

Peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) and its clinical significance



윤 미 정

1982 연세대학교 생물학과 (이학사)
 1985 연세대학교 대학원 생물학과 (이학석사)
 1990 연세대학교 대학원 생물학과 (이학박사)
 1991 서울대학교 분자생물학과 및 SRC 연수연구원
 1994 KIST 유전공학연구소 단백질공학실 연수연구원
 1999-2000 NIH, NCI, 대사연구실 visiting associate
 1994-현 재 목원대학교 생명과학부 조교수, 부교수

요 약

Peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α)에 대한 본격적인 연구는 고지혈증 치료제인 fibrate류의 약물들이 PPAR α activator로 작용한다는 사실이 밝혀짐으로써 크게 증대되었다. PPAR α 는 fibrate를 포함한 다양한 종류의 peroxisome proliferator (PP)에 의해 활성화되는데 이들을 쥐에 단기간 투여할 경우 간의 peroxisome 수와 지방산 산화효소의 유전자 발현이 증가되고 장기간 투여할 경우 간암을 발생시키지만, fibrate류의 약물들을 고지혈증 환자에게 투여할 경우 간암을 발생시키지 않으므로써 PP에 대한 반응성에 있어서 species difference를 나타낸다. PPAR α 는 핵에 존재하는 orphan receptor로서 PP에 의해 활성화되어 9-cis-retinoic acid receptor (RXR)와 heterodimer를 이룬 후 target gene들의 upstream에 있는 peroxisome proliferator response element (PPRE)에 결합하여 target gene들의 발현을 조절한다. 지금까지 연구된 PPAR α 의 target gene들은 모두 lipid와 lipoprotein 대사를 조절하는 것으로 알려져 있으며, 이러한 결과들을 기초로 lipid대사 및 energy balance와 관련된 질병들 - 동맥경화증, 관상동맥질환, 비만, 제 2형 당뇨병 등에서 PPAR α 의

역할이 집중적으로 연구되고 있다. PPAR α 가 활성화되면 lipoprotein lipase와 HDL이 증가되고 apo C-III가 감소됨으로써 동맥경화증에 대한 예방적 기능을 나타내고, 몸무게를 감소시킴으로써 비만을 방지할 수 있으며, 인슐린 감수성을 증가시켜 제 2형 당뇨병의 치료효과를 가지는 것으로 보인다. 그러나 PPAR α -null mouse에서는 이러한 효과들이 나타나지 않는 것으로 보아 이들 질병에서 PPAR α 가 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

서 론

Energy homeostasis는 흡수된 에너지와 소비된 에너지 사이의 정밀한 균형을 나타낸다. 사람의 경우 과도한 에너지의 섭취로 이러한 균형이 깨지게 되면 비만이나 동맥경화증, 그리고 제 2형 당뇨병과 같은 대사 이상을 일으키는데 지난 수년간의 연구를 통해 peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)가 energy balance를 조절하는 중요한 인자임이 밝혀짐으로써 이 분야에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다(Peters et al., 1997; Kliewer et al., 1999; Leone et al., 1999; Sinal et al., 2001).

PPAR은 핵에 존재하는 호르몬 수용체의 한 종류로서 분화와 지질대사에 관련된 많은 유전자를 조절하는 transcription factor로 알려져 있다. PPAR에는 α , β (또는 δ , NUC-1), γ 의 세 종류가 있으며, 이들은 서로 다른 유전자에 의해 발현되고, 다른 조직에서 생성되어 각각 독특한 생물학적 기능을 가진다 (Schoonjans et al., 1996a, 1996b, 1997).

PPAR 중 최초로 밝혀진 PPAR α 는 peroxisome 증식이 활발한 간과 신장에 풍부하며, target gene의 활성을 조절함으로써 lipid 및 lipoprotein 대사에서 중요한 역할을 한다. 특히 선진국의 질병률과 사망률의 주된 원인인 동맥경화성 심혈관계 질환이 lipid 대사의 이상과 밀접하게 관련이 있기 때문에 PPAR α 의 중요성이 더욱 강조되고 있다. 또한 지방생성을 억제하고 glucose 대사에도 관여한다는 보고들이 있어 lipid 대사와 glucose 항상성간의 상호관련성을 제시한다. 이외에도 PPAR α 는 cell cycle의 조절을 통해 anti-tumor agent로서 작용할 수 있으며, leukotriene B4의 면역반응을 매개하는 것으로 알려져 있다. 본 논문에서는 PPAR α 의 구조, 작용기작 및 에너지대사의 이상으로 발생하는 질병과의 관련성을 중심으로 설명하고자 한다.

