

## L-plastin: Structure, Regulation, and Roles in Cancer Invasion and in Macrophages

Hwa-Jung Kim<sup>1</sup> and Hwang-Ho Lee<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, College of Medicine, Chungnam National University, Daejeon, Korea

<sup>2</sup>Department of Microbiology and Immunology, Medical School, Chonbuk National University, Jeonju, Korea

### Corresponding

Hwang-Ho Lee

Department of Microbiology and Immunology, Medical School, Chonbuk National University, 20 Geonji-ro, Deokjin-gu, Jeonju 54907, Korea

Phone : +82-63-270-3070

Fax : +82-63-270-3070

E-mail : hwangho@jbnu.ac.kr

Received : December 21, 2018

Revised : December 21, 2018

Accepted : December 24, 2018

The cytoskeleton consists of 3 filamentous components: intermediate filaments, microtubules, and actin filaments. Actin filaments continuously assemble and disassemble far out of equilibrium to adapt cells in response to external stimuli. Actin filaments organization and dynamic are controlled by a multitude of actin-binding proteins including actin-bundling proteins. L-plastin, expressed abundantly in lymphocytes and monocytes, is an actin-bundling protein that roles in immune defense and in metastatic invasion of cancer cells. The actin-bundling activity of L-plastin is regulated not only by intracellular calcium concentration, but by phosphorylation of Ser5. The actin-bundling activity of L-plastin decreases by increased calcium concentration but is promoted by phosphorylation of Ser5. The morphology changes and motility of cells requires continuous remodeling of actin filaments which demands the sensitive nature of L-plastin to  $Ca^{2+}$ -signal, phosphorylation of Ser5, and probably additional regulation. This review briefly describes the structure and regulation of L-plastin, and roles for L-plastin in cancer invasion and in macrophages.

**Key Words:** L-plastin, Calcium, Phosphorylation

## INTRODUCTION

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

세포가 환경에 적응하려면 외부 변화에 따라 액틴섬유가 시간에 맞게 지속적으로 조립되고 해체되어야 한다. 액틴섬유는 세포의 화학주성, 부착, 움직임, 병원체 포식과 살균, 그리고 면역 시냅스에 참여하는 중요한 요소이다 (1). 액틴의 유기적 구성과 유동성은 액틴과 결합하는 단백질의 영향을 받는다. 액틴과 결합하는 이들 단백질에는 cofilin,  $\alpha$ -actinin, filamin, fascin 그리고 plastin 등이 있다 (2). Plastin에는 세 가지 isoform이 있으며 그 발현이 독특하다. 즉, I-plastin은 장관과 신장 상피세포에 (3), T-plastin은 고형조직에 (4), 그리고 L-plastin (LPL)은 배타적으로 조혈세포계열 세포와 대다수의 악성종양에 발현된다 (4).

Copyright © 2018 Journal of Bacteriology and Virology

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>).

LPL은 N-말단의 칼슘반응부위 두 개와 그 다음에 위치한 액틴결합영역(actin-binding domain, ABDs) 두 개로 구성되어 있다 (5). 각 ABD가 하나의 액틴섬유와 결합하여 두 개의 액틴섬유를 교차연결하여 액틴섬유다발이 만들어진다 (6). LPL의 액틴다발형성능은 세포질 칼슘과 다섯 번째 아마노산 serine (Ser5)의 인산화에 의하여 조절된다 (7). LPL의 액틴섬유 결합력은 칼슘농도가  $10^{-6}$  M보다 높을 때 감소하는 한편  $10^{-7}$  M보다 낮을 때 유지된다 (8). IL-1, IL-2, 내독소 또는 PMA로 자극하면 여러 가지 세포에서 LPL의 Ser5 인산화가 이루어진다. Ser5 인산화 LPL (p-Ser5-LPL)은 LPL보다 액틴섬유와 잘 결합하며, focal adhesion에서 그 양이 증가할 뿐만 아니라 액틴섬유의 재편성이 덜 일어나게 한다 (9).

Phosphoinositides (10) 및 LPL S-glutathionylation이 (11) LPL과 액틴섬유의 결합을 감소시킨다. Iba1, vimentin, calmodulin (CaM), cortactin, 그리고 grancalcin 등이 LPL과 결합한다는 보고가 있으나 이들이 LPL의 액틴다발형성능에 미치는 영향은 밝혀지지 않았다 (1).

