

·综述·

## SRC激酶调控肿瘤糖代谢的研究进展

龚玉雯, 王志平

(兰州大学第二医院泌尿外科//兰州大学第二医院泌尿外科研究所//甘肃省泌尿系统疾病研究重点实验室//甘肃省泌尿系统疾病临床医学中心, 甘肃 兰州, 730000)

**摘要:** SRC激酶是一种与膜相关的非受体酪氨酸激酶, 在细胞生长、分裂、迁移和存活信号通路中发挥着重要作用。此外, 它还通过不同机制调节癌细胞中的葡萄糖代谢, 如直接调节葡萄糖代谢相关酶和葡萄糖转运体, 或间接调节相关信号转导通路等。在这篇综述中, 我们阐明了SRC激酶在调控癌细胞葡萄糖代谢中的作用, 还讨论了以SRC为靶点的各种抑制剂的研究进展与存在问题, 探讨研发更高选择性和更高活性的SRC抑制剂, 使靶向SRC成为治疗肿瘤的新希望。

**关键词:** SRC激酶; 糖代谢; 沃伯格效应; 抑制剂; 肿瘤; 靶向治疗

**中图分类号:** R730

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1672-3554(2024)05-0755-09

**DOI:** 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).20240907.003

## Research Progress in Regulation of SRC Kinase on Tumor Glucose Metabolism

GONG Yuwen, WANG Zhiping

(Department of Urology, The Second Hospital of Lanzhou University//Institute of Urology, The Second Hospital of Lanzhou University//Key Laboratory of Urological Disease of Gansu Province//Gansu Province Clinical Research Center for Urinary System Disease, Lanzhou 730000, China)

Correspondence to: WANG Zhiping; E-mail: wangzplzu@163.com

**Abstract:** SRC kinase is a membrane-associated non-receptor tyrosine kinase that plays an important role in cell growth, division, migration and survival signaling pathways. In addition, it regulates glucose metabolism in cancer cells through different mechanisms, such as direct regulation of glucose metabolism-related enzymes and glucose transporters, or indirect regulation of related signaling pathways. In this review, we elucidate the role of SRC kinase in the regulation of glucose metabolism in cancer cells, and also discuss the research advance of SRC inhibitors, to explore the development of more selective and active SRC inhibitors, so as to make the targeting SRC become a new hope for the treatment of tumors.

**Key words:** SRC kinase; glucose metabolism; Warburg effect; inhibitor; tumor; targeted therapy

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2024, 45(5): 755-763]

## 1 引言

*v-Src* 基因被证明是致癌逆转录病毒 Rous 肉瘤病毒的转化元件, 而相对应的生物细胞内的

*c-Src* 基因是第一个被发现的原癌基因和癌基因, 编码的蛋白 SRC 激酶是一种在肿瘤细胞中广泛表达并参与多种生物学功能的癌蛋白<sup>[1]</sup>。SRC 激酶是一种非受体酪氨酸激酶, 是细胞信号传导的关键

收稿日期: 2024-06-01

录用日期: 2024-08-26

基金项目: 国家自然科学基金(8200101534, 82060459, 81672519)

作者简介: 龚玉雯, 第一作者, 研究方向: 泌尿系肿瘤基础和临床, E-mail: gongyw18@lzu.edu.cn; 王志平, 通信作者, 教授, E-mail: wangzplzu@163.com

调节因子,属于SRC激酶家族(SRC kinase family, SFKs)中被研究最多的蛋白,也是与人类疾病关系最密切的蛋白质,除了调控干细胞的维持和细胞分化,SRC还参与了与癌症干细胞(cancer stem cells, CSCs)相关的几项关键功能,如上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、自我更新和迁移等,表明SRC在发育过程中发挥着重要作用,此外,SRC还能调控肿瘤细胞的增殖、转移,血管生成,细胞黏附和能量代谢<sup>[2-4]</sup>。不仅如此,在许多实体恶性肿瘤中,髓系特异性SRC家族造血细胞激酶(HCK)在肿瘤基质中的高表达和活化也与患者的不良生存率相关。靶向SRC激酶家族的抑制剂可同时重塑免疫抑制性肿瘤微环境和促进细胞毒性免疫细胞活化,从而改善对免疫疗法的反应<sup>[5]</sup>。最新研究发现表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)活化通过增加SRC对免疫检查点蛋白CD47 Y288磷酸化诱导CD47的过度表达,从而逃避免疫<sup>[6]</sup>。由于其在肿瘤中的重要作用,多种SRC抑制剂正在进入临床试验阶段,并已显示出显著的治疗效果。(SRC主要参与通路见图1)

近年来,能量代谢的重排已被认为是癌症的标志之一<sup>[7]</sup>。葡萄糖代谢作为最主要的能量代谢之一,为许多细胞活动提供燃料和前体,在癌症的发生发展中发挥着重要的作用。葡萄糖通过糖酵解在胞浆内转化为丙酮酸,在常氧条件下,丙酮酸进一步被转运到线粒体,在那里经过氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS),通过三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)和电子传递链(electron transport chain, ETC)产生ATP。然而在缺氧状态下,细胞会利用无氧糖酵解,将丙酮酸转化为乳酸,以更快但效率更低的方式产生ATP。与正常细胞不同,癌细胞即使在有氧的情况下也主要依靠糖酵解产生能量,这被称为沃伯格效应(Warburg effect)或有氧糖酵解。有氧糖酵解是一种积极的代谢表型,因为它具有高速产生ATP的优势,并为细胞快速增殖提供中间代谢产物,参与氨基酸和脂肪酸等生物合成过程。调节葡萄糖代谢的最直接方法是影响其代谢酶及相关调控激酶。这意味着以糖代谢酶和信号通路为靶点可能是一种有效的癌症治疗策略。

