

综述

酪氨酸激酶Fyn的生物学特性及其在肿瘤发生发展中的作用

李昂¹ 浦昕元¹ 姜语¹ 张海辉¹ 黄建¹ 许伟榕^{2*}¹上海交通大学医学院生物化学与分子细胞生物学系, 上海 200025;²上海交通大学医学院基础医学实验教学中心, 上海 200025)

摘要 酪氨酸激酶Fyn是Src家族激酶的成员之一, 其持续活化被认为与肿瘤细胞的代谢、增殖和迁移有密切的联系。Fyn在肿瘤的发生发展中起着重要的调控作用。该文从结构特征、相关信号通路及基本生理功能等方面阐述了Fyn的生物学特性, 总结了近年来围绕Fyn展开的研究, 重点归纳了Fyn在脑胶质瘤、血液系统肿瘤、胰腺癌等肿瘤中发挥的促癌作用, 并在此基础上提出了肿瘤靶向治疗可能的研究方向。

关键词 Fyn; Src家族激酶; 整合素; 肿瘤

Biological Characteristics of Tyrosine Kinase Fyn and Its Function in Tumorigenesis and Tumor Progression

LI Ang¹, PU Xinyuan¹, JIANG Yu¹, ZHANG Haihui¹, HUANG Jian¹, XU Weirong^{2*}

¹Department of Biochemistry and Molecular Cell Biology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; ²Center for Laboratory Instruction in Basic Medicine, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract Fyn kinase, a member of SFKs (Src family kinases), may be closely related to metabolism, proliferation and migration of tumor cells, functioning as an important regulator in tumorigenesis. In this review, the fundamental properties, the related signal pathway and the basic physiological functions of Fyn are discussed to illuminate the molecular characteristics of Fyn. Furthermore, current research progress of Fyn and its promoting effects in the oncogenesis of glioma, hematologic neoplasms, and pancreatic neoplasms are specially summarized. Based on that, this review proposes the directions for the subsequent study of tumor targeted therapy.

Keywords Fyn; Src family kinases; integrin; tumor

Src家族激酶是一类由Src家族基因编码的非受体型蛋白酪氨酸激酶。Src家族激酶目前被广泛认为和肿瘤发生的分子机制密切相关, 作为一类由脊

椎动物原癌基因编码的蛋白, Src家族激酶的持续活化被认为是其促进肿瘤发生与发展的主要原因。目前研究表明, Src家族中总共有11个成员, 包括在所

收稿日期: 2021-10-18

接受日期: 2021-12-09

国家自然科学基金(批准号: 82073043)和上海交通大学医学院临床医学八年制RBL项目/第十四届大学生创新性实验项目(批准号: 1420Y008)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13917140400, E-mail: xu_weirong@163.com

Received: October 18, 2021 Accepted: December 9, 2021

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82073043) and Eight-Year Clinical Medicine RBL Program/the 14th Innovative Practice Program for Undergraduates of Shanghai Jiao Tong University School of Medicine (Grant No.1420Y008)

*Corresponding author. Tel: +86-13917140400, E-mail: xu_weirong@163.com

有类型细胞中均广泛表达的Src、Fyn和Yes, 主要在造血细胞中表达的Blk、Fgr、Hck、Lck和Lyn, 在角质形成细胞中表达的Srm, 在膀胱、大脑、乳房和淋巴细胞中表达的Frk, 以及主要在小肠、前列腺和结肠癌细胞中表达的Brk^[1]。整体上, 除少数蛋白的表达有较强的组织特异性外, 多数Src家族激酶在人体细胞内的表达较为广泛。Src家族激酶各类蛋白构型相似、功能域相同, 共同接受体内各类活化信号而被激活, 进而促进增殖信号的转导。

酪氨酸激酶Fyn作为Src家族的重要成员之一, 近年来受到了广泛关注, 其不仅能够调控细胞的生长与凋亡还可调节细胞运动性、侵袭性等, 与各类肿瘤的发生、形成也具有密切的联系。本文就Fyn激酶的基本结构与功能, 以及由诸如整合素、受体型酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)等参与的Fyn的活化信号通路进行了阐述, 总结了酪氨酸激酶Fyn在脑胶质瘤、血液系统肿瘤、胰腺癌等肿瘤发生中的作用, 并在此基础上提出了今后关于肿瘤靶向治疗的可能的研究方向。

1 酪氨酸激酶Fyn的基本特征

1.1 Fyn激酶的分子结构

Fyn是一种分子量为59 kDa的蛋白质, 其编码基因位于染色体6q21^[2]。

Fyn作为Src家族的成员之一, 由Src同源结构域(Src homology, SH)组成。Fyn的结构成分从N-端开

始依次为SH4膜靶向区域(SH4 membrane-targeting region)、独特结构域(unique domain)、SH3结构域、SH2结构域、SH1激酶结构域, 以及C-端的调控片段^[3-5]。其中SH4至SH2为保守区域(图1)。

Fyn蛋白主要定位于细胞膜内侧的细胞质小叶(cytoplasmic leaflet), 其N-端第2位甘氨酸残基(Gly2)的肉豆蔻酰化和第3、6位半胱氨酸残基(Cyst3/Cyst6)的棕榈酰化使Fyn附着在质膜和脂筏上, 并使Fyn蛋白磷酸化多种信号通路的关键靶蛋白的特异酪氨酸残基^[6-7]。

目前发现除了野生型, Fyn还有3种mRNA剪接异构体, 分别被称为Fyn-B、Fyn-T、Fyn-C(图2)。剪接变异发生于第7号外显子, 3种亚型中Fyn-B含有7A外显子(168 bp), Fyn-T含有7B外显子(159 bp), 而Fyn-C则缺失第7外显子, 也被称为Fyn Δ 7。3种亚型在大多数组织细胞中均有表达, 但Fyn-B在脑组织中高表达, 而Fyn-T在T淋巴细胞中高表达, 且在成熟T细胞中的表达水平明显高于未成熟T细胞, 两者在SH2结构域的末端和SH1结构域的起始端有大约50个氨基酸的差异, 提示了两种亚型功能的一些差异, 比如Fyn-T具有比Fyn-B更强的动员细胞质中钙离子的能力^[8]。

