

Kindlin 与整合素的活化

黄建松 陶岚岚 周玉兰 奚晓东*

(上海交通大学医学院附属瑞金医院, 上海血液学研究所, 医学基因组学国家重点实验室, 上海 200025)

摘要 整合素通过双向信号介导细胞与细胞外基质、细胞与细胞的粘附以及细胞的迁移。先前的研究确认 talin 头部 N 端的 FERM 结构域与整合素 β 亚基胞内段近膜端的 NPxY 基序相互作用是活化整合素最后的共同通路。近年来研究者发现 kindlin C 端的 FERM 结构域能够与整合素 β 亚基胞内段远膜端的 NxxY 基序相互作用而协同 talin 活化整合素, 因此 kindlin 已成为整合素活化机制研究的热点。kindlin 家族有三个成员: kindlin-1、kindlin-2、kindlin-3, 它们有着很高的氨基酸序列同源性和相同的结构。本文总结了 kindlin 的分布、结构和功能及 kindlin 在整合素活化中的机制研究的最新进展。

关键词 kindlin; 整合素; talin; 双向信号; 活化

整合素(integrin)是一种广泛分布的细胞粘附受体, 主要通过双向的信号转导介导细胞与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、细胞与细胞的粘附及细胞的迁移。整合素的信号转导具有双向性: (1)激动剂作用后, 细胞内信号分子与整合素胞内段相互作用, 产生内向外信号(inside-out signal), 导致整合素活化, 整合素从对 ECM、可溶性蛋白等配体的低亲和状态转变为高亲和状态, 上调整合素受体与配体的结合能力。(2)整合素活化后, 配体与整合素胞外段结合, 产生外向内信号(outside-in signal), 引起细胞骨架重组, 细胞形成伪足、粘附斑, 在血小板则发生伸展和稳定聚集。N 端含有 FERM(4.1 蛋白、ezrin、radixin、moesin)结构域的 talin 蛋白能与整合素胞内段结合, 在整合素活化过程中被深入研究^[1,2]。FERM 结构域包含三个模块, 分别是 F1、F2 和 F3 亚结构域, 似三叶草的叶片状排列^[3]。最先发现 FERM 结构域存在于红细胞质膜带 4.1 蛋白中, 后来发现它广泛存在于膜骨架蛋白和信号蛋白中。大量的研究表明 talin 的 FERM 结构域对于整合素的活化是非常关键的。但最近研究发现, 同样含有 FERM 结构域的 kindlin 对于整合素的活化也起非常重要的作用, 参与整合素的双向信号转导。本文将从 kindlin 的分布和结构、整合素活化的机制及其调控等方面论述 kindlin 在整合素双向信号转导中的研究进展。

1 kindlin 的分布、结构、功能

1.1 kindlin 的分布、结构

kindlin 是一种在生物进化上保守的含有 FERM

结构域的蛋白家族, 1954 年 Theresa Kindler 发现一例皮肤病患者, 有先天性的皮肤水疱、皮肤脆性、对太阳光过敏等临床症状, 这种疾病被称为 Kindler 综合征。现在已经知道它是由于 kindlin-1 蛋白的基因突变导致的常染色体隐性遗传水疱皮肤病。目前已知在哺乳动物中有三种 kindlin 蛋白: kindlin-1、kindlin-2 和 kindlin-3。kindlin-1, 又称为 kindlerin、FERMT1、Unc-112 相关蛋白-1(Unc-112 related protein 1, URP-1), 主要表达于皮肤、肠道、肾脏组织的内皮细胞; kindlin-2, 又称为 Mig-2, 在生物的大部分组织中都有表达, 但在骨骼肌和平滑肌细胞中表达量最多; kindlin-3, 又称为 URP-2、FERMT3, 主要表达于造血细胞, 特别是巨核细胞和血小板^[4,5]。大量的研究证据表明 kindlin 是粘附斑复合物的基本组成成分, kindlin-1 和 kindlin-2 存在于会聚粘附斑(focal adhesion)上。在恶性肿瘤转移时 kindlin 的表达谱发生变化, 在乳腺癌、淋巴瘤细胞上发现 kindlin-2 的表达量增加^[6,7], 在结肠癌、肺癌细胞上发现 kindlin-1 的表达量增加^[8]; 在活化血小板里 kindlin-3 主要存在于血小板的伪足。尽管 kindlin 蛋白由多个不同的 *kind* 或 *fermt* 基因编码, 但它们含有相同的结构域并具有氨基酸序列的高度相似性。

