

文章编号 1006-8147(2015)06-0545-04

综述

## YAP 生物学功能的研究进展

耿婉如<sup>1</sup>, 杨桂荣<sup>2</sup>综述, 孙洪涛<sup>3</sup>审校

(内蒙古民族大学附属医院 1.呼吸科; 2.检验科; 3.心血管科, 通辽 028000)

关键词 YAP; Hippo 通路; 胚胎发育; 组织再生; 癌症

中图分类号 R730.2

文献标志码 A

YAP(Yes-associated protein, YAP)是 Hippo 信号通路下游的主要效应分子。1995 年, Sudol 等鉴定并克隆了一个与非受体酪氨酸激酶 YES 的 Src homolog domain3(SH3)区结合的新蛋白。该蛋白分子量为 65 kD, 富含脯氨酸, 因该蛋白通过与原癌基因 Yes 结合, 因而被命名为 Yes-associated protein (YAP65)。人类 YAP 基因位于染色体 11q22 区, YAP 存在 2 种变位剪切形式, 即 YAP1 和 YAP2, YAP1 具有一个 WW 结构域, 而 YAP2 具有 2 个 WW 结构域。YAP 蛋白广泛表达于除外周血白细胞外的各种组织中。YAP 存在多个结构域或特异氨基酸序列, 包括 N 端富含脯氨酸的结构域, 转录因子 TEADs 结合区, 2 个 WW 结构域, 1 个 SH3 结合基序, C 端的转录激活域以及 PDZ 结合基序。通过这些结构域或氨基酸序列, YAP 与多种蛋白相互作用, 参与细胞内多条信号通路的调控, 行使多种生物学功能。YAP 主要定位于细胞核中, 由于缺乏明显的 DNA 结合结构域, YAP 被认为是转录共激活因子, 需与转录因子结合, 起始下游基因的转录。

### 1 YAP 活性的调控

1.1 Hippo 信号通路调控 YAP 活性 Hippo 信号通路是目前报道的调节 YAP 活性的主要方式。Hippo 通路上游成员 Mst1/2 磷酸化该通路中其他 3 个核心成员 WW45、Mob、Lats1/2, 活化的 Lats1/2 磷酸化下游效应分子 YAP 及其旁系同源物 Taz, 磷酸化的 YAP 和 Taz 与 14-3-3 结合, 从细胞核转位至细胞质中, 失去其转录共激活因子的活性<sup>[1]</sup>。此外, YAP 第 381 位丝氨酸被 Lats1/2 磷酸化后促使其他位点的丝氨酸被 CK1δ/ε 磷酸化, 最终使 YAP 通过泛素-蛋白酶体途径被降解<sup>[2]</sup>。

1.2 GPCR 信号通路调控 YAP 活性 除了经典的 Hippo 信号通路外, YAP 的活性还受 G 蛋白偶

联受体(G protein coupled receptor, GPCR) 信号通路的调控。血清中的可溶性激素, 如溶血磷脂酶(lysophosphatidic acid, LPA) 和鞘氨醇一磷酸(sphingosine-1<sup>+</sup> phosphate, S1P) 可通过 G12/13 偶联受体抑制 Hippo 通路激酶 Lats1/2, 进而激活 YAP; 另一方面, 胰高血糖素或肾上腺素刺激 Gs 偶联受体则激活 Lats1/2, 进而抑制 YAP 的活性。因此, GPCR 信号通路对 YAP 活性的促进或抑制取决于该受体偶联的 G 蛋白。

1.3 机械张力调节 YAP 活性 细胞外基质(extracellular matrix, ECM) 和细胞形态等的机械张力也参与调控 YAP 的活性。机械张力对于 YAP 的调控, 依赖于 Rho GTPase 的活性, 而非依赖于 Hippo 信号通路中 Lats1/2 激酶<sup>[3]</sup>。也有报道认为当细胞处于较低机械张力的状态(如接触抑制), F-actin 加帽或切割蛋白 Cofilin, CapZ, Gelsolin 是限制 YAP 活性的重要因素<sup>[4]</sup>。

