

Title	脂肪細胞特異的分泌蛋白質アディポネクチンと糖・脂質代謝
Sub Title	
Author	山本, 幸宏(Yamamoto, Yukihiro) 猿田, 享男(Saruta, Takao)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.T107- T126
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	学位論文
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050601-0107">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050601-0107</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

学位論文

脂肪細胞特異的分泌蛋白質アディポネクチンと糖・脂質代謝

慶應義塾大学医学部内科学教室

(指導：猿田享男教授)

やまもと ゆきひろ  
山本幸宏

(平成 16 年 10 月 26 日受付)

Key Words : adiponectin, insulin resistance, lipid profile, gene polymorphism

肥満とは、「脂肪組織が過剰に蓄積した状態」と定義されている。肥満は糖尿病・耐糖能異常、高血圧症、高脂血症などを伴うことが多く、その結果として虚血性心疾患や脳血管障害などの動脈硬化性疾患が生じる。肥満を伴う糖尿病・耐糖能異常、高血圧症、高脂血症などの疾患はさまざまな名前で呼ばれてきた。1988年にReavenが「シンドローム X」という疾患概念を初めて明らかにし<sup>1)</sup>、その翌年、Kaplanは上半身肥満に重点を置いて「死の四重奏」を提唱した<sup>2)</sup>。同様の疾患概念として、DeFronzoらは「インスリン抵抗性症候群」を<sup>3)</sup>、我が国の松澤らのグループは内臓脂肪に重点を置いた「内臓脂肪型肥満」という概念を提唱した<sup>4)</sup>。肥満はこれらの危険因子の中でも上流に位置していると考えられていたが、その分子基盤は明らかではなかった。従来、脂肪組織は中性脂肪を蓄積する受動的なエネルギー貯蔵臓器と考えられてきた。1994年に*ob* 遺伝子とその遺伝子産物であるレプチンが発見<sup>5)</sup>されて以降、さまざまな研究により脂肪組織は単なるエネルギー貯蔵臓器ではなく、ホルモンやサイトカインなどの生理活性物質を分泌する人体最大の内分泌臓器と考えられるようになった。

アディポネクチンは、それらの生理活性物質の中で脂肪細胞に特異的な分泌蛋白質として、1995年から1996年にかけて4つの独立したグループにより発見された。Maedaらは、脂肪組織の遺伝子ライブラリーに最も頻回に出現した遺伝子を *adipose most abundant gene transcript 1* と命名し、脂肪組織に特異的に発現し分泌されることを示し<sup>6)</sup>、遺伝子産物をアディポネクチンと命名した<sup>7)</sup>。Nakanoらは、ゼラチンアフィニティークロマトグラフィーを用いてヒト血漿から28kDaの新規血漿蛋白 *gelatin-binding protein of 28kDa* を単離し

たが<sup>8)</sup>、アミノ酸分析の結果、アディポネクチンと同一分子であった。Schererらは、マウス3T3-L1脂肪細胞の分化過程で誘導されてくる蛋白として *adipocyte complement-related protein of 30kDa* を同定し<sup>9)</sup>、Huらはマウス3T3-F442A脂肪細胞の分化前後の *differential display* によって *adipoQ* を同定した<sup>10)</sup>。*Adipocyte complement-related protein of 30kDa* と *adipoQ* は同一分子であり<sup>10)</sup>、ヒトアディポネクチンとはアミノ酸レベルで83%の相同性があり、マウスのカウンターパートと考えられている。

アディポネクチンの調節や生理的役割はしばらくの間不明であったが、1999年にアディポネクチンは脂肪細胞特異的な分泌蛋白質であるにもかかわらず、その血中濃度は *body mass index* (以下 *BMI* と略す) とは負の相関関係にあり、肥満者では血中濃度が低いことが報告された<sup>7)</sup>。その後、2型糖尿病患者を対象とした臨床研究において、冠動脈疾患を有している人は血中アディポネクチン濃度が低下していることが示された<sup>11)</sup>。さらに、血中アディポネクチン濃度は *BMI* とは独立して中性脂肪と負の相関関係にあることが報告された<sup>11)</sup>。アディポネクチンが動脈硬化を抑制するメカニズムとして、血管内皮細胞に対する直接作用が明らかにされた。すなわち、アディポネクチンは *NF- $\kappa$ B* シグナルを抑制する<sup>12)</sup> ことにより、*tumor necrosis factor- $\alpha$*  による内皮細胞接着因子の発現を抑制し<sup>13)</sup>、動脈硬化の初期反応である単球が内皮細胞に接着するのを抑制する。また、免疫組織学的解析により、アディポネクチンは正常な血管壁には認めないが、カテーテルにより障害された血管壁に集簇していることが示された<sup>14)</sup>。

上述のように、アディポネクチンは肥満者および冠動

脈疾患患者では血中濃度が低いことが明らかとなった。冠動脈疾患など動脈硬化性疾患の危険因子としては、従来より糖尿病・耐糖能異常、高脂血症、高血圧症などがあげられている。アディポネクチンは、上記のように直接内皮細胞に働き動脈硬化を抑制するだけでなく、これらの危険因子を改善させて動脈硬化を抑制している可能性もあり、肥満と糖尿病・耐糖能異常、高脂血症、高血圧症をつなぐ蛋白質でありうると考えられた。そこで著者は、アディポネクチンとこれら危険因子との関係を断面的及び縦断的臨床研究により検討することとした。

上述の通り、肥満者ではアディポネクチン濃度は低下している<sup>7)</sup>。また、peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (以下 PPAR $\gamma$ と略す) のアゴニストであるチアゾリジン系薬剤の投与により、アディポネクチンの血中濃度が上昇することが報告された<sup>15), 16)</sup>。このように、アディポネクチン濃度は肥満やチアゾリジン系薬剤の投与という環境因子により変化するが、アディポネクチン濃度は遺伝的にも規定されていることが考えられ、アディポネクチン遺伝子多型と PPAR $\gamma$  2 遺伝子多型に注目してこの点を検討することにした。アディポネクチンの遺伝子多型は、JSNP データベース<sup>17)</sup>に登録されている T45G 多型、G276T 多型および A349G 多型を検討することとした。

PPAR $\gamma$ は主に脂溶性分子をリガンドとする核内受容体型転写因子であり<sup>18)</sup>、PPAR $\gamma$ の合成アゴニストであるチアゾリジン系薬剤は、インスリン抵抗性改善薬として臨床応用されている<sup>19)</sup>。PPAR $\gamma$ は同じく核内受容体型転写因子である retinoid X receptor (以下 RXR と略す)とヘテロダイマーを形成し、peroxisome proliferator responsive element (以下 PPRE と略す)に結合し、脂肪細胞での遺伝子の転写を調節している。PPAR $\gamma$ アゴニストにより、インスリン抵抗性を惹起する tumor necrosis factor  $\alpha$ 、および interleukin-6 の発現が低下し<sup>20), 21)</sup>、視床下部に働き、食欲を抑制し交感神経系を活性化させるレプチンが低下する<sup>22)</sup>。さらに、脂肪細胞への遊離脂肪酸の取り込みを促進する fatty acid translocase<sup>23), 24)</sup>、ブドウ糖の取り込みを促進する glucose transporter 4<sup>25)</sup>の発現が亢進する。PPAR $\gamma$ には PPAR $\gamma$ 1 と PPAR $\gamma$ 2 の2つのスプライシングによるアイソフォームが存在し、共に脂肪細胞に多く発現しているが、PPAR $\gamma$ 2 はほぼ脂肪細胞特異的に発現している<sup>26)</sup>。Tontonoz らは、PPAR $\gamma$ 2 を脂肪細胞への分化能を持たない線維芽細胞に強制発現させ、同時に PPAR $\gamma$ アゴニストを添加することにより、線維芽細胞が脂肪細胞へ分化することを示した<sup>27)</sup>。このように、

PPAR $\gamma$ は脂肪細胞での遺伝子の転写を制御し、脂肪細胞分化のマスターレギュレーターとしての役割を果たしている。

ヒトにおいて、PPAR $\gamma$ 2 の12番目のアミノ酸であるプロリン (以下 Pro と略す) がアラニン (以下 Ala と略す) に置換した多型が同定され<sup>28)</sup>、本多型と BMI、インスリン感受性、糖尿病との関連が報告されている。Ala 保持者は Caucasian<sup>29)</sup> と台湾人<sup>30)</sup> においては BMI が高いと報告されており、フィンランド人においては BMI が低い<sup>31)</sup>と報告されている。Ala 保持者は日本人<sup>32)</sup>、日系アメリカ人<sup>31)</sup>および Caucasian<sup>33-35)</sup> においてインスリン感受性が高く、さらに日本人<sup>32), 36)</sup>および Caucasian<sup>37)</sup>を対象とした臨床研究において、Ala 保持者は糖尿病の頻度が低いと報告されている。In vitro の実験で、PPAR $\gamma$ 2 の Pro から Ala に置換した変異体は、PPAR $\gamma$ 2 転写活性の上昇作用が低下していることが報告された<sup>31)</sup>。そこで、Ala 保持者はアディポネクチンの血清濃度が低くなるという仮説を立て、PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala 多型に注目して、血清アディポネクチン濃度、BMI および糖・脂質代謝指標との関係を検討することとした。

## 対象と方法

### 1. 対象

1) アディポネクチンと BMI、血圧および糖・脂質代謝指標の断面的検討

2000年に定期健康診断を受診した、30~65歳の男性705人および女性262人を対象とした。

2) アディポネクチンと BMI、血圧および糖・脂質代謝指標の縦断的検討

2000年と2002年ともに定期健康診断を受診した、30~65歳の男性590人を対象とした。

3) アディポネクチン遺伝子多型および PPAR $\gamma$ 2 遺伝子多型の検討

2000年に定期健康診断を受診した、30~65歳の男性478人および女性117人を対象とした。

いずれの検討においても、内分泌疾患、腎疾患、肝疾患、冠動脈疾患または脳血管障害を有する人、糖尿病または高脂血症で薬物療法を受けていた人は対象に含めなかった。本研究はヘルシンキ宣言を遵守して施行し、対象者全員に本研究の目的、性質、すべての手順での危険性をすべて説明した上でインフォームドコンセントを得た。

