

DOI: 10.13376/j.cbls/2017121

文章编号: 1004-0374(2017)09-0908-08



陈兰芬, 博士, 厦门大学生命科学学院教授。1993—2000年厦门大学本科和硕士、2001—2006年美国爱因斯丹医学院博士、2007—2012年美国哈佛大学医学院博士后; 2013年获得国家“青年千人计划”资助、2015年获得国家自然科学基金委“优秀青年基金项目”资助、特聘为福建省“闽江学者”教授。长期从事炎症和免疫疾病发生, 以及肿瘤发生发展的分子机制和功能研究, 近五年以通讯作者在 *Cancer Cell*、*Nat Immunol*、*Nat Commun*、*Cell Rep* 等期刊上发表多篇研究论文。

## Hippo信号通路相关分子参与免疫 细胞功能调控的研究进展

耿晶<sup>#</sup>, 洪丽欣<sup>#</sup>, 陈兰芬<sup>\*</sup>

(厦门大学生命科学学院, 厦门 361102)

**摘要:** Hippo 信号通路是最早在果蝇 (*Drosophila*) 中发现的, 在进化上高度保守, 具有调控细胞增殖与凋亡作用的一条关键信号转导通路。在哺乳动物中, Hippo 信号通路在调控细胞增殖、细胞死亡、细胞分化和肿瘤生成等生物学过程中有着十分重要的作用。近年来, Hippo 信号通路在免疫系统以及多种功能性免疫细胞中发挥的重要作用逐渐成为该领域的研究热点, 特别是 Hippo 信号通路各成员在免疫细胞应对病毒、细菌入侵或肿瘤发生以及维持自身稳态过程中发挥着重要的作用。因此, 深入了解 Hippo 信号通路各成员对多种功能性免疫细胞的调控机制, 有助于绘制新的免疫系统调控网络, 阐明各类免疫系统相关疾病的发病机制, 期望为诊断、治疗和预防相关疾病提供新的治疗策略或靶点。

**关键词:** Hippo 信号通路; 免疫细胞; 免疫治疗

**中图分类号:** Q257; R392.1

**文献标志码:** A

### Research advances in functions of Hippo signaling in the immune system

GENG Jing<sup>#</sup>, HONG Li-Xin<sup>#</sup>, CHEN Lan-Fen<sup>\*</sup>

(School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

**Abstract:** The Hippo signaling pathway was first discovered as a result of genetic studies of tissue growth in *Drosophila* to mediate organ size control. This pathway is evolutionally conserved and the orthologs to its main components have been identified in mammals respectively. The Hippo signaling pathway consists of a core kinase cascade which plays central roles in the Hippo pathway controlling the cell proliferation, apoptosis, and

收稿日期: 2017-06-01; 修回日期: 2017-06-15

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(“973”项目)(2017YFA0504502, 2015CB910502); 国家自然科学基金项目(81422018, 81472229和31600698)

<sup>#</sup>共同第一作者

<sup>\*</sup>通信作者: E-mail: chenlanfen@xmu.edu.cn

differentiation during development and tumorigenesis. In recent years, numerous studies reported that Hippo signaling also plays diverse and important roles in the immune system. In this review, we summarize recent findings related to the new function of core components of the Hippo signaling pathway in immune regulation. A better understanding of how Hippo signaling regulated the immune function will help us to draw a novel immune regulatory network and provide a new treatment strategies or targets for immune-related diseases.

**Key words:** the Hippo signaling pathway; immune cells; immunotherapy

在动物的生长和组织发育中, 对于组织或器官的大小的调控是十分重要的。在此过程中, 细胞数量和多种细胞类型发育分化调控的协同进行是完成组织、器官和动物整体的形态和功能所必需的。Hippo 信号通路最初是在果蝇中发现的, 在进化上高度保守的, 调控细胞的增殖、死亡和分化的信号转导通路。大量的研究表明, 该通路能够转导从细胞膜到细胞核的生长抑制性信号, 从而调控下游基因的表达, 对细胞的生长、增殖和凋亡有重要作用, 也参与调控组织器官的大小和再生以及胚胎期组织或器官的形成, 同时也与正常细胞向肿瘤细胞癌变过程有着直接的关系<sup>[1-2]</sup>。近年来, Hippo 信号通路各成员在免疫系统以及多种功能性免疫细胞中也发挥着重要的调控作用, 相关的分子机制研究逐渐成为该领域的研究热点, 特别是 Hippo 信号通路各成员在自身免疫性疾病, 应对病毒、细菌入侵的免疫防御, 以及免疫监控等免疫系统的稳态调控过程中的作用机制。本综述主要从 Hippo 信号通路的主要成员及其上游周边的相关组分入手, 探讨泛 Hippo 信号通路在免疫系统中的调控作用, 期望为诊断、治疗和预防相关疾病提供新的诊治靶点。

## 1 经典的Hippo信号通路分子机制

Hippo 信号通路是一条在进化上十分保守的生长抑制性信号通路, 在调控细胞增殖和分化中发挥着重要的作用。Hippo 信号通路最早是在果蝇中被发现的, 该通路的核心是两个蛋白激酶复合物, Hippo(Hpo)/Salvador(Sav)复合物及其下游的 Warts (Wts)/Mats 复合物, 和下游的转录共激活因子 Yorki (Yki) 及其结合的转录因子 Scalloped(Sd)。Hippo 信号通路的核心成员在哺乳动物中都有相对应的蛋白分子, 其中 Hpo、Sav、Wts、Mats、Yki 和 Sd 在哺乳动物中的同源蛋白分别是 Ste20-like kinases 1/2 (MST1/2)、Sav1、Large tumor suppressor 1/2 (LATS1/2)、MOBK1A/MOBK1B (MOB1)、Yes-associated protein (YAP)/ Transcriptional coactivator with PDZ-binding motif (TAZ) 和 TEA domain family (TEAD/TEF) 家族

