

癌蛋白 YAP1 的研究进展 *

郭海强¹⁾ 刘同阳²⁾ 贾舒婷¹⁾ 罗 瑛^{1)**}

(¹⁾ 昆明理工大学医学院, 昆明 650500; (²⁾ 昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500)

摘要 Yes 相关蛋白 1(Yes-associated protein 1, YAP1)是 Hippo 信号通路(Hippo pathway)中的一个分子。早期研究人员发现, 在 Hippo 信号通路正常的情况下, YAP1 处于非激活状态; 当 Hippo 信号通路中的某些分子出现突变时, YAP1 处于超激活状态。此时, 超激活状态下的 YAP1 可以促进细胞增殖、转移、生存(survival)以及维持干细胞活性。由于 YAP1 的超激活可以促进肿瘤的发生与发展, 因此, YAP1 被定义为一个癌蛋白。近期, 研究者发现, YAP1 的突变体与小细胞肺癌病人的存活率有一定关系, YAP1 与链蛋白(catenin)、Kras 相互作用, 调节肿瘤细胞的转移侵袭能力, 此外, 部分 micro RNA 也与 YAP1 有相互作用。基于 YAP1 的功能, 可以制定一些抗癌策略, 寻找一些抗癌靶点。本文对当前 YAP1 的研究进行综述, 为肿瘤治疗的基础及临床研究提供一些依据。

关键词 YAP1, Hippo 信号通路, 超激活, 增殖, 转移

学科分类号 Q7, Q5

DOI: 10.16476/j.pibb.2014.0248

Hippo 信号通路由一系列不同蛋白质组成, 它控制着不同组织的生长、分化以及再生功能^[1]。Hippo 信号通路是一条肿瘤抑制通路, 这条通路的核心是 YAP1。正常情况下, YAP(Yes-associated protein, Yes 相关蛋白)、TAZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif, 含有 PDZ 结合模体的转录共激活物)等是不表达或者低表达的, 通路中的一些分子, 如 MST1 (mammalian sterile20-like kinase, 哺乳动物 STE20 样激酶 1)、MST2、LATS1(large tumor suppressor gene 1, 大肿瘤抑制基因 1)、LATS2 等通过一系列的磷酸化来抑制 YAP、TAZ 的表达。一旦这条通路的上游或者下游分子发生突变, 这些分子就会激活原先不表达或者低表达的分子(如 YAP、TAZ 等), 使其超激活, 进而加速组织细胞的增殖, 产生肿瘤^[2]。肿瘤化的细胞或组织在这些分子的刺激下, 抗凋亡能力和恶性程度均有明显的提高。

YAP 是 YAP1 基因的编码产物, 因此 YAP 也被称为 YAP1(Yes-associated protein 1)^[3]。YAP1 在人的发育、生长、DNA 修复、内源稳态方面发挥着积极作用。研究发现, 活化状态的 YAP1 可以促

进组织的增殖、分化、再生, 这对生物体的创伤修复有着积极作用。正常激活状态下的 YAP1 可以与 TAZ、14-3-3 蛋白形成一个复合物, 定位在细胞质中, 启动细胞的凋亡。超激活状态下的 YAP1 将极大地促进组织细胞的增殖能力, 进而促进了肿瘤的形成^[2]。最近的研究发现, YAP1 与链蛋白(catenin)、Kras 相互作用, 调节肿瘤细胞的转移和侵袭能力。此外, 部分 micro RNA 也与 YAP1 有相互作用。目前, 对 YAP1 的了解还不是很多, 对 YAP1 的进一步研究也在同步进行。

1 YAP1 的发现及亚型

1988 年, Moye-Rowley 等^[4]克隆了酵母的 AP-1 基因(*yAPI*), 后来证实, 此基因与哺乳动物的 YAP1 基因同源。1994 年, Sudol^[5]发现, YAP1 是一种富含脯氨酸的磷蛋白, 它可以与 *Yes*(原癌基

* 国家自然科学基金资助项目(31170735)。

** 通讯联系人。

Tel: 013987631893, E-mail: luoyingabc@yahoo.com

收稿日期: 2014-12-09, 接受日期: 2015-01-13

因)基因的 SH3 结构域结合, 且具有蛋白酪氨酸激酶活性. 2012 年, Fernandez 等^[5]和 Liu 等^[6]对人的 *YAP1* 基因进行了功能分析, 简单概述了 *YAP1* 基因的功能组成. 2013 年, Sudol^[7]对功能分析进行了补充, 证明 YAP1 有 8 种异构体.

