

综述

假激酶PEAK2的研究进展

高福花, 彭益俊, 尹姣姣, 田碧霞, 张 翀*

(甘肃省妇幼保健院/甘肃省中心医院临床检验中心, 兰州 730050)

摘要: 缺乏催化活性的蛋白激酶被称为假激酶, 其不依赖催化功能在细胞信号转导中起关键作用。富含伪足的非典型激酶2(pseudopodium-enriched atypical kinase 2, PEAK2)是一种 I 类假激酶, 在各个器官中广泛表达, 包括食管、胰腺、结肠、小肠、肺、胃、肾脏、脾脏和脑等。PEAK2作为支架蛋白是多种信号转导途径的重要组成部分, 也是细胞增殖、迁移、侵袭、黏附等过程的关键调节因子。由于PEAK2的表达与肿瘤密切相关, 引起科研人员的广泛关注。本文主要从PEAK2的结构、与其相关的信号转导、在疾病中的表达及作用等研究进展进行综述, 以期对这些疾病的创新药物发现提供新的思路。

关键词: 假激酶; 富含伪足的非典型激酶2; 信号转导; 富含伪足的非典型激酶1

Research progress of pseudokinase PEAK2

GAO Fuhua, PENG Yijun, YIN Jiaojiao, TIAN Bixia, ZHANG Chong*

(Clinical Laboratory Center of Gansu Provincial Maternal and Child Health Care Hospital,
Gansu Provincial Central Hospital, Lanzhou 730050, China)

Abstract: Protein kinases lacking catalytic activity are called pseudokinases, whose catalysis-independent functions play a key role in cell signaling. Pseudopodium-enriched atypical kinase 2 (PEAK2) is a class I pseudokinase that is widely expressed in various organs, including esophagus, pancreas, colon, small intestine, lung, stomach, kidney, spleen, brain and so on. Its role as a scaffold protein is not only an important component of several signal transduction pathways, but also a key regulator of cell proliferation, migration, invasion, adhesion, and other processes. Because the expression of PEAK2 is closely related to tumors and other diseases, it has attracted wide attention. This paper mainly summarizes the research progress of PEAK2 from structure, the related signal transduction and the expression and function in diseases, in order to provide new ideas for innovative drug discovery in these diseases.

Key Words: pseudokinase; pseudopodium-enriched atypical kinase 2; signal transduction; pseudopodium-enriched atypical kinase 1

蛋白激酶又称蛋白质磷酸化酶, 其催化腺苷三磷酸(adenosine triphosphoric acid, ATP)上的 γ -磷酸基团转移到蛋白质残基上, 完成蛋白质的翻译后修饰^[1]。具有催化作用的蛋白激酶三级折叠相似,

核心催化元件几乎一致, 包括: (1)位于N端的缬氨酸-丙氨酸-异亮氨酸-赖氨酸(Val-Ala-Ile-Lys, VAIK)基序, 其中的赖氨酸残基可与ATPa、ATPb磷酸基团作用而锚定, 并确定ATP结合的方向;

收稿日期: 2023-12-08

基金项目: 甘肃省科技计划项目(22JR5RA716)

第一作者: E-mail: 2595206431@qq.com

*通信作者: E-mail: zhch1972@163.com

(2)一个富含甘氨酸的环,这是ATP结合的关键特征;(3)激活环中的天冬氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸(Asp-Glu-Gly, DFG)基序,其中Asp可与镁离子和ATP配合;(4) C端组氨酸-精氨酸-天冬氨酸(His-Arg-Asp, HRD)环,其中Asp在磷酸化转移过程中是接受基团^[1,2]。

这些核心催化元件中的任何一个或者多个氨基酸的丢失很可能导致激酶催化能力的丧失,成为假激酶^[3,4]。假激酶在进化上非常保守,在多个物种中均有发现,据估计约占人类激酶组的10.8%^[5]。假激酶虽无激酶活性,但可通过非磷酸化的方式发挥作用,如作为变构调节剂、基于蛋白质的分子开关,复杂组装的支架和信号通路中的竞争性抑制剂等^[6]。研究表明,假激酶在发育、免疫应答和代谢中发挥关键作用,其突变和表达失调与多种发育和形态障碍以及很多疾病相关联,如癌症、神经系统疾病、代谢性疾病和自身免疫性疾病等,假激酶为上述疾病的药物研发提供了一类全新的潜在靶标^[7]。当前有望作为药物靶标的大部分假激酶,如人类表皮生长因子受体3、混合谱系激酶结构域样、大鼠肉瘤(rat sarcoma, Ras)的激酶抑制剂、Janus激酶2(Janus activated kinase 2, Jak2)和酪氨酸激酶2^[8-12]等,都具有特定的ATP结合位点,可以容纳ATP竞争分子。根据结合核苷酸或二价阳离子的能力不同,可将假激酶分为四类:Ⅰ类假激酶不能结合核苷酸或者二价阳离子;Ⅱ类假激酶结合核苷酸但不结合二价阳离子;Ⅲ类假激酶仅结合二价阳离子;Ⅳ类假激酶既结合核苷酸又结合二价阳离子,但仍不能进行磷酸化转移^[13]。

