

2. アディポネクチンと糖尿病・心血管病の分子メカニズム

門脇 孝*・山内 敏正**・窪田 直人***

生活習慣病・糖尿病の最大の原因は肥満であり、肥大脂肪細胞から過剰に分泌される TNF α 、レジスチン、FFA などの作用の結果、インスリン抵抗性が惹起される。このようなインスリン抵抗性惹起性の悪玉アディポカインに加え、インスリン感受性増強作用を有する善玉アディポカインの役割が注目されている (*Nature Medicine* 2001; 7: 941-946)。代表的な善玉アディポカインであるアディポネクチンは AMPK (AMP-activated protein kinase) を骨格筋および肝臓において活性化することにより脂肪酸の燃焼と糖の取り込みを促進しインスリン抵抗性を改善する (*Nature Medicine* 2002; 8: 856-863)。アディポネクチン自身の遺伝子多型 (日本人の約 40% が有する) や高脂肪食による肥満などの環境因子によりアディポネクチンの欠乏が惹起され、インスリン抵抗性の原因となっている (*J Biol Chem* 2002; 277: 25863-25866, *Diabetes* 2002; 51: 536-540)。

また、動脈硬化モデル動物 ApoE 欠損マウスとアディポネクチン遺伝子過剰発現マウスとを交配したマウスを作製・解析したところ、アディポネクチンによってマクロファージにおける脂質蓄積が抑制され、その結果 ApoE 欠損マウスの動脈硬化が抑制されること、さらにアディポネクチン欠損マウスで血管の炎症性内膜肥厚が亢進することから、アディポネクチンはインスリン抵抗性改善作用に加えて、動脈硬化抑制作用を持っていると考えられる (*J Biol Chem* 2002; 277: 25863-25866, *J Biol Chem* 2003; 278: 2461-2468)。

最近発現クローニングによって 2 つのサブタイプ (AdipoR1 並びに AdipoR2) のアディポネクチン受容体を単離・同定することに成功した (*Nature* 2003; 423: 762-769)。骨格筋には主に AdipoR1 が、肝臓には主に AdipoR2 が発現し、血管やマクロファージには AdipoR1/AdipoR2 の両者が発現している。AdipoR1 は骨格筋におけるアディポネクチンの糖の取り込み・脂肪酸燃焼の促進を媒介し、AdipoR2 はアディポネクチンの肝臓における脂肪酸燃焼促進を媒介する。また、肥満モデルマウスでは AdipoR1/AdipoR2 のダウンレギュレーションとそれに伴うアディポネクチン抵抗性が認められる (*J Biol Chem* 2004; 279: 30817-30822)。したがって、アディポネクチン受容体の作動薬や受容体増加薬は新規の効果的な抗糖尿病薬、抗炎症薬、抗動脈硬化薬として期待できる。

The Role of Adiponectin in Molecular Mechanisms of Diabetes and Cardiovascular Diseases

TAKASHI KADOWAKI Department of Metabolic Diseases, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo



*かどわき・たかし：東京大学大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科教授。昭和53年東京大学医学部卒業。平成13年東京大学大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科助教授。平成15年現職。主研究領域／糖尿病学・インスリン抵抗性・肥満。

**やまうち・としまさ：東京大学大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科。
***くぼた・なおと：東京大学大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科。

Key words

肥満
インスリン抵抗性
アディポカイン
アディポネクチン受容体

はじめに

現在、メタボリックシンドローム（代謝症候群）は、心血管病の最大のリスクファクターではないかと考えられている。メタボリックシンドロームがどのようにして起こるかについて、現在、理解されているアウトラインを図1に示す。最近の欧米型生活習慣に代表される高脂肪食、運動不足など、エネルギー過剰に陥りやすい生活習慣のもとで肥満が惹起され、肥満がインスリン抵抗性の原因となり、インスリン抵抗性によって、糖尿病、高脂血症、高血圧など心血管病のリスクファクターが一個人に集積する。本稿では、肥満がなぜインスリン抵抗性を起こすのかということ、脂肪細胞から分泌されるさまざまな生理活性物質アディポカイン、アディポネクチンに関する最近の話題を中心に、メタボリックシンドローム・心血管病の成因や、あるいは新しい治療法などについても展望しながら述べる。

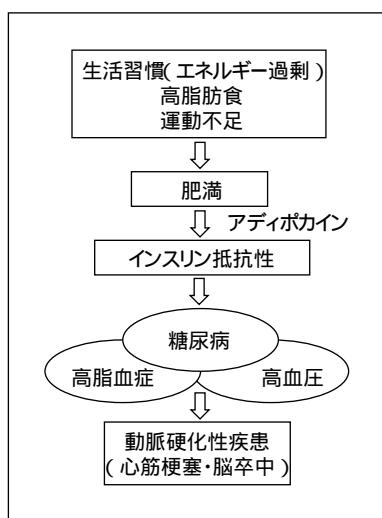


図1 肥満はインスリン抵抗性を介しメタボリックシンドロームの最重要原因となる

1. アディポネクチンのインスリン感受性促進作用

われわれはアディポネクチンが最も重要なインスリン感受性調節アディポカインであると考え、メタボリックシンドローム形成における役割を検討してきた。

アディポネクチンは、大阪大学の松澤佑次先生のグループを含め世界の4つのグループが独立に発見したホルモンである。アディポネクチンの構造は、補体のC1qと相同であり、N末端にCollagen-like domain、C末端にGlobular domainを認め、脂肪細胞から分泌された後、Lodishらの報告によると一部はプロセスされて短いアディポネクチンも生成する。