YAP1 主要由 TID 结构域(转录激活因子结合结构域)、WW 结构域(双色氨酸结构域)、TAD 结构域(转录激活结构域)构成, 部分异构体含有 SH3-BM(SH3 结合结构域)和亮氨酸指结构. TID 结构域主要用于募集转录激活因子. 由于 YAP1 缺少 DNA 结合结构域, 因此, 它与 DNA 结合转录因子相互作用, 以共激活子的身份参与基因的表达调控. YAP1 通过 TEAD 结合结构域与 TEAD 家族成员作用, 促进促生长基因的转录; 它也可以通过 WW 结构域与 p73 结合, 增强 DNA 损伤时的 p73 诱导的凋亡. 在肿瘤细胞中, YAP1 以磷酸化的形式存在, 因此, 肿瘤细胞的抗凋亡能力得到增强. 由于 YAP1 有促凋亡和抑制凋亡两种功能, 因此, *YAP1* 具有癌基因特征和肿瘤抑制基因的特征^[8-9].

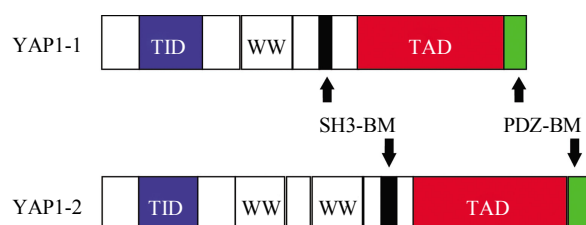


Fig. 1 Modular structure of YAP1 protein

图 1 YAP1 的结构模式图

YAP1 存在 2 大类剪接异构体(YAP1-1、YAP1-2). 这 2 类剪接异构体的区别在于 YAP1-2 较 YAP1-1 多一个 WW 结构域. 除此之外, 在 YAP1 蛋白的 N 端, 存在一个脯氨酸富含区(proline-rich region). 在脯氨酸富含区之后紧接着有一个 TID 结构域. TID 结构域之后为 WW 结构域. YAP1-1 含有 1 个 WW 结构域, YAP1-2 含有 2 个 WW 结构域. WW 结构域后有一个 SH3-BM. 在 SH3-BM 之后是 TAD 结构域(转录激活结构域)和 PDZ-BM(PDZ 结构域结合模体). 这两个结构域主要与特定的基因结合, 启动特定基因的转录表达.

2 YAP1 的功能初探

1995 年, Stephen 等^[1]发现, 酿酒酵母中的 YAP1 和 YAP2 可以调控酵母对氧化压力的适应性. 该研究团队将酿酒酵母中的 *YAP1* 或 *YAP2* 基因敲除后发现, 酿酒酵母对活性氧, 特别是 H_2O_2

超敏感. 在这项工作的基础上, Agnes Delaunay 等^[10]于 2000 年发现, H_2O_2 可以通过氧化 YAP1, 促进细胞对氧化压力的敏感性. 由这些结果可以推测, YAP1 可能含有氧化还原反应所必需的基团. 这些基团是 YAP1 氧化还原态调控的关键.

3 YAP1 氧化还原调控的结构基础

2004 年, Wood 等^[11]揭示了酿酒酵母的 YAP1 氧化还原调控的结构基础. 他们通过 NMR(核磁共振)发现, 在 YAP1 的第 303 位、第 310 位、第 598 位、第 629 位含有半胱氨酸(Cys). 当 YAP1 处于还原态时, 这些位点的 Cys 就处于还原态, Cys 的巯基是暴露的. 当 YAP1 遇到活性氧(ROS)时, YAP1 被氧化, 此时, 第 310 位和第 629 位、第 303 位和第 598 位的 Cys 会形成二硫键, 进而发生构象改变. 氧化状态的 YAP1 可以进入细胞核, 调控抗氧化基因的转录, 抵抗氧化压力.

