

特约综述



在炎症与癌症的病理过程中,淋巴细胞与癌细胞的运动是其中的关键步骤。而决定这些细胞运动的一类重要分子是细胞表面黏附分子(cell adhesion molecule, CAM),其中整合素(integrin)家族是最重要的一类黏附分子。在细胞运动的过程中,整合素的功能受到动态的、精确的调控。在病理条件下,整合素功能会发生紊乱。我们的研究兴趣点是与炎症和癌症相关的整合素的功能调控及其分子机制。通过研究细胞黏附分子与其配体的识别、结合及其所介导的信号转导,了解整合素在炎症细胞迁移与癌细胞发生、发展和转移过程中的作用机制,寻找炎症与癌症的新疗法。

<http://www.sibcb.ac.cn/PI.asp?id=3>

整合素去活化的调控机制

路 玲 张有华 林昶东 陈剑峰*

(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)是一类重要的细胞表面黏附分子,是由 α 和 β 两个亚基通过非共价键组成的异源二聚体,对于免疫反应、免疫细胞的组织定位、凝血、组织愈合、癌细胞转移以及组织和器官的发育等都至关重要。整合素的功能依赖于对其配体结合的亲和性及其所介导的信号转导的动态调控,整合素活化受阻或是过度活化都会引发多种疾病。目前,对整合素的活化机制的了解比较深入,研究发现,整合素活化的最终步骤是由talin和kindlin等胞内调控蛋白结合 β 亚基胞内段引起的;但是对于调控整合素去活化的机制了解较少。该文重点介绍了负调控整合素活化的蛋白分子及相关分子机制。

关键词 整合素;亲和性;去活化

Mechanisms Underlying Integrin Deactivation

Lu Ling, Zhang Youhua, Lin Changdong, Chen Jianfeng*

(State 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 a family of α/β heterodimeric cell adhesion molecules, playing key roles in a number of important biological processes, such as immune responses, leukocyte trafficking, maintenance of tissue homeostasis and development. The function of integrins is dependent on the dynamic regulation of integrin affinity and its intracellular signaling. The abnormal integrin activation and deactivation are associated with many human diseases. Studies have revealed that the binding of intracellular proteins, such as talin and kindlin, to integrin cytoplasmic tail

国家自然科学基金(批准号: 31190061、31271487、31471309)资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-54921142, E-mail: jfchen@sibcb.ac.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31190061, 31271487, 31471309)

*Corresponding author. Tel: +86-21-54921142, E-mail: jfchen@sibcb.ac.cn

网络出版时间: 2015-02-14 13:48

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150214.1348.001.html>

is a critical step for integrin activation. However, less is known about the mechanism of integrin deactivation. In this review, we aim to discuss the recent progresses in understanding the mechanisms underlying the integrin deactivation.

Keywords integrin; affinity; deactivation

整合素(integrin)是一类重要的细胞表面黏附分子(cell adhesion molecule, CAM),是由 α 和 β 两个亚基通过非共价键组成的异源二聚体。目前,在脊椎动物中已经发现了18种不同的 α 亚基和8种不同的 β 亚基,共组成至少24种不同的整合素^[1]。整合素作为细胞内外的桥梁,一方面负责介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质以及细胞与病原体之间的黏附作用,另一方面可以双向传递跨膜信号,对于免疫反应、免疫细胞的组织定位、凝血、组织愈合、癌细胞转移以及组织和器官的发育等都至关重要^[2-4]。

整合素的功能依赖于对其配体结合亲和性及其所介导的信号转导的动态调控。整合素活化受阻会引起许多人类疾病,包括凝血紊乱及免疫缺陷等^[5-6];而过度的整合素活化则会引发炎症和癌症等疾病^[7-8]。在细胞没有收到激活信号的情况下,细胞膜表面的整合素分子通常处于一种折叠的非活化构象,表现出对配体结合的低亲和性。当细胞遇到激活信号后,胞内的相关信号通路被激活,一些胞内调控蛋白,如talins会结合到整合素的胞内区,通过由内向外(inside-out)的信号诱导整合素从折叠的低活性构象转变为伸展的高活性构象,进而激活整合素^[9-13]。整合素可以与多种胞内受体蛋白相互作用,目前认为,整合素活化的最终步骤是由胞内talins和kindlins与 β 亚基胞内段的结合引起的^[12-15]。另外,整合素与胞外配体蛋白的结合也可以进一步诱导整合素的构象变化以及整合素在细胞膜表面的聚簇(clustering),通过由外向内(outside-in)信号转导激活相应的胞内信号通路^[16-18](图1)。

尽管对于整合素的功能调控而言,能够促进整合素活化和抑制整合素活化的调控机制同等重要,但目前对于整合素的研究多集中于整合素活化的分子机制上,对于能够抑制整合素活化的分子机制和相关调控蛋白的研究则相对较少。现有的研究表明,整合素去活化的机制主要有三种:(1)竞争talins和kindlins在整合素 β 亚基上的结合;(2)降低细胞膜上整合素的表达水平^[19];(3)调控整合素与配体结合的亲和性。在本文中,我们将主要从以上三个方面介绍整合素功能的负调控因子及相关的分子机制(图2)。

