

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.00934

· 论 著 ·

初级纤毛介导的 Shh 信号对大鼠骨髓基质细胞神经元样细胞分化的影响

黄家贵, 徐 兰, 沈长波, 刘 舒, 杨 琴*

重庆医科大学附属第一医院神经内科, 重庆 400016

[摘要] **目的** 探讨初级纤毛介导的 Sonic hedgehog(Shh)信号对大鼠骨髓基质细胞(MSCs)神经元样细胞分化的影响。**方法** 全骨髓贴壁法分离培养大鼠 MSCs。实验分为白藜芦醇正常培养组、白藜芦醇诱导组、Smothened (Smo)激动剂 SAG 组、Smo 抑制剂环巴明组,分别给予相应的药物处理。倒置显微镜下观察各组细胞形态;免疫荧光法检测各组细胞初级纤毛及 Shh 信号通路相关蛋白[Ac-Tu、Patched (Ptc)、Smo、Gli1]的表达;RT-PCR 检测各组细胞 *Smo*、*Gli1* mRNA 的表达;蛋白质印迹法检测各组细胞 Smo 和 Gli1 蛋白的表达。**结果** 正常培养的大鼠 MSCs 不表达初级纤毛。经过预诱导或饥饿处理 24 h 后, MSCs 表达初级纤毛及 Ptc、Smo 和 Gli1 蛋白,其中 Smo 和 Gli1 蛋白位于胞质, Ptc 蛋白位于初级纤毛。正常培养时,白藜芦醇不能促使 Smo 移位及 MSCs 向神经元样细胞分化。当 MSCs 表达初级纤毛时,白藜芦醇及 SAG 可使 Smo 从胞质进入初级纤毛,同时伴随 MSCs 向神经元样细胞分化及 *Smo*、*Gli1* mRNA 和蛋白表达水平的增加($P < 0.05$);加入抑制剂环巴明后, *Smo* 仍主要表达于胞质, *Smo*、*Gli1* mRNA 和蛋白的表达水平降低($P < 0.05$), MSCs 向神经元样细胞的分化受抑制。**结论** MSCs 表达初级纤毛并存在 Shh 信号,初级纤毛介导的 Shh 信号参与调控大鼠 MSCs 的神经元样细胞分化。

[关键词] Shh 信号; 初级纤毛; 骨髓基质细胞; 神经元样细胞; 细胞分化**[中图分类号]** R 743.9**[文献标志码]** A**[文章编号]** 0258-879X(2013)09-0934-06

Effect of primary cilia-mediated Shh signaling on neuronal-like cell differentiation of rat bone marrow stromal cells

HUANG Jia-gui, XU Lan, SHEN Chang-bo, LIU Shu, YANG Qin*

Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

[Abstract] **Objective** To study the effect of primary cilia-mediated sonic hedgehog (Shh) signaling on differentiation of rat bone marrow stromal cells (MSCs) into neuron-like cells. **Methods** Rat MSCs were isolated and cultured. The study was divided into normal resveratrol-cultured group, resveratrol-induced group, SAG (Smothened [Smo] agonist) group, and cyclopamine (Smo inhibitor) group. Cell morphology was observed under inverted microscope; the expressions of Ac-Tu, Ptc, Smo, and Gli1 were examined by immunofluorescence method. Western blotting analysis was used to detect the protein expressions of Smo and Gli, and RT-PCR was applied to detect mRNA expressions of *Smo* and *Gli1*. **Results** No expression of primary cilia was found in the normally cultured MSCs. After pre-induction or 24 h starvation, MSCs expressed primary cilia, Ptc, Smo and Gli1 proteins, with Ptc protein in the primary cilia and Smo, Gli1 in the cytoplasm. In normal cultivation, resveratrol did not promote the translocation of Smo or induce differentiation of MSCs into neuronal-like cells. When MSCs expressed primary cilia, resveratrol and SAG led to translocation of Smo from the cytoplasm into primary cilia, accompanied by MSCs differentiation into neuronal-like cells and significantly increased expression of Smo and Gli1 mRNA and protein ($P < 0.05$). When cyclopamine was added, Smo remained expressed in the cytoplasm, the expression of Smo and Gli1 mRNA and protein was significantly decreased ($P < 0.05$), and MSCs differentiation into neuronal-like cells was inhibited. **Conclusion** MSCs express primary cilia and have Shh signaling. Primary cilia-mediated Shh signaling participates in MSCs differentiation into neuronal-like cells.

