

Hedgehog 信号通路在视网膜细胞发育及病理性血管生成中的作用

刘美麟 综述 底煜 陈晓隆 审校

110004 沈阳, 中国医科大学附属盛京医院眼科

通信作者: 陈晓隆, Email: chenxl@sj-hospital.org

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.10.019

【摘要】 视网膜细胞发育障碍和眼部血管的病理性生长可见于多种眼部疾病,严重影响患者视力。Hedgehog 信号转导通路已被证实参与视网膜神经节细胞、无长突细胞、视锥细胞、视杆细胞、Müller 胶质细胞、视网膜色素上皮(RPE)细胞等细胞生长发育的多个过程。近年来研究表明,Hedgehog 信号通路可以调控视网膜细胞的分化和发育,并在眼部新生血管生成中起到关键性作用。本文从 Hedgehog 信号通路的组成、Hedgehog 信号通路与视网膜细胞发育、视网膜再生、Hedgehog 信号通路与眼部病理性血管生成 4 个方面就 Hedgehog 信号通路在视网膜细胞发育及病理性血管生成中的作用进行综述,以期对视网膜及眼部血管性疾病的治疗提供新的靶点。

【关键词】 Hedgehog 信号通路; 视网膜; 血管发育; 病理性血管生成

Role of Hedgehog signaling pathway in the development of retinal cells and pathological angiogenesis Liu Meilin, Di Yu, Chen Xiaolong

Department of Ophthalmology, Shengjing Hospital Attached to China Medical University, Shenyang 110004, China

Corresponding author: Chen Xiaolong, Email: chenxl@sj-hospital.org

【Abstract】 The pathological growth of retinal cells and ocular pathologic angiogenesis can be seen in a variety of eye diseases, which seriously affect the visual acuity of patients. The Hedgehog signal pathway has been demonstrated to be involved in the development of retinal ganglion cells, amacrine cells, cone cells and rod cells, Müller glial cells and retinal pigment epithelial cells. This paper discusses the function of Hedgehog signal pathway in the development of retinal cells and ocular pathologic angiogenesis, which may provide a new therapeutic target for retinal and ocular vascular diseases.

【Key words】 Hedgehog signaling pathway; Retina; Vascular development; Pathologic angiogenesis

1980 年, *Hedgehog* 基因首次被发现于果蝇体内, 研究者发现该基因发生突变时, 果蝇幼虫会形成许多刺突, 形似刺猬, 故而得名。研究人员证实, Hedgehog 信号通路在脊椎动物和非脊椎动物中是高度保守的, 并在多种生物生长发育过程中起重要作用, 调控胚胎发育及组织分化并参与内环境稳态和多种疾病的发生, 该信号通路被抑制将导致独眼畸形及多种疾病^[1-4]。近年来研究表明, Hedgehog 信号通路可以调控视网膜细胞的分化和发育, 并在眼部新生血管生成中起关键作用。本文就 Hedgehog 信号通路在视网膜发育、视网膜细胞再生及病理性血管生成中的作用进行综述。

1 Hedgehog 信号通路的组成

Hedgehog 信号通路由配体 Hedgehog (Hh)、膜蛋白受体 Patched (Ptc) 与 Smoothened (Smo)、胶质母细胞瘤转录因子 (glioblastoma transcriptional factor, Gli) 及下游靶基因组成。配

