

· 综述 ·

Notch 信号通路在骨重建过程中的双向调节作用

周灵通¹ 黄凯¹ 宋敏^{1*} 刘小钰¹ 蒋林博¹ 侯红燕¹ 董万涛^{1,2}

1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃中医药大学附属医院, 甘肃 兰州 730020

中图分类号: R363 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 07-1015-06

摘要: Notch 信号通路对骨形成及骨吸收的刺激和抑制作用都被广泛报道, 其在成骨细胞、骨细胞、破骨细胞、骨髓间充质干细胞等的生成或分化中的作用出现了“矛盾”的结果, 表现为对于骨形成-骨吸收偶联关系的双向调节作用, 可见, Notch 信号通路对骨重建过程的影响并非单一的促进或抑制作用, 本文就 Notch 信号通路对成骨细胞、破骨细胞、骨髓间充质干细胞生成、分化及功能的双向调节作用做一综述, 以期对相关骨代谢疾病的研究思路提供参考。

关键词: Notch 信号通路; 骨形成; 骨吸收; 骨重建; 双向调节

Bidirectional regulation of Notch signaling pathway during bone remodeling

ZHOU Lingtong¹, HUANG Kai¹, SONG Min^{1*}, LIU Xiaoyu¹, JIAND Linbo¹, HOU Hongyan¹, DONG Wantao^{1,2}

1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000

2. The Second Affiliated Hospital of Gansu University of TCM, Lanzhou 730020, China

* Corresponding author; SONG Min, Email: 597482778@qq.com

Abstract: Notch signaling pathway has been widely reported for its stimulatory and inhibitory effects on bone formation and bone resorption. Its role in the formation or differentiation of osteoblasts, bone cells, osteoclasts, and bone marrow mesenchymal stem cells appears to be contradictory, and shows a kind of bidirectional regulation for the coupling of bone formation to bone resorption. The effect of Notch signaling pathway on bone remodeling process is not a single promotion or inhibition. This article reviews the role of Notch signaling pathway in the bidirectional regulation of osteoblasts, osteoclasts, and bone marrow mesenchymal stem cells. We hope to provide reference for relevant research ideas of bone metabolism diseases related to the Notch signaling pathway.

Key words: Notch signaling pathway; bone formation; bone resorption; bone remodeling; bidirectional regulation

骨骼在微观层面是一种由骨形成 (bone formation) 与骨吸收 (bone resorption) 紧密耦合的动态组织, 维持骨组织形成与吸收之间动态平衡关系的生理过程被称为骨重建 (bone remodeling)^[1]。近年来的研究表明, 骨重建过程是在特殊的结构——骨重建单元 (bone remodeling compartment, BRC) 中以基础多细胞元 (basic multicellular unit, BMU) 的形式进行的。BMU 中包含成骨细胞、破骨细胞、骨细胞等, 其中破骨细胞群吸收老化或损伤的骨组织, 再由成骨细胞群产生新生骨组织补充, 当新生骨组织

无法完全补充旧骨吸收所产生的空隙, 则导致每个重建周期发生骨质流失, 最终引发机体骨量减少或骨质疏松症^[2]。

全身或局部 BMU 相关因子共同调节骨重建处于动态平衡之中, 目前研究较多的 BMU 相关因子包括: OPG/RANK/RANKL 系统、骨形态发生蛋白 (BMP)、Wnt 信号通路及 PTH/PTHrP 等^[3], Notch 信号通路能够影响成骨细胞、破骨细胞、骨细胞等的增殖、分化, 还对成骨细胞前体细胞-骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 的增殖、分化、凋亡具有调节作用。有趣的是, Notch 信号通路对骨形成及骨吸收的刺激和抑制作用都被广泛报道, 其在骨髓间充质干细胞、成骨细胞、骨细胞、破骨细胞生成或分化中的作用出现了“矛盾”的结果^[4-7], 表现为对于骨形成-骨吸收偶联关系的双向调节作用。本文就 Notch 信号通路对成骨细胞、破骨细胞、骨髓间充质干细胞生

