

Received: 2007.01.08
Accepted: 2007.04.05
Published: 2007.05.16

Charakterystyka białka FAK i jego rola w procesie nowotworzenia

The characteristics of focal adhesion kinase (FAK) and its role in carcinogenesis

Ewa Totoń, Maria Rybczyńska

Zakład Chemii Klinicznej, Katedra Biochemii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

FAK jest cytoplazmatyczną kinazą tyrozynową o masie cząsteczkowej 125 kDa, umiejscowioną w komórkach wytwarzających połączenia z macierzą zewnątrzkomórkową (ECM) lub z innymi komórkami. Nadrzędną funkcją FAK jest przekazywanie sygnału pochodzącego z receptorów integrzynowych, biorących udział w adhezji, do wewnątrzkomórkowej kaskady białek. Kinaza FAK przekazując sygnał do wnętrza komórki, odgrywa pośrednio istotną rolę w wielu procesach zachodzących w komórkach. Białko to jest zaangażowane m.in. w regulację cyklu komórkowego, adhezję, migrację, inwazję i metastazję, fosforylację białek cytoszkieletu oraz apoptozę. Deregulacja procesów zależnych od FAK, takich jak adhezja, wzrost, przeżycie i ruchliwość komórek jest znaczącym elementem progresji nowotworu. Poziom ekspresji białka FAK cechuje się zmiennością w zależności od etapu rozwojowego nowotworu. Niewielka nadekspresja FAK występuje już w fazie preinwazyjnej nowotworu, wyraźnie nasilając się w postaci inwazyjnej. Duża ekspresja FAK koreluje ze zdolnością komórek rakowych do migracji, inwazji i tworzenia przerzutów. Określenie stopnia ekspresji FAK w komórkach nowotworowych może w przyszłości stać się ważnym elementem prognostycznym, ponieważ analizy dotyczące ekspresji białka FAK są wskazówką pozwalającą na identyfikację stopnia złośliwości nowotworu.

Słowa kluczowe:

przesyłanie sygnału • macierz zewnątrzkomórkowa • kinaza ogniskowo-adhezyjna (FAK) • fosforylacja tyrozyny • adhezja komórek • migracja komórek • progresja nowotworu

Summary

Focal adhesion kinase (FAK) is a 125-kDa cytoplasmic tyrosine kinase located in cells which create attachments with the extracellular matrix (ECM) or with other cells. The primary function of FAK is to transmit the signal coming from the integrin receptor, participating in adhesion, to the intracellular protein cascade. The FAK kinase transducing the signal indirectly plays a crucial role in many cellular processes. This protein is engaged in cell cycle regulation, adhesion, migration, invasion and metastasis, cytoskeleton protein phosphorylation, and apoptosis. Deregulation of the FAK-dependent processes, e.g. adhesion, growth, viability, and cell mobility, is a significant element of cancer progression. FAK protein level expression is varies widely and depends on the development grade of the cancer. A minor FAK overexpression is already observed in the preinvasion grade, increasing significantly in the invasive state. The high FAK expression correlates with cancer cell migration, invasion, and ability for metastasis. The evaluation of FAK expression in cancer cells might become an important prognostic factor, since FAK expression studies provide important information that provides the opportunity to identify the cancer grade

Key words: signal transduction • extracellular matrix • focal adhesion kinase (FAK) • tyrosine phosphorylation • cell adhesion • cell migration • tumor progression

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/10441.pdf

Word count: 2629

Tables: –

Figures: 3

References: 46

Adres autorki: prof. dr hab. Maria Rybczyńska, Zakład Chemii Klinicznej, Katedra Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań; e-mail: mrybczyn@ump.edu.pl

PRZESYLANIE SYGNAŁU W KOMÓRKACH

Odbieranie sygnałów ze środowiska zewnątrzkomórkowego jest niezbędne do prawidłowego rozwoju komórek i ich przetrwania. Na transdukcję sygnału w komórce wpływają różnorodne czynniki, są to m.in. cytokiny, neuroprzekazniki, hormony peptydowe oraz czynniki wzrostu, które modulują funkcje komórek poprzez wiązanie się ze swoistymi receptorami. Docierająca do komórki w postaci cząsteczki chemicznej informacja jest odbierana przez receptor błonowy ekspozowany na powierzchni komórki. Receptor przekształca sygnał zewnątrzkomórkowy w wewnątrzkomórkowy, inicjuje kaskadę sygnalizacyjną, która wiąże sygnał z wnętrzem komórki, amplifikuje go i rozprzodza. Informacja jest przekazywana z jednego zestawu wewnątrzkomórkowych nośników sygnalizacyjnych do drugich i tak kolejno, aż do wystąpienia ostatecznej odpowiedzi komórki na pierwotny bodziec. Na różnych etapach tej kaskady sygnały mogą ulegać modulacji pod wpływem innych procesów zachodzących w komórce. Efektem końcowym opisanego procesu przepływu informacji jest zaprogramowanie dalszego losu komórki. W ten sposób dochodzi do regulacji ekspresji genów, aktywacji enzymów lub zmuszenia cytoszkieletu do działania, wpływając tym samym na wiele długoterminowych procesów, takich jak: aktywność komórkowa, proliferacja, różnicowanie, migracja, apoptoza a także nowotworzenie [4,43].

CHARAKTERYSTYKA KINAZY OGNISKOWO-ADHEZYJNEJ

Kinaza ogniskowo-adhezyjna (focal adhesion kinase – FAK) jest cytoplazmatyczną kinazą tyrozynową, którą zlokalizowano w komórkach wytwarzających połączenia z macierzą zewnątrzkomórkową (ECM) lub z innymi komórkami [34]. Miejsca przyczepu komórki do ECM nazywane są ogniskami adhezji (FA) [33,41]. Nadrzędną funkcją FAK jest przekazywanie sygnału pochodzącego z receptorów integrinowych, biorących udział w adhezji, do wewnątrzkomórkowej kaskady białek [14,28].

