

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.01.027

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.01.027>

## LIMK1 与前列腺癌侵袭转移的研究进展

瞿根义, 阳光 综述 徐勇 审校

(株洲市中心医院泌尿外科, 湖南 株洲 412007)

**[摘要]** LIM激酶家族包括两大成员: LIM激酶1(LIM kinase 1, LIMK1)和LIM激酶2(LIM kinase 2, LIMK2), 在多种生物学活动中起着重要的枢纽作用, 由其上游的信号分子激活, 具有独特的信号通路。LIMK1是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 生理功能主要是把Cofilin磷酸化使之成为失活的pCofilin, 进而参与调节细胞肌动蛋白骨架聚合, 从而调节细胞形态、运动、黏附及迁移。体内存在多种机制调控着LIMK1的活化, 活化的LIMK1在前列腺癌的发生、发展过程中起着至关重要的作用。近年来发现LIMK1对前列腺癌细胞的迁移及侵袭有重要的调节作用, 可能是引起前列腺癌细胞侵袭和转移的关键分子。

**[关键词]** LIM激酶1; Cofilin蛋白; 前列腺癌; 迁移; 侵袭

## Research progress of LIMK1 and invasion and metastasis of prostate cancer

QU Genyi, YANG Guang, XU Yong

(Department of Urology, Zhuzhou Central Hospital, Zhuzhou Hunan 412007, China)

**Abstract** LIM kinase family includes two members: LIM kinase 1 (LIMK1) and LIM kinase 2 (LIMK2), activated by the upstream signal molecules, and plays an important role in a variety of biological activities with a unique signal pathway. LIMK1 is a serine/threonine protein kinase, of which the physiological function is mainly to phosphorylate Cofilin to an inactivated pCofilin, and then participates in the regulation of cell actin skeleton polymerization, thereby regulates cell morphology, movement, adhesion and migration. There are a variety of mechanisms to regulate the activation of LIMK1. Activation of LIMK1 in the development of prostate cancer plays a vital role in the development process. Recent studies have shown that LIMK1 plays an important regulatory role in the migration and aggressiveness of prostate cancer cells, which may be the key molecules that cause invasion and metastasis of prostate cancer cell.

**Keywords** LIM kinase 1; Cofilin protein; prostate cancer; migration; invasion

收稿日期 (Date of reception): 2017-10-25

通信作者 (Corresponding author): 徐勇, Email: tigerhnl@126.com

LIM激酶家族包括两大成员: LIM激酶1(LIM kinase 1, LIMK1)和LIM激酶2(LIM kinase 2, LIMK2), 由不同的基因编码, 分别位于人类染色体7q11.23与22q12.2。LIMK1基因由16个外显子组成, 跨越39 499个碱基对。选择性剪切该基因将产生2种信使RNA, 一种编码全长LIMK1蛋白, 另一种因删除61个碱基而使编码蛋白缺乏羧基末端激酶域。LIMK1具有两个N末端的LIM结构域、PDZ结构域、P/S结构域及C末端激酶结构域。其中LIM结构域由LIM1和LIM2一对锌指结构域组成, 富含半胱氨酸/组氨酸序列, 是多种蛋白与蛋白之间相互作用的结构域, 在调节激酶活性中起重要作用。P/S结构域为一种富含脯氨酸/丝氨酸的结构域, 把PDZ结构域与C-末端激酶结构域分隔开来<sup>[1]</sup>。LIMK1能在细胞核与细胞质之间穿梭, 其中PDZ结构域包含2个功能性的富含亮氨酸的核转信号, 使LIMK1优先定位于细胞质<sup>[2]</sup>。

