

# Notch 信号通路调控 CD4<sup>+</sup> T 细胞分泌 IL-22 在 Vogt-小柳原田综合征中的作用

储昭节, 王彤, 马强, 范晶晶, 蔡敏

引用: 储昭节, 王彤, 马强, 等. Notch 信号通路调控 CD4<sup>+</sup> T 细胞分泌 IL-22 在 Vogt-小柳原田综合征中的作用. 国际眼科杂志 2019;19(7):1114-1118

作者单位: (710002) 中国陕西省西安市第一医院眼科 西安市眼科医院 陕西省眼科研究所

作者简介: 储昭节, 男, 毕业于空军军医大学, 博士, 主治医师, 研究方向: 眼底病、白内障。

通讯作者: 储昭节. chuzhaojie2009@163.com

收稿日期: 2019-03-20 修回日期: 2019-06-04

## 摘要

**目的:** 观察 Notch 受体和 IL-22 在 Vogt-小柳原田 (VKH) 综合征患者中的表达变化, 探讨 Notch 信号通路对 VKH 综合征患者 CD4<sup>+</sup> T 细胞分泌 IL-22 的调控作用。

**方法:** 选取 VKH 综合征患者 35 例 (活动期 15 例和静止期 20 例) 和健康对照组 12 例, 分选血浆和 CD4<sup>+</sup> T 细胞, qRT-PCR 和 Western blot 法检测 Notch 受体, ELISA 法检测血浆 IL-22 表达, 流式细胞术检测 Th17 和 Th22 的比例。观察抑制 Notch 信号通路对 VKH 综合征患者 CD4<sup>+</sup> T 细胞转录因子相对表达量和 IL-22 分泌水平的变化。

**结果:** 活动期 VKH 综合征患者 CD4<sup>+</sup> T 细胞中 Notch1~3 较静止期和健康对照组显著升高。活动期 VKH 综合征患者血浆 IL-22 及 Th17、Th22 水平高于静止期和健康对照组。抑制 Notch 信号通路可导致活动性 VKH 综合征患者 CD4<sup>+</sup> T 细胞中 AhR mRNA 降低, 分泌 IL-22 水平降低。

**结论:** Notch-AhR-IL-22 信号通路可能参与了 VKH 综合征的发病。

**关键词:** Vogt-小柳原田综合征; Notch 信号通路; 白细胞介素-22; CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2019.7.06

## Notch signaling pathway regulates IL-22 secretion by CD4<sup>+</sup> T cells in patients with Vogt-Koyanagi-Harada syndrome

Zhao-Jie Chu, Tong Wang, Qiang Ma, Jing-Jing Fan, Min Cai

Department of Ophthalmology, Xi'an First Hospital, Xi'an Eye Hospital, Eye Institute of Shaanxi Province, Xi'an 710002, Shaanxi Province, China

**Correspondence to:** Zhao-Jie Chu. Department of Ophthalmology, Xi'an First Hospital, Xi'an Eye Hospital, Eye Institute of Shaanxi

Province, Xi'an 710002, Shaanxi Province, China. chuzhaojie2009@163.com

Received: 2019-03-20 Accepted: 2019-06-04

## Abstract

• **AIM:** To investigate the changes of Notch receptors and interleukin (IL) - 22 expression in patients with Vogt - Koyanagi - Harada (VKH) syndrome, and to assess the regulatory activity of Notch signaling to IL-22 production by CD4<sup>+</sup> T cells in patients with VKH syndrome.

• **METHODS:** Thirty - five patients with VKH syndrome (including fifteen active VKH and twenty inactive VKH) and twelve healthy controls were enrolled. Plasma was isolated, and CD4<sup>+</sup> T cells were purified. Notch receptors were investigated by qRT-PCR and Western blot. Plasma IL-22 expression was measured by ELISA. The percentage of Th17 and Th22 cells was investigated by flow cytometry. CD4<sup>+</sup> T cells, which were purified from active VKH patients, were stimulated with Notch signaling inhibitor DAPT. mRNA expression of transcription factor in CD4<sup>+</sup> T cells as well as IL-22 secretion by CD4<sup>+</sup> T cells was investigated.

• **RESULTS:** Notch1 - Notch3 in CD4<sup>+</sup> T cells from active VKH syndrome patients was significantly elevated in comparison with inactive VKH and healthy controls. Plasma IL-22 expression and percentage of Th17 and Th22 was notably increased in active VKH syndrome in comparison with inactive VKH and controls. DAPT stimulation inhibited Notch signaling pathway in CD4<sup>+</sup> T cells, leading to the down-regulation of AhR mRNA and IL-22 secretion.

