

# 整合蛋白内化及再循环机制

张鲁馨 张欣 王继红\*

(辽宁师范大学生命科学学院, 大连 10165)

**摘要** 整合蛋白是一类异源二聚体跨膜受体, 通过介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质以及细胞与病原体间的相互作用, 影响细胞增殖、迁移、分化和凋亡, 因此在癌症等疾病发生过程中具有重要的作用。整合蛋白的构象和活性决定了其与配体的结合能力, 这种结合能力对整合蛋白功能的调控起到至关重要的作用。研究发现, 某些整合蛋白能持续地从细胞表面内化形成内体, 然后再循环到细胞表面, 这个过程主要通过快速(短环路)和缓慢(长环路)两种循环途径完成。以上表明, 整合蛋白的内化和再循环途径受到时间和空间上的调控。该综述阐述了整合蛋白内化的分子机制和再循环路径。

**关键词** 整合蛋白; 内化; 再循环路径

## The Mechanism of Integrin Internalization and Recycling

Zhang Luxin, Zhang Xin, Wang Jihong\*

(College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian 10165, China)

**Abstract** Integrins are heterodimeric transmembrane receptors implicated in cell proliferation, migration, differentiation and apoptosis by mediating the interaction of cells with cells, extracellular matrix (ECM) and pathogens, and play an important role in the progression of diseases like cancer. The ability of integrin binding with ligands depends on its conformation and activity, which plays a key role in the regulation of integrin function. Many studies have found that certain integrin heterodimers are continuously internalized from the plasma membrane into endosomal compartments and subsequently recycled back to the cell surface. This process is mainly through fast (short-loop) and slow (long-loop) pathways to complete recycle. It indicates a tempo-spatial regulation for the integrin internalization and recycling pathways. This review elucidates the molecular mechanisms and recycling pathways of integrin internalization.

**Keywords** integrin; internalization; recycling pathways

整合蛋白是一类异源二聚体跨膜受体, 由 $\alpha$ 和 $\beta$ 两种亚基组成, 其 $\alpha$ 和 $\beta$ 亚基是典型的I型跨膜蛋白, 具有一个较大的细胞外结构域和一个较短的细胞内结构域。通过18种 $\alpha$ 亚基和8种 $\beta$ 亚基的不同组合, 可以形成24种整合蛋白异源二聚体。整合蛋白能与细胞内肌动蛋白骨架相结合进而调节细胞内环境, 介

导细胞与细胞、细胞与细胞外基质(包括胶原蛋白、层黏连蛋白、纤连蛋白和玻连蛋白<sup>[1]</sup>)以及细胞与病原体间的相互作用。整合蛋白还能够调控细胞增殖、分化、凋亡和迁移, 在免疫反应和癌症等疾病的发生过程中具有重要的作用<sup>[2]</sup>。整合蛋白功能的正常发挥是通过其配体亲和性的动态调节实现的:

收稿日期: 2017-03-29 接受日期: 2017-05-31

国家高技术研究发展计划(863项目)(批准号: 2014AA093502)和国家自然科学基金(批准号: 30770297)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 010-85827097, E-mail: jihongwang999@hotmail.com.

Received: March 29, 2017 Accepted: May 31, 2017

This work was supported by the National High-Tech Research and Development Program (863 Program) (Grant No.2014AA093502) and the National Natural Science Foundation of China (Grant No.30770297)

\*Corresponding author. Tel: +86-10-85827097, E-mail: jihongwang999@hotmail.com

网络出版时间: 2017-07-20 17:02:30 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170720.1702.002.html>

细胞在未受到任何刺激的情况下, 细胞膜表面的整合蛋白处于一种低活性构象, 表现为低配体亲和性; 当细胞受到刺激后, 细胞内部的相关信号通路被激活, 整合蛋白由低活性的折叠构象变为高活性的延伸构象, 完成整合蛋白活化并与配体以高亲和性结合。整合蛋白还一类重要的信号分子, 可以调控跨膜的双向信号转导: 整合蛋白胞外域与细胞外配体的结合引起从细胞外到细胞内的信号转导, 细胞内蛋白质与整合蛋白胞内域的结合促使整合蛋白活化, 调控从细胞内到细胞外的信号转导<sup>[2]</sup>。