외부 자극에 대한 반응으로 세포가 움직이거나 그 형태가 변하려면 액틴섬유가 역동적으로 재편성됨은 물론 유연한 성질을 가져야 할 것이다. 액틴섬유나 LPL에 결합하는 단백질을 배제할지라도, 액틴섬유가 즉각적이고 역동적으로 재편성되고 그 유연성을 가지려면 LPL이 칼슘에 민감한 성질은 물론 Ser5의 인산화나 S-glutathionylation 외에 적어도 또 다른 방식에 따른 분자구조의 변화에 의존할 가능성이 있다. 이 평론에서는 LPL의 구조 및 조절, 그리고 암세포 침습에서 및 큰포식세포에서 LPL의 역할을 주로 기술하였다.

## 1. LPL의 분자구조

세 종류의 plastin은 공통적으로 두 개의 N-말단 EF-hand motif과 그 다음에 위치하는 두 개의 ABD로 구성되어 있다. EF-hand motif는 CaM의 칼슘결합부위와 서로 비슷하고 (5), 각 ABD는 서로 독립된 두 개의 calponin homology (CH) 영역으로 이루어져 있다. 여러 가지 신호단백과 세포골격 단백질에 CH 영역이 있으나, plastin에만 ABD 두 개가 연속적으로 존재한다 (12). ABD1과 ABD2는 서로 연속하여 배열되어 있으며, 4개의 CH 영역은 각각 조밀하게 겹쳐져 구형으로 존재한다. 이러한 구조적 특징으로 각 ABD가 하나의 액틴섬유와 결합하여 두 개의 액틴섬유를 교차연결하여 잘 결속된 액틴섬유다발을 만든다 (6).

T-plastin이 액틴섬유다발을 형성할 때 그 교차결합은 불규칙하며 액틴섬유는 교차결합부위가 구부러질 수 있다. LPL이 액틴섬유다발을 형성하는 방식이 T-plastin과 비슷할 것으로 생각되었으나, LPL이 actin과 결합하는 방식은 T-plastin보다는  $\alpha$ -actinin이 결합하는 방식과 비슷하다 (10). 즉, LPL은 액틴의 종류에 따른 특이성이 없이 결합하며, phosphoinositides가 그 결합을 억제하고, 액틴섬유 축을 따라 결합한다 (10). 액틴에 결합하는 친화력은 LPL의 ABD1이 ABD2보다 높은 반면, 액틴중합이 풀리지 않도록 보호하는 능력은 ABD2가 ABD1보다 높아 두 개의 ABD가 서로 다른 방식으로 액틴과 작용한다 (10).

LPL이 액틴섬유다발을 형성하는 방식이 칼슘에 의존적이라고 알려져 있으나, 그 작동방식은 잘 밝혀지지 않았었다. 최근의 연구에 (13) 따르면, 두 개의 EF-hand motif 바로 다음에 그리고 두 개의 ABD 바로 앞에 해당하는 부위가 LPL이 칼슘에 의존하여 액틴섬유다발을 형성할 때 조절부위로서 작용한다. 소위 'switch-helix'로 제안된 이 부위는 LPL의 앞쪽 조절영역(headpiece regulatory domain) 가운데 다섯 번째 helix (H5)를 만들 수 있는데, 칼슘이 있을 때만  $\alpha$ -helix를 형성하여 두 개의 EF-hand motif와 강하게 결합한다.

## 2. 칼슘에 의한 LPL의 액틴다발형성능 조절

세포질내 칼슘농도와 Ser5의 인산화가 LPL의 액틴다발형성능을 조절한다고 알려져 있다. Plastin의 칼슘결합부위(EF-hand motif)는 CaM의 그것과 비슷하여 plastin이 액틴과 결합할 때 영향을 미칠 수 있음을 알 수 있다. 세 가지 plastin의 EF-hand motif는 상동성이 비교적 낮는데, 이는 이들의 액틴결합능이 칼슘에 의하여 서로 다르게 조절될 수 있음을 암시한다. 사람의 LPL은 유독 칼슘결합에 필요한 모든 아미노산이 있어 LPL의 액틴다발형성이 칼슘에 의하여 엄격히 조절된다. LPL의 액틴다발형성능은 칼슘농도에 따라 달라지는데, pCa 7에서 액틴다발을 형성하나 pCa 6에서 액틴다발을 형성하지 않는다 (8).