• **CONCLUSION:** Notch - AhR - IL - 22 signaling pathway might take part in the pathogenesis of VKH syndrome.

• **KEYWORDS:** Vogt - Koyanagi - Harada syndrome; Notch signaling pathway; interleukin-22; CD4<sup>+</sup> T lymphocytes

**Citation:** Chu ZJ, Wang T, Ma Q, *et al.* Notch signaling pathway regulates IL-22 secretion by CD4<sup>+</sup> T cells in patients with Vogt - Koyanagi - Harada syndrome. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019; 19(7):1114-1118

## 0 引言

Vogt-小柳原田 (Vogt - Koyanagi - Harada syndrome, VKH) 综合征是一种由自身免疫反应引发的攻击黑色素细胞抗原导致的致盲性眼病, 以双侧肉芽肿性全葡萄膜炎

为主要特征,还可侵袭耳、脑脊髓膜、毛发、皮肤等器官<sup>[1]</sup>。VKH 综合征的发病机制尚未完全阐明,病毒感染、自身免疫等因素均参与了 VKH 的发病。白细胞介素(interleukin, IL)-22 属于 IL-10 细胞因子家族成员,主要由 CD4<sup>+</sup>T 细胞分泌,IL-22 的受体仅表达在组织器官的实质细胞中,因此 IL-22 介导的信号通路主要参与组织器官炎症应答的调控,在肿瘤、感染和自身免疫性疾病中均发挥重要的调控作用<sup>[2-3]</sup>。IL-22 的表达受多种因素的调控,研究发现 Notch 信号通路可通过诱导芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)表达调控 CD4<sup>+</sup>T 细胞分泌 IL-22,诱导肝脏炎症应答<sup>[4-6]</sup>。但有关 IL-22 在 VKH 综合征患者中的表达及其调控机制尚未见相关报道。因此,本研究观察了 Notch 受体和 IL-22 在 VKH 综合征患者中的表达,并评估 VKH 患者中 Notch 信号通路对 CD4<sup>+</sup>T 细胞分泌 IL-22 的调控作用,以期初步阐释 VKH 综合征的免疫发病机制。

## 1 对象和方法

**1.1 对象** 选取 2016-09/2018-06 本院就诊的 VKH 综合征患者 35 例,其中活动期 15 例,男 8 例,女 7 例,年龄 29~55(平均 39.0±11.9)岁,活动期患者采集标本时未接受任何药物治疗;静止期 20 例,男 10 例,女 10 例,年龄 31~54(平均 39.2±12.1)岁,静止期患者使用免疫抑制剂治疗 1a 以上,炎症静止 3mo 以上。纳入标准:(1)年龄 18~65 岁;(2)符合国际命名委员会的标准以及杨培增教授提出的参考标准<sup>[1,7]</sup>;(3)获得知情同意。排除标准:(1)合并慢性病毒感染;(2)合并其他自身免疫性疾病;(3)合并恶性肿瘤;(4)合并心、脑、肺、肝脏等重要脏器功能障碍;(5)妊娠期或哺乳期妇女。选取同时期在我院进行体检的 12 例志愿者作为健康对照者,男 7 例,女 5 例,年龄 28~55(平均 37.1±10.8)岁,健康对照的年龄和性别比例与 VKH 综合征患者的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究方案已经在本院伦理委员会备案并获得批准,所有研究对象均对本研究了解并签署知情同意书。

## 1.2 方法

**1.2.1 血浆和 CD4<sup>+</sup>T 细胞的分离** 清晨、空腹采集研究对象 EDTA 抗凝外周血 10mL,3 000g/min 离心 10min,收集上层血浆,冻存于-80℃备用。下层血细胞使用 Ficoll 淋巴细胞分离液(美国 Sigma 公司)、采用密度梯度离心法分离外周血单个核细胞,使用 CD4<sup>+</sup>细胞分选试剂盒(德国美天旎公司)按说明书要求分选外周血单个核细胞中的 CD4<sup>+</sup>T 细胞。

**1.2.2 CD4<sup>+</sup>T 细胞的刺激** 培养取 10<sup>6</sup>个分选的 CD4<sup>+</sup>T 细胞,加入抗 CD3/CD28 抗体(终浓度 1μg/mL),同时加入 Notch 信号通路抑制剂 DAPT(美国 Selleck 公司,终浓度 75μmol/L)刺激培养 48h 后收集培养细胞和上清。

