

生活習慣病における脂肪細胞の意義と大豆たん白質の効果：体脂肪分布と
脂肪細胞機能，特にアディポサイトカイン分泌に及ぼす大豆たん白質の影響（第一報）

松澤佑次*

大阪大学大学院医学系研究科

**The Multivariate Functions of Adipose Tissue and the Metabolic Syndrome :
The Effects of Soybean Protein on Fat Distribution and Adipocytokines**

Yuji MATSUZAWA

Osaka University Graduate School of Medicine, Suita 565-0871

ABSTRACT

The metabolic syndrome, which clusters insulin resistance, dyslipidemia, and hypertension in each individual is a common basis of type 2 diabetes and atherosclerotic vascular diseases. Accumulation of intra-abdominal visceral adipose tissue triggers the metabolic syndrome. Recent researches have explored adipose tissue is not solely an energy storing tissue but secretes a variety of bioactive substances called adipocytokines. This study was designed to elucidate the role of adipose-expressed genes in the development of the metabolic syndrome, and the significance of soybean protein, which is a major component of classical Japanese diet, on the regulation of the genes in adipocyte. Through the extensive analysis of adipose-expressed genes, we isolated several adipose-specific genes, galectin-12, adiponectin, and aquaporin adipose. Forced expression of galectin-12 induced cellular apoptosis. Although the significance of apoptosis in adipose tissue remains unclear, galectin-12 may work to determine the cell size and the capacity of buffer action against nutritional overload. Adiponectin is a plasma protein having insulin sensitizing activity and modulating vascular functions, but plasma adiponectin levels were decreased in the subjects with body fat accumulation. Promoter analysis revealed that $\text{TNF-}\alpha$ decreased and $\text{PPAR}\gamma$ -ligands increased the expression of adiponectin. Aquaporin adipose, a channel forming integral protein, works as a glycerol channel in adipocyte. The expression of aquaporin adipose decreased in the feeding state, in which glycerol release was suppressed. This suppression was achieved by insulin responsive element in its promoter. In the obese animals, the expression of aquaporin adipose was augmented leading to the enhanced glycerol

* 〒565-0871 吹田市山田丘2-2

release from adipocytes. Diet therapy with soybean protein in obese mice reduced body fat and increased plasma adiponectin, resulting in the improvement of glucose tolerance. These results suggested that dysregulation of adipose-specific genes relates to the pathogenesis of the metabolic syndrome. The diet therapy with soybean protein may improve the dysregulation and prevent the metabolic syndrome. *Soy Protein Research, Japan* **5**, 1-9, 2002.

Key words : soybean protein, adipocytokine, visceral fat, metabolic syndrome

現在の我が国では糖尿病や動脈硬化疾患が著しく増加し、国民の生活の質や医療財政に大きな影響を与えている。糖尿病、高血圧症、脂質代謝異常は、しばしば同一個人に集積しておこり、これら危険因子の集族が動脈硬化疾患のリスクを著しくあげることから循環器病学の領域ではマルチプルリスクファクター症候群と呼ばれ注目されている。糖尿病学の分野でも厳格な血糖管理により網膜症、腎症などの細血管障害の予防目標が設定されつつあるのに対し、大血管症（粥状動脈硬化疾患）については血糖管理のみでは不十分であることが示され、やはりマルチプルリスクファクターを集積する病態が重要である可能性がある。マルチプルリスクファクター症候群の中には、偶然に糖尿病、高血圧症、脂質代謝異常が合併するのではなく、その上流に共通の発症基盤が存在する病態があり、最近では「メタボリックシンドローム」と呼ばれている。インスリン感受性の低下、インスリン抵抗性を上流に置く説があるが、近年の我が国や欧米諸国においてこのような病態が急増している社会背景を考えると、さらに上流に過栄養や運動不足による体脂肪蓄積、即ち肥満が存在すると考えられる。

私達はCTスキャンを用いた体脂肪分布解析により、腹腔内内臓脂肪の蓄積が、糖尿病や動脈硬化発症と密接に関連することを見出し、「内臓脂肪型肥満」の概念を示した。内臓脂肪蓄積がメタボリックシンドローム発症にどのような役割を担うかは、脂肪細胞が如何なる機能を有するかを分子レベルで包括的に捉えること、特に脂肪細胞たる所以をなす特異的分子を同定し、内臓脂肪蓄積時にどのような発現異常がおこるかを明らかにしなければならない。私達は蓄積部位別の脂肪組織発現遺伝子解析を行い、脂肪組織、特に内臓脂肪が、多彩な生理活性物質、「アディポサイトカイン」を分泌する巨大な内分泌臓器として捉えうることを明らかにした。内臓脂肪蓄積時には様々なアディポサイトカイン分泌異常がおこり、この中で内臓脂肪由来PAI-1の過剰分泌が血栓性疾患発症に繋がることを報告し、新たな血管病発症機構の存在を示した。この過

