

# Sonic Hedgehog 信号通路在眼科的应用进展

王小婷,徐国兴,傅冷西

**基金项目:**中国国家自然科学基金资助项目(No. 81070715);中国卫生部科研基金资助项目(No. WKJ-2008-2-61);中国福建省创新平台基金资助项目(No. 2010Y2003)

**作者单位:**(350001)中国福建省福州市,福建医科大学附属第一医院 福建省眼科研究所

**作者简介:**王小婷,在读硕士研究生,研究方向:晶状体疾病。

**通讯作者:**徐国兴,教授,博士研究生导师,研究方向:晶状体病与视网膜病. zjfmuxgx@pub5.fz.fj.com

**收稿日期:**2011-12-16 **修回日期:**2012-01-31

## Applied research of Sonic Hedgehog signal pathway in ophthalmology

Xiao-Ting Wang, Guo-Xing Xu, Leng-Xi Fu

**Foundation items:** National Nature Science Foundation of China (No. 81070715); Ministry of Health Research Projects Funded Project, China (No. WKJ-2008-2-61); Innovation Platform Project of Fujian Province(No. 2010Y2003)

Ophthalmic Institute of Fujian Province, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

**Correspondence to:** Guo-Xing Xu. Ophthalmic Institute of Fujian Province, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China. zjfmuxgx@pub5.fj.com

**Received:**2011-12-16 **Accepted:**2012-01-31

### Abstract

• Sonic Hedgehog(Shh) signal pathway is closely related with the development of embryo of animal and the proliferation and differentiation of cells. This paper mainly summarizes the applied research of Shh signal pathway in the development of eye, the regeneration and repairment of varied tissue in eye and the development and treatment of the diseases of ophthalmology.

• **KEYWORDS:** Sonic Hedgehog signal pathway; ophthalmology; review

Wang XT, Xu GX, Fu LX. Applied research of Sonic Hedgehog signal pathway in ophthalmology. *Guji Yanke Zazhi( Int Eye Sci)* 2012;12(3):440-443

### 摘要

Sonic Hedgehog(Shh)信号通路与动物胚胎发育及细胞增殖分化密切相关。我们主要综述 Shh 信号通路在眼球的发育、眼球多种组织细胞的再生和修复、眼科多种疾病发

生、发展及治疗的研究及应用。

**关键词:**Sonic Hedgehog 信号通路;眼科;综述

**DOI:**10.3969/j.issn.1672-5123.2012.03.19

王小婷,徐国兴,傅冷西. Sonic Hedgehog 信号通路在眼科的应用研究. 国际眼科杂志 2012;12(3):440-443

### 0 引言

Hedgehog(Hh)基因最早发现于果蝇,在果蝇和其它一些无脊椎动物体内只发现一种 Hh 基因,在脊椎动物体内则发现有同源 Hh 基因,其中哺乳动物已发现的 Hh 同源基因有 3 个: Sonic Hedgehog(Shh), Indian Hedgehog(Ihh), Desert Hedgehog(Dhh)。Ihh 和 Dhh 研究较少, Ihh 参与调控软骨等组织的发育, Dhh 参与调控生殖细胞发育; Shh 研究较为深入,相关信号通路与胚胎多个器官系统正常发育、先天畸形和肿瘤等疾病产生密切相关<sup>[1]</sup>。在眼部 Shh 主要产生于视网膜神经节细胞、无长突细胞, Shh 信号通路在眼球的发育、眼球多种组织细胞的再生和修复、眼科多种疾病发生发展及治疗中有重要作用。