### 2. 測定

前述の対象者において、身長、体重、収縮期血圧、拡張期血圧および心拍数を測定し、空腹時採血にて採取された血液を用いて、血糖、インスリン、血清脂質（総コレステロール、中性脂肪、高比重リポ蛋白コレステロール（以下 HDL-C と略す）、低比重リポ蛋白コレステロール（以下 LDL-C と略す））および尿酸を測定した。女性においてのみ、高感度 C-reactive protein（以下 CRP と略す）を測定した。インスリン抵抗性指数は、homeostasis model assessment を用いて計算した（以下 HOMA-IR と略す）<sup>38), 39)</sup>。

### 3. ELISA 法によるアディポネクチンの測定

測定前に血清を 441 倍に希釈した。希釈血清およびアディポネクチン標準検体を各 100  $\mu$ l、マウス抗ヒトアディポネクチンモノクローナル抗体を付着させた 96 ウェルマイクロタイタープレート（中外診断科学、東京）に添加した。この抗体は、天然のアディポネクチンのみを認識する<sup>8)</sup>。60 分間室温で放置し、ウェルを洗浄し、horseradish peroxidase で標識したアディポネクチンモノクローナル抗体で 30 分間反応させた。再度ウェル

を洗浄し、tetramethylbenzidine を 30 分間反応させた。0.18M 硫酸を添加して反応を停止させ、450 nm の吸光度を測定した。アッセイ内再現性およびアッセイ間再現性の変動係数はそれぞれ、4.8-4.9% および 3.3-6.8% であった。

### 4. 遺伝子多型の解析

アディポネクチン遺伝子の T45G 多型、G276T 多型、A349G 多型および PPAR $\gamma$ 2 遺伝子 Pro12Ala 多型は、TaqMan polymerase chain reaction（以下 PCR と略す）法<sup>40-42)</sup>を用いて同定した。第 1 表に、使用したプライマーおよび TaqMan プローブを示した。反応組成は Universal Master Mix（Applied Biosystems、東京）12.5  $\mu$ l、プライマー各 22.5 pmol、プローブ各 5  $\mu$ mol、DNA 約 10-50 ng とし、蒸留水を加えて全量で 25  $\mu$ l として反応させた。PCR 反応は、ABI Prism 7700（Applied Biosystems）を用いて、アディポネクチン遺伝子 T45G 多型は 95°C 10 分を 1 サイクルの後、95°C 15 秒および 62°C 60 秒を 35 サイクルで、その他の多型は 95°C 10 分を 1 サイクルの後、92°C 15 秒および 60°C

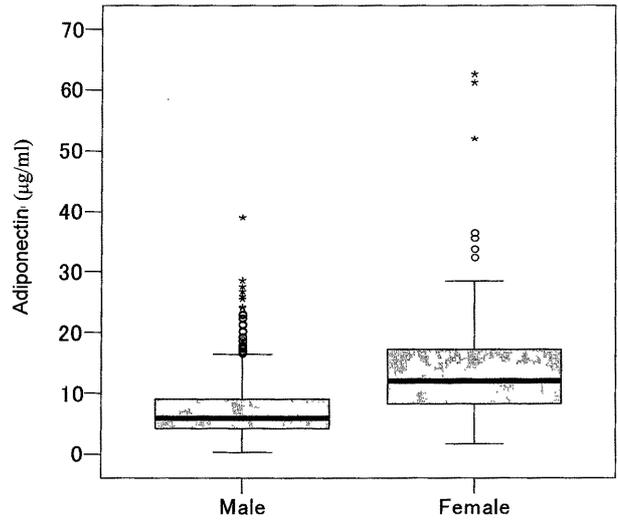
第 1 表 本研究で使用したプライマーおよび TaqMan プローブ

	5'プライマー	3'プライマー	TaqMan プローブ
アディポネクチン 遺伝子 T45G 多型	5'-TGCTGTT	5'-ACTCCGGG	T-アレル特異的プローブ
	GCTGGGAG	CCCTTGAG	5'-Vic-CTCTGCCCGGTCATGA
	CTG-3'	TC-3'	CCAGG-3'
			G-アレル特異的プローブ
			5'-Fam-TCTGCCCGGGCATG
			ACCA-3'
アディポネクチン 遺伝子 G276T 多型	5'-TTTCATCA	5'-CTCCCTG	G-アレル特異的プローブ
	CAGACCTCC	TGTCTAGGC	5'-Vic-TATATGAAGGCATTCA
	TACTACTGA-3'	CTTAGTTAA-3'	TT-MGB-3'
			T-アレル特異的プローブ
			5'-Fam-AACTATATGAAGTCA
			TTCATT-MGB-3'
アディポネクチン 遺伝子 A349G 多型	5'-ACTAAGG	5'-CACCATCT	A-アレル特異的プローブ
	CCTAGACAC	ACACTCATC	5'-Vic-CCAAATCACTTCAGGT
	AGGGAGAA-3'	CTTGAA-3'	TG-MGB-3'
			G-アレル特異的プローブ
			5'-Fam-CAAATCACCTCAGGT
			TG-MGB-3'
PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala 多型	5'-GTTATGG	5'-TGTTTGC	Pro-アレル特異的プローブ
	GTGAACTC	AGACAGTGT	5'-Vic-CTATTGACCCAGAAA
	TGGGAGAT-3'	ATCAGTGAA-3'	G-MGB-3'
			Ala-アレル特異的プローブ
			5'-Fam-CTATTGACGCAGAAA
			G-MGB-3'

60秒を35サイクルで行った。

5. 統計学的解析

すべてのデータは、平均値±標準偏差として示した。断面的検討において、血清アディポネクチン濃度の性差の検定には Mann-Whitney の U 検定を、血清アディポネクチン濃度と他のパラメーターとの関係の解析は、単回帰分析、重回帰分析およびステップワイズ多重回帰分析を用いて行った。縦断的検討において、2000年と2002年の各パラメーターの比較は、Wilcoxon signed-rank 検定にて行った。ベースラインの血清アディポネクチン濃度と他のパラメーターの2年間の変化量との関係の解析は、単回帰分析および重回帰分析を用いて行った。遺伝子多型の検討においては、Hardy-Weinberg 平衡への適合の検定には  $\chi^2$  検定を使用し、ノンパラメトリックな検定法として2群間の比較には Mann-Whitney の U 検定を、3群間の比較には Kruskal-Wallis 検定を使用した。中性脂肪、インスリン、アディポネクチン、高感度 CRP および HOMA-IR は対数正規分布に従うため、対数変換後に解析を行った。すべての統計学的解析には、Statview ソフトウェア (ver 5.0J, SAS インスティテュート社, 米国カリフォルニア州) を使用した。



第1図 血清アディポネクチン濃度の男女別分布  
血清アディポネクチン濃度の分布を男女別に箱ひげ図で示した。箱の下端, 中央, 上端はそれぞれ25%タイル, 中央値, 75%タイルを示す。箱の上端から, 箱の長さの1.5倍から3倍の間にある値を持つケースを外れ値 (白丸), 箱の上端から, 箱の長さの3倍より大きい値を持つケースを極値 (星印) として示した。外れ値, 極値を除いた最大値, 最小値をもつケースをそれぞれひげの上端, 下端として示した。

第2表 30-65歳の日本人967名における, 臨床指標および代謝指標 (A), 血清アディポネクチン濃度 (log) と臨床指標および代謝指標との単回帰分析 (B) および重回帰分析 (C)

vs log [adiponectin]	A		B		C	
	mean±SD	r	P	adjusted for age, sex and BMI		
				r	P	
Age (years)	45.1±10.3	-0.046	NS	-	-	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.5±2.9	-0.446	<0.0001	-	-	
Systolic blood pressure (mm Hg)	121±18	-0.237	<0.0001	-0.022	NS	
Diastolic blood pressure (mm Hg)	75±12	-0.238	<0.0001	-0.02	NS	
Heart rate (beats/min)	75±12	-0.032	NS	-0.009	NS	
Glucose (mg/dl)	93±13	-0.177	<0.0001	-0.05	0.086	
Insulin (log) (µU/ml)	5.36±3.35	-0.322	<0.0001	-0.19	<0.0001	
HOMA-IR (log) (-)	1.25±0.88	-0.339	<0.0001	-0.191	<0.0001	
Total cholesterol (mg/dl)	198±31	-0.077	0.016	-0.006	NS	
Triglycerides (log) (mg/dl)	105±73	-0.454	<0.0001	-0.245	<0.0001	
HDL-cholesterol (mg/dl)	58±15	0.519	<0.0001	0.320	<0.0001	
LDL-cholesterol (mg/dl)	122±28	-0.243	<0.0001	-0.099	0.0008	
Uric acid (mg/dl)	5.7±1.4	-0.422	<0.0001	-0.158	<0.0001	

平均±標準偏差。BMI: body mass index, NS: 有意差なし (P>0.1). (Yamamoto Y et al: Clin Sci (Lond) 103: 137-142, 2002<sup>43)</sup>の Table 1 を許可を得て転載)

## 結 果

## 1. アディポネクチンと BMI, 血圧および糖・脂質代謝指標の断面的検討

## 1) 血清アディポネクチン濃度

血清アディポネクチン濃度は 0.4~62.6  $\mu\text{g/ml}$  に分布しており, 女性 (13.5 $\pm$ 7.9  $\mu\text{g/ml}$ ) では男性 (7.2 $\pm$ 4.6  $\mu\text{g/ml}$ ) と比較して有意に高値であった ( $P < 0.0001$ ). 血清アディポネクチン濃度の分布を第 1 図に示した.

