·论　著·

AMOTL2 表达下调通过 Hippo/YAP1 信号通路促进子宫内膜癌进展作用机制研究

李脉，金加孛，金晓锋

【摘要】目的　探讨血管生成素样蛋白 2（AMOTL2）表达下调通过 Hippo/Yes 相关蛋白 1（YAP1）信号通路促进子宫内膜癌（EC）进展的作用机制。**方法**　运用生物信息学分析与免疫组化技术检测 AMOTL2 在 EC 组织中的表达。通过细胞表型实验观察 EC 细胞的增殖、迁移及克隆形成能力。采用蛋白质免疫印迹法检测 YAP1 磷酸化水平及上皮间质转化相关蛋白的表达。**结果**　与正常子宫内膜组织相比，AMOTL2 在 EC 组织中的表达显著降低（$P < 0.05$）。AMOTL2 低表达促进 Hippo/YAP1 信号通路激活，增强 EC 细胞的增殖、迁移能力并诱导上皮间质转化（均 $P < 0.05$）。维替泊芬处理可显著抑制由 AMOTL2 低表达引起的子宫内膜癌细胞增殖与迁移（均 $P < 0.05$）。**结论**　本研究揭示了 AMOTL2 低表达通过激活 Hippo/YAP1 信号通路促进 EC 发生发展的新分子机制，并为通过维替泊芬靶向 Hippo/YAP1 通路治疗 AMOTL2 低表达型 EC 提供了潜在治疗策略。

【关键词】　子宫内膜肿瘤；癌；血管生成素样蛋白 2；Hippo/Yes 相关蛋白 1；维替泊芬
DOI:10.3969/j.issn.1671-0800.2026.04.004
【中图分类号】　R735.2　　**【文献标志码】**　A　　**【文章编号】**　1671-0800(2026)04-0355-07

Downregulation of AMOTL2 promotes endometrial cancer progression *via* the Hippo/YAP1 signaling pathway

Li Mai, Jin Jiabei, Jin Xiaofeng　(Women and Childen's Hospital of Ningbo University, Ningbo 315010, Zhejiang, China)

【Abstract】Objective　To investigate the mechanism by which downregulation of angiopoietin-like protein 2 (AMOTL2) expression promotes the progression of endometrial cancer (EC) *via* the Hippo/yes-associated protein 1 (YAP1) signaling pathway. **Methods**　Bioinformatics analysis and immunohistochemistry (IHC) were used to evaluated the expression of AMOTL2 in EC samples. The proliferation, migration and colony formation of EC cells were assessed by cellular phenotype experiments. The YAP1 phosphorylation and epithelial-mesenchymal transition (EMT)-related proteins were detected by western blot. **Results**　The expression of AMOTL2 in EC samples was significantly decreased than that in normal endometrial samples ($P < 0.05$). Low expression of AMOTL2 facilitated the activation of the Hippo/YAP1 pathway and promoted EC cell proliferation, migration and EMT (all $P < 0.05$). Verteporfin could inhibit the proliferation and migration of EC cells caused by low expression of AMOTL2 (all $P < 0.05$). **Conclusions**　These findings reveal a novel molecular mechanism of EC tumorigenesis due to the low expression of AMOTL2 induced Hippo/YAP1 pathway activation and shed light on the therapeutic potential of targeting the Hippo/YAP1 pathway in AMOTL2 low-expressed EC by the treatment of verteporfin.

【Key words】　Endometrial neoplasm; Carcinoma; Angiopoietin-like protein 2; Hippo/yes-associated protein 1; Verteporfin

[Modern Practical Medicine,2026,38(4):355-361]

子宫内膜癌（endometrial cancer，EC）组织病理学常用的免疫组化标志物包括 p53、磷酸酶与张力蛋白同源物（phosphatase and tensin homolog，PTEN）、雌激素受体（estrogen receptor，ER）和孕激素受体（progesterone receptor，PR），p53 异常表达支持组织学亚型分类，而 ER 和 PR 阳性通常提示疾病侵袭性较低[1-3]。将分子分型、形态学特征及关键生物标志物相结合，有望阐明 EC 肿瘤发生机制和治疗耐药

基金项目：　宁波市科技计划项目（2024J037）
作者单位：　315010 宁波，宁波大学附属妇女儿童医院（李脉）；宁波大学医学部（金加孛，金晓锋）
通信作者：　金晓锋，Email：jinxiaofeng@nbu.edu.cn