## 1 LIMK1 的生理学功能

### 1.1 LIMK1 与 Cofilin

LIMK1是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。目前大量的研究<sup>[3-4]</sup>证实LIMK1的生理功能主要是把Cofilin磷酸化使成为失活的pCofilin。其中Cofilin是一种肌动蛋白结合蛋白, 活化的Cofilin解聚多聚体的纤维状肌动蛋白F-actin为单体的球状肌动蛋白G-actin, 通过对肌动蛋白的解聚和聚合, 使肌动蛋白能循环使用。而LIMK1可以直接磷酸化Cofilin的第3位丝氨酸(Ser3), 使其不能切割F-actin造成G-actin而失活, 从而调节肌动蛋白聚合, 使肌动蛋白的稳定性受到影响, 参与肌动蛋白骨架的调节, 进而调节细胞的稳定性, 同时还与细胞运动、分裂及迁徙等活动有关。而弹弓磷酸激酶(Slingshot, SSH)是Cofilin脱磷酸化的主要激活物, 可使失活的pCofilin脱磷酸化而复活, 恢复Cofilin的活性, 维持肌动蛋白的循环使用<sup>[5]</sup>。LIMK1与SSH对Cofilin的共同调节决定了细胞的多种生理学功能。研究<sup>[6]</sup>发现: LIMK1与SSH对Cofilin的双重调节, 决定了细胞迁移的能力, LIMK1与SSH或cofilin与LIMK1在同一细胞中协同高表达时, 细胞侵袭性增强, 打破了磷酸化与脱磷酸化的Cofilin间的平衡, 可促进肿瘤细胞的迁移侵袭, 这可能是LIMK1与SSH高表达均促进肿瘤细胞迁移侵袭的机制。同时也有研究<sup>[7]</sup>发现LIMK1通过对Cofilin的调节, 对肿瘤细胞的迁移及侵袭性有着重要的调节作用, 有可能是引起肿瘤细胞侵袭

和转移的关键分子之一。

### 1.2 LIMK1 在前列腺癌中的表达

LIMK1在前列腺肿瘤和前列腺癌细胞株中有过度表达, 并且转移的前列腺癌细胞中也有高浓度磷酸化的Cofilin; 抑制LIMK1后能使细胞静止在G<sub>2</sub>/M期从而改变细胞增殖、细胞形态, 遏制转移性前列腺癌细胞的侵袭性<sup>[8]</sup>。研究<sup>[9]</sup>发现前列腺癌中与转移相关的染色体基因位点在7q11.2, 而人类LIMK1基因也定位在7q11.23, 提示两者具有相关性。同时, 研究<sup>[10]</sup>发现: 在迁徙性强、恶性程度高的前列腺癌LIMK1表达越高, 在原发性前列腺肿瘤根治性切除后, 其中LIMK1基因染色体的改变也显示出肿瘤的进展性。由此可见, LIMK1对肿瘤细胞的分裂与侵袭性起重要的调节作用。另外也有研究<sup>[11]</sup>发现: 在良性前列腺增生中, 自然表达的LIMK1水平低, 当过度表达LIMK1时, 可导致良性前列腺增生细胞出现异常的有丝分裂主轴、多个中心体及较小的染色体, 从而导致染色体表达的异常与细胞周期的异常; 并且在过度表达LIMK1的良性前列腺增生细胞中可出现短暂的G<sub>1</sub>/S阶段停留及延迟G<sub>2</sub>/M阶段的进展; 也发现在格里森评分越高、转移性越强的前列腺癌中出现LIMK1核染色的增高。众所周知, 格里森评分越高、转移性越强的前列腺癌预后越差。由此可见LIMK1的表达可能与前列腺癌的基因表型有关, 可能成为监测前列腺癌进展和预后的生物学检验指标。

