

特集 バイオマーカー探索を指向した先端的研究 ―その2―

バイオマーカーとしてのアディポネクチン

昭和大学薬学部薬物療法学講座遺伝解析薬学部門

中野 泰子

昭和大学医学部内科学講座（糖尿病・代謝・内分泌内科部門）

平野 勉

医療法人社団慈恵会新須磨リハビリテーション病院

芳野 原

昭和大学外科学講座（小児外科学部門）

菅沼 理江 土岐 彰

慶応義塾大学医学部総合診療教育センター

都島 基夫

はじめに

筆者が所属していた教室では、補体系第二経路の自己・非自己認識機構の解明を目的に、血漿や赤血球膜から様々なタンパク質を精製して研究を行っていた。第二経路は補体因子 C3 から始まるが、このタンパク質は血液中で常に加水分解を受けて準活性化状態となり第二経路活性化の準備をしている。これにより生じた C3b の一部がチオエステル結合により自己細胞や外来異物表面に共有結合する。自己細胞ではわれわれが見つけた CD59 を含め様々な補体系の制御因子が、膜に結合した C3b からの補体第二経路の増幅ループを抑制し、最終産物である膜侵襲複合体の産生を抑制して細胞破壊を阻止し、一方、外来異物では制御因子が存在しないため、補体経路が進行して膜侵襲複合体により破壊される。このように、補体系第二経路には自己を認識する機構があるのではなく、無差別に攻撃の準備をしているが、自己を保護するための因子群を介して自己破壊が回避されていた。このように補体系の制御に関する研究がほぼ収束したため、次に炎症性疾患を標的に、まずは炎症部位で露出する細胞外基質に親和性を持つ新規タンパク質を探索することにした。アディポネクチンは、ゼラチン—セルロファインを用

いたアフィニティークロマトグラフィーで新規タンパク質を探索していた際に偶然みつけたタンパク質である。ゼラチンに結合したことから、1996 年に gelatin-binding protein of 28 kDa (GBP28) と命名し報告した (DDBJ/EMBL/GenBank nucleotide sequence database accession numbers: ABO12163, ABO12164 or ABO12165)¹⁾。同時期に、ヒト脂肪細胞で最も多く発現している遺伝子 apM1 (adipose most abundant gene transcript 1) として大阪大学から²⁾、マウス 3T3-L1 細胞を脂肪細胞に分化すると誘導される蛋白質 acrp30³⁾、adipoQ⁴⁾として米国の2つの研究室から報告された。その後、脂肪組織で特異的に高発現していること、コラーゲンに結合することから、接着タンパク質であろうということでアディポネクチンと命名された。明確な生理活性は長く不明のままであったが、2001 年に血中脂肪酸濃度を低下させるという衝撃的な結果が報告され⁵⁾、さらに、血糖低下作用、インスリン感受性増加作用、脂肪酸酸化増加作用が報告されたことから⁶⁾急激に注目され、その後、多様な生理活性の報告がなされている。その抗動脈硬化作用、抗糖尿病作用、抗炎症作用から、現在では善玉アディポサイトカインとして有名なタンパク質となっている。

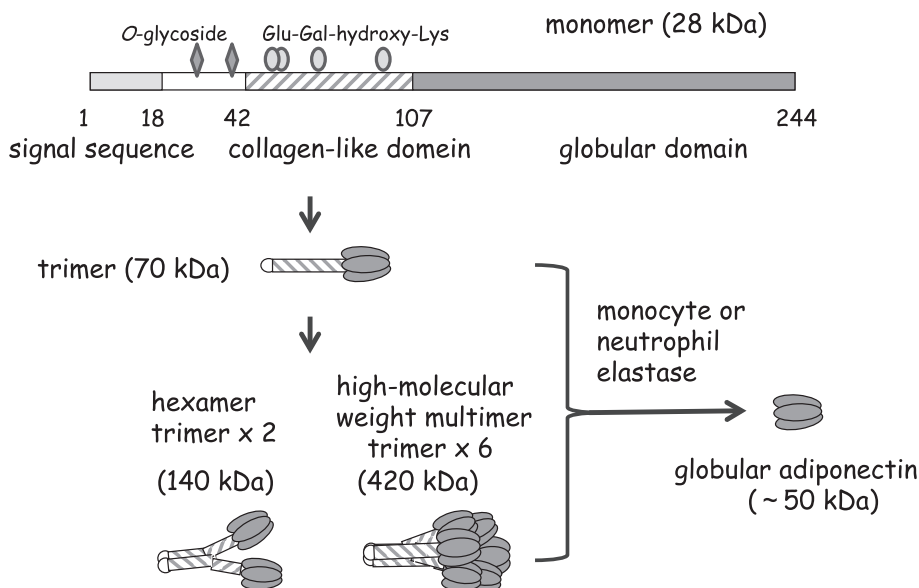


Fig. 1 Structure of human adiponectin

The protein consists of an N-terminal signal sequence of 18 amino acids followed by a sequence of 24 amino acids in which two *O*-glycoside chains are attached to threonine residues. This region is followed by a stretch of 22 collagen repeats which contains at least four glycosylated lysine residues, and the C-terminal 137 amino acids form a globular domain. By means of the C-terminal globular domain and collagen-like domain, three adiponectin monomers form one stable trimer, and these trimers further multimerize to form bouquet forms, hexamer and high-molecular-weight multimer.

