

УДК 577.24

УЧАСТИЕ ТИРОЗИНКИНАЗНОГО РЕЦЕПТОРА ERBB2/HER2 В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ

Обзор

© 2020 А.А. Дакс^{1#}, О.А. Федорова^{1#}, О.Ю. Шувалов¹, С.Е. Парфеньев¹, Н.А. Барлев^{1,2*}

¹ Институт цитологии РАН, 194064 Санкт-Петербург, Россия

² Московский физико-технический институт (МФТИ), 141701 Московская область, Долгопрудный, Россия;
электронная почта: nick.a.barlev@gmail.com

Поступила в редакцию 24.07.2020

После доработки 10.08.2020

Принята к публикации 12.08.2020

HER2 (рецептор эпидермального фактора роста человека 2), известный также как ERBB2, CD340 или протоонкоген Neu, является членом семейства рецепторов эпидермального фактора роста. Члены семейства ERBB, включая HER2, активируют молекулярные каскады, стимулирующие пролиферацию, миграцию и устойчивость онкогенных клеток к противораковой терапии. Данные белки часто сверхэкспрессированы и/или мутированы в различных типах рака и являются перспективными мишенями для создания противораковой терапии. Для лечения ряда опухолей одобрены анти-HER2 препараты, которые включают в себя моноклональные антитела, а также низкомолекулярные ингибиторы тирозинкиназных рецепторов, таких как лапатиниб, нератиниб и пиротиниб. Помимо активации сигнальных путей, ответственных за пролиферацию и выживание клеток в условиях стрессовых воздействий, HER2 способен также напрямую регулировать процесс программируемой клеточной гибели на различных уровнях. В данном обзоре проанализированы опубликованные работы, посвященные участию рецептора HER2 в различных сигнальных путях и его роли в регуляции апоптоза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: HER2, рецептор эпидермального фактора роста, рак, PI3K-АКТ сигнальный путь, апоптоз.

DOI: 10.31857/S0320972520100152

ВВЕДЕНИЕ

HER2 (известный также как ERBB2, CD340 или протоонкоген Neu) является членом семейства рецепторов эпидермального фактора роста. Рецепторы HER принадлежат к семейству тирозинкиназных рецепторов эпидермального фактора роста, которые включают четыре рецептора HER1 (также известный как EGFR – рецептор

эпидермального фактора роста), HER2 (ErbB2/Neu), HER3 (ErbB3) и HER4 (ErbB4) [1]. Белки рецепторов эпидермального фактора роста, как правило, имеют общую структуру и включают в себя внеклеточный лиганд-связывающий домен, трансмембранный домен, локализуемый рецептор в мембране, а также цитоплазматический тирозинкиназный домен, осуществляющий саму киназную активность (рис. 1). При этом показано, что HER3 характеризуется отсутствием киназной активности либо ее пониженным уровнем, в то время как для HER2 не обнаружено лиганда, который способен активировать данный рецептор. Большинство исследований сосредоточено на роли HER2 в развитии рака молочной железы (РМЖ) как *in vivo*, так и *in vitro*. Поскольку гиперэкспрессия HER2 наблюдается ~ в 15–30% случаев РМЖ и является важным прогностическим биомаркером. Однако появляется все больше данных о повышенной экспрессии HER2 в других видах рака, например, при раке желудка и пищевода, яичников, эндометрии, мочевого пузыря, легких, толстой кишки, головы и шеи [2].

Принятые сокращения: РМЖ – рак молочной железы; HER2 – рецептор эпидермального фактора роста человека 2; PI3K – фосфоинозитид-3-киназа; PH – домен плекстрина; PDK1 – протеин серин/треонинкиназо-3'-фосфоинозитид-зависимая киназа 1; АКТ – протеинкиназа В; HIF-1 α – фактор, индуцируемый гипоксией 1; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; MAPK – митоген-активируемый протеинкиназный комплекс; DISC – комплекс, индуцирующий смерть; MEK – MAP киназа-ERK киназа; ERK1/2 – внеклеточные сигнально-регулируемые киназы; MAPKKK – митоген-активируемая протеинкиназа киназа киназа, MAPKK – митоген-активируемая протеинкиназа киназа, MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа.

* Адресат для корреспонденции.

Авторы внесли равный вклад в работу.

Каскад фосфорилирования, запускаемый автофосфорилированием рецептора HER2, способствует пролиферации клеток через передачу сигнала по PI3K/АКТ-киназному пути на mTOR, который является мастер-регулятором метаболизма и аутофагии. Также было обнаружено, что активация HER2 приводит к подавлению апоптоза через изменение гомеостаза между Bcl-2 и BН3-only белками. Поэтому не удивительно, что члены семейства ERBB, включая HER2, часто сверхэкспрессированы и/или мутированы в различных типах рака и являются перспективными мишенями для создания противораковой терапии. В данном обзоре проведен анализ опубликованных работ, посвященных участию рецептора HER2 в различных сигнальных путях и его роли в регуляции апоптоза.

АКТИВАЦИЯ HER2

HER2 является терапевтической мишенью для лечения различных типов рака, включая рак молочной железы, яичников, легкого, желудка и других [2]. В настоящее время одобрены анти-HER2 препараты для лечения опухолей с гиперэкспрессией HER2, включая моноклональные антитела трастузумаб и пертузумаб, а также низкомолекулярные ингибиторы рецепторов тирозинкиназ, таких как лапатиниб, нератиниб и пиротиниб. Помимо HER2-специфичной монотерапии, одобрены также различные комбинации совместной терапии, включающей трастузумаб, капецатабин (или 5-фторурацил) и цисплатин для лечения метастатического рака желудка и желудочно-кишечного тракта [3].

HER2 относят к т.н. «сиротским рецепторам», т.е. для них не известен или не существует специфический лиганд. Обычно связывание лиганда с рецептором запускает процесс его гомо- или гетеродимеризации и последующей активации. Однако известно, что в случае сверхэкспрессии HER2 в клетках образуются лиганд-независимые гомодимеры [4]. Показано также, что HER2 способен связываться с другими членами семейства рецепторов эпидермального фактора роста, что вносит значительный вклад в нарушение регуляции внутриклеточной передачи сигналов и роста клетки [5]. Так, например, показано, что HER2 способен взаимодействовать с другими членами суперсемейства тирозинкиназ, включая AXL, MET, RET и другие. Рецептор AXL также известен как Tуго7 и принадлежит к семейству тирозинкиназных рецепторов TAM (название дано по первым буквам трех членов семейства: Tуго3, Axl, and Mer) [6]. TAM-рецепторы выполняют важные функции во

многих биологических процессах, таких как коагуляция, иммунный ответ и прогрессирование рака [7]. Исследования показали, что AXL может взаимодействовать с HER2 в клетках HER2-позитивного подтипа рака молочной железы. Этот факт дает основания предполагать, что совместное действие лапатиниба (низкомолекулярного ингибитора HER2) и ингибитора AXL окажется эффективным подходом [8]. Кроме того, для членов семейства EGFR, в т.ч. для HER2, показана возможность образовывать гетеродимеры с тирозинкиназами MET и RET, в результате чего активируются нижележащие сигнальные пути PI3K-АКТ и MEK-ERK, способствующие пролиферации и выживанию (рис. 1) [9].

СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ PI3K-АКТ

Множество исследований показало, что сигнальные пути в клетке высоко организованы и тонко регулируются. Активация сигнальных путей приводит к регуляции важнейших функций в жизнедеятельности клеток, таких как пролиферация, дифференцировка, клеточный цикл, выживание и метаболизм [4].

Одним из важнейших сигнальных путей, активируемых рецептором HER2, является сигнальный путь PI3K-АКТ, отвечающий за активацию пролиферации, синтез белков и продвижение клетки по клеточному циклу, выживание в стрессовых условиях, а также ассоциированный с опухолевой трансформацией.

PI3K привлекается к активированному рецептору HER2 и фосфорилируется им. PI3K (фосфоинозитид-3-киназа) является членом семейства протеинкиназных ферментов, которая фосфорилирует фосфатидилинозитол в положении 3-гидроксильной группы инозитольного кольца. PI3K представляет собой гетеродимер, состоящий из регуляторной и каталитической субъединицы, и является ключевым элементом PI3K/АКТ сигнального пути [10].

Как упоминалось ранее, активация тирозин-специфической протеинкиназной активности рецепторов приводит к их автофосфорилированию по остаткам тирозина. Эта пост-трансляционная модификация служит сигналом для привлечения PI3K ко внутренней мембране путем ее непосредственного связывания с консенсусными остатками фосфотирозина в молекуле рецептора. Фосфотирозины могут также узнаваться с помощью одного из двух доменов SH2 в регуляторной субъединице PI3K. Релокализация PI3K к мембране активирует ее каталитическую субъединицу. Активация PI3K приводит к образованию вторичного мессенджера фосфатиди-

линозитол-3,4,5-трифосфата (PI3,4,5-P3) из субстрата фосфатидилинозитол-4,4-бифосфата (PI-4,5-P2). PI3,4,5-P3, в свою очередь, рекрутирует сигнальные белки, содержащие домены плекстрина (PH), на мембрану, включая протеин серин/треонинкиназо-3'-фосфоинозитид-зависимую киназу 1 (PDK1) и АКТ (протеинкиназу B) [10, 11].