等问题[4]。Hippo 信号通路是一条在进化上高度保守的信号转导通路，参与调控多种重要的生理功能，包括细胞分化、组织再生和器官发育等[5]。该信号级联反应的核心组分包括大肿瘤抑制基因激酶 1/2（large tumor suppressor 1/2，LATS1/2）以及转录共激活因子 Yes 相关蛋白 1（Yes-associated protein 1，YAP1）[6]。LATS1/2 可磷酸化 YAP1，导致其滞留于细胞质中并被蛋白酶体降解，从而阻止 YAP1 与转录增强结构域（transcriptional enhanced associate domain，TEAD）及其他转录因子相互作用，抑制下游靶基因的表达[7-8]。证据表明，Hippo 通路的失调在肿瘤发生和进展中发挥关键作用[9]。血管生成素样蛋白 2（angiomotin-like 2，AMOTL2）是血管生成素（angiomotin，AMOT）家族的关键成员，参与调控信号转导及血管生成过程 [11]。既往在 HEK293T 细胞中的研究表明，AMOTL2 可增强 LATS2 介导的 YAP1 磷酸化，从而抑制 YAP1 的活性 [12]，提示 AMOTL2 参与抑制 YAP1 向细胞核的转位。本研究拟探讨 AMOTL2 表达下调通过 Hippo/YAP1 信号通路促进 EC 进展的作用机制，报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床样本 本研究在宁波大学医学部展开，收集 2022 年 7 月至 2023 年 7 月宁波大学附属人民医院收治的 EC 组织及癌旁组织 50 例，两方已签署合作协议（BLK-2022-270），研究获得宁波大学医学部伦理委员会批准（批准号：NBU-2024-219）。

1.2 主要抗体 AMOTL2 抗体（23351-1-AP，Proteintech，武汉），YAP1 抗体（A1002，Abclonal，武汉），磷酸化 YAP1-S127 抗体（AP0489，Abclonal，武汉），E-cadherin 抗体（bs-10009R，Bioss，北京），N-cadherin 抗体（bs-1172R，Bioss，北京），GAPDH 抗体（AC001，Abclonal，武汉），HRP 标记的羊抗兔 IgG（SA00001-2，Proteintech，武汉），HRP 标记驴抗兔 IgG（AS038，Abclonal，武汉）。所有抗体均使用含 2%脱脂奶粉的 TBST 溶液稀释。

1.3 免疫组织化学染色 EC 石蜡切片经脱蜡、复水和 EDTA 抗原修复后，采用 3%过氧化氢阻断内源性过氧化物酶，血清封闭后分别加入 AMOTL2 抗体和 p-YAP1-S127 抗体，4 ℃孵育过夜。次日加入 HRP 标记二抗并 DAB 显色，苏木素复染。染色结果采用 Image-Pro Plus 软件定量分析，每例随机选取 10 个高倍视野，计算平均吸光度值。

1.4 质粒构建 将 AMOTL2 cDNA 序列亚克隆至 pCMV-FLAG 表达载体中，并通过 DNA 测序进行验证。阴性对照和 AMOTL2 siRNA 由北京擎科生物科技股份有限公司构建，序列信息见表 1。

1.5 细胞培养与转染 人 EC 细胞系 AN3 CA 和 HEC-1-A 购自 ATCC 细胞库。AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞分别采用 MEM 或 DMEM 培养基培养，均加入 10%胎牛血清和 1%青霉素-链霉素，置于 37 ℃、5% CO_2 培养箱中培养。质粒或 siRNA 使用 Lipo6000 进行瞬时转染。

1.6 蛋白质提取与蛋白质免疫印迹法 细胞经 RIPA 裂解后提取总蛋白，行 SDS-PAGE 电泳并转膜，封闭后依次孵育一抗和 HRP 标记二抗，采用 ECL 显色。GAPDH 作为内参。蛋白质免疫印迹实验至少进行 2 次独立重复。

1.7 RNA 提取、cDNA 合成以及 qRT-PCR 采用 TRIzol 提取总 RNA，逆转录为 cDNA 后进行 qRT-PCR，GAPDH 作为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。所有定量结果均以内参基因 GAPDH 的表达水平进行标准化校正，RT-qPCR 所用引物序列见表 2。