体 Hedgehog 属于分泌型糖蛋白, 在脊椎动物中 Hedgehog 家族由 Sonic hedgehog (Shh)、Indian hedgehog (Ihh) 和 Desert hedgehog (Dhh) 3 种配体组成^[5]。Shh 为视网膜分化所必需, 在眼部的表达较为广泛, 现阶段对 Shh 在肿瘤发生机制、肿瘤抑制剂的开发及动物颅面部发育等领域的研究也较为深入^[6-7]。Ptc 和 Smo 均为 Hedgehog 下游靶细胞膜上的重要受体。Ptc 为 12 跨膜蛋白, 在人体内分为 Ptc1 和 Ptc2 2 种。Ptc1 表达更为广泛, 有结合 Hedgehog 配体和抑制 Smo 的双重功能。当 Hedgehog 信号不存在时, Ptc1 与 Smo 结合从而抑制下游信号的传导; 一旦外来因素激活 Hedgehog 信号通路, Hedgehog 便和 Ptc1 结合进而消除 Ptc1 对 Smo 的抑制作用, 逐步激活下游靶基因的表达。Smo 为一种 7 次跨膜蛋白, 是 G 蛋白偶联受体家族中的一员, 其功能受 Hedgehog、Ptc 等因素影响, 是关乎信号通路细胞内转导和下游靶基因激活的关键因子。Gli (在果蝇中其类似蛋白为 Ci) 属于多功能转录因子, 主要定位于细胞核

及细胞质,可以将信号从细胞核外传至细胞核内并激活下游目的基因的表达。脊椎动物有 *Gli1*、*Gli2* 和 *Gli3* 3 种核转录因子,并各司其职。*Gli1* 为主要转录因子,对靶基因起转录激活作用,*Gli2*、*Gli3* 起激活或抑制等辅助作用^[8]。

2 Hedgehog 信号通路与视网膜细胞发育

脊椎动物视网膜内细胞主要有 9 种类型,包括 7 种神经元[视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)、双极细胞、无长突细胞、水平细胞、视锥细胞、视杆细胞、网间细胞]、Müller 胶质细胞和视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE) 细胞。目前研究发现, Hedgehog 信号通路主要调节以下几种视网膜细胞的发育和生长。

2.1 RGCs

Hedgehog 信号通路在调节 RGCs 增生分化和指引 RGCs 发育导向中起到至关重要的作用。视网膜中的 Hedgehog 蛋白主要表达于节细胞层的 RGCs 中,同时视网膜组织的发生也依赖于 RGCs 中 Hedgehog 信号通路的正常表达^[9]。在鸡视网膜中 *Shh* 过表达可导致 RGCs 减少,而低水平的 *Shh* 则促进 RGCs 分化,表明 Hedgehog 信号通路对 RGCs 的增生分化起负反馈调节作用。Hedgehog 信号通路可以通过退出细胞周期与促进 RGCs 成熟等方式来调节 RGCs 分化。在小鼠胚胎 RGCs 发展中, RGCs 所诱导出的 *Shh* 可以控制局部细胞生长和细胞进入增生的时机。抑制小鼠末梢神经区域 *Shh* 表达将导致视网膜前体细胞(retinal progenitor cells, RPCs) 消减,从而使细胞周期蛋白 *D1* 和 *Hes1* 基因的表达下调,导致细胞较早退出正常细胞周期进而终止神经元的分化进程^[10]。RGCs 轴突生长及其正确的发育导向对视网膜的完整性和其他细胞功能的维持及视觉信号的传导有重要意义。Hedgehog 也被证实可以直接作用于各种类型的轴突生长锥,起到指导发育导向的功能。RGCs 轴突在胚胎期向间脑腹侧中线生长, Trouse 等^[11] 在体内及体外实验中均发现 *Shh* 作为生长锥运动的负性调节因子通过降低细胞内 cAMP 水平抑制视网膜突起的数量和长度,但不干扰其增生和分化率。在蟾蜍眼部神经生长过程中, *Shh* 信号通路指导细胞轴突沿视束向视盘方向发展^[12]。Guo 等^[13] 发现 *Shh* 亦可通过迅速增加 RGCs 轴突末梢 Ca^{2+} 浓度激活蛋白激酶 $C\alpha$ 进而使整合素连接激酶磷酸化的非经典途径发挥其负性调节轴突生长的作用。Stacher 等^[14] 进一步揭示视盘中 *Shh* 通过和趋化因子途径相互作用调节其下游转录因子 *cxcl12a*, 从而间接指引 RGCs 轴突导向。Kolpak 等^[15] 发现, *Shh* 蛋白过表达或抑制 *Shh* 的功能均导致向中央投射的 RGCs 轴突完全消失,提示 *Shh* 水平在视网膜 RGCs 轴突投射到视盘的过程中至关重要。