近20年的研究表明, 某些整合蛋白异源二聚体能持续地从细胞膜表面内化到细胞内的内体(endosome), 随后通过长环路(long-loop)和短环路(short-loop)途径再循环到细胞表面, 表明整合蛋白的内化和再循环途径受到时间和空间上的调控<sup>[3]</sup>。对于内化至胞内的整合蛋白而言, 一些无活性的整合蛋白可在30分钟内被清除, 需要被降解的整合蛋白在细胞内的转运过程较慢<sup>[4]</sup>, 因此大多数内化的整合蛋白发生再循环<sup>[5]</sup>。细胞表面整合蛋白分布的精密调控可影响整合蛋白的功能, 不同的整合蛋白内化和再循环过程调控了细胞的迁移、侵袭和转移。本综述总结了前人的研究结果, 阐述了调控内化的分子机制和再循环路径。

## 1 整合蛋白内化

整合蛋白主要通过内吞作用被内化到细胞中。内吞过程主要包括依赖网格蛋白、不依赖网格蛋白以及新发现的依赖巨胞饮三种途径。内吞调控物的直接招募是促使整合蛋白内吞到细胞中的主要原因。例如, 整合蛋白 $\beta 6$ 胞质末端造血细胞特异蛋白1(haematopoietic cell-specific protein 1, HS1)相关蛋白X-1(HAX-1)的招募<sup>[6]</sup>以及整合蛋白 $\alpha$ 亚基胞质末端Rab21的招募<sup>[7]</sup>。Rab蛋白是小分子GTP结合蛋白, 由200个氨基酸组成, 参与囊泡运输的不同阶段, 已有70多种人类Rab蛋白编码基因被克隆和鉴定。这些内吞调控物的直接招募促进了相应的整合蛋白内化到细胞中。此外, 在内皮细胞中,  $\alpha 5 \beta 1$ 整合蛋白活化后, 神经毡蛋白与GIPC1(G-protein signaling-GAIP-interacting protein COOH terminus 1, 与小GTP酶活化蛋白羧基端相互作用的蛋白)构成的复合物的招募可使 $\alpha 5 \beta 1$ 整合蛋白内化到细胞中<sup>[8]</sup>。同时, GIPC1也能调控 $\alpha 5 \beta 1$ 整合蛋白内化到表达Rab21的

囊泡中<sup>[9]</sup>。这些都表明, 调控整合蛋白内化的机制是保守的。

### 1.1 依赖网格蛋白的内吞

依赖网格蛋白的内吞主要包括以下几个过程。首先, 网格蛋白被招募到细胞膜, 聚合形成网格蛋白有被小窝(clathrin-coated pit, CCP)。然后, 网格蛋白有被小窝开始成核化, 在这个过程中, 磷脂酰肌醇4,5-二磷酸[PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>]、表皮生长因子受体通路底物15(epidermal growth factor receptor pathway substrate 15, Eps15)、交叉蛋白(intersectins)和FCHO蛋白(Fer/Cip4 homology domain only proteins)等物质决定了网格蛋白有被小窝的形成位点。这个“成核模式”通过招募网格蛋白——衔接蛋白AP-2(adaptor protein-2)和一些介导物质分选的特异性衔接蛋白, 对依赖网格蛋白内吞到细胞内的跨膜蛋白进行分选。接着, 细胞膜发生内陷, GTP酶发动蛋白(dynamin)被招募到CCP的颈部, 随后, GTP水解使发动蛋白自解聚, 最终, 导致网格蛋白包被去组装, 形成含有物质的内体囊泡<sup>[10]</sup>, 从而介导物质的内吞。

网格蛋白衔接蛋白Numb、Dab2(clathrin adaptors disabled homologue 2)与Eps8(epidermal growth factor receptor pathway substrate 8)的磷酸化酪氨酸结合区域(phosphotyrosine-binding, PTB)与整合蛋白 $\beta$ 亚基胞质末端保守的NPxY/NxxY模体相互作用后, 可调控整合蛋白以依赖网格蛋白的方式内吞入细胞<sup>[11]</sup>。例如, Numb的磷酸化可调控 $\beta 1$ 和 $\beta 3$ 整合蛋白内化并促进细胞迁移<sup>[12]</sup>。Dab2与衔接蛋白ARH(autosomal recessive hypercholesterolemia)和/或AP-2结合可促进活化的 $\beta 1$ 整合蛋白内吞入细胞, 调节微管依赖的细胞黏附<sup>[13]</sup>。同时, Dab2也可招募Eps15蛋白特异性地调控非活化的 $\alpha 1 \beta 1$ 、 $\alpha 2 \beta 1$ 和 $\alpha 3 \beta 1$ 整合蛋白内化入细胞<sup>[14]</sup>。

