

Hedgehog信号通路的作用机制及研究进展

王露林 张硕杰 唐文如* 旦菊花*

(昆明理工大学医学院衰老与肿瘤分子遗传学实验室, 昆明 650500)

摘要 HH(Hedgehog)信号通路参与多种生物学过程, 包括细胞分化、细胞增殖、细胞衰老、肿瘤的发生、肿瘤恶性转化以及肿瘤耐药, HH信号通路相关基因的异常表达或突变会在生物发生发展的不同阶段引起各种疾病的发生。而HH信号通路通过复杂的机制调控诸多信号通路, 进一步影响生物体的功能。所以深入了解HH信号通路在各种遗传疾病、肿瘤发生发展以及化疗耐药发展过程中的作用, 将有利于进一步发现和研究疾病治疗靶点。该文中, 我们概述了HH信号通路, 以及HH信号通路在癌症发生发展、发育以及衰老中的作用机制, 可为针对HH信号通路的治疗方法研究提供理论依据。

关键词 Hedgehog信号通路; 肿瘤; 神经; 发育; 衰老

Mechanism and Research Progress of Hedgehog Signal Pathway

WANG Lulin, ZHANG Shuojie, TANG Wenru*, DAN Juhua*

(Laboratory of Molecular Genetic of Aging & Tumor, Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract HH (Hedgehog) signaling pathway is involved in a variety of biological processes, including cell differentiation, cell proliferation, cell senescence, tumorigenesis, tumor malignant transformation and tumor drug resistance. Therefore, abnormal expression or mutations of genes related to the HH signaling pathway can cause a variety of diseases at different stages of biological occurrence and development. Deep insights into the role of the HH signaling pathway in various genetic diseases and tumorigenesis, as well as the development of chemotherapy resistance, are conducive to the further discovery and study of disease treatment targets. In this paper, the HH signaling pathway and its action mechanism in the occurrence and development of cancer, development, and aging are summarized. This review can provide a theoretical basis for the treatment based on the HH signaling pathway.

Keywords Hedgehog signal pathway; tumor; nerve; development; senescence

HH(Hedgehog)信号通路最早由NUSSLEIN-VOLHARD和WIESCHAUS在1980年筛查影响果蝇幼虫身体节段发育的基因突变时发现^[1]。HH信号通路在进化上是高度保守的^[2], 它在调节发育和各种生理过程中发挥重要作用^[3], 包括正常的干细胞增殖和分化。HH信号通路对胚胎发育、干细胞自稳态、细胞分化、组织极化和细胞增殖等过程

起着重要的调控作用。胚胎发育成熟后HH通路失活, SMO(smoothened)蛋白的活性受到抑制。在小鼠中, HH信号不足通常是胚胎致死的诱因。其中SHH(Sonic Hedgehog)在脊椎动物发育中具有促进祖细胞增殖的作用。在胚胎发育期间, 大脑皮层所有的旺盛神经元的神经发生很大程度上会受到SHH信号的影响。除了细胞命运的发育特性外, SHH信

收稿日期: 2020-08-28 接受日期: 2020-11-18

云南省应用基础研究计划面上项目(批准号: 2019FB110)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0871-65920753, E-mail: twr@sina.com; danjuhua@kust.edu.cn

Received: August 28, 2020

Accepted: November 18, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of Yunnan Province (Grant No.2019FB110)

*Corresponding authors. Tel: +86-871-65920753, E-mail: twr@sina.com; danjuhua@kust.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5430>

号在胚胎大脑的早期模式形成中起着至关重要的作用,特别是在调节中枢神经系统(central nervous system, CNS)的极性方面^[4]。SHH途径还能改善线粒体功能,具有抗衰老作用。近几年的研究发现,HH信号通路的异常会导致各种出生缺陷和影响多种肿瘤的恶性程度及药物治疗效果。深入了解HH信号通路在各种遗传疾病、肿瘤发生发展以及化疗耐药发展过程中的作用,将有利于进一步发现和研究疾病治疗靶点。因此,本文将对HH信号通路及其在肿瘤、发育及衰老中作用机制的研究现状进行综述。

1 HH信号通路的作用机制

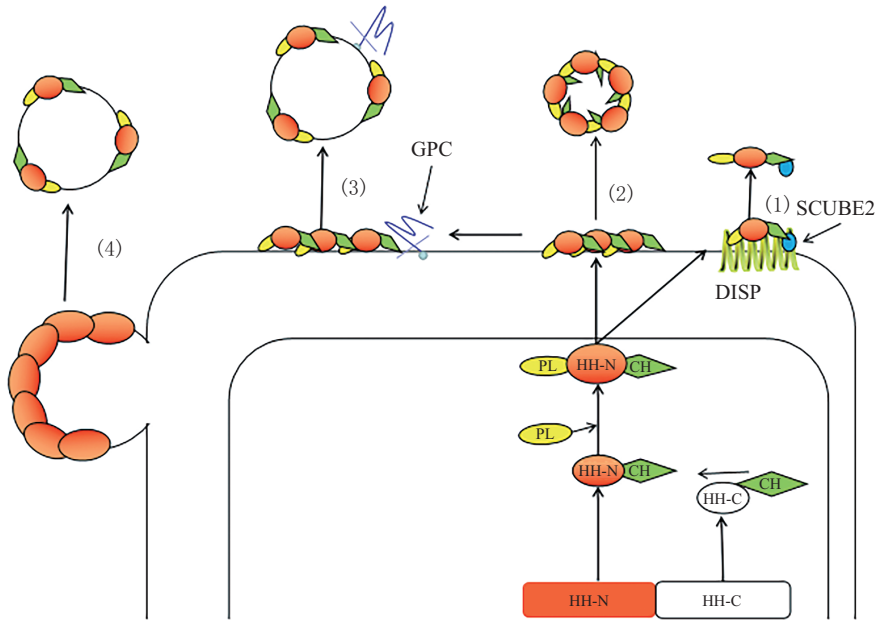
1.1 HH蛋白家族的活化

HH蛋白是一种分泌蛋白,是激活HH信号通路的关键配体,在脊椎动物和非脊椎动物的发育过程中起重要调控作用。在哺乳动物中,有3个HH基因家族成员:SHH、DHH(Desert Hedgehog)和IHH(Indian Hedgehog)。HH蛋白的全长大约为45 kDa^[5],通过自

切割可被分解成羧基结构域(HH-C)和氨基结构域(HH-N)两部分。HH-C起自动调节作用,可以共价结合到胆固醇分子上,并将其转移到HH-N的C末端,充当胆固醇转移酶的作用^[6]。HH-N在酰基转移酶的作用下被棕榈酸酯和胆固醇修饰后作为信号分子激活HH信号通路,已有研究证实其他不饱和脂肪酸也参与了该修饰^[2,7],棕榈酰化、胆固醇修饰以及磷脂酰肌醇聚糖在HH配体释放到细胞外和胞外扩散的过程中起着保护作用。被修饰的HH-N的分泌方式如图1所示。

