

综述

Intersectin蛋白在胞吞和胞吐中的作用

田春迎¹, 张春玲², 谷峰¹, 马勇杰^{1,*}

¹天津医科大学附属肿瘤医院, 天津 300060; ²泰山医学院信息工程学院, 泰安 271016

摘要: Intersectin是一种进化上高度保守的多功能衔接蛋白/支架蛋白, 具有多个功能结构域。这些结构域能够与胞吞和胞吐相关蛋白, 如介导突触囊泡循环的网格蛋白、与细胞质膜微囊内吞相关的蛋白、与调控肾离子运输相关的无赖氨酸激酶以及介导胞吐过程的Cdc42等发生作用。近年来, 人们对intersectin在唐氏综合症(Down syndrome, DS)、阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)等众多神经退行性疾病以及内分泌组织肿瘤中的作用进行了广泛研究。本文综述了intersectin结构特征、在胞吞和胞吐中的功能及其与相关疾病方面的研究进展。

关键词: intersectin; 胞吞; 胞吐; 网格蛋白

中图分类号: Q257

Function of intersectin in endocytosis and exocytosis

TIAN Chun-Ying¹, ZHANG Chun-Ling², GU Feng¹, MA Yong-Jie^{1,*}

¹Tianjin Medical University Cancer Institute & Hospital, Tianjin 300060, China; ²College of Information Engineering, Taishan Medical University, Taian 271016, China

Abstract: Intersectin is an evolutionarily conserved multifunctional adaptor protein with multifunctional domains. These domains interact with components of the endocytic and exocytic pathways, such as the clathrin mediating synaptic vesicle recycling, the protein related to endocytosis via caveolae, the with-no-lysine kinases related to the regulation of renal outer medullar potassium, and the Cdc42 mediating exocytic pathway. Recently, the understanding of intersectin function in the pathogenesis of endocrine tumor and many neurodegenerative diseases such as Down syndrome, Alzheimer disease has been deepened. This article reviewed the structure and roles in endocytosis/exocytosis and diseases of intersectin.

Key words: intersectin; endocytosis; exocytosis; clathrin

细胞的胞吞和胞吐是调节细胞物质运输和质膜更新的重要生理过程。胞吞作用对于维持细胞与外界环境的协调十分重要^[1]。胞吐作用广泛参与细胞迁移、轴突膜生长、神经传递以及激素释放等生理过程^[2]。Intersectin蛋白在进化上高度保守, 是一种多功能的衔接蛋白/支架蛋白, 具有多个功能结构域, 通过与多种蛋白质结合, 调节细胞的胞吞和胞吐、肌动蛋白骨架重排、细胞信号传导和细胞的生存^[3]。本文综述近年来有关intersectin的研究进展,

阐释 intersectin 的分类、亚型及其在胞吞和胞吐中的功能, 并进一步探讨其与相关疾病的联系。

1 Intersectin的分类、结构和功能

1.1 Intersectin 的分类和结构

人类有两个 *intersectin* 基因, 分别命名为 *intersectin1* 和 *intersectin2*, 二者的氨基酸序列和结构域高度相似^[4]。在脊椎动物中, 选择性剪接是转录组组和蛋白质组变异的主要来源, 受此影响每个 *in-*

Received 2012-01-18 Accepted 2012-03-19

This review was supported by National Basic Research Development Program of China (No. 2006CB705600) and the National Natural Science Foundation of China (No. 30700253, 30800355).

*Corresponding author. Tel: +86-22-23340123-6134; E-mail: yongjiemagu@yahoo.com.cn

tersectin 的基因产物都包含长亚型 (*intersectin-L*) 和短亚型 (*intersectin-S*)^[5-8]。*Intersectin-S* 从氨基端开始依次是 2 个 EH 结构域 (Eps15 homology domain), 1 个卷曲螺旋结构域, 5 个连续的 SH3 结构域 (scr homology 3 domain)。*Intersectin-L* 除具有短亚型的结构外, 其羧基端还含有 1 个 DH 结构域 (Dbl homology domain), 1 个 PH 结构域 (pleckstrin homology domain) 和 1 个 C2 结构域^[9,10]。

