

Received: 2011.10.13
Accepted: 2012.03.02
Published: 2012.03.27

Rodzina białek ERM (ezrin/radixin/moesin) – rola i znaczenie w procesach polaryzacji, adhezji i mobilności komórkowej

The role of the ERM protein family in maintaining cellular
polarity, adhesion and regulation of cell motility

Agnieszka Hałoń, Piotr Donizy

Katedra i Zakład Patomorfologii, Akademia Medyczna we Wrocławiu

Streszczenie

Ezryna, radyksyna i moezyna, tworzące rodzinę białek ERM, pełnią funkcję molekularnych łączników pomiędzy filamentami aktynowymi i białkami zakotwiczonymi w błonie komórkowej. Uczestnicząc w złożonej wewnątrzkomórkowej sieci transdukcji sygnałów odgrywają główną rolę w regulowaniu adhezji i polaryzacji prawidłowych komórek, poprzez interakcje m.in. z E-kadheryną. Dynamiczne transformacje cytoszkieletu, w które zaangażowane są białka ERM i GTP-azy Rho prowadzą do formowania powierzchniowych struktur cytoplazmatyczno-błonowych: filopodiów i lamellipodiów odpowiedzialnych za mobilność komórkową. Białka rodziny ERM podlegają także swoistym interakcjom z kinazą Akt, która przez aktywację wykazuje właściwości zapobiegające apoptozie, wskutek inaktywacji białka proapoptotycznego Bad. Aktywność białek ERM jest modulowana przez procesy fosforylacji i defosforylacji oraz wiązanie regulowanych przez GTP-azy Rho fosfatydyloinozytoli. Niezwykle istotne dla prawidłowego funkcjonowania białek ERM jest także ich właściwy model aktywacyjny oparty na zmianie konformacji molekularnej poprzez zerwanie wewnątrzcząsteczkowych wiązań i odsłonięcie miejsc wiążących aktyne. Dodatkowo typ połączenia ERM z białkami błonowymi (bezpośredni lub pośredni przez białka EBP50 i E3KARP) odrywa ważną rolę w przekazywaniu sygnałów napływających z macierzy zewnątrzkomórkowej. Ze względu na szeroki zakres funkcjonalny, jaki prezentują w fizjologii komórki ezryna, radyksyna i moezyna, poznanie budowy i funkcji białek ERM pozwoli uzyskać odpowiedź na pytania dotyczące ich udziału i działania w wielu wewnątrzkomórkowych szlakach transdukcji sygnałów.

Słowa kluczowe:

ERM • ezryna • radyksyna • moezyna • adhezja • polaryzacja • ruchliwość komórkowa

Summary

Ezrin, radixin and moesin, forming the ERM protein family, act as molecular crosslinkers between actin filaments and proteins anchored in the cell membrane. By participating in a complex intracellular network of signal transduction pathways, ERM proteins play a key role in the regulation of adhesion and polarity of normal cells through interactions with membrane molecules, e.g. E-cadherin. Dynamic cytoskeletal transformations, in which the ERM and Rho GTPases are involved, lead to the formation of membrane-cytoplasmic structures, such as filopodia and lamellipodia, which are responsible for cellular motility. The interactions of ERM proteins with active Akt kinase cause the acquisition of antiapoptotic cellular features by downregulation of the proapoptotic protein Bad. ERM protein activity is regulated by phosphorylation/dephosphorylation reactions and linking phosphatidylinositols. The model of activation based on the molecular

conformation changes by breaking the intramolecular bonds and exposing actin binding sites is essential for the proper functioning of the ERM proteins. Additionally, the connection types between the ERM and membrane proteins (direct or indirect by EBP50 and E3KARP) play an important role in transduction of signals from the extracellular matrix. Due to the wide range of ezrin, radixin and moesin cytophysiological features, detailed exploration of the ERM biochemistry will provide a series of answers to questions about ambiguous functions in many intracellular signal transduction pathways.

Key words: ERM • ezrin • radixin • moesin • adhesion • polarity • cellular motility

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=987628>

Word count: 2324

Tables: –

Figures: 3

References: 47

Adres autorki: dr hab. n. med. Agnieszka Haloń, prof. nadzw., Katedra i Zakład Patomorfologii, Akademia Medyczna, ul. Marcinkowskiego 1, 50-368 Wrocław; e-mail: ahalon2@gmail.com

