

靶向重组信号结合蛋白-J κ 干扰腺病毒对四氯化碳诱导大鼠肝纤维化影响的体内研究

卜延志¹, 张启迪², 郑园¹, 傅承宏², 李永刚³, 袁从飞¹, 王万鹏³ (1.江苏涟水县人民医院 普外科, 江苏 淮安 223400; 2.上海交通大学医学院附属上海市第一人民医院 消化科, 上海 200080; 3.江苏涟水县人民医院 肾脏科, 江苏 淮安 223400)

摘要: 目的 通过体内实验探讨重组信号结合蛋白-J κ (recombination signal binding protein for immunoglobulin kappa J region, RBPJ κ) 在四氯化碳 (CCl₄) 诱导的大鼠肝纤维化发生发展中的作用。方法 选取雄性SD大鼠40只为研究对象, 以40% CCl₄腹腔注射法制备SD大鼠肝纤维化模型。将大鼠随机分为正常对照组、肝纤维化模型组、腺病毒空载体组 (治疗对照组) 和RBPJ κ 干扰腺病毒 (AdshRBPJ κ) 干预组 (治疗组), 每组各10只。采用苏木精-伊红 (HE) 染色、Masson染色和天狼猩红染色观察细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 含量; 采用碱水解法测定大鼠肝组织羟脯氨酸含量; 采用qPCR、Western blot和免疫组织化学法检测大鼠肝组织 α -SMA、I型胶原、TGF- β 1、RBPJ κ 及其靶基因Hey2、HeyL和上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 指标[蜗牛家族转录抑制因子1 (snail family transcriptional repressor 1, Snail 1)、波形蛋白和E-钙连接素]的表达。结果 ①与正常对照组相比, HE染色、Masson染色和天狼猩红染色示模型组大鼠肝细胞明显肿胀、变性, 肝小叶结构被破坏, 纤维组织增生明显; 模型组大鼠肝内羟脯氨酸含量显著高于正常对照组[$(99.35 \pm 8.12) \mu\text{g}/\text{mg}$ vs $(285.12 \pm 12.32) \mu\text{g}/\text{mg}$, $t = 38.193$, $P < 0.001$]。②RT-PCR、Western blot及免疫组织化学结果显示, 模型组大鼠RBPJ κ 靶基因Hey2、HeyL、胶原相关基因 (α -SMA、I型胶原、TGF- β 1) 以及EMT相关基因Snail 1和波形蛋白转录及翻译水平的表达均显著增加 (P 均 < 0.05), 但E-钙连接素表达水平降低 ($P < 0.05$)。③与治疗对照组相比, AdshRBPJ κ (治疗组) 可改善大鼠肝纤维化程度, 降低羟脯氨酸含量[$(193.52 \pm 13.12) \mu\text{g}/\text{mg}$ vs $(279.85 \pm 8.32) \mu\text{g}/\text{mg}$, $t = 15.92$, $P < 0.001$]。④RT-PCR、Western blot及免疫组织化学结果显示, 与治疗对照组相比, 抑制肝RBPJ κ 表达 (治疗组) 不仅可降低RBPJ κ 及其靶基因Hey2、HeyL的表达水平, 也可降低纤维化指标 (α -SMA、I型胶原、TGF- β 1) 及EMT相关基因 (Snail 1、波形蛋白) 的表达水平, 同时还可上调E-钙连接素的表达 ($P < 0.05$)。结论 高表达的RBPJ κ 可能参与了肝纤维化的形成过程, 抑制RBPJ κ 可能为肝纤维化的防治提供新方向。

关键词: 肝纤维化; 重组信号结合蛋白-J κ ; Notch信号; 上皮间质转分化

Effects of adenovirus-targeting recombination signal binding protein for immunoglobulin-J κ on liver fibrosis of rats induced by carbon tetrachloride in vivo

BU Yan-zhi¹, ZHANG Qi-di², ZHENG Yuan¹, FU Cheng-hong², LI Yong-gang³, YUAN Cong-fei¹, WANG Wan-peng³ (1. Department of General Surgery, Lianshui People's Hospital, Huai'an 225400, Jiangsu Province, China; 2. Department of Gastroenterology, Shanghai First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China). 3. Department of Nephrology, Lianshui People's Hospital, Huai'an 225400, Jiangsu Province, China;).