Intersectin-S 在胰脏、肾上腺、甲状腺、星形胶质细胞、小胶质细胞等多种组织和细胞中表达, 而 *intersectin-L* 主要在神经元中表达。*Intersectin-S* 参与多种细胞的胞吞作用, 而 *intersectin-L* 的作用较专一, 是神经元突触囊泡循环的必需组分^[6,10-12]。

1.2 *Intersectin* 结构域的功能

Intersectin 作为支架蛋白通过其不同的结构域结合其他蛋白发挥功能。*Intersectin-S* 和 *intersectin-L* 共有结构域: EH 结构域可以结合 *epsin1/2* 和 *stonedB*^[13,14], *epsin1/2* 参与网格蛋白介导的内吞^[15], *stonedB* 作为分选蛋白在突触囊泡内含物识别中发挥作用^[14]; 卷曲螺旋结构域能够结合 *Eps15*、*SNAP23/25*, 是参与胞吞和胞吐的关键组分^[16]; 5 个 SH3 结构域与 *dynamin*、*synaptojanin*、*WASP* (Wiskott-Aldrich syndrome protein)、*Arp2/3* 以及 *Sos* 等多种胞吞蛋白相结合, 在细胞骨架重排和信号转导中起重要作用^[10, 13, 15, 17]。*Intersectin-L* 独有结构域: DH 结构域是 Rho 蛋白家族蛋白分子 *Cdc42* 的鸟核苷酸交换因子 (guanine nucleotide exchange factor, GEF)^[18]; PH 结构域能结合磷酸肌醇, 与膜定位密切相关^[19], PH 结构域调节 DH 结构域的核苷酸交换活性, 因此 DH-PH 片段比单独的 DH 结构域的核苷酸交换活性强^[20]; C2 结构域可以与磷脂膜结合, 在钙离子依赖性或非依赖性的条件下结合可溶性磷脂肌醇^[21]。

2 *Intersectin* 在胞吞和胞吐中的作用

2.1 *Intersectin* 调节网格蛋白介导的突触囊泡循环

突触囊泡循环 (synaptic vesicle recycling) 是实现神经信号跨突触传递的重要途径。*Intersectin* 是公认的衔接蛋白, 同 *dynamin* 一样, 在突触囊泡循环的活跃位点发挥重要作用^[22]。

突触囊泡胞吐过程十分复杂, 大体可分为: 囊泡的锚定, 膜蛋白和膜脂融合, 融合孔开放, 融合孔扩大, 突触囊泡释放神经递质 5 个步骤。突触囊

泡的融合过程与 SNARE (SNAP receptor) 有关, 每个转运囊泡都有特异的 v-SNARE, 能识别并结合靶膜上的 t-SNARE, 决定囊泡在靶膜上的锚定与融合。突触小泡连接膜蛋白 (*synaptobrevin*) 是突触囊泡膜上一种 v-SNARE, 而 *syntaxin* 是突触质膜上一种 t-SNARE。*SNAP-25*、*syntaxin* 和 *synaptobrevin* 形成稳定的核心复合物, 起始膜融合过程, 之后融合孔开放并逐渐扩大, 释放出神经递质。三者核心复合物的形成是突触囊泡胞吐的关键环节, 同时也是非神经细胞胞吐所必需的。研究显示 *intersectin1* 的卷曲螺旋结构域与 *SNAP-25* 特异性结合, 介导该核心复合物的形成^[23]。此外, 在嗜铬细胞和 PC12 细胞中, *Intersectin1* 聚集在胞吐活跃的位点, 并且与 *SNAP-25* 共定位^[24]。*Intersectin1* 基因敲降小鼠的转运囊泡数量降低, 嗜铬细胞中胞吐作用减少。因此, *intersectin1* 是突触神经递质释放过程的功能组分^[6]。

网格蛋白介导的胞吞是突触囊泡回收的主要途径。囊泡膜结合到突触前膜上并移动到内吞区域, 胞质蛋白 AP2 识别囊泡组分, 并与其他胞吞蛋白结合, 起始胞吞过程。*Pechstein* 等^[25] 研究显示, *intersectin1* 与 AP2 的 α 和 $\beta 2$ 亚基紧密连接, 并且在突触囊泡上共定位。利用特异性抗体封闭 *intersectin1*-AP2 复合物的形成将阻碍突触囊泡循环的早期阶段, 导致大量质膜囊泡和凹窝的累积, *intersectin1*-AP2 复合物形成突触囊泡循环的起始核心, 在网格蛋白有被小窝组装的早期阶段发挥重要作用。

