

Src 蛋白激酶活性的调节机制*

胡睿¹⁾ 朱曙东^{2)**}

(¹⁾中南大学湘雅医学院, 长沙 410013; (²⁾中南大学生命科学学院 / 医学遗传学国家重点实验室, 长沙 410013)

摘要 Src 蛋白激酶在人类多种肿瘤细胞中被激活并在肿瘤发生、发展过程中起重要作用。Src 活性的调节主要包括共价修饰、异构调节, 但基因突变和其他一些方式也可以调节其活性。Src 共价修饰主要是磷酸化, Tyr530、Tyr419、Thr34、Thr46、Ser72、Tyr138 和 Tyr213 等都是 Src 的磷酸化位点, 其中 Tyr530 位点和 Tyr419 位点是 Src 最重要的磷酸化位点。异构调节包括 SH3、SH2 等区域结合的调节, 分别涉及黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)、孕酮受体(progesterone receptor, PR)、雌激素受体(estrogen receptor, ER)、雄激素受体(androgen receptor, AR)、P130Cas、血小板源生长因子(the platelet-derived growth factor, PDGF)、血小板衍生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR, HER1/erbB1)、人类表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor-2, ERBB2/HER2/NEU)、胰岛素样生长因子 1 受体(insulin-like growth factor -1 receptor, IGF-1R)、纤维母细胞生长因子受体 1(fibroblast growth factor receptor, FGFR1)、肝细胞生长因子受体(hepatocyte growth factor receptor c-Met)、人类 1 型 T 细胞白血病病毒编码的辅助蛋白 p13、HIV-1 毒力因子 Nef 和 Sin。本文就 Src 蛋白激酶的调节机制作一简要综述。

关键词 Src, 蛋白激酶, 调节机制

学科分类号 Q71

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0033

Src 激酶家族是一些具有酪氨酸蛋白激酶活性的蛋白质, 它们包括 9 个成员: Src、Blk、Fgr、Fyn、Hck、Lyn、Lck、Yes 和 Yrk^[1]。从 N 端到 C 端, Src 由 SH4 结构域、特定片段、SH3 结构域、SH2 结构域、连接段、SH1 结构域(蛋白酪氨酸激酶结构域)和羧基端调节尾端组成(图 1)。在 Src 的 N 端有 Src 在细胞膜上定位的区域, 该区域一般被棕榈酰化或豆蔻酰化^[1-2]。作为原型之一鸡的 Src 激

酶由 533 个氨基酸构成, 而人的 Src 激酶由 536 个氨基酸构成。人与鸡 Src 蛋白激酶不同点在于人 Src 特定片段里共插入了 3 个氨基酸^[3]。研究表明 Src 在细胞增殖、分化、运动和定位等细胞进程中都发挥重要作用。而且大量研究发现, 人类 Src 基因产物 c-Src 在人类多种肿瘤细胞中过度表达并高度激活, 且 src 的活化将激活与肿瘤恶化有关的 MAPK 和 PI3K/Akt 途径^[4-5]。本文就 Src 的共价修

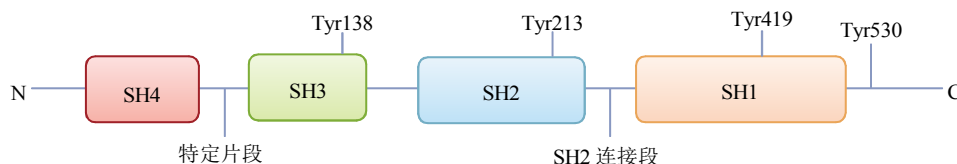


Fig. 1 Structure of Src proteins

图 1 Src 蛋白的结构

从 N 端到 C 端, Src 由 SH4 结构域、特定片段、SH3 结构域、SH2 结构域、连接段、SH1 结构域(蛋白酪氨酸激酶结构域)和羧基端调节尾端组成。

* 湖南省百人计划资助项目(2015-ZSD).

** 通讯联系人.

Tel: 82650460, E-mail: shudongzhu@csu.edu.cn

收稿日期: 2016-03-07, 接受日期: 2016-09-30

饰、异构调节、基因突变等方面对 Src 蛋白激酶的调节机制综述如下。

1 共价修饰对 Src 活性的调节

1.1 磷酸化对 Src 活性的调节

1.1.1 Tyr 530 位点的磷酸化

人 c-Src 羧基端 Tyr530(鸡 Tyr527)是 c-Src 酪

氨酸激酶活性调节重要位点。当 Tyr530 被磷酸化后, 它将与 Src 的 SH2 结构域结合, 这两者的结合使分子卷曲, 进而酶活性中心被遮盖, 这将使 c-Src 的酪氨酸激酶活性受到抑制(图 2)。

Src 的 Tyr527 磷酸化主要是通过酪氨酸激酶 CSK 来进行的。CSK 与 Src 有相似的氨基酸序列、SH2 结构域、SH3 结构域和催化结构域^[6],

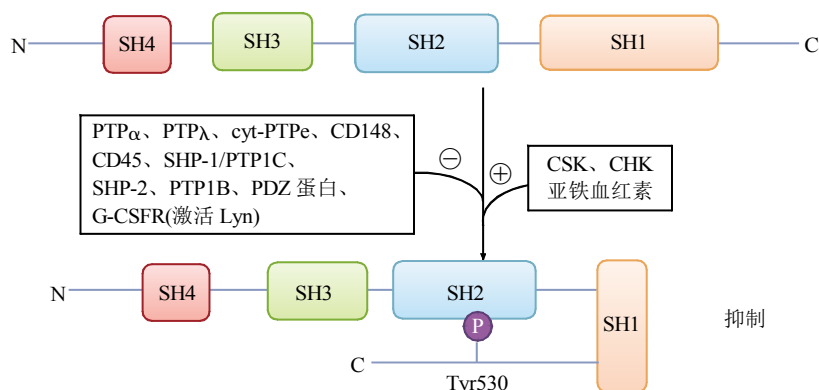


Fig. 2 Phosphorylation of Tyr530 in Src

图 2 Src Tyr530 位点的磷酸化

当 Src 的 Tyr530 位点被磷酸化后, 它将与 Src 的 SH2 结构域结合, 使 Src 的酪氨酸激酶活性受到抑制。PTPα、PTPλ、cyt-PTPε、CD148、CD45、SHP-1/PTP1C、SHP-2、PTP1B、PDZ 蛋白、G-CSFR(激活 Lyn)可使 Src Tyr530 位点去磷酸化, 使 Src 激活。CSK、CHK 和亚铁血红素促进 Src Tyr530 位点的磷酸化, Src 活性受到抑制。

