

过氧化体增殖物激活型受体在控制炎症反应中的作用

叶 平

(解放军总医院老年心内科, 北京市 100853)

[主题词] 炎症; 动脉粥样硬化; 受体; 细胞因子

[摘要] 过氧化体增殖物激活型受体为细胞核内受体大家族成员之一, 具有调节多种基因转录活性的功能。近年研究发现, 过氧化体增殖物激活型受体活化后可通过调节体内信息转导途径的活性抑制炎症反应。可以设想, 过氧化体增殖物激活型受体激活剂用于治疗慢性炎症性疾病, 特别是动脉粥样硬化性疾病将具有重要意义。

[中图分类号] R542.2

[文献标识码] A

动脉粥样硬化发病机制的研究经历了一个半世纪, 主要围绕脂质浸润学说、血栓形成学说和损伤反应学说。近年来提出动脉粥样硬化是一种炎症性疾病的学说, 其基本病理表现也有炎症病理的基本表现, 即变质、渗出和增生。因此, 抗炎性治疗为防治动脉粥样硬化的发生和发展开辟了新的途径。过氧化体增殖物激活型受体(peroxisome proliferator activated receptor, PPAR)是细胞核内受体大家族成员, 近年的研究显示 PPAR 可抑制体内炎症反应, 因此可能对慢性炎症性疾病, 特别是动脉粥样硬化性疾病的治疗具有重要意义。

1 过氧化体增殖物激活型受体的结构和一般功能

PPAR 属于核内受体大家族, 有三种亚型: PPAR α 、PPAR β (亦称 PPAR δ) 及 PPAR γ 。PPAR α 在肝细胞、心肌细胞、肠细胞及肾近曲小管细胞呈高水平表达, PPAR β 组织表达较广泛, 而 PPAR γ 主要在大肠、脂肪细胞和脾细胞中表达。PPAR γ 分为 $\gamma 1$ 和 $\gamma 2$ 两个异构体, 两者仅有 N 端序列不同, $\gamma 2$ 另有一个外显子编码的 30 个氨基酸序列, 更特异性地在脂肪细胞中表达。人类 PPAR α 有 468 个氨基酸残基, PPAR β 和 PPAR γ 分别由 441 个和 479 个氨基酸残基组成。

PPAR 由 4 个功能区组成, 即 A/B、C、D 和 E/F^[1], 其中 C 区和 E/F 区的氨基酸序列与该家族其他成员具有同源性。C 区或称 DNA 结合区, 有 66 个氨基酸, 其功能是使受体与目标基因的特殊 DNA 序列或反应元件结合; E/F 区或称配体结合区, 除与配体结合外还具有多种功能; A/B 区的 N 末端具有潜在的非受体依赖性转录激活功能; D 区则发挥重要的辅因子作用。PPAR 的主要功能是调节基因的转录活性。配体与 PPAR 结合诱导核受体发生形态改变而激活, 与视黄酸受体 X(retinoic X receptor, RXR) 或糖皮质激素受体形成异二聚体, 再结合于靶基因的特异性 DNA 序列而使靶基因活化, 此序列称为过氧化体增殖反应元件(peroxisome proliferation response element, PPRE)^[2]。靶基因的转录激活导致蛋白合成

和生物化学效应。PPRE 由两个 6 核苷酸聚合在一起的重复序列组成, 间隔一个核苷酸(DR-1)。PPAR 结合于 PPRE 的 DR-1 5' 端一半, RXR 则结合于 3' 端一半^[3]。近年来发现, PPAR 可以非 DNA 结合方式干扰 NF- κ B、信息转导和转录活化因子(signal transducer and activator of transcription, STAT), 以及活化蛋白-1(activator protein 1, AP-1) 信息转导途径而抑制基因转录^[4]。PPAR 可能通过蛋白质-蛋白质的相互作用, 或对辅因子的抑制作用来干扰这些信息转导途径。其他核受体, 如视黄酸受体和糖皮质激素受体也显示同样的功能。

脂肪酸可与三种异构形式的 PPAR 结合。多种长链脂肪酸是 PPAR α 的天然激活物, 其中以多不饱和脂肪酸的作用较强。最近的研究发现, 白三烯 B4 及 8-羟基二十碳四烯酸及前列腺素是 PPAR α 的天然配体, 前列腺素 J₂ 的代谢产物 5-脱氧- $\Delta^{12,14}$ 前列腺素 J₂ 是 PPAR γ 的天然配体^[5]。目前识别的天然配体均来自花生四烯酸的衍生物。人工合成的贝特类降脂药是 PPAR α 的激活物, 新型抗糖尿病药噻唑烷二酮(thiazolidinedione, TZD), 或称格列酮类, 是 PPAR γ 的高亲和力人工合成的配体^[5]。几种非甾体类抗炎药, 如消炎痛、氟灭酸和布洛芬也可与 PPAR α 及 PPAR γ 结合, 其抗炎活性源于抑制环氧酶 1 和 2。配体对不同的 PPAR 亚型的特异性是由于这些受体的配体结合区的同源性较弱。虽然某些贝特类药物和脂肪酸也可激活 PPAR δ , 但至今仍未确定何为 PPAR δ 的人工合成或天然配体。

2 过氧化体增殖物激活型受体 α 对炎症反应的抑制作用

体外细胞培养发现, 白三烯 B4 作为 PPAR α 的配体, 刺激后可诱导与 ω 及 β 氧化相关基因的转录活性, 提示 PPAR α 可能与炎症反应有关。随后体外实验和临床研究相继证实活化的 PPAR α 具有一定的抗炎作用。在离体试验中, 活化的 PPAR α 能分别抑制内皮细胞和单核细胞在细胞因子的诱导下分泌血管细胞粘附因子-1^[6] 和组织因子^[7], 并且显示 PPAR α 是在转录水平通过下调基因的表达而发挥作用。此外, PPAR α 激活剂还抑制平滑肌细胞表达环氧酶-2 和白介素-6(interleukin 6, IL-6), 单核细胞分泌肿瘤坏死因子- α

[收稿日期] 2001-11-27 [修回日期] 2002-04-18

[作者简介] 叶平, 女, 1953 年 12 月出生, 教授, 医学博士, 博士生导师, 主要从事脂代谢与动脉粥样硬化的基础和临床研究。

(tumor necrosis factor alpha, TNF α) 和白介素-2 (IL-2), 以及活化的巨噬细胞分泌一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 和 A 型清道夫受体^[8]。PPAR α 激活剂在体内抗炎作用的证据来自对 PPAR α 缺陷鼠的研究, 其表现为脂多糖刺激后炎症反应加剧, 而贝特类药物却不能抑制脂多糖诱导的 IL-6 基因的转录活性, 说明 PPAR α 激活剂的抗炎活性需要 PPAR α 的参与^[4]。Staels 等^[8] 在临床上使用 PPAR α 激活剂非诺贝特治疗冠心病伴高脂血症患者, 12 周后患者血液循环中炎症性细胞因子 C-反应蛋白、IL-6 和纤维蛋白原水平持续降低。Ca 型高脂蛋白血症患者采用非诺贝特治疗 1 个月, 血浆干扰素 γ 和干扰素 α 水平明显降低^[9]。以上提示对慢性炎症性疾病, 特别是动脉粥样硬化性疾病使用 PPAR α 激活剂可能带来明显的临床益处。

对 PPAR α 抗炎作用的细胞分子机制的进一步研究表明, PPAR α 拮抗炎症反应的作用机制在于抑制 NF- κ B 信息转导途径^[4]。事实上, PPAR α 与 NF- κ B 之间存在双向拮抗性。NF- κ B 抑制剂 I κ B α 控制 NF- κ B 活性, 贝特类药物诱导平滑肌细胞和肝细胞中 I κ B α 在 mRNA 和蛋白水平表达, 加速 NF- κ B 在细胞核的灭活, 从而抑制由 NF- κ B 驱动基因转录活性, 缩短炎症反应的持续时间^[10]。

Delerive 等^[11] 通过对启动子区的分析发现, PPAR α 激活剂不仅干扰 NF- κ B 活性, 而且还影响 AP-1 活性, 从而控制 IL-6 转录活性, 抑制炎症反应。进一步的研究显示, PPAR α 激活剂通过生理性干扰 c-Jun 氨基末端区域降低 AP-1 与 DNA 的结合活性。由于大多数致炎症性基因的转录活性受 NF- κ B 和 AP-1 信息转导途径的控制, PPAR α 激活剂可能参与对涉及炎症性疾病的多种基因的调控。

3 过氧化体增殖物激活型受体 γ 对炎症反应的抑制作用

越来越多的研究显示, PPAR γ 在炎症反应中发挥一定的作用。PPAR γ 激活剂可抑制单核细胞表达 IL-6 和 IL-1 β , 并可抑制巨噬细胞表达 iNOS、基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 和 A 型清道夫受体^[12,13]。PPAR γ 激活剂还可在内皮细胞中抑制干扰素诱导的 T 细胞 α 化学趋化因子和内皮素-1 的表达^[14]、IL-8 在大肠上皮细胞的表达和 IL-2 在 T 淋巴细胞中的表达^[15,16]。此外, Su 等^[16] 发现格列酮类药物具有明显的抑制肠道炎症反应的作用。Li 等^[17] 研究表明, 在动脉粥样硬化小鼠模型中, 格列酮类药物减少主动脉根部 TNF α 和明胶酶 B 的表达。而 Thieringer 等^[18] 未发现在 db/db 小鼠中格列酮类药物对脂多糖诱导的 TNF α 和 IL-6 表达水平有影响, 即使在较大的治疗浓度下也不能有效降低单核细胞和巨噬细胞中细胞因子水平, 对 PPAR γ 激活剂作为抗炎药物提出疑义。因此仍需要更多的在体研究以证实格列酮类药物是否也具有抗炎作用。

已有不少研究探讨 PPAR γ 激活剂抗炎反应可能的分子机制。Huang 等^[19] 体外研究显示, IL-4 通过激活 12/15 加氧化酶通路诱导巨噬细胞 PPAR γ 内源性配体的产生, 为 IL-4 介导 iNOS 表达的下调提供了分子基础。研究证明, PPAR γ

与 PPAR α 一样, 在转录水平抑制上述基因的表达。Ricote 等^[2] 通过体外基因转染研究表明, PPAR γ 激活剂对抗 AP-1、STAT1 及 NF- κ B 的信息转导途径, 从而抑制清道夫受体 A、iNOS 和 MMP-9 的表达。Chun 等^[20] 研究发现, PPAR γ 与 p65 和 p50 蛋白发生生理性相互作用, 抑制由 NF- κ B 驱动基因转录活性。在内皮素启动子区有一个 AP-1 结合区, PPAR γ 激活剂通过抑制 AP-1 与这一 DNA 结合区的结合活性干扰 AP-1 对内皮素启动子区转录活性的影响。体外实验研究发现, 罗格列酮可减少 JNK 的激活, 而核受体可能是通过调节 JNK 功能实现对 AP-1 活性的调节。PPAR γ 对 JNK 的调节可能是其抗炎作用的基础, 但目前对 PPAR γ 抑制激酶的分子机制仍所知甚少。

最近 Li 等^[21] 提出 PPAR γ 介导的 iNOS 转录抑制的模型假设。在这一模型中, PPAR γ 通过与 CBP 的 N 末端区域发生直接的相互作用, 以及通过 SRC-1 样连接因子作用于 CBP, 从而抑制 STAT1、AP-1 和 NF- κ B 转录活性。这种以限制辅因子来抑制基因转录活性的竞争性模型在既往有关其他核受体的研究中有报道。Yang 等^[15] 体外研究显示, PPAR γ 激活引起 T 淋巴细胞分泌 IL-2 减少, 而这种减少是由于活化的 T 淋巴细胞核因子与 PPAR γ 之间配体依赖性相互作用的结果。在上述研究提示性结果的基础上, 仍有必要进一步探讨 PPAR γ 介导的抑制 STAT1、AP-1 和 NF- κ B 活性的确切的分子机制。

4 小结

虽然过去十年中大多数的研究集中于探讨 PPAR 在调节体内能量代谢平衡中的重要作用, 但 PPAR 的作用决不仅于此。PPAR 在营养性和药理性因素的刺激下还可调节体内炎症反应。从营养学角度出发, 仍需要更多的研究来说明 PPAR 可否介导膳食中的某些脂肪酸改善机体免疫反应, 以及说明 PPAR 的活化是暂时性还是持续性减轻体内炎症反应。从药理学角度出发, 进一步对噻噻烷二酮的临床观察试验将有助于说明 PPAR γ 配体与 PPAR α 配体在人体内也同样具有抗炎作用。因此可以设想, 未来的研究将证实 PPAR 激活剂用于治疗慢性炎症性疾病, 如动脉粥样硬化性疾病可能具有重要的临床意义。

参考文献

- [1] Gearing KL, Crickmore A, Gustafsson JA. Structure of the mouse peroxisome proliferator activated receptor α gene. *Biochem Biophys Res*, 1994, **199**: 255-263
- [2] Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) and their effect on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochem Biophys Acta*, 1996, **1** **302**: 93-97
- [3] Upenberg A, Jeannin E, Wahli W, et al. Polarity and specific sequence requirements of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)/retinoid X receptor heterodimer binding to DNA. *J Biol Chem*, 1997, **272**: 20 108-111
- [4] Delerive P, Bosscher KD, Besnard S, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross-talk with transcription factors NF- κ B and AP-1. *J Biol Chem*, 1999, **274**: 32 048
- [5] Wilson MT, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptor agonists. *Curr Opin Chem Biol*, 1997, **1**: 235

- [6] Max N, Sukhova GK, Collins T, et al. PPAR alpha activators inhibit cytokine induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation*, 1999, **99**: 3 125-131
- [7] Neve BP, Corseaux D, Chinetti G, et al. PPAR alpha agonists inhibit tissue factor expression in human monocytes and macrophages. *Circulation*, 2001, **103**: 207-212
- [8] Staels B, Koenig W, Habib A, et al. Activation of human aortic smooth muscle cell is inhibited by PPAR alpha but not by PPAR gamma activators. *Nature*, 1998, **393**: 790
- [9] Madej A, Okopien B, Kowalski J, et al. Effects of fenofibrate on plasma cytokine concentrations in patients with atherosclerosis and hyperlipoproteinemia. *Int J Pharmacol Ther*, 1998, **36**: 345-349
- [10] Delerive P, Gervois P, Fruchart JC, et al. Induction of B2a expression as a mechanism contributing to the anti-inflammatory activities of PPAR alpha activators. *J Biol Chem*, 2000, **275**: 36 703-707
- [11] Delerive P, Martin-Nizard F, Chinetti G, et al. PPAR activators inhibit thrombin induced endothelin I production in human vascular endothelial cells by inhibiting the AP-1 signalling pathway. *Circ Res*, 1999, **85**: 394-402
- [12] Ricote M, Li AC, Willson TM, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature*, 1998, **391**: 79-82
- [13] Jiang C, Ting AT, Seed B. PPAR gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature*, 1998, **391**: 82
- [14] Max N, Mach F, Sauty A, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activators inhibit IFN-gamma induced expression of the T-cell-active CXC chemokines IP-10, Mig, and ITAC in the human endothelial cells. *Immunol*, 2000, **164**: 6 503-508
- [15] Yang XY, Wang LH, Chen T, et al. Activation of human T lymphocytes is inhibited by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J Biol Chem*, 2000, **275**: 4 541-544
- [16] Su GG, Wen X, Bailey ST, et al. A novel therapy for colitis utilizing PPAR gamma ligands to inhibit the epithelial inflammatory response. *J Clin Invest*, 1999, **104**: 383-389
- [17] Li Ac, Brown KK, Silvestre MJ, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit development of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest*, 2000, **106**: 523-31
- [18] Thieringer R, Fenyk-Melody JE, Grand CB, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma does not inhibit IL-6 or TNF-alpha response of macrophages to lipopolysaccharide in vivo and in vitro. *J Immunol*, 2000, **164**: 1 046-054
- [19] Huang JT, Welch JS, Ricote M, et al. Interleukin-4 dependent production of PPAR gamma ligands in macrophages by 12/15 lipoxygenase. *Nature*, 1999, **400**: 378-82
- [20] Chun SW, Kang BY, Kim SH, et al. Oxidized low density lipoprotein inhibits interleukin 12 production in lipopolysaccharide-activated mouse macrophages via direct interactions between PPAR gamma and NF-kappa B. *J Biol Chem*, 2000, **276**: 32 681-687
- [21] Li M, Pascual G, Glass CK. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma dependent repression of the inducible nitric oxide synthase gene. *Mol Cell Biol*, 2000, **20**: 4 699-707

(此文编辑 文玉珊)