1.4 蛋白相互作用调节 YAP 活性 YAP 的活性还能通过蛋白之间的相互作用进行调节。Angiomotin (AMOT) 家族成员能与 YAP 结合, 使 YAP 滞留于紧密连接(tight junction)处, 进而抑制 YAP 的核定位; YAP 与紧密连接蛋白 ZO-2 结合, 促进 YAP 的核定位<sup>[5]</sup>。细胞粘附连接蛋白 α-catenin 能与 YAP 结合, 通过将 YAP 滞留于细胞质中从而实现对 YAP 活性的抑制<sup>[6]</sup>; 另一细胞粘附连接蛋白 PTPN14 通过与 YAP 的 WW 结构域结合负向调控 YAP 的活性<sup>[7]</sup>。此外, homeodomain-interacting protein kinase 2, 14-3-3 蛋白, casein kinase 1, WBP2 和 β-TRCP 等蛋白都能通过直接与 YAP 相互作用影响 YAP 的活性<sup>[8]</sup>。另外, 近期有研究发现了间接调控 YAP 转录活性的分子—VGLL4。VGLL4 虽然不能直接和 YAP 结合, 但能与 YAP 竞争性结合 TEADs (TEADs 是与 YAP 结合的主要转录因子), 进而抑制 YAP 作为转录共激活因子的活性<sup>[9]</sup>。

作者简介 耿婉如(1982-), 女, 主治医师, 硕士, 研究方向: 肺部肿瘤  
的分子机制及肺动脉高压治疗; 通信作者: 孙洪涛, E-mail:  
13947551964@163.com。

## 2 与 YAP 相互作用的转录因子及下游靶分子

YAP 作为转录共激活因子,需要通过与转录因子结合,调控下游靶基因的转录。Teads 家族(Tead1-4)是与 YAP 相互作用的主要转录因子,含有保守的 DNA 结合结构域 TEA,能通过其 C 端与 YAP 的 N 端相互作用,并介导 YAP 促进增殖、转化、上皮向间质细胞转变和转移等功能<sup>[10]</sup>。YAP 还能与 Smad,Runx1/2,p73,ErbB4 等转录因子结合,调控下游一系列基因的表达。此外,YAP 还能招募一些 DNA 或组蛋白修饰酶,调控基因的表达,如 YAP 能和 SWI/SNF 染色质重构复合物组分 Brg1 相互作用<sup>[11]</sup>。YAP 与这些转录因子或转录复合物结合,参与调控多种生理和病理过程,其具体作用机制目前还待进一步阐明。

结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)是目前报道的 YAP 直接下游靶基因,介导了 YAP 诱导的增殖及锚定非依赖性生长的功能。此外,CYR61,AXL,ITGB2,FGF1,BIRC5,CDK6 等都是报道的受 YAP 调控的下游靶基因。

## 3 YAP 的生理功能

**3.1 YAP 在胚胎发育过程中的功能** YAP 在胚胎发育过程中扮演重要的角色。YAP 全身性敲除的小鼠在胚胎发育第 8.5 天致死,伴有卵黄囊血管发生、绒毛膜尿囊融合及体轴伸长的缺陷<sup>[12]</sup>。在胚胎发育的第一次细胞命运决定过程中,卵裂球的外围一圈细胞中 YAP 主要定位于细胞核中,YAP 活化后与转录因子 TEADs 结合起始下游与滋养外胚层分化相关基因的表达。随着小鼠胚胎干细胞的分化,YAP 被失活<sup>[13]</sup>。在小鼠胚胎干细胞中过表达 YAP 将阻止胚胎干细胞的分化,而敲除 YAP 则导致细胞全能性的丧失<sup>[13]</sup>。在人胚胎成纤维细胞重编程成诱导多能干细胞的过程中,YAP 被激活。在 Sox2, Oct4 和 KLF4 三因子的基础上加入 YAP 则能增加重编程的效率<sup>[13]</sup>。

