

Hippo 信号通路在果蝇遗传学研究中的发现与扩展

孙书国¹, 吴世安², 张雷³

1. 华中科技大学同济基础医学院, 武汉 430030;
2. 南开大学生命科学学院, 天津 300071;
3. 中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031

摘要: Hippo 信号通路的发现是利用果蝇遗传学研究重大生物学问题的又一里程碑式的贡献。大量研究表明, Hippo 信号通路像早期发现的其他信号通路一样, 也在众多的生理与病理过程中扮演着关键角色, 如控制器官尺寸和癌症发生。迄今为止, Hippo 信号通路的研究过程主要经历了 3 个阶段: 第一, Hippo 信号通路的遗传学发现及其核心因子的筛选与鉴定; 第二, Hippo 信号通路的调控机制研究; 第三, Hippo 信号通路的多样性生理学功能。现阶段正是研究 Hippo 信号通路的上游调控和各种功能的阶段, 如细胞骨架、机械张力、营养的调控, 功能涉及细胞增殖调控、干细胞生物学和免疫等方面。本文按时间顺序综述了在果蝇遗传学研究中 Hippo 信号通路的发现与扩展过程, 并对未来的研究方向进行了展望。

关键词: Hippo 信号通路; 果蝇; 器官尺寸; 细胞生长

The discovery and expansion of Hippo signaling pathway in *Drosophila* model

Shuguo Sun¹, Shian Wu², Lei Zhang³

1. Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China;
2. College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, China;
3. Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China

Abstract: The discovery of Hippo signaling pathway is another breakthrough of fly genetics. Similar to the other signaling pathways, Hippo pathway also functions crucially in tremendous physiological and pathological conditions, like organ size control and cancer. There are three main stages of Hippo pathway study: Firstly, identifications of core components by fly genetic screens; secondly, regulations by versatile upstream cues, like cytoskeleton, mechanical tension, and nutrition; thirdly, functions in different biological processes, like cell proliferation regulation, stem cell biology, and immunology. In this review, we summarize the current understanding of Hippo pathway and highlight its regulations and transcriptional complex assembly. We also discuss the potential future directions in

收稿日期: 2017-02-18; 修回日期: 2017-04-02

基金项目: 华中科技大学人才启动经费(编号: 2016020230)资助[Supported by the Startup Foundation of Huazhong University of Science and Technology(No. 2016020230)]

通讯作者: 孙书国, 教授, 博士生导师, 研究方向: 发育生物学。E-mail: shuguo@hust.edu.cn

吴世安, 教授, 博士生导师, 研究方向: 发育生物学。E-mail: wusa@nankai.edu.cn

张雷, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 发育生物学。E-mail: rayzhang@sibcb.ac.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.17-051

网络出版时间: 2017/6/28 15:11:24

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20170628.1511.002.html>

Drosophila model system.

Keywords: Hippo signaling pathway; *Drosophila*; organ size; cell growth

Hippo 信号通路在多细胞生物中高度保守, 进化出这条通路的生物学意义在于控制多细胞生物的各个器官的尺寸大小, 但是正如其他的信号通路一样, Hippo 信号通路有着多方面的功能^[1]。随着研究的展开, 越来越多的基因参与 Hippo 信号通路的调控, 并且 Hippo 信号通路的功能也正在进一步的扩展。因此, 有必要对已有的进展进行总结并在此基础上讨论未来的研究方向。

本文总结了过去 20 年中 Hippo 信号通路在果蝇遗传学中的建立过程, 讨论了目前正在研究的热点问题, 包括上游调控和多元的生理学功能, 并对未来的研究方向进行了展望。

1 Hippo 信号通路的发现

20 世纪 90 年代中期, 在尝试利用果蝇模型寻找更多肿瘤抑制基因的遗传学筛选中, 两个实验室独立发现了 NDR(nuclear Dbf2-related)家族蛋白激酶 Wts (Warts)或 Lats (large tumor suppressor), 其突变导致细胞严重的过度增殖进而形成肿瘤样的表型^[2,3]。Wts 的发现拉开了研究者寻找其上下游基因的序幕。经过近 10 年的努力, 科学家们陆续发现了其核心成员, 包括支架蛋白 Sav(Salvador)^[4,5]和 Mats (Mob as tumor suppressor)^[6]上游的 Ste20 样蛋白激酶 Hpo (Hippo)^[7-11]、下游的转录激活因子 Yki (Yorkie)^[12], 以及介导 Yki 在特定 DNA 序列上结合的转录因子 TEAD/TEF 家族的 Sd (Scalloped)^[13-15]。令人惊讶的是, 几乎所有的因子在哺乳动物中都是结构和功能保守的^[1]。后续研究表明: 在整合多样的上游信号后, Hippo 信号通路在不同层次被激活, 具体表现为 Hpo 激酶能够磷酸化 Wts, 被磷酸化激活的 Wts 进一步磷酸化 Yki, 主要发生在第 168 位的丝氨酸位点(Ser168)及其他位点(Ser111 和 Ser250)上^[16], Yki 被磷酸化后通过与 14-3-3 蛋白结合而被滞留在细胞质中^[17], 因此无法进入细胞核行使其转录激活功能, 从而无法调节促进细胞增殖的 *cycE* (Cyclin E) 和抑制细胞凋亡 *diap1* (death-associated inhibitor of apoptosis 1)等靶基因的转录(图 1)。

