

• 综述 •

过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 与脓毒症的关系

刘东(综述) 曾邦雄 张世范(审校)

【关键词】 脓毒症; 过氧化物酶体增殖物激活受体; 炎症反应

过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs)是一类依赖配体活化的转录因子,属核激素受体超家族成员,参与了许多生理反应的调节,如脂质代谢、糖稳态、细胞分化与凋亡等。迄今已发现,PPARs 有 PPAR α 、PPAR β (NUC-1 或 PPAR δ)和 PPAR γ 3 种亚型,分别由不同基因编码,具有组织分布和配体激活特异性^[1,2]。近年来实验证实,PPAR γ 及其配体具有抗炎和免疫调节作用^[3],对 PPAR γ 及其配体的研究日益受到关注。现将 PPAR γ 的组织分布、结构与活性调控、抗炎机制及与脓毒症的关系综述如下。

1 PPAR γ 亚型及分布

人类与鼠类的 PPAR γ 具有高度的同源性,PPAR γ 基因分别位于 3 号和 6 号染色体上^[4]。由于启动子和拼接方式不同,PPAR γ 基因可产生 5'端序列不同的 3 种 mRNA,即 PPAR γ 1、PPAR γ 2 和 PPAR γ 3^[5]。PPAR γ 1 和 PPAR γ 3 mRNA 产生的蛋白完全相同,通常将 PPAR γ 蛋白分为 PPAR γ 1 和 PPAR γ 2 2 种亚型,其差别就在于 PPAR γ 2 蛋白的 N 末端多出了 30 个氨基酸序列。PPAR γ 1 广泛分布于心、肝、结肠、小肠、脾、肺和肾等组织中,而 PPAR γ 2 主要在脂肪组织表达。

2 PPAR γ 的结构特征

与其他核激素受体相似,PPAR γ 蛋白由 5 个结构域组成^[1,2]:NH₂-末端配体非依赖转录活化域(A/B 域)、DNA 结合域(DBD 或 C 域)、铰链区(D 域)、配体结合域(LBD 或 E 域)和 F 域。A/B 域包

含激活功能-1(activation function-1, AF-1),其转录活化功能不依赖于配体。DBD 由 2 个锌指结构组成,含 9 个半胱氨酸,这在核受体超家族中相当保守。DBD 域赋予 PPAR γ 与 DNA 结合的特异性:PPAR γ 首先与另一种核受体——视黄醛 X 受体(RXR)形成异源二聚体,再与某些基因上游的过氧化物酶体增殖物反应元件(PRE)结合,从而调控基因的表达。PRE 是同向重复(direct repeat-1, DR-1)元件,其序列为 AGGTCANAGGTCA(N 为任意核苷酸)。LBD 由 12 个 α 螺旋结构域组成,分别命名为 H1~H12。PPAR γ 通过 H12 螺旋与 RXR α 的 H7 和 H10 螺旋相互作用形成异源二聚体。LBD 组装在一个三层反向平行的螺旋形“三明治”里,构成疏水腔,称为配体结合袋(LBP)。PPAR γ 的 LBP 非常大,允许结合不同大小的配体。LBD 含 AF-2,依赖配体结合引起 PPAR γ /RXR α 二聚体构象变化,可被某些辅激活因子识别并与其结合后才能诱导转录激活。迄今对 F 域的功能仍不清楚,因此,PPAR γ 受体的分子结构决定了其具有与 DNA 结合和配体结合两大特性。