第7号外显子的C-端部分包含了Fyn蛋白的ATP结合位点, 因此缺失ATP结合位点的Fyn-C没有激酶活性。尽管有研究尝试给出Fyn-C蛋白在人体中存在的确凿证据, 但最终都无法确定它的存在。GOLDSMITH等^[9]做的体外表达Fyn-C蛋白的研究表

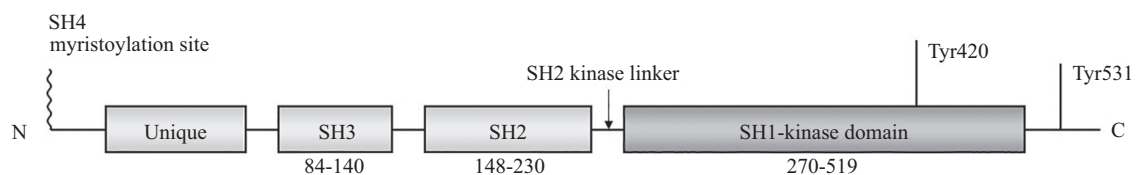
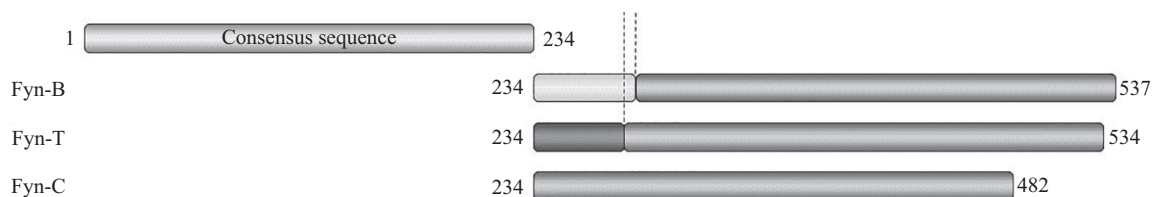


图1 酪氨酸激酶Fyn的分子结构(根据参考文献[5]修改)

Fig.1 Molecular structure of Fyn kinase (modified from the reference [5])



虚线是指该处为第284、287位氨基酸。

The dotted line refers to amino acid number 284 and 287.

图2 酪氨酸激酶Fyn的剪接变体[参考UniProt数据库: KB-P06241(FYN_HUMAN)]

Fig.2 Splice variants of Fyn kinase [refer to UniProt database: KB-P06241 (FYN_HUMAN)]

明,即使Fyn-C能在人体细胞中表达,它的表达量也只有其他Fyn蛋白的十分之一。

1.2 Fyn的活化及相关信号通路

Fyn的SH2结构域可识别并结合大多数pYEEI蛋白序列,而SH3结构域可识别并结合PXXP样蛋白序列,SH2与SH3有自己独特的配体,但有的配体需既与SH2结合又与SH3结合才可发挥作用^[10-11]。SH2或(和)SH3与配体的结合可使Fyn的抑制性位点Tyr531去磷酸化,破坏Fyn稳定的非活性结构,进而使Fyn活化^[12]。活化后Fyn的Tyr420位点发生自磷酸化,从而维持Fyn活化结构的稳定^[13]。

作为非受体型酪氨酸磷酸酶,Fyn在经典途径中的活化不依赖胞外刺激,而是由RTK、整合素等位于细胞膜上的受体所介导,活化后的Fyn可以再通过多条通路控制细胞功能^[14]。整合素是一种广泛存在于细胞膜表面的跨膜蛋白,可以与多种胞外配体结合,向胞内传递信号,招募Fyn的配体或直接招募Fyn,从而介导Fyn参与的多种信号通路,进而对细胞的形态、运动和增殖等功能进行调节。在整合素介导的SFK-FAK信号通路中,整合素将FAK招募至自身的 β 亚基上,随后FAK与Fyn等Src家族激酶结合形成SFK-FAK复合物,导致FAK Y397位点自磷酸化,自磷酸化后的FAK还可进一步被多种磷酸化过程活化,调控细胞肌动蛋白的形成和黏附,在细胞的形态和运动方面发挥调控作用^[5,15-16]。某些整合素还可以参与ERK/MAPK信号通路,此时整合素的 α 亚基发挥作用。构成细胞膜上小窝(caveolae)结构的小窝蛋白-1(caveolin-1)也参与了该通路,其作为信号转导过程的接头蛋白(signal transducing adaptor proteins)招募Fyn,Fyn则通过SH3结构域与Shc结合并使其Tyr317位点磷酸化,形成活化的SFK-Shc复合物,该复合物可通过Ras激活ERK/MAPK信号通路,使得G₁期加快,从而调控细胞的活动及增殖^[17]。整合素 $\alpha_v\beta_3$ 还可以与RPTP α 一起,在感受到细胞刚性(rigidity)形变后,在细胞前缘形成刚性反应复合物(rigidity-responsive complex),招募并磷酸化Fyn,使之进一步磷酸化p130Cas蛋白,介导细胞发生刚性反应(rigidity response)^[18-19]。

RTK是一类广泛存在于细胞表面的蛋白家族。作为细胞膜上的受体,RTK可以接受细胞外的信号,并介导多条信号通路,进而调控细胞的增殖、分化、新陈代谢和迁移等重要功能^[20]。RTK在活化后会招