アディポネクチンの構造

アディポネクチンは図1に示すように、N末端のシグナル配列に続き、種間で配列の相同性が低い領域、コラーゲン様ドメイン、および球状ドメインから構成されている。われわれは、発見当初、精製したGBP28のゲル濾過における分子量や、還元剤や加熱処理によるSDS-PAGEでの分子量の変化より、コラーゲン様ドメインで形成される三量体が6本集まったタンパク質であろうと推定し報告したが¹⁾、現在、GBP28は、高分子量多量体アディポネクチン (high molecular weight adiponectin, HMW) と呼ばれている。さらに、GBP28や、そのN末端ペプチドやC末端ペプチドに対する抗体を用いた解析で、血中には三量体、六量体、高分子量多量体としてアディポネクチンが存在していることも明らかにしている。また、これらとは別に極微量ではあるが三量体から切り出された球状ドメインのみのアディポネクチン (globular adiponectin, gAd) の存在が知られており⁵⁾、これは炎症局所で活性化単球や

好中球から放出されるエラスターゼにより生成されると推定されている⁷⁾。このように会合度の違う分子種や局所的に産生される分子種が知られているが、脂肪組織で産生されている分子種としてはHMWが主な分子種である⁸⁾。アディポネクチンは脂肪細胞内で合成されると小胞体のシャペロンタンパク質ERp44にジスルフィド結合してプールされ、その後、小胞体のシャペロンタンパク質であるEro-L α のERp44への結合により放出されたアディポネクチンは、disulfide-bond A oxidoreductase-like protein (DsbA-L)により構造が変化して、protein disulfide isomerase (PDI)により多量体化が起こる⁹⁾。また、これらのタンパク質の発現が増加すれば、アディポネクチンの産生、多量体化、細胞外分泌が増加する。分泌された後、部分的に乖離する可能性があるが、精製したHMWは極めて安定で、他の分子種への変換は認められない。マウスを用いた実験により、六量体には活性がないが、HMWはその濃度に依存して血糖値を低下させることが報告されている⁸⁾。また、インスリン投与30分後に、または、

グルコース投与1から2時間後に血中のHMW濃度が大きく低下し、一方、三量体や六量体アディポネクチンはあまり低下しないことも報告されている¹⁰⁾。ヒトでも食後、HMW濃度が一過性に低下することをわれわれは観察しており（未発表データ）、これらの結果は、摂食がHMWを選択的に消費する生体反応を誘導することを示唆している。

アディポネクチン受容体

アディポネクチンの受容体として、AdipoR1, AdipoR2, T-カドヘリンが同定されている^{11, 12)}。AdipoR1とAdipoR2は7回膜貫通型の構造を有しているが、通常のGタンパク質共役型受容体(GPCR)とは逆で、N末端が細胞内、C末端が細胞外という構造をしている。また、ほぼすべての臓器に発現しているが、骨格筋にはAdipoR1が多く、肝臓にはAdipoR2が比較的多く発現している。AdipoR1にはgAdが高親和性に結合し、骨格筋での脂肪酸燃焼促進作用はgAdの方が強いという事実と合致している。一方、AdipoR2は、gAd、三量体のいずれに対してもほぼ同程度の親和性で結合するが、AdipoR2の発現が比較的多い肝臓に作用して糖新生を阻害する活性は、糖鎖が結合したアディポネクチンが圧倒的に強い¹³⁾。コラーゲン様ドメインにヒドロキシプロリンやヒドロキシリジンの形成が起こらないと六量体やHMWができず、また、このヒドロキシリジンに糖鎖修飾が起こらないとHMWが形成できないことより、肝臓に対してはHMWの作用が強いことが示唆される¹⁴⁾。また、AdipoR1とAdipoR2はホモあるいはヘテロマルチマーとして膜に存在しており、それぞれのノックアウト(KO)マウスを用いた実験によると、AdipoR1を介してAMPK(AMP-activated protein kinase)のリン酸化、すなわち活性化が起こり、骨格筋で糖の取り込みや脂肪酸の燃焼の促進、肝臓では糖新生の抑制と脂肪酸燃焼を促進し、AdipoR2からは抗酸化作用、炎症抑制作用、PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor alpha)の活性化を介した脂肪酸燃焼の促進などが起こる¹¹⁾。

一方、T-カドヘリンは、主に血管内皮細胞や平滑筋細胞、心筋細胞に発現しており、上記のような翻訳後修飾を受けた六量体やHMWしか結合できない¹²⁾。また、アディポネクチンとの結合にはカル