FAK pierwotnie zidentyfikowano jako białko fosforylowane na tyrozynie w komórkach przekształconych przez onkogen Src, a następnie odkryto, że wiąże się z Src przez reakcję z domeną SH2 [11,41]. Gen *FAK* zlokalizowano na chromosomie 8 w *locus* q24. Podstawowym produktem tego genu jest białko FAK. Stwierdzono, że mysie embryony niezawierające genu *FAK* (*FAK-null*) wykazują dużą śmiertelność [14,46].

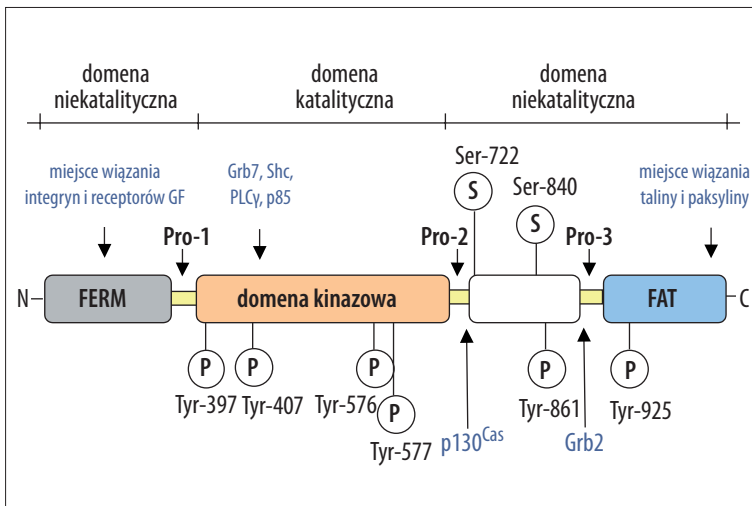
Obecność białka FAK wykazano w komórkach mezenchymalnych, neuronach, płytkach, limfocytach, monocytach, fibroblastach oraz komórkach naczyń żylnych [46]. Umiejscowienie białka FAK we wnętrzu komórki zależy od rodzaju komórek np. w neuronach kinaza jest umiejscowiona we wszystkich elementach, podczas gdy w astrocytach występuje w postaci związanej z cytoszkieletem [21].

BUDOWA I FOSFORYLACJA BIAŁKA FAK

FAK jest białkiem o liniowej budowie cząsteczki, składa się z około 1050 aminokwasów, masa cząsteczkowa wynosi 125 kDa [19]. Kinaza jest zbudowana z domeny katalitycznej (kinazowej) umieszczonej między dużymi regionami niekatalitycznymi N- i C-końcowym. Region aminowy kinazy ogniskowo-adhezyjnej zwany FERM jest związany z kompleksem białkowym ezryna-radiksyna-miozyna. Podstawową funkcją tej domeny *in vitro* jest wiązanie się z podjednostkami β -integriny [18,34]. W C-terminalnej niekatalitycznej domenie FAK jest umiejscowiony region, zbudowany z 150 aminokwasów, zwany FAT [28,46]. FAT pośredniczy w ogniskowym przyleganiu, ma miejsce wiązania dla dwóch białek, paksyliny i taliny. N-końiec paksyliny zawiera pięć kopii motywu bogatego w leucynę (LD), z którego tylko dwa (LD_2 i LD_4) łączą się z domeną FAT [6]. Oprócz tego domena FAT ma dwie sekwencje: PBS1 (a.a.919-938) i PBS2 (a.a.1029-1043), łączące się z paksyliną oraz jedną (a.a.965-1012) łączącą się z taliną [19,35].

W cząsteczce białka FAK wyodrębniono trzy sekwencje bogate w prolinę. Pierwsza jest umiejscowiona za domeną FERM, dwie kolejne znajdują się w mało poznanym regionie położonym między FAT a domeną katalityczną. Sekwencje bogate w prolinę służą jako miejsca łączenia białek z domenami SH3 i pośredniczą w wiązaniu z białkiem p130^{cas} oraz GRAF [36].

W niektórych typach komórek ekspresji w postaci autonomicznej domeny ulega C-końiec kinazy ogniskowo-adhezyjnej zwany FRNK (FAK-related non-kinase). Zwiększoną ekspresję domeny FRNK zaobserwowano w tkance płucnej, jelicie oraz mięśniach gładkich naczyń [34,41]. Domena FRNK składa się z 350 aminokwasów, a jej masa cząsteczkowa wynosi 43 kDa [46]. FRNK nie ma aktywności kinazowej ani miejsca autofosforylacji w pozycji Tyr-397, ale zawiera sekwencję bogatą w prolinę i obszar FAT [10,13]. Przypuszcza się, że FRNK jest endogennym inhibitorem



Ryc. 1. Struktura białka FAK. FERM – region aminowy kinazy ogniskowo-adhezyjnej, Pro-1,-2,-3 – sekwencje bogate w prolinę, P – reszta fosforanowa, Y – tyrozyna, S – seryna, FAT – region uczestniczący w ogniskowym przyleganiu, PLC γ – fosfolipaza γ , p85 – podjednostka regulatorowa należąca do kinazy fosfatydylo-3-inozytoli, p130^{Cas} – substrat dla Src

FAK, ponieważ osłabia zdolność połączenia FAK w kompleks z integrzyną poprzez defosforylację FAK, co uniemożliwia przekazywanie sygnału na kaskadę wtórnych przekaźników [28,30]. Ekspresja FRNK ma związek ze zmniejszeniem proliferacji i adhezji komórek oraz indukcją apoptozy poprzez aktywowanie kaspaz. W komórkach nowotworu piersi BT474 ekspresja FRNK powoduje powstanie fenotypu letalnego przez aktywację kaspaz 3 i 8, co kieruje komórki na drogę apoptozy [36].