### 1 Shh 信号通路

该信号通路涉及的信号分子主要包括:(1)分泌性蛋白 Shh,细胞先合成分子量 45kD 的前体蛋白,然后经过自分裂产生 19kD 的氨基酸片段和 25kD 的羧基端片段,其中氨基片段的氨基端和羧基端分别经过软脂酰化和共价结合胆固醇修饰后形成 Shh,其作为信号分子被分泌到细胞外。(2)两个细胞膜跨膜蛋白 Patched(Ptch)和 Smoothed(Smo),其中 Ptch 有 Ptch1 和 Ptch2 两个亚型; Shh 信号不存在时, Ptch 与 Smo 结合,抑制 Smo 下游通路的信号传递;一旦 Shh 与靶细胞膜上配体 Ptch 结合后即解除了 Ptch 对 Smo 的抑制,活化 Smo 激活下游信号分子将信号向下游传递。(3)锌指家族转录因子,该因子在果蝇中称为 Cubitus interruptus(Ci),在脊椎动物称为 Gli。Gli 有三型,分别为 Gli1, Gli2, Gli3; Ci/Gli 为 Smo 的下游信号分子, Ci/Gli 与 Costal2 蛋白、Fused 激酶、Suppressor of Fused(SuFu)蛋白形成一大的蛋白复合物,活化 Smo 为复合物提供磷酸,促使 Ci/Gli 从复合物中释放出来,转变活化形式进入细胞核内,调控靶基因转录。该通路的靶基因在不同的物种有所不同,果蝇的靶基因包括 Ptch, Wingless(Wg)和 Decapentaplegic(Dpp),这些基因相当于脊椎动物的 Ptch, Wnt 家族和 TGF $\beta$  超级家族的骨发生蛋白,这些基因是胚胎正常发育和分化的基础<sup>[2,3]</sup>。Shh 信号通路常见抑制剂:直接抑制 Shh 蛋白活性如 Robotnikinin,与 Smo 受体结合抑制其活性的小分子调节剂 CUR-61414, Cyclopamine, HhAntag, SANT 等; Shh 信号通路常见激活

剂:与 Smo 受体结合而激活其活性的人工合成小分子物质如 purmorphamine 和 SAG。

## 2 Shh 信号通路在动物的眼球发育

Shh 信号通路在动物的视觉系统发育过程中发挥重要作用,包括视泡发育、视网膜分层、神经元及神经胶质分化、视神经轴突生长、晶状体发育等。

**2.1 Shh 信号通路参与视泡发育** 在视泡发育过程中,其远端内陷形成视杯,近端形成视茎。视网膜和视茎之间分界线由视泡腹侧来源的 Shh 通过调节 Pax2(上调)和 Pax6(下调)表达水平实现<sup>[4]</sup>。视网膜的腹背侧分界则是由腹侧来源的 Shh 和背侧来源的 BMP 共同决定。Shh 通过上调 Pax2 和 FGF8 的表达及抑制 Tbx5 表达决定视网膜的腹背侧分界;其中 FGF8 通过抑制 Mitf 和 Otx2 表达来抑制视网膜色素上皮发育,这种抑制作用具有剂量关系;BMP4 通过上调 Tbx5 和 Otx2 表达来促进视网膜色素上皮发育及决定视网膜的腹背侧分界<sup>[5]</sup>。

**2.2 Shh 信号通路参与视网膜发育调节** 研究发现敲除 Shh 基因小鼠视网膜的正常分层结构丧失;加入视网膜神经节细胞(RGC)来源的 Shh 可使体外培养的哺乳动物的视网膜异常结构恢复为正常分层结构;这些表明 Shh 对于诱导哺乳动物视网膜由内到外正常分层有重要作用<sup>[6]</sup>。分化成熟的 RGC 产生 Shh,可与视网膜神经节前体细胞上受体 Ptch1 结合而抑制其分化为成熟 RGC,由逆转录病毒介导的 Shh 过量表达可减少体内 RGC 数量,而用 Shh 抗体抑制内源性 Shh 活性可增加 RGC 数量;所以 Shh 信号通路对于控制视网膜发育时 RGC 适当数量很重要<sup>[7]</sup>。Stenkamp 等<sup>[8]</sup>发现视网膜色素上皮来源的 Shh 可通过上调转录因子 Rx1 表达诱导感光前体细胞分化为视杆、视锥细胞。Wallace 等<sup>[9]</sup>研究发现在视神经发育过程中,星形胶质细胞及其前体细胞表达 Shh 受体,如加入 Shh 抗体阻断 Shh 信号通路,可抑制星形胶质细胞增殖。Perron 等<sup>[10]</sup>往胚胎注射 cyclopamine 阻断 Shh 信号通路后,视网膜色素上皮(RPE)分化受抑制,可见 Shh 信号通路与 RPE 分化有关。

