

p21-Activated Kinases (PAKs) as a Therapeutic Target

Bon Seok Koo

Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Cancer Research Institute, Research Institute for Medical Sciences, Chungnam National University College of Medicine, Daejeon, Korea

암 치료 표적으로서 p21-Activated Kinases(PAKs)

구 본 석

충남대학교 의과대학 이비인후과학교실, 암공동연구소, 의학연구소

Received November 8, 2011
Accepted November 28, 2011
Address for correspondence
 Bon Seok Koo, MD, PhD
 Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Chungnam National University College of Medicine, 282 Munhwa-ro, Jung-gu, Daejeon 301-721, Korea
Tel +82-42-280-7695
Fax +82-42-253-4059
E-mail bskoo515@cnuh.co.kr

p21-activated kinases (PAKs) are a family of serine/threonine protein kinases comprised of six isoform (PAK1-6), all of which are direct targets of the small GTPases Rac and Cdc42. PAKs have recently been shown to regulate various cellular activities, including cell motility, survival and proliferation, the organization and function of cytoskeleton and extracellular matrix, transcription and translation. PAKs are overexpressed or hyperactivated in several human tumor, such as breast cancer, gastric cancer, ovarian cancer etc., which makes them an attractive new therapeutic targets. Thus, there has been considerable interest in the development of inhibitors to the PAKs, as biological markers and leads for the development of therapeutics. Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2011;54:813-8

Key Words p21-activated kinases · Neoplasms · Protein kinase inhibitors · Signal transduction.

서 론

p21-activated kinases(PAKs)는 serine/threonine kinase 의 하나로 Rac, Cdc42와 같은 small Rho GTPase에 의해 활성화되어 다양한 세포 내 신호 전달 체계에 관여하는 것으로 알려져 있다.¹⁾ PAKs는 세포 증식을 촉진시키고 세포사멸을 억제하며 세포의 운동성 및 침습에 필수적인 세포골격의 재구성을 조절하는 역할을 한다.²⁻⁴⁾ 현재 유방암과 대장암, 난소암 등 다양한 암에서 과발현되는 것으로 보고되고 있으며 발현 정도가 종양 세포의 침습성 등과 관계되어 환자의 예후와도 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다.^{5,6)} 구조적, 기능적 유사성을 바탕으로 그룹 I PAKs(PAK1, 2, 3)와 그룹 II PAKs(PAK4, 5, 6)로 나눌 수 있는데 그 중 PAK1이 가장 많이 연구되어 있다. PAKs의 암 형성과 전이에 관련된 이러한 기능은 이것이 매력적인 치료표적이 될 수 있음을 시사한다.

본 론

PAKs의 구조와 작용 기전

PAKs는 6개의 이소체(isoform)가 존재하며 기본적으로 N 말단(N-terminal)의 조절 도메인(regulatory domain)과 C 말단(C-terminal)의 키나제 도메인(kinase domain)을 갖는 구조를 보인다(Fig. 1). N 말단의 조절 도메인은 Rac과 Cdc42와 같은 Rho GTPase와 결합하는 p21 binding domain (PBD)을 포함하고 있으며 특히, 그룹 I PAKs에서는 PBD 부위에 autoinhibitory domain(PID)을 갖는다(Fig. 1).⁷⁾ 또한 그룹 I PAKs는 조절 도메인에 Nck, Grb2와 guanine exchange nucleotide factor PIX/COOL과 결합할 수 있는 부분이 있어 그룹 I PAKs의 작용에 이들이 영향을 줄 수 있는 구조를 갖는다.⁸⁾ 반면, 그룹 II PAKs는 PID나 Nck, Grb2가 결합하는 부위를 가지고 있지 않다.⁹⁾