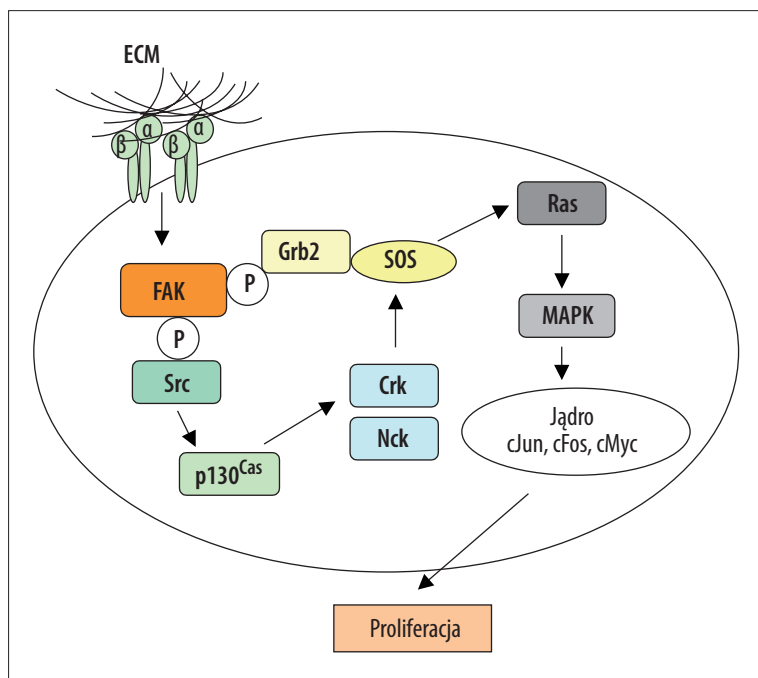
Do aktywacji białka FAK niezbędna jest fosforylacja miejsc zawierających tyrozynę. Zidentyfikowano kilka miejsc fosforylacji tyrozyny w FAK: Tyr-397, Tyr-407, Tyr-576, Tyr-577, Tyr-861, Tyr-925. Głównym miejscem fosforylacji jest Tyr-397, umiejscowiona w N-końcowej części domeny katalitycznej stanowi miejsce łączenia białek zawierających domenę SH2, takich jak: rodzina Src kinaz tyrozynowych, kinaza PI3, fosfolipaza γ , Grb7 oraz Nck [14,34,35]. Autofosforylacja Tyr-397 kreuje miejsce wiązania dla kinazy tyrozynowej Src, która fosforyluje FAK w pozycjach Tyr-576 i Tyr-577, powoduje maksymalną aktywację FAK [1]. Obie tyrozyny (576 i 577) stanowią miejsca regulacji fosforylacji, wpływając na ufosforylowanie pozostałych tyrozyn umiejscowionych na C-końcu kinazy (Tyr-861, Tyr-925) [19]. Fosforylacja Tyr-861 może promować aktywację FAK poprzez wzmocnienie autofosforylacji Tyr-397 [17]. Fosforylacja Tyr-925 tworzy miejsce łączenia dla domeny SH2 z Grb2 i w ten sposób tworzy jeden z mechanizmów aktywacji drogi Ras/MAPK przez FAK [18].

Białko FAK oprócz fosforylacji tyrozyny ulega także fosforylacji w miejscach zawierających serynę: Ser-722, Ser-840, Ser-843, Ser-910. Seryna znajdująca się w pozycji 840 kinazy ogniskowo-adhezyjnej jest substratem kinazy białkowej A. Funkcją PKA jest regulacja przebiegu cyklu komórkowego. Oceniając fosforylację seryny można pośrednio wnioskować o zaangażowaniu PKA w proces mitozy [27]. Podczas mitozy kompleksy ogniskowej adhezji ulegają rozpadowi, FAK i inne białka, takie jak p130^{Cas} oraz paksylina są defosforylowane na tyrozynie z jednoczesnym wzrostem fosforylacji seryn. Defosforylacja tyrozyn w cząsteczce FAK przyczynia się do rozpadu połączeń z białkami z rodziny Src, co uniemożliwia przekazywanie sygnału w komórce [22,27,45].

TRANSMISJA SYGNAŁÓW ZALEŻNYCH OD FAK

Interakcje między komórkami i macierzą zewnątrzkomórkową są niezbędne do przeżycia i rozwoju komórki. Przesyłanie sygnałów zależnych od FAK zachodzi głównie z udziałem receptorów adhezyjnych i receptorów czynników wzrostu. Głównymi receptorami adhezyjnymi są kompleksy glikoprotein, zwane integrzynami. Integryny uczestniczą zarówno w przenoszeniu sygnału ze środowiska zewnętrznego do wnętrza komórki, jak i w kierunku odwrotnym, wpływają na aktywację fosfolipazy γ (odpowiedzialnej za powstawanie DAG i IP₃), zmianę stężenia jonów wapnia oraz aktywację PKC [25] i kinaz tyrozynowych, a także białka hamującego apoptozę – bcl2 [12]. Aktywność integrzyn jest indukowana w obecności jonów Mg²⁺ i Mn²⁺, natomiast jony Ca²⁺ działają hamująco [8]. Integryny z łatwością rozpoznają białka ECM, takie jak kolagen, fibronektyna, witronektyna, winkulina, fibrynogen. Integryny po związaniu odpowiedniego ligandu z ECM ulegają zgrupowaniu w tzw. ogniska adhezji [7], które łączą się z włóknami aktyny. W strukturach tych zidentyfikowano również białka tworzące cytoszkielet: α -aktynina, winkulina, talina, filamina, paksylina, tensyna oraz kinazy białkowe, do których należą: FAK, Src, PKC [7,25]. Badania przeprowadzone przez Kadi [23] wskazują na współdziałanie kinaz: FAK, PKC ϵ oraz PI3 w regulacji komórkowej adhezji. Wykazano, że depolimeryzacja mikrotubul przyczynia się do wzrostu fosforylacji tyrozyny w FAK i paksyliny oraz aktywuje wiele wewnątrzkomórkowych kinaz (PKC ϵ , PI3-K) prowadząc do zmian cytoszkieletu aktyny i wzrostu adhezji zależnej od integrzyn.

