

Hippo 信号通路与心血管发育及疾病调控

王永煜¹, 余薇², 周斌²

1. 温州医科大学基础医学院, 温州 325035;

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, 细胞生物学国家重点实验室, 上海 200031

摘要: 心血管疾病已成为中国乃至全球首位死亡原因, 探索心血管系统发育及调控异常的原因及相关机制可以为心血管疾病的预防和治疗提供重要的科学依据。Hippo 信号通路是新近发现的在调节器官大小、细胞增殖及凋亡、干细胞命运等方面具有重要功能的一条信号通路。Hippo 信号通路的不同成分参与心脏血管的发育和心血管细胞增殖、分化等功能调控, 影响损伤后修复及再生等过程, 该通路调节异常可引起心血管疾病, 如心梗、心肌梗大、血管内膜增生、动脉硬化等。本文综述了 Hippo 信号通路对心血管系统发育和疾病调控的相关研究及最新进展, 以期为 Hippo 通路在心血管疾病的发病机制及临床转化研究提供潜在的理论基础。

关键词: Hippo/YAP; 心脏发育; 心肌再生; 心血管疾病; 动脉硬化

Hippo signaling pathway in cardiovascular development and diseases

Yongyu Wang¹, Wei Yu², Bin Zhou²

1. College of Basic Medical Sciences, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China;

2. State Key Laboratory of Cell Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China

Abstract: Cardiovascular diseases have become the leading cause of death in the world. Understanding the development of cardiovascular system and the pathogenesis of cardiovascular diseases will promote the generation of novel preventive and therapeutic strategy. The Hippo pathway is a recently identified signaling cascade that plays a critical role in organ size control, cell proliferation, apoptosis and fate determination of stem cells. Gene knockout and transgenic mouse models have revealed that the Hippo signaling pathway is involved in heart development, cardiomyocyte proliferation, apoptosis, hypertrophy and cardiac regeneration. The Hippo signaling pathway also regulates vascular development, differentiation and various functions of vascular cells. Dysregulation of the Hippo signaling pathway leads to different kinds of cardiovascular diseases, such as myocardial infarction, cardiac hypertrophy, neointima formation and atherosclerosis. In this review, we briefly summarize current research on the roles and regulation mechanisms of the Hippo signaling pathway in cardiovascular development and diseases.

Keywords: Hippo/YAP; heart development; cardiac regeneration; cardiovascular diseases; atherosclerosis

收稿日期: 2017-02-09; 修回日期: 2017-03-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 81670454, 81270321, 31625019, 91639302)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 81670454, 81270321, 31625019, 91639302)]

通讯作者: 王永煜, 博士, 研究员, 研究方向: 干细胞与心血管再生。E-mail: yywangut@163.com

周斌, 博士, 研究员, 研究方向: 心血管发育与再生。E-mail: zhoubin@sibs.ac.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.17-039

网络出版时间: 2017/7/4 16:10:59

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20170704.1610.007.html>

心脏是胚胎发育过程第一个形成并发挥功能的器官,血管输送血液为全身组织器官提供营养并处理代谢产物,对机体发育及正常生理功能的维持非常重要。心血管系统结构和功能异常可诱发各种疾病,研究心血管系统生理及病理生理过程的分子调控机制将促进心血管疾病的临床诊断和治疗的发展。Hippo 信号通路是最近发现的在进化上相对保守的一条信号通路,在控制器官大小、调节细胞增殖、凋亡、干细胞命运等方面具有重要功能。近年来的研究显示,Hippo 信号通路参与了心血管系统的发育和生理功能的调节^[1],包括心脏、血管的发育分化、损伤反应、心肌再生、血管新生等过程,该通路调节异常将导致心血管疾病的发生,如心肌梗、心肌肥大、血管内膜增生、动脉硬化等。本文综述了Hippo 信号通路在心血管系统的相关研究及最新进展。

1 Hippo 信号通路与心脏

1.1 Hippo 信号通路调节心脏的发育

哺乳动物中 Hippo 信号通路主要由 MST1/2 (mammalian Sterile 20-like kinases 1/2)、SAV1 (Salvador)、LATS1/2 (large tumor suppressor 1/2)、MOB1 A/B (MOB kinase activator 1A/B)、YAP(Yes-associated protein)/TAZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif)、TEAD1-4 等组成,通过 MST1/2 和 LATS1/2 磷酸化级联反应磷酸化转录共激活因子 YAP/TAZ,限制其入核,不能与其他转录因子作用调节相关基因表达^[2]。心脏的发育及其大小的调控是个极其复杂且精确调节的过程,其分子机制尚未完全阐明。通过大量的遗传小鼠模型研究,已经确认 Hippo 信号通路参与心脏的发育过程(表1 表2)。LATS2 基因敲除(LATS2^{-/-})小鼠的胚胎由于中胚层过度增殖,心室发育不良而在胚胎期 12.5 天致死^[3]。通过 SAV1^{flox/flox} 小鼠与 Nkx2.5-Cre 小鼠杂交,产生心脏发育过程特异敲除心肌 SAV1 的小鼠,发现小鼠心脏肥大,心室壁变厚,心肌细胞的增殖能力明显增强,但心脏正常的组织结构以及心肌细胞大小却没有明显变化^[4]。特异敲除心肌 Hippo 信号通路其他相关基因如 MST1/2 时,小鼠也出现类似的表型^[4]。当诱导全身性敲除 MST1/2 时,可发现小鼠心脏扩张变大^[5]。转基因小鼠的心肌细胞中过表达 LATS2,发

现小鼠心脏较野生型小,心脏重量减轻,说明 LATS2 在心脏发育过程中对心脏大小和重量起负调控作用^[6]。全身性敲除 Hippo 信号通路的效应基因 YAP,小鼠胚胎由于卵黄囊血管生成、绒毛膜尿囊融合和胚轴延长缺陷阻碍心脏发育,大约在胚胎期 8.5 天死亡^[7]。应用 α -MHC (α -myosin heavy chain)-Cre 在心脏发育相对晚期特异性敲除心肌细胞中的 YAP,小鼠能够存活,但小鼠发育到第 6 周时开始出现心肌细胞缺陷和心脏功能不全^[8]。通过转基因或基因敲除 Hippo 信号通路成分的研究,提示在心脏发育过程中 Hippo 信号通路的重要作用。心脏的发育在胚胎期主要通过心肌细胞的增殖来完成,而出身后心脏的增殖能力很快消失,并主要通过心肌细胞的生理性肥大进一步完成心脏的生长发育。应用 Nkx2.5-Cre 或 Tnnt2-Cre 小鼠在胚胎心脏发育早期特异性敲除心肌细胞中的 YAP,则阻碍了心肌细胞增殖,引起心脏发育不全(hypoplasia)并导致小鼠胚胎死亡^[9,10]。在小鼠出生后,通过诱导心肌细胞过表达 YAP,发现心脏重量增加但心肌细胞大小并未发生改变,而是心肌细胞的数量增多了^[10]。这些研究结果表明,Hippo 信号通路的效应分子 YAP 在心脏发育过程、特别是心肌细胞的增殖调节中是必须的,而对心肌细胞的肥大并没有太大的作用。应用 β -MHC-Cre 小鼠在心脏特异过表达激活形式的 YAP S112A,也证实胚胎心脏中心肌细胞数量增多及心脏体积增大^[9]。但这种小鼠成年后心脏大小却是正常的,这是因为虽然心肌细胞数比正常对照多,但心肌细胞体积较小。这种在 YAP 特异激活的条件下,如何通过细胞数目和细胞大小间的交互作用来维持心脏正常大小的机制目前仍不清楚。对斑马鱼模型的研究也证实了 Hippo 信号通路在早期心脏发育中的作用。斑马鱼心脏的前体细胞中表达 YAP/TAZ 并有活性。当过表达显性失活(dominant negative)的 YAP(DN-YAP)时,心脏前体细胞迁移能力受到损害,阻止其迁移到中线形成心管并导致心脏发育异常^[11]。此外,G 蛋白偶联受体(G protein couple receptor, GPCR)S1P 是斑马鱼心脏前体细胞迁移到中线所必须的,而 GPCR 信号可以调节 Hippo 信号通路^[12]。因此,推测 S1P 可能通过激活 YAP/TAZ 诱导斑马鱼心脏前体细胞的迁移来调节心脏的发育。

