

Wnt 信号通路与无脊椎动物天然免疫

邹晨辰 阮灵伟 施泓

(自然资源部第三海洋研究所 自然资源部海洋生物遗传资源重点实验室, 厦门 361005)

摘要: Wnt 作为一条保守的信号通路, 其不同生物过程中的作用已被广泛研究。相比脊椎动物, 天然免疫在缺乏获得性免疫的无脊椎动物中显得尤为重要。近年来, 由于 Wnt 信号通路在脊椎动物免疫中的功能被逐渐挖掘, 其在无脊椎动物天然免疫中的作用引发越来越多的关注。对 Wnt 信号通路及其在无脊椎动物天然免疫中的重要作用进行了综述, 旨在为无脊椎动物的疾病防治提供新思路。

关键词: Wnt 信号通路; 无脊椎动物; 天然免疫

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2020-1073

Wnt Signaling Pathway and Innate Immunity of Invertebrate

ZOU Chen-chen RUAN Ling-wei SHI Hong

(Key Laboratory of Marine Genetic Resources of Ministry of Natural Resources, Third Institute of Oceanography, MNR, Xiamen 361005)

Abstract: As a conserved signaling pathway, Wnt has been widely studied in different biological processes. Compared with vertebrates, innate immunity in invertebrates that lack acquired immunity is particularly important. In recent years, Wnt signaling pathway in vertebrate immunity has been widely investigated, and its role in invertebrate innate immunity has attracted more and more attentions. Wnt signaling pathway and its important role in invertebrate innate immunity are reviewed to provide new clues for the diseases control of invertebrate.

Key words: Wnt signaling pathway; invertebrate; innate immunity

Wnt 信号通路最早在果蝇的发育中被发现, 它在动物间存在遗传学上的高度保守性, 且存在于所有后生动物中^[1]。该信号通路广泛参与细胞增殖和凋亡、组织分化和再生、胚胎发育等多种生物过程^[2]。目前, Wnt 信号通路在多种疾病发生和发展中的作用, 以及在病原体侵染时发挥的天然免疫调控作用正成为研究热点。

Wnt 信号通路以 Wnt 为配体激活信号通路, 从而将胞外信号传入胞内。根据 Wnt 的分子类型和下游分子的响应作用机制, Wnt 信号通路可分为 2 类, 即经典 Wnt 信号通路和非经典 Wnt 信号通路。经典 Wnt 信号通路目前已被广泛研究, 随着研究的深入非经典 Wnt 信号通路也正越来越多地引起人们的关

注。其中非经典 Wnt 信号通路主要包括 Wnt/平面细胞极性信号通路 (Wnt/planar cell polarity pathway, Wnt/PCP pathway) 和 Wnt/Ca²⁺ 信号通路^[3]。

1 经典 Wnt 信号通路

1.1 经典 Wnt 信号通路概述

经典 Wnt 信号通路, 也称 Wnt/ β -catenin 信号通路, 是最早发现的 Wnt 信号通路, 因此被称为经典 Wnt 信号通路。它最大的特点是由该通路的关键分子 β -catenin 来介导。

在正常状态下, Wnt 信号通路处于关闭状态。细胞质中的 β -catenin 被由支架蛋白 Axin、腺瘤息肉蛋白 (adenomatous polyposis coli, APC)、糖原合酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3) 和酪

收稿日期: 2020-08-24

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31972816), 现代农业产业技术体系专项资金 (CARS-48)

作者简介: 邹晨辰, 女, 硕士研究生, 研究方向: 对虾免疫; E-mail: chenchenzou@126.com

通讯作者: 阮灵伟, 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 对虾免疫; E-mail: ruanlingwei@tio.org.cn

蛋白激酶 1 (casein kinase1, CK1) 等蛋白组成的降解复合体磷酸化后, 被 β -转导素重复序列包含蛋白 (β -transducin repeat containing protein, β -TrCP) 泛素化^[4]。随后, 泛素化的 β -catenin 被蛋白酶体识别并快速降解, 在细胞中维持较低水平^[5]。而这时在细胞核中, T 细胞因子/淋巴样增强因子 (T-cell factor/lymphoid enhancer factor, TCF/LEF) 与共阻遏因子 Groucho (人类中同源蛋白为 TLE) 结合, 并募集去乙酰化酶如 HDAC1 (果蝇中为 Rpd3), 催化靶基因区域组蛋白去乙酰化, 从而抑制靶基因表达^[6-7]。除了 Groucho 外, Dact1、Osa、Mgtr1、TIS7 和 CtBP 等分子也参与靶基因表达的抑制过程^[8]。

当受到外界刺激 (如损伤、病原体、激动剂等) 时, Wnt 蛋白与细胞膜上的两种跨膜蛋白——Frizzled 家族受体和低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6 (low density lipoprotein receptor related proteins5/6, LRP5/6) (果蝇中同源物为 Arrow) 的胞外结构域结合后, 形成 Wnt-Frizzled-LRP5/6 三聚体复合物, 激活 Wnt 信号通路^[9-14]。其中, Frizzled 通过 Disheveled (Dvl) 的 PDZ 和 DEP 结构域募集并磷酸化 Dvl。磷酸化的 Dvl 通过 DIX 同源结构域相互作用, 将 Axin 募集到质膜上^[15-16]。此外, 由于 GSK-3 和 CK1 与支架蛋白 Axin 存在互作, 因此一起被募集到质膜上。LRP5/6 胞质区包含保守的 5 个 PPPSPxS 基序, 在 Wnt 刺激后 PPPSP 被 GSK-3 磷酸化, xS 被 CK1 磷酸化。磷酸化的 5 个 PPPSPxS 基序同时为 Axin 分子提供结合位点, 导致 Axin 去磷酸化降解。此外, Wnt 刺激也会导致 GSK-3 的活性受到抑制, 但其具体机制仍存在争议^[14]。Axin、GSK-3 和 CK1 的膜转移导致 APC 从降解复合体中分离, 并使降解复合体解聚, 因此 β -catenin 的降解被抑制^[11, 17]。稳定的 β -catenin 在细胞质中积累并在 Twa1 的作用下转移至细胞核, 取代 Groucho 并与 BCL9、Pygopus、CREB 结合蛋白等转录共激活因子形成复合物, 同时与 TCF/LEF 转录因子结合, 使 TCF/LEF 从抑制状态转变为激活状态, 以细胞特异性方式启动下游靶基因如 cyclinD1、c-myc 和 metalloproteinase 的转录, 进而诱导后续细胞反应的发生^[18-21]。

虽然以上经典模型已被普遍接受, 但对于降解复合体是如何被 Wnt 信号调节的仍存在很大争议。

Lybrand 等^[22]认为 Wnt 刺激改变了降解复合体的构象而导致其失活。也有报道称 β -catenin 泛素化失败是 Wnt 信号通路激活的主要事件。Wnt 与其受体的互作并不改变降解复合体的组成, 且不影响其激酶活性, 甚至 β -catenin 仍然与降解复合体结合, 而唯一的变化是 β -TrCP 从降解复合体中解离。因此, β -catenin 不再被泛素化和降解, 从而使 Axin 达到饱和^[23]。此外, TCF/LEF 由抑制状态转变为激活状态也有多种模型^[8]。有研究表明, β -catenin 也可以不依赖 TCF/LEF 转录因子, 而是由 Oct-4 等作为下游转录因子来调节靶基因的转录^[24-25]。针对不同应答, Wnt 信号通路可能有不同的调节方式。以上都体现了经典 Wnt 信号通路的复杂性。

1.2 经典 Wnt 信号通路主要成员

1.2.1 Wnt Wnt 是一类疏水性分泌型糖蛋白, 由果蝇中的 *Wingless* (Wg) 基因和小鼠中同源基因 *Int* 共同命名^[26]。自 1982 年 Nusse 首次从小鼠乳腺癌中克隆出 Wnt 基因以来, 目前已从不同物种中分离出许多 Wnt 基因, 由这些基因组成 Wnt 家族^[27]。哺乳动物基因组中存在 19 个 Wnt 基因, 分为 12 个亚家族。节肢动物中, 果蝇的 Wnt 基因研究最为全面, 它有 7 个 Wnt 基因, 而凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 则有 12 个 Wnt 基因亚家族。有趣的是, Wnt3 在哺乳动物中不存在, 而 WntA 在节肢动物中不存在^[28]。

Wnt 蛋白含有 350–400 个氨基酸, 其中包括 22 或 24 个保守的半胱氨酸残基, 这些残基通过 11 或 12 个分子内二硫键的形成对蛋白质进行适当折叠, 这对 Wnt 蛋白的内源性疏水很重要^[28-29]。新合成的 Wnt 在内质网中被 Porcupine (PORCN) 棕榈酰化, 之后被转运蛋白 Wntless 释放到胞外。Wnt 蛋白在 Wnt 信号通路中起配体的作用, 其通过分泌作用与细胞膜上受体结合来激活 Wnt 信号通路。在个体不同生长、发育阶段和免疫应答中 Wnt 基因有不同的表达模式, 并且不同的 Wnt 蛋白可以与相同的受体发生不同的相互作用^[18], 这也为 Wnt 信号通路的多样化提供了条件。许多 Wnt 信号通路的抑制分子可通过拮抗 Wnt 来抑制 Wnt 信号通路, 包括 Dkk1、sFRP1-5、Wif1、Cerberus、Wise/SOST 和 Dickkopf

家族蛋白^[30-31]。

1.2.2 β -catenin Armadillo 蛋白家族成员 β -catenin 是 Wnt 经典信号通路最为关键的信号转导因子,起枢纽作用。 β -catenin 最先在 1990 年作为哺乳动物细胞黏附复合体被发现,它可与钙黏蛋白(cadherin)相互作用,参与细胞黏附和构成细胞骨架组织,即它还具有结构功能^[32-33]。在大多数动物物种中,结构功能和信号传导功能由一种 β -catenin 行使。然而在秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)中,由不同种类的 β -catenin 分别行使这两种功能^[34]。有研究发现, β -catenin 参与黏附或 Wnt 信号通路是由其分子形式所决定的,而不是简单的 TCF/LEF 和 cadherin 对一种分子形式 β -catenin 的竞争^[35]。

