

特约综述



淋巴细胞的活化和黏附在机体防御肿瘤发生和病毒感染中起许多重要作用。其中, 淋巴细胞表面的抗原受体(如TCR)产生“inside-out”信号, 促进整合素的活化和黏附; 整合素也会产生“outside-in”信号, 调控淋巴细胞的活化、促进淋巴细胞迁移到感染或肿瘤部位, 最终清除病原微生物或杀伤肿瘤细胞。我们利用基因工程突变小鼠及其相应疾病模型和病人样品, 深入了解: (1)调控淋巴细胞“inside-out”和“outside-in”信号的新型信号分子网络; (2)细胞毒性T淋巴细胞(CD8+ CTLs)、调节性T细胞(Tregs)及巨噬细胞调控抗肿瘤或肿瘤逃逸中的作用机制; (3)宿主T细胞调控HIV-1等病毒复制和在细胞间传播的作用机制; (4)巨噬细胞介导的炎症和吞噬功能及其分子机制。

<http://www.sibcb.ac.cn/PI.asp?id=132>

TCR介导“inside-out”信号通路调控整合素的活化

肖俊¹ 韩磊² 李春阳² 徐晓燕² 盛春^{1*} 王红艳^{2*}

(¹上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234; ²中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所细胞生物学国家重点实验室, 上海 200031)

摘要 整合素(integrin)是一类重要的跨膜黏附分子, 在T细胞定向迁移到淋巴器官、感染或炎症部位以及T细胞与抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC)之间相互作用等过程中起重要作用。T细胞受到抗原或趋化因子等的刺激后, 启动细胞内大量的信号传导分子, 并形成“inside-out”信号通路, 导致整合素构像的改变(conformation change)或促进整合素在细胞表面的聚集(integrin clustering), 最终增强整合素的affinity或avidity, 促进其与配体结合的能力, 提高淋巴细胞间的黏附。近年来的研究已经鉴定出调控整合素活化的多个关键的信号分子及其形成的信号转导复合体。该文主要阐述T细胞受到抗原刺激后, 由T细胞受体(T cell receptor, TCR)介导的“inside-out”信号通路中关键的信号分子如ADAP、SKAP-55、RapL、Rap1、Talin和Kindlins等如何与上下游信号分子协同作用, 调控整合素LFA-1活化的分子机制。

关键词 整合素活化; T细胞受体; “inside-out”信号通路; ADAP; SKAP-55; LFA-1

整合素是细胞表面的黏附受体, 由 α 和 β 亚基组成。在哺乳动物中, 已发现的18种 α 亚基和8种 β 亚基以非共价键结合的方式形成24种不同的整合素^[1]。这些黏附受体调节T细胞向淋巴器官、感染或炎症部位的定向迁移, 主要介导细胞与细胞及细胞与细胞外基质之间的黏附, 对机体正常生理功能的维持十分重要^[2]。在T细胞黏附到抗原呈递细胞(APC)形成细胞聚合体的过程中, 整合素介导的黏附同样起重要的作用。在T细胞表面主要表达的整合素是 $\beta 2$ 家族整合素淋巴细胞功能相关抗原-1(lymphocyte function associated antigen-1, LFA-1, $\alpha L\beta 2$)、巨噬细

胞抗原复合体(macrophage antigen complex-1, Mac-1, $\alpha M\beta 2$)和 $\beta 1$ 家族整合素迟现抗原(very late antigen, VLA, $\alpha 4\beta 1$ 、 $\alpha 5\beta 1$ 和 $\alpha 6\beta 1$)。整合素LFA-1是重要的细胞间黏附分子, 在炎症的过程中主要通过和细胞上的配体ICAM-1(intercellular adhesion molecule-1)、ICAM-2、ICAM-3结合, 对白细胞和内皮细胞的黏

国家重点基础研究发展计划(973计划)(No.2011CB505005, No.2012CB910800)、国家自然科学基金(No.31070778)、中国科学院百人计划和上海市浦江人才计划(No.11PJ1410700)资助项目

*通讯作者。Tel: 021-64322927, E-mail: shengch@shnu.edu.cn; Tel: 021-54921089, E-mail: hongyanwang@sibs.ac.cn

附起着关键的作用。LFA-1也参与T细胞的应答,如CTL对靶细胞的识别和杀伤、抗原诱导的T细胞增殖,以及T-APC细胞的相互作用。Mac-1作为补体受体,通过与iC3b结合可调控吞噬,在单核细胞和中性粒细胞穿过内皮细胞层迁移到炎症部位时起重要作用,并参与PMA(phorbol 12-myristate 13-acetate)诱导的中性粒细胞的相互黏附以及趋化作用。 $\beta 1$ 家族整合素能够和血管细胞黏附分子(vascular cell-adhesion molecule)及细胞外基质纤连蛋白(fibronectin)相互结合导致T细胞的活化并可调节 $\beta 1$ 的黏附功能^[2-3]。然而,在发生炎症、感染或在自身抗原等的刺激条件下,如果淋巴细胞表面的整合素不能正常地被活化会导致一系列自身免疫性疾病或感染性疾病或肿瘤的发生等。我们能够通过抗体或者小分子化合物去阻断特异性的整合素,从而可以帮助我们治疗多种免疫性疾病。临床上已经发展起来的针对整合素的药物主要是利用整合素的单克隆抗体阻断整合素的信号通路^[4-5],如以 $\alpha L\beta 2$ 为靶点的依法珠单抗(raptiva)用于治疗牛皮癣,以 $\alpha 4$ 亚基为靶点的那他珠单抗(tysabri)用于治疗多发性硬化症(multiple sclerosis)和炎症肠道疾病(inflammatory bowel disease),以 $\alpha IIb\beta 3$ 为靶点的阿西单抗(abciximab)用于治疗血栓等。总之,弄清楚T细胞表面受体(TCR)所介导的“inside-out”信号通路中的各个信号分子,将有助于我们设计新的治疗方法和药物靶点去阻断或治疗自身免疫性疾病。

