

引文格式:

柴德智, 蔡金旋, 于铭, 等. CMKLR1 与 chemerin 及 α -NETA 复合体结构预测 [J]. 集成技术, 2023, 12(5): 51-61.
Chai DZ, Cai JX, Yu M, et al. CMKLR1 with chemerin or α -NETA complex structure predict [J]. Journal of Integration Technology, 2023, 12(5): 51-61.

CMKLR1 与 chemerin 及 α -NETA 复合体结构预测

柴德智^{1,2,3#} 蔡金旋^{1,2,3#} 于 铭^{1,3} 张 键^{1,3*}

¹(中国科学院深圳先进技术研究院 深圳 518055)

²(中国科学院大学 北京 100049)

³(中国科学院深圳先进技术研究院 能量代谢与生殖研究中心 深圳市代谢健康重点实验室 深圳 518055)

摘 要 他扎罗替尼诱导基因 2 (tazarotene-induced gene 2, TIG2) 的产物 chemerin 是孤儿 G 蛋白耦联受体趋化因子样受体 1 (chemokine-like receptor 1, CMKLR1) 的内源性配体。chemerin/CMKLR1 信号系统在体内多组织器官发挥着重要的功能和作用。chemerin 的 C 端在体内被蛋白酶切后形成多种亚型, 该文通过 Alphafold2 对 chemerin 的 6 种亚型进行结构预测与建模, 并将其中有活性的 3 种形式与 CMKLR1 进行复合体建模, 对复合体进行结合位点分析后, 阐明不同活性形式的差异结合位点。此外, 将 CMKLR1 的小分子拮抗剂 2-(α -萘甲酰基)乙基三甲基碘化铵 (2-(α -naphthoyl)ethyltrimethylammonium iodide, α -NETA) 与 CMKLR1 进行对接, 确定二者的相互结合位置。实验结果从蛋白质分子结构层面解释了两点: (1) 具有活性的 chemerin 与 CMKLR1 的互作方式; (2) 小分子拮抗剂 α -NETA 与 CMKLR1 的互作方式。研究内容将为 CMKLR1 的靶向药物设计提供理论依据和实验基础。

关键词 趋化素; 趋化素趋化因子样受体 1 (CMKLR1); 2-(α -萘甲酰基)乙基三甲基碘化铵 (α -NETA); 复合体预测; 分子对接

中图分类号 Q 5; Q 7 文献标志码 A doi: 10.12146/j.issn.2095-3135.20230403001

收稿日期: 2023-04-03 修回日期: 2023-05-07

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82001521); 深圳市科技计划资助项目 (JCYJ20220818101218040, JCYJ20190812170005666); 深圳市代谢健康重点实验室项目 (ZDSYS20210427152400001)

作者简介: 柴德智 (共同第一作者), 硕士研究生, 研究方向为代谢生殖; 蔡金旋 (共同第一作者), 硕士研究生, 研究方向为代谢生殖; 于铭, 助理研究员, 研究方向为母胎代谢生殖; 张键 (通讯作者), 研究员, 研究方向为能量代谢与生殖, E-mail: jian.zhang@siat.ac.cn。

CMKLR1 with Chemerin or α -NETA Complex Structure Predict

CHAI Dezhi^{1,2,3#} CAI Jinxuan^{1,2,3#} YU Ming^{1,3} ZHANG JianV^{1,3*}

¹(Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China)

²(University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

³(Shenzhen Key Laboratory of Metabolic Health, Center for Energy Metabolism and Reproduction, Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China)

*Corresponding Author: jian.zhang@siat.ac.cn

#Equal Contribution

Abstract Chemerin, derived from tazarotenib-induced gene 2 (TIG2), is an endogenous ligand for the orphan G protein-coupled receptor chemokine-like receptor 1 (CMKLR1). Chemerin/CMKLR1 signaling system plays an important role in multiple tissues and organs, and there are multiple chemerin isoforms *in vivo* due to the C-terminal proteolysis by several proteases. This paper predicted and modeled the structure of six isoforms of chemerin by Alphafold2, and modeled three active isoforms in complex with CMKLR1, to elucidate the different binding sites of different isoforms. Additionally, the known small molecule antagonist of CMKLR1, 2-(α -naphthoyl) ethyltrimethylammonium iodide (α -NETA), was also modeled to dock with CMKLR1, and the binding sites of α -NETA with CMKLR1 were analyzed. From the protein molecular structure level, our results provide: (1) The mode of interaction between active chemerin and CMKLR1; (2) The mode of interaction between α -NETA and CMKLR1. This study provides theoretical basis and experimental basis for the design of targeted drugs for CMKLR1.

Keywords chemerin; chemerin chemokine-like receptor 1; 2-(α -naphthoyl) ethyltrimethylammonium iodide; complex predicted; docking

Funding This work is supported by National Natural Science Foundation of China (82001521), Shenzhen Science and Technology Program (JCYJ20220818101218040, JCYJ20190812170005666), Shenzhen Key Laboratory of Metabolic Health Program (ZDSYS20210427152400001)

1 引 言

1997 年, Nagpal 等^[1]首次在银屑病皮损中报道他扎罗替尼诱导基因 2 (tazarotene-induced gene 2, TIG2), 又称维甲酸受体响应物 2 (retinoic acid receptor responder 2, RARRES2)^[2]。2003 年, 两个独立课题组同时报道 TIG2 基因的产物趋化素 (chemerin) 是孤儿 G 蛋白耦联受体趋化素趋化因子样受体 1 (chemerin chemokine-like receptor 1, CMKLR1) 的内源性配体^[3-4]。

