

YAP 参与调控细胞上皮-间充质转化的研究进展*

苏冠月^{1)**} 余泓池^{2)**} 黄雯雯¹⁾ 王仁义³⁾ 胡亦清³⁾ 沈阳¹⁾ 王云兵²⁾ 刘肖珩^{1)***}

(¹⁾ 四川大学华西基础医学与法医学院生物医学工程研究室, 成都 610041; (²⁾ 四川大学生物材料工程研究中心, 成都 610065;

(³⁾ 四川大学临床医学院, 成都 610041)

摘要 上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是上皮来源细胞在各种理化因素作用下经历表型转化获得间充质样细胞表型的过程。研究表明, 有多种信号分子参与 EMT 的发生, 并在胚胎发育、器官损伤修复和肿瘤的发生发展过程中起着关键作用。Yes 相关蛋白(yes-associated protein, YAP)作为 Hippo 信号通路的下游效应分子, 被广泛报道参与 EMT 的进程, 调控多种基因的表达, 起到调节细胞增殖、凋亡、器官发育和修复等作用。最新研究表明, YAP 活性的变化直接介导肿瘤细胞的迁移和侵袭等能力的变化, 而这些变化都伴随着 EMT 的发生。因此, YAP 蛋白跟 EMT 的发生密切相关。本文就近年来关于 YAP 调控组织发育、器官纤维化及在肿瘤发生发展中的作用, 以及相关分子机制的研究进行综述, 并将阐明其与 EMT 之间的相互关系, 以期 EMT 的研究提供新的视角, 进而为相关疾病的治疗提供新的分子靶点和诊断治疗策略。

关键词 YAP, EMT, 组织发育, 器官纤维化, 肿瘤转移

学科分类号 R3

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0457

上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮样细胞在特定条件下经历表型转化, 获得具有更强迁移能力的间充质样细胞表型的过程^[1]。在上皮表型向间充质表型的转化过程中, 细胞经历塑性变化, 失去极性, 细胞间连接分解丢失, 进而获得高迁移性和高侵袭性^[2]。近年来, EMT 作为一种广泛参与机体生理性调节和病理性改变的机制而受到广泛的关注, 在胚胎发育、组织损伤修复、脏器纤维化及肿瘤进展过程中均发挥着极其重要的作用^[3-4]。细胞发生 EMT 的分子特征变化主要表现在: 上皮标志物 E-钙黏素(E-cadherin)表达水平下降, 而间充质标志物如 N-钙黏素(N-cadherin)、波形蛋白(vimentin)等表达上调, 以及一些特定的转录因子如 Twist、Snail、Slug 等表达水平增高。

Hippo 信号通路最初是在果蝇身上被发现的。随后研究证实, 在脊椎动物中该信号通路高度保守, 主要发挥调节细胞增殖、控制器官大小和抑制凋亡等作用。Yes 相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)作为该信号通路的下游效应分子, 与果蝇中 Yorkie(Yki)蛋白序列、调控机制和功能高度同

源^[5]。近年来, YAP 蛋白的研究已经成为器官发育、组织损伤修复、肿瘤等领域的研究热点和前沿课题。活化的 YAP 可激发 SMAD 等转录因子的活性, 启动 EMT 的发生, 进而增强癌细胞的转移和侵袭能力^[6]。因此, YAP 与 EMT 的发生紧密相关。本文从 YAP 蛋白的活性调控、YAP 与 I、II、III 型 EMT 之间的关系以及 YAP 蛋白参与调控 EMT 的作用机制等几方面进行综述。

1 YAP 蛋白的活性调控

YAP 蛋白的转录活性主要受其磷酸化调控, 非磷酸化的 YAP 蛋白进入细胞核发挥转录活性, 而磷酸化的 YAP 蛋白则会失去转录活性。YAP 的磷酸化通常发生在 5 个共有 HX(R/H/K)XX(S/T)基序中的丝氨酸残基上^[7]。YAP 在 Ser127 位点上的

* 国家自然科学基金(31670960, 11372203, 31570948)资助项目。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

Tel: 028-85402314, E-mail: liuxiaohg@scu.edu.cn

收稿日期: 2018-02-25, 接受日期: 2018-04-02

磷酸化导致它和 14-3-3 蛋白结合, 滞留于细胞质中, 从而抑制其转录活性, 而 Ser381 位点上的磷酸化则会引起泛素化蛋白 E3 的募集并最终导致 YAP 的泛素化降解^[8]. 调控 YAP 蛋白磷酸化发生的主要因素有以下几点:

1.1 Hippo 依赖性调控

Hippo 信号通路在生物体内具有高度的保守性, 在器官发育、组织代谢、肿瘤的发生发展过程中均发挥重要作用, 其是由一系列蛋白激酶和转录因子构成的激酶链, 核心组件有 MST1/2 (macrophage stimulating 1/2, MST1/2)、LATS1/2 (large tumor suppressor kinase 1/2, LATS1/2), 及下游效应分子 YAP^[9]. YAP 作为 Hippo 信号通路上关键的转录共激活因子, 正常生理状态下, 活化的 MST1/2 可以磷酸化并激活其底物 LATS1/2, 进而直接引起下游 YAP 的磷酸化, 使 YAP 滞留在细胞质内或降解, 无法产生转录活性^[8]. 但是, 当 Hippo 信号通路受各种理化因素影响被阻断或失活时, YAP 则以非磷酸化状态进入细胞核并结合 TEAD 蛋白家族等转录因子, 进而调控 *Survivin*、*Myc* 等基因的表达^[10]. 进一步的研究表明, Hippo 信号通路的活性受 G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptors, GPCRs) 的调控^[11], GPCRs 是细胞表面信号转导蛋白, 通过细胞质异源三聚体 G 蛋白的聚合、解离过程可将细胞外信号扩散到细胞内的下游效应分子上. 胰高血糖素 (glucagon)、肾上腺素 (epinephrine) 可激活 LATS1/2 的活性进而抑制 YAP 的入核活化; 溶血磷脂酸 (serum-borne lysophosphatidic acid, LPA)、鞘氨醇-1-磷酸 (sphingosine 1-phosphophate, S1P) 则会绑定同源 GPCRs, 激活 Gα12/13 和 Gαq/11, 抑制 LATS1/2 的活性, 从而抑制 YAP 在细胞质内的磷酸化, 促进下游基因活化效应的发生^[12].

1.2 非 Hippo 依赖性调控

除 Hippo 通路以外, YAP 还受到多种非 Hippo 依赖性信号分子的调控.

Angiomotin (AMOT) 蛋白: YAP 的 WW 结构域可作为蛋白质相互作用的位点使其产生抑制性的效果. AMOT 蛋白是参与维持紧密连接 (tight junction, TJ) 完整性和上皮细胞极性的血管肌动蛋白, 它可以直接结合 YAP 蛋白的 WW-PPXY 结构域, 引起 YAP 在细胞膜紧密连接处的锚定和细胞质滞留. 此外, AMOT 还可通过促进 YAP 磷酸化来抑制 YAP 的入核行为^[13-14]. AMOT 蛋白还有很

多同源家族蛋白质如 Angiomotin-Like 1/Angiomotin-Like 2 等对 YAP 均有调控作用. 有研究显示, 敲减 AMOTL2 后 YAP 在细胞质中的磷酸化水平降低, 而在核内出现明显聚集^[15].

Micro-RNA (MiR): Micro-RNA 在 YAP 活性调控中也发挥了重要作用. 已有的研究表明, MiR-506, MiR-15a 和 MiR-16-1 均可作为 YAP1 的物理拮抗剂阻断 YAP1 诱导的 TEAD 的转录活性, 进而调控 YAP 蛋白表达, 抑制胃癌细胞增殖、侵袭和发生上皮-间充质转化的能力^[16-17]. MiR-361 可通过阻断 YAP 的转录后调控抑制 YAP 的表达, 进而抑制肺癌细胞的增殖^[18]. 但是, MiR-3910 则可通过调节 Hippo 信号通路上游的 MST1 的表达激活 YAP, 促进肝癌的发展^[19].

1.3 力学信号及其他因素的调控

YAP 蛋白的活性与其所处的体内力学微环境密切相关, 不同刚性的胞外基质和细胞黏附等因素引起的力学应激可以调控 YAP 的活性. 当细胞长在较硬的基质上时, YAP 主要位于细胞核并促进基因的转录; 而当细胞长在较软的基质上时, YAP 则被限制在细胞质, 无法发挥辅助转录因子的活性^[20]. 尽管有研究表明力学应激对 YAP 的调控是依赖于 LATS 1/2 信号蛋白实现的^[21], 但是关于当中涉及的具体机制还有待进一步深入研究. 另有研究指出, YAP 可作为流体力学感受器, 淋巴管或血管中液体流动时产生的流体剪切力通过 Rock-LIMK-cofilin 信号轴调节细胞骨架, 促进 YAP1 入核发挥转录活性, 进而增强细胞的运动能力^[22].

另有研究报道, 不同能量代谢和糖酵解也会对 YAP 的磷酸化产生影响^[23]. 在低氧、缺血、营养缺乏等条件下, 生物能量代谢调节中的关键激酶 AMPK (AMP-activated protein kinase) 被激活, AMPK 可直接磷酸化 YAP 的第 94 位丝氨酸残基或通过磷酸化 AMOTL1 进而激活 LATS1/2 抑制 YAP 入核发挥转录活性^[24-26]. 除此之外, 肿瘤组织在缺氧条件下时, YAP 蛋白可与缺氧诱导因子 1α (hypoxia-inducible factor-1α, HIF-1α) 相互作用, 进而促进 YAP 入核活化, 激活转录因子 Snail^[27].

2 YAP 与 EMT 的关系

EMT 是一个细胞在上皮样和间充质样两种状态间相互转变的适应性的过渡过程. 在转化过程中, 细胞呈现出一系列的过渡形态, 具有渐变性和可逆性. 当机体发生不同的生理性或病理性变化

时, EMT 的特点也存在显著差异. 目前认为, EMT 可分为三类: 参与胚胎形成和发育过程中的 I 型 EMT; 与组织受损后的修复、再生及纤维化有关的 II 型 EMT; 以及上皮细胞来源的恶性肿瘤通过间充质转化, 获得更强的侵袭、转移能力的 III 型 EMT. 关于 EMT 的分型、特征、相关分子标志物如表 1 所示.