**2.3 Shh 信号通路参与视觉传导通路发育** 哺乳动物视交叉正常形成受 Shh 信号通路活性影响;在视交叉形成之后,Shh 信号通路引导视束向中枢投射。在体内抑制 Shh 信号通路活性,可使视神经多数交叉至对侧;如果增强 Shh 信号通路活性,可使视神经多数投射至同侧。编码 Shh 信号通路中信号分子 Shh, Gli2 和 Smo 的基因突变的动物模型均出现视神经中线交叉异常,可见 Shh 通路正常的活性对哺乳动物视交叉准确形成很重要<sup>[11,12]</sup>。

**2.4 Shh 信号通路参与晶状体发育调节** Shh 信号通路对晶状体发育有双重调节作用,胚胎发育早期 Shh 信号通路可抑制异位晶状体形成,而胚胎发育后期则促进晶状体的形成。Kondoh 等<sup>[13]</sup>研究发现,发生 yot 突变(编码异常的 Gli2 蛋白致 Shh 信号通路活性抑制)的胚胎斑马鱼出现腺垂体原基发育障碍,并在此产生异位晶状体。Cao 等<sup>[14]</sup>发现 yot 突变斑马鱼由于 Shh 信号通路不健全致晶

状体表达 Lc3 合酶显著下调,进而影响晶状体发育,甚至导致独眼畸形。

## 3 Shh 信号通路在眼球多种组织细胞的再生和修复中的作用

**3.1 Shh 信号通路在视网膜组织再生和修复中的作用** Moshiri 等<sup>[15]</sup>研究发现 Shh 信号通路激活后可促进出生后小鸡的睫状边缘区(CMZ)的神经干细胞增殖,并分化为视网膜神经细胞。Spence 等<sup>[16]</sup>研究发现,Shh 信号通路或 FGF-2 信号通路激活均可促进 CB/CMZ 区 PH3 阳性的细胞增殖;如果抑制这两条信号通路中的一条,CB/CMZ 区 PH3 阳性的细胞增殖均会受抑制;所以视网膜增生是由关系复杂的 Shh 信号通路和 FGF-2 信号通路共同调控 CB/CMZ 区干细胞的增殖实现的。周国民等<sup>[17]</sup>研究发现大鼠视网膜感光细胞损伤后,Shh 信号通路能通过上调 Müller 细胞周期蛋白 cyclinD1 和 cyclinD3 促进 Müller 细胞的增殖,还能通过下调凋亡激活酶 caspase-3 和 caspase-8 抑制 Müller 细胞的凋亡,并最终诱导 Müller 细胞向视杆细胞分化。上述表明 Shh 信号通路参与视网膜组织修复再生,探明其中机制为治疗视网膜退行性疾病特别是视网膜色素变性引起感光细胞损伤后的再生及视觉功能的修复提供新的思路。

**3.2 Shh 信号通路在晶状体再生中的作用** 在发育成熟的晶状体无 Shh 信号通路相关因子的表达;而在蝶螈晶状体再生过程中,从晶状体中可检测到 Shh 和 Ptch 等相关信号分子表达;如果抑制 Shh 信号通路可致晶状体的再生受阻,包括细胞增殖减少及再生晶状体泡的晶状体纤维分化受干扰<sup>[18]</sup>。

**3.3 Shh 信号通路在角膜上皮细胞再生和修复中的作用** 在眼表 Shh 主要表达于角膜缘基底细胞及结膜细胞;正常的角膜上皮细胞不表达 Shh,但有 Shh 受体的弱表达。当角膜上皮细胞受损后,2h 内角膜缘基底细胞 Shh 表达即增加,迁移的上皮细胞也可短暂表达 Shh;产生的 Shh 信号分子与迁移上皮细胞受体结合启动 Shh 信号传导,通过上调 cyclinD1 促进角膜上皮细胞增生以修复缺损的角膜上皮;另外添加外源性 Shh 也可促进体外培养的角膜上皮细胞增生<sup>[19]</sup>。可见通过激活 Shh 信号通路可能对治疗角膜损伤有一定帮助。