CMKLR1 在多种免疫细胞中表达, chemerin 通过作用 CMKLR1 实现炎症部位的免疫细胞定向趋化^[3]。此外, 2007 年, Goralski 等^[5]发现人和鼠的脂肪细胞表达高水平的 chemerin 和 CMKLR1, 且信号通路调控脂肪生成和脂肪细胞代谢, 表明 chemerin 是一种新型功能性脂肪因子。随后 30 年内陆续发现 chemerin/CMKLR1 信号系统参与调控代谢、生殖、免疫等多种生理功能, 该系统异常与肿瘤、肥胖、心血管疾病等密切相关。除了 CMKLR1、G 蛋白耦联受

体 1 (G protein-coupled receptor 1, GPCR1)^[6] 和趋化因子 CC 基序受体样 2 (chemokine CC-motif receptor-like 2, CCRL2)^[7] 在 2008 年被鉴定为 chemerin 的另外两个受体。chemerin 与其 3 个受体在亲和力和下游通路激活上分别有不同的表现, 目前已知 chemerin 与 3 个受体亲和力都很高 (KD: CMKLR1, (0.88 ± 0.33) nM; GPCR1, (0.21 ± 0.02) nM; CCRL2, (2.35 ± 1.23) nM), 但只有 CMKLR1 与 chemerin 结合后可以激活下游 G 蛋白 α 亚基 i (G protein alpha subunit i, G α i) 和 G 蛋白 α 亚基 o (G protein alpha subunit o, G α o), 而 GPCR1 和 CCRL2 不激活任何 G 蛋白^[8]。

chemerin 在血液和局部环境中对多组织器官发挥不同的生物学功能, 造成其复杂和多样性功能的主要原因是其存在多种蛋白亚型^[9]。在人体细胞中, RARRES2 翻译形成 163 个氨基酸残基的前体蛋白 (pre-pro-chemerin), 之后 N 末端 20 个氨基酸残基的信号肽被切除, 形成 143 个氨基酸残基的前体蛋白 (pro-chemerin, chemerin-S163)。前体蛋白 pro-chemerin 生物学活性较低, 其 C 末端会进一步被多种酶解而形成至少 6 个亚型, 如被纤溶酶 (plasmin)、类胰蛋白酶 (trypsin) 和因子十一 a (factor XIa) 酶切后得到低活性的 chemerin-K158^[10-11], 被组织蛋白酶 (cathepsin) K 和 L 以及弹性蛋白酶 (elastase) 酶切后得到高活性的 chemerin-S157^[10,12], 被 cathepsin G 和糜蛋白酶 (chymase) 以及丝氨酸蛋白酶激酶释放酶 7 (serine protease kallikrein7) 酶切后得到高活性的 chemerin-F156^[13-15] 以及无活性的 chemerin-A155/F154/G152^[2,16-17]。然而, chemerin 这些不同的亚型与 CMKLR1 的结合位点及构象变化目前不清楚。2014 年, 2-(α -萘甲酰基) 乙基三甲基碘化铵 (2-(α -naphthoyl) ethyltrimethylammonium iodide, α -NETA) 作为 CMKLR1 的小分子拮抗剂被首次报道^[18], 主要

抑制 chemerin 刺激的 CMKLR1 与 β 拘留蛋白 (β -arrestin) 结合。

查找 PDB 和 UniProt 数据库后发现, 至今并未有相关文献报道不同亚型的 chemerin 与 CMKLR1 结合的结构解析与模拟, 鉴于目前 Alphafold2 的发展对结构生物学的启示, 本文将利用 Alphafold2 对 chemerin 6 个不同的亚型进行结构模拟并利用 Alphafold-multimer 进行对接, 讨论不同 chemerin 亚型的单体结构上的差异, 并针对目前已知的 CMKLR1 的抑制剂 α -NETA^[18] 进行对接, 从结构的角对配体受体结合以及小分子拮抗剂的结合位置进行一定程度上的预测和解释, 为进一步的研究提供参考。

2 方 法

2.1 蛋白质单体模拟与复合体计算

采用 Alphafold v2.3.1 软件 (<https://github.com/deepmind/alphafold>), 以 FASTA 格式输入氨基酸序列, 最大参考模板日期设置为当天, 推理模型设置为 “multimer”, MSA 模式设置为 “full_dbs”, 其余设置保持默认。最后, 选择 pLDDT 打分最高的 PDB 文件进行后续处理。

2.2 配体与受体结合分析

将受体和配体复合物计算结果导入 Ligplus 分析相互作用位点^[19], 结果保存后利用 PyMOL 进行氢键绘制。

2.3 α -NETA 与 CMKLR1 对接预测

首先, 采用 AutoDock Vina^[20], 对小分子和感兴趣蛋白进行分子对接, 蛋白结构从网站 UniProt 下载 PDB 格式^[21], 小分子结构从 PubChem 下载^[22]。然后, 对相应的蛋白和小分子结构进行处理并转换为 PDBQT 格式, 并分别对受体进行网格设置以确保对受体蛋白进行全局对接, 对接参数设置随机数 3, 每个结合位点进行 20 次计算, 输出前 10 个对接结果并保存。最

后, 将对接结果去氢后与受体分别保存为 PDB 复合物结构, 并用在线工具 PLIP 进行结合位点的相互作用分析^[23], 结果导入 PyMOL 进行作图展示^[24]。

3 结果

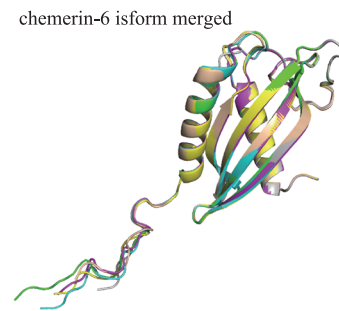
3.1 不同 chemerin 亚型结构模拟

现有研究表明, chemerin 在体内主要存在 6 个亚型。本实验首先对 6 个亚型序列 N 末端 20 个氨基酸残基的信号肽进行去除, 随后根据 chemerin 的研究现状对 6 个氨基酸 C 末端进行分

