

SONIC HEDGEHOG – MORFOGEN O ZNACZENIU TERAPEUTYCZNYM

SONIC HEDGEHOG –
A MORPHOGEN WITH THERAPEUTIC IMPORTANCE

Maciej MAŁECKI^{1*}, Agnieszka GŁADYSZ², Katarzyna MOŚCICKA³,
Agnieszka LIPIEC⁴

¹Zakład Biologii Komórki, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie i
Katedra i Zakład Biochemii i Chemii Klinicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny;

²Katedra i Zakład Biochemii i Chemii Klinicznej oraz ³studentka farmacji,
Warszawski Uniwersytet Medyczny; ⁴Zakład Biologii Komórki,
Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie
Warszawa

Streszczenie: Poszukiwanie genów, których białkowe produkty mogą wywierać efekt terapeutyczny, jest podstawą rozwoju współczesnych metod leczenia, np. terapii genowej. Angiogenna terapia genowa wykorzystuje geny kodujące białka stymulujące powstawanie nowych naczyń krwionośnych. Wskazuje się, iż silnym induktorem powstawania naczyń krwionośnych jest białko sonic hedgehog, które warunkuje prawidłową symetrię kończyn i narządów jamy brzusznej oraz bierze udział w regulacji procesów różnicowania komórek w czasie embriogenezy. Wstępne badania wskazują, iż SHH może pobudzać proces angiogenezy poprzez regulację ekspresji naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu oraz angiopoetyn. Obserwuje się również chemotaktyczne działanie SHH na śródbłonkowe komórki progenitorowe. Badania poświęcone charakteryzowaniu złożonej ścieżki sygnałowej SHH wskażą, czy proangiogeny potencjał białka sonic hedgehog przyczyni się do postępu w terapii genowej chorób naczyniowo-sercowych.

Słowa kluczowe: sonic hedgehog (SHH), transdukcja sygnału, angiogenna terapia genowa.

Summary: A development of contemporary methods of therapy as gene therapy is directly based on a search of genes that encode therapeutic proteins. Angiogenic gene therapy takes advantage of genes encoding proangiogenic factors. It is described that embryonic sonic hedgehog protein is a strong stimulator of neovascularization. Sonic hedgehog is implicated in the regulation of central nervous system polarity and differentiation of various organs. Recent findings indicate that sonic hedgehog based gene therapy accelerates wound healing by enhancing endothelial progenitor cell-mediated microvascular remodeling. It is also known that SHH induces arteriogenesis. Further studies of complex SHH signaling pathway will reveal whether proangiogenic potency of sonic hedgehog protein determine the progress of cardiovascular gene therapy.

Key words: sonic hedgehog (SHH), signal transduction, angiogenic gene therapy.

WPROWADZENIE

Skuteczność i bezpieczeństwo nowych metod terapii chorób, np. terapii genowej bezpośrednio zależą od badań podstawowych, dzięki którym możliwe jest odkrywanie, charakteryzowanie genów, których białkowe produkty mogą mieć znaczenie terapeutyczne. Rozwój nowych technologii medycznych wynika również z badań pozwalających zrozumieć biochemiczne mechanizmy funkcjonowania genów, białek, czyli opisujących molekularne ścieżki transdukcji sygnałów wewnątrzkomórkowych. Poznanie biologii badanych genów, białek pozwala rozważać ich terapeutyczne zastosowanie w formie bezpiecznych dla pacjenta preparatów. Terapia genowa w klinice, w chwili obecnej (ponad 1000 zatwierdzonych protokołów klinicznych na świecie) dotyczy przede wszystkim prób leczenia chorób nowotworowych, sercowo-naczyniowych i infekcyjnych [100]. Ponieważ skuteczność leczenia preparatami genowymi warunkowana jest przez wydajny transfer genów i aktywność biologiczną kodowanego przez wprowadzany transgen białka, stąd dostępność metod leczenia za pomocą terapii genowej zależna jest od badań nośników genów – wektorów oraz poszukiwania genów kodujących białka o znaczeniu terapeutycznym [62].

W próbach klinicznych terapii genowej chorób sercowo-naczyniowych wykorzystuje się przede wszystkim geny proangiogenne cytokin [61]. Skuteczność terapii wiąże się z zastosowanym genem, wykorzystanym wektorem, sposobem prowadzenia badania (np. podanie jednego lub kilku genów jednocześnie). W chwili obecnej najczęściej badań klinicznych opiera się na wykorzystaniu preparatów kodujących: naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF) i fibroblastyczny czynnik wzrostu (FGF) [100]. Zwraca się również uwagę na możliwość wykorzystania w terapii genowej chorób sercowo-naczyniowych genów, które „fizjologicznie” ulegają ekspresji głównie w okresie embriogenezy. Prace eksperymentalne wskazują, iż jednym z takich genów może być, pierwotnie odkryty u muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*) gen *hedgehog* [5,54]. Badania wskazują, iż białko *hedgehog* kodowane przez gen *sonic hedgehog* (SHH) silnie pobudza rewaskularyzację uszkodzonych tkanek. Mimo iż istnieją doniesienia, że proces indukcji angiogenezy przez SHH może odbywać się bezpośrednio w drodze zależnej od naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu i angiopoetyn [81], dokładny mechanizm proangiogenne działanie SHH nie jest jeszcze poznany. Prowadzone są intensywne badania transdukcji sygnału indukowanego przez SHH, a wiele informacji uzyskuje się dzięki badaniom poświęconym charakteryzowaniu biologii i molekularnych wzorców transdukcji sygnału u muszki owocowej.

BIAŁKA HEDGEHOG

Gen *hedgehog* (*Hh*), pierwotnie wykryto u *Drosophila melanogaster*. Nazwa genu, jak i białka – *hedgehog* – wynika z obserwacji wskazujących, iż w wyniku mutacji w genie *Hh* u larw muszki pojawiają się charakterystyczne wypustki, które

nadają larwom postać jeży (ang. *hedgehog*) [34,42]. Białka hedgehog są regulatorami rozwoju narządów zarówno u kręgowców, jak i bezkręgowców, pełnią ważną funkcję w regulacji proliferacji komórkowej, specyfikacji komórkowej oraz różnicowaniu wielu rodzajów tkanek [23,99]. Do rodziny białek hedgehog należą: SHH (*human sonic hedgehog*), DHH (*human desert hedgehog*) i IHH (*human indian hedgehog*). [22,41]. Zmiany ekspresji każdego z białek: SHH, DHH i IHH zaburzają prawidłowy przebieg embriogenezy.