程で多数の新規脂肪細胞遺伝子を同定し、抗動脈硬化作用を持つアディポネクチンやグリセロール・チャネル分子、アクアポリン・アディポスを発見した。

こうした脂肪細胞新規分子を標的とした創薬に取り組むことも重要であるが、内臓脂肪蓄積による病態発症の根底には食生活の変化があり、量的のみでなく質的に日本固有の食文化を見直し、それが上記の脂肪細胞発現遺伝子に与える影響を明らかにすることによって、栄養学的事象を分子レベルで捉え直す必要がある。大豆たん白質は旧来の日本食たん白質源として重要であり、コレステロール低下効果、脂肪合成抑制効果、抗肥満効果などが知られている。しかし、実際大豆たん白質が体脂肪に如何なる影響を与え、糖尿病や動脈硬化疾患の予防にどのように繋がるかは分子レベルでの検討が充分に行われているとはいえない。

そこで本研究では1)脂肪細胞特異的に発現する遺伝子の解析により脂肪細胞の未知の機能を明らかにし、2)過栄養による脂肪蓄積、特に内臓脂肪蓄積によりこれらの遺伝子群に如何なる調節異常がおこって動脈硬化や糖尿病などいわゆる生活習慣病発症に結びつくのか、3)さらに大豆たん白質の摂取が脂肪分布や脂肪組織遺伝子発現にどのような影響を及ぼし代謝に好効果を与えるかを明らかにしようとするものである。本年度は特に新規脂肪細胞特異的遺伝子の機能、およびその調節機能について検討した。

方 法

新規脂肪細胞特異的分子の同定

私達が構築したヒト脂肪組織cDNAライブラリーよりランダムに1,000個のクローンを選択し、オートシーケンサーにより塩基配列を決定した。BLAST searchにより機能未知遺伝子を選択し、さらにESTとしても他臓器ライブラリーに登録されていないものを選んだ。このcDNA断片をプローブとして組織分布をノーザンブロット法により検討した。その結果脂肪組織特異性が高いと考えられたクローンP1D8について

全長cDNAをクローニングし、その構造解析および機能解析を行った。

脂肪細胞特異的分子の病態における意義

私達がクローニングした抗動脈硬化を有するアディポネクチンおよびグリセロールチャネル分子アクアポリンアディポースの調節機構について検討した。アディポネクチン、アクアポリンアディポース・プロモーターDNAをluciferase遺伝子に接続し、pGL vectorに組み込んでレポーターコンストラクトを作製した。このレポーター遺伝子をマウス3T3-L1細胞にトランスフェクションし、アディポネクチン、アクアポリンアディポース・プロモーター機能を解析した。

これまで私達はアディポネクチンの抗動脈硬化作用について報告してきた。インスリン抵抗性は動脈硬化とともにメタボリックシンドロームの中心をなす病態である。ヒトおよび動物モデルにおいて、アディポネクチン調節異常がインスリン抵抗性発症に及ぼす影響を検討した。

脂肪細胞特異的分子の発現調節

PPAR γ は脂肪細胞分化のマスターレギュレーターであり、多くの脂肪細胞特異的遺伝子の発現を調節している。近年これらの核内受容体型転写因子の活性は種々の共役因子によって調節されていることが明らかになってきた。small heterodimer partner (SHP)はDNA結合部を欠く核内受容体分子で、他の核内受容体機能を調節する共役因子として機能する。最近SHP遺伝子異常がインスリン感受性異常を呈することが報告された。SHPのPPAR γ に対する作用を検討した。SHPをCV1細胞に発現させPPAR γ の転写活性に及ぼす作用を検討した。SHPとPPAR γ の結合をGST pulldown assayで検討し、PPAR γ の欠失変異たん白質との結合実験によりSHPが作用するPPAR γ ドメインを同定した。変異SHPたん白質を作製し、SHPのPPAR γ 活性に及ぼすドメインを検討した。

大豆たん白質が脂肪組織遺伝子発現に与える影響

大豆たん白質が脂肪分布、脂質代謝、糖代謝および脂肪組織遺伝子発現やサイトカイン分泌に与える影響を見るために、マウスを高脂肪食で飼育後、大豆食またはカゼインを含む食事を与え、その効果を検討した。

