

田藜苷对大鼠A7R5血管平滑肌细胞增殖、迁移、表型转化及Notch1信号通路调控的影响

李雅琪^{1,2}, 马晓莉^{1,2}, 赵云丽², 李静^{1,2}, 袁勇^{1,2}, 王新春^{1,2*}

(1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002; 2. 石河子大学医学院第一附属医院, 新疆 石河子 832008)

摘要: 目的 研究田藜苷对A7R5血管平滑肌细胞(VSMCs)表型转化的影响及其抗动脉粥样硬化(AS)的可能作用机制。**方法** 采用氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)刺激A7R5细胞建立血管平滑肌表型转化模型, 将细胞分为正常组、模型组、田藜苷组、Notch1通路抑制剂组(DAPT组)和辛伐他汀组。采用CCK8法检测细胞增殖情况, Transwell实验检测细胞迁移情况, 实时荧光定量PCR法检测细胞SM22 α 、 α -SMA、Notch1、Hes1、Hes5、Jagged-1 mRNA表达, Western blot法检测细胞Notch1、RBP-J κ 、Hes1蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 各给药组均可抑制A7R5细胞的异常增殖和迁移($P<0.05$, $P<0.01$), 上调 α -SMA mRNA表达($P<0.01$); 田藜苷组和DAPT组下调Notch1通路相关基因Notch1、Hes-1、Hes-5和Jagged-1 mRNA表达($P<0.05$, $P<0.01$); 田藜苷组下调Notch1、Hes-1、RBP-J κ 蛋白表达($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 田藜苷通过抑制VSMCs的异常增殖、迁移、表型转化及调控Notch1信号通路, 从而保护ox-LDL诱导的A7R5细胞损伤。

关键词: 田藜苷; 血管平滑肌表型转化; 动脉粥样硬化; Notch1信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)03-0977-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2024.03.041

血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMCs)是主动脉壁中膜的重要细胞成分^[1], 血管损伤后, 由收缩型转为合成型, 即VSMCs的表型转化, 表型转化的特征体现为细胞异常增殖和迁移。VSMCs在动脉内膜聚集是动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)过程的基础, 在AS的发生发展过程中, VSMCs表型转化失调, 由血管中膜向内膜迁移并过度增殖^[2], 分泌更多的细胞外基质和炎症因子^[3]。由此可见, VSMCs表型转化是动脉粥样硬化的关键性起始步骤。Notch信号通路在VSMCs分化、增殖、迁移及表型转化中是一个关键的“调节器”, 经典的Notch1信号通路通过激活下游靶基因Hes1、Hes5^[4-5], 影响细胞增殖、凋亡和分化^[6]。

田藜苷是新疆特色植物香青兰*Dracocephalum Moldavica* L.黄酮类化合物中含量最高的活性单体^[7]。课题组前期研究发现, 田藜苷可调节脂质代谢, 减少炎症介质生成, 对AS具有保护作用^[8-10]。VSMCs在AS斑块形成的发展中起着至关重要的作用, 而田藜苷发挥抗AS的作用与VSMCs表型转化之间的关系尚不清楚。因此, 本研究采用氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)诱导刺激VSMCs表型转化, 探讨田藜苷调控Notch1信号通路对VSMCs表型转化的影响, 为田藜苷抗AS提供理论依据。

1 材料

1.1 细胞 大鼠A7R5血管平滑肌细胞, 货号FH0419, 购自上海富衡生物科技有限公司。

1.2 药物 田藜苷(纯度大于98%), 由新疆药物研究所提供, 称取5 mg田藜苷粉末, 加入到1 mL DMEM中, 配制成5 mg/mL母液, 给药时用含10%胎牛血清的DMEM培养基稀释到所需剂量。 γ -分泌酶抑制剂DAPT(美国APExBIO公司, 批号A8200); 氧化低密度脂蛋白(ox-LDL, 广州弈源生物科技有限公司, 批号YB-002); 辛伐他汀(北京索莱宝科技有限公司, 批号IS0170), 临用时均用含10%胎牛血清的DMEM培养基稀释至所需剂量。