Gen *IHH*, który koduje białko indian hedgehog, zlokalizowany jest na chromosomie 2 (2q33-q35), a jego ekspresja zachodzi głównie w niezróżnicowanych chondrocytach, w elementach chrzęstnych, ale również występuje w dorosłych komórkach nerek i wątroby. Białko IHH uczestniczy w prawidłowym rozwoju jelit oraz morfogenezie kości, odpowiedzialne jest za stymulację chondrocytów do produkcji kolagenów chrząstkowych [63], indukuje również białko sygnałowe PTHrP (ang. *parathormone related-protein*) [52]. PTHrP bierze udział w kontroli równowagi jonowej, szczególnie gospodarki wapniem. PTHrP i PTH (ang. *parathormone*) wykazują w 90% identyczną sekwencję aminokwasową na N-końcu cząsteczki, a także mają podobne powinowactwo do receptora PTH1R w osteocytach i osteoklastach. N-końcowe fragmenty PTHrP i PTH wykazują anaboliczne działanie na kość. Aktywacja receptora dla PTH i PTHrP wiąże się z zahamowaniem apoptozy osteoblastów i osteocytów, przedłużeniem ich życia i aktywności metabolicznej [38].

Gen *DHH* kodujący białko desert hedgehog zlokalizowany jest na chromosomie 12 (12q12-q13.1). DHH ulega ekspresji w komórkach Sertoliego podczas rozwoju jąder i w komórkach Shwanna obwodowego układu nerwowego. Białko DHH warunkuje prawidłowy przebieg gametogenezy; pełni funkcję ochronną dla komórek nerwowych. We włóknach nerwowych z niską ekspresją DHH, wykazano znaczny spadek ilości włókien kolagenowych. Białko DHH odgrywa ogromną rolę podczas organogenezy obwodowego układu nerwowego. Proces ten obejmuje tworzenie neuronów, komórek Shwanna, naczyń krwionośnych, fibroblastów i macierzy pozakomórkowej [77].

Najszerzą aktywność biologiczną ma powstające w wyniku ekspresji genu *SHH* zlokalizowanego na chromosomie 7q36 [64] białko sonic hedgehog. SHH reguluje procesy migracji i różnicowania komórek w czasie embriogenezy, determinuje prawidłowy rozwój cewy nerwowej, kończyn, jelit, płuc, mieszków włosowych, oka, zębów, warunkuje prawidłową symetrię kończyn i narządów jamy brzusznej [9,22,27,28,57,70,92].

Mimo różnic w aktywności biologicznej stwierdza się wiele cech wspólnych białek rodziny hedgehog. Mechanizm np. procesu dojrzewania i modyfikacji cząsteczek prekursorowych jest taki sam dla wszystkich homologów – w każdym przypadku zachodzi rozszczepienie cząsteczki katalizowane przez C-końcową domenę; jednostką odpowiedzialną za przekazywanie sygnału jest N-terminalna domena, do której dołączana jest zarówno cząsteczka cholesterolu, jak i grupa palmitynianowa; wszystkie trzy białka wykazują także podobne powinowactwo zarówno do receptora Patched, jak i białka Hip znajdujących się na powierzchni komórki docelowej [78].

SONIC HEDGEHOG

W wyniku ekspresji genu *SHH* powstaje polipeptyd złożony z 467 aminokwasów [72]. Charakterystyczny dla wielu białek proces dojrzewania cechuje również białko SHH. Początkowo powstaje propeptyd o masie ok. 45 kDa. Dojrzewanie białka SHH obejmuje usunięcie sekwencji sygnałowej oraz modyfikacje lipofilne [82]. Po usunięciu w retikulum endoplazmatycznym przez peptydazę sygnałową sekwencji sygnałowej propeptydu, rozpoczyna się formowanie aktywnego białka. Przyłączenie cząsteczek lipidów poprzedzone jest autokatalitycznym rozszczepieniem białka SHH, zachodzącym również w retikulum endoplazmatycznym, jak i aparacie Golgiego [56]. Rozpad cząsteczki polega na autokatalitycznym rozszczepieniu propeptydu, co prowadzi do powstania części 19 kDa N-końcowej oraz C-końcowej o wielkości 26–28 kDa [56]. Domena N-końcowa odpowiedzialna jest za aktywność sygnałową białka SHH [94], natomiast domena C-końcowa uczestniczy w reakcji rozszczepiania cząsteczki [56,83]. Biochemiczne szczegóły tego procesu poznano na podstawie badań prowadzonych nad *Drosophila melanogaster* [7]. Miejsce rozszczepienia cząsteczki białka SHH znajduje się pomiędzy aminokwasami łańcucha polipeptydowego SHH: Gly 257 i Cys 258 [83]. Mechanizm tworzenia aktywnej formy sonic hedgehog [43,82] obejmuje powstanie produktu pośredniego, którym jest tioester. Grupa tiolowa cysteiny 258 odpowiada za „atak nukleofilowy” na grupę karbonyłową glicyny 257; powstaje wiązanie tioestrowe między grupą karbonyłową Gly 257 a łańcuchem bocznym Cys 258. Do wiązania tioestrowego przyłącza się następnie nukleofil, którym jest w warunkach *in vivo* cząsteczka cholesterolu. Cząsteczka cholesterolu przyłączona zostaje do ostatniego aminokwasu N-terminalnej części SHH. Powstaje cząsteczka sygnałowa SHH (N-koniec-cholesterol). Dzięki połączeniu z resztą cholesterolu białko SHH (sygnałowe) zyskuje charakter hydrofobowy i może zostać przytwierdzone do błony komórkowej. Hydrofobowość cząsteczki sygnałowej SHH zostaje dodatkowo zwiększona poprzez przyłączenie reszty palmitynianu do znajdującej się w części N-końcowej cząsteczki sygnałowej SHH cysteiny 24. Reakcja przyłączenia katalizowana jest przez międzybłonową acylo-transferazę *ski* (*Skinny hedgehog*) [16,32,33]. W strukturze przestrzennej aktywnej formy białka N-SHH wyróżnia się dwie helisy α i sześć łańcuchów β (β_1 – β_6), formujących zakręty. Obecne są również dwie antyrównoległe małe β -zakręty (β' , β''). Kowalencyjna modyfikacja lipidowa z udziałem cząsteczki cholesterolu warunkuje prawidłową orientację przestrzenną domeny sygnałowej N-SHH [82]. Modyfikacje lipidowe, prowadzące do wzbogacenia aktywnej formy sonic hedgehog o cząsteczkę cholesterolu i palmitynianu, są niezbędne do uzyskania pełnych właściwości białka. Doświadczenia przeprowadzone na *Drosophila* wykazały, iż np. mutacje w obrębie genu kodującego enzym katalizujący reakcje przyłączenia palmitynianu ograniczają aktywność białka sonic hedgehog, pomimo obecności cząsteczki cholesterolu [16]. Wzbogacenie domeny N-SHH o cząsteczkę palmitynianu ułatwia i zwiększa zakotwiczenie aktywnego białka w błonie komórkowej. Wyniki badań *in vitro* wskazują, iż zdolność do wiązania się z błoną komórkową białka SHH, które uprzednio uległo podwójnej modyfikacji lipidowej była znaczenie większa niż w przypadku, kiedy białko to wzbogacono tylko o cząsteczkę