YAP 作为重要的转录共激活因子, 在调节组织细胞的增殖、凋亡及器官的大小等方面发挥重要作用, 且与肿瘤的发生、发展关系密切. 而 EMT 在胚胎发育、脏器纤维化及肿瘤进展过程中也发挥着极重要的作用. 已有研究表明: EMT 的发生过程中常常伴随着 YAP 和 TAZ(YAP 的同源物, 结构和功能类似)表达的上调及核内 YAP 含量的增加^[28].

Table 1 Classification and characteristics of EMT
表 1 EMT 的分型及其特征

EMT 分型	相关生理、病理过程	特征	纤维化	侵袭和转移	分子标志物	相关参考文献
I 型	移植, 胚胎形成, 器官发育	该过程中产生的间充质细胞随后又可 通过 MET 的作用再次形成上皮细胞	否	否	上皮样标志物: E-cadherin; Cytokeratin	[29, 31-32]
II 型	损伤修复, 组织再生, 器官纤维化	该过程中产生的间充质细胞在原部位 转变为成纤维细胞. 当发生损伤或炎症时, 该过程起初作 为能产生成纤维细胞及其他相关细胞 的修复相关事件而发生. 若炎症减弱 或消失, 该过程也随即停止; 反之, 持续炎症反应易导致组织损伤, 如发 生器官纤维化.	是	否	间充质样标志物: Vimentin; N-cadherin; α -SMA	[33-35, 37]
III 型	上皮细胞来源的恶性肿瘤的侵袭和转移	主要发生在之前经历过遗传或表观变化 的细胞内(尤其是那些利于细胞增殖和局 部肿瘤发展的基因发生变化的细胞). 致癌基因与抑癌基因的变化与 III 型 EMT 协同作用, 促进肿瘤细胞的侵袭和 转移.	否	是	转录因子: Snail; Slug, Zeb1	[42-46, 50]

2.1 YAP 与组织发育中的 I 型 EMT

EMT 最早被发育生物学家用来描述胚胎发育过程中某些特定部位的上皮细胞所发生的形态学改变. EMT 主要参与调节哺乳类动物胚胎发育的 3 个阶段:

- a. 通过诱导胚内中胚层促进三胚层胚盘的形
成.
- b. 三胚层胚盘形成后可参与诱导神经板向神
经嵴细胞的转化, 并调节神经嵴细胞的广泛迁移和
多向分化. 神经嵴是一种胚胎组织, 被认为能够对
多种环境刺激做出响应从而获得最恰当的细胞命运
和迁移特性. 在研究神经嵴发育的多种体外模型
中, 人们发现 YAP 蛋白能够促进一种早期神经嵴
表型及迁移的发生^[29].
- c. 参与了心、肺、胃、肾、颌面部器官和四
肢等多个器官的发生^[30]. 血管生成是多种细胞和细

胞间相互作用的动态交互过程, 在组织发育、器官
形成过程中至关重要. 内皮细胞相互作用受到生长
因子、炎性细胞因子或血流动力学的调节, 该过程
是维持血管内部稳态(homeostasis)的关键. YAP 被
发现在活性血管生成区域即内皮细胞连接相对松散
处高表达, YAP 的亚细胞定位和活性受到
VE-cadherin 介导的 PI3K (phosphatidylinositide 3-
kinases, PI3K)-Akt (RAC- α serine protein kinase,
Akt)通路的调节, YAP 通过影响血管生成素 2
(angiopoietin-2)的表达来调节内皮萌芽^[31]. 另外,
心外膜的形成是冠状动脉血管发育成熟的起始步
骤. 有证据表明: 在心脏外膜的发育过程中, YAP
介导了 EMT 的发生, 诱导心内膜细胞向心肌细胞
及平滑肌细胞分化. 抑制 YAP 可阻碍心外膜 EMT
进程, 并降低心外膜细胞增殖和分化成冠状动脉内
皮细胞的能力^[32].

2.2 YAP与器官纤维化中的II型EMT

器官纤维化是多种慢性炎症疾病的病理特征,也是类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、骨髓纤维变性、硬皮病、慢性移植排斥等慢性自身免疫性疾病的主要病理表现。持续的炎症会使上皮细胞在原部位经 EMT 转化后形成成纤维细胞(间充质样细胞),最终导致组织或器官的纤维化。因此,成纤维细胞是器官纤维化过程中最重要的节点细胞,它们的分化可以被多种理化因素驱动。现有的研究表明, TGF- β (transforming growth factor beta)、Wnt1/Int 1、YAP/TAZ 等信号通路参与调控成纤维细胞的形成,如:在肺纤维化的组织中, YAP/TAZ 表达水平显著升高,并长期位于细胞核内^[33]。此外,基因敲除 YAP/TAZ 的小鼠成纤维细胞中与成肌纤维化细胞分化能力相关的蛋白质表达水平降低,如胶原前体蛋白 α -SMA(alpha smooth muscle actin, α -SMA)^[34]。

在心脏纤维化过程中, YAP/TAZ 也发挥重要作用。最新研究表明,新生鼠心脏低温损伤中纤维组织的形成与心外膜细胞经历 EMT 的过程有关。当心脏损伤后,心外膜细胞浸润至心外膜下,通过 Wnt 信号发生 EMT 导致心肌成纤维细胞的形成和活化^[35]。在心脏损伤后的再生过程中, YAP 通过调控 Wnt 及胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)保留心肌细胞的再生能力,维持心肌细胞的正常功能。当特异性地敲除心肌细胞中的 YAP 基因后,阻碍了心肌细胞在心脏损伤后的再生能力,并且导致了心脏纤维化的形成^[36]。