[Key words] Shh signaling; primary cilia; bone marrow stromal cells; neuronal-like cells; cell differentiation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(9):934-939]

[收稿日期] 2013-03-18 **[接受日期]** 2013-08-20**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81071119),重庆市卫生局科研基金(2009-2-359). Supported by National Natural Science Foundation of China(81071119) and Grant from Chongqing Municipal Health Bureau(2009-2-359).**[作者简介]** 黄家贵, 硕士生. E-mail: shjwhg@126.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 023-89012008, E-mail: xyqh200@126.com

骨髓基质细胞(marrow stromal cells, MSCs)属多能干细胞,具有自我更新和多向分化潜能,在一定条件下可被诱导分化为神经元样细胞^[1-2]。目前使用的诱导剂大多为抗氧化剂和生长因子^[3]。本课题组在前期实验中已证实天然抗氧化剂白藜芦醇可诱导 MSCs 分化为神经元样细胞,并且在诱导分化过程中伴随 Sonic hedgehog (Shh) 信号的激活^[4]。Shh 信号是存在于初级纤毛上的信号通路之一^[5-6]。其参与早期胚胎发育、胚胎干细胞分化以及中枢神经系统发育的调控。初级纤毛是单根不动的突出细胞表面的细胞“天线”,是理想的机械和化学信号的感受器,参与机体一系列的生理病理过程。但初级纤毛介导的 Shh 信号是否参与调控 MSCs 的神经元样细胞分化,目前尚不清楚。因此,本研究拟观察初级纤毛介导的 Shh 信号在 MSCs 神经元样细胞分化中的作用,旨在探讨 MSCs 的分化机制。

1 材料和方法

1.1 主要材料及试剂 15 只健康 4 周龄 SD 大鼠,体质量约 100 g,雌雄不限,由重庆医科大学实验动物中心提供。动物合格证号:SCXK(渝)20070001。DMEM/F12 培养基购自 Hyclone 公司,胎牛血清、B27 添加剂购自 Gibco 公司,碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)购自 Peprotech 公司,白藜芦醇(纯度 99%)购自陕西慈缘生物有限公司,鼠抗 Ac-Tu 单克隆抗体购自 Sigma 公司,兔抗 Smoothed(Smo)多克隆抗体购自 Abcam 公司,山羊抗 Patched(Ptc)、兔抗 Gli1 多克隆抗体购自 Santa Cruz 公司,辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗购自博奥森公司。Smo 抑制剂环巴明(cyclopamine)购自 Cayman Chemical 公司,Smo 激动剂 SAG 购自 Qbiogene 公司。细胞核蛋白与细胞质蛋白抽提试剂盒购自碧云天生物技术有限公司。RT-PCR 试剂盒、TRIzol 试剂、500 bp DNA Ladder Marker 购自 TaKaRa 公司。

1.2 大鼠骨髓基质细胞的培养 参考文献[7]的方法,将 SD 大鼠引颈处死后浸入 75%乙醇浸泡,无菌条件下剪开大鼠后肢,小剪刀分离股骨和胫骨肌肉,将骨从中间剪断,注射器吸取含 10%胎牛血清的 DMEM/F12 培养液冲出骨髓,吸管充分吹打制成单细胞悬液,细胞悬液接种于培养瓶,置于 37℃ 5% CO₂ 培养箱中培养。24 h 后更换培养液,以后每 3 d

