文章编号:1004-7220(2018)01-0089-06

Notch 信号通路在骨重建中的作用

何子豪， 于志锋
(上海交通大学医学院附属第九人民医院 骨科，上海市骨科内植物重点实验室，上海 200011)

摘要:Notch 信号通路在胚胎发育、神经系统、血管系统、内分泌系统及肿瘤等领域具有广泛的影响。近年来的研究表明,Notch 对于骨组织代谢尤其是骨重建有着重要的调控作用,而骨重建的调节紊乱和骨质疏松、骨关节炎等疾病的进展密切相关。Notch 信号通路可以通过调控骨组织不同细胞的功能从而影响骨重建过程,但其在不同细胞中具体的参与方式仍然未知。综述近年来 Notch 信号通路在骨重建中的作用研究进展。

关键词:Notch 信号通路; 骨重建; 成骨细胞; 骨细胞; 破骨细胞
中图分类号： R 318.01 **文献标志码**： A
DOI: 10.16156/j.1004-7220.2018.01.015

The Role of Notch Signaling in Bone Remodeling

HE Zihao， YU Zhifeng
(*Shanghai Key Laboratory of Orthopaedic Implants*, *Department of Orthopaedic Surgery*, *Shanghai Ninth People's Hospital*, *Shanghai Jiao Tong University School of Medicine*, *Shanghai 200011*, *China*)

Abstract: Notch signaling pathway has a wide range of effects in the field of embryonic development, nervous system, vascular system, endocrine system and tumor. In recent years, studies have shown that Notch plays an important role in the regulation of bone metabolism, especially in bone remodeling. The disorder of bone remodeling is closely related to the progress of diseases such as osteoporosis and osteoarthritis. Notch signaling pathway can affect the process of bone remodeling by regulating the function of different cells in bone tissues, but its specific participation in different cells is still unknown. This review summarizes recent advances about the role of Notch signaling in bone remodeling.

Key words: Notch signaling pathway; bone remodeling; osteoblast; osteocyte; osteoclast

骨质疏松和骨关节炎在中老年群体中有很高的发病率[1-2]。骨质疏松以骨量丢失和骨脆性增加为标志,而骨关节炎则呈现软骨下骨硬化和新生骨赘的病理特征。骨质疏松和骨关节炎具有相反的疾病进展过程,但均由于骨重建(bone remodeling)异常导致。导致骨重建异常的因素有很多,包括诸如 Wnt、Smad 等生物学因素和力学传导异常在内的力学因素。而近年来研究发现,Notch 信号通路在骨重建中具有重要的作用。

Notch 突变果蝇最早于 1914 年被 Dexter 观察并记录[3],并于 1917 年由 Morgan 在果蝇中建立其等位基因[4]。因为该基因可以导致果蝇翅膀边缘的缺损,故被称为 Notch。Notch 信号是一个进化上保守的通路,通过细胞间的连接来决定细胞的命运。近年来研究显示,Notch 信号通路在胚胎发育、神经系统、心血管系统、内分泌系统以及肿瘤等领

收稿日期:2017-09-01; **修回日期**:2017-10-20
基金项目:国家自然科学基金项目(11572197)
通信作者:于志锋,副研究员,E-mail:zfyu@outlook.com

域都有着广泛的影响,特别是 Notch 在骨代谢疾病中也具有重要的作用[5]。本文结合近年来的研究进展,阐述 Notch 信号通路在骨重建中的作用。

1 Notch 信号通路的组成和激活

1.1 Notch 受体与配体

Notch 信号典型通路由 Notch 受体、配体以及 CSL 组成。Notch 受体是一个多分区的一型跨膜蛋白,在哺乳动物中有4种不同 Notch 受体(Notch1-4)。哺乳动物 Notch 受体由胞外区和胞内区(Notch intracellular domain, NICD)组成,两部分在高尔基体经 Furin-like 蛋白(一种前蛋白转化酶)切割 S1 位点后组成异源二聚体并被转运到细胞膜上。Notch1-null 小鼠以及 Notch2 功能缺失突变小鼠都会因为心血管缺陷而致死,Notch1 和 Notch2 受体在结构上相似但功能上却并不完全重叠[6-7]。Notch3 的结构和 Notch1 与 Notch2 有一定区别。Notch3-null 小鼠虽然也存在血管畸形但可以存活并生育,Notch3 突变在人体中可导致常染色体显性遗传病合并皮质下梗死和白质脑病(CADASIL)综合征。Notch4 对于胚胎发育没有影响,但某些功能和 Notch1 一致。

