

Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma의 골 작용

박경록¹, 안도환²

고신대학교 의과대학 치과학교실¹, 생리학교실²

Bone Actions of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma

Keyong-Rok Park¹, Do-Whan Ahn²

Departments of ¹Dentistry and ²Physiology, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Abstract

Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) is a class of the nuclear transcription factors that regulates lipid metabolism and cell differentiation. Among three different PPAR isotypes, PPAR γ is known to be a critical regulator of adipogenesis. Because osteoblasts and adipocytes are originated from common marrow mesenchymal progenitors, PPAR γ can also impact on osteogenesis. Recent evidences have shown that PPAR γ plays a certain role in bone metabolism and bone turnover. In this review, we summarize its general bone actions of PPAR γ including bone cell growth and differentiation, bone formation and loss.

Key words : PPAR γ , osteoblast, osteoclast

서 론

Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)는 핵 수용체단백질로서 세포의 분화와 발달, 지방 대사에 관여하는 전사인자로 알려져 있다.¹⁾ 이것은 일반적으로 레티노이드 X 수용체 (retinoid X receptor: RXR)와 이형이 합체 (heterodimer)를 이루어 DNA 가닥의 특정 반응부위 (response element)와 결합되어 있다.²⁾ PPAR이 리간드와 결합하면 PPAR과 미리 결합되어 있던 억제단백질 (corepressor)이 떨어지고 활성단백질 (coactivator)이 동원되어 결합됨으로써 하부 표적 유전자의 전사활동이 촉진되거나 억제된다.²⁾ PPAR은 PPAR α , PPAR β/δ , PPAR γ 세 종류의 아형이 있으며 각각 서로다른 유전자에 의해 만들어진다. PPAR γ 는 다시 PPAR $\gamma 1$ 과 PPAR $\gamma 2$ 두 가지 아형으로 존재하는데 이는 동일한 유전자에서 서로 다른 promoter를 사용하여 splicing이 달리 나타나기 때문이다.³⁾ 세가지 아형 가운데 PPAR α 와 PPAR γ

의 작용은 비교적 상세히 알려져 있다. PPAR α 는 간과 근육에 주로 분포하여 지방산과 포도당 대사를, PPAR β/δ 는 거의 모든 세포에, PPAR $\gamma 1$ 은 골세포를 비롯한 여러 종류의 세포에서, PPAR $\gamma 2$ 는 지방조직에 한정되어 분포하며 특히 지방세포의 분화와 기능을 조절한다.^{4,5)} PPAR α 리간드로 내인성 leukotriene B4 그리고 fipate 계열의 약제가, PPAR γ 리간드로 내인성 15d-PGJ2 그리고 제2형 당뇨병치료제인 thiazolidinedione계 약물이 널리 알려져 있는데, 표1에 PPAR의 중요 리간드를 요약하였다.

PPAR γ 의 지방과 인슐린 대사에 대한 연구는 광범위하게 이루어져 있으나 골에 대한 연구는 많지 않다. 그러므로 본 소고는 PPAR γ 가 골에 미치는 영향에 대해 간략히 다루고자 한다. 특히 골세포의 형성과 분화 그리고 골 형성과 골 소실에대한 PPAR γ 의 전반적이고 기본적인 기능에 대해 기술코자 하며, 골 대사와 관련한 자세한 분자생물학적 기전은 생략하였다.

PPAR γ 와 골과의 관련성

PPAR γ 가 골 대사에 직접적으로 관여할 것이라는 사실은 PPAR γ mRNA 및 단백질 발현이 사람과 실험동물의 조골세포주, 일차배양 조골세포, 골수 기원 조골세포,

교신저자 : 안도환
주소 : 602-702 부산광역시 서구 암남동 34번지
고신대학교 의과대학 생리학교실
TEL : 051-990-6415
E-mail : dwahn@kosin.ac.kr

