

综述

Hedgehog信号通路与消化系统恶性肿瘤

彭翔¹ 李勇² 吕农华¹ 罗时文^{2*}¹南昌大学第一附属医院消化内科, 南昌 330006; ²南昌大学第一附属医院医学研究中心, 南昌 330006)

摘要 消化系统恶性肿瘤严重威胁人类健康, 目前人们对此类恶性肿瘤的发生与发展机制还缺乏完整的认识。Hedgehog信号通路在胚胎发育、成熟器官形成及形态维持中扮演着重要角色。随着研究的进一步深入, 人们发现Hedgehog信号通路的异常激活参与多种消化系统恶性肿瘤的形成与发展, 例如胃癌、结肠癌、胰腺癌等。探讨Hedgehog信号通路在消化系统恶性肿瘤形成及发展中的作用将有助于消化系统恶性肿瘤发病的分子机制研究, 为消化系统恶性肿瘤的早期诊断和治疗提供重要的理论及实验基础。

关键词 Hedgehog; 胃癌; 结肠癌; 胰腺癌

随着医疗技术的不断进步, 恶性肿瘤的死亡率呈现逐年下降趋势, 但其发病率却不断攀升, 是威胁人类生命的重要因素之一。据统计, 每四个死亡病例中就有一个是死于恶性肿瘤^[1]。而随着人们生活方式及饮食结构的改变、城市化进程的加速、社会经济的快速发展, 消化系统恶性肿瘤所占比例不断上升。Hedgehog (Hh)信号通路在哺乳动物消化系统的发育及形成中扮演着至关重要的角色, 在Hh信号通路配体缺乏或信号通路关键成员突变的情况下将导致胃肠道平滑肌缺失、小肠旋转不良、环状胰腺等消化系统器官发育不良及畸形^[2,3]。随着人们对Hh信号通路研究的进一步深入, 发现Hh信号通路的异常激活常常与消化系统恶性肿瘤的形成、发展及转移有着紧密的联系^[4]。探讨Hh信号通路对消化系统恶性肿瘤形成及发展的作用将有助于研究消化系统恶性肿瘤的发病机理, 为消化系统恶性肿瘤的早期诊断及治疗提供重要的理论依据。本文就Hh信号通路与消化系统恶性肿瘤的关系做一简略概述。

1 Hh信号通路概述

Hh信号通路于1980年由Nüsslein-Vollhard和Wieschaus^[5]在研究影响果蝇体节发育的基因突变遗传分析时被发现。随着hh基因成功克隆和其同源基因在脊椎动物中的发现, 此后诸多研究证实Hh信号通路不仅在果蝇胚胎发育中有着至关重要的作用,

而且在哺乳动物的胚胎发育、成熟器官形成及形态维持中也扮演了重要角色, 参与了神经管、肺、皮肤、消化道的形成及发育^[3,6-8]。虽然该信号通路的许多重要组成部分已经陆续被发现, 但其详细作用机制并不是十分清楚。目前认为该信号通路至少由Hedgehog配体蛋白(Hh)、膜结合受体Patched (Ptch)家族、跨膜信号转导蛋白Smoothed (Smo)家族、参与Hh信号转导的胞浆蛋白复合体和Gli家族组成。在果蝇中, 只有一种分泌型Hh配体蛋白激活通路, 而在哺乳动物中则是依赖于以下三种Hh配体同系物之一: Sonic hedgehog (Shh)、Indian hedgehog (Ihh)和Desert hedgehog (Dhh), 它们均能编码具有自我催化功能的分泌型糖蛋白(hedgehog protein)。Hh前体蛋白在内质网中经自身催化水解, 剪切C端后, 以共价形式偶联胆固醇形成N端肽, 接着通过乙酰转移酶在N端棕榈化后形成具有信号转导功能的成熟肽^[9], 成熟的Hh蛋白在Dispatched蛋白的转运作用下分泌到细胞外, 形成Hh信号通路的配体, 作用于靶细胞膜上的Ptch受体^[10-12], 从而解除对Smo的抑制, Smo的激活最终导致活化的Hh通路下游转录因子产

收稿日期: 2011-08-02 接受日期: 2011-09-02

国家重点基础研究发展计划(973计划) (No.2010CB535001)、国家自然科学基金(No.81060095, No.31171359)和江西省主要学科学术和技术带头人培养计划(No.2009DD00600)资助项目

*通讯作者。Tel: 0791-88623275, E-mail: shiwenluo@ncu.edu.cn

生: 果蝇中的*Cubitus interruptus* (Ci)和哺乳动物中的三种Gli蛋白。Ci存在两种形式: 全长的转录激活蛋白(Ci155)和N末端片段截短的转录阻遏蛋白(Ci75)。Hh配体抑制Ci75的形成而促进Ci155向转录活性蛋白Ci155A的转换。而在哺乳动物中, Gli分为3种, 即Gli1、Gli2和Gli3。三种Gli锌指蛋白的功能并不完全相同, 根据细胞内环境的不同而具有活化或抑制作用。Gli2和Gli3存在全长(FL)和阻遏(R)形式, 但Gli2被认为主要是一种转录激活蛋白(A); Gli3最类似于Ci, 同样具有激活和阻遏两种功能; Gli1是Hh信号通路的早期转录靶标, 只具有转录激活功能。在Hh信号通路激活的状态下, Gli水解被抑制以全长形式进入细胞核, 并通过5个锌指结构域结合到靶基因的一段保守序列5'-TGG GTG GTC-3' (Gli结合部位)上, 从而激活Hh信号通路靶基因。而在缺乏Hh配体