目前有关SRC底物和受SRC调控的相关细胞事件的综述发表很多,而SRC与能量代谢的综

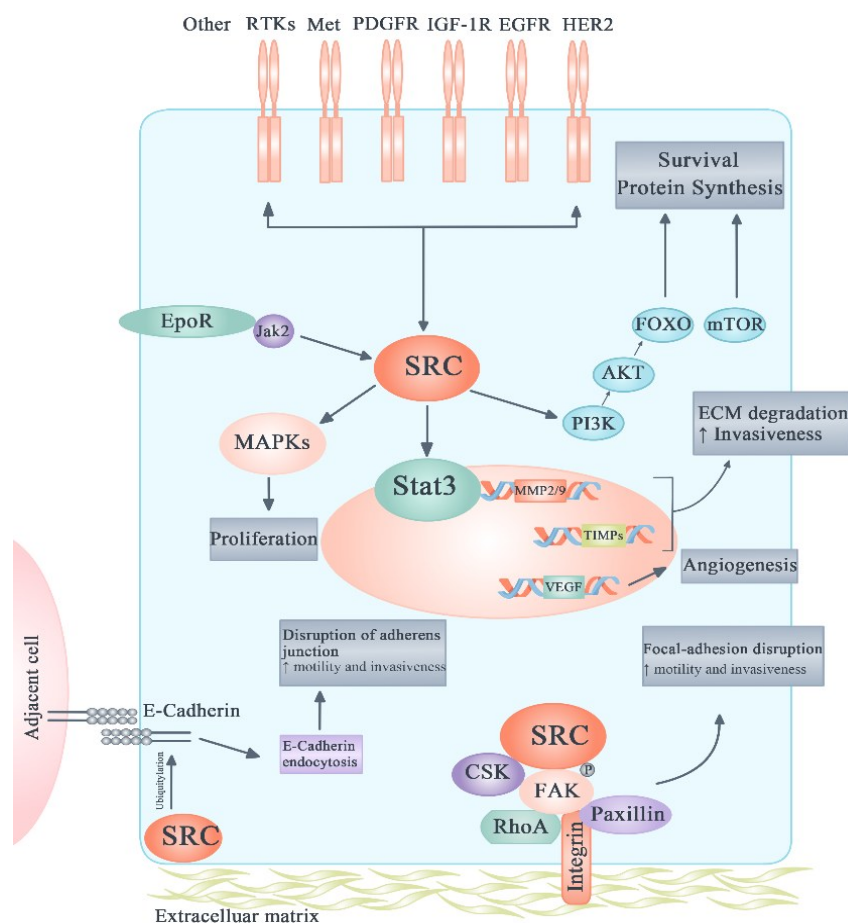
述在国内仍未有人发表,因此,本文主要总结了SRC调控糖代谢的机制,以阐明肿瘤代谢的复杂调控网络,为临床诊断和治疗提供更好的理论依据。

## 2 SRC结构与调控

SFKs通常由四个同源结构域(SH1 ~ SH4),各自不同的特殊结构域(UD)以及含有酪氨酸残基的碳端结构域(CT)组成。SH4区域(图2A,B),该区域包含膜定位的脂化位点(主要是肉豆蔻酰化位点);SH3结构域是结合脯氨酸富集区;SH2结构域结合磷酸酪氨酸序列;SH1结构域含有激酶活性位点,包含底物和ATP结合位点,以及自磷酸化位点(鸡SRC中为Tyr416,人SRC中为Tyr419),这个位点的磷酸化可以充分发挥激酶的催化活性;以及一个含有负性调控位点(鸡SRC中为Tyr527,人SRC中为Tyr530)的碳端结构域。

SRC有多种调控机制,这些机制都集中在两个酪氨酸磷酸化上Tyr416和Tyr527,位于SH1激活环内的Tyr416磷酸化可激活SRC,而位于碳端结构域的Tyr527磷酸化可抑制SRC激酶的活性。在静息细胞中,SRC保持非活性构象,SH2结构域与磷酸化的Tyr527发生分子内接触,以及SH3结构域与底物富脯氨酸区发生接触会导致组装或闭合状态(图2C)。尽管*v-Src*和*c-Src*所编码的蛋白被认为具有相同的底物,但是致癌的*v-Src*编码的SRC蛋白缺乏抑制性的Tyr527位点,会导致永久性激活和肿瘤转化,而*c-Src*编码的蛋白除非发生突变、过度表达或过度激活,否则不会发生肿瘤转化。

SRC的激活可以由胞外刺激通过整合素<sup>[8]</sup>、G蛋白偶联受体<sup>[9]</sup>、类固醇受体<sup>[10]</sup>和受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases, RTKs)<sup>[11]</sup>,如血小板生长因子受体(platelet-derived growth factor receptors, PDGFR)、表皮生长因子受体家族、成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptor, FGFR)、胰岛素样生长因子-1受体(insulin-like growth factor-1 receptor, IGF-1R)、c-Met、集落刺激因子-1受体(colony stimulating factor-1 receptor, CSF-1R)和干细胞因子受体(stem cell factor receptor, SCF-R)等介导。上述受体会竞争性地与SRC的SH2或SH3结构域结合,破坏分子



SRC exerts its effects on tumor cell behavior through a range of mechanisms mediated by interactions with various substrates and binding partners.