募和活化含SH2或PTB结构域的下游信号分子,Fyn作为含有SH2结构域分子,可以被RTK招募和活化。被活化的Fyn可以参与PI3K/Akt信号通路,磷酸化PIKE-A,防止其裂解,使其与Akt结合并且增强其活性,被招募到细胞膜上的Akt被mTORC2活化,随后向胞质和细胞核迁移,调控细胞的存活、生长和增殖^[21-22]。值得注意的是,SH2结构域仅与酪氨酸磷酸化的受体结合,所以RTK接收的信号向Fyn的转导与RTK的磷酸化水平有重要关系^[20,23]。PTP α 作为一种广泛存在的蛋白酪氨酸磷酸酶,能在促进某些RTK去磷酸化的同时活化Fyn,促进下游ERK信号通路的转导^[24]。间充质-上皮细胞转化酪氨酸激酶受体(mesenchymal-epithelial transition tyrosine kinase receptor)是RTK家族的一员,其天然配体为肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)^[25]。HGF与MET结合后活化,可招募包括Fyn在内的Src家族激酶,被招募的Fyn通过磷酸化FAK使其活化,进而参与细胞的迁移,并促进细胞的锚定非依赖性生长(anchorage-independent growth)^[26](图3)。

2 Fyn的生物学功能

2.1 Fyn与细胞生长、凋亡

与其他Src家族激酶一样,Fyn的表达下调与细胞生长抑制有关。通过酶失活型Fyn(KD-Fyn)竞争性抑制内源性Fyn可以反向证明,内源性Fyn可促进小鼠鳞癌模型中原发肿瘤的生长^[27]。PI3K/Akt通路常与癌细胞生长有关,Fyn和其他SFKs可诱导激活Akt通路的抗凋亡活性。Fyn与Src和Yes的共同下调,会导致EGF的失活从而抑制Akt的活性^[28]。Fyn已被证明可在HeLa细胞中发生磷酸化并阻止磷脂酰肌醇3-激酶增强子(phosphatidylinositol-3-kinase enhancer-activating Akt, PIKE-A)的活化,从而抑制凋亡。Fyn的激活在泌乳素依赖的Akt激活和细胞生长中也被证明是重要的。Fyn被认为不仅能通过可溶性生长因子传递Akt的抗凋亡信号,还能通过与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的相互作用向下游传递Akt的抗凋亡信号^[29]。BAILLAT等^[15]报道,在SW480癌细胞中,整合素使局部黏附激酶(focal adhesion kinase, FAK)分子被招募到细胞膜的脂筏内,但脂筏中的Fyn磷酸化FAKY861和Y925位点后,又导致FAK从脂筏中脱离,进一步激活依赖于脂筏微结构完整性的PI3K/Akt通路。Fyn已被

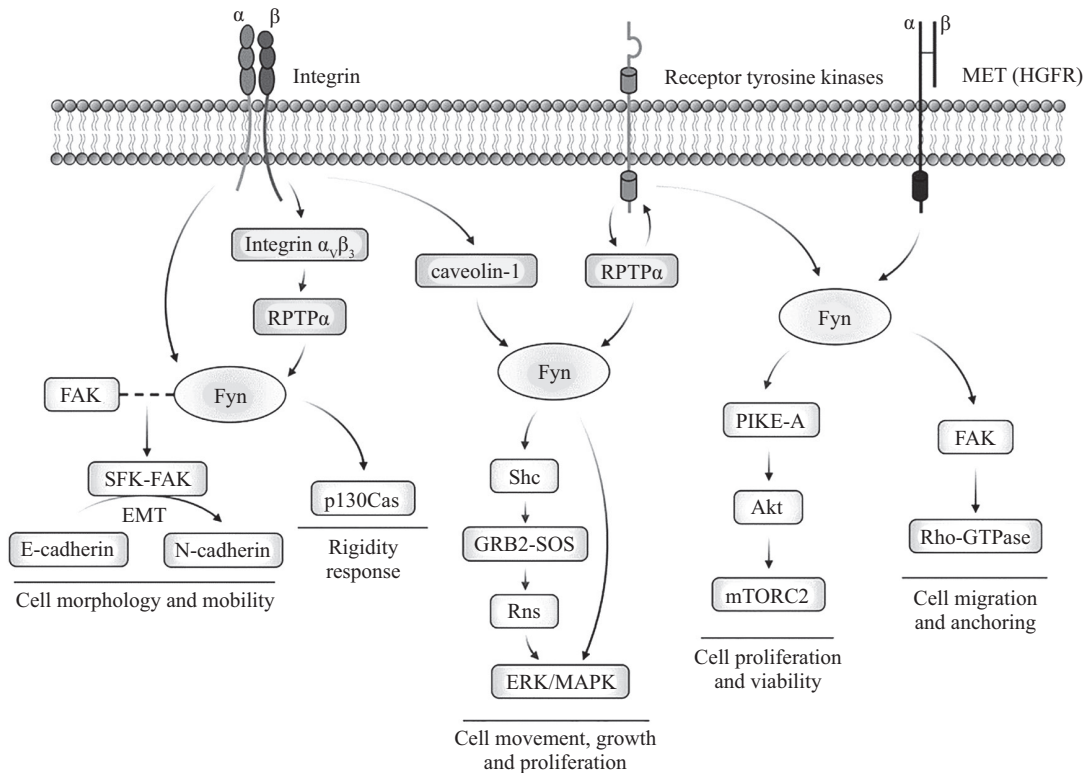


图3 酪氨酸激酶Fyn的相关信号通路及其功能

Fig.3 Related signal pathways and functions of Fyn kinase

证明可在HeLa细胞中发生磷酸化,并阻止PIKE-A的活化,从而抑制细胞凋亡^[30]。

2.2 Fyn与细胞周期

采用微注射Fyn抑制剂的方法可使细胞周期停止,相比于其他细胞,处于有丝分裂中期的细胞需更大剂量的Fyn抑制剂,这证明Fyn的活性在分裂中期的细胞中明显增强,其原因是Fyn N-端独特区域的几个丝氨酸和苏氨酸残基被Cdc2激酶磷酸化^[31-32]。ROCHE及其同事^[33]进一步证明,向G₂期小鼠成纤维细胞中微注射Fyn抑制抗体可以在核膜破裂之前阻止细胞分裂,表明Fyn在有丝分裂中具有调控细胞周期G₂/M期转变的功能。