Notch 配体是一种一型跨膜蛋白,在果蝇中有 Delta 和 Serrate 两种,在线虫有 LAG-2 一种,也称为 DSL 蛋白。根据同源性,5 种经典配体分别命名为 JAG1、JAG2、DLL1、DLL3、DLL4。

1.2 CSL 及信号传递

DNA 结合因子位于细胞核内,其同源分子存在于哺乳动物(CBF1,也称 RBP-Jκ)、果蝇(Su(H))以及线虫(Lag-1)中,故也称为 CSL。

细胞膜上的 Notch 受体和其配体在相邻细胞间发生作用,当 Notch 配体与受体结合,首先由解整合素-金属蛋白酶(a disintegrin and metalloproteinase, ADAM)家族的蛋白酶催化 S2 位点的肽键断裂,释放出 Notch 胞外区,随后早老素蛋白(presenilin, PS)依赖的 γ-分泌酶复合物(γ-secretase complex)再进行蛋白水解切割 S3 与 S4 位点并且释放出 NICD,NICD 随后转移到细胞核内,并且与 CSL 和助激活剂 Mam(mastermind-like)蛋白结合,形成一个 NICD-CSL-Mam 三元复合物,该复合物可以启动转录并引起编码 HES(hairy and enhancer of split)和 HEY(Hes-related with YRPW motif)的基因表达,这就是典型的 Notch 信号通路。HES 基因编码碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)类转录因子,编码 Hes1、Hes5 和 Hes7 等靶标。HEY 基因也编码 3 个 bHLH 类转录因子,分别是 Hey1、Hey2 和 HeyL。

2 Notch 信号在骨重建中的作用

2.1 骨重建概述

发育完成的骨骼通过骨重建来调节骨代谢平衡状态,骨重建由破骨细胞(osteoclast)介导的骨吸收和成骨细胞(osteoblast)介导的骨形成两个过程组成,通过基本多细胞单位(basic multicellular unit, BMU)来完成。

在骨重建过程中,目前已知有许多通路在其中发挥了重要的作用。骨形成方面,Wnt 典型信号通路中通过激活 β-连环蛋白(β-catenin)并进入核内启动核心结合因子 A1(runt-related transcription factor 2, RunX2)表达,后者可以通过调控碱性磷酸酶、骨钙蛋白、骨桥蛋白等基因的表达促进成骨细胞分化成熟。骨吸收方面,破骨细胞分化因子(receptor activator of NF-KB ligand, Rankl)对于破骨细胞的分化及骨吸收功能至关重要,成骨细胞和骨细胞都能够通过分泌 Rankl 调节破骨细胞的生成[8],以及通过分泌骨保护素(osteoprotegrin, OPG)结合 Rankl 负调控破骨细胞,从而抑制骨吸收。最近研究发现,Notch 信号通路可以通过抑制 Wnt 通路以及调节 OPG 和 Rankl 分别影响骨形成和骨吸收过程[9-10]。

2.2 Notch 信号在成骨细胞中的作用

研究发现,Notch1 和 Notch2 以及它们的配体 DLL1 和 JAG1 在成骨细胞系中表达[11],而在部分成骨细胞系中存在少量 Notch3 的表达,但目前还没有证据显示 Notch4 在其中表达。

Notch1 在成骨细胞中的稳定激活抑制了成骨分化。在成骨细胞和其前体细胞中由逆转录病毒激活的 Notch1 信号增强了 HES 的活性,并通过抑制 Wnt/β-catenin 通路而非 BMP 通路抑制成骨分化[9,12]。这个抑制效应也在由 Col1a1 作为启动子介导的骨髓基质细胞转基因表达 Notch1 的实验中得到验证。细胞质中的 β-catenin 水平以及由 Wnt3

