

# 哺乳动物 Hippo 信号通路分子机制研究进展

吉新彦<sup>1</sup>, 钟国轩<sup>1</sup>, 赵斌<sup>1,2</sup>

1. 浙江大学生命科学研究院, 细胞信号网络协同创新中心, 杭州 310058;
2. 杭州师范大学衰老研究所, 杭州 311121

**摘要:** Hippo 信号通路是近年来发现的在多细胞生物器官大小调控方面发挥重要作用的信号通路。病人样品分析和小鼠模型研究表明, Hippo 信号通路的失调在多种癌症发生发展的不同阶段起着关键作用。Hippo 信号通路能感知机械环境、G 蛋白耦联受体信号和细胞能量水平等多种外界刺激, 并通过蛋白激酶链的激活直接磷酸化转录辅激活因子 YAP(Yes-associated protein)及其同源蛋白 TAZ(transcriptional coactivator with PDZ-binding motif), 从而导致它们的胞质滞留和降解。非磷酸化形式的 YAP/TAZ 进入细胞核内通过结合 TEAD 家族及其他转录因子激活靶基因的转录表达, 从而促进细胞增殖、促进干细胞及祖细胞的自我更新、抑制细胞凋亡。在这些细胞生物学过程的协同作用下, Hippo 信号通路调控器官大小、组织再生及肿瘤的发生发展。本文概述了哺乳动物 Hippo 信号通路的分子机制, 重点介绍了 Hippo 信号通路的激酶链及其上游信号、Hippo 信号通路调控其关键效应分子 YAP 的机制以及 YAP 调控基因转录发挥功能的分子机制。

**关键词:** Hippo 信号通路; YAP; 器官大小; 肿瘤; 磷酸化

## Molecular mechanisms of the mammalian Hippo signaling pathway

Xinyan Ji<sup>1</sup>, Guoxuan Zhong<sup>1</sup>, Bin Zhao<sup>1,2</sup>

1. Life Sciences Institute and the Innovation Center for Cell Signaling Network, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;
2. Institute of Aging Research, Hangzhou Normal University, Hangzhou 311121, China

**Abstract:** The Hippo pathway plays an evolutionarily conserved fundamental role in controlling organ size in multicellular organisms. Importantly, evidence from studies of patient samples and mouse models clearly indicates that deregulation of the Hippo signaling pathway plays a crucial role in the initiation and progression of many different types of human cancers. The Hippo signaling pathway is regulated by various stimuli, such as mechanical stress, G-protein coupled receptor signaling, and cellular energy status. When activated, the Hippo kinase cascade phosphorylates and inhibits the transcription co-activator YAP (Yes-associated protein), and its paralog TAZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif), resulting in their cytoplasmic retention and degradation. When the Hippo signaling pathway is inactive, dephosphorylated YAP/TAZ translocate into the nucleus and activate gene transcription

收稿日期: 2017-03-18; 修回日期: 2017-04-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31422036, 31471316, 31661130150), 国家重大科学研究计划项目子课题(编号: 2013CB945303), 中央高校基本科研业务费专项资金(编号: 2015XZZX004-17), 国家千人计划青年项目和杭州钱江学者计划项目资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 31422036, 31471316, 31661130150), the State Key Development Program for Basic Research of China (No. 2013CB945303), the Fundamental Research Funds for Central Universities of China (No. 2015XZZX004-17), the Thousand Young Talents Plan of China and the Qianjiang Scholar Plan of Hangzhou]

作者简介: 吉新彦, 博士研究生, 专业方向: 细胞生物学。E-mail: jixinyan@zju.edu.cn

通讯作者: 赵斌, 教授, 博士生导师, 研究方向: Hippo 信号转导通路。E-mail: binzhao@zju.edu.cn

DOI: 10.16288/j.yezz.17-094

网络出版时间: 2017/6/13 15:15:43

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20170613.1515.008.html>

through binding to TEAD (TEA domain) family and other transcription factors. Such changes in gene expression promote cell proliferation and stem cell/progenitor cell self-renewal but inhibit apoptosis, thereby coordinately promote increase in organ size, tissue regeneration, and tumorigenesis. In this review, we summarize the molecular mechanisms of the mammalian Hippo signaling pathway with special emphasis on the Hippo kinase cascade and its upstream signals, the Hippo signaling pathway regulation of YAP and the mechanisms of YAP in regulation of gene transcription.

**Keywords:** Hippo signaling pathway; YAP; organ size; tumor; phosphorylation

Hippo 信号通路的主要成员最初是在果蝇(*Drosophila*)体内通过遗传筛选发现的、对器官大小具有显著调控作用的一些基因。1995年,两个实验室分别通过遗传嵌合体筛选在果蝇中发现了 Hippo 信号通路中的第一个关键基因 *wts*(Warts)<sup>[1,2]</sup>。*Wts* 蛋白是 NDR(nuclear Dbf-2 related)家族蛋白激酶, *wts* 基因突变导致组织过度增生。然而,由于多年没有发现 *wts* 的上下游功能基因和效应分子, *wts* 一直被认为是一个孤立的果蝇肿瘤抑制基因。2002年, Hariharan 和 Halder 实验室发现了 Hippo 信号通路的第二个基因 *sav*(Salvador)<sup>[3,4]</sup>。*sav* 编码一个含有 WW 结构域的蛋白, *sav* 突变导致 *cycE*(cyclinE)和 *diap1* (*Drosophila* inhibitor of apoptosis protein1)转录表达上调,细胞过度增殖,细胞凋亡受抑制,与 *wts* 突变表型非常相似。2003年,多个独立的研究团队相继发现果蝇中一个叫作 *hpo*(Hippo)的基因也可以调控组织生长<sup>[5-9]</sup>。*hpo* 编码 Ste20 家族蛋白激酶 Hpo, 其突变促进细胞的过度增殖,抑制细胞凋亡,在多种组织中诱导过度增生,同时伴随着 *cycE* 和 *diap1* 在转录水平的上调。这一表型与之前发现的 *wts* 和 *sav* 基因突变的表型也非常相似,提示 *hpo*、*wts* 和 *sav* 在调控组织发育方面可能共同发挥调节作用。生物化学实验进一步表明,果蝇中的 Hpo 与 Wts 之间形成一个激酶链, Hpo 与 Sav 相互结合,并磷酸化 Wts, 下调 *cycE* 和 *diap1* 的转录表达<sup>[8]</sup>。同时, Sav 与 Hpo 之间的蛋白相互作用,通过阻碍 Sav 与泛素酶结合抑制 Sav 的降解,从而增强了 Sav 蛋白的稳定性<sup>[8]</sup>。基于 Wts 与 Hpo 之间存在磷酸化调控关系,并调控基因转录和器官大小,研究人员认为很可能存在一条新的调控器官大小的信号通路,并根据关键基因 *hpo* 命名为 Hippo 信号通路。2005年, Lai 等<sup>[10]</sup>发现果蝇的 Mats 蛋白不仅与 Wts 蛋白相互作

用,而且还可以激活 Wts。*mats* 基因的缺失与 *hpo*、*sav*、*wts* 缺失一样,会造成组织器官的过度增生<sup>[10,11]</sup>。

Hippo 信号通路的核心是两个蛋白激酶复合物,在果蝇中是 Hpo/Sav 复合物及其下游的 Wts/Mats 复合物。这一激酶链负调控 *cycE* 和 *diap1* 基因的转录表达。然而,这一信号是如何传递到细胞核内实现基因转录调控的呢?显然还缺少一个中间环节。有意思的是,2005年 Pan 实验室通过酵母双杂交方法,发现 Yki(Yorkie)可以与 Wts 相互结合<sup>[12]</sup>。而 Yki 在哺乳动物中的同源蛋白 YAP(Yes-associated protein)已经被报道具有转录调节活性<sup>[13-15]</sup>。显然, Yki 很有可能就是 Hippo 信号通路中缺失的那一环。的确, Yki 被 Wts 磷酸化而失活, Yki 功能缺失导致器官组织发育不良,而 Yki 过度活化则引起 *cycE* 和 *diap1* 的表达上调,组织过度生长<sup>[12]</sup>。遗传学实验表明, Yki 的确是处于 Wts 下游调控 *cycE* 和 *diap1* 基因转录表达的效应分子<sup>[12]</sup>。然而 YAP/Yki 作为转录辅激活因子,本身并没有结合 DNA 的活性,只有通过与其相应的转录因子结合,才能结合到基因的启动子上调控基因转录。因此,寻找 YAP/Yki 调控转录过程所需的转录因子成为当时急需解决的一个重要问题。2008年,多个研究团队几乎同时发现 TEAD (TEA domain)家族的 TEAD1-4(果蝇中为 Sd, Scalloped)可以与 YAP/Yki 结合,介导器官大小的调控以及 YAP 的转录活性<sup>[16-19]</sup>。至此, Hippo 信号通路从胞质蛋白激酶复合物到核内转录调控的信号途径得以建立。

## 1 哺乳动物 Hippo 信号通路激酶链及其上游信号

### 1.1 哺乳动物 Hippo 信号通路的激酶链

器官大小调控的机制一直是发育生物学上的未

解之谜。那么在果蝇中发现的 Hippo 信号通路是否具有进化保守的器官大小调控功能呢?首先,遗传学实验发现在果蝇中,人(*Homo sapiens*)的 YAP 蛋白可以替代果蝇的 Yki 发挥调控器官大小的功能,因此 Yki 的功能在 YAP 上是保守的<sup>[12]</sup>。类似的研究发现 Wts、Hpo、Mats 的人源蛋白也可以分别弥补它们各自的果蝇基因的功能缺失<sup>[8,10,20]</sup>。更重要的是,在小鼠(*Mus musculus*)的肝脏或心脏转基因表达 YAP 或敲除 *hpo* 的同源基因 *Mst1/2* 也造成器官的明显增大<sup>[21~24]</sup>。可见, Hippo 信号通路中的核心分子具有进化保守的调控器官大小的功能。果蝇 Hpo、Sav、Wts、Mats、Yki、Sd 在哺乳动物中的同源蛋白分别是 MST1/2(mammalian Sterile 20-like kinases 1/2)、SAV1、LATS1/2(large tumor suppressor 1/2)、MOB1(MOBKL1A/MOBKL1B)、YAP/TAZ(transcriptional coactivator with PDZ-binding motif)和 TEAD1-4。MST1/2、SAV1、LATS1/2 和 MOB1 构成了哺乳动物 Hippo 信号通路的核心激酶链。当 Hippo 信号关闭时, YAP 处于激活状态, 进入细胞核内, 与转录因子 TEAD 结合, 诱导一系列与细胞增殖等相关的基因表达; 而当 Hippo 信号通路被激活时, MST1/2 在支架蛋白 SAV1 的协助下, 磷酸化 MOB1 和 LATS1/2 并加强它们之间的相互作用, 磷酸化的 LATS1/2 被激活, 然后在多个位点上磷酸化转录辅激活因子 YAP/TAZ, 使其滞留在细胞质中, 被泛素化降解, 从而阻碍下游靶基因的表达(图 1)。

在 Hippo 信号通路建立以前, 研究已经发现 MST1/2 是一种促凋亡激酶, 在凋亡信号下它可以被天冬氨酸特异性的半胱氨酸蛋白水解酶切割而活化<sup>[25]</sup>。SAV1 通过 SARAH 结构域与 MST1/2 蛋白也具有 SARAH 结构域直接结合, 进而激活 MST1/2<sup>[26]</sup>。研究发现, SAV1 可能在 MST1/2 的细胞核转运中发挥重要作用<sup>[27]</sup>, 但是 SAV1 激活 MST1/2 活性的准确机制还需要进一步的研究。在哺乳动物细胞中, MST1/2 还可以通过结合到 RASSF (Ras-association domain family)蛋白上而被激活, 这可能是因为改变了 MST1/2 的亚细胞定位造成的<sup>[28]</sup>。MST1/2 与 SAV1 和 RASSF 的结合都通过 SARAH

结构域介导, 并且都导致 MST1/2 的激活, 这两种机制之间的关系也还不清楚。另有报道提出, MST1/2 可以部分的与肌动蛋白骨架共定位, 干扰这种共定位能轻微活化 MST1/2 的激酶活性<sup>[29]</sup>。MST1/2 受 TAOK 激酶(TAOK1/2/3)调控, TAOK1/2/3 磷酸化 MST1 的 T183 和 MST2 的 T180 位点的苏氨酸残基, 从而激活 MST1/2 的激酶活性<sup>[30,31]</sup>。另一方面, 也有报道指出 TAOK1/3 是 LATS1/2 的直接上游激酶<sup>[32]</sup>(图 1)。

在 Hippo 信号通路的蛋白激酶链中, MST1/2 通过多种机制激活 LATS1/2<sup>[8,26,28,33]</sup>。LATS1/2 的激活需要磷酸化其活化环内和其 C 端疏水基序的保守丝氨酸或苏氨酸残基。MST1/2 磷酸化 LATS1/2 的 C 端疏水基序, 促进 LATS1/2 的活化环发生自磷酸化而被激活<sup>[33]</sup>。MST1/2 磷酸化 MOB1, 促进 MOB1 与 LATS1/2 的活性抑制区域结合, 使 LATS1/2 的活性抑制被解除而激活<sup>[33,34]</sup>。此外, 晶体结构解析表明, MOB1 被 MST1/2 磷酸化后, 形成 MST1/2-MOB1 复合物, 随后结合 LATS1/2, 形成 MST1/2-MOB1-LATS1/2 三元复合物。当 MST1/2 磷酸化 LATS1/2 和 MOB1 以后, 磷酸化的 MOB1 驱动三元复合物解离<sup>[35]</sup>。活化的 LATS1/2 磷酸化转录辅激活因子 YAP/TAZ 的特定氨基酸残基, 导致其活性被抑制。

近期研究发现, 除 MST1/2 外, MAP4Ks(mitogen-activated protein kinase kinase kinase kinase)激酶也能磷酸化并激活 LATS1/2<sup>[36~38]</sup>(图 1)。MAP4Ks 和 MST1/2 一样, 也是 STE20 家族蛋白激酶。MAP4K1/2/3/5(果蝇中 Happyhour 的同源蛋白)和 MAP4K4/6/7(果蝇中 Misshapen 的同源蛋白)直接磷酸化 LATS1/2 的疏水基序, 使 LATS1/2 激活。在 HEK293 细胞中, 血清饥饿处理导致的 YAP/TAZ 磷酸化水平上升受 MAP4K4/6/7 敲除的影响比受 MST1/2 敲除的影响要明显很多。可见, MAP4Ks 在某些情况下比 MST1/2 对 Hippo 信号通路的调控起着更重要的作用<sup>[37]</sup>。但是, 要完全抑制 Hippo 信号通路对细胞接触抑制、能量胁迫、血清饥饿等信号的应答需要同时敲除 MST1/2 和 MAP4Ks<sup>[37]</sup>。可