换液 1 次。多次换液传代使 MSCs 得以纯化,第 3~4 代状态良好的细胞用于实验。

1.3 白藜芦醇诱导骨髓基质细胞分化 MSCs 诱导分化参考本课题组前期方法^[4]。实验分为 4 个组:白藜芦醇正常培养组、白藜芦醇诱导组、环巴明(Cyc)组、SAG 组。白藜芦醇正常培养组按照骨髓基质细胞正常培养并加入 15 μmol/L 白藜芦醇。白藜芦醇诱导组加入预诱导液(DMEM/F12 培养液,10 μg/L bFGF)培养 24 h,换用诱导液(DMEM/F12 培养液,15 μmol/L 白藜芦醇)诱导 6 h,再换用维持液(DMEM/F12 培养液,15 μmol/L 白藜芦醇,10 μg/L bFGF,2% B27)继续维持至 72 h。环巴明组在白藜芦醇诱导组基础上从诱导开始加入 10 μmol/L 环巴明。SAG 组按照白藜芦醇诱导组诱导步骤,用 1 μmol/L SAG 代替白藜芦醇进行诱导。

1.4 免疫细胞化学染色 将诱导后的细胞爬片用 0.01 mmol/L PBS 漂洗,4%多聚甲醛室温固定 10 min,PBS 洗涤 3 次;0.3% Triton X-100 室温下破膜 5 min,PBS 洗涤 3 次;10%山羊血清或胎牛血清室温下封闭 30 min,吸去血清,不洗;加入鼠抗 Ac-Tu 单克隆抗体(1:1 000 稀释)和(或)兔抗 Smo 多克隆抗体(1:500 稀释)或兔抗 Gli1 多克隆抗体(1:500 稀释)或山羊抗 Ptc 多克隆抗体(1:500 稀释),对照组以 PBS 代替一抗,4℃反应过夜;PBS 洗 3 次,加入 FITC 和(或)TRITC 标记的荧光二抗(1:50 稀释),室温孵育 1 h;PBS 洗 3 次,PI 室温下染核 5 min 或未染核,PBS 洗 3 次,片干后 50%甘油封片,共聚焦显微镜下观察。实验重复 3 次。

1.5 RT-PCR 检测细胞 Smo、Gli1 mRNA 的表达 按照 TRIzol 试剂盒说明书方法提取各组细胞总 RNA,测定 RNA 纯度和浓度,反转录合成 cDNA 第一链,以其为模板,PCR 扩增 Smo 和 Gli1 基因,引物序列由生工生物工程(上海)有限公司合成。Smo 引物:上游 5'-CCC CTT CGT CCT CAC TGT GG-3',下游 5'-TCT TGC TGG CTG CCT TCT CAC-3',产物长度为 229 bp;Gli1 引物:上游 5'-TGT AAG CAG GAG GCT GAA GT-3',下游 5'-GCA TTG GAG AAG GCT TTG TT-3',产物大小为 365 bp;内参 GAPDH 引物:上游 5'-GTG CTG AGT ATG TCG TGG AG-3',下游 5'-GTC TTC TGA GTG GCA GTG AT-3',产物大小为 289 bp。

反应条件为:94℃预变性 5 min,94℃变性 30 s,59~64℃退火 30 s,72℃延伸 1 min,共 33 个循环;72℃再延伸 10 min。取 10 μL 扩增产物经 2%琼脂糖凝胶电泳分析。应用 Quantity One4.6.2 图像分析软件对图像进行半定量分析,用目的基因扩增产物与 GAPDH 基因扩增产物的光密度(D)比值代表其 mRNA 转录水平。实验重复 3 次。

1.6 蛋白质印迹检测细胞 Smo、Gli1 蛋白的表达 收取细胞,按照蛋白抽提试剂盒说明书提取蛋白。Bradford 法检测蛋白浓度。将每组蛋白用 5×loading buffer 稀释成相同浓度,100℃水浴 10 min,-80℃保存。按照每个样本蛋白加样量 30~40 μg 上样进行 SDS-PAGE。采用湿转法将蛋白转到 PVDF 膜上,5%脱脂奶粉封闭 1 h,加一抗 4℃过夜。TBST 漂洗 3 次,HRP 标记的二抗 37℃孵育 1 h, TBST 漂洗 3 次。ECL 发光剂显色,凝胶成像仪成