シウムを必要とする。カドヘリンファミリーは、そのほとんどが膜貫通ドメインを持つ細胞膜タンパク質で、カルシウム依存的に細胞と細胞を接着させる作用を持ち、主にホモフィリックな接着機能を介して細胞間相互作用を制御し、細胞内へシグナルを伝える受容体として働く場合もある。T-カドヘリンは、カドヘリンファミリーに属しているが、膜貫通ドメインを持たない珍しいカドヘリンで、GPIアンカー(glycosylphosphatidylinositol anchor)を介して細胞膜に結合している。興味深いことに、心筋細胞表面にはT-カドヘリンに結合してアディポネクチンが存在しており、アディポネクチンが存在しないとT-カドヘリンの膜局在は消失し、T-カドヘリンKOマウスでは血中アディポネクチン濃度が上昇する¹⁵⁾。さらに、T-カドヘリンがないと、アディポネクチンによるAdipoR1/R2を介したAMPKのリン酸化が起こらず、T-カドヘリンKOマウスでは、アディポネクチンKOマウスと同様に心筋梗塞での壊死が増悪する。これらのことより、アディポネクチンは、心筋細胞に十分にAdipoR1やAdipoR2が発現していても結合できず、まずT-カドヘリンに結合してから、AdipoR1/R2に作用してAMPKのリン酸化を誘導するのではないかと考えられている。*in vitro*実験で、骨格筋細胞のNF κ B(nuclear factor-kappa B)活性化能は六量体やHMWにはあるが三量体にはないこと¹⁶⁾、血管内皮細胞のアポトーシスを阻害する活性はHMWにしかないことなどが報告されている¹⁷⁾。アディポネクチンのこれらの生理作用も、T-カドヘリンを介したものであることが示唆される。このように、各受容体にすべてのアディポネクチン分子種が作用することではなく、選択性がある。また、T-カドヘリンのように他の受容体への結合を介助するタンパク質も存在し、さまざまな機構を介した各分子種特異的な生理活性の存在が示唆されている。

発見当初は、当研究室でしか天然のアディポネクチンの精製が行われておらず、大腸菌で発現させた球状ドメインのみのgAdや全長のアディポネクチン(fAd)を使った報告が主であった。gAdを使った実験では、gAd刺激によるマクロファージでのIL-10(interleukin-10)発現や、マクロファージから破骨細胞への分化阻害、LPS(lipopolysaccharide)刺激によるマクロファージからのTNF α 産生の抑

制などに関して相反する結果が報告されてきているが、大腸菌で発現させた gAd は凝集しやすくすぐ沈殿してしまうなど、活性のある組換えタンパク質を安定に得ることが難しいことを当研究室でも経験しており、これが理由であったと思われる。最近では、活性のある gAd や動物細胞で発現させた fAd (三量体、六量体、HMW の混合物) が発売されるようになってきており、分子種にも注目した研究が行われるようになってきている。

アディポネクチンの測定系

当研究室では、ヒト血漿より HMW を精製していたことより、まず、HMW でマウスを免疫してモノクローナル抗体の作成を行い、精製 HMW を標準品としてサンドイッチ ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 系を構築した¹⁸⁾。ヒト血漿をゲル濾過により分子量で分画し、各フラクションを測定してみたところ、驚いたことに確立した ELISA 系では HMW が特異的に測定できた。一方、六量体に対する反応性は低く、三量体はほとんど測定できなかった。そこで、市販のすべてのアディポネクチン分子種が測定できる ELISA キット (大塚製薬株) を用いて測定してみたところ、すべての分子種が測定できたが、ウェスタンブロット法で検出できるアディポネクチンの量と比べると HMW や三量体の測定効率が悪いという結果が得られた。しかし、われわれが確立した HMW 特異的 ELISA と大塚製薬株のキットを用いて、健診集団の血中アディポネクチン濃度を測定したところ、異なる分子種を測定しているにも関わらず、HMW と総アディポネクチン (Total) の濃度には相関係数 $r = 0.976$ と非常に強い相関が認められた。他の市販されている ELISA 系についても同様に比較したところ、免疫に用いたアディポネクチンタンパク質の違いによるものだと推定しているが、各分子種の測定効率に異なった傾向が認められ、当然の結果として測定値も異なっていた。したがって、アディポネクチンの測定を行って継続的に比較する場合は、最低限同じ測定系を用いることが必須である。

アディポネクチン濃度に影響する因子

1. 性

血中アディポネクチン濃度には性差があり、図 2

に示すように HMW, Total ともに男性より女性の方が有意に高い。男性ではアンドロゲンがアディポネクチンの分泌を阻害しており¹⁹⁾、これがこの性差をもたらしている。さらに、Total に対する HMW の割合 (HMW/Total) も男性では有意に低い。血漿のゲル濾過フラクションをウェスタンブロット法で解析すると、女性では常に HMW が主な分子種であるが、男性では六量体や三量体が主な分子種であることが多い。これらの結果より、男性ではアディポネクチン濃度が低いだけでなく、HMW の割合も低いことが明らかとなった¹⁸⁾。

2. 糖尿病

アディポネクチンは日本人 2 型糖尿病の感受性遺伝子の一つであり、第 2 イントロンに存在する SNP rs77896744 は血中アディポネクチン濃度や、インスリン抵抗性、2 型糖尿病発症のリスクと関連することが判明している²⁰⁾。また、2 型糖尿病患者では血中アディポネクチン濃度が低く、冠動脈疾患を合併した患者ではさらに低いことが報告されているが²¹⁾、実際は糖尿病の患者を見分けるバイオマーカーとしてカットオフ値が設定できるほどの明確な違いは認められない。