Połączenie integrzyn z domeną FAT za pośrednictwem paksyliny i taliny, powoduje przesłanie sygnału na FAK i jej aktywację przez ufosforylowanie Tyr-397. Wykazano, że mutacja w genie *FAK* prowadzi do ekspresji nieprawidłowego białka FAK. Takie białko nie jest zdolne do tworzenia ognisk adhezji, ponieważ nie ulega fosforylacji na tyrozynach w odpowiedzi na połączenie integrzyn z ligandami w macierzy zewnątrzkomórkowej. FAK łącząc się z Src prowadzi do pełnej aktywacji obu kinaz [9] powodując uruchomienie drogi sygnałowej Ras/MAP. Aktywny FAK (poprzez fosforylację Tyr-925) wpływa na Grb2, który przyłącza SOS. Powstały kompleks Grb2/SOS wzbudza aktywację kaskady



Ryc. 2. Udział integrzyn w aktywacji kaskady sygnałowej Ras/MAPK (wg [22] – zmodyfikowano). ECM – macierz zewnątrzkomórkowa, FAK – kinaza ogniskowo-adhezyjna, P – reszta fosforanowa, p130^{Cas} – substrat dla Src, Crk – białko adaptorowe, Nck – białko adaptorowe, Grb2 – receptor czynnika wzrostu łączący białko, SOS – wtórny przekaznik, Ras – wewnątrzkomórkowy substrat kinazy tyrozynowej, MAPK – kinaza białkowa aktywowana mitogenem

sygnałowej Ras/MAPK, która promuje migrację i proliferację komórek [4,25,41]. Drugi mechanizm aktywacji kaskady sygnałowej Ras/MAPK polega na związaniu i ufosforylowaniu przez FAK białka p130^{Cas}. Białko p130^{Cas} tworzy miejsca połączeń z Crk i Nck [16]. Białka te poprzez wtórny przekaznik SOS aktywują kinazy MAPK. Zarówno w szlaku sygnalizacyjnym z udziałem integrzyn, jak i szlaku związanym z czynnikami wzrostu (PDGF) kinaza FAK może kontrolować czas trwania aktywacji MAPK [34].

Poprzez integrzynowy szlak sygnalizacyjny kinaza FAK jest zaangażowana w aktywację kinazy JNK, która jest wtórnym przekaznikiem rozprawiającym sygnał we wnętrzu komórki. Aktywacja JNK odbywa się za pomocą kompleksu FAK-Src-p130^{Cas}. Fosforylacja tyrozyny p130^{Cas} sprzyja wiązaniu Crk i koordynacji sygnałów prowadzących do małych GTP-az, Rac i aktywacji kinazy JNK [18,34]. Zadaniem JNK jest stymulacja jądra komórkowego do syntezy metaloproteinaz 2 i 9 (MMP2 i MMP9). Metaloproteiny są grupą enzymów proteolitycznych degradujących łącznotkankowe podścielisko i ułatwiających wzrost pierwotnego ogniska nowotworzenia, migrację, inwazję, tworzenie przerzutów oraz angiogenezę [14]. Aktywność tych enzymów jest skorelowana ze wzrostem migracji komórek. Ponadto kinaza JNK wpływa na fosforylację paksyliny, co prowadzi do remodelingu cytoszkieletu [36].

Zaktywowanie kinaz z rodziny PTK powoduje przeniesienie sygnału z adhezji na dwa białka: ERK i GTP. Aktywacja ERK reguluje kompleks białek cytoszkieletu w skład których wchodzi aktyna, wpływa na ekspresję genów, ruchliwość oraz migrację komórek. Obserwuje się związek między fosforylacją FAK a zmianą konformacji włókien aktyny cytoszkieletu [35]. Wykazano, że FAK może bezpośrednio fosforylować molekuly związane z aktyną, takie jak paksylina, α -aktylina [36]. Ponadto FAK może modulować aktywność Rho poprzez aktywację białka GRAF. Mechanizm, przez który FAK hamuje sygnaliza-

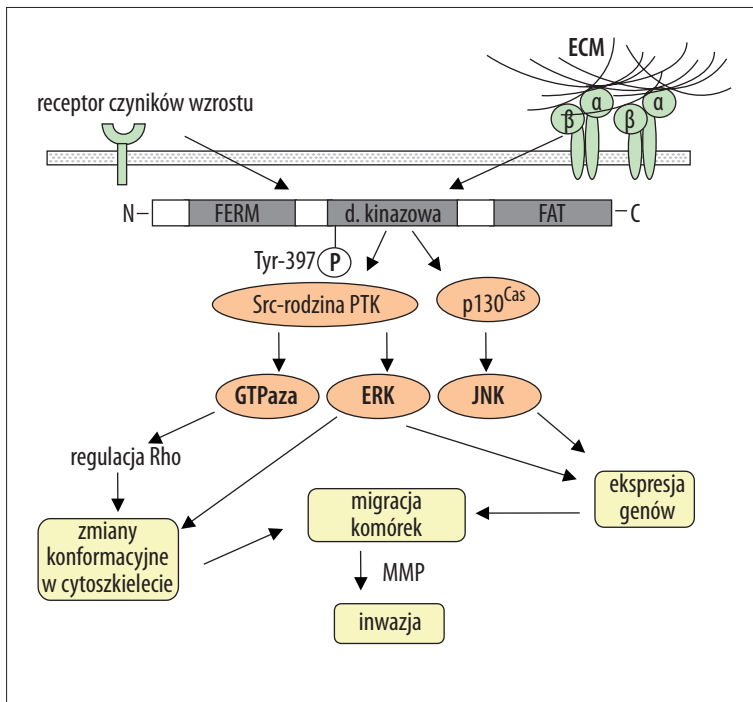
cję Rho nie jest jeszcze dokładnie poznany, prawdopodobnie w proces ten jest zaangażowane białko GRAF, które jest inhibitorem Rho.

