

# Pin1 及其在自身免疫性疾病中的研究进展

刘小丽<sup>1</sup>, 高惠英<sup>2</sup>

1. 山西医科大学第二临床医学院, 山西 太原 030001; 2. 山西医科大学第二医院风湿免疫科, 山西 太原 030001

**摘要:** Pin1 是一种肽脯氨酰顺反异构酶, 可通过特异性磷酸化途径, 改变蛋白质的生物学活性及磷酸化水平, 从而导致疾病的发生发展。现有的多项研究已证明, Pin1 在肿瘤、阿尔兹海默病、代谢性疾病等多种疾病中作为一种催化剂影响着疾病的发生、发展甚至预后, 有望成为一种新型治疗靶点。而近年来又有研究认为, Pin1 在免疫系统方面亦发挥重要作用。本文综述 Pin1 的生物学活性及其在自身免疫性疾病发生中存在作用的研究进展。

**关键词:** 肽脯氨酰顺反异构酶; 自身免疫性疾病; Pin1 抑制剂; 全反式维甲酸

**中图分类号:** R 593.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2019)11-1586-03

Pin1 是肽脯氨酰顺反异构酶 (peptidyl-prolyl cis-trans isomerases, PPIases) 家族的成员之一, 属于微小菌素家族。已有研究证明, Pin1 通过对多种信号通路的调节, 对肿瘤如乳腺癌、前列腺癌、肝癌、黑色素瘤、卵巢癌、宫颈癌, 神经退行性疾病如阿尔兹海默症, 代谢性疾病如 2 型糖尿病、动脉粥样硬化等疾病的发生、发展有密切的关系。近来研究发现, Pin1 可调节免疫反应中的磷酸化过程, 从而调节免疫过程及炎症因子的表达。本文对 Pin1 的结构及生物学活性、Pin1 调节免疫的过程以及 Pin1 抑制剂的研究进展做如下综述。

## 1 Pin1 的结构及生物学活性

**1.1 Pin1 的基本结构及功能** Pin1 是一种高度保守、特异的功能蛋白, 是有丝分裂调节中所必需的特殊磷酸化的肽脯氨酰顺反异构酶, 它是于 1996 年首次由哈佛大学卢坤平教授在酵母细胞双杂交过程中发现的<sup>[1]</sup>。人类 Pin1 基因定位于 19p13, 编码核蛋白 Pin1, 由 163 个氨基酸残基组成。其含有两个功能区域: 其一, 为氨基末端 WW 区域, 该区域由 39 个氨基酸残基组成, 以 2 个恒定的色氨酸形成独特的兜状结构, 识别并结合磷酸化的丝/苏脯氨酰基序 (Ser/Thr-Pro 基序), 形成肽脯氨酰键; 其二, 为羧基末端的 PPIase 区域, 该区域由包含活化位点的 120 个氨基酸残基组成, 具有 RNA 聚合酶 II 的功能, 可以高度特异性催化 WW 区域形成的肽脯氨酰键, 从而使靶蛋白发生顺反式构象改变。

**1.2 Pin1 的生物学活性** Pin1 通过磷酸化、泛素化、氧化修饰等途径在细胞生长、应激反应、神经元功能、免疫反应以及代谢途径等过程中发挥重要作用。

**1.2.1 Pin1 是有丝分裂发生的关键调节因子** Pin1 可通过多种机制增加细胞周期蛋白 D1 基因表达, 包括激活 c-Jun/c-Fos、 $\beta$ -连环蛋白/T 细胞转录因子 (TCF) 和核因子 (NF)- $\kappa$ B 转录因子<sup>[2]</sup>。此外, Pin1 还可直接与磷酸化的细胞周期蛋白 D1 结合并稳定其蛋白质的稳定性<sup>[2]</sup>。研究表明, Pin1 在人类癌

症中普遍过表达, 通过多种机制实现下调肿瘤抑制因子、维持增殖信号传导、促进癌症血管增生、促进癌症侵袭及转移导致肿瘤的发生、发展<sup>[3]</sup>。Pin1 过表达与人类癌症组织中的中心体扩增相关, 而后者又可通过多种途径增加致癌信号<sup>[4]</sup>。

