

Hippo 信号通路在肝癌血管生成中的作用*

张国辉 综述 随蓓蓓[△] 审校
(济宁医学院生物科学学院,日照 276826)

摘要 Hippo 信号通路是哺乳动物调节器官大小、细胞生长分化的重要通路之一,在癌症的发生和转移中扮演重要角色,其核心成员 MST、LATS、YAP/TAZ 参与调控多种器官以及肿瘤的血管生成。本文对 Hippo 通路在肝癌血管生成过程中的作用做一综述,为探索肝脏肿瘤血管的生成机制以及寻找更加有效的肝癌治疗靶点提供参考。

关键词 Hippo 通路;调控作用;血管生成

中图分类号:R735.7 文献标识码:B 文章编号:1000-9760(2020)04-118-05

Hippo signaling pathway in the angiogenesis of liver cancer

ZHANG Guohui, SUI Beibei[△]

(School of Biological Science, Jining Medical University, Rizhao 276826, China)

Abstract: Hippo signaling pathway is one of the important pathways regulating organ size and cell growth as well as differentiation in mammals, and plays an important role in the occurrence and metastasis of cancer. Its core members, MST, LATS, YAP/TAZ, are involved in the regulation of various organs and tumor angiogenesis. This paper reviews the role of Hippo pathway in the angiogenesis of liver cancer, which provides references for exploring the angiogenesis mechanism of hepatic tumor and finding more effective therapeutic targets for liver cancer.

Keywords: Hippo signaling; Regulating effect; Angiogenesis

在我国,每年约有 14 万肝癌新发患者,占全世界新发肝癌人数 50% 以上,其死亡率极高,已成为严重危害人类健康的重要疾病^[1]。Hippo 信号通路作为近年来肿瘤抑制研究的热点,在调节器官大小,组织生长与再生中扮演重要角色。此外 Hippo 通路可以通过影响内皮细胞的活化,进而调控血管萌发、血管屏障形成和血管重构等生理活动^[2]。因此,Hippo 信号通路中的各调控因子在肿瘤血管生成中的调控作用成为研究治疗肿瘤的重要突破口。

1 Hippo 通路

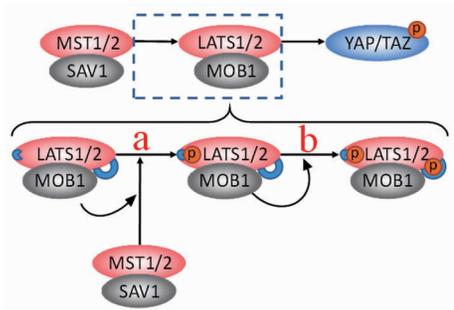
Hippo 信号通路由多种保守激酶串联组成,可

通过影响细胞生长和凋亡来控制器官大小和组织生长。人 Hippo 通路组成大体分为三种:核心分子(MST、LATS、SAV、MOB)、上游调节因子[KIBRA、Merlin(NF2)、Expanded(Ex)等]和主要效应分子(YAP/TAZ)。Hippo 信号通路调节过程主要包括接头蛋白(SAV1、MOB1A、MOB1B)和激酶(MST1/2、LATS1/2)的磷酸化,以及下游转录因子 YAP/TAZ 的磷酸化和降解。首先,MST1/2 与 SAV1 形成复合物,使 LATS1/2 的疏水基序(HM)磷酸化(其中 LATS1HM 为 T1079,LATS2HM 为 T1041),磷酸化的 HM 触发 LATS1/2 活化环(AL)的自磷酸化(LATS1 AL 为 S909;LATS2 AL 为 S872)(图 1)。其次,当 HM 和 AL 均被磷酸化后,LATS1/2 被完全激活,完全激活后的 LATS1/2 进一步与 YAP/TAZ 作用^[3],使后者滞留于胞质中无法行使转录

* [基金项目] 国家级大学生创新项目(201610443086)

[△] [通信作者] 随蓓蓓, E-mail: babe3093@163.com

作用,以阻止细胞增殖^[4]。反之,未磷酸化的 YAP/TAZ 入核,促进各类生长基因表达,促进细胞增殖。当 Hippo 信号通路在行使正常生理功能时,其通路各成员处于相对平衡状态,严格调控组织细胞的增殖与凋亡,进而控制器官的形状和大小。