像,采用 Quantity one 软件进行灰度值分析。实验重复 3 次。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件对实验结果进行统计学分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据参数间比较采用单因素方差分析,组内两两比较采用 SNK-q 检验,检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 MSCs 表达初级纤毛以及 Shh 信号通路相关元件 初级纤毛主要表达于处于生长静止期的细胞。免疫荧光证实,正常培养的大鼠 MSCs 增殖活跃期未见初级纤毛。经过预诱导或饥饿 24 h 处理后,此时可检测到大约 60%的 MSCs 具有初级纤毛,同时 MSCs 表达 Shh 信号通路相关蛋白 Ptc、Smo 和 Gli1,其中 Smo 和 Gli1 主要表达于胞质,Ptc 存在于纤毛上(图 1)。

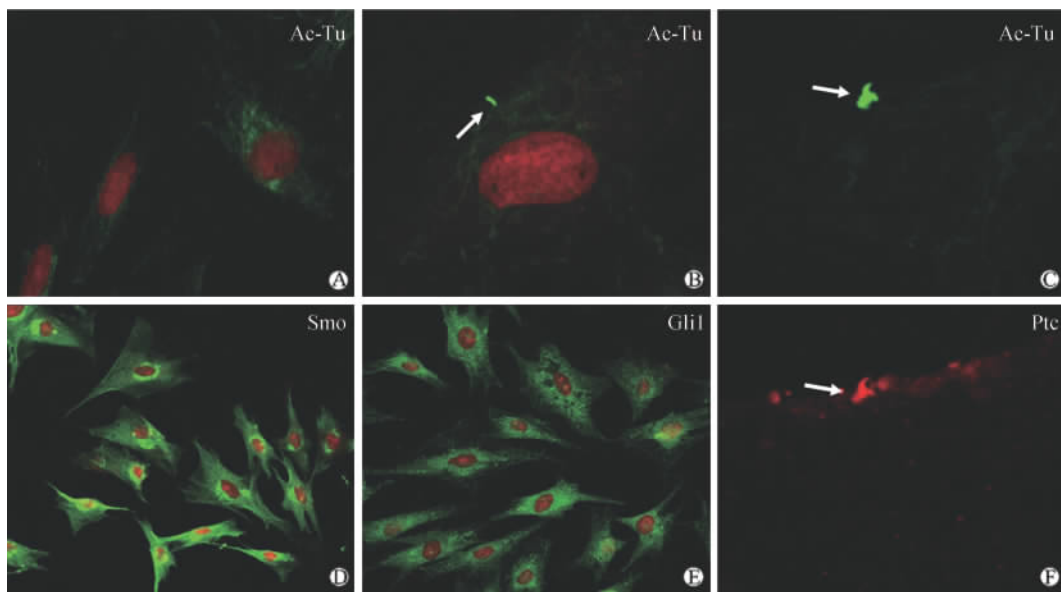


图 1 免疫荧光检测初级纤毛以及 Shh 信号通路蛋白在大鼠骨髓基质细胞的表达

Fig 1 Immunofluorescence method in detecting expression of primary cilia and Shh signaling pathway proteins in marrow stromal cells (FITC PI or TRITC)

A: The negative expression of primary cilia in normally cultured MSCs; B,C: The positive expression of primary cilia in MSCs after 24 h starvation (arrow); D-F: The expression of Smo, Gli1, and Ptc proteins. FITC represents green fluorescence (Ac-Tu, Smo, Gli1), PI represents red fluorescence (nucleus), and TRITC represents red fluorescence (Ptc, arrow). Original magnification: ×800 (A-C, F); ×200 (D,E)

2.2 初级纤毛及 Shh 信号通路对 MSCs 分化的影响 正常培养的 MSCs 不表达初级纤毛,蛋白 Smo 主要表达于胞质,此时白藜芦醇不能诱导 MSCs 分化为神经元样细胞。经过预诱导后,MSCs 表达初级纤毛,白藜芦醇和 Smo 激动剂 SAG 可使 Smo

转移到初级纤毛上,同时细胞形态学类似神经元样细胞;而加入 Smo 抑制剂环巴明后,Smo 仍主要表达于胞质,细胞形态变化不明显,可见极少量神经元样细胞(图 2)。