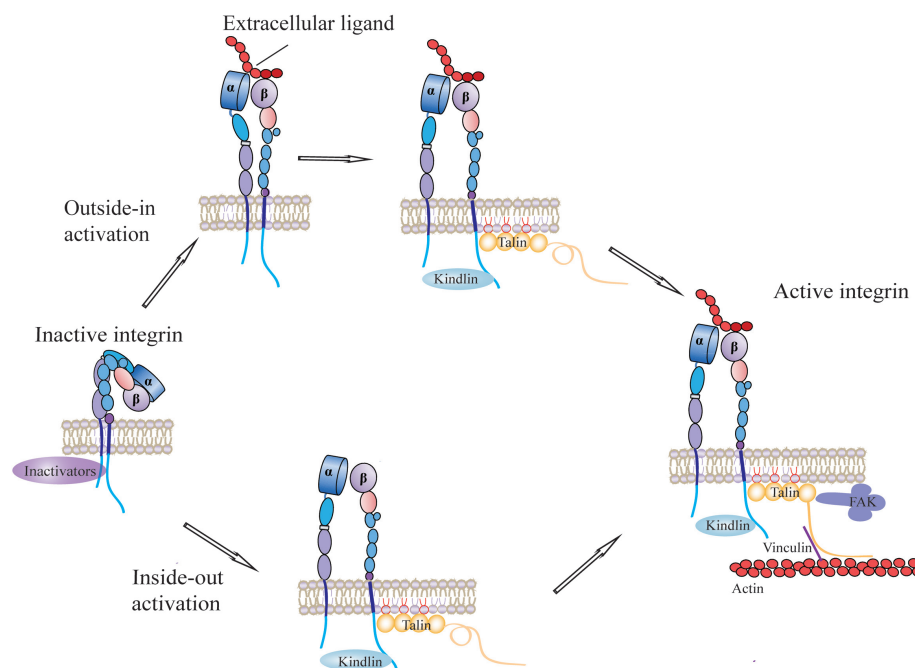
1 整合素活化的分子机制

整合素由一个大的胞外结构域、一个跨膜结构域和一个短的胞内结构域组成。整合素的胞内段虽然很短,但是对整合素的活化有很重要的作用。整合素的胞内段近膜端氨基酸序列高度保守, α 亚基近膜端的GFFKR和 β 亚基近膜端的LLV-iHDR序列借助疏水键和离子键相互作用,维持胞内段相互结合,使整合素处于低活性的折叠状态;而胞内段的分开则可以诱发整合素进入伸展的高活性状态,从而活化整合素^[20]。研究证明, α 和 β 两个亚基中任何一个亚基的胞内段的切除都可以活化整合素^[21]。

整合素 β 亚基胞内段还含有两个保守序列,分别是近膜端的NPxY和远膜端的NxxY序列。这两个序列含有磷酸化酪氨酸结合结构域(phosphotyrosine binding domain, PTB)的结合位点,一些含有PTB结构域的蛋白分子能够与其结合从而调节整合素活化^[22]。目前普遍认为,talins与整合素 β 亚基胞内段结合是整合素活化的最终步骤。Talin是组成整合素黏着位点的主要细胞骨架蛋白,由杆状的尾部和球状的头组成,其头部的FERM(band four-point-one/ezrin/radixin/moesin)结构域由F1、F2和F3三个亚结构域组成。其中,F3结构域中含有PTB结构域,依靠该PTB结构域talins能够结合到 β 亚基的NPxY序列,与 β 亚基近膜端氨基酸形成盐桥,从而破坏 α 亚基和 β 亚基之间的相互作用,引起整合素活化^[23-24]。近来发现,kindlins蛋白家族也含有一个典型的FERM结构^[25],其中的PTB结构域能够直接与整合素 β 亚基胞内段远膜端的NxxY相互作用,协同talins活化整合素^[26]。此外,整合素也可以通过与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的结合并在talins的协助下激活胞内信号通路,活化整合素。

2 通过竞争talins和kindlins与整合素的结合从而抑制整合素活化

Talins是整合素活化的重要调控蛋白^[8,12],而kindlins则通过稳定talins与整合素的结合协同活化整合素^[7]。因此,竞争或阻碍talins和kindlins与整合素的结合可以有效地抑制整合素活化。



整合素可以通过inside-out和outside-in双向传递跨膜信号调整合素功能。一方面,细胞内的信号分子如talin、kindlin可以结合到整合素的胞内段,引起整合素 α 和 β 亚基的胞内结构域彼此分开并通过“远程传导”引发胞外结构域的一系列构象变化而激活整合素,这一过程被称为inside-out信号转导;另一方面,整合素通过其胞外区与胞外配体结合诱导整合素的构象变化和在细胞膜表面的聚集,进而招募相关的胞内信号分子,激活胞内的相应信号途径,这一过程被称为outside-in信号转导。黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)和vinculin与整合素胞内段的结合能够强化talin对整合素的活化和与细胞骨架的结合,从而完全活化整合素。

Integrin could transmit signals bidirectionally across the plasma membrane. On one hand, binding of particular proteins (such as talin, kindlin) to integrin cytoplasmic domains induces conformational changes that lead to integrin activation via inside-out signaling. On the other hand, ligand binding triggers the propagation of extracellular conformational changes of integrin across the plasma membrane to the cytoplasmic domains and activates intracellular signaling via outside-in signaling. FAK and vinculin binding strengthens the association between talin and actin, and this tension is thought to be a crucial factor for the full activation of integrin.

图1 整合素亲和性的调控机制

Fig.1 Integrin affinity regulation

2.1 整合素 β 亚基结合蛋白DOK1、ICAP1和filamin

前面提到,整合素 β 亚基胞内段的两个保守序列(近膜端的NPxY和远膜端的NxxY序列)含有PTB的结合位点,一些含有PTB结构域的蛋白分子能够与其结合进而调控整合素活化^[22]。目前,至少发现有17种含有PTB结构域的蛋白分子能够与整合素 β 亚基胞内段结合^[27],其中蛋白分子tensin1-4、numb和停靠蛋白1(docking protein 1, DOK1)能够结合到 β 亚基的NPxY序列,与talin结合位点重叠。已有研究证明,DOK1可以抑制整合素的活性^[24],蛋白激酶SRC通过磷酸化 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 7$ 整合素亚基NPxY序列的酪氨酸可以极大地促进DOK1与 β 亚基胞内段的结合。由于酪氨酸的磷酸化会降低talin与整合素的亲和性,因此,这种磷酸化可能在调控talin介导的整合素活化和DOK1介导的整合素去活化之间提供一种平衡作用^[28],具体机制有待进一步研究。