Arf GTP酶(ADP-ribosylation factor GTPase)也可调控整合蛋白依赖网格蛋白内吞入细胞。例如, Arf6 GAP ARAP2(ArfGAP with RhoGAP domain, ankyrin repeat and PH domain 2, 含有RhoGAP结构, 锚定蛋白重复结构域和PH结构域2的ADP核糖基化因子GTP酶活化蛋白)可调控 $\beta 1$ 整合蛋白依赖网格蛋白的内化和细胞黏附解聚的过程<sup>[14]</sup>。ADP核糖基化因子5(ADP-ribosylation factor 5, Arf5)/Arf6 GEF BRAG2(布雷菲德菌抗性的Arf-GEF2)通过网格蛋白和衔接蛋白AP-2激活ADP核糖基化因子5(Arf5), 进而促进癌细胞中 $\alpha 5 \beta 1$

的内化<sup>[15]</sup>并调控内皮细胞形成和血管生成<sup>[16]</sup>。

### 1.2 不依赖网格蛋白的内吞

研究表明,一些整合蛋白也能以不依赖网格蛋白的方式内吞入细胞,其中,大部分整合蛋白依赖胞膜窖(caveolae)内吞到细胞中<sup>[17]</sup>。例如,肌成纤维细胞中的 $\alpha 5\beta 1$ 整合蛋白<sup>[18]</sup>、骨肉瘤细胞系中的 $\alpha 2\beta 1$ 整合蛋白以及骨髓间充质干细胞中的 $\beta 1$ 整合蛋白,它们的内化均与胞膜窖有关<sup>[16]</sup>。白细胞发生迁移时,白细胞膜表面的 $\alpha L\beta 2$ 整合蛋白在黏附分子JAM-A(junctional adhesion molecule-A)的帮助下依赖胞膜窖内吞入细胞<sup>[19]</sup>。在成纤维细胞中,黏结蛋白聚体(syndecan-4,跨膜硫酸乙酰肝素蛋白多糖家族成员之一)与纤维蛋白的结合(不同于整合蛋白的结合位点),通过PKC $\alpha$ (protein kinase C alpha)和Rho GTP酶引发一个信号级联反应,这个过程促进了 $\beta 1$ 整合蛋白的内吞<sup>[20]</sup>。 $\beta 1$ 整合蛋白的内吞使细胞表面的整合蛋白重新分布,进而促进了细胞迁移和伤口愈合<sup>[19]</sup>。研究发现,PKC $\alpha$ 对整合蛋白内化和趋触性细胞迁移的调控与胞膜窖的功能相关<sup>[21]</sup>。PKC $\alpha$ 激活成蛋白FMNL2(formin-like protein 2),促使其直接与 $\beta 1$ 整合蛋白结合,随后将 $\beta 1$ 整合蛋白内化到细胞中,但这个依赖胞膜窖的特异性途径目前并不清楚<sup>[22]</sup>。

此外,一些整合蛋白也可依赖其他方式发生内化,如 $\alpha 5\beta 1$ 整合蛋白也可依赖SCAR/WAVE(WASP family verprolin homologous protein,定位于细胞的片状伪足,参与细胞运动)肌动蛋白成核复合体内化到细胞中<sup>[23]</sup>。ADP核糖基化因子4(Arf4)通常与高尔基体运输有关,在介导物质内吞的运输过程中发挥间接作用<sup>[24]</sup>。在Rab21表达的癌细胞中,活化的整合蛋白可依赖Arf4快速地内化到晚期内体(late endosomes, LEs)或者溶酶体。

### 1.3 依赖巨胞饮的内吞

新近研究表明,在生长因子刺激的成纤维细胞中,整合蛋白依赖巨胞饮内化到细胞中。例如,血小板来源生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)刺激成纤维细胞圆背皱褶(circular dorsal ruffles)形成,使 $\beta 1$ 和 $\beta 3$ 整合蛋白在细胞背部积累,通过巨胞饮作用被逐渐内化到细胞中并促使细胞前缘新的黏附位点形成<sup>[25]</sup>。