そこで、糖尿病治療経過観察マーカーとしての有用性について検討を行った。2 週間入院して食事療法とインスリン単独療法を行った 23 人を対象とし、治療経過をモニタリングしてみたところ、グリコアルブミンや血糖値は有意に低下したものの、TG は増加し、HDL が低下しており、この時、アディポネクチン濃度に有意な変化は認められなかった。一方、PPAR- γ アゴニストであるチアゾリジン系薬剤での治療では、血中 HMW 比率が増加し、インスリン抵抗性の改善とこの HMW 比率の増加が関連するとの報告がある⁸⁾。そこで、ピオグリタゾンによる治療を 8 週間行った患者で検討したところ、HbA1c 値が改善し、総アディポネクチン濃度は変化しないものの HMW 濃度や HMW/Total が有意に増加していた。その他、さまざまな治療への応答について検討したが、チアゾリジン系薬剤への応答以外、治療の経過観察や効果予測に使用できるバイオマーカーとしての有用性は確認できなかった。

3. 肥満

アディポネクチンは、脂肪細胞から特異的に分泌されるタンパク質であるが、肥満者では血中濃度が

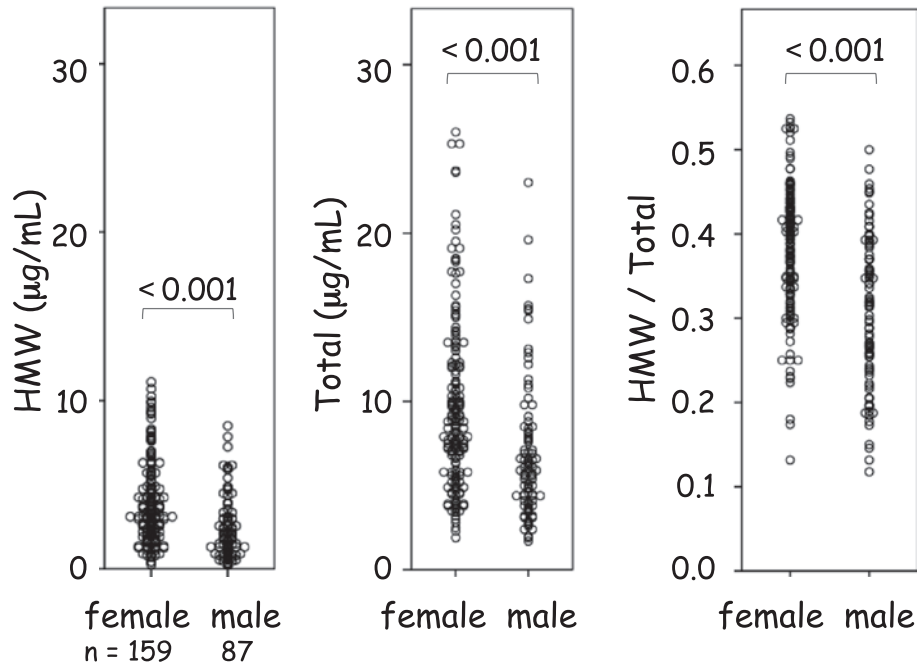


Fig. 2 Sex-dependent differences in serum adiponectin concentrations and HMW/Total

The subjects who took health examination were enrolled. HMW adiponectin was measured as described previously¹⁾ and total adiponectin concentration was measured with ELISA kit purchased from Otsuka Pharmaceuticals (Tokyo, Japan). T-test was performed with SPSS Statistics 19 (SPSS, Japan).

低いことが知られている²²⁾。われわれの健診群を対象とした検討でも、BMI25以上を肥満とした時、肥満群と非肥満群のHMW濃度は女性では 3.8 ± 2.9 , 3.9 ± 2.4 $\mu\text{g/ml}$ (67人, 290人, $p = 0.800$)と異ならないが、男性では 1.7 ± 1.2 , 2.1 ± 1.4 $\mu\text{g/ml}$ (167人, 584人, $p < 0.001$)と肥満群で有意に低いことが確認できた。また、HMW濃度と各種マーカーとの相関を解析したところ、弱い有意な負の相関が体重、BMI、体脂肪率、胴囲との間に、また、有意な正の相関がHDLとの間に確認できた。さらに、生活習慣病マーカーとして高血圧、高LDL、高TG、低HDL、高血糖あるいは高HbA1cの有無や該当数で解析すると、女性ではHMW濃度に有意差は認められないが、男性では有意に該当有りの群の方が低濃度であること、該当数が2個と3個のグループは0, 1, 4個のグループと比べて有意に低濃度であることが確認できた(図3)。