2.3 Fyn与细胞黏附、运动

上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是细胞从上皮表型转化为间充质表型的过程。EMT是生理发展过程中所必需的,但也可见于从原位癌到转移性肿瘤的进展中。EMT的主要特征包括细胞黏附性的丧失、钙黏蛋白-E表达的下降以及细胞运动性的增加^[34]。

Fyn在EMT中起到重要作用。在EMT中,钙黏蛋白-E的缺失导致神经细胞黏附分子(neural cell

adhesion molecule, NCAM)过表达,使其重新定位到脂筏中^[35]。同在脂筏中的Fyn受此影响,激活下游FAK通路,调控细胞肌动蛋白,导致细胞的运动性增加。

2.4 Fyn与细胞侵袭

Fyn可以感知细胞外基质表面刚性形变,在刚性的细胞-基质界面上会产生强大的力度,导致各种黏附蛋白聚集以及细胞扩散增加。受体样蛋白酪氨酸磷酸酶α(receptor-type protein tyrosine phosphatase α, RPTPα)和α_vβ₃整合素在迁移细胞的前沿以细胞外基质刚性依赖的方式形成复合物,最终导致Fyn的募集和激活^[18-19]。这种招募依赖于Fyn的棕榈酰化修饰,而Fyn的激活水平被认为是力依赖的,更大的力能导致整合素-细胞骨架连接进一步强化。恶性肿瘤在一定程度上可能是由于Fyn的过度表达,导致肿瘤细胞对细胞外基质刚性的过度敏感反应而出现侵袭性扩散^[36]。

2.5 Fyn与离子通道功能

一些电压门控通道和配体门控通道已被证明与Fyn激酶耦合,这些通道包括K⁺通道、IP₃受体、Ca²⁺通道、谷氨酸NMDA受体和N-乙酰胆碱受体,

表明Fyn具有调节通道的功能;同时Fyn激酶也可以被这些通道激活。因此Fyn激酶可以参与通道活性的上游和下游调控。

2.5.1 K⁺通道 Fyn的SH3结构域可以与富含脯氨酸序列的人电压依赖性钾通道结合,并通过脯氨酸序列的磷酸化抑制该通道活性^[37]。

2.5.2 Ca²⁺通道 RUSANESCU等^[38]的研究表明,在PC12细胞中,受去极化诱导的神经突起的生长依赖于电压门控Ca²⁺通道的激活,而Fyn活性的增加可以激活Ca²⁺通道。对于外界干扰使Fyn活性下降的细胞,其Ca²⁺通道的激活受阻,且神经突起的生长受到抑制。

2.5.3 NMDA受体 Fyn的SH2结构域与NMDA受体具有高亲和力,两者结合发生共沉淀,可激活Fyn激酶导致通道活性增加^[39]。

2.5.4 N-乙酰胆碱受体 SWOPE等^[40]的研究表明,神经肌肉接头处的膜去极化涉及到神经蛋白多糖(如Agrin)对N-乙酰胆碱受体的聚集作用,而N-乙酰胆碱受体的δ亚基与Fyn的SH2结构域相结合,并发生酪氨酸磷酸化后才能响应Agrin诱导的聚集作用。

2.6 Fyn与细胞分化、成熟

Fyn参与少突胶质细胞(oligodendrocyte, OL)的分化和成熟^[41]。对原代少突胶质细胞分化培养的研究表明,Fyn无论是在祖细胞还是成熟OL中都表达,但在成熟OL中Fyn的表达量是前者的2~3倍,其激酶活性是前者的10~30倍,表明Fyn在OL的分化成熟过程中可能起着重要作用。Fyn激酶抑制剂,如吡唑啉衍生物PP1和PP2,可以阻止OL分化,导致厚而不规则的髓鞘形成夹^[41]。KLEIN等^[42]报道,Tau蛋白(神经细胞骨架主要成分)通过SH3结构域结合Fyn,两者在OL分化过程和成熟后均表达,而-ppxx-Tau基序的缺失会破坏Fyn和Tau的结合,继而使OL分化的数量减少、成熟轴突的长度减短,表明Fyn-Tau结合在OL分化过程中具有重要作用。

2.7 Fyn与轴突迁移

Reelin是一种细胞外糖蛋白,在大脑发育过程中控制神经元迁移和细胞层形成方面具有突出的激活功能。Reeler突变(Reeler-like表型)小鼠缺乏Reelin表达^[43],表现出一种以共济失调和典型的“缢丝”门为特征的神经表型,其特征是发育中的前脑神经元层的广泛缺陷和小脑发育不全^[44-45]。此外,Reelin激活RasGRF1/CaMKII通路,促进树突成熟、突触发

生、突触传递,并维持突触的可塑性,从而控制大脑的发育和成年脑突触回路的形成和功能^[46]。

Fyn作为Reelin蛋白的细胞内信号分子,当其SH2结构域发生点突变(Fyn R176A)时,会诱导神经元聚集和分支并损害神经元迁移和神经元形态发生^[27,47-48]。实验也证明敲除Fyn/Src基因的小鼠表现出了Reeler-like表型^[49]。Reelin与它的两个受体VLDLR和ApoER2结合后,激活SFKs并诱导细胞质蛋白Dab1的酪氨酸磷酸化。磷酸化的Dab1将信号转导到下游分子,比如NMDA受体的聚集以及磷酸化^[50-51]。

3 Fyn在肿瘤发生发展中的作用

近年来,Fyn被发现广泛异常表达于各类肿瘤(如神经系统肿瘤、血液系统肿瘤、胰腺癌等)细胞及组织中。作为非受体型酪氨酸激酶的成员之一,Fyn除了直接参与调控细胞增殖与分化的信号通路,也与某些肿瘤细胞特有的信号分子存在关联,值得进一步探讨。