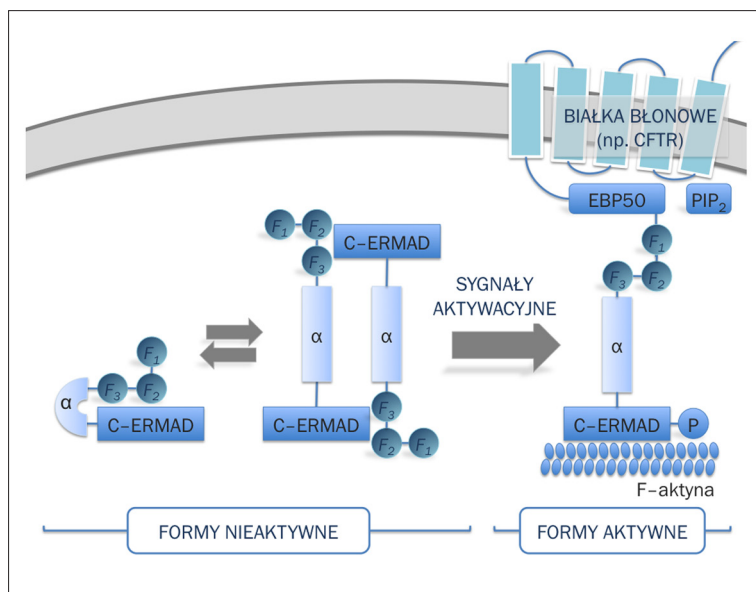
Wykaz skrótów: **Akt (PKB)** – kinaza białkowa B (protein kinase B); **C-ERMAD** – domena C-końcowa białek ERM (ERM associated domain); **CFTR** – błonowy regulator przewodnictwa (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator); **c-MET** – czynnik przejścia mezenchymalno-nabłonkowego (mesenchymal-epithelial transition factor); **EBP50/NHE-RF** – fosfoproteina 50 wiążąca ERM (ERM-binding phosphoprotein 50/regulatory co-factor of the sodium-hydrogen exchange isoform 3); **E3KARP** – białko regulatorowe dla kinazy A NHE 3 (NHE type 3 kinase A regulatory protein); **ERM** – ezryna, radyksyna, moezyna (ezrin, radixin, moesin); **EVH1** – domena homologiczna do VASP-1 (enabled/VASP-1); **FERM** – region N-końcowy białek ERM (four-point one, ezrin, radixin, moesin); **ICAM-1** – cząsteczka adhezji międzykomórkowej 1 (intercellular adhesion molecule-1); **ICAM-2** – cząsteczka adhezji międzykomórkowej 2 (intercellular adhesion molecule-2); **MOESIN** – białko moezyna (membrane-organizing extension spike protein); **NHE** – sodowo-protonowy białkowy wymiennik (sodium-hydrogen exchange); **PDGF-R** – receptor dla płytkowego czynnika wzrostowego (platelet-derived growth factor receptor); **PH** – domena plekstrynowa (pleckstrin-homology domain); **PIP₂** – fosfatydyloinozytol-4,5-bisfosforan (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate); **PI-3 kinaza** – kinaza fosfatydyloinozytolowa (phosphatidylinositol-3 kinase); **PKC α** – kinaza białkowa C α (protein kinase C α); **PKC θ** – kinaza białkowa C θ (protein kinase C θ); **PTB** – domena wiążąca fosforylowaną tyrozynę (phosphotyrosine-binding); **Rho** – białka należące do rodziny małych białek G (Ras homologous); **RhoGDI** – funkcjonalny inhibitor białek Rho (Rho guanine-nucleotide-dissociation inhibitor); **ROCK** – kinaza zależna od białek Rho (Rho kinase); **VASP-1** – fosfoproteina stymulująca rozszerzenie naczyń krwionośnych (vasodilator-stimulated phosphoprotein).

EZRZYNA, RADYKSZYNA, MOEZYZNA – ROLA W FUNKCJACH CYTOSZKIELETU AKTYWNEGO

Nadrzędną cechą wielu białek błonowych implikującą ich rolę w cytofizjologii jest połączenie z cytoszkieletem, które w znaczący sposób wpływa na kształt komórki, uczestniczy w adhezji, ruchliwości i innych procesach cytoplazmatyczno-błonowych, takich jak endo- i egzocytosis. Ezryna (cytowillina), radyksyna i moezyna (ERM) są rodziną białek, którą opisano jako podstawowy element kotwiczący białka błonowe w cytoszkielecie aktywnym komórki oraz biorący udział w drogach transdukcji sygnałów napływających do komórki z zewnątrz [11]. Rodzina białek ERM została opisana ponad 20 lat temu jako element strukturalny kory komórki umiejscowiony w mikrokosmkach części apikalnej (szczytowej) komórki

i w międzykomórkowych połączeniach przylegających (adherens junctions). Jak wykazują badania [11,17], oprócz licznych funkcji cytofizjologicznych, białka te są ściśle zaangażowane w proces karcynogenezy, w którym komórki nowotworowe nabywają zdolności do inwazji i tworzenia przerzutów odległych.

Ezrynę po raz pierwszy wykryto w mikrokosmkach oraz w strukturach uczestniczących w ruchu komórek jako substrat swoistych tyrozynowych kinaz białkowych [29]. Już w pierwszych pracach dotyczących białek ERM zauważono, że są one umiejscowione głównie w apikalnej części komórek, co potwierdziło przypuszczenia o ich roli w polaryzacji komórkowej. Radyksynę pierwotnie wyizolowano z mikrokosmków kanalików żółciowych [2], natomiast moezynę (MOESIN – membrane-organizing extension



Ryc. 1. Konformacyjny model aktywacji białek rodziny ERM. Białka ERM występują natywnie jako dwie odmienne konformacyjnie izoformy. Główną rolę w tym procesie odgrywają domeny FERM i C-ERMAD. Globularna domena FERM – przestrzennie liść koniczyny – jest zbudowana z trzech subdomen (F1, F2 i F3). C-ERMAD jest domeną zbudowaną z siedmiu elementów: jednego regionu w kształcie β -kartki oraz sześciu fragmentów przyjmujących konformację α -helikalną. Wzajemne połączenie obu domen powoduje przejście w stan nieaktywny, który może być również efektem heterodimeryzacji białek ERM. W postaci nieaktywnej miejsca wiążące F-aktynę są zablokowane. W wyniku zadziałania sygnałów aktywacyjnych następuje zerwanie wewnątrzcząsteczkowych połączeń między domenami i odsłonięcie miejsc wiążących F-aktynę, będących podstawowym elementem kotwiczącym białka błonowe z cytoszkieletem aktynowym komórki

spike protein) zidentyfikowano jako białko wiążące heparynę [11]. Te trzy białka są ze sobą silnie związane funkcjonalnie i tworzą razem z białkiem 4.1 nadrodzinę, której cechą wspólną jest domena FERM (four-point one, ezrin/radixin/moesin) zlokalizowana na N-końcu każdego z wymienionych białek [4].