基金项目: 甘肃省自然科学基金计划 (1506RJZA048); 甘肃省中医药管理局科研课题 (GZK-2016-17); 甘肃省财政厅基本科研业务课题 (BH2010-428); 甘肃中医药大学研究生创新基金 (CX2017-01)

* 通信作者: 宋敏, Email: 597482778@qq.com

成、分化及功能的双向调节作用做一综述,以期对相关骨代谢疾病的研究思路提供参考。

1 Notch 通路概述

1919年Morgan等发现果蝇中一种特定基因缺损后导致其翅膀边缘出现缺口,因此将该基因命名为Notch,而后的研究表明Notch信号通路在生物体生长发育的复杂调控网络中起重要作用^[8]。Notch基因能够编码一类膜蛋白受体(包括:Notch 1、2、3、4),其配体(包括:Jagged 1、2和Delta[Dll] 1、3、4)是位于相邻细胞表面上的另一种膜蛋白,因此经典的Notch信号传导需要至少2个完整的细胞,即细胞表面表达Notch受体的“信号接收细胞”和表达配体的“信号发送细胞”^[9],Notch信号传导的核心机制在于“信号发送细胞”上的5个Notch配体中的Jagged和Dll 1、4可直接相互作用并激活存在于“接受细胞”上的跨膜Notch受体,Notch受体需要经过3次蛋白水解最终导致Notch通路的激活^[10]。第一次水解发生于高尔基复合体,经弗林转化酶(furin)作用后转运到细胞膜形成异二聚体^[11],由此产生的两个Notch片段在膜上保持非共价缔合。当配体结合到Notch受体胞外区后会启动膜上典型的Notch通路活化,该活化过程依赖于“信号细胞”中Notch配体内吞作用形成物理牵引机制^[12-13],产生ADAM金属蛋白酶(α -分泌酶),催化肽键断裂释放Notch胞外区,完成第二次水解。然后,由 γ -分泌酶(γ -secretase)在靠近胞膜内的部位“切割”(第三次蛋白水解)^[14],释放Notch细胞内段NICD结构域转位至细胞核,与DNA结合蛋白CSL(CBF1/Rbpj)结合后活化Hes和Hey等靶基因的转录,最终对细胞的分化、增殖和凋亡等过程产生效应。

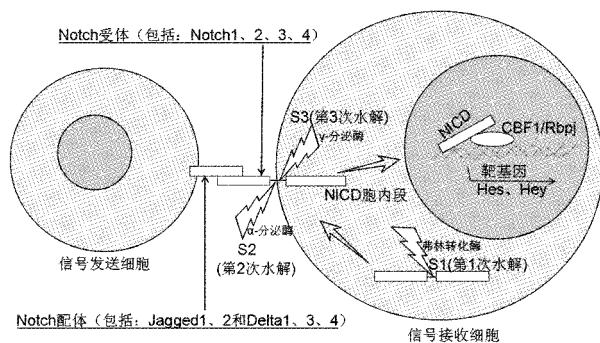


图1 经典Notch信号传导示意图

Fig.1 General Notch signaling diagram

除此之外,Notch非经典激活途径也受到关注,

细胞微环境中的细胞外基质(ECM)能够直接与Notch受体/配体发生相互作用介导Notch通路下游分子的转录调控^[15-16]。微环境中其他常见的生长因子和细胞因子,如TGF- β ^[17-18]、WNT/ β -连环蛋白^[19]和血管内皮生长因子(VEGF)^[20]等均能够与Notch通路相互作用,引发其与其他信号网络间的“对话”作用。最后,氧气张力、血糖浓度、剪切应力等因素也能在一定程度上影响Notch信号的激活和转录调节^[21-23]。