최근 연구에 의하면 PAKs의 발현 및 활성화의 조절은 다양한 생리적, 병리적 과정에서 중요한 역할을 하며, PAKs 발

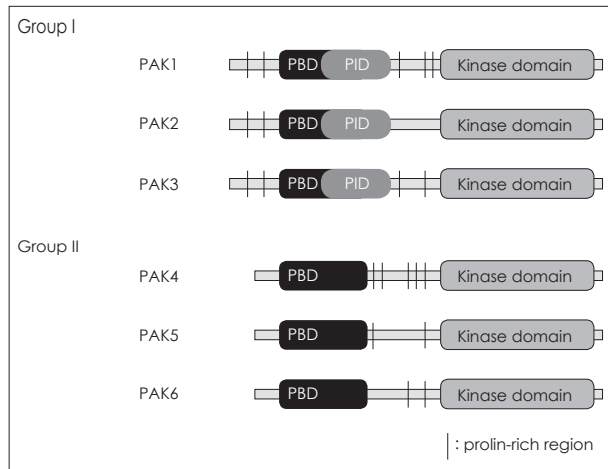


Fig. 1. Structural domains of PAK isoforms. The p21 (Rac/Cdc42)-binding domain (PBD) and kinase domain as well as proline-rich putative SH3-binding motifs are shown. Group I PAKs additionally contain an autoinhibitory domain (PID) that is overlapping with the PBD. PAKs: p21-activated kinases.

현의 증가는 많은 암종과 뇌졸중과 같은 허혈성 상태와 밀접한 관련이 있다고 보고되었다.^{5,6,10} 특히, PAK1의 활성화는 액틴 세포골격의 리모델링, 세포 이동, 세포외 기질 형성을 포함한 다양한 세포기능에 중요하다.²⁾ PAKs는 세포 내에서 동이합체(homodimer) 형태로 비활성화되어 있다가 GTP-bound Rac1이나 Cdc42와 결합하면 동이합체의 trans-inhibitory switch가 풀리면서 구조적 재배열이 일어나 활성화되는 것으로 알려져 있다.¹¹⁾ 다양한 성장인자와 인테그린(integrin)이 GTP-bound Rac과 Cdc42를 활성화시키면 이들이 PBD와 결합하여 PAKs의 이합체화(dimerization)를 방해하고, PID 매개로 이루어져 있는 비활성화된 PAKs를 활성화시킨다. 대부분 N 말단에서 발견되는 다른 결합부위의 인산화도 PAKs의 활성화에 기여한다.¹²⁾

PAKs의 기능

현재까지 40개 이상의 단백질이 PAKs의 작용 기질로서 알려져 있는데, 이 기질을 통해 PAKs는 세포증식, 세포생존과 세포이동 등에 관련된 기능을 수행한다. 이 세포 신호 과정의 이상은 암생성을 촉진하고 혈관생성, 상피-간질세포 이행(epithelial-mesenchymal transition), 앵커리지 비의존적 성장(anchorage-independent growth), 대사 등과 같은 세포 작용에도 영향을 미친다.

세포 이동과 암 전이

세포골격의 역동적 변화는 정상 세포 운동, 신경형성과 혈관형성을 위해 필요한데, 암 형성 과정에서 이 세포골격의 변화를 조절하는 신호 전달 체계가 변화하면 세포 운동성이 증

