

Е.И. Лебедева

Витебский государственный
медицинский университет,
г. Витебск, Республика Бела-
русь



Надійшла: 24.01.2020

Прийнята: 03.03.2020

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.1.7-15>

УДК 616.36-004:577.213/218

РОЛЬ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ NOTCH В ФИБРОГЕНЕЗЕ ПЕЧЕНИ

Lebedeva E.I.   The role of the Notch signaling pathway in liver fibrogenesis.
Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus.

ABSTRACT. At the present stage, the subject of intensive research is the study of the transmission mechanisms of molecular signals of the conserved Notch signaling pathway in the development of liver pathologies. The review article summarizes current scientific evidence on the role of the signaling pathway in liver fibrogenesis. Literature analysis indicates that the role of the Notch signaling pathway in the regulation of stellate cells and hepatocytes activation, macrophage polarization and its interaction with other signaling pathways in fibrogenesis has not been fully studied. It should be noted that the study of changes in the activity of the signaling cascade is of great therapeutic importance in the development of a medical guidelines for fibrosis using new antifibrotic medications.


Key words: Notch signaling pathway, liver fibrosis, stellate cells, macrophages, sinusoidal endothelial cells.

Citation:

Lebedeva EI. [The role of the Notch signaling pathway in liver fibrogenesis]. Morphologia. 2020;14(1):7-15. Russian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.1.7-15>

 Lebedeva E.I. 0000-0003-1309-4248

 lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

Введение

На протяжении многих лет проблема фиброгенеза печени привлекает внимание ученых. Актуальность проблемы определяется ее социальной значимостью. Современные исследования выявили сложные клеточно-молекулярные механизмы, лежащие в основе фиброгенеза. Однако клинически эффективных методов лечения не существует [1, 2]. В настоящее время предметом интенсивных исследований является изучение роли сигнального пути Notch в развитии патологий печени [3, 4].

Цель

Обобщение современных научных данных о роли сигнального пути Notch в фиброгенезе печени.

Рецепторы и лиганды сигнального пути Notch

Сигнальный путь Notch является универсальным, высоко консервативным механизмом

передачи сигналов. Он является ведущим механизмом передачи сигналов в эмбриональный период при закладке большинства органов и тканей (кардиогенез, васкулогенез, нейрогенез, кроветворение и морфогенез желчных протоков) и постнатальный период. Молекулярные сигналы Notch регулируют клеточную пролиферацию и дифференцировку, неоангиогенез, апоптоз, метастазирование и формирование клеточных ниш. Научные исследования последних лет показывают, что путь Notch принимает участие в метаболизме углеводов и липидов. Вероятно, он участвует в развитии инсулинорезистентности и метаболического синдрома [5, 6].

Для млекопитающих описаны четыре трансмембранные рецепторы сигнального пути Notch (NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4) и два семейства лигандов: Delta-like (DLL1, DLL3 и DLL4) и Serrate/Jagged (JAG1 и JAG2). На протяжении нескольких лет ученые считали, что существует функциональная избыточность

между количеством лигандов и рецепторов. В настоящее время исследования, выполненные на высокотехнологичном оборудовании, выявили, что каждый компонент пути выполняет универсальную, а не избыточную роль. Например, сигнальная ось JAG1-NOTCH2 известна своей ролью в морфогенезе и спецификации желчных путей. Современные исследования показывают, что другие рецепторы и лиганды пути Notch способствуют развитию желчных протоков [7, 8].

Установлено, что Notch-рецепторы состоят из 3 частей: внеклеточного домена Notch (NECD, notch extracellular domain), внутриклеточного домена Notch (NICD, notch intracellular domain) и трансмембранного фрагмента. Внеклеточный домен состоит из 30-36 EGF-повторов, трех Lin-12-Notch-повторов (LNR) и гидрофобного участка. Повторы образуют область (NRR), прилегающую к клеточной мембране. Эта область предотвращает активацию рецепторов Notch путем защиты от расщепления металлопротеазами [8, 9].

Внутриклеточный домен NICD имеет RBP-J карра-ассоциированный модуль (RAM) и семь анкириновых повторов (ANK) с парой антипараллельных спиралей. Модуль RAM и повторы ANK были идентифицированы как области необходимые для взаимодействия NICD с факторами транскрипции CSL. Исследования в области молекулярной биологии демонстрируют, что взаимодействие между NICD и CSL преимущественно зависит от модуля RAM и в меньшей степени от повторов ANK. Для последнего связывания с коактиватором MAML1 необходимы повторы ANK. В более поздних исследованиях обнаружено, что NICD, CSL и MAML1 во время передачи сигнала объединяются в единый комплекс. Он приводит к транскрипционной активации генов, на которые нацелен сигнальный путь Notch [9]. В структуру NICD также входит несколько последовательностей ядерной локализации (NLS, nuclear localization signal), область активации транскрипции (TAD) и область, содержащая пролин-глутаминовую кислоту-серин-треонин (PEST). Определено, что область PEST участвует в деградации NICD путем протеолиза. У млекопитающих область TAD обнаружена только в NOTCH1 и NOTCH2 рецепторах [7, 10].