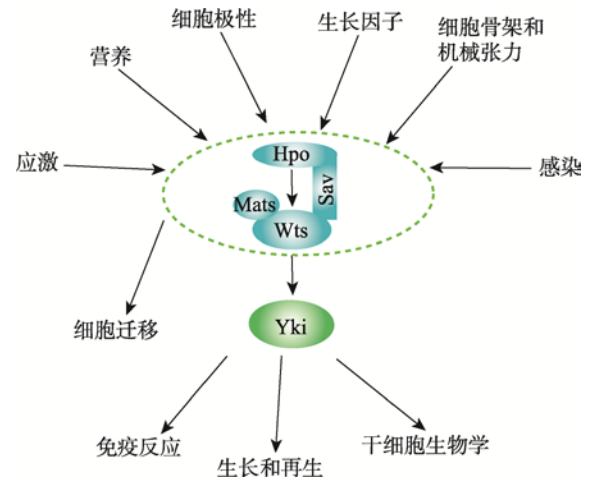


图 1 Hippo 信号通路及其上游的调节与功能

Fig. 1 Hippo signaling pathway and the upstream regulation and functions

2 Hippo 信号通路的调节

既然 Hippo 信号通路的核心因子都是自主性 (cell autonomous) 调节细胞增殖的蛋白, 那么它们是如何整合细胞自身或环境的信号并通过转录来调节细胞增殖并达到控制器官尺寸大小的呢? 本文列举了一些典型的调控信号和最近的研究热点来说明这一问题(图 1)。

2.1 细胞的极性调节

上皮细胞是多细胞生物最主要的组成部分之一, 它的一个显著特点是存在平面极性(planar cell polarity)和顶底极性(apical basal polarity)。这些空间上的极性信息是细胞行使其正常生理功能的重要依据, 例如在器官发生过程中的尺寸大小控制。控制平面极性的 Fat/Dachsous 信号通路很早就被鉴定出能够抑制细胞生长, 但其机制不详^[18]。2006 年 Hippo 信号通路建立之后, 4 个实验室各自独立报道了 Fat(Ft)对 Hippo 信号通路的调控^[19-23]。这些结论概括起来有两种相对不同的分子机制: 其一是 Ft 通过 Zyxin/Dachs 调节 Wts 的蛋白质水平^[22,24,25]; 其二是 Ft 可以调节 Ex (Expanded)的膜顶端定位和其蛋白的稳定性, 并通过一种不详的机制来调节 Hpo 的磷酸

化激活^[19,20,23]。后续的研究显示:可能与 Tao-1 激酶对 Hpo 的磷酸化有关。

此外, Degoutin 等^[26]发现 Ds (dachous)可以通过 Riq (riqiuqiu)和 Mnb (minibrain)调节 Hippo 信号通路。其具体机制为 Riq 结合到 Ds 的胞内结构域并和 Mnb 以及 Wts 形成复合体,然后以一种磷酸化依赖的方式抑制 Wts 的功能,同时也能调节 Wts 的蛋白质水平。

除了平面极性,上皮细胞还有顶底极性,其中定位在顶端的复合体 Crb (crumbs)和侧底端 Scrib/Dlg/Lgl 复合体对定义顶底极性至关重要^[27]。研究表明:敲除上述两种复合体均能导致顶底极性的丢失并伴随 Hippo 信号通路的失活从而激活 Yki,引起细胞的过度增殖,但是两个复合体的作用机制却不完全相同。Lgl 通过抑制 aPKC 来调节 Hippo/RASSF 的定位,而 Crb 则通过招募 Ex 到其复合体以实现 Ex 的定位调控^[28-30]。因此,这些极性相关复合体可能主要具有为 Hippo 信号通路提供细胞质膜锚定位点的功能;这些膜锚定位点一旦遭到破坏,便会造成 Hippo 信号通路成员的胞内组织和定位紊乱^[31]。

2.2 细胞骨架与机械张力的调节

器官的生长不仅能整合其所在环境的生物化学信号^[32],而且也能整合其物理信号来调控生长,譬如机械张力(mechanical tension)^[33,34]。而且机械张力作为一个生物学信号越来越受到科学家们的重视。器官随着生长而逐渐被“压缩”(compression),而其中的细胞所承受的机械张力逐渐减小,这与器官的生长速度成正相关。增加机械张力能够刺激细胞的增殖;相反,减小张力能够减少细胞的增殖^[34]。进一步研究表明,机械张力主要是通过 Hippo 信号通路来调控器官的生长。那么,机械张力这种物理信号是如何传递到 Hippo 信号通路的呢?一个有趣的模型可以用来阐释这一现象:当机械张力增加的时候,机械张力拉伸了定位在粘着连接上的 α -catenin,进而暴露其 Jub (Ajuba)蛋白的结合结构域,Jub 因此可以招募 Wts 并将其抑制在粘着连接上,这样 Yki 就能入核刺激细胞增殖^[35]。此外,有研究报道胞质骨架蛋白 Spec (spectrin)也可以通过 Hippo 信号通路来调控器官

的生长^[36-38]。研究发现,Spec 敲除导致 Hippo 信号通路的活性降低进而刺激细胞的增殖;另外,Spec 突变还会引起肌动球蛋白介导的机械张力增大。然而,Spec 究竟是如何调控机械张力的目前尚不清楚^[38]。进一步探索 Spec 蛋白如何通过调节激动球蛋白的活性来改变细胞的机械张力将帮助人们理解体内力传导的分子机制。

细胞骨架的关键组分——肌动蛋白纤维,也显示了对 Hippo 信号通路的调控。通过敲减肌动蛋白纤维的加帽蛋白(capping protein)可以导致其长度增加,进而激活 Yki,这种激活主要是通过 JNK 信号通路来完成^[39,40],但不清楚是否还有独立于 JNK 的其他信号通路对此过程的调控。至于 JNK 调节 Yki 活性的途径,目前有两种可能的机制,分别是通过 Jub-Wts 复合体或者独立于 Hippo 信号通路而对 Yki 进行调控^[41]。当然加帽蛋白的敲减也伴随机械张力的增加和细胞大量死亡,这些影响也都能直接或间接刺激 Yki 的活性。

机械张力的在体(*in vivo*)生理和病理学功能正在逐步被揭开,其关键问题是力作为一个物理信号是如何传递到生物化学通路上的,这将是未来研究的一个十分有趣的方向。

