

文章编号 1006-8147(2021)04-0431-04

综述

## 脯氨酰顺反异构酶 Pin1 和免疫炎症

董瑞杰 综述, 笱宇蓉 审校

(天津医科大学基础医学院免疫学系, 天津 300070)

**摘要** Pin1 是体内唯一一种特异性识别丝氨酸/苏氨酸-脯氨酸(pSer/Thr-Pro)基序的顺反异构酶, 通过异构化作用, 可影响多种蛋白质的生物学活性, 调节体内多种细胞活动, 最终导致疾病的发生、发展。已有研究报道, Pin1 除在癌症、糖尿病、自身免疫性疾病、神经退行性疾病等发挥重要作用外, 还可介导免疫信号参与炎症疾病的发生。因此, 探索 Pin1 在疾病发生、发展中的作用机制, 对治疗疾病、寻找潜在靶点具有重要意义。

**关键词** Pin1; 顺反异构化; 炎症; Pin1 抑制剂

**中图分类号** R364.5

**文献标志码** A

肽基脯氨酰顺反异构酶家族分为 FK506 结合蛋白(FKBP)、亲环素和微小菌素。Pin1(peptidyl-prolyl cis-trans isomerases, PPIases)属于肽基脯氨酰顺反异构酶家族中的微小菌素家族, 是人体内唯一能识别丝氨酸/苏氨酸-脯氨酸(pSer/Thr-Pro)基序的酶, 可调节多种细胞活动, 并影响体内的多种信号通路。研究证明, Pin1 在许多疾病的发生、发展过程中起着重要的作用, 如阿尔茨海默症、系统性红斑狼疮、哮喘、白血病、乳腺癌等。近些年来, 研究发现, Pin1 主要通过磷酸化过程影响一些炎症性疾病的发生、发展。本文主要对 Pin1 的结构功能和生物学活性及其在免疫炎症性疾病的发生及机制进行阐述。

### 1 Pin1 的结构功能和生物学活性

Pin1 最早是在 1996 年由卢坤平教授在酵母双杂交过程中发现的, 这是一种高度保守的小分子蛋白。Pin1 蛋白由位于 19p13 的 Pin1 基因编码, 有 163 个氨基酸多肽。它包含两个功能结构区, 一个为氨基末端的色氨酸-色氨酸中心区(WW 区, 由 39 个氨基酸组成), 介导 Pin1 与磷酸化的蛋白质结合, 是特异性 pSer/Thr-Pro 的连接区; 另一个为羧基末端的多肽脯氨酰基异构酶区(PPIase 区, 由 45~163 个氨基酸组成), 可以催化前一个脯氨酸肽键的旋转, 从而导致蛋白结构的顺反异构<sup>[1]</sup>。

Pin1 是调节酶活性或整个信号通路的分子开关<sup>[2]</sup>。泛素蛋白酶体系统(UPS)可以通过 26S 蛋白酶体调控细胞内大多数蛋白的降解, 而调控泛素介导的蛋白水解的主要机制由 Ser/Thr-Pro 基序的磷酸化构成。Pin1 介导的磷酸化可对依赖磷酸化的信号