注:a. LATS 上的 HM(T1079/T1041) 被 MST-MOB 复合体磷酸化,该过程 MOB 起促进作用;b. HM 磷酸化后, LATS 上的 AL(S909/S872) 自磷酸化,该过程 MOB 起促进作用

图 1 Hippo 通路激活机制

2 Hippo 信号通路与肝癌血管生成

血管生成是指从已有的血管中发展而形成新血管的过程,其中包括旧基底膜破裂与降解,内皮细胞的活化、增值、分化、迁移,新血管网形成等过程。血管系统的生成机制复杂,受多种通路和因子的调控。

动物组织和器官的生长离不开血管网络的生成,提示 Hippo 信号通路与血管生成相关通路存在一定的交互和串扰,并且 Hippo 通路的异常调节已被证实参与包括肝脏在内的多个器官肿瘤血管的发生过程^[5]。在某些情况下,Hippo 信号通路中的核心成员 YAP/TAZ,亦能绕过激酶模块进行非 Hippo 通路的调节作用^[6],这更增加了其生物学复杂性。

2.1 Hippo 信号通路上游与肝癌血管生成

Hippo 信号通路上游受多种因素调控,其主要调控分子 MST1/2、LATS1/2 和效应分子 YAP/TAZ 与多种血管生成信号途径产生交集。其中 YAP/TAZ 为血管生成等生理功能的“交叉口”分子^[7],参与调控细胞内各种生理活动。

2.1.1 Merlin (NF2) Merlin (NF2) 是 Hippo 通路中重要的调节分子,与 Expanded (Ex)、KIBRA 组成复合体,共同激活 MST1/2 激酶以抑制 YAP/

TAZ 的活性,并以此抑制肿瘤生长。Merlin (NF2) 不仅参与对 Hippo 通路的调控,还可以与某些抗血管生成因子产生作用,例如:SEMA3F^[8],后者在维持正常的生理性血管中发挥重要作用,并在肝细胞癌 (HCC) 的发生过程中具有重要意义,提示 Merlin (NF2) 在肝脏肿瘤血管生成中具有潜在调节作用。此外,Merlin (NF2) 还可以与 β_2 -血影蛋白作用,共同参与对肝癌干细胞分化的调节^[9]。Merlin (NF2) 作为维持细胞骨架稳定性的重要蛋白质,其调控的生物学效应与其功能息息相关。主要原因可能是受细胞密度影响的环境适应,即高密度细胞的接触抑制。在肿瘤发生过程中,接触抑制丧失是其发生的关键因素,并可能会引起细胞骨架稳定性的变化,进而促进各种转录因子的核转移。可见 Merlin (NF2) 作为重要的肿瘤抑制因子,具有成为药物新靶点的潜力。

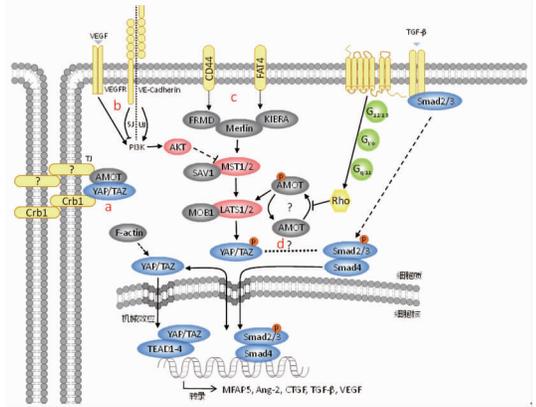
2.1.2 血管内皮生长因子 (VEGF)/内皮生长因子受体 (VEGFR) VEGF/VEGFR 是典型的血管生成信号通路,二者在调节血管上皮细胞的活化中具有重要意义^[10]。Azad 等^[11]开发了一种 LATS 生物传感器屏幕,通过对 LATS 激酶活性的检测发现 VEGF/VEGFR 通路可以通过 PI3K-AKT 间接抑制 MST1/2 与 LATS1/2 的活性;这表明 VEGF/VEGFR 通路的部分功能可能需要 Hippo 通路中关键成员的介导,特别是一些涉及细胞增殖和细胞极性的效应,如:血管生成和血管上皮细胞迁移等。此外,VEGFR 在肝癌组织细胞中表达上调,并成为预后的关键指标,提示在肝癌发生过程中,VEGF/VEGFR 通过 Hippo 通路间接影响肿瘤微环境 (TME) 的稳定性,并在肿瘤形成初期的肿瘤大小过渡阶段,调节新生血管环境——血管微环境的产生以维持肿瘤内部所需要的必需营养物质。因此,切断 TME 的形成途径,是防止肝癌以及其他恶性肿瘤新生和转移的关键思路。目前,酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 可以抑制包括 VEGFR 在内的多种酪氨酸激酶受体,通过影响血管微环境的产生阻止肿瘤的生长,在肝癌临床治疗中广泛应用。但由于 VEGFR 处于通路上游,容易受其他通路的代偿性补充等影响而丧失疗效,所以靶点下移是解决代偿性耐药的方法之一。Hippo 通路中两大激酶和两大效应因子作为其下游的重要调控分子,为靶向