在肾纤维化进程中,肾小管上皮细胞发生 EMT, miR-130b-Snail 信号通路参与该上皮间充质转化进程,促进肾小管间质纤维化导致肾间质纤维组织的累积,最终引起肾功能衰退^[37]。体外实验研究表明,当小鼠肾脏发生炎症反应造成损伤时,损伤部位会募集多种类型的细胞(如巨噬细胞或活化的成纤维细胞),上述细胞通过释放大量生长因子(如 TGF- β 、PDGF、EGF、FGF-2 等)、趋化因子和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs, 如 MMP-2、MMP-3 等)诱导 EMT 的发生^[38]。在肾小管上皮细胞中沉默 YAP 基因后,活化的 TGF- β 和 β -catenin 表达显著上升,并加速了 EMT 的发生^[39]。

增生性玻璃体视网膜病变(proliferative vitreoretinopathy, PVR)中视网膜色素上皮(retinal pigment epithelial, RPE)细胞经历 EMT 过程形成成纤维细胞表型, β -catenin/Wnt 及 Hippo-YAP 信号

通路破坏细胞间黏附,在 TGF- β 存在及 Rho GTPases 介导的细胞骨架张力情况下, RPE 细胞更进一步分化形成肌成纤维细胞,最终引起黄斑前膜(epiretinal membranes, ERM)的形成和收缩,导致视网膜折叠和脱落^[40]。

2.3 YAP与肿瘤细胞迁移侵袭中的III型EMT

III型 EMT 是指上皮细胞来源的肿瘤细胞丢失上皮样细胞表征(如 E-cadherin)获得更多的间充质样细胞表征(如 N-cadherin),进而获得更强的侵袭能力和转移能力。III型 EMT 的发生过程如下:
a. 上皮标志物 E-cadherin 表达降低,上皮细胞间连接及细胞极性减弱或消失;
b. 诱导平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达,肌动蛋白重组,上皮细胞向间充质细胞形态发生转变;
c. 在基质金属蛋白酶 MMP-2 作用下,基底膜被破坏,新形成的细胞具有活动性;
d. 细胞迁移和侵袭能力增加,在肿瘤原位灶中分离,通过底部基质侵入循环,并在远处某部位逆转为上皮表型,形成一个新的转移灶^[41-42]。

近年来研究表明, Hippo-YAP 信号通路作为一种肿瘤抑制信号通路在肿瘤的发生、发展和转移过程中起重要作用^[43]。未磷酸化的 YAP/TAZ 可由细胞质进入细胞核,与转录因子 TEADs(TEA domain family members)结合促进基因转录,诱导 EMT 的发生,增强细胞增殖、转移和侵袭能力。YAP 的过表达通过促进 EMT 的发生最终加速了肿瘤的发生和转移^[44]。在多种亚型的乳腺癌中, YAP 的表达上调能促进肿瘤细胞增殖,增强肿瘤细胞转移的能力,使肿瘤细胞产生化疗耐受^[45]。研究表明,在胶质瘤细胞中,敲减 YAP 后间充质标志物 N-cadherin、Twist 表达降低;反之,过表达 YAP 后其表达显著升高^[46]。肝脏对 Hippo-YAP 信号通路的改变具有更强的应激反应, YAP 的高表达会引起肝肿大,而沉默 YAP 后,肝脏可恢复到正常大小,实质结构清晰有序。YAP 的高表达还促进肝细胞发生 EMT 进而向具有更强分化能力的肝脏祖细胞表型细胞转化,增强的 YAP 活性可能是肝脏早期致癌信号^[47]。在临床应用方面, YAP 也被当作一种新的肝癌诊断标志物^[48]。

上述研究结果表明, YAP 可通过影响血管生成、胞间连接、细胞骨架等诱导三种类型 EMT 发生,在胚胎发育、脏器纤维化及肿瘤进展过程中发挥重要作用^[49-50]。但 YAP 调控 EMT 的分子机制非常复杂,涉及多种信号通路及下游的信号分子,有待更进一步的研究探索。

3 YAP 调节 EMT 的分子机制

3.1 YAP 通过细胞连接调控 EMT

黏附连接 AJs(adherence junctions, AJs)和细胞极性复合物是维持细胞基底-顶端极性稳定的重要结构, 黏附连接或外侧极性成分的丢失将会促进肿瘤的发生和转移. 肿瘤细胞发生 EMT 后, 细胞紧密连接和黏附连接都会被打开, 细胞间连接被打破, 细胞迁移能力增强, 而 YAP 在调控细胞间连接中也起着重要作用.