Intersectin1-AP2 复合物形成之后, 3 个网格蛋白二聚体形成三脚蛋白复合体, 随后聚集形成网格蛋白有被小窝。*dynamin* 水解与其结合的 GTP 引起网格蛋白有被小窝颈部缢缩, 最终脱离质膜形成网格蛋白有被小泡。*Evergren* 等^[18] 研究证实 *intersectin1* 调控聚集到内吞区域的 *dynamin* 的数量, 通过微注射特异性抗体强烈干扰 *intersectin1*-*dynamin* 的连接, 将抑制胞吞过程中囊泡的脱离, 以七鳃鳗为模式生物, 用其 *intersectin1* 的 SH3 结构域 GST 融合蛋白来亲和纯化脑提取物中与 *intersectin1* 结合的蛋白, 证实 *dynamin* 与 *intersectin1* 的 SH3 A、C、E 结构域相互结合。

尽管多数的研究集中在 *intersectin1*, 也有研究显示 *intersectin2* 在网格蛋白介导的内吞中发挥作用^[26]。*Pucharcos* 等^[4] 报道 *intersectin2* 与胞吞蛋白的亚细胞分布相似, 过表达 *intersectin2* 的任何一个

亚型都会阻碍网格蛋白介导的胞吞作用,这可能是由于其大量结合并封闭了参与胞吞过程的其它蛋白所致。同时, Pucharcos 等^[4]发现 intersectin1 和 intersectin2 长短亚型的结构并没有明显的不同,而在胞吞过程中 intersectin1 结合 dynamin 的能力强于 intersectin2,可能是由于它们 SH3A 结构域(相似度 62%)的差异造成的。

2.2 Intersectin参与细胞质膜微囊的内吞过程

细胞质膜微囊的内吞是内皮细胞物质运输的一个重要步骤,研究表明 intersectin 与该内吞途径密切相关, intersectin 的 SH3 结构域与 dynamin 富含脯氨酸的羧基端结构域结合,二者在细胞质膜微囊的颈部共定位,并在细胞质膜微囊的脱离过程中发挥作用^[15,27]。过表达 intersectin1-S 导致细胞质膜微囊的形态异常,形成簇状或葡萄样结构,抑制细胞质膜微囊介导的内吞作用^[27]。

Yamabhai 等^[15]进一步探讨了 intersectin 的五个 SH3 结构域中哪些结构域影响了其与 dynamin 的结合,结果表明 SH3A 与 dynamin 的结合能力最强,SH3C 和 SH3E 的结合能力较弱,而 SH3B 和 SH3D 不与 dynamin 结合。Yoshida 等^[28]研究显示 SH3 结构域能够通过激活 dynamin 的 GTP 酶活化而抑制细胞质膜微囊的内吞。Knezevic 等^[29]利用 myc-SH3A 瞬时转染人肺部内皮细胞以干扰 intersectin1 和 dynamin2 结合,可以导致细胞质膜微囊形态异常和细胞质膜微囊堆积,进而抑制细胞质膜微囊内吞,该结果表明 intersectin 的 SH3A 结构域调控 dynamin2 的聚合以及 GTP 酶活性,通过延长 dynamin2 寡聚体的作用时间,SH3A 结构域截获从质膜释放的细胞质膜微囊并调控运输囊泡的形成。

2.3 Intersectin与无赖氨酸激酶(with-no-lysine kinases, WNK)相互作用调控肾离子运输

人类 WNK1 和 WNK4 突变影响肾脏内钠钾运输,导致高血压和高钾血症的发生^[30,31]。WNK1 和 WNK4 募集胞吞支架蛋白 intersectin,募集反应需要 WNK 特殊的富含脯氨酸的 PXXP 基序参与,但不依赖其激酶活性,PXXP 基序能与 intersectin 的 SH3 结构域结合,把 dynamin 和 synaptojanin 募集到胞吞区域,激活网格蛋白有被小泡介导的肾钾离子通道(renal outer medullar potassium1, ROMK1)的胞吞过程^[32]。

