



BDA1型短趾症中的IHH信号通路

沈陆[†], 吴茜[†], 韦雨琦, 贺林, 秦胜营^{*}

上海交通大学Bio-X研究院, 上海 200240

[†] 同等贡献

^{*} 联系人, E-mail: chinsir@163.com

收稿日期: 2017-02-07; 接受日期: 2017-03-13; 网络版发表日期: 2017-04-16

Hedgehog(HH)信号通路是动物发育的关键调控之一^[1], 在所有的两侧对称动物中都有表达^[2]. HH信号通路有3种同源蛋白: SHH, IHH和DHH. Indian Hedgehog(IHH)信号通路是一条重要的发育相关通路, 在多种生理过程中起非常关键的调控作用^[3]. 在IHH基因敲除的小鼠(*Mus musculus*)模型中, IHH信号的缺失导致小鼠软骨内骨化发育过程中肢干缩短及各种成骨细胞发育不良^[4]. 短指症(brachydactyly)的遗传于1903年在William Curtis Farabee(1865~1925年)博士论文中被首次研究, 这是世界上首个有记载的人类常染色体显性符合孟德尔定律的遗传病. 随后, 通过多年的研究, 1951年这种遗传病被命名为BDA1型短指症(brachydactyly as type A1). 1963年起, BDA1家系以及个体被陆续报道. 1978年, Temyamy和McKusick^[5]报道了BDA1在一个黑人家族中的疾病表型. 1983年, Piussan等人^[6]发现在某家族中的女性成员表现出BDA1以及诸如手指关节僵硬、精神迟滞以及身材矮小等一些其他症状. 随后Mastrobattista等人^[7]于1995年报道了分别来自北欧人群以及墨西哥人群的两个典型BDA1家系. 图1为典型DBA1短指症的表型. 至今, 已有超过100个包括同种族的BDA1家族被报道. 科学家们随之开始着眼于找寻与BDA1相关的基因, 以揭示BDA1的致病机理. 2000年, 上海交通大学贺林团队^[8]将BDA1

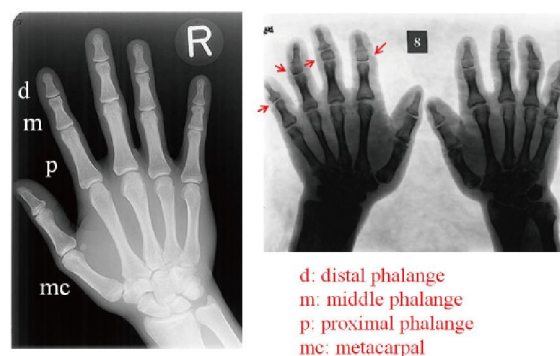


图1 典型BDA1短指症患者的手指表型^[16](网络版彩图)

左图为正常人的手指, 右图为BDA1患者的手指, 其中指节缩短、缺失或者融合到末端指节

型短趾症的致病基因定位于染色体2q35-q36区, 之后在此基础上, 在3个中国BDA1家系中发现IHH的突变导致了BDA1的发生^[9]. 2002年, McCready等人^[10]在两个最早报道的BDA1家系中发现了一个共有的IHH基因突变, 该基因的第298个碱基由鸟嘌呤改变为腺嘌呤, 最终导致氨基酸的改变(N100D). 之后, 在不同国家和地区的BDA1家系中, 都报道了IHH基因的突变导致BDA1^[11~15].