**1.2.2 Pin1 与细胞应激** 脯氨酸-定向激酶是为响应各种应激而激活的蛋白激酶, 其包括有应激活化蛋白激酶 (c-Jun)、氨基末端激酶 (SAPKs/JNKs)、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 MAPKs) 和细胞外信号调节激酶 (ERKs) 等。Pin1 已被证明对各种细胞免疫应激反应的几种关键蛋白都具有调节功能, 并且还参与氧化应激及衰老。

**1.2.3 Pin1 与神经元功能** Pin1 在大多数神经元中以异常高表达的水平存在, 它可调节微管相关蛋白 (tau)、淀粉样前体蛋白 (APP)、桥尾蛋白 (gephyrin) 和髓样细胞白血病序列-1 (MCL-1) 等多种蛋白质, 而这些蛋白质对神经元的功能及存活具有重要作用<sup>[5]</sup>。已有研究发现, 阿尔兹海默病的神经病理学标志为细胞外老年斑, 包括 A $\beta$  肽 (源自 APP) 和由过度磷酸化的 tau 组成的神经元纤维<sup>[5-6]</sup>。已有多项研究证实, 由于突触内 Pin1 活性下调, 造成突触的可塑性破坏, 同时因过度氧化修饰导致的 tau 磷酸化过度以及泛素-蛋白酶体系统功能障碍等均对阿尔兹海默病的形成存在一定的病理作用<sup>[7-8]</sup>。针对阿尔兹海默病特异性 tau 磷酸表位, 可用于阿尔兹海默病的诊断和追踪疾病进展。

## 2 Pin1 在自身免疫性疾病发生、发展中可能存在的作用

自身免疫性疾病的发病机制目前尚不明确, 但免疫紊乱作为其发病的主要因素亦已得到公认, 而 Pin1 可发挥其特异性磷酸化功能, 进一步通过多条途径调节自身免疫性疾病。

**2.1 Pin1 与核转录因子 (NF)- $\kappa$ B** 研究发现, Pin1 在哮喘及自身免疫性疾病中, 可能参与下述免疫过程。NF- $\kappa$ B 是一种调节多种基因表达的核转录因子, 它的重要性不仅在肿瘤发生发展中已被多方证实, 而且在其信号传导中 Pin1 的新作用

也已被确定<sup>[9]</sup>。NF- $\kappa$ B 家族通常以同源及异源二聚体形式存在。一般 NF- $\kappa$ B 二聚体与抑制因子结合以无活性形式存在于细胞质中。而当信号传导导致抑制因子即 NF- $\kappa$ B 抑制剂 (I $\kappa$ B) 被磷酸化等其他形式降解时,引起 NF- $\kappa$ B 活化,活化的 NF- $\kappa$ B 转位到核内与其相关的 DNA 基序结合诱导靶基因的转录,进而产生各种细胞炎症因子,导致免疫炎症反应。Pin1 能够作用于 NF- $\kappa$ B 中的活性 p56 亚基,与 p65 亚基的特定基序 pThr-254-Pro 结合,从而阻断 NF- $\kappa$ B 与其抑制剂的结合,增强 NF- $\kappa$ B 的活性。此外,Pin1 还可以抑制细胞因子信号转导抑制因子 1 (suppressor of cytokine signaling-1, SoCS1) 泛素介导的 p65 蛋白水解。这些最终导致 NF- $\kappa$ B 信号传导过度激活<sup>[10-11]</sup>。即 Pin1 过度表达,将解除 I $\kappa$ B 对 NF- $\kappa$ B 的抑制,同时激活转录因子 AP1<sup>[12]</sup>。Pin1 可通过磷酸化过程导致 NF- $\kappa$ B 的过度激活,从而上调促进如环氧合酶-2 (COX-2)、前列腺素 (PG)、肿瘤坏死因子 (TNF)- $\alpha$  等多种免疫分子的分泌,从而诱发免疫反应。综上可知,Pin1 不仅在 NF- $\kappa$ B 和 AP1 免疫应答中起核心作用,而且在癌症细胞中的作用也是显而易见的。

