

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,(?):??

Citing format

chai dezhi, cai jinxuan, yu ming, et al. CMKLR1 with chemerin or α -NETA complex structure predict[J]. Journal of Integration Technology,,2023,(?):??

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

摘要: 他扎罗替尼诱导基因 2(tazarotene-induced gene2, 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, 本文通过 Alphafold 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, 针对目前已知 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: Q5 生物化学 Q7 分子生物学 doi: 10.12146/j.issn.2095-3135.20230403001

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}

来稿日期: 2023-04-03 修回日期: 2023-05-07

基金项目: 国自然青年 82001521, 深圳市重点项目 JCY20220818101218040, 深圳市代谢健康重点实验室 ZDSYS20210427152400001, 深圳市 JCY20190812170005666

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

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 Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences (CAS), Shenzhen, 518055, China.)

Corresponding Author: JianV ZHANG, Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen, 518055, China

Email: jian.zhang@siat.ac.cn

Abstract: Chemerin, derived from tazarotenib-induced gene2 (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. In this paper, we predicted and modeled the structure of six isoforms of chemerin by AlphaFold, 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.

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

1 引言

1997年, Nagpal, S 等人^[1]首次在银屑病皮损中报道他扎罗替尼诱导基因 2(tazarotene-induced gene2, 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 蛋白偶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, K.B 等人^[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。随后三十年内陆续发现 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 蛋白偶联受体 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 与其三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 与三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原因主要是其存在多种蛋白亚型^[9]。在人的细胞中, 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(tryptase), 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]、以及酶切后无活性的 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。在 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, 至今并未看到相关文献报道不同亚型的 chemerin 与受体 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 6 个不同 chemerin 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, 最后针对目前已知的 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

采用 AutodockVina^[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]。得到相应的蛋白和小分子结构后, 进行相应的处理并转换为 PDBQT 格式, 之后分别对受体进行网格设置来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。对接结果去氢后与受体分别保存为 PDB 复合物结构后, 用在线工具 PLIP 进行结合位点的相互作用分析^[23], 随后结果导入 PyMOL 进行作图展示^[24]。

3 结果

3.1 不同 chemerin 亚型结构模拟

根据目前的研究进展可知, chemerin 在体内主要存在 6 个亚型, 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, 随后根据目前的 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 1A。将序列导入 Alphafold 进行计算, 拿到结果后如图 1B, 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, 为了更好地看到结构上的差异而理解其与受体亲和力的差异, 对 6 个单体结果进行进一步的比对, 如图 1C 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的样子, C 末端的链结构像