2009年, 贺林团队^[17]首先对IHH突变p.E95K进行了系统性研究, 证明了该突变阻碍了IHH与其受体PTCH1和拮抗蛋白HIP1的结合, 从而削弱了IHH信号

引用格式: 沈陆, 吴茜, 韦雨琦, 等. BDA1型短趾症中的IHH信号通路. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 403-408
Shen L, Wu Q, Wei Y Q, et al. IHH signaling in BDA1. Sci Sin Vitae, 2017, 47: 403-408, doi: [10.1360/N052017-00080](https://doi.org/10.1360/N052017-00080)

通路的功能, 扩大其作用范围. 其后, 该团队又进一步通过蛋白结构分析、细胞和小鼠模型验证了中国BDA1家系的3个IHH突变(E95K, D100E和E131K)对蛋白功能与结合的改变^[18,19]. 然而, 如何治疗或帮助BDA1病患进行恢复仍需要对IHH突变导致BDA1的致病机制进行更深入地理解和研究. 随着近年来研究对IHH信号通路机制了解的加深, 对BDA1型短指症致病机制的解释也拥有了更深入的可能. 本文拟结合近年来IHH信号通路的机制研究和BDA1型短指症致病机理, 来总结目前IHH信号通路在导致BDA1的致病机制中作用的研究进展.

1 BDA1突变对IHH蛋白功能的影响

IHH蛋白在HH产生细胞中被合成, 通过内质网生成46 kD大小的蛋白前体, 通过信号肽的剪切, 该前体通过自剪切的过程形成具有功能的N端部分(约20 kD)^[20]. IHH信号通过IHH蛋白与接收细胞上的受体蛋白PTC结合来激发, 如图2所示, 通过一系列信号传导, 最终导致下游目的基因的表达, 如Ptc1, Gli1和Hip1^[21~26]. IHH信号通路的范围一般被认为通过其蛋白与胞外基质中肝素硫酸蛋白多糖(HSPGs)的互相作用, 形成可溶性多亚基复合体来进行扩散^[27].

在BDA1型短趾症中, IHH发生的突变都位于IHH蛋白的N端功能区域(IHH-N). 已知的突变位置包括编码子95, 100, 128, 130, 131和154, 这些位置可能是IHH

基因的突变热点. X射线晶体衍射模型表明, 这些突变位于IHH蛋白与受体蛋白结合的钙离子集合沟, 同时IHH-N的三维模型显示所有引起BDA1的IHH突变都位于IHH-N的中心区域^[13]. 这些突变可能影响了IHH与受体PTC的结合. 在p.E95K突变的BDA1小鼠模型中, 研究者发现Ihh信号能力被削弱, 而信号范围被扩大, 同时在细胞实验中发现突变导致IHH蛋白诱导的软骨内骨化发育减缓^[28]. Ma等人^[19]研究发现, p.E95K突变改变了人IHH的N端功能区的极性, 从负极到正极, 并未改变邻近的三级构型, 而p.D100E突变改变了原始构型. 这些改变都削弱了钙离子结合区域, 影响了蛋白的稳定性, 突变蛋白比正常蛋白更容易在胞内降解. 同时突变IHH蛋白在细胞实验中被证明削弱了与其受体蛋白Ptc1的结合, 在BDA1的小鼠模型中证明其有更大的信号范围.

带有不同IHH突变的BDA1家系除了指节缺失等典型表型外, 常有各异的独特表型, 例如, 在携带有p.Arg128Gln突变的家系中, 患者伴有短臂、高身材、跗骨并合、背屈受限, 而在携带p.Thr130Asn, p.Glu131Lys或p.Asp100Asn的家系患者中则没有这些症状^[13]. 同时, IHH-N的远端突变与IHH-C端突变会引起隐性遗传疾病ACFD(acrocapitofemoral dysplasia, MIM 607778)^[29]. 这些现象暗示, IHH的不同突变所引起蛋白结合效应的不同造成了最终下游发育调控的不同结果, 而具体机制目前仍未得到明确阐明.

