

Pseudokinases (偽キナーゼ)

MLKL及びIRAK3は有望な創薬ターゲット

Pseudokinaseについて

Pseudokinaseは触媒活性を持つキナーゼと同様のキナーゼドメイン折り畳み構造を有していますが、キナーゼ間で保存された重要な触媒残基のうち、1つ以上を欠くため、その多くはリン酸転移を触媒することができません。キナーゼの活性部位に存在する保存された重要な触媒残基とその重要性は以下の通りです¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。

• **GxGxxG motif**内の3つのグリシン残基 (Glycine-rich loop) :

これらグリシン残基の側鎖は水素元素 1つのみと小さいため、glycine-rich loopがATPのアデノシン環に接近でき、これによりATPの結合、及びATPの触媒反応に適した位置への配置が可能になります。

• **VAIK motif**内のリシン残基 ($\beta 3$ strand) :

このリシン残基は α Cヘリックスに存在するグルタミン酸残基との間に塩橋を形成し、これによりリシン残基が正しく配置され、ATPの α -及び β -リン酸基と配位します。

• **HRD motif**内のアスパラギン酸残基 (Catalytic loop) :

このアスパラギン酸残基の負に帯電した側鎖は、触媒塩基として働き、基質の水酸基からプロトンを引き抜くことで、ATPの γ -リン酸基に対する基質の求核攻撃を促進します。

• **DFG motif**内のアスパラギン酸残基 (Activation loop) :

このアスパラギン酸残基はATPとの結合を安定させるために必要な二価の金属イオン (Mg^{2+} or Mn^{2+}) の結合に関与します。

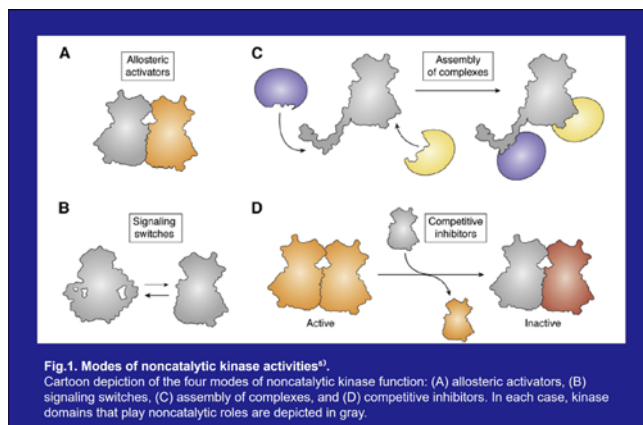
Pseudokinaseは、ヌクレオチド及び金属イオン(カチオン)との結合特性の違いから以下の4つのClassに分類することができます。

- Class 1: ヌクレオチド及びカチオンと結合できないグループ
- Class 2: ヌクレオチドと結合できるがカチオンとは結合できないグループ
- Class 3: カチオンと結合できるがヌクレオチドとは結合できないグループ
- Class 4: ヌクレオチド及びカチオンの両方と結合できるグループ

このうち、ヌクレオチドが結合可能なClass 2及びClass 4に分類される pseudokinase の中には、ATP 競合型の低分子化合物と相互作用するものがいくつか報告されています²⁾³⁾。

ヒトゲノムの中で、約50種 (全体の約10%に相当) ものプ

ロテインキナーゼがpseudokinaseとして分類されています。Pseudokinaseは、アロステリック調節因子としての働き、タンパク質の立体構造変化を利用してシグナル伝達を制御するスイッチとしての機能、複合体形成のための足場としての役割、そしてシグナル伝達経路における競合的阻害因子としての働きなど、非触媒活性型の多様なメカニズムを通して生物学的プロセスを制御しています (Fig.1)⁵⁾。そして、その様な役割を担うpseudokinaseの変異や発現異常は、発生や形態形成の異常に加えて、がん、神経疾患、代謝異常、自己免疫疾患など、様々な疾患との関連が報告されています³⁾。近年では、標的タンパク質分解誘導技術の進展により、従来の治療薬では制御が困難とされてきた pseudokinase を標的とする創薬が、より現実的かつ有望な取り組みとして進められるようになってきています。



MLKLはネクロプトーシスを開始する上で中心的な役割を担う因子

Mixed lineage domain-like protein (MLKL) はClass 2 に分類される pseudokinase であり、ネクロプトーシスの最終的なエフェクターとしての役割を果たします。ネクロプトーシスとは、細胞膜の破裂と損傷関連分子パターン (DAMPs) の放出を特徴とする、炎症促進性の制御された細胞死の1形態です。ネクロプトーシス経路は、がん、神経変性疾患、肝疾患、自己免疫疾患、及び炎症性疾患など、幅広い病態に対する治療標的候補として大きな関心を集めています⁶⁾。

MLKL は RIPK3 と結合して不活性な立体構造を維持していますが、TNF- α などのサイトカイン、2本鎖RNA及びリポポリサッカライド、並びにIFN- γ シグナリングなど、ネクロプトーシス刺激を受けると、RIPK3がMLKLをリン酸化し、リン酸化されたMLKLは立体構造を変化させ、RIPK3から解離します。解離したMLKLは多量体化し、細胞膜に組み込まれて孔