cholesterolu [79]. Wskazuje się, że modyfikacje lipidowe SHH ułatwiają tworzenie poza komórką aktywnych „skupisk” sonic hedgehog w postaci tak zwanych „tratw lipidowych”. Aktywna forma N-SHH zakotwiczona kowalencyjnie złączoną cząsteczką cholesterolu, w warstwach lipidów bogatych w sfingolipidy [86], jest zdolna dyfundować do przestrzeni międzykomórkowej [67]. Związane z przenośnikami lipidowymi aktywne cząsteczki N-SHH ulegają heksameryzacji [103], co sprawia, że sonic hedgehog jest zdolne do wytworzenia swoistego gradientu stężeń. Zakres oddziaływania SHH w przestrzeni międzykomórkowej zależy od wytworzonego gradientu stężenia [20,46].

TRANSDUKCJA SYGNAŁU SONIC HEDGEHOG

Receptory *dispatched*, *patched* i *smoothened*

W procesie uwalniania aktywnej formy białka SHH z komórki zaangażowane jest transbłonowe białko – DISP (*dispatched*) [12]. Wskazuje się, iż w komórkach pozbawionych genu *dispatched* dochodzi do akumulacji SHH w błonie komórkowej, przy czym aktywność sygnalizacyjna SHH pozostaje [12]. Badania wskazują, iż oddziaływanie białka DISP ma znaczenie jedynie w przypadku działania SHH w sposób parakryny, gdzie uwalnianie multimerów tej cząsteczki z błony komórkowej jest niezbędne do stworzenia lokalnego źródła sygnału, odbieranego przez właściwe komórki [96]. U kręgowców wyróżnia się dwa homologi Disp: Disp1 oraz Disp2 [15]. W budowie białka Disp 1 wyróżnia się 11–13 transbłonowych domen, zawierających sekwencje wrażliwe na sterole – SSD (z ang. *Sterol-sensing domain*) [14,15]. Warto wspomnieć, iż transport międzykomórkowy multimerycznej formy N-SHH jest zależny również od oddziaływań SHH z proteoglikanami bogatymi w siarczan heparanu (HSPG) [88]. Wzajemne współdziałanie pomiędzy HSPG i N-SHH wydaje się być konieczne dla prawidłowego oddziaływania białka SHH na komórki otaczające miejsce jego syntezy. Wskazuje się także, iż np. kodowane przez gen *Ttv* białka Dolly i Dolly-like, należące do rodziny glikoprotein mogą odpowiadać za wytworzenie „toru”, poprzez który białko Hh przemieszcza się, aktywując kaskadę sygnałową w docelowych komórkach. Komórki produkujące białko Hh, za pośrednictwem molekuly Disp uwalniają zmodyfikowaną cząsteczkę sygnałową do przestrzeni międzykomórkowej. Procesowi temu towarzyszy natychmiastowe kowalencyjne połączenie łańcuchów glikoprotein (białek Dolly i Dolly-like) obecnych na powierzchni komórki. Gradient stężenia białka SHH między komórkami produkującymi a efektorowymi, powoduje jednostronny ruch SHH w kierunku komórek odpowiadających na sygnał. Ruch ten odbywa się poprzez przekazywanie aktywnej cząsteczki z jednego łańcucha glikozaminoglikowego na drugi. Przekazywanie sygnału z udziałem białka Hh może również zależeć od obecności długich, cienkich, złożonych głównie z aktyny, polarnych przedłużeń cytoplazmy zwanych cytonemami [85]. Wskazuje się, iż najprawdopodobniej wydzielanie białka zachodzi w miejscu kontaktu komórki z cytonemami. Obecność wypustek cytoplazmatycznych wykazano u *Drosophila*. Wyniki badań, przeprowadzonych na zawiązkach kończyn u myszy, wskazują, iż można się spodziewać podobnej funkcji cytonem u kręgowców [85].

Wydzielona poza komórkę aktywna forma białka SHH (N-SHH) oddziałuje na komórki docelowe za pośrednictwem receptorów błonowych. Receptor dla SHH budowany jest przez kompleks dwóch białek transbłonowych – PTCH (*patched*) oraz SMO (*smoothened*) [93,97]. Na komórkach odpowiadających na sygnał SHH identyfikuje się również np. glikoproteinę HIP (ang. *Hh-interacting protein*). Transbłonowe białko HIP jest negatywnym regulatorem szlaku sygnałowego białek Hh wyciszając przekazywanie sygnału do wnętrza komórki [18].

Występowanie białka PTCH opisano zarówno u bezkręgowców [37], jak i kręgowców [32]. Ma ono 12 pętli przechodzących przez błonę komórkową i poprzez domenę rozpoznającą strukturę sterolu (SSD) bezpośrednio wiąże SHH [14]. Opisane są, wykazujące w około 54% homologię, dwa białka Ptc: Ptc1 i Ptc2 [13]. Ptc1 charakterystyczny jest dla większości komórek wrażliwych na hedgehog, podczas gdy Ptc2 obecny jest głównie w jądrach i skórze. Ze względu na obecność Ptc 2 na spermatocytach uważa się, iż bierze ono udział w transdukcji sygnału DHH (*desert hedgehog*), podczas gdy Ptc 1 jest receptorem głównie białka sonic hedgehog. Ekspresja genów receptorów Ptc, jak i Smo zależy od aktywności hedgehog. W wyniku sprzężenia zwrotnego, wraz z pobudzeniem ścieżki sygnałowej SHH, zwiększa się ekspresja genów kodujących białka receptorowe [13]. Białko SMO złożone jest z siedmiu przenikających przez błonę komórkową pętli; pozbawione jest domeny SSD i jest przykładem receptora związanego z białkiem G [2]. Ludzki homolog białka SMO charakteryzuje się obecnością czterech miejsc glikozylacji oraz długim fragmentem zewnątrzkomórkowym (N-koniec), w którym znajduje się 13 ułożonych sferycznie cystein, mogących odpowiadać za wiązanie łańcucha polipeptydowego.

