

= 総 説 =

核内受容体レチノイド X 受容体アゴニストの現在と将来

The present and future of agonists for a nuclear receptor, retinoid X receptor

井上 誠*、中島健一、平居貴生

Makoto Inoue*, Ken-ichi Nakashima, Takao Hirai

愛知学院大学薬学部薬用資源学講座

Laboratory of Medicinal Resources, School of Pharmacy, Aichi-Gakuin University

Summary

Nuclear receptors (NRs) strictly control genes that are involved in physiological functions such as development, cell differentiation and proliferation, metabolism, and homeostasis, being closely involved in the development and treatment of various diseases such as lifestyle-related diseases, cancer, autoimmune diseases, and neurodegenerative diseases. Retinoid X receptors (RXR) is a member of the NR superfamily of ligand-activated transcription factors, and controls a wide variety of functions via heterodimers formed with many other NRs in addition to RXR homodimer. RXR also has extranuclear non-genomic functions through the interaction with functionally active proteins in signaling pathways. In the context of physiological function, RXR is one of the most critical NR and is an attractive target for the treatment of various diseases. The path to drug development is not flat. However, natural product research has gained new attention to drug development in recent years, as several technological advances helped to overcome many of disadvantages of natural product research. This review aims to briefly summarize the key features of NRs and RXR in addition to synthetic or naturally occurring agonists for RXRs, and overview the recent advances in the study of potential RXR agonists as therapeutic agents for Alzheimer's disease in the second half.

Keywords: retinoid X receptor, RXR, nuclear receptor, RXR agonist, naturally occurring RXR agonist, synthetic RXR agonist, lifestyle-related disease, Alzheimer's disease

*Corresponding author:

Makoto Inoue, Ph.D

Tel: +81 52 757 6792, Fax: +81 52 757 6799

e-mail address: minoue@dpc.aichi-gakuin.ac.jp

1.はじめに

核内受容体はリガンド依存的転写制御因子として、基本転写因子や転写共役因子などと転写開始前複合体を形成し標的遺伝子の発現を制御している。1985年にEvansらのグループによって初めて核内受容体としてグルココルチコイド受容体がクローニングされ¹⁾、その後、分子生物学的手法の発達により遺伝子配列の情報からリガンド未知のオーファン受容体と呼ばれる核内受容体が次々と同定された。核内受容体は一つの原初遺伝子から分子進化した遺伝子スーパーファミリーを形成しており、ヒトでは48種類の核内受容体が報告されているが、依然としてリガンドが不明なオーファン受容体も存在している^{2,3)}。核内受容体は発生、細胞の分化や増殖、代謝、恒常性維持などの生理機能に關与している遺伝子群を厳密に制御しており、生活習慣病、がん、自己免疫疾患、神経変性疾患など様々な疾患の発症や治療に密接に關与している⁴⁾。このような観点より、核内受容体を介して遺伝子の転写を調節するリガンドの探索や創製は、創薬への可能性を秘めており、発展が大いに期待される研究分野である。特に近年、核内受容体アゴニストがアルツハイマー病(AD)の治療に有効である可能性が示され、この分野の研究が再び活発になってきた⁵⁾。今回、48種の核内受容体の中で最も特異な特徴を持つレチノイドX受容体(RXR)に着目して、そのアゴニストの生物活性と創薬への応用について概説する。

2. 核内受容体の構造と機能

核内受容体群の構造には高い相同性があり、6つの機能領域(A~F)に分けられる(Fig. 1A)⁶⁾。アミノ末端にはA/Bドメインがあり、リガンド非依存的転写活性化能を有するAF-1(activation function 1)を含み、コアクティベーターが結合する。Cドメインは核内受容体応答配列に特異的に結合するDNA結合領域(DBD)で、高度に保存されたzinc fingerモチーフを2つ有している。Eドメインはリガンド結合領域(LBD)で、リガンドの結合、二量体の形成、転写共役因子(コアクティベーター/コリプレッサー)との結合に必須な配列を有している他に、リガンド依存的転写活性制御能に重要な役割を果たしているAF-2を含んでいる。DBDとLBDを結び付けている領域としてヒンジ領域(Dドメイン)が存在しているが、配列の保存性はそれ程高くない。

い。またカルボキシ末端にはFドメインがあり、RXRではその機能は十分に解析されていない。

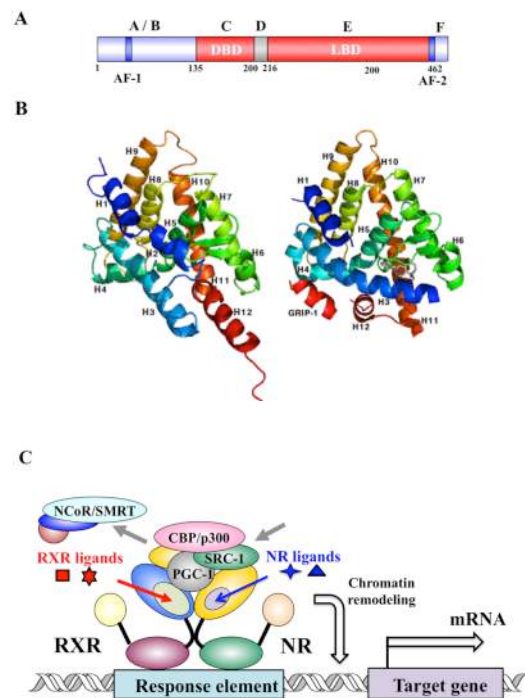


Fig. 1. Structure and function of human RXRa.

(A) Map of human RXRa functional domains. Like other nuclear receptors (NRs), the RXRa protein has six major functional/structural domains. Beginning at the NR N-terminus, these domains are: A/B, which contains a ligand-independent activation function (AF)-1 to which coactivator proteins (CoAs) bind; C or DNA-binding domain (DBD), which mediates NR binding to specific sequences of DNA in the promoter regions of genes; D or hinge, which connects the DNA and ligand-binding domains; E or ligand-binding domain (LBD) that contains a ligand-dependent AF-2 sequence to which CoAs or corepressors (CoRs) bind to regulate transcriptional activation by the NR; and the F domain, the function of which in RXR remains to be established. (Ref. 4)

(B) Structure of human RXRa ligand-binding domain in apo (without ligand) conformation (left) and holo (ligand-bound) conformation with marked in gray RXR agonist SR11237 (right). (Ref. 4)

(C) Mechanism of action of RXR. NRs (type II) form obligate heterodimers with RXR and comprise the functional transcription factor. The NR complex binds to the response element (sequence specific element) in the promoters of target genes in the basal state. Corepressors are bound to the heterodimer complex in the basal state, thereby repressing target gene transcription. Upon agonist binding to NR or RXR, conformational changes lead to the dismissal of corepressors and association with coactivators, resulting in the transcription of target genes.

これらの核内受容体は、LBD にアゴニストが結合することにより受容体に大きな構造変化（特にヘリックス H3, H11, H12）が起こり、転写共役因子及びパートナー核内受容体との結合部位が形成され、その後、基本転写因子、転写制御因子、RNA ポリメラーゼなどにより転写開始前複合体が形成され、アゴニスト特異的な遺伝子の転写が開始される (Fig. 1B, 1C) 7)。核内受容体は、その分子系統樹に基づき7つのサブファミリー（甲状腺ホルモン受容体型、RXR 型、エストロゲン受容体型、神経成長因子 IB 型、ステロイド産生因子型、胚細胞核因子型、及び、その他）に分類される 3)。また核内受容体による遺伝子の転写調節様式から、1) エストロゲン、アンドロゲン認識するステロイドホルモン受容体や RXR などのホモダイマーを形成するグループ、2) 肝 X 受容体 (LXR)、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (PPARs)、ファルネソイド X 受容体 (FXR) など脂質センサー型受容体や活性型ビタミン A や D 受容体 (RAR, VDR) などの RXR とヘテロダイマーを形成するグループ、3) ステロイド産生因子 1 (SF1)、肝受容体ホモログ-1 (LRH-1) などのモノマーで機能するグループ、に分類される (Fig. 2) 7)。

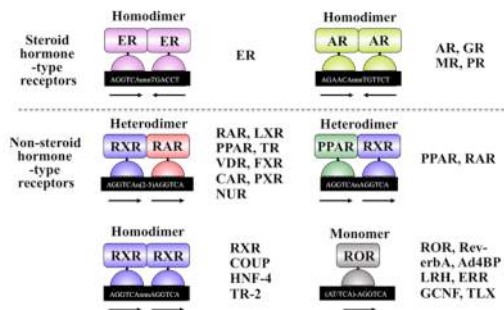


Fig. 2. Members of the NR superfamily that function as heterodimers, homodimers, and monomers.