## 2) アディポネクチンと BMI, 血圧および糖・脂質代謝指標との関係

## a) 男性, 女性を合わせた検討

第 2 表<sup>43)</sup>に示すとおり, 血清アディポネクチン濃度は BMI, 収縮期血圧, 拡張期血圧, 空腹時血糖, インスリン, HOMA-IR, 総コレステロール, 中性脂肪, LDL-C および尿酸と負の相関関係を, HDL-C と正の相関関係を示した. 血清アディポネクチン濃度とインスリン, HOMA-IR, 中性脂肪, HDL-C, LDL-C および尿酸との相関関係は, 年齢, 性別および BMI で補正した後も有意であった. 年齢, 性別および BMI で補正後に血清アディポネクチン濃度と空腹時血糖値は負の相関関係を示す傾向にあったが, 統計学的には有意ではなかった ( $P = 0.086$ ). 血清アディポネクチン濃度を従属変数としてステップワイズ多重回帰分析を行うと, HDL-C, 性別, BMI および HOMA-IR が独立変数として採択された (第 3 表<sup>43)</sup>) ( $R^2 = 0.377$ ). 血清アディポネクチン濃度には性差があったため, 以下のごとく男女に分けて検討を加えた.

## b) 男性での検討

男性において, 血清アディポネクチン濃度は BMI,

収縮期血圧, 拡張期血圧, 空腹時血糖, インスリン, HOMA-IR, 中性脂肪, LDL-C および尿酸と負の相関を, HDL-C と正の相関関係を示した. 血清アディポネクチン濃度とインスリン, HOMA-IR, 中性脂肪, HDL-C, LDL-C および尿酸との相関関係は年齢および BMI で補正した後も有意であった (第 4 表<sup>43)</sup>). 血清アディポネクチン濃度を従属変数としてステップワイズ多重回帰分析を行うと, HDL-C, BMI および HOMA-IR が独立変数として採択された (第 5 表<sup>43)</sup>) ( $R^2 = 0.229$ ).

## c) 女性での検討

女性において, 血清アディポネクチン濃度は BMI, インスリン, HOMA-IR, 中性脂肪, LDL-C および高感度 CRP と負の相関を, HDL-C と正の相関関係を示した. 血清アディポネクチン濃度とインスリン, HOMA-IR, 中性脂肪, HDL-C および LDL-C との相関関係は年齢および BMI で補正した後も有意であった (第 6 表<sup>43)</sup>). 血清アディポネクチン濃度を従属変数としてステップワイズ多重回帰分析を行うと, HDL-C および HOMA-IR が独立変数として採択された (第 7 表<sup>43)</sup>) ( $R^2 = 0.184$ ).

## 2. アディポネクチンと BMI, 血圧および糖・脂質代謝指標の縦断的検討

2000 年および 2002 年の各種指標を第 8 表<sup>44)</sup>に示した. 2 年間で, 体重, BMI, 収縮期血圧, 拡張期血圧, 空腹時血糖, インスリン, HOMA-IR, 総コレステロールおよび HDL-C は有意に増加し, 血清アディポネクチン濃度は有意に低下した. 第 9 表<sup>44)</sup>に示す通り, ベースラインの血清アディポネクチン濃度はインスリン, HOMA-IR および HDL-C の変化量と負の相関関係を, 体重および BMI の変化量と正の相関関係を示した. 各

第 3 表 30-65 歳の日本人 967 名における, 血清アディポネクチン濃度を従属変数としたステップワイズ多重回帰分析

Variable	Standardized Regression Coefficient	F-value	P-value	Change in R <sup>2</sup>
HDL-cholesterol	0.295	90.5	<0.001	26.7%
Sex	-0.250	69.8	<0.001	6.4%
Body mass index	-0.148	20.6	<0.001	3.3%
HOMA-IR	-0.138	21.2	<0.001	1.3%

$$R^2 = (0.614)^2 = 37.7\%$$

年齢, 性別, BMI, 空腹時血糖値, LDL-C, HDL-C, HOMA-IR を独立変数としてステップワイズ多重回帰分析を行った. 変数は採択された順に表示した.

(Yamamoto Y et al : Clin Sci (Lond) 103 : 137-142, 2002<sup>43)</sup>の Table 2 を許可を得て転載)

第4表 30-65歳の日本人男性705名における、臨床指標および代謝指標(A)、血清アディポネクチン濃度(log)と臨床指標および代謝指標との単回帰分析(B)および重回帰分析(C)

vs log [adiponectin]		A		B		C	
		mean±SD	r	P	adjusted for age and BMI		
					r	P	
Age	(years)	46.4±10.1	0.045	NS	-	-	
BMI	(kg/m <sup>2</sup> )	23.1±2.6	-0.358	<0.0001	-	-	
Systolic blood pressure	(mm Hg)	124±17	-0.16	<0.0001	-0.05	NS	
Diastolic blood pressure	(mm Hg)	77±12	-0.131	0.0005	-0.035	NS	
Heart rate	(beats/min)	75±13	-0.045	NS	-0.04	NS	
Glucose	(mg/dl)	94±13	-0.117	0.0019	-0.058	NS	
Insulin (log)	(μU/ml)	5.56±3.60	-0.335	<0.0001	-0.223	<0.0001	
HOMA-IR (log)	(-)	1.32±0.95	-0.339	<0.0001	-0.226	<0.0001	
Total cholesterol	(mg/dl)	199±30	-0.058	NS	-0.017	NS	
Triglycerides (log)	(mg/dl)	120±77	-0.334	<0.0001	-0.241	<0.0001	
HDL-cholesterol	(mg/dl)	54±13	0.406	<0.0001	0.315	<0.0001	
LDL-cholesterol	(mg/dl)	126±28	-0.154	<0.0001	-0.093	0.011	
Uric acid	(mg/dl)	6.2±1.2	-0.265	<0.0001	-0.179	<0.0001	

平均±標準偏差. BMI: body mass index, NS: 有意差なし (P>0.1).

(Yamamoto Y et al: Clin Sci (Lond) 103: 137-142, 2002<sup>43</sup>)の Table 3 を許可を得て転載)

第5表 30-65歳の日本人男性705名における、血清アディポネクチン濃度を従属変数としたステップワイズ多重回帰分析

Variable	Standardized Regression Coefficient	F-value	P-value	Change in R <sup>2</sup>
HDL-cholesterol	0.281	57.3	<0.001	16.1%
Body mass index	-0.177	20.1	<0.001	5.0%
HOMA-IR	-0.157	15.8	<0.001	1.8%

$$R^2 = (0.478)^2 = 22.9\%$$

年齢, BMI, 空腹時血糖値, LDL-C, HDL-C, HOMA-IR を独立変数としてステップワイズ多重回帰分析を行った. 変数は採択された順に表示した.

(Yamamoto Y et al: Clin Sci (Lond) 103: 137-142, 2002<sup>43</sup>)の Table 4 を許可を得て転載)

第6表 30-65歳の日本人女性262名における，臨床指標および代謝指標（A），血清アディポネクチン濃度（log）と臨床指標および代謝指標との単回帰分析（B）および重回帰分析（C）

vs log [adiponectin]		A			B		C	
		mean±SD	r	P	adjusted for age and BMI			
					r	P		
Age	(years)	41.5±9.8	0.097	NS	-	-		
BMI	(kg/m <sup>2</sup> )	20.6±2.7	-0.247	<0.0001	-	-		
Systolic blood pressure	(mm Hg)	112±16	-0.016	NS	0.076	NS		
Diastolic blood pressure	(mm Hg)	68±11	-0.030	NS	0.033	NS		
Heart rate	(beats/min)	74±10	0.068	NS	0.101	0.095		
Glucose	(mg/dl)	89±9	-0.119	0.055	-0.021	NS		
Insulin (log)	(μU/ml)	4.82±2.51	-0.247	<0.0001	-0.159	0.018		
HOMA-IR (log)	(-)	1.08±0.61	-0.249	<0.0001	-0.152	0.025		
Total cholesterol	(mg/dl)	193±33	0.008	NS	0.003	NS		
Triglycerides (log)	(mg/dl)	67±37	-0.318	<0.0001	-0.282	<0.0001		
HDL-cholesterol	(mg/dl)	69±15	0.405	<0.0001	0.350	<0.0001		
LDL-cholesterol	(mg/dl)	111±28	-0.186	0.0025	-0.207	0.0027		
Uric acid	(mg/dl)	4.3±0.94	-0.006	NS	-0.015	NS		
hs-CRP	(mg/dl)	0.04±0.07	-0.124	0.044	0.013	NS		

平均±標準偏差。BMI：body mass index，hs-CRP：高感度 C-reactive protein，NS：有意差なし（P>0.1）。  
 (Yamamoto Y et al：Clin Sci (Lond) 103：137-142, 2002<sup>43)</sup>の Table 5 を許可を得て転載)

第7表 30-65歳の日本人女性262名における，血清アディポネクチン濃度を従属変数としたステップワイズ多重回帰分析

Variable	Standardized Regression Coefficient	F-value	P-value	Change in R <sup>2</sup>
HDL-cholesterol	0.362	38.3	<0.001	15.8%
HOMA-IR	-0.165	7.9	<0.001	2.6%

$$R^2 = (0.429)^2 = 18.4\%$$

年齢，BMI，空腹時血糖値，LDL-C，HDL-C，HOMA-IR を独立変数としてステップワイズ多重回帰分析を行った。変数は採択された順に表示した。

(Yamamoto Y et al：Clin Sci (Lond) 103：137-142, 2002<sup>43)</sup>の Table 6 を許可を得て転載)

第8表 30-65歳の日本人男性590名における、2000年および2002年の臨床指標および代謝指標

		In 2000 mean±SD	In 2002 mean±SD	P*
Body weight	(kg)	67.0±8.5	67.6±8.4	<0.0001
BMI	(kg/m <sup>2</sup> )	23.2±2.6	23.5±2.5	<0.0001
Systolic blood pressure	(mm Hg)	125±18	128±20	<0.0001
Diastolic blood pressure	(mm Hg)	78±12	80±13	0.0022
Heart rate	(beats/min)	75±13	76±12	NS
Glucose	(mg/dl)	94±14	97±14	<0.0001
Insulin	(μU/ml)	5.54±3.32	6.05±4.10	0.0002
HOMA-IR	(-)	1.31±0.88	1.48±1.09	<0.0001
Total cholesterol	(mg/dl)	200±30	209±30	<0.0001
Triglycerides	(mg/dl)	119±81	124±85	NS
HDL-cholesterol	(mg/dl)	55±13	57±13	<0.0001
LDL-cholesterol	(mg/dl)	126±28	125±27	NS
Adiponectin	(μg/ml)	7.17±4.52	6.60±4.40	<0.0001

