

機関番号：15301
 研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20390257
 研究課題名（和文）Vaspinのメタボリック症候群における意義
 研究課題名（英文）The role of vaspin in metabolic syndrome

研究代表者

和田 淳 (WADA JUN)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：30294408

研究成果の概要（和文）：Vaspinは肥満ラットの内臓脂肪から発見したアディポサイトカインである。肥満マウスへのリコンビナント蛋白の投与実験・トランスジェニックマウスやノックアウトマウスの実験からメタボリック症候群においてインスリン抵抗性を改善する代償因子であるとの結論に至った。Vaspinはヒトの血中にも存在し、体格指数やインスリン抵抗性指数と正の相関を認め、2型糖尿病でも血中濃度が増加している。アディポネクチンやレプチンとは異なった血中濃度動態を示しておりメタボリック症候群治療の新たな分子ターゲットである。

研究成果の概要（英文）：Vaspin is a novel adipocytokine, which was identified from visceral adipose tissues in obese rats. The injection of recombinant vaspin into obese mice and experiments using vaspin transgenic and knockout mice revealed that vaspin is a compensatory factor for insulin resistance in metabolic syndrome. Vaspin circulated in the sera of human subjects and it positively correlated with body mass index and degree of insulin resistance. Serum levels of vaspin were higher in patients with type 2 diabetes compared with normal healthy subjects. The regulation of serum concentration of vaspin differed from leptin and adiponectin and vaspin may be a new therapeutic target for metabolic syndrome.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2009年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2010年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：メタボリックシンドローム、インスリン抵抗性、アディポカイン、バスピン、糖尿病、脂質異常症、高血圧、肥満症

1. 研究開始当初の背景

我々はメタボリック症候群の病態に深く関与するアディポサイトカインを同定するために、内臓脂肪蓄積を来し2型糖尿病・高血圧・脂質異常症を発症するOtsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットを用いて内臓脂肪特異的な遺伝子群のスクリーニングを行った(Hida K and Wada J, *J Lipid Res* 41, 1615-1622, 2000)。その結果我々が発見したvaspin (visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor)はラット・マウス・ヒトで保存され、 α 1-antitrypsinと40.5%のホモロジーを有し、その構造からserpin (serine protease inhibitor)遺伝子ファミリーに属する新規アディポカインであることが判明した(Hida K and Wada J, *PNAS* 102, 10610-10615, 2005)。

2. 研究の目的

Vaspinの発見から今までの機能解析からvaspinはメタボリックシンドロームにおけるインスリン抵抗性、脂肪肝、脂質代謝異常、動脈硬化を改善する代償因子であるという仮説に到達した。本研究ではまずこの代償メカニズムを遺伝子改変動物によって明らかにすることを目的とした。次にヒト糖尿病や肥満症患者の血中濃度の測定を行い臨床指標との相関を検討した。

3. 研究の方法

Vaspinリコンビナント蛋白を産生しDiet-induced obesity (DIO)糖尿病マウスあるいはdb/dbマウスに投与して糖代謝への影響を検討した。さらにAP2プロモータを用いて脂肪細胞にvaspinを過剰発現するトランスジェニックマウス(Tg)、vaspinノックアウトマウス(KO)を作製した。これらの遺伝子改変動物を高脂肪高蔗糖食に供し、肥満・糖代謝・脂質代謝に対する影響を検討した。さらにヒトの血中vaspin濃度を測定するためにvaspinリコンビナント蛋白を産生し、ポリクローナル抗

体を作製しミリポア社(Linco社)とRIAの測定系を開発した。

4. 研究成果

リコンビナントヒトvaspin蛋白をDiet-induced obesity (DIO)糖尿病マウスあるいはdb/dbマウスに投与したところ糖負荷テストにおいて血糖降下作用を認め、インスリン負荷テストではインスリン抵抗性の改善を認めた。またAP2プロモータを用いて脂肪細胞にvaspinを過剰発現するトランスジェニックマウス(Tg)、vaspinノックアウトマウス(KO)を作製した。現在までの予備検討ではTgマウスでは高脂肪食による体重増加、脂肪肝が抑制され糖負荷およびインスリン負荷テストにおいてインスリン抵抗性の改善を認め、逆にKOマウスではこれらの代謝異常の悪化が認められた。