**1.2.3 实时定量聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR)** 使用 Trizol 试剂(美国 Invitrogen 公司)提取细胞总 RNA,取 1μg 总 RNA,使用反转录试剂盒(瑞士罗氏公司)将总 RNA 反转录为 cDNA,使用 FastStart DNA Master SYBR Green I 实时定量 PCR 试剂盒(瑞士罗氏公司)对目的片段进行扩增,引物序列根据既往文献<sup>[5,8]</sup>合

成。采用 50μL 反应体系,反应条件:预变性:94℃ 5min;PCR 反应 94℃ 10s,50℃ 20s,72℃ 30s,共 35 个循环。应用 2<sup>-ΔΔCt</sup>法对目的片段的相对表达量进行分析。

**1.2.4 Western blot** 取 5×10<sup>5</sup>个 CD4<sup>+</sup>T 细胞,加入 250μL 2×SDS 缓冲液+5μL β-巯基乙醇裂解细胞,孵育 5min 后于 95℃静置 10min,离心后将待测样本加入 SDS-PAGE 电泳浓缩胶孔中,100V 将蛋白分离后电转至 PVDF 膜,用含 5%脱脂奶粉的 PBS-T 封闭 1h,洗涤后分别加入抗 Notch1 抗体(1:500 稀释)、抗 Notch2 抗体(1:200 稀释)、抗 Notch3 抗体(1:400 稀释)、抗 Notch4 抗体(1:700 稀释)、抗 Hes-1 抗体(1:1000 稀释)、抗 Hes-5 抗体(1:1000 稀释)或抗 GAPDH 抗体(1:2000 稀释)(所有抗体均购自美国 Abcam 公司),4℃孵育过夜。洗涤后加入抗兔或抗小鼠 IgG-HRP(1:2000 稀释),室温孵育 2h。洗涤后利用化学发光法成像。

**1.2.5 酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)** 使用商品化人 IL-22 ELISA 检测试剂盒(美国 R&D 公司)对血浆和培养上清中 IL-22 表达水平进行检测,操作严格按说明书要求进行。

**1.2.6 流式细胞术** 分选的 CD4<sup>+</sup>T 细胞使用佛波酯(终浓度 50ng/mL)和伊乌诺霉素(终浓度 1μg/mL)刺激培养 12h,同时加入莫能霉素(终浓度 10μg/mL)抑制蛋白转运。收集细胞转入 FACS 管中,加入抗 CD4-APC(美国 BD 公司)进行表面染色,4℃避光孵育 20min,洗涤后加入破膜固定液孵育 30min,然后加入抗 IL-17-FITC(美国 BD 公司)和抗 IL-22-PerCP(美国 BD 公司)进行细胞内细胞因子染色,室温避光孵育 30min,洗涤后加入含有 4%多聚甲醛/PBS 溶液固定,使用 FACS Calibur 流式细胞仪分析,CellQuest Pro 软件获取细胞,FlowJo Version 8.4.2 软件分析结果。

统计学分析:所有数据均采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。首先采用 Shapiro-Wilk 检验对样本的正态性进行分析,所有样本均符合正态分布。计量资料采用  $\bar{x}±s$  表示,多组样本间资料比较首先采用单因素方差分析,若存在差异再采用 LSD-*t* 检验进行两两比较,DAPT 刺激前后的资料比较采用配对样本 *t* 检验,采用 Pearson 相关性分析对两组资料进行相关性检验。以  $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 VKH 综合征患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞中 Notch 受体 mRNA 相对表达量和蛋白表达的变化** 健康对照、静止期 VKH 综合征和活动期 VKH 综合征患者间 CD4<sup>+</sup>T 细胞中 Notch1 mRNA ( $F=238.8, P<0.001$ )、Notch2 mRNA ( $F=183.7, P<0.001$ )和 Notch3 mRNA ( $F=130.9, P<0.001$ )的差异具有统计学意义。活动期 VKH 综合征患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞中 Notch1、Notch2 和 Notch3 mRNA 相对表达量较静止期 VKH 综合征患者和健康对照均显著升高(均  $P<0.001$ ),但在静止期 VKH 综合征患者和健康对照之间的差异无统计学意义( $P=0.313, 0.162, 0.376$ )。CD4<sup>+</sup>T 细胞中 Notch4 mRNA 相对表达量在三组之间的差异无统计学意义( $F=0.362, P=0.698$ ),见图 1。