1.8 CCK-8 法检测细胞增殖活性 采用 Cell Counting Kit 8 试剂盒，按照制造商的说明书检测细胞增殖，使用酶标仪在 450 nm 波长下测定每孔的吸光度值，每个实验设 3 个复孔。

1.9 Transwell 检测细胞迁移能力 将细胞于无血清培养基中饥饿处理 24 h，以每室 40 000 个细胞的密度接种至 Transwell 上室。细胞可向下室迁移。迁移 24 h 后固定、结晶紫染色，并用 ImageJ 计数。

1.10 克隆形成实验 将 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞以每孔 1 500 个细胞的密度接种于 6 孔板中，每组设 3 个复孔。孵育 2 周后，用 100%甲醇在室温下固定细胞 5 min，然后用结晶紫溶液染色 20 min。通过 Image J 软件分析细胞克隆图像。

1.11 统计方法 数据使用 Graph Pad Prism 9 软件分析，图像使用 Image J 软件分析。两组间差异采用 Student's t 检验进行分析，多组比较采用 F 分析。计数资料采用 χ^2 检验。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　AMOTL2 在 EC 组织中异常低表达　利用 TCGA、GEO 和 CPTAC 数据库从 mRNA 和蛋白层面分析。TCGA、GSE17025 和 CPTAC 数据显示，EC 组织中 AMOTL2 mRNA 及蛋白水平均显著低于正常子宫内膜组织，见图 1A。

进一步在 50 对 EC 及癌旁组织中进行免疫组化验证，结果显示 AMOTL2 在多数 EC 组织中呈阴性或弱阳性，而正常子宫内膜组织多呈中、高阳性，定量分析显示差异有统计学意义（$P < 0.05$），见图 1B、表 3。临床病理相关性分析显示，AMOTL2 表达与 Vimentin 状态相关（$P < 0.05$），与其他参数无显著相关性，见表 4。

2.2　AMOTL2 低表达促进 EC 细胞体外增殖与迁移　蛋白质免疫印迹与 RT-qPCR 证实 AMOTL2 在 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞中成功过表达或敲低，见图 1C。CCK-8 细胞增殖实验显示，AMOTL2 过表达显著抑制了 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞的增殖，而敲低 AMOTL2 则促进了细胞增殖，见图 1D。Transwell 迁移实验结果显示，AMOTL2 敲低组穿过小室的细胞数量明显多于对照组，而过表达组则显著减少，见图 1E。在克隆形成实验中，AMOTL2 过表达组的平均克隆数明显低于对照组，而 AMOTL2 低表达组则表现出更强的克隆形成能力，见图 1F。

2.3　AMOTL2 调控 Hippo/YAP1 通路并抑制 EC 的上皮间质转化　基于 TCGA-UCEC 队列，AMOTL2 高低表达组共筛选出 2 229 个差异表达基因，GSEA 显示上皮间质转化（epithelial mesenchymal transition，EMT）、Hippo 信号通路显著富集，见图 2A。利用 TCGA-UCEC 队列的 RNA-seq 数据评估了 AMOTL2 与 YAP1 表达的相关性，观察到两者 mRNA 水平呈显著正相关，在 TIMER 2.0 数据库中也得到了验证，见图 2B。免疫组化进一步显示 EC 组织中 p-YAP1 表达降低，见图 2C。在 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞中敲低 AMOTL2 诱导了典型的 EMT 改变，表现为 E-cadherin 表达减少，N-cadherin 表达增加，见图 2D。

2.4　维替泊芬可逆转 AMOTL2 低表达引起的 EC 细胞增殖与迁移　经维替泊芬处理后，AMOTL2 低表达诱导的 EMT 表型被部分逆转，表现为 E-cadherin 升高、N-cadherin 降低，见图 3A。将过表达或敲低 AMOTL2 的 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞系中用维替泊芬或 DMSO 处理 24 h。CCK-8 增殖实验显示，维替泊芬显著抑制了由 AMOTL2 敲低引起的增殖速率提升，见图 3B。Transwell 迁移实验表明，维替泊芬处理显著减弱了 AMOTL2 敲低细胞在 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞系中增强的迁移能力，见图 3C。这一抗增殖效应在克隆形成实验中得到进一步证实：维替泊芬处理明显减少了 AMOTL2 缺失细胞形成的克隆数量和大小，见图 3D。

