

Hippo 通路在心脏发育、再生和疾病中的作用

常文婧 王丽娜

(哈尔滨医科大学基础医学院病理生理学教研室, 黑龙江 哈尔滨 150086)

【摘要】 由于人类的心脏缺乏自我修复的能力, 故心肌梗死等损伤后心肌细胞的丢失可导致心力衰竭和死亡。因此, 努力提高心肌细胞自我修复能力是具有前景的治疗策略。Hippo 通路作为器官大小和生长的调节因子, 是一种进化和功能上十分保守的通路, 其在细胞增殖、凋亡和分化中起重要作用。靶向 Hippo 通路可为心肌梗死后心肌的修复和再生提供新的治疗思路。此篇综述总结了近十年的发现, 揭示 Hippo 通路在心脏发育、再生和疾病中的作用, 并探讨其在心脏疾病诊断和治疗中的可能策略。

【关键词】 Hippo 通路; 心脏发育; 再生; 心肌梗死

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2019.08.011

Role of Hippo Pathway in Heart Development, Regeneration and Disease

CHANG Wenjin, WANG Lina

(Department of Pathophysiology, Basic School of Medicine, Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang, China)

【Abstract】 The human heart lacks the ability to repair itself, so the loss of myocardial cells after injury such as myocardial infarction can lead to heart failure and death. Therefore, improving cardiomyocyte viability remain attractive therapeutic strategies. Hippo pathway, as a regulator of organ size and growth, is an evolutionarily and functionally conservative pathway, which plays an important role in cell proliferation, apoptosis and differentiation. Targeting the Hippo pathway provides a new therapeutic approach for cardiac repair and regeneration for myocardial infarction. In this review, we summarize the findings of the past decade, reveal the role of Hippo pathway in heart development, regeneration and disease, and explore its possible strategies in the diagnosis and treatment of heart disease.

【Key words】 Hippo pathway; Heart development; Regeneration; Myocardial infarction

Hippo 信号通路是一个高度保守的生长控制信号通路, 最初在果蝇细胞内发现, 可抑制细胞增殖并诱导细胞凋亡^[1]。Yes 相关蛋白 (Yes associated protein, YAP) 是一种多功能的细胞内连接蛋白和转录共激活因子, 在 Hippo 信号通路中起中心枢纽作用。心脏疾病已成为中国乃至全球首位死亡原因, 探索心脏发育和调控异常的原因及相关机制可为心脏疾病的预防和治疗提供重要的科学依据。近年来的研究显示, Hippo 信号通路参与心脏发育和生理功能的调节^[2], 包括心脏发育、心肌再生等过程, 该通路调节异常会导致心脏疾病的发生, 如心肌梗死、心肌肥大等。现

简要概述目前对 Hippo 通路基本机制的理解, 重点介绍 Hippo 通路在心脏生理学上的作用, 并在此基础上研究 Hippo 通路与心脏疾病的关联, 为靶向心脏疾病的治疗提供理论依据。

1 Hippo 通路的组成

Hippo 通路是在果蝇中首先发现和定义的级联信号, 它是决定器官大小、调节基本细胞过程的关键分子机制。哺乳动物 Hippo 通路的主要组件包括哺乳动物 Ste20 样蛋白激酶 1/2 (Mst1/2)、大肿瘤抑制激酶 1/2 (LATS 1/2)、支架蛋白萨尔瓦多同源物 1 (SAV1)、支架蛋白 MOB 域激酶激活剂 1A 和 1B (MOB1A/B)、

基金项目: 黑龙江省自然科学基金 (H2016015)

通讯作者: 王丽娜, E-mail: wangln6@126.com

YAP 和具有 PDZ 结合基序的转录共激活因子 (TAZ), 它们分别与果蝇的 Hpo、Wts、Sav、Mats 和 Yki 同源^[3]。LATS 与 MOB 激酶复合物可磷酸化 YAP 和 TAZ, 这是两个相关的转录辅助激活因子。磷酸化后, 最下游的 Hippo 信号元件 YAP 和 TAZ 被排除在细胞核之外, 在转录上不起作用^[4]。相反, 在 Hippo 信号缺乏的情况下, YAP 不再被磷酸化, 导致 YAP 与转录增强子相关域 (TEAD) 在细胞核内形成复合物, 并开始诱导促进细胞生长和致癌基因的转化^[5]。迄今为止研究最多的是 YAP-TEAD 的相互作用, 这已被证明可调节许多活性 YAP 下游的生物学功能包括基因表达、增殖和转化^[6]。