2.3 RT-PCR 检测细胞 Smo、Gli1 mRNA 的表

达。半定量 RT-PCR 检测结果(图 3)显示,与白藜芦醇正常培养组相比,分别给予白藜芦醇和 SAG 激动剂诱导后能明显上调 *Smo*、*Gli1* mRNA 表达水平

($P < 0.05$)。相反,加入环巴明抑制剂后,*Smo* 和 *Gli1* mRNA 的表达明显减少($P < 0.05$)。

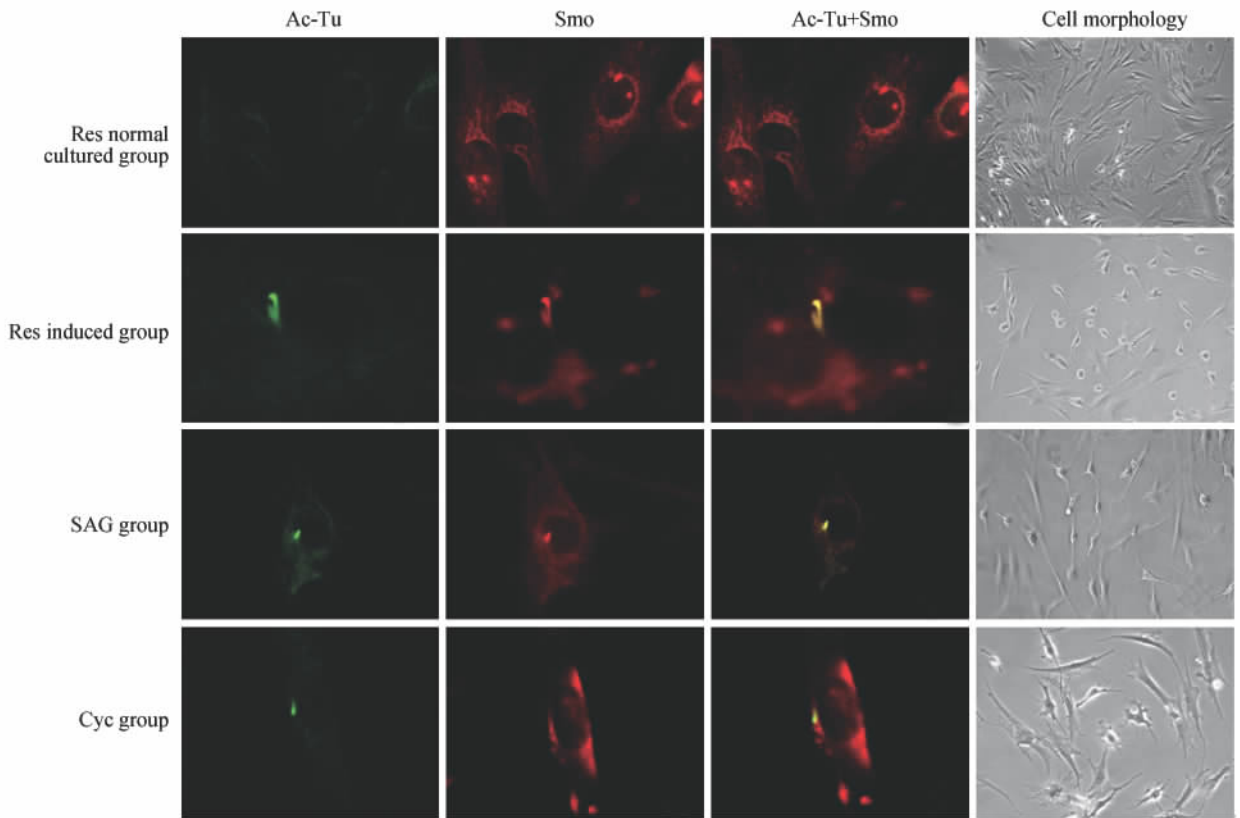


图 2 初级纤毛介导 Shh 信号对大鼠骨髓基质细胞分化的影响

Fig 2 Effects of primary cilia-mediated Shh signal on differentiation of marrow stromal cells (FITC or TRITC)