钥匙中开锁的部分。

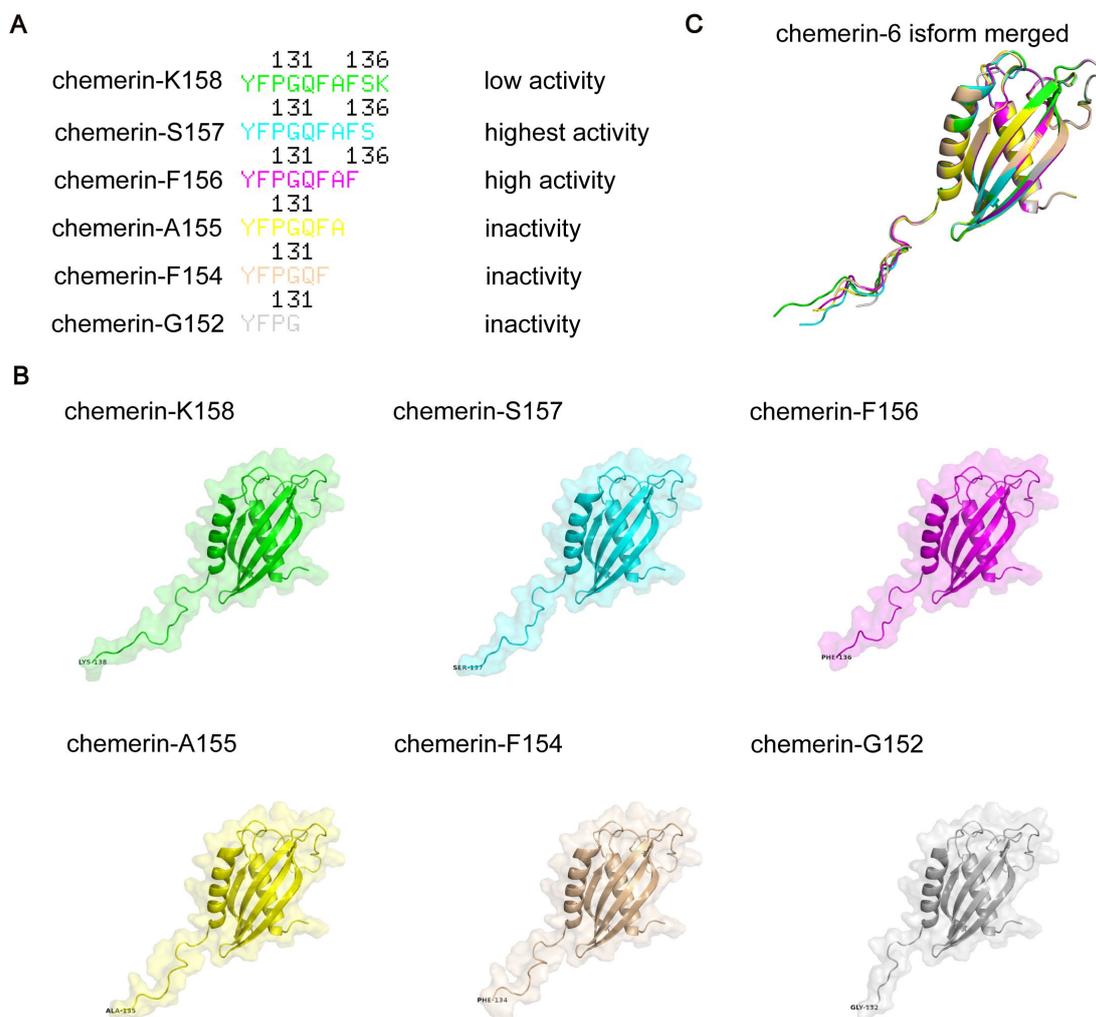


图 1 不同 chemerin 亚型结构预测及比对
Figure1 Chemerin isoform structure predict and alignment

注: (A)已知 chemerin 亚型序列特征。(B) chemerin 亚型 alphafold 建模结果。(C)不同 chemerin 亚型结构比对结果。

Note: (A)The characteristics of known chemerin isoforms. (B)Chemerin isoforms structure predict results. (C)Different chemerin isoforms alignment results.

3.2 活性 chemerin 亚型与 CMKLR1 的对接情况

首先将 CMKLR1 的 NCBI 序列进行 Alphafold 模拟, 结果如图 2A 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。接下来分别将三个活性亚型 K158、S157 以及 F156 与受体蛋白 CMKLR1 形成复合体对接, 结果如图 2B 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, 于是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。

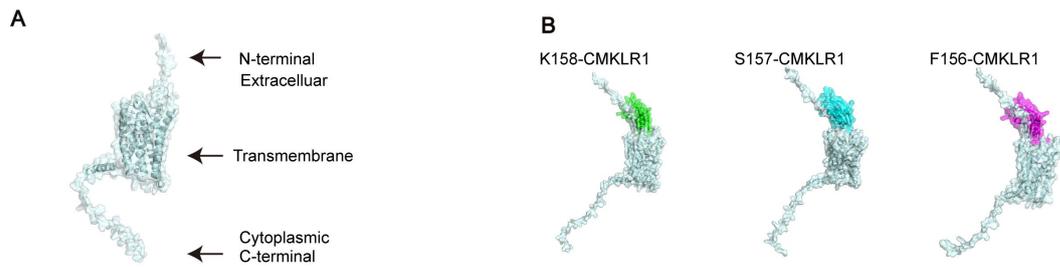


图 2 活性 chemerin 与 CMKLR1 对接预测

Figure2 Activity chemerin and CMKLR1 complex predict results

注: (A)CMKLR1 结构预测结果。(B)活性 chemerin-K158/S157/F156 与 CMKLR1 复合体模拟结果。

Note: (A)CMKLR1 structure predict results. (B)Activity chemerin-K158/S157/F156 and CMKLR1 complex predict results.