2.3 Hippo 信号通路与其他信号通路或蛋白的相互作用

Hippo 信号通路能广泛的和控制生长相关的信号通路或分子进行相互作用,如与细胞生长和增殖相关的 Wg (wingless)信号通路互作。在果蝇细胞中,胞质的 Yki 能结合 Dvl (dishevelled)并使其失活,从而导致 Arm (armadillo)不能入核行使转录激活功能。于是,在 Yki 过表达的细胞里能够观察到 Wg 重要靶基因 *Dll* (distal-less)的转录水平显著降低^[42,43]。Dpp (decapentaplegic)信号通路也能够调节器官生长和细胞增殖,在果蝇的翅膀成虫盘生长过程中,Dpp 下游的转录因子 Mad (mother against dpp)能作为 Yki 结合的一个重要的转录因子去刺激相关基因的转录^[44]。与能量代谢和营养相关的 PI3K/Akt/TOR 信号通路也能通过调节 Hippo 来控制生长^[45,46]。此外,有研究也发现蜕皮激素通路与 Hippo 相互作用^[47]。

除上述通路外,研究发现一些蛋白也能调节

Hippo 信号通路,如 Tao-1、Par-1 和 Schip-1 等。Tao-1 激酶的突变会导致 Hippo 信号通路依赖的过度增殖,遗传学研究显示它在 Ex 与 Hpo 之间起作用;进一步对分子机制的研究表明,Tao-1 能通过磷酸化 Hpo(T195)将其激活^[48,49]。通过功能筛选,Huang 等^[50]发现 Par-1 的过表达能够显著地增加果蝇翅膀的尺寸,遗传学互作分析显示其主要作用于 Fat 的下游和 Sav-Hpo 复合体上游。在分子层面,Par-1 能够磷酸化 Hpo 并抑制 Hpo 对 Sav 的结合和磷酸化激活。同时,哺乳动物的 Schwannomin 互作蛋白 1 的同源基因 *schip-1* 也在果蝇中行使调节 Hippo 信号通路的功能,Ex 可以帮助 Schip-1 定位到细胞质膜的顶端连接处,Schip-1 通过招募 Tao-1 来启动 Hpo 的膜定位和磷酸化^[51]。此外,MAP4K 激酶家族成员 Hppy (happyhour)和 Msn (misshapen)也都被证明可能采用类似于 Hpo 激酶磷酸化 Wts 的方式来激活 Hippo 信号通路^[52-54]。

以上被鉴别出来的基因都能通过 Hippo 信号通路影响器官尺寸,对其所整合信号的进一步探索有助于人们充分地了解器官发生过程中尺寸决定的时空特异性调控机制。

2.4 空间定位调节

信号通路的活性经常受其关键蛋白的胞内定位调节,例如将一个复合体的两个成员定位在不同的位置能够抑制其互作而将其定位在一起则可以促进其互作^[55]。Hippo 信号通路也能通过成员间的亚细胞定位实现对其活性的调节。大量研究表明,Hippo 信号通路的诸多蛋白都定位在细胞质膜上,通过和豆蔻酰化蛋白结构域融合使其也定位到细胞质膜上并导致这些蛋白被激活,如 Hpo、Mats、Wts 等^[56,57]。定位在顶端连接处的还有 Ex、Mer (Merlin)、Ed (Echinoid)^[58]、Crb、Ft^[59]等。Yin 等^[56]研究表明,Sav、Mer 能够在细胞质膜上分别招募 Hpo 和 Wts。因此,Hpo 和 Wts 就能在细胞质膜上形成复合体并完成前者对后者的磷酸化。这个模型将之前的由 Mer 经 Hippo 到 Wts 的线性模型转变成了 Sav-Hpo 和 Mer-Wts 的平行模型。然而,细胞质膜是一个很大的区域,这些过程是否只发生在膜的特定区域? Wts 是被其抑制因子 Jub 结合并抑制在细胞质膜的

粘着连接处^[35]。那么,Wts 究竟是在膜的哪个部分被激活的呢?Sun 等^[59]研究显示,在顶端连接区域,有 3 个跨膜复合体,分别为 Ecad/Jub-Wts、介导同源结合的 Crb-Ex 和 Ed-Sav 复合体。然而,Wts 被 Jub 结合并抑制在粘着连接上是一个机械张力敏感的过程。随着 Hippo 信号通路的活性增加,Wts 通过重定位到更顶端的 Ex 处,并被 Hpo 磷酸化。因此,在 Crb-Ex 复合体上能检测到磷酸化的 Wts。

空间定位调节的研究进一步丰富了人们对 Hippo 信号通路在哪里和如何被激活的理解,但其在不同的组织中也可能呈现差异化的调控方式。如 Ex、Mer 和 Kibra 蛋白有可能分别在不同的组织扮演招募 Wts 的功能,这一点还需要进一步的证明。

2.5 转录复合体的组装

在 Yki 介导的转录层面,虽然 Sd 突变能够完全抑制过表达 Yki 引起的过度增殖,但多数情况下,Sd 的突变并不能造成明显的生长减缓,那么 Yki 和 Sd 究竟是如何协调作用的?这一点仍然需要进一步阐释。Guo 等^[60]发现哺乳动物中包含 Tondu 结构域的 Vestigial 样蛋白家族 1-4 的果蝇同源蛋白 Tgi 能够和 Yki 竞争性结合 Sd,进而抑制 Yki-Sd 的转录活性。Koontz 等^[61]则认为在 Yki 缺失的情况下,Sd 是一个转录抑制因子,参与抑制生长相关基因的转录,而且 Tgi 能够和 Sd 结合以增强这种转录抑制作用;当 Yki 被激活时,这种抑制被减弱,而且 Sd 的突变能完全挽救 Yki 突变造成的生长缺失。

Yki 能够强烈地刺激细胞增殖,而细胞增殖又需要多方面的支持,包括细胞周期、能量代谢等。最近有研究表明:Yki 能够通过和染色质重塑因子结合,例如 GAGA 因子(GAF)和 Brahma 复合体^[62],在基因组范围内起始大量的关键基因转录,并且这些基因参与调控细胞生长的各个方面^[63]。此外,Yki 也能通过其 WW 结构域和 NcoA6 的 PPxY 结构域结合,将包含 NcoA6 的 Trithorax 相关甲基转移酶复合体招募到染色质上,导致组蛋白 H3K4 甲基化进而启动基因转录^[64,65]。