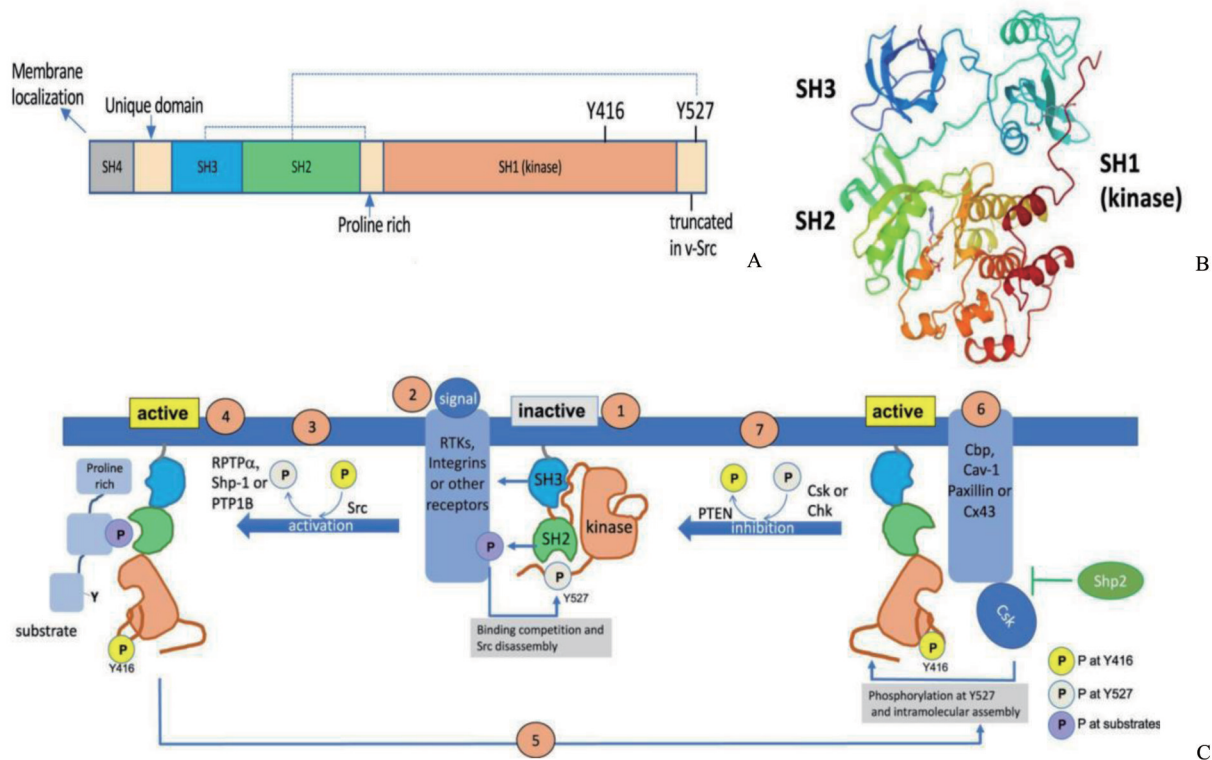
图1 SRC对肿瘤细胞行为的影响

Fig. 1 Effects of SRC on tumor-cell behavior

内的相互作用,从而激活 SRC 激酶。受体酪氨酸磷酸酶  $\alpha$  (PTPRA)、非受体酪氨酸磷酸酶 SHP-1 (PTPN6) 或 PTP1B 催化 SRC 激酶 Tyr416 自磷酸化和 Tyr527 去磷酸化使其发生解体,SH3 结构域与底物富脯氨酸区相互作用,以及 SH2 结构域与底物磷酸化酪氨酸位点相互作用,如此 SRC 变成开放构象,就能够对底物中的特定酪氨酸进行磷酸化<sup>[12]</sup> (图 2C)。

SRC 的抑制通常由 CSK 或 CSK 同源激酶使 SRC Tyr527 位点发生磷酸化,折叠 SH2 和碳端结构域使 SRC 发生折叠无法与靶蛋白结合,从而抑制 SRC 的活性<sup>[13-15]</sup>。此外,一些磷酸酶,如 PTEN 可使 SRC 的 Tyr416 位点去磷酸化,使 SRC 失活<sup>[16]</sup>。SRC 是一种膜结合蛋白,而 CSK 不包含膜结合的结构,需要膜锚定蛋白,如 CSK 结合蛋白或与糖鞘脂富集微域关联磷蛋白 (Cbp/PAG), CSK 与 Cbp/PAG

相互作用是 CSK 抑制 SRC 所必需的。有趣的是,其他膜相关蛋白,如 caveolin-1<sup>[17]</sup> 和 connexin43<sup>[18]</sup> 能够同时招募 CSK 和 SRC,从而抑制 SRC。Connexin43 可以与 PTEN 合作招募 CSK,这种合作机制可完全抑制 SRC<sup>[18]</sup>。在造血细胞中也发现了这种合作机制,CSK 与由 PTPN22 编码的磷酸酶相互作用,使 Lck 的 Tyr394 和 Fyn 的 Tyr417 (相当于 SRC 的 Tyr416) 去磷酸化,从而抑制 Lck 和 Fyn 的活性,同时抑制 CSK。此外,Cbp/PAG 的磷酸化有助于 CSK 的结合和活性。SHP-2 (PTPN-11) 通过消除 Cbp/PAG 的磷酸化从而抑制 CSK 的招募以及 SRC 的接触<sup>[19]</sup>。除此之外,如 SRC 中关键的半胱氨酸残基的氧化等其他机制,也会影响 SRC 活性的调节<sup>[20]</sup>。简而言之,SRC 活性的调控是一个复杂的过程,多个信号分子相互影响使 SRC 激酶构象发生动态转变。



A: The domain structure of SRC. Dashed lines indicate intramolecular contacts established in the inactive conformation. B: Three-dimensional structure of SRC (<https://www.rcsb.org/structure/1FMK>). C: Regulation of SRC activity. ① SRC in the inactive, “closed” or assembled conformation with intramolecular contacts of the SH2 domain with phosphorylated Tyr527 and the SH3 domain with the proline rich region. ② SRC is activated in response to a variety of signals; the activated receptors compete for binding to SRC SH2 or SH3 domains and disrupt SRC intramolecular interactions. ③ SRC is activated by autophosphorylation at Tyr416 and dephosphorylation at Tyr527, catalyzed by the receptor protein tyrosine phosphatase  $\alpha$  (PTPRA), the nonreceptor tyrosine phosphatase SHP-1 (PTPN6) or PTP1B. ④ SRC in the active “open” or disassembled conformation with phosphorylated Tyr416. SRC interacts with the SH3 and SH2 domain to the proline rich region and phosphotyrosine motif within the substrate for tyrosine phosphorylation. ⑤ Inhibition of SRC requires the binding of active SRC to CSK recruiting proteins (Cbp, Cav-1, Paxillin or Cx43). SHP-2 inhibits CSK recruitment. ⑥ CSK phosphorylates SRC at Tyr527 facilitating its intramolecular interaction with the SH2 domain. ⑦ Phosphatases, such as PTEN, remove phosphate at Tyr416 resulting in complete inactivation of SRC<sup>[12]</sup> (<https://www.nature.com/articles/s41388-022-02487-4>).