平均±標準偏差. BMI: body mass index, NS: 有意差なし (P>0.1). \*Wilcoxon signed-rank 検定

(Yamamoto Y: J Clin Endocrinol Metab 89: 87-90, 2004<sup>40</sup>)の Table 1 を許可を得て転載)

第9表 30-65歳の日本人男性590名における、ベースラインの血清アディポネクチン濃度と臨床指標および代謝指標の変化量との単回帰分析および重回帰分析

vs log [adiponectin]		Simple regression		Adjusted for baseline values		Adjusted for baseline values and change in BMI	
		r	P	r	P	r	P
Δ Body weight	(kg)	0.103	0.013	0.060	NS	-	-
Δ BMI	(kg/m <sup>2</sup> )	0.096	0.020	0.034	NS	-	-
Δ Systolic blood pressure	(mm Hg)	0.033	NS	-0.011	NS	-0.019	NS
Δ Diastolic blood pressure	(mm Hg)	0.033	NS	-0.007	NS	-0.014	NS
Δ Heart rate	(beats/min)	0.023	NS	-0.004	NS	0.012	NS
Δ Glucose	(mg/dl)	-0.016	NS	-0.065	NS	-0.056	NS
Δ Insulin	(μU/ml)	-0.096	0.020	-0.165	<0.0001	-0.162	<0.0001
Δ HOMA-IR	(-)	-0.100	0.015	-0.153	0.0001	-0.140	0.0006
Δ Total cholesterol	(mg/dl)	-0.00004	NS	-0.019	NS	-0.040	NS
Δ Triglycerides	(mg/dl)	0.014	NS	-0.058	NS	-0.071	NS
Δ HDL-cholesterol	(mg/dl)	-0.092	0.025	-0.001	NS	0.022	NS
Δ LDL-cholesterol	(mg/dl)	0.032	NS	-0.026	NS	-0.042	NS

BMI: body mass index, NS: 有意差なし (P>0.1).

(Yamamoto Y: J Clin Endocrinol Metab 89: 87-90, 2004<sup>40</sup>)の Table 2 を許可を得て転載)

第 10A 表 30-65 歳の日本人男性 478 名における、アディポネクチン遺伝子 T45G 多型と臨床指標および代謝指標との関係

Parameter	Adiponectin T45G genotype			P*
	T/T	T/G	G/G	
No. of subjects	248 (51.9%)	187 (39.1%)	43 (9.0%)	
Age (years)	48.6±9.6	47.9±9.3	49.4±9.8	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	23.4±2.5	23.1±2.6	23.3±3.3	NS
Systolic blood pressure (mm Hg)	127±19	123±18	122±19	0.0337
Diastolic blood pressure (mm Hg)	80±13	79±12	77±13	NS
Heart rate (beats/min)	75±12	74±12	75±14	NS
Glucose (mg/dl)	95±10	94±10	92±8	NS
Insulin (μU/ml)	5.3±3.0	5.5±3.9	6.4±4.8	NS
HOMA-IR (-)	1.24±0.73	3.26±0.93	1.47±1.20	NS
Adiponectin (μg/ml)	7.1±4.9	7.2±4.1	8.5±5.0	0.0722
Total cholesterol (mg/dl)	199±26	200±28	203±26	NS
Triglycerides (mg/dl)	123±76	129±121	119±64	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	54±13	54±12	58±15	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	125±27	126±27	126±26	NS
Uric acid (mg/dl)	6.3±1.2	6.2±1.1	6.2±1.3	NS

平均±標準偏差. NS:有意差なし (P&gt;0.1). \*Kruskal-Wallis 検定

第 10B 表 30-65 歳の日本人女性 117 名における、アディポネクチン遺伝子 T45G 多型と臨床指標および代謝指標との関係

Parameter	Adiponectin T45G genotype			P*
	T/T	T/G	G/G	
No. of subjects	54 (46.2%)	53 (45.3%)	10 (8.5%)	
Age (years)	45.4±8.9	47.6±8.5	45.0±9.5	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	21.1±2.7	20.7±3.2	19.2±1.8	NS
Systolic blood pressure (mm Hg)	115±17	116±19	110±10	NS
Diastolic blood pressure (mm Hg)	70±12	71±12	70±11	NS
Heart rate (beats/min)	73±11	73±8	77±10	NS
Glucose (mg/dl)	91±8	91±11	90±7	NS
Insulin (μU/ml)	4.9±2.4	4.4±2.2	3.3±1.6	NS
HOMA-IR (-)	1.11±0.61	1.02±0.57	0.74±0.37	NS
Adiponectin (μg/ml)	13.3±6.6	13.2±8.1	14.0±6.1	NS
Total cholesterol (mg/dl)	197±29	204±35	204±43	NS
Triglycerides (mg/dl)	64±26	77±38	72±33	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	68±13	67±15	73±18	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	116±26	121±31	116±31	NS
Uric acid (mg/dl)	4.4±1.0	4.6±1.0	4.3±0.8	NS

平均±標準偏差. NS:有意差なし (P&gt;0.1). \*Kruskal-Wallis 検定

第11A表 30-65歳の日本人男性478名における、アディポネクチン遺伝子G276T多型と臨床指標および代謝指標との関係

Parameter	Adiponectin G276T genotype			P*
	G/G	G/T	T/T	
No. of subjects	234 (49.0%)	207 (43.3%)	37 (7.7%)	
Age (years)	48.5±9.3	48.0±9.7	49.3±9.7	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	23.3±2.6	23.1±2.7	23.9±2.6	NS
Systolic blood pressure (mm Hg)	124±19	125±18	131±19	0.0639
Diastolic blood pressure (mm Hg)	79±13	78±12	82±14	NS
Heart rate (beats/min)	75±13	75±11	76±11	NS
Glucose (mg/dl)	94±10	94±10	93±8	NS
Insulin (μU/ml)	5.5±3.7	5.4±3.5	5.6±3.7	NS
HOMA-IR (-)	1.29±0.88	1.26±0.84	1.31±0.92	NS
Adiponectin (μg/ml)	7.1±4.1	7.5±5.1	6.9±4.3	NS
Total cholesterol (mg/dl)	200±27	207±27	195±28	NS
Triglycerides (mg/dl)	128±97	120±95	132±86	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	54±13	55±13	55±13	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	126±26	126±27	120±26	NS
Uric acid (mg/dl)	6.3±1.2	6.2±1.2	6.4±1.3	NS

平均±標準偏差. NS:有意差なし (P>0.1). \*Kruskal-Wallis 検定

第11B表 30-65歳の日本人女性117名における、アディポネクチン遺伝子G276T多型と臨床指標および代謝指標との関係

Parameter	Adiponectin G276T genotype			P*
	G/G	G/T	T/T	
No. of subjects	57 (48.7%)	53 (45.3%)	7 (6.0%)	
Age (years)	47.3±8.8	45.5±8.7	44.9±10.0	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	20.5±2.4	21.2±3.3	19.4±2.7	NS
Systolic blood pressure (mm Hg)	113±17	116±19	120±20	NS
Diastolic blood pressure (mm Hg)	71±11	70±13	70±11	NS
Heart rate (beats/min)	74±8	73±11	73±12	NS
Glucose (mg/dl)	90±8	92±11	92±8	NS
Insulin (μU/ml)	4.6±2.3	4.5±2.2	4.7±2.9	NS
HOMA-IR (-)	1.04±0.58	1.04±0.60	1.05±0.64	NS
Adiponectin (μg/ml)	12.6±5.8	13.2±8.1	18.9±10.0	NS
Total cholesterol (mg/dl)	205±37	197±28	190±26	NS
Triglycerides (mg/dl)	77±37	63±27	56±18	0.0337
HDL cholesterol (mg/dl)	69±16	67±13	74±14	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	122±31	116±26	106±23	NS
Uric acid (mg/dl)	4.5±0.87	4.5±0.94	4.0±1.60	NS

平均±標準偏差. NS:有意差なし (P>0.1). \*Kruskal-Wallis 検定

第 12A 表 30-65 歳の日本人男性 478 名における、アディポネクチン遺伝子 A349G 多型と臨床指標および代謝指標との関係

Parameter	Adiponectin A349G genotype			P*
	A/A	A/G	G/G	
No. of subjects	253 (52.9%)	185 (38.7%)	40 (8.4%)	
Age (years)	48.5±9.6	48.2±9.3	49.2±9.6	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	23.4±2.5	23.1±2.6	23.4±3.3	NS
Systolic blood pressure (mm Hg)	127±19	123±18	122±18	NS
Diastolic blood pressure (mm Hg)	80±13	79±12	77±12	NS
Heart rate (beats/min)	75±12	75±12	75±15	NS
Glucose (mg/dl)	95±10	94±10	92±7	NS
Insulin (μU/ml)	5.3±3.0	5.5±3.9	6.4±4.9	NS
HOMA-IR (-)	1.24±0.73	1.28±0.93	1.48±1.22	NS
Adiponectin (μg/ml)	7.1±4.9	7.2±4.1	8.4±5.1	NS
Total cholesterol (mg/dl)	199±26	200±28	202±26	NS
Triglycerides (mg/dl)	123±75	129±121	121±65	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	54±13	54±13	56±15	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	125±26	126±27	126±26	NS
Uric acid (mg/dl)	6.3±1.2	6.2±1.1	6.2±1.3	NS