的情况下, 信号通路处于失活状态, *Ptch*抑制Smo的活性, 全长的Gli被水解, 形成阻遏形式的Gli入核, 从而关闭靶基因转录。Hh信号通路通过调控Gli蛋白激活与阻遏形式的比例来应对细胞的转录反应^[13]。在果蝇和哺乳动物中应对Smo激活Ci或Gli蛋白的调控有明显差异。在果蝇中, 这种调控依赖一个由三种蛋白组成的复合物: 激酶Fused、蛋白Suppressor of Fused (SuFu)和非典型驱动蛋白Costal2 (Cos2)。Cos2招募激酶PKA、GSK及CK1以磷酸化Ci155, 促进Ci75的形成^[14]。在哺乳动物中, Gli的调控依赖于初生纤毛(细胞内主要的信号转导中心)。在哺乳动物胚胎中, 一种马达驱动转运机制—内鞭毛转运(IFT)的破坏将阻止Gli3R的形成和削弱Gli2/3A的功能^[15-17]。Hh信号通路中的大部分蛋白, 包括*Ptch*、Smo、SuFu和Gli蛋白均定位于初生纤毛, 推测通路的许多关键反应都

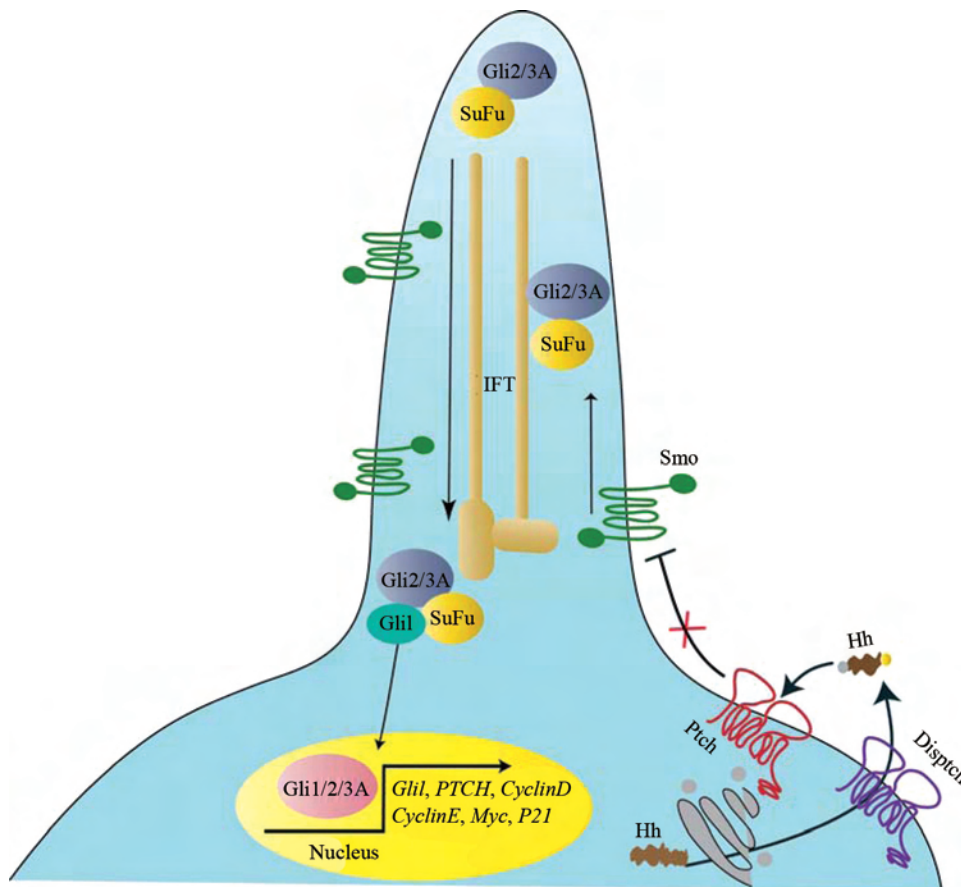


图1 哺乳动物中Hedgehog信号通路示意图

Fig.1 The mechanisms of Hedgehog pathway in mammalian

发生在这个特殊的区域^[18-20]。活化的Gli进入细胞核, 开启Hh目标基因(如*Ptch*以及与细胞增殖调控相关的*CyclinD*、*CyclinE*、*Myc*及*P21*等基因)和自身*Gli*基因

的表达^[21-23](图1)。Sufu作为哺乳动物Hh信号通路的一个重要调控因子, 在恶性肿瘤的发生发展中起着重要的作用, 它的失活能导致成神经管细胞瘤^[24]和戈林

氏综合征^[25]。SuFu直接结合于Gli蛋白的N末端包含有一个高度保守的SYGH基序的区域^[26], 而Merchant等^[27]认为它们的结合包括至少两种不同的结构域: SuFu高度保守的C末端结合Gli蛋白的N末端, 一个独特的N末端结构域结合Gli1的C末端尾。但人们不清楚SuFu如何对Gli蛋白功能起反作用和Hh信号通路如何反作用于SuFu而释放Gli的活性。Hh蛋白家族调控细胞生命过程的各个方面, 如细胞的生长、存活等。细胞对Hh信号通路的响应依赖于细胞种类、Hh信号剂量强度以及响应Hh信号的具体时间。而Hh信号梯度由加工、分泌、运输Hh信号所需的蛋白来调节。细胞响应机制又协同负反馈循环进一步微调Hh信号, 但随着个体的成熟, Hh信号通路也逐渐被沉默。

2 Hh信号通路与肿瘤

Hh信号通路不仅仅在发育过程中起着重要作用, 它对干细胞维持也必不可少^[28], 它的异常激活可导致多种恶性肿瘤发生。Hh信号通路与肿瘤之间有密切关系源于1997年Oro等^[29]在研究戈林氏综合征(Gorlin's syndrome)时的发现。戈林氏综合征患者常常伴随着*Ptch*基因的突变而导致其失活, *Smo*解除被抑制状态, 即使在缺乏Hh配体的情况下依然能激活Hh信号通路, 从而增加了基底细胞癌、成神经管细胞瘤和横纹肌肉瘤的发病率^[29-31]。此外, 在前列腺癌^[32]、胰腺癌^[33]、肺癌^[34]、乳腺癌^[35]等恶性肿瘤中陆续发现Hh信号通路均有不同程度的异常活化, 提示Hh信号通路参与了多种恶性肿瘤的发生与发展。然而有关Hh信号通路异常诱发肿瘤的分