肥満形成モデルとしてKKAyマウスを用い、4週間の肥満食で飼育後3群に分け、1群はInitial群として解剖、他の2群は、それぞれ大豆たん白質、カゼインをベースとしたダイエット食でさらに2週間飼育し、体脂肪量、腸間膜脂肪量、血糖値、脂肪組織由来因子、アディポネクチン濃度を比較検討した。

結 果

新規脂肪細胞特異的分子の同定

脂肪組織の未知の機能を同定するため、新規脂肪組織特異的分子のクローニングを試みた。脂肪組織cDNAライブラリーからクローニングした新規遺伝子P1D8はGalectin familyの新規分子をコードしており、Galectin-12と名付けた。Galectinは糖鎖（ガラクトシド）結合能を持つ分子ファミリーで、細胞接着、アポトーシスなど様々な生体機能に関与している。Galectin familyは分子内に糖鎖認識ドメイン（Carbohydrate recognition domain; CRD）を有し、構造上2分子のGalectinが会合して存在するPrototype galectin、N端に特異な構造を有するChimeric galectin、分子内に2つのCRDがタンデムに配置されたTandem type galectinに分類されるが、Galectin-12はTandem type galectinに属した。Galectin-12発現は脂肪組織特異的であった。他のGalectinと比べCRD配列の保存が弱く、実際ガラクトース結合能も低いことより狭義のGalectinとは異なる性質を有した。Galectin分子はシグナル配列を持たないが細胞外へと分泌され、機能を発現するとされるが、Galectin-12は核およびミトコンドリア画分に存在することが明らかになった。Galectin-12、DsRedを同一ベクターに組み込みCOS細胞に発現させることによりGalectin-12発現細胞の性質を調べたところ、Galectin-12発現細胞はtunnel陽性率が高く、Galectin-12はアポトーシス誘導作用を有すると考えられた¹⁾ (Fig. 1)。

脂肪細胞特異的分子の発現調節とメタボリックシンドロームにおける意義

アディポネクチンは私達が発見した脂肪組織特異的分泌たん白質で、血管内皮細胞の接着分子発現や血管平滑筋細胞増殖の抑制作用を有し、正常ヒト血中には5~10 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で存在する。私達はこれまで冠動脈疾患や2型糖尿病でアディポネクチン血中濃度が低下していることを報告してきた。本年度研究では、マクロファージ泡沫化に対するアディポネクチンの効果を検討した。アディポネクチン投与により、マクロファージでのスキヤベンジャー受容体発現が抑制された (Fig. 2a, 文献2)。またこれに伴いマクロファージ泡沫化も抑制された。また本研究ではさらに、アディポネクチンとインスリン抵抗性の関連について、動物モデルおよびヒトでの検討を行った。肥満、2型糖尿病を自然発症するアカゲザルでは、体重増加とともに速やかに血中アディポネクチン濃度は減少し、続いてインスリン抵抗性による反応性高インスリン血症が生じ、

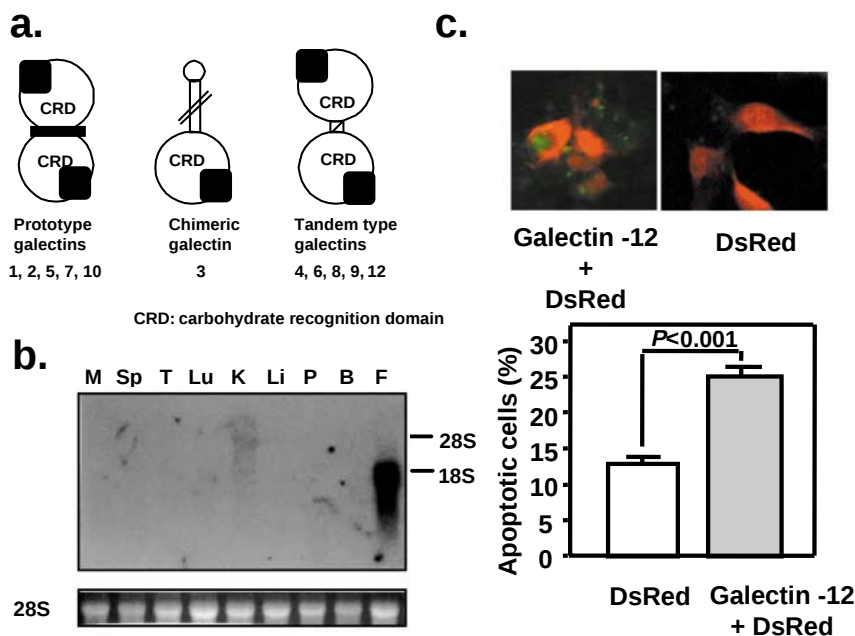


Fig. 1. The structure and function of galectin-12. a. The structure of galectin-12 : Galectin-12 belonged to the tandem type of galectin. b. The expression of galectin-12 : Galectin-12 specifically expressed in adipose tissue. c. Apoptosis-inducing activity of galectin-12 : Forced expression of galectin-12 in COS cells induced apoptosis of the cells (The cells expressing galectin-12 look red, and the tunnel-positive cells look green.)(ref. 1).