1.2 经典HH信号通路

HH信号通路的激活需要HH配体、PTCH(Patched)受体、SMO受体、中间转导分子和下游分子Gli等的参与^[8]。HH信号通路的激活可分为2个步骤:第一步是信号从质膜传到胞内的过程,第二步是信号从胞内传到核内的过程。HH蛋白通过外泌体从细胞膜中释放并到达受体细胞外,识别肿瘤抑制基因Patched编码的受体PTCH,PTCH有一个甾醇敏感结构域(sterol-



修饰后HH-N可以通过四种方式被释放到细胞外。(1)果蝇和小鼠的HH产生细胞都需要Disp(Dispatted)转运含脂的HH蛋白。HH-N的胆固醇部分通过与膜蛋白Disp和分泌蛋白Scube2的协同作用而被释放。这两种蛋白直接与HH-N胆固醇的不同部分结合。(2)修饰后的HH蛋白可以自缩合的形式从膜上释放出来,形成一种大的可溶性聚合物。(3)通过与磷脂酰肌醇多糖(glypican, GPC)的硫酸乙酰肝素链相互作用,可以释放HH的N末端低聚物。HH可以通过其附着的脂质或胆固醇锚定在脂蛋白颗粒的磷脂单分子层中。(4)HH-N可以被释放到毛囊表面。

The modified HH-N can be released out of the cell in four ways. (1) both *Drosophila* and mouse HH producing cells need Disp (Dispatted) to transport lipid-containing HH proteins. The cholesterol portion of HH-N is released by synergistic action with membrane protein Disp and secretory protein Scube2. These two proteins bind directly to different parts of HH-N cholesterol. (2) the modified HH protein can be released from the membrane in the form of self-association to form a large soluble polymer. (3) the N-terminal oligomer of HH can be released by interacting with the heparan sulfate chain of GPC (glypican). HH can be anchored in the phospholipid monolayer of lipoprotein particles through its attached lipids or cholesterol. (4) HH-N can be released to the surface of follicles.

图1 HH-N的四种分泌方式

Fig.1 Four secretion modes of HH-N

sensing domain, SSD), 它与结合到HH蛋白上的胆固醇相互作用^[2]。HH蛋白与PTCH的结合激活了G蛋白偶联受体(G protein coupled receptor, GPCR)超家族成员SMO, SMO被高度磷酸化进一步激活下游信号通路^[3]。

受体PTCH在果蝇中为PTC, 在哺乳动物中有2个家族成员, 分别为PTCH1和PTCH2, 两者与HH蛋白的亲合力大致相同, PTCH1由12次跨膜的单一肽链构成, 对HH信号起负调控的作用。PTCH1的功能与果蝇中的PTC更为类似, 而PTCH2的功能尚不清楚^[9]。在没有HH信号时, PTCH定位于初级纤毛的底部, PTCH抑制7次跨膜蛋白SMO的活性。初级纤毛是脊椎动物细胞表面凸起的细胞器, 充当HH信号转导的信号中心^[10]。

由原癌基因 *smothered* 编码的受体SMO将HH信号向胞内转导, 其N末端位于细胞外, C末端位于细胞内。因此, 当HH信号未被激活时抑制了SMO活性, 使其聚集在细胞内的囊泡中, 进而被降解^[11]。遗传研究表明, HH信号强度的差异是由SMO的逐渐磷酸化产生的, 磷酸化程度越高, HH信号强度越强。SMO的C末端可直接与驱动蛋白Cos2结合, 其中就包括转录因子Ci(cubitus interruptus)。当没有HH信号时, Ci被蛋白激酶Fu以及其抑制子SUFU(suppressor of fused)形成的复合物锚定在细胞质中, Ci在PKA(protein kinase A)、GSK3(glycogen synthase kinase 3)和CK1(casein kinase 1)的作用下被磷酸化水解成截短的转录抑制因子(Ci^R)^[12], Ci^R进入细胞核中, 抑制HH通路基因的表达^[12]。

被HH蛋白激活的细胞内信号进一步通过转录因子Gli2/3转导到细胞核^[1]。在哺乳动物中, 已经鉴定出Gli(Glioma-associated oncogene)基因家族的3个成员 *Gli1*、*Gli2*和*Gli3*^[13], 它们具有5个高度保守的锌指DNA结合域的连续重复, Gli蛋白主要进行核定位, 并以高亲和力结合其DNA结合位点。Gli2可以激活转录并经历蛋白水解来产生激活结构域, 而Gli3则产生抑制结构域^[14]。SMO的激活会导致SUFU和Gli2、Gli3在纤毛停留时间延长, 从而使纤毛内Gli-SUFU复合物解离^[15], 进而使全长激活形式的Gli2、Gli3蛋白绕过蛋白水解过程从纤毛转移到细胞核, 在那里它们激活HH信号通路相关靶基因的转录^[16]。驱动蛋白Kif7(kinesin family member 7)是HH信号通路的一个组成部分, 既可以起到正向调节作用, 也可以起到负向调节作用, 但Kif7的正负两

种作用机制尚不完全清楚^[2]。Gli2和Gli3在纤毛上的运动在一定程度上依赖于Kif7、PKA、GSK3及CK1的高度磷酸化。cAMP依赖的PKA也是HH信号通路的重要负调控因子^[17], PKA定位于纤毛基部, 调节Gli/Gli细胞复合体的形成^[18]。在没有HH配体的情况下, PKA活性的基本水平的维持对HH信号通路产生了抑制作用, 如果PKA活性降低, 就会导致HH信号通路相关靶基因异位表达^[19]。HH信号通路如图2所示。

1.3 非经典HH信号通路

非经典HH信号通路存在两种形式: 源自PTCH1(I型)但无SMO参与的途径, 以及SMO(II型)依赖但无PTCH1参与的途径。PTCH1(I型)依赖的是不依赖于SMO并导致Gli激活的途径, 研究表明, 肿瘤间质室中大量的细胞因子和趋化因子可以激活Gli介导的转录^[20]。SMO(II型)依赖的途径在钙离子信号传递、细胞骨架重排、轴突引导以及脂肪组织和骨骼肌代谢中发挥着重要作用^[21]。