■ 본 론 ■

1. Peroxisome Proliferation

Peroxisome proliferator (PP)는 실험동물 시스템에서 peroxisome의 수를 증가시키는 화학물질을 의미한다. 고지혈증 치료제인 fibrate류, 가소제, 화학산업에서 사용되는 유기용매, 살충제, 제초제 등이 여기에 속하며, 이들 PP를 구조적인 면에서 볼 때 유사성이 거의 없는 것으로 알려져 있다. 또한 고지방 음식, 기아와 저온에 의해서도 peroxisome 증식이 촉진된다 (Lake, 1995a and 1995b; Gonzalez, 1997).

Peroxisome은 catalase와 H₂O₂를 생성하는 fatty acid β -oxidation (지방산 β -산화) 및 ω -산화 효소군을 가진 세포내 소기관이다. PP를 rat이나 mouse에 장기간 투여하면 간 비대와 간암이 발생하는데 그 이유는 peroxisome에 있는 효소들의 활성이 PP에 의해 다르게 증가되기 때문이다. 즉, β -산화 효소군이 상당량 생성되는 반면에 catalase와 같은 다른 효소들은 아주 소량이 증가되기 때문인 것으로 알려져 있다 (Reddy, 1990; Lake, 1995a and 1995b).

이와 같이 PP가 설치류에서 간암을 발생시키는 강력한 발암원이지만 고지혈증치료를 복용하는 환자에서 간암발생이 증가한다는 보고가 없었고,

이들 환자의 간이 비대해지거나 peroxisome이 증식했다는 결과가 없는 것으로 보아 사람은 peroxisome 증식에 대해 저항성을 가진 것으로 보인다. 그러나 분명히 PPAR α 는 사람에서 발현되며 기능적으로도 활성을 가지고 있다. 그 기작은 정확하지 않으나 사람의 경우 PPAR α 의 양이 설치류에서보다 적게 발견되며, 간 이외의 기관에서 PPAR α 가 발현되고, 간의 어떤 유전자는 낮은 농도의 PPAR α 에도 반응하지만 peroxisome 증식에 필요한 유전자들이 발현되기 위해서는 고농도의 PPAR α 가 필요하다는 설명들이 있다 (Gonzalez, 1997).

2. PPAR α and transcription factor

PPAR α 는 일차적으로 간과 같이 지방산의 분해 작용이 활발한 조직에서 발현되며, 이외에도 갈색 지방 (brown fat), 신장, 근육, 심장, 부신, 췌장, 단핵구, 대식세포 등 다양한 조직에서 발견된다. PPAR α 는 핵에 존재하는 transcription factor로서 다른 nuclear receptor와 유사한 구조를 보여준다. Zn-finger DNA-binding domain인 C domain과 ligand-binding domain인 E domain을 가지고 있으며, steroid receptor coactivator-1 (SRC-1)과 CREB-binding protein (CBP) 등과 같은 coactivator들이 결합할 수 있는 activation domain인 AF-1과 AF-2를 가지고 있다 (Fig. 1).

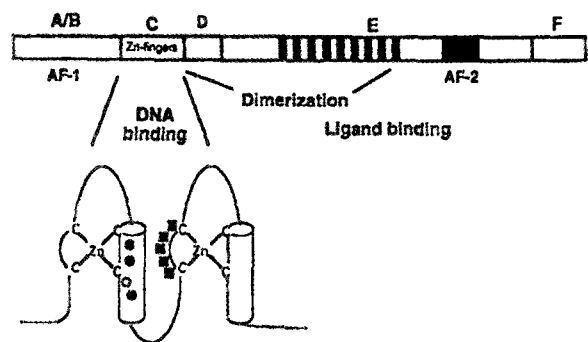


Fig. 1. PPAR α 의 분자구조. PPAR α 는 6개의 functional domain - A/B, C, D, and E/F - 으로 구성되어 있다. Activation domain으로 AF-1 and AF-2가 있고, 9개의 heptad repeat이 E domain 내에 black stripe으로 표시되어 있으며, 마지막 heptad repeat이 dimerization에 관여한다. DNA binding domain인 2개의 zinc finger는 C domain에 있으며, ligand binding domain은 E domain에 있다.