2 Notch 通路与骨重建

2.1 Notch 通路与成骨细胞

成骨细胞是骨重建过程中负责骨形成作用最主要的细胞之一,在初期骨架形成阶段及后期骨生长过程中起重要作用。骨的形成有两种机制,即膜化骨和软骨化骨,膜化骨主要发生于扁平骨的形成,此过程中间充质干细胞聚集分化为骨祖细胞,并逐渐生长分化为成熟的成骨细胞,成骨细胞分泌I型胶原蛋白(Col I)作为构成骨的原材料,还能够产生骨钙素(BGP)和碱性磷酸酶(ALP)促进矿物质的沉积。软骨化骨通过间充质干细胞增殖分化形成软骨雏形,血管入侵后滋养深层骨祖细胞分化为成骨细胞,成骨细胞在软骨表面产生类骨质并逐渐被钙化为骨基质,骨基质包绕形成初级骨松质,成骨细胞不断向骨小梁壁添加新骨基质,同时破骨细胞、碱性磷酸酶等作用下软骨退化形成初级骨化中心,并不断从骨干中段向两端进行,延长骨干长度^[24]。

一方面,Notch通路具有促进成骨细胞活性及功能的作用。Engin等^[25]研究高表达Notch1细胞内结构域(N1ICD)的转基因小鼠,发现4周龄时X线拍照显示其骨质量增加,11周龄时,甲苯胺蓝染色显示转基因小鼠的成骨细胞数量增加,组织形态计量学显示骨小梁体积和成骨细胞数显著增加。在成骨细胞MC3T3-E1中转染由腺病毒载体递送的Notch-IC,长期培养后观察到钙化结节形成显著增加^[26]。Nobta等^[27]对股骨骨缺损小鼠模型行免疫组化发现Notch1在损伤部位成骨细胞中被激活,造模后第5天,Notch1、Delta1和Jagged1的表达均上调,表明在骨再生期间Notch通路上调Notch1、Delta1和Jagged1的表达来促进成骨细胞成骨活性。

另一方面,Notch通路具有抑制成骨细胞活性及功能的作用。缺失Notch基因的突变小鼠胚胎成骨细胞中骨涎蛋白(Ibsp)、Col I和ALP的表达水平较正常小鼠增高,说明Notch通路阻断引起成骨细

胞过度增殖^[28]。Zanotti 等^[29]的研究发现在 Notch 过表达的转基因小鼠 MC3T3 成骨细胞中,胞浆 β -连环蛋白水平和 ALP 活性显著降低,高表达 NICD 的转基因小鼠成骨细胞中 BMP-2、Wnt3a 和骨钙素水平较正常组显著下降。而 β -连环蛋白、BMP-2、Wnt3a 为 Wnt/ β -连环蛋白、BMPs 通路等主要成骨信号通路的关键转录因子,由此可知 Notch 通路可以通过与其他成骨信号通路交互作用发挥其对成骨细胞分化及成骨功能的抑制作用。

2.2 Notch 通路与破骨细胞

破骨细胞是在巨噬细胞集落刺激因子(MCSF)和 NF- κ B 配体(RANKL)受体激活剂的影响下从骨髓前体分化而来的多核巨细胞^[30],是骨重建过程中唯一确定具有降解骨骼作用的细胞,其功能对维持骨形成-骨吸收的动态平衡关系至关重要。破骨细胞的生成、寿命和活性受到全身性激素以及骨微环境中的相邻细胞自分泌和旁分泌细胞因子和生长因子的调节,包括:OPG / RANKL / RANK 信号通路、雌激素、整合素、骨钙素、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ)及溶酶体等^[31],破骨细胞形成和活化与骨质疏松症、骨硬化病、类风湿性关节炎等疾病关系密切。

Notch 通路能够促进破骨细胞生成和活化。Canalis 等^[32]发现 Notch 通路中 Notch2 的 ICD 片段与核因子(NF)- κ B 的相互作用,导致 Nfatc1(一种破骨细胞生成的关键基因)的转录,最终诱导破骨细胞生成增加。用 γ -分泌酶抑制剂及 Notch2mRNA 抑制剂干预后显示 RANKL 诱导的破骨细胞形成下降。可见,Notch 和 NF- κ B 通路之间可以通过分子交联作用于破骨细胞生成。Zhou 等^[33]也发现 LNX2 基因敲除的骨髓巨噬细胞中 Numb(一种 Notch 抑制剂)蛋白的积累增加,同时其分化为破骨细胞的能力减弱。这些均证明 Notch 通路能够在一定程度上促进破骨细胞生成和活化,促进骨吸收。