2 Hippo 通路 with 心脏发育

胚胎/出生后早期和成人心脏之间的一个重要区别是器官生长的潜在机制。Hippo 途径被认为是器官生长的主要调控因子。这是因为核心激酶功能的丧失引起 YAP/TAZ 在小鼠体内的过度激活, 导致小鼠心脏的过度生长^[7]。具体机制是: YAP/TAZ 被核心激酶功能突变体缺失或组成活性磷酸化突变体 YAP 或 TAZ 过表达而过度激活, 其中主要的是 LATS 磷酸化位点 (丝氨酸残基) 突变为丙氨酸 (人类 YAP 中的 S127 和小鼠 YAP 中的 S109, 称为 YAP-1SA)。小鼠胚胎发生过程中 Mst1 和 Mst2 激酶的条件性缺失或 YAP-1SA 过表达, 都会促进心肌细胞的增殖, 导致心脏广泛过度生长^[8]。

在小鼠心脏的胚胎发育过程中, 心肌细胞靶向诱导具有活性的 YAP 突变体 (S127A) 可导致心肌细胞增殖、心肌增厚和胚胎致死率增加^[9]。在出生后的小鼠中, vestigial-like 4 (VGLL4) (哺乳动物细胞中 YAP 的有效抑制剂) 是心肌细胞增殖和存活的关键调节剂^[10]。VGLL4 在心脏中高度表达, 且 VGLL4 蛋白水平随着年龄的增长而升高。VGLL4 包含一个 Tondu 结构域, 它可与心肌细胞核中的 TEAD 转录因子结合。这种关联与 YAP 竞争 TEAD 的结合位点, 也促进 TEAD 降解, 从而负调控 YAP-TEAD 转录输出。结果表明 VGLL4 作为一种年龄依赖机制, 在心脏中抑制 YAP 功能发挥着重要作用。综上所述, 在心脏发育过程中, Hippo 信号可通过 YAP 调控胚胎心肌细胞的增殖和心脏大小。

3 Hippo 通路 with 心脏再生

成年哺乳动物心脏再生或修复的潜力有限, 因此在损伤和疾病期间心肌细胞的丢失会导致泵功能减

弱和心力衰竭, 这是人类发生心脏病和死亡的主要原因。而新生心脏可再生是由于持续的心肌细胞增殖, 鉴定心肌细胞增殖与否的关键调节因子是潜在再生疗法的重要一步。YAP 作为 Hippo 信号通路中的转录辅助因子, 通过激活胰岛素样生长因子和 Wnt 信号通路促进胚胎心肌细胞增殖^[11]。相反, 另一项研究表明, 使用 α MHC-Cre (在胎儿生命相对较晚时期受到激活) 将 YAP 删除, 可使老鼠存活并直到 11 ~ 20 周也不导致心肌细胞的缺失或心功能障碍^[12]。而删除携带 α MHC-Cre 的 TAZ 未唤起心脏表型, 将 YAP 和 TAZ 联合删除可加速心肌细胞的缺失和心力衰竭。将这些发现解释为, 在维持相对较低水平的产后心肌细胞增殖过程中 YAP 起主导作用, 而 TAZ 起次要作用^[13]。

有研究表明 YAP 的一个直接靶点是 PI3Kcb, 它通过 PI3K-Akt 通路调控 Hippo 信号。通过提高 YAP 的表达水平, 心肌梗死后心肌细胞数量和心功能至少部分通过 PI3Kcb 恢复^[14]。此外, Tian 等^[15]发现了一组 microRNA、miR302-367, 它可驱动心肌细胞重新进入细胞周期, 从而诱导心肌梗死后的心脏增殖, 这是由于部分抑制 Hippo 通路的作用。有趣的是, Tao 等^[16]描述了另一种转录因子, Pitx2 具有调节 YAP 的辅助功能。研究提示 Pitx2 具有心脏再生作用, 可能是通过 YAP 相互作用从而促进心肌细胞进入 S 期实现的。总之, 这些数据强调 Hippo 通路在心脏再生中不可或缺的作用。