メタボリックシンドロームのモデルマウスであるKKAyマウスは、高脂肪食下で肥満とインスリン抵抗性、高脂血症を起こすマウスである。非常に興味深いことに、高脂肪食下で肥満や脂肪細胞肥大が惹起されると、アディポネクチンは脂肪細胞特異的なホルモンでありながら、著明なダウンレギュレーションを受けることがわかった。そこでわれわれは遺伝子組換えでアディポネクチンを作製し、高脂肪食下のKKAyマウスに部分的補給をすると、インスリン抵抗性や高中性脂肪血症が改善したことから、肥満に伴うメタボリックシンドロームの重要な原因として、アディポネクチンのダウンレギュレーションが重要であることを初めて提唱した(図2)¹⁾。

アディポネクチンの作用機序について、われわれは短いフォームのアディポネクチンと長いフォームのアディポネクチンがそれぞれ骨格筋と肝臓にはたらくことを報告している²⁾。アディポネクチンは骨格筋と肝臓において、糖取り込みや脂肪酸の燃焼を起こす鍵分子であるAMPキナーゼを活性化する(図

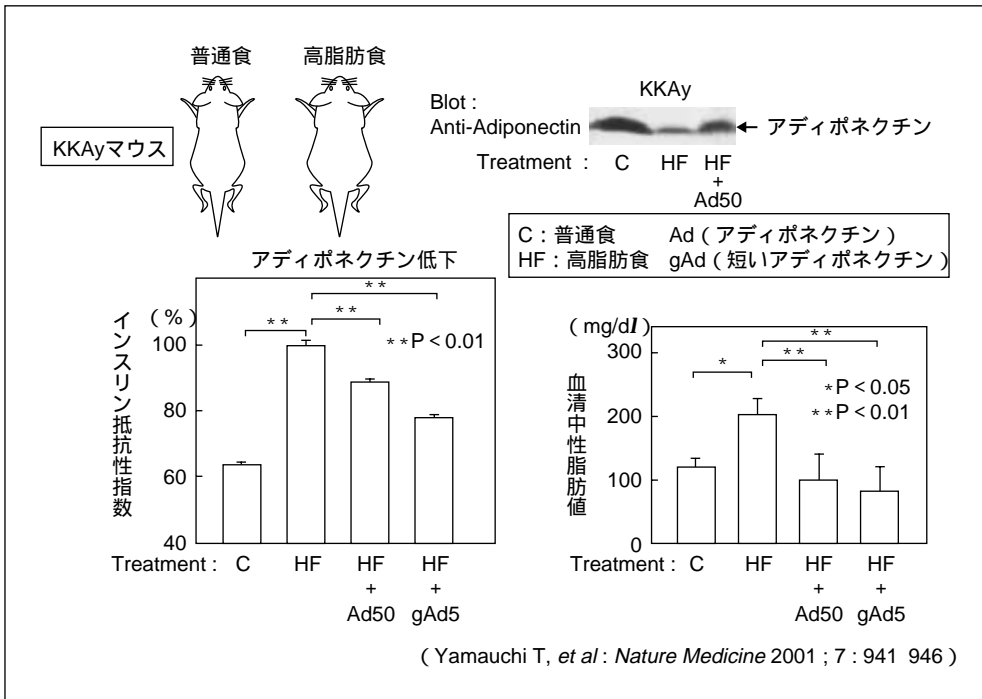


図2 2型糖尿病モデルマウスで高脂肪食による肥満はアディポネクチンを低下させるが、その補充によりメタボリックシンドロームは部分的に改善した

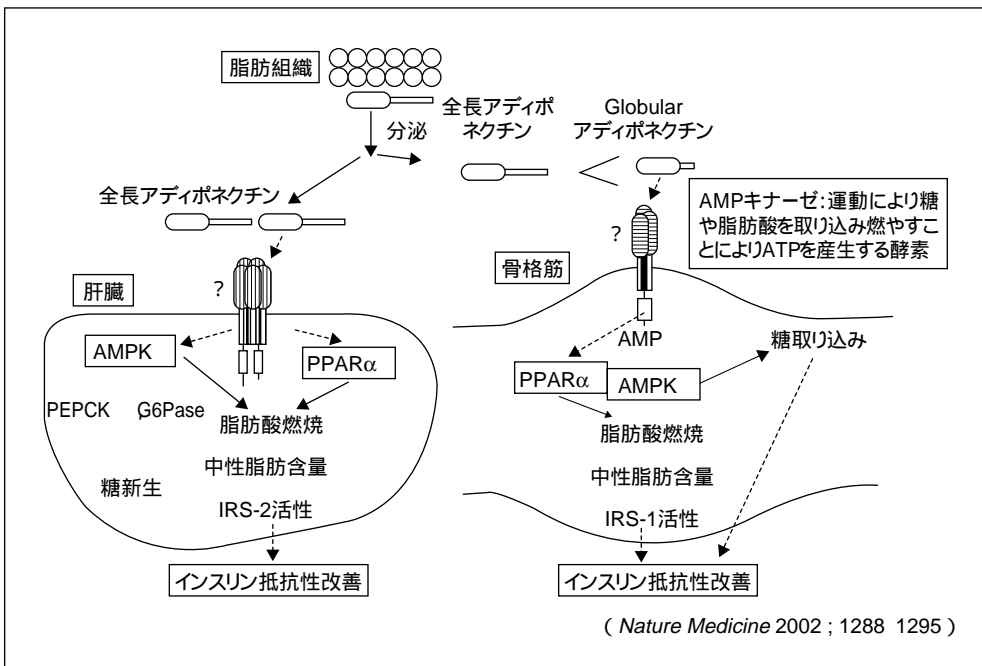


図3 アディポネクチンの骨格筋と肝臓におけるインスリン抵抗性改善機構

3)³⁾. AMP キナーゼの活性化は、骨格筋では糖を取り込み、脂肪を燃焼する。また、AMP キナーゼの活性化は、肝臓では糖の新生を抑制し、脂肪を燃焼する。AMP キナーゼの活性化に加え、アディポネクチンの刺激は、より慢性的には PPAR α という脂肪酸燃焼のマスターレギュレーター、転写因子を活性化し、これらの作用が相まって、骨格筋と肝臓で中性脂肪の含量が低下し、IRS-1 や IRS-2 の機能を活性化することよりインスリン抵抗性を改善する。