1.3 试剂 0.1%结晶紫水溶液、BCA蛋白定量试剂盒(北京索莱宝科技有限公司, 批号G1064、PC0020); FBS胎牛血清(美国HyClone公司, 批号10100147); DMEM高糖液体培养基(美国Gibco公司, 批号11965092); 0.25%胰酶-EDTA消化液、ECL超敏发光试剂盒、cDNA反转录试剂盒(美国Thermo Fisher Scientific公司, 批号25200-056、P0018A、K1622); TRIzol试剂(美国Invitrogen公司, 批号15596026); CCK-8试剂盒(日本DojinDO公司, 批号CK04); Transwell聚碳酸酯膜嵌套(美国Corning公司, 批号3422); QuantiNova SYBR Green PCR Kit(德国QIANGEN公司, 批号208054); Hes1兔单克隆抗体、

收稿日期: 2023-01-30

基金项目: 国家自然科学基金(81860747, 81960766); 兵团财政科技计划(2022AB020)

作者简介: 李雅琪(1996—), 女, 硕士, 研究方向为药学。E-mail: liyiqi2713@163.com

*通信作者: 王新春(1969—), 女, 主任药师, 从事中药民族药新药研究与开发。E-mail: 841175436@qq.com

RBP-Jκ 兔单克隆抗体（英国 Abcam 公司，批号 ab108937、ab180588）；Notch1 兔单克隆抗体（美国 Cell Signaling Technology 公司，批号 3608S）；GAPDH 小鼠单克隆抗体、HRP 标记山羊抗小鼠 IgG、HRP 标记山羊抗兔 IgG（北京中杉金桥生物技术有限公司，批号 10494-1-AP、140193、141987）。

1.4 仪器 Forma II 3110 水套式 CO_2 培养箱、Pico-17 型微量高速离心机（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；CKX53 型常规倒置显微镜（日本 Olympus 公司）；DW-86L100J-80 °C 超低温冰箱（青岛海尔电冰箱有限公司）；M200 Pro 型多功能酶标仪（瑞士 Tecan 公司）；VE-180 型垂直电泳及电转仪（上海天能科技有限公司）；ChemiDoc XRS+型凝胶成像系统（美国 Bio-Rad 公司）；Rotor-Gene Q 型实时荧光定量-聚合酶链式反应（PCR）仪（德国 QIANGEN 公司）。

2 方法

2.1 细胞培养 将 A7R5 血管平滑肌细胞接种于含 10% 胎牛血清、0.1% 青-链霉素的 DMEM 高糖培养基，置于 37 °C、5% CO_2 培养箱中培养，细胞生长融合时用 0.25% 胰酶-EDTA 消化液传代，传代后取对数生长期细胞进行实验。

2.2 造模及分组 将 A7R5 细胞分为对照组（未加药物处理，用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基进行常规培养）、模型组（50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ox-LDL 作用 24 h 后，等体积含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基作用 24 h）、田蓟昔组（50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ox-LDL 作用 24 h 后，10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 田蓟昔作用 24 h）、DAPT 组（50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ox-LDL 作用 24 h 后，10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ DAPT 作用

24 h）、辛伐他汀组（50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ox-LDL 作用 24 h 后，10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 辛伐他汀作用 24 h）。

2.3 CCK8 法检测细胞活性 将 A7R5 细胞接种到 96 孔板中，按照“2.2”项下分组进行处理，分别测定 0（细胞贴壁后不做任何处理）、24（给予 ox-LDL 造模 24 h）、48 h（ox-LDL 造模 24 h+各组药物 24 h）细胞活性，每组 6 个复孔。处理结束后每孔加入含 10% CCK-8 试剂的无血清培养基 100 μL ，在 37 °C 培养箱中孵育 1.5 h，在 450 nm 波长下测定光密度（OD）值，细胞增殖活性与 OD 值成正比。