另一些PTB蛋白倾向于结合远端的NxxY序列,如Shc、DAB1(disabled homolog 1)、DAB2和整合素胞内结构域相关蛋白1(integrin cytoplasmic domain associated protein 1, ICAP1)^[27]。其中,ICAP1能特异性地结合 $\beta 1$ 亚基胞内段远端的NxxY序列^[29-30]。ICAP1可能被钙调蛋白激酶II(Calcium-CaM-dependent protein kinase II, CaMKII)磷酸化从而促进其与 $\beta 1$ 的结合,同时竞争talin的结合,最终抑制整合素的活化^[31-32]。ICAP1缺失可以促进整合素活化,并且ICAP1缺失的小鼠伴随有整合素依赖的破骨细胞增殖缺陷^[33-34],因此,ICAP1是一种重要的整合素负调控蛋白。

细丝蛋白(filamin)虽然不含有PTB结构域,但能够和整合素 β 亚基胞内段结合并抑制整合素的活化,而filamin缺失则会引起细胞表面整合素活化。研究发现,filamin和talin在整合素 β 亚基的结合位点重叠,因此,filamin可通过竞争talin在 β 亚基胞内结构域上

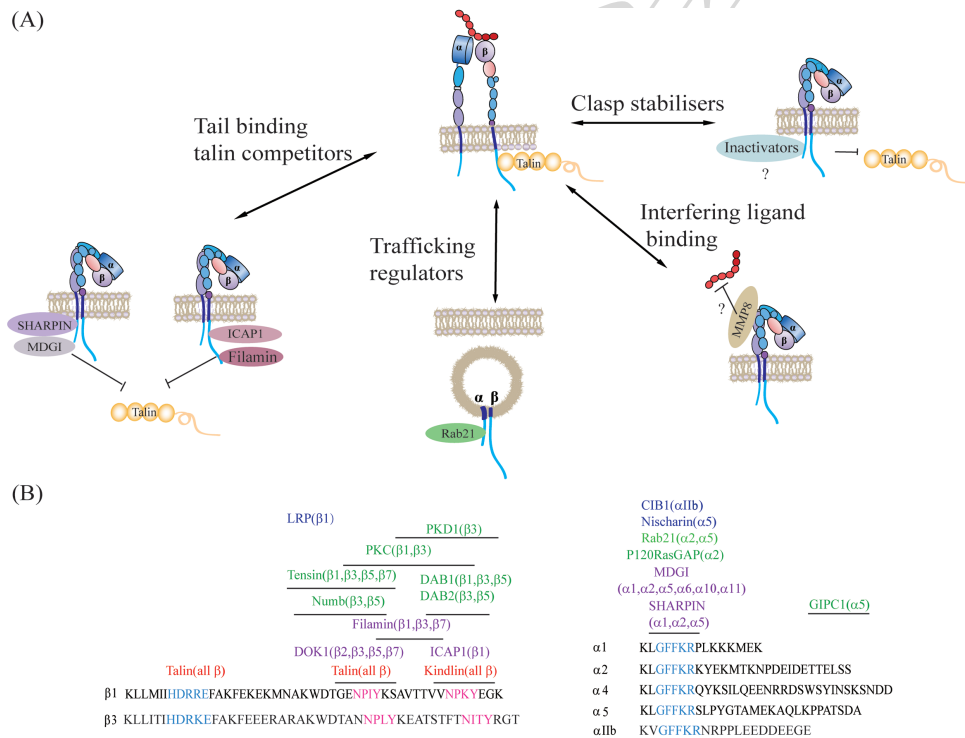
的结合而发挥对整合素活化的抑制功能^[35-36]。Mig-filin是filamin的结合蛋白,在细胞-细胞、细胞-ECM连接处富集,能够通过替换filamin与 β 亚基的结合促进整合素活化^[37-38]。

2.2 整合素 α 亚基结合蛋白SHARPIN和MDGI

整合素 α 亚基结合蛋白主要通过空间位阻效应阻碍talins或kindlins与 β 亚基的结合而抑制整合素活化。所以,整合素 α 亚基胞内近膜端具有相似的保守序列GFFKR,从而允许此区域的结合蛋白能够调控不同的整合素^[39]。

SHARPIN是经小分子干扰RNA(RNAi)筛选出的 $\beta 1$ 整合素活化抑制蛋白,SHARPIN缺失可以促

进癌细胞表面整合素的活化;而在人的癌细胞、原始淋巴细胞和成纤维细胞中,SHARPIN的过表达可以抑制整合素的功能^[40]。SHARPIN结合在 α 亚基胞内段高度保守的WKxGFF序列,而位于此序列后的精氨酸可以与 β 亚基近膜端LLV-iHDR序列中的天冬氨酸相互作用形成盐桥,使整合素处于低活性的折叠状态,暗示SHARPIN可能通过与 α 亚基结合从而稳定盐桥来抑制整合素活化。同时,研究发现,SHARPIN可以抑制talins和kindlins与 β 亚基的结合^[40],因此,SHARPIN的抑制功能究竟是通过空间位阻抑制talins和kindlins与 β 亚基的结合还是通过稳定盐桥来实现的,还需进一步的研究。



A: 整合素活化的负调控蛋白可以通过三种已知方式抑制整合素活化。(1)竞争talins和kindlins结合;(2)整合素胞内吞循环降低细胞膜上整合素的表达;(3)MMP8通过修饰整合素配体阻碍整合素的结合。另外,盐桥的存在使整合素处于低活性的折叠状态,蛋白分子结合到此区域若能稳定盐桥构象也可抑制整合素活化;B:结合在整合素 α 和 β 亚基胞内的负调控蛋白及相应的结合位点。浅蓝色区域序列代表 α 和 β 上的盐桥区域,玫红色区域序列代表 β 亚基上的近膜端NPxY和远膜端的NxxY序列。蛋白结合序列划线表示,其中整合素活化蛋白talins、kindlins用红色显示;竞争talins、kindlins结合蛋白用紫色显示;影响整合素循环蛋白用绿色显示;抑制机制未知蛋白深蓝色显示。

A: negative integrin regulators can inhibit integrin activation via three different mechanisms. (1) Competition with talin and kindlin binding; (2) Integrin binding by proteins involved in receptor endocytosis can reduce the amount of integrins on the cell surface; (3) MMP8 modifies integrin ligand in a way that abrogates integrin binding. In addition, the presence of salt bridge between the cytoplasmic domains of integrin α and β subunits stabilizes integrin in inactive state. Therefore, integrin binding proteins that are able to break the salt bridge should inhibit integrin activation; B: binding sites of integrin inactivators in the cytoplasmic domains of α and β subunits are shown. The amino acids sequence shown in light blue represents the "clasp", which forms between α and β integrin cytoplasmic regions; The regions shown in rose indicate the membrane proximal NPxY and membrane-distal NxxY motifs in the β integrin cytoplasmic domain. The binding sites for regulators of integrin activity are indicated with lines. Integrin-activating proteins are shown in red, proteins that compete with talin or kindlin for binding are in purple, proteins that affect integrin trafficking are in green, and proteins that have unclear inhibitory mechanism are in dark blue.

