

# Hedgehog 信号通路分子 Shh、Ptch 和 Smo 在化学诱导小鼠肝癌模型过程中的动态表达

李韵秋 匡志鹏 吴继宁 孔娜 杨帆

**摘要** 目的 探讨 C57BL/6J 小鼠诱癌过程中 Hedgehog 信号通路成员 Shh、Ptch 和 Smo 在各阶段的动态表达。方法 将 95 只正常 C57BL/6J 雄性小鼠随机分为诱癌组 50 只(化学诱癌处理)和对照组 45 只(正常喂养),定期获取小鼠肝组织标本行免疫组织化学法、实时荧光定量 RT-PCR 法和蛋白质印迹法检测。结果 免疫组织化学提示,诱癌组 Shh、Ptch 和 Smo 蛋白分别第 6 周、第 8 周和第 10 周出现弱阳性,均在第 16 周出现中度阳性,第 20 周出现强阳性表达,而正常对照组中未检测出三者的表达。RT-PCR 法提示,诱癌组小鼠肝组织中 Shh mRNA、Ptch mRNA 和 Smo mRNA 的表达量持续升高,第 20 周时三者的表达水平均达到最高(Shh mRNA  $15.986 \pm 1.784$ , Ptch mRNA  $11.272 \pm 0.295$ , Smo mRNA  $10.185 \pm 0.716$ ),明显高于同期正常对照组( $P < 0.05$ )。蛋白质印迹法提示,诱癌组 Shh、Ptch 和 Smo 蛋白分别第 6 周、第 8 周和第 10 周起出现弱表达,到第 20 周时显著增强,而正常对照组中未检测出 3 种蛋白的表达。结论 Hedgehog 信号通路分子 Shh、Ptch 和 Smo 伴随着小鼠诱发肝癌时间的延长其表达量逐步升高,认为 Hedgehog 信号通路与小鼠肝癌的发生、发展密切相关。

**关键词** 小鼠肝癌 Hedgehog 信号通路 动态变化

[中图分类号] R735 [文献标识码] A

**Dynamic Expression of Shh, Ptch and Smo in the Hedgehog Signaling Pathway during the Chemical-induced Liver Carcinogenesis in Mice.**

Li Yunqiu, Kuang Zhipeng, Wu Jining, Kong Na, Yang Fan. Department of Experimental Research, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Guangxi 530021, China

**Abstract Objective** To explore Hedgehog signaling pathway members Shh, Ptch and Smo dynamic expression in each stage of induced C57BL/6J mice liver cancer process. **Methods** 95 normal C57BL/6J male mice were randomly divided into chemical-induced group (50 mice) and normal control group (45 mice). Liver tissue was regularly obtained to detect by immunohistochemistry, RT-PCR and western blot. **Results** Immunohistochemistry showed Shh, Ptch and Smo expression of the chemical-induced group were weakly positive on the 6th, the 8th and the 10th week. Then all of three appeared moderate expression at 16th week and strong expression at 20th week. While the normal control group was not detected for them. RT-PCR showed Shh mRNA, Ptch mRNA and Smo mRNA expression of the chemical-induced group continued to rise, and at the 20th week all of three expression had reached the highest level (Shh mRNA was  $15.986 \pm 1.784$ , Ptch mRNA was  $11.272 \pm 0.295$ , Smo mRNA was  $10.185 \pm 0.716$ ), and were significantly higher than the normal control group ( $P < 0.05$ ). Western-blot showed the Shh, Ptch and Smo protein expression of the chemical-induced group appeared weak expression from the 6th, the 8th and the 10th week. At the 20th week, all proteins expression enhanced significantly. While the normal control group were not detected for them. **Conclusion** Accompanied by the time prolonged, Hedgehog signaling pathway gene Shh, Ptch and Smo expression level had been elevated, and is closely related with the occurrence and development of hepatocellular carcinoma in mice.