ROLA BIAŁKA FAK

Kinaza ogniskowo-adhezyjna przekazując sygnał do wnętrza komórki, odgrywa pośrednio istotną rolę w wielu procesach zachodzących w komórkach. Biologiczna funkcja FAK jest zróżnicowana, białko to zaangażowane jest m.in. w regulację cyklu komórkowego [31], zakotwiczenie komórek w podłożu [14,28,41], migrację [18,29,39], inwazję i tworzenie przerzutów [2,14], fosforylację białek cytoszkieletu (p130^{Cas}, tensyny, paksyliny) [34], apoptozę [20,26,38,42] oraz pośrednio w regulację ekspresji genów. Deregulacja procesów zależnych od FAK, takich jak adhezja, wzrost, przeżycie i ruchliwość komórek, jest znaczącym elementem progresji nowotworu.

Adhezja komórek do macierzy zewnątrzkomórkowej jest ważnym ogniwem procesu przeżycia komórek. W przypadku, gdy komórka nie otrzymuje sygnału do adhezji, ulega apoptozie z powodu braku przylegania. Aktywność kinazowa FAK jest niezbędna dla przetrwania komórki. W miejscach kontaktów ogniskowych zaobserwowano wzrost fosforylacji FAK [41,44]. Inhibicja sygnału, wywołana wzrostem ekspresji domeny FRNK, redukuje zdolność komórek do tworzenia kontaktów adhezyjnych i przeżycia komórek [14,30].

Fizjologiczna śmierć komórki, zwana apoptozą występuje podczas całego rozwoju organizmu. Jest procesem, który pośrednio decyduje o liczbie komórek w organizmie, utrzymuje równowagę między proliferacją a degradacją komórek. Zaburzenie tej równowagi prowadzi do niekontrolowanej proliferacji komórek i nowotworzenia. Inhibicja ekspresji FAK kieruje komórki na drogę apoptozy, natomiast nadekspresja białka FAK zapobiega jej [34]. Zwiększona



Ryc. 3. Przesyłanie sygnału z udziałem FAK (wg [13] – zmodyfikowano).
ECM – macierz zewnątrzkomórkowa, FAT – region uczestniczący w ogniskowym przyleganiu, FERM – region aminowy kinazy ogniskowo-adhezyjnej, P – reszta fosforanowa, MMP – metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej, JNK – kinaza, której substratem jest białko Jun, ERK – kinaza regulowana przez sygnały zewnątrzkomórkowe, PTK – białkowe kinazy tyrozynowe, p130^{Cas} – substrat dla Src, Tyr – tyrozyna

ilość FAK w komórkach HL-60 blokuje apoptozę wywołaną działaniem nadtlenu wodoru oraz etopozydu. Oba czynniki przyczyniają się do powstania reaktywnych form tlenu (ROS), które indukują apoptozę poprzez uszkodzenie funkcji mitochondriów oraz aktywację kaspazy 3 [38]. Udowodniono również, że nadekspresja FAK zwiększa aktywność NFκB oraz ekspresję innych białek antyapoptotycznych, takich jak: c-IAP1, c-IAP2, X-IAP, które są endogennymi inhibitorami kaspaz i w ten sposób blokują apoptozę [34]. Wprowadzone do komórek ludzkiego glioblastoma (U251 MG) oligonukleotydy antysensu (antysens-FAK) efektywnie obniżają ekspresję białka FAK, hamują proliferację i indukują apoptozę poprzez wzrost aktywności kaspazy 3 oraz obniżenie potencjału błonowego mitochondriów sugerując, że *in vivo* ekspresja FAK może odgrywać ważną rolę w modulacji procesu apoptozy [42].

W komórkach linii MDCK połączenie FAK z kinazą PI3 zapobiega apoptozie wywołanej światłem UV, natomiast mutacja w białku FAK pozbawia je zdolności wiązania z kinazą PI3 i indukuje apoptozę [17]. Mechanizm przetrwania, w którym pośredniczy kinaza PI3 jest powiązany z kinazą białkową Akt. Efektor kinazy PI3 – PDK1 (kinaza 1 zależna od fosfatydyloinozytolu) fosforyluje Akt na treoninie-308 i serynie-473. Aktywna kinaza Akt chroni przed apoptozą poprzez inaktywację proapoptotycznych białek oraz aktywację NFκB [5]. Także kinazy FAK i Src mają zdolność aktywacji Akt. Badania prowadzone na nowotworowych komórkach jelita grubego, wykazały związek między apoptozą a aktywnością kinaz FAK i Src. Zahamowanie aktywności obu kinaz indukują apoptozę. W przypadku inhibicji FAK dochodzi do zaburzenia w zakotwiczeniu komórek w ECM, natomiast zahamowanie aktywności Src wpływa na zmniejszenie liczby kontaktów ogniskowych [15].

