

# Hippo 信号通路调控免疫细胞的功能

余淑娟, 耿晶, 陈兰芬

厦门大学生命科学院, 厦门 361102

**摘要:** Hippo 信号通路最初是在果蝇(*Drosophila*)中被发现的, 是在进化上高度保守并能调控器官大小的信号转导通路。在哺乳动物多种组织器官中, Hippo 信号通路的关键激酶 MST1 和 MST2(果蝇 Hippo 激酶的同源分子)通过抑制下游的转录共激活分子 YAP(果蝇中为 Yorkie)的活性来实现对细胞增殖和凋亡的调控。在这些组织器官中条件性敲除 *Mst1* 和 *Mst2* 或过表达 *Yap* 大都会造成细胞过度增殖或肿瘤的发生。近年来, 随着研究的不断深入, Hippo 信号通路不依赖于 YAP 的非经典功能也逐渐被发现。其中, Hippo 信号通路多个成员在免疫系统中的调控功能逐渐成为该领域的研究热点, 特别是在免疫细胞发育分化、机体自身免疫性疾病及应对病毒和细菌入侵等过程中所发挥的调控作用。本文重点阐述了 Hippo 信号通路在 T 淋巴细胞中发育、分化、活化和迁移等方面及在部分天然免疫细胞抗感染过程中的功能和调控。

**关键词:** Hippo 信号通路; T 淋巴细胞; 天然免疫细胞

## The functions of the Hippo signaling pathway in immune cells

Shujuan Yu, Jing Geng, Lanfen Chen

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

**Abstract:** The Hippo signaling pathway, first identified in *Drosophila*, has emerged as a critical regulator for controlling the size of organs. Activation of the Hippo signaling pathway negatively regulates the Yorkie ortholog YAP in multiple organs, important in the regulation of cell proliferation, differentiation, and apoptosis during development. The Serine/Threonine protein kinases MST1 and MST2, mammalian homologs of the *Drosophila* Hippo kinase, play central roles in the Hippo signaling pathway in mammals. Recent studies reveal that non-canonical Hippo signaling pathways are also involved in the regulation of various other biological processes, particularly the important roles of MST1 and MST2 kinases in immune cell activation, adhesion, migration, growth, and apoptosis. In this review, we summarize the recent advances in understanding the roles of MST1 and MST2 kinases in the regulation of

收稿日期: 2017-03-09; 修回日期: 2017-04-07

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973 计划)项目(编号: 2017YFA0504502, 2015CB910502), 国家自然科学基金项目(编号: 81422018, U1405225, 81372617, 31600698)和厦门市重大疾病科研攻关项目(编号: 3502Z20149029)资助[Supported by the National Basic Research Program of China (973 Program) (Nos. 2017YFA0504502, 2015CB910502), the National Natural Science Foundation of China (Nos. 81422018, U1405225, 81372617, 31600698) and Major Disease Research Projects of Xiamen (No. 3502Z20149029)]

作者简介: 余淑娟, 博士研究生, 研究方向: 免疫学。E-mail: shujuanyu24@126.com

耿晶, 博士, 博士后, 研究方向: 免疫学。E-mail: jgeng18@foxmail.com

余淑娟和耿晶为并列第一作者。

通讯作者: 陈兰芬, 教授, 博士生导师, 研究方向: 免疫学。E-mail: chenlanfen@xmu.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.17-083

网络出版时间: 2017/7/4 15:12:59

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20170704.1512.001.html>

the functions of T lymphocytes and innate immune cells.

**Keywords:** Hippo signaling pathway; T cells; innate immune cells

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过程中发挥着重要的作用。Hippo 信号通路的系列成员最早是在果蝇(*Drosophila*)中通过遗传突变筛选获得的,其中 Hippo (Hpo)、Warts (Wts)、Salvador(Sav)以及 Mats 功能失活性突变都会导致明显的组织过度生长和肿瘤的发生,最主要的原因是由于这些分子的功能失活导致它们下游分子 Yorki (Yki)进入细胞核与 TEAD/TEF 家族的转录因子 Scalloped (Sd)相互作用,促进细胞增殖,减少细胞程序性死亡<sup>[1-7]</sup>。因此, Hippo 信号通路的核心成分是由一个串联激酶(Hpo、Wts、Sav 和 Mats)和转录共激活因子 Yki 组成。这些组分在哺乳动物中同源物分别是 MST1/2、LATS1/2、SAV1、MOB1A/B 和 YAP/TAZ<sup>[8-14]</sup>。在经典的 Hippo 信号通路中, MST1/2 和 LATS1/2 作为 Hippo 信号通路的核心激酶,与构架蛋白 WW45 作用,从而磷酸化并激活下游激酶 LATS1/2。活化的 LATS1/2 进一步磷酸化 YAP/TAZ 使其与 14-3-3 蛋白相结合而滞留在胞浆中,不能进入细胞核行使其转录共激活因子功能,从而抑制细胞增殖和促进细胞凋亡。抑制 Hippo 信号通路或该通路的核心成员缺陷都将导致 YAP/TAZ 入核增加,进而激活转录因子 TEADs 转录其下游目的基因而促进细胞增殖与抑制凋亡。在小鼠(*Mus musculus*)中,全身性双敲除 *Mst1* 和 *Mst2* 会造成早期胚胎致死<sup>[15]</sup>;由于 MST1 和 MST2 的高度同源性和功能代偿性, *Mst1* 或 *Mst2* 的全身性单敲除并不会引发组织过度生长和肿瘤的发生<sup>[16]</sup>;在肝脏、小肠、胰腺或心脏中条件性双敲除 *Mst1* 和 *Mst2* 则可以看到不同程度的细胞增殖和器官增大等 Hippo 信号通路失调表型<sup>[15,17-22]</sup>,如在肝脏中特异性敲除 *Mst1* 和 *Mst2* 可以看到肝脏在 2 个月内剧烈增大,同时伴随肝细胞癌和胆管癌的发生。