kindlin 的分子量大约是 75 kDa。通过氨基酸同

收稿日期: 2010-01-04 接受日期: 2010-06-28

国家自然科学基金(No.30710103905)和上海市科委(No.0941070-6800)资助项目

* 通讯作者。Tel: 021-64370045-610616, E-mail: xixiaodong@shsmu.edu.cn

源性比对,发现人类的 kindlin-1 与 kindlin-2 和 kindlin-3 的氨基酸序列的同源性分别是 65% 和 59%。线虫的 kindlin-1(UNC-112)与 kindlin-2 的氨基酸同源性为 41%。FERM 结构域是 kindlin 最重要的一个结构域,所有的 kindlin 的 FERM 结构域与 talin 的 FERM 结构域氨基酸序列的同源性很高(>50%)。kindlin 和 talin 的 FERM 结构域中的 F3 亚结构域是由两个直交的反向平行的 β 折叠和一个 α 螺旋组成的,在结构、功能上与磷酸化酪氨酸结合域(phosphotyrosine-binding domain, PTB)类似。虽然 kindlin 和 talin 通过 F3 亚结构域上的 PTB 与整合素的 β 亚基的胞内段含酪氨酸的 NxxY 基序或 NPxY 基序结合,但 talin 或其它含 FERM 结构域蛋白的 FERM 结构域位于蛋白的 N 端,而 kindlin 中的 FERM 结构域位于蛋白的 C 端(图 1)。另外, kindlin 中 FERM 结构域的 F2 亚结构域中插入了一个 PH 结构域(pleckstrin homology domain)(图 1),目前知道 PH 结构域含有磷脂酰肌醇结合位点,但 kindlin 中的 PH 结构域对整合素活化起什么作用有待研究。

1.2 kindlin 的结合蛋白

到目前为止在 kindlin 中没有发现具有催化功能的结构域,因此 kindlin 的主要生物学功能被认为是作为接头蛋白调节蛋白质与蛋白质的相互作用,并以此影响整合素的双向信号转导。目前,在细胞粘附处发现了多种 kindlin 结合蛋白(图 1,表 1),如:整合素联接激酶(integrin linked kinase, ILK)^[9-11], migfilin^[10,12],整合素 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$ 亚基^[13-16]。应用重组蛋白技术和点突变技术分析表明 kindlin-1、kindlin-2 和 kindlin-3 中 F3 亚结构域都能与 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 胞内段直接地结合^[5,15,17]。

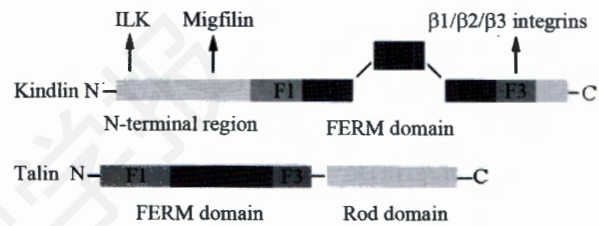


Fig.1 Domain architecture of kindlins and talin^[4]

Table 1 Kindlin-interacting proteins

Kindlins	Kindlin-interacting proteins	References
Kindlin-1	Integrin $\beta 1$ 、 $\beta 3$, migfilin, kindlin-2	8, 10, 12, 15, 18, 21
Kindlin-2	Integrin $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$, ILK, kindlin-1, migfilin	9, 13, 15, 18, 22
Kindlin-3	Integrin $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$	14, 16

kindlin-3 中 F3 亚结构域还能与 $\beta 2$ 胞内段直接结合^[16]。应用酵母双杂交技术发现人的 kindlin-2 和线虫的 UNC-112 的 N 端有 ILK 结合位点,但 kindlin-1 与 kindlin-3 能否与 ILK 相互作用有待进一步研究^[9,10]。免疫共沉淀和共聚焦显微技术证实了角化细胞里 kindlin-1 和 kindlin-2 之间存在相互作用并结合,同时 kindlin-1 和 kindlin-2 还能与 migfilin 结合,但 kindlin-3 能否与 migfilin 结合仍待证明^[12,18]。虽然 kindlin-2、kindlin-3 是否存在磷酸化有待研究,但 Herz 等^[19]研究发现在角化细胞里有部分磷酸化的 kindlin-1 存在,抑制丝氨酸-苏氨酸激酶 casein 激酶-2 活性,能导致 kindlin-1 磷酸化水平下降,提示 kindlin-1 是胞内一些激酶的靶分子。为深入了解其机制,仍需要更进一步研究 kindlin-1 蛋白发生磷酸化的位点以及磷酸化后 kindlin-1 对整合素双向信号转导的影响。

