

동물학논단

Integrins



송우근

1982년 서울대학교 분자생물학과 (이학사)
 1984년 서울대학교 분자생물학과 (이학석사)
 1992년 Univ. of Illinois, 미생물학과 (PhD)
 1992~1993년 Univ. of Illinois (Postdoc)
 1993~1994년 서울대학교 (Postdoc)
 1994~현재 광주과학기술원 생명과학과 (부교수)

1. Integrin이란?

Integrin은 fibronectin, vitronectin, collagen, 그리고 laminin과 같은 세포외 기질에 대한 세포막 수용체로서 alpha subunit과 beta subunit으로 구성된 heterodimeric glycoprotein이며, 분자량은 120~140 Kda 정도이다. 지금까지 17개의 alpha subunit과 8개의 beta subunit이 알려져 있고 이러한 subunit은 서로 조합을 통해 적어도 22개의 다른 수용체를 구성한다고 알려져 있다. 대부분의 integrin은 세포외 기질에 있는 RGD (Arg-Gly-Asp) 아미노산 서열을 인식하여 결합하게 된다. Integrin은 일반적으로 alpha와 beta subunit에 의해 구성되어지는 거대한 extracellular domain과 transmembrane domain, 그리고 짧은 cytoplasmic domain으로 이루어져 있으며 (Fig. 1), extracellular domain은 세포외 기질이나 다른 세포의 세포막에 존재하는 상보적 수용체와 결합하며, cytoplasmic domain은 세포내골격 단백질과 연결고리를 형성하는 역할을 한다. 특히 Integrin이 세포외 기질에 결합하여 clustering 되었을 때 integrin의 cytoplasmic domain은 세포내

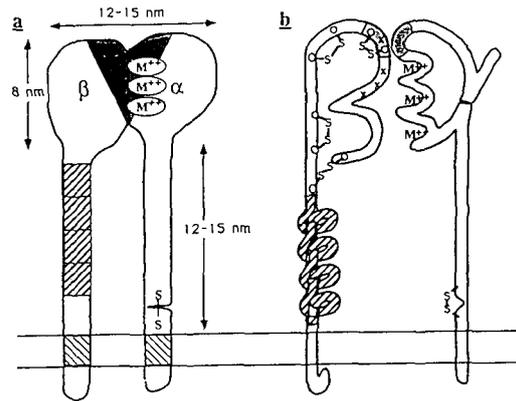


Fig. 1. Integrin의 구조적 특징. Integrin은 세포막 지질 이중층으로부터 대략 20 nm 정도 돌출된 세포외 기질에 대한 수용체로서 beta subunit에 존재하는 cysteine-rich domain과 alpha subunit내에 4개의 2가 양이온이 결합할 수 있는 구조를 갖는다. Integrin은 또한 세포외 기질과 세포 내부의 actin과 결합함으로써 세포막을 가로지르는 연결고리로서의 역할을 한다. alpha와 beta는 모두 glycosylation 되어져 있고 이들은 비공유 결합에 의해 서로 연결되어져 있다(Richard O. Hynes, *Cell* 69:11-25, 1992).

단백질과 또는 세포골격단백질과 복합체를 형성하는데, 이런 구조를 focal adhesion이라 하며, integrin을 세포내 골격과 actin 다발에 연결함으로써 세포의 부착과 세포의 퍼짐, 이동 등과 관련된 세포 형태의 변화에 있어서 중요한 역할을 수행한다.

Integrin은 세포외 기질에 대한 수용체로서의 세포의 형태변화에 관여할 뿐만 아니라 생화학적 신호를 세포내부로 전달하는 매개체로서의 역할을 하며, 세포외부의 신호를 세포내 단백질이나 이차 신호전달물질에 전달함으로써 세포의 성장,

죽음, 이동, 그리고 분화와 같은 다양한 세포 기능을 조절한다. 따라서 이러한 신호전달과정의 이해가 integrin에 의해 조절되는 세포기능을 이해하는 기반이 되어질 것이다.

2. Integrin에 의한 신호전달

Integrin에 의한 신호전달 과정은 integrin 활성화에 의해 유발되는 생화학적 결과를 분석하거나 focal adhesion부위에 결합되어 있는 단백질을 변화를 분석함으로써 밝혀졌다. Integrin를 통한 신호전달과정에 관련된 많은 단백질들은 성장 호르몬에 대한 수용체에 의해 활성화되는 신호전달과정에도 관련되어 있으며, Integrin에 의해 활성화되는 세포내 생화학적 변화로는 단백질의 tyrosine 잔기의 인산화와 mitogen-activated protein (MAP) kinase의 활성화, 세포내 Ca²⁺ 유입, pH변화, inositol lipid turnover와 유전자 발현의 조절에 이르기까지 매우 다양하다 (Fig. 2).