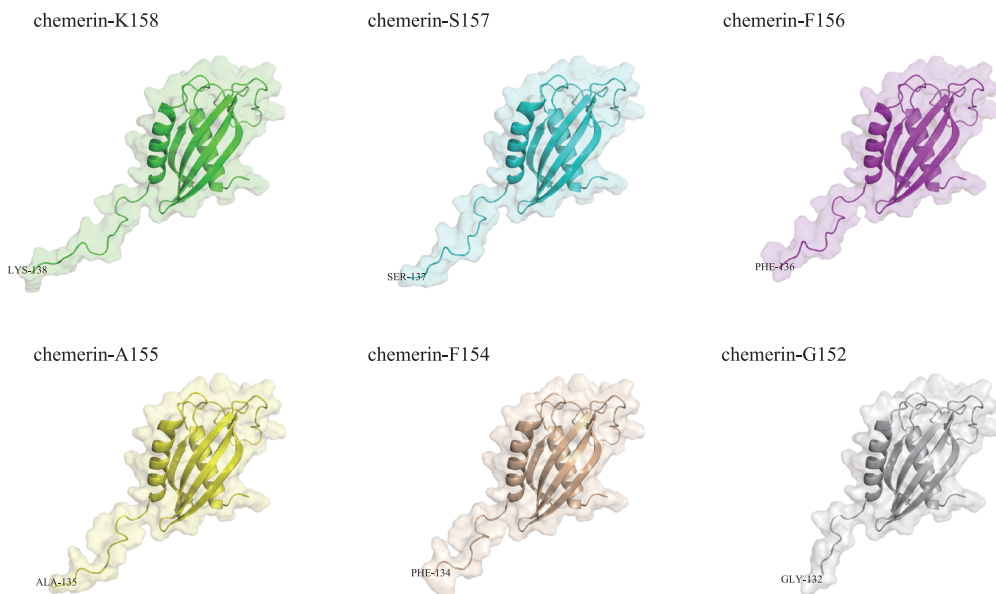
别去除, 得到 6 个单体序列, 如图 1(a)。然后将序列导入 Alphafold2 进行建模, 结果如图 1(b)。根据计算得到的 6 个单体结构可以看出, 模拟计算得到的结构结果基本一致。而从已知的 6 个亚型的 C 末端序列可知, 其 C 末端序列的不同导致其结合受体的亲和力产生了差异。为了更好地理解结构上的差异与受体亲和力的差异的关系, 对 6 个单体结果进行进一步的比对, 如图 1(c) 所示, 可以看出结构上的差异主要集中在 C 末端部分。同样从整个 merge 结果来看, chemerin 单体在形状上像一把钥匙, C 末端的链结构像钥匙中开锁的部分。

chemerin-K158	131 136 YFPGQFAFSK	low activity
chemerin-S157	131 136 YFPGQFAFS	highest activity
chemerin-F156	131 136 YFPGQFAF	high activity
chemerin-A155	131 YFPGQFA	inactivity
chemerin-F154	131 YFPGQF	inactivity
chemerin-G152	131 YFPG	inactivity

(a) 已知 chemerin 亚型序列特征



(c) 不同 chemerin 亚型结构比对结果



(b) chemerin 亚型 AlphaFold 建模结果

图 1 不同 chemerin 亚型结构预测及比对

Fig. 1 Chemerin isoform structure predict and alignment

3.2 活性 chemerin 亚型与 CMKLR1 的对接情况

首先, 将 CMKLR1 的 NCBI 序列进行 Alphafold2 模拟, 结果如图 2(a) 所示, 中间部分为 7 个跨膜域, 上方为 N 端, 位于细胞膜外, 下方为 C 端, 位于细胞膜内。然后, 分别将 3 个活性亚型 chemerin-K158、chemerin-S157 以及 chemerin-F156 与受体蛋白 CMKLR1 形成复合体对接, 结果如图 2(b) 不同颜色所示, 均与 CMKLR1 的 N 端细胞膜外部分以及跨膜结构域

存在相互作用。最后, 对相互作用分别进行分析, 主要针对不同的结合位置进行讨论, 为亲和力的不同提供理论参考。

通过将复合体的结构导入 LigPlus^[19] 分析 3 个活性 chemerin (chemerin-K158、chemerin-S157、chemerin-F156) 与 CMKLR1 的预测相互作用, 结果如图 3~5 所示。

