

Hippo 信号通路与肝脏稳态调控及疾病发生

李玉席, 李俊宏, 周大旺

厦门大学生命科学学院, 细胞信号网络协同创新中心, 厦门 361102

摘要: 肝脏是人体最重要的器官之一, 乙肝等病毒性因素与酒精等非病毒性因素诱发的肝损伤引起肝脏功能衰竭、再生重塑障碍、肝癌等疾病是我国重大社会健康问题, 因此, 研究肝脏稳态的调控机制对肝病的预防和临床治疗至关重要。Hippo 信号通路参与了哺乳动物多种细胞和器官的稳态调控。最近研究表明, Hippo 信号通路在肝脏发育、肝细胞命运决定、肝脏再生和癌症发生发展等过程中都发挥了非常重要的作用。因此, Hippo 信号通路可成为肝脏相关疾病的治疗提供了新的靶点。本文综述了 Hippo 信号通路与肝脏稳态调控的相关研究及最新进展, 以期研究肝脏发育和肝脏相关疾病的治疗提供新的思路和策略。

关键词: Hippo/Yap; 肝脏发育; 肝癌; 肝再生

Hippo signaling pathway in liver tissue homeostasis

Yuxi Li, Junhong Li, Dawang Zhou

Innovation Center for Cell Signaling Network, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China

Abstract: Liver cancer and diseases have become the leading cause of deaths in China. Liver diseases including liver failure and liver cancer can be genetic or caused by a variety of factors that damage the liver, such as viruses and alcohol overdose. However, the underlying mechanisms that maintain liver homeostasis remain unclear. Recent studies show that the Hippo signaling pathway plays a critical role in maintaining liver tissue homeostasis. Dysregulation of the Hippo signaling pathway impairs liver regeneration and remarkably enhances liver overgrowth and tumorigenesis. In this review, we summarize recent progresses on the roles and regulation mechanisms of the Hippo signaling pathway in liver development and diseases.

Keywords: Hippo/Yap; liver development; liver cancer; liver regeneration

肝脏是人体中最大的消化腺和解毒器官, 也是最重要的代谢器官之一, 在体内广泛参与消化、解毒、代谢、合成、分泌、生物转化以及免疫防御过程, 因此肝脏的稳态对机体极为重要。肝脏稳态

的破坏不仅影响肝脏本身的生理功能, 同时也因代谢功能紊乱和解毒功能受损影响心脏、大脑、消化系统、内分泌系统的正常功能并导致免疫功能下降, 甚至会引发各种心脑血管疾病和肿瘤。肝脏相关疾

收稿日期: 2017-02-26; 修回日期: 2017-05-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31625010, U1505224, J1310027)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 31625010, U1505224, J1310027)]

作者简介: 李玉席, 博士研究生, 研究方向: 细胞生物学。E-mail: liyuxi0608@foxmail.com

通讯作者: 周大旺, 教授, 博士生导师, 研究方向: 细胞生物学。E-mail: dwzhou@xmu.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.17-064

网络出版时间: 2017/6/13 15:15:41

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20170613.1515.006.html>

病包括肝炎、肝硬化、肝衰竭和肝癌,是威胁人类健康的重大疾病,因此研究肝脏稳态的调控机制具有非常重要的意义。Hippo 信号通路是最近发现的一条调控多种细胞和器官稳态的信号通路,包括肠道^[1]、心血管系统^[2]、免疫系统^[3,4]等。在哺乳动物中,该信号通路主要由上游调控元件、核心激酶级联复合物和下游的转录共激活因子组成(表 1)。Hippo 信号通路上游包括跨膜蛋白 FAT 和一些其他的膜相关蛋白。FAT 可作为膜蛋白受体感受胞外的生长抑制信号,募集 FRMD6。FRMD6 与 KIBRA 以及 NF2 形成复合体,进一步募集由 MST1/2 和 SAV 组成的核心激酶级联复合体到细胞膜。激酶 MST1/2 磷酸化并激活 MOB1 和 LATS1/2(large tumor suppressor 1/2),活化的 LATS1/2 磷酸化下游的转录共激活因子 YAP/TAZ,使其与 14-3-3 蛋白结合并滞留在细胞质中降解,无法进入细胞核发挥转录激活作用,从而实现对细胞和器官稳态的调控^[5-11](图 1)。近年来研究表明,Hippo 信号通路在哺乳动物肝脏细胞命运、细胞死亡、肝脏发育、肝癌发生发展以及肝脏再生重塑等生理和病理过程中都发挥了非常重要的作用。

1 Hippo 与肝脏细胞命运

肝脏中的肝细胞和胆管细胞都来源于肝脏祖细

胞或者成肝细胞^[12]。研究表明,Hippo 信号通路在肝脏祖细胞的分化中有着非常重要的作用。在成体肝脏中,YAP 在胆管细胞中高表达,在很多胆管细胞中 YAP 明显聚集于细胞核内;而在成熟的肝细胞中,YAP 通常低表达,且在细胞核与细胞质中均匀分布^[13]。免疫组化结果显示,YAP 的表达量沿着门静脉到中央静脉的轴逐渐递减,位于中央静脉周围的细胞则完全不表达 YAP。在肝脏组织中特异性双敲除(double knockout, DKO)*Mst1/2* 基因,导致门静脉周围的肝细胞转化成 SOX9(sex determining region Y box 9)阳性的非典型胆管细胞,而敲除 *Yap* 基因则使中央静脉周围的 GS(glutamine synthetase)阳性的肝细胞明显增加,因此基础水平的 Hippo 信号通路和 YAP 活性对于维持肝细胞的正常分化状态非常重要^[14]。

HNF4A(hepatocyte nuclear factor 4- α)和 FOXA2(hepatocyte nuclear factor 3- β)是公认的介导肝细胞分化成熟的转录因子^[15]。在 *Mst1/2* DKO 的小鼠肝脏中,HNF4A 和 FOXA2 靶基因显著下调;同时 YAP 还被报道可以通过 TEAD2 抑制 HNF4A 和 FOXA2 的转录活性;在 *Mst1/2* DKO 的小鼠肝脏中进一步敲除 *Yap*,肝细胞中 β -catenin 明显入核,这些结果都表明 YAP 可以通过调控 HNF4A、FOXA2 和 β -catenin 控制肝细胞的分化。在肝细胞中诱导 YAP 过表达可使成熟的肝细胞发生去分化,变成非典型胆管细胞