## 2 内吞后再循环路径

内化到胞内的整合蛋白通过长环路和短环

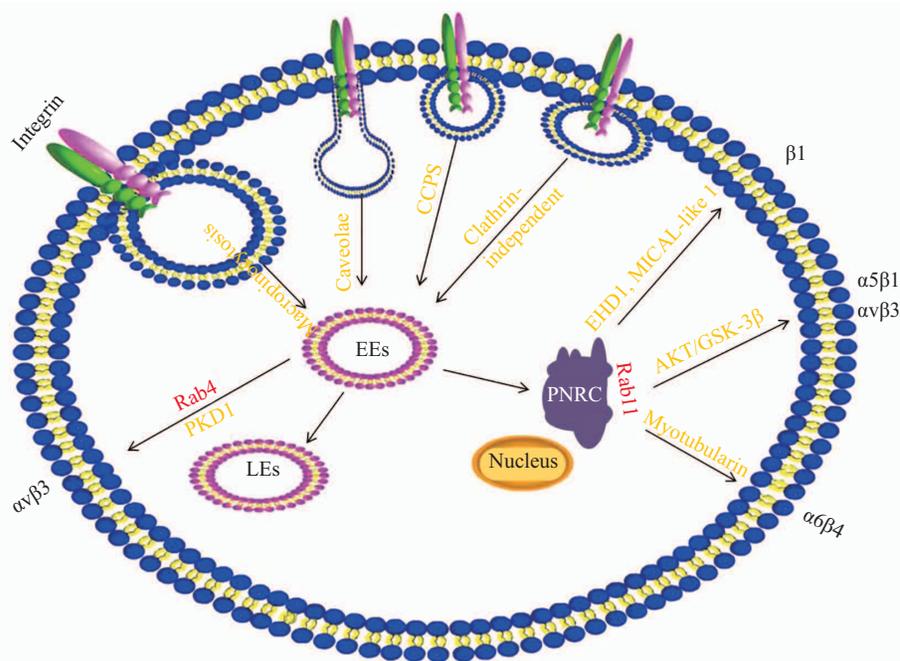
路发生循环最终返回到细胞膜表面(图1)。内化的整合蛋白首先被迅速地转运至早期内体(early endosomes, EEs),在这里整合蛋白发生分选<sup>[5]</sup>。需要被降解的整合蛋白会被转运到多泡体和晚期内体(late endosomes, LEs),随后进入溶酶体被降解<sup>[4]</sup>。被选为短环路循环的整合蛋白会被分选进入早期内体的特殊亚区域内,然后在Rab4 GTP酶的调控下迅速返回到细胞膜,以此完成一个短环路再循环。另外,一些整合蛋白通过EEs到细胞核周围循环小室(perinuclear recycling compartment, PNRC),依赖Rab11和Arf6返回到细胞膜,以此完成一个长环路再循环<sup>[26]</sup>。

### 2.1 依赖Rab11和Arf6的长环路再循环

整合蛋白通过PNRC的长环路再循环主要依赖于细胞迁移相关的GTP酶Rab11和Arf6<sup>[28]</sup>。例如,蛋白激酶B(protein kinase B, PKB/AKT)通过磷酸化糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (glycogen synthase kinase-3 beta, GSK-3 $\beta$ ),使 $\alpha v\beta 3$ 和 $\alpha 5\beta 1$ 整合蛋白在未被刺激的成纤维细胞中依赖Rab11进行长环路再循环<sup>[27]</sup>。在PNRC处通过MICALL1(MICAL-like 1,能与Rab GTP酶相互作用,参与囊泡运输过程)和磷酸肌醇通过招募EHD1(EH domain binding protein 1,包含Eps15同源结构域,可调控循环受体返回到细胞膜的蛋白)到血管,使 $\beta 1$ 整合蛋白发生依赖Rab11的长环路再循环<sup>[28-29]</sup>。EHD蛋白是整合蛋白长环路再循环路径中最为普遍的调控物。另外,还有一些物质对整合蛋白长环路再循环具有选择性调控。例如,在迁移细胞中,RCP(Rab-coupling protein)与 $\alpha 5\beta 1$ 整合蛋白结合,调控 $\alpha 5\beta 1$ 整合蛋白的长环路再循环<sup>[30]</sup>。在果蝇属细胞中,磷酸肌醇磷酸酶——肌微管素的存在使整合蛋白 $\alpha 6\beta 4$ 发生依赖Rab11和Arf6的长环路再循环<sup>[31]</sup>。此外,在内体体系中,可溶性N-乙基马来酰亚胺敏感因子附着蛋白受体(soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor, SNARE)在囊泡的锚定和融合过程中发挥了重要的作用,几个SNAREs[如syntaxin 6、SNAP29(synaptosome-associated protein 29)、syntaxin 4、SNAP23]和R-SNAREs[如VAMP2(vesicle-associated membrane protein 2)、VAMP3]已经被证明能够调节 $\beta 1$ 整合蛋白的长环路再循环<sup>[32]</sup>。