将氢键相互作用标记在 PyMOL 结构中, chemerin-K158、chemerin-S157、chemerin-F156

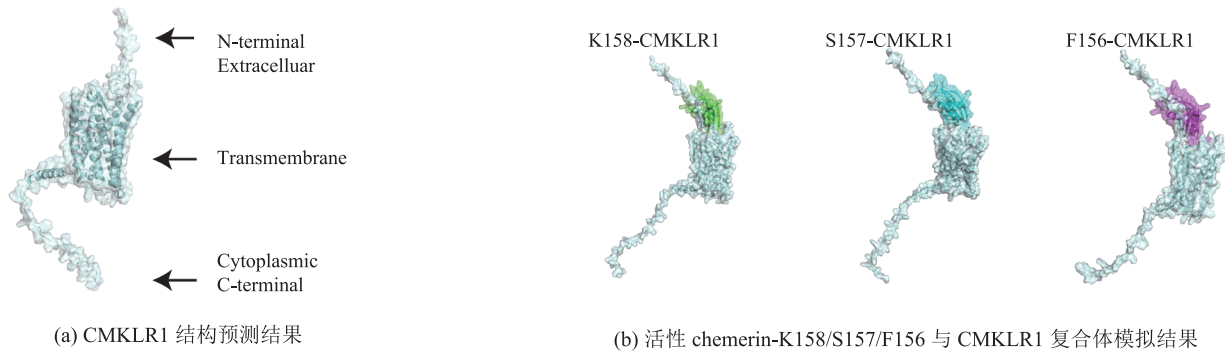


图 2 活性 chemerin 与 CMKLR1 对接预测

Fig. 2 Activity chemerin and CMKLR1 complex predict results

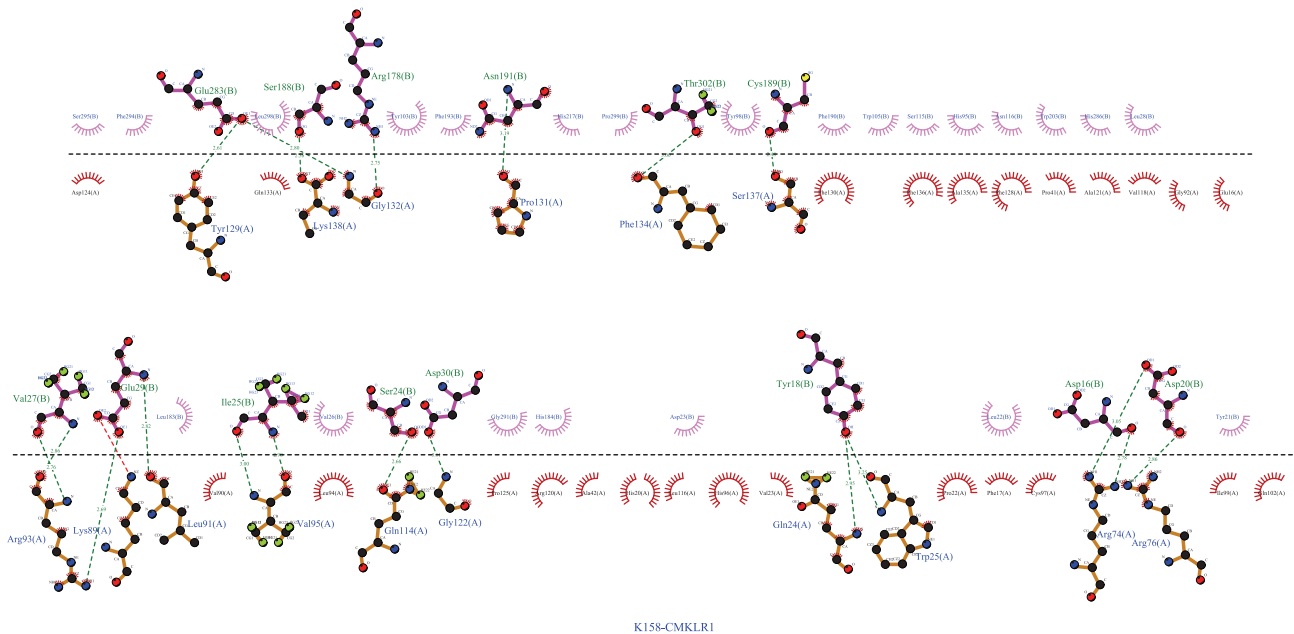


图 3 chemerin-K158 与 CMKLR1 相互作用二维展示

Fig. 3 Chemerin-K158 and CMKLR1 interaction two-dimensional display

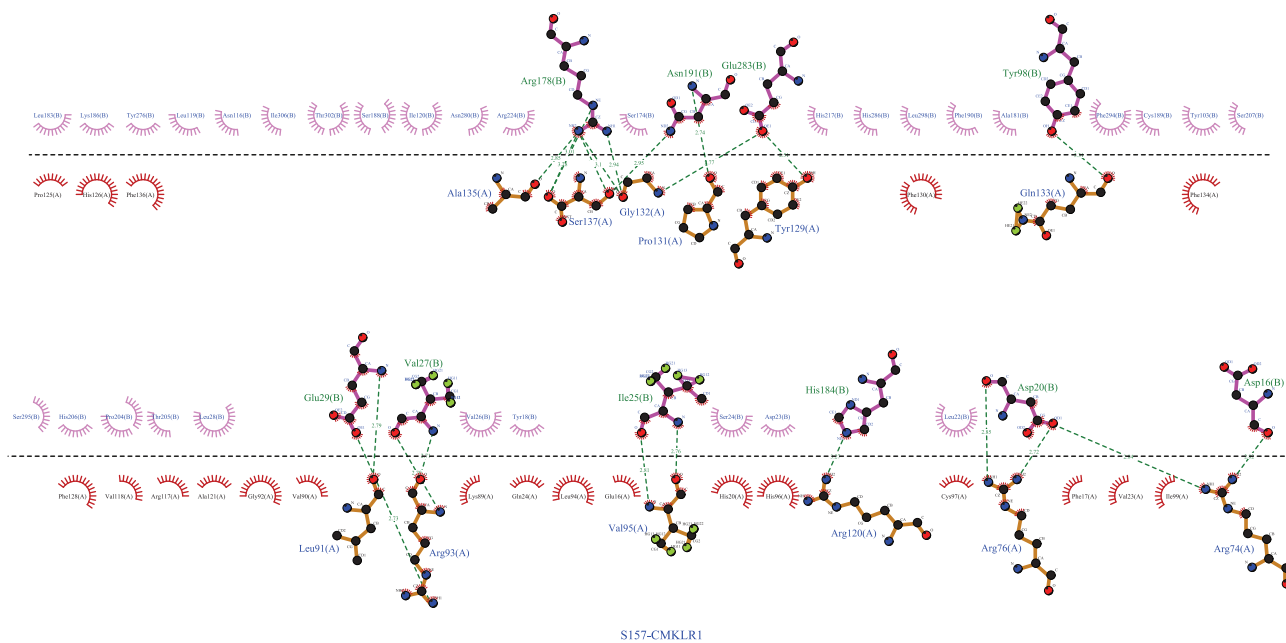


图4 chemerin-S157 与 CMKLR1 相互作用二维展示

Fig. 4 Chemerin-S157 and CMKLR1 interaction two-dimensional display

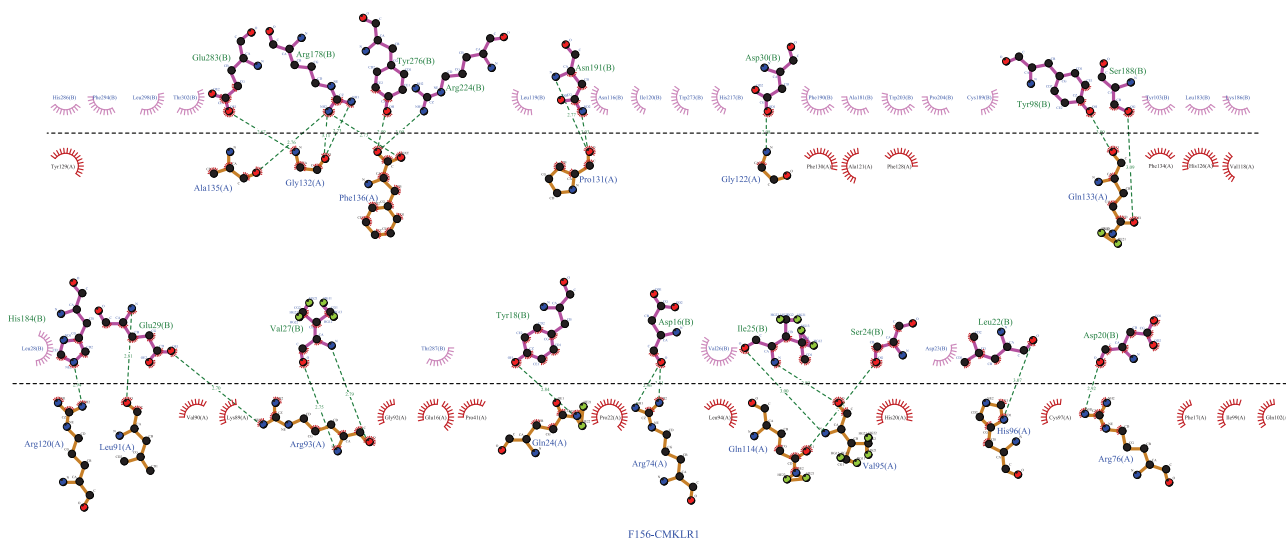


图5 chemerin-F156 与 CMKLR1 相互作用二维展示