2.4 Transwell 法检测细胞迁移数 将 A7R5 细胞接种于 6 孔板中，按照“2.2”项下分组进行处理，收集各组细胞于无血清培养基中，铺入 Transwell 小室的上室中，将小室放入 24 孔板，下室加入 600 μL 含 15% FBS 的培养基，培养 24 h 后，取出小室，弃去孔中培养液，PBS 浸洗 2 次后，用棉签轻轻擦掉上层未迁移细胞，甲醇固定 30 min，适当风干，0.1% 结晶紫溶液染色 40 min，PBS 浸洗 3 次后，棉签轻轻拭去上室水分，将上室的纤维膜撕下，置于载玻片上，封于中性树胶中，盖上盖玻片晾干，于 200 倍显微镜下随机选 5 个视野观察细胞，拍照，计数。

2.5 RT-qPCR 法检测细胞 *SM22α*、*α-SMA*、*Notch1*、*Hes1*、*Hes5*、*Jagged-1* mRNA 表达 将 A7R5 细胞接种于 6 孔板中，按照“2.2”项下分组进行处理，收集各组细胞，采用 TRIzol 法提取细胞总 RNA，测定其浓度和纯度后，使用逆转录试剂盒逆转录为 cDNA，按试剂盒说明书进行扩增反应，以 *GAPDH* 为内参，结果以 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算目的基因 mRNA 相对表达量。引物由生工生物工程（上海）股份有限公司合成，序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	序列	片段长度/bp
<i>SM22α</i>	正向 5'-CTGGAGGAGCGGCTAGTGGAG-3' 反向 5'-GGCACCTTCACTGGCTTGGATC-3'	164
<i>α-SMA</i>	正向 5'-ACCACCAGCGTGAGCAGGAG-3' 反向 5'-CGTCCTTGAGCCATCCATGAAG-3'	90
<i>Notch1</i>	正向 5'-CGGCTGGACTGGCTTCAACTG-3' 反向 5'-GTGCTGGCATAGGAGACTGACATC-3'	94
<i>Hes1</i>	正向 5'-CCAAGCTGGAGAAGGCAGACATTC-3' 反向 5'-GGTCACCTCGTTCATGCCACTCG-3'	149
<i>Hes5</i>	正向 5'-GACCGCATCACAGCAGCATTG-3' 反向 5'-GACCGCATCACAGCAGCATTG-3'	103
<i>Jagged-1</i>	正向 5'-GTGACAGCCAGTGTGACGAAGC-3' 反向 5'-CGCAGGTGCCTCATTATGACAG-3'	165
<i>GAPDH</i>	正向 5'-TGGCCTTCCGTGTTCCCTAC-3' 反向 5'-GAGTTGCTGTTGAAGTCGCA-3'	178

2.6 Western blot 法检测细胞 Notch1、RBP-Jκ、Hes1 蛋白表达 将 A7R5 细胞接种于 6 孔板中，按照“2.2”项下分组进行处理，弃掉培养基，PBS 洗 3 次后，向各组孔中加入 150 μL 预冷的含 1% PMSF 的裂解液，冰上裂解 15 min，4 °C、12 000 r/min 离心 10 min，取上清得到细胞总蛋白溶液，BCA 测定蛋白浓度。经 10% SDS-PAGE 凝胶电泳，湿法转膜，5% 脱脂奶粉溶液封闭 1 h，然后分别加入一抗

Notch1（1：1 000）、RBP-Jκ（1：1 000）、Hes-1（1：500）、GAPDH（1：4 000）4 °C 孵育过夜，TBST 洗膜 4 次，加入 HRP 标记山羊抗小鼠 IgG 或抗兔 IgG 二抗（1：20 000）室温孵育 1 h，TBST 洗膜 4 次，ECL 化学发光液法显影，通过 Image J 1.6.0 软件对条带进行灰度值分析。