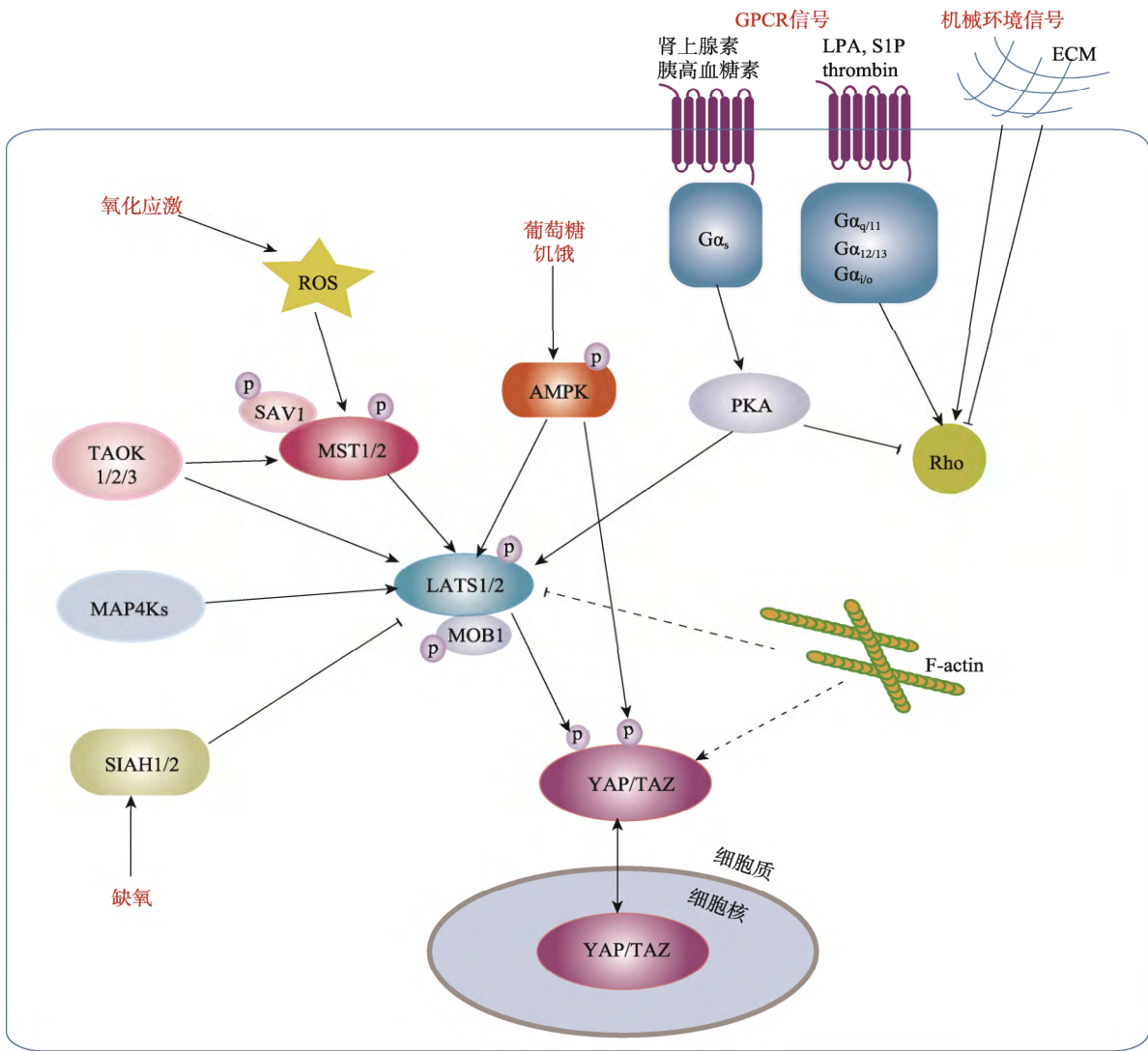


图 1 Hippo 信号通路上游信号

Fig. 1 Upstream regulators of the Hippo signaling pathway

Hippo 信号通路受到机械环境、G 蛋白耦联受体信号、细胞能量水平、氧化应激、缺氧等多种信号调控。和 —| 分别表示促进和抑制作用，虚线表示具体机制仍不清楚。ROS：活性氧；GPCR：G 蛋白耦联受体；ECM：细胞外基质。

见，MST1/2 和 MAP4Ks 对 LATS1/2 的调控具有功能上的冗余性和互补性。

1.2 GPCR 信号调控 Hippo 信号通路

大多数生长因子通过激活细胞膜上的受体和细胞内的信号转导通路起到适时调控细胞增殖的作用。Hippo 信号通路作为一条与细胞增殖调控密切相关的信号通路，难免被猜想它可能受某些生长因子的调控。然而实验表明，胰岛素和上皮生长因子等人们熟知的生长因子并不能显著调控 YAP/TAZ

的活性<sup>[39,40]</sup>。因此很长时间以来，细胞外的信号和细胞膜上的受体是否可以调控以及怎样调控 Hippo 信号通路这一问题一直困扰着人们。

2012 年，Guan 和 Wu 两个独立的研究团队几乎同时发现，血清能够快速调控细胞中 YAP/TAZ 的活性，而且这种调控是可逆的；进一步生物化学实验表明，血清中的 LPA(lysophosphatidic acid)和 S1P (sphingosine 1-phosphophate)是调控 YAP/TAZ 活性的关键因子，并且 LPA 和 S1P 通过它们相应的细胞膜上 G 蛋白耦联受体(G-protein coupled receptor,

GPCR)及其下游的 Rho GTP 酶激活 YAP/TAZ<sup>[39,41]</sup>。但有趣的是,尽管这两篇报道都指出细胞外信号是通过 GPCR 调控 YAP/TAZ 活性,但对于由 GPCR 到 YAP/TAZ 信号转导的中间过程却有着不同的看法。Guan 研究团队认为 GPCR 不通过 MST1/2,而是以 LATS1/2 作为关键蛋白介导 YAP/TAZ 活性,而 Wu 的研究团队认为 GPCR 调控 YAP/TAZ 的活性与 MST1/2 和 LATS1/2 都没有关系。随后, Cai 等<sup>[42]</sup>在多种卵巢癌细胞中发现 LPA 以时间和剂量依赖性的方式诱导 YAP 的去磷酸化和细胞核定位。LPA3 和  $G\alpha_{13}$  将细胞外的 LPA 信号传递给 Rho A-ROCK,进而诱导 YAP/TAZ 的激活。他们还发现,在卵巢癌细胞中, LPA 不影响 Hippo 信号通路上游激酶 MST1/2 和 LATS1/2 的激酶活性,反而是 Rho A 下游的蛋白磷酸酶 PP1A 介导 YAP 的去磷酸化<sup>[42]</sup>。然而,进一步研究发现,利用 CRISPR/Cas9 基因组编辑技术敲除 *LATS1/2*, HEK293A 细胞中 *LATS1/2* 的缺失导致 YAP 的磷酸化对血清刺激完全失去响应<sup>[32]</sup>(图 1)。

除 LPA 和 S1P 外, GPCR 也介导 PARs(protease-activated receptors)的配体 thrombin 对 YAP/TAZ 活性的调控<sup>[43]</sup>。Mo 等<sup>[43]</sup>发现,利用 siRNA 干扰  $G\alpha_{12/13}$  的表达,抑制了 PAR1 诱导的 YAP 去磷酸化及转录激活。利用 Rho A 失活突变体 Rho A N19 或 Rho A 抑制剂 toxin C3 也发现 Rho A 对 PAR1 介导的 YAP 激活起到非常重要的作用。PAR1 通过  $G\alpha_{12/13}$  和 Rho A 抑制 LATS1/2 的活性,从而激活 YAP(图 1)。

此外, Rho GTP 酶还介导了甲羟戊酸代谢途径对 YAP/TAZ 的调控。HMGCR(HMG-CoA reductase)是甲羟戊酸途径的限速酶,催化甲羟戊酸的产生。Sorrentino 等<sup>[44]</sup>筛选了 650 种临床上使用的药物在乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 中对 YAP/TAZ 的亚细胞定位的影响,发现抑制 HMGCR 活性的 statins 最有效地抑制了 YAP/TAZ 进入细胞核。甲羟戊酸途径产生 GGPP(geranylgeranyl pyrophosphate), GGPP 香叶酰化修饰 Rho GTP 酶,促进 Rho GTP 酶定位到细胞膜上被激活,进而激活 YAP/TAZ。当 statins 抑制 HMGCR 的活性,则不能产生 GGPP,使 Rho GTP 酶处于失活状态, YAP/TAZ 活性被抑制<sup>[44]</sup>。Sorrentino 等<sup>[44]</sup>将 Hippo 信号通路和代谢联系在一起, HMGCR 的抑制剂有可能成为 YAP/TAZ 的抑制剂。

GPCR 是细胞表面最大的一类受体家族,介导大量的生理及病理条件下的信号转导。据报道,现有的处方药中有 50%以上是靶向到 GPCR 起作用的<sup>[45]</sup>。Rho GTP 酶介导 GPCR 对 YAP 的调控,与  $G\alpha_{12/13}$ 、 $G\alpha_{q/11}$ 、 $G\alpha_{i/o}$  耦联的 GPCR 信号激活 Rho GTP 酶,进而激活 YAP 的活性,如 LPA、S1P、thrombin、雌性激素等。反之,与  $G\alpha_s$  耦联的 GPCR 信号抑制 Rho GTP 酶,抑制 YAP 的活性,如肾上腺素、胰高血糖素等<sup>[41,43]</sup>。可见, YAP/TAZ 受到众多分泌信号和相关 GPCR 的调控,从而将 Hippo 信号通路与其他胞外信号联系起来,发挥更多的生理功能(图 1)。

### 1.3 机械环境调控 Hippo 信号通路

Hippo 信号通路不仅受到 GPCR 介导的可溶分子的调控,还受到来自细胞间接触、细胞外基质硬度、细胞粘附及其伸展度等多方面的机械环境的调控(图 1)。众所周知,接触抑制是正常细胞增殖的一个基本特征。肿瘤细胞因为癌基因激活或抑癌基因失活使其逃逸接触抑制的影响。2007 年, Guan 实验室在研究 YAP 作为致癌蛋白的活性和功能时,发现在小鼠成纤维细胞 NIH-3T3 和人乳腺上皮细胞 MCF10A 等哺乳动物细胞中, YAP 蛋白的定位及磷酸化水平通过 Hippo 信号通路受到细胞接触的调控<sup>[40]</sup>。在高密度条件下,细胞间的紧密连接和粘附连接增多,激活 LATS1/2,使 YAP 被高度磷酸化, YAP 滞留在细胞质中,从而抑制 YAP 下游基因的转录表达,细胞增殖受到抑制。反之,在低密度条件下, Hippo 信号通路被抑制, YAP 不能与 14-3-3 结合,而是顺利进入细胞核与 TEAD 结合,诱导下游基因转录表达,促进细胞增殖。

细胞粘附到细胞外基质上对正常细胞的生存和增殖是至关重要的。有报道表明,细胞与基质的粘附通过激活 Rho GTP 酶或者 FAK-SRC-PI3K 途径诱导 YAP 定位到细胞核内<sup>[46]</sup>。干扰 F-actin 形成阻碍了细胞外基质对 YAP 核定位的影响。当细胞从基质上脱离, YAP 和 TAZ 活性丧失,进而触发细胞失巢凋亡<sup>[40]</sup>。这一机制被认为是保护组织的有序结构,防止癌细胞转移的机制之一。有研究表明,细胞外基质的硬度决定间充质干细胞的命运。例如,柔软的细胞外基质使间充质干细胞分化为脂肪细胞,而坚硬的细胞外基质则使间充质干细胞分化为成骨细

胞<sup>[47]</sup>。有趣的是,当细胞生长在柔软的基质上或者没有足够的伸展面积时,细胞形态变圆,YAP/TAZ 主要分布在细胞质中;当细胞生长在坚硬的基质上或者能够充分的伸展粘附时,细胞呈扁平状态,YAP/TAZ 则定位到细胞核中<sup>[48]</sup>。而机械环境对 YAP/TAZ 活性的调控是细胞外基质的硬度决定间充质干细胞分化方向的重要原因<sup>[48]</sup>。这些发现表明 Hippo 信号通路感知机械微环境,调节细胞生理活动的重要功能。

在包括细胞间接触、细胞-基质粘附、细胞外基质硬度、基底面积等在内的机械环境对 YAP/TAZ 的调控中,Rho GTP 酶和 F-actin 微丝纤维都起到非常重要的作用。但是,关于 Hippo 信号通路中的 MST1/2 和 LATS1/2 是否在这一调控中起作用仍有争议。虽然曾有研究报道 siRNA 敲减 *LATS1/2* 不影响上述机械传导对 YAP/TAZ 的调控<sup>[48]</sup>,但最近使用 CRISPR 技术敲除 *LATS1/2* 实验表明,在没有 *LATS1/2* 情况下,细胞对 Rho 活性的改变没有响应<sup>[32]</sup>。并且,比较细胞粘附在坚硬的基质和细胞悬浮两种条件对 Hippo 信号通路的调控,发现细胞悬浮通过细胞骨架重组激活 Hippo 信号通路上游 *LATS1/2* 活性<sup>[40]</sup>。然而,微丝纤维如何调控 *LATS1/2* 的活性尚未完全阐明。在果蝇中研究表明,微丝有可能抑制 Wts 与 Mer(Merlin,哺乳动物中的同源蛋白是 NF2, neurofibromin 2)结合,因此干扰了 Wts 的细胞膜定位和激活<sup>[49]</sup>。也有研究表明,细胞骨架应力通过依赖于 Jub 的方式,促进 Wts 定位到粘附连接,从而将它与其上游激活蛋白分开<sup>[50]</sup>。还有研究表明,在细胞拉伸的条件下,JNK 磷酸化 LIMD1,并因此促进 LIMD1 对 *LATS1/2* 的结合和抑制<sup>[51]</sup>。因而,机械胁迫究竟如何调控 *LATS1/2* 还需要进一步的研究。

#### 1.4 能量水平和氧化应激调控 Hippo 信号通路

YAP 具有促进细胞存活和增殖的作用,因而可以想象 YAP 必然受到各种与存活和增殖相关的应激信号的调控。近年来的研究相继发现能量水平、氧化应激、缺氧等条件调控 YAP 活性(图 1)。

细胞代谢状态影响 Hippo 信号通路活性。当细胞处于能量饥饿状态,如葡萄糖被剥夺时,AMPK 激活并直接磷酸化 YAP S61 和 S94 的氨基酸残基,S94 的磷酸化抑制 YAP 和 TEAD 结合,从而抑制 YAP