2.2 Müller 胶质细胞

作为维持视网膜细胞内稳态的重要细胞, Müller 胶质细胞在眼部诸多细胞的生长发育中起到极其关键的作用。Hedgehog 信号通路参与调控 Müller 细胞分裂增生,并在 Müller 细胞受损后起到保护和促进其去分化再生的作用。在发育正常视网膜组织中, Hedgehog 信号通路通过调控其下游的 *SoxE* 基因群促进 Müller 细胞成熟^[16]。在视网膜疾病或损伤情况

下, Müller 胶质细胞可去分化成为 Müller 胶质源性祖细胞(Müller glia-derived progenitor cells, MGPCs), 该细胞可以转化为其他种属的神经细胞,提示 Müller 细胞有干细胞潜能。Todd 等^[17] 的实验结果表明, Hedgehog 信号转导通路可以通过增强 Müller 胶质细胞中 *Pax6*、*Klf4* 和 *cFos* 的表达来促进受损视网膜中 Müller 细胞去分化,同时也促进 MGPCs 的活化增生水平。在糖尿病大鼠和高糖环境下培养的 Müller 胶质细胞中 Hedgehog 及其下游转录因子均表达上调,并且可以通过 PI3K 或细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)1/2 通路维护视网膜细胞稳态^[18],提示 Hedgehog 信号通路可能对受损细胞起到一定的保护作用。初级纤维绒毛是细胞表面的重要信号感受装置,它与细胞周期及细胞命运密切相关, Ferraro 等^[19] 通过研究发现下调纤毛内多基因蛋白复合体中 IFT20 的表达可以降低 *Shh* 的表达,使得 Müller 细胞初级纤维绒毛状态发生改变,从而抑制 Müller 细胞增生与分裂的潜能。

2.3 视锥细胞与视杆细胞

Hedgehog 信号通路可以调节视锥细胞及视杆细胞的有丝分裂和增生活性。体外培养的脊椎动物视网膜细胞培养基中加入 N 端重组 *Shh* 蛋白(SHH-N)后 RPCs 数量快速增加,尤其是视锥细胞和视杆细胞的分化比对照组高 2~10 倍,结果证实 Hedgehog 蛋白能够调节光感受器细胞有丝分裂和分化。Stenkamp 等^[20] 通过对果蝇的研究发现,注射反义寡核苷酸减少 RPE 中 *Hedgehog* 基因的表达可以减慢或阻止视杆细胞和视锥细胞的分化进展,导致感光细胞分化发育迟滞,推测 Hedgehog 可以调节眼原基感光细胞分化。*Shh* 信号在斑马鱼感光细胞分化和成熟过程中更是必不可少,并且在持续维持视锥细胞活力中起关键作用。Hedgehog 通路抑制剂 cyclopamine 可以缓解由斑马鱼胚胎 *Sox11* 基因缺乏所导致的视杆细胞减少^[21]。通过对通路中受体的研究总结出受体 *Smo* 可以抑制感光细胞中视紫红质的表达,进而影响感光细胞功能。Amirpour 等^[22] 在研究人类胚胎干细胞的过程中发现,随着 *Shh* 表达增高,视锥细胞标记性蛋白 S-Opsin 也相应增高,推测 *Shh* 可能会诱导其他种类的视网膜神经细胞分化成为感光细胞,从而为视网膜移植提供可能。研究者还发现, *Ihh* 也可以间接促进小鼠视网膜感光细胞增生^[23],说明 Hedgehog 通路可以通过多种途径影响视网膜感光细胞的发育和生长。