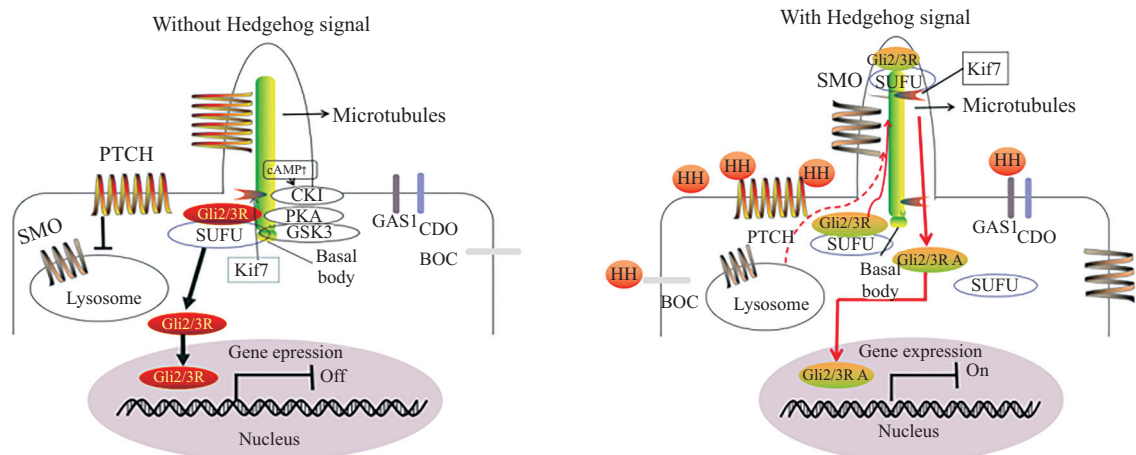
HH通路在许多生物学事件中起着重要作用, HH通路相关基因缺失或突变的小鼠表现出多样而严重的表型。HH蛋白及其相关基因的突变、缺失和异常表达会导致组织的畸形、增生和生长迟缓。相反, 持续或异常高的HH激活会导致出生后器官中的肿瘤发生。在接下来的章节中, 我们将讨论HH信号通路相关基因或蛋白的缺失和突变对生物学生理或病理过程的影响。表1总结了主要基因敲除或突变的表型。

2 HH信号通路调控肿瘤的发生发展

虽然标准的化疗和放射治疗可以大大减小肿瘤体积, 但可能会刺激肿瘤干细胞的生长, 从而导致癌症复发, 因此, 确定维持和支持癌症干细胞自我更新和存活的分子机制是肿瘤治疗史上的里程碑。在许多人类恶性肿瘤的发病早期和晚期都可以检测到HH信号通路相关基因表达调控异常或异位过度表达, 这表明这条保守的通路在癌症发病过程中的作用至关重要。

2.1 HH信号通路调控基底细胞癌综合征的发生发展

HH信号通路配体非依赖性激活途径包括: SMO的激活突变和PTCH1或SUFU(HH信号负调控因子)的失活突变, 从而在没有配体的情况下导致HH信号



A: 在没有HH信号的情况下, PTCH1抑制SMO和Gli蛋白的表面定位, Gli蛋白被蛋白激酶磷酸化, 导致NH₂末端截断(Gli2/3R的产生), 从而抑制HH通路基因的转录。SUFU还通过与细胞质和细胞核中的Gli结合来调节这一途径, 从而阻止HH通路基因的转录。B: 在HH信号存在的情况下, PTCH1失活可以使SMO重新定位到纤毛上, 启动下游信号事件和Gli蛋白的激活, 并增加HH通路基因的表达。
A: in the absence of HH signal, PTCH1 inhibits the surface localization of SMO and Gli proteins, and Gli proteins are phosphorylated by protein kinases, resulting in NH₂ terminal truncation (Gli2/3R production), thus inhibiting the transcription of HH pathway-associated genes. SUFU also regulates this pathway by binding to Gli in the cytoplasm and nucleus, thereby preventing the transcription of HH pathway-associated genes. B: in the presence of HH signal, PTCH1 inactivation can relocate SMO to cilia, initiate downstream signal events and activation of Gli protein, and increase the expression of HH pathway-associated genes.

图2 HH信号通路示意图
Fig.2 The diagram of the HH signaling pathway

表1 HH相关基因突变和缺失引起的主要表型和症状

Table 1 Major phenotypes and symptoms caused by mutations and deletions of HH-related genes				
疾病类别	疾病	基因	基因产物	参考文献
Disease category	Diseases	Gene	Gene product	References
Tumor-associated	BCCS	<i>PTCH1</i>	12-span transmembrane protein	[2]
	TNBC	<i>SMO</i> and <i>Gli1</i>	G-protein coupled receptor and transcription factor	[6]
	Lung cancer	<i>Gli</i>	Transcription factor	[22]
Development-related	New hair follicles for adult skin	<i>SHH</i>	Secreted factor	[23]
	GSCs	<i>SUFU</i>	Scaffold protein	[24-25]
Nerve-related	Neocortex	<i>SHH</i>	Secreted factor	[26]
	Hippocampal nerve	<i>SHH</i>	Secreted factor	[27]
	Adult neurological disease	<i>SMO</i>	G-protein coupled receptor	[28]
Age-related	Therosclerosis	<i>IHH</i>	Secreted factor	[29]
	Endometrial stem cell senescence	<i>SHH</i>	Secreted factor	[30]
	Muscle disease	<i>SHH</i>	Secreted factor	[31]

的结构性激活^[32]。现有研究在大约85%的散发性基底细胞癌中发现了*PTCH1*的失活突变^[33]。多发性基底细胞癌的发展是Gorlin综合征的一个主要特征, 也被称为新生基底细胞癌综合征^[34]。在基底细胞癌综合征中, 发现了9号染色体上的*PTCH1*突变, 在小鼠中^[2], *PTCH1*纯合缺失是胚胎致死的, 而其杂合缺失会导致类似痣样基底细胞癌综合征(nevoid basal cell carcinoma syndrome, NBCCS)的表型, 并有发展

成髓母细胞瘤(medulloblastomas, MBs)和基底样肿瘤的趋势。此外, 临床研究发现, Gli1在基底细胞癌中过表达, 在HH抑制剂治疗9周和17周后, 其表达量至少降低了90%^[35]。针对HH信号通路, 研究者已经开发了用于治疗转移性基底细胞癌的临床药物Vismodegib, Vismodegib是一种直接的SMO的环丙胺竞争性拮抗剂^[36]。它于2012年获得美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)和欧洲药

品管理局(European Medicines Agency, EMA)的批准,可以用来治疗不适合手术或放射治疗患者的局部晚期基底细胞癌。尽管该药物在临床治疗中取得一定成效,但许多肿瘤在治疗过程中很可能获得了临床耐药性,联合用药被认为是抑制基底细胞癌进展的一种策略。