表 1 Hippo 信号通路激活或 YAP 失活的小鼠模型

Table 1 Mouse models of Hippo signaling pathway activation or YAP inactivation

Hippo 信号通路成分	基因敲除或过表达	动物模型的获得	表型	参考文献
<i>MST1</i>	心脏过表达 <i>MST1</i>	α -MHC 启动子	未成熟致死, 增加心肌细胞凋亡、纤维化、扩张性心肌病, 不导致心肌细胞肥大	[19]
<i>LATS2</i>	心脏过表达 <i>LATS2</i>	α -MHC 启动子	心肌细胞和心室变小, 减少左心室收缩舒张能力, 不影响心肌细胞凋亡	[6]
<i>YAP</i>	心脏发育早期敲除 <i>YAP</i>	<i>NKX2.5-Cre</i> \times <i>YAP</i> flox	胚胎发育到 10.5 天致死, 心肌细胞增殖下降, 心肌变薄	[9]
	胚胎发育晚期及出生后心脏敲除 <i>YAP</i>	α -MHC- <i>Cre</i> \times <i>YAP</i> flox	出生后 12~20 周死亡, 到第 9 周时心室壁变薄, 扩张性心肌病, 心房血栓, 纤维化, 心衰; 心肌梗后损伤加重, 增加心肌细胞凋亡和纤维化; 新生鼠心脏再生缺陷	[8,26]
	心脏发育早期敲除心肌细胞 <i>YAP</i>	<i>Tnnt2-Cre</i> \times <i>YAP</i> flox	胚胎发育到 16.5 天致死, 心室腔变小, 心肌增殖能力下降; 在正常和病理条件下不影响心肌肥大	[10]
	心脏及血管平滑肌敲除 <i>YAP</i>	<i>SM22a-Cre</i> \times <i>YAP</i> flox	心肌发育不良, 室间隔发育缺陷, 严重的血管发育异常	[51]
	心脏过表达突变 <i>YAP1fl/S79A</i> (抑制与 TEAD1 作用)	<i>Tnnt2-Cre</i>	抑制心肌增殖与心脏 <i>YAP</i> 敲除小鼠表型相似	[10]
<i>TAZ</i>	胚胎发育晚期及出生后心脏敲除 <i>TAZ</i>	α -MHC- <i>Cre</i> \times <i>YAP</i> flox	心脏正常, 但同时心脏特异敲除 <i>YAP</i> 时, 增强其表型, 包括心肌增殖减弱, 凋亡增加及心衰。	[8]
<i>TEAD1</i>	敲除 <i>TEAD1</i>	逆转录病毒基因捕获 (retroviral gene trap)	胚胎发育到 11~12 天致死, 心室壁变薄, 心肌小梁数量减少	[15]
<i>NF2</i>	心脏特异敲除 <i>NF2</i>	α -MHC- <i>Cre</i> \times <i>NF2</i> flox	保护 I/R 造成的损伤并促进心功能恢复	[27]

Hippo 信号通路通过效应蛋白 YAP/TAZ, 与转录因子相互作用并激活下游相关基因的表达而起到调节各种生理功能。在哺乳动物中最常见的与 YAP/TAZ 相互作用的转录因子是 TEAD 家族成员, 包括 TEAD1-4^[13,14]。当在生殖细胞中去除 *TEAD1* 基因后, 发现小鼠心脏的心肌小梁发育缺陷, 在胚胎期 11.5 天致死^[15]。而过表达 *TEAD1* 的小鼠心肌细胞排列紊乱, 间隔壁变厚, 纤维化, 心功能失常; 虽然并未发现心肌肥大, 但不耐受压力负荷(仅 4 天就导致死亡)^[16]。应用短肽或 *YAP S79A* 突变抑制 TEAD 与 YAP 相互作用时, 心肌细胞增殖也受到抑制并影响胚胎心脏的发育^[10]。应用 α -MHC-*Cre* 小鼠在发育晚期敲除 *TAZ*, 心脏发育正常, 但是再同时敲除一半的 *YAP*, 小鼠就会由于心肌细胞增殖减少, 凋亡增加, 在围产期致死^[8]。这些结果进一步证明 Hippo 信号通路在心肌细胞增殖及心脏发育中的重要作用。

机制研究表明, Hippo 信号通路可以通过调节

其他信号通路, 如 Wnt、胰岛素样生长因子(insulin like growth factor, IGF)信号等, 参与心脏的发育过程^[4,9]。Wnt 信号在心脏发育过程中起重要作用, 而 Hippo 信号通路可以通过抑制 Wnt 下游靶向基因来调节该信号通路。这两条信号通路的遗传小鼠模型的心脏表型有许多相似之处却又不完全相同。应用不同的 Cre 小鼠特异敲除心脏 Wnt 效应基因 β -catenin, 小鼠的心脏发育过程并不显示心肌凋亡, 但心肌细胞增殖被抑制, 心室变小, 心室壁的紧密层变薄, 胚胎发育到 12.5 天死亡^[17], 这与应用 *Nkx2.5-Cre* 或 *Tnnt2-Cre* 小鼠特异敲除心脏 *YAP* 的表型类似^[9,10]。小鼠心脏在发育过程中, 左右两心室来源于不同的前体细胞。左心室来自第一心区(first heart field, FHF)的前体细胞, 而右心室来自于第二心区(second heart field, SHF)。一个有趣的发现是, 通过 *Nkx2.5-Cre* 敲除心脏 β -catenin 后, 小鼠右心室受到的影响比左心室更大, 提示 Wnt 信号在 SHF 发育中有特别的功能。然而通过 *Nkx2.5-Cre* 失活心脏的

表 2 Hippo 信号通路失活或 YAP 激活的小鼠模型
Table 2 Mouse models of Hippo pathway inactivation or YAP activation

