

· 综 述 ·

Hedgehog 信号通路与神经干细胞的研究进展*

祁文¹, 夏天¹, 王志威¹综述, 姚共和²审校

(1. 广西中医药大学研究生学院, 南宁 530001; 2. 湖南中医药大学第一附属医院骨科, 长沙 410007)

关键词: Hedgehog; 信号通路; 神经干细胞

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2013. 31. 039

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)31-3824-03

神经系统损伤是临床常见的严重致残性疾病,特别是中枢神经的损伤,致残率高、恢复困难、疗效差,至今困扰医学界。目前的治疗方式有很多,但是效果一直令人不满意。1992年神经干细胞(neural stem cells, NSCs)首先由 Reynolds 和 Weis 从小鼠纹状体中分离而获得,对于它的来源、作用机制研究已经成为当今分子生物学、细胞生物学基础实验研究的焦点之一^[1]。由于 NSCs 存在增殖分化潜能,被誉为目前神经系统损伤最有潜力的治疗方式,并在临床中取得了一定疗效。但近年研究表明,NSCs 的增殖分化受到很多因素的影响,如信号转导通路和微环境等。研究结果表明 Hedgehog 信号通路在诱导间充质干细胞向神经元样细胞转化及促进 NSCs 的增殖与分化中也发挥了重要的作用。

1 Hedgehog 基因

Hedgehog 基因于 1980 年首先在果蝇中被发现。Hedgehog 基因的缺失或突变使得果蝇的胚胎发育成毛团状,形似刺猬。Hedgehog 基因是一种高度保守的基因,编码一系列分泌蛋白。Hedgehog 信号通路不仅在胚胎发育和组织器官形成等过程中具有重要作用,而且在许多成体组织的干细胞维持、更新与损伤修复中发挥作用。

1.1 Hedgehog 信号通路的组成 果蝇等无脊椎动物都只有一个 Hedgehog 基因,而在哺乳动物中 Hedgehog 基因有 3 个同源基因,分别为 Shh、Ihh 和 Dhh,分别编码 Shh、Ihh 和 Dhh 蛋白^[2],称为配体。其主要通过两种受体 PTCH 和 Smo 发挥信号转导作用。不同物种的多种类型细胞中,Gli 和 PTCH 都是 Hedgehog 信号的转录靶标。Hedgehog 蛋白与 Ptc 结合后,激活下游级联反应,使活性 Gli 向核内运转,信号通过 PKA 和 Fu/SuFu/Costal-2 复合体传到转录因子上^[3]。当 Ptc 与 Hedgehog 产生较多边接时,“自由”PTCH 和 Smo 反应并阻止信号下传而使信号通道关闭^[4]。

1.2 Hedgehog 信号通路的功能 Hedgehog 信号通道在胚胎发育过程中起到枢纽作用,参与各种脊椎动物的器官包括神经管、肺脏、皮肤、骨骼轴向、四肢及胃肠系统的形成^[5]。Hedgehog 信号通道参与多种组织包括晶状体、四肢、血管、前列腺、视网膜、面神经、胆管、肺脏和骨在内的损伤后再生。在某些癌症如髓细胞瘤、基底细胞瘤、小细胞肺癌、乳腺癌和膀胱癌中被活化^[6]。Xu 等^[7]采用环王巴明抑制 Shh 信号引起成神经细胞瘤细胞的凋亡,抑制成神经细胞的增殖,说明 Shh 信号通路能够促进成神经细胞瘤的生长。近年来的研究表明,在神经系统,特别是中枢神经系统中,也存在 Hedgehog 信号的表达,Hedgehog 信号通路在神经系统的损伤修复中也发挥着重要

作用。

2 Hedgehog 信号通路与 NSCs

2.1 Shh 与 NSCs Shh 是胚胎发育过程中由脊索产生的一种重要的发育调控因子,参与体内多种发育过程,包括神经管的定型、肢体的发育、细胞表型的定向诱导等^[8]。在神经系统的发育中,Shh 信号通路的主要作用为诱导整个中枢神经系统形成背腹两侧分区,当这一信号通路受到破坏时,将导致整个中枢神经系统腹侧表型神经元的完全丧失。

