

Hippo 信号通路与心脏病

顾燕妮 谢春毅

【摘要】 Hippo 信号通路通过调控细胞分化、增殖和凋亡控制细胞和器官的大小。该通路的主要激酶 STE20 样激酶 1/2、大肿瘤抑制基因 1/2、Yes 相关蛋白存在于哺乳动物心脏中,对心肌细胞的生长和死亡起着重要的调节作用,通过影响心肌肥厚、非特异性炎症反应、纤维化及细胞凋亡等,参与修复受损心肌。该文介绍了 Hippo 信号通路的作用。

【关键词】 Hippo 信号通路;心肌细胞;心肌肥厚;纤维化;心肌梗死

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2021.05.007

Hippo 信号通路是一种信号级联反应,最初在果蝇中发现^[1]。在哺乳动物中,Hippo 信号通路由丝氨酸/苏氨酸激酶级联反应、转录共激活因子和转录因子构成。在激酶级联反应中,STE20 样激酶 1/2(MST1/2)与适配蛋白 Salv 相互作用后使 Salv、大肿瘤抑制基因 1/2(LATS1/2)和单极纺锤体(Mps1)相关粘蛋白 1(MOB1)等蛋白磷酸化,促进 LATS1/2 与 MOB1 结合,磷酸化的 LATS1/2 在多个位点上分别磷酸化转录共激活因子、Yes 相关蛋白(YAP)、突触后致密蛋白 95(PSD)、discs 大蛋白(DLG)和闭合小带蛋白 1(ZO-1)、结合基序转录共激活因子(TAZ),使 YAP 和 TAZ 结合物滞留于细胞质,随后泛素化降解。上游激酶失活则会导致 YAP 和 TAZ 的核易位,在细胞核中 YAP 和 TAZ 可与 SV40 增强子结合并能激活 DNA 结合基序(TEA)结构域家族成员 1-4(TEAD1-4)等多个转录因子相互作用,活化下游靶基因,激活细胞增殖、存活和分化等功能^[2]。研究表明,Hippo 信号通路失调与肥胖、2 型糖尿病、非酒精性脂肪肝、心血管疾病以及肿瘤相关^[3]。

1 Hippo 信号通路的调控

微环境氧变化可调控细胞 Hippo 信号通路。当组织处于低氧状态时,E3 泛素连接酶 SIAH2 通过降解 LATS2 抑制 Hippo 信号通路,活化

YAP^[4]。Elosegui-Artola 等^[5]认为机械传导机制通过调节核孔对分子的传输,影响 YAP 的亚细胞定位。细胞内基质使细胞核与基质无接触,细胞核不承受压力时,核孔对 YAP 的转入和转出处于平衡状态。而细胞内坚硬的基质会增加细胞核与细胞骨架的接触面积,形成局部黏连和纤维张力。细胞核承受压力时可变形为扁平状,核膜表面的核孔拉伸,减少了对分子蛋白质酶传输的限制,促进 YAP 转运至核内。

研究表明纤连蛋白的粘附刺激作用可通过粘着斑激酶(FAK)-类固醇受体共激活因子(Src)-磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)信号通路负调控 Hippo 信号通路,促使 YAP 核内聚集,并抑制 FAK、Src、PI3K 或磷酸肌醇依赖蛋白激酶-1(PDK1)以阻断纤连蛋白粘附引起的 YAP 核内聚集^[6]。Crumbs 家族成员 3(CRB3)通过不同机制调控 Hippo 信号通路,减少细胞增殖,促进细胞凋亡。CRB3 作为 Hippo 信号通路的上游调控因子使 MST1/2、LATS1 和 MOB1 磷酸化,继而使 YAP 磷酸化停留于细胞质^[7]。另一种调控机制需要血管动力蛋白家族成员 Amot、Amotl1 和 Amotl2 参与,它们作为连接蛋白可使 CRB3 与 YAP/TAZ 形成复合物,将 YAP/TAZ 定位于细胞质而抑制 YAP/TAZ 转录活性^[8]。Amot、Amotl1 和 Amotl2 还能使 LATS1/2 自身磷酸化,并作为一种骨架蛋白将上游 Salv-MST1 和下游 YAP 连接起来,最终使 YAP/TAZ 磷酸化停滞于细胞质^[9]。