파골세포 전구체, 연골세포 등에서 모두 발현되는 점이다.^{6,7)} 조골세포는 골수의 간엽줄기세포로부터, 파골세포는 골수의 조혈줄기세포로부터 분화되는데, 조골세포의 분화에는 runx2, dlx5 등의 전사인자가 파골세포의 분화에는 M-CSF, RANKL과 같은 사이토카인의 역할이 중요하다. 그런데 간엽줄기세포는 조골세포뿐만 아니라 지방세포, 근육세포, 섬유세포로도 분화되므로 지방세포의 분화를 촉진하는 PPAR γ 의 작용은 간접적으로 조골세포의 분화나 성장에 영향을 줄 수도 있다 (그림1).⁸⁾ 따라서 골수 내에 지방세포의 증가와 지방 함량의 증가는 역으로 조골세포의 감소와 골 형성의 감소를 일으킬 것이라는 점은 분명하다. 그러나 어떤 학자는 골수 내 조골세포 전구체와 지방세포 전구체가 따로 존재하기 때문에 이들 세포의 분화는 서로 독립적으로 조절된다고 주장하였다.⁹⁾ 전자의 가설에 근거해 볼 때 지방세포의 분화를 조절하는 인자인 PPAR γ 가 골의 성장과 항상성 유지에 직간접적으로 중요한 역할을 담당할 것으로 여겨진다. 일례로 PPAR γ heterozygous knockout 마우스나 PPAR γ hypomorphic한 돌연변이 마우스에서 PPAR γ 활성도의 감소로 인해 골 질량 (bone mass)이 증가되는데 이는 조골세포의 활성도나 파골세포 전구체에 대해 영향을 주지 않고 간엽줄기세포로부터 조골세포의 형성이 촉진되기 때문이다.^{10,11)} 반면 PPAR γ 리간드인 rosiglitazone을 투여하여 PPAR γ 를 활성화시킨 마우스에서 골무기질의 밀도, 골 부피의 감소가 현저하였는데 이는 골수의 구조 변화 뿐만 아니라 골수의 간엽줄기세포의 기능 변화에 의한 조골세포의 감소와 지방세포의 증가와 밀접한 관련이 있다.^{12,13)}

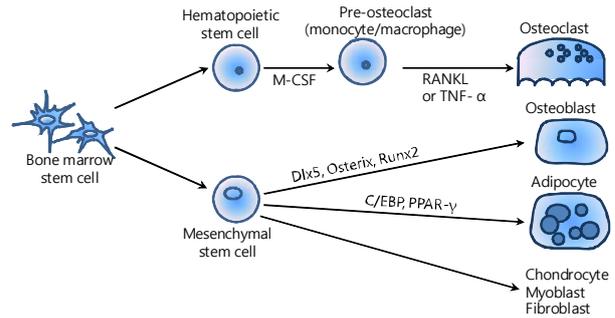


Fig. 1. Development schema of bone cells (Modified from Lecka-Czernik B and Suva LJ⁸⁾).

PPAR γ 와 조골세포

PPAR γ 가 조골세포에 미치는 영향에 대한 연구는 합성 PPAR γ 리간드로 thiazolidinedione 계열의 약물을 사용한 연구가 가장 활발하다. 마우스의 골수로부터 유도한 간엽줄기세포주인 UAMS33 세포 -runx2는 발현되나 PPAR γ 2 발현은 없다에 PPAR γ 2 유전자를 transfection 시킨 U-33/g2 세포를 rosiglitazone으로 처리했을 때 지방세포로의 분화가 촉진될 뿐만 아니라 runx2의 발현이 억제되고 이와 더불어 조골세포 형질을 대표하는 표시자인 a1(I) protocollagen, alkaline phosphatase (ALP), osteoclastin 등의 발현도 억제되었다.¹⁴⁾ U-33/g2 세포와 MC3T3 조골세포에 15d-PGJ2를 처리한 경우에도 runx2, osteopontin 발현 및 ALP 활성도와 무기질 침착의 감소를 보였다.^{15,16)} Oxidized LDL도 마우스 M2-10B4 조골세포의 분화를 억제시켰다.¹⁷⁾ 그러나 위 연구와 상반되게 MC3T3 조골세포에 ciglitazone과 troglitazone을 저농도 (5 uM 이하)로 처리하면 ALP 활성도와 석회화가 증가된다는 연구결과도 있다.¹⁸⁾ 그러나 이 연구에서 ciglitazone과 troglitazone을 10 uM 이상 처리한 경우 조골세포의 성숙이 억제되었다. 이러한 결과들을 종합해 볼 때 PPAR γ 가 세포수준에서 조골세포의 분화 또는 성숙을 직접적으로 억제하고 있을 것으로 여겨진다.