Abstract: Objective To investigate the role of recombination signal binding protein-J κ (RBPJ κ) on the progression of liver fibrosis of rats induced by carbon tetrachloride (CCl₄) in vivo. **Methods** Total of 40

male SD rats were selected and the models of experimental liver fibrosis were established by intraperitoneal injection of 40% CCl₄. The rats were randomly divided into four groups (10 rats in each group): normal control group, liver fibrosis model group, adenoviral mock-vehicle group (treatment control group) and adenoviral RBPJk-shRNA vehicle (AdshRBPJk) intervention group (treatment group). HE staining, Masson's trichrome staining and sirius red staining were carried out to detect the content of extracellular matrix. The liver samples were subjected to hydrolysis to determine the amount of hydroxyproline. qPCR, Western blot and immunohistochemistry were carried out to detect the expression of RBPJk and the target gene-Hey 2 and Hey L, the fibrosis indexes (α -SMA, collagen I, TGF- β 1) and the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) indexes (Snail 1, vimentin, E-cadherin). **Results** ①HE staining, Masson's trichrome staining and sirius red staining showed that the degree of fibrosis and liver cell degeneration or necrosis increased, while the hydroxyproline content decreased [(99.35 \pm 8.12) μ g/mg vs (285.12 \pm 12.32) μ g/mg; $t = 38.193$, $P < 0.001$] in the liver fibrosis model group compared with the normal control group. ②qPCR, Western blot and immunohistochemistry showed that the expression of RBPJk, Hey2, HeyL, the fibrosis related genes (α -SMA, collagen I, TGF- β 1) and EMT related genes (Snail 1, Vimentin) increased, while the expression of E-cadherin decreased in the liver fibrosis model group ($P < 0.05$). ③Compared with adenoviral mock-vehicle group, AdshRBPJk intervention (treatment group) could reduce the degree of liver fibrosis and the content of hydroxyproline [(193.52 \pm 13.12) μ g/mg vs (279.85 \pm 8.32) μ g/mg, $t = 15.92$, $P < 0.001$]. ④RT-PCR, Western blot and immunohistochemistry showed that the inhibition of RBPJk expression in liver could increase the expression of RBPJk, Hey2, HeyL, the fibrosis related genes (α -SMA, collagen I, TGF- β 1) and EMT related genes (Snail 1, Vimentin) increased and the expression of E-cadherin decreased ($P < 0.05$) compared with adenoviral mock-vehicle group. **Conclusions** The up-regulation of RBPJk expression in liver may participate in the progression of liver fibrosis induced by carbon tetrachloride. The interruption of RBPJk might be a novel strategy in liver fibrosis.

Key words: Liver fibrosis; Recombination signal binding protein-Jk; Notch pathway; Epithelial-to-mesenchymal transition

肝纤维化是慢性肝病进展不可分割的一部分, 最终可导致肝硬化和肝细胞癌^[1,2]。研究显示Notch信号转导通路的激活在多种器官纤维化疾病中发挥重要作用^[3,4], 而重组信号结合蛋白Jk (recombination signal binding protein-Jk, RBPJk) 在该通路的激活中起关键作用^[4], 因此理论上抑制RBPJk有利于改善疾病状态下的器官纤维化^[5]。本研究将探讨腺病毒介导的shRNA下调RBPJk表达对四氯化碳(CCl₄)诱导的大鼠肝纤维化的影响, 为肝纤维化治疗寻求新的靶点及方向。

1 资料与方法

1.1 实验动物 SD大鼠, 雄性, SPF级, 体质量150~200 g, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供, 大鼠自由饮食、饮水, 饲养环境湿度为30%~70%, 温度为18~26℃、光照与黑暗各12个小时。

1.2 实验试剂 携带靶向RBPJk的短发卡状RNA的腺病毒(AdshRBPJk)及空病毒载体(AdNC)由上海和元生物技术有限公司协助构建并测量滴度, 干扰序列: 正向序列为5'-TGCTGTCAACTGGAGACTTTCTACGAGTTTTGGCCACTGACTGACTCGTAGAAT

CTCCAGTTGA-3'; 反向序列为5'-CCTGTCAACTG GAGATTCTACGAGTCAGTCAGTGGCCAAAACCTC GTAGAAAGTCTCCAGTTGAC-3'。 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)抗体、Hes相关家族转录因子L(hes related family bHLH transcription factor with YRPW motif-like, Hey L), E-钙连接素、I型胶原(collegen I)、蜗牛家族转录抑制因子1(snail family transcriptional repressor 1, Snail 1)、波形蛋白、GAPDH购于美国Abcam公司, RBPJk抗体购于美国Santa Cruz公司, Hey 2抗体购于美国Sigma公司; ECL化学发光试剂盒购自PIERCE公司。羟脯氨酸检测试剂盒、天狼猩红染色试剂盒、Masson染色试剂盒购于南京建成生物工程研究所。RNA抽提试剂盒、逆转录试剂盒、SYBR Green PCR试剂盒购于宝生物工程有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 大鼠CCl₄肝损伤纤维化模型的建立及干预 所有大鼠随机分为4组, 每组10只: ①正常对照组大鼠给予橄榄油腹腔注射(0.2 ml / 100 g, 首次剂量加倍), 每周2次; ②模型组大鼠给予40%