CSK 结合蛋白 Cbp 结合到 CSK 的 SH2 结构域, 帮助 CSK 作用于 Src 以抑制其活性^[7]。Cbp 定位不同, 对 Src 活性调节也不同。Cbp 也可以激活 Src 活性, 具体机制在后文中关于 Src 的异构调节有说明^[8]。此外, 还有 2 个通过结合到 CSK 来下调 Src 活性的蛋白酪氨酸磷酸酶, PEP 和 PTP-PEST^[9-10]。PEP 在造血细胞中特异表达, 而 PTP-PEST 广泛存在于各种细胞中。实验证明两者通过 CSK 的 SH3 结构域与 PEP 的第 1 个脯氨酸丰富片段结合以发挥效应^[9]。

蛋白酪氨酸磷酸酶 PTPα 也可以作为 Src 的生理调节剂。实验证明 PKC 能作用于 PTPα, 使 PTPα 的 Ser180 和 Ser204 位点磷酸化, 进而使 PTPα 的催化活性增加, 增强 PTPα 与 Src 的结合能力并使 Src 的 Tyr530 去磷酸化, 这一构象改变同时还有利于 Tyr419 的自动磷酸化, 从而进一步激活 Src^[11]。相反, 当细胞内 PTPα 表达水平下降时, Src 激酶的活性也会降低。研究 PTPα 调节 Src 活性的机制时发现, PTPα 的 Tyr789 残基在 PTPα 结合 Src、使 Src 脱磷酸并激活 Src 中是必需的。PTPα 的 Tyr789 结合 Src 的 SH2 结构, 通过暴露

磷酸化的 Src 羧基端使其去磷酸以激活 Src^[12]。

在体外实验中, 另一种蛋白酪氨酸磷酸酶 PTPλ 也能使 c-Src 去磷酸化。这一脱磷酸作用可发生在 Tyr419 位点, 但主要还是发生在 Tyr530 位点^[13]。在类破骨细胞中, 活化的 cyt-PTPε 可与 GRB2 结合, 进而使 GRB2 与 Src 结合, 然后 cyt-PTPε 也可使 Src 的 Tyr527 位点脱磷酸化以激活 Src^[14]。蛋白酪氨酸激酶 CD148 在造血细胞和内皮细胞中也可以正向调节 Src 家族激酶的活性^[15]。

SHP-1(PTP1C)能使 Tyr419 和 Tyr530 位点去磷酸化, 但对 Tyr530 位点作用更强^[16]。此外, SHP-2 也能激活 Src, 但起初实验发现, SHP-2 表达水平的变化与 Src 的 Tyr530 位点磷酸化水平变化并不相关, 同时发现 SHP-2 与 Src 的 SH3 结构域结合, 由此推测 SHP-2 调节 Src 活性的机制可能是一种非酶促机制^[17]。最近研究证明 SHP-2 调节 Src 的活性是通过在过氧化氢存在条件下干涉 CSK 与微囊蛋白 1 的结合来实现的。过氧化氢能够磷酸化微囊蛋白 1, 从而为 CSK 和 SHP-2 竞争结合微囊蛋白 1 提供位点。CSK 结合到磷酸化的微囊蛋白 1 上将使 Src 的 Tyr530 磷酸化, 使 Src 失活。相

反, SHP-2 与磷酸化的微囊蛋白 1 结合将抑制 Src 的 Tyr530 位点磷酸化, 以激活 Src^[18]. 而使用 SHP-2 抑制剂 Fumosorinone 将能下调 Src 活性^[19].

近年来, 又有研究发现粒细胞集落刺激因子受体(G-CSFR)与 Gab2、GRb2 和 Shp2 共同作用能使 Src 家族另一激酶 Lyn Tyr507 脱磷酸使之被激活. Gab2 有 2 个聚脯氨酸接口, 能与 LynSH3 和 Grb2 结合形成三聚体, G-CSFR 刺激导致 Gab2 磷酸化, Gab2 磷酸化导致 Shp2 结合到 Gab2 上, 这种结合使 Shp2 构象改变, 进而使 Shp2 磷酸酶活性被激活. 激活的 Shp2 可以使 Lyn Tyr507 脱磷酸, 最终导致 Lyn 激活. 此外, Gab2 和 Shp2 过度表达还能使 Lyn Tyr396 自动磷酸化, 进一步增强 Lyn 活性^[20].

而在结肠癌细胞中, PTP1B 蛋白水平升高, 也会导致 Src Tyr530 去磷酸化, 进而增强 Src 活性. PTP1B 抑制剂或者敲除 PTP1B 会使 Tyr530 磷酸化, 进而减弱 Src 活性. 有实验表明 PTP1B 在结直肠癌细胞中能够作为 Src 的一个重要的激活剂, 升高 PTP1B 水平能通过激活 SRC 促使结直肠癌发生^[21]. 最近研究发现, PTP1B 还能在非小细胞肺癌中激活 Src, 促进非小细胞肺癌的增殖与扩散^[22].

此外, Src 有一个 PDZ 结构域(c-Src 羧基端), 连接黏着蛋白 AF-6. 存在一种 PDZ 蛋白, 它能与 Src 结合进而干扰羧基端激酶将 c-Src Tyr530 磷酸化, 同时减少 Tyr419 自身磷酸化, 导致 Src 的激活^[23].