칼슘이 EF-hand motif와 결합하면 LPL의 3차원 구조가 바뀐다 (6). EF-hand motif에 칼슘이 결합하면 EF-hand motif와 ABD 사이에 있는 부위가  $\alpha$ -helix를 형성하여 소위 'switch-helix'가 된다 (13). 각 EF-hand motif가 형성하고 있는 두 개의  $\alpha$ -helix 외에 H5가 두 개의 EF-hand motif와 강하게 결합함으로써 ABD로부터 H5가 유리되어 LPL의 액틴결합능을 떨어뜨리는 역할을 한다 (13). 반대로 칼슘이 없으면 이 부위의  $\alpha$ -helix 구조가 풀리고 LPL이 액틴섬유와 결합한다. 즉, EF-hand motif가 칼슘과 결합하면 소수성 포켓이 안쪽으로 닫혀 감춰지고, 칼슘이 없으면 소수성 포켓이 노출되는 열린 구조로 된다. 이 열린 포켓에 H5가 밀접히 반응하는데, 그 양상은 CaM이 그 표적단백과 전형적으로 상호작용하는 것과 비슷하다 (13).

## 3. 인산화에 의한 LPL의 액틴다발형성능 조절

세 가지 plastin 중에서 생체내에서 LPL만 인산화 된다고 알려져 있다. LPL에서 번역 후 수식이 일어날 것으로 추정되는 부위가 여럿이지만 오직 Ser5의 인산화가 알려져 있다. LPL의 Ser5 인산화는 특히 조혈세포계열 세포에서 이루어지고 LPL을 발현하는 악성종양세포에서도 일어난다. Ser5 인산화가 LPL의 액틴섬유 결합능에 미치는 연구는 5번 serine을 alanine (S5A LPL)이나 glutamic acid (S5E LPL)로 치환하여 이루어졌다 (14). 이 연구에 따르면 S5E LPL은 p-Ser5-LPL과 흡사하게 액틴과 작용하는데, S5E LPL은 세포막의 액틴이 풍부한

부위에 위치하는 반면 S5A LPL은 액틴이 풍부한 곳에 LPL이 이동하는 것을 감소시킨다. LPL 인산화로 액틴결합능이 증가하여 LPL이 국소 부착부위에 보다 많이 위치하고 축방이동을 감소시키며, 액틴섬유의 재편성을 감소시킨다 (9). 즉, LPL의 Ser5 인산화는 LPL의 액틴결합능을 증가시킨다. S5E 변이체를 이용한 연구에 (13) 따르면, LPL의 Ser5 인산화는 칼슘 유무와 무관하게 EF-hand motif와 H5 사이의 결합이나 EF영역의 전체적인 구조에 거의 영향을 미치지 않는다.

#### 4. PIP2, S-glutathionylation 또는 LPL 결합단백에 의한 LPL의 액틴다발형성능 조절

PIP2는 농도에 비례하여 LPL과 G-actin의 결합을 억제하는데 그 농도가 50  $\mu\text{g/ml}$ 일 때 결합을 50% 감소시키지만 diacylglycerol은 결합에 영향을 미치지 않는다 (10). PIP2가 LPL과 액틴섬유의 결합에 미치는 영향은 앞으로 밝혀져야 할 것이다.

질소산화 스트레스에 의하여 LPL의 ABD cysteine 잔기들이 glutathione으로 수식되면 LPL의 액틴다발형성능이 감소하여 중성구의 화학주성, 극성, 살균능 및 포식능이 떨어진다고 (11). S-thiolation이 LPL의 인산화에 어떤 영향을 미치는지 아직 모른다.

큰포식세포에서 vimentin은 LPL과 결합하는데, 액틴섬유가 풍부한 곳에 이 두 가지가 공존한다 (15). Vimentin의 N-말단 영역이 LPL의 ABD1과 결합한다 (15). 조혈세포계 세포에 있는 수종의 단백질이 LPL과 결합하는 것으로 알려져 있다 (1). 사람 중성구에 많은 양 존재하는 grancalcin은 칼슘이 없을 때 LPL과 결합한다. LPL은 microglia에서 액틴다발을 형성하는 Iba1과 결합하는데, Iba1이 LPL과 협동으로 액틴섬유 재편성을 조절하여 microglia의 이동과 포식을 촉진할 것으로 추정된다 (16). T 세포와 항원제시세포가 면역 시냅스를 형성할 때 LPL은 CaM과 협동으로 작용한다 (1). Vimentin, grancalcin 또는 CaM이 LPL의 액틴다발형성에 어떻게 관여하는지는 밝혀지지 않았다.