富含伪足的非典型激酶(pseudopodium-enriched atypical kinase, PEAK)是一类假激酶蛋白家族,该家族包括PEAK1^[14]、PEAK2^[15,16]和PEAK3^[17]三种假激酶。其中,PEAK2又称为PEAK1相关激酶激活假激酶1、Pragmin、Notch激活复合物激酶或SgK223。PEAK2为Ⅰ类假激酶,相对分子质量为149 000,其与PEAK1的结构、功能相似,均为调控细胞骨架重组、细胞迁移和侵袭的致癌假激酶支架蛋白和信号转导途径的重要组成部分^[18,19]。目前,在PEAK家族中,关于PEAK1的研究综述较为详尽,而关于PEAK3的研究甚少,仅有数篇研究表明它也是一种支架蛋白,在癌症进展和信号传

导中发挥作用,故本文对PEAK1和PEAK3不做详述。近些年,PEAK2在科研界备受关注,因此本文将对PEAK2的结构、参与的信号转导途径、在疾病中的表达及作用三个方面进行阐述。

1 PEAK2的结构

PEAK2由1 406个氨基酸组成,包括第1~216位氨基酸残基组成的N端结构域,第217~931位氨基酸残基组成的一个大型非结构化脯氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸(Pro-Glu-Ser-Thr, PEST)连接子和第932~1406位氨基酸残基形成的两侧螺旋结构域(α N1、 α J、 α K、 α L和 α M)包裹的C端假激酶结构域(图1a)^[20]。其N端结构域中约200个氨基酸残基与PEAK1显示出一定程度的保守性,但与任何已知蛋白质没有序列相似性,功能尚不明确^[20]。在假激酶结构域内,保守催化元件DFG基序被天冬酰胺、苯丙氨酸、亮氨酸(Asn-Glu-Leu, NFL)序列取代,且甘氨酸环只含有一个甘氨酸,导致ATP结合位点的缺失,这些结构特征决定PEAK2不能结合ATP和阳离子,因此PEAK2被归为Ⅰ类假激酶^[21]。PEAK2的PEST连接子中含有许多酪氨酸磷酸化位点和富含脯氨酸的基序,如谷氨酸、脯氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、丙氨酸(Glu-Pro-Iso-Tyr-Ala, EPIYA)基序,该基序可招募含有特异性Src同源性2(Src homology 2, SH2)以及含磷酸酪氨酸结合结构域的衔接蛋白,其一旦被磷酸化即可充当衔接蛋白的对接位点^[22,23]。此外,PEST连接子内还具有一个CT-10激酶调节剂Ⅱ的N-SH3结合位点(812~819位氨基酸残基),参与肌动蛋白聚合和调节细胞运动^[17]。假激酶结构域两侧的螺旋结构域在空间结构中以一个独特的螺旋束折叠在一起,构成分裂螺旋二聚体模块,该模块在PEAK家族蛋白中保守,可驱动PEAK家族蛋白的同二聚化和异二聚化,且蛋白质酪氨酸磷酸化的激活和信号传导依赖于其保守的二聚化^[24,25]。

PEAK2单体的晶体结构如图1b,其假激酶结构域采用典型的激酶样折叠,N端螺旋 α N1直接与C端螺旋 α J和 α K相互作用,而 α L螺旋滑到假激酶结构域的 α I螺旋下,呈现“XL”形螺旋束。PEAK2二聚体的形成是由两个单体的调控螺旋介导的,其中一个单体的 α N1和 α J螺旋与另一个单体的 α J和