**Key words** Liver neoplasms; Hedgehog signaling pathway; Dynamic changes

原发性肝细胞肝癌(primary human hepatocellular, HCC)是现今常见的恶性肿瘤之一,其发生率在我国有明显增加趋势,比欧美国家高 5~10 倍,是全球发生率最高的国家<sup>[1,2]</sup>。有研究显示,肝癌的发

生、发展是肝癌细胞无限增殖与凋亡减少的结果,信号转导通路在其中扮演着重要角色,随着对肝癌信号转导通路研究的不断深入,人们发现肝癌细胞内部的某些信号转导通路的激活或抑制与肝癌的发生、发展等有着紧密的联系。近几年来, Hedgehog 信号通路在肝癌发生、发展变化中的作用进行了初步的探索,大多数报道结果为肝癌发生与 Hedgehog 信号通路关系密切,并且是最近探讨肝癌机制研究的热点,但是

基金项目:广西研究生科研创新基金资助项目(2011105981002M180)

作者单位:530021 南宁,广西医科大学附属肿瘤医院实验研究部  
通讯作者:匡志鹏,电子信箱:kgzhou@163.com

具体作用尚不清楚<sup>[3]</sup>。本研究通过观察 HH 信号通路成员 Shh、Ptch 和 Smo 在化学诱发小鼠肝癌模型中的动态表达情况,探讨 Hedgehog 信号通路与肝癌发生、发展的关系。

### 材料与方法

1. 主要试剂与药品:免疫组织化学用 Shh、Ptch 和 Smo 兔抗鼠多克隆抗体(博奥森生物技术有限公司)。SP 试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)。总 RNA 提取试剂 Trizol(美国 Invitrogen 公司)。M - MuLV 反转录试剂盒(加拿大 MBI Fermentas 公司)。引物由上海生工生物有限公司合成。Real-Master Mix(SYBR Green)(Takara 公司)。定量 PCR 仪为美国 MJR 公司产品。组织蛋白裂解液及发光底物试剂盒(上海碧云天 Beyotime 公司),蛋白质印迹检测用 Shh 和 Ptch 兔抗鼠多克隆抗体(美国 Millipore 公司),Smo 兔抗鼠多克隆抗体(美国 Abcam 公司),GAPDH 单克隆抗体和羊抗兔二抗(美国 CST 公司)。

2. C57BL/6J 小鼠肝癌模型制备:小鼠造模阶段已在前期实验中获得成功,简要过程如下:选取符合标准的 95 只正常 C57BL/6J 雄性小鼠,随机分为对照组 45 只及诱癌组 50 只,对照组仅喂以小鼠颗粒饲料及灭菌普通水,诱癌组采用化学法[二乙基亚硝胺(DEN)/四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)/乙醇]诱发小鼠肝癌,于诱癌开始后第 4 周随机处死诱癌组及对照组小鼠各 5 只,此后以相同方法处理第 6、8、10、12、14、16、18 和 20 周的两组小鼠,获取各周期诱癌组和对照组肝组织标本,苏木精-伊红(HE)染色镜检提示成功诱发小鼠肝癌,具体步骤参见文献[4]。

3. 免疫组织化学检测 Shh、Ptch 和 Smo 的表达:SP 法简略步骤:组织标本石蜡包埋-切片-脱蜡-抗原修复-滴加一抗 4℃ 过夜-按照试剂说明书二抗孵育-DAB 显色-苏木素复染-脱水封片。每例切片随机选取 10 个高倍视野,根据阳性细胞百分率及显色深浅采用半定量积分法分级<sup>[5]</sup>,评分标准为:(1)阳性细胞百分率:未见阳性细胞者为 0 分,<25% 为 1 分,25%~75% 为 2 分,>75% 为 3 分。(2)显色深浅:不显色或显色不清为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分,将以上 2 项相加最终评定结果,0~1 分为阴性(-),2~3 分为弱阳性(+),4~5 分为中度阳性(++),>5 分为强阳性(+++),且阳性结果定义为细胞质伴或不伴有细胞

膜上呈现棕黄色或者棕褐色 Shh、Ptch 蛋白颗粒,细胞核伴或不伴有细胞膜上呈现棕黄色或者棕褐色 Smo 蛋白颗粒。

4. RT-PCR 法检测 Shh、Ptch 和 Smo mRNA 的表达:按照试剂盒对组织标本进行总 RNA 的提取及 cDNA 的反转录。Shh 基因上游引物:5'-AAAGCTGACCCCTTTAGCCTA-3';下游引物:5'-TTCGCAGTTTCTGTGATCTTCC-3'。Ptch 基因上游引物:5'-AAAGAAGTGGCGCAAGTTTTTG-3';下游引物:5'-CTTCTCCTATCTGACGGGT-3'。Smo 基因上游引物:5'-ATGATGGACCTGTTGGC-3';下游引物:5'-GTTGGCTT-GTTCTTCTGG-3'。β-actin 基因上游引物:5'-GTCCCT-CACCCTCCAAAAG-3';下游引物:5'-GCTGCCTCAACAC-CTCAACCC-3'。按 25 μl 反应体系进行。反应条件为:95℃ 30s,95℃ 5s,62.2℃ 30s,共 40 个循环。得到目的基因及相应内参的 CT 值。