图2 整合素的去活化机制及相关分子在整合素胞内段的结合位点

Fig.2 Mechanisms of integrin inactivation and the related molecules binding sites in integrin cytoplasmic domains

乳腺生长抑制剂(mammary-derived growth inhibitor, MDGI)广泛表达于各个组织,尤其在肌肉和乳腺中大量表达。酵母双杂交实验显示,MDGI可以与许多不同的整合素 α 亚基($\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 5$ 、 $\alpha 6$ 、 $\alpha 10$ 和 $\alpha 11$)结合,暗示MDGI可能结合于 α 亚基中高度保守的WKxGFFKR序列。MDGI过表达可以通过降低kindlin与 $\beta 1$ 整合素的结合抑制整合素活化,从而抑制乳腺癌细胞的迁移^[41]。

3 通过降低细胞膜上整合素表达而负调控整合素功能

3.1 通过调控整合素运输降低细胞膜上整合素水平

细胞在黏附过程中膜上的整合素通过胞吞胞吐循环往复,并且部分受到整合素胞内结合蛋白的调控。因此,整合素选择性的内吞循环同样可以起到负调控细胞膜上整合素功能的作用。

3.1.1 网格蛋白(clathrin)受体蛋白DAB2和Numb

前面提到许多含有PTB结构域的蛋白能够与整合素 β 亚基结合,其中有些是参与整合素内吞的clathrin受体蛋白^[27],如DAB2结合到 $\beta 3$ 亚基胞内远端的NxxY序列,在黏着斑分解时对于整合素的内吞很重要^[42],并且在细胞迁移过程中可以介导细胞尾端整合素的内吞^[43]。Numb也是含有PTB结构域的clathrin受体蛋白,结合于整合素 $\beta 3$ 亚基胞内段近膜端的NPxY序列,已有的研究表明,Numb能够调控细胞内吞和迁移^[44]。

3.1.2 SNX17、PKC和PKD1介导的整合素内吞循环 内吞的整合素首先被运输到早期内涵体(early endosomes, EEs),然后在这里被分选降解或是循环,如在整合素配体纤维连接蛋白(fibronectin)存在的情况下, $\alpha 5\beta 1$ 整合素被运往次级内涵体后被降解,而大部分无配体结合的整合素则被快速运回细胞膜表面^[45],因此,受体的胞吞胞吐速率也会影响整合素的表达水平。近来研究发现,整合素 β 亚基胞内段远膜端的NxxY序列对于整合素的循环调控起着重要作用,整合素内吞时,kindlin与 β 亚基胞内段解离,同时在早期内涵体中,分拣微管连接蛋白(sortin nexin 17, SNX17)能够结合 β 亚基远膜端的NxxY序列从而促进整合素的循环而避免降解^[46-47]。

蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)可以与 $\beta 1$ 亚基胞内段直接结合,结合序列横跨近膜端NPxY和远膜端NxxY序列。研究证明,PKC可以通过影响细胞中 $\beta 1$ 整合素的内吞胞吐循环,调节细胞的迁移^[48]。

一方面,PKC可以通过磷酸化中间丝蛋白(vimentin)促进 $\beta 1$ 整合素的胞吐过程,提高细胞的迁移能力^[49];另一方面,PKC还可以促进整合素从早期内涵体向胞膜的胞吐过程,如在细胞铺展过程中,PKC通过直接作用于整合素 $\alpha v\beta 3$ 的囊泡转运过程促进 $\alpha v\beta 3$ 向新形成的黏着斑聚集,从而对细胞迁移产生影响^[50]。最近的研究发现,跨膜糖蛋白syndecan-4与fibronectin的结合能够促进PKC-依赖的RhoG与整合素 $\alpha 5\beta 1$ 的结合,从而诱发随后的细胞膜表面整合素内吞,调控细胞迁移^[51]。

$\beta 3$ 整合素主要通过Rab4-依赖的途径循环,并且这个过程需要 $\beta 3$ 与蛋白激酶D1(protein kinase D1, PKD1)的直接结合来协助内吞的受体返回细胞膜表面^[50]。

3.1.3 Rab21、p120RasGAP和GIPC1 小G蛋白(small GTPase) Rab21可以通过结合 α 亚基胞内近膜端保守区介导与多种 $\beta 1$ 整合素的结合,随后引起整合素内吞^[52]。在内涵体中,GTPase-活化蛋白(GTPase-activating protein, GAP) p120RasGAP竞争Rab21与整合素的结合,从而促进整合素循环回细胞膜^[53]。

有报道称,快速的整合素循环会促进细胞铺展和黏附^[54]。在内皮细胞中,GAIP结合蛋白C1(GAIP interacting protein C terminus member 1, GIPC1)可以同时结合Nrp1及Myosin-6,形成复合体,调控活化状态的 $\alpha 5\beta 1$ 整合素进入Rab5介导的内涵体中,从而促进内皮细胞在fibronectin上的黏附^[55]。

3.2 转录调控细胞膜上整合素表达

癌细胞转移抑制蛋白(suppressor of cancer cell invasion, SCAI)是一种新发现的共转录因子,通过调控整合素的转录而影响细胞表面整合素的表达,SCAI被抑制后 $\beta 1$ 整合素的转录表达明显上调,并且伴随有癌细胞浸润性迁移增多的现象^[56]。