#### 5. LPL과 암세포 침습력

LPL은 조혈세포계 세포에만 정상적으로 발현되지만 조혈세포계에서 유래하지 않은 다양한 암세포에서 LPL이 비정상적으로 발현된다. 따라서 사람 암의 여러 가지 유형에서 암 표식자로 진단 및 예후판정에 사용될 수 있을 것이다 (17).

상피세포암의 다수에서 LPL이 발현되며 (4), 민감한 RT-PCR로 검사하여 사람 암세포의 90% 이상에서 그 유전자가 활성상태임을 확인하였다 (18). 약 14%에서 LPL이 검출되는 사람 유방암은 종양병기(stage)와 LPL 발현 사이에 상관관계가 없으나 (19), 종양병기 III과 IV인 사람 대장암과 직장암에서는 LPL이 중등도 이상 발현되어 LPL 발현량과 종양병기 사이에 상관관계가 있다 (20). 많은 악성 난소암에서 LPL 발현이 난소 steroid 호르몬에 반응하지 않으나 전립선 악성 상피세포암에서 LPL 발현은 steroid 호르몬 수용체에 의존한다 (21). LPL에 대한 항체를 이용한 연구에서 LPL은 정상 전립선의 섬유골격 기질에서 검출되나 샘상피세포에는 발현되지 않는 것과 대조적으로 샘상피암에서 현저하게 검출된다 (22). 전립선암 세포주 PC-3과 이의 변이주인 전이성 PC-3M에 LPL antisense 유전자를 발현시키면 두 가지 세포주에서 증식속도, 침습력 및 운동성이 감소된다 (23). 또한 PC3M 세포주에서 내인성 LPL을 knock-down 시키면 증식과 전이가 감소된다 (24). 사람 흑색종은 LPL의 인산화 유무와 상관없이 LPL 발현으로 부착성이 증가하나 인산화 되는 LPL을 발현하는 경우 그 침습력이 증가된다 (24). 유방암 세포주를 대상으로 한 연구에 (25) 따르면, ribosomal S6 kinase가 LPL Ser5를 직접 인산화시키며, p-Ser5-LPL은 MDA-MB-35S 세포주의 이동과 전이에 관여한다.

이상의 연구들을 고려할 때 종양병기와 LPL 발현 사이의 상관관계는 암의 종류에 따라 다를지라도 LPL Ser5의 인산화와 관련성이 있을 가능성이 높으므로 진단이나 치료 목적으로 종양병기를 정할 때 LPL의 발현은 물론 LPL의 인산화 정도를 함께 평가할 필요가 있다.

#### 6. LPL과 큰포식세포

큰포식세포의 이동에는 액틴이 그 구조에 중요한 podosomes과 lamellipodia 형성에 따른 액틴골격의 역동적인 재편성이 필요하다. 큰포식세포의 podosome과 연관되어 있는 LPL이 결핍되면 복강 큰포식세포의 podosome 안정성이 깨져 단핵구가 복강으로 덜 이동하게 된다 (26). LPL은 폐포 큰포식세포의 주산기 발생에서 폐포 큰포식세포 전구체가 폐포에 정확하게 자리를 잡도록 이동하고 정착하는데 중요하다 (27). 즉, LPL이 발현되지 못하면 폐포의 큰포식세포 수가 줄어들어 폐의 폐렴구균 감염에 효과적으로 대처하지 못하는 면역결핍 상태가 일어나는데 (27, 28), 이는 LPL이 선천면역에 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다. LPL은 큰포식세포에 존재하는 주요 단백질의 하나로 액틴결합 단백질들과 같이 분리되며, LPL의 액틴에 대한 농도비는 1:7~8이다 (29). 이동하고 있는 큰포식세포의 lamellipodia에서 podosome의 액틴과 LPL을 추적한 연구에 따르면 액틴섬유와 LPL은 위치와 시점에서 빈틈없이 역동적으로 변한다 (30). LPL Ser5가 인산화 되면 LPL의 액틴섬유 결합능이 증가하는데, 큰포식세포의 podosome에서 소량의 인산화 LPL이 항시적으로 존재함은 물론 LPS

자극으로 Ser5 인산화가 이루어진다 (1). 즉, LPL은 면역세포는 물론 큰포식세포에서 발현되는 주요 단백 중의 하나로 큰포식세포의 발생 및 기능에 필요하며 액틴섬유의 역동적인 재편성에 참여하는 중요 단백질의 하나이다.