果蝇中 β -catenin 的同源物叫 Armadillo,人类中叫 CTNNB1。 β -catenin 的特征结构域有:N 末端、中间 12 个连续的 Armadillo/ β -catenin-like (ARM) 重复域、C 末端^[34]。其中,N 末端富含 Ser/Thr 残基,含有保守的 GSK-3 及 CK1 磷酸化位点,控制着 β -catenin 的稳定性。ARM 重复域被证明可以与多种蛋白质结合,如 TCF/LEF、ICAT、Axin、APC、E-cadherin 等,是 β -catenin 的核心区域。ARM 重复域的晶体结构表明,每个 ARM 重复由 3 个螺旋组成,分别为 H1、H2、H3^[36]。C 末端为转录激活区域,可与 IRF3 等转录因子结合促进转录的起始和延伸^[37-38]。 β -catenin 的这些保守结构域与它在经典 Wnt 信号通路中的核心作用是密不可分的。经典 Wnt 信号通路激活时, β -catenin 在细胞质内积累并入核,细胞核内的 β -catenin 与 TCF/LEF 结合调节下游靶基因的转录。而当信号通路闭合时, β -catenin 在细胞质内被大量降解而失活。

1.2.3 降解复合体 降解复合体由 Axin、APC、GSK-3、CK1 等蛋白组成。降解复合体在 Wnt 信号通路中通过调节关键分子 β -catenin 的磷酸化水平来调控信号传导。在 Wnt 信号通路闭合时,细胞质中的降解复合体将 β -catenin 磷酸化来促进 β -catenin 的降解。而当 Wnt 信号通路激活时,降解复合体失活, β -catenin 不能被磷酸化而在胞质中大量积累。因此,降解复合体是 Wnt 信号通路的关键负调控因子。

1.2.3.1 Axin Axin 参与代谢、神经系统发育、肿瘤发生发展等多种过程^[39]。Axin 蛋白的 N 端和 C

端分别包含一个 RGS 结构域和一个 DIX 结构域。RGS 结构域与 APC 结合,DIX 结构域与 Dvl 结合。Axin 中心区域包含了 β -catenin、GSK-3、CK1 等许多蛋白相互作用的位点。

Axin 通过介导多种信号复合物的形成,在多种信号通路中发挥重要作用,如 Wnt/ β -catenin、TGF- α kt、JNK 和 p53,尤其在 Wnt/ β -catenin 信号通路中的作用最为突出^[40]。在经典 Wnt 信号通路中,Axin 可与复合体中的其他成员(APC,CK1 和 GSK-3)以及 β -catenin 直接结合,因此是降解复合体的中心支架,同时也是降解复合体的限速因子^[23]。Axin 的磷酸化会改变其构象,从而增强与降解复合物中其他组分的结合,并且可通过去磷酸化来逆转。Wnt 信号通路关闭时,Axin 被磷酸化,这些磷酸激酶包括 GSK-3、CK1、Cyclin A/CDK2 和 CDK5。Wnt 刺激后,Axin 去磷酸化,磷酸酶包括 PP2A、PP2C 和 PPI^[40-41]。在正常细胞中,Axin 在细胞质和细胞核之间不断穿梭,这有助于 β -catenin 的细胞质定位^[42]。

1.2.3.2 APC APC 是一种肿瘤抑制因子,Wnt 信号转导异常激活导致的结直肠癌大部分是由 APC 的失活引起的。在 Wnt 信号转导的经典模型中,APC 主要是在降解复合体中起作用,靶向转录共激活因子 β -catenin 磷酸化并使其降解^[41]。

和 Axin 一样,APC 在细胞质和细胞核间穿梭。APC 的 N 端和中心区域包含功能性核输出信号和核定位信号。APC 的中心区域由 3 个含 15 个氨基酸和 7 个含 20 个氨基酸的重复序列组成,其中含 15 个氨基酸的序列与 β -catenin 结合,而含 20 个氨基酸的序列则介导 β -catenin 下调^[43]。当 Wnt 信号通路关闭时,APC 被 GSK-3 和 CK1 磷酸化,磷酸化的 APC 对 β -catenin 的亲和力增强,促进 β -catenin 募集到降解复合体上。APC 与 β -catenin 的结合促进了 GSK-3 对 β -catenin 的磷酸化^[44]。APC 不仅在降解复合物中是必须的,而且在 Wnt 刺激后促进 Axin 构象的快速转变以及随后 Axin 与 LRP5/6/Arrow 的互作^[41]。

1.2.3.3 CK1 CK1 是所有真核细胞共有的丝氨酸/苏氨酸特异性蛋白激酶家族^[45]。到目前为止,至少有 7 种哺乳动物 CK1 亚型(α 、 β 、 γ 1、 γ 2、 γ 3、 δ 和 ϵ)及其各种剪接体,它们参与细胞膜运输、昼

夜节律、细胞周期进程、染色体分离、细胞分化和凋亡等多种细胞过程^[46]。所有 CK1 家族成员具有高度保守的激酶结构域,但在其 N 末端和 C 末端非催化结构域存在显著差异。CK1 只使用 ATP 作为磷酸供体,通常不依赖于辅因子^[47]。

在 Wnt 信号通路中,CK1 既是负调节因子也是正调节因子。作为负调节因子,CK1 在 S45 位点磷酸化 β -catenin,从而启动 GSK-3 介导的 β -catenin 磷酸化,CK1 也通过磷酸化修饰 Axin 和 APC 促进 β -catenin 的磷酸化降解。CK1 通过磷酸化修饰 Dvl 和 TCF3 充当 Wnt 信号通路的正调节剂^[46]。除了 Wnt 信号通路外,CK1 还被认为在 JNK 和刺猬 (Hh) 信号通路中起到重要作用^[47]。对于底物的调节,CK1 更倾向于预先对其磷酸化促进其活化。此外,CK1 还可通过自磷酸化修饰来调节自身活性^[48]。

1.2.3.4 GSK-3 GSK-3 是一种多功能的丝氨酸/苏氨酸激酶,最初被发现可将糖原合成酶磷酸化而被鉴定为参与糖原代谢的激酶^[49]。近年来,GSK-3 被发现参与调节多种信号通路,包括磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 信号通路、Wnt 信号通路、Hh 信号通路和 Notch 信号通路,并参与从糖原代谢到细胞周期调节以及细胞增殖等一系列细胞过程^[50-51]。

GSK-3 由两个基因编码两种不同的亚型:GSK-3 α 和 GSK-3 β 。它们的催化结构域几乎相同,但它们的 C 端序列不同,并且 GSK-3 α 包含一个富含甘氨酸的 N 端区域,而在 GSK-3 β 中却不存在。与其他蛋白激酶相比,GSK-3 的一个特点是其底物通常需要被另一个激酶预磷酸化活化^[52]。在细胞中,一小部分 (<5%-10%) 的 GSK-3 参与组成降解复合物^[50]。当 Wnt 信号通路处于非激活状态时,CK1 先将 β -catenin 的 Ser45 位点磷酸化,随后 GSK-3 依次磷酸化 β -catenin 的 Thr 41、Ser37 和 Ser 33 位点,之后通过蛋白酶体介导的降解使 β -catenin 在细胞质中维持较低水平^[53]。Wnt 信号通路激活时,复合体中的 GSK-3 和 CK1 将 LRP5/6 磷酸化,随后 Axin 被募集到磷酸化的 LRP5/6 上^[54-55]。

2 非经典 Wnt 信号通路

不同于经典 Wnt 信号通路,非经典 Wnt 信号通路并不依赖 β -catenin 激活下游分子,而通过 Dvl

将信号传递给其他分子。它在调节细胞极性和迁移方面具有显著的作用。并且一般认为,与经典 Wnt 信号通路通过 Wnt1 类型 (Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt7a、Wnt8a 和 Wnt8b) 起始信号不同,非经典 Wnt 信号通路的配体为 Wnt5a 类型 (Wnt4、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt9b、Wnt11 和 Wnt16)^[30, 56-58]。其中一些 Wnt 分子会参与两种 Wnt 信号通路,诱导不同的细胞反应,如 Wnt5a^[59]。非经典 Wnt 信号通路一般包括 Wnt/PCP 信号通路和 Wnt/Ca²⁺ 信号通路。

Wnt/PCP 信号通路首先在黑腹果蝇中被发现,控制着翅膀上毛发和眼睛内小平面的方向^[60]。在脊椎动物中 Wnt/PCP 又称 Wnt/Jun 信号通路,控制组织极性与细胞运动,并与胚胎发生和癌变有关。Wnt/PCP 信号通路通过激活 RhoA、c-Jun N 末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 和 Nemo 样激酶 (Nemo-like kinase, NLK) 信号通路将信号传导至下游。与脊椎动物中激活 Wnt/PCP 信号通路需要 Wnt 不同的是,果蝇 Wnt/PCP 信号通路的激活并不需要 Wnt 的同源基因 wg^[61]。激活的 Frizzled 家族受体和辅受体 ROR2、RYK 将信号传递至胞内,随后激活 Dvl。Dvl 可以通过两种小 GTP 酶 RhoA 和 Rac 传递信号,其中 RhoA 是细胞骨架结构的关键调控因子。从 Dvl 到 RhoA 的信号传导需要 Formin 同源蛋白 Daam, Daam 结合 Dvl 和 RhoA,介导 Dvl-RhoA 复合物的形成。RhoA 继而激活 Rho 相关蛋白激酶,影响细胞骨架的形成和细胞运动。另外,Dvl 还可激活另一种小 GTP 酶 Rac,随后通过 Rac-PAK-MAP3K-MAPKK4/7 信号级联磷酸化激活 JNK 信号通路,最终影响靶基因转录^[56, 62-63]。除了依赖 Dvl 的 RhoA 和 JNK 信号通路外,NLK 信号级联可通过不依赖 Dvl 的方式被 Wnt/PCP 信号通路激活。与 Frizzled 偶联的 G 蛋白介导 Ca²⁺ 释放,之后激活 TAK1,继而激活 NLK 信号级联。由于激活的 NLK 负调节经典 Wnt 信号通路,因此 Wnt/PCP 信号通路的激活导致经典 Wnt 信号通路被部分抑制。此外,PCP 信号通路还包括许多其他成分,如 Vangl、Celsr、PTK7 等,这些分子在脊椎动物中的具体作用尚未确定。在果蝇中,Frizzled、Vang、Stan、Dvl、Prickle 和 Diego 是 Wnt/PCP 的核心分子,它们组成了 Frizzled-