**2.2 Pin1 与 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs)** Pin1 可通过对 Toll 样受体中信号通路的调节,影响 I 型免疫应答中干扰素 (IFN) 及促炎细胞因子的增加,调节先天性及适应性免疫,影响自身免疫性疾病的发生、发展<sup>[13]</sup>。TLRs (人体内包括 TLR1~10) 属于模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 家族,识别多种病原体相关分子模式 (PAMPs)。被 PAMPs 活化后的 TLRs 可以激活多种防御机制,包括吞噬细胞内微生物、抗微生物杀灭机制、炎症性细胞因子和趋化因子的产生及共刺激分子的表达。TLRs 在体内的活化受到精准调控,强弱应答均会导致疾病的发生,强的应答可以导致致病性全身炎症或自身免疫性疾病。目前已被证实的多种 TLRs (TLR2、TLR3、TLR4、TLR7、TLR9) 介导的信号通路在自身免疫性疾病的发生、发展中有重要作用,以 TLR7 为甚。白介素受体相关激酶-1 (IRAK-1) 为 TLR 的下游信号分子,可以转导来自 TLR 的信号。Pin1 通过与 IRAK-1 的多个 pSer-Pro 基序结合,导致 IRAK-1 激活自磷酸化,从而促进 IRAK-1 从受体复合物解离,以激活干扰素调节因子 (interferon regulatory factor, IRF)-7 对于 I 型干扰素的诱导<sup>[3,14]</sup>。已有报道于系统性红斑狼疮中,TLR7/TLR9 活化的异构酶 Pin1,可以结合并激活下游 IRAK-1,同时促进其从受体复合物解离,激活 IRF-7 和诱导 I 型干扰素的释放,从而诱发相关免疫反应<sup>[15]</sup>。而已有报道证明,在类风湿关节炎 Pin1 可上调 TLR 的活性,从而刺激破骨细胞的活化,并增加金属蛋白酶及黏附分子的分泌<sup>[16]</sup>。

在关于移植后排斥反应的研究中发现,抑制 Pin1 可显著阻止各种急性及慢性移植排斥反应,Pin1 通过增加 T 细胞产生的促炎细胞因子如 IFN- $\gamma$  和 IL-2 来影响 I 型免疫应答,而上述现象不仅见于感染性疾病 (细胞内和细胞外病原体),也可见于自身免疫性疾病 (糖尿病、多发性硬化和狼疮)<sup>[16-17]</sup>。

**2.3 Pin1 与免疫平衡** 近年来关于自身免疫性发病机制的研究有了更新一步的理解,Th17 与 Treg 平衡维持了正常免疫,既往认为自身免疫性疾病为 Th17 升高导致的免疫紊乱,治疗以免疫抑制为主,而近来研究发现自身免疫性疾病患者

外周血 Th17 绝对值并无明显升高,同时进一步发现 Treg 细胞绝对值明显低于健康人群。而前文提到的 TLR7 即可通过调节 Treg 的数量,影响免疫平衡,诱发自身免疫性疾病,从而将 Pin1 与免疫平衡调节联系起来<sup>[18]</sup>。

综上所述,Pin1 可通过活化多种免疫细胞,参与细胞信号通路的活化,促进细胞因子的释放,进而参与免疫反应的调节。

### 3 Pin1 抑制剂的研究

基于 Pin1 对底物的高选择性及结合位点的明确性,为进一步研究 Pin1 的抑制剂提供结果基础。尽管既往已有多种实验通过反义核苷酸、RNA 干扰、基因敲除等多种途径可抑制 Pin1 的表达,但对应用于临床,上述途径均缺乏实用性。近来对 Pin1 小分子抑制剂的研究取得进一步的进展。Pin1 抑制剂分为拟肽类和小分子抑制剂两类。虽然拟肽类 Pin1 抑制剂不仅抑制 Pin1 生物学活性,亦可抑制肿瘤细胞的浸润与扩散,但因其药物制备困难,难以运用于临床,推广受限。

**3.1 胡桃醌** 胡桃醌是早期第一个发现的小分子 Pin1 抑制剂<sup>[19]</sup>,是通过筛选天然产物文库发现的第一个 Pin1 的不可逆抑制剂,但鉴于胡桃醌对其他多种酶类及蛋白质类似物亦存在抑制作用,导致出现各种不良反应,故只能运用于动物试验及基础研究。

**3.2 表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG)** 新的 Pin1 抑制剂名为 EGCG<sup>[20]</sup>,它是绿茶中的主要黄酮类化合物,可能通过与 Pin1 的 WW 域结合,发挥抑制作用,但就如胡桃醌,EGCG 亦具有其他靶标,而失去临床使用价值。其后辉瑞等多家药企针对 Pin1 抑制剂进行研究,发现多种基于 Pin1 结构基础的化合物为 Pin1 抑制剂,但因物理化学性质差或效力低等多种因素,尚无理型 Pin1 抑制剂出现。