表 1 Hippo 信号通路的主要成员特点

Table 1 Characterizations of the Hippo signaling pathway components

蛋白	特点简介
FAT(FAT atypical cadherin)	非典型钙粘蛋白,跨膜蛋白
FRMD6(FERM domain-containing protein 6)	细胞骨架蛋白,含有 FERM 结构域
KIBRA(kidney and brain expressed protein)	含有 WW 结构域的支架蛋白
NF2(neurofibromin 2)	细胞骨架蛋白,含有 FERM 结构域
MST1/2(mammalian Sterile 20-like kinases 1/2)	Ste-20 蛋白激酶家族成员,含有 SARAH 结构域,磷酸化并激活 LATS1/2 和 MOB1
SAV1(protein salvador homolog 1)	含有 WW 和 SARAH 结构域的支架蛋白,辅助 MST1/2 对 LATS1/2 的磷酸化
LATS1/2(large tumor suppressor kinases 1/2)	核内 DBF-2 相关蛋白激酶,磷酸化并抑制 YAP/TAZ
MOB1A/B(Mps one binder kinase activator-like 1A/B)	支架蛋白,与 LATS1/2 结合,促进 LATS1/2 对 YAP/TAZ 的磷酸化
YAP(Yes-associated protein)	转录共激活因子,与 TEAD 结合,调控靶基因的转录
TAZ(transcriptional coactivator with PDZ-binding motif)	转录共激活因子,与 TEAD 结合,调控靶基因的转录
TEADs(TEA domain transcription factors)	TEF 转录因子家族成员,与 YAP/TAZ 共同作用,调控靶基因的转录
14-3-3	与磷酸化的 YAP/TAZ 结合,使其滞留在胞浆内

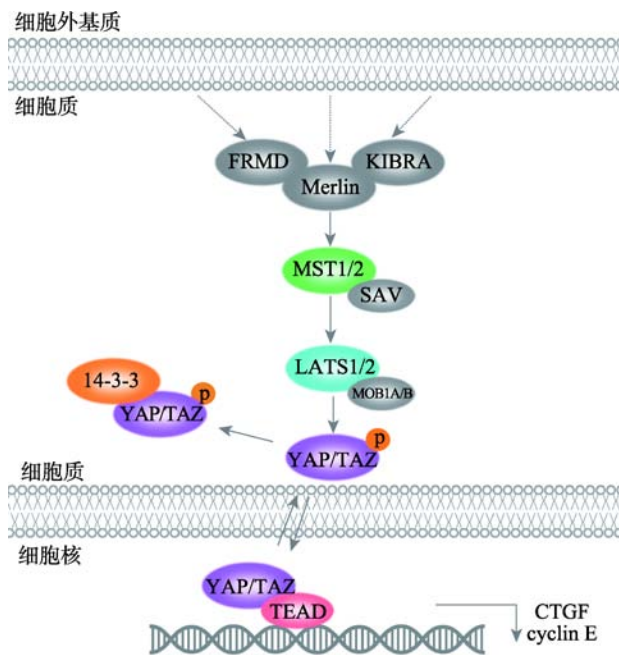


图 1 Hippo 信号通路模式图

Fig.1 Model of the Hippo signaling pathway

或祖细胞,这些细胞高表达角蛋白(cytokeratin, CK)、HNF1B(hepatocyte nuclear factor 1-β)和 SOX9,在这个过程中 Notch、TGF(transforming growth factor)和 EGFR(epidermal growth factor receptor)信号都上调;停止 YAP 过表达诱导之后,这些祖细胞又逐渐向成熟的肝细胞分化,重新表达 HNF4^[16]。Notch 信号通路对胚胎发育过程中胆管细胞的分化和生长非常重要^[17]。YAP/TEAD 可以直接转录激活 *Notch2* 和其他 Notch 信号通路相关基因,敲除 Notch 信号通路下游的转录共激活因子 *RBPJ*(recombination signal binding protein for immunoglobulin kappa J region)基因可以显著抑制 YAP 过表达的表型,表明 YAP 通过 Notch 信号通路调控肝细胞的去分化。另一项研究则指出, Hippo 信号通路对肝细胞命运的调控不依赖 Notch 信号通路^[18]。研究者发现 *Lats1/2* 敲除的成肝细胞更倾向于分化成胆管上皮细胞(biliary epithelial cells, BECs), *Lats1/2* 敲除同样可以使肝细胞去分化成不成熟的 BECs,但是 *RBPJ* 和 *Notch2* 敲除只能轻度抑制 BECs 增生。*Lats1/2* DKO 的肝脏中 TGF-β (transforming growth factor β)及其靶基因的表达明显上升, TGF-β 的抑制剂可以显著抑制成肝细胞向 BECs 的分化,并且使成肝细胞表达 HNF4 和 CYP-

7A1(cholesterol 7-α-monooxygenase or cytochrome P450 7A1)。染色质免疫共沉淀(chromatin immunoprecipitation, ChIP)实验也证实 YAP 可以结合到 *Tgfb2* 基因。因此 YAP 通过上调 TGF-β 和抑制 HNF4 促进肝细胞的去分化和不成熟 BECs 的扩张,而 Notch-SOX9 则促进胆管细胞的定向成熟和胆管的形成。因此,有关 Hippo 信号通路调控肝细胞命运的机理尚处于研究阶段。

2 Hippo 与肝脏细胞死亡

细胞死亡的机制非常复杂,一般分为凋亡、坏死、介于这两者之间的焦亡以及自噬等。尽管 Hippo 信号通路对肝细胞死亡的具体作用仍不是特别明确,但可以肯定的是 Hippo 信号通路在其中扮演着重要的角色。在肝脏中利用 *Alb-Cre* 特异性敲除 *Yap*,血浆中的谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)上升,这表明肝脏受损;肝脏组化染色发现,在 YAP 缺失的小鼠肝脏中存在多处凋亡区域,其中凋亡标志物 caspase-3 染色为阳性, TUNEL(transferase-mediated deoxyuridine triphosphate-biotin nick end labeling)染色也为阳性,这表明 YAP 是维持肝细胞存活的重要分子^[13]。在小鼠胆管结扎实验模型中, YAP 缺失的肝细胞也会发生严重坏死^[19]。YAP 在调节肝脏的抗氧化应激中也发挥着重要作用, YAP 可以转录激活 NQO1(NAD(P)H dehydrogenase [quinone] 1)和 TXN-1/2(thioredoxin-1/2)等抗氧化蛋白,增强肝细胞的抗氧化能力,减少肝细胞的氧化损伤。而 Hippo 信号通路则通过多种机制抑制 YAP 的抗氧化能力,一方面 LATS1/2 可以直接磷酸化 YAP,抑制 YAP 的转录活性,另一方面 Hippo 信号通路可以通过抑制 GABP(GA-binding protein)对 YAP 的转录抑制 YAP 的表达。在对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)处理引起小鼠肝损伤的过程中, GABP 和 YAP 的表达量都受到明显抑制,因此与正常肝脏相比, *Mst1/2* 敲除或 *Yap* 转基因过表达的肝脏可以基本缓解由 APAP 引起的肝细胞死亡^[20]。同样, *Mst1/2* 敲除或 *Yap* 转基因过表达的肝脏也可以抵抗细胞表面 Fas 受体诱导的肝细胞凋亡^[21,22]。然而,在 LATS1/2 缺失的肝脏中,多倍体肝细胞比例增加,部分肝细胞体积变大;在这些细胞内 p21 和磷酸化 H2AX 水