3　讨论

本研究发现，与正常子宫内膜样本相比，EC 样本中 AMOTL2 的表达显著降低，这一现象在 TCGA 数据、GEO 数据、CPTAC 数据和收集到的临床标本数据中均保持一致。进一步通过功能实验验证了 AMOTL2 的低表达会促进 EC 细胞体外增殖与迁移，机制上 AMOTL2 低表达是通过抑制 YAP1 磷酸化促进 EC 细胞的 EMT。此外，维替泊芬处理可逆转由 AMOTL2 低表达引起的 EC 细胞增殖与迁移。

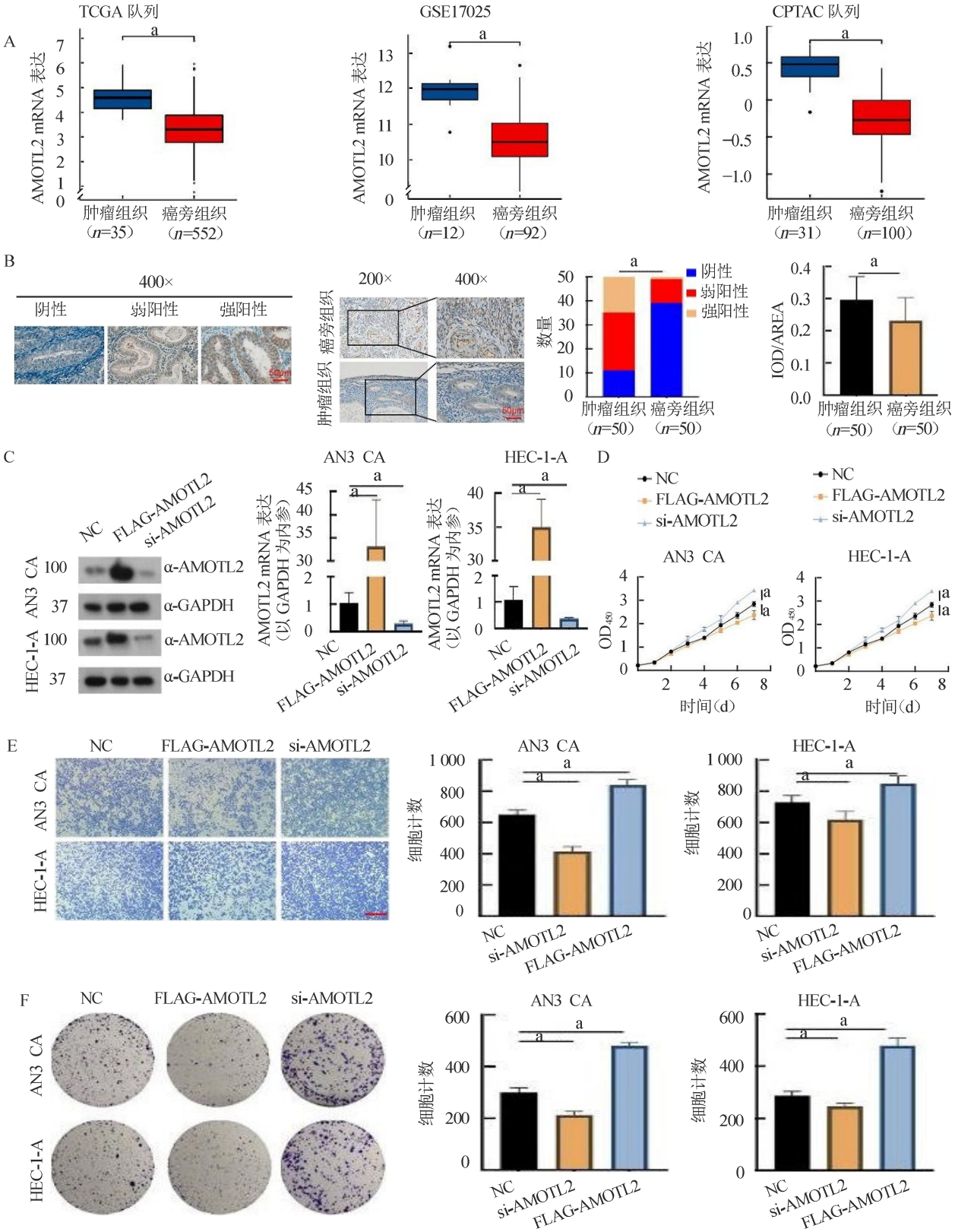
AMOT 家族包含三个成员：AMOT、AMOTL1

表 1　si-AMOTL2 序列信息

名称	正向序列（5’→3’）	反向序列（5’→3’）
阴性对照	UUCUCCGAACGUGUCACGUTT	ACGUGACACGUUCGGAGAATT
si-AMOTL2#1	GCUUGCUCAGAGCUACGAA	UUCGUAGCUCUGAGCAAGC
si-AMOTL2#2	CUCAUGUUGUAUUAGCUCA	UGAGCUAGUACAACAUGAG
si-AMOTL2#3	CAGUGAUCAAGGUCCUUCA	UGAAGGACCUUGAUCACUG
si-AMOTL2#4	CCUGCGACUGUCAGAACAA	UUGUUCUGACAGUCGCAGG