アディポネクチンの発現を抑制する因子として、IL-6 (interleukin-6) やTNF α (tumor necrosis

factor- α)などの炎症性サイトカインが知られているが^{23, 24)}、これらのサイトカインは、脂肪細胞の肥大化により脂肪細胞自身から多く分泌されるようになる。また、同時に分泌されるMCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1)などにより脂肪組織に慢性の炎症が惹起され、集簇したマクロファージがさらにIL-6やTNF α を分泌することによりアディポネクチンの発現が抑制され、血中濃度が低下すると考えられている²⁵⁾。このようにアディポネクチンの発現低下は脂肪細胞の肥大化、特に内臓脂肪の肥大化と、それに伴う脂肪組織の慢性炎症の指標となる可能性が考えられた。そこで、減量教室で肥満の女性14人を対象として、食事療法と運動療法を3か月行なったところ、図4に示すように、HMWは減量に敏感に反応して増加し、体重などのマーカーがそれほど改善していなくても、脂肪組織の状態が改善していることを示唆する結果が得られた。

4. 組織損傷

組織損傷部位にアディポネクチンが結合すること

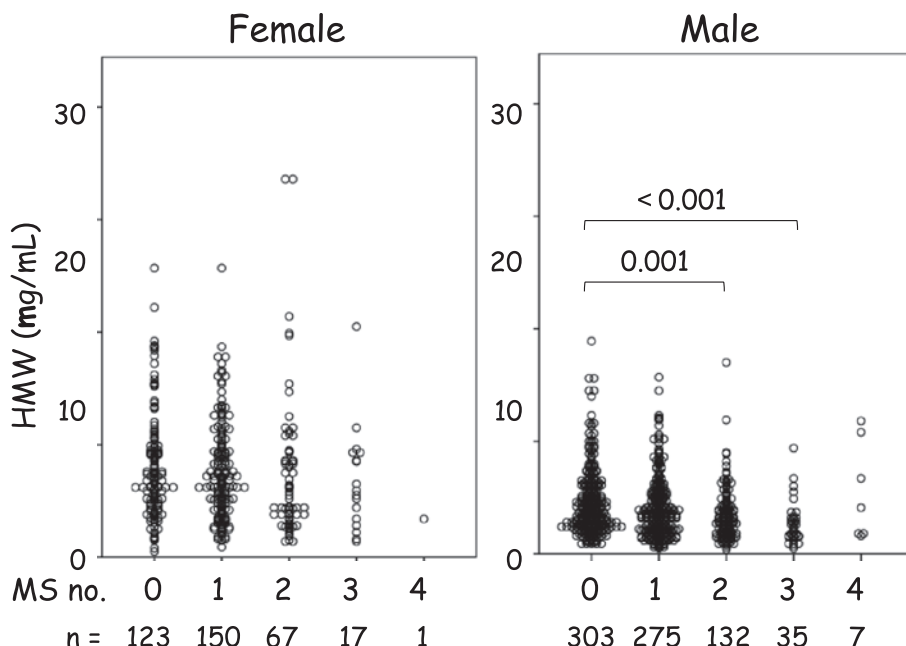


Fig. 3 Number of positive metabolic syndrome markers and HMW concentration
The subjects who took health examination were enrolled and systolic blood pressure levels of ≥ 140 mmHg and/or diastolic blood pressure levels of ≥ 90 mmHg, blood glucose levels of ≥ 110 mg/dl and/or glycated hemoglobin A1c levels of $\geq 5.8\%$, HDL levels of ≤ 40 mg/dl, LDL levels of ≥ 140 mg/dl, and triglyceride levels of ≥ 150 mg/dl were defined as metabolic syndrome marker positive (MS). One-way analysis of variance followed by Bonferroni or Games-Howell correction was used to test statistical significance.

や²⁶⁾、急性心筋梗塞後、アディポネクチン濃度が一過性に低下し、その後回復してくるという報告²⁷⁾があることから、小児の外科手術後の損傷修復のモニタリングに有用ではないかと考え、検討を行った。その結果、図5に示すように、外科手術後、CRP濃度の上昇に伴い血中のHMWも総アディポネクチン濃度も一過性に低下し、その後CRPが充分低下すると回復し始めるという経過を示した。さらにその際、HMW/Totalも一過性に低下した後、回復してくることから、組織修復の過程では特にHMWが消費されることが示唆された。さらに、創部感染をきたした例ではCRPが応答して上昇しているが、HMW濃度には影響がなく、筋破壊マーカーCKの十分な低下後、回復してきている。これらの結果はHMW濃度が組織修復の実態を反映しており、外科侵襲による組織損傷の程度や治癒過程の指標として予後判定に有用であることを示唆している。

5. 炎症

われわれは動物実験で、四塩化炭素の投与により

肝臓に障害を惹起すると、組織染色で投与3時間後から肝実質細胞の細胞質にアディポネクチンタンパク質が検出されること、同時にアディポネクチンのmRNAも誘導されていることを見出した²⁸⁾。これはアディポネクチンの脂肪細胞以外での発現、すなわち異所発現の最初の報告である。その後、マウスの腹腔内にLPSを投与すると、24時間後に骨格筋でアディポネクチンmRNAが発現すること、これは筋細胞をIFN γ (interferon gamma) とTNF α で処理することにより再現できること²⁹⁾や、ウイルスによる心筋炎で、心筋細胞でアディポネクチン発現が誘導されること³⁰⁾が報告された。また、動物実験だけでなくヒトでも、COPD患者の肺上皮細胞ではアディポネクチンの発現が誘導されており、これは肺上皮細胞をTNF α 処理することにより再現できること³¹⁾なども報告され、炎症により脂肪細胞以外の細胞でアディポネクチン発現が誘導されることが明らかとなった。一方、マウスの骨格筋や大動脈では、炎症に関係なくアディポネクチンmRNA