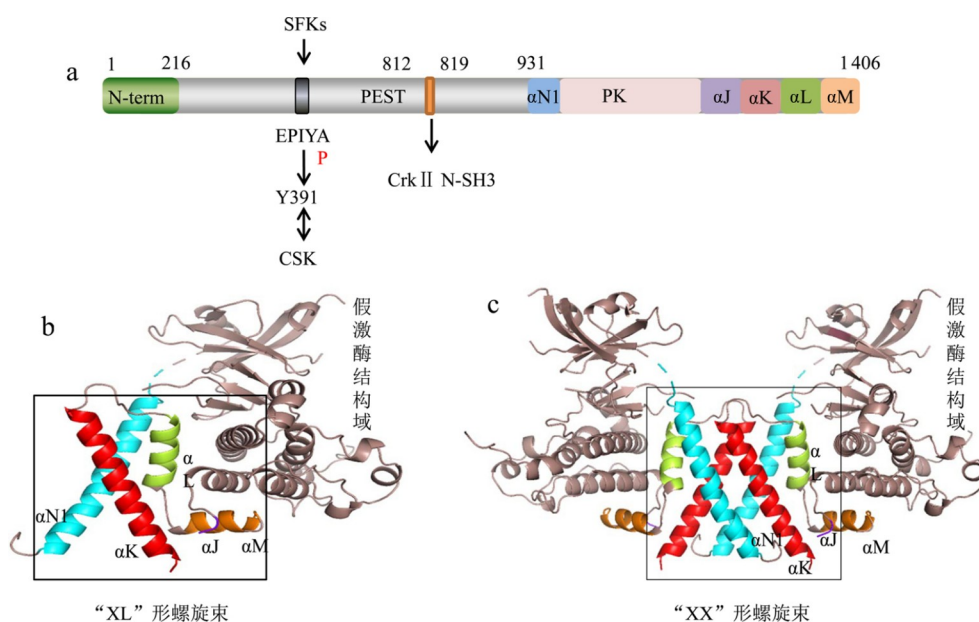


图1 PEAK2结构示意图

α N1螺旋相互作用，在二聚体的“核心”形成独特的“XX”形四螺旋束，并将假激酶结构域定位在外围形成二聚体的“壳”(图1c)^[21]。

2 与PEAK2相关的信号转导

假激酶通过其非磷酸化功能在细胞信号传导中发挥重要作用，如直接结合活性激酶调控磷酸化活性、通过竞争抑制调控活性激酶的磷酸化活性、作为分子开关发挥不依赖激酶的关键非催化功能和作为信号支架辅助信号转导等^[26]。而目前的研究表明，PEAK2仅作为信号支架在不同的信号传导中发挥作用。

2.1 PEAK1-PEAK2信号通路

PEAK1作为一种支架蛋白，在调节生长因子受体信号输出中起关键作用，并与乳腺癌、肺癌和结肠癌等几种癌症的进展有关^[14,27,28]。PEAK1和PEAK2的结构相似，C端均包含一个假激酶结构域，但与PEAK2相比，它募集的信号蛋白不同^[27-30]。PEAK1的结构功能分析表明，PEAK1促进人正常乳腺细胞伸长和迁移的能力依赖于 α N1区和假激酶结构域，而在这些区域的结合伙伴中，PEAK2是最突出的相互作用者之一^[18]。PEAK1和PEAK2在生理表达水平上相互关联，并且通过各自的 α N1区和假激酶区域直接相互作用。此外，PEAK1和PEAK2同型关联，并且具有功能依赖性。如

PEAK2需要PEAK1的存在才能与生长因子受体结合蛋白共免疫沉淀，表明PEAK1是PEAK2与生长因子受体结合蛋白相互作用的桥梁；PEAK1在人正常乳腺细胞中有效促进细胞迁移并激活信号传导和转录激活蛋白3(signal transducers and activators of transcription 3, Stat3)也需要PEAK2存在^[18]。这些结果不仅揭示了PEAK1与PEAK2之间相互作用，而且证明了假激酶的一种新的信号转导机制，即两种假激酶利用同型和异型结合来组装具有不同结合特性的支架复合物，从而调节信号的输出(图2)。

2.2 PEAK2-Rnd2信号通路

Rnd蛋白(Rnd1、Rnd2和Rnd3/RhoE)是Rho家族鸟苷三磷酸(guanosine triphosphate, GTP)酶的一个独特分支，它们缺乏固有的GTP酶活性^[31]。以往的研究表明，Rnd1和Rnd3对Ras同源基因家族成员A(Ras homologous gene family members A, RhoA)调节的信号通路具有拮抗作用，并且已经发现了几个下游效应因子，如Socius和p190RhoGAP^[32,33]。与Rnd1和Rnd3相比，尽管Rnd2在大脑的神经元中特异表达，但人们对Rnd2研究较少^[34,35]。为了确定Rnd2的下游效应物，Tanaka等^[15]以Rnd2为诱饵进行了酵母双杂交筛选，分离出了一种新的Rnd2效应物——Pragmin，即PEAK2。研究表明，PEAK2-Rnd2相互作用能刺激

