

Hippo途径在铁死亡中的作用

康晨璐 任小雨 吴聪颖*

(北京大学医学部, 基础医学院, 系统生物医学研究所, 北京 100191)

摘要 Hippo途径主要由丝/苏氨酸激酶MST1/2、LATS1/2以及转录共激活因子YAP组成, 与细胞生长、存活、增殖、迁移, 组织器官大小控制以及肿瘤的发生发展密切相关。铁死亡是一种以铁依赖的活性氧(reactive oxygen species, ROS)积累以及质膜多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)耗竭为特征的可调控的细胞死亡形式, 由体内氧化-抗氧化体系失衡引起。该文以铁死亡为切入点, 阐述了Hippo途径在不同细胞死亡类型中所起到的作用, 为细胞命运的调控以及肿瘤的治疗提供思路。

关键词 Hippo途径; YAP; 铁死亡

The Role of Hippo Pathway in Ferroptosis

KANG Chenlu, REN Xiaoyu, WU Congying*

(Institute of Systems Biomedicine, School of Basic Medical Sciences, Health Science Center, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract Hippo pathway, which plays a critical role in cell growth, survival, proliferation, migration, organ size control and tumorigenesis, is primarily composed of two Serine/Threonine kinases, MST1/2 and LATS1/2, and the transcriptional coactivator YAP. Ferroptosis, triggered by the impairment of oxidant-antioxidant system, is an iron-dependent mode of regulated cell death characterized by the accumulation of ROS (reactive oxygen species) and plasma membrane PUFAs (polyunsaturated fatty acids) peroxidation. This paper makes a comprehensive overview of the correlation between Hippo pathway and cell death, especially ferroptosis, providing ideas for cell fate regulation and tumor treatment.

Keywords Hippo pathway; YAP; ferroptosis

Hippo途径可接受并整合上游信号, 通过转录共激活因子YAP(Yes-associated protein)指导细胞基因转录与生物学行为, 与细胞生长、存活、增殖、迁移, 组织器官大小控制以及肿瘤的发生发展密切相关。

铁死亡是一种以铁依赖的活性氧(reactive oxygen species, ROS)积累以及质膜多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)耗竭为特征的可调控的细胞死亡形式, 由体内氧化-抗氧化体系失衡引起。本文以铁死亡(ferroptosis)为切入点, 阐述

Hippo途径在不同细胞死亡类型中所起到的作用。

1 Hippo途径与YAP

1.1 Hippo途径的核心分子

Hippo途径主要由丝/苏氨酸激酶MST1/2(mammalian Ste20-like kinases 1/2, 果蝇Hippo, Hpo的同源物)、LATS1/2(large tumor suppressor1/2, 果蝇Warts, Wts的同源物)、调节分子SAV1(salvador family WW domain containing protein 1, 果蝇Salvador, Sav的同源

收稿日期: 2019-12-20 接受日期: 2020-02-10

国家自然科学基金(批准号: 81672457)资助的课题

*通讯作者。Tel: 010-82805329, E-mail: congyingwu@hsc.pku.edu.cn

Received: December 20, 2019

Accepted: February 10, 2020

This work was supported by the Natural Science Foundation of China (Grant No.81672457)

*Corresponding author. Tel: +86-10-82805329, E-mail: congyingwu@hsc.pku.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5275>

物)、MOB1(MOB kinase activator 1, 果蝇 Mats 的同源物)以及转录共激活因子YAP组成^[1-4](图1)。

MST1/2被上游激酶TAOK(thousand-and-one amino acid kinase)激活^[5]或二聚化自身激活^[6]后,可通过其C-端SARAH(Sav/RASSF/Hpo)结构域与SAV1结合,使SAV1磷酸化^[2]。磷酸化的SAV1可与LATS1/2相互作用,协助LATS1/2磷酸化^[7]。与此同时,LATS1/2的调节蛋白MOB1被MST1/2磷酸化(T12、T35)^[8]。磷酸化的SAV1与MOB1协助MST1/2,使LATS1/2激酶活性中心外的疏水基序(hydrophobic motif, HM)发生磷酸化(T1041、T1079)^[9-10]。HM被磷酸化后,在MOB1的协助下,LATS1/2最终发生自身磷酸化(S87、S909),从而被完全激活^[4,8](图1)。

TAOK可使MST1(T183)、MST2(T180)磷酸化,也可直接磷酸化LATS1/2^[4,5](图1)。除了TAOK和MST1/2,MAP4K(mitogen-activated protein kinase kinase kinase)家族中的MAP4K4/6/7(果蝇misshapen, Msn的同源物)与MAPK4K1/2/3(果蝇happyhour, Hppy的同源物)亦可直接激活LATS1/2^[11](图1)。MAP4K对LATS1/2的直接激活作用独立于MST1/2,且当MAP4K与MST1/2基因被敲除时,YAP磷酸化仍在进行,因此可能存在MAP4K、MST1/2以外的激酶如TAOK通过LATS1/2使YAP磷酸化^[11-12]。

被磷酸化激活的LATS1/2可识别YAP的5个HXRXXS基序^[13]并使其发生磷酸化(S61、S109、S127、S164、S381)^[14]。其中,YAP第127位丝氨酸(S127)被磷酸化后,胞质中的14-3-3蛋白可将其捕获,使其定位于细胞质^[13](图1)。而第381位丝氨酸(S381)的磷酸化可诱导肌酸激酶CK1磷酸化YAP第384位的丝氨酸(S384),从而招募SCF^{β-TRCP}E3-泛素连接酶,使YAP通过泛素-蛋白酶体途径降解^[14](图1)。

1.2 Hippo途径的效应分子——YAP

当Hippo途径未被激活时,YAP定位于细胞核,与转录因子TEAD(TEA domain) 1~4相互作用,启动CTGF(connective tissue growth factor)、Cyr61(cysteine rich angiogenic inducer 61)、Myc(myelocytomatosis oncogene)、survivin等基因的表达,促进细胞生长与增殖^[15](图1);当Hippo途径被激活时,YAP被LATS1/2磷酸化,或是与14-3-3蛋白结合被定位于细胞质^[13],或是经SCF^{β-TRCP}E3-泛素连接酶被蛋白酶体降解^[14]。此时,VGLL4(vestigial-like protein 4)通过其TDU结构域与转录因子TEAD结合抑制其转录活性^[16-17](图1)。

TEAD作为Hippo途径下游的转录因子,其出入核行为并不受MST1/2、LATS1/2以及MAP4K等Hippo途径相关分子的调控。目前已知,p38 MAPK信号通路对TEAD出入核行为起到重要的调节作用。在持续的高渗透压刺激下,p38与TEAD直接结合,使TEAD出核^[18]。此外,p38 MAPK信号通路可促进F-actin聚合,抑制Hippo途径,促使YAP入核^[19]。

除TEAD1~4外,YAP入核后还可与Runx1/2、BRD4、Smad等转录因子相互作用^[2,10,20]。

1.3 Hippo途径的调控方式

Hippo途径主要受机械信号、细胞极性与细胞连接以及G蛋白偶联受体的调控^[2,4,21-22](图1)。

F-actin是Hippo途径的重要调控因素之一。用布雷他汀、丝切蛋白/肌动蛋白解聚因子(cofilin)、凝溶胶蛋白(gelsolin)、β-辅肌动蛋白/加帽蛋白(capping protein Z, CapZ)等F-actin抑制剂破坏F-actin会导致YAP相关基因转录活性的下降,而诱导F-actin的聚合则会增强YAP的活性^[23-24],且F-actin对YAP活性的调控是以LATS1/2依赖而非MST1/2依赖的方式进行的^[21]。

