

Rac/PAK 信号通路与肿瘤的关系及其在结直肠癌中的研究进展

杨建树 李健宁 徐忠法

【摘要】 Rac 及其下游靶蛋白 p21 活化激酶 (PAK) 均是最近新发现的多功能效应因子, 与多种肿瘤的发生、发展密切相关。PAK 主要通过其 N 端调节/黏附区的 p21 结合域 (PBD) 与上游调节器 Rac 相互作用从而使 Rac/PAK 信号通路激活, 在结直肠癌的发生、发展、侵袭及转移中发挥重要的作用。随着研究的深入, 越来越多的证据表明 Rac/PAK 信号通路不仅可以作为一种预测因子来判断结直肠癌的恶性进展及估计预后并且可能成为结直肠癌治疗的药物靶点, 这些都为 Rac/PAK 信号通路应用于结直肠癌的诊疗提供了广阔的前景。

【关键词】 Rac; p21 活化激酶类; 肿瘤; 信号通路; 结直肠肿瘤

Relationship between Rac/PAK signaling pathway and neoplasms and its research progression in colorectal cancer Yang Jianshu, Li Jianning, Xu Zhongfa. Department of Colorectal Cancer Surgery, Shandong Cancer Hospital, Jinan 250117, China

Corresponding author: Xu Zhongfa, Email: xuzhongfa2216@sina.com.

【Abstract】 Rac and its downstream target proteins p-21 activated kinase (PAK) are multifunctional effector which were discovered recently, have close connection with the occurrence and progression of various neoplasms. Through p21-binding domain (PBD) which at N-terminal's regulate/adhesion area, PAK interacts with the upstream regulator Rac so that Rac/PAK signaling pathway activation. It plays an important role in the occurrence, development, invasion and metastasis of colorectal cancer. With the deepening of the research, more and more evidence suggests that Rac/PAK signaling pathway can not only be judged as a predictor for malignant progression and prognosis of colorectal cancer, but also become a drug target for treatment of colorectal cancer, which have provided a broad prospect for application of Rac/PAK signal pathway in diagnosis and treatment of colorectal cancer.

【Key words】 Rac; p21-activated kinases; Neoplasm; Signaling pathway; Colorectal neoplasms

Rac 是小 GTP 酶 Rho 家族的成员, p21 活化激酶 (p21-activated kinase, PAK) 为一类在进化程度上保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 是 Rac 的下游靶蛋白。目前现有的研究提示由 Rac 及 PAK 共同组成的 Rac/PAK 信号通路与多种恶性肿瘤的发生及转移具有较强的相关性, 并且 Rac/PAK 信号通路在结直肠癌中显示了极强的临床应用价值, 比如提示疾病进展、复发、转移及其他临床转归等。本文就

Rac/PAK 信号通路与肿瘤的关系及其在结直肠癌中的研究进展作一综述。

一、Rac 与肿瘤的关系

Rac 是小 GTP 酶 Rho 家族的成员, 作为一个分子转换器控制广泛的细胞生物学功能, 包括细胞黏附、细胞运动、细胞周期进展及细胞转化等^[1-2]。由于其功能的多样性, Rac 信号同多种肿瘤的发生、进展密切相关, 在肿瘤的恶性转型、侵袭转移、血管形成等方面发挥重要作用^[3-4]。Rac 亚家族成员包括 Rac1、Rac2、Rac3、Rac1b/RhoG 等, 虽然 Rac 亚家族成员间具有高度的蛋白质序列同源性, 但它们在肿瘤的发生、发展过程中的作用却不尽相同^[5]。Rac1 本身是一个原癌基因, 它的激活可以促使细胞发生癌变^[5]。有报道指出 Rac1 在多种肿瘤中过表达, 而且其在与肌动蛋白重排相关的早期肿瘤的形成

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2014.01.029

基金项目: 山东省科技发展计划项目 (2010g0021859); 山东省医学科学院院级科技计划青年基金 (2013-45)

作者单位: 250117 济南, 山东省肿瘤医院外四病区 (杨建树、徐忠法); 济南大学山东省医学科学院医学与生命科学学院 (杨建树); 山东省医学科学院附属医院麻醉手术室 (李健宁)