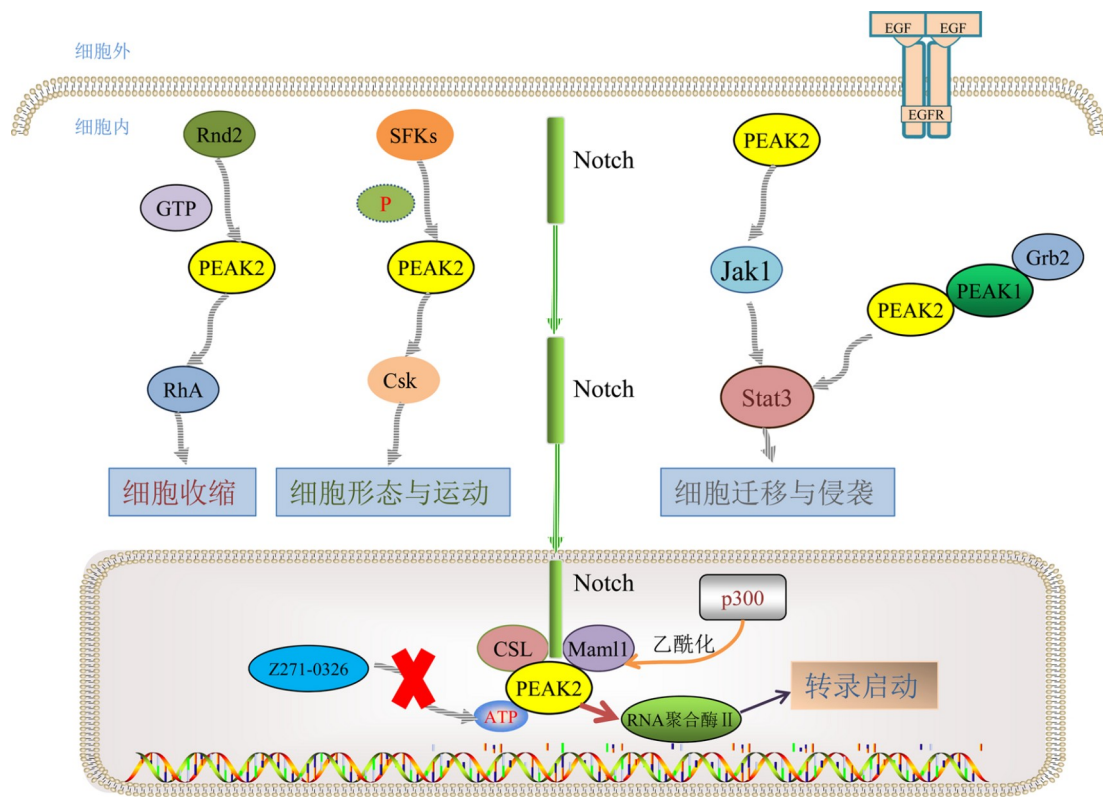


图2 PEAK2相关信号通路示意图

RhoA活性并通过Rho激酶途径诱导细胞收缩^[15]。谷胱甘肽-S-转移酶蛋白下拉实验证明, PEAK2和Rnd2之间的相互作用依赖于GTP, 并由PEAK2的C端区域(830~1368位氨基酸残基)介导, 而PEAK2的N末端区域(1882位氨基酸残基)负责RhoA激活和抑制轴突生长^[15]。以上研究说明, PEAK2以依赖GTP的方式与Rnd2相互作用以刺激RhoA活性, 从而诱导细胞收缩(图2), PEAK2与Rnd2的相互作用进一步强调了PEAK2的支架功能。

2.3 PEAK2-Csk信号通路

效应蛋白在进入哺乳动物细胞后, 宿主激酶如Src家族激酶(Src family kinases, SFKs)会在EPIYA基序上进行酪氨酸磷酸化, 该磷酸化触发宿主效应物与含有SH2结构域的蛋白质形成复合物, 进而导致宿主细胞信号转导的扰动和发病^[36]。研究证明, 胃上皮细胞中PEAK2的EPIYA基序被SFks磷酸化, 从而获得与C端Src激酶(C-terminal Src kinase, Csk)的SH2结构域相互作用的能力^[22]。Csk是SFks的负调节因子, PEAK2-Csk的相互作用阻止了Csk从细胞质向细胞膜的转移和相关SFks的失活, 因此SFks活性持续存在。PEAK2的EPIYA磷

酸化是由SFks介导的, 因此PEAK2对Csk的胞质隔离建立了对SFks激活的正反馈调节^[22]。在此研究基础上, Senda等^[23]进一步发现, PEAK2通过酪氨酸磷酸化的EPIYA基序直接与Csk结合。PEAK2-Csk复合物的形成增强了Csk的激酶活性, 进而使PEAK2在Y238、Y343和Y391上磷酸化。研究发现, PEAK2和Csk共定位于局灶黏附^[23]。这表明, PEAK2-Csk相互作用由PEAK2的EPIYA中的酪氨酸磷酸化触发, 强烈刺激局灶黏附处的Csk激酶活性, 形成了一种Csk激活的前馈回路, 从而指导细胞-基质黏附, 精准地调节细胞形态和细胞运动^[23](图2)。值得注意的是, Leroy等^[37]发现, PEAK2-Csk信号通路存在于结肠癌细胞中, 将在3.3中详述。