平均±標準偏差. NS:有意差なし (P&gt;0.1). \*Kruskal-Wallis 検定

第 12B 表 30-65 歳の日本人女性 117 名における、アディポネクチン遺伝子 A349G 多型と臨床指標および代謝指標との関係

Parameter	Adiponectin A349G genotype			P*
	A/A	A/G	G/G	
No. of subjects	60 (51.3%)	47 (40.2%)	10 (8.5%)	
Age (years)	45.4±8.8	47.7±8.6	45.0±9.5	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	21.2±3.1	20.5±2.8	19.1±1.8	NS
Systolic blood pressure (mm Hg)	115±17	115±20	110±10	NS
Diastolic blood pressure (mm Hg)	70±11	71±13	70±11	NS
Heart rate (beats/min)	74±11	72±8	77±10	NS
Glucose (mg/dl)	92±10	91±9	90±7	NS
Insulin (μU/ml)	4.8±2.3	4.4±2.3	3.3±1.6	NS
HOMA-IR (-)	1.10±0.61	1.01±0.58	0.74±0.37	NS
Adiponectin (μg/ml)	13.2±6.6	13.5±8.2	14.0±6.1	NS
Total cholesterol (mg/dl)	195±29	208±35	204±43	NS
Triglycerides (mg/dl)	63±25	80±40	72±33	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	68±13	67±15	73±18	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	114±26	124±31	116±31	NS
Uric acid (mg/dl)	4.5±1.0	4.5±1.0	4.3±0.8	NS

平均±標準偏差. NS:有意差なし (P&gt;0.1). \*Kruskal-Wallis 検定

第13表 30-65歳の日本人男性 478名における, PPAR $\gamma$  2 遺伝子 Pro12Ala 多型と臨床指標および代謝指標との関係

Parameter	PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala genotype		P*
	Pro/Pro	Pro/Ala	
No. of subjects	454 (95.0%)	24 (5.0%)	
Age (years)	48.5 $\pm$ 9.4	45.8 $\pm$ 10.6	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	23.2 $\pm$ 2.6	23.7 $\pm$ 3.7	NS
Glucose (mg/dl)	94.2 $\pm$ 9.7	91.0 $\pm$ 7.1	NS
Insulin ( $\mu$ U/ml)	5.4 $\pm$ 3.4	6.1 $\pm$ 5.3	NS
HOMA-IR (-)	1.27 $\pm$ 0.84	1.38 $\pm$ 1.13	NS
Adiponectin (mg/dl)	7.3 $\pm$ 4.6	5.5 $\pm$ 3.0	0.038
Total cholesterol (mg/dl)	200 $\pm$ 27.0	206 $\pm$ 24.7	NS
Triglycerides (mg/dl)	124 $\pm$ 95.8	134 $\pm$ 76.6	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	54.4 $\pm$ 13.3	51.0 $\pm$ 9.2	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	125 $\pm$ 26.7	133 $\pm$ 23.4	0.075
Uric acid (mg/dl)	6.3 $\pm$ 1.2	6.3 $\pm$ 1.1	NS

平均 $\pm$ 標準偏差. NS:有意差なし (P>0.1). \*Mann-Whitney U 検定 (Yamamoto Y et al: Metabolism 51: 1407-1409, 2002<sup>45</sup>)の Table 1 を許可を得て転載)

第14表 30-65歳の日本人女性 117名における, PPAR $\gamma$  2 遺伝子 Pro12Ala 多型と臨床指標および代謝指標との関係

Parameter	PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala genotype		P*
	Pro/Pro	Pro/Ala	
No. of subjects	109 (93.2%)	8 (6.8%)	
Age (years)	46.5 $\pm$ 8.9	44.1 $\pm$ 6.1	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	20.8 $\pm$ 2.9	19.8 $\pm$ 2.6	NS
Glucose (mg/dl)	90.9 $\pm$ 9.3	91.9 $\pm$ 7.0	NS
Insulin ( $\mu$ U/ml)	4.5 $\pm$ 2.3	4.5 $\pm$ 1.9	NS
HOMA-IR (-)	1.04 $\pm$ 0.58	1.04 $\pm$ 0.53	NS
Adiponectin (mg/dl)	13.6 $\pm$ 7.3	9.0 $\pm$ 3.9	0.042
Total cholesterol (mg/dl)	202 $\pm$ 33.3	188 $\pm$ 26.5	NS
Triglycerides (mg/dl)	70.3 $\pm$ 33.7	74.1 $\pm$ 17.4	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	68.5 $\pm$ 14.3	65.4 $\pm$ 14.2	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	119 $\pm$ 28.5	110 $\pm$ 30.5	NS
Uric acid (mg/dl)	4.5 $\pm$ 1.0	4.2 $\pm$ 1.0	NS

平均 $\pm$ 標準偏差. NS:有意差なし (P>0.1). \*Mann-Whitney U 検定 (Yamamoto Y et al: Metabolism 51: 1407-1409, 2002<sup>45</sup>)の Table 2 を許可を得て転載)

指標の変化量は各指標のベースラインの値と相関関係を示し, さらにいくつかの指標の変化量は BMI の変化量と相関したため, これらの相関関係をまずベースラインの値で補正し, さらに BMI の変化量でも補正して検討した. 各指標のベースラインの値で補正した後も, ベー

スラインの血清アディポネクチン濃度は2年間のインスリンの変化量および HOMA-IR の変化量と負の相関関係を示した. これらの相関関係は, さらに BMI の変化量で補正した後も有意であった.

### 3. アディポネクチン遺伝子多型および PPAR $\gamma$ 2 遺伝子多型の検討

#### 1) アディポネクチン遺伝子多型

アディポネクチン遺伝子の T45G 多型, G276T 多型および A349G 多型と臨床指標, 代謝指標との関係をそれぞれ第 10 表, 第 11 表および第 12 表に示した. いずれの多型も Hardy-Weinberg 平衡に合致していた. 多型間での血清アディポネクチン濃度の差は, 3 多型ともに認めなかった. アディポネクチン遺伝子 T45G 多型間で, 収縮期血圧の差が男性において認められた. また, アディポネクチン遺伝子 G276T 多型間で, 中性脂肪の差異が女性において認められた. その他は, 多型間による臨床指標, 代謝指標に差異を認めなかった.

#### 2) PPAR $\gamma$ 2 遺伝子 Pro12Ala 多型

PPAR $\gamma$  2 遺伝子 Pro12Ala 多型の Pro/Pro 型は男性 454 人 (95.0%), 女性 109 人 (93.2%), Pro/Ala 型は男性 24 人 (5.0%), 女性 8 人 (6.8%) で, Ala/Ala 型は今回の対象に認めなかった. BMI, 空腹時血糖, インスリン, 脂質代謝指標, 尿酸および HOMA-IR に多型間で差を認めなかった. Pro/Pro 型を有する群は Pro/Ala 型を有する群と比較して, 血清アディポネクチン濃度が男女ともに高値であった (第 13 表<sup>45)</sup>, 第 14 表<sup>45)</sup>).

## 考 察

アディポネクチンは脂肪細胞に特異的な分泌蛋白質であり, 当初は抗動脈硬化作用が報告された<sup>11-14)</sup>. 本研究では, アディポネクチンとインスリン抵抗性, 高脂血症および高血圧症という動脈硬化の危険因子との関係を検討した. 断面的検討において, 血清アディポネクチン濃度はインスリン抵抗性指数である HOMA-IR と負の相関を示した. 脂質代謝面では, 血清アディポネクチン濃度が高い人は LDL-C および中性脂肪が低く, HDL-C が高いことが明らかとなった. BMI と血清アディポネクチン濃度は負の相関を示したが, BMI は HOMA-IR や脂質代謝指標とも相関関係にあったため, 血清アディポネクチン濃度と HOMA-IR および脂質代謝指標との関連を BMI で補正して検討したが, BMI で補正後もこれらの相関は有意であった. したがって, アディポネクチンは BMI とは独立してインスリン抵抗性および脂質代謝指標と関連があることが明らかになった. 一方, アディポネクチンと血圧や高感度 CRP (女性のみ) との関連は, 単相関では有意な相関関係を示したものの, BMI で補正すると相関関係は消失してしまったため,

間接的なものである可能性が考えられた. これらの検討は断面的検討であり, 血清アディポネクチン濃度が高くなるとインスリン抵抗性が改善し脂質代謝が良好になるのか, インスリン感受性や脂質代謝が良好であると血清アディポネクチン濃度が上昇するのかなどの因果関係は明らかにならなかった. 肥満・糖尿病モデル動物にアディポネクチンを投与すると, インスリン抵抗性が改善することが報告されている<sup>46), 47)</sup>. ヒトにおいてもおそらく同様に, 血清アディポネクチン濃度が高くなるとインスリン感受性および脂質代謝が改善すると考えられたが, この点を検証するためにさらに縦断的検討を行った.

縦断研究の結果, ベースラインの血清アディポネクチン濃度はその後 2 年間の HOMA-IR の変化量と負の相関を示した. この相関関係は, 2 年間の BMI の変化量で補正した後も有意であった. 一方, ベースラインの血清アディポネクチン濃度と HDL-C の変化量や BMI の変化量とは単回帰分析では有意な相関関係にあったが, HDL-C および BMI それぞれのベースラインの値で補正後は相関関係が消失したため, ベースラインの血清アディポネクチン濃度とその後の脂質代謝や BMI の変化とは関連がないものと本研究では考えられた. ピマインディアンは, 糖尿病の有病率が 6 割以上という著しく高率な人種である. Stefan らは, 成人ピマインディアン 38 人を対象として, ベースラインのアディポネクチン濃度はベースラインのインスリン誘導性糖利用, 性別, 年齢, 観察期間および体脂肪量の変化量とは独立して, 平均 3 年後のインスリン誘導性糖利用と正の相関を示すことを報告した<sup>48)</sup>. ピマインディアンの子供を対象とした検討では, 5 歳児のアディポネクチン濃度とその後の血清インスリン濃度の変化とは関連がなかったと報告されている<sup>49)</sup>. ピマインディアン以外の人種では, アディポネクチンとインスリン抵抗性との関係を縦断的に検討した報告はなかった. アカゲザルでは, アディポネクチン濃度の低下とともにインスリン抵抗性が亢進することが報告されている<sup>50)</sup>. 本研究では, ベースラインの血清アディポネクチン濃度は 2 年間の HOMA-IR の変化量と負の相関を示し, BMI の変化量で補正後も相関関係は有意であった. すなわち, 血清アディポネクチン濃度が高いと 2 年間でインスリン抵抗性が改善し, 逆に低いと 2 年後のインスリン抵抗性が悪化することが示された. この結果は, 肥満・2 型糖尿病の動物モデルにアディポネクチンを投与するとインスリン抵抗性が改善するという結果<sup>47)</sup>や, アディポネクチンノックアウトマウスでインスリン抵抗性が悪化するとの報告<sup>51), 52)</sup>と合致していた. そのメカニズムとして, アディポネクチンは筋細胞, 肝

細胞で 5'-AMP-activated protein kinase (以下 AMPK と略す) を活性化し, acetyl-coenzyme A carboxylase をリン酸化し, 脂肪酸を酸化することにより, 糖代謝およびインスリン感受性を調節していると報告された<sup>53)</sup>. その後, 発現クローニング法により, 7回膜貫通型のアディポネクチン受容体 (AdipoR1, AdipoR2) が同定された<sup>54)</sup>. AdipoR1 は骨格筋に, AdipoR2 は肝臓に多く発現しており, small interfering RNA を用いた発現抑制実験などにより, AMPK の活性化を介し, 脂肪酸の酸化, 糖取り込み促進作用を伝達していることが示された<sup>54)</sup>. ヒトにおいても同様なメカニズムが働いているか否かについては, 今後の研究が必要である.