## 2 LIMK1 与前列腺癌细胞的迁移与侵袭

前列腺肿瘤的迁移与侵袭是涉及到前列腺肿瘤细胞与宿主细胞和细胞间质之间的一个多步骤、多基因、多因素参与的复杂的过程。近年来研究<sup>[10]</sup>发现LIMK1在前列腺癌中高表达。LIMK1通过磷酸化与失活Cofilin调节肌动蛋白聚合, 对肿瘤增殖、细胞周期、迁移及侵袭转移等多种细胞生物学功能产生重要影响。并且LIMK1的活化受多种机制调控, 在多种上游蛋白的不同作用机制下调节Cofilin, 在促进前列腺癌细胞的迁移和侵袭过程中扮演重要角色。

### 2.1 HGF-PAK4-LIMK1 途径促进前列腺癌细胞迁移与侵袭

研究<sup>[12]</sup>发现HGF在前列腺癌进展与侵袭中具有重要作用。前列腺癌细胞的侵袭需要对肌动蛋

白细胞骨架的重组进行调节, 而肌动蛋白的解聚由Cofilin调节。在HGF的作用下, 活化GTP酶家族成员Cdc42, 而Cdc42可以通过下游效应物蛋白激酶P21活化的蛋白激酶(PAK4), PAK4通过磷酸化LIMK1第508位苏氨酸(Thr-508)激活LIMK1。同时研究<sup>[13]</sup>发现PAK4的表达水平改变了细胞中Cofilin磷酸化的水平, 并且发现PAK4与LIMK1以协同的方式加速前列腺癌细胞的侵袭速度, 减少PAK4的表达可以减缓前列腺癌细胞的侵袭速度。可见HGF通过PAK4磷酸化LIMK1导致Cofilin失活, 促进前列腺癌细胞迁移侵袭。

## 2.2 miR-23a-PAK6-LIMK1 途径抑制前列腺癌细胞迁移与侵袭

最近, 有研究<sup>[14-15]</sup>报道了某些特殊类型的miRNA在肿瘤转移迁徙中的特殊作用。其中发现miR23a能调节前列腺癌细胞的迁徙转移, 在前列腺癌细胞中miR23a低表达, 而且预后越差的前列腺癌患者中miR23a表达水平越低<sup>[14]</sup>。并且在活体的前列腺癌小鼠模型<sup>[15]</sup>中发现: miR23a能抑制前列腺细胞的迁移和侵袭, 其机制为miR23a能减少PAK6活化的水平, 而PAK6通过磷酸化LIMK1 Thr-508激活LIMK1, 激活的LIMK1则能磷酸化Cofilin, 调节肌动蛋白的解聚。通过这一机制, miR23a的表达能抑制LIMK1的磷酸化使其不能活化, 进而导致Cofilin不能磷酸化, 从而抑制肌动蛋白的解聚, 而肌动蛋白细胞骨架是一个动态结构, 肌动蛋白聚合解聚速率控制细胞迁徙、细胞分裂及侵袭结构的形成。而这对肿瘤细胞的迁徙与侵袭而言是必须的。同时研究<sup>[14]</sup>发现PAK6与LIMK1都定位于细胞质, 这也为PAK6激活LIMK1提供了先决条件, 而且在人类前列腺癌细胞系和组织中miR-23a也低表达。由此可见, miR23a通过miR-23a-PAK6-LIMK1途径促进前列腺癌细胞迁移。miR23a的表达水平与前列腺癌细胞迁徙性密切相关, miR23a也可成为前列腺癌患者生存时间的独立预测因子。因此对前列腺癌患者来说, 可能存在针对miR23a潜在的治疗方案。

## 2.3 LIMK1-MMPS 途径促进前列腺癌的迁移和侵袭

LIMK1是肌动蛋白与微管细胞骨架调节蛋白, 在前列腺癌细胞系中过度表达并促进癌细胞的侵袭转移。国内外大量研究<sup>[7,16-17]</sup>发现LIMK1主要通过磷酸化与失活Cofilin调节肌动蛋白聚合,