3.1 Fyn与胶质瘤

脑胶质瘤是最常见的一类中枢神经系统恶性肿瘤,Fyn对其形成及发展起到一定作用。

ANDREA等^[52]采用基因工程小鼠胶质瘤模型(genetically engineered mouse glioma models, GEMMs)评价Fyn的作用,证明了在GEMM中敲低Fyn,可减缓肿瘤的进展,并显著提高实验动物的存活率;相比于野生型,免疫缺陷型小鼠在敲低Fyn后并未显示出明显的存活率差异,提示Fyn可能通过抑制肿瘤免疫促进肿瘤发展。因此,对胶质瘤细胞内Fyn的抑制或许可以成为抗胶质瘤免疫疗法的重要环节。

值得关注的是,在脑胶质瘤的发生过程中,Fyn可能与某些特定的分子形成了较为复杂的调控途径。GUO等^[53]在研究胶质瘤干细胞样细胞(glioblastoma stem-like cells, GSCs)的过程中,发现一类功能未知的蛋白质,即NT5DC2(5'-nucleotidase domain-containing 2),其可以通过上调Fyn的表达,在胶质母细胞瘤的起始、维持和发展过程中发挥重要作用;而相应地,敲除NT5DC2可显著抑制体外肿瘤细胞群的形成、细胞活力以及体内肿瘤的发生,从而延长实验动物的存活时间;SCHMOKER等^[54]发现,包括Fyn在内的Src家族激酶能够增强DCBLD2(一类神经纤维蛋白样跨膜支架受体)的活性,驱动活化的表皮生长因子受体及其下游通路,从而促进胶质母细

胞瘤的发生与进展。

3.2 Fyn与血液系统肿瘤

Fyn在血液系统肿瘤发生和发展中的作用受到较多的关注。针对急性髓系白血病的发生与发展, CHOUGULE等^[55]研究了Fyn在FLT3信号转导中与AML相关的作用,并在过表达Fyn的细胞中观察到多重效应: Akt、ERK1/2、p38的磷酸化略有增强,这与细胞的增殖调控直接相关;同时, Fyn还可以结合FLT3-ITD突变基因(即内部串联重复的FLT3基因),实现FLT3-ITD依赖性的细胞增殖;最后,上述结果均可激活STAT5信号通路,诱导并维持细胞癌变。

此外, LAURENZANA等^[56]在NK细胞淋巴瘤中发现了Fyn的过度表达,其通过上调Akt的表达和增强P70 S6激酶(P70 S6 kinase)的活性,改变了NK细胞凋亡及存活相关基因的表达水平;在此基础上,研究者也发现4-c吡啶并[3,4-d]嘧啶化合物能够抑制上述通路,该化合物可能成为针对Fyn靶点治疗NK细胞淋巴瘤的新选择。

总体来说, Fyn的水平异常在多种血液系统肿瘤中均可见,但所涉及信号通路致病机制不尽相同,涉及上文重点叙述的Fyn-Akt等通路,以及ERK1/2、p38磷酸化等, Fyn还可以结合某些特定的细胞凋亡相关基因,影响其表达。

3.3 Fyn与胰腺癌

DONG等^[57]采用定量PCR和免疫组化法检测了30份胰腺癌患者病灶样本及相应邻近正常组织样本中Fyn的表达,结果显示Fyn在人胰腺癌组织和细胞中表达上调;同时, Fyn被进一步证明通过谷氨酸NMDA受体2b亚单位(GluN2b)的磷酸化和Akt信号通路的调节等方式影响胰腺癌细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭。LIU等^[58]在针对miR-125a-3p在胰腺导管腺癌(PDAC)中发挥的功能的相关研究中指出,高水平miR-125a-3p有利于增强胰腺癌细胞对细胞毒性化疗药物(如吉西他滨)的敏感性, Fyn的过表达则可以逆转这一种增强效果,从而增强胰腺癌细胞对化疗药物的耐药性;此外, Fyn还可以促进胰腺导管上皮细胞的上皮-间充质转化,从而进一步介导PDAC的发展。

此外, JIANG等^[59]发现Fyn活性的抑制能够上调P21活化激酶1(P21-activated kinase 1)的表达,并促进hnRNP E1的磷酸化和核定位,两者均可导致剪接体复合物(spliceosome complex)的形成,从而影响整

合素 $\beta 1$ 的可变剪接(alterative splicing of integrin $\beta 1$)。上述过程可以减少胰腺癌密集的促纤维增生反应,抑制胰腺癌的转移。

3.4 Fyn与其他肿瘤

除上述几种肿瘤以外, Fyn的表达及活性改变还与许多肿瘤(包括肺癌、乳腺癌、黑色素瘤等)的发生与进展高度相关。如NISHIKAWA等^[60]针对282例肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)组织样本的研究结果显示,磷酸化的Fyn(pFyn)在肺腺癌临床标本中高表达,这可能影响肺腺癌切除术后患者的预后结果; YU等^[61]发现一类鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide-exchange factor, GEF)——ARHGEF16,诱导结肠癌细胞增殖和迁移依赖于Fyn的存在;而ZHANG等^[62]观察到Fyn在临床黑色素瘤组织及黑色素瘤细胞系中过度表达,并提出Fyn能够直接磷酸化CD147的Y140和Y183位点,发挥激活作用,促进黑色素瘤的转移等过程。LEE等^[63]发现, Fyn在基底亚型乳腺癌(basal type breast cancer)的维持过程中是必需的,其通过STAT5介导的Jagged-1和NOTCH配体DLL4的上调,增强了癌细胞中NOTCH2的活化,并促进上皮-间充质改变;此外, Fyn和STAT5之间还可形成正反馈回路,使上述过程在基底亚型乳腺癌细胞中的影响持续存在。ZHENG等^[64]检测了Fyn在甲状腺癌组织中的表达水平,并通过体外观察描述了Fyn对甲状腺癌细胞生长、信号转导、细胞周期和凋亡的影响,发现Fyn在甲状腺癌组织和肿瘤细胞系中均存在表达上调,可以促进细胞增殖的G₀/G₁期进程,并且降低NF- κ B/p65和I κ B α 的水平,对甲状腺肿瘤的发生具有关键的正调控作用。