3. RXR の遺伝子転写調節作用

RXR は 1990 年代初頭に発見され、哺乳類では RXR α 、 β 、 γ の 3 つのサブタイプから成っている 8, 9)。RXR α は腎臓、肝臓、小腸、皮膚に、RXR β は殆ど全ての組織に、そして、RXR γ は主に視床下部、脳、筋肉に発現している。生体内のどの組織でも RXR サブタイプのいずれか一つは発現しており、相互に機能を代替していると考え

られている。しかし、RXR α の欠損は、RXR β や RXR γ に比べ深刻な健康障害を引き起こすことがわかっており、RXR α が他のサブタイプとは異なる機能を担っている可能性も推察される。

RXR はホモダイマーあるいはホモテトラマーとして遺伝子の転写を調節するだけでなく、48 種類の核内受容体の約 1/3 とヘテロダイマーを形成して遺伝子の転写を調節しており、核内受容体シグナル伝達において中心的な役割を果たす特異的な核内受容体である 10)。古典的なホルモン受容体 [thyroid hormone receptor (TR) α , β , vitamin D receptor (VDR), retinoic acid receptor (RAR) α , β , γ]、代謝物及び薬物センサー受容体 [peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) α , δ , γ , liver X receptor (LXR) α , β , farnesoid X receptor (FXR), pregnane X receptor (PXR)]、オーファン受容体 [nuclear receptor 77 (Nur77), nuclear receptor related 1 (Nurr1), constitutive androstane receptor (CAR)] はヘテロダイマーを形成する際、RXR を必須のパートナー受容体としている。さらに、RXR とパートナー受容体とのヘテロダイマーは、RXR アゴニスト単独で活性化できる “permissive” ヘテロダイマー (PPARs, LXRs, FXR, Nurr1, Nur77)、パートナー受容体アゴニストの存在下でのみ RXR アゴニストによる活性化が認められる “conditional permissive” ヘテロダイマー (RAR)、RXR アゴニストにより活性化されない “non-permissive” ヘテロダイマー (VDR、TR) の 3 種に分類される 11)。その中で、permissive 及び conditional permissive ヘテロダイマーは、パートナー受容体アゴニストと RXR アゴニストが共存することにより相加的あるいは相乗的に転写活性が増強されることが知られている。

一般に、RXR とヘテロダイマーを形成する核内受容体はアゴニストの有無に関わらず核内に存在し、コリプレッサーと結合した状態で標的遺伝子のプロモーターに結合している。受容体にアゴニストが結合するとコリプレッサーが解離し、代わってコアクティベーターが結合し、遺伝子の転写が開始される (Fig. 1C)。

これら核内受容体による遺伝子の発現パターンは核内受容体のサブタイプ及びアイソタイプのみでなく、細胞内に多種類存在する転写共役因子、転写制御因子とどのような転写開始前複合体を形成するかにより決定される。つまり、細胞内環境及び標的遺伝子の種類により、

アゴニストが活性化する遺伝子が異なっている¹²⁾。さらに、同じ RXR ヘテロダイマーに対しても、パートナー受容体アゴニストが活性化する遺伝子と RXR アゴニストが活性化する遺伝子には差異があることが知られている¹³⁾。このような観点より、多くのタンパク質から構成される転写開始前複合体によって制御されている遺伝子転写を低分子化合物により調節する場合、核内受容体は適当な分子標的であり、特に核内受容体の中でも特異的な存在である RXR は分子標的として重要であると考えられる。

RXR のリガンド結合ポケットは疎水性で、自由度の高い細長い分子の受容に適した L 字型の構造をしており、その体積は 500Å³ 程である。RXR アゴニストである 9-*cis* retinoic acid (9cRA) はその結合ポケットの体積の 59% を占有するに過ぎず、all-*trans* retinoic acid (ATRA) や estradiol が RAR や ER の結合ポケットの 66% 及び 63% を占有することと比較しても占有率は小さい⁷⁾。従って、リガンド結合ポケットの非占有部分を有効に活用した RXR アゴニストを探索あるいは設計することで、より高い親和性を有するアゴニストを得ることができると考えられている¹⁴⁾。

4. 内在性 RXR アゴニスト

LXR、PPAR、FXR、RAR は酸化コレステロール、脂肪酸、胆汁酸、ATRA がそれぞれの内在性アゴニストであることが明らかにされている。RXR に関しては、これまでに 9cRA が内在性 RXR アゴニストである可能性が示唆されてきた (Fig. 3)。

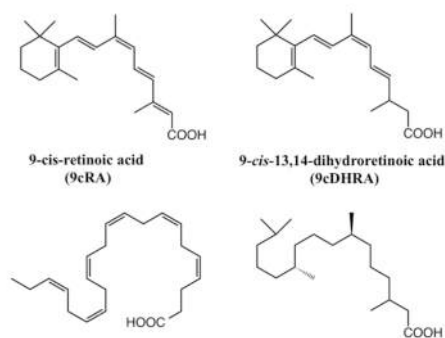


Fig. 3. Proposed physiological RXR agonists.

しかし、9cRA は 10 nM レベルで RXR を活性化するのに対し、血中や多くの臓器において活性化に必要な濃度の 9cRA は検出されず、その重要性は確認されていない¹⁵⁾。また、9cRA は RXR だけでなく RAR を同様に活性化することより、頭痛、高 TG 血症、催奇形性、皮膚粘膜毒性、高カルシウム血症などの副作用を引き起こす。さらに胎児の肝臓や骨に破壊的な毒性を示す。そのため、臨床において 9cRA の適用は皮膚のカボジ肉腫と慢性手湿疹に限定されている。ただし、膵臓においては活性化に十分な 9cRA が検出され、*in vivo* で RXR を活性化しグルコースによるインスリン分泌を抑制することが見出されている¹⁶⁾。

最近、レチノール結合タンパク質 (RBP) ノックアウト (KO) マウスにおいて、9-*cis*-13,14-dihydroretinoic acid (9cDHRA) が内在性 RXR アゴニストとして機能している可能性が示された¹⁷⁾。血清、肝臓、脳でそれぞれ ~400 nM、~700 nM、~20 nM の濃度で 9cDHRA が検出され、RXR に対する 9cDHRA と 9cRA の Kd 値は、それぞれ 90±20 nM と 20±10 nM であった。また、9cDHRA は RBP KO マウスにおいて観察される学習記憶能の低下を 1 及び 10 mg/kg の用量で改善した。しかし、9cDHRA は RAR も活性化し RXR に対する特異性が低いため、内在性 RXR アゴニストとして一般的に機能しているかはさらに検討する必要がある。また、内在性 RXR アゴニストの可能性が示唆されているドコサヘキサエン酸 (DHA) は、5~100 µM の EC₅₀ 値で RXR を活性化するが、PPARγ や Nurr1 と結合することも知られており、その効果は RXR 特異的ではなく PPARγ/RXR あるいは RXR/Nurr1 を介したデュアルアゴニストとして作用している可能性が考えられる¹⁸⁻²⁰⁾。さらに、RXR への結合は DHA が遊離脂肪酸の形であることが必要であること、DHA 濃度は生体内で最高でも 0.1 µM の濃度でしか検出されず、DHA が RXR の内在性アゴニストとして機能しているかは未だに不明である。内在性 RXR アゴニストとしては、EC₅₀ 値 3 µM ~20 µM で RXRs を活性化するクロロフィルの代謝物である phytanic acid (PA) も報告されている²¹⁾。しかし、ヒトではクロロフィルは効率よく吸収されず代謝もされないため、食物由来の PA が生理的な条件下で RXR アゴニストとして機能しているか検討が必要である。以上のように、生体内で生理的に機能している RXR の内在性アゴニストとしていくつかの候補が提案され

ているが、現時点では確定できておらず、RXR 自身の生理的な役割も不明な点が多い。

5. 合成 RXR アゴニスト

レチノイドの中で、RAR には結合せず RXR に選択的に結合するものを特に **rexinoid** と呼んでいる。これまでに多くの **rexinoid** が合成されており、ここでは糖・脂質代謝、炎症に関する生物活性を有する代表的な **rexinoid** について紹介する (Fig. 4)。抗がん作用やその他の生物活性に関してはこの 2 年間に優れた総説が報告されているのでそちらを参照戴きたい^{10, 22, 23}。

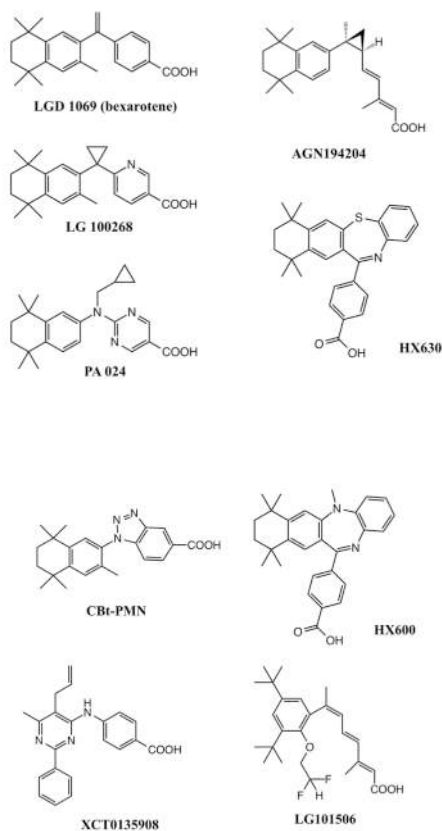


Fig. 4. Structures of synthetic RXR agonists (rexinoids).

