后 Notch1、Jagged1 的蛋白表达明显升高, 并在 24 h 达到最大值($P < 0.05$), 见图 1A~C。在同一时段采用 PCR 检测也发现 Notch1、Jagged1 mRNA 表达的升高趋势与 Western blot 检测结果一致, 见图 1D、E。由于在 24 h 时升高最明显, 在后续实验中采用缺血再灌注 24 h 为实验时间点。

2.2 慢病毒沉默 Jagged1 后蛋白及 mRNA 表达变化

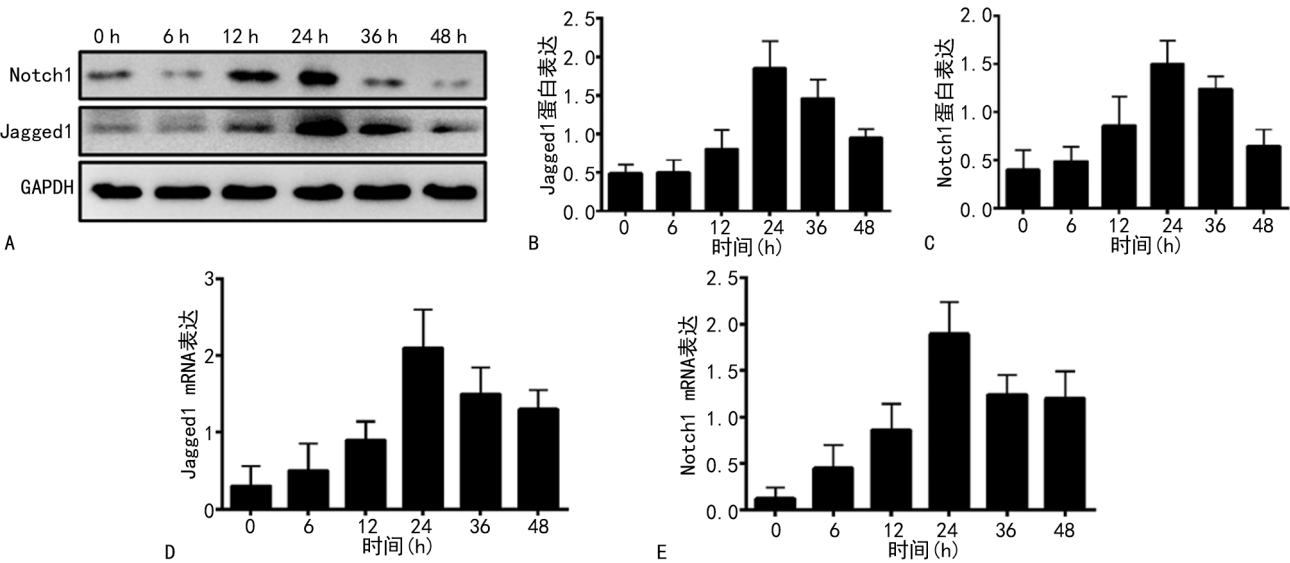
PCR、Western blot 检测发现 shRNA-Jagged1 组 Jagged1 的表达明显降低($P < 0.05$), 见图 2A~C。免疫荧光检测发现, shRNA-Jagged1 组 Jagged1 荧光表达明显降低, 慢病毒沉默 Jagged1 成功, 效果明显, 见图 2D。NS 组及 shRNA-GFP 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 各组大鼠肝移植后 24 h 肝功能水平变化

shRNA-Jagged1 组 AST、ALT、TBiL 水平明显高于 NS 组和 shRNA-GFP 组($P < 0.05$), 见图 3。NS 组及 shRNA-GFP 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