2.4 PEAK2与Notch信号通路

Notch是肿瘤发展中重要的转录因子, 通过细胞间相互作用激活后, Notch胞内结构域从细胞膜释放并转移到细胞核, 在核内它与Maml1(mastermind-like 1)、CSL[CBF1/Su(H)/Lag-1]、脱氧核糖核酸结合蛋白形成三元复合物^[38,39]。研究认为, 这种三元复合物作为支架招募额外的转录共激活因子来驱动Notch依赖的转录级联反应。因此, 解除Notch的

管制会导致驱动肿瘤程序的转录谱的异常执行^[38-41]。Capobianco课题组在小鼠中鉴定并表征了一种新的Notch相互作用蛋白——Notch激活复合物激酶^[16]，即PEAK2。研究表明，PEAK2是Notch转录复合体的关键组成部分，是Notch介导肿瘤发生、发展的重要调节因子^[16]。PEAK2作为Notch转录共激活因子，与脱氧核糖核酸上的Notch转录激活复合物相关联，介导Notch转录活性，进而介导肿瘤发生，并且PEAK2也是Notch的靶基因，这就形成了一个前馈回路^[16]。此外，该课题组还证明了PEAK2以依赖于Mam11的方式与Notch1三元复合物结合，并且PEAK2的结合是Notch靶基因表达和Notch驱动的肿瘤发生所必需的^[42]。具体发生机制为：Mam11在赖氨酸残基188和189被p300乙酰化，乙酰化的Mam11驱动PEAK2募集到Notch三联转录复合物，随后募集RNA聚合酶II，从而启动转录^[42]。研究还发现，二聚化的PEAK2可以结合并水解ATP，并且只有ATP结合的PEAK2才能与Notch三元复合物结合^[43]。以上研究表明，PEAK2以依赖Mam11的方式与Notch1三元复合物结合来介导肿瘤的发生，二聚化的PEAK2可以结合ATP^[16,42,43](图2)。通过Notch1信号通路干扰PEAK2可抑制非小细胞肺癌的进展^[44]，具体研究机制将在3.2中详述。

2.5 PEAK2-Stat3信号通路

Stat蛋白是转录因子家族，包括Stat1、Stat2、Stat3、Stat4、Stat5a、Stat5b和Stat6七个成员，这些蛋白质起着双重作用，它们既能通过细胞质转导信号，又在细胞核中发挥转录因子的作用^[45]。细胞因子受体缺乏酶活性，但与属于Jak家族的酪氨酸激酶相关，配体刺激导致相关联的Jak蛋白活化，从而导致Stat募集和磷酸化。磷酸化的Stat蛋白或活化的Stat蛋白形成同型或异型二聚体，并易位至细胞核，调节基因表达^[45]。研究表明，胰腺导管癌细胞中PEAK2调控Stat3的激活是PEAK2增强细胞迁移和侵袭所必需的^[46,47]，该部分将在3.1中详述(图2)。

3 PEAK2在疾病中的表达与作用

PEAK2在各个组织中广泛表达，包括食管、胰腺、结肠、小肠、肺、胃、肾脏、脾脏和脑组织等。研究证明，PEAK2与细胞增殖、迁移侵袭

及黏附有密切的关系，当组织发生病变时，PEAK2的表达增加，相应的生物学功能也发生变化。

3.1 PEAK2与胰腺导管腺癌

研究发现，PEAK2酪氨酸(Y159、Y141)磷酸化水平在胰腺导管腺癌细胞系亚群中发生变化，表明PEAK2信号在这种恶性肿瘤中受到干扰^[46]。与人胰腺导管上皮细胞相比，在几种胰腺导管腺癌细胞系中检测到PEAK2的表达增加；与正常胰腺组织相比，在胰腺导管腺癌组织中也检测到PEAK2的表达增加。虽然在人胰腺导管上皮细胞中过表达PEAK2不会影响细胞增殖，但会导致细胞形态细长，并通过增强Jak1/Stat3信号传导促进胰腺导管上皮细胞迁移和侵袭性表型的获得，诱导部分上皮-间质转化特征的基因表达变化^[46,47]。研究表明，在PEAK2过表达的胰腺癌细胞中，Stat3的Y705磷酸化、Stat3转录活性和Jak1磷酸化水平均明显升高，这种由PEAK2导致的Stat3的表达增加是Jak1依赖性的，并且Stat3激活是增强PEAK2过表达细胞的运动性和侵袭性所必需的^[46,47](图2)。