对靶基因表达的调控<sup>[52,53]</sup>。但在营养不足的乳腺癌细胞系 MCF7 中,YAP 诱导细胞自噬,使细胞免受营养不足导致的细胞凋亡损伤。这也提示了 YAP 具有调控细胞自噬的功能,并且 TEAD 家族转录因子在 YAP 诱导的细胞自噬中是必不可少的<sup>[54]</sup>。此外,能量缺失以依赖 AMPK 或者不依赖 AMPK 的方式提高 *LATS1/2* 的激酶活性,进而抑制 YAP 活性。AMPK 还可以通过磷酸化 AMOTL1,促进 *LATS1/2* 磷酸化 YAP<sup>[55]</sup>。此外,抑制胆固醇合成可能通过抑制 Rho 的细胞膜定位,间接抑制了 YAP 活性<sup>[44]</sup>。因此,Hippo 信号通路受到细胞代谢的调控。

Hippo 信号通路参与细胞氧化应激调控<sup>[56]</sup>。最初的相关报道发现 Hippo 信号通路中的 MST1 在活性氧诱导的细胞死亡和活性氧防御过程中起重要作用<sup>[57]</sup>。Bonni 实验室发现 MST1 在氧化应激条件下被激活,激活的 MST1 磷酸化 FOXO3,并促进 FOXO3 介导的 Bim 表达,导致神经元细胞死亡;并且这一机制在线虫(*Caenorhabditis elegans*)中也是保守的,线虫中 MST1 的同源蛋白 Cst-1,通过 FOXO3 同源蛋白 Daf-16 介导基因转录,调控线虫的寿命<sup>[57]</sup>。最近的研究发现,MST1 的 Tyr433 被蛋白激酶 c-ABL 磷酸化,促进了 MST1 与 FOXO3 的结合以及 MST1 对 FOXO3 的磷酸化,进而导致神经元细胞死亡<sup>[58,59]</sup>。但是,MST1 对 FOXO3 的磷酸化可以被 AKT 抑制<sup>[60]</sup>。AKT 结合 MST1,并磷酸化其高度保守的 T120 氨基酸残基,导致其转移至细胞核中且激酶活性被抑制,同时 MST1 的 T183 发生自磷酸化修饰。其中 T120 的磷酸化修饰抑制了 MST1 对 FOXO3 的调控<sup>[60]</sup>。另外,Hippo 信号通路的另一主要成员 YAP 也介导活性氧驱动的信号调控。在小鼠心脏中,YAP 过度表达能够保护心肌细胞逃避过氧化氢诱导的细胞死亡<sup>[61]</sup>。YAP 作为 FOXO1 的转录辅激活因子,直接与 FOXO1 相互结合并激活 FOXO1 介导的过氧化氢酶和 *MnSOD* 基因的转录,以减少氧化应激和缺血再灌注带来的心脏损伤,提示 YAP 具有清除活性氧的生理作用<sup>[62]</sup>。

缺氧是与肿瘤的发展、心肌损伤等病理过程直接相关的重要应激条件。研究发现,在缺氧条件下,E3 泛素连接酶 SIAH2 结合 *LATS2*,并将 *LATS2* 泛素化,导致 *LATS2* 被降解,促使 YAP/TAZ 被激活<sup>[63,64]</sup>。

此外, HIF1(hypoxia inducible factor1)还直接诱导 TAZ 转录。另一方面, YAP 通过与 HIF1 结合, 促进 HIF1 蛋白稳定性, 从而促进 HIF1 靶基因的转录表达<sup>[63,64]</sup>。

## 2 调控 YAP/TAZ 的分子机制

### 2.1 YAP/TAZ 的序列结构

YAP 是 Hippo 信号通路的效应分子, YAP 过度表达造成组织器官增大。在 Hippo 信号通路被发现以前, 鸡(*Gallus gallus*)YAP 因为其通过 N 端富含脯氨酸的序列与酪氨酸蛋白激酶 YES1 的 SH3 结构域相互结合而被克隆, 因其分子量约为 65 kDa, 所以这一蛋白被命名为 YAP65(Yes-associated protein 65)<sup>[65]</sup>。随后, 利用 YAP65 的 cDNA 作为探针在人和小鼠的 cDNA 文库中发现了小鼠和人的同源基因 *YAP1*<sup>[66]</sup>。人 *YAP1* 基因位于染色体 11q22.1 上。YAP 蛋白广泛表达于各种组织器官中。现有数据显示, 至少已经检测到 9 种 YAP 的可变剪接体, 其中最长的编码 508 个氨基酸, 最短的编码 326 个氨基酸, 而研究最多的是含有 488 个氨基酸的亚型 YAP2 和含有 454 个氨基酸的亚型 YAP1。YAP2 有一个 N 端富含脯氨酸的序列、多个 HXRXXS 基序、两个 WW 结构域、一个卷曲螺旋区域、一段转录激活区域和一个可以与 PDZ 结构域结合的基序 LTWL。YAP1 与 YAP2 的主要区别在于 YAP1 只有一个 WW 结构域。WW 结构域因含有两个高度保守的色氨酸而得名, 它可以与 PPXY 基序结合<sup>[67,68]</sup>, 在 YAP 的调控与功能中发挥重要作用。

TAZ 是 YAP 的同源蛋白, 也是 Hippo 信号通路的效应分子。TAZ 也叫 WWTR1(WW domain containing transcription regulator 1), 最初是在 2000 年作为 14-3-3 的结合蛋白被发现<sup>[69]</sup>。人 *TAZ* 基因位于染色体 3q25.1 上。TAZ 蛋白有 400 个氨基酸残基, 与 YAP 在基因序列上有 50% 的相似性, 在蛋白序列上有 46% 的相似性, 拓扑结构也相似<sup>[70]</sup>。TAZ 和 YAP 同样有一个 N 端富含脯氨酸的序列、多个 HXRXXS 序列、一个卷曲螺旋区域、一段转录激活区域和一个可以与 PDZ 结构域结合的基序 LTWL。TAZ 只有

一个 WW 结构域。基于相似的序列和结构, TAZ 与 YAP 有一些相似的功能, 如: 都可以作为转录辅激活因子介导 Hippo 信号通路的下游转录调控。但是, TAZ 也有一些不同于 YAP 的方面, 最明显的一点表现在 *Yap* 和 *Taz* 敲除小鼠的表型上, *Yap* 敲除小鼠在早期就发生胚胎致死<sup>[71]</sup>, 表明 *Yap* 在早期发育方面至关重要, 而 *Taz* 敲除小鼠部分致死, 存活的小鼠有多囊肾表型和肺部缺陷<sup>[72]</sup>。

### 2.2 翻译后修饰调控 YAP

Hippo 信号通路激酶链通过 LATS1/2 对 YAP 的直接磷酸化抑制其活性(图 2)。体内和体外实验表明, 这一磷酸化修饰发生在 5 个 HXRXXS 序列中的丝氨酸残基(S61、S109、S127、S164、S381)上<sup>[73]</sup>。其中, YAP 的 S127(TAZ 的 S89)位点被磷酸化后, 产生与 14-3-3 蛋白结合的位点(RXXpSXP), 促进 YAP 与 14-3-3 蛋白结合, 使其滞留在细胞质中, 从而抑制其转录活性。研究发现, 将 YAP 的 S127 位点的丝氨酸突变为不能被磷酸化修饰的丙氨酸后, YAP 明显转移入细胞核, 转录活性增加。另外, 敲减 LATS1/2, 特异地降低 S127 位点的磷酸化水平, 同样能促进 YAP 入核及转录活性增加<sup>[40]</sup>。有趣的是, YAP 的 S381 位点的丝氨酸的磷酸化修饰明显影响 YAP 的蛋白稳定性。S381 位点的丝氨酸发生磷酸化修饰后招募 CK1 $\delta/\epsilon$ (casein kinase 1)进行进一步的磷酸化修饰, 激活相应的磷酸化降解基序, 从而为 E3 泛素连接酶 SCF $^{\beta-Trcp}$  提供停靠位点。继而, YAP 被多泛素化和降解<sup>[73]</sup>。而 TRIB2(tribbles homolog 2)通过直接与 E3 泛素连接酶 SCF $^{\beta-Trcp}$  的底物结合亚基  $\beta-Trcp$  结合, 抑制了 E3 泛素连接酶 SCF $^{\beta-Trcp}$  介导的 YAP 泛素化, 从而促进 YAP 蛋白的稳定性<sup>[74]</sup>。这一调控 YAP 蛋白质稳定性的机制在 TAZ 中是保守的, 但由于 Yki 缺少 S381 的同源位点, 这一机制在果蝇中不保守(图 2)。有证据表明 PKA(cyclic AMP dependent protein kinase)直接磷酸化 LATS1/2, 从而增强 LATS1/2 对 YAP S381 位点的磷酸化修饰<sup>[75]</sup>。然而, 另一研究表明, 特定 GPCR 激活导致的 PKA 激活通过抑制 Rho GTP 酶的活性间接抑制 LATS1/2,

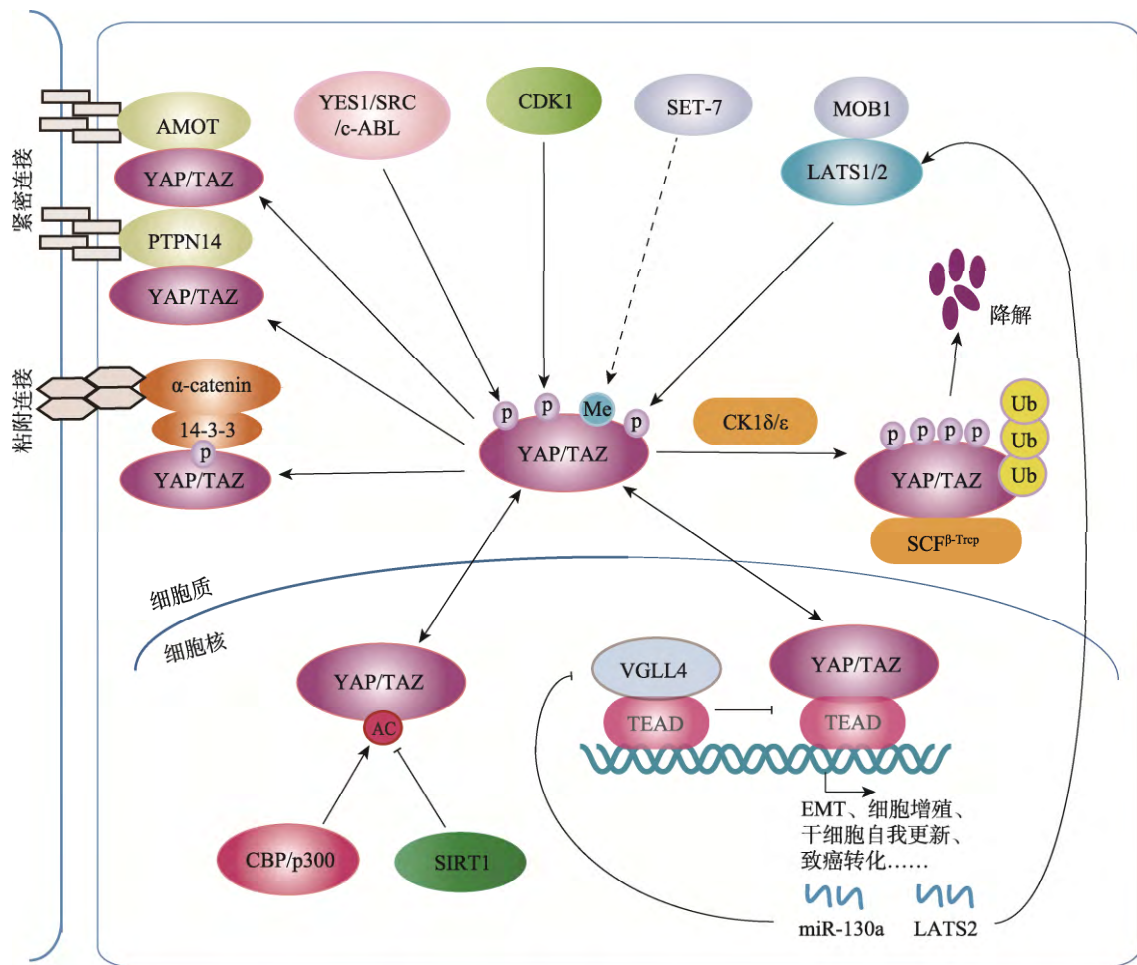


图 2 翻译后修饰和蛋白质相互作用调控 YAP/TAZ 的分子机制

Fig. 2 YAP/TAZ regulation by posttranslational modifications and protein-protein interactions

对 YAP 的翻译后修饰和催化这些修饰的酶, 以及通过蛋白质相互作用调控 YAP 的分子进行了归纳总结。其中, AMOT 和 PTPN14 通过细胞紧密连接使 YAP/TAZ 滞留在胞质中,  $\alpha$ -catenin 和 14-3-3 通过粘附连接使磷酸化的 YAP/TAZ 滞留在胞质中。YAP 的活性受到多种翻译后修饰调控, 如在细胞质中, 来自 SRC、YES1 和 c-ABL 的酪氨酸磷酸化修饰, 来自 LATS1/2 和 CDK1 的丝氨酸或苏氨酸磷酸化修饰, 来自 SET-7 的赖氨酸甲基化修饰, 以及在细胞核中, 乙酰转移酶 CBP/p300 的乙酰化修饰和去乙酰化酶 SIRT1 的去乙酰化修饰。

调控 YAP 磷酸化修饰<sup>[76]</sup>。

除 LATS1/2 以外, YAP 还被其他激酶磷酸化修饰。Sudol 等<sup>[65]</sup>通过 YAP 的克隆过程, 报道了位于 YAP 蛋白 N 端的富含脯氨酸的序列介导了 YAP 与 YES1 结合。研究表明, 在结肠癌细胞系中 YES1 激酶磷酸化 YAP, 促进 YAP- $\beta$ -catenin-TBX5 三元复合物形成并转移入细胞核, 结合到抗凋亡基因 *Bcl2l1* 和 *Birc5* 的启动子上, 介导  $\beta$ -catenin 激活的细胞系的抗凋亡功能<sup>[77]</sup>。与 YES1 在同一酪氨酸激酶家族的 SRC 也可以磷酸化 YAP, 使 YAP 在细胞核中结合 RUNX2, 从而抑制 RUNX2 结合到骨钙蛋白基因

的启动子上<sup>[78]</sup>。另外, 在肿瘤相关成纤维细胞中, SRC 磷酸化 YAP, 以不依赖于 YAP S127 位点磷酸化的机制, 抑制 YAP 与细胞质中的 14-3-3 蛋白结合, 促进 YAP 入细胞核与 TEAD 家族转录因子结合, 激活其转录活性, 但是具体的机制还不清楚<sup>[79]</sup>。YAP 还受多种激酶的酪氨酸磷酸化修饰, 例如在应答 DNA 损伤时, c-ABL 直接结合并磷酸化 YAP1 的 Y357 酪氨酸残基, YAP1 被磷酸化后, 蛋白稳定性增强, 并且与 p73 的相互作用增强, 作为 p73 的转录辅激活因子促进 p73 下游促凋亡靶基因的转录<sup>[80]</sup>。也有研究表明, CDK1 可以在细胞周期的 G<sub>2</sub>-M 期直