Hippo 信号通路成分	基因敲除或过表达	动物模型的获得	表型	参考文献
MST1/2	胚胎心脏敲除 <i>MST1/2</i>	<i>NKX2.5-Cre</i> × <i>MST1/2</i> flox	心脏扩张变大, 与心肌特异敲除 SAV1 小鼠的心脏表型相似	[4]
	Tamoxifen (TM)诱导敲除 <i>MST1/2</i>	<i>CAGG Cre-ER</i>	心脏扩张变大	[5]
	心脏过表达 <i>DN-MST1</i>	α -MHC 启动子, <i>DN-MST1-K59R</i>	减少心梗后的心肌凋亡, 纤维化, 心肌扩张, 但不造成心肌梗大; 减少缺血再灌注造成的心肌凋亡	[19,20]
SAV1	Tamoxifen 注射诱导心肌细胞敲除 <i>SAV1</i>	<i>MYH6-Cre/ERT2</i>	增加成体心肌细胞更新, 促进心尖切除后的心肌增殖心脏再生	[32]
	心脏发育早期敲除 <i>SAV1</i>	<i>NKX2.5-Cre</i> × <i>SAV1</i> flox	增加心肌细胞增殖, 心肌变厚, 心脏变大	[4]
LATS2	全身敲除 <i>LATS2</i>		胚胎发育到 12.5 天致死, 10.5 天时 36%胚胎心室发育不良	[3]
	心脏发育早期敲除 <i>LATS2</i>	<i>NKX2.5-Cre</i> × <i>LATS2</i> flox	心脏扩张变大, 与心肌特异敲除 SAV1 小鼠的心脏表型相似	[4]
	心脏过表达 <i>DN-LATS2</i>	<i>cTG-DN LATS2-K697A</i>	心室肥大, 减轻 TAC 诱导的心肌细胞凋亡	[6]
	Tamoxifen 注射诱导心肌细胞敲除 <i>LATS1/2</i>	<i>MYH6-Cre/ERT2</i>	增加成体心肌细胞更新, 促进心尖切除后的心脏再生	[32]
YAP	心脏过表达激活的 <i>YAP-S112A</i>	β -MHC 启动子	胚胎心脏中增殖增强, 心肌变厚, 成体心脏大小正常心肌细胞体积变小但数量增多	[9]
	心脏过表达激活的 <i>YAP-S112A</i>	α -MHC 启动子	促进心肌细胞增殖, 心肌变厚, 心脏变大, 再生能力增强	[8]
	Doxycycline 诱导心脏过表达激活的 <i>YAP-S127A</i>	<i>TNNT2-Cre</i>	胚胎 8.5 天诱导 YAP 过表达, 到 15.5 天因过度增殖心肌变厚, 心脏变大而死亡; 出生后 5 天诱导导致心肌细胞增殖, 心脏变重但不发生肥大	[10]
TEAD	心脏过表达 <i>TEAD1</i>	<i>MCK</i> (muscle creatine kinase)	心肌细胞排列紊乱, 间隔壁变厚, 纤维化, 心输出减少, 无心肌梗大, 不耐受压力负荷(仅4 天就导致死亡)	[16]

YAP 或 Hippo 信号通路其他成分对两个心室的影响相似,说明与 Wnt 信号不同,Hippo 信号通路对 FHF 和 SHF 的影响没有太大差异。但要更精确地比较 Hippo 和 Wnt 对 SHF 前体细胞功能的差异则需要应用 SHF 特异的 *Lslet1-Cre* 或 *Mesp1-Cre* 敲除 YAP 后进一步来检测。此外,应用 β -MHC-*Cre* 在心脏特异过表达激活形式的 YAP S112A,发现小鼠心肌细胞中 IGF 信号通路被激活,并通过 PI3K-AKT 使 GSK3 β 磷酸化而失活,导致 β -catenin 的稳定性和丰度增加,促进心肌生长^[9]。

1.2 Hippo 信号通路调节心肌细胞凋亡和肥大

Hippo 信号通路参与细胞凋亡的调节^[18],在心

脏中是否也有类似的功能呢?应用促凋亡刺激如 H₂O₂ 处理心肌细胞时发现,在心肌细胞凋亡过程中 MST1 被激活。心肌缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)或心梗可引起心肌细胞凋亡,并伴随 MST1 激活^[19,20]。通过 α -MHC-*Cre* 在小鼠心脏特异过表达 *MST1* 时,发现 Caspases 激活,引起心肌细胞凋亡,导致扩张性心肌病^[19]。相反,心脏过表达显性失活的 *MST1(DN-MST1)*,可以减少心梗导致的心肌细胞凋亡及心脏纤维化等,但不影响心肌细胞肥大。这些证据表明,*MST1* 在心肌细胞凋亡中扮演着重要的角色。研究显示,MST1/2 促凋亡的功能也被上游分子 RASSF1A 激活^[21]。与野生型小鼠比较,应用 α -MHC-*Cre* 在心脏特异过表达 *RASSF1A* 的转基因

小鼠, 心肌细胞凋亡增加; 胸主动脉缩窄(transverse aortic constriction, TAC)后增加心肌细胞凋亡, 促进心脏纤维化并明显降低心功能, 这一过程伴随 *MST1* 上调激活^[21]。相反, 小鼠心脏特异敲除 *RASSF1A* 基因后, 则可以减少 TAC 诱导的心肌细胞凋亡和心肌纤维化并伴随心功能的改善^[21]。在氧化应激下, 心肌细胞中 *RASSF1A* 可以和 K-Ras、*MST1* 在线粒体中形成复合物, 并激活 *MST1*, 导致 Bcl-XL 磷酸化, 释放 Bax 激活并介导线粒体凋亡途径^[22]。然而, 整体敲除 *RASSF1A* 却加重了 TAC 诱导的心脏纤维化和心肌肥大^[23]。进一步体外实验证明, 在心肌成纤维细胞中 *RASSF1A*-*MST1/2* 负性调节 TNF- α 水平, *RASSF1A* 敲除可上调心肌成纤维细胞 TNF- α 表达并促进心肌细胞肥大。因此, 在心脏损伤过程中 *RASSF1A*-*MST1/2* 在非心肌细胞中可能发挥抗增殖和抗炎作用, 影响心肌肥大^[21]。

压力超负荷导致的心肌细胞凋亡过程还发现 *LATS2* 蛋白水平明显上调, 提示 *LATS2* 可能参与心肌凋亡作用。体外实验证实心肌细胞过表达 *LATS2* 的确诱导心肌细胞凋亡, 而且还可抑制心肌细胞肥大^[6]。在 α -MHC 启动子作用下心肌过表达 *DN-LATS2* 可减少 TAC 造成的心肌细胞凋亡, 同时也促进心肌细胞肥大, 增加心脏重量^[6]。这些研究证实 *LATS2* 可调节心肌细胞肥大和凋亡。然而, *LATS2* 诱导的心肌凋亡与 *MST1/2* 的作用并不完全一致, 因为 α -MHC 启动子驱动的心肌过表达 *MST1*, 在基础条件下诱导心肌细胞凋亡, 而过表达 *LATS2* 在基础条件下不影响心肌凋亡, 表明 *MST1/2* 可能并不通过 *LATS2* 的其他途径促进细胞凋亡。最近的研究提示, *MST1* 可能通过抑制自噬而促进心肌细胞凋亡^[24]。因为 *MST1* 可直接磷酸化 Beclin1, 破坏促自噬的 Atg14c-Beclin1-Vps34 复合物的形成, Beclin1 与 Bcl-2 和 Bcl-XL 相互作用释放 Bax, 调节心肌细胞凋亡^[24]。随后, Nakamura 等^[25]进一步做了基因敲入小鼠, 把 Bcl-XL 的丝氨酸 14(Ser14)替换为丙氨酸(Ala), 而不能再被 *MST1* 磷酸化; 观察发现基因敲入小鼠的心脏结构和功能都正常, 但在心脏缺血再灌注模型中, 心肌细胞的凋亡显著减少, 在 *MST1* 抑制诱导的心肌肥大模型中, 基因敲入小鼠的心脏功能也能有较大改善, 心肌细胞的凋亡也明显减少。

这些研究结果进一步证明 *MST1/2* 诱导凋亡机制并不依赖经典的 *LATS1/2*-YAP 信号来介导, 因此, *MST1/2* 诱导心肌细胞凋亡机制仍需进行深入的研究。

此外, 研究证明 Hippo 信号通路的其他成分如 YAP 和 NF2 在心肌细胞凋亡和肥大中也十分重要。通过 α -MHC-Cre 在心肌中敲除 YAP, 导致小鼠扩张性心脏病及未成熟致死(平均死于 10~11 周), 并增加慢性心梗造成的心肌细胞凋亡及纤维化^[26]。在应激条件下, 心肌 NF2 可被激活并通过调节 Hippo 信号通路促进心肌细胞凋亡。心脏特异敲除 NF2, 可通过抑制 *MST1* 和激活 YAP 保护 I/R 损伤^[27]。综上所述, Hippo 信号通路组分 *MST1/2*、*LATS2*、YAP 和 NF2 等在心肌凋亡及肥大过程起着十分重要的调节作用。