3.2 PEAK2与非小细胞肺癌

有研究采用定量逆转录聚合酶链式反应和蛋白质印迹法检测发现，PEAK2在非小细胞肺癌组织和细胞中的表达显著升高^[44]。Pearson卡方分析表明，PEAK2的高表达与非小细胞肺癌的分化程度、淋巴转移、临床分期显著相关，而与性别、年龄、吸烟、肿瘤大小、组织学类型无关^[44]。因此，PEAK2可被用作非小细胞肺癌的潜在不良预后生物标志物。干扰PEAK2还可诱导非小细胞肺癌细胞的凋亡，显著抑制细胞增殖、侵袭和转移。研究证明，敲低PEAK2可导致Notch1相关靶基因的转录活性被显著抑制。因此，可以通过Notch1信号通路干扰PEAK2进而抑制非小细胞肺癌的进展，靶向PEAK2可能是治疗非小细胞肺癌的有效途径^[44]。

3.3 PEAK2与结肠癌

PEAK2的高表达也表现在结肠癌中，且与结肠癌的不良预后有关^[48]。结肠癌细胞中的PEAK2定位于细胞的局灶黏连，并诱导Abl酪氨酸激酶依

赖性的富肌动蛋白膜突起丝足的形成, 进而驱动细胞侵袭。PEAK2的过表达增加了结肠癌细胞的体外生长和侵袭, 而其缺失降低了细胞的体外生长和侵袭, 且减少了裸鼠体内结肠癌的发展^[48]。Leroy等^[37]报道, 在人结肠癌细胞中, c-Src的异位表达可诱导包括PEAK2在内的一组酪氨酸激酶和假激酶的磷酸化, 且Y391被磷酸化后, PEAK2能刺激结肠癌细胞中的c-Src活性, 但其潜在机制尚不清楚。Leroy等^[37]的研究结果与上述Senda等^[23]的研究结果一致, 可以用PEAK2-Csk相互作用对SFKs的正反馈调节来解释(图2)。

3.4 PEAK2与其他疾病

PEAK2除了在上述几种肿瘤中被详细研究外, 在其他疾病如食管腺癌、动脉粥样硬化等中亦有研究。Weaver等^[16]在食管腺癌的临床样本中检测出PEAK2比正常组织高表达; 在食管腺癌细胞中敲低PEAK2可显著抑制食管腺癌细胞的克隆生成潜能, 且敲低PEAK2导致小鼠肿瘤生长速度下降。研究表明, PEAK2在动脉粥样硬化中发挥作用, Franceschini等^[49]利用全基因组关联研究和共定位分析在动脉粥样硬化斑块中定位了一些新基因, 其中PEAK2就是其中一个。除此之外, 研究者在石斑鱼的遗传图谱中也发现了PEAK2基因, 并通过数量性状基因座定位表明PEAK2与石斑鱼的生长相关^[50]。这些发现拓展了假激酶PEAK2的研究领域, 未来仍需进一步探索其功能。

4 总结与展望

假激酶PEAK2是一个新颖的支架蛋白, 它通过调节许多信号通路来驱动肿瘤的生长和发展。本文重点介绍了假激酶PEAK2在结构和生理表征方面的进展, 这些进展为其支架功能研究提供了一些新颖的见解。当前有望作为药物靶标的大部分假激酶都具有特定的ATP结合位点, 可以容纳ATP竞争分子。PEAK2结构显示, 其单体没有ATP的结合位点, 但是Capobianco课题组研究表明二聚化的PEAK2可以结合ATP, 并因此发现了PEAK2的第一个小分子抑制剂——Z271-0326, 它可直接阻断Notch介导的转录活性, 并在PDX小鼠模型中显示出有效的抗肿瘤活性, 这是第一个通过阻断

Notch三元复合物中的Notch活性来有效治疗Notch驱动型癌症的抑制剂^[43](图2), 此项研究证明了PEAK2有望成为某些疾病治疗的新靶标, 也为假激酶的研究提供了新的线索。但是, 评估PEAK2作为药物靶标的真正可能性还需要对该蛋白质有更进一步的功能了解, 包括驱动PEAK2变构调节的机制, 通过与PEAK2相互作用蛋白的特征来探索PEAK2的支架功能, 以及蛋白复合物如何在空间和时间上被调节等。