Dvl-Diego-Stan 和 Vang-Prickle 两种复合体。这两种复合体在翅膀或眼睛中的不对称分布导致了组织极性的建立。另外, Diego 和 Prickle 竞争性结合 Dvl, Diego 通过与 Dvl 结合正向调节 Wnt/PCP 信号通路, 而 Prickle 通过阻止 Diego 与 Dvl 的结合负向调节 Wnt/PCP 信号通路^[64]。

Ca^{2+} 作为一种普遍存在的第二信使, 调控着广泛的细胞生物学过程, 包括肌肉收缩、神经传导、细胞生长或增殖和酶活性调节等^[65]。Wnt/ Ca^{2+} 信号通路以 G 蛋白依赖的方式刺激细胞内 Ca^{2+} 的释放并激活一些激酶, 以调节细胞运动和细胞黏着性, 但 G 蛋白在信号通路中的作用尚不清楚^[66]。Wnt/ Ca^{2+} 信号通路主要由 Wnt5a 和 Wnt11 激活, 并且 Frizzled-2 比 Frizzled-1 更能诱导 Ca^{2+} 的释放。首先, Wnt5a/Wnt11 与细胞膜上的 Frizzled 结合后导致 Dvl 活化, 之后激活磷脂酶 C (phospholipase, PLC), PLC 水解质膜上的磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸导致三磷酸肌醇 (inositol triphosphate, IP3) 和二酰甘油 (Diacylglycerol, DAG) 的浓度增加。IP3 通过胞质溶胶扩散, 与内质网上的钙通道互作, 促进 Ca^{2+} 的释放。此外, 5HT_{1C} 也以 G 蛋白依赖的方式刺激细胞内 Ca^{2+} 的释放^[67]。 Ca^{2+} 和钙调蛋白一起激活两种钙敏感激酶——钙调蛋白激酶 II (Ca^{2+} -calmodulin-dependent protein kinase II, CaMKII) 和蛋白磷酸酶 calcinurin (Cn)。其中, CaMKII 被认为在许多生物过程中发挥作用, 如哺乳动物卵母细胞成熟, 神经递质合成和释放。CaMKII 被激活后自磷酸化, 之后显示出 Ca^{2+} 独立的自主活性^[59]。激活的 CaMKII 和 Cn 之后又激活核转录因子 NF- κ B 和 NFAT。另外, 当质膜上 DAG 浓度升高, 细胞质中的蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 被结合到质膜上, 然后在 Ca^{2+} 的作用下被激活, 激活的 PKC 继而激活 NF- κ B 和 CREB。 Ca^{2+} 内流和 PKC 激活又进一步反馈调节 Dvl 的磷酸化, 使 Wnt/ Ca^{2+} 信号通路被持续激活^[68]。之后, NFAT、NF- κ B 和 CREB 转移到细胞核并调控下游基因的转录。值得注意的是, NFAT、NF- κ B 和 CREB 均被发现免疫调节中起关键作用^[69-71]。此外, Wnt/ Ca^{2+} 信号通路可能还以钙依赖的方式激活磷酸二酯酶 6, 导致环鸟苷单磷酸的降低^[72]。

也有研究发现, Wnt9b 可与受体 PKD1/TRPP2

复合体的胞外域结合激活 Wnt/ Ca^{2+} 信号通路, 之后 PKD1 与 Dvl 相互作用将信号传递至下游, 而 TRPP2 可介导 Ca^{2+} 内流而不依赖于 Frizzled 和 LRP5/6^[58]。这种差异可能是由 Wnt 分子不同而造成的。虽然一般认为 LRP5/6 不参与非经典信号通路, 但也有报道 LRP5/6 可能参与非经典 Wnt 信号通路, 并可能以复杂的方式抑制或协同作用^[73-74]。

除了上述两种非经典 Wnt 信号通路外, 还有 Wnt-RAP1、Wnt-ROR2、Wnt-PKA、Wnt-GSK3MT、Wnt-aPKC、Wnt-RYK 和 Wnt-mTOR 等非经典 Wnt 信号通路类型。不同 Wnt 信号通路之间由于共用一些受体和胞内信号传导蛋白而可能互相交叉或重叠, 且能通过对 Dvl 的竞争而互相拮抗^[75]。

3 Wnt 信号通路在无脊椎动物天然免疫中的功能

近年来, 病原与宿主的相互作用, 特别是宿主对外来入侵物的免疫应答受到了越来越多的关注^[76]。不同于脊椎动物, 无脊椎动物缺乏适应性免疫系统, 仅依靠天然免疫系统抵御病原体的侵袭。因此, 天然免疫也成为了脊椎动物和无脊椎动物所共有的第一道防线, 有时也是最重要的一道屏障, 它包含复杂的信号通路网络来调控免疫应答。

对于无脊椎动物参与天然免疫的信号通路, 以 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 信号通路、免疫缺陷 (immune deficiency, IMD) 信号通路和 Janus 激酶 / 信号转导与转录激活子 (Janus kinase/signal transducers and activators of transcription, JAK/STAT) 信号通路研究较多, 而 Wnt 信号通路鲜有报道。然而, 在脊椎动物中已有大量研究表明 Wnt 信号通路在宿主和病原体的博弈中发挥了关键作用。其中, Wnt 信号通路不仅有助于增强宿主对病原体侵袭的抵抗力, 并且由于病原体与宿主的协同进化, 病原体也已经进化出了胁迫 Wnt 信号通路的相关策略, 以促进感染和提高在宿主中的生存能力^[77-78]。

3.1 病毒免疫

目前, Wnt 信号通路在脊椎动物病毒免疫中的研究已经较为深入。现有研究表明, 在人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV)、牛副流感病毒 3 型 (bovine parainfluenza virus type3, BPI-

V3)、人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)等多种病毒感染中, Wnt 信号通路都扮演了重要角色。而在无脊椎动物中, Wnt 信号通路参与的抗病毒天然免疫研究主要集中在对抗白斑综合症病毒(white spot syndrome virus, WSSV)中^[4, 79-80]。

WSSV 是一种主要的虾类病原体, 在世界范围内造成巨大的经济损失^[81]。目前, Wnt 信号通路参与 WSSV 天然免疫的研究主要集中在凡纳滨对虾中。Zhang 等^[3]发现 WSSV 侵染凡纳滨对虾后, 参与免疫防御的对虾组织(血细胞、肝胰腺、鳃)中的 LvWnt 表达均受到不同水平调控, 说明 Wnt 基因在凡纳滨对虾的天然免疫中发挥了重要的调控作用。最近有学者发现日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)受到 WSSV 侵染, Wnt 基因表达谱也发生了显著变化, 这可能涉及到它的免疫防御^[78]。除了 Wnt 之外, β -catenin 也被证实参与凡纳滨对虾 WSSV 的免疫。有研究发现 WSSV 刺激凡纳滨对虾导致其体内 Lv- β -catenin 的表达先上调后略下调, 敲除 Lv- β -catenin 增强了其对 WSSV 侵染的敏感性, 表明 β -catenin 作为 Wnt 信号通路的关键调节因子在凡纳滨对虾抗病毒免疫中起到了积极作用^[82]。随后的研究又发现, 宿主本身可通过调控促进 Lv- β -catenin 进入细胞核发挥抗病毒免疫功能。一旦利用 GSK-3 抑制剂 IX 激活 Lv- β -catenin, 则可显著抑制病毒极早期基因 WSSV069 的转录。此外, 研究还发现 WSSV 可以通过增加 Lv- β -catenin 的泛素化来影响 Lv- β -catenin 的表达水平, 并通过其所编码的极早期蛋白 IE1 与 Lv- β -catenin 相互作用, 抑制其进入细胞核, 从而限制其抗病毒免疫调控功能^[83]。Chibby 是 Wnt/ β -catenin 信号通路的重要抑制剂分子, 它能与 TCF/LEF 竞争结合 β -catenin 并抑制 β -catenin 的活性。Ruan 等^[84]采用实时荧光定量 PCR 检测发现, WSSV 可下调凡纳滨对虾体内 Lv-Chibby 基因的转录水平。进一步的研究证实 Lv-Chibby 能够与 Lv- β -catenin 相互作用, 并且 Lv-Chibby 增强了 Lv- β -catenin 与 WSSV069 之间的相互作用。此外, Ruan 等^[85]也发现在 WSSV 侵染后, 调控 Lv- β -catenin 降解的上游分子 Lv-GSK3 β 的转录和表达水平受到抑制, 并且磷酸化水平下调。当 Lv-GSK3 β 沉默时, WSSV 基因 *iel* 的转录受到抑制, WSSV 诱导的血细

胞凋亡也显著上调, 说明凡纳滨对虾通过抑制 Lv-GSK3 β 的表达, 促进细胞凋亡, 进而抑制 WSSV 感染。综合以上研究表明, Lv- β -catenin 是凡纳滨对虾抗病毒免疫的重要调控分子。此外, 有报道称 β -catenin 也参与日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)对 WSSV 的免疫应答^[86]。

近年来, 克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)作为一种无脊椎动物的模式生物, 其天然抗病毒免疫涉及 Wnt 信号通路已被证实。Du 等^[87-88]根据克氏原螯虾转录组测序结果, 通过对实验组(WSSV 侵染)与对照组的差异表达基因进行 KEGG 通路分析, 筛选出一些与天然免疫相关的经典信号通路, 如 Wnt 信号通路、JAK-STAT 信号通路、胰岛素信号通路等。之后, Yi 等^[89]使用 RNA-seq 对克氏原螯虾 WSSV 感染的易感个体、病毒抗性个体进行比较转录组分析, 发现易感个体中下调、抗性个体中上调的基因在 Wnt 信号通路中明显富集, 即克氏原螯虾 Wnt 信号通路参与 WSSV 侵染后的免疫应答。