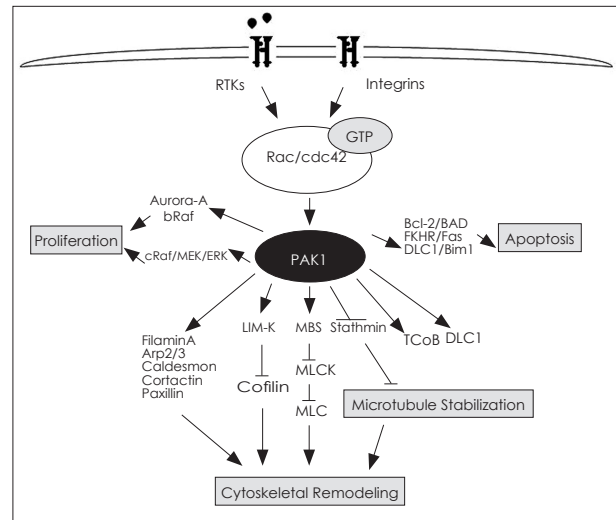


Fig. 2. Schematic representation of PAK1 and some of its substrates regulating various cellular functions. Various stimuli, such as growth factors and integrins, activates PAK1 via GTP-bound Rac and Cdc42. PAK1 is known to protect cells from apoptosis through at least three different pathways involving FKHR, Bcl-2 and DLC1. In the regulation of cellular proliferation, PAK1 regulates activity of Raf and Aurora kinases. The most studied and well characterized function of PAK1 is in the regulation of cytoskeletal remodeling. While PAK1 regulates microtubule dynamics through inhibition of stathmin and activation of TCoB and DCL1, it also regulates actin assembly and disassembly through phosphorylation of LIM Kinase and cytoskeletal proteins such as Filamin A, Arp2/3, Caldesmon, Cortactin and Paxillin. Apart from this, PAK1 also phosphorylates myosin binding unit (MBS) that in turn, inhibits phosphorylation of myosin light chain (MLC). PAKs: p21-activated kinases, MLCK: myosin light chain kinase, TCoB: tubulin cofactor B, RTK: receptor tyrosine kinase, LIM-K: LIM kinase, DLC: dynein light chain, FKHR: Forkhead box protein O1.

가하고 암세포가 주위조직으로 침습하거나 전이를 유발하게 된다. PAKs는 액틴 세포골격을 조절하는 데 있어 Rac의 하부 작용자(downstream effector)로 기능을 하고 세포 운동과 침습에 관여한다.

혈소판 유도 성장 인자(platelet derived growth factor)나 인슐린 등의 자극들이 세포질에 있는 PAK1을 세포 앞 가장자리(leading edge)에서의 박막층(lamellae)이나 dorsal ruffles 등과 같은 피질의 액틴 구조(cortical actin structure)에 재분포하도록 하며 지속적인 PAK1의 활성화는 lamellipodia, filopodia, dorsal ruffles의 형성을 유도하고 스트레스 섬유(biochemical)의 분해와 국소유착순환(focal adhesion turnover)을 증가시킨다.^{13,14)} 이것과 관련된 PAKs의 기질에는 LIM kinase, myosin light chain kinase(MLCK), merlin, filamin A, p41-actin-related protein 2/3 complex 41kDa subunit(ARC), Op18/stathmin 등이 있다(Fig. 2).

PAK1이 LIM kinase를 활성화시키면 이것은 액틴과 결합하는 단백질인 cofilin을 인산화시켜 그 작용을 억제시킨다. PAK1/LIMK 신호를 통한 cofilin의 억제는 lamellipodium

에서 액틴 필라멘트 네트워크(actin filament network)의 활성화를 통해 세포골격의 리모델링을 촉진한다.¹⁵⁾ PAK1에 의한 filamin A와 p41-ARC의 인산화도 세포이동을 자극한다.¹⁶⁾ PAK1은 myosin binding unit을 인산화시키고 이는 MLCK의 인산화를 유발하여 그 기능을 억제시켜 결과적으로 MLC의 인산화를 억제시켜 세포골격의 리모델링에 기여한다.¹⁷⁾ 또한 PAK1은 Op18/stathmin의 억제를 통해 미소관 운동(microtubule dynamics)을 조절하여 결국 세포골격의 리모델링에 기여한다(Fig. 2).¹⁸⁾

세포주기와 이수성

PAKs는 세포 주기의 진행을 위해서 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 유사분열 동안에 PAK1은 염색체나 중심체(centrosomes)와 같은 구조물에 재배치되어 기능을 하고 MCF-7 유방암 세포에서 활성화된 PAK1의 과발현은 지속적인 이수성(aneuploidy)을 이끌고 이는 발암유전자(oncogene)의 축적과 종양억제유전자(tumor suppressor gene)의 손실을 촉진시키는 것으로 알려져 있다.¹⁹⁾

PAK1은 alpha/beta-tubulin의 형성에 있어 보조 인자인 tubulin cofactor B를 인산화시켜 미소관 운동에 기여하고, 유사분열 초기에 염색체 응축(chromosome condensation)에도 중요한 역할을 한다(Fig. 2).²⁰⁾