参考文献

- [1] Hanks SK, Quinn AM, Hunter T. The protein kinase family: conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. *Science*, 1988, 241(4861): 42-52
- [2] Manning G, Whyte DB, Martinez R, et al. The protein kinase complement of the human genome. *Science*, 2002, 298(5600): 1912-1934
- [3] Boudeau J, Miranda-Saavedra D, Barton GJ, et al. Emerging roles of pseudokinases. *Trends Cell Biol*, 2006, 16(9): 443-452
- [4] Evers PA, Murphy JM. Dawn of the dead: protein pseudokinases signal new adventures in cell biology. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41(4): 969-974
- [5] Pon A, Osinski A, Sreelatha A. Redefining pseudokinases: a look at the untapped enzymatic potential of pseudokinases. *IUBMB Life*, 2023, 75(4): 370-376
- [6] Mace PD, Murphy JM. There's more to death than life: noncatalytic functions in kinase and pseudokinase signaling. *J Biol Chem*, 2021, 296: 100705
- [7] Preuss F, Chatterjee D, Dederer V, et al. Enabling pseudokinases as potential drug targets. *Methods Enzymol*, 2022, 667: 663-683
- [8] Colomba A, Fitzek M, George R, et al. A small molecule inhibitor of HER3: a proof-of-concept study. *Biochem J*, 2020, 477(17): 3329-3347
- [9] Murphy JM. The killer pseudokinase mixed lineage kinase domain-like protein (MLKL). *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2020, 12(8): a036376
- [10] Dhawan NS, Scopton AP, Dar AC. Small molecule stabilization of the KSR inactive state antagonizes oncogenic Ras signalling. *Nature*, 2016, 537(7618): 112-116
- [11] Liosi ME, Krimmer SG, Newton AS, et al. Selective Janus Kinase 2 (JAK2) pseudokinase ligands with a diamino-triazole core. *J Med Chem*, 2020, 63(10): 5324-5340
- [12] Burke JR, Cheng L, Gillooly KM, et al. Autoimmune pathways in mice and humans are blocked by pharmaco-

- logical stabilization of the TYK2 pseudokinase domain. *Sci Transl Med*, 2019, 11(502): eaaw1736
- [13] Murphy JM, Zhang Q, Young SN, et al. A robust methodology to subclassify pseudokinases based on their nucleotide-binding properties. *Biochem J*, 2014, 457(2): 323-334
- [14] Pan M, Yin X, Huang Y. Pseudopodium enriched atypical kinase 1 (PEAK1) promotes invasion and of melanoma cells by activating JAK/STAT3 signals. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 5045-5055
- [15] Tanaka H, Katoh H, Negishi M. Pragmin, a novel effector of Rnd2 GTPase, stimulates rhoa activity. *J Biol Chem*, 2006, 281(15): 10355-10364
- [16] Weaver KL, Alves-Guerra MC, Jin K, et al. NACK is an integral component of the Notch transcriptional activation complex and is critical for development and tumorigenesis. *Cancer Res*, 2014, 74(17): 4741-4751
- [17] Lopez ML, Lo M, Kung JE, et al. PEAK3/C19orf35 pseudokinase, a new NFK3 kinase family member, inhibits CrkII through dimerization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(31): 15495-15504
- [18] Liu L, Phua YW, Lee RS, et al. Homo- and heterotypic association regulates signaling by the SgK269/PEAK1 and SgK223 pseudokinases. *J Biol Chem*, 2016, 291(41): 21571-21583
- [19] O'Rourke RL, Daly RJ. The pseudokinases SgK269 and SgK223: a novel oncogenic alliance in human cancer. *Cell Adh Migr*, 2018, 12(6): 524-528
- [20] Patel O, Roy MJ, Murphy JM, et al. The PEAK family of pseudokinases, their role in cell signalling and cancer. *FEBS J*, 2020, 287(19): 4183-4197
- [21] Patel O, Griffin MDW, Panjekar S, et al. Structure of SgK223 pseudokinase reveals novel mechanisms of homotypic and heterotypic association. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1157
- [22] Safari F, Murata-Kamiya N, Saito Y, et al. Mammalian Pragmin regulates Src family kinases via the Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala (EPIYA) motif that is exploited by bacterial effectors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(36): 14938-14943
- [23] Senda Y, Murata-Kamiya N, Hatakeyama M. C-terminal Src kinase-mediated EPIYA phosphorylation of Pragmin creates a feed-forward C-terminal Src kinase activation loop that promotes cell motility. *Cancer Sci*, 2016, 107(7): 972-980
- [24] Lecointre C, Simon V, Kerneur C, et al. Dimerization of the pragmin pseudo-kinase regulates protein tyrosine phosphorylation. *Structure*, 2018, 26(4): 545-554.e4
- [25] Roche S, Lecointre C, Simon V, Labesse G. SHEDding light on the role of Pragmin pseudo-kinases in cancer. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(2): 449-454
- [26] 伍铤, 王韵. 假激酶在细胞信号转导中的功能. *中国生物化学与分子生物学报*, 2023, 39(10): 1401-1407
- [27] Wang X, Zheng Y, Wang Y. PEAK1 promotes invasion and metastasis and confers drug resistance in breast cancer. *Clin Exp Med*, 2022, 22(3): 393-402
- [28] Zhu J, Wang F, Weng Y, et al. Exosome-delivered circ-SATB2 targets the miR-330-5p/PEAK1 axis to regulate proliferation, migration and invasion of lung cancer cells. *Thoracic Cancer*, 2022, 13(21): 3007-3017
- [29] Kadkhoda S, Taslimi R, Noorbakhsh F, et al. Importance of circ0009910 in colorectal cancer pathogenesis as a possible regulator of miR-145 and PEAK1. *World J Surg Oncol*, 2021, 19(1): 265
- [30] Zuidema A, Atherton P, Kreft M, et al. PEAK1 Y635 phosphorylation regulates cell migration through association with Tensin3 and integrins. *J Cell Biol*, 2022, 221(8): e202108027
- [31] Nobes CD, Lauritzen I, Mattei MG, et al. A new member of the rho family, Rnd1, promotes disassembly of actin filament structures and loss of cell adhesion. *J Cell Biol*, 1998, 141(1): 187-197
- [32] Katoh H, Harada A, Mori K, et al. Socius is a novel rnd gtpase-interacting protein involved in disassembly of actin stress fibers. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(9): 2952-2964
- [33] Wennerberg K, Forget MA, Ellerbroek SM, et al. Rnd proteins function as RhoA antagonists by activating p190 RhoGAP. *Curr Biol*, 2003, 13(13): 1106-1115
- [34] Nishi M, Takeshima H, Houtani T, et al. RhoN, a novel small GTP-binding protein expressed predominantly in neurons and hepatic stellate cells. *Brain Res Mol Brain Res*, 1999, 67(1): 74-81
- [35] Decourt B, Bouleau Y, Dulon D, et al. Expression analysis of neuroleukin, calmodulin, cortactin, and Rho7/Rnd2 in the intact and injured mouse brain. *Brain Res Dev Brain Res*, 2005, 159(1): 36-54
- [36] Covacci A, Rappuoli R. Tyrosine-phosphorylated bacterial proteins. *J Exp Med*, 2000, 191(4): 587-592
- [37] Leroy C, Fialin C, Sirvent A, et al. Quantitative phosphoproteomics reveals a cluster of tyrosine kinases that mediates Src invasive activity in advanced colon carcinoma cells. *Cancer Res*, 2009, 69(6): 2279-2286
- [38] Sprinzak D, Blacklow SC. Biophysics of Notch signaling. *Annu Rev Biophys*, 2021, 50(1): 157-189
- [39] Zhou B, Lin W, Long Y, et al. Notch signaling pathway: architecture, disease, and therapeutics. *Sig Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 95
- [40] Aggarwal V, Tuli HS, Varol M, et al. NOTCH signaling: journey of an evolutionarily conserved pathway in driving tumor progression and its modulation as a therapeutic