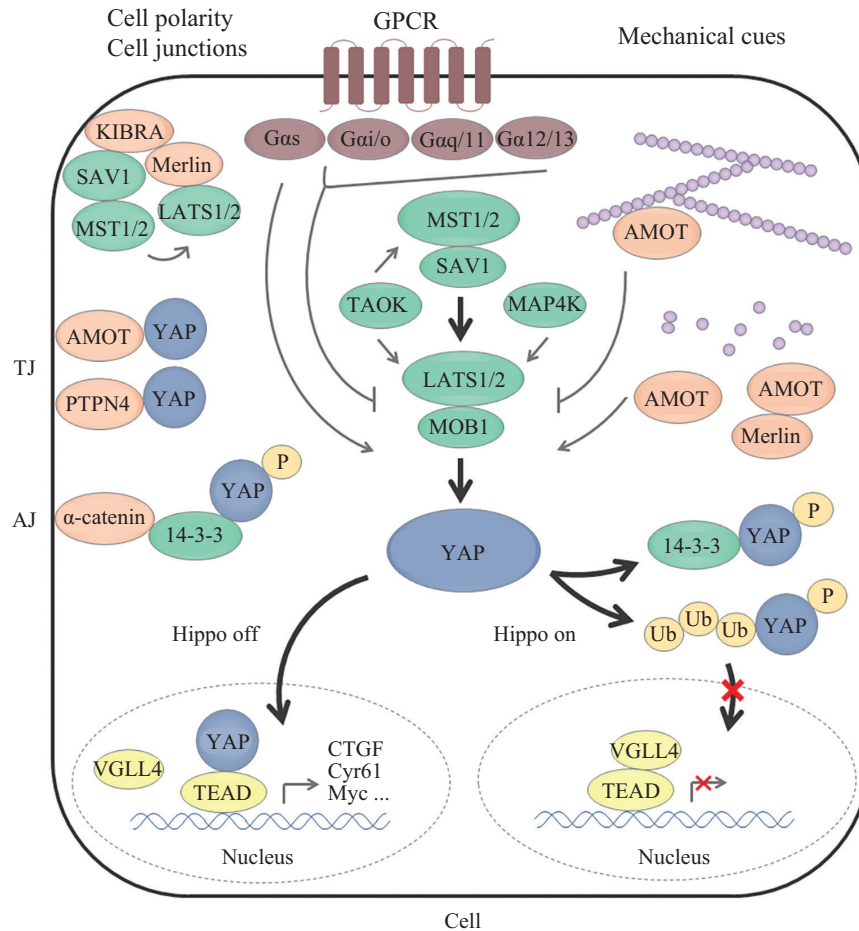
参与细胞极性与细胞连接形成的蛋白亦可调控Hippo途径。位于细胞顶面皮层的KIBRA蛋白(kidney and brain protein)一方面可通过Merlin(亦被称作neurofibromin 2, NF2)将LATS1/2招募到细胞膜,另一方面又可通过SAV1将MST1/2招募至细胞膜,从而介导MST1/2对LATS1/2的磷酸化^[25],抑制YAP的活性(图1),且在此过程中,MST1/2并未被磷酸化^[26]。

与细胞极性形成相关的血管动蛋白(angiomotin, AMOT)可通过其N末端与F-actin结合^[27],当F-actin被破坏时,AMOT被LATS1/2磷酸化,与F-actin分离^[28],随后AMOT作为脚手架蛋白,分别与MST1/2、LATS1/2、YAP结合,介导MST1/2对LATS1/2的磷酸化以及LATS1/2对YAP的磷酸化^[9](图1)。此外,AMOT可与Merlin结合,暴露Merlin与LATS1/2结合的结构域,使LATS1/2与之结合并被活化,从而抑制YAP的活性^[29](图1)。

细胞紧密连接相关蛋白AMOT与PTPN14(protein tyrosine phosphatase non-receptor type 14)可通过PPXY基序与YAP的WW结构域结合,使其定位于细胞紧密连接处^[30];细胞处于高密度时,细胞黏附连接处富集的α-连环蛋白(α-catenin)可通过14-3-3蛋白与磷酸化的YAP结合,促进其细胞质定位^[30-31](图1)。

G蛋白偶联受体(G-protein-coupled receptor, GPCR)可与多种激素、生长因子结合,通过LATS1/2调控YAP的活性(图1)。且不同类型的G蛋白 α 亚基

作用不同: Gas可激活LATS1/2, 使YAP磷酸化, 促进其细胞质定位; Gai/o、Gaq/11、G α 12/13则会抑制LATS1/2的活性, 增加YAP的转录活性^[32]。



Hippo途径由丝/苏氨酸激酶MST1/2和LATS1/2、调节分子SAV1和MOB1以及效应分子YAP组成。Hippo途径未被激活时, YAP作为转录共激活因子, 可进入细胞核与TEAD竞争性结合, 从而诱导靶基因的转录。Hippo途径被激活时, 活化的MST1/2可磷酸化LATS1/2。LATS1/2被磷酸化激活后进一步磷酸化YAP。磷酸化的YAP可被细胞质中的14-3-3蛋白捕获或是通过SCF^{β-TRCP} E3连接酶介导的泛素-蛋白酶体途径降解。Hippo途径受到若干上游信号的调节。细胞连接与细胞极性组成分子, 如KIBRA、AMOT、PTPN4以及 α -连环蛋白是经典的Hippo途径的上游调节分子; G蛋白偶联受体对Hippo途径的作用取决于其 α 亚基种类; 机械线索可通过细胞骨架影响LATS1/2的活性从而起到调控Hippo途径的作用。MST1/2: 哺乳动物Ste20样激酶1/2; SAV1: 含WW结构域的salvador蛋白1; LATS1/2: 大肿瘤抑制因子1/2; MOB1: MOB激酶激活因子1; YAP: Yes相关蛋白; TAOK: TAO激酶; MAP4K: 丝裂原活化蛋白激酶激酶激酶; TEAD: TEA域转录因子家族; VGLL4: vestigial样蛋白4; KIBRA: 肾脏脑蛋白; Merlin: NF2, 神经纤维瘤蛋白2; AMOT: 血管动蛋白; PTPN14: 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体14型; AJ: 黏附连接; TJ: 紧密连接; GPCR: G蛋白偶联受体; ×: 此过程被抑制。

Hippo pathway is primarily composed of MST1/2 and LATS1/2, two Serine/Threonine kinases regulated by SAV1 and MOB1, and the effector YAP. YAP is a transcription coactivator which would enter the nucleus to compete with VGLL4 for TEAD binding and induce transcription of target genes when the Hippo pathway is off. When the Hippo pathway is on, MST1/2 is activated and then phosphorylates LATS1/2. YAP is phosphorylated by the phosphorylated LATS1/2 and thus arrested by 14-3-3 protein in cytoplasm or degraded through ubiquitin-proteasome pathways mediated by SCF^{β-TRCP} E3-ligase. Hippo pathway can be regulated by several upstream signaling pathways. Components involved in cell junctions and cell polarity, such as KIBRA, AMOT, PTPN4 and α -catenin, have been identified as upstream modulators of Hippo pathway. GPCR can either activate or inhibit Hippo pathway depending on different kinds of α subunits. And mechanical cues probably influence LATS1/2 activity through actin cytoskeleton.

MST1/2: mammalian Ste20-like kinases 1/2; SAV1: salvador family WW domain containing protein 1; LATS1/2: large tumor suppressor 1/2; MOB1: MOB kinase activator 1; YAP: Yes-associated protein; TAOK: TAO kinases; MAP4K: mitogen-activated protein kinase kinase kinase; TEAD: TEA domain transcription factor family; VGLL4: vestigial-like protein 4; KIBRA: kidney and brain protein; Merlin: NF2, neurofibromin 2; AMOT: angiomin; PTPN14: protein tyrosine phosphatase non-receptor type 14; AJ: adherent junctions; TJ: tight junctions; GPCR: G-protein-coupled receptor; ×: this process is inhibited.