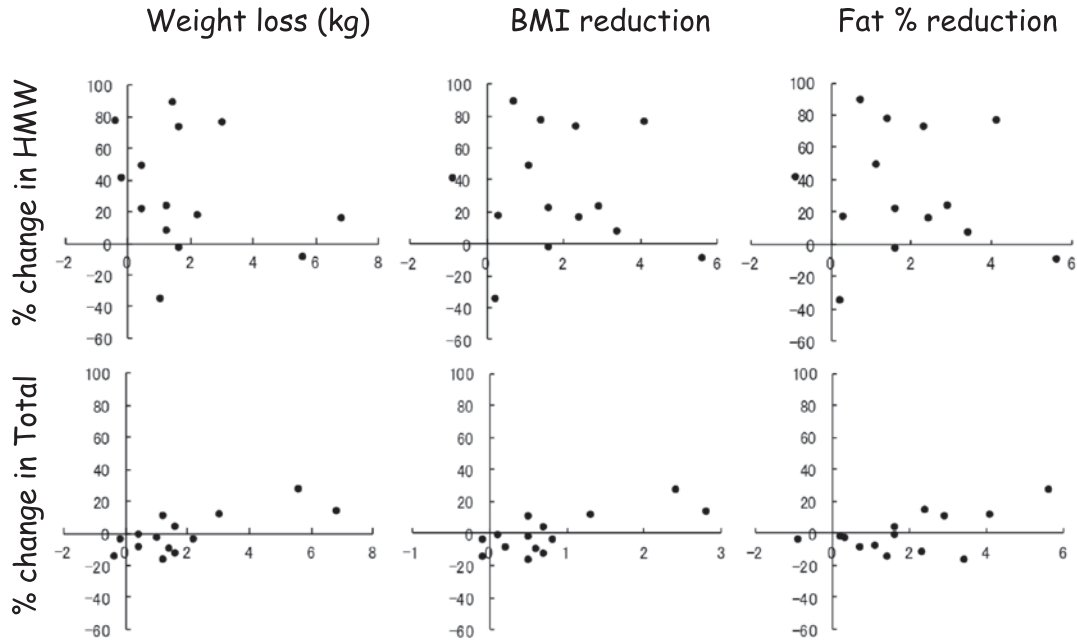


Fig. 4 Change in HMW and Total adiponectin concentrations after weight loss
Fourteen women were on diet and exercise therapy for 3 months.

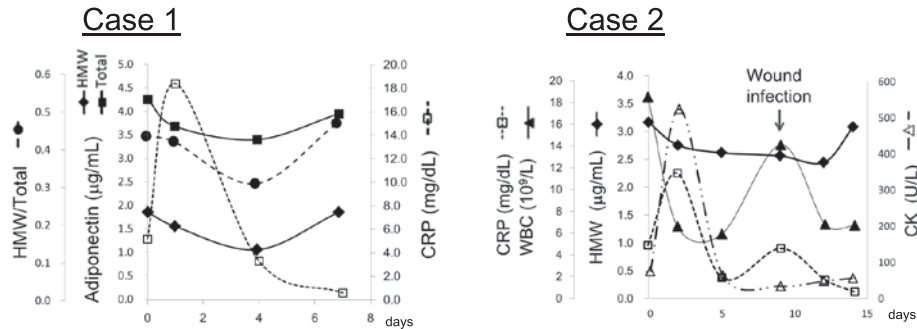


Fig. 5 Time-dependent changes of serum HMW and other markers after operations on children
Case 1: Appendectomy. Case 2: Appendectomy with later wound infection.

が恒常的にかなりの量発現していることをわれわれは確認している（未発表データ）。同様の発現が、マウスやヒト心筋細胞でも報告されている³²⁾。胎児期には、中胚葉に由来する脂肪細胞や骨格筋、平滑筋、動脈や小腸、外胚葉に由来する表皮などにアディポネクチンは発現しており³³⁾、これらの組織では出生後も弱いながらも発現していて炎症で容易に誘導されるのかもしれない。

慢性心不全や慢性腎不全の患者では、血中アディポネクチン濃度が健常人に比べ2倍以上と異常に高い。慢性腎不全で透析を行っている患者を対象にア

ディポネクチン濃度を測定し、その後の心筋梗塞の発生を追跡した研究で、健常人よりアディポネクチン濃度が高い中でも更に濃度が高いほど心筋梗塞を起こしにくいこと³⁴⁾や、急性心不全を起こした患者の入院時の HMW/Total 比が高いほど、予後が良いこと³⁵⁾などが知られている。マウスの実験では、腎不全でシスタチンCが増加すると、これにアディポネクチンが結合することで血中からの消失速度が遅くなり、アディポネクチンの血中濃度が上がることや、シスタチンCに結合したアディポネクチンには生理活性がないこと³⁶⁾が報告されている。ま

