

Zelluläre Regulationsmechanismen

Der Hippo-Signalweg in der Regeneration und im Krebs

MARIE TOLLOT, ANITA CINDRIC VRANESIC, BJÖRN VON EYSS
LEIBNIZ-INSTITUT FÜR ALTERNSFORSCHUNG – FRITZ-LIPMANN-INSTITUT (FLI), JENA

The Hippo signalling pathway is a highly conserved regulator of tissue homeostasis and regeneration. Numerous studies in mouse and human have associated aberrant Hippo pathway activity with cancer development. YAP – the main downstream Hippo pathway effector – can function both as an oncoprotein and a tumor suppressor depending on the cellular context. We recently identified TRPS1 as a novel repressor of YAP activity.

DOI: 10.1007/s12268-020-1343-0
© Die Autoren 2020

■ Der Hippo-Signalweg ist ein evolutionär konservierter Signalweg, welcher eine Schlüsselrolle in der Regeneration und Differenzierung spielt sowie häufig bei Krebs dereguliert ist.

Dieser Signalweg wurde zunächst durch genetische Screens in *Drosophila melanogaster* entdeckt. Hier führt die Aktivierung des Yki-Proteins (Homolog von YAP und TAZ) im Auge der Fliege zu einem unkontrollierten Wachstum der Zellen in diesem Organ. Durch weitere biochemische und genetische Studien – in *Drosophila melanogaster* und der Maus – konnte schließlich der Hippo-Signalweg entschlüsselt werden [1]. Dieser besteht aus einer Kinasekaskade (MST1/2, LATS1/2), welche die beiden paralogen Ko-Aktivatoren YAP und TAZ negativ reguliert. Durch die LATS-vermittelte Phosphorylierung von YAP/TAZ werden diese beiden Ko-Aktivatoren durch 14-3-3-Proteine im Cytoplasma gehalten und sind somit transkriptionell inaktiv (Abb. 1).

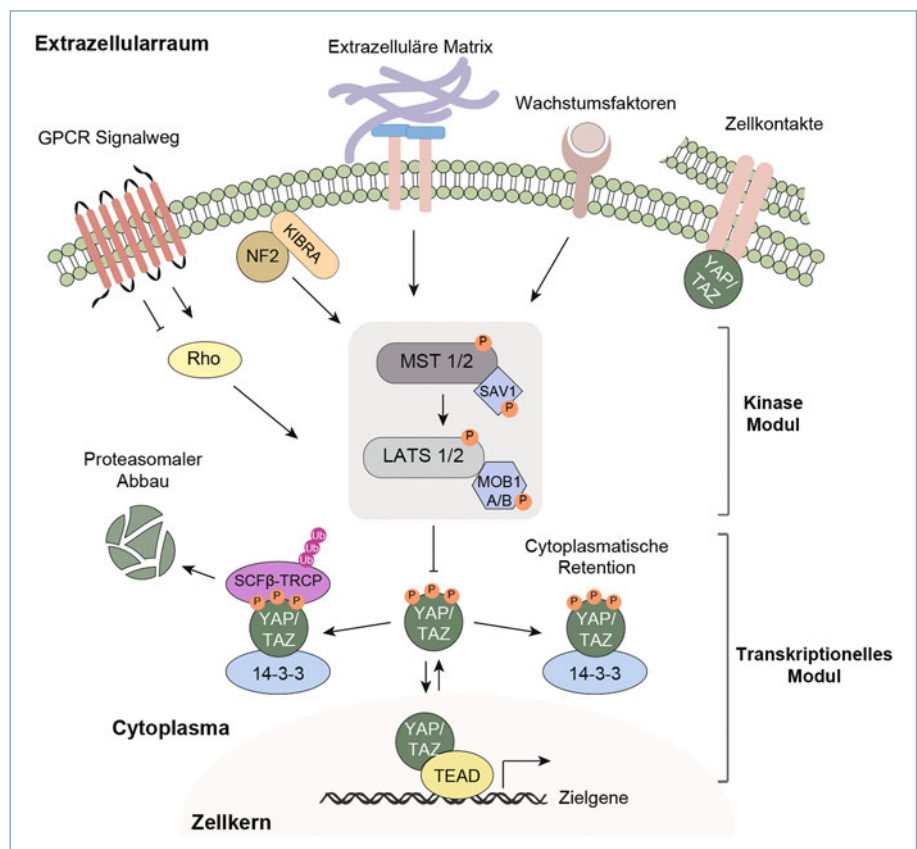
Wenn die Hippo-Kinasen jedoch inaktiv sind, können YAP/TAZ in den Zellkern wandern und so das Transkriptom der Zellen modulieren. YAP/TAZ sind Ko-Aktivatoren, das heißt sie haben selbst keine DNA-Bindedomäne. Im Zellkern interagieren YAP/TAZ somit mit bestimmten Transkriptionsfaktoren, um ihre Zielgene zu aktivieren. Hier sind vornehmlich die Mitglieder der TEAD-Transkriptionsfaktor-Familie als YAP/TAZ-Inter-

aktoren von Bedeutung, da diese Faktoren für den Hauptanteil der transkriptionellen Aktivität von YAP/TAZ verantwortlich sind.

