

整合素连接激酶在肾脏疾病中的作用

景红 综述 魏珉, 宋红梅 审校

(中国医学科学院中国协和医科大学北京协和医院儿科, 北京 100730)

[中图分类号] R692 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2007)06-0619-03

肾脏排泄功能的完成是依赖于由3种不同细胞(系膜细胞、内皮细胞和足细胞)组成的肾小球来实现的。肾小球细胞被固定在肾小球基底膜(glomerular basement membrane, GBM)的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中。GBM是一种由细胞粘附糖蛋白,如IV型胶原、纤连蛋白(fibronectin, Fn)、层连蛋白和蛋白聚糖组成的胶样网状结构。肾小球细胞通过细胞表面的特异性受体连接整合素,被粘附并固定在这些基质中。

整合素是由 α 和 β 链组成的异二聚体跨膜分子,具有介导细胞粘附以及连接ECM和细胞骨架的作用。每种肾小球细胞表达一种由不同 α 和 β 亚单位组成的特异性异二聚体,并由此决定ECM配体的特异性。整合素通过细胞内信号转导途径的特性,来调控细胞的生物学行为如增殖、分化以及ECM的分泌^[1-3],影响细胞表型的变化。整合素和ECM的连接,使得信号转导至细胞内(由外向内的信号转导);同时细胞内的变化,也可以调节整合素的胞外段与ECM结合的亲和力(由内向外的信号转导)^[1]。整合素胞内段本身是缺少内在酶的活性的,但他们通过与其他接合分子(如踝蛋白、粘着斑蛋白、桩蛋白等)的连接,将整合素亚单位连接到肌动蛋白细胞骨架和胞浆激酶,如粘着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)、磷酸肌醇-3激酶(phosphatidylinositol-3 kinase, PI3-K)、整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK),起到信号转导的作用。

足细胞的细胞骨架和GBM的基质成分之间的相互作用,对于维持毛细血管襻结构,对抗跨毛细血管压力梯度是至关重要的。足细胞足突部的细胞骨架对于维持裂孔隔膜的完整性起关键作用。细胞骨架结构的紊乱可以导致足细胞足突的退缩以及滤过间隙的闭塞。因此,可以调控F-肌动蛋白的分子对于维持完整的肾小球滤过屏障起关键性作用。而进展性肾脏疾病是以足细胞的损伤以及足细胞和系膜细

胞合成的ECM增加为典型特征的^[6]。在细胞骨架和整合素之间的连接分子被认为是介导此损伤过程的关键调控分子。

1 ILK的主要结构以及下游分子对细胞骨架的影响

ILK是于1996年作为整合素 $\beta 1$ 亚单位胞内段的连接蛋白被分离并鉴定出来,进一步的研究证实,它可以与整合素 $\beta 1$ 和 $\beta 3$ 的胞内段结合^[5]。ILK是一种由452个氨基酸组成,并被广泛表达的多功能蛋白,包括3个主要的功能区。经体外试验证实,ILK具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性^[5],具有自身磷酸化和使其底物磷酸化的放大作用。其中,与调节细胞骨架有关的ILK下游分子主要包括:PINCH, α -parvin, β -parvin和paxillin^[6,7]。PINCH家族包括2个成员, PINCH结合于ILK的N-末端锚蛋白重复区域。 α -parvin和 β -parvin是两个相关的蛋白,由两个串连排列的区域——CH1和CH2组成,此区域与肌动蛋白的结合有关^[8]。 α -parvin和 β -parvin结合于ILK的C-末端激酶区域^[9,7]。当 β -parvin在CH2区发生磷酸化后,形成PINCH-ILK-parvin复合体,上调其下游的Rac和Rho,调节肌动蛋白细胞骨架^[10,11]。此外ILK还可以通过PINCH连接Nck-2,进一步结合DOCK180,通过Rac介导肌动蛋白细胞骨架的调节^[12]。

2 ILK的相关信号转导途径

ILK可以使一些关键信号分子,如PKB/Akt, GSK-3 β , β -parvin等发生磷酸化。同时ILK也是PI3-K的下游作用分子,PTEN和ILKAP^[13]可以负性调节ILK。活化的ILK,通过磷酸化PKB,抑制GSK-