通过将复合体的结构导入 LigPlus^[19]分析三个活性 chemerin 与 CMKLR1 的预测相互作用, 结果如图 3(chemerin-K158 与 CMKLR1)图 4(chemerin-S157 与 CMKLR1)图 5(chemerin-F156 与 CMKLR1)所示。

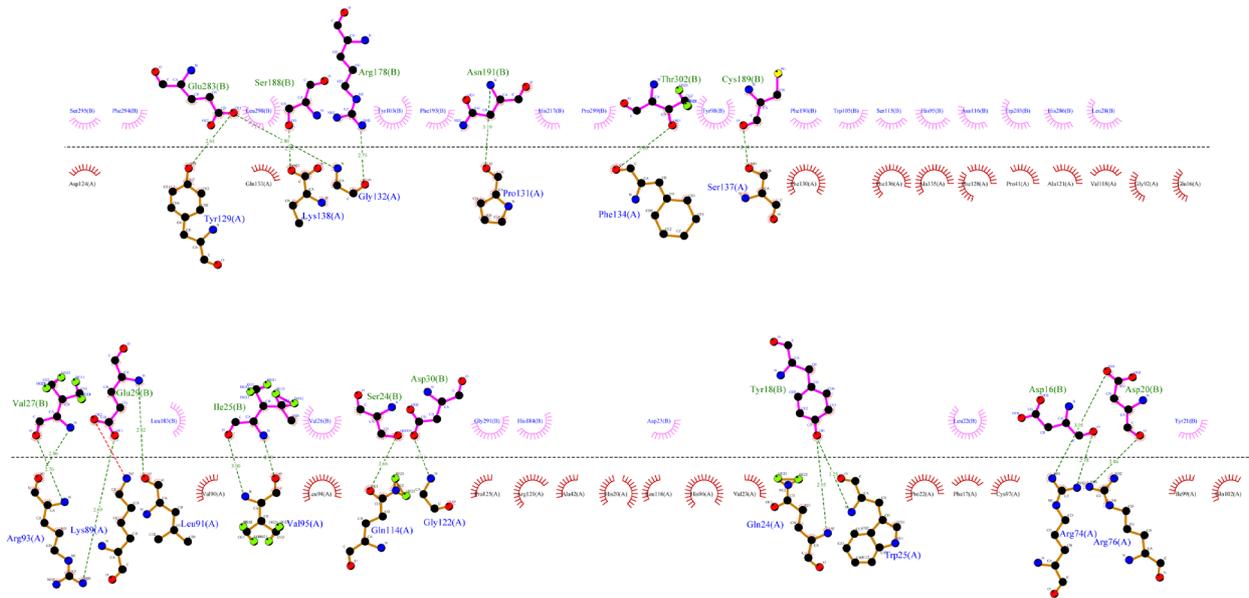


图 3 chemerin-K158 与 CMKLR1 相互作用二维展示

Figure3 chemerin-K158 and CMKLR1 interaction two-dimensional display

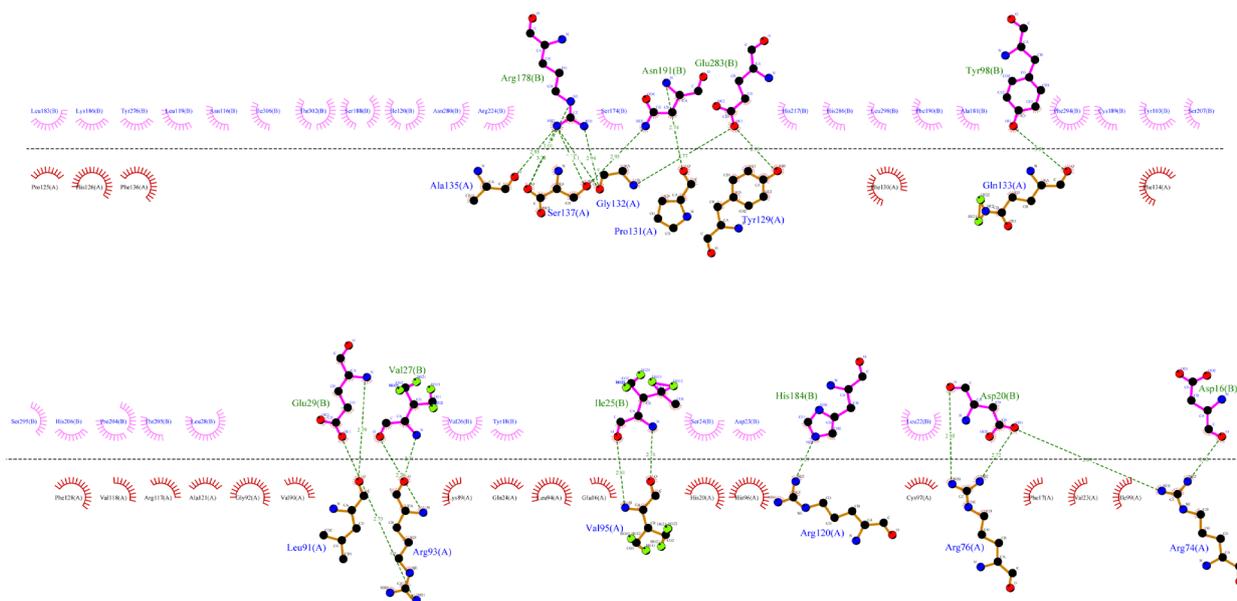


图 4 chemerin-S157 与 CMKLR1 相互作用二维展示