CHK 是 CSK 的同源激酶, 用荧光免疫检验法显微镜检测显示在正常结肠细胞中 CHK 和 Src 共存. CHK 能通过一个非催化机制使 C 端酪氨酸磷酸化, 从而抑制 Src 激酶家族活性^[24]. CHK 在正常结肠细胞中有表达, 而在各种结肠癌细胞中, CHK 水平显著降低而 Src 活性增强. Src 的 C 端 Tyr530 未磷酸化的情况下, CHK 在结肠癌细胞中超表达也可导致 Src 失活^[25].

近年来, 还有实验显示亚铁血红素也能促使 Tyr530 磷酸化, 对 Src 活性产生抑制作用^[26].

1.1.2 Tyr419

Tyr419 (鸡 Tyr416, Lyn 则是 Tyr396)也是调节 Src 活性的磷酸化位点, Tyr419 是分子间自身磷酸化和其他酪氨酸激酶的靶子. 当 Tyr419 被磷酸化后, 有助于 Src 的底物结合口打开, 允许激酶接触底物, 对 Src 活性正向调控(图 3).

除了上文提到的 PTP λ 、SHP-1、PDZ 蛋白可作用于 Tyr419 位点调节 Src 活性外, 实验发现在

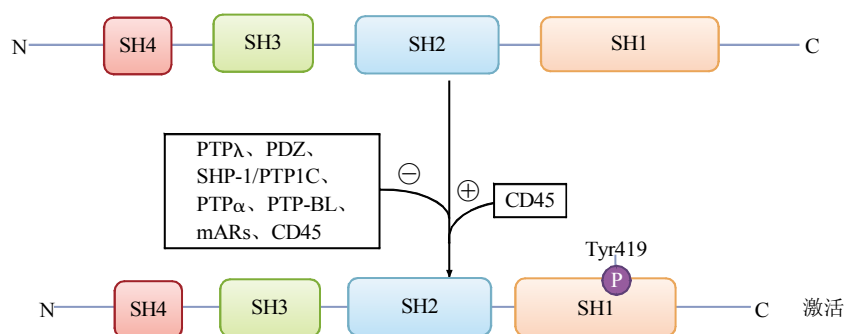


Fig. 3 Phosphorylation of Tyr419 in Src

图 3 Src Tyr419 位点的磷酸化

当 Src 的 Tyr419 位点被磷酸化后, Src 的酪氨酸激酶活性被激活. PTP λ 、PDZ、SHP-1/PTP1C、PTP α 、mARs、PTP-BL 使 Src Tyr419 位点去磷酸化, 使 Src 活性受到抑制. CD45 既对 SRC 正向调控又能对其负向调控.

PTP- α 过度表达的细胞中无 Tyr419 位点磷酸化, 说明 PTP- α 也可使 Tyr419 位点脱磷酸化^[27]. 还有, PTP-BL 也可以使 Src Tyr419 位点发生脱磷酸作用, 但对 Src Tyr530 位点没有影响, 因而能抑制 Src 活性^[28]. 功能性膜性雄激素受体(functional membrane androgen receptors mARs)可随作用时间, 逐渐减少 Src Tyr419 位点的磷酸化而降低 Src 的活性^[29]. 此

外, SH2 和 SH3 结构域功能紊乱也会通过减少 Src 自身磷酸化而降低 Src 活性, 而且 SH2 结构域在调节 SRC 激酶活性中比 SH3 发挥更大的作用^[30].

现有的研究表明 CD45 既对 Src 正向调控又能对其负向调控. 其机制是 Src 家族激酶的正向和负向调控的酪氨酸磷酸化位点都可以作为 CD45 的底物, 这两个相反的磷酸化作用相互平衡的最终结果

决定 CD45 的调节作用. 细胞种类和环境对此过程有影响^[31].

Tyr527 与 Tyr416 位点的磷酸化可能是最常见的修饰调节 Src 活性的方式, 但是需要注意的是, 相对 Tyr416 位点的磷酸化而言, Tyr527 的磷酸化应该是调节 Src 活性的主要方式, 只有 Tyr527 的磷酸化程度降低后, Tyr416 位点的磷酸化对 Src 活性的影响才会反应出来. 因此, 虽然经常可以看到研究中用 Tyr416 位点的磷酸化作为分析 Src 活性的方法, 但是此方法是有严格限制和考虑的. 关于这一点, 我们的研究结果也有反映^[21].

1.1.3 Thr34, Thr46, Ser72

有丝分裂期间, p34cdc2 磷酸化 Thr34、Thr46、Ser72 位点, 这 3 个位点的磷酸化将瓦解

SH2 和 Tyr530 的结合, 导致 c-Src 激活^[32].

1.1.4 Tyr138 和 Tyr213

血小板源生长因子受体蛋白酪氨酸激酶可以调节 Src 的 Tyr138 位点磷酸化, 而血小板源生长因子受体(PDGFR)和人类表皮生长因子受体(HER2)蛋白酪氨酸激酶能调节 Src Tyr213 位点的磷酸化然后激活 Src^[33].

1.1.5 Tyr29 和 Tyr388(Hck)

在 Src 激酶家族中的 Hck 中, 特殊结构域内的 Tyr29 和 Tyr388 位点也能自身磷酸化, 且这 2 个位点的磷酸化都能激活 Hck^[34].