Во время созревания рецепторы Notch подвергаются трем протеолитическим расщеплениям. После синтеза *de novo* в эндоплазматической сети белок поступает в комплекс Гольджи, где происходит первое расщепление молекулы (S1) протеазой Furin и фукозилрование ферментом O-фукозилтрансферазой. Затем гетеродимерный рецептор Notch отпочковывается от конца транс-Гольджи и транспортируется на поверхность клетки, где он способен взаимодействовать с лигандами. Взаимодействие лиганда с рецептором приводит ко второму протеолитическому

расщеплению (S2) рецептора с высвобождением внеклеточного домена NECD. У млекопитающих протеолиз S2 осуществляется металлопротеиназой TAGE (TNF α -конвертирующий фермент, металлопротеиназа-17, ADAM17). Последнее протеолитическое расщепление (S3) следует быстро за S2 и происходит в липидном слое мембраны многокомпонентным комплексом γ -секретазы, освобождая внутриклеточный домен NICD. Устойчивое состояние несвязанных рецепторов Notch контролируется лигазами E3 и белками (Numb и α -Adaptin) [3, 5, 11, 12].

В здоровой печени клетки билиарного эпителия, гепатоциты и синусоидальные эндотелиальные клетки (LSEC) экспрессируют высокие уровни белка NOTCH1, NOTCH3 и генов *NOTCH1*, *NOTCH2*, *NOTCH4*. Белок NOTCH2 и ген *NOTCH3* проявляет слабую экспрессию во всех вышеупомянутых клетках. Рецептор NOTCH4 не выявляется на большинстве структур портального тракта, но демонстрирует слабую иммунореактивность на эндотелиальных клетках артерий печени. Причины несоответствия уровней экспрессии генов и рецепторов не установлены. Можно предположить, что иммунореактивность отражает какую-то другую сторону биологии клетки [12, 13].

Характерной особенностью канонических лигандов Notch является наличие в их структуре домена Delta/Serrate/Lag-2 (DSL). Домен DSL локализован на N-конце лигандов, образуя участок MNLL. Структура данного участка до конца не изучена, но является функционально важной, поскольку многие миссенс-мутации затрагивают область hJ-1 в этом участке и вызывают, например, синдром Алажилля (AGS, ALGS, артериопеченочная дисплазия или синдром обеднения желчных протоков). Большинство пациентов с синдромом имеют доминантную мутацию в *JAG1* (около 95%) или *NOTCH2* (около 1-2%), а генетическая причина остальных случаев неизвестна. Важно отметить, что при данной патологии не существует корреляции генотип-фенотип. Единственным эффективным методом лечения AGS является трансплантация печени [7, 9, 14].

В состав лигандов входят также тандемные EGF-повторы. Их число варьируется от 16 у семейства Jagged и 5-9 у семейства Delta-like. В лигандах JAG1, JAG2 и DLL1 в первых, двух EGF-повторах был идентифицирован участок Delta/OSM-11 (DOS), выполняющий вспомогательную роль при связывании лиганда с рецептором. Лиганд DLL3 является уникальным среди семейства Delta-like. Он не способен индуцировать классический путь от рецептора NOTCH1, но может взаимодействовать с NOTCH1 при условии, если оба белка локализованы на одной клетке [5, 15].

В здоровой печени выявлена экспрессия генов *JAG1* и *DLL4*, а экспрессия *JAG2*, *DLL1* и

DLL3 отсутствует. Клетки билиарного эпителия и LSEC демонстрируют экспрессию *JAG1* и *DLL4*, а в гепатоцитах обнаруживается только ген *JAG1*. Структуры портальных трактов являются положительными для белка *JAG1*, но гепатоциты и эндотелиоциты вен печени проявляют слабое иммуногистохимическое окрашивание [16, 17].

Активация Notch сигнального пути

Экспериментальные работы демонстрируют, что каноническая передача сигналов Notch инициируется при условии, что экспрессируемый на клеточной поверхности лиганд связывается с рецептором в транс-положении, локализованным на противоположной поверхности клетки. Альтернативно, было выявлено, что если лиганд и рецептор расположены на одной клетке, то происходит цис-ингибирующее взаимодействие. Молекулярная основа активирующих и ингибирующих комплексов до конца не изучена [18]. Взаимодействие рецепт/лиганд запускает каскад ферментативного расщепления рецептора членами семейства TAGE и комплексом γ -секретазы. Это приводит к высвобождению внутриклеточного домена NICD. Он транслоцируется в ядро и взаимодействует с ДНК-связывающим фактором транскрипции CSL (RBP-Jk, LAG-1, CBF1). Взаимодействие между NICD и CSL вытесняет комплекс корепрессоров SMART/HDACs и заменяется комплексом коактиваторов (MAML1-3, EP300 и SNW1). Это приводит к активации транскрипции генов-мишеней. Наиболее изученными мишенями для передачи сигналов Notch являются гены *HES* (Hairy/enhance of split) и *HEY* (Hairy/enhancer of split). Прекращение передачи сигнала Notch в клетке происходит путем фосфорилирования и полиубиквитинирования NICD с последующей деградацией и терминацией сигнала [19].

Идентифицирована неканоническая передача сигналов пути Notch, независимая от факторов транскрипции CSL и/или комплекса γ -секретазы. Предположительно, в неканонической передаче сигналов важную функцию выполняет эндоцитоз, но механизм передачи до конца не изучен. Описан ряд неканонических лигандов: DNER, DLK1, DLK2, F3/CONTACTIN1, NB/CONTACTIN6. Выявлено, что трансмембранные неканонические лиганды DLK1 и DLK2 способны конкурировать с каноническими лигандами *JAG1* и *DLL4* за связывание с рецепторами Notch [20].

