

## Janus kinase 阻害剤の選択性に関する理論的研究

(安田女子大・薬<sup>1</sup>, 筑波大院・数理<sup>2</sup>)

○下堂 靖代<sup>1</sup>, 杉本 祥子<sup>1</sup>, 山口 俊和<sup>1</sup>, 守橋 健二<sup>2</sup>

### Theoretical study on selectivity of Janus kinase inhibitor

(Faculty of Pharmacy, Yasuda Women's University<sup>1</sup>,

Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba<sup>2</sup>)

○Yasuyo Shimodo<sup>1</sup>, Shoko Sugimoto<sup>1</sup>, Toshikazu Yamaguchi<sup>1</sup>, Kenji Morihashi<sup>2</sup>

#### 【序】

プロテインチロシンキナーゼの一種である Janus キナーゼ (JAK) ファミリーは, 4つのタイプ (JAK1, JAK2, JAK3, TYK2) に分類され, それぞれ免疫や造血に関与するサイトカインおよび増殖因子のシグナル伝達に関わる. JAK 阻害薬は, これらの ATP 結合部位に作用し, 自己免疫疾患や骨髄増殖性腫瘍などに適応される. 現在, 国内では Tofacitinib (TFT) が関節リウマチの治療薬として, Ruxolitinib (RXT) が骨髄線維症の治療薬として承認されている (図 1).

効果的で副作用の少ない JAK 阻害薬の改良・開発においては, 疾患の治療標的となるタイプへ高い選択性を持たせることが求められるため, JAK 阻害薬の各タイプへの結合性について理解することは重要である. 本研究では, TFT および RXT について各タイプとの結合エネルギーと *in vitro* 試験における阻害効果との相関性を再現する計算科学的手法を確立し, これらの相互作用基盤の解明に取り組む.

#### 【計算】

JAK3 と TFT 複合体の三次元構造 (PDBID: 3LXK) を基に, JAK1 (H869~L1152), JAK2 (T842~I1126), JAK3 (T815~L1098) を SWISS-MODEL サーバーによりホモロジーモデリングし, TFT および RXT との複合体モデルをそれぞれ構築した. ここで RXT については, JAK ファミリーとの複合体構造が未知であるため, がん原性遺伝子チロシンプロテインキナーゼ c-Src との複合体構造 (PDBID: 4U5J) を参考に, 先でホモロジーモデリングした各 JAK タイプとの複合体モデルも構築した. また, RXT の pKa は 11.8 および 4.3 であることから, 体内では一価のイオン型で存在する割合が最も高いため, 3位の窒素をプロトン化したイオン型 (RXT<sup>+1</sup>) との複合体モデルも考慮した.

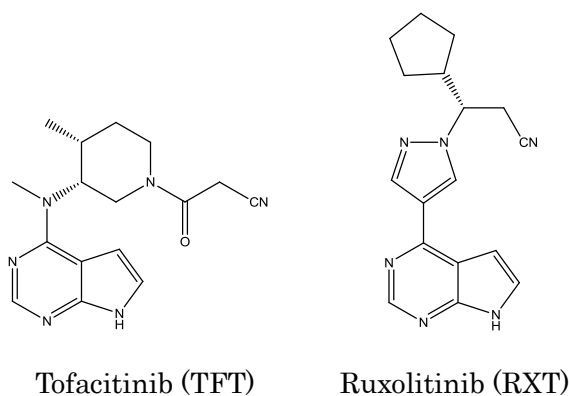


図 1: JAK 阻害薬

これらモデル構造の歪みを取り除くため、分子力学 (MM) 法によるエネルギー最小化計算を行った後、フラグメント分子軌道 (FMO) 法による電子状態計算を行った。ここで、RXT のシアノ基の炭素原子は、c-*Src* との複合体中で  $sp^2$  性を持つことから、この炭素原子を  $sp^2$  として生成した力場も用いて MM 計算を行った。MM 計算には AMBER11, FMO 計算には ABINIT-MP を用いた。

### 【結果と考察】

表 1 は、各 JAK タイプと TFT について、JAK を構成するアミノ酸残基と TFT 間に相当するフラグメント間相互作用エネルギー  $\Delta E_{IJ}$  から算出された結合エネルギーを示したものである。JAK ファミリーと TFT 複合体における親和力は、 $JAK3 > JAK1 > JAK2$  の順に強く、これは *in vitro* 試験で得られている  $IC_{50}$  (50%阻害濃度：阻害薬が標的タンパク質の半数を阻害するのに必要な濃度) と相関するものであった。

一方、表 2 には、3LXK および 4U5J を参照して構築した各 JAK タイプと  $RXT^{+1}$  について、JAK を構成するアミノ酸残基と  $RXT^{+1}$  間に相当する  $\Delta E_{IJ}$  から算出された結合エネルギーを示した。ここでは、3LXK 参照モデルの全エネルギーに対する 4U5J 参照モデルの相対エネルギーも示した。JAK ファミリーと  $RXT^{+1}$  について、*in vitro* 試験で得られている  $IC_{50}$  値から予測される親和力は  $JAK2 \simeq JAK1 \gg JAK3$  であるが、本計算では  $JAK1 > JAK3 > JAK2$  の順に強く、 $RXT^{+1}$  の JAK2 への選択性は示されなかった。いずれの参照モデルにおいても同様の傾向であった。このため、各 JAK タイプと RXT および  $RXT^{+1}$  の複合体モデルについては再検討している。現在のところ、ドッキングシミュレーションにより予測された複合体構造について分子動力学計算を実行し、JAK3 においては RXT および  $RXT^{+1}$  とともに ATP 結合部位を外れるのに対し、JAK1 および JAK2 における RXT との結合エネルギーはそれぞれ  $-125.7 \text{ kJ mol}^{-1}$ ,  $-123.4 \text{ kJ mol}^{-1}$  と同等の親和性を示す結果を得ている。

表 1: FMO HF/6-31G(d)計算による JAK ファミリーと TFT の結合エネルギー  $\Delta E_{bind}$  ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )

参照構造		JAK1	JAK2	JAK3
3LXK	$\Delta E_{bind}$	-170.8	-157.6	-175.9
Exptl	$IC_{50}$ ( $\text{nmol L}^{-1}$ )	3.2	4.1	1.6

表 2: FMO HF/6-31G(d)計算による JAK ファミリーと  $RXT^{+1}$  の結合エネルギー  $\Delta E_{bind}$  ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) と相対エネルギー  $\Delta E_{rel}$  ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )

参照構造		JAK1	JAK2	JAK3
3LXK	$\Delta E_{bind}$	-213.1	-99.2	-164.3
	$\Delta E_{rel}$	0.0	0.0	0.0
4U5J	$\Delta E_{bind}$	-288.4	-130.9	-177.4
	$\Delta E_{rel}$	-100.0	-121.6	-51.5
Exptl	$IC_{50}$ ( $\text{nmol L}^{-1}$ )	$3.3 \pm 1.2$	$2.8 \pm 1.2$	$428 \pm 243$