Istnieje związek między brakiem genu kodującego białko FAK, a ruchliwością komórek. Nieprawidłowa ruchliwość

komórek znajduje swoje odbicie w morfogenezie. Mysie komórki ES pozbawione genu *FAK* wykazują wysoką śmiertelność już w okresie embrionalnym, natomiast komórki z obniżoną ekspresją (postać niedojrzała) FAK charakteryzują się wolniejszą migracją oraz zaburzeniem waskulogenezy i angiogenezy [21]. Również fibroblasty pozbawione genu *FAK* cechuje brak zdolności do migracji w odpowiedzi na czynniki wzrostu (chemotaksja) oraz białka ECM (haptotaksja) [18]. Efektywna ruchliwość haptotaktyczna zależy od fosforylacji tyrozyny 397 FAK oraz jej interakcji z Src. Ważnym substratem dla Src jest białko p130^{Cas}. Badania na zmodyfikowanych komórkach zawierających FAK z uszkodzonym wiązaniem do p130^{Cas} charakteryzują się brakiem fosforylacji tyrozyny białka p130^{Cas} oraz upośledzoną ruchliwością komórek [34]. Innym ważnym substratem dla Src, który wpływa na ruchliwość komórek jest paksylina. Kompleks białek p120RasGAP oddziałujący z ufosforylowanymi tyrozynami paksyliny pobudza komórki do rozprzestrzeniania się i migracji [17]. Oprócz regulowania haptotaksji, FAK może kontrolować chemotaksję. Wykazano, że nadekspresja FAK w komórkach MDCK zwiększa zdolność tych komórek do migracji w odpowiedzi na czynniki wzrostu. W badaniach z wykorzystaniem zmodyfikowanych fibroblastów pozbawionych genu *FAK* obserwowano zmniejszoną odpowiedź chemotaktyczną po stymulacji czynnikami wzrostu PDGF i FGF, natomiast powrotne wprowadzenie genu *FAK* przywróciło ruchliwość komórek [34].

FAK pełni rolę w procesie migracji komórek także w warunkach fizjologicznego rozwoju organizmu. Komórki somatyczne i rozrodcze ssaków nie wykazują nadekspresji FAK i związanej z tym nadmiernej migracji, wyjątek stanowią komórki cytotrofoblastu. Są one zewnętrzną warstwą komórek blastocysty, wczesnego stadium w rozwoju zarodka ssaków. Cytotrofoblast odgrywa ważną rolę w zagnieźdzeniu się jaja w ścianie macicy. Badania z zastoso-

waniem swoistych przeciwciał przeciwko ufosforylowanej tyrozynie 397 FAK, wskazały, że fosforylacja Tyr-397 ma ogromne znaczenie w procesie wnikania cytotrofoblastu w ścianę macicy [35]. Nie ulega zatem wątpliwości, że fosforylacja Tyr-397 FAK może odgrywać znaczącą rolę w inwazyjności komórek nowotworowych i metastazji. Inwazja komórek jest procesem związanym z degradacją macierzy zewnątrzkomórkowej i migracją komórek, natomiast metastazja polega na rozprzestrzenianiu komórek nowotworowych poza obręb pierwotnego ogniska z udziałem naczyń krwionośnych oraz adhezji i przeżyciu komórek w nowym środowisku [40]. Mechanizm metastazji jest związany ze wzrostem sekrecji metaloproteinaz, co prowadzi do degradacji błony podstawnej. Za pomocą techniki Western-blot badano homogenaty z guzów nowotworowych i dowiedziono, że FAK odgrywa istotną rolę w progresji nowotworu do fenotypu złośliwego. Wykazano brak lub niski poziom ekspresji białka FAK w tkankach prawidłowych, natomiast nadekspresja FAK występuje w nowotworach charakteryzujących się inwazyjnością i metastazją. Zwiększona ekspresja FAK koreluje ze zdolnością komórek rakowych do migracji, inwazji i tworzenia przerzutów. Przykładem mogą być komórki dwóch linii nowotworu prostaty: PC3 oraz LNCaP. Linia PC3 wykazuje się dużą zdolnością do migracji i nowotworzenia, jednocześnie charakteryzując się zwiększoną fosforylacją i aktywnością katalityczną w przeciwieństwie do komórek linii LNCaP, które przejawiają małą inwazyjność. Wprowadzenie domeny FRNK do komórek PC3 hamuje migrację, sugerując, że FAK jest ważnym regulatorem ruchliwości tych komórek [37]. Podobny wniosek wysunął Sood [39] badając migrację i inwazję komórek nowotworu jajnika. Wykazał, że zahamowanie fosforylacji FAK poprzez transfekcję domeny FRNK do wysoce agresywnych komórek nowotworu jajnika obniża ich migrację i inwazję.

Poziom ekspresji białka FAK cechuje się zmiennością w zależności od etapu rozwojowego nowotworu. Niewielka nadekspresja FAK występuje już w postaci preinwazyjnej

nowotworu, wyraźnie nasilając się w postaci inwazyjnej i metastazji. Zależność tę wykazano w migrujących keratynocytach i hiperplazji mięśni gładkich [18] oraz w modelu *in vitro* komórek nowotworowych okrężnicy [3]. Określenie poziomu ekspresji FAK może być wykorzystane jako marker inwazyjności w nowotworach tarczycy, ponieważ nadekspresja kinazy FAK występuje w nowotworach tarczycy tworzących przerzuty, natomiast w nowotworach charakteryzujących się minimalną ekspresją FAK, obserwowano niski potencjał inwazyjny [24].

Należy również nadmienić, że nadekspresja FAK odgrywa ważną rolę we wzroście i modelowaniu ogniska nowotworowego. Zjawisko to uwarunkowane jest nasileniem tempa proliferacji komórek, przyspieszeniem cyklu komórkowego oraz inhibicją apoptozy. Ekspresja hiperaktywnych mutantów FAK (Super-FAK) w komórkach nowotworu gruczołu piersiowego myszy (T47D) powoduje powiększenie rozmiaru pierwotnego ogniska nowotworowego [14].