た、腎不全の患者の脂肪細胞では、アディポネクチンの発現が高まっていることも報告されており³⁷⁾、これらが腎不全での血中アディポネクチン増加の機構であると思われる。一方、慢性心不全の患者では、骨格筋でアディポネクチンの発現が約5倍に増加しているにも関わらず、AdipoR1の発現が低下してアディポネクチンの作用が減弱しており、これに対応するために血中アディポネクチン濃度が上昇しているのではないかと報告がある³⁸⁾。

最後に

アディポネクチン濃度は肥満や生活習慣病で低下するが、図3に示したように男性では生活習慣病マーカーの異常値の数が2, 3と増えると低下し、その数が最高の4と更に多くなると逆に濃度が高くなる。極端な例として、心不全や腎不全のような病態では極めて高濃度を示す。これらのことがアディポネクチンのバイオマーカーとしての使いにくさの原因となっている。脂肪組織の状態や組織損傷の状態など、個人の状態をモニタリングするマーカーとしては有用である可能性があるが、一つの測定値では何も判定できない。

一方、われわれはアディポネクチンの発現が若干抑制されたアンチセンストランスジェニックマウスや発現が若干亢進しているセンストランスジェニックマウスを用い、慢性拒絶モデルでの心臓移植後の脈管障害³⁹⁾や、ドキシソルビシン誘発心筋炎による死亡⁴⁰⁾、心筋梗塞後の梗塞サイズ⁴¹⁾、デキストラン硫酸ナトリウム誘発腸炎（未発表データ）、コラーゲン抗体処理によるリウマチモデル（未発表データ）などの検討を行ってきた。その結果、やっと有意差がつく程度のアディポネクチン濃度の違いが、炎症の促進や抑制に関わることを明らかにしている。また、センストランスジェニックマウスの腹腔マクロファージでは、IL-10の発現が高く炎症への応答が低い、アンチセンストランスジェニックマウスの腹腔マクロファージでは、IL-10の発現が低く、炎症性刺激に反応してTNF α やIL-6の強い発現誘導が起こることを観察している⁴²⁾。更に興味深いことに、この易炎症性の表現型は通常の培地で一晚培養するだけで消失する。上記した心臓移植後の脈管障害や心筋梗塞の実験でも、アンチセンストランスジェニックマウスにアディポネクチンをあらか

じめ投与することで症状は改善する。これらのことは、血中アディポネクチン濃度の少しの違いが、個人の炎症応答、易炎症性などに大きく影響し、かつ、その環境を改善すれば、すみやかに易炎症性の表現型を改善できることを示唆している。現在、これらの動物を用いて、アディポネクチン濃度の違いで個体が易炎症性になっている状態を把握するためのバイオマーカーを探索している。今後、得られた結果を元に、ヒトの未病状態を評価するためのバイオマーカーの同定、確立を目指す予定である。

文 献

- 1) Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, *et al.* Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J Biochem.* 1996;120:803-812.
- 2) Maeda K, Okubo K, Shimomura I, *et al.* cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;221:286-289.
- 3) Scherer PE, Williams S, Fogliano M, *et al.* A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem.* 1995; 270:26746-26749.
- 4) Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem.* 1996;271:10697-10703.
- 5) Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, *et al.* Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98: 2005-2010.
- 6) Yamauchi T, Kamon J, Waki H, *et al.* The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med.* 2001;7:941-946.
- 7) Waki H, Yamauchi T, Kamon J, *et al.* Generation of globular fragment of adiponectin by leukocyte elastase secreted by monocytic cell line THP-1. *Endocrinology.* 2005;146:790-796.
- 8) Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, *et al.* Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem.* 2004;279:12152-12162.
- 9) Wang ZV, Scherer PE. DsbA-L is a versatile player in adiponectin secretion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:18077-18078.
- 10) Pajvani UB, Du X, Combs TP, *et al.* Structure-