Transdukcja sygnału SHH wewnątrz komórki

Ścieżka kaskady sygnału rozpoczyna się od reakcji pomiędzy białkiem SHH a kompleksem receptorowym PTCH – SMO. W przypadku, kiedy białko SHH jest nieobecne w pobliżu komórki efektorowej, podjednostka PTCH kompleksu hamuje podjednostkę SMO, wskutek czego sygnał nie jest przekazywany do komórki. Wraz z pojawieniem się białka hedgehog, tworzy się kompleks SHH - PTCH i blokada hamująca działanie białka SMO zostaje zniesiona. Podjednostka SMO aktywuje szereg zdarzeń komórkowych, które w efekcie prowadzą do translokacji czynnika transkrypcyjnego GLI do jądra komórkowego (u muszki owocowej odpowiednikiem GLI jest białko Ci – *cubitus interruptus*) [25,74]. Połączenie czynnika transkrypcyjnego GLI z odcinkiem DNA, zawierającym konserwatywny motyw o wielkości 9 bp (5'-GACCACCCA-3'), aktywuje transkrypcję genów zależnych od SHH (np. HOX, WNT, FGF-4, VEGF, CAPN1, NRP) [51,36]. Podstawowe informacje dotyczące wewnątrzkomórkowej kaskady transdukcji sygnału pochodzą z badań przeprowadzonych na muszce owocowej. Homologami np. białka Fused bezkręgowców, jest u kręgowców białko STK36. W transdukcji sygnału indukowanego przez SHH biorą udział białka GLI1–GLI3; ich strukturę cechuje obecność pięciu domen palców cynkowych [51]. Czynniki GLI, w zależności od swojej budowy, mogą być aktywatorami lub represorami transkrypcji genów zależnych od SHH. Czynniki GLI1, będący

aktywateorem transkrypcji genów ma C-końcową domenę aktywującą transkrypcję genów, zbudowaną z 18-aminokwasowej α -helisy przypominającej białko wirusa *herpes simplex* (domena VP16). W obrębie domeny znajduje się region rozpoznawalny przez ludzki czynnik TAF_{II}31 – TFIID (*TATA box-binding protein associated factor*) [102]. Czynniki transkrypcyjne GLI2 i GLI3 zawierają domenę aktywującą (domena VP 16), jak i hamującą (N-końcowy fragment cząsteczki) [90]. W odpowiedzi na stymulację receptora PTCH białkiem SHH wzrasta synteza czynnika GLI1, który działa jako aktywator transkrypcji genów zależnych od sonic hedgehog. Obecność mRNA GLI1 zauważono, w komórkach wrażliwych na działanie białka SHH [80,91]. W wewnątrzkomórkowej kaskadzie transdukcji sygnału SHH bierze udział także kinaza STK 36, fosforylująca białko SU(fu), co umożliwia translokację czynnika transkrypcyjnego GLI do jądra komórkowego. Wykazano, iż konserwatywny motyw SYGH w rodzinie białek GLI odpowiada za interakcję z białkiem SU(fu), a aminokwasy Gly 122 i His 123 budują miejsce oddziaływania pomiędzy tymi molekułami [26]. Jednakże, badania wykazały, iż tylko GLI1 zawiera miejsca wiążące się z białkiem SU(fu), co wskazuje na inny niż poprzez białko SU(fu) mechanizm hamowania transkrypcji przez GLI2 i GLI3. Czynniki te, znane ze swojej dualistycznej natury, mają w swojej budowie aż pięć miejsc ulegających fosforylacji przez kinazę PKA. Brak białka SHH powoduje wzrost stężenia cAMP, fosforylację czynnika GLI3, co powoduje rozpad cząsteczki i akumulację domeny represorowej w jądrze komórkowym, która hamuje transkrypcję genów [21].

PODSUMOWANIE

Poszukiwanie genów, których białkowe produkty mogą wywierać efekt terapeutyczny jest podstawą rozwoju współczesnych metod terapii, np. terapii genowej. Angiogenna terapia genowa wykorzystuje geny kodujące białka stymulujące powstawanie nowych naczyń krwionośnych. Wskazuje się, iż silnym induktorem powstawania naczyń krwionośnych jest białko sonic hedgehog. W badaniach opublikowanych przez Pola i wsp. [81] obserwowano, iż SHH pobudza proces angiogenezy poprzez regulację ekspresji naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF) oraz angiopoetyn. W pracy zaś Asai i wsp. [5] wykazano chemotaktyczne działanie SHH na śródbłonkowe komórki progenitorowe. Dalsze badania wskażą, czy proangiogeny potencjał białka sonic hedgehog przyczyni się do postępu w terapii genowej chorób naczyniowo-sercowych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] AKIMARU H, CHEN Y, DAI P, HOU DX, NONAKA M, SMOLIK SM, ARMSTRONG S, GOODMAN RH, ISHII S. *Drosophila* CBP is a co-activator of *cubitus interruptus* in hedgehog signaling. *Nature* 1997; **386**: 735–738.
- [2] ALCEDO J, AYZENZON M, VON OHLEN T, NOLL M, HOOPER J.E. The *Drosophila* smoothed gene encodes a seven-pass membrane protein, a putative receptor for the hedgehog signal. *Cell* 1996; **86**: 221–232.