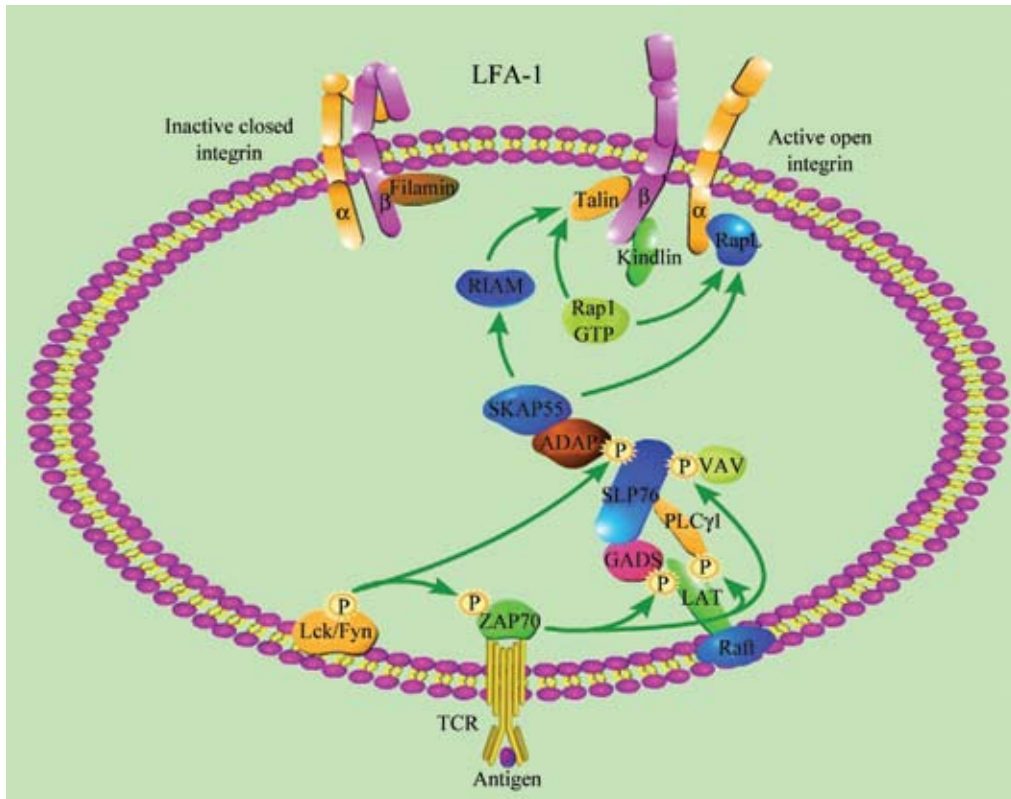
1 整合素的活化模型

整合素是由 α 、 β 两个亚基组成的异源二聚体的黏附受体。在静息时的T细胞中,整合素处于非活化的状态,即其与配体结合的能力很低。一旦T细胞表面的受体TCR和趋化因子受体受到抗原和趋化因子的刺激后,“inside-out”信号通路启动,导致整合素构象的变化,进而增强了整合素对其配体的亲和力(affinity);TCR信号也能促进T细胞表面整合素的聚集/丛聚(clustering),从而增强整合素的亲和力(avidity)^[2]。整合素通过“inside-out”信号通路,动态的调节T细胞的黏附能力,从而介导T细胞与其他细胞之间及与细胞外基质之间的相互作用。在生理学方面,整合素的重排和聚集能同时发生在整合素的活化过程中,影响细胞的黏附^[6-8]。目前,很多工作都集中于整合素构象的改变导致其亲和力的变化,其中一

些类型的整合素的构象变化非常巨大,尤其是整合素LFA-1,构象变化后黏附能力增强的LFA-1能够很容易地被一些特异性抗体检测到。作为一个膜受体,静息状态的T细胞中 α 和 β 亚基的胞外区域相互缠绕形成一个折叠的结构,胞质尾也相互靠拢形成一个低亲和力的构象。当Talin与整合素 β 亚基相互作用之后,导致了整合素的 α 和 β 亚基的胞外区域迅速分离,形成一个延伸的开放的结构,对配体有很高的亲和力^[9-10]。另一方面,游离散在的整合素也能通过聚集,提高整合素在细胞局部或细胞间接触面的密度,增强细胞的黏附能力。例如,在受到呈递抗原的APC刺激后,T细胞表面整合素聚集到与APC的接触面,促进细胞与细胞之间的黏附^[11];或者在趋化因子等的刺激或诱导下,促进整合素聚集在迁移T细胞的前沿(leading edge),使其增强与配体的亲和力,促进细胞的定向迁移。整合素活化的模型见图1。此外,活化的整合素的胞外域与其配体的相互作用也能将细胞外的信号传导到细胞内,即整合素介导“outside-in”信号,调节细胞的生长、分化和凋亡等^[12-13]。

2 调控TCR介导的整合素活化的信号分子及信号转导复合体

近年来,大量的工作致力于研究“inside-out”信号通路如何从TCR传导到整合素。最早被鉴定的一些信号分子包括酪氨酸蛋白激酶(protein tyrosine kinase, PTK),如Src激酶家族Lck和Fyn。激酶Lck能使TCR/CD3复合体上ITAMs(immunoreceptor tyrosine-based activation motifs)的酪氨酸磷酸化^[14-15]。磷酸化的ITAMs继而招募ZAP-70(zeta-chain-associated protein kinase of 70 kDa)和其他Syk激酶家族成员,并且随后被磷酸化而被激活。在Lck缺失的Jurkat T细胞(如JCaM1.6细胞)或Src激酶抑制子处理的Jurkat T细胞或ZAP-70缺失的Jurkat T细胞中,TCR信号不能诱导整合素的活化。这些数据提示,在TCR信号起始阶段,这些PTKs对整合素的活化至关重要。研究表明,活化的PTKs能诱导多种细胞内的信号蛋白的磷酸化,包括跨膜的和细胞质内部的适配蛋白(adapter protein)^[16-17]。适配蛋白不具有酶活性和激酶的功能,但是含有一些能够促进信号分子相互结合的功能结构域(domain)^[18-20],参与TCR介导的“inside-out”信号通路。调控整合素活化的适配蛋白包括LAT、SLP-76、ADAP、SKAP-55、Rap1、RapL和RIAM等(这



TCR所介导的“inside-out”信号通路中几个关键的调节蛋白,包括ZAP-70和下游的适配蛋白如SLP-76、ADAP、SKAP-55以及一些效应分子如Rap1、RapL、RIAM及Talin和Kindlin等。被ZAP-70磷酸化的SLP-76能够与ADAP结合,ADAP又能和SKAP-55相互作用,继而将招募RapL或RIAM,使它们靠近细胞膜,进而结合活化的Rap1等。最近的研究发现,SKAP-55能够和RapL、Rap1形成SKAP-55-RapL-Rap1复合体,并且RapL能直接与LFA-1的 α 链结合。而且,ADAP-SKAP-55复合体能与RIAM结合,然后RIAM和Talin及LFA-1的 β 链结合。同样地,Kindlin能够与LFA-1的 β 链上的其他位点结合。然而,SKAP-55-RapL-Rap1复合体、Talin-RIAM模块以及Kindlin是否存在潜在的、相互调控作用以及它们如何通过与LFA-1不同链的结合来调节其黏附的机制仍然有待于进一步的确定。

TCR generates “inside-out” signals to activate integrins in T cells that involve several key players including ZAP-70 and downstream effectors such as Rap1, RapL, RIAM, Talin, Kindlin and adaptors SLP-76, ADAP, SKAP-55. While SLP-76 binds ADAP, which in turn interacts with SKAP-55. Recent findings have indicated that SKAP-55 regulates the formation of the SKAP-55-RapL-Rap1 complex and RapL binds directly to the α chain of LFA-1, while Talin binds to RIAM as well as the β chain of LFA-1. Similarly, Kindlin-3 binds the β chain of LFA-1 at distinct sites. It remains to be determined whether and how the SKAP-55-RapL-Rap1 complex works together with the Talin-RIAM module or kindlin to regulate LFA-1 activation via the different chains of LFA-1.