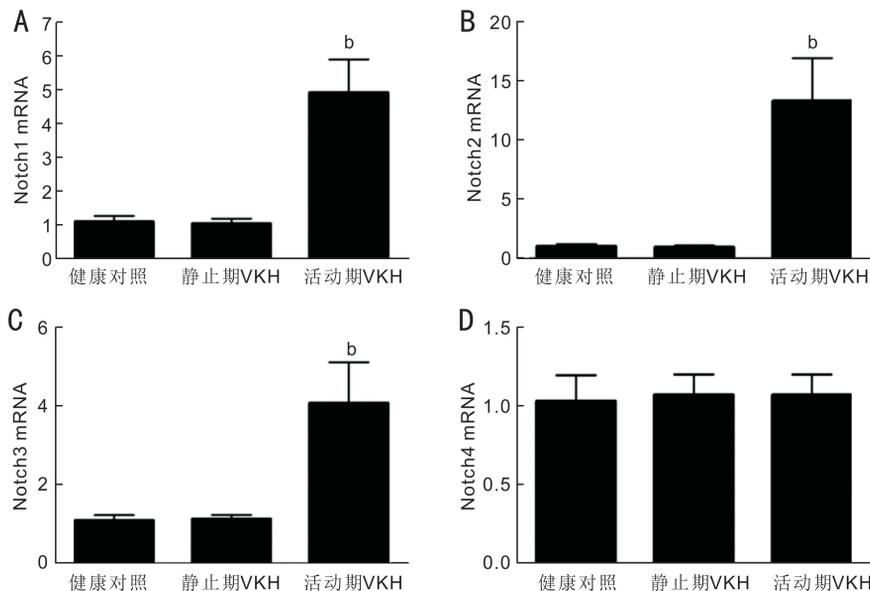


图1 实时定量PCR检测健康对照和VKH综合征患者Notch受体mRNA的表达 A: Notch1; B: Notch2; C: Notch3; D: Notch4; <sup>b</sup> $P < 0.001$  vs 健康对照和静止期VKH。

进一步检测了Notch1、Notch2、Notch3和Notch4蛋白在6例活动性VKH综合征患者和5例健康对照志愿者CD4<sup>+</sup>T细胞中的水平。与mRNA相对表达量的趋势相似, VKH综合征患者CD4<sup>+</sup>T细胞中Notch1、Notch2和Notch3蛋白水平显著高于健康对照, 而Notch4蛋白水平在两组之间无显著差异(图2)。

**2.2 VKH综合征患者血浆IL-22、CD4<sup>+</sup>T细胞中AhR和ROR $\gamma$ t转录因子以及Th17、Th22细胞的变化** 血浆IL-22在健康对照、静止期VKH综合征和活动期VKH综合征患者之间的差异有统计学意义( $F = 101.6, P < 0.001$ , 图3)。活动期VKH综合征患者血浆IL-22 ( $304.2 \pm 59.23 \text{ pg/mL}$ )显著高于静止期VKH综合征患者( $133.4 \pm 19.89 \text{ pg/mL}$ )和健康对照( $140.2 \pm 23.47 \text{ pg/mL}$ ), 差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$ ), 但在静止期VKH综合征患者和健康对照之间的差异无统计学意义( $P = 0.388$ ), 且血浆IL-22水平与Notch受体mRNA相对表达量无显著相关( $P > 0.05$ )。健康对照、静止期VKH综合征和活动期VKH综合征患者间CD4<sup>+</sup>T细胞中Th22细胞转录因子AhR mRNA ( $F = 224.2, P < 0.001$ )和Th17细胞转录因子ROR $\gamma$ t mRNA ( $F = 99.12, P < 0.001$ )的差异具有统计学意义, 见图4。活动期VKH综合征患者CD4<sup>+</sup>T细胞中AhR和ROR $\gamma$ t mRNA相对表达量较静止期VKH综合征患者和健康对照均显著升高(均 $P < 0.001$ ), 但在静止期VKH综合征患者和健康对照之间的差异无统计学意义( $P = 0.234, 0.242$ )。Th22细胞和Th17细胞的流式检测分析见图5。健康对照、静止期VKH综合征和活动期VKH综合征患者Th22细胞( $F = 18.76, P < 0.001$ )和Th17细胞( $F = 22.04, P < 0.001$ )比例的差异具有统计学意义。活动期VKH综合征患者CD4<sup>+</sup>T细胞中Th22 ( $3.38\% \pm 0.78\%$ )和Th17细胞( $5.51\% \pm 1.14\%$ )比例较静止期VKH综合征患者(Th22:  $2.03\% \pm 0.63\%$ ; Th17:  $3.73\% \pm 0.86\%$ )和健康对照(Th22:  $1.94\% \pm 0.81\%$ ; Th17:  $3.38\% \pm 0.72\%$ )均显著升高(均 $P < 0.001$ ), 但在静止期VKH综合征患者和健康对照之间的差异无统计学意义( $P = 0.725, 0.236$ )。