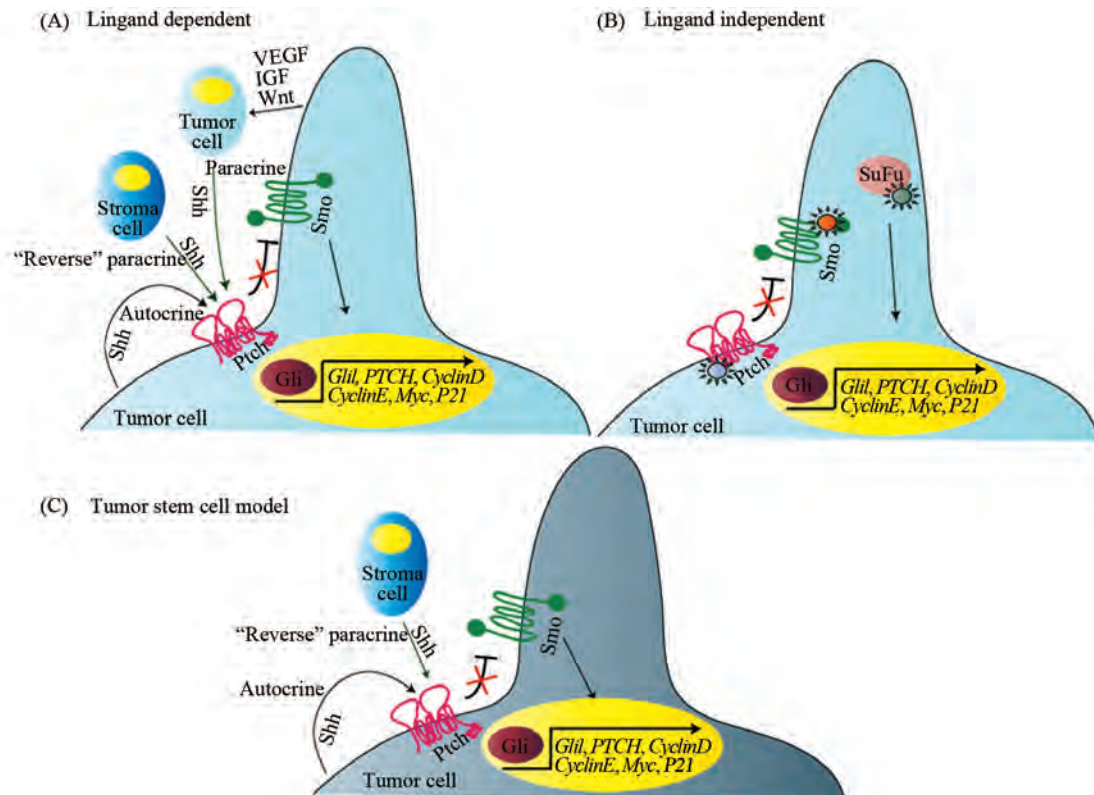


图2 恶性肿瘤中hedgehog信号通路激活模式

Fig.2 The different models of hedgehog pathway activation in cancer

子机制尚不完全清楚。目前发现恶性肿瘤中Hh信号通路的异常激活存在三种模式^[36-37](图2): (1) 配体依赖型的激活方式, 即*Shh*基因过表达, 配体Shh通过自分泌、旁分泌或逆分泌的方式作用于受体*Ptch*, 从而激活Hh信号通路; (2) 非配体依赖型的激活方式。例如, 当该信号通路中的负调节因子如*Ptch*^[29]、

SuFu^[24,38]等基因发生失活突变或功能性缺失, 或是正调因子如*Smo*^[39]基因发生功能获得性突变而导致*Ptch*对其抑制作用的失敏等, 也可导致该信号通路的异常激活; (3) 非传统的肿瘤干细胞模式。该模式认为Hh信号通路的激活存在于肿瘤干细胞中^[40], 负责维持肿瘤干细胞的自我更新, 从而导致肿瘤的恶

化和复发。此过程中,配体Shh通过自分泌或旁分泌的方式作用于细胞膜上的受体Ptch从而激活肿瘤干细胞中的Hh信号通路。而其中的配体依赖型又有多种形式,包括自分泌型和旁分泌型:自分泌型,即肿瘤上皮细胞自身分泌Shh配体从而激活自身或邻近肿瘤上皮细胞的Hh信号通路,抑制肿瘤上皮细胞凋亡,促进其增殖。旁分泌型分为两种,一种是由肿瘤上皮细胞分泌Shh配体到周围间充质细胞,使其分泌促血管生成素等因子为肿瘤生长提供必要的内环境;另一种旁分泌形式为间充质细胞分泌Shh配体激活肿瘤上皮细胞Hh信号通路,抑制肿瘤上皮细胞凋亡。除此之外,是否还存在其他调控机制尚不清楚。

2.1 胃癌与Hh信号通路

胃癌是全世界范围内发病率较高的消化道恶性肿瘤,其患病率及死亡率居恶性肿瘤的第2位。我国更是胃癌的高发区,患病率和死亡率均超过世界平均水平两倍。目前胃癌的总体治疗效果差,5年生存率不足20%。胃癌的形成及发展是一个多阶段、多因素相互作用的结果。关于胃癌发展演变的过程,目前公认Correa等^[41]提出的“慢性胃炎→萎缩性胃炎→肠上皮化生→不典型增生→胃癌”这一观点。恶性肿瘤的发生是一个细胞生长周期调控失常的过程,调节细胞周期的细胞信号通路发生异常将有可能导致细胞的增殖失控及分化异常,从而形成恶性肿瘤。在胃黏膜发生癌变的过程中,可能发生了某些细胞信号传导通路的改变、原癌基因或抑癌基因的激活或失活突变等。