肿瘤细胞发生 EMT 伴随着上皮标志物 E-cadherin 表达的降低和间充质标志物 N-cadherin 表达的升高, 这两种蛋白质都和细胞间的黏附连接紧密相关. 在体外肿瘤细胞的侵袭试验中, 丢失 E-cadherin 会导致肿瘤细胞的侵袭能力显著增强; 而 N-cadherin 的高表达导致了细胞间连接的丢失, 进而使细胞迁移能力增强. YAP 可以从基因或蛋白质水平调控细胞间连接蛋白的表达水平对细胞间连接产生影响, 诱导 EMT 的发生, 调控肿瘤的迁移和侵袭^[51]. 转基因 YAP 小鼠肝脏 E-cadherin 的免疫组化和胆管电镜结果显示了反常的黏附连接结构. 在该转基因小鼠上获取的原代肝细胞和敲除 YAP 基因的肝细胞中, 他们发现 YAP 抑制了 E-cadherin 介导的细胞间连接形成. 转染了 YAP-siRNA 的肝癌细胞与对照组相比, E-cadherin 表达显著增高, N-cadherin 表达降低, 且实验组细胞迁移能力显著降低, 说明肝癌细胞中 YAP 的表达和 EMT 标记物变化密切相关, HSP90(heat shock proteins 90, HSP90)的抑制造成了 YAP 的核定位及活化, 引起细胞间连接的形成和黏附连接处 E-cadherin、 β -catenin 的共定位^[52]. 对小鼠肝细胞进行 YAP 基因改造后, 观察到小鼠发生严重的黄疸, 这可能是黏附连接的缺失引起胆汁漏入血液所导致的^[53].

AMOTL1(angiomotin-like protein 1), 是一系列能够促进上皮间紧密连接形成的蛋白质家族, E3 泛素连接酶 Nedd4.2(neural precursor cell expressed developmentally downregulated protein 4, Nedd4)可以锚定 AMOTL1, 使其进行泛素化降解. YAP 可通过募集能够在 Nedd4.2 酪氨酸残基处磷酸化的 c-Abl (abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1, Abl), 改变泛素连接酶的活性, 从而通过拮抗 Nedd4.2 的功能使 AMOTL1 免于降解^[54]. AMOTL2(angiomotin-like 2)作为 LATS2 的一个激

活子, 可结合并激活 LATS2, 促进细胞的接触抑制作用, 磷酸化转录共调节因子 YAP, 而 LATS2 和 AMOTL2 均被定位于紧密连接, 提示: Hippo 通路的成分在紧密连接处的聚集能够激活 LATS2 并且能发挥生长抑制的效应^[55].

3.2 YAP 通过细胞骨架调控 EMT

在细胞中, 细胞骨架是一种具有高度动态的结构, 它的聚合和解聚控制了几乎一切细胞生物学行为, 如细胞内吞活动、细胞运动以及肿瘤细胞的迁移和侵袭等. 研究显示: YAP 与细胞骨架的重构密切相关^[56]. 胶质瘤细胞中, YAP 过表达影响肌动蛋白 F-actin 应力纤维的分布, 促进伪足的形成, 诱导细胞形态发生改变, 调控细胞迁移^[46].

多项研究表明, Rho GTPases 在肌动蛋白细胞骨架的重构中发挥至关重要的作用^[57]. 在上皮样细胞中, Rho GTPases 被 p120-catenin 抑制活性并稳定的跟细胞膜上的 E-cadherin 结合, 起到了稳定上皮样表征的作用. 然而, 在发生 EMT 的过程中, Rho GTPases 与细胞质内的 p120-catenin 结合, 同时, p120-catenin 和 N-cadherin 结合, 激活了 Rho GTPases 的活性, 共同促进了 EMT 的发生^[58]. 在人的胃癌细胞中, YAP 可以通过激活 ARHGAP29 的转录抑制 RhoA 的活性, 进而影响 F-actin 的解聚, 降低细胞骨架的刚度, 调控 EMT 的发生和细胞的迁移^[56].

在 EMT 的研究中, TGF- β 被认为是诱导细胞发生 EMT 的重要因素. 体内外实验证实, TAZ/YAP 的下调缓解了损伤诱导上皮 Nox4 的表达, 进而抑制 EMT 的发生^[59]. 在纤维化进程里, TGF- β 诱导的 NADPH 氧化酶 Nox4 的表达是促使肌成纤维细胞转化十分重要的一步, 而 Nox4 的表达同时需要 TGF- β 活化 Smad3 (SMAD family member 3, Smad3)及 YAP/TAZ, YAP/TAZ 可以与活化的 Smad3 相互作用, 进而调控细胞骨架, 促使发生 EMT^[59].

3.3 YAP 参与其他信号通路调控 EMT

在不同的肿瘤类型中, YAP 参与调控 EMT 的机制是多元化的; 相同的是上游 Hippo 信号通路等被抑制, 未磷酸化而进入细胞核的 YAP 是促进肿瘤侵袭和发生 EMT 的一个重要因子. ZEB1(zinc finger E-box-binding homeobox 1, ZEB1)是一种 EMT 激活子, 在多种肿瘤中均发现与癌症的高转移、高侵袭力、治疗耐受性及预后较差相关, 可与 YAP 直接结合, 从阻遏物变成转录活化因子, 二

4 总结和展望

在不同的信号刺激下, YAP 接受多重通路传递的信号, 受到各种磷酸激酶的作用, 通过入核和不入核两种状态对下游效应分子产生不同的生物学效果. 在心脏等器官发育、肝和肺纤维化以及肿瘤的侵袭及转移过程中, EMT 相关标志物均发生改变, 而 YAP 都参与到其中并发挥重要作用. 特别值得注意的是, 近年来, YAP 蛋白已作为抗肿瘤靶向治疗的热点. 在多种不同类型的肿瘤中, YAP 均可以诱导 EMT 的发生并促进肿瘤细胞侵袭、迁移能力增加进而导致其疗效差, 术后极易复发, 且术后 5 年存活率低^[68]. 因此, 以 YAP 为靶点进行抗肿瘤基因编辑靶向治疗则能从肿瘤发展信号通路上游阻断肿瘤发生、降低侵袭力和肿瘤耐药性产生的可能, 从而达到良好的抗肿瘤治疗效果.