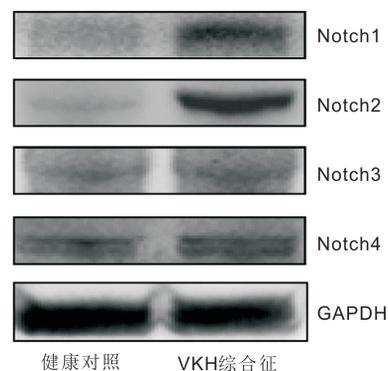


图2 Western blot检测健康对照和活性期VKH综合征患者Notch受体蛋白的表达。

**2.3 抑制Notch信号通路对活动性VKH综合征患者CD4<sup>+</sup>T细胞转录因子表达和分泌IL-22的影响** 取10<sup>6</sup>个从活动性VKH综合征患者分选的CD4<sup>+</sup>T细胞, 加入DAPT刺激后, Notch信号通路下游分子Hes1和Hes5的表达显著降低(图6A), 提示DAPT有效抑制了Notch信号通路。AhR mRNA相对表达量显著降低( $t = 7.088, P < 0.001$ , 图6B), 但ROR $\gamma$ t mRNA相对表达量在无DAPT刺激和DAPT刺激的CD4<sup>+</sup>T细胞中的差异无统计学意义( $t = 1.247, P = 0.233$ , 图6C)。DAPT刺激后CD4<sup>+</sup>T细胞分泌IL-22的水平亦显著降低( $44.47 \pm 11.83 \text{ pg/mL}$  vs  $78.87 \pm 9.63 \text{ pg/mL}$ ;  $t = 8.472, P < 0.001$ , 图6D)。

### 3 讨论

虽然VKH综合征的发病机制尚未完全阐明, 目前的研究均认为VKH综合征是机体攻击靶器官中的黑色素相关抗原所致的自身免疫性疾病。研究发现, VKH综合征的发病与人类白细胞抗原等位基因的多态性、IL-23受体的表达、固有免疫和适应性免疫功能失调以及环境诱导的免疫失衡等多种免疫因素相关<sup>[9-11]</sup>。

Notch信号通路是一种高度保守的细胞信号通路, 可影响细胞形态和功能发育的多个过程, 如多能祖细胞的分化、细胞增殖和凋亡等<sup>[12]</sup>。Notch信号通路在眼部血管系统发育中发挥重要作用, 参与多种与血管生成相关的眼病

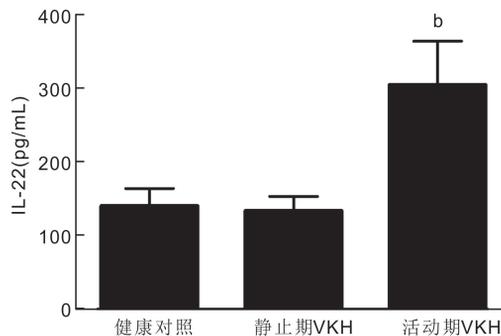


图3 ELISA检测健康对照和VKH综合征患者血浆IL-22的表达<sup>b</sup> $P < 0.001$  vs 健康对照和静止期VKH。

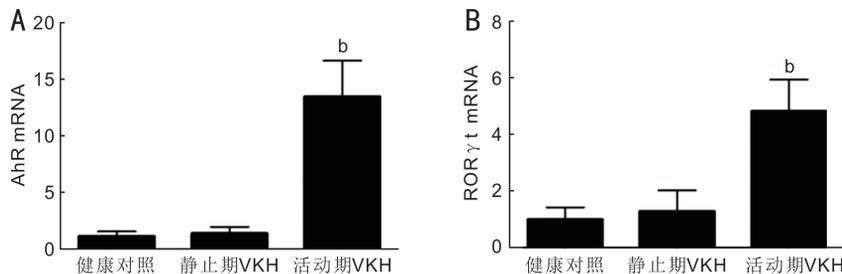


图4 实时定量PCR检测健康对照和VKH综合征患者CD4<sup>+</sup>T细胞中转录因子AhR和RORγt mRNA的表达 A: AhR mRNA; B: RORγt mRNA; <sup>b</sup> $P < 0.001$  vs 健康对照和静止期VKH。