转导进行调控, 从而导致蛋白质结构、功能和稳定性的改变<sup>[3]</sup>。

细胞周期向不同阶段发展是由不同的细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)的激活和失活所驱动的。Pin1 是有丝分裂事件的关键调控因子, 可作用于多种底物。有丝分裂可通过激活细胞周期蛋白B-CDC2, 导致数百个蛋白的脯氨酸定向磷酸化<sup>[4]</sup>。脯氨酸定向磷酸化也诱导了局部结构变化, 使其进一步修饰, Pin1 及其同源物是目前已知的唯一能够有效地异构化这种脯氨酸定向磷酸化的酶。过度的应激反应可导致多种疾病的发生, 如癌症、神经退行性疾病和糖尿病。氧化应激信号调节的关键途径是脯氨酸定向应激激酶[p38、c-Jun N-末端激酶(JNK)]的激活。Pin1 可以将这些激酶诱导的磷酸化信号募集到细胞内, 并通过其脯氨酸异构酶活性, 诱导靶蛋白的构象变化<sup>[5]</sup>。此外, 在神经元分化过程中, Pin1 表达水平逐渐增加, 并在整个生命周期中保持较高水平<sup>[2,6]</sup>。事实上, Pin1 的表达是在神经元分化过程中诱导的, Pin1 调控着一些对神经元存活很重要的蛋白, 如 Tau 蛋白、淀粉样前体蛋白(APP)、髓细胞白血病序列 1(MCL1)。Pin1 介导的脯氨酰异构化, 通过作用于调节蛋白 synphilin-1, 间接调节  $\alpha$ -突触核蛋白的聚集, 进一步支持了其维持正常神经元功能的作用<sup>[3]</sup>。Pin1 也可通过调控  $\beta$ -catenin 和 p53 信号通路, 影响神经前体细胞的分化以及神经元的生长与凋亡<sup>[7-8]</sup>。

### 2 Pin1 和免疫炎症

免疫炎症的发生、发展受多种因素的影响, 如感染、药物和环境等。Pin1 作为体内的关键酶, 可通过多种信号通路参与免疫炎症反应。

**2.1 Pin1 和类风湿性关节炎(RA)** RA 是一种滑膜

**基金项目** 天津市教科科研计划自然科学重点项目(2018ZD05)

**作者简介** 董瑞杰(1994-), 女, 硕士在读, 研究方向: 免疫炎症和自身免疫性疾病; 通信作者: 笱宇蓉, E-mail: dayr@tmu.edu.cn。

细胞异常增殖的慢性炎症,可引起软骨与骨的破坏。炎症介质如前列腺素(PGs)、环氧合酶-2(COX-2)和促炎因子在RA的发展中起着重要的作用<sup>[9]</sup>。促炎细胞因子如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 可诱导COX-2在RA中的表达,而COX-2可控制PG的产生。CAAT增强子结合蛋白(C/EBP)、cAMP反应元件结合蛋白(CREB)和核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)可相互协调或者独立介导炎症介质的发生。

在Pin1过表达的软骨细胞中,CREB和C/EBPs均被激活,这些转录因子对COX-2的表达具有促进作用<sup>[9]</sup>。COX-2启动子包含两个NF- $\kappa$ B的共识序列和Pin1诱导的促炎基因如诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ ,这些基因的表达需要NF- $\kappa$ B的激活。过度表达Pin1的软骨细胞中,NF- $\kappa$ B被激活,导致促炎介质大量产生<sup>[9]</sup>。RA的滑膜细胞受到炎症细胞因子的刺激后,可导致蛋白磷酸化介导的信号通路激活。NF- $\kappa$ B的活化是诱导多种基质金属蛋白酶(MMP)的必要条件,如MMP-1和MMP-3,它们参与了RA患者软骨的破坏<sup>[9-10]</sup>。抗增殖细胞核抗原(PCNA)是一种具有代表性的细胞增殖标志物,可在RA患者的滑膜组织高表达。NF- $\kappa$ B的磷酸化在RA滑膜细胞肿瘤样表型的发展中起关键作用,主要表现为MMP和PCNA的表达增加<sup>[10-11]</sup>。而高表达Pin1的成纤维滑膜细胞中,MMP-1、MMP-3和PCNA的蛋白表达水平升高,表明Pin1与这些蛋白的表达密切相关。Pin1可与p65上磷酸化的Thr254-pro位点结合,抑制p65与I $\kappa$ B $\alpha$ 的结合,导致p65的核积累和蛋白质稳定性增加,增强了NF- $\kappa$ B活性,从而控制蛋白质的相互作用和活性功能<sup>[11]</sup>。因此,Pin1可能在RA的发病机制中起关键作用,并通过上调NF- $\kappa$ B的活性来促进其发病进程。

**2.2 Pin1和哮喘** 过敏性哮喘是辅助性T细胞(Th)2型介导的以慢性气道炎症和气道高反应性为特征的炎症疾病<sup>[12]</sup>。哮喘时,Th2型细胞因子的分泌增加,如IL-4、IL-5、IL10、IL-13等,而IL-4和IL-5可诱导IgE生成和嗜酸性粒细胞的活化。此外,IL-33在哮喘发病机制中的中心功能已被报道<sup>[13-14]</sup>。

