

## Review Article

PPARs と免疫・炎症システム  
関節疾患治療への応用

川人 豊

京都府立医科大学第一内科

*The roles of PPARs in immune and inflammatory system: application for arthritic joint disease*

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs), are members of the nuclear hormone receptors superfamily of ligand-activated transcriptional factors that include receptors for steroids, thyroid hormone, vitamin D<sub>3</sub> and retinoic acid. PPAR binds to peroxisome proliferator responsive element (PPRE) as a heterodimer with the retinoic receptor (RXR) in the regulation of PPAR target genes. PPARs have been suggested to be important immunomodulatory factors as well as fatty acid regulators. PPARs modulate these activities in different immune cell types such as monocyte/macrophages, lymphocytes, and endothelial cells. PPAR- ligands lead to inhibition of the expression of nitric oxide, cytokines, chemokines and adhesion molecules, in part by antagonizing the activities of the transcription factors such as AP-1, and NF- $\kappa$ B. Moreover PPAR- ligands including anti-diabetic thiazolidinedione and 15-deoxy-<sup>12,14</sup>-prostaglandin J<sub>2</sub> have potent tumor modulatory effects against several cancers. PPAR- also expressed in chondrocytes, synovial and bone tissues. Activation of the PPAR-induced RA synoviocyte apoptosis and suppression of osteoclast differentiatoin *in vitro*, and ameliorated adjuvant-induced arthritis with suppression of pannus formation and mononuclear cell infiltration in rats. These findings suggest that PPAR- ligands may potentially be useful for the treatment of chronic inflammatory diseases including arthritic joint diseases.

Rec.1/29/2003, pp74-83

Yutaka Kawahito

First Department of Internal Medicine,  
Kyoto Prefectural University of Medicine**Key words** PPARs, immune function, inflammation, arthritic joint disease

## はじめに

近年、核内レセプターの研究が進み、リガンド未同定の核内レセプターいわゆるオーファン（孤児）レセプターが多数発見され、その機能が明らかにされつつある。その中でも、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体（peroxisome proliferator-activated receptor: PPAR）は、最も飛躍的に研究の進んだ核内レセプターの一つで、ステロイドホルモン、サイロイドホルモン、ビタミンD<sub>3</sub>、レチノイン酸と同様に、核内ホルモンレセプタースーパーファミリーに属する。PPARは、Greenらにより1990年に抗高脂血症薬のペルオキシソーム増殖剤（クロフィブレート）によって活性化される蛋白質をコードするクローンとして、マウスの肝臓のcDNAライブラリーより

スクリーニングされた<sup>1)</sup>。その後、PPARは単に脂肪分解に関与する細胞内小器官であるペルオキシソームの増殖作用だけでなく、ペルオキシソームが増殖する際の主要な様々な遺伝子を調節するリガンド誘導性の転写因子であることが判明した。すなわち、中性脂肪低下作用などの脂質代謝に加え、インスリン感受性増強作用などの糖質代謝、さらには、動脈硬化、免疫・炎症反応、細胞増殖、悪性腫瘍の制御機能などの様々な生理活性、生命の恒常性維持機能が存在し、そのリガンドは近年多くの疾患の治療に応用されつつある。

本稿では、PPARと免疫・炎症システムとの関連を中心に、関節リウマチ（rheumatoid arthritis: RA）を含めた関節炎に対する治療への応用について解説する。



図1 PPARの構造

PPARの構造は、N末端からC末端に向かい、A/B/C/D/E/Fの6つのドメイン構造よりなる。転写促進には、AF (Activation Function) 領域を含むA/B、E/Fドメイン、リガンド結合にはCドメイン、DNA結合にはE/Fドメイン、二量化にはCおよびE/Fドメインが関与する。

## PPARのisoform

PPARのisoformには、(ヒトではNUC1, マウスではFFAR: fatty acid activated receptor, カエルでは と呼ばれる), の3種類がある<sup>2)</sup>。PPAR- は、主に脂肪酸の利用度の高い臓器である肝臓, 心臓, 腎臓, 消化管に存在し脂肪酸の代謝, 特に脂肪酸酸化を調節する。PPAR- は、全身の組織に普遍的な発現が認められる反面, その生理機能については不明な点が多い。最近の報告では、大腸癌細胞に高発現し、発癌との関連が注目されるほか、脂質代謝や脳のエリリン形成、表皮細胞の増殖に密接な関与があるとされる<sup>3)</sup>。PPAR- は、脂肪組織に豊富に存在し、主に脂肪細胞の分化を調節する。PPAR- と- は、B cell, T cell, macrophage, dendritic cell などにも存在し、免疫系を調節する作用がある。PPAR- には、-1, -2, -3の3種類のアイソホームが存在する。-1と-3は相補的なsplicing variantであり、-2は他のアイソホームとはN末端に違いがある<sup>4)</sup>。-2は主に脂肪組織に存在し、-1は主に副腎、小腸、平滑筋細胞、腹腔内 macrophage に、-3は大腸や monocyte に存在する<sup>5)</sup>。

## PPARsの構造と遺伝子制御機構

PPARは、核内ステロイドホルモン受容体群の一種であり、レチノイドXレセプター (RXR) とヘテロ二量体を形成し、DNA結合領域である peroxisome proliferator responsive element (PPRE) と結合し、その下流域に存在する遺伝子発現を制御する。この制御機構は、PPARリガンド単独でも作用し、両方のリガンドで増強作用がある。PPREは、5' AGGTCA 3' 配列が1bpを隔てた直列2回繰り返し配列 (DR1) と2bpを隔てた直列2回繰り返し配

列 (DR2) からなる。その最適スペースは、1塩基対 (特にA残基のDR1) である。PPARの構造は、他の核内受容体と類似しており、N末端側から順に機能ドメイン (A/B ~ E/F) を区分することができる<sup>6)</sup> (図1)。N末端にはリガンド非依存性の転写制御ドメイン (AF1) を持つA/B領域があり、Znフィンガーモチーフを持ち標的遺伝子のPPREと結合するDNA結合領域 (DNA binding domain: DBD) であるC領域、立体構造変化により遺伝子制御を行う可変領域を持つD領域、C末端にはリガンド依存性の転写制御ドメイン (AF2) とリガンド結合領域 (ligand binding domain: LBD) を持つE/F領域からなる。