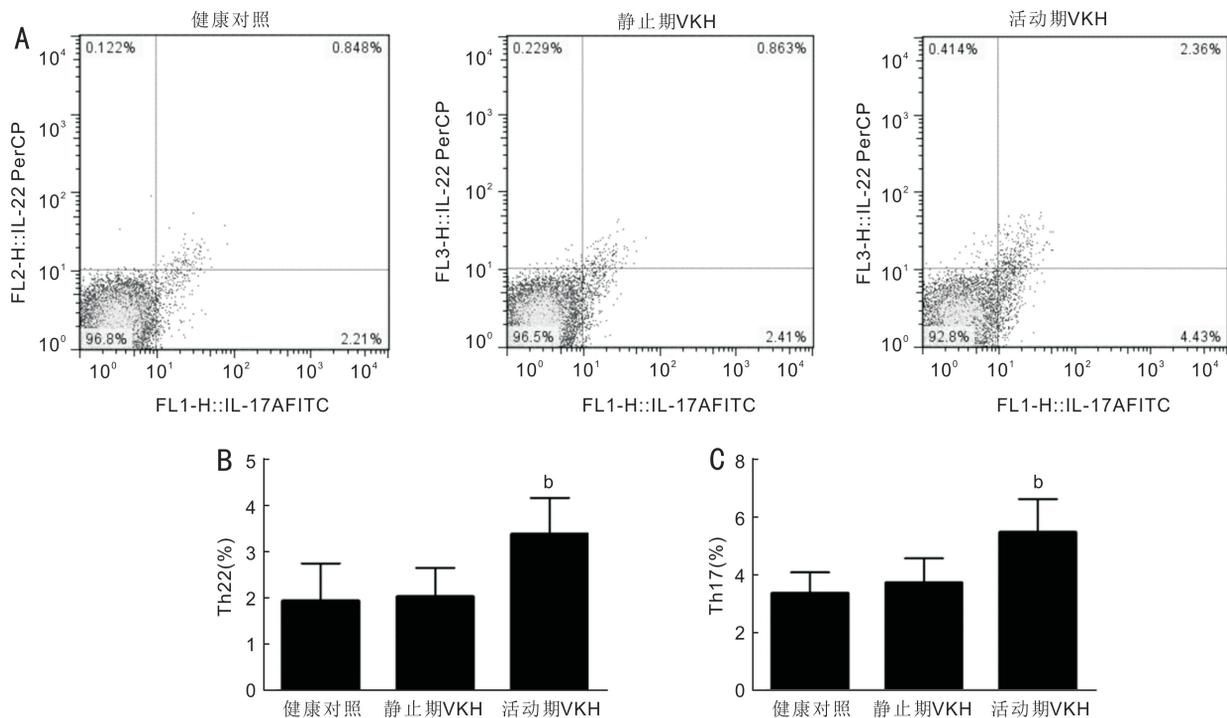


图5 流式细胞术检测健康对照和VKH综合征患者Th22和Th17细胞比例 A: 流式检测散点图; B: Th22; C: Th17; <sup>b</sup> $P < 0.001$  vs 健康对照和静止期VKH。

(如视网膜新生血管疾病、脉络膜新生血管疾病)的发生发展<sup>[13]</sup>。新近的研究发现,Notch1信号通路在氧诱导的视网膜血管退化中亦发挥调控作用<sup>[14]</sup>。但目前尚无Notch信号通路在VKH综合征发病中的相关研究报道。本研究发现,Notch1、Notch2和Notch3 mRNA和蛋白在活动性VKH综合征CD4<sup>+</sup>T细胞中的表达显著升高,但在静止期VKH综合征患者中的表达则无明显变化,提示Notch信号通路不但参与了VKH综合征疾病的炎症活动,还说明抑制机体免疫应答可能降低了Notch受体的表达。虽然仅有Notch1、Notch2和Notch3的表达升高,Notch4的表达无明显变化,而根据实时定量PCR和Western blot结果,提示Notch2受体占优势。但Notch1~4介导的下游信

号通路是相同的,因此Notch1、Notch2和Notch3的表达升高已足够诱导下游信号分子的活化。但由于Notch信号通路具有重要且广泛的免疫应答调控功能,其在VKH综合征发生发展中的免疫调控机制尚待深入研究。