### 2.2 依赖Rab4的短环路再循环

整合蛋白也可依赖Rab4进行短环路再循环,整



细胞表面的整合蛋白大部分可通过内吞的方式内化到细胞中。内吞过程主要包括依赖网格蛋白、不依赖网格蛋白(其中,以依赖胞膜窝的内吞最为常见)以及新近研究表明的依赖巨胞饮的内吞。内化到胞内的整合蛋白首先被迅速地转运至早期内体,在这里整合蛋白发生分选<sup>[5]</sup>。需要被降解的整合蛋白会被转运到多泡体和晚期内体,随后进入溶酶体被降解<sup>[4]</sup>。被选为短环路循环的整合蛋白会被分选进入早期内体的特殊亚区域内,然后在Rab4 GTP酶的调控下迅速返回到细胞膜,以此完成一个短环路再循环。另外,一些整合蛋白通过EEs到细胞核周围循环小室,依赖Rab11和Arf6返回到细胞膜,以此完成一个长环路再循环<sup>[26]</sup>。

Mostly integrin of cell surface can be internalised by endocytosis. Endocytosis process mainly includes clathrin-dependent endocytosis, clathrin-independent endocytosis (endocytosis mediated by caveolae are the most common), and recently studies show that macropinocytosis. Internalised integrins are rapidly trafficked to early endosomes (EEs), where integrin are sorted for degradation or recycling. Integrin that are destined for degradation are transported to multivesicular bodies and late endosomes (LEs), then into lysosome to be degraded. Those selected for short-loop recycling are sorted to particular subdomains of EEs and then rapidly returned to the plasma membrane under control of the Rab4 GTPase, thus completing a short-loop of recycling. Alternatively, integrin may pass from EEs to the perinuclear recycling compartment (PNRC) and return to the plasma membrane via a Rab11-dependent and Arf6-dependent mechanism, thus completing a long-loop recycling.

图1 整合蛋白内化及再循环路径示意图

Fig.1 Schematic of integrin internalization and recycling pathway

合蛋白从EEs返回到细胞膜这一过程并没有通过PNRC。例如,  $\alpha v \beta 3$ 整合蛋白依赖Rab4发生短环路再循环,可直接调控细胞的持续迁移过程<sup>[33]</sup>以及内皮血管分支化形态的发生<sup>[34]</sup>。成纤维细胞中的 $\beta 1$ 整合蛋白,在PDGF刺激后通过依赖Rab4的方式返回到细胞膜,乳腺癌细胞系中无活性的 $\beta 1$ 整合蛋白再循环也依赖于Rab4<sup>[35]</sup>。还有研究表明,监视蛋白(supervillin)也能调节 $\beta 1$ 和 $\beta 3$ 整合蛋白的短环路再循环<sup>[36]</sup>。

在生长因子或血清刺激的细胞中, Rab4短环路可选择性地调控整合蛋白再循环<sup>[24]</sup>。特异性整合蛋白被招募的机制目前并不清楚,但其进入到分选区域内受到Rabaptin-5(一类谷氨酰转氨酶,调节胞吞作用的不同阶段)的调控。蛋白激酶D(protein kinase D, PKD)介导的信号通路可调节 $\alpha v \beta 3$ 整合蛋白依赖Rab4发生短环路再循环<sup>[37]</sup>。在此过程中, PKD使