세포를 이용한 실험과는 달리 *in vivo* 실험에서는 골에 대한 PPAR γ 의 영향이 비교적 일정하게 나타난다. C57BL/6 마우스에 rosiglitazone을 사료에 섞어 10 ug/g body weight의 용량으로 7주 동안 먹었을 때 골형성이 감소되었고, 이는 runx2, a1(I) protocollagen 유전자의 발현 감소와 관련이 있었다.^{12,19)} 저용량 (3 ug/g)의 rosiglitazone을 3개월간 먹인 경우도 골 소실을 일으켰으며 특히 소주골 부피의 감소와 골무기질 밀도의 감소가 현저하였는데 이러한 골 소실은 조골세포의 세포사멸

	PPAR α	PPAR β/δ	PPAR γ
natural	Conjugated linoleic acid	Polyunsaturated fatty acid	15-deoxy-delta12,14-PGJ2 (15d-PGJ2)
	Leukotriene B4	Prostaglandin A1, D2, I2	Lysophosphatidic acid
	8(S)-hydroxy-eicosatetraenoic acid (8s-HETE)		9- and 13-hydroxyoctadecadienoic acid (HODE)
synthetic	Fibrates (clofibrate, fenofibrate, bezafibrate)	GW 3331	Thiazolidinedione (troglitazone, ciglitazone, pioglitazone, rosiglitazone)
	Wy 14,643		

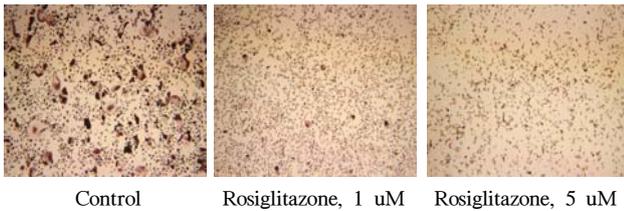


Fig. 2. Rosiglitazone inhibits RANKL-induced osteoclast formation from osteoclast precursor cells of mouse bone marrow (x40, unpublished data).

(apoptosis)에 의한 수적 감소와 관련이 있었다.¹³⁾ Swiss-webster 마우스에 25 ug/g의 용량으로 4주간 rosiglitazone을 먹인 경우에도 골 소실이 유발되었는데 이 경우 조골세포와 지방세포의 세포사멸을 동반하지 않고 조골세포/파골세포의 비율이 감소하였다.²⁰⁾ 한편 wistar 쥐에 20-25 ug/g 용량으로 8주 동안 rosiglitazone을 섭취시킨 경우 골 형성에 영향을 미치지 않았으나 pioglitazone을 25 ug/g 용량으로 4주간 섭취시킨 경우 경골의 골무기질 밀도가 감소되었다.²¹⁾ 2형 당뇨병 환자를 대상으로 rosiglitazone, pioglitazone, troglitazone 등이 골 대사에 미친 영향을 조사한 연구에 따르면 세 약제 모두 전신의 골 소실을 촉진시켰으며, 특히 여성환자에서 정상인에 비해 골 소실이 2.5배 증가하였다.²²⁾ 그러나 동물과 사람에서 PPAR γ 활성화에 의한 골질량의 감소는 조골세포의 조골능의 변화에 기인한다고 단언하기 어려울 뿐만 아니라 PPAR γ 리간드가 원래의 PPAR γ 경로와 다른 신호전달 과정을 통해 세포사멸을 유도했을 가능성을 배제하기도 힘들다.^{23,24)} 다른 한편, PPAR γ 리간드는 골수에서 지방세포 형성을 촉진하기 때문에 이로 인한 간접적 영향으로 조골세포 형성이 억제되어 골 소실이 일어날 가능성도 있다.^{25,26)}