PAKs가 세포주기 진행을 촉진하는 데 있어서 cyclin D1의 발현 조절이 또 다른 중요한 작용기전일 수 있다. 몇몇 연구에서 활성화된 PAK1이 전사인자(transcription factor)인 NFkappaB의 활성화를 통해 cyclin D1의 전사를 유도한다고 보고하고 있다.⁶⁾ 또한 PAKs는 MAP kinase 경로의 매개체인 MEK1과 Raf1의 인산화를 통해 세포 증식의 조절에도 관여하는 것으로 알려져 있다(Fig. 2).²¹⁾

세포생존과 세포사멸

세포사멸(apoptosis)은 원하지 않는 손상된 세포의 제거를 위해 필요한 중요한 세포 과정으로 종양억제기전에 중요하고, 반대로 암 형성과 진행을 위해서는 세포사멸 전 경로(pro-apoptotic pathway)의 불활성화가 필요한데, PAKs는 중요한 세포사멸 전 경로를 하향 조절하는 것으로 알려져 있다.

PAK1은 PAK-Raf1-Bad 경로를 통해 세포를 내부 세포사멸신호로부터 보호한다.²²⁾ 활성화된 Raf1은 Bcl-2와 보호 복합체(protective complex)를 형성하고 세포사멸 전 단백질(pro-apoptotic protein)인 Bcl-2 antagonist of cell death (BAD)를 인산화시킨다. Bcl-2는 보호복합체로 결합하면 미토콘드리아의 장벽(barrier)을 유지시켜주는 원종양유전자(proto-oncogene)이고, 반면에 Bcl-2가 세포사멸 전 단백

질인 BAD와 결합하면 미토콘드리아로부터 세포사멸 전 인자를 분비하여 세포사멸을 유도한다. 특별한 위치에서의 BAD의 인산화는 그것이 Bcl-2와 결합할 수 없게 만들어 세포사멸로부터 보호된다.

PAKs에 의해 유도되는 다른 보호 신호는 전사인자인 NFkappaB의 자극과 세포사멸 전 전사인자인 Forkhead box protein O1(FKHR)의 억제가 있다. 아직까지 정확한 기전은 알려져 있지 않지만 PAK1이 NFkappaB를 활성화시킬 수 있고 이것이 세포생존과 증식 및 혈관생성과 관련된 유전자를 조절하는 것으로 알려져 있다.^{6,23)} 또한 PAK1은 FKHR을 직접 인산화시켜 이의 기능을 억제해 세포사멸로부터 보호하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Fig. 2).²⁴⁾

PAK1은 dynein light chain 1(DCL1)과 BimL을 인산화 시킴으로써 세포생존을 촉진시킨다.²⁵⁾ BimL은 세포사멸 전 단백질로 BAD와 유사한 방법으로 Bcl-2를 억제한다. 세포사멸 자극에 의해 DCL1-BimL 결합체가 분비되고 이것은 미토콘드리아에서 BimL이 Bcl-2와 상호작용하도록 하는데, PAK1에 의한 BimL의 인산화는 그것이 Bcl-2와 결합하는 것을 막아준다.

PAKs의 이소체 특이적 특성

각각의 PAKs 이소체가 조직 분포에 차이를 보이는 것처럼 기능에도 다양한 차이를 보인다. 포유동물의 뇌는 6개의 PAKs 이소체가 모두 발현이 되는 유일한 기관으로 이것은 신경학적 기능에 있어서 PAKs의 중요성을 나타낸다.⁹⁾ 특히, PAK1, PAK3, PAK5는 신경조직에서 주로 발현이 되고,⁹⁾ PAK4와 PAK6은 전립선에서 주로 발현이 되어 호르몬 신호에 중요한 역할을 하는 것으로 보인다.^{26,27)}

동물실험에서 PAK1, PAK3, PAK5를 knockout 시킨 경우 생존하였지만, PAK2 또는 PAK4의 유전자를 제거하였을 때 배아 초기에 치명적이었고,²⁸⁾ 인간에서 PAK3 기능의 소실은 X-linked nonsyndromic 정신지체와 밀접한 관련이 있다고 보고되었다.²⁹⁾ 또한 PAK4를 knockout 시킨 동물에서 심장과 신경조직의 이상을 초래하여 심장과 신경 발달에 PAK4의 역할을 보고하였다.²⁸⁾