研究显示 *intersectin1* 基因敲降会导致 WNK 依赖性的肾钾离子通道的内陷效率下降^[32]。此外,

WNK1 或 WNK4 的基因突变导致 PXXP 基序构象改变,提高其与 intersectin 的作用强度,胞吞作用随之增强,最终产生 II 型假性醛固酮减少症(pseudoaldosteronism type2, PHA2)^[30]。因此, WNK1 和 WNK4 与 intersectin1 的 SH3 结构域相互作用对于激活 WNK 依赖性的肾钾离子通道的内吞过程是至关重要的。

2.4 Intersectin作为胞吐过程中的鸟苷酸交换因子起作用

胞吐作用是基本的细胞分泌途径,在神经元和内分泌细胞中,肌动蛋白骨架重排过程是调节型胞吐的关键步骤,调控分泌颗粒募集到质膜的停泊位点上。Malacombe 等的研究显示, intersectin1-L 存在于 PC12 细胞的胞吐位点上,并作为鸟苷酸交换因子,通过激活 Cdc42 参与肌动蛋白骨架重排介导胞吐过程,沉默 *intersectin1-L* 基因的表达导致胞吐作用减弱^[24]。

为了验证胞吐过程中 intersectin1 发挥鸟苷酸交换活性的结构域, Malacombe 等分别用编码 DH 结构域、DH-PH 片段和 DH-PH-C2 片段的质粒转染 PC12 细胞,验证这些结构对钾离子诱导的生长激素分泌过程的影响,结果显示 DH-PH 片段和 DH-PH-C2 片段都能促进钾离子诱导的生长激素的释放,而单独的 DH 结构域不能增强胞吐作用^[24]。Mombosse 等^[33]也发现,外源表达 DH-PH-C2 片段能够提高钾离子诱导的 PC12 细胞生长激素的分泌,而 intersectin1-S 对这一过程并没有影响。利用包含 DH-PH-C2 区和编码 Cdc42 小干扰 RNA 的质粒共转染 PC12 细胞,发现细胞边缘 F-肌动蛋白的数量并没有改变,说明 intersectin1-L 介导的 Cdc42 活化是神经内分泌细胞胞吐过程中肌动蛋白聚合的关键步骤。

3 Intersectin与疾病的关系

Intersectin1 基因位于人类第 21 号染色体上,即唐氏综合症(Down syndrome, DS)的关键区域,在唐氏综合症病人中 intersectin1 的表达上调,从而影响内吞作用和囊泡运输^[34]。所有的 DS 患者都会产生神经系统损伤,且患者 35 岁以后大都出现阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)的典型病理特征,如 β 淀粉样肽斑块和神经结节。Yu 等的研究显示,在 *intersectin1* 基因敲除的裸鼠中,神经元的胞吞作用减弱,神经元中胞内体增大,脑部神经生长因子

水平降低, 而胞内体扩大是阿尔茨海默病的早期神经病理学特征^[6]。

此外, 神经和非神经内分泌组织的肿瘤发生多数都与激素、神经递质和代谢物的分泌功能异常有关^[35]。例如, 嗜铬细胞瘤是由于患者肾上腺嗜铬细胞中儿茶酚胺类分泌过多导致的^[36]。研究显示, Cdc42 与钙调节型胞吐的信号通路相关, 这个信号通路中的多数功能组分 (β -Pix、N-WASP) 都涉及肿瘤的发生, 胞吐过程中 Cdc42 的活化依赖于 intersectin1-L 的鸟苷酸交换活性, 而超活化 Cdc42 引发 PC12 细胞分泌物过多^[37,38]。Cdc42 与细胞侵袭相关, intersectin 激活 Cdc42 是 Ras 诱导的细胞恶性转化所必需的^[39,40]。

研究显示, 表达全长的 intersectin 或 EH 结构域能够抑制膜结合受体的内吞 (如 EGFR), 产生持续地刺激信号, 活化有丝分裂信号途径, 进而提高 Elk-1 的活性^[41]。因此, intersectin 可能在有丝分裂途径的活化中发挥作用, 这与肿瘤的形成有关, 但是详细机制还有待进一步论证。Specht 等最近的研究表明 intersectin2 降表达与通过环磷酸胺、氨甲喋呤和 5-氟尿嘧啶辅助化学疗法治疗的乳腺癌病人预后不良有关^[42]。因此, intersectin2 的表达水平就可能作为乳腺癌早期诊断的参考指标。