단백질 인산화의 경우 몇몇 protein tyrosine kinase가 integrin을 통한 신호전달과정에 관련되어 있음이 알려져 있고, 이들 kinase는 integrin에 의

해 활성화되어지고 focal adhesion site에 위치하는 특징을 가진다. 또한 이러한 kinase중 focal adhesion kinase (FAK)가 integrin에 의해 매개되어지는 신호전달과정에서 중심적인 역할을 수행하고 있다. FAK에 이외에도 Src family tyrosine kinase, Csk, Syk와 같은 다양한 kinase가 integrin에 의해 활성화 된다. 그러나 이러한 Kinase이외에도 두 종류의 protein tyrosine phosphatase (PTPs)가 integrin에 의한 신호전달과정에 관여함이 밝혀졌다. 이들 탈인산화효소로는 림프구의 Src kinase의 활성화와 백혈구에서 integrin에 의해 유도되는 tyrosine의 인산화에 관련된 transmembrane PTP인 CD45와 혈소판에서의 $\alpha_{IIb}\beta_3$ 의 응집 후 활성화에 관련하고 있는 세포내의 PTP1B가 있다.

Ras-MAP kinase pathway의 경우에는 Integrin을 통하여 세포가 세포의 기질에 부착하였을 때 FAK는 397번 tyrosine잔기를 autophosphorylation시킴으로써 Src의 SH2가 결합할 수 있게 하며, 활성화된 Src은 focal adhesion site로 이동하여 FAK의 다른 부위인 925번 tyrosine잔기의 인산화를 유도하며, 이를 통하여 adapter protein인 Grb2가 FAK에 결합하게 된다. 또한 integrin에 의해 활성화된 FAK와 Src는 Shc의 tyrosine을 인산화시켜, Grb2와 결합할 수 있게 된다. 이러한 Grb2의 결합은 결국 GDP-GTP exchange protein인 SOS를 세포막으로 이동시킴으로써 GTP가 결합된 Ras의 양을 증가시키고 된다. Ras는 ERK mitogen-activated protein kinase (MAPK)를 통한 신호전달과정뿐만 아니라 phosphoinositide 3-kinase (PI3-kinase)를 활성화시킴으로써 세포의 생존 신호로 작용함과 동시에 ERK MAP kinase의 활성화를 더욱 촉진시킨다. 궁극적으로 integrin에 의해 활성화된 MAP kinase는 DNA 전사인자를 인산화시키고 활성화시킴으로써 유전자 발현을 조절하게 된다.

Integrin이 세포외 기질이나 integrin에 대한 항체에 의해 clustering되어졌을 때 세포내의 칼슘 농도가 증가함이 보고되었는데, integrin에 의해 세포내 칼슘이 증가하는 정확한 기작은 알려져 있지 않지만 몇몇 경우에 있어서 이러한 칼슘은 PLC나 IP3에 의해 소포체로부터 유도되거나 세포막에 존재하는 이온 통로를 통해 세포외부에 존재하는 칼슘의 유입에 의한 것이라고 생각되어진다.

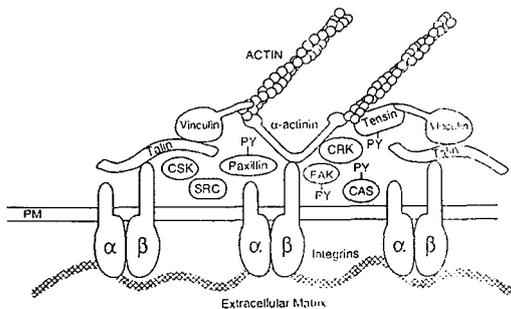


Fig. 2. Focal adhesion complex의 구조적 모델. Integrin은 세포외 기질을 세포내 actin stress fiber에 연결하는 focal adhesion complex라는 구조를 형성하며 이는 talin, vinculin, α -actinin과 같은 세포내 골격 단백질과 FAK, paxillin, Src, CAS, CSK 그리고 CRK와 같은 세포내 신호전달 단백질을 포함한다 (K. Vuori, *J. Membrane Biol.* 165:191-199, 1998). PM: plasma membrane, PY: phosphorylated tyrosine.