除了以抑制下游转录共激活因子 YAP 入核来控制细胞增殖和凋亡功能的经典途径外,越来越多的研究表明,以 MST1/2 激酶为核心的 Hippo 信号通路还具有多种非经典的调控功能。如 MST1/2 激酶可以直接磷酸化 FOXO1(Ser212)/FOXO3(Ser207),

阻止 FOXO1/3 和 14-3-3 蛋白的结合,促使 FOXO1/3 进入细胞核<sup>[23,24]</sup>。在不同的细胞类型中, MST1 介导的磷酸化 FOXO1/3 入核后结合不同的 DNA 位点和转录功能,产生不同的生物学效应。在神经元细胞中, MST1 介导的 FOXO1/3 磷酸化促进细胞凋亡<sup>[24,25]</sup>;而在 T 细胞中, MST1 激活的 FOXO1/3 则会降低细胞的氧化应激水平,促进细胞存活<sup>[26,27]</sup>。本课题组和其他一些课题组研究发现,在骨髓造血细胞或一些免疫相关细胞中条件性敲除 *Mst1/2* 时,并未观察到细胞增多和肿瘤发生的经典表型,而多是非经典 Hippo 信号通路失活而导致的免疫功能严重失调。近年来,非经典 Hippo 信号通路在免疫系统中的调控逐渐成为本领域的研究热点(图 1)。

免疫是机体识别和排除抗原性异物,以维持自身内环境稳定的一种生理反应,本质是识别和排除抗原性异物,即机体区分自己和非己,主要功能包括免疫防御、免疫自稳和免疫监视。研究表明, Hippo 信号通路的一些主要成员如 MST1/2、MOB 及 NOR-E1B 在小鼠骨髓、胸腺、脾脏和淋巴结等免疫相关组织中大量表达<sup>[16]</sup>。在小鼠骨髓造血干细胞中条件性敲除 *Mst1/2* 造成该小鼠易发生严重免疫感染和自身免疫疾病<sup>[28]</sup>。法国 Basile 教授和德国 Klein 教授课题组分别独立发现了一类携带了 *Mst1* 失活突变或基因缺失的家族遗传性免疫缺陷病人<sup>[27,29]</sup>。这些病人极易发生复发性细菌或病毒感染、黏膜与皮肤的念珠菌感染、皮肤化脓性肉芽或脓肿,并且伴随有淋巴细胞和嗜中性粒细胞减少以及各类自身免疫性疾病等症状。这些数据都有力地证明了 Hippo 信号通路具有重要的免疫调节功能。本文简要介绍了非经典 Hippo 信号通路在免疫系统功能调节的研究概况,特别是该通路在 T 淋巴细胞发育、分化、迁移和活化的调控功能的研究进展。