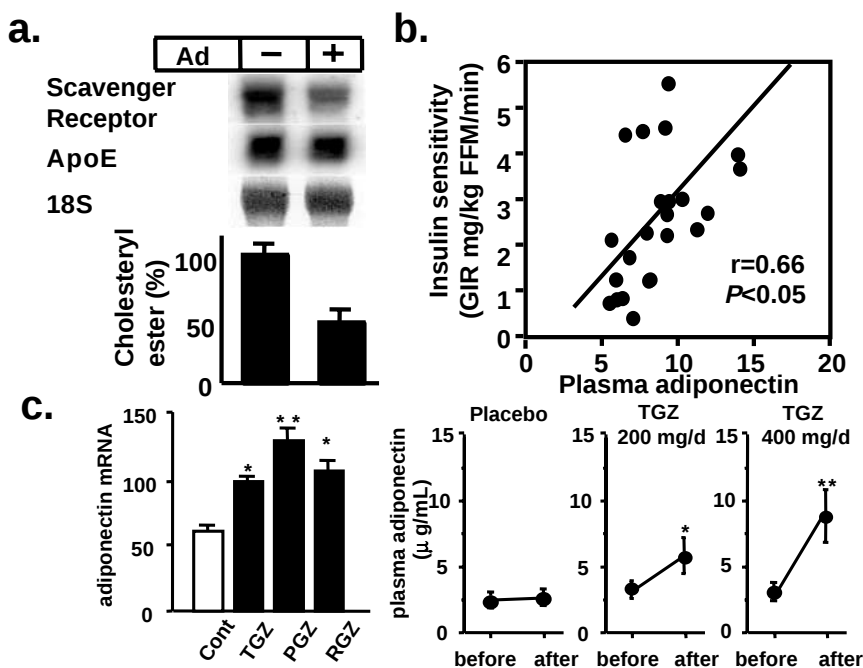


Fig. 2. The properties of adiponectin and its regulation. a. Effect of adiponectin on macrophage: Adiponectin suppressed the expression of scavenger receptor mRNA and foam cell formation(ref. 2). b. Plasma adiponectin level and insulin sensitivity: Insulin sensitivity was positively correlated with plasma adiponectin level. c. Effect of PPAR γ ligands on plasma adiponectin level: PPAR γ ligands increased the expression and plasma levels of adiponectin (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)(ref. 3).

糖尿病を発症して体重が減少してもアディポネクチンの低値は持続した。実際、血中アディポネクチン濃度とグルコースクランプ法で測定しインスリン感受性との関連を検討すると、血中アディポネクチン濃度が低いものほどインスリン感受性は低下していた³⁾ (Fig. 2b)。この関係は高率に2型糖尿病を発症するPima Indianでも確認された。

多くの脂肪組織特異的遺伝子発現を調節する転写因子としてPPAR γ が知られている。チアゾリジン誘導体はインスリンセンシタイザーとして開発された薬剤で、その作用機序は未だ不明であるが、PPAR γ のリガンドとして作用することが明らかになっている。アディポネクチン発現に及ぼすPPAR γ リガンド(チアゾリジン誘導体)の効果を検討した。検討した数種のチアゾリジン誘導体はすべてアディポネクチン・プロモーター活性を促進し、血中アディポネクチン濃度を増加させた⁴⁾ (Fig. 2c)。

アクアポリン・アディポースは私達が同定した脂肪細胞特異的なAquaporin family分子で脂肪細胞のグリセロールチャネルとして機能していると考えられる。アクアポリン・アディポース・プロモーター領域にPPAR γ 結合領域(PPRE)を同定し、実際同部位にPPAR γ の結合を確認した⁵⁾ (Fig. 3a)。これがアクアポリン・アディポースの脂肪組織特異的発現に関与すると考えられた。またアクアポリン・アディポース発