脂質代謝に関しては, 断面的検討において血清アディポネクチン濃度が中性脂肪と負の相関を示し, HDL-C と正の相関を示すことが著者<sup>43)</sup>を含め複数のグループから報告されている<sup>11), 55), 56)</sup>. しかし, アディポネクチンと脂質代謝の関係に関しては詳細な動物実験やヒトを対象とした縦断研究はこれまで報告されておらず, 因果関係は明らかとなっていなかった. 本研究の縦断的検討では, ベースラインの血清アディポネクチン濃度は2年間の脂質代謝指標の変化とは相関関係になかった. この結果からは, アディポネクチンは直接的には脂質代謝に影響を与えない可能性が考えられた. しかし, 本研究の断面的検討では, 血清アディポネクチン濃度は HDL-C と最も強い相関を示し, この相関関係はインスリン感受性とは独立しており, アディポネクチンが脂質代謝に直接関与していることも否定はできない. 観察期間を変更して検討することにより, アディポネクチンはその後の脂質代謝に影響を与えるという結果が得られる可能性もある. 上述の通り, アディポネクチンは AMPK を活性化する<sup>53)</sup>. 5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside (以下 AICAR と略す) は, AMPK の活性化物質として実験で用いられている<sup>57)</sup>. AICAR を糖尿病モデル動物に投与すると, AMPK が活性化され, 耐糖能が改善する<sup>58), 59)</sup>. 一方, AICAR が脂質代謝に及ぼす影響は報告により異なっている. すなわち, AICAR を糖尿病モデル動物に投与すると, 中性脂肪を低下させるという報告<sup>58)</sup>と AICAR 投与により中性脂肪が増加するとの報告<sup>59)</sup>がある. アディポネクチンが AMPK やほかの系を介して脂質代謝に与える影響に関しては, 今後も検討が必要である.

断面的検討では, 血清アディポネクチン濃度は体重および BMI と負の相関関係を示していた. 2ヶ月間のカロリー制限食や胃の縫縮術による体重減少により, 血清アディポネクチン濃度が上昇することが報告されてい

る<sup>11), 60)</sup>. カロリー摂取が同量でも, 食物繊維の多い高炭水化物食ではアディポネクチン濃度が変化しないのに対して, 高脂肪食や食物繊維の少ない高炭水化物食ではアディポネクチン濃度は低下する<sup>61)</sup>. 本研究の縦断的検討では, ベースラインの血清アディポネクチン濃度は2年間の体重や BMI の変化に影響を与えなかった. この結果はピマインディアンを対象とした Vozarova らの報告<sup>62)</sup>と合致しており, それ以外にヒトを対象とした縦断的検討は報告されていない. マウスにおいては, アディポネクチン投与により食事摂取量には影響を与えず, 脂肪酸酸化を亢進させて体重を減少させることが報告されている<sup>63)</sup>. しかし, ヒトでは血清アディポネクチン濃度は脂肪酸酸化とは相関しないことが報告されている<sup>64)</sup>. この差異がどのような要因により生じるかは不明であるが, 動物種, アディポネクチンの濃度 (薬理学的か生理学的か), 食事 (高脂肪かつ高蔗糖食か否か), 肥満度の違いなどによるのかもしれない. 少なくともヒトにおいては, 体重減少によりアディポネクチン濃度は増加するが<sup>11), 60)</sup>, アディポネクチンはその後の体重変化には影響を与えないようである.

アディポネクチンの断面研究および縦断研究により, アディポネクチンはインスリン抵抗性改善作用を有することが明らかとなった. また, アディポネクチンには抗動脈硬化作用も報告されている<sup>11-14)</sup>. フランス白人を対象としたゲノムワイドスクランにより, アディポネクチン遺伝子が存在する染色体 3q27 が糖尿病や耐糖能障害の感受性遺伝子座であることが示された<sup>65)</sup>. また, 3q27 はメタボリックシンドロームと関連がある遺伝子座であることが報告された<sup>66)</sup>. そこで, アディポネクチン遺伝子多型と血清アディポネクチン濃度および糖・脂質代謝指標との関連を調べた. 本研究で調べたアディポネクチン遺伝子 T45G 多型, G276T 多型および A349G 多型は, いずれも多型間による血清アディポネクチン濃度の差異は認められなかった. また, 血糖, インスリンおよび HOMA-IR にも差異はみられなかった. 日本の他施設から, アディポネクチン G276T 多型は多型間で HOMA-IR の差が認められ, 肥満者 (BMI > 26.7 kg/m<sup>2</sup>) でのみ多型間でアディポネクチン濃度の差異があると報告されたが<sup>67)</sup>, 本研究とは結果が一致しなかった. T45G 多型<sup>67), 68)</sup>および A349G 多型<sup>67)</sup>に関しては, 血清アディポネクチン濃度とは関連がないことが他の施設からも報告されており, 著者の結果と一致した. 本研究では, アディポネクチン遺伝子 T45G 多型で多型間による収縮期血圧の差が男性で認められ, また G276T 多型で多型間による中性脂肪の差異が女性で認められた.

しかし、男女で一致した結果は得られず、さらにアディポネクチン遺伝子多型間での血清アディポネクチン濃度には差異が認められなかったため、これらの有意差は第1種の過誤である可能性が高いと考えられた。

アディポネクチン濃度に影響を及ぼす遺伝因子に関してさらに検討を加えることとし、PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala多型との関連を検討した。PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala多型と糖・脂質代謝との関連は数多く報告されているが<sup>29-36), 69), 70)</sup>、アディポネクチンとの関係はこれまでに報告されていなかった。また、PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala多型と脂質代謝については一定の結果が得られていない<sup>31), 32), 36), 69), 70)</sup>。本研究では、多型間での脂質代謝の違いは認められなかった。また、多型間で空腹時血糖値にも違いがなく、これは今までの報告と一致していた<sup>29-36), 69)</sup>。PPAR $\gamma$ 2 遺伝子の Ala12 保持者は空腹時インスリン値が低いとの報告もあるが<sup>31-33)</sup>、関連がないとの報告<sup>30), 34-36), 69)</sup>もあり、本研究でも多型による空腹時インスリン値の違いはみられなかった。また、Ala12 保持者はインスリン感受性が高いとの報告があるが<sup>31-35)</sup>、本研究では多型間での HOMA-IR の差異はみられなかった。このような違いが生じる要因は不明であるが、著者の研究対象者が健常者であり、BMI が比較的低いために生じた可能性がある。なぜならば、日本人では過体重または肥満者においてのみ、PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala 多型間でのインスリン抵抗性に差が認められた<sup>32)</sup>からである。本研究では、PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala 多型により糖・脂質代謝指標や HOMA-IR には差異を認めなかったが、PPAR $\gamma$ 2 Ala12 保持者は血清アディポネクチン濃度が低いということを初めて示した。In vitro で、PPAR $\gamma$ 2

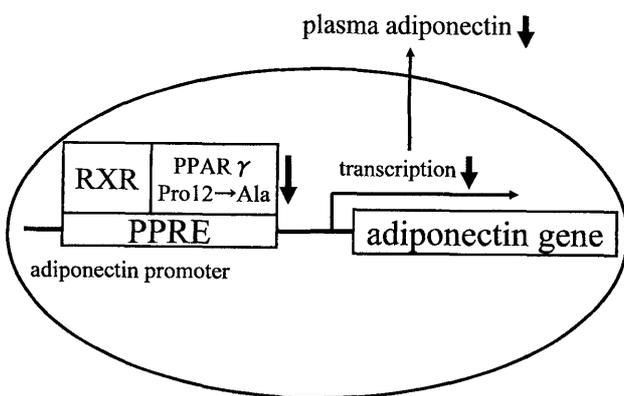
の Ala 変異体は PPAR $\gamma$  転写活性上昇作用が低下していること<sup>31)</sup>、アディポネクチンのプロモーター領域は PPRE を有すること<sup>71)</sup>、3T3-L1 脂肪細胞において PPAR $\gamma$  リガンドがアディポネクチンのプロモーター活性を上昇させること<sup>15)</sup>、ヒトに PPAR $\gamma$  のアゴニストであるチアゾリジン系薬剤を投与するとアディポネクチン濃度が上昇すること<sup>15), 16)</sup>が報告されている。これらのことを考慮すると、PPAR $\gamma$ 2 Ala 保持者はアディポネクチンのプロモーター活性が低下して、アディポネクチン遺伝子の転写が低下し、その結果として血清アディポネクチン濃度が低下したという機序が考えられた(第2図)。

以上より、アディポネクチンは糖・脂質代謝に深く関わっていること、およびインスリン抵抗性改善作用を有することが明らかとなった。アディポネクチンが脂質代謝改善作用を有するか否かに関しては、動物実験や観察期間を変えた縦断的臨床研究が今後必要であると考えられた。また、肥満という環境因子により血清アディポネクチン濃度は変化し、PPAR $\gamma$ 2 遺伝子多型の検討から、遺伝因子によっても血清アディポネクチン濃度は規定されていることが明らかとなった。今後さらに、アディポネクチンと耐糖能異常・糖尿病、高脂血症、高血圧症、動脈硬化症などとの関連を明らかにすることにより、アディポネクチンはこれらの疾患の有用な代謝マーカー、または新たな予防・治療薬になる可能性も考えられる。

