

Hippo 信号通路在肠道稳态及癌变过程中的作用及机制

温胜宙¹, 张雷², 余发星¹

1. 复旦大学附属儿科医院暨生物医学研究院, 上海 200032;
2. 中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031

摘要: 肠道是人体最重要的消化器官之一, 急慢性肠炎、肠道肿瘤等肠道疾病严重威胁着人类的健康, 因此对肠道生理及病理机制的研究具有重要的科学意义及临床价值。Hippo 信号通路在细胞增殖与分化、组织损伤再生、肿瘤发生和发展过程中起重要作用, 参与肠道中众多生理及病理进程的调控。本文结合近年来肠道相关 Hippo 信号通路的研究进展, 对该领域的前沿信息进行概括总结, 重点阐述了 Hippo 信号在肠稳态、再生与癌变过程中的作用, 并在此基础上展望了肠道中 Hippo 信号通路研究的前景及潜在的临床价值。

关键词: 肠道; Hippo 信号通路; YAP; 再生; 大肠癌

Functions and regulations of the Hippo signaling pathway in intestinal homeostasis and tumorigenesis

Shengzhou Wen¹, Lei Zhang², Faxing Yu¹

1. Children's Hospital and Institutes of Biomedical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China;
2. Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China

Abstract: The intestine is an important digestive organ. Intestinal diseases such as acute or chronic enteritis and colorectal cancer pose a great threat to human health, which endows the studies related to intestine with great scientific and clinical value. The Hippo signaling pathway plays an important role in proliferation and differentiation of intestinal stem cells, and is involved in diverse physiological and pathological processes in the intestine. In this review, we summarize known functions and mechanisms of the Hippo signaling pathway in intestinal regeneration and tumorigenesis, provide a prospective on future research directions, and discuss potential therapeutic strategies targeting the Hippo signaling pathway.

Keywords: intestine; Hippo signaling pathway; YAP; regeneration; colorectal cancer

收稿日期: 2017-02-17; 修回日期: 2017-04-10

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(编号: 81622038, 31571479)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 81622038, 31571479)]

通讯作者: 余发星, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 细胞生物学。E-mail: fyu03@fudan.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.17-048

网络出版时间: 2017/5/3 17:53:49

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20170503.1753.005.html>

肠道起自胃幽门,延续为小肠(十二指肠、空肠、回肠)和大肠(盲肠、阑尾、结肠、直肠、肛管),终于肛门^[1],是生物体消化吸收的重要场所。肠道黏膜长期与外界物质接触,为了应对物理损伤、化学小分子毒性、微生物感染等因素带来的频繁组织损伤,多数上皮细胞能够每 3~5 天更替一次,因此肠道上皮具有很强的再生能力^[2]。

肠道疾病如慢性肠炎和肠道肿瘤是常见病、多发病。其中,大肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球男性中发病率第三高、女性中第二高^[3],同时也是中国发病率上升最快的肿瘤类型。这些肠道疾病治疗周期长,易复发,给患者及社会带来极大的负担。因此对肠道生理及病理的研究不仅能够推动基础科研的发展,还具有重要的临床和社会价值。

Hippo 信号通路是一条新近发现的细胞信号转导途径,其主体部分是一个激酶链。其中,激酶 MST1/2 (mammalian Sterile 20-like kinases 1/2)可以磷酸化并激活 LATS1/2 (large tumor suppressor 1/2),而 LATS1/2 则可以磷酸化并抑制 YAP/TAZ。YAP/TAZ 是两个同源的转录辅助因子,它们介导了大部分 Hippo 信号通路的生理及病理功能^[4,5]。Hippo 信号通路在细胞增殖与分化、组织更新与再生、肿瘤发生中起关键作用,参与众多肠道生理及病理进程。本文旨在回顾近年来同肠道相关的 Hippo 信号通路研究成果,展望该领域的研究前景及临床转化潜能。

1 肠道基本结构及肠道稳态维持的分子机制

肠道是人体消化吸收的主要场所,也是成年哺

乳动物中自我更新最活跃的组织^[6]。肠道生理功能的实现与其结构紧密相关。绒毛-隐窝(villus-crypt of Lieberkühn)是哺乳动物小肠的基本功能单位(图 1A)。其中,绒毛是小肠黏膜表面分布着的细小指状凸起,由一层承担着吸收、分泌功能的单层柱状上皮细胞和结缔组织构成。相邻绒毛根部之间上皮内陷,形成隐窝。肠道上皮所有细胞均由隐窝中的肠道干细胞(intestinal stem cell)分化而来。肠道干细胞定位于隐窝底部。在肠道更新过程中,干细胞首先分化为 TA 细胞(transit amplify cell),并沿肠绒毛中轴向绒毛顶部迁移。在其迁移过程中,TA 细胞分化为吸收性细胞(肠上皮细胞)或分泌性细胞(杯状细胞、肠内分泌细胞等)(图 1B)。部分 TA 细胞分化为潘氏细胞(paneth cell),并迁移到隐窝底部干细胞之间,承担免疫功能,同时对肠道干细胞干性维持起到关键作用。与小肠不同的是,大肠没有绒毛结构也没有潘氏细胞,但有报道指出大肠中一种 CD24 阳性细胞的亚群可替代潘氏细胞,维持肠道干细胞的干性,因而这种细胞也被称为类潘氏细胞(paneth-like cell)^[7]。

隐窝中主要存在两种肠道干细胞:隐窝基底柱状细胞(crypt base columnar cell, CBC)和“+4”细胞^[2]。CBC 是一类细胞周期活跃的干细胞,在潘氏细胞间均匀分布,可用 Lgr5(leucine-rich repeat-containing GPCR 5)标记,故亦称 Lgr5⁺细胞。在体外培养条件下,单个 Lgr5⁺细胞可以增殖分化,形成完整的绒毛-隐窝结构^[8]。“+4”细胞是一类不活跃的肠道干细胞,可被 Polycomb 复合体成分蛋白 BMI1(B cell-specific