PPAR γ 와 파골세포

골 흡수와 관련하여 PPAR γ 가 파골세포에 미치는 영향은 상이한 결과를 보인다. 마우스의 골수세포로부터 활성화비타민 D₃에 의해 유도된 파골세포 전구체에 rosiglitazone을 처치한 경우 10 uM까지 농도에 비례하여 파골세포의 형성이 억제된다.²⁷⁾ 한편 마우스의 골수와 비장에서 분리한 파골세포 전구체의 RANKL-유도 파골세포 분화는 rosiglitazone에 의해 촉진된다.²⁸⁾ Schwab 등²⁹⁾은 마우스 두개골 조직에 ciglitazone 또는 troglitazone을 첨가했을 때 두개골로부터 칼슘의 유리가 증가하고

RANKL, tartrate resistant acid phosphatase(TRAP), cathepsin K 등의 발현이 증가한 점으로 미루어 파골세포의 분화가 촉진되었을 것으로 추정했다. 저자들의 예비 실험에 의하면 마우스의 골수 조혈줄기세포에서 분리한 파골세포 전구체의 RANKL-유도 파골세포 분화가 rosiglitazone에 의해 억제되었다 (그림 2). 그러나 놀랍게도 이러한 현상은 PPAR γ 억제제인 GW9662을 처리해도 영향을 받지 않았다. 저자들의 결과와 유사하게 골수에서 유도된 파골세포 전구체, 파골세포 전구체의 세포주인 Raw 264.7 세포, 사람의 간엽줄기세포와 CD34 조혈줄기세포의 공동배양, 사람의 말초혈액의 단핵세포 등에서 RANKL-유도 파골세포의 분화가 ciglitazone 또는 15d-PGJ₂에 의해 억제되었다.^{7,27,30,31)} TNF- α 는 RANKL과 다른 기전을 통해 파골세포 형성과 골 흡수를 촉진하는 물질로 알려져 있는데, 최근 Hounoki 등³²⁾은 사람의 말초혈액에서 분리한 단핵세포의 TNF- α -유도 파골세포 분화가 ciglitazone과 15d-PGJ₂에 의해 억제된다고 하였다. 그러나 이 연구에서 GW9662가 ciglitazone에 의한 파골세포 분화 억제를 되돌리는데 비해 15d-PGJ₂에 의한 억제는 막지 못하였다. 이상의 결과들을 종합해 볼 때 PPAR γ 는 파골세포의 분화를 촉진 혹은 억제시킬 수 있으며, 또한 PPAR γ 의 작용기전이 PPAR γ 와 무관하게 나타날 수 있음을 시사한다. 그러나 이 같은 차이가 발생하게 된 이유에 대해서는 아직 밝혀진 바 없다.

In vivo 실험에서 마우스에 rosiglitazone을 3 ug/g 용량으로 3 개월간 투여했을 때 골소실이 일어났으나 이때 파골세포의 수와 TRAP로 염색된 파골세포의 세포표면의 변화도 달라지지 않았다.¹³⁾ 반면 rosiglitazone을 25 ug/g 으로 28일간 섭취시킨 경우 조골세포 수의 감소에서 비롯된 척추와 대퇴의 해면골 소실은 뚜렷하나 파골세포 또는 파골세포의 수는 변하지 않았다.²⁰⁾ 세포수준의 연구와 달리 이처럼 개체수준에서 PPAR γ 촉진제가 골 흡수를 증가시키는 점에 대해 일관된 결과 없을 뿐만 아니라, 이것이 파골세포의 분화 또는 기능에 직접적으로 영향을 미쳤다는 뚜렷한 증거는 아직 발견되고 있지 않다.

