

焦点粘着激酶的研究进展*

铁国栋 段恩奎**

(中国科学院动物研究所, 北京 100080)

赵兴绪

(甘肃农业大学动物医学系, 兰州 730070)

摘要 焦点粘着激酶是依赖于整合素的细胞信号转导通路的基础性信号传递分子. 通过磷酸化酪氨酸位点和富脯氨酸序列, 活化的焦点粘着激酶与细胞骨架蛋白、Src 族激酶、磷酸肌醇-3 激酶、Graf 以及多种衔接子蛋白相互作用, 调节细胞的粘附、迁移、增殖和分化.

关键词 焦点粘着激酶, 整合素, 细胞外基质, 细胞信号转导通路

学科分类号 Q492.1, Q516

焦点粘着激酶 (focal adhesion kinase, FAK) 是一个 125 ku 的非受体蛋白质酪氨酸激酶, 广泛分布于成纤维细胞、血小板、表皮细胞、内皮细胞、T 细胞、B 细胞、中性粒细胞、单核细胞和滋养层细胞^[1].

整合素是一类由 17 种 α 亚基和 8 种 β 亚基分别结合而成的二聚体粘附分子, 作为细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的受体, 能够识别 ECM 的 RGD 三肽等结合位点, 介导细胞与 ECM 的相互作用^[2]. 整合素与配体的结合促使整合素 β 亚基胞质端形成粘着斑, 并诱发胞内钙离子水平升高、pH 上升和多种蛋白质磷酸化, 整合成依赖于整合素的胞内信号转导通路, 调节细胞的粘附、迁移、增殖、分化和基因表达^[3].

FAK 是依赖于整合素的信号转导通路上游信号传递分子. 整合素和配体结合后, FAK 能够直接与整合素 β 亚基的胞质端结合, 或通过 talin、vinculin、paxillin 等细胞骨架蛋白间接地与整合素 β 亚基发生联系, 参与构成粘着斑, 并发生自身磷酸化而被激活. 活化的 FAK 进而通过 paxillin、Src 族激酶、磷酸肌醇-3 激酶 (phosphatidylinositol-3 kinase, PI-3 K) 等与信号转导有关的分子, 激活多条信号转导通路, 因而 FAK 被认为是整合素依赖性信号转导通路的基础分子. 近年来, FAK 倍受关注, 本文就其结构特征、激活机制和胞内信号转导功能作一综述.

1 FAK 的结构特征

根据人、小鼠和鸡的 FAK cDNA 序列推断, FAK 的氨基酸序列高度保守^[4]. FAK 分为氨基

端、羧基端和激酶三个结构域, 每个结构域约由 400 个氨基酸组成. 氨基端和羧基端结构域较大, 位于激酶结构域的外侧, 与其他蛋白质酪氨酸激酶的非催化结构域无明显同源性. 激酶结构域则具有蛋白质酪氨酸激酶共有的底物结合位点和催化位点^[5]. 羧基端第 856~1012 位氨基酸构成一个粘着斑定位区 (focal adhesion targeting, FAT), 将 FAK 定位于粘着斑. 在羧基端还有两个富脯氨酸序列, 介导 FAK 与 SH3 结构域的相互作用. FAK 具有 6 个可磷酸化酪氨酸位点, 其中第 397 位 (Tyr397) 和 Tyr407 位于氨基端结构域, Tyr576 和 Tyr577 位于激酶结构域的活化环内, Tyr861 和 Tyr925 位于羧基端结构域. FAK 没有 SH2 和 SH3 结构域, 因此不能与其他蛋白质的磷酸化酪氨酸和富脯氨酸序列结合.