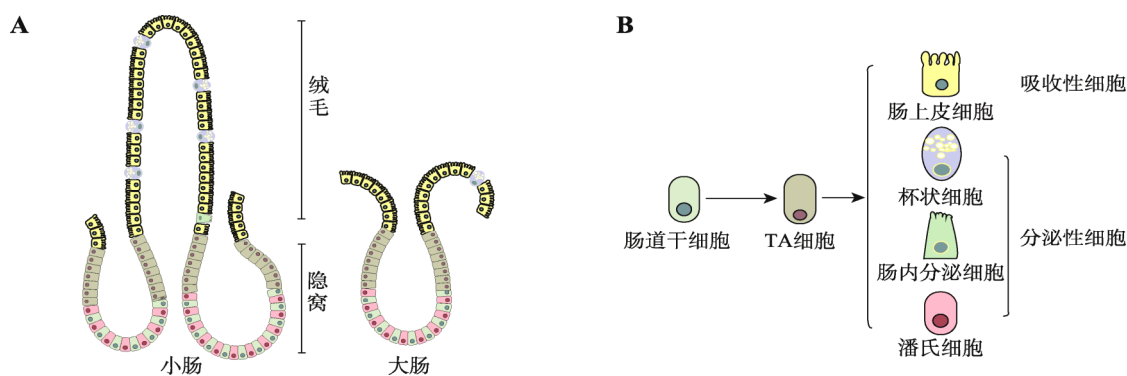


图 1 肠道上皮结构(A)及肠道 Lgr5⁺干细胞谱系(B)示意图

Fig. 1 The structures of intestinal epithelium (A) and lineage of Lgr5⁺ intestinal stem cells (B)

Moloney murine leukemia virus integration site 1)、HOPX(homeodomain-only protein)等蛋白标记,但标记特异性较低^[9]。对“+4”细胞的研究相对有限,但已知 Bmi1⁺细胞在创伤诱导的肠再生中起重要作用,并能代偿 Lgr5⁺细胞的缺失^[10]。

多个信号通路在肠道结构的维持特别是上皮细胞的分化过程中起重要作用。例如,Wnt 信号通路抑制造成隐窝缺失,上皮细胞增殖抑制,分泌性细胞减少和肠道再生受损;Wnt 信号通路激活则导致隐窝细胞过度增殖^[11~14]。Notch 信号通路抑制导致杯状细胞分化增多;Notch 信号通路激活则促进肠道细胞凋亡,抑制杯状细胞及肠内分泌细胞分化^[15~17]。另外 BMP、Hedgehog 及 Hippo 等信号通路也参与了肠道干细胞的分化,对肠道上皮快速更新至关重要^[2]。各种信号通路通过交互作用,能够协同调节肠道干细胞的增殖与分化^[18]。例如,Hippo 信号通路与 Wnt 信号通路联系密切,在胞质中 YAP/TAZ 与 β -catenin 相互作用抑制细胞核转位,而在细胞核中 YAP/TAZ 与 β -catenin 协作并促进 Wnt 靶向基因的表达^[19~21]。另外,YAP/TAZ 可以调节不同的 Wnt 因子,抑制 β -catenin 的转录功能^[22]。同时,不同生理信号在肠道上皮的表达具有位置特异性,因此不同信号通路活性的强弱在肠道中也不是均一分布的,这对肠道干细胞的分化、迁移及定位至关重要^[18]。

2 Hippo 信号通路与肠道稳态

稳态是指机体在细胞和分子水平、器官和系统水平及整体水平的各种生理活动始终维持相对稳定的状态。肠道的稳态对于肠道生理功能及机体整体稳态的维持非常重要。YAP 在小肠和大肠中均有表达,在小鼠小肠中表达量较低,但在结肠尤其是结肠末端表达量较高^[23,24]。在细胞层面上,YAP 在肠绒毛、隐窝上部细胞中定位于细胞浆^[23,25],在隐窝底部 Lgr5⁺肠道干细胞中定位于细胞核^[25],在潘氏细胞中低表达^[26],这显示出 YAP 活性与肠上皮细胞分化程度呈负相关关系。

研究表明,肠道在通常状态下对 YAP 无依赖性,在处于正常稳态的肠道中使 YAP 失活或抑制,不会引起肠道功能或结构的缺陷^[23,27]。但 Hippo 信号通

路紊乱则会导致肠道大小异常,肠道上皮细胞构成受损,影响肠道稳态。在小鼠肠道上皮中双敲除 *Mst1/2* 后,小鼠盲肠显著减短,直肠增长^[23]。小肠上皮 *Sav1* 缺失的小鼠隐窝变宽,隐窝中肠道干细胞增殖频率加快^[27]。Barry 等^[25]发现过表达 YAP 导致隐窝增殖受损。Gregorieff 等^[26]则报道,YAP 过表达不会影响活体中小肠稳态,但会损伤体外肠道类器官。这两个研究结果的差异可能同 YAP 过表达剂量差异有关。另外,甲基转移酶 SETD7 能够修饰 YAP,在肠道上皮细胞中 *Setd7* 缺失导致 YAP 细胞核定位增加,小鼠隐窝变短变宽,隐窝细胞增殖频率加快^[28]。这些研究表明,YAP 活性过高会影响肠道稳态。

Hippo 信号通路对肠干细胞的分化具有重要的调控作用。小鼠肠道上皮特异性 *Yap* 转基因小鼠的干细胞增殖能力上升,分化能力下降^[29,30]。一致的是,在小鼠肠道中敲除 *Mst1/2* 促进干细胞增殖,同时隐窝细胞分化发生异常,杯状细胞减少^[23]。Imajo 等^[29]发现肠道中 *Lats1/2* 双敲除促进隐窝细胞增殖,肠道干细胞增多,同时分化出更多的杯状细胞;进一步研究后发现,YAP/TAZ 可与 Klf4 配合促进隐窝细胞向杯状细胞分化。对于 Hippo 信号通路抑制对杯状细胞分化的影响,以上两个实验的结果存在差异^[23,29]。Imajo 等^[29]认为这是因为他们使用的 iGT(intestine-specific gene transfer)方法能够温和地外源表达 YAP 或者抑制 MST1/2 及 LATS1/2,使得 YAP 处在一个既能促进肠道干细胞增殖,又能引起杯状细胞分化的活性上,导致差异产生。这些结果表明,YAP 对肠道干细胞的调控作用与其活性高低密切相关。