图1 Hippo途径的组成与调控因子(根据参考文献[22]修改)

Fig.1 Components and modulators of Hippo pathway (modified with reference [22])

2 Hippo途径与铁死亡

细胞死亡被分为可调控的细胞死亡(regulated cell death, RCD)与偶发性细胞死亡(accidental cell death)^[33]。可调控的细胞死亡是指由细胞自身基因调控的、依赖于细胞死亡相关信号通路的细胞死亡形式,主要包括细胞凋亡(apoptosis)、坏死性凋亡(necroptosis)与细胞焦亡(pyroptosis);而偶发性细胞死亡是指物理或化学因素对细胞造成损伤时发生的一种不依赖于分子信号通路的死亡形式^[33-34]。可调控的细胞死亡在生物的正常发育以及内环境稳态的维持中发挥着重要作用。近年来,随着铁死亡的发现及其发生机制的深入研究,铁死亡也被认为是可调控的细胞死亡的一种^[33-36]。

铁死亡是一种以铁依赖的脂质活性氧的积累以及质膜多不饱和脂肪酸的耗竭为特征的可调控的细胞死亡形式,由体内氧化-抗氧化机制失衡引起^[37-38]。

作为一种全新的可调控的细胞死亡形式,铁死亡首次进入科学家们的视野是在2003年。STOCKWELL实验室^[39]在筛选对RAS家族小GTP酶(HRAS、NRAS、KRAS)突变细胞具有特异性致死效应的小分子时,发现了Erastin(eradicator of Ras and ST)与RSL3(Ras selective lethal 3)这两个癌基因,其编码的Erastin蛋白和RSL蛋白对HRAS突变的细胞具有特异性的致死效应,且这种致死效应不依赖于BCL-2、BAX、BAK等细胞凋亡相关蛋白,也与已知的细胞坏死等非程序性细胞死亡形式不同^[38]。后续研究证明,Erastin、RSL3所引起的细胞死亡与铁依赖的脂质活性氧的累积密切相关^[38],这种细胞死亡形式被命名为铁死亡。

2.1 铁死亡发生机制

2.1.1 活性氧的产生 含有未被完全还原的氧原子的分子被称作活性氧。生物体内的活性氧主要包括超氧化物($O_2^{\cdot-}$)、过氧化物(H_2O_2 、 $ROOH$)以及氧自由基($HO\cdot$ 、 $RO\cdot$)^[40-41]。细胞内活性氧主要由线粒体能量代谢中的电子传递链^[42-43]以及NADPH氧化酶(NADPH oxidases, NOXs)产生^[44],也可在黄嘌呤氧化酶催化次黄嘌呤形成尿酸、过氧化物酶体氧化脂肪酸等由氧化酶催化的生物学反应中产生^[43]。此外,辐射和空气污染物也可诱导细胞产生活性氧^[42],中性粒细胞、巨噬细胞在被激活行使抗感染功能时也会产生活性氧^[45]。

在上述过程中, O_2 被相应的氧化酶氧化为 $O_2^{\cdot-}$,

随后, $O_2^{\cdot-}$ 可将一个电子传递给 Fe^{3+} ,也可在超氧化物歧化酶的作用下,发生歧化反应,生成 H_2O_2 与 O_2 。 H_2O_2 可接受 Fe^{2+} 的一个电子,形成 $HO\cdot$ 与 HO^- ^[42,46](图2)。

脂质活性氧可通过非酶催化的脂质自发氧化反应产生,或亦可脂氧酶催化产生^[46-48](图2)。

脂质自发氧化反应通常由活性氧启动。以 $HO\cdot$ 为例, $HO\cdot$ 可夺取细胞膜上多不饱和脂肪酸(R)的H,生成 $R\cdot$, $R\cdot$ 与氧气进一步反应生成 $ROO\cdot$, $ROO\cdot$ 可进一步夺取细胞膜上另一邻近多不饱和脂肪酸的H,生成 $ROOH$ 与新的 $R\cdot$, $ROOH$ 可接受 Fe^{2+} 的一个电子,形成 $RO\cdot$ 与 HO^- 。 $RO\cdot$ 与新生成的 $R\cdot$ 可启动新一轮的氧化反应,形成恶性循环,造成细胞膜上脂质的大范围氧化^[47-48]。

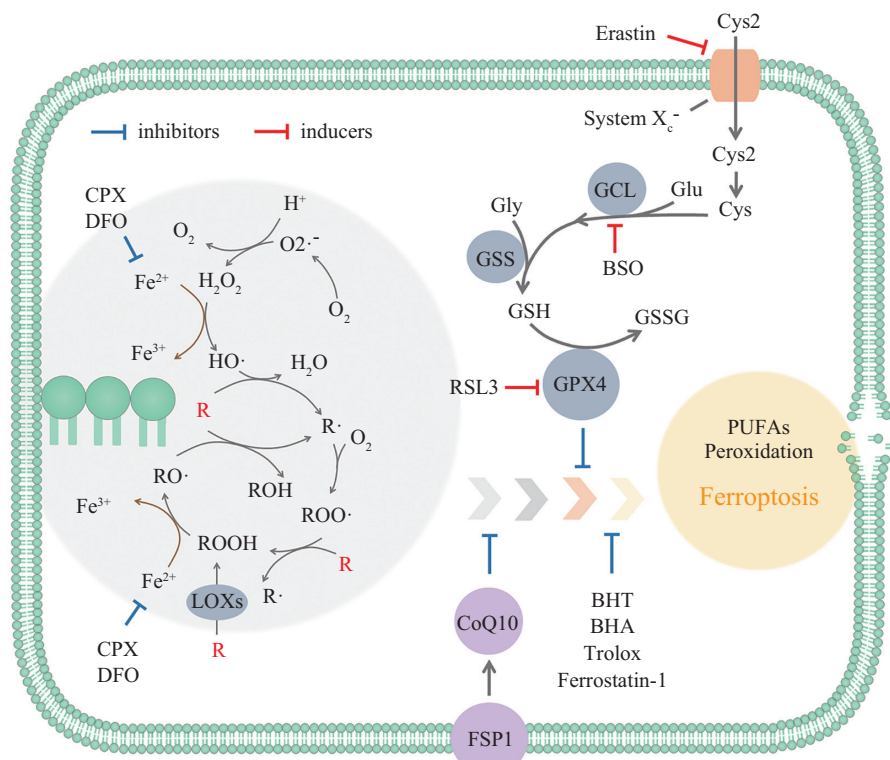
脂质活性氧亦可由酶催化形成。在脂氧酶的催化下,细胞膜上的多不饱和脂肪酸可直接与 O_2 反应生成 $ROOH$, $ROOH$ 接受 Fe^{2+} 的一个电子,形成 $RO\cdot$ 与 HO^- , $RO\cdot$ 随后启动细胞膜多不饱和脂肪酸的链式氧化反应^[43,46]。

在上述过程中,铁离子作为电子传递体发挥了极大的作用^[48]。正常情况下,可参与氧化还原反应的铁离子浓度稳定,维持在 $0.2\sim 0.5\ \mu\text{mol/L}$ ^[49],其余的铁离子则储存在血红素、铁蛋白等蛋白质中,不参与氧化还原反应,以免过多的活性氧产生。但在过高的氧化应激压力下,高浓度的超氧化物可使含铁蛋白质中的 Fe^{2+} 被释放,从而促进活性氧的生成^[43,48]。

2.1.2 抗氧化体系 生理状态下,机体内产生的过多的活性氧可被强大的抗氧化体系清除。抗氧化体系主要由超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶、抗坏血酸过氧化物酶等大分子酶类以及维生素C/E、类胡萝卜素、类黄酮等小分子抗氧化剂组成^[42,50]。

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)可催化 $O_2^{\cdot-}$ 发生歧化反应,使一分子 $O_2^{\cdot-}$ 被氧化成 O_2 ,另一分子 $O_2^{\cdot-}$ 被还原成 H_2O_2 。哺乳动物细胞有3种SOD同工酶,分别为Cu/Zn-SOD(活性中心含Cu/Zn离子)和Mn-SOD(活性中心含 Mn^{2+})。其中Cu/Zn-SOD主要分布在细胞外及胞质中,Mn-SOD主要分布在线粒体中^[51]。过氧化氢酶(catalase)主要存在于过氧化物酶体、胞质以及微粒体中,可催化 H_2O_2 ,使之分解为 O_2 和 H_2O ,是清除体内过氧化物的主力军之一^[50]。

谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,



铁死亡是一种以质膜多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)过氧化为特征的可调控细胞死亡形式。过氧化多不饱和脂肪酸主要在活性氧(reactive oxygen species, ROS)与脂氧合酶(Lipoxygenases, LOXs)介导的 Fe^{2+} 依赖的链式反应中产生。在过氧化多不饱和脂肪酸生成的同时, GPX4与 FSP1可清除过多的过氧化多不饱和脂肪酸, 从而维持细胞内环境稳态。当细胞氧化与抗氧化体系失衡时, 质膜多不饱和脂肪酸大量过氧化, 质膜通透性发生改变, 从而导致细胞死亡。