4 YAP1 的分子机制研究

近年来, 研究人员的研究方向逐渐从宏观转向了微观, 试图从分子层面揭示诸多疾病, 如退行性疾病、消化道疾病、心血管疾病、肿瘤等的起因. 在对肿瘤的研究中, 研究者发现, Hippo 信号途径中的大部分分子(如 MST1、MST2、LATS1、LATS2 等)的突变与肿瘤的进程息息相关, 前者可以激活 YAP1, 使得原本具有肿瘤抑制功能的信号通路变成了促进肿瘤进程的信号通路^[2]. 由此可见, YAP1 的启动与否与肿瘤的进程密不可分. 近期, 研究者发现了与 YAP1 相互作用的一些分子, 阐明了部分 YAP1 促进肿瘤进程的机制(图 2), 这对于临床上的肿瘤治疗具有重要意义.

4.1 YAP1 与 catenin 的相互作用

Catenin 与肿瘤的发生有着密切联系. α -catenin 是调控皮肤组织中 YAP 定位的重要因素, 具有促进细胞间黏附、抑制细胞侵袭和转移的功能^[12]. 大部分肿瘤细胞的 α -catenin 表达量较正常细胞显著下降, 导致细胞间的黏附作用下降, 肿瘤细胞的侵袭、转移能力增强, 因此, 术后或者化疗后病人的预后并不理想. 近期的研究发现, α -catenin 对 YAP1 蛋白的活性有调节作用. Schlegelmilch 等^[13]发现, α -catenin 在 YAP1 的上游. α -catenin 通过影响 YAP1 与 14-3-3 蛋白、PP2A(蛋白磷酸酶 2a)的相互作用来调控 YAP1 的磷酸化. 如果 α -catenin 发生了突变或者 α -catenin 的表达量下降, 细胞就

而久之, 肿瘤组织会发生上皮间质转化(EMT), 促进肿瘤细胞发生侵袭、浸润, 突破基底膜, 进入血管, 迁移到其他组织. 由于 EMT 涉及到的分子很多, 所以目前为止, 研究人员还没有完全阐明 EMT 的分子机制. 近期, Shao 等^[21]发现, Kras 与 YAP1 协同作用, 促进肿瘤细胞的 EMT 以及肿瘤生存. 他们发现, 在依赖于 Kras 的结肠癌细胞中, 当 Kras 的表达被抑制时, 有 147 个基因会促进肿瘤细胞的存活, YAP1 就是其中之一, 并且 YAP1 对于 Kras 诱导的细胞表型转化是必需的. Kras 与 YAP1 共同作用于转录因子 FOS, 激活与 EMT 相关的基因表达. 在 Kras 诱导的小鼠肺癌模型中也发现了 YAP1 的表达量上升. 这些证据表明, 对于 EMT 的发生, Kras 和 YAP1 的协同作用是相互促进的.

肿瘤细胞的增殖受多因子调节. 在依赖于 Kras 的胰腺导管癌细胞(PDAC)中, Kras 的表达量与肿瘤的增殖和恶性程度相关. 使用 Ras 通路的一些抑制剂可以暂时抑制肿瘤的增殖, 但是久而久之, 肿瘤产生了耐药性, 很显然, 耐药性对于患者的预后是不利的. 因此, 探寻肿瘤耐药的机制就显得尤为重要. 近期, Kapoor 等^[22]发现, 在胰腺导管癌细胞中, YAP1 的表达可以使肿瘤细胞绕过依赖于 Kras 增殖信号通路, 诱导肿瘤细胞增殖. 他们利用转基因小鼠证实, 在 YAP1 表达的情况下, YAP1 与 Tead2(一个转录因子)会形成 YAP1/Tead2 复合体, 这个复合体与转录因子 E2F 作用, 促进肿瘤细胞进入细胞周期, 启动 DNA 复制程序. 这一发现为临床上的给药提供了一些理论依据. 但是, 肿瘤的耐药性是一个非常复杂的问题, 因此, 还需要研究者进一步探究.