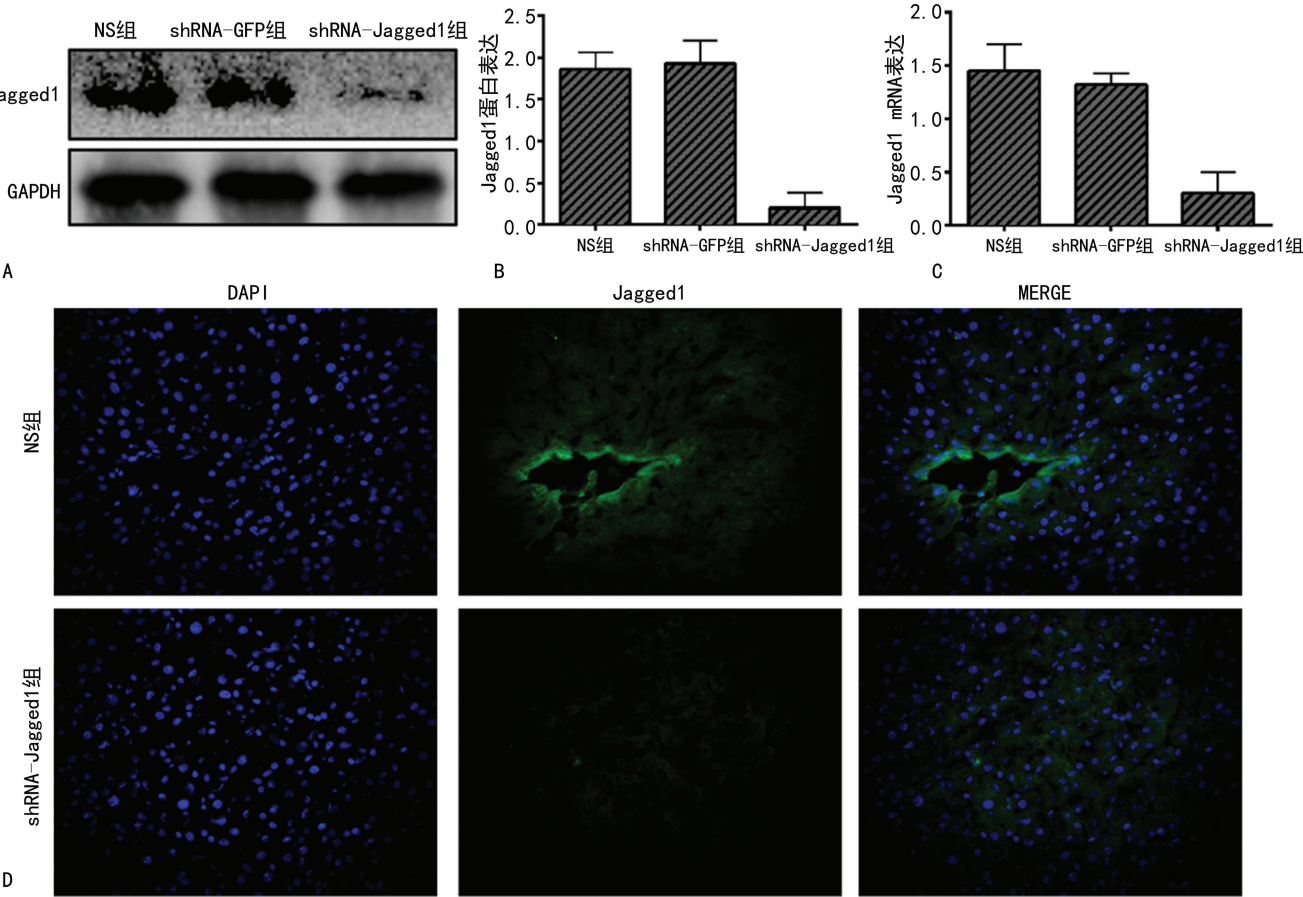
2.4 各组大鼠肝组织病理变化及排斥反应评分

光镜下观察到 shRNA-Jagged1 组出现大量肝细胞空泡样变, 结构损伤, 肝血窦堵塞等, 较 NS 组的肝脏损伤更严重, 见图 4A。shRNA-Jagged1 组的肝移植排斥反应评分明显高于 NS 组($P < 0.05$), 见图 4B。NS 组及 shRNA-GFP 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。