刺激的碱性磷酸酶活性被 Notch 所抑制[13]。而与稳定激活相反，在体外短暂激活 Notch 模型中观察到了骨形态发生蛋白（bone morphogenetic protein，BMP）活性以及成骨新生的增加[14-15]，提示 Notch 信号在细胞内的表达时间可能影响了成骨分化的过程。关于成骨细胞的抑制现象也在 Notch2 的研究中得到验证[16]。

Notch 通过 Wnt 信号抑制成骨分化作用的机制被认为是通过对 β-catenin 的调节来完成的：Notch 通路激活其效应器 Hes1，Hes1 通过与 Groucho（一种转录抑制因子）和 T 细胞因子（T-cell factor，TCF）组成复合物，从而阻止 TCF 与 β-caenitn 作用，下调后者的活性，抑制 Wnt 典型通路的作用。另外一些研究发现，Notch 可以调节活化 T 细胞核因子（nuclear factor of activated T-cells，NFAT）信号通路，例如稳定 NFATc2 的转录，而 NFATc2 可以抑制成骨细胞功能[17]。

而 Notch 通路在对成骨细胞的抑制分化作用外，在 Engine 等[18]的研究中也观察到了其对成骨细胞增殖的促进作用，这个效应被认为和细胞周期素 D1（cyclin D1）和细胞周期素 E（cyclin E）的表达增强有关，也同对 Runx2 的直接抑制有关，因为 Runx2 可以通过促使细胞退出细胞周期抑制增殖以及促进成骨分化[19]，由此不成熟的成骨细胞过量增殖并且沉积为不成熟的编织骨。Col1a1 作为启动子介导的 Notch1 过表达转基因初代小鼠在出生时体型较小并且表现出持续的发育迟缓，骨髓腔在 4 周时主要由未成熟的编织骨而非板层骨组成，环绕着纤维化的骨髓，其中包含着早期成骨前体细胞，骨皮质中也出现了大量未成熟的编织骨并且持续到第 11 周，形态计量证实松质骨体积和成骨细胞表面显著增加，增加的成骨活性导致了类骨质产生的增加。此外，效应器 Hes 和 Hey 也被发现能够通过物理拮抗抑制 Runx2 的转录活性，抑制 Notch 对成骨分化的作用[20-21]。

Notch 通路的配体及其他效应器在成骨分化中的具体角色也得到越来越多的了解。研究发现，JAG1 在可以被甲状旁腺激素（parathyroid hormone，PTH）调节，体内和体外的研究也证实 PTH 可以增加成骨细胞的 JAG1 表达[22]。Lawal 等[23]通过 Prx1 作为启动子驱动 Cre 酶表达特异性敲除小鼠成骨细胞系 JAG1，2 月时显示松质骨量增加和成骨细胞活性增强，提示 JAG1 可以通过调节成骨前体细胞向成熟成骨细胞的转换调节骨稳态。Fan 等[24]研究发现，雌激素可以通过上调 Notch 通路中 JAG1 表达增加绝经后骨质疏松患者的骨髓间充质干细胞（mesenchymal stem cells，MSC）增殖和分化。黄韧带骨化中 JAG1 的表达上调也提示 Notch 在其中的成骨作用增强[25]。Zanotti 等[26]研究发现，PTH 可以抑制 DLL1 对成骨细胞中 Hey1、Hey2 以及 HeyL 的 mRNA 的刺激作用，并且 PTH 通过降低 CBF-1 与 DNA 的结合发挥作用。Zanotti 等[27]研究显示，Hes1 只是有限影响了 Notch1 的基因表达，故同时存在其他基因参与 Notch 信号通路在骨骼中的下游信号效应。此外，Hey1 的失活只导致了部分骨硬化[28]，Hey2 的失活也只引起了适量和短暂的松质骨骨量增加[29]。而 HeyL 在 Notch 信号中转录了最多的 mRNA。Canalis 等[30]进一步研究发现，HeyL 失活小鼠不表现出明显的骨骼表型，说明之前发现的骨骼影响有赖于其他基因如 Hey1 的补偿作用，而 HeyL 对于骨骼稳态是不必要的。