CCl₄腹腔注射(0.2 ml / 100 g, 首次加倍), 每周2次; ③治疗对照组大鼠于造模第6周末尾静脉注射AdNC 3 × 10⁹ pfu/只(30 μl腺病毒浓缩液+ 940 μl PBS); ④治疗组大鼠于造模第6周末尾静脉注射AdshRBPJκ 3 × 10⁹ pfu/只(30 μl腺病毒浓缩液+ 940 μl PBS)。4组大鼠均于造模的第8周末处死。迅速取出大鼠肝脏, 于10%中性甲醛溶液内固定。

1.3.2 染色方法 肝组织于10%中性福尔马林固定24小时以上, 乙醇梯度脱水, 4 μm切片备用。①苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色: 苏木精染色5分钟, 盐酸乙醇分化液分化10秒, 伊红染色2分钟, 脱水, 封片; ②Masson染色: Masson复合染液染色5分钟, 磷钼酸染色5分钟, 苯胺蓝染色5分钟; ③天狼猩红染色: 天狼猩红-苦味酸染色1小时, 分化、脱水、透明、封片; ④免疫组织化学染色: 脱蜡, 3% H₂O₂室温10分钟, 柠檬酸缓冲液100 °C水浴锅修复30分钟, 20%山羊血清室温封闭60分钟, 一抗孵育4 °C过夜, 二抗室温孵育30分钟, DAB显色, 苏木素复染, 盐酸乙醇分化液分化, 1%氨水反蓝, 封片。根据阳性染色范围, 将免疫组化图片用图像分析仪行半定量分析, 每张切片扫描4个视野, 用图像分析系统测量阳性染色面积并自动计算其与总面积的百分比。

1.3.3 肝组织羟脯氨酸检测 按照试剂盒说明书使用碱水解法, 根据吸光度计算肝组织羟脯氨酸含量。

1.3.4 实时定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR): 使用TaKaRa MiniBEST通用RNA提取试剂盒提取总RNA, 以2 μg总RNA为模板进行反转录: 37 °C 15分钟, 85 °C 5秒。PCR体系10 μl, 引物由上海生工生物技术公司合成, 反应条件: 95 °C 30秒; 95 °C 5秒, 60 °C 30秒, 40个循环。以GADPH标准化数据, 根据所得Ct值采用2^{-ΔΔCt}相对定量法分别计算目的基因的相对表达量。每个样本做3复孔, 取平均值根据试剂盒步骤操作, 所用引物均为上海生工生物技术公司合成。引物序列见表1。

1.3.5 蛋白免疫印迹杂交(Western blot) 弃去培养基, PBS漂洗, 加入裂解液并刮取所有细胞, 室温离心13000 rpm、15分钟(离心半径5 cm), 加入上样缓冲液, 变性, 以稳定电压100 V湿转2~3小时(依据蛋白分子量而定), 分别加入各种一抗, 4 °C过夜, PBST漂洗。加入HRP标记的相应二抗(1:4000), 37 °C孵育30分钟。用Super-GL ECL超敏发光液进行化学发光检测, 并对X光片曝光。经显影定影处理后, 晾干的胶片以凝胶成像分析系统拍照。

1.4 统计学处理 所有数据采用SPSS 21统计软件进

行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠肝纤维化时RBPJκ及其靶基因表达的变化 Western blot及RT-PCR检测发现模型组RBPJκ及靶基因Hey2、HeyL在转录水平与蛋白表达水平均显著升高; 同时, 与治疗对照组相比, AdshRBPJκ干预后的大鼠肝组织及下游基因Hey2、HeyL在转录及翻译水平表达显著降低(图1)。提示CCl₄诱导的大鼠肝损伤模型中存在RBPJκ或Notch信号转导通路的过度激活, 并可能参与肝纤维化进展, 采用AdshRBPJκ 3 × 10⁹ pfu/只尾静脉注射可有效抑制大鼠肝内RBPJκ或Notch信号转导通路的活性。