通讯作者: 徐忠法, Email: xuzhongfa2216@sina.com

成中是必不可少的, 这为癌前病变的诊断提供了理论依据^[6]。Rac1b 是 Rac1 的剪切突变体, 具有高度的活跃性, 之前已经被证明在乳腺癌及结肠直肠癌中高表达, 近来有研究显示 Rac1b 在甲状腺乳头状癌中也存在过度表达, 其与 BRAFV600E 基因的相互作用可能导致了甲状腺的癌变^[7]。Rac2 与多种肿瘤的发生存在联系, 在人脑肿瘤、头颈部鳞癌和白血病中存在过表达或者表达降低现象^[8]。另有研究表明, Rac3 在高度增殖的乳腺癌细胞系中表达增加, 并且不仅限于蛋白水平的增加^[9], 潘阳林等^[10]研究发现 Rac3 在某些胃肠道肿瘤细胞系中的表达较正常组织高, 猜测可能同细胞系的恶性表型密切相关。Engers 等^[11]研究发现在前列腺癌组织中, Rac3 的表达水平与肿瘤的恶性进展及病理分期呈正相关, Rac3 高表达预示预后不良。

二、PAK 与肿瘤的关系

PAK 是 Rac 的下游靶蛋白, 在生长因子及其他信号通路中处于核心地位, 控制细胞增殖、细胞浸润、细胞骨架重排等多种生物学功能^[12]。根据其序列相似性 PAK 分为 I 类 PAK (包括 PAK1、PAK2、PAK3) 和 II 类 PAK (包括 PAK4、PAK5、PAK6) ^[13-14]。PAK 的表达对细胞维持正常的活动至关重要, 一旦 PAK 表达异常, 可能会引起肿瘤的发生、进展、侵袭和转移^[15]。有研究表明, 50%以上的人类乳腺癌中存在 PAK1 的过度表达或活化, 并且在乳腺癌 17% 的染色体区域中发现有 PAK1 的扩增^[16]。最近, PAK2 已经被证明在神经鞘瘤细胞中对于 Wnt/ β -catenin 所介导的扩散信号的激活是必不可少的, 而 PAK2 的消除可以抑制 β -catenin, c-myc 和 cyclin D1 的活性^[17]。PAK3 在内分泌系统来源的肿瘤中存在高表达及活性增高, 通过对 PAK3 表达的检测及活化机制的研究有助于提高对内分泌系统来源的肿瘤的诊断准确性及寻找潜在的治疗靶点^[18]。PAK4 在多种不同类型的肿瘤细胞系及肿瘤中高度过表达, 它主要通过抑制细胞凋亡及影响细胞转化促进肿瘤发生^[19], 如在乳腺癌中, PAK4 的过表达会触发乳腺上皮细胞的转化, 抑制其凋亡, 破坏乳腺腺泡的正常结构, 导致乳腺癌的发生^[20]。PAK6 通过结合雄激素受体 (AR) 而抑制 AR 介导的基因转录^[21]。有报道称 PAK6 在前列腺癌中表达增加, 对于放射敏感性的前列腺癌患者, 通过抑制 PAK6 结合病灶放射治疗, 可以显著降低癌细胞的存活率^[22]。

三、Rac/PAK 信号通路的基础结构及活化机制

目前国内外文献已经证实 PAK 可以被 Rac 激活。两类 PAK 在结构和功能上不尽相同, 其中 I 类 PAK 之间具有高度的序列同源性和相似的结构和功能, 它们都有一个 N 端和 C 端, N 端为调节/黏附区, C 端为高度保守的催化区^[23]。根据 Jaffer 等^[24-25]的报道, 在每一个 I 类 PAK 的 N 端调节/黏附区域均含有 p21 (Rac1) 结合域 (p21-binding domain, PBD), I 类 PAK 可以通过 PBD 与上游调节器 Rac 相互作用, 这个过程也需要位于 N 端与 C 端之间的脯氨酸富集区 (proline-rich motifs) 的辅助。PBD 内部有一个 CRIB (Cdc42 and Rac1 interactive binding) 结构域, 为控制 Rac1 与 PAK 结合的最低限度区域^[25]。在 PAK1 的 N 端调节区还有一个自抑制域 (auto-inhibitory domain, AID), 通过与 PBD 部分重叠而起到抑制 PAK1 活性的作用^[25]。除了 PBD 结构域外, 调节区还包含两个典型的 PXXP SH3 结合基序和一个非经典的 SH3 结合位点, 其中非经典的 SH3 结合位点可以调节与 Rac 的假设交换因子 Pix 的结合^[26]。I 类 PAK 的主要活化机制是通过与具有活性的 Rac 相结合后, 使 PAK 产生一连串的构象改变, 以 AID 为代表的抑制区域结构破坏, 活性区域打开, 继而 PAK 在相应的苏氨酸位点发生磷酸化 (如 PAK1 为 Thr423), 随后 Rac 与 PAK 分离, 使激酶活性域向催化状态转化, 致使 PAK 激酶活化^[25-27]。II 类 PAK 同样含有 PBD 结构域, 可以与 Rac 结合, 但其活化机制尚不清楚。