A~C: Western blot 检测;D,E:PCR 检测。

图 1 大鼠肝移植后 Notch1、Jagged1 的表达变化



A~C: Western blot 检测;D:免疫荧光检测($\times 100$)。

图 2 慢病毒沉默 Jagged1 后蛋白及 mRNA 表达变化

2.5 各组大鼠凋亡细胞及 p-JNK、cleaved-caspase3 表达情况

shRNA-Jagged1 组较 NS 组、shRNA-GFP 组可见更多的棕黄色染色的凋亡细胞($P<0.05$),见图 5A、B。shRNA-Jagged1 组 p-JNK、cleaved-caspase3 表达较 NS 组明显升高($P<0.05$),见图 5C、D。NS 组及 shRNA-GFP 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.6 各组大鼠血清中炎症因子水平及肝脏调解炎症的通路

shRNA-Jagged1 组 IL-1、IL-6 表达明显高于 NS 组,IL-10、TGF- β 明显低于 NS 组,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 6A~D。与 NS 组比较,shRNA-Jagged1 组中 PTEN、p-P65 表达明显升高,p-AKT 表达明显下降,IL-6、IL-1 表达明显升高,差异有统计学意义

($P<0.05$),见图 6E、F。NS 组及 shRNA-GFP 组比较 差异无统计学意义($P>0.05$)。

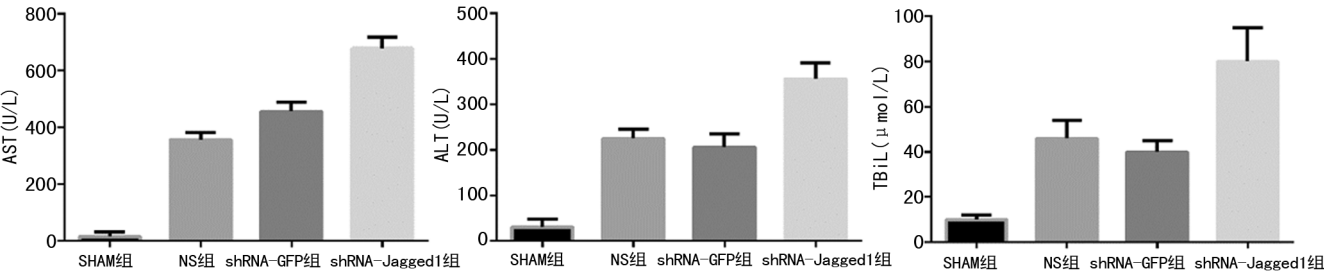
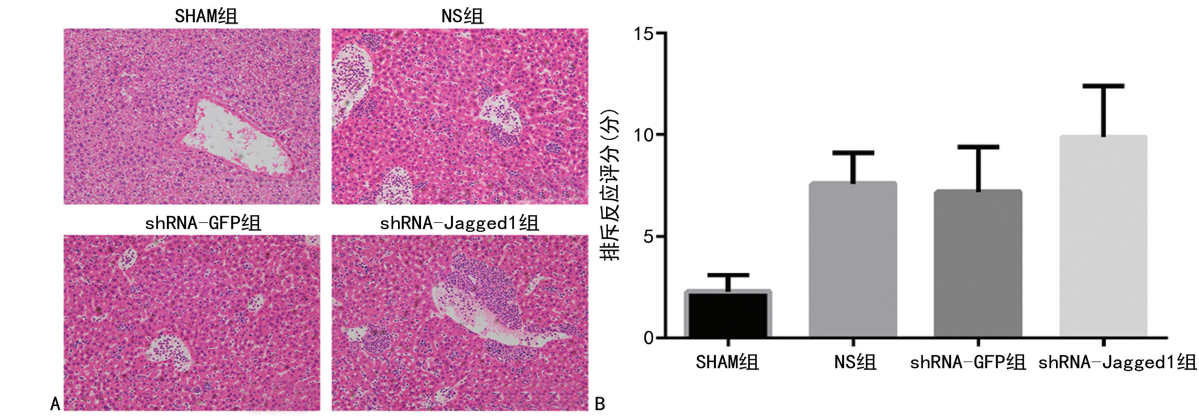
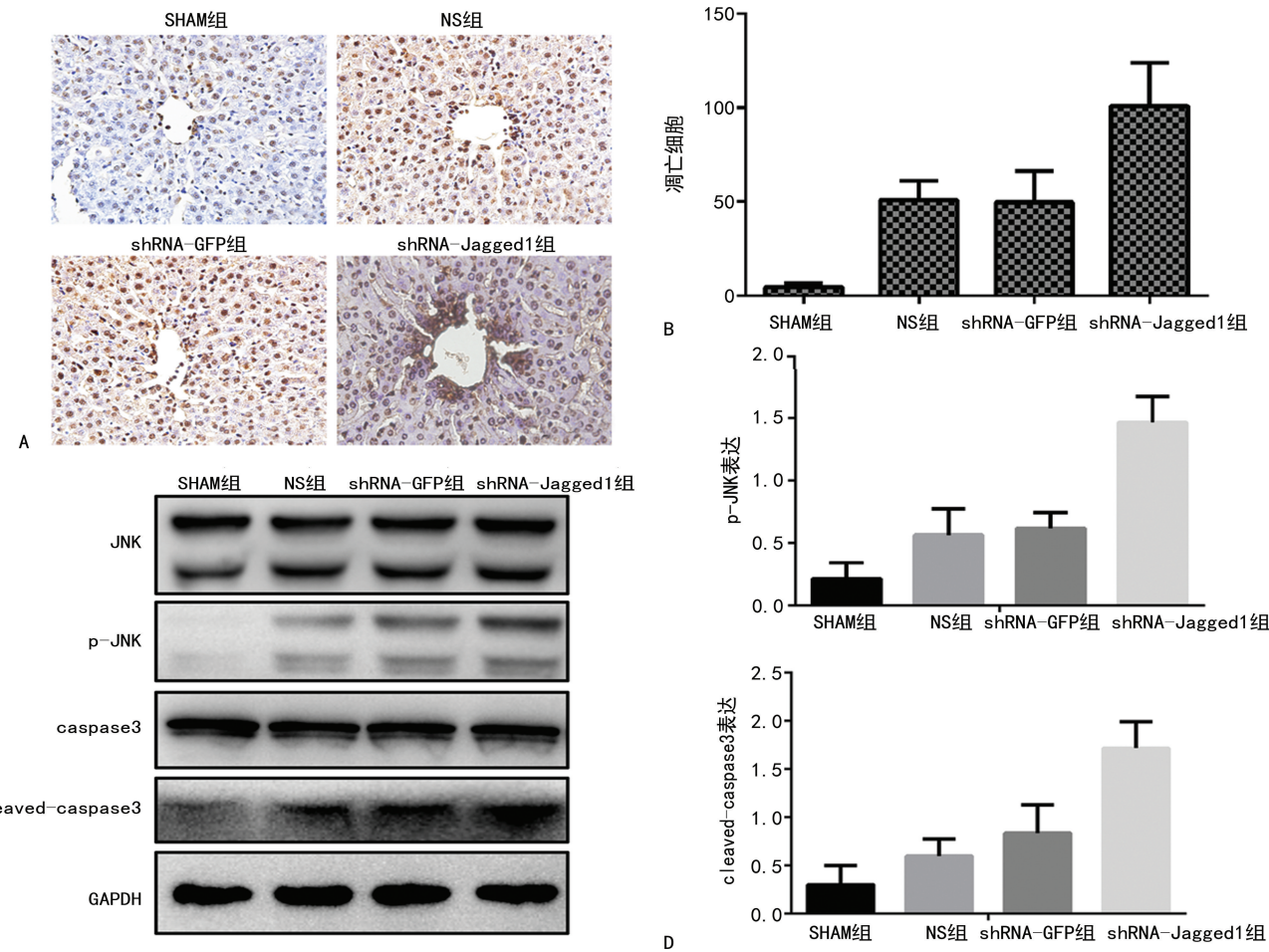