3 Hippo 信号通路与肠道再生

YAP 在肠道再生过程中呈现活化状态^[27]。Gregorieff 等^[26]对小鼠全身辐射后发现,辐射后第 1 天除了一些特定细胞的 YAP 定位于胞核外,大多数细胞中的 YAP 定位于胞质;辐射后第 2 天,YAP 几乎全部定位于胞核,并持续到放射后第 4 天恢复胞质定位。可见肠道再生初期会出现 YAP 活性的高峰。

YAP 缺失导致肠道的再生能力显著受损。小鼠肠道特异性 *Yap* 敲除后,葡聚糖硫酸钠(dextran

sulfate sodium, DSS)处理会导致死亡率升高,隐窝受损^[27],全身放射后隐窝增殖显著减少^[26]。这说明虽然肠道维持稳态对 YAP 无依赖性^[23,25,27],但在肠道再生中却高度依赖 YAP^[27]。因此,在正常稳态下肠道细胞通过 Hippo 信号通路抑制 YAP 活性,在损伤等紧急状况下会关闭 Hippo 信号,导致 YAP 活化并促进再生。

YAP 对干细胞的干性维持至关重要。在胚胎干细胞中,自我更新状态下 YAP 高表达,而在分化状态下 YAP 受到抑制;过表达 YAP 则能够抑制胚胎干细胞分化^[5,31~33]。在肠道中,Gregorieff 等^[26]发现 YAP 可以通过抑制 Wnt 信号通路和激活 Egfr 信号通路来调控 Lgr5⁺干细胞参与肠道再生。在 YAP 缺失的肠道类器官培养实验中,外源 EGFR 配体 Epirgulin 可以促进肠道上皮“绒毛-隐窝”结构的形成,表明 Epirgulin 可能是 YAP 调节肠道再生过程中的一个关键因子。Zhou 等^[23]在小鼠肠道上皮中双敲除 *Mst1/2* 后发现隐窝中未分化细胞明显增多,表明 MST1/2 通过抑制 YAP 来抑制肠道干细胞的增殖。与之一致的是, Fan 等^[34]最近报道了一种 MST1/2 特异性抑制剂 XMU-MP-1 能够促进小鼠再生。因此,在肠道再生初期抑制 Hippo 信号通路,激活 YAP 活性,是促进肠道再生的一种有效途径。

Barry 等^[25]报道 YAP 能够抑制 Wnt 信号通路和肠道再生, YAP 缺失导致肠道再生时 Wnt 信号通路高度激活,导致肠道干细胞显著增多。这一结果与其他实验存在明显差异^[26,30],其中可能的原因是不同实验外源表达 YAP 的强度及时间节点不同, Barry 等^[25]在实验中持续过表达 YAP-S127A 变异基因达 7

天。Gregorieff 等^[26]研究发现, YAP 在肠道再生初期的肠道干细胞维持中起重要作用,而在之后的高速增殖期非必需。因此,在肠道再生的不同阶段, YAP 作用具有一定差异。

总结上述各实验结果可发现,在肠道再生初期, YAP 活性达到高峰,促进肠道干细胞库的扩增;而在后续的再生进程中, Hippo 信号通路激活, YAP 活性下降,肠干细胞分化为各种肠道上皮细胞来参与肠道组织的修复(图 2)。由此回顾 Imajo 等^[29]和 Zhou 等^[35]的实验结果差异,再生初期高活性的 YAP 抑制肠道干细胞向杯状细胞分化,而当 YAP 活性下降到适当水平, YAP 转而促进肠道干细胞向杯状细胞分化,这可能说明 YAP 在肠道再生的各个时期中承担着精密的调控作用。

4 Hippo 信号通路与肠道肿瘤

Hippo 信号通路与多种肿瘤的发生和发展密切相关,该通路在大肠癌中同样频繁出现异常^[4,36~38]。例如, Hong 等^[37]检测了 168 例大肠癌临床样本,其中 72.6% 的样本 YAP 表达阳性, 57.8% 的样本 TAZ 表达阳性。YAP 或 TAZ 高表达的患者存活时间相对更短, YAP 和 TAZ 同时高表达的患者疾病状况最恶劣,因此 YAP 和 TAZ 共表达可以作为大肠癌病人预后指标。Zhou 等^[23]也发现在 71 例结肠癌临床样本中, 68 例 YAP 表达整体上升,并发现 YAP 在肿瘤细胞核和胞质中都有表达。Wierzbicki 等^[38]检测了 142 例大肠癌样本,其中 127 例(89.4%)LATS1 表达量明显低于正常对照组。这些结果显示出 Hippo 信号通路紊乱及 YAP 表达异常同肠道肿瘤的发生发展有很

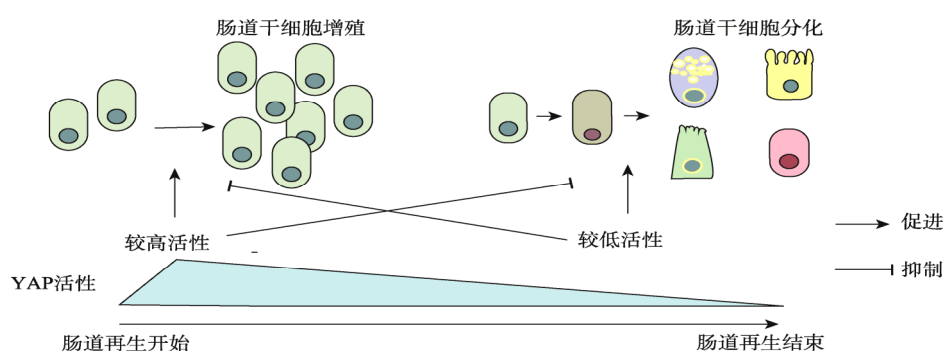


图 2 肠道再生中 YAP 活性变化示意图

Fig. 2 The dynamic change of YAP activity during intestinal regeneration

强的关联性。进一步实验证明, Hippo 信号通路主要通过抑制 YAP 在肠道中发挥抑癌作用。在结肠癌细胞系中下调 YAP 能够显著抑制细胞体外克隆形成以及体内(免疫缺陷小鼠荷瘤)肿瘤生长^[23,39]。肠道 *Mst1/2* 敲除小鼠的小肠黏膜增生,存活率显著下降^[23]。肠道 *Sav1* 敲除小鼠在 DSS 处理后,会因 YAP 激活而产生息肉,而 *Yap* 缺失能够逆转相关表型^[27]。YAP 拮抗物 VGLL4 则能够抑制大肠癌细胞的增殖和肿瘤形成,在大肠癌临床样本中可见 VGLL4 显著下调^[40]。Guo 等^[41]发现 RAR γ 在大肠癌中下调,进一步研究显示 RAR γ 可调控 Hippo 信号通路从而抑制 YAP,因此 RAR γ 下调可促进结直肠癌发生和肿瘤转移。由此可见, YAP 异常活化是肠道肿瘤发生发展的重要原因之一。