参 考 文 献

- [1] Serrano-Gomez S J, Maziveyi M, Alahari S K. Regulation of epithelial-mesenchymal transition through epigenetic and post-translational modifications. *Molecular Cancer*, 2016, **15**: 18–31
- [2] Nieto M A, Huang R Y, Jackson R A, *et al.* Emt: 2016. *Cell*, 2016, **166**(1): 21–45
- [3] Ishikawa K, Sreekumar P G, Spee C, *et al.* α B-crystallin regulates subretinal fibrosis by modulation of epithelial-mesenchymal transition. *The American Journal of Pathology*, 2016, **186**(4): 859–873
- [4] Wang S, Li H, Wang G, *et al.* Yes-associated protein (YAP) expression is involved in epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *Clin Transl Oncol*, 2016, **18**(2): 172–177
- [5] Sorrentino G, Ruggeri N, Specchia V, *et al.* Metabolic control of YAP and TAZ by the mevalonate pathway. *Nature Cell Biology*, 2014, **16**(4): 357–366
- [6] Chaikuad A, Bullock A N. Structural basis of intracellular TGF- β signaling: receptors and smads. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2016, **8**(11): a022111
- [7] Zhao B, Li L, Tumaneng K, *et al.* A coordinated phosphorylation by Lats and CK1 regulates YAP stability through SCF (β -TRCP). *Genes Dev*, 2010, **24**(1): 72–85
- [8] Yu F X, Zhao B, Guan K L. Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer. *Cell*, 2015, **163**(4): 811–828
- [9] Zhang K, Qi H X, Hu Z M, *et al.* YAP and TAZ take center stage in cancer. *Biochemistry*, 2015, **54**(43): 6555–6566
- [10] Marti P, Stein C. YAP promotes proliferation, chemoresistance, and angiogenesis in human cholangiocarcinoma through TEAD transcription factors. *Hepatology*, 2015, **62**(5): 1497–1510
- [11] Zhou X, Wang Z, Huang W, *et al.* G protein-coupled receptors: bridging the gap from the extracellular signals to the Hippo pathway. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2015, **47**(1): 10–15
- [12] Yu F X, Zhao B, Panupinthu N, *et al.* Regulation of the Hippo-YAP pathway by G-protein-coupled receptor signaling. *Cell*, 2012, **150**(4): 780–791
- [13] Lv M, Shen Y, Yang J, *et al.* Angiotensin family members: oncogenes or tumor suppressors?. *Int J Biol Sci*, 2017, **13**(6): 772–781
- [14] Moleirinho S, Hoxha S, Mandati V, *et al.* Regulation of localization and function of the transcriptional co-activator YAP by angiotensin. *Elife*, 2017, **6**: e23966
- [15] Zhao B, Li L, Lu Q, *et al.* Angiotensin is a novel Hippo pathway component that inhibits YAP oncoprotein. *Gene Dev*, 2011, **25**(1): 51–63
- [16] Li L, Zhao J G, Huang S S, *et al.* MiR-93-5p promotes gastric cancer-cell progression *via* inactivation of the Hippo signaling pathway. *Gene*, 2018, **641**(1): 240–247
- [17] Deng J, Lei W, Xiang X, *et al.* MicroRNA-506 inhibits gastric cancer proliferation and invasion by directly targeting Yap1. *Tumour Biology*, 2015, **36**(9): 6823–6831
- [18] Zhang S N, Liu Z G, Wu L, *et al.* MiR-361 targets Yes-associated protein (YAP) mRNA to suppress cell proliferation in lung cancer. *Biochem Bioph Res Co*, 2017, **492**(3): 468–473
- [19] Cheng L N, Wang H W, Han S Y. MiR-3910 promotes the growth and migration of cancer cells in the progression of hepatocellular carcinoma. *Digest Dis Sci*, 2017, **62**(10): 2812–2820
- [20] Dupont S, Morsut L, Aragona M, *et al.* Role of YAP/TAZ in mechanotransduction. *Nature*, 2011, **474**(7350): 179–183
- [21] Zhu C, Li L, Zhao B. The regulation and function of YAP transcription co-activator. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2015, **47**(1): 16–28
- [22] Lee H J, Diaz M F, Price K M, *et al.* Fluid shear stress activates YAP1 to promote cancer cell motility. *Nat Commun*, 2017, **8**(1): 1–14
- [23] Zanconato F, Cordenonsi M, Piccolo S. YAP/TAZ at the roots of cancer. *Cancer Cell*, 2016, **29**(6): 783–803
- [24] Wang W, Xiao Z D, Li X, *et al.* AMPK modulates Hippo pathway activity to regulate energy homeostasis. *Nat Cell Biol*, 2015, **17**(4): 490–499
- [25] Mo J S, Meng Z, Kim Y C, *et al.* Cellular energy stress induces AMPK-mediated regulation of YAP and the Hippo pathway. *Nat Cell Biol*, 2015, **17**(4): 500–510
- [26] Deran M, Yang J, Shen C H, *et al.* Energy stress regulates hippo-YAP signaling involving AMPK-mediated regulation of angiotensin-like 1 protein. *Cell Rep*, 2014, **9**(2): 495–503
- [27] Wei H, Xu Z, Liu F, *et al.* Hypoxia induces oncogene yes-associated protein 1 nuclear translocation to promote pancreatic ductal adenocarcinoma invasion *via* epithelial-mesenchymal transition. *Tumour Biol*, 2017, **39**(5): 1–14
- [28] Mohri Z, Del Rio Hernandez A, Krams R. The emerging role of YAP/TAZ in mechanotransduction. *J Thorac Dis*, 2017, **9**(5): E507–E509