Figure4 chemerin-S157 and CMKLR1 interaction two-dimensional display

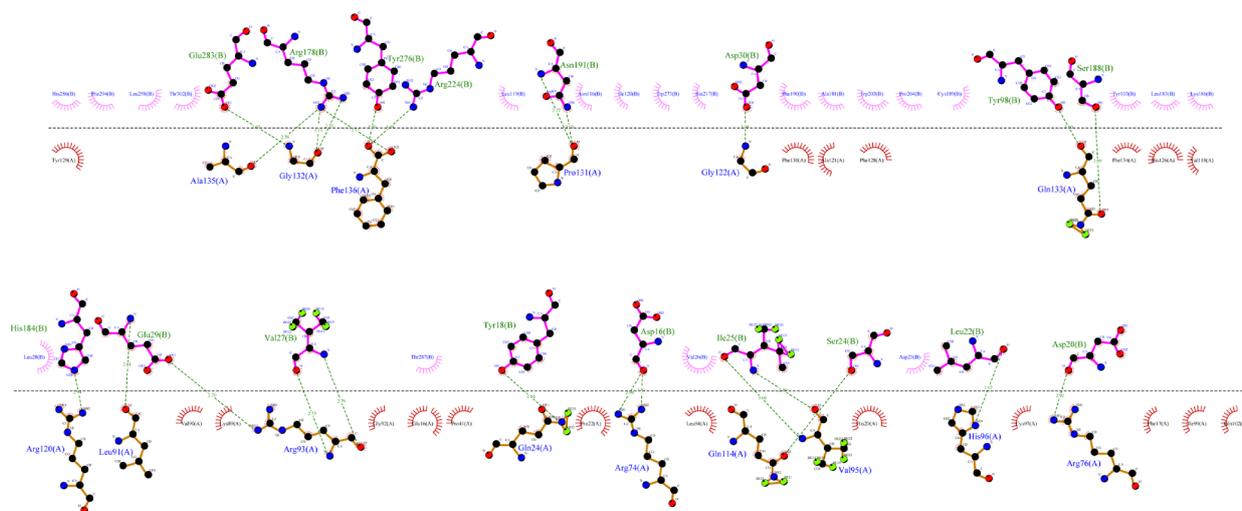


图 5 chemerin-F156 与 CMKLR1 相互作用二维展示
Figure5 chemerin- F156 and CMKLR1 interaction two-dimensional display

将氢键相互作用标记在 pymol 结构中，K158 与 CMKLR1 结合如图 6A 所示，S157 与 CMKLR1 结合如图 6B 所示，F156 与 CMKLR1 结合如图 6C 所示。对相互作用分析可知，三种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 位的谷氨酸附近，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。