## 1 Hippo 信号通路与 T 细胞发育和分化

免疫系统分为天然免疫和获得性免疫两个系统。T 细胞是获得性免疫中重要的组成部分。T 细胞在胸腺通过一系列复杂的选择过程和发育阶段,最终成

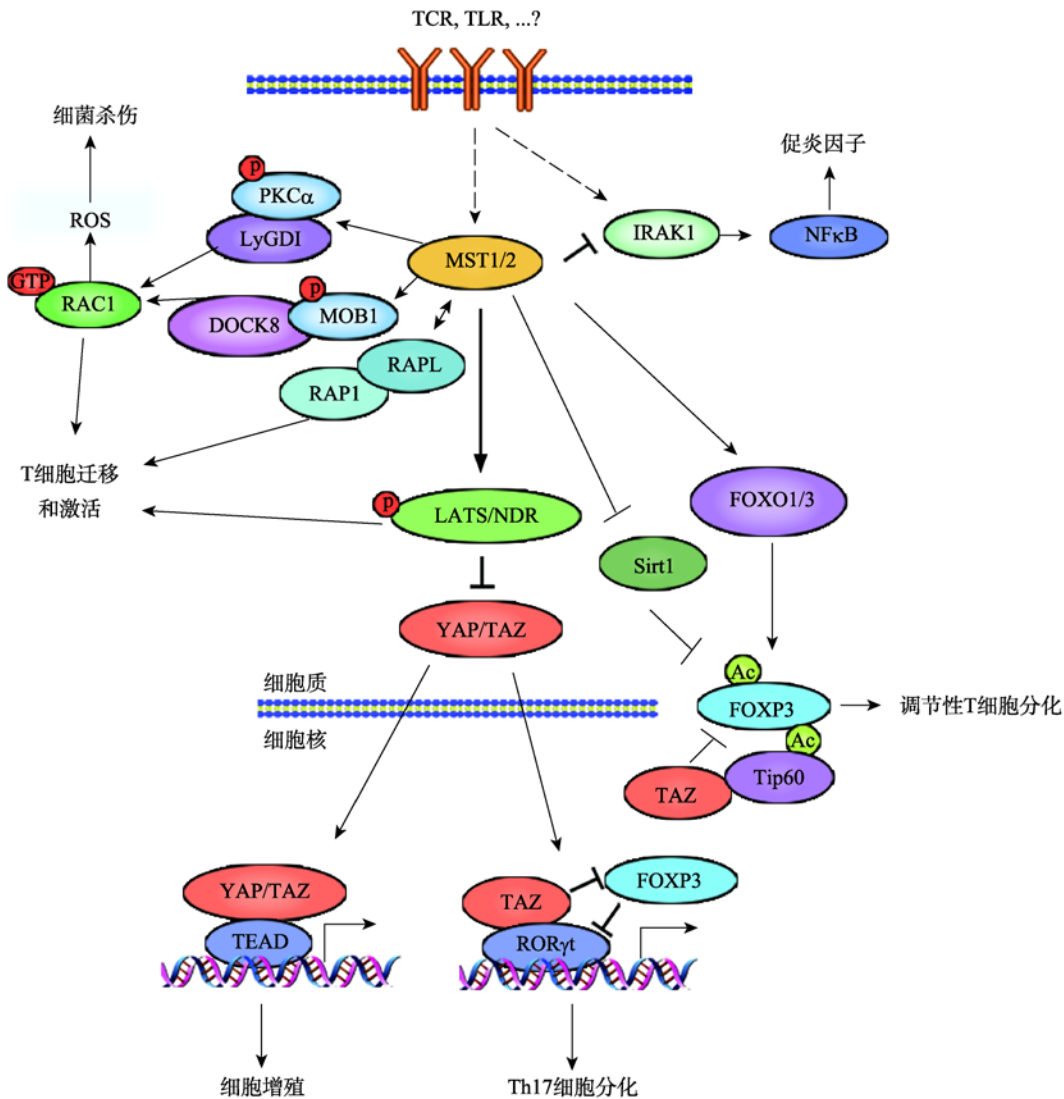


图 1 Hippo 信号通路的免疫调节功能

Fig. 1 The role of Hippo signaling pathway in regulation of immune response

熟后迁出胸腺,移居于周围淋巴器官。胸腺中 MST1 和 MST2 在  $CD4^+CD8^+$  双阳性(double positive, DP) T 细胞中的表达量很低,而其在  $CD4^+CD8^-$  或  $CD4^-CD8^+$  单阳性(single positive, SP) T 细胞中的表达量明显升高。*Mst1* 全身性敲除小鼠具有一些 T 细胞表型异常,其中胸腺中  $CD4^+CD8^-$  和  $CD4^-CD8^+$  SP T 细胞的比例及数量都增加,而最明显的是在次级淋巴组织中  $CD62L^{hi}CD44^{lo}$  的初始 T 细胞的数量明显降低,而在肝脏或肺中的  $CD62L^{lo}CD44^{hi}$  的效应/记忆 T 细胞的比例和数量都明显升高<sup>[16]</sup>。与 *Mst1* 不同, *Mst2* 全身性敲除小鼠的淋巴细胞表型却无明显异常<sup>[28,30,31]</sup>。在 *Mst1* 全身性敲除的基础上条件性敲除

造血干细胞中 *Mst2*(*Mst1*<sup>-/-</sup>*Mst2*<sup>fl/fl</sup> Vav-Cre)则加剧了 T 细胞的异常表型,导致外周 T 细胞数量的急剧降低,表明在淋巴细胞中 MST2 起着代偿性 MST1 的功能。MST1 激酶活性对于维持 T 细胞稳态是十分重要的,因为只有回补野生型 MST1,而非激酶失活型 MST1,才可以恢复上述 *Mst1/2* 双敲除小鼠的淋巴细胞为类似于野生型小鼠的表型<sup>[28]</sup>。

和野生型小鼠相比较, *Mst1*<sup>-/-</sup>*Mst2*<sup>fl/fl</sup> Vav-Cre 小鼠的胸腺组织的皮质和髓质细胞丰度/密度都存在着显著差异,CD4 抗体荧光染色也发现  $CD4^+$  SP 和 DP T 细胞在胸腺组织中位置分布不同于野生型小鼠。SP 胸腺细胞在 *Mst1*<sup>-/-</sup>*Mst2*<sup>fl/fl</sup> Vav-Cre 小鼠胸腺中比

例和数量都明显增加,这些积累在胸腺组织中 MST1/2 缺失的 SP 细胞多为  $Qa-2^{hi}CD24^{lo}$  表型细胞,与野生型中已离开胸腺的成熟 T 细胞的表型类似,而还未离开胸腺的野生型 SP 细胞则多为  $Qa-2^{hi}CD24^{lo}$  表型。因此,这种 SP 细胞的积累和外周 T 淋巴细胞的减少可能更多是由于 MST1/2 缺失导致的 T 细胞迁出胸腺的能力下降造成的<sup>[28]</sup>。然而, MST1/2 是否影响 T 细胞在胸腺中的发育以及可能的分子机制目前还有待进一步研究。目前,有一些研究表明 RAP1-PALP-MST1 信号通路在调控 T 细胞极化和迁移中发挥着重要的作用,因此, *Mst1* 敲除或许通过影响细胞粘附分子 LFA-1 和 ICAM-1 的功能,导致胸腺细胞在髓质里的迁移不足及抗原识别不够,从而影响了 T 细胞在胸腺中阳性选择和阴性选择的发育成熟过程<sup>[31]</sup>。

MST1 缺失的 T 细胞在 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)信号刺激下的细胞增殖能力明显高于野生型 T 细胞, MST1 缺失 T 细胞也更易发生活化诱导的细胞凋亡事件。同样,在 *Mst1* 敲除小鼠中观察到更高比例的效应/记忆 T 细胞,而且这些活化的 T 细胞具有更高的 AnnexinV 阳性率<sup>[16]</sup>。此外,在 TCR 刺激下,与野生型  $CD4^{+}$  T 细胞相比, MST1 缺失的  $CD4^{+}$  T 细胞增殖更快和产生更多的 IL-2、IFN $\gamma$  和 IL-4 细胞因子<sup>[16]</sup>。Du 等<sup>[30]</sup>研究也发现 *Mst1* 敲除小鼠脾脏中 IL-2、IFN $\gamma$ 、IL-4 和 IL-17 阳性的  $CD4^{+}$  T 细胞比例高于野生型小鼠。在野生型小鼠的效应/记忆 T 细胞中, MST1 表达水平明显高于在初始 T 细胞中的水平,而 MST2 蛋白水平却差别不大,因此推测 MST1 可能在初始 T 细胞活化增殖的过程起着分子关卡作用,只有在 MST1 低表达水平下, T 细胞才会活化、增殖和凋亡<sup>[16]</sup>。