Notch 通路也能够抑制破骨细胞生成和活化。Notch 基因突变导致人体骨骼发育缺陷,如脊椎肋骨发育不全(spondylocostal dysostosis, STD)是由人类 Notch 配体 DLL3 突变引起的^[34],而 Notch2 突变会引起 Hagdu-Cheney 综合征——一种以面部异常,骨质溶解为特征的罕见疾病^[35]。Matthew 等^[28]对 8 周龄 Notch 相关基因缺失(PNN)小鼠胫骨切片的 Trap 染色显示,基因缺失小鼠在每个骨表面区域具有比对照组更多的破骨细胞,破骨细胞侵蚀的骨表面百分比也增加。Yamada 等^[36]发现由 Delta1 激活

Notch 通路后,减少了破骨细胞前体细胞中巨噬细胞集落刺激因子受体 c-Fms 的表面表达,并增强骨保护素在基质细胞中的表达,导致破骨细胞生成的下调。Bai 等^[37]的实验也证实破骨细胞前体中 notch1、2、3 的缺失能够增强破骨细胞生成和骨吸收。以上表明 Notch 通路对破骨细胞生成及功能的抑制作用。

2.3 Notch 通路与骨髓间充质干细胞

干细胞(stem cell, SC)是指一类具有自我更新和分化能力的多能细胞,根据干细胞所处的发育阶段可分为胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)和成体干细胞(adult stem cell, ASC)。骨髓间充质干细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs)是存在于骨髓微环境中的具有自我更新能力和多向分化潜能的干细胞^[39],是干细胞家族的重要成员,在适宜的诱导条件下可向成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞等多个方向分化。近年来,越来越多的研究表明,随着机体的衰老,骨髓中 BMSCs 的含量下降, BMSCs 向脂肪细胞分化增多而向成骨细胞分化减少, BMSCs 成骨成脂分化失衡可能是骨质疏松症的发病机制之一。

Notch 通路促进 BMSCs 成骨分化、抑制 BMSCs 成脂分化。有学者^[39]应用反转录病毒转染 hMSCs 使 Notch1 的 ICD 片段过表达,通过比较细胞内 ALP、进行茜素红染色等,证明 Notch 通路能够促进 hMSCs 的成骨分化。Tezuka^[26]等发现被 EGFP-NIC 腺病毒感染 5 天, hMSCs 中 ALP 活性增强, Col I 的表达也相应增加,并认为 Notch1 可能是治疗骨质疏松症的独特靶分子。Nobta 等^[40-41]也用病毒转染技术使 MSCs 中 Notch 配体 Jagged1 和 Delta1 过表达,进行成脂诱导后发现其成脂分化相关因子过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 亚型(PPAR- γ)、脂肪酸结合蛋白-4(FABP-4)较对照组显著降低。DAPT 作为 γ -分泌酶的抑制剂,能够有效阻断 Notch 受体的细胞内蛋白水解,是常用的 Notch 信号通路阻断剂^[42]。Yaoting 等^[43]用 DAPT 干预成骨诱导分化的 BMSCs,发现成骨诱导培养 14 d 后, DAPT 组矿化结节数量明显低于对照组。还有报道^[42]显示, DAPT 干预 BMSCs 成骨分化能够显著降低矿化相关基因如细胞外基质磷酸糖蛋白(Mepe)、牙本质基质蛋白-1(Dmp1)、硬化蛋白(Sost)和维生素 D 低磷性佝偻病蛋白(Phex)的表达。

Notch 通路也能抑制 BMSCs 成骨分化、促进 BMSCs 成脂分化。Sciaudone 等^[44]应用反转录病毒使 NotchIC 转染小鼠骨髓基质细胞(ST-2)后, CBF1

