

自発運動によるアディポネクチン分泌制御を介した 脳卒中予防効果の解明

近畿大学 田 渕 正 樹
(共同研究者) 徳島大学大学院 阪 上 浩
近畿大学 大 島 佳 奈

Effects of Voluntary Exercise on Adiponectin and Cerebrovascular Lesion in a Rat Spontaneous Stroke Model

by

Masaki Tabuchi, Kana Ooshima
Kinki University School of Medicine
Hiroshi