目前,有许多研究发现Hh信号通路参与胃的发育过程。最近的一项研究发现在缺失Shh蛋白的情况下,胃颈粘液细胞的发育受到抑制^[42]。在哺乳动物胃中,胃泌素通过调节胃酸分泌来调控Shh蛋白的分泌^[43]。具体来说,胃泌素通过增加壁细胞胃酸的分泌,使得胃蛋白酶原A更易于转变为天冬氨酸蛋白酶A,从而调节Shh的分泌^[43]。在酸性环境下,蛋白酶A可将45 kDa的前体蛋白裂解成19 kDa的活化蛋白^[43]。这些研究揭示,虽然Shh的自身催化发生在胃黏膜,但是Hh通路中45 kDa的前体蛋白需要在酸性环境下并依赖于胃蛋白酶A的辅助。Shh与胃底腺的生长发育有着密切的关系,调节胃底腺壁细胞的增殖及分化^[44]。Dimmler等^[45]研究发现,在正常胃黏膜及非萎缩性胃炎的壁细胞中有大量的Shh表达,而随着病程的进展,Shh的表达在萎缩性胃炎、肠化

生中有显著降低的趋势甚至缺失,且Shh的表达程度与胃黏膜萎缩及肠化生的级别评分密切相关。但也有与之完全相反的结果, Lee等^[46]的一项研究发现在肠化生上皮及胃腺瘤中均可检测到Shh的过表达。然而Kang等^[47]关于小鼠胃溃疡模型的研究发现, Hh信号通路参与了胃黏膜的再生与修复。胃黏膜的反复慢性炎症、坏死、修复、再生正是胃癌发生的一个促进因素,因此可以推测胃癌的发生可能与Hh信号通路的异常激活密切相关。Ma等^[48]的一项关于胃癌的研究显示,在99例原发性胃癌中,有63例Ptch、Gli1表达上调,且用Smo的特异性抑制剂环靶明处理胃癌细胞系后,癌细胞生长受到明显抑制,而转染Gli1后可抵抗环靶明的抑制作用。Berman等^[49]的一项体外培养实验显示,6种人类胃癌细胞系中均可检测到Shh、Ptch及Gli1的表达。胃癌的发生与Shh的再次表达密切相关,目前已有很多假设用来解释Shh的再次表达,其中一种机制是幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)感染导致假性幽门化生时, NF- κ B导致Shh的再次活化^[50]。因此, Shh的再表达可能是Hp感染后NF- κ B激活的结果。NF- κ B结合于Shh启动子区,揭示Shh可能为NF- κ B的靶标^[51]。综上所述, Hh信号通路异常持续激活与胃癌的发生、发展密切相关,可能与幽门螺杆菌感染及多种炎症因子有着密切联系。

2.2 结肠癌与Hh信号通路

近年来,国人结肠癌发病率正逐年升高,病死率为恶性肿瘤的第4位^[52]。结肠癌的发病过程较为公认的是“正常结肠黏膜→结肠腺瘤→结肠癌”。有文献^[53]报道, Hh信号通路在人类肠道的发育中扮演重要角色,例如调节绒毛、平滑肌、肠神经的形成等。在小鼠胚胎11.5天及12.5天在肠道发育的内胚层细胞中检测到Shh及Ihh的表达,而在14.5天时, Shh的表达开始下调,但Ihh的表达并没有改变。在结肠癌组织中, Shh在结肠隐窝基底部分表达^[54],而Ihh在结肠上皮细胞表面表达^[55]。Shh对于结肠的发育有着至关重要的作用,而Ihh却是非必需的^[3]。目前国内有关Hh信号通路与结肠癌的关系研究较少,且对于结肠癌是否存在Hh信号通路的普遍激活有较大争议。一些研究揭示Hh信号通路关键分子在结肠息肉、结肠腺瘤及结肠腺瘤细胞系均有表达^[54,56-58]。Hh信号通路的激活是维持正常肠黏膜上皮干细胞再生的一个关键因素^[59]。Yoshikawa等^[60]发现结肠癌组织

中Shh的表达较高,而正常结肠粘膜中未发现Shh的表达,且Ptch与Gli1的表达随结肠腺瘤向结肠癌的发展而呈上调趋势。因此,Hh信号通路极有可能参与了结肠癌的形成及发展。Douard等^[57]的研究得到同样的结论,他们对44例结肠癌患者的结肠癌组织及癌旁正常组织中的Shh、Gli1及Gli1下游基因FoxM1进行RT-PCR检测,结果显示有86%(38例)的结肠癌患者中Shh、Gli1及FoxM1的mRNA高表达,且与肿瘤的大小、分期、分化程度密切相关。体外研究也得到相似的结果,利用PCR技术检测到在Shh-Np转染的结肠癌细胞系HT29中有高水平的Gli1及Gli1下游基因FoxM1,且外源性的Shh可促进HT29细胞的增殖,而Shh表达下调可抑制细胞的增殖,促进凋亡^[57]。近年来研究显示,结肠癌中Hh信号通路与Wnt信号通路有着密切联系,结肠癌细胞系中Ihh能抑制Wnt信号通路,而缺失Ihh可促进结肠癌的发展^[55]。Smo同样被证实可通过增强Wnt信号通路促进结肠癌的发展,并且在利用环靶明处理的小鼠结肠腺瘤模型中,更加证实了此观点^[61]。与正常结肠组织相比,Smo在结肠腺瘤中的表达明显增加,并通过增加 β -catenin而促进结肠细胞增殖^[62]。Varnat等^[59]的试验揭示,在原发性结肠癌患者的癌细胞中只有9%~18%的CD133⁺细胞,而这些细胞具有致瘤性且其数量受Hh信号通路的调控。CD133⁺细胞被认为是结肠癌干细胞,并需要Hh信号通路来维持生存及自我更新,而随着Hh信号的增强则会促进结肠癌细胞的增殖和转移。然而,体外实验也有与之截然相反的结论:Chatel等^[63]通过RT-PCR方法检测7种结肠癌细胞系中Hh信号通路关键成员例如Shh、Ptch、Smo、Gli1、SuFu、Hhip基因mRNA水平和Western blot技术对Hh配体、SuFu、Gli3蛋白进行定量分析结果显示,没有一个细胞系有完整的Hh信号通路成员的表达,每个细胞系都有一种或多种Hh信号通路关键成分的缺失,并且在SW480和Colo320这两种细胞系中检测到转录抑制形式的Gli3。最后,他们利用Hh信号通路的特异性抑制剂环靶明作用结肠癌细胞,发现Ptch和Gli1的表达并没有下调,这说明在结肠癌细胞系中并没有Hh信号通路的普遍激活。总之,Hh信号通路对于正常结肠上皮细胞分化有重要作用,而其在结肠癌发展过程中的具体作用机制并不十分明确,其作用可能是由Hh信号通路直接激活或间接影响Wnt信号通路来实现的。

