

综述

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2024.03.006

Isthmin-1 的生物学功能及其在肺部疾病中的作用

孙淑琪 崔学芬 王瑶瑶 王洪梅 王雨阳 于新娟

【摘要】 Isthmin-1 (ISM1) 属于 Isthmin 基因家族, 在多种组织中均有表达, 具有多种生物学功能。研究显示 ISM1 参与生长发育、代谢、免疫、肿瘤发生等生理病理过程, 与 ARDS、COPD、肺纤维化等多种肺部疾病存在关联。该文就 ISM1 的结构、生物学功能及其在肺部疾病中的作用进行综述, 旨在为 ISM1 相关疾病的诊断及治疗提供理论基础。

【关键词】 Isthmin-1; 分泌蛋白; 急性肺损伤; 慢性阻塞性肺疾病; 肺纤维化

The biological function of Isthmin-1 and its correlation with pulmonary diseases Sun Shuqi, Cui Xuefen, Wang Yaoyao, Wang Hongmei, Wang Yuyang, Yu Xinjuan. School of Clinical Medicine, Weifang Medical University, Weifang 261053, China
Corresponding author, Yu Xinjuan, E-mail: yxj4501@126.com

【Abstract】 Isthmin-1 (ISM1) belongs to the Isthmin gene family. It is expressed in various tissues and has multiple biological functions. ISM1 is involved in growth and development, metabolism, immunity, tumorigenesis and other physiological and pathological processes, which is associated with a variety of lung diseases, including acute respiratory distress syndrome, chronic obstructive pulmonary disease and pulmonary fibrosis, etc. In this article, the structure, biological function of ISM1 and its role in pulmonary diseases were reviewed, aiming to provide a theoretical basis for the diagnosis and treatment of ISM1-related diseases.

【Key words】 Isthmin-1; Secretory protein; Acute lung injury; Chronic obstructive pulmonary disease; Pulmonary fibrosis

Isthmin-1 (ISM1) 是 Pera 等在 2002 年筛选爪蟾胚胎分泌蛋白时首次发现的一个新的蛋白家族成员, 因其中脑-后脑边界或大脑峡部的显著表达而得名^[1]。ISM1 在动物体内的多种组织中表达, 且在不同动物体内表达具有时空变异性, 可协调多个器官的正常发育。ISM1 在脂肪组织中呈强表达, 通过抑制脂肪组织对葡萄糖的摄取, 从而改善胰岛素抵抗和肝脏脂肪变性。此外, ISM1 通过促进细胞凋亡、抗血管生成及调节多种炎症途径影响机体的免疫反应, 在肿瘤、ARDS、COPD、肺纤维化的发展中发挥重要作用。本文就 ISM1 的生物学功能、作用机制及未来可能的研究方向进行阐述, 以期后续相关研究提供理论依据, 从而为相关疾病的治疗提供参考。

一、ISM1 的结构

ISM1 基因定位于染色体 20p12.1, 包含 8 个外显子。其编码的蛋白质分子量约为 60 kDa, 由 499

个氨基酸残基构成。ISM1 蛋白由氨基端 (N 端) 的信号肽、中央区域的凝血酶反应蛋白 1 型重复序列 (TSR1) 和羧基端 (C 端) 的黏附相关结构域 (AMOP) 组成, 包含 3 个 α -螺旋和 2 个 β -折叠^[2]。ISM1 的结构域在物种间高度保守, 小鼠的 TSR1 结构域和人、非洲爪蛙和斑马鱼之间的同源性分别为 98%、88% 和 87%, 小鼠的 AMOP 结构域和人、非洲爪蛙和斑马鱼之间的同源性分别为 99%、91% 和 85%^[3]。TSR 与细胞迁移、通信和组织重塑有关, 而 AMOP 与细胞黏附和血管生成有关^[34]。ISM1 的 TSR 结构域在 Trp223 和 Trp226 处均含有 C-甘露糖化序列, 促进内质网到高尔基体的运输和蛋白质分泌, 从而调节 ISM1 的分泌^[56]。ISM1 在体内以不同的物理状态存在, 可溶性 ISM1 的 AMOP 结构域中的 RKd 基序选择性结合内皮细胞表面的 $\alpha_v\beta_5$ 整合素, 抑制血管生成并通过直接募集和激活半胱氨酸蛋白酶 -8 (caspase-8), 诱导内皮细胞凋亡^[1,7]。固定化的 ISM1 失去了其抗血管