平上升, TUNEL 染色阳性, 该结果与在肝脏中过表达原癌基因 *H-ras*(*G12V* 突变)的凋亡表型很相似^[23]。在体外培养的 *LATS1/2* 缺失的肝细胞中, RNA 测序结果表明其 p53 信号通路被激活^[23]; 而在鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblast, MEF)中敲除 *Lats1/2* 或过表达持续激活的 YAP-5SA 也会导致细胞 DNA 损伤以及 p53 依赖的细胞凋亡^[18]。上述实验表明, Hippo-YAP 信号通路无论是缺失还是过度激活都会影响肝细胞的存活。

3 Hippo 信号通路肝脏发育

肝脏发育是一个复杂的过程, 大量的动物实验表明 Hippo 信号通路的各个成员都对肝脏的发育有着重要的作用。Hippo 信号通路主要的效应分子 YAP/TAZ 可以与 TEAD 等转录因子结合, 转录激活 c-Myc、cyclin E 和 Diap1(death-associated inhibitor of apoptosis 1)等促进细胞增殖和抑制细胞凋亡的蛋白^[6], 同时 YAP/TAZ 通过调控 HNF4、Notch 和 TGF- β 等活性控制肝细胞的成熟和胆管的形成。在正常肝脏发育的过程中, YAP/TAZ 的活性受 Hippo 信号通路上游信号和激酶级联复合物的严密调控, Hippo 信号通路上游蛋白的突变缺失会导致 YAP/TAZ 的过度激活, 使肝细胞、胆管细胞或卵原细胞大量增殖, 分化受阻, 肝脏发育出现异常。但是, 在肝脏组织中特异性敲除 Hippo 信号通路的上下游不同成员, 或者在不同发育阶段敲除相同的成员, 则造成不同类型和不同程度的肝脏发育异常, 这些结果表明 Hippo 信号通路的不同成员在肝脏发育过程中所发挥的功能作用存在差异(表 2)。在小鼠肝脏中用 *Alb-Cre* 特异性敲除 *Nf2*, 可造成胆管上皮细胞和肝细胞大量增生而导致肝肿大, 肝脏/体重比最高可以到达 35%, 而正常小鼠的肝脏/体重比为 5% 左右; 在这些小鼠的肝脏中, 所有的胆管细胞都形成了胆管, 而正常肝脏的门静脉附近只有一部分胆管细胞会形成胆管^[13,24]。用 *Alb-Cre* 或用 Tamoxifen(他莫昔芬)诱导 Cre, 以及通过尾静脉注射 Cre 腺病毒(Ad-Cre)特异性敲除肝脏中的 *Mst1/2*, 几个月内肝脏会增大 4~5 倍, 伴随有肝细胞和卵圆细胞的过度增殖^[21,25,26]。用 Tamoxifen 诱导 Cre 表达或通过 *Alb-Cre* 特异性敲除肝脏中的 *Sav1*, 小鼠的肝脏也增大约 1.5

倍, 同时会发生卵圆细胞的明显扩张, 但是肝细胞却没有相应程度的增殖^[26,27]。用 *Alb-Cre* 特异性敲除小鼠肝脏中的 *Lats1* 和 *Lats2*, 导致肝细胞成熟受阻和胆管发育缺陷, 不成熟的胆管上皮细胞大量增殖, 但是这些细胞却没有形成规律的胆管结构; 同时功能性的肝细胞严重缺乏, 导致小鼠围产期致死; 而同时敲除 *Lats1/2* 和 *Yap/Taz* 的小鼠则可以正常存活和生育^[28]。特异性敲除小鼠肝脏中 *Mob1a/b*, 导致肝细胞、卵圆细胞和不成熟的胆管细胞大量增生, 细胞饱和密度增加, 超过一半的小鼠在 3 周龄以内死亡^[29]。在小鼠肝脏中, 诱导激活 *Yap* 过量表达 35 天后, 肝脏大小增加了 4 倍, 肝细胞和胆管细胞都过度增殖, 最终导致小鼠死亡^[22,30]。用 *Alb-Cre* 特异性敲除肝脏中的 *Yap* 会引起肝脏变大, 肝体比轻度增加, 肝脏变得苍白^[13]。组化分析发现肝脏变大是由大泡性脂肪变性和进行性纤维化引起的。肝脏特异性敲除 *Yap* 的小鼠, 胚胎期肝脏门静脉周围的 CK 阳性的 BECs 不能形成正常的管状和非管状结构^[31]; 在出生后的 14 天内, 这些细胞发生退化而不能形成成熟的胆管, 在 1~5 个月的时候, CK 阳性的细胞数量增加, 但只能形成无规律的结构, 这些结构可能是作为胆管缺失的补偿, 而在 30 周以后这些结构也消失了, 该表型与 *Notch2* 缺失的小鼠肝脏类似^[32]; 该结果表明 YAP 对胆管的早期发育非常重要。然而, 用 Cre 腺病毒在成年小鼠肝脏中敲除 *Yap* 既不会引起肝细胞坏死, 也不会导致胆管缺失, 这可能是 TAZ 表达上调而发挥了补偿作用的结果^[33]。正常肝脏在发育过程中会发生代谢区带化, 即肝腺泡内不同区带酶的分布和活性存在差异, 如在中央静脉周围的肝细胞会高表达谷氨酰胺合成酶(glutamine synthase, GS)和鸟氨酸转氨酶(ornithine aminotransferase, OAT)^[34]。在 *Mst1/2* 双敲除的肝脏中, GS 和 OAT 在中央静脉周围的肝细胞中的表达严重缺失, 而在 *Yap* 敲除的肝脏中, 中央静脉周围 GS 阳性的细胞大量扩增, 这些现象说明 Hippo 信号通路具有维持肝脏代谢区带化的重要功能^[14]。