YAP 在肠道肿瘤发生发展中的分子机制仍不明确。组织再生失控和干细胞异常增殖可导致肿瘤的发生, YAP 与肠道组织再生和肠道干细胞干性维持的密切关系可能与其在肠道肿瘤发生中的作用相关。除此之外, Rosenbluh 等^[42]在结肠癌细胞中发现, YAP 能够与转录因子 TBX5 以及 β -catenin 形成转录复合物。YAP 被酪氨酸激酶 YES1 磷酸化后,使该复合物结合 BCL2L1 和 BIRC5 等抗凋亡基因的启动子,从而促进它们转录和肿瘤发生。Park 等^[43]同样发现 β -catenin/YAP/TBX5 转录复合物也可以结合到 *RMPR* 转录起始位点附近诱导 *RMPR* 转录。这些结果表明 YAP 可以通过调节靶向基因的转录导致肠道肿瘤发生。而 Oudhoff 等^[44]则报道了 SETD7 对 YAP 甲基化修饰能够促进 β -catenin 转位细胞核,从而诱导肠道肿瘤发生; *Setd7* 缺失的 *APC*^{min/+} 小鼠(一种可自发形成隐窝肿瘤的小鼠)产生的肿瘤数减少,寿命增长, DSS 处理后大肠肿瘤产生减少。这一结果显示 YAP 也可以通过与其他信号通路交互作用并诱导肿瘤发生。

在 Hippo 信号通路的主激酶链外,还有一些旁路信号直接作用于 YAP,与肠道肿瘤发生相关。Konsavage 等^[39]在大肠癌细胞中发现, β -catenin 和 TCF4 复合物能够结合到 YAP 第一个内含子附近的增强子上,从而直接促进 YAP 表达。这一结果表明 Wnt/ β -catenin 信号通路异常能够通过 YAP 促进大肠癌发生。Zhang 等^[45]发现,小肠上皮细胞中 NDR1/2

缺陷的小鼠会对致癌药物更加敏感;进一步研究显示, NDR1/2 可以磷酸化 YAP,可能是 YAP 的上游抑癌因子。而 Kim 等^[46]报道 G 蛋白偶联受体家族配体 PGE2 会促进 YAP 的转录和表达,以此促进 COX2 和 EP4 的表达,激活结肠癌细胞系增殖和患结肠炎小鼠的肠道再生。这一通路持续激活可导致小鼠肠道息肉和结肠癌的发生。

Apc(adenomatous polyposis coli)是大肠癌中最常发生突变的基因之一^[47,48]。APC 是 β -catenin 破坏复合物(destruction complex)的骨架蛋白,受 Wnt 通路调控。在 *Apc* 缺陷的细胞中可见 YAP、TAZ 激活,而 *Yap* 在 *Apc* 缺失导致腺癌发生过程中是必须的^[27,49,50]。*Yap* 缺失会抑制 *Apc* 敲除的肠道类器官的生长,而过表达可刺激其生长^[26]。Azzolin 等^[50]报道, YAP/TAZ 参与 β -catenin 破坏复合物的形成, Wnt 信号通路激活时, YAP/TAZ 从复合体中脱离从而活化。按照这个模型, *Apc* 突变时, YAP/TAZ 也可从复合体中脱离而活化。但 Cai 等^[49]报道,用 Wnt3a 处理 HEK293A 细胞并不能调控 YAP 的活性。他们的研究显示, APC 通过与 SAV1、LATS1 作用激活 Hippo 信号通路,从而抑制 YAP。Park 等^[22]则报道, Wnt 信号通过 Wnt-FZD/ROR-G α 12/13-Rho GTPases-Lats1/2 的信号传递促进 YAP 活性,而不依赖于 β -catenin 破坏复合物。但是无论如何,这些结果显示 Hippo 信号通路是 APC 下游重要的效应分子,与 APC 突变导致的大肠癌发生密切相关。

5 果蝇肠道中 Hippo 信号通路研究进展

果蝇的中肠和后肠相当于哺乳动物的小肠和大肠,其中中肠是果蝇消化和吸收的主要场所。果蝇中肠同样是由一层单层上皮细胞组成,但无绒毛和隐窝结构,干细胞位于肠上皮细胞基底部^[51](图 3)。肠道干细胞能够自我更新,并可分化为成肠细胞(enteroblast, EB)。与哺乳动物不同的是, EB 直接分化为功能性肠细胞(enterocyte, EC)和肠内分泌细胞(enteroendocrine cell, EE),而没有 TA 细胞的产生^[52]。已有很多研究证实 Hippo 信号通路在果蝇中肠的自我更新与再生中起重要作用。