2.3 胰腺癌与Hh信号通路

Hh信号通路不仅仅在胃肠道发育中起着重要作用,它在胰腺的形成和发育中也扮演着复杂的角色。有趣的是,与消化系统其他器官发育中所提及的Shh在消化道上皮层表达不同,在胰腺早期发育的内胚层并没有检测到Shh、Ptch的表达^[64],而从小鼠胚胎第13.5天后,可在胰腺中检测到Hh信号通路关键成员蛋白,如Shh、Ihh、Ptch1等的表达^[33]。Hebrok等^[65]的研究发现Hh信号通路的失活可导致小鼠对血糖的耐受及低血糖症的发生。因此,Hh信号通路可能与胰腺内分泌功能相关。更有趣的是,虽然Shh信号在正常成年和胚胎胰腺组织中处于低表达或失活状态,然而胰管腺癌则表现为Shh依赖的Hh信号通路的高度活化^[49,66]。目前已有许多关于Hh信号通路与胰腺癌相互关系的研究。胰腺癌常常由胰腺上皮内瘤变(pancreatic intraepithelial lesions, PanN)发展而来。大多数研究显示在胰腺癌中可检测到Shh和Ihh的表达。虽然在受损的胰腺组织中能检测到短暂的Hh配体表达,但在PanN中检测到Hh信号通路的持续激活,这揭示Hh信号通路的异常激活促进了胰腺癌的发生和发展^[67]。对人胰腺癌病理切片分析发现Hh信号通路成员蛋白Shh和Ptch1随着组织分化程度的降低而显著升高^[64]。Thayer等^[66]在对26种原发和转移性人胰腺癌细胞的研究中发现Hh信号通路的异常激活,且Hh信号通路特异性抑制剂环靶明可阻断部分细胞增殖。他在另一项研究中构建胰腺特异性Pdx-1启动子的Shh转基因小鼠模型,检测到Shh在胰腺内胚层有异常表达,且胰腺形成的异常管状结构与人类上皮类瘤变1、2期(PanN1、2)表型结构相似,同时在这些异常的胰腺组织内可检测到K-ras基因突变及HER-2/neu过表达,而这两种基因的突变与胰腺癌的早期事件密切相关^[66]。以上实验数据揭示,Hh信号通路的异常激活在胰腺癌的发生发展中扮演着重要的角色,且Hh信号通路的持续异常激活对于胰腺癌细胞的增殖及肿瘤形成有着至关重要的作用,然而有关Hh诱发胰腺癌变的机制尚未完全阐明。

3 特异性小分子抑制剂

研究发现,从藜芦属植物山藜芦中可分离得到一种异甾体类生物碱—环靶明(cycloplamine)对Hh信号通路具有特异的抑制作用。环靶明抑制Hh信

号通路基于与Smo蛋白七螺旋集束区的结合来抑制Smo的活性, 阻断信号向细胞内转导, 从而抑制细胞恶性增殖^[68]。同样, Smo的抑制剂GDC-0449 (环靶明类似物)有明显抗基底细胞癌的作用^[69], 提示对于Hh信号通路异常激活相关的恶性肿瘤, 阻断该信号通路可能达到有效的治疗目的。更有趣的是, Smo抑制剂环靶明仅对Ptch失活突变所致的基底细胞癌有效, 对Smo突变的(Trp533Leu)基底细胞癌则全然无效^[70]。针对Smo这一受体, 还有SANT1及Cur-61414等天然小分子抑制剂及人造小分子抑制剂SAG。此外, 有报道揭示GANT58及GANT61在许多细胞中能与Smo的下游作用从而抑制Gli介导的入核, 而Robotnikinin可直接与Shh作用而抑制Hedgehog信号通路的激活^[71]。这些结果表明, 肿瘤的分型有着十分重要的临床意义, 为恶性肿瘤的个体化治疗提供了重要的理论依据。

4 展望

目前, 人们对消化系统恶性肿瘤的形成、发展及转移机制缺乏完整的认识, 仍需要更多的直接证据来证实。Hedgehog信号通路是胚胎发育的重要因素, 但它的异常激活亦可能参与多种恶性肿瘤的发生及发展。诸多研究结果仍具有争议, 表明在消化系统肿瘤中Hh信号通路的激活方式不单纯是配体依赖式的, 还可能存在非配体依赖的激活方式或者其他未知的方式。因此, 进一步了解Hh信号通路异常活化与消化系统恶性肿瘤的关系及各成员蛋白在恶性肿瘤发生发展中所扮演的角色, 将为消化系统恶性肿瘤的早期诊断及个体化治疗提供理论依据。