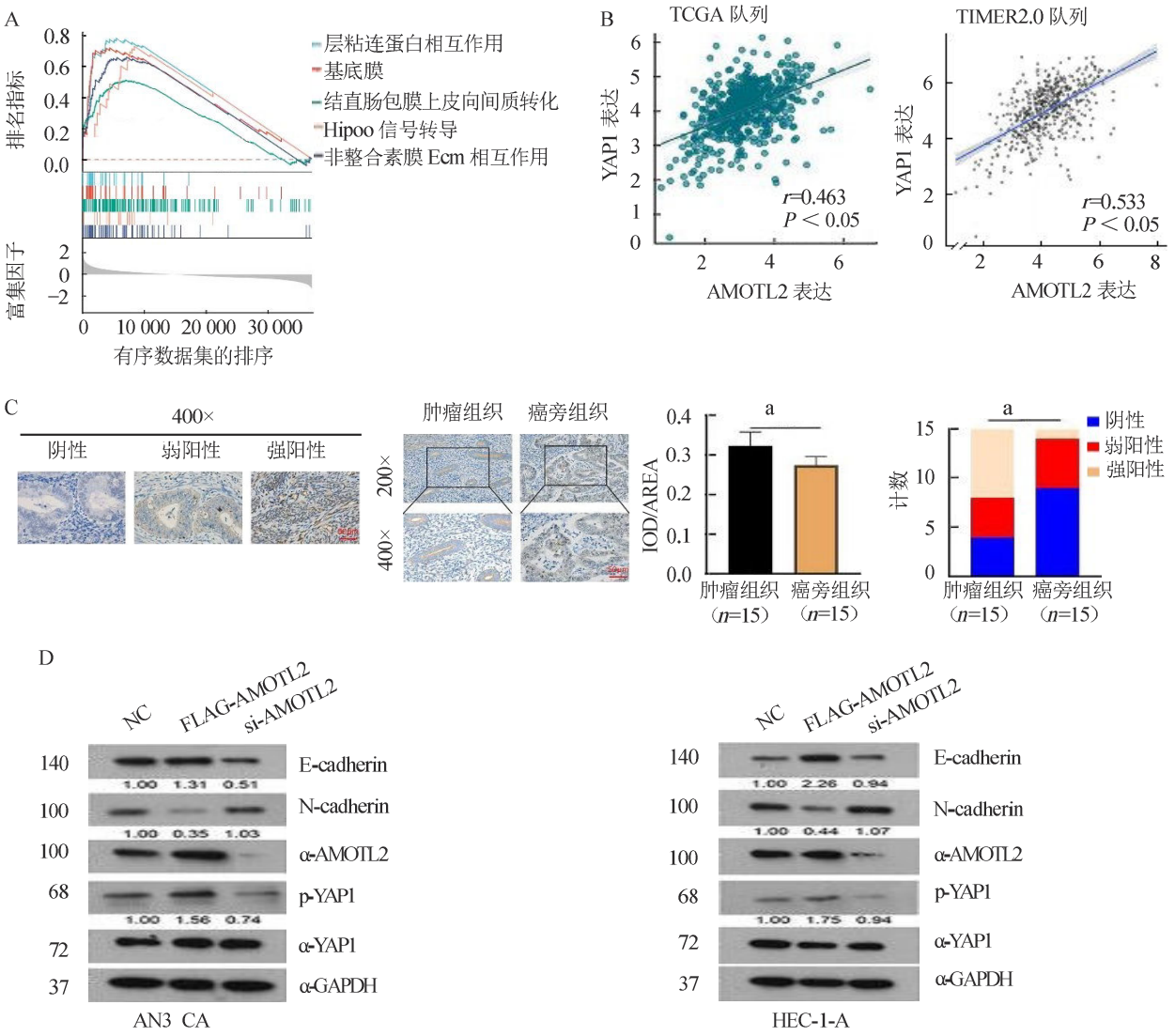
表 2　RT-qPCR 引物序列

基因	正向引物（5’→3’）	反向引物（5’→3’）
AMOTL2	GCTCGTTGAGTGAACGGCT	CATGAGCTAGTACAACATGAGGG
GAPDH	CATGGCCTTCCGTGTTCCTA	CCCTCAGATGCCTGCTTCA