4 整合素胞外结构域结合蛋白

整合素活性也受到胞外蛋白的调控,近来研究发现,基质金属蛋白酶8(matrix metalloproteinase 8, MMP8)在一些前列腺癌和乳腺癌细胞中能够抑制 $\beta 1$ 的整合素活性^[57]。MMP8可能通过修饰整合素配体以阻碍整合素结合,MMP8缺失能够引起整合素活化,并且MMP8缺失的癌细胞肺转移能力明显升高^[58]。在免疫共沉淀实验中,MMP8能够与 $\beta 1$ 形成复合体,但是两者的结合是直接作用还是通过整合素配体胶原蛋白(collagen)介导的,还需进一步研究。

5 调控机制不明确的抑制蛋白

Nischarin广泛表达于细胞质, 能够与 $\alpha 5$ 亚基胞内段结合, 结合位点位于近膜端IYILYKLGFFKRSL序列^[59-60], Nischarin过表达可以抑制细胞迁移和侵袭^[61]。近来研究发现, Nischarin的表达与乳腺癌向肺癌的低转移能力相关, 这可能与Nischarin降低整合素的活性相关^[62]。

钙离子和整合素结合蛋白1(calcium- and integrin binding protein 1, CIB1)能够结合整合素 α IIB亚基胞内段^[63], 结合位点位于 α IIB胞内段近膜端的LV-LAMWKVGFFKRNR序列, 是整合素 α IIB β 3活化的内源性抑制剂^[64-65]。但是也有报道称, CIB1能够通过inside-out信号通路活化 α IIB β 3, 并且CIB1缺失的老鼠表现出血栓受损、尾巴出血的症状, 表明CIB1可能同时具有对整合素 α IIB β 3的正调控功能^[66-67]。

丝氨酸-苏氨酸磷酸酶2A(serine-threonine phosphatase 2A, PP2A)能够直接结合于整合素 α IIB亚基胞内近膜KVGFFKR序列, PP2A过表达能够抑制 α IIB β 3介导的细胞黏附^[68]。另外, PP2A也能够与 β 1整合素胞内段结合, 通过使 β 1亚基去磷酸化活化整合素下游信号通路^[69-70]。

低密度脂蛋白受体相关蛋白(LDL receptor-related protein, LRP)能够介导多种配体的内吞, 已有的研究表明, LRP能够通过调控蛋白酶-蛋白酶抑制剂复合体内吞影响细胞迁移^[71]。组织型纤溶酶原激活剂(tissue-type plasminogen activator, tPA)能够通过促进整合素 α M β 2与细胞外基质fibrin的结合来介导巨噬细胞的黏附, 随后, tPA抑制剂PAI-1连接 α M β 2/fibrin/tPA复合体与内吞受体-LRP1, 促使整合素内吞, 从而促使细胞向前迁移^[72]。LRP与整合素 α M β 2是否存在直接结合关系还需进一步验证, 但是LRP1与 β 1整合素可以直接结合是确定的, 已有的研究表明, LRP1可以促进 β 1整合素前体成熟, 从而增加细胞表面 β 1整合素的表达水平^[73-74]。在甲状腺瘤细胞中, LRP1可以促进FAK和paxillin向黏着斑富集从而促进细胞迁移^[75-76]。

6 结语与展望

整合素家族在人体各组织、细胞中分布广泛, 通过介导细胞与细胞之间以及细胞与胞外基质之间的黏附、信号转导发挥其生理功能并参与多个病理过程。整合素活化受阻会引起多种生理疾

病, 但是与整合素活化抑制蛋白相关的疾病报道还不是很多, 其中对filamin的报道显示, filamin基因突变会引发拉尔森综合征(Larsen syndrome), 导致多种器官病变, 主要是骨骼的病变^[77-78]。在约40%的常染色体显性遗传性海绵畸形(autosomal-dominant cerebral cavernous malformation, CCM)患者中发现有KRIT1(Krev interaction trapped protein 1)蛋白功能缺失突变, KRIT1能够直接结合ICAP1, 从而阻碍了ICAP1对于整合素的抑制功能^[79]。在药物研发及临床治疗中, 整合素的构象变化已作为一个重要的药物靶点。例如, 许多研究报道发现, 在炎症性肠病中伴随有整合素 $\alpha 4\beta 7$ 的异常活化^[80-81], 通过抑制活化型的整合素 $\alpha 4\beta 7$ 与配体MAdCAM-1(mucosal vascular addressin cell adhesion molecule-1)的相互作用可以对该病起到一定的治疗作用。因此, 整合素的活化与非活化状态的平衡调控对于机体正常功能的发挥极为重要。

整合素的活化和非活化构象受到胞内结合蛋白的动态调控, 在这篇综述中, 我们主要探讨了整合素活化和非活化的机制, 并且着重给出了抑制整合素活化的蛋白分子, 但是其中许多分子抑制整合素活化的机制还不是很清楚, 需进一步研究。另外, 整合素 α 亚基和 β 亚基近膜端形成的盐桥使整合素处于低活性的折叠状态^[20], 蛋白分子结合到此区域若能稳定盐桥构象就可抑制整合素活化。目前的研究没有发现能够直接与 β 亚基近膜端的LLV-iHDR序列结合并且稳定盐桥的蛋白分子; 而对于 α 亚基的研究发现, 与其近膜端的GFFKR序列结合而抑制整合素活化的蛋白很多, 但是这些蛋白分子是否能够通过稳定盐桥抑制整合素的功能还需进一步研究。

参考文献 (References)

- 1 Shimaoka M, Takagi J, Springer TA. Conformational regulation of integrin structure and function. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 2002; 31: 485-516.
- 2 Luo BH, Springer TA. Integrin structures and conformational signaling. *Curr Opin Cell Biol* 2006; 18(5): 579-86.
- 3 Hynes RO. Integrins: Bi-directional, allosteric, signalling machines. *Cell* 2002; 110(6): 673-87.
- 4 Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 1994; 76(2): 301-14.
- 5 Hogg N, Bates PA. Genetic analysis of integrin function in man: LAD-1 and other syndromes. *Matrix Biol* 2000; 19(3): 211-22.
- 6 Legate KR, Wickstrom SA, Fassler R. Genetic and cell biological analysis of integrin outside-in signaling. *Genes Dev* 2009; 23(4): 397-418.