接磷酸化 YAP 的 T119、S289 和 S369 的苏氨酸或丝氨酸残基, 这些位点的磷酸化导致永生化的上皮细胞有丝分裂失调, 进而促进细胞迁移和侵袭<sup>[81]</sup>(图 2)。

此外, YAP 还受到磷酸化之外的翻译后修饰调控(图 2)。YAP 的 K494 位点的赖氨酸残基可以被 SET-7 甲基化修饰, 并且 YAP 的细胞质滞留需要这种甲基化修饰的存在。但是诱导 SET-7 甲基化修饰 YAP 的上游信号以及 YAP 甲基化修饰调控 YAP 的细胞质滞留的分子机制还不清楚<sup>[82]</sup>。除甲基化修饰外, YAP 还可以被乙酰化修饰<sup>[82]</sup>。当细胞受到 DNA 损伤刺激时, YAP 转移进入细胞核, 受到乙酰转移酶 CBP/p300 的乙酰化修饰或去乙酰化酶 SIRT1 的去乙酰化修饰, 在 Hippo 信号通路下游形成了 YAP 的乙酰化和去乙酰化修饰回路<sup>[83]</sup>。

### 2.3 蛋白质相互作用调控 YAP

YAP 包含多种结构域和特殊序列, 并通过这些结构域和特殊序列参与蛋白质相互作用, 行使细胞内信号转导功能。YAP 的 WW 结构域介导 YAP 与多个含有 PPXY 基序的蛋白直接结合。这一机制对 YAP 功能的调控颇为复杂。一方面, 在某些细胞内 WW 结构域的突变降低 YAP 促进增殖和转化的活性。这可能是因为抑制了 YAP 与一些转录调控分子的结合(见下文)。而另一方面, WW 结构域负调控 YAP 的活性。YAP 可以通过 WW 结构域与 LATS1/2 结合, 因此促进其对 YAP 的磷酸化。与维持细胞间紧密连接完整性和上皮细胞极性相关的 AMOT (Angiomotin) 家族蛋白, 也是通过 PPXY-WW 与 YAP/TAZ 直接结合的。AMOT 的结合通过两种方式调控 YAP/TAZ。一是使 YAP/TAZ 定位到紧密连接上而滞留在细胞质中; 二是 AMOT 促进 YAP/TAZ 的磷酸化修饰, 抑制 YAP/TAZ 的细胞核内积累和激活<sup>[84-86]</sup>(图 2)。过表达 AMOT 引起 YAP/TAZ 的胞质定位及其靶基因的表达降低。另外, 粘附连接蛋白 PTPN14 (protein tyrosine phosphatase 14), 也通过 PPXY-WW 与 YAP 直接结合, 从而直接或者间接地造成 YAP 胞质定位, 使 YAP 丧失转录活性<sup>[87,88]</sup>。

亲和纯化和 siRNA 筛选结果表明, 粘附连接蛋白  $\alpha$ -catenin 也是 YAP 的结合蛋白, 这种结合需要由 14-3-3 介导。当 YAP 被磷酸化修饰后, 形成  $\alpha$ -catenin-YAP-14-3-3 三元复合物, 从而抑制 PP2A 对 YAP 的

去磷酸化修饰<sup>[89,90]</sup>(图 2)。因此  $\alpha$ -catenin 通过抑制 YAP 在皮肤组织中起到抑癌基因的作用。

含有 PDZ 结构域的紧密连接蛋白 ZO-2 (Zona occludens-2) 可以在细胞核和细胞质之间穿梭, 与 YAP/TAZ 蛋白 C 端的 PDZ 结合基序 LTWL 相互结合。但现有的证据表明 ZO-2 对 YAP 和 TAZ 的调控有所不同。ZO-2 一方面促进 YAP 进入细胞核从而激活其活性, 另一方面结合 TAZ 使其定位到紧密连接上, 滞留在细胞质中, 从而抑制其活性<sup>[91,92]</sup>。YAP 与含有 PDZ 结构域的蛋白相互作用的功能还有待深入研究。

### 2.4 YAP 的表达调控

除了外周血白细胞之外, YAP 的 mRNA 在各种组织中广泛表达<sup>[93]</sup>, 但是关于 YAP 的 mRNA 转录水平调控的研究较少。最近的研究发现, Ets 家族的转录因子 GABP 可以直接结合到 YAP 的启动子上。氧化应激导致的 GABP 抑制也导致 YAP 水平的下降。而且, 在人肝癌中, YAP 与 GABP 的蛋白水平有一定的相关性<sup>[94]</sup>。另有研究发现 YAP 的启动子上有一个 AP1 结合位点和一个 c-Jun 识别元件, 敲减 c-Jun 会造成 YAP 表达水平的下调<sup>[95]</sup>。在生理和病理条件下 YAP 转录水平的调控机制还有待深入研究, 有可能为器官大小和肿瘤发展提供新的见解。

YAP 的表达还受到非编码 RNA 的调控。在肝癌中, miR-375 靶向 YAP 的 mRNA, miR-375 的下调与 YAP 水平的上调相关<sup>[96]</sup>。在肺癌细胞系中, YAP 与 miR-375 表达水平也呈负相关<sup>[97]</sup>。相应地, 过表达 miR-375 抑制了 YAP 的蛋白表达和 YAP 下游靶基因 CTGF (connective tissue growth factor) 的 mRNA 表达, 也抑制了 YAP 诱导的肝癌细胞的增殖和侵袭<sup>[96]</sup>。

## 3 YAP/TAZ 调控转录的分子机制

### 3.1 TEAD 是介导 YAP 功能的主要转录因子

TEAD 是 YAP 和 TAZ 调控基因转录的关键分子。2008 年, Guan 实验室使用荧光素酶报告基因体系对人类转录因子库进行筛选, 发现 TEAD 家族是被 YAP 激活最强的转录因子<sup>[16]</sup>。人的 TEAD 家族转录因子有 TEAD1-4 4 个成员, 它们都有一个 N 端 DNA 结合结构域和一个 C 端 YAP 结合区。利用 shRNA

敲减 TEAD1/3/4 明显抑制 YAP 依赖的基因表达。YAP 第 94 位的丝氨酸突变为丙氨酸的突变体 YAP-S94A 不能结合 TEAD。比较过表达 YAP-S94A 与 YAP 野生型诱导的基因表达谱发现, 大多数 YAP 诱导的基因依赖于 S94。类似的, YAP 促进细胞增殖, 锚定非依赖性生长, 上皮间质转化(EMT, epithelial-mesenchymal transition)等作用也都依赖于 TEAD 家族转录因子。更重要的是在小鼠中, 组织特异性表达 Yap-S94A 发现, 皮肤和心脏的 Yap-S94A 突变造成的表型与 Yap 敲除造成的表型非常相似<sup>[90,98]</sup>。这些研究都证明 TEAD 家族转录因子是介导 YAP 在 Hippo 信号通路下游发挥功能的主要转录因子。

解析 YAP-TEAD 复合物的晶体结构发现, YAP 的 N 端结构域包裹着 TEAD 的 C 端结构域形成了球状结构<sup>[99~102]</sup>。特别是 YAP 将 86 到 100 位的肽段侧链插入到 TEAD 形成的口袋里, 对相互结合起到关键作用<sup>[102]</sup>。YAP 的 S94 和 TEAD1 的 Y406 之间形成氢键<sup>[102]</sup>。而来自于 Sveinsson's chorioretinal atrophy 疾病的 TEAD1 Y406H 突变几乎完全阻止了 YAP-TEAD 之间的相互作用, 说明这一氢键在 YAP-TEAD 的相互结合中发挥重要作用<sup>[103]</sup>。该位点可能成为对 YAP-TEAD 相互作用进行药理学干扰的理想靶点。例如, VP(verteporfin)结合到 YAP-TEAD 的结合界面上, 有效抑制了 YAP 与 TEAD 的结合, 并在 NF2 失活或 YAP 过表达的小鼠模型中明显抑制肝脏过度增生<sup>[104]</sup>。TEAD 的 C 端不仅可以与 YAP 和 TAZ 相互结合, 还可以和 VGLL4(vestigial-like protein 4)结合。VGLL4 通过它的 TDU(Tondu)结构域与 TEAD 结合, 这种结合方式与 YAP-TEAD 相似, 因而, VGLL4 通过与 YAP 竞争性结合 TEAD 而负调控 YAP 的转录活性<sup>[105~108]</sup>。此外, 研究还发现 VGLL4 类似肽段通过模拟 VGLL4 竞争性结合 TEAD, 从而干扰 YAP-TEAD 的相互作用, 抑制 YAP 转录活性, 在胃癌模型中起到抑制肿瘤的作用。这一发现为设计针对 YAP-TEAD 的癌症靶向治疗提供了新的方向<sup>[108]</sup>。

结缔组织生长因子 CTGF 是 YAP-TEAD 的一个直接靶基因, 在 YAP 诱导的细胞增殖和锚定非依赖性生长中发挥一定作用。CTGF 的启动子序列有 3 个 TEAD 结合位点, TEAD 可以直接结合到 CTGF 的

近端启动子上, CTGF 的表达依赖于 YAP 和 TEAD(图 3A)。敲减 CTGF 抑制 YAP 诱导的细胞增殖和克隆形成, 但不影响 YAP 诱导的 EMT, 提示 CTGF 与 YAP 发挥其促进细胞增殖功能有关<sup>[16,109]</sup>。还有其他的 YAP 靶基因与 CTGF 共同介导 YAP 的活性功能, 如 AREG 和 FGF1 等<sup>[110]</sup>。果蝇的小 RNA *bantam* 也是 Hippo 信号通路的靶基因, 具有促进细胞增殖的生理作用。但 Yki 可能通过 Hth(Homothorax)和 Tsh(Teashirt)两个转录因子而不是 Sd 介导 *bantam* 表达<sup>[111]</sup>。*bantam* 在哺乳动物中不保守, 但近期研究发现 YAP 诱导另一个小 RNA miR-130a 的表达<sup>[112]</sup>。miR-130a 是 YAP 的直接靶基因。YAP 活化时, 能够与 TEAD 结合, 诱导 *miR-130a* 的转录。miR-130a 能够有效靶向 VGLL4, 抑制其翻译, 因此降低了 VGLL4 对 TEAD 的竞争性结合, 从而促进了 YAP 与 TEAD 结合。进一步诱导 *miR-130a* 的转录表达, 形成一个正反馈回路。抑制 miR-130a 能够有效阻碍 YAP 诱导的肿瘤形成及 Hippo 信号通路调控异常造成的肝脏过度增生, 提示 miR-130a 的抑制剂有望成为靶向 YAP 的抗癌分子。

负反馈调节是普遍存在的信号调节机制, 在一定程度上可以防止信号过于起伏波动。YAP 作为 Hippo 信号通路的主要效应分子, 一方面拥有强大的促进细胞增殖和干细胞自我更新的功能, 另一方面其活性又被各种信号分子和细胞微环境所调控。因此, 适时精确地调控 YAP 的活性对维持正常的器官发育和组织稳态非常重要。近期研究发现, *LATS2* 是 YAP-TEAD 的直接靶基因, YAP 激活, *LATS2* 的 mRNA 水平随之升高<sup>[113,114]</sup>。上调的 *LATS2* 进而抑制 YAP 形成一个负反馈回路来维持 Hippo 信号通路的稳态, 避免 YAP/TAZ 过度活化<sup>[115]</sup>。另外, YAP 对 Amotl2 和 NF2 的调控也可能参与了这一负反馈机制<sup>[48,114,115]</sup>。

### 3.2 YAP 通过其他转录因子调控转录

除 TEAD 转录因子外, YAP/TAZ 还可以通过 WW 结构域与含有 PPXY 基序的转录因子相互作用。与 YAP 结合的转录因子有 RUNX2/3、SMAD1、ERBB4、p73 等<sup>[13,93,95,116]</sup>。与 TAZ 结合的转录因子包括 RUNX2、PPAR $\gamma$ 、PAX3、TBX5、TTF-1 等<sup>[117~121]</sup>。

另外,值得一提的是也有报道表明 YAP 与 RUNX2 的结合有可能抑制 RUNX2 介导的成骨基因的表达,但其机制尚不清楚<sup>[78]</sup>。SMAD 介导的基因转录对维持干细胞自我更新和肿瘤细胞调控是非常重要的。BMP(bone morphogenetic protein)信号诱导 SMAD1 磷酸化,促进其进入细胞核调控基因转录。然而研究发现,SMAD1 磷酸化还加强其与 YAP 的相互作用。因此,YAP 在 BMP 信号对小鼠胚胎干细胞向神经分化的抑制中发挥重要作用<sup>[122]</sup>。近期研究发现,BMP2 信号的下游效应分子 SMAD1/4 通过与 YAP 竞争性地结合 TEAD1 来间接抑制 YAP 的辅转录活性<sup>[123]</sup>。p73 是 p53 家族的一个促凋亡转录因子,在白血病中突变的抑癌基因 *PML* 是 p73/YAP 的直接靶位点。反过来,*PML* 蛋白可以稳定和激活 p73/YAP,从而诱导凋亡<sup>[124]</sup>。WBP2 虽然不是转录因子,但它与 YAP 的 WW 结构域的相互作用调控 YAP 靶基因的表达。敲除 WBP2 抑制 YAP 诱导的细胞转化和基因表达;反之,过表达 WBP2 则起到了促进作用<sup>[125,126]</sup>。YAP 还可以与 KLF5 结合,通过与 E3 泛素连接酶 WWP1 竞争性结合,使 KLF5 更稳定,从而上调 KLF5 相关的靶基因表达<sup>[127]</sup>。此外,还有一些转录调控因子通过 YAP 的 WW 结构域之外的序列与 YAP 结合,例如 YAP 和  $\beta$ -catenin 结合,从而诱导它的经典靶基因 *Sox2* 和 *Snai2* 的表达<sup>[128]</sup>。YAP 与这些转录调控分子的相互作用有可能在特定的背景下介导特异的功能。对这些相互作用的体内研究将进一步阐明它们的重要性。

### 3.3 YAP 激活转录的机制

YAP/TAZ 通过结合转录因子与特定的 DNA 序列相互作用,启动基因表达。但 YAP 的转录激活区本身并不具有酶活性,它怎样激活基因转录?在基因组水平又直接调控哪些基因?2015 年, Piccolo、Bauer、Camargo 3 个研究团队结合染色质免疫共沉淀和深度测序技术(ChIP-seq)对全基因组进行检测分析给出了不同的解释<sup>[129~131]</sup>(图 3)。