4 总结与展望

自第一个酪氨酸激酶Src被发现以来,越来越多研究发现包括酪氨酸激酶Fyn在内的Src家族激酶在生物代谢及肿瘤发生发展的过程中起到重要作用。探究Fyn的作用机制,有助于调控肿瘤的发生发展,了解影响肿瘤细胞生长与代谢的因素,具有较强的临床意义。

随着Fyn等Src家族激酶,乃至酪氨酸激酶的作用机制被逐渐深入阐述,酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKIs)于21世纪初应运而生,被广泛应用于肺癌、乳腺癌、白血病等多种恶性肿瘤的靶向

治疗中。目前, 靶向Fyn的肿瘤治疗思路仍存在两类重要问题, 一是肿瘤的耐药性, 二是药物的非特异性。

耐药性研究方面, AIRIAU等^[65]利用达沙替尼(Dasatinib)处理K562细胞(一类CML细胞系), 获得达沙替尼耐药性细胞株K562 RES, 并发现Fyn在其中被过度激活, 激活的Fyn能够支持K562 RES细胞增殖, 这一促进增殖的通路经典的BCR-ABL融合基因促进细胞增殖的通路是平行的; 此外, K562 RES细胞中的MEK-ERK通路也被过度磷酸化; 相应地, Fyn抑制剂KX2-391联合达沙替尼可阻断K562 RES细胞的增殖。因此, Fyn在肿瘤发生发展中的作用绝不仅限于前文陈述的一系列内容, 进一步探究其诸如增强耐药性等的作用机制, 有助于进一步探索肿瘤发展的机制。

此外, TABARIÈS等^[66]在乳腺癌模型中的研究结果表明, Fyn和Yes(Src家族激酶中的另一成员)的敲低使乳腺癌细胞中Claudin-2(一类促进乳腺癌肝转移的分子)表达上升, 从而促进乳腺癌的肝转移; 相反, SFKs的另一成员LYN若被敲低, Claudin-2表达水平则下降, 从而抑制乳腺癌的肝转移。Lyn选择性激酶抑制剂Bafetinib作用于乳腺癌细胞后也进一步证明了这一点^[66-67]。由此可见, 即使是同一激酶家族的成员, 所介导的信号通路也会有所不同, 最后可能表现出截然相反的生理效应。因此, 针对Fyn等激酶的特异性TKI药物的研发具有非常重要的临床意义。

最后, 肿瘤的新型靶向药物研发也依赖现代网络与计算机等技术, 如KANT等^[68]结合计算机方法, 发现派克昔林(Perhexiline)作为一类治疗心绞痛的传统药物, 在胶质母细胞瘤中具有强大的Fyn依赖性的抗肿瘤活性, 其机制尚未被系统性研究。随着研究的深入, Fyn在肿瘤形成中的作用将逐渐被阐明, 希望诸如肿瘤对靶向药物的耐药性、特异性分子靶向药物的开发等目前较为棘手的问题也可以这些理论为基础而一步步得到解决。

参考文献 (References)

- [1] MANNING G, WHYTE D B, MARTINEZ R, et al. The protein kinase complement of the human genome [J]. *Science*, 2002, 298(5600): 1912-34.
- [2] DAVIDSON D, FOURNEL M, VEILLETTE A. Oncogenic activation of p59fyn tyrosine protein kinase by mutation of its carboxyl-terminal site of tyrosine phosphorylation, tyrosine 528 [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(14): 10956-63.
- [3] BOGGON T J, ECK M J. Structure and regulation of Src family kinases [J]. *Oncogene*, 2004, 23(48): 7918-27.
- [4] ROSKOSKI R, Jr. Src protein-tyrosine kinase structure, mechanism, and small molecule inhibitors [J]. *Pharmacol Res*, 2015, 94: 9-25.
- [5] SAITO Y D, JENSEN A R, SALGIA R, et al. Fyn: a novel molecular target in cancer [J]. *Cancer*, 2010, 116(7): 1629-37.
- [6] ALLAND L, PESECKIS S M, ATHERTON R E, et al. Dual myristylation and palmitoylation of Src family member p59fyn affects subcellular localization [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(24): 16701-5.
- [7] ANDERSON D, KOCH C A, GREY L, et al. Binding of SH2 domains of phospholipase C gamma 1, GAP, and Src to activated growth factor receptors [J]. *Science*, 1990, 250(4983): 979-82.
- [8] THOMAS S M, BRUGGE J S. Cellular functions regulated by Src family kinases [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1997, 13: 513-609.
- [9] GOLDSMITH J F, HALL C G, ATKINSON T P. Identification of an alternatively spliced isoform of the fyn tyrosine kinase [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 298(4): 501-4.
- [10] JOHNSON L N, NOBLE M E, OWEN D J. Active and inactive protein kinases: structural basis for regulation [J]. *Cell*, 1996, 85(2): 149-58.
- [11] COWAN-JACOB S W, FENDRICH G, MANLEY P W, et al. The crystal structure of a c-Src complex in an active conformation suggests possible steps in c-Src activation [J]. *Structure*, 2005, 13(6): 861-71.
- [12] LEE C G, KOO J H, KIM S G. Phytochemical regulation of Fyn and AMPK signaling circuitry [J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(12): 2093-105.
- [13] ENGEN J R, WALES T E, HOCHREIN J M, et al. Structure and dynamic regulation of Src-family kinases [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(19): 3058-73.
- [14] JENSEN A R, DAVID S Y, LIAO C, et al. Fyn is downstream of the HGF/MET signaling axis and affects cellular shape and tropism in PC3 cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(10): 3112-22.
- [15] BAILLAT G, SIRET C, DELAMARRE E, et al. Early adhesion induces interaction of FAK and Fyn in lipid domains and activates raft-dependent Akt signaling in SW480 colon cancer cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1783(12): 2323-31.
- [16] MITRA S K, HANSON D A, SCHLAEPFER D D. Focal adhesion kinase: in command and control of cell motility [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6(1): 56-68.
- [17] WARY K K, MARIOTTI A, ZURZOLO C, et al. A requirement for caveolin-1 and associated kinase Fyn in integrin signaling and anchorage-dependent cell growth [J]. *Cell*, 1998, 94(5): 625-34.
- [18] KOSTIC A, SHEETZ M P. Fibronectin rigidity response through Fyn and p130Cas recruitment to the leading edge [J]. *Mol Biol Cell*, 2006, 17(6): 2684-95.
- [19] JIANG G, HUANG A H, CAI Y, et al. Rigidity sensing at the leading edge through alpha5beta3 integrins and RPTPalphal [J]. *Biophys J*, 2006, 90(5): 1804-9.
- [20] LEMMON M A, SCHLESSINGER J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases [J]. *Cell*, 2010, 141(7): 1117-34.
- [21] LIU X, HU Y, HAO C, et al. PIKE-A is a proto-oncogene promoting cell growth, transformation and invasion [J]. *Oncogene*,