- 7 Moser M, Legate KR, Zent R, Fassler R. The tail of integrins, talin, and kindlins. *Science* 2009; 324(5925): 895-9.
- 8 Shattil SJ, Kim C, Ginsberg MH. The final steps of integrin activation: the end game. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11(4): 288-300.
- 9 Bouaouina M, Lad Y, Calderwood DA. The N-terminal domains of Talin cooperate with the phosphotyrosine binding-like domain to activate $\beta 1$ and $\beta 3$ integrins. *J Biol Chem* 2008; 283(10): 6118-25.
- 10 Guan JL. Role of focal adhesion kinase in integrin signaling. *Int J Biochem Cell Biol* 1997; 29(8/9): 1085-96.
- 11 Liu S, Thomas SM, Woodside DG, Rose DM, Kiosses WB, Pfaff M, *et al.* Binding of paxillin to $\alpha 4$ integrins modifies integrin-dependent biological responses. *Nature* 1999; 402(6762): 676-81.
- 12 Tadokoro S, Shattil SJ, Eto K, Tai V, Liddington RC, de Pereda JM, *et al.* Talin binding to integrin beta tails: A final common step in integrin activation. *Science* 2003; 302(5642): 103-6.
- 13 Calderwood DA. Talin controls integrin activation. *Biochem Soc Trans* 2004; 32(Pt 3): 434-7.
- 14 Kahner BN, Kato H, Banno A, Ginsberg MH, Shattil SJ, Ye F. Kindlins, integrin activation and the regulation of Talin recruitment to α IIb β 3. *PLoS One* 2012; 7(3): e34056.
- 15 Ye F, Petrich BG. Kindlin: Helper, co-activator, or booster of talin in integrin activation? *Curr Opin Hematol* 2011; 18(5): 356-60.
- 16 Upla P, Marjomaki V, Kankaanpää P, Ivaska J, Hyypia T, van Der Goot FG, *et al.* Clustering induces a lateral redistribution of $\alpha 2 \beta 1$ integrin from membrane rafts to caveolae and subsequent protein kinase C-dependent internalization. *Mol Biol Cell* 2004; 15(2): 625-36.
- 17 Gottschalk KE, Kessler H. A computational model of transmembrane integrin clustering. *Structure* 2004; 12(6): 1109-16.
- 18 Cluzel C, Saltel F, Lussi J, Paulhe F, Imhof BA, Wehrle-Haller B. The mechanisms and dynamics of $\alpha v \beta 3$ integrin clustering in living cells. *J Cell Biol* 2005; 171(2): 383-92.
- 19 Pouwels J, Nevo J, Pellinen T, Ylanne J, Ivaska J. Negative regulators of integrin activity. *J Cell Sci* 2012; 125(Pt 14): 3271-80.
- 20 Hughes PE, Pfaff M. Integrin affinity modulation. *Trends Cell Biol* 1998; 8(9): 359-64.
- 21 Otoole TE, Katagiri Y, Faull RJ, Peter K, Tamura R, Quaranta V, *et al.* Integrin cytoplasmic domains mediate inside-out signal transduction. *J Cell Biol* 1994; 124(6): 1047-59.
- 22 Legate KR, Fassler R. Mechanisms that regulate adaptor binding to beta-integrin cytoplasmic tails. *J Cell Sci* 2009; 122(Pt 2): 187-98.
- 23 Campbell ID, Ginsberg MH. The talin-tail interaction places integrin activation on FERM ground. *Trends Biochem Sci* 2004; 29(8): 429-35.
- 24 Wegener KL, Partridge AW, Han J, Pickford AR, Liddington RC, Ginsberg MH, *et al.* Structural basis of integrin activation by talin. *Cell* 2007; 128(1): 171-82.
- 25 Larjava H, Plow EF, Wu C. Kindlins: Essential regulators of integrin signalling and cell-matrix adhesion. *EMBO Rep* 2008; 9(12): 1203-8.
- 26 Ma YQ, Qin J, Wu CY, Plow EF. Kindlin-2 (Mig-2): A co-activator of $\beta 3$ integrins. *J Cell Biol* 2008; 181(3): 439-46.
- 27 Calderwood DA, Fujioka Y, de Pereda JM, Garcia-Alvarez B, Nakamoto T, Margolis B, *et al.* Integrin beta cytoplasmic domain interactions with phosphotyrosine-binding domains: A structural prototype for diversity in integrin signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(5): 2272-7.