4 Hippo 信号通路肝脏癌

肝癌是发生率第五、致死率第三的癌症, 中国肝癌患者占全球一半以上, 常见的肝癌类型包括肝

表 2 Hippo 信号通路遗传修饰小鼠模型
Table 2 Models of mouse with genetically modified Hippo signaling pathway

基因	小鼠模型	肝脏发育	肝癌	文献
<i>Sav1</i>	<i>Sav1</i> ^{+/-}	卵原细胞局部扩张和增殖	混合型肝癌(HCC/CC)	[27]
	<i>Sav1</i> ^{-/-}	胚胎晚期致死	肝癌	
	<i>CAGGS-CreERT/Sav1</i> ^{ff}	无	混合型肝癌(HCC/CC)	[26]
	<i>MMTV-Cre/Sav1</i> ^{ff}			
	<i>Alb-Cre/Sav1</i> ^{ff}	肝脏增大, 卵原细胞扩张和增殖	混合型肝癌(HCC/CC)	[26,27]
<i>Mst1/2</i>	<i>Mst1</i> ^{-/-}	无	无	[21,35]
	<i>Mst2</i> ^{-/-}	无	无	
	<i>Mst1</i> ^{-/-} ; <i>Mst2</i> ^{-/-}	胚胎致死(E9.5)	无	
	<i>Mst1</i> ^{-/-} ; <i>Mst2</i> ^{+/-}	肝增大, 卵原细胞扩张, MST2 杂合丢失	HCC, 伴随 CC 病灶(7 个月), 肝癌致死(15 个月)	[21]
	<i>Mst1</i> ^{+/-} ; <i>Mst2</i> ^{-/-}	肝增大, MST1 杂合丢失	HCC, 伴随 CC 病灶, 致死(15 个月)	
	<i>CAGGS-CreERT Mst1</i> ^{-/-} ; <i>Mst2</i> ^{ff}	肝增大, 肝细胞和卵原细胞过度增殖	多数为 HCC, 伴随 CC 病灶(6 个月)	[25]
	<i>Ad-Cre Mst1</i> ^{-/-} ; <i>Mst2</i> ^{ff}	肝增大, 肝细胞和卵原细胞增殖	HCC, 伴随 CC 病灶, 致死(注射后 10 周)	
	<i>Alb-Cre Mst1</i> ^{-/-} ; <i>Mst2</i> ^{ff}	肝增大, 肝细胞增殖	异常增生(1 个月)	[25]
	<i>Alb-Cre Mst1</i> ^{ff} ; <i>st2</i> ^{ff}	肝细胞增殖引起肝增大(1 个月); 卵原细胞堆积(2 个月)	HCC(4 个月)	
	<i>Alb-Cre Mst1</i> ^{-/-} ; <i>Mst2</i> ^{ff}	严重的肝脏增生	HCC 和混合型肝癌(3 个月)	[21]
<i>Nf2</i>	<i>Nf2</i> ^{+/-}	无	高恶性程度的 HCC ,高转移潜能 , <i>Nf2</i> 杂和性丢失	[36]
	<i>Alb-Cre/Nf2</i> ^{ff}	胆管上皮细胞和肝细胞大量增殖	胆管错构瘤和 HCC(1 年)	[13]
		卵原细胞增殖引起肝肿大, 致死率 70%(6 到 30 周)	CC 和转移性 HCC, 混合型肝癌也常发生	[24]
<i>Yap</i>	<i>LAP1/tTA-Yap S127A</i>	肝增大, 肝细胞增殖(可逆)	无	[30]
	<i>ApoE/rtTA-Yap</i>		HCC 致死	[22]
	<i>Alb-Cre/Yap</i> ^{ff}	肝增大, 肝细胞死亡, 胆管发育严重受损	无	[13]
	<i>Ad-Cre/Yap</i> ^{ff}	无	无	[33]
<i>Lats1/2</i>	<i>Ad-Cre Lats1</i> ^{-/-} ; <i>Lats2</i> ^{ff}	肝肿大, 胆管细胞增生	无	[37]
	<i>Alb-Cre Lats1</i> ^{ff} ; <i>Lats2</i> ^{ff}	肝增大, 胆管细胞增生, 胆管发育缺陷, 围产期致死	无	[18,28]
<i>Mob1a/b</i>	<i>Alb-Cre Mob1a</i> ^{ff} ; <i>Mob1b</i> ^{-/-}	肝肿大, 肝细胞和胆管细胞增生, 早期致死(3 周)	混合型肝癌(HCC/CC)	[29]
	<i>Mob1a</i> ^{-/-} ; <i>Mob1b</i> ^{-/-}	胚胎致死	无	[38]
	<i>Mob1a</i> ^{+/-} ; <i>Mob1b</i> ^{-/-}	无	无	
	<i>Mob1a</i> ^{-/-} ; <i>Mob1b</i> ^{+/-}	部分胚胎致死	50%发生肝癌	

细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC)、胆管癌 (cholangiocarcinoma, CC)和混合型肝癌^[39]。Hippo 信号通路上游蛋白的缺失或 YAP 的过度激活不仅可引起肝脏发育异常, 也可导致肝癌的发生(表 2)。*Nf2* 肝脏特异性敲除的小鼠在一年内都会发生 CC 和侵袭性 HCC, 混合型肝癌也经常发生^[13,24]。敲除 *Mst1* 和 *Mst2* 的 3 个等位基因, 将引发自发肝癌并且在肝癌组织中会发生 MST 的杂合性丢失(loss of hetero-

zygosity, LOH); 用腺病毒表达 Cre(Adeno-Cre)或利用 *Alb-Cre* 在肝脏中特异性敲除 *Mst1* 和 *Mst2* 也引发非常严重的肝癌, 这些肿瘤既有 HCC, 也有混合型的肝癌。但是上述两种小鼠表型有所不同, 用 *Alb-Cre* 在发育早期敲除 *Mst1/2* 引起混合型肿瘤的几率最高; 而敲除 *Mst1* 和 *Mst2* 的 3 个等位基因引起的肝癌则主要都是 HCC, 只有约 10% 的小鼠中存在混合型肝癌^[21,25,26]。在肝脏中特异性敲除 *Sav1* 引起的肝癌几乎都是混合型肝癌。由于 SAV1 只是作为支架蛋白辅助 MST 对 LATS1/2 和 MOB1 的磷酸化, 在 *Sav1* 敲除的情况下, 仍可观察到较低水平的 YAP 磷酸化, 因此 *Sav1* 引起的肝癌通常是在小鼠出生 12 个月以后才出现, 比 *Mst1/2* 敲除引起肝癌的时间要晚的多^[26,27]。同样, 在肝脏中特异性敲除 *Mob1a/b* 的小鼠会发生混合型肝癌和胆管癌^[29]。在小鼠肝脏中持续诱导 *Yap* 基因过量表达也会引起致死性 HCC^[22]。