IL-22是一种具有双重功能的细胞因子,其发挥促进炎症应答或发挥免疫保护的功能取决于疾病类型、病期以及IL-22所处的免疫微环境等<sup>[15]</sup>。在活动性巩膜炎<sup>[16]</sup>、自身免疫性非感染性葡萄膜炎<sup>[17]</sup>、干眼症<sup>[18]</sup>患者的外周血或泪液中,IL-22的表达水平显著升高;但在增生性糖尿病视网膜病变患者的房水中,IL-22的水平却未见明显变化<sup>[19]</sup>。但尚未见有关IL-22在VKH综合征患者中的相关报道。本研究发现,活动期VKH综合征患者血浆

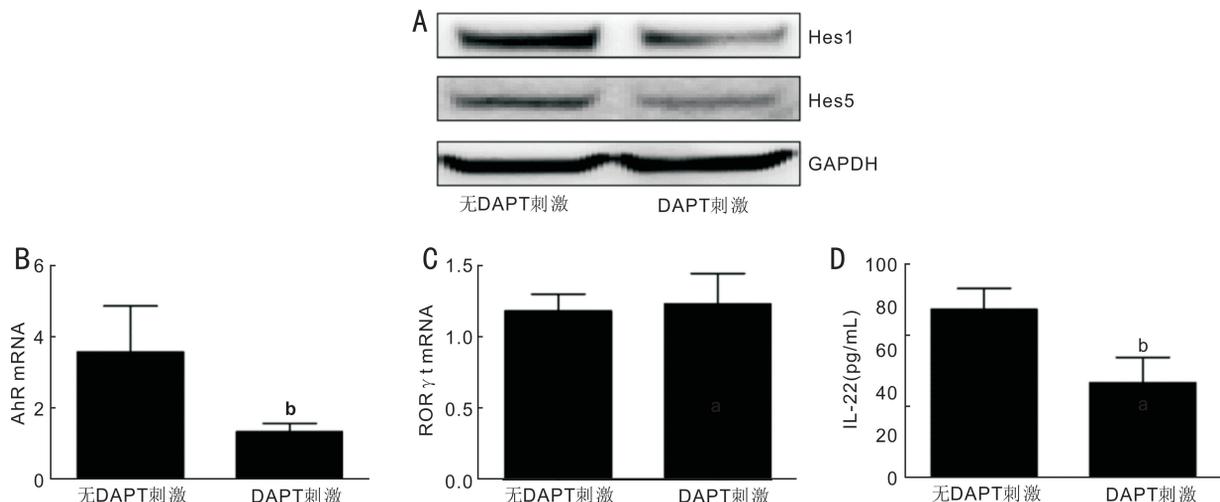


图6 DAPT刺激对活动性VKH综合征患者CD4<sup>+</sup>T细胞中Notch下游信号分子表达和AhR、RORγt mRNA及分泌IL-22的影响。A: Hes1和Hes5蛋白表达; B: AhR mRNA; C: RORγt mRNA; D: IL-22分泌; <sup>b</sup>P<0.001 vs 无DAPT刺激。

IL-22、Th17和Th22细胞的水平显著升高,但静止期VKH综合征患者IL-22、Th17和Th22细胞的水平与健康对照比较则无明显变化,提示IL-22不但参与了VKH综合征患者的机体炎症应答。还说明抑制机体免疫应答可能降低了IL-22的分泌。CD4<sup>+</sup>T细胞分泌IL-22主要由Notch信号通路调控,Th22细胞转录因子AhR参与了此过程,Notch-AhR-IL-22信号通路具有精细调控炎症应答作用<sup>[4]</sup>。因此,虽然本研究在活动性VKH综合征患者中未发现Notch受体与IL-22表达存在明显相关,但应用DAPT抑制Notch信号通路却显著降低IL-22的表达,在此过程中,Th22细胞转录因子AhR表达降低,而Th17细胞转录因子RORγt的表达未受明显影响,提示Notch信号通路可能主要影响Th22细胞分泌IL-22,而对Th17细胞分泌IL-22的功能无显著影响,这与在慢性病毒性肝炎<sup>[5-6]</sup>、肺癌<sup>[20]</sup>中的研究结果一致。由于既往的研究发现,IL-23受体和Th17细胞在VKH综合征中的水平均升高,促进了VKH综合征的疾病进展<sup>[11,21]</sup>。IL-23主要作用于Th17细胞,促进Th17细胞产生IL-17和IL-22等细胞因子。因此,作为Th17细胞分泌的另外一种重要细胞因子,IL-22在VKH综合征中很可能发挥促进炎症应答、诱导疾病进展的作用,而这一功能仍有待体内试验进一步证实。