Известно несколько мишеней, которые получают сигналы по PI3K пути, но наиболее важным медиатором является протеинкиназа АКТ [12]. Существует три типа АКТ: АКТ1, АКТ2 и АКТ3 [13–15]. Эти изоформы кодируются разными генами, но имеют общую консервативную доменную структуру, состоящую из аминоконцевого домена (плекстрин гомологичного домена; PH-домен), киназного домена и карбокси-концевого регуляторного домена, содержащего гидрофобный мотив [15]. Сигнальный путь PI3K/АКТ часто нарушается при злокачественных новообразованиях и в настоящее время рассматривается как важная противораковая мишень [16]. АКТ способствует росту раковых клеток как за счет подавления экспрессии генов,

отвечающих за клеточную смерть, так и за счет активации экспрессии генов, способствующих выживанию [17] (рис. 1). Показано, что АКТ ингибирует экспрессию членов семейства транскрипционных факторов FKHR, FHL1 и AFX, участвующих в регуляции апоптоза. Также известно, что АКТ ингибирует Bad, являющийся проапоптотическим членом семейства Bcl-2; киназу ASK1, которая, в свою очередь, активирует проапоптотические киназы JNK и p38 MAP; а также прокаспазу-9, которая играет важную роль в осуществлении сигнального пути апоптоза [18–20].

Мишенями АКТ, которые способствуют выживанию клеток, также являются NF-κB и цАМФ-зависимый транскрипционный фактор CREB [21, 22].

СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ PI3K-АКТ-mTOR

Важно отметить, что сигнальный путь PI3K-АКТ-mTOR, активируемый рецептором HER2, является одним из основных путей, регулирую-

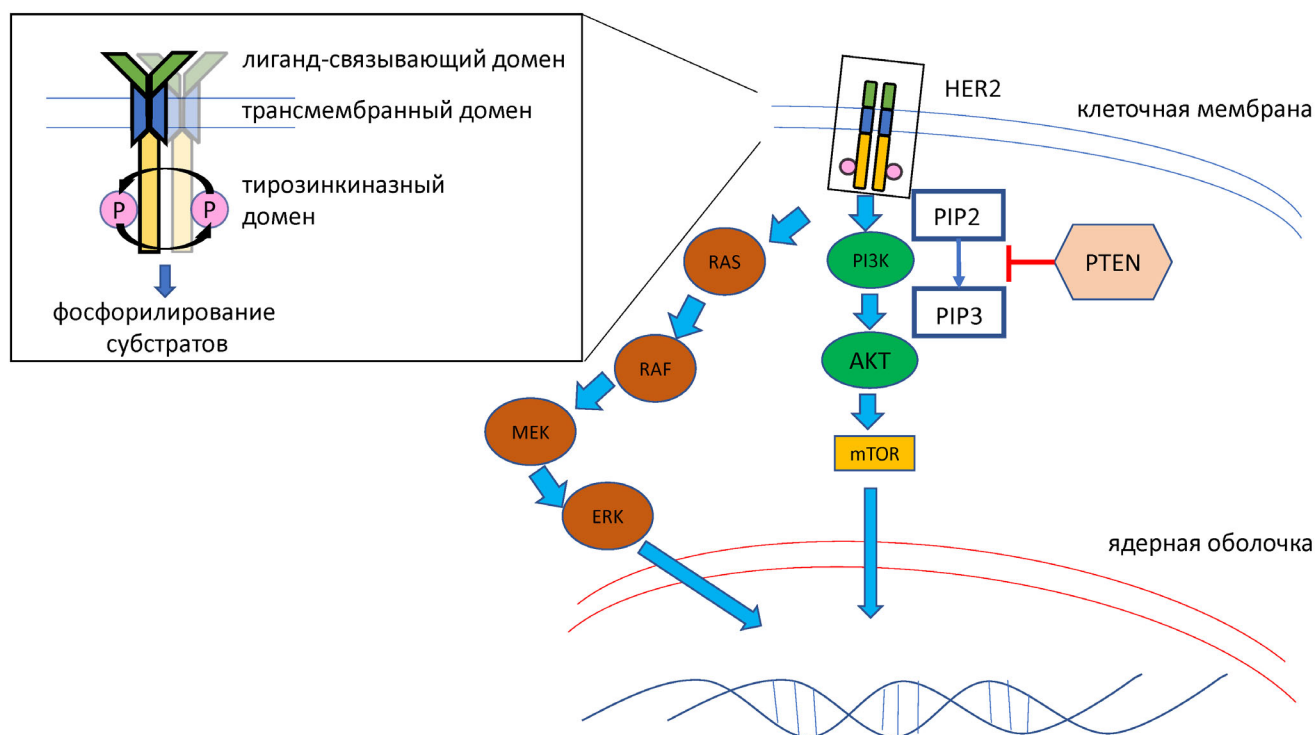


Рис. 1. Структура рецепторов семейства EGFR и основные активируемые HER2 сигнальные пути. Структура трансмембранного рецептора HER2 и других членов семейства EGFR включает внеклеточный лиганд-связывающий домен, трансмембранный домен, локализуемый рецептор в мембране, а также цитоплазматический тирозинкиназный домен, осуществляющий киназную активность. В результате гомо- или гетеродимеризации происходит фосфорилирование, обеспечивающее активацию рецептора. Активированный рецептор запускает сигнальные пути: сигнальный путь PI3K/АКТ, сигнальный путь Ras-Raf-MEK-ERK. (С цветными вариантами рис. 1 и 2 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biohsm/>)

щих аутофагию при стрессе, например, при голодании, окислительном стрессе, инфекции, а также при подавлении опухолей [23]. Помимо HER2 и других членов семейства EGFR, mTOR активируется другими рецепторами факторов роста и их лигандами, такими как рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1) — IGF-1R, а также рецептором фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR), которые также передают сигналы mTOR через PI3K/AKT.

mTOR в клетке существует как субъединица внутриклеточных мультимолекулярных сигнальных комплексов TORC1 и TORC2. Комплекс mTORC1 состоит из mTOR, Raptor, mLST8 и PRAS40. Он чувствителен к рапамицину и, следовательно, представляет собой мишень ингибиторов mTOR первого поколения. Он также активирует S6K и инактивирует 4EBP1, что приводит к трансляции белков и росту клеток [24]. Комплекс mTORC2 состоит из mTOR, Rictor, Sin1 и mLST8. Он менее чувствителен к рапамицину и его роль в нормальном функционировании клеток и онкогенезе до конца не ясна. Однако известно, что он активирует AKT, формируя петлю положительной обратной связи и тем самым способствуя пролиферации и выживанию клеток. Канонический путь активации mTOR зависит от передачи сигналов через PI3K/AKT, но известны и альтернативные не-AKT-зависимые пути активации, например, через путь Ras/MEK/ERK [25].

Также было показано, что AKT-зависимое фосфорилирование mTOR активирует экспрессию фактора, индуцируемого гипоксией 1 (HIF-1 α), а также усиливает ангиогенез за счет активации экспрессии VEGF [26].

Обобщая биологическую роль AKT, стоит особо отметить, что она является одной из наиболее важных киназ, которая подавляет индукцию апоптоза. В результате множества исследований было показано, что мутации в AKT подавляют пролиферацию клеток, тогда как повышенная экспрессия AKT дикого типа подавляет апоптоз, запускаемый различными типами стресса [27, 28]. Например, активация PI3K/AKT сигнального пути приводит к транслокации FoxO белков из ядра и подавляет их транскрипционную активность [29, 30]. Показано, что AKT фосфорилирует два сайта у данных белков, один из которых находится в аминоконцевой последовательности, а второй — в участке сигнала ядерной локализации (NLS) (T24 и S256 для FoxO1), что приводит к тому, что белки 14-3-3 узнают эти сайты и помогают экспорту фосфорилированных белков FoxO в цитозоль (рис. 2). Таким образом, AKT подавляет способность транскрипционных факторов FoxO акти-

вировать апоптоз, которому посвящена следующая глава, а также вызывать остановку клеточного цикла (через p21 и p27) и подавлять пролиферацию (через Sestrin3 MAP1LC3B и BNIP3) [31, 32].

PTEN является фосфатазой и ключевой молекулой, регулирующей сигнальный путь PI3K/AKT. PTEN дефосфорилирует липидные субстраты PI3,4,5-P3 и, тем самым, ингибирует проведение сигнала по PI3K/AKT пути (рис. 1). Не удивительно, что PTEN является супрессором опухолей, ингибируя рост клеток и повышая клеточную чувствительность к апоптозу, в т.ч. аноикису [33]. Важно отметить, что PTEN часто инактивирован при злокачественных новообразованиях как за счет мутаций, так и с помощью других механизмов, включая метилирование промотора, микро-РНК-интерференцию, фосфорилирование и изменение локализации [34–38].

СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ Ras-Raf-МАРК-МЕК-ЕРК

Митоген-активируемый протеинкиназный (МАРК) путь является одним из сложных взаимосвязанных сигнальных каскадов, который участвует в онкогенезе, прогрессировании опухоли, а также в развитии лекарственной устойчивости. При активации данного сигнального пути происходит амплификация ключевых белков, отвечающих за пролиферацию, рост и выживание [39]. Как правило, после активации рецепторов тирозинкиназы происходит трансдукция сигнала через цитозольные интермедиаторы, которые регулируют транскрипцию или трансляцию эффекторных генов [40]. В первую очередь, участвуют интермедиаторы RAS ГТФаз при активации пути МАРК. RAS ГТФазы насчитывают около 150 малых G-белков, которые передают сигнал внутрь клетки. Среди наиболее известных выделяют HRAS, KRAS, NRAS [41]. После димеризации HER2 внутриклеточные домены рецептора образуют докинг-сайты, с которыми могут взаимодействовать адапторные белки. В случае активации RAS с докинг-сайтами связываются адапторные белки Grb2 и Shc, через которые происходит взаимодействие с фактором обмена гуанина Sos, в свою очередь, привлекающим ГТФазу RAS [42]. После активации RAS передает сигнал на нижестоящий эффектор RAF, который зависит от взаимодействия с активированным RAS. Семейство RAF включает несколько вариантов (к примеру, ARAF, BRAF, CRAF) [43], каждый из которых состоит из серин/треонин киназ, ответственных

за активацию пути MEK (MAP kinase-ERK kinase) и ERK1/2 (внеклеточные сигнально-регулируемые киназы). Каскад активации происходит в следующем порядке: MAPKKK (митоген-активируемая протеинкиназа киназа киназ, представленная RAF и ее вариантами), за которой следует MAPK киназа (MAPKK: MEK1/2/3/4/5/6/7) и в самом конце MAPK (рис. 1). Существует три основных классических MAPK с различными изоформами ERK (с изоформами ERK1 и ERK2), JNK (*N*-концевые киназы *c-Jun* и его изоформы JNK1, JNK2 и JNK3) и MAPK p38 (p38 α , p38 β , p38 γ и p38 δ). Как MEK, так и ERK1/2 участвуют в важнейших процессах жизнедеятельности клетки, таких как выживание, пролиферация и дифференцировка [44, 45]. Таким образом, активируя данный сигнальный каскад, HER2 участвует в регуляции перечисленных выше клеточных процессов.

УЧАСТИЕ HER2 В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА

Помимо активации сигнальных путей, ответственных за пролиферацию и выживание клеток в условиях стрессовых воздействий, HER2 способен также напрямую регулировать процесс программируемой клеточной гибели на различных уровнях.

Как известно, одним из ключевых этапов запуска апоптоза является активация проапоптотических факторов семейства BCL-2: Bax и Bak, относящихся к подсемейству BH1-3 [46]. Данные белки обеспечивают проницаемость наружной мембраны митохондрий (MOMP) и выход цитохрома *c* с последующим встраиванием его в структуру апоптосомы [47]. Способность Bax и Bak выполнять проапоптотические функции подавляется членами того же белкового семейства BCL-2: Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1 (подсемейство BH1-4) и активируется факторами Puma, Noxa, Bid, Vim и др. (подсемейство BH3-only). Антиапоптотические белки подсемейства BH1-4 связываются с белками Bax и Bak, что препятствует их активации и образованию пор, необходимых для выхода цитохрома *c* из интермембранного пространства митохондрий (рис. 2) [48].

Согласно современным представлениям, при реализации внутреннего (или митохондриального) пути апоптоза воздействие различных стрессовых стимулов на клетку приводит к активации экспрессии таких проапоптотических белков, как Puma, Bax, Noxa, Vim, например, за счет транскрипционных факторов p53, p63, p73, *c-Myc* и др. [49–53]. Как было упомянуто выше, в результате активации Bax и Bak образуют поры во внешней мембране митохондрий, обеспечивающие высвобождение цитохрома *c* [54]. Цитохром *c*, в свою очередь, ассоциируется с бел-

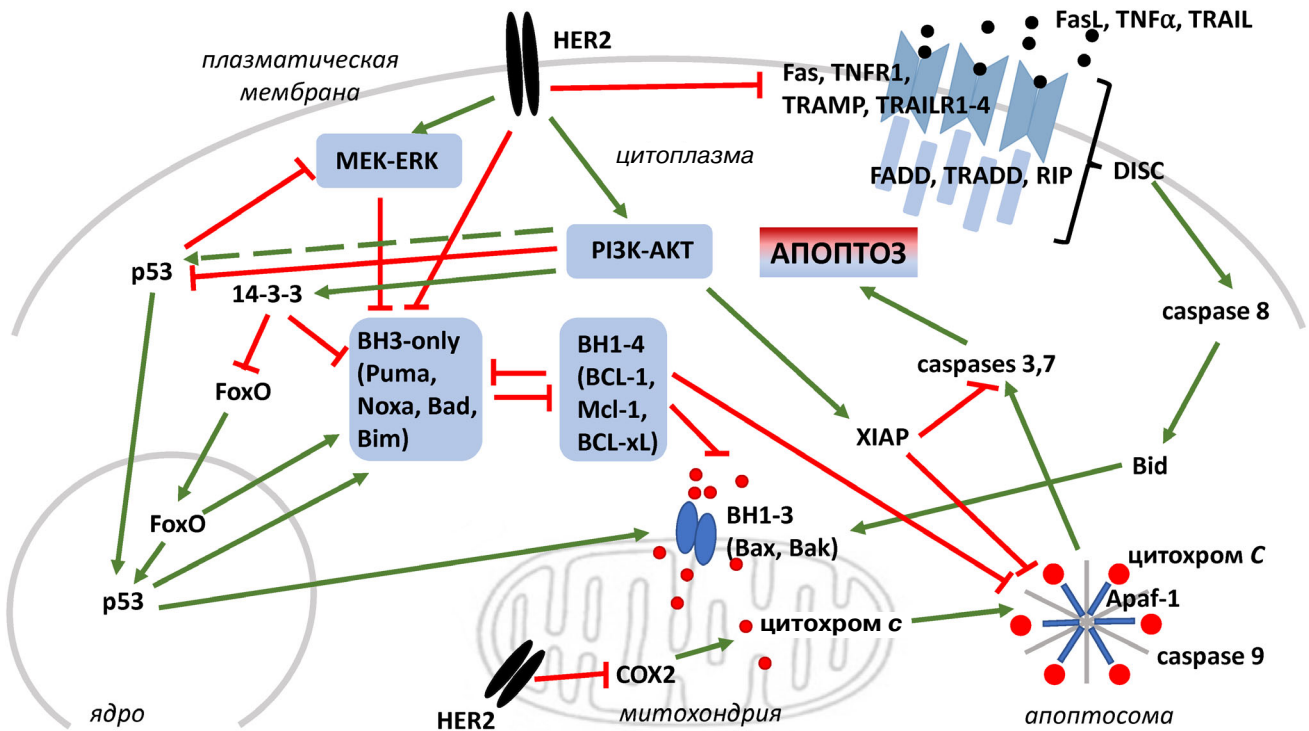


Рис. 2. Участие HER2 в регуляции апоптоза

ками Araf-1 и прокаспазой-9, образуя белковый комплекс апоптосомы. Активированная каспаза 9 в составе апоптосомы осуществляет процессинг прокаспаз-3, -7 и -6 (рис. 2) [55].

Внешний путь апоптоза инициируется связыванием лигандов с т.н. «рецепторами смерти» (Death receptors), к которым относятся такие рецепторы, как Fas, TNFR1, TRAMP, TRAILR1-4 и др. Для большинства из них известны соответствующие лиганды, такие как TNF, FasL, TRAIL, связывание с которыми приводит к привлечению в комплекс одного или нескольких адапторных белков FADD, TRADD или RIP. В результате формируется сигнальный комплекс, индуцирующий смерть (DISC), который осуществляет процессинг прокаспазы-8 и последующую активацию каспаз-3, -7 и -6. Также DISC отвечает за активацию процессинга BH3-only белка tBid с образованием его активной формы Bid, способной подавлять антиапоптотическую функцию белков подсемейства BH1-4, а также активировать индуктор апоптоза Bax и участвовать в формировании пор во внешней мембране митохондрий для выхода цитохрома *c* (рис. 2) [56.] В конечном итоге оба пути апоптоза приводят к тому, что активированные каспазы-3, -7 и -6 осуществляют протеолиз множества субстратов, вызывающий фрагментацию ДНК, разрушение цитоскелета, дестабилизацию межклеточных контактов и образование апоптотических телец.

Как было описано выше, HER2-активируемый сигналинг направлен на активацию таких опухолевых процессов, как пролиферация, метастазирование и формирование лекарственной устойчивости за счет повышения выживаемости клеток под воздействием стрессовых факторов. Помимо этого, HER2 как напрямую, так и опосредованно влияет на молекулярные пути, ответственные за запуск апоптоза в клетках.