四、Rac/PAK 信号通路与结直肠癌的关系

在结直肠癌中, Rac1 及其下游靶蛋白 PAK1、PAK4 已经被证明存在过度表达, 并且其过度表达与患者的低生存率有关。据 Barros 等^[28]报道在结直肠癌中, 活化的 Rac1 可以通过 Rac/PAK 信号通路直接使转录抑制剂 BCL-6 发生磷酸化而失活, 从而增强结直肠癌细胞的基因转录。另据 Espina 等^[29]报道将由结直肠癌模型中提取的腺癌细胞原位注射到小鼠体内, 发现 Rac1 的过表达促进了肿瘤的形成, 而抑制 Rac1 蛋白可以完全抑制肿瘤的形成。美国学者 Carter 等^[30]通过比较结直肠正常组织, 绒毛管状腺瘤及恶性肿瘤组织的免疫组化结果发现作为 Rac 下游靶蛋白的 PAK1 的表达增加与结直肠癌恶性程度和侵袭、转移呈正相关, 提示其可以作为一个潜在的因子预测结直肠癌患者的预后, 并且为结直肠癌患者的治疗提供一个有效的药物靶点。

谭卫民等^[31]研究显示 PAK1 蛋白的过度表达可能是结直肠癌发生和发展中的一个早期分子事件, 并可能参与了部分结直肠良性腺瘤的形成, 而且 PAK1 蛋白与肿瘤的恶性组织学表型密切相关, 可以作为判断结直肠癌恶性程度的新分子标记物之一。He 等^[32]报道 PAK1 作为小 G 蛋白 Rho 家族 Rac1 的下游靶蛋白, 可以使 β -catenin 发生磷酸化而激活, 增强其在结直肠癌中的稳定性和转录活性, 从而引起结直肠癌的发生、发展, 因此对于 PAK1 的基因敲除可以抑制 β -catenin 的表达, 而阻止结直肠癌的进展。在结直肠癌基因组区域中, PAK4 的基因位点 (19q13.2) 经常性的扩增, 提示其存在过度表达, 体外实验显示对于激酶致死性的 PAK4 的表达可以抑制人类结直肠癌细胞株非锚定依赖性生长, 从而阻止肿瘤的进展^[33]。Tabusa 等^[34]也报道称对于 PAK1 和 PAK4 的基因敲除可以抑制 KRAS 基因突变的结直肠癌细胞的扩增, 这个过程并不依赖于 RAF/MEK/ERK 和 PI3K/AKT 的信号通路。另外, PAK5 也在结直肠癌中存在高表达, 据 Gong 等^[35]报道在结直肠癌由正常黏膜到癌变的发展过程中, 随着其侵袭性及转移潜能的增加, PAK5 的表达水平呈显著增加趋势, 并且发现 PAK5 降低了结直肠癌细胞的黏附作用并且提高了其转移潜能, 从而导致结直肠癌远处转移。