Bexarotene (別名: LGD1069、TargretinTM) は **rexinoid** として初めて医薬品として承認され、現在皮膚 T 細胞リンパ腫や皮膚疾患の治療薬として用いられている。Bexarotene の RAR に対する EC_{50} 値は $>10 \mu\text{M}$ であるのに対して、RXR に対しては EC_{50} 値 $24 \sim 33 \text{ nM}$ で生物活性を示す。Bexarotene は *ob/ob* 糖尿病マウス

の空腹時血糖値と血清インスリン値を $PPAR\gamma$ アゴニストである **rosiglitazone** と同程度に低下させた²⁴。また脂質異常症を示す **apoE2** ノックインマウスでは、血中トリグリセリド (TG) 値を上昇させたが、脂質異常症を改善し動脈硬化症の進行を抑制した。しかし、高 TG 血症、甲状腺機能低下症、肝肥大、血小板減少などの重篤な副作用を惹起することが多数報告されており、糖尿病を始めとするヒトの生活習慣病への適用はされていない²⁵。

LG100268 は RXR に対して **bexarotene** より高い特異性を有する **rexinoid** であり、 $PPAR\gamma$ /RXR、LXR/RXR、RXR/RXR に加え、RAR アゴニストの存在下で RXR/RAR α も活性化する。本化合物は、*db/db* 糖尿病マウスの血糖値を低下させ耐糖能を改善したが、肝腫大を誘発し²⁶、甲状腺刺激ホルモンの分泌を低下させ甲状腺ホルモン量を減少させた²⁷。Zucker fatty ラットに対しては抗肥満作用が認められ、褐色脂肪組織における熱産生の亢進や、食欲抑制、皮下脂肪組織でのアポトーシス誘導によるものと考察されている²⁸。また、SW-1353 軟骨肉腫細胞において、IL-1 β が誘導するマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP)-1 と MMP-13 の発現を抑制し、抗炎症作用を有すると考えられた。この抗炎症作用は **rosiglitazone** で増強された²⁹。

AGN194204 は現時点では最も強力な RXR アゴニスト (EC_{50} 値: 0.08 nM for RXR $\gamma \sim 0.8 \text{ nM}$ for RXR β) で、 $PPAR\gamma$ /RXR を活性化し、*db/db* マウスに血糖低下作用を示す。しかし、AGN194204 は Zucker diabetic fatty (ZDF) ラットに対して著しい高 TG 血症を誘発し、肝 TG 含量も増加させ、さらに、甲状腺機能低下症も引き起こした³⁰。

LG101506 は $PPAR\gamma$ /RXR > $PPAR\alpha$ /RXR > $PPAR\delta$ /RXR を活性化することがわかっており、*db/db* 糖尿病マウスの血糖値の低下や、ZDF ラットに対するインスリン抵抗性改善作用が報告されている。本化合物は、LG100268 や **bexarotene** などの RXR 完全アゴニスト (full agonist) で観察される高 TG 血症、甲状腺機能低下症、体重増加などの副作用を示さず、安全な **rexinoid** であると考えられている^{10, 31}。

CBt-PMN は KK-*Ay* 糖尿病モデルマウスに対して、血糖値及び血清インスリンの低下作用、耐糖能の改善作用を示し、血清 TG、コレステロール値、体重、肝重量に影響を及ぼさなかった³²。また CBt-PMN は炎症性腸

疾患モデルマウスの大腸炎を抑制し、*in vitro* の LPS 誘導炎症性サイトカインの産生を PPAR δ , LXR, Nur77 アゴニストと同様に抑制した³³⁾。

PA024 と HX630 はいずれもマクロファージ系細胞で ABCA1 の発現を上昇させ、apoA-I 依存的に細胞内コレステロールを排出する。しかし、PA024 は RXR/LXR を直接活性化し ABCA1 の発現を誘導するのに対して、HX630 は PPAR γ /RXR の活性化を介して LXR の発現を誘導し、LXR アゴニスト依存的に ABCA1 の発現量を増加させた。このように、RXR アゴニストは、アゴニスト毎で RXR ヘテロダイマーに対する選択性に差異があることが推察された³⁴⁾。

HX600 は弱い RXR アゴニストであるが、オーファン受容体である Nurr1 及び Nur77 とのヘテロダイマー Nurr1/RXR 及び Nur77/RXR を選択的に活性化する。HX600 による Nurr1/RXR の活性化は炎症反応を抑制し、さらに、ミクログリアによる神経細胞死及びマウスの虚血性脳梗塞を抑制した³⁵⁾。

XCT0135908 は Nurr1/RXR を選択的に活性化する rexinoid であり、神経変性疾患（パーキンソン病）の治療における有効性が期待されている³⁶⁾。

6. 天然由来 RXR アゴニスト

Bexarotene, LG100268, AGN194204 などのように、これまでに開発された多くの RXR 完全アゴニストは高 TG 血症を誘発し、さらに、甲状腺機能低下症、肝肥大、血小板減少などの重篤な副作用を引き起こすことが報告されており、長期間の服用が必要である生活習慣病を始めとする慢性疾患への適用は難しい現状にある。また他の核内受容体アゴニストに関する副作用として、LXR アゴニスト GW3965 は高 TG 血症、脂肪肝など、PPAR α アゴニストフィブラートは軽度の高クレアチニン血症及び高ホモシステイン血症など、PPAR γ アゴニストチアゾリジン系誘導体はヒトでは体重増加、浮腫、骨折、動物モデルにおいては心肥大、うっ血性心不全、結腸直腸がん、RAR アゴニスト ATRA は、高 TG 血症、皮膚粘膜毒性、催奇形性などが報告されている。しかし、これら核内受容体アゴニストが有する生物活性の有用性を考慮して、副作用の発症機序の解明と副作用を示さない新規アゴニストの開発が進められている。一般的に天然物は合成化合物に比べ、高分子で立体的に複雑な構造を持ち、分子は酸素原子に富み、窒素、ハロゲン、イ

オウ原子は少なく、さらに縮合環、架橋環、スピロ環構造を持つなどの構造に多様性があるものが多く、このような天然物から新たな特異性を持った RXR アゴニストを探索することは創薬及び創薬シーズの提供という観点より重要である²²⁾。

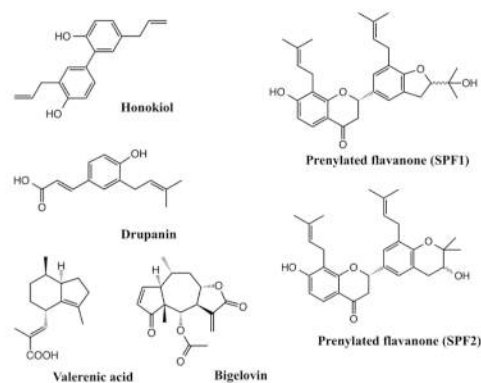


Fig. 5. Structures of naturally occurring RXR agonists.