Роль Notch сигнального пути в регуляции функции клеток печени при фиброгенезе

Активация передачи сигналов Notch вызывает фиброгенные эффекты при большом количестве заболеваний: системный склероз, склеродермию, идиопатический фиброз легких, фиброз

почек, сердца и печени. В основе клеточных механизмов фиброгенеза печени доминирующей гипотезой остается активация звездчатых клеток (HSCs). В процессе активации они подвергаются морфологическим и функциональным изменениям и трансформируются в миофибробласты, секретирующие внеклеточный матрикс. Механизм трансдифференцировки до конца не изучен. Ученые предполагают, что трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) является ключевым медиатором, участвующим в процессе активации HSCs. Следует отметить, что у пациентов с AGS наблюдается ограниченное отложение фиброзной ткани в печени и это согласуется с медленным прогрессированием цирроза. Вероятно, мутации связаны с трансдифференцировкой звездчатых клеток в миофибробласты [14, 21, 22].

У крыс при экспериментальном фиброзе печени, вызванном четыреххлористым углеродом (CCl₄), отмечен повышенный уровень экспрессии NOTCH1, NOTCH3, DLL1, DLL4, JAG1, NOTCH1, NOTCH3 и HES1 по сравнению с контрольной группой. В других исследованиях показано, что повреждение печени крыс CCl₄ приводит к значительному увеличению количества NOTCH1, NOTCH3 и NOTCH4 в клетках, локализованных близи фиброзных септ. У пациентов и животных активация HSCs в одних исследованиях приводит к повышению уровня экспрессии NOTCH2, NOTCH3, HEY2 и HEYL, а в других – NOTCH3, JAG1 и HES1, по сравнению с не активированными контрольными клетками. Выявлено, что у пациентов с токсическим циррозом печени в активированных HSCs снижается уровень экспрессии NOTCH1, а при вирусном гепатите В – повышается. Подавление активации HSCs можно рассматривать как перспективный подход к лечению фиброзных заболеваний [22, 23].

В печени макрофаги локализованы близи HSCs и, вероятно, играют ключевую роль в инициации и прогрессировании фиброза. Ряд ученых предлагают рассматривать макрофаги как «главные регуляторы», а HSCs как «главные продуценты» при фиброгенезе. Многочисленные работы по исследованию онкологических и аутоиммунных заболеваний подтверждают, что передача сигналов Notch участвует в активации и пластичности макрофагов. По данным современной литературы, макрофаги печени представлены двумя популяциями: тканевыми макрофагами или клетками Купфера, и инфильтрирующими моноцитами/макрофагами. Они различаются по происхождению, функциям и механизмам поддержания собственной численности. Клетки Купфера являются самообновляющимися, резидентными и преимущественно немигрирующими фагоцитами. Повреждение печени вызывает их активацию, что приводит к секреции ими воспалительных цитокинов и хемокинов. Это способствует рекрутированию моноцитов в печень и

появлению большого количества воспалительных инфильтрирующих макрофагов. Клетки Купфера и макрофаги обладают свойствами пластичности и адаптируют свой фенотип в соответствии с сигналами микроокружения. Процесс изменения фенотипа называют перепрограммированием, поляризацией, активацией или альтернативным фенотипом. Пластичность позволяет макрофагам приобретать широкий спектр функций от провоспалительных (M1, или классически активированные макрофаги) до противовоспалительных (M2, или альтернативно активированные макрофаги). Накопленные данные свидетельствуют о наличии дополнительных фенотипов макрофагов (M2a, M2b, M2c, M2d, M4, Mox, Mhem) [24, 25].

Bansal R. et al [26] на протяжении нескольких лет изучали роль сигнального пути Notch в активации и поляризации макрофагов. Они выявили, что макрофаги M1 и M2 фенотипов демонстрирует морфологические и функциональные различия. Активированные действием интерферона- γ /бактериальных липополисахаридов (IFN γ /LPS) макрофаги в M1 фенотип преимущественно демонстрировали длинную, веретенообразную форму. Дифференцированные действием интерлейкина-4/интерлейкина-13 (IL4/IL13) в M2 фенотип макрофаги имели в основном круглую форму. M1-дифференцированные макрофаги секретировали медиаторы воспаления и экспрессировали более высокие уровни рецепторов Notch (NOTCH1>NOTCH3>NOTCH2) и лигандов (DLL1, DLL4, JAG1) по сравнению с недифференцированными и M2-дифференцированными макрофагами [24, 27].

Предположительно, передача сигналов Notch регулирует функции макрофагов путем контроля генов, участвующих в их поляризации. Взаимодействие TLR4 (толл-подобный рецептор 4, CD284) с лигандом запускает сигнальный каскад и вызывает трансляцию ключевых транскрипционных факторов (IRF8), связанных с активацией и пластичностью макрофагов. У мышей Notch1^{+/-} (мыши, нокаутированные по гену *NOTCH1*) наблюдается ослабление процесса поляризации макрофагов в M1 фенотип и снижение воспалительных реакций [24]. Имеющиеся в настоящее время данные не позволяют до конца понять функцию передачи сигналов Notch при воспалении, но с уверенностью можно предполагать, что он играет роль в модуляции воспалительных реакций и регулируется иммунными стимулами. Регуляция баланса M1/M2 может быть потенциальной целью лечения фиброза печени [25-27].