[收稿日期]2007-04-04; [修回日期]2007-05-08

[作者简介]景红,女,博士研究生,住院医师。主攻方向:小儿肾病。

3 β 的活性,通过NF- κ B的介导,抑制细胞的凋亡。在上皮细胞中,ILK通过磷酸化GSK-3 β ,参与了Wnt信号转导途径的激活。ILK的过度表达,使得GSK-3 β 激酶活性下调,随后胞浆内的 β -catenin水平增加,并进入核内,使得核内LEF-1的表达增加,并形成LEF-1- β -catenin复合体。此复合体可以诱导细胞周期促进基因(如cyclins和c-myc)表达,促进细胞增殖。还可以使E-钙粘蛋白表达降低,减少细胞-细胞间和细胞-ECM间相互作用^[14]。

一方面,ILK通过对于PKB,GSK-3 β 磷酸化的调节,影响细胞生物学行为。另一方面,ILK通过增加其下游分子的激酶活性,形成ILK依赖的复合体,产生进一步磷酸化的作用。

3 在肾小球疾病中ILK的作用

最初发现ILK在肾小球滤过屏障损伤中激活的证据,是2001年来自芬兰型儿童先天性肾病综合征的资料^[15]。同年,Guo等^[16]对比了糖尿病患者与正常肾小球中,ILK蛋白水平的表达及分布情况,并研究了大鼠系膜细胞在高糖培养状态下,上调ILK蛋白水平。此外在进展性肾病的动物模型中,也发现了在受损的肾小球和足细胞中,ILK的mRNA水平明显升高^[15]。并且发现在小鼠肾毒性药物所致肾炎的模型中,ILK的mRNA水平的升高是与蛋白尿的程度平行的^[15]。进一步对于体外培养的小鼠足细胞的研究发现,血管紧张素II与高糖状态均可调节整合素-ILK系统^[17],并认为这一系统在糖尿病肾病以及其他涉及足细胞损伤的肾脏疾病的发病机制中起到一定的作用。

为了模仿体内足细胞损伤的情况,研究者用嘌呤霉素通过氧化应激作用损伤足细胞,造成选择性蛋白尿和肾小球硬化。此试验中,发现足细胞的增殖以及对ECM粘附性降低的现象,同时还发现氧化应激对于ILK活性的激活作用是呈剂量依赖性的^[15],加入ILK的抑制物,则可以恢复足细胞非增殖性、粘附性的表型^[18]。近年,有研究者观察了足细胞特异性ILK缺失的小鼠,发现GBM结构的显著性改变、足细胞的损伤,以及进行性肾小球硬化^[19]。其中PINCH-ILK- α -parvin复合体的形成和磷酸化,对于维持足细胞的细胞骨架、粘附性的调节和维持存活具有重要作用^[20]。对于上皮细胞的研究表明,ILK通过激活 β -catenin/LEF-1转录程序,调节上皮细胞的表型。ILK活性的增加,导致了 β -catenin移位至细胞核中,而且LEF-1也在细胞核中聚集。同

时伴有以肌动蛋白为基础的细胞骨架的紊乱,以及P-钙粘蛋白(足细胞裂孔隔膜的一种成分)的下调。抑制ILK的活性可以阻止 β -catenin的转录及其下游分子的活化^[18,15]。

Fn在肾小球系膜的沉积是肾小球硬化的标志性特征。既往的研究显示了整合素胞内段以及与其相连接的蛋白对于Fn的富集作用。Guo等^[4]证实了在原代系膜细胞可以形成PINCH-ILK- α -parvin复合体,而抑制这种复合体则可显著的减少Fn的沉积和系膜细胞的增殖。对于人类系膜细胞的研究发现,将趋化因子(SLC)与其受体CCR7结合后,其下游的GSK-3 β 和PKB/Akt磷酸化水平增加,导致了F-肌动蛋白的重新分布,细胞粘附性的增加^[21]。此证据直接支持了ILK参与了系膜细胞中趋化因子-受体信号转导途径。

4 ILK介导的上皮细胞转分化在肾脏疾病中的作用

研究发现,在乳腺上皮细胞中ILK通过活化Wnt途径的下游分子,实现上皮细胞转分化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)作用。足细胞中ILK依赖的 β -catenin/LEF-1途径的活化,以及随后的上皮细胞标志物P-钙粘蛋白的下调和间质标志物MMP-9的诱导上调,均提示了在肾小球疾病中这条信号转导途径的激活^[22]。将系膜细胞分别种植于I型胶原与IV型胶原,发现I型胶原能够上调ILK的活性,并且诱导TGF- β 1的分泌;而缺乏激酶活性的ILK的过度表达则能够抑制TGF- β 1的分泌^[23]。