/RBP-J κ 途径被激活并且经典 Wnt 途径被抑制,成脂诱导后发现 Notch IC 有利于 ST-2 细胞分化为脂肪细胞。Nicolas 等^[45]发现在基质细胞如角质形成细胞中,也存在 Notch IC 缺失导致 β -连环蛋白水平升高,重新引入 Notch 受体后可以抑制 β -连环蛋白水平增高的现象,可知 Notch 信号在一定条件下具有抑制 Wnt 信号传导的作用。Liu 等^[46]在系统性红斑狼疮(MRL/lpr 小鼠)小鼠模型中,观察到 BMSCs 中 Notch 信号的持续活化:Notch1、Notch2、Jag1 和 NICD 蛋白的高表达,同时观察到模型小鼠严重的骨质疏松表型。当通过 DAPT 间歇性抑制 MRL/lpr 小鼠中的 Notch 信号传导时,其骨形成作用显著增强。

3 Notch 基因突变与骨骼疾病

以上论述说明 Notch 对骨重建过程起重要调节作用,在骨骼的生长发育中发挥关键作用,Notch 基因的获得性及丧失性突变能够造成多种重要的骨骼疾病。Adams-Oliver 综合征(AOS)是一类表现为先天性皮肤发育不良伴有颅骨缺损、指(趾)残缺,部分掌骨缺如等临床症状的骨骼系统罕见疾病^[47]。Stittrich 等^[48]发现 AOS 的大多数基因突变发生在细胞外结构域的 EGF 样重复序列中,导致其结构改变和 Notch1 功能缺失。Alagille 综合征是一种常染色体显性遗传病,以颅面骨骼和椎骨发育异常、胆汁淤积性肝病、肾功能衰竭等为特征^[49],研究发现其发病与 Jagged1 基因丧失性突变关系密切^[50],而该病患者肾脏发育不良及功能不全与 Notch2 基因丧失性突变有关^[51]。短指症(Brachydactyly)是以指骨短、缺失或掌骨变短致使手指、脚趾短为特征的遗传性疾病^[52-53],有研究^[54]表明 Notch 信号的过度活化是造成该疾病的重要原因。Hajdu-Cheney 综合征(HCS)是一种罕见的遗传疾病,其特征指指/趾骨远端骨质溶解、变形以及骨骼,牙齿和关节的发育缺陷,导致颅面和颅骨特异性改变、骨质疏松和身材矮小^[55-56],Canalis 等^[57]的研究发现 HCS 患者骨质溶解及改变与 Notch2 过度激活、Notch2 NICD 与 Nf κ B 共同诱导破骨细胞前体中的 Nfatc1,刺激破骨细胞分化有关。骨肉瘤作为最常见的原发性骨恶性肿瘤,决定其发生发展的分子机制尚未完全清楚,最近有研究^[58-59]表明 Notch2 和 JAG1 在大多数骨肉瘤样品中上调,Notch1 和 DLL1 在一名患者中上调,Notch 靶基因,尤其是 HEY1 和 HEY2 均在骨肉瘤样品中上调,因此 Notch 受体和配体可能成为骨肉瘤

的治疗靶点。

4 小结

Notch 信号通路对骨形成或骨吸收过程的影响并非单一的促进或抑制作用,而是在全身或局部相关因子共同影响下的双向调节,其作用表现为调节成骨细胞和破骨细胞谱系细胞的分化和功能,并在骨骼发育,软骨形成,成骨细胞、破骨细胞生成及功能中起关键作用。Notch 信号的双向调节机制对维持细胞稳态和骨重建机制至关重要。有学者认为不同的 Notch 信号分子发挥不同的调节作用,如在一定条件下,Notch1 抑制破骨细胞生成,而 Notch2 通过与 Nf κ B 相互作用诱导 Nfatc1 和破骨细胞分化^[60];而 Yaoting 等认为细胞不同分化时期 Notch 信号发挥的作用不同,在成骨细胞分化的早期阶段,Notch 信号的持续激活抑制了 BMSC 向成骨细胞的分化,导致 BMSCs 增多和 BMSCs 向骨细胞分化减少,在成骨细胞分化的晚期阶段 Notch 信号的持续激活促进成骨细胞分化为骨细胞,导致成骨细胞数目暂时减少和骨细胞数量增加^[43]。另外,Notch 通路各环节信号分子基因获得性及丧失性突变导致各种遗传性疾病伴有显著的骨骼异常表现,则更进一步说明了 Notch 信号在骨骼发育及骨代谢中的重要作用,深入研究 Notch 信号通路在调节骨形成-骨吸收中的具体作用机制,对于探索相关骨骼系统疾病的发病机制及治疗新思路具有重要意义。