- 2007, 26(34): 4918-27.
- [22] MARTELLI A M, EVANGELISTI C, CHIARINI F, et al. The phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mTOR signaling network as a therapeutic target in acute myelogenous leukemia patients [J]. *Oncotarget*, 2010, 1(2): 89-103.
- [23] PAWSON T. Specificity in signal transduction: from phosphotyrosine-SH2 domain interactions to complex cellular systems [J]. *Cell*, 2004, 116(2): 191-203.
- [24] YAO Z, DAROWSKI K, ST-DENIS N, et al. A global analysis of the receptor tyrosine kinase-protein phosphatase interactome [J]. *Mol Cell*, 2017, 65(2): 347-60.
- [25] MOOSAVI F, GIOVANNETTI E, SASO L, et al. HGF/MET pathway aberrations as diagnostic, prognostic, and predictive biomarkers in human cancers [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2019, 56(8): 533-66.
- [26] ORGAN S L, TSAO M S. An overview of the c-MET signaling pathway [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2011, 3(1 Suppl): S7-S19.
- [27] LU X, HU X, SONG L, et al. The SH2 domain is crucial for function of Fyn in neuronal migration and cortical lamination [J]. *BMB Rep*, 2015, 48(2): 97-102.
- [28] CHEN R, KIM O, YANG J, et al. Regulation of Akt/PKB activation by tyrosine phosphorylation [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(34): 31858-62.
- [29] FRESNO VARA J A, CÁ CERES M A, SILVA A, et al. Src family kinases are required for prolactin induction of cell proliferation [J]. *Mol Biol Cell*, 2001, 12(7): 2171-83.
- [30] NORONHA G, BARRETT K, BOCCIA A, et al. Discovery of [7-(2,6-dichlorophenyl)-5-methylbenzo [1,2,4]triazin-3-yl]-[4-(2-pyrrolidin-1-ylethoxy)phenyl]amine--a potent, orally active Src kinase inhibitor with anti-tumor activity in preclinical assays [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(3): 602-8.
- [31] FUMAGALLI S, TOTTY N F, HSUAN J J, et al. A target for Src in mitosis [J]. *Nature*, 1994, 368(6474): 871-4.
- [32] SHALLOWAY D, SHENOY S. Oncoprotein kinases in mitosis [J]. *Adv Cancer Res*, 1991, 57: 185-225.
- [33] ROCHE S, FUMAGALLI S, COURTNEIDGE S A. Requirement for Src family protein tyrosine kinases in G2 for fibroblast cell division [J]. *Science*, 1995, 269(5230): 1567-9.
- [34] VERNON A E, LABONNE C. Tumor metastasis: a new twist on epithelial-mesenchymal transitions [J]. *Curr Biol*, 2004, 14(17): R719-21.
- [35] LEHEMBRE F, YILMAZ M, WICKI A, et al. NCAM-induced focal adhesion assembly: a functional switch upon loss of E-cadherin [J]. *EMBO J*, 2008, 27(19): 2603-15.
- [36] NIEDIEK V, BORN S, HAMPE N, et al. Cyclic stretch induces reorientation of cells in a Src family kinase- and p130Cas-dependent manner [J]. *Eur J Cell Biol*, 2012, 91(2): 118-28.
- [37] HOLMES T C, FADOOL D A, REN R, et al. Association of Src tyrosine kinase with a human potassium channel mediated by SH3 domain [J]. *Science*, 1996, 274(5295): 2089-91.
- [38] RUSANESCU G, QI H, THOMAS S M, et al. Calcium influx induces neurite growth through a Src-Ras signaling cassette [J]. *Neuron*, 1995, 15(6): 1415-25.
- [39] YU X M, ASKALAN R, KEIL G J, 2ND, et al. NMDA channel regulation by channel-associated protein tyrosine kinase Src [J]. *Science*, 1997, 275(5300): 674-8.
- [40] SWOPE S L, QU Z, HUGANIR R L. Phosphorylation of the nicotinic acetylcholine receptor by protein tyrosine kinases [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1995, 757: 197-214.
- [41] OSTERHOUT D J, WOLVEN A, WOLF R M, et al. Morphological differentiation of oligodendrocytes requires activation of Fyn tyrosine kinase [J]. *J Cell Biol*, 1999, 145(6): 1209-18.
- [42] KLEIN C, KRAMER E M, CARDINE A M, et al. Process outgrowth of oligodendrocytes is promoted by interaction of fyn kinase with the cytoskeletal protein tau [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(3): 698-707.
- [43] KUO G, ARNAUD L, KRONSTAD-O'BRIEN P, et al. Absence of Fyn and Src causes a reeler-like phenotype [J]. *J Neurosci*, 2005, 25(37): 8578-86.
- [44] GOFFINET A M. The embryonic development of the cerebellum in normal and reeler mutant mice [J]. *Anat Embryol*, 1983, 168(1): 73-86.
- [45] MIYATA T, NAKAJIMA K, MIKOSHIBA K, et al. Regulation of Purkinje cell alignment by reelin as revealed with CR-50 antibody [J]. *J Neurosci*, 1997, 17(10): 3599-609.
- [46] DIBATTISTA A M, DUMANIS S B, SONG J M, et al. Very low density lipoprotein receptor regulates dendritic spine formation in a RasGRF1/CaMKII dependent manner [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(5): 904-17.
- [47] HOWELL B W, HERRICK T M, HILDEBRAND J D, et al. Dab1 tyrosine phosphorylation sites relay positional signals during mouse brain development [J]. *Curr Biol*, 2000, 10(15): 877-85.
- [48] HOWELL B W, LANIER L M, FRANK R, et al. The disabled 1 phosphotyrosine-binding domain binds to the internalization signals of transmembrane glycoproteins and to phospholipids [J]. *Mol Cell Biol*, 1999, 19(7): 5179-88.
- [49] TROMMSDORFF M, GOTTHARDT M, HIESBERGER T, et al. Reeler/Disabled-like disruption of neuronal migration in knockout mice lacking the VLDL receptor and ApoE receptor 2 [J]. *Cell*, 1999, 97(6): 689-701.
- [50] BEFFERT U, WEEBER E J, DURUDAS A, et al. Modulation of synaptic plasticity and memory by Reelin involves differential splicing of the lipoprotein receptor Apoer2 [J]. *Neuron*, 2005, 47(4): 567-79.
- [51] CHEN Y, BEFFERT U, ERTUNC M, et al. Reelin modulates NMDA receptor activity in cortical neurons [J]. *J Neurosci*, 2005, 25(36): 8209-16.
- [52] COMBA A, DUNN P J, ARGENTO A E, et al. Fyn tyrosine kinase, a downstream target of receptor tyrosine kinases, modulates anti-glioma immune responses [J]. *Neuro Oncol*, 2020, 22(6): 806-18.
- [53] GUO S, RAN H, XIAO D, et al. NT5DC2 promotes tumorigenicity of glioma stem-like cells by upregulating fyn [J]. *Cancer Lett*, 2019, 454: 98-107.
- [54] SCHMOKER A M, WEINERT J L, KELLETT K J, et al. Dynamic multi-site phosphorylation by Fyn and Abl drives the interaction between CRKL and the novel scaffolding receptors DCBLD1 and DCBLD2 [J]. *Biochem J*, 2017, 474(23): 3963-84.
- [55] CHOUGULE R A, KAZI J U, RÖNNSTRAND L. FYN expression potentiates FLT3-ITD induced STAT5 signaling in acute myeloid leukemia [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(9): 9964-74.
- [56] LAURENZANA I, CAIVANO A, TRINO S, et al. A Pyrazolo[3,4-d]pyrimidine compound inhibits Fyn phosphoryla-