日本人健常者200名、2型糖尿病患者200名のvaspin血中濃度の測定を行った。日本人の約8%が10 ng/ml以上（大多数が25-70 ng/mlに分布）と著しい高値を示し、92%では0.5-5 ng/mlの範囲にあった。92%の低値群のみで比較するとvaspin値は2型糖尿病群で有意に高値であり($0.99 \pm 0.04 \text{ ng/ml}$ v.s. $0.86 \pm 0.02 \text{ ng/ml}$; $p < 0.005$)、BMI、皮下脂肪面積、HOMA-IR、高感度CRPと有意ではあるが緩やかな相関を示した。またピオグリタゾン内服によって血中濃度は2-3倍に増加した。一方vaspin 10 ng/ml以上の場合、両親のいずれかが同様に著しい高値を示し、遺伝的な背景によって決定されていることが判明した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 17 件)

1. Nakao A, Nakao K, Takatori Y, Kojo S, Inoue J, Akagi S, Sugiyama H, Wada J, Makino H: Effects of icodextrin

- peritoneal dialysis solution on the peritoneal membrane in the STZ-induced diabetic rat model with partial nephrectomy. *Nephrol Dial Transplant* 25(5), 1479-1488, 2010 査読有
2. Tone A, Iseda I, Higuchi C, Tsukamoto K, Katayama A, Matsushita Y, Hida K, Wada J, Shikata K: Comparison of insulin detemir and insulin glargine on glycemic variability in patients with type 1 and type 2 diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 118(5), 320-324, 2010 査読有
 3. Zhang Q, Shi Y, Wada J, Malakauskas SM, Liu M, Ren Y, Du C, Duan H, Li Y, Li Y, Zhang Y: In vivo delivery of gremlin siRNA plasmid reveals therapeutic potential against diabetic nephropathy by recovering bone morphogenetic protein-7. *PLoS ONE* 5(7), e11709, 2010 査読有
 4. Hotta K, Nakamura M, Nakamura T, Matsuo T, Nakata Y, Kamohara S, Miyatake N, Kotani K, Komatsu R, Itoh N, Mineo I, Wada J, Yoneda M, Nakajima A, Funahashi T, Miyazaki S, Tokunaga K, Kawamoto M, Masuzaki H, Ueno T, Hamaguchi K, Tanaka K, Yamada K, Hanafusa T, Oikawa S, Yoshimatsu H, Nakao K, Sakata T, Matsuzawa Y, Nakamura Y, Kamatani N: Polymorphisms in NRXN3, TFAP2B, MSRA, LYPLAL1, FTO and MC4R and their effect on visceral fat area in the Japanese population. *J Hum Genet* 55(11), 738-742, 2010 査読有
 5. Hotta K, Nakamura T, Takasaki J, Takahashi H, Takahashi A, Nakata Y, Kamohara S, Kotani K, Komatsu R, Itoh N, Mineo I, Wada J, Masuzaki H, Yoneda M, Nakajima A, Funahashi T, Miyazaki S, Tokunaga K, Hamaguchi K, Tanaka K, Yamada K, Hanafusa T, Oikawa S, Yoshimatsu H, Nakao K, Sakata T, Matsuzawa Y, Kamatani N, Nakamura Y: Screening of 336 single-nucleotide polymorphisms in 85 obesity-related genes revealed McKusick-Kaufman syndrome gene variants are associated with metabolic syndrome. *J Hum Genet* 54(4), 230-235, 2009 査読有
 6. Sun X, Shikata Y, Wang L, Ohmori K, Watanabe N, Wada J, Shikata K, Birukov KG, Makino H, Jacobson JR, Dudek SM, Garcia JG: Enhanced interaction between focal adhesion and adherens junction proteins: involvement in sphingosine 1-phosphate-induced endothelial barrier enhancement. *Microvasc Res* 77(3), 304-313, 2009 査読有
 7. Sarai K, Shikata K, Shikata Y, Omori K, Watanabe N, Sasaki M, Nishishita S, Wada J, Goda N, Kataoka N, Makino H: Endothelial barrier protection by FTY720 under hyperglycemic condition: involvement of focal adhesion kinase, small GTPases, and adherens junction proteins. *Am J Physiol Cell Physiol* 297(4):C945-54, 2009 査読有
 8. Hotta K, Nakamura M, Nakamura T, Matsuo T, Nakata Y, Kamohara S,