生成的能力,通过激活黏附斑激酶来促进内皮细胞的黏附、存活和迁移^[1]。

二、生物学功能

ISM1 不仅能调节生长发育、代谢,而且在免疫、肿瘤发生及发展等多种生理及病理过程中发挥重要作用。

1. 生长发育

ISM1 在胚胎发育早期即有表达,通过调节细胞外信号,作用于各种胚胎模式中心的下游,影响发育过程^[8]。在出生后和成年后,ISM1 广泛分布于身体的各个部位,主要在肺和大脑中表达,在支气管及小脑也有较强的表达^[9]。ISM1 通过与整合素 $\alpha 8 \beta 1$ 相互作用促进细胞-细胞黏附、调节胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)/受体酪氨酸激酶(Ret)信号传导,从而调节肾脏发育早期肾分支形态发生^[10]。Osório 等^[11]研究发现,异位 ISM1 可以通过其 AMOP 结构域与 NODAL 配体和 I 型受体 ACVR1B 相互作用,从而干扰 NODAL-ACVR1B 相互作用并下调 Smad2 的磷酸化导致鸡胚胎的心脏定位异常。Lansdon 等^[12]研究发现,在非洲爪蛙胚胎中抑制 ISM1 导致胚胎体轴缩短、眼睛缺失或缺陷、尾巴异常以及包括类似于人类的唇裂或腭裂等颅面畸形,且随着抑制程度的增加,将会导致整个胚胎异常甚至无头畸形。因此,ISM1 在早期胚胎生长发育中具有重要的作用。

2. 代谢

成熟脂肪细胞分泌的 ISM1 可以触发类似于胰岛素的信号级联反应,在糖、脂类、蛋白质的代谢过程中发挥重要作用^[13]。研究显示,ISM1 促进包括人脂肪细胞、骨骼肌细胞在内的多种细胞摄取脂肪及葡萄糖,合成蛋白质,抑制脂质合成,从而改善高血糖和减少脂质积累^[13-14]。Jiang 等^[13]研究发现,ISM1 通过激活雷帕霉素靶蛋白 C2(mTORC2)/磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)信号通路以及促进葡萄糖转运蛋白 4 从细胞质向质膜的易位,增加细胞对葡萄糖的摄取。此外,ISM1 通过抑制胰岛素诱导的脂肪合成因子甾醇调节元件结合蛋白-1 及其靶基因在肝细胞中的表达,影响脂质从头合成。在肝细胞和骨骼肌细胞中,ISM1 通过 AKT/mTORC1/核糖体蛋白 S6 激酶 1(S6K1)信号通路促进蛋白质合成^[13,15]。Wang 等^[16]研究显示中年 2 型糖尿病超重人群的血 ISM1 水平低于非 2 型糖尿病超重人群,推测 ISM1

可能会降低患糖尿病的风险。Xu 等^[17]研究发现,血清 ISM1 水平与肾小球滤过率呈负相关,ISM1 水平可作为预测 2 型糖尿病患者肾损伤的潜在生物标志物。因此,ISM1 有望为糖脂代谢失调相关疾病的诊疗提供新的靶点,如 2 型糖尿病和非酒精性脂肪性肝病等。

3. 免疫

Valle-Rios 等(2014 年)发现,ISM1 可能与免疫反应有关,ISM1 是由皮肤、黏膜组织和一些可能与自然杀伤细胞(NK)、自然杀伤性 T 淋巴细胞(NKT)和辅助性 T 淋巴细胞 17(Th17)细胞系有关的肺淋巴细胞等产生。近年研究显示,在草鱼呼肠孤病毒攻击的斑马鱼中,ISM1 可以通过激活 TANK 结合激酶 1(TBK1)/干扰素调节因子 3(IRF3)/I 型 IFN(IFN-I)信号通路促进 IFN-I 基因和 IFN 诱导的抗病毒蛋白基因 MxA 的表达,从而减少细胞病变和病毒复制^[2]。此外,River-Torruco 等^[18]研究发现,ISM1 是一种与祖细胞样细胞相关的新型生物标志物,且 ISM1⁺ 细胞参与宿主对细菌攻击的反应,表明产生 ISM1 的细胞与脓毒症等炎症反应之间存在关联。因此,ISM1 可能在先天性和获得性免疫反应中具有重要的作用。