由于 FAK 的编码基因包含不同的启动子和 mRNA 拼接方式, FAK 拥有同源蛋白, 目前已经发现富脯氨酸酪氨酸激酶 2 (proline rich tyrosine kinase 2, Pyk2) 和 FAK 相关性非激酶 (FAK-related non-kinase, FRNK) 两种. Pyk2 主要分布于中枢神经系统和造血细胞, 分子质量为 112 ku, 与 FAK 的同源性大于 45%, 在激酶结构域甚至高达 60%. Pyk2 具有两个羧基端富脯氨酸序列和四个可磷酸化酪氨酸, 分别对应于 FAK 的 Tyr397、

* 国家重点基础研究专项 (G1999055903)、国家九五“攀登预选项目” (970211019-3)、中国科学院“百人计划”和计划生育生殖生物学国家重点实验室资助.

** 通讯联系人.

Tel: 010-62631831, E-mail: duane@panda.ioz.ac.cn

收稿日期: 1999-12-02, 接受日期: 2000-04-24

576、577 和 925^[5,6]。FRNK 的分子质量约为 41~43 ku, 相当于 FAK 的羧基端结构域, 没有激酶活性^[7]。

2 FAK 的激活机制

在未激活的 FAK 分子内, 氨基端和羧基端结构域相互连接, 掩蔽了催化结构域和 Tyr397^[8]。整合素与 ECM 配体结合后, 其 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 和 $\beta 5$ 亚基的胞质端与 FAK 的氨基端结合, 从而引起 FAK 的构象改变, 使激酶结构域处于活化状态, 同时 Tyr397 自身磷酸化。Tyr397 是 FAK 的主要磷酸化位点, 也是 Src 族激酶的高亲和力位点。Src 和 FAK 能够相互激活^[9]。Src 和 FAK 结合后, Src 羧基端的调节性酪氨酸被 FAK 的 Tyr397 取代, 消除了 Src 的自体抑制, Src 被激活^[11]。活化的 Src 催化 FAK Tyr407、576、577 和 925 磷酸化, 使 FAK 完全活化^[10]。Tyr576 和 577 位于 FAK 催化亚结构域 VIII, 组成 FAK 的活化环, 是 Tyr397 和 FAK 完全磷酸化的必需条件^[9]。磷酸化的 Tyr925 是衔接子蛋白生长因子受体结合蛋白 2 (growth factor-receptor bound protein 2, Grb2) 的结合位点, 介导 FAK 与 Grb2/Sos 信号复合体的相互作用。Tyr407 和 861 的作用仍不清楚。

蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 和 Ca^{2+} 调节 FAK 的激活。PKC 可以促进成纤维细胞中 FAK 磷酸化, 但抑制 PKC 并不影响神经肽诱发的 FAK 磷酸化。来自人胚肾细胞的资料表明, 降低细胞内 Ca^{2+} 则阻断 FAK 磷酸化^[11]。此外, FAK 的活化还依赖于细胞骨架的完整性, 因此有人认为 Rho 调节 FAK 的活化。

Pyk2 的激活机制不同于 FAK。整合素可能间接调节 Pyk2 活性, 因为纤粘连蛋白促进 B 细胞内 Pyk2 的磷酸化, 但不影响大鼠成纤维细胞内 Pyk2 的活化。在神经系统, PKC 和 Ca^{2+} 能够激活 Pyk2^[12]。FRNK 则抑制 FAK 的活化^[13]。

3 FAK 的胞内信号转导功能

Grb2 是具有 SH2 和 SH3 结构域的衔接子蛋白。在成纤维细胞中, 纤粘连蛋白和整合素的相互作用不仅刺激 FAK、Grb2 和 Sos 形成信号复合体, 而且激活 Ras/丝裂原活化的蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 通路。免疫沉淀实验证实, FAK 通过 Grb2/Sos 激活 Ras/MAPK 通路^[14]。此外, 细胞骨架成分 paxillin 和 Ras 的鸟

苷酸交换蛋白 C3G 可能介导 FAK 对 Ras/MAPK 通路的激活作用^[15]。活化的 MAPK 可以激活多种转录因子, 介导 FAK 调节基因表达的活性。MAPK 亦可诱导胞质磷脂酶 A2 (cytoplasmic phospholipase A2, cPLA2) 磷酸化和活化。cPLA2 水解甘油磷酸酯, 产生花生四烯酸, 再经脂加氧酶氧化形成白三烯^[16]。白三烯能够调节细胞骨架的重组, 进而影响细胞迁移。