ZMIANY STRUKTURALNE POMIĘDZY AKTYWNA I NIEAKTYWNA POSTACIĄ BIAŁEK ERM

Badania rentgenograficzne, które rzuciły pierwsze światło na strukturę białek ERM ujawniły istnienie dwóch odmiennych konformacyjnie izoform. Nadrzędną rolę odgrywają w tym procesie domeny FERM i C-ERMAD [4]. Globularna domena FERM, występująca przestrzennie jako liść koniczyny, jest zbudowana z trzech subdomen (F1, F2 i F3) (ryc. 1). Wymienione subdomeny wykazują homologię budowy do kilku znanych i opisanych już białek. Subdomena F1 moesyiny jest niezwykle podobna do ubikwityny, natomiast F2 ma budowę przypominającą białko wiążące acylo-CoA. Subdomena F3, określana także mianem PTB (phosphotyrosine-binding), PH (pleckstrin-homology) lub EVH1 (enabled/VASP-1) odgrywa ważną rolę w procesie wiązania ligandów peptydowych i lipidowych, które są niezbędne do prawidłowej transdukcji sygnałów wewnątrzkomórkowych oraz regulacji funkcji innych białek cytoszkieletu [4].

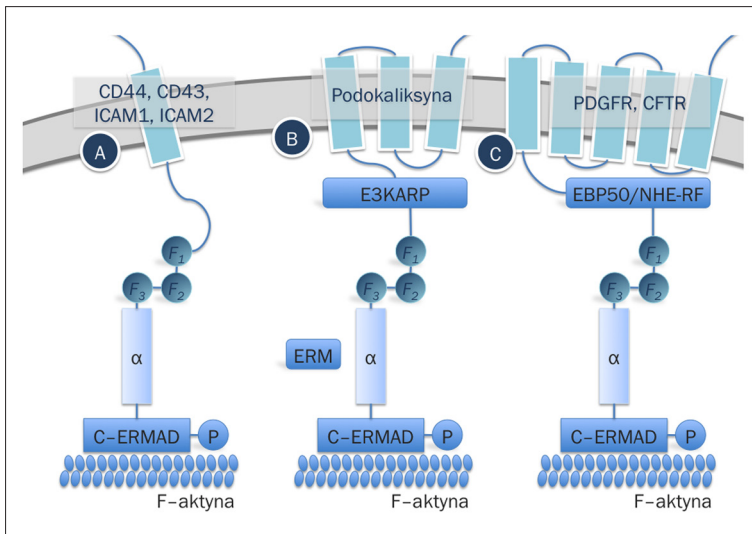
C-ERMAD jest domeną zbudowaną z siedmiu elementów: jednego regionu w kształcie β -kartki oraz sześciu fragmentów przyjmujących konformację α -helikalną [34]. Złożona budowa C-ERMAD jest podyktowana budową domeny FERM, z którą wchodzi w interakcje w celu regulacji aktywności białek ERM, a która zależy od różnorodnych zmian konformacyjnych w zależności od stanu wiązania z F-aktyną (ryc. 1). Interesujących rezultatów dostarczają badania dodatnio naładowanych aminokwasów na C-końcu białek ERM, które są zaangażowane w proces wiązania filamentów aktynowych. Podczas intramolekularnych asocjacji domen FERM i C-ERMAD są one preferencyjnie maskowane, co tłumaczy, dlaczego postać nieaktywna ERM nie uczestniczy w wiązaniu F-aktyny [4,34].

ZNACZENIE WIAZAŃ WEWNĄTRZCZĄSTECzkOWYCH

Dla prawidłowego zrozumienia istoty działania białek ERM ważne okazało się badanie wewnątrzcząsteczkowych wiązań odpowiedzialnych za aktywację/deaktywację ERM. Pierwotnym elementem zwracającym uwagę badaczy na konformacyjny model regulacji aktywności było wykazanie istnienia heterodimeru ezryna-moesyna [12]. W kolejnych doświadczeniach udowodniono, że białka ERM w komórkach mogą tworzyć zarówno dimery (homo- i hetero-), jak również wyższe struktury oligomeryczne, jednak ich znaczenie nie jest jeszcze poznane. Należy jednak podkreślić, że mimo możliwości formowania polimerycznych struktur większość cząsteczek ezryny występuje w komórce jako monomer [3,4,5].

Konformacyjny model aktywności białek ERM został potwierdzony dzięki odkryciu na N-końcu białek domeny, która wykazuje duże powinowactwo do C-końcowego fragmentu każdego z członków rodziny ERM. Te białkowe regiony nazwano N- i C-ERMAD (ERM associated domain) [13]. N-ERMAD nakłada się strukturalnie z FERM, natomiast C-ERMAD była uważana za kolejny ligand domeny FERM. W czasie inaktywacji miejsce wiążące aktynę na C-końcu białek ERM jest niedostępne, zatem model aktywacji obejmuje zerwanie wewnątrzcząsteczkowych wiązań i uwolnienie miejsca wiążącego aktynę, które jest najważniejsze dla sprawowania fizjologicznych funkcji ERM. Co więcej, badania *in vitro* wykazały, że wysokie poziomy ekspresji C-ERMAD ezryny i radyksyny są ściśle związane z elongacją błony komórkowej w wyniku nadmiernej ekspozycji miejsc wiążących aktynę. W pewnych przypadkach opisany wyżej fenotyp może być hamowany poprzez nadmierną ekspresję N-końcowego fragmentu białek ERM. Dodatkowo wykazano, że wyłączna ekspresja domeny FERM wiąże się ze zmniejszoną zdolnością do tworzenia mikrosomów [7].