因此,Yki-Sd 转录复合体在细胞核里整合了诸如染色体重塑、组蛋白修饰、竞争性抑制因子等功能单元,为时空特异地转录生长相关基因提供了可

能,进一步研究该复合体的体内调控机制将有助于开发其拮抗的小分子抑制剂。

3 Hippo 信号通路的多样性生理功能

3.1 再生

Hippo 信号通路不仅可以控制器官生长,也在器官再生过程中扮演着关键角色。在器官需要再生的时候,Hippo 信号失活,Yki 入核启动细胞重新进入分裂期,直至再生停止^[1,66]。在果蝇的翅膀盘中,通过诱导凋亡基因的表达引起细胞死亡能够刺激再生^[67]。当然,不同于成体再生的是,该系统是一个生长和再生同时存在的系统。研究发现,Yki 在该再生过程中是至关重要的,它能在死亡细胞的临近细胞中被以 JNK 活性依赖的方式激活,而且这种激活方式是 Hippo 信号通路依赖的^[68,69]。具体过程为:JNK 在损伤的细胞里(dying cell)被激活并进一步导致一些可分泌的蛋白表达,如 Wg 和 Dpp,进而刺激周边的细胞增殖^[70]。然而,关于 Yki 在死亡细胞的周边细胞中的激活机制目前还不清楚。科研人员在类似的研究中也观察到了受损细胞周边的正常细胞中 Hippo 信号通路依赖的 Yki 激活,似乎这种激活在某种程度上依赖于上游的 Fat/Ds 信号通路^[71]。关于再生过程中 Hippo 信号通路的激活以及如何协调器官的形状将是一个十分有趣的问题。

3.2 干细胞的行为调控

一系列的研究表明,Hippo 信号通路在干细胞生物学中同样扮演着重要角色,其功能在果蝇不同的干细胞系统里都有研究。例如,雄性和雌性生殖干细胞^[72-76]、成体肠道干细胞^[77]以及幼虫的神经祖细胞等^[77,78]等。Hippo 信号通路的功能调节涵盖干细胞行为的各个方面,例如自我更新与分化的平衡、对称与非对称分裂、对环境的反应、干细胞和其所在的微环境之间的互作以及损伤的修复等。在这些系统中,Hippo 信号通路在不同层面上和其他与干细胞行为相关的信号通路进行广泛的相互作用,包括 Dpp、EGFR、JNK、JAK-STAT、Wg 等^[79-81]。

3.3 细胞迁移

Hippo 信号通路除了通过其与细胞增殖有关的

功能来参与多样的生物学过程外,也在其他与增殖无关的生物学过程中具有重要作用,如细胞迁移、免疫应答等。

在果蝇的卵子发生过程中,胞质骨架的极性分布对边界细胞的迁移(border cell migration)至关重要。Hippo 信号通路及其上游的调节因子主要通过 Crb 定位在边界细胞的侧面连接处,进而抑制肌动蛋白骨架的聚集,减小了机械张力的产生。相反,在顶端由于没有 Hippo 信号通路的抑制,胞质骨架在那里聚集并产生了很强的机械张力,引起向前的力进而推动细胞运动。分子机制显示:Wts 可以磷酸化抑制 Ena (Enabled),这样肌动蛋白纤维的加帽蛋白就能结合到其末端并阻止其进一步聚集。而激活的 Yki 主要是通过增加上游因子(Mer、Kibra、Ex)的转录来负反馈调控这一过程^[82]。Lin 等^[83]研究揭示了 Hippo 和 JAK-STAT 通路在极细胞和边界细胞里相互作用进而引起边界细胞的迁移。具体的机制为:在极细胞里,Hippo 信号通路通过抑制 Yki 而增加 JAK-STAT 信号通路配体 Upd (unpaired)的转录,边界细胞接受来自极细胞的 Upd 信号后激活 JAK-STAT 通路并诱导 Slbo (slow border cell)的表达,并和 Hippo 信号通路引起的边界细胞胞质骨架极化一同促进其迁移起始。

细胞迁移和癌症的转移有很多相似之处,尤其是现在发现的循环系统的癌细胞多为成团存在^[84],这从一定意义上否定了上皮细胞向间充质细胞转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)在肿瘤转移中的作用^[85]。但与果蝇中的边界细胞集体迁移非常相似(collective migration),上述机制是否直接介导肿瘤细胞的迁移,还有待进一步在肿瘤模型中进行深入探索。

3.4 免疫通路的互作

最近研究显示,Hippo 信号通路也能和天然免疫通路互作以应对机体遭受病原菌的感染。在果蝇的免疫器官脂肪体里,病原菌的感染能激活 Toll 样受体,使其将信号传入细胞内,并经过一系列的磷酸化而降解复合体 STRIPAK PP2A 的 CKA 亚基,导致 Hippo 信号通路的激活进而降低 Yki 的转录活性。Yki 活性的降低减少了 IkB 在果蝇中的同源蛋

白 Cactus 的转录,从而增加了细胞抗菌肽的表达以提高免疫力^[86]。这些研究还有待进一步在高等实验动物模型和人中得到验证。有趣的是,在小鼠中 Hippo 信号通路已经体现了其在肿瘤免疫和机体抗病毒方面的作用^[87-89]。因此,未来关于 Hippo 信号通路和免疫信号通路之间的互作将帮助人们更好地了解 Hippo 信号通路在机体应对应激过程中的作用。

4 展 望

Hippo 信号通路的发现为人们打开了一扇了解器官尺寸决定完整机制的大门,以此为切入点,人们能够在组织、细胞、分子层面更深入地了解一个三维器官是如何定义其大小的,以及器官在生长过程中其尺寸是如何与形状在时空上协调发育的。有趣的是,很多 Hippo 信号通路的调节蛋白的突变体器官形状都发生了改变,其中的机制也尚不明确^[25]。其次,很多调控 Hippo 信号通路的蛋白定位在细胞膜上,但是它们在膜上的结合蛋白还没有被找到,探索这些定位线索将有利于人们进一步理解器官发生的多维调控机制。最后, Hippo 信号通路的出现有利于帮助多细胞生物定义其器官尺寸,研究它产生的进化机制将有助于回答单细胞向多细胞生物演化这一至关重要的生物学问题^[90]。因此,我们认为基于果蝇的研究再结合在哺乳动物模型和人细胞培养系统里的验证,将加速人们对 Hippo 信号通路在高等生物中的功能研究,尤其是与人类健康相关的重大疾病,如癌症、衰老、神经退行性疾病,并在此基础上寻找可能的针对 Hippo 信号通路的药物靶点。在特定的情况下,也可以利用果蝇来进行药物筛选和验证^[91]。

致 谢

感谢孙书国、吴世安、张雷实验室的同事对本文提出的诸多修改建议!