- 28 Oxley CL, Anthis NJ, Lowe ED, Vakonakis I, Campbell ID, Wegener KL. An integrin phosphorylation switch: the effect of $\beta 3$ integrin tail phosphorylation on Dok1 and talin binding. *J Biol Chem* 2008; 283(9): 5420-6.
- 29 Zhang XA, Hemler ME. Interaction of the integrin $\beta 1$ cytoplasmic domain with ICAP-1 protein. *J Biol Chem* 1999; 274(1): 11-9.
- 30 Stroeken PJ, Alvarez B, van Rheenen J, Wijnands YM, Geerts D, Jalink K, *et al.* Integrin cytoplasmic domain-associated protein-1 (ICAP-1) interacts with the ROCK-1 kinase at the plasma membrane. *J Cell Physiol* 2006; 208(3): 620-8.
- 31 Alvarez B, Stroeken PJ, Edel MJ, Roos E. Integrin cytoplasmic domain-associated protein-1 (ICAP-1) promotes migration of myoblasts and affects focal adhesions. *J Cell Phys* 2008; 214(2): 474-82.
- 32 Bouvard D, Millon-Fremillon A, Dupe-Manet S, Block MR, Albiges-Rizo C. Unraveling ICAP-1 function: Toward a new direction? *Euro J Cell Biol* 2006; 85(3/4): 275-82.
- 33 Bouvard D, Aszodi A, Kostka G, Block MR, Albiges-Rizo C, Fassler R. Defective osteoblast function in ICAP-1-deficient mice. *Development* 2007; 134(14): 2615-25.
- 34 Brunner M, Millon-Fremillon A, Chevalier G, Nakchbandi IA, Mosher D, Block MR, *et al.* Osteoblast mineralization requires $\beta 1$ integrin/ICAP-1-dependent fibronectin deposition. *J Cell Biol* 2011; 194(2): 307-22.
- 35 Kiema T, Lad Y, Jiang PJ, Oxley CL, Baldassarre M, Wegener KL, *et al.* The molecular basis of filamin binding to integrins and competition with talin. *Mol Cell* 2006; 21(3): 337-47.
- 36 Calderwood DA, Huttenlocher A, Kiosses WB, Rose DM, Woodside DG, Schwartz MA, *et al.* Increased filamin binding to beta-integrin cytoplasmic domains inhibits cell migration. *Nat Cell Biol* 2001; 3(12): 1060-8.
- 37 Lad Y, Jiang P, Ruskamo S, Harburger DS, Ylanne J, Campbell ID, *et al.* Structural basis of the migfilin-filamin interaction and competition with integrin beta tails. *J Biol Chem* 2008; 283(50): 35154-63.
- 38 Das M, Das M, Ithychanda SS, Qin J, Plow EF. Migfilin and filamin as regulators of integrin activation in endothelial cells and neutrophils. *PLoS One* 2011; 6(10): e26355.
- 39 Liu SC, Calderwood DA, Ginsberg MH. Integrin cytoplasmic domain-binding proteins. *J Cell Sci* 2000; 113(Pt 20): 3563-71.
- 40 Rantala JK, Pouwels J, Pellinen T, Veltel S, Laasola P, Mattila E, *et al.* SHARPIN is an endogenous inhibitor of $\beta 1$ -integrin activation. *Nat Cell Biol* 2011; 13(11): 1315-24.
- 41 Nevo J, Mai A, Tuomi S, Pellinen T, Pentikainen OT, Heikkilä P, *et al.* Mammary-derived growth inhibitor (MDGI) interacts with integrin α -subunits and suppresses integrin activity and invasion. *Oncogene* 2010; 29(49): 6452-63.
- 42 Ezratty EJ, Bertaux C, Marcantonio EE, Gundersen GG. Clathrin mediates integrin endocytosis for focal adhesion disassembly in migrating cells. *J Cell Biol* 2009; 187(5): 733-47.
- 43 Teckchandani A, Toida N, Goodchild J, Henderson C, Watts J, Wollscheid B, *et al.* Quantitative proteomics identifies a Dab2/integrin module regulating cell migration. *J Cell Biol* 2009; 186(1): 99-111.
- 44 Nishimura T, Kaibuchi K. Numb controls integrin endocytosis for directional cell migration with aPKC and PAR-3. *Dev Cell* 2007; 13(1): 15-28.
- 45 Lobert VH, Brech A, Pedersen NM, Wesche J, Oppelt A, Male-rod L, *et al.* Ubiquitination of $\alpha 5 \beta 1$ integrin controls fibroblast migration through lysosomal degradation of fibronectin-integrin complexes. *Dev Cell* 2010; 19(1): 148-59.
- 56 Steinberg F, Heesom KJ, Bass MD, Cullen PJ. SNX17 protects