**3.2 YAP 在成体干细胞中的功能** YAP 和 TEADs 在含有干细胞或祖细胞的组织中表达较高。在小肠、发育的大脑中,YAP 主要在祖细胞中高表达,而在另一些组织中,如皮肤和骨骼肌,YAP 的表达水平随分化程度的增高逐渐降低<sup>[14]</sup>。YAP 在哺乳动物成体干细胞稳态维持中扮演重要的角色。最近的一些研究揭示了 YAP 在表皮发育中的重要功能:利用表皮中诱导 YAP 表达的小鼠模型,研究证实激活 YAP 将导致表皮层的显著增厚。这类增生是由未分化的滤泡间干细胞及祖细胞扩增引起的,并且扩增的细胞表现出较强的自我更新能力和成瘤能力<sup>[6]</sup>。

相反,在表皮发育阶段,在皮肤中特异性敲除 YAP 或者破坏 YAP 和 TEADs 的相互作用则导致表皮发育不全及皮肤扩展的无法发生<sup>[6]</sup>。YAP 在肝脏祖细胞中高度激活;在分化肝实质细胞中激活 YAP 将导致该细胞的去分化,肝脏体积的增加以及“Oval”细胞的产生<sup>[15]</sup>。广泛过表达激活型 YAP(YAP-S127A)则导致小肠细胞缺失分化的 marker 以及未分化细胞的扩增<sup>[6]</sup>。在成肌细胞和小鼠原代肌肉干细胞中过表达 YAP 则引起 myogenic program,使细胞保留祖细胞的特征和增殖能力,进而阻滞 myoblast program<sup>[16]</sup>。过表达 YAP 或激活 YAP 使骨骼肌干细胞所在区域卫星细胞的扩增,并抑制这群细胞的分化。在肺上皮管形成和分支过程中,YAP 的细胞核/质定位在气管和远端肺泡组织间存在明显的界限;在交界区,YAP 调控特异性的 transcriptional program,促使气管上皮的形成;YAP 的缺失使上皮祖细胞无法响应 TGF- $\beta$  信号的诱导,进而阻滞气管的形成<sup>[17]</sup>。

**3.3 YAP 在组织再生中的功能** YAP 在成体干细胞中的作用提示 YAP 在组织再生过程中也发挥重要的作用。过表达持续激活型 YAP 能促进成体心肌细胞的增殖,并在损伤条件下促进成体心脏的再生。在小鼠中,YAP 是新生心脏再生所必须的,在成年小鼠心脏中过表达激活型 YAP(YAP S127A)促进心肌梗死后的心脏再生<sup>[18]</sup>。在皮肤受损的第 2~7 天,YAP 主要表达在真皮层细胞核中,通过 RNAi 的方法减少 YAP 的表达显著延缓皮肤愈合速度,并减少转化生长因子  $\beta 1$  (transforming growth factor- $\beta 1$ , TGF- $\beta 1$ )的表达<sup>[19]</sup>。

## 4 YAP 在癌症中的功能

**4.1 YAP 在人类肿瘤中的表达** YAP 与人类肿瘤的发生发展紧密相关。在室管膜细胞瘤、成神经管细胞瘤和口腔鳞癌等人类肿瘤中,存在着 YAP 基因所在染色体区域的扩增。肝癌、结肠癌、卵巢癌、肺癌、前列腺癌等肿瘤中,YAP 的表达水平和核定位较正常组织或癌旁组织明显升高<sup>[20]</sup>。并且,YAP 的表达水平与肿瘤的恶性程度、分级、预后等存在相关性。

**4.2 YAP 在肿瘤生物学中的功能** 功能学的研究显示 YAP 在肿瘤的发生发展过程中发挥重要作用。人乳腺上皮细胞 MCF10A 中过表达 YAP 能诱导细胞锚定非依赖性生长、生长因子非依赖性增殖<sup>[10]</sup>;在人胚肺成纤维细胞系 IMR90 中通过 shRNA 降低 YAP 的表达水平将诱导细胞衰老<sup>[21]</sup>;在肺癌细胞系中过表达 YAP 促进该细胞的增殖能力和侵袭能力<sup>[22]</sup>。近期研究表明,YAP 的高度激活还导致了肿瘤细胞