Phosphatidylinositol 4-phosphate (PIP)를 phosphatidylinositol 4,5-phosphate (PIP₂)으로 인산화 시키는 PIP-5 kinase가 Integrin을 통한 신호전달과정에 관여하고 있다. Integrin 활성화에 의한 PIP₂의 양적 증가는 PIP₂가 profilin과 같이 actin-binding protein을 조절할 수 있기 때문에 actin polymerization에 아주 중요하게 여겨진다. 또한 PIP₂는 phospholipase C (PLC)에 기질로써 작용하기 때문에 integrin활성화에 의해 생성된 PIP₂는 PLC에 의해 생성된 IP₃나 DAG를 통한 신호전달과정을 조절함에 있어서도 중요한 역할을 한다.

Integrin을 통한 유전자 발현의 조절은 위에서 언급한 MAP kinase를 포함한 tyrosine kinase pathway의 활성화를 통하여 이루어진다. 그 예로는 $\alpha_5\beta_1$ integrin이 특별한 metalloproteinase 유전자 발현의 증가를 들 수 있다. 그러나 정확한 조절기작은 아직 밝혀지지 않았다.

3. Focal adhesion complex

세포와 세포를 둘러싸고 있는 세포외 기질사이의 결합은 세포의 이동, 성장, 분화, 생존, 그리고 염증반응 등 다양하고 복잡한 생리과정에서 중요한 역할을 한다. Integrin의 세포외 기질에 결합은 actin을 세포막에 연결하는 복잡한 단백질 구조인 focal adhesion complex (Fig. 3)를 형성하게 된다. 이러한 focal adhesion 부위에서 integrin의 cytoplasmic domain은 세포내 골격 단백질인 talin, α -actinin과 결합함으로써 세포외 기질을 세포내 골격인 actin에 연결하는 연결고리로써 역할을 한다. 더욱이 Focal adhesion은 세포를 세포외 기질에 연결시키는 구조적인 역할뿐만 아니라 integrin에 의해 매개되어지는 신호전달의 시발점으로써 역할을 수행하게 되는데, Focal adhesion kinase (FAK)는 이러한 integrin을 통한 신호전달에 있어서 가장 중요한 역할을 담당하는 protein tyrosine kinase이며, Src, phosphatidylinositol 3-kinase, Grb2, p130cas, 그리고 paxillin등을 포함한 다양한 세포내 신호전달에 관련된 단백질이나 세포내골격 단백질을 통해 신호를 전달한다. FAK는 integrin과 함께 focal adhesion 부위에 위치하는 세포내 protein tyrosine kinase으로써 human, rodent, chicken

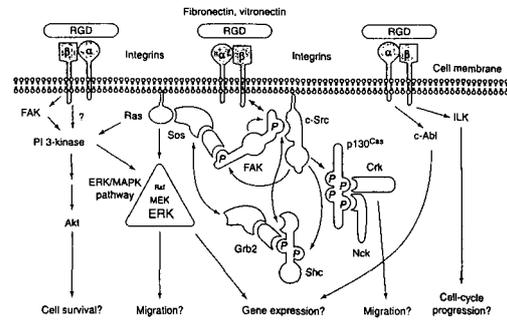


Fig. 3. Integrin에 의한 tyrosine phosphorylation과 signaling pathway에 관한 모델. Integrin이 세포외 기질에 결합함으로써 활성화되었을 때 FAK의 인산화가 촉진되어지고 인산화되어진 FAK에 의해 Src이 활성화되어진다. FAK의 인산화와 Src의 활성화는 또한 Shc의 인산화를 촉진한다. 위와 같은 세포내 신호전달 단백질의 인산화와 활성화에 의해 integrin은 세포의 이동, 죽음, 생존, 그리고 유전자 발현을 조절한다 (David D. Schaeffer and Tony Hunter, *Trends Cell Biol.* 8:151-157, 1998).

그리고 xenopus에 이르기까지 다양한 종에서 발견되지만, 세포내 tyrosine kinase와는 달리 SH2 (src-homology 2)나 SH3 (src-homology 3) domain을 가지고 있지 않으며, 다만 SH2와 SH3 domain과 결합할 수 있는 phosphotyrosine과 proline-rich domain을 가지고 있어 이들을 통해 다른 단백질과의 결합을 하게 된다. 따라서 FAK는 integrin이 활성화되었을 때 kinase 활성이 증가되고 Src, PI3-kinase, paxillin과 결합하게 되며, 이러한 결합이 integrin을 통한 세포내 신호전달의 시발점이 된다.