2 BDA1突变对IHH信号传导的影响

在脊椎动物中, HH蛋白由信号细胞分泌, 之后与信号受体细胞的跨膜受体蛋白Ptc结合. 在没有HH蛋白的时候, Ptc抑制了其他跨膜蛋白如Smo的活性^[30~32]. 如图2所示, 当HH蛋白与Ptc结合后, Ptc对Smo的抑制被解除, Smo被激活, 最终激活Gli转录因子. 除了Ptc和Smo, HH的信号接收还受到其他多个膜蛋白的调节, 包括Ihog(在哺乳动物中的同源基因CDO或者CDON)以及哺乳动物特有的蛋白Hip和Gas1. Ihh蛋白主要表达在肥大前以及早期肥大软骨细胞中, PTHrP与Ihh形成一个负反馈环, 以决定Ihh和PTHrP表达的范围. 近期有研究表明, Col IX能够干扰这一负反馈机制, 增加Ihh表达, 减少PTHrP的表达, 加速肥大软骨细胞的分化^[33]. 果蝇(*Drosophila melanogaster*)和Ihog及

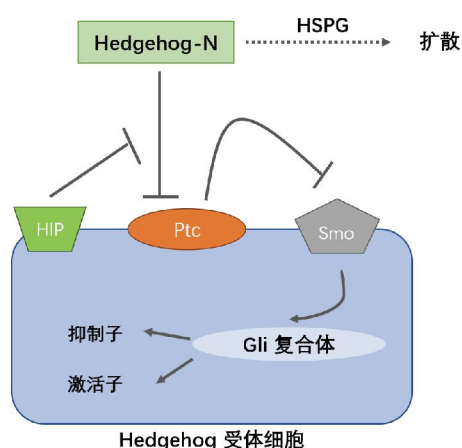


图2 Hedgehog信号通路示意图(网络版彩图)

Hedgehog-N与Hedgehog受体细胞膜上的受体Ptc结合, 激发下游的信号通路

其在脊椎动物中的同源基因*CDO*和*BOC*包含有多个免疫球蛋白和III型纤维连接蛋白片段, 其中*Ihog*的第一个III型纤维连接蛋白片段在肝磷脂的作用下与果蝇HH结合. 而对哺乳动物SHH的研究发现其结合一个CDO的非同源III型纤维连接蛋白片段^[28].

Smo介导了下游的信号传导, 将Gli蛋白从驱动蛋白Kif7和HH信号通路重要胞内调控子Sufu中释放出来. 在缺乏HH信号的情况下, Gli蛋白被Sufu和Kif7抑制, 通过PKA, GSK3 β , CK1使Gli磷酸化, 最终成为通过羧基端的剪切形成转录抑制子或由E3泛素化酶 β -TrCP介导被降解. 在存在HH信号的情况下, Gli蛋白通过另外一种方式磷酸化, 最终形成转录激活子来介导下游HH目的基因的表达, 其中很多基因都是HH的组成部分. 因此这样形成的回馈机制包括负反馈基因(*Ptch1*, *Ptch2*和*Hip1*)——影响HH配基的功能以及Gli蛋白降解的E3泛素化酶受体蛋白SPOP^[34].

纤毛蛋白*Evc*和*Evc2*是在软骨外胚层发育不良症中鉴别的两个相邻基因. 研究表明, *Evc*基因敲除小鼠会形成短趾等发育异常, IHH表达正常, 但IHH信号下游基因*Ptch1*和*Gli1*则显著降低. 进一步研究表明, *Evc*和*Evc2*在Smo下游起作用促进Gli激活传到了HH信号, *Evc*/*Evc2*的丧失并不会影响HH诱导的Smo磷酸化和纤毛定位, 但却阻碍了组成性激活形式Smo介导的HH信号激活, 表明*Evc*/*Evc2*是在Sufu和Gli下游发挥功能调控了HH信号. 同时, *Evc*/*Evc2*是Gli激活和抑制Gli加工生成Gli抑制物的必要条件, HH依赖于Smo羧基末端胞内尾部磷酸化作用诱导了*Evc*/*Evc2*结合到Smo上. 这表明*Evc*/*Evc2*转导了Smo下游HH信号激活, 并通过拮抗Sufu促进了Gli激活^[35].

在骨发育过程中, IHH信号起到成形的作用, 同时它的不同浓度会导致下游不同的转录调控反应. 然而, 除了影响范围和强度, IHH的突变导致信号传导机制的具体改变仍然缺乏详细的研究.