1.2 氧化对 Src 活性的调节

图 4 示氧化对 Src 活性的调节. 活性氧类物质包括超氧化物、过氧化氢、超氧离子等, 这一类物

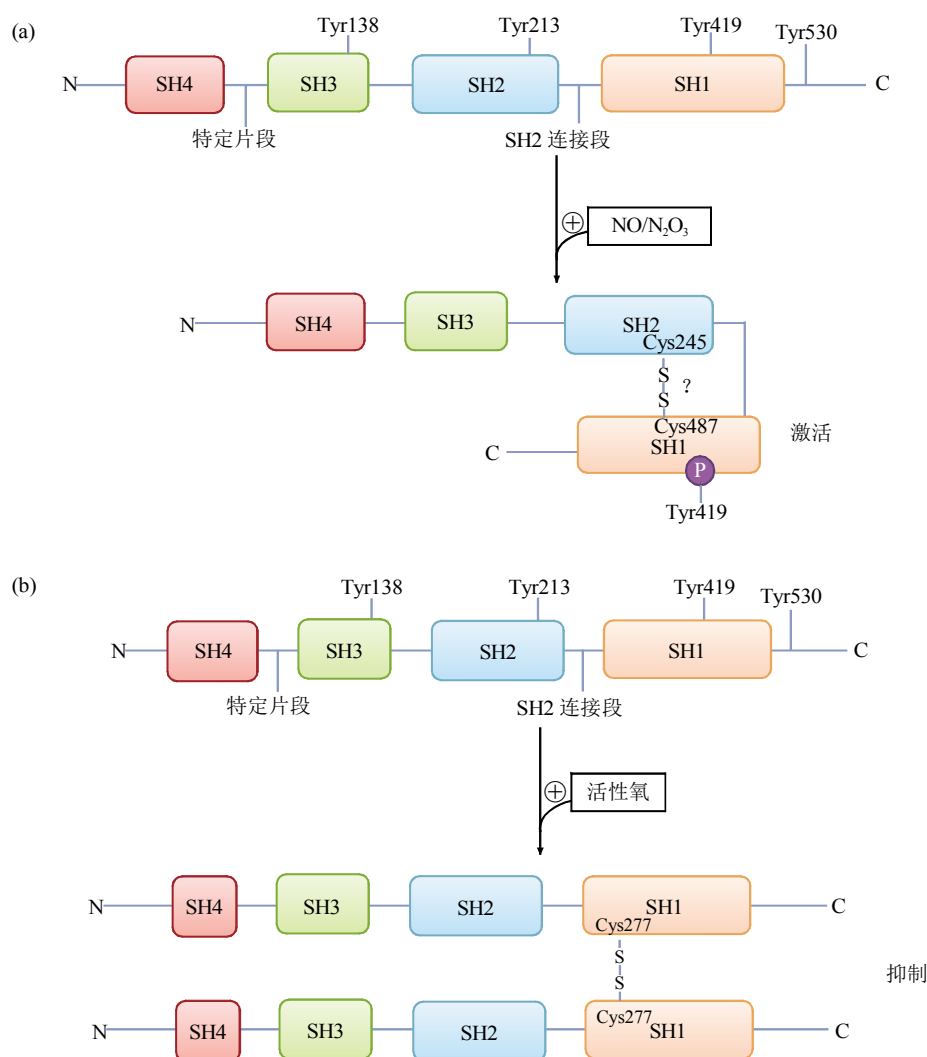


Fig. 4 Src oxidation

图 4 Src 的氧化

(a) NO 或 N₂O₃ 能通过氧化反应并且联合 Src Tyr416 自动磷酸化来调节 Src 活性激活 Src. (b) 活性氧会使 Src 的 Cys277 氧化, 2 个 Src 之间形成分子间二硫键, 这使 Src 的活性受到抑制.

质能通过氧化巯基而改变蛋白质功能^[35]. Akhand 等^[36]第一次用实验证明 NO 或 NO 释放剂 N_2O_3 能通过氧化反应并且联合 Src Tyr416 自动磷酸化来调节 Src 活性激活 Src, 他们猜测可能是 Src 分子内部形成了二硫键. 而最近研究显示, 在附着于细胞外基质过程中, 活性氧类物质能使 Src 的 SH2 结构域中的 Cys245 位点和 SH1 结构域中的 Cys487 位点被氧化, Src 被激活. 虽然还是缺乏证据证明 Cys245 位点和 Cys487 位点直接形成了二硫键, 但分析没有发现 Src 形成二聚体, 所以推测 Src 分子内产生二硫键的可能性较大(图 4a)^[37]. Kemble 等^[35]认为氧化反应将抑制 Src 活性. 他们的体外研究表明活性氧会使 Src 的 Cys277 氧化, 2 个 Src 之间形成分子间二硫键, 这使 Src 的活性受到抑制

(图 4b)^[35]. 由于目前关于这一机制的体内和体外实验呈现相反结果, 因此氧化对 Src 活性调节的具体机制还有待后续研究证明.

2 异构效应对 Src 的活性调节

生物化学和 X 射线晶体结构分析发现, Src 激酶家族分子内有一些相互作用, 包括 SH2 结构域和羧基端酪氨酸 Tyr530(527)之间的相互作用及 SH3 结构域和连接段之间的相互作用^[38-39]. 一些 Src 结合蛋白会与这些结构竞争结合, 进而妨碍分子内相互作用, 使 Src 激酶激活(图 5). HCK 晶体结构显示 SH3 结构域和连接段间采用 II 型聚脯氨酸螺旋构型, 而这种构型是 SH3 配体的典型特征^[39].