在正常生长发育过程中,果蝇中肠对 Yki 没有依赖性^[53],但 Yki 在果蝇肠道再生中是必要的,这

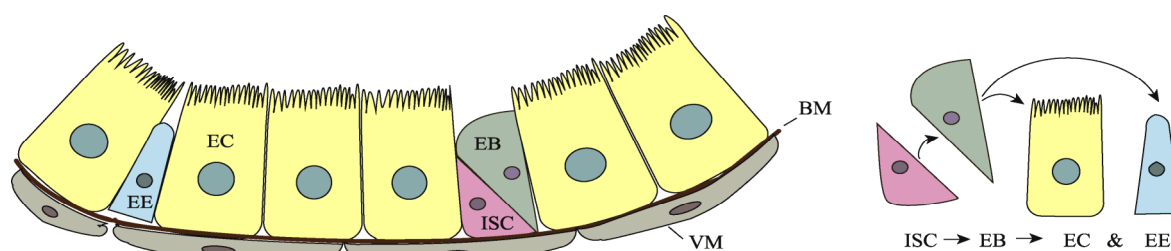


图 3 果蝇肠道结构及肠道干细胞分化示意图

Fig. 3 *Drosophila* intestinal structure and stem cell lineage

EC: 肠细胞; ISC: 肠道干细胞; EB: 成肠细胞; EE: 肠内分泌细胞; BM: 基膜; VM: 内脏肌细胞。

一点与哺乳动物中一致。通过喂养 DSS 诱导果蝇中肠损伤再生后, 可见 Yki 激活^[54,55]。在肠细胞或干细胞中过表达 Yki 或抑制 Hippo 上游信号, 会导致肠道干细胞过度增殖^[53~55]。共激活因子 Taiman 则通过与 Yki 互作促进果蝇肠再生, 在肠道干细胞增殖中是必需的^[56]。一方面, Yki 激活会诱导果蝇中肠上皮产生 JAK-STAT 通路配体 Upd、Upd2 和 Upd3, 激活 JAK-STAT 通路促进细胞增殖, 从而介导 Yki 非细胞自主性(nonautonomous)的调控功能^[54,55,57]。例如, Li 等^[58]发现 Misshapen 可以通过激活 Warts 反向调节 Yki 活性和 Upd3 的表达, 从而调控肠道干细胞增殖。Yki 也可以通过促进多种 Egfr 信号通路配体的转录, 通过 Egfr 信号促进肠道干细胞非细胞自主性增殖。另一方面, Yki 能够通过上调 *Diap1*、*bantam*、*CCNE1* 等一系列基因, 直接调控肠道干细胞的细胞自主性(autonomous)增殖^[53~55,59,60]。Zhu 等^[61]发现, Brm 复合物与 Yki/Sd 复合物的协同作用维持了肠道干细胞的稳态平衡, 该研究不仅揭示了 Hippo 信号的功能发挥与染色质重塑复合物活性之间的调控关系, 而且发现 Brm 复合物在肠道干细胞的增殖及分化中发挥不可或缺的作用^[60,61]。总之, Hippo 信号通路会通过细胞自主性或非细胞自主性两类机制调节肠道干细胞的增殖与分化, 从而影响果蝇肠道的再生进程^[53~55,57,58]。

6 结语与展望

Hippo 信号通路在肠道生理及病理进程中发挥着重要作用。目前 Hippo 信号通路在肠道发育中的作用及机制尚未揭示, 但已知成体肠道在稳态下对 YAP 并没有依赖性——敲除 YAP/TAZ 对肠道结构与

功能的维持没有明显的影响; 而在 Hippo 通路组成元件缺失或 YAP 过表达的情况下, 肠道上皮细胞会显著增生, 细胞分化亦受到抑制, 因此 Hippo 信号通路对肠道上皮稳态的维持至关重要。在肠道损伤再生的过程中, YAP/TAZ 被显著激活, 并参与对肠道干细胞增殖和分化的调控, 促进肠道再生; 相反, YAP 缺失能够显著抑制肠道的再生。另外, Hippo 信号通路异常与肠道肿瘤发生密切相关, YAP/TAZ 高表达在大肠癌样本中常见, 多数情况下, YAP/TAZ 活性同预后呈负相关。Hippo 信号通路上游激酶和辅酶, 以及其他一些旁路信号通过对 YAP/TAZ 的抑制阻止肠道肿瘤的发生^[45]。在肠道的稳态、再生以及癌变的过程中, Hippo 信号通路还同多个信号通路特别是 Wnt 信号通路相互调节, 影响肠道的生理病理进程。

肠道拥有独特的再生能力, 肠道肿瘤相关的基因变异也较为明确, 因此肠道是研究 Hippo 信号通路在组织损伤再生及肿瘤发生发展的作用机制的理想体系。肠道隐窝或肠道干细胞能够在体外形成迷你肠子(minigut), 其具有所有肠道上皮功能细胞, 是最成熟的体外类器官培养系统。最近, Gjorevski 等^[62]为肠道干细胞和肠道类器官培养设计了更理想的基质, 该基质的硬度可以动态变化, 通过调节 YAP/TAZ 活性, 引导肠道干细胞增殖与分化, 促进肠道类器官形成。这一成果或许能为肠道中 Hippo 信号通路研究的体外实验带来更多方便。目前, Hippo 信号通路在肠道再生和肠道肿瘤发生中的作用还存在一定的争议, 仍需要更多的研究工作来进一步明确。另外, Hippo 信号通路与其他信号通路在肠道相关机制的调控中既有交叉又有重合, 将来

的研究需要考虑这些信号通路的参与所带来的干扰。

肠道是机体进行消化吸收的重要场所, 肠吸收性细胞承担了重要的代谢功能。同时, 肠道在执行其消化和吸收功能时, 需要与外界物质集中接触, 因此具有完善的免疫系统应对外界抗原可能的入侵。目前已知 Hippo 信号通路受细胞内代谢状态的调控, 能够影响葡萄糖及氨基酸的转运和核苷酸的生物合成^[63-65]。另外, Oudhoff 等^[66]已在小鼠中发现, YAP 活性同鼠鞭虫感染敏感性相关。因此, 对于 Hippo 信号通路在肠道代谢和免疫系统中是否起着更大的作用, 仍值得进一步探索。

参考文献(References):