2. アディポネクチンとメタボリックシンドローム

脂肪細胞分化に伴って、アディポネクチンの発現が誘導される(図4)。このように非肥満の小型脂肪細胞では、インスリン感受性亢進分子のアディポネクチンの発現が非常に多いが、脂肪細胞が肥大するとアディポネクチンの転写が抑制される。レジスチンや TNF α では逆のことが起こる。したがって肥満とは、脂肪細胞のサイズが大きくなるということの

みならず、アディポカインの転写がグローバルに変化する形質転換であると表現することができる(図4)^{3,4)}。

脂肪細胞分化が障害された脂肪萎縮性メタボリックシンドロームにおいても、逆に脂肪細胞肥大を伴う肥満においてもアディポネクチンの不足によりメタボリックシンドロームが発症し、その病態はアディポネクチンの補充により部分的に改善する¹⁾。また、チアゾリジン誘導体は、脂肪萎縮性メタボリックシンドロームのみならず、肥満に伴うメタボリックシンドロームの場合にも脂肪細胞分化を促進し、脂肪細胞を小型化させることにより血中アディポネクチンレベルを上昇させることが知られている。このようにアディポネクチン欠乏は、メタボリックシンドローム発症の中核的役割を担っている。

また、肥満に伴って後天的にアディポネクチンの遺伝子の発現が低下するのみならず、ヒトにおいては遺伝子多型によって、体質的にアディポネクチンの分泌が一部既定されていることがわかっている。われわれが⁶⁾ヒトアディポネクチン遺伝子の SNP 解析をした