PODSUMOWANIE

Wiele doniesień naukowych wskazuje na to, że określenie stopnia ekspresji FAK w komórkach nowotworowych może w przyszłości stać się elementem prognostycznym. Analizy dotyczące ekspresji FAK w komórkach nowotworów złośliwych mogą być wskazówką pozwalającą na identyfikację stopnia złośliwienia nowotworu, bądź też mogą mieć znaczenie w wykluczeniu lub potwierdzeniu procesu nowotworzenia. Istnieją przypuszczenia, że ingerencja w ekspresję lub fosforylację białka FAK w komórkach nowotworowych może zmienić ich fenotyp, przez co kinaza ta może się stać jednym z ogniw w procesach terapeutycznych, ponieważ poprzez swoiste i selektywne działanie na FAK, może dojść do zahamowania drogi przekazującej sygnał w komórce, a to może blokować aktywację wtórnych przekazników białkowych oraz ekspresję enzymów przyczyniając się do zmniejszenia wzrostu nowotworu i tworzenia przerzutów.

PISMIENICTWO

- [1] Abbi S., Guan J.L.: Focal adhesion kinase: protein interactions and cellular functions. *Histol. Histopathol.*, 2002; 17: 1163–1171
- [2] Abdel-Ghany M., Cheng H.C., Elble R.C., Pauli B.U.: Focal adhesion kinase activated by beta(4) integrin ligation to mCLCA1 mediates early metastatic growth. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 34391–34400
- [3] Agochiya M., Brunton V.G., Owens D.W., Parkinson E.K., Paraskeva C., Keith W.N., Frame M.C.: Increased dosage and amplification of the focal adhesion kinase gene in human cancer cells. *Oncogene*, 1999; 18: 5646–5653
- [4] Alberts B., Bray D., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P.: *Podstawy biologii komórki. Wprowadzenie do biologii molekularnej.* Wydawnictwo Naukowe PWN Warszawa, 1999
- [5] Bellas R.E., Harrington E.O., Sheahan K., Newton J., Marcus C., Rounds S.: FAK blunts adenosine-homocysteine-induced endothelial cell apoptosis: requirement for PI 3-kinase. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 2002; 282: L1135–L1142
- [6] Bertolucci C.M., Guibao C.D., Zheng J.: Structural features of the focal adhesion kinase-paxillin complex give insight into the dynamics of focal adhesion assembly. *Protein Sci.*, 2004; 14: 644–652
- [7] Besson A., Wilson T.L., Young V.W.: The anchoring protein RACK1 links protein kinase C α to integrin β chains. Requirements for adhesion and motility. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 22073–22084
- [8] Błasiak J., Niewiarowska J., Cieślak M., Cierniewski C.S.: Integrins and their role in malignant neoplasm progression. *Post. Biochem.*, 1999; 45: 239–248
- [9] Caron-Lormier G., Berry H.: Amplification and oscillations in the FAK/Src kinase system during integrin signaling. *J. Theor. Biol.*, 2005; 232: 235–248
- [10] Ceccarelli D., Song H.K., Poy F., Schaller M.D., Eck M.: Crystal structure of the FERM domain of focal adhesion kinase. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 252–259
- [11] Cobb B.S., Schaller M.D., Leu T.H., Parsons J.T.: Stable association of pp60src and pp59fyn with the focal adhesion-associated protein tyrosine kinase, pp125FAK. *Mol. Cell. Biol.*, 1994; 14: 147–155
- [12] de la Fuente M. T., Casanova B., Garcia-Gila M., Silva A., Garcia-Pardo A.: Fibronectin interaction with alpha4beta1 integrin prevents apoptosis in in cell chronic lymphocytic leukemia: correlation with Bcl-2 and Bax. *Leukemia*, 1999; 13: 266–274
- [13] Dunty J.M., Gabarra-Niecko V., King M.L., Ceccarelli D.F., Eck M.J., Schaller M.D.: FERM domain interaction promotes FAK signaling. *Mol. Cell. Biol.*, 2004; 24: 5353–5368
- [14] Gabarra-Niecko V., Schaller M.D., Dunty J.M.: FAK regulates biological processes important for the pathogenesis of cancer. *Cancer Metastasis Rev.*, 2003; 22: 359–374
- [15] Golubovskaya V.M., Gross S., Kaur A.S., Wilson R.I., Xu L.H., Yang X.H., Cance W.G.: Simultaneous inhibition of focal adhesion kinase and Src enhances detachment and apoptosis in colon cancer cell lines. *Mol. Cancer Res.*, 2003; 1: 755–764
- [16] Guan J.L.: Focal adhesion kinase in integrin signaling. *Matrix Biol.*, 1997; 16: 195–200