- [1] Gardner WD, Osburn WA. *Anatomy of the Human Body*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders, 1978.
- [2] van der Flier LG, Clevers H. Stem cells, self-renewal, and differentiation in the intestinal epithelium. *Annu Rev Physiol*, 2009, 71(1): 241–260.
- [3] Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87–108.
- [4] Yu FX, Zhao B, Guan KL. Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer. *Cell*, 2015, 163(4): 811–828.
- [5] Wang Y, Yu AJ, Yu FX. The Hippo pathway in tissue homeostasis and regeneration. *Protein Cell*, 2017, doi: 10.1007/s13238-017-0371-0.
- [6] Heath JP. Epithelial cell migration in the intestine. *Cell Biol Int*, 1996, 20(2): 139–146.
- [7] Sato T, Van Es JH, Snippert HJ, Stange DE, Vries RG, van den Born M, Barker N, Shroyer NF, van de Wetering M, Clevers H. Paneth cells constitute the niche for Lgr5 stem cells in intestinal crypts. *Nature*, 2011, 469(7330): 415–418.
- [8] Sato T, Vries RG, Snippert HJ, van de Wetering M, Barker N, Stange DE, van Es JH, Abo A, Kujala P, Peters PJ, Clevers H. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche. *Nature*, 2009, 459(7244): 262–265.
- [9] Muñoz J, Stange DE, Schepers AG, van de Wetering M, Koo BK, Itzkovitz S, Volckmann R, Kung KS, Koster J, Radulescu S, Myant K, Versteeg R, Sansom OJ, van Es JH, Barker N, van Oudenaarden A, Mohammed S, Heck AJR, Clevers H. The Lgr5 intestinal stem cell signature: Robust expression of proposed quiescent ‘+4’ cell markers. *EMBO J*, 2012, 31(14): 3079–3091.
- [10] Tian H, Biehs B, Warming S, Leong KG, Rangell L, Klein OD, de Sauvage FJ. A reserve stem cell population in small intestine renders Lgr5-positive cells dispensable. *Nature*, 2011, 478(7368): 255–259.
- [11] Korinek V, Barker N, Moerer P, Van Donselaar E, Huls G, Peters PJ, Clevers H. Depletion of epithelial stem-cell compartments in the small intestine of mice lacking Tcf-4. *Nat Genet*, 1998, 19(4): 379–383.
- [12] Pinto D, Gregorieff A, Begthel H, Clevers H. Canonical wnt signals are essential for homeostasis of the intestinal epithelium. *Genes Dev*, 2003, 17(14): 1709–1713.
- [13] Fevr T, Robine S, Louvard D, Huelsken J. Wnt/ β -catenin is essential for intestinal homeostasis and maintenance of intestinal stem cells. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(21): 7551–7559.
- [14] Kim KA, Kakitani M, Zhao JS, Oshima T, Tang T, Binnerts M, Liu Y, Boyle B, Park E, Emtage P, Funk WD, Tomizuka K. Mitogenic influence of human R-spondin1 on the intestinal epithelium. *Science*, 2005, 309(5738): 1256–1259.
- [15] Fre S, Huyghe M, Mourikis P, Robine S, Louvard D, Artavanis-Tsakonas S. Notch signals control the fate of immature progenitor cells in the intestine. *Nature*, 2005, 435(7044): 964–968.
- [16] Milano J, McKay J, Dagenais C, Foster-Brown L, Pognan F, Gadiant R, Jacobs RT, Zacco A, Greenberg B, Ciaccio PJ. Modulation of notch processing by γ -secretase inhibitors causes intestinal goblet cell metaplasia and induction of genes known to specify gut secretory lineage differentiation. *Toxicol Sci*, 2004, 82(1): 341–358.
- [17] Wong GT, Manfra D, Poulet FM, Zhang Q, Josien H, Bara T, Engstrom L, Pinzon-Ortiz M, Fine JS, Lee HJJ, Zhang LL, Higgins GA, Parker EM. Chronic treatment with the γ -secretase inhibitor ly-411, 575 inhibits β -amyloid peptide production and alters lymphopoiesis and intestinal cell differentiation. *J Biol Chem*, 2004, 279(13): 12876–12882.
- [18] Yu FX, Meng ZP, Plouffe SW, Guan KL. Hippo pathway regulation of gastrointestinal tissues. *Annu Rev Physiol*, 2015, 77(1): 201–227.
- [19] Heallen T, Zhang M, Wang J, Bonilla-Claudio M, Klysik E, Johnson RL, Martin JF. Hippo pathway inhibits wnt signaling to restrain cardiomyocyte proliferation and heart size. *Science*, 2011, 332(6028): 458–461.
- [20] Azzolin L, Zanconato F, Bresolin S, Forcato M, Basso G, Bicciato S, Cordenonsi M, Piccolo S. Role of taz as mediator of wnt signaling. *Cell*, 2012, 151(7): 1443–1456.
- [21] Imajo M, Miyatake K, Iimura A, Miyamoto A, Nishida E. A molecular mechanism that links hippo signalling to the inhibition of wnt/ β -catenin signalling. *EMBO J*, 2012, 31(5): 1109–1122.
- [22] Park HW, Kim YC, Yu B, Moroishi T, Mo JS, Plouffe SW, Meng ZP, Lin KC, Yu FX, Alexander CM, Wang CY, Guan KL. Alternative wnt signaling activates YAP/TAZ. *Cell*,