Rabaptin-5发生磷酸化是 $\alpha v \beta 3$ 整合蛋白再循环的必要且充分条件。磷酸化的Rabaptin-5能与Rab4相互作用,使 $\alpha v \beta 3$ 整合蛋白进行短环路再循环。在这个 $\alpha v \beta 3$ 整合蛋白短环路再循环过程中, Rabaptin-5的磷酸化可能调控了Rab4招募到EEs的亚结构域中,以此使整合蛋白从EEs返回到细胞膜进行再循环。

### 3 整合蛋白转运促进癌细胞侵袭和迁移

整合蛋白在细胞的黏附、增殖、分化、转移、凋亡等过程中起着关键的调控作用,在肿瘤的侵袭和迁移过程中发挥重要作用。许多研究表明,整合蛋白的内化和再循环可促进癌细胞侵袭和迁移。整合蛋白内化是调控癌细胞侵袭的重要事件。例如, HS1相关蛋白X-1(HAX-1)通过调控依赖网格蛋白的 $\alpha v \beta 6$ 整合蛋白内吞,促进癌细胞器官性的侵袭<sup>[6]</sup>。成蛋白

FMNL2(formin-like protein 2)被PKC $\alpha$ 和RhoC(Ras homologous C)激活后,通过与 $\beta$ 1整合蛋白中的 $\alpha$ 链相互作用,使整合蛋白内化进而促进黑色素瘤细胞侵袭<sup>[22]</sup>。RhoC与 $\alpha$ 5 $\beta$ 1整合蛋白相互作用后,增强 $\alpha$ 5 $\beta$ 1整合蛋白的内化,促进胰腺癌细胞的侵袭<sup>[38]</sup>。同时,有研究表明,整合蛋白再循环可介导侵袭性的细胞迁移。例如,调控依赖Rab11的 $\alpha$ v $\beta$ 6整合蛋白再循环,可促进缺氧条件下癌细胞的迁移。调控依赖Arf6-AMAP1的 $\alpha$ 3 $\beta$ 1整合蛋白再循环,可诱导乳腺癌细胞发生侵袭性的细胞迁移<sup>[39]</sup>。细胞中纤连蛋白表达较少或者不存在时, $\alpha$ v $\beta$ 3整合蛋白可通过Rab4-Rabaptin-5-PKD1途径发生再循环,在细胞外基质中促进癌细胞迁移和侵袭<sup>[37]</sup>。

#### 4 展望

整合蛋白内化是一个动态过程,可影响细胞迁移、侵袭和胞质分裂。整合蛋白内化及再循环机制为研究整合蛋白功能和细胞能动性机制提供了基础,但仍有部分问题尚未被解决。例如,生长因子的刺激为何导致整合蛋白内化和再循环过程发生改变<sup>[40]</sup>,整合蛋白受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)共转运为何能增强信号转导、整合蛋白-监理蛋白-4复合物为何具有抑制RTK内吞、增强信号转导的作用<sup>[24]</sup>。清楚了解这些事件是如何共同相互协调合作将帮助我们揭示细胞中复杂的信号转导途径。目前的技术已经发展到可精确地对整合蛋白内化过程进行图像定位,未来的技术有望发展到使整合蛋白内化过程可视化,在物质转运过程中揭示细胞体系中微米和纳米级别的细胞器,从而帮助我们更深入地理解整合蛋白内化过程及对细胞迁移和细胞能动性的影响。

