

Notch 信号通路在类风湿关节炎病理机制中的研究现状

Research status of the Notch signaling pathway in the pathogenesis of rheumatoid arthritis

漆文霞¹, 王 嘉¹, 贺 童¹,
田杰祥², 王 涛², 闫彦峰³,
张媛媛², 王 钢²

(1. 甘肃中医药大学 中西医结合学院, 甘肃兰州 730000; 2. 甘肃中医药大学 附属医院 风湿骨病科, 甘肃兰州 730020; 3. 甘肃中医药大学 第四附属医院 呼吸与危重症医学科, 甘肃兰州 730060)

QI Wen-xia¹, WANG Jia¹,
HE Tong¹, TIAN Jie-xiang²,
WANG Tao², YAN Yan-feng³,
ZHANG Yuan-yuan²,
WANG Gang²

(1. School of Traditional Chinese and Western Medicine, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; 2. Department of Rheumatology and Orthopedics, Affiliated Hospital of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730020, Gansu Province, China; 3. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Fourth Affiliated Hospital of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730060, Gansu Province, China)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81860858, 81960832); 甘肃省科技基金资助项目 (22JR11RA131)

作者简介: 漆文霞(1995-), 女, 博士研究生, 主要从事中西医结合防治风湿病的相关研究

通信作者: 王钢, 主任医师, 博士生导师

Tel: (0931) 8657014

E-mail: 1256935844@qq.com

摘要: 类风湿关节炎(RA)在中医学属归属于“痹证”“历节病”等范畴, 肝肾不足, 髓不能养骨, 感受外邪, 长期郁结于体内, 化热成毒, 损及气血经络, 热毒痰浊瘀血痹阻而发病, 虚实夹杂, 缠绵难愈。Notch 信号通路与本病具有较大的相关性, 其参与了炎性细胞浸润、成纤维样滑膜细胞的增殖、微血管的形成及骨质破坏等多种病理过程。本文从中西医结合的角度, 基于中医虚、毒、瘀的病机理论, 深入探讨 Notch 信号通路与本病的相关性, 以期为研究提供新思路。

关键词: 类风湿关节炎; Notch 信号通路; 虚毒瘀; 中西医结合

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.03.028

中图分类号: R28 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821(2025)03-0438-04

Abstract: Rheumatoid arthritis (RA) is categorized as "bi zheng" and "li-jiebing" in Chinese medicine. Liver and kidney insufficiency, marrow can not nourish the bones, feel the external evil, long-term accumulation in the body, heat into poison, damage to the qi and blood meridians and collaterals, heat and poison, phlegm, blood stasis and paralysis and the onset of the disease, mixed with the real and the imaginary, difficult to be cured. The Notch signaling pathway has a greater relevance to this disease, and it is involved in various pathological processes such as inflammatory cell infiltration, proliferation of fibroblast-like synoviocytes (FLS), microvascular formation and bone destruction. In this paper, the correlation between Notch signaling pathway and this disease is discussed from the perspective of the combination of Chinese and Western medicine, based on the theory of "XU, DU, YU" of traditional Chinese medicine, with the aim of providing a new way of thinking for the research.

Key words: rheumatoid arthritis; Notch signal path; Xu, Du and Yu; combination of Chinese and Western medicine

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性自身免疫性疾病, 病理表现为成纤维样滑膜细胞(fibroblast-like synoviocytes, FLS)大量增殖与浸润, 骨与软骨基质破坏, 导致关节功能障碍, 甚至畸形^[1]。RA发病主要由免疫紊乱引起, 同时与遗传、环境相关^[2-3]。近年来, 免疫抑制药和生物制剂的出现给广大RA患者带来了福音, 很大程度上延缓了病情, 但同时也出现了个体疗效差异大、胃肠道反应等问题。中医药以整体观为精髓, 注重辨证施治, 随证遣方, 用药具有多靶点、多途径的特点, 治疗本病有着较大的优势。Notch 信号