FAK 羧基端的富脯氨酸序列是 FAK 相关的 GTP 酶调节因子 (GTPase regulator associated with FAK, Graf) 的高亲和力结合位点。与 FAK 结合的 Graf 可以诱导 Rho 的 GTPase 活性, 影响肌动蛋白张力纤维和粘着斑的聚集过程, 最终调节细胞的粘附和迁移^[17]。

PI-3 K 是一种酯类激酶, 催化磷脂酰肌醇-4-磷酸 (phosphatidylinositol-4-phosphate, PIP) 和磷脂酰肌醇-4, 5-二磷酸 (phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate, PIP₂) 的肌醇环 D3 位磷酸化, 分别生成 PI (3, 4) P₂ 和 PI (3, 4, 5) P₃, 这两种产物均与细胞骨架重组有关, 调节细胞的粘附和迁移等行为。人星形细胞瘤细胞粘附到玻粘连蛋白或纤粘连蛋白后, 胞内的 FAK 与 PI-3 K 结合, 形成复合体^[18]。其他实验也证实, 受到 ECM-整合素相互作用的刺激, PI-3 K 通过其 P85 亚基的 SH3 和 SH2 结构域结合到 FAK 的羧基端, 并被激活^[19]。FAK 和 PI-3 K 的相互作用可能与 MAPK 的活化有关^[20]。

Pyk2 和 FAK 在功能上具有一定的相似性, 因此当 FAK 的功能或表达受到抑制时, Pyk2 可以替代 FAK, 譬如正常的成纤维细胞不表达 Pyk2, 但在 FAK 缺失的成纤维细胞中 Pyk2 高表达^[21]。活化的 Pyk2 通过其 Tyr881 直接与 Grb2 的 SH2 结构域相连, 经 Grb2/Sos 信号复合体激活 Ras/MAPK 通路; 亦可经 Shc 或 Src 间接地与 Grb2/Sos 信号复合体相互作用, 激活 Ras/MAPK 通路, 调节细胞行为^[22]。此外, Pyk2 可以通过磷酸化作用, 调节细胞离子通道的功能^[12]。FRNA 则被认为是一种内源性的 FAK 功能的调节因子, 能够均衡细胞内蛋白质酪氨酸激酶的活性^[13]。

4 展 望

近年来, 随着 FAK、Pyk2、Sos、粘着斑等与信号转导有关的分子和复合体的相继发现, ECM-整合素相互作用的细胞信号转导功能已经受到广泛

的认同, 并且迅速成长为一个新兴的研究领域。目前该领域面临两方面的挑战, 其一, 构建依赖于整合素的细胞信号转导通路; 其二, 阐释该信号转导通路与生长因子受体以及其他细胞信号转导通路之间的信息互换和协同作用。已有的资料证实, 作为基础性信号传递分子, FAK 是整合素与 PI-3 激酶、Ras/ MAPK 以及细胞骨架等信号途径相互连接的枢纽, 因此深入认识 FAK 与其他与信号转导有关的分子之间的作用关系可能是解决上述两方面问题的关键。