的 TEAD。STE20 家族的蛋白激酶——MST1/2, 能够磷酸化并激活下游蛋白 SAV1、LATS1/2 和 MOB1。MST1/2 和 SAV1 都具有 SARAH (Sav/Rassf/Hpo) 结构域, 它们能够相互作用, 其中 SAV1 的生理学功能是作为构架蛋白, 这种稳定的构架作用可以提高 MST1/2 的激酶活性, 增强 MST1/2 对 LATS1/2 的直接磷酸化, 而这种磷酸化作用对于 LATS1/2 的激活是必需的<sup>[3-4]</sup>。当 MOB1 被 MST1/2 磷酸化后, 能够加强其在 LATS1/2 的自抑制结构域的结合作用, 增加 LATS1/2 蛋白的磷酸化水平, 从两方面大大增强 LATS1/2 的激酶活性<sup>[5]</sup>。

Hippo 信号通路的下游效应因子 YAP 或 TAZ 属于转录共激活蛋白, 它们本身有转录共激活活性, 但无法与 DNA 直接结合, 因此必须与 TEAD 等转录因子相互作用才能介导下游靶基因的表达调控。活化的 LATS1/2 能够直接结合和磷酸化 YAP<sup>[6-7]</sup>。LATS 蛋白是属于 ACG 家族中的一种激酶, 能够识别和磷酸化具有 HXRXXS 保守序列的蛋白。LATS1/2 通过 PPXY 基序与 YAP 的 WW 结构域相互作用<sup>[8]</sup>, 同时, 直接磷酸化 YAP 蛋白上的五个 HXRXXS 位点中的末位丝氨酸<sup>[9]</sup>。磷酸化的 YAP 与 14-3-3 蛋白相互作用而被保留在细胞浆无法进入细胞核, 抑制其转录共激活作用, 从而下调了受 YAP 调控的下游靶基因的转录水平<sup>[9]</sup>。YAP 的同源物 TAZ 蛋白上的也有多个可以被 LATS1/2 磷酸化的 HXRXXS 位点, 同样也会受 Hippo 信号通路的调控<sup>[7,10-11]</sup>。如果 Hippo 信号通路的上游激酶级联反应受到阻断, YAP 处于低磷酸化, 甚至去磷酸化状态, 就可以进入细胞核行使其转录共激活功能, 促进其下游靶基因的转录<sup>[7,10-12]</sup>。另一方面, YAP 的不同磷酸化状态也会影响 YAP 蛋白的稳定性。上游激酶 LATS1/2 对 YAP 蛋白 Ser381 位或 TAZ 蛋白 Ser311 位进行磷酸化, 将进一步触发酪氨酸蛋白激酶 CK1 的磷酸化, 招募 E3 泛素连接酶  $\beta$ -TRCP, 对 YAP 蛋白进行泛素-蛋白酶体降解<sup>[8,13]</sup>。因此, Hippo 信号通路对下游效应因子 YAP 的调控主要是通过控制其磷酸化或去磷酸化水平和 YAP 的蛋白

稳定性来实现的(图1)。

## 2 多重上游信号转导蛋白对免疫相关细胞的功能调控

果蝇中, Hippo 信号通路的主要上游信号分子包括钙黏蛋白 FAT 和一些其他的膜结合蛋白。因此, 跨膜钙黏蛋白 FAT1~4 和 DCHS1 ( 又称 PCDH16、CDH19、CDH25 或 FIB1), 膜内侧膜连蛋白 NF2、WWC1 ( 又称 KIBRA) 和 PTPN14 等<sup>[14-17]</sup>, 以及最近报道的 G 蛋白偶联受体(G protein coupled receptor, GPCR) 家族都被认为是 Hippo 信号通路可能的主要上游信号转导蛋白<sup>[18]</sup>, 然而对于这些蛋白在免疫系统中功能作用却鲜有系统报道, 而且这些蛋白对免疫系统相关细胞的调控可能并不通过经典的 Hippo 信号通路核心成员。

Van Hateren 等<sup>[14]</sup>发现 FAT4 可以通过 YAP 调控脊髓大小和功能, 敲除 YAP 和 TEAD4 则可以恢复 Fat4 缺失的表型。FAT1 和 FAT3 的遗传突变与早期 T 细胞前体急性淋巴细胞白血病 (ETP-ALL) 的发病呈正相关性, 研究表明当 FAT1 和 FAT3 发生突变时会影响细胞的黏附和 Wnt 信号通路的激活等, 对于调控早期 T 细胞前体的稳态发挥着重要的功能<sup>[19]</sup>。NF2 在维持肝细胞和胆管细胞稳态中有重要功能, NF2 缺失会导致肝细胞癌和胆管错构瘤<sup>[17]</sup>。NF1 和 NF2 在人类单核细胞白血病 (JMML) 和幼年型黄色肉芽肿病 (JXG) 中有较高频率的突变现象,

在发病的儿童中如果存在 NF1 突变并同时患有 JXG 时, JMML 的发病几率将大大增加<sup>[20]</sup>。2012 年, Wang 等<sup>[15]</sup>发现 PTPN14 能调控 YAP 的核质转运和由 YAP 介导的细胞增殖, 而这一作用是通过与 YAP 的直接相互作用来实现的。在淋巴管的发育过程中, PTPN14 也有着重要的功能, PTPN14 缺失的小鼠模型中出现了淋巴管畸形生长和淋巴管水肿等现象, 后续研究发现, 淋巴管的正常生长需要 PTPN14 与 VEGFR3 的相互作用来完成, 这对于淋巴管的生成至关重要<sup>[21]</sup>。