1.3 Hippo 信号通路调节心脏再生

虽然一些较低等物种如斑马鱼(*Danio Rerio*)的心肌细胞增殖和心脏损伤修复能力很强, 但哺乳动物心脏再生能力有限。Olson 研究组首次发现小鼠心脏在出生后的 7 天内具有短暂的再生能力, 可以完整地再生出切除的心尖组织。但 7 天后, 这种再生能力很快消失, 心脏损伤后就不可再生^[28]。与成体心脏相似, 损伤后则形成纤维化和疤痕组织, 很难有效自我修复。考虑到 Hippo 信号通路在发育过程中控制心脏大小和心肌细胞增殖起主要作用, 而且 Hippo 信号通路在小肠、肝、皮肤等组织修复和再生中有重要作用^[29-31], 因此, 推测 Hippo 信号通路在心脏损伤和再生过程中也可能发挥重要功能。

Heallen 等^[32]通过 *MYH6-Cre/ERT2* 诱导心肌特异敲除 *SAVI* 或 *LATS1/2*, 发现心肌细胞重新进入细胞周期并增殖。小鼠心脏在出生后 7 天内, 切除心尖可以实现再生, 但 7 天后这种能力很快消失, 切除心尖则会形成纤维化和疤痕^[28]。用 *MYH6-Cre/ERT2* 诱导心肌特异敲除小鼠 *SAVI*, 在小鼠出生后 8 天切除心尖, 发现 21 天后心肌能有效再生并减小疤痕大小。用 *NKX2.5-Cre* 特异敲除心脏 *SAVI* 小鼠也得到类似的结果, 该小鼠在第 8 天或 3 个月时结扎左前降冠脉造成心肌缺血损伤模型中, 同样发现心肌再生疤痕减小, 进一步发现成体心脏损伤后的再生主要是通过心肌细胞增殖来完成^[32]。这些研究结

果表明抑制 Hippo 信号通路可以促进心脏的再生。

将出生后 2 天的鼠心脏的冠状动脉进行左前降支结扎,造成心肌损伤,26 天后野生型小鼠心脏可以完全再生,而通过 α -MHC-Cre 在胚胎发育晚期敲除心肌细胞 YAP 的小鼠心脏就不再具有再生能力,整个左心室因损伤形成很大梗死区。相反,在心脏过表达激活形式 YAP S112A 的转基因鼠中,发现心肌细胞在小鼠出生 7 天后,乃至成体,都具有增殖能力,使心脏变大。小鼠出生 7 天后结扎左前降冠脉,发现其心脏具有很强的再生修复能力,手术 3 周后,心脏的疤痕区域明显小于对照组,进一步证明 YAP S112A 促进心肌细胞损伤后的增殖和存活。Lin 等^[33]利用九型腺相关病毒(adeno-associated virus 9, AAV9)在心梗(MI)后的成体小鼠心脏中过表达 YAP,使心肌细胞重新进入细胞周期,分裂增殖,促进损伤心脏的修复和心脏功能的改善。随后他们进一步发现,YAP 可以直接调控 PI3K-AKT 信号通路中过的 *Pik3cb* 基因,在心脏修复过程中起到非常重要的作用^[34]。这些结果表明激活 YAP 可以促进小鼠心脏损伤修复过程^[8]。

Pitx2 是 Nodal 信号通路下游的主要效应因子,在发育过程中参与心脏左右结构的分化^[35]。Tao 等^[36]发现 Pitx2 在心脏受损伤部位激活,同时可与 YAP 结合参与调控 Hippo 信号通路,促进心脏的再生修复;敲除 *Pitx2* 的新生小鼠心脏在心尖切除后不能完全再生。

此外,通过对人的全基因组高通量微小 RNA (miRNA)筛选,发现许多 miRNA 参与调控胚胎发育过程中心肌细胞的增殖。通过 AAV9 使小鼠心脏过表达 *hsa-miR-590* 和 *hsa-miR-199a*,发现其心脏变大,这是由于心肌细胞数量增多,而非体积增大,并且发现在 MI 后具有更好的心肌修复能力^[37]。Tian 等^[38]发现 miR302-367 促进胚胎发育过程中细胞的增殖,出生后其表达水平随之降低;miR302-367 可以调节一系列 Hippo 信号通路中的相关基因,对心肌细胞的增殖能力维持有重要作用;在出生后的小鼠心脏中重新表达 *miR302-367*,可以使心肌细胞又恢复增殖能力,促进损伤后心脏的再生修复。Yang 等^[39]还发现 YAP 可以调节增加 miR206 的丰度,从而进一步抑制 FoxP1 来促进心肌细胞的存活和心脏代偿

性肥大;同时还提出 miR206 的丰度还受到 MST1 的负调控。由此可见,Hippo 信号通路在心脏再生中同样发挥重要的作用。

1.4 Hippo 信号通路与心脏疾病

Sadoshima 研究组研究发现,心脏在某些应激条件如 I/R、心梗和压力超负荷等情况下,Hippo 信号通路的关键激酶 MST1 可被激活^[19-21]。MST1 不仅能促进心肌细胞的凋亡,还能抑制心肌肥大。心脏不能通过重塑来代偿心脏功能,导致心室壁变薄而进一步增加心脏的超负荷压力,最终导致心力衰竭而致死^[40]。当抑制 MST1 活性时,可以阻止 I/R 损伤及慢性心梗造成的心脏重塑和心功能失调,由此提示 MST1 可能是治疗缺血性心脏病的一个潜在的靶点。MST2 也是 Hippo 信号通路中的一个重要调节因子。*MST2*^{-/-}小鼠心肌细胞的增殖不受影响,然而在心脏超负荷的情况下,可以更有效地抑制心肌肥大和纤维化。在新生大鼠心肌细胞中过表达 *MST2*,会促进由苯肾上腺素引起的心肌肥大。该作用是通过调控 Raf1-ERK1/2 信号通路实现的^[41]。最近,周大旺研究组筛选到了靶向 MST1/2 的抑制剂 XMU-MP-1,可以特异性抑制 MST1/2 激酶活性,并发现该抑制剂可明显促进小鼠小肠和肝脏损伤后的组织修复和再生^[42]。鉴于 MST1/2 在心脏功能调控方面的重要作用,该抑制剂的发现对心脏再生及疾病防治等方面的研究及临床应用具有潜在的重要意义。

Hippo 信号通路下游 YAP 对心肌缺血及氧化应激造成的损伤具有保护作用^[26,43]。最近还发现肿瘤抑制基因 NF2 可以调节 Hippo 信号通路^[44-46]。心律失常性心肌病是以右心室心肌细胞被成纤维脂肪细胞所取代为特征的心肌病,临床表现为心律失常、猝死和心衰^[47]。在心律失常心肌病的小鼠模型及病人的样本中均发现 NF2 被激活,并通过激活 Hippo 信号通路抑制 YAP 活性促进脂肪生成^[48]。在氧化应激和 I/R 条件下,小鼠心肌 NF2 也被激活,同样通过激活 Hippo 信号通路或抑制 YAP 可导致心肌损伤^[27]。敲除心肌 NF2 则可以保护 I/R 诱导的心肌损伤作用。此外,Wnt/ β -catenin 信号通路也会与 Hippo 信号通路相互调节。例如,Hippo 信号通路激活后磷酸化 TAZ,促进其在细胞中的准确定位,进一步