Der Hippo-Signalweg kann durch eine Vielzahl von Stimuli aktiviert und moduliert werden, wobei die genaue Entschlüsselung dieser vorgeschalteten Mechanismen noch Gegenstand intensiver Forschung ist.

YAP/TAZ in der Regeneration

Aufgrund des starken Wachstumsphänotyps nach deregulierter Aktivität des Hippo-Signalweges in *D. melanogaster* haben sich zunächst viele Forschungsarbeiten auf die Rolle dieses Signalweges in der Tumorigenese



▲ **Abb. 1:** Schematische Darstellung der Hippo-Signalkaskade bei Säugetieren. Durch diverse Stimuli wird das Hippo-Kinase-Modul (MST1/2, LATS1/2) aktiviert. Die aktivierten LATS-Kinasen phosphorylieren infolgedessen die Hippo-Ko-Aktivatoren YAP/TAZ. Dies resultiert in der cytoplasmatischen Retention und dem proteasomalen Abbau von YAP/TAZ. Somit führt die Aktivierung des Hippo-Kinase-Moduls zu einer Inaktivierung des transkriptionellen Moduls des Hippo-Signalwegs. GPCR: G-Protein-gekoppelte Rezeptoren.

fokussiert. Eine ganze Reihe von Publikationen konnte aber in der Zwischenzeit eine faszinierende Rolle dieses Signalweges in der Regeneration von Geweben demonstrieren [2, 3]. Erstaunlicherweise zeigten viele Gewebe in transgenen Mäusen nach gezieltem Ausschalten von *YAP* und/oder *TAZ* nur einen sehr schwachen Phänotyp, sodass *YAP/TAZ* in der Homöostase sehr oft entbehrlich erscheinen. Erfahren diese Mäuse jedoch einen Gewebsschaden, zeigt sich, dass *YAP/TAZ* absolut essenziell für die Regeneration nach solchen Schäden sind. Darüber hinaus kann man Gewebe durch die genetische Aktivierung von *YAP/TAZ* zur Regeneration anregen, welche diese Fähigkeit sonst nicht besitzen. So können sich die Herzen von *Sav1*-defizienten Mäusen fast vollkommen von einem Myokardinfarkt erholen. Grund hierfür ist die Fähigkeit der Kardiomyocyten dieser Mäuse, sich zu teilen und so eine Narbenbildung – eine der schwerwiegendsten Spätfolgen von Herzinfarkten – zu verhindern. Dieses Beispiel illustriert, dass in der Zukunft die gezielte Modulation des Hippo-Signalweges genutzt werden könnte, um regenerative Prozesse zu verbessern bzw. überhaupt erst zu ermöglichen. Ein Aspekt, der ebenfalls einen Hauptfokus unserer Arbeitsgruppe darstellt.

Der Hippo-Signalweg in der Krebsentstehung

Angesichts der wesentlichen Rolle des Hippo-Signalweges bei grundlegenden biologischen Prozessen ist es nicht überraschend, dass seine Deregulierung mit verschiedenen menschlichen Krankheiten, einschließlich Krebs, in Verbindung gebracht wird.

Der Hippo-Signalweg wurde meist als Tumorsuppressor-Signalweg beschrieben, da der Funktionsverlust der vorgeschalteten Regulatoren bei der Maus und *D. melanogaster* zu einer stark unkontrollierten Proliferation und schließlich zur Tumorentstehung in diversen Geweben führen kann.

YAP: Onkogen oder Tumorsuppressor?

Nur selten sind Gene des Hippo-Signalweges in humanen Tumoren mutiert. Die daraus folgende Aktivierung von *YAP/TAZ* ist jedoch bei bestimmten Krebsarten mit einer schlechten Prognose verbunden, was auf eine onkogene Rolle von *YAP/TAZ* hindeutet. In Mausmodellen führt die leberspezifische Überexpression von *YAP* zur Vergrößerung der Leber und später zur Tumorbildung [4].