- [3] ALEXANDRE C, JACINTO A, INGHAM PW. Transcriptional activation of hedgehog target genes in *Drosophila* is mediated directly by the *Cubitus interruptus* protein, a member of the GLI family of zinc finger DNA-binding proteins. *Genes Dev* 1996; **10**: 2003–2013.
- [4] AMANAI K, JIANG J. Distinct roles of Central missing and Dispatched in sending the Hedgehog signal. *Development* 2001; **128**: 5119–5127.
- [5] ASAI J, TAKENAKA H, KUSANO KF, II M, LUEDEMANN C, CURRY C, EATON E, IWAKURA A, TSUTSUMI Y, HAMADA H, KISHIMOTO S, THORNE T, KISHORE R, LOSORDO D.W. Topical Sonic hedgehog gene therapy accelerates wound healing in diabetes by enhancing endothelial progenitor cell-mediated microvascular remodeling. *Circulation* 2006; **113**: 2413–2424.
- [6] AZA-BLANC P, RAMIREZ-WEBER FA, LAGET MP, SCHWARTZ C, KORNBERG TB. Proteolysis that is inhibited by hedgehog targets *Cubitus interruptus* protein to the nucleus and convert it to a repressor. *Cell* 1997; **89**: 1043–1053.
- [7] BEACHY PA, COOPER MK, YOUNG KE, VON KESSLER DP, PARK WJ, HALL TM, LEAHY DJ, PORTER JA. Multiple roles of cholesterol in Hedgehog protein biogenesis and signaling. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1997; **62**: 191–204.
- [8] BELLAICHE Y, THE I, PERRIMON N. Tout-velu is a *Drosophila* homologue of the putative tumour suppressor EXT-1 and is needed for Hh diffusion. *Nature* 1998; **394**: 85–88.
- [9] BELLUSCISI, FURUTA Y, RUSH MG, HENDERSON R, WINNIER G, HOGAN BL. Involvement of Sonic hedgehog (SHH) in mouse embryonic lung growth and morphogenesis. *Development* 1997; **124**: 53–63.
- [10] BITGOOD M, SHEN L, MCMAHON AP. Sertoli cell signaling by Desert hedgehog regulates the male germline. *Curr Biol* 1996; **6**: 298–304.
- [11] BORNEMANN DJ, DUNCAN JE, STAATZ W, SELLECK S, WARRIOR R. Abrogation of heparan sulfate synthesis in *Drosophila* disrupts the Wingless, Hedgehog and Decapentaplegic signaling pathways. *Development* 2004; **131**: 1927–1938.
- [12] BURKE R, NELLEN D, BELLOTTO M, HAFEN E, SENTI K.A, DICKSON BJ, BASLER K. Dispatched, a novel sterol-sensing domain protein dedicated to the release of cholesterol-modified hedgehog from signaling cells. *Cell* 1999; **99**: 803–815.
- [13] CARPENTER D, STONE DM, BRUSH J, RYAN A, ARMANINI M, FRANTZ G, ROSENTHAL A, DE SAUVAGE FJ. Characterization of two patched receptors for the vertebrate hedgehog protein family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 13630–13634.
- [14] CARSTEA ED, MORRIS JA, COLEMAN KG, LOFTUS SK, ZHANG D, CUMMINGS C, GU J, ROSENFELD MA, PAVAN WJ, KRIZMAN DB. Niemann-Pick C1 disease gene: homology to mediators of cholesterol homeostasis. *Science* 1997; **1277**: 228–231.
- [15] CASPARY T, GARCIA-GARCIA MJ, HUANGFU D, EGGENSCHWILER JT, WYLER MR, RAKEMAN AS, ALCORN HL, ANDERSON KV. Mouse Dispatched homolog1 is required for long-range, but not juxtacrine, Hh signaling. *Curr Biol* 2002; **12**: 1628–1632.
- [16] CHAMOUN Z, MANN RK, NELLEN D, VON KESSLER DP, BELLOTTO M, BEACHY PA, BASLER K. Skinny Hedgehog, an Acyltransferase Required for Palmitoylation and Activity of the Hedgehog Signal. *Science* 2001; **293**: 2080–2084.
- [17] CHEN Y, STRUHL G. Dual roles for patched in sequestering and transducing Hedgehog. *Cell* 1996; **87**: 553–563.
- [18] CHUANG PT, MCMAHON AP. Vertebrate Hedgehog signaling modulated by induction of a Hedgehog-binding protein. *Nature* 1999; **397**: 617–622.
- [19] CROSS SS, BURY JP. Hedgehog signaling pathways in human pathology. *Current Diagnostic Pathology* 2004; **10**: 157–168.
- [20] DAHMANE N, RUIZ-I-ALTABA A. Sonic hedgehog regulates the growth and patterning of the cerebellum. *Development* 1999; **126**: 3089–3100.
- [21] DAI P, AKIMARU H, TANAKA Y. Sonic hedgehog – induced activation of the Gli 1 promoter is mediated by Gli 3. *J Biol Chem* 1999; **274**: 8143–8152.
- [22] DASSULE HR, LEWIS P, BEI M, MAAS R, MCMAHON AP. Sonic hedgehog regulates growth and morphogenesis of the tooth. *Development* 2000; **127**: 4775–4778.
- [23] DAYA-GROSJEAN L, COUVE-PRIVAT S. Sonic hedgehog in basal cell carcinomas. *Cancer Letters* 2005; **225**: 181–192.
- [24] DE RIVOYRE M, RUEL L, VARJOSALO M, LOUBAT A, BIDET M, THEROND P, MUS-VETEAU I. Human Receptors Patched and Smoothed Partially Transduce Hedgehog Signal When Expressed in *Drosophila* Cells. *J Biol Chem* 2006; **281**: 28584–28595.