3 PPAR γ 的活性调节

3.1 PPAR γ 配体:PPAR γ 配体或激动剂可分为天然和合成两大类^[1-3]。天然配体为花生四烯酸的环氧合酶和脂氧合酶途径代谢产物,主要包括前列腺素 J₂(PGJ₂)、15-脱氧- $\Delta^{12,14}$ -前列腺素 J₂(15d-PGJ₂)和 15-羟基四烯醇酸(15-HETE)等。作为胰岛素增敏剂来治疗 2 型糖尿病的噻唑烷二酮(thiazolidinediones, TZDs)类药物,是 PPAR γ 的高亲和力人工合成配体,其代表药物主要有曲格列酮(troglitazone)、吡格列酮(pioglitazone)、罗格列酮(rosiglitazone)、环格列酮(ciglitazone)等。一些非甾体抗炎药如消炎痛、氟灭酸和布洛芬等在 μ mol 级范围也能激活 PPAR γ 。

3.2 PPAR γ 受体的活化:在通常情况

下,PPAR γ 与 RXR 形成异源二聚体 PPAR γ /RXR α ,并与辅抑制因子结合成复合物,使 PPAR γ 处于失活状态。当特异性配体与 PPAR γ 结合后,使 PPAR γ /RXR α 二聚体空间构象发生改变,与辅抑制因子脱离、去抑制,并募集辅激活因子,再通过与相应靶基因启动子上的 PRE 结合,激活靶基因(包括脂质转运和储存、细胞分化和免疫调节的基因)转录^[1,3]。另一方面,PPAR γ 活化后通过干扰核转录因子- κ B(NF- κ B)、转录活化因子-1(STAT-1)以及活化蛋白-1(AP-1)的信号转导途径,在转录水平抑制某些促炎介质的基因转录^[6]。

3.3 翻译后修饰对 PPAR γ 活性的调控:PPAR γ 的转录活性受翻译后机制(包括磷酸化和泛素化)的调节^[7]。研究表明,丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)可使 PPAR γ 磷酸化,并抑制其转录活性。MAPK 激活剂(如细胞生长因子)使小鼠 PPAR γ 2 第 112 位的丝氨酸(Ser112)磷酸化,抑制其转录活性。其原因可能为磷酸化后 PPAR γ 各结构域之间信息传递发生改变,与配体结合的亲和力降低。细胞外信号调节激酶(ERK)和 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)可使 PPAR γ 1 的 Ser84(人)或 Ser82(小鼠)磷酸化,抑制 PPAR γ 的转录活性。蛋白激酶 A(PKA)也能使 PPAR γ 磷酸化,PKA 激动剂可增强 PPAR γ 的转录活性。

泛素-蛋白酶体途径通过调控细胞 PPAR γ 蛋白含量来调节 PPAR γ 转录活性。配体激活 PPAR γ 不仅产生转录效应,还启动泛素-蛋白酶体系统并降解 PPAR γ 以终止转录激活。这可能是平衡 PPAR γ 转录活性的一种反馈系统。

4 PPAR γ 及其配体的抗炎机制

PPAR γ 配体通过 PPAR γ 依赖和非依赖性机制,可以从不同水平调控细胞内多条炎症信号转导途径,其中对促炎介质基因的转录抑制是其抗炎效应的分子基础^[1,2]。

PPAR γ 依赖机制可能为^[1,3]:①转录因子 NF- κ B、AP-1 和 STAT-1 的

基金项目:全军“十五”医药卫生重点科研基金项目(01-L003)

作者单位:730050 兰州军区兰州总医院麻醉科(刘东,张世范);430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属协和医院麻醉学教研室(曾邦雄)

作者简介:刘东(1967-),男(汉族),安徽省宿州市人,博士研究生,副主任医师(E-mail:liutung@hotmail.com)。

活化需要一些核辅活化因子如 cAMP 反应元件结合蛋白(CBP)、p300 和(或) SRC-1 的参与,激活 PPAR γ 与上述转录因子竞争数量有限的核辅活化因子,从而抑制 NF- κ B、AP-1 和 STAT-1 的活化;② PPAR γ 直接与 NF- κ B p65 或 p50 发生蛋白质-蛋白质相互作用形成转录抑制性复合物,降低 NF- κ B 与 DNA 的结合活性;③ PPAR γ 与 NF- κ B 形成复合物,促使 NF- κ B 移出细胞^[7];④ 抑制活化 T 细胞核受体(NFAT)、早期生长反应因子(Egr-1)等转录因子的活性^[8,9],降低下游促炎细胞因子的基因表达;⑤ 诱导免疫细胞凋亡^[10]。

