

Role of focal adhesion kinase (FAK) in cell migration: From tumor metastasis to corneal wound healing



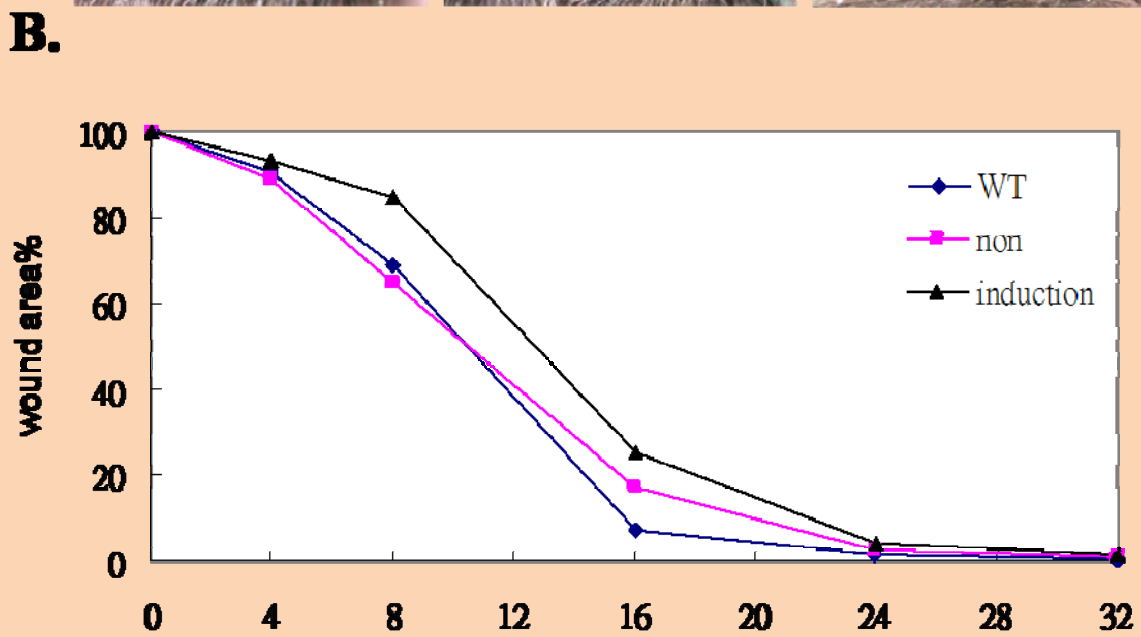
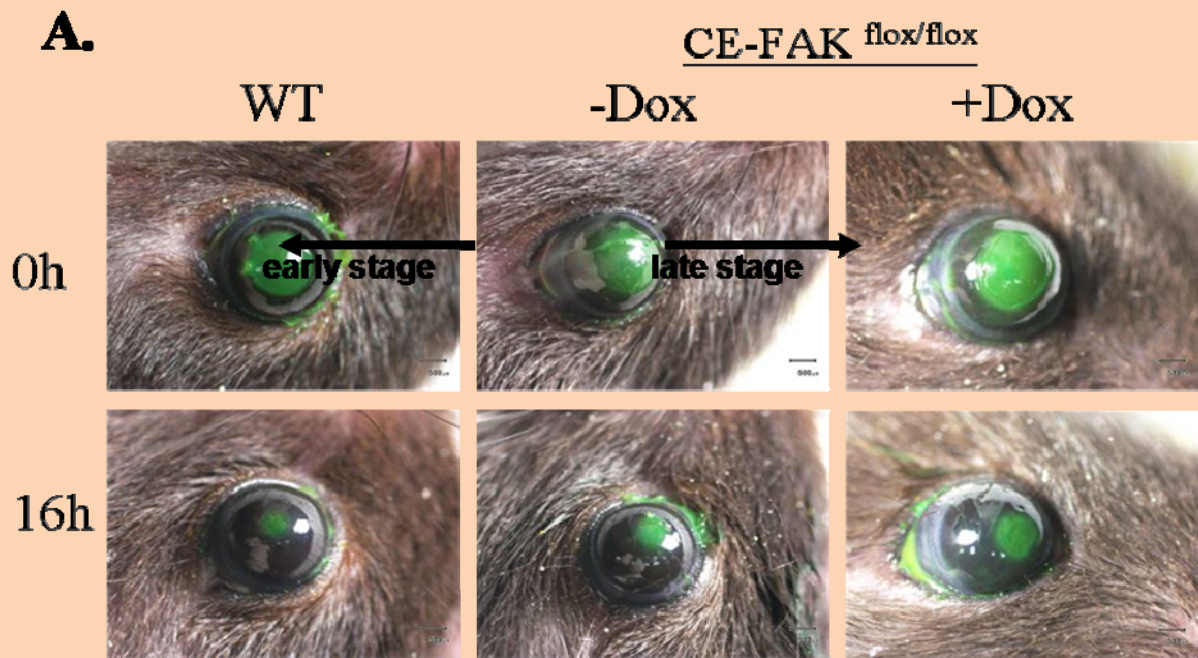
沈湯龍 副教授
臺灣大學植物病理與微生物學系

細胞移動參與了許多重要的生理和病理的過程。細胞主要可藉由細胞膜表面的細胞黏附蛋白受體**Integrin** 與細胞外基質 (**ECM, extracellular matrix**)進行不同親和力及專一性的交互作用的動態的過程達到移動的目的；因此，**integrin** 被認為細胞移動的主要調控者。除了物理性地連結細胞外基質以及細胞內骨架；許多的研究也顯示**integrin** 也具有從細胞外到細胞內及從細胞內到細胞外的訊息傳遞功能，進而影響細胞的黏附，移動，生長及分化等功能。然而，**integrin** 在細胞內的區域缺乏任何酵素活性，因此，需要透過與細胞質內具有酵素活性的分子交互作用來執行其訊息傳遞的角色。