分析人类肝癌临床样品发现, Hippo 信号通路的失调与人类肝癌的发生过程密切相关。在这些人类肝癌样品中, 约 50% 的 HCC 中有明显的 YAP 过表达和核定位; 约 30% 的 HCC 样品中, 缺乏剪切激活的 MST1/2, 同时伴随着 MOB 磷酸化水平的显著减少^[40]; 在肝内胆管癌和混合型肝癌中也观察到了 YAP1 的上调^[29]; 另一研究则发现, 在 5%~10% 的 HCC 中会发生 *YAP1* 基因的扩增^[41]; 也有研究报道 YAP1 已经作为 HCC 的一个独立的预后标志^[42]。此外, 研究还发现一些调节 YAP 稳定性和功能的分子也在部分人类肝癌样品中失调。例如, FBXW7 (F-box/WD repeat-containing protein 7) 是一个介导 YAP1 降解的 E3 泛素化连接酶, 在恶性程度较高的 HCC 中, FBXW7 通常低表达^[43]; SIRT1 (NAD-dependent protein deacetylase sirtuin-1) 可以通过去乙酰化 YAP1 促进 YAP1 和 TEAD4 的相互作用, 进而促进 YAP1 的转录活性, 在人类 HCC 样品中, 也观察到 SIRT1 的显著上调^[44]。

肝细胞的一个重要生理功能是合成和分泌胆酸, 用于消化食物中的脂类, 研究发现胆酸可以通过支架蛋白 IQGAP1 (IQ motif containing GTPase activating protein 1) 激活 YAP, 从而促进肝癌的发生^[45]。*Mst1/2* 或 *Sav1* 敲除和 *Yap* 过表达都会导致肝细胞中

内质网增大和未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR), UPR 通过 PERK-ATF4 促进 *Yap* 的转录。采用牛磺熊去氧胆酸(tauro-ursodesoxycholic acid, TUDCA)抑制 UPR, 可以降低 YAP 的表达和活性, 从而抑制 Hippo 上游突变导致的肝脏过度生长及肿瘤形成^[36]。在肝癌的发生与发展中, YAP 发挥了多方位的关键作用。YAP 可以促进细胞增生, 同时有效抑制细胞凋亡; 过度激活 YAP, 使细胞失去接触抑制^[46], 也可促进细胞的上皮-间质转化^[47]。YAP 还有利于肝癌细胞干性的获得和维持, YAP 在具有干性特征(EpCAM⁺, CK19⁺)的 HCC 中的表达水平要高于其他 HCC 细胞^[48]。在低分化的肝癌中, YAP 和 SOX9 的表达都上调, SOX9 是 YAP1 的靶基因, SOX9 可以通过 Frizzled-7 介导 Wnt/ β -catenin 通路的激活, 因此 YAP1 可能通过 SOX9 使肝癌细胞获得干性^[49]。*Nf2*、*Mst1/2* 和 *Sav1* 敲除的小鼠肝脏都发生严重的纤维化。Hippo 信号缺失的肝细胞会分泌更多的 CTGF(connective tissue growth factor)、TGF- β 和 SPPI(secreted phosphoprotein 1), 这些因子多有利于炎症细胞的浸润和激活; 其下游共转录激活分子 TAZ 还可以通过促进 IHH(indian hedgehog homolog)分泌激活肝星状细胞, 使其分化为成纤维细胞^[50], 这些因素都会促进肝脏的纤维化, 而肝纤维化与肝癌的发生密切相关^[51]。敲除 *Yap* 可明显抑制和延缓 Hippo 信号通路上游缺失引起的肝脏肿大、细胞异常增生和肝癌发生, *Yap* 敲除使癌细胞增殖速度减缓, β -catenin 表达上升, 形态上向成熟肝细胞转化, 肿瘤恶性程度降低, 因此通过遗传操作或者药物抑制 YAP 的活性, 结合其他治疗策略, 对于肝癌的防治具有重要的意义^[14,52~54]。

5 Hippo 信号通路调节肝脏再生

成体肝细胞基本处于静息状态, 这些细胞需要 180~400 天才会更新一次, 这意味着肝细胞每年只分裂 1~2 次^[55]。但是, 哺乳动物的肝脏却有着惊人的再生潜能。在小鼠的部分肝切除模型中, 切除小鼠 2/3 的肝脏后, 剩余的 1/3 肝脏立即启动增生, 一周后即可使肝脏回复到原来的重量^[56]。Hippo 信号通路被认为可以促进细胞凋亡并抑制细胞增殖, 从而限制了器官大小^[7,57,58], 然而, 越来越多的证据表

明 Hippo 信号通路在多种组织器官的再生中不可或缺,例如心脏、肝脏、皮肤和小肠^[59-61]。在小鼠部分肝切除模型中,肝脏切除后,MST1/2 和 LATS1/2 活性被抑制,从而解除了它们对 YAP 的抑制作用,YAP 进入细胞核并促进细胞增殖^[62]。在这个过程中,利用特异性的 MST1/2 激酶小分子抑制剂 XMU-MP-1 可显著降低其下游 MOB1 和 YAP 的磷酸化水平,有效地加快了肝脏的再生速率。当肝脏遭受化学毒素或慢性疾病的反复损伤时,其再生能力减弱,特异性抑制 MST1/2 激酶活性也将改善慢性肝损伤的状况^[63],此外,有研究表明用 siRNA 抑制 MST1/2 也可以显著促进老年小鼠肝切除之后的再生能力^[64]。YAP 对于干细胞的维持和分化起着重要的作用,在小鼠胚胎期特异性敲除肝脏中的 *Yap* 将导致胆管发育缺陷^[19],而有趣的是,成年小鼠的胆管上皮细胞均表达 SOX9,意味着这些细胞在肝损伤再生中发挥着显著的效用,这也被谱系追踪实验所证明^[65]。野生型小鼠胆管结扎后,BECs 的增殖依赖于 YAP 的活性,因而 YAP 的缺失将影响胆管形成,此外 YAP 的缺失会使肝细胞更易受到损伤,并影响在胆管结扎后肝细胞的增殖;事实上,YAP 通过促进 *Survivin*、*Ctgf*、*Gpc3*、*c-Myc* 和 *Sox4* 的表达^[22,66,67],促进肝脏修复胆管淤积的损伤^[19]。在正常小鼠部分肝切除后,当再生肝脏恢复到原有的大小后,MST1/2 的活性也回复到正常肝脏的水平^[62]。综上所述,Hippo 信号通路中的 MST1/2、LATS 和 YAP 等在肝脏再生中起着十分重要的调节作用。