GPCR 是一个庞大的细胞表面跨膜受体家族, 已经发现 800 多个成员, 参与多种生命活动以及内分泌与代谢等多种生理过程, 同时与糖尿病、心脏病、肿瘤、免疫疾病等重要疾病的发生、发展及治疗密切相关<sup>[22]</sup>。Yu 等<sup>[18]</sup>研究发现, 血清溶血磷脂酸 (LPA) 和鞘氨醇磷酸酯 (S1P) 能够通过 G12/13 偶联受体抑制激酶 LATS1/2 的活性, 从而促进 YAP 和 TAZ 的转录共激活作用; 此外, 胰高血糖素或肾上腺素激活的 Gs 偶联受体能促进激酶 LATS1/2 活化, 从而抑制 YAP 和 TAZ 的功能。这表明 Hippo 信号通路会受到 G 蛋白偶联受体信号的调控。Borchers 等<sup>[23]</sup>研究发现, Gαq 缺陷小鼠经过抗原刺激后表现出嗜酸性细胞在肺部的募集缺陷, 这说明 Gαq 可能与细胞迁移途中的粒细胞 GM-CFS 生成抑制有关。Misra 等<sup>[24]</sup>研究发现, Gαq 对 B 细胞发育过程中的选择分化和其自身依赖的自身免疫反应都具有显著的调控作用, 在外周免疫系统中 Gαq 通过调控 T1 B 细胞数量进一步调控边缘 B 细胞前体细胞的分化, 进而调控成熟的边缘 B 细胞和滤泡 B 细胞的分化。然而, Gαq 在这些细胞中功能作用是否依赖于 Hippo 信号通路还有待于进一步研究。

## 3 核心激酶级联反应复合物对免疫细胞功能调控

激酶 MST1/2、LATS1/2、NDR1/2 和构架蛋白 SAV1、MOB1 等构成哺乳动物 Hippo 信号通路激酶级联反应的核心, 它们之间通过特定的保守结构 (SARAH 结构域、WW 结构域、PPXY 或 PPXF 基序或磷酸化位点) 相互作用并形成复合物, 进而调控下游效应因子。MST1 或 MST2 在小鼠全身性单独敲除都不会引发组织过度生长和肿瘤的发生, 而在双敲除时则在早期胚胎致死<sup>[25]</sup>。MST1 和 MST2 激酶在胸腺、脾脏和淋巴系统中大量表达, 在小鼠的造血细胞中条件性敲除 *Mst1/2* 基因, 导致

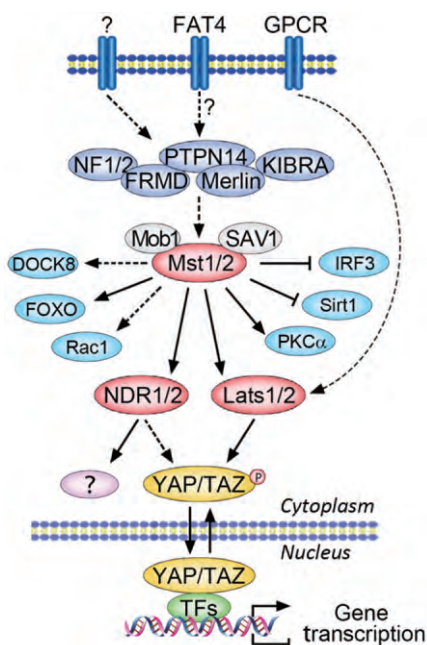


图1 Hippo信号通路模式图



小鼠严重的免疫缺陷,机体易受病原体感染并伴随着严重自身免疫疾病<sup>[26-28]</sup>。2012年,法国与德国研究人员分别报道了一类由于 *Mst1* 基因功能缺失突变造成的人类家族遗传性的免疫缺陷综合征,患者以淋巴细胞和嗜中性粒细胞减少为主要特征,极易发生多种病原体感染,例如多发性细菌或病毒感染、黏膜与皮肤的念珠菌感染、皮肤出现化脓性肉芽或脓肿,并且伴随各类自身免疫性疾病等症<sup>[29-30]</sup>。这些研究都表明, *MST1/2* 激酶在天然免疫和获得性免疫系统中都发挥着重要的调控作用。

与野生型小鼠相比, *MST1* 缺失的小鼠表现出粒细胞减少、T细胞和B细胞数目总量下降、脾脏中皮质和髓质的界限不明和外周血中初始T细胞 ( $CD62L^{hi}CD44^{lo}$ ) 的数量也明显降低,而在肝脏或肺中的效应和记忆T细胞 ( $CD62L^{lo}CD44^{hi}$ ) 的比例则明显升高。这个现象表明 *MST1* 对于维持T细胞稳态是十分重要的<sup>[27-28]</sup>。与 *MST1* 缺失小鼠相比较,全身敲除 *MST2* 的小鼠并没有出现淋巴细胞数量的明显变化。然而,在全身性敲除 *MST1* 的基础上再特异性敲除造血干细胞中 *MST2* 则会进一步降低T细胞数量<sup>[26]</sup>,而且这种由 *Mst1/2* 同时敲除造成的免疫细胞缺陷表型也只有在回补野生型 *MST1*,而非激酶失活型 *MST1*,才能得以恢复<sup>[26]</sup>。这些结果表明,在淋巴细胞中 *MST2* 可能代偿 *MST1* 的功能, *MST1/2* 的激酶活性在淋巴细胞稳态调控中起决定性作用。在 *MST1* 缺失小鼠中,初始T细胞能够积极响应TCR激活诱导的增殖和凋亡,而在T细胞中回补 *MST1* 可以下调效应T细胞和记忆T细胞的数量,因此, *MST1* 在未分化T细胞中可能是决定其是否活化的重要检查关卡分子<sup>[27]</sup>。在T细胞中敲除 *MST1* 几乎不会影响 *LATS1/2* 的C末端磷酸化和自身磷酸化,也不会影响 *YAP* 的磷酸化,但是 *MST1/2* 下游的 *MOB1* 磷酸化几乎完全消失,该结果预示着 *MST1* 可能通过调控 *MOB1* 的激活发挥着诱导未分化T细胞增殖的作用<sup>[27]</sup>。 *MST1/2* 的缺失并不影响胸腺中T细胞的发育,只是发现在 *MST1/2* 缺失后胸腺的尺寸有略微变小的现象,这可能是由于处于双阳性期的细胞 *MST1/2* 激酶的表达量过低而造成的<sup>[26]</sup>。

*MST1* 或 *MST1/2* 同时缺失的T细胞表现出黏附功能、归巢功能和迁移功能的缺陷<sup>[26,28,31]</sup>。在 *MST1/2* 敲除小鼠中,胸腺细胞向外周免疫器官的迁出受阻,导致未分化T细胞在胸腺内的堆积,外周血中未分化T细胞数量显著降低。这些小鼠外周