これらの構造は、リガンドの結合とコリプレッサー、コアクチベーターで遺伝子の発現制御を行うように構成されている。リガンド未結合状態では、コリプレッサーが会合してAF2をブロックし受容体の転写促進状態を抑制しているが、リガンドがLBDに結合しPPAR/RXRのheterodimer複合体を形成すると、コリプレッサーがはずれてPPREに結合し、次にコアクチベーターであるcAMP response element-binding protein (CBP)/p300や、steroid receptor co-activator 1 (SRC1) がAF2に結合し、転写促進に必要な複合体形成を誘導する (図2)。

## 免疫・炎症システム系におけるPPAR $\alpha$ (図3)

### 1. PPAR-

PPAR- は、多不飽和脂肪酸を中心に、オレイン酸やパルミチン酸といった飽和脂肪酸や単不飽和脂肪酸の一部や -3 fatty acid によっても活性化されるが、多不飽和脂肪酸については、PPAR- を活性化するものも多く、その

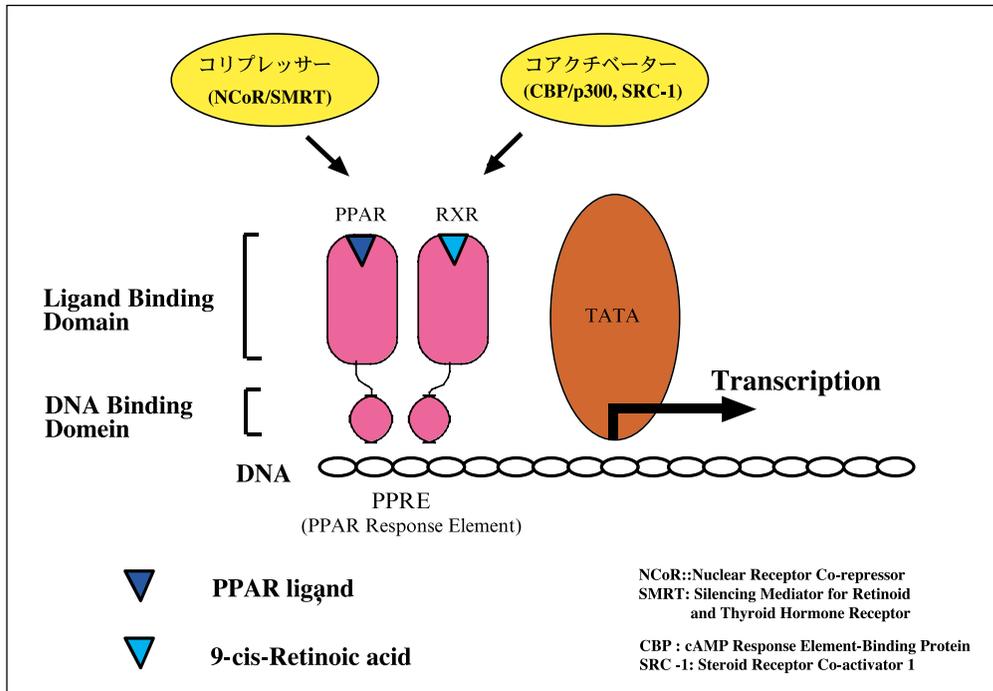


図2 PPAR/RXR heterodimerの転写活性化機構モデル  
PPARはRXRと二量体を形成し、コアクチベーター、コリプレッサーの影響を受けて、PPREに結合し、その下流域に存在する遺伝子発現を制御する。

1. PPAR- $\alpha$ : 脂肪酸代謝(主作用)、抗炎症作用、炎症惹起作用?
2. PPAR- $\beta$ : 皮膚の創傷治癒、大腸癌の発癌に関係
3. PPAR- $\gamma$ : 抗炎症作用、免疫系の調節作用
  - (1) ラジカル(NO)産生抑制作用
  - (2) サイトカイン(IL-1、IL-2、IL-6、TNF- $\alpha$ )産生抑制作用
  - (3) ケモカイン(MCP-1など)産生抑制作用
  - (4) 樹状細胞分化誘導作用
  - (5) Th2細胞への分化誘導作用
  - (6) ヘルパーT細胞、B細胞増殖抑制作用
  - (7) 血管新生抑制作用
  - (8) 細胞増殖調節作用(癌細胞、血管内皮細胞、滑膜細胞の細胞死誘導作用)

図3 PPARsリガンドの免疫・炎症系に対する作用

リガンド特異性については今後の検討が必要である。dehydroepiandrosterone (DHEA) とその関連蛋白のほか<sup>7)</sup>、もっとも結合能の高い非合成性リガンドとしては lipoxigenase の代謝産物である8-S-hydroxyeicosatetraenoic acid (8S-HETE) があり、合成リガンドとしてフィブラート系薬剤 (fenofibrate), Wyeth-14, 643, NSAIDs の一つであるインドメタシンなどがある。

様々なリガンドにより活性化されたPPAR- には抗炎症作用のあることがいくつかの報告によって明らかにされている。PPAR- ノックアウトマウスにおいて leukotriene B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) により惹起された炎症反応が野生型マウスに比較

し有意に増悪する。これはLTB<sub>4</sub>のクリアランスにPPAR- が必要であり、また、LTB<sub>4</sub>自身がPPAR- のアゴニストとして炎症を制御する作用がある可能性が指摘されている<sup>8)</sup>。PPAR- アゴニストは、老化動物モデルにおいて細胞内のredox バランスを修復させ、NF- $\kappa$ Bを介した炎症性サイトカインの産生を抑制する抗炎症作用もある<sup>9)</sup>。しかし、PPAR- アゴニストには上記の抗炎症作用だけでなく炎症惹起作用もあるとされ、その作用機序は複雑である。

## 2. PPAR-

PPAR- は先に述べたように、全身の組織に広く存在するが、その生理機能については不明な点が多く、独自の機能を有している。PPAR- は、大腸癌細胞に高発現し、adenomatous polyposis coli (APC) 制御下のカテニン/Tcf-4系によりその発現が制御され、非ステロイド性抗炎症薬(nonsteroidal anti-inflammatory drugs: NSAIDs) の一つで癌細胞抑制作用のあるslindacのターゲットとして注目された<sup>10)</sup>。また、血小板凝集抑制作用、血管拡張作用、痛覚や細胞増殖抑制作用、細胞保護活性作用などがあるプロスタサイクリン(Prostaglandin I<sub>2</sub>:PGI<sub>2</sub>)の合成アナログであるカルバプロスタサイクリンにより活性化されることも明らかになった<sup>11)</sup>。他のeicosanoidとしては、PGA<sub>1</sub>やPGD<sub>2</sub>もリガンドである。PPAR- ノックアウトマウスは、90%が胎生致死であ