4 Hippo 通路在心血管疾病中的作用

4.1 Hippo 通路在心肌细胞凋亡和缺血再灌注损伤的作用

急性心肌梗死是世界范围内人类发生心脏病死亡的主要原因。在心肌梗死患者中采用溶栓治疗或原发性经皮冠脉介入术治疗均可及时有效地再灌注心肌, 以减少急性心肌缺血损伤和限制心肌梗死的面积。然而, 再灌注过程本身会导致心肌细胞死亡, 即心肌缺血再灌注 (ischemia reperfusion, I/R) 损伤。Mst1 是心肌细胞凋亡时, 如 I/R 诱导、氧化应激中最活跃的激酶之一^[17]。有研究表明, Mst1 在培养的心肌细胞 I/R 后被激活^[17]。而在 I/R 期间抑制 Mst1 的表达可减少心肌细胞凋亡, 减轻心功能障碍^[18], 说明内源性 Mst1 是心肌梗死致心肌细胞死亡的重要中介物质, 是潜在的一个治疗靶点。

有研究揭示了上述机制有神经纤维瘤蛋白 2 (neurofibromin 2, NF2, 也被称为 neurofibromatosis 2 or

merlin) 和 RASSF1A 的参与,这两种蛋白都是以前确定的 Hippo 通路的成员^[19-20]。RASSF1A 对 I/R 的反应是介导线粒体 Mst1 的募集和活化,从而促进心肌细胞凋亡,导致心肌梗死^[21]。而氧化应激能促进心肌细胞中 NF2 的活性构象^[22],其急性激活促进 Mst1 和 Lats2 复合物的形成,并促进 Mst1 在 I/R 过程中的激活。NF2 心肌特异性敲除 (CKO) 小鼠在 I/R 后心肌梗死面积明显缩小,心肌细胞凋亡减弱,心功能改善。在机制上,NF2 CKO 心脏显示 YAP 活性的上调,在 NF2-YAP 双突变小鼠中这种心脏保护作用被消除,这表明 NF2 激活 Mst1 是通过核标准 Mst1-Lats2-YAP 通路介导的^[22]。

更为有趣的是,Mst1/Bcl-xL 通路在心脏病治疗中起重要作用,它不同于典型的 Hippo 信号通路^[23]。在心肌细胞中,氧化应激激活线粒体的 Mst1,使 Mst1 在 Ser14 磷酸化 Bcl-xL,会诱导 Bcl-xL 与 Bax 解离,从而促进细胞凋亡。这表明 Ser14 磷酸化的内生 Bcl-xL 在 I/R 损伤中扮演着重要角色。

综上所述,抑制 Mst1 会减弱 I/R 后心肌损伤以及心力衰竭的发展,以应对压力过载和心肌梗死后的心脏重构过程。

4.2 Hippo 通路在心肌肥厚和肥厚型心肌病中的作用

在高血压或其他压力超负荷疾病的反应中,心脏会发生肥厚,导致细胞体积增大,细胞数量增加,或两者兼有。然而,由于成年的心肌细胞增殖能力有限,心肌细胞肥大比增生更为常见。研究表明,在新生大鼠心肌细胞中 Hippo 通路组分 Mst2 的过表达显著增强苯肾上腺素诱导的细胞肥大。在成年小鼠心脏和人类心脏中进一步发现,Mst2 可能通过调节促肥厚的 Raf1-ERK1/2 通路在压力依赖性心肌肥厚和重构中起作用。总之,Mst2-Raf1 信号复合物是心脏病理肥厚和重构的关键调控因子。因此,Mst2 可能作为减少心肌肥厚和不良重构的一个新靶点^[24]。

研究表明 YAP 能促进出生后心脏心肌细胞的生长和存活,并且通过上调 miR-206 促进代偿性心肌细胞肥大^[25],其机制是 miR-206 通过靶向降解 Forkhead box P1 蛋白,介导 YAP 刺激细胞肥大和细胞存活^[25]。

肥厚型心肌病 (hypertrophic cardiomyopathy, HCM) 是导致青少年和青年心力衰竭和猝死的主要原因。研究表明,在 HCM 患者样本和横主动脉缩窄小鼠模型中均显示了 YAP mRNA 和蛋白水平的上调,以