FITC represents green fluorescence (primary cilia), TRITC represents red fluorescence (*Smo*), and yellow represents the combination of red and green. Res: Resveratrol, SAG: Smoothened agonist, Cyc: Cyclopamine (*Smo* inhibitor). Original magnification: $\times 400$ (Color images); $\times 200$ (Gray images)

2.4 蛋白质印迹检测 *Smo* 和 *Gli1* 蛋白的表达 结果(图 4)显示:白藜芦醇正常培养组有 *Smo* 和 *Gli1* 蛋白的表达。经预诱导后,分别给予白藜芦醇和 SAG 诱导后能明显上调 *Smo* 和 *Gli1* 蛋白的表达($P < 0.05$);相反,加入环巴明后,*Smo*、*Gli1* 蛋白的表达明显减少($P < 0.05$)。

3 讨论

MSCs 是一类具有自我复制能力的多潜能细胞,在一定条件下,它可以分化成多种功能细胞,如神经元样细胞、软骨细胞、心肌细胞等。MSCs 脑移植治疗可促进神经系统的康复^[8]。多种诱导剂(如抗氧化剂、生长因子等)均能诱导 MSCs 分化为神经元样细胞,但其诱导率较低,限制了 MSCs 的临床应

用。因此,阐明 MSCs 的神经元样细胞分化机制是目前研究的焦点。本课题组前期研究已证明天然抗氧化物白藜芦醇可诱导 MSCs 分化为神经元样细胞,其分化率约为 60%,同时伴随 Shh 信号的激活^[4]。因此,本实验继续沿用前期的优化诱导方案,研究初级纤毛和 Shh 信号通路在 MSCs 神经元样细胞分化中的作用。

初级纤毛存在于哺乳动物细胞表面,主要表达于处于生长静止期的细胞^[9]。其功能障碍会导致多种疾病,被统称为“纤毛病”,包括 Bardet-Biedl 综合征、Alström 综合征、Meckel-Gruber 综合征^[10]。还有学者证实胚胎以及成人神经干细胞表面均表达有初级纤毛,其决定神经干细胞在大脑的定位,缺乏初级纤毛成分之一转运蛋白 Kif3a 会导致星型胶质细

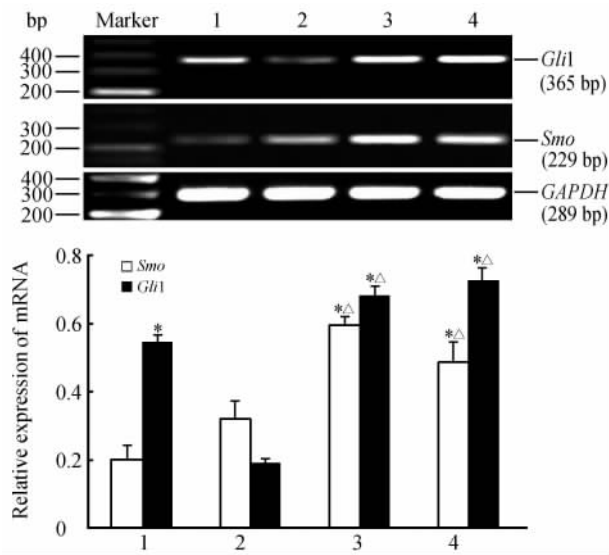


图3 RT-PCR检测诱导后大鼠骨髓基质细胞 *Smo*、*Gli1* mRNA 的表达

Fig 3 RT-PCR detection of *Smo* and *Gli1* mRNA expression in marrow stromal cells after induction

1: Cyclopamine group; 2: Resveratrol normal cultured group; 3: Resveratrol induced group; 4: SAG group. * $P < 0.05$ vs resveratrol normal cultured group, $\Delta P < 0.05$ vs cyclopamine group; $n = 3$, $\bar{x} \pm s$