通路与 RA 的炎性细胞浸润增殖、巨噬细胞极化、血管翳生成以及骨代谢调控密切相关^[4]。本文从虚、毒、瘀的病机出发,论证 Notch 通路与 RA 的相关性,以期为中西医结合治疗本病提供科学依据。

1 Notch 信号通路

Notch 信号是相邻细胞之间通讯进而调控细胞发育的重要通道^[5]。Notch 信号广泛参与细胞的增殖、分化和凋亡等过程^[6-7],主要由 Notch、Notch 配体和 CSL(一类 DNA 结合蛋白)等组成,其通常由相邻细胞上表达的 Notch 配体与 Notch 受体的接合激活而发挥作用。目前,在哺乳动物中被发现 4 种 Notch 受体(Notch 1~4)及其 5 种配体(delta-like, DLL 1、3、4 和 Jagged 1、2)^[6]。在胞外区域,Notch 受体与配体相互结合,启动信号,传导入胞内,胞内的区域主要负责将信号传导至细胞核,实现信息的正常传递。无活性的 Notch 前体先后在 3 个位点分别被 3 种不同的酶剪切而激活,第 1 次在高尔基体内被 furin 酶切割为 2 个片段,转运到细胞膜形成异二聚体。当配体结合到胞外区,Notch 蛋白又发生二次剪切,酶切以后释放具有生物活性的 Notch 细胞内结构域(Notch intracellular domain, NICD),该结构域转移到细胞核中,与 RBPJ κ 和 mastermind-like(MAML)结合形成复合物,激活下游靶基因的转录^[7]。Notch-1 是最主要的受体,能特异性地激活下游的毛发分裂增强子 1(Hairy and enhancer of split-1, Hes1)转录因子活化蛋白^[8]。此外,Notch 信号通路与 Wnt/ β -连环蛋白信号通路、刺猬(Hedgehog)信号通路等多个信号通路之间存在相互串扰,共同调节机体的生物学功能^[9]。

2 从虚、毒、瘀论 RA 病因病机

本病初期在表,机体感受风寒湿热等外邪侵袭,久之痹阻经络,气血不畅,郁结不解,化热成毒,流注关节,则见关节疼痛肿胀,重着酸胀。随着病情的进展,经络长期痹阻不通,津液输布障碍,形成水湿痰饮,与血搏结而为痰瘀,湿热痰浊流注关节筋骨,可见局部皮肤瘀斑,关节肿大变形,重着酸胀,屈伸不利,周围可见结节样改变。本病病机复杂,迁延难愈,经络长期痹阻不通,精血津液输布障碍,关节筋骨得不到精血、津液的滋养与濡润,则自觉麻木不仁、屈伸不利,久之则关节骨质疏松。宿邪阻滞于筋骨关节,痰瘀胶浊难化,病邪深入骨骱,破蚀骨质而致关节畸形。

3 基于虚、毒、瘀探析 Notch 信号通路在 RA 中的作用

3.1 RA 之“虚”与 Notch 信号通路的相关性

RA 之“虚”与 Notch 通路的相关性主要体现在肾虚与骨代谢方面。成骨细胞(osteoblast, OB)与破骨细胞

(osteoclast, OC)的动态平衡是骨稳态的关键。在 RA 中,大量炎性细胞因子过度激活 OC, OB 功能受到抑制,骨吸收和骨重建失衡,进而导致骨破坏^[10]。从 RA 模型小鼠中分离间充质干细胞进行 RNA 测序,分析发现,编码 Notch 通路成员的基因表达水平明显升高^[11]。有研究表示,过表达 NICD 的转基因小鼠与相同年龄小鼠相比,表现出骨质减少和生长受损,骨小梁数(trabecular number, Tb. N)明显减少[(9.2 $\pm$ 1.8) vs (2.4 $\pm$ 0.6) mm⁻¹, $P < 0.05$]^[12]。有学者用 Notch 信号抑制药(LY411575)治疗胶原蛋白诱导的关节炎(Collagen-induced arthritis, CIA)大鼠,结果发现,治疗 28 d 后,5 和 10 mg $\cdot$ kg⁻¹ LY411575 组的骨组织的实际骨质体积与骨组织总体积比值分别是模型组的 1.83 倍和 1.77 倍, Tb. N 分别是对照组的 1.87 倍和 1.91 倍^[13]。