参 考 文 献

- Guan J L, Chen H C. Signal transduction in cell-matrix interactions. *Int Rev Cyto*, 1996, **168** (1): 81~ 121
- Kumar C C. Signaling by integrin receptors. *Oncogene*, 1998, **17** (11): 1365~ 1373
- Schwartz M A, Schaller M D, Ginsberg M H. Integrins: emerging paradigms of signal transduction. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1995, **11**: 549~ 599
- Schaller M D, Parsons J T. Focal adhesion kinase and associated proteins. *Curr Opin Cell Biol*, 1994, **6** (5): 705~ 716
- Schlaepfer D D, Hunter T. Integrin signaling and tyrosine phosphorylation: just the FAKs?. *Trends in Cell Biology*, 1998, **8** (4): 151~ 157
- Avraham H, Park S, Schinkmann K, *et al.* RAFTK/Pyk2-mediated cellular signalling. *Cell Signal*, 2000, **12** (3): 123~ 133
- Schaller M D, Borgman C A, Prsons J T. Autonomous expression of a noncatalytic domain of the focal adhesion-associated protein tyrosine kinase pp125^{FAK}. *Mol Cell Biol*, 1993, **13** (2): 785~ 791
- Schlaepfer D D, Hunter T. Evidence for *in vivo* phosphorylation of the Grb2 SH2-domain binding site on focal adhesion kinase by Src-family protein-tyrosine kinases. *Mol Cell Biol*, 1996, **16** (10): 5623~ 5633
- Ruest P J, Roy S, Shi E, *et al.* Phosphospecific antibodies reveal focal adhesion kinase activation loop phosphorylation in nascent and mature focal adhesions and requirement for the autophosphorylation site. *Cell Growth Differ*, 2000, **11** (1): 41~ 48
- Calalb M, Polte T R, Hanks S K. Tyrosine phosphorylation of focal adhesion kinase at sites in the catalytic domain regulates kinase activity: A role for Src family kinases. *Mol Cell Biol*, 1995, **15** (2): 954~ 963
- Shattil S, Haimovich B, Cunningham M, *et al.* Tyrosine phosphorylation of pp125^{FAK} in platelets requires coordinated signaling through integrin and agonist receptors. *J Biol Chem*, 1994, **269** (20): 14738~ 14745
- Lev S, Moreno H, Martinez R, *et al.* Protein tyrosine kinase PYK2 involved in Ca²⁺-induced regulation of ion channel and MAP kinase functions. *Nature*, 1995, **376** (6543): 737~ 745
- Richardson A, Parsons J T. A mechanism for regulation of the adhesion-associated tyrosine kinase pp125^{FAK}. *Nature*, 1996, **380** (6574): 538~ 540
- Schlaepfer D D, Hanks S K, Hunter T, *et al.* Integrin-mediated signal transduction linked to Ras pathway by Grb2 binding to focal adhesion kinase. *Nature*, 1994, **372** (6508): 786~ 791
- Gotoh T, Hattori S, Nakamura S, *et al.* Identification of Rap as a target for the Crk SH3-domain binding guanine nucleotide-releasing factor C3G. *Mol Cell Biol*, 1995, **15** (12): 6746~ 6753
- Clark E A, Brugge J S. Integrins and signal transduction pathways: The road taken. *Science*, 1995, **268** (5208): 233~ 239
- Hildebrand J D, Taylor J M, Parsons J T. An SH3 domain-containing GTPase activating protein for Rho and Cdc42 associates with focal adhesion kinase. *Mol Cell Biol*, 1996, **16** (6): 3169~ 3178
- Ling J, Liu Z, Wang D, *et al.* Malignant astrocytoma cell attachment and migration to various matrix proteins is differentially sensitive to phosphoinositide 3-OH kinase inhibitors. *J Cell Biochem*, 1999, **73** (4): 533~ 544
- Chen H C, Guan J L. Association of focal adhesion kinase with its potential substrate phosphatidylinositol 3-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91** (21): 10148~ 10152
- Welsh G I, Foulstone E J, Young S W, *et al.* Wortmannin inhibits the effects of insulin and serum on the activities of glycogen synthase kinase 3 and mitogen-activated protein kinase. *Biochem J*, 1994, **303** (1): 15~ 20
- Clark E A, Hynes R O. 1997 keystone symposium on signal transduction by cell adhesion receptors. *Biochim Biophys Acta*, 1998, **1333** (3): 9~ 16
- Zrihan-Licht S, Fu Y, Settleman J, *et al.* RAFTK/Pyk2 tyrosine kinase mediates the association of p190 RhoGAP with RasGAP and is involved in breast cancer cell invasion. *Oncogene*, 2000, **19** (10): 1318~ 1328