图2 SRC的结构与调控

Fig. 2 The structure and regulation of SRC

### 3 SRC与糖酵解

为了对葡萄糖代谢进行灵活微调,相关酶表现出多种适应性能力,如选择性组织表达、底物亲和性和特异性、可调控的酶动力学、亚细胞定位和转录后修饰。SRC对糖酵解影响的可靠证据在SRC研究史上很早就出现了。20世纪70年代的一系列开创性工作表明,由Rous肉瘤病毒转化细胞(即SRC激活的状态)可使糖酵解活性显著增加<sup>[21-22]</sup>,模拟了许多肿瘤中发现的代谢变化的表型。此后,人们发现SRC通过不同机制调节糖酵解,包括调节糖酵解转录因子(HIF-1 $\alpha$ <sup>[23]</sup>和MYC<sup>[24]</sup>),胰岛素

分泌<sup>[25]</sup>,磷酸化糖酵解相关酶(HK、PFKFB3、G6PD),以及对能量代谢和癌症的核心通路的调节,如PI3K-AKT-mTOR轴<sup>[26]</sup>和表皮生长因子受体<sup>[27]</sup>。接下来着重探讨SRC对糖酵解的直接调控。

#### 3.1 葡萄糖转运体

葡萄糖通过葡萄糖转运体(glucosetransporters, GLUTs)进入细胞,人类有14种同工酶<sup>[28]</sup>。GLUT-1和GLUT-3这两种同工酶与癌症最为相关,并且在癌症中经常过度表达<sup>[29]</sup>。GLUT-1是最普遍和最丰富的同工酶,GLUT-3是“神经”异构体,对葡萄糖的亲和力最高。早在20世纪80年代,研究显示v-Src转化的细胞有较高糖酵解率,并且与GLUT-1

mRNA 和蛋白质水平的增加有关。此外, SRC 可通过两种转录因子调节 GLUT 的表达: 在多形胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)中, SRC 可通过 HIF-1 $\alpha$  调节 GLUT-1 和 GLUT-3 的水平<sup>[30-31]</sup>, 在乳腺癌细胞中, 抑制 SRC 可降低 MYC 的表达导致 GLUT-1 mRNA 和蛋白水平下降<sup>[32]</sup>。

### 3.2 己糖激酶

细胞内的葡萄糖被己糖激酶(hexokinases, HKs)磷酸化为 6-磷酸葡萄糖(G6P, 滞留在细胞内), 这是糖酵解的第一个限速步骤。在功能上, SRC 可调节健康细胞和癌细胞中己糖激酶的表达和活性, 主要是 HK-1 和 HK-2<sup>[33]</sup>, 直到最近才有研究发现 SRC 可以直接激活 HK-1 和 HK-2, SRC 分别磷酸化 HK-1 的 Y732 和 HK-2 的 Y686 残基, 有效地刺激了它们的催化活性, 增强了糖酵解。在与肿瘤的关系方面, 作者使用不同的方法, 如突变 SRC 磷酸化 HK1, HK2 的位点, 以及在异种移植小鼠模型中沉默 HK1, 证明 SRC 通过对 HK 的激活促进肿瘤发生和转移<sup>[34]</sup>。在胰岛素分泌细胞中, 己糖激酶 IV 也被证明会随着 SRC 的下调而改变其活性和亚细胞定位<sup>[25]</sup>。

### 3.3 磷酸果糖激酶

葡萄糖磷酸化的产物 G6P 会异构生成 6-磷酸果糖(F6P), 而接下来是糖酵解途径的特定限速步骤, 磷酸果糖激酶-1(phosphofructokinase-1, PFK-1)将 F6P 不可逆地磷酸化为 1,6-二磷酸果糖(F-1,6-BP)。PFK-1 由一种 F6P 的衍生物果糖-2,6-二磷酸(F-2,6-BP)变构激活, 而 F-2,6-BP 由 6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-2,6-二磷酸酶(PFK-2 或 PFKFB)调控。在目前发现的四种 PFKFB 同工酶(称为 PFKFB1-4)中, PFKFB3 是最强的糖酵解诱导剂, 在许多癌症中发生上调<sup>[35]</sup>。耐人寻味的是, 35 年前就发现 PFKFB 的活性受 v-SRC 调节<sup>[36]</sup>, 尽管作者们注意到 PFKFB 可能被酪氨酸激酶(如 SRC)直接磷酸化, 但他们最终提出了一种涉及 PKC 和转录活性的间接机制<sup>[37]</sup>。最近, 验证了 HK 可被 SRC 磷酸化的团队再次发现了 PFKFB3 可被 SRC 激活, PFKFB 的 N 端结构域与 SRC 的 SH1 结构域相互作用, 使 PFKFB3 在 Tyr194 位点被 SRC 磷酸化。与基线(无活性 SRC)和 PFKFB3-Tyr194Phe 磷酸化缺陷细胞相比, Tyr194 的磷酸化致使细胞葡萄糖摄取、糖酵解和磷酸戊糖途径活性的增加。PFKFB3-Tyr194Phe 突变会影响

细胞的增殖、迁移和异种移植瘤的形成。此外, 在临床肿瘤样本中发现, 活性的(即磷酸化)PFKFB3 和 SRC 的水平呈正相关<sup>[38]</sup>。

### 3.4 丙酮酸激酶

丙酮酸激酶(pyruvate kinases, PKs), 顾名思义, 催化将磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)转化为丙酮酸。同其他糖酵解酶一样, PK 同工酶 PKM2(“肌肉”同工酶, 也在许多其他细胞类型中表达)在 20 世纪 80 年代被迅速鉴定为 SRC 底物, 但与大多数其他糖酵解酶不同的是, PKM2 被 v-SRC 磷酸化会使其活性降低, 对 PEP 的亲和力下降<sup>[39-40]</sup>。事实上, 健康细胞中的 PKM2 主要以四聚体形式存在, 这是 PKM2 的活性构象, 可将葡萄糖转化为丙酮酸, 通过线粒体氧化产生能量, 然而, 在癌细胞中, 大多数 PKM2 都是二聚体, 即所谓的“肿瘤”PKM2, 被肿瘤蛋白激酶(如 SRC)磷酸化表现出酶活性被抑制的状态, 从而将糖酵解中间产物分流到合成代谢, 以支持细胞快速增殖<sup>[41]</sup>。