2.2 HH信号通路调控三阴性乳腺癌的发生发展

HH配体依赖型以自分泌或者旁分泌的方式对HH蛋白产生反应,最终导致肿瘤形成和生长^[2]。临床前研究提供了强有力的证据表明,HH信号在三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)肿瘤干细胞重编程中发挥关键作用。SMO和Gli1在TNBC中高表达,其过度表达与TNBC的转移、预后不良和复发密切相关^[6]。TAO等^[37]首次提供了临床证据支持HH信号在TNBC中的重要作用,HH信号传导与乳腺导管改变和恶性转化有关,抑制HH活性的措施可能会改善TNBC患者的预后。HH信号通路与TNBC化疗耐药之间的关系也已被证实,WANG等^[38]研究发现,藤黄酸与紫杉醇的组合可能通过下调SHH信号通路来增强对紫杉醇耐药的TNBC的治疗作用。在TNBC中,肿瘤Gli1表达的增加被发现与较高的肿瘤分期和淋巴结阳性疾病相关^[37]。最近,HAN等^[39]的研究已经表明,HH信号通路相关基因的激活预示着乳腺癌患者较差的无病生存率。虽然该项研究包括了迄今为止最多的临床样本,但它没有评估特定乳腺癌亚型中HH通路基因特征的预后意义,仍为Gli靶向治疗提供了理论基础。

2.3 HH信号通路调控肺癌的发生发展

肺癌是世界范围内死亡率最高的癌症。肺鳞状细胞癌(squamous-cell carcinomas of the lung, SQCLC)约占非小细胞肺癌的30%,与吸烟密切相关^[40]。虽然肺鳞状细胞癌的致癌机理已逐渐被描述,但可用的药物靶点尚未确定,因此缺乏有效的靶向治疗方案。HUANG等^[22]的数据显示,在SQCLC中Gli的调节不依赖于SMO,这与典型的HH-Gli途径激活不同。HUANG和他的团队^[22]目前正在研究其他临床上可用的药物,这些药物有可能靶向Gli蛋白。小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)是一种侵袭性的神经内分泌亚型肺癌,目前尚无有效的治疗方法^[41]。PARK等^[42]研究发现,SMO的组成性激活促进了人小细胞肺癌的体外克隆形成和体内小鼠小细胞肺癌的发生发展。其数据表明,使用HH通路抑制剂治疗小细胞肺

癌可以配合化疗或放射治疗方案,来抑制原发性和转移性小细胞肺癌的生长,减少肿瘤的复发^[42]。小细胞肺癌中有较高比例的SHH通路相关蛋白表达,SHH过度表达与预后不良相关^[43]。阐明HH-Gli信号调节肿瘤干细胞自我更新和存活的机制,并将目前的发现推广到其他癌症类型,可为治疗目前没有特效药的肿瘤奠定基础。

综上所述,我们只有详细了解导致肿瘤中Gli激活的机制,才能选择合适的HH信号通路抑制剂,并且在HH信号和其他致癌途径之间存在串扰的情况下,选择最佳的治疗方案。虽然HH信号通路参与肿瘤发展的调控机制一直以来都是各方学者研究的热点所在,但其具体机制复杂多样,且在不同疾病中的作用不尽相同,其内在机制仍需进一步研究。

3 HH信号通路调控机体的发育

3.1 HH信号通路诱导成人皮肤新毛囊的发生

组织特异性成体干细胞在整个生命过程中发挥作用。在皮肤中,毛囊(hair follicle, HF)中的一组细胞已被鉴定为多能干细胞[(HF干细胞(HF stem cells, hfSCs))]^[44-45],人类HF的数量和模式在出生前就已明确。在老鼠身上,大多数身体区域都是如此,比如背部皮肤。HF的发育是由相邻的上皮细胞和间充质细胞发出的协调信号调控,并在受伤后修复皮肤上皮^[46]。在人体中,这一过程只发生在胚胎发育期间,SUN等^[46]的研究发现,相邻上皮和基质细胞中HH信号的激活在成年未受伤的小鼠背部皮肤中诱导了新的毛囊。新生HF的形成概括了胚胎HF的发育,成熟的毛囊产生的毛发与上皮性肿瘤共存。在SHH基因敲除(*SHH*^{-/-})小鼠中,HF的形态发生不会超过毛胚阶段^[23]。诱导成人复杂上皮结构的分子策略仍然是再生医学的主要挑战。SUN等^[46]的研究表明,单个途径的细胞类型特异性调节足以在成人体内诱导复杂的上皮结构,这一发现有助于成人组织生物学和再生医学的发展。

3.2 HH信号通路调控生殖系干细胞的行为

生殖系干细胞(germ-line stem cell, GSC)是指性腺中具有分化为生殖细胞能力的细胞,它们存在于含有体细胞的性腺的微环境中,这些体细胞协同调节GSCs的增殖和分化,GSC在男性中通常被称为精原干细胞(spermatogonial stem cell, SSC),在女性中通常被称为卵巢生殖系干细胞(ovarian germ-line

stem cell, OGSC)^[47-48]。近年来的研究发现, HH信号通路通过直接或间接调节 GSCs 周围的微环境来影响 GSCs, 从而被确定为 GSCs 的相关调节因子^[47], 由于其分化能力强, GSCs 在生殖医学中具有巨大的潜在应用前景。

3.2.1 HH信号通路调控哺乳动物SSCs的增殖和分化 2014年, SAHIN等^[49]发现, 在仅包含未分化 SSCs 的环境中可以检测到 HH 通路相关基因 *HH*、*PTC*、*SMO* 和 *Gli1* 的转录, 此外, 在最初的几个月里, 虽然 SSCs 没有分化, 但是 SSCs 的数量增加了。因此, 他们提出 SSCs 可以通过 HH 信号的自分泌环来维持分化前的自我更新。同时, *SUFU* 是 HH 途径中的负调控因子, 在 SSCs 分化早期不能被检测到。然而, 当 SSCs 发育成成熟的精子细胞时, *SUFU* 的表达不断增加并抑制 *Gli* 的转录活性, 从而导致精子细胞中 DHH 信号的抑制^[24-25]。因此, 随着 SSCs 的分化, 它们的 HH 信号活性不断降低。HH 信号通路对 SSCs 的增殖和分化有很强影响。通过研究 HH 信号通路活性的改变来促进 SSCs 的增殖、分化或抗凋亡的机制, 为临床治疗无精子症或其他与 SSCs 相关的疾病提供了新的思路。