인간의 다양한 암종에서의 PAKs

다양한 암에서 PAKs의 과발현이 보고되고 있고, 특히 PAK1 이소체에 대한 연구가 많이 이루어져 있지만 암 발생 위치에 따라 다른 PAKs 이소체에 대한 보고도 있다(Table 1). 특히, 많은 암종에서 PAK1의 과발현이 종양의 전이나 침습성과 연관되어 독립적인 예후인자로 보고되고 있다. PAK1의 증가는 난소암에서 생존을 저하와 관계된다고 보고되었으며,³⁰⁾

Table 1. Cancers with altered expression of PAK family members

Cancer type	Pak isoform	Type of alterations
Brain	Pak1	Increased phospho-Pak1 in cytoplasm
Esophagus	Pak4	Protein overexpression
Breast	Pak1, Pak4	Protein overexpression and increased nuclear localization; Gene amplification (11q13→q14 amplicon)
Liver	Pak1	Protein and gene overexpression
Kidney	Pak1	Protein overexpression and increased activity
Pancreas	Pak4	Gene amplification (19q13 amplicon), protein overexpression
Colon	Pak1, Pak4	Protein overexpression Pak4 gene amplification (19q13 amplicon) and 2 somatic mutations
Bladder	Pak1	Gene amplification (11q13→q14 amplicon)
Ovarian	Pak1	Protein overexpression and gene amplification (11q13→q14 amplicon)
Prostate	Pak6	Protein overexpression
T-cell Lymphoma	Pak1	Gene amplification

PAK: p21-activated kinase

위암의 경우 증가된 PAKs의 발현은 진행된 병기와 전이 및 생존율 저하와 밀접한 관련이 있다고 보고하였다.³¹⁾ 또한 유방암의 경우도 PAK1의 발현과 활성도의 증가가 종양의 침습도와 비례하여 나타났으며,⁶⁾ 에스트로젠에 의해 PAK1의 핵 수용체가 활성화되어 PAK1은 유방암의 진행뿐만 아니라 암 발생에서도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 또한 PAK1이 에스트로젠 수용체를 변화시켜 PAK1의 농도가 증가할수록 tamoxifen 치료에 저항을 보이고 재발률의 증가, 생존율 저하와 관계있다고 보고되었다.³²⁾ 갑상선암의 경우도 PAKs의 과발현이 종양의 침습성과 밀접한 관련있음이 보고되었다.³³⁾ 그러나, 다른 두경부암에서 PAKs의 기능이나 역할에 대해 보고된 연구는 거의 없어 향후 이 분야에 대한 연구가 필요할 것으로 생각한다.

신경 섬유종증(neurofibromatosis)에서도 PAK1은 악성화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 신경 섬유종증 1형에서는 Ras 경로를 통해 MAP kinase와 PI3K kinase를 자극하여 PAK1을 활성화시키는 반면, 신경 섬유종증 2형에서는 PAK1을 직접적으로 활성화시킨다. 신경 섬유종증 2형의 경우 PAK1의 음성 조절자(negative regulator)인 merlin의 결핍으로 발생하기 때문에 PAK1의 억제제가 이 질환의 치료에 중요한 역할을 할 수 있음을 보고하였다.³⁴⁾

약물표적으로서 PAKs

최근 단백질 키나제는 그 억제제 개발을 위해 중요 표적(target)이 되고 있고 이에 대한 관심도 증가되고 있다. 저분자 키

나제 억제제(small molecular weight inhibitor)는 전형적으로 키나제 도메인의 ATP-binding pocket을 표적으로 하여 ATP와 경쟁적으로 작용하여 억제제 역할을 하고 있다. 하지만, 많은 키나제의 활동 부위 유사성 때문에 ATP-binding pocket을 표적으로 하는 억제제에 대한 특이성 문제가 대두되고 있고, 교차반응성으로 인해 원하지 않는 세포독성을 유발시킬 수 있다. 그럼에도 불구하고 이러한 작용을 하는 몇몇 단백질 키나제 억제제가 성공적으로 임상실험을 하고 있다. 대표적인 저분자 키나제 억제제로 Sorafenib(Nexavar[®]), imatinib mesylate(Gleevec[®]), temsirolimus(Torisel[®]), erlotinib(Tarceva[®]), sunitinib(Sutent[®]), Gefinitib(Iressa[®]) 등이 있고 이들은 Raf-1, Abl, mTOR와 EGFR, VEGFR의 수용체 타이로신 키나제 등을 표적으로 하고 있다.