许多实验证实,PPAR γ 配体的抗炎效应可能还是通过 PPAR γ 非依赖性机制。15d-PGJ₂ 能共价修饰抑制性 κ B 激酶(IKK)、NF- κ B 亚单位的 DNA 结合域和 AP-1 的 c-Jun,直接抑制 IKK 活性以及 NF- κ B 和 AP-1 的 DNA 结合活性^[11,12]。Maggi 等^[13]报道,15d-PGJ₂ 和曲格列酮能抑制细胞因子诱导巨噬细胞表达诱导型一氧化氮合酶(iNOS)及胰岛细胞抑制性 κ B- α (I κ B- α)降解和 JNK 磷酸化,此效应与 PPAR γ 配体诱导的热休克蛋白 70(HSP70)表达有关。15d-PGJ₂ 还能够诱导表达一种具有细胞保护功能的酶——血红素加氧酶-1(HO-1)^[14]。此外,离体动物实验证实 PPAR γ 配体还具有抗氧化剂或自由基清除剂的作用^[15]。

5 PPAR γ 及其配体与脓毒症

脓毒症是严重创伤、感染、再灌注损伤和大手术后常见的并发症之一,可进一步发展为多器官功能障碍综合征(MODS)。尽管脓毒症、MODS 的发病机制尚未完全阐明,但众多研究结果揭示,革兰阴性(G⁻)菌脂多糖(LPS)启动的全身失控性炎症反应是关键因素。新近研究发现,PPAR γ 参与了炎症的控制和免疫调节,PPAR γ 激动剂能有效抑制多种免疫效应细胞过度产生炎症介质,以减轻组织损伤。

5.1 LPS 和细胞因子对 PPAR γ 基因表达与活性的影响:肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1(IL-1)、LPS 和 γ -干扰素(IFN- γ)均能抑制脂肪细胞 PPAR γ 基因表达,INF- γ 还能促进蛋白酶体对 PPAR γ 的降解^[16,17]。人单核细胞经 LPS 刺激后,PPAR γ mRNA 表达降低达 88%^[18]。相反,免疫细胞受

炎症刺激后 PPAR γ 表达上调。抗炎细胞因子 IL-4 能诱导鼠源的巨噬细胞 PPAR γ 1 表达^[19]。巨噬细胞经小剂量的 LPS 和 INF- γ 处理后,PPAR γ 活性增加,对随后的 LPS 刺激产生耐受性^[15]。

5.2 PPAR γ 配体对单核-巨噬细胞功能的影响:许多实验证实,PPAR γ 配体能抑制单核-巨噬细胞的炎症反应,产生抗炎和(或)脱敏表型。PPAR γ 已成为调节巨噬细胞基因表达和功能的药理学新靶点^[20]。PPAR γ 的炎症抑制效应最早是在单核-巨噬细胞中发现的。1998 年, Ricote 和 Jiang 等^[6,21]分别报道 PPAR γ 配体抑制单核细胞表达 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 以及巨噬细胞表达 iNOS、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)。进一步研究证实 PPAR γ 通过抑制 NF- κ B、AP-1 和 STAT-1 等炎症信号转导途径,在转录水平抑制上述基因的表达^[6]。最近, Hong 等^[22]报道,临床治疗浓度的罗格列酮抑制 LPS 刺激原代培养人单核细胞产生 TNF- α ,50%抑制浓度(IC50)约为 50 nmol。Guyton 等^[23]发现,15d-PGJ₂ 对 LPS、革兰阳性(G⁺)菌和 G⁻菌刺激大鼠腹腔巨噬细胞激活均有抑制作用,表现为一氧化氮(NO)和血栓素 B₂(TXB₂)生成减少。