参考文献(References):

- [1] Pan DJ. The Hippo signaling pathway in development and cancer. *Dev Cell*, 2010, 19(4): 491–505. [\[DOI\]](#)
- [2] Justice RW, Zilian O, Woods DF, Noll M, Bryant PJ. The *Drosophila* tumor suppressor gene warts encodes a homolog of human myotonic dystrophy kinase and is required for the control of cell shape and proliferation. *Genes Dev*, 1995, 9(5): 534–546. [\[DOI\]](#)
- [3] Xu T, Wang W, Zhang S, Stewart RA, Yu W. Identifying tumor suppressors in genetic mosaics: the *Drosophila* lats gene encodes a putative protein kinase. *Development*, 1995, 121(4): 1053–1063. [\[DOI\]](#)
- [4] Tapon N, Harvey KF, Bell DW, Wahrer DCR, Schiripo TA, Haber DA, Hariharan IK. *Salvador* promotes both cell cycle exit and apoptosis in *Drosophila* and is mutated in human cancer cell lines. *Cell*, 2002, 110(4): 467–478. [\[DOI\]](#)
- [5] Kango-Singh M, Nolo R, Tao CY, Verstreken P, Hiesinger PR, Bellen HJ, Halder G. Shar-pei mediates cell proliferation arrest during imaginal disc growth in *Drosophila*. *Development*, 2002, 129(24): 5719–5730. [\[DOI\]](#)
- [6] Lai ZC, Wei XM, Shimizu T, Ramos E, Rohrbaugh M, Nikolaidis N, Ho LL, Li Y. Control of cell proliferation and apoptosis by mob as tumor suppressor, mats. *Cell*, 2005, 120(5): 675–685. [\[DOI\]](#)
- [7] Wu SA, Huang JB, Dong JX, Pan DJ. *hippo* encodes a Ste-20 family protein kinase that restricts cell proliferation and promotes apoptosis in conjunction with *salvador* and *warts*. *Cell*, 2003, 114(4): 445–456. [\[DOI\]](#)
- [8] Udan RS, Kango-Singh M, Nolo R, Tao C, Halder G. Hippo promotes proliferation arrest and apoptosis in the Salvador/Warts pathway. *Nat Cell Biol*, 2003, 5(10): 914–920. [\[DOI\]](#)
- [9] Harvey KF, Pfleger CM, Hariharan IK. The *Drosophila* Mst ortholog, *hippo*, restricts growth and cell proliferation and promotes apoptosis. *Cell*, 2003, 114(4): 457–467. [\[DOI\]](#)
- [10] Jia JH, Zhang WS, Wang B, Trinko R, Jiang J. The *Drosophila* Ste20 family kinase dMST functions as a tumor suppressor by restricting cell proliferation and promoting apoptosis. *Genes Dev*, 2003, 17(20): 2514–2519. [\[DOI\]](#)
- [11] Pantalacci S, Tapon N, Léopold P. The salvador partner Hippo promotes apoptosis and cell-cycle exit in *Drosophila*. *Nat Cell Biol*, 2003, 5(10): 921–927. [\[DOI\]](#)
- [12] Huang JB, Wu SA, Barrera J, Matthews K, Pan DJ. The Hippo signaling pathway coordinately regulates cell proliferation and apoptosis by inactivating Yorkie, the *Drosophila* homolog of YAP. *Cell*, 2005, 122(3): 421–434. [\[DOI\]](#)
- [13] Wu SA, Liu Y, Zheng YG, Dong JX, Pan DJ. The TEAD/TEF family protein scalloped mediates transcriptional output of the Hippo growth-regulatory pathway. *Dev Cell*, 2008, 14(3): 388–398. [\[DOI\]](#)