암 형성과 전이에서 PAKs의 역할은 항암치료제로서 PAKs 억제제의 개발에 대한 합리적인 근거를 제시한다. 몇몇 화합물들이 ATP와 경쟁적으로 작용하는 PAKs 억제제로 개발되었지만 선택성이 부족하여 너무 많은 다른 키나제들을 억제하는 약물로서의 취약함을 보였다. 대표적인 것이 staurosporine의 유도체인 CEP-1347과 Cox-2 억제제인 celecoxib의 유도체인 OSU-03012인데,^{35,36)} 향후 특이성을 가진 ATP와 경쟁적으로 작용하는 화합물의 개발이 필요할 것으로 생각한다.

ATP와 경쟁적으로 작용하지 않는 PAKs 억제제들도 있는데 대표적인 것이 recombinant peptide fragments of the PAK autoinhibitory domain(PAK PID)로 특히 그룹 I PAKs 단백질의 활성도를 효과적으로 억제한다. 그러나 세포 내로 이러한 펩타이드 물질을 유도하는 것이 용이하지 않아 실제적인 치료목적으로의 사용을 어렵게 만든다. 또한 최근 PAK-PID가 PAK1 kinase 활성도와 독립적으로 세포주기를 정지시키고 cyclin D1과 D2를 억제시키는 등 작용 특이성에 문제가 있음이 보고되었다.³⁷⁾

최근에는 Cdc 42가 PAKs와 결합하는 것을 억제시켜줌으로서 PAKs의 활성을 억제시켜주는 화합물에 대한 보고가 있는데, IPA-3는 이러한 작용으로 주로 그룹 I PAKs를 억제시키지만 이미 활성화된 PAKs에는 효과가 없다는 단점이 있다.³⁸⁾

결 론

앞서 살펴본 바와 같이 PAKs는 다양한 암에서 암 형성과 전이 등 침습성과 관련하여 매우 중요한 역할을 하며 예후 인자로서뿐만 아니라 치료표적으로서 매우 유망한 단백질 키나제이다. 각각의 PAKs 이소체에 대한 연구가 좀 더 세밀히 진행되어야 하고 세포독성을 최소화한 PAKs 특이적이고 강력한 PAKs 억제제의 개발이 필요할 것으로 생각한다. 또한

두경부암에서 PAKs의 기능과 역할에 대한 연구가 필요할 것으로 생각하며 이는 진행성 두경부암의 치료에 많은 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