そこで、未だ数は少ないがこれまでに報告された天然由来 RXR アゴニストについて以下に述べる (Fig. 5)。我々は、RXR 特異的リガンドとして *Magnolia obovata* から honokiol を単離同定した³⁷⁾。Honokiol は RXR α を活性化し、その EC₅₀ 値は 11.8 μ M であった。一方、RAR α , LXR α , PAR γ , PPAR δ は 50 μ M の濃度まで活性化せず、RXR に特異的な rexinoid であることがわかった。最近の研究により honokiol は RXR のリガンド結合ドメインの AF2 のリガンド結合ポケット側と外側（溶媒側）の 2 箇所結合することが判明し、今後の RXR アゴニストの開発に貴重なデータを提供している³⁸⁾。また、honokiol はマクロファージ系細胞において ABCA1 及び apoE を RXR/LXR の活性化を介して誘導し、細胞内からのコレステロール排出を促進する。この honokiol による ABCA1 及び apoE の誘導作用は神経細胞、アストロサイト、グリオーマ細胞でも観察されており^{37, 39)}、さらに honokiol はこれらの細胞に対して抗炎症作用を示すことより、動脈硬化症やアルツハイマー病 (AD) の予防/治療への応用が期待される。最近、AD モデル動物 APP/PS1 マウスに honokiol を腹腔内投与することにより、脳内 A β 沈着の減少、IL-1 β 等炎症性サイトカインの産生減少、活性化ミクログリアの減少が観察され、空間認知能の低下が改善することが報告され

た。しかし、これらの効果は PPAR γ アンタゴニスト GW9662 で抑制されたことより PPAR γ に依存した効果と結論づけている⁴⁰⁾。また、老化促進マウス SAMP8 は加齢に伴いアセチルコリンが減少し空間認知能が低下することが知られており、honokiol はコリン作動性ニューロンの減少を抑制することにより学習記憶能を維持することが報告されている⁴¹⁾。天然由来 RXR アゴニストとして honokiol に関する研究が最も多く行われており、今後の研究の発展が期待される。

Sophora tonkinensis から単離した2種のプレニル化フラバノン SPF1 及び SPF2 は、RXR α 、 β 、 γ を同等の濃度 (EC₅₀ 値: 約 0.8 μ M) で活性化した⁴²⁾。両 SPF は RXR アゴニスト bexarotene に比べ C2C12 筋管細胞に対して、heme oxygenase-1 や angiopoietin-like protein 4 などの PPAR δ 標的遺伝子を単独あるいは PPAR δ アゴニスト GW501516 の共存下で効率良く発現誘導した。また、両 SPF は RAW264.7 細胞において LPS が惹起する炎症性サイトカインやメディエーターの産生を抑制し、その作用には RXR/LXR ヘテロダイマーを介して誘導された activating transcription factor 3 による NF- κ B (nuclear factor-kappa B) の核内への移行の阻害が関係していることが示唆された⁴³⁾。さらに、両 SPF は神経細胞様 PC12 細胞のアミロイド β (A β) による細胞死誘導を用量依存的に抑制し、ABCA1 の発現誘導により A β の細胞死シグナルを阻害している可能性が示唆された⁴⁴⁾。

ブラジル産グリーンプロポリスから単離した drupanin は、RXR に高い特異性を有する PPAR γ /RXR デュアルアゴニスト (EC₅₀ 値: 2~7 μ M for RXRs, 14.7 μ M for PPAR γ) であり、インスリン抵抗性改善薬である PPAR γ アゴニスト rosiglitazone と同様に、3T3-L1 線維芽細胞の脂肪細胞への分化・脂肪形成を促進し、PPAR γ の標的遺伝子 (aP2) の発現を誘導した⁴⁵⁾。

Inula helianthus-aquatica や *Inula hupehensis* から単離されたセスキテルペンラクトン bigelovin は、RXR α を EC₅₀ 値 4.9 μ M で活性化した。興味深いことに、bigelovin は PPAR γ /RXR α は活性化するが、RXR α /FXR は活性化せず、さらに RXR α ホモダイマー及び RXR α /LXR は抑制するという RXR ヘテロダイマー及びホモダイマー選択的な転写活性化能を有していた⁴⁶⁾。最近、bigelovin の抗腫瘍活性に関するいくつか

の報告があり、RXR アゴニストとの関連性は検討されていないが興味深い⁴⁷⁾。

また、*in silico* スクリーニングにより *Valeriana officinalis* に含有される valerenic acid が RXR アゴニストとして見出された。Valerenic acid は、RXR サブタイプのうち RXR β (EC₅₀ 値: 5 μ M for RXR β , 27 μ M for RXR α , 43 μ M for RXR γ) をより選択的に活性化し、また他の核内受容体 RAR, PPARs, LXR, FXR, VDR, PXR, CAR は活性化しないことが報告されている⁴⁸⁾。

以上に述べた RXR アゴニストの多くは細胞レベルでの生物活性の検討はされているが、*in vivo* での有効性については検討がなされていない。今後の研究が期待される。

7. RXR アゴニストの脳機能に及ぼす生物活性

1) AD と脳内炎症

最近 10 年の間に、神経変性疾患における核内受容体の関与に関して、AD、パーキンソン病、ハンチントン病などの疾患動物モデルを用いて広く研究されてきた。AD は進行性の神経変性疾患であり認知症の原疾患として 50~70%を占めるが、現在根本的な治療薬は存在していない。AD の発症機序は未だ十分に明らかにされていないが、A β の脳内での沈着 (老人斑) が引き金となり炎症反応が惹起され、その後神経細胞内タウタンパク質の過剰なリン酸化による神経原線維変化が起こり、最終的に神経細胞死が誘導されるとする「アミロイドカスケード仮説」が支持されてきた⁴⁹⁾。しかし最近、A β 沈着を減少させる薬物や抗 A β 抗体を用いた臨床研究で、いずれも軽度から重度の AD 型認知症患者に対する有効性が証明できなかったことより、本仮説の妥当性が疑問視されている^{50, 51)}。その後、AD における神経細胞障害は沈着したアミロイド線維によるのではなく、可溶性の A β オリゴマーによって惹起されるという「アミロイド β オリゴマー仮説」が支持されるようになってきた⁵²⁾。最近の研究では、A β オリゴマーの多彩な生物活性や毒性が明らかにされてきている⁵³⁾。

一方、AD の病理学的変化は臨床症状が出現する数十年前から検出されるため、AD 診断基準で分類されるプレクリニカル期 (臨床症状出現前の AD) あるいは軽度認知障害期における治療が有効と考えられるようになってきた (Fig. 6)。

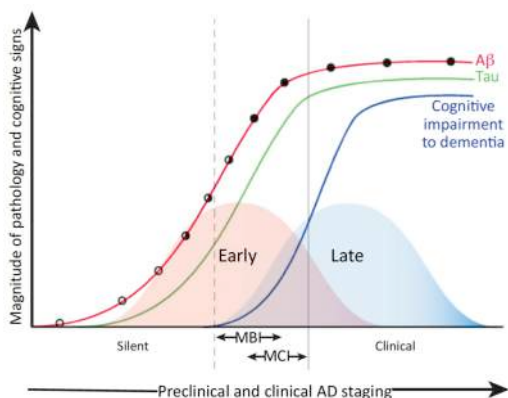


Fig. 6. Postulated stages of early and late central nervous system inflammation in AD pathology.

Early inflammation is likely to start as soon as there is a threshold of accumulated A β oligomers, before the appearance of amyloid plaques. On the other hand, the late inflammation should commence as soon as the first amyloid plaques are established. The two processes should overlap mainly at the later stages of preclinical AD pathology, while at clinical stages the late inflammation and adaptive immunity process should predominate. (Ref. 54)

最近の研究でプレクリニカル期にはすでに低強度の炎症と思われる病理所見が脳内で観察されており、A β オリゴマーの増加に伴って炎症が惹起される⁵⁴⁾、あるいは、加齢、感染、脳障害、ストレスなどが原因となりミクログリアが活性化され炎症が惹起される可能性が考えられている⁵⁵⁾。また、2型糖尿病、動脈硬化症、歯周病、肥満などの生活習慣病がAD発症のリスクを高めることがわかってきており、これら生活習慣病やエンドトキシンにより誘導される全身性炎症が、炎症性メディエーターを介して脳内炎症を惹起している可能性が示唆されている⁵⁶⁻⁵⁸⁾。すなわち、プレクリニカル期の極初期に何らかの起炎物質により産生されるIL-1 β などの炎症性サイトカインが、アミロイド前駆タンパク質 (APP) や APP 分解酵素である β -セクレターゼ (BACE1)、 γ -セクレターゼ (presenilin) を誘導、活性化することで脳内A β を増加させ⁵⁹⁾、その結果産生されたA β オリゴマーがミクログリアやアストロサイトを活性化し炎症を慢性化させるといった悪循環が引き起こされると考えられる (Fig. 7)。実際にAD患者の病変部位には、活性化されたミクログリアやアストロサイトの集簇や、種々のT細胞の浸潤が認められ、TNF- α やIL-1 β 、IL-18、インターフェロン (IFN) の産生量が増