Фиброз печени характеризуется неоваскуляризацией портальных трактов и капилляризацией синусоидов. Так как сигнальный путь Notch выполняет ключевую роль во время эмбрионального развития сосудов, вероятно, неоваскуляриза-

ция находится под контролем Notch. При токсическом поражении печени в одних исследованиях показано увеличение экспрессии NOTCH1 и NOTCH2 рецепторов и отсутствие экспрессии лиганда JAG1 на LSEC. Отсутствие JAG1 позволяет предположить, что другой лиганд Notch может взаимодействовать с рецепторами. Возможно, DLL4 выполняет эту роль, так как он экспрессируется в раннем эмбриональном периоде и участвует в морфогенезе сосудов. В других исследованиях отмечено увеличение NOTCH2, NOTCH3 и JAG1 [28]. В печени пациентов при первичном билиарном циррозе и первичном склерозирующем холангите на клетках эпителия желчных протоков, сосудистой сети и гепатоцитах отмечена повышенная экспрессия JAG1 по сравнению со здоровой печенью. Иммуногистохимический анализ показал, что эндотелиоциты сосудов портальных трактов одновременно экспрессируют маркеры CD31 и JAG1 [29].

В неповрежденной печени LSEC секретировать оксид азота (NO) для поддержания звездчатых клеток в состоянии покоя. При поражениях печени LSEC запускают синтез базальной мембраны, снижают количество фенестр, уменьшают секрецию NO и увеличивают секрецию фибронектина. Синусоидальная капилляризация является одной из основных особенностей фиброза и цирроза печени. В эксперименте на животных выявлено, что снижение секреции NO и увеличение отложения фибронектина, способствует активации звездчатых клеток, изменению их фенотипа и фиброгенезу. Механизмы, лежащие в основе данных изменений, ожидают дальнейшего изучения [30].

Исследования последних лет демонстрируют, что Notch-активация гепатоцитов приводит к последующей активации HSCs и фиброзу. Duan J.L. et al [31] изучали влияние повышенной активности сигнального пути Notch на гепатоциты при фиброгенезе. Было установлено, что у пациентов с тяжелыми случаями неалкогольного стеатогепатита количество HES1⁺ гепатоцитов увеличено. На экспериментальной модели неалкогольного стеатогепатита у мышей так же было определено, что гепатоцит-специфическое ингибирование Notch приводит к уменьшению отложения внеклеточного матрикса и снижению активации звездчатых клеток, не влияя на степень повреждения гепатоцитов и воспаление печени. У пациентов с хроническим активным гепатитом гепатоциты экспрессируют высокий уровень рецептора NOTCH3, а при циррозе – NOTCH4. Необходимо отметить, что гепатоциты локализовались по краю ложных узелков [29, 31, 32].

Взаимодействие Notch сигнального пути с другими сигнальными путями при фиброгенезе печени

Практически на всех этапах фиброгенеза

сигнальный каскад Notch взаимодействует с компонентами других сигнальных путей. Наиболее изученными являются Wnt/ β -catenin, TGF β , Hedgehog (Hh) и Hippo. Вероятно, в будущем данный перечень будет расширен. Пути Notch и Wnt/ β -catenin взаимодействуют несколькими, иногда, противоположными способами. Синергетическое взаимодействие между Notch и Wnt/ β -catenin путями зависят от RBP-Жк-опосредованной канонической передачи сигналов, тогда как антагонистические эффекты опосредуются лиганд/RBP-Жк-независимой передачей сигналов Notch [15, 19, 33].

Исследования длинной некодирующей РНК L^{inc}FAR1 (lnc-LFAR1, liver fibrosis-associated lncRNA1) в печени мышей с фиброзом продемонстрировали перекрестную связь между активацией TGF β и передачей сигналов Notch. У животных с фиброзом печени, вызванным CCl₄, ингибирование lnc-LFAR1 приводит к нарушению передачи сигналов TGF β , снижению активности HSCs и уровню экспрессии генов *NOTCH2*, *NOTCH3*, *HES1* и *HEY2*. Показано, что lnc-LFAR1 увеличивает связывание SMAD2/3 с регуляторными областями *NOTCH2* и *NOTCH3*. Данные исследования позволяют предположить, что передача сигналов TGF β может непосредственно приводить к увеличению активности Notch. Другое исследование выявило, что увеличение экспрессии TGF β в культивируемых HSCs приводит к повышенной экспрессии генов-мишеней *JAG1* сигнального пути Notch. Таким образом, TGF β в печени может частично способствовать развитию фиброза, стимулируя активность Notch [33, 34].

Сигнальный путь Hedgehog (Hh) способствует активации HSCs и их дифференцировке в миофибробласты. У животных перевязка общего желчного протока приводит к увеличению уровня экспрессии *NOTCH2*, *JAG1*, *HES1*, *HEY1*, *HEY2* и *HEYL*. Обработка культивированных HSCs антагонистом GDC-0449 сигнального пути Hh значительно снижает уровни экспрессии *NOTCH2* и *JAG1*. В клетках того же типа фармакологическое ингибирование передачи сигналов Notch с использованием ингибитора γ -секретазы DAPT (N-[N-(3,5-difluorophenacetyl-L-alanyl)]-S-phenyl-glycine t-butyl ester) вызывает снижение передачи сигналов Hh. Вероятно, пути Hh и Notch стимулируют друг друга и совместно способствуют активации HSCs и развитию фиброза [33, 35, 36, 37].