除甲壳类动物外, WSSV 也能被果蝇的 S2 细胞系识别并吞噬。研究发现, 活的 WSSV 能被果蝇 S2 细胞吞噬而不能被消化, 说明 WSSV 本身能够破坏宿主细胞免疫系统, 阻止其吞噬体的成熟。然而肽聚糖和脂多糖可激活 S2 细胞表面的受体, 促进吞噬体成熟, 从而使 WSSV 病毒粒子被完全成熟的吞噬体吸收和消化。dally 作为一种细胞表面蛋白多糖, 可调节 Wnt 信号通路^[90]。基因表达谱显示, dally 介导 Wnt 信号通路参与了 S2 的吞噬作用。dally 的沉默显著抑制了果蝇 S2 细胞系中吞噬体的成熟, 表明 dally 介导的 Wnt 信号通路可能是吞噬作用的关键^[91]。

值得一提的是, 在对家蚕(*Bombyx mori*)核型多角体病毒(*Bombyx mori nucleopolyhedro virus*, BmNPV)的研究中也发现 Wnt 信号通路参与了抗病毒免疫过程。Zhang 等^[92]使用全基因组和转录组分析, 检测在有或没有 BmNPV 感染的家蚕细胞中长链非编码 RNA(lncRNA), microRNA(miRNA)和 mRNA 的表达情况, 在差异表达的 RNA 之间构建了 lncRNA-miRNA-mRNA 的调控网络, 并采用 KEGG 分析来预测差异表达 miRNA 的靶基因, 结果显示差异表达的 lncRNA 参与调节 49 条信号通路, 其中前

20 位信号通路中包括 Wnt 信号通路。

另外, 非经典 Wnt 信号通路也被证实参与无脊椎动物的先天免疫调节。Wnt5b 作为非经典 Wnt 信号通路的配体, 启动非经典 Wnt 信号通路。Wang 等^[93]发现凡纳滨对虾感染 WSSV 后, *LvWnt5b* 转录水平下调, 敲低 *LvWnt5b* 可抑制 WSSV 基因 *ie1* 的转录水平, 提示 *LvWnt5b* 介导的 Wnt 信号通路可能在 WSSV 感染的防御中发挥作用。在 HEK293T 细胞中过表达 *LvWnt5b* 可抑制 caspase3/7 的活性, 进一步证明了 *LvWnt5b* 在抑制细胞凋亡中的作用。该研究表明, 凡纳滨对虾可能通过下调 *LvWnt5b* 的表达, 促进细胞凋亡来抵御 WSSV 的侵染。Cdc42 作为 Rho GTP 酶的一个重要成员, 参与 Wnt 非经典信号通路的调控^[94]。在日本囊对虾受到 WSSV 侵染时, *MjCdc42* 的表达显著上调。通过 RNA 干扰和注射 Cdc42 抑制剂抑制 *MjCdc42* 的表达可使 WSSV 的复制增加。由此证明 *MjCdc42* 具有抑制 WSSV 增殖的功能。进一步实验发现 *MjCdc42* 通过抑制精氨酸激酶 (*MjAK*) 来抑制宿主体内病毒的复制和扩增^[95]。

3.2 细菌免疫

Wnt 信号通路最近已被证明可以控制与人类细菌感染相关的过程, 并发现了一些激活或抑制 Wnt 信号通路的药物来调节 Wnt 信号通路, 以此增强宿主免疫^[96]。在无脊椎动物中, 无论在抗革兰氏阳性菌或革兰氏阴性菌中, Wnt 信号通路都在其中起到关键作用。

3.2.1 革兰氏阴性菌免疫 副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 是一种常见的革兰氏阴性菌, 是多种水生生物的主要病原菌。Wnt 受体 Frizzled、Wnt 转运蛋白 Wntless 均被报道在副溶血弧菌侵染罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 中参与天然免疫应答^[97-98]。另外, Zhang 等^[82]通过副溶血弧菌侵染凡纳滨对虾发现, *Lv-β-catenin* 在抗副溶血弧菌侵染中起积极作用, 并且首次证实了对虾中 *β-catenin* 可调节抗菌肽 (AMP) 的转录。此外, 2020 年, Jin 等^[99]用副溶血弧菌感染拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*), 在感染后进行了小 RNA 测序, 并比较了无弧菌和受弧菌感染的青蟹中 miRNA 的表达谱, 以表征差异表达的 miRNA。结果显示差异表达

的 46 个 miRNA 中, 其中 5 个 miRNA 靶向 Wnt 信号通路。

嗜水气单孢菌 (*Aeromonas hydrophila*) 为典型的人、兽、鱼共患病原菌。受嗜水气单孢菌感染的罗氏沼虾, 体内 Wntless 升高, 敲低 Wntless 导致虾累积死亡率显著升高。以上结果说明 Wntless 参与虾抗嗜水气单孢菌的免疫调控^[98]。Xie 等^[86]发现, 感染鳃弧菌 (*Vibrio anguillarum*) 的日本囊对虾组织中 *β-catenin* 的转录水平上升, 这是首次发现虾体内的 *β-catenin* 参与了鳃弧菌的免疫应答。王菲等^[100]对家蚕免疫稳态调控分子进行了首次报道, 家蚕被大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 感染后, 免疫组织如脂肪体、体壁和中肠中 *BmWnt1* 基因的转录水平与未感染的家蚕相比均显著下调, 提示家蚕中的 Wnt1 基因可能与其天然免疫调控密切相关。

除了上述经典 Wnt 信号通路外, 非经典 Wnt 信号通路也被证实参与无脊椎动物抗菌天然免疫。Wnt4 和 Wnt16 都属于非经典 Wnt 信号通路的配体。最近一项研究发现, 日本沼虾受副溶血弧菌侵染后, 胃中 Wnt 的转录水平升高, 并且减少 Wnt4 和 Wnt16 的表达可显著抑制副溶血弧菌侵染后虾胃中抗菌肽的表达。这表明 Wnt 基因家族可能通过调节抗菌肽的合成, 参与机体对弧菌感染的天然免疫应答^[78]。RhoA 作为非经典 Wnt/PCP 信号通路的重要成员, 也被证实参与天然免疫。研究显示, 当日本囊对虾感染鳃弧菌时, *MjRhoA* 在血细胞与心脏中的表达水平显著上调。利用 RNA 干扰抑制 *MjRhoA* 的表达水平后, 对虾清除细菌的能力与对虾的存活率均明显降低。这些结果证实 *MjRhoA* 在体内具有调控抵抗细菌感染的能力^[95]。

3.2.2 革兰氏阳性菌免疫 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 是革兰氏阳性菌的代表, 广泛分布于自然界。有研究称, 感染金黄色葡萄球菌的日本囊对虾体内 *β-catenin* 异常上调, 之后通过 RNA 沉默实验证实 *β-catenin* 是虾抗菌免疫所必须的^[50]。Kim 等^[101]研究发现, 在秀丽隐杆线虫中, *β-catenin* 同源基因 BAR-1 的缺失导致了不完全的免疫反应和对粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*)、金黄色葡萄球菌的异常易感性。益生菌嗜酸乳酸杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*) NCFM 菌株可显著增强秀

丽隐杆线虫对革兰氏阳性病原体的宿主防御反应, 这种调节作用通过激活宿主相关免疫信号通路实现, 这些信号通路包括 Wnt、TIR-1、PMK-1^[101]。此外, 在日本沼虾中也发现 Wnt 基因可能参与抗金黄色葡萄球菌的免疫应答^[78]。

王菲等^[100]在被黑胸败血芽孢杆菌 (*Bacillus bombyseptieus*) 感染后的家蚕幼虫血细胞和头部中检测到 BmWnt1 基因的高水平表达, 但此高水平的表达量迅速下降, 并不能持续。与此形成对比的是, 在其他免疫组织中所检测到的 BmWnt1 的转录水平均为非感染时的 50% 以下。该研究表明家蚕 Wnt 家族成员参与了免疫稳态调控, 并且 Wnt 可能通过调控抗菌肽等效应分子的产生参与免疫应答。

3.3 其他病原体免疫

除了病毒和细菌外, Wnt 信号通路还参与了其他病原体的天然免疫, 如真菌、线虫和螺原体等。

受白僵菌 (*Beauveria bassiana*) 感染的家蚕, 其脂肪体、体壁和中肠中的 BmWnt1 转录水显著下降, 表明 Wnt1 可能涉及家蚕的天然免疫应答^[100]。Arefin 等^[102]用异小杆线虫 (*Heterorhabditis bacteriophora*) 及其共生菌发光杆菌 (*Photobacterium luminescens*) 感染果蝇后对果蝇进行全基因组转录测序, 并将所有差异调节的转录本映射到 KEGG 数据库, 发现 Wnt 信号通路、泛素介导的蛋白水解、卵母细胞成熟信号通路的富集最为显著, 其中泛素介导的蛋白水解也与 Wnt 信号通路相关。

中华绒螯蟹螺原体 (*Spiroplasma eriocheiris*) 是引起中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 震颤病的一种致死性病原体。Wang 等^[103]向中华绒螯蟹体内注射中华绒螯蟹螺原体, 同时用只注射等量 PBS 的中华绒螯蟹作为对照组。获得 cDNA 后使用 Illumina HiSeq 2500 测序平台对两组的血细胞进行转录组分析, 并通过 KEGG 通路分析鉴定了一些经典的免疫相关信号通路, 包括 Wnt 信号通路、MAPK 信号通路、VEGF 信号通路等。之后 Hou 等^[65]也证实 Wnt 信号通路参与中华绒螯蟹的螺原体免疫。首先, 使用 Illumina HiSeq 2500 获得了实验组和对照组的胸神经节转录图谱, 之后通过 RPKM 分析筛选出差异常表达的基因。与对照组相比, 实验组 Wnt 信号通