## 総 括

脂肪細胞特異的な分泌蛋白質であるアディポネクチンと、BMI、血圧および糖・脂質代謝指標との関連を断面的および縦断的に検討した。さらに、アディポネクチン遺伝子多型および PPAR $\gamma$ 2 遺伝子多型と血清アディポネクチン濃度、BMI、血圧、糖・脂質代謝指標との関連を検討することにより、以下の結果を得た。

1. 断面的検討において、女性では男性より血清アディポネクチン濃度が有意に高値であり、脂肪細胞に特異的な分泌蛋白質であるにもかかわらず、血清アディポネクチン濃度は肥満者では低下していた。また、血清アディポネクチン濃度は収縮期血圧、拡張期血圧、空腹時血糖、インスリン、HOMA-IR、総コレステロール、中性脂肪、LDL-C および尿酸と負の相関を、HDL-C と正の相関関係を示した。血清アディポネクチン濃度とインスリン、HOMA-IR、中性脂肪、HDL-C、LDL-C および尿酸との相関関係は年齢、性別および BMI で補正した後も有意であった。



第2図 PPAR $\gamma$ 2 遺伝子 Pro12Ala 多型の Ala 保持者における血清アディポネクチン濃度低下の機序の仮説

2. 縦断的検討において、ベースラインの血清アディポネクチン濃度は2年間のインスリンの変化量およびHOMA-IRの変化量と負の相関関係を示した。これらの相関関係は、各ベースラインの値およびBMIの変化量で補正した後も有意であった。ベースラインの血清アディポネクチン濃度は2年間のBMIまたは脂質代謝指標の変化には影響を与えないと考えられた。

3. アディポネクチン遺伝子 T45G 多型, G276T 多型 および A349G 多型の検討で, 多型間での血清アディポネクチン濃度の差異は認められなかった。PPAR $\gamma$  2 遺伝子 Pro12Ala 多型の検討では, Ala 保持者は血清アディポネクチン濃度が低いことを示し, 遺伝因子により血清アディポネクチン濃度が規定されることが示唆された。

以上より, 脂肪細胞特異的分泌蛋白質であるアディポネクチンは, 肥満や遺伝的素因で低下しており, 糖・脂質代謝と深く関わっていることが明らかとなった。肥満による糖・脂質代謝の異常にアディポネクチンの低下が関与している可能性が考えられた。

本稿を終えるにあたり, 御指導, 御校閲を賜りました慶應義塾大学医学部内科学教室猿田享男教授に深甚なる謝意を表します。また, 本研究を直接御指導くださり, 論文の御校閲をいただきました慶應義塾大学保健管理センター広瀬寛講師に深謝いたします。さらに, 御協力をいただきました慶應義塾大学医学部内科腎内分泌代謝研究室の諸先生方に感謝いたします。

本研究の一部は, 第45回日本糖尿病学会年次学術集会(2002年, 東京), 第64回米国糖尿病学会(2002年, サンフランシスコ), 第23回日本肥満学会(2002年, 京都), 第47回日本糖尿病学会年次学術集会(2004年, 東京)において発表した。

本論文は Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, Tomita M, Taniyama M, Matsubara K, Okazaki Y, Ishii T, Nishikai K, Saruta T : Correlation of the adipocyte-derived protein adiponectin with insulin resistance index and serum high-density lipoprotein-cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population. *Clin Sci (Lond)* 103 : 137-142, 2002, Yamamoto Y, Hirose H, Miyashita K, Nishikai K, Saito I, Taniyama M, Tomita M, Saruta T : PPAR $\gamma$  2 gene Pro12Ala polymorphism may influence serum level of an adipocyte-derived protein, adiponectin, in the Japanese population. *Metabolism* 51 : 1407-1409, 2002 および Yamamoto Y, Hirose H,

Saito I, Nishikai K, Saruta T : Adiponectin, an adipocyte-derived protein, predicts future insulin resistance : two-year follow-up study in Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab* 89 : 87-90, 2004 の一部を含む。

## 文 献

- 1) Reaven GM : Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37 : 1595-1607, 1988
- 2) Kaplan NM : The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 149 : 1514-1520, 1989
- 3) DeFronzo RA, Ferrannini E : Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 14 : 173-194, 1991
- 4) Fujioka S, Matsuzawa Y, Tokunaga K, Tarui S : Contribution of intra-abdominal fat accumulation to the impairment of glucose and lipid metabolism in human obesity. *Metabolism* 36 : 54-59, 1987
- 5) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM : Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372 : 425-432, 1994
- 6) Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K : cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 221 : 286-289, 1996
- 7) Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoaka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y : Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 257 : 79-83, 1999
- 8) Nakano Y, Tobe T, Choi Miura NH, Mazda T, Tomita M : Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J Biochem (Tokyo)* 120 : 803-812, 1996
- 9) Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF : A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 270 : 26746-26749, 1995
- 10) Hu E, Liang P, Spiegelman BM : AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem* 271 : 10697-10703, 1996
- 11) Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H,

- Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y : Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20 : 1595-1599, 2000
- 12) Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y : Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation* 102 : 1296-1301, 2000
  - 13) Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y : Novel modulator for endothelial adhesion molecules : adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 100 : 2473-2476, 1999
  - 14) Okamoto Y, Arita Y, Nishida M, Muraguchi M, Ouchi N, Takahashi M, Igura T, Inui Y, Kihara S, Nakamura T, Yamashita S, Miyagawa J, Funahashi T, Matsuzawa Y : An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. *Horm Metab Res* 32 : 47-50, 2000
  - 15) Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishizawa H, Kishida K, Nagaretani H, Matsuda M, Komuro R, Ouchi N, Kuriyama H, Hotta K, Nakamura T, Shimomura I, Matsuzawa Y : PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes* 50 : 2094-2099, 2001
  - 16) Hirose H, Kawai T, Yamamoto Y, Taniyama M, Tomita M, Matsubara K, Okazaki Y, Ishii T, Oguma Y, Takei I, Saruta T : Effects of pioglitazone on metabolic parameters, body fat distribution, and serum adiponectin levels in Japanese male patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 51 : 314-317, 2002
  - 17) Haga H, Yamada R, Ohnishi Y, Nakamura Y, Tanaka T : Gene-based SNP discovery as part of the Japanese Millennium Genome Project : identification of 190, 562 genetic variations in the human genome. Single-nucleotide polymorphism. *J Hum Genet* 47 : 605-610, 2002
  - 18) Dreyer C, Krey G, Keller H, Givel F, Helftenbein G, Wahli W : Control of the peroxisomal beta-oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors. *Cell* 68 : 879-887, 1992
  - 19) Henry RR : Thiazolidinediones. *Endocrinol Metab Clin North Am* 26 : 553-573, 1997
  - 20) Okuno A, Tamemoto H, Tobe K, Ueki K, Mori Y, Iwamoto K, Umesono K, Akanuma Y, Fujiwara T, Horikoshi H, Yazaki Y, Kadowaki T : Troglitazone increases the number of small adipocytes without the change of white adipose tissue mass in obese Zucker rats. *J Clin Invest* 101 : 1354-1361, 1998
  - 21) Sigrist S, Bedoucha M, Boelsterli UA : Down-regulation by troglitazone of hepatic tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 mRNA expression in a murine model of non-insulin-dependent diabetes. *Biochem Pharmacol* 60 : 67-75, 2000
  - 22) De Vos P, Lefebvre AM, Miller SG, Guerre M, Wong K, Saladin R, Hamann LG, Staels B, Briggs MR, Auwerx J : Thiazolidinediones repress ob gene expression in rodents via activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *J Clin Invest* 98 : 1004-1009, 1996
  - 23) Teboul L, Febbraio M, Gaillard D, Amri EZ, Silverstein R, Grimaldi PA : Structural and functional characterization of the mouse fatty acid translocase promoter : activation during adipose differentiation. *Biochem J* 360 : 305-312, 2001
  - 24) Frohnert BI, Hui TY, Bernlohr DA : Identification of a functional peroxisome proliferator-responsive element in the murine fatty acid transport protein gene. *J Biol Chem* 274 : 3970-3977, 1999
  - 25) Wu Z, Xie Y, Morrison RF, Bucher NL, Farmer SR : PPARgamma induces the insulin-dependent glucose transporter GLUT4 in the absence of C/EBPalpha during the conversion of 3T3 fibroblasts into adipocytes. *J Clin Invest* 101 : 22-32, 1998
  - 26) Fajas L, Auboeuf D, Raspe E, Schoonjans K, Lefebvre AM, Saladin R, Najib J, Laville M, Fruchart JC, Deeb S, Vidal Puig A, Flier J, Briggs MR, Staels B, Vidal H, Auwerx J : The organization, promoter analysis, and expression of the human PPARgamma gene. *J Biol Chem* 272 : 18779-18789, 1997
  - 27) Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM : Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell* 79 : 1147-1156, 1994
  - 28) Yen CJ, Beamer BA, Negri C, Silver K, Brown KA, Yarnall DP, Burns DK, Roth J, Shuldiner AR : Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor gamma (hPPAR gamma) gene in diabetic Caucasians : identification of a Pro12Ala PPAR gamma 2 missense mutation. *Biochem Biophys Res Commun* 241 : 270-274, 1997
  - 29) Beamer BA, Yen CJ, Andersen RE, Muller D, Elahi D, Cheskin LJ, Andres R, Roth J, Shuldiner AR : Association of the Pro12Ala variant in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene with obesity in two Caucasian populations. *Diabetes* 47 : 1806-1808, 1998
  - 30) Lei HH, Chen MH, Yang WS, Chiu MC, Chen MC, Tai TY, Chuang LM : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 Pro12Ala gene variant is strongly associated with larger body mass in the Taiwanese. *Metabolism* 49 : 1267-1270, 2000
  - 31) Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, Pihlajamaki J, Mykkanen L, Kuusisto J, Laakso M, Fujimoto W,