現は、脂肪分解抑制ホルモンとして知られるインスリンによって抑えられ、摂食後の脂肪細胞からのグリセロール放出を抑えると考えられる。アクアポリン・アディポース・プロモーター領域にインスリンによって負の調節を受けるheptanucleotide配列(TGTT TTT)を同定した⁶⁾ (Fig. 3b)。インスリン抵抗性状態では食後のアクアポリン・アディポース発現抑制が障害されていた。

脂肪細胞特異的遺伝子の発現調節—核内受容体PPAR γ 共役因子の解析

PPAR γ は脂肪細胞分化のマスターレギュレーターであり、多くの脂肪細胞特異的遺伝子の発現を調節している。近年これらの核内受容体型転写因子の活性は種々の共役因子によって調節されていることが明らかになってきた。SHPはDNA結合部を欠く核内受容体分子で、他の核内受容体機能を調節する共役因子として機能する。最近SHP遺伝子異常がインスリン感受性異常を呈することが報告された。SHPのPPAR γ に対する作用を検討した。SHPをCV1細胞に発現させPPAR γ の転写活性に及ぼす作用を検討した。

SHPは既報の如くHNF-4 α やestrogen receptorの転写活性を抑制したが、PPAR γ 2活性は著明に増加させた⁷⁾ (Fig. 4a)。SHPはリガンド存在下、非存在下にかかわらず、濃度依存性にPPAR γ 2活性を増加させた。ヒトSHP遺伝子異常に見出された変異SHPたん白質は

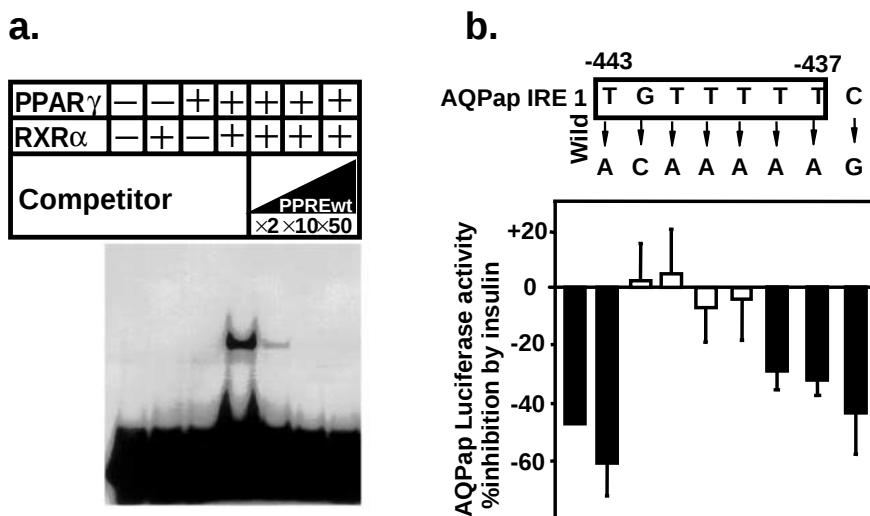


Fig. 3. Regulation of a glycerol channel, aquaporin adipose. a. PPRE: PPAR γ bound to the PPRE (peroxisome proliferator responsive element) in the aquaporin adipose promoter (ref. 6). b. Insulin response element: Aquaporin adipose mRNA expression was suppressed through IRE (insulin response element) in the aquaporin adipose promoter. The core tetranucleotides of IRE, GTTT, were responsible for the insulin-dependent negative regulation (ref. 5).

PPAR γ 2活性化作用が低下していた. in vitroにおいてSHPたん白質はPPAR γ 2と結合した. RXR α のようなリガンド存在による結合能の増加は見られなかった. 種々のPPAR γ 2 deletion mutantを用いSHPの結合部を検討したところ, PPAR γ 2 のDNA結合とヒンジドメインの境界域 (アミノ酸187-228) がSHPとの結合に重要であることが明らかになった (Fig. 4b).

大豆たん白質が脂肪組織遺伝子発現に与える影響

このような脂肪細胞特異的分子の研究と平行して, 大豆たん白質の作用を明らかにするために, 肥満モデル動物を用いて, 大豆たん白質食が体脂肪蓄積や腸間膜脂肪量 (内臓脂肪量) に与える影響, また糖代謝に及ぼす影響を検討した. さらにそれらを繋ぐ分子基盤としての脂肪細胞由来因子に対する大豆たん白質食の効果についても検討を進めている.