Transgene Mäuse, die nukleäres *YAP* in der Epidermis überexprimieren, weisen eine stark erhöhte Anzahl epidermaler Stammzellen auf, was schließlich zur Entwicklung von Plattenepithelkarzinomen führt [5].

Die *YAP*-Aktivität wird nicht nur durch den Hippo-Signalweg selbst, sondern auch durch andere Signalwege oberhalb des Hippo-Signalweges beeinflusst. So führen beispielsweise aktivierende Mutationen in den α -Untereinheiten der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren *GNAQ* oder *GNA11* aufgrund einer erhöhten *YAP/TAZ*-Aktivität zum Aderhautmelanom [6].

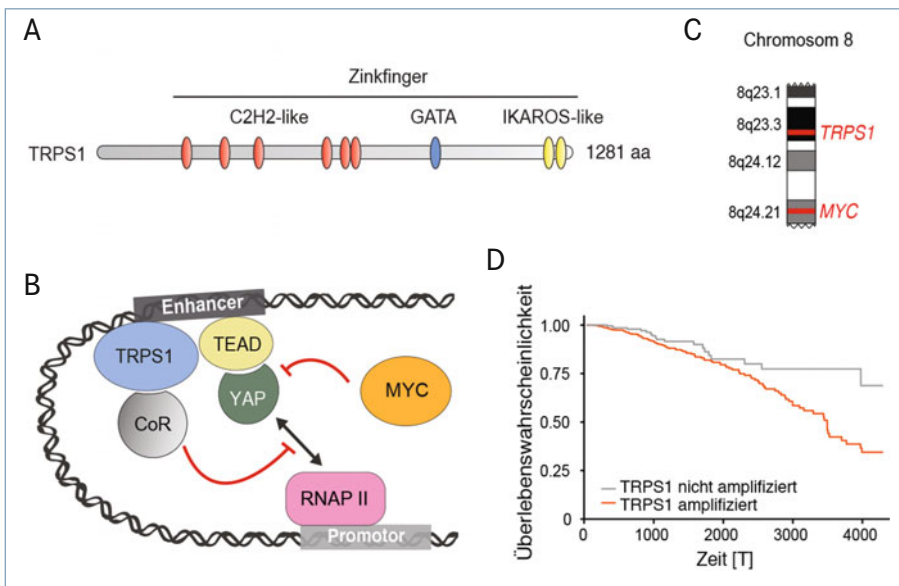
Obwohl *YAP* bei verschiedenen Krebsarten als Onkogen wirkt, gibt es immer mehr Hin-

weise, dass dieser Ko-Aktivator bei bestimmten Krebsarten überraschenderweise als Tumorsuppressor fungiert. Ein Beispiel hierfür ist Brustkrebs. So unterdrückt z. B. das *MYC*-Onkoprotein die *YAP/TAZ*-Aktivität in Brusttumoren, was mit einer schlechten Prognose der Brustkrebspatientinnen korreliert [7]. Interessanterweise induziert eine hohe *YAP*-Aktivität in Brustkrebszellen eine Immunantwort gegen die Krebszellen, sodass es für diese Zellen von Vorteil ist, die *YAP*-Aktivität möglichst niedrig zu halten. Folglich führt die Inaktivierung von *Lats1/2* und die daraus resultierende *YAP*-Aktivierung zu einem stark verminderten Tumorwachstum in Mausmodellen, da die *Lats*-defizienten

Hier steht eine Anzeige.



Springer



▲ Abb. 2: TRPS1 als neuer Repressor der YAP-Aktivität und dessen Rolle im Brustkrebs. **A,** Schematische Darstellung des TRPS1-Proteins mit seinen unterschiedlichen Zinkfinger-Motiven. **B,** Modell, wie TRPS1 die transkriptionelle Aktivität von YAP hemmt. TRPS1 bindet gemeinsam mit seinen Ko-Repressoren (CoR) an YAP/TEAD-gebundene Enhancer. Hierdurch kommt es zu einer verminderten Enhancer-Aktivität, zu einer verminderten Interaktion dieser Enhancer mit ihren Zielpromotoren und schließlich zu einer verminderten Aktivierung der RNA-Polymerase II (RNAP II) an diesen Promotoren. **C,** Ausschnitt des menschlichen Chromosoms 8 mit den Loci für *TRPS1* und *MYC*. **D,** Schematische Überlebenskurve von Brustkrebspatientinnen, die basierend auf einer *TRPS1*-Amplifikation stratifiziert wurde.