在 T 细胞中敲除 *Mst1*,其下游的 MOB1A/B 的磷酸化几乎完全消失,而 LATS1/2 的羧基末端磷酸化和自身磷酸化没有受影响,也不会影响 Hippo 信号通路下游经典效应分子 YAP 的磷酸化水平<sup>[16]</sup>。最近, Tang 等<sup>[32]</sup>对 MST1 下游、与 LATS1/2 同属一个家族的激酶 NDR1/2 (nuclear Dbf2-related 1/2)进行了研究,发现在小鼠中 NDR1/2 的缺失也会导致发育成熟的初始 T 细胞在外周淋巴组织中的数量明显减少和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。此外, Cornils 等<sup>[33,34]</sup>则发现外源或内在的细胞凋亡信号,如抗 Fas 抗体或 DNA 损伤等都会导致胸腺细胞中 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。NDR 蛋白激酶家族的不同成员通过激酶活性来调节细胞的功能和参与细胞增殖与分化的机制不同。如 LATS1/2 可通过经典 Hippo 信号通路调控原癌基因 *Yap* 转录活性,发挥抑癌作用<sup>[10,35]</sup>;而 NDR1/2 一方面通过调控中心体复制、染色体校正参与稳定染色体组、凋亡信号等发挥抑癌作用<sup>[36,37]</sup>,另一方面通过增强原癌基因 *c-Myc* 的稳定性发挥促癌作用,此外 NDR1/2 还可通过调节 p21 的稳定性而发挥抑癌和促癌的双重作用<sup>[33,38,39]</sup>。因此, MST1 可能通过 MOB1A/B 和 NDR1/2 等分子来激活非经典的 Hippo 信号通路功能,进而调控 T 细胞的活化和增殖。

## 2 T 细胞的迁移与归巢

整合素 LFA-1(又称  $CD11a/CD18$  或  $\alpha L\beta 2$ )是参与 T 细胞运动和迁移过程中主要的粘附分子。在淋巴细胞中, MST1 是 LFA-1 活化、成簇、细胞极化与粘附所必须的<sup>[40]</sup>,因此 MST1 缺陷的小鼠表现出了细胞迁移缺陷,特别是胸腺成熟细胞迁出胸腺组织进入外周循环系统受损和淋巴细胞归巢减少的缺陷<sup>[28,41,42]</sup>。此外,也有研究表明  $CD4^{+}$  胸腺细胞在胸腺髓质中迁移缺陷也影响了 LFA-1 和 ICAM-1 介导的 T 细胞和抗原递呈细胞之间的抗原识别不足,影响了 T 细胞在胸腺组织中的分化和成熟<sup>[31]</sup>。而 MST1 缺陷的树突状细胞(dendritic cells, DC)也表现出了从其皮肤到引流淋巴结的运输受阻<sup>[42]</sup>。

在趋化因子或 TCR 的刺激下, 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<sup>[43]</sup>。RAPL 或者 MST1 缺陷的 T 细胞均呈现 LFA-1 在前缘成簇缺陷, RAP1-RAPL-MST1 信号通路已被证实控制在控制 T 细胞运输起重要作用<sup>[40,42,44]</sup>。有研究表明, 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>[44]</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(guanine nucleotide exchange factors, GEFs)来激活 RAB13。MST1 与活化的 RAB13 形成复合物从而促进 LFA-1 运输到淋巴细胞的前缘。与此同时, MST1 通过加强 VASP(vasodilator-stimulated phosphoprotein)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>[45]</sup>。MST1 也被报道其可通过调控马达蛋白 Myosin a 的活性进而调节不同亲和性的 LFA-1 在迁移 T 细胞上的位置分布<sup>[46]</sup>。总之,在趋化因子或 TCR 刺激下, RAPI-RAPL 复合物活化 MST1, MST1 进一步通过活化 RAB13 及促进 F-actin 多聚化,促使 RAB13 依赖的 LFA-1 囊泡沿着肌丝蛋白运输到极化细胞的前缘区域,从而实现淋巴细胞的极化和迁移。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 介导的 LFA-1 激活从而调控 T 细胞的粘附和迁移<sup>[47]</sup>。

本研究团队最近也发现,在 MST1/2 缺失的 SP 胸腺细胞中,趋化因子诱导活化的小 GTPase 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>[28]</sup>。胸腺细胞中表达大量的 GEFs,如 DOCK2(dedicator of cytokinesis protein 2)或 DOCK8 等,这对于维持 RAC1/2 的活性非常重要。DOCK2 缺失也会导致 T 细胞迁移功能和细胞骨架极化功能受损等类似于 RAC1/2 缺失的胸腺细胞表型<sup>[28]</sup>。然而目前尚没有证据表明 DOCK2 是受 MST1/2 调控的下游分子。虽然 DOCK8 缺失小鼠和 MST1/MST2 的 T 细胞条件性敲除小鼠的表型相似不高,但是 MST1 及 MST2 却可以通过磷酸化激活 MOB1A/B,继而活化 DOCK8 以促进 RAC1 的激活来调节肌动蛋白多聚化和 T 细胞迁移<sup>[28]</sup>。

### 3 Hippo 信号通路与 T 细胞功能性亚群分化

最近研究表明, MST1/2 在调节性 T 细胞(Treg)和一些辅助型 T 细胞(Th)的发育和功能方面起重要的调控作用。*Mst1/2* 基因敲除小鼠极易发生自身性免疫疾病,如炎性肠病和干燥综合征等<sup>[30,48]</sup>。与野生型小鼠相比较,在 *Mst1* 敲除小鼠的胸腺中, Treg 细胞的数量与比例明显下降。在一周龄的 *Mst1* 敲除