3 BDA1突变对IHH信号下游调控网络的影响

骨发育是一个高度复杂的过程, 许多信号通路参与其中, 包括IHH, BMP, WNT/beta-catenin, TGF- β , Notch信号等, 而具体机制仍然不明了. 对于指节发育来说, BD突变是一个理想的研究模型. IHH主要在软骨细胞中表达, 与其受体如Patched(PTC)结合, 由

Smoothened(SMO)蛋白开始经过一系列信号传导, 最终通过锌指蛋白结构的调控因子Gli家族来调控下游基因表达^[36]. 在果蝇中, 只有Ci一种核转录因子发挥转录激活和抑制作用, 而在脊椎动物中则存在3种核转录因子Gli1~3, 相互之间存在协同和拮抗作用^[37~39]. 早期胚胎实验发现, *Gli1*和*Gli2*基因功能确实可导致细胞增生分化降低, 组织器官发育缺陷, 而*Gli3*基因突变可导致多趾、颅面部畸形等, 提示Gli1, Gli2主要起激活IHH下游基因转录功能, 而Gli3则起抑制作用^[40~42]. 但也有少量实验提示, Gli2存在抑制下游基因转录功能, 而Gli3在某些组织及条件下能够激活下游基因转录^[25]. Guo等人^[18]研究发现, 中国BDA1家系的3个IHH突变都削弱了下游靶基因*Ptch1*和*Gli1*的激活, 其中, 在最适宜的诱导浓度下, 突变型IHH蛋白相比野生型IHH蛋白对Gli蛋白的诱导能力降低了80%. 同时他们基于小鼠细胞模型发现3个受到突变影响的下游靶基因*Sostdc1*, *Penk1*和*Igfbp5*. 其中*Penk1*和*Igfbp5*功能未明确, 而*Sostdc1*是BMP信号的拮抗剂. 多个研究报道BMP信号中的分泌生长因子GDF5及其受体BMPRII的突变也可导致BDA1表型^[43~45]. 这表明BMP信号与IHH信号一样, 都在BDA1致病机制中位于关键位置. 有研究表明, XBP1s是BMP2重要的下游调控因子, 与BMP2调控的软骨分化相关. BMP2通过Runx2介导的ATF6表达, 刺激骨细胞分化, ATF6的断裂的N端胞浆域(ATF6a)作为Runx协同因子可以从今Runx2刺激的肥大软骨细胞的分化, 此外它还会影响到IHH和PTHrP的信号^[46]. 2014年, Yoshida等人^[47]发现, Foxc1通过与Gli2相互作用, 刺激PTHrP的表达, 是Ihh-Gli2信号通路中重要的调控因子.

IHH信号通路作为重要的成形成素以浓度梯度作用于脊椎动物肢节的发育, 不同IHH配基的浓度导致下游转录调控反应的大相径庭^[48~50]. 其中Gli转录因子介导的*Ptch*转录激活对于IHH信号形成负反馈, 限制了其范围和强度^[30]. 在果蝇神经管的研究中, 随着IHH同源蛋白SHH信号的浓度变化, 形成了不同的发育细胞群. 因此, 当BDA1短趾症中IHH突变削弱了IHH蛋白的强度, 增强了其范围, 推测减少了形成的发育细胞群, 使中间指节变小甚至消失, 但是其下游Gli蛋白与DNA结合的调控模式至今还未明确.