Tumorzellen von cytotoxischen T-Zellen eliminiert werden [8]. Diese Ergebnisse legen also nahe, dass es in Brustkrebs in der Tat von therapeutischem Nutzen sein kann, die YAP-Aktivität in Tumorzellen wieder zu erhöhen. Zu diesem Zweck hat unser Labor einen genomweiten CRISPR-Screen durchgeführt, und wir konnten den Transkriptionsfaktor Tricho-rhino-phalangeales Syndrom 1 (*TRPS1*) als potenten Repressor der transkriptionellen Aktivität von YAP identifizieren [9].

TRPS1 als neuer Repressor der transkriptionellen Aktivität von YAP

TRPS1 wurde erstmals im Jahr 2000 als das Gen beschrieben, welches für das menschliche Tricho-rhino-phalangeale Syndrom Typ I und III ursächlich verantwortlich ist [10]. Mutationen in *TRPS1* führen zu kraniofazialen und skelettalen Fehlbildungen beim Menschen und der Maus. *TRPS1* codiert einen Transkriptionsfaktor, der eine ungewöhnliche Kombination von neun vorhergesagten Zinkfingerdomänen (ZF) beherbergt, darunter sechs ZF vom C2H2-Typ am N-Terminus, ein einzelner ZF vom GATA-C4-Typ und zwei vom Ikaros-C2H2-Typ am C-Terminus (**Abb. 2A**). Die meisten Punktmutationen, die bei TRPS-Patienten gefunden werden, betref-

fen die TRPS1-GATA-DNA-Bindungsdomäne, was darauf hinweist, dass diese Domäne eine Schlüsselrolle für die Funktionalität von TRPS1 spielt.

Wie andere Mitglieder der GATA-Familie ist TRPS1 in der Lage, die Konsensus-GATA-DNA-Sequenz zu binden. TRPS1 ist jedoch der einzige GATA-Transkriptionsfaktor, der eine Repressoraktivität aufweist. Diese Aktivität wird sowohl durch die Bindung der GATA-DNA-Bindungsdomäne an DNA als auch durch Ikaros-Zinkfinger am C-Terminus vermittelt. Über die C-terminalen Zinkfinger werden Ko-Repressoren an das Chromatin rekrutiert, welche durch spezifische Chromatinmodifikationen die Expression von Genen inhibieren.

Trotz seiner Rolle während der Entwicklung ist die TRPS1-Funktion im adulten Organismus und in der Tumorentstehung größtenteils unerforscht.

Über genomweite ChIP-Sequenzierungsexperimente fanden wir heraus, dass TRPS1 hauptsächlich Enhancer bindet und dass die meisten dieser Regionen auch von YAP und TEAD-Transkriptionsfaktoren gebunden werden. Durch eine Rekrutierung von TRPS1-gebundenen Ko-Repressor-Komplexen zu Enhancern wird die Acetylierung des Chromatins reguliert (**Abb. 2B**). Dies wirkt sich

wiederum auf die Interaktion von TRPS1-gebundenen Enhancern mit ihren Zielpromotoren aus, sodass die TRPS1-Bindung zu einer schwächeren Enhancer-Promotor-Interaktion und schließlich zur Repression von YAP-Zielgenen führt [9].

TRPS1 als Onkogen im Brustkrebs

Vorige Studien haben gezeigt, dass die *TRPS1*-Expression in humanen Tumoren dereguliert sein kann [11]. So ist die genomische Region (Chromosom 8q23-24.1), die das humane *TRPS1*-Gen beherbergt, im Prostata- und Brustkrebs häufig amplifiziert.

Interessanterweise ist der *TRPS1*-Locus (8q23.3) in unmittelbarer Nähe des *MYC*-Locus (8q24.21), sodass beide Gene fast immer ko-amplifiziert in Tumoren vorliegen (**Abb. 2C**). *MYC* ist eines der am besten charakterisierten Onkogene und ist ebenfalls in der Lage, über die Änderung des mitochondrialen Metabolismus YAP indirekt zu reprimieren [7]. Dies deutet darauf hin, dass beide Faktoren über die Repression der YAP-Aktivität bei der Entstehung von Brustkrebs zusammenwirken können.