- 2015, 162(4): 780–794.
- [23] Zhou DW, Zhang YY, Wu HT, Barry E, Yin Y, Lawrence E, Dawson D, Willis JE, Markowitz SD, Camargo FD, Avruch J. Mst1 and Mst2 protein kinases restrain intestinal stem cell proliferation and colonic tumorigenesis by inhibition of yes-associated protein (YAP) overabundance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(49): E1312–E1320.
- [24] Camargo FD, Gokhale S, Johnnidis JB, Fu DD, Bell GW, Jaenisch R, Brummelkamp TR. YAP1 increases organ size and expands undifferentiated progenitor cells. *Curr Biol*, 2007, 17(23): 2054–2060.
- [25] Barry ER, Morikawa T, Butler BL, Shrestha K, de la Rosa R, Yan KS, Fuchs CS, Magness ST, Smits R, Ogino S, Kuo CJ, Camargo FD. Restriction of intestinal stem cell expansion and the regenerative response by YAP. *Nature*, 2013, 493(7430): 106–110.
- [26] Gregorieff A, Liu Y, Inanlou MR, Khomchuk Y, Wrana JL. YAP-dependent reprogramming of Lgr5⁺ stem cells drives intestinal regeneration and cancer. *Nature*, 2015, 526(7575): 715–718.
- [27] Cai J, Zhang NL, Zheng YG, de Wilde RF, Maitra A, Pan DJ. The hippo signaling pathway restricts the oncogenic potential of an intestinal regeneration program. *Genes Dev*, 2010, 24(21): 2383–2388.
- [28] Oudhoff MJ, Freeman SA, Couzens AL, Antignano F, Kuznetsova E, Min PH, Northrop JP, Lehnertz B, Barsyte-Lovejoy D, Vedadi M, Arrowsmith CH, Nishina H, Gold MR, Rossi FMV, Gingras AC, Zaph C. Control of the hippo pathway by Set7-dependent methylation of YAP. *Dev Cell*, 2013, 26(2): 188–194.
- [29] Imajo M, Ebisuya M, Nishida E. Dual role of YAP and TAZ in renewal of the intestinal epithelium. *Nat Cell Biol*, 2014, 17(1): 7–19.
- [30] Camargo FD, Gokhale S, Johnnidis JB, Fu DD, Bell GW, Jaenisch R, Brummelkamp TR. YAP1 increases organ size and expands undifferentiated progenitor cells. *Curr Biol*, 2007, 17(23): 2094.
- [31] Lian I, Kim J, Okazawa H, Zhao JG, Zhao B, Yu JD, Chinnaiyan A, Israel MA, Goldstein LSB, Abujarour R, Ding S, Guan KL. The role of YAP transcription coactivator in regulating stem cell self-renewal and differentiation. *Genes Dev*, 2010, 24(11): 1106–1118.
- [32] Tamm C, Böwer N, Annerén C. Regulation of mouse embryonic stem cell self-renewal by a YES-YAP-TEAD2 signaling pathway downstream of LIF. *J Cell Sci*, 2011, 124(7): 1136–1144.
- [33] Varelas X, Sakuma R, Samavarchi-Tehrani P, Peerani R, Rao BM, Dembowy J, Yaffe MB, Zandstra PW, Wrana JL. TAZ controls smad nucleocytoplasmic shuttling and regulates human embryonic stem-cell self-renewal. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(7): 837–848.
- [34] Fan FQ, He ZX, Kong LL, Chen QH, Yuan Q, Zhang SH, Ye JJ, Liu H, Sun XF, Geng J, Yuan LZ, Hong LX, Xiao C, Zhang WJ, Sun XH, Li YZ, Wang P, Huang LH, Wu XR, Ji ZL, Wu Q, Xia NS, Gray NS, Chen LF, Yun CH, Deng XM, Zhou DW. Pharmacological targeting of kinases MST1 and MST2 augments tissue repair and regeneration. *Sci Transl Med*, 2016, 8(352): 352ra108.
- [35] Zhou DW, Zhang YY, Wu HT, Barry E, Yin Y, Lawrence E, Dawson D, Willis JE, Markowitz SD, Camargo FD, Avruch J. Mst1 and Mst2 protein kinases restrain intestinal stem cell proliferation and colonic tumorigenesis by inhibition of yes-associated protein (Yap) overabundance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(49): E1312–E1320.
- [36] Steinhardt AA, Gayyed MF, Klein AP, Dong JX, Maitra A, Pan DJ, Montgomery EA, Anders RA. Expression of yes-associated protein in common solid tumors. *Hum Pathol*, 2008, 39(11): 1582–1589.
- [37] Wang LJ, Shi SJ, Guo ZY, Zhang X, Han SX, Yang AG, Wen WH, Zhu Q. Overexpression of YAP and TAZ is an independent predictor of prognosis in colorectal cancer and related to the proliferation and metastasis of colon cancer cells. *PLoS One*, 2013, 8(6): e65539.
- [38] Wierzbicki PM. Underexpression of *LATS1* TSG in colorectal cancer is associated with promoter hypermethylation. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(27): 4363–4373.
- [39] Konsavage WM Jr, Kyler SL, Rennoll SA, Jin G, Yochum GS. Wnt/ β -catenin signaling regulates yes-associated protein (YAP) gene expression in colorectal carcinoma cells. *J Biol Chem*, 2012, 287(15): 11730–11739.
- [40] Jiao S, Li CC, Hao Q, Miao HF, Zhang L, Li L, Zhou ZC. VGLL4 targets a TCF4-TEAD4 complex to coregulate wnt and hippo signalling in colorectal cancer. *Nat Commun*, 2017, 8: 14058.
- [41] Guo PD, Lu XX, Gan WJ, Li XM, He XS, Zhang S, Ji QH, Zhou F, Cao Y, Wang JR, Li JM, Wu H. RAR γ downregulation contributes to colorectal tumorigenesis and metastasis by derepressing the Hippo-Yap pathway. *Cancer Res*, 2016, 76(13): 3813–3825.
- [42] Rosenbluh J, Nijhawan D, Cox AG, Li XN, Neal JT, Schafer EJ, Zack TI, Wang XX, Tsherniak A, Schinzel AC, Shao DD, Schumacher SE, Weir BA, Vazquez F, Cowley GS, Root DE, Mesirov JP, Beroukhim R, Kuo CJ, Goessling W, Hahn WC. β -catenin-driven cancers require a YAP1 transcriptional complex for survival and tumorigenesis. *Cell*, 2012, 151(7): 1457–1473.
- [43] Park J, Jeong S. Wnt activated β -catenin and YAP proteins enhance the expression of non-coding RNA component of rnaase MRP in colon cancer cells. *Oncotarget*, 2015, 6(33): 34658–34668.
- [44] Oudhoff MJ, Braam MJS, Freeman SA, Wong D, Rattray DG, Wang J, Antignano F, Snyder K, Refaeli I, Hughes MR, McNagny KM, Gold MR, Arrowsmith CH, Sato T, Rossi FMV, Tatlock JH, Owen DR, Brown PJ, Zaph C.