Badania z wykorzystaniem cząsteczki EBP50/NHE-RF (ERM-binding phosphoprotein 50/regulatory co-factor of the sodium-hydrogen exchange isoform 3), która ma miejsce wiążące na domenie FERM, także potwierdzają



Ryc. 2. Białka ERM jako substancje łącznikowe między cytoskieletem aktywnym a białkami błony komórkowej – interakcje bezpośrednie i pośrednie. Interakcje bezpośrednie (A) pomiędzy białkami ERM a białkami transbłonowymi dotyczą głównie receptorów adhezyjnych CD44, CD43, ICAM1 i ICAM2. Interakcje pośrednie występują w kooperacji z dwoma białkami kotwiczącymi: (B) E3KARP oraz (C) EBP50/NHE-RF

przestrzenny model maskowania aktywności białek ERM. Białko EBP50/NHE-RF ma swoje miejsce wiążące na domenie FERM i jak wykazano doświadczalnie, w stanie inaktywacji jest niedostępne wskutek interakcji z C-ERMAD [4,37]. Mimo to, że na domenie FERM znajduje się wiele miejsc wiążących różne ligandy, opisane wyżej zjawisko ich maskowania poprzez wiązanie FERM i C-ERMAD wykazano tylko dla dwóch białek: EBP50/NHE-RF oraz dla RhoGDI (Rho guanine-nucleotide-dissociation inhibitor), który jest negatywnym regulatorem białek Rho [4].

REAKCJE BIAŁEK ERM Z KINAZAMI BIAŁKOWYMI I LIPIDAMI JAKO SPOŚÓB REGULACJI FUNKCJI FIZJOLOGICZNYCH

Fosforylacja białek komórkowych jest istotnym procesem cytochemicznym, który odpowiada za regulację aktywności wielu białek. Pierwsze doniesienia o roli fosforylacji białek ERM w procesie ich regulacji dotyczyły fosforylacji treoniny 558 (T558) moezyny, która została zaobserwowana podczas aktywacji płytek krwi [30]. Fosforylacja ERM prowadzi do zmniejszenia powinowactwa domeny C-ERMAD do F-aktyny [15] i w konsekwencji do przejścia białek ERM w stan aktywny. Badania Hayashi i wsp. [16] wykazały, że transfekowanie komórek zmutowaną ezryną (T567D), która naśladuje ufosforylowane białko, może indukować wytwarzanie dużej liczby struktur powierzchniowych komórek, które – najprawdopodobniej poprzez wzrost liczby połączeń między filamentami aktywnymi a błoną komórkową – są zaangażowane w procesy m.in. migracji i ruchliwości komórkowej. Za fosforylację reszt aminokwasowych odpowiedzialne są co najmniej trzy kinazy białkowe: ROCK (Rho kinase), PKC α (protein kinase C α) i PKC θ (protein kinase C θ) [32,35,41]. Dodatkowo ujawniono, że ufosforylowane ERM są wybiórczo wykrywane w mobilnych strukturach powierzchniowych komórek [33].

Jak się okazało, także swoiste interakcje z lipidami uczestniczą w regulacji aktywacji białek ERM. Pierwsze doniesienia traktujące o tym pochodziły z badań nad rodziną białek ERM, które zawierały tylko aminowy koniec łańcucha białkowego. Tak zmodyfikowane ezryna, radyksyna i moezyna reagowały znacznie słabiej z cytoplazmatycznym końcem receptora CD44, podczas gdy ERM niepoddane manipulacjom wymagały dla tej interakcji obecności

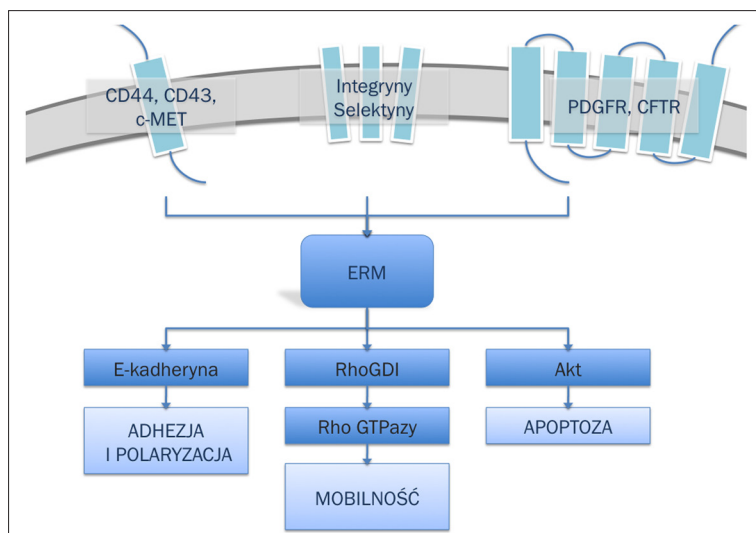
PI(4,5)P₂ [18]. Jak wykazały kolejne badania [45], obecność PI(4,5)P₂ nie jest wymagana dla wiązania się białek ERM z CD44. Doświadczenia z wykorzystaniem ufosforylowanej moezyny T558 izolowanej z płytek krwi ujawniły, że PI(4,5)P₂ oraz inne lipidy są niezbędne do odsłonięcia miejsc wiążących aktyne *in vitro* [31]. Potwierdzeniem ważnej roli PI(4,5)P₂ w regulacji aktywności białek ERM i co za tym idzie regulowaniu procesów adhezji i mobilności komórkowej były eksperymenty, w których stosowano mikroiniekcje z neomycyny. Antybiotyk ten charakteryzuje się właściwością wiązania fosfatydyloinozytoli. Zastosowanie neomycyny służącej jako chelator PI(4,5)P₂ powoduje utratę powierzchniowych mikrokosmków, co udowadnia rolę PI(4,5)P₂ w aktywacji ERM [46].

BIAŁKA ERM JAKO SUBSTANCJE ŁĄCZNIKOWE MIĘDZY CYTOSKIELETEM AKTYWNYM A BIAŁKAMI BŁONY KOMÓRKOWEJ – INTERAKCJE BEZPOŚREDNIE I POŚREDNIE

Postawione na początku badań nad białkami ERM hipotetyczne założenie, że pełnią one rolę łączników między filamentami aktywnymi a błoną komórkową wynikało ze swoistej subkomórkowej immunotopografii w strukturach powierzchniowych komórek [4]. Dopiero później wykazano istnienie na C-końcu miejsca wiążącego F-aktyne, które jest maskowane w nieaktywnej postaci białek ERM [43]. Stwierdzono także obecność innych miejsc wiążących F-aktyne, jednak ich znaczenie fizjologiczne nie jest do końca poznane [23,24].