ВЛИЯНИЕ HER2 НА ПРОАПОПТОТИЧЕСКИЕ БЕЛКИ Vim, Puma, Noxa И Bad

Было показано, что подавление HER2 с помощью специфического низкомолекулярного ингибитора лапатиниба приводит к активации BH3-only белков Puma и Vim, и, соответственно, последующему запуску процесса апоптоза [57]. Лапатиниб является тирозинкиназным ингибитором, препятствующим как гомодимеризации HER2, так и гетеродимеризации HER2 и EGFR, предотвращая таким образом активацию ниже лежащих сигнальных каскадов MEK-ERK и PI3K/AKT [58] (рис. 2). Инактивация HER2 с по-

мощью лапатиниба приводит к снижению активности PI3K/AKT сигналинга, что, в свою очередь, способствует диссоциации белкового комплекса FoxO-14-3-3. Высвобождение транскрипционного фактора FoxO делает возможной его транслокацию в ядро, где он активирует экспрессию гена *BBC3*, кодирующего белок Puma [59, 60] (рис. 2). Несмотря на то, что Vim также является транскрипционной мишенью FoxO [61], было показано, что лапатиниб-индуцируемая активация Vim происходит главным образом за счет подавления MEK-ERK сигнального каскада [57]. Активированная киназа ERK фосфорилирует фактор Vim, что способствует его убиквитинированию и протеасомной деградации [62, 63]. Таким образом, подавление HER2 и, соответственно, ERK приводит к стабилизации Vim и способствует активации апоптоза (рис. 2).

Кроме того, было показано, что HER2 способен физически взаимодействовать с белком Puma и фосфорилировать его по трем тирозиновым остаткам. Данные модификации приводят к дестабилизации белка Puma в клетках рака молочной железы за счет протеасомной деградации и, как следствие, подавлению апоптоза (рис. 2) [64].

Анализ пациентов с HER2-позитивной формой РМЖ показал, что амплификация HER2 ассоциирована с подавлением экспрессии проапоптотического белка Noxa, принадлежащего к BH3-only подсемейству [65]. Авторы данного исследования изначально предположили, что HER2 может опосредованно подавлять транскрипцию гена *PMAIP1* (Noxa), однако данная гипотеза не подтвердилась. Оказалось, что не транслируемая область гена *ERBB* содержит ген микроРНК, *miR-4728*, мишенью которой является эстрогеновый рецептор ER α , который, в свою очередь, активирует экспрессию Noxa [66, 67]. Таким образом, амплификация HER2 в раковых клетках неизбежно приводит к повышению экспрессии *miR-4728* и, следовательно, к снижению уровня Noxa в клетках, что является одним из механизмов, обеспечивающих HER2-зависимое подавление апоптоза (рис. 2).

Еще одним членом подсемейства BH3-only является белок Bad. При активации апоптотического каскада его основная функция заключается в конкурентном связывании антиапоптотических белков подсемейства BH1-4 (Bcl-2, Bcl-xL), в результате чего происходит высвобождения Bax и Bak из инактивирующего комплекса и формирование пор во внешней мембране митохондрий для выхода цитохрома *c* [68, 69]. Фосфорилирование Bad за счет киназ AKT и ERK, активируемыми HER2, приводит к связыванию Bad с белком 14-3-3, в результате чего данный

белок не способен разрушать ингибирующие межбелковые взаимодействия Bcl-2 и Bcl-xL со своими проапоптотическими мишенями и, соответственно, участвовать в запуске апоптоза [68]. Таким образом, активация фосфорилирования Bad за счет АКТ и ERK является еще одним механизмом HER2-зависимой регуляции запрограммированной клеточной гибели (рис. 2).

Вышеописанные механизмы HER2-опосредованной регуляции белков семейства BCL-2 обеспечивают антиапоптотическую функцию данного рецептора и были исследованы главным образом в клетках рака молочной железы. Учитывая, что амплификация HER2 характерна и для других типов опухолей, можно предположить возможную универсальность данных молекулярных путей, однако для определения влияния HER2 на проапоптотические белки BCL-2 семейства в клетках других типов рака необходимы дополнительные исследования.

HER2 И COX2

Показано, что помимо локализации на плазматической мембране и в ядре, для рецептора HER2 также характерно расположение на внутренней мембране митохондрий. Предполагается, что митохондриальная фракция HER2 регулирует активность электрон-транспортной цепи и энергетический метаболизм клетки [70, 71]. Кроме того, показано, что HER2, локализованный в митохондриях, способен подавлять активность цитохрома *c* оксидазы COX2, необходимой для окисления цитохрома *c*, предшествующего его высвобождению из интер-мембранного пространства митохондрий [70]. Таким образом, HER2 подавляет образование активной окисленной формы цитохрома *c*, необходимой для сборки апоптосомы и запуска запрограммированной клеточной гибели (рис. 2).

HER2 И РЕЦЕПТОРЫ СМЕРТИ

В настоящее время показано, что HER2 способен регулировать как внешний, так и внутренний пути активации апоптоза.

Так, было продемонстрировано, что ингибирование фосфорилирования HER2 и EGFR с помощью тирозинкиназного ингибитора гефитиниба в клетках аденокарциномы с гиперэкспрессией HER2 вызывает повышение экспрессии и мембранной локализации рецептора смерти FAS, сопровождающееся активацией как внутреннего, так и внешнего путей апоптоза [72] (рис. 2). Гипотезу о том, что HER2 подавля-

ет экспрессию и активацию рецептора FAS также подтверждает исследование влияния гликоалкалоида соламаргина на клетки рака легкого. Обработка клеток данным веществом приводит к одновременному снижению экспрессии HER2 и повышению уровня FAS, а также способствует повышению чувствительности клеток к цитотоксическому препарату эпирубицину [73].

На клеточных моделях нескольких типов рака было показано, что гиперэкспрессия HER2 приводит к снижению цитотоксического эффекта рекомбинантного TNF α – лиганда рецептора смерти TNFR. Таким образом, по-видимому, HER2 подавляет TNF α -индуцируемый апоптоз, а также обеспечивает защиту раковых клеток от уничтожения макрофагами (рис. 2) [74, 75].

Важно отметить, что клетки HER2-позитивного рака молочной железы с приобретенной устойчивостью к низкомолекулярному ингибитору HER2, лапатинибу, демонстрируют повышенную чувствительность к обработке лигандом рецепторов TRAILR. При этом было показано, что чувствительность к TRAIL приобретает только клетками, в которых снижен уровень фосфорилированной киназы АКТ [76]. Эффект HER2 на апоптотический каскад, запускаемый взаимодействием рецепторов TRAILR с соответствующим лигандом, скорее всего, зависит от клеточного контекста. Так, было показано, что подавление активации HER2 с помощью моноклонального антитела трастузумаба приводило к повышению уровня TRAIL-индуцируемого апоптоза в клеточной линии РМЖ HER2-позитивного подтипа SKBR3, но не в BT-474 [77].

HER2 И КАСПАЗЫ

Активация каспаз является одним из ключевых этапов запрограммированной клеточной гибели по пути апоптоза. При анализе панели HER2-экспрессирующих клеточных линий человека различных типов рака было показано, что повышенная экспрессия HER2 ассоциирована со сниженным уровнем каспаз 8 и 3 (рис.2) [78]. Кроме того, HER2 способен опосредованно воздействовать на активность каспаз 9, 3 и 7 за счет активации киназы АКТ. Фосфорилирование АКТ приводит к стабилизации белка XIAP, относящегося к группе ингибиторов апоптоза (IAP) [79]. Белок XIAP, в свою очередь, осуществляет свою функцию, предотвращая процессинг каспаз 9, 3 и 7 и подавляя главным образом внутренний путь апоптоза (рис. 2) [80]. Также было показано, что АКТ способен непосредственно фосфорилировать каспазу 9, что приводит к сниже-

нию ее протеазной активности и вызывает снижение уровня апоптоза (рис. 2) [18].

Любопытен тот факт, что белок HER2 сам является субстратом для расщепления каспазами. Так, было показано, что HER2 может гидролизироваться каспазами с образованием фрагмента 25 кДа, включающего ВН3-подобный домен, сходный по структуре с ВН3-доменом белков семейства BCL-2 [81]. При этом было продемонстрировано, что данный белковый фрагмент способен выполнять функции, характерные для проапоптотических факторов подсемейства ВН3-only, а именно ингибировать Bcl-xL, способствовать активации Noxa и выходу цитохрома *c* [81]. Несмотря на то, что данная работа демонстрирует потенциальный механизм, за счет которого HER2 способен выполнять функцию проапоптотического фактора, до сих пор не показано, подвергается ли данному процессингу каспазами эндогенный HER2.

HER2 И МАСТЕР-РЕГУЛЯТОР АПОПТОЗА p53

Сложно переоценить значение белка p53 для клетки. Этот короткоживущий транскрипционный фактор стабилизируется в клетке в ответ на различные формы стресса и активирует экспрессию множества белков, в том числе играющих ключевые роли в запуске и реализации апоптоза, таких как Puma, Bax, Noxa [82].

На сегодняшний день не показано физического взаимодействия между белками HER2 и p53, однако HER2 способен опосредованно влиять на активность p53 через активацию двух главных HER2-зависимых сигнальных путей — MEK-ERK и PI3K-AKT.