2 Hippo 信号通路参与心肌细胞凋亡和再生

Hippo 信号通路和肌营养不良糖蛋白复合物

项目资助:上海市虹口区国医强优三年行动计划(HGY-KY-2018-04)

作者单位:200082 上海中医药大学附属上海市中西医结合医院 心内科

通信作者:谢春毅,E-mail:xietchunyi@hotmail.com

(DGC)通过协同抑制 YAP 核转位及转录活性,阻止心肌细胞增殖。DGC 是一种跨膜复合物,其中营养不良聚糖蛋白 1(Dag1)可直接与 YAP 结合抑制心肌细胞增殖。Hippo 信号通路诱导 YAP 磷酸化,进一步促进 YAP 与 Dag1 的结合。敲除 *Salv* 基因的新生小鼠在心尖切除术后,心肌细胞可有效再生;而 *Salv* 和 *dgc* 双敲除小鼠,心尖切除部位心肌细胞过度增殖,心尖部位再生^[10]。细胞外基质在调节新生心肌细胞增殖和分化中也发挥了重要作用。Agrin 是新生小鼠心脏完全再生的必要蛋白。体外实验中,重组 Agrin 蛋白以剂量依赖形式促进由人或小鼠多能干细胞诱导的心肌细胞分裂^[11]。

配对同源结构域 2 蛋白(Pitx2)-YAP 相互作用是维持成年小鼠心肌组织损伤后心肌细胞修复能力的关键^[12]。缺乏 Pitx2 的新生小鼠在心尖切除术后心脏无法修复,而成年小鼠发生 Pitx2 过表达能使心肌梗死后的心肌细胞有效再生。Pitx2 与 YAP 共同作用可诱导抗氧化基因表达,保护受损的心肌。即使细胞核中 YAP 低表达,Pitx2 也能募集 YAP 促进靶基因的转录。Ragni 等^[13]研究表明当 Hippo 激酶缺陷,调控 Fat4(一种非经典的钙粘蛋白 Fat)通路可促进心肌细胞增殖。Fat4 是 YAP 上游调节因子,可将 Amotl1 与 YAP 隔离在细胞连接处,防止心脏过度生长。缺乏 Fat4 时,Amotl1 与 YAP 复合物释放并转移到细胞核。这一过程绕过了 Hippo 上游激酶,触发了非经典途径 Hippo 信号通路。

细胞骨架蛋白广泛表达神经纤维蛋白 2(NF2),参与缺血/再灌注(I/R)损伤后 MST1 和 LATS2 介导的心肌细胞凋亡。I/R 损伤后,NF2 通过活化 MST1 抑制 YAP 核转移增加心肌细胞凋亡。特异性敲除 NF2 的小鼠,在 I/R 损伤后心脏 YAP 表达水平上调,可促进心功能恢复。而 NF2 和 YAP 双敲除小鼠不能修复 I/R 引起的心肌受损^[14-15],表明 Hippo 信号通路可能作为 NF2 的下游靶点,参与 I/R 损伤。视神经萎缩蛋白 1(OPA1)是结合在线粒体内膜的融合蛋白,褪黑素通过活化 YAP 可促进与 OPA1 相关线粒体的融合,改善 I/R 引起的损伤^[16]。I/R 损伤可引起线粒体 MST1 活化,继而促进 Bcl-xL 磷酸化,使 Bcl-xL 与 Bax 分离,心肌细胞凋亡。抑制内源性 MST1 可以显著减轻 I/R 诱导的心肌细胞凋亡和心肌损伤^[17]。因此,抑制 Hippo 信号通路活化以及通过非经典途径激

活 YAP 可能是心肌损伤后促进心肌细胞增殖、再生,以及提高心功能的潜在治疗靶点。

在缺血性心力衰竭患者的心脏中,YAP 和 TAZ mRNA 表达水平平均增高,且细胞核中 YAP、TAZ 和 TEAD 蛋白表达均显著高于正常心脏^[18]。说明缺血性心力衰竭患者心脏组织中 YAP 和 TAZ 均处于过度活化状态,YAP 可能是今后研究心脏再生和心肌受损后功能恢复的重点。