In Übereinstimmung mit unserem identifizierten Mechanismus von TRPS1 als Repressor der YAP-Aktivität, ist die *TRPS1*-Amplifikation mit einer niedrigen YAP-Aktivität und einer schlechten Überlebensprognose für Brustkrebspatienten korreliert (**Abb. 2D**). Vermutlich führt somit die erhöhte *TRPS1*-Expression zu einer niedrigen YAP-Aktivität, was es den Tumorzellen erlaubt, der Erkennung durch das Immunsystem zu entgehen. Konsistent mit dieser Hypothese weisen orthotop transplantierte Brustkrebszellen, bei denen die *TRPS1*-Expression mittels *short hairpin*-RNAs (shRNAs) herunterreguliert wurde, ein stark reduziertes Tumorstadium *in vivo* zusammen mit einer stärkeren Infiltration durch Immunzellen auf. Diese Ergebnisse unterstreichen das onkogene Potenzial von TRPS1 bei Brustkrebs und zeigen, dass dieser Transkriptionsfaktor ein neues vielversprechendes Ziel für die Tumorthherapie sein könnte. ■

Literatur

- [1] Yu F-X, Guan K-L (2013) The Hippo pathway: regulators and regulations. *Genes Dev* 27:355–371
- [2] Leach JP, Heallen T, Zhang M et al. (2017) Hippo pathway deficiency reverses systolic heart failure after infarction. *Nature* 550:260–264
- [3] Ayyaz A, Kumar S, Sangiorgi B et al. (2019) Single-cell transcriptomes of the regenerating intestine reveal a revival stem cell. *Nature* 569:121–125
- [4] Dong J, Feldmann G, Huang J et al. (2007) Elucidation of a universal size-control mechanism in *Drosophila* and mammals. *Cell* 130:1120–1133

- [5] Schlegelmilch K, Mohseni M, Kirak O et al. (2011) Yap1 acts downstream of α -catenin to control epidermal proliferation. *Cell* 144:782–795
- [6] Feng X, Degese MS, Iglesias-Bartolome R et al. (2014) Hippo-independent activation of YAP by the GNAQ uveal melanoma oncogene through a trio-regulated rho GTPase signaling circuitry. *Cancer Cell* 25:831–845
- [7] von Eyss B, Jaenicke LA, Kortlever RM et al. (2015) A MYC-driven change in mitochondrial dynamics limits YAP/TAZ function in mammary epithelial cells and breast cancer. *Cancer Cell* 28:743–757
- [8] Moroishi T, Hayashi T, Pan W-W et al. (2016) The Hippo pathway kinases LATS1/2 suppress cancer immunity. *Cell* 167:1525–1539
- [9] Elster D, Tollot M, Schlegelmilch K et al. (2018) TRPS1 shapes YAP/TEAD-dependent transcription in breast cancer cells. *Nat Commun* 9:3115
- [10] Momeni P, Glöckner G, Schmidt O et al. (2000) Mutations in a new gene, encoding a zinc-finger protein, cause tricho-rhino-phalangeal syndrome type I. *Nat Genet* 24:71–74
- [11] Savinainen KJ, Linja MJ, Saramäki OR et al. (2004) Expression and copy number analysis of TRPS1, EIF3S3 and MYC genes in breast and prostate cancer. *Br J Cancer* 90:1041–1046

Funding: Open Access funding provided by Projekt DEAL.

Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Dr. Björn von Eyss
 AG Transcriptional Control of Tissue Homeostasis
 Leibniz-Institut für Alternsforschung – Fritz-Lipmann-Institut (FLI)
 Beutenbergstraße 11
 D-07745 Jena
 bjorn.voneyss@leibniz-fli.de

AUTOREN



Marie Tollot, Björn von Eyss und Anita Cindric Vranesic (v. l. n. r.).

Marie Tollot

2001–2009 Biologiestudium an der Universität Dijon, Frankreich; anschließend Promotion am Institut National de Recherche Agronomique von Dijon unter Anleitung von Dr. V. Gianinazzi-Pearson. 2010–2016 Postdoktorandin am Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie, Marburg, bei Prof. Dr. R. Kahmann. Seit 2016 Postdoktorandin am Leibniz-Institut für Alternsforschung – Fritz-Lipmann-Institut (FLI), Jena.

Anita Cindric Vranesic

2006–2012 Molekularbiologiestudium an der Universität Zagreb, Kroatien. 2012–2016 Promotion in Molekularbiologie an der Universität Jena unter Anleitung von Prof. Dr. O. Huber. Seit 2018 Postdoktorandin am Leibniz-Institut für Alternsforschung – Fritz-Lipmann-Institut (FLI), Jena.

Björn von Eyss

2000–2005 Humanbiologiestudium an der Universität Marburg. 2005–2010 Promotion in Molekularbiologie am Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin-Buch. 2010–2016 Postdoktorand am Lehrstuhl für Biochemie und Molekularbiologie an der Universität Würzburg bei Prof. Dr. M. Eilers. Seit 2016 Juniorengruppenleiter der AG „Transcriptional Control of Tissue Homeostasis“ am Leibniz-Institut für Alternsforschung – Fritz-Lipmann-Institut (FLI), Jena.

Hier steht eine Anzeige.



Hier steht eine Anzeige.