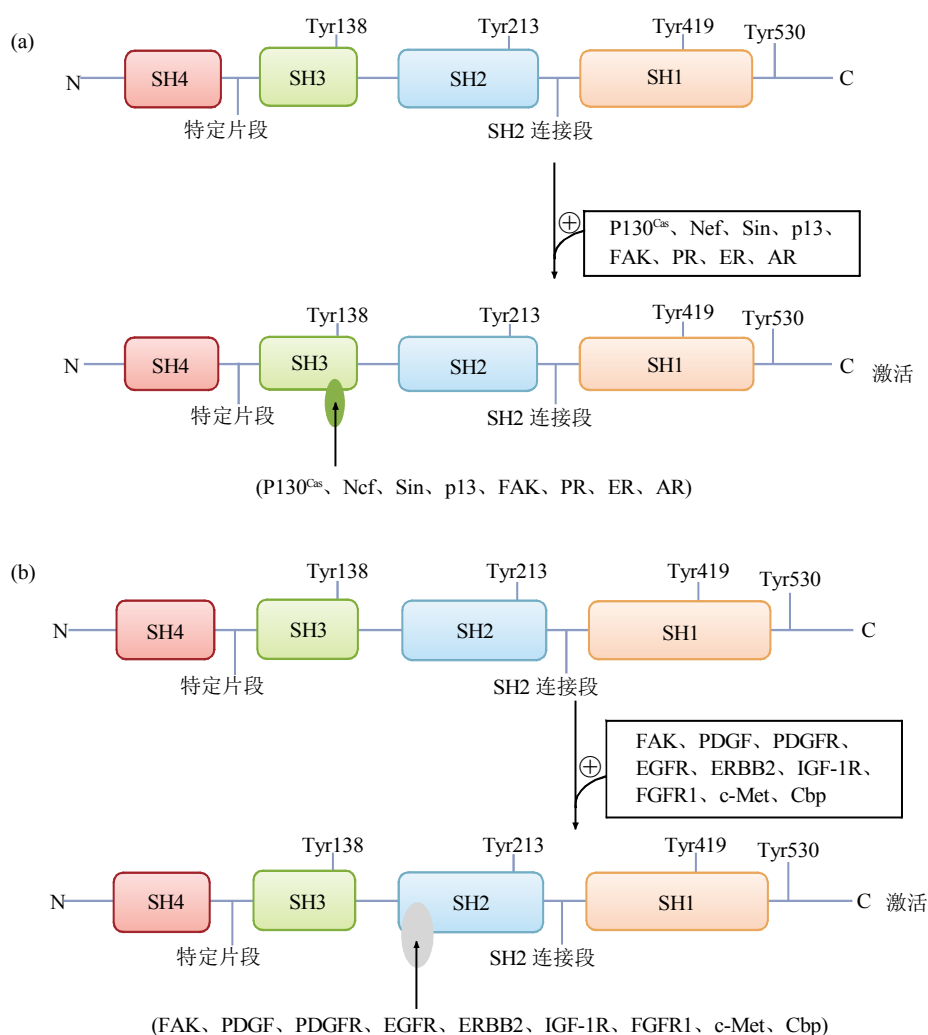


Fig. 5 Allosteric Regulation of Src

图 5 Src 的异构效应调节

(a) $P130^{Cas}$, Nef, Sin, p13, FAK, PR, ER, AR 能与 SH3 结构域结合, 妨碍分子内相互作用, 进而激活 Src. (b) FAK, PDGF, PDGFR, EGFR, ERBB2, IGF-1R, FGFR1, c-Met, Cbp 能竞争结合 Src 的 SH2 结构域而激活 Src.

一种在 v-Src 中过度磷酸化的蛋白 P130^{Cas} (CAS), 其羧基端含有这种聚脯氨酸, 因此它能与 SH3 结构域结合激活 Src^[40]. 同理, 人类 1 型 T 细胞白血病病毒编码的辅助蛋白 p13 也能结合到 SH3 上富含脯氨酸的接口上, 形成异质二聚体, 激活线粒体定位信号, 使 Src 移动到线粒体, 进而 Src 活性增加^[41]. 另有研究表明 HIV-1 毒力因子 Nef 和 Sin 也能竞争结合到 SH3 结构域, 进而阻止 SH3 结构域和连接段结合, 激活 Src 家族的 Hck、Lyn 和 c-Src^[42-43]. FAK 内既有能和 SH3 结构域结合又有能与 SH2 结构域结合的位点, 因此 FAK 也能激活 Src^[44]. 在 Src 和 FAK 结合过程中, 有研究表明 Cbp 能激活两者的结合. 不仅如此, Cbp 还能竞争结合到 Src 的 SH2 结构域, 因而 Cbp 可对 Src 活性正向调控^[7]. 此外, PR、ER 和 AR 也都能通过与 Src 的 SH3 结构域结合而激活 Src^[45-46].

研究发现许多受体酪氨酸激酶都能激活 Src, 且这一过程与 Src 的 SH2 结构域有关. 如 PDGF 能与 Src 的 SH2 结构域结合激活 Src^[47]. 之后的研究发现 PDGFR 也能与 Src 的 SH2 结构域结合后, 磷酸化 Src 的 Tyr419 位点以激活 Src^[48]. 在胶质瘤细胞中, 表皮生长因子受体(EGFR/HER1/erbB1) 能短暂激活 Src, Src 的激活又能使 EGFR 的 Tyr845 位点磷酸化^[49]. ERBB2(又名 HER2/NEU)与 Src 结合后也能上调 Src 的活性. ERBB2 可能是通过与 Src 的 SH2 结合, 也可能通过增加 Src 蛋白的合成并减少其降解来增加 Src 的活性^[50-51]. 此外, IGF-1R、FGFR1、c-Met 也能结合 Src 的 SH2 结构域而上调 Src 的活性^[52-54]. 通过结合 Src 的 SH3 或者 SH2 来激活 Src, 已经成为一种普遍而可靠的调节 Src 活性的方式, 尤其在细胞膜附近当配体结合膜上受体启动信号通路的时候.

3 基因突变对 Src 活性的影响

现在已经发现, Src 在结直肠癌中被显著激活, 其调节机制除了上文提到的以外, Irby 等^[55]报道在少量结直肠癌中部分 Src 氨基酸的第 531 号位点发生点突变(C→T), 进而阻止 Src 羧基端 Tyr530 位点磷酸化, 从而激活 Src. Wang 等^[56-57]用相同的 PCR-RFLP 方法分析, 却没有发现任何相关突变. 而 Tan 等^[58-59]也仅仅发现一个样品在 531 号位点上存在突变. 虽然差异可能是由于样本群体的不同而引起的, 但也很有可能是技术问题导致. 因此, 这一 Src 活性调节机制能在肿瘤发生中是否真实存在

还有待新的研究发现.

4 其他 Src 活性调节机制

曾有研究发现癌细胞中泛素蛋白酶体途径失去控制可能导致 Src 激活^[60]. 后来有研究证明 c-Cbl 的确能作为 Src 的泛素连接酶从而下调 Src 活性^[61]. 最新研究发现 microRNAs 也可调节 Src 的活性. MiR-1280 能靶向结合 Src 的 3'UTR, 从转录后水平负向调节 Src 的表达, 这也被认为是黑色素瘤细胞中 MiR-1280 的表达显著降低而 Src 超表达的原因之一^[62]. 此外, 我们还曾发现鼠脑内有 Src 激酶家族的天然抑制剂存在^[63].