1.3 kindlin 的基本功能

kindlin 的基本功能是募集 kindlin 结合蛋白到粘

附斑。UNC-112 基因敲除的线虫,由于缺失了 UNC-112 与 PAT-4(ILK)的相互作用,改变了细胞内的 PAT-3(β 整合素)和 PAT-4(ILK)蛋白的分布位置,表现为胚胎致死的表型。这个表型与线虫的粘附斑复合物里的其他重要成分如 PAT-2(α 整合素)、PAT-3(β 整合素)、PAT-4(ILK)、PAT6(parvin)、UNC-6(PINCH)基因敲除的表型惊人地相似。缺失 kindlin-1 能引起 Kindler 综合征,主要是由角化细胞与细胞外基质的粘附异常引起的^[20]。现在研究已经证实了 kindlin-1 主要存在于角化细胞的会聚粘附斑处,而角化细胞的粘附斑的形成需要 kindlin-1 与整合素 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 亚基胞内段的相互作用^[21]。kindlin-2 定位于细胞与细胞外基质的粘附斑处,在粘附斑处 kindlin-2 直接结合于整合素 β 亚基的胞内段,随后与 migfilin 结合,并将 migfilin 募集到粘附斑处。募集到的 migfilin 能辅助 VASP、filamin 等 migfilin 结合蛋白在粘附斑处积累。ILK 聚集到粘附斑也需要 kindlin-2 与其结合。ILK 是

粘附斑的必需的组成成分,但 migfilin 不是粘附斑的必需组成成分。有研究者推测 ILK 与 kindlin-2 聚集与粘附斑是相互依赖,缺一不可的。kindlin-2 对粘附斑处的整合素的外向内信号传递过程起重要的作用,沉默 kindlin-2 或 migfilin 能影响细胞伸展^[10]。有研究认为在粘附斑处 kindlin-2 和 migfilin 在整合素与细胞骨架肌动蛋白间起重要的联接作用^[22]。Ou 等^[23]发现上调 kindlin-2 的表达水平,线虫 Q 神经母细胞的迁移性随之增强。在哺乳动物细胞中 kindlin 同时介导粘附斑处的细胞骨架重组,在 kindlin-2 缺陷的结肠癌细胞里转染 kindlin-2 表达载体,促使会聚粘附斑的形成,并且通过细胞骨架的重排增强细胞与细胞外基质的连接。

2 整合素的结构及其与活化的关系

整合素由 α 与 β 两亚基通过非共价键结合形成跨膜异二聚体。目前在哺乳动物中,至少已经鉴定出 18 种不同的 α 亚基和 8 种不同的 β 亚基,形成 24 种以上不同的整合素,每种整合素都可以与细胞表面的特异组成部分、ECM 或可溶性蛋白配体结合^[24]。 α 和 β 亚基均由约含 80~150 kDa 的胞外段、单一跨膜的 α 螺旋区、10~70 个氨基酸残基的胞内段三部分组成($\beta 4$ 亚基除外)。整合素的胞外段可以与不同的配体结合,整合素分子对配体结合能力即亲和力,受到整合素的胞外、跨膜、胞内三个部分的调节。整合素的活化(内向外信号转导)即从低亲和力状态到高亲和力状态的转换是胞内段介导胞外部分在空间构象上发生快速、可逆的变化。含 $\beta 2$ 、 $\beta 3$ 亚基的整合素活化只需要几毫秒的时间,血小板聚集是整合素 $\alpha IIb\beta 3$ 活化的典型例子。一般情况下,血小板表面的 $\alpha IIb\beta 3$ 对其配体(纤维蛋白原)的亲和力很低,血小板不会聚集。但是受到激动剂的刺激后,毫秒时间内整合素被活化, $\alpha IIb\beta 3$ 空间构象发生变化,与纤维蛋白原的结合能力显著增强,导致血小板聚集。白细胞迁移时,含 $\beta 2$ 亚基的整合素活性在高与低之间快速的、不断地切换。如果让整合素始终处于活化的状态,细胞的迁移将受到抑制。

对整合素分子胞外段的晶体结构(图2)研究表明:一个球形的头由 α 亚基的七个形似叶片的折叠形成 β -螺旋桨状结构域(β -propeller)、 β 亚基的 βA 结构域(βA -domain)和类免疫球蛋白“Hybrid”结构域(immunoglobulin-like “Hybrid” domain)组成。在大约一半种类的 α 亚基的 β -螺旋桨状结构域中插入

了一个 I 结构域(又称为 vWF A 结构域)。I 结构域上含有一个保守的金属离子依赖粘附位点(metal ion-dependent adhesion site),借助二价的阳离子能与配体上带负电荷的氨基酸结合。头部是整合素和配体的结合位点,而支撑着头部的是 α 和 β 亚基的其他结构域组成的两条长长的腿。 α 亚基的腿由“thigh”结构域、“Calf-1”和“Calf-2”结构域组成; β 亚基的腿由一个 PSI(plexin-semaphorin-integrin)结构域、四个 EGF(epidermal growth factor)(EGF-1、2、3、4)结构域和一个近膜的 β 尾部结构域组成^[25~27]。 α 亚基的“thigh”与“Calf-1”之间构成腿的膝部, β 亚基的“EGF-1”与“EGF-2”之间构成腿的膝部。整合素处于静息状态时,两条腿都处于折叠的姿势,这样使得头部靠近细胞膜,掩盖了与配体的结合位点,配体的亲和力较低。而接收到细胞内部活化信号后,两个亚基的胞内段和跨膜区彼此分开,胞外区域的两条腿伸直。同时头部的空间构象也随之发生变化,头部抬起,Hybrid 结构域获得相对自由的状态并能摆动,配体结合位点暴露,与配体的亲和力大大的增强,此即“switchblade”活化模式假说^[28,29]。另有一种“deadbolt”活化模式假说认为整合素的头部与配体结合后,导致整合素的两条腿伸直^[28]。同时整合素的活化方式也有两种情况:一种如 Mn^{2+} 离子结合于整合素胞外区,使得配体诱导的抗体结合位点(ligand-induced antibody-binding site)暴露,导致整合素活化;或 DTT 或紫外线使得整合素胞外段的二硫键打开,活化整合素。另一种是胞内的信号分子或接头蛋白结合于整合素胞内段,破坏两亚基的胞内复合物,活化整合素。