对化疗药物的耐受:YAP对于卵巢癌起始细胞的化疗药物抵抗性是必不可少的<sup>[23]</sup>。YAP还与肿瘤干细胞相关:YAP在成神经管细胞瘤的肿瘤干细胞和肺癌 tumor propagating cells (TPCs)中高表达;YAP参与对卵巢癌起始细胞自我更新的调控<sup>[23]</sup>。YAP在多数肿瘤中扮演癌基因的角色。YAP影响细胞的增殖和存活,赋予细胞肿瘤干细胞特性、耐药及衰老的抑制等肿瘤细胞的特征的具体机制存在组织和细胞的特异性,其机制还有待深入研究。

另一方面,也有研究表明YAP在一些肿瘤类型中行使抑癌基因的功能:在乳腺癌细胞系中Knockdown YAP抑制细胞的失巢凋亡,促进细胞的迁移和侵袭能力<sup>[24]</sup>;在DNA损伤的情况下,YAP能与p73相互作用并促进由p73介导的细胞凋亡。

近年来,YAP在肿瘤细胞可塑性及细胞命运决定方面的作用也逐步被人们发现,YAP通过促进肿瘤细胞的上皮细胞向间质细胞转变来赋予肿瘤细胞干细胞特征<sup>[25]</sup>。

## 5 以YAP作为药物靶点

基于YAP在组织再生和癌症中的重要作用,开发针对YAP的药物具有重要意义。在Hippo信号通路的核心成员中,有两对激酶MST1/2和LATS1/2,它们能抑制YAP的活性。针对这两类激酶的小分子抑制剂可能上调YAP的活性,进而促进YAP的功能<sup>[26]</sup>。这类小分子可能在诸如体外干细胞或祖细胞扩增和体内组织修复等再生医学领域得到运用。另一方面,鉴于YAP在大多数肿瘤中高度激活,抑制YAP的活性可能是抑制肿瘤的一种手段。Verteporfin (VP),目前被用于治疗黄斑病变的一种光敏剂,能抑制由于YAP过表达引起的肝脏的过度增殖<sup>[27]</sup>。近期的研究发现一种合成多肽(Super-TDU)也能通过抑制YAP的活性进而抑制胃癌细胞的体外增殖和胃癌小鼠的肿瘤发展进程。VP和Super-TDU都是通过竞争性的结合于YAP相互作用的主要转录因子TEADs,进而抑制YAP-TEADs复合物的转录活性,从而实现对YAP功能的抑制<sup>[27]</sup>。

## 6 总结及展望

在过去的20年间,科研人员对YAP的调控及生物学功能展开了深入地研究。利用生物化学和分子生物学等手段,YAP活性的调控已被逐步阐明:作为Hippo信号通路下游的效应分子,YAP主要受Hippo信号通路激酶级联反应的负向调控;近年来的研究揭示GPCR信号通路、机械张力等胞外、胞内信号也参与YAP活性的调控;通过直接或间接的蛋白相互作用也能调节YAP的活性;此外,YAP和

其他信号通路的crosstalk,使得YAP的活性的调控更为复杂和多元。利用细胞生物学、动物模型以及人类临床样本,YAP在胚胎发育、组织稳态维持、干细胞生物学、肿瘤生物学中的功能已被逐步发现。