5 结 语

综上所述, Src 激酶活性可由多种调节机制控制. 现在已有大量研究对 Src 等做出阐释, 其中共价修饰、异构调节是现发现的最主要的调节机制. 而共价调节中, 磷酸化调节一直是 Src 激酶调节机制的研究重点, 尤其是 Src 的 Tyr530 位点和 Tyr419 位点的磷酸化及一些蛋白酪氨酸磷酸酶和酪氨酸激酶对这 2 个位点的调节作用. 之前一般认为, Src 的 Tyr530 位点和 Tyr419 位点的磷酸化在 Src 活性调节中起主要作用. 但我们发现, 一方面 Src Tyr530 位点的磷酸化确实在 Src 活性调节中起重要作用, 而另一方面, Src Tyr419 位点的磷酸化并不总是反映 Src 活性的高低. 我们发现, Tyr530 位点的磷酸化在 Src 调节中占主导地位, Tyr419 位点磷酸化后的 Src 原本可能是 Src 活性升高的指标, 但由于 Tyr530 位点磷酸化后 Src 活性被主导降低而 Tyr419 位点未能及时脱磷酸化, 所以此时 Tyr419 位点的磷酸化不能反映 Src 活性的高低. Src 在肿瘤细胞中的调节机制以前未知, 我们现已发现 PTP1B 在其中起重要作用^[21]. 另外在一些特有的肿瘤细胞, 如结肠癌细胞中, CHK 分子可能对 Src 调节有重要作用, 并有可能不局限于结肠癌中^[25].

Src 激酶调节机制仍有很多未知或不明之处, 有待进一步研究. 由于 Src 在细胞增殖、分化、运动和定位等细胞进程中都发挥重要作用, 通过研究 Src 激酶活性的调节机制将有助于研究和调控这些细胞进程. 且 Src 基因产物 c-Src 在人类多种肿瘤细胞中过度表达并高度激活, 研究 Src 抑制剂作为药物治疗的靶点将为治疗多种癌症提供新的可能, 尤其是特异性 Src 抑制剂和其他重要信号通路抑制

剂的联合运用将可能是未来肿瘤治疗的有效手段。

参 考 文 献

- [1] Boggon T J, Eck M J. Structure and regulation of Src family kinases. *Oncogene*, 2004, **23**(48): 7918–7927
- [2] Roskoski R. Src protein-tyrosine kinase structure and regulation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004, **324**(4): 1155–1164
- [3] Takeya T, Hanafusa H. Structure and sequence of the cellular gene homologous to the RSV src gene and the mechanism for generating the transforming virus. *Cell*, 1983, **32**(3): 881–890
- [4] Zhu S, Bjorge J D, Fujita D J. SRC is dephosphorylated at tyrosine 530 in human colon carcinomas. *Chin J Cancer Res*, 2011, **23**(3): 229–231
- [5] Peiro G, Ortiz-Martinez F, Gallardo A, *et al.* Src, a potential target for overcoming trastuzumab resistance in HER2-positive breast carcinoma. *Br J Cancer*, 2014, **111**(4): 689–695
- [6] Cole P A, Shen K, Qiao Y, *et al.* Protein tyrosine kinases Src and Csk: a tail's tale. *Curr Opin Chem Biol*, 2003, **7**(5): 580–585
- [7] Wong L, Lieser S A, Miyashita O, *et al.* Coupled motions in the SH2 and kinase domains of Csk control Src phosphorylation. *Journal of Molecular Biology*, 2005, **351**(1): 131–143
- [8] Saitou T, Kajiwaru K, Oneyama C, *et al.* Roles of Raft-Anchored Adaptor Cbp/PAG1 in Spatial Regulation of c-Src Kinase. *PLoS ONE*, 2014, **9**(3): e93470
- [9] Cloutier J F, Veillette A. Cooperative inhibition of T-cell antigen receptor signaling by a complex between a kinase and a phosphatase. *Journal of Experimental Medicine*, 1999, **189**(1): 111–121
- [10] Davidson D, Cloutier J F, Gregorieff A, *et al.* Inhibitory tyrosine protein kinase p50csk is associated with protein-tyrosine phosphatase PTP-PEST in hemopoietic and non-hemopoietic cells. *J Biol Chem*, 1997, **272**(37): 23455–23462
- [11] Brandt D T, Goerke A, Heuer M, *et al.* Protein kinase C delta induces Src kinase activity *via* activation of the protein tyrosine phosphatase PTP alpha. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, **278**(36): 34073–34078
- [12] Zheng X M, Resnick R J, Shalloway D. A phosphotyrosine displacement mechanism for activation of Src by PTP alpha. *EMBO Journal*, 2000, **19**(5): 964–978
- [13] Fang K S, Sabe H, Saito H, *et al.* Comparative study of three protein-tyrosine phosphatases. Chicken protein-tyrosine phosphatase lambda dephosphorylates c-Src tyrosine 527. *J Biol Chem*, 1994, **269**(31): 20194–20200
- [14] Levy-Apter E, Finkelstein E, Vemulapalli V, *et al.* Adaptor protein GRB2 promotes Src tyrosine kinase activation and podosomal organization by protein-tyrosine phosphatase in osteoclasts. *J Biol Chem*, 2014, **289**(52): 36048–36058
- [15] Spring K, Chabot C, Langlois S, *et al.* Tyrosine phosphorylation of DEP-1/CD148 as a mechanism controlling Src kinase activation, endothelial cell permeability, invasion, and capillary formation. *Blood*, 2012, **120**(13): 2745–2756
- [16] Somani A K, Bignon J S, Mills G B, *et al.* Src kinase activity is regulated by the SHP-1 protein-tyrosine phosphatase. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, **272**(34): 21113–21119
- [17] Walter A O, Peng Z Y, Cartwright C A. The Shp-2 tyrosine phosphatase activates the Src tyrosine kinase by a non-enzymatic mechanism. *Oncogene*, 1999, **18**(11): 1911–1920
- [18] Jo A, Park H, Lee S, *et al.* SHP-2 binds to Caveolin-1 and regulates Src activity *via* competitive inhibition of CSK in response to H₂O₂ in astrocytes. *PLOS One*, 2014, **9**(e915823)
- [19] Chen C, Cao M, Zhu S, *et al.* Discovery of a novel inhibitor of the protein tyrosine phosphatase Shp2. *Sci Rep*, 2015, **5**: 17626
- [20] Futami M, Zhu Q S, Whichard Z L, *et al.* G-CSF receptor activation of the Src kinase Lyn is mediated by Gab2 recruitment of the Shp2 phosphatase. *Blood*, 2011, **118**(4): 1077–1086
- [21] Zhu S, Bjorge J D, Fujita D J. PTP1B contributes to the oncogenic properties of colon cancer cells through Src activation. *Cancer Res*, 2007, **67**(21): 10129–10137
- [22] Liu H, Wu Y, Zhu S, *et al.* PTP1B promotes cell proliferation and metastasis through activating src and ERK1/2 in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett*, 2015, **359**(2): 218–225
- [23] Radziwill G, Weiss A, Heinrich J, *et al.* Regulation of c-Src by binding to the PDZ domain of AF-6. *EMBO Journal*, 2007, **26**(11): 2633–2644
- [24] Chong Y P, Mulhern T D, Zhu H J, *et al.* A novel non-catalytic mechanism employed by the C-terminal Src-homologous kinase to inhibit Src-family kinase activity. *J Biol Chem*, 2004, **279**(20): 20752–20766
- [25] Zhu S, Bjorge J D, Cheng H C, *et al.* Decreased CHK protein levels are associated with Src activation in colon cancer cells. *Oncogene*, 2007, **27**(14): 2027–2034
- [26] Yao X A, Balamurugan P, Arvey A, *et al.* Heme controls the regulation of protein tyrosine kinases Jak2 and Src. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2010, **403**(1): 30–35
- [27] Zheng X M, Wang Y, Pallen C J. Cell transformation and activation of pp60c-src by overexpression of a protein tyrosine phosphatase. *Nature*, 1992, **359**(6393): 336–339
- [28] Palmer A, Zimmer M, Erdmann K S, *et al.* EphrinB phosphorylation and reverse signaling: regulation by Src kinases and PTP-BL phosphatase. *Molecular Cell*, 2002, **9**(4): 725–737
- [29] Gu S, Honisch S, Kounenidakis M, *et al.* Membrane androgen receptor down-regulates c-src-activity and beta-catenin transcription and triggers GSK-3beta-phosphorylation in colon tumor cells. *Cell Physiol Biochem*, 2014, **34**(4): 1402–1412
- [30] Groveman B R, Xue S, Marin V, *et al.* Roles of the SH2 and SH3 domains in the regulation of neuronal Src kinase functions. *FEBS JOURNAL*, 2011, **278**(4): 643–653
- [31] Ashwell J D, D'oro U. CD45 and Src-family kinases: and now for something completely different. *Immunology Today*, 1999, **20**(9): 412–416
- [32] Shenoy S, Choi J K, Bagrodia S, *et al.* Purified maturation promoting factor phosphorylates pp60c-src at the sites phosphorylated during fibroblast mitosis. *Cell*, 1989, **57**(5): 763–774
- [33] Roskoski R. Src kinase regulation by phosphorylation and