注：A 为 AMOTL2 在 TCGA、GEO、CPTAC 数据库中癌组织和正常组织的表达差异；B 为免疫组化染色以及统计结果；C 为 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞分别转染 NC、si-AMOTL2 或 FLAG-AMOTL2 质粒后，采用蛋白质免疫印迹法和 RT-qPCR 检测 AMOTL2 蛋白和 mRNA 表达水平；D 为通过 CCK-8 细胞增殖实验检测转染 NC、si-AMOTL2 和 FLAG-AMOTL2 质粒的 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞的增殖能力；E 为通过细胞迁移实验检测转染 NC、si-AMOTL2 和 FLAG-AMOTL2 质粒的 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞的迁移能力（比例尺：25 μm）；F 为通过克隆形成实验检测转染 NC、si-AMOTL2 和 FLAG-AMOTL2 质粒的 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞的克隆形成能力。AMOTL2 为血管生成素样蛋白 2，EC 为子宫内膜癌。a 为 $P < 0.05$

图 1　AMOTL2 在 EC 组织中异常低表达，进而促进 EC 细胞增殖与迁移



注：A 为 GSEA 富集分析；B 为基于 TCGA 数据，分别使用 R 语言与 TIMER2.0 数据库分析 EC 中 AMOTL2 与 YAP1 mRNA 表达水平的相关性；C 为免疫组化染色以及统计结果；D 为将 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞分别转染 NC、FLAG-AMOTL2 或 si-AMOTL2 质粒，通过蛋白质免疫印迹法检测 AMOTL2 水平对 YAP1、磷酸化 YAP1、E-cadherin 和 N-cadherin 表达的影响。AMOTL2 为血管生成素样蛋白 2，EC 为子宫内膜癌。a 为 $P < 0.05$