Так, было показано, что оверэкспрессия HER2 в клетках РМЖ подавляет активность p53 дикого типа за счет MEK-ERK и PI3K-AKT сигнальных каскадов, при этом данный эффект не наблюдался в клетках с мутантной формой p53 [83].

Необходимо отметить, что в настоящее время в ряде исследований на клетках рака легкого показана также потенциальная возможность положительного влияния HER2 на p53 за счет его активации с помощью MEK-ERK сигнального пути, в результате чего происходит повышение экспрессии p53-зависимых генов, принимающих участие в остановке клеточного цикла и запуске апоптоза [84, 85]. Еще одним потенциальным механизмом HER2-индуцируемого повышения транскрипционной активности p53 является активация киназы DAPK (death-associated protein kinase) за счет сигнального пути MEK-ERK. Так,

киназа DAPK является индуктором апоптоза и аутофагии, стабилизирующим белок p53 и способствующим активации его мишеней [86]. Сама DAPK-киназа фосфорилируется и активируется MEK-ERK каскадом, при этом активированная киназа DAPK подавляет транслокацию фосфорилированной формы ERK в ядро, препятствуя таким образом активации ядерных субстратов ERK, например, таких как Fos, Jun и Myc [87].

HER2-индуцируемый сигнальный каскад PI3K-AKT также участвует в регуляции активности p53. На клетках эмбриональной почки человека HEK293 было показано, что киназа AKT способна фосфорилировать главный негативный регулятор p53 — убиквитинлигазу MDM2 в двух положениях Ser166 и Ser186. Эти модификации приводят одновременно к транслокации MDM2 в ядро и стабилизации MDM2 за счет подавления авто-убиквитинирования [88].

При воздействии стресса на клетки стабилизация и активация p53 сопровождается активацией PTEN и деградацией AKT в протеасомах. Интересно, что PTEN физически взаимодействует с p53, способствует его ацетилированию, тетрамеризации и связыванию с ДНК, что приводит к усилению транскрипционной активности p53. С использованием различных клеточных моделей было показано, что взаимодействие PTEN-p53 подавляет MDM2-опосредованное ингибирование p53. Кроме того, другая группа исследователей показала, что PTEN способен подавлять транскрипцию MDM2, что, в свою очередь, приводит к стабилизации p53 [89].

Повышение экспрессии и активности HER2 приводит к активации PI3K-AKT каскада в клетках различных типов рака, в результате чего за счет MDM2-опосредованной деградации снижается уровень p53 и его транскрипционных мишеней [90]. Кроме того, данный эффект может усиливаться через дополнительный ARF-зависимый механизм: было показано, что при оверэкспрессии HER2 и активации AKT в клетках снижается уровень негативного регулятора MDM2 — белка ARF, препятствующего ассоциации MDM2 с p53 [91].

Необходимо отметить, что, как и в случае с MEK-ERK сигнальным каскадом, сигнальный каскад PI3K-AKT может как подавлять, так и стимулировать активацию p53. Так, недавно было продемонстрировано, что в результате AKT-зависимого фосфорилирования белка MAZ, являющегося транскрипционным репрессором p53, данный белок диссоциирует с промоторной областью p53, в результате чего экспрессия p53 и его транскрипционных мишеней повышается [92].

Приведенные в данной главе научные исследования иллюстрируют амбивалентную роль

HER2 в регуляции активности p53. Результаты были получены авторами на различных клеточных моделях, что позволяет нам лишь предполагать универсальность приведенных молекулярных механизмов. Однако уже сейчас можно заключить, что, по-видимому, существует тонкий регуляторный баланс HER2-индуцируемых факторов, который, сдвигаясь либо в одну, либо в другую сторону, может либо стимулировать, либо подавлять активность p53. Примеры подобной тонкой регуляции встречаются в биологии рака довольно часто, и все они свидетельствуют о необходимости молекулярного профилирования каждого конкретного типа опухоли, а в наилучшем случае – опухоли от каждого пациента, для выбора оптимального сочетания таргетных препаратов и цитостатической/цитотоксической терапии.

HER2 И МУТАНТНЫЙ p53

Как было упомянуто ранее, белок p53 является одним из важнейших факторов, отвечающих за запуск апоптоза, который, в свою очередь, обеспечивает механизм защиты организма против канцерогенеза. Согласно исследованиям образцов опухолей РМЖ с применением полногеномного секвенирования, частота мутаций в гене *Trp53* составляет приблизительно 30%. При этом для HER2-позитивных опухолей доля образцов, несущих мутации в гене *TP53*, составляет уже 70% [93].

Мы предполагаем, что существует механизм, за счет которого мутантные формы p53, обладающие собственной транскрипционной активностью и, как правило, осуществляющие онкогенные функции, активируют экспрессию HER2 и таким образом стимулируют активность его мишеней. При этом на сегодняшний день имеется гораздо меньше данных, свидетельствующих об обратной связи. Однако неоднократно показано, что повышенный уровень HER2 ассоциируется с высокой экспрессией *mutp53* [94]. Кроме того, недавнее исследование показало, что подавление активности HER2 с помощью ингибитора лапатиниба приводит к MDM2-зависимой деградации *mutp53* и снижению экспрессии его транскрипционной мишени HSF1 [95]. По-видимому, между HER2 и *mutp53* существует цикл обратной позитивной регуляции, что усиливает онкогенные свойства обоих белков.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В данном обзоре рассмотрены молекулярные механизмы, ответственные за участие ре-

цептора HER2 в регуляции апоптоза. Не будет преувеличением сказать, что подавляющее число активностей HER2 направлено на прямое или опосредованное подавление активности апоптотических или проапоптотических факторов и препятствование запуску запрограммированной клеточной гибели. Подавление апоптоза является одним из признаков раковой клетки согласно широко признанной концепции [96]. Действительно, на сегодняшний день HER2 рассматривается как онкоген и в настоящее время разрабатывается множество вариантов HER2-направленной противоопухолевой терапии. При этом невозможно не упомянуть о нескольких исключениях. Так, например, HER2 способен стимулировать экспрессию p53, а продукт его расщепления каспазами потенциально способен выполнять функции BH3-only подсемейства белков [81, 92].

Несмотря на десятилетия исследований и значительный прогресс в данной области, проблема резистентности HER2-позитивного типа опухолей к химиотерапии, а также приобретаемой устойчивости к анти-HER2 препаратам все еще актуальна [97]. Учитывая разнонаправленное влияние HER2 на клетку, а также способность данного белка к гетеродимеризации с другими тирозинкиназными рецепторами, неудивительно, что раковая клетка преодолевает действие HER2-направленных ингибиторов за счет обходных компенсаторных механизмов. Наиболее перспективной на сегодняшний день стратегией подавления роста HER2-позитивных опухолей представляется сочетанная терапия, включающая одновременно анти-HER2 препараты и цитотоксические вещества, вызывающие смерть раковой клетки. К данной стратегии также можно отнести и конъюгаты антител и низкомолекулярных цитотоксических препаратов, два из которых – трастузумаб/дерукстекан и трастузумаб/эмтанзин – в настоящее время уже одобрены FDA (Food and Drug Administration) [98, 99]. Кроме того, в настоящее время появляется все больше исследований, демонстрирующих эффективность сочетания ингибиторов HER2 с ингибиторами других киназ, что также подтверждает мнение о перспективности подавления компенсаторных механизмов, активирующихся при подавлении HER2 [97, 100].

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант 19-75-10059), РФФИ (грант 18-315-20013 мол_а_вед) и гранта Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых

в российских образовательных организациях высшего образования, научных учреждениях, подведомственных Федеральному агентству научных организаций, и государственных научных центрах Российской Федерации (14.W03.31.0029).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований, в которых в качестве объектов были использованы люди или животные.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Lemmon, M. A., Schlessinger, J., and Ferguson, K. M. (2014) The EGFR family: not so prototypical receptor tyrosine kinases, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **6**, a020768, doi: 10.1101/cshperspect.a020768.
- Iqbal, N., and Iqbal, N. (2014) Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in cancers: overexpression and therapeutic implications, *Mol. Biol. Intern.*, **2014**, 852748, doi: 10.1155/2014/852748.
- Tompa, R. (2018) FDA Approves trastuzumab biosimilar, *Cancer Discov.*, **8**, 130, doi: 10.1158/2159-8290.cd-nb2017-183.
- Yarden, Y., and Sliwkowski, M. X. (2001) Untangling the ErbB signaling network, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2**, 127-137, doi: 10.1038/35052073.
- Bertelsen, V., and Stang, E. (2014) The mysterious ways of ErbB2/HER2 trafficking, *Membranes*, **4**, 424-446, doi: 10.3390/membranes4030424.
- Lai, C., and Lemke, G. (1991) An extended family of protein-tyrosine kinase genes differentially expressed in the vertebrate nervous system, *Neuron*, **6**, 691-704, doi: 10.1016/0896-6273(91)90167-x.
- Lemke, G. (2013) Biology of the TAM receptors, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **5**, a009076, doi: 10.1101/cshperspect.a009076.
- Liu, L., Greger, J., Shi, H., Liu, Y., Greshock, J., Annan, R., Halsey, W., Sathe, G. M., Martin, A. M., and Gilmer, T. M. (2009) Novel mechanism of lapatinib resistance in HER2-positive breast tumor cells: activation of AXL, *Cancer Res.*, **69**, 6871-6878, doi: 10.1158/0008-5472.can-08-4490.
- Tanizaki, J., Okamoto, I., Sakai, K., and Nakagawa, K. (2011) Differential roles of trans-phosphorylated EGFR, HER2, HER3, and RET as heterodimerisation partners of MET in lung cancer with MET amplification, *Br. J. Cancer*, **105**, 807-813, doi: 10.1038/bjc.2011.322.
- Fruman, D. A., Meyers, R. E., and Cantley, L. C. (1998) Phosphoinositide kinases, *Ann. Rev. Biochem.*, **67**, 481-507, doi: 10.1146/annurev.biochem.67.1.481.
- Fresno Vara, J. A., Casado, E., de Castro, J., Cejas, P., Belda-Iniesta, C., and González-Barón, M. (2004) PI3K/Akt signalling pathway and cancer, *Cancer Treat. Rev.*, **30**, 193-204, doi: 10.1016/j.ctrv.2003.07.007.
- Guo, H., German, P., Bai, S., Barnes, S., Guo, W., et al. (2015) The PI3K/AKT pathway and renal cell carcinoma, *J. Genet. Genomics*, **42**, 343-353, doi: 10.1016/j.jgg.2015.03.003.
- Jones, P. F., Jakubowicz, T., and Hemmings, B. A. (1991) Molecular cloning of a second form of rac protein kinase, *Cell Regul.*, **2**, 1001-1009, doi: 10.1091/mbc.2.12.1001.
- Jones, P. F., Jakubowicz, T., Pitossi, F. J., Maurer, F., and Hemmings, B. A. (1991) Molecular cloning and identification of a serine/threonine protein kinase of the second-messenger subfamily, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 4171-4175, doi: 10.1073/pnas.88.10.4171.
- Masure, S., Haefner, B., Wesselink, J. J., Hoefnagel, E., Mortier, E., et al. (1999) Molecular cloning, expression and characterization of the human serine/threonine kinase Akt-3, *Eur. J. Biochem.*, **265**, 353-360, doi: 10.1046/j.1432-1327.1999.00774.x.
- Thorpe, L. M., Yuzugullu, H., and Zhao, J. J. (2015) PI3K in cancer: divergent roles of isoforms, modes of activation and therapeutic targeting, *Nat. Rev. Cancer*, **15**, 7-24, doi: 10.1038/nrc3860.
- Nicholson, K. M., and Anderson, N. G. (2002) The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy, *Cell. Signal.*, **14**, 381-395, doi: 10.1016/s0898-6568(01)00271-6.
- Cardone, M. H., Roy, N., Stennicke, H. R., Salvesen, G. S., Franke, T. F., et al. (1998) Regulation of cell death protease caspase-9 by phosphorylation, *Science*, **282**, 1318-1321, doi: 10.1126/science.282.5392.1318.
- Datta, S. R., Dudek, H., Tao, X., Masters, S., Fu, H., Gotoh, Y., and Greenberg, M. E. (1997) Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery, *Cell*, **91**, 231-241, doi: 10.1016/s0092-8674(00)80405-5.
- Kim, A. H., Khursigara, G., Sun, X., Franke, T. F., and Chao, M. V. (2001) Akt phosphorylates and negatively regulates apoptosis signal-regulating kinase 1, *Mol. Cell. Biol.*, **21**, 893-901, doi: 10.1128/mcb.21.3.893-901.2001.
- Du, K., and Montminy, M. (1998) CREB is a regulatory target for the protein kinase Akt/PKB, *J. Biol. Chem.*, **273**, 32377-32379, doi: 10.1074/jbc.273.49.32377.
- Ozes, O. N., Mayo, L. D., Gustin, J. A., Pfeffer, S. R., Pfeffer, L. M., and Donner, D. B. (1999) NF-kappaB activation by tumour necrosis factor requires the Akt serine-threonine kinase, *Nature*, **401**, 82-85, doi: 10.1038/43466.
- Levine, B., and Kroemer, G. (2008) Autophagy in the pathogenesis of disease, *Cell*, **132**, 27-42, doi: 10.1016/j.cell.2007.12.018.
- Hay, N., and Sonenberg, N. (2004) Upstream and downstream of mTOR, *Genes Dev.*, **18**, 1926-1945, doi: 10.1101/gad.1212704.
- Memmott, R. M., and Dennis, P. A. (2009) Akt-dependent and -independent mechanisms of mTOR regulation in cancer, *Cell. Signal.*, **21**, 656-664, doi: 10.1016/j.cellsig.2009.01.004.
- Zhong, H., Chiles, K., Feldser, D., Laughner, E., Hanrahan, C., Georgescu, M.-M., Simons, J. W., and Semenza, G. L. (2000) Modulation of hypoxia-inducible factor 1 α expression by the epidermal growth factor/phosphatidylinositol 3-kinase/PTEN/AKT/FRAP pathway in human prostate cancer cells: implications for tumor angiogenesis and therapeutics, *Cancer Res.*, **60**, 1541-1545.
- Kauffmann-Zeh, A., Rodriguez-Viciana, P., Ulrich, E., Gilbert, C., Coffey, P., Downward, J., and Evan, G. (1997) Suppression of c-Myc-induced apoptosis by Ras signalling through PI(3)K and PKB, *Nature*, **385**, 544-548, doi: 10.1038/385544a0.
- Manning, B. D., and Toker, A. (2017) AKT/PKB signaling: navigating the network, *Cell*, **169**, 381-405, doi: 10.1016/j.cell.2017.04.001.
- Brunet, A., Bonni, A., Zigmond, M. J., Lin, M. Z., Juo, P., et al. (1999) Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor, *Cell*, **96**, 857-868, doi: 10.1016/s0092-8674(00)80595-4.