- [25] DOMINGUEZ M, BRUNNER M, HAFEN E, BASLER K. Sending and receiving the hedgehog signal: control by the *Drosophila* Gli protein *Cubitus interruptus*. *Science* 1996; **272**: 1621–1625.
- [26] DUNAEVA M, MICHELSON P, KOGERMAN P, TOFTGARD R. Characterization of the physical interaction of Gli proteins with SUFU proteins. *J Biol Chem* 2003; **278**: 5116–5122.
- [27] ECHELARD Y, EPSTEIN DJ, ST-JACQUES B, SHEN L, MOHLER J, MCMAHON JA, MCMAHON AP. Sonic hedgehog, a member of a family of putative signaling molecules, is implicated in the regulation of CNS polarity. *Cell* 1993; **75**: 1417–1430.
- [28] EKKER SC, UNGAR AR, GREENSTEIN P, VON KESSLER DP, PORTER JA, MOON RT, BEACHY PA. Patterning activities of vertebrate hedgehog proteins in the developing eye and brain. *Curr Biol* 1995; **5**: 944–955.
- [29] FAN CM, TESSIER-LAVIGNE M. Patterning of mammalian somites by surface ectoderm and notochord: evidence for sclerotome induction by a hedgehog homolog. *Cell* 1994; **79**: 1175–1186.
- [30] FUSE N, MAITI T, WANG B, PORTER J, HALL T, LEAHY D, BEACHY P. Sonic hedgehog protein signals not as a hydrolytic enzyme but as an apparent ligand for patched. *Proc Natl Acad Sci* 1999; **96**: 10992–10999.
- [31] GRECO V, HANNUS M, EATON S. Argosomes: a potential vehicle for the spread of morphogens through epithelia. *Cell* 2001; **106**: 633–645.
- [32] HAHN H, WICKING C, ZAPHIROPOULOS PG, GAILANI MR, SHANLEY S, CHIDAMBARAMA, VORECHOVSKY I, HOLMBERG E, UNDEN AB, GILLIES S, NEGUS K, SMYTH I, PRESSMAN C, LEFFELL DJ, GERRARD B, GOLDSTEIN AM, DEAN M, TOFTGARD R, CHENEVIX-TRENCH G, WAINWRIGHT B, BALE AE. Mutations of the human homolog of *Drosophila* patched in the nevroid basal cell carcinoma syndrome. *Cell* 1996; **85**: 841–851.
- [33] HALL TM, PORTER JA, BEACHY PA, LEAHY DJ. A potential catalytic site revealed by the 1.7-Å crystal structure of the amino-terminal signalling domain of Sonic hedgehog. *Nature* 1995; **378**: 212–216.
- [34] HAMMERSCHMIDT M, BROOK A, MCMAHON AP. The world according to hedgehog. *Trends Genet* 1997; **13**: 14–21.
- [35] HAN CH, BELENKAYA TY, WANG B, LIN X. *Drosophila* glypicans control the cell-to-cell movement of Hedgehog by a dynamin-independent process. *Development* 2004; **131**: 601–611.
- [36] HOCHMAN E, CASTIEL A, JACOB-HIRSCH J, AMARIGILIO N, IZRAELI S. Molecular Pathways Regulating pro-migratory effects of Hedgehog signaling. *J Biol Chem* 2006; **281**: 33860–33870.
- [37] HOOPER JE, SCOTT MP. The *Drosophila* patched gene encodes a putative membrane protein required for segmental patterning. *Cell* 1989; **59**: 751–765.
- [38] HORWITZ MJ, TEDESCO MB, GUNDBERG C. et al. Short-term, high-dose PTHrP as a skeletal anabolic agent for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 569–575.
- [39] HU MC, MO R, BHELLA S, WILSON CW, CHUANG PT, HUI CC. GLI3-dependent transcriptional repression of Gli1, Gli2 and kidney patterning genes disrupts renal morphogenesis. *Development* 2006; **133**: 569–578.
- [40] HUI C, SLUSARSKI D, PLATT KA, HOLMGREEN R, JOYNER AL. Expression of three mouse homologs of the *Drosophila* segment polarity gene *cubitus interruptus*, Gli, Gli-2 and Gli-3, in ectoderm- and mesoderm-derived tissues suggests multiple roles during postimplantation development. *Dev Biol* 1994; **162**: 402–413.
- [41] INGHAM PW, MCMAHON AP. Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles. *Genes Dev* 2001; **15**: 3059–3087.
- [42] JAZELA-STANEK A, KRAJEWSKA-WALASEK M. Szlak sygnałowy białek Sonic hedgehog. *Pediatr Pol* 2003; **88**: 221–228.
- [43] JEONG J, MCMAHON AP. Cholesterol modification of Hedgehog family proteins. *J Clin Invest* 2002; **110**: 591–596.
- [44] JIA J, AMANAI K, WANG G, TANG J, WANG B, JIANG J. Shaggy/GSK3 antagonizes Hedgehog signalling by regulating *Cubitus interruptus*. *Nature* 2002; **416**: 548–552.
- [45] JIANG J, STRUHL G. Regulation of the Hedgehog and Wingless signalling pathways by the F-box/WD40-repeat protein Slimb. *Nature* 1998; **391**: 493–496.
- [46] JOHNSON RL, TABIN C. The long and short of hedgehog signaling. *Cell* 1995; **81**: 313–316.
- [47] KATOH Y, KATOH M. Characterization of KIF7 gene in silico. *Int J Oncol* 2004; **25**: 1881–1886.
- [48] KATOH Y, KATOH M. KIF27 is one of orthologs for *Drosophila* Costal-2. *Int J Oncol* 2004; **25**: 1875–1880.