REFERENCES

- Manser E, Leung T, Salihuddin H, Zhao ZS, Lim L. A brain serine/threonine protein kinase activated by Cdc42 and Rac1. *Nature* 1994; 367(6458):40-6.
- Somanath PR, Vijai J, Kichina JV, Byzova T, Kandel ES. The role of PAK-1 in activation of MAP kinase cascade and oncogenic transformation by Akt. *Oncogene* 2009;28(25):2365-9.
- Maroto B, Ye MB, von Lohneysen K, Schnelzer A, Knaus UG. P21-activated kinase is required for mitotic progression and regulates Plk1. *Oncogene* 2008;27(36):4900-8.
- Marlin JW, Eaton A, Montano GT, Chang YW, Jakobi R. Elevated p21-activated kinase 2 activity results in anchorage-independent growth and resistance to anticancer drug-induced cell death. *Neoplasia* 2009;11(3):286-97.
- Kumar R, Gururaj AE, Barnes CJ. p21-activated kinases in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006;6(6):459-71.
- Balasenthil S, Sahin AA, Barnes CJ, Wang RA, Pestell RG, Vadlamudi RK, et al. p21-activated kinase-1 signaling mediates cyclin D1 expression in mammary epithelial and cancer cells. *J Biol Chem* 2004;279(2):1422-8.
- Zhao ZS, Manser E, Chen XQ, Chong C, Leung T, Lim L. A conserved negative regulatory region in alphaPAK: inhibition of PAK kinases reveals their morphological roles downstream of Cdc42 and Rac1. *Mol Cell Biol* 1998;18(4):2153-63.
- Bagrodia S, Taylor SJ, Jordan KA, Van Aelst L, Cerione RA. A novel regulator of p21-activated kinases. *J Biol Chem* 1998;273(37):23633-6.
- Dan C, Nath N, Liberto M, Minden A. PAK5, a new brain-specific kinase, promotes neurite outgrowth in N1E-115 cells. *Mol Cell Biol* 2002;22(2):567-77.
- Hinoki A, Kimura K, Higuchi S, Eguchi K, Takaguri A, Ishimaru K, et al. p21-activated kinase 1 participates in vascular remodeling in vitro and in vivo. *Hypertension* 2010;55(1):161-5.
- Lei M, Lu W, Meng W, Parrini MC, Eck MJ, Mayer BJ, et al. Structure of PAK1 in an autoinhibited conformation reveals a multistage activation switch. *Cell* 2000;102(3):387-97.
- Chong C, Tan L, Lim L, Manser E. The mechanism of PAK activation. Autophosphorylation events in both regulatory and kinase domains control activity. *J Biol Chem* 2001;276(20):17347-53.
- Sells MA, Boyd JT, Chernoff J. p21-activated kinase 1 (Pak1) regulates cell motility in mammalian fibroblasts. *J Cell Biol* 1999;145(4):837-49.
- Frost JA, Khokhlatchev A, Stippes S, White MA, Cobb MH. Differential effects of PAK1-activating mutations reveal activity-dependent and -independent effects on cytoskeletal regulation. *J Biol Chem* 1998;273(43):28191-8.
- Delorme V, Machacek M, DerMardirossian C, Anderson KL, Wittmann T, Hanein D, et al. Cofilin activity downstream of Pak1 regulates cell protrusion efficiency by organizing lamellipodium and lamella actin networks. *Dev Cell* 2007;13(5):646-62.
- Vadlamudi RK, Li F, Barnes CJ, Bagheri-Yarmand R, Kumar R. p41-Arc subunit of human Arp2/3 complex is a p21-activated kinase-1-interacting substrate. *EMBO Rep* 2004;5(2):154-60.
- Sanders LC, Matsumura F, Bokoch GM, de Lanerolle P. Inhibition of myosin light chain kinase by p21-activated kinase. *Science* 1999; 283(5410):2083-5.
- Wittmann T, Bokoch GM, Waterman-Storer CM. Regulation of microtubule destabilizing activity of Op18/stathmin downstream of Rac1. *J Biol Chem* 2004;279(7):6196-203.
- Vadlamudi RK, Adam L, Wang RA, Mandal M, Nguyen D, Sahin A, et al. Regulatable expression of p21-activated kinase-1 promotes anchorage-independent growth and abnormal organization of mitotic spindles in human epithelial breast cancer cells. *J Biol Chem* 2000;275(46):36238-44.
- Vadlamudi RK, Barnes CJ, Rayala S, Li F, Balasenthil S, Marcus S, et al. p21-activated kinase 1 regulates microtubule dynamics by phosphorylating tubulin cofactor B. *Mol Cell Biol* 2005;25(9):3726-36.