## CONCLUSION

LPL은 백혈구에 특이적으로 발현되는 단백질의 하나로 액틴섬유다발을 형성케 한다. 액틴섬유의 재편성이 시간에 맞게 역동적이며 유연하게 이루어지는 세포의 신호전달, 부착 및 움직임에서 LPL의 역할은 세포 종류 및 자극에 따라 달라진다. 즉, LPL은 큰포식세포의 발생 및 기능에 필요하며 액틴섬유의 역동적인 재편성에 참여하는 중요 단백질이다. 또한 LPL은 비정상적으로 여러 암세포에서도 발현되고, 그 발현과 Ser5 인산화가 많은 종양에서 침습능과 연관되어 있어, 진단이나 치료 목적으로 종양병기를 결정할 때 LPL 발현과 인산화를 함께 평가하는 것이 필요하다. 세포의 매우 섬세한 반응으로 미루어 보면 LPL의 액틴섬유 결합능에 세포질내 칼슘, LPL의 Ser5 인산화, 그리고 LPL과 결합하는 몇몇 단백질 등 외에 다른 요소들이 관여할 가능성이 있다. 따라서 면역세포와 암세포에서 LPL의 중요 역할을 고려하면 앞으로 더 많은 연구가 이루어져야 할 것이다.

## ACKNOWLEDGEMENT

This work was partly supported by the Chonbuk National University Medical School Alumni Association Fund.

## REFERENCES

- 1) Morley SC. The actin-bundling protein L-plastin: a critical regulator of immune cell function. *Int J Cell Biol* 2012;2012: 935173.
- 2) Ridley AJ, Schwartz MA, Burridge K, Firtel RA, Ginsberg MH, Borisy G, *et al*. Cell migration: integrating signals from front to back. *Science* 2003;302:1704-9.
- 3) Lin CS, Shen W, Chen ZP, Tu YH, Matsudaira P. Identification of I-plastin, a human fimbrin isoform expressed in intestine and kidney. *Mol Cell Biol* 1994;14:2457-67.
- 4) Lin CS, Park T, Chen ZP, Leavitt J. Human plastin genes. Comparative gene structure, chromosome location, and differential expression in normal and neoplastic cells. *J Biol Chem* 1993;268:2781-92.
- 5) de Arruda MV, Watson S, Lin CS, Leavitt J, Matsudaira P. Fimbrin is a homologue of the cytoplasmic phosphoprotein plastin and has domains homologous with calmodulin and actin gelation proteins. *J Cell Biol* 1990;111:1069-79.
- 6) Shinomiya H, Shinjo M, Fengzhi L, Asano Y, Kihara H. Conformational analysis of the leukocyte-specific EF-hand protein p65/L-plastin by X-ray scattering in solution. *Biophys Chem* 2007;131:36-42.
- 7) Lin CS, Lau A, Lue TF. Analysis and mapping of plastin phosphorylation. *DNA Cell Biol* 1998;17:1041-6.
- 8) Namba Y, Ito M, Zu Y, Shigesada K, Maruyama K. Human T cell L-plastin bundles actin filaments in a calcium-dependent manner. *J Biochem* 1992;112:503-7.
- 9) Al Tanoury Z, Schaffner-Reckinger E, Halavaty A, Hoffmann C, Moes M, Hadzic E, *et al*. Quantitative kinetic study of the actin-bundling protein L-plastin and of its impact on actin turn-over. *PloS One* 2010;5:e9210.