5. Western blot 法检测 Shh、Ptch 和 Smo 蛋白的表达:内参选用 GAPDH,实验简要步骤:提取组织总蛋白测定其浓度-电泳-转膜-封闭-滴加一抗 4℃ 培育过夜-加入羊抗兔 IgG-HRP 二抗-洗膜,然后按化学发光法试剂盒的说明书进行发光、压片。

6. 统计学方法:统计学分析软件 SPSS 16.0。计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,均数间比较采用单因素方差分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 免疫组织化学法检测结果:对照组小鼠肝组织中未检测到 Shh、Ptch 和 Smo 蛋白的表达(图 1A、图 2A 和图 3A)。在诱癌组中,3 种蛋白在小鼠肝癌组织中的表达结果为第 6 周时检测 Shh 蛋白的表达为弱阳性(图 1B),第 16 周时出现中度阳性(图 1C),到第 20 周时 Shh 蛋白在小鼠肝癌组织中的表达为强阳性(图 1D)。诱癌组小鼠肝癌组织中 Ptch 蛋白在第 8 周时的表达结果为弱阳性(图 2B),第 16 周时在小鼠肝癌组织中的表达结果为中度阳性(图 2C),到第 20 周时表达结果为强阳性(图 2D)。且小鼠肝癌组织中 Smo 蛋白分别在第 10 周、第 16 周和第 20 周时出现弱阳性、中度阳性和强阳性表达(图 3B~D)。

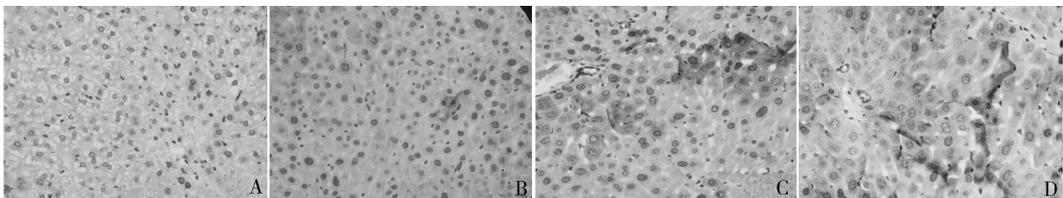


图 1 免疫组织化学法检测 Shh 在化学诱导小鼠肝癌组织中表达情况(×400)

A. 对照组;B. 诱癌组第 6 周;C. 诱癌组第 16 周;D. 诱癌组第 20 周

2. 实时荧光定量 PCR 检测结果:通过已知相对定量方法分析数据:①改变的倍数(fold change) =

$2^{-\Delta\Delta CT}$ ;② $\Delta\Delta CT = (CT_{\text{靶基因}} - CT_{\text{内参}})_{\text{诱癌组}} - (CT_{\text{靶基因}} - CT_{\text{内参}})_{\text{实验组}}$ 。如表 1 所示,诱癌组小鼠肝

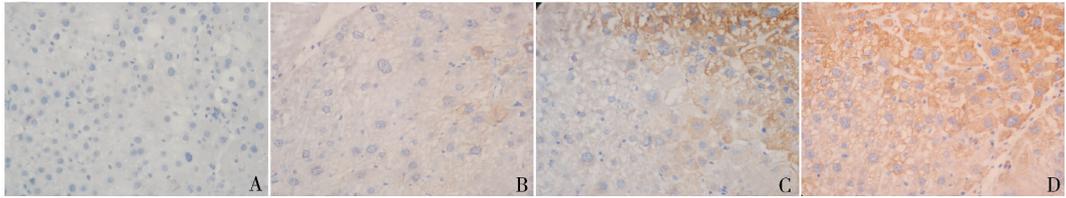


图 2 免疫组织化学法检测 Ptch 在化学诱导小鼠肝癌组织中表达情况 (×400)