4.3 Micro RNA 与 YAP1

Micro RNAs 是一些小的非编码 RNA, 它通过抑制目的基因的翻译或者使目的基因 mRNA 降解的途径抑制目的基因的表达. miR-375 是 micro RNA 的成员之一, 它在人的脑部和胰岛中特异性表达, 参与激素(如胰岛素)的分泌. 2010 年, 研究人员发现, miR-375 在乳腺癌与胃癌中均有表达^[23-25]. 后期的实验证据表明, miR-375 在某些肿瘤中扮演着肿瘤抑制子(tumor suppressor)的作用. 2011 年, Nishikawa 等^[26]发现, miR-375 通过抑制 YAP1 的表达, 抑制癌细胞的增殖. 这一结论在小细胞肺癌细胞系和小鼠模型上得到了验证. miR-200a 是 miR-200 家族的成员之一, 它在表皮组织中高度表

达. 通常情况下, miR-200 通过抑制 EMT 来抑制肿瘤发生. 但是, 一旦肿瘤发生了转移, miR-200 有促进转移的肿瘤细胞的 MET 过程^[27-28]. 2013 年, Yu 等^[29]发现, YAP1 是 miR-200a 的靶点之一, miR-200a 会下调 YAP1 的水平, 进而下调促凋亡蛋白的水平, 最终增强乳腺癌细胞的抗凋亡能力. 由于 miR-200 家族本身与肿瘤的转移及继发瘤的产生有关, 故 YAP1 的下调实则是促进了 miR-200a 的肿瘤转移功能.

5 总结与展望

YAP1 的发现较早, 但是近些年才成为研究热点. 对 YAP1 功能上的研究有助于我们理解肿瘤抗凋亡、抗化疗药物(耐药性)以及肿瘤生存的机制. 由于 YAP1 在很多肿瘤中有高表达^[30-33], 因此, 有研究者提出, YAP1 是一个潜在的肿瘤标志物(biomarker)^[34]. 2013 年, Harvey 等^[2]提出, 靶向 YAP1 可能是今后治疗肿瘤的一个方向. 与此同时, 他也指出, 靶向转录分子是靶向药物研究中的一个挑战. 靶向药物研究是近些年新兴的一个学科, 旨在利用药物与靶点的特异性结合来阻断或者激活某一通路, 使细胞或组织回复到正常的通路水平. 这项研究的优点在于特异性, 缺点在于治疗后期会形成耐药性. 因此靶向 YAP1 可能也有这样的风险. 从当前的基础研究中, 我们发现 YAP1 的一些功能, 但是, 这些发现对于临床研究还远远不足. 此外, 由于 YAP1 与 catenin、Kras、microRNA 有相互作用, 而后者又存在于一个巨大的网络环境中, 因此, 将 YAP1 作为抗肿瘤治疗的靶点显得不是很现实. 生物体内的信号分子是相互联系的, 既要研究某个分子单独的生物学作用, 也不能忽略它在整个生物体信号通路中的作用. 从目前的基础研究来看, 研究者对 YAP1 的功能及通路研究依然任重而道远.