R: PUFAs; PUFAs: 多不饱和脂肪酸; GPX: 谷胱甘肽过氧化物酶; FSP1: 铁死亡抑制蛋白1; CoQ10: 辅酶Q10; Cys2: 胱氨酸; Cys: 半胱氨酸; Glu: 谷氨酸; Gly: 甘氨酸; GCL: 谷氨酸-半胱氨酸连接酶; GSS: 谷胱甘肽合成酶; GSH: 还原型谷胱甘肽; GSSG: 氧化型谷胱甘肽; Erastin: 铁死亡诱导剂; RSL3: 铁死亡诱导剂; BSO: 丁硫氨酸-(S,R)-亚砷亚胺; BHT: 丁基甲苯; BHA: 叔丁基羟基茴香醚; DFO: 去铁胺; CPX: 环吡酮

The hallmark of ferroptosis is plasma membrane PUFAs (polyunsaturated fatty acids) peroxidation as a result of Fe^{2+} -mediated chain reaction initiated by ROS (reactive oxygen species) or LOXs (lipoxygenases). Oxidized PUFAs can be eliminated by two major regulators, GPX4 and FSP1, to maintain cell homeostasis. Failure of oxidized PUFAs elimination leads to destruction of plasma membrane and thus cell death known as ferroptosis.

R: PUFAs; PUFAs: polyunsaturated fatty acids; GPX: glutathione peroxidase; FSP1: ferroptosis suppressor protein 1; CoQ10: coenzyme Q10; Cys2: cystine; Cys: cysteine; Glu: glutamate; Gly: glycine; GCL: glutamate-cysteine ligase; GSS: glutathione synthetase; GSH: reduced glutathione; GSSG: oxidized glutathione; Erastin: inducer of ferroptosis; RSL3: inducer of ferroptosis; BSO: buthionine-(S,R)-sulfoximine; BHT: butylated hydroxytoluene; BHA: butylated hydroxyanisole; DFO: deferoxamine; CPX: ciclopirox

图2 铁死亡的发生机制与调控方式(根据参考文献[45]修改)

Fig.2 Mechanism and regulation of ferroptosis (modified with reference [45])

GPX)是一组同工酶(GPX1~8)的总称。GPX活性中心含硒代半胱氨酸残基, 可通过还原型的谷胱甘肽(glutathione, GSH), 将 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{ROOH}$ 还原成 $\text{H}_2\text{O}/\text{ROH}$, 同时产生氧化型的谷胱甘肽(GSSG)^[52]。

哺乳动物细胞含有GPX1~GPX4 4种同工酶: GPX1主要见于肝、肺、肾组织细胞以及红细胞的胞质、细胞核和线粒体; GPX2主要存在于胃肠道细胞的胞质和细胞核中; GPX3被称为血浆GPX3, 为分泌蛋白, 存在于肾、肺、心脏、肌肉等不同组织细胞的胞浆中; GPX4广泛存在于不同组织细胞的胞质、细胞核以及线粒体中, 可与膜结合, 因此被称为

磷脂GPX^[53]。

GPX4是铁死亡的主要调控分子^[54], 可通过谷胱甘肽将有毒的脂质过氧化物(ROOH)转变为无毒性的类脂醇(ROH), 使生物膜流动性与完整性不受破坏^[43]。无论是抑制GPX4表达还是抑制其酶活性, 亦或是抑制谷胱甘肽的合成, 都可诱导细胞铁死亡的发生^[54-55]。

2.1.3 氧化-抗氧化失衡 在抗氧化体系被抑制或是活性氧产生亢进时, 由于质膜上的多不饱和脂肪酸对活性氧与脂氧酶十分敏感^[48], 易生成ROOH, 在 Fe^{2+} 存在的情况下, ROOH易进一步被氧化为 $\text{RO}\cdot$,

RO $\cdot$ 可从邻近的多不饱和脂肪酸上夺取H, 开启新一轮的脂质氧化反应, 造成多不饱和脂肪酸的大量氧化, 使生物膜完整性被破坏, 最终导致细胞死亡^[56]。

2.2 铁死亡的调控方式

铁死亡本质上是脂质活性氧产生与清除体系失衡, 使生物膜上的多不饱和脂肪酸被大量消耗所造成的细胞死亡。因此, 脂质活性氧产生过程或是脂质活性氧清除过程的影响因素均可在一定程度上对铁死亡过程进行调控。

2.2.1 铁死亡的诱导因素 GPX4是铁死亡的主要调控分子^[54], 通过RNAi抑制GPX4表达可诱导铁死亡, 而过表达GPX4则可抵抗RSL3诱导的铁死亡^[54]。RSL3可与GPX4活性位点上的硒代半胱氨酸共价结合, 直接抑制GPX4的酶活性, 从而诱导铁死亡^[54]; 人造小分子化合物ML162作为GPX4的抑制剂亦可诱导铁死亡^[57](图2)。

由于GPX4对脂质活性氧的清除需要消耗还原型谷胱甘肽, 因此影响谷胱甘肽合成的因素可影响铁死亡。谷胱甘肽由一分子谷氨酸、一分子半胱氨酸、一分子甘氨酸在谷氨酸-半胱氨酸连接酶、谷胱甘肽合成酶的催化下形成^[58]。Erastin及其类似物可抑制Xc⁻系统, 阻碍胱氨酸的摄取, 使细胞内半胱氨酸来源被阻断, 抑制谷胱甘肽合成^[55]; 丁硫氨酸-(S,R)-亚砷亚胺(BSO)可抑制谷氨酸-半胱氨酸连接酶, 使谷胱甘肽耗竭, 导致脂质活性氧积聚, 诱发铁死亡^[55](图2)。

2.2.2 铁死亡的抑制因素 过去对铁死亡的研究主要聚焦于GPX4, 而近期发现的由铁死亡抑制蛋白1(ferroptosis suppressor protein 1, FSP1)介导的独立于谷胱甘肽过氧化物酶的铁死亡调控通路则提示了铁死亡可能受多种上游机制的调控(图2)。FSP1最初因与AIFM1(apoptosis-inducing factor mitochondrial 1)同源, 而被命名为AIFM2(apoptosis-inducing factor mitochondrial 2), 但其缺乏线粒体定位, 也没有促细胞凋亡的功能^[59]。FSP1的N末端含有一豆蔻酰化基序, 被豆蔻酰化修饰后, FSP1通过其N末端定位于质膜。豆蔻酰化的FSP1可发挥其氧化还原酶的作用, 还原CoQ₁₀, 还原型CoQ₁₀进而减少脂质过氧化, 降低细胞对铁死亡的敏感性^[59-60]。

由于铁死亡是由脂质活性氧过度产生引起的, 因此ferrostatin-1、trolox、丁羟甲苯、叔丁基羟基茴香醚等抗氧化剂的应用, 可清除脂质活性氧, 从而

抑制铁死亡进程。此外, 由于脂质氧化过程需要二价铁离子的参与, 因此去铁胺、环吡酮等铁离子螯合剂的应用可减少脂质活性氧的产生, 从而起到抑制铁死亡的作用^[61](图2)。

2.3 Hippo途径与铁死亡

近期研究表明, 细胞密度信息可以通过Hippo途径, 调控转录共激活因子YAP/TAZ的活性, 从而调节细胞对铁死亡的敏感性。

WU等^[62]的研究表明, 细胞密度信息可通过E钙黏素-NF2(Merlin)-YAP-TEAD-ACSL4/TFRC(ACSL4: acyl-CoA synthetase long chain family member 4, 乙酰辅酶A合成酶长链; TFRC: transferrin receptor 1, 转铁蛋白受体)通路影响细胞对铁死亡的敏感性。TFRC与ACSL4是铁死亡的重要调节因子^[63-64]。TFRC可协同转铁蛋白将铁离子从细胞外转运到细胞内^[63]; ACSL4介导多价不饱和 ω 6脂肪酸花生四烯酸(arachidonic acid, AA)与廿二碳四烯酸(adrenic acid, AdA)以及花生四烯酸-辅酶A(AA-CoA)与廿二碳四烯酸-辅酶A(AdA-CoA)的合成。AA-CoA和AdA-CoA与细胞膜磷脂分子(磷脂酰肌醇与磷脂酰乙醇胺)结合, 是铁死亡的重要底物^[64-65]。