2.4 无长突细胞

脊椎动物视网膜组织的分化产生由 2 个阶段构成。第 1 个发育阶段从孕 10 d 到孕 18 d,此阶段主要产生无长突细胞、RGCs、视锥细胞与水平细胞;第 2 个发育阶段从孕 18 d 到出生后 12 d,该阶段主要产生 Müller 细胞、视杆细胞与双极细胞。以往认为第 1 阶段 RGCs 的产生取决于 Hedgehog 信号通路的激活,而 *Shh* 也主要作用于 RGCs。Shkumatava 等^[24] 发现 *Shh* 也表达于内核层的无长突细胞。当 RGCs 缺失时,第 2 波产生表达 *Shh* 的无长突细胞,它不依赖于第 2 阶段的分化,但是受到 *Shh* 的调控会产生短距离信号,诱导视网膜层状结构的产生。

2.5 RPE 细胞

Hedgehog 信号通路主要控制 RPE 细胞的生长时机和空间

定位。Take-uchi 等^[25]研究发现,在斑马鱼胚胎视泡的形成过程中,Hedgehog 信号通路可以通过 Smo 上调 *Vax* 基因的表达,从而避免因 RPE 与脑组织的融合而导致的眼部发育障碍。Shh 还可以诱导腹部视泡中成纤维细胞生长因子 8 (fibroblast growth factor 8, FGF8) 的表达,从而抑制 *MITF* 基因的表达,决定了 RPE 细胞的边界^[26]。Perron 等^[27]通过注射 Shh 抑制剂后发现胚胎中的 RPE 细胞出现了严重的分化缺陷,进而推测 Shh 可以定位 RPE 的生长范围。同时,研究者发现 Shh 的表达可以抑制 RPE 的异常分化转移^[28],并通过调控 MEK-ERK 信号通路,控制进入细胞周期的时机^[29],在维护 RPE 功能方面起到重要作用。

3 视网膜再生

近年来,眼科学界争论与研究的热点和难点问题多集中于视网膜再生与损伤修复。一些研究者发现鸡胚胎视网膜有再生功能。视网膜可以通过 2 种不同的方式再生:第 1 种方式是通过 FGF 家族成员所诱导的转分化;第 2 种模式由睫状体边缘的睫状缘区 (ciliary margin zone, CMZ) 的干细胞转化,从而再生。Hedgehog 通路在以上 2 种方式中均起到关键作用。之前的研究认为,Hedgehog 信号通路诱导视网膜再生是通过 FGF 信号通路进行的^[30]。Spence 等^[31]研究发现,Hedgehog 信号通路与 FGF 在视网膜再生转化时是相互依存、密不可分的,他们协同控制视网膜细胞再生。如果 FGF 被抑制,Hedgehog 信号会中断,其所诱导的再生作用会被抑制;同样,如果 Hedgehog 信号通路被抑制,FGF 也被抑制,这可能与 FGF 或 Shh 在视网膜再生的早期阶段均可以诱导 ERK 磷酸化有关。并且 Shh 可上调 FGF 信号通路中几个成员的表达,提示 Hedgehog 信号通路可能在 FGF 诱导的视网膜转分化中起决定性作用。在鱼和两栖动物中,CMZ 细胞有 RPCs 功能,可以自我更新并产生大部分的视网膜,并促进受损视网膜再生。Hedgehog 通路在 RPCs 生长和发育中也起到不可替代的作用,体内注射 Shh 抗体可以抑制 RPCs 增生。Hedgehog 信号通路能够维持 RPCs 特性,为 CMZ 中 RPCs 生存所必需。在围产期小鼠视网膜细胞培养基中添加 Shh 氨基末端蛋白,导致包括视杆细胞、无长突细胞和 Müller 细胞在内的多种细胞数量增加,提示 Hedgehog 信号通路可以促进 RPCs 扩增,并可维持视网膜细胞部分的分化能力^[32]。哺乳动物眼球内虽然没有类似于 CMZ 的生长区,但是依然保留部分再生能力,Müller 胶质细胞已被证明在视网膜损伤中显示干细胞特性。Shh 可以通过其受体和靶基因的表达激发 Müller 胶质细胞增生,此外,经过 Shh 处理的 Müller 胶质细胞可以通过 RPCs 特异性标志物的表达来诱导视网膜组织去分化,促进视网膜神经元的再生。Hedgehog 信号通路诱导视网膜 Müller 细胞增生和再生与多种通路及因子有关。抑制 *mTor* 基因可以阻断 Hedgehog 因子所诱导的 MGPCs 形成^[33],提示 *mTor* 基因可能是 Hedgehog 信号通路的上游调控基因。Notch 信号通路与 Gli2 因子构成信息轴,可以动态协调视网膜祖细胞和 Müller 胶质增生^[34]。Hedgehog 通路调节多种视网膜神经细胞再生还与其对细胞周期的调控作用密不可分。在小鼠胚胎