A. 对照组; B. 诱癌组第 8 周; C. 诱癌组第 16 周; D. 诱癌组第 20 周

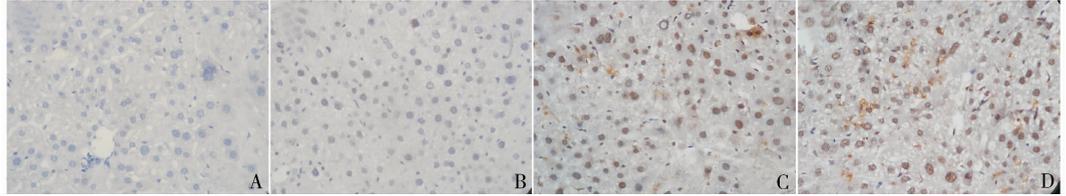


图 3 免疫组织化学法检测 Smo 在化学诱导小鼠肝癌组织中表达情况 (×400)

A. 对照组; B. 诱癌组第 10 周; C. 诱癌组第 16 周; D. 诱癌组第 20 周

组织和其对应的正常对照组小鼠肝组织的表达显示: 诱癌组与对照组两者的小鼠肝组织中 Shh mRNA 和 Ptch mRNA 的表达在第 4 周时差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。从第 6 周开始 (包括第 6 周), 诱癌组中 Shh mRNA 和 Ptch mRNA 的表达均明显高于对照组中的表达, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P <$

$0.001$ )。而 Smo 诱癌组与 Smo 对照组两者的小鼠肝组织中 Smo mRNA 的表达在第 4 周和第 6 周时差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。从第 8 周开始 (包括第 8 周), Smo 诱癌组中 Smo mRNA 的表达才明显高于 Smo 对照组中的表达, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.001$ )。

表 1 不同诱癌周期小鼠肝组织中 Shh mRNA、Ptch mRNA 和 Smo mRNA 分别在其诱癌组的表达与其相对对照组的表达比较 ( $2^{-\Delta\Delta CT}$ )

周期	诱癌组 (Shh)	对照组 (Shh)	诱癌组 (Ptch)	对照组 (Ptch)	诱癌组 (Smo)	对照组 (Smo)
4 周	1.446 ± 0.446	1.034 ± 0.326	1.416 ± 0.400	1.012 ± 0.186	1.414 ± 0.397	1.015 ± 0.208
6 周	3.017 ± 0.350*▲	1.008 ± 0.148	1.885 ± 0.070*	1.047 ± 0.353	1.886 ± 0.067	1.042 ± 0.333
8 周	4.712 ± 0.339**▲	1.000 ± 0.016	3.258 ± 0.192**▲	1.021 ± 0.253	3.194 ± 0.143**▲	1.012 ± 0.200
10 周	6.282 ± 0.819**▲	1.069 ± 0.423	4.476 ± 0.320**▲	1.004 ± 0.107	4.511 ± 0.303**▲	1.005 ± 0.125
12 周	8.381 ± 0.551**▲	1.093 ± 0.594	5.058 ± 0.632**	1.022 ± 0.255	5.066 ± 0.620**	1.022 ± 0.255
14 周	9.912 ± 0.563**▲	1.000 ± 0.008	6.459 ± 1.142**▲	1.026 ± 0.285	6.509 ± 1.074**▲	1.035 ± 0.331
16 周	11.593 ± 0.362**▲	1.001 ± 0.062	7.999 ± 0.783**▲	1.001 ± 0.043	8.126 ± 0.577**▲	1.001 ± 0.063
18 周	13.232 ± 0.780**▲	1.002 ± 0.076	10.011 ± 0.424**▲	0.956 ± 0.066	9.451 ± 0.890**▲	1.104 ± 0.634
20 周	15.986 ± 1.784**▲	1.001 ± 0.075	11.272 ± 0.295**▲	1.002 ± 0.074	10.185 ± 0.716**	1.001 ± 0.526

与相应诱癌周期的对照组对比, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.001$ ; 与前一周期诱癌组对比, ▲  $P < 0.05$ , ▲▲  $P < 0.001$

同一对照组中各周期之间的表达显示: 对照组中小鼠肝组织中的 Shh mRNA、Ptch mRNA 和 Smo mRNA 的表达在第 4、6、8、10、12、14、16、18、20 周变化均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。而同一诱癌组中后一周期与前一周期之间的表达显示: Shh 诱癌组中, 9 个阶段中, 后一周期 Shh mRNA 的表达水平均显著高于前一周期的表达水平, 表达差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.001$ )。Ptch 诱癌组中, Ptch mRNA 在第 6