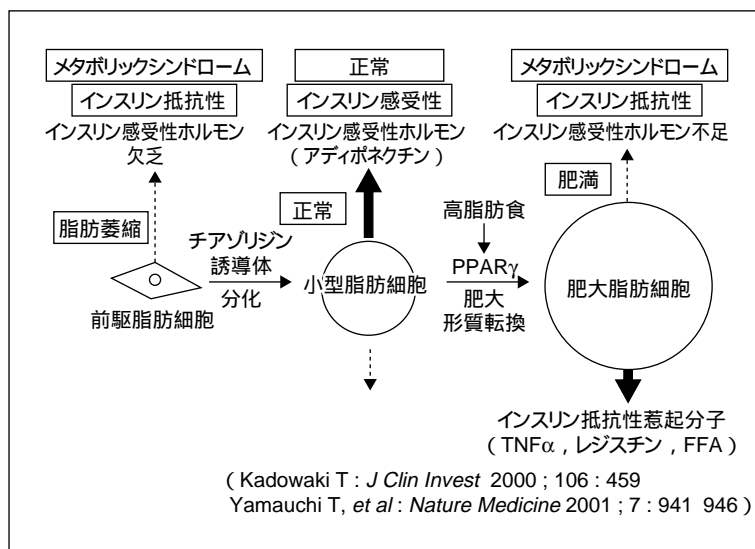


図4 メタボリックシンドロームの発症における脂肪細胞の役割

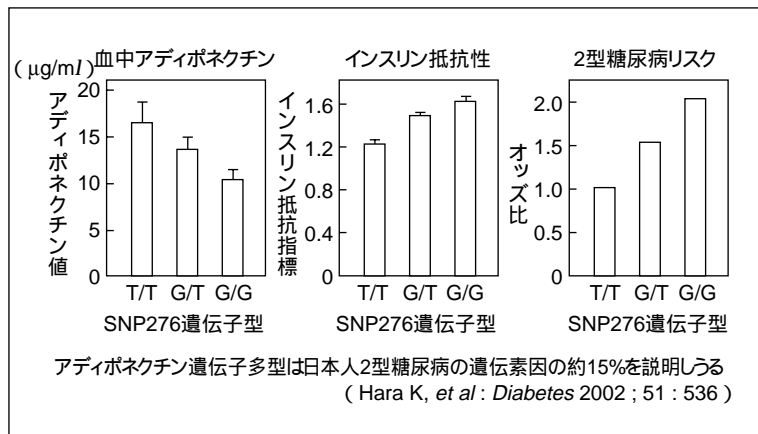


図5 アディポネクチン遺伝子 SNP276 の血中アディポネクチン値, インスリン抵抗性, 2型糖尿病リスクに与える影響

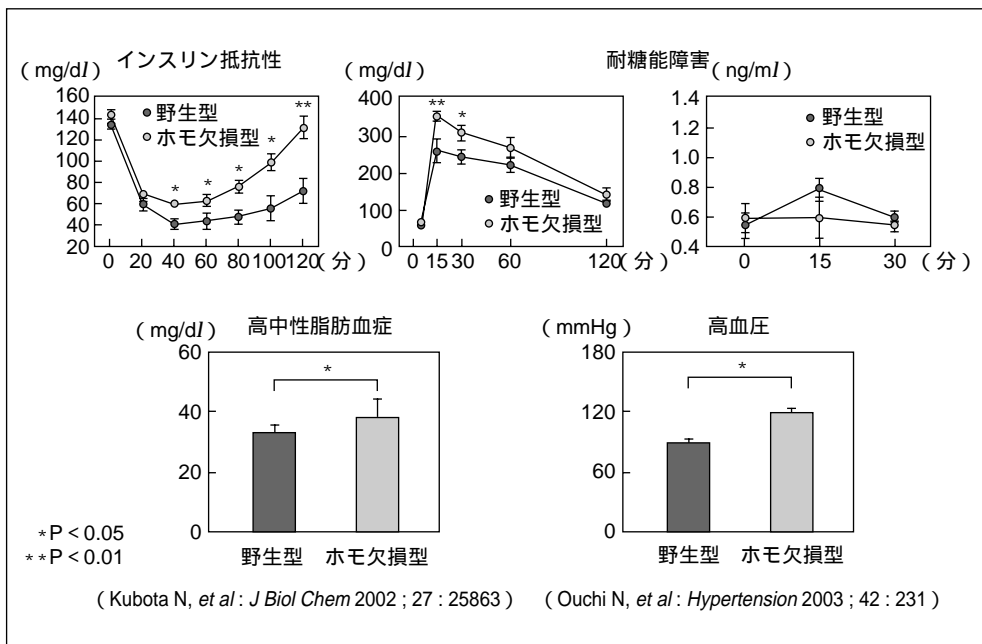


図6 アディポネクチン欠損マウスはメタボリックシンドロームを呈する

結果, プロモーター領域の2つのSNPと連鎖不平衡関係にある intron 276 というSNPを同定した.

GかTの組み合わせによりアディポネクチン遺伝子には3つの遺伝子型があるが, G/G型は生まれつきT/T型にくらべてアディ

ポネクチンの血中レベルが2/3に低下し, インスリン抵抗性と糖尿病のリスクが亢進することが認められた. さらに, われわれの検討⁵⁾により, 日本人の40%はこのG/G型を持っており, このアディポネクチンの遺伝子多型で日本人の2型糖尿病の遺伝子素因の約