目前由于缺乏合适的模拟生物膜的介质,对整合素跨膜区的研究比较少,但对整合素 $\alpha IIb\beta 3$ 的跨膜区的结构仍有一定的了解。 $\beta 3$ 亚基的跨膜区由 30 个氨基酸组成线性 α 螺旋, α 螺旋的长度长于细胞膜的宽度,暗示着 $\beta 3$ 亚基的跨膜区在生物膜里呈一定角度的倾斜^[30,31],而 αIIb 亚基的跨膜区由 24 个氨基酸组成线性 α 螺旋,垂直跨过生物膜^[32]。在静息状态,整合素的 αIIb 和 $\beta 3$ 跨膜区成 25° 交叉螺旋状(coiled-coil)相互作用形成复合物;在活化状态时,整合素 αIIb 和 $\beta 3$ 跨膜区分开。

整合素的胞内段相互结合,维持着整合素处于低活化性的状态。整合素 α 、 β 胞内段的序列虽然比较短但氨基酸序列是比较保守的,特别是近膜区域高度保守。 α 亚基近膜端 GFFKR⁹⁹⁵ 基序、 β 亚基近膜

端的 HD⁷²³R(R/K)E 基序借助疏水键和离子键相互作用,维持胞内段相互结合的复合物状态。整合素 α IIB β 3 活化时, β 3 的 D⁷²³ 和 α IIB 的 R⁹⁹⁵ 之间的盐桥被打断,整合素胞内段相互分开^[33,34], D⁷²³ 或 R⁹⁹⁵ 的突变,能导致整合素活化。整合素 β 亚基胞内段还含有两个保守的基序,分别是近膜端的 NPxY 基序、远膜端的 NxxY 基序,在 β 3 亚基上分别是 NPLY⁷⁴⁷、NITY⁷⁵⁹,这两个基序含有 PTB 结构域的结合位点。一些含有 PTB 结构域蛋白能与其结合,进而调节整合素的活性。在这两个基序之间,还存在 TxT 基序,在 β 3 亚基上是 TS752T。大量的研究表明分子量大约是 270 kDa 的 talin 是整合素活化关键的胞内蛋白。talin 由 N 端含 FERM 结构域的圆形头部(talin-H)和 C 端的杆状结构域(talin-R)组成。应用结构分析与 talin 结合位点突变的小鼠模型证实了 talin 通过两步活化整合素:(1)借助 FERM 结构域中的 PTB 结构, talin 的头部取代 filamin 结合到 NPxY 基序;(2)随后 talin 与整合素 β 亚基近膜端的氨基酸相互作用, talin 破坏了 D⁷²³ 和 R⁹⁹⁵ 之间的盐桥,打破了 α 和 β 亚基胞内段的相互作用,从而导致了整合素的活化。由于 talin 在细胞中的广泛表达和 NPxY 基序在不同 β 亚基中的高度保守性;而且含有 PTB 结构域的 Dok1、tensin、numb 等蛋白虽然可以与 NPxY 基序结合,但却不能活化整合素^[35],因此研究者普遍认为 talin 是整合素活化最后的共同通路。但最近发现含有 PTB 结构域的 kindlin 能直接与整合素 β 胞内段的远膜端的 NxxY 基序相互作用,调节整合素的活性,这一进展更新和加深了对整合素活化分子机制的认识。

3 kindlin 对整合素活化的影响

近年来的研究表明,除 talin 以外,还有其它蛋白也能破坏 α 和 β 两亚单位胞内段的相互作用,产生内向外的信号进而活化整合素。如 kindlin 能协同 talin 活化整合素。现已明确, kindlin 可直接结合于整合素 β 胞内段并调节整合素的活性,此过程受到多种因素的影响:(1)细胞内 kindlin 的表达水平;(2)活化状态的 talin 的量。kindlin 调节整合素活性的许多细节有待进一步研究,但是目前倾向于认为 kindlin 作为胞内接头蛋白,其表达水平高低影响整合素 α 和 β 两亚基胞内段的相互作用,从而调节整合素的活性^[15]。