MSC 在一定条件下可以分化为成骨细胞、脂肪细胞、成肌细胞以及软骨细胞，故决定成骨分化的信号通路同时也会影响向其他细胞的分化[31]。关于这些通路间的互相作用和 Notch 的关系还缺乏统一的结论。Ross 等[32]通过对脂肪前体细胞的研究发现，Hes1 可以通过抑制前脂肪细胞因子（preadipocyte factor 1，Pref1，特异性存在于脂肪前体细胞并通过激活 MAPK/ERK 通路抑制脂肪形成）启动脂肪形成，但又同时抑制脂肪细胞成熟基因的转录[33]。此外，在 ATDC5 细胞（一种可以分化出软骨细胞表型的畸胎瘤细胞）中过表达的 Notch1 和 Notch2 抑制了性别决定区 Y 盒 9（sex determining region Y-box，Sox9）蛋白的表达，从而抑制向软骨分化[34]，而对 Sox9 的抑制作用也可能继发于效应器 Hes 和 Hey 的表达[35]。

综上所述，Notch 具有抑制成骨分化和诱导成骨细胞增殖的双重作用，并且 Notch 通路在成骨细胞分化的不同阶段或骨细胞中有着各不相同的影响。推测不同分化阶段的成骨细胞具有不同的分布及表型，因而对 Notch 信号的敏感性和激活方式也存在差异，而 MSC 的多能分化特性也会影响到

Notch 对成骨细胞的响应,这其中的具体过程仍需要结合相关成骨因素一起考虑。

2.3 Notch 信号通路在骨细胞中的作用

分化成熟的成骨细胞被矿化基质包埋最终成为骨细胞,高表达硬化蛋白(sclerostin)和牙本质基质酸性磷蛋白(dentin matrix acidic phosphoprotein 1, DMP1)。研究者们通过转基因小鼠来调控特定分化阶段的成骨细胞直至骨细胞的 Notch 信号通路。有研究通过 $Rosa^{Notch}$ 小鼠来条件性诱导不同阶段成骨细胞以及骨细胞中 Notch 的表达[13,36]:在未分化(Sp7)成骨细胞和成熟成骨细胞(Bglap)中,激活 Notch1 可以导致松质骨骨量降低,而在骨细胞(Dmp1)中激活 Notch1 引起骨吸收减少导致了松质骨骨量增加。在 Col1a1 诱导的细胞中,其在椎体的表型与成熟骨细胞(Bglap)中相似,在股骨则与骨细胞(Dmp1)中相似,可能的解释为椎骨中主要的松质骨中富含成骨细胞,而股骨中富含的皮质骨中则含有更多的骨细胞。Liu 等[37]通过 EGFP 技术对包埋在矿化基质中的骨细胞进行研究,发现 Notch 过表达在卵巢切除后的成年小鼠中有着显著的促成骨作用。后续研究也显示,在骨细胞中,Notch1 的激活可以增加 OPG 并抑制硬化蛋白和 Dickkopf 相关蛋白 1(Dickkopf-related protein 1, Dkk1)表达,从而增强 Wnt 信号的传导并间接抑制破骨细胞生成,使得松质骨骨量增加并导致骨硬化[38-39]。因为硬化蛋白在成骨细胞中几乎不表达,故这个效应没有在成骨细胞中出现。

来源于成骨细胞的骨细胞在 Notch 响应的过程中与成骨细胞有着明显的区别。骨细胞对 Wnt 通路有相反的作用,并且可更多通过调节破骨细胞发挥对骨重建的作用。而这些发现也和近年来对骨细胞在骨重建中扮演活跃的角色的认知相一致[40]。此外,包埋于基质中的骨细胞间主要通过陷窝小管网络(lacuno-canalicular network)互相作用,而 Notch 通路依赖于细胞间传递,这也让骨细胞对 Wnt 的激活有着更多值得讨论的地方,例如力学响应对骨细胞 Wnt 通路的促进[41]。