IL受体相关激酶(IRAK)-M是Toll样受体/IL-1受体(TLR/IL-1R)信号转导的负调控因子,可以将IRAK-1捕获在活化的受体复合物中并阻止下游信号<sup>[15-16]</sup>。IRAK-1可以促进IRAK-M在Ser110上的磷酸化,从而产生潜在的Pin1识别位点。此外,IRAK-1和IRAK-M还可以在Myddosome上形成异四聚体,从而阻止IRAK-1的激活。在IL-33刺

激下,Pin1在Ser71位点发生脱磷酸化,其活性增加(Pin1在Ser71位点的磷酸化被认为有抑制作用,可抑制Pin1的异构酶活性和细胞功能)。Pin1结合并异构IRAK-M中的pS110-P基序,促进IRAK-M从Myddosome复合物中释放出来,诱导IRAK-M依赖的信号表达。IRAK-M的过表达促进了IL-1诱导的NF- $\kappa$ B的激活和细胞反应,从而促使IRAK-M下游促炎细胞因子表达增加。此外,Pin1可以促进IRAK-M的核易位和蛋白质稳定性,并促进促炎细胞因子的表达<sup>[19]</sup>。IL-6、重组人生长相关基因 $\beta$ (CXCL2)、集落刺激因子3(CSF3)和趋化因子G-C基序配体5(CCL5)是与哮喘相关的4个炎症基因,具体表现为: CXCL2参与中性粒细胞和嗜碱性粒细胞的趋化和脱颗粒;IL-6促进Th2细胞的分化并抑制Th1细胞的分化;CSF3控制粒细胞的产生、分化和功能;CCL5对单核细胞和嗜酸性粒细胞有趋化作用。这些炎症基因的表达依赖于IL-33-IRAK-M-Pin1轴和IRAK-M在S110处的磷酸化。哮喘时,Pin1也可以促进粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)mRNA的稳定、细胞因子的分泌和嗜酸性粒细胞的存活<sup>[17-18]</sup>。因此,Pin1通过激活“IL-33-Pin1-IRAK-M”轴,诱导促炎因子产生,可能在哮喘的发生过程中起重要作用。

**2.3 Pin1和动脉粥样硬化** 动脉粥样硬化是一种由内皮功能障碍引起的大、中型动脉壁的慢性炎症性疾病,与血液中低密度脂蛋白(LDL)-胆固醇水平的升高密切相关。一氧化氮(NO)具有血管舒张和血管保护作用,对于控制血压和动脉粥样硬化形成十分重要<sup>[19]</sup>。

内皮型一氧化氮合酶(eNOS)在内皮细胞中产生NO,其活性受蛋白质间相互作用和可逆磷酸化作用的转录后修饰的调控<sup>[20]</sup>。Pin1抑制可增加eNOS中的Ser116的磷酸化,减少NO的产生(Ser116位点的磷酸化实际具有抑制性,可降低eNOS的活性),导致内皮障碍和高血压<sup>[19,21]</sup>。转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )信号在早期动脉粥样硬化的新内膜增生中起重要的作用<sup>[19]</sup>。TGF- $\beta$ 信号转导是由细胞内Smad蛋白转导的,而Smad蛋白受泛素-蛋白酶体系统调控。TGF- $\beta$ 通过ALK5/Smad2/3信号通路,介导血管平滑肌细胞的蛋白多糖的合成修饰,可导致脂蛋白的合成增加,这是动脉粥样硬化的早期炎症阶段<sup>[19]</sup>。Pin1以依赖TGF- $\beta$ 的方式与Smad2/3接头区域中的磷酸化位点(潜在位点包括Thr179、Ser204、Ser208和Ser213)相互作用。这种相互作用通过诱导Smad泛素调节因子2(Smurf2)介导的泛素-蛋白



酶体降解而下调 Smad2/3 蛋白水平,增强 Smad 泛素化来抑制 TGF- $\beta$  的信号转导。Pin1 抑制 TGF- $\beta$  诱导的转录和基因表达,提示 Pin1 有可能在早期阶段防止动脉粥样硬化的形成。