るが、出生したマウスでは、脳のエリニン形成異常、野生型と比較し脂質代謝異常として全身の脂肪の量が少なく体重増加が小さい以外にも、表皮の過形成が認められた<sup>3)</sup>。皮膚の炎症時にサイトカインの増加とともに内因性PPAR-が増加、keratinocyteの増殖とanti-apoptotic genesの活性pro-apoptotic genesの抑制が認められ、皮膚における創傷治癒において重要な役割を果たすとも考えられている<sup>12)</sup>。

### 3. PPAR-

PPAR- リガンドとしては、多不飽和脂肪酸として食事由来のリノール酸、 $\alpha$ -リノール酸、エイコサペンタン酸、アラキドン酸などがあるが、これらは、PPAR- のリガンドにもなりえるが、その結合能力は弱い。より強力なリガンドとしては、脂肪組織でのインスリン感受性を増強させ糖尿病の治療薬として広く臨床応用されているチアゾリジン誘導体や、アラキドン酸カスケードの代謝産物である 15-deoxy-<sup>12,14</sup>-prostaglandin J<sub>2</sub> (15d-PGJ<sub>2</sub>)、12-, 15-hydroxy-eicosatetraenoic acid (HETE)、NSAIDsなどがある。

#### 1) PPAR- と免疫・炎症システム

PPAR- リガンドは、多くの生理学的機能を有する。チアゾリジン誘導体や 15d-PGJ<sub>2</sub> は、macrophage, monocyte, epithelial cell など多種の細胞において、AP-1, NF- $\kappa$ B などの転写因子の発現を抑制し、一酸化窒素 (NO) や IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  などのサイトカインや産生を抑制するほか<sup>2)</sup>, monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 の産生や<sup>13)</sup>, matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) の発現を抑制する<sup>14)</sup>。AP-1, NF- $\kappa$ B などの転写因子の発現を抑制する機序には以下の3つが考えられている。AP-1, NF- $\kappa$ B と PPAR- のコアクチベーターは CBP/p300 など共通するものが多く、活性化された PPAR- と RXR とヘテロ二量体へのコアクチベーターの結合で、コアクチベーターの AP-1, NF- $\kappa$ B への結合抑制が生じる<sup>15)</sup>。

AP-1, NF- $\kappa$ B などの転写因子自身が PPAR- と RXR とヘテロ二量体に結合し DNA への結合が阻害される<sup>16)</sup>。

活性化された PPAR- と RXR とヘテロ二量体が c-Jun N-terminal kinase や p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) などの cascade の活性化を抑制し、転写因子系を抑制的に制御する<sup>17)</sup>、などである。

PPAR- の免疫担当細胞での発現と機能は多様である。PPAR- は末梢血の monocyte には発現せず、IL-4, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor macrophage (GM-CSF), macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) により分化し活性化した macrophage に発現し<sup>18)</sup>、分化した macrophage には CD-14 や CD-68 の発現も誘導される。そのリガンドは lipopolysaccharide (LPS) や CD40

ligand (CD40L) による dendritic cell の成熟をうながす<sup>19)</sup>。また、PPAR- は、macrophage の scavenger receptor である CD36 の発現を調節し、アポトーシスに陥った細胞の処理をうながし、ネクローシスへの進行を防ぐ<sup>20)</sup>。

PPAR- は、B, T cell にも存在する<sup>21,22)</sup>。PPAR- は、非活動性 (non-resting) T cell に強く発現し、T cell が活性化されると急速にその発現が低下するが、PPAR- は逆に非活動性 T cell での発現は弱く、T cell の活性化によりその発現が増強する<sup>23,24)</sup>。PPAR- が活性化されると、IL-2 の発現が減弱するが、これは NFAT や NF- $\kappa$ B の IL-2 promoter への結合抑制やアポトーシスの影響とされる<sup>25,26)</sup>。また、PPAR- アゴニストは T cell や NK cell での IFN- $\gamma$  の産生も低下させ<sup>27)</sup>、macrophage における IL-12 の産生抑制や Th1 cell の recruitment に関わるケモカインである IFN- $\gamma$ -inducible protein-10 (CXCL10) や RANTES (CCL5) を抑制し、Th2 cell に関わるケモカインを増強させるなど<sup>19,24)</sup>、Th2 cell の分化と誘導をうながす。また、Th2 サイトカインである IL-4 は、T cell に PPAR- の発現を増強させ<sup>26)</sup>、PPAR- は Th1 cell より Th2 cell に高発現することなどから<sup>28)</sup>、PPAR- の Th2 cell での多様な機能がうかがえる。B cell 系については PPAR- のヘテロノックアウトマウス (PPAR- <sup>-/-</sup> mice) を用いたリンパ球系の機能の検討では、B 細胞の増殖と I B のリン酸化や NF- $\kappa$ B 活性化による B 細胞の過剰反応が存在し、PPAR- リガンドの投与でこの B cell の増殖を抑制した<sup>29)</sup>。また、PPAR- リガンドは正常 B cell や B cell lymphoma に細胞傷害活性と増殖抑制作用を有していることが明らかにされている<sup>22)</sup>。

#### 2) PPAR- と 15d-PGJ<sub>2</sub>

15d-PGJ<sub>2</sub> はアラキドン酸カスケードにおいてシクロオキシゲナーゼ系の PGD<sub>2</sub> の代謝産物であり、<sup>12</sup>-PGJ<sub>2</sub> 自身は血清中で容易に PGD<sub>2</sub> より変換される。近年 PGE<sub>2</sub> 合成酵素が同定されたが、15d-PGJ<sub>2</sub> の誘導酵素は、現在まで同定されていない。15d-PGJ<sub>2</sub> は内因性の PPAR- のリガンドとされ、チアゾリジン誘導体などの合成 PPAR- リガンドと同様、上述のごとく多様な抗炎症作用や免疫作用を持つが、純粋な PPAR- のリガンドとしての作用以外の機序が存在する。たとえば、15d-PGJ<sub>2</sub> は SRC-1,  $\beta$ 2, P300 と反応するがチアゾリジン誘導体はこれらと反応せず<sup>30)</sup>、PPAR- とは無関係な I B kinase の抑制や細胞膜レセプターを介して抗炎症作用を持つ<sup>31)</sup>。細胞膜レセプターとしては、PGD<sub>2</sub> レセプターや Th2 cell の膜表面に存在する chemoattractant receptor-homologous molecule で膜貫通型 G 蛋白共有 PGD<sub>2</sub> レセプターである CRTH2 を介する機序が考えられている<sup>32)</sup>。最近、カラゲニン胸膜