对于HepG2、PC9、H1650、HCT116等细胞系, 随着细胞密度的增加, 细胞对Erastin、RSL3、胱氨酸缺乏所诱导的铁死亡的敏感性下降。细胞密度增加时, 细胞与细胞间的黏附连接以及连接处的E钙黏素增多, E钙黏素可通过NF2将细胞密度信息传递到Hippo途径^[62]。一方面, NF2通过抑制E3泛素连接酶CRL4-DCAF1, 减少LATS1/2的降解^[66], 另一方面, NF2介导MST1/2对LATS1/2的磷酸化^[25,29], 从而使LATS1/2活性增强。活化的LATS1/2使YAP磷酸化, 促进其细胞质定位。此时, YAP-TEAD下游基因ACSL4、TFRC的表达被抑制, 由于缺乏铁离子以及底物AA-CoA与AdA-CoA, 细胞对铁死亡的敏感性下降^[62]。

与上述细胞系不同, BT474细胞不管是在较高还是较低的细胞密度下, 对铁死亡的敏感性都很低, 这可能是由于即使是在较低的细胞密度下, BT474细胞E钙黏素的表达量也很高; 而MDA-MB-231细胞即使是在细胞密度较高的状态下, 对铁死亡的敏感性也很高, 这是由于MDA-MB-231细胞E钙黏素的表达量即使是在高细胞密度的情况下也维持在极低水平^[62]。

此外, YANG等^[67]发现, 在肾细胞癌中, 细胞密度信息可通过转录共激活因子TAZ(WW domain-containing transcription regulator protein 1, WWTR1, YAP的旁源同系物)调节铁死亡。细胞密度较低时, 活化的TAZ可促进上皮细胞膜蛋白1(epithelial membrane protein 1, EMP1)的表达, 继而上调NADPH氧化酶4(NADPH oxidase 4, NOX4)的水平。NOX4使细胞内脂质活性氧水平增高, 诱发铁死亡。

3 Hippo途径与其他细胞死亡类型

除铁死亡之外, 细胞凋亡、细胞焦亡(pyroptosis)、细胞失巢凋亡(anoikis)、自噬相关细胞死亡(autophagic cell death)亦属于可调控的细胞死亡^[68]。经典的细胞凋亡, 亦被称为程序性细胞死亡, 是指细胞在自身基因调控下, 主动进行的死亡过程^[69]。细胞焦亡与失巢凋亡是细胞凋亡的特殊形式。细胞焦亡以炎症小体形成和细胞溶解为特征, 由caspase1/11/4/5以及效应蛋白Gasdermin D所介导^[70-72]。细胞失巢凋亡由细胞与细胞外基质的错误黏附或未黏附引起^[73]。自噬相关细胞死亡所界定的范围较广, 将死的细胞中一旦发现自噬小体的存在, 即可被定义为自噬相关细胞死亡^[68]。

3.1 YAP与细胞凋亡

凋亡是最常见的细胞死亡形式^[68], 主要由一系列半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(caspases)所介导^[74]。凋亡小体的形成是凋亡的主要特征, 也是细胞能够在不破坏邻近细胞组织结构的前提下被清除的基础^[75]。

YAP对于细胞凋亡的作用, 目前还未有定论。COTTINI等^[76]通过对已发表的肿瘤基因表达谱进行分析发现, YAP在上皮来源的肿瘤(如结肠癌、食管癌、肝癌、胃癌、前列腺癌等)中表达上调, 但在淋巴造血系统来源的肿瘤(如淋巴瘤、白血病和多发性骨髓瘤)中表达显著下调。多数研究认为, 肿瘤中YAP的高表达可抑制细胞凋亡, 从而促进肿瘤的发生发展^[77-82]; 但也有研究发现, 在某些淋巴造血系统来源的肿瘤(如淋巴瘤、多发性骨髓瘤)中, YAP可以促进细胞凋亡, 发挥肿瘤抑制因子的作用^[76,83-84]。

3.1.1 YAP对细胞凋亡的抑制 YAP在多种上皮组织来源的肿瘤中高表达, 如结直肠癌^[77,80]、胃癌^[81]、非小细胞肺癌^[79,82]、前列腺癌^[78]等, 且对人直肠癌细胞系SW837^[80]、胃癌细胞系MKN1与AGS^[85]、肺癌细胞系A549与H157^[82]等细胞系进行划痕实验/tran-

swell实验/基质凝胶侵袭实验发现, YAP的高表达可增强肿瘤细胞的迁移与侵袭能力。

针对这些YAP高表达癌症的分子机理研究发现, 抑制YAP可促进癌细胞的凋亡。当YAP基因表达被抑制时, JNK(c-jun N-terminal kinase)被磷酸化, 进而激活MIEF1(mitochondrial elongation factor 1)^[86]、Drp1(dynamin-related protein 1)^[80]等线粒体稳态相关蛋白, 使线粒体过度分裂。线粒体过度分裂可导致丝氨酸蛋白酶HtrA2(high-temperature requirement A2)/Omi^[80]从线粒体膜间隙向细胞质渗漏, 抑制细胞质中的抗凋亡蛋白, 引发内源性细胞凋亡。与此同时, 线粒体的过度分裂可使微丝骨架调控蛋白Cofilin磷酸化, 从而抑制F-actin聚合, 使板状伪足不能正常形成, 影响细胞的迁移^[80,87]。

对小鼠乳腺上皮细胞系NMuMG的研究发现, YAP过表达可通过上调表皮生长因子(epidermal growth factor receptor, EGFR)的表达, 抑制TGF- β 1诱导的细胞凋亡^[88]。

除了上皮来源的肿瘤外, 在某些淋巴造血系统来源的肿瘤, 如JurKat白血病肿瘤细胞中, 也可观察到YAP表达升高^[89]。将YAP基因敲除后, JurKat白血病细胞增殖减少, 凋亡增加, WU等^[89]认为, YAP可能是通过促进蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)、BCL2、BCL2样蛋白1等抗凋亡蛋白的表达发挥其抗凋亡作用的。

3.1.2 YAP对细胞凋亡的促进 在某些淋巴造血系统来源的肿瘤(如淋巴瘤、多发性骨髓瘤)中, YAP可介导DNA损伤所引发的细胞凋亡^[76]。DNA损伤时, JNK使14-3-3蛋白磷酸化, 释放酪氨酸激酶c-Abl^[90], c-Abl随后入核, 被ATM激酶磷酸化, 磷酸化的c-Abl进一步使YAP第357位的酪氨酸磷酸化(Y357, 不同于LATS1/2对YAP的磷酸化位点)^[84]。磷酸化的YAP通过WW结构域与p73(p53的同源物)相互作用, 竞争性抑制E3泛素连接酶Itch与p73的结合, 从而抑制p73的降解^[91], 使其发挥促凋亡转录因子的作用, 促进细胞凋亡。

有研究认为, Hippo途径的激酶MST与LATS也有促进细胞凋亡的作用。MST1可通过上调促凋亡蛋白Bim的表达, 促进胰腺 β 细胞的凋亡^[92]。LATS1可增强YAP与p73的相互作用, 促进YAP-p73的核定位, 发挥促细胞凋亡作用^[93]。但REUVEN等^[94]的研究结果与之相矛盾, 他们认为, LATS2可与c-Abl的

SH3结构域相互作用,降低其活性,从而抑制YAP蛋白357位的酪氨酸磷酸化,使YAP的促凋亡作用不能正常发挥。

3.2 YAP与细胞焦亡

细胞焦亡是一种特殊形式的细胞凋亡,以炎症小体形成和细胞溶解为特征,由caspase1/11/4/5以及效应蛋白Gasdermin D所介导^[70-72]。细胞焦亡是固有免疫的一部分,可帮助机体清除病原体与损伤细胞^[95]。