周的表达与第 4 周的表达比较无统计学差异 ( $P > 0.05$ ), 第 8 周时的 Ptch mRNA 表达明显高于第 6 周 ( $P < 0.05$ ), 第 10 周时的表达同样明显高于第 8 周 ( $P < 0.05$ ), 第 12 周的表达与第 10 周的表达差异却无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。此后, 后一周期 Ptch mRNA 的表达水平均显著高于前一周期的表达水平, 表达差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.001$ )。Smo 诱癌组中, Smo mRNA 在第 6 周的表达与在第 4

周的表达比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),第8周时的 Smo mRNA 表达与第6周时的表达、第10周时与第8周时的表达差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),到第12周时, Smo mRNA 的表达与第10周时比较无统计学差异( $P > 0.05$ )。此后,第14周表达明显高于第12周( $P < 0.05$ ),第16周明显高于第14周( $P < 0.05$ ),第18周明显高于第16周( $P < 0.05$ ),第20周时达最高,与第18周时比较无统计学意义( $P > 0.05$ )。

从整个诱癌过程可以看出,随着小鼠诱癌周期的增长,诱癌组的3种 mRNA 的表达量分别均呈逐步上升趋势,至第20周时3组诱癌组中三者表达水平均达到各自的最高值,分别是 Shh mRNA 为  $15.986 \pm 1.784$ , Ptch mRNA 为  $11.272 \pm 0.295$ , Smo mRNA 为  $10.185 \pm 0.716$ 。

4. 蛋白质印迹法检测结果:如图4所示。以诱癌组中 GAPDH(37kDa)(图4中 D1)的表达条带为准,设定为强表达。3种蛋白在诱癌组小鼠肝癌组织中的表达结果为诱癌组第4周时,未检测出 Shh 蛋白的表达,第6周开始出现 Shh 蛋白的表达,此时表达较弱,从第8周至第20周表达增强,第16周、第18周和第20周时表达的条带均有增宽(图4中 A1, Shh 45kDa)。诱癌组中 Ptch 蛋白在第4周和第6周均未检测出,到第8周时出现较弱的表达,第10周到第14周表达量有所增加,至第16~20周时出现强表达(图4中 B1, Ptch 160kDa)。而诱癌组 Smo 蛋白到第10周时方检测出蛋白的表达,随着诱癌时间的递增, Smo 蛋白的表达量逐渐增多,第20周表达最显著,条带明显增宽(图4中 C1, Smo 86kDa)。以对照组中 GAPDH(37kDa)(图4中 D2)的表达条带为准,设定为强表达。对照组小鼠肝组织中未检测到 Shh、Ptch 和 Smo 蛋白的表达(图4中 A2、B2、C2)。