【参考文献】

- [1] Eriksen EF. Cellular mechanisms of bone remodeling [J]. Rev Endocr Metab Disord, 2010, 11(4): 219-227.
- [2] Xu Feng, McDonald Jay M. Disorders of bone remodeling [J]. Annu Rev Pathol, 2011, 6: 121-145.
- [3] 俞楠泽,成锋,江彬峰,等.糖皮质激素对骨重建单位相关因子作用研究进展[J].国际骨科学杂志,2009,30(6):388-390.
- [4] Yavropoulou MP, Yovos JG. The role of Notch signaling in bone development and disease [J]. Hormones (Athens), 2014, 13: 24-37.
- [5] Mead TJ, Yutzev KE. Notch signaling and the developing skeleton [J]. Adv Exp Med Biol, 2012, 727: 114-130.
- [6] Liu P, Ping Y, Ma M, et al. Anabolic actions of Notch on mature bone [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113: E2152-2161.
- [7] Canalis E, Parker K, Feng JQ, et al. Osteoblast lineage-specific effects of notch activation in the skeleton [J]. Endocrinology, 2013, 154: 623-634.
- [8] 孙丽哲,侯林. Notch 的结构、功能和相关信号通路 [J]. 中国细胞生物学报, 2010, 32(6): 914-921.
- [9] Michael M Wang. Notch signaling and Notch signaling modifiers