결론

PPAR γ 가 에너지대사 및 지방세포의 분화에 주로 관여되어 있다는 사실은 이것이 에너지의 보관과 사용에 중요한 역할을 담당함을 시사한다. 그러나 에너지의 확

보에 필요한 구조적인 힘은 골, 특히 골 질량에서 비롯된다. 뿐만 아니라 에너지 저장과 골 질량의 관련성은 지방 세포와 조골세포의 기원이 동일하다는 점도 있다. 지금까지 연구 결과는 대체적으로 PPAR γ 의 기능이 조골세포의 분화나 성숙에는 직간접적으로 억제하는 작용을 하는 점에 대해 일치하지만 파골세포의 분화나 기능에 대해서는 일치되는 결과를 보여주지 못하고 있다. 그러나 파골세포에 대한 PPAR γ 의 영향에 관계없이 PPAR γ 기능과 활성에 대한 연구가 깊이있게 이루어진다면 당뇨병 등에 의한 골질감소 (osteopenia), 또는 골다공증 등 골 관련 질환을 치료할 수 있는 하나의 방편으로 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

- 1) Rosen ED, Spiegelman BM: PPAR γ : a nuclear regulator of metabolism, differentiation, and cell growth. *J Biol Chem* 276:37731-37734, 2001
- 2) Tachibana K, Yamasaki D, Ishimoto K, Doi T: The Role of PPARs in Cancer. *PPAR Res* 2008:102737, 2008
- 3) Zhu Y, Qi C, Korenberg JR, Chen XN, Noya D, Rao MS, Reddy JK: Structural organization of mouse peroxisome proliferator-activated receptor gamma (mPPAR gamma) gene: alternative promoter use and different splicing yield two mPPAR gamma isoforms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:7921-7925, 1995
- 4) Heikkinen S, Auwerx J, Argmann CA: PPAR γ in human and mouse physiology. *Biochim Biophys Acta* 1771:999-1013, 2007
- 5) Giaginis C, Tsantili-Kakoulidou A, Theocharis S: Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in the control of bone metabolism. *Fundam Clin Pharmacol* 21:231-244, 2007
- 6) Shao YY, Wang L, Hicks DG, Tarr S, Ballock RT: Expression and activation of peroxisome proliferator-activated receptors in growth plate chondrocytes. *J Orthop Res* 23:1139-1145, 2005
- 7) Bendixen AC, Shevde NK, Dienger KM, Willson TM, Funk CD, Pike JW: IL-4 inhibits osteoclast formation through a direct action on osteoclast precursors via peroxisome proliferator-activated receptor gamma 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:2443-2448, 2001
- 8) Lecka-Czernik B, Suva LJ: Resolving the Two "Bony" Faces of PPAR-gamma. *PPAR Res* 2006:27489, 2006
- 9) Hasegawa T, Oizumi K, Yoshiko Y, Tanne K, Maeda N, Aubin JE: The PPAR γ -selective ligand BRL-49653 differentially regulates the fate choices of rat calvaria versus rat bone marrow stromal cell populations. *BMC Dev Biol* 8:71, 2008
- 10) Akune T, Ohba S, Kamekura S, Yamaguchi M, Chung UI, Kubota N, Terauchi Y, Harada Y, Azuma Y, Nakamura K, Kadowaki T, Kawaguchi H: PPAR γ insufficiency enhances osteogenesis through osteoblast formation from bone marrow progenitors. *J Clin Invest* 113:846-855, 2004
- 11) Cock TA, Back J, Eleftheriou F, Karsenty G, Kastner P, Chan S, Auwerx J: Enhanced bone formation in lipodystrophic PPAR γ (hyp/hyp) mice relocates haematopoiesis to the spleen. *EMBO Rep* 5:1007-1012, 2004
- 12) Rzonca SO, Suva LJ, Gaddy D, Montague DC, Lecka-Czernik B: Bone is a target for the antidiabetic compound rosiglitazone. *Endocrinology* 145:401-406, 2004
- 13) Soroceanu MA, Miao D, Bai XY, Su H, Goltzman D, Karaplis AC: Rosiglitazone impacts negatively on bone by promoting osteoblast/osteocyte apoptosis. *J Endocrinol* 183:203-216, 2004
- 14) 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 PPAR γ 2. *J Cell Biochem* 74:357-371, 1999
- 15) Lecka-Czernik B, Moerman EJ, Grant DF, Lehmann JM, Manolagas SC, Jilka RL: Divergent effects of selective peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 ligands on adipocyte versus osteoblast differentiation. *Endocrinology* 143:2376-2384, 2002
- 16) Khan E, Abu-Amer Y: Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma inhibits differentiation of preosteoblasts. *J Lab Clin Med* 142:29-34, 2003
- 17) Parhami F, Jackson SM, Tintut Y, Le V, Balucan JP, Territo M, Demer LL: Atherogenic diet and minimally oxidized low density lipoprotein inhibit osteogenic and promote adipogenic differentiation of marrow stromal cells. *J Bone Miner Res* 14:2067-2078, 1999
- 18) Jackson SM, Demer LL: Peroxisome proliferator-activated receptor activators modulate the osteoblastic maturation of MC3T3-E1 preosteoblasts. *FEBS Lett* 471:119-124, 2000
- 19) Lazarenko OP, Rzonca SO, Suva LJ, Lecka-Czernik B: Netoglitazone is a PPAR-gamma ligand with selective effects on bone and fat. *Bone* 38:74-84, 2006
- 20) Ali AA, Weinstein RS, Stewart SA, Parfitt AM, Manolagas SC, Jilka RL: Rosiglitazone causes bone loss in mice by suppressing osteoblast differentiation and bone formation. *Endocrinology* 146:1226-1235, 2005
- 21) Sottile V, Seuwen K, Kneissel M: Enhanced marrow adipogenesis and bone resorption in estrogen-deprived rats treated with the PPAR γ agonist BRL49653 (rosiglitazone). *Calcif Tissue Int* 75:329-337, 2004
- 22) Schwartz AV, Sellmeyer DE: Effect of thiazolidinediones on skeletal health in women with Type 2 diabetes. *Expert Opin Drug Saf* 7:69-78, 2008
- 23) Feinstein DL, Spagnolo A, Akar C, Weinberg G, Murphy P, Gavriluyk V, Dello Russo C: Receptor-independent actions of PPAR thiazolidinedione agonists: is mitochondrial function the key? *Biochem Pharmacol* 70:177-188, 2005
- 24) Elrod HA, Sun SY: PPAR γ and Apoptosis in Cancer. *PPAR Res* 2008:704165, 2008
- 25) Kawaguchi H, Akune T, Yamaguchi M, Ohba S, Ogata N, Chung UI, Kubota N, Terauchi Y, Kadowaki T, Nakamura K: Distinct effects of PPAR γ insufficiency on bone