## 4 Shh 信号通路在眼科疾病

**4.1 Shh 信号通路与先天性眼科疾病** FASD 是一个包括小眼畸形在内的多器官发育缺陷的先天性疾病,与孕妇饮酒有关。Li 等<sup>[20]</sup>用低浓度乙醇处理发育中斑马鱼胚胎,斑马鱼可出现类似 FASD 发育缺陷;如果在上述实验中再添加胆固醇,斑马鱼无发育缺陷,推论可能是乙醇在体内抑制胆固醇合成,缺乏胆固醇修饰的 Shh 丧失功能致 Shh 信号传导受阻,而导致胚胎发育畸形;这提示 FASD 发病机制与 Shh 修饰缺陷有关。但近期 Kshyap 等<sup>[21]</sup>研究则认为添加胆固醇并不能扭转乙醇所致小眼畸形,而且乙醇也没有影响胚胎 Shh 和 Ptc2 的正常表达。所以 FASD 发病机制有待进一步研究。蹇蹇等<sup>[22]</sup>研究发现遗传性视网膜

色素变性(RCS)大鼠模型出生后60d的视网膜边缘生发区 Shh, Ptch1, Smo 和 Gli1 mRNA 表达水平较同龄正常对照组大鼠显著增高,同时标记视网膜细胞增殖的 Ki67 阳性细胞数显著增多;可见视网膜边缘生发区 Shh 信号途径的激活可能刺激该部位细胞短期的增殖。Pottin 等<sup>[23]</sup>发现南美洞鲈鱼在胚胎时腹侧来源的 Shh 过量表达可使 FGF8 因子的过早表达最终引起视网膜腹侧象限发育缺陷,这可能是洞鲈鱼视觉障碍机制。所以通过研究 Shh 信号通路可以了解眼科一些先天性疾病的病理机制,进而有助于早期发现,甚至预防及治疗这些疾病。

**4.2 Shh 信号通路与视网膜血管增生性疾病** Pola 等<sup>[24]</sup>研究发现,成年人体内的各种心血管组织均有可被激活的 Shh 信号通路,活化的 Shh 信号通路可诱导各种大血管的生成,增加老年小鼠缺血肢体的血供;体外实验证实 Shh 蛋白并不直接作用于血管内皮细胞,而是通过诱导间质间充质细胞表达包括血管内皮生长因子-1(VEGF-1)、血管生成素-1(angiotensin-1)、血管生成素-2(angiotensin-2)在内的血管生长因子间接促进血管增生。Fujii 等<sup>[25]</sup>研究发现,血管生成是由可促进血管成熟的血管生成素-1和可抑制血管生成素-1活性的血管生成素-2共同调节;其中 Shh 可促进血管生成素-1表达,而由内皮细胞产生成纤维生长因子-2(FGF-2)可促进血管生成素-2表达。Surace 等<sup>[26]</sup>发现视网膜脉络膜血管增生动物模型中,Shh 信号通路活性增强;而抑制 Shh 信号通路可抑制生理性及病理性视网膜血管增生。Walshe 等<sup>[27]</sup>体外牛视网膜血供增加可通过 Shh 信号通路及 Noth 信号通路协同作用,抑制血管内皮细胞凋亡和促进血管周细胞的凋亡。可见 Shh 信号通路异常活化在视网膜血管增生性疾病中起到重要作用,而通过抑制 Shh 通路活性可能是治疗糖尿病视网膜病变及老年性黄斑退化症等眼部血管增生性疾病的一个新方法。

**4.3 Shh 信号通路与屈光不正疾病** Qian 等<sup>[28]</sup>研究发现,形觉剥夺性近视模型小鼠眼球中 Shh 基因的表达水平及 Shh 信号通路活性均较正常对照组显著升高;激活 Shh 信号通路会使形觉剥夺性近视眼球和正常眼球的眼轴增长及折射率增大,致近视加重;抑制 Shh 信号通路会减少形觉剥夺性近视眼球眼轴及折射率,使近视减轻,抑制 Shh 信号通路会减少正常眼球眼轴及折射率致远视。杜艳蕾等<sup>[29]</sup>通过收集高度近视者外周血白细胞基因组 DNA,分析 Shh 基因全部3个外显子及邻近内含子,未发现任何变异,提示本组高度近视并非由 Shh 基因突变所致。可见屈光不正疾病可能与眼球局部 Shh 信号通路活性异常有关;也提示我们可通过调控 Shh 信号通路活性来治疗屈光不正疾病。