### 3.5 乳酸脱氢酶

乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenases, LDHs)既能催化丙酮酸还原成乳酸(LDH 同工酶 A, LDHA), 又能催化乳酸氧化成丙酮酸(LDH 同工酶 B, LDHB)。LDH 以及烯醇化酶(enolase)(下文讨论)和磷酸甘油酸变位酶(phosphoglyceromutase)在 20 世纪 80 年代初被确定为 v-SRC 底物<sup>[42]</sup>。这些作者证实, 在小鸡胚胎细胞中, LDH 在 Tyr238 处被 SRC(RSV 感染)磷酸化, 但其功能影响仍有待探索。此外, 2017 年的一项研究发现, LDHA 被 SRC 和 HER2 在 Tyr10 处磷酸化, 使 LDHA 变成一种更活跃的四聚体构象, 为乳腺癌细胞提供抗失巢凋亡、促侵袭和转移的优势<sup>[43]</sup>。

### 3.6 其他糖酵解酶

还发现另外两种糖酵解酶是 SRC 底物, 即 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)和烯醇化酶。尽管 SRC 可使 GAPDH 在 Tyr41 处磷酸化, 这种修饰的结果与囊泡转运和 DNA 损伤反应有关<sup>[44]</sup>, 而尚未与糖酵解有关。至于烯醇化酶, 20 世纪 80 年代初, 两个不同的组报告了 v-SRC 对烯醇酶的磷酸化作用<sup>[42,45]</sup>, 以及这种修饰对酶动力学的轻微影响。尽管烯醇化酶在糖酵解和其他一些细胞过程(如组织重塑)中发挥着重要作用, 但大多数将烯醇化酶作为 SRC 底物的研究都与糖酵解无关。鉴于 GAPDH 和烯醇化酶的活性与肿瘤有一定的相关

性<sup>[46-47]</sup>,我们只能拭目以待, SRC 对它们的磷酸化是否以及如何影响它们在肿瘤生物学中的作用。

### 3.7 SRC与磷酸戊糖途径

G6P 的另一种代谢途径是磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway, PPP),也是糖酵解通路的一个分支。该途径分两个阶段:第一阶段是氧化阶段,产生烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH),可以清除活性氧(ROS)的积累,是细胞内重要的抗氧化剂;核糖-5-磷酸,用于核酸合成;4-磷酸赤藓糖,用于合成芳香族氨基酸;第二阶段是非氧化阶段,主要产生碳水化合物。因此 PPP 在生物合成中也发挥重要的作用。有研究表明,在乳腺癌中, G6PD 可形成 GSTP1-G6PD-SRC 复合物,并且在 Tyr 249/322 位点被 SRC 磷酸化,从而发挥其生物学功能<sup>[48]</sup>。Ma 等<sup>[49]</sup>发现, SRC 可使 G6PD Tyr112 发生磷酸化,诱发动力学变化,从而提高 G6PD 的催化活性和 PPP 通量,发现突变型 Tyr112Phe-G6PD 肠癌细胞移植瘤小鼠模型的肿瘤明显小于 G6PD 野生型小鼠,重要的是,在临床结直肠癌样本中,发现 SRC 和 G6PD 的表达和活性正相关。这些研究表明, SRC 能磷酸化 PPP 酶,从而提高 PPP 的活性,从而促进 DNA 复制导致肿瘤进展。

## 4 SRC抑制剂

由于 SRC 在癌症中的重要作用,人们在临床前模型中研究了多种 SRC 抑制剂,其中一些已成功应用于临床。其中, ATP 竞争性 SRC 抑制剂-达沙替尼(Dasatinib)、塞卡替尼(Saracatinib)或伯舒替尼(Bosutinib),在临床前模型和临床试验中得到了最广泛的研究,其中如达沙替尼,已被批准用于血液肿瘤<sup>[50]</sup>。这些抑制剂与 SRC 的 ATP 结合位点结合,而该位点在酪氨酸激酶中是高度保守的。尽管在临床前模型中取得了良好的效果,但这些 SRC 抑制剂单独或联合使用的临床试验结果令人沮丧。最近的一项研究揭示了 ATP 竞争性抑制剂会产生耐药<sup>[51]</sup>, ATP 竞争性抑制剂(即经典的 SRC 抑制剂)与 SRC 的结合会使 SRC 解体为开放状态,从而使 SRC 更倾向于与底物形成复合物,如果抑制剂浓度降低或细胞发生耐药突变, SRC 底物就会很容易被 SRC 磷酸化、从而激活下游通路。因此,为了防止经典 SRC 抑制剂无法很好的维持 SRC 自身抑制的

状态, Temps 等<sup>[52]</sup>开发出了新的 SRC 抑制剂 eCF506,可结合并锁定 SRC 的非活性构象。优点是抑制了底物与 SRC 中 SH3 和 SH2 结构域的结合,抑制了激酶活性<sup>[53]</sup>。研究发现, eCF506 在降低 SRC 活性的同时,也抑制了 SRC 结合蛋白黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)的磷酸化,这恰恰与 ATP 竞争性 SRC 抑制剂能促进 FAK 与 SRC 结合,并使 FAK 磷酸化的结果截然相反<sup>[51-52]</sup>。