PPAR α 에 의한 transcriptional activation은 크게 두 단계로 나눌수 있다: 첫 단계에서 PP가 PPAR α 에 결합한 후 RXR과 heterodimer를 이루며, 두 번째 단계에서 PPAR α -RXR complex가 PPRE (PP response element) 라고 불리는 DNA cis-element에 결합함으로써 target gene들의 transcription을 증가시킨다. 이 element는 nuclear receptor들과 상호작용하는 다른 조절단위들과 유사한 염기서열을 가지고 있으며, single nucleotide (DR-1)에 의해 분리된 두 개의 동일한 repeat (AGGTCA)로 구성되어있다 (Fig. 2). 많은 연구 결과들에 의하면 PPAR α 는 간에서 지방산의 산화와 xenobiotics의 해독작용을 조절하는 중요한 기능을 가지며, β -산화와 ω -산화 대사경로에 관련된 효소의 유전자들이 그들의 promoter에 PPRE를 가지고 있어서 PPAR α 의 조절을 받는다고 알려져 있다. 이들 유전자에는 acyl-CoA oxidase (ACOX), cytochrome P-450 (CYP) 4A1와 CYP4A3 그리고 enoyl CoA hydratase/3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (HD) 등과 같은 유전자들이 있으며 (Zhang et al., 1993; Schoonjans et al., 1996b, Varanasi et al., 1996; Palmer et al., 1999), 이들 외에도 lipoprotein의 구성분인 apolipoprotein (apo) A-I, A-II, C-III와 lipoprotein lipase의 유전자 발현이 PPAR α 의 조절을 받는다.

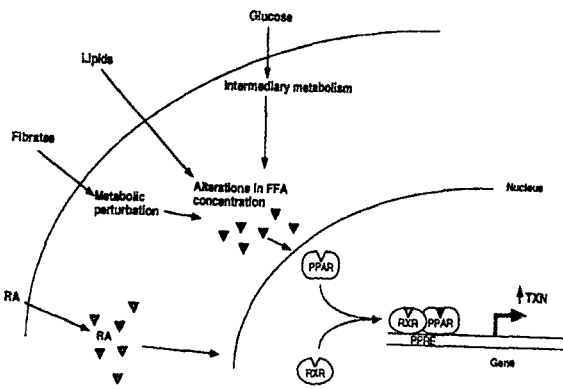


Fig. 2. PPAR α 의 transcriptional activation. PPAR α signalling pathway는 fibrates와 같은 여러 종류의 자극에 의해 시작되며, retinoic acid signalling pathway (RXR α)와의 cross-talk을 통해 PPRE에 결합한 후 target gene의 transcription을 촉진한다. RA, retinoic acid; TXN, transcription.

3. PPAR α and atherosclerosis

동맥경화증은 지질대사 및 혈중 lipoprotein 농도의 변화와 대단히 밀접한 질환으로서 한국을 비롯

한 많은 나라에서 높은 사망률을 나타내고 있다. Lipoprotein 중 apo A-I과 A-II를 가진 HDL은 동맥경화증을 방지하는 역할을 하는 반면 apo C-III가 많은 VLDL은 동맥경화증을 유발하는 인자로 작용한다. 여러해 동안 고지혈증 치료제인 fibrates의 작용이 연구되었는데, fenofibrate 치료를 받은 환자의 경우 총 콜레스테롤 양과 VLDL 농도, LDL과 triglyceride의 농도가 크게 감소되었으며, HDL의 농도가 약 15% 정도 증가되었다. 이러한 fenofibrate의 작용기작은 최근에 발견된 PPAR α 를 통해 증명되고 있으며, fenofibrate가 분자수준에서 lipoprotein과 지방산 대사에 관여하는 유전자를 조절하는 PPAR α activator 임이 밝혀졌다 (Lemberger et al., 1996).

PPAR α 는 lipoprotein 대사에 관련된 유전자 apo A-I, A-II와 C-III 유전자와 lipoprotein lipase (LPL) 그리고 지방산 β -산화 및 ω -산화에 관련된 유전자의 발현을 조절하는데 매우 중요한 역할을 한다 (Fig. 3). Apo A-I과 A-II는 HDL의 주요 단백질로서 조직에 있는 과량의 콜레스테롤을 간으로 이동시켜 혈관 질환을 예방하는 효과를 나타내는데 PPAR α 는 apo A-I 과 A-II 유전자의 발현을 증가시켜 HDL 농도를 높임으로써 동맥경화증의 발병률을 떨어뜨리는 것으로 알려져 있다 (Staels et al., 1998).