B细胞数量也有明显缺陷,尤其是脾脏边缘区B细胞数量显著减少、黏附和迁移性都受到很大影响<sup>[26-28]</sup>。在趋化因子或TCR的刺激下,整合素LFA-1可以在极化的细胞前缘成簇并通过胞浆区的 $\alpha L$ 链与RAPL分子相互作用,通过胞内信号依赖的方式促进细胞的迁移。多项研究表明, *MST1/2* 通过 *Rap1-PALP-Mst1* 信号通路参与了LFA-1介导的T细胞运动和迁移<sup>[31-34]</sup>。此外, *Rab13* 也参与了 *MST1* 调控淋巴细胞极化和迁移的过程,与RAPL或者 *MST1* 缺陷小鼠类似, *Rab13* 缺陷小鼠也存在着淋巴细胞迁移缺陷<sup>[34]</sup>。在趋化因子的刺激下, *MST1* 通过促进磷酸化 *DENND1C*, *Rab13* 的鸟苷酸交换因子 (GEF), 来激活 *Rab13*, 并与活化的 *Rab13* 形成复合物,促进LFA-1运输到淋巴细胞前缘。与此同时, *MST1* 通过加强 *VASP* 的磷酸化进而促进F-actin的多聚化,而 *VASP* 分子的活化对于 *Rab13* 依赖的LFA-1囊泡运输至关重要<sup>[35]</sup>。此外,也有研究表明 *MST1* 可以和 *RIAM*、*Kindlin-3* 及 *Talin* 一起与LFA-1的 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链相互作用,协同 *CCR7* 激活LFA-1来调控T细胞的黏附和迁移<sup>[36]</sup>。在胸腺细胞中表达大量的用于维持小G蛋白 *Rac1/2* 活性的GEFs,例如 *DOCK8* 等。本课题组早期的研究也发现,在 *MST1/2* 缺失的单阳性 (SP) 胸腺细胞中,趋化因子诱导活化的小G蛋白家族的 *RhoA* 和 *Rac* 的激活以及细胞骨架蛋白极化都受到明显抑制<sup>[26]</sup>。 *MST1* 及 *MST2* 可以通过磷酸化激活 *MOB1*, 继而活化 *DOCK8* 促进 *Rac1* 的激活,来调节肌动蛋白多聚化和T细胞迁移,因此, *MST1/2* 介导的 *Rac1* 活化可能是调控胸腺内T细胞向外周免疫器官迁出的决定性因素<sup>[26]</sup>。

多个研究报道, *MST1/2* 在T细胞亚群,如各类辅助性T细胞 (Th) 和调节性T细胞 (Treg) 的分化发育中发挥重要的调控作用。Du等<sup>[37]</sup> 的研究表明, *MST1* 激酶通过直接磷酸化转录因子 *Foxo1/3* 增强其的稳定性,或通过磷酸化 *Akt* 间接增强 *Foxo1/3* 的稳定性,从而促进转录因子 *Foxp3* 表达和Treg发育。该课题组的后续研究还发现 *MST1* 可以通过抑制 *Sirt1* 的活性来增强 *Foxp3* 的乙酰化水平,从而直接提高 *Foxp3* 的稳定性和其转录活性<sup>[38]</sup>。 *MST1/2* 也可以调控Treg细胞的免疫抑制活性, *MST1* 缺失的Treg细胞无法阻断或缓解小鼠中实验性肠炎的发生以及体外抗原或TCR引发的T细胞的增殖。也有研究表明, *MST1* 缺失的Treg细胞与抗原递呈树突状细胞 (DC) 相互连接不足,无法下调DC上共激活分子如 *CD86* 分子,最终导致

Treg 的接触抑制功能受损<sup>[39]</sup>。本课题组的最新研究发现, MST1/2 缺失小鼠可能是通过下游的共转录激活因子 TAZ 来协同调控 Th17 和 Treg 的发育分化<sup>[40]</sup>。此外, 也有研究表明 DC 细胞中的 MST1 也可以间接影响 Th17 细胞的分化和功能。MST1 缺失的 DC 细胞中, P38 活性增强而导致 DC 的 IL-6 表达量升高, 也可以显著增强其目标 T 细胞 IL-6R $\alpha$  和 IL-6R $\beta$  的表达和促进目标 T 细胞内 IL-6R-p-STAT3 信号通路的活化。该项研究还发现, 在 MST1 缺失的 DC 细胞中同时敲除 IL-6 可以缓解 MST1 缺失的 DC 细胞造成的 Th17 分化增加表型<sup>[41]</sup>。

MST1/2 激酶在天然免疫系统中同样发挥着重要的功能。本课题组研究发现, TLR1/2/4 受体可以激活 Hippo 信号通路, Mst1/2 直接磷酸化和激活 PKC $\alpha$ , 从而进一步活化小 G 蛋白家族 Rac 来激活 NADPH 氧化酶, 以及协同募集胞内线粒体靠近吞噬泡从而释放大量的活性氧 (ROS), 杀伤和清除吞噬泡中病原体<sup>[43]</sup>。Li 等<sup>[44]</sup>也报道了在巨噬细胞中, MST1 和 IRAK1 相互作用, 磷酸化 IRAK1 并促进 IRAK1 降解, 降低 TLR4/9 诱导的炎症因子 IL-6 等的表达水平和增强了 TLR3/4 诱导的 IFN- $\beta$  的表达, 因此, MST1 可以通过调控巨噬细胞中由 TLR3/4/9 介导的炎症反应, 来降低或抵抗由慢性炎症引起的相关肝癌的发生。Meng 等<sup>[44]</sup>则发现 MST1 激酶, 而非 MST2 激酶会抑制细胞对胞浆内核苷酸的感应能力, 其中, MST1 可以与转录因子 IRF3 相结合并磷酸化其第 75 和 253 位点的苏氨酸, 致使 IRF3 丧失其 DNA 结合和同源双聚化的能力; 另外通过抑制由 RNA 病毒诱导的 TBK1 激酶的活化, 也可进一步抑制 IRF3 的功能, 因此 MST1 可以双方面实现对细胞抗病毒信号通路的负调控。此外, 在结核杆菌感染过程中, TLR2 通过 IRAK1/4 信号通路激活 MST1/2, 从而调控趋化因子 CXCL1 和 CXCL2 的表达。其中结核杆菌激活的 IRAK1 和 IRAK4 可以直接和 MST1/2 相互作用, 而活化的 MST1 通过其非经典的下游效应分子 IRF3 来调控 CXCL1 和 CXCL2 的表达, 整个过程不依赖于 LATS1 的活性<sup>[45]</sup>。