Piccolo 实验室在 MDA-MB-231 细胞系中利用 ChIP-seq 技术分析了 YAP、TAZ 和 TEAD4 在人类基因组中结合的情况,发现 YAP/TAZ/TEAD4 共同

结合的 DNA 序列大多位于转录起始位点远端的增强子处,通过染色质环化作用到靶基因的启动子上,启动基因转录。这些 DNA 序列与 TEAD4 的结合频率最高,其次是 AP-1(activator protein-1),且 70% 被 YAP/TAZ/TEAD4 结合的 DNA 区域含有一个 TEAD 结合序列(GGAATG)和一个 AP-1 结合序列(TGAGTCA),这两个序列之间间隔约 60 bp。AP-1 是 JUN 家族成员(包括 JUN、JUNB、JUND)和 FOS 家族成员(包括 FOS、FOSB、FOSL1、FOSL2)的二聚体。进一步生化和功能实验发现,YAP/TAZ/TEAD4 与 AP-1 形成转录调控复合物,协同作用。AP-1 显著增

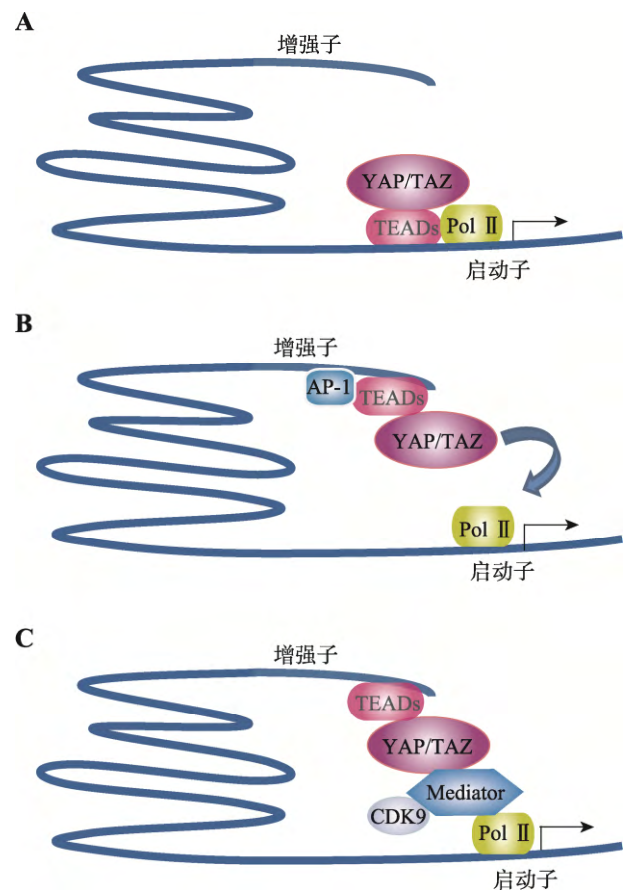


图 3 YAP 调控转录的机制

### Fig. 3 Mechanisms of transcription regulation by YAP

A: 对一些经典的 YAP-TEAD 靶基因,如 CTGF, YAP-TEAD 的结合位点在转录起始位点附近。B: YAP/TAZ/TEAD 与 AP-1 形成转录调控复合物,结合到位于转录起始位点远端的增强子上,通过染色质环化,作用到靶基因的启动子上,启动基因转录。C: YAP/TAZ/TEAD 结合到位于转录起始位点远端的增强子上,通过招募 CDK9 和 Mediator 复合物来调控基因转录。

强 YAP/TAZ 的致癌活性, 反过来, 在 YAP/TAZ 条件性敲除的小鼠中, AP-1 诱导的皮肤肿瘤发生被抑制<sup>[131]</sup>(图 3B)。

Bauer 实验室比较了 Hippo 信号通路正常的 LN229 和 YAP 发生扩增激活的 SF268 这两种恶性胶质瘤细胞系中 YAP1 的 DNA 结合位点, 发现 YAP1 的结合位点含有很多 TEAD 共有序列。TEAD 介导 YAP 结合到 DNA 上, 进一步分析 YAP1 和 TEAD1 共同的 DNA 结合序列也发现, 这些序列大多定位在远端的增强子上。YAP1 调控这些增强子的 H3K27 组蛋白乙酰化修饰。而且 YAP1 调控 H3K27 乙酰化修饰对增强子促进基因转录是非常重要的<sup>[129]</sup>。

Camargo 实验室在胆管癌细胞系 HuCCT1 和 Cclp1 中, 对 YAP、TAZ、TEAD1 和 TEAD4 分别进行了 ChIP 分析, 发现 YAP/TAZ 强烈结合的位点只有很少一部分与 TEAD1/4 相关, 大多数结合位点位于转录起始位点远端具有增强子关联的组蛋白修饰标记(H3K27ac<sup>+</sup>、H3K4me1<sup>+</sup>和 H3K4me3<sup>-</sup>)的增强子元件上。这些区域包含很多能够驱动高转录输出的超级增强子(superenhancer)。结合在这一区域的 YAP 招募含有 26 个亚基的 Mediator 复合物。Mediator 既能够调控 RNA 聚合酶 驱动的普通转录, 也可以招募 CDK9 来驱动高频率的转录延伸。进一步的生化和遗传学实验表明, YAP 发挥其促增殖和致癌活性, 需要 Mediator 和 CDK9 的参与<sup>[130]</sup>(图 3C)。

以上研究表明, YAP 主要通过结合远端的增强子序列来调控基因转录。需要注意的是, 对一些经典的 YAP-TEAD 靶基因, 包括 CTGF 和 YAP-TEAD 等的结合位点, 在转录起始位点前很近的位置(图 3A)。

## 4 Hippo 信号通路在哺乳动物中的作用

### 4.1 调控器官大小

调控器官大小是 Hippo 信号通路在发育上最显著的功能。果蝇体内 Hippo 信号通路核心成员的突变导致眼睛、翅膀等器官的大小剧烈变化<sup>[132,133]</sup>。Hippo 信号通路在器官大小调控方面的功能在哺乳动物中是高度保守的, 并且在多种小鼠模型中得以验证<sup>[134]</sup>。例如, 肝脏特异性过表达 YAP 的转基因小鼠, 肝脏异常增大, 终止 YAP 的过表达肝脏比重又

恢复到正常水平<sup>[23,24]</sup>。与此类似, 肝脏特异性敲除 *Mst1/2*、*Sav1* 或者 *Nf2* 的小鼠, 肝脏同样会异常增大<sup>[21,22,49,135]</sup>。

Hippo 信号通路虽然能调控器官大小, 但不同的器官应答 Hippo 信号通路异常的敏感程度是不一样的。例如, *Mst1/2* 全身敲除的小鼠胚胎, 其肝、心脏、胃和脾异常增生, 而肾、肺、四肢并无明显增生<sup>[21]</sup>。特异性敲除肠道中的 *Yap*, 其组织结构和大小并没有明显缺陷<sup>[136,137]</sup>。*Yap* 功能缺失对青春期的乳腺发育没有影响, 但是严重妨碍了孕期的乳腺生长发育<sup>[137]</sup>。敲除小鼠肝脏中的 *Yap*, 虽然导致胆管缺陷, 但肝脏大小并不受影响, 这可能是由于 *Yap* 缺失激活了 *Taz* 的活性<sup>[135,138~140]</sup>。这些研究提示, 器官大小是否受到 Hippo 信号通路的调控, 因器官的不同而有所不同。

### 4.2 调控干细胞及祖细胞自我更新

YAP/TAZ 在多种组织的干细胞或祖细胞中高表达, 提示 YAP/TAZ 在干细胞的自我更新方面发挥重要作用。过表达 YAP 或者缺失上游抑制因子使 YAP 激活, 通常会导致祖细胞扩增, 细胞分化减弱, 肠、皮肤等组织异常增生<sup>[24,136,141]</sup>。

在肠道中, YAP 在隐窝处的肠干细胞的细胞核内高表达。在表达激活型 YAP 的转基因小鼠中, 肠上皮发育异常, 细胞增殖能力变强, YAP 不再局限于隐窝处, 绒毛部分也有表达, 表达激活型 YAP 5 天后, 肠干细胞分化受阻, 此时停止表达激活型 YAP, 肠干细胞分化恢复, 这表明 YAP 调控肠干细胞自我更新和分化<sup>[24]</sup>。*MST1/2* 通过抑制 YAP 的活性来维持肠道组织的稳态。小鼠中 *Mst1/2* 敲除的表型与表达激活型 YAP 的表型一致, 均表现为肠干细胞增多, 分化细胞尤其是分泌细胞显著减少<sup>[24,141]</sup>。此外, Hippo 信号通路还可以与其他信号通路, 如 Notch 信号通路相互作用共同调节肠组织的稳态。Notch 信号的靶基因 *Hes-1* 在正常情况下只表达于隐窝处, 而在 YAP 活化后表达范围变广, 分布在所有的绒毛上皮, 这提示 YAP 介导的肠祖细胞扩增至少部分依赖于 Notch 信号的活化<sup>[24,141]</sup>。

在皮肤的早期发育中, YAP 分布在单层皮肤细

胞的细胞核中,当皮肤开始分层时,YAP分布在具有增殖能力的基底细胞中,伴随细胞不断增殖,表达显著减少。在皮肤祖细胞中过表达激活型 YAP,组织变厚,基底细胞增多,且具有增殖能力的细胞不再局限于基底层。并且祖细胞不仅数目上增多,其克隆形成能力更强,提示自我更新能力增强<sup>[142]</sup>。当条件性敲除 *Yap* 或表达显负性 TEAD 时,皮肤变薄,四肢、眼、口、鼻等处的皮肤形成发生障碍,具有增殖能力的干细胞也减少<sup>[90]</sup>。这些结果提示 YAP 具有促进上皮干细胞自我更新而抑制其终末分化的能力。

#### 4.3 调控组织再生

尽管 YAP 活性对于正常的组织生长发育及稳态维持不是必需的,但其对组织损伤后的组织再生却具有重要作用。例如,正常的小鼠经受葡聚糖硫酸钠引起的结肠炎后,能够有效再生修复,而条件性敲除 YAP 的小鼠的再生修复能力明显削弱<sup>[136]</sup>。

肝脏具有较强的再生能力。小鼠肝脏被部分切除 70%后,能在几天内利用剩下的部分再生恢复。小鼠和大鼠肝脏部分切除手术实验发现,术后 24 小时内,Yap 的表达水平和活性明显上升并且长时间维持在高水平,Mst1/2 和 Lats1/2 活性降低;当肝脏再生恢复后,Yap、Mst1/2 和 Lats1/2 活性恢复至肝脏静息状态下的水平,提示 Hippo 信号通路对维持正常的肝重比和肝脏稳态是非常重要的<sup>[94,139,140,143]</sup>。

与肝脏和肠组织相比,成人和成年小鼠心脏组织的再生能力是非常有限的。然而,使 Hippo 信号通路失活或者转基因表达 YAP 都能一定程度上提高心肌细胞的再生能力。反之,心脏特异性缺失 *Yap* 则显著削弱了新生小鼠心脏的再生能力<sup>[98,144,145]</sup>。总之,Hippo 信号通路对多种组织的再生过程具有调控作用。

#### 4.4 调控肿瘤发生发展

Hippo 信号通路的异常与肿瘤发生具有密切关系。肝脏特异性 *Nf2*、*Sav1*、*Mst1/2* 缺失或者长时间过表达 YAP 的小鼠最终发生肝癌<sup>[23,134]</sup>。YAP 的致癌活性很大程度上依赖于 TEAD 转录因子,表达能够抑制 YAP 和 TAZ 的显负性转录因子 TEAD 有效抑

制了 YAP 诱导的肝癌发生<sup>[104]</sup>。研究发现,Hippo 信号通路失活导致的非折叠蛋白反应和内质网应激与 YAP 的激活有关。抑制非折叠蛋白反应能抑制肿瘤发生<sup>[146]</sup>。YAP 的活性对细胞增殖、存活、迁移、侵袭非常重要,高活性的 YAP/TAZ 能够帮助细胞逃脱细胞接触抑制和失巢凋亡,为肿瘤转移提供有利条件<sup>[104,147]</sup>。

大量数据表明,很多人类肿瘤中 Hippo 信号通路调控异常,如包含肝脏、乳腺、肺、结肠等组织在内的很多类肿瘤中都检测到了 YAP/TAZ 的高表达或细胞核内富集<sup>[148-150]</sup>。但是,在这些人类肿瘤中鲜有发现 Hippo 信号通路的基因突变<sup>[151]</sup>。Hippo 信号通路中的 *NF2* 是一个典型的抑癌基因,其突变导致 2 型神经纤维瘤。而且,40%~50%的恶性间皮瘤中也发现了 *NF2* 的活性缺失<sup>[152]</sup>。在小鼠中,杂合性缺失 *Yap* 能完全抑制 *Nf2* 敲除诱导的肝脏肿瘤,这表明 YAP 是介导 *NF2* 突变成瘤的主要分子机制<sup>[135]</sup>。另外,80%的葡萄膜黑色素瘤中检测到 *GNAQ* 或 *GNA11* 的活化突变体<sup>[153,154]</sup>。*GNAQ* 和 *GNA11* 分别编码  $G_{\alpha q}$  和  $G_{\alpha 11}$ ,它们通过 Rho 对 Hippo 信号通路激酶的调控导致 YAP 激活。研究发现在原位移植瘤模型中,YAP 的抑制剂 VP 可以抑制含 *GNAQ*/*GNA11* 突变的葡萄膜黑色素瘤细胞成瘤。有趣的是,最新研究发现长链非编码 RNA(lncRNA, long noncoding RNA)也可以通过影响 Hippo 信号通路的活性促进乳腺癌细胞的骨转移<sup>[155,156]</sup>。NRG1(neuregulin-1)诱导 ROR1(receptor tyrosine kinase-like orphan receptor-1)对 HER3(human epidermal growth factor receptor 3)的磷酸化招募含有 MAYA(MST1/2-antagonizing lncRNA for YAP activation)的 RNA-蛋白三元复合物,对 MST1 的 K59 位点进行甲基化修饰,导致 MST1 的激酶活性抑制,进而激活 YAP 的靶基因 *CTGF* 等的表达,促进骨转移<sup>[155,156]</sup>。关于 Hippo 信号通路和 YAP 在癌症中的作用已有综述做了详尽的总结<sup>[134]</sup>。

近年来的研究发现,肿瘤细胞与免疫系统存在丰富的动态互动,对肿瘤的发生发展起重要作用。有意思的是,研究发现 Hippo 信号通路也参与调控肿瘤免疫。2016 年,Guan 实验室发现 Hippo 信号通