Fibrate에 의해 활성화된 PPAR α 는 apo C-III 유전자 발현을 억제하고 LPL의 활성을 증가시킴으로써 동맥경화증을 방지할 수 있다 (Haubenwallner et al., 1995; Hertz et al., 1995; Staels et al., 1998) 즉 apo C-III가 부족한 VLDL이 생성되고 LDL 수용체에 결합할 수 있는 large LDL로 전환이 되어 분해가 된다. 그러나 apo C-III가 풍부한 VLDL은 LDL 수용체를 인식하지 못하는 LDL로 되어 혈액 내에 남게 되고, 쉽게 산화되는 small dense LDL로 전환된 후 대식세포에 흡수된다. 산화된 LDL로 가득 찬 대식세포가 포말세포 (foam cell)로 되어 혈관에 축적되면 lipid streak을 형성하게 되고 atheromatous plaque를 형성하게 된다. 실제로 심혈관계 질환을 앓는 환자들은 dense LDL의 농도가 대단히 높다. 또한 LPL 유전자의 발현도 PPAR α 에 의해 증가되며, LPL의 합성으로 triglyceride-rich lipoprotein의 분해가 증가된다.

동맥경화증과 관련된 또 다른 PPAR α 의 작용은 미토콘드리아와 peroxisome의 β -산화 효소의 활성을 증가시켜 triglyceride 분비를 감소시키는 일이다. 사람의 경우 peroxisome의 형태적 변화를 유도하지 않지만 설치류에서는 β -산화의 증가와 더불어 peroxisome 증식, 간 비대 및 간암의 부수적인 효과가 나타난다 (Gonzalez, 1997; Reddy and Hashimoto, 2001).

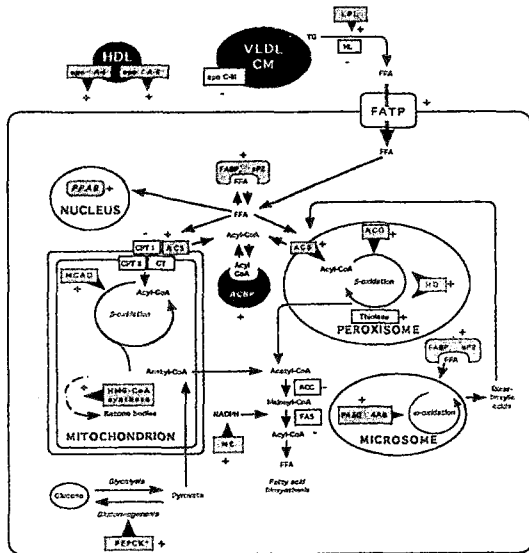


Fig. 3. PPAR α 의 조절을 받는 유전자들과 이들 유전자들에 의한 지질 대사. PPAR α 의 조절을 받는 유전자들은 그들의 promoter에 functional PPRE를 가지고 있으며, + or - sign은 각각 유전자발현의 조절이 촉진되거나 억제되는 것을 나타낸다. ACBP, acyl-CoA binding protein; ACC, acetyl-CoA carboxylase; CM, chylomicron; CPT, carnitine palmitoyl transferase; CT, carnitine: acylcarnitine translocase; FAS, fatty acid synthase; FATP, fatty acid transport protein; FFA, free fatty acid.

4. PPAR α and obesity

비만은 주로 PPAR γ 의 작용을 통해 조절되는 것으로 알려져 있다. 초기 연구에서 De Vos 등 (1996)은 fenofibrate가 쥐 (Sprague-Dawley)의 몸무게에 영향을 주지 않는다고 보고하였다. 그러나 triglyceride와 cholesterol 대사에 이상이 있는 PPAR α knockout mouse는 fibrate에 반응하지 못하고 target enzyme의 유전자들을 발현시키지 못해 결과적으로 시간이 지남에 따라 비만이 된다 (Peters et al., 1997; Costet et al., 1998). 게다가 당뇨병, 비만, 그리고 인슐린 저항성을 가진 실험동물과 고지방식을 섭취한 C57Bl/6 쥐에서 fenofibrate가 몸무게와 복부 지방을 감소시킨다 (Chaput et al., 2000; Guerre-Millo et al., 2000; Mancini et al., 2001). 이러한 결과는 지방 조직에 축적된 지방이 주로 혈중 triglyceride로부터 유래하며, triglyceride의 농도가 간에서 PPAR α 에 의한 지방산 산화에 의해 조절되기 때문으로 설명될 수 있으며, 비만에 있어서의 PPAR α 의 중요성을 시사한다.