- dephosphorylation. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2005, **331**(1): 1–14
- [34] Johnson T M, Williamson N A, Scholz G, *et al.* Modulation of the catalytic activity of the Src family tyrosine kinase Hck by autophosphorylation at a novel site in the unique domain. J Biol Chem, 2000, **275**(43): 33353–33364
- [35] Kemble D J, Sun G. Direct and specific inactivation of protein tyrosine kinases in the Src and FGFR families by reversible cysteine oxidation. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, **106**(13): 5070–5075
- [36] Akhand A A, Pu M, Senga T, *et al.* Nitric oxide controls src kinase activity through a sulfhydryl group modification-mediated Tyr-527-independent and Tyr-416-linked mechanism. J Biol Chem, 1999, **274**(36): 25821–25826
- [37] Giannoni E, Buricchi F, Rauegi G, *et al.* Intracellular reactive oxygen species activate Src tyrosine kinase during cell adhesion and anchorage-dependent cell growth. Mol Cell Biol, 2005, **25**(15): 6391–6403
- [38] Mandine E, Jean-Baptiste V, Vayssiere W, *et al.* High-affinity Src-SH2 ligands which do not activate Tyr (527)-phosphorylated Src in an experimental *in vivo* system. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2002, **298**(PII S0006-291X (02)02424-52): 185–192
- [39] Alvarado J J, Betts L, Moroco J A, *et al.* Crystal structure of the Src family kinase Hck SH3-SH2 linker regulatory region supports an SH3-dominant activation mechanism. Journal Biological Chemistry, 2010, **285**(46): 35455–35461
- [40] Pellicena P, Miller W T. Processive phosphorylation of p130Cas by Src depends on SH3-polyproline interactions. Journal of Biological Chemistry, 2001, **276**(30): 28190–28196
- [41] Tibaldi E, Venerando A, Zonta F, *et al.* Interaction between the SH3 domain of Src family kinases and the proline-rich motif of HTLV-1 p13: a novel mechanism underlying delivery of Src family kinases to mitochondria. Biochemical Journal, 2011, **439** (3): 505–516
- [42] Triple R P, Emert-Sedlak L, Smithgall T E. HIV-1 Nef selectively activates Src family kinases Hck, Lyn, and c-Src through direct SH3 domain interaction. Journal of Biological Chemistry, 2006, **281**(37): 27029–27038
- [43] Alexandropoulos K, Baltimore D. Coordinate activation of c-Src by SH3- and SH2-binding sites on a novel p130Cas-related protein, Sin. Genes Dev, 1996, **10**(11): 1341–1355
- [44] Thomas J W, Ellis B, Boerner R J, *et al.* SH2- and SH3-mediated interactions between focal adhesion kinase and Src. J Biol Chem, 1998, **273**(1): 577–583
- [45] Boonyaratankornkit V, Scott M P, Ribon V, *et al.* Progesterone receptor contains a proline-rich motif that directly interacts with SH3 domains and activates c-Src family tyrosine kinases. Mol Cell, 2001, **8**(2): 269–280
- [46] Zarif J C, Lamb L E, Schulz V V, *et al.* Androgen receptor non-nuclear regulation of prostate cancer cell invasion mediated by Src and matriptase. Oncotarget, 2015, **6**(9): 6862–6876
- [47] Ralston R, Bishop J M. The product of the protooncogene c-src is modified during the cellular response to platelet-derived growth factor. Proc Natl Acad Sci USA, 1985, **82**(23): 7845–7849
- [48] Wei L, Yang Y, Zhang X, *et al.* Altered regulation of Src upon cell detachment protects human lung adenocarcinoma cells from anoikis. Oncogene, 2004, **23**(56): 9052–9061
- [49] Tice D A, Biscardi J S, Nickles A L, *et al.* Mechanism of biological synergy between cellular Src and epidermal growth factor receptor. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, **96**(4): 1415–1420
- [50] Muthuswamy S K, Siegel P M, Dankort D L, *et al.* Mammary tumors expressing the neu proto-oncogene possess elevated c-Src tyrosine kinase activity. Mol Cell Biol, 1994, **14**(1): 735–743
- [51] Tan M, Li P, Klos K S, *et al.* ErbB2 promotes Src synthesis and stability: novel mechanisms of Src activation that confer breast cancer metastasis. Cancer Res, 2005, **65**(5): 1858–1867
- [52] Zhan X, Plourde C, Hu X, *et al.* Association of fibroblast growth factor receptor-1 with c-Src correlates with association between c-Src and cortactin. J Biol Chem, 1994, **269**(32): 20221–20224
- [53] Sen B, Peng S, Saigal B, *et al.* Distinct interactions between c-Src and c-Met in mediating resistance to c-Src inhibition in head and neck cancer. Clin Cancer Res, 2011, **17**(3): 514–524
- [54] Dong L Q, Farris S, Christal J, *et al.* Site-directed mutagenesis and yeast two-hybrid studies of the insulin and insulin-like growth factor-1 receptors: the Src homology-2 domain-containing protein hGrb10 binds to the autophosphorylated tyrosine residues in the kinase domain of the insulin receptor. Mol Endocrinol, 1997, **11**(12): 1757–1765
- [55] Irby R B, Mao W, Coppola D, *et al.* Activating SRC mutation in a subset of advanced human colon cancers. Nat Genet, 1999, **21**(2): 187–190
- [56] Wang N M, Yeh K T, Tsai C H, *et al.* No evidence of correlation between mutation at codon 531 of src and the risk of colon cancer in Chinese. Cancer Lett, 2000, **150**(2): 201–204
- [57] Laghi L, Bianchi P, Orbetegli O, *et al.* Lack of mutation at codon 531 of SRC in advanced colorectal cancers from Italian patients. Br J Cancer, 2001, **84**(2): 196–198.
- [58] Tan Y X, Wang H T, Zhang P, *et al.* c-Src activating mutation analysis in Chinese patients with colorectal cancer. World J Gastroenterol, 2005, **11**(15): 2351–2353
- [59] Sugimura M, Kobayashi K, Sagae S, *et al.* Mutation of the SRC gene in endometrial carcinoma. Jpn J Cancer Res, 2000, **91** (4): 395–398
- [60] Kamei T, Machida K, Nimura Y, *et al.* c-Cbl protein in human cancer tissues is frequently tyrosine phosphorylated in a tumor-specific manner. International Journal of Oncology, 2000, **17** (2): 335–339
- [61] Yokouchi M, Kondo T, Sanjay A, *et al.* Src-catalyzed phosphorylation of c-Cbl leads to the interdependent ubiquitination of both proteins. J Biol Chem, 2001, **276**(37): 35185–35193
- [62] Sun V, Zhou W B, Nosrati M, *et al.* Antitumor activity of miR-1280 in melanoma by regulation of Src. Mol Ther, 2015, **23**(1): 71–78
- [63] Zhu S, Fujita D J, Wang J H. Inhibition of Lck: evidence for a novel natural Src family kinase inhibitor. J Enzyme Inhib Med Chem, 2012, **27**(4): 546–552