治疗提供了思路。

2.1.3 血管蛋白家族 血管蛋白家族主要包括血管蛋白 (AMOT)、类血管蛋白 1 (AMOTL1) 和血管平滑肌样蛋白 2 (AMOTL2), 该家族在调节血管生成和上皮间质转化 (EMT) 中具有重要功能。AMOTs 与 Hippo 通路密切相关, 可直接调控 YAP/TAZ 的定位与活性^[12], 并且可以作为脚手架蛋白将 MST-SAV、LATS-MOB、YAP/TAZ 三种复合体组合, 使级联反应快速、稳定进行^[13]。AMOTs 大多在血管内皮、上皮细胞中表达, 通过调节这些细胞的活性来影响血管生成, 提示在肿瘤血管细胞内, AMOTs 表达下调可使 YAP/TAZ 核转移并伴随 Hippo 通路失活, 引发血管细胞的增殖。Liu 等^[14]研究发现, 在肝癌引起的高糖性状态下, AMOT 丧失了对 YAP/TAZ 的抑制, 使 YAP/TAZ 去磷酸化入核, 上调各种血管生成相关基因。这可能跟肝癌某些病理特征相呼应, 为肿瘤的发生与发展提供了正反馈的条件基础。虽然 AMOT 蛋白在该通路激酶级联中的作用机制已基本确定, 但 AMOT 介导的复杂而又精确的血管生成机制仍不明确。

2.1.4 血管内皮钙黏蛋白 (VE-cadherin) VE-cadherin 是一类存在于血管内皮细胞表面的黏附连接蛋白, 参与调控血管内皮细胞的极性, 并在肝癌组织血管内皮细胞中表达强烈^[15]。VE-cadherin 可以通过 PI3K-AKT 使 Hippo 通路关键激酶 MST 和 LATS 失活, 导致 YAP/TAZ 的核聚集并导致 Ang-2 表达上调^[16]; 其中对 YAP/TAZ 的直接调节可能涉及细胞骨架 F-actin 的稳定性, 即稳定的细胞骨架可以将其滞留于细胞质中。此外, VE-cadherin 介导的细胞间连接与细胞密度直接相关, 当细胞密度降低导致细胞间稳定连接减少时, YAP 的细胞核转移量增加, 基因表达上调, 反之亦然 (图 2)。这提示肝脏肿瘤中血管生成可能部分依赖于 Hippo 通路的激活。通过对上文 VEGFR 和 VE-Cadherin 的研究可以发现, AKT 是 Hippo 通路和血管生成通路产生串扰的关键桥梁之一; 存在 AKT 对 Hippo 通路的调节, 这将意味着其他更多通路以及某些生理效应也可通过某种手段经 AKT 介导参与激活 Hippo 的旁效应。但机体的信号转导是一种精准有规律的调节方式, AKT 如何精确介导 Hippo 调节血管生成是信号转导领域必须要解

决的一大难题。



注: a. Crb 介导 TJ 的形成, 由 AMOT 将 YAP/TAZ 固定于细胞膜上; b. VE-Cadherin 在稳定连接 (SJ) 时抑制 PI3K-AKT, 在不稳定连接 (UJ) 时激活 PI3K-AKT; c. Merlin 复合物上游受 CD44、FAT4 等受体激活; d. 已证实 YAP/TAZ 与 Smad 存在相互作用, 但具体机制不清楚