- [14] Zhang L, Ren FF, Zhang Q, Chen YB, Wang B, Jiang J. The TEAD/TEF family of transcription factor scalloped mediates Hippo signaling in organ size control. *Dev Cell*, 2008, 14(3): 377–387. [DOI]
- [15] Goulev Y, Fauny JD, Gonzalez-Marti B, Flagiello D, Silber J, Zider A. SCALLOPED interacts with YORKIE, the nuclear effector of the Hippo tumor-suppressor pathway in *Drosophila*. *Curr Biol*, 2008, 18(6): 435–441. [DOI]
- [16] Oh H, Irvine KD. *In vivo* analysis of Yorkie phosphorylation sites. *Oncogene*, 2009, 28(17): 1916–1927. [DOI]
- [17] Dong JX, Feldmann G, Huang JB, Wu SA, Zhang NL, Comerford SA, Gayyed M, Anders RA, Maitra A, Pan DJ. Elucidation of a universal size-control mechanism in *Drosophila* and mammals. *Cell*, 2007, 130(6): 1120–1133. [DOI]
- [18] Mahoney PA, Weber U, Onofrechuk P, Biessmann H, Bryant PJ, Goodman CS. The *fat* tumor suppressor gene in *Drosophila* encodes a novel member of the cadherin gene superfamily. *Cell*, 1991, 67(5): 853–868. [DOI]
- [19] Bennett FC, Harvey KF. Fat cadherin modulates organ size in *Drosophila* via the Salvador/Warts/Hippo signaling pathway. *Curr Biol*, 2006, 16(21): 2101–2110. [DOI]
- [20] Silva E, Tsatskis Y, Gardano L, Tapon N, McNeill H. The tumor-suppressor gene *fat* controls tissue growth upstream of expanded in the Hippo signaling pathway. *Curr Biol*, 2006, 16(21): 2081–2089. [DOI]
- [21] Willecke M, Hamaratoglu F, Kango-Singh M, Udan R, Chen CL, Tao CY, Zhang XW, Halder G. The fat cadherin acts through the Hippo tumor-suppressor pathway to regulate tissue size. *Curr Biol*, 2006, 16(21): 2090–2100. [DOI]
- [22] Cho E, Feng Y, Rauskolb C, Maitra S, Fehon R, Irvine KD. Delineation of a Fat tumor suppressor pathway. *Nat Genet*, 2006, 38(10): 1142–1150. [DOI]
- [23] Tyler DM, Baker NE. *Expanded* and *fat* regulate growth and differentiation in the *Drosophila* eye through multiple signaling pathways. *Dev Biol*, 2007, 305(1): 187–201. [DOI]
- [24] Feng YQ, Irvine KD. Fat and expanded act in parallel to regulate growth through Warts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(51): 20362–20367. [DOI]
- [25] Rauskolb C, Pan GH, Reddy BVVG, Oh H, Irvine KD. Zyxin links fat signaling to the hippo pathway. *PLoS Biol*, 2011, 9(6): e1000624. [DOI]
- [26] Degoutin J, Milton CC, Yu E, Tipping M, Bosveld F, Bellaiche Y, Veraksa A, Harvey KF, Riquiqui and Minibrain, new regulators of the Hippo pathway downstream of Dachous. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(10): 1176–1185. [DOI]
- [27] Tepass U. The apical polarity protein network in *Drosophila* epithelial cells: regulation of polarity, junctions, morphogenesis, cell growth, and survival. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2012, 28(1): 655–685. [DOI]
- [28] Chen CL, Gajewski KM, Hamaratoglu F, Bossuyt W, Sansores-Garcia L, Tao CY, Halder G. The apical-basal cell polarity determinant Crumbs regulates Hippo signaling in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(36): 15810–15815. [DOI]
- [29] Ling C, Zheng YG, Yin F, Yu JZ, Huang J, Hong Y, Wu SA, Pan DJ. The apical transmembrane protein Crumbs functions as a tumor suppressor that regulates Hippo signaling by binding to expanded. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(23): 10532–10537. [DOI]
- [30] Robinson BS, Huang J, Hong Y, Moberg KH. Crumbs regulates Salvador/Warts/Hippo signaling in *Drosophila* via the FERM-domain protein expanded. *Curr Biol*, 2010, 20(7): 582–590. [DOI]
- [31] Parsons LM, Grzeschik NA, Allott M, Richardson H. Lgl/aPKC and Crb regulate the Salvador/Warts/Hippo pathway. *Fly*, 2010, 4(4): 288–293. [DOI]
- [32] Schwank G, Basler K. Regulation of organ growth by morphogen gradients. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2(1): a001669. [DOI]
- [33] Aegerter-Wilmsen T, Aegerter CM, Hafen E, Basler K. Model for the regulation of size in the wing imaginal disc of *Drosophila*. *Mech Dev*, 2007, 124(4): 318–326. [DOI]
- [34] Aegerter-Wilmsen T, Heimlicher MB, Smith AC, de Reuille PB, Smith RS, Aegerter CM, Basler K. Integrating force-sensing and signaling pathways in a model for the regulation of wing imaginal disc size. *Development*, 2012, 139(17): 3221–3231. [DOI]
- [35] Rauskolb C, Sun SG, Sun GP, Pan YW, Irvine KD. Cytoskeletal tension inhibits Hippo signaling through an Ajuba-Warts complex. *Cell*, 2014, 158(1): 143–156. [DOI]
- [36] Wong KKL, Li WY, An YR, Duan YY, Li ZH, Kang YB, Yan Y. β -Spectrin regulates the hippo signaling pathway and modulates the basal actin network. *J Biol Chem*, 2015, 290(10): 6397–6407. [DOI]
- [37] Fletcher GC, Elbediwy A, Khanal I, Ribeiro PS, Tapon N, Thompson BJ. The Spectrin cytoskeleton regulates the Hippo signalling pathway. *EMBO J*, 2015, 34(7): 940–954. [DOI]
- [38] Deng H, Wang W, Yu JZ, Zheng YG, Qing Y, Pan DJ. Spectrin regulates Hippo signaling by modulating cortical actomyosin activity. *eLife*, 2015, 4: e06567. [DOI]
- [39] Fernández BG, Gaspar P, Brás-Pereira C, Jezowska B, Rebelo SR, Janody F. Actin-capping protein and the Hippo pathway regulate F-actin and tissue growth in *Drosophila*. *Development*, 2011, 138(11): 2337–2346. [DOI]
- [40] Sansores-Garcia L, Bossuyt W, Wada KI, Yonemura S, Tao CY, Sasaki H, Halder G. Modulating F-actin organization induces organ growth by affecting the Hippo pathway. *EMBO J*, 2011, 30(12): 2325–2335. [DOI]
- [41] Irvine KD. Integration of intercellular signaling through the Hippo pathway. *Semin Cell Dev Biol*, 2012, 23(7):