参考文献 (References)

- Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59(4): 225-49.
- Litingtung Y, Lei L, Westphal H, Chiang C. Sonic hedgehog is essential to foregut development. *Nat Genetics* 1998; 20(1): 58-61.
- Ramalho-Santos M, Melton DA, McMahon AP. Hedgehog signals regulate multiple aspects of gastrointestinal development. *Development* 2000; 127(12): 2763-72.
- Katoh Y, Katoh M. Hedgehog signaling pathway and gastrointestinal stem cell signaling network (review). *Int J Mol Med* 2006; 18(6): 1019-23.
- Nusslein-Volhard C, Wieschaus E. Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature* 1980; 287(5785): 795-801.
- Dessaud E, McMahon AP, Briscoe J. Pattern formation in the vertebrate neural tube: A sonic hedgehog morphogen-regulated transcriptional network. *Development* 2008; 135(15): 2489-503.
- Bitgood MJ, McMahon AP. Hedgehog and Bmp genes are co-expressed at many diverse sites of cell-cell interaction in the mouse embryo. *Dev Biol* 1995; 172(1): 126-38.
- McMahon AP, Ingham PW, Tabin CJ. Developmental roles and clinical significance of hedgehog signaling. *Curr Top Dev Biol* 2003; 53: 1-114.
- Mann RK, Beachy PA. Novel lipid modifications of secreted protein signals. *Annu Rev of biochemistry* 2004; 73: 891-923.
- Kalderon D. Transducing the hedgehog signal. *Cell* 2000; 103(3): 371-4.
- Cohen MM Jr. Hedgehog signaling update. *Am J Med Genet A* 2010; 152A(8): 1875-914.
- Burke R, Nellen D, Bellotto M, Hafen E, Senti KA, Dickson BJ, *et al.* Dispatched, a novel sterol-sensing domain protein dedicated to the release of cholesterol-modified hedgehog from signaling cells. *Cell* 1999; 99(7): 803-15.
- Humke EW, Dorn KV, Milenkovic L, Scott MP, Rohatgi R. The output of Hedgehog signaling is controlled by the dynamic association between Suppressor of Fused and the Gli proteins. *Genes Dev* 2010; 24(7): 670-82.
- Zhang W, Zhao Y, Tong C, Wang G, Wang B, Jia J, *et al.* Hedgehog-regulated Costal2-kinase complexes control phosphorylation and proteolytic processing of Cubitus interruptus. *Dev Cell* 2005; 8(2): 267-78.
- Huangfu D, Liu A, Rakeman AS, Murcia NS, Niswander L, Anderson KV. Hedgehog signalling in the mouse requires intraflagellar transport proteins. *Nature* 2003; 426(6962): 83-7.
- Huangfu D, Anderson KV. Cilia and Hedgehog responsiveness in the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(32): 11325-30.
- Liu A, Wang B, Niswander LA. Mouse intraflagellar transport proteins regulate both the activator and repressor functions of Gli transcription factors. *Development (Cambridge, England)* 2005; 132(13): 3103-11.
- Corbit KC, Aanstad P, Singla V, Norman AR, Stainier DY, Reiter JF. Vertebrate smoothed functions at the primary cilium. *Nature* 2005; 437(7061): 1018-21.
- Haycraft CJ, Banizs B, Aydin-Son Y, Zhang Q, Michaud EJ, Yoder BK. Gli2 and Gli3 localize to cilia and require the intraflagellar transport protein polaris for processing and function. *PLoS Genet* 2005; 1(4): e53.
- Rohatgi R, Milenkovic L, Scott MP. Patched1 regulates hedgehog signaling at the primary cilium. *Science* 2007; 317(5836): 372-6.
- Shahi MH, Afzal M, Sinha S, Eberhart CG, Rey JA, Fan X, *et al.* Regulation of sonic hedgehog-GLI1 downstream target genes PTCH1, Cyclin D2, Plakoglobin, PAX6 and NKX2.2 and their epigenetic status in medulloblastoma and astrocytoma. *BMC Cancer* 2010; 10: 614.