В здоровой печени *SOX9* является нижестоящей мишенью для передачи сигналов Notch и экспрессируется в холаңиоцитах. Последние исследования продемонстрировали, что у пациентов с хроническим гепатитом С и у экспериментальных животных с фиброзом (вызванным CCl₄ и перевязкой общего желчного протока) *SOX9* экспрессируется в гепатоцитах и активиро-

ванных HSCs. В данных исследованиях повышенная экспрессия *SOX9* коррелировала с тяжестью фиброза. Выявлена связь между повышенным уровнем *SOX9* и Hippo сигнальным путем в развитии фиброза. Ингибирование YAP у экспериментальных животных с фиброзом печени, индуцированным CCl₄ и перевязкой общего желчного протока, приводило к снижению экспрессии *SOX9* в HSCs. Эксперименты на клеточных культурах свидетельствуют о том, что наблюдаемая профиброзная функция *SOX9* возникает из-за его экспрессии в HSCs, а не в холаңиоцитах и гепатоцитах. Предположительно, Notch и YAP могут активировать *SOX9* в клетках разных типов, а это приводит к активации HSCs и индукции фиброза [38-40].

Сигнальный путь Notch перспективная цель для разработки новых антифиброзных препаратов

Соединение GSI является наиболее исследованным ингибитором комплекса γ -секретазы сигнального пути Notch. Оно клинически протестировано при болезни Альцгеймера и раке молочной железы в комбинации со стандартным методом лечения и отдельно. У мышей с фиброзом печени, вызванным CCl₄ и холестатическим поражением печени, соединение GSI эффективно снижает передачу сигналов Notch, уменьшает фиброз, ингибирует протоковую реакцию и активацию гепатических стволовых клеток. Необходимо отметить, что терапия на основе препарата GSI имеет некоторые недостатки. Данное вещество не является клеточно-селективным или системно-специфичным и влияет на другие сигнальные пути. Кроме того, оно обладает значительным профилем токсичности и влияет на функцию кишечника. Показано, что совместное ингибирование рецепторов NOTCH1 и NOTCH2 нарушает биологию стволовых клеток кишечника [41, 42].

Методами *in vitro* и *in vivo* выявлено, что использование другого ингибитора комплекса γ -секретазы вещества Avagacestat снижает активацию передачи сигналов Notch. Ингибитор подавляет активацию HSCs, отложение коллагена, поляризацию макрофагов в M1 фенотип и фиброгенез. Примечательно, что вещество Avagacestat, подавляя поляризацию макрофагов в провоспалительный M1 фенотип, стимулирует дифференцировку макрофагов в противовоспалительный M2 фенотип. Эти результаты позволяют предположить о решающей роли передачи сигналов Notch в активации HSCs и регуляции баланса M1/M2 макрофагов [43-45].

Блокирование активации передачи сигналов Notch ингибитором комплекса γ -секретазы веществом DAPT значительно ослабляет фиброз печени у крыс. Показано, что DAPT не влияет на пролиферацию гепатоцитов, но обеспечивает их

защиту от апоптоза. Вещество DAPT не является специфическим ингибитором сигнального пути Notch и имеет широкое влияние Wnt/ β -catenin и PI3K/Akt сигнальные пути [33]. Разработаны другие вещества (например, RO4929097), ингибирующие образование ядерного комплекса NICD/CSL и транскрипционную активность NICD [46-48]. Полученные результаты свидетельствуют, что изменение активации сигнального пути Notch имеет важное терапевтическое значение в разработке протокола лечения фиброза с использованием новых антифиброзных препаратов.

Заключение

Анализ современной литературы показал, что роль сигнального пути Notch в регуляции активации звездчатых клеток, гепатоцитов, поляризации макрофагов и его взаимодействия с другими сигнальными путями при фиброгенезе печени полностью не изучена. Сопоставить полученные результаты исследований иногда сложно. Одни ученые изучают экспрессию рецепторов, лигандов и генов в ткани другие – в отдельных клетках. Исследователи используют различные методы активации пути Notch, которые затрагивают разные типы рецепторов и лигандов. Работы выполнены как методом *in vitro* так и *in vivo* с использованием полимеразной цепной реакции и иммуногистохимии. Необходимо учитывать, что передача сигналов зависит от типа клеток, от стадии и/или места их локали-

зации, вида патологии и наличия сигналов от других сигнальных путей. Следует отметить, что изменение активности сигнального каскада имеет важное терапевтическое значение и является перспективным направлением при лечении фиброза. Сигнальный путь Notch представляет перспективную цель для разработки новых антифиброзных препаратов.

Имеющиеся обобщенные научные данные о роли сигнального пути Notch в фиброгенезе печени будут способствовать дальнейшим исследованиям в этой области.

Перспективы дальнейших исследований

Дальнейшие исследования позволят разработать и обосновать использование изменение активации сигнального пути Notch при разработке антифиброзных препаратов.

Информация о конфликте интересов

Потенциальных или явных конфликтов интересов, связанных с этой рукописью, на момент публикации не существует и не предвидится.

Источники финансирования

Работа выполнена в рамках проекта задания государственной программы научных исследований «Изучить роль экспрессии генов NOTCH-и TWEAK-сигнальных путей, участвующих в процессах пролиферации и дифференцировки клеток печени в норме и при ее токсическом поражении» (номер государственной регистрации 20190107 от 19.02.2019).