2.2 HE、Masson、天狼猩染色及羟脯氨酸含量检测结果 如图2A所示, HE染色显示正常对照组大鼠肝组织可见小叶结构完整, 无肝细胞脂肪变性或坏死、无炎症细胞浸润以及纤维组织增生, 而模型组及治疗对照组大鼠肝组织病理损伤严重, 存在肝细胞肿胀、变性, 肝小叶结构被破坏, 肝小叶周围坏死明显, 纤维组织增生并伴有假小叶形成, 而治疗组大鼠肝组织病理损伤程度较治疗对照组轻; Masson染色显示模型组大鼠细胞外基质明显增多, 而治疗组与治疗对照组相比, 细胞外基质显著减少[(16.3 ± 2.5) % vs (5.8 ± 0.9) %, $t = 11.783$, $P < 0.001$]; 天狼猩红染色半定量分析表明正常对照组、模型组、治疗对照组及治疗组胶原纤维含量分别为(0.95 ± 0.2) %、(15.2 ± 3.3) %、(16.3 ± 2.5) %和(5.8 ± 0.9) %, 其中治疗组与治疗对照组相比, 差异具有统计学意义($t = 11.467$, $P < 0.001$)。正常对照组大鼠肝组织羟脯氨酸定量显著低于模型组[(99.35 ± 8.12) μg/mg vs (285.12 ± 12.32) μg/mg, $t = 38.193$, $P < 0.001$], 治疗组大鼠

表1 引物序列

引物名称	序列
α-SMA	正向序列: 5'-GCTCCAGCTATGTGTGAAGAGG-3'
	反向序列: 5'-CAACCATCACTCCCTGGTGTC-3'
I型胶原	正向序列: 5'-CGGAATGAAGGGACACAGA-3'
	反向序列: 5'-ACCTCTCTCACCAGGCAGAC-3'
E-钙连接素	正向序列: 5'-CTGGGGTCATCAGTGTGGTC-3'
	反向序列: 5'-CTTGACCCTGGTACGTGCTT-3'
Snail 1	正向序列: 5'-GGTTCCTGCTTGGCTCTCTT-3'
	反向序列: 5'-CAGTGGGTGGCTTTAGTTCT-3'
Hey 2	正向序列: 5'-TGACAGAAGTGGCGAGGTA-3'
	反向序列: 5'-CACAGGTGCTGAGATGAGAG-3'
Hey L	正向序列: 5'-CACAGGTGCTGAGATGAGAG-3'
	反向序列: 5'-CACAGGTGCTGAGATGAGAG-3'
GAPDH	正向序列: 5'-ATCAACGGGAAACCCATCA-3'
	反向序列: 5'-GGTGGTGAAGACGCCAGTAG-3'

肝组织羟脯氨酸定量显著低于治疗对照组[(193.52 ± 13.12) μg/mg vs (279.85 ± 8.32) μg/mg], 差异有统计学意义 ($t=15.92$, $P=0.0001$) (图2B)。

2.3 抑制RBPJκ对大鼠肝内促纤维化基因表达的影响 免疫组织化学染色示正常对照组α-SMA仅在血管壁有阳性表达, 肝实质及汇管区及管间纤维组织处均无表达, 肝纤维化模型组中, 汇管区、中央静脉及肝窦四周α-SMA阳性表达增多, 在纤维间隔内呈弥漫性分布; 正常对照组TGF-β1及Collegen I表达较少, 而肝纤维化模型组中阳性表达显著增多; 抑制大鼠内源性RBPJκ后(治疗对照组)可以显著缓解CCl₄诱导的肝内促纤维化基因的表达(图3A)。RT-PCR(图3B)与Western blot(图3C)结

果与免疫组织化学结果相同, 进一步显示: CCl₄可显著诱导大鼠肝内促纤维化基因如TGF-β1、α-SMA和I型胶原的表达($t=9.771$ 、 18.57 、 18.21 , P 均 <0.001); 而与对照组相比, 治疗组内肝促纤维化基因TGF-β1、α-SMA和I型胶原的转录及翻译水平下降($t=8.124$ 、 11.10 、 12.61 ; P 均 <0.001)。

2.4 抑制RBPJκ对于肝内促上皮-间质转分化相关基因表达的影响 免疫组织化学显示与正常对照组相比, 模型组Snail 1和波形蛋白表达显著升高, 而E-钙连接素表达显著下降; 治疗组与治疗对照组相比, Snail 1和波形蛋白表达下降, E-钙连接素表达升高(图4A)。RT-PCR(图4B)及Western blot(图4C)结果与免疫组织化学结果一致, 与治疗对照组比较,