30. Kops, G. J., de Ruiter, N. D., De Vries-Smits, A. M., Powell, D. R., Bos, J. L., and Burgering, B. M. (1999) Direct control of the Forkhead transcription factor AFX by protein kinase B, *Nature*, **398**, 630-634, doi: 10.1038/19328.
31. Van der Vos, K. E., and Coffey, P. J. (2011) The extending network of FOXO transcriptional target genes, *Antiox. Redox Signal.*, **14**, 579-592, doi: 10.1089/ars.2010.3419.
32. Webb, A. E., and Brunet, A. (2014) FOXO transcription factors: key regulators of cellular quality control, *Trends Biochem. Sci.*, **39**, 159-169, doi: 10.1016/j.tibs.2014.02.003.
33. Lu, Y., Lin, Y. Z., LaPushin, R., Cuevas, B., Fang, X., et al. (1999) The PTEN/MMAC1/TEP tumor suppressor gene decreases cell growth and induces apoptosis and anoikis in breast cancer cells, *Oncogene*, **18**, 7034-7045, doi: 10.1038/sj.onc.1203183.
34. Kim, H., Huang, W., Jiang, X., Pennicooke, B., Park, P. J., and Johnson, M. D. (2010) Integrative genome analysis reveals an oncomir/oncogene cluster regulating glioblastoma survivorship, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 2183-2188, doi: 10.1073/pnas.0909896107.
35. Molina, J. R., Morales, F. C., Hayashi, Y., Aldape, K. D., and Georgescu, M. M. (2010) Loss of PTEN binding adapter protein NHERF1 from plasma membrane in glioblastoma contributes to PTEN inactivation, *Cancer Res.*, **70**, 6697-6703, doi: 10.1158/0008-5472.can-10-1271.
36. Polisenio, L., Salmena, L., Zhang, J., Carver, B., Haveman, W. J., and Pandolfi, P. P. (2010) A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology, *Nature*, **465**, 1033-1038, doi: 10.1038/nature09144.
37. Silva, A., Yunes, J. A., Cardoso, B. A., Martins, L. R., Jotta, P. Y., et al. (2008) PTEN post-translational inactivation and hyperactivation of the PI3K/Akt pathway sustain primary T cell leukemia viability, *J. Clin. Invest.*, **118**, 3762-3774, doi: 10.1172/jci34616.
38. Wiencke, J. K., Zheng, S., Jelluma, N., Tihan, T., Vandenberg, S., et al. (2007) Methylation of the PTEN promoter defines low-grade gliomas and secondary glioblastoma, *Neuro Oncol.*, **9**, 271-279, doi: 10.1215/15228517-2007-003.
39. Plotnikov, A., Flores, K., Maik-Rachline, G., Zehorai, E., Kapri-Pardes, E., et al. (2015) The nuclear translocation of ERK1/2 as an anticancer target, *Nat. Commun.*, **6**, 6685, doi: 10.1038/ncomms7685.
40. Cargnello, M., and Roux, P. P. (2011) Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **75**, 50-83, doi: 10.1128/mmbr.00031-10.
41. Johnson, D. S., and Chen, Y. H. (2012) Ras family of small GTPases in immunity and inflammation, *Curr. Opin. Pharm.*, **12**, 458-463, doi: 10.1016/j.coph.2012.02.003.
42. Hsu, J. L., and Hung, M.-C. (2016) The role of HER2, EGFR, and other receptor tyrosine kinases in breast cancer, *Cancer Metast. Rev.*, **35**, 575-588, doi: 10.1007/s10555-016-9649-6.
43. Matallanas, D., Birtwistle, M., Romano, D., Zebisch, A., Rauch, J., von Kriegsheim, A., and Kolch, W. (2011) Raf family kinases: old dogs have learned new tricks, *Genes Cancer*, **2**, 232-260, doi: 10.1177/1947601911407323.
44. Boulton, T. G., Nye, S. H., Robbins, D. J., Ip, N. Y., Radziejewska, E., et al. (1991) ERKs: a family of protein-serine/threonine kinases that are activated and tyrosine phosphorylated in response to insulin and NGF, *Cell*, **65**, 663-675, doi: 10.1016/0092-8674(91)90098-j.
45. McCubrey, J. A., Steelman, L. S., Chappell, W. H., Abrams, S. L., Wong, E. W., et al. (2007) Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance, *Biochim. Biophys. Acta*, **1773**, 1263-1284, doi: 10.1016/j.bbamcr.2006.10.001.
46. Wei, M. C., Zong, W.-X., Cheng, E. H.-Y., Lindsten, T., Panoutsakopoulou, V., et al. (2001) Proapoptotic BAX and BAK: a requisite gateway to mitochondrial dysfunction and death, *Science*, **292**, 727-730, doi: 10.1126/science.1059108.
47. Peña-Blanco, A., and García-Sáez, A. J. (2018) Bax, Bak and beyond – mitochondrial performance in apoptosis, *FEBS J.*, **285**, 416-431.
48. Roufayel, R. (2016) Regulation of stressed-induced cell death by the Bcl-2 family of apoptotic proteins, *Mol. Membrane Biol.*, **33**, 89-99, doi: 10.1111/febs.14186.
49. Villunger, A., Michalak, E. M., Coultas, L., Müllauer, F., Böck, G., Ausserlechner, M. J., Adams, J. M., and Strasser, A. (2003) p53-and drug-induced apoptotic responses mediated by BH3-only proteins puma and noxa, *Science*, **302**, 1036-1038, doi: 10.1126/science.1090072.
50. Toshiyuki, M., and Reed, J. C. (1995) Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene, *Cell*, **80**, 293-299, doi: 10.1016/0092-8674(95)90412-3.
51. Muthalagu, N., Junttila, M. R., Wiese, K. E., Wolf, E., Morton, J., et al. (2014) BIM is the primary mediator of MYC-induced apoptosis in multiple solid tissues, *Cell Rep.*, **8**, 1347-1353, doi: 10.1016/j.celrep.2014.07.057.
52. Jacobs, W. B., Govoni, G., Ho, D., Atwal, J. K., Barnabe-Heider, F., et al. (2005) p63 is an essential proapoptotic protein during neural development, *Neuron*, **48**, 743-756, doi: 10.1016/j.neuron.2005.10.027.
53. Melino, G., Bernassola, F., Ranalli, M., Yee, K., Zong, W. X., et al. (2004) p73 Induces apoptosis via PUMA transactivation and Bax mitochondrial translocation, *J. Biol. Chem.*, **279**, 8076-8083, doi: 10.1074/jbc.M307469200.
54. Westphal, D., Kluck, R., and Dewson, G. (2014) Building blocks of the apoptotic pore: how Bax and Bak are activated and oligomerize during apoptosis, *Cell Death Differ.*, **21**, 196-205.
55. Dorstyn, L., Akey, C. W., and Kumar, S. (2018) New insights into apoptosome structure and function, *Cell Death Differ.*, **25**, 1194-1208, doi: 10.1038/s41418-017-0025-z.
56. Lavrik, I., Golks, A., and Kramer, P. H. (2005) Death receptor signaling, *J. Cell Sci.*, **118**, 265-267, doi: 10.1242/jcs.01610.
57. Bean, G. R., Ganesan, Y. T., Dong, Y., Takeda, S., Liu, H., et al. (2013) PUMA and BIM are required for oncogene inactivation-induced apoptosis, *Sci. Signal.*, **6**, 20, doi: 10.1126/scisignal.2003483.
58. Kanat, O., Ertas, H., and Caner, B. (2018) Dual HER2 inhibition strategies in the management of treatment-refractory metastatic colorectal cancer: history and status, *World J. Clin. Cases*, **6**, 418.
59. Tzivion, G., Dobson, M., and Ramakrishnan, G. (2011) FoxO transcription factors; regulation by AKT and 14-3-3 proteins, *Biochim. Biophys. Acta*, **1813**, 1938-1945, doi: 10.1016/j.bbamcr.2011.06.002.
60. You, H., Pellegrini, M., Tsuchihara, K., Yamamoto, K., Hacker, G., et al. (2006) FOXO3a-dependent regulation of Puma in response to cytokine/growth factor withdrawal, *J. Exp. Med.*, **203**, 1657-1663, doi: 10.1084/jem.20060353.
61. Gilley, J., Coffey, P. J., and Ham, J. (2003) FOXO transcription factors directly activate bim gene expression and promote apoptosis in sympathetic neurons, *J. Cell Biol.*, **162**, 613-622.
62. Akiyama, T., Dass, C. R., and Choong, P. F. (2009) Bim-targeted cancer therapy: a link between drug action and underlying molecular changes, *Mol. Cancer Ther.*, **8**, 3173-3180, doi: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0685.