- 22 Oliver TG, Grasdeder LL, Carroll AL, Kaiser C, Gillingham CL, Lin SM, *et al.* Transcriptional profiling of the Sonic hedgehog response: A critical role for N-myc in proliferation of neuronal precursors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(12): 7331-6.
- 23 Ohta M, Tateishi K, Kanai F, Watabe H, Kondo S, Guleng B, *et al.* p53-Independent negative regulation of p21/cyclin-dependent kinase-interacting protein 1 by the sonic hedgehog-glioma-associated oncogene 1 pathway in gastric carcinoma cells. *Cancer Res* 2005; 65(23): 10822-9.
- 24 Taylor MD, Liu L, Raffel C, Hui CC, Mainprize TG, Zhang X, *et al.* Mutations in SUFU predispose to medulloblastoma. *Nat Genet* 2002; 31(3): 306-10.
- 25 Pastorino L, Ghiorzo P, Nasti S, Battistuzzi L, Cusano R, Marzocchi C, *et al.* Identification of a SUFU germline mutation in a family with Gorlin syndrome. *Am J Med Genet A* 2009; 149A(7): 1539-43.
- 26 Dunaeva M, Michelson P, Kogerman P, Toftgard R. Characterization of the physical interaction of Gli proteins with SUFU proteins. *J Biol Chem* 2003; 278(7): 5116-22.
- 27 Merchant M, Vajdos FF, Ultsch M, Maun HR, Wendt U, Cannon J, *et al.* Suppressor of fused regulates Gli activity through a dual binding mechanism. *Mol Cell Biol* 2004; 24 (19): 8627-41.
- 28 Beachy PA, Karhadkar SS, Berman DM. Tissue repair and stem cell renewal in carcinogenesis. *Nature* 2004; 432(7015): 324-31.
- 29 Oro AE, Higgins KM, Hu Z, Bonifas JM, Epstein EH Jr, Scott MP. Basal cell carcinomas in mice overexpressing sonic hedgehog. *Science* 1997; 276(5313): 817-21.
- 30 Teglund S, Toftgard R. Hedgehog beyond medulloblastoma and basal cell carcinoma. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1805(2): 181-208.
- 31 Zibat A, Missiaglia E, Rosenberger A, Pritchard-Jones K, Shipley J, Hahn H, *et al.* Activation of the hedgehog pathway confers a poor prognosis in embryonal and fusion gene-negative alveolar rhabdomyosarcoma. *Oncogene* 2010; 29(48): 6323-30.
- 32 Zhang J, Lipinski RJ, Gipp JJ, Shaw AK, Bushman W. Hedgehog pathway responsiveness correlates with the presence of primary cilia on prostate stromal cells. *BMC Dev Biol* 2009; 9: 50.
- 33 Olive KP, Jacobetz MA, Davidson CJ, Gopinathan A, McIntyre D, Honess D, *et al.* Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science* 2009; 324(5933): 1457-61.
- 34 Mizuarai S, Kawagishi A, Kotani H. Inhibition of p70S6K2 down-regulates Hedgehog/GLI pathway in non-small cell lung cancer cell lines. *Mol Cancer* 2009; 8: 44.
- 35 ten Haaf A, Bektas N, von Serenyi S, Losen I, Arweiler EC, Hartmann A, *et al.* Expression of the glioma-associated oncogene homolog (GLI) 1 in human breast cancer is associated with unfavourable overall survival. *BMC Cancer* 2009; 9: 298.
- 36 Rubin LL, de Sauvage FJ. Targeting the Hedgehog pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5(12): 1026-33.
- 37 Scales SJ, de Sauvage FJ. Mechanisms of Hedgehog pathway activation in cancer and implications for therapy. *Trends Pharmacol Sci* 2009; 30(6): 303-12.
- 38 Lee Y, Kawagoe R, Sasai K, Li Y, Russell HR, Curran T, *et al.* Loss of suppressor-of-fused function promotes tumorigenesis. *Oncogene* 2007; 26(44): 6442-7.
- 39 Lam CW, Xie J, To KF, Ng HK, Lee KC, Yuen NW, *et al.* A frequent activated smoothed mutation in sporadic basal cell carcinomas. *Oncogene* 1999; 18(3): 833-6.
- 40 Song Z, Yue W, Wei B, Wang N, Li T, Guan L, *et al.* Sonic hedgehog pathway is essential for maintenance of cancer stem-like cells in human gastric cancer. *PLoS One* 2011; 6(3): e17687.
- 41 Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet* 1975; 2(7924): 58-60.
- 42 Xiao C, Ogle SA, Schumacher MA, Orr-Asman MA, Miller ML, Lertkowitz N, *et al.* Loss of parietal cell expression of Sonic hedgehog induces hypergastrinemia and hyperproliferation of surface mucous cells. *Gastroenterology* 2010; 138(2): 550-61, 61e1-8.
- 43 Zavros Y, Waghray M, Tessier A, Bai L, Todisco A, L Gumucio D, *et al.* Reduced pepsin A processing of sonic hedgehog in parietal cells precedes gastric atrophy and transformation. *J Biol Chem* 2007; 282(46): 33265-74.
- 44 van den Brink GR, Hardwick JC, Nielsen C, Xu C, ten Kate FJ, Glickman J, *et al.* Sonic hedgehog expression correlates with fundic gland differentiation in the adult gastrointestinal tract. *Gut* 2002; 51(5): 628-33.
- 45 Dimmler A, Brabletz T, Hlubek F, Hafner M, Rau T, Kirchner T, *et al.* Transcription of sonic hedgehog, a potential factor for gastric morphogenesis and gastric mucosa maintenance, is up-regulated in acidic conditions. *Lab Invest* 2003; 83(12): 1829-37.
- 46 Lee SY, Han HS, Lee KY, Hwang TS, Kim JH, Sung IK, *et al.* Sonic hedgehog expression in gastric cancer and gastric adenoma. *Oncol Rep* 2007; 17(5): 1051-5.
- 47 Kang DH, Han ME, Song MH, Lee YS, Kim EH, Kim HJ, *et al.* The role of hedgehog signaling during gastric regeneration. *J Gastro* 2009; 44(5): 372-9.
- 48 Ma X, Chen K, Huang S, Zhang X, Adegboyega PA, Evers BM, *et al.* Frequent activation of the hedgehog pathway in advanced gastric adenocarcinomas. *Carcinogenesis* 2005; 26(10): 1698-705.
- 49 Berman DM, Karhadkar SS, Maitra A, Montes De Oca R, Gerstenblith MR, Briggs K, *et al.* Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours. *Nature* 2003; 425(6960): 846-51.
- 50 El-Zaatari M, Tobias A, Grabowska AM, Kumari R, Scotting PJ, Kaye P, *et al.* De-regulation of the sonic hedgehog pathway in the InsGas mouse model of gastric carcinogenesis. *Br J Cancer* 2007; 96(12): 1855-61.
- 51 Kasperczyk H, Baumann B, Debatin KM, Fulda S. Characterization of sonic hedgehog as a novel NF-kappaB target gene that promotes NF-kappaB-mediated apoptosis resistance and tumor