五、Rac/PAK 通路在结直肠癌中的应用展望

综上所述, 随着对 Rac/PAK 信号通路的分子机制及其与结直肠癌关系的不断深入研究, 越来越多的证据表明其在结直肠癌的发生、发展过程中具有重要的作用和潜在的应用价值。首先, Rac 及 PAK 在结直肠癌中的表达水平与结直肠癌恶性程度的增加呈正相关, 提示其可以作为一种预测因子来判断结直肠癌的恶性进展及估计预后, 另外 Rac/PAK 信号通路不仅可阻止结直肠癌细胞的凋亡, 又可诱导其侵袭性增加, 使结直肠癌患者发生远处转移而获得较差的预后, 因此对于 Rac/PAK 信号通路上任何一点的干涉均可能成为结直肠癌治疗的靶点。hPIP1 为最新研究的 PAK1 的相互作用蛋白, 它可以抑制由 Rac 所活化的 PAK1, 对 Rac/PAK 信号通路起负向调节作用^[36]。在一项调查研究中, 应用 PAK 的抑制剂 PF-3758309 作用于 92 个不同的肿瘤细胞株, 其中包括结直肠癌, 有 46% 的细胞株表现出半抑制浓度 (IC₅₀) 小于 10 nmol/L^[37]。在另一项研究中, PAK 抑制剂与作用于信号通路的药物在

肿瘤的治疗中具有协同作用, 共同使用它们可以显著提高结直肠肿瘤治疗的疗效^[16]。目前各个研究均处于临床试验阶段, 还没有哪个抑制因子能够很好地应用于临床, 并且 Rac/PAK 信号通路上各个分子之间存在复杂的相互作用, 需要展开更深入的研究。总之, 这些研究成果都为 Rac/PAK 信号通路更好地应用于结直肠癌的诊断与治疗提供了广阔的前景。

参 考 文 献

- [1] Hall A. Rho GTPases and the control of cell behaviour[J]. *Biochem Soc Trans*, 2005, 33(Pt 5): 891-896.
- [2] Murali A, Rajalingam K. Small Rho GTPases in the control of cell shape and mobility[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013.
- [3] Bryan BA, D'Amore PA. What tangled webs they weave: Rho-GTPase control of angiogenesis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64(16):2053-2065.
- [4] Mack NA, Whalley HJ, Castillo-Lluva S, et al. The diverse roles of Rac signaling in tumorigenesis[J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(10): 1571-1581.
- [5] Vega FM, Ridley AJ. Rho GTPases in cancer cell biology[J]. *FEBS letters*, 2008, 582(14): 2093-2101.
- [6] Wertheimer E, Gutierrez-Uzquiza A, Rosembit C, et al. Rac signaling in breast cancer: a tale of GEFs and GAPs[J]. *Cell Signal*, 2012, 24(2): 353-362.
- [7] Silva AL, Carmo F, Bugalho MJ. RAC1b overexpression in papillary thyroid carcinoma: a role to unravel[J]. *Eur J Endocrinol*, 2013, 168(6): 795-804.
- [8] Khalil BD, El-Sibai M. Rho GTPases in primary brain tumor malignancy and invasion[J]. *J Neurooncol*, 2012, 108(3): 333-339.
- [9] Mira JP, Benard V, Groffen J, et al. Endogenous, hyperactive Rac3 controls proliferation of breast cancer cells by a p21-activated kinase-dependent pathway[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(1): 185-189.
- [10] 潘阳林, 毕锋, 刘娜, 等. Rac 亚家族在胃肠道肿瘤细胞系中的表达及活性[J]. *中华肿瘤杂志*, 2003, 25(5): 441-444.
- [11] Engers R, Ziegler S, Mueller M, et al. Prognostic relevance of increased Rac GTPase expression in prostate carcinomas[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2007, 14(2): 245-256.
- [12] Ong CC, Jubb AM, Zhou W, et al. p21-activated kinase 1: PAK'ed with potential[J]. *Oncotarget*, 2011, 2(6): 491.
- [13] Arias-Romero LE, Chernoff J. A tale of two Paks[J]. *Biol Cell*, 2008, 100(2): 97-108.
- [14] Eswaran J, Soundararajan M, Knapp S. Targeting group II PAKs in cancer and metastasis[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2009, 28(1-2): 209-217.
- [15] Ye DZ, Field J. PAK signaling in cancer[J]. *Cell Logist*, 2012, 2(2): 105-116.
- [16] Ong CC, Jubb AM, Haverty PM, et al. Targeting p21-activated kinase 1 (PAK1) to induce apoptosis of tumor cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(17): 7177-7182.
- [17] Zhou L, Ercolano E, Ammoun S, et al. Merlin-deficient human tumors show loss of contact inhibition and activation of Wnt/ β -catenin signaling linked to the PDGFR/Src and Rac/PAK pathways[J].