图 2 Hippo 信号通路在血管生成中的调控

2.1.5 Rho Rho 家族蛋白属于小 GTP 结合蛋白, 与细胞骨架有密切关系, 可间接参与调节细胞极性、血管生成等多种生理效应。Rho 在多种肝癌组织细胞中表达量明显升高, 与肝癌细胞的侵袭转移密切相关, 主要由于 Rho 参与对细胞骨架重组的调节并以此促进细胞的运动能力。此外, Rho 所具有的潜在的血管生成功能可能与 Hippo 通路有关, 可抑制 AMOT 的磷酸化并存在某种特殊机制抑制 Hippo 通路^[17], 提示 Rho 可通过 AMOT-MST、AMOT-LATS 等复合体调控 Hippo 通路, 进而激活血管生成途径; 此过程可能广泛存在于血管上皮细胞中。此外, Rho 可通过与细胞骨架密切相关的因子如: YAP/TAZ、Merlin (NF2) 等进一步与 Hippo 通路产生串扰, 但具体分子机制仍有待挖掘。

2.1.6 细胞机械力 目前对肿瘤细胞机械力的研究大多集中于细胞外基质硬度等方面, 特别是基质硬度增加引起的组织压力和组织张力升高, 在肿瘤的检测和治疗中有重要意义。Hippo 通路关键成员 YAP/TAZ 作为重要的机械力感受器, 参与外界物理环境改变等相关应答, 并可以直接通过受机械力挤压的核孔复合体进行核转移^[18]。几乎 90% 的 HCC 患者合并肝硬化, 即肝细胞外基质硬度增加。提示较高的基质硬度有利于肝癌细胞的增殖, 其中可能与 YAP/TAZ 对基质硬度的响应有关。此外, 血管上皮细胞作为机械力学敏感细胞, 可能通过 YAP/TAZ 来介导机械力引起细胞生理活动^[19]。

总之,细胞机械力等物理因素在肝癌发展和肝癌血管生成中的作用愈发重要。

2.2 Hippo 下游与肝癌血管生成

YAP/TAZ 作为 Hippo 通路下游效应因子,介导了多种分子间的相互作用,参与多种靶基因的调控。

2.2.1 TGF- β /CTGF 结缔组织生长因子(CTGF)

是一类分泌肽,属新的富含半胱氨酸生长因子家族,具有促进成纤维细胞迁移和分化等功能,并作为一种促血管生成因子调节肿瘤血管的产生。在 HCC 中,不管是受激酶级联还是旁效应导致的 YAP/TAZ 核转移,都会引起 CTGF 表达上调,表明 CTGF 是 YAP/TAZ 的关键靶基因。CTGF 在肿瘤血管生成中具有重要意义,可通过影响肿瘤相关成纤维细胞(TAFs)间接参与肿瘤血管生成;TAFs 是 TME 的重要组成部分,与血管微环境的产生有关;特别是 TAFs 中 Hippo 通路介导的 CTGF 分泌量的问题,可能是肿瘤血管生成的关键,但尚未对 TAFs 中 Hippo 活化程度的研究。Chen 等^[20]研究发现,在非酒精脂肪性肝病(NAFLD)中 YAP/TAZ 与 TGF- β /Smad 信号通路产生相互作用;TGF- β 是 CTGF 的强效诱导剂,提示 TGF- β /Smad 可能通过 YAP 来上调 CTGF 的表达。此外,Smad 通路还可以非依赖 YAP/TAZ 来独立调控血管内皮细胞的增殖和迁移^[21]。

2.2.2 MFAP5

MFAP5 是一种微纤维相关糖蛋白(MAGP),在构建微纤丝网络具有重要作用,并在多种肿瘤基质细胞中表达显著上调^[22]。MFAP5 可以通过调节血管内皮细胞发挥其潜在的血管生成功能。Marti 等^[23]研究发现,在胆管癌(CC)细胞中,MFAP5 是 YAP/TAZ 的直接转录靶点,并且 MFAP5 的上调将直接导致细胞活力的增加。此外,由于 MFAP5 在恶性 CC 中普遍上调,与癌细胞增殖、肿瘤血管生成高度相关,已成为 CC 诊断和预后的生物标志物。提示 YAP/TAZ 异常核转移引起的 MFAP5 上调在肝癌进程调控方面具有重要意义。