图1 “inside-out”信号通路活化整合素的分子机制

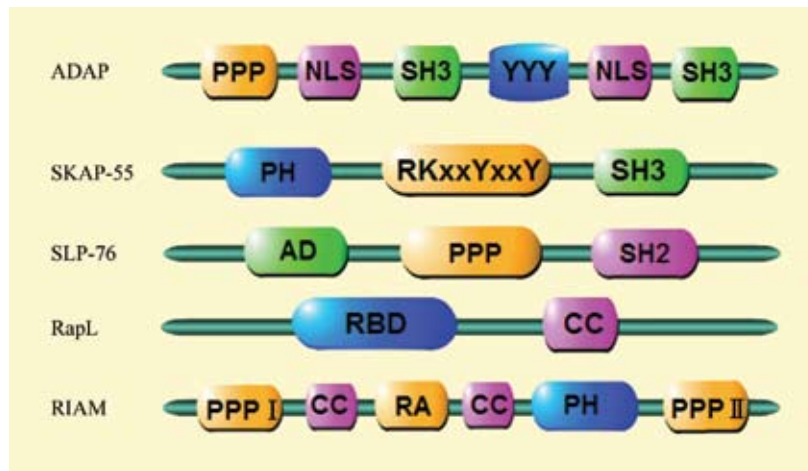
Fig.1 Molecular mechanisms for the activation of integrins via the “inside-out” signaling pathway

些适配蛋白的结构示意图见图2)。

2.1 LAT(linker for activation of T cells)

作为跨膜蛋白, LAT由一个短的胞外域、跨膜结构域和含有9个保守酪氨酸的胞质尾组成,主要表达在胸腺细胞、成熟的T细胞和肥大细胞等淋巴细胞上^[21-23]。被ZAP-70磷酸化的跨膜适配蛋白LAT定位在富含胆固醇的质膜(被称为脂筏, lipid rafts)^[24]上。LAT的近膜区域上含有两个半胱氨酸残基,这些氨基酸对于LAT在膜上的定位及其功能的维持起关键作用。突变这些氨基酸使LAT的磷酸化下调,并且阻断了下游信号分子的磷酸化^[21]。LAT

能够招募数个含有SH2(Src homology 2)结构域的信号蛋白,包括Grb2(growth factor receptor-bound protein 2)、PLC γ 1(phospholipase C γ 1, 磷脂酶C γ 1)、激酶ITK和GADS(Grb2-related adapter protein)等^[18,21]。因为LAT基因敲除小鼠的T细胞发育严重受阻,导致外周淋巴器官内缺少成熟的T细胞,无法研究LAT如何调控成熟T细胞中整合素的活化。所以利用LAT敲减或敲除的Jurkat T细胞,或与LAT结合的上述分子缺失或突变的T细胞等体外实验系统表明, LAT及其结合的信号蛋白缺失或突变后,整合素均不能正常地被TCR信号活化, T细胞黏附功能降低^[25]。



PPP: 脯氨酸富含区域; SH3: Src同源结构域3; SH2: Src同源结构域2; PH: pleckstrin同源结构域; YYY: 磷酸化的酪氨酸基序; CC: 双螺旋; RA: Ras相关的结构域; AD: 酸性结构域; NLS: 核定位序列; RBD: Ras结合位点; RKxxYxxY: x代表任何一种氨基酸。
 PPP: proline-rich domain; SH3: Src-homology 3 domain; SH2: Src-homology 2 domain; PH: pleckstrin homology domain; YYY: tyrosine phosphorylation motifs; CC: coiled-coil; RA: Ras-association domain; AD: acid domain; NLS: nuclear localization sequence; RBD: Ras-binding domain; RKxxYxxY: x represents an amino acid.

图2 适配蛋白ADAP、SKAP-55、SLP-76和信号蛋白RapL、RIAM的结构示意图

Fig.2 Structure of functional domains in the adapter proteins ADAP, SKAP-55, SLP-76 and signaling proteins RapL and RIAM

2.2 GADS(Grb2-related adaptor downstream of Shc)

GADS在造血细胞中特异性地表达,是含有SH2和SH3结构域的适配蛋白,参与酪氨酸激酶介导的信号转导,在TCR起始的信号通路起着很重要的作用。GADS能够与磷酸化的LAT上的SH2结构域结合,同时和SLP-76羧基末端的SH3结构域结合。因此,GADS能作为桥梁分子,促进SLP-76被招募到LAT上,形成信号转导复合体LAT-GADS-SLP-76^[18]。研究发现,GADS缺失的小鼠严重影响了T细胞的发育,并且也影响胸腺细胞在发育的过程中阳性与阴性的选择。利用生物化学的方法,揭示在GADS缺失的T细胞中,SLP-76不能够和LAT形成复合体,并且在很大程度上减少了PLC- γ 1的磷酸化及Ca²⁺的生成,最终影响了TCR介导的“inside-out”的信号通路^[26]。

2.3 SLP-76(SH2 domain-containing leukocyte phosphoprotein of 76 kDa)

SLP-76是另一个能被ZAP-70磷酸化的胞内适配蛋白。SLP-76的N末端结构域含有数个酪氨酸,中间结构域富含脯氨酸,C末端由SH2结构域组成^[20]。通过不同的结构域,SLP-76与不同的信号蛋白形成多个信号转导复合体。静息状态的T细胞中,SLP-76的Arg-X-X-Lys基序与上游GADS的SH3结构

域结合,形成复合体并存在于细胞质中^[27-28]。当TCR受到抗原刺激后,LAT上磷酸化的酪氨酸招募含有SH2结构域的GADS,使GADS-SLP-76复合体转到含有TCR信号复合体的脂筏上。SLP-76与GADS结合位点的突变,阻断SLP-76被招募到细胞膜上,从而减少了CD3抗体刺激引起的T细胞增殖。SLP-76的SH2结构域与下游ADAP(adhesion and degranulation-promoting adapter protein)的酪氨酸结合。当SLP-76的SH2结构域突变后,虽然胸腺细胞能够正常发育,但是影响了外周T细胞的功能,并且与ADAP缺失小鼠的外周T细胞有相似的表型,包括阻断TCR介导的整合素活化和细胞的黏附。SLP-76的N-末端酪氨酸被磷酸化后,能结合VAV1和NCK。当SLP-76的N-末端酪氨酸被突变后,不能与VAV1结合,同样下调TCR介导的整合素活化和细胞的黏附。SLP-76缺失小鼠T细胞发育被阻断在双阴性阶段(DN),导致外周成熟T细胞数量极少。SLP-76缺失的Jurkat T细胞下调PLC γ 1磷酸化水平、钙离子流和IL-2产生。更重要的是,在经TCR信号刺激后,SLP-76缺失的Jurkat T细胞不能黏附到整合素配体ICAM-1包被的基质上。除参与TCR介导的“inside-out”信号,SLP-76还参与整合素介导的“outside-in”的信号。在 β 3整合素配体的刺激下,SLP-76缺失的血小板或中性粒细胞细胞不能像正常细胞伸展,也不能释放