2.4 Notch 信号通路在破骨细胞系及骨吸收中的作用

Notch 信号对骨代谢的影响包含了对骨吸收的调节,包括直接和间接的作用方式。Notch1 与 Notch2 在破骨细胞生成过程中的作用也大不相同。研究发现,骨细胞及成熟成骨细胞中 Notch1 表达显著增加了小鼠血清 OPG 的含量,而 OPG 可以通过抑制骨吸收引起骨量的增加,从而引起骨硬化表型[20,36]。而抑制成骨细胞中的 Notch1 则会抑制 OPG,从而增加骨吸收并导致骨量流失[18,42]。Bai 等[42]研究显示,体内 Notch 配体或者 Notch1 在破骨前体细胞中会引起对破骨生成的抑制现象,而在破骨前体细胞中移除 Notch1、Notch2 和 Notch3 后会增强破骨形成,在 Notch-null 的小鼠中也观察到 Rankl 对骨吸收的刺激更加敏感。而其他通过失活骨髓细胞中 Rbpjκ 的实验结果显示,体外 Notch 对破骨分化的抑制作用可能是通过经典途径介导[43]。

成骨细胞中激活 Notch2 会通过介导 Rankl 的表达促进破骨生成作用[10]。Fukushima 等[44]研究发现,Notch2 的异位表达可以增强 NFATc1 的活性并且促进破骨细胞生成。随后的研究发现,在胚胎肢体间充质中去除 Notch2 会显著增加青春期小鼠的松质骨骨量,并且显示 Hey1 可以结合并抑制 NFATc1 启动子来调控骨吸收。Yorgan 等[16]通过研究将成骨细胞系和破骨细胞系中 Notch2 敲除小鼠发现,这些小鼠在6、12 月时股骨近端和胫骨远端显示出显著的松质骨骨量增加,说明 Notch2 对抑制附肢骨中松质骨的形成从而维持生理水平的骨重建具有重要意义。关于 Notch2 在破骨细胞中的作用也为 Notch2 突变导致的 Hajdu-Cheney 综合症(HCS)提供了新的理解。HCS 作为一种罕见的常染色体显性遗传病,它的临床表现中存在骨骼的病理破坏现象[45],如颅面发育缺陷(扁平颅)、骨质疏松导致的骨折以及肢端骨质溶解。Canalis 等[46]研究发现,在 HCS 中由于 Notch2 的突变,保证了缩短的 Notch2 蛋白的稳定翻译,并表现出增强的 Notch2 功能。携带 HCS Notch2 突变的实验小鼠模型表现出继发于增强的骨吸收的骨质减少,体外实验也证实破骨前体细胞池、破骨细胞分化和骨吸收均有增加。

综上所述,Notch1 存在着对骨吸收的抑制作用,而 Notch2 却可以介导破骨生成并促进骨吸收,这个现象是有趣的,因为 Notch1 和 Notch2 的结构相似,在许多领域发挥的作用也相似。因此,对于两者在破骨调节的明显区别,可以结合两者在其他

作用的区别上加以研究。

3 展望

一方面,随着人们对 Notch 作用研究的深入,相关机制以及疾病的机理和治疗都有望得到新的探索;另一方面,随着人们对骨代谢疾病机制研究的深入,骨重建相关的研究也呈现出比以往更加复杂的背景。目前,Notch 信号在骨骼发育以及维持骨代谢平衡方面发挥着重要的作用,有许多严重的骨骼疾病如骨质疏松和骨关节炎可以归因于 Notch 信号通路的改变,但依然有很多细节未被研究和了解。因此,仍然需要进一步的研究来探讨这其中的问题。

参考文献:

[1] VELASCO J, ZARRABEITIA MT, PRIETO JR, *et al*. Wnt pathway genes in osteoporosis and osteoarthritis: Differential expression and genetic association study [J]. Osteoporos Int, 2010, 21(1): 109-118.

[2] TANG Y, WU X, LEI W, *et al*. TGF-beta1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation [J]. Nat Med, 2009, 15(7): 757-765.

[3] DEXTER JS. The analysis of a case of continuous variation in drosophila by a study of its linkage relations [J]. Am Nat, 1914, 48(576): 712-758.

[4] MOHR OL. Character changes caused by mutation of an entire region of a chromosome in drosophila [J]. Genetics, 1919, 4(3): 275-282.

[5] RATNESWARAN A, BEIER F. A top-notch dilemma: The complex role of NOTCH signaling in osteoarthritis [J]. Sci Signal, 2015, 8(386): fs14.

[6] MCCRIGHT B, GAO X, SHEN L, *et al*. Defects in development of the kidney, heart and eye vasculature in mice homozygous for a hypomorphic Notch2 mutation [J]. Development, 2001, 128(4): 491-502.