在开发 SRC 抑制剂的过程中,也出现了新策略。例如,靶向肽底物结合位点,而不是 SRC 激酶结构域内的 ATP 结合位点。潜在的优势包括:由于多肽底物位点的独特序列,从而具有更高的激酶抑制选择性,以及更强的结合效力。抑制剂无须与细胞内 mM 浓度的 ATP 竞争,因此结合效力更高<sup>[54]</sup>。事实上, SRC 抑制剂 KX2-391 和 KX2-361 以 nM 效价靶向肽底物位点,在酪氨酸激酶中具有选择性。这些多肽底物竞争性 SRC 抑制剂在治疗对常规疗法难治的晚期恶性肿瘤(KX2-361; <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02326441>)和局部治疗光化性角化病(KX2-391; <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02838628>)的临床试验中取得了进展。

设计 SRC 抑制剂的另一种方法是重现细胞内抑制 SRC 的机制。如前所述,一些蛋白质(如 CBP 或 Cx43)会将 SRC 与其内源性抑制剂一起招募,从而导致 SRC 被抑制。Cx43 拟态肽 TAT-Cx43<sub>266-283</sub>可作为 SRC、CSK 和 PTEN 的对接平台,从而抑制 SRC 的活性<sup>[18]</sup>。TAT-Cx43<sub>266-283</sub>在多个胶质母细胞瘤的体外,体内模型实验中(包括患者新鲜切除的手术标本)通过抑制 SRC 的活性发挥重要的抗肿瘤作用<sup>[53,55]</sup>。TAT-Cx43<sub>266-283</sub>可抑制肿瘤细胞的增殖、存活、迁移、侵袭、代谢可塑性和自噬,从而提高患 GBM 小鼠的存活率<sup>[30,56]</sup>。SRC 抑制剂 TAT-Cx43<sub>266-283</sub>的一大优点是,它对胶质瘤干细胞亚群具有特异性作用,而对健康脑细胞没有影响,考虑这种特异性可能取决于每种细胞类型中的 SRC 活性水平,因为 TAT-Cx43<sub>266-283</sub>会招募开放且活性构象的 SRC,并且 TAT-Cx43<sub>266-283</sub>对神经元和星形胶质细胞的毒性远低于 ATP 竞争性 SRC 抑制剂 Dasatinib<sup>[56]</sup>。此外, TAT-Cx43<sub>266-283</sub>招募 SRC 后,促进了 SRC 从开放构象向封闭构象的转变,降低了 SRC 活性,同时 FAK 磷酸化也被抑制,说明 TAT-Cx43<sub>266-283</sub>不仅影响 SRC 的活性,也影响其结构<sup>[53]</sup>。

我们对SRC抑制剂进行的研究中得出一个重要结论,因SRC介导的通路既可以发挥主导也可以与其他通路共同作用相互影响,所以即使用相同的抑制剂抑制SRC活性时,也会影响不同细胞中的不同信号通路,抑制SRC的效果最终将取决于每种细胞中SRC互作蛋白的水平和活性。因此,每种SRC抑制剂在不同肿瘤模型中,对SRC相关的信号通路(FAK、Akt、表皮生长因子受体、Erk、Stat等)和细胞过程(增殖、存活、迁移、侵袭、干性和代谢)的影响仍需深入研究。由于近些年研究表明能量代谢的可塑性与耐药性有关<sup>[57]</sup>,并且肿瘤细胞与其微环境之间存在着密切的代谢合作关系,研究SRC抑制剂对肿瘤细胞以及微环境细胞中不同代谢途径的影响,将提高实体瘤患者从SRC抑制剂中获得临床益处的可能性。

## 5 讨论与展望

过去几年进行的大量研究表明,许多参与葡萄糖摄取、糖酵解、PPP的关键酶是SRC底物,与SRC相互作用的糖代谢的关键代谢酶,如HK1、HK2、PFKFB3或G6PDH等在特定SRC磷酸化位点的突变可减少SRC诱发的肿瘤进展。因此,抑制SRC活性会影响癌细胞的葡萄糖代谢,同时减少肿瘤的进展。此外,一些新的研究显示,SRC在葡萄糖之外

的其他几种生物大分子的代谢中也发挥作用,包括脂质<sup>[58]</sup>和氨基酸<sup>[59]</sup>。总之,这些数据清楚地表明,SRC对细胞能量代谢的影响是其致癌作用的原因之一。

在许多肿瘤中发现的SRC酶活性增加,所以深入研究SRC抑制剂对癌细胞代谢以及肿瘤微环境细胞代谢的影响,将有助于阐明SRC抑制剂在临床应用中的潜在益处、副作用或抗药性机制。鉴于人工智能在蛋白质结构预测方面的准确性<sup>[60]</sup>,一旦这种计算工具在预测相互作用亲和力和小肽、无序区和特定氨基酸突变的结构方面达到同样的基准,就有望加快特异性SRC抑制剂的研发速度。

尽管SRC对能量代谢的影响早在多年前就已发现,但仍有几个问题仍待解决:不同信号激活SRC时,如何影响不同细胞的不同的代谢过程?不同的SRC互作蛋白是否会对SRC结构产生不同影响,以适应特定底物?在能量代谢的调节中SRC如何与其他调节能量代谢的蛋白相互协调(如AMPK或mTOR)?

简而言之,SRC可调节葡萄糖代谢,为各种信号通路和细胞行为提供动力、包括在肿瘤进展过程中调整每种细胞活动所需的细胞代谢。因此,与其他著名的信号分子(包括AKT、AMPK、mTOR)一样,SRC可被视为葡萄糖代谢的主要调节蛋白,调节不同癌细胞生物过程与代谢的动态变化。