Shi 等^[13]在表达有整合素 α IIB β 3 的 CHO 细胞上观察到了过表达 kindlin-2 能导致整合素活化。kindlin-2 可以通过 FERM 结构域与整合素 β 3 亚单位的胞内段

直接作用,调节整合素的活性。进一步研究确定了 kindlin-2 的 PTB 结构域里的谷氨酰胺⁶¹⁴和色氨酸⁶¹⁵是关键的氨基酸^[9,13,17],用丙氨酸替代它们,导致 kindlin-2 不能与 β 3 胞内段相互作用,并且不能活化整合素 α IIB β 3^[13]。在不表达 kindlin-2 的结肠癌细胞中表达 kindlin-2 蛋白,能增强细胞与细胞外基质的粘附、促进会聚粘附斑的形成、降低细胞的迁移性^[13];但如果表达 kindlin-2 的 PTB 结构域突变体,则并不能改变结肠癌细胞的生物学行为。上面的实验结果首次提供证据,证明 kindlin 与整合素胞内段结合并使其活化,进而影响细胞的功能。

有研究者将 talin-H 和 kindlin-2 共转到表达整合素 α IIB β 3 的 CHO 模型细胞里,发现整合素 α IIB β 3 的活化程度在共转的细胞里比单独转 talin-H 或 kindlin-2 的细胞里的活化程度要高^[17];但 talin-H 和 kindlin-2 共转并不能活化整合素 α 5 β 1^[15],原因有待研究。talin-H 和谷氨酰胺⁶¹⁴、色氨酸⁶¹⁵被替换为丙氨酸的 kindlin-2 共转 CHO 细胞,整合素的活化程度并不比单转 talin-H 的高,说明了 kindlin-2 协同 talin 活化整合素需要通过 kindlin-2 与整合素胞内段直接结合^[17]。但有研究观察到 talin 与 kindlin 相互依存,相互促进整合素活化。kindlin 活化整合素需要 talin 的存在。在过表达 kindlin-2,但 talin 不表达或表达量极低的情况下,不能使整合素 α IIB β 3 活化。同时发现 talin 活化整合素也需要 kindlin 的存在。过表达 talin-H 的细胞里,用 siRNA 技术沉默 kindlin-2 同样不能活化整合素 α IIB β 3。虽然 talin 中的 PTB 结构域与 kindlin 中的 PTB 结构域有着很高的同源性,但研究发现它们对整合素胞内段的结合位点并不一样。 β 胞内段上含有酪氨酸的近膜端的 NPxY 基序是 talin 的关键结合位点,但它并不是 kindlin-2 的结合位点。用 GST 融合蛋白 pull-down 分析表明 kindlin-2 能与缺失近膜端 NPxY 基序的 β 1、 β 2、 β 3 结合;而远膜端的 NxxY 基序缺失,导致 kindlin 不能与整合素 β 亚基结合。目前还没有文献报道 kindlin 上游哪些分子调控 kindlin 与整合素胞内段结合。NPxY 基序和 NxxY 基序之间的丝氨酸⁷⁵²用脯氨酸取代也能破坏 kindlin-2、kindlin-3 与整合素 β 3 胞内段的结合^[17],但能否破坏 kindlin-1 与整合素 β 3 胞内段的结合有待进一步研究。在一例血小板无力症病人中发现其整合素 β 3 的丝氨酸⁷⁵²突变成脯氨酸,虽然不影响整合素 β 3 胞内段与 talin-H 的结合,但能导致血小板上的整合素 α IIB β 3 活化功能缺失^[14,37]。上述功能损害可能是由于整合素 β 3 胞内段

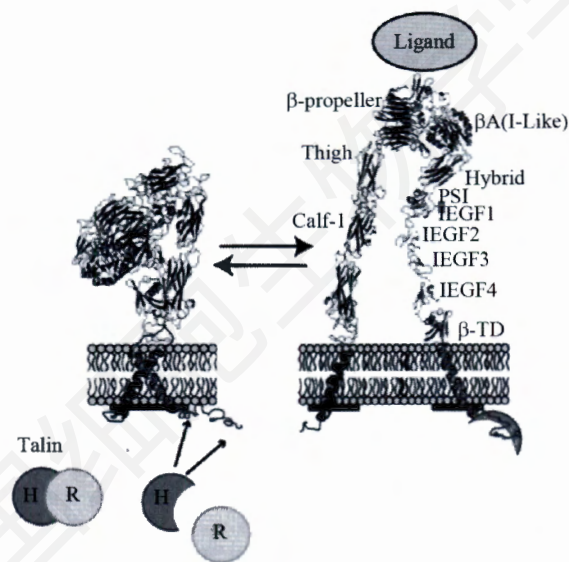


Fig.2 Model of $\alpha\text{IIb}\beta 3$ crystal structure and depiction of switchblade model of $\alpha\text{IIb}\beta 3$ conformational change associated with activation by talin^[36]