路、Ca²⁺ 调节相关过程等基因的转录水平发生了显著变化。一方面, 实验组 3 种 Frizzled 的转录水平均发生了显著下调, 提示中华绒螯蟹螺原体的入侵可能通过抑制 Wnt 信号通路, 降低宿主免疫应答, 促进自身感染。另一方面, 与 Ca²⁺ 调节相关基因如 IP3R、ERp44、Syt 均显著下调, 而 Ca²⁺ 调节与非经典 Wnt/Ca²⁺ 信号通路密切相关, 提示螺原体通过干扰 Ca²⁺ 调节, 抑制 Wnt/Ca²⁺ 信号通路, 影响神经递质的释放, 从而导致神经信号紊乱^[65]。因而确定经典 Wnt 信号通路和非经典 Wnt/Ca²⁺ 信号通路为中华绒螯蟹胸神经节应答中华绒螯蟹螺原体感染的关键途径。

4 Wnt 信号通路与其他信号通路的交联及潜在功能

生物体中, 各信号通路之间密切交织。这种由多条信号通路形成的网络有利于不同分子、不同细胞之间的通讯, 从而可以迅速有效地对外界变化做出快速响应。在无脊椎动物中, 已有相关研究表明信号通路之间可通过相互交联调控机体的免疫功能。在黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 中, Toll 和 IMD 信号通路可协同诱导 AMP 的表达, 激活先天免疫应答^[104]。Toll、IMD 和 JAK/STAT 是无脊椎动物参与天然免疫的 3 条主要信号通路, 它们在进化中具有广泛的保守性, 且它们都与 Wnt 信号通路存在密切关联, 这可能提示 Wnt 信号通路参与更多的天然免疫调控。

Toll 信号通路主要由革兰氏阳性菌或真菌激活, 其在无脊椎动物天然免疫中的功能已被大量报道^[105]。Toll 及其同源物 TLR 是病原体识别过程中重要的模式识别受体 (PRR), 由它们介导的 Toll 信号通路可使 NF- κ B 活化后进入细胞核与 κ B 结合, 调控抗菌肽、干扰素等免疫相关基因的表达^[106-108]。果蝇 Toll 信号通路能有效抑制果蝇 X 病毒 (DXV) 的复制, 控制念珠菌 (*Candida glabrata*) 等真菌感染^[109-110]。皱纹鲍鱼 (*Haliotis discus*) 的 TLR 在副溶血弧菌、李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*) 和出血性败血症病毒 (hemorrhagic septicemia virus) 感染后表达量上调^[111]。此外, 在梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*)、厚壳贻贝 (*Mytilus coruscus*)、水螅

(*Hydra*) 等无脊椎动物中都有报道显示 Toll 信号通路参与天然免疫^[112-114]。已有一些研究证明了 Wnt 信号通路与 Toll 信号通路之间存在交联。有研究表明,介导 Toll 信号通路的 NF- κ B 转录因子 p65 在受刺激的巨噬细胞中促进 Wnt5a 的表达^[115]。巨噬细胞的天然免疫功能至少部分是通过 Wnt5a-Frizzled5-NF- κ B (p65) 信号级联来实现的, p65 又反馈维持 Wnt5a 的表达。该信号级联不仅维持基础水平的免疫防御,还调节免疫相关蛋白 CD14 的表达, CD14 与 TLR2 共同作用,有助于识别和控制李斯特菌的感染^[116]。而且 p65 作为 IRF3 的转录共激活剂可诱导 IFN 的合成^[1]。此外, Wnt1 通过与 Scavenger 受体 A 结合,增加 NF- κ B 蛋白水平,促进 IL-6, TNF- α 和 iNOS 的分泌^[117]。Wnt3a 和 Wnt5a 分别是经典和非经典 Wnt 信号通路的配体。在鼠巨噬细胞内发现, Wnt3a 和 Wnt5a 均有能力诱导炎症细胞因子的产生,其对炎症反应的影响呈 TLR4 依赖性。但 Wnt3a 和 Wnt5a 抑制 TLR2 和 TLR9 刺激下的细胞因子的产生。有趣的是,使用 Wnt 信号通路抑制剂并不能抑制 Wnt3a 和 Wnt5a 诱导的巨噬细胞因子的产生,这说明 Wnt3a 和 Wnt5a 诱导的巨噬细胞炎症反应可能不是典型 Wnt 与 Wnt 受体相互作用的结果^[118]。WntD 为果蝇 Wnt 家族的一员,在调节抗菌基因转录中有积极作用。但 WntD 不是经典 Wnt 信号通路的配体,其可能通过非经典 Wnt 信号通路发挥作用。Gordon 等^[119]证明了 WntD 的表达是由 Toll 信号通路诱导的。通过基因敲除发现, WntD 功能缺失突变体具有免疫缺陷并且 Toll/Dorsal 信号升高,说明 WntD 负反馈调节 Toll 信号通路。激活 Toll 信号通路可使果蝇更容易受到病毒感染,因此我们推测, WntD 可能通过抑制 Toll 信号通路,在果蝇抗病毒免疫中发挥积极作用。

IMD 信号通路主要被革兰氏阴性菌激活,它是除 Toll 信号通路外另一条介导 NF- κ B 的信号通路。IMD 与 Toll 信号通路在功能上互补^[108]。Yokoi 等^[120]发现,赤拟谷盗 (*Tribolium castaneum*) 中 IMD 信号通路有助于防御阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) 和枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)。又有研究发现,大肠杆菌 DH5 α 注射侵染后会迅速激活橘小实蝇 IMD 信号通路的免疫反应^[121]。另外,还有许多

研究均证实 IMD 信号通路在不同无脊椎动物天然免疫中的重要功能。Wnt/PCP 信号通路中的 TAK1 可以激活 IMD 信号通路关键组分 Relish, 这为 Wnt 和 IMD 信号通路的交联提供了直接证据。此外,已有不少证据表明 Wnt 与 NF- κ B 存在密切联系。 β -catenin 除了调节 Wnt 信号通路外,还参与 NF- κ B 靶基因的调控,如 IL-6 和 Wnt16^[122]。由非经典 Wnt 信号通路成员 Rac1 激活 NF- κ B 可驱动肠道干细胞增殖和结直肠癌的发生^[123]。并且 IMD 和与 Wnt 信号通路密切交织的 Toll 信号通路之间的串联已被报道。Nishide 等^[124]通过 RNAi 实验揭示了 IMD 和 Toll 信号通路之间显著的功能交联。IMD 信号通路和 Toll 信号通路的 RNAi 均抑制了这两条信号通路效应分子的上调。另一方面, Wnt 信号通路与 JNK 信号通路之间存在信号级联。在非经典 Wnt/PCP 信号通路中, Wnt 可通过激活小 GTP 酶 Rac 将信号传导至 JNK 信号通路。而 JNK 信号通路介导 IMD 通路。有研究发现 JNK 可以通过 PDGFP 和 Pvr 反馈抑制 IMD 信号通路。并且 IMD 信号通路的激活促进了 Pvr 配体 Pvf2 和 Pvf3 的 JNK 依赖性表达,进而通过 Pvr-ERK 减弱 IMD 信号通路^[125]。此外,由此判断 Wnt 信号通路与 IMD 信号通路的密切关联,也因此推断 Wnt 信号通路在天然免疫中有很大的潜能。

JAK/STAT 是另一条涉及天然免疫的重要信号通路。研究表明,在波纹巴非蛤 (*Paphia undulate*) 中, JAK/STAT 信号通路在细菌清除方面起着至关重要的作用^[126]。另外, JAK/STAT 信号通路还参与果蝇虹彩病毒 6 (*Iridescent virus 6*)、寄生蜂 (*Leptopilina boulardi*) 等多种病原体天然免疫^[127-128]。STAT3 是 JAK/STAT 信号通路的关键分子。先前的研究表明, Wnt 信号可以刺激早期斑马鱼发育过程中 STAT3 的活性。之后, STAT3 被证明是 Wnt 信号通路通过 TCF4 和 LEF1 的直接转录靶点,并且 STAT3 与 LEF1 存在直接相互作用。此外,在 APC 突变体中 STAT3 的表达和磷酸化水平增加^[129]。在原代棕色前脂肪细胞中, STAT3 在分化诱导期是必须的, STAT3 的缺失会导致 Wnt1、Wnt3a 和 Wnt10b 的表达增加, STAT3 的缺失可以通过抑制经典 Wnt 信号通路或敲除 β -catenin 来挽救。另有研究表明, Wnt3a 可促进 STAT3 的核定位, Wnt1 和 Wnt3a 可

以提高胚胎干细胞中 STAT3 的基因表达和蛋白水平^[130]。这两条信号通路的交联在癌症中也有报道。AKT/ β -catenin 驱动的肝癌细胞中富含活化的 STAT3, 用 JAK/STAT 信号通路的小分子抑制剂处理肝癌细胞, 可以使活性 β -catenin 减少, 并且能够有效地减轻 AKT/ β -catenin 驱动的肝癌细胞形成和增殖^[131]。以上研究均有力证明了 JAK/STAT 与 Wnt 信号通路之间的互作, 这有助于更深入地了解 Wnt 信号通路的免疫调控功能。

除了上述信号通路, Wnt 信号通路还与 PI3K/AKT、MAPK/PKC、Hippo 等多条信号通路存在交联, 共同组成免疫信号调控网络^[61, 132-136]。

5 结语

Wnt 信号通路在多种天然免疫相关过程中发挥重要作用, 其正常的功能和调控对宿主至关重要。目前国内外对无脊椎动物 Wnt 信号通路涉及天然免疫的研究甚少, 并且主要通过基因筛选的方法证明 Wnt 信号通路在天然免疫中的作用。即使有部分 Wnt 信号通路中的基因在体内得到了功能验证, 但其具体的功能机制仍不清楚, 需要更深入的研究。Wnt 信号通路与其他信号通路的串联和合作有利于进行有效的免疫应答。现有研究发现 Wnt 与其他免疫相关信号通路如 Toll、IMD、JAK/STAT 等均有交联。这些信号通路在无脊椎动物天然免疫中的研究较为广泛和成熟, 这有利于更好地发掘 Wnt 信号通路在无脊椎动物天然免疫中的功能。