### 参考文献

- [1] Martin GS. The hunting of the Src[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2001, 2(6): 467-475.
- [2] Villalobo A. Ca<sup>2+</sup> signaling and src functions in tumor cells [J]. Biomolecules, 2023, 13(12):1739.
- [3] Raji L, Tetteh A, Amin A. Role of c-Src in carcinogenesis and drug resistance[J]. Cancers, 2023, 16(1):32.
- [4] Ortiz MA, Mikhailova T, Li X, et al. Src family kinases, adaptor proteins and the actin cytoskeleton in epithelial-to-mesenchymal transition [J]. Cell Commun Signal, 2021, 19(1): 67.
- [5] Poh AR, Love CG, Chisanga D. Therapeutic inhibition of the SRC-kinase HCK facilitates T cell tumor infiltration and improves response to immunotherapy [J]. Sci Adv, 2022, 8(25): eabl7882.
- [6] Du L, Su Z, Wang S, et al. EGFR-Induced and c-Src-Mediated CD47 phosphorylation inhibits TRIM21-dependent polyubiquitylation and degradation of CD47 to promote tumor immune evasion [J]. Adv Sci (Weinh), 2023, 10(27): e2206380.
- [7] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674.
- [8] Ma H, Wang J, Zhao X, et al. Periostin promotes colorectal tumorigenesis through integrin-FAK-Src pathway-mediated YAP/TAZ activation [J]. Cell Rep, 2020, 30(3): 793-806. e796.
- [9] Moody TW, Ramos-Alvarez I, Jensen RT. Peptide G-protein-coupled receptors and ErbB receptor tyrosine kinases in cancer [J]. Biology, 2023, 12(7):957.
- [10] Shupnik MA. Crosstalk between steroid receptors and the c-Src-receptor tyrosine kinase pathways: implications for cell proliferation[J]. Oncogene, 2004, 23(48): 7979-7989.
- [11] Bromann PA, Korkaya H, Courtneidge SA. The interplay

- between Src family kinases and receptor tyrosine kinases [J]. *Oncogene*, 2004, 23(48): 7957–7968.
- [12] Pelaz SG, Tabernero A. Src: coordinating metabolism in cancer [J]. *Oncogene*, 2022, 41(45): 4917–4928.
- [13] Boggon TJ, Eck MJ. Structure and regulation of Src family kinases [J]. *Oncogene*, 2004, 23(48): 7918–7927.
- [14] Chüeh AC, Advani G. CSK-homologous kinase (CHK/MATK) is a potential colorectal cancer tumour suppressor gene epigenetically silenced by promoter methylation [J]. *Oncogene*, 2021, 40(17): 3015–3029.
- [15] Ishizawa RC, Tice DA, Karaoli T, et al. The C terminus of c-Src inhibits breast tumor cell growth by a kinase-independent mechanism [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(22): 23773–23781.
- [16] Dey N, Crosswell HE, De P, et al. The protein phosphatase activity of PTEN regulates SRC family kinases and controls glioma migration [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(6): 1862–1871.
- [17] Place AT, Chen Z, Bakhshi FR, et al. Cooperative role of caveolin-1 and C-terminal Src kinase binding protein in C-terminal Src kinase-mediated negative regulation of c-Src [J]. *Mol Pharmacol*, 2011, 80(4): 665–672.
- [18] González-Sánchez A, Jaraíz-Rodríguez M, Domínguez-Prieto M, et al. Connexin43 recruits PTEN and Csk to inhibit c-Src activity in glioma cells and astrocytes [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(31): 49819–49833.
- [19] Zhang SQ, Yang W, Kontaridis MI, et al. Shp2 regulates SRC family kinase activity and Ras/Erk activation by controlling Csk recruitment [J]. *Mol cell*, 2004, 13(3): 341–355.
- [20] Heppner DE, Dustin CM, Liao C, et al. Direct cysteine sulfenylation drives activation of the Src kinase [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4522.
- [21] Martin GS, Venuta S, Weber M, et al. Temperature-dependent alterations in sugar transport in cells infected by a temperature-sensitive mutant of Rous sarcoma virus [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1971, 68(11): 2739–2741.
- [22] Beug H, Claviez M, Jockusch BM, et al. Differential expression of Rous sarcoma virus-specific transformation parameters in enucleated cells [J]. *Cell*, 1978, 14(4): 843–856.
- [23] Gao L, Xu QH, Ma LN, et al. Trophoblast-derived lactic acid orchestrates decidual macrophage differentiation via SRC/LDHA signaling in early pregnancy [J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(2): 599–616.
- [24] Dong R, Wang T, Dong W, et al. Inhibition of PTPRE suppresses tumor progression and improves sorafenib response in hepatocellular carcinoma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 173: 116366.
- [25] Sato H, Nagashima K, Ogura M, et al. Src regulates insulin secretion and glucose metabolism by influencing subcellular localization of glucokinase in pancreatic  $\beta$ -cells [J]. *J Diabetes Investig*, 2016, 7(2): 171–178.
- [26] Magaway C, Kim E, Jacinto E. Targeting mTOR and metabolism in cancer: lessons and innovations [J]. *Cells*, 2019, 8(12): 1584.
- [27] Sigismund S, Avanzato D, Lanzetti L. Emerging functions of the EGFR in cancer [J]. *Mol Oncol*, 2018, 12(1): 3–20.
- [28] Thorens B, Mueckler M. Glucose transporters in the 21st century [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 298(2): E141–145.
- [29] Ancey PB, Contat C, Meylan E. Glucose transporters in cancer – from tumor cells to the tumor microenvironment [J]. *FEBS J*, 2018, 285(16): 2926–2943.
- [30] Pelaz SG, Jaraíz-Rodríguez M, Ivarez-Vázquez A, et al. Targeting metabolic plasticity in glioma stem cells in vitro and in vivo through specific inhibition of c-Src by TAT-Cx43 (266–283) [J]. *EBioMedicine*, 2020, 62: 103134.
- [31] Valle-Casuso JC, González-Sánchez A, Medina JM, et al. HIF-1 and c-Src mediate increased glucose uptake induced by endothelin-1 and connexin43 in astrocytes [J]. *PLoS one*, 2012, 7(2): e32448.
- [32] Jain S, Wang X, Chang CC, et al. Src Inhibition Blocks c-Myc Translation and Glucose Metabolism to Prevent the Development of Breast Cancer [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(22): 4863–4875.
- [33] Mayoral-Varo V, Calcabrini A, Sánchez-Bailón MP, et al. c-Src functionality controls self-renewal and glucose metabolism in MCF7 breast cancer stem cells [J]. *PLoS One*, 2020, 15(7): e0235850.
- [34] Zhang J, Wang S, Jiang B, et al. c-Src phosphorylation and activation of hexokinase promotes tumorigenesis and metastasis [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 13732.
- [35] Shi L, Pan H, Liu Z, et al. Roles of PFKFB3 in cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2017, 2: 17044.
- [36] Bosca L, Mojena M, Ghysdael J, et al. Expression of the v-src or v-fps oncogene increases fructose 2,6-bisphosphate in chick-embryo fibroblasts. Novel mechanism for the stimulation of glycolysis by retroviruses [J]. *Biochem J*, 1986, 236(2): 595–599.
- [37] Marchand MJ, Maisin L, Hue L, et al. Activation of 6-phosphofructo-2-kinase by pp60v-src is an indirect effect [J]. *Biochem J*, 1992, 285(Pt 2) (Pt 2): 413–417.
- [38] Huanhuan M, Jia Z, Qinxin L, et al. c-Src promotes tumorigenesis and tumor progression by activating PFKFB3 [J]. *Cell Rep*, 2020, 30(12): 4235–4249.
- [39] Glossmann H, Presek P, Eigenbrodt E. Association of the