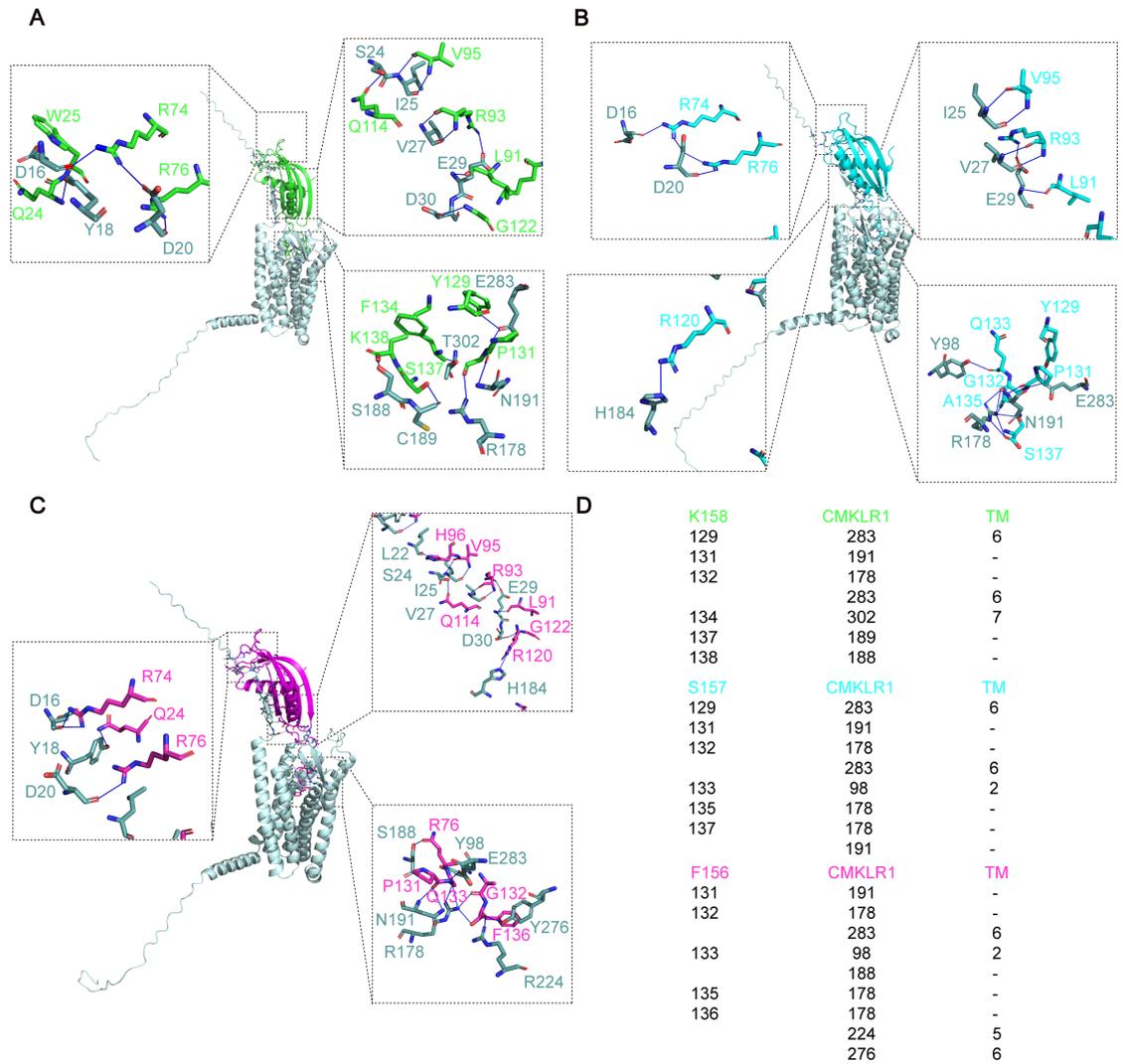


图6 活性 chemerin 与 CMKLR1 对接预测

Figure6 Activity chemerin and CMKLR1 complex predict results

注: (A)Chemerin-K158 与 CMKLR1 结合位点。(B)Chemerin-S157 与 CMKLR1 结合位点。
(C)Chemerin-F156 与 CMKLR1 结合位点。(D)活性 chemerin-K158/S157/F156 的 C 末端
与 CMKLR1 结合位点。

Note: (A)Chemerin-K158 and CMKLR1 binding site. (B)Chemerin-S157 and CMKLR1 binding
site. (C)Chemerin-F156 and CMKLR1 binding site. (D)C-terminal of activity chemerin-
K158/S157/F156 and CMKLR1 binding site.