参 考 文 献

- [1] Stephen D W, Rivers S L, Jamieson D J. The role of the YAP1 and YAP2 genes in the regulation of the adaptive oxidative stress responses of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Microbiol*, 1995, **16**(3): 415-423
- [2] Harvey K F, Zhang X, Thomas D M. The Hippo pathway and human cancer. *Nat Rev Cancer*, 2013, **13**(4): 246-257
- [3] 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
- [4] Moye-Rowley W S, Harshman K D, Parker C S. YAP1 encodes a

- yeast homolog of mammalian transcription factor AP-1. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 1988, **53**(Pt 2): 711–717
- [5] Fernandez L A, Squatrito M, Northcott P, *et al.* Oncogenic YAP promotes radioresistance and genomic instability in medulloblastoma through IGF2-mediated Akt activation. *Oncogene*, 2012, **31**(15): 1923–1937
- [6] Liu X, Yang N, Figel S A, *et al.* PTPN14 interacts with and negatively regulates the oncogenic function of YAP. *Oncogene*, 2013, **32**(10): 1266–1273
- [7] Sudol M. YAP1 oncogene and its eight isoforms. *Oncogene*, 2013, **32**(33): 3922
- [8] Machado-Neto J A, De Melo Campos P, Olalla Saad S T, *et al.* YAP1 expression in myelodysplastic syndromes and acute leukemias. *Leuk Lymphoma*, 2014, **55**(10): 2413–2415
- [9] Strano S, Blandino G. YAP1 meets tumor suppression. *Mol Cell*, 2007, **27**(6): 863–864
- [10] Delaunay A, Isnard A D, Toledano M B. H₂O₂ sensing through oxidation of the Yap1 transcription factor. *EMBO J*, 2000, **19**(19): 5157–5166
- [11] Wood M J, Storz G, Tjandra N. Structural basis for redox regulation of Yap1 transcription factor localization. *Nature*, 2004, **430**(7002): 917–921
- [12] Shutman M, Chaousovsky A, Prager-Khoutorsky M, *et al.* Signaling function of alpha-catenin in microtubule regulation. *Cell Cycle*, 2008, **7**(15): 2377–2383
- [13] Schlegelmilch K, Mohseni M, Kirak O, *et al.* Yap1 acts downstream of alpha-catenin to control epidermal proliferation. *Cell*, 2011, **144**(5): 782–795
- [14] Oas R G, Nanes B A, Esimai C C, *et al.* p120-catenin and beta-catenin differentially regulate cadherin adhesive function. *Mol Biol Cell*, 2013, **24**(6): 704–714
- [15] Smith R W, Hicks D A, Reynolds S D. Roles for beta-catenin and doxycycline in the regulation of respiratory epithelial cell frequency and function. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2012, **46**(1): 115–124
- [16] Ning B, Wang P, Pei X, *et al.* Dual function of beta-catenin in articular cartilage growth and degeneration at different stages of postnatal cartilage development. *Int Orthop*, 2012, **36**(3): 655–664
- [17] Gupta N, Schmitt F, Grebhardt S, *et al.* beta-catenin is a positive regulator of estrogen receptor-alpha function in breast cancer cells. *Cancers*, 2011, **3**(3): 2990–3001
- [18] Yuan G, Wang C, Ma C, *et al.* Oncogenic function of DACT1 in colon cancer through the regulation of beta-catenin. *PloS One*, 2012, **7**(3): e34004
- [19] Satow R, Shitashige M, Jigami T, *et al.* beta-catenin inhibits promyelocytic leukemia protein tumor suppressor function in colorectal cancer cells. *Gastroenterology*, 2012, **142**(3): 572–581
- [20] Rosenbluh J, Nijhawan D, Cox A G, *et al.* beta-Catenin-driven cancers require a YAP1 transcriptional complex for survival and tumorigenesis. *Cell*, 2012, **151**(7): 1457–1473
- [21] Shao D D, Xue W, Krall E B, *et al.* KRAS and YAP1 converge to regulate EMT and tumor survival. *Cell*, 2014, **158**(1): 171–184
- [22] Kapoor A, Yao W, Ying H, *et al.* Yap1 activation enables bypass of oncogenic Kras addiction in pancreatic cancer. *Cell*, 2014, **158**(1): 185–197
- [23] Tsukamoto Y, Nakada C, Noguchi T, *et al.* MicroRNA-375 is downregulated in gastric carcinomas and regulates cell survival by targeting PDK1 and 14-3-3zeta. *Cancer Res*, 2010, **70**(6): 2339–2349
- [24] Ding L, Xu Y, Zhang W, *et al.* MiR-375 frequently downregulated in gastric cancer inhibits cell proliferation by targeting JAK2. *Cell Res*, 2010, **20**(7): 784–793
- [25] De Souza Rocha Simonini P, Breiling A, Gupta N, *et al.* Epigenetically deregulated microRNA-375 is involved in a positive feedback loop with estrogen receptor alpha in breast cancer cells. *Cancer Res*, 2010, **70**(22): 9175–9184
- [26] Nishikawa E, Osada H, Okazaki Y, *et al.* miR-375 is activated by ASH1 and inhibits YAP1 in a lineage-dependent manner in lung cancer. *Cancer Res*, 2011, **71**(19): 6165–6173
- [27] Kong D, Li Y, Wang Z, *et al.* miR-200 regulates PDGF-D-mediated epithelial-mesenchymal transition, adhesion, and invasion of prostate cancer cells. *Stem Cells*, 2009, **27**(8): 1712–1721
- [28] Pichler M, Ress A L, Winter E, *et al.* MiR-200a regulates epithelial to mesenchymal transition-related gene expression and determines prognosis in colorectal cancer patients. *Bri J Cancer*, 2014, **110**(6): 1614–1621
- [29] Yu S J, Hu J Y, Kuang X Y, *et al.* MicroRNA-200a promotes anoikis resistance and metastasis by targeting YAP1 in human breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2013, **19**(6): 1389–1399
- [30] Menzel M, Meckbach D, Weide B, *et al.* In melanoma, Hippo signaling is affected by copy number alterations and YAP1 overexpression impairs patient survival. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2014, **27**(4): 671–673
- [31] Cottini F, Hideshima T, Xu C, *et al.* Rescue of Hippo coactivator YAP1 triggers DNA damage-induced apoptosis in hematological cancers. *Nat Med*, 2014, **20**(6): 599–606
- [32] Jie L, Fan W, Weiqi D, *et al.* The hippo-yes association protein pathway in liver cancer. *Gastroenterol Res Pract*, 2013, **2013**: 187070
- [33] Wu C, Xu B, Yuan P, *et al.* Genome-wide interrogation identifies YAP1 variants associated with survival of small-cell lung cancer patients. *Cancer Res*, 2010, **70**(23): 9721–9729
- [34] Jerhammar F, Johansson A C, Ceder R, *et al.* YAP1 is a potential biomarker for cetuximab resistance in head and neck cancer. *Oral Oncol*, 2014, **50**(9): 832–839