63. Wan, L., Tan, M., Yang, J., Inuzuka, H., Dai, X., et al. (2014) APCCdc20 suppresses apoptosis through targeting Bim for ubiquitination and destruction, *Dev. Cell*, **29**, 377-391, doi: 10.1016/j.devcel.2014.04.022.
64. Carpenter, R. L., Han, W., Paw, I., and Lo, H.-W. (2013) HER2 phosphorylates and destabilizes pro-apoptotic PUMA, leading to antagonized apoptosis in cancer cells, *PLoS One*, **8**, e78836, doi: 10.1371/journal.pone.0078836.
65. Floros, K. V., Song, K.-A., Lochmann, T. L., Hughes, M. T., Heisey, D. A., et al. (2017) Deficient NOXA in HER2-amplified breast cancer drives kinase inhibitor resistance, *Proc. 105th Ann. Meeting Am. Assoc. Cancer Res.*, **77**, 3082, doi: 10.1158/1538-7445.AM2017-3082.
66. Floros, K. V., Lochmann, T. L., Hu, B., Monterrubio, C., Hughes, M. T., et al. (2018) Coamplification of miR-4728 protects HER2-amplified breast cancers from targeted therapy, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 2594-2603, doi: 10.1073/pnas.1717820115.
67. Liu, W., Swetzig, W. M., Medisetty, R., and Das, G. M. (2011) Estrogen-mediated upregulation of Noxa is associated with cell cycle progression in estrogen receptor-positive breast cancer cells, *PLoS One*, **6**, e29466, doi: 10.1371/journal.pone.0029466.
68. Pandey, V., Zhu, T., Ma, L., and Lobie, P. E. (2018) Bad phosphorylation as a target of inhibition in oncology, *Cancer Lett.*, **415**, 177-186, doi: 10.1016/j.canlet.2017.11.017.
69. Czabotar, P. E., Lessene, G., Strasser, A., and Adams, J. M. (2014) Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **15**, 49-63, doi: 10.1038/nrm3722.
70. Ding, Y., Liu, Z., Desai, S., Zhao, Y., Liu, H., et al. (2012) Receptor tyrosine kinase ErbB2 translocates into mitochondria and regulates cellular metabolism, *Nat. Commun.*, **3**, 1-12, doi: 10.1038/ncomms2236.
71. Rohlenova, K., Sachaphibulkij, K., Stursa, J., Bezawork-Geleta, A., Blecha, J., et al. (2017) Selective disruption of respiratory supercomplexes as a new strategy to suppress Her2^{high} breast cancer, *Antioxid. Redox Signal.*, **26**, 84-103, doi: 10.1089/ars.2016.6677.
72. Piechocki, M. P., Yoo, G. H., Dibbley, S. K., Amjad, E. H., and Lonardo, F. (2006) Iressa induces cytostasis and augments Fas-mediated apoptosis in acinic cell adenocarcinoma overexpressing HER2/neu, *Int. J. Cancer*, **119**, 441-454, doi: 10.1002/ijc.21837.
73. Liang, C. H., Shiu, L. Y., Chang, L. C., Sheu, H. M., and Kuo, K. W. (2007) Solana rgine upregulation of Fas, downregulation of HER2, and enhancement of cytotoxicity using epirubicin in NSCLC cells, *Mol. Nutr. Food Res.*, **51**, 999-1005, doi: 10.1002/mnfr.200700044.
74. Shepard, H. M., Lewis, G. D., Sarup, J. C., Fendly, B. M., Maneval, D., et al. (1991) Monoclonal antibody therapy of human cancer: taking the HER2 protooncogene to the clinic, *J. Clin. Immunol.*, **11**, 117-127.
75. Zhou, B. P., Hu, M. C.-T., Miller, S. A., Yu, Z., Xia, W., et al. (2000) HER-2/neu blocks tumor necrosis factor-induced apoptosis via the Akt/NF-κB pathway, *J. Biol. Chem.*, **275**, 8027-8031, doi: 10.1074/jbc.275.11.8027.
76. Eustace, A. J., Conlon, N. T., McDermott, M. S., Browne, B. C., O'Leary, P., et al. (2018) Development of acquired resistance to lapatinib may sensitise HER2-positive breast cancer cells to apoptosis induction by obatoclax and TRAIL, *BMC Cancer*, **18**, 965, doi: 10.1186/s12885-018-4852-1.
77. Dubská, L., Anděra, L., and Sheard, M. A. (2005) HER2 signaling downregulation by trastuzumab and suppression of the PI3K/Akt pathway: an unexpected effect on TRAIL-induced apoptosis, *FEBS Lett.*, **579**, 4149-4158, doi: 10.1016/j.febslet.2005.06.047.
78. Arman, K., Ergün, S., Temiz, E., and Öztuzcu, S. (2014) The interrelationship between HER2 and CASP3/8 with apoptosis in different cancer cell lines, *Mol. Biol. Rep.*, **41**, 8031-8036, doi: 10.1007/s11033-014-3700-x.
79. Dan, H. C., Sun, M., Kaneko, S., Feldman, R. I., Nicosia, S. V., et al. (2004) Akt phosphorylation and stabilization of X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP), *J. Biol. Chem.*, **279**, 5405-5412, doi: 10.1074/jbc.M312044200.
80. Obexer, P., and Ausserlechner, M. J. (2014) X-linked inhibitor of apoptosis protein – a critical death resistance regulator and therapeutic target for personalized cancer therapy, *Front. Oncol.*, **4**, 197, doi: 10.3389/fonc.2014.00197.
81. Strohecker, A. M., Yehiely, F., Chen, F., and Cryns, V. L. (2008) Caspase cleavage of HER-2 releases a Bad-like cell death effector, *J. Biol. Chem.*, **283**, 18269-18282, doi: 10.1074/jbc.M802156200.
82. Marouco, D., Garabadgiu, A. V., Melino, G., and Barlev, N. A. (2013) Lysine-specific modifications of p53: a matter of life and death? *Oncotarget*, **4**, 1556, doi: 10.18632/oncotarget.1436.
83. Zheng, L., Ren, J., Zhang, L., Chen, Q., and Zhu, H. (2004) Overexpression of HER2/neu downregulates wild p53 protein expression via PI3K and Ras/Raf/MEK/ERK pathways in human breast cancer cells, *Chin. J. Pathol.*, **33**, 358-362.
84. Lv, C., Hong, Y., Miao, L., Li, C., Xu, G., et al. (2013) Wentilactone A as a novel potential antitumor agent induces apoptosis and G2/M arrest of human lung carcinoma cells, and is mediated by HRas-GTP accumulation to excessively activate the Ras/Raf/ERK/p53-p21 pathway, *Cell Death Dis.*, **4**, 952-952, doi: 10.1038/cddis.2013.484.
85. Sun, C.-Y., Zhu, Y., Li, X.-F., Wang, X.-Q., Tang, L.-P., et al. (2018) Scutellarin increases cisplatin-induced apoptosis and autophagy to overcome cisplatin resistance in non-small cell lung cancer via ERK/p53 and c-met/AKT signaling pathways, *Front. Pharmacol.*, **9**, 92, doi: 10.3389/fphar.2018.00092.
86. Singh, P., Ravanan, P., and Talwar, P. (2016) Death associated protein kinase 1 (DAPK1): a regulator of apoptosis and autophagy, *Front. Mol. Neurosci.*, **9**, 46, doi: 10.3389/fnmol.2016.00046.
87. Maik-Rachline, G., Hacoheh-Lev-Ran, A., and Seger, R. (2019) Nuclear ERK: Mechanism of translocation, substrates, and role in cancer, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 1194.
88. Feng, J., Tamaskovic, R., Yang, Z., Brazil, D. P., Merlo, A., Hess, D., and Hemmings, B. A. (2004) Stabilization of Mdm2 via decreased ubiquitination is mediated by protein kinase B/Akt-dependent phosphorylation, *J. Biol. Chem.*, **279**, 35510-35517, doi: 10.3390/ijms20051194.
89. Li, A. G., Piluso, L. G., Cai, X., Wei, G., Sellers, W. R., and Liu, X. (2006) Mechanistic insights into maintenance of high p53 acetylation by PTEN, *Mol. Cell*, **23**, 575-587.
90. Abraham, A. G., and O'Neill, E. (2014) PI3K/Akt-mediated regulation of p53 in cancer, *Biochem. Soc. Trans.*, **42**, 798-803, doi: 10.1016/j.molcel.2006.06.028.
91. Zhang, Y., Yang, H.-Y., Zhang, X.-C., Yang, H., Tsai, M., and Lee, M.-H. (2004) Tumor suppressor ARF inhibits HER-2/neu-mediated oncogenic growth, *Oncogene*, **23**, 7132-7143, doi: 10.1038/sj.onc.1207918.
92. Lee, W.-P., Lan, K.-H., Li, C.-P., Chao, Y., Lin, H.-C., and Lee, S.-D. (2016) Akt phosphorylates myc-associated zinc finger protein (MAZ), releases P-MAZ from the p53 promoter, and activates p53 transcription, *Cancer Lett.*, **375**, 9-19, doi: 10.1016/j.canlet.2016.02.023.
93. Nik-Zainal, S., Davies, H., Staaf, J., Ramakrishna, M., Glodzik, D., et al. (2016) Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences, *Nature*, **534**, 47-54, doi: 10.1038/nature17676.

94. Nath, S., Ghatak, D., Das, P., and Roychoudhury, S. (2015) Transcriptional control of mitosis: deregulation and cancer, *Front. Endocrinol.*, **6**, 60, doi: 10.3389/fendo.2015.00060.
95. Li, D., and Marchenko, N. D. (2017) ErbB2 inhibition by lapatinib promotes degradation of mutant p53 protein in cancer cells, *Oncotarget*, **8**, 5823, doi: 10.18632/oncotarget.12878.
96. Hanahan, D., and Weinberg, R. A. (2011) Hallmarks of cancer: the next generation, *Cell*, **144**, 646-674, doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
97. Derakhshani, A., Rezaei, Z., Safarpour, H., Sabri, M., Mir, A., et al. (2020) Overcoming trastuzumab resistance in HER2-positive breast cancer using combination therapy, *J. Cell. Physiol.*, **235**, 3142-3156, doi: 10.1002/jcp.29216.
98. Verma, S., Miles, D., Gianni, L., Krop, I. E., Welslau, M., et al. (2012) Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer, *New Eng. J. Med.*, **367**, 1783-1791, doi: 10.1056/NEJMoa1209124.
99. Modi, S., Park, H., Murthy, R. K., Iwata, H., Tamura, K., et al. (2020) Antitumor activity and safety of trastuzumab deruxtecan in patients with HER2-low-expressing advanced breast cancer: Results from a phase Ib study, *J. Clin. Oncol.*, **38**, 1887-1896, doi: 10.1200/JCO.19.02318.
100. Pernas, S., and Tolaney, S. M. (2019) HER2-positive breast cancer: new therapeutic frontiers and overcoming resistance, *Ther. Adv. Med. Oncol.*, **11**, doi: 10.1177/1758835919833519.

THE INVOLVEMENT OF THE ERBB2/HER2 TYROSINE KINASE RECEPTOR IN THE REGULATION OF CELL DEATH

Review

A. A. Daks^{1#}, O. A. Fedorova^{1#}, O. Y. Shuvalov¹, S. E. Parfenyev¹, and N. A. Barlev^{1,2*}

¹ *Institute of Cytology, Russian Academy of Science, 194064 Saint Petersburg, Russia*

² *Moscow Institute of Physics and Technology (MIPT), 141701 Dolgoprudny, Moscow Region, Russia; E-mail: nick.a.barlev@gmail.com*

Received July 24, 2020

Revised August 10, 2020

Accepted August 12, 2020

HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2), also known as ERBB2, CD340 or *Neu* protooncogene, is a member of the epidermal growth factor receptor family. Members of the ERBB family, including HER2, activate molecular cascades that stimulate proliferation, migration, and resistance of cancer cells to anticancer therapy. Therefore, these proteins are often overexpressed and/or mutated in various cancer types and are promising targets for anti-cancer therapy. Currently, anti-HER2 drugs have been approved for the treatment of several types of solid tumors. The HER2-specific therapy includes monoclonal antibodies and small molecule inhibitors of tyrosine kinase activity of the receptor such as lapatinib, neratinib, and pyrotinib. In addition to activation of the molecular pathways responsible for cell proliferation and survival under stress conditions, HER2 is also able to regulate programmed cell death at various levels. This review analyzes the published studies focused on the involvement of the HER2 receptor in various signaling pathways and its role in the regulation of apoptosis.

Keywords: HER2, epidermal growth factor receptor, cancer, PI3K-AKT signaling pathway, apoptosis