- 10) Lebart MC, Hubert F, Boiteau C, Ventéo S, Roustan C, Benyamin Y. Biochemical characterization of the L-plastin-actin interaction shows a resemblance with that of alpha-actinin and allows a distinction to be made between the two actin-binding domains of the molecule. *Biochemistry* 2004;43:2428-37.
- 11) Dubey M, Singh AK, Awasthi D, Nagarkoti S, Kumar S, Ali W, *et al.* L-Plastin S-glutathionylation promotes reduced binding to beta-actin and affects neutrophil functions. *Free Radic Biol Med* 2015;86:1-15.
- 12) Korenbaum E, Rivero F. Calponin homology domains at a glance. *J Cell Sci* 2002;115:3543-5.
- 13) Ishida H, Jensen KV, Woodman AG, Hyndman ME, Vogel HJ. The Calcium-Dependent Switch Helix of L-Plastin Regulates Actin Bundling. *Sci Rep* 2017;7:40662.
- 14) Janji B, Giganti A, De Corte V, Catillon M, Bruyneel E, Lentz D, *et al.* Phosphorylation on Ser5 increases the F-actin-binding activity of L-plastin and promotes its targeting to sites of actin assembly in cells. *J Cell Sci* 2006;119:1947-60.
- 15) Correia I, Chu D, Chou YH, Goldman RD, Matsudaira P. Integrating the actin and vimentin cytoskeletons. adhesion-dependent formation of fimbrin-vimentin complexes in macrophages. *J Cell Biol* 1999;146:831-42.
- 16) Ohsawa K, Imai Y, Sasaki Y, Kohsaka S. Microglia/macrophage-specific protein Iba1 binds to fimbrin and enhances its actin-bundling activity. *J Neurochem* 2004;88:844-56.
- 17) Ang CS, Nice EC. Targeted in-gel MRM: a hypothesis driven approach for colorectal cancer biomarker discovery in human feces. *J Proteome Res* 2010;9:4346-55.
- 18) Park T, Chen ZP, Leavitt J. Activation of the leukocyte plastin gene occurs in most human cancer cells. *Cancer Res* 1994;54:1775-81.
- 19) Lapillonne A, Coué O, Friederich E, Nicolas A, Del Maestro L, Louvard D, *et al.* Expression patterns of L-plastin isoform in normal and carcinomatous breast tissues. *Anticancer Res* 2000;20:3177-82.
- 20) Otsuka M, Kato M, Yoshikawa T, Chen H, Brown EJ, Masuho Y, *et al.* Differential expression of the L-plastin gene in human colorectal cancer progression and metastasis. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;289:876-81.
- 21) Shinomiya H. Plastin family of actin-bundling proteins: its functions in leukocytes, neurons, intestines, and cancer. *Int J Cell Biol* 2012;2012:213492.
- 22) Zheng J, Rudra-Ganguly N, Miller GJ, Moffatt KA, Cote RJ, Roy-Burman P. Steroid hormone induction and expression patterns of L-plastin in normal and carcinomatous prostate tissues. *Am J Pathol* 1997;150:2009-18.
- 23) Zheng J, Rudra-Ganguly N, Powell WC, Roy-Burman P. Suppression of prostate carcinoma cell invasion by expression of antisense L-plastin gene. *Am J Pathol* 1999;155:115-22.
- 24) Riplinger SM, Wabnitz GH, Kirchgessner H, Jahraus B, Lasitschka F, Schulte B, *et al.* Metastasis of prostate cancer and melanoma cells in a preclinical in vivo mouse model is enhanced by L-plastin expression and phosphorylation. *Mol Cancer* 2014;13:10.
- 25) Lommel MJ, Trairatphisan P, Gäbler K, Laurini C, Muller A, Kaoma T, *et al.* L-plastin Ser5 phosphorylation in breast cancer cells and in vitro is mediated by RSK downstream of the ERK/MAPK pathway. *FASEB J* 2016;30:1218-33.

- 26) Zhou JY, Szasz TP, Stewart-Hutchinson PJ, Sivapalan J, Todd EM, Deady LE, *et al.* L-Plastin promotes podosome longevity and supports macrophage motility. *Mol Immunol* 2016;78:79-88.
- 27) Todd EM, Zhou JY, Szasz TP, Deady LE, D'Angelo JA, Cheung MD, *et al.* Alveolar macrophage development in mice requires L-plastin for cellular localization in alveoli. *Blood* 2016;128:2785-96.
- 28) Deady LE, Todd EM, Davis CG, Zhou JY, Topcagic N, Edelson BT, *et al.* L-plastin is essential for alveolar macrophage production and control of pulmonary pneumococcal infection. *Infect Immun* 2014;82:1982-93.
- 29) Pacaud M, Derancourt J. Purification and further characterization of macrophage 70-kDa protein, a calcium-regulated, actin-binding protein identical to L-plastin. *Biochemistry* 1993;32:3448-55.
- 30) Evans JG, Correia I, Krasavina O, Watson N, Matsudaira P. Macrophage podosomes assemble at the leading lamella by growth and fragmentation. *J Cell Biol* 2003;161:697-705.