- 812–817. [DOI]
- [42] Varelas X, Miller BW, Sopko R, Song SY, Gregorieff A, Fellouse FA, Sakuma R, Pawson T, Hunziker W, McNeill H, Wrana JL, Attisano L. The Hippo pathway regulates Wnt/ β -catenin signaling. *Dev Cell*, 2010, 18(4): 579–591. [DOI]
- [43] Kim M, Jho EH. Cross-talk between Wnt/ β -catenin and Hippo signaling pathways: a brief review. *BMB Rep*, 2014, 47(10): 540–545. [DOI]
- [44] Oh H, Irvine KD. Cooperative regulation of growth by Yorkie and Mad through *bantam*. *Dev Cell*, 2011, 20(1): 109–122. [DOI]
- [45] Ye X, Deng YT, Lai ZC. Akt is negatively regulated by Hippo signaling for growth inhibition in *Drosophila*. *Dev Biol*, 2012, 369(1): 115–123. [DOI]
- [46] Tumaneng K, Russell RC, Guan KL. Organ size control by hippo and TOR pathways. *Curr Biol*, 2012, 22(9): R368–R379. [DOI]
- [47] Zhang C, Robinson BS, Xu WJ, Yang L, Yao B, Zhao HY, Byun PK, Jin P, Veraksa A, Moberg KH. The ecdysone receptor coactivator Taiman links Yorkie to transcriptional control of germline stem cell factors in somatic tissue. *Dev Cell*, 2015, 34(2): 168–180. [DOI]
- [48] Boggiano JC, Vanderzalm PJ, Fehon RG. Tao-1 phosphorylates Hippo/MST kinases to regulate the Hippo-Salvador-Warts tumor suppressor pathway. *Dev Cell*, 2011, 21(5): 888–895. [DOI]
- [49] Poon CLC, Lin JI, Zhang XM, Harvey KF. The Sterile 20-like kinase Tao-1 controls tissue growth by regulating the Salvador-Warts-Hippo pathway. *Dev Cell*, 2011, 21(5): 896–906. [DOI]
- [50] Huang HL, Wang SM, Yin MX, Dong L, Wang C, Wu W, Lu Y, Feng M, Dai CY, Guo XC, Li L, Zhao B, Zhou ZC, Ji HB, Jiang J, Zhao Y, Liu XY, Zhang L. Par-1 regulates tissue growth by influencing Hippo phosphorylation status and Hippo-Salvador association. *PLoS Biol*, 2013, 11(8): e1001620. [DOI]
- [51] Chung HL, Augustine GJ, Choi KW. *Drosophila* schip1 links expanded and Tao-1 to regulate Hippo signaling. *Dev Cell*, 2016, 36(5): 511–524. [DOI]
- [52] Zheng YG, Wang W, Liu B, Deng H, Uster E, Pan DJ. Identification of Happyhour/MAP4K as alternative Hpo/Mst-like kinases in the Hippo kinase cascade. *Dev Cell*, 2015, 34(6): 642–655. [DOI]
- [53] Meng Z, Moroishi T, Mottier-Pavie V, Plouffe SW, Hansen CG, Hong AW, Park HW, Mo JS, Lu W, Lu S, Flores F, Yu FX, Halder G, Guan KL. MAP4K family kinases act in parallel to MST1/2 to activate LATS1/2 in the Hippo pathway. *Nat Commun*, 2015, 6: 8357. [DOI]
- [54] Li SX, Cho YS, Yue T, Ip YT, Jiang J. Overlapping functions of the MAP4K family kinases Hppy and Msn in Hippo signaling. *Cell Discov*, 2015, 1: 15038. [DOI]
- [55] Lee MJ, Yaffe MB. Protein regulation in signal transduction. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2016, 8(6): a005918. [DOI]
- [56] Yin F, Yu JZ, Zheng YG, Chen Q, Zhang NL, Pan DJ. Spatial organization of Hippo signaling at the plasma membrane mediated by the tumor suppressor Merlin/NF2. *Cell*, 2013, 154(6): 1342–1355. [DOI]
- [57] Oh H, Irvine KD. Yorkie: the final destination of Hippo signaling. *Trends Cell Biol*, 2010, 20(7): 410–417. [DOI]
- [58] Yue T, Tian AG, Jiang J. The cell adhesion molecule Echinoid functions as a tumor suppressor and upstream regulator of the Hippo signaling pathway. *Dev Cell*, 2012, 22(2): 255–267. [DOI]
- [59] Sun SG, Reddy BVVG, Irvine KD. Localization of Hippo signalling complexes and Warts activation *in vivo*. *Nat Commun*, 2015, 6: 8402. [DOI]
- [60] Guo T, Lu Y, Li PX, Yin MX, Lv DK, Zhang WJ, Wang HZ, Zhou ZC, Ji HB, Zhao Y, Zhang L. A novel partner of Scalloped regulates Hippo signaling via antagonizing Scalloped-Yorkie activity. *Cell Res*, 2013, 23(10): 1201–1214. [DOI]
- [61] Koontz LM, Liu-Chittenden Y, Yin F, Zheng YG, Yu JZ, Huang B, Chen Q, Wu SA, Pan DJ. The Hippo effector Yorkie controls normal tissue growth by antagonizing Scalloped-mediated default repression. *Dev Cell*, 2013, 25(4): 388–401. [DOI]
- [62] Zhu Y, Li D, Wang YD, Pei CL, Liu S, Zhang L, Yuan ZQ, Zhang P. Brahma regulates the Hippo pathway activity through forming complex with Yki-Sd and regulating the transcription of Crumbs. *Cell Signal*, 2015, 27(3): 606–613. [DOI]
- [63] Oh H, Slattery M, Ma LJ, Crofts A, White KP, Mann RS, Irvine KD. Genome-wide association of Yorkie with chromatin and chromatin-remodeling complexes. *Cell Rep*, 2013, 3(2): 309–318. [DOI]
- [64] Oh H, Slattery M, Ma LJ, White KP, Mann RS, Irvine KD. Yorkie promotes transcription by recruiting a histone methyltransferase complex. *Cell Rep*, 2014, 8(2): 449–459. [DOI]
- [65] Qing Y, Yin F, Wang W, Zheng YG, Guo PF, Schozer F, Deng H, Pan DJ. The Hippo effector Yorkie activates transcription by interacting with a histone methyltransferase complex through Nco6. *eLife*, 2014, 3: e02564. [DOI]
- [66] Halder G, Johnson RL. Hippo signaling: growth control and beyond. *Development*, 2011, 138(1): 9–22. [DOI]
- [67] Bergantiños C, Corominas M, Serras F. Cell death-induced regeneration in wing imaginal discs requires JNK signaling. *Development*, 2010, 137(7): 1169–1179. [DOI]
- [68] Sun GP, Irvine KD. Regulation of Hippo signaling by Jun kinase signaling during compensatory cell proliferation and regeneration, and in neoplastic tumors. *Dev Biol*, 2011,