在 Notch 信号通路中,Notch 受体的活化涉及其外胞膜域的切割和释放。这一切割过程由 γ -分泌酶复合物完成。 γ -分泌酶抑制药(gamma-secretase inhibitors, GSI)能够阻止 Notch 信号通路中 Notch 受体的活化。有学者通过诱导骨髓巨噬细胞分化为 OC,随后用 TRAP 染色分析阳性 OC 数量,结果发现,OC 经白细胞介素-20(interleukin-20, IL-20)干预后,TRAP 阳性面积较正常对照组显著上升(57.91% vs 29.66%, $P < 0.05$),在此基础上,又给予 GSI 干预后,TRAP 阳性面积较 IL-20 组显著降低(25.71% vs 57.91%, $P < 0.05$),表明 GSI 可以逆转 IL-20 对 OC 分化和功能的增强作用^[13]。这说明 Notch 信号通路的调节与 RA 骨破坏密切相关。

3.2 RA 之“毒”与 Notch 信号通路的相关性

RA 之“毒”与 Notch 通路的相关性主要表现为 RA 炎症反应的过度激活。RA 病理表现为来源于淋巴细胞、FLS 及巨噬细胞等内源性分子在细胞外环境中形成反馈网络回路,放大了局部炎症反应。Notch 通路激活影响关节炎症微环境中的多个细胞谱系。CD4⁺T 细胞作为效应 T 细胞的重要组成部分,参与免疫应答的各个阶段,T 细胞的异常活化及其产生的细胞因子是 RA 发病的关键。Notch 通路参与 T 细胞的生成、分化及 T 细胞介导的免疫炎症反应^[14]。有研究报道,取胶原免疫小鼠的单个核细胞,体外加胶原诱导再次增殖分化,同时用 Notch 信号的非特异阻断药 DAPT(5 μ mol $\cdot$ L⁻¹)观察阻断 Notch 信号对 T 细胞分化的影响,结果发现,DAPT 组的 Th1 细胞(25.32% vs 74.42%)和 Th17 细胞(10.59% vs 27.13%)均较正常对照组显著减少(均 $P < 0.05$),表明 DAPT 能抑制胶原特异性 T 细胞向 Th1 和 Th17 方向分化^[15]。

FLS 是 RA 的关键效应细胞,通过分泌多种炎症细胞因子及趋化因子,招募巨噬细胞、T 细胞、B 细胞迁移,在 RA 炎症扩散迁移、血管翳生成及骨破坏等病理机制中发挥重要作用。ANDO 等^[16]研究发现,RA 滑膜细胞经肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 干预诱导 6 h 后, TNF- α 组的 Notch-1 (43.09% vs 19.46%)、Notch-4 (31.68% vs 7.09%) 表达水平均较正常对照组显著增加(均 $P < 0.05$)。WEI 等^[17]研究发现,在活动性 RA 中, Notch-3 和 Notch 靶基因在 FLS 的表达水平均显著上调,而 Notch-3 基因缺失或阻断 Notch-3 信号传导可以减轻 RA 小鼠关节炎症反应, RA 中的 Notch 激活 FLS 较骨性关节炎(osteoarthritis, OA)明显增加(30.5% vs 4.6%, $P < 0.05$),内皮源性 Notch 配体在 RA 中通过诱导性 Notch-3 信号驱动下层成纤维细胞扩增。体内实验研究发现,经 Notch 抑制药治疗 1 周后, RA 小鼠的炎症指数较模型组显著降低(25.51% vs 84.48%, $P < 0.05$),表明阻断 Notch 信号传导可以减轻 RA 小鼠关节炎症反应^[17]。JIAO 等^[18]将 RA FLS 在 TNF- α (10 ng · mL⁻¹) 以及不同浓度的 DAPT 诱导下培养 24 h, 结果发现, 1、5 μ mol · L⁻¹ DAPT 组的 IL-6 表达水平分别为 36.56% 和 26.42%, 均显著低于正常对照组的 54.82% (均 $P < 0.05$), 这表明 Notch 信号可以介导 TNF- α 诱导的 RA-FLS 产生 IL-6。