考虑到三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
三种不同形式的 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,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 6D 所示, 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, 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, F156 末端氨基酸与受体的结合在受体的跨膜域 2/5/6 三个螺旋上。根据已有研
究可知[9], S157 和 F156 的活性较好,而 K158 的活性较弱,进一步发现 S157 和 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 K158 的 C 末端并无此位置,查

到受体 98 位酪氨酸位于跨膜域 2 的螺旋上，可以推测出，K158 不结合跨膜域 2 导致其受体构象未打开，而可能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，三个活性 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 位的酪氨酸的结合情况。

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 年本实验发现 α -NETA 通过作用 chemerin/CMKLR1 轴而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，为实验提供一定程度的理论基础和参考。于是在 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]，对得到的前十个结果如图 7A。可以看出主要的结合位置主要有三个位置。根据亲和力选择 mode1、mode2、mode8 三个位置如图 7B 进行进一步分析，利用 PLIP 进行相互作用分析^[23]。

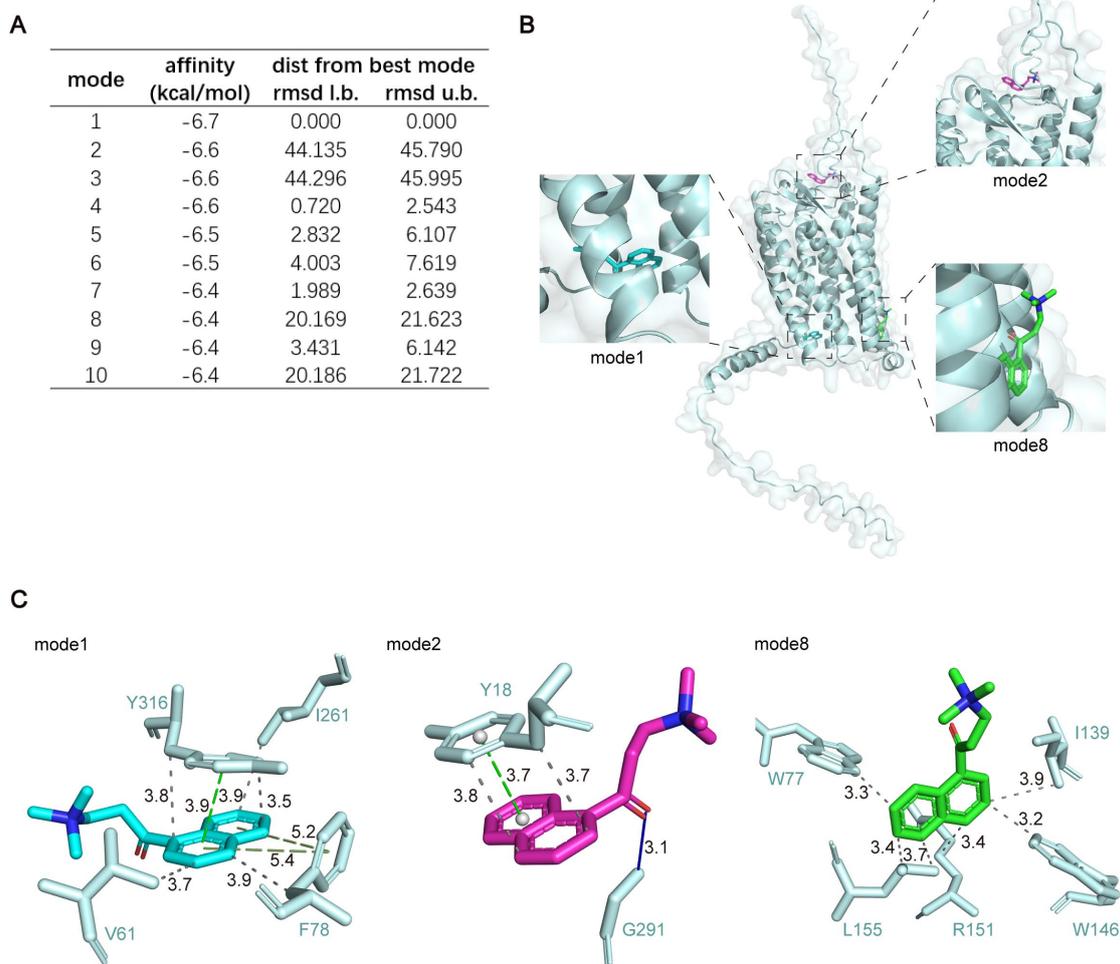


图 7 α -NETA 与 CMKLR1 对接预测

Figure7 α -NETA and CMKLR1 docking results

注：(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。

Note: (A)The Autodock vina predict results of α -NETA and CMKLR1 complex structure. (B)Three binding mode of α -NETA and CMKLR1. (C) α -NETA and CMKLR1 binding site.