中,Hedgehog 通路可能直接激活细胞周期因子 D1、cyclin A2、cyclin B1 和 cdc25C 来加速生长中的视网膜细胞的细胞周期,缩短 G₁ 和 G₂ 期,从而调节细胞周期动力学^[35-36]。而在斑马鱼视网膜中,Hedgehog 信号通路会激活细胞周期蛋白激酶抑制剂 p57kip2 的转录,进而导致细胞周期停止^[37]。

4 Hedgehog 信号通路与眼部病理性血管生成

眼部病理性血管生成严重影响视功能,其生成机制和治疗方法一直是眼科研究的热点。Hedgehog 信号通路被证实参与多种组织及肿瘤的病理性血管生成过程,并在角膜、脉络膜、视网膜等许多眼部新生血管性疾病的发展过程中起到关键性作用。Surace 等^[38]在氧诱导小鼠视网膜病变模型中亦证实,抑制 Hedgehog 信号通路可以显著降低病理性血管生成,推测调控 Hedgehog 信号通路可能成为视网膜新生血管性疾病治疗的新方向。Fujita 等^[39]研究发现,Shh 在大鼠碱烧伤所形成的角膜新生血管中表达上调,且外源性 Shh 促进新生血管形成,局部注射特异性 Hedgehog 信号通路抑制剂 cycloamine 阻断膜蛋白受体 Smo 的表达可以缩短外围新生血管的长度。在体外,Shh 可以通过血管内皮生长因子信号通路独立增强毛细血管内皮细胞管的形成。Yao 等^[40]研究认为,Hedgehog 信号通路作为血小板衍生生长因子 BB (platelet-derived growth factor BB, PDGF-BB) 的靶基因可以上调 ERK1/2 和 Akt 的磷酸化,从而参与 PDGF-BB 诱导的血管内皮细胞的迁移和募集。在激光诱导脉络膜病理性血管生成的研究中,Patched1 mRNA 和 Gli1 mRNA 在损伤反应后有所上调^[41],特异性阻断 Hedgehog 信号通路可以减轻脉络膜新生血管形成,抑制剂注射组脉络新生血管面积和厚度较空白对照组分别下降了 62.5% 和 41.9%,而注射重组 Shh 组则较空白对照组分别增加了 85.7% 和 64.3%^[42],进一步推测 Hedgehog 信号通路可能是眼部新生血管生成的关键信号通路。

5 展望

综上所述,Hedgehog 信号通路在视网膜细胞发育、视网膜再生、眼部病理性血管生成过程中均起到关键性作用。但目前对 Hedgehog 信号通路在眼部作用机制的研究尚处于初级阶段,对信号通路中的许多上下游因子之间和调节转化作用的研究仍需深入研究。Hedgehog 信号通路极有可能是调控多种视网膜疾病发生和发展的重要环节。Hedgehog 信号通路的调节再生功能可以为治疗视网膜损伤及再生提供新的思路,对其具体作用机制的研究将为糖尿病视网膜病变、早产儿视网膜病变、湿性年龄相关性黄斑变性等诸多新生血管性疾病提供更多的研究方向。

参考文献

- [1] Christ A, Herzog K, Willnow TE. LRP2, an auxiliary receptor that controls sonic hedgehog signaling in development and disease [J]. *Dev Dyn*, 2016, 245 (5): 569-579. DOI:10.1002/dvdy.24394.
- [2] Zhou D, Tan RJ, Liu Y. Sonic hedgehog signaling in kidney fibrosis: a master communicator [J]. *Sci China Life Sci*, 2016, 59 (9): 920-929. DOI:10.1007/s11427-016-0020-y.