**3.3 全反式维甲酸 (ATRA)** ATRA 是一种用来治疗急性早幼粒白血病 (APL) 的药物,已被使用多年,近来被发现是一种 Pin1 抑制剂<sup>[21-22]</sup>。通过对共晶体 Pin1-ARTA 的研究,发现 ARTA 的羧基和芳香族部分分别占据 Pin1 活性位点的 Pin1 底物磷酸酯和脯氨酸结合口袋,并且 S71 磷酸化防止了通过阻断羧基结合口袋来结合 Pin1 的 ARTA。在 Pin1 抑制剂 ARTA 对 APL 的研究中,发现 ATRA 结合并诱导 Pin1 及其底物早幼粒细胞白血病-维甲酸  $\alpha$  受体 (PML-RAR $\alpha$ ) 的降解,从而发挥其抗癌作用,而近来多项研究已证明,ARTA 的抗癌作用亦体现于乳腺癌、肝癌等多种肿瘤疾病。当然,ATRA 与 RAR $\alpha$  结合,亦可调控多种免疫细胞的功能,影响 T 细胞分化<sup>[22]</sup>。研究表明 ATRA 有双向调节 Th17 细胞和 Treg 细胞的作用,尤其是其促进天然 CD4<sup>+</sup> T 细胞群体形成 Foxp3<sup>+</sup> Treg 细胞的作用越来越受到人们重视<sup>[23]</sup>。而这与前文所述的自身免疫性疾病新的发病机制的理论不谋而合,从而进一步印证了 ARTA 对自身免疫性疾病的作用不仅仅是通过 Pin1。然而对 ARTA 的研究显示,临床治疗对 ARTA 的剂型要求较高,仅限于缓释型 ARTA 制剂可以维持稳定的药物浓度。目前的常规 ARTA 具有 45 min 的短半衰期,限制了其在临床的使用;故进一步研究可运用于临床的、长半衰期 ARTA,或者特异性 Pin1 靶向

ARTA 衍生物,成为新的研究方向。

#### 4 总结与展望

Pin1 通过多种信号转导途径,调节自身免疫性疾病的发生及发展,可为进一步探索自身免疫性疾病的发病机制提供依据,而随着 Pin1 小分子抑制剂的进一步研究,有望出现更具针对性、特异性的药物应用于临床,有益于自身免疫性疾病的新的靶向治疗。

#### 参考文献

[1] Lu KP, Hanes SD, Hunter T. A human peptidyl-prolyl isomerase essential for regulation of mitosis[J]. *Nature*, 1996, 380(6574):544.

[2] Meng X, Ching-Mei CC, Chit C, et al. Overexpression of PIN1 enhances cancer growth and aggressiveness with cyclin D1 induction in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma[J]. *PLoS One*, 2016, 11(6):e0156833.

[3] Chen Y, Wu YR, Yang HY, et al. Prolyl isomerase Pin1: a promoter of cancer and a target for therapy[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(9):883.

[4] Suizu F, Ryo A, Wulf G, et al. Pin1 regulates centrosome duplication, and its overexpression induces centrosome amplification, chromosome instability, and oncogenesis[J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(4):1463-1479.

[5] Marzia B, Melania M. Pin1 modulation in physiological status and neurodegeneration. Any contribution to the pathogenesis of type 3 diabetes? [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8):2319.

[6] Lingyan X, Zhiyun R, Chow FE, et al. Pathological role of peptidyl-prolyl isomerase pin1 in the disruption of synaptic plasticity in alzheimer's disease[J]. *Neural Plasticity*, 2017, 2017:1-12.

[7] Tai H, Serrano-Pozo A, Hashimoto T, et al. The synaptic accumulation of hyperphosphorylated tau oligomers in alzheimer disease is associated with dysfunction of the ubiquitin-proteasome system[J]. *Am J Pathol*, 2012, 181(4):1426-1435.

[8] O'Neal MA, Stallings NR, Malter JS. Alzheimer's disease, dendritic spines, and calcineurin inhibitors: a new approach? [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2018, 9(6):1233-1234.