Jak się okazało, domena FERM jest najważniejsza w procesie wiązania ezryny, radyksyny i moezyny z białkami błony komórkowej. Istnieją dwa główne typy interakcji z cząsteczkami błonowymi: bezpośrednie wiązanie się FERM z cytoplazmatycznymi końcami białek transmembranowych (ryc. 2A) i pośrednie reakcje z tymi białkami za pomocą dwóch białek rusztujących (scaffolding proteins): E3KARP (NHE type 3 kinase A regulatory protein) (ryc. 2B) oraz EBP50/NHE-RF (ryc. 2C). Białka rusztujące odznaczają się występowaniem swoistej domeny PDZ, która pośredniczy w reakcjach z innymi cząsteczkami [4].

Wiele z bezpośrednich reakcji między białkami ERM a białkami transmembranowymi dotyczy receptorów adhezyjnych.



Ryc. 3. Udział białek ERM w wewnątrzkomórkowych szlakach transdukcji sygnałów. Poprzez bezpośrednie i pośrednie połączenia z białkami błonowymi, ERM są ściśle zaangażowane w wiele procesów cytofizjologicznych. Wewnątrzkomórkowa sekwestracja E-kadheryny przez ezrynę wpływa na adhezję komórkową, z kolei udział w szlaku kinaz Rho odgrywa istotną rolę w regulowaniu ruchliwości komórek. Aktywacja kinazy Akt, w którą białka ERM zaangażowane są pośrednio, powoduje inaktywację białka proapoptotycznego Bad i stopniowe nabywanie przez komórki właściwości antyapoptotycznych

Pierwsze takie wiązanie opisano dla ERM i receptora CD44 [42] (ryc. 2A). Interakcja ezryna-CD44 jest niezwykle ważna dla adhezji oraz ruchliwości komórkowej i, co interesujące, w jej wyniku dokonywana jest odwracalna fosforylacja miejsca S219 w końcowym fragmencie CD44, która jest odpowiedzialna za zmniejszenie asocjacji ezryna-CD44. Jednak rola tych funkcjonalnych powiązań między ezryną i CD44 wymaga dalszych analiz [21]. Ezryna jest także zaangażowana w reakcję z cytoplazmatycznym końcem adhezyjnej molekuly ICAM-2 (intercellular adhesion molecule-2) [45] (ryc. 2A). Komórki NK (natural killer) wymagają ICAM-2 do wytworzenia struktur zwanych uropodiami, przed procesem aktywacji związanym z IL-2. Nagromadzenie ICAM-2 jest zależne od ezryny i jej brak powoduje równomierne rozmieszczenie ICAM-2, co uniemożliwia sprawne funkcjonowanie komórek NK [17].

Inny przykład bezpośrednich reakcji z białkami błonowymi dotyczy ezryny i NHE-1 (sodium-hydrogen exchange isoform 1) [9]. Wprowadzenie tego białka do fibroblastów PS120, które nie wykazują zwykle jego ekspresji, prowadzi do reorganizacji cytoszkieletu i formowania ognisk kontaktowych (focal contacts). Efekt przebudowy włókien aktynowych jest uzależniony od występowania końcowego fragmentu łańcucha cytoplazmatycznego białka NHE-1, który jest odpowiedzialny za wiązanie ERM. Podobne zmiany morfologiczne występują po wprowadzeniu do komórek zmutowanej NHE-1, która nie jest zdolna do przemieszczenia protonu.

Kolejnym dowodem potwierdzającym ważną rolę białek ERM w prawidłowym funkcjonowaniu komórek jest proces aktywacji limfocytów T, który wymaga usunięcia cząsteczki CD43 z immunologicznej synapsy między limfocytym T a komórką prezentującą antygen (APC – antigen-presenting cell). Reakcja ta zależy od interakcji białek ERM i cytoplazmatycznego końca CD43, do którego są przyłączone ERM [45]. Doświadczenia prowadzone na limfocytach T wykazujących ekspresję zmodyfikowanej ezryny niespełniającej swojej funkcji wykazują, że nie mogą one usunąć CD43 z synapsy immunologicznej w wyniku czego nie mogą ulec aktywacji [1].

Niezwykle istotne z punktu widzenia cytobiochemii białek ERM są ich interakcje pośrednie z molekułami

komórkowymi. Uczestniczy w nich także domena FERM, która jest zaangażowana w reakcje z białkami rusztującymi, zwłaszcza E3KARP (ryc. 2B) i EBP50/NHE-RF (ryc. 2C). Obydwa białka zawierają w swojej strukturze dwie domeny PDZ oraz C-kończącą sekwencję około 30 aminokwasów wiążących ERM [37,47]. Domeny PDZ są najprawdopodobniej odpowiedzialne za wiązanie białek transmembranych do cytoszkieletu. EBP50/NHE-RF i E3KARP wykazują wiele funkcji fizjologicznych, z których część jest nie do końca poznana. Najistotniejszą ich rolą jest wiązanie białek błonowych i łączenie ich za pośrednictwem ERM z filamentami aktynowymi, np. podokaliksyna, odgrywająca ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu kłębuszków nerkowych. Stwierdzono, że podokaliksyna wiąże się poprzez swoją C-kończącą sekwencję DTHL (D-kwas asparaginowy, T-treonina, H-histydyna, L-leucyna) z E3KARP, a to z kolei kotwicy powstałe połączenie z F-aktyną za pośrednictwem ezryny [40] (ryc. 2B). Powstała sieć wzajemnych połączeń sprzyja prawidłowemu procesowi filtracji kłębuszkowej i utrzymuje stabilny stan funkcjonalny podokaliksyny. Warto dodać, że EBP50/NHE-RF i E3KARP mogą uczestniczyć w regulacji endocytozy wielu białek błonowych, z którymi są związane. Należą do nich m.in.: CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), receptor β_2 -adrenergiczny, NHE-3 i PDGF-R (platelet-derived growth factor receptor) [15,27,44] (ryc. 2C).