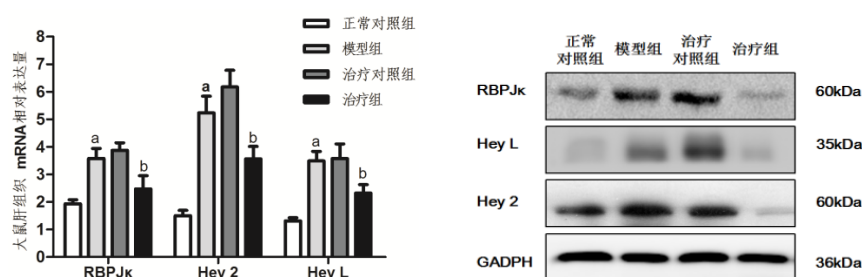


图1 CCl₄诱导的肝纤维化大鼠RBPJκ及其靶基因的表达

注: A. RT-PCR检测大鼠肝脏RBPJκ及靶基因的表达, ^a与正常对照组相比, $RBPJ\kappa t=4.959$, $P<0.001$, $Hey2 t=5.873$, $P<0.001$, $HeyL t=5.981$, $P<0.001$, ^b与治疗对照组相比, $RBPJ\kappa t=2.550$, $P=0.020$, $Hey2 t=3.438$, $P=0.003$, $HeyL t=2.208$, $P=0.040$; B. Western blot检测大鼠肝脏RBPJκ及靶基因Hey2、HeyL蛋白水平的表达

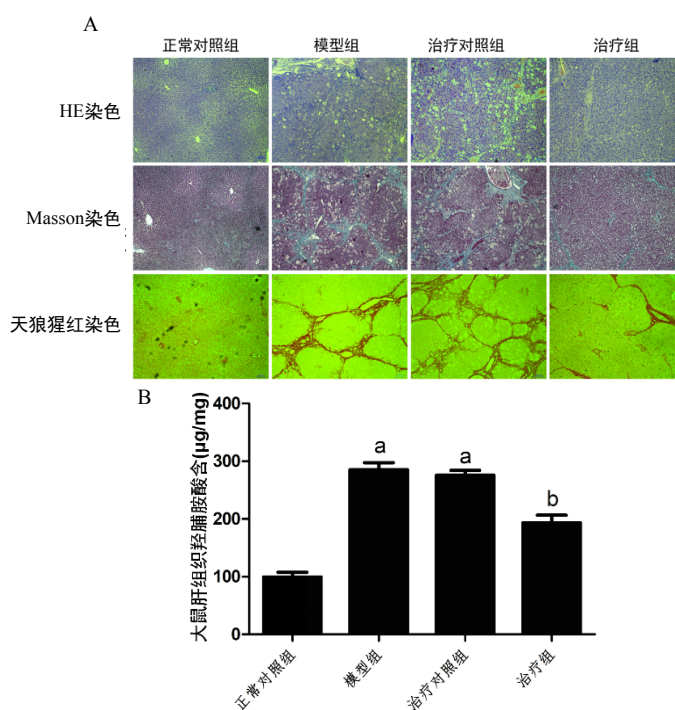


图2 AdshRBPJκ对CCl₄诱导的大鼠肝纤维化的影响

注: A. HE、Masson与天狼猩红染色($\times 100$); B. 肝脏羟脯氨酸含量的变化, 与对照组相比^a $P<0.05$; 与治疗对照组相比^b $P<0.05$ ($n=$