4. FAK에 의해 매개되어지는 세포내 기능

지금까지 FAK와 관련된 많은 단백질들이 보고되어 있고 몇몇 경우에 있어서는 이들의 상호작용을 통한 신호전달 기작이 밝혀진 바 있다. 초기에 FAK는 integrin을 통한 세포의 부착과 focal adhesion 형성에 있어서의 기능만이 알려져 있었지만 최근에는 FAK이 세포성장 및 이동을 촉진할 뿐만 아니라 세포 죽음도 조절한다고 알려졌다.

4.1. 세포의 부착과 spreading

세포가 세포외 기질 단백질에 부착하고, integrin이 활성화되었을 때 Fak은 kinase 활성이 증가되고 tyrosine phosphorylation이 증가하는 protein tyrosine kinase로써 알려졌다. 이와 같은 integrin 활성화와 FAK 조절사이의 강한 상호 관련성 때문에 FAK가 세포의 부착을 매개할 것이라고 생각되어졌다. 지금까지 많은 연구가 이러한 가능성을 증명하기 위해 실행되었지만 이를 뒷받침할 만한 충분한 증거는 아직 보고된 바 없으며, 다만 단편적인 실험적 증거만이 이를 뒷받침하고 있다. 예를 들어서 FAK^{-/-} 세포와 FAK^{+/+}세포의 fibronectin에 대한 부착력을 비교했을 때 이들 사이의 차이가 거의 관찰되지 않았으며 또한 FAK를 과다 발현시킨 CHO 세포에 있어서도 fibronectin에 대한 부착력의 변화가 관찰되지 않았다. 세포의 spreading에 있어서 FAK 역할은 alternative splicing에 의해 FAK의 C말단으로만 구성된 FAK-related non-kinase (FRNK)을 통해서 증명되어졌는데, FRNK를 과다 발현하는 세포는 더욱 천천히 spread하고 이러한 특징은 FAK tyrosine phosphorylation의 감소에 기인하는 것으로 여겨지며, 정상 FAK의 과다발현에 의해 극복될 수 있다. 이러한 사실들은 FAK의 경쟁적 억제제로의 FRNK 역할을 시사해주며 동시에 세포의 부착과 spreading이 FAK에 의해 매개되어지는 기능이라는 사실을 간접적으로 증명해준다. 또한 세포의 spreading은 FAK와 결합하는 paxillin이라는 focal adhesion 단백질의 인산화와 관련되어 있으며, 이러한 사실은 세포의 부착과 spreading이 FAK/Src 단백질들에 의한 paxillin이나 다른 단백질의 인산화에 의해 조절될 수 있음을 시사한다.

4.2. 세포의 성장

지금까지 많은 연구결과들이 세포의 성장을 조절하는데 있어 FAK의 역할을 보고해 왔고, 이러한 연구는 초기에 FRNK와 관련된 FAK구조를 이용함으로써 수행되어졌다. FRNK를 세포내에 주입하여 발현시켰을 때 DNA합성이 억제되었으며, 최근에는 FAK의 세포내 발현유도에 의해 cell cycle의 진행이 더욱 촉진됨이 보고된 바 있다. 정

상적인 FAK는 DNA합성을 증가시키고 G1/S 전환을 촉진시키는 반면, dominant-negative FAK는 cyclin D1과 cdk 억제제인 p21의 발현을 통하여 DNA 합성을 억제할 수 있다. 더욱이 FAK에 의해 조절되어지는 cell cycle 효과는 FAK의 Y397과 이 부위에 Src과 PI3-kinase의 결합에 의해 결정된다. FAK는 또한 몇몇 신호전달과정을 통하여 integrin에 의한 MAP kinase중 Erk의 조절에 관여하는데 이러한 현상은 세포의 성장 조절의 상승효과를 부여한다고 여겨진다. 결론적으로 이러한 결과들은 FAK가 cell cycle 진행과 세포의 성장을 촉진함을 증명해주고 있다.