Li等^[24]研究结果表明,在小管间质纤维化的过程中,TGF- β 1依赖的ILK的激活作用参与到了EMT的过程中。TGF- β 1的最初靶细胞是小管上皮细胞^[25],TGF- β 1通过上调ILK和PKB/Akt的活性来诱导EMT。小管上皮细胞的EMT过程,是一种表型转变的过程,此过程导致了肌动蛋白的结构重组以及上皮细胞粘附性缺失。从而使上皮细胞从GBM脱离,而增强了迁移能力^[25]。发生了EMT的小管上皮细胞表现出上皮细胞标志物E-钙粘蛋白的下调、Fn等ECM的富集与沉积。在单侧阻断输尿管的模型中,发生纤维化的区域的ILK水平增高,而肝细胞生长因子(HGF)在体外可以阻断ILK的诱导活化以及小管的EMT过程,并且在上述模型中可以减少ILK增高的水平和肾脏的纤维化^[24]。

5 结语

许多分子可以直接与整合素的胞内段相互作用,而更多的分子则是间接的连接到整合素的胞内段与细胞骨架之间。这些复合体结构介导了细胞与ECM之间的相互作用。近年的研究主要集中在ILK在连接整合素和肌动蛋白之间所起的重要作用方面。但是,ILK是通过哪条关键信号转导途径来影响基本的细胞生物学行为(凋亡、粘附、增殖等),目前还正在积极探索中。ILK作为下游的介导分子在许多方面起重要作用,主要包括:肾小球的损伤、系膜细胞的炎症反应、GBM结构及粘附性的改变、足细胞表型的转变以及肾小管上皮细胞EMT过程等。近年来,有学者发现ILK甚至介导了胚胎时期肾脏细胞(上皮细胞)的形态发生,由此可见ILK对于肾脏的重要意义。由于目前对于ILK活性的调节机制仍处在研究过程中,这方面的研究将有助于我们提高对于肾损伤中细胞-ECM-细胞骨架改变的认识,并为今后研究进展性肾脏疾病的保护性治疗提供了很好的前景。

[参 考 文 献]

[1] O'Toole TE, Katagiri Y, Faull RJ, Peter K, Tamura R, Quaranta V, et al. Integrin cytoplasmic domains mediate inside-out signal transduction[J]. *J Cell Biol*, 1994, 124(6): 1047-1059.

[2] Danen EH, Sonnenberg A. Integrins in regulation of tissue development and function[J]. *J Pathol*, 2003, 201(4): 632-641.

[3] Kagami S, Kondo S. Beta1-integrins and glomerular injury[J]. *J Med Invest*, 2004, 51(1-2): 1-13.

[4] Guo L, Wu C. Regulation of fibronectin matrix deposition and cell proliferation by the PINCH-ILK-CH-ILKBP complex[J]. *FASEB J* 2002, 16(10): 1298-1300.

[5] Hannigan GE, Leung-Hagesteijn C, Fitz-Gibbon L, Coppolino MG, Radeva G, Filmus J, et al. Regulation of cell adhesion and anchorage-dependent growth by a new beta 1-integrin-linked protein kinase[J]. *Nature*, 1996, 379(6560): 91-96.

[6] Wu C. The PINCH-ILK-parvin complexes: assembly, functions and regulation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1692(2-3): 55-62.

[7] Wu C, Dedhar S. Integrin-linked kinase (ILK) and its interactors: a new paradigm for the coupling of extracellular matrix to actin cytoskeleton and signaling complexes[J]. *J Cell Biol*, 2001, 155(4): 505-510.

[8] Nikolopoulos SN, Turner CE. Molecular dissection of actopaxin-integrin-linked kinase-Paxillin interactions and their role in subcellular localization[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(2): 1568-1575.

[9] Tu Y, Huang Y, Zhang Y, Hua Y, Wu C. A new focal adhesion protein that interacts with integrin-linked kinase and regulates cell adhesion and spreading[J]. *J Cell Biol*, 2001, 153(3): 585-598.