调节 Wnt 信号通路中重要的效应因子 Dishevelled^[49]。YAP 进一步结合 β -catenin, 共同调控下游靶基因的表达^[4]。在心律失常症患者的心脏中, β -catenin 的蛋白水平不变, 但其磷酸化水平升高, 且不能定位于闰盘, 使得 YAP/ β -catenin 不能再调节闰盘处的细胞连接相关基因, 导致心肌结构无法稳定建立而发生心律失常。

心脏瓣膜发育异常是常见的先天性心脏疾病, 也是导致新生婴儿死亡的重要原因之一。Zhang 等^[50]用 *Tie2-Cre* 小鼠特异敲除心内膜中的 *YAP1* 基因, 发现小鼠在胚胎期 9.5 天时心内膜垫发育异常, 并进一步揭示 YAP1 能够协同 TGF- β /Smad 信号通路共同调控心脏瓣膜发育过程中内皮细胞向间质细胞的转化(endothelial to mesenchymal transition, EMT)。

以上研究显示, Hippo 信号通路在多种心脏病的发生发展中具有重要作用。因此, Hippo 信号通路各成分可能成为各种心脏疾病的潜在治疗靶点。

2 Hippo 信号通路与血管

2.1 Hippo 信号通路与血管发育分化及新生

Hippo 信号通路除在心脏发育过程中起重要作用外, 也参与血管的发育。利用 *SM22 α -Cre* 小鼠在血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)和心肌中敲除 YAP, 小鼠由于心脏发育缺陷导致出生前致死, 同时也发现血管发育有严重缺陷, 如动脉壁发育不全, 头臂动脉(brachiocephalic)和右锁骨下动脉变短或缺失, 左颈动脉和胸动脉管壁变薄、管腔变大等^[51]。这种小鼠血管平滑肌收缩蛋白和参与心肌细胞增殖相关基因表达并无明显改变, 但细胞周期停滞基因包括 *Gpr132* 等的表达明显上调, 从而抑制 VSMC 增殖。由于该小鼠胚胎致死, 因此若要阐明 YAP 在成年 VSMC 中的功能, 则需要应用可诱导的平滑肌特异敲除动物模型来进一步研究。

在 SMC 从心血管前体细胞(cardiovascular progenitor cells, CPC)分化过程中发现 YAP 表达明显降低。如果 CPC 中过表达 YAP 则降低 CPC 向 SMC 分化效率, 其机制可能是 YAP 与 Nkx2.5 竞争结合 MyoD (Myocardin), 起到抑制 SMC 分化过程^[52]。相

反, 在神经嵴分化为主动脉 SMC 过程中, YAP/TAZ 却是促进 SMC 分化。一旦敲除 YAP/TAZ, 神经嵴前体细胞将不能分化 SMC。YAP 可以与 Notch 信号通路分子 NICD(Notch intracellular domain)直接相互作用, 并结合到 *Jagged1* 增强子上促进 SMC 的分化^[53]。此外, YAP/TAZ 也参与心外膜分化为冠状动脉过程。冠状动脉的形成是一个复杂过程, 起源于心外膜, 遗传学及药理学方法研究表明抑制 YAP 和 TAZ 会损害心外膜上皮间质转化(EMT), 减少心外膜细胞增殖及分化为冠脉内皮细胞, YAP 和 TAZ 可能通过调节 *Tbx18* 和 *Wnt* 表达来控制心外膜细胞的行为, 影响冠脉血管发育^[54]。

Hippo 信号通路还参与调节血管新生。在小鼠发育的视网膜血管前端发现 YAP 表达增加, 而激活的 YAP 可以促进 *Angiopoietin-2* 的表达进而调节血管新生。在内皮细胞(endothelial cell, EC)中过表达激活的 YAP 可以增强血管新生时血管出芽^[55]。赵斌研究组发现 LATS1/2 可通过磷酸化 Angiomotin 抑制内皮细胞迁移和血管新生^[56]。

2.2 Hippo 信号通路与血管细胞功能调控

最近的研究发现, Hippo 信号通路参与调控血管平滑肌细胞增殖和迁移等功能。激活 G 蛋白偶联受体—凝血噁烷 A2 受体, 可以通过 $G_{12/13}$ -Rho 信号抑制 LATS1/2 活性而激活 YAP/TAZ, 促进 VSMC 的增殖和迁移。相反, 激活细胞内 cAMP 可使肌动蛋白与细胞骨架发生重塑, 进而抑制 YAP/TAZ-TEAD 介导的促有丝分裂基因表达, 最终抑制 VSMC 增殖^[57]。血管受到损伤时 SMC 可发生表型转化, 从收缩分泌型变为增殖型, 是血管内膜增生的重要病理生理基础。在大鼠(*Rattus norvegicus*)球囊颈动脉损伤模型中发现, YAP 表达明显上调, SMC 的增殖、迁移能力增强, 并促进新生内膜的形成。其机制可能是 YAP 通过与 MyoD 结合, 减少或破坏 MyoD 与血清反应因子(serum response factor, SRF)结合而抑制 SMC 收缩表型的维持^[58,59]。

Hippo 信号通路也参与内皮细胞增殖、间隙稳定性和血管重塑。YAP 可调节人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)进入 S 期而促进增殖, 应用 siRNA 下调 YAP 则阻止

HUVEC 停滞于 G_1 期^[60]。此外, YAP 在维持内皮细胞间隙稳定性(通透性)也有重要作用。正常情况下, 内皮细胞间可通过粘着连接 VE-Cadherin 复合物与 14-3-3-YAP 结合。而 EPS8, 一种调节肌动蛋白(actin)动态平衡的信号调节蛋白, 在一定条件下可与 VE-Cadherin 结合而促进 YAP 入核。内皮细胞间隙受到破坏时, 可以激活 YAP 入核, 调节下游基因的表达, 然而其中具体的病理生理功能尚待进一步研究^[61]。

2.3 Hippo 信号通路与血管疾病

Hippo 信号通路调节异常可能与多种血管疾病的发生发展有密切联系。首先, 内皮细胞 YAP/TAZ 可能参与动脉粥样硬化调节过程。当内皮细胞暴露在湍流(disturbed flow)作用下时可以导致 YAP/TAZ 激活并入核上调相关靶基因, 如 *CYR61*、*CTGF* 和 *ANKRD1*, 诱导内皮细胞增殖和炎症反应, 促进动脉硬化。相反, 层流(laminar flow)可以抑制内皮细胞 YAP/TAZ 活性, 具有抗动脉粥样硬化。下调 YAP/TAZ 明显抑制湍流诱导的内皮增殖和促炎表型, 而过表达结构性激活的 YAP 可以促进内皮细胞的增殖和促炎症表型, 应用抗动脉硬化的他汀类药物(statin)处理内皮细胞, 也可以通过抑制 YAP/TAZ 活性来抑制湍流导致内皮细胞增殖和炎症反应^[62,63]。在 *ApoE* 敲除小鼠通过颈动脉结扎造成的动脉硬化模型中, 抑制 YAP/TAZ 可以减小动脉硬化斑块。由此可见, 激活 YAP/TAZ 可调节内皮细胞的增殖及炎症反应, 从而介导血流动力学异常导致的动脉硬化。Wang 等^[64]进一步证明湍流通过内皮细胞膜上的整合素(integrin)激活 $G_{\alpha 13}$ /RhoA, 导致 YAP/TAZ 活化入核, 进而激活转录因子 JNK 介导炎症基因等表达, 最终导致动脉粥样硬化形成。其次, Hippo 信号通路参与血管损伤及重塑。血管损伤后会引起 VSMC 增殖和迁移并导致内膜增生, 研究发现在这个过程中 VSMC 的 YAP 表达上调, 当敲除或下调 YAP 后损伤诱导的 VSMC 的增殖和迁移受到抑制, 并减轻血管内膜新生^[58]。在肺动脉高压的肺动脉血管和肺动脉血管平滑肌细胞(pulmonary arterial vascular smooth muscle cells, PAVSMC)中发现, Hippo 信号通路的关键成员 LATS1 失活并上调 YAP, 进而激活