- [29] Hindley C J, Condurat A L, Menon V, *et al.* The Hippo pathway member YAP enhances human neural crest cell fate and migration. *Sci Rep*, 2016, **6**(3): 1–9
- [30] Thiery J P, Acloque H, Huang R Y, *et al.* Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*, 2009, **139**(5): 871–890
- [31] Choi H J, Kwon Y G. Roles of YAP in mediating endothelial cell junctional stability and vascular remodeling. *BMB Reports*, 2015, **48**(8): 429–430
- [32] Singh A, Ramesh S, Cibi D M, *et al.* Hippo signaling mediators Yap and Taz are required in the epicardium for coronary vasculature development. *Cell Reports*, 2016, **15**(7): 1384–1393
- [33] Agarwala S, Duquesne S, Liu K, *et al.* Amotl2a interacts with the Hippo effector Yap1 and the Wnt/beta-catenin effector Lef1 to control tissue size in zebrafish. *Elife*, 2015, **4**: e08201
- [34] Mannaerts I, Leite S B, Verhulst S, *et al.* The Hippo pathway effector YAP controls mouse hepatic stellate cell activation. *Journal of Hepatology*, 2015, **63**(3): 679–688
- [35] Mizutani M, Wu J C, Nusse R. Fibrosis of the neonatal mouse heart after cryoinjury is accompanied by Wnt signaling activation and epicardial-to-mesenchymal transition. *Journal of the American Heart Association*, 2016, **5**(3): e002457
- [36] Xin M, Kim Y, Sutherland L B, *et al.* Hippo pathway effector Yap promotes cardiac regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(34): 13839–13844
- [37] Bai X, Geng J, Zhou Z, *et al.* MicroRNA-130b improves renal tubulointerstitial fibrosis *via* repression of Snail-induced epithelial-mesenchymal transition in diabetic nephropathy. *Scientific Reports*, 2016, **6**(2): 1–16
- [38] Strutz F, Zeisberg M, Ziyadeh F N, *et al.* Role of basic fibroblast growth factor-2 in epithelial-mesenchymal transformation. *Kidney Int*, 2002, **61**(5): 1714–1728
- [39] Seo E, Kim W Y, Hur J, *et al.* The Hippo-Salvador signaling pathway regulates renal tubulointerstitial fibrosis. *Sci Rep*, 2016, **6**(8): 1–13
- [40] Tamiya S, Kaplan H J. Role of epithelial-mesenchymal transition in proliferative vitreoretinopathy. *Experimental Eye Research*, 2016, **142**: 26–31
- [41] Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, **15**(3): 178–196
- [42] Cruz-Solbes A S, Youker K. Epithelial to mesenchymal transition (EMT) and endothelial to mesenchymal transition (EndMT): role and implications in kidney fibrosis. *Results Probl Cell Differ*, 2017, **60**(4): 345–372
- [43] Zhang S, Chen Q, Liu Q, *et al.* Hippo signaling suppresses cell ploidy and tumorigenesis through Skp2. *Cancer Cell*, 2017, **31**(5): 669–684
- [44] Pei T, Li Y. YAP is a critical oncogene in human cholangiocarcinoma. *Oncotarget*, 2015, **6**(19): 17206–17220
- [45] Maugeri-Sacca M, Barba M, Pizzuti L, *et al.* The Hippo transducers TAZ and YAP in breast cancer: oncogenic activities and clinical implications. *Expert Rev Mol Med*, 2015, **17**: e14
- [46] Zhang Y, Xie P, Wang X, *et al.* YAP promotes migration and invasion of human glioma cells. *J Mol Neurosci*, 2018, **64**(2): 262–272
- [47] Yimlamai D, Fowl B H, Camargo F D. Emerging evidence on the role of the Hippo/YAP pathway in liver physiology and cancer. *J Hepatol*, 2015, **63**(6): 1491–1501
- [48] Akervall J, Nandalur S, Zhang J, *et al.* A novel panel of biomarkers predicts radioresistance in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *European Journal of Cancer*, 2014, **50**(3): 570–581
- [49] Lu J, Yang Y, Guo G, *et al.* IKBKE regulates cell proliferation and epithelial-mesenchymal transition of human malignant glioma *via* the Hippo pathway. *Oncotarget*, 2017, **8**(30): 49502–49514
- [50] Ling H H, Kuo C C, Lin B X, *et al.* Elevation of YAP promotes the epithelial-mesenchymal transition and tumor aggressiveness in colorectal cancer. *Exp Cell Res*, 2017, **350**(1): 218–225
- [51] Chai J Y, Modak C, Mouazzen W, *et al.* Epithelial or mesenchymal: where to draw the line?. *Biosci Trends*, 2010, **4**(3): 130–142
- [52] Wang S, Li H, Wang G, *et al.* Yes-associated protein (YAP) expression is involved in epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *Clin Transl Oncol*, 2016, **18**(2): 172–177
- [53] Bai H, Zhu Q, Surcel A, *et al.* Yes-associated protein impacts adherens junction assembly through regulating actin cytoskeleton organization. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2016, **311**(3): G396–G411
- [54] Skouloudaki K, Walz G. YAP1 recruits c-Abl to protect angiotensin-like 1 from Nedd4-mediated degradation. *Plos One*, 2012, **7**(4): e35735
- [55] Paramasivam M, Sarkeshik A, Yates J R, *et al.* Angiotensin family proteins are novel activators of the LATS2 kinase tumor suppressor. *Molecular Biology of the Cell*, 2011, **22**(19): 3725–3733
- [56] Qiao Y, Chen J, Lim Y B, *et al.* YAP regulates actin dynamics through ARHGAP29 and promotes metastasis. *Cell Rep*, 2017, **19**(8): 1495–1502
- [57] Linseman D A, Loucks F A. Diverse roles of Rho family GTPases in neuronal development, survival, and death. *Front Biosci*, 2008, **13**(1): 657–676
- [58] Yilmaz M, Christofori G. EMT, the cytoskeleton, and cancer cell invasion. *Cancer Metastasis Rev*, 2009, **28**(1–2): 15–33
- [59] Rozyczki M, Bialik J F, Speight P, *et al.* Myocardin-related transcription factor regulates Nox4 protein expression: linking cytoskeletal organization to redox state. *J Biol Chem*, 2016, **291**(1): 227–243
- [60] Lehmann W, Mossmann D, Kleemann J, *et al.* ZEB1 turns into a transcriptional activator by interacting with YAP1 in aggressive cancer types. *Nature Communications*, 2016, **7**(2): 1–15
- [61] Keshet R, Adler J, Ricardo Lax I, *et al.* c-Abl antagonizes the YAP oncogenic function. *Cell Death and Differentiation*, 2015, **22**(6): 935–945
- [62] 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