6 结语与展望

Hippo 信号通路在调控肝脏稳态的多个方面都发挥了非常重要的作用,Hippo 信号通路的失调与人类肝脏疾病密切相关。虽然已经取得了一些研究进展,但是人们对 Hippo 信号通路的认识还不够完善。首先,Hippo 信号通路的上游调控机制还有待进一步深入的研究,细胞外的生长控制信号的生物学本质是什么?它又是通过什么分子机制调控 NF2 复合体和核心激酶复合体?其次,Hippo 信号通路如何与其他信号通路相互作用,共同控制肝脏稳态和疾病的发生?最后,针对 Hippo 信号通路的小分子药物也需要更多的研究和临床试验。总之,对

Hippo 信号通路调控机制的详细阐明,将有助于诊断和治疗肝癌,修复肝脏功能,促进肝脏再生,这为肝脏疾病的治疗带来了新的希望。

参考文献(References):

- [1] 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]
- [2] 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]
- [3] Zhou DW, Medoff BD, Chen LF, Li LQ, Zhang XF, Praskova M, Liu M, Landry A, Blumberg RS, Boussiotis VA, Xavier R, Avruch J. The Nore1B/Mst1 complex restrains antigen receptor-induced proliferation of naïve T cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(51): 20321-20326. [DOI]
- [4] Geng J, Sun XF, Wang P, Zhang SH, Wang XZ, Wu HT, Hong LX, Xie CC, Li X, Zhao H, Liu QX, Jiang MT, Chen QH, Zhang JJ, Li Y, Song SY, Wang HR, Zhou RB, Johnson RL, Chien KY, Lin SC, Han JH, Avruch J, Chen LF, Zhou DW. Kinases Mst1 and Mst2 positively regulate phagocytic induction of reactive oxygen species and bactericidal activity. *Nat Immunol*, 2015, 16(11): 1142-1152. [DOI]
- [5] Yu FX, Guan KL. The Hippo pathway: regulators and regulations. *Genes Dev*, 2013, 27(4): 355-371. [DOI]
- [6] Huang JB, Wu SA, Barrera J, Matthews K, Pan DJ. The Hippo signaling pathway coordinately regulates cell proliferation and apoptosis by inactivating Yorkie, the *Drosophila* Homolog of YAP. *Cell*, 2005, 122(3): 421-434. [DOI]
- [7] Wu SA, Huang JB, Dong JC, Pan DJ. *hippo* encodes a Ste-20 family protein kinase that restricts cell proliferation and promotes apoptosis in conjunction with *salvador* and *warts*. *Cell*, 2003, 114(4): 445-456. [DOI]
- [8] Chan EHY, Nousiainen M, Chalamalasetty RB, Schäfer A, Nigg EA, Silljé HHW. The Ste20-like kinase Mst2 activates the human large tumor suppressor kinase Lats1. *Oncogene*, 2005, 24(12): 2076-2086. [DOI]
- [9] 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]
- [10] 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]
 - [11] Bennett FC, Harvey KF. Fat cadherin modulates organ size in *Drosophila* via the Salvador/Warts/Hippo signaling pathway. *Curr Biol*, 2006, 16(21): 2101–2110. [DOI]
 - [12] Greenbaum LE. The ductal plate: a source of progenitors and hepatocytes in the adult liver. *Gastroenterology*, 2011, 141(4): 1152–1155. [DOI]
 - [13] 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]
 - [14] Fitamant J, Kottakis F, Benhamouche S, Tian HS, Chuvain N, Parachoniak CA, Nagle JM, Perera RM, Lapouge M, Deshpande V, Zhu AX, Lai A, Min B, Hoshida Y, Avruch J, Sia D, Campreciós G, McClatchey AI, Llovet JM, Morrissey D, Raj L, Bardeesy N. YAP inhibition restores hepatocyte differentiation in advanced HCC, leading to tumor regression. *Cell Rep*, 2015, 10(10): 1692–1707. [DOI]
 - [15] Alder O, Cullum R, Lee S, Kan AC, Wei W, Yi YY, Garside VC, Bilenky M, Griffith M, Morrissey AS, Robertson GA, Thiessen N, Zhao YJ, Chen Q, Pan DJ, Jones SJM, Marra MA, Hoodless PA. Hippo signaling influences HNF4A and FOXA2 enhancer switching during hepatocyte differentiation. *Cell Rep*, 2014, 9(1): 261–271. [DOI]
 - [16] Yimlamai D, Christodoulou C, Galli GG, Yanger K, Pepe-Mooney B, Gurung B, Shrestha K, Cahan P, Stanger BZ, Camargo FD. Hippo pathway activity influences liver cell fate. *Cell*, 2014, 157(6): 1324–1338. [DOI]
 - [17] Hofmann JJ, Zovein AC, Koh H, Radtke F, Weinmaster G, Iruela-Arispe ML. Jagged1 in the portal vein mesenchyme regulates intrahepatic bile duct development: insights into Alagille syndrome. *Development*, 2010, 137(23): 4061–4072. [DOI]
 - [18] Lee DH, Park JO, Kim TS, Kim SK, Kim TH, Kim MC, Park GS, Kim JH, Kuninaka S, Olson EN, Saya H, Kim SY, Lee H, Lim DS. LATS-YAP/TAZ controls lineage specification by regulating TGF β signaling and Hnf4a expression during liver development. *Nat Commun*, 2016, 7: 11961. [DOI]
 - [19] Bai HB, Zhang NL, Xu Y, Chen Q, Khan M, Potter JJ, Nayar SK, Cornish T, Alpini G, Bronk S, Pan DJ, Anders RA. Yes-associated protein regulates the hepatic response after bile duct ligation. *Hepatology*, 2012, 56(3): 1097–1107. [DOI]
 - [20] Wu HT, Xiao YB, Zhang SH, Ji SY, Wei LY, Fan FQ, Geng J, Tian J, Sun XF, Qin FN, Jin CN, Lin JJ, Yin ZY, Zhang T, Luo LZ, Li Y, Song SY, Lin SC, Deng XM, Camargo F, Avruch J, Chen LF, Zhou DW. The Ets transcription factor GABP is a component of the hippo pathway essential for growth and antioxidant defense. *Cell Rep*, 2013, 3(5): 1663–1677. [DOI]
 - [21] 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]
 - [22] Dong JX, Feldmann G, Huang JB, Wu SA, Zhang NL, Comerford SA, Gayyed MF, Anders RA, Maitra A, Pan DJ. Elucidation of a universal size-control mechanism in *Drosophila* and mammals. *Cell*, 2007, 130(6): 1120–1133. [DOI]
 - [23] Harada N, Oshima H, Katoh M, Tamai Y, Oshima M, Taketo MM. Hepatocarcinogenesis in mice with β -catenin and Ha-ras gene mutations. *Cancer Res*, 2004, 64(1): 48–54. [DOI]
 - [24] Benhamouche S, Curto M, Saotome I, Gladden AB, Liu CH, Giovannini M, McClatchey AI. *Nf2/Merlin* controls progenitor homeostasis and tumorigenesis in the liver. *Genes Dev*, 2010, 24(16): 1718–1730. [DOI]
 - [25] Song H, Mak KK, Topol L, Yun KS, Hu JX, 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]
 - [26] Lu L, Li Y, Kim SM, Bossuyt W, Liu P, Qiu Q, Wang YD, Halder G, Finegold MJ, Lee JS, Johnson RL. Hippo signaling is a potent *in vivo* growth and tumor suppressor pathway in the mammalian liver. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(4): 1437–1442. [DOI]
 - [27] Lee KP, Lee JH, Kim TS, Kim TH, Park HD, Byun JS, Kim MC, Jeong WI, Calvisi DF, Kim JM, Lim DS. The Hippo-Salvador pathway restrains hepatic oval cell proliferation, liver size, and liver tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(18): 8248–8253. [DOI]