UDZIAŁ ERM W WENĄTRZKOMÓRKOWYCH SZLAKACH TRANSDUKCJI SYGNAŁU

Konformacja białek ERM, i co za tym idzie ich aktywność, jest regulowana poprzez wiązanie fosfolipidów i fosforylację. Obydwa procesy są rezultatem działania drogi sygnałowej, w której pośredniczą białka Rho [25,26]. Mackay i wsp. [22] udowodnili, że indukowana białkami Rho przebudowa cytoszkieletu zależy od cytoplazmatycznej puli białek ERM. Ich badania wykazały, że rozpuszczalna pula cytoplazmatycznych ERM ulega redystrybucji do błony komórkowej w odpowiedzi na aktywację Rho-zależną poprzez GTP γ S (nieulegający hydrolizie analog GTP). W podobny sposób ERM spełniają rolę efektorów w drodze sygnałowej PKC α i PKC θ . Jak opisano wyżej, obie kinazy są zaangażowane również w fosforylację C-końcowego fragmentu białek ERM, co ułatwia przejście w stan aktywny tych białek.

Interesujący jest wpływ ERM na aktywność rodziny białek Rho (ryc. 3). Wiele dowodów wskazuje, że ERM reguluje aktywność Rho [4]. RhoGDI, będący silnym, negatywnym regulatorem aktywacji Rho może być wiązany poprzez domenę FERM białek ERM [39]. Jednak wiązanie RhoGDI jest zahamowane jeśli cząsteczka białka ERM jest w stanie nieaktywnym. Badania *in vitro* wykazały, że związanie przez ERM RhoGDI uwalnia nieaktywne Rho z kompleksu z GDI, co umożliwia aktywację Rho wskutek wymiany GDP na GTP. Takahashi i wsp. [39] wykazała, że związanie przez domenę FERM RhoGDI powoduje wzrost aktywności białek Rho. Należy podkreślić, że rola i udział białek Rho w aktywacji ERM i ewentualne sprzężenia zachodzące między nimi wymagają dalszych badań ze względu na istniejące niejasności [4].

Rodzina białek ERM wpływa w znaczący sposób na proces regulacji adhezji i komunikacji międzykomórkowej, w którym uczestniczy także E-kadheryna [20] (ryc. 3). Wykazano, że ezryna odgrywa główną rolę w prawidłowym umiejscowieniu E-kadheryny w błonie komórkowej. Komórki odznaczające się nadekspresją ezryny „akumulują” wewnątrzkomórkowo E-kadherynę, co prowadzi do obniżenia stopnia adhezji międzykomórkowej [36].

Ezryna podlega także interakcjom z PI-3 kinazą (phosphatidylinositol-3 kinase), enzymem odgrywającym istotną rolę w przeżyciu komórek (ryc. 3). Jak wykazały badania Gautreau i wsp. [14], aktywowana ezryna ulega bezpośrednio wiązaniu do regulatorowej podjednostki p85 PI-3 kinazy. Akt, znana też jako PKB (protein kinase B), jako główny element drogi sygnałowej zapoczątkowanej przez PI-3 kinazę, poprzez swoją aktywację chroni komórki przed apoptozą w wyniku inaktywacji białka Bcl-2 [14].

TOPOGRAFIA KOMÓRKOWA I TKANKOWA BIAŁEK ERM W WARUNKACH PRAWIDŁOWYCH

Jak wynika z powyższych informacji płynących z badań nad funkcjonowaniem i rolą białek rodziny ERM

w prawidłowych komórkach na pierwszy plan wysuwa się podstawowe znaczenie właściwego subkomórkowego rozmieszczenia tych białek. Swoista immunotopografia białek kompleksu ERM ma istotne znaczenie zwłaszcza dla funkcjonowania komórek w obrębie tkanki nabłonkowej [4,10,28,38]. Ezryna, radyksyna i moezyna w prawidłowej komórce są umiejscowione głównie w jej apikalnej (szczytowej) części, co zostało potwierdzone w badaniach immunofluorescencyjnych [19] i immunohistochemicznych [8]. Taka lokalizacja jest ściśle związana z regionami bogatymi w filamenty aktynowe, które obejmują różnego rodzaju sfałdowania błony komórkowej, połączenia międzykomórkowe i mikrokosmki. Immunodetekcja białek ERM jest stwierdzana także odcinkowo, segmentalnie w obrębie błony komórkowej. Najbardziej występującą natywną lokalizacją jest jądro komórkowe [19,38]. Warto dodać, że ekspresję kompleksu ERM, a zwłaszcza moezyny obserwuje się również w komórkach mioepitelialnych, fibroblastach, komórkach śródbłonna i komórkach mięśni gładkich, przede wszystkim ściany naczyń [6].

PODSUMOWANIE

Ezryna, radyksyna i moezyna (ERM) jako substancje łącznikowe umożliwiają istnienie regulowanego sprzężenia między filamentami F-aktyny w korze komórki a białkami umiejscowionymi w błonie komórkowej. Połączenia między mikrofilamentami aktywnymi i białkami błony jest najważniejsze dla wielu podstawowych procesów, m.in.: adhezji, ruchliwości komórkowej, cytokinezy, determinacji kształtu komórki, fagocytozy oraz integracji transportu błonowego z wewnątrzkomórkowym systemem transdukcji sygnałów. W związku z udziałem białek ERM w polaryzacji komórek sugeruje się także ich udział w rozmieszczeniu białek w komórce oraz w integracji sygnałów napływających do komórki ze środowiska zewnętrznego.