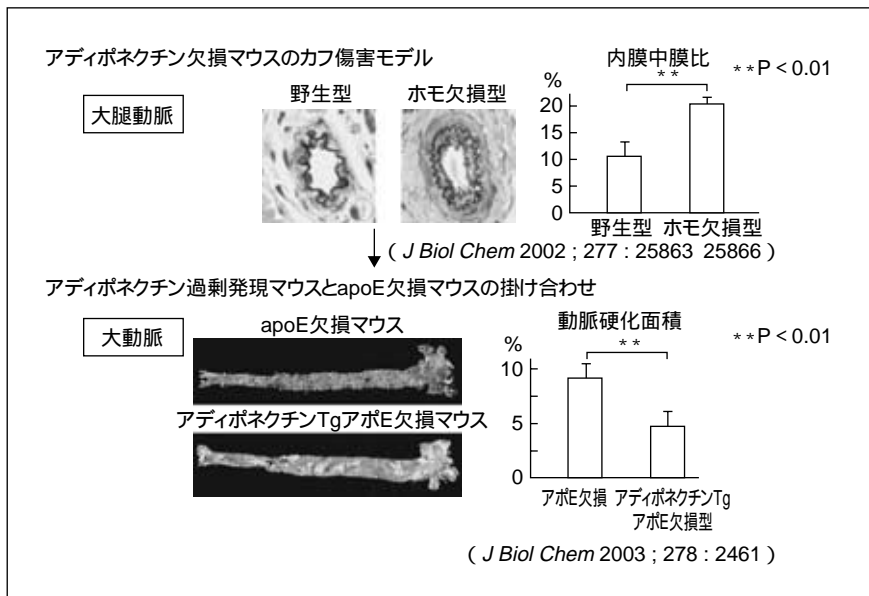


図7 アディポネクチンはインスリン感受性亢進作用に加えて動脈硬化を直接抑制する作用がある

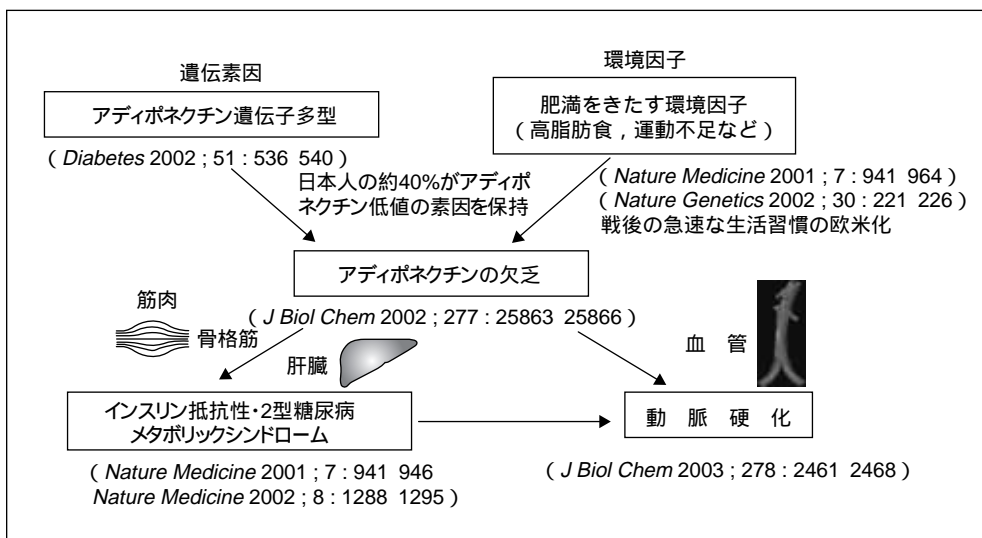


図8 アディポネクチンの遺伝的・後天的欠乏は日本人における2型糖尿病・メタボリックシンドローム・心血管病の主要な原因である(アディポネクチン仮説)

15% を説明しうることがわかった(図5)。
実際にアディポネクチンの血中レベルが下がることが本当に糖尿病のメタボリックシンドロームのリスクとなることを確認する意味

で、アディポネクチン欠損マウスを作製した。アディポネクチン欠損マウスは、インスリン抵抗性、耐糖能障害、高中性脂肪血症⁶⁾と高血圧⁷⁾などメタボリックシンドロームを呈した

(図6). 大変興味深いことに、インスリン抵抗性のみでは通常は高インスリン血症が起こってくるが、アディポネクチン欠損マウスはインスリン分泌がかえって低下し、アディポネクチンはインスリン分泌にも保護的に働く可能性も示唆された。

また、動脈硬化モデル動物 ApoE 欠損マウスとアディポネクチン遺伝子過剰発現マウスを交配したマウスを作製・解析したところ、アディポネクチンによって ApoE 欠損マウスの動脈硬化が抑制されること(図7)⁸⁾、アディポネクチン欠損マウスで血管の炎症性内膜肥厚が亢進することから⁶⁾、アディポネクチンはインスリン抵抗性改善作用に加えて、血管障害抑制作用をもっていると考えられる(図7)。

したがって、アディポネクチンが低下する

と、実際にメタボリックシンドロームにより間接的に心血管病リスクが高まるのみならず、直接的にも動脈硬化が促進される可能性も想定される。アディポネクチンの欠乏は、アディポネクチン遺伝子多型など遺伝的な要因と、戦後の急速な生活習慣の欧米化による肥満など後天的要因とが合わさって惹き起されると考えられる(図8)。

3. アディポネクチン受容体の構造・機能・調節

これらの結果から、アディポネクチンの欠乏は糖尿病・メタボリックシンドロームとそれに伴う大血管障害の原因となっており、アディポネクチンの作用を増加させる治療は糖尿病・メタボリックシンドローム・大血管症