- [28] Yi J, Lu L, Yanger K, Wang WQ, Sohn BH, Stanger BZ, Zhang M, Martin JF, Ajani JA, Chen JJ, Lee JS, Song SM, Johnson RL. Large tumor suppressor homologs 1 and 2 regulate mouse liver progenitor cell proliferation and maturation through antagonism of the coactivators YAP and TAZ. *Hepatology*, 2016, 64(5): 1757–1772. [DOI]
- [29] Nishio M, Sugimachi K, Goto H, Wang J, Morikawa T, Miyachi Y, Takano Y, Hikasa H, Itoh T, Suzuki SO, Kurihara H, Aishima S, Leask A, Sasaki T, Nakano T, Nishina H, Nishikawa Y, Sekido Y, Nakao K, Shin-Ya K, Mimori K, Suzuki A. Dysregulated YAP1/TAZ and TGF- β signaling mediate hepatocarcinogenesis in *Mob1a/1b*-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(1): E71–E80. [DOI]
- [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): 2054–2060. [DOI]
- [31] Lemaigre FP. Development of the biliary tract. *Mech Dev*, 2003, 120(1): 81–87. [DOI]
- [32] Geisler F, Nagl F, Mazur PK, Lee M, Zimmer-Strobl U, Strobl LJ, Radtke F, Schmid RM, Siveke JT. Liver-specific inactivation of *Notch2*, but not *Notch1*, compromises intrahepatic bile duct development in mice. *Hepatology*, 2008, 48(2): 607–616. [DOI]
- [33] Moroishi T, Park HW, Qin BD, Chen Q, Meng ZP, Plouffe SW, Taniguchi K, Yu FX, Karin M, Pan DJ, Guan KL. A YAP/TAZ-induced feedback mechanism regulates Hippo pathway homeostasis. *Genes Dev*, 2015, 29(12): 1271–1284. [DOI]
- [34] Jungermann K, Katz N. Functional specialization of different hepatocyte populations. *Physiol Rev*, 1989, 69(3): 708–764. [DOI]
- [35] Oh S, Lee D, Kim T, Kim TS, Oh HJ, Hwang CY, Kong YY, Kwon KS, Lim DS. Crucial role for Mst1 and Mst2 kinases in early embryonic development of the mouse. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(23): 6309–6320. [DOI]
- [36] McClatchey AI, Saotome I, Mercer K, Crowley D, Gusella JF, Bronson RT, Jacks T. Mice heterozygous for a mutation at the *Nf2* tumor suppressor locus develop a range of highly metastatic tumors. *Genes Dev*, 1998, 12(8): 1121–1133. [DOI]
- [37] Chen Q, Zhang NL, Xie R, Wang W, Cai J, Choi KS, David KK, Huang B, Yabuta N, Nojima H, Anders RA, Pan DJ. Homeostatic control of Hippo signaling activity revealed by an endogenous activating mutation in YAP. *Genes Dev*, 2015, 29(12): 1285–1297. [DOI]
- [38] Nishio M, Hamada K, Kawahara K, Sasaki M, Noguchi F, Chiba S, Mizuno K, Suzuki SO, Dong YY, Tokuda M, Morikawa T, Hikasa H, Eggenschwiler J, Yabuta N, Nojima H, Nakagawa K, Hata Y, Nishina H, Mimori K, Mori M, Sasaki T, Mak TW, Nakano T, Itami S, Suzuki A. Cancer susceptibility and embryonic lethality in *Mob1a/1b* double-mutant mice. *J Clin Invest*, 2012, 122(12): 4505–4518. [DOI]
- [39] Farazi PA, DePinho RA. Hepatocellular carcinoma pathogenesis: from genes to environment. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(9): 674–687. [DOI]
- [40] Jie L, Fan W, Wei QD, Ying QZ, Ling X, Miao S, Ping C, Chuan YG. The hippo-yes association protein pathway in liver cancer. *Gastroenterol Res Pract*, 2013, (2013-8-6), 2013, 2013(3): 187070. [DOI]
- [41] Zender L, Spector MS, Xue W, Flemming P, Cordon-Cardo C, Silke J, Fan ST, Luk JM, Wigler M, Hannon GJ, Mu D, Lucito R, Powers S, Lowe SW. Identification and validation of oncogenes in liver cancer using an integrative oncogenomic approach. *Cell*, 2006, 125(7): 1253–1267. [DOI]
- [42] Xu MZ, Yao TJ, Lee NPY, Ng IOL, Chan YT, Zender L, Lowe SW, Poon RTP, Luk JM. Yes-associated protein is an independent prognostic marker in hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 2009, 115(19): 4576–4585. [DOI]
- [43] Tu KS, Yang W, Li C, Zheng X, Lu ZT, Guo C, Yao YM, Liu QG. Fbxw7 is an independent prognostic marker and induces apoptosis and growth arrest by regulating YAP abundance in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer*, 2014, 13: 110. [DOI]
- [44] Mao B, Hu F, Cheng J, Wang P, Xu M, Yuan F, Meng S, Wang Y, Yuan Z, Bi W. SIRT1 regulates YAP2-mediated cell proliferation and chemoresistance in hepatocellular carcinoma. *Oncogene*, 2014, 33(11): 1468–1474. [DOI]
- [45] Anakk S, Bhosale M, Schmidt VA, Johnson RL, Finegold MJ, Moore DD. Bile acids activate YAP to promote liver carcinogenesis. *Cell Rep*, 2013, 5(4): 1060–1069. [DOI]
- [46] Zhao B, Wei XM, Li WQ, Udan RS, Yang Q, Kim J, Xie J, Ikenoue T, Yu JD, Li L, Zheng P, Ye KQ, Chinnaiyan A, Halder G, Lai ZC, Guan KL. Inactivation of YAP oncoprotein by the Hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control. *Genes Dev*, 2007, 21(21): 2747–2761. [DOI]
- [47] Overholtzer M, Zhang JM, Smolen GA, Muir B, Li WM, Sgroi DC, Deng CX, Brugge JS, Haber DA. Transforming