[7] SWIATEK PJ, LINDSELL CE, AMO FFD, *et al*. Notch1 is essential for postimplantation development in mice [J]. Genes Dev, 1994, 8(6): 707-719.

[8] NAKASHIMA T, HAYASHI M, FUKUNAGA T, *et al*. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression [J]. Nat Med, 2011, 17(10): 1231-1234.

[9] DEREGOWSKI V, GAZZERRO E, PRIEST L, *et al*. Notch 1 overexpression inhibits osteoblastogenesis by suppressing Wnt/beta-catenin but not bone morphogenetic protein signaling [J]. J Biol Chem, 2006, 281(10): 6203-6210.

[10] 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(4): 1538-1551.

[11] ZANOTTI S, CANALIS E. Notch and the skeleton [J]. Mol Cell Biol, 2010, 30(4): 886-896.

[12] SCIAUDONE M, GAZZERRO E, PRIEST L, *et al*. Notch 1 impairs osteoblastic cell differentiation [J]. Endocrinology, 2003, 144(12): 5631-5639.

[13] ZANOTTI S, SMERDELRAMOYA A, STADMEYER L, *et al*. Notch inhibits osteoblast differentiation and causes osteopenia [J]. Endocrinology, 2008, 149(8): 3890-3899.

[14] KOHN A, DONG Y, MIRANDO AJ, *et al*. Cartilage-specific RBPjκ-dependent and -independent Notch signals regulate cartilage and bone development [J]. Development, 2012, 139(6): 1198-1212.

[15] KEN-ICHI TPD, YASUDA M, WATANABE N, *et al*. Stimulation of osteoblastic cell differentiation by Notch [J]. J Bone Miner Res, 2002, 17(2): 231-239.

[16] YORGAN T, VOLLERSEN N, RIEDEL C, *et al*. Osteoblast-specific Notch2 inactivation causes increased trabecular bone mass at specific sites of the appendicular skeleton [J]. Bone, 2016, 87: 136-146.

[17] ZANOTTI S, SMERDELRAMOYA A, CANALIS E. Nuclear factor of activated T-cells (NFAT)c2 inhibits Notch receptor signaling in osteoblasts [J]. J Biol Chem, 2013, 288(1): 624-632.

[18] ENGIN F, YAO Z, YANG T, *et al*. Dimorphic effects of Notch signaling in bone homeostasis [J]. Nat Med, 2008, 14(3): 299-305.

[19] PRATAP J, GALINDO M, ZAIDI SK, *et al*. Cell growth regulatory role of Runx2 during proliferative expansion of preosteoblasts [J]. Cancer Res, 2003, 63(17): 5357-5362.

[20] HILTON MJ, TU X, WU X, *et al*. Notch signaling maintains bone marrow mesenchymal progenitors by suppressing osteoblast differentiation [J]. Nat Med, 2008, 14(3): 306-314.

[21] ZAMUROVIC N, CAPPELLEN D, ROHNER D, *et al*. Coordinated activation of notch, Wnt, and transforming growth factor-beta signaling pathways in bone morphogenic protein 2-induced osteogenesis. Notch target gene Hey1 inhibits mineralization and Runx2 transcriptional activity [J]. J Biol Chem, 2004, 279(36): 37704-37715.

[22] FORSYTHE SR, CHRISTIANSON CA, FRISCH BJ. Parathyroid hormone stimulates expression of the Notch ligand Jagged1 in osteoblastic cells [J]. Bone, 2006, 39(3): 485-493.

[23] LAWAL RA, ZHOU X, BATEY K, *et al*. The Notch ligand jagged1 regulates the osteoblastic lineage by maintaining the osteoprogenitor pool [J]. J Bone Miner Res, 2017, 32(6): 1320-1331.

[24] FAN JZ, YANG L, MENG GL, *et al*. Estrogen improves the proliferation and differentiation of hBMSCs derived from postmenopausal osteoporosis through notch signaling pathway [J]. Mol Cell Biochem, 2014, 392(1-2): 85-93.

[25] QU X, CHEN Z, FAN D, *et al*. MiR-199b-5p inhibits osteogenic differentiation in ligamentum flavum cells by targeting JAG1 and modulating the Notch signalling pathway [J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(6): 1159-1170.