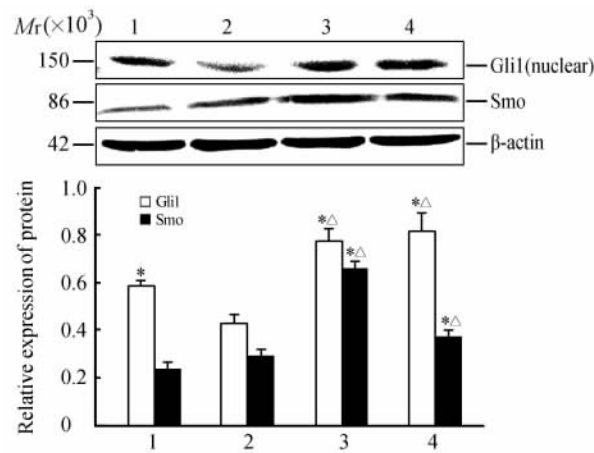


图4 蛋白质印迹检测诱导后大鼠骨髓基质细胞 *Smo*、*Gli1* 蛋白的表达

Fig 4 Western blotting analysis of *Smo* and *Gli1* protein expression in marrow stromal cells after induction

1: Cyclopamine group, 2: Resveratrol normal cultured group, 3: Resveratrol induced group, 4: SAG group. * $P < 0.05$ vs resveratrol normal cultured group, $\Delta P < 0.05$ vs cyclopamine group; $n = 3$, $\bar{x} \pm s$

纤毛^[13]。这些研究结果提示初级纤毛在干细胞功能方面可能具有重要作用。本实验证实正常培养的MSCs不具有初级纤毛,此时白藜芦醇不能诱导MSCs分化为神经元样细胞;当经过24 h饥饿处理或预诱导后,约60%的MSCs表达初级纤毛,同时白藜芦醇可诱导MSCs向神经元样细胞分化。结果表明,只有当MSCs进入非增殖状态才表达初级纤毛,此时可诱导MSCs向神经元样细胞的分化。据此推测初级纤毛在MSCs的神经元样细胞分化过程中发挥着重要作用。

Shh信号转导通路主要由糖蛋白配体Shh、跨膜蛋白受体Ptc、跨膜蛋白Smo、核转录因子Gli蛋白(Gli1、Gli2、Gli3)等组成。Shh信号通路的部分组成部件位于初级纤毛上。当Shh信号通路被激活时,Smo由胞质转运到初级纤毛上,同时Gli蛋白从胞质转移到细胞核,进而激活相应靶基因的转录。Shh信号主要介导细胞增殖、分化,参与神经系统发育、肿瘤形成等生理病理过程。Yoshimura等证实Hh信号通路在应激环境下可明显提高胶质细胞存活率^[14]。Clement等研究发现Hh信号通路参与早期心脏发育和心肌细胞的分化,加入抑制剂环巴明可抑制P19、CL6细胞分化为心肌细胞^[15]。此外,Shh信号还调节海马神经元的生成^[16];参与外周神经系统髓鞘的形成^[17]。本实验发现,MSCs表达Shh信号通路成分Ptc、Smo、Gli1,表明Shh信号通路存在于MSCs。进一步研究发现,在白藜芦醇和Smo激动剂SAG诱导后,MSCs向神经元样细胞分化,Smo从胞质转移到初级纤毛,同时Gli1、Smo mRNA和蛋白表达水平增加;而加入Smo抑制剂环巴明后,MSCs并不呈现神经元样细胞形态,抑制了Smo向初级纤毛转移,同时Gli1、Smo mRNA和蛋白表达水平明显减少。以上结果表明,Shh信号参与调控MSCs的神经元样细胞分化。

综上所述,本研究结果表明,大鼠MSCs表达初级纤毛并存在Shh信号,而且初级纤毛介导Shh信号调控MSCs的神经元样细胞分化。基因敲除初级纤毛的鞭毛内转运蛋白和(或)Shh信号通路成分之一(如Ptc、Smo、Gli1),干扰初级纤毛的生成和(或)Shh信号通路是否影响MSCs的神经元样细胞分化值得进一步深入研究。

胞成熟障碍^[11]。Proulx-Bonneau等发现MSCs表面存在初级纤毛,其与MSCs的低氧环境适应有关^[12]。Kiprilov等也发现人类胚胎干细胞拥有初级