- [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2011, 43(11):1550-1562.
- [10] Bryce La Foya, Jordan A Munroe, Masum M Mia, et al. Notch: A multi-functional integrating system of microenvironmental signals [J]. *Dev Biol*, 2016, 418(2): 227-241.
- [11] Logeat F, Bessia C, Brou C, et al. The notch1 receptor is cleaved constitutively by a furin-like convertase [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(14):8108-8112.
- [12] Gordon WR, Zimmerman B, He L, et al. Mechanical allosteric: evidence for a force requirement in the proteolytic activation of notch [J]. *Dev Cell*, 2015, 33(6):729-736.
- [13] Chowdhury F, Li IT, Ngo TT, et al. Defining single molecular forces required for notch activation using Nano Yoyo [J]. *Nano Lett*, 2016, 16(6):3892-3897.
- [14] Mumm JS. A ligand-induced extracellular cleavage regulates gamma-secretase-like proteolytic activation of Notch1 [J]. *Mol Cell*, 2000, 5(2):197-206.
- [15] Deford P, Brown K, Richards RL, et al. MAGP2 controls notch via interactions with RGD binding integrins: Identification of a Novel ECM - Integrin - notch signaling axis [J]. *Exp Cell Res*, 2016, 341(1):84-91.
- [16] Massimiani M. Epidermal growth factor-like domain 7 promotes migration and invasion of human trophoblast cells through activation of MAPK, PI3K and NOTCH signaling pathways [J]. *Mol Hum Reprod*, 2015, 21(5):435-451.
- [17] Xiao Z, Zhang J, Peng X, et al. The Notch gamma-secretase inhibitor ameliorates kidney fibrosis via inhibition of TGF-beta/Smad2/3 signaling pathway activation [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, 55:65-71.
- [18] Hill CR, Yuasa M, Schoenecker J, et al. Jagged1 is essential for osteoblast development during maxillary ossification [J]. *Bone*, 2014, 62:10-21.
- [19] Collu GM, Hidalgo-Sastre A, Acar A, et al. Dishevelled limits Notch signalling through inhibition of CSL [J]. *Development*, 2012, 139(23):4405-4415.
- [20] Blanco R, Gerhardt H. VEGF and Notch in tip and stalk cell selection [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2013, 3(1):a006569.
- [21] Qin WD, Zhang F, Qin XJ, et al. Notch1 inhibition reduces low shear stress-induced plaque formation [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 72:63-72.
- [22] Gustafsson MV, Zheng X, Pereira T, et al. Hypoxia requires notch signaling to maintain the undifferentiated cell state [J]. *Dev Cell*, 2005, 9(5):617-628.
- [23] Yoon CH, Choi YE, Koh SJ, et al. High glucose-induced jagged 1 in endothelial cells disturbs notch signaling for angiogenesis: a novel mechanism of diabetic vasculopathy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 69:52-66.
- [24] 胡渊博, 王乐莎, 蒋蕾, 等. 在细胞水平上调控骨重建的相关研究进展 [J]. *生物医学工程学杂志*, 2017, 34(3):471-479.
- [25] Engin F. Dimorphic effects of Notch signaling in bone homeostasis [J]. *Nat Med*, 2008, 14(3):299-305.
- [26] Tezuka K, Yasuda M, Watanabe N, et al. Stimulation of osteoblastic cell differentiation by Notch [J]. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(2):231-239.
- [27] Nobta M, Tsukazaki T, Shibata Y, et al. Critical regulation of bone morphogenetic protein-induced osteoblastic differentiation by Delta1/Jagged1-activated Notch1 signaling [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(16):15842-15848.
- [28] Matthew J. Notch signaling maintains bone marrow mesenchymal progenitors by suppressing osteoblast differentiation [J]. *Nat Med*, 2008, 14(3):306-314.
- [29] Zanotti S, Smerdel-Ramoya A, Stadmeier L, et al. Notch inhibits osteoblast differentiation and causes osteopenia [J]. *Endocrinology*, 2008, 149(8):3890-3899.
- [30] Boyle WJ. Osteoclast differentiation and activation [J]. *Nature*, 2003, 423:337-342.
- [31] 王想福, 孙凤歧, 叶丙霖, 等. 破骨细胞与骨质疏松症的关系研究进展 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(11):1420-1424.
- [32] Canalis E. Hajdu cheney mouse mutants exhibit osteopenia, increased osteoclastogenesis, and bone resorption [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291:1538-1551.
- [33] Zhou J, Fujiwara T, Ye S, et al. Ubiquitin E3 ligase LNX2 is critical for osteoclastogenesis in vitro by regulating M-CSF/RANKL signaling and Notch2 [J]. *Calcif Tissue Int*, 2015, 96(5):465-475.
- [34] Chapman G, Sparrow DB, Kremmer E, et al. Notch inhibition by the ligand DELTA-LIKE 3 defines the mechanism of abnormal vertebral segmentation in spondylocostal dysostosis [J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(5):905-916.
- [35] Zhao W. Mutations in NOTCH2 in patients with Hajdu-Cheney syndrome [J]. *Osteoporos Int*, 2013, 24(8):2275-2281.
- [36] Yamada T, Yamazaki H, Yamane T, et al. YRegulation of osteoclast development by Notch signaling directed to osteoclast precursors and through stromal cells [J]. *Blood* 2003, 101:2227-2234.
- [37] Bai S, Kopan R, Zou W, et al. Notch1 regulates osteoclastogenesis directly in osteoclast precursors and indirectly via osteoblast lineage cells [J]. *J Biol Chem*, 2007, 283:6509-6518.
- [38] 李晓峰. 大鼠骨髓间充质干细胞的培养与鉴定 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(10):1721-1725.
- [39] Grogan SP, Olee T, Hiraoka K, et al. Repression of chondrogenesis through binding of notch signaling proteins HES1 and HEY1 to Nbox domains in the COL2A1 enhancer site [J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(9):2754-2763.
- [40] Nobta M, Tsukazaki T, Shibata Y, et al. Critical regulation of bone morphogenetic protein induced osteoblastic differentiation by Delta/Jagged1 activated Notch1 signaling [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(16):15842-15848.
- [41] Tezuka K, Yasuda M, Watanabe N, et al. Stimulation of osteoblastic cell differentiation by Notch [J]. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(2):231-239.
- [42] Liu P, Ping Y, Ma M, et al. Anabolic actions of Notch on mature bone [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113:

- E2152-2161.
- [43] Yaoting Ji, Yongxin Ke, Song Gao. Intermittent activation of notch signaling promotes bone formation [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(6): 2933-2944.
- [44] Sciaudone M, Gazzero E, Priest L, et al. Notch 1 impairs osteoblastic cell differentiation [J]. *Endocrinology*, 2003, 144(12): 5631-5639.
- [45] Nicolas M, Wolfer A, Raj K, et al. Notch1 functions as a tumor suppressor in mouse skin [J]. *Nat Genet*, 2003, 33: 416-421.
- [46] Liu S, Liu D, Chen C, et al. MSC transplantation improves osteopenia via epigenetic regulation of notch signaling in lupus [J]. *Cell Metab*, 2015, 22: 606-618.
- [47] 韩金祥, 周小艳 主编. 骨骼系统罕见病研究 [M]. 济南: 山东大学出版社, 2013. 04.
- [48] Stitrich AB, Lehman A, Bodian DL, et al. Mutations in NOTCH1 cause Adams-Oliver syndrome [J]. *Am J Hum Genet*, 2014, 95(3): 275-284.
- [49] Alagille D, Estrada A, Hadchouel M, et al. Syndromic paucity of interlobular bile ducts (Alagille syndrome or arteriohepatic dysplasia): review of 80 cases [J]. *J Pediatr*, 1987, 110(2): 195-200.
- [50] Bauer RC, Laney AO, Smith R, et al. Jagged1 (JAG1) mutations in patients with tetralogy of Fallot or pulmonic stenosis [J]. *Hum Mutat*, 2010, 31(5): 594-601.
- [51] Humphreys R, Zheng W, Prince LS, et al. Cranial neural crest ablation of Jagged1 recapitulates the craniofacial phenotype of Alagille syndrome patients [J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(6): 1374-1383.
- [52] Mizumoto S, Ikegawa S, Sugahara K. Human genetic disorders caused by mutations in genes encoding biosynthetic enzymes for sulfated glycosaminoglycans [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(16): 10953-10961.
- [53] Temtamy SA, Aglan MS. Brachydactyly [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2008, 3: 15.
- [54] Tian J, Ling L, Shboul M, et al. Loss of CHSY1, a secreted FRINGE enzyme, causes syndromic brachydactyly in humans via increased NOTCH signaling [J]. *Am J Hum Genet*, 2010, 87(6): 768-778.
- [55] 叶强, 刘承勇, 魏清柱, 等. Hajdu-Cheney 综合征一例报道及文献复习 [J]. *临床放射学杂志*, 2010, 29(10): 1429-1430.
- [56] Silverman FN, Dorst JP, Hajdu N. Acroosteolysis (Hajdu-Cheney syndrome) [J]. *Birth Defects Orig Artic Ser*, 1974, 10(12): 106-123.
- [57] Canalis E, Schilling L, Yee SP, et al. Hajdu cheney mouse mutants exhibit osteopenia, increased osteoclastogenesis, and bone resorption [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291: 1538-1551.
- [58] Dailey DD. HES1, a target of Notch signaling, is elevated in canine osteosarcoma, but reduced in the most aggressive tumors [J]. *BMC Vet Res*, 2013, 9: 130.
- [59] Engin F, Bertin T, Ma O, et al. Notch signaling contributes to the pathogenesis of human osteosarcomas [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(8): 1464-1470.
- [60] Stefano Zanotti, Ernesto Canalis. Notch signaling and the skeleton [J]. *Endocr Rev*, 2016, 37(3): 223-253.

(收稿日期: 2018-03-21; 修回日期: 2018-05-27)