4 展望

Intersectin 作为进化上高度保守的支架蛋白或衔接蛋白, 其多功能结构域通过与多种蛋白结合在胞吞胞吐及其信号通路、细胞质膜微囊转运及其信号通路、细胞有丝分裂信号通路和细胞骨架重排等细胞过程中发挥重要作用^[13,27,43]。Intersectin 基因及其产物的异常表达或改变将直接影响到细胞正常的物质分泌和摄取过程, 进而影响人体的正常生理机能。因此, 了解 intersectin 所结合的这些中间蛋白的种类和特点, 阐明 intersectin 与其结合蛋白的相互作用方式, 将有助于进一步揭示细胞信号网络中各种细胞过程的信号传递和整合的分子机制。

Intersectin 与人类唐氏综合症、阿尔茨海默病和肿瘤等多种疾病密切相关, intersectin 定位于人类唐氏综合征关键区的 21 号染色体上, 且其 mRNA 在唐氏综合症患者大脑中表达升高^[5], 说明这种蛋白可能是唐氏综合症的潜在病因, 唐氏综合症患者的细胞 intersectin 表达升高可能会导致神经系统发育紊乱或功能失常。此外, intersectin 高表

达可能会干扰受体介导的内吞作用, 导致信号通路失调, intersectin 对内吞作用的影响可能改变淀粉样前体蛋白和 β 淀粉样肽斑块形成, 这与唐氏综合症和阿尔茨海默氏病的发生都密切相关^[6]。Intersectin 与部分肿瘤的发生和发展有关, 但有关作用机制的报道较少, 本实验室的研究结果证实 intersectin1-S 参与胶质瘤细胞的迁移和侵袭过程^[44]。肿瘤的发生发展是多种因素共同作用的结果, 因此仍需更多的研究来证实 intersectin 如何导致肿瘤的发生以及如何调节肿瘤细胞侵袭和转移。尽管 intersectin 在不同疾病中的作用被初步揭示, 但是其具体作用机制还需要更深入的研究和探讨。

参考文献

- 1 Doherty GJ, McMahon HT. Mechanisms of endocytosis. *Annu Rev Biochem* 2009; 78: 857–902.
- 2 Momboisse F, Ory S, Ceridono M, Calco V, Vitale N, Bader MF, Gasman S. The Rho guanine nucleotide exchange factors Intersectin 1L and beta-Pix control calcium-regulated exocytosis in neuroendocrine PC12 cells. *Cell Mol Neurobiol* 2010; 30(8): 1327–1333.
- 3 Tsyba L, Nikolaienko O, Dergai O, Dergai M, Novokhatska O, Skrypkinia I, Rynditch A. Intersectin multidomain adaptor proteins: Regulation of functional diversity. *Gene* 2011; 473(2): 67–75.
- 4 Pucharos C, Estivill X, de la Luna S. Intersectin 2, a new multimodular protein involved in clathrin-mediated endocytosis. *FEBS Lett* 2000; 478(1–2): 43–51.
- 5 Guipponi M, Scott HS, Chen H, Schebesta A, Rossier C, Antonarakis SE. Two isoforms of a human intersectin (ITSN) protein are produced by brain-specific alternative splicing in a stop codon. *Genomics* 1998; 53(3): 369–376.
- 6 Yu Y, Chu PY, Bowser DN, Keating DJ, Dubach D, Harper I, Tkalcovic J, Finkelstein DI, Pritchard MA. Mice deficient for the chromosome 21 ortholog Itsn1 exhibit vesicle-trafficking abnormalities. *Hum Mol Genet* 2008; 17(21): 3281–3290.
- 7 Kropyvko S, Gerasymchuk D, Skrypkinia I, Dergai M, Dergai O, Nikolaienko O, Rynditch A, Tsyba L. Structural diversity and differential expression of novel human intersectin 1 isoforms. *Mol Biol Rep* 2010; 37(6): 2789–2796.
- 8 Blencowe BJ. Alternative splicing: new insights from global analyses. *Cell* 2006; 126(1): 37–47.
- 9 Roos J, Kelly RB. Dap160, a neural-specific Eps15 homology and multiple SH3 domain-containing protein that interacts with *Drosophila* dynamin. *J Biol Chem* 1998; 273(30): 19108–19119.