- properties of YAP, a candidate oncogene on the chromosome 11q22 amplicon. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(33): 12405–12410. [DOI]
- [48] Kim GJ, Kim H, Park YN. Increased expression of Yes-associated protein 1 in hepatocellular carcinoma with stemness and combined hepatocellular-cholangiocarcinoma. *PLoS One*, 2013, 8(9): e75449. [DOI]
- [49] Leung CON, Mak WN, Kai AKL, Chan KS, Lee TKW, Ng IOL, Lo RCL. Sox9 confers stemness properties in hepatocellular carcinoma through Frizzled-7 mediated Wnt/ β -catenin signaling. *Oncotarget*, 2016, 7(20): 29371–29386. [DOI]
- [50] Wang XB, Zheng Z, Caviglia JM, Corey KE, Herfel T, Cai BS, Masia R, Chung RT, Lefkowitz JH, Schwabe RF, Tabas I. Hepatocyte TAZ/WWTR1 promotes inflammation and fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Metab*, 2016, 24(6): 848–862. [DOI]
- [51] Zhang DY, Friedman SL. Fibrosis-dependent mechanisms of hepatocarcinogenesis. *Hepatology*, 2012, 56(2): 769–775. [DOI]
- [52] Liu-Chittenden Y, Huang B, Shim JS, Chen Q, Lee SJ, Anders RA, Liu JO, Pan DJ. Genetic and pharmacological disruption of the TEAD-YAP complex suppresses the oncogenic activity of YAP. *Genes Dev*, 2012, 26(12): 1300–1305. [DOI]
- [53] Liu AM, Xu MZ, Chen JF, Poon RT, Luk JM. Targeting YAP and Hippo signaling pathway in liver cancer. *Expert Opin Ther Targets*, 2010, 14(8): 855–868. [DOI]
- [54] Perra A, Kowalik MA, Ghiso E, Ledda-Columbano GM, Di Tommaso L, Angioni MM, Raschioni C, Testore E, Roncalli M, Giordano S, Columbano A. YAP activation is an early event and a potential therapeutic target in liver cancer development. *J Hepatol*, 2014, 61(5): 1088–1096. [DOI]
- [55] Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *Hepatology*, 2006, 43(S1): S45–S53. [DOI]
- [56] Michalopoulos GK. Liver regeneration after partial hepatectomy. *Am J Pathol*, 2010, 176(1): 2–13. [DOI]
- [57] Udan RS, Kango-Singh M, Nolo R, Tao CY, Halder G. Hippo promotes proliferation arrest and apoptosis in the Salvador/Warts pathway. *Nat Cell Biol*, 2003, 5(10): 914–920. [DOI]
- [58] Harvey KF, Pfleger CM, Hariharan IK. The *Drosophila* Mst ortholog, *hippo*, restricts growth and cell proliferation and promotes apoptosis. *Cell*, 2003, 114(4): 457–467. [DOI]
- [59] Zhao B, Tumaneng K, Guan KL. The Hippo pathway in organ size control, tissue regeneration and stem cell self-renewal. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(8): 877–883. [DOI]
- [60] 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]
- [61] Karpowicz P, Perez J, Perrimon N. The Hippo tumor suppressor pathway regulates intestinal stem cell regeneration. *Development*, 2010, 137(24): 4135–4145. [DOI]
- [62] Grijalva JL, Huizenga M, Mueller K, Rodriguez S, Brazzo J, Camargo F, Sadri-Vakili G, Vakili K. Dynamic alterations in Hippo signaling pathway and YAP activation during liver regeneration. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2014, 307(2): G196–G204. [DOI]
- [63] 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]
- [64] Loforese G, Malinka T, Keogh A, Baier F, Simillion C, Montani M, Halazonetis TD, Candinas D, Stroka D. Impaired liver regeneration in aged mice can be rescued by silencing Hippo core kinases MST1 and MST2. *EMBO Mol Med*, 2017, 9(1): 46–60. [DOI]
- [65] Furuyama K, Kawaguchi Y, Akiyama H, Horiguchi M, Kodama S, Kuhara T, Hosokawa S, Elbahrawy A, Soeda T, Koizumi M, Masui T, Kawaguchi M, Takaori K, Doi R, Nishi E, Kakinoki R, Deng JM, Behringer RR, Nakamura T, Uemoto S. Continuous cell supply from a Sox9-expressing progenitor zone in adult liver, exocrine pancreas and intestine. *Nat Genet*, 2011, 43(1): 34–41. [DOI]
- [66] 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]
- [67] Bai HB, Gayyed MF, Lam-Himlin DM, Klein AP, Nayar SK, Xu Y, Khan M, Argani P, Pan DJ, Anders RA. Expression of Yes-associated protein modulates Survivin expression in primary liver malignancies. *Hum Pathol*, 2012, 43(9): 1376–1385. [DOI]