炎モデルで、炎症の早期には、誘導型COXであるCOX-2が産生されるが、炎症の治癒期においてもCOX-2は炎症の早期に比較し5倍も発現が増強され、それに伴いPGE<sub>2</sub>の産生は増強されないが、15d-PGJ<sub>2</sub>が誘導されることが報告されている<sup>33)</sup>。炎症の治癒期に産生誘導されるCOX-2は、15d-PGJ<sub>2</sub>を産生する新たなCOXのアイソザイムである可能性が示唆される。また、15d-PGJ<sub>2</sub>には5個の異性体が存在し、このうち2個は産生が量的に少ないが非常に強い活性をもっている<sup>34)</sup>。

現在PG製剤は慢性閉塞性動脈硬化症や、胃潰瘍、陣痛促進剤など様々な分野での治療薬として使用されており、近い将来、PPAR- を介する作用のみならず、他の多様な作用を持つ15d-PGJ<sub>2</sub>自身が新しい抗炎症薬や抗癌剤として臨床応用されることであろう。

### 3) PPAR- と NSAIDs

NSAIDsの抗炎症作用にはcyclooxygenase (COX) 活性、PG産生阻害のみでは説明できない現象もあり、これらの作用機序以外のものが以前より示唆されている。実際 *in vitro* のCOX抑制効果に対して、*in vivo*での抗炎症効果発現には高容量のNSAIDsが必要である。COX活性阻害以外の作用機序として、AP-1、NF- $\kappa$ Bの転写因子の発現を抑制する作用や、PPAR-、特にPPAR-が核内レセプターとして作用するほか、15d-PGJ<sub>2</sub>と同様にTh2 cellの膜表面に存在するG蛋白共有PGD<sub>2</sub>レセプターであるCRTH2を介する機序が知られている<sup>35)</sup>。たとえば、アスピリンにはPPAR-を介する作用は認められていないが、インドメタシンは、AP-1、NF- $\kappa$ Bの転写因子の発現を抑制せず、PPAR-を活性化することが知られている<sup>36)</sup>。NSAIDsのPPAR-活性化能は各薬剤により様々でCOX-1/COX-2選択性とは関係がないが、多種の癌細胞の増殖抑制、アポトーシス誘導機序を含めてNSAIDsの細胞増殖調節機序にはPPAR-がターゲットの一つと考えられる<sup>30, 37)</sup>。

## 抗リウマチ薬としてのPPAR- リガンド

関節リウマチ(RA)は、滑膜組織内の免疫異常による慢性炎症と血管新生を伴う滑膜増殖による結果、軟骨・骨破壊を生じる慢性の破壊性の関節疾患である。RAの病因には、特にmacrophage由来のサイトカインであるIL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ や、Th1サイトカインであるIFN- $\gamma$ 、IL-2や、滑膜細胞の腫瘍様増殖が深く関与している。PPAR- リガンドには、これらmacrophage由来のみならず滑膜細胞由来のIL-1、TNF- $\alpha$ などのサイトカイン産生抑制作用のほか<sup>38)</sup>、Th1 cell由来のIFN- $\gamma$ 、IL-2の抑制、Th2 cellに関わるケモカインの増強、線維芽細胞や血管内皮細胞にアポトー

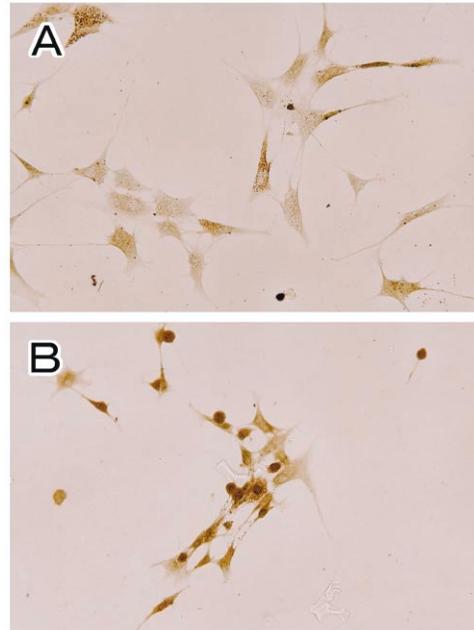


図4 PPAR- リガンドによる滑膜培養細胞の増殖抑制効果

関節リウマチ患者の滑膜培養細胞で細胞質中心に染色されるPPAR-は(A)、PPAR- リガンドである15d-PGJ<sub>2</sub>(20 $\mu$ M)の12時間添加培養(B)により、核内移行して活性化し、滑膜培養細胞を円形化させ細胞死を誘導する

シスを誘導する作用があり、*in vivo*においても血管新生を抑制することが知られている<sup>2)</sup>。また、大腸癌、前立腺癌、乳癌細胞などの癌細胞に対しては、脂肪細胞への分化やアポトーシスを誘導することにより、癌細胞増殖抑制作用が認められている<sup>2)</sup>。

古くから、エスキモー人にはRAの発症が少なく、PPAR- と のリガンドである不飽和脂肪酸を含む魚油の摂取がRAの関節炎症状や活動性を改善することや<sup>39)</sup>、RAに抑制的に働くTh2サイトカインであるIL-4がmacrophageのPPAR-の発現を誘導することなどから<sup>18)</sup>、PPAR- リガンドのRAへの治療の応用が考えられる。

筆者らのPPAR-の抗体を用いた免疫染色による検討では、RAの関節滑膜組織では、PPAR-は滑膜の表層細胞、炎症性単核球、血管内皮細胞、線維芽細胞にその発現が認められ、特に炎症性単核球での発現は非常に強く、CD68に対する抗体とPPAR-に対する抗体との2重染色で、PPAR-陽性細胞はmacrophage系細胞であることが明らかになった。変形性関節症ではその発現は弱いものの、滑膜の表層細胞や少数の単核球にその存在が認められた。また、RAの滑膜培養細胞でもPPAR-のmRNAと蛋