ROIs(reactive oxygen intermediates)^[29-31]。

2.4 ADAP

ADAP也被称为SLAP(SLP-76-associated protein, SLP-76相关的蛋白), 主要在造血细胞中表达, 在B细胞中无表达。ADAP有两个亚型, 分别是分子量为120 kDa的ADAP-120和分子量为130 kDa的、含有一个额外46个氨基酸插入序列的ADAP-130^[32]。当TCR/CD3复合体受到抗原刺激后, TCR信号启动, 活化的激酶Fyn能结合并磷酸化ADAP的位于625-628位的氨基酸基序(motif)即Tyr-Asp-Gly-Ile(YDGI)。在Fyn缺失的T细胞中, ADAP的磷酸化明显减少。活化的激酶Fyn还能磷酸化ADAP的595-598和651-654的两个氨基酸基序即Tyr-Asp-Asp-Val(YDDV), 进而使ADAP结合到SLP-76的SH2结构域。ADAP上的这两个酪氨酸Tyr595或者Tyr651的突变都降低T细胞的活化^[33]。ADAP上富含脯氨酸的区域能够与SKAP-55上的SH3结构域结合^[34], 此外ADAP的SH3结构域也能和SKAP-55(Src kinase-associated phosphoprotein of 55 kDa)上以酪氨酸为基础的Arg-Lys-X-X-Tyr-X-X-Tyr(RKxxYxxY)基序相互作用^[35-37]。而且, ADAP上的SH3结构域还能够与磷脂结合, 对于ADAP介导T细胞的迁移和黏附很重要^[38-40]。

起初, 数个研究小组在ADAP如何调控T细胞活化功能上存在争议, 但是利用ADAP缺失小鼠的T细胞, 最终的数据证实ADAP起正调控T细胞活化的作用^[41-42]。尽管ADAP基因敲除的小鼠有正常的T细胞分化, 如外周淋巴器官有成熟的CD4和CD8单阳性T细胞亚群, 但是ADAP缺失的T细胞用CD3抗体刺激后, $\beta 1$ 和 $\beta 2$ 整合素介导的细胞黏附和LFA-1的丛聚是降低的, 这种黏附的减少也伴随着T细胞的增殖和细胞因子白介素-2(interleukin-2, IL-2)的减少^[41-42]。因此, ADAP基因敲除的小鼠的一些表型表明ADAP能增强TCR介导“inside-out”信号通路调控的整合素活化。通过构建ADAP的突变体M12(突变Tyr595和Tyr651, 使突变体M12不能与上游SLP-76结合), 发现突变体M12阻断T细胞黏附到APC及形成T-APC细胞聚合体的功能, 并且阻断整合素LFA-1特异定位到免疫突触的外周^[43]。此外, 在T细胞受到整合素配体刺激后, 野生型ADAP能促进“outside-in”信号引起的T细胞伸展(spreading)、细胞骨架重排, 并进一步提高TCR刺激引起的IL-2的产生。然而, 突变体M12有效阻止“outside-in”信号对上述T细胞功能的

调控^[44]。这提示在调控“inside-out”和“outside-in”信号通路中, 信号转导复合体SLP-76-ADAP均起阳性调控作用。

2.5 SKAP-55

SKAP-55含有一个PH结构域、一个C-末端SH3结构域和数个酪氨酸, 主要在T淋巴细胞、肥大细胞和巨嗜细胞中特异性的表达, 但在B细胞中无表达^[34-45]。在ADAP缺失的Jurkat T细胞中, 发现SKAP-55的表达也是缺乏的, 这个发现在体内分离的原代T细胞中也已被证实^[46-47]。ADAP通过影响SKAP-55的蛋白水解和蛋白降解的半衰期, 来调节SKAP-55蛋白的表达水平。虽然ADAP的缺失导致SKAP-55的缺失, 但是SKAP-55的缺失并不影响ADAP蛋白的表达水平^[35-36]。这个发现引起了一个重要的问题, 即ADAP缺失的T细胞的表型是否是由于ADAP单独缺失或与SKAP-55两种适配蛋白共同缺失所导致的。利用反转录病毒过表达或者敲除SKAP-55的研究系统, 大量的实验表明, SKAP-55正调控整合素活化、T细胞黏附和T-APC相互作用。siRNA阻断T细胞系中SKAP-55的表达后, 干扰了整合素的聚集。而且, SKAP-55的SH3结构域的缺失阻断其与ADAP的结合后, 下调了T-APC细胞聚合体的形成, 并阻断了LFA-1的聚集及其配体的亲和力^[48-49]。这表明SKAP-55在TCR介导的信号通路中处于ADAP的下游。而且, SKAP-55调节整合素活化的作用是不能被其同源的信号蛋白SKAP-2/SKAP-HOM所替代的^[48]。

SKAP-55基因敲除小鼠的T细胞和ADAP缺失的T细胞的表型相似, 整合素的黏附和聚集及细胞因子IL-2和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)的产生都严重受损, 但是在胸腺的发育过程中却没有明显的变化^[47]。ADAP和SKAP-55缺失的小鼠的相似表型, 进一步地表明ADAP/SKAP-55作为一个信号蛋白复合体共同调节整合素的活化和细胞的黏附。

2.6 Rap1-RapL/RIAM-LFA-1

最近的工作证明了适配蛋白SKAP-55在调节Rap1-RapL/RIAM-LFA-1复合体的形成中起着很关键的作用。SKAP-55能够和ADAP相互作用, 上调整合素介导的细胞黏附。当缺失SKAP-55上的SH3结构域或突变ADAP上富含脯氨酸的区域后, SKAP-55失去与ADAP的结合, 使LFA-1黏附功能受损并且阻止Rap1在细胞膜上的定位, 导致T细胞不能黏

附到APC上并形成细胞聚合物^[33]。Rap1是Ras家族的一种小G蛋白(small GTPnase),有活化状态GTP-Rap1和非活化状态GDP-Rap1。在T细胞受抗原刺激后,Rap1被活化,并且活化的GTP-Rap1定位到细胞膜,促进整合素活化。Rap1的过表达能够增强整合素的活化和细胞的黏附^[50-51],而Rap1A缺失的淋巴细胞其黏附功能受损,不能迁移到其他的淋巴器官^[52]。趋化因子刺激T细胞后,同样能够诱导Rap1的活化,增强整合素VLA-4($\alpha\beta 1$)介导的与其配体VCAM-1(vascular cell adhesion molecule-1,血管细胞黏附分子-1)的结合^[53]。近年来通过酵母双杂交,鉴定出的一种与活化GTP-Rap1结合的适配蛋白即RapL(regulator of adhesion and cell polarization enriched in lymphoid tissues)。RapL主要在淋巴组织中表达,在TCR受到抗原刺激受后,RapL和活化形式的Rap1-GTP相互结合,并被招募到邻近细胞膜LFA-1的附近^[54]。RapL缺失或RapL的N末端缺失或与Rap1结合的区域突变后都影响了Rap1-RapL复合物的形成,从而抑制了T细胞的黏附功能。与此一致,过表达RapL能增强T细胞的黏附。同时,RapL能够和整合素LFA-1的 α 亚基胞质尾上的GFFKR基序上的两个赖氨酸相互作用,促进整合素构象的改变或定位在在迁移的T细胞的前沿。K1097/K1098点突变的LFA-1不能够和RapL结合,并且主要定位在细胞的胞体(cell body)及其尾部,因此也抑制了Rap1诱导的LFA-1黏附能力的上调^[54-55]。