促进肿瘤侵袭和转移。在细胞质中, 膜型基质金属蛋白酶1(MT1-MMP)是一个重要的ECM调节蛋白, 通过蛋白质水解作用于细胞周围的细胞基质。研究<sup>[18]</sup>发现MT1-MMP在肿瘤细胞的迁移与侵袭中也起着十分重要的作用, MT1-MMP及其底物pro-MMP-2 pro-MMP-9在前列腺癌中过度表达, 并且表达的水平与肿瘤的预后密切相关。另外Tapia等<sup>[19]</sup>发现: 在前列腺肿瘤组织中, LIMK1过度表达导致MMP-2溶胶原活性增加及pro-MMP2 pro-MMP-9的分泌增加。并且前列腺癌细胞LIMK1过度表达也可促进MT1-MMP的表达、转录激活及细胞膜的定位, LIMK1通过高尔基体小泡促进MT1-MMP转运至细胞膜。同时研究<sup>[19]</sup>发现MT1-MMP, MMP-2及MMP-9抑制剂可以抑制良性前列腺上皮细胞的侵袭, 并且研究证实LIMK1通过促进MT1-MMP的表达, 转录激活和转运至细胞膜的机制, 首次发现MMPs参与LIMK1诱导的前列腺癌细胞的侵袭。

## 2.4 LIMK1 促进雄激素受体核易位、活化、转录激活

雄激素受体(androgen receptor, AR)是一类配体依赖性的转录因子, 为细胞核内的性激素受体, 通过与其配体雄激素结合而被激活, 控制细胞周期进展、细胞生长及生存, 在维持正常前列腺细胞生长及前列腺癌发生发展过程中起重要调控作用。LIMK1通过磷酸化肌动蛋白解聚因子Cofilin而使其失活, 继而抑制纤丝状肌动蛋白的聚合, 影响肌动蛋白的稳定, 参与肌动蛋白细胞骨架的重组, 进而调节前列腺癌细胞的侵袭迁移。LIMK1抑制剂能显著减少前列腺癌细胞的侵袭转移, 且研究<sup>[20]</sup>发现其在雄激素依赖性前列腺癌细胞中的抑制作用显著高于雄激素非依赖性前列腺癌细胞。在雄激素依赖性前列腺癌患者中, LIMK1抑制剂通过改变微管动力学减少了DHT诱导雄激素受体AR核易位、蛋白质的稳定性及雄激素受体转录活性, 促进雄激素受体AR与 $\alpha$ 微管蛋白的相互作用, 从而抑制雄激素受体活化, 抑制前列腺癌细胞的生长、生存及增殖。并且研究<sup>[10]</sup>结果表明: 在雄激素依赖性前列腺癌患者中LIMK1对雄激素受体的活化及功能的表达有积极的调节作用, 能促进前列腺癌发展为早期局部浸润性状态。由此可见, 在前列腺癌的治疗中, 对于去势抵抗性前列腺癌患者及药物抵抗的患者, 阻断雄激素受体的活化为最优先的治疗。



## 2.5 LIMK1 激活的其他途径

LIMK1 的活化机制尚未完全阐明, 大量研究<sup>[21-22]</sup>显示 LIMK 的活性受到 GTPase Rho 蛋白调控。GTPase Rho 蛋白家族成员包括 Rho, Rac 和 Cdc42, 可以通过下游效应物 PAK 和 Rho 相关蛋白激酶 (ROCK), 活化的 ROCK1/2, PAK1/2, 使 LIMK1 磷酸化而激活, 活化的 LIMK1 通过磷酸化 Cofilin 从而对肿瘤迁徙侵袭进行调节。其中 Rac 的下游效应物 PAK1 能通过磷酸化 Thr-508 活化 LIMK1, 而 PAK2 可诱导 LIMK1 与 Cofilin 磷酸化, 沉默 PAK2 基因则使 LIMK1 磷酸化明显降低<sup>[13]</sup>。Rho/ROCK1/2 也能通过磷酸化 LIMK1 Thr-508 激活 LIMK1。另外研究<sup>[23]</sup>发现 PKA2 可通过磷酸化 Ser-323 与 Ser-596 激活 LIMK1。