[10] Zhang Y, Chen K, Tu Y, Wu C. Distinct roles of two structurally closely related focal adhesion proteins, alpha-parvins and beta-parvins, in regulation of cell morphology and survival[J]. *J Biol*

Chem, 2004, 279(40): 41695-41705.

[11] Khyrul WA, LaLonde DP, Brown MC, Levinson H, Turner CE. The integrin-linked kinase regulates cell morphology and motility in a rho-associated kinase-dependent manner[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(52): 54131-54139.

[12] Brugnera E, Haney L, Grimsley C, Lu M, Walk SF, Tosello-Trampont AC, et al. Unconventional Rac-GEF activity is mediated through the Dock180-ELMO complex[J]. *Nat Cell Biol*, 2002, 4(8): 574-582.

[13] Leung-Hagesteijn C, Mahendra A, Naruszewicz I, Hannigan GE. Modulation of integrin signal transduction by ILKAP, a protein phosphatase 2C associating with the integrin-linked kinase, ILK1[J]. *EMBO J*, 2001, 20(9): 2160-2170.

[14] Tan C, Costello P, Sanghera J, Dominguez D, Baulida J, de Herberos AG, et al. Inhibition of integrin linked kinase (ILK) suppresses beta-catenin-Lef/Tcf-dependent transcription and expression of the E-cadherin repressor, snail, in APC-/- human colon carcinoma cells[J]. *Oncogene*, 2001, 20(1): 133-140.

[15] Kretzler M, Teixeira VP, Unschuld PG, Cohen CD, Wanke R, Edenhofer I, et al. Integrin-linked kinase as a candidate downstream effector in proteinuria[J]. *FASEB J*, 2001, 15(10): 1843-1845.

[16] Guo L, Sanders PW, Woods A, Wu C. The distribution and regulation of integrin-linked kinase in normal and diabetic kidneys[J]. *Am J Pathol*, 2001, 159(5): 1735-1742.

[17] Han SY, Kang YS, Jee YH, Han KH, Cha DR, Kang SW, et al. High glucose and angiotensin II increase beta1 integrin and integrin-linked kinase synthesis in cultured mouse podocytes[J]. *Cell Tissue Res*, 2006, 323(2): 321-32.

[18] Teixeira VdeP, Blattner SM, Li M, Anders HJ, Cohen CD, Edenhofer I, et al. Functional consequences of integrin linked kinase activation in podocyte damage[J]. *Kidney Int*, 2005, 67(2): 514-523.

[19] El-Aouni C, Herbach N, Blattner SM, Henger A, Rastaldi MP, Jarad G, et al. Podocyte-specific deletion of integrin-linked kinase results in severe glomerular basement membrane alterations and progressive glomerulosclerosis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17(5): 1334-1344.

[20] Yang Y, Guo L, Blattner SM, Mundel P, Kretzler M, Wu C. Formation and phosphorylation of the PINCH-1-integrin linked kinase-alpha-parvin complex are important for regulation of renal glomerular podocyte adhesion, architecture, and survival[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(7): 1966-1976.

[21] Banas B, Wornle M, Merkle M, Gonzalez-Rubio M, Schmid H, Kretzler M, et al. Binding of the chemokine SLC/CCL21 to its receptor CCR7 increases adhesive properties of human mesangial cells[J]. *Kidney Int*, 2004, 66(6): 2256-2263.

[22] von Lutichau I, Djafarzadeh R, Henger A, Cohen CD, Mojaat A, Jochum M, et al. Identification of a signal transduction pathway that regulates MMP-9 mRNA expression in glomerular injury[J]. *Biol Chem*, 2002, 383(7-8): 1271-1275.

[23] Ortega-Velazquez R, Gonzalez-Rubio M, Ruiz-Torres MP, Diez-Marques ML, Iglesias MC, Rodriguez-Puyol M, et al. Collagen I upregulates extracellular matrix gene expression and secretion of TGF-beta 1 by cultured human mesangial cells[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 286(6): C1335-C1343.

[24] Li Y, Yang J, Dai C, Wu C, Liu Y. Role for integrin-linked kinase in mediating tubular epithelial to mesenchymal transition and renal interstitial fibrogenesis[J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(3): 491.

[25] Liu Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(1): 1-12.

(本文编辑:吉耕中)