最近的研究发现,在TCR信号通路中,ADAP-SKAP-55能和Rap1-RapL-LFA-1信号复合体组成一个信号传导模块。SKAP-55的N末端能够和RapL C末端的SARAH结构域结合,形成SKAP-55-RapL复合体,将RapL带到邻近细胞膜上LFA-1并与LFA-1的 α 亚基相互作用,从而增加了LFA-1对其配体ICAM-1的黏附。当T细胞中缺失SKAP-55后,RapL不能与Rap1或LFA-1结合形成信号复合体,因而缺失SKAP-55的T细胞阻断 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 整合素的活化。RapL的C末端点突变(L224A)阻断了与SKAP-55的结合,同样降低由TCR介导的整合素的集聚及T细胞黏附到APC的能力。

RIAM(Rap1-GTP-interacting adaptor molecule)是另一种与活化GTP-Rap1结合的适配蛋白,由C末端、N末端富含脯氨酸区域,两个螺旋结构域,一个RA结构域(Ras association domain)和一个PH结构

域组成。RIAM通过RA结构域与Rap1结合,并通过N末端的氨基酸与Talin相互作用。RIAM也能通过RA结构域和适配蛋白SKAP-55相互作用。RIAM的过表达或者敲除实验都表明在TCR的信号通路中,RIAM能促进细胞黏附在整合素配体包被的平板,并调控细胞骨架的重排,促进细胞铺展,因而是一个调控整合素活化的关键信号蛋白^[56]。ADAP-SKAP-55和RIAM结合后,将RIAM带到邻近细胞膜的部位,促进RIAM与Rap1形成Rap1-RIAM复合体,并与ADAP-SKAP-55信号复合体相互作用,共同调节整合素的活化。在T细胞过度表达SKAP-55的突变体,使ADAP和SKAP-55不能形成信号复合体时,RIAM的细胞膜定位功能受损,导致整合素活化的下调。

3 与整合素 β 亚基相互作用的蛋白

整合素的 $\alpha\beta$ 亚基在胞内区的相互分离是整合素活化过程中的关键步骤^[57],在这个过程中,一些信号蛋白与整合素 β 亚基的结合是必不可少的。整合素 β 亚基胞质尾上主要有两个不同的基序(motif),分别是靠近膜端的NPxY/F和远离膜的NxxY/F基序,它们分别结合不同的信号蛋白来调控整合素的活性^[58],包括与NPxY/F结合的信号蛋白Talin和NxxY/F基序结合的Kindlins。突变 β 链中的NPxY/F和NxxY/F两个基序中的任意一个都严重影响整合素与配体的亲和力^[59]。此外,还有一些起着负调控作用的蛋白如Filamin等,能够和整合素 β 胞质尾结合并抑制整合素的活化。研究表明,其抑制机制是由于Filamin和Talin对整合素 β 胞质尾的结合位点重叠,互相竞争整合素 β 胞质尾的结合位点,Filamin通过置换Talin在 β 胞质尾上的结合而发挥其抑制功能^[60]。

3.1 Talin

Talin是整合素活化的一个关键信号蛋白,由一个50 kDa N端的头结构域和一个220 kDa棒状结构域组成。Talin N端的头结构域(THD)含有一个与整合素 β 亚基胞质尾高亲和力的结合位点,该结合位点含有一个FERM结构域,由三个亚结构域组成,即F1、F2和F3。其中,F3含有一个磷酸化的酪氨酸结合位点(phosphotyrosine-binding domain, PTB),能够与 β 胞质尾近膜端的NPXY/F基序结合^[61]。而Talin的棒状结构域含有与肌动蛋白(F-actin)和粘着斑蛋白(focal adhesion)等信号蛋白的结合位点。因此,Talin作为一个衔接整合素和细胞质骨架肌动蛋白的重要

信号分子, 并对粘着斑的形成很重要。敲减Talin的表达或过度表达Talin的突变体, 都能阻断整合素活化。利用基因突变小鼠活体模型, 最近的研究进一步证实, Talin与整合素 β 胞质尾的相互作用对于调节整合素活化起重要作用。例如, 若血小板缺乏Talin, 则血小板的集聚功能严重受损; 整合素 $\beta 3$ 亚基上结合位点的突变和Talin的缺失都阻断了Talin与整合素 $\alpha IIb\beta 3$ 之间的相互作用^[62-63]。因此, Talin与整合素的结合是整合素活化的关键步骤。

Talin在T细胞中调节整合素活化的作用已经被很多实验室研究, 目前的研究数据提示的信号通路模型涉及到T细胞膜上信号复合体ADAP-SKAP-55-RIAM-Rap1的形成。ADAP-SKAP-55促进Rap1-RIAM复合体的形成, 并定位到细胞膜上, 使其能够招募Talin, 促进Talin F3亚基与整合素 β 亚基胞质尾的相互作用, 并导致整合素的亚基构象改变, 诱导整合素活化^[35,50]。

3.2 Kindlins

Kindlins是一类新发现的粘着斑蛋白, 是整合素活化和细胞骨架重排的另一个关键信号蛋白。这个家族包括Kindlin-1、Kindlin-2和Kindlin-3三个成员, 不同Kindlin家族成员在进化上具有高度同源性和保守性。Kindlin-1和Kindlin-2在人和鼠科动物的组织中广泛的表达, 而Kindlin-3的表达则局限于造血组织中。和Talin一样, Kindlins也含有一个与 β 胞质尾结合的FERM结构域, 也能被进一步的分成F1、F2和F3三个亚结构域。Kindlins通过与 β 胞质尾的NxxY基序相互作用而发挥其调控功能^[64]。研究表明, Kindlin-3缺乏的血小板不能发生集聚, 此外, Kindlin-3基因敲除的小鼠淋巴细胞也缺乏黏附的功能, 但是当Kindlin-3恢复表达后, 这种表型会被逆转。临床上淋巴细胞黏附缺陷综合征(leukocyte adhesion deficiency syndromes III, LADIII)患者的淋巴细胞缺乏黏附和定向迁移功能, 使病人淋巴细胞不能有效清除病原微生物的感染, 导致病人出现反复的致命性的感染^[54]。最近的研究发现, LADIII患者的淋巴细胞黏附缺陷综合征正是由于Kindlin-3发生突变, 导致整合素功能的缺失引起的。Kindlin-2敲除的小鼠导致了 $\beta 1$ 整合素的活性缺乏, 严重影响了胚胎的正常发育。同样, Kindlin-1的突变或者敲除, 也导致了 $\beta 1$ 整合素的活性缺失^[61,65]。Kindlin-1和Kindlin-2能够作为一个桥梁连接整合素和细胞质骨架肌动蛋