NDR 蛋白激酶家族是蛋白激酶 AGC 家族的一个亚家族, 属于进化上高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员, 目前发现的人类 NDR 激酶家族包括 NDR1 (又称 STK38)、NDR2 (又称 STK38L)、LATS1 和 LATS2 四个成员。NDR 蛋白激酶表达较为广泛, 其主要通过激酶活性来调节细胞的功能和参与细胞增殖与分化<sup>[46]</sup>。Tang 等<sup>[47]</sup>发现 NDR1/2

的缺失也会引发发育成熟的 Naive T 细胞在外周淋巴组织中的数量明显减少, 而堆积在胸腺中无法迁出的表型, 这与 MST1 在胸腺细胞中缺失的表型一致, 也进一步证明了 Hippo 信号通路核心激酶 MST1/2 和 NDR 在调节 T 细胞迁移中的重要作用。NDR1 在调节天然免疫应答中也起着重要的作用, Wen 等<sup>[48]</sup>发现当 NDR1 敲除后, 由 TLR9 受体介导的 NF $\kappa$ B-MAPK 信号通路活化增强, 进一步的研究发现 NDR1 能够参与该信号通路关键激酶 MEKK2 的降解, 进而减弱该信号通路的激活和相应细胞因子的产生。Devroe 等<sup>[49]</sup>研究发现 NDR1 和 NDR2 在发生人类免疫缺陷病毒 I 型 (HIV-1) 感染时, 会被 HIV-1 蛋白酶在 439 位缬氨酸-苯丙氨酸 (Val-Phe) 位点进行切割, 从而改变 NDR2 的亚细胞定位并且抑制了激酶活性, 暗示 NDR 激酶可能参与了 HIV-1 在宿主细胞内的侵染和复制过程。Cornils 等<sup>[50]</sup>发现当用凋亡刺激物刺激胸腺细胞时, NDR1 被大量活化, 进一步发现 NDR1 敲除鼠在致癌物诱导下更易发生外周 T 细胞淋巴瘤, 表明 NDR1 在调节 T 细胞稳态中扮演了重要的角色。LATS1 和 LATS2 在免疫系统中的功能鲜有报道, 最近 Moroishi 等<sup>[51]</sup>研究发现, 在黑色素瘤细胞中敲除 LATS1/2 后接种于小鼠身上, 与未敲除 LATS1/2 的肿瘤细胞相比较, LATS1/2 缺失的肿瘤细胞不仅不会长的更大或更快, 反而成瘤性显著减弱, 甚至肿瘤完全消失。这一功能是因为 LATS1/2 可以抑制肿瘤细胞分泌外泌体, 减少 TLR/Myd88 依赖的 I 型干扰素的分泌, 而后者对于激发 T 细胞抗肿瘤免疫反应至关重要。LATS1/2 敲除能够诱导更多含核酸外泌体的释放, 刺激机体的天然免疫防御机制活化, 增强抗肿瘤免疫应答, 进而使肿瘤的免疫逃逸机制失效。因此, 一直以来被认为是肿瘤抑制因子的 LATS1/2 却在体内通过抑制肿瘤免疫来加剧肿瘤的生长<sup>[51]</sup>。该成果暗示了 Hippo 信号通路在肿瘤发生发展和调节肿瘤免疫方面可能都发挥着重要的作用, 在针对 Hippo 信号通路成员的靶向药物设计和运用时, 要多方位考虑其在肿瘤生长调控和肿瘤免疫调节中的综合效应。

#### 4 下游转录共激活效应因子对免疫细胞功能调控

YAP/TAZ 是 Hippo 信号通路下游主要的转录共激活因子, 序列分析显示它们属于同源蛋白, 都包含了 WW 结构域、14-3-3 结合域、卷曲螺旋结构



以及 C 末端的 PDZ 结合域, 这些基序 (motif) 与结构对它们的转录共激活功能有着十分重要的作用。YAP 是一种原癌蛋白, 具有强烈促进细胞增殖的作用, Morin-Kensicki 等<sup>[52]</sup>发现全身敲除 YAP 的小鼠在胚胎期 8.5 d 时就已经死亡, 主要表现为卵黄囊血管缺陷、绒毛膜尿囊融合缺陷和体轴伸长缺陷等; 而全身性敲除 TAZ 的小鼠可以存活, 但部分小鼠有发生肺病或肾病的倾向<sup>[53]</sup>。在生理条件下, YAP/TAZ 能与多种转录因子相互作用, 增强或抑制它们的 DNA 转录活性, 其中 TEAD 是 YAP/TAZ 的主要转录因子, 主要行使促进细胞增殖的功能<sup>[54-55]</sup>。