[9] Wu KJ, Zhong HJ, Yang G. et al. A small molecule Pin1 inhibitor blocking NF- $\kappa$ B signaling in prostate cancer cells[J]. *Chem Asian J*, 2018, 13(3):275-279.

[10] Shinoda K, Kuboki S, Shimizu H, et al. Pin1 facilitates NF- $\kappa$ B activation and promotes tumour progression in human hepatocellular carcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2015, 113(9):1323-1331.

[11] Liu M, Yu P, Jiang H, et al. The essential role of Pin1 via NF- $\kappa$ B signaling in vascular inflammation and atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup>mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3):E644.

[12] Shaulian E, Karin M. AP-1 as a regulator of cell life and death[J]. *Nat Cell Biol*, 2002, 4(5):E131-E136.

[13] Kwissa M, Nakaya HI, Oluoch H, et al. Distinct TLR adjuvants differentially stimulate systemic and local innate immune responses in non-human Primates[J]. *Blood*, 2012, 119(9):2044-2055.

[14] Tun-Kyi A, Finn G, Greenwood A, et al. Essential role for the prolyl isomerase Pin1 in Toll-like receptor signaling and type I interferon-mediated immunity[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(8):733-741.

[15] Wei S, Yoshida N, Finn G, et al. Pin1-targeted therapy for systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(10):2503-2513.

[16] Cho YA, Jue SS, Bae WJ, et al. Pin1 inhibition suppresses osteoclast differentiation and inflammatory responses[J]. *J Dent Res*, 2015, 94(2):371-380.

[17] Stephane E, Braun RK, Zhong-Jian S, et al. Pin1 modulates the type I immune response[J]. *PLoS One*, 2007, 2(2):e226.

[18] Seok RY, Won KJ, Surim P, et al. Toll-like receptor-7 (TLR7) signaling promotes non-alcoholic steatohepatitis by inhibiting regulatory T cells in mice[J]. *Am J Pathol*, 2018, 188(11):2574-2588.

[19] Costantino S, Paneni F, Lüscher TF, et al. Pin1 inhibitor Juglone prevents diabetic vascular dysfunction[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 203:702.

[20] Rouzer CA, Marnett LJ. Green tea gets molecular[J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2011, 4(9):1343-1345.

[21] Yang D, Luo W, Wang J, et al. A novel controlled release formulation of the Pin1 inhibitor ATRA to improve liver cancer therapy by simultaneously blocking multiple cancer pathways[J]. *J Control Release*, 2018, 269:405-422.

[22] Wei S, Kozono S, Kats L, et al. Active Pin1 is a key target of all-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia and breast cancer[J]. *Nat Med*, 2015, 21(5):457-466.

[23] 李倩, 高惠英, 李小峰. 维甲酸对调节性 T 细胞和辅助性 T17 细胞免疫调节的研究进展[J]. *中华风湿病学杂志*, 2017, 21(12):855-858.

收稿日期:2019-02-15 修回日期:2019-03-11 编辑:石嘉莹

(上接第 1585 页)

[36] 王路平, 王虎山, 李淑娟, 等. 曲马多联合右美托咪定超前镇痛对老年口腔颌面外科手术患者应激反应与 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(17):4182-4183.

[37] 李轶, 许琳涓, 王迎斌, 等. 右美托咪啶复合复方利多卡因乳膏对小儿扁桃体切除术拔管反应的影响[J]. *中华医学杂志*, 2017, 97(32):2510-2515.

[38] 易汀宜. 右美托咪啶经鼻给药对老年患者全麻围拔管期的影响[J]. *海峡药学*, 2018, 30(11):91-93.

[39] 黄卓梅, 汪飞, 高晓枫, 等. 右美托咪啶气管内给药对妇科腹腔镜手术患者全麻苏醒期的影响[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2018, 39(1):113-118.

[40] 吴茄茄, 岳子勇. 全身麻醉拔管呛咳的研究进展[J]. *医学综述*, 2018, 24(1):150-154.

[41] Zubieta JK, Smith YR, Bueller JA, et al. Mu-opioid receptor-mediated antinociceptive responses differ in men and women[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(12):5100-5107.

[42] Hans P, Marechal H, Bonhomme V. Effect of propofol and sevoflurane on coughing in smokers and non-smokers awakening from general anaesthesia at the end of a cervical spine surgery[J]. *Br J Anaesth*, 2008, 101(5):731-737.

收稿日期:2019-03-04 编辑:王国品