另外,PPAR γ 受体活化可下调 P47 吞噬细胞氧化酶表达,从而抑制单核/巨噬细胞产生氧自由基(超氧阴离子)^[24]。

5.3 PPAR γ 配体对血管内皮细胞功能的影响:血管内皮细胞也有 PPAR γ 表达,内皮细胞 PPAR γ 活化具有抗炎效应。Wang 等^[25]通过体外基因转染技术使人脐静脉内皮细胞(HUVEC)过度表达 PPAR γ ,结果发现佛波醇和 TNF- α 刺激 HUVEC 表达细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、血管内皮黏附分子-1(VCAM-1)和 E 选择素的作用显著受抑制,同时白细胞-HUVEC 黏附明显减轻。用吡格列酮预处理人冠状动脉内皮细胞,能明显抑制 TNF- α 诱导的氧化损伤和细胞凋亡^[26],表明激活内皮细胞中 PPAR γ 受体可发挥抗氧化和抗细胞凋亡效应。

5.4 PPAR γ 配体对淋巴细胞功能的影响:PPAR γ 参与了机体的免疫调节,特别是 T 细胞活化和细胞因子分泌过程。静止 T 细胞表达低水平的 PPAR γ ,T 细胞活化后 PPAR γ 表达增加^[27]。已经证实 15d-PGJ₂ 和环格列酮均可激活 T 细

胞 PPAR γ ,能够抑制活化 T 细胞表达 IL-2^[8,27]。其机制可能为:① PPAR γ 活化后可与 NFAT 和 NF- κ B 发生物理作用,阻断这些转录因子的下游效应^[8];② PPAR γ 激动剂增加 T 细胞凋亡^[28]。

5.5 PPAR γ 配体对脓毒症的防治作用:近年来,国外学者曾尝试用 PPAR γ 配体来防治脓毒症。2002 年,Reynolds 等^[29]首先报道曲格列酮能降低内毒素血症小鼠死亡率。随后,有学者发现给予脓毒症(结肠结扎-穿孔模型)大鼠环格列酮和 15d-PGJ₂ 治疗,能改善血流动力学,提高存活率,降低血浆 TNF- α 、IL-6 和 IL-10 浓度,减轻肺、肝和结肠中性粒细胞浸润,抑制肺组织 NF- κ B、AP-1 活性^[30]。最近,Collin 等^[31]报道 15d-PGJ₂ 对内毒素休克大鼠多器官损伤具有保护作用。Cuzzocrea 等^[32]在对酵母多糖诱导的小鼠 MODS 模型研究中证实,罗格列酮能减轻炎症反应和器官损伤,其抗炎作用可被 PPAR γ 特异性抑制剂 GW9662 完全逆转。上述在体实验结果表明,激活 PPAR γ 的确具有抗炎效应,提示 PPAR γ 配体可能在脓毒症、MODS 的防治中具有潜在的应用价值。

6 结语

PPAR γ 是一种配体激活的核受体转录因子。PPAR γ 配体通过 PPAR γ 依赖和非依赖机制作用于炎症信号途径的多个环节,抑制细胞因子、趋化因子、黏附分子等基因表达。PPAR γ 及其配体与脓毒症的研究刚起步,但现有资料显示 PPAR γ 配体通过调控 NF- κ B、AP-1 等信号途径,可减轻脓毒症诱发的全身炎症反应和器官损伤。由于 PPAR γ 结构与功能的复杂性,现仍有很多未知领域,如 PPAR γ 配体抗炎的分子机制、脓毒症时 PPAR γ 的表达变化、临床应用 PPAR γ 配体治疗脓毒症患者的可行性与效果等,有待进一步研究和阐明。相信随着以上问题的解决,PPAR γ 配体将会为脓毒症、败血症休克、MODS 等临床危重症的防治提供一种新手段。