本课题组最近的研究发现, 用 KLH 处理野生型和 T 细胞特异性 TAZ 敲除小鼠, 分析其淋巴结中多种 T 细胞亚型的组成比例时发现, 在 T 细胞 TAZ 敲除鼠中, Th17 细胞比例明显下降, 而 Treg 细胞比例则明显升高<sup>[40]</sup>。更重要的是, 通过分析类风湿性关节炎和干燥综合征患者的外周血记忆性 T 细胞后发现, TAZ 与 Th17 细胞的核心转录因子 ROR $\gamma$ t 的表达呈正相关。进一步研究发现, 诱导 Th17 细胞分化的两大信号 IL-6 和 TGF- $\beta$  下游的转录因子 Smad3 和 STAT3 能协同促进 TAZ 基因的转录和表达, 因此在小鼠或人的 CD4<sup>+</sup> 初始 T 细胞分化为促进炎症的 Th17 效应细胞过程中, TAZ 表达都显著上调。利用超高分辨率显微镜观察和生化手段验证后发现, 多聚化的 TAZ 能够同时与 ROR $\gamma$ t 和 Foxp3 形成复合物, TAZ 能够促进 ROR $\gamma$ t 转录活性但抑制 Foxp3 的功能, 从而促进 TH17 细胞的分化和减弱 Treg 细胞的产生。此外, 在初始 T 细胞分化为 Treg 细胞时, TEAD1 的表达量明显上升, 并且与 ROR $\gamma$ t、Foxp3 或 TEAD1 相比, TAZ 与 TEAD1 具有更高的亲和力, 从而阻断了 TAZ 与 ROR $\gamma$ t 或 Foxp3 的相互作用, 继而增强了初始 T 细胞分化为 Treg 细胞的能力。进一步通过小鼠模型和细胞体外分化发现, 当缺失 TAZ 或过表达 TEAD1 后, 可以大幅提高初始 T 细胞分化为 Treg 细胞的能力, 然而在初始 T 细胞中过表达 TAZ, 特别是突变与 TEAD1 作用位点的 TAZ 突变体后, 能显著增强其分化为 Th17 细胞的能力<sup>[40]</sup>。因此, 对于 TAZ 在调控获得免疫 T 细胞中功能的研究, 可能为早期诊断和治疗慢性炎症性疾病及自身免疫性疾病等提供可能的分子标记物和治疗靶向<sup>[40]</sup>。

对于 Hippo 通路下游另一重要的转录共激活因子 YAP 的研究, 目前主要集中于其在天然抗病毒免疫中的作用。最近, Wang 等<sup>[56]</sup>研究报道发现,

YAP 能够负调控机体的抗病毒免疫反应, 敲除 YAP 能够增强机体的天然免疫能力, 减少体内病毒载量和发病率。YAP 主要是通过抑制转录因子 IRF3 的二聚化, 从而阻断了 IRF3 在病毒感染后进入细胞核的过程。此外, 该研究还发现 YAP 独立于 Hippo 和 LATS1/2 调控的新机制, 即病毒活化的 IKK $\epsilon$  能促进 YAP 的 Ser403 位点磷酸化, 引发溶酶体中 YAP 降解, 使得 YAP 介导的抑制细胞抗病毒效应减弱<sup>[56]</sup>。2017 年, Zhang 等<sup>[57]</sup>则报道了 YAP/TAZ 可以通过抑制 TBK1 的激活, 负调控胞质中病毒核酸感知和细胞的抗病毒反应, 而这种作用是不依赖于 YAP/TAZ 的转录调控。当 YAP/TAZ 与 TBK1 相互作用时, 抑制后者 K63 的泛素化及其与接头分子 (STING 和 MAVS) 和底物 (IRF3) 的相互作用。敲低或敲除 YAP/TAZ 可以缓解 TBK1 的抑制, 而 LATS1/2 激酶可以抑制 YAP-IKK $\epsilon$  之间的相互作用, 也可减轻 YAP 对 TBK1 的抑制, 增强 TBK1 的抗病毒活性<sup>[57]</sup>。然而, 该课题组之前发表的工作则表明 MST1 激酶可以通过抑制 IRF3 的功能, 实现对细胞抗病毒信号通路的负调控<sup>[44]</sup>。因此, 在抗病毒防御中, MST1 和 LATS1/2 以及该通路下游的 YAP/TAZ 是否在不同细胞或不同感染阶段发挥不同的作用还有待于进一步研究。总之, 这些工作都表明, 非经典的 Hippo 信号通路可通过 YAP/TAZ 将信号整合到 TBK1/IKK $\epsilon$ /IRF3 复合物上, Hippo 成员的水平 and 活性可以调控宿主的抗病毒反应强度, 因此, Hippo 的一些成员可以做为抗病毒药物靶点。

此外, 肿瘤细胞中表达的 YAP/TEADs 在肿瘤免疫逃逸的过程中发挥着重要的作用。在前列腺癌细胞中, 高表达 YAP 与 TEAD, 或提高它们的转录活性都会导致 CXCL5 表达上调, 诱导髓源抑制性细胞 (MDSCs) 浸润癌组织, 从而抑制了免疫系统对肿瘤细胞的杀伤, 促进了前列腺癌细胞的免疫逃逸<sup>[58]</sup>。Murakami 等<sup>[59]</sup>则发现, 在胰腺导管癌细胞中, YAP 同样能够分泌多种细胞因子和趋化因子, 促进 MDSCs 浸润和免疫抑制作用, 当在胰腺组织中特异性敲除 YAP 或使用抗体阻断 MDSCs 时, 能促进巨噬细胞和 T 细胞的再激活、Kras 突变的新生癌细胞凋亡和胰腺再生, 该研究表明阻断 YAP 在癌细胞中的功能也可能实现对免疫应答系统的重编程。

## 5 结语

近年来, 大量的研究表明, Hippo 信号通路各

成员在免疫系统或免疫细胞的发育、增殖、迁移和分化过程中发挥着重要的作用，并且与肿瘤的生成过程密切相关。研究显示，Hippo 信号通路中的关键激酶 MST1/2、NDR1/2 及其下游的 TAZ 和 YAP 在免疫系统中的功能被研究得最为广泛，它们参与调控了 T 细胞、B 细胞的增殖和迁移，Naive T 细胞的分化以及对巨噬细胞抗菌、抗病毒功能的调控等。这样不仅一定程度地阐明了由 Mst1 缺陷介导的自身免疫病的致病机理，还为人 Mst 基因缺陷自身免疫病的治疗提供了新策略。此外，作为肿瘤抑制性信号通路，Hippo 信号在特定条件下也可以参与肿瘤免疫逃逸过程，为肿瘤免疫治疗打开一个全新领域，拓展抗肿瘤研究的思路。同时，也提示人们在靶向药物研究过程中，针对免疫或肿瘤相关疾病的治疗中要综合考虑这些靶向分子在信号通路中和整体生物学功能中的网络调控作用，以扬长避短最大限度地有利于疾病的治疗。