mTOR-AKT 积累 HIF1 α 、Notch3(NICD)及 β -catenin, 抑制促凋亡基因 *Bim* 表达, 促进 PAVSMC 的增殖及存活。YAP 上调还促进 Fibronectin 的分泌并上调整合素连接激酶 1(integrin-linked kinase 1, ILK1), 揭示了在肺动脉高压血管重塑过程中 Hippo 信号通路在血管平滑肌细胞维持增殖、抵抗凋亡的新机制^[65]。此外, Hippo 信号通路还可能与主动脉瘤形成有密切关系。在升主动脉瘤(ascending aortic aneurysms)患者中, 动脉壁上的 YAP 表达明显下调, 并伴随主动脉细胞外基质中血管平滑肌细胞凋亡增多, 然而 Hippo 信号通路如何参与动脉瘤形成的确切机制目前尚不清楚^[66]。由此可见, Hippo 信号通路异常与不同血管疾病密切相关。

3 结语与展望

当前用大量的小鼠模型研究揭示了 Hippo 信号通路在心血管发育、疾病、损伤修复及再生等方面具有重要作用。由于该通路在进化上具有高度的保守性, 推测在人类及其他物种的心血管系统中也有类似重要的调节作用。然而, 对 Hippo 信号通路在人类心脏和血管的发育分化、疾病及再生等生理及病理过程的确切调节机制仍需要进行大量和深入的研究。当然, Hippo 信号通路本身的基本调控机制也尚未完全阐明, 例如激活 Hippo 信号通路的上游刺激因子及调节信号分子还有哪些并不完全明了; 下游除 Yap/Taz 外是否还有其他效应分子介导 Hippo 信号通路的各种功能; Hippo 信号通路与其他信号通路如何相互作用共同调节各种生理及病理过程也有待进一步探索。此外, Hippo 信号通路与非编码 RNA、表观遗传等方式参与调控心血管系统的发育和疾病过程还需要更多的研究工作。总之, 随着对 Hippo 信号通路调节机制的深入研究, 不仅可以为人们进一步了解心血管疾病的发病机制提供更多的理论基础, 而且可能为靶向 Hippo 信号通路相关分子进行心血管疾病的预防和诊疗带来新的希望。

参考文献(References):

- [1] Zhou Q, Li L, Zhao B, Guan KL. The hippo pathway in heart development, regeneration, and diseases. *Circ Res*, 2015, 116(8): 1431–1447. [DOI]

- [2] Yu FX, Zhao B, Guan KL. Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer. *Cell*, 2015, 163(4): 811–828. [DOI]
- [3] McPherson JP, Tamblyn L, Elia A, Migon E, Shehabeldin A, Matysiak-Zablocki E, Lemmers B, Salmena L, Hakem A, Fish J, Kassam F, Squire J, Bruneau BG, Hande MP, Hakem R. Lats2/Kpm is required for embryonic development, proliferation control and genomic integrity. *EMBO J*, 2004, 23(18): 3677–3688. [DOI]
- [4] 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. [DOI]
- [5] Song H, Mak KK, Topol L, Yun KS, Hu J, Garrett L, Chen YB, Park O, Chang J, Simpson RM, Wang CY, Gao B, Jiang J, Yang YZ. Mammalian Mst1 and Mst2 kinases play essential roles in organ size control and tumor suppression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(4): 1431–1436. [DOI]
- [6] Matsui Y, Nakano N, Shao D, Gao SM, Luo WT, Hong C, Zhai PY, Holle E, Yu XZ, Yabuta N, Tao WF, Wagner T, Nojima H, Sadoshima J. Lats2 is a negative regulator of myocyte size in the heart. *Circ Res*, 2008, 103(11): 1309–1318. [DOI]
- [7] Morin-Kensicki EM, Boone BN, Howell M, Stonebraker JR, Teed J, Alb JG, Magnuson TR, O'Neal W, Milgram SL. Defects in yolk sac vasculogenesis, chorioallantoic fusion, and embryonic axis elongation in mice with targeted disruption of Yap65. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(1): 77–87. [DOI]
- [8] Xin M, Kim Y, Sutherland LB, Murakami M, Qi XX, McAnally J, Porrello ER, Mahmoud AI, Tan W, Shelton JM, Richardson JA, Sadek HA, Bassel-Duby R, Olson EN. Hippo pathway effector Yap promotes cardiac regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(34): 13839–13844. [DOI]
- [9] Xin M, Kim Y, Sutherland LB, Qi XX, McAnally J, Schwartz RJ, Richardson JA, Bassel-Duby R, Olson EN. Regulation of insulin-like growth factor signaling by Yap governs cardiomyocyte proliferation and embryonic heart size. *Sci Signal*, 2011, 4(196): ra70. [DOI]
- [10] von Gise A, Lin ZQ, Schlegelmilch K, Honor LB, Pan GM, Buck JN, Ma Q, Ishiwata T, Zhou B, Camargo FD, Pu WT. YAP1, the nuclear target of Hippo signaling, stimulates heart growth through cardiomyocyte proliferation but not hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(7): 2394–2399. [DOI]
- [11] Miesfeld JB, Link BA. Establishment of transgenic lines to monitor and manipulate Yap/Taz-Tead activity in zebrafish reveals both evolutionarily conserved and divergent functions of the Hippo pathway. *Mech Dev*, 2014, 133: 177–188. [DOI]
- [12] Yu FX, Zhao B, Panupinthu N, Jewell JL, Lian I, Wang LH, Zhao JG, Yuan HX, Tumaneng K, Li HR, Fu XD, Mills GB, Guan KL. Regulation of the Hippo-YAP pathway by G-protein-coupled receptor signaling. *Cell*, 2012, 150(4): 780–791. [DOI]
- [13] Zhao B, Ye X, Yu JD, Li L, Li WQ, Li SM, Yu JJ, Lin JD, Wang CY, Chinnaiyan AM, Lai ZC, Guan KL. TEAD mediates YAP-dependent gene induction and growth control. *Genes Dev*, 2008, 22(14): 1962–1971. [DOI]
- [14] Wu SA, Liu Y, Zheng YG, Dong JX, Pan DJ. The TEAD/TEF family protein Scalloped mediates transcriptional output of the Hippo growth-regulatory pathway. *Dev Cell*, 2008, 14(3): 388–398. [DOI]
- [15] Chen Z, Friedrich GA, Soriano P. Transcriptional enhancer factor 1 disruption by a retroviral gene trap leads to heart defects and embryonic lethality in mice. *Genes Dev*, 1994, 8(19): 2293–2301. [DOI]
- [16] Tsika RW, Ma LX, Kehat I, Schramm C, Simmer G, Morgan B, Fine DM, Hanft LM, McDonald KS, Molkentin JD, Krenz M, Yang S, Ji J. TEAD-1 overexpression in the mouse heart promotes an age-dependent heart dysfunction. *J Biol Chem*, 2010, 285(18): 13721–13735. [DOI]
- [17] Kwon C, Arnold J, Hsiao EC, Taketo MM, Conklin BR, Srivastava D. Canonical Wnt signaling is a positive regulator of mammalian cardiac progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(26): 10894–10899. [DOI]
- [18] Graves JD, Gotoh Y, Draves KE, Ambrose D, Han DKM, Wright M, Chernoff J, Clark EA, Krebs EG. Caspase-mediated activation and induction of apoptosis by the mammalian Ste20-like kinase Mst1. *EMBO J*, 1998, 17(8): 2224–2234. [DOI]
- [19] Yamamoto S, Yang GP, Zablocki D, Liu J, Hong C, Kim SJ, Soler S, Odashima M, Thaisz J, Yehia G, Molina CA, Yatani A, Vatner DE, Vatner SF, Sadoshima J. Activation of Mst1 causes dilated cardiomyopathy by stimulating apoptosis without compensatory ventricular myocyte hypertrophy. *J Clin Invest*, 2003, 111(10): 1463–1474. [DOI]
- [20] Odashima M, Usui S, Takagi H, Hong C, Liu J, Yokota M, Sadoshima J. Inhibition of endogenous Mst1 prevents apoptosis and cardiac dysfunction without affecting cardiac hypertrophy after myocardial infarction. *Circ Res*, 2007, 100(9): 1344–1352. [DOI]