经典的炎症小体由NLRs(nucleotide-binding domain-like receptors)/ALRs(absent in melanoma 2-like receptors)/Pyrin、ASC(apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase activation and recruitment domain)以及caspase-1前体组成^[95]。NLRs/ALRs/Pyrin可感受机体内的生理/病理刺激,如PAMPS、DAMPS等,介导ASC的成核反应并与之相互作用,ASC随后招募caspase-1前体,caspase-1前体自身剪切产生活化的caspase-1^[95]。活化的caspase-1切割全长gasdermin D蛋白,暴露其N末端,N末端可定位于细胞膜形成寡聚孔,使细胞膜通透性增加,诱发细胞死亡^[70]。

研究表明,YAP可通过与p73相互作用,调控NLRC4炎症小体的表达,从而调控细胞焦亡^[96]:沙门氏菌效应蛋白SopB可激活蛋白激酶Akt,使YAP磷酸化(S127),磷酸化的YAP无法入核与p73形成异二聚体,其靶基因*Nlr4*的表达被抑制,NLRC4炎症小体无法形成,最终抑制细胞焦亡^[97]。

3.3 YAP与失巢凋亡

失巢凋亡是一种特殊形式的细胞凋亡,由细胞与细胞外基质的错误黏附或未黏附引起^[73]。YAP对于不同种类癌细胞失巢凋亡的作用不一。在乳腺癌细胞系MDA-MB-231中敲除YAP后,肿瘤细胞的失巢凋亡现象可被显著抑制,且利用延时显微成像以及基质凝胶侵袭实验发现细胞迁移侵袭能力显著提升,说明YAP起到了促进肿瘤细胞失巢凋亡,抑制肿瘤转移的作用^[83]。在胆管癌细胞系HuCCT1与HuH-28^[98]以及肝细胞癌细胞系MHCC-97H、SMMC-7721^[99]中敲除YAP后,细胞失巢凋亡现象显著增加,抑制Hippo途径可使失巢凋亡现象被抑制,说明YAP对失巢凋亡起抑制作用。

但有研究表明,YAP在乳腺癌中,起到了相反的作用:ANDRADE等^[100]在MDA-MB-231肿瘤细胞中敲除YAP后,发现肿瘤细胞的迁移侵袭能力下降^[100],而过表达YAP则显著增强了MDA-MB-231肿瘤细胞

的增殖能力^[101];ZHAO等^[102]发现,在正常人乳腺上皮细胞系MCF10A中,Hippo途径的抑制可减少细胞失巢凋亡现象,促进肿瘤的侵袭与转移。

3.4 YAP与自噬相关细胞死亡

自噬指细胞成分(小至蛋白,大至细胞器)进入溶酶体并被溶酶体中相关酶降解的过程。由细胞自噬所产生的降解产物可以被循环利用以产生新的细胞结构和/或细胞器,或者可被进一步加工并用作能源^[103]。自噬可维持细胞稳态,同时也可导致细胞的破坏与死亡。ZHOU等^[104]发现,在肝细胞癌细胞系BEL/FU中,YAP可促进活性氧清除,激活mTOR复合物,mTOR复合物进而抑制自噬相关细胞死亡。而PAVEL等^[105]则认为,YAP对自噬的影响可能是由myosin II介导的,当YAP表达被抑制时,myosin II表达下降,应力纤维形成受阻,从而损害自噬体的形成。

4 总结与展望

YAP一直以来被认为与细胞的生长、增殖相关。大部分肿瘤中,YAP呈高表达,在抑制肿瘤细胞死亡的同时可增加其迁移侵袭能力。且由于YAP高表达与肿瘤的治疗抗性有关,因此以YAP和Hippo途径为靶点的治疗手段研发一直备受关注。而在淋巴瘤、多发性骨髓瘤等少数肿瘤中,YAP促进细胞凋亡,发挥类似于肿瘤抑制因子的作用。在不同肿瘤中,YAP对于细胞死亡的不同作用是如何被调控的,是否与肿瘤细胞的特性或是与不同的肿瘤微环境相关,这些问题有待进一步探讨。

此外,铁死亡相关研究表明,不同的细胞密度信息下,细胞通过YAP调控的对铁死亡的敏感性不同:在高细胞密度下,YAP活性下降,细胞对铁死亡的敏感性随之下降;在低细胞密度下,YAP活性升高,细胞对铁死亡的敏感性随之升高。不同肿瘤组织存在不同的细胞密度,通过调控Hippo途径,诱导低细胞密度的肿瘤细胞铁死亡,可能成为特异性肿瘤治疗的新思路。但这一思路仍然存在许多问题,例如如何界定低细胞密度人体肿瘤,如何特异性地诱导肿瘤细胞的铁死亡而不伤及正常组织,以及在体内诱导铁死亡是否会导致氧化-抗氧化大范围失衡而对人体正常组织造成不可逆的损伤等。

参考文献 (References)