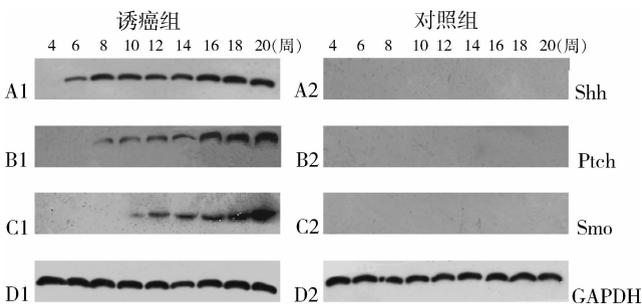


图4 蛋白质印迹法检测 Shh、Ptch 和 Smo 蛋白在诱癌组及对照组小鼠肝癌组织中的表达情况

## 讨 论

Hedgehog(HH)信号通路是一条高度保守的信号转导通路,在胚胎的发育成熟、器官内环境稳定的维持、组织损伤后的修复和再生、某些肿瘤的发生发展以及肿瘤的分化与浸润中起重要作用,是维持肿瘤干细胞的重要信号通路<sup>[6]</sup>。最近越来越多的研究显示,当该通路被异常激活时能导致多种肿瘤形成,如基底细胞癌、胃癌和胰腺癌等<sup>[7-9]</sup>。HH 信号通路的失调同样也参与肝脏疾病的发生与发展,从肝脏的胚胎发生上来看,肝脏来源于前肠末端的肝憩室,HH 信号通路在胚胎肝细胞增殖和分化调控中起重要作用,但是随着肝脏的逐渐形成,HH 信号通路相关蛋白也逐渐消失,在正常成人肝脏中,Hedgehog 信号通路处于静止状态,不表达或很少表达。但不少研究者发现,该通路成分在肝癌中出现了异常高表达,在肝癌组织中可见 Hedgehog 信号通路的异常激活<sup>[10]</sup>。其中,Shh 配体,跨膜蛋白受体 Ptch 和 Smo 是 Hedgehog 信号通路的核心成员。研究表明,Shh 基因是编码一系列分泌蛋白的基因家族,它编码一系列分泌型信号蛋白,1980年首先在果蝇基因分析中被发现,其编码的 Shh 蛋白是整条信号通路的启动因子,是 Hedgehog 信号通路的重要组成部分<sup>[11]</sup>。Smo 基因为原癌基因,编码的 Smo 蛋白属于 G 蛋白偶联受体,有7个跨膜区,在 HH 信号通路中发挥着桥梁作用。有研究认为 Ptch 可能发挥抑癌作用,是一个抑癌基因,能特异性抑制 Smo 的信号转导功能,避免 HH 信号通路过度活化引发肿瘤。在没有 Shh 配体信号刺激下, Ptch 与 Smo 结合,抑制 Smo 的活性,该信号通路处于失活状态。过多的 Shh 蛋白表达使 Shh 蛋白与 Ptch 蛋白结合,解除了 Ptch 蛋白对 Smo 的抑制, Smo 被激活,继而激活转录因子 Gli,进而启动下游基因的表达,从而调控肝癌的发生发展。

本研究通过建立 C57BL/6J 小鼠原发性肝癌动物模型,并采用免疫组织化学法、实时荧光定量 PCR 技术和蛋白质印迹法检测 Shh、Ptch 和 Smo 三者的基因及蛋白在该模型中的定性和定量表达情况,更好地了解 Hedgehog 信号通路在肝癌发生发展过程中可能的机制。结果显示,免疫组织化学法、实时荧光定量 PCR 法和蛋白质印迹法在对照组全程均未检测到 Shh、Ptch 和 Smo 的显著性变化,主要原因是正常肝细胞中三者仅出现微量变化,实验方法的敏感度使检测受到限制。诱癌组前期 Shh、Ptch 和 Smo 三者的变化也均不明显:免疫组织化学法显示,诱癌组 Shh、

Ptch 和 Smo 蛋白分别在第 6 周、第 8 周和第 10 周才出现弱阳性。实时荧光定量 PCR 法检测结果显示,与正常对照组比较,诱癌组小鼠肝组织中 Shh mRNA、Ptch mRNA 和 Smo mRNA 的表达分别至第 6 周、第 6 周和第 8 周开始,才明显高于正常对照组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05, P < 0.001$ )。

蛋白质印迹法检测结果显示,诱癌组 Shh、Ptch 和 Smo 蛋白分别从第 6 周、第 8 周和第 10 周起出现弱表达。这说明在诱癌前期小鼠肝组织仅为炎症反应性病变,三者的表达有所上升,但是上升的幅度并不大,由于免疫组织化学法和蛋白质印迹检测结果为定性分析,未能表述出蛋白在量上的变化趋势,因此表达差异并未检测出。只有实时荧光定量检测敏感度高,得到 Shh、Ptch 和 Smo 在此期间的变化差异。从第 10 周开始至第 14 周,各诱癌组与同一组别同一周期对照组的 Shh mRNA、Ptch mRNA 和 Smo mRNA 的表达差异均有统计学意义 ( $P < 0.05, P < 0.001$ )。且三者的表达量在此过程中是逐渐增加的趋势,Shh 诱癌组中,后一周期的 Shh mRNA 的表达水平均显著高于前一周期的表达水平 ( $P < 0.05$ ),Ptch mRNA 和 Smo mRNA 两者在第 14 周期的表达也明显高于在第 12 周期的表达 ( $P < 0.05$ )。在第 16 周时,小鼠肝组织重度非典型增生。同时免疫组织化学法检测 Shh、Ptch 和 Smo 蛋白表达均呈中度阳性;实时荧光定量 PCR 检测 Shh mRNA、Ptch mRNA 和 Smo mRNA 的表达大幅度上升。蛋白质印迹法显示三者的目的条带较前均有所增宽。此后随着诱癌周期的递增,Shh、Ptch 和 Smo 的表达在定量和定性方法检测中均呈上升趋势,到 20 时达最盛。此时免疫组织化学法检测 Shh、Ptch 和 Smo 表达均呈强阳性;实时荧光定量 PCR 法(计算结果 Shh mRNA 为  $15.986 \pm 1.784$ ,Ptch mRNA 为  $11.272 \pm 0.295$ ,Smo mRNA 为  $10.185 \pm 0.716$ )和蛋白质印迹法检测三者表达均达最大化,此时癌组织已经形成。