- 10 Ma YJ, Okamoto M, Gu F, Obata K, Matsuyama T, Desaki J, Tanaka J, Sakanaka M. Neuronal distribution of ESH1/intersectin: molecular linker between clathrin-mediated endocytosis and signaling pathways. *J Neurosci Res* 2003; 71(4): 468–477.
- 11 Tsyba L, Skrypkina I, Rynditch A, Nikolaienko O, Ferenets G, Fortna A, Gardiner K. Alternative splicing of mammalian Intersectin 1: domain associations and tissue specificities. *Genomics* 2004; 84(1): 106–113.
- 12 Hussain NK, Yamabhai M, Ramjaun AR, Guy AM, Baranes D, O'Bryan JP, Der CJ, Kay BK, McPherson PS. Splice variants of intersectin are components of the endocytic machinery in neurons and nonneuronal cells. *J Biol Chem* 1999; 274(22): 15671–15677.
- 13 Sengar AS, Wang W, Bishay J, Cohen S, Egan SE. The EH and SH3 domain Eps proteins regulate endocytosis by linking to dynamin and Eps15. *EMBO J* 1999; 18(5): 1159–1171.
- 14 Kelly LE, Phillips AM. Molecular and genetic characterization of the interactions between the *Drosophila* stoned-B protein and DAP-160 (intersectin). *Biochem J* 2005; 388(Pt 1): 195–204.
- 15 Yamabhai M, Hoffman NG, Hardison NL, McPherson PS, Castagnoli L, Cesareni G, Kay BK. Intersectin, a novel adaptor protein with two Eps15 homology and five Src homology 3 domains. *J Biol Chem* 1998; 273(47): 31401–31407.
- 16 Keating DJ, Chen C, Pritchard MA. Alzheimer's disease and endocytic dysfunction: clues from the Down syndrome-related proteins, DSCR1 and ITSN1. *Ageing Res Rev* 2006; 5(4): 388–401.
- 17 Li SS. Specificity and versatility of SH3 and other proline-recognition domains: structural basis and implications for cellular signal transduction. *Biochem J* 2005; 390(Pt 3): 641–653.
- 18 Evergren E, Gad H, Walther K, Sundborger A, Tomilin N, Shupliakov O. Intersectin is a negative regulator of dynamin recruitment to the synaptic endocytic zone in the central synapse. *J Neurosci* 2007; 27(2): 379–390.
- 19 Lemmon MA, Ferguson KM. Pleckstrin homology domains. *Curr Top Microbiol Immunol* 1998; 228: 39–74.
- 20 Rossman KL, Campbell SL. Bacterial expressed DH and DH/PH domains. *Methods Enzymol* 2000; 325: 25–38.
- 21 Rizo J, Sudhof TC. C2-domains, structure and function of a universal Ca²⁺-binding domain. *J Biol Chem* 1998; 273(26): 15879–15882.
- 22 Koh TW, Verstreken P, Bellen HJ. Dap160/intersectin acts as a stabilizing scaffold required for synaptic development and vesicle endocytosis. *Neuron* 2004; 43(2): 193–205.
- 23 Okamoto M, Schoch S, Sudhof TC. ESH1/intersectin, a protein that contains EH and SH3 domains and binds to dynamin and SNAP-25. A protein connection between exocytosis and endocytosis? *J Biol Chem* 1999; 274(26): 18446–18454.
- 24 Malacombe M, Ceridono M, Calco V, Chasserot-Golaz S, McPherson PS, Bader MF, Gasman S. Intersectin-1L nucleotide exchange factor regulates secretory granule exocytosis by activating Cdc42. *EMBO J* 2006; 25(15): 3494–3503.
- 25 Pechstein A, Bacetic J, Vahedi-Faridi A, Gromova K, Sundborger A, Tomlin N, Krainer G, Vorontsova O, Schafer JG, Owe SG, Cousin MA, Saenger W, Shupliakov O, Haucke V. Regulation of synaptic vesicle recycling by complex formation between intersectin 1 and the clathrin adaptor complex AP2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(9): 4206–4211.
- 26 Klein IK, Predescu DN, Sharma T, Knezevic I, Malik AB, Predescu S. Intersectin-2L regulates caveola endocytosis secondary to Cdc42-mediated actin polymerization. *J Biol Chem* 2009; 284(38): 25953–25961.
- 27 Predescu SA, Predescu DN, Timblin BK, Stan RV, Malik AB. Intersectin regulates fission and internalization of caveolae in endothelial cells. *Mol Biol Cell* 2003; 14(12): 4997–5010.
- 28 Yoshida Y, Takei K. Stimulation of dynamin GTPase activity by amphiphysin. *Methods Enzymol.* 2005; 404: 528–537.
- 29 Knezevic I, Predescu D, Bardita C, Wang M, Sharma T, Keith B, Neamu R, Malik A, Predescu S. Regulation of dynamin-2 assembly-disassembly and function through the SH3A domain of intersectin-1s. *J Cell Mol Med* 2011; 15: 2364–2376.
- 30 Huang CL, Yang SS, Lin SH. Mechanism of regulation of renal ion transport by WNK kinases. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008; 17(5): 519–525.
- 31 Lazrak A, Liu Z, Huang CL. Antagonistic regulation of ROMK by long and kidney-specific WNK1 isoforms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(5): 1615–1620.
- 32 He G, Wang HR, Huang SK, Huang CL. Intersectin links WNK kinases to endocytosis of ROMK1. *J Clin Invest* 2007; 117(4): 1078–1087.
- 33 Momboisse F, Ory S, Calco V, Malacombe M, Bader MF, Gasman S. Calcium-regulated exocytosis in neuroendocrine cells: intersectin-1L stimulates actin polymerization and exocytosis by activating Cdc42. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1152: 209–214.
- 34 Pucharcos C, Fuentes JJ, Casas C, de la Luna S, Alcantara S, Arbones ML, Soriano E, Estivill X, Pritchard M. Alu-splice cloning of human Intersectin (ITSN), a putative multivalent binding protein expressed in proliferating and differentiating neurons and overexpressed in Down syndrome. *Eur J Hum*