- [49] KEASLER S, LUSCHER B, RUTCHER U. Transcriptional activity of GLI1 is negatively regulated by protein kinase A. *Biol Chem* 2000; **381**: 545–551.
- [50] KINZLER KW, BIGNER SH, BIGNER DD, TRENT JM, LAW ML, O'BRIEN SJ, WONG AJ, VOGELSTEIN B. Identification of an amplified, highly expressed gene in a human glioma. *Science* 1987; **236**: 70–73.
- [51] KINZLER KW, VOGELSTEIN B. The Gli gene encodes a nuclear protein which binds specific sequences in the human genome. *Mol Cell Biol* 1990; **10**: 634–642.
- [52] KOBAYASHI T, SOEGIARTO D, YANG Y, LANSKE B, SCHIPANI E, MCMAHON, KRONENBERG H. Indian hedgehog stimulates periartricular chondrocyte differentiation to regulate growth plate length independantly of PTHrP. *J Clinical Investigation* 2005; **115**, N7.
- [53] KRAUSS S, CONCORDET JP, INGHAM W. A functionally conserved homolog of the *Drosophila* segment polarity gene hh is expressed in tissues with polarizing activity in zebrafish embryos. *Cell* 1993; **75**: 1431–1444.
- [54] KUSANO K, ALLENDOEFER KL, MUNGER W, POLAR, BOSCH-MARCE M, KIRCHMAIR R, YOON YS, CURRY C, SILVER M, KEARNEY M, ASHERA T, LOSORDO DW. Sonic hedgehog induces arteriogenesis in diabetic vasa nervorum and restores function in diabetic neuropathy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; **24**: 2102–2107.
- [55] LEE JD, TREISMAN JE. Sightless has homology to transmembrane acyltransferases and is required to generate active Hedgehog protein. *Curr Biol* 2001; **11**: 1147–1152.
- [56] LEE JJ, EKKER SC, VON KESSLER S, PORTER JA, SUN BI, BEACHY PA. Autoproteolysis in hedgehog protein biogenesis. *Science* 1994; **266**: 1528–1537.
- [57] LEVIN M, JOHNSON RL, STERN CD, KUEHN M, TABIN C. A molecular pathway determining left-right asymmetry in chick embryogenesis. *Cell* 1995; **82**: 803–814.
- [58] LIN X, PERRIMON N. Role of heparan sulfate proteoglycans in cell–cell signaling in *Drosophila*. *Matrix Biol* 2000; **19**: 303–307.
- [59] LUM L, YAO S, MOZER B, ROVESCALLI A, VON KESSLER D, NIRENBERG M, BEACHY PA. Identification of Hedgehog pathway components by RNAi in *Drosophila* cultured cells. *Science* 2003; **299**: 2039–2045.
- [60] MA Y, ERKNER A, GONG R, YAO S, TAIPALE J, BASLER K, BEACHY PA. Hedgehog-Mediated patterning of the mammalian embryo requires transporter-like function of Dispatched. *Cell* 2002; **111**: 63–75.
- [61] MAŁECKI M, KOLSUT P, PROCZKA R. Angiogenic and antyangiogenic gene therapy. *Gene Therapy* 2005; **12**: 159–169.
- [62] MAŁECKI M. Wirusowe strategie w terapii genowej ze szczególnym uwzględnieniem wektorów konstruowanych z wirusów związanych z adenowirusami (AAV). *Post Biol Kom* 2004; **31**: 47–57.
- [63] MAŁEJCZYK J. Budowa i immunologia tkanki chrzęstnej. *Acta Clinica* 2001; **1**: 15–22.
- [64] MARIGO V, ROBERTS DJ, LEE SM, TSUKUROV O, LEVI T, GASTIER JM, EPSTEIN DJ, GILBERT DJ, COPELAND NG, SEIDMAN CE. Cloning, expression and chromosomal location of SHH and IHH: two human homologues of the *Drosophila* segment polarity gene hedgehog. *Genomics* 1995; **28**: 44–51.
- [65] McMAHON AP, INGHAM PW, TABIN CJ. Developmental roles and clinical significance of hedgehog signaling. *Curr Top Dev Biol* 2003; **53**: 1–114.
- [66] MICCHELLI CA. Rasp, a putative transmembrane acyltransferases is required for Hedgehog signaling. *Development* 2002; **129**: 843–851.
- [67] MURONE M, ROSENTHAL A, DE SAUVAGE FJ. Hedgehog signal transduction: from flies to vertebrate. *Exp Cell Res* 1999; **253**: 25–33.
- [68] NAKANO Y, KIM HR, KAWAKAMI A, ROY S, SCHIER AF, INGHAM PW. Inactivation of dispatched 1 by the chameleon mutation disrupts Hedgehog signaling in the zebrafish embryo. *Dev Biol* 2004; **269**: 381–392.
- [69] NANNIL, MING JE, BOCIAN M, STEINHAUS K, BIANCHI DW, DIE-SMULDERS C, GIANNOTTIA, IMAIZUMI K, JONES KL, CAMPO MD, MARTIN RA, MEINECKE P, PIERPONT ME, ROBIN NH, YOUNG ID, ROESSLER E, MUENKE M. The mutational spectrum of the Sonic hedgehog gene in holoprosencephaly: SHH mutations cause a significant proportion of autosomal dominant holoprosencephaly. *Hum Mol Genet* 1999; **8**: 2479–2488.
- [70] NISWANDER L, JEFFREY S, MARTIN GR, TICKLE C. A positive feedback loop coordinates growth and patterning in the vertebrate limb. *Nature* 1994; **371**: 609–612.
- [71] NUSSLEIN-VOLHARD C, WIESCHAUS E. Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature* 1980; **287**: 795–801.