## 2.6 LIMK1 抑制剂与前列腺癌的治疗

LIMK1 通过磷酸化 Cofilin 调节肌动蛋白功能, 并且 LIMK1 能促进雄激素受体核易位、转录激活等, 这都与前列腺癌的迁移及侵袭密切相关。因此, 寻找能够干扰与调节 LIMK1 活性的药物将为前列腺癌的治疗提供一种新的治疗方案。二烯丙基二硫 (diallyl disulfide, DADS) 是从大蒜素中提取的一类脂溶性有机硫化物, 目前研究<sup>[24]</sup>发现 DADS 能使 Rac1 基因下调, 从而通过 Rac1-ROCK1/PAK1 途径抑制 LIMK1 的表达, 组成 Rac1-ROCK1/PAK1-LIMK1-ADF/cofilin 途径抑制肿瘤细胞的迁移及侵袭。虎刺醛是一种葱醌衍生物, 能通过抑制 LIMK1 的表达抑制肿瘤细胞的迁徙与侵袭, 且虎刺醛能抑制 Lck 及 CXCL12 诱导的 Jurkat 细胞迁移。这可能于虎刺醛抑制 Jurkat 细胞中 CXCL12 诱导的伪足形成数目明显减少有关, 并与 LIMK1 基因敲除的细胞类似, 提示了 LIMK1 调节细胞迁移可能与其促进刺激诱导的伪足形成有关<sup>[25]</sup>。虽然虎刺醛的抑制 LIMK1 的表达目前是在乳腺癌细胞中得证实, 尚未在前列腺癌中得到研究证实, 但通过这种机制, 可以猜测虎刺醛同样可以用于前列腺癌的治疗。这一猜测有待进一步证实。

## 3 结语

LIMK1 在前列腺癌的发生、发展过程中起至关重要的作用, 而且有多种作用途径来促进前列腺癌的迁移和侵袭, 目前仍需要进一步阐明活化的 LIMK1 在前列腺癌发生、发展过程中的作用机制, 为寻找新的抗前列腺癌的药物提供一定的科

学依据, 同时对前列腺癌的诊断和治疗具有极其重要的意义。

## 参考文献

1. Scott RW, Olson MF. LIM kinases: function, regulation and association with human disease[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2007, 85(6): 555-568.
2. Manetti F. LIM kinases are attractive targets with many macromolecular partners and only a few small molecule regulators[J]. *Med Res Rev*, 2012, 32(5): 968-998.
3. Nishita M, Tomizawa C, Yamamoto M, et al. Spatial and temporal regulation of cofilin activity by LIM kinase and Slingshot is critical for directional cell migration[J]. *J Cell Biol*, 2005, 171(2): 349-359.
4. Soosairajah J, Maiti S, Wiggan O, et al. Interplay between components of a novel LIM kinase-slitshot phosphatase complex regulates cofilin[J]. *EMBO J*, 2005, 24(3): 473-486.
5. 马艳华, 史玲, 苏琦. LIM 激酶与肿瘤[J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2009, 29(6): 490-494.  
MA Yanhua, SHI Ling, SU Qi. LIM kinase and tumor[J]. *Journal of International Pathology and Clinical Medicine*, 2009, 29(6): 490-494.
6. Horita Y, Ohashi K, Mukai M, et al. Suppression of the invasive capacity of rat ascites hepatoma cells by knockdown of Slingshot or LIM kinase[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(10): 6013-6021.
7. Yoshioka K, Foletta V, Bernard O, et al. A role for LIM kinase in cancer invasion[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(12): 7247-7252.
8. Davila M, Frost AR, Grizzle WE, et al. LIM kinase 1 is essential for the invasive growth of prostate epithelial cells: implications in prostate cancer[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(38): 36868-36875.
9. Gorovoy M, Niu J, Bernard O, et al. LIM kinase 1 coordinates microtubule stability and actin polymerization in human endothelial cells[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(28): 26533-26542.
10. Mardilovich K, Gabrielsen M, McGarry L, et al. Elevated LIM kinase 1 in nonmetastatic prostate cancer reflects its role in facilitating androgen receptor nuclear translocation[J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(1): 246-258.
11. Davila M, Jhala D, Ghosh D, et al. Expression of LIM kinase 1 is associated with reversible G1/S phase arrest, chromosomal instability and prostate cancer[J]. *Mol Cancer*, 2007, 6: 40.
12. Hurler RA, Davies G, Parr C, et al. Hepatocyte growth factor/scatter factor and prostate cancer: a review[J]. *Histol Histopathol*, 2005, 20(4): 1339-1349.
13. Ahmed T, Shea K, Masters JR, et al. A PAK4-LIMK1 pathway drives prostate cancer cell migration downstream of HGF[J]. *Cell Signal*, 2008, 20(7): 1320-1328.
14. Cai S, Chen R, Li X, et al. Downregulation of microRNA-23a