虽然YAP的功能和调控已经逐渐被认识,但仍存在许多待解决的问题:(1)YAP的活性受到多个分子和多条信号通路的影响,细胞如何整合这些来自胞外和胞内的信号,产生合适的响应。(2)YAP在成体干细胞中功能仅在一些组织和细胞类型中被阐释,研究YAP在更为广泛的组织和细胞类型中的作用将为理解YAP在干细胞中的重要性提供实验依据。(3)YAP在组织再生中的作用已经开始被关注,但仅局限于心脏、结肠、肝脏等器官,研究YAP在其他器官再生中的功能将是今后研究的热点之一。(4)在大多数肿瘤中YAP被认为是癌基因,但越来越多的研究发现,YAP在特定肿瘤类型或者特殊生理病理条件下扮演抑癌基因的角色,阐明YAP在肿瘤中的具体作用机制将加深人们对YAP在肿瘤中的功能的理解。(5)近年来,YAP的结构已被解析,鉴于YAP在组织再生和癌症中的重要功能,开发激活或抑制YAP活性的药物将为再生医学和肿瘤治疗提供策略。

## 参考文献:

- [1] Zhao B, Wei X M, Li W Q, et al. Inactivation of YAP oncoprotein by the Hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control[J]. *Genes Dev*, 2007, 21(21):2747
- [2] Zhao B L, Guan K L. A coordinated phosphorylation by Lats and CK1 regulates YAP stability through SCF(beta-TRCP)[J]. *Genes Dev*, 2010, 24(1):72
- [3] Dupont S, Morsut L, Aragona M, et al. Role of YAP/TAZ in mechanotransduction[J]. *Nature*, 2011, 474(7350):179
- [4] Aragona M, Panciera T, Manfrin A A, et al. A mechanical checkpoint controls multicellular growth through YAP/TAZ regulation by Actin-Processing factors[J]. *Cell*, 2013, 154(5):1047
- [5] Oka T, Remue E, Meerschaert K, et al. Functional complexes between YAP2 and ZO-2 are PDZ domain-dependent, and regulate YAP2 nuclear localization and signalling[J]. *Biochem J*, 2010, 432(3):461
- [6] Schlegelmilch K, Mohseni M, Kirak O, et al. Yap1 Acts downstream of alpha-Catenin to control epidermal proliferation[J]. *Cell*, 2011, 144(5):782
- [7] Michaloglou C, Lehmann W, Martin T A, et al. The tyrosine phosphatase PTPN14 is a negative regulator of YAP activity [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4):e61916
- [8] Poon C L, Harvey K F. Homeodomain-interacting protein kinase regulates Hippo pathway-dependent tissue growth[J]. *Curr Biol*, 2012, 22(17):1587
- [9] Jiao S, Wang H Z, Shi Z B, et al. A peptide mimicking VGLL4 function Acts as a YAP antagonist therapy against gastric cancer[J].