- [72] ODENT S, ATTÍE-BITACH T, BLAYAU M, MATHIEU M, AUGÉ J, DELEZOIDE AL, LE GALL JY, LE MAREC B, MUNNICH A, DAVID V, VEKEMANS M. Expression of the Sonic hedgehog (SHH) gene during early human development and phenotypic expression of new mutations causing holoprosencephaly. *Hum Mol Genet* 1999; **8**: 1683–1689.
- [73] OHLMEYER JT, KALDERON D. Hedgehog stimulates maturation of *Cubitus interruptus* into a labile transcriptional activator. *Nature* 1998; **396**: 749–753.
- [74] ORENIC TV, SLUSARSKI DC, KROLL KL, HOLMGREN RA. Cloning and characterization of the segment polarity gene cubitus interruptus Dominant of *Drosophila*. *Genes Dev* 1990; **4**: 1053–1067.
- [75] OSTERLUND T, EVERMAN DB, BETZ RC, MOSCA M, NOTHEN MM, SCHWARTZ CE, ZAPHIROPOULOS PG, TOFTGARD R. The FU gene and its possible protein isoforms. *BMC Genomics* 2004; **5**: 49.
- [76] PAN Y, BAI CB, JOYNER AL, WANG B. Sonic hedgehog signaling regulates Gli2 transcriptional activity by suppressing its processing and degradation. *Mol Cell Biol* 2006; **26**: 3365–3377.
- [77] PARMANTIER E, LYNN B, LAWSON D, TURMAINE M, NAMINI SS, CHAKRABARTI L, McMAHON AP, JESSEN KR, MIRSKY R. Schwann cell-derived Desert hedgehog controls the development of peripheral nerve sheaths. *Neuron* 1999; **23**: 713–724.
- [78] PATHI S, PAGAN-WESTPHAL S, BAKER DP, GARBER EA, RAYHORN P, BUMCROT D, CLIFFORD J, TABIN CJ, BLAKE PEPINSKY R, WILLIAMS KP. Comparative biological responses to human Sonic, Indian, and Desert hedgehog. *Mechanisms of Development* 2001; **106**: 107–117.
- [79] PEPINSKY RB, ZENG C, WEN D, RAYHORN P, BAKER DP, WILLIAMS KP, BIXLER SA, AMBROSE CM, GARBER EA, MIATKOWSKI K, TAYLOR FR, WANG EA, GALDES A. Identification of a palmitic acid-modified form of human Sonic hedgehog. *J Biol Chem* 1998; **273**: 14037–14045.
- [80] PLATT K, MICHAUD J, JOYNER A. Expression of the mouse Gland Ptc genes is adjacent to embryonic sources of hedgehog signal suggesting a conservation of pathways between flies and mice. *Mech Dev* 1997; **62**: 121–135.
- [81] POLA R, LING LE, SILVER M, CORBLEY MJ, KEARNEY M, BLAKE PEPINSKY R, SHAPIRO R, TAYLOR FR, BAKER DP, ASAHARA T, ISNER JM. The morphogen Sonic hedgehog is an indirect angiogenic agent upregulating two families of angiogenic growth factors. *Nat Med* 2001; **7**: 706–711.
- [82] PORTER JA, YOUNG KE, BEACHY PA. Cholesterol modification of hedgehog signalling proteins in animal development. *Science* 1996; **86**: 21–34.
- [83] PORTER JA, VON KESSLER DP, EKKER SC, YOUNG KE, LEE JJ, MOSES K, BEACHY PA. The product of hedgehog autoproteolytic cleavage active in local long-range signalling. *Nature* 1995; **374**: 363–366.
- [84] PRICE MA, KALDERON D. Proteolysis of *cubitus interruptus* in *Drosophila* requires phosphorylation by protein kinase A. *Development* 1999; **126**: 4331–4339.
- [85] RAMIRES-WEBER FA, KORNBERG TB. Cytonemes: cellular processes that project to the principal signaling center in *Drosophila* imaginal discs. *Cell* 1999; **97**: 599–607.
- [86] RIETVELD A, NEUTZ S, SIMONS K, EATON S. Association of sterol- and glycosylphosphatidylinositol-linked proteins with *Drosophila* raft lipid microdomains. *J Biol Chem* 1999; **274**: 12049–12054.
- [87] ROELINK H, PORTER JA, CHIANG C, TANABLE Y, CHANG DT, BEACHY PA, JESSELL TM. Floor plate and motor neuron induction by different concentrations of the amino-terminal cleavage product of Sonic hedgehog autoproteolysis. *Cell* 1995; **81**: 445–455.
- [88] RUBIN JB, CHOI Y, SEGAL RA. Cerebellar proteoglycans regulate Sonic hedgehog responses during development. *Development* 2002; **129**: 2223–2232.
- [89] SAITOH T, KATOH M. Expression profiles of *bTRCP1* and *bTRCP2*, and mutation analysis of *bTRCP2* in gastric cancer. *Int J Oncol* 2001; **18**: 959–964.
- [90] SASAKI H, HUI C, NAKAFUKU M, KONDOH H. A binding site for Gli proteins is essential for HNF-3 β floor plate enhancer activity in transgenics and can respond to SHH *in vitro*. *Development* 1997; **124**: 1313–1322.
- [91] SASAKI H, NISHIZAKI Y, HUI C, NAKAFUKU M, KONDOH H. Regulation of Gli2 and Gli3 activities by an amino-terminal repression domain: implication of Gli2 and Gli3 as primary mediators of SHH signaling. *Development* 1999; **126**: 3915–3924.
- [92] ST-JACQUES B, DASSULE HR, KARAVANOVA I, BOTCHKAREV VA, LI J, DANIELIAN PS, McMAHON JA, LEWIS PM, PAUS R, McMAHON AP. Sonic hedgehog signaling is essential for hair development. *Curr Biol* 1998; **8**: 1058–1068.
- [93] STONE DM, HYNES M, ARMANINI M, SWANSON TA, GU Q, JOHNSON RL, SCOTT MP, PENNICA D, GODDARD A, PHILLIPS H, NOLL M, HOOPER JE, DE SAUVAGE F, ROSENTHAL A. The tumour-suppressor gene patched encodes a candidate receptor for Sonic hedgehog. *Nature* 1996; **384**: 129–134.

- [94] TABIN CJ, MCMAHON AP. Recent advances in hedgehog signaling. *Trends Cell Biol* 1997; **7**: 442–446.
- [95] TAYLOR MD, LIU L, RAFFEL C, HUI CC, MAINPRIZE TG, ZHANG X, AGATEP R, CHIAPPA S, GAOL, LOWRANCE A, HAO A, GOLDSTEIN AM, STAVROU T, SCHERER SW, DURA WT, WAINWRIGHT B, SQUIRE JA, RUTKA JT, HOGG D. Mutations in SUFU predispose to medulloblastoma. *Nat Genet* 2002; **31**: 306–310.
- [96] TIAN H, JEONG J, HARFE BD, TABIN CJ, MCMAHON AP. Mouse *Disp1* is required in Sonic hedgehog-expressing cells for paracrine activity of the cholesterol-modified ligand. *Development* 2005; **132**: 133–142.
- [97] VAN DEN HEUVEL M, INGHAM PW. *Smoothed* encodes a receptor-like serpentine protein required for hedgehog signalling. *Nature* 1996; **382**: 547–551.
- [98] VORTKAMP A, LEE K, LANSKE B, SEGRE GV, KRONENBERG HM, TABIN CJ. Regulation of rate cartilage differentiation by Indian hedgehog and PTH-related protein. *Science* 1996; **273**: 613–622.
- [99] WETMORE C. Sonic hedgehog in normal and neoplastic proliferation: insight gained from human tumors and animal models. *Current Opinion in Genetics & Development* 2003, **13**: 34–42.
- [100] www.wiley.com/genmed.
- [101] XIE J, MURONE M, LUOH SM, RYAN A, GU Q, ZHANG C, BONIFAS JM, LAM CW, HYNES M, GODDARDA, ROSENTHAL A, EPSTEIN JR EH, DE SAUVAGE FJ. Activating *Smoothed* mutations in sporadic basal-cell carcinoma. *Nature* 1998; **391**: 90–92.
- [102] YOON JW, LIU CZ, YANG JT, SWART R, IANNACCONE P, WALTERHOUSE D. GLI activates transcription through a herpes simplex viral protein 16-like activation domains. *J Biol Chem* 1998; **273**: 3496–3501.
- [103] ZENG X, GOETZ J.A, SUBER LM, SCOTT WJ, JR, SCHREINER CM, ROBBINS DJ. A freely diffusible form of Sonic hedgehog mediates long-range signalling. *Nature* 2001; **411**: 716–720.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 13.06. 2008 r.

Przyjęto: 30.07. 2008 r.

doc. dr hab. Maciej Małeck

Zakład Biologii Komórki, Centrum Onkologii-Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie,

ul. Roentgena 5, 02-781 Warszawa

e-mail: mahan@poczta.wp.pl