- growth *in vivo*. *FASEB J* 2009; 23(1): 21-33.
- 52 Shibuya K, Mathers CD, Boschi-Pinto C, Lopez AD, Murray CJ. Global and regional estimates of cancer mortality and incidence by site: II. Results for the global burden of disease 2000. *BMC Cancer* 2002; 2: 37.
- 53 van den Brink GR. Hedgehog signaling in development and homeostasis of the gastrointestinal tract. *Physiol Rev* 2007; 87(4): 1343-75.
- 54 Oniscu A, James RM, Morris RG, Bader S, Malcomson RD, Harrison DJ. Expression of Sonic hedgehog pathway genes is altered in colonic neoplasia. *J Pathol* 2004; 203(4): 909-17.
- 55 van den Brink GR, Bleuming SA, Hardwick JC, Schepman BL, Offerhaus GJ, Keller JJ, *et al*. Indian Hedgehog is an antagonist of Wnt signaling in colonic epithelial cell differentiation. *Nat Genetics* 2004; 36(3): 277-82.
- 56 Qualtrough D, Buda A, Gaffield W, Williams AC, Paraskeva C. Hedgehog signalling in colorectal tumour cells: Induction of apoptosis with cyclopamine treatment. *Int J Cancer* 2004; 110(6): 831-7.
- 57 Douard R, Moutereau S, Pernet P, Chimingqi M, Allory Y, Manivet P, *et al*. Sonic Hedgehog-dependent proliferation in a series of patients with colorectal cancer. *Surgery* 2006; 139(5): 665-70.
- 58 Monzo M, Moreno I, Artells R, Ibeas R, Navarro A, Moreno J, *et al*. Sonic hedgehog mRNA expression by real-time quantitative PCR in normal and tumor tissues from colorectal cancer patients. *Cancer Lett* 2006; 233(1): 117-23.
- 59 Varnat F, Duquet A, Malerba M, Zbinden M, Mas C, Gervaz P, *et al*. Human colon cancer epithelial cells harbour active HEDGEHOG-GLI signalling that is essential for tumour growth, recurrence, metastasis and stem cell survival and expansion. *EMBO Mol Med* 2009; 1(6/7): 338-51.
- 60 Yoshikawa K, Shimada M, Miyamoto H, Higashijima J, Miyatani T, Nishioka M, *et al*. Sonic hedgehog relates to colorectal carcinogenesis. *J Gastroenterol* 2009; 44(11): 1113-7.
- 61 Varnat F, Zacchetti G, Ruiz i Altaba A. Hedgehog pathway activity is required for the lethality and intestinal phenotypes of mice with hyperactive Wnt signaling. *Mech Dev* 2010; 127(1/2): 73-81.
- 62 Arimura S, Matsunaga A, Kitamura T, Aoki K, Aoki M, Taketo MM. Reduced level of smoothened suppresses intestinal tumorigenesis by down-regulation of Wnt signaling. *Gastroenterology* 2009; 137(2): 629-38.
- 63 Chatel G, Ganef C, Boussif N, Delacroix L, Briquet A, Nolens G, *et al*. Hedgehog signaling pathway is inactive in colorectal cancer cell lines. *Int J Cancer* 2007; 121(12): 2622-7.
- 64 Lau J, Kawahira H, Hebrok M. Hedgehog signaling in pancreas development and disease. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63(6): 642-52.
- 65 Lau J, Hebrok M. Hedgehog signaling in pancreas epithelium regulates embryonic organ formation and adult beta-cell function. *Diabetes* 2010; 59(5): 1211-21.
- 66 Thayer SP, di Magliano MP, Heiser PW, Nielsen CM, Roberts DJ, Lauwers GY, *et al*. Hedgehog is an early and late mediator of pancreatic cancer tumorigenesis. *Nature* 2003; 425(6960): 851-6.
- 67 Strobel O, Rosow DE, Rakhlin EY, Lauwers GY, Trainor AG, Alsina J, *et al*. Pancreatic duct glands are distinct ductal compartments that react to chronic injury and mediate Shh-induced metaplasia. *Gastroenterology* 2010; 138(3): 1166-77.
- 68 Chen JK, Taipale J, Cooper MK, Beachy PA. Inhibition of Hedgehog signaling by direct binding of cyclopamine to Smoothened. *Genes Dev* 2002; 16(21): 2743-8.
- 69 Von Hoff DD, LoRusso PM, Rudin CM, Reddy JC, Yauch RL, Tibes R, *et al*. Inhibition of the hedgehog pathway in advanced basal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2009; 361(12): 1164-72.
- 70 Reifemberger J, Wolter M, Weber RG, Megahed M, Ruzicka T, Lichter P, *et al*. Missense mutations in SMOH in sporadic basal cell carcinomas of the skin and primitive neuroectodermal tumors of the central nervous system. *Cancer Res* 1998; 58(9): 1798-803.
- 71 Stanton BZ, Peng LF. Small-molecule modulators of the Sonic Hedgehog signaling pathway. *Mol Biosyst* 2010; 6(1): 44-54.

The Hedgehog Signaling Pathway and Digestive Malignancy

Peng Xiang¹, Li Yong², Lü Nonghua¹, Luo Shiwen^{2*}

(¹Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China; ²Center for Experimental Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract Digestive malignancy is a significant factor that still threatens human health. The Hedgehog signaling pathway plays a critical role in embryogenesis and the formation and maintenance of adult tissue homeostasis. The Hedgehog signaling pathway is shown to be involved in a variety of carcinogenesis events, such as gastric cancer, colorectal cancer, pancreatic cancer. Here we focused on the role of the Hedgehog signaling pathway in the development and progression of digestive malignancy, which shed light into the underlying molecular mechanism that is important to its early detection and therapeutic strategy.

Key words Hedgehog signaling; gastric cancer; colon cancer; pancreatic cancer

Received: August 2, 2011 Accepted: September 2, 2011

This work was supported by Grants from the Ministry of Science and Technology of China (No.2010CB535001), the National Natural Science Foundation of China (No.81060095, No.31171359) and the Science and Technology Project of Jiangxi Province (No.2009DD00600)

*Corresponding author. Tel: 86-791-88623275, E-mail: shiwenluo@ncu.edu.cn