- Beeser A, Jaffer ZM, Hofmann C, Chernoff J. Role of group A p21-activated kinases in activation of extracellular-regulated kinase by growth factors. *J Biol Chem* 2005;280(44):36609-15.
- Jin S, Zhuo Y, Guo W, Field J. p21-activated Kinase 1 (Pak1)-dependent phosphorylation of Raf-1 regulates its mitochondrial localization, phosphorylation of BAD, and Bcl-2 association. *J Biol Chem* 2005;280(26):24698-705.
- Frost JA, Swantek JL, Stippes S, Yin MJ, Gaynor R, Cobb MH. Stimulation of NFkappa B activity by multiple signaling pathways requires PAK1. *J Biol Chem* 2000;275(26):19693-9.
- Mazumdar A, Kumar R. Estrogen regulation of Pak1 and FKHR pathways in breast cancer cells. *FEBS Lett* 2003;535(1-3):6-10.
- Vadlamudi RK, Bagheri-Yarmand R, Yang Z, Balasenthil S, Nguyen D, Sahin AA, et al. Dynein light chain 1, a p21-activated kinase 1-interacting substrate, promotes cancerous phenotypes. *Cancer Cell* 2004;5(6):575-85.
- Yang F, Li X, Sharma M, Zarnegar M, Lim B, Sun Z. Androgen receptor specifically interacts with a novel p21-activated kinase, PAK6. *J Biol Chem* 2001;276(18):15345-53.
- Callow MG, Clairvoyant F, Zhu S, Schryver B, Whyte DB, Bischoff JR, et al. Requirement for PAK4 in the anchorage-independent growth of human cancer cell lines. *J Biol Chem* 2002;277(1):550-8.
- Qu J, Li X, Novitch BG, Zheng Y, Kohn M, Xie JM, et al. PAK4 kinase is essential for embryonic viability and for proper neuronal development. *Mol Cell Biol* 2003;23(20):7122-33.
- Allen KM, Gleeson JG, Bagrodia S, Partington MW, MacMillan JC, Cerione RA, et al. PAK3 mutation in nonsyndromic X-linked mental retardation. *Nat Genet* 1998;20(1):25-30.
- Siu MK, Wong ES, Chan HY, Kong DS, Woo NW, Tam KF, et al. Differential expression and phosphorylation of Pak1 and Pak2 in ovarian cancer: effects on prognosis and cell invasion. *Int J Cancer* 2010;127(1):21-31.
- Liu F, Li X, Wang C, Cai X, Du Z, Xu H, et al. Downregulation of p21-activated kinase-1 inhibits the growth of gastric cancer cells involving cyclin B1. *Int J Cancer* 2009;125(11):2511-9.
- Bostner J, Ahnström Waltersson M, Fornander T, Skoog L, Nordenskjöld B, Stål O. Amplification of CCND1 and PAK1 as predictors of recurrence and tamoxifen resistance in postmenopausal breast cancer. *Oncogene* 2007;26(49):6997-7005.
- McCarty SK, Saji M, Zhang X, Jarjoura D, Fusco A, Vasko VV, et al. Group I p21-activated kinases regulate thyroid cancer cell migration and are overexpressed and activated in thyroid cancer invasion. *Endocr Relat Cancer* 2010;17(4):989-99.
- Kissil JL, Wilker EW, Johnson KC, Eckman MS, Yaffe MB, Jacks T. Merlin, the product of the Nf2 tumor suppressor gene, is an inhibitor of the p21-activated kinase, Pak1. *Mol Cell* 2003;12(4):841-9.
- Nheu TV, He H, Hirokawa Y, Tamaki K, Florin L, Schmitz ML, et al. The K252a derivatives, inhibitors for the PAK/MLK kinase family selectively block the growth of RAS transformants. *Cancer J* 2002; 8(4):328-36.
- Porchia LM, Guerra M, Wang YC, Zhang Y, Espinosa AV, Shinohara M, et al. 2-amino-N-[4-[5-(2-phenanthrenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl]-phenyl] acetamide (OSU-03012), a celecoxib deriv-

- ative, directly targets p21-activated kinase. *Mol Pharmacol* 2007;72(5):1124-31.
- 37) Thullberg M, Gad A, Beeser A, Chernoff J, Strömblad S. The kinase-inhibitory domain of p21-activated kinase 1 (PAK1) inhibits cell cycle progression independent of PAK1 kinase activity. *Oncogene* 2007; 26(12):1820-8.
- 38) Deacon SW, Beeser A, Fukui JA, Rennefahrt UE, Myers C, Chernoff J, et al. An isoform-selective, small-molecule inhibitor targets the autoregulatory mechanism of p21-activated kinase. *Chem Biol* 2008; 15(4):322-31.