3.2.2 HH信号通路对OGSCs的影响 卵巢表面上皮(ovarian surface epithelia, OSE)中的上皮细胞兼具上皮和间质表型, 它们可以经历上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 将上皮细胞之间的紧密连接变为间充质细胞之间较松散的连接, 研究表明, HH 信号通路参与了其他组织的 EMT^[50]。但是, 在正常 OSE 中未观察到 SHH、DHH、PTCH、SMO 和 *Gli1* 蛋白的表达, 但这些蛋白的水平在良性、交界性和恶性肿瘤中却逐渐升高, 这似乎表明 OSE 在正常状态下没有激活 HH 信号通路^[47]。然而, 抑制 HH 信号通路可导致卵巢癌细胞凋亡、细胞活力的抑制、细胞迁移和细胞侵袭^[51], 提示 HH 信号通路可能参与 OGSCs 向卵巢皮质的迁移。在哺乳动物胎儿卵巢的最初形成阶段, *HH*、*PTC* 和 *Gli* 的转录水平非常低^[52]。出生后, 初级卵泡的原始卵母细胞分泌生长分化因子 9(growth differentiation factor 9, GDF9), 诱导颗粒细胞分泌 DHH 和 IHH^[53]。然而, 目前还不清楚 OGSCs 中是否存在 *PTC* 和 *SMO*, 如果存在的话, 就表明改变 HH 信号通路的活性将调节 OGSC 的增殖^[47]。总之, 调节 OGSC 功能可以帮助那些有生殖细胞功能障碍的动物或人恢复生殖能力。

4 HH信号通路调控神经系统的生理及病理功能

4.1 HH信号通路调控新皮质的生长和折叠

哺乳动物新皮质的进化被认为是一个关键的进步, 因为其使哺乳动物具有更高的认知功能。人类独特的心智能力植根于巨大的扩张和折叠的新皮质, 它反映了神经前体细胞的扩张, 特别是基底放射状胶质细胞(basal radial glial cells, bRGCs)和中间前体细胞(intermediate progenitor cell, IPC)等基础性前体细胞的扩张^[26], 新皮质的扩张和折叠反映了神经元数量的增加, 因此依赖于神经前体的数量和增殖能力。WANG等^[26]的研究表明, 结构性活跃的 SHH 信号扩大了 bRGC 和 IPC, 并诱导了小鼠新皮层的折叠, 而 SHH 信号的丢失则减少了 bRGC 和 IPC 的数量和新皮质的大小。SHH 信号缺陷会导致全前脑, 这是一种大脑半球分离的缺陷, 主要是由于模式异常造成的。轻度全前脑畸形患者出生时的大脑通常比正常小(小头畸形)^[54], 这表明影响早期模式形成的机制也会影响神经发生和大脑大小, 然而, SHH 信号在人类新皮质发育中的作用尚不清楚, 研究 SHH 信号可能会在破译新皮质发育和进化的机制方面发挥重要作用。

4.2 HH信号通路调节海马神经的可塑性

海马体是大脑中主要与学习和记忆相关的区域, 因为从多个感觉联合皮层传递的信息汇聚到海马回路中的神经元, 导致突触激活增强, 其结构形状类似于海马^[55]。SHH 介导活动依赖和损伤诱导的海马神经发生, 海马神经元树突中 SHH 受体的激活参与了一条跨神经元的信号通路海马神经元, 特别是 CA1 和 CA3 锥体神经元, 在阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)、抑郁症和颞叶癫痫这三大神经系统疾病中容易出现功能障碍和萎缩^[56]。MITCHELL等^[27]先前发现, SHH 信号调节海马神经元的突触前终端的结构和功能特性, 调节它们的分子成分和功能。YAO等^[57]的实验证实了 SHH 信号通路的激活诱导年轻的海马神经元轴突延长, 无论它们是否有纤毛, 在 SHH 刺激下, SMO 在树突上的定位显著增加, SHH 途径激活导致肌动蛋白结合蛋白 PFN1(profilin1)水平升高, PFN1 的肌动蛋白结合位点的突变或 PFN1 的减少消除了 SHH 诱导的轴突延长^[57]。前期研究结果表明, SHH 激动剂 SAG(smoothed agonist)可以逆转与唐氏综合征和 AD 相关的小鼠模型中海马突触可塑性和空间学习记

忆的缺陷^[58]。进一步研究针对SHH信号的药物在包括AD、抑郁症、癫痫和脑缺血在内的影响海马的疾病的动物模型中的潜在治疗益处,可能为未来在人类患者中进行SHH修饰干预的临床试验提供理论基础。

4.3 HH信号通路调控成人神经疾病的发生发展

众所周知,神经发生对于神经组织的更新、替换和修复非常重要,而且有助于维持正常的功能^[59]。已经有实验揭示了SHH在神经发生能力相关的神经系统疾病中发挥了关键性作用。脑活素是一种含有多种神经营养因子的多肽制剂,在缺血性中风和神经退行性疾病中可以促进神经再生,具有更好的功能作用^[60]。研究表明,抑制SHH通路SMO的环多巴胺能完全逆转脑活素在缺血性模型神经功能恢复中的有利作用^[28]。电惊厥(electric convulsion, ECS)是治疗抑郁症的一种神经调节方式^[61], ECS可促进成年海马前体细胞的增殖,这种作用可被SHH信号的药物抑制剂环多巴胺完全阻断^[59]。Gli1和PTCH1是SHH信号下游的转录靶标,在大鼠脑缺血模型中,抑制SHH通路导致缺血影响的脑组织中Gli1、PTCH1和SOD1(superoxide dismutase 1)的表达减少,同时伴有脑组织含水量、梗死体积和行为障碍的增加,表明SHH信号通路的减少加重了大鼠的缺血性损伤^[59,62]。星形胶质细胞释放的SHH在维持血脑屏障完整性方面起着重要作用^[63]。SHH通过减少促炎介质的表达和白细胞的黏附/迁移,在体内和体外都能促进血脑屏障内皮细胞免疫反应的沉默^[63]。在SHH基因敲除小鼠的肠上皮细胞中进行的研究表明,SHH的丢失可以改变内质网应激下回肠分泌细胞的成熟,并明显减少自噬。活跃的HH信号对于维持成人神经元的活性尤为关键^[64],了解SHH信号在各种神经条件下是如何受到影响的,并准确控制SHH信号,从而提高神经发生的能力,对于未来SHH通路在神经退行性疾病中的临床应用至关重要,而神经发生在这些疾病中起着关键作用。

5 HH信号通路调控衰老相关疾病的发生发展

目前的研究表明,体外和体内SHH活性明显随着年龄增长而下降。在许多人类恶性肿瘤的癌变早期和晚期都可以检测到基因解除调控或异位过度表达HH信号通路。然而,HH信号通路与老年人衰老、慢性退行性疾病和炎症性疾病的关系最近引起人们的