但是也有研究报道称,血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1)和单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)在动脉粥样硬化中上调,它们可促使巨噬细胞进入内膜<sup>[23]</sup>。巨噬细胞可以产生促炎因子,参与脂质滞留和血管细胞重塑,并表达模式识别受体(PRRs)。巨噬细胞利用 PRR 吞噬不同的微生物和微生物成分,吸收修饰后的 LDL,形成泡沫细胞。Pin1 抑制可阻止氧化型 LDL 诱导的 VCAM-1 表达,这个过程是通过 NF- $\kappa$ B 信号途径实现的<sup>[23]</sup>。

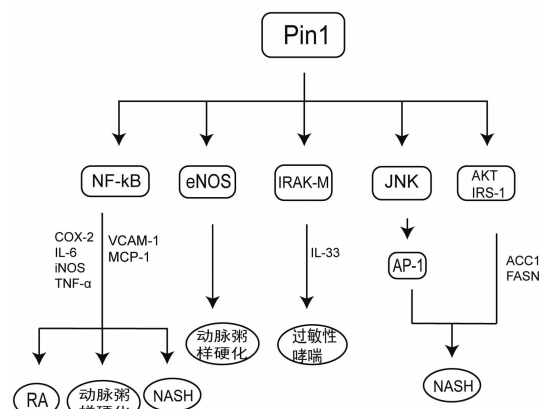
**2.4 Pin1 和非酒精性脂肪肝炎(NASH)** NASH 是一种不由大量饮酒、慢性病毒性肝炎和药物等因素引起的肝脏疾病,其特征为炎症性脂肪变性和纤维化,最终可发展为肝硬化和(或)癌症<sup>[24]</sup>。在 NASH 的发展过程中,“二次打击理论”得到了广泛的认可。“第一击”为肝脏脂肪变性的发展;“第二击”的特征是炎症和纤维化。研究表明,Pin1 参与了这两个过程。

Pin1 可通过促进胰岛素受体底物-1(IRS-1)的酪氨酸磷酸化和 Akt 的丝氨酸(Ser473)磷酸化而增强胰岛素信号的转导<sup>[25]</sup>。胰岛素信号增强可诱导乙酰辅酶 A 羧化酶 1(ACC1)和脂肪酸合酶(FASN)的表达。AMP 依赖的蛋白激酶(AMPK) $\alpha$  亚基中的 Thr172 位点的磷酸化对于 AMPK 激活至关重要。在二甲双胍刺激下的低表达 Pin1 的细胞中,AMPK $\alpha$  亚基的磷酸化水平升高,提示 Pin1 可以负调节 AMPK 活性。AMPK 是脂代谢的主要控制因子,可以直接在 Ser79 位点磷酸化 ACC1,并降低 ACC1 的活性和丙二酰辅酶 A 的产量,丙二酰辅酶 A 的减少则消除了对肉碱棕榈酰转移酶-1(CPT-1)的抑制,间接上调了脂肪酸的氧化<sup>[24]</sup>。Pin1 通过负调节 AMPK 的活性,从而影响组织中的脂质蓄积<sup>[26]</sup>。简而言之,Pin1 至少通过 3 种机制增强脂肪生成,即通过与 IRS-1 和 Akt 进行胰岛素信号依赖的关联,并对脂酶(例如 ACC1 和 FASN)发挥 AMPK 依赖性的以及直接的作用。

炎性细胞因子的表达在很大程度上受 NF- $\kappa$ B 和激活蛋白-1(AP-1)的调控<sup>[24,27]</sup>。在 NF- $\kappa$ B 信号途径中,Pin1 通过控制 p65 的易位和蛋白质稳定性来调节 NF- $\kappa$ B 途径的激活<sup>[28]</sup>。也有研究报道称 Pin1 可与 c-Rel 相互作用,从而促进核易位和转化活性。在 AP-1 信号转导途径中,AP-1 转录活性受 JNK 的调控,Pin1 通过与 c-Jun 中磷酸化的 Ser 63/73 位