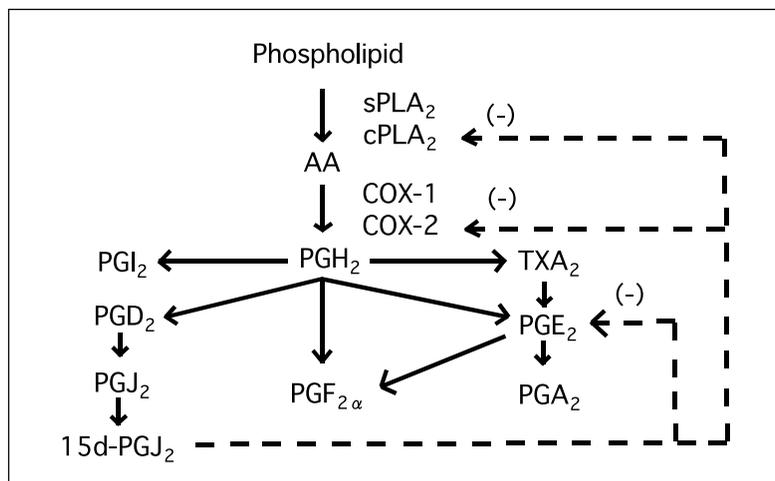


図5 滑膜細胞のcyclooxygenase系アラキドン酸カスケード制御機構

15dPGJ<sub>2</sub>はcPLA<sub>2</sub>, COX-2を抑制することにより, PGE<sub>2</sub>の産生を抑制する.

sPLA<sub>2</sub>: secretory phospholipase A<sub>2</sub>

cPLA<sub>2</sub>: cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>

COX: cyclooxygenase

PG: prostagalandin

AA: arachidonic acid

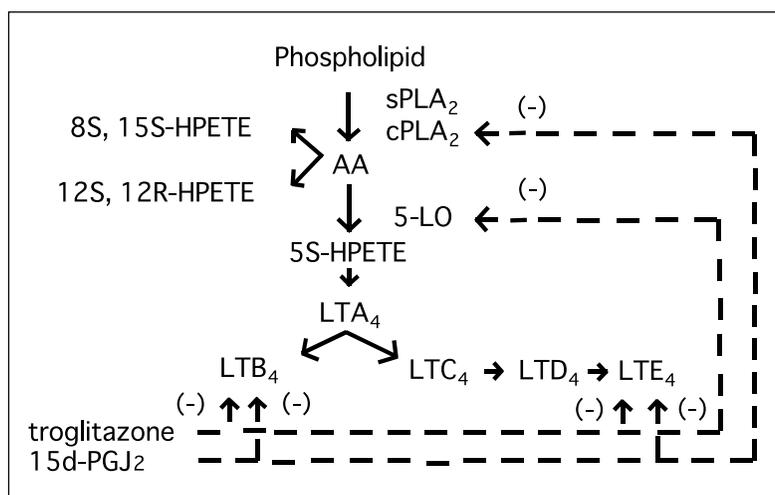


図6 滑膜細胞のlipoxygenase系アラキドン酸カスケード制御機構

15dPGJ<sub>2</sub>はcPLA<sub>2</sub>を, Troglitazoneは5-LOを抑制することにより, LTの産生を抑制する.

5-LO: 5-lipoxygenase

LT: leukotriene

HETE: hydroxyeicosatetraenoic acid

AA: arachidonic acid

白の発現が認められ, PPAR- リガンドであるチアゾリジン誘導体の Troglitazone と 15d-PGJ<sub>2</sub> を添加し 24 時間培養すると, 未刺激の滑膜細胞で細胞質に存在していた PPAR- は核内に移行し, アポトーシスを誘導してその増殖を抑制する<sup>40)</sup>(図4). これは, PPAR- リガンド自身が PPAR- を核内に移行させ活性化して滑膜細胞に作用することを意味し, 線維芽細胞の一つでもある滑膜細胞が脂肪細胞へ分化することも報告されている<sup>41)</sup>.

これに対し PPAR- $\gamma$  の発現は非常に弱く PPAR- のリガンドであるベザフィブラートでは滑膜培養細胞の増殖抑制は認められず, 関節滑膜組織では, PPAR- が薬理, 生理作用の主体をなすものと考えられる. さらに RA のモデルであるラットの アジュバント 関節炎 を作成し, 関節炎発症後に Troglitazone と 15d-PGJ<sub>2</sub> を腹腔内投与すると 関節炎や骨破壊が抑えられ, 組織学的検討でも関節組織の炎症性単核球浸潤, パンヌス形成を有意に抑制し得た. ただし, Troglitazone はヒトでインスリン感受性を増強させる投与量と比較すると 100 倍以上の高容量の投与が必要で

あり, ヒトでの抗関節炎治療薬としての応用については次世代の PPAR- リガンドの開発が必要と考えられる<sup>40)</sup>.

Setoguchi らは, 最近 PPAR- のヘテロノックアウトマウス (PPAR-<sup>-/-</sup>mice) を作製し, B 細胞の過剰反応と増殖, さらに methyl BSA 誘導性の関節炎では, 野生型と比較し, 関節炎を増悪させることを明らかにした<sup>29)</sup>. このことは, PPAR- が B リンパ球を中心とした免疫系に影響を与えることや, 関節炎の発症に重要な役割を果たしていることを示している.

### PPAR- リガンドのアラキドン酸カスケード制御機構

RA 滑膜培養細胞に IL-1 を投与すると, cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>), cyclooxygenase (COX)-2 が誘導され, RA の病態の炎症メディエーターとして重要な PGE<sub>2</sub> が産生される. この滑膜細胞のアラキドン酸カスケード機構は, 関節軟骨のびらんや血管新生など, RA の病因において重要な働きをしている. 15d-PGJ<sub>2</sub> 自身アラキドン酸カス

ケード産物であることより、その制御機構の複雑性が推測される。

筆者らの検討では、IL-1 添加時に細胞死を誘導しない条件で 15d-PGJ<sub>2</sub> を投与すると、COX-2、cPLA<sub>2</sub> の発現が用量依存的に抑制され、その結果、PGE<sub>2</sub> の産生が抑制された。この時、COX-1 や secretory phospholipase A2 (sPLA<sub>2</sub>) の発現に変化はない。また、Troglitazone を高濃度投与しても、COX-2、cPLA<sub>2</sub>、PGE<sub>2</sub> の発現は抑制されないことから、15d-PGJ<sub>2</sub> は PPAR- $\alpha$  介さずにこれらの発現を制御していることが示された (図 5)。一方、lipoxygenase 系においては、Troglitazone は 5-lipoxygenase を抑制し、その産物である leukotriene B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>)、cysteinyl-leukotrienes (Cys-LT: LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, and LTE<sub>4</sub>) の産生を抑制した。15d-PGJ<sub>2</sub> の LTB<sub>4</sub>、Cys-LT の産生抑制作用は Troglitazone に比較し弱く、5-lipoxygenase の抑制作用はないことから、15d-PGJ<sub>2</sub> は cPLA<sub>2</sub> の発現抑制の結果 LTB<sub>4</sub>、Cys-LT を抑制したものと考えられた (図 6)。