- Genet 1999; 7(6): 704–712.
- 35 Gratzl M, Breckner M, Prinz C. Mechanisms of storage and exocytosis in neuroendocrine tumors. *Endocr Pathol* 2004; 15(1): 1–16.
- 36 Lenders JW, Eisenhofer G, Mannelli M, Pacak K. Pheochromocytoma. *Lancet* 2005; 366(9486): 665–675.
- 37 Vega FM, Ridley AJ. Rho GTPases in cancer cell biology. *FEBS Lett* 2008; 582(14): 2093–2101.
- 38 Ellenbroek SI, Collard JG. Rho GTPases: functions and association with cancer. *Clin Exp Metastasis* 2007; 24(8): 657–672.
- 39 Wang JB, Wu WJ, Cerione RA. Cdc42 and Ras cooperate to mediate cellular transformation by intersectin-L. *J Biol Chem* 2005; 280(24): 22883–22891.
- 40 Feng Q, Baird D, Yoo S, Antonyak M, Cerione RA. Phosphorylation of the cool-1/beta-Pix protein serves as a regulatory signal for the migration and invasive activity of Src-transformed cells. *J Biol Chem* 2010; 285(24): 18806–18816.
- 41 Adams A, Thorn JM, Yamabhai M, Kay BK, O'Bryan JP. Intersectin, an adaptor protein involved in clathrin-mediated endocytosis, activates mitogenic signaling pathways. *J Biol Chem* 2000; 275(35): 27414–27420.
- 42 Specht K, Harbeck N, Smida J, Annecke K, Reich U, Naehrig J, Langer R, Mages J, Busch R, Kruse E, Klein-Hitpass L, Schmitt M, Kiechle M, Hoefler H. Expression profiling identifies genes that predict recurrence of breast cancer after adjuvant CMF-based chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 118(1): 45–56.
- 43 Das M, Scappini E, Martin NP, Wong KA, Dunn S. Regulation of neuron survival through an intersectin phosphoinositide 3-kinase C2b-AKT pathway. *Mol Cell Biol* 2007; 27(22): 7906–7917.
- 44 Ma YJ, Wang B, Li W, Liu X, Wang J, Ding T, Zhang J, Ying G, Fu L, Gu F. Intersectin1-s is involved in migration and invasion of human glioma cells. *J Neurosci Res* 2011; 89(7): 1079–1090.