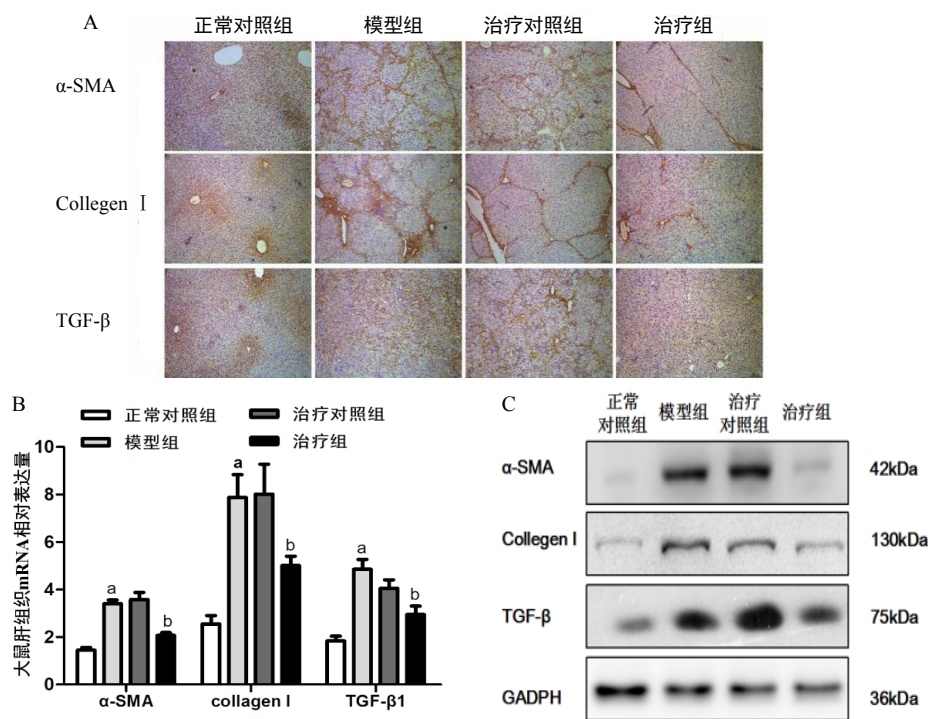


图3 抑制 RBPJκ 对于大鼠肝内促纤维化基因表达的影响

注: A. 免疫组织化学染色(×100); B. RT-PCR 检测大鼠肝组织 mRNA 的相对表达量; C. Western blot 检测大鼠肝脏 α-SMA、Collagen I 和 TGF-β 的表达; 与对照组相比 ^a $P < 0.05$, 与治疗对照组相比 ^b $P < 0.05$ ($n = 10$)

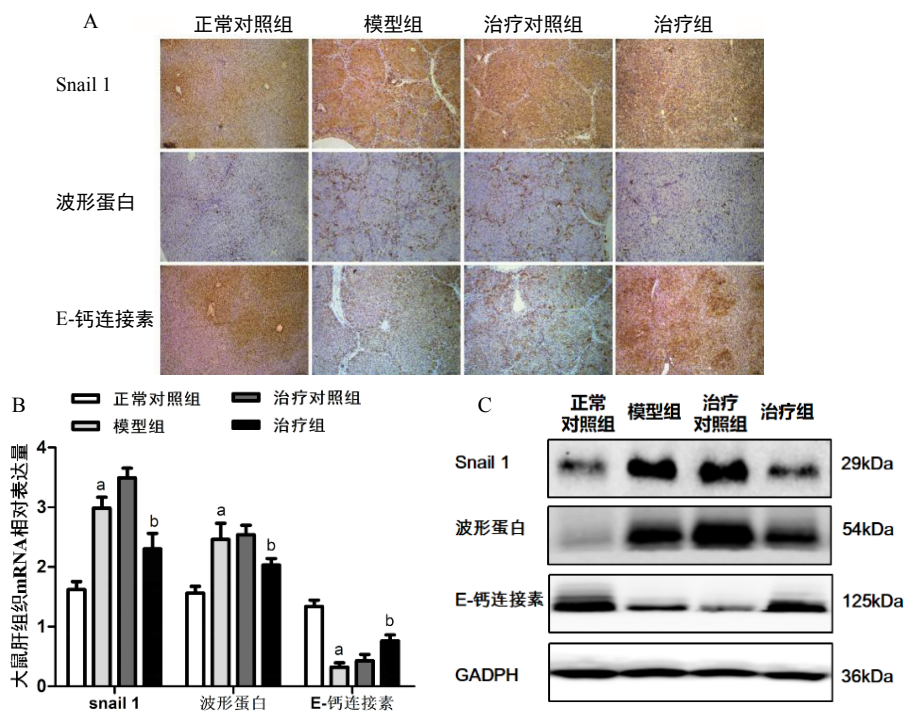


图4 抑制 RBPJκ 对于肝内促上皮-间质转分化相关基因表达的影响

注: A. 免疫组织化学染色(×100); B. RT-PCR 检测大鼠肝脏 Snail 1、波形蛋白和 E-钙连接素的表达; C. Western blot 检测大鼠肝脏 Snail 1、波形蛋白和 E-钙连接素的表达; 与对照组相比 ^a $P < 0.05$; 与治疗对照组相比 ^b $P < 0.05$ ($n = 10$)

治疗组Snai 1 ($t = 19.77$, $P < 0.001$) 和波形蛋白 mRNA ($t = 23.67$, $P < 0.001$) 表达降低, 而E-钙连接素表达升高 ($t = 32.21$, $P < 0.001$)。