图 3 各组大鼠肝移植后 24 h 肝功能水平变化



A: HE 染色(×100);B:排斥反应评分。

图 4 各组肝组织病理变化及排斥反应评分



A、B: TUNEL 法检测(×200);C、D: Western blot 检测。

图 5 各组大鼠凋亡细胞及 p-JNK、cleaved-caspase3 表达情况

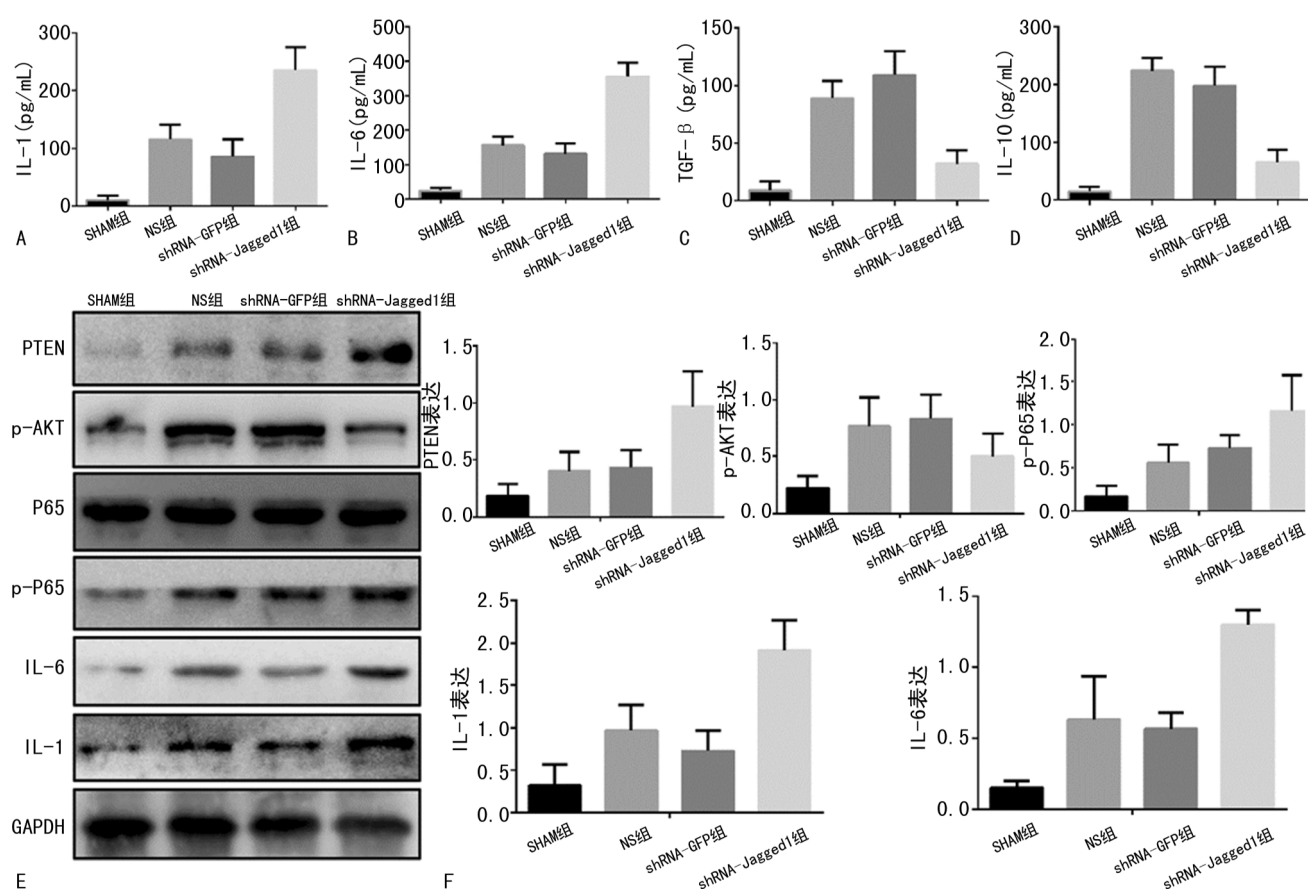


图 6 各组大鼠血清中炎症因子水平及肝脏调解炎症的通路

3 讨 论

Notch 通路在进化上是相对保守的,并且在组织的发育和更新期间调节许多细胞活性中起关键作用^[15-16]。NICD 通过 CSL 依赖性和独立通路调节其下游靶基因^[17]。Notch1/Jagged1 通路已被确认在干细胞中发挥重要作用。