点结合来调节 c-Jun 的活性,从而促使 c-Jun 激活 AP-1 家族的下流成员—转录因子 2(ATF2)。此外,Pin1 还可通过上调 p70S6K 的活性来激活 AP-1<sup>[24]</sup>。Pin1 通过激活 NF- $\kappa$ B 和 AP-1 途径来促进炎性细胞因子的表达,在 NASH 的发病过程中起着重要作用。

综上所述,Pin1 可以通过调节体内的多种信号通路(图 1),调控免疫细胞相关细胞因子的释放,从而参与机体的炎症反应。



注:Pin1:脯氨酰顺反异构酶;NF- $\kappa$ B:核因子- $\kappa$ B;eNOS:内皮型一氧化氮合酶;IRAK-M:白细胞介素受体相关激酶 M;JNK: c-Jun N-末端激酶;Akt:蛋白激酶 B;IRS-1:胰岛素受体底物 1;COX-2:环氧化酶 2;IL-6:白细胞介素-6;NO:一氧化氮;iNOS:诱导型一氧化氮合酶;TNF- $\alpha$ :肿瘤坏死因子- $\alpha$ ;VCAM-1:血管细胞黏附分子-1;MCP-1:单核细胞趋化蛋白-1;IL-33:白细胞介素-33;ACC-1:乙酰辅酶 A 羧化酶-1;AP-1:激活蛋白-1;FASN:脂肪酸合酶;RA:类风湿性关节炎;NASH:非酒精性脂肪肝炎

图 1 Pin1 调控免疫炎症的信号通路

### 3 结语和展望

Pin1 的功能在生理条件下受到严格的调控,它的失调在越来越多的病理条件中起着关键作用。因此,Pin1 可能作为一个潜在的新的诊断和治疗靶点。特异性的 Pin1 抑制剂可作为这些疾病潜在的靶向治疗药物。中药提取物胡桃醌、小分子化合物 PiB 对其有特异性的抑制作用<sup>[29-30]</sup>。但是胡桃醌可以与其他酶类发生类似的非特异性反应,存在较大的不良反应。同样,PiB 的低溶解性限制了其有效性的研究。而通过基因沉默或基因敲除的方式,虽然能抑制 Pin1 的表达,但却十分局限,不能广泛应用在临床。近些年来,人们通过研究 Pin1 的作用机制,试图寻找其他安全高效的治疗药物,但是由于药物渗透到细胞的功能较差,或者本身效能低,至今仍未找到较好的抑制剂。鉴于 Pin1 在众多疾病中的重要作用,寻找新型的安全高效的 Pin1 抑制剂仍然任重道远。