3 讨论

肝纤维化是各种致病因素所致的肝内结缔组织异常增生, 导致肝内弥漫性细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 过度沉积的病理过程^[6,7]。研究显示, 多种信号转导通路如TGF β -1 TGF β 1/Smads信号转导通路^[8]、Toll样受体 (toll like receptor, TLR) 4 信号转导通路、趋化因子信号转导通路^[9]、脂肪细胞因子信号转导通路^[10]及神经内分泌信号转导通路^[11]等在肝纤维化进展中均发挥重要作用。

近年来Notch信号转导通路在各种疾病发生发展中的作用越来越受到关注。Notch信号转导通路不仅在胚胎发育和肿瘤发生中起关键作用, 越来越多的研究显示其与纤维化疾病也密切相关^[12-14]。应用Notch信号转导通路的特异性抑制剂、基因沉默或基因敲除等方法可显著减少纤维化的发生^[15-17]。目前得到广泛认可的是3步酶裂解法介导Notch通路的激活, 其中Notch蛋白细胞内区 (Notch intracellular domain, NICD) 与RBPJ κ 蛋白结合, 促使RBPJ κ 由转录抑制因子转化为转录激活因子, 激活转录因子Hes和Hey进一步调控下游分子的表达是Notch通路激活的核心环节^[18,19]。

鉴于RBPJ κ 在Notch信号转导通路中的作用, 本研究一方面以CCl₄制造大鼠肝纤维化的模型, 观察RBPJ κ 及其下游基因Hey 2和Hey L的表达变化。结果显示与正常对照组相比, 模型组大鼠肝纤维化程度、Masson染色及天狼猩红染色结果均显示胶原染色区域显著增多, 说明造模成功。本次体内实验发现RBPJ κ 及靶基因Hey2、HeyL在大鼠肝纤维化模型中的表达显著升高, 提示CCl₄诱导的大鼠肝损伤模型中存在Notch信号转导通路中过度激活, 并可能参与肝纤维化进展。另一方面, 本研究也发现肝纤维化模型中Snai 1、波形蛋白表达上调, E-钙连接素表达下调, 这提示Notch信号转导通路活化可能经EMT促进肝内细胞的活化进而合成和分泌大量ECM, 最终形成肝纤维化。同时, 为进一步探讨RBPJ κ 在肝脏纤维化中的作用, 本研究以腺病毒为载体干扰大鼠肝内RBPJ κ 的表达, 结果显示应用病毒AdshRBPJ κ 尾静脉注射纤维化模型大鼠可抑制肝纤维化。其作用不仅表现为胶原类基因 (如TGF- β 1、 α -SMA和I型胶原) 的表达下降, 同时还可抑制EMT, 表现为Snai 1和波形蛋白表达降低、E-钙连接素表达升高, 提示逆转EMT有助于肝纤维

化的缓解。这与先前应用 γ -分泌酶抑制剂{N-[N-(3, 5-difluorophenacetyl)-l-alanyl]-S-phenylglycine t-butyl ester, DAPT}阻断Notch信号转导通路治疗大鼠肝纤维化的研究一致^[20,21]。

综上所述, 本研究显示RBPJ κ 在肝纤维化发生过程中发挥重要作用, 应用AdshRBPJ κ 信号转导通路可经EMT逆转肝纤维化进程, 而阻断这个通路对肝细胞无明显抑制作用。然而, 抑制RBPJ κ 是否存在对机体的其他不利影响有待进一步研究。本研究的不足之处在于通过腺病毒进行体内实验干预时无法避免脱靶或效应靶器官不明确或不统一的问题, 无法清楚阐明AdshRBPJ κ 对于肝细胞是直接作用还是间接作用。因此, 在未来研究中选择原代肝星状细胞为体外实验对象, 以进一步明确肝细胞Notch信号转导通路对肝纤维化的作用以及作为药物靶点的可行性。