小鼠的外周淋巴器官中, Treg 的比例与数量也是明显下降,而在成年小鼠中, Treg 的比例与数量反而多于野生型小鼠,这可能是由于 *Mst1* 敲除导致 T 细胞增殖加强的结果<sup>[30,31]</sup>。在 Treg 体外诱导分化系统中, MST1 缺失会导致 TGF- $\beta$  诱导 CD4<sup>+</sup> 初始 T 细胞分化发育为 Treg 细胞发生缺陷。MST1 缺失同时也会影响 Treg 的抑制功能, *Mst1*<sup>-/-</sup> Treg 细胞无法阻止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<sup>[30,49]</sup>。MST1 激酶通过直接磷酸化转录因子 FOXO1/3 增强它们的稳定性,或通过磷酸化 AKT,抑制 AKT 磷酸化 FOXO1/3 的活性,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<sup>[30]</sup>。在 *Mst1*<sup>-/-</sup> 的 Treg 中, FOXO1/3 表达及 FOXP3 诱导的减少是 *Mst1* 敲除小鼠中 Treg 的发育及功能缺陷的一种可能机制。最近, Li 等<sup>[50]</sup>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,从而提高 FOXP3 的稳定性和其转录活性。应用双光子成像技术,研究人员发现 *Mst1* 敲除的 Treg 无法与抗原呈递细胞 DC 正常相互作用。其中 *Mst1* 敲除 Treg 与 DC 相互连接不足导致 DC 上共激活分子如 CD86 等下调失败,最终导致 Treg 的接触抑制功能受损,而细胞粘附分子 LFA-1 是影响这一过程的下游分子<sup>[49]</sup>。该研究提供了 MST1 缺失导致 Treg 抑制性功能受损的一种解释。关于 *Mst1* 敲除对 Treg 功能的影响可通过更为特异性的敲除小鼠来进一步验证。虽然在 *Mst2* 敲除小鼠中 Treg 的发育并未受影响,但在 *Mst1/2* 双敲除小鼠的胸腺中 Treg 的比例较 *Mst1* 单敲小鼠明显下降,这些现象表明 MST1 在 Treg 的发育与功能上起主导作用,而 MST2 在一定程度上可以代偿性 MST1 的功能<sup>[30]</sup>。

最近的研究表明, MST1 可以通过调控 DC 细胞来影响 T 细胞亚群,如 Th17 细胞的分化和功能<sup>[51]</sup>。MST1 在 DC 细胞中高表达,然而在 DC 细胞中条件性敲除 *Mst1*,并不影响 CD11c<sup>+</sup> 细胞,包括 CD11b<sup>+</sup> CD11c<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> CD11c<sup>+</sup> 细胞在小鼠体内的比例和数目,以及这些 DC 细胞的增殖和凋亡。此外在 LPS 刺激或抗原递呈过程中, MST1 缺失也不影响 DC 细胞表面 MHCII、CD80、CD86 等受体的表达水平。与 *Mst1* 全身性敲除小鼠一样, DC 细胞 *Mst1* 条件性

敲除小鼠具有自身免疫疾病表型,如炎症肠病等。在小鼠中诱导实验性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE),发现 MST1 缺失的 DC 会促进 Th17 细胞的分化发育,而不影响 Th1 细胞的分化发育。在真菌感染中,MST1 缺失的 DC 细胞不影响 T 细胞的增殖,也没有改变 Th1(IFN $\gamma$ <sup>+</sup>)、Th2(IL-4<sup>+</sup>)和 Treg(FOXP3<sup>+</sup>)细胞的比例,却显著提高了 Th17(IL-17<sup>+</sup>)细胞的比例。DC 中的 MST1 对于抑制抗原特异性 Th17 的产生发挥着重要的作用。进一步研究发现,MST1 通过抑制 P38 活化来降低 DC 中 IL-6 的表达,因此 MST1 缺失导致 DC 的 IL-6 表达量升高。此外,MST1 缺失的 DC 可以显著增强其目标 T 细胞 IL-6R $\alpha$ 和 IL-6R $\beta$ 的表达和胞内 IL-6R-p-STAT3 信号通路的活化。在 DC 中同时敲除 *IL-6* 和 *Mst1*,会缓解 MST1 缺失的 DC 所造成的 Th17 分化异常表型<sup>[51]</sup>。本研究团队最近发现,在活化 T 细胞中条件性敲除 *Mst1/2* 的小鼠(*Mst1*<sup>f/f</sup>*Mst2*<sup>f/f</sup>*OX40-Cre*)中,Th17 细胞的比例显著增加,而 Treg 细胞的比例明显下降,因此在 T 细胞中 MST1/2 激酶对于 T 细胞功能性亚群的分化发育也起着重要的作用,进一步研究发现其下游的 TAZ 在调控 Treg 细胞和 Th17 的分化中起着重要的调控作用<sup>[52]</sup>。TAZ 蛋白的表达水平在小鼠或人的 CD4<sup>+</sup>初始 T 细胞分化为 Th17 细胞过程中显著上调。作为转录共激活因子 TAZ 促进 ROR $\gamma$ t 的转录活性,同时通过降低 FOXP3 蛋白的稳定性而抑制 FOXP3 的功能,从而促进 Th17 细胞的分化和减弱 Treg 细胞的产生<sup>[52]</sup>。同时研究也发现在初始 T 细胞分化为 Treg 细胞时,TEAD1 的表达量明显上升,由于 TAZ 与 TEAD1 具有更高的结合亲和力,从而阻断了 TAZ 与 ROR $\gamma$ t 或 FOXP3 的相互作用,因此 TEAD1 的高表达增强了初始 T 细胞分化为 Treg 细胞的能力<sup>[52]</sup>。

#### 4 Hippo 信号通路在其他免疫细胞中的作用

最近的研究发现,MST1/2(Hippo)激酶在小鼠和果蝇的天然免疫防御系统中都发挥着重要的功能。在巨噬细胞或中性粒细胞吞噬细菌病原体之后,TLR1/2/4 受体活化 Hippo 信号通路,活化的 MST1/2 磷酸化和激活其直接底物 PKC $\alpha$ ,从而进一步活化 RAC 家族蛋白来激活 NADPH 氧化酶和协同募集胞

内线粒体靠近吞噬泡从而释放大量的活性氧(Reactive oxygen species, ROS),杀伤和清除吞噬泡中病原体<sup>[48]</sup>。Li 等<sup>[53]</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,从而降低 TLR4/9 诱导的炎症因子 IL-6 等的表达水平,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肝脏炎症转化的发生。Meng 等<sup>[54]</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,也可以进一步抑制 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(*M. tuberculosis*)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>[55]</sup>。