4. 肿瘤发生、发展

ISM1 通过促进细胞凋亡、抗血管生成及调节多种炎症途径影响机体的免疫反应,而以上途径与肿瘤的发生、发展密切相关,表明 ISM1 可能是肿瘤治疗的潜在靶点。葡萄糖调节蛋白 78(GRP78)是一种应激反应蛋白,属于热休克蛋白家族,在黑色素瘤、乳腺癌、前列腺癌、肺癌和卵巢癌中上调,不仅与患者对化学治疗耐药及预后不佳有关,而且还与肿瘤细胞增殖有关^[19,20]。研究显示,ISM1 通过 AMOP 结构域的 RKD 基序与内皮细胞表面的 $\alpha v \beta 5$ 整合素和 GRP78 结合,选择性地诱导表面高表达 GRP78 的肿瘤细胞和内皮细胞凋亡,从而抑制肝癌、乳腺癌、黑色素瘤等肿瘤的血管生成和转移^[19,21]。Suman 等^[22]发现,ISM1 的 DNA 甲基化与基因表达负相关,推测 ISM1 的 DNA 低甲基化可能是预测小叶乳腺癌患者具有更好预后的生物标志物。然而,Wu 等^[23]通过富集分析显示,ISM1 上调与上皮-间充质转化(EMT)、缺氧、Notch 和 Kras 信号通路呈正相关,而上述途径在肿瘤发生、发展中具有重要的作用,且进一步的研究发现,结直肠癌组织中 ISM1 表达较高的患者总生存期较短。ISM1 在肿瘤中的作用尚存在

争议,但这不能否定其在抗癌治疗中的潜力,且目前尚未有研究表明 ISM1 在肺部肿瘤中的作用及可能的作用机制,因此未来仍需要对 ISM1 进行深入研究。

三、ISM1 与肺部疾病

1. ISM1 与 ARDS/ 急性肺损伤 (ALI)

ALI 和 ARDS 具有性质相同的病理生理改变,严重的 ALI 或 ALI 的最终严重阶段被定义为 ARDS。ALI/ARDS 主要病理特征为肺微血管通透性增高而导致的肺水肿及透明膜形成,并伴有肺间质纤维化^[24]。肺微血管内皮细胞 (PMVEC) 的高通透性是 ARDS 的重要机制之一。研究显示,ISM1 在脂多糖 (LPS) 诱导的小鼠 ALI 肺组织中表达上调,ISM1 通过与 GRP78 相互作用导致 Src 激活,使内皮连接蛋白的酪氨酸磷酸化,从而升高内皮细胞单层通透性,促进 ALI 的发生^[20]。Li 等^[25]发现,当 PMVEC 与 ISM1 高度上调的原代 II 型肺泡上皮细胞 (AEC II) 共培养时,PMVEC 的通透性在缺氧条件下升高;而当 PMVEC 与 ISM1 低表达的 AEC II 共培养时,缺氧诱导的 PMVEC 单层高通透性明显减弱。此外,因为 ISM1 对已知的调节血管通透性的活性分子物质有潜在影响,推测 ISM1 还可间接调节内皮通透性。因此,ISM1 可能通过诱导内皮细胞凋亡、促进细胞间连接蛋白磷酸化及影响血管通透性的活性分子物质参与 ARDS 和 ALI 的透明膜和肺水肿的发生。然而,有学者通过 LPS 诱导的 ALI 小鼠模型研究发现,ISM1 缺乏导致 LPS 诱导后的 ALI 小鼠肺部炎症加剧,包括中性粒细胞和单核细胞来源的肺泡巨噬细胞在内的白细胞浸润增加,以及多种促炎细胞因子/趋化因子的上调,而局部气道给予 ALI 小鼠滴注重组 ISM1 后,可以通过抑制肺泡巨噬细胞 NF- κ B 活化有效地抑制 LPS 诱导的急性肺部炎症和 ALI^[26]。因此 ISM1 在 ALI 发病中的作用尚存在争议,可能与不同的给药方式有关,未来需要进一步的研究来阐明这一点。

2. ISM1 与 COPD

COPD 是肺内平衡紊乱、免疫反应失调的一种异质性肺部疾病。肺泡巨噬细胞 (AM) 在 COPD 的进展中发挥关键作用^[27]。研究显示,ISM1 基因敲除的自发性肺气肿小鼠以及 COPD 小鼠中 AM 数量增加,分泌基质金属蛋白酶和组织蛋白酶增多,但吞噬和清除功能受损,故 COPD 患者伴随持久