图 2　AMOTL2 调控 Hippo/YAP1 通路并抑制 EC 的上皮间质转化

表 3　子宫内膜癌组织与正常组织中 AMOTL2 表达　例

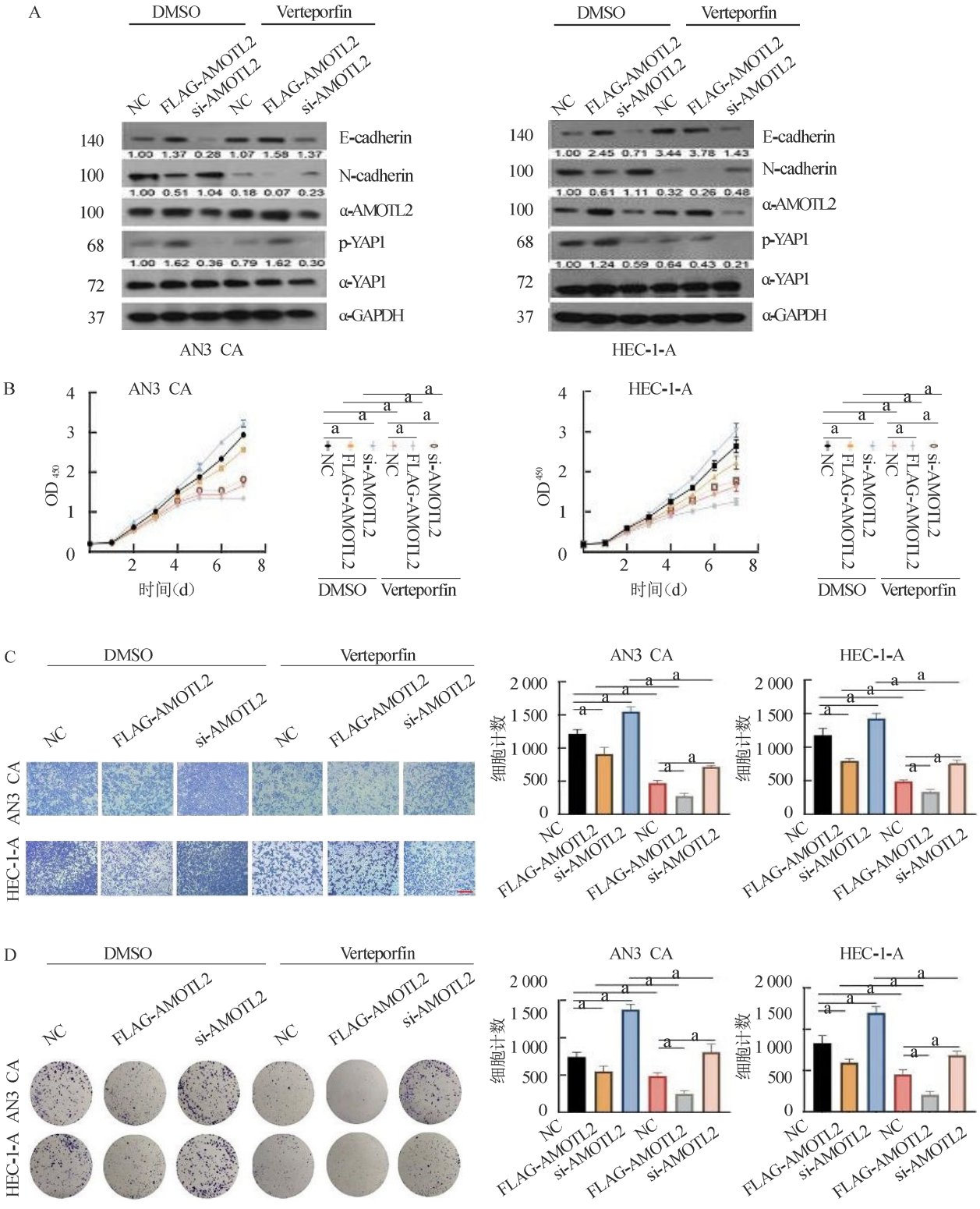
类别	例数	阴性	中等阳性	强阳性	χ^2 值	P 值
正常组织	50	11	24	5	33.69	< 0.05
癌组织	50	39	10	1		

和 AMOTL2，它们在血管内皮细胞的管腔形成与迁移、上皮细胞的紧密连接及 EMT 过程中发挥重要作用[13]。既往研究表明，AMOTL2 是 Hippo 通路的重要调节因子，可促进 LATS2 介导的 YAP1 磷酸化，从而抑制 YAP1 核转位及转录活性[14]。本研究同样发现 AMOTL2 在 EC 中异常降低，且 AMOTL2 低表达可能通过解除 YAP1 抑制促进 EC 进展。

本研究仍存在一定局限。首先，尚未进一步明确 AMOTL2 低表达导致 YAP1 磷酸化降低的上游机制；其次，EMT 相关机制仍需通过更多功能实验验证。此外，AMOTL2 在 EC 中低表达的原因仍有待阐明。综上，AMOTL2 低表达可能通过激活 Hippo/YAP1 信号通路促进 EC 细胞恶性进展，维替泊芬可部分逆转该效应，为 AMOTL2 低表达型 EC 的治疗提供潜在思路。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明　李脉：文章撰写，指导；金加孛：实施研究，采集数据，分析/解释数据，文章撰写，统计分析；金晓锋：酝酿和设计实验，文章



注：A 为通过蛋白质免疫印迹法检测 AMOTL2 水平对 YAP1、磷酸化 YAP1、E-cadherin 和 N-cadherin 表达的影响；B 为将 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞分别转染 NC、si-AMOTL2 和 FLAG-AMOTL2 质粒，培养基中分别加入 DMSO 或维替泊芬处理 24 h 后，通过细胞增殖实验检测细胞增殖能力；C 为将 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞分别转染 NC、si-AMOTL2 和 FLAG-AMOTL2 质粒，培养基中分别加入 DMSO 或维替泊芬处理 24 h 后，通过细胞迁移实验检测细胞迁移能力；D 为将 AN3 CA 和 HEC-1-A 细胞分别转染 NC、si-AMOTL2 和 FLAG-AMOTL2 质粒，培养基中分别加入 DMSO 或维替泊芬处理 24 h 后，通过克隆形成实验检测细胞克隆形成能力。AMOTL2 为血管生成素样蛋白 2，EC 为子宫内膜癌，Verteporfin 为维替泊芬。a 为 $P < 0.05$