自1903年BDA1型短指症引起科学家们的研究起, 至今已有很多BDA1家系被发现并报道, 这些家

系作为生物样本,为之后的机制等深入的研究提供了可能^[51]。总结来说,随着对IHH信号通路的研究深入和功能发现, IHH突变导致的BDA1型短趾症的致病机制研究也不断深入。间充质干细胞具有较强的自我更新和多向分化的特征,适合作为体外分化模型,因此可以用于BDA1型短指症的研究^[52]。通过设计带有突变位点的引物,利用多聚酶链反应(polymerase chain reaction, PCR),可构建突变IHH蛋白^[53]。随后在小鼠的间充质干细胞(C3H10T1/2)中分析对比野生型和突变型IHH蛋白介导的信号通路发现, IHH突变蛋白影响

了与下游受体的互相作用,同时经过一系列有多个配体参与的信号传导机制,影响到下游Gli蛋白参与的调控。蛋白质相互作用会影响到基因调控表达、细胞信号传导、细胞增殖衰老等一系列生物学过程,因此需要对IHH蛋白、Gli蛋白等一系列蛋白之间相互作用进行更为深入的研究^[54]。由于IHH信号的调控具有组织特异性和时间、空间特异性,其下游在软骨发育中的调控模式需要经过系统的研究来阐述其机制,同时从系统生物学的角度来探索IHH的突变在个体发育过程中的精确调控。

参考文献

- 1 Maes C. Signaling pathways effecting crosstalk between cartilage and adjacent tissues. *Semin Cell Dev Biol*, 2017, 62: 16–33
- 2 Tang J, Su N, Zhou S, et al. Fibroblast growth factor receptor 3 inhibits osteoarthritis progression in the knee joints of adult mice. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68: 2432–2443
- 3 鹿蕾. 趋化因子SDF-1和RANTES在外源性骨髓间充质干细胞治疗颞下颌关节骨关节炎中的作用. 博士学位论文. 西安: 第四军医大学, 2014
- 4 St-Jacques B, Hammerschmidt M, McMahon A P. Indian hedgehog signaling regulates proliferation and differentiation of chondrocytes and is essential for bone formation. *Genes Dev*, 1999, 13: 2072–2086
- 5 Temtamy S A, McKusick V A. The genetics of hand malformations. *Birth Defects Orig Artic Ser*, 1978, 14: 1–619
- 6 Piussan C, Lenaerts C, Mathieu M, et al. Regular dominance of thumb ankylosis with mental retardation transmitted over 3 generations. *J Genet Hum*, 1983, 31: 107–114
- 7 Mastrobattista J M, Dolle P, Blanton S H, et al. Evaluation of candidate genes for familial brachydactyly. *J Med Genet*, 1995, 32: 851–854
- 8 Yang X, She C, Guo J, et al. A locus for brachydactyly type A-1 Maps to Chromosome 2q35-q36. *Am J Hum Genet*, 2000, 66: 892–903
- 9 Gao B, Guo J, She C, et al. Mutations in IHH, encoding Indian hedgehog, cause brachydactyly type A-1. *Nat Genet*, 2001, 28: 386–388
- 10 McCready M E, Sweeney E, Fryer A E, et al. A novel mutation in the *IHH* gene causes brachydactyly type A1: a 95-year-old mystery resolved. *Hum Genet*, 2002, 111: 368–375
- 11 Liu M, Wang X, Cai Z, et al. A novel heterozygous mutation in the Indian hedgehog gene (*IHH*) is associated with brachydactyly type A1 in a Chinese family. *J Hum Genet*, 2006, 51: 727–731
- 12 Lodder E M, Hoozeboom A J M, Coert J H, et al. Deletion of 1 amino acid in Indian hedgehog leads to brachydactyly A1. *Am J Med Genet*, 2008, 146A: 2152–2154
- 13 Byrnes A M, Racacho L, Grimsey A, et al. Brachydactyly A-1 mutations restricted to the central region of the N-terminal active fragment of Indian Hedgehog. *Euro J Hum Genet*, 2009, 17: 1112–1120
- 14 Ke X, Dong A L, Liu Q J. Clinical investigation of a family with brachydactyly type A1 and the identification of the disease gene. *Chin J Med Genet*, 2009, 26: 267–271
- 15 Dong S, Wang Y, Tao S, et al. Mutation screening in candidate genes in four Chinese brachydactyly families. *Ann Clin Lab Sci*, 2015, 45: 94–99
- 16 郭盛珍. A1型短指(趾)症致病基因*IHH*的体外功能研究及精神分裂症关联分析. 博士学位论文. 上海: 中国科学院上海生命科学研究院, 2006
- 17 Gao B, Hu J, Stricker S, et al. A mutation in *Ihh* that causes digit abnormalities alters its signalling capacity and range. *Nature*, 2009, 458: 1196–1200
- 18 Guo S, Zhou J, Gao B, et al. Missense mutations in IHH impair Indian Hedgehog signaling in C3H10T1/2 cells: implications for brachydactyly type A1, and new targets for Hedgehog signaling. *Cell Mol Biol Lett*, 2010, 15: 153–176
- 19 Ma G, Yu J, Xiao Y, et al. Indian hedgehog mutations causing brachydactyly type A1 impair Hedgehog signal transduction at multiple levels. *Cell Res*, 2011, 21: 1343–1357
- 20 Burke R, Nellen D, Bellotto M, et al. Dispatched, a novel sterol-sensing domain protein dedicated to the release of cholesterol-modified Hedgehog