3 Hippo 信号通路参与心肌肥厚

心脏急性压力超负荷可过度激活内源性 YAP,YAP 敲除小鼠在主动脉缩窄术(TAC)1 周后表现出心肌肥厚减少、心肌细胞凋亡增加、心肌细胞纤维化加剧和心功能恶化^[19]。因此,心脏急性压力超负荷急性期内源性 YAP 可能介导了心肌肥厚及心肌细胞存活。Ikeda 等^[20-21]研究表明 YAP 过表达对心肌细胞无保护作用。通过高脂饮食诱导肥胖、2 型糖尿病和高血压等代谢综合征小鼠模型,采用 TAC 形成长期(12 周)心脏急性压力超负荷,在心脏组织中可观察到 YAP 持续活化,但 YAP 通过 YAP-TEAD1-抑瘤素 M(OSM)正反馈机制可使心肌细胞去分化,促使心肌细胞收缩力减弱,导致心力衰竭。

心肌细胞的数量增加可导致核内 YAP 上调引起的心脏肥厚。Tian 等^[22]研究表明,微小 RNA(miRNA)302-367 长期过表达抑制了 Hippo 信号通路上游激酶 MST1 和 LATS2 激活,促进核内 YAP 表达,诱导心肌细胞去分化和功能障碍。Monroe 等^[23]通过基因重编程诱导成年小鼠心肌细胞中 YAP 过表达,使心肌细胞部分接近于胎儿的增殖状态,基因重编程小鼠较对照组左室室壁增厚,左室腔减小,心肌细胞数量显著增加,心肌细胞形态减小。

4 Hippo 信号通路参与心脏纤维化

Hippo 信号通路参与心脏纤维化的病变。在成纤维细胞中细胞外基质促进 YAP 核转运,机械性压力可活化 YAP,提高纤维介质和细胞外基质蛋白表达,形成纤维组织与 YAP 相互作用导致纤维化的正反馈回路^[24]。Zhang 等^[25]研究表明,YAP 与转录因子 SMAD3 结合促进心脏结缔组织生长因子表达,导致细胞外基质主要成分 I 型和 III 型胶原沉积,促进心脏纤维化。心血管系统存在内源性 SO₂ 生成系统,可以促进血管扩张,抑制炎症反应,改善心血管系统的胶原重构。给予糖尿病大鼠 SO₂,可减轻心肌纤维化,可能是通过抑制 MST1 改善细胞

凋亡和内质网应激^[26]。

5 Hippo 信号通路参与心肌梗死

Hippo 信号通路可通过调节心肌梗死后炎症反应和重构,促进心功能恢复。心肌梗死后心外膜中 YAP 与 TEAD 结合可促进 IFN- γ 表达,促进调节性 T 细胞(Treg)募集,在心肌受损后修复中起重要作用。成年小鼠心外膜如 YAP/TAZ 表达不足,受损心肌 Treg 及 IFN- γ 表达减少,心肌梗死后可出现严重心室纤维化和心包炎,而给予心肌梗死小鼠 IFN- γ ,可逆转 YAP/TAZ 缺陷引起的 Treg 表达减少以及心肌纤维化,表明心外膜 Hippo 信号通路在心肌梗死恢复期适应性免疫调节中起关键作用^[27]。给予新生小鼠 Toll 样受体 3(TLR3)配体可显著提高心肌细胞糖酵解代谢、YAP 活化以及心肌细胞增殖,其机制是糖酵解促进 LATS 和腺苷酸激活蛋白激酶去磷酸化而失活,最终导致 YAP 核转位并与 TEAD 结合调控 miR-152 表达,而 miR-152 通过抑

制细胞周期抑制 p27kip1 和 DNA 甲基转移酶的表达,促进细胞增殖^[28]。通过心肌细胞缺氧建立心肌梗死模型,心肌梗死后 MST1 的转录和表达明显升高,MST1 缺失能降低心肌细胞炎症反应,活化血红素氧合酶-1,减少缺氧介导的心肌细胞死亡率。心肌梗死时激活 Hippo 信号通路通过抑制血红素氧合酶-1 促进心肌细胞炎症反应,提高心肌细胞活力,减少心肌梗死后炎症反应,可为心肌梗死治疗提供潜在靶点^[29]。