- marrow cells, osteoblasts, and osteoclastic cells. *J Bone Miner Metab* 23:275-279, 2005
- 26) Gimble JM, Zvonic S, Floyd ZE, Kassem M, Nuttall ME: Playing with bone and fat. *J Cell Biochem* 98:251-266, 2006
 - 27) 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* 140:5060-5065, 1999
 - 28) Wan Y, Chong LW, Evans RM: PPAR-gamma regulates osteoclastogenesis in mice. *Nat Med* 13:1496-1503, 2007
 - 29) Schwab AM, Granholm S, Persson E, Wilkes B, Lerner UH, Conaway HH: Stimulation of resorption in cultured mouse calvarial bones by thiazolidinediones. *Endocrinology* 146:4349-4361, 2005
 - 30) Chan BY, Gartland A, Wilson PJ, Buckley KA, Dillon JP, Fraser WD, Gallagher JA: PPAR agonists modulate human osteoclast formation and activity in vitro. *Bone* 40:149-159, 2007
 - 31) 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
 - 32) Hounoki H, Sugiyama E, Mohamed SG, Shinoda K, Taki H, Abdel-Aziz HO, Maruyama M, Kobayashi M, Miyahara T: Activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma inhibits TNF-alpha-mediated osteoclast differentiation in human peripheral monocytes in part via suppression of monocyte chemoattractant protein-1 expression. *Bone* 42:765-774, 2008