**4.4 Shh 信号通路与眼肿瘤** Neumann 等<sup>[30]</sup>研究发现,Shh 信号通路可启动细胞周期调节因子和抗凋亡因子等的转录,使细胞增殖及凋亡活性降低;如该通路异常激活可引发细胞异常增殖及凋亡活性降低,可能进一步诱发肿瘤的发生。目前已在多种肿瘤组织中发现 Shh 信号通路

活性明显增强;如果给予抑制 Shh 信号通路的药物后,肿瘤细胞增殖受抑制<sup>[31]</sup>。其中张浩等<sup>[32]</sup>发现在新鲜的视网膜母细胞瘤(Rb)组织中检测到 Shh 及其受体 Ptch 和 Smo 的表达,而在伴有明显钙化、坏死的 Rb 组织中未检测到这些因子表达;根据上述 Shh 信号通路在动物视网膜发育中的作用及其促使其他肿瘤发生的机制,可以推测 Shh 信号通路可能直接或通过影响基因或蛋白的表达间接作用于视网膜干细胞或过渡期细胞,抑制其向终末分化,导致了 Rb 的发生。Miyazaki 等<sup>[33]</sup>发现 Shh 信号通路抑制剂 cyclopamine 可抑制裸鼠体内的眼睫上皮肿瘤的分化,并诱导肿瘤细胞的凋亡。所以研究 Shh 信号通路,不仅可阐释眼科相关肿瘤一些发生机制,并且可为肿瘤的诊断及治疗提供新思路。

综上所述,Shh 信号通路在眼球的发育、眼球多种组织细胞的再生和修复、眼科多种疾病的发生发展有重要作用。通过深入研究 Shh 信号通路可以逐渐了解上述生理、病理现象的发生机制;通过调控 Shh 信号通路活性有助于相关眼科疾病的及时预防、早期诊断、合理治疗。

#### 参考文献

- 1 Pathi S, Pagan-Westphal S, Baker DP, et al. Comparative biological responses to human Sonic, Indian, and Desert hedgehog. *MechDev* 2001; 106(1-2):107-117
- 2 Porter JA, Young KE, Beachy PA, et al. Cholesterol modification of hedgehog signaling proteins in animal development. *Science* 1996; 274(5285):255-259
- 3 Testaz S, Jarov A, Williams KP, et al. Sonic hedgehog restricts adhesion and migration of neural crest cells independently of the Patched-Smoothed-Gli signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(22):12521-12526
- 4 Schwarz M, Ceconi F, Bemier G, et al. Spatial specification of mammalian eye territories by reciprocal transcriptional repression of Pax2 and Pax6. *Development* 2000; 127(20):4325-4334
- 5 Kobayashi T, Yasuda K, Araki M, et al. Coordinated regulation of dorsal bone morphogenetic Protein4 and ventral Sonic hedgehog signaling specifies the dorso-ventral polarity in the optic vesicle and governs ocular morphogenesis through fibroblast growth factor 8 upregulation. *Dev Growth Differ* 2010; 52(4):351-363
- 6 Wang YP, Dakubo G, Howley P, et al. Development of normal retinal organization depends on Sonic hedgehog signaling from ganglion cells. *Nat Neuro* 2002; 5(9):831-832
- 7 Zhang XM, Yang XI. Regulation of retinal ganglion cell production by sonic hedgehog. *Development* 2001; 128(6):943-957
- 8 Stenkamp DL, Frey RA, Prabhudesai SN, et al. Function for hedgehog genes in zebrafish retinal development. *Dev Biol* 2000; 220(2):238-252
- 9 Wallace VA, Raff MC. A role for Sonic hedgehog in axonotomycyte signalling in the rodent optic nerve. *Development* 1999; 126(13):2901-2909
- 10 Perron M, Boy S, Amato MA, et al. A novel function for Hedgehog signalling in retinal pigment epithelium differentiation. *Development* 2003; 130(8):1565-1577
- 11 郝彦利,陈新安,董为人,等. Shh 对发育中小鼠视觉传导通路的影响. *南方医科大学学报* 2006; 26(12):1679-1684
- 12 Sánchez-Camacho C, Bovolenta P. Autonomous and non-autonomous