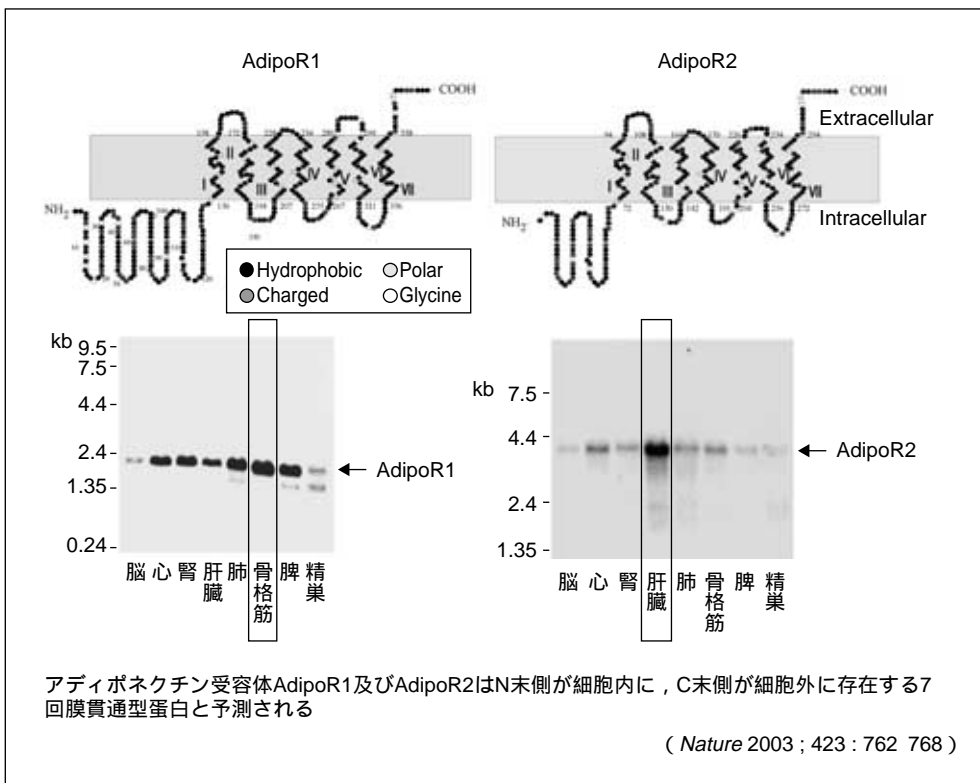


図9 アディポネクチンの受容体のクローニング

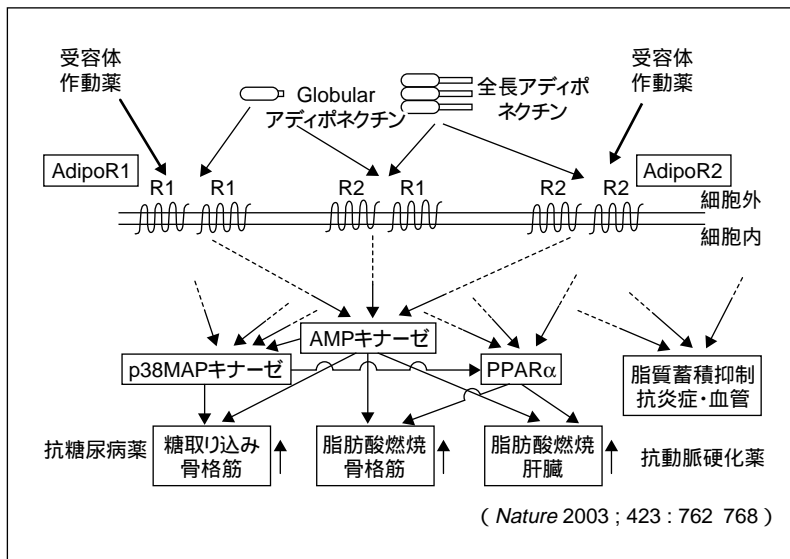


図10 アディポネクチン受容体の作用メカニズムと発現調節

の根本的な治療法となることが示唆された。アディポネクチンの作用メカニズムを分子レベルで明らかにするためには、アディポネクチン受容体の同定がその第一歩となる。しかしながらこれまで、アディポネクチン受容体同定の報告はなかったので、試みた。

FACS(fluorescence-activated cell sorter)を用いてアディポネクチンとの結合を指標に骨格筋の cDNA ライブラリーをスクリーニングした。アディポネクチンとの特異的結合を認めた分子の骨格筋細胞・肝臓細胞への発現実験あるいは、small interfering(si)RNA を用いた発現抑制実験などにより、アディポネクチンの細胞表面への結合やアディポネクチン作用への影響を検討した。

その結果、骨格筋の cDNA ライブラリーから 7 回膜貫通型のアディポネクチン受容体 (AdipoR) 1 をクローニングすることができた。興味深いことに、AdipoR1 は種を越えて酵母にまで保存されていた。さらに、この酵母ホモログは、グルコース欠乏時の脂肪酸酸化に重要な役割を果たすことが報告されてい

る蛋白であった。次に、ヒトゲノムデータベースをサーチすることにより、AdipoR1 に高い相同性 (アミノ酸レベルで 66.7%) を示す遺伝子が 1 つだけ存在し、AdipoR2 と名付けた。AdipoR1 は骨格筋に多く発現が認められたのに対し、AdipoR2 は肝臓に多く発現が認められた。AdipoR1 と R2 は 7 回膜貫通型の構造を有し、G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) である可能性が考えられたが、N 末端側が細胞内、C 末端側が細胞外となる topology を示したこと、及び既知の GPCR のセカンドメッセージに影響を及ぼさなかったことより、異なる受容体ファミリーに属するものと考えられた (図 9)。AdipoR1 もしくは R2 の培養細胞への発現は、globular アディポネクチン及び全長アディポネクチンの特異的結合を増加させ、アディポネクチンによる AMPK、p38 MAPK 及び PPAR α の活性化を増強し、脂肪酸燃焼及び糖取り込みの促進を増強した。アディポネクチンによる AdipoR を介した脂肪酸燃焼及び糖取り込みの促進作用は、優性抑制型 AMPK あるいは p38MAPK の特異的阻