总之,Notch-AhR-IL-22信号通路可调控VKH综合征的炎症应答,参与了VKH综合征的发病,促进VKH综合征的疾病进展。Notch信号通路及IL-22的调控可能作为治疗靶点,为VKH综合征的治疗提供新的思路。

#### 参考文献

- 1 黄果, 杨培增. Vogt-小柳原田综合征的治疗进展. 国际眼科杂志 2017;17(6):1082-1086
- 2 Perusina Lanfranca M, Lin Y, Fang J, et al. Biological and pathological activities of interleukin-22. *J Mol Med (Berl)* 2016; 94(5):523-534
- 3 Eyerich K, Dimartino V, Cavani A. IL-17 and IL-22 in immunity: Driving protection and pathology. *Eur J Immunol* 2017;47(4):607-614
- 4 Alam MS, Maekawa Y, Kitamura A, et al. Notch signaling drives IL-22 secretion in CD4<sup>+</sup>T cells by stimulating the aryl hydrocarbon receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107(13):5943-5948
- 5 Jiang BC, Liu X, Liu XH, et al. Notch Signaling Regulates Circulating T Helper 22 Cells in Patients with Chronic Hepatitis C. *Viral Immunol* 2017; 30(7):522-532

6 王伟, 赵荣荣, 杨晓飞, 等. Notch信号通路对乙型肝炎患者CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞分泌白细胞介素22的影响. 临床肝胆病杂志 2016;32(7):1315-1318

7 Read RW, Holland GN, Rao NA, et al. Revised diagnostic criteria for Vogt-Koyanagi-Harada disease; report of an international committee on nomenclature. *Am J Ophthalmol* 2001;131(5):647-652

8 Wei X, Wang JP, Hao CQ, et al. Notch Signaling Contributes to Liver Inflammation by Regulation of Interleukin-22-Producing Cells in Hepatitis B Virus Infection. *Front Cell Infect Microbiol* 2016;6:132

9 Du L, Kijlstra A, Yang P. Vogt-Koyanagi-Harada disease: Novel insights into pathophysiology, diagnosis and treatment. *Prog Retin Eye Res* 2016;52:84-111

10 Liu B, Deng T, Zhu L, et al. Association of human leukocyte antigen (HLA)-DQ and HLA-DQA1/DQB1 alleles with Vogt-Koyanagi-Harada disease: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2018;97(7):e9914

11 Wang C, Wang L, Hu J, et al. Increased Expression of IL-23 Receptor (IL-23R) in Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) Disease. *Curr Eye Res* 2018;43(11):1369-1373

12 Siebel C, Lendahl U. Notch Signaling in Development, Tissue Homeostasis, and Disease. *Physiol Rev* 2017;97(4):1235-1294

13 Dou GR, Wang L, Wang YS, et al. Notch signaling in ocular vasculature development and diseases. *Mol Med* 2012;18:47-55

14 Zhu G, Lin Y, Liu H, et al. Dll4-Notch1 signaling but not VEGF-A is essential for hyperoxia induced vessel regression in retina. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;507(1-4):400-406

15 Weinstein JE, Pepple KL. Cytokines in uveitis. *Curr Opin Ophthalmol* 2018;29(3):267-274

16 Sainz-de-la-Maza M, Molins B, Mesquida M, et al. Interleukin-22 serum levels are elevated in active scleritis. *Acta Ophthalmol* 2016; 94(6):e395-e399

17 Li Z, Liu B, Maminishkis A, et al. Gene expression profiling in autoimmune noninfectious uveitis disease. *J Immunol* 2008; 181(7):5147-5157

18 Tan X, Sun S, Liu Y, et al. Analysis of Th17-associated cytokines in tears of patients with dry eye syndrome. *Eye (Lond)* 2014; 28(5):608-613

19 Takeuchi M, Sato T, Sakurai Y, et al. Association between aqueous humor and vitreous fluid levels of Th17 cell-related cytokines in patients with proliferative diabetic retinopathy. *PLoS One* 2017;12(5):e0178230

20 Pang B, Hu C, Xing N, et al. Elevated Notch1 enhances interleukin-22 production by CD4<sup>+</sup>T cells via aryl hydrocarbon receptor in patients with lung adenocarcinoma. *Biosci Rep* 2018;38(6):BSR20181922

21 Wang C, Tian Y, Lei B, et al. Decreased IL-27 expression in association with an increased Th17 response in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(8):4668-4675