关注^[29], LUCAS等^[65]指出,与年龄相关的干细胞功能下降可能影响与衰老相关的疾病的各个方面。

5.1 HH信号通路调控动脉粥样硬化的发生发展

动脉粥样硬化是高龄的主要表现之一,也是心脑血管疾病的主要原因之一,它与其他能量代谢疾病密切相关,包括代谢综合征和2型糖尿病,它们的病理生理涉及多种机制,包括免疫系统和凝血系统的病理生理变化^[66]。利用LTQ-Orbitrap XL组合式质谱仪对血浆脂蛋白进行的分析表明,HH存在于人类极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)组分中,但不存在于其他血浆脂蛋白组分[低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)和高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)]中。使用相同的方法,血浆脂蛋白组分中均无法检测到SHH和DHH^[67]。因此,胆固醇代谢紊乱会影响HH的通路和功能作用。HH信号分子代表了一个重要的抗衰老信号,尽管这些效果并不能真正阻止动脉粥样硬化过程^[29],但有助于限制所造成的损害。DASHTI和他的同事^[66]指出,HH信号通路的功能本质上受老年患者代谢综合征中甾体代谢的影响。HH信号分子不仅在组织修复中发挥着重要作用,而且还参与了组织的维护和抗衰老,而且它的表达可能会随着年龄的增加而减少。HH信号的抑制可恢复老年造血祖细胞的DNA损伤耐受性和DNA损伤抗性增殖^[68]。

5.2 HH信号通路调控子宫内膜干细胞的衰老

先前的研究表明,子宫内膜经历了明显的与年龄相关的生理和形态变化,这被认为是随着年龄的增长生殖能力显著下降的原因^[69]。LUCAS等^[65]的研究表明,子宫内膜干细胞功能障碍会损害子宫内膜的周期性再生,从而降低妊娠率和受孕率。子宫内膜干细胞的细胞衰老触发慢性炎症,这是衰老的一个标志。CHO等^[70]首次发现,SHH在包括子宫在内的多个组织中的表达随着年龄的增长而显著降低。PARK等^[30]发现,SHH作为干细胞活化因子在组织损伤时被主动分泌,随后通过促进子宫内膜干细胞的各种有益功能来刺激组织再生。CHO等^[70]的实验结果还表明了SHH活性随着年龄的增长而下降,无论是在体外还是在体内,SHH治疗显著缓解了多种与衰老相关的子宫内膜干细胞功能的下降,这表明SHH可能作为一种内源性抗衰老因子在人子宫内膜干细胞中发挥作用。SHH为调控子宫内膜干细胞衰老的潜在分子机制的研究提供了新的思路,具有

潜在的临床应用价值。

5.3 HH信号通路调控衰老相关肌肉疾病的发生发展

在过去的十年中, POLA等^[71-72]已经在心肌和骨骼肌缺血的实验模型中证明了在出生后通常被认为是沉默的SHH信号通路在成人中上调。损伤组织的修复是一个复杂的生物过程, 涉及组织驻留细胞和浸润细胞对局部和系统信号的协调活动。在衰老的肌肉中, 许多有效的肌肉修复背后的细胞和分子机制是失调的, 最终导致损伤后的再生受损。POLA和他的同事们^[31]通过实验发现了SHH不仅对成人的血管生成有调节作用, 而且对成人的肌肉生成也起着调节作用。先前研究表明, SHH能够诱导老年小鼠骨骼肌损伤后SHH信号通路途径的功能性激活, 导致SHH信号通路的主要转录因子Gli1的表达水平与年轻小鼠在诱导损伤时观察到的水平相似^[31]。这种SHH疗法激活了一个有效的再生过程来应对损伤, 并导致激活的肌肉卫星细胞(muscle satellite cells, MSCs)和新的肌纤维数量增加, 但导致纤维化的减少。已经证明, SHH在小鼠成年骨骼肌损伤后和再生过程中重新表达, 抑制SHH会削弱成肌调节因子Myf5(recombinant myogenic factor 5)和MyoD(myogenic differentiation antigen)的激活, 减少胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)的上调, 并减少损伤部位的MSCs数量。此外, 抑制SHH会导致肌肉纤维化, 增加炎症反应, 并影响损伤后运动功能的恢复^[73]。研究结果提示, SHH在衰老骨骼肌再生受损的分子机制中是一个新的参与者, 表明了SHH疗法增加了衰老肌肉的再生能力, 值得进一步研究SHH作为靶点在老年人肌肉疾病治疗中的应用。

6 结语

综上所述, 从机体的出生到衰老, 从发育到疾病的发生, 包括癌症的发生, HH信号通路完整性的“时序”状态似乎不断下降, 而在衰老的中间时段, 退化的特征可能使HH通路活性降低, 说明HH信号通路在正常组织和器官及癌症的生物学中具有重要的地位, 因此HH信号通路对于调节无脊椎动物和脊椎动物的正常发育和分化是必不可少的。HH信号通路不仅在正常组织和器官的胚胎发育、组织修复和组织稳态过程中参与了许多生物学过程, 而且与肿

瘤发生之间的联系具有很强的异质性。因此, 以HH信号通路相关蛋白为靶点可能为治疗多种类型的人类疾病提供选择, 尽管进行了广泛的研究, 但许多潜在的HH信号机制可能仍未被发现, 准确地了解HH信号通路的基本调控机制和耐药性, 将有助于开发新的靶点来治疗HH信号通路激活的疾病, 从而达到更好的疾病治疗效果。

参考文献 (References)

- [1] SASAI N, TORIYAMA M, KONDO T. Hedgehog signal and genetic disorders [J]. *Front Genet*, 2019, 10(1103): 1-23.
- [2] SKODA A M, SIMOVIC D, KARIN V, et al. The role of the Hedgehog signaling pathway in cancer: a comprehensive review [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2018, 18(1): 8-20.
- [3] LEE R T, ZHAO Z, INGHAM P W. Hedgehog signalling [J]. *Development*, 2016, 143(3): 367-72.
- [4] ECHELARD Y, EPSTEIN D J, ST-JACQUES B, et al. Sonic hedgehog, a member of a family of putative signaling molecules, is implicated in the regulation of CNS polarity [J]. *Cell*, 1993, 75(7): 1417-30.
- [5] TOKHUNTS R, SINGH S, CHU T, et al. The full-length unprocessed hedgehog protein is an active signaling molecule [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(4): 2562-8.
- [6] SARI I N, PHI L T H, JUN N, et al. Hedgehog signaling in cancer: a prospective therapeutic target for eradicating cancer stem cells [J]. *Cells*, 2018, 7(11): 1-33.
- [7] LONG J, TOKHUNTS R, OLD W M, et al. Identification of a family of fatty-acid-speciated sonic hedgehog proteins, whose members display differential biological properties [J]. *Cell Rep*, 2015, 10(8): 1280-7.
- [8] YANG L, SHI P, ZHAO G, et al. Targeting cancer stem cell pathways for cancer therapy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 51(7): 319-26.
- [9] BINDER M, CHMIELARZ P, MCKINNON P J, et al. Functionally distinctive ptch receptors establish multimodal Hedgehog signaling in the tooth epithelial stem cell niche [J]. *Stem Cells*, 2019, 37(9): 1238-48.
- [10] GOROJANKINA T. Hedgehog signaling pathway: a novel model and molecular mechanisms of signal transduction [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(7): 1317-32.
- [11] ROHATGI R, MILENKOVIC L, SCOTT M P. Patched1 regulates hedgehog signaling at the primary cilium [J]. *Science*, 2007, 317(5836): 372-6.
- [12] INGHAM P W, MCMAHON A P. Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles [J]. *Genes Dev*, 2001, 15(23): 3059-87.
- [13] SALARITABAR A, BERINDAN-NEAGOE I, DARVISH B, et al. Targeting Hedgehog signaling pathway: paving the road for cancer therapy [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 141: 466-80.
- [14] KINZLER K W, RUPPERT J M, BIGNER S H, et al. The GLI gene is a member of the Kruppel family of zinc finger proteins [J]. *Nature*, 1988, 332(6162): 371-4.
- [15] TUKACHINSKY H, LOPEZ L V, SALIC A. A mechanism for vertebrate Hedgehog signaling: recruitment to cilia and dissocia-