- [63] Liu R, Huang S, Lei Y, *et al.* FGF8 promotes colorectal cancer growth and metastasis by activating YAP1. *Oncotarget*, 2015, **6**(2): 935-952
- [64] Dubois F, Keller M, Calvayrac O, *et al.* RASSF1A suppresses the invasion and metastatic potential of human non-small cell lung cancer cells by inhibiting YAP activation through the GEF-H1/RhoB pathway. *Cancer Res*, 2016, **76**(6): 1627-1640
- [65] Yuan Y, Li D, Li H, *et al.* YAP overexpression promotes the epithelial-mesenchymal transition and chemoresistance in pancreatic cancer cells. *Mol Med Rep*, 2016, **13**(1): 237-242
- [66] Salah Z, Itzhaki E, Aqeilan R I. The ubiquitin E3 ligase ITCH enhances breast tumor progression by inhibiting the Hippo tumor suppressor pathway. *Oncotarget*, 2014, **5**(21): 10886-10900
- [67] Pei T, Li Y, Wang J, *et al.* YAP is a critical oncogene in human cholangiocarcinoma. *Oncotarget*, 2015, **6**(19): 17206-17220
- [68] Yu H, Shen Y, Jin J, *et al.* Fluid shear stress regulates HepG2 cell migration through time-dependent integrin signaling cascade. *Cell Adh Migr*, 2018, **12**(1): 56-68

The Advance of YAP Regulating Epithelial-mesenchymal Transition in Cells*

SU Guan-Yue^{1)**}, YU Hong-Chi^{2)**}, HUANG Wen-Wen¹⁾, WANG Ren-Yi³⁾, HU Yi-Qing³⁾,
SHEN Yang¹⁾, WANG Yun-Bing²⁾, LIU Xiao-Heng^{1)***}

⁽¹⁾ Institute of Biomedical Engineering, West China School of Basic Medical Sciences & Forensic Medicine,
Sichuan University, Chengdu 610041, China;

⁽²⁾ National Engineering Research Center for Biomaterials, Chengdu 610065, China;

⁽³⁾ West China School of Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a process by which epithelial-derived cells experience phenotypic transformation, gain mesenchymal-like cell phenotype under the condition of various physical and chemical factors. Many signaling molecules participate in regulating EMT during the process of embryo development, organ regeneration and tumor development. As the downstream effector of Hippo signal pathway, the role of YAP in EMT has been widely studied. It plays a dominant role in gene expression to control the cell proliferation and apoptosis, and organ development and regeneration. In addition, increasing evidences demonstrate that activity of YAP is closely related to tumor migration and invasion, along with the occurrence of EMT. Here, we reviewed the roles of YAP in EMT in tissue development, organ fibrosis and tumor development, and the progress of related molecular mechanisms, which is expected to broaden a new prospective for EMT studies and provide new molecular targets and diagnostic strategies for the treatment of related diseases.

Key words YAP, EMT, tumor metastasis, tissue development, organ fibrosis

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0457

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China(31670960, 11372203, 31570948).

**These authors contributed equally to this work.

***Corresponding author.

Tel: 86-28-85402314, E-mail: liuxiaohg@scu.edu.cn

Received: February 25, 2018 Accepted: April 2, 2018