大している⁶⁰⁾。そして、これらのサイトカインがA β 、APP、BACE1、presenilinの発現を誘導することが細胞レベル、ADモデルマウスで明らかにされ⁶¹⁾、さらに、抗IL-1 β 抗体や抗TNF- α 抗体の投与によりA β 沈着の減少や認知機能の改善が観察されている。しかし、IL-1 β の継続的な過剰発現がミクログリアに依存したA β の除去を促進しAD病理を改善したとする報告や、TNF-RII受容体を欠損させると病態が悪化するという報告もある。また、NSAIDなどの抗炎症剤を用いた臨床試験はこれまで成功していない⁶²⁾。すなわち、基礎研究及び疾患モデル動物を用いた研究のデータは、炎症性サイトカインの阻害がAD病理を抑制するためには価値のある治療戦略であることを示唆しているが、ヒトへの適用を考えた場合は治療のタイミングや必須のシグナル伝達系を抑制しない特異的な治療法を考える必要がある。

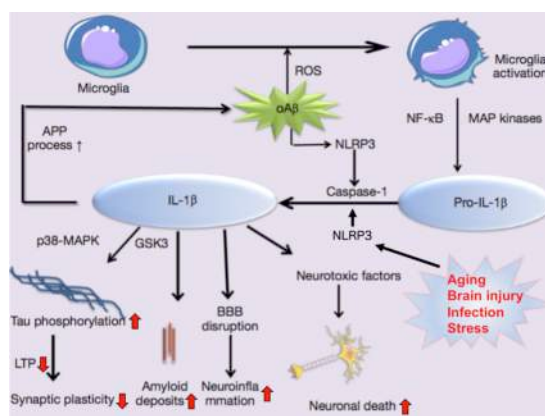


Fig. 7. The cause and consequence of inflammation in AD pathology: a hypothetical model linking the inflammatory cytokines (especially IL-1 β) activation to AD pathology. oA β , oligomeric amyloid- β ; GSK3, glycogen synthase kinase 3; LTP, long-term potentiation; BBB, blood-brain barrier; IL-1 β , interleukin-1 β ; ROS, reactive oxygen species. (Ref. 60)

2) 核内受容体アゴニストのAD治療における可能性

これまでにADモデル動物に対する核内受容体合成アゴニストの有用性が解析され、LXR、PPARs、RXR及びRARを薬理的標的とした治療が有効であることが証明されてきた⁵⁾。しかし、核内受容体アゴニストの多くは、ヒトでの有効性あるいは副作用の問題でAD治療薬としての開発が中止されている。Bexaroteneは脳内でapoEやABCA1の発現を誘導することにより、ADの原因の一つと考えられているA β の蓄積を減少させる

ことにより認知機能を改善すること、AD 発症を抑制することが報告されている⁶³⁾。しかし、多くの研究者による追試験で A β の蓄積の減少が観察されず、bexarotene によるアミロイドカスケード仮説に基づく AD の改善作用は否定された⁶⁴⁾。しかし、その後も多くの研究により、bexarotene が神経細胞の成長促進作用、軸索突起の成長作用、神経細胞死の抑制作用を示すことなどが報告され、動物モデルで観察された認知機能の改善作用を裏付けるデータが蓄積してきた⁶⁵⁻⁶⁷⁾。また、いくつかの選択的 PPAR γ や PPAR δ アゴニストが AD の治療薬として新たに臨床試験に入るなど PPARs や LXR のアゴニストの抗 AD 作用が期待されており、RXR アゴニストとの併用がより高い有効性を示すことも考えられる。有効な AD 治療薬が存在しない現在、新たな治療薬候補として核内受容体アゴニストは有望であると考えられる。

3) RXR アゴニストの抗 AD 作用

これまでに報告された核内受容体アゴニストの有益な作用のうち抗 AD 作用に寄与するものは、<1> A β の除去、<2> A β の産生抑制、<3> 抗炎症、<4> 神経機能の改善、の 4 つに分類できる (Fig. 8) 5)。

<1> A β の除去：核内受容体は主に A β の酵素による細胞外での分解と A β のミクログリアによる取り込み、除去を促進することに関与している。RXR アゴニスト HX630 は APP23 AD モデルマウスにおいて、単独あるいは RAR アゴニスト Am80 の共存下で可溶性 A β を分解するインスリン分解酵素 (IDE) を誘導し、両アゴニスト共存下では A β 42 の蓄積を有意に減少させた⁶⁸⁾。Bexarotene は培養ミクログリア及びマクロファージの食食受容体 Axl, MerTK, TREM2 の発現を誘導して A β の除去を促進した⁶⁹⁾。この作用は LXR, PPAR δ , PPAR γ アゴニストでも観察され、bexarotene との共存下で更に増強された。さらに AD モデルマウス APP/PS1 及び 5XFAD マウスに bexarotene を経口投与することにより、脳のミクログリア及びプラークに集積したマクロファージに Axl, MerTK, TREM2 が強く発現し、海馬、大脳皮質におけるアミロイド斑の減少が観察された⁶⁹⁾。また、bexarotene と PPAR γ アゴニスト DSP-8658 は、ミクログリアのスカベンジャーレセプター CD36 の発現を誘導することで A β の食食を促進し⁷⁰⁾、この作用は両アゴニストの共存下で増強された。本作用

は APP/PS1 AD モデルマウスでも観察され、空間認知機能も改善された。さらに bexarotene はアストロサイトや神経細胞において RXR/LXR を介して ABCA1, ABCG1 及び apoE の産生を誘導し、その結果生成された HDL は A β の結合を増加させ、A β の排泄と分解を促進した^{71, 72)}。

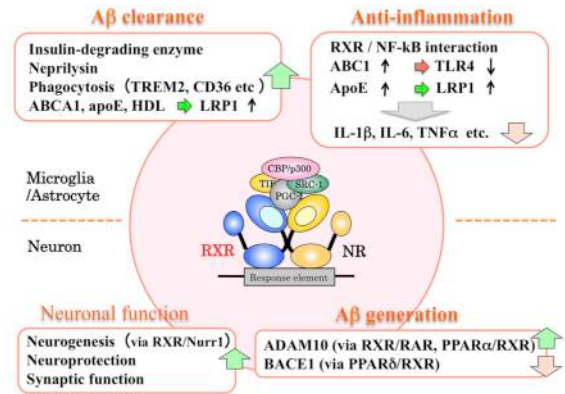


Fig. 8. Effect of RXR activation on AD pathology. The underlying mechanisms by which the activation of RXR exerts beneficial effects on the progress of AD pathology are not completely understood. However, a number of studies have been able to dissect some of these mechanisms, which are likely to be cell type-specific, and can be divided into four groups: 1) A β clearance: mainly through modulation of A β phagocytosis and enzymatic degradation; 2) anti-inflammatory mechanisms: repression of pro-inflammatory genes; 3) A β generation: modulation of APP processing by inhibiting BACE1 and presenilin production or by inducing ADAM10 to reduce A β production; and 4) neuronal function: increased synaptic function, neurogenesis, and protection against neuronal insults. TLR4, Toll-like receptor 4; LRP1, LDL receptor-related protein 1; ADAM, a disintegrin and metalloproteinase; BACE1, β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1; Nurr1, nuclear receptor-related factor 1; TREM2, triggering receptor expressed on myeloid cells-2.