参考文献

- [1] Naskar D, Maiti G, Chakraborty A, et al. Wnt5a-Rac1-NF- κ B homeostatic circuitry sustains innate immune functions in macrophages [J]. J Immunol, 2014, 192 (9): 4386-4397.
- [2] Nusse R, Varmus HE. Wnt genes [J]. Cell, 1992, 7: 1073-1087.
- [3] Zhang S, Li CZ, Yang QH, et al. Molecular cloning, characterization and expression analysis of Wnt4, Wnt5, Wnt6, Wnt7, Wnt10 and Wnt16 from *Litopenaeus vannamei* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2016, 54: 445-455.
- [4] Angelova M, Zvezdaryk K, Ferris M, et al. Human cytomegalovirus infection dysregulates the canonical Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. PLoS Pathogens, 2012, 8 (10): e1002959.
- [5] Aberle H, Bauer A, Stappert J, et al. β -catenin is a target for the ubiquitin-proteasome pathway [J]. The EMBO Journal, 1997, 16 (13): 3797-3804.
- [6] Cavallo RA, Cox RT, Moline MM, et al. *Drosophila* Tcf and Groucho interact to repress Wingless signalling activity [J]. Nature, 1998, 395 (6702): 604-608.
- [7] Roose J, Molenaar M, Peterson J, et al. The *Xenopus* Wnt effector XTcf-3 interacts with Groucho-related transcriptional repressors [J]. Nature, 1998, 395 (6702): 608-612.
- [8] 苏尚, 吴畏. Wnt/ β -catenin 信号通路对靶基因转录的调控 [J]. 中国科学: 生命科学, 2014, 44 (10): 1029-1042.
Su S, Wu W. Regulation of target gene transcription by Wnt/ β -catenin signaling [J]. Scientia Sinica Vitae, 2014, 44 (10): 1029-1042.
- [9] 杨碧娟. 新型非啉类 Wnt 信号通路激动剂的设计合成和构效关系研究 [D]. 昆明: 云南大学, 2018.
Yang BJ. The design synthesis and SAR of phenanthridine Wnt signaling agonist [D]. Kunming: Yunnan University, 2018.
- [10] 吴影懿, 邢昌赢, 张波. Wnt 信号通路在足细胞中的作用和调节机制 [J]. 中华临床医师杂志, 2014, 8 (4): 738-741.
Wu YY, Xing CY, Zhang B. The role and regulation of Wnt signaling in podocytes [J]. Chinese Journal of Clinicians, 2014, 8 (4): 738-741.
- [11] Tamai K, Zeng X, Liu C, et al. A mechanism for Wnt coreceptor activation [J]. Molecular Cell, 2004, 13 (1): 149-156.
- [12] He X, Saint-Jeannet JP, Wang Y, et al. A member of the Frizzled protein family mediating axis induction by Wnt-5A [J]. Science, 1997, 275 (5306): 1652-1654.
- [13] He X, Semenov M, Tamai K, et al. LDL receptor-related proteins 5 and 6 in Wnt/ β -catenin signaling: arrows point the way [J]. Development, 2004, 131 (8): 1663-1677.
- [14] MacDonald BT, He X. Frizzled and LRP5/6 receptors for Wnt/ β -catenin signaling [J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2012, 4 (12): S107.
- [15] Julius MA, Schelbert B, Hsu W, et al. Domains of axin and dishevelled required for interaction and function in wnt signaling [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 276 (3): 1162-1169.
- [16] Yanfeng WA, Berhane H, Mola M, et al. Functional dissection of phosphorylation of dishevelled in *Drosophila* [J]. Developmental Biology, 2011, 360 (1): 132-142.

- [17] Krasnow RE, Wong LL, Adler PN. Dishevelled is a component of the frizzled signaling pathway in *Drosophila* [J]. *Development*, 1995, 121 (12) : 4095-4102.
- [18] Yu J, Virshup DM. Updating the Wnt pathways [J]. *Bioscience Reports*, 2014, 34 (5) : 593-607.
- [19] Tetsu O, McCormick F. β -catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells [J]. *Nat*, 1999, 6726 : 422-426.
- [20] He T, Sparks A, Rago C, et al. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway (see comments) [J]. *Science*, 1998, 281 (5382) : 1509-1512.
- [21] Wu B, Crompton SP, Hughes CCW. Wnt signaling induces matrix metalloproteinase expression and regulates T cell transmigration [J]. *Immunity*, 2007, 26 (2) : 227-239.
- [22] Lybrand DB, Naiman M, Laumann JM, et al. Destruction complex dynamics : Wnt/ β -catenin signaling alters Axin-GSK3 β interactions *in vivo* [J]. *Development*, 2019, 146, 13 : dev164145.
- [23] Li VS, Ng SS, Boersema PJ, et al. Wnt signaling through inhibition of β -catenin degradation in an intact Axin1 complex [J]. *Cell*, 2012, 149 (6) : 1245-1256.
- [24] Doumpas N, Lampart F, Robinson MD, et al. TCF/LEF dependent and independent transcriptional regulation of Wnt/ β -catenin target genes [J]. *The EMBO Journal*, 2019, 38 (2) : e98873.
- [25] Kelly KF, Ng DY, Jayakumaran G, et al. β -catenin enhances Oct-4 activity and reinforces pluripotency through a TCF-independent mechanism [J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 8 (2) : 214-227.
- [26] 尹定子, 宋海云. Wnt 信号通路: 调控机理和生物学意义 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2011, 33 (2) : 103-111.
- Yin DZ, Song HY. Regulation of Wnt signaling : mechanisms and biological significance [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2011, 33 (2) : 103-111.
- [27] 韩姝, 师伟, 裴雪涛. Wnt 基因对造血干细胞增殖、分化调控的研究进展 [J]. *中华血液学杂志*, 2005 (6) : 379-381.
- Han S, Shi W, Pei XT. Research progress of Wnt gene regulation on proliferation and differentiation of hematopoietic stem cells [J]. *Chinese Journal of Hematology*, 2005 (6) : 379-381.
- [28] Du J, Zhang X, Yuan J, et al. Wnt gene family members and their expression profiling in *Litopenaeus vannamei* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 77 : 233-243.
- [29] Willert K, Brown JD, Danenberg E, et al. Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors [J]. *Nature*, 2003, 423 (6938) : 448-452.
- [30] Chae WJ, Bothwell ALM. Canonical and non-canonical Wnt signaling in immune cells [J]. *Trends Immunol*, 2018, 39 (10) : 830-847.
- [31] Cha SW, Tadjuidje E, Tao Q, et al. Wnt5a and Wnt11 interact in a maternal Dkk1-regulated fashion to activate both canonical and non-canonical signaling in *Xenopus* axis formation [J]. *Development*, 2008, 135 (22) : 3719-3729.
- [32] Mccrea P, Turck C, Gumbiner B. A homolog of the armadillo protein in *Drosophila* (plakoglobin) associated with E-cadherin [J]. *Science*, 1991, 254 (5036) : 1359-1361.
- [33] Fagotto F. Looking beyond the Wnt pathway for the deep nature of β -catenin [J]. *EMBO Reports*, 2013, 14 (5) : 422-433.
- [34] Valenta T, Hausmann G, Basler K. The many faces and functions of β -catenin [J]. *The EMBO Journal*, 2012, 31 (12) : 2714-2736.
- [35] Gottardi CJ, Gumbiner BM. Distinct molecular forms of β -catenin are targeted to adhesive or transcriptional complexes [J]. *The Journal of Cell Biology*, 2004, 167 (2) : 339-349.
- [36] Huber AH, Weis WI. The structure of the β -catenin/E-cadherin complex and the molecular basis of diverse ligand recognition by β -catenin [J]. *Cell*, 2001, 105 (3) : 391-402.
- [37] 刘娟, 王文亭, 李宁, 等. β -catenin 空间结构研究进展 [J]. *中国保健营养旬刊*, 2014 (5) : 3013.
- Liu J, Wang WT, Li N, et al. Progress in the study of β -catenin spatial structure [J]. *China Health Care Nutrition*, 2014 (5) : 3013.
- [38] Yang P, An H, Liu X, et al. The cytosolic nucleic acid sensor LR-IFIP1 mediates the production of type I interferon via a β -catenin-dependent pathway [J]. *Nat Immunol*, 2010, 6 : 487-494.
- [39] Chen Y, Liang Z, Fei E, et al. Axin regulates dendritic spine morphogenesis through Cdc42-dependent signaling [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (7) : e0133115.
- [40] Song X, Cai W, Li L. Axin PPI networks : New interacting proteins and new targets? [J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2016, 16 (30) : 3678-3690.
- [41] Tacchelly-Benites O, Wang Z, Yang E, et al. Axin phosphorylation in both Wnt-off and Wnt-on states requires the tumor suppressor APC [J]. *PLoS Genetics*, 2018, 14 (2) : e1007178.
- [42] Cong F, Varmus H. Nuclear-cytoplasmic shuttling of Axin regulates subcellular localization of β -catenin [J]. *Proc Natl Acad Sci*