5. PPAR α and type 2 diabetes

일반적으로 제 2형 당뇨병은 비만, 동맥경화증과 함께 발생하며, 인슐린-저항성의 결과로 발생한 metabolic syndrome은 고인슐린증, 고혈당증, 고혈압 등과 함께 복부비만을 동반한다. 고지방식을 섭취한 C57Bl/6 쥐는 고인슐린증과 고혈당증을 나타내며 이들 인슐린-저항성 동물에 낮은 농도의 fenofibrate를 처리하면 혈중 인슐린과 포도당의 농도가 정상적으로 회복됨으로써 당뇨병 치료효과를 보이며, 이러한 효과는 특히 인슐린-저항성 쥐에서 커다란 효과를 나타내는 것으로 보인다 (Guerre-Millo et al., 2000). 또한 제 2형 당뇨병 환자의 경우 PPAR α 의 codon 162에서 missense mutation (L \rightarrow V)이 발견됨으로써 당뇨병과 PPAR α 와의 관련성을 제시한다 (Flavell et al., 2000; Vohl et al., 2000). 비록 제 2형 당뇨병에서의 PPAR α 의 기능이 최근에 연구되기 시작하여 결과들이 대단히 미미한 상황이나 PPAR α activator인 fibrate가 glucose homeostasis를 유지하는데 역할을 하는 것으로 보아 이 분야에 커다란 진전이 있을 것으로 보인다.

■ 장래전망 ■

PPAR α 는 지질 및 lipoprotein 대사를 조절하는 중요한 인자로 알려져 있으며, 에너지대사와 관련된 질병들과 밀접한 관계를 가지고 있다. 그 중에서도 동맥경화증, 비만, 당뇨병은 높은 사망률을 나타내는 질환으로 고지혈증 치료제인 fibrate가 PPAR α activator임이 밝혀짐으로써 이들 질병의 치료에 획기적인 전환점을 가져왔다. 따라서 많은 연구자들이 생리학적, 생화학적, 면역학적, 해부학적 관점에서, 특히 gene-KO mouse를 이용하여 이들 질병과 PPAR α 와의 관계를 규명하고자 노력을 기울이고 있으며, PPAR α activator의 개발을 통한 연구에도 많은 관심이 모아지고 있다. Nuclear receptor인 PPAR α 가 작용하는 데는 이미 밝혀진 것 외에도 다양한 factor들이 관여할 수 있으며, 이것을 알아내는 것도 매우 의미 있는 일이다. 이외에도 PPAR α activator인 phenylacetate와 phenylbutyrate가 세포성장을 억제함으로써 PPAR α 연구가 cancer의 치료에도 유용할 것으로 보이며, PPAR α 가 LTB4의 염증반응을 매개하므로 면역기능에서의 역할에도 좀더 깊은 연구가 요구된다.