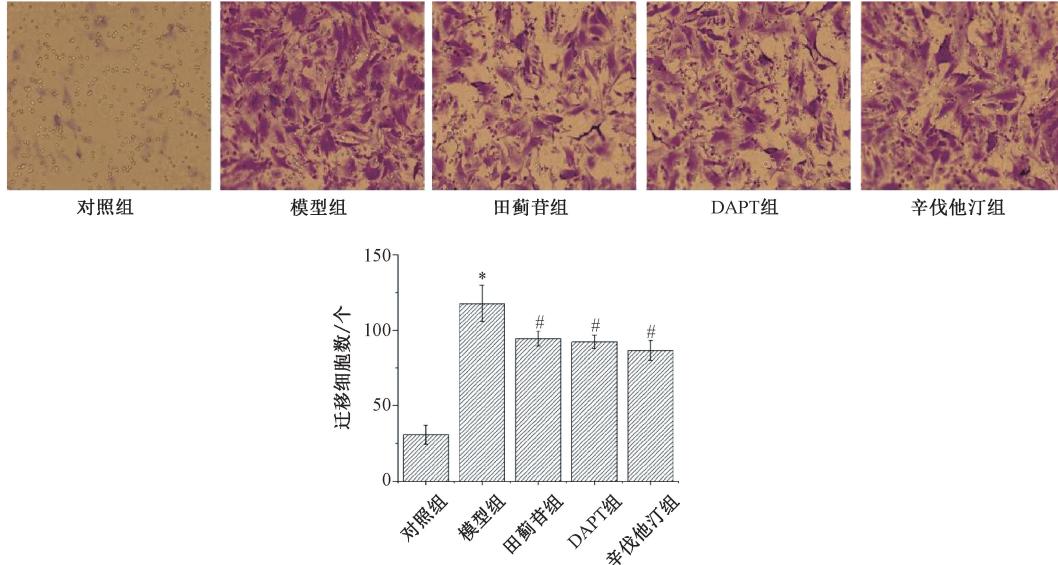
2.7 统计学分析 采用 SPSS 26.0 软件进行处理，数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示，组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差

异有统计学意义。

3 结果

3.1 田藜苷对 A7R5 细胞增殖的影响 与对照组比较, 模型组细胞增殖能力增强 ($P<0.01$); 与模型组比较, 田藜苷组、DAPT 组和辛伐他汀组细胞增殖能力减弱 ($P<0.01$), 见表 2。

3.2 田藜苷对 A7R5 细胞迁移的影响 与对照组比较, 模型组细胞迁移能力增强 ($P<0.05$); 与模型组比较, 田藜苷组、DAPT 组和辛伐他汀组细胞迁移能力减弱 ($P<0.05$), 见图 1。



注: 与对照组比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, # $P<0.05$ 。

图 1 田藜苷对 A7R5 细胞迁移的影响 ($\times 200$, $\bar{x} \pm s$, $n=5$)

3.3 田藜苷对 A7R5 细胞 $SM22\alpha$ 、 α -SMA mRNA 表达的影响 与对照组比较, 模型组细胞 α -SMA mRNA 表达降低 ($P<0.01$), $SM22\alpha$ mRNA 表达呈下降趋势, 但差异不显著 ($P>0.05$); 与模型组比较, 田藜苷组、DAPT 组和辛伐他汀组细胞 α -SMA mRNA 表达均升高 ($P<0.01$), $SM22\alpha$ mRNA 表达呈增加趋势, 但差异不显著 ($P>0.05$), 见表 3。

3.4 田藜苷对 A7R5 细胞 $Notch1$ 、 $Hes1$ 、 $Hes5$ 、 $Jagged-1$ mRNA 表达的影响 与对照组比较, 模型组细胞 $Notch1$ 、 $Hes1$ 、 $Hes5$ 和 $Jagged-1$ mRNA 表达升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 田藜苷组和 DAPT 组细胞 $Notch1$ 、 $Hes1$ 、 $Hes5$ 、 $Jagged-1$ mRNA 表达降低 ($P<0.05$), 见表 4。

表 4 田藜苷对 A7R5 细胞 $Notch1$ 、 $Hes1$ 、 $Hes5$ 、 $Jagged-1$ mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	$Notch1$	$Hes1$	$Hes5$	$Jagged-1$
对照组	0.61±0.07	0.63±0.06	0.53±0.10	0.60±0.06
模型组	1.02±0.25**	1.04±0.07**	1.01±0.17**	1.01±0.14**
田藜苷组	0.64±0.17##	0.82±0.15#	0.59±0.04##	0.64±0.09##
DAPT 组	0.61±0.03##	0.70±0.11##	0.45±0.22##	0.39±0.10##
辛伐他汀组	0.89±0.17	0.71±0.07##	0.76±0.25	0.68±0.08#