巨噬细胞大部分由骨髓单核细胞分化而来,可以直接吞噬杀伤外来的细菌、真菌及病原体等,释放多种免疫因子,介导炎症反应和免疫调节^[19],其能够响应微环境信号在 M1 和 M2 极化表型之间发生动态转变。M1 型巨噬细胞可以被脂多糖、 γ -干扰素及 TNF- α 等细胞因子激活,参与 T 细胞介导炎症反应, M2 型巨噬细胞在 IL-4、IL-10 等细胞因子的刺激下,自身与巨噬细胞集落刺激因子、TGF- β 等共同产生 IL-10,发挥抗炎作用^[20]。近年来,RA 治疗的新靶点是抑制巨噬细胞 M1 型炎性极化,促使 M1 型转为 M2 型。SUN 等^[21]研究发现,Notch-1 信号参与调节巨噬细胞反应,Notch 抑制药(Thapsigargin, THAP)可以诱导巨噬细胞向 M2 抗炎表型转化,用 20 ng · mL⁻¹ TNF- α 培养骨髓来源的巨噬细胞并诱导为 M1 型,然后将 THAP 加入含有 TNF- α 的培养基中干预 24 h,用聚合酶链反应检测 IL-4、人类细胞趋化因子 5[chemokine (C-C motif) ligand 5, CCL5] 的表达水平,结果发现,在经 THAP (0.25 μ mol · L⁻¹) 干预诱导后, M1 效应基因(CCL5)表达水平较正常对照组显著下降(25.01% vs 67.12%, $P < 0.05$), M2 效应

基因(IL-4)的表达水平较正常对照组显著上升(65.27% vs 3.24%, $P < 0.05$)。高玉亭等^[22]用防己黄芪汤干预 CIA 大鼠,6 周后检测关节组织发现,防己黄芪汤组的 Notch-2、DLL-1 mRNA 表达水平均较模型组显著下降(2 568.33 $\pm$ 14.05 vs 1.07 $\times 10^4 \pm$ 215.56, 1 666.00 $\pm$ 11.53 vs 3 814.67 $\pm$ 13.32, 均 $P < 0.05$),推测防己黄芪汤可能通过下调 Notch2/DLL1 信号通路表达,改善 RA 炎症反应。

3.3 RA 之“瘀”与 Notch 信号通路的相关性

RA 之“瘀”与 Notch 通路的相关性主要体现在血管新生及血管翳形成等方面。在 RA 滑膜炎中,病理性血管生成是其主要病理改变形式。Notch 信号通路能够调控血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)受体的表达,是血管生成的关键调控因子^[23]。GAO 等^[24]通过体外研究发现,单独用 20 ng · mL⁻¹ VEGF 及联合用 250 ng · mL⁻¹ 血管生成素-2 刺激人微血管内皮细胞 24 h 后, Notch-1 IC 蛋白表达水平均较正常对照组显著升高(41.95%、68.14% vs 13.70%, 均 $P < 0.05$),表明 Notch 信号与 VEGF 密切相关。

氧化应激通过增强炎症,破坏免疫耐受性,触发转录因子的变化,诱导细胞信号网络改变,参与 RA 发病^[25]。缺氧诱导因子-1 α 在缺氧条件下可以大量合成并诱导 VEGF 的表达,导致新生血管增生形成血管翳,在 RA 中促进病理性血管生成和关节炎症^[26]。有学者研究发现,RA 患者微血管内皮细胞中 Notch-1 及其配体 DLL-4 高表达,RA 组织与健康对照组织相比,Notch-1 在血管周围/血管区域表达显著升高(2.75 $\pm$ 0.45 vs 0.25 $\pm$ 0.25);在正常氧浓度的情况下,经 Notch-3 siRNA 和/或 DAPT 处理后 VEGF 表达水平均较正常对照组显著降低(25.64%、38.46% vs 42.74%),而在 3% 的低氧环境下,经 Notch-3 siRNA 和/或 DAPT 处理后 VEGF 表达水平均较正常对照组显著降低(51.92%、74.84% vs 83.33%),因此推测 Notch 信号通路通过 Notch 受体与其配体之间的相互作用,调节了 VEGF 的表达水平,且在低氧环境中变化更明显^[27]。海霞^[28]研究显示,清热活血方可减轻 CIA 大鼠关节肿胀度,降低滑膜组织中 VEGF 的表达(清热活血方组-模型组=37.49%:48.73%),具有抗抑制血管新生的作用。