- Miyatake N, Kotani K, Komatsu R, Itoh N, Mineo I, Wada J, Masuzaki H, Yoneda M, Nakajima A, Funahashi T, Miyazaki S, Tokunaga K, Kawamoto M, Ueno T, Hamaguchi K, Tanaka K, Yamada K, Hanafusa T, Oikawa S, Yoshimatsu H, Nakao K, Sakata T, Matsuzawa Y, Kamatani N, Nakamura Y: Association between obesity and polymorphisms in SEC16B, TMEM18, GNPDA2, BDNF, FAIM2 and MC4R in a Japanese population. *J Hum Genet* 54(12), 727-731, 2009 査読有
9. Morimoto H, Wada J, Font B, Mott JD, Hulmes DJ, Ookoshi T, Naiki H, Yasuhara A, Nakatsuka A, Fukuoka K, Takatori Y, Ichikawa H, Akagi S, Nakao K, Makino H: Procollagen C-proteinase enhancer-1 (PCPE-1) interacts with beta(2)-microglobulin (beta2-m) and may help initiate beta2-m amyloid fibril formation in connective tissues. *Matrix Biol* 27(3):211-219, 2008 査読有
 10. Numata T, Miyatake N, Wada J, Makino H: Comparison of serum uric acid levels between Japanese with and without metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract* 80(1):e1-5, 2008 査読有
 11. Sun L, Xie P, Wada J, Kashihara N, Lie F-Y, Zhao Y, Kumar D, Chugh SS, Danesh FR, Kanwar YS: Amelioration of high glucose-induced renal cell mitochondrial dysfunction by Rap1b GTPase. *J Am Soc Nephrol* 19(12), 2293-2301, 2008 査読有
 12. Fukuoka K, Nakao K, Morimoto H, Nakao A, Takatori Y, Arimoto K, Taki M, Wada J, Makino H: Glycated albumin levels predict long-term survival in diabetic patients undergoing hemodialysis. *Nephrology (Carlton)* 13(4), 278-283, 2008 査読有
 13. Hotta K, Nakata Y, Matsuo T, Kamohara S, Kotani K, Komatsu R, Itoh N, Mineo I, Wada J, Masuzaki H, Yoneda M, Nakajima A, Miyazaki S, Tokunaga K, Kawamoto M, Funahashi T, Hamaguchi K, Yamada K, Hanafusa T, Oikawa S, Yoshimatsu H, Nakao K, Sakata T, Matsuzawa Y, Tanaka K, Kamatani N, Nakamura Y: Variations in the FTO gene are associated with severe obesity in the Japanese. *J Hum Genet* 53(6), 546-553, 2008 査読有
 14. Hotta K, Nakamura M, Nakata Y, Matsuo T, Kamohara S, Kotani K, Komatsu R, Itoh N, Mineo I, Wada J, Masuzaki H, Yoneda M, Nakajima A, Miyazaki S, Tokunaga K, Kawamoto M, Funahashi T, Hamaguchi K, Yamada K, Hanafusa T, Oikawa S, Yoshimatsu H, Nakao K, Sakata T, Matsuzawa Y, Tanaka K, Kamatani N, Nakamura Y: INSIG2 gene rs7566605 polymorphism is associated with severe obesity in Japanese. *J Hum Genet* 53(9), 857-862, 2008 査読有
 15. Yasuhara A, Wada J, Malakauskas SM, Zhang Y, Eguchi J, Nakatsuka A, Murakami K, Kanzaki M, Teshigawara S, Yamagata K, Le TH, Makino H: Collectrin is involved in the development of salt-sensitive hypertension by facilitating the membrane trafficking of apical membrane proteins via interaction with

SNARE complex. *Circulation* 118,
2146-2155, 2008 査読有

〔学会発表〕（計 4 件）

1. Wada J: Vaspin as a New Therapeutic Target for Diabetes and Obesity. *BIT Life Sciences' 7th Annual Congress of International Drug Discovery Sciences & Technology-2009*, Oct 24, 2009, Shanghai, China
2. Wada J: Vaspin, A Novel Adipokine with Insulin-Sensitizing Effects. *GTCbio's 4th Metabolic Diseases World Summit - Nov 6, 2008 (Boston, USA)*
3. Wada J: Drug discovery related to vaspin, visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor, a novel adipokine with insulin-sensitizing effects. *EHRlich II, 2nd World Conference on Magic Bullets*, Oct 4, 2008 (Nürnberg, Germany)

〔図書〕（計 1 件）

1. Wada J: Vaspin: Visceral Adipose Tissue-Derived Serpin with Insulin-Sensitizing Effects, Ed Bojidor Georgiev and Sava Markovski, In *Serpins and Protein Kinase Inhibitors: Novel Functions, Structural Features and Molecular Mechanisms*, Nova Science Publishers, Hauppauge NY, 2009, pp 219-228

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和田 淳 (WADA JUN)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：30294408

(2) 研究分担者

槇野 博史 (MAKINO HIROFUMI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：50165685

(3) 連携研究者 なし