Fig. 5 Chemerin-F156 and CMKLR1 interaction two-dimensional display

与 CMKLR1 结合分别如图 6(a)~(c)所示。对相互作用分析可知, 3 个不同的配体均与受体存在多个结合位点, 基本的区域有两个位置: 位置一处于受体 N 端附近的 16 位天冬氨酸、25 位异亮氨酸、27 位缬氨酸以及 29 位谷氨酸附近, 主要

形成氢键和疏水相互作用; 位置二处于受体细胞外跨膜域的 178 位精氨酸与 283 位谷氨酸附近, 不同亚型 chemerin 的 C 末端在此与精氨酸等形成氢键。

考虑到 3 个不同亚型的结合活性差异, 对

得到的结合位点进行进一步比对分析, 发现在 3 个不同形式的 chemerin 与受体上的 16~30 位氨基酸附近(位置一)的结合情况十分相似。差异主要发生在 chemerin 的末端(位置二)几个氨基酸残基上, 对不同形式 chemerin 的 C 末端结合在受体上的位点进行查找后发现(如图 6(d)

所示), chemerin-K158 末端氨基酸与受体的结合主要在受体的跨膜域 6 和 7 两个螺旋上, chemerin-S157 末端氨基酸与受体的结合主要在受体的跨膜域 2 和 6 两个螺旋上, chemerin-F156 末端氨基酸与受体的结合主要在受体的跨膜域 2、5 和 6 三个螺旋上。根据已有研究^[9]可知,