## 参考文献:

- [1] Lee Y M, Liou Y C. Gears-in-motion; the interplay of WW and PPIase domains in Pin1[J]. *Front Oncol*, 2018, 8:469
- [2] Angelucci F, Hort J. Prolyl isomerase Pin1 and neurotrophins: a loop that may determine the fate of cells in cancer and neurodegeneration[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2017, 9(1):59
- [3] Liou Y C, Zhou X Z, Lu K P. Prolyl isomerase Pin1 as a molecular switch to determine the fate of phosphoproteins[J]. *Trends Biochem Sci*, 2011, 36(10):501
- [4] Rustighi A, Zannini A, Campaner E, et al. PIN1 in breast development and cancer: a clinical perspective[J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(2):200
- [5] Keune W J, Jones D R, Divecha N. PtdIns5P and Pin1 in oxidative stress signaling[J]. *Adv Biol Regul*, 2013, 53(2):179
- [6] Bianchi M, Manco M. Pin1 Modulation in physiological status and neurodegeneration. Any contribution to the pathogenesis of type 2 diabetes?[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8):2319
- [7] Zhu Z, Zhang H, Lang F, et al. Pin1 promotes prostate cancer cell proliferation and migration through activation of Wnt/beta-catenin signaling[J]. *Clin Transl Oncol*, 2016, 18(8):792
- [8] Seo J, Park M. Molecular crosstalk between cancer and neurodegenerative diseases[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(14):2659
- [9] Jeong H G, Pokharel Y R, Lim S C, et al. Novel role of Pin1 induction in type II collagen-mediated rheumatoid arthritis[J]. *J Immunol*, 2009, 183(10):6689
- [10] Nagaoka A, Takizawa N, Takeuchi R, et al. Possible involvement of peptidylprolyl isomerase Pin1 in rheumatoid arthritis[J]. *Pathol Int*, 2011, 61(2):59
- [11] Khan M A, Khan M J. Nano-gold displayed anti-inflammatory property via NF-kB pathways by suppressing COX-2 activity[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(sup1):1149
- [12] Fahy J V. Type 2 inflammation in asthma—present in most, absent in many[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(1):57
- [13] Guo Z, Wu J, Zhao J, et al. IL-33 promotes airway remodeling and is a marker of asthma disease severity[J]. *J Asthma*, 2014, 51(8):863
- [14] Murdaca G, Greco M, Tonacci A, et al. IL-33/IL-31 axis in immune-mediated and allergic diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(23):5856
- [15] Shen P, Li Q, Ma J, et al. IRAK-M alters the polarity of macrophages to facilitate the survival of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *BMC Microbiol*, 2017, 17(1):185
- [16] Nechama M, Kwon J, Wei S, et al. The IL-33-PIN1-IRAK-M axis is critical for type 2 immunity in IL-33-induced allergic airway inflammation[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):1603
- [17] Shen Z J, Malter J S. Eosinophils, Pin1 and the response to respiratory viral infection and allergic stimuli[J]. *Crit Rev Immunol*, 2019, 39(2):135
- [18] Wei S, Yoshida N, Finn G, et al. Pin1-targeted therapy for systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(10):2503
- [19] Rostam M A, Piva T J, Rezaei H B, et al. Peptidyl-prolyl isomerases: functionality and potential therapeutic targets in cardiovascular disease[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2015, 42(2):117
- [20] Dudzinski D M, Michel T. Life history of eNOS: partners and pathways[J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 75(2):247
- [21] Chiasson V L, Munshi N, Chatterjee P, et al. Pin1 deficiency causes endothelial dysfunction and hypertension[J]. *Hypertension*, 2011, 58(3):431
- [22] Nakano A, Koinuma D, Miyazawa K, et al. Pin1 down-regulates transforming growth factor-beta (TGF-beta) signaling by inducing degradation of Smad proteins[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(10):6109
- [23] Liu M, Yu P, Jiang H, et al. The essential role of Pin1 via NF-kappaB signaling in vascular inflammation and atherosclerosis in ApoE (-/-) mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3):644
- [24] Inoue M K, Nakatsu Y, Yamamotoya T, et al. Pin1 plays essential roles in NASH development by modulating multiple target proteins[J]. *Cells*, 2019, 8(12):1514
- [25] Nakatsu Y, Matsunaga Y, Yamamotoya T, et al. Prolyl isomerase Pin1 suppresses thermogenic programs in adipocytes by promoting degradation of transcriptional co-activator PRDM16[J]. *Cell Rep*, 2019, 26(12):3221
- [26] Nakatsu Y, Iwashita M, Sakoda H, et al. Prolyl isomerase Pin1 negatively regulates AMP-activated protein kinase (AMPK) by associating with the CBS domain in the gamma subunit[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(40):24255
- [27] Ji Z, He L, Regev A, et al. Inflammatory regulatory network mediated by the joint action of NF-kB, STAT3, and AP-1 factors is involved in many human cancers[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(19):9453
- [28] Shinoda K, Kuboki S, Shimizu H, et al. Pin1 facilitates NF-kappaB activation and promotes tumour progression in human hepatocellular carcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2015, 113(9):1323
- [29] Ahmad T, Suzuki Y J. Juglone in oxidative stress and cell signaling[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(4):91
- [30] Liu M, Bedouhene S, Hurtado-Nedelec M, et al. The Prolyl isomerase Pin1 controls lipopolysaccharide-induced priming of NADPH oxidase in human neutrophils[J]. *Front Immunol*, 2019, 10:2567

(2020-12-29 收稿)