图 3　维替泊芬可逆转 AMOTL2 低表达引起的 EC 细胞增殖与迁移

表 4　子宫内膜癌患者临床病理特征与 AMOTL2 蛋白表达的关系（n=50）　例

特征	例数	AMOTL2 蛋白表达		χ^2 值	P 值	特征	例数	AMOTL2 蛋白表达		χ^2 值	P 值
		阴性	阳性					阴性	阳性		
年龄（岁）				0.44	＞0.05	组织学类型				0.06	＞0.05
≤60	37	28	9			类癌	21	16	5		
＞60	13	11	2			腺癌	29	23	6		
肿瘤大小（cm）				3.4	＞0.05	Ki67				3.28	＞0.05
≥4	16	15	1			低阳性	29	20	9		
＜4	34	24	10			高阳性	21	19	2		
肿瘤数量				0.01	＞0.05	p53				2.05	＞0.05
1 个	37	29	8			阴性	4	4	0		
＞1 个	13	10	3			低阳性	44	34	10		
淋巴结转移				0.95	＞0.05	高阳性	2	1	1		
是	2	1	1			Vimentin				8.85	＜0.05
否	48	38	10			阴性	3	1	2		
ER				3.76	＞0.05	低阳性	25	17	8		
阴性	12	10	2			高阳性	22	21	1		
低阳性	35	28	7			TNM 分期				0.04	＞0.05
高阳性	3	1	2			Ⅰ期	24	19	5		
PR				4.04	＞0.05	Ⅱ期	22	17	5		
阴性	6	4	2			Ⅲ期	4	3	1		
低阳性	38	32	6			浸润深度				0.26	＞0.05
高阳性	6	3	3			＜50%	38	29	9		
						≥50%	12	10	2		

撰写，获取研究经费，指导

参　考　文　献

[1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263.

[2] Trovik J, Wik E, Werner H M, et al. Hormone receptor loss in endometrial carcinoma curettage predicts lymph node metastasis and poor outcome in prospective multicentre trial[J]. Eur J Cancer, 2013, 49(16): 3431-3441.

[3] Edmondson R J, Crosbie E J, Nickkho-Amiry M, et al. Markers of the p53 pathway further refine molecular profiling in high-risk endometrial cancer: A TransPORTEC initiative[J]. Gynecol Oncol, 2017, 146(2): 327-333.

[4] Kasius J C, Pijnenborg J M A, Lindemann K, et al. Risk stratification of endometrial cancer patients: FIGO stage, biomarkers and molecular classification[J]. Cancers, 2021, 13(22): 5848.

[5] Harvey K F, Tang T T. Targeting the hippo pathway in cancer[J]. Nat Rev Drug Discov, 2025, 24(11): 852-869.

[6] Guo P F, Wan S C, Guan K L. The Hippo pathway: Organ size control and beyond[J]. Pharmacol Rev, 2025, 77(2): 100031.

[7] 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 & Development, 2007, 21(21): 2747-2761.

[8] ZHAO B, LI L, TUMANENG K, et al. A coordinated phosphorylation by Lats and CK1 regulates YAP stability through SCF(beta-TRCP)[J]. Genes & Development, 2010, 24(1): 72-85.

[9] Koroleva O A, Kurkin A V, Shtil A A. The Hippo pathway as an antitumor target: Time to focus on[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2024, 33(12): 1177-1185.

[10] Wen X L, Wan J, He Q Z, et al. p190A inactivating mutations cause aberrant RhoA activation and promote malignant transformation *via* the Hippo-YAP pathway in endometrial cancer[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 81.

[11] Amirifar P, Kissil J. The role of Motin family proteins in tumorigenesis-an update[J]. Oncogene, 2023, 42(16): 1265-1271.

[12] Paramasivam M, Sarkeshik A, Yates J R 3rd, et al. Angiomotin family proteins are novel activators of the LATS2 kinase tumor suppressor[J]. Mol Biol Cell, 2011, 22(19): 3725-3733.

[13] Lv M, Shen Y W, Yang J, et al. Angiomotin family members: Oncogenes or tumor suppressors?[J]. Int J Biol Sci, 2017, 13(6): 772-781.

[14] Hwang D, Kim M, Kim S, et al. AMOTL2 mono-ubiquitination by WWP1 promotes contact inhibition by facilitating LATS activation[J]. Life Sci Alliance, 2021, 4(10): e202000953.

收稿日期：2026-01-25

（本文编辑：钟美春）