- src-gene product of Rous sarcoma virus with a pyruvate-kinase inactivation factor[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 1981, 23(1): 49-63.
- [40] Presek P, Reinacher M, Eigenbrodt E. Pyruvate kinase type M2 is phosphorylated at tyrosine residues in cells transformed by Rous sarcoma virus [J]. *FEBS Lett*, 1988, 242(1): 194-198.
- [41] Zhou Z, Li M, Zhang L, et al. Oncogenic kinase-induced PKM2 tyrosine 105 phosphorylation converts nononcogenic PKM2 to a tumor promoter and induces cancer stem-like cells [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(9): 2248-2261.
- [42] Cooper JA, Esch FS, Taylor SS, et al. Phosphorylation sites in enolase and lactate dehydrogenase utilized by tyrosine protein kinases in vivo and in vitro [J]. *J Biol Chem*, 1984, 259(12): 7835-7841.
- [43] Jin L, Chun J, Pan C, et al. Phosphorylation-mediated activation of LDHA promotes cancer cell invasion and tumour metastasis[J]. *Oncogene*, 2017, 36(27): 3797-3806.
- [44] Ci S, Xia W, Liang W, et al. Src-mediated phosphorylation of GAPDH regulates its nuclear localization and cellular response to DNA damage [J]. *FASEB J*, 2020, 34(8): 10443-10461.
- [45] Eigenbrodt E, Fister P, Rübsamen H, et al. Influence of transformation by Rous sarcoma virus on the amount, phosphorylation and enzyme kinetic properties of enolase [J]. *EMBO J*, 1983, 2(9): 1565-1570.
- [46] Almaguel FA, Sanchez TW, Ortiz-Hernandez GL, et al. Alpha-enolase: emerging tumor-associated antigen, cancer biomarker, and oncotherapeutic target [J]. *Front Genet*, 2020, 11: 614726.
- [47] Li HJ, Ke FY, Lin CC, et al. ENO1 promotes lung cancer metastasis via HGFR and WNT signaling-driven epithelial-to-mesenchymal transition [J]. *Cancer Res*, 2021, 81(15): 4094-4109.
- [48] Sun Y, He Q, Li J, et al. A GSTP1-mediated lactic acid signaling promotes tumorigenesis through the PPP oxidative branch [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(7): 463.
- [49] Ma H, Zhang F, Zhou L, et al. c-Src facilitates tumorigenesis by phosphorylating and activating G6PD [J]. *Oncogene*, 2021, 40(14): 2567-2580.
- [50] Martellucci S, Clementi L, Sabetta S, et al. Src family kinases as therapeutic targets in advanced solid tumors: what we have learned so far [J]. *Cancers*, 2020, 12(6): 1448.
- [51] Higuchi M, Ishiyama K, Maruoka M, et al. Paradoxical activation of c-Src as a drug-resistant mechanism [J]. *Cell Rep*, 2021, 34(12): 108876.
- [52] Temps C, Lietha D, Webb ER, et al. A conformation selective mode of inhibiting src improves drug efficacy and tolerability [J]. *Cancer Res*, 2021, 81(21): 5438-5450.
- [53] Jaraíz-Rodríguez M, Tabernero MD, González-Tablas M, et al. A short region of connexin43 reduces human glioma stem cell migration, invasion, and survival through Src, PTEN, and FAK [J]. *Stem cell reports*, 2017, 9(2): 451-463.
- [54] Smolinski MP, Bu Y, Clements J, et al. Discovery of novel dual mechanism of action Src signaling and tubulin polymerization inhibitors (KX2-391 and KX2-361) [J]. *J Med Chem*, 2018, 61(11): 4704-4719.
- [55] Gangoso E, Thirant C, Chneiweiss H, et al. A cell-penetrating peptide based on the interaction between c-Src and connexin43 reverses glioma stem cell phenotype [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(1): e1023.
- [56] Jaraíz-Rodríguez M, Talaverón R, García-Vicente L, et al. Connexin43 peptide, TAT-Cx43266-283, selectively targets glioma cells, impairs malignant growth, and enhances survival in mouse models in vivo [J]. *Neuro Oncol*, 2020, 22(4): 493-504.
- [57] Muir A, Vander Heiden MG. The nutrient environment affects therapy [J]. *Science*, 2018, 360(6392): 962-963.
- [58] Song L, Liu Z, Hu HH, et al. Proto-oncogene Src links lipogenesis via lipin-1 to breast cancer malignancy [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5842.
- [59] Tian Q, Yuan P, Quan C, et al. Phosphorylation of BCKDK of BCAA catabolism at Y246 by Src promotes metastasis of colorectal cancer [J]. *Oncogene*, 2020, 39(20): 3980-3996.
- [60] Jumper J, Evans R, Pritzel A, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold [J]. *Nature*, 2021, 596(7873): 583-589.

(编辑 孙慧兰)