- tion of SuFu-Gli protein complexes [J]. *J Cell Biol*, 2010, 191(2): 415-28.
- [16] XIN M, JI X, DE LA CRUZ L K, et al. Strategies to target the Hedgehog signaling pathway for cancer therapy [J]. *Med Res Rev*, 2018, 38(3): 870-913.
- [17] JIANG J, STRUHL G. Protein kinase a and hedgehog signaling in *Drosophila* limb development [J]. *Cell*, 1995, 80(4): 563-72.
- [18] BARZI M, BERENGUER J, MENENDEZ A, et al. Sonic-hedgehog-mediated proliferation requires the localization of PKA to the cilium base [J]. *J Cell Sci*, 2010, 123(Pt 1): 62-9.
- [19] LI W, OHLMEYER J T, LANE M E, et al. Function of protein kinase A in hedgehog signal transduction and *Drosophila* imaginal disc development [J]. *Cell*, 1995, 80(4): 553-62.
- [20] SHEVDE L A, SAMANT R S. Nonclassical hedgehog-GLI signaling and its clinical implications [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(1): 1-6.
- [21] TEPERINO R, ABERGER F, ESTERBAUER H, et al. Canonical and non-canonical Hedgehog signalling and the control of metabolism [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 33: 81-92.
- [22] HUANG L, WALTER V, HAYES D N, et al. Hedgehog-GLI signaling inhibition suppresses tumor growth in squamous lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(6): 1566-75.
- [23] PAUS R, COTSARELIS G. The biology of hair follicles [J]. *N Engl J Med*, 1999, 341(7): 491-7.
- [24] KROFT T L, PATTERSON J, WON YOON J, et al. GLI1 localization in the germinal epithelial cells alternates between cytoplasm and nucleus: upregulation in transgenic mice blocks spermatogenesis in pachytene [J]. *Biol Reprod*, 2001, 65(6): 1663-71.
- [25] MÄKELÄ J A, SAARIO V, BOURGUIBA-HACHEMI S, et al. Hedgehog signalling promotes germ cell survival in the rat testis [J]. *Reproduction*, 2011, 142(5): 711-21.
- [26] WANG L, HOU S, HAN Y G. Hedgehog signaling promotes basal progenitor expansion and the growth and folding of the neocortex [J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(7): 888-96.
- [27] MITCHELL N, PETRALIA R S, CURRIER D G, et al. Sonic hedgehog regulates presynaptic terminal size, ultrastructure and function in hippocampal neurons [J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(Pt 18): 4207-13.
- [28] ZHANG L, CHOPP M, MEIER D H, et al. Sonic hedgehog signaling pathway mediates cerebrolysin-improved neurological function after stroke [J]. *Stroke*, 2013, 44(7): 1965-72.
- [29] AL-AYADHI L Y. Relationship between Sonic hedgehog protein, brain-derived neurotrophic factor and oxidative stress in autism spectrum disorders [J]. *Neurochem Res*, 2012, 37(2): 394-400.
- [30] PARK S R, KIM S R, PARK C H, et al. Sonic Hedgehog, a novel endogenous damage signal, activates multiple beneficial functions of human endometrial stem cells [J]. *Mol Ther*, 2020, 28(2): 452-65.
- [31] PICCIONI A, GAETANI E, NERI V, et al. Sonic hedgehog therapy in a mouse model of age-associated impairment of skeletal muscle regeneration [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2014, 69(3): 245-52.
- [32] REIFENBERGER J, WOLTER M, KNOBBE C B, et al. Somatic mutations in the PTCH, SMOH, SUFUH and TP53 genes in sporadic basal cell carcinomas [J]. *Br J Dermatol*, 2005, 152(1): 43-51.
- [33] CORTES J E, GUTZMER R, KIERAN M W, et al. Hedgehog signaling inhibitors in solid and hematological cancers [J]. *Cancer Treat Rev*, 2019, 76: 41-50.
- [34] CASTORI M, MORRONE A, KANITAKIS J, et al. Genetic skin diseases predisposing to basal cell carcinoma [J]. *Eur J Dermatol*, 2012, 22(3): 299-309.
- [35] MIGDEN M R, GUMINSKI A, GUTZMER R, et al. Treatment with two different doses of sonidegib in patients with locally advanced or metastatic basal cell carcinoma (BOLT): a multicentre, randomised, double-blind phase 2 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(6): 716-28.
- [36] RIMKUS T K, CARPENTER R L, QASEM S, et al. Targeting the sonic hedgehog signaling pathway: review of smoothed and GLI inhibitors [J]. *Cancers*, 2016, 8(2): 22.
- [37] TAO Y, MAO J, ZHANG Q, et al. Overexpression of Hedgehog signaling molecules and its involvement in triple-negative breast cancer [J]. *Oncol Lett*, 2011, 2(5): 995-1001.
- [38] WANG Y, SUI Y, TAO Y. Gambogic acid increases the sensitivity to paclitaxel in drug-resistant triple-negative breast cancer via the SHH signaling pathway [J]. 2019, 20(5): 4515-22.
- [39] HAN B, QU Y, JIN Y, et al. FOXC1 activates Smoothed-independent Hedgehog signaling in basal-like breast cancer [J]. *Cell Rep*, 2015, 13(5): 1046-58.
- [40] DRILON A, REKHTMAN N, LADANYI M, et al. Squamous-cell carcinomas of the lung: emerging biology, controversies, and the promise of targeted therapy [J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(10): 418-26.
- [41] RUDIN C M, HANN C L, PEACOCK C D, et al. Novel systemic therapies for small cell lung cancer [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2008, 6(3): 315-22.
- [42] PARK K S, MARTELOTTO L G, PEIFER M, et al. A crucial requirement for hedgehog signaling in small cell lung cancer [J]. *Nat Med*, 2011, 17(11): 1504-8.
- [43] LIM S, LIM S M, KIM M J, et al. Sonic Hedgehog pathway as the prognostic marker in patients with extensive stage small cell lung cancer [J]. *Yonsei Med J*, 2019, 60(10): 898-904.
- [44] ALONSO L C, ROSENFELD R L. Molecular genetic and endocrine mechanisms of hair growth [J]. *Horm Res*, 2003, 60(1): 1-13.
- [45] MILLAR S E. Molecular mechanisms regulating hair follicle development [J]. *J Invest Dermatol*, 2002, 118(2): 216-25.
- [46] SUN X, ARE A, ANNUSVER K, et al. Coordinated hedgehog signaling induces new hair follicles in adult skin [J]. *Elife*, 2020, 9: 1-24.
- [47] LI S, WANG M, CHEN Y, et al. Role of the hedgehog signaling pathway in regulating the behavior of germline stem cells [J]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017: 5714608.
- [48] PAN Z, SUN M, LIANG X, et al. The controversy, challenges, and potential benefits of putative female germline stem cells research in mammals [J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 1728278.
- [49] SAHIN Z, SZCZEPNY A, MCLAUGHLIN E A, et al. Dynamic hedgehog signalling pathway activity in germline stem cells [J]. *Andrology*, 2014, 2(2): 267-74.
- [50] LAMOUILLE S, XU J, DERYNCK R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(3): 178-96.
- [51] CHEN Q, XU R, ZENG C, et al. Down-regulation of Gli transcription factor leads to the inhibition of migration and invasion