- [21] Del Re DP, Matsuda T, Zhai PY, Gao SM, Clark GJ, Van Der Weyden L, Sadoshima J. Proapoptotic Rassf1A/Mst1 signaling in cardiac fibroblasts is protective against pressure overload in mice. *J Clin Invest*, 2010, 120(10): 3555–3567. [DOI]
- [22] Del Re DP, Matsuda T, Zhai PY, Maejima Y, Jain MR, Liu T, Li H, Hsu CP, Sadoshima J. Mst1 promotes cardiomyocyte apoptosis through phosphorylation and inhibition of Bcl-xL. *Mol Cell*, 2014, 54(4): 639–650. [DOI]
- [23] Oceandy D, Pickard A, Prehar S, Zi M, Mohamed TMA, Stanley PJ, Baudoin-Stanley F, Nadif R, Tommasi S, Pfeifer GP, Armesilla AL, Cartwright EJ, Neyses L. Tumor suppressor Ras-association domain family 1 isoform A is a novel regulator of cardiac hypertrophy. *Circulation*, 2009, 120(7): 607–616. [DOI]
- [24] Maejima Y, Kyo S, Zhai PY, Liu T, Li H, Ivessa A, Sciarretta S, Del Re DP, Zablocki DK, Hsu CP, Lim DS, Isobe M, Sadoshima J. Mst1 inhibits autophagy by promoting the interaction between Beclin1 and Bcl-2. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1478–1488. [DOI]
- [25] Nakamura M, Zhai PY, Del Re DP, Maejima Y, Sadoshima J. Mst1-mediated phosphorylation of Bcl-xL is required for myocardial reperfusion injury. *JCI Insight*, 2016, 1(5): e86217. [DOI]
- [26] Del Re DP, Yang YF, Nakano N, Cho J, Zhai PY, Yamamoto T, Zhang NL, Yabuta N, Nojima H, Pan DJ, Sadoshima J. Yes-associated protein isoform 1 (Yap1) promotes cardiomyocyte survival and growth to protect against myocardial ischemic injury. *J Biol Chem*, 2013, 288(6): 3977–3988. [DOI]
- [27] Matsuda T, Zhai PY, Sciarretta S, Zhang Y, Jeong JI, Ikeda S, Park J, Hsu CP, Tian B, Pan DJ, Sadoshima J, Del Re DP. NF2 Activates Hippo signaling and promotes ischemia/reperfusion injury in the heart. *Circ Res*, 2016, 119(5): 596–606. [DOI]
- [28] Porrello ER, Mahmoud AI, Simpson E, Hill JA, Richardson JA, Olson EN, Sadek HA. Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart. *Science*, 2011, 331(6020): 1078–1080. [DOI]
- [29] 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. [DOI]
- [30] Schlegelmilch K, Mohseni M, Kirak O, Pruszk J, Rodriguez JR, Zhou DW, Kreger BT, Vasioukhin V, Avruch J, Brummelkamp TR, Camargo FD. Yap1 acts downstream of α -catenin to control epidermal proliferation. *Cell*, 2011, 144(5): 782–795. [DOI]
- [31] Zhou DW, Conrad C, Xia F, Park JS, Payer B, Yin Y, Lauwers GY, Thasler W, Lee JT, Avruch J, Bardeesy N. Mst1 and Mst2 maintain hepatocyte quiescence and suppress hepatocellular carcinoma development through inactivation of the Yap1 oncogene. *Cancer Cell*, 2009, 16(5): 425–438. [DOI]
- [32] Heallen T, Morikawa Y, Leach J, Tao G, Willerson JT, Johnson RL, Martin JF. Hippo signaling impedes adult heart regeneration. *Development*, 2013, 140(23): 4683–4690. [DOI]
- [33] Lin ZQ, von Gise A, Zhou PZ, Gu F, Ma Q, Jiang JM, Yau AL, Buck JN, Gouin KA, van Gorp PR, Zhou B, Chen JH, Seidman JG, Wang DZ, Pu WT. Cardiac-specific YAP activation improves cardiac function and survival in an experimental murine MI model. *Circ Res*, 2014, 115(3): 354–363. [DOI]
- [34] Lin ZQ, Zhou PZ, von Gise A, Gu F, Ma Q, Chen JH, Guo HD, van Gorp PRR, Wang DZ, Pu WT. *Pi3keb* links Hippo-YAP and PI3K-AKT signaling pathways to modulate cardiomyocyte proliferation and survival. *Circ Res*, 2015, 116(1): 35–45. [DOI]
- [35] Duboc V, Rottinger E, Lapraz F, Besnardeau L, Lepage T. Left-right asymmetry in the sea urchin embryo is regulated by nodal signaling on the right side. *Dev Cell*, 2005, 9(1): 147–158. [DOI]
- [36] Tao G, Kahr PC, Morikawa Y, Zhang M, Rahmani M, Heallen TR, Li LL, Sun Z, Olson EN, Amendt BA, Martin JF. *Pitx2* promotes heart repair by activating the antioxidant response after cardiac injury. *Nature*, 2016, 534(7605): 119–123. [DOI]
- [37] Eulalio A, Mano M, Dal Ferro M, Zentilin L, Sinagra G, Zacchigna S, Giacca M. Functional screening identifies miRNAs inducing cardiac regeneration. *Nature*, 2012, 492(7429): 376–381. [DOI]
- [38] Tian Y, Liu Y, Wang T, Zhou N, Kong J, Chen L, Snitow M, Morley M, Li DQ, Petrenko N, Zhou S, Lu MM, Gao EH, Koch WJ, Stewart KM, Morrissey EE. A microRNA-Hippo pathway that promotes cardiomyocyte proliferation and cardiac regeneration in mice. *Sci Transl Med*, 2015, 7(279): 279ra238. [DOI]
- [39] Yang YF, Del Re DP, Nakano N, Sciarretta S, Zhai PY, Park J, Sayed D, Shirakabe A, Matsushima S, Park Y, Tian B, Abdellatif M, Sadoshima J. MiR-206 mediates