Shh 蛋白是少突胶质细胞发育和神经生成发育的关键因子,明显增加中枢神经内神经祖细胞的数量,目前 Shh 途径上调 ENSCs 数量的机制是研究的热点^[9]。已有研究表明 Shh 参与调控神经系统的发育、分化过程^[10],且 Shh 与碱性成纤维生长因子-8(fibroblast growth factor-8, FGF-8)有协同作用^[11]。Bambakidis 等^[12]采用室管内缝合中脑动脉方法造成脊髓缺血性损伤,通过鞘内注射 Shh 蛋白,能够显著增加成年大鼠侧脑室下区神经前体细胞,明显改善大鼠行为能力,说明 Shh 在保护神经功能,促进 NSCs 增殖方面发挥着重要作用。Shh 在脊髓损伤后内源性 NSCs 的再生过程中也发挥重要的作用。Shh 表达的原位杂交信号主要位于少突胶质细胞。成年大鼠慢性压迫性脊髓损伤后,内源性 Shh 基因表达上调。Shh 基因的表达对称地位于损伤中心两侧 10 mm 的范围内。在损伤区中心 Shh 呈高表达,距离损伤中心越远表达逐渐减少。Shh 主要在调节成体 NSCs 分化为神经胶质细胞的过程中发挥着重要的作用^[13]。侯天勇等^[14]研究发现,NSCs 在体外的 Shh 培养液中大量增殖,并表现出一定的剂量依赖性。Lowry 等^[15]认为,Shh 在脊髓的形成中发挥了重要作用,促进了腹侧神经元祖细胞向前体神经元和少突胶质细胞转化,也扮演着轴突导向分子的角色。

Shh 浓度不同、所在部位不同、出现的时间不同,则 Shh 所起的作用不同^[16]。在新皮质的形成过程中,NSCs 中和背侧端脑的成熟神经元中都存在低浓度的 Shh 表达;Shh 信号可以调节神经胶质细胞和中间祖细胞的细胞周期动力学,从而维持神经元的增殖、存活和分化;参与慢速循环 NSCs 向快速循环神经前体细胞的转换,腹侧端脑的形成需要 Shh 的高表达,而背侧端脑的形成需要 Shh 的低水平表达。

研究表明,Shh 还可以诱导除 NSCs 以外的其他干细胞分化为神经元细胞。胡慧敏等^[17]研究体外使用 Shh 诱导人骨髓基质干细胞(BMSCs)分化为神经元样细胞(NSCs、神经细胞、神经胶质细胞)的可行性,结果诱导 7 d 后,部分 BMSCs 胞体收缩、突起伸出,表现出神经元样细胞的形态,展现了一定的应

* 基金项目:广西自然科学基金资助项目(2012GXNSFAA053123);广西教育科学资助项目(201203YB109)。 作者简介:祁文(1975~),副主任医师,博士,主要从事脊柱脊髓损伤的基础与临床研究。

用和研究前景。杨琴^[18]用外源性 Shh 与 MSCs 共同培养,观察 Shh 对 MSCs 的影响,结果表明 MSCs 经诱导培养 48 h,有 Nestin、NSE mRNA 和蛋白的表达,Shh 促进 MSCs 向神经细胞的分化。

2.2 Dhh 与 NSCs 目前对 Dhh 在神经系统领域的研究相关报道还较少。Dhh 是由外周神经雪旺细胞分泌而产生,不但对神经束鞘膜的形成和肢体缺血损伤后血管的生长与形成中发挥重要促进作用^[19-20],而且在胚胎发育过程中,Dhh 信号途径可调节多种干细胞的增殖^[21],参与周围神经系统的发生,在成年神经的维持和神经损伤、变性后再生中发挥重要作用^[22]。刘靖^[23]进行 Sertoli 细胞促进大鼠胚胎中脑神经前体细胞(neural precursor cells, NPCs)分化的作用及 Sertoli 细胞 Dhh 基因的相关研究,克隆了大鼠睾丸 Sertoli 细胞中的 Dhh 基因,构建其真核表达载体并转入真核细胞中,观察其对 NPCs 分化作用的影响。结果显示,Dhh 对 DA 能神经元分化具有促进作用。但杨彩侠等^[24]将 Dhh 与大鼠胚胎中 NPCs 共同培养 10 d 后,并没有出现明显的增殖分化特性,推测 Dhh 编码的蛋白不能或不能单独诱导 NPCs 定向分化为多巴胺能神经元。因此,对 Dhh 基因在神经系统发育形成、损伤修复中的作用还需要更深入的研究。