及 YAP 在 serine 127 位点磷酸化水平的降低,同时伴有肥大心脏组织中 YAP 介导基因转录的增加。在原代培养的小鼠心肌细胞中,YAP 异位表达导致细胞体积增大,而 YAP 的下调则使苯肾上腺素治疗引起的细胞体积减小。有趣的是,YAP 上游激酶 Mst1 的 mRNA 和蛋白水平均显著下降。进一步实验表明转录因子 FOXO3 与 Mst1 启动子结合并且 PI3K/Akt/FOXO3 信号通路调控 Mst1 的表达^[26]。

综上所述发现 Hippo/Mst1 通路可能是心肌肥厚和 HCM 的重要细胞内介质,为其治疗提供了新的治疗靶点。

4.3 Hippo 通路与心肌细胞自噬

细胞自噬是在细胞进化过程中,可使细胞内的大分子和受损的细胞器在溶酶体内降解为小分子物质供细胞重新利用,从而维持内环境稳定的溶酶体依赖性降解途径^[27]。

研究发现,哺乳动物 Mst1 通过抑制心脏自噬来负性调节蛋白质的质量控制机制^[28]。Beclin1 是调控自噬小体形成的关键分子,Beclin1 同源二聚体形成有抑制自噬的作用。最近的研究表明^[28],Mst1 通过上调 Beclin1 磷酸化,促进 Beclin1 同源二聚体形成进而抑制自噬,导致蛋白质聚集增加。应激诱导的 Mst1 激活促进 p62/SQSTM1 的积累和聚集体的形成,并伴随心肌细胞自噬体的消失。由于抑制了自噬和聚集体的积累,Mst1 活性的增加与心肌梗死后心功能障碍和扩张型心肌病有关^[28]。另有报道指出,Mst1 可能通过抑制自噬作用而引起心肌梗死后小鼠心功能不全,这可能与促进 Beclin1 和 Bcl-2 之间的相互作用有关^[28]。这些结果表明,Mst1 通过磷酸化 Beclin1 协调调节自噬和凋亡,从而调控 Bcl-2、Beclin1 和 Bax 之间的相互作用。因此,Mst1 可能是心脏疾病治疗的重要靶点。

5 总结与展望

许多研究揭示了 Hippo 通路在调节心脏发育、生长和稳态方面起着关键作用,并且对于心脏再生医学 Hippo 通路是一个有希望的治疗目标。由于考虑到哺乳动物的心脏缺乏自我修复能力,因此发展新的再生策略来治疗心力衰竭具有挑战性。研究表明,Hippo 信号的抑制和 YAP 在成年小鼠心肌细胞中的过表达 (使用工程 AAV9 载体) 均显著改善心肌功能和心肌梗死^[29-30]后的存活率。而心肌梗死后 Hippo 信号通路的激活可刺激心肌细胞增殖,维持心脏的功能和减少梗死面积,在心脏发育、心肌细胞增殖及心肌修复