不能与 kindlin 结合所致。Harburger 等^[15]证明 kindlin 单独的 FERM 结构域与 NxxY 的结合能力较完整的 kindlin 与 NxxY 的结合能力要弱,提示 kindlin 的其他部分能辅助 FERM 结构域结合到整合素 β 亚基胞内段。kindlin 除了能调节整合素 $\alpha\text{IIb}\beta 3$ 的活性外, Ma 等^[17]还发现在 HUVEC 细胞中敲除 kindlin-2 后,其在纤维蛋白原、vitronectin 上的粘附显著减少,并抑制血管内皮生长因子诱导的 HUVEC 细胞在纤维蛋白原、vitronectin 上的迁移,说明 kindlin-2 对 $\alpha\text{V}\beta 3$ 的活化起到重要的作用。Moser 等^[16]还发现 kindlin-3 基因敲除的小鼠的表型类似 III 型的白细胞粘附缺陷综合征(leukocyte adhesion deficiency syndrome-III, LAD-III),表现为严重的出血倾向和白细胞粘附于炎症内皮细胞受损。其原因是缺失 kindlin-3 导致 $\beta 2$ 不能被活化, $\beta 2$ 胞外段不能与 ICAM-1 和 iC3b 配体结合,影响了白细胞的粘附。Svensson^[38]和 Malinin^[39]同时报道了 kindlin-3 的突变病例,病人的临床症状与 LAD-III 病人的临床症状类似,但情况更严重,表现为严重出血、反复感染和骨硬化症状。研究者认为是由于突变的 kindlin 无法活化整合素所致。

Moser 等^[14]发现 kindlin-3 基因敲除的小鼠,尽管血小板内 talin、整合素 $\alpha\text{IIb}\beta 3$ 含量正常,但依靠整合素 $\alpha\text{IIb}\beta 3$ 外向内信号的血小板聚集功能和血小板在固相化纤维蛋白原上的伸展功能完全被破坏,同时有严重的胚胎出血倾向、尾出血时间延长、用 FeCl_3

诱导的病理性血栓形成倾向明显降低。用 Mn^{2+} 处理 kindlin-3 基因敲除小鼠的血小板,使其表面的整合素 $\alpha\text{IIb}\beta 3$ 活化,血小板能粘附在纤维蛋白原包被的固体表面,但其伸展受到影响,说明了缺失 kindlin-3 能破坏细胞骨架的重排,外向内的信号转导受到损害。对 kindlin-2 基因敲除小鼠的研究发现 kindlin-2^{-/-} 基因型小鼠能存活,但在孕期 7.5 天时的 kindlin-2^{-/-} 基因型小鼠因严重的畸形而不能存活^[9]。对 kindlin-1 基因型小鼠的胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)的功能研究表明 kindlin-1^{-/-} ESCs 形成会聚粘附斑、伸展能力明显下降,外向内的信号转导受损^[9]。

4 展望

已有的研究认为, talin 是调节整合素活化的关键分子,但是近几年的研究提供证据说明 kindlin 和 talin 共同调节整合素的活性。关于 kindlin 与 talin 如何调节整合素的功能仍有许多问题有待进一步的研究。如它们两者是如何协同调节整合素的活性,推测可能通过以下几种模式: (1) kindlin 借助其 PTB 结构域先结合到整合素 β 亚基胞内段的 NxxY 基序,然后 talin 的头部结合到 NPxY 基序,整合素胞内段分开,导致整合素活化; (2) kindlin 和 talin 同时结合到整合素分子胞内段各自的结合位点,导致整合素活化; (3) kindlin 和 talin 与不同的整合素分子结合,然后借助 kindlin 和 talin 的相互作用,导致整合素活化。目前虽然没有观察到 talin 与 kindlin 之间存在相互作用,但不能排除它们之间存在比较弱的相互作用。除了整合素、migfilin 和 ILK 外还有哪些蛋白能与 kindlin 直接相互作用? 细胞如何调控 kindlin 的表达水平和其与整合素 β 亚基胞内段结合? kindlin 与整合素 β 亚基胞内段的亲和力是多少? kindlin 的晶体结构与 talin 的晶体结构是否有相似性? kindlin 家族还有其他成员吗? 目前已知的三种 kindlin 在功能上有何异同点? 随着对 kindlin 结构和功能越来越多的了解, kindlin 协同 talin 调节整合素活性的研究成果的不断积累,我们对整合素活化的机制会有更深入的理解,将有助于整合素活化相关疾病的诊断和治疗。

参考文献(References)

- 1 Critchley DR. Genetic, biochemical and structural approaches to talin function. *Biochem Soc Trans* 2005; 33(Pt 6): 1308-12.
- 2 Critchley DR, Gingras AR. Talin at a glance. *J Cell Sci* 2008; 121(Pt 9): 1345-7.
- 3 Pearson MA, Reczek D, Bretscher A, Karplus PA. Structure of