- [3] Matz-Soja M, Rennert C, Schönefeld K, et al. Hedgehog signaling is a potent regulator of liver lipid metabolism and reveals a GLI-code associated with steatosis [J/OL]. eLife, 2016, 5 : e13308 [2016-06-20]. <https://elifesciences.org/articles/13308>. DOI:10.7554/eLife.13308.
- [4] Gao H, Wang D, Bai Y, et al. Hedgehog gene polymorphisms are associated with the risk of Hirschsprung's disease and anorectal malformation in a Chinese population [J]. Mol Med Rep, 2016, 13 (6) : 4759-4766. DOI:10.3892/mmr.2016.5139.
- [5] Lin YC, Roffler SR, Yan YT, et al. Disruption of Scube2 impairs endochondral bone formation [J]. J Bone Miner Res, 2015, 30 (7) : 1255-1267. DOI:10.1002/jbmr.2451.
- [6] Rimkus TK, Carpenter RL, Qasem S, et al. Targeting the sonic hedgehog signaling pathway: review of smoothened and gli inhibitors [J/OL]. Cancers (Basel), 2016, 8(2) pii : E22 [2016-06-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4773745/>. DOI:10.3390/cancers8020022.
- [7] Xavier GM, Seppala M, Barrell W, et al. Hedgehog receptor function during craniofacial development [J]. Dev Biol, 2016, 415 (2) : 198-215. DOI:10.1016/j.ydbio.2016.02.009.
- [8] Robbins DJ, Hebrok M. Hedgehogs: la dolce vita. Workshop on Hedgehog-gli signaling in cancer and stem cells [J]. EMBO Rep, 2007, 8(5) : 451-455. DOI:10.1038/sj.embor.7400959.
- [9] Fabre PJ, Shimogori T, Charron F. Segregation of ipsilateral retinal ganglion cell axons at the optic chiasm requires the Shh receptor Boc [J]. J Neurosci, 2010, 30 (1) : 266-275. DOI:10.1523/JNEUROSCI.3778-09.2010.
- [10] Wang Y, Dakubo GD, Thurig S, et al. Retinal ganglion cell-derived sonic hedgehog locally controls proliferation and the timing of RGC development in the embryonic mouse retina [J]. Development, 2005, 132 (22) : 5103-5113. DOI:10.1242/dev.02096.
- [11] Trousse F, Martí E, Gruss P, et al. Control of retinal ganglion cell axon growth: a new role for Sonic hedgehog [J]. Development, 2001, 128 (20) : 3927-3936.
- [12] Gordon L, Mansh M, Kinsman H, et al. Xenopus sonic hedgehog guides retinal axons along the optic tract [J]. Dev Dyn, 2010, 239 (11) : 2921-2932. DOI:10.1002/dvdy.22430.
- [13] Guo D, Standley C, Bellve K, et al. Protein kinase C α and integrin-linked kinase mediate the negative axon guidance effects of Sonic hedgehog [J]. Mol Cell Neurosci, 2012, 50 (1) : 82-92. DOI:10.1016/j.mcn.2012.03.008.
- [14] Stacher HC, Chien CB. Sonic hedgehog is indirectly required for intraretinal axon pathfinding by regulating chemokine expression in the optic stalk [J]. Development, 2012, 139 (14) : 2604-2613. DOI:10.1242/dev.077594.
- [15] Kolpak A, Zhang J, Bao ZZ. Sonic hedgehog has a dual effect on the growth of retinal ganglion axons depending on its concentration [J]. J Neurosci, 2005, 25 (13) : 3432-3441. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4938-04.2005.
- [16] McNeill B, Perez-Iratxeta C, Mazerolle C, et al. Comparative genomics identification of a novel set of temporally regulated hedgehog target genes in the retina [J]. Mol Cell Neurosci, 2012, 49 (3) : 333-340. DOI:10.1016/j.mcn.2011.12.008.