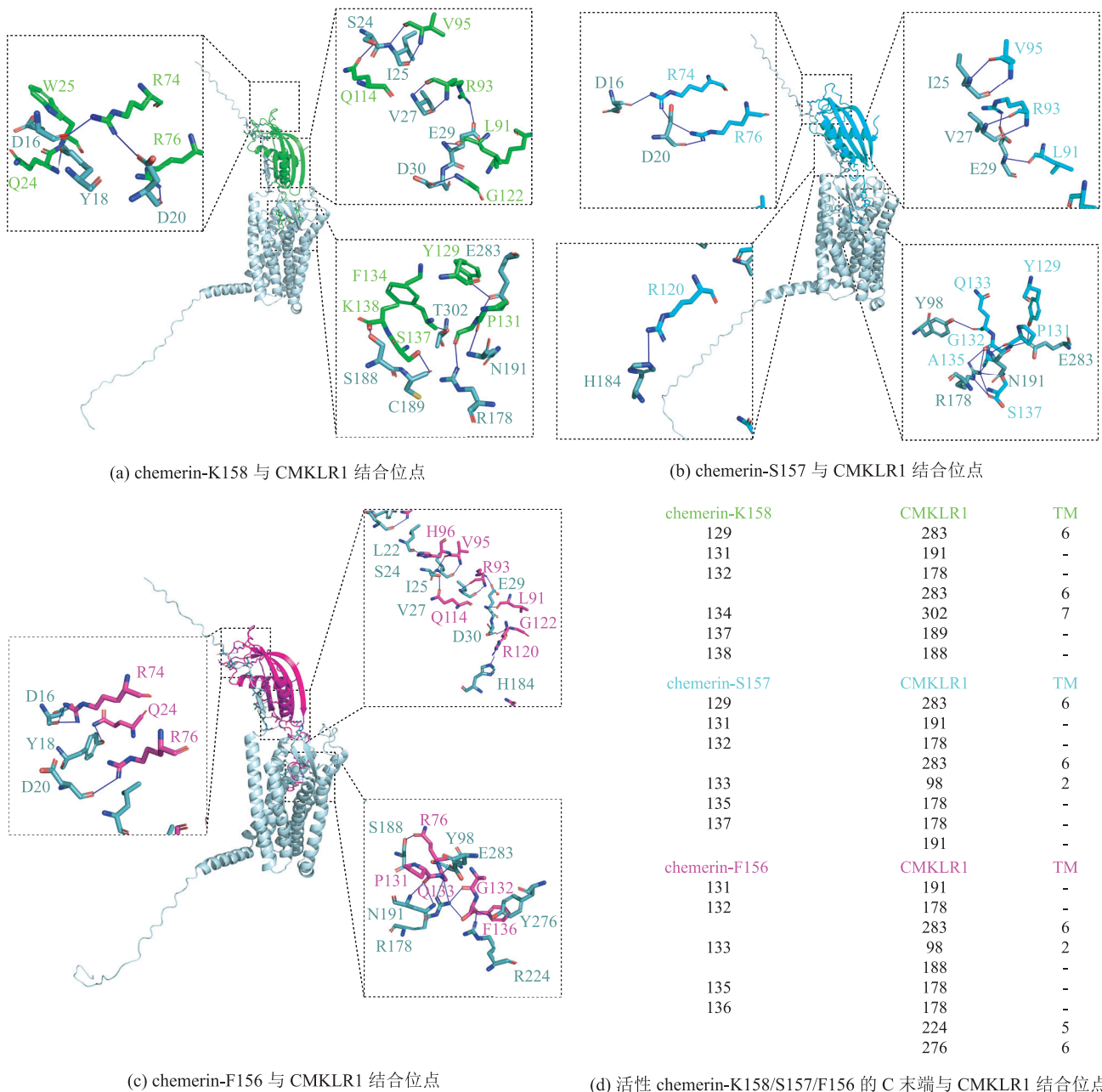


图 6 活性 chemerin 与 CMKLR1 对接预测

Fig. 6 Activity chemerin and CMKLR1 complex predict results

chemerin-S157 和 chemerin-F156 的活性较好, 而 chemerin-K158 的活性较弱。本研究进一步发现, chemerin-S157 和 chemerin-F156 的末端 133 位谷氨酰胺与受体上 98 位酪氨酸存在相互作用, 而 chemerin-K158 的 C 末端并无此位置。已知受体 98 位酪氨酸位于跨膜域 2 的螺旋上, 可以推测, chemerin-K158 不结合跨膜域 2 导致其受体构象未打开, 进而影响受体在胞内结合 G 蛋白进行下一步的通路激活等相关作用。

总结, 3 个活性 chemerin 亚型与 CMKLR1 形成的复合体至少有两个主要结合位置, 通过比较结合位置的差异, 猜测可能影响结合活性的原因是受体跨膜域 2 上 98 位酪氨酸的结合情况。

3.3 α -NETA 与 CMKLR1 的结合预测

α -NETA 对 CMKLR1 的抑制作用早在 2014 年就有报道^[18], 2022 年本实验室发现 α -NETA 通过作用 chemerin/CMKLR1 轴来改善子宫内膜异位症的进展^[25]。并根据目前已知的情况, 考虑就已知对 CMKLR1 结合的小分子拮抗剂进行模拟预测作用位点并提供可能的作用模式, 所以在此对 α -NETA 小分子与 CMKLR1 进行相互作用模拟, 根据结果讨论可能的作用位点与抑制模式, 为实验提供一定的理论基础和参考。在 PubChem 进行 α -NETA 的查询^[22], 下载其结构(CID-1518)。处理后与前面得到的 CMKLR1 蛋白进行 AutoDock Vina 对接^[20], 得到的前 10 个结果如图 7(a)所示。可以看出, 主要的结合位置有 3 个。根据亲和力选择 model、mode2、mode8 三个位置进行进一步分析(如图 7(b)), 利用 PLIP 进行相互作用分析^[23]。