- the ERM protein moesin reveals the FERM domain fold masked by an extended actin binding tail domain. *Cell* 2000; 101(3): 259-70.
- 4 Larjava H, Plow EF, Wu C. Kindlins: essential regulators of integrin signalling and cell-matrix adhesion. *EMBO Rep* 2008; 9(12): 1203-8.
 - 5 Moser M, Legate KR, Zent R, Fassler R. The tail of integrins, talin, and kindlins. *Science* 2009; 324(5929): 895-9.
 - 6 Gozgit JM, Pentecost BT, Marconi SA, Otis CN, Wu C, Arcaro KF. Use of an aggressive MCF-7 cell line variant, TMX2-28, to study cell invasion in breast cancer. *Mol Cancer Res* 2006; 4(12): 905-13.
 - 7 Kato K, Shiozawa T, Mitsushita J, Toda A, Horiuchi A, Nikaido T, *et al.* Expression of the mitogen-inducible gene-2 (mig-2) is elevated in human uterine leiomyomas but not in leiomyosarcomas. *Hum Pathol* 2004; 35(1): 55-60.
 - 8 Weinstein EJ, Bournier M, Head R, Zakeri H, Bauer C, Mazzarella R. URP1: a member of a novel family of PH and FERM domain-containing membrane-associated proteins is significantly over-expressed in lung and colon carcinomas. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1637(3): 207-16.
 - 9 Montanez E, Ussar S, Schifferer M, Bosl M, Zent R, Moser M, *et al.* Kindlin-2 controls bidirectional signaling of integrins. *Genes Dev* 2008; 22(10): 1325-30.
 - 10 Tu Y, Wu S, Shi X, Chen K, Wu C. Migfilin and Mig-2 link focal adhesions to filamin and the actin cytoskeleton and function in cell shape modulation. *Cell* 2003; 113(1): 37-47.
 - 11 Bottcher RT, Lange A, Fassler R. How ILK and kindlins cooperate to orchestrate integrin signaling. *Curr Opin Cell Biol* 2009; 21(4): 1-4.
 - 12 Wu C. Migfilin and its binding partners: from cell biology to human diseases. *J Cell Sci* 2005; 118(Pt 4): 659-64.
 - 13 Shi X, Ma YQ, Tu Y, Chen K, Wu S, Fukuda K, *et al.* The MIG-2/integrin interaction strengthens cell-matrix adhesion and modulates cell motility. *J Biol Chem* 2007; 282(28): 20455-66.
 - 14 Moser M, Nieswandt B, Ussar S, Pozgajova M, Fassler R. Kindlin-3 is essential for integrin activation and platelet aggregation. *Nat Med* 2008; 14(3): 325-30.
 - 15 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.
 - 16 Moser M, Bauer M, Schmid S, Ruppert R, Schmidt S, Sixt M, *et al.* Kindlin-3 is required for beta2 integrin-mediated leukocyte adhesion to endothelial cells. *Nat Med* 2009; 15(3): 300-5.
 - 17 Ma YQ, Qin J, Wu C, Plow EF. Kindlin-2 (Mig-2): a co-activator of beta3 integrins. *J Cell Biol* 2008; 181(3): 439-46.
 - 18 Lai-Cheong JE, Ussar S, Arita K, Hart IR, McGrath JA. Colocalization of kindlin-1, kindlin-2, and migfilin at keratinocyte focal adhesion and relevance to the pathophysiology of Kindler syndrome. *J Invest Dermatol* 2008; 128(9): 2156-65.
 - 19 Herz C, Aumailley M, Schulte C, Schlotzer-Schrehardt U, Bruckner-Tuderman L, Has C. Kindlin-1 is a phosphoprotein involved in regulation of polarity, proliferation, and motility of epidermal keratinocytes. *J Biol Chem* 2006; 281(47): 36082-90.
 - 20 Yazdanfar A, Hashemi B. Kindler syndrome: report of three cases in a family and a brief review. *Int J Dermatol* 2009; 48(2): 145-9.
 - 21 Kloecker S, Major MB, Calderwood DA, Ginsberg MH, Jones DA, Beckerle MC. The Kindler syndrome protein is regulated by transforming growth factor-beta and involved in integrin-mediated adhesion. *J Biol Chem* 2004; 279(8): 6824-33.
 - 22 Zhang Y, Tu Y, Gkretsi V, Wu C. Migfilin interacts with vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP) and regulates VASP localization to cell-matrix adhesions and migration. *J Biol Chem* 2006; 281(18): 12397-407.
 - 23 Ou G, Vale RD. Molecular signatures of cell migration in *C. elegans* Q neuroblasts. *J Cell Biol* 2009; 185(1): 77-85.
 - 24 Hynes RO. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell* 2002; 110(6): 673-87.
 - 25 Xiong JP, Stehle T, Zhang R, Joachimiak A, Frech M, Goodman SL, *et al.* Crystal structure of the extracellular segment of integrin alpha Vbeta3 in complex with an Arg-Gly-Asp ligand. *Science* 2002; 296(5565): 151-5.
 - 26 Xiong JP, Stehle T, Diefenbach B, Zhang R, Dunker R, Scott DL, *et al.* Crystal structure of the extracellular segment of integrin alpha Vbeta3. *Science* 2001; 294(5541): 339-45.
 - 27 Takagi J, Springer TA. Integrin activation and structural rearrangement. *Immunol Rev* 2002; 186: 141-63.
 - 28 Xiong JP, Stehle T, Goodman SL, Arnaout MA. New insights into the structural basis of integrin activation. *Blood* 2003; 102(4): 1155-9.
 - 29 Luo BH, Carman CV, Springer TA. Structural basis of integrin regulation and signaling. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 619-47.
 - 30 Lau TL, Kim C, Ginsberg MH, Ulmer TS. The structure of the integrin alphaIIb beta3 transmembrane complex explains integrin transmembrane signalling. *EMBO J* 2009; 28(9): 1351-61.
 - 31 Lau TL, Partridge AW, Ginsberg MH, Ulmer TS. Structure of the integrin beta3 transmembrane segment in phospholipid bicelles and detergent micelles. *Biochemistry* 2008; 47(13): 4008-16.
 - 32 Lau TL, Dua V, Ulmer TS. Structure of the integrin alphaIIb transmembrane segment. *J Biol Chem* 2008; 283(23): 16162-8.
 - 33 Vinogradova O, Velyvis A, Velyviene A, Hu B, Haas T, Plow E, *et al.* A structural mechanism of integrin alpha(IIb)beta(3) "inside-out" activation as regulated by its cytoplasmic face. *Cell* 2002; 110(5): 587-97.
 - 34 Vinogradova O, Haas T, Plow EF, Qin J. A structural basis for integrin activation by the cytoplasmic tail of the alpha IIb-subunit. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(4): 1450-5.
 - 35 Legate KR, Fassler R. Mechanisms that regulate adaptor binding to beta-integrin cytoplasmic tails. *J Cell Sci* 2009; 122(Pt 2): 187-98.
 - 36 Collier BS, Shattil SJ. The GPIIb/IIIa (integrin alphaIIb beta3) odyssey: a technology-driven saga of a receptor with twists, turns, and even a bend. *Blood* 2008; 112(8): 3011-25.
 - 37 Chen YP, Djaffar I, Pidard D, Steiner B, Cieutat AM, Caen JP, *et al.* Ser-752→Pro mutation in the cytoplasmic domain of integrin beta 3 subunit and defective activation of platelet integrin alpha IIb beta 3 (glycoprotein IIb-IIIa) in a variant of Glanzmann thrombasthenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89(21): 10169-73.
 - 38 Svensson L, Howarth K, McDowall A, Patzak I, Evans R, Ussar S, *et al.* Leukocyte adhesion deficiency-III is caused by