Литературные источники References

1. Zhan Z, Chen Y, Duan Y, Li L, Mew K, Hu P, Ren H, Peng M. Identification of key genes, pathways and potential therapeutic agents for liver fibrosis using an integrated bioinformatics analysis. *Peer J*. 2019;7:e6645. doi: 10.7717/peerj.6645
2. Tao Y, Tian K, Chen J, Tan D, Liu Y, Xiong Y, Chen Z, Tian Y. Network pharmacology-based prediction of the active compounds, potential targets, and signaling pathways involved in danshiliuhao granule for treatment of liver fibrosis. *Evid Based Complement Alternat. Med*. 2019;2630357. doi: 10.1155/2019/2630357
3. Adams JM, Jafar-Nejad H. The Roles of Notch signaling in liver development and disease. *Biomolecules*. 2019;9(10). pii: E608. doi: 10.3390/biom9100608
4. Morell CM, Strazzabosco M. Notch signaling and new therapeutic options in liver disease. *J. Hepatol*. 2014;60(4):885-90. doi: 10.1016/j.jhep.2013.11.028
5. Siebel C, Lendahl U. Notch signaling in development, tissue homeostasis, and disease. *Physiol. Rev*. 2017;97(4):1235-94. doi: 10.1152/physrev.00005.2017
6. Wang J, Dong M, Xu Z, Song X, Zhang S, Qiao Y, Che L, Gordan J, Hu K, Liu Y, Calvisi DF, Chen X. Notch2 controls hepatocyte-derived cholangiocarcinoma formation in mice. *Oncogene*. 2018;37(24):3229-42. doi: 10.1038/s41388-018-0188-1
7. Chillakuri CR, Sheppard D, Lea SM, Handford PA. Notch receptor-ligand binding and activation: insights from molecular studies. *Semin Cell Dev. Biol*. 2012;23(4):421-8. doi: 10.1016/j.semcdb.2012.01.009
8. Wang XP., Zhou J., Han M., Chen CB., Zheng YT., He XS., Yuan XP. MicroRNA-34a regulates liver regeneration and the development of liver cancer in rats by targeting Notch signaling pathway. *Oncotarget*. 2017;8(8):13264-76. doi: 10.18632/oncotarget.14807
9. Zhang Y, Li D, Feng F, An L, Hui F, Dang D, Zhao Q. Progressive and prognosis value of Notch receptors and ligands in hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Sci. Rep*. 2017;7(1):14809. doi: 10.1038/s41598-017-14897-6
10. Mao Y, Tang S, Yang L, Li K. Inhibition of

the Notch signaling pathway reduces the differentiation of hepatic progenitor cells into cholangiocytes in biliary atresia. *Cell Physiol. Biochem.* 2018;49(3):1074-82. doi: 10.1159/000493290

11. Chen Y, Zheng S, Qi D, Zheng S, Guo J, Zhang S, Weng Z. Inhibition of Notch signaling by a γ -secretase inhibitor attenuates hepatic fibrosis in rats. *PLoS One.* 2012;7(10):e46512. doi: 10.1371/journal.pone.0046512

12. Morell CM, Fiorotto R, Meroni M, Raizner A, Torsello B, Cadamuro M, Spagnuolo G, Kaffe E, Sutti S, Albano E, Strazzabosco M. Notch signaling and progenitor/ductular reaction in steatohepatitis. *PLoS One.* 2017;12(11):e0187384. doi: 10.1371/journal.pone.0187384

13. Nijjar SS, Wallace L, Crosby HA, Hub-scher SG, Strain AJ. Altered Notch ligand expression in human liver disease: further evidence for a role of the Notch signaling pathway in hepatic neo-vascularization and biliary ductular defects. *Am. J. Pathol.* 2002;160(5):1695-703.

14. Gilbert M.A., Spinner N.B. Alagille syndrome: Genetics and Functional Models. *Curr. Pathobiol. Rep.* 2017;5:233-41. doi: 10.1007/s40139-017-0144-8

15. Lee SJ, Kim KH, Pak SC, Kang YN, Yoon GS, Park KK. Notch signaling affects biliary fibrosis via transcriptional regulation of RBP-jk in an animal model of chronic liver disease. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2015;8(10):12688-97

16. Vanderpool C, Sparks EE, Huppert KA, Gannon M, Means AL, Huppert SS. Genetic interactions between hepatocyte nuclear factor-6 and Notch signaling regulate mouse intrahepatic bile duct development in vivo. *Hepatology.* 2012;55(1):233-43. doi: 10.1002/hep.24631

17. Banerjee D, Hernandez SL, Garcia A, Kangsamaksin T, Sbiroli E, Andrews J, Forrester LA, Wei N, Kadenhe-Chiweshe A, Shawber CJ, Kitajewski JK, Kandel JJ, Yamashiro DJ. Notch suppresses angiogenesis and progression of hepatic metastases. *Cancer Res.* 2015;75(8):1592-602. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-1493

18. Geisler F, Strazzabosco M. Emerging roles of Notch signaling in liver disease. *Hepatology.* 2015;61(1):382-92. doi: 10.1002/hep.27268

19. He W, Dai C. Key fibrogenic signaling. *Curr. Pathobiol. Rep.* 2015;3(2):183-92.

20. Hu B, Phan SH. Notch in fibrosis and as a target of anti-fibrotic therapy. *Pharmacol. Res.* 2016;108:57-64. doi: 10.1016/j.phrs.2016.04.010

21. Zhang K, Zhang YQ, Ai WB, Hu QT, Zhang QJ, Wan LY, Wang XL, Liu CB, Wu JF. Hes1, an important gene for activation of hepatic stellate cells, is regulated by Notch1 and TGF- β /BMP signaling. *World J. Gastroenterol.* 2015;21(3):878-87. doi: 10.3748/wjg.v21.i3.878