- suppresses prostate cancer metastasis by targeting the PAK6-LIMK1 signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(6): 3904-3917.
15. Ohashi K, Nagata K, Maekawa M, et al. Rho-associated kinase ROCK activates LIM-kinase 1 by phosphorylation at threonine 508 within the activation loop[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(5): 3577-3582.
  16. Desmarais V, Ghosh M, Eddy R, et al. Cofilin takes the lead[J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(Pt 1): 19-26.
  17. Manetti F. Recent findings confirm LIM domain kinases as emerging target candidates for cancer therapy[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2012, 12(5): 543-560.
  18. Nagakawa O, Murakami K, Yamaura T, et al. Expression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) on prostate cancer cell lines[J]. *Cancer Lett*, 2000, 155(2): 173-179.
  19. Tapia T, Ottman R, Chakrabarti R. LIM kinase1 modulates function of membrane type matrix metalloproteinase 1: implication in invasion of prostate cancer cells[J]. *Mol Cancer*, 2011, 10: 6.
  20. Moretti RM, Mai S, Montagnani Marelli M, et al. Molecular mechanisms of the antimetastatic activity of nuclear clusterin in prostate cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2011, 39(1): 225-234.
  21. Morin P, Wickman G, Munro J, et al. Differing contributions of LIMK and ROCK to TGF $\beta$ -induced transcription, motility and invasion[J]. *Eur J Cell Biol*, 2011, 90(1): 13-25.
  22. Jayo A, Parsons M, Adams JC. A novel Rho-dependent pathway that drives interaction of fascin-1 with p-Lin-11/Isl-1/Mec-3 kinase (LIMK) 1/2 to promote fascin-1/actin binding and filopodia stability[J]. *BMC Biol*, 2012, 10: 72.
  23. Nadella KS, Saji M, Jacob NK, et al. Regulation of actin function by protein kinase A-mediated phosphorylation of Limk1[J]. *EMBO Rep*, 2009, 10(6): 599-605.
  24. Zhou Y, Su J, Shi L, et al. DADS downregulates the Rac1-ROCK1/PAK1-LIMK1-ADF/cofilin signaling pathway, inhibiting cell migration and invasion[J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(2): 605-612.
  25. Ohashi K, Sampei K, Nakagawa M, et al. Damnacanthal, an effective inhibitor of LIM-kinase, inhibits cell migration and invasion[J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(6): 828-840.

本文引用：瞿根义, 阳光, 徐勇. LIMK1与前列腺癌侵袭转移的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(1): 162-166. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.01.027

**Cite this article as:** QU Genyi, YANG Guang, XU Yong. Research progress of LIMK1 and invasion and metastasis of prostate cancer[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(1): 162-166. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.01.027