- from signaling cells. *Cell*, 1999, 99: 803–815
- 21 Fuse N, Maiti T, Wang B, et al. Sonic hedgehog protein signals not as a hydrolytic enzyme but as an apparent ligand for Patched. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 10992–10999
 - 22 Ding Q, Motoyama J, Gasca S, et al. Diminished Sonic hedgehog signaling and lack of floor plate differentiation in Gli2 mutant mice. *Development*, 1998, 125: 2533–2543
 - 23 Litingtung Y, Dahn R D, Li Y, et al. Shh and Gli3 are dispensable for limb skeleton formation but regulate digit number and identity. *Nature*, 2002, 418: 979–983
 - 24 Bowers M, Eng L, Lao Z, et al. Limb anterior-posterior polarity integrates activator and repressor functions of GLI2 as well as GLI3. *Dev Biol*, 2012, 370: 110–124
 - 25 Bai C B, Stephen D, Joyner A L. All mouse ventral spinal cord patterning by hedgehog is Gli dependent and involves an activator function of Gli3. *Dev Cell*, 2004, 6: 103–115
 - 26 Panman L, Galli A, Lagarde N, et al. Differential regulation of gene expression in the digit forming area of the mouse limb bud by SHH and gremlin 1/FGF-mediated epithelial-mesenchymal signalling. *Development*, 2006, 133: 3419–3428
 - 27 Incardona J P, Lee J H, Robertson C P, et al. Receptor-mediated endocytosis of soluble and membrane-tethered Sonic hedgehog by Patched-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 12044–12049
 - 28 McLellan J S, Zheng X, Hauk G, et al. The mode of Hedgehog binding to Ihog homologues is not conserved across different phyla. *Nature*, 2008, 455: 979–983
 - 29 Hellemans J, Coucke P J, Giedion A, et al. Homozygous mutations in IHH cause acrocapitofemoral dysplasia, an autosomal recessive disorder with cone-shaped epiphyses in hands and hips. *Am J Hum Genet*, 2003, 72: 1040–1046
 - 30 Chen Y, Struhl G. Dual roles for patched in sequestering and transducing Hedgehog. *Cell*, 1996, 87: 553–563
 - 31 Goodrich L V, Jung D, Higgins K M, et al. Overexpression of ptc1 inhibits induction of Shh target genes and prevents normal patterning in the neural tube. *Dev Biol*, 1999, 211: 323–334
 - 32 Marigo V, Tabin C J. Regulation of patched by sonic hedgehog in the developing neural tube. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 9346–9351
 - 33 Kamper M, Paulsson M, Zaucke F. Absence of collagen IX accelerates hypertrophic differentiation in the embryonic mouse spine through a disturbance of the Ihh-PTHrP feedback loop. *Cell Tissue Res*, 2017, 367: 359–367
 - 34 Wilson C W, Chuang P T. Mechanism and evolution of cytosolic Hedgehog signal transduction. *Development*, 2010, 137: 2079–2094
 - 35 Yang C, Chen W, Chen Y, et al. Smoothed transduces Hedgehog signal by forming a complex with Evc/Evc2. *Cell Res*, 2012, 22: 1593–1604
 - 36 Hooper J E, Scott M P. Communicating with Hedgehogs. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6: 306–317