在果蝇中,革兰氏阳性菌感染可以激活 Hippo 信号通路而抑制了其下游 Yki 调控的 Cactus(I $\kappa$ B 的同源物)的转录,因此在果蝇的脂肪体(果蝇的免疫器官)细胞中,Hippo 信号通路失活或者 Yki 激活会导致 Cactus 的 mRNA 水平上升,降低了抗菌肽的表达水平,减弱其抵抗革兰氏阳性菌感染的能力<sup>[56]</sup>。最近,在果蝇的神经退行性疾病模型中发现,多聚谷氨酰胺(PolyQ)介导的神经退行性病伴随免疫反应的增强。PolyQ 的聚集导致果蝇中抗菌肽的表达量升高,而活化的 Yki 可以通过 Relish 和 Cactus 来降低 IMD 和 Toll 信号通路介导的抗菌肽表达。这些研究结果都表明,Hippo 信号通路在机体的抗感染天然免疫系统中发挥着重要的调控作用<sup>[57]</sup>。

#### 5 结语与展望

近年来,对 Hippo 信号通路研究的深入和扩展都表明 Hippo 信号通路在不同细胞、组织与器官中的功能和调控存在着特异性和多样性。在人类中,

MST1 突变所导致的主要表型为免疫缺陷综合征, 而非其他组织发育异常或肿瘤产生, 表明 MST1 在免疫系统的综合调控中发挥着重要的作用。Hippo 信号通路在免疫中的研究目前多集中于 MST1 及 MST2 在 T 细胞和部分天然免疫细胞。MST1 在 B 细胞的发育和功能中的研究只局限于最初在 *Mst1* 敲除小鼠中发现的外周的 B 细胞数目减少、脾边缘区 B 细胞的缺失等初步研究。因此, Hippo 信号通路在其他免疫细胞中的功能、下游经典和新发现成员的具体调控机制, 以及 Hippo 信号通路和其他信号通路之间的互作调控等方面都有待进一步深入研究。

### 参考文献(References):

- [1] Harvey KF, Pflieger CM, Hariharan IK. The *drosophila* mst ortholog, *hippo*, restricts growth and cell proliferation and promotes apoptosis. *Cell*, 2003, 114(4): 457–467. [DOI]
- [2] 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]
- [3] 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]
- [4] 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]
- [5] Udan RS, Kango-Singh M, Nolo R, Tao CY, Halder G. Hippo promotes proliferation arrest and apoptosis in the Salvador/Warts pathway. *Nat Cell Biol*, 2003, 5(10): 914–920. [DOI]
- [6] 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]
- [7] 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]
- [8] Creasy CL, Chernoff J. Cloning and characterization of a member of the MST subfamily of Ste20-like kinases. *Gene*, 1995, 167(1–2): 303–306. [DOI]
- [9] Creasy CL, Chernoff J. Cloning and characterization of a human protein kinase with homology to Ste20. *J Biol Chem*, 1995, 270(37): 21695–21700. [DOI]
- [10] Tao WF, Zhang S, Turenchalk GS, Stewart RA, St John MAR, Chen WL, Xu T. Human homologue of the *drosophila melanogaster* lats tumour suppressor modulates CDC2 activity. *Nat Genet*, 1999, 21(2): 177–181. [DOI]
- [11] Bichsel SJ, Tamaskovic R, Stegert MR, Hemmings BA. Mechanism of activation of ndr (nuclear Dbf2-related) protein kinase by the hMOB1 protein. *J Biol Chem*, 2004, 279(34): 35228–35235. [DOI]
- [12] 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]
- [13] Sudol M. Yes-associated protein (YAP65) is a proline-rich phosphoprotein that binds to the SH3 domain of the yes proto-oncogene product. *Oncogene*, 1994, 9(8): 2145–2152. [DOI]
- [14] Kanai F, Marignani PA, Sarbassova D, Yagi R, Hall RA, Donowitz M, Hisaminato A, Fujiwara T, Ito Y, Cantley LC, Yaffe MB. TAZ: a novel transcriptional co-activator regulated by interactions with 14-3-3 and PDZ domain proteins. *EMBO J*, 2000, 19(24): 6778–6791. [DOI]
- [15] Zhou DW, Conrad C, Xia F, Park JS, Payer B, Yin Y, Lauwers GY, Thasler W, Lee JT, Avruch J, Bardeesy N. Mst1 and Mst2 maintain hepatocyte quiescence and suppress hepatocellular carcinoma development through inactivation of the Yap1 oncogene. *Cancer Cell*, 2009, 16(5): 425–438. [DOI]
- [16] Zhou DW, Medoff BD, Chen LF, Li LQ, Zhang XF, Praskova M, Liu M, Landry A, Blumberg RS, Boussiotis VA, Xavier R, Avruch J. The Nore1b/Mst1 complex restrains antigen receptor-induced proliferation of naïve T cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(51): 20321–20326. [DOI]
- [17] Zhou DW, Zhang YY, Wu HT, Barry E, Yin Y, Lawrence E, Dawson D, Willis JE, Markowitz SD, Camargo FD, Avruch J. Mst1 and Mst2 protein kinases restrain intestinal stem cell proliferation and colonic tumorigenesis by inhibition of yes-associated protein (Yap) overabundance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(49): E1312–E1320. [DOI]
- [18] Lee KP, Lee JH, Kim TS, Kim TH, Park HD, Byun JS, Kim MC, Jeong WI, Calvisi DF, Kim JM, Lim DS. The Hippo-Salvador pathway restrains hepatic oval cell