路中一直被公认为抑癌基因的 *LATS1/2* 在被敲除时强烈诱导抗肿瘤免疫反应, 并在同基因型小鼠移植模型中导致肿瘤细胞的免疫排斥, 抑制肿瘤生长<sup>[157]</sup>。机制分析发现敲除肿瘤细胞中的 *LATS1/2* 刺激核酸富集的外泌体的分泌, 引发 Toll 样受体 MYD88/TRIF 介导的 I 型干扰素应答, 刺激宿主免疫反应中的多种成分最终激活 T 细胞, 活化后的 T 细胞协助肿瘤特异性的细胞毒性 T 细胞应答和 B 细胞的抗体产生, 杀伤肿瘤细胞, 抑制肿瘤形成<sup>[157]</sup>。这提示在肿瘤细胞中抑制 Hippo 信号通路活性可能是诱导抗肿瘤免疫的有效方法。另一方面, 本实验室的研究发现在肝癌这个特异的背景下, 由 Hippo 信号通路失活或 YAP 过表达诱导的肝癌起始细胞招募大量的巨噬细胞对抗免疫监视<sup>[158]</sup>。巨噬细胞的招募是由 YAP 诱导趋化因子 *CCL2* 和 *CSF1* 的表达造成的。敲减 *CCL2* 和 *CSF1* 阻断巨噬细胞的招募和 YAP 诱导的肿瘤的发生。因此, 在肝肿瘤起始阶段, YAP 也发挥对抗肿瘤免疫的功能。这些研究表明, Hippo 信号通路在癌症发生的过程中除了具有细胞自主性的功能外还通过非细胞自主的方式发挥重要作用。另外, 研究还发现肝癌中分离的巨噬细胞中 *MST1* 的表达明显下降, 而在巨噬细胞中特异性敲除 *MST1* 促进二乙基亚硝胺、四氯化碳和大肠杆菌感染引起的炎症、纤维化和肝癌发生<sup>[159]</sup>。这一功能主要通过 *MST1* 对 *IRAK1*(IL-1 receptor-associated kinase 1) 的磷酸化来实现。因此, 免疫细胞中的非经典 Hippo 信号通路也在炎症-癌症相互作用中发挥功能。

值得一提的是, 此前人们已经发现 Hippo 信号通路在免疫防御中发挥重要功能。例如 Pan 实验室在果蝇中发现革兰氏阳性菌感染能通过 Toll 样受体对磷酸酶复合物的调控迅速激活 Hpo, 导致 Yki 的抑制, 并导致其下游靶基因 *Cactus*(*IκB* 的果蝇同源基因) 的下调和免疫反应的发生<sup>[160]</sup>。在哺乳动物细胞中, 细菌感染也通过 Toll 样受体激活 *MST1/2*, 并通过 Rac 的激活调控线粒体与病原菌的接触以及 ROS(reactive oxygen species)对病原菌的杀伤<sup>[161]</sup>。在抗病毒免疫方面, Hippo 信号通路效应蛋白 YAP/TAZ 能够与 TBK1 形成复合体并有效阻止 TBK1 的 K63 型泛素化修饰以及 TBK1 激活复合体的形成,

抑制 TBK1 介导的抗病毒天然免疫应答<sup>[162]</sup>。营养胁迫或细胞间接触状态诱导 Hippo 信号通路激活, 使 YAP/TAZ 发生磷酸化修饰失活降解, 从而解除对 TBK1 的抗病毒宿主防御机制的抑制<sup>[162]</sup>。

虽然 YAP 通常在癌症中发挥致癌作用, 但是也有报道表明, YAP 还通过抑制 Wnt 信号通路或触发 DNA 损伤诱导的凋亡起到肿瘤抑制因子的作用<sup>[150]</sup>。细胞质定位的 YAP/TAZ 以多种机制抑制 Wnt 信号通路<sup>[163]</sup>。细胞质定位的 YAP 在无 Wnt 的情况下, 招募  $\beta$ -Trcp 到  $\beta$ -catenin 降解复合物上促进  $\beta$ -catenin 降解<sup>[163]</sup>。细胞质定位的 YAP 还通过抑制  $\beta$ -catenin 以及 DVL(dishevelled)的细胞核定位, 抑制与细胞增殖相关的 Wnt 靶基因的转录表达<sup>[164,165]</sup>。可见, 细胞质定位的 YAP/TAZ 是  $\beta$ -catenin 的抑制因子, 具有肿瘤抑制因子的作用。另外, 在正常的血液细胞中, 癌基因诱发的 DNA 损伤使 ATM(ataxia telangiectasia mutated)活化, 随后激活 JNK 激酶, 并进一步磷酸化 14-3-3, 使 ABL1 从 14-3-3 上释放出来, 并转运入细胞核<sup>[80,166]</sup>。ABL1 随后磷酸化 YAP 的酪氨酸残基, 促进 YAP 与肿瘤抑制因子 p73 形成复合物, 诱导促凋亡基因 *BAX*、*PIG3* 等的转录表达<sup>[80]</sup>。可见, YAP 在这种特定的环境下起到肿瘤抑制因子的作用。

## 5 展 望

Hippo 信号通路是具有调控器官大小、肿瘤发生、干细胞自我更新、组织再生等重要生理病理功能的细胞信号途径。近年来对 Hippo 信号通路在果蝇和哺乳动物中的组分及其分子调控机制有了更深入的认识, 但仍有很多问题还不清楚。例如, 磷酸化失活的 YAP/TAZ 定位在细胞质中, 而非磷酸化形式的 YAP/TAZ 具有高转录活性, 定位在细胞核中, 那么 YAP/TAZ 是在哪里发生磷酸化和去磷酸化修饰的, 又是如何在细胞核和细胞质之间穿梭的呢? 现有证据指出微丝细胞骨架和细胞应力调控 *LATS1/2* 活性, 那么它们是如何调控 *LATS1/2* 的活性呢? 微丝细胞骨架和细胞应力是交织在一起的, 那么哪一个在调控 Hippo 信号通路活性方面的作用

更直接呢？尽管很多信号在体外能够调控 Hippo 信号通路，但是到目前为止，究竟是什么信号在体内的器官大小调控中起关键作用尚不清楚。器官大小感知的机制是什么也不清楚，找到这个调节信号将解决发育生物学的一大关键问题。Hippo 信号通路调控肿瘤发生，人类很多肿瘤细胞中都有检测到 YAP 的高活性，YAP 被看做是一种致癌因子，那么肿瘤中 YAP 又是怎么失调的呢？针对肿瘤中的 YAP，目前已经发现了多种抑制剂，如小分子化合物 VP 和 VGLL4 的短肽类似物 super-TDU 等，开发更加高效特异的 YAP 抑制剂也是 Hippo 信号通路转化研究的重要方向。

#### 参考文献(References) :

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] Tapon N, Harvey KF, Bell DW, Wahrer DC, Schiripo TA, Haber D, 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.
- [4] Kango-Singh M, Nolo R, Tao C, 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.
- [5] Pantalacci S, Tapon N, Leopold P. The *Salvador* partner Hippo promotes apoptosis and cell-cycle exit in *Drosophila*. *Nat Cell Biol*, 2003, 5(10): 921–927.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] Jia J, Zhang W, 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.
- [10] Lai ZC, Wei X, 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.
- [11] Edgar BA. From cell structure to transcription: *hippo* forges a new path. *Cell*, 2006, 124(2): 267–273.
- [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.
- [13] Yagi R, Chen LF, Shigesada K, Murakami Y, Ito Y. A WW domain-containing yes-associated protein (YAP) is a novel transcriptional co-activator. *EMBO J*, 1999, 18(9): 2551–2562.
- [14] Strano S, Munarriz E, Rossi M, Castagnoli L, Shaul Y, Sacchi A, Oren M, Sudol M, Cesareni G, Blandino G. Physical interaction with Yes-associated protein enhances p73 transcriptional activity. *J Biol Chem*, 2001, 276(18): 15164–15173.
- [15] Vassilev A, Kaneko KJ, Shu HJ, Zhao YM, DePamphilis ML. TEAD/TEF transcription factors utilize the activation domain of YAP65, a Src/Yes-associated protein localized in the cytoplasm. *Genes Dev*, 2001, 15(10): 1229–1241.
- [16] Zhao B, Ye X, Yu JD, Li L, Li WQ, Li SM, Yu JJ, Lin JD, Wang CY, Chinnaiyan AM, Lai ZC, Guan KL. TEAD mediates YAP-dependent gene induction and growth control. *Genes Dev*, 2008, 22(14): 1962–1971.
- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] Tao WF, Zhang S, Turenchalk GS, Stewart RA, St JM, Chen W, Xu T. Human homologue of the *Drosophila melanogaster* lats tumour suppressor modulates CDC2 activity. *Nat Genet*, 1999, 21(2): 177–181.
- [21] Song H, Mak KK, Topol L, Yun K, Hu J, Garrett L, Chen Y, Park O, Chang J, Simpson RM, Wang CY, Gao B, Jiang J, Yang Y. 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.
- [22] 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.
- [23] Dong JX, Feldmann G, Huang JB, Wu SA, Zhang NL, Comerford SA, Gayyed MF, Anders RA, Maitra A, Pan DJ. Elucidation of a universal size-control mechanism in *Drosophila* and mammals. *Cell*, 2007, 130(6): 1120–1133.
- [24] Camargo FD, Gokhale S, Johnnidis JB, Fu DD, Bell GW, Jaenisch R, Brummelkamp TR. YAP1 increases organ size and expands undifferentiated progenitor cells. *Curr Biol*, 2007, 17(23): 2054–2060.
- [25] Graves JD, Gotoh Y, Draves KE, Ambrose D, Han DKM, Wright M, Chernoff J, Clark EA, Krebs EG. Caspase-mediated activation and induction of apoptosis by the mammalian Ste20-like kinase Mst1. *EMBO J*, 1998, 17(8): 2224–2234.
- [26] Callus BA, Verhagen AM, Vaux DL. Association of mammalian sterile twenty kinases, Mst1 and Mst2, with hSalvador via C-terminal coiled-coil domains, leads to its stabilization and phosphorylation. *FEBS J*, 2006, 273(18): 4264–4276.
- [27] Lee JH, Kim TS, Yang TH, Koo BK, Oh SP, Lee KP, Oh HJ, Lee SH, Kong YY, Kim JM, Lim DS. A crucial role of WW45 in developing epithelial tissues in the mouse. *EMBO J*, 2008, 27(8): 1231–1242.
- [28] Praskova M, Khoklatchev A, Ortiz-Vega S, Avruch J. Regulation of the MST1 kinase by autophosphorylation, by the growth inhibitory proteins, RASSF1 and NORE1, and by Ras. *Biochem J*, 2004, 381(Pt 2): 453–462.
- [29] Densham RM, O'Neill E, Munro J, König I, Anderson K, Kolch W, Olson MF. MST kinases monitor actin cytoskeletal integrity and signal via c-Jun N-terminal kinase stress-activated kinase to regulate p21<sup>Waf1/Cip1</sup> stability. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(24): 6380–6390.
- [30] 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.
- [31] 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.
- [32] Plouffe SW, Meng ZP, Lin KC, Lin B, Hong AW, Chun JV, Guan KL. Characterization of hippo pathway components by gene inactivation. *Mol Cell*, 2016, 64(5): 993–1008.
- [33] Chan EHY, Nousiainen M, Chalamalasetty RB, Schäfer A, Nigg EA, Silljé HH. The Ste20-like kinase Mst2 activates the human large tumor suppressor kinase Lats1. *Oncogene*, 2005, 24(12): 2076–2086.
- [34] Praskova M, Xia F, Avruch J. MOBKL1A/MOBKL1B phosphorylation by MST1 and MST2 inhibits cell proliferation. *Curr Biol*, 2008, 18(5): 311–321.
- [35] Ni LS, Zheng YG, Hara M, Pan DJ, Luo XL. Structural basis for Mob1-dependent activation of the core Mst-Lats kinase cascade in Hippo signaling. *Genes Dev*, 2015, 29(13): 1416–1431.
- [36] Li Q, Li SX, Mana-Capelli S, Flach RJR, Danai LV, Amcheslavsky A, Nie YC, Kaneko S, Yao XH, Chen XC, Cotton JL, Mao JH, McCollum D, Jiang J, Czech MP, Xu L, Ip YT. The conserved misshapen-warts-Yorkie pathway acts in enteroblasts to regulate intestinal stem cells in *Drosophila*. *Dev Cell*, 2014, 31(3): 291–304.
- [37] 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.
- [38] 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.
- [39] Yu FX, Zhao B, Panupinthu N, Jewell JL, Lian I, Wang LH, Zhao JG, Yuan HX, Tumaneng K, Li HR, Fu XD, Mills GB, Guan KL. Regulation of the Hippo-YAP pathway by G-protein-coupled receptor signaling. *Cell*, 2012, 150(4): 780–791.
- [40] Zhao B, Wei XM, Li WQ, Udan RS, Yang Q, Kim J, Xie J, Ikenoue T, Yu JD, Li L, Zheng P, Ye KQ, Chinnaiyan A, Halder G, Lai ZC, Guan KL. Inactivation of YAP