Focal Adhesion Kinase*

TIE Guo Dong, DUAN Er Kui**

(Institute of Zoology, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

ZHAO Xing Xu

(Department of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract Focal adhesion kinase is a non-receptor protein tyrosine kinase with molecular weight 125 ku and regarded as the fundamental molecule of integrin-dependent signal transduction pathway. Active focal adhesion kinase regulates cell adhesion, migration, proliferation and differentiation by interacting with Src family kinase,

phosphatidylinositol 3 kinase, cytoskeletal proteins, G-protein and adaptor proteins through the phosphorylated tyrosines and the proline-rich sequences.

Key words focal adhesion kinase, integrin, extracellular matrix, signal transduction pathway

* This work was supported by a grant from the Special Funds for Major State Basic Research Project (G1999055903), The Climbing Project of China (970211019-3) and the 100-Scientist-Program of the Chinese Academy of Sciences.

** Corresponding author. Tel: 86-10-62631831, E-mail: duane@panda.ioz.ac.cn

Received: December 02, 1999 Accepted: April 24, 2000

第九次全国生物化学与分子生物学学术大会 暨第八届中国生物化学与分子生物学会会员代表大会第一轮通知

值此举世跨入 21 世纪, 生物科学和生物技术日新月异之时, 中国生物化学与分子生物学会第九次全国生物化学与分子生物学学术大会暨第八届中国生物化学与分子生物学会会员代表大会将于 2001 年 9 月 12~14 日在上海浦东召开。

一、学术讨论会设有大会报告、分会报告、墙报三种形式, 大会将组织有关院士、教授、专家和海外学者作相关领域的热点专题报告。

1. 大会主题

生物化学与分子生物学的未来——个体与体系、体外与体内

Molecular biology and biochemistry, individual to system and *in vitro* to *in vivo*

2. 分会主题

(1) 蛋白质、多肽的结构功能与蛋白质组 (包括酶学研究等);

(2) 基因与基因组的表达调控 (包括 RNA 研究等);

(3) 信号传导与细胞活动的分子机制及调控;

(4) 生物技术的应用研究与成果转化 (蛋白质与酶工程、生物医药、转基因动植物、微生物生化、环境与海洋生物工程等);

(5) 教育与历史。

二、会议同时举办与生物化学、分子生物学等研究相关仪器、设备、试剂和新技术的展览、展示会, 欢迎国内外学者和相关公司、厂商等参加会议。

三、会议议程

1. 学术交流活动的

2. 选举产生第八届理事会。

四、学术会议征文

1. 征文范围

按大会主题与分会主题的五个方面进行投稿, 投稿时请在右上角用阿拉伯数字标明类别。

2. 征文要求

参会者需提交尚未发表的学术论文摘要。每篇论文摘要限 1 页, 按学报投稿格式撰写, 使用 Word 软件、A4 纸、宋体、五号字并 35 行打印。提交论文摘要用 E-mail 传递或请邮寄稿件一式两份 (其中 1 份原件) 并同时提交计算机磁盘 (3 寸)。稿件文责自负。

3. 大会报告与分会报告由组委会及各省、市学会推荐, 学术委员会选定。大会报告与分会报告主持人由组委会选定。向大会推荐的报告、分会报告论文, 可以在国内完成的工作也可以是本地区大学、研究所新引进的学术带头人在国外的工作。希望你们组织本地区大学、研究所的有关同仁积极参加, 尤其希望你们推荐本地区大学、研究所的优秀论文参与交流。大会欢迎自由投稿, 将根据论文内容安排交流。

4. 征稿截止日期: 2001 年 5 月 31 日 (以当地邮戳为限)。

5. 来稿地址: 上海市岳阳路 320 号, 中国科学院生物化学与细胞生物研究所

邮编: 200031; 电话及传真: 021-64310851;

E-mail: txwang@sibs.ac.cn

联系人: 王同喜

中国生物化学与分子生物学会