注: 与对照组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.05$ 。

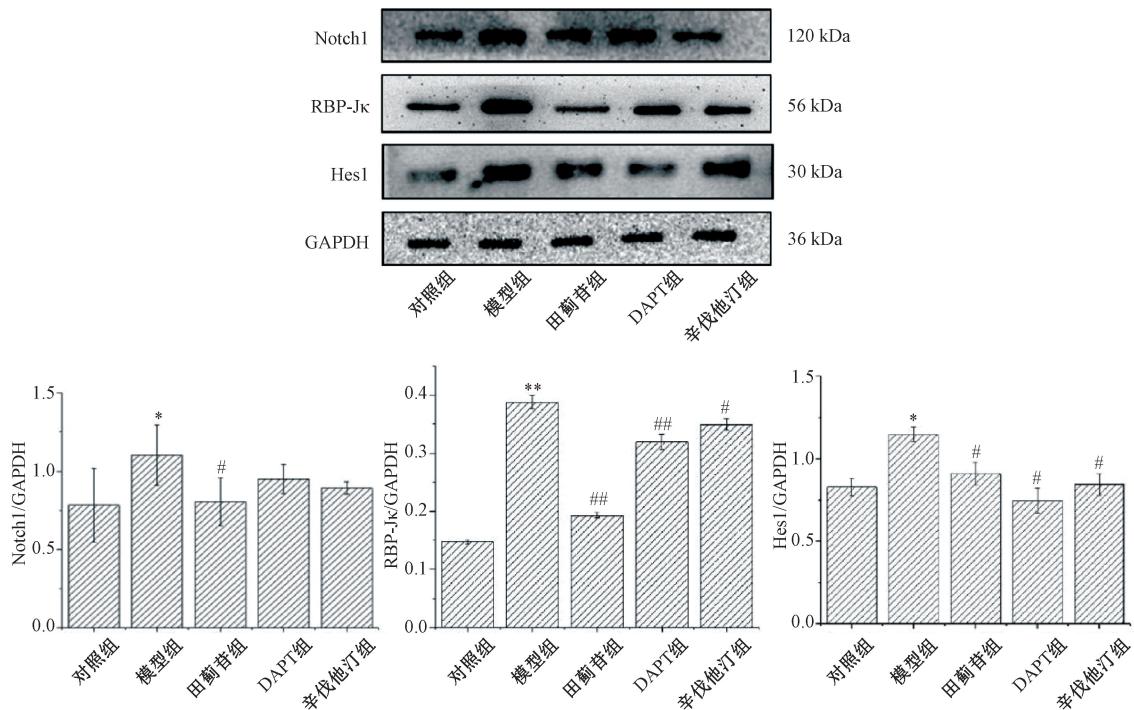
3.5 田藜苷对 A7R5 细胞 $Notch1$ 、 $RBP-J\kappa$ 、 $Hes1$ 蛋白表达的影响 与对照组比较, 模型组细胞 $Notch1$ 、 $RBP-J\kappa$ 、 $Hes1$ 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$); 与模型组比较, 田藜苷组细胞 $Notch1$ 、 $RBP-J\kappa$ 、 $Hes1$ 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), DAPT 组和辛伐他汀组 $Hes1$ 、 $RBP-J\kappa$ 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), $Notch1$ 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$), 见图 2。

见图 1。

表 2 田藜苷对 A7R5 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	0 h	24 h	48 h
对照组	0.574±0.01	0.663±0.03	0.713±0.02
模型组	0.566±0.01	0.770±0.01**	0.837±0.01**
田藜苷组	0.571±0.00	0.770±0.02	0.776±0.02##
DAPT 组	0.567±0.01	0.763±0.02	0.777±0.01##
辛伐他汀组	0.551±0.03	0.747±0.05	0.787±0.04##