2.3 Ihh 与 NSCs 对 Ihh 人体中的作用也越来越受到人们的重视,越来越多的研究开始关注其作用机制。一直以来,对 Ihh 的研究主要集中在肿瘤的发生机制方面,但近来的研究发现 Ihh 影响成骨细胞的发育,成骨细胞中 VEGF 可能通过促进 p38 MAPK 的表达促进 Ihh 的表达^[25];在新生大鼠的颞下颌关节中也发现了 Ihh 的高度表达^[26]。Ihh 还可促进 BMSCs 向软骨细胞分化,且呈正相关,而在诱导 BMSCs 向成骨细胞分化过程中则呈负相关^[27]。最近 Queiroz 等^[28]在人类血浆极低密度脂蛋白中发现了 Ihh 的表达,但在低密度脂蛋白和高密度脂蛋白中却没有发现 Ihh 的表达,并且在脂肪细胞中发现了 Ihh 的高度表达,从而分析 Ihh 可能对血管内皮层及血管病理生理产生影响。但对 Ihh 在脊髓发育和脊髓损伤中的确切作用目前文献报道很少。

2007 年 Aglyamova 等^[29]在正常脊髓的中央管附近没有发现 Shh 的表达,却发现了 Ihh 的表达。有研究揭示^[30],在斑马鱼胚胎少突胶质细胞祖细胞的分化的同时 Ihh-b 表达在腹侧脊髓的底板细胞,并通过下调神经前体细胞的增殖来调节多形核白细胞前体细胞向运动神经元和少突胶质细胞转化。这些研究结果为揭示 Ihh 在神经系统的发育形成及损伤修复中的作用做了初步探索,但 Ihh 在正常脊髓中的分布特征如何,当脊髓损伤时 Ihh 基因信号是否被激活,其表达是上调还是下调,是否在内源性 NSCs 的增殖分化过程中起到调控作用,都尚待探索。

3 展 望

NSCs,特别是内源性 NSCs 的发现使人们看到了中枢神经损伤后神经功能得到恢复的可能。Hedgehog 的 3 个同源基因中,目前已证实 Shh 在神经系统的形成及损伤修复中发挥重要作用,其对 NSCs 的增殖作用引起了人们的广泛关注并进行了深入研究,取得了一定成果。而 Ihh 和 Dhh 在神经系统的相关研究还比较少,其作用机制还有待于进一步的探索。随着研究技术的进步,对 Hedgehog 的研究将不断深入,其在神经系统的发育形成、病理及损伤修复过程中的作用也将越来越清晰,从而为 NSCs 在体内的有效增殖分化从而治愈中枢神经系统损伤性疾病带来希望。

参考文献:

- [1] Gage HF. Mammalian neural stem cells[J]. Science, 2000, 287(5457):1433-1438.
- [2] Chang DT, Lopez A, von Kessler DP, et al. Products, genetic linkage and limb patterning activity of a murine Hedgehog gene[J]. Development, 1994, 120(11):3339-3353.
- [3] Hao L, Johnsen R, Lauter G, et al. Comprehensive analysis of gene expression patterns of hedgehog-related genes[J]. BMC Genomics, 2006, 7(3):280-285.
- [4] Omenetti A, Porrello A, Jung Y, et al. Hedgehog signaling regulates epithelial-mesenchymal transition during biliary fibrosis in rodents and humans[J]. J Clin Invest, 2008, 118(10):3331-3342.
- [5] Fleig SV, Choi SS, Yang L, et al. Hepatic accumulation of hedgehog-reactive progenitors increases with severity of fatty liver damage in mice[J]. Lab Invest, 2007, 87(12):1227-1239.
- [6] Kang DH, Han ME, Song MH, et al. The role of hedgehog signaling during gastric regeneration[J]. J Gastroenterol, 2009, 44(4):372-379.
- [7] Xu L, Wang X, Wan J, et al. Sonic hedgehog pathway is essential for neuroblastoma cell proliferation and tumor growth[J]. Mol Cell Biochem, 2012, 364(1/2):235-241.
- [8] Osterlund T, Kogerman P. Hedgehog signaling: how to get from Smo to Ci and Gli[J]. Trends Cell Biol, 2006, 16(2):176-180.
- [9] Bambakidis NC, Theodore N, Nakaji P, et al. Endogenous stem cell proliferation after central nervous system injury: alternative therapeutic options[J]. Neurosurg Focus, 2005, 19(3):210-213.
- [10] Christian JL. BMP, wnt and hedgehog signals; how far can they go[J]. Curr Opin Cell Bio, 2000, 12(2):244-249.
- [11] Wichterle H, Lieberam I, Porter JA, et al. Directed differentiation of embryonic stem cells into motor neurons[J]. Cell, 2002, 110(3):385-397.
- [12] Bambakidis NC, Petrullis M, Kui X, et al. Improvement of neurological recovery and stimulation of neural progenitor cell proliferation by intrathecal administration of Sonic hedgehog[J]. J Neurosurg, 2012, 116(5):1114-1120.
- [13] 赵斌, 汉华, 王栓科, 等. Shh mRNA 在成年大鼠慢性压迫性脊髓损伤后的表达及其意义[J]. 第四军医大学学报, 2008, 29(24):2267-2270.
- [14] 侯天勇, 刘缘, 龙在云, 等. 转录调控因子 Shh 促进胎鼠脊髓神经干细胞体外增殖的效应[J]. 中国临床康复, 2004, 8(32):7162-7163.
- [15] Lowry N, Goderie SK, Lederman P, et al. The effect of long-term release from implanted biodegradable microspheres on recovery from spinal cord injury in mice[J]. Biomaterials, 2012, 33(10):2892-2901.
- [16] Komada M. Sonic hedgehog signaling coordinates the proliferation and differentiation of neural stem/progenitor cells by regulating cell cycle kinetics during development

- of the neocortex[J]. Congenit Anom(Kyoto), 2012, 52(2): 72-77.
- [17] 胡慧敏, 罗卓荆, 胡学昱, 等. 音猬因子体外诱导人骨髓基质干细胞转化为神经元样细胞的研究[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2006, 16(5): 380-383.
- [18] 杨琴. Shh 信号通路调控大鼠 MSCs 分化为神经细胞机制的研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2008.
- [19] Küspert M, Weider M, Müller J, et al. Desert hedgehog links transcription factor Sox10 to perineurial development[J]. J Neurosci, 2012, 32(16): 5472-5480.
- [20] Renault MA, Chapouly C, Yao Q, et al. Desert hedgehog promotes ischemia-induced angiogenesis by ensuring peripheral nerve survival[J]. Circ Res, 2013, 112(5): 762-770.
- [21] Chen YJ, Sims-Mourtada J, Izzo J, et al. Targeting the hedgehog pathway to mitigate treatment resistance[J]. Cell Cycle, 2007, 6(30): 1826-1830.
- [22] Bajestan SN, Umehara F, Shirahama Y, et al. Desert hedgehog-patched 2 expression in peripheral nerves during wallerian degeneration and regeneration[J]. J Neurobio, 2006, 66(3): 243-255.
- [23] 刘靖. Sertoli 细胞促进大鼠胚胎中脑神经前体细胞分化的作用及 Sertoli 细胞 Dhh 基因的相关研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2005.
- [24] 杨彩侠, 赵焕英, 赵春礼, 等. Desert Hedgehog 诱导大鼠胚胎中脑神经前体细胞定向分化为多巴胺能神经元[J].

基础医学与临床, 2009, 29(4): 360-365.