PODZIĘKOWANIA

Autorzy dziękują Panu Piotrowi Zalewskiemu za pomoc edytorską w przygotowaniu rycin do artykułu.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Allenspach E.J., Cullinan P., Tong J., Tang Q., Tesciuba A.G., Cannon J.L., Takahashi S.M., Morgan R., Burkhardt J.K., Sperling A.I.: ERM-dependent movement of CD43 defines a novel protein complex distal to the immunological synapse. *Immunity*, 2001; 15: 739–750
- [2] Amieva M.R., Wilgenbus K.K., Furthmayr H.: Radixin is a component of hepatocyte microvilli *in situ*. *Exp. Cell Res.*, 1994; 210: 140–144
- [3] Berryman M., Gary R., Bretscher A.: Ezrin oligomers are major cytoskeletal components of placental microvilli: a proposal for their involvement in cortical morphogenesis. *J. Cell Biol.*, 1995; 131: 1231–1242
- [4] Bretscher A., Edwards K., Fehon R.G.: ERM proteins and merlin: integrators at the cell cortex. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2002; 3: 586–599
- [5] Bretscher A., Gary R., Berryman M.: Soluble ezrin purified from placenta exists as stable monomers and elongated dimers with masked C-terminal ezrin–radixin–moesin association domains. *Biochemistry*, 1995; 34: 16830–16837
- [6] Charafé-Jauffret E., Monville F., Bertucci F., Esterni B., Ginestier C., Finetti P., Cervera N., Geneix J., Hassanein M., Rabayrol L., Sobol H., Taranger-Charpin C., Xerri L., Viens P., Birnbaum D., Jacquemier J.: Moesin expression is a marker of basal breast carcinomas. *Int. J. Cancer*, 2007; 121: 1779–1785
- [7] Crepaldi T., Gautreau A., Comoglio P.M., Louvard D., Arpin M.: Ezrin is an effector of hepatocyte growth factor-mediated migration and morphogenesis in epithelial cells. *J. Cell Biol.*, 1997; 138: 423–434
- [8] Den Bakker M.A., Riegman P.H., Hekman R.A., Boersma W., Janssen P.J., van der Kwast T.H., Zwarthoff E.C.: The product of the NF2 tumor suppressor gene localizes near the plasma membrane and is highly expressed in muscle cells. *Oncogene*, 1995; 10: 757–763
- [9] Denker S.P., Huang D.C., Orlowski J., Furthmayr H., Barber D.L.: Direct binding of the Na⁺–H exchanger NHE1 to ERM proteins regulates the cortical cytoskeleton and cell shape independently of H⁺ translocation. *Mol. Cell*, 2000; 6: 1425–1436
- [10] Fais S.: A role for ezrin in a neglected metastatic tumor function. *Trends Mol. Med.*, 2004; 10: 249–250
- [11] Fehon R.G., McClatchey A.I., Bretscher A.: Organizing the cell cortex: the role of ERM proteins. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2010; 11: 276–287
- [12] Gary R., Bretscher A.: Heterotypic and homotypic associations between ezrin and moesin, two putative membrane-cytoskeletal linking proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993; 90: 10846–10850
- [13] Gary R., Bretscher A.: Ezrin self-association involves binding of an N-terminal domain to a normally masked C-terminal domain that includes the F-actin binding site. *Mol. Biol. Cell*, 1995; 6: 1061–1075
- [14] Gautreau A., Pouillet P., Louvard D., Arpin M.: Ezrin, a plasma membrane-microfilament linker, signals cell survival through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 7300–7305