- 350(1): 139–151. [DOI]
- [69] Sun GP, Irvine KD. Chapter four-control of growth during regeneration. In: Brigitte G, ed. *Current Topics in Developmental Biology*. New York: Academic Press, 2014: 95–120. [DOI]
- [70] Smith-Bolton RK, Worley MI, Kanda H, Hariharan IK. Regenerative growth in *Drosophila* imaginal discs is regulated by Wingless and Myc. *Dev Cell*, 2009, 16(6): 797–809. [DOI]
- [71] Grusche FA, Degoutin JL, Richardson HE, Harvey KF. The Salvador/Warts/Hippo pathway controls regenerative tissue growth in *Drosophila melanogaster*. *Dev Biol*, 2011, 350(2): 255–266. [DOI]
- [72] Li CY, Kan LJ, Chen Y, Zheng XD, Li WN, Zhang WX, Cao L, Lin XH, Ji SM, Huang SJ, Zhang GQ, Liu XH, Tao Y, Wu S, Chen DH. Ci antagonizes Hippo signaling in the somatic cells of the ovary to drive germline stem cell differentiation. *Cell Res*, 2015, 25(10): 1152–1170. [DOI]
- [73] Huang JH, Kalderon D. Coupling of Hedgehog and Hippo pathways promotes stem cell maintenance by stimulating proliferation. *J Cell Biol*, 2014, 205(3): 325–338. [DOI]
- [74] Sarikaya DP, Extavour CG. The Hippo pathway regulates homeostatic growth of stem cell niche precursors in the *Drosophila* ovary. *PLoS Genet*, 2015, 11(2): e1004962. [DOI]
- [75] Jin YY, Xu JJ, Yin MX, Lu Y, Hu LX, Li PX, Zhang P, Yuan ZQ, Ho MS, Ji HB, Zhao Y, Zhang L. Brahma is essential for *Drosophila* intestinal stem cell proliferation and regulated by Hippo signaling. *Elife*, 2013, 2: e00999. [DOI]
- [76] Ren FF, Wang B, Yue T, Yun EY, Ip YT, Jiang J. Hippo signaling regulates *Drosophila* intestine stem cell proliferation through multiple pathways. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(49): 21064–21069. [DOI]
- [77] Karpowicz P, Perez J, Perrimon N. The Hippo tumor suppressor pathway regulates intestinal stem cell regeneration. *Development*, 2010, 137(24): 4135–4145. [DOI]
- [78] Ding R, Weynans K, Bossing T, Barros CS, Berger C. The Hippo signalling pathway maintains quiescence in *Drosophila* neural stem cells. *Nat Commun*, 2016, 7: 10510. [DOI]
- [79] Lucchetta EM, Ohlstein B. The *Drosophila* midgut: a model for stem cell driven tissue regeneration. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, 2012, 1(5): 781–788. [DOI]
- [80] Guo Z, Lucchetta E, Rafel N, Ohlstein B. Maintenance of the adult *Drosophila* intestine: all roads lead to homeostasis. *Curr Opin Genet Dev*, 2016, 40: 81–86. [DOI]
- [81] Yin MX, Zhang L. Hippo signaling in epithelial stem cells. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2015, 47(1): 39–45. [DOI]
- [82] Lucas EP, Khanal I, Gaspar P, Fletcher GC, Polesello C, Tapon N, Thompson BJ. The Hippo pathway polarizes the actin cytoskeleton during collective migration of *Drosophila* border cells. *J Cell Biol*, 2013, 201(6): 875–885. [DOI]
- [83] Lin TH, Yeh TH, Wang TW, Yu JY. The Hippo pathway controls border cell migration through distinct mechanisms in outer border cells and polar cells of the *Drosophila* ovary. *Genetics*, 2014, 198(3): 1087–1099. [DOI]
- [84] Aceto N, Bardia A, Miyamoto DT, Donaldson MC, Wittner BS, Spencer JA, Yu M, Pely A, Engstrom A, Zhu HL, Brannigan BW, Kapur R, Stott SL, Shioda T, Ramaswamy S, Ting DT, Lin CP, Toner M, Haber DA, Maheswaran S. Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis. *Cell*, 2014, 158(5): 1110–1122. [DOI]
- [85] Lambert AW, Pattabiraman DR, Weinberg RA. Emerging biological principles of metastasis. *Cell*, 2017, 168(4): 670–691. [DOI]
- [86] Liu B, Zheng YG, Yin F, Yu JZ, Silverman N, Pan DJ. Toll receptor-mediated Hippo signaling controls innate immunity in *Drosophila*. *Cell*, 2016, 164(3): 406–419. [DOI]
- [87] Zhang Q, Meng FS, Chen SS, Plouffe SW, Wu SY, Liu SD, Li XR, Zhou RY, Wang JX, Zhao B, Liu JM, Qin J, Zou J, Feng XH, Guan KL, Xu PL. Hippo signalling governs cytosolic nucleic acid sensing through YAP/TAZ-mediated TBK1 blockade. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(4): 362–374. [DOI]
- [88] Guo XC, Zhao Y, Yan H, Yang YC, Shen SY, Dai XM, Ji XY, Ji FB, Gong XG, Li L, Bai XL, Feng XH, Liang TB, Ji JF, Chen L, Wang HY, Zhao B. Single tumor-initiating cells evade immune clearance by recruiting type II macrophages. *Genes Dev*, 2017, 31(3): 247–259. [DOI]
- [89] Moroishi T, Hayashi T, Pan WW, Fujita Y, Holt MV, Qin J, Carson DA, Guan KL. The Hippo pathway kinases LATS1/2 suppress cancer immunity. *Cell*, 2016, 167(6): 1525–1539.e17. [DOI]
- [90] Seb  -Pedr  s A, Zheng YG, Ruiz-Trillo I, Pan DJ. Premetazoan origin of the Hippo signaling pathway. *Cell Rep*, 2012, 1(1): 13–20. [DOI]
- [91] Liu-Chittenden Y, Huang B, Shim JS, Chen Q, Lee SJ, Anders RA, Liu JO, Pan DJ. Genetic and pharmacological disruption of the TEAD-YAP complex suppresses the oncogenic activity of YAP. *Genes Dev*, 2012, 26(12): 1300–1305. [DOI]