参考文献

- [1] Lee YA, Wallace MC, Friedman SL. Pathobiology of liver fibrosis: a translational success story[J]. Gut, 2015, 64(5):830-841.
- [2] 马艳华, 韩铭, 冯胜虎, 等. HBV相关肝纤维化患者血浆microRNA的差异表达[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2017, 9(1):20-26.
- [3] 杨开明, 蒋文娟, 成家茂. 细胞信号通路影响肝纤维化的研究进展[J]. 大理大学学报, 2017, 2(2):46-50.
- [4] Hu B, Phan SH. Notch in fibrosis and as a target of anti-fibrotic therapy[J]. Pharmacol Res, 2016, 108:57-64.
- [5] Shang Y, Smith S, Hu X. Role of Notch signaling in regulating innate immunity and inflammation in health and disease[J]. Protein Cell, 2016, 7(3):159-174.
- [6] Bataller R, Gao B. Liver fibrosis in alcoholic liver disease[J]. Semin Liver Dis, 2015, 35(2):146-156.
- [7] 余敏. 血清 TGF- β 、IL-17水平与乙型肝炎肝硬化进展关系的研究[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2015, (1):91-94.
- [8] Beilfuss A, Sowa JP, Sydor S, et al. Vitamin D counteracts fibrogenic TGF-beta signalling in human hepatic stellate cells both receptor-dependently and independently[J]. Gut, 2015, 64(5):791-799.
- [9] Wasmuth HE, Tacke F, Trautwein C. Chemokines in liver inflammation and fibrosis[J]. Semin Liver Dis, 2010, 30(3):215-225.
- [10] Bertolani C, Marra F. The role of adipokines in liver fibrosis[J]. Pathophysiology, 2008, 15(2):91-101.
- [11] Ebrahimi MR, Elsharkawy AM, Mann DA. Wound healing and local neuroendocrine regulation in the injured liver[J]. Expert Rev Mol Med, 2008, 10:e11.
- [12] Sawitz A, Kordes C, Reister S, et al. The niche of stellate cells within rat liver[J]. Hepatology, 2009, 50(5):1617-1624.
- [13] Chen S, Xu L, Lin N, et al. Activation of Notch1 signaling by marrow-derived mesenchymal stem cells through cell-cell contact inhibits proliferation of hepatic stellate cells[J]. Life Sci, 2011, 89(25-26):975-981.
- [14] Xie G, Karaca G, Swiderska-Syn M, et al. Cross-talk between

- Notch and Hedgehog regulates hepatic stellate cell fate in mice[J]. Hepatology,2013,58(5):1801-1813.
- [15] Li Z, Wang J, Zhao C, et al. Acute blockage of Notch signaling by DAPT induces neuroprotection and neurogenesis in the neonatal rat brain after stroke[J]. Transl Stroke Res,2016,7(2):132-1340.
- [16] Liu Y, Li P, Liu K, et al. Timely inhibition of Notch signaling by DAPT promotes cardiac differentiation of murine pluripotent stem cells[J]. PLoS One,2014,9(10):e109588.
- [17] 胡美, 许欣婷, 李红梅, 等. Notch信号通路调控哮喘小鼠气道上皮纤维化[J]. 中国病理生理杂志,2016,32(5):781-786.
- [18] Liu S, Wang Y, Worley PF, et al. The canonical Notch pathway effector RBP-J regulates neuronal plasticity and expression of GABA transporters in hippocampal networks[J]. Hippocampus,2015,25(5):670-678.
- [19] Toritsuka M, Kimoto S, Muraki K, et al. Regulation of striatal dopamine responsiveness by Notch/RBP-J signaling[J]. Transl Psychiatry,2017,7(3):e1049.
- [20] Edeling M, Ragi G, Huang S, et al. Developmental signalling pathways in renal fibrosis: the roles of Notch, Wnt and Hedgehog[J]. Nat Rev Nephrol,2016,12(7):426-439.
- [21] Sweetwyne MT, Tao J, Susztak K. Kick it up a notch: Notch signaling and kidney fibrosis[J]. Kidney Int Suppl (2011),2014,4(1):91-96.

收稿日期: 2017-08-01

卜延志, 张启迪, 郑园, 等. 靶向重组信号结合蛋白-Jk干扰腺病毒对四氯化碳诱导大鼠肝纤维化影响的体内研究[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2018,10(2):18-24.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对来稿图片格式的要求

本刊要求来稿中的每张照片(图)片均应有必要的图题及说明性文字标注于图的下方,并在注释中标明图中使用的全部非公知公用的缩写;图中箭头标注应有文字说明。大体标本照片在图内应有尺度标记,病理照片要求注明特殊染色方法和高、中、低倍数。照片要求有良好的清晰度和对比度,并在背面标明图号、作者姓名及图的上下方向。说明文字应简短,不应超过50字,所有的图在文中相应部分应提及。电子图片采用jpg格式,分辨率不低于300像素/英寸,并应经过剪切后充分显示关键部分。

动态图像:分别按其在正文中出现的先后次序连续编码,文中应标记为“动态图×”。视频资料要求图像清晰稳定,剪接顺畅,保持可能获得的最高清晰度模式,视频文件采用AVI格式,大小在5M以内。每个文件名均应与文中的名称相符,如“动态图×”。

本刊编辑部