- proliferation, liver size, and liver tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(18): 8248–8253. [DOI]
- [19] Lu L, Li Y, Kim SM, Bossuyt W, Liu P, Qiu Q, Wang YD, Halder G, Finegold MJ, Lee JS, Johnson RL. Hippo signaling is a potent in vivo growth and tumor suppressor pathway in the mammalian liver. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(4): 1437–1442. [DOI]
- [20] Song H, Mak KK, Topol L, Yun KS, Hu JX, Garrett L, Chen YB, Park O, Chang J, Simpson RM, Wang CY, Gao B, Jiang J, Yang YZ. Mammalian Mst1 and Mst2 kinases play essential roles in organ size control and tumor suppression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(4): 1431–1436. [DOI]
- [21] Heallen T, Zhang M, Wang J, Bonilla-Claudio M, Klysik E, Johnson RL, Martin JF. Hippo pathway inhibits wnt signaling to restrain cardiomyocyte proliferation and heart size. *Science*, 2011, 332(6028): 458–461. [DOI]
- [22] Gao T, Zhou DW, Yang CH, Singh T, Penzo- Méndez A, Maddipati R, Tzatsos A, Bardeesy N, Avruch J, Stanger BZ. Hippo signaling regulates differentiation and maintenance in the exocrine pancreas. *Gastroenterology*, 2013, 144(7): 1543–1553.e1. [DOI]
- [23] Lehtinen MK, Yuan ZQ, Boag PR, Yang Y, Villén J, Becker EB, DiBacco S, de la Iglesia N, Gygi S, Blackwell TK, Bonni A. A conserved MST-FOXO signaling pathway mediates oxidative-stress responses and extends life span. *Cell*, 2006, 125(5): 987–1001. [DOI]
- [24] Yuan ZQ, Lehtinen MK, Merlo P, Villén J, Gygi S, Bonni A. Regulation of neuronal cell death by MST1-FOXO1 signaling. *J Biol Chem*, 2009, 284(17): 11285–11292. [DOI]
- [25] Xiao L, Chen DM, Hu P, Wu JB, Liu WZ, Zhao YH, Cao M, Fang Y, Bi WZ, Zheng Z, Ren J, Ji GJ, Wang Y, Yuan ZQ. The c-Abl-MST1 signaling pathway mediates oxidative stress-induced neuronal cell death. *J Neurosci*, 2011, 31(26): 9611–9619. [DOI]
- [26] Choi J, Oh S, Lee D, Oh HJ, Park JY, Lee SB, Lim DS. Mst1-FoxO signaling protects naïve T lymphocytes from cellular oxidative stress in mice. *PLoS One*, 2009, 4(11): e8011. [DOI]
- [27] Abdollahpour H, Appaswamy G, Kotlarz D, Diestelhorst J, Beier R, Schäffer AA, Gertz EM, Schambach A, Kreipe HH, Pfeifer D, Engelhardt KR, Rezaei N, Grimbacher B, Lohrmann S, Sherkat R, Klein C. The phenotype of human STK4 deficiency. *Blood*, 2012, 119(15): 3450–3457. [DOI]
- [28] Mou F, Praskova M, Xia F, Van Buren D, Hock H, Avruch J, Zhou DW. The Mst1 and Mst2 kinases control activation of rho family GTPases and thymic egress of mature thymocytes. *J Exp Med*, 2012, 209(4): 741–759. [DOI]
- [29] Nehme NT, Schmid JP, Debeurme F, André-Schmutz I, Lim A, Nitschke P, Rieux-Laucat F, Lutz P, Picard C, Mahlaoui N, Fischer A, de Saint Basile G. MST1 mutations in autosomal recessive primary immunodeficiency characterized by defective naïve T-cell survival. *Blood*, 2012, 119(15): 3458–3468. [DOI]
- [30] Du XR, Shi H, Li J, Dong YL, Liang JL, Ye J, Kong SS, Zhang SJ, Zhong T, Yuan ZQ, Xu T, Zhuang Y, Zheng B, Geng JG, Tao WF. Mst1/Mst2 regulate development and function of regulatory T cells through modulation of Foxo1/Foxo3 stability in autoimmune disease. *J Immunol*, 2014, 192(4): 1525–1535. [DOI]
- [31] Ueda Y, Katagiri K, Tomiyama T, Yasuda K, Habiro K, Kataikai T, Ikehara S, Matsumoto M, Kinashi T. Mst1 regulates integrin-dependent thymocyte trafficking and antigen recognition in the thymus. *Nat Commun*, 2012, 3: 1098. [DOI]
- [32] Tang FY, Gill J, Ficht X, Barthlott T, Cornils H, Schmitz-Rohmer D, Hynx D, Zhou DW, Zhang L, Xue GD, Grzmil M, Yang ZZ, Hergovich A, Hollaender GA, Stein JV, Hemmings BA, Matthias P. 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(397): ra100. [DOI]
- [33] Cornils H, Kohler RS, Hergovich A, Hemmings BA. Downstream of human NDR kinases: impacting on c-myc and p21 protein stability to control cell cycle progression. *Cell Cycle*, 2011, 10(12): 1897–1904. [DOI]
- [34] Cornils H, Stegert MR, Hergovich A, Hynx D, Schmitz D, Dirnhofer S, Hemmings BA. Ablation of the kinase NDR1 predisposes mice to the development of T cell lymphoma. *Sci Signal*, 2010, 3(126): ra47. [DOI]
- [35] St John MAR, Tao WF, Fei XL, Fukumoto R, Carcangiu ML, Brownstein DG, Parlow AF, McGrath J, Xu T. Mice deficient of Lats1 develop soft-tissue sarcomas, ovarian tumours and pituitary dysfunction. *Nat Genet*, 1999, 21(2): 182–186. [DOI]
- [36] Chiba S, Amagai Y, Homma Y, Fukuda M, Mizuno K. NDR2-mediated rabin8 phosphorylation is crucial for ciliogenesis by switching binding specificity from phosphatidylserine to Sec15. *EMBO J*, 2013, 32(6): 874–885. [DOI]
- [37] Ultanir SK, Hertz NT, Li GN, Ge WP, Burlingame AL, Pleasure SJ, Shokat KM, Jan LY, Jan YN. Chemical genetic identification of NDR1/2 kinase substrates AAK1 and rabin8 uncovers their roles in dendrite arborization and spine development. *Neuron*, 2012, 73(6): 1127–1142. [DOI]