■ 참고문헌 ■

- Chaput E, Saladin R, Silvestre M, Edgar AD (2000) Fenofibrate and rosiglitazone lower serum triglycerides with opposing effects on body weight. *Biochem Biophys Res Commun* 271:445-450
- Costet P, Legendre C, More J, Edgar A, Galtier P, Pineau T (1988) Peroxisome proliferator-activated receptor alpha-isoform deficiency leads to progressive dyslipidemia with sexually dimorphic obesity and steatosis. *J Biol Chem* 273:29577-29585
- De Vos P, Lefebvre AM, Miller SG, Guerre-Millo M, Wong K, Saladin R, Hamann LG, Staels B, Briggs MR, Auwerx J (1996) Thiazolidinediones repress ob gene expression in rodents via activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *J Clin Invest* 1996 98:1004-1009
- Flavell DM, Pineda Torra I, Jamshidi Y, Evans D, Diamond JR, Elkeles RS, Bujac SR, Miller G, Talmud PJ, Staels B, Humphries SE (2000) Variation in the PPARalpha gene is associated with altered function in vitro and plasma lipid concentrations in Type II diabetic subjects. *Diabetologia* 43:673-680
- Gonzalez FJ (1997) Recent update on the PPAR α -null mouse. *Biochimie* 79:139-144. Guerre-Millo M, Gervois P, Raspe E, Madsen L, Poulain P, Derudas B, Herbert JM, Winegar DA, Willson TM, Fruchart JC, Berge RK, Staels B (2000) Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity. *J Biol Chem* 275:16638-16642
- Haubenwallner S, Essenburg AD, Barnett BC, Pape ME, DeMattos RB, Krause BR, Minton LL, Auerbach BJ, Newton RS, Leff T, et al. (1995) Hypolipidemic activity of select fibrates correlates to changes in hepatic apolipoprotein C-III expression: a potential physiologic basis for their mode of action. *J Lipid Res* 36:2541-2551
- Hertz R, Bishara-Shieban J, Bar-Tana J (1995) Mode of action of peroxisome proliferators as hypolipidemic drugs. Suppression of apolipoprotein C-III. *J Biol Chem* 270:13470-13475
- Kliwer SA, Lehmann JM, Willson TM (1999) Orphan nuclear receptors: shifting endocrinology into reverse. *Science* 284:757-760
- Lake BG (1995a) Mechanisms of hepatocarcinogenicity of peroxisome-proliferating drugs and chemicals. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 35:483-507
- Lake BG (1995b) Peroxisomal proliferation: current mechanisms relating to non-genetic carcinogenesis. *Toxicol Lett* 82/83:673-681
- Leone TC, Weinheimer CJ, Kelly DP (1999) A critical role for the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) in the cellular fasting response: the PPARalpha-null mouse as a model of fatty acid oxidation disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:7473-7478
- Lemberger T, Desvergne B, Wahli W. (1996) Peroxisome proliferator-activated receptors: a nuclear receptor signaling pathway in lipid physiology. *Annu Rev Cell Dev Biol* 12:335-363
- Mancini FP, Lanni A, Sabatino L, Moreno M, Giannino A, Contaldo F, Colantuoni V, Goglia F (2001) Fenofibrate prevents and reduces body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats. *FEBS Lett* 491:154-158
- Palmer CN, Gustafsson MC, Dobson H, von Wachenfeldt C, Wolf CR (1999) Adaptive responses to fatty acids are mediated by the regulated expression of cytochromes P450. *Biochem Soc Trans* 27:374-378
- Peters JM, Hennuyer N, Staels B, Fruchart JC, Fievet C, Gonzalez FJ, Auwerx J (1997) Alterations

- in lipoprotein metabolism in peroxisome proliferator-activated receptor α -deficient mice. *J Biol Chem* 272:27307-27312
- Reddy JK, Hashimoto T (2001) PEROXISOMAL β -OXIDATION AND PEROXISOME PROLIFERATOR - ACTIVATED RECEPTOR α : An Adaptive Metabolic System. *Annu Rev Nutr* 21:193-230
- Schoonjans K, Staels B, Auwerx J (1996a) Role of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *J Lipid Res* 37:907-925
- Schoonjans K, Staels B, Auwerx J (1996b) The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochim Biophys Acta* 1302:93-109
- Schoonjans K, Martin G, Staels B, Auwerx J (1997) Peroxisome proliferator-activated receptors, orphans with ligands and functions. *Curr Opin Lipidol* 8:159-166
- Sinal CJ, Yoon M, Gonzalez FJ (2001) Antagonism of actions peroxisome proliferator-activated receptor- α by endogenous bile acids. *J Biol Chem* (submitted)
- Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, Schoonjans K, Leitersdorf E, Fruchart JC (1998) Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation* 98:2088-2093
- Varanasi U, Chu R, Huang Q, Castellon R, Yeldandi AV, Reddy JK. (1996) Identification of a peroxisome proliferator-responsive element upstream of the human peroxisomal fatty acyl coenzyme A oxidase gene. *J Biol Chem* 271:2147-2155
- Vohl MC, Lepage P, Gaudet D, Brewer CG, Betard C, Perron P, Houde G, Cellier C, Faith JM, Despres JP, Morgan K, Hudson TJ (2000) Molecular scanning of the human PPAR α gene: association of the L162v mutation with hyperapobetalipoproteinemia. *J Lipid Res* 41:945-52
- Zhang B, Marcus SL, Miyata KS, Subramani S, Capone JP, Rachubinski RA (1993) Characterization of protein-DNA interactions within the peroxisome proliferator-responsive element of the rat hydratase-dehydrogenase gene. *J Biol Chem* 268:12939-12945