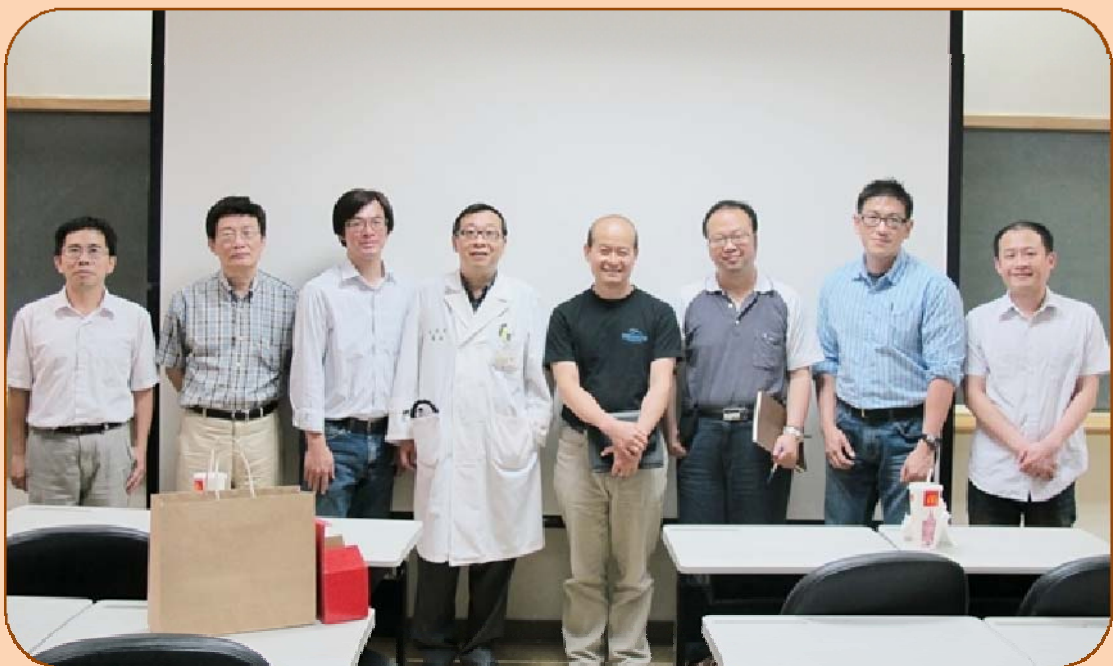
Focal adhesion kinase (FAK)為一個**125KD** 具有酪氨酸激酶 (tyrosine kinase) 活性的訊息蛋白，可被**integrin** 活化並且協助活化的**integrin** 來進行細胞內的訊息傳遞。然而，目前對於**integrin** 如何活化**FAK** 的分子機轉仍然不清楚。

因此，我們以常在乳癌內大量表現的**integrin β 4** 及活化的**FAK** 來探討其兩者間的關係。利用免疫沈澱，共軛交免疫螢光染色之影像分析，重組蛋白之交互作用分析，和**Far-Western**，我們第一次證實了**FAK** 與**integrin β 4** 間具有直接和功能性的交互作用之關係；同時，此一交互作用可促進乳癌的進程，如侵入(**invasion**)，存活 (**viability**)及移動 (**migration**)等能力。利用重組DNA 表現及點突變技術，我們成功的分析了這兩者蛋白之間交互作用的重要區域及氨基酸，同時也以該區域之重組蛋白成功的干擾**integrin β 4** 和**FAK** 間的交互作用以及抑制了乳癌及直腸癌的癌化特性及癌細胞的移動所造成的入侵和轉移功能。另外，我們也利用組織專一性的基因剔除小鼠模型來探討**FAK** 在傷口愈合的角色。

我們首先雜交了**tri-transgenes** 其中包含了**FAK-floxed**, **Keratin12-rtTA** (**keratin12** 為角膜表皮細胞專一性表現基因) 以及**Tet-Cre** 三種轉殖基因於同一隻小鼠體內。雖然**keratin12** 基因提供了角膜表皮細胞專一性的**rtTA** 表現，但**Cre** 的表現仍須要**Doxycycline** 的誘導才能導致後續**fak** 基因的剔除。未達到**fak** 膜表皮細胞的剔除，約在**10** 周大的小鼠當其**keratin12** 基因開始表現，我們便以含有**Doxycycline** 的飼料開始漸漸誘導 **Cre** 的表現及活性。檢視誘導兩週後 (及第**12** 周小鼠) 的**FAK** 基因及蛋白質的表現，角膜表皮細胞專一性的剔除可以分別以**PCR**，**Western blotting** 以及免疫組織化學染色清楚的呈現。



之後我們在小鼠的角膜製造出約**5mm** 直徑的傷口並開始觀察其傷口癒合分別在**FAK** 未剔除或剔除小鼠角膜的速度。結果顯示，**FAK** 角膜表皮細胞專一性的剔除小鼠，其角膜傷口癒合的速度明顯的比無 **FAK** 剔除的小鼠慢。進一步地，我們也發現 **FAK** 下游的**p38** 蛋白的活化參與了此一**FAKdependent**傷口癒合的功能，即**p38** 受到**FAK** 的活化後可提昇角膜表皮細胞的細胞移動速度。另一方面，在傷口癒合時，**FAK** 會受到**TGFβ**的刺激而調控**p38** 的活性。綜和上述，我們在癌症細胞以及動物角膜傷口癒合的結果都證實**FAK** 確實在細胞移動的重要角色。



2012.05.09 沈湯龍老師醫學院演講