的肺部炎症,发生不可逆性的肺功能下降及进行性肺气肿^[28-29]。Lam 等^[29]研究发现,在 COPD 患者及香烟烟雾诱导的 COPD 小鼠肺组织中,ISM1 的表达与细胞凋亡数量呈正相关,进一步研究发现 ISM1 通过靶向 AM 表面高表达的 GRP78 介导细胞凋亡,抑制肺部炎症,阻止肺气肿的发展,并保护肺功能。因此,ISM1 可能通过诱导肺泡巨噬细胞凋亡维持肺内环境稳定,延缓 COPD 患者的病程进展,这为 COPD 提供了新的治疗策略。

3. ISM1 与肺纤维化

肺纤维化是肺泡损伤后组织修复异常导致细胞外基质 (ECM) 过度积累并替代正常实质,导致结构损伤、功能障碍的一种疾病^[30]。ALI 急性炎症后,肺进入修复和重塑,最终导致纤维化的发生。ISM1 基因敲除的小鼠肺表现出肺纤维化和瘢痕形成的加剧,这种肺纤维化加剧与促纤维化细胞因子转化生长因子- β (TGF- β) 的上调相关。TGF- β 是最有效的促纤维化诱导剂之一,通过招募和激活单核细胞和成纤维细胞以及诱导病变中 ECM 的沉积来加速肺纤维化的进展^[31]。研究显示,ISM1 缺乏导致 LPS 诱导后的 ALI 小鼠肺组织中的 TGF- β 上调,胶原蛋白过度积累,最终出现肺纤维化和瘢痕形成^[26]。因此,ISM1 在 ALI 的纤维化发生和发展过程中发挥重要作用,其具体机制和作用通路尚不明晰,仍需进一步探讨。

四、总结与展望

ISM1 作为一种分泌蛋白,在生长发育、代谢、免疫、肿瘤发生及发展等生理和病理过程中起着重要作用,与呼吸系统疾病也存在一定关联,然而其在呼吸系统疾病中的作用及机制尚未完全阐明,在未来的研究中仍需进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Li M, Yang Y, Ma Q, et al. Advances in research of biological functions of Isthmin-1 [J]. J Cell Commun Signal, 2023, 17 (3): 507-521.
- [2] Li C, Zhong S, Ni S, et al. Zebrafish Isthmin-1 is a novel antiviral factor that positively regulates antiviral immune responses [J]. Dev Comp Immunol, 2021, 125: 104210.
- [3] Hu M, Zhang X, Hu C, et al. A brief overview about the adipokine: Isthmin-1 [J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 939757.
- [4] Ganguly K, Rauth S, Marimuthu S, et al. Unraveling mucin domains in cancer and metastasis: when protectors become