The Current Progress of Oncoprotein YAP1*

GUO Hai-Qiang¹⁾, LIU Tong-Yang²⁾, JIA Shu-Ting¹⁾, LUO Ying^{1)**}

¹⁾ Faculty of Medicine, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China;

²⁾ Faculty of Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract YAP1(Yes-associated protein 1) is a molecular of Hippo pathway. In early studies, researchers found that YAP1 was inactive when Hippo pathway was well functional. When some molecules mutated in Hippo pathway, YAP1 was hyperactivated. Hyperactivated YAP1 could promote cell proliferation, metastasis, cell survival and maintain the activity of stem cell. Because hyperactivated YAP1 can promote the occurrence and progress of tumor, YAP1 was defined as an oncoprotein. Recently, researchers found that YAP1 variants were associated with survival rates of small-cell lung cancer patients. YAP1 interacted with catenin and Kras to regulate infiltration and metastasis of cancer cell. And some microRNAs could interact with YAP1. Based on the function of YAP1, we can find some therapeutic strategies and targets for cancer treatment. This paper summarizes the studies of YAP1 and provide some evidence for basic and clinical research of cancer therapy.

Key words YAP1, hippo pathway, hyperactivation, proliferation, metastasis

DOI: 10.16476/j.pibb.2014.0248

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China(31170735).

**Corresponding author.

Tel: 86-13987631893, E-mail: luoyingabc@yahoo.com

Received: December 9, 2014 Accepted: January 13, 2015