A β の除去を促進する RXR ヘテロダイマーパートナー受容体アゴニストとして、LXR アゴニスト GW3965 が ABCA1 を介して apoE を脂質化し、ミクログリアによる A β の取り込みやミクログリア内のネプリライシンによる A β の分解を促進するとともに、細胞外におけるインスリン分解酵素 (IDE) による可溶性 A β の分解を促進した。その結果、A β 蓄積と可溶性 A β を著しく減少させ、学習記憶能を改善した⁷³⁾。また、PPAR γ アゴニスト BRL49653 は海馬ニューロンにおいて IDE を誘導し

74)、PPAR δ アゴニスト GW742 は 5XFAD AD モデルマウスの脳においてネプリライシンと IDE の発現を誘導した⁷⁵⁾。RXR アゴニストは permissive な RXR/LXR 及び PPARs/RXR ヘテロダイマーを活性化できるという性質があるので、RXR アゴニストがパートナー受容体アゴニストによる A β 分解酵素の誘導を増強する共同作用が期待できる

<2> A β の産生抑制：RXR/RAR 及び PPAR α /RXR の活性化は、神経細胞における α -セクレターゼ活性を有する ADAM (a disintegrin and metalloproteinase) 10 の発現を上昇させ A β の産生を減少させる⁷⁶⁾。PPAR α を欠損させた 5XFAD AD マウスでは A β 沈着が増大する；PPAR δ アゴニスト GW505116 は SOCS1 (suppressor of cytokine signaling 1) を誘導することにより BACE1 の発現を減少させ A β の産生を抑制する⁷⁷⁾；PPAR γ の活性化は BACE1 の発現を阻害し A β の産生を抑制する⁷⁸⁾。このように各種 PPAR アゴニストは α -及び β -セクレターゼの発現を制御していることにより、RXR アゴニストが permissive な PPARs/RXR ヘテロダイマーの活性化を介してセクレターゼ活性を制御して A β 産生を抑制する可能性が考えられる。

<3> 抗炎症：LXR はリガンド依存的に SUMO (small ubiquitin-like modifier protein) 化され、その SUMO 化された LXR モノマーは炎症性サイトカイン遺伝子のプロモーター領域上のコリプレッサー複合体を安定化させることにより NF- κ B や AP-1 による転写を阻害し炎症を抑制する (“transrepression”)^{79, 80)}。また、PPAR γ も同様な機序で抗炎症作用を示すことが報告されている⁸¹⁾。RXR アゴニストに関しては、9cRA が上皮細胞由来サイトカイン TSLP (thymic stromal lymphopoietin) の IL-1 β による誘導を抑制し、その作用は RXR が NF- κ B に結合することによる転写活性阻害であることが報告されている⁸²⁾。この 9cRA で報告された RXR を介した抗炎症作用の機序は transrepression とは異なり、グルココルチコイド受容体やエストロゲン受容体アゴニストが示す直接的な NF- κ B への結合によるものであった^{83, 84)}。一方、RXR アゴニストプレニル化フラバノン SPF はマクロファージ系細胞の炎症性サイトカイン産生を抑制し、その作用は SPF が RXR/LXR を介して誘導した ATF3 が NF- κ B に結合することにより NF- κ B の核内への移行を阻害し、その結果、炎症性サイトカイン遺伝子の転写を阻害する

ことが示唆されている⁴³⁾。

最近、LXR の活性化は ABCA1 を発現誘導し、その ABCA1 が細胞膜ラフトのコレステロールの分布を変化させることにより LPS 刺激などによる TLR4 (Toll-like receptor 4) のシグナルを阻害し抗炎症作用を示すことが報告されている⁸⁵⁾。Bexarotene を始め、honokiol、SPF などの RXR アゴニストも RXRLXR を介して ABCA1 を誘導することより、LXR アゴニストと同様な機序で抗炎症作用を示す可能性が考えられる。また、LXR アゴニストにより誘導される apoE は、ミクログリアなどに発現している apoE 受容体の LRP1 (LDL receptor-related protein 1) に結合して、炎症性サイトカインの産生を抑制することが報告されており⁸⁶⁾、LXR や RXR アゴニストはミクログリアやアストロサイトで apoE の誘導と排出を促進することにより、ミクログリアにおける炎症を抑制できるかもしれない。

最近、RXR/Nurr1 は bexarotene などの RXR アゴニストで活性化されることがわかった。オーファン受容体の Nurr1 はミクログリアやアストロサイトで炎症性シグナルにより誘導され、NF- κ B 標的遺伝子の発現を transrepression により抑制し、抗炎症的に働くことが報告されている。しかし、Nurr1 はモノマーとして作用していると考えられており、RXR の関与は不明である⁸⁷⁾。

これまでに PPARs、LXR、RAR、FXR、RXR などのアゴニストが示す抗炎症作用に関する報告は多くあるが、標的分子まで同定し作用機序を解明した報告は少ない。核内受容体アゴニストを効果的に疾患治療に使用するためにはさらなる検討が必要である。

<4> 神経機能の改善：後期ステージの AD 患者や AD モデルマウスにおいて Nurr1 の発現は減少しており、神経の生存、神経炎症、海馬機能及び可塑性における Nurr1 の関与が示唆されている。Nurr1 選択的合成リガンドである amodiaquine は、5XFAD マウスにおいて、A β 沈着、神経細胞の欠損、ミクログリア増殖、海馬神経生成障害を改善し、顕著な認知機能障害を改善した^{88, 89)}。一方、bexarotene は RXR/RXR より RXR/Nurr1 をより選択的に活性化して、ドパミンニューロンの成長、維持を促進することが示され⁹⁰⁾、パーキンソン病⁹¹⁾や AD⁶³⁾など神経変性疾患に対する有効性が報告されている。また、bexarotene は、1) ニュー

ロン新生、樹状突起伸長に関与する遺伝子群を活性化し、海馬歯状回において神経前駆体を増加させ、神経の分枝、交差が増加した複雑な樹枝状構造の構築を促進した⁹²⁾、2) 神経分化に関与する遺伝子の転写をエピジェネティック制御することにより、 $A\beta$ による神経細胞の減少や樹枝状構造の障害を改善した⁶⁶⁾、3) 5XFAD AD モデルマウスでシナプスの成長に関連する PSD95 や synaptophysin の遺伝子発現を増加し、ニューロンの生存率と機能を改善した⁶⁷⁾。

この他に、LXR アゴニスト GW3965 は 3xTg-AD マウスにおいて認知機能を改善し⁹³⁾、その効果はシナプス機能に関係する *Syp*、*Syn1*、*Dlg3*、並びに、神経新生に関与する *Hmgb3*、*Rbbp7* などの遺伝子のメチル化状態を変化させ、遺伝子発現を増加させることが報告されている⁹⁴⁾。PPAR α アゴニスト simvastatin は 5XFAD マウスの学習記憶能を改善し、海馬における CREB (cAMP-response element binding protein) の誘導を介して神経細胞の成長を調節する BDNF (brain-derived neurotrophic factor) を増加させる作用を示した⁹⁵⁾。このように各種の核内受容体アゴニストで神経機能の改善に関する報告があり、RXR アゴニストはこれらの RXR/LXR や PPAR α /RXR の活性化を介して、有益な作用を示す可能性が考えられる。

8. 核内受容体アゴニストの有用性 (将来展望)

RXR は遺伝子転写制御因子として、遺伝子の転写活性を調節することで生理機能を調節するゲノミックな作用に加え、各種の機能タンパク質との相互作用を介して細胞機能を調節するノンゲノミックな作用を示すことがわかってきた。その一例として、RXR には核内移行シグナルが存在しており、オーファンレセプターである Nur77 に結合することにより Nur77 を核から細胞質へ運搬し、ミトコンドリアの Bcl-2 との相互作用を介してミトコンドリア依存性の細胞死を促進する⁹⁶⁾。ヒト血小板においては、RXR は G タンパク質 (Gq) とリガンド依存的に結合することにより細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇を抑制して、ATP あるいは TXA_2 が惹起する血小板凝集を抑制する⁹⁷⁾。ヒト内皮細胞においては、RXR アゴニスト 9cRA と SR11237 は NADPH oxidase を阻害することにより NF- κ B の活性化を抑制して、ICAM-1 や VCAM-1 の発現を抑制する⁹⁸⁾。また、RXR が NF- κ B、JNK、AP-1 などの炎症性転写因子との直接的な結合を

介して抗炎症作用を示すことが示唆されている。しかし PPAR γ や LXR で報告されているように、RXR がリガンド依存的に SUMO 化され、transrepression により炎症性サイトカインの転写を抑制するという報告はない^{80, 81)}。

最近、各種癌細胞の細胞質に N 末端が切断された tRXR (tRXR) が存在することが見出されており、tRXR は PI3K の p85 α 制御サブユニットと相互作用することにより、PI3K/AKT を活性化し癌細胞の増殖を促進する。一方、NSAID である sulindac の誘導体 K-80003 は、tRXR に結合してテトラマーの形成を促進して tRXR と p85 α の結合を解離させ、その結果、癌細胞の増殖を阻害することがわかっている⁹⁹⁾。

このように RXR のノンゲノミックな作用が明らかになるに従い、転写制御因子としての RXR の機能に加え、RXR のノンゲノミックな作用を介した細胞機能調節作用がますます広範になり、生理的な役割の解明が急がれるとともに、創薬ターゲットとしての魅力が益々増してきている。