- integrins from degradation by sorting between lysosomal and recycling pathways. *J Cell Biol* 2012; 197(2): 219-30.
- 47 Bouvard D, Pouwels J, de Franceschi N, Ivaska J. Integrin inactivators: Balancing cellular functions *in vitro* and *in vivo*. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14(7): 430-42.
- 48 Ng T, Shima D, Squire A, Bastiaens PIH, Gschmeissner S, Humphries MJ, *et al.* PKC α regulates β 1 integrin-dependent cell motility through association and control of integrin traffic. *EMBO J* 1999; 18(14): 3909-23.
- 49 Parsons M, Keppler MD, Kline A, Messent A, Humphries MJ, Gilchrist R, *et al.* Site-directed perturbation of protein kinase C-integrin interaction blocks carcinoma cell chemotaxis. *Mol Cell Biol* 2002; 22(16): 5897-911.
- 50 Woods AJ, White DP, Caswell PT, Norman JC. PKD1/PKC μ promotes α v β 3 integrin recycling and delivery to nascent focal adhesions. *EMBO J* 2004; 23(13): 2531-43.
- 51 Bass MD, Williamson RC, Nunan RD, Humphries JD, Byron A, Morgan MR, *et al.* A Syndecan-4 hair trigger initiates wound healing through Caveolin- and RhoG-regulated integrin endocytosis. *Dev Cell* 2011; 21(4): 681-93.
- 52 Pellinen T, Arjonen A, Vuoriluoto K, Kallio K, Fransen JA, Ivaska J. Small GTPase Rab21 regulates cell adhesion and controls endosomal traffic of β 1-integrins. *J Cell Biol* 2006; 173(5): 767-80.
- 53 Mai A, Veltel S, Pellinen T, Padzik A, Coffey E, Marjomaki V, *et al.* Competitive binding of Rab21 and p120RasGAP to integrins regulates receptor traffic and migration. *J Cell Biol* 2011; 194(2): 291-306.
- 54 Pellinen T, Ivaska J. Integrin traffic. *J Cell Sci* 2006; 119(Pt 18): 3723-31.
- 55 Valdembri D, Caswell PT, Anderson KI, Schwarz JP, König I, Astanina E, *et al.* **Neuropilin-1/GIPC1 signaling regulates α 5 β 1 integrin traffic and function in endothelial cells.** *PLoS Biol* 2009; 7(1): e25.
- 56 Brandt DT, Baarlink C, Kitzing TM, Kremmer E, Ivaska J, Nollau P, *et al.* SCAI acts as a suppressor of cancer cell invasion through the transcriptional control of β 1-integrin. *Nat Cell Biol* 2009; 11(5): 557-68.
- 57 Dejonckheere E, Vandenbroucke RE, Libert C. Matrix metalloproteinase8 has a central role in inflammatory disorders and cancer progression. *Cytokine Growth Factor Rev* 2011; 22(2): 73-81.
- 58 Pellinen T, Rantala JK, Arjonen A, Mpindi JP, Kallioniemi O, Ivaska J. A functional genetic screen reveals new regulators of β 1-integrin activity. *J Cell Sci* 2012; 125(Pt 3): 649-61.
- 59 Alahari SK, Nasrallah H. A membrane proximal region of the integrin α 5 subunit is important for its interaction with nishcharin. *Biochem J* 2004; 377(Pt 2): 449-57.
- 60 Alahari SK, Lee JW, Juliano RL. Nischarin, a novel protein that interacts with the integrin α 5 subunit and inhibits cell migration. *J Cell Biol* 2000; 151(6): 1141-54.
- 61 Alahari SK. Nischarin inhibits Rac induced migration and invasion of epithelial cells by affecting signaling cascades involving PAK. *Exp Cell Res* 2003; 288(2): 415-24.
- 62 Baranwal S, Wang YF, Rathinam R, Lee J, Jin LJ, McGoey R, *et al.* Molecular characterization of the tumor-suppressive function of nishcharin in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2011; 103(20): 1513-28.
- 63 Naik UP, Patel PM, Parise LV. Identification of a novel calcium-binding protein that interacts with the integrin α (IIb) cytoplasmic domain. *J Biol Chem* 1997; 272(8): 4651-4.
- 64 Barry WT, Boudignon-Proudhon C, Shock DD, McFadden A, Weiss JM, Sondek J, *et al.* Molecular basis of CIB binding to the integrin α (IIb) cytoplasmic domain. *J Biol Chem* 2002; 277(32): 28877-83.
- 65 Yuan WP, Leisner TM, McFadden AW, Wang ZY, Larson MK, Clark S, *et al.* CIB1 is an endogenous inhibitor of agonist-induced integrin α IIb β 3 activation. *J Cell Biol* 2006; 172(2): 169-75.
- 66 Tsuboi S. Calcium integrin-binding protein activates platelet integrin α (IIb) β (3). *J Biol Chem* 2002; 277(3): 1919-23.
- 67 Naik MU, Nigam A, Manrai P, Millili P, Czymbek K, Sullivan M, *et al.* CIB1 deficiency results in impaired thrombosis: the potential role of CIB1 in outside-in signaling through integrin α (IIb) β (3). *J Thrombosis Haemostasis* 2009; 7(11): 1906-14.
- 68 Gushiken FC, Patel V, Liu Y, Pradhan S, Bergeron AL, Peng Y, *et al.* Protein phosphatase 2A negatively regulates integrin α (IIb) β (3) signaling. *J Biol Chem* 2008; 283(19): 12862-9.
- 69 Kim SM, Kwon MS, Park CS, Choi KR, Chun JS, Ahn J, *et al.* Modulation of Thr phosphorylation of integrin β 1 during muscle differentiation. *J Biol Chem* 2004; 279(8): 7082-90.
- 70 Mulrooney J, Foley K, Vineberg S, Barreuther M, Grabel L. Phosphorylation of the β 1 integrin cytoplasmic domain: Toward an understanding of function and mechanism. *Exp Cell Res* 2000; 258(2): 332-41.
- 71 Herz J, Strickland DK. LRP: A multifunctional scavenger and signaling receptor. *J Clin Invest* 2001; 108(6): 779-84.
- 72 Cao CZ, Lawrence DA, Li Y, von Arnim CA, Herz J, Su EJ, *et al.* Endocytic receptor LRP together with tPA and PAI-1 coordinates Mac-1-dependent macrophage migration. *EMBO J* 2006; 25(9): 1860-70.
- 73 Salicioni AM, Gaultier A, Brownlee C, Cheezum MK, Gonias SL. Low density lipoprotein receptor-related protein-1 promotes β 1 integrin maturation and transport to the cell surface. *J Biol Chem* 2004; 279(11): 10005-12.
- 74 Spijkers PP, de Costa Martins P, Westein E, Gahmberg CG, Zwarginga JJ, Lenting PJ. LDL-receptor-related protein regulates β 2-integrin-mediated leukocyte adhesion. *Blood* 2005; 105(1): 170-7.
- 75 Hu K, Wu CY, Mars WM, Liu YH. Tissue-type plasminogen activator promotes murine myofibroblast activation through LDL receptor-related protein 1-mediated integrin signaling. *J Clin Invest* 2007; 117(12): 3821-32.
- 76 Montel V, Gaultier A, Lester RD, Campana WM, Gonias SL. The low-density lipoprotein receptor-related protein regulates cancer cell survival and metastasis development. *Cancer Res* 2007; 67(20): 9817-24.
- 77 Robertson SP. Filamin A: Phenotypic diversity. *Curr Opin Genet Dev* 2005; 15(3): 301-7.
- 78 Bicknell LS, Farrington-Rock C, Shafeghati Y, Rump P, Alanay Y, Alembik Y, *et al.* A molecular and clinical study of Larsen syndrome caused by mutations in FLNB. *J Med Genet* 2007; 44(2): 89-98.
- 79 Liu WZ, Draheim KM, Zhang R, Calderwood DA, Boggon TJ. Mechanism for KRIT1 release of ICAP1-mediated suppression of integrin activation. *Mol Cell* 2013; 49(4): 719-29.
- 80 Sandborn WJ, Yednock TA. Novel approaches to treating inflammatory bowel disease: Targeting α 4 integrin. *Am J Gastroenterol* 2003; 98(11): 2372-82.
- 81 Park EJ, Mora JR, Carman CV, Chen J, Sasaki Y, Cheng G, *et al.* Aberrant activation of integrin α 4 β 7 suppresses lymphocyte migration to the gut. *J Clin Invest* 2007; 117(9): 2526-38.