4 讨论

中医药在整体观的指导下,以辨证论治为原则,针对具体病症定制的中药组合系统能够通过多靶点、多途径发挥治疗作用。中医药治疗 RA 不仅能够有效改善患者的关节疼痛肿胀等症状,延缓病情进展,而且能够

预防关节骨质的侵蚀,具有广阔的发展和开发前景。中医药成分复杂,作用机制不明确,在一定程度上阻碍了其发展。Notch 信号通路是调控细胞的重要信号转录分子,参与了 RA 多个病理变化的调控。本文从虚、毒、瘀病机理论出发,阐述 Notch 信号通路在 RA 的发病机制中的关键作用,并从现代医学角度进一步论证了其理论依据,这对于中医药现代化发展具有重要的作用。因此,在今后的研究中应当重视补肾壮骨、清热解毒及活血通络类中药对本病的治疗作用,基于中西医结合理论,用现代新技术进一步明确中药有效成分中的分子作用靶点,提高中医药的科学性,造福于人类。

参考文献:

- [1] CARVAJAL ALEGRIA G, CROFT A P. Fibroblasts, a target for imaging and therapeutics in rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2022, 61(7): 2726—2727.
- [2] DEANE K D, DEMORUELLE M K, KELMENSEN L B, et al. Genetic and environmental risk factors for rheumatoid arthritis [J]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2017, 31(1): 3—18.
- [3] WILSON T M, TRENT B, KUHN K A, et al. Microbial influences of mucosal immunity in rheumatoid arthritis [J]. *J Curr Rheumatol Rep*, 2020, 22(11): 83.
- [4] 苏雅珍, 张莉芸, 马丹, 等. Notch 信号通路在类风湿关节炎中的研究进展[J]. *中华风湿病学杂志*, 2022, 26(9): 190—193.
- [5] MISIOREK J O, PRZYBYSZEWSKA - PODSTAWKA A, KAŁAFUT J, et al. Context matters: NOTCH signatures and pathway in cancer progression and metastasis [J]. *J Cells*, 2021, 10(1): 94.
- [6] GERRARD J C, HAY J P, ADAMS R N, et al. Current thoughts of Notch's role in myoblast regulation and muscle - associated disease [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2021, 18(23): 12558.
- [7] CONDORELLI A G, EL HACHEM M, ZAMBRUNO G, et al. Notch - ing up knowledge on molecular mechanisms of skin fibrosis: Focus on the multifaceted Notch signalling pathway [J]. *J Biomed Sci*, 2021, 28(1): 36.
- [8] 程增玉, 徐浩东, 唐晓颇. Notch 信号通路在活动性类风湿关节炎中的作用[J]. *中国免疫学杂志*, 2023, 39(9): 1965—1969.
- [9] KOMORI T. Molecular mechanism of runx2 - dependent bone development [J]. *Mol Cells*, 2020, 43(2): 168—175.
- [10] MENG J. Catalpol suppresses osteoclastogenesis and attenuates osteoclast - derived bone resorption by modulating PTEN activity [J]. *J Biochem Pharm*, 2020, 171(7): 113715.
- [11] ZHANG H, HILTON M J, ANOLIK J H, et al. NOTCH inhibits osteoblast formation in inflammatory arthritis via noncanonical NF - κ B [J]. *Clin Invest*, 2014, 124(7): 3200—3214.
- [12] ZANOTTI S, SMERDEL - RAMOYA A, STADMEYER L, et al. Notch inhibits osteoblast differentiation and causes osteopenia [J]. *Endocrinology*, 2008, 149(8): 3890—3899.
- [13] YANG B, FU C, WU Y, et al. γ - Secretase inhibitors suppress IL - 20 - mediate osteoclastogenesis via Notch signalling and are affected by Notch2 in vitro [J/OL]. *J Scand J Immunol*, 2022, 96(2): e13169. 2022 - 05 - 09 [2024 - 07 - 03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35384009/>.