- function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin: Implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem.* 2003;278:9073-9085.
- 11) Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, *et al.* Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.* 2003;423:762-769.
- 12) Hug C, Wang J, Ahmad NS, *et al.* T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:10308-10313.
- 13) Wang Y, Xu A, Knight C, *et al.* Hydroxylation and glycosylation of the four conserved lysine residues in the collagenous domain of adiponectin. Potential role in the modulation of its insulin-sensitizing activity. *J Biol Chem.* 2002;277:19521-19529.
- 14) Richards AA, Stephens T, Charlton HK, *et al.* Adiponectin multimerization is dependent on conserved lysines in the collagenous domain: evidence for regulation of multimerization by alterations in posttranslational modifications. *Mol Endocrinol.* 2006;20:1673-1687.
- 15) Denzel MS, Scimia MC, Zumstein PM, *et al.* T-cadherin is critical for adiponectin-mediated cardioprotection in mice. *J Clin Invest.* 2010;120:4342-4352.
- 16) Tsao TS, Murrey HE, Hug C, *et al.* Oligomerization state-dependent activation of NF-kappa B signaling pathway by adipocyte complement-related protein of 30 kDa (Acrp30). *J Biol Chem.* 2002;277:29359-29362.
- 17) Kobayashi H, Ouchi N, Kihara S, *et al.* Selective suppression of endothelial cell apoptosis by the high molecular weight form of adiponectin. *Circ Res.* 2004;94:e27-e31.
- 18) Nakano Y, Tajima S, Yoshimi A, *et al.* A novel enzyme-linked immunosorbent assay specific for high-molecular weight adiponectin. *J Lipid Res.* 2006;47:1572-1582.
- 19) Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K, *et al.* Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. *Diabetes.* 2002;51:2734-2741.
- 20) Hara K, Boutin P, Mori Y, *et al.* Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes.* 2002;51:536-540.
- 21) Hotta K, Funahashi T, Arita Y, *et al.* Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:1595-1599.
- 22) Arita Y, Kihara S, Ouchi N, *et al.* Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;257:79-83.
- 23) Fasshauer M, Klein J, Neumann S, *et al.* Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002;290:1084-1089.
- 24) Fasshauer M, Kralisch S, Klier M, *et al.* Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;301:1045-1050.
- 25) Ito A, Suganami T, Miyamoto Y, *et al.* Role of MAPK phosphatase-1 in the induction of monocyte chemoattractant protein-1 during the course of adipocyte hypertrophy. *J Biol Chem.* 2007;282:25445-25452.
- 26) Ishikawa Y, Akasaka Y, Ishii T, *et al.* Changes in the distribution pattern of gelatin-binding protein of 28 kDa (adiponectin) in myocardial remodelling after ischaemic injury. *Histopathology.* 2003;42:43-52.
- 27) Kojima S, Funahashi T, Sakamoto T, *et al.* The variation of plasma concentrations of a novel, adipocyte derived protein, adiponectin, in patients with acute myocardial infarction. *Heart.* 2003;89:667-668.
- 28) Yoda-Murakami M, Taniguchi M, Takahashi K, *et al.* Change in expression of GBP28/adiponectin in carbon tetrachloride-administrated mouse liver. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;285:372-377.
- 29) Delaigle AM, Jonas JC, Bauche IB, *et al.* Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: in vivo and in vitro studies. *Endocrinology.* 2004;145:5589-5597.
- 30) Takahashi T, Yu F, Saegusa S, *et al.* Impaired expression of cardiac adiponectin in leptin-deficient mice with viral myocarditis. *Int Heart J.* 2006;47:107-123.
- 31) Miller M, Cho JY, Pham A, *et al.* Adiponectin and functional adiponectin receptor 1 are expressed by airway epithelial cells in chronic obstructive pulmonary disease. *J Immunol.* 2009;182:684-691.
- 32) Pineiro R, Iglesias MJ, Gallego R, *et al.* Adiponectin is synthesized and secreted by human and murine cardiomyocytes. *FEBS Lett.* 2005;579:5163-5169.
- 33) Corbetta S, Bulfamante G, Cortelazzi D, *et al.* Adiponectin expression in human fetal tissues during mid- and late gestation. *J Clin Endocrinol.*

- nol Metab.* 2005;**90**:2397-2402.
- 34) Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G, *et al.* Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 2002;**13**:134-141.
 - 35) Ohara T, Hashimura K, Asakura M, *et al.* Dynamic changes in plasma total and high molecular weight adiponectin levels in acute heart failure. *J Cardiol.* 2011;**58**:181-190.
 - 36) Komura N, Kihara S, Sonoda M, *et al.* Increment and impairment of adiponectin in renal failure. *Cardiovasc Res.* 2010;**86**:471-477.
 - 37) Martinez Cantarin MP, Waldman SA, Doria C, *et al.* The adipose tissue production of adiponectin is increased in end-stage renal disease. *Kidney Int.* 2013;**83**:487-494.
 - 38) Van Berendoncks AM, Garnier A, Beckers P, *et al.* Functional adiponectin resistance at the level of the skeletal muscle in mild to moderate chronic heart failure. *Circ Heart Fail.* 2010;**3**:185-194.
 - 39) Ishihara T, Haraguchi G, Konishi M, *et al.* Effect of adiponectin on cardiac allograft vasculopathy. *Circ J.* 2011;**75**:2005-2012.
 - 40) Konishi M, Haraguchi G, Ohigashi H, *et al.* Adiponectin protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy by anti-apoptotic effects through AMPK up-regulation. *Cardiovasc Res.* 2011;**89**:309-319.
 - 41) Shinmura K, Tamaki K, Saito K, *et al.* Cardio-protective effects of short-term caloric restriction are mediated by adiponectin via activation of AMP-activated protein kinase. *Circulation* 2007;**116**:2809-2817.
 - 42) Negoro T, Kin M, Takuma A, *et al.* Potentiated macrophage activation by acid sensing under low adiponectin levels. *Mol Immunol.* 2014;**57**:141-150.
- [受付 : 1 月 20 日, 受理 : 2 月 13 日, 2015]