6 小结

Hippo 通路通过调控心肌细胞的增殖和凋亡,影响心肌损伤修复和心衰的发展。YAP 作为 Hippo 通路的下游信号能介导心脏功能,可成为心脏疾病重要的潜在治疗靶点,见图 1。心肌肥厚和心肌纤维化等心脏疾病目前尚无确切疗效的治疗药物,新药研发和 miRNA 干扰生物技术的发展可能是希望所在。

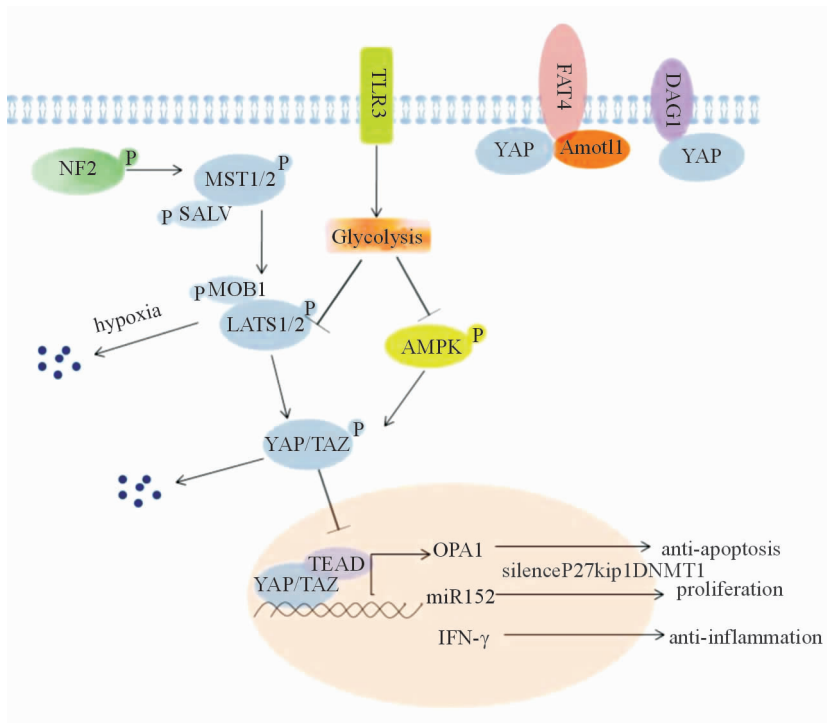


图 1 哺乳动物 Hippo 信号通路

参 考 文 献

- [1] Zheng Y, Pan D. The Hippo signaling pathway in development and disease [J]. Dev Cell, 2019, 50 (3): 264-282.
- [2] Meng Z, Moroishi T, Guan KL. Mechanisms of Hippo pathway regulation[J]. Genes Dev, 2016, 30(1):1-17.
- [3] Ardestani A, Lupse B, Maedler K. Hippo signaling: key emerging pathway in cellular and whole-body metabolism[J]. Trends Endocrinol Metab, 2018, 29(7):492-509.
- [4] Ma B, Chen Y, Chen L, et al. Hypoxia regulates Hippo signalling through the SIAH2 ubiquitin E3 ligase[J]. Nat Cell Biol, 2015, 17(1):95-103.
- [5] Elosgui-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.
- [6] Kim NG, Gumbiner BM. Adhesion to fibronectin regulates Hippo signaling via the FAK-Src-PI3K pathway[J]. J Cell Biol, 2015, 210(3):503-515.