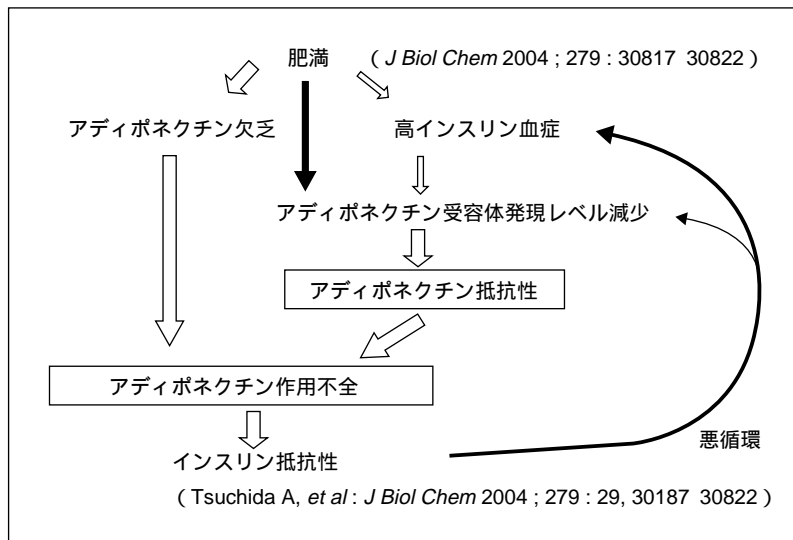


図 11 アディポネクチン受容体発現とインスリン抵抗性（作業仮説）

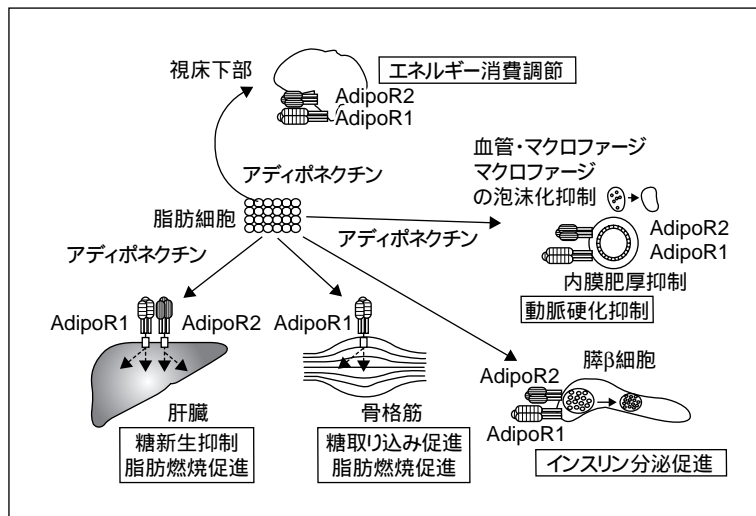


図 12 アディポネクチン受容体を介する個体の代謝調節

害剤によって、部分的ではあるが抑制された。これらの結果により、アディポネクチンは AdipoR を介した AMPK 及び p38MAPK の活性化によって少なくとも一部、脂肪酸燃焼及び糖取り込みを促進していることが示唆された。逆に、siRNA を用いて内因性 AdipoR1 もしくは R2 の発現レベルを低下させると、

globular アディポネクチン及び全長アディポネクチンの細胞膜表面への特異的結合が減少し、アディポネクチンによる PPAR α の活性化や脂肪酸燃焼・糖取り込み促進効果が減弱した（図 10）。

次に、われわれのアディポネクチン受容体の発現調整についての最近のデータを示す。

ob/ob マウスは肥満のモデルマウスとして最も代表的なものであるが、筋肉や脂肪組織でアディポネクチン受容体 AdipoR1、R2 の発現量が著明に低下していることがわかった。ob/ob マウスは著明な高インスリン血症を呈するので、インスリンがアディポネクチン受容体発現量低下に関与するのではないかと考えた。

そこで、*in vitro* のマウス骨格筋細胞 (C2C12) では 10^{-8} M のインスリン添加によって、AdipoR1、R2 発現量は低下したが、その作用は PI3K 阻害薬 (LY29002) によって消失するが、MAP キナーゼ阻害薬 (PD98059) によっては消失しないことも明らかとなった。

したがって、インスリンによる AdipoR 発現量の制御作用としては、インスリンが PI3K を活性化し、そのことにより AdipoR の発現が抑制されると考えられる。次に AdipoR 遺伝子の上流を検索すると、転写因子 Foxo1 が結合する insulin responsive element とよばれる配列を AdipoR1 でも R2 でも多数同定することができた。PI3K により Akt が活性化し Foxo1 のリン酸化を起こすことから、リン酸化された Foxo1 は核内から追い出され、転写が off になる仮説を考えた。そのことを証明するために、恒常的活性型 Foxo1 (ADA) をマウス骨格筋細胞 (C2C12) に transfection すると AdipoR1、R2 発現量は増加し、ベータサルが上昇し、インスリンによる発現量低下効果もなくなった。つまり、Foxo1 がアディポネクチン受容体の転写に関与し、インスリンは Foxo1 の不活性化を起こすことがわかった。

以上、このアディポネクチンの欠乏が肥満や遺伝素因によって起こり、インスリン抵抗性に行き着くが、そのときに同時に肥満で認められる高インスリン血症は、アディポネクチン受容体のダウンレギュレーションを起こし、アディポネクチン抵抗性、アディポネクチン作用不全を惹起し、インスリン抵抗性を

強め、インスリン抵抗性は高インスリン血症を、よりさらに悪循環をきたすであろうということがわかった (図 11)。したがって、アディポネクチン欠乏や高インスリン血症に陥る肥満へと進行しないことが非常に重要である。

おわりに

アディポネクチンのさまざまな作用について、肝臓、筋肉、血管での作用を述べたが、視床下部や膵β細胞にもアディポネクチン受容体が非常に豊富に存在している。アディポネクチンは視床下部ではエネルギー消費調節に大きな役割を果たし、膵β細胞ではインスリンの分泌を促進する生活習慣病やメタボリックシンドロームと非常にかかわりの深い分子であることがわかった (図 12)。