#### 参考文献 (References)

- Humphries JD, Byron A, Humphries MJ. Integrin ligands at a glance. *J Cell Sci* 2006; 119(Pt 19): 3901-3.
- Legate KR, Wickstrom SA, Fassler R. Genetic and cell biological analysis of integrin outside-in signaling. *Genes Dev* 2009; 23(4): 397-418.
- De Franceschi N, Hamidi H, Alanko J, Sahgal P, Ivaska J. Integrin traffic—the update. *J Cell Sci* 2015; 128(5): 839-52.
- Dozynkiewicz MA, Jamieson NB, Macpherson I, Grindlay J, van den Berghe PV, von Thun A, *et al.* Rab25 and CLIC3 collaborate to promote integrin recycling from late endosomes/lysosomes and drive cancer progression. *Dev Cell* 2012; 22(1): 131-45.
- Bridgewater RE, Norman JC, Caswell PT. Integrin trafficking at a glance. *J Cell Sci* 2012; 125(Pt 16): 3695-701.
- Ramsay AG, Keppler MD, Jazayeri M, Thomas GJ, Parsons M, Violette S, *et al.* HSI-associated protein X-1 regulates carcinoma cell migration and invasion via clathrin-mediated endocytosis of integrin alphavbeta6. *Cancer Res* 2007; 67(11): 5275-84.
- Pellinen T, Arjonen A, Vuoriluoto K, Kallio K, Fransén JA, Ivaska J. Small GTPase Rab21 regulates cell adhesion and controls endosomal traffic of beta1-integrins. *J Cell Biol* 2006; 173(5): 767-80.
- Valdembri D, Caswell PT, Anderson KI, Schwarz JP, König I, Astanina E, *et al.* Neuropilin-1/GIPC1 signaling regulates alpha5beta1 integrin traffic and function in endothelial cells. *PLoS Biol* 2009; 7(1): e25.
- Spicer E, Suckert C, Al-Attar H, Marsden M. Integrin alpha5beta1 function is regulated by XGIPC/kermit2 mediated endocytosis during *Xenopus laevis* gastrulation. *PLoS One* 2010; 5(5): e10665.
- McMahon HT, Boucrot E. Molecular mechanism and physiological functions of clathrin-mediated endocytosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12(8): 517-33.
- 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.
- Nishimura T, Kaibuchi K. Numb controls integrin endocytosis for directional cell migration with aPKC and PAR-3. *Dev Cell* 2007; 13(1): 15-28.
- Chao WT, Kunz J. Focal adhesion disassembly requires clathrin-dependent endocytosis of integrins. *FEBS Lett* 2009; 583(8): 1337-43.
- Chen PW, Luo R, Jian X, Randazzo PA. The Arf6 GTPase-activating proteins ARAP2 and ACAP1 define distinct endosomal compartments that regulate integrin alpha5beta1 traffic. *J Biol Chem* 2014; 289(44): 30237-48.
- Moravec R, Conger KK, D'Souza R, Allison AB, Casanova JE. BRAG2/GEP100/IQSec1 interacts with clathrin and regulates alpha5beta1 integrin endocytosis through activation of ADP ribosylation factor 5 (Arf5). *J Biol Chem* 2012; 287(37): 31138-47.
- Manavski Y, Carmona G, Bennewitz K, Tang Z, Zhang F, Sakurai A, *et al.* Brag2 differentially regulates beta1- and beta3-integrin-dependent adhesion in endothelial cells and is involved in developmental and pathological angiogenesis. *Basic Res Cardiol* 2014; 109(2): 404.
- Du J, Chen X, Liang X, Zhang G, Xu J, He L, *et al.* Integrin activation and internalization on soft ECM as a mechanism of induction of stem cell differentiation by ECM elasticity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(23): 9466-71.
- Shi F, Sottile J. Caveolin-1-dependent beta1 integrin endocytosis is a critical regulator of fibronectin turnover. *J Cell Sci* 2008; 121(Pt 14): 2360-71.
- Cera MR, Fabbri M, Molendini C, Corada M, Orsenigo F, Rehberg M, *et al.* JAM-A promotes neutrophil chemotaxis by controlling integrin internalization and recycling. *J Cell Sci* 2009; 122(Pt 2): 268-77.
- 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.
- 21 Fletcher SJ, Rappoport JZ. Moving forward: Polarised trafficking in cell migration. *Trends Cell Biol* 2010; 20(2): 71-8.
- 22 Wang Y, Arjonen A, Pouwels J, Ta H, Pausch P, Bange G, *et al.* Formin-like 2 promotes beta1-integrin trafficking and invasive motility downstream of PKCalpha. *Dev Cell* 2015; 34(4): 475-83.