- target. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2021, 164: 103403
- [41] Majumder S, Crabtree JS, Golde TE, et al. Targeting Notch in oncology: The path forward. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(2): 125-144
- [42] Jin K, Zhou W, Han X, et al. Acetylation of mastermind-like 1 by p300 drives the recruitment of NACK to initiate Notch-dependent transcription. *Cancer Res*, 2017, 77(16): 4228-4237
- [43] Diluvio G, Kelley TT, Lahiry M, et al. A novel chemical attack on Notch-mediated transcription by targeting the NACK ATPase. *Mol Ther Oncolytics*, 2023, 28: 307-320
- [44] Kong R, Feng J, Ma Y, et al. Silencing NACK by siRNA inhibits tumorigenesis in non-small cell lung cancer via targeting Notch1 signaling pathway. *Oncol Rep*, 2016, 35(4): 2306-2314
- [45] Hu Q, Bian Q, Rong D, et al. JAK/STAT pathway: extracellular signals, diseases, immunity, and therapeutic regimens. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023, 11: 1110765
- [46] Tactacan CM, Phua YW, Liu L, et al. The pseudokinase SgK223 promotes invasion of pancreatic ductal epithelial cells through JAK1/Stat3 signaling. *Mol Cancer*, 2015, 14(1): 139
- [47] Safari F, Shafiee Nejad N, Aghaei Nejad A. The inhibition of Panc1 cancer cells invasion by hAMSCs secretome through suppression of tyrosine phosphorylation of SGK223 (at Y411 site), c-Src (at Y416, Y530 sites), AKT activity, and JAK1/Stat3 signaling. *Med Oncol*, 2022, 39(3): 28
- [48] Lecointre C, Fourgous E, Montarras I, et al. Oncogenic signalling of PEAK2 pseudokinase in colon cancer. *Cancers*, 2022, 14(12): 2981
- [49] Franceschini N, Giambartolomei C, de Vries PS, et al. GWAS and colocalization analyses implicate carotid intima-media thickness and carotid plaque loci in cardiovascular outcomes. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 5141
- [50] Yu H, You X, Li J, et al. Genome-wide mapping of growth-related quantitative trait loci in orange-spotted grouper (*epinephelus coioides*) using double digest restriction-site associated DNA sequencing (ddRADseq). *Int J Mol Sci*, 2016, 17(4): 501