高脂肪食負荷による肥満マウスに対し大豆たん白質を主としたダイエット食を与えると, 体脂肪量, 腸間膜脂肪量は著しく減少した. また空腹時血糖値も著明に低下していた. この時抗糖尿病作用を有するアディポネクチンの血中濃度は増加していた. 同じ高たん白質ダイエット食でも, 動物性のカゼイン食と大豆たん白質食の効果の違いを比較検討した. 両ダイエット食による減量効果には差はなかったが, 大豆たん白質食はカゼイン食に比し, 有意に体脂肪量, 腸間膜脂肪量を減少させた. またダイエット後の血糖値も大豆たん白質食で低値であった.

糖尿病や動脈硬化疾患の予防は現在の我が国において急務となっている. これらの疾患が急増している背景には生活習慣の変化が深く関与しており, 体脂肪過剰蓄積が基盤となっていることは疑いようがない. 私達は体脂肪絶対量よりも脂肪の蓄積部位, すなわち腹腔内臓脂肪の蓄積が糖尿病, 高血圧, 高脂血症や動脈硬化の発症と密接に関わっていることを示してきた. 一方日本固有の食習慣は動脈硬化に対し防御的であるといわれている. 実際旧来日本人の重要なたん白質源であった大豆たん白質は体脂肪蓄積に防御的であることや高脂血症を改善することが報告されている. しかし, 大豆たん白質の如何なる成分がそのような効果を発現させるのか, 病態予防がどのような機序でおこなわれるのか, 分子レベルで明らかにされていない. 最近の脂肪細胞の分子生物学の進歩により, 脂肪細胞は従来考えられていたような受動的なエネルギー貯蔵細胞ではなく, 様々な生理活性物質 (アディポサイトカイン) を分泌する内分泌細胞でもあることが明らかになってきた. そこで本研究では脂肪細胞機能を分子レベルで捉え直し, 大豆たん白質が体脂肪蓄積, 特に内臓脂肪蓄積に如何なる影響を与えるか, 脂肪細胞発現遺伝子発現やアディポサイトカイン分泌に如何なる影響を与えるかを検討することによって, 大豆たん白質の

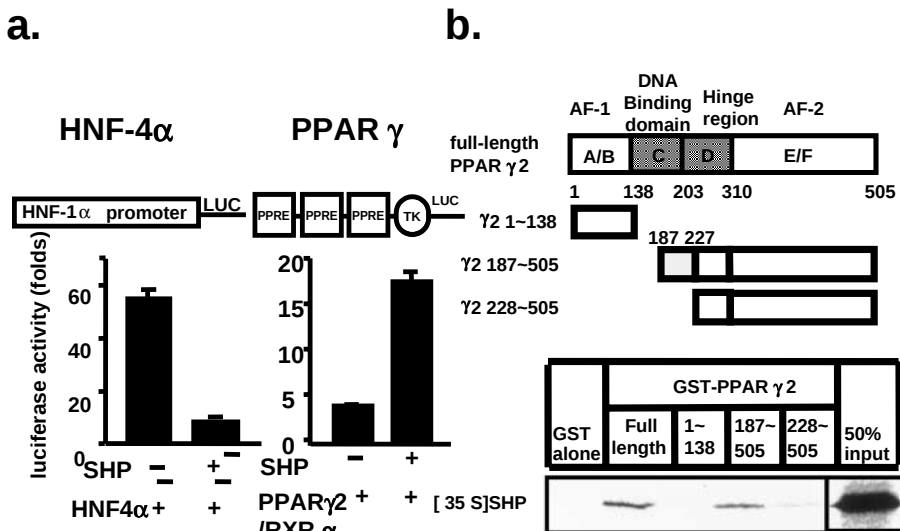


Fig. 4. Regulation of PPAR γ activity by SHP. a. Enhancement of PPAR γ activity by SHP: SHP increased PPAR γ activity although it suppressed transcriptional activities of HNF-4 α or estrogen receptor. b. Binding of SHP to PPAR γ : SHP bound to the site between DNA binding domain and hinge domain (ref. 7).

生活習慣病予防効果という栄養学的事象を分子レベルで捉えようとするものである。

本年度は我々が従来行ってきた新規脂肪細胞発現遺伝子同定をさらに進め、新たにアポトーシス誘導作用を持つ新規分子、Galectin-12を同定した。内臓脂肪蓄積者では相対的に皮下脂肪量は減少している。一般にこのような内臓脂肪/皮下脂肪量比の増加は加齢とともに進行する。高齢者では皮下脂肪量は著しく減少している。近年脂肪組織を欠損する発生工学的モデル動物の開発により、皮下脂肪の減少は肥満と同様に著しいインスリン抵抗性、糖尿病を招くことから、皮下脂肪は代謝のバッファーとして機能していることが明らかになった。しかし加齢による皮下脂肪の減少が如何にして起こるかは明らかになっていない。プログラムされた細胞死、アポトーシスが関与している可能性がある。今後これらのメカニズムに対しGalectin-12がどのような作用をもっているかを検討する必要がある。