- Cancer Cell, 2014, 25(2):166
- [10] Zhao B, Ye X, Yu J D, et al. TEAD mediates YAP-dependent gene induction and growth control[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(14):1962
- [11] Zhu Y, Li D, Wang Y, et al. Brahma regulates the Hippo pathway activity through forming complex with Yki-Sd and regulating the transcription of Crumbs[J]. *Cell Signal*, 2015, 27(3):606
- [12] Morin-Kensicki E M, Boone B N, Howell M, et al. Defects in yolk sac vasculogenesis, chorioallantoic fusion, and embryonic axis elongation in mice with targeted disruption of Yap65[J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(1):77
- [13] Lian I, Kim J, Okazawa H, et al. The role of YAP transcription coactivator in regulating stem cell self-renewal and differentiation [J]. *Genes Dev*, 2010, 24(11):1106
- [14] Li Y A, Yun K. Genome-wide analysis of N1ICD/RBPJ targets in vivo reveals direct transcriptional regulation of Wnt, SHH, and hippo pathway effectors by Notch1[J]. *Stem Cells*, 2012, 30(4):741
- [15] Dong J X, Feldmann G, Huang J B, et al. Elucidation of a Universal size-control mechanism in *Drosophila* and mammals[J]. *Cell*, 2007, 130(6):1120
- [16] Watt K I, Judson R, Medlow P, et al. Yap is a novel regulator of C2C12 myogenesis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 393(4):619
- [17] Mahoney J E, Cardoso W V. The hippo pathway effector Yap controls patterning and differentiation of airway epithelial progenitors[J]. *Dev Cell*, 2014, 30(2):137
- [18] Lin Z, von Gise A, Zhou P, et al. Cardiac-specific YAP activation improves cardiac function and survival in an experimental murine MI model[J]. *Circ Res*, 2014, 115(3):354
- [19] Lee M J, Jung H S. YAP and TAZ regulate skin wound healing[J]. *J Invest Dermatol*, 2014, 134(2):518
- [20] Steinhardt A A, Gayyed M F, Klein A P, et al. Expression of yes-associated protein in common solid tumors[J]. *Hum Pathol*, 2008, 39(11):1582
- [21] Xie Q, Chen J, Feng H, et al. YAP/TEAD-mediated transcription controls Cellular senescence[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(12):3615
- [22] Wang Y D, Qiu X. Overexpression of yes-associated protein contributes to progression and poor prognosis of non-small-cell lung cancer[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(5):1279
- [23] Xia Y L, Fan H Y. YAP/TEAD Co-Activator regulated pluripotency and chemoresistance in ovarian cancer initiated cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11):e109575
- [24] Yuan M, Tomlinson V, Lara R, et al. Yes-associated protein (YAP) functions as a tumor suppressor in breast[J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15(11):1752
- [25] Wang Q, Xu Z L, An Q, et al. TAZ promotes epithelial to mesenchymal transition via the upregulation of connective tissue growth factor expression in neuroblastoma cells[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(2):982
- [26] Anand R, Maksimoska J, Pagano N, et al. Toward the development of a potent and selective organoruthenium mammalian sterile 20 kinase inhibitor[J]. *J Med Chem*, 2009, 52(6):1602
- [27] Liu -Chittenden Y, Huang B, Shim J S, et al. Genetic and pharmacological disruption of the TEAD-YAP complex suppresses the oncogenic activity of YAP[J]. *Genes Dev*, 2012, 26(12):1300

(2015-06-09 收稿)

.....

(上接第 539 页)

配合髁间窝扩大成形术可以取得安全有效的临床疗效。但本研究随访时间有限且样本量较小,其远期效果需要进一步论证。

#### 参考文献:

- [1] Kumar A, Bickerstaff D R, Grimwood J S, et al. Muroid cystic degeneration of the cruciate ligament[J]. *J Bone Joint Surg Br*, 1999, 81(2):304
- [2] Kim T H, Lee Dae H E, Lee S H, et al. Arthroscopic treatment of muroid hypertrophy of the anterior cruciate ligament[J]. *Arthroscopy*, 2008, 24(6): 642
- [3] Pandey V, Suman C, Sharma S, et al. Muroid degeneration of the anterior cruciate ligament: Management and outcome [J]. *Indian J Orthop*, 2014, 48(2): 197
- [4] Cha J R, Lee C C, Cho S D, et al. Symptomatic muroid degeneration of the anterior cruciate ligament [J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2013, 21(3): 658
- [5] Kwee R M, Ahlawat S, Kompel A J, et al. Association of muroid degeneration of anterior cruciate ligament with knee meniscal and cartilage damage[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23(9): 1543
- [6] Lintz F, Pujol N, Dejour D, et al. Anterior cruciate ligament muroid degeneration Selecting the best treatment option[J]. *Orthop Traumatol Surg Res*, 2010(96): 400
- [7] Niki Y, Matsumoto H, Enomoto H, et al. Muroid degeneration of the anterior cruciate ligament associated with subclinical instability in young patients[J]. *J Orthop Sci*, 2010, 15(2): 251
- [8] Kusano M, Horibe S, Tanaka Y, et al. Early reconstruction should be considered in younger patients with symptomatic muroid degeneration of the anterior cruciate ligament [J]. *Asia-Pacific J Sports, Med, Arthroscopy, Rehabilitation Technol*, 2015, 95
- [9] Nishimori M, Sumen Y, Sakaridani K. Muroid degeneration of the anterior cruciate ligament—a report of two cases [J]. *Magn Reson Imaging*, 2004, 22(9): 1325

(2015-05-26 收稿)