4.3. 세포의 죽음

세포외 기질로부터 세포가 떨어질 경우 세포는 죽음에 이르게 되며, 이러한 형태의 세포죽음을 anoikis라고 명명하였다. anoikis에 있어서 FAK의 역할은 다양한 실험적 근거를 통해 증명되었는데, 활성화 상태로 세포막에 위치할 수 있는 FAK를 상피세포에 발현시켰을 때 실제 anoikis가 억제되고, FAK antisense oligonucleotide의 처리와 FAK 항체를 세포내에 주입했을 때 세포의 죽음이 유도됨이 관찰되었다. 최근에는 이러한 FAK가 세포의 죽음과정동안에 세포의 죽음에 관련되는 유전자인 caspase에 의해서 끊어진다는 사실이 보고되었고, 이러한 FAK의 분해는 FRNK와 유사한 단백질을 형성하여 죽음에 이르는 세포에 있어서 FAK의 양을 감소시킴과 동시에 FAK의 경쟁적 억제제로 작용하는 것으로 보인다. FAK의 Y397의 tyrosine잔기가 이러한 anoikis의 억제를 위해 요구되기 때문에 실제로 FAK와 Src, PI3-kinase간의 결합이 세포 죽음 억제에 있어서 필수적이라고 생각된다. FAK가 세포의 죽음을 억제하는데 있어서는 phospholipase A2 (PLA2), PKC, 그리고 p53이 관여할 것이라고 생각되고 있지만 FAK로부터 이들 단백질에 이르는 신호전달과정은 아직 불분명한 상태이다.

4.4. 세포의 이동

Integrin에 의해 매개되어지는 FAK의 기능 중 지금까지 가장 잘 밝혀진 것이 세포 이동의 촉진

이다. 세포의 이동에 있어서 FAK의 역할은 몇 가지 다른 연구에 바탕을 두고 있다. FRNK의 구조를 세포내에 주입함으로써 FAK의 기능을 억제했을 때 세포의 이동성이 감소하는 결과가 나타났고, 실제로 FAK가 결여된 쥐는 중배엽형성에 있어서 이상을 가짐으로써 태아상태에서 더 이상 성장을 못하는 치명적인 손상을 나타내었다. 또한 이러한 쥐로부터 배양된 세포는 세포이동의 현저한 감소를 나타내었다. 역으로 CHO세포에 FAK를 과다 발현시켰을 때 세포의 이동성이 증가하며 이러한 현상은 Y397 tyrosine잔기와 p130cas proline-rich 결합부위에 의존적이었다. 따라서 FAK는 다음과 같은 두 가지의 과정을 통하여 세포의 이동성을 조절한다고 생각된다. 첫 번째는, FAK의 Y397에 결합하는 Src에 의한 p130cas의 인산화이고, 두 번째는 FAK의 Y397에 PI₃-kinase의 결합에 의해 조절된다고 생각된다.

위에서 살펴본 바와 같이 integrin은 세포의 다양한 생리반응에 참여하고 있으며, 같은 수용체라 하더라도 세포의 특이성 혹은 조직의 특이성에 따라 다양한 기능을 수행하게 된다. 현재 20여 가지의 integrin family 발견되어 왔고, 앞으로 도 많은 수의 새로운 integrin이 발견될 것으로 예상하고 있으며, 이들 또한 기존의 발견된 integrin과 같이 다양한 세포내 생리 기능을 가질 것으로 생각된다. 따라서 복잡다단한 이들의 기능을 연구함에 있어 어려움이 많을 것으로 생각되어지지만, 세포의 부착과 이동, 그리고 이러한 반응과 연관된 세포내 신호전달기작은 세포학 연구에 근간이 될 수 있으므로, 앞으로 해결하여야 할 과제일 것이다.

참고 문헌

- Cary L. A. and Guan J. (1999) Focal adhesion kinase in integrin-mediated signaling. *Frontiers in Bioscience*. 4, 102-113.
- Clark E. A and Brugge J. S. (1995). Integrins and signal transduction pathways: the road taken. *Science*. 14, 233-239.
- Frisch S. M and Ruoslahti E. (1997). Integrins and anoikis. *Curr. Opin. Cell Biol.* 9, 701-706.
- Giancotti F. G. (1997). Integrin signaling: specificity and control of cell survival and cell cycle progression. *Curr. Opin. Cell Biol.* 9, 691-700.
- Guan J. (1997). Role of Focal Adhesion Kinase in Integrin signaling. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 29, 1085-1096.
- Hanks S. K and Polte T. R. (1996). Signaling through focal adhesion kinase. *BioEssays*. 19, 137-145.
- Kumar C. C (1998). Signaling by integrin receptors. 17, 1365-1373.
- Schlaepfer D. D and Hunter T. (1998). Integrin signaling and tyrosine phosphorylation: just the FAKs? *Trends Cell Biol.* 4, 151-157.
- Swartz M. A. (1995). Integrins: emerging paradigms of signal transduction. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 11, 549-599.
- Vuori K. (1998). Integrin Signaling: Tyrosine Phosphorylation Events in Focal Adhesions. *J. Membrane Biol.* 165, 191-199.
- Yamada K. M and Geiger B. (1997). Molecular interactions in cell adhesion complexes. *Curr. Opin. Cell Biol.* 9, 76-85.