- [15] Hall R.A., Ostedgaard L.S., Premont R.T., Blitzer J.T., Rahman N., Welsh M.J., Lefkowitz R.J.: A C-terminal motif found in the β 2-adrenergic receptor, P2Y1 receptor and cystic fibrosis transmembrane conductance regulator determines binding to the Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor family of PDZ proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 8496–8501
- [16] Hayashi K., Yonemura S., Matsui T., Tsukita S.: Immunofluorescence detection of ezrin/radixin/moesin (ERM) proteins with their carboxyl-terminal threonine phosphorylated in cultured cells and tissues. *J. Cell Sci.*, 1999; 112: 1149–1158
- [17] Helander T.S., Carpén O., Turunen O., Kovanen P.E., Vaheri A., Timonen T.: ICAM-2 redistributed by ezrin as a target for killer cells. *Nature*, 1996; 382: 265–268
- [18] Hirao M., Sato N., Kondo T., Yonemura S., Monden M., Sasaki T., Takai Y., Tsukita S., Tsukita S.: Regulation mechanism of ERM (ezrin/radixin/moesin) protein/plasma membrane association: possible involvement of phosphatidylinositol turnover and Rho-dependent signaling pathway. *J. Cell Biol.*, 1996; 135: 37–51
- [19] Hoeflich K.P., Ikura M.: Radixin: cytoskeletal adopter and signaling protein. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004; 36: 2131–2136
- [20] Hunter K.W.: Ezrin, a key component in tumor metastasis. *Trends Mol. Med.*, 2004; 10: 201–204
- [21] Legg J.W., Lewis C.A., Parsons M., Ng T., Isacke C.M.: A novel PKC-regulated mechanism controls CD44 ezrin association and directional cell motility. *Nat. Cell Biol.*, 2002; 4: 399–407
- [22] Mackay D.J., Esch F., Furthmayr H., Hall A.: Rho- and Rac-dependent assembly of focal adhesion complexes and actin filaments in permeabilized fibroblasts: an essential role for ezrin/radixin/moesin proteins. *J. Cell Biol.*, 1997; 138: 927–938
- [23] Mangeat P., Roy C., Martin M.: ERM proteins in cell adhesion and membrane dynamics. *Trends Cell Biol.*, 1999; 9: 187–192
- [24] Martin M., Roy C., Montcourrier P., Sahuquet A., Mangeat P.: Three determinants in ezrin are responsible for cell extension activity. *Mol. Biol. Cell*, 1997; 8: 1543–1557
- [25] Matsui T., Maeda M., Doi Y., Yonemura S., Amano M., Kaibuchi K., Tsukita S., Tsukita S.: Rho-kinase phosphorylates COOH-terminal threonines of ezrin/radixin/moesin (ERM) proteins and regulates their head-to-tail association. *J. Cell Biol.*, 1998; 140: 647–657
- [26] Matsui T., Yonemura S., Tsukita S., Tsukita S.: Activation of ERM proteins *in vivo* by Rho involves phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase and not ROCK kinases. *Curr. Biol.*, 1999; 9: 1259–1262
- [27] Maudsley S., Zamah A.M., Rahman N., Blitzer J.T., Luttrell L.M., Lefkowitz R.J., Hall R.A.: Platelet-derived growth factor receptor association with Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor potentiates receptor activity. *Mol. Cell Biol.*, 2000; 20: 8352–8363
- [28] McClatchey A.I.: Merlin and ERM proteins: unappreciated roles in cancer development? *Nat. Rev. Cancer*, 2003; 3: 877–883
- [29] McClatchey A.I., Saotome I., Ramesh V., Gusella J.F., Jacks T.: The NF2 tumor suppressor gene product is essential for extraembryonic development immediately prior to gastrulation. *Genes Dev.*, 1997; 11: 1253–1265
- [30] Nakamura F., Amieva M.R., Furthmayr H.: Phosphorylation of threonine 558 in the carboxyl-terminal actin-binding domain of moesin by thrombin activation of human platelets. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 31377–31385
- [31] Nakamura F., Huang L., Pestonjampas K., Luna E.J., Furthmayr H.: Regulation of F-actin binding to platelet moesin *in vitro* by both phosphorylation of threonine 558 and polyphosphatidylinositides. *Mol. Biol. Cell*, 1999; 10: 2669–2685
- [32] Ng T., Parsons M., Hughes W., Monypenny J., Zicha D., Gautreau A., Arpin M., Gschmeissner S., Verveer P.J., Bastiaens P.I., Parker P.J.: Ezrin is a downstream effector of trafficking PKC-integrin complexes involved in the control of cell motility. *EMBO J.*, 2001; 20: 2723–2741
- [33] Oshiro N., Fukata Y., Kaibuchi K.: Phosphorylation of moesin by Rho-associated kinase (Rho-kinase) plays a crucial role in the formation of microvilli-like structures. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 34663–34666
- [34] Pearson M.A., Reczek D., Bretscher A., Karplus P.A.: Structure of the ERM protein moesin reveals the FERM domain fold masked by an extended actin binding tail domain. *Cell*, 2000; 101: 259–270
- [35] Pietromonaco S.F., Simons P.C., Altman A., Elias L.: Protein kinase C- θ phosphorylation of moesin in the actin binding sequence. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 7594–7603
- [36] Pujuguet P., Del Maestro L., Gautreau A., Louvard D., Arpin M.: Ezrin regulates E-cadherin-dependent adherens junction assembly through Rac1 activation. *Mol. Biol. Cell*, 2003; 14: 2181–2191
- [37] Reczek D., Bretscher A.: The carboxyl-terminal region of EBP50 binds to a site in the amino-terminal domain of ezrin that is masked in the dormant molecule. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 18452–18458
- [38] Sarrió D., Rodríguez-Pinilla S.M., Dotor A., Calero F., Hardisson D., Palacios J.: Abnormal ezrin localization is associated with clinicopathological features in invasive breast carcinomas. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2006; 98: 71–79
- [39] Takahashi K., Sasaki T., Mammoto A., Takaishi K., Kameyama T., Tsukita S., Takai Y.: Direct interaction of the Rho GDP dissociation inhibitor with ezrin/radixin/moesin initiates the activation of the Rho small G protein. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 23371–23375
- [40] Takeda T., McQuistan T., Orlando R.A., Farquhar M.G.: Loss of glomerular foot processes is associated with uncoupling of podocalyxin from the actin cytoskeleton. *J. Clin. Invest.*, 2001; 108: 289–301
- [41] Tran Quang C., Gautreau A., Arpin M., Treisman R.: Ezrin function is required for ROCK-mediated fibroblast transformation by the Net and Dbl oncogenes. *EMBO J.*, 2000; 19: 4565–4576
- [42] Tsukita S., Oishi K., Sato N., Sagara J., Kawai A., Tsukita S.: ERM family members as molecular linkers between the cell surface glycoprotein CD44 and actin-based cytoskeletons. *J. Cell Biol.*, 1994; 126: 391–401
- [43] Turunen O., Wahlström T., Vaheri A.: Ezrin has a COOH-terminal actin-binding site that is conserved in the ezrin protein family. *J. Cell Biol.*, 1994; 126: 1445–1453
- [44] Wang S., Raab R.W., Schatz P.J., Guggino W.B., Li M.: Peptide binding consensus of the NHE-RF-PDZ1 domain matches the C-terminal sequence of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). *FEBS Lett.*, 1998; 427: 103–108
- [45] Yonemura S., Hirao M., Doi Y., Takahashi N., Kondo T., Tsukita S., Tsukita S.: Ezrin/radixin/moesin (ERM) proteins bind to a positively charged amino acid cluster in the juxta-membrane cytoplasmic domain of CD44, CD43, and ICAM-2. *J. Cell Biol.*, 1998; 140: 885–895
- [46] Yonemura S., Matsui T., Tsukita S., Tsukita S.: Rho-dependent and -independent activation mechanisms of ezrin/radixin/moesin proteins: an essential role for polyphosphoinositides *in vivo*. *J. Cell Sci.*, 2002; 115: 2569–2580
- [47] Yun C.H., Lamprecht G., Forster D.V., Sidor A.: NHE3 kinase A regulatory protein E3KARP binds the epithelial brush border Na⁺/H⁺ exchanger NHE3 and the cytoskeletal protein ezrin. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 25856–25863

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.