このように、15d-PGJ<sub>2</sub> と Troglitazone は、滑膜培養細胞のアラキドン酸カスケードにおいて異なる制御作用を持ち、特に 15d-PGJ<sub>2</sub> は、PPAR- $\alpha$  介さずに COX-2 ならずも cPLA<sub>2</sub> の発現を抑制し、関節滑膜での PGs の発現をコントロールし、炎症や滑膜の増殖を強力に抑制しうることが明らかになった<sup>42)</sup>。滑膜細胞以外では、15d-PGJ<sub>2</sub> は、macrophagelike cell line である J774 で COX-2 の発現を抑えることが報告されている<sup>43)</sup>。ただし、oxidized low density lipoprotein (LDL) やチアゾリジン誘導体である rosiglitazone はヒトの monocyte で COX-2 の発現増強させる報告もある<sup>44)</sup>。

## PPAR- $\alpha$ と骨・軟骨代謝

関節軟骨の破壊は、関節リウマチや変形性関節症などの関節疾患において疾患活動性の重要な指標である。変形性関節症では軟骨からは NO が産生され、軟骨の破壊が進展するため、NO の産生酵素である inducible NO synthase (iNOS) を抑制させると関節の炎症が改善する。NO にはコラーゲンやプロテオグリカンなどの合成抑制作用や matrix metalloproteinases (MMPs) の活性化作用を有し、軟骨細胞に対してアポトーシスを誘導する。native collagen の結合を解離させる MMPs とくに MMP-13 の作用が軟骨の変性においては重要で、この作用は MMP-1 や MMP-8 に比較し 5 ~ 10 倍強い。ラットやヒトの軟骨細胞には PPAR- $\alpha$  が発現しており、15d-PGJ<sub>2</sub> や他の PPAR- $\alpha$  アゴニストはヒト軟骨培養細胞において、IL-1、TNF- $\alpha$ 、IL-17 による NO や MMP-13 の産生を抑制する。これは、NF- $\kappa$ B や AP-1 を介する転写シグナルの活性に重要な mitogen-activated protein kinase kinase 1 (MEKK1) の抑制効果による

ものとされる<sup>45)</sup>。さらに、ラットの軟骨細胞では、IL-1、TNF- $\alpha$  による MMP-3、-9 の産生やプロテオグリカンの変性を抑制する<sup>46)</sup>。すなわち、変形性関節症における滑膜組織での PPAR- $\alpha$  の発現は弱いながら、軟骨細胞において強く発現し、そのリガンドは軟骨の変性を抑制することが考えられる。また、15d-PGJ<sub>2</sub> は、ヒト培養軟骨細胞で IL-1 刺激により誘導された COX-2 と PGE<sub>2</sub> の産生を抑制するが、COX-2 inducer 刺激のない場合は、COX-2 と PGE<sub>2</sub> の産生を増強させる。このことは、15d-PGJ<sub>2</sub> が炎症刺激のない場合、生理的な軟骨代謝に何らかの作用をしていることが推測される<sup>47)</sup>。骨代謝については、未分化間葉系細胞では PPAR- $\alpha$  リガンドが Osf2/Cbfa1 を抑制し脂肪細胞に分化させるが<sup>48)</sup>、骨芽細胞の Cell Line の分化を誘導する機能もあり、比較的高濃度で分化を抑制する<sup>49)</sup>。逆に骨吸収では、15d-PGJ<sub>2</sub> が exogenous osteoprotegerin ligand (OPGL) による NF- $\kappa$ B 発現を低下させ、破骨細胞の分化を抑制し<sup>50)</sup>、骨吸収を抑制する<sup>51)</sup>。

筆者らのアジュバント関節炎ラットモデルでの検討では、PPAR- $\alpha$  リガンドが滑膜での炎症抑制に加えて骨破壊を抑制することも明らかにされている<sup>40)</sup>。これらのことより、PPAR- $\alpha$  の骨・軟骨代謝における役割は、サイトカインや免疫学的機序で関節に炎症が生じた場合の骨・軟骨変性抑制作用と、生理的な状態での骨代謝に対する作用の二面があり、今後さらなる検討が必要と考えられる。

## おわりに

PPAR には、免疫・炎症システムに多様な機能を持ち、その調節を行っている。しかし、その作用機序には未だ未解明な部分も多い。また、内因性リガンドの候補も近年増加傾向にあり、チアゾリジン誘導体ではない PPAR- $\alpha$  リガンドも存在し、生活習慣病を含めて多くの免疫・炎症疾患の治療に応用されることであろう。関節疾患においては、関節組織内での PPAR- $\alpha$  の発現が認められ、そのリガンドの骨・軟骨に対する作用を含めた抗関節炎作用を持つことが明らかになってきており、今後、新しい PPAR- $\alpha$  のリガンドや PPAR- $\alpha$  をターゲットとした創薬の開発もすすめられ、骨軟骨疾患の治療薬の開発もますます発展することが予測される。

## 文 献

- 1) Issemann I, Green S: Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferator. *Nature*, 347: 645-650, 1990.
- 2) Vamecq J, Latruffe N: Medical significance of peroxisome proliferator-activated receptors. *Lancet*, 354: 141-148, 1999.