参考文献:

- 1 Blanquart C, Barbier O, Fruchart J C, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors: regulation of transcriptional activities and roles in inflammation [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2003, 85: 267-273.
- 2 Youssef J, Badr M. Role of peroxisome

- proliferator - activated receptors in inflammation control [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2004, 3: 156 - 166.
- 3 Zhang X, Young H A. PPAR and immune system - what do we know [J]? *Int Immunopharmacol*, 2002, 2: 1029 - 1044.
 - 4 Fajas L, Auboeuf D, Raspe E, et al. The organization, promoter analysis, and expression of the human PPAR gamma gene [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272: 18779 - 18789.
 - 5 Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator - activated receptors; nuclear control of metabolism [J]. *Endocr Rev*, 1999, 20: 649 - 688.
 - 6 Ricote M, Li A C, Willson T M, et al. The peroxisome proliferator - activated receptor γ is a negative regulator of macrophage activation [J]. *Nature*, 1998, 391: 79 - 82.
 - 7 Kelly D, Campbell J I, King T P, et al. Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear - cytoplasmic shuttling of PPAR - γ and Rel A [J]. *Nat Immunol*, 2004, 5: 104 - 112.
 - 8 Yang X Y, Wang L H, Chen T, et al. Activation of human T lymphocytes is inhibited by peroxisome proliferator - activated receptor - γ (PPAR γ) agonists; PPAR γ co - association with transcription factor NFAT [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 4541 - 4544.
 - 9 Okada M, Yan S F, Pinsky D J. Peroxisome proliferator - activated receptor - γ (PPAR - γ) activator suppresses ischemic induction of Eg γ - 1 and its inflammatory gene targets [J]. *FASEB J*, 2002, 16: 1861 - 1868.
 - 10 Chinetti G, Griglio S, Antonucci M, et al. Activation of proliferator activated receptors alpha and gamma induces apoptosis of human monocyte derived macrophages [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273: 25573 - 25580.
 - 11 Straus D S, Pascual G, Li M, et al. 15 - deoxy - $\Delta^{12,14}$ - prostaglandin J_2 inhibits multiple steps in the NF - κ B signaling pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 4844 - 4849.
 - 12 Pérez - Sala D, Cernuda - Morollón E, Cañada F J. Molecular basis for the direct inhibition of AP - 1 DNA binding by 15 - deoxy - $\Delta^{12,14}$ - prostaglandin J_2 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 51251 - 51260.
 - 13 Maggi L B, Sadeghi Jr H, Weigand C, et al. Anti - inflammatory actions of 15 - deoxy - $\Delta^{12,14}$ - prostaglandin J_2 and troglitazone; evidence for heat shock - dependent and - independent inhibition of cytokine - induced inducible nitric oxide synthase expression [J]. *Diabetes*, 2000, 49: 346 - 355.
 - 14 Lee T S, Tsai H L, Chau L Y. Induction of heme oxygenase - 1 expression in murine macrophages is essential for the anti - inflammatory effect of low dose 15 - deoxy - $\Delta^{12,14}$ - prostaglandin J_2 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 19325 - 19330.
 - 15 von Knethen A, Brüne B. Delayed activation of PPAR γ by LPS and IFN - γ attenuates the oxidative burst in macrophages [J]. *FASEB J*, 2001, 15: 535 - 544.
 - 16 Mráček T, Cannon B, Houštěk J. IL - 1 and LPS but not IL - 6 inhibit differentiation and down - regulate PPAR gamma in brown adipocytes [J]. *Cytokine*, 2004, 26: 9 - 15.
 - 17 Waite W J, Floyd Z E, Arbour - Reily P, et al. Interferon - γ - induced regulation of peroxisome proliferator - activated receptor γ and STATs in adipocytes [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 7062 - 7068.