- [17] Hanks S.K., Ryzhova L., Shin N.Y., Brabek J.: Focal adhesion kinase signaling activities and their implications in the control of cell survival and motility. *Front. Biosci.*, 2003; 8: d982–d996
- [18] Hauck C.R., Hsia D.A., Schlaepfer D.D.: The focal adhesion kinase – a regulator of cell migration and invasion. *IUBMB Life*, 2002, 53: 115–119
- [19] Hayashi I., Vuori K., Liddington R.C.: The focal adhesion targeting (FAT) region of focal adhesion kinase is a four-helix bundle that binds paxillin. *Nat. Struct. Biol.*, 2002; 9: 101–106
- [20] Huang D., Khoe M., Befekadu M., Chung S., Takata Y., Ilic D., Bryer-Ash M.: Focal adhesion kinase mediates cell survival via NF- κ B and ERK signaling pathways. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2007; 292: C1339–C1352
- [21] Ilic D., Damsky C.H., Yamamoto T.: Focal adhesion kinase: at the crossroads of signal transduction. *J. Cell Sci.*, 1997; 110: 401–407
- [22] Jacamo R., Jiang X., Lunn J.A., Rozengurt E.: FAK phosphorylation at Ser-843 inhibits Tyr-397 phosphorylation, cell spreading and migration. *J. Cell. Physiol.*, 2007; 210: 436–444
- [23] Kadi A., Berthet V., Pichard V., Abadie B., Rognoni J.B., Marvaldi J., Luis J.: Involvement of FAK, PI3-K and PKC in cell adhesion induced by microtubule disruption. *Bull. Cancer*, 2002; 89: 227–233
- [24] Kim S.J., Park J.W., Yoon J.S., Mok J.O., Kim Y.J., Park H.K., Kim C.H., Byun D.W., Lee Y.J., Jin S.Y., Suh K.I., Yoo M.H.: Increased expression of focal adhesion kinase in thyroid cancer: immunohistochemical study. *J. Korean Med. Sci.*, 2004; 19: 710–715
- [25] LaFlamme S.E., Auer K.L.: Integrin signaling. *Semin. Cancer Biol.*, 1996; 7: 111–118
- [26] Lunn J.A., Rozengurt E.: Hyperosmotic stress induces rapid focal adhesion kinase phosphorylation at tyrosines 397 and 577. Role of Src family kinases and Rho family GTPases. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 45266–45278
- [27] Ma A., Richardson A., Schaefer E.M., Parsons J.T.: Serine phosphorylation of focal adhesion kinase in interphase and mitosis: a possible role in modulating binding to p130^{Cas}. *Mol. Biol. Cell*, 2001; 12: 1–12
- [28] McLean G.W., Avizienyte E., Frame M.C.: Focal adhesion kinase as a potential target in oncology. *Expert Opin. Pharmacother.*, 2003; 4: 227–234
- [29] Melkounian Z.K., Peng X., Gan B., Wu X., Guan J.L.: Mechanism of cell cycle regulation by FIP200 in human breast cancer cells. *Cancer Res.*, 2005; 65: 6676–6684
- [30] Nagoshi Y., Yamamoto G., Irie T., Tachikawa T.: Expression of FAK-related non-kinase (FRNK) coincides with morphological change in the early stage of cell adhesion. *Med. Mol. Morphol.*, 2006; 39: 154–160
- [31] Reiske H.R., Zhao J.H., Han D.C., Cooper L., Guan J.L.: Analysis of FAK-associated signaling pathways in the regulation of cell cycle progression. *FEBS Lett.*, 2002; 486: 275–280
- [32] Rovin J.D., Frierson H.F. Jr, Ledin W., Parsons J.T., Adams R.B.: Expression of focal adhesion kinase in normal and pathologic human prostate tissues. *Prostate*, 2002; 53: 124–132
- [33] Sarkar S.: Focal adhesions. *Curr. Biol.*, 1999; 9: 428
- [34] Schaller M.D.: Biochemical signals and biological responses elicited by the focal adhesion kinase. *Biochim. Biophys. Acta*, 2001; 1540: 1–21
- [35] Schlaepfer D.D., Hauck C.R., Sieg D.J.: Signaling through focal adhesion kinase. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 1999; 71: 435–478
- [36] Schlaepfer D.D., Mitra S.K.: Multiple connections link FAK to cell motility and invasion. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2004; 14: 92–101
- [37] Slack J.K., Adams R.B., Rovin J.D., Bissonette F.A., Stoker C.E., Parsons J.T.: Alterations in the focal adhesion kinase/Src signal transduction pathway correlate with increased migratory capacity of prostate carcinoma cells. *Oncogene*, 2001; 1152–1163
- [38] Sonoda Y., Matsumoto Y., Funakoshi M., Yamamoto D., Hanks S.K., Kasahara T.: Anti-apoptotic role of focal adhesion kinase (FAK). *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 16309–16315
- [39] Sood A.K., Coffin J.E., Schneider G.B., Fletcher M.S., DeYoung B.R., Gruman L.M., Gershenson D.M., Schaller M.D., Hendrix M.J.: Biological significance of focal adhesion kinase in ovarian cancer: role in migration and invasion. *Am. J. Pathol.*, 2004; 165: 1087–1095
- [40] Wang W., Goswami S., Sahai E., Wyckoff J.B., Segall J.E., Condeelis J.S.: Tumor cells caught in the act of invading: their strategy for enhanced cell motility. *Trends Cell Biol.*, 2005; 15: 138–145
- [41] Wozniak M.A., Modzelewska K., Kwong L., Keely P.J.: Focal adhesion regulation of cell behavior. *Biochim. Biophys. Acta*, 2004; 1692: 103–119
- [42] Wu Z.M., Yuan X.H., Jiang P.C., Li Z.Q., Wu T.: Antisense oligonucleotides targeting the focal adhesion kinase inhibit proliferation, induce apoptosis and cooperate with cytotoxic drugs in human glioma cells. *J. Neurooncol.*, 2006; 77: 117–123
- [43] Xu F., Zhao Z.J.: Cell density regulates tyrosine phosphorylation and localization of focal adhesion kinase. *Exp. Cell Res.*, 2001; 262: 49–58
- [44] Xu L.H., Owens L.V., Sturge G.C., Liu E.T., Craven R.J., Cance W.G.: Attenuation of the expression of the focal adhesion kinase induces apoptosis in tumor cells. *Cell Growth Differ.*, 1996; 7: 413–418
- [45] Yamakita Y., Totsukawa G., Yamashiro S., Fry D., Hanks S.K., Matsumura F.: Dissociation of FAK/p130Cas/c-Src complex during mitosis; role of mitosis-specific serine phosphorylation of FAK. *J. Cell Biol.*, 1999; 144: 315–324
- [46] Zachary I.: Focal adhesion kinase. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 1997; 29: 929–934