- USA, 2004, 101 (9) : 2882-2887.
- [43] Niithke IS, McCartney BM. APC Proteins [M] . New York : Springer Science+Business Media, 2009.
- [44] Polakis P. The adenomatous polyposis coli (APC) tumor suppressor [J] . Biochim Biophys Acta, 1997, 1332 (3) : F127-147.
- [45] Xu RM, Carmel G, Sweet RM, et al. Crystal structure of casein kinase-1, a phosphate-directed protein kinase [J] . EMBO Journal, 1995, 14 (5) : 1015-1023.
- [46] Knippschild U, Wolff S, Giamas G, et al. The role of the casein kinase 1 (CK1) family in different signaling pathways linked to cancer developmen [J] . Onkologie, 2005, 28 (10) : 508-514.
- [47] Knippschild U, Gocht A, Wolff S, et al. The casein kinase 1 family : participation in multiple cellular processes in eukaryotes [J] . Cell Signal, 2005, 17 (6) : 675-689.
- [48] Cheong JK, Virshup DM. Casein kinase 1 : Complexity in the family [J] . Int J Biochem Cell Biol, 2011, 43 (4) : 465-469.
- [49] Rowe MK, Wiest C, Chuang DM. GSK-3 is a viable potential target for therapeutic intervention in bipolar disorder [J] . Neuroence & Biobehavioral Reviews, 2007, 31 (6) : 920-931.
- [50] Kaidanovich BO, Woodgett JR. GSK-3 : Functional insights from cell biology and animal models [J] . Frontiers in Molecular Neuroence, 2011, 4 : 40.
- [51] Doble BW, Woodgett JR. GSK-3 : tricks of the trade for a multi-tasking kinase [J] . J Cell Ence, 2003, 116 (Pt 7) : 1175-1186.
- [52] Beurel E, Grieco SF, Jope RS. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3) : regulation, actions, and diseases [J] . Pharmacology & Therapeutics, 2015, 148 : 114-131.
- [53] Liu C, Li Y, Semenov M, et al. Control of beta-catenin phosphorylation/degradation by a dual-kinase mechanism [J] . Cell, 2002, 108 (6) : 837-847.
- [54] Davidson G, Wei W, Shen J, et al. Casein kinase 1 γ couples Wnt receptor activation to cytoplasmic signal transduction [J] . Nature, 2005, 438 (7069) : 867-872.
- [55] Zeng X, Tamai K, Doble B, et al. A dual-kinase mechanism for Wnt co-receptor phosphorylation and activation [J] . Nature, 2005, 438 (7069) : 873-877.
- [56] Montcouquiol M, Crenshaw EB, Kelley MW. Noncanonical Wnt signaling and neural polarity [J] . Annual Review of Neuroence, 2006, 29 (1) : 363.
- [57] Clements WK, Kim AD, Ong KG, et al. A somitic Wnt16/Notch pathway specifies haematopoietic stem cells [J] . Nature, 2011, 474 (7350) : 220-224.
- [58] Kim S, Nie H, Nesin V, et al. The polycystin complex mediates Wnt/Ca²⁺ signalling [J] . Nat Cell Biol, 2016, 7 : 752-764.
- [59] Kühl M, Sheldahl LC, Malbon CC, et al. Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II is stimulated by Wnt and Frizzled homologs and promotes ventral cell fates in *Xenopus* [J] . Journal of Biological Chemistry, 2000, 275 (17) : 12701-12711.
- [60] Seifert JRK, Mlodzik M. Frizzled/PCP signalling : a conserved mechanism regulating cell polarity and directed motility [J] . Nature Reviews Genetics, 2007, 8 (2) : 126-138.
- [61] Boutros M, Paricio N, Strutt DI, et al. Dishevelled activates JNK and discriminates between JNK pathways in planar polarity and wingless signaling [J] . Cell, 1998, 94 (1) : 109-118.
- [62] Habas R, Kato Y, He X. Wnt/Frizzled activation of Rho regulates vertebrate gastrulation and requires a novel Formin homology protein Daam1 [J] . Cell, 2001, 107 (7) : 843-854.
- [63] Lutze G, Haarmann A, Demanou Toukam JA, et al. Non-canonical WNT-signaling controls differentiation of lymphatics and extension lymphangiogenesis via RAC and JNK signaling [J] . Scientific Reports, 2019, 9 (1) : 4739.
- [64] Katoh M. WNT/PCP signaling pathway and human cancer (review) [J] . Oncology Reports, 2005, 14 (6) : 1583-1588.
- [65] Hou LB, Ma YB, Cao XH, et al. Transcriptome profiling of the *Eriocheir sinensis* thoracic ganglion under the *Spiroplasma eriocheiris* challenge [J] . Aquaculture, 2020 . DOI : 10. 1016/j. aquaculture. 2020. 735257.
- [66] Miller JR, Hocking AM, Brown JD, et al. Mechanism and function of signal transduction by the Wnt/beta-catenin and Wnt/Ca²⁺ pathways [J] . Oncogene, 1999, 18 (55) : 7860-7872.
- [67] Kühl M, Sheldahl LC, Park M, et al. The Wnt/Ca²⁺ pathway : a new vertebrate Wnt signaling pathway takes shape [J] . Trends in Genetics, 2000, 16 (7) : 279-283.
- [68] Tada M, Smith JC. Xwnt11 is a target of *Xenopus* Brachyury : regulation of gastrulation movements via Dishevelled, but not through the canonical Wnt pathway [J] . Development, 2000, 127 (10) : 2227-2238.
- [69] Zanoni I, Granucci F. Regulation and dysregulation of innate immunity by NFAT signaling downstream of pattern recognition receptors (PRRs) [J] . Eur J Immunol, 2012, 8 : 1924-1931.

- [70] Tripathi P, Aggarwal A. NF- κ B transcription factor : A key player in the generation of immune response [J] . Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2006, 7 (3) : 164-167.
- [71] Wen AY, Sakamoto KM, Miller LS. The role of the transcription factor CREB in immune function [J] . Journal of Immunology, 2010, 185 (11) : 6413-6419.
- [72] De A. Wnt/ Ca^{2+} signaling pathway : a brief overview [J] . Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2011, 43 (10) : 745.
- [73] Bryja V, Andersson ER, Schambony A, et al. The extracellular domain of Lrp5/6 inhibits noncanonical Wnt signaling *in vivo* [J] . Molecular Biology of the Cell, 2009, 20 (3) : 924-936.
- [74] Andersson ER, Bryjova L, Biris K, et al. Genetic interaction between Lrp6 and Wnt5a during mouse development [J] . Developmental Dynamics, 2009, 239 (1) : 237-245.
- [75] Semenov MV, Habas R, et al. SnapShot : noncanonical Wnt signaling pathways [J] . Cell, 2007, 131 (7) : 1378.
- [76] Aoki T, Wang HC, Unajak S, et al. Microarray analyses of shrimp immune responses [J] . Mar Biotechnol, 2011, 13 (4) : 629-638.
- [77] Jati S, Sarraf TR, Naskar D, et al. Wnt signaling : Pathogen incursion and immune defense [J] . Frontiers in Immunology, 2019, 10 : 2551.
- [78] Wang K, Dai X, Zhang C, et al. Two Wnt genes regulate the expression levels of antimicrobial peptides during *Vibrio* infection in *Macrobrachium nipponense* [J] . Fish & Shellfish Immunology, 2020, 101 : 225-233.
- [79] Weiser K, Barton M, Gershoony D, et al. HIV' s Nef interacts with β -catenin of the Wnt signaling pathway in HEK293 cells [J] . PLoS One, 2013, 8 (10) : e77865.
- [80] Du X, He W, He H, et al. Beta-catenin inhibits bovine parainfluenza virus type 3 replication via innate immunity pathway [J] . BMC Veterinary Research, 2020, 16 (1) : 72.
- [81] Xu J, Han F, Zhang X. Silencing shrimp white spot syndrome virus (WSSV) genes by siRNA [J] . Antiviral Res, 2007, 2 : 126-131.
- [82] Zhang S, Shi LL, Lü K, et al. Cloning, identification and functional analysis of a β -catenin homologue from Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J] . Fish & Shellfish Immunol, 2016, 54 : 411-418.
- [83] Sun J, Ruan L, Zhou C, et al. Characterization and function of a β -catenin homologue from *Litopenaeus vannamei* in WSSV infection [J] . Dev Comp Immunol, 2017, 76 : 412-419.
- [84] Ruan L, Sun J, Zhou C, et al. Cloning, identification and function analysis of a Chibby homologue from *Litopenaeus vannamei* [J] . Fish & Shellfish Immunology, 2018, 78 : 114-120.
- [85] Ruan L, Liu H, Shi H. Characterization and function of GSK3 β from *Litopenaeus vannamei* in WSSV infection [J] . Fish & Shellfish Immunology, 2018, 82 : 220-228.
- [86] Xie YK, Ding D, Wang HM. A homologue gene of β -catenin participates in the development of shrimps and immune response to bacteria and viruses [J] . Fish & Shellfish Immunology, 2015, 47 (1) : 147-156.
- [87] Du Z, Jin Y, Ren D. In-depth comparative transcriptome analysis of intestines of red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, infected with WSSV [J] . Scientific Reports, 2016, 6 (1) : 26780.
- [88] Du ZQ. Comparative transcriptome analysis reveals three potential antiviral signaling pathways in lymph organ tissue of the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* [J] . Genetics & Molecular Research, 2016, 15 (4) : 136-141.
- [89] Yi S, Li Y, Shi L, et al. Novel insights into antiviral gene regulation of red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, infected with white spot syndrome virus [J] . Genes (Basel), 2017, 11 : 341-348.
- [90] Tsuda M, Kamimura K, Nakato H, et al. The cell-surface proteoglycan Dally regulates Wingless signalling in *Drosophila* [J] . Nature, 1999, 400 (6741) : 276-280.
- [91] Zhu F, Zhang X. The Wnt signaling pathway is involved in the regulation of phagocytosis of virus in *Drosophila* [J] . Entific Reports, 2013, 3 : 2069.
- [92] Zhang S, Yin H, Shen M, et al. Analysis of lncRNA-mediated gene regulatory network of *Bombyx mori* in response to BmNPV infection [J] . J Invertebr Pathol, 2020, 170 : 107323.
- [93] Wang C, Ruan L, Shi H, et al. Wnt5b regulates apoptosis in *Litopenaeus vannamei* against white spot syndrome virus [J] . Fish & Shellfish Immunology, 2018, 74 : 318-324.
- [94] Choi SC, Han JK. *Xenopus* Cdc42 regulates convergent extension movements during gastrulation through Wnt/ Ca^{2+} signaling pathway [J] . Developmental Biology, 2002, 244 (2) : 342-357.
- [95] 徐计东. Rho GTP 酶在日本囊对虾先天免疫中的功能研究及对虾抗病毒训练免疫的诱导及机理研究[D]. 济南:山东大学, 2018.
- Xu JD. Functions of Rho GTPases in innate immunity of kuruma