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 胡琳燕,余加林,李芳,刘官信,李禄全. 丹参诱导骨髓间充质干细胞分化为神经样细胞的突触功能研究[J]. 第三军医大学学报,2009,31:143-147.
- [2] 杨琴,杨军,谢鹏,曾志磊,李傲,张小东,等. 刺五加体外诱导骨髓基质细胞分化为神经元样细胞的实验研究[J]. 南方医科大学学报,2009,29:487-490.
- [3] Yang Q, Mu J, Li Q, Li A, Zeng Z, Yang J, et al. A simple and efficient method for deriving neurospheres from bone marrow stromal cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2008,372:520-524.
- [4] 黄家贵,沈长波,刘舒,徐兰,杨琴. 白藜芦醇诱导大鼠骨髓基质细胞的神经元样细胞分化伴 Shh 信号激活[J]. 第三军医大学学报,2013,35:280-283.
- [5] Zhang J, Lipinski R J, Gipp J J, Shaw A K, Bushman W. Hedgehog pathway responsiveness correlates with the presence of primary cilia on prostate stromal cells[J]. *BMC Dev Biol*,2009,9:1-7.
- [6] Ocbina J R, Anderson K V. Intraflagellar transport, cilia, and mammalian Hedgehog signaling: analysis in mouse embryonic fibroblasts[J]. *Dev Dyn*,2008,237:2030-2038.
- [7] 杨琴,李琦,曾志磊,李傲,谢鹏,杨军,等. 碱性成纤维细胞生长因子和表皮生长因子联合诱导骨髓基质细胞分化形成神经球[J]. 解剖学报,2010,41:339-343.
- [8] Bae J S, Han H S, Youn D H, Carter J E, Mado M, Schuchman E H, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote neuronal networks with functional synaptic transmission after transplantation into mice with neurodegeneration[J]. *Stem Cells*,2007,25:1307-1316.
- [9] Zhu D, Shi S, Wang H, Liao K. Growth arrest induces primary cilium formation and sensitizes IGF-1-receptor signaling during differentiation induction of 3T3-L1 preadipocytes[J]. *J Cell Sci*,2009,122:2760-2768.
- [10] 黄家贵,任俊伟,杨琴. 初级纤毛与 Hedgehog 信号通路相关性研究[J]. 解剖学杂志,2011,34:552-555.
- [11] Ihrle R A, Shah J K, Harwell C C, Levine J H, Guinto C D, Lezameta M, et al. Persistent sonic hedgehog signaling in adult brain determines neural stem cell positional identity[J]. *Cell*,2011,71:250-262.
- [12] Proulx-Bonneau S, Annabi B. The primary cilium as a biomarker in the hypoxic adaptation of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells; a role for the secreted frizzled-related proteins [J]. *Biomark Insights*,2011,6:107-118.
- [13] Kiprilov E N, Awan A, Romain Desprat R, Velho M, Clement C A, Byskov A G, et al. Human embryonic stem cells in culture possess primary cilia with hedgehog signaling machinery[J]. *J Cell Biology*,2008,180:897-904.
- [14] Yoshimura K, Kawate T, Takeda S. Signaling through the primary cilium affects glial cell survival under a stressed environment[J]. *Glia*,2011,59:333-344.
- [15] Clement C A, Kristensen S G, Møllgård K, Pazour G J, Yoder B K, Larsen L A, et al. The primary cilium coordinates early cardiogenesis and hedgehog signaling in cardiomyocyte differentiation[J]. *J Cell Sci*,2009,122:3070-3082.
- [16] Breunig J J, Sarkisian M R, Arellano J I, Morozov Y M, Ayoub A E, Sojitra S, et al. Primary cilia regulate hippocampal neurogenesis by mediating sonic hedgehog signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2008,105:13127-13132.
- [17] Yoshimura K, Takeda S. Hedgehog signaling regulates myelination in the peripheral nervous system through primary cilia[J]. *Differentiation*,2012,83:S78-S85.

[本文编辑] 贾泽军