Regulation of Src Kinase Activity*

HU Rui¹⁾, ZHU Shu-Dong^{2)**}

¹⁾ Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha 410013, China;

²⁾ School of Life Sciences, Central South University & State Key Laboratory of Medical Genetics, Changsha 410013, China)

Abstract The tyrosine kinase Src is activated in a large number of human malignancies and plays significant roles in the development of cancers. Activation of Src in human cancers employs a variety of mechanisms mainly including covalent modification, allosteric regulation, gene mutation. Covalent modifications of Src mainly include phosphorylation and oxidization. Tyr530, Tyr419, Thr34, Thr46, Ser72, Tyr138 and Tyr213 are phosphorylation sites of Src, among which Tyr530 and Tyr419 are the most important ones. Allosteric regulations of Src involve its regulatory Src homology 3 (SH3) or SH2 domains, which interacts with allosteric regulators, such as FAK, PR, ER, AR, P130Cas, PDGF, PDGFR, EGFR, HER2, IGF-1R, FGFR-1, c-Met, p13, Nef and Sin. In this review, we summarize the key mechanisms regulating Src kinase activity in cancer cells.

Key words Src, protein kinase, regulation

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0033

* This work was supported by a grant from Hunan Provincial Recruitment Program(2015-ZSD).

**Corresponding author.

Tel: 86-82650460, E-mail: shudongzhu@csu.edu.cn

Received: March 7, 2016 Accepted: September 30, 2016