- [14] VIJAYARAGHAVAN J, OSBORNE B A. Notch and T cell function - A complex tale [J/OL]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1066: 339—354. 2018 - 07 - 19 [2024 - 07 - 03]. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-89512-3_17.
- [15] 王文红. 类风湿性关节炎 Treg/Th17 免疫平衡分析及 Notch 信号的调控机制研究[D]. 江苏 镇江: 江苏大学, 2011.
- [16] ANDO K, KANAZAWA S, TETSUKA T, et al. Induction of Notch signaling by tumor necrosis factor in rheumatoid synovial fibroblasts [J]. *Oncogene*, 2003, 22(49): 7796—7803.
- [17] WEI K, KORSUNSKY I, MARSHALL J L, et al. Notch signalling drives synovial fibroblast identity and arthritis pathology [J]. *Nature*, 2020, 582(7811): 259—264.
- [18] JIAO Z, WANG W, MA J, et al. Notch signaling mediates TNF alpha - induced IL - 6 production in cultured fibroblast - like synoviocytes from rheumatoid arthritis [J/OL]. *J Clin Dev Immunol*, 2012: 350209. 2011 - 12 - 08 [2024 - 07 - 03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22190977/>.
- [19] PAN X, ZHU Q, PAN L L, et al. Macrophage immunometabolism in inflammatory bowel diseases: From pathogenesis to therapy [J/OL]. *J Pharmacol Ther*, 2022, 238: 108176. 2022 - 03 - 26 [2024 - 07 - 03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35346728/>.
- [20] YUNNA C, MENGROU H, LEI W, et al. Macrophage M1/M2 polarization [J/OL]. *J Eur J Pharmacol*, 2020, 877: 173090. 2020 - 06 - 15 [2024 - 07 - 03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32234529/>.
- [21] 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]. *Bone Miner Res*, 2017, 32(7): 1469—1480.
- [22] 高玉亭, 李振, 赵雨薇, 等. 防己黄芪汤对胶原诱导性关节炎模型大鼠关节组织 Notch2/DLL1 通路的影响[J]. *中医杂志*, 2021, 62(20): 1820—1826.
- [23] 郭超伟, 宋凯, 李萍. Notch 和 Wnt 信号通路在血管形成中的协同调控作用[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2010, 26(6): 523—530.
- [24] GAO W, SWEENEY C, WALSH C, et al. Notch signalling pathways mediate synovial angiogenesis in response to vascular endothelial growth factor and angiopoietin 2 [J]. *Ann Rheum Dis*, 2013, 72(6): 1080—1088.
- [25] HU F, LIU H, XU L, et al. Hypoxia - inducible factor - 1 α perpetuates synovial fibroblast interactions with T cells and B cells in rheumatoid arthritis [J]. *Eur J Immunol*, 2016, 46(3): 742—751.
- [26] BA X, HUANG Y, SHEN P, et al. WTD attenuating rheumatoid arthritis via suppressing angiogenesis and modulating the PI3K/AKT/mTOR/HIF - 1 α pathway [J/OL]. *J Front Pharmacol*, 2021, 12: 696802. 2021 - 09 - 27 [2024 - 07 - 03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34646130/>.
- [27] GAO W, SWEENEY C, CONNOLLY M, et al. Notch - 1 mediates hypoxia - induced angiogenesis in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(7): 2104—2113.
- [28] 海霞. 清热活血方抑制 CIA 大鼠滑膜血管新生的机制研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2017.

(收稿日期 2024 - 07 - 15)