- [1] CALSES P C, CRAWFORD J J, LILL J R, et al. Hippo pathway

- in cancer: aberrant regulation and therapeutic opportunities [J]. *Trends Cancer*, 2019, 5(5): 297-307.
- [2] MENG Z, MOROISHI T, GUAN K L. Mechanisms of Hippo pathway regulation [J]. *Genes Dev*, 2016, 30(1): 1-17.
 - [3] NGUYEN C D K, YI C. YAP/TAZ signaling and resistance to cancer therapy [J]. *Trends Cancer*, 2019, 5(5): 283-96.
 - [4] MA S, MENG Z, CHEN R, et al. The Hippo pathway: biology and pathophysiology [J]. *Annu Rev Biochem*, 2019, 88(1): 577-604.
 - [5] BOGGIANO J C, VANDERZALM P J, FEHON R G. Tao-1 phosphorylates Hippo/MST kinases to regulate the Hippo-Salvador-Warts tumor suppressor pathway [J]. *Dev Cell*, 2011, 21(5): 888-95.
 - [6] PRASKOVA M, KHOKLACHEV A, ORTIZ-VEGA S, et al. Regulation of the MST1 kinase by autophosphorylation, by the growth inhibitory proteins, RASSF1 and NORE1, and by Ras [J]. *Biochem J*, 2004, 381(Pt 2): 453-62.
 - [7] SUDOL M, HARVEY K F. Modularity in the Hippo signaling pathway [J]. *Trends Biochem Sci*, 2010, 35(11): 627-33.
 - [8] PRASKOVA M, XIA F, AVRUCH J. MOBKL1A/MOBKL1B phosphorylation by MST1 and MST2 inhibits cell proliferation [J]. *Curr Biol*, 2008, 18(5): 311-21.
 - [9] MANA-CAPELLI S, MCCOLLUM D. Angiomotins stimulate LATS kinase autophosphorylation and act as scaffolds that promote Hippo signaling [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(47): 18230-41.
 - [10] VIMALRAJ S, ARUMUGAM B, MIRANDA P J, et al. Runx2: Structure, function, and phosphorylation in osteoblast differentiation [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 78: 202-8.
 - [11] MENG Z, MOROISHI T, MOTTIER-PAVIE V, et al. MAP4K family kinases act in parallel to MST1/2 to activate LATS1/2 in the Hippo pathway [J]. *Nat Commun*, 2015, 6(1): 8357.
 - [12] ZHENG Y, WANG W, LIU B, et al. Identification of Happyhour/ MAP4K as alternative Hpo/Mst-like kinases in the Hippo kinase cascade [J]. *Dev Cell*, 2015, 34(6): 642-55.
 - [13] ZHAO B, WEI X, LI W, et al. Inactivation of YAP oncoprotein by the Hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control [J]. *Genes Dev*, 2007, 21(21): 2747-61.
 - [14] ZHAO B, LI L, TUMANENG K, et al. A coordinated phosphorylation by Lats and CK1 regulates YAP stability through SCF (beta-TRCP) [J]. *Genes Dev*, 2010, 24(1): 72-85.
 - [15] ZHAO B, YE X, YU J, et al. TEAD mediates YAP-dependent gene induction and growth control [J]. *Genes Dev*, 2008, 22(14): 1962-71.
 - [16] ZHANG W, GAO Y, LI P, et al. VGLL4 functions as a new tumor suppressor in lung cancer by negatively regulating the YAP-TEAD transcriptional complex [J]. *Cell Res*, 2014, 24(3): 331-43.
 - [17] JIAO S, WANG H, SHI Z, et al. A peptide mimicking VGLL4 function acts as a YAP antagonist therapy against gastric cancer [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(2): 166-80.
 - [18] LIN K C, PARK H W, GUAN K L. Regulation of the Hippo pathway transcription factor TEAD [J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(11): 862-72.
 - [19] HUANG D, LI X, SUN L, et al. Regulation of Hippo signalling by p38 signalling [J]. *J Mol Cell Biol*, 2016, 8(4): 328-37.
 - [20] ZANCONATO F, BATTILANA G, FORCATO M, et al. Transcriptional addiction in cancer cells is mediated by YAP/TAZ through BRD4 [J]. *Nat Med*, 2018, 24(10): 1599-610.
 - [21] YU F X, GUAN K L. The Hippo pathway: regulators and regulations [J]. *Genes Dev*, 2013, 27(4): 355-71.
 - [22] YU F X, ZHAO B, GUAN K L. Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer [J]. *Cell*, 2015, 163(4): 811-28.
 - [23] DUPONT S, MORSUT L, ARAGONA M, et al. Role of YAP/TAZ in mechanotransduction [J]. *Nature*, 2011, 474(7350): 179-83.
 - [24] ARAGONA M, PANCIERA T, MANFRIN A, et al. A mechanical checkpoint controls multicellular growth through YAP/TAZ regulation by actin-processing factors [J]. *Cell*, 2013, 154(5): 1047-59.
 - [25] SU T, LUDWIG M Z, XU J, et al. Kibra and Merlin activate the Hippo pathway spatially distinct from and independent of expanded [J]. *Dev Cell*, 2017, 40(5): 478-90, e3.
 - [26] YIN F, YU J, ZHENG Y, et al. Spatial organization of Hippo signaling at the plasma membrane mediated by the tumor suppressor Merlin/NF2 [J]. *Cell*, 2013, 154(6): 1342-55.
 - [27] MANA-CAPELLI S, PARAMASIVAM M, DUTTA S, et al. Angiomotins link F-actin architecture to Hippo pathway signaling [J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(10): 1676-85.
 - [28] DAI X, SHE P, CHI F, et al. Phosphorylation of angiomotin by Lats1/2 kinases inhibits F-actin binding, cell migration, and angiogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(47): 34041-51.
 - [29] LI Y, ZHOU H, LI F, et al. Angiomotin binding-induced activation of Merlin/NF2 in the Hippo pathway [J]. *Cell Res*, 2015, 25(7): 801-17.
 - [30] OKA T, SCHMITT A P, SUDOL M. Opposing roles of angiomotin-like-1 and zona occludens-2 on pro-apoptotic function of YAP [J]. *Oncogene*, 2012, 31(1): 128-34.
 - [31] SCHLEGELMILCH K, MOHSENI M, KIRAK O, et al. Yap1 acts downstream of α -catenin to control epidermal proliferation [J]. *Cell*, 2011, 144(5): 782-95.
 - [32] YU F X, ZHAO B, PANUPINTHU N, et al. Regulation of the Hippo-YAP pathway by G-protein-coupled receptor signaling [J]. *Cell*, 2012, 150(4): 780-91.
 - [33] STOCKWELL B R, FRIEDMANN ANGELI J P, BAYIR H, et al. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-85.
 - [34] FEARNHEAD H O, VANDENABEELE P, VANDEN BERGHE T. How do we fit ferroptosis in the family of regulated cell death [J]? *Cell Death Dis*, 2017, 24(12): 1991-8.
 - [35] XIE Y, HOU W, SONG X, et al. Ferroptosis: process and function [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 23(3): 369-79.
 - [36] YANG W S, STOCKWELL B R. Ferroptosis: death by lipid peroxidation [J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(3): 165-76.
 - [37] CAO J Y, DIXON S J. Mechanisms of ferroptosis [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(11/12): 2195-209.
 - [38] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-72.
 - [39] DOLMA S, LESSNICK S L, HAHN W C, et al. Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells [J]. *Cancer Cell*, 2003, 3(3): 285-96.
 - [40] D'AUTREAUX B, TOLEDANO M B. ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(10): 813-24.
 - [41] ZOROV D B, JUHASZOVA M, SOLLITT S J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release [J]. *Physiol Rev*, 2014, 94(3): 909-50.

- [42] LI Y R, TRUSH M. Defining ROS in biology and medicine [J]. *React Oxyg Species*, 2016, 1(1): 9-21.
- [43] LATUNDE-DADA G O. Ferroptosis: role of lipid peroxidation, iron and ferritinophagy [J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2017, 1861(8): 1893-900.
- [44] RECZEK C R, CHANDEL N S. The two faces of reactive oxygen species in cancer [J]. *Annu Rev Cancer Biol*, 2017, 1(1): 79-98.
- [45] LASKIN D L, SUNIL V R, GARDNER C R, et al. Macrophages and tissue injury: agents of defense or destruction [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2011, 51(1): 267-88.
- [46] HASSANNIA B, VANDENABEELE P, VANDEN BERGHE T. Targeting ferroptosis to iron out cancer [J]. *Cancer Cell*, 2019, 35(6): 830-49.
- [47] FARMER E E, MUELLER M J. ROS-mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2013, 64(1): 429-50.
- [48] CHENG Z, LI Y. What is responsible for the initiating chemistry of iron-mediated lipid peroxidation: an update [J]. *Chem Rev*, 2007, 107(3): 748-66.
- [49] HALLIWELL B. Antioxidants in human health and disease [J]. *Annu Rev Nutr*, 1996, 16(1): 33-50.
- [50] POPRAC P, JOMOVA K, SIMUNKOVA M, et al. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2017, 38(7): 592-607.
- [51] MARKLUND S L. Extracellular superoxide dismutase and other superoxide dismutase isoenzymes in tissues from nine mammalian species [J]. *Biochem J*, 1984, 222(3): 649-55.
- [52] FLOHE L, GÜNZLER W A, SCHOCK H H. Glutathione peroxidase: a selenoenzyme [J]. *FEBS Lett*, 1973, 32(1): 132-4.
- [53] MARGIS R, DUNAND C, TEIXEIRA F K, et al. Glutathione peroxidase family: an evolutionary overview [J]. *FEBS J*, 2008, 275(15): 3959-70.
- [54] YANG W S, SRIRAMARATNAM R, WELSCH M E, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 [J]. *Cell*, 2014, 156(1/2): 317-31.
- [55] DIXON S J, PATEL D N, WELSCH M, et al. Pharmacological inhibition of cystine-glutamate exchange induces endoplasmic reticulum stress and ferroptosis [J]. *Elife*, 2014, 3: e02523.
- [56] AGMON E, SOLON J, BASSEREAU P, et al. Modeling the effects of lipid peroxidation during ferroptosis on membrane properties [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 5155.
- [57] WEIWER M, BITTKER J A, LEWIS T A, et al. Development of small-molecule probes that selectively kill cells induced to express mutant RAS [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(4): 1822-6.
- [58] LU S C. Glutathione synthesis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(5): 3143-53.
- [59] BERSUKER K, HENDRICKS J M, LI Z, et al. The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis [J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 688-92.
- [60] DOLL S, FREITAS F P, SHAH R, et al. FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor [J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 693-8.
- [61] AYALA A, MUNOZ M F, ARGUELLES S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 360438.
- [62] WU J, MINIKES A M, GAO M, et al. Intercellular interaction dictates cancer cell ferroptosis via NF2-YAP signalling [J]. *Nature*, 2019, 572(7769): 402-6.
- [63] GAO M, MONIAN P, QUADRI N, et al. Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis [J]. *Mol Cell*, 2015, 59(2): 298-308.
- [64] DOLL S, PRONETH B, TYURINA Y Y, et al. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition [J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 91-8.
- [65] YUAN H, LI X, ZHANG X, et al. Identification of ACSL4 as a biomarker and contributor of ferroptosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 478(3): 1338-43.
- [66] LI W, COOPER J, ZHOU L, et al. Merlin/NF2 loss-driven tumorigenesis linked to CRL4(DCAF1)-mediated inhibition of the hippo pathway kinases Lats1 and 2 in the nucleus [J]. *Cancer cell*, 2014, 26(1): 48-60.
- [67] YANG W H, DING C C, SUN T, et al. The Hippo pathway effector TAZ regulates ferroptosis in renal cell carcinoma [J]. *Cell Rep*, 2019, 28(10): 2501-8, e4.
- [68] KOLB J P, OGUIN T H, 3RD, OBERST A, et al. Programmed Cell death and inflammation: winter is coming [J]. *Trends Immunol*, 2017, 38(10): 705-18.
- [69] ALISON M R, SARRAF C E. Apoptosis: a gene-directed programme of cell death [J]. *J R Coll Physicians Lond*, 1992, 26(1): 25-35.
- [70] AGLIETTI R A, DUEBER E C. Recent insights into the molecular mechanisms underlying pyroptosis and gasdermin family functions [J]. *Trends Immunol*, 2017, 38(4): 261-71.
- [71] KOVACS S B, MIAO E A. Gasdermins: effectors of pyroptosis [J]. *Trends Cell Biol*, 2017, 27(9): 673-84.
- [72] VANDE WALLE L, LAMKANFI M. Pyroptosis [J]. *Curr Biol*, 2016, 26(13): R568-72.
- [73] GILMORE A P. Anoikis [J]. *Cell Death Differ*, 2005, 12(2): 1473-7.
- [74] TAYLOR R C, CULLEN S P, MARTIN S J. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(3): 231-41.
- [75] KERR J F, WYLLIE A H, CURRIE A R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics [J]. *Br J Cancer*, 1972, 26(4): 239-57.
- [76] COTTINI F, HIDEISHIMA T, XU C, et al. Rescue of Hippo coactivator YAP1 triggers DNA damage-induced apoptosis in hematological cancers [J]. *Nat Med*, 2014, 20(6): 599-606.
- [77] AVRUCH J, ZHOU D, BARDEESY N. YAP oncogene overexpression supercharges colon cancer proliferation [J]. *Cell Cycle*, 2012, 11(6): 1090-6.
- [78] COLLAK F K, DEMIR U, OZKANLI S, et al. Increased expression of YAP1 in prostate cancer correlates with extraprostatic extension [J]. *Cancer Biol Med*, 2017, 14(4): 405-13.
- [79] HUANG H, ZHANG W, PAN Y, et al. YAP suppresses lung squamous cell carcinoma progression via deregulation of the DNP63-GPX2 axis and ROS accumulation [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(21): 5769.
- [80] LI H, HE F, ZHAO X, et al. YAP inhibits the apoptosis and migration of human rectal cancer cells via suppression of JNK-Drp1-mitochondrial fission-HtrA2/Omi pathways [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(5): 2073-89.
- [81] QIAO Y, LI T, ZHENG S, et al. The Hippo pathway as a drug target in gastric cancer [J]. *Cancer Letters*, 2018, 420: 14-25.