肝移植排斥导致的炎症可归因于肝脏内各种细胞产生的先天免疫应答,本研究结果显示,肝移植排斥反应发生时 Notch1、Jagged1 的表达增加。有文献报道,Notch1/Jagged1 通路的机制可能参与免疫通路的激活^[18-19]。Notch1/Jagged1 通路已被证明是控制免疫细胞发育和功能的重要调节因子^[19]。PTEN 负调节磷酸钙-3,4,5-三磷酸钙的细胞内水平,并通过负调节 AKT/PKT 通路激活肿瘤抑制因子^[20]。在大鼠急性肝移植排斥期间,巨噬细胞介导的 PTEN 已被证明可调节急性炎症反应和内毒素致死率。在肝移植排斥反应发生后,shRNA-Jagged1 组中抑制 p-AKT 活化的 PTEN 增加。PTEN 还可以通过先天免疫细胞主动释放和促进 KCs 的先天免疫反应,提示其作为内源性风险信号或警报的作用可能涉及不同的受体,包括 TLR2、TLR4 和高级糖基化终产物,这触发了一系列炎症反应^[21-22]。核因子(NF)-κB 家族中的蛋白质充当转录因子并在炎症调节过程中起关键作用。

通过 p-AKT 的减少,shRNA-Jagged1 组中的 TLR4 明显活化。TLR 通路通过髓样分化初级应答 88-或含有 toll-interleukin 受体结构域的衔接子诱导 IFN-β 依赖性通路促进先天免疫应答的激活,这些通路有助于下游 NF-κB 活化和随后的炎症反应。本研究显示,阻断肝脏中 Notch1/Jagged1 通路增加了 P65 的磷酸化,这是 NF-κB 通路的关键蛋白^[15,23]。同时阻断 Notch1/Jagged1 通路可激活 NF-κB 通路,加重肝移植急性排斥反应诱导的炎症反应,其具体表现为 shRNA-Jagged1 组中促炎因子 IL-1、IL-6 表达明显高于 NS 组。本研究还发现,肝移植急性排斥反应上调肝脏中 Notch1、Jagged1 表达,阻断 Notch1/Jagged1 通路通过 PTEN/AKT/TLR4 轴导致 TLR4 激活增强,直接引起肝脏内炎症因子的增加。HE 染色和肝功能检测结果进一步证明 Notch1/Jagged1 通路的阻断或 KCs 的加重,破坏了肝脏结构组织和肝功能。提示阻断 Notch1/Jagged1 通路可能通过 PTEN/AKT/TLR4 对肝移植急性排斥反应发挥重要作用。

细胞凋亡已被证明在肝移植急性排斥反应的发病机制中起着重要作用^[24-25]。JNK 对于 caspase3 介导的细胞凋亡至关重要,有研究证实通过 TLR4/JNK/NF-κB 通路可以响应肝移植的急性排斥反应^[26]。本研究发现,shRNA-Jagged1 抑制 Jagged1 表

达阻断 Notch1/Jagged1 通路,可以促进 JNK 信号激活,从而介导凋亡的产生。提示 Notch1/Jagged1 通路在其介导的免疫调节中控制 JNK 活化。同时 shRNA-Jagged1 对 Notch1/Jagged1 通路的阻断增加了 JNK 的磷酸化,并增加了肝移植急性排斥反应中裂解的 caspase3。TUNEL 实验为肝移植急性排斥反应中凋亡细胞的明显增加提供了进一步的证据。

本实验研究证明了 Notch1/Jagged1 通路可能通过 PTEN/AKT/TLR4 轴在肝移植急性排斥反应中发挥着重要作用。阻断 Notch1/Jagged1 通路增加了 p-JNK 和 cleaved-caspase3 表达,促进肝细胞凋亡,进一步加重了肝移植急性排斥反应。因此,调节 Notch1/Jagged1 通路的治疗可能是治疗急性排斥反应并改善接受肝同种异体移植物的大鼠存活率的有效策略。