 - 18 Hinz B, Brune K, Pahl A. 15 - deoxy - delta (12, 14) - prostaglandin J_2 inhibits the expression of proinflammatory genes in human blood monocytes via a PPAR - gamma - independent mechanism [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 302: 415 - 420.
 - 19 Huang J T, Welch J S, Ricote M, et al. Interleukin - 4 - dependent production of PPAR - γ ligands in macrophages by 12/15 lipoxygenase [J]. *Nature*, 1999, 400: 378 - 382.
 - 20 Chinetti G, Fruchart J C, Staels B. Peroxisome proliferator - activated receptors; new targets for the pharmacological modulation of macrophage gene expression and function [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2003, 14: 459 - 468.
 - 21 Jiang C, Ting A T, Seed B. PPAR - gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines [J]. *Nature*, 1998, 391: 82 - 86.
 - 22 Hong G, Davis B, Khatoun N, et al. PPAR gamma - dependent anti - inflammatory action of rosiglitazone in human monocytes; suppression of TNF alpha secretion is not mediated by PTEN regulation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 303: 782 - 787.
 - 23 Guyton K, Zingarelli B, Ashton S, et al. Peroxisome proliferator - activated receptor - gamma agonists modulate macrophage activation by gram - negative and gram - positive bacterial stimuli [J]. *Shock*, 2003, 20: 56 - 62.
 - 24 von Knethen A, Brüne B. Activation of peroxisome proliferator - activated receptor γ by nitric oxide in monocytes/ macrophages down - regulates p47phox and attenuates the respiratory burst [J]. *J Immunol*, 2002, 169: 2619 - 2626.
 - 25 Wang N, Verna L, Chen N G, et al. Constitutive activation of peroxisome proliferator - activated receptor - γ suppresses pro - inflammatory adhesion molecules in human vascular endothelial cells [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 34176 - 34181.
 - 26 Chen J, Li D, Zhang X, et al. Tumor necrosis factor - alpha - induced apoptosis of human coronary artery endothelial cells; modulation by the peroxisome proliferator - activated receptor - gamma ligand pioglitazone [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2004, 9: 35 - 41.
 - 27 Clark R B, Bishop - Bailey D, Estrada - Hernandez T, et al. The nuclear receptor PPAR γ and immunoregulation; PPAR γ mediates inhibition of helper T - cell responses [J]. *J Immunol*, 2000, 164: 1364 - 1371.
 - 28 Harris S G, Phipps R P. The nuclear receptor PPAR γ is expressed by mouse T lymphocytes and PPAR γ agonists induce apoptosis [J]. *Eur J Immunol*, 2001, 31: 1098 - 1105.
 - 29 Reynolds K, Novosad B, Hoffhines A, et al. Pretreatment with troglitazone decreases lethality during endotoxemia in mice [J]. *J Endotoxin Res*, 2002, 8: 307 - 314.
 - 30 Zingarelli B, Sheehan M, Hake P W, et al. Peroxisome proliferator activator receptor - γ ligands, 15 - deoxy - $\Delta^{12,14}$ - prostaglandin J_2 and ciglitazone, reduce systemic inflammation in polymicrobial sepsis by modulation of signal transduction pathways [J]. *J Immunol*, 2003, 171: 6827 - 6837.
 - 31 Collin M, Patel N S A, Dugo L, et al. Role of peroxisome proliferator - activated receptor - γ in the protection afforded by 15 - deoxy - $\Delta^{12,14}$ - prostaglandin J_2 against the multiple organ failure caused by endotoxin [J]. *Crit Care Med*, 2004, 32: 826 - 831.
 - 32 Cuzzocrea S, Pisano B, Dugo L, et al. Rosiglitazone, a ligand of the peroxisome proliferator - activated receptor - γ , reduces the development of nonseptic shock induced by zymosan in mice [J]. *Crit Care Med*, 2004, 32: 457 - 466.

(收稿日期: 2004 - 10 - 18)

(本文编辑: 郭方)