今後はアディポネクチン受容体に特異的に結合する低分子化合物のスクリーニングを行い、抗糖尿病薬、抗炎症薬、抗動脈硬化薬の開発を行っていきたい。

最近、植物防御ペプチドファミリー Pathogenesis related (PR) proteins の一種 PR-5 に属するタバコ由来のオスモチンの立体構造が globular アディポネクチンと相同であることがわかった。さらに、オスモチンは酵母にアポトーシスを起こすがその受容体は酵母におけるアディポネクチン受容体のホモログであることがわかった。興味深いことに、植物ペプチドは哺乳類の細胞において、アディポネクチン受容体に結合し、アディポネクチン受容体を介して AMP キナーゼ活性を上昇させることがわかった¹¹⁾。これは、アディポネクチン/アディポネクチン受容体が植物から動物まで進化上保存されている可能性の高いことを示している。また、オスモチンを始め植物防御ペプチドファミリーに属する蛋白は種々の植物 (野菜・果物など) に豊富に多量存在し、消化・分解されにくい。オスモチ

ン以外にも AdipoR 活性化能を有する蛋白の存在する可能性がある。したがって、摂取する植物の種類・量がメタボリックシンドロームの分子基盤の一部を形成している可能性がある。また、経口可能な AdipoR アゴニストを開発出来る可能性がある。

〔文献〕

- 1) Yamauchi T, *et al* : *Nat Med* 2001 ; 7 : 941.
- 2) Yamauchi T, *et al* : *Nat Med* 2002 ; 8 : 1288.
- 3) Okuno A, *et al* : *J Clin Invest* 1998 ; 101 : 1354.
- 4) Yamauchi T, *et al* : *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 41245.
- 5) Hara K, *et al* : *Diabetes* 2002 ; 51 : 536.
- 6) Kubota N, *et al* : *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 25863.
- 7) Ouchi N, *et al* : *Hypertension* 2003 ; 42 : 231.
- 8) Yamauchi T, *et al* : *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 2461.
- 9) Yamauchi T, *et al* : *Nature* 2003 ; 423 : 762.
- 10) Tsuchida A, *et al* : *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 30817.
- 11) Narasimhan ML, *et al* : *Molecular Cell* 2005;17:171.

質 疑 応 答

座長(岩本) どうもありがとうございます。門脇先生には、初めての春日先生の introduction にありましたアディポサイトから分泌される多様な生理活性物質のひとつ、特に善玉であるアディポネクチンを中心にお話しいただきました。ご質問、ご討議をお願いいたします。

佐藤龍次(昭和大) これに関してはまったくの素人なのですが、実際にアディポネクチンというのは、現在市販されているキットは大塚や、つい最近では富士レピオなどを小耳にはさんでいるのですが、先生のお話しのキットはこれらの方法ですか。

門脇 これは第一化学薬品と共同開発したもので、これまでに特に市販はされておられません。これまでのものは総アディポネクチンを測るものが主だったと思います。

佐藤 そうしますと、今回先生のご研究というのは、エラスターゼが何かで分解したものであるということですか。ちょっとわからないのが、大塚のキットというのは、ただ熱が何かで測定するのですか。

門脇 熱変性なしでネイティブなアディポネクチンを測る方法も現在臨床治験中だと理解しています。

佐藤 そうしますと、エラスターゼで分解した方法と、熱で変性させた方法とでは、たとえば年齢によってアディポネクチン値は変化するものなのでしょうか。

門脇 年齢の影響も多少はあるかもしれませんが、性の影響、gender difference が非常に強くて、女性で高く、男性で低いのですが、high molecular weight を測るとその差はもっと顕著で、女性は high molecular weight は非常に高いです。

私どもがアディポネクチンの切断活性を有する酵素として同定したエラスターゼは neutrophil のエラスターゼです (Waki H, *et al* : *Endocrinology* 2005 ; 146 : 790 - 796)。私どもは、globular アディポネクチンの切断活性をさまざまな臓器や細胞系で見ましたが、私どもが検討した中で切断活性を認めたのが好中球にあるエラスターゼで、その意味づけとしては次のように推測しています。globular アディポネクチンは非常に強い抗炎症効果を持っています。炎症があるとそこに neutrophil が集まってきて、globular アディポネクチンが生成をされて炎症の終結に関わるのではないかと考えています。

佐藤 そうしますと、たとえば女性などでは、やはり閉経後になってきますと、Body Mass Index も増えてくるわけですから、アディポネクチンは当然低くなるわけですね。

門脇 それは閉経後に内臓脂肪蓄積が強くなることと関連しているかもしれませんが、性ホルモンの影響、たとえばエストロゲンが

低下したりすることが関係している可能性があります。

佐藤 血中からアディポネクチンが漏れ出てくるというのはどういう部分からでしょうか。やはり脂肪細胞から漏れ出てくるのですか。

門脇 脂肪細胞だけが分泌をします。

木村武重(阪大学生) アディポネクチン関連の薬剤と、従来型のインスリン抵抗性改善薬であるビッグアナイド製剤を併用した場合に、相乗効果は期待できるのでしょうか。

門脇 アディポネクチンは肝臓での AMP-kinase を活性化して、筋肉でも活性化するわけですが、ビッグアナイド薬の作用機序は、今

のところ肝臓での AMP-kinase の活性化作用が主であると考えられていると思います。そうしますと、アディポネクチンの作用の中に含まれてしまう可能性がないわけではないかと思っています。ただアディポネクチンには食欲を抑制する作用はないのですが、ビッグアナイド薬ではその作用機序は不明で、もしかしたら脳内で AMP-kinase を介している可能性もあります。そういう作用はアディポネクチンの作用と重なっていない可能性があって、その場合には併用すると効果があることになると思います。

座長 どうもありがとうございました。