#### [参 考 文 献]

- [1] Galan JA, Avruch J. Mst1/mst2 protein kinases: Regulation and physiologic roles. *Biochemistry-U.S.*, 2016, 55: 5507-19
- [2] Halder G, Johnson RL. Hippo signaling: Growth control and beyond. *Development*, 2011, 138: 9-22
- [3] Callus BA, Verhagen AM, Vaux DL. Association of mammalian sterile twenty kinases, mst1 and mst2, with hsalvador via c-terminal coiled-coil domains, leads to its stabilization and phosphorylation. *FEBS J*, 2006, 273: 4264-76
- [4] Chan EH, Nousiainen M, Chalamalasetty RB, et al. The ste20-like kinase mst2 activates the human large tumor suppressor kinase lats1. *Oncogene*, 2005, 24: 2076-86
- [5] Pantalacci S, Tapon N, Leopold P. The salvador partner hippo promotes apoptosis and cell-cycle exit in *Drosophila*. *Nat Cell Biol*, 2003, 5: 921-7
- [6] Huang JB, Wu S, Barrera J, et al. The hippo signaling pathway coordinately regulates cell proliferation and apoptosis by inactivating yorkie, the *Drosophila* homolog of yap. *Cell*, 2005, 122: 421-34
- [7] Dong J, Feldmann G, Huang J, et al. Elucidation of a universal size-control mechanism in *Drosophila* and mammals. *Cell*, 2007, 130: 1120-33
- [8] Oka T, Mazack V, Sudol M. Mst2 and lats kinases regulate apoptotic function of yes kinase-associated protein (yap). *J Biol Chem*, 2008, 283: 27534-46
- [9] Zhao B, Wei X, Li W, et al. Inactivation of yap oncoprotein by the hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control. *Gene Dev*, 2007, 21: 2747-61
- [10] Kanai F, Marignani PA, Sarbassova D, et al. Taz: A novel transcriptional co-activator regulated by interactions with 14-3-3 and pdz domain proteins. *EMBO J*, 2000, 19: 6778-91
- [11] Ren F, Zhang L, Jiang J. Hippo signaling regulates yorkie nuclear localization and activity through 14-3-3 dependent and independent mechanisms. *Dev Biol*, 2010, 337: 303-12
- [12] Lei QY, Zhang H, Zhao B, et al. Taz promotes cell proliferation and epithelial-mesenchymal transition and is inhibited by the hippo pathway. *Mol Cell Biol*, 2008, 28: 2426-36
- [13] Zhao B, Li L, Tumaneng K, et al. A coordinated phosphorylation by Lats and CK1 regulates YAP stability through SCF( $\beta$ -TRCP). *Gene Dev*, 2010, 24: 72-85
- [14] Van Hateren NJ, Das RM, Hautbergue GM, et al. Fatj acts via the hippo mediator yap1 to restrict the size of neural progenitor cell pools. *Development*, 2011, 138: 1893-902
- [15] Wang W, Huang J, Wang X, et al. Ptpn14 is required for the density-dependent control of yap1. *Gene Dev*, 2012, 26: 1959-71
- [16] Xiao L, Chen Y, Ji M, et al. Kibra regulates hippo signaling activity via interactions with large tumor suppressor kinases. *J Biol Chem*, 2011, 286: 7788-96
- [17] Zhang N, Bai H, David KK, et al. The merlin/nf2 tumor suppressor functions through the yap oncoprotein to regulate tissue homeostasis in mammals. *Dev Cell*, 2010, 19: 27-38
- [18] Yu FX, Zhao B, Panupinthu N, et al. Regulation of the hippo-yap pathway by G-protein-coupled receptor signaling. *Cell*, 2012, 150: 780-91
- [19] Neumann M, Heesch S, Schlee C, et al. Whole-exome sequencing in adult etp-all reveals a high rate of dnmt3a mutations. *Blood*, 2013, 121: 4749-52
- [20] Haroche J, Ablan O. Uncommon histiocytic disorders: Rosai-dorfman, juvenile xanthogranuloma, and erdheim-cherster disease. *Hematol Am Soc Hematol Edu Prog*, 2015, 2015: 571-8
- [21] Au AC, Hernandez PA, Lieber E, et al. Protein tyrosine phosphatase ptpn14 is a regulator of lymphatic function and choanal development in humans. *Am J Hum Genet*, 2010, 87: 436-44
- [22] Bar-Shavit R, Maoz M, Kancharla A, et al. G protein-coupled receptors in cancer. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 1320
- [23] Borchers MT, Justice PJ, Ansary T, et al. Gq signaling is required for allergen-induced pulmonary eosinophilia. *J Immunol*, 2002, 168: 3543-9
- [24] Misra RS, Shi G, Moreno-Garcia ME, et al. G alpha q-containing g proteins regulate b cell selection and survival and are required to prevent b cell-dependent autoimmunity. *J Exp Med*, 2010, 207: 1775-89
- [25] Zhou DW, Conrad C, Xia F, et al. Mst1 and mst2 maintain hepatocyte quiescence and suppress hepatocellular carcinoma development through inactivation of the yap1 oncogene. *Cancer Cell*, 2009, 16: 425-38
- [26] Mou F, Praskova M, Xia F, et al. The mst1 and mst2 kinases control activation of rho family gtpases and thymic egress of mature thymocytes. *J Exp Med*, 2012, 209: 741-59
- [27] Zhou D, Medoff BD, Chen L, et al. The nore1b/mst1