白, 并且Kindlin还能与ILK(integrin-linked kinase)结合, 在细胞黏附中同样起着很重要的作用。

有研究表明, 由于Talin活化整合素需要Kindlins结合到整合素的 β 胞质尾, 因此Kindlins的过表达增强了Talin活化整合素的能力^[65-66]。当Kindlins或Talin单独与 β 胞质尾结合时, 远远低于两者同时结合整合素分子后, 对细胞黏附功能的促进作用。由此提示, Kindlins作为Talin的一种协同调节蛋白共同调节整合素的活性。

这些发现提示, 在T细胞的“inside-out”信号通路中, 多个信号蛋白相互结合, 交叉形成多个信号蛋白复合体, 共同调节整合素的活化并介导其黏附。TCR或者趋化因子受体受到刺激后, 能够活化激酶Src和Syk家族和酶PLC- $\gamma 1$ 等, 使下游信号蛋白被磷酸化, 形成信号蛋白复合体LAT-GADS-SLP-76-ADAP-SKAP-55。SKAP-55进一步与RapL-Rap1复合体或RIAM-Rap1复合体结合, 促进其与整合素的 α 或 β 亚基相互作用来活化整合素。

4 结语与展望

近十年来, 对整合素功能的研究取得了重大的进展, 整合素在TCR或趋化因子受体所介导的“inside-out”和其自身介导的“outside-in”双向信号通路中起着重要的作用。然而, 仍然有很多富有挑战性的问题未得到解决。其中一个主要的问题是当细胞受到不同的刺激时, 包括抗原、趋化因子或选择素等, 各种整合素怎样和细胞表面的不同受体协同作用来调节细胞的功能。例如, MHC-肽复合体与TCR结合启动了“inside-out”信号通路, 从而激活了整合素LFA-1, LFA-1的相互集聚又进一步作为T细胞增殖、 Ca^{2+} 转移等生理功能的共刺激信号; 当细菌脂多糖LPS和TLR4(Toll-like-receptor 4)相互作用后, 巨噬细胞中的整合素Mac-1也能够被活化。然而, 与LFA-1在T细胞活化中起正调控作用完全不同的是, Mac-1负调控TLR所介导的炎症反应^[67]。除此之外, 免疫细胞中整合素一些新的功能也在陆续地被发现。例如, 黏膜淋巴细胞上的整合素 $\alpha 4\beta 7$ 能够直接和HIV-1病毒上gp120的V2环结合, 促使LFA-1的快速活化, 有利于病毒突触的形成和促进HIV-1在细胞间的有效传播。当用抗体阻断 $\alpha 4\beta 7$ 与gp120之间的相互作用后, 能够在很大程度上减少HIV-1病毒对T细胞的侵入^[68]。并且发现, 调控整合素活化的激酶

ITK(interleukin 2 tyrosine kinase)能增强HIV-1病毒在细胞间的入侵和传播。利用ITK的抑制子能有效下调HIV-1病毒入侵T细胞和在T细胞间的传播。此外,存在于调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)中的整合素 $\alpha\text{E}\beta 7(\text{CD}103)$ 在Treg所介导的对结肠炎(colitis)的控制中发挥着重要的作用^[69],而信号蛋白Rap1和PKC通过调控整合素的活化,也可能调节Treg的功能。随着对更多不同类型细胞上的各种调控整合素活化和功能的详细研究,我们可以靶向整合素的信号通路中的信号蛋白,以阻断“inside-out”和“outside-in”通路,进而有助于我们开发更多以整合素为靶点的药物去治疗各种与整合素相关的一些疾病。

参考文献 (References)

- 1 潘有东, 张坤, 岳姣, 陈剑峰. 整合素亲和力调控的机制. 中国细胞生物学学报(Pan Youdong, Zhang Kun, Yue Jiao, Chen Jianfeng. The mechanism of integrin affinity regulation. Chinese Journal of Cell Biology) 2011; 33(5): 457-65.
- 2 Abram CL, Lowell CA. The ins and outs of leukocyte integrin signaling. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 339-62.
- 3 Hogg N, Laschinger M, Giles K, McDowall A. T-cell integrins: More than just sticking points. *J Cell Sci* 2003; 116(23): 4695-705.
- 4 Ulbrich H, Eriksson EE, Lindbom L. Leukocyte and endothelial cell adhesion molecules as targets for therapeutic interventions in inflammatory disease. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24(12): 640-7.
- 5 Yonekawa K, Harlan JM. Targeting leukocyte integrins in human diseases. *J Leukocyte Biol* 2005; 77 (2): 129-40.
- 6 Carman CV, Springer TA. Integrin avidity regulation: Are changes in affinity and conformation underemphasized? *Curr Opin Cell Biol* 2003; 15(5): 547-56.
- 7 Luo BH, Carman CV, Springer TA. Structural basis of integrin regulation and signaling. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 619-47.
- 8 Takagi J, Springer TA. Integrin activation and structural rearrangement. *Immunol Rev* 2002; 186: 141-63.
- 9 Lu C, Shimaoka M, Zang Q, Takagi J, Springer TA. Locking in alternate conformations of the integrin $\alpha\text{L}\beta 2$ I domain with disulfide bonds reveals functional relationships among integrin domains. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(5): 2393-8.
- 10 Shimaoka M, Lu C, Palframan RT, von Andrian UH, McCormack A, Takagi J, *et al.* Reversibly locking a protein fold in an active conformation with a disulfide bond: Integrin αL I domains with high affinity and antagonist activity *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(11): 6009-14.
- 11 van Kooyk Y, Weder P, Heije K, Figdor CG. Extracellular Ca^{2+} modulates leukocyte function-associated antigen-1 cell surface distribution on T lymphocytes and consequently affects cell adhesion. *J Cell Biol* 1994; 124(6): 1061-70.
- 12 Takagi J, Petre BM, Walz T, Springer TA. Global conformational rearrangements in integrin extracellular domains in outside-in and inside-out signaling. *Cell* 2002; 110(5): 599-11.
- 13 Wu J, Luo H. Recent advances on T-cell regulation by receptor tyrosine kinases. *Curr Opin Hematol* 2005; 12(4): 292-7.
- 14 Mustelin T, Tasken K. Positive and negative regulation of T-cell activation through kinases and phosphatases. *Biochem J* 2003; 371: 15-27.
- 15 Chan AC, Desai DM, Weiss A. The role of protein-tyrosine kinases and protein-tyrosine phosphatases in T-cell antigen receptor signal-transduction. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 555-92.
- 16 Makani SS, Jen KY, Finn PW. New costimulatory families: Signaling lymphocytic activation molecule in adaptive allergic responses. *Curr Mol Med* 2008; 8(5): 359-64.
- 17 Clements JL, Boerth NJ, Lee JR, Koretzky GA. Integration of T cell receptor-dependent signaling pathways by adapter proteins. *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 89-108.
- 18 Horejsí V, Zhang W, Schraven B. Transmembrane adaptor proteins: Organizers of immunoreceptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2004; 4(8): 603-16.
- 19 Jordan MS, Singer AL, Koretzky GA. Adaptors as central mediators of signal transduction in immune cells. *Nat Immunol* 2003; 4(2): 110-16.
- 20 Koretzky GA, Abtahian F, Silverman MA. SLP76 and SLP65: Complex regulation of signalling in lymphocytes and beyond. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(1): 67-78.
- 21 Su YW, Jumaa H. LAT links the Pre-BCR to calcium signaling. *Immunity* 2003; 19(2): 295-305.
- 22 Burbach BJ, Medeiros RB, Mueller KL, Shimizu Y. T-cell receptor signaling to integrins. *Immunol Rev* 2007; 218: 65-81.
- 23 Weber JR, Orstavik S, Torgersen KM, Danbolt NC, Berg SF, Ryan JC, *et al.* Molecular cloning of the cDNA encoding pp36, a tyrosine-phosphorylated adaptor protein selectively expressed by T cells and natural killer cells. *J Exp Med* 1998; 187(7): 1157-61.
- 24 Zhang WG, Tribble RP, Samelson LE. LAT palmitoylation: Its essential role in membrane microdomain targeting and tyrosine phosphorylation during T cell activation. *Immunity* 1998; 9(2): 239-46.
- 25 Balagopalan L, Ashwell BA, Bernot KM, Akpan IO, Quasba N, Barr VA, *et al.* Enhanced T-cell signaling in cells bearing linker for activation of T-cell (LAT) molecules resistant to ubiquitylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(7): 2885-90.
- 26 Yoder J, Pham C, Iizuka YM, Kanagawa O, Liu SK, McGlade J, *et al.* Requirement for the SLP-76 adaptor CADS in T cell development. *Science* 2001; 291(5510): 1987-91.
- 27 Shim EK, Jung SH, Lee JR. Role of two adaptor molecules SLP-76 and LAT in the PI3K signaling pathway in activated T cells. *J Immunol* 2011; 186(5): 2926-35.
- 28 Wu GF, Corbo E, Schmidt M, Smith-Garvin JE, Riese MJ, Jordan MS, *et al.* Conditional deletion of SLP-76 in mature T cells abrogates peripheral immune responses. *Eur J Immunol* 2011; 41(7): 2064-73.
- 29 Judd BA, Myung PS, Leng LJ, Oberfell A, Pear WS, Shattil SJ, *et al.* Hematopoietic reconstitution of SLP-76 corrects hemostasis and platelet signaling through $\alpha\text{IIb}\beta 3$ and collagen receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97 (22): 12056-61.
- 30 Oberfell A, Judd BA, del Pozo MA, Schwartz MA, Koretzky GA, Shattil SJ. The molecular adapter SLP-76 relays signals from platelet integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ to the actin cytoskeleton. *J Biol Chem* 2001; 276(8): 5916-23.