このような新規分子の同定と平行して、私達が既に同定した脂肪細胞由来分子、アディポネクチンとグリセロールチャネル分子アクアポリン・アディポースの病態における意義、発現調節を検討した。アディポネクチンについてはこれまで血管内皮における接着分子発現やマクロファージからのサイトカイン分泌抑制などの抗動脈硬化作用を報告してきたが、今回新たにマクロファージでのスカベンジャー受容体発現を抑え、泡沫化を抑制することを示した。泡沫細胞形成は動脈硬化進展の重要な細胞現象であり、この点からもアディポネクチンの抗動脈硬化作用が確認された。さらに2型糖尿病において血中アディポネクチン濃度が低下していることを報告してきたが、本年度研究において血中アディポネクチンの低下はインスリン感受性の低下と平行することが明らかにされた。またインスリン感受性増強剤として知られながら作用機序が明らかでなかったチアゾリジン誘導体が血中アディポネク

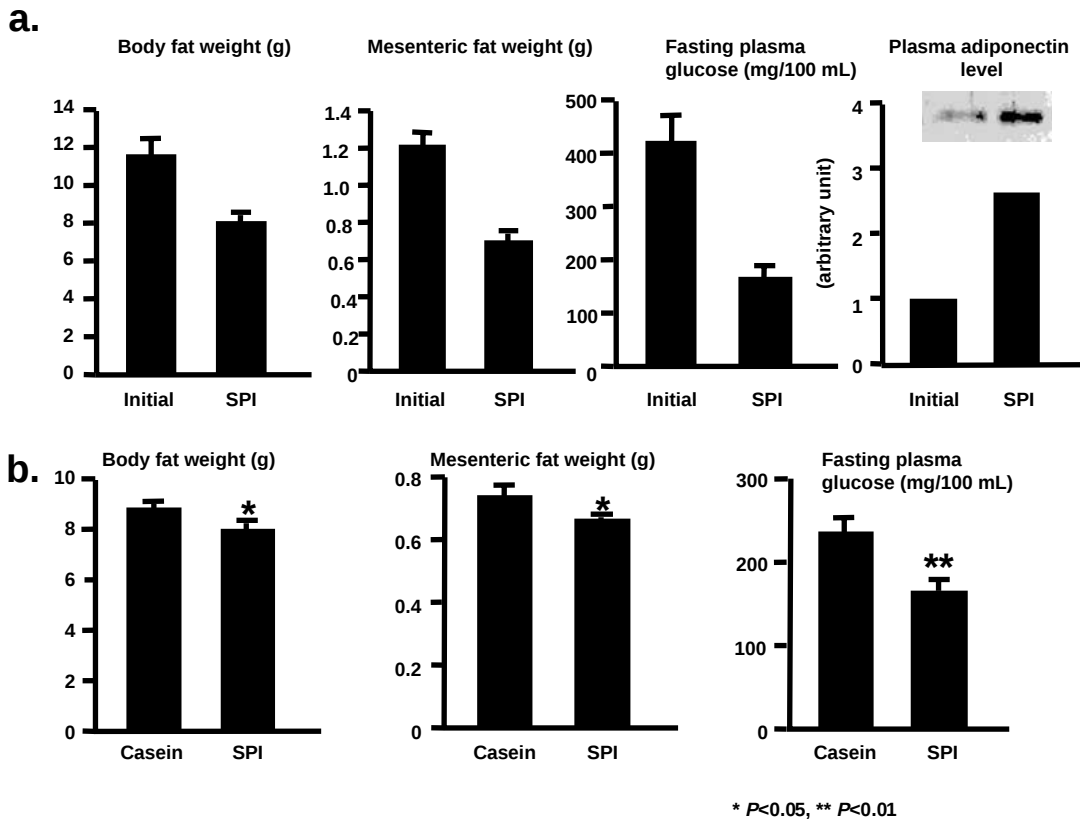


Fig. 5. Effect of soy protein diet on the metabolism of high-fat induced obesity. a. The mice treated with soy protein diet showed less body fat, mesenteric fat and lower fasting plasma glucose than those in control high fat induced obese mice. Plasma adiponectin levels were higher in the mice treated with soy protein diet. b. Body fat and mesenteric fat were less and fasting plasma glucose were lower in the mice treated with soy protein diet.