mutations in KINDLIN3 affecting integrin activation. *Nat Med* 2009; 15(3): 306-12.

39 Malinin NL, Zhang L, Choi J, Ciocea A, Razorenova O, Ma YQ,

et al. A point mutation in KINDLIN3 ablates activation of three integrin subfamilies in humans. *Nat Med* 2009; 15(3): 313-8.

Kindlin and Integrin Activation

Jian-Song Huang, Lan-Lan Tao, Yu-Lan Zhou, Xiao-Dong Xi*

(State Key Laboratory of Medical Genomics, Shanghai Institute of Hematology, Shanghai Jiaotong University School of Medical, Shanghai 200025, China)

Abstract Bidirectional integrin signaling mediates cell-extracellular matrix, cell-cell adhesion and cell migration. Mechanisms have been established whereby the FERM domain in the N-terminal region of talin binding to the membrane-proximal NPxY motif in the integrin β cytoplasmic domain constitutes a final common step of signaling leading to integrin activation. Recent studies have shown that the interactions between FERM domain in the C-terminal region of kindlins and the membrane-distal NxxY motif in the integrin β cytoplasmic domain synergize with talin to activate integrin. There are three mammalian kindlins including kindlin-1, kindlin-2, kindlin-3 and the three human kindlins exhibit a high homology in amino acid sequence and an identical domain architecture as well. This review summarizes the distribution, domain structure and molecular activities of kindlins and provides a current overview of the roles of kindlins in integrin activation.

Key words kindlin; integrin; talin; bidirectional signal; activation

Received: January 4, 2010 Accepted: June 28, 2010

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China(No.30710103905) and the Science and Technology Commission of Shanghai Municipality(No.09410706800)

*Corresponding author. Tel: 86-21-64370045-610616, E-mail: xixiaodong@shsmu.edu.cn