- SETD7 controls intestinal regeneration and tumorigenesis by regulating Wnt/ β -catenin and Hippo/YAP signaling. *Dev Cell*, 2016, 37(1): 47–57.
- [45] Zhang L, Tang FY, Terracciano L, Hynx D, Kohler R, Bichet S, Hess D, Cron P, Hemmings BA, Hergovich A, Schmitz-Rohmer D. NDR functions as a physiological YAP1 kinase in the intestinal epithelium. *Curr Biol*, 2015, 25(3): 296–305.
- [46] Kim HB, Kim M, Park YS, Park I, Kim T, Yang SY, Cho CJ, Hwang D, Jung JH, Markowitz SD, Hwang SW, Yang SK, Lim DS, Myung SJ. Prostaglandin E₂ activates YAP and a positive-signaling loop to promote colon regeneration after colitis but also carcinogenesis in mice. *Gastroenterology*, 2017, 152(3): 616–630.
- [47] Powell SM, Zilz N, Beazer-Barclay Y, Bryan TM, Hamilton SR, Thibodeau SN, Vogelstein B, Kinzler KW. APC mutations occur early during colorectal tumorigenesis. *Nature*, 1992, 359(6392): 235–237.
- [48] Miyoshi Y, Ando H, Nagase H, Nishisho I, Horii A, Miki Y, Mori T, Utsunomiya J, Baba S, Petersen G. Germ-line mutations of the APC gene in 53 familial adenomatous polyposis patients. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(10): 4452–4456.
- [49] Cai J, Maitra A, Anders RA, Taketo MM, Pan DJ. β -catenin destruction complex-independent regulation of hippo-YAP signaling by APC in intestinal tumorigenesis. *Genes Dev*, 2015, 29(14): 1493–1506.
- [50] Azzolin L, Panciera T, Soligo S, Enzo E, Biciato S, Dupont S, Bresolin S, Frasson C, Basso G, Guzzardo V, Fassina A, Cordenonsi M, Piccolo S. YAP/TAZ incorporation in the β -catenin destruction complex orchestrates the wnt response. *Cell*, 2014, 158(1): 157–170.
- [51] Micchelli CA, Perrimon N. Evidence that stem cells reside in the adult *Drosophila* midgut epithelium. *Nature*, 2006, 439(7075): 475–479.
- [52] Ohlstein B, Spradling A. The adult *Drosophila* posterior midgut is maintained by pluripotent stem cells. *Nature*, 2006, 439(7075): 470–474.
- [53] Karpowicz P, Perez J, Perrimon N. The Hippo tumor suppressor pathway regulates intestinal stem cell regeneration. *Development*, 2010, 137(24): 4135–4145.
- [54] Ren FF, Wang B, Yue T, Yun EY, Ip YT, Jiang J. Hippo signaling regulates *Drosophila* intestine stem cell proliferation through multiple pathways. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(49): 21064–21069.
- [55] Shaw RL, Kohlmaier A, Polesello C, Veelken C, Edgar BA, Tapon N. The hippo pathway regulates intestinal stem cell proliferation during drosophila adult midgut regeneration. *Development*, 2010, 137(24): 4147–4158.
- [56] Wang C, Yin MX, Wu W, Dong L, Wang SM, Lu Y, Xu JX, Wu WQ, Li S, Zhao Y, Zhang L. Taiman acts as a coactivator of yorkie in the Hippo pathway to promote tissue growth and intestinal regeneration. *Cell Discov*, 2016, 2: 16006.
- [57] Staley BK, Irvine KD. Warts and yorkie mediate intestinal regeneration by influencing stem cell proliferation. *Curr Biol*, 2010, 20(17): 1580–1587.
- [58] Li Q, Li SX, Mana-Capelli S, Roth Flach RJ, Danai LV, Amcheslavsky A, Nie YC, Kaneko S, Yao XH, Chen XC, Cotton JL, Mao JH, McCollum D, Jiang J, Czech MP, Xu L, Ip YT. The conserved misshapen-warts-yorkie pathway acts in enteroblasts to regulate intestinal stem cells in *Drosophila*. *Dev Cell*, 2014, 31(3): 291–304.
- [59] Huang HL, Li JH, Hu LX, Ge L, Ji HB, Zhao Y, Zhang L. Bantam is essential for *Drosophila* intestinal stem cell proliferation in response to hippo signaling. *Dev Biol*, 2014, 385(2): 211–219.
- [60] Jin YY, Xu JJ, Yin MX, Lu Y, Hu LX, Li PX, Zhang P, Yuan ZQ, Ho MS, Ji HB, Zhao Y, Zhang L. Brahma is essential for *Drosophila* intestinal stem cell proliferation and regulated by Hippo signaling. *eLife*, 2013, 2: e00999.
- [61] Zhu Y, Li D, Wang YD, Pei CL, Liu S, Zhang L, Yuan ZQ, Zhang P. Brahma regulates the Hippo pathway activity through forming complex with Yki-Sd and regulating the transcription of Crumbs. *Cell Signal*, 2015, 27(3): 606–613.
- [62] Gjorevski N, Sachs N, Manfrin A, Giger S, Bragina ME, Ordóñez-Morán P, Clevers H, Lutolf MP. Designer matrices for intestinal stem cell and organoid culture. *Nature*, 2016, 539(7630): 560–564.
- [63] Cox AG, Hwang KL, Brown KK, Evason KJ, Beltz S, Tsomides A, O'Connor K, Galli GG, Yimlamai D, Chhangawala S, Yuan M, Lien EC, Wucherpennig J, Nissim S, Minami A, Cohen DE, Camargo FD, Asara JM, Houvras Y, Stainier DYR, Goessling W. Yap reprograms glutamine metabolism to increase nucleotide biosynthesis and enable liver growth. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(8): 886–896.
- [64] Santinon G, Pocaterra A, Dupont S. Control of YAP/TAZ activity by metabolic and nutrient-sensing pathways. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(4): 289–299.
- [65] Vališ K, Talacko P, Grobárová V, Černý J, Novák P. Shikonin regulates C-MYC and GLUT1 expression through the MST1-YAP1-TEAD1 axis. *Exp Cell Res*, 2016, 349(2): 273–281.
- [66] Oudhoff MJ, Antignano F, Chenery AL, Burrows K, Redpath SA, Braam MJ, Perona-Wright G, Zaph C. Intestinal epithelial cell-intrinsic deletion of *Setd7* identifies role for developmental pathways in immunity to helminth infection. *PLoS Pathog*, 2016, 12(9): e1005876.

(责任编辑: 许执恒)