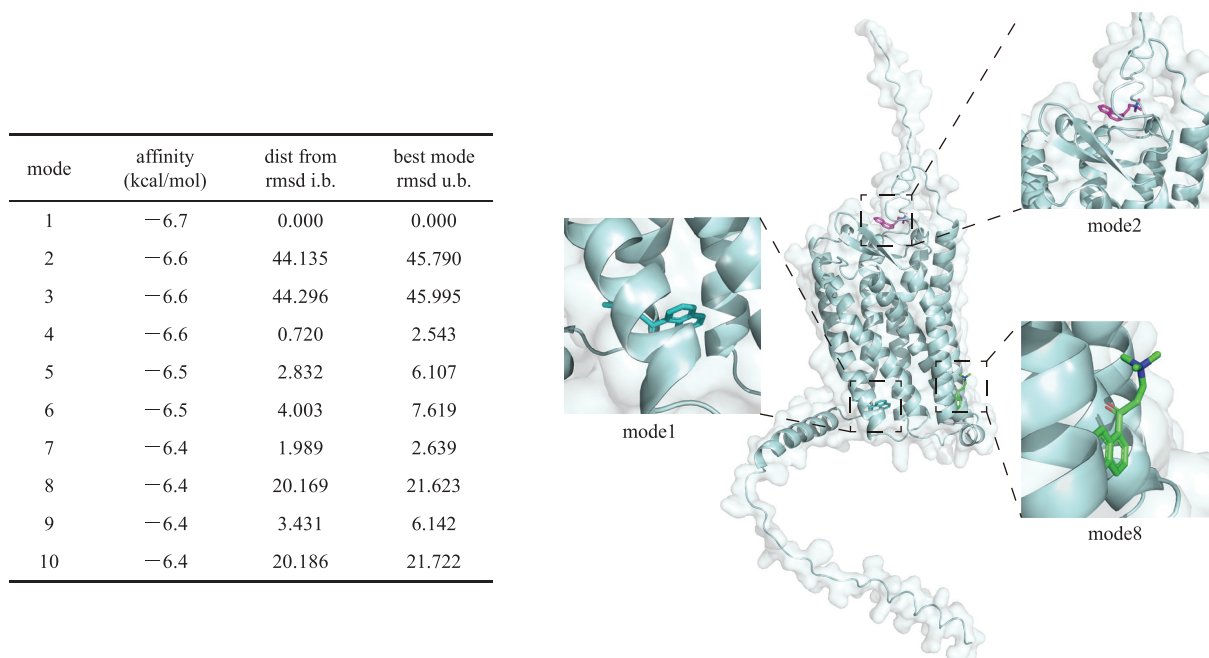
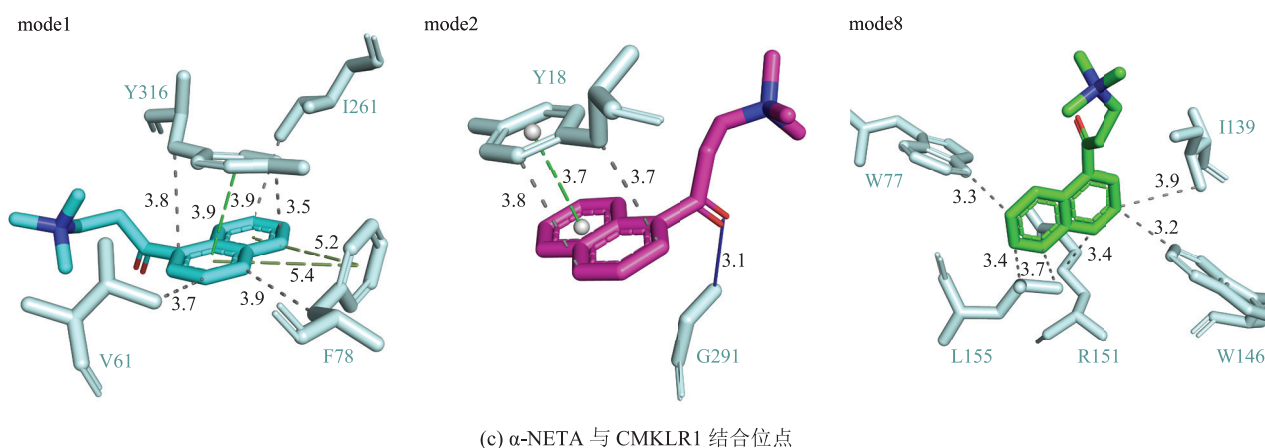
在 3 个可能的结合位点中(如图 7), 在位点一(mode1)计算得到的相互作用有疏水相互作用和 π 键堆叠作用, 其中疏水相互作用主要发生在受体的 61 位缬氨酸、78 位苯丙氨酸、216 位异亮氨酸以及 316 位酪氨酸, π 键堆叠作用主要发生在 78 位苯丙氨酸(垂直)和 316 位酪氨酸(平

行); 在位点二(mode2)计算得到的相互作用有疏水相互作用、氢键相互作用以及 π 键堆叠作用, 其中疏水相互作用和 π 键堆叠作用(平行)发生在 18 位酪氨酸, 氢键相互作用发生在 291 位甘氨酸; 位点三(mode8)计算得到的相互作用仅有疏水相互作用, 主要发生在 77 位/146 位色氨酸、139 位异亮氨酸、146 位酪氨酸、151 位精氨酸以及 155 位亮氨酸。对比图 2 的配体受体结合结果可知, 位点二可能是主要的抑制剂作用位点, 即通过与受体的细胞外结构域进行结合, 导致配体无法与受体结合。

4 讨论与分析

本研究主要根据目前已知的 chemerin 在体内存在的 6 个亚型进行计算和预测, 并对其受体 CMKLR1 进行结构预测。得到相应的结构后, 对有活性的 chemerin 和受体 CMKLR1 进行复合体生成, 并对结合位点进行分析比对, 发现配体和受体结合后影响活性可能是受体跨膜域 2 的结合所致。此外, 对目前已知的小分子拮抗剂 α -NETA 与 CMKLR1 进行对接, 分析 α -NETA 可能的作用位点在受体细胞外 18 位和 291 位附近, 影响 chemerin 与其结合而进一步发挥作用。截至目前, 仅两个结构实验室对 chemerin 的活性形式 chemerin-S157 末端 9 个肽与受体 CMKLR1 进行结构上的研究。2021 年 3 月, Beck-Sickinger 实验室^[26]通过结构建模和后期实验, 对 chemerin-9 与 CMKLR1 的结合模式提出了详细的模型, 并设计了环状肽可作为未来药物研发的先导化合物。2023 年 1 月, 香港中文大学杜洋实验室^[27]通过冷冻电子显微镜对 chemerin-9 与 CMKLR1 的复合体结构进行解析, 并对相应结合位点以及信号激活时下游 G 蛋白复合体进行结合位点分析。

本研究也存在一定不足, 整个过程仅通过计

(a) α -NETA 与 CMKLR1 结合的 AutoDock Vina 预测结果(b) α -NETA 与 CMKLR1 三个潜在结合位置(c) α -NETA 与 CMKLR1 结合位点图 7 α -NETA 与 CMKLR1 对接预测Fig. 7 α -NETA and CMKLR1 docking results