- [17] Todd L, Fischer AJ. Hedgehog signaling stimulates the formation of proliferating Müller glia-derived progenitor cells in the chick retina [J]. Development, 2015, 142 (15) : 2610-2622. DOI:10.1242/dev.121616.
- [18] Zhao X, Li Y, Lin S, et al. The effects of sonic hedgehog on retinal müller cells under high-glucose stress [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015, 56 (4) : 2773-2782. DOI:10.1167/iovs.14-16104.
- [19] Ferraro S, Gomez-Montalvo AI, Olmos R, et al. Primary cilia in rat mature Müller glia: downregulation of IFT20 expression reduces sonic hedgehog-mediated proliferation and dedifferentiation potential of Müller glia primary cultures [J]. Cell Mol Neurobiol, 2015, 35 (4) : 533-542. DOI:10.1007/s10571-014-0149-3.
- [20] Stenkamp DL, Frey RA, Prabhudesai SN, et al. Function for Hedgehog genes in zebrafish retinal development [J]. Dev Biol, 2000, 220 (2) : 238-252. DOI:10.1006/dbio.2000.9629.
- [21] Pillai-Kastoori L, Wen W, Wilson SG, et al. Sox11 is required to maintain proper levels of Hedgehog signaling during vertebrate ocular morphogenesis [J/OL]. PLoS Genet, 2014, 10 (7) : e1004491 [2016-06-21]. <http://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1004491>. DOI:10.1371/journal.pgen.1004491.
- [22] Amirpour N, Karamali F, Rabiee F, et al. Differentiation of human embryonic stem cell-derived retinal progenitors into retinal cells by Sonic hedgehog and/or retinal pigmented epithelium and transplantation into the subretinal space of sodium iodate-injected rabbits [J]. Stem Cells Dev, 2012, 21 (1) : 42-53. DOI:10.1089/scd.2011.0073.
- [23] Dakubo GD, Mazerolle C, Furimsky M, et al. Indian hedgehog signaling from endothelial cells is required for sclera and retinal pigment epithelium development in the mouse eye [J]. Dev Biol, 2008, 320 (1) : 242-255. DOI:10.1016/j.ydbio.2008.05.528.
- [24] Shkumatava A, Fischer S, Müller F, et al. Sonic hedgehog, secreted by amacrine cells, acts as a short-range signal to direct differentiation and lamination in the zebrafish retina [J]. Development, 2004, 131 (16) : 3849-3858. DOI:10.1242/dev.01247.
- [25] Takeuchi M, Clarke JD, Wilson SW. Hedgehog signalling maintains the optic stalk-retinal interface through the regulation of Vax gene activity [J]. Development, 2003, 130 (5) : 955-968.
- [26] Kobayashi T, Yasuda K, Araki M. Coordinated regulation of dorsal bone morphogenetic protein 4 and ventral Sonic hedgehog signaling specifies the dorso-ventral polarity in the optic vesicle and governs ocular morphogenesis through fibroblast growth factor 8 upregulation [J]. Dev Growth Differ, 2010, 52 (4) : 351-363. DOI:10.1111/j.1440-169X.2010.01170.x.
- [27] Perron M, Boy S, Amato MA, et al. A novel function for Hedgehog signalling in retinal pigment epithelium differentiation [J]. Development, 2003, 130 (8) : 1565-1577.
- [28] Spence JR, Madhavan M, Ewing JD, et al. The hedgehog pathway is a modulator of retina regeneration [J]. Development, 2004, 131 (18) : 4607-4621. DOI:10.1242/dev.01298.