22. Liu C, Liu L, Chen X, Cheng J, Zhang H, Zhang C, Shan J, Shen J, Qian C. LSD1 stimulates cancer-associated fibroblasts to drive Notch3-

dependent self-renewal of livercancer stem-like cells. *Cancer Res.* 2018;78(4):938-49. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1236

23. Scholten D, Osterreicher CH, Scholten A, Iwaisako K, Gu G, Brenner DA, Kisseleva T. Genetic labeling does not detect epithelial-to-mesenchymal transition of cholangiocytes in liver fibrosis in mice. *Gastroenterology.* 2010;139(3):987-98. doi: 10.1053/j.gastro.2010.05.005

24. Li H, Sun S, Lei Q, Lei P, Cai X, Wan C, Shen G. M1-polarized macrophages promote self-renewing phenotype of hepatic progenitor cells with Jagged1-Notch signalling involved: relevance in primary sclerosing cholangitis. *J. Immunol. Res.* 2018;4807145. doi: 10.1155/2018/4807145

25. Terada M, Horisawa K, Miura S, Takashima Y, Ohkawa Y, Sekiya S, Matsuda-Ito K, Suzuki A. Kupffer cells induce Notch-mediated hepatocyte conversion in a common mouse model of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Sci. Rep.* 2016;6:34691. doi: 10.1038/srep34691

26. Bansal R, van Baarlen J, Storm G, Prakash J. The interplay of the Notch signaling in hepatic stellate cells and macrophages determines the fate of liver fibrogenesis. *Sci. Rep.* 2015;5:18272. doi: 10.1038/srep18272

27. Xu J, Chi F, Tsukamoto H. Notch signaling and M1 macrophage activation in obesity-alcohol synergism. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 2015;39(1):24-8. doi: 10.1016/j.clinre.2015.05.016

28. Morrow D, Hatch E, Hamm K, Cahill PA, Redmond EM. Flk-1/KDR mediates ethanol-stimulated endothelial cell Notch signaling and angiogenic activity. *J. Vasc. Res.* 2014;51(4):315-24. doi: 10.1159/000367807

29. Urbanek K, Lesiak M, Krakowian D, Koryciak-Komarska H, Likus W, Czekaj P, Kusz D, Sieroń AL. Notch signaling pathway and gene expression profiles during early in vitro differentiation of liver-derived mesenchymal stromal cells to osteoblasts. *Lab. Invest.* 2017;97(10):1225-34. doi: 10.1038/labinvest.2017.60

30. Hao X, Li Y, Wang J, Ma J, Zhao S, Ye X, He L, Yang J, Gao M, Xiao F, Wei H. Deficient O-GlcNAc glycosylation impairs regulatory T cell differentiation and Notch signaling in autoimmune hepatitis. *Front Immunol.* 2018;9:2089. doi: 10.3389/fimmu.2018.02089

31. Duan JL, Ruan B, Yan XC, Liang L, Song P, Yang ZY, Liu Y, Dou KF, Han H, Wang L. Endothelial Notch activation reshapes the angiocrine of sinusoidal endothelia to aggravate liver fibrosis and blunt regeneration in mice. *Hepatology.* 2018;68(2):677-90. doi: 10.1002/hep.29834

32. Giovannini C, Bolondi L, Gramantieri L. Targeting Notch3 in hepatocellular carcinoma: molecular mechanisms and therapeutic perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;18(1). pii: E56. doi: 10.3390/ijms18010056

33. Lin IY, Chiou YS, Wu LC, Tsai CY, Chen

CT, Chuang WC, Lee MC, Lin CC, Lin TT, Chen SC, Pan MH, Ma N. CCM111 prevents hepatic fibrosis via cooperative inhibition of TGF- β , Wnt and STAT3 signaling pathways. *J. Food Drug. Anal.* 2019;27(1):184-94. doi: 10.1016/j.jfda.2018.09.008

34. Genz B, Coleman MA, Irvine KM, Kutasovic JR, Miranda M, Gratte FD, Tirnitz-Parker JEE, Olynyk JK, Calvopina DA, Weis A, Cloonan N, Robinson H, Hill MM, Al-Ejeh F, Ramm GA. Overexpression of miRNA-25-3p inhibits Notch1 signaling and TGF- β -induced collagen expression in hepatic stellate cells. *Sci. Rep.* 2019;9(1):8541. doi: 10.1038/s41598-019-44865-1

35. Liu C, Cheng X, Chen J, Wang Y, Wu X, Tian R, Liu B, Ding X, Sun Q, Gong W. Suppression of YAP/TAZ-Notch1-NICD axis by bromodomain and extraterminal protein inhibition impairs liver regeneration. *Theranostics.* 2019;9(13):3840-52. doi: 10.7150/thno.33370

36. Wu N, Nguyen Q, Wan Y, Zhou T, Venter J, Frampton GA, DeMorrow S, Pan D, Meng F, Glaser S, Alpini G, Bai H. The Hippo signaling functions through the Notch signaling to regulate intrahepatic bile duct development in mammals. *Lab. Invest.* 2017;97(7):843-53. doi: 10.1038/labinvest.2017.29

37. Kim W, Khan SK, Yang Y. Interacting network of Hippo, Wnt/ β -catenin and Notch signaling represses liver tumor formation. *BMB Rep.* 2017;50(1):1-2.