2.2.3 Ang/Tie2

Ang/Tie2 包括血管生成素(Ang)与其受体血管生成素受体酪氨酸激酶(Tie)。是除 VEGF/VEGFR 之外,与血管生成关系最紧密的一个体系^[24]。Ang/Tie2 在各类癌组织中表达量均增高,与肿瘤血管生成有紧密联系。Choi 等^[25]研究发现在肝脏肿瘤血管内皮细胞中,Ang-2

是 YAP/TAZ 的直接作用靶点。提示 Hippo 通路可能直接作为肿瘤血管生成的信号。此外,Ang-2 也可以通过 YAP 调节血管张力,在新生血管和血管重构中起着重要作用^[26]。这可能与 VE-Cadherin 存在功能相关。

3 小结与展望

Hippo 通路的异常激活或抑制对肿瘤血管发生起着重要调节作用。其中,YAP/TAZ 作为 Hippo 通路主要效应因子,引起了科学家的广泛关注。针对 Hippo 信号通路各成员的效应剂特别是下游 TAZ/YAP 的抑制剂,已经进行了许多临床试验,并在肿瘤的靶向治疗中取得了初步进展。但如果我们只关注靶向针对其核心分子来开展相关研究和治疗,则难以在癌症后续治疗中达到好的治疗效果。首先,在细胞和组织层面,Hippo 介导的血管内皮细胞活化机制并不明确,Hippo 调节 TME 稳态的机制也不明确。其次,在分子层面,AMOT 既作为血管生成关键因子,又作为 Hippo 通路重要的调节分子,可能是赋予 Hippo 通路血管生成功能的关键因子,但调节机制仍不清楚。在肝癌组织血管生成中,Hippo 信号通路仍然存在太多我们未知的因素。解决这些问题,可使我们更深入地了解 Hippo 信号通路,为肝癌的治疗提供新思路。

参考文献:

- [1] Anwanwan D, Singh SK, Singh S, et al. Challenges in liver cancer and possible treatment approaches [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1873 (1): 188314. DOI: 10. 1016/j. bbcan. 2019. 188314.
- [2] 鲁美钰, 仲维兰, 司春枫, 等. 肿瘤血管生成机制及抗肿瘤血管新生的靶向药物研究进展 [J]. *安徽医药*, 2018, 22 (5): 798-802. DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-6469. 2018. 05. 002 .
- [3] Maugeri-Saccà M, De Maria R. The hippo pathway in normal development and cancer [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 186: 60-72. DOI: 10. 1016/j. pharmthera. 2017. 12. 011.
- [4] 余淑娟, 耿晶, 陈兰芬. Hippo 信号通路调控免疫细胞的功能 [J]. *遗传*, 2017, 39 (7): 650-658. DOI: 10. 16288/j. yczs. 17-083.
- [5] Zhang S, Zhou D. Role of the transcriptional coactivators YAP/TAZ in liver cancer. [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2019, 61: 64-71. DOI: 10. 1016/j. ceb. 2019. 07. 006.
- [6] Donato E, Biagioni F, Bisso A, et al. YAP and TAZ are