- [29] Yoshikawa T, Mizuno A, Yasumuro H, et al. MEK-ERK and heparin-susceptible signaling pathways are involved in cell-cycle entry of the wound edge retinal pigment epithelium cells in the adult newt [J]. Pigment Cell Melanoma Res, 2012, 25 (1) : 66-82. DOI:10.1111/j.1755-148X.2011.00935.x.
- [30] Spence JR, Madhavan M, Ewing JD, et al. The hedgehog pathway is a modulator of retina regeneration [J]. Development, 2004, 131 (18) : 4607-4621. DOI:10.1242/dev.01298.
- [31] Spence JR, Aycinena JC, Del Rio-Tsonis K. Fibroblast growth factor-hedgehog interdependence during retina regeneration [J]. Dev Dyn, 2007, 236 (5) : 1161-1174. DOI:10.1002/dvdy.21115.
- [32] Ringuette R, Wang Y, Atkins M, et al. Combinatorial hedgehog and mitogen signaling promotes the *in vitro* expansion but not retinal differentiation potential of retinal progenitor cells [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55 (1) : 43-54. DOI:10.1167/iovs.13-12592.
- [33] Zelinka CP, Volkov L, Goodman ZA, et al. mTOR signaling is required for the formation of proliferating Müller glia-derived progenitor cells in the chick retina [J]. Development, 2016, 143 (11) : 1859-1873. DOI:10.1242/dev.133215.
- [34] Ringuette R, Atkins M, Lagali PS, et al. A Notch-Gli2 axis sustains Hedgehog responsiveness of neural progenitors and Müller glia [J]. Dev Biol, 2016, 411 (1) : 85-100. DOI:10.1016/j.ydbio.2016.01.006.
- [35] Sakagami K, Gan L, Yang XJ. Distinct effects of Hedgehog signaling on neuronal fate specification and cell cycle progression in the embryonic mouse retina [J]. J Neurosci, 2009, 29 (21) : 6932-6944. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0289-09.2009.
- [36] Locker M, Agathocleous M, Amato MA, et al. Hedgehog signaling and the retina: insights into the mechanisms controlling the proliferative properties of neural precursors [J]. Genes Dev, 2006, 20 (21) : 3036-3048. DOI:10.1101/gad.391106.
- [37] Shkumatava A, Neumann CJ. Shh directs cell-cycle exit by activating p57Kip2 in the zebrafish retina [J]. EMBO Rep, 2005, 6 (6) : 563-569. DOI:10.1038/sj.embor.7400416.
- [38] Surace EM, Balaggan KS, Tessitore A, et al. Inhibition of ocular neovascularization by hedgehog blockade [J]. Mol Ther, 2006, 13 (3) : 573-579. DOI:10.1016/j.ymthe.2005.10.010.
- [39] Fujita K, Miyamoto T, Saika S. Sonic hedgehog: its expression in a healing cornea and its role in neovascularization [J]. Mol Vis, 2009, 15 : 1036-1044.
- [40] Yao Q, Renault MA, Chapouly C, et al. Sonic hedgehog mediates a novel pathway of PDGF-BB-dependent vessel maturation [J]. Blood, 2014, 123 (15) : 2429-2437. DOI:10.1182/blood-2013-06-508689.
- [41] Nochioka K, Okuda H, Tatsumi K, et al. Hedgehog signaling components are expressed in choroidal neovascularization in laser-induced retinal lesion [J]. Acta Histochem Cytochem, 2016, 49 (2) : 67-74. DOI:10.1267/ahc.15036.
- [42] He H, Zhang H, Li B, et al. Blockade of the sonic hedgehog signalling pathway inhibits choroidal neovascularization in a laser-induced rat model [J]. J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci, 2010, 30 (5) : 659-665. DOI:10.1007/s11596-010-0560-z.

(收稿日期:2017-04-21)

(本文编辑:刘艳)