- [7] Mao X, Li P, Wang Y, et al. CRB3 regulates contact inhibition by activating the Hippo pathway in mammary epithelial cells[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(1):e2546.
- [8] Wang SP, Wang LH. Disease implication of hyper-Hippo signalling[J]. *Open Biol*, 2016, 6(10):160119.
- [9] Mana-Capelli S, Mccollum D. Angiomotins stimulate LATS kinase autophosphorylation and act as scaffolds that promote Hippo signaling [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293 (47): 18230-18241.
- [10] Morikawa Y, Heallen T, Leach J, et al. Dystrophin-glycoprotein complex sequesters YAP to inhibit cardiomyocyte proliferation[J]. *Nature*, 2017, 547(7662): 227-231.
- [11] Bassat E, Mutlak YE, Genzelinakh A, et al. The extracellular matrix protein agrin promotes heart regeneration in mice[J]. *Nature*, 2017, 547(7662):179-184.
- [12] Tao G, Kahr PC, Morikawa Y, et al. Pitx2 promotes heart repair by activating the antioxidant response after cardiac injury[J]. *Nature*, 2016, 534(7605):119-123.
- [13] Ragni CV, Diguët N, Le Garrec JF, et al. Amotl1 mediates sequestration of the Hippo effector YAP1 downstream of Fat4 to restrict heart growth [J]. *Nat Commun*, 2017, 8:14582.
- [14] Matsuda T, Zhai P, Sciarretta S, et al. NF2 activates Hippo signaling and promotes ischemia/reperfusion injury in the heart[J]. *Circ Res*, 2016, 119(5):596-606.
- [15] Dalal S, Connelly B, Singh M, et al. NF2 signaling pathway plays a pro-apoptotic role in beta-adrenergic receptor stimulated cardiac myocyte apoptosis[J]. *PLoS One*, 2018, 13(4):e0196626.
- [16] Ma S, Dong Z. Melatonin attenuates cardiac reperfusion stress by improving OPA1-related mitochondrial fusion in a YAP-Hippo pathway-dependent manner [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2019, 73(1):27-39.
- [17] Nakamura M, Zhai P, Del Re DP, et al. MST1-mediated phosphorylation of Bcl-xL is required for myocardial reperfusion injury[J]. *JCI Insight*, 2016, 1(5):e86217.
- [18] Hou N, Wen Y, Yuan X, et al. Activation of YAP1/TAZ signaling in ischemic heart disease and dilated cardiomyopathy [J]. *Exp Mol Pathol*, 2017, 103(3):267-275.
- [19] Byun J, Del Re DP, Zhai P, et al. Yes-associated protein (YAP) mediates adaptive cardiac hypertrophy in response to pressure overload [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294 (10): 3603-3617.
- [20] Ikeda S, Mukai R, Mizushima W, et al. Yes-associated protein (YAP) facilitates pressure overload-induced dysfunction in the diabetic heart[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2019, 4(5):611-622.
- [21] Ikeda S, Mizushima W, Sciarretta S, et al. Hippo deficiency leads to cardiac dysfunction accompanied by cardiomyocyte dedifferentiation during pressure overload [J]. *Circ Res*, 2019, 124(2):292-305.
- [22] Tian Y, Liu Y, Wang T, et al. A microRNA-Hippo pathway that promotes cardiomyocyte proliferation and cardiac regeneration in mice [J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7 (279):279ra38.
- [23] Monroe TO, Hill MC, Morikawa Y, et al. YAP partially reprograms chromatin accessibility to directly induce adult cardiogenesis in vivo[J]. *Dev Cell*, 2019, 48(6):765-779.
- [24] Noguchi S, Saito A, Nagase T. YAP/TAZ signaling as a molecular link between fibrosis and cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11):3674.
- [25] Zhang J, Liu J, Gao S, et al. Antiapoptosis and antifibrosis effects of qishen granules on heart failure rats via Hippo pathway[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019:1642575.
- [26] Liu M, Liu S, Tan W, et al. Gaseous signalling molecule SO₂ via HippoMST pathway to improve myocardial fibrosis of diabetic rats[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(6):8953-8963.
- [27] Ramjee V, Li D, Manderfield LJ, et al. Epicardial YAP/TAZ orchestrate an immunosuppressive response following myocardial infarction [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127 (3): 899-911.
- [28] Wang X, Ha T, Liu L, et al. TLR3 mediates repair and regeneration of damaged neonatal heart through glycolysis dependent YAP1 regulated miR-152 expression [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(5):966-982.
- [29] Tian Y, Song H, Jin D, et al. MST1-Hippo pathway regulates inflammation response following myocardial infarction through inhibiting HO-1 signaling pathway[J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2020, 40(3):231-236.

(收稿:2020-10-08 修回 2021-06-10)

(本文编辑:程雪艳)