38. Giovannini C, Bolondi L, Gramantieri L. Targeting Notch3 in hepatocellular carcinoma: molecular mechanisms and therapeutic perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;18(1). pii: E56. doi: 10.3390/ijms18010056

39. Zhou SJ, Deng YL, Liang HF, Jaoude JC, Liu FY. Hepatitis B virus X protein promotes CREB-mediated activation of miR-3188 and Notch signaling in hepatocellular carcinoma. *Cell Death Differ.* 2017;24(9):1577-87. doi: 10.1038/cdd.2017.87

40. Jiang L, Ke M, Yue S, Xiao W, Yan Y, Deng X, Ying QL, Li J, Ke B. Blockade of Notch signaling promotes acetaminophen-induced liver injury. *Immunol. Res.* 2017;65(3):739-49. doi: 10.1007/s12026-017-8913-3

41. Sarma NJ, Tiriveedhi V, Subramanian V,

Shenoy S, Crippin JS, Chapman WC, Mohanakumar T. Hepatitis C virus mediated changes in miRNA-449a modulates inflammatory biomarker YKL40 through components of the NOTCH signaling pathway. *PLoS One.* 2012;7(11):e50826. doi: 10.1371/journal.pone.0050826

42. Ren K, Li T, Zhang W, Ren J, Li Z, Wu G. MiR-199a-3p inhibits cell proliferation and induces apoptosis by targeting YAP1, suppressing Jagged1-Notch signaling in human hepatocellular carcinoma. *J. Biomed. Sci.* 2016;23(1):79.

43. Kaylan KB, Berg IC, Biehl MJ, Brougham-Cook A, Jain I, Jamil SM, Sargeant LH, Cornell NJ, Raetzman LT, Underhill GH. Spatial patterning of liver progenitor cell differentiation mediated by cellular contractility and Notch signaling. *Elife.* 2018;7. pii: e38536. doi: 10.7554/eLife.38536

44. Luo H, Liu WH, Liang HY, Yan HT, Lin N, Li DY, Wang T, Tang LJ. Differentiation-inducing therapeutic effect of Notch inhibition in reversing malignant transformation of liver normal stem cells via MET. *Oncotarget.* 2018;9(27):18885-95. doi: 10.18632/oncotarget.24421

45. Liu XB, Lo CM, Cheng Q, Ng KT, Shao Y, Li CX, Chung SK, Ng IOL, Yu J, Man K. Oval cells contribute to fibrogenesis of marginal liver grafts under stepwise regulation of aldose reductase and Notch signaling. *Theranostics.* 2017;7(19):4879-93. doi: 10.7150/thno.20085

46. Wu CX, Xu A, Zhang CC, Olson P, Chen L, Lee TK, Cheung TT, Lo CM, Wang XQ. Notch inhibitor PF-03084014 inhibits hepatocellular carcinoma growth and metastasis via suppression of cancer stemness due to reduced activation of Notch1-Stat3. *Mol. Cancer. Ther.* 2017;16(8):1531-43. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0001

47. Lu J, Xia Y, Chen K, Zheng Y, Wang J, Lu W, Yin Q, Wang F, Zhou Y, Guo C. Oncogenic role of the Notch pathway in primary liver cancer. *Oncol. Lett.* 2016;12(1):3-10.

48. Gu Y, Xiao L, Ming Y, Zheng Z, Li W. Corilagin suppresses cholangiocarcinoma progression through Notch signaling pathway in vitro and in vivo. *Int. J. Oncol.* 2016;48(5):1868-76. doi: 10.3892/ijo.2016.3413

Лебедєва О.І. Роль сигнального шляху Notch у фіброгенезі печінки.

РЕФЕРАТ. На сучасному етапі предметом інтенсивних досліджень є вивчення механізмів передачі молекулярних сигналів консервативного сигнального шляху Notch в розвитку патологій печінки. В оглядовій статті узагальнено сучасні наукові дані про роль сигнального шляху у фіброгенезі печінки. Аналіз літератури свідчить, що роль сигнального шляху Notch в регуляції активації зірчастих клітин, гепатоцитів, поляризації макрофагів і його взаємодії з іншими сигнальними шляхами при фіброгенезі повністю не вивчена. Слід зазначити, що вивчення змін активності сигнального каскаду має важливе терапевтичне значення в розробці протоколу лікування фіброзу з використанням нових антифіброзних препаратів.

Ключові слова: сигнальний шлях Notch, фіброз печінки, зірчасті клітини, макрофаги, синусоїдальні ендотеліальні клітини.

Лебедева Е.И. Роль сигнального пути Notch в фиброгенезе печени.

РЕФЕРАТ. На современном этапе предметом интенсивных исследований является изучение механизмов передачи молекулярных сигналов консервативного сигнального пути Notch в развитии патологий печени. В обзорной статье обобщены современные научные данные о роли сигнального пути в фиброгенезе печени. Анализ литературы свидетельствует, что роль сигнального пути Notch в регуляции активации звездчатых клеток, гепатоцитов, поляризации макрофагов и его взаимодействия с другими сигнальными путями при фиброгенезе полностью не изучена. Следует отметить, что изучение изменений активности сигнального каскада имеет важное терапевтическое значение в разработке протокола лечения фиброза с использованием новых антифиброзных препаратов.

Ключевые слова: сигнальный путь Notch, фиброз печени, звездчатые клетки, макрофаги, синусоидальные эндотелиальные клетки.