参考文献

- [1] ZHAI Y, PETROWSKY H, HONG J C, et al. Ischaemia-reperfusion injury in liver transplantation—from bench to bedside[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013, 10(2): 79-89.
- [2] PENTON A L, LEONARD L D, SPINNER N B. Notch signaling in human development and disease [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2012, 23(4): 450-457.
- [3] WANG M, YUAN F, BAI H, et al. SHMT2 promotes liver regeneration through Glycine-activated Akt/mTOR pathway[J]. *Transplantation*, 2019, 103(7): e188-197.
- [4] CAPACCIONE K M, PINE S R. The Notch signaling pathway as a mediator of tumor survival[J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(7): 1420-1430.
- [5] LU L, YUE S, JIANG L, et al. Myeloid Notch1 deficiency activates the RhoA/ROCK pathway and aggravates hepatocellular damage in mouse ischemic livers[J]. *Hepatology*, 2018, 67(3): 1041-1055.
- [6] XU L, GU L, TAO X, et al. Effect of dioscin on promoting liver regeneration via activating Notch1/Jagged1 signal pathway[J]. *Phytomedicine*, 2018, 38: 107-117.
- [7] JIANG L, KE M, YUE S, et al. Blockade of Notch signaling promotes acetaminophen-induced liver injury[J]. *Immunol Res*, 2017, 65(3): 739-749.
- [8] LI X, JIN Q, YAO Q, et al. The flavonoid quercetin ameliorates liver inflammation and fibrosis by regulating hepatic macrophages activation and polarization in mice[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 72.
- [9] ROMERA L M D, KAIHAMI G H, JANNUZZI G P, et al. The critical role of Notch1-TLR4 signaling in the inflammatory and fungicidal activity of macrophages against *paracoccidioides brasiliensis* strain Pb18 [J]. *Mycopathologia*, 2017, 182(9/10): 797-807.
- [10] YIN Q, WANG W, CUI G, et al. Potential role of the Jagged1/Notch1 signaling pathway in the endothelial-myofibroblast transition during BLM-induced pulmonary fibrosis [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(3): 2451-2463.
- [11] PAGIE S, GERARD N, CHARREAU B. Notch signaling triggered via the ligand DLL4 impedes M2 macrophage differentiation and promotes their apoptosis[J]. *Cell Commun Signal*, 2018, 16(1): 4.
- [12] SINGLA D K, WANG J, SINGLA R. Primary human monocytes differentiate into M2 macrophages and involve Notch-1 pathway[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2017, 95(3): 288-294.
- [13] ZHAO Z, PAN G, TANG C, et al. IL-34 inhibits acute rejection of rat liver transplantation by inducing kupffer cell M2 polarization [J]. *Transplantation*, 2018, 102(6): e265-274.
- [14] YOKOTA S, YOSHIDA O, ONO Y, et al. Liver transplantation in the mouse: insights into liver immunobiology, tissue injury, and allograft tolerance[J]. *Liver Transpl*, 2016, 22(4): 536-546.
- [15] JI J F, JIAO W Z, CHENG Y, et al. ShenFu preparation protects AML12 cells against palmitic acid-induced injury through inhibition of both JNK/Nox4 and JNK/NFkappaB pathways[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45(4): 1617-1630.
- [16] KAGEYAMA S, NAKAMURA K, KE B, et al. Serelaxin induces Notch1 signaling and alleviates hepatocellular damage in orthotopic liver transplantation[J]. *Am J Transplant*, 2018, 18(7): 1755-1763.
- [17] KIMBALL A S, JOSHI A D, BONIAKOWSKI A E, et al. Notch regulates (下转第 1992 页)