- predators [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2020, 39 (3): 647-659.
- [5] Yoshimoto S, Katayama K, Suzuki T, et al. Regulation of N-glycosylation and secretion of Isthmin-1 by its C-mannosylation [J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2021, 1865 (3): 129840.
- [6] Shcherbakova A, Preller M, Taft M H, et al. C-mannosylation supports folding and enhances stability of thrombospondin repeats [J]. *eLife*, 2019, 8: e52978.
- [7] 黄晓梅, 王康玮, 唐万娜, 等. WISP-3/CNN6 与 Caspase-8 结合在高氧诱导肺上皮细胞凋亡中的作用及其机制 [J]. *新医学*, 2020, 51 (4): 267-273.
- Huang X M, Wang K W, Tang W N, et al. Role and mechanism of WISP-3/CNN6 binding with Caspase-8 in hyperoxia-induced lung epithelial cell apoptosis [J]. *J New Med*, 2020, 51 (4): 267-273.
- [8] Kesavan G, Raible F, Gupta M, et al. Isthmin1, a secreted signaling protein, acts downstream of diverse embryonic patterning centers in development [J]. *Cell Tissue Res*, 2021, 383 (3): 987-1002.
- [9] Heeren J, Scheja L. Isthmin 1-a novel insulin-like adipokine [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2021, 17: 709-710.
- [10] Gao G, Li X, Jiang Z, et al. Isthmin-1 (Ism1) modulates renal branching morphogenesis and mesenchyme condensation during early kidney development [J]. *Nat Commun*, 2023, 14 (1): 2378.
- [11] Osório L, Wu X, Wang L, et al. ISM1 regulates NODAL signaling and asymmetric organ morphogenesis during development [J]. *J Cell Biol*, 2019, 218 (7): 2388-2402.
- [12] Lansdon L A, Darbro B W, Petrin A L, et al. Identification of isthmin 1 as a novel clefting and craniofacial patterning gene in humans [J]. *Genetics*, 2018, 208 (1): 283-296.
- [13] Jiang Z, Zhao M, Voilquin L, et al. Isthmin-1 is an adipokine that promotes glucose uptake and improves glucose tolerance and hepatic steatosis [J]. *Cell Metab*, 2021, 33 (9): 1836-1852. e11.
- [14] Shimizu T, Takahashi Y, Fujita H, et al. Pick the best of both glucose and lipid metabolism [J]. *J Diabetes Investig*, 2022, 13 (7): 1132-1133.
- [15] Zhao M, Banhos Danneskiold-Samsøe N, Ulicna L, et al. Phosphoproteomic mapping reveals distinct signaling actions and activation of muscle protein synthesis by Isthmin-1 [J]. *eLife*, 2022, 11: e80014.
- [16] Wang J, Du J, Ge X, et al. Circulating Ism1 reduces the risk of type 2 diabetes but not diabetes-associated NAFLD [J]. *Front Endocrinol*, 2022, 13: 890332.
- [17] Xu M, Feng R, Feng R, et al. Glomerular filtration rate in patients with type 2 diabetes mellitus: is serum isthmin-1 level a possible link? [J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2023, 11 (4): e003402.
- [18] Rivera-Torruco G, Martínez-Mendiola C A, Angeles-Florian T, et al. Isthmin 1 is expressed by progenitor-like cells in the lung: phenotypical analysis of isthmin 1+ hematopoietic stem-like cells in homeostasis and during infection [J]. *J Immunol Res*, 2022, 2022: 2909487.
- [19] Kao C, Chandna R, Ghode A, et al. Proapoptotic cyclic peptide BC71 targets cell-surface GRP78 and functions as an anticancer therapeutic in mice [J]. *EBioMedicine*, 2018, 33: 22-32.
- [20] Shakhawat H M, Hazrat Z, Zhou Z. Isthmin-a multifaceted protein family [J]. *Cells*, 2022, 12 (1): 17.
- [21] Wang Y G, Wang T, Ding M, et al. hsa_circ_0091570 acts as a ceRNA to suppress hepatocellular cancer progression by sponging hsa-miR-1307 [J]. *Cancer Lett*, 2019, 460: 128-138.
- [22] Suman M, Dugué P A, Wong E M, et al. Association of variably methylated tumour DNA regions with overall survival for invasive lobular breast cancer [J]. *Clin Epigenetics*, 2021, 13 (1): 11.
- [23] Wu Y, Liang X, Ni J, et al. Effect of ISM1 on the immune microenvironment and epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 681240.
- [24] Saguil A, Fargo M V. Acute respiratory distress syndrome: diagnosis and management [J]. *Am Fam Physician*, 2020, 101 (12): 730-738.
- [25] Li J, Xia Y, Huang Z, et al. Novel HIF-1-target gene isthmin1 contributes to hypoxia-induced hyperpermeability of pulmonary microvascular endothelial cells monolayers [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2021, 321 (4): C671-C680.
- [26] Nguyen N, Xu S, Lam T Y W, et al. ISM1 suppresses LPS-induced acute lung injury and post-injury lung fibrosis in mice [J]. *Mol Med*, 2022, 28 (1): 72.
- [27] Liégeois M, Bai Q, Fievez L, et al. Airway macrophages encompass transcriptionally and functionally distinct subsets altered by smoking [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2022, 67 (2): 241-252.
- [28] Kotlyarov S. Involvement of the innate immune system in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (2): 985.
- [29] Lam T Y W, Nguyen N, Peh H Y, et al. ISM1 protects lung homeostasis via cell-surface GRP78-mediated alveolar macrophage apoptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119 (4): e2019161119.
- [30] Henderson N C, Rieder F, Wynn T A. Fibrosis: from mechanisms to medicines [J]. *Nature*, 2020, 587 (7835): 555-566.
- [31] Györfi A H, Matei A E, Distler J H W. Targeting TGF- β signaling for the treatment of fibrosis [J]. *Matrix Biol*, 2018, 68/69: 8-27.

(收稿日期: 2023-08-29)

(本文编辑: 林燕薇)