 - 37 Kim J, Kato M, Beachy P A. Gli2 trafficking links Hedgehog-dependent activation of Smoothed in the primary cilium to transcriptional activation in the nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 21666–21671
 - 38 Von Ohlen T, Lessing D, Nusse R, et al. Hedgehog signaling regulates transcription through cubitus interruptus, a sequence-specific DNA binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 2404–2409
 - 39 Wen X, Lai C K, Evangelista M, et al. Kinetics of hedgehog-dependent full-length Gli3 accumulation in primary cilia and subsequent degradation. *Mol Cell Biol*, 2010, 30: 1910–1922
 - 40 Aza-Blanc P, Ramírez-Weber F A, Laget M P, et al. Proteolysis that is inhibited by hedgehog targets cubitus interruptus protein to the nucleus and converts it to a repressor. *Cell*, 1997, 89: 1043–1053
 - 41 Méthot N, Basler K. Hedgehog controls limb development by regulating the activities of distinct transcriptional activator and repressor forms of cubitus interruptus. *Cell*, 1999, 96: 819–831
 - 42 Pan Y, Bai C B, Joyner A L, et al. Sonic hedgehog signaling regulates Gli2 transcriptional activity by suppressing its processing and degradation. *Mol Cell Biol*, 2006, 26: 3365–3377
 - 43 Byrnes A M, Racacho L, Nikkel S M, et al. Mutations in GDF5 presenting as semidominant brachydactyly A1. *Hum Mutat*, 2010, 31: 1155–1162
 - 44 Degenkolbe E, König J, Zimmer J, et al. A GDF5 point mutation strikes twice—causing BDA1 and SYNS2. *PLoS Genet*, 2013, 9: e1003846
 - 45 Racacho L, Byrnes A M, MacDonald H, et al. Two novel disease-causing variants in BMPR1B are associated with brachydactyly type A1. *Eur J Hum Genet*, 2015, 23: 1640–1645
 - 46 Guo F, Han X, Wu Z, et al. ATF6a, a Runx2-activable transcription factor, is a new regulator of chondrocyte hypertrophy. *J Cell Sci*, 2016, 129: 717–728
 - 47 Yoshida M, Hata K, Takashima R, et al. The transcription factor Foxc1 is necessary for Ihh-Gli2-regulated endochondral ossification. *Nat Commun*, 2015, 6: 6653
 - 48 Ericson J, Rashbass P, Schedl A, et al. Pax6 controls progenitor cell identity and neuronal fate in response to graded Shh signaling. *Cell*, 1997,

90: 169–180

- 49 Gritli-Linde A, Lewis P, McMahon A P, et al. The whereabouts of a morphogen: direct evidence for short- and graded long-range activity of hedgehog signaling peptides. *Dev Biol*, 2001, 236: 364–386
- 50 Lewis P M, Dunn M P, McMahon J A, et al. Cholesterol modification of sonic hedgehog is required for long-range signaling activity and effective modulation of signaling by Ptc1. *Cell*, 2001, 105: 599–612
- 51 董尔丹, 胡海, 俞文华. 生物样本库是生物医学研究的重要基础. *中国科学: 生命科学*, 2015, 45: 359–370
- 52 黄庆雷, 魏晓飞. 间充质干细胞免疫调节的可塑性. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46: 799–808
- 53 曹雷. 绝对定量的多聚酶链式反应技术的发展现状及其生物医学应用. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46: 809–826
- 54 李满生. 基于机器学习的蛋白质相互作用文献挖掘方法研究进展. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46: 1235–1248