- simplex encephalitis [J]. *Praxis (Bern 1994)*, 2012,101(22):1437-1440.
- [5] LI L J, ZHANG S J, LIU P, et al. Corilagin interferes with toll-like receptor 3-mediated immune response in herpes simplex encephalitis [J]. *Front Mol Neurosci*, 2019, 12:83.
 - [6] LIU H, CHEN K, FENG W, et al. TLR4-MyD88/Mal-NF- κ B axis is involved in infection of HSV-2 in human cervical epithelial cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e80327.
 - [7] 王永霞, 胡海岩, 杨文, 等. 红树林淡紫拟青霉 EPS 提取物体外抗 HSV-1 机制研究 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2017, 12(1):5-9.
 - [8] 梅自洁. a7-nAChR 激动剂 GTS-21 对小鼠放射性肺损伤的保护作用及机制研究 [D]. 武汉: 武汉大学, 2015.
 - [9] KUMAR D, SINGLA S K, PURI V, et al. The restrained expression of NF- κ B in renal tissue ameliorates folic acid induced acute kidney injury in mice [J]. *PLoS One*, 2015, 10(1):1-23.
 - [10] LOKENSGARD J R, HU S, SHENG W, et al. Robust expression of TNF- α , IL-1, RANTES, and IP-10 by human microglial cells during nonproductive infection with herpes simplex virus [J]. *Neurovirol*, 2001, 7(3):208-219.
 - [11] MENASRIA R, CANIVET C, PIRET J, et al. Protective role of CX3CR1 signalling in resident cells of the central nervous system during experimental herpes simplex virus encephalitis [J]. *J Gen Virol*, 2017, 98(3):447-460.
 - [12] PIRET J, BOIVIN G. Innate immune response during herpes simplex virus encephalitis and development of immunomodulatory strategies [J]. *Rev Med Virol*, 2015, 25(5):300-319.
 - [13] LIU W, FAN Z, HAN Y, et al. Activation of NF- κ B signaling pathway in HSV-1-induced mouse facial palsy: possible relation to therapeutic effect of glucocorticoids [J]. *Neuroscience*, 2015, 289:251-261.
 - [14] ZHENG S Q, LI Y X, ZHANG Y, et al. MiR-101 regulates HSV-1 replication by targeting ATP5B [J]. *Antiviral Res*, 2011, 89:219-226.
-
- (收稿日期:2020-08-28 修回日期:2021-02-16)
- (上接第 1987 页)
- macrophage-mediated inflammation in diabetic wound healing [J]. *Front Immunol*, 2017, 8:635.
- [18] ZHENG S, ZHANG P, CHEN Y, et al. Inhibition of Notch signaling attenuates schistosomiasis hepatic fibrosis via blocking macrophage M2 polarization [J]. *PLoS One*, 2016, 11(11):e0166808.
 - [19] ROCCA C, FEMMINO S, AQUILA G, et al. Notch1 mediates preconditioning protection induced by GPER in normotensive and hypertensive female rat hearts [J]. *Front Physiol*, 2018, 9:521.
 - [20] KASPER I R, APOSTOLIDIS S A, SHARABI A, et al. Empowering regulatory T cells in autoimmunity [J]. *Trends Mol Med*, 2016, 22(9):784-797.
 - [21] TIEN Y C, LIN J Y, LAI C H, et al. *Carthamus tinctorius* L. prevents LPS-induced TNF α signaling activation and cell apoptosis through JNK1/2-NF κ B pathway inhibition in H9c2 cardiomyoblast cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 130(3):505-513.
 - [22] WANG P, SHU B, XU Y, et al. Basic fibroblast growth factor reduces scar by inhibiting the differentiation of epidermal stem cells to myofibroblasts via the Notch1/Jagged1 pathway [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1):114.
 - [23] SUN W, ZHANG H, WANG H, et al. Targeting Notch-Activated M1 macrophages attenuates joint tissue damage in a mouse model of inflammatory arthritis [J]. *J Bone Miner Res*, 2017, 32(7):1469-1480.
 - [24] ZEKE A, MISHEVA M, REMENYI A, et al. JNK signaling: regulation and functions based on complex protein-protein partnerships [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2016, 80(3):793-835.
 - [25] SOLINAS G, BECATTINI B. JNK at the crossroad of obesity, insulin resistance, and cell stress response [J]. *Mol Metab*, 2017, 6(2):174-184.
 - [26] WU Q, WU W, FU B, et al. JNK signaling in cancer cell survival [J]. *Med Res Rev*, 2019, 39(6):2082-2104.
- (收稿日期:2020-09-18 修回日期:2021-03-02)