9. おわりに

本稿では核内受容体 RXR 及びそのアゴニストの生物活性を中心に述べた。RXR はホモダイマーやテトラマーに加え多くのパートナー受容体とヘテロダイマーを形成しており、その制御が複雑であるという理由から、RXR は創薬ターゲットとして PPAR や LXR に水をあけられてきた感があった。しかし、RXR の機能解析が進むに従い、ゲノミックな作用ばかりでなくノンゲノミックな作用が重要な役割を果たしていることがわかり始め、さらにはパートナー受容体アゴニストと RXR アゴニストの併用が有用であることが示唆され、RXR は創薬ターゲットとして再度注目を集めつつある。これまでは核内受容体に高い親和性を示し、核内受容体を最大限に活性化できる完全アゴニストを目標に開発が進められてきたが、必ずしも求められる生物活性が得られず、逆に重篤な副作用を誘発してきた経緯がある。今後は、さらに RXR の多彩な機能の解析が進められ、求められる生体内標的分子の生理機能のみを選択的に制御できる RXR アゴニストの開発が必要であると考えられる。そのためには、化合物の単離が困難である、多量の化合物を得ることが困難である、構造が複雑で合成が困難である、などの理由で創薬資源としての価値が下がりつつあ

た天然物の構造の多様性に頼ることが重要であると考えられる。天然物から高い選択性を持ち低毒性の RXR アゴニストを探索し続けることは地道な作業ではあるが、その成果は大きいと考えている。生活習慣病を始め、AD などの神経変性疾患の治療薬や創薬シーズの探索はこれまで以上に重要性が増しており、この分野の研究の発展が期待される。

REFERENCES

- [1] Hollenberg S.M., Weinberger C., Ong E.S., Cerelli G., Oro A., Lebo R., et al., *Nature*, 318, 635–641 (1985).
- [2] Evans R.M., Mangelsdorf D.J., *Cell*, 157, 255–263 (2014).
- [3] Nuclear Receptors Nomenclature Committee, *Cell*, 97, 161–163 (1999).
- [4] Dawson M.L., Xia Z., *Biochim. Biophys. Acta*, 1821, 21–56 (2012).
- [5] Moutinho M., Laudreth G.E., *J. Lipid Res.*, 58, 1937–1949 (2017).
- [6] Germain P., Staels B., Dacquet C., Spedding M., Laudet V., *Pharmacol. Rev.*, 58, 685–704 (2006).
- [7] Egea P.F., Mitschler A., Rochel N., Ruff M., Chambon P., Moras D., *EMBO J.*, 19, 2592–2601 (2000).
- [8] Leid M., Kastner P., Lyons R., Nakshatri H., Saunders M., Zacharewski T., et al., *Cell*, 68, 377–395 (1992).
- [9] Mangelsdorf D.J., Borgmeyer U., Heyman R.A., Zhou J.Y., Ong E.S., Oro A.E., et al., *Genes Dev.*, 6, 329–344 (1992).
- [10] Krężel W., Rühl R., de Lera A.R., *Mol. Cell. Endocrinol.*, 491, 110436 (2019).
- [11] Mangelsdorf D.J., Evans R.M., *Cell*, 83, 841–850 (1995).
- [12] Vedell P.T., Lu Y., Grubbs C.J., Yin Y., Jiang H., Bland K.I., et al., *Mol. Pharmacol.*, 83, 698–708 (2013).
- [13] Széles L., Póliska S., Nagy G., Szatmari I., Szanto A., Pap A., et al., *Mol. Endocrinol.*, 24, 2218–2231 (2010).
- [14] Huang P., Chandra V., Rastinejad F., *Chem. Rev.*, 114, 233–254 (2014).
- [15] Wolf G., *Nutr. Rev.*, 64, 532–538 (2006).
- [16] Kane M.A., Folias A.E., Pingitore A., Perri M., Obrochta K.M., Krois C.R., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 21884–21889 (2010).
- [17] Rühl R., Krzyzosiak A., Niewiadomska-Cimicka A., Rochel N., Szeles L., Vaz B., Wietrzyk-Schindler M., et al., *PLoS Genet.*, 11:e1005213 (2015).
- [18] Lengqvist J., Mata de Urquiza A., Bergman A.C., Willson T.M., Sjövall J., Perlmann T., et al., *Mol. Cell. Proteomics*, 3, 692–703 (2004).
- [19] Calder P.C., *Biochim. Biophys. Acta*, 1851, 469–484 (2015).
- [20] Windshügel B., *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 37, 4651–4657 (2019).
- [21] Lemotte P.K., Keidel S., Apfel C.M., *Eur. J. Biochem.*, 236, 328–333 (1996).
- [22] Hiebl V., Ladurner A., Latkolik S., Dirsch V.M., *Biotechnol. Adv.*, 36, 1657–1698 (2018).
- [23] de Almeida N.R., Conda-Sheridan M., *Med. Res. Rev.*, 39, 1372–1397 (2019).
- [24] Mukherjee R., Davies P.J., Crombie D.L., Bischoff E.D., Cesario R.M., Jow L., et al., *Nature*, 386, 407–410 (1997).
- [25] de Vries-van der Weij J., de Haan W., Hu L., Kuif M., Oei H.L., van der Hoorn J.W., et al., *Endocrinology*, 150, 2368–2375 (2009).
- [26] Lenhard J.M., Lancaster M.E., Paulik M.A., Weiel J.E., Binz J.G., Sundseth S.S., et al., *Diabetologia*, 42, 545–554 (1999).
- [27] Liu S., Ogilvie K.M., Klausung K., Lawson M.A., Jolley D., Li D., et al., *Endocrinology*, 143, 2880–2885 (2002).
- [28] Ogilvie K.M., Saladin R., Nagy T.R., Urcan M.S., Heyman R.A., Leibowitz M.D., *Endocrinology*, 145, 565–573 (2004).
- [29] Burrage P.S., Schmucker A.C., Ren Y., Sporn M.B., Brinckerhoff C.E., *Arthritis Res. Ther.*, 10, R139 (2008).
- [30] Macchia P.E., Jiang P., Yuan Y.D., Chandarardna R.A., Weiss R.E., Chassande O., et al., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 283, E326–E331 (2002).
- [31] Leibowitz M.D., Ardecky R.J., Boehm M.F., Broderick C.L., Carfagna M.A., Crombie D.L., et al., *Endocrinology*, 147, 1044–1053 (2006).
- [32] Kakuta H., Yakushiji N., Shinozaki R., Ohsawa F., Yamada S., Ohta Y., et al., *ACS Med. Chem. Lett.*, 3, 427–432 (2012).
- [33] Onuki M., Watanabe M., Ishihara N., Suzuki K., Takizawa K., Hirota M., et al., *Int. Immunol.*, 31, 251–262 (2019).
- [34] Nishimaki-Mogami T., Tamehiro N., Sato Y., Okuhira K., Sai K., Kagechika H., et al., *Biochem. Pharmacol.*, 76, 1006–1013 (2008).
- [35] Loppi S., Kolosowska N., Kärkkäinen O., Korhonen P., Huuskonen M., Grubman A., et al., *Brain Behav. Immun.*, 73, 670–681 (2018).
- [36] Wallén-Mackenzie Å., Mata de Urquiza A., Petersson S., Rodriguez F.J., Friling S., Wagner J., et al., *Genes Dev.*, 17, 3036–3047 (2003).
- [37] Kotani H., Tanabe H., Mizukami H., Makishima M., Inoue M., *J. Nat. Prod.*, 73, 1332–1336 (2010).
- [38] Scheepstra M., Nieto L., Hirsch A.K., Fuchs S., Leysen S.,