注: 与对照组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, ## $P<0.05$ 。



注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.05$ 。

图2 田菊苷对A7R5细胞Notch1、RBP-Jκ和Hes1蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

4 讨论

VSMCs位于血管中膜上,在正常状态下,VSMCs表现为高度分化的收缩型,增殖和迁移能力较差;当血管受损或ox-LDL刺激时,VSMCs由收缩型转化为异常增殖的合成型,此过程称为表型转化。合成型的VSMCs迁移到内膜吞噬胆固醇,导致脂质积累和泡沫细胞形成^[11],斑块稳定性下降,进一步加速AS的发展。因此,控制VSMCs表型转化对防治AS具有重要意义。

本研究CCK-8和Transwell结果表明,田菊苷可抑制ox-LDL诱导的细胞异常增殖和迁移。 α -SMA和SM22 α 作为收缩型VSMCs的标志^[12-13],当细胞处于增殖、修复或病变状态时,该基因表达减少。本研究结果显示,ox-LDL刺激使 α -SMA mRNA表达降低,表明VSMCs向合成型转化,田菊苷处理可上调 α -SMA mRNA表达,抑制ox-LDL诱导的VSMCs的表型转化。SM22 α mRNA表达无明显变化,可能是因为SM22 α 表达具有时空性特点,在VSMCs发育过程中,SM22 α 的表达晚于 α -SMA^[14-15];并且平滑肌SM22 α 表达的激活有从量变到质变的过程,表现出时间、剂量储积性^[16-17]。以上结果表明,田菊苷可抑制VSMCs的异常增殖、迁移和表型转化。

Notch信号通路由Notch配体、受体、下游信号转导分子和核内应答过程组成,与细胞的增殖和分化密切相关^[18]。其中,受体Notch1被广泛关注,Notch1信号通路能调控平滑肌细胞的分化^[19-21],配体Jagged1在平滑肌细胞成熟的过程中发挥作用^[22],Hes1和Hes5是下游靶基因。Notch信号通路在生物进化过程中高度保守,组成部分的缺

失会引起生理功能障碍,为了保证通路的完整性,本研究测定了包括受体Notch1、配体Jagged1、靶基因Hes1和Hes5在内的通路基因。结果显示,ox-LDL诱导A7R5细胞表型转化后,Notch1通路相关基因Notch1、Hes1、Hes5、Jagged-1 mRNA和Notch1、RBP-Jκ、Hes1蛋白表达均上调,而田菊苷处理可逆转表达的上调,且在基因水平的作用与DAPT相当。值得注意的是,DAPT抑制RBP-Jκ、Hes1蛋白表达,对Notch1蛋白的抑制作用不明显,其原因可能是由于DAPT是 γ -分泌酶抑制剂^[23],而Notch1信号通路的转导途径是Notch1与配体结合形成胞内域,胞内域在 γ -分泌酶的作用下被裂解、释放,活化的胞内域易位到细胞核与RBP-Jκ结合形成复合物,进而激活下游靶蛋白Hes1和Hes5的表达^[20,24],因此DAPT对单独的Notch1蛋白的抑制作用有限,而不影响对下游的RBP-Jκ、Hes-1蛋白的抑制作用。鉴于DAPT对Notch1通路中胞内域的这种抑制过程,故而在蛋白表达层面测定通路蛋白Notch1,形成复合物的关键蛋白RBP-Jκ和下游靶蛋白Hes-1。

综上所述,田菊苷对ox-LDL诱导的A7R5细胞有确切的保护作用,其机制与抑制VSMCs的异常增殖、迁移、表型转化,调控Notch1信号通路有关。然而,对于田菊苷在体内是否具有同样的作用机制还有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] Tall A R, Yvan-Charvet L. Cholesterol, inflammation and innate immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(2): 104-116.
- [2] Wang Y, Dubland J A, Allahverdian S, et al. Smooth muscle cells contribute the majority of foam cells in ApoE