计算机进行了模拟, 并未进行结构生物学的实验解析, 与真实的结构可能存在一定的差异, 还需以真实的冷冻电镜等获得的实验结果为准。另外, 在本研究完成后, 杜洋实验室^[27]的 chemerin-9 与 CMKLR1 冷冻电镜复合体结构仍在 PDB 数据库中进行审核, 导致本研究团队模拟的 CMKLR1 结构未能与真实的 CMKLR1 结构进行三维比对和分析。

本研究的意义在于, 基于本研究团队对 CMKLR1 和 chemerin 多年的研究, 将 chemerin 的多种完整亚型进行复合体结构预测, 在已知小分子拮抗剂 α -NETA 有着明确的 CMKLR1 结合并产生作用的情况下, 对其进行对接后, 提供了明确的小分子结合位点参考, 为后续实验的展开以及针对 CMKLR1 的小分子新药研发提供了明确的方向。

参 考 文 献

- [1] Nagpal S, Patel S, Jacobe H, et al. Tazarotene-induced gene 2 (TIG2), a novel retinoid-responsive gene in skin [J]. *Journal of Investigative Dermatology*, 1997, 109(1): 91-95.
- [2] Kennedy AJ, Davenport AP. International Union of Basic and Clinical Pharmacology CIII: chemerin Receptors CMKLR1 (chemerin1) and GPR1 (chemerin2) nomenclature, pharmacology, and function [J]. *Pharmacological Reviews*, 2018, 70(1): 174-196.
- [3] Wittamer V, Franssen JD, Vulcano M, et al. Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2003, 198(7): 977-985.
- [4] Meder W, Wendland M, Busmann A, et al. Characterization of human circulating TIG2 as a ligand for the orphan receptor ChemR23 [J]. *FEBS Letters*, 2003, 555(3): 495-499.
- [5] Goralski KB, McCarthy TC, Hanniman EA, et al. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(38): 28175-28188.
- [6] Barnea G, Strapps W, Herrada G, et al. The genetic design of signaling cascades to record receptor activation [J]. *PNAS*, 2008, 105(1): 64-69.
- [7] Zabel BA, Nakae S, Zuniga L, et al. Mast cell-expressed orphan receptor CCRL2 binds chemerin and is required for optimal induction of IgE-mediated passive cutaneous anaphylaxis [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2008, 205(10): 2207-2220.
- [8] De Henau O, Degroot GN, Imbault V, et al. Signaling properties of chemerin receptors CMKLR1, GPR1 and CCRL2 [J]. *PLoS One*, 2016, 11(10): e0164179.
- [9] Yu M, Yang YL, Huang C, et al. Chemerin: a functional adipokine in reproductive health and diseases [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(8): 1910.
- [10] Du XY, Zabel BA, Myles T, et al. Regulation of chemerin bioactivity by plasma carboxypeptidase N, carboxypeptidase B (activated thrombin-activable fibrinolysis inhibitor), and platelets [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(2): 751-758.
- [11] Ge XM, Yamaguchi Y, Zhao L, et al. Prochemerin cleavage by factor XIa links coagulation and inflammation [J]. *Blood*, 2018, 131(3): 353-364.
- [12] Kulig P, Kantyka T, Zabel BA, et al. Regulation of chemerin chemoattractant and antibacterial activity by human cysteine cathepsins [J]. *The Journal of Immunology*, 2011, 187(3): 1403-1410.
- [13] Zhao L, Yamaguchi Y, Ge XM, et al. Chemerin 156F, generated by chymase cleavage of prochemerin, is elevated in joint fluids of arthritis patients [J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2018, 20(1): 132.
- [14] Guillabert A, Wittamer V, Bondue B, et al. Role of neutrophil proteinase 3 and mast cell chymase in chemerin proteolytic regulation [J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2008, 84(6): 1530-1538.
- [15] Schultz S, Saalbach A, Heiker JT, et al. Proteolytic activation of prochemerin by kallikrein 7 breaks an ionic linkage and results in C-terminal rearrangement [J]. *Biochemical Journal*, 2013, 452(2): 271-280.
- [16] Buechler C, Feder S, Haberl EM, et al. Chemerin isoforms and activity in obesity [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(5): 1128.
- [17] Ernst MC, Sinal CJ. Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity [J]. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2010, 21(11): 660-667.
- [18] Graham KL, Zhang JV, Lewen S, et al. A novel CMKLR1 small molecule antagonist suppresses CNS autoimmune inflammatory disease [J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e112925.
- [19] Laskowski RA, Swindells MB. LigPlot+: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug

- discovery [J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2011, 51(10): 2778-2786.
- [20] Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2010, 31(2): 455-461.
- [21] UniProt C. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2023 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2023, 51(D1): D523-D531.
- [22] Kim S, Chen J, Cheng T, et al. PubChem 2023 update [J]. *Nucleic Acids Research*, 2023, 51(D1): D1373-D1380.
- [23] Adasme MF, Linnemann KL, Bolz SN, et al. PLIP 2021: expanding the scope of the protein-ligand interaction profiler to DNA and RNA [J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(W1): W530-W534.
- [24] Delano WL. The PyMol Molecular Graphics System [Z/OL]. <https://pymol.org/2/#download>.
- [25] Yu M, Yang YL, Zhao H, et al. Targeting the chemerin/CMKLR1 axis by small molecule antagonist α -NETA mitigates endometriosis progression [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.985618>.
- [26] Fischer TF, Schoeder CT, Zellmann T, et al. Cyclic analogues of the chemerin C-terminus mimic a loop conformation essential for activating the chemokine-like receptor 1 [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 64(6): 3048-3058.
- [27] Wang JL, Chen G, Liao QW, et al. Cryo-EM structure of the human chemerin receptor 1-Gi protein complex bound to the C-terminal nonapeptide of chemerin [J]. *PNAS*, 2023, 120(11): e2214324120.