- 23 Rainero E, Howe JD, Caswell PT, Jamieson NB, Anderson K, Critchley DR, *et al.* Ligand-occupied integrin internalization links nutrient signaling to invasive migration. *Cell Rep* 2015; doi: 10.1016/j.celrep.2014.12.037.
- 24 Donaldson JG, Jackson CL. ARF family G proteins and their regulators: Roles in membrane transport, development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12(6): 362-75.
- 25 Gu Z, Noss EH, Hsu VW, Brenner MB. Integrins traffic rapidly via circular dorsal ruffles and macropinocytosis during stimulated cell migration. *J Cell Biol* 2011; 193(1): 61-70.
- 26 Grant BD, Donaldson JG. Pathways and mechanisms of endocytic recycling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10(9): 597-608.
- 27 Roberts MS, Woods AJ, Dale TC, Van Der Sluijs P, Norman JC. Protein kinase B/Akt acts via glycogen synthase kinase 3 to regulate recycling of alpha v beta 3 and alpha 5 beta 1 integrins. *Mol Cell Biol* 2004; 24(4): 1505-15.
- 28 Jovic M, Kieken F, Naslavsky N, Sorgen PL, Caplan S. Eps15 homology domain 1-associated tubules contain phosphatidylinositol-4-phosphate and phosphatidylinositol-(4,5)-bisphosphate and are required for efficient recycling. *Mol Biol Cell* 2009; 20(11): 2731-43.
- 29 Sharma M, Giridharan SS, Rahajeng J, Naslavsky N, Caplan S. MICAL-L1 links EHD1 to tubular recycling endosomes and regulates receptor recycling. *Mol Biol Cell* 2009; 20(24): 5181-94.
- 30 Muller PA, Caswell PT, Doyle B, Iwanicki MP, Tan EH, Karim S, *et al.* Mutant p53 drives invasion by promoting integrin recycling. *Cell* 2009; 139(7): 1327-41.
- 31 Ribeiro I, Yuan L, Tanentzapf G, Dowling JJ, Kiger A. Phosphoinositide regulation of integrin trafficking required for muscle attachment and maintenance. *PLoS Genet* 2011; 7(2): e1001295.
- 32 Tiwari A, Jung JJ, Inamdar SM, Brown CO, Goel A, Choudhury A. Endothelial cell migration on fibronectin is regulated by syntaxin 6-mediated alpha5beta1 integrin recycling. *J Biol Chem* 2011; 286(42): 36749-61.
- 33 di Blasio L, Droetto S, Norman J, Bussolino F, Primo L. Protein kinase D1 regulates VEGF-A-induced alphavbeta3 integrin trafficking and endothelial cell migration. *Traffic* 2010; 11(8): 1107-18.
- 34 Jones MC, Caswell PT, Moran-Jones K, Roberts M, Barry ST, Gampel A, *et al.* VEGFR1 (Flt1) regulates Rab4 recycling to control fibronectin polymerization and endothelial vessel branching. *Traffic* 2009; 10(6): 754-66.
- 35 Arjonen A, Alanko J, Veltel S, Ivaska J. Distinct recycling of active and inactive beta1 integrins. *Traffic* 2012; 13(4): 610-25.
- 36 Fang Z, Takizawa N, Wilson KA, Smith TC, Delprato A, Davidson MW, *et al.* The membrane-associated protein, supervillin, accelerates F-actin-dependent rapid integrin recycling and cell motility. *Traffic* 2010; 11(6): 782-99.
- 37 Christoforides C, Rainero E, Brown KK, Norman JC, Toker A. PKD controls alphavbeta3 integrin recycling and tumor cell invasive migration through its substrate Rabaptin-5. *Dev Cell* 2012; 23(3): 560-72.
- 38 Li NF, Gemenetzidis E, Marshall FJ, Davies D, Yu Y, Frese K, *et al.* RhoC interacts with integrin alpha5beta1 and enhances its trafficking in migrating pancreatic carcinoma cells. *PLoS One* 2013; 8(12): e81575.
- 39 Onodera Y, Nam JM, Hashimoto A, Norman JC, Shirato H, Hashimoto S, *et al.* Rab5c promotes AMAP1-PRKD2 complex formation to enhance beta1 integrin recycling in EGF-induced cancer invasion. *J Cell Biol* 2012; 197(7): 983-96.
- 40 Mai A, Muharram G, Barrow-McGee R, Baghirov H, Rantala J, Kermorgant S, *et al.* Distinct c-Met activation mechanisms induce cell rounding or invasion through pathways involving integrins, RhoA and HIP1. *J Cell Sci* 2014; 127(Pt 9): 1938-52.
- 41 Muller PA, Trinidad AG, Timpson P, Morton JP, Zanivan S, van den Berghe PV, *et al.* Mutant p53 enhances MET trafficking and signalling to drive cell scattering and invasion. *Oncogene* 2013; 32(10): 1252-65.