- oncoprotein by the Hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control. *Genes Dev*, 2007, 21(21): 2747–2761.
- [41] Miller E, Yang JY, DeRan M, Wu CL, Su AI, Bonamy GMC, Liu J, Peters EC, Wu X. Identification of serum-derived sphingosine-1-phosphate as a small molecule regulator of YAP. *Chem Biol*, 2012, 19(8): 955–962.
- [42] Cai H, Xu Y. The role of LPA and YAP signaling in long-term migration of human ovarian cancer cells. *Cell Commun Signal*, 2013, 11: 31.
- [43] Mo JS, Yu FX, Gong R, Brown JH, Guan KL. Regulation of the Hippo-YAP pathway by protease-activated receptors (PARs). *Genes Dev*, 2012, 26(19): 2138–2143.
- [44] Sorrentino G, Ruggeri N, Specchia V, Cordenonsi M, Mano M, Dupont S, Manfrin A, Ingallina E, Sommaggio R, Piazza S, Rosato A, Piccolo S, Del SG. Metabolic control of YAP and TAZ by the mevalonate pathway. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(4): 357–366.
- [45] Dorsam RT, Gutkind JS. G-protein-coupled receptors and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(2): 79–94.
- [46] Zhao B, Li L, Wang L, Wang CY, Yu JD, Guan KL. Cell detachment activates the Hippo pathway via cytoskeleton reorganization to induce anoikis. *Genes Dev*, 2012, 26(1): 54–68.
- [47] Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Discher DE. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*, 2006, 126(4): 677–689.
- [48] Dupont S, Morsut L, Aragona M, Enzo E, Giulitti S, Cordenonsi M, Zanconato F, Le Digabel J, Forcato M, Bicciato S, Elvassore N, Piccolo S. Role of YAP/TAZ in mechanotransduction. *Nature*, 2011, 474(7350): 179–183.
- [49] 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.
- [50] 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.
- [51] Codelia VA, Sun GP, Irvine KD. Regulation of YAP by mechanical strain through Jnk and Hippo signaling. *Curr Biol*, 2014, 24(17): 2012–2017.
- [52] Mo JS, Meng ZP, Kim YC, Park HW, Hansen CG, Kim S, Lim DS, Guan KL. Cellular energy stress induces AMPK-mediated regulation of YAP and the Hippo pathway. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(4): 500–510.
- [53] Wang WQ, Xiao ZD, Li X, Aziz KE, Gan B, Johnson RL, Chen JJ. AMPK modulates Hippo pathway activity to regulate energy homeostasis. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(4): 490–499.
- [54] Song QH, Mao BB, Cheng JB, Gao YH, Jiang K, Chen J, Yuan ZQ, Meng SS. YAP enhances autophagic flux to promote breast cancer cell survival in response to nutrient deprivation. *PLoS One*, 2015, 10(3): e120790.
- [55] DeRan M, Yang JY, Shen CH, Peters EC, Fitamant J, Chan P, Hsieh M, Zhu SY, Asara JM, Zheng B, Bardeesy N, Liu J, Wu X. Energy stress regulates hippo-YAP signaling involving AMPK-mediated regulation of angiotensin-like 1 protein. *Cell Rep*, 2014, 9(2): 495–503.
- [56] Mao BB, Gao YH, Bai YJ, Yuan ZQ. Hippo signaling in stress response and homeostasis maintenance. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2015, 47(1): 2–9.
- [57] Lehtinen MK, Yuan ZQ, Boag PR, Yang Y, Villén J, Becker EBE, 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.
- [58] Liu WZ, Wu JB, Xiao L, Bai YJ, Qu AQ, Zheng Z, Yuan ZQ. Regulation of neuronal cell death by c-Abl-Hippo/MST2 signaling pathway. *PLoS One*, 2012, 7(5): e36562.
- [59] 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.
- [60] Yuan ZQ, Kim D, Shu SK, Wu JB, Guo JP, Xiao L, Kaneko S, Coppola D, Cheng JQ. Phosphoinositide 3-kinase/Akt inhibits MST1-mediated pro-apoptotic signaling through phosphorylation of threonine 120. *J Biol Chem*, 2010, 285(6): 3815–3824.
- [61] Del Re DP, Yang YF, Nakano N, Cho J, Zhai PY, Yamamoto T, Zhang NL, Yabuta N, Nojima H, Pan DJ, Sadoshima J. Yes-associated protein isoform 1 (Yap1) promotes cardiomyocyte survival and growth to protect against myocardial ischemic injury. *J Biol Chem*, 2013, 288(6): 3977–3988.
- [62] Shao D, Zhai PY, Del Re DP, Sciarretta S, Yabuta N, Nojima H, Lim DS, Pan DJ, Sadoshima J. A functional interaction between Hippo-YAP signalling and FoxO1 mediates the oxidative stress response. *Nat Commun*, 2014, 5: 3315.
- [63] Ma B, Chen Y, Chen L, Cheng HC, Mu CL, Li J, Gao RZ, Zhou CQ, Cao L, Liu JH, Zhu YS, Chen Q, Wu SA. Hypoxia regulates Hippo signalling through the SIAH2 ubiquitin E3 ligase. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(1): 95–103.
- [64] Xiang LS, Gilkes DM, Hu HX, Takano N, Luo WB, Lu HQ, Bullen JW, Samanta D, Liang HJ, Semenza GL.

- Hypoxia-inducible factor 1 mediates TAZ expression and nuclear localization to induce the breast cancer stem cell phenotype. *Oncotarget*, 2014, 5(24): 12509–12527.
- [65] 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.
- [66] Sudol M, Bork P, Einbond A, Kastury K, Druck T, Negrini M, Huebner K, Lehman D. Characterization of the mammalian YAP (Yes-associated protein) gene and its role in defining a novel protein module, the WW domain. *J Biol Chem*, 1995, 270(24): 14733–14741.
- [67] Sudol M, Chen HI, Bougeret C, Einbond A, Bork P. Characterization of a novel protein-binding module—the WW domain. *FEBS Lett*, 1995, 369(1): 67–71.
- [68] Chen HI, Sudol M. The WW domain of Yes-associated protein binds a proline-rich ligand that differs from the consensus established for Src homology 3-binding modules. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(17): 7819–7823.
- [69] 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.
- [70] Lei QY, Zhang H, Zhao B, Zha ZY, Bai F, Pei XH, Zhao SM, Xiong Y, Guan KL. TAZ promotes cell proliferation and epithelial-mesenchymal transition and is inhibited by the hippo pathway. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(7): 2426–2436.
- [71] Morin-Kensicki EM, Boone BN, Howell M, Stonebraker JR, Teed J, Alb JG, Magnuson TR, O'Neal W, Milgram SL. Defects in yolk sac vasculogenesis, chorioallantoic fusion, and embryonic axis elongation in mice with targeted disruption of *Yap65*. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(1): 77–87.
- [72] Makita R, Uchijima Y, Nishiyama K, Amano T, Chen Q, Takeuchi T, Mitani A, Nagase T, Yatomi Y, Aburatani H, Nakagawa O, Small EV, Cobo-Stark P, Igarashi P, Murakami M, Tominaga J, Sato T, Asano T, Kurihara Y, Kurihara H. Multiple renal cysts, urinary concentration defects, and pulmonary emphysematous changes in mice lacking TAZ. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 294(3): F542–F553.
- [73] Zhao B, Li L, Tumaneng K, Wang CY, Guan KL. A coordinated phosphorylation by Lats and CK1 regulates YAP stability through SCF<sup>β</sup>-TRCP. *Genes Dev*, 2010, 24(1): 72–85.
- [74] Wang JY, Park JS, Wei YY, Rajurkar M, Cotton JL, Fan QS, Lewis BC, Ji HK, Mao JH. TRIB2 acts downstream of Wnt/TCF in liver cancer cells to regulate YAP and C/EBPα function. *Mol Cell*, 2013, 51(2): 211–225.
- [75] Kim M, Kim M, Lee S, Kuninaka S, Saya H, Lee H, Lee S, Lim DS. cAMP/PKA signalling reinforces the LATS-YAP pathway to fully suppress YAP in response to actin cytoskeletal changes. *EMBO J*, 2013, 32(11): 1543–1555.
- [76] Yu FX, Zhang YF, Park HW, Jewell JL, Chen Q, Deng YT, Pan DJ, Taylor SS, Lai ZC, Guan KL. Protein kinase A activates the Hippo pathway to modulate cell proliferation and differentiation. *Genes Dev*, 2013, 27(11): 1223–1232.
- [77] Rosenbluh J, Nijhawan D, Cox AG, Li XN, Neal JT, Schafer EJ, Zack TI, Wang XX, Tsherniak A, Schinzel AC, Shao DD, Schumacher SE, Weir BA, Vazquez F, Cowley GS, Root DE, Mesirov JP, Beroukhim R, Kuo CJ, Goessling W, Hahn WC. β-Catenin-driven cancers require a YAP1 transcriptional complex for survival and tumorigenesis. *Cell*, 2012, 151(7): 1457–1473.
- [78] Zaidi SK, Sullivan AJ, Medina R, Ito Y, van Wijnen AJ, Stein JL, Lian JB, Stein GS. Tyrosine phosphorylation controls Runx2-mediated subnuclear targeting of YAP to repress transcription. *EMBO J*, 2004, 23(4): 790–799.
- [79] Calvo F, Ege N, Grande-Garcia A, Hooper S, Jenkins RP, Chaudhry SI, Harrington K, Williamson P, Moeendarbary E, Charras G, Sahai E. Mechanotransduction and YAP-dependent matrix remodelling is required for the generation and maintenance of cancer-associated fibroblasts. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(6): 637–646.
- [80] Levy D, Adamovich Y, Reuven N, Shaul Y. Yap1 phosphorylation by c-Abl is a critical step in selective activation of proapoptotic genes in response to DNA damage. *Mol Cell*, 2008, 29(3): 350–361.
- [81] Yang SP, Zhang L, Liu M, Chong R, Ding SJ, Chen YH, Dong JX. CDK1 phosphorylation of YAP promotes mitotic defects and cell motility and is essential for neoplastic transformation. *Cancer Res*, 2013, 73(22): 6722–6733.
- [82] Oudhoff MJ, Freeman SA, Couzens AL, Antignano F, Kuznetsova E, Min PH, Northrop JP, Lehnertz B, Barsyte-Lovejoy D, Vedadi M, Arrowsmith CH, Nishina H, Gold MR, Rossi FMV, Gingras AC, Zaph C. Control of the hippo pathway by Set7-dependent methylation of Yap. *Dev Cell*, 2013, 26(2): 188–194.
- [83] Hata S, Hirayama J, Kajihito H, Nakagawa K, Hata Y, Katada T, Furutani-Seiki M, Nishina H. A novel acetylation cycle of transcription co-activator Yes-associated

- protein that is downstream of Hippo pathway is triggered in response to S<sub>N</sub>2 alkylating agents. *J Biol Chem*, 2012, 287(26): 22089–22098.
- [84] Wang WQ, Huang J, Chen JJ. Angiotensin-like proteins associate with and negatively regulate YAP1. *J Biol Chem*, 2011, 286(6): 4364–4370.
- [85] Zhao B, Li L, Lu Q, Wang LH, Liu CY, Lei QY, Guan KL. Angiotensin is a novel Hippo pathway component that inhibits YAP oncoprotein. *Genes Dev*, 2011, 25(1): 51–63.
- [86] Chan SW, Lim CJ, Chong YF, Pobbati AV, Huang CX, Hong WJ. Hippo pathway-independent restriction of TAZ and YAP by angiotensin. *J Biol Chem*, 2011, 286(9): 7018–7026.
- [87] Liu X, Yang N, Figel SA, Wilson KE, Morrison CD, Gelman IH, Zhang J. PTPN14 interacts with and negatively regulates the oncogenic function of YAP. *Oncogene*, 2013, 32(10): 1266–1273.
- [88] Wang WQ, Huang J, Wang X, Yuan JS, Li X, Feng L, Park JI, Chen JJ. PTPN14 is required for the density-dependent control of YAP1. *Genes Dev*, 2012, 26(17): 1959–1971.
- [89] Silvis MR, Kreger BT, Lien WH, Klezovitch O, Rudakova GM, Camargo FD, Lantz DM, Seykora JT, Vasioukhin V.  $\alpha$ -catenin is a tumor suppressor that controls cell accumulation by regulating the localization and activity of the transcriptional coactivator Yap1. *Sci Signal*, 2011, 4(174): ra33.
- [90] Schlegelmilch K, Mohseni M, Kirak O, Pruszk J, Rodriguez JR, Zhou DW, Kreger BT, Vasioukhin V, Avruch J, Brummelkamp TR, Camargo FD. Yap1 acts downstream of  $\alpha$ -catenin to control epidermal proliferation. *Cell*, 2011, 144(5): 782–795.
- [91] Oka T, Remue E, Meerschaert K, Vanloo B, Boucherie C, Gfeller D, Bader GD, Sidhu SS, Vandekerckhove J, Gettemans J, Sudol M. Functional complexes between YAP2 and ZO-2 are PDZ domain-dependent, and regulate YAP2 nuclear localization and signalling. *Biochem J*, 2010, 432(3): 461–472.
- [92] Remue E, Meerschaert K, Oka T, Boucherie C, Vandekerckhove J, Sudol M, Gettemans J. TAZ interacts with zonula occludens-1 and-2 proteins in a PDZ-1 dependent manner. *FEBS Lett*, 2010, 584(19): 4175–4180.
- [93] Komuro A, Nagai M, Navin NE, Sudol M. WW domain-containing protein YAP associates with ErbB-4 and acts as a co-transcriptional activator for the carboxyl-terminal fragment of ErbB-4 that translocates to the nucleus. *J Biol Chem*, 2003, 278(35): 33334–33341.
- [94] Wu HT, Xiao YB, Zhang SH, Ji SY, Wei LY, Fan FQ, Geng J, Tian J, Sun XF, Qin FN, Jin CN, Lin JJ, Yin ZY, Zhang T, Luo LZ, Li Y, Song SY, Lin SC, Deng XM, Camargo F, Avruch J, Chen LF, Zhou DW. The Ets transcription factor GABP is a component of the hippo pathway essential for growth and antioxidant defense. *Cell Rep*, 2013, 3(5): 1663–1677.
- [95] Danovi SA, Rossi M, Gudmundsdottir K, Yuan M, Melino G, Basu S. Yes-associated protein (YAP) is a critical mediator of c-Jun-dependent apoptosis. *Cell Death Differ*, 2008, 15(1): 217–219.
- [96] Liu AM, Poon RT, Luk JM. MicroRNA-375 targets Hippo-signaling effector YAP in liver cancer and inhibits tumor properties. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 394(3): 623–627.
- [97] Nishikawa E, Osada H, Okazaki Y, Arima C, Tomida S, Tatematsu Y, Taguchi A, Shimada Y, Yanagisawa K, Yatabe Y, Toyokuni S, Sekido Y, Takahashi T. miR-375 is activated by ASH1 and inhibits YAP1 in a lineage-dependent manner in lung cancer. *Cancer Res*, 2011, 71(19): 6165–6173.
- [98] Lin ZQ, von Gise A, Zhou PZ, Gu F, Ma Q, Jiang JM, Yau AL, Buck JN, Gouin KA, van Gorp PRR, Zhou B, Chen JH, Seidman JG, Wang DZ, Pu WT. Cardiac-specific YAP activation improves cardiac function and survival in an experimental murine MI model. *Circ Res*, 2014, 115(3): 354–363.
- [99] Chen LM, Chan SW, Zhang XQ, Walsh M, Lim CJ, Hong WJ, Song HW. Structural basis of YAP recognition by TEAD4 in the hippo pathway. *Genes Dev*, 2010, 24(3): 290–300.
- [100] Chen LM, Loh PG, Song HW. Structural and functional insights into the TEAD-YAP complex in the Hippo signaling pathway. *Protein Cell*, 2010, 1(12): 1073–1083.
- [101] Tian W, Yu JZ, Tomchick DR, Pan DJ, Luo XL. Structural and functional analysis of the YAP-binding domain of human TEAD2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(16): 7293–7298.
- [102] Li Z, Zhao B, Wang P, Chen F, Dong ZH, Yang HR, Guan KL, Xu YH. Structural insights into the YAP and TEAD complex. *Genes & Development*, 2010, 24(3): 235–240.
- [103] Kitagawa M. A Sveinsson's chorioretinal atrophy-associated missense mutation in mouse Tead1 affects its interaction with the co-factors YAP and TAZ. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 361(4): 1022–1026.
- [104] 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.
- [105] 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.
- [106] Zhang WJ, Gao YJ, Li PX, Shi ZB, Guo T, Li F, Han XK, Feng Y, Zheng C, Wang ZY, Li FM, Chen HQ, Zhou ZC, Zhang L, Ji HB. VGLL4 functions as a new tumor suppressor in lung cancer by negatively regulating the YAP-TEAD transcriptional complex. *Cell Res*, 2014, 24(3): 331–343.
- [107] 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.
- [108] Jiao S, Wang HZ, Shi ZB, Dong AM, Zhang WJ, Song XM, He F, Wang YC, Zhang ZZ, Wang WJ, Wang X, Guo T, Li PX, Zhao Y, Ji HB, Zhang L, Zhou ZC. A peptide mimicking VGLL4 function acts as a YAP antagonist therapy against gastric cancer. *Cancer Cell*, 2014, 25(2): 166–180.
- [109] Zhao B, Kim J, Ye X, Lai ZC, Guan KL. Both TEAD-binding and WW domains are required for the growth stimulation and oncogenic transformation activity of yes-associated protein. *Cancer Res*, 2009, 69(3): 1089–1098.
- [110] Hao YW, Chun A, Cheung K, Rashidi B, Yang XL. Tumor suppressor LATS1 is a negative regulator of oncogene YAP. *J Biol Chem*, 2008, 283(9): 5496–5509.
- [111] Nolo R, Morrison CM, Tao CY, Zhang XW, Halder G. The *bantam* microRNA is a target of the hippo tumor-suppressor pathway. *Curr Biol*, 2006, 16(19): 1895–1904.
- [112] Shen SY, Guo XC, Yan H, Lu Y, Ji XY, Li L, Liang TB, Zhou DW, Feng XH, Zhao JC, Yu JD, Gong XG, Zhang L, Zhao B. A miR-130a-YAP positive feedback loop promotes organ size and tumorigenesis. *Cell Res*, 2015, 25(9): 997–1012.
- [113] Chen Q, Zhang NL, Xie R, Wang W, Cai J, Choi KS, David KK, Huang B, Yabuta N, Nojima H, Anders RA, Pan DJ. Homeostatic control of Hippo signaling activity revealed by an endogenous activating mutation in YAP. *Genes Dev*, 2015, 29(12): 1285–1297.
- [114] Moroishi T, Park HW, Qin BD, Chen Q, Meng ZP, Plouffe SW, Taniguchi K, Yu FX, Karin M, Pan DJ, Guan KL. A YAP/TAZ-induced feedback mechanism regulates Hippo pathway homeostasis. *Genes Dev*, 2015, 29(12): 1271–1284.
- [115] Dai XM, Liu H, Shen SY, Guo XC, Yan H, Ji XY, Li L, Huang J, Feng XH, Zhao B. YAP activates the Hippo pathway in a negative feedback loop. *Cell Res*, 2015, 25(10): 1175–1178.
- [116] Strano S, Monti O, Pediconi N, Baccarini A, Fontemaggi G, Lapi E, Mantovani F, Damalas A, Citro G, Sacchi A, Del SG, Levrero M, Blandino G. The transcriptional coactivator Yes-associated protein drives p73 gene-target specificity in response to DNA Damage. *Mol Cell*, 2005, 18(4): 447–459.
- [117] Murakami M, Tominaga J, Makita R, Uchijima Y, Kurihara Y, Nakagawa O, Asano T, Kurihara H. Transcriptional activity of Pax3 is co-activated by TAZ. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 339(2): 533–539.
- [118] Park KS, Whitsett JA, Di Palma T, Hong JH, Yaffe MB, Zannini M. TAZ interacts with TTF-1 and regulates expression of surfactant protein-C. *J Biol Chem*, 2004, 279(17): 17384–17390.
- [119] Murakami M, Nakagawa M, Olson EN, Nakagawa O. A WW domain protein TAZ is a critical coactivator for TBX5, a transcription factor implicated in Holt-Oram syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(50): 18034–18039.
- [120] Cui CB, Cooper LF, Yang XL, Karsenty G, Aukhil I. Transcriptional coactivation of bone-specific transcription factor Cbfa1 by TAZ. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(3): 1004–1013.
- [121] Hong JH, Hwang ES, McManus MT, Amsterdam A, Tian Y, Kalmukova R, Mueller E, Benjamin T, Spiegelman BM, Sharp PA, Hopkins N, Yaffe MB. TAZ, a transcriptional modulator of mesenchymal stem cell differentiation. *Science*, 2005, 309(5737): 1074–1078.
- [122] Alarcón C, Zaromytidou AI, Xi Q, Gao S, Yu J, Fujisawa S, Barlas A, Miller AN, Manova-Todorova K, Macias MJ, Sapkota G, Pan D, Massagué J. Nuclear CDKs drive Smad transcriptional activation and turnover in BMP and TGF-beta pathways. *Cell*, 2009, 139(4): 757–769.
- [123] Yao MH, Wang YD, Zhang P, Chen H, Xu ZH, Jiao JW, Yuan ZQ. BMP2-SMAD signaling represses the proliferation of embryonic neural stem cells through YAP. *J Neurosci*, 2014, 34(36): 12039–12048.
- [124] Lapi E, Di Agostino S, Donzelli S, Gal H, Domany E, Rechavi G, Pandolfi PP, Givol D, Strano S, Lu X, Blandino G. PML, YAP, and p73 are components of a proapoptotic autoregulatory feedback loop. *Mol Cell*, 2008, 32(6): 803–814.
- [125] Chan SW, Lim CJ, Huang C, Chong YF, Gunaratne HJ,