- complex restrains antigen receptor-induced proliferation of naive t cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 20321-6
- [28] Dong Y, Du X, Ye J, et al. A cell-intrinsic role for mst1 in regulating thymocyte egress. *J Immunol*, 2009, 183: 3865-72
- [29] Nehme NT, Pachlopnik Schmid J, Debeurme F, et al. Mst1 mutations in autosomal recessive primary immunodeficiency characterized by defective naive t-cell survival. *Blood*, 2012, 119: 3458-68
- [30] Abdollahpour H, Appaswamy G, Kotlarz D, et al. The phenotype of human stk4 deficiency. *Blood*, 2012, 119: 3450-7
- [31] Katagiri K, Katakai T, Ebisuno Y, et al. Mst1 controls lymphocyte trafficking and interstitial motility within lymph nodes. *EMBO J*, 2009, 28: 1319-31
- [32] Katagiri K, Imamura M, Kinashi T. Spatiotemporal regulation of the kinase mst1 by binding protein rap1 is critical for lymphocyte polarity and adhesion. *Nat Immunol*, 2006, 7: 919-28
- [33] Katagiri K, Maeda A, Shimonaka M, et al. Rap1, a rap1-binding molecule that mediates rap1-induced adhesion through spatial regulation of lfa-1. *Nat Immunol*, 2003, 4: 741-8
- [34] Katagiri K, Shimonaka M, Kinashi T. Rap1-mediated lymphocyte function-associated antigen-1 activation by the t cell antigen receptor is dependent on phospholipase c-gamma1. *J Biol Chem*, 2004, 279: 11875-81
- [35] Nishikimi A, Ishihara S, Ozawa M, et al. Rab13 acts downstream of the kinase mst1 to deliver the integrin lfa-1 to the cell surface for lymphocyte trafficking. *Sci Signal*, 2014, 7: ra72
- [36] Kliche S, Worbs T, Wang X, et al. Ccr7-mediated lfa-1 functions in T cells are regulated by 2 independent adap/skap55 modules. *Blood*, 2012, 119: 777-85
- [37] Du X, Shi H, Li J, et al. Mst1/mst2 regulate development and function of regulatory t cells through modulation of foxo1/foxo3 stability in autoimmune disease. *J Immunol*, 2014, 192: 1525-35
- [38] Li J, Du X, Shi H, et al. Mammalian sterile 20-like kinase 1 (mst1) enhances the stability of forkhead box p3 (foxp3) and the function of regulatory t cells by modulating foxp3 acetylation. *J Biol Chem*, 2015, 290: 30762-70
- [39] Tomiyama T, Ueda Y, Katakai T, et al. Antigen-specific suppression and immunological synapse formation by regulatory t cells require the mst1 kinase. *PLoS One*, 2013, 8: e73874
- [40] Geng J, Yu S, Zhao H, et al. The transcriptional coactivator taz regulates reciprocal differentiation of th17 cells and treg cells. *Nat Immunol*, 2017, 18: 800-12
- [41] Li C, Bi Y, Li Y, et al. Dendritic cell mst1 inhibits th17 differentiation. *Nat Commun*, 2017, 8: 14275
- [42] Geng J, Sun X, Wang P, et al. Kinases mst1 and mst2 positively regulate phagocytic induction of reactive oxygen species and bactericidal activity. *Nat Immunol*, 2015, 16: 1142-52
- [43] Li W, Xiao J, Zhou X, et al. Stk4 regulates tlr pathways and protects against chronic inflammation-related hepatocellular carcinoma. *J Clin Invest*, 2015, 125: 4239-54
- [44] Meng F, Zhou R, Wu S, et al. Mst1 shuts off cytosolic antiviral defense through irf3 phosphorylation. *Gene Dev*, 2016, 30: 1086-100
- [45] Boro M, Singh V, Balaji KN. Mycobacterium tuberculosis-triggered hippo pathway orchestrates cxcl1/2 expression to modulate host immune responses. *Sci Rep*, 2016, 6: 37695
- [46] Emoto K. The growing role of the hippo-ndr kinase signalling in neuronal development and disease. *J Biochem*, 2011, 150: 133-41
- [47] Tang FY, Gill J, Ficht X, et al. The kinases ndr1/2 act downstream of the hippo homolog mst1 to mediate both egress of thymocytes from the thymus and lymphocyte motility. *Sci Signal*, 2015, 8: ra100
- [48] Wen M, Ma X, Cheng H, et al. Stk38 protein kinase preferentially inhibits tlr9-activated inflammatory responses by promoting mekk2 ubiquitination in macrophages. *Nat Commun*, 2015, 6: 7167
- [49] Devroe E, Silver PA, Engelman A. Hiv-1 incorporates and proteolytically processes human ndr1 and ndr2 serine-threonine kinases. *Virology*, 2005, 331: 181-9
- [50] Cornils H, Stegert MR, Hergovich A, et al. Ablation of the kinase ndr1 predisposes mice to the development of t cell lymphoma. *Sci Signal*, 2010, 3: ra47
- [51] Moroishi T, Hayashi T, Pan WW, et al. The hippo pathway kinases lats1/2 suppress cancer immunity. *Cell*, 2016, 167: 1525-39 e17
- [52] Morin-Kensicki EM, Boone BN, Howell M, et al. Defects in yolk sac vasculogenesis, chorioallantoic fusion, and embryonic axis elongation in mice with targeted disruption of yap65. *Mol Cell Biol*, 2006, 26: 77-87
- [53] Makita R, Uchijima Y, Nishiyama K, et al. Multiple renal cysts, urinary concentration defects, and pulmonary emphysematous changes in mice lacking taz. *Am J Physiol-Renal*, 2008, 294: F542-F53
- [54] Zhao B, Ye X, Yu JD, et al. Tead mediates yap-dependent gene induction and growth control. *Gene Dev*, 2008, 22: 1962-71
- [55] Zhang H, Liu CY, Zha ZY, et al. Tead transcription factors mediate the function of taz in cell growth and epithelial-mesenchymal transition. *J Biol Chem*, 2009, 284: 13355-62
- [56] Wang S, Xie F, Chu F, et al. Yap antagonizes innate antiviral immunity and is targeted for lysosomal degradation through ikkvarepsilon-mediated phosphorylation. *Nat Immunol*, 2017, 18: 733-43
- [57] Zhang Q, Meng F, Chen S, et al. Hippo signalling governs cytosolic nucleic acid sensing through yap/taz-mediated tbk1 blockade. *Nat Cell Biol*, 2017, 19: 362-74
- [58] Wang GC, Lu X, Dey P, et al. Targeting yap-dependent mdsc infiltration impairs tumor progression. *Cancer Discov*, 2016, 6: 80-95
- [59] Murakami S, Shahbazian D, Surana R, et al. Yes-associated protein mediates immune reprogramming in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncogene*, 2016, 36: 1232-44