チン濃度を著しく増加させることが明らかになり、本剤のインスリン抵抗性改善効果の一翼を担っている可能性が生まれた。これらの結果からアディポネクチンは動脈硬化、インスリン抵抗性という生活習慣病、メタボリックシンドロームの中心をなす病態の双方に関わっており、内臓脂肪蓄積時の分泌不全が病態発症の引き金となっている可能性が考えられた。アクアポリン・アディポースは脂肪細胞特異的に発現しており、脂肪分解抑制ホルモンであるインスリンにより発現が減少するが、本年度研究のプロモーター解析により、脂肪細胞特異的な発現にはPPAR γ 結合領域が、インスリンによる負の調節にはinsulin responsive element (IRE, TGTTTT) が関与することが明らかになった。一方インスリン抵抗性状態におけるアクアポリン・アディポース発現抑制の障害は、グリセロールの過剰放

出を助長し、さらにこのグリセロールが肝臓における糖新生の基質となって過血糖の一因となる可能性が考えられる。

今年度研究ではさらにこれら脂肪細胞特異的な遺伝子のマスターレギュレーターであるPPAR γ 調節因子としてのSHP機能が明らかになった。

このような新しく見出された脂肪細胞分子の機能に対する大豆たん白質食の効果の検討も進行している。大豆たん白質ダイエット食は内臓脂肪量を減少させ、血中アディポネクチン濃度は増加させた。これに伴い血糖値も改善した。大豆たん白質ダイエット食は等カロリーのカゼイン食と比較しても、内臓脂肪蓄積量や血糖値に対し、良好な効果が得られた。次年度においてさらに脂肪組織発現遺伝子について詳細な検討を行う予定である。

要 約

本研究の目的は代謝異常症候群の分子機構を脂肪細胞遺伝子発現異常の観点から明らかにすることであり、大豆たん白質がこの点に関し如何なる効果を及ぼすかを示すことである。初年度はアポトーシス誘導作用をもつ新規脂肪細胞発現遺伝子、ガレクチン12をクローニングし、また私達がすでに同定した抗動脈硬化、抗糖尿病作用を持つ脂肪細胞由来分子アディポネクチンが脂肪蓄積時に低下し代謝異常症候群の一因となる機構を明らかにし、さらに大豆たん白質を含むダイエット食で血中アディポネクチン濃度が増加することを示した。

文 献

- 1) Hotta K, Funahashi T, Matsukawa Y, Takahashi M, Nishizawa H, Kishida K, Matsuda M, Kuriyama H, Kihara S, Nakamura T, Tochino Y, Bodkin NL, Hansen BC and Matsuzawa Y (2001) : Galectin-12, an adipose-expressed galectin-like molecule possessing apoptosis-inducing activity. *J Biol Chem*, **276**, 34089-34097.
- 2) Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, Ishigami M, Kuriyama H, Kishida K, Nishizawa H, Hotta K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Yamashita S, Funahashi T and Matsuzawa Y (2001) : Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation*, **103**, 1057-1063.
- 3) Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeyer HK, Arita Y, Hansen BC and Matsuzawa Y (2001) : 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.
- 4) 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 and Matsuzawa Y (2001) : PPAR γ ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein *Diabetes*, **50**, 2094-2099.
- 5) Kishida K, Shimomura I, Kondo H, Kuriyama H, Makino Y, Nishizawa H, Maeda N, Matsuda M, Kihara S, Kurachi Y, Funahashi T and Matsuzawa Y (2001) : Genomic structure and insulin-mediated repression of the aquaporin adipose (AQPap), adipose-specific glycerol channel. *J Biol Chem*, **276**, 36251-36260.
- 6) Kishida K, Shimomura I, Nishizawa H, Maeda N,

Kuriyama H, Kondo H, Matsuda M, Nagaretani H, Ouchi N, Hotta K, Kihara S, Kadowaki T, Funahashi T and Matsuzawa Y (2001) : Enhancement of the aquaporin adipose (AQPap) gene expression by a peroxisome proliferator-activated receptor γ . *J Biol Chem*, **276**, 48572-48579.

7) Nishizawa H, Yamagata K, Shimomura I,

Takahashi M, Kuriyama H, Kishida K, Hotta K, Nagaretani H, Maeda N, Matsuda M, Kihara S, Nakamura T, Nishigori H, Tomura H, Moore DD, Takeda J, Funahashi T and Matsuzawa Y (2002) : Small heterodimer partner, an orphan nuclear receptor, augments PPAR γ transactivation. *J Biol Chem*, **277**, 1586-1592.