实验结果提示,化学诱导小鼠肝癌模型建立的过程是一个由量变转化到质变的动态变化过程,简陋的解释了 Hedgehog 信号通路中 Shh、Smo 和 Ptch 在分子水平的变化规律。三者的增长趋势基本上是同步的,对照组中 3 种分子的水平变化均不明显。在诱癌组中,诱癌初期,即第 8 周前 Shh 基因表达增加,编码过多的 Shh 配体,使得其与稍弱增强表达的 Ptch 受体结合,Smo 的抑制作用被解除,整条 Hedgehog 信号通路被激活,随着化学诱癌剂的继续作用,三者表达

量显著增加,彼此相互作用,发挥着正性调控的作用,致使诱癌达到 20 周时成功诱发小鼠肝癌,表达最盛。

综上所述,正常对照组小鼠肝组织中 Shh、Ptch 和 Smo 表达量低而未被检测出,而在化学诱癌组中 Hedgehog 信号通路在诱癌的早期就已经被激活,其成员 Shh、Ptch 和 Smo 表达量的持续增加所形成的微环境的不断变化调控着小鼠肝癌的发生、发展全过程,但确切的调控机制还有待于进一步深入研究,以及与肝癌中其他信号通路之间的共同调控作用机制也需要做进一步的探索。本研究模拟人体肝癌模型,对 Shh、Ptch 和 Smo 在小鼠肝癌的始动发生到形成肝癌的过程中的动态变化规律的阐述,为将来开展基因工程药物的研究和肝癌的靶向治疗打下良好的基础。

#### 参考文献

- Llovet JM, Burrough A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma[J]. *Lancet*, 2003, 362(9399): 1907 - 1917
- Page JM, Harrison SA. NASH and HCC[J]. *Clin Liver Dis*, 2009, 13(4): 631 - 647
- Cheng WT, Xu K, Tian DY, et al. Role of Hedgehog signaling pathway in proliferation and invasiveness of hepatocellular carcinoma cells [J]. *Int J Oncol*, 2009, 34(3): 829 - 836
- 唐超莉, 匡志鹏, 杨帆.  $\beta$ -catenin 在小鼠化学肝癌形成过程中的动态变化[J]. *现代肿瘤医学*, 2013, 21(6): 1204 - 1208
- Chen X, Horiuchi A, Kikuchi N, et al. Hedgehog signal pathway is activated in ovarian carcinomas correlating with cell proliferation; It's inhibition leads to growth suppression and apoptosis[J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(1): 68 - 76
- Shen Y, Cao D. Hepatocellular carcinoma stem cells: origins and roles in hepatocarcinogenesis and disease progression[J]. *Front Biosci: Elite Ed*, 2012, 4: 1157 - 1169
- Caro I, Low JA. The role of the hedgehog signaling pathway in the development of basal cell carcinoma and opportunities for treatment[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(13): 3335 - 3339
- Martin J, Donnelly JM, Houghton J, et al. The role of sonic hedgehog reemergence during gastric cancer[J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55(6): 1516 - 1524
- Walter K, Omura N, Hong SM, et al. Overexpression of smoothened activates the sonic hedgehog signaling pathway in pancreatic cancer - associated fibroblasts[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(6): 1781 - 1789
- Sicklick JK, Li YX, Melhem A, et al. Hedgehog signaling maintains resident hepatic progenitors throughout life[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2006, 290(5): G859 - G870
- Tian F, Mysliwicz J, Ellwart J, et al. Effects of the Hedgehog pathway inhibitor GDC - 0449 on lung cancer cell lines are mediated by side populations[J]. *Clin Exp Med*, 2012, 12(1): 25 - 30

(收稿日期: 2013 - 11 - 22)

(修回日期: 2013 - 12 - 09)