- Neoplasia, 2011, 13(12): 1101.
- [18] Raymond FL. X linked mental retardation: a clinical guide[J]. J Med Genet, 2006, 43(3): 193-200.
- [19] Bompard G, Morin N. p21-activated kinase 4 regulates mitotic +spindle positioning and orientation[J]. Bioarchitecture, 2012, 2(4): 130-133.
- [20] Liu Y, Chen N, Cui X, et al. The protein kinase Pak4 disrupts mammary acinar architecture and promotes mammary tumorigenesis [J]. Oncogene, 2010, 29(44): 5883-5894.
- [21] Liu X, Busby J, John C, et al. Direct Interaction between AR and PAK6 in Androgen-Stimulated PAK6 Activation[J]. PloS one, 2013, 8(10): e77367.
- [22] Zhang M, Siedow M, Saia G, et al. Inhibition of p21-activated kinase 6 (PAK6) increases radiosensitivity of prostate cancer cells[J]. The Prostate, 2010, 70(8): 807-816.
- [23] Lei M, Lu W, Meng W, et al. Structure of PAK1 in an autoinhibited conformation reveals a multistage activation switch[J]. Cell, 2000, 102(3): 387-397.
- [24] Jaffer ZM, Chernoff J. p21-activated kinases: three more join the Pak[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2002, 34(7): 713-717.
- [25] Whale A, Hashim FN, Fram S, et al. Signalling to cancer cell invasion through PAK family kinases[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2011, 16: 849-864.
- [26] Molli PR, Li DQ, Murray BW, et al. PAK signaling in oncogenesis[J]. Oncogene, 2009, 28(28): 2545-2555.
- [27] Guo D, Zhang JJ, Huang XY. A new Rac/PAK/GC/cGMP signaling pathway[J]. Mol Cell Biochem, 2010, 334(1/2): 99-103.
- [28] Barros P, Jordan P, Matos P. Rac1 signaling modulates BCL-6-mediated repression of gene transcription[J]. Mol Cell Biol, 2009, 29(15): 4156-4166.
- [29] Espina C, Céspedes MV, García-Cabezas MA, et al. A critical role for Rac1 in tumor progression of human colorectal adenocarcinoma cells[J]. Am J Pathol, 2008, 172(1): 156-166.
- [30] Carter JH, Douglass LE, Deddens JA, et al. Pak-1 expression increases with progression of colorectal carcinomas to metastasis[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(10): 3448-3456.
- [31] 谭卫民, 罗时敏, 葛轶群, 等. P21 活化激酶 1 蛋白在大肠癌及大肠腺瘤异型增生中的表达及意义[J]. 中国医师进修杂志, 2008, 31(10): 10-12.
- [32] He H, Huynh N, Liu KH, et al. P-21 activated kinase 1 knockdown inhibits β -catenin signalling and blocks colorectal cancer growth[J]. Cancer Lett, 2012, 317(1): 65-71.
- [33] Dart AE, Wells CM. P21-activated kinase 4-not just one of the PAK[J]. Eur J Cell Biol, 2013, 92(4/5): 129-138.
- [34] Tabusa H, Brooks T, Massey AJ. Knockdown of PAK4 or PAK1 Inhibits the proliferation of mutant KRAS colon cancer cells independently of RAF/MEK/ERK and PI3K/AKT signaling[J]. Mol Cancer Res, 2013, 11(2): 109-121.
- [35] Gong W, An Z, Wang Y, et al. P21-activated kinase 5 is overexpressed during colorectal cancer progression and regulates colorectal carcinoma cell adhesion and migration[J]. Int J Cancer, 2009, 125(3): 548-555.
- [36] Eswaran J, Li DQ, Shah A, et al. Molecular pathways: targeting p21-activated kinase 1 signaling in cancer-opportunities, challenges, and limitations[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(14): 3743-3749.
- [37] Murray BW, Guo C, Piraino J, et al. Small-molecule p21-activated kinase inhibitor PF-3758309 is a potent inhibitor of oncogenic signaling and tumor growth[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(20): 9446-9451.

(收稿日期: 2013-12-20)

(本文编辑: 马超)

杨建树, 李健宁, 徐忠法. Rac/PAK 信号通路 with 肿瘤的关系及其在结直肠癌中的研究进展 [J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2014, 8(1): 132-135.

中华医学会