- YAP-induced cardiac hypertrophy and survival. *Circ Res*, 2015, 117(10): 891–904. [DOI]
- [40] Morisco C, Sadoshima J, Trimarco B, Arora R, Vatner DE, Vatner SF. Is treating cardiac hypertrophy salutary or detrimental: the two faces of Janus. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 284(4): H1043–E1047. [DOI]
- [41] Zi M, Maqsood A, Prehar S, Mohamed TMA, Abou-Leisa R, Robertson A, Cartwright EJ, Ray SG, Oh S, Lim DS, Neyses L, Oceandy D. The mammalian Ste20-like kinase 2 (Mst2) modulates stress-induced cardiac hypertrophy. *J Biol Chem*, 2014, 289(35): 24275–24288. [DOI]
- [42] 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. [DOI]
- [43] Shao D, Zhai PY, Del Re DP, Sciarretta S, Yabuta N, Nojima H, Lim DS, Pan DJ, Sadoshima J. A functional interaction between Hippo-YAP signalling and FoxO1 mediates the oxidative stress response. *Nat Commun*, 2014, 5: 3315. [DOI]
- [44] Hamaratoglu F, Willecke M, Kango-Singh M, Nolo R, Hyun E, Tao C, Jafar-Nejad H, Halder G. The tumour-suppressor genes *NF2/Merlin* and *Expanded* act through Hippo signalling to regulate cell proliferation and apoptosis. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(1): 27–36. [DOI]
- [45] Zhang NL, Bai HB, David KK, Dong JX, Zheng YG, Cai J, Giovannini M, Liu PT, Anders RA, Pan DJ. The Merlin/NF2 tumor suppressor functions through the YAP oncoprotein to regulate tissue homeostasis in mammals. *Dev Cell*, 2010, 19(1): 27–38. [DOI]
- [46] Yin F, Yu JZ, Zheng YG, Chen Q, Zhang NL, Pan DJ. Spatial organization of hippo signaling at the plasma membrane mediated by the tumor suppressor Merlin/NF2. *Cell*, 2013, 154(6): 1342–1355. [DOI]
- [47] Basso C, Corrado D, Marcus FI, Nava A, Thiene G. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Lancet*, 2009, 373(9671): 1289–1300. [DOI]
- [48] Chen SN, Gurha P, Lombardi R, Ruggiero A, Willerson JT, Marian AJ. The Hippo pathway is activated and is a causal mechanism for adipogenesis in arrhythmogenic cardiomyopathy. *Circ Res*, 2014, 114(3): 454–468. [DOI]
- [49] Varelas X, Miller BW, Sopko R, Song SY, Gregorieff A, Fellouse FA, Sakuma R, Pawson T, Hunziker W, McNeill H, Wrana JL, Attisano L. The Hippo pathway regulates Wnt/ β -catenin signaling. *Dev Cell*, 2010, 18(4): 579–591. [DOI]
- [50] Zhang H, von Gise A, Liu QZ, Hu TY, Tian XY, He LJ, Pu WJ, Huang XZ, He L, Cai CL, Camargo FD, Pu WT, Zhou B. Yap1 is required for endothelial to mesenchymal transition of the atrioventricular cushion. *J Biol Chem*, 2014, 289(27): 18681–18692. [DOI]
- [51] Wang Y, Hu GQ, Liu F, Wang XB, Wu MF, Schwarz JJ, Zhou JL. Deletion of yes-associated protein (YAP) specifically in cardiac and vascular smooth muscle cells reveals a crucial role for YAP in mouse cardiovascular development. *Circ Res*, 2014, 114(6): 957–965. [DOI]
- [52] Wang LC, Qiu P, Jiao J, Hirai H, Xiong W, Zhang JF, Zhu TQ, Ma PX, Chen YE, Yang B. Yes-associated protein inhibits transcription of myocardin and attenuates differentiation of vascular smooth muscle cell from cardiovascular progenitor cell lineage. *Stem Cells*, 2017, 35(2): 351–361. [DOI]
- [53] Manderfield LJ, Aghajanian H, Engleka KA, Lim LY, Liu FY, Jain R, Li L, Olson EN, Epstein JA. Hippo signaling is required for Notch-dependent smooth muscle differentiation of neural crest. *Development*, 2015, 142(17): 2962–2971. [DOI]
- [54] Singh A, Ramesh S, Cibi DM, Yun LS, Li J, Li L, Manderfield LJ, Olson EN, Epstein JA, Singh MK. Hippo signaling mediators Yap and Taz are required in the epicardium for coronary vasculature development. *Cell Rep*, 2016, 15(7): 1384–1393. [DOI]
- [55] Choi HJ, Zhang HY, Park H, Choi KS, Lee HW, Agrawal V, Kim YM, Kwon YG. Yes-associated protein regulates endothelial cell contact-mediated expression of angiopoietin-2. *Nat Commun*, 2015, 6: 6943. [DOI]
- [56] Dai XM, She PL, Chi FT, Feng Y, Liu H, Jin DQ, Zhao YQ, Guo XC, Jiang DD, Guan KL, Zhong TP, Zhao B. Phosphorylation of angiomin by Lats1/2 kinases inhibits F-actin binding, cell migration, and angiogenesis. *J Biol Chem*, 2013, 288(47): 34041–34051. [DOI]
- [57] Kimura TE, Duggirala A, Smith MC, White S, Salanewby GB, Newby AC, Bond M. The Hippo pathway mediates inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation by cAMP. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 90: 1–10. [DOI]
- [58] Wang XB, Hu GQ, Gao XW, Wang Y, Zhang W, Harmon EY, Zhi X, Xu ZP, Lennartz MR, Barroso M, Trebak M, Chen CS, Zhou JL. The induction of yes-associated protein expression after arterial injury is crucial for smooth muscle phenotypic modulation and neointima formation.

- Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(11): 2662–2669. [DOI]
- [59] Xie CQ, Guo YH, Zhu TQ, Zhang JF, Ma PX, Chen YE. Yap1 protein regulates vascular smooth muscle cell phenotypic switch by interaction with myocardin. *J Biol Chem*, 2012, 287(18): 14598–14605. [DOI]
- [60] Shen ZW, Stanger BZ. YAP regulates S-phase entry in endothelial cells. *PLoS One*, 2015, 10(1): e0117522. [DOI]
- [61] Giampietro C, Disanza A, Bravi L, Barrios-Rodiles M, Corada M, Frittoli E, Savorani C, Lampugnani MG, Boggetti B, Niessen C, Wrana JL, Scita G, Dejana E. The actin-binding protein EPS8 binds VE-cadherin and modulates YAP localization and signaling. *J Cell Biol*, 2015, 211(6): 1177–1192. [DOI]
- [62] Xu SW, Koroleva M, Yin MM, Jin ZG. Atheroprotective laminar flow inhibits Hippo pathway effector YAP in endothelial cells. *Transl Res*, 2016, 176: 18–28.e12. [DOI]
- [63] Feng X, Liu P, Zhou X, Li MT, Li FL, Wang Z, Meng Z, Sun YP, Yu Y, Xiong Y, Yuan HX, Guan KL. Thromboxane A2 activates YAP/TAZ protein to induce vascular smooth muscle cell proliferation and migration. *J Biol Chem*, 2016, 291(36): 18947–18958. [DOI]
- [64] Wang L, Luo JY, Li BC, Tian XY, Chen LJ, Huang YH, Liu J, Deng D, Lau CW, Wan S, Ai D, Mak CLK, Tong KK, Kwan KM, Wang NP, Chiu JJ, Zhu Y, Huang Y. Integrin-YAP/TAZ-JNK cascade mediates atheroprotective effect of unidirectional shear flow. *Nature*, 2016, 540(7634): 579–582. [DOI]
- [65] Kudryashova TV, Goncharov DA, Pena A, Kelly N, Vanderpool R, Baust J, Kobir A, Shufesky W, Mora AL, Morelli AE, Zhao J, Ihida-Stansbury K, Chang BJ, DeLisser H, Tudor RM, Kawut SM, Silljé HHW, Shapiro S, Zhao YT, Goncharova EA. Hippo-integrin-linked kinase cross-talk controls self-sustaining proliferation and survival in pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 194(7): 866–877. [DOI]
- [66] Li HY, Jiang WJ, Ren WH, Guo D, Guo JL, Wang XL, Liu YY, Lan F, Du J, Zhang HJ. Downregulation of the Yes-associated protein is associated with extracellular matrix disorders in ascending aortic aneurysms. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 6786184. [DOI]

(责任编辑: 刘峰)