[26] ZANOTTI S, CANALIS E. Parathyroid hormone inhibits Notch signaling in osteoblasts and osteocytes [J]. Bone, 2017, 103: 159-167.

[27] ZANOTTI S, SMERDELRAMOYA A, CANALIS E. Hairy and enhancer of split (HES)1 is a determinant of bone mass [J]. J Biol Chem, 2010, 21(21): 17-19.

[28] SALIE R, KNEISSEL M, VUKEVIC M, *et al*. Ubiquitous overexpression of Hey1 transcription factor leads to osteopenia and chondrocyte hypertrophy in bone [J]. Bone, 2010, 46(3): 680-694.

[29] ZANOTTI S, CANALIS E. Hairy and enhancer of split-related with YRPW motif (HEY)2 regulates bone remodeling in mice [J]. J Biol Chem, 2013, 288(30): 21547-21557.

[30] CANALIS E, ZANOTTI S. Hairy and enhancer of split-related with YRPW motif-like (HeyL) is dispensable for bone remodeling in mice [J]. J Cell Biochem, 2016, 118(7): 1819-1826.

[31] VELDHUIS-VLUG AG, ROSEN CJ. Mechanisms of marrow adiposity and its implications for skeletal health [J]. Metabolism, 2017, 67: 106-114.

[32] ROSS DA, HANNENHALLI S, TOBIAS JW, *et al*. Functional analysis of Hes-1 in preadipocytes [J]. Mol Endocrinol, 2006, 20(3): 698-705.

[33] HUDAK CS, SUL HS. Pref-1, a gatekeeper of adipogenesis [J]. Front Endocrinol, 2013, 4(79): 1-6.

[34] CHEN S, TAO JN, BAE YJ, *et al*. Notch gain of function inhibits chondrocyte differentiation via Rbpj-dependent suppression of Sox9 [J]. J Bone Miner Res, 2013, 28(3): 649-659.

[35] FISCHER A, GESSLER M. Delta-Notch-and then? Protein interactions and proposed modes of repression by Hes and Hey bHLH factors [J]. Nucleic Acids Res, 2007, 35(14): 4583-4596.

[36] CANALIS E, PARKER K, FENG JQ, *et al*. Osteoblast lineage-specific effects of Notch activation in the skeleton [J]. Endocrinology, 2013, 154(2): 623-634.

[37] LIU P, PING Y, MA M, *et al*. Anabolic actions of Notch on mature bone [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(15): E2152-2161.

[38] CANALIS E, ADAMS DJ, BOSKEY A, *et al*. Notch signaling in osteocytes differentially regulates cancellous and cortical bone remodeling [J]. J Biol Chem, 2013, 288(35): 25614-25625.

[39] CANALIS E, BRIDGEWATER D, SCHILLING L, *et al*. Canonical Notch activation in osteocytes causes osteopetrosis [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2016, 310(2): E171-182.

[40] BONEWALD LF. The amazing osteocyte [J]. J Bone Miner Res, 2011, 26(2): 229-238.

[41] ROBLING AG, NIZIOLEK PJ, BALDRIDGE LA, *et al*. Mechanical stimulation of bone *in vivo* reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin [J]. J Biol Chem, 2008, 283(9): 5866-5875.

[42] 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, 2008, 283(10): 6509-6518.

[43] ZHAO B, GRIMES SN, LI S, *et al*. TNF-induced osteoclastogenesis and inflammatory bone resorption are inhibited by transcription factor RBP-J [J]. J Exp Med, 2012, 209(2): 319-334.

[44] FUKUSHIMA H, NAKAO A, OKAMOTO F, *et al*. The association of Notch2 and NF-kappaB accelerates RANKL-induced osteoclastogenesis [J]. Mol Cell Biol, 2008, 28(20): 6402-6412.

[45] CANALIS E, ZANOTTI S. Hajdu-Cheney syndrome: A review [J]. Orphanet J Rare Dis, 2014, 9: 200.

[46] CANALIS E, ZANOTTI S. Hajdu-Cheney syndrome, a disease associated with NOTCH2 mutations [J]. Curr Osteoporos Rep, 2016, 14(4): 126-131.