方面具有重要的作用。因此,深入了解 Hippo 信号通路在心脏发育和再生中的作用机制,可为心肌梗死后治疗提供新的研究方向。

参考文献

- [1] Buttitta LA, Edgar BA. How size is controlled; from Hippos to Yorkies [J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(11):1225-1227.
- [2] Zhou Q, Li L, Zhao B, et al. The hippo pathway in heart development, regeneration, and diseases [J]. *Circ Res*, 2015, 116(8):1431-1447.
- [3] Del Re DP. Hippo signaling in the heart-non-canonical pathways impact growth, survival and function [J]. *Circ J*, 2016, 80(7):1504-1510.
- [4] Xiao Y, Leach J, Wang J, et al. Hippo/YAP signaling in cardiac development and regeneration [J]. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*, 2016, 18(6):38.
- [5] Gibault F, Corvaisier M, Bailly F, et al. Non-photoinduced biological properties of verteporfin [J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(11):1171-1184.
- [6] Yu FX, Zhao B, Guan KL. Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer [J]. *Cell*, 2015, 163(4):811-828.
- [7] Meng Z, Moroishi T, Guan KL. Mechanisms of Hippo pathway regulation [J]. *Genes Dev*, 2016, 30(1):1-17.
- [8] Dong J, Feldmann G, Huang J, et al. Elucidation of a universal size-control mechanism in *Drosophila* and mammals [J]. *Cell*, 2007, 130(6):1120-1133.
- [9] von Gise A, Lin Z, Schlegelmilch K, et al. YAP1, the nuclear target of Hippo signaling, stimulates heart growth through cardiomyocyte proliferation but not hypertrophy [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(7):2394-2399.
- [10] Lin Z, Guo H, Cao Y, et al. Acetylation of VGLL4 regulates Hippo-YAP signaling and postnatal cardiac growth [J]. *Dev Cell*, 2016, 39(4):466-479.
- [11] Xin M, Kim Y, Sutherland LB, et al. Regulation of insulin-like growth factor signaling by YAP governs cardiomyocyte proliferation and embryonic heart size [J]. *Sci Signal*, 2011, 4(196):ra70.
- [12] Xin M, Kim Y, Sutherland LB, et al. Hippo pathway effector YAP promotes cardiac regeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(34):13839-13844.
- [13] Senyo SE, Steinhauser ML, Pizzimenti CL, et al. Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes [J]. *Nature*, 2013, 493(7432):433-436.
- [14] Lin Z, Zhou P, von Gise A, et al. PI3K links Hippo-YAP and PI3K-AKT signaling pathways to promote cardiomyocyte proliferation and survival [J]. *Circ Res*, 2015, 116(1):35-45.
- [15] 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.
- [16] Tao G, Kahr PC, Morikawa Y, et al. Ptx2 promotes heart repair by activating the antioxidant response after cardiac injury [J]. *Nature*, 2016, 534(7605):119-123.
- [17] Yamamoto S, Yang G, Zablocki D, et al. Activation of Mst1 causes dilated cardiomyopathy by stimulating apoptosis without compensatory ventricular myocyte hypertrophy [J]. *J Clin Invest*, 2003, 111(10):1463-1474.
- [18] Odashima M, Usui S, Takagi H, et al. Inhibition of endogenous Mst1 prevents apoptosis and cardiac dysfunction without affecting cardiac hypertrophy after myocardial infarction [J]. *Circ Res*, 2007, 100(9):1344-1352.
- [19] Zhang N, Bai H, David KK, et al. The Merlin/NF2 tumor suppressor functions through the YAP oncoprotein to regulate tissue homeostasis in mammals [J]. *Dev Cell*, 2010, 19(1):27-38.
- [20] Lavado A, He Y, Pare J, et al. Tumor suppressor NF2 limits expansion of the neural progenitor pool by inhibiting YAP/TAZ transcriptional coactivators [J]. *Development*, 2013, 140(16):3323-3334.
- [21] Del Re DP, Matsuda T, Zhai P, et al. Mst1 promotes cardiac myocyte apoptosis through phosphorylation and inhibition of Bcl-xL [J]. *Mol Cell*, 2014, 54(4):639-650.
- [22] 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.
- [23] 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):pii:e86217.
- [24] Zi M, Maqsood A, Prehar S, et al. The mammalian Ste20-like kinase 2 (Mst2) modulates stress-induced cardiac hypertrophy [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(35):24275-24288.
- [25] Yang Y, Del Re DP, Nakano N, et al. miR-206 mediates YAP-induced cardiac hypertrophy and survival [J]. *Circ Res*, 2015, 117(10):891-904.
- [26] Wang P, Mao B, Luo W, et al. The alteration of Hippo/YAP signaling in the development of hypertrophic cardiomyopathy [J]. *Basic Res Cardiol*, 2014, 109(5):435.
- [27] 肖丹丹, 常文光, 法鸿鸽, 等. Parkin 介导的线粒体自噬:调控心血管疾病的新机制 [J]. *心血管病学进展*, 2019, 40(1):1004-3934.
- [28] Maejima Y, Kyoi S, Zhai P, et al. Mst1 inhibits autophagy by promoting the interaction between Beclin1 and Bcl-2 [J]. *Nat Med*, 2013, 19(11):1478-1488.
- [29] Leach JP, Heallen T, Zhang M, et al. Hippo pathway deficiency reverses systolic heart failure after infarction [J]. *Nature*, 2017, 550(7675):260-264.
- [30] 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):354-363.

收稿日期:2019-05-22