- shrimp and the the induction and mechanisms of trained innate immunity against virus in the shrimp [D] . Ji'nan : Shandong University, 2018.
- [96] Rogan MR, Patterson LL, Wang JY, et al. Bacterial manipulation of Wnt signaling : A host-pathogen Tug-of-Wnt [J] . *Frontiers in Immunology*, 2019, 10 : 2390.
- [97] Rao R, Zhu YB, Alinejad T, et al. RNA-seq analysis of *Macrobrachium rosenbergii* hepatopancreas in response to *Vibrio parahaemolyticus* infection [J] . *Gut Pathogens*, 2015, 7 (1) : 6.
- [98] Dai ZM, Xiong Y, He W, et al. Wntless, a conserved Wnt-transport protein, is involved in the innate immune response of *Macrobrachium rosenbergii* [J] . *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 80 : 437-442.
- [99] Jin Q, Tian G, Wu J, et al. Identification and characterization of hemocyte microRNAs in mud crab *Scylla paramamosain* in response to *Vibrio parahaemolyticus* infection [J] . *Aquaculture*, 2020. DOI : 10. 1016/j. aquaculture. 2020. 735288.
- [100] 王菲, 李亚明, 化晓婷, 等. 家蚕免疫稳态调控分子的鉴定和表达模式分析 [J] . *昆虫学报*, 2012, 55 (9) : 999-1007.
- Wang F, Li YM, Hua XT, et al. Identification and expression profiling of regulatory molecules involved in immune homeostasis in the silkworm [J] . *Acta Entomologica Sinica*, 2012, 55 (9) : 999-1007.
- [101] Kim Y, Mylonakis E, Urban JFJ, et al. *Caenorhabditis elegans* immune conditioning with the probiotic bacterium *Lactobacillus acidophilus* strain NCFM enhances gram-positive immune responses [J] . *Infect Immun*, 2012, 80 (7) : 2500-2508.
- [102] Arefin B, Kucerova L, Dobes P, et al. Genome-wide transcriptional analysis of *Drosophila* larvae infected by *entomopathogenic nematodes* shows involvement of complement, recognition and extracellular matrix proteins [J] . *Journal of Innate Immunity*, 2014, 6 (2) : 192-204.
- [103] Wang Y, et al. Integrated analysis of mRNA-seq in the haemocytes of *Eriocheir sinensis* in response to *Spiroplasma eriocheiris* infection [J] . *Fish Shellfish Immunol*, 2017, 68 : 289-298.
- [104] Tanji T, Hu X, Weber AN, et al. Toll and IMD pathways synergistically activate an innate immune response in *Drosophila melanogaster* [J] . *Mol Cell Biol*, 2007, 27 (12) : 4578-4588.
- [105] Valanne S, Wang JH, R  met M. The *Drosophila* Toll signaling pathway [J] . *J Immunol*, 2011, 186 (2) : 649-656.
- [106] Beutler B. Innate immunity : an overview [J] . *Molecular Immunology*, 2004, 40 (12) : 845-859.
- [107] Huang Y, Ren Q. Research progress in innate immunity of freshwater crustaceans [J] . *Developmental & Comparative Immunology*, 2020, 104 : 103569.
- [108] 姚玉淑, 秦志辉, 张锡林. 按蚊感染疟原虫免疫应答的信号通路及活化因子 [J] . *国外医学 (寄生虫病分册)*, 2005 (3) : 110-114.
- Yao YS, Qin ZH, Zhang XL. Signaling pathways and activating factors of immune response to *Plasmodium* infection in *Anopheles mosquitoes* [J] . *Foreign Medicine (Parasitic Diseases)*, 2005 (3) : 110-114.
- [109] Zambon RA, Nandakumar M, Vakharia VN, et al. The Toll pathway is important for an antiviral response in *Drosophila* [J] . *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102 (20) : 7257-7262.
- [110] Quintin J, Asmar J, Matskevich AA, et al. The *Drosophila* Toll pathway controls but does not clear *Candida glabrata* infections [J] . *J Immunol*, 2013, 190 (6) : 2818-2827.
- [111] Priyathilaka TT, Bathige S, Lee S, et al. Transcriptome-wide identification, functional characterization, and expression analysis of two novel invertebrate-type Toll-like receptors from disk abalone (*Haliotis discus discus*) [J] . *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 84 : 802-815.
- [112] Zhou SM, Yuan XM, Liu S, et al. Three novel Toll genes (Pt-Toll1-3) identified from a marine crab, *Portunus trituberculatus* : different tissue expression and response to pathogens [J] . *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 46 (2) : 737-744.
- [113] Xu K, Zhang Z, Xu Z, et al. A novel invertebrate toll-like receptor is involved in TLR mediated signal pathway of thick shell mussel *Mytilus coruscus* [J] . *Developmental & Comparative Immunology*, 2019, 97 : 11-19.
- [114] Franzenburg S, Fraune S, K  nzl S, et al. MyD88-deficient Hydra reveal an ancient function of TLR signaling in sensing bacterial colonizers [J] . *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109 (47) : 19374-19379.
- [115] Wang C, Liu X, Liu Y, et al. Zinc finger protein 64 promotes Toll-like receptor-triggered proinflammatory and type I interferon production in macrophages by enhancing p65 subunit activation [J] . *J Biol Chem*, 2013, 288 (34) : 24600-24608.
- [116] Janot L, Secher T, Torres D, et al. CD14 works with toll-like

- receptor 2 to contribute to recognition and control of *Listeria monocytogenes* infection [J]. The Journal of Infectious Diseases, 2008, 198 (1) : 115-124.
- [117] Zhao W, Sun Z, et al. Wnt1 participates in inflammation induced by lipopolysaccharide through upregulating Scavenger Receptor A and NF- κ B [J]. Inflammation, 2015, 4 : 1700-1706.
- [118] Yu CH, Nguyen TTK, Irvine KM, et al. Recombinant Wnt3a and Wnt5a elicit macrophage cytokine production and tolerization to microbial stimulation via Toll-like receptor 4 [J]. European Journal of Immunology, 2014, 44 (5) : 1480-1490.
- [119] Gordon MD, Dionne MS, Schneider DS, et al. WntD is a feedback inhibitor of dorsal/NF-kappaB in *Drosophila* development and immunity [J]. Nature, 2005, 437 (7059) : 746-749.
- [120] Yokoi K, Koyama H, Minakuchi C, et al. Antimicrobial peptide gene induction, involvement of Toll and IMD pathways and defense against bacteria in the red flour beetle, *Tribolium castaneum* [J]. Results in Immunology, 2012, 2 (2) : 72-82.
- [121] 姚志超. 橘小实蝇 Duox-ROS 系统和 IMD 信号通路功能研究 [D]. 武汉 : 华中农业大学, 2017.
- Yao ZC. The functional study of Duox-ROS system and IMD pathway in *Bactrocera dorsalis* [D]. Wuhan : Huazhong Agricultural University, 2017.
- [122] Lazarian G, Friedrich C, Quinquenel A, et al. Stabilization of β -catenin upon B-cell receptor signaling promotes NF- κ B target genes transcription in mantle cell lymphoma [J]. Oncogene, 2020, 39 (14) : 2934-2947.
- [123] Myant KB, Cammareri P, McGhee EJ, et al. ROS production and NF- κ B activation triggered by RAC1 facilitate WNT-driven intestinal stem cell proliferation and colorectal cancer initiation [J]. Cell Stem Cell, 2013, 12 (6) : 761-773.
- [124] Nishide Y, Kageyama D, Yokoi K, et al. Functional crosstalk across IMD and Toll pathways : insight into the evolution of incomplete immune cascades [J]. Proceedings of the Royal Society, 2019, 286 (1897) : 20182207.
- [125] Wang F, Xia Q. Back to homeostasis : Negative regulation of NF- κ B immune signaling in insects [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2018, 87 : 216-223.
- [126] Yu M, Zheng L, Wang X, et al. Comparative transcriptomic analysis of surf clams (*Paphia undulate*) infected with two strains of *Vibrio* spp. reveals the identity of key immune genes involved in host defense [J]. BMC Genomics, 2019, 1 : 988.
- [127] West C, Silverman N. p38b and JAK-STAT signaling protect against invertebrate iridescent virus 6 infection in *Drosophila* [J]. PLoS Pathogens, 2018, 14 (5) : e1007020.
- [128] Yang H, Kronhamn J, Ekström JO, et al. JAK/STAT signaling in *Drosophila* muscles controls the cellular immune response against parasitoid infection [J]. EMBO Rep, 2015, 12 : 1664-1672.
- [129] Lin J, Wang X, Dorsky RI. Progenitor expansion in apc mutants is mediated by Jak/Stat signaling [J]. BMC Developmental Biology, 2011, 11 : 73.
- [130] Cantwell MT, Farrar JS, Lownik JC, et al. STAT3 suppresses Wnt/ β -catenin signaling during the induction phase of primary Myf5+ brown adipogenesis [J]. Cytokine, 2018, 111 : 434-444.
- [131] Toh TB, Lim JJ, Hooi L, et al. Targeting Jak/Stat pathway as a therapeutic strategy against SP/CD44+ tumorigenic cells in Akt/ β -catenin-driven hepatocellular carcinoma [J]. Journal of Hepatology, 2020, 72 (1) : 104-118.
- [132] Shi L, Fei XF, Wang ZM, et al. PI3K inhibitor combined with miR-125b inhibitor sensitize TMZ-induced anti-glioma stem cancer effects through inactivation of Wnt/beta-catenin signaling pathway [J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology Animal, 2015, 51 (10) : 1047-1055.
- [133] Ruse M, Knaus UG. New players in TLR-mediated innate immunity : PI3K and small Rho GTPases [J]. Immunologic Research, 2006, 34 (1) : 33-48.
- [134] Liu A, Chen S, Cai S, et al. Wnt5a through noncanonical Wnt/JNK or Wnt/PKC signaling contributes to the differentiation of mesenchymal stem cells into type II alveolar epithelial cells *in vitro* [J]. PLoS One, 2014, 9 (3) : e90229.
- [135] Heallen T, Zhang M, Wang J, et al. Hippo pathway inhibits Wnt signaling to restrain cardiomyocyte proliferation and heart size [J]. Science, 2011, 332 (6028) : 458-461.
- [136] Kim W, Khan SK, Gvozdenovic-Jeremic J, et al. Hippo signaling interactions with Wnt/ β -catenin and Notch signaling repress liver tumorigenesis [J]. J Clin Invest, 2017, 127 (1) : 137-152.

(责任编辑 狄艳红)