- of ovarian cancer cells via integrin $\beta 4$ -mediated FAK signaling [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): 883-6.
- [52] BARSOUM I B, BINGHAM N C, PARKER K L, et al. Activation of the Hedgehog pathway in the mouse fetal ovary leads to ectopic appearance of fetal Leydig cells and female pseudohermaphroditism [J]. *Dev Biol*, 2009, 329(1): 96-103.
- [53] DE CASTRO F C, CRUZ M H, LEAL C L. Role of growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 in ovarian function and their importance in mammalian female fertility - A Review [J]. *Asian-australas J Anim Sci*, 2016, 29(8): 1065-74.
- [54] STASHINKO E E, CLEGG N J, KAMMANN H A, et al. A retrospective survey of perinatal risk factors of 104 living children with holoprosencephaly [J]. *Am J Med Genet A*, 2004, 128A(2): 114-9.
- [55] YAO P J, PETRALIA R S, MATTSOON M P. Sonic hedgehog signaling and hippocampal neuroplasticity [J]. *Trends Neurosci*, 2016, 39(12): 840-50.
- [56] MATTSOON M P. Energy intake and exercise as determinants of brain health and vulnerability to injury and disease [J]. *Cell Metab*, 2012, 16(6): 706-22.
- [57] YAO P J, PETRALIA R S, OTT C, et al. Dendrosomatic sonic hedgehog signaling in hippocampal neurons regulates axon elongation [J]. *J Neurosci*, 2015, 35(49): 16126-41.
- [58] DAS I, PARK J M, SHIN J H, et al. Hedgehog agonist therapy corrects structural and cognitive deficits in a Down syndrome mouse model [J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(201): 201ra120.
- [59] CHEN S D, YANG J L, HWANG W C, et al. Emerging roles of sonic hedgehog in adult neurological diseases: neurogenesis and beyond [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8): 2423.
- [60] ALVAREZ X A, CACABELOS R, SAMPEDRO C, et al. Efficacy and safety of Cerebrolysin in moderate to moderately severe Alzheimer's disease: results of a randomized, double-blind, controlled trial investigating three dosages of Cerebrolysin [J]. *Eur J Neurol*, 2011, 18(1): 59-68.
- [61] DUNLOP K, SHEEN J, SCHULZE L, et al. Dorsomedial prefrontal cortex repetitive transcranial magnetic stimulation for treatment-refractory major depressive disorder: a three-arm, blinded, randomized controlled trial [J]. *Brain Stimul*, 2013, 13(2): 337-40.
- [62] JI H, MIAO J, ZHANG X, et al. Inhibition of sonic hedgehog signaling aggravates brain damage associated with the down-regulation of Gli1, Ptch1 and SOD1 expression in acute ischemic stroke [J]. *Neurosci Lett*, 2012, 506(1): 1-6.
- [63] ALVAREZ J I, DODELET-DEVILLERS A, KEBIR H, et al. The Hedgehog pathway promotes blood-brain barrier integrity and CNS immune quiescence [J]. *Science*, 2011, 334(6063): 1727-31.
- [64] HAN Y G, SPASSKY N, ROMAGUERA-ROS M, et al. Hedgehog signaling and primary cilia are required for the formation of adult neural stem cells [J]. *Nat Neurosci*, 2008, 11(3): 277-84.
- [65] LUCAS E S, DYER N P, MURAKAMI K, et al. Loss of endometrial plasticity in recurrent pregnancy loss [J]. *Stem Cells*, 2016, 34(2): 346-56.
- [66] DASHTI M, PEPPELENBOSCH M P, REZAEI F. Hedgehog signalling as an antagonist of ageing and its associated diseases [J]. *Bioessays*, 2012, 34(10): 849-56.
- [67] QUEIROZ K C, TIO R A, ZEEBREGTS C J, et al. Human plasma very low density lipoprotein carries Indian hedgehog [J]. *J Proteome Res*, 2010, 9(11): 6052-9.
- [68] SCHEFFOLD A, BAIG A H, CHEN Z, et al. Elevated Hedgehog activity contributes to attenuated DNA damage responses in aged hematopoietic cells [J]. *Leukemia*, 2020, 34(4): 1125-34.
- [69] NELSON S M, TELFER E E, ANDERSON R A. The ageing ovary and uterus: new biological insights [J]. *Hum Reprod Update*, 2013, 19(1): 67-83.
- [70] CHO A, PARK S R, KIM S R, et al. An endogenous anti-aging factor, sonic hedgehog, suppresses endometrial stem cell aging through *serpinb2* [J]. *Mol Ther*, 2019, 27(7): 1286-98.
- [71] POLA R, LING L E, APRAHAMIAN T R, et al. Postnatal recapitulation of embryonic hedgehog pathway in response to skeletal muscle ischemia [J]. *Circulation*, 2003, 108(4): 479-85.
- [72] KUSANO K F, POLA R, MURAYAMA T, et al. Sonic hedgehog myocardial gene therapy: tissue repair through transient reconstitution of embryonic signaling [J]. *Nat Med*, 2005, 11(11): 1197-204.
- [73] STRAFACE G, APRAHAMIAN T, FLEX A, et al. Sonic hedgehog regulates angiogenesis and myogenesis during post-natal skeletal muscle regeneration [J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(8B): 2424-35.