- dispensable for physiological and malignant haematopoiesis [J]. *Leukemia*, 2018, 32 (9) : 2037-2040. DOI: 10.1038/s41375-018-0111-3.
- [7] Boopathy GTK, Hong W. Role of hippo pathway-YAP/TAZ signaling in angiogenesis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 49. DOI: 10.3389/fcell.2019.00049.
- [8] Wong HK, Shimizu A, Kirkpatrick ND, et al. Merlin/NF2 regulates angiogenesis in schwannomas through a Rac1/semaphorin 3F-dependent mechanism [J]. *Neoplasia*, 2012, 14 (2) : 84-94. DOI: 10.1593/neo.111600.
- [9] 孟玲玲. $\beta 2$ 血影蛋白通过诱导肝癌干细胞的分化参与肝癌发生 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.
- [10] 谭晓勇, 方丹, 吴剑波, 等. miR-21 对血管内皮功能及血管生成调节作用的研究进展 [J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33 (12) : 2299-2304. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2017.12.031.
- [11] Azad T, Janse van Rensburg HJ, Lightbody ED, et al. A LATS biosensor screen identifies VEGFR as a regulator of the Hippo pathway in angiogenesis [J]. *Nat Commun*, 2018, 9 (1) : 1061. DOI: 10.1038/s41467-018-03278-w.
- [12] Moleirinho S, Hoxha S, Mandati V, et al. Regulation of localization and function of the transcriptional co-activator YAP by angiominin [J]. *Elife*, 2017, 6: 1-23. DOI: 10.7554/eLife.23966.
- [13] Mana-Capelli S, McCollum D. Angiominins stimulate LATS kinase autophosphorylation and act as scaffolds that promote Hippo signaling [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293 (47) : 18230-18241. DOI: 10.1074/jbc.RA118.004187.
- [14] Liu Y, Lu Z, Shi Y, et al. AMOT is required for YAP function in high glucose induced liver malignancy [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495 (1) : 1555-1561. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.12.010.
- [15] Kato K, Takada T, Fukusato T. Expression of vascular endothelial-cadherin in human hepatocellular carcinoma tissues [J]. *Hepatol Res*, 2007, 37 (6) : 444-453. DOI: 10.1111/j.1872-034X.2007.00051.x.
- [16] Wei H, Wang F, Wang Y, et al. Verteporfin suppresses cell survival, angiogenesis and vasculogenic mimicry of pancreatic ductal adenocarcinoma via disrupting the YAP-TEAD complex [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108 (3) : 478-487. DOI: 10.1111/cas.13138
- [17] Shi X, Yin Z, Ling B, et al. Rho differentially regulates the Hippo pathway by modulating the interaction between Amot and Nf2 in the blastocyst [J]. *Development*, 2017, 144 (21) : 3957-3967. DOI: 10.1242/dev.157917.
- [18] Elosegui-Artola A, Andreu I, Beedle AEM, et al. Force triggers YAP nuclear entry by regulating transport across nuclear pores [J]. *Cell*, 2017, 171 (6) : 1397-1410. DOI: 10.1016/j.cell.2017.10.008.
- [19] 鲍远, 聂铭博, 施佳, 等. YAP 介导的力学信号转导在血管生成中的研究进展 [J]. *医学综述*, 2020, 26 (3) : 438-442. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2020.03.005.
- [20] Chen P, Luo Q, Huang C, et al. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease mediated by YAP [J]. *Hepatol Int*, 2018, 12 (1) : 26-36. DOI: 10.1007/s12072-017-9841-y.
- [21] Mitchell D, Pobre EG, Mulivor AW, et al. ALK1-Fc inhibits multiple mediators of angiogenesis and suppresses tumor growth [J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9 (2) : 379-388. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0650.
- [22] Zhao L, Westerhoff M, Hornick JL, et al. Loss of microfibril-associated protein 5 (MFAP5) expression in colon cancer stroma [J]. *Virchows Arch*, 2019. DOI: 10.1007/s00428-019-02649-y.
- [23] Marti P, Stein C, Blumer T, et al. YAP promotes proliferation, chemoresistance, and angiogenesis in human cholangiocarcinoma through TEAD transcription factors [J]. *Hepatology*, 2015, 62 (5) : 1497-1510. DOI: 10.1002/hep.27992.
- [24] 谷颖, 金鑫, 李霞, 等. HO-1 对 Ang II 诱导大鼠心肌纤维化的影响 [J]. *济宁医学院学报*, 2019, 42 (6) : 395-398. DOI: 10.3969/j.issn.1000-9760.2019.06.004.
- [25] Choi HJ, Kwon YG. Roles of YAP in mediating endothelial cell junctional stability and vascular remodeling [J]. *BMB Rep*, 2015, 48 (8) : 429-430. DOI: 10.5483/bmbrep.2015.48.8.146.
- [26] Yao L, He J, Li B, et al. Regulation of YAP by mammalian target of rapamycin complex 1 in endothelial cells controls blood pressure through COX-2/mPGES-1/PGE2 cascade [J]. *Hypertension*, 2019, 74 (4) : 936-946. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.12834.

(收稿日期 2019-09-14)

(本文编辑: 石俊强)