- Hogue KA, Blackstock WP, Harvey KF, Hong W. WW domain-mediated interaction with Wbp2 is important for the oncogenic property of TAZ. *Oncogene*, 2011, 30(5): 600–610.
- [126] Zhang X, Milton CC, Poon CLC, Hong W, Harvey KF. Wbp2 cooperates with Yorkie to drive tissue growth downstream of the Salvador-Warts-Hippo pathway. *Cell Death Differ*, 2011, 18(8): 1346–1355.
- [127] Zhi X, Zhao D, Zhou ZM, Liu R, Chen CS. YAP promotes breast cell proliferation and survival partially through stabilizing the KLF5 transcription factor. *Am J Pathol*, 2012, 180(6): 2452–2461.
- [128] 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.
- [129] Stein C, Bardet AF, Roma G, Bergling S, Clay I, Ruchti A, Agarinis C, Schmelzle T, Bouwmeester T, Schubeler D, Bauer A. YAP1 Exerts Its Transcriptional Control via TEAD-Mediated Activation of Enhancers. *PLoS Genet*, 2015, 11(8): e1005465.
- [130] Galli GG, Carrara M, Yuan WC, Valdes-Quezada C, Gurung B, Pepe-Mooney B, Zhang TH, Geeven G, Gray NS, de Laat W, Calogero RA, Camargo FD. YAP drives growth by controlling transcriptional pause release from dynamic enhancers. *Mol Cell*, 2015, 60(2): 328–337.
- [131] Zanconato F, Forcato M, Battilana G, Azzolin L, Quaranta E, Bodega B, Rosato A, Bicciato S, Cordenonsi M, Piccolo S. Genome-wide association between YAP/TAZ/TEAD and AP-1 at enhancers drives oncogenic growth. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(9): 1218–1227.
- [132] Halder G, Johnson RL. Hippo signaling: growth control and beyond. *Development*, 2011, 138(1): 9–22.
- [133] Pan DJ. The hippo signaling pathway in development and cancer. *Dev Cell*, 2010, 19(4): 491–505.
- [134] Yu FX, Zhao B, Guan KL. Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer. *Cell*, 2015, 163(4): 811–828.
- [135] Zhang NL, Bai HB, David KK, Dong JX, Zheng YG, Cai J, Giovannini M, Liu PT, Anders RA, Pan DJ. The Merlin/NF2 tumor suppressor functions through the YAP oncoprotein to regulate tissue homeostasis in mammals. *Dev Cell*, 2010, 19(1): 27–38.
- [136] Cai J, Zhang NL, Zheng YG, de Wilde RF, Maitra A, Pan DJ. The Hippo signaling pathway restricts the oncogenic potential of an intestinal regeneration program. *Genes Dev*, 2010, 24(21): 2383–2388.
- [137] Chen Q, Zhang NL, Gray RS, Li HL, Ewald AJ, Zhanow CA, Pan DJ. A temporal requirement for Hippo signaling in mammary gland differentiation, growth, and tumorigenesis. *Genes Dev*, 2014, 28(5): 432–437.
- [138] Bai HB, Zhang NL, Xu Y, Chen Q, Khan M, Potter JJ, Nayar SK, Cornish T, Alpini G, Bronk S, Pan DJ, Anders RA. Yes-associated protein regulates the hepatic response after bile duct ligation. *Hepatology*, 2012, 56(3): 1097–1107.
- [139] Su T, Bondar T, Zhou X, Zhang C, He H, Medzhitov R. Two-signal requirement for growth-promoting function of Yap in hepatocytes. *Elife*, 2015, 4, doi: 10.7554/eLife.02948.
- [140] Yimlamai D, Christodoulou C, Galli GG, Yanger K, Pepe-Mooney B, Gurung B, Shrestha K, Cahan P, Stanger BZ, Camargo FD. Hippo pathway activity influences liver cell fate. *Cell*, 2014, 157(6): 1324–1338.
- [141] Zhou D, Zhang Y, Wu H, 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.
- [142] Zhang H, Pasolli HA, Fuchs E. Yes-associated protein (YAP) transcriptional coactivator functions in balancing growth and differentiation in skin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(6): 2270–2275.
- [143] Grijalva JL, Huizenga M, Mueller K, Rodriguez S, Brazzo J, Camargo F, Sadri-Vakili G, Vakili K. Dynamic alterations in Hippo signaling pathway and YAP activation during liver regeneration. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2014, 307(2): G196–G204.
- [144] Xin M, Kim Y, Sutherland LB, Murakami M, Qi XX, McAnally J, Porrello ER, Mahmoud AI, Tan W, Shelton JM, Richardson JA, Sadek HA, Bassel-Duby R, Olson EN. Hippo pathway effector Yap promotes cardiac regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(34): 13839–13844.
- [145] Heallen T, Morikawa Y, Leach J, Tao G, Willerson JT, Johnson RL, Martin JF. Hippo signaling impedes adult heart regeneration. *Development*, 2013, 140(23): 4683–4690.
- [146] Wu HT, Wei LY, Fan FQ, Ji SY, Zhang SH, Geng J, Hong LX, Fan X, Chen QH, Tian J, Jiang MT, Sun XF, Jin CN, Yin ZY, Liu QX, Zhang JJ, Qin FN, Lin KH, Yu JS, Deng XM, Wang HR, Zhao B, Johnson RL, Chen LF, Zhou DW. Integration of Hippo signalling and the unfolded protein response to restrain liver overgrowth and tumorigenesis. *Nat Commun*, 2015, 6: 6239.
- [147] Zanconato F, Piccolo S. Eradicating tumor drug re-

- sistance at its YAP-biomechanical roots. *EMBO J*, 2016, 35(5): 459–461.
- [148] Chan SW, Lim CJ, Guo K, Ng CP, Lee I, Hunziker W, Zeng Q, Hong WJ. A role for TAZ in migration, invasion, and tumorigenesis of breast cancer cells. *Cancer Res*, 2008, 68(8): 2592–2598.
- [149] Steinhart AA, Gayyed MF, Klein AP, Dong JX, Maitra A, Pan DJ, Montgomery EA, Anders RA. Expression of Yes-associated protein in common solid tumors. *Hum Pathol*, 2008, 39(11): 1582–1589.
- [150] Moroishi T, Hansen CG, Guan KL. The emerging roles of YAP and TAZ in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(2): 73–79.
- [151] Xiao GH, Chernoff J, Testa JR. *NF2*: the wizardry of merlin. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 2003, 38(4): 389–399.
- [152] Sekido Y. Inactivation of Merlin in malignant mesothelioma cells and the Hippo signaling cascade dysregulation. *Pathol Int*, 2011, 61(6): 331–344.
- [153] Van Raamsdonk CD, Griewank KG, Crosby MB, Garrido MC, Vemula S, Wiesner T, Obenaus AC, Wackernagel W, Green G, Bouvier N, Sozen MM, Baimukanova G, Roy R, Heguy A, Dolgalev I, Khanin R, Busam K, Speicher MR, O'Brien J, Bastian BC. Mutations in *GNAI1* in uveal melanoma. *N Engl J Med*, 2010, 363(23): 2191–2199.
- [154] Van Raamsdonk CD, Bezrookove V, Green G, Bauer J, Gaugler L, O'Brien JM, Simpson EM, Barsh GS, Bastian BC. Frequent somatic mutations of *GNAQ* in uveal melanoma and blue naevi. *Nature*, 2009, 457(7229): 599–602.
- [155] Zhuo W, Kang Y. Lnc-ing ROR1-HER3 and Hippo signalling in metastasis. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(2): 81–83.
- [156] Li CL, Wang SY, Xing Z, Lin AF, Liang K, Song J, Hu QS, Yao J, Chen ZY, Park PK, Hawke DH, Zhou JW, Zhou Y, Zhang SX, Liang H, Hung MC, Gallick GE, Han L, Lin CR, Yang LQ. A ROR1-HER3-lncRNA signalling axis modulates the Hippo-YAP pathway to regulate bone metastasis. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(2): 106–119.
- [157] 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.e17–1539.e17.
- [158] 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.
- [159] 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.
- [160] 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.
- [161] 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.
- [162] 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.
- [163] Azzolin L, Panciera T, Soligo S, Enzo E, Bicciato S, Dupont S, Bresolin S, Frasson C, Basso G, Guzzardo V, Fassina A, Cordenonsi M, Piccolo S. YAP/TAZ incorporation in the  $\beta$ -catenin destruction complex orchestrates the Wnt response. *Cell*, 2014, 158(1): 157–170.
- [164] Barry ER, Morikawa T, Butler BL, Shrestha K, de la Rosa R, Yan KS, Fuchs CS, Magness ST, Smits R, Ogino S, Kuo CJ, Camargo FD. Restriction of intestinal stem cell expansion and the regenerative response by YAP. *Nature*, 2013, 493(7430): 106–110.
- [165] Imajo M, Miyatake K, Iimura A, Miyamoto A, Nishida E. A molecular mechanism that links Hippo signalling to the inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin signalling. *EMBO J*, 2012, 31(5): 1109–1122.
- [166] Cottini F, Hideshima T, Xu CX, Sattler M, Dori M, Agnelli L, Ten Hacken E, Bertilaccio MT, Antonini E, Neri A, Ponzoni M, Marcatti M, Richardson PG, Carasco R, Kimmelman AC, Wong KK, Caligaris-Cappio F, Blandino G, Kuehl WM, Anderson KC, Tonon G. Rescue of Hippo coactivator YAP1 triggers DNA damage-induced apoptosis in hematological cancers. *Nat Med*, 2014, 20(6): 599–606.

(责任编辑: 张雷)