- Lam C. V., et al. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 53, 6443–6448 (2014).
- [39] Jung C.G., Horike H., Cha B.Y., Uhm K.O., Yamauchi R., Yamaguchi T., et al., *Biol. Pharm. Bull.*, 33, 1105–1111 (2010).
- [40] Wang D., Dong X., Wang C., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 366, 470–478 (2018).
- [41] Matsui N., Takahashi K., Takeichi M., Kuroshita T., Noguchi K., Yamazaki K., et al., *Brain Res.*, 1305, 108–117 (2009).
- [42] Inoue M., Tanabe H., Nakashima K., Ishida Y., Kotani H., *J. Nat. Prod.*, 77, 1670–1677 (2014).
- [43] Wang W., Nakashima K.I., Hirai T., Inoue M., *J. Nat. Med.*, 73, 419–430 (2019).
- [44] Wang W., Nakashima K.I., Hirai T., Inoue M., *J. Nat. Med.*, 73, 154–162 (2019).
- [45] Nakashima K., Murakami T., Tanabe H., Inoue M., *Biochim. Biophys. Acta*, 1840, 3034–3041 (2014).
- [46] Zhang H., Li L., Chen L., Hu L., Jiang H., Shen X., *J. Mol. Biol.*, 407, 13–20 (2011).
- [47] Wang B., Zhou T.Y., Nie C.H., Wan D.L., Zheng S.S., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 499, 156–163 (2018).
- [48] Merk D., Grisoni F., Friedrich I., Gelzinyte E., Schneider G., *J. Med. Chem.*, 61, 5442–5447 (2018).
- [49] Hardy J.A., Higgins G.A., *Science*, 256, 184–185 (1992).
- [50] Mullard A., *Nat. Rev. Drug Discov.*, 16, 3–5 (2016).
- [51] Herrup K., *Nat. Neurosci.*, 18, 794–799 (2015).
- [52] Lambert M.P., Barlow A.K., Chromy B.A., Edwards C., Freed R., Liosatos M., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 6448–6453 (1998).
- [53] Cline E.N., Bicca M.A., Viola K.L., Klein W.L., *J. Alzheimers Dis.*, 64, S567–S610 (2018).
- [54] Cuello A.C., *Trends Pharmacol. Sci.*, 38, 956–966 (2017).
- [55] Stephenson J., Nutma E., van der Valk P., Amor S., *Immunology*, 154, 204 (2018).
- [56] Heneka M.T., Carson M.J., El Khoury J., Landreth G.E., Brosseron F., Feinstein D.L., et al., *Lancet Neurol.*, 14, 388–405 (2015).
- [57] Tejera D., Mercan D., Sanchez-Caro J.M., Hanan M., Greenberg D., Soreq H., et al., *EMBO J.*, 38, e101064 (2019).
- [58] Brown G.C., *J. Neuroinflammation*, 16, 180 (2019).
- [59] Liao Y.F., Wang B.J., Cheng H.T., Kuo L.H., Wolfe M.S., *J. Biol. Chem.*, 279, 49523–49532 (2004).
- [60] Wang W.Y., Tan M.S., Yu J.T., Tan L., *Ann. Transl. Med.*, 3, 136 (2015).
- [61] Guan P.P., Wang P., *FASEB J.*, 33, 13–33 (2019).
- [62] Ali M.M., Ghouri R.G., Ans A.H., Akbar A., Toheed A., *Cureus*, 11, e4620 (2019).
- [63] Cramer P.E., Cirrito J.R., Wesson D.W., Lee C.Y., Karlo J.C., Zinn A.E., et al., *Science*, 335, 1503–1506 (2012).
- [64] Fitz N.F., Cronican A.A., Lefterov I., Koldmova R., *Science*, 340, 924-c (2013).
- [65] Mounier A., Georgiev D., Nam K.N., Fitz N.F., Castranio E.L., Wolfe C.M., et al., *J. Neurosci.*, 35, 11862–11876 (2015).
- [66] Nam K.N., Mounier A., Fitz N.F., Wolfe C., Schug J., Lefterov I., et al., *Sci. Rep.*, 6, 24048 (2016).
- [67] Mariani M.M., Malm T., Lamb R., Jay T.R., Neilson L., Casali B., et al., *Sci. Rep.*, 7, 42270 (2017).
- [68] Kawahara K., Suenobu M., Ohtsuka H., Kuniyasu A., Sugimoto Y., Nakagomi M., et al., *J. Alzheimers Dis.*, 42, 587–605 (2014).
- [69] Savage J.C., Jay T., Goduni E., Quigley C., Mariani M.M., Malm T., et al., *J. Neurosci.*, 35, 6532–6543 (2015).
- [70] Yamanaka M., Ishikawa T., Griep A., Axt D., Kummer M.P., Heneka M.T., *J. Neurosci.*, 32, 17321–17331 (2012).
- [71] Boehm-Cagan A., *J. Neurosci.*, 34, 7293–7301 (2014).
- [72] Zhao J., Fu Y., Liu C.C., Shinohara M., Nielsen H., Dong Q., et al., *J. Biol. Chem.*, 289, 11282–11292 (2014).
- [73] Jiang Q., Lee C.Y., Mandrekar S., Wilkinson B., Cramer P., Zelcer N., et al., *Neuron*, 58, 681–693 (2008).
- [74] Du J., Zhang L., Liu S., Zhang C., Huang X., Li J., et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 383, 485–490 (2009).
- [75] Kalinin S., Richardson J.C., Feinstein D.L., *Curr. Alzheimer Res.*, 6, 431–437 (2009).
- [76] Corbett G.T., Gonzalez F.J., Pahan K., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 112, 8445–8450 (2015).
- [77] Lee W.J., Ham S., Lee G.H., Choi M.J., Yoo H., Paek K.S., et al., *J. Neurochem.*, 151, 370–385 (2019).
- [78] Sastre M., Dewachter I., Rossner S., Bogdanovic N., Rosen E., Borghgraef P., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103, 443–448 (2006).
- [79] Tall A.R., Yvan-Charvet L., *Nat. Rev. Immunol.*, 15, 104–116 (2015).
- [80] Fessler M.B., *Pharmacol. Ther.*, 181, 1–12 (2018).
- [81] Jennewein C., Kuhn A.M., Schmidt M.V., Meilladec-Jullig V., von Knethen A., Gonzalez F.J., et al., *J. Immunol.*, 181, 5646–5652 (2008).
- [82] Lee H.C., Headley M.B., Iseki M., Ikuta K., Ziegler S.F., *J.*

- Immunol., 181, 5189–5193 (2008).
- [83] Ray A., Prefontaine K.E., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 752–756 (1994).
- [84] Ray A., Prefontaine K.E., Ray P., *J. Biol. Chem.*, 269, 12940–12946 (1994).
- [85] Ito A., Hong C., Rong X., Zhu X., Tarling E.J., Hedde P.N., et al., *Elife*, 4:e08009 (2015).
- [86] Pocivavsek A., Mikhailenko I., Strickland D.K., Rebeck G.W., *J. Neuroimmunol.*, 214, 25–32 (2009).
- [87] Saijo K., Winner B., Carson C.T., Collier J.G., Boyer L., Rosenfeld M.G., et al., *Cell*, 137, 47–59 (2009).
- [88] Moon M., Jung E.S., Jeon S.G., Cha M.Y., Jang Y., Kim W., et al., *Aging Cell*, 18, e12866 (2019).
- [89] Kim C.H., Han B.S., Moon J., Kim D.J., Shin J., Rajan S., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 112, 8756–8761 (2015).
- [90] McFarland K., Spalding T.A., Hubbard D., Ma J., Olsson R., Burstein E.S., *ACS Chem. Neurosci.*, 4, 1430–1438 (2013).
- [91] Friling S., Bergsland M., Kjellander S., *BMC Neurosci.*, 10:146 (2009).
- [92] Mounier A., Georgiev D., Nam K.N., Fitz N.F., Castranio E.L., Wolfe C.M., et al., *J. Neurosci.*, 35, 11862–11876 (2015).
- [93] Sandoval-Hernández A.G., Buitrago L., Moreno H., Cardona-Gómez G.P., Arboleda G., *PLoS One*, 10, e0145467 (2015).
- [94] Sandoval-Hernández A.G., Hernández H.G., Restrepo A., Muñoz J.I., Bayon G.F., Fernández A.F., et al., *J. Mol. Neurosci.*, 58, 243–253 (2016).
- [95] Roy A., Jana M., Kundu M., Corbett G.T., Rangaswamy S.B., Mishra R.K., et al., *Cell Metab.*, 22, 253–265 (2015).
- [96] Cao X., Liu W., Lin F., Li H., Kolluri S.K., Lin B., et al., *Mol. Cell. Biol.*, 24, 9705–9725 (2004).
- [97] Moraes L.A., Swales K.E., Wray J.A., Damazo A., Gibbins J.M., Warner T.D., et al., *Blood*, 109, 3741–3744 (2007).
- [98] Ning R.B., Zhu J., Chai D.J., Xu C.S., Xie H., Lin X.Y., et al., *Genet. Mol. Res.*, 12, 6692–6707 (2013).
- [99] Zhou H., Liu W., Su Y., Wei Z., Liu J., Kolluri S.K., et al., *Cancer Cell*, 17, 560–573 (2010).