在三个可能的结合位点中如图 7C, 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 位的缬氨酸、78 位的苯丙氨酸、216 位的异亮氨酸以及 316 位的酪氨酸, π 键堆叠作用主要发生在 78 位的苯丙氨酸(垂直)和 316 位的酪氨酸(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 位的酪氨酸, 氢键相互作用发生在 291 位的甘氨酸; 位点三(mode3)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。通过与图二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后, 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 种亚型进行计算和预测, 并对其受体 CMKLR1 进行结构预测。得到相应的结构之后, 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对活性影响可能是由于受体跨膜域 2 的结合所致。并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。

截止到目前, 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 年三月, 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 年一月, 香港中文大学杜洋实验室^[27]通过冷冻电镜对 chemerin-9 与 CMKLR1 的复合体结构进行解析, 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。

本研究存在限制和不足之处, 整个过程仅通过计算机进行了模拟, 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, 还需要以真实的冷冻电镜等实验结果为准。另外在本研究完成后, 杜洋实验室的 chemerin-9 与 CMKLR1 冷冻电镜复合体结构仍在 PDB 数据库中进行审核, 导致我们模拟的 CMKLR1 结构并没有与真实的 CMKLR1 结构进行三维比对和分析。

基于我们实验室对 CMKLR1 和 chemerin 多年的研究, 将 chemerin 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]. *J Invest Dermatol*, 1997, 109(1): 91-95.
- [2] Kennedy AJ and Davenport AP. International Union of Basic and Clinical Pharmacology CIII: Chemerin Receptors CMKLR1 (Chemerin(1)) and GPR1 (Chemerin(2)) Nomenclature, Pharmacology, and Function [J]. *Pharmacol Rev*, 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]. *J Exp Med*, 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 Lett*, 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]. *J Biol Chem*, 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]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 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]. *J Exp Med*, 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 Y, Huang C, et al. Chemerin: A Functional Adipokine in Reproductive Health and Diseases [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(8):
- [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]. *J Biol Chem*, 2009, 284(2): 751-758.
- [11] Ge X, 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]. *J Immunol*, 2011, 187(3): 1403-1410.
- [13] Zhao L, Yamaguchi Y, Ge X, et al. Chemerin 156F, generated by chymase cleavage of prochemerin, is elevated in joint fluids of arthritis patients [J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1): 132.
- [14] Guillaibert A, Wittamer V, Bondue B, et al. Role of neutrophil proteinase 3 and mast cell chymase in chemerin proteolytic regulation [J]. *J Leukoc Biol*, 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]. *Biochem J*, 2013, 452(2): 271-280.
- [16] Buechler C, Feder S, Haberl EM, et al. Chemerin Isoforms and Activity in Obesity [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5):
- [17] Ernst MC and Sinal CJ. Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 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 and Swindells MB. LigPlot+: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery [J]. *J Chem Inf Model*, 2011, 51(10): 2778-2786.
- [20] Trott O and Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. *J Comput Chem*, 2010, 31(2): 455-461.
- [21] UniProt C. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(D1): D523-D531.
- [22] Kim S, Chen J, Cheng T, et al. PubChem 2023 update [J]. *Nucleic Acids Res*, 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 Res*, 2021, 49(W1): W530-W534.
- [24] Schrodinger, LLC, The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.8. 2015.
- [25] Yu M, Yang Y, Zhao H, et al. Targeting the chemerin/CMKLR1 axis by small molecule antagonist alpha-NETA mitigates endometriosis progression [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13(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]. *J Med Chem*, 2021, 64(6): 3048-3058.
- [27] Wang J, Chen G, Liao Q, et al. Cryo-EM structure of the human chemerin receptor 1-Gi protein complex bound to the C-terminal nonapeptide of chemerin [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2023, 120(11): e2214324120.