- tion and induces apoptosis in natural killer cell leukemia [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(40): 65171-84.
- [57] DONG W, SUN S J, QIN J J, et al. Fyn stimulates the progression of pancreatic cancer via Fyn-GluN2b-AKT axis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(1): 109-21.
- [58] LIU G, JI L, KE M, et al. miR-125a-3p is responsible for chemosensitivity in PDAC by inhibiting epithelial-mesenchymal transition via Fyn [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 523-31.
- [59] JIANG P, LI Z, TIAN F, et al. Fyn/heterogeneous nuclear ribonucleoprotein E1 signaling regulates pancreatic cancer metastasis by affecting the alternative splicing of integrin β 1 [J]. *Int J Oncol*, 2017, 51(1): 169-83.
- [60] NISHIKAWA S, MENJU T, TAKAHASHI K, et al. Prognostic significance of phosphorylated Fyn in patients with lung adenocarcinoma after lung resection [J]. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, 2019, 25(5): 246-52.
- [61] YU B, XU L, CHEN L, et al. FYN is required for ARHGEF16 to promote proliferation and migration in colon cancer cells [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(8): 652.
- [62] ZHANG X, HUANG Z, GUO Y, et al. The phosphorylation of CD147 by Fyn plays a critical role for melanoma cells growth and metastasis [J]. *Oncogene*, 2020, 39(21): 4183-97.
- [63] LEE G H, YOO K C, AN Y, et al. FYN promotes mesenchymal phenotypes of basal type breast cancer cells through STAT5/NOTCH2 signaling node [J]. *Oncogene*, 2018, 37(14): 1857-68.
- [64] ZHENG J, LI H, XU D, et al. Upregulation of tyrosine kinase FYN in human thyroid carcinoma: role in modulating tumor cell proliferation, invasion, and migration [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2017, 32(9): 320-6.
- [65] AIRIAU K, TURCQ B, MAHON F X, et al. A new mechanism of resistance to ABL1 tyrosine kinase inhibitors in a BCR-ABL1-positive cell line [J]. *Leuk Res*, 2017, 61: 44-52.
- [66] TABARIÈS S, ANNIS M G, HSU B E, et al. Lyn modulates Claudin-2 expression and is a therapeutic target for breast cancer liver metastasis [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(11): 9476-87.
- [67] ELIAS D, DITZEL H J. Fyn is an important molecule in cancer pathogenesis and drug resistance [J]. *Pharmacol Res*, 2015, 100: 250-4.
- [68] KANT S, KESARWANI P, GUASTELLA A R, et al. Perhexiline demonstrates FYN-mediated antitumor activity in glioblastoma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2020, 19(7): 1415-22.