- Auwerx J : A Pro12Ala substitution in PPAR gamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* 20 : 284-287, 1998
- 32) Hara K, Okada T, Tobe K, Yasuda K, Mori Y, Kadowaki H, Hagura R, Akanuma Y, Kimura S, Ito C, Kadowaki T : The Pro12Ala polymorphism in PPAR gamma2 may confer resistance to type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 271 : 212-216, 2000
- 33) Koch M, Rett K, Maerker E, Volk A, Haist K, Deninger M, Renn W, Haring HU : The PPAR gamma2 amino acid polymorphism Pro 12 Ala is prevalent in offspring of Type II diabetic patients and is associated to increased insulin sensitivity in a subgroup of obese subjects. *Diabetologia* 42 : 758-762, 1999
- 34) Jacob S, Stumvoll M, Becker R, Koch M, Nielsen M, Loblein K, Maerker E, Volk A, Renn W, Balletshofer B, Machicao F, Rett K, Haring HU : The PPAR gamma2 polymorphism pro12Ala is associated with better insulin sensitivity in the offspring of type 2 diabetic patients. *Horm Metab Res* 32 : 413-416, 2000
- 35) Stumvoll M, Wahl HG, Loblein K, Becker R, Machicao F, Jacob S, Haring H : Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene is associated with increased antilipolytic insulin sensitivity. *Diabetes* 50 : 876-881, 2001
- 36) Mori H, Ikegami H, Kawaguchi Y, Seino S, Yokoi N, Takeda J, Inoue I, Seino Y, Yasuda K, Hanafusa T, Yamagata K, Awata T, Kadowaki T, Hara K, Yamada N, Gotoda T, Iwasaki N, Iwamoto Y, Sanke T, Nanjo K, Oka Y, Matsutani A, Maeda E, Kasuga M : The Pro12→Ala substitution in PPAR-gamma is associated with resistance to development of diabetes in the general population : possible involvement in impairment of insulin secretion in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes* 50 : 891-894, 2001
- 37) Altshuler D, Hirschhorn JN, Klannemark M, Lindgren CM, Vohl MC, Nemesh J, Lane CR, Schaffner SF, Bolk S, Brewer C, Tuomi T, Gaudet D, Hudson TJ, Daly M, Groop L, Lander ES : The common PPARgamma Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nat Genet* 26 : 76-80, 2000
- 38) Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC : Homeostasis model assessment : insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28 : 412-419, 1985
- 39) Rudenski AS, Matthews DR, Levy JC, Turner RC : Understanding "insulin resistance" : both glucose resistance and insulin resistance are required to model human diabetes. *Metabolism* 40 : 908-917, 1991
- 40) Whitcombe D, Brownie J, Gillard HL, McKechnie D, Theaker J, Newton CR, Little S : A homogeneous fluorescence assay for PCR amplicons : its application to real-time, single-tube genotyping. *Clin Chem* 44 : 918-923, 1998
- 41) Kutuyavin IV, Afonina IA, Mills A, Gorn VV, Lukhtanov EA, Belousov ES, Singer MJ, Walburger DK, Likhov SG, Gall AA, Dempcy R, Reed MW, Meyer RB, Hedgpeth J : 3'-minor groove binder-DNA probes increase sequence specificity at PCR extension temperatures. *Nucleic Acids Res* 28 : 655-661, 2000
- 42) Ranade K, Chang MS, Ting CT, Pei D, Hsiao CF, Olivier M, Pesich R, Hebert J, Chen YD, Dzau VJ, Curb D, Olshen R, Risch N, Cox DR, Botstein D : High-throughput genotyping with single nucleotide polymorphisms. *Genome Res* 11 : 1262-1268, 2001
- 43) Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, Tomita M, Taniyama M, Matsubara K, Okazaki Y, Ishii T, Nishikai K, Saruta T : Correlation of the adipocyte-derived protein adiponectin with insulin resistance index and serum high-density lipoprotein-cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population. *Clin Sci (Lond)* 103 : 137-142, 2002
- 44) Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, Nishikai K, Saruta T : Adiponectin, an adipocyte-derived protein, predicts future insulin resistance : two-year follow-up study in Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab* 89 : 87-90, 2004
- 45) Yamamoto Y, Hirose H, Miyashita K, Nishikai K, Saito I, Taniyama M, Tomita M, Saruta T : PPAR (gamma) 2 gene Pro12Ala polymorphism may influence serum level of an adipocyte-derived protein, adiponectin, in the Japanese population. *Metabolism* 51 : 1407-1409, 2002
- 46) Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE : The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med* 7 : 947-953, 2001
- 47) Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T : The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med* 7 : 941-946, 2001
- 48) Stefan N, Vozarova B, Funahashi T, Matsuzawa Y, Weyer C, Lindsay RS, Youngren JF, Havel PJ, Pratley RE, Bogardus C, Tataranni PA : Plasma adiponectin concentration is associated with skeletal muscle insulin receptor tyrosine phosphorylation, and low plasma concentration precedes a decrease in whole-body insulin sensitivity in humans. *Diabetes* 51 : 1884-1888, 2002
- 49) Stefan N, Bunt JC, Salbe AD, Funahashi T, Matsuzawa Y, Tataranni PA : Plasma adiponectin

- concentrations in children : relationships with obesity and insulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 87 : 4652-4656, 2002
- 50) Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeier HK, Arita Y, Hansen BC, Matsuzawa Y : Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes* 50 : 1126-1133, 2001
- 51) Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furuyama N, Kondo H, Takahashi M, Arita Y, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Tochino Y, Okutomi K, Horie M, Takeda S, Aoyama T, Funahashi T, Matsuzawa Y : Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med* 8 : 731-737, 2002
- 52) Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T, Kubota T, Moroi M, Matsui J, Eto K, Yamashita T, Kamon J, Satoh H, Yano W, Froguel P, Nagai R, Kimura S, Kadowaki T, Noda T : Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J Biol Chem* 277 : 25863-25866, 2002
- 53) Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T : Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 8 : 1288-1295, 2002
- 54) Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T : Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 423 : 762-769, 2003
- 55) Tschritter O, Fritsche A, Thamer C, Haap M, Shirkavand F, Rahe S, Staiger H, Maerker E, Haring H, Stumvoll M : Plasma adiponectin concentrations predict insulin sensitivity of both glucose and lipid metabolism. *Diabetes* 52 : 239-243, 2003
- 56) Matsubara M, Maruoka S, Katayose S : Decreased plasma adiponectin concentrations in women with dyslipidemia. *J Clin Endocrinol Metab* 87 : 2764-2769, 2002
- 57) Corton JM, Gillespie JG, Hawley SA, Hardie DG : 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside. A specific method for activating AMP-activated protein kinase in intact cells? *Eur J Biochem* 229 : 558-565, 1995
- 58) Bergeron R, Previs SF, Cline GW, Perret P, Russell RR 3rd, Young LH, Shulman GI : Effect of 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta-D-ribofuranoside infusion on *in vivo* glucose and lipid metabolism in lean and obese Zucker rats. *Diabetes* 50 : 1076-1082, 2001
- 59) Song XM, Fiedler M, Galuska D, Ryder JW, Fernstrom M, Chibalin AV, Wallberg Henriksson H, Zierath JR : 5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside treatment improves glucose homeostasis in insulin-resistant diabetic (ob/ob) mice. *Diabetologia* 45 : 56-65, 2002
- 60) Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, Chen CL, Tai TY, Chuang LM : Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 86 : 3815-3819, 2001
- 61) Esposito K, Nappo F, Giugliano F, Di Palo C, Ciotola M, Barbieri M, Paolisso G, Giugliano D : Meal modulation of circulating interleukin 18 and adiponectin concentrations in healthy subjects and in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 78 : 1135-1140, 2003
- 62) Vozarova B, Stefan N, Lindsay RS, Krakoff J, Knowler WC, Funahashi T, Matsuzawa Y, Stumvoll M, Weyer C, Tataranni PA : Low plasma adiponectin concentrations do not predict weight gain in humans. *Diabetes* 51 : 2964-2967, 2002
- 63) Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, Bihain BE, Lodish HF. : 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* 98 : 2005-2010, 2001
- 64) Stefan N, Vozarova B, Funahashi T, Matsuzawa Y, Ravussin E, Weyer C, Tataranni PA : Plasma adiponectin levels are not associated with fat oxidation in humans. *Obes Res* 10 : 1016-1020, 2002
- 65) Vionnet N, Hani El H, Dupont S, Gallina S, Francke S, Dotte S, De Matos F, Durand E, Lepretre F, Lecoq C, Gallina P, Zekiri L, Dina C, Froguel P : Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites : evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. *Am J Hum Genet* 67 : 1470-1480, 2000
- 66) Kissebah AH, Sonnenberg GE, Myklebust J, Goldstein M, Broman K, James RG, Marks JA, Krakower GR, Jacob HJ, Weber J, Martin L, Blangero J, Comuzzie AG : Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 97 : 14478-14483, 2000
- 67) Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, Yamauchi T, Otabe S, Okada T, Eto K, Kadowaki H, Hagura R, Akanuma Y, Yazaki Y, Nagai R, Taniyama M, Matsubara K, Yoda M, Nakano Y, Kimura S, Tomita M, Kimura S, Ito C, Froguel P, Kadowaki T : Genetic variation in the gene encoding adiponectin is

- associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes* 51 : 536-540, 2002
- 68) Takahashi M, Arita Y, Yamagata K, Matsukawa Y, Okutomi K, Horie M, Shimomura I, Hotta K, Kuriyama H, Kihara S, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y : Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24 : 861-868, 2000
- 69) Meirhaeghe A, Fajas L, Helbecque N, Cottel D, Auwerx J, Deeb SS, Amouyel P : Impact of the Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma2 Pro12Ala polymorphism on adiposity, lipids and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24 : 195-199, 2000
- 70) Swarbrick MM, Chapman CM, McQuillan BM, Hung J, Thompson PL, Beilby JP : A Pro12Ala polymorphism in the human peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 is associated with combined hyperlipidaemia in obesity. *Eur J Endocrinol* 144 : 277-282, 2001
- 71) Iwaki M, Matsuda M, Maeda N, Funahashi T, Matsuzawa Y, Makishima M, Shimomura I : Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. *Diabetes* 52 : 1655-1663, 2003
-