- [25] 赵恒伍, 张锦程, 李长有. 血管内皮生长因子调节成骨细胞中 Ihh 和 p38 MAPK 的表达[J]. 中国医科大学学报, 2011, 40(2): 113-116.
- [26] Hinton RJ, Serrano M, So S. Differential gene expression in the perichondrium and cartilage of the neonatal mouse temporomandibular joint. [J]. Orthod Craniofac Res, 2009, 12(3): 168-177.
- [27] Kesper DA, Didt-Kozziel L, Vortkamp A. Gli2 activator function in preosteoblasts is sufficient to mediate Ihh-dependent osteoblast differentiation, whereas the repressor function of Gli2 is dispensable for endochondral ossification[J]. Dev Dyn, 2010, 239(6): 1818-1826.
- [28] Queiroz KC, Tio RA, Zeebregts CJ, et al. Human plasma very low density lipoprotein carries Indian hedgehog[J]. J Proteome Res, 2010, 9(11): 6052-6059.
- [29] Aglyamova GV, Agarwala S. Gene expression analysis of the hedgehog signaling cascade in the chick midbrain and spinal cord[J]. Dev Dyn, 2007, 236(5): 1363-1373.
- [30] Chung AY, Kim S, Kim E, et al. Indian hedgehog B function is required for the specification of oligodendrocyte progenitor cells in the zebrafish CNS[J]. J Neurosci, 2013, 33(4): 1728-1733.

(收稿日期: 2013-06-06 修回日期: 2013-07-14)

· 综 述 ·

腺泡细胞钙超载与急性胰腺炎关系研究进展

孙红综述, 刘戟[△]审校

(四川大学华西基础医学与法医学院, 成都 610041)

关键词: 钙超载; 急性胰腺炎; 钙通道阻滞药

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2013. 31. 040

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)31-3826-04

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床上常见的急腹症,是由多种病因导致胰酶在胰腺内被激活,胰腺组织自身消化、水肿、出血甚至坏死的炎症反应,病死率高达 30%~40%,其发病机制至今尚未完全阐明。近年来,随着研究手段和方法的不断创新,人们对 AP 发病机制有了更深入的理解。越来越多的研究表明胰腺腺泡细胞钙超载在 AP 发生、发展中起着至关重要的作用^[1],受到普遍关注。本文就腺泡细胞钙超载与 AP 关系以及相关的研究进展作一综述。

1 细胞内钙稳态与调节

1.1 细胞内钙稳态 生理状态下,胞外 Ca^{2+} 浓度为 10^{-3} mol/L,而胞内 Ca^{2+} 浓度为 $10^{-8} \sim 10^{-7}$ mol/L,胞内和胞外 Ca^{2+} 保持动态平衡状态。细胞质内 $(Ca^{2+})_{cyt}$ 平衡对于细胞生理功能的正常发挥起重要作用。一旦细胞内外 Ca^{2+} 稳态被打破,机体将会随之发生心脏病、精神分裂症、双向障碍、阿尔兹海默等众多疾病^[2]。所以,细胞内必定存在一套精细的调控装置来调节 Ca^{2+} 的流动,维持 $(Ca^{2+})_{cyt}$ 相对稳定。

1.2 细胞内钙调节 细胞内 Ca^{2+} 稳态调节包括两个过程:钙开启,即细胞外 Ca^{2+} 通过细胞膜内流以及钙库释放钙至胞内;钙关闭,即胞内的 Ca^{2+} 通过胞膜、钙库上的钙泵被泵出胞外或泵入钙库贮存的过程。

细胞静息时,胞内 Ca^{2+} 处于稳定状态,即胞外、钙库与细胞质内 Ca^{2+} 的移出、移入处于动态平衡。当信号传至细胞,细胞随即兴奋。一方面胞外 Ca^{2+} 通过细胞膜上的 Ca^{2+} 通道进入细胞。另一方面,内质网、线粒体、高尔基体等将静息时贮藏的 Ca^{2+} 释放入胞质内, $(Ca^{2+})_{cyt}$ 将会迅速上升产生整个细胞质范围内的短程钙峰^[3]。当 $(Ca^{2+})_{cyt}$ 升至一定程度时,细胞膜上的钙泵(PMCA)会将细胞质内 Ca^{2+} 泵出细胞,肌浆网/内质网上的钙泵(SERCA)则将 Ca^{2+} 泵回钙库,从而使 $(Ca^{2+})_{cyt}$ 浓度下降。钙的这种开启和关闭机制共同维持了 $(Ca^{2+})_{cyt}$ 的稳态,保证了细胞正常生理活动的进行。

2 胰腺腺泡细胞钙超载

2.1 钙超载学说的提出 对于 AP 发病机制的研究有一百多