- [82] WANG Y, DONG Q, ZHANG Q, et al. Overexpression of yes-associated protein contributes to progression and poor prognosis of non-small-cell lung cancer [J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(5): 1279-85.
- [83] YUAN M, TOMLINSON V, LARA R, et al. Yes-associated protein (YAP) functions as a tumor suppressor in breast [J]. *Cell Death Dis*, 2008, 15(11): 1752-9.
- [84] LEVY D, ADAMOVICH Y, REUVEN N, et al. Yap1 phosphorylation by c-Abl is a critical step in selective activation of proapoptotic genes in response to DNA damage [J]. *Mol Cell*, 2008, 29(3): 350-61.
- [85] KANG W, TONG J H M, CHAN A W H, et al. Yes-associated protein 1 exhibits oncogenic property in gastric cancer and its nuclear accumulation associates with poor prognosis [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(8): 2130.
- [86] ZHANG X, LI F, CUI Y, et al. Mst1 overexpression combined with Yap knockdown augments thyroid carcinoma apoptosis via promoting MIEF1-related mitochondrial fission and activating the JNK pathway [J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19: 143.
- [87] YAN H, QIU C, SUN W, et al. Yap regulates gastric cancer survival and migration via SIRT1/Mfn2/mitophagy [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(4): 1671-81.
- [88] LIU Y, HE K, HU Y, et al. YAP modulates TGF-beta1-induced simultaneous apoptosis and EMT through upregulation of the EGF receptor [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 45523.
- [89] WU R, YANG H, WAN J, et al. Knockdown of the Hippo transducer YAP reduces proliferation and promotes apoptosis in the Jurkat leukemia cell [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(6): 5379-88.
- [90] YOSHIDA K, YAMAGUCHI T, NATSUME T, et al. JNK phosphorylation of 14-3-3 proteins regulates nuclear targeting of c-Abl in the apoptotic response to DNA damage [J]. *Nat Cell Biol*, 2005, 7(3): 278-85.
- [91] LEVY D, ADAMOVICH Y, REUVEN N, et al. The Yes-associated protein 1 stabilizes p73 by preventing Itch-mediated ubiquitination of p73 [J]. *Cell Death Dis*, 2007, 14(4): 743-51.
- [92] ARDESTANI A, PARONI F, AZIZI Z, et al. MST1 is a key regulator of beta cell apoptosis and dysfunction in diabetes [J]. *Nat Med*, 2014, 20: 385.
- [93] MATAILLANAS D, ROMANO D, YEE K, et al. RASSF1A elicits apoptosis through an MST2 pathway directing proapoptotic transcription by the p73 tumor suppressor protein [J]. *Mol Cell*, 2007, 27(6): 962-75.
- [94] REUVEN N, ADLER J, MELTSEER V, et al. The Hippo pathway kinase Lats2 prevents DNA damage-induced apoptosis through inhibition of the tyrosine kinase c-Abl [J]. *Cell Death Dis*, 2013, 20(10): 1330-40.
- [95] SHARMA D, KANNEGANTI T D. The cell biology of inflammasomes: mechanisms of inflammasome activation and regulation [J]. *J Cell Biol*, 2016, 213(6): 617-29.
- [96] GARCIA-GIL A, GALAN-ENRIQUEZ C S, PEREZ-LOPEZ A, et al. SopB activates the Akt-YAP pathway to promote Salmonella survival within B cells [J]. *Virulence*, 2018, 9(1): 1390-402.
- [97] PEREZ-LOPEZ A, ROSALES-REYES R, ALPUCHE-ARANDA C M, et al. Downregulates Nod-like receptor family CARD domain containing protein 4 expression to promote its survival in B cells by preventing inflammasome activation and cell death [J]. *J Immunol*, 2013, 190(3): 1201.
- [98] SUGIURA K, MISHIMA T, TAKANO S, et al. The Expression of Yes-associated protein (YAP) maintains putative cancer stemness and is associated with poor prognosis in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Am J Pathol*, 2019, 189(9): 1863-77.
- [99] CHENG Y, HOU T, PING J, et al. LMO3 promotes hepatocellular carcinoma invasion, metastasis and anoikis inhibition by directly interacting with LATS1 and suppressing Hippo signaling [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 228.
- [100] ANDRADE D, MEHTA M, GRIFFITH J, et al. YAP1 inhibition radiosensitizes triple negative breast cancer cells by targeting the DNA damage response and cell survival pathways [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(58): 98495-508.
- [101] GUO L, CHEN Y, LUO J, et al. YAP1 overexpression is associated with poor prognosis of breast cancer patients and induces breast cancer cell growth by inhibiting PTEN [J]. *FEBS Open Bio*, 2019, 9(3): 437-45.
- [102] ZHAO B, LI L, WANG L, et al. Cell detachment activates the Hippo pathway via cytoskeleton reorganization to induce anoikis [J]. *Genes Dev*, 2012, 26(1): 54-68.
- [103] D'ARCY M S. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy [J]. *Cell Biol Int*, 2019, 43(6): 582-92.
- [104] ZHOU Y, WANG Y, ZHOU W, et al. YAP promotes multi-drug resistance and inhibits autophagy-related cell death in hepatocellular carcinoma via the RAC1-ROS-mTOR pathway [J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19: 179.
- [105] PAVEL M, RENNA M, PARK S J, et al. Contact inhibition controls cell survival and proliferation via YAP/TAZ-autophagy axis [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2961.