- Shh signalling mediate the *in vivo* growth and guidance of mouse retinal ganglion cell axons. *Development* 2008;135(21):3531-3541
- 13 Kondoh H, Uchikawa M, Yoda H, *et al.* Zebrafish mutations in Gli-mediated hedgehog signaling lead to lens transdifferentiation from the adonohypophysis anlage. *Mech Dev* 2000;96(2):165-174
- 14 Cao Y, Zhao J. Expression of zebrafish Lc3 synthase gene in embryonic lens requires hedgehog signaling. *Dev Dyn* 2003;228(3):308-312
- 15 Moshiri A, McGuire CR, Reh TA, *et al.* Sonic hedgehog regulates proliferation of the retinal ciliary marginal zone in post hatch chicks. *Dev Dyn* 2005;233(1):66-75
- 16 Spence JR, Aycinena JCI. Fibroblast growth factor-hedgehog interdependence during retina regeneration. *Dev Dyn* 2007;236(5):1161-1174
- 17 周国民, 万瑾. 大鼠视网膜 Muller 细胞的干细胞特性及其 Sonic Hedgehog 信号调节机制的研究. 复旦大学博士学位论文 2007;1-142
- 18 Tsonis PA, Vergara MN, Spence JR, *et al.* A novel role of the hedgehog pathway in lens regeneration. *Dev Biol* 2004;267(2):450-461
- 19 Saika S, Muragaki Y, Okada Y, *et al.* Sonic hedgehog expression and role in healing corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(8):2577-2585
- 20 Li YX, Yang HT, Zdanowicz M, *et al.* Fetal alcohol exposure impairs Hedgehog cholesterol modification and signaling. *Lab Invest* 2007;87(3):231-240
- 21 Kshyap B, Fre RA, Stenkamp DL, *et al.* Ethanol-Induced Microphthalmia is Not Mediated by Changes in Retinoic Acid or Sonic Hedgehog Signaling During Retinal Neurogenesis. *Alcohol ClinExp Res* 2011;35(9):1644-1661
- 22 蹇蹇, 徐海伟. RCS 大鼠自然病程中视网膜边缘生发区细胞增殖及 Shh/Ptc 信号途径改变的观察. 第三军医大学学报 2009;31(11):997-1001
- 23 Pottin K, Hinaux H, Retaux S, *et al.* Restoring eye size in Astyanaxmexicanus blind cavefish embryos through modulation of the Shh and Fgf8 forebrain organizing centres. *Development* 2011;138(12):2467-2476
- 24 Pola R, Ling LE, Silver M, *et al.* The morphogen Sonic hedgehog is an indirect angiogenic agent upregulating two families of angiogenic growth factors. *NatMed* 2001;7(6):706-711
- 25 Fujii T, Kuwano H. Regulation of the expression balance of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 by Shh and FGF-2 *in vitro* cell. *Dev Biol Anim* 2010;46(6):487-491
- 26 Surace EM, Balaggan KS, Tessitore A, *et al.* Inhibition of Ocular Neovascularization by Hedgehog Blockade. *Mol Ther* 2006;13(3):573-579
- 27 Walshe TE, Connell P, Cryan L, *et al.* Microvascular retinal endothelial and pericyte cell apoptosis *in vitro*: role of hedgehog and Notch signaling. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;23:52(7):4472-4483
- 28 Qian YS, Chu RY, Hu M, *et al.* Sonic hedgehog expression and its role in form-deprivation myopia in mice. *Curr Eye Res* 2009;34(8):623-635
- 29 杜艳蕾, 郭向明, 向学珊, 等. SHH 基因在高度近视患者中的突变研究. 眼科研究 2004;22(3):305-307
- 30 Neumann CJ. Hedgehogs as negative regulators of the cell cycle. *Cell Cycle* 2005;4(9):1139-1140
- 31 Cheng WT, Xu K, Tian DY, *et al.* Role of Hedgehog signaling pathway in proliferation and invasiveness of hepatocellular carcinoma cells. *Int J Oncol* 2009;34(3):829-836
- 32 张浩, 颜建华, 李永平. Hedgehog 信号分子在视网膜母细胞瘤中的表达. 中山大学学报 2007;28(3S):24-26
- 33 Miyazaki K, Saika S, Yamanaka O, *et al.* Treatment of eyelid epithelial neoplasm by targeting sonic hedgehog signaling: an experimental study. *Jpn J Ophthalmology* 2006;50(4):305-311