- (apolipoprotein E) -deficient mouse atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(5): 876-887.
- [3] Faggion E, Puato M, Zardo L, et al. Smooth muscle-specific SM22 protein is expressed in the adventitial cells of balloon-injured rabbit carotid artery [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19(6): 1393-1404.
- [4] Gordon W R, Vardar-Ulu D, Histen G, et al. Structural basis for autoinhibition of Notch [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14(4): 295-300.
- [5] Nemir M, Pedrazzini T. Functional role of Notch signaling in the developing and postnatal heart [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 45(4): 495-504.
- [6] Nagao H, Setoguchi T, Kitamoto S, et al. RBPJ is a novel target for rhabdomyosarcoma therapy [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e39268.
- [7] 刘云, 靳敏, 王占黎. 香青兰总黄酮化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中国民族民间医药, 2019, 28(1): 68-71.
- [8] 全翊宁, 王新春, 郭新红, 等. 香青兰总黄酮对载脂蛋白E基因缺陷小鼠动脉粥样硬化病形成的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(9): 874-878.
- [9] 曹文疆, 彭克军, 袁勇, 等. 香青兰总黄酮抗大鼠动脉粥样硬化作用的初步研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(19): 1570-1572.
- [10] 刘杨, 全翊宁, 王新春, 等. 香青兰总黄酮对 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化病变中 TGF-β1/Smad 信号通路及基质金属蛋白酶表达的影响 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(14): 2744-2748.
- [11] Wang G, Zhu Y, Li K, et al. Curcumin-mediated photodynamic therapy inhibits the phenotypic transformation, migration, and foaming of oxidized low-density lipoprotein-treated vascular smooth muscle cells by promoting autophagy [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2021, 78(2): 308-318.
- [12] Bockmeyer C L, Kern D S, Forstmeier V, et al. Arteriolar vascular smooth muscle cell differentiation in benign nephrosclerosis [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2012, 27(9): 3493-3501.
- [13] 吕品, 范素芳, 宋楠, 等. 异牛肝菌素通过阻断 SM22α 泛素化降解抑制血管平滑肌细胞表型转化 [J]. 食品科学, 2017, 38(15): 208-214.
- [14] 李琦, 温进坤, 郑斌. 血管平滑肌细胞表型调节机制的研究进展 [J]. 生理科学进展, 2003, 34(1): 27-31.
- [15] 程云会, 韩梅, 温进坤. SM22α: 血管平滑肌细胞分化的分子标志 [J]. 细胞生物学杂志, 2004, 26(3): 281-284.
- [16] 胡灵玉. 子宫平滑肌细胞中 SM22α 蛋白的作用机制研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2012.
- [17] Liao L, Zhuang X, Li W, et al. Polysaccharide from Fuzi protects against ox-LDL-induced calcification of human vascular smooth muscle cells by increasing autophagic activity [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(4): 5109-5115.
- [18] Islam T. Impact of statins on vascular smooth muscle cells and relevance to atherosclerosis [J]. *J Physiol*, 2020, 598(12): 2295-2296.
- [19] Adams R H. Molecular control of arterial-venous blood vessel identity [J]. *J Anat*, 2003, 202(1): 105-112.
- [20] Niessen K, Karsan A. Notch signaling in cardiac development [J]. *Circ Res*, 2008, 102(10): 1169-1181.
- [21] Gridley T. Notch signaling in vascular development and physiology [J]. *Development*, 2007, 134(15): 2709-2718.
- [22] Liu H, Kennard S, Lilly B. Notch3 expression is induced in mural cells through an autoregulatory loop that requires endothelial-expressed JAGGED1 [J]. *Circ Res*, 2009, 104(4): 466-475.
- [23] Mori M, Miyamoto T, Yakushiji H, et al. Effects of *N*-(3, 5-difluorophenacetyl-L-alanyl)-S-phenylglycine t-butyl ester (DAPT) on cell proliferation and apoptosis in Ishikawa endometrial cancer cells [J]. *Hum Cell*, 2012, 25(1): 9-15.
- [24] Briot A, Civelek M, Seki A, et al. Endothelial Notch1 is suppressed by circulating lipids and antagonizes inflammation during atherosclerosis [J]. *J Exp Med*, 2015, 212(12): 2147-2163.