(ポア)を形成し、細胞溶解とDAMPsの放出を引き起こします。MLKLの欠損は、自己免疫性の肝炎及び乾癬、急性膵炎、非アルコール性脂肪性肝疾患、そして急性及び慢性腎疾患のモデルにおいて、保護的な効果を示すことが報告されています⁶⁾。

MLKLはN末端の4-Helix Bundle (4HB) executioner domainと、C末端のpseudokinase domainの2つのドメインから構成され、4HB domainの86番目のシステイン、4HB domainのN末端の別の部位、そしてpseudokinase domainのATP結合ポケットの3か所が、低分子化合物が結合する部位として報告されています⁶⁾⁷⁾⁸⁾。MLKLの4HB domainのCys86に結合するPROTAC並びにpseudokinase domainのATP結合ポケットに結合するPROTACが開発されており、これらの化合物が細胞内MLKLを分解し、ネクロプトーシスから細胞を保護することが示されています⁶⁾⁷⁾。

IRAK3は免疫チェックポイント阻害療法との相乗効果を持つ有望な創薬標的

Interleukin-1 receptor associated kinase 3 (IRAK3)はClass1のpseudokinaseであり、IL-1/TLR自然免疫シグナル伝達を負に制御します。局所進行性または転移性尿路上皮がん患者を対象に、抗PD-L1抗体であるatezolizumabを用いて実施されたIMvigor210臨床試験のRNA-seq解析において、治療前のIRAK3 mRNA発現量の低い患者では、発現量の高い患者と比べて生存期間が延長することが示されました。またIRAK3 mRNAが高発現している腫瘍ではTGFβシグナルの活性化との関連性が認められました。TGFβ経路は免疫チェックポイント阻害(ICB)療法に対する抵抗性メカニズムの一つであると知られていることから、IRAK3がICB療法への応答を制御する重要な因子であることが示唆されます⁹⁾。

IRAK3の欠損は、同種移植マウス腫瘍モデルにおいて、腫瘍の成長を遅らせることが報告されています。注目すべきことに、IRAK3欠損マウスでは、ICB治療に対して抵抗性を示すMYCN駆動神経芽腫モデルにおいて、PD-1阻害に対する応答が増強され、さらにPD-1阻害処置によりTCF1⁺PD-1⁺幹細胞様CD8⁺T(T_{SL})細胞及び高度に活性化された骨髄系細胞が同時に増加することが確認されました⁹⁾。T_{SL}細胞は、持続性と抗腫瘍免疫に優れた免疫細胞のサブセットであり、ICB療法に応答して腫瘍特異的CD8⁺T細胞を増殖させる上で重要な役割を果たします¹⁰⁾。そのため、IRAK3の欠損によって引き起こされた自然免疫細胞の活性化状態が、CD8⁺T細胞の機能を維持している可能性が考えられます。これらの知見から、IRAK3はICB療法との併用によって相乗的な効果が期待できる有望な治療標的として注目されています。

これまでにIRAK3に結合するdegraderとしてFIM-001やPROTAC 23が報告されており、いずれもTHP-1細胞株においてIRAK3の分解が確認されています。またFIM-001は、ICB

療法に対する反応性が低いことで知られるLLC同種移植マウス腫瘍モデルにおいて、皮下投与にて抗腫瘍効果を示しました¹¹⁾¹²⁾。

標的タンパク質分解誘導技術の登場により、これまで創薬が困難(undruggable)とされていたpseudokinaseが、今では有望な創薬標的として注目を集めており、新たな治療法の開発に向けた進展の道が開かれつつあります。

カルナバイオサイエンスが提供するpseudokinase関連製品

弊社ではpseudokinaseビオチン化タンパク質製品の発売を開始し、今後製品のラインナップ拡大・拡充を予定しています。今回発売されたpseudokinaseタンパク質は以下の5製品です。

- MLKL
- IRAK3
- ERBB3 (HER3)
- TYK2 JH2 domain
- JAK2 JH2 domain

各製品の詳細については、以下のリンクからご覧いただけます。

<https://www.carnabio.com/japanese/product/protein-pseudokinase.html>

Pseudokinaseタンパク質製品を含めた弊社提供製品についてのご質問、カスタムのご要望などのご相談がございましたら、info@sb.carnabio.comにお気軽にお問い合わせ下さい。

引用:

- 1) Science. 2002; 298(5600): 1912-34. Manning G.
- 2) Biochem J. 2014; 457(2): 323-34. Murphy JM.
- 3) Nat Rev Drug Discov. 2019; 18(7): 501-526. Kung JE.
- 4) Trends Biochem Sci. 2022; 47(10): 875-891. Sheetz JB.
- 5) J Biol Chem. 2021; 296: 100705. Mace PD.
- 6) J Med Chem. 2023; 66(16): 11216-11236. Rathje OH.
- 7) J Med Chem. 2024; 67(17): 15353-15372. Li S.
- 8) J Med Chem. 2021; 64(21): 15629-15638. Rübhelke M.
- 9) J Clin Invest. 2023; 133(7): e161084. Tunali G.
- 10) Front Immunol. 2024; 15: 1426418. Steiner C.
- 11) J Med Chem. 2020; 63(18): 10460-10473. Degorce SL.
- 12) FIMECS presentation. 2022. The 10th Symposium of the Genome Drug Discovery and Emergence Forum.

このニュースレターの中で論文から引用した情報の日本語翻訳文はカルナバイオサイエンス社が作成しました。