- 31 Newbrough SA, Mocsai A, Clemens RA, Wu JN, Silverman MA, Singer AL, *et al.* SLP-76 regulates Fcγ receptor and integrin signaling in neutrophils. *Immunity* 2003; 19(5): 761-9.
- 32 Laird RM, Hayes SM. Roles of the Src tyrosine kinases Lck and Fyn in regulating γδ TCR signal strength. *PLoS One* 2010; 5(1): e8899.
- 33 Raab M, Kang H, da Silva A, Zhu X, Rudd CE. FYN-T-FYB-SLP-76 interactions define a T-cell receptor zeta/CD3-mediated tyrosine phosphorylation pathway that up-regulates interleukin 2 transcription in T-cells. *J Biol Chem* 1999; 274 (30): 21170-9.
- 34 Liu J, Kang H, Raab M, da Silva AJ, Kraeft SK, Rudd CE. FYB (FYN binding protein) serves as a binding partner for lymphoid protein and FYN kinase substrate SKAP55 and a SKAP55-related protein in T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(15): 8779-84.
- 35 Kang H, Freund C, Duke-Cohan JS, Musacchio A, Wagner G, Rudd CE. SH3 domain recognition of a proline-independent tyrosine-based RKxxYxxY motif in immune cell adaptor SKAP55. *EMBO J* 2000; 19 (12): 2889-99.
- 36 Fujii Y, Wakahara S, Nakao T, Hara T, Ohtake H, Komurasaki T, *et al.* Targeting of MIST to Src-family kinases via SKAP55-SLAP-130 adaptor complex in mast cells. *FEBS Lett* 2003; 540(1/2/3): 111-6.
- 37 Marie-Cardine A, Verhagen AM, Eckerskorn C, Schraven B. SKAP-HOM, a novel adaptor protein homologous to the FYN-associated protein SKAP55. *FEBS Lett* 1998; 435(1): 55-60.
- 38 Heuer K, Sylvester M, Kliche S, Pusch R, Thiemke K, Schraven B, *et al.* Lipid-binding hSH3 domains in immune cell adapter proteins. *J Mol Biol* 2006; 361(1): 94-104.
- 39 Heuer K, Arbuzova A, Strauss H, Kofler M, Freund C. The helically extended SH3 domain of the T cell adaptor protein ADAP is a novel lipid interaction domain. *J Mol Biol* 2005; 348(4): 1025-35.
- 40 Duke-Cohan JS, Kang H, Liu H, Rudd CE. Regulation and function of SKAP-55 non-canonical motif binding to the SH3c domain of adhesion and degranulation-promoting adaptor protein. *J Biol Chem* 2006; 281(19): 13743-50.
- 41 Griffiths EK, Krawczyk C, Kong YY, Raab M, Hyduk SJ, Bouchard D, *et al.* Positive regulation of T cell activation and integrin adhesion by the adapter Fyb/Slap. *Science* 2001; 293(5538): 2260-3.
- 42 Peterson EJ, Woods ML, Dmowski SA, Derimanov G, Jordan MS, Wu JN, *et al.* Coupling of the TCR to integrin activation by Slap-130/Fyb. *Science* 2001; 293(5538): 2263-5.
- 43 Wang H, McCann FE, Gordan JD, Wu X, Raab M, Malik TH, *et al.* ADAP-SLP-76 binding differentially regulates supramolecular activation cluster (SMAC) formation relative to T cell-APC conjugation. *J Exp Med* 2004; 200(8): 1063-74.
- 44 Wang H, Wei B, Bismuth G, Rudd CE. SLP-76-ADAP adaptor module regulates LFA-1 mediated costimulation and T cell motility. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(30): 12436-41.
- 45 MarieCardine A, Bruyns E, Verhagen AM, Eckerskorn C, Kirchgessner H, Meuer SC, *et al.* Molecular cloning of SKAP55, a novel protein that associates with the protein tyrosine kinase p59(fyn) in human T-lymphocytes. *J Biol Chem* 1997; 272(26): 16077-80.
- 46 Huang YP, Norton DD, Precht P, Martindale JL, Burkhardt JK, Wange RL. Deficiency of ADAP/Fyb/SLAP-130 destabilizes SKAP55 in Jurkat T cells. *J Biol Chem* 2005; 280(25): 23576-83.
- 47 Wang H, Liu H, Lu Y, Lovatt M, Wei B, Rudd CE. Functional defects of SKAP-55-deficient T cells identify a regulatory role for the adaptor in LFA-1 adhesion. *Mol Cell Biol* 2007; 27(19): 6863-75.
- 48 Wang HY, Moon EY, Azouz A, Wu X, Smith A, Schneider H, *et al.* SKAP-55 regulates integrin adhesion and formation of T cell-APC conjugates. *Nat Immunol* 2003; 4(4): 366-74.
- 49 Jo EK, Wang HY, Rudd CE. An essential role for SKAP-55 in LFA-1 clustering on T cells that cannot be substituted by SKAP-55R. *J Exp Med* 2005; 201(11): 1733-9.
- 50 Katagiri K, Hattori M, Minato N, Kinashi T. Rap1 functions as a key regulator of T-cell and antigen-presenting cell interactions and modulates T-cell responses. *Mol Cell Biol* 2002; 22(4): 1001-15.
- 51 Shimonaka M, Katagiri K, Nakayama T, Fujita N, Tsuruo T, Yoshie O, *et al.* Rap1 translates chemokine signals to integrin activation, cell polarization, and motility across vascular endothelium under flow. *J Cell Biol* 2003; 161(2): 417-27.
- 52 Duchniewicz M, Zemojtel T, Kolanczyk M, Grossmann S, Scheele JS, Zwartkuis FJ. Rap1A-deficient T and B cells show impaired integrin-mediated cell adhesion. *Mol Cell Biol* 2006; 26(2): 643-53.
- 53 Wang HY, Lim D, Rudd CE. Immunopathologies linked to integrin signalling. *Semin Immunopathol* 2010; 32(2): 173-82.
- 54 Katagiri K, Maeda A, Shimonaka M, Kinashi T. RAPL, a Rap1-binding molecule that mediates Rap1-induced adhesion through spatial regulation of LFA-1. *Nat Immunol* 2003; 4(8): 741-8.
- 55 Peterson EJ, Woods ML, Dmowski SA, Derimanov G, Jordan MS, Wu JN, *et al.* Coupling of the TCR to integrin activation by SLAP-130/Fyb. *Science* 2001; 293(5538): 2263-5.
- 56 Lafuente EM, van Puijenbroek AA, Krause M, Carman CV, Freeman GJ, Berezovskaya A, *et al.* RIAM, an Ena/NASP and profilin ligand, interacts with Rap1-GTP and mediates Rap1-induced adhesion. *Dev Cell* 2004; 7(4): 585-95.
- 57 Hynes RO. Integrins: Bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell* 2002; 110(6): 673-87.
- 58 Moser M, Legate KR, Zent R, Fassler R. The tail of integrins, talin, and kindlins. *Science* 2009; 324(5929): 895-9.
- 59 Harburger DS, Calderwood DA. Integrin signalling at a glance. *J Cell Sci* 2009; 122(Pt 2): 159-63.
- 60 Kandula S, Abraham C. LFA-1 on CD4(+) T cells is required for optimal antigen-dependent activation *in vivo*. *J Immunol* 2004; 173(7): 4443-51.
- 61 Graham DB, Robertson CM, Bautista J, Mascarenhas F, Diacovo MJ, Montgrain V, *et al.* Neutrophil-mediated oxidative burst and host defense are controlled by a Vav-PLC gamma 2 signaling axis in mice. *J Clin Invest* 2007; 117 (11): 3445-52.
- 62 Griffiths EK, Krawczyk C, Kong YY, Raab M, Hyduk SJ, Bouchard D, *et al.* Positive regulation of T cell activation and integrin adhesion by the adapter Fyb/Slap. *Science* 2001; 293(5538): 2260-3.
- 63 Han JW, Lim CJ, Watanabe N, Soriani A, Ratnikov B, Calderwood DA, *et al.* Reconstructing and deconstructing agonist-induced activation of integrin alphaIIb beta3. *Curr Biol* 2006; 16(18): 1796-806.