- 3) Peters JM, Lee SS, Li W, Ward JM, Gavrilova O, Everett C, Reitman ML, Hudson LD, Gonzalez FJ: Growth, adipose, brain, and skin alterations resulting from targeted disruption of the mouse peroxisome proliferator-activated receptor beta ( $\delta$ ). *Mol Cell Biol*, 20(14): 5119-5128, 2000.
- 4) Tontonoz P, Hu E, Graves RA, Spiegelman BM: mPPAR 2: tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Gene Dev*, 8: 1224-1234, 1994.
- 5) Fajas L, Fruchart JC, Auwerx J: PPAR 3 mRNA: a distinct mRNA subtype transcribed from an independent promoter. *FEBS Lett*, 438: 55-60, 1998.
- 6) Rosen ED, Spiegelman B: PPAR : a nuclear regulator of metabolism, differentiation, and cell growth. *J Biol Chem*, 276: 37731-37734, 2001.
- 7) Spencer NF, Poynter ME, Hennebold JD, Mu HH, Daynes RA: Does DHES restore immune competence in aged animals through its capacity to function as a natural modulator of peroxisome activities? *Ann NY Acad Sci*, 774: 200-216, 1995.
- 8) Devchand PR, Keller H, Peters JM, Vazquez M, Gonzalez FJ, Wahli W: The PPAR $\alpha$ -leukotriene B<sub>4</sub> pathway to inflammation control. *Nature*, 384(6604): 39-43, 1996.
- 9) Poynter ME, Daynes RA: Peroxisome-activated receptor-activation in modulates cellular redox status, repress nuclear factor- $\kappa$ B signaling and reduces inflammatory cytokine production in aging. *J Biol Chem*, 273: 32833-32841, 1998.
- 10) He TC, Chan TA, Vogelstein B, Kinzler KW: PPAR $\delta$  is an APC-regulated target of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cell*, 99(3): 335-345, 1999.
- 11) Hatae T, Wada M, Yokoyama C, Shimonishi M, Tanabe T: Prostacyclin-dependent apoptosis mediated by PPAR  $\delta$ . *J Biol Chem*, 276(49): 46260-46267, 2001.
- 12) Tan NS, Michalik L, Noy N, Yasmin R, Pacot C, Heim M, Fluhmann B, Desvergne B, Wahli W: Critical roles of PPAR beta/ $\delta$  in keratinocyte response to inflammation. *Genes Dev*, 15(24): 3263-3277, 2001.
- 13) Kintscher U, Goetze S, Wakino S, Kim S, Nagpal S, Chandraratna RA, Graf K, Fleck E, Hsueh WA, Law RE: Peroxisome proliferator-activated receptor and retinoid X receptor ligands inhibit monocyte chemotactic protein-1-directed migration of monocytes. *Eur J Pharmacol*, 401(3): 259-270, 2000.
- 14) Delerive P, Fruchart JC, Staels B: Peroxisome proliferator-activated receptors in inflammation control. *J Endocrinol*, 169(3): 453-459, 2001.
- 15) Li M, Pascual G, Glass CK: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent repression of the inducible nitric oxide synthase gene. *Mol Cell Biol*, 20(13): 4699-4707, 2000.
- 16) Delerive P, Martin-Nizard F, Chinetti G, Trottein F, Fruchart JC, Najib J, Duriez P, Staels B: Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit thrombin-induced endothelin-1 production in human vascular endothelial cells by inhibiting the activator protein-1 signaling pathway. *Circ Res*, 85(5): 394-402, 1999.
- 17) Desreumaux P, Dubuquoy L, Nutten S, Peuchmaur M, Englaro W, Schoonjans K, Derijard B, Desvergne B, Wahli W, Chambon P, Leibowitz MD, Colombel JF, Auwerx J: Attenuation of colon inflammation through activators of the retinoid X receptor (RXR)/peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) heterodimer. A basis for new therapeutic strategies. *J Exp Med*, 193(7): 827-838, 2001.
- 18) Huang JT, Welch JS, Ricote M, Binder CJ, Willson TM, Kelly C, Witztum JL, Funk CD, Conrad D, Glass CK: Interleukin-4-dependent production of PPAR-gamma ligands in macrophages by 12/15-lipoxygenase. *Nature*, 400(6742): 378-382, 1999.
- 19) Gosset P, Charbonnier AS, Delerive P, Fontaine J, Staels B, Pestel J, Tonnel AB, Trottein F: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activators affect the maturation of human monocyte-derived dendritic cells. *Eur J Immunol*, 31(10): 2857-2865, 2001.
- 20) Li M, Carpio DF, Zheng Y, Bruzzo P, Singh V, Ouaz F, Medzhitov RM, Beg AA: An essential role of the NF- $\kappa$ B/Toll-like receptor pathway in induction of inflammatory and tissue-repair gene expression by necrotic cells. *J Immunol*, 166(12): 7128-7135, 2001.
- 21) Harris SG, Phipps RP: The nuclear receptor PPAR gamma is expressed by mouse T lymphocytes and PPAR gamma agonists induce apoptosis. *Eur J Immunol*, 31(4): 1098-1105, 2001.
- 22) Padilla J, Kaur K, Cao HJ, Smith TJ, Phipps RP: Peroxisome proliferator activator receptor-gamma agonists and 15-deoxy-Delta(12,14)(12,14)-PGJ(2) induce apoptosis in normal and malignant B-lineage cells. *J Immunol*, 165(12): 6941-6948, 2000.
- 23) Jones DC, Ding X, Daynes RA: Nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR $\alpha$ ) is