- [38] Felsher DW. Reversibility of oncogene-induced cancer. *Curr Opin Genet Dev*, 2004, 14(1): 37–42. [DOI]
- [39] Bisikirska BC, Adam SJ, Alvarez MJ, Rajbhandari P, Cox R, Lefebvre C, Wang K, Rieckhof GE, Felsher DW, Califano A. STK38 is a critical upstream regulator of MYC'S oncogenic activity in human B-cell lymphoma. *Oncogene*, 2013, 32(45): 5283–5291. [DOI]
- [40] Katagiri K, Imamura M, Kinashi T. Spatiotemporal regulation of the kinase Mst1 by binding protein RAPL is critical for lymphocyte polarity and adhesion. *Nat Immunol*, 2006, 7(9): 919–928. [DOI]
- [41] Dong YL, Du XR, Ye J, Han M, Xu T, Zhuang Y, Tao WF. A cell-intrinsic role for Mst1 in regulating thymocyte egress. *J Immunol*, 2009, 183(6): 3865–3872. [DOI]
- [42] Katagiri K, Katakai T, Ebisuno Y, Ueda Y, Okada T, Kinashi T. Mst1 controls lymphocyte trafficking and interstitial motility within lymph nodes. *EMBO J*, 2009, 28(9): 1319–1331. [DOI]
- [43] Katagiri K, Maeda A, Shimonaka M, Kinashi T. RAPL, a Rap1-binding molecule that mediates Rap1-induced adhesion through spatial regulation of LFA-1. *Nat Immunol*, 2003, 4(8): 741–748. [DOI]
- [44] 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- $\gamma$ 1. *J Biol Chem*, 2004, 279(12): 11875–11881. [DOI]
- [45] Nishikimi A, Ishihara S, Ozawa M, Etoh K, Fukuda M, Kinashi T, Katagiri K. Rab13 acts downstream of the kinase Mst1 to deliver the integrin LFA-1 to the cell surface for lymphocyte trafficking. *Sci Signal*, 2014, 7(336): ra72. [DOI]
- [46] Xu XL, Jaeger ER, Wang XX, Lagler-Ferrez E, Batalov S, Mathis NL, Wiltshire T, Walker JR, Cooke MP, Sauer K, Huang YH. Mst1 directs myosin iia partitioning of low and higher affinity integrins during T cell migration. *PLoS One*, 2014, 9(8): e105561. [DOI]
- [47] Kliche S, Worbs T, Wang XQ, Degen J, Patzak I, Meineke B, Togni M, Moser M, Reinhold A, Kiefer F, Freund C, Förster R, Schraven B. CCR7-mediated LFA-1 functions in T cells are regulated by 2 independent ADAP/SKAP55 modules. *Blood*, 2012, 119(3): 777–785. [DOI]
- [48] Geng J, Sun XF, Wang P, Zhang SH, Wang XZ, Wu HT, Hong LX, Xie CC, Li X, Zhao H, Liu QX, Jiang MT, Chen QH, Zhang JJ, Li Y, Song SY, Wang HR, Zhou RB, Johnson RL, Chien KY, Lin SC, Han JH, Avruch J, Chen LF, Zhou DW. Kinases Mst1 and Mst2 positively regulate phagocytic induction of reactive oxygen species and bactericidal activity. *Nat Immunol*, 2015, 16(11): 1142–1152. [DOI]
- [49] Tomiyama T, Ueda Y, Katakai T, Kondo N, Okazaki K, Kinashi T. Antigen-specific suppression and immunological synapse formation by regulatory T cells require the Mst1 kinase. *PLoS One*, 2013, 8(9): e73874. [DOI]
- [50] Li J, Du XR, Shi H, Deng KJ, Chi HB, Tao WF. 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(52): 30762–30770. [DOI]
- [51] Li CX, Bi YJ, Li Y, Yang H, Yu Q, Wang J, Wang Y, Su HL, Jia AN, Hu Y, Han LN, Zhang JY, Li SM, Tao WF, Liu GW. Dendritic cell MST1 inhibits Th17 differentiation. *Nat Commun*, 2017, 8: 14275. [DOI]
- [52] Geng J, Yu SJ, Zhao H, Sun XF, Li X, Wang P, Xiong XL, Hong LX, Xie CC, Gao JH, Shi YR, Peng JR, Johnson RL, Xiao NM, Lu LR, Han JH, Zhou DW, Chen LF. The transcriptional coactivator TAZ regulates reciprocal differentiation of T<sub>H</sub>17 cells and T<sub>reg</sub> cells. *Nat Immunol*, 2017, 18(7): 800–812. [DOI]
- [53] Li WY, Xiao J, Zhou X, Xu M, Hu CB, Xu XY, Lu Y, Liu C, Xue SJ, Nie L, Zhang HB, Li ZQ, Zhang YB, Ji F, Hui LJ, Tao WF, Wei B, Wang HY. STK4 regulates TLR pathways and protects against chronic inflammation-related hepatocellular carcinoma. *J Clin Invest*, 2015, 125(11): 4239–4254. [DOI]
- [54] Meng FS, Zhou RY, Wu SY, Zhang Q, Jin QH, Zhou Y, Plouffe SW, Liu SD, Song H, Xia ZP, Zhao B, Ye S, Feng XH, Guan KL, Zou J, Xu PL. Mst1 shuts off cytosolic antiviral defense through IRF3 phosphorylation. *Genes Dev*, 2016, 30(9): 1086–1100. [DOI]
- [55] 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. [DOI]
- [56] 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]
- [57] Dubey SK, Tapadia MG. Yorkie regulates neurodegeneration through canonical pathway and innate immune response. *Mol Neurobiol*, 2017, doi: 10.1007/s12035-017-0388-7. [DOI]