- 64 Harburger DS, Bouaouina M, Calderwood DA. Kindlin-1 and -2 directly bind the C-terminal region of beta integrin cytoplasmic tails and exert integrin-specific activation effects. *J Biol Chem* 2009; 284(17): 11485-97.
- 65 Montanez E, Ussar S, Schifferer M, Bosl M, Zent R, Moser M, *et al.* Kindlin-2 controls bidirectional signaling of integrins. *Gene Dev* 2008; 22(10): 1325-30.
- 66 Moser M, Bauer M, Schmid S, Ruppert R, Schmidt S, Sixt M, *et al.* Kindlin-3 is required for beta(2) integrin-mediated leukocyte adhesion to endothelial cells. *Nat Med* 2009; 15(3): 300-5.
- 67 Maiguel D, Faridi MH, Wei CL, Kuwano Y, Balla KM, Hernandez D, *et al.* Small molecule-mediated activation of the integrin CD11b/CD18 reduces inflammatory disease. *Sci Signal* 2011; 4(189): ra57.
- 68 Darc M, Hait SH, Soares EA, Cicala C, Seunanez HN, Machado ES, *et al.* Polymorphisms in the alpha 4 integrin of neotropical primates: Insights for binding of natural ligands and HIV-1 gp120 to the human alpha4beta7. *PLoS One* 2011; 6(9): e24461.
- 69 Killebrew JR, Perdue N, Kwan A, Thornton AM, Shevach EM, Campbell DJ. A self-reactive TCR drives the development of Foxp3(+) regulatory T cells that prevent autoimmune disease. *J Immunol* 2011; 187(2): 861-9.

Integrin Activation in T-cells via “Inside-out” Signaling

Xiao Jun¹, Han Lei², Li Chunyang², Xu Xiaoyan², Sheng Chun^{1*}, Wang Hongyan^{2*}

(¹College of Life and Environmental Science, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China; ²State Key Laboratory of Cell Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract Integrins are transmembrane adhesion molecules that are critical for the migration of T cells to lymphoid organs and to sites of infection or inflammation. Integrins also play important role for conjugate formation between T-cell and antigen-presenting cell (APC). After T-cell receptor (TCR) is engaged by the MHC-peptide complex or after chemokine stimulation, many signaling proteins participate in “inside-out” signaling that result in integrin conformational changes or clustering at the cell surface. With increased affinity and avidity of integrins for their ligands, T-cells enhance adhesion ability to other lymphocytes. In the past several decades, many key signaling molecules and signaling complexes have been identified to regulate integrin activation. In this review, we summarize the role of several important signaling components, including ADAP, SKAP-55, RapL, Rap1, Talin and Kindlins in TCR induced “inside-out” signaling for integrin activation.

Key words integrin activation; TCR; “inside-out” signaling; ADAP; SKAP-55; LFA-1

This work was supported by the National Basic Research Program of China (973 Program) (No.2011CB505005, No.2012CB910800), the National Natural Science Foundation of China (No.31070778), 100 Talents Program of the Chinese Academy of Sciences and Shanghai Pujiang Program (No.11PJ1410700)

*Corresponding author. Tel: 86-21-64322927, E-mail: shengch@shnu.edu.cn; Tel: 86-21-54921089, E-mail: hongyanwang@sibs.ac.cn