- expressed in resting murine lymphocytes. The PPARalpha in T and B lymphocytes is both transactivation and transrepression competent. *J Biol Chem*, 277(9): 6838-6845, 2002.
- 24) Clark RB, Bishop-Bailey D, Estrada-Hernandez T, Hla T, Puddington L, Padula SJ: The nuclear receptor PPAR gamma and immunoregulation: PPAR gamma mediates inhibition of helper T cell responses. *J Immunol*, 164(3): 1364-1371, 2000.
- 25) Harris SG, Phipps RP: The nuclear receptor PPAR gamma is expressed by mouse T lymphocytes and PPAR gamma agonists induce apoptosis. *Eur J Immunol*, 31(4): 1098-1105, 2001.
- 26) Yang XY, Wang LH, Chen T, Hodge DR, Resau JH, DaSilva L, Farrar WL: Activation of human T lymphocytes is inhibited by peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) agonists. PPARgamma co-association with transcription factor NFAT. *J Biol Chem*, 275(7): 4541-4544, 2000.
- 27) Cunard R, Ricote M, DiCampli D, Archer DC, Kahn DA, Glass CK, Kelly CJ: Regulation of cytokine expression by ligands of peroxisome proliferator activated receptors. *J Immunol*, 168(6): 2795-2802, 2002.
- 28) Chtanova T, Kemp RA, Sutherland AP, Ronchese F, Mackay CR: Gene microarrays reveal extensive differential gene expression in both CD4(+) and CD8(+) type 1 and type 2 T cells. *J Immunol*, 167(6): 3057-3063, 2001.
- 29) Setoguchi K, Misaki Y, Terauchi Y, Yamauchi T, Kawahata K, Kadowaki T, Yamamoto K: Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma haploinsufficiency enhances B cell proliferative responses and exacerbates experimentally induced arthritis. *J Clin Invest*, 108: 1667-1675, 2001.
- 30) Kodera Y, Takeyama K, Murayama A, Suzawa M, Masuhiro Y, Kato S: Ligand type-specific interactions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma with transcriptional coactivators. *J Biol Chem*, 275(43): 33201-33204, 2000.
- 31) Rossi A, Kapahi P, Natoli G, Takahashi T, Chen Y, Karin M, Santoro MG: Anti-inflammatory cyclopentenone prostaglandins are direct inhibitors of I B kinase. *Nature*, 403(6765): 103-108, 2000.
- 32) Monneret G, Li H, Vasilescu J, Rokach J, Powell WS: 15-Deoxy-delta 12,14-prostaglandins D2 and J2 are potent activators of human eosinophils. *J Immunol*, 168(7): 3563-3569, 2002.
- 33) Gilroy DW, Colville-Nash PR, Willis D, Chivers J, Paul Clark MJ, Willoughby DA: Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties. *Nat Med*, 5(6): 698-701, 1999.
- 34) Maxey KM, Hessler E, MacDonald J, Hitchingham L: The nature and composition of 15-deoxy-Delta(12,14)PGJ(2). *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 62(1): 15-21, 2000.
- 35) Hirai H, Tanaka K, Takano S, Ichimasa M, Nakamura M, Nagata K: Cutting edge: agonistic effect of indomethacin on a prostaglandin D2 receptor, CRTH2. *J Immunol*, 168(3): 981-985, 2002.
- 36) Tegeder I, Pfeilschifter J, Geisslinger G: Cyclooxygenase-independent actions of cyclooxygenase inhibitors. *FASEB J*, 15: 2057-2072, 2001.
- 37) Yamazaki R, Kusunoki N, Matsuzaki T, Hashimoto S, Kawai S: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs induce apoptosis in association with activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in rheumatoid synovial cells. *J Pharmacol Exp Ther*, 302(1): 18-25, 2002.
- 38) Simonin MA, Bordji K, Boyault S, Bianchi A, Gouze E, Becuwe P, Dauca M, Netter P, Terlain B: PPAR-gamma ligands modulate effects of LPS in stimulated rat synovial fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol*, 282: C125-133, 2002.
- 39) Kremer JM, Lawrence DA, Petrillo GF, Litts LL, Mullaly PM, Rynes RI, Stocker RP, Parhami N, Greenstein NS, Fuchs BR, Mathur A, Robinson DR, Sperling RI, Bigaouette J: Effects of high-dose fish oil on rheumatoid arthritis after stopping nonsteroidal antiinflammatory drugs. Clinical and immune correlates. *Arthritis Rheum*, 38(8): 1107-1114, 1995.
- 40) Kawahito Y, Kondo M, Tsubouchi Y, Hashiramoto A, Bishop-Bailey D, Inoue K, Kohno M, Yamada R, Hla T, Sano H: 15-deoxy-Delta(12,14)-PGJ(2) induces synoviocyte apoptosis and suppresses adjuvant-induced arthritis in rats. *J Clin Invest*, 106(2): 189-197, 2000.
- 41) Yamasaki S, Nakashima T, Kawakami A, Miyashita T, Ida H, Migita K, Nakata K, Eguchi K: Functional changes in rheumatoid fibroblast-like synovial cells through activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma-mediated signalling pathway. *Clin Exp Immunol*, 129(2): 379-384, 2002.
- 42) Tsubouchi Y, Kawahito Y, Kohno M, Inoue K, Hla T, Sano H: Feedback control of the arachidonate cascade in rheumatoid synoviocytes by 15-deoxy-Delta(12,14)-prostaglandin J2. *Biochem Biophys Res Commun*, 283: 750-755, 2001.
- 43) Inoue H, Tanabe T, Umesono K : Feedback control of

- cyclooxygenase-2 expression through PPARgamma. *J Biol Chem*, 275(36): 28028-28032, 2000.
- 44) Pontsler AV, St Hilaire A, Marathe GK, Zimmerman GA, McIntyre TM: Cyclooxygenase-2 is induced in monocytes by peroxisome proliferator activated receptor gamma and oxidized alkyl phospholipids from oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem*, 277(15): 13029-13036, 2002.
- 45) Fahmi H, Di Battista JA, Pelletier JP, Mineau F, Ranger P, Martel-Pelletier J: Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit interleukin-1 -induced nitric oxide and metalloproteinase 13 production in human chondrocytes. *Arthritis and Rheum*, 44: 595-607, 2001.
- 46) Sabatini M, Bardiot A, Lesur C, Moulharat N, Thomas M, Richard I, Fradin A: Effects of agonists of peroxisome proliferator-activated receptor gamma on proteoglycan degradation and matrix metalloproteinase production in rat cartilage in vitro. *Osteoarthritis Cartilage*, 10(9): 673-679, 2002.
- 47) Fahmi H, Pelletier JP, Mineau F, Martel-Pelletier J: 15d-PGJ(2) is acting as a ' dual agent ' on the regulation of COX-2 expression in human osteoarthritic chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage*, 10(11): 845-848, 2002.
- 48) Lecka-Czernik B, Gubrij I, Moerman EJ, Kajkenova O, Lipschitz DA, Manolagas SC, Jilka RL: Inhibition of *Osf2/Cbfa1* expression and terminal osteoblast differentiation by PPARgamma2. *J Cell Biochem*, 74(3): 357-371, 1999.
- 49) Jackson SM, Demer LL: Peroxisome proliferator-activated receptor activators modulate the osteoblastic maturation of MC3T3-E1 preosteoblasts. *FEBS Lett*, 471(1): 119-124, 2000.
- 50) Mbalaviele G, Abu-Amer Y, Meng A, Jaiswal R, Beck S, Pittenger MF, Thiede MA, Marshak DR: Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma pathway inhibits osteoclast differentiation. *J Biol Chem*, 275: 14388-14393, 2000.
- 51) Okazaki R, Toriumi M, Fukumoto S, Miyamoto M, Fujita T, Tanaka K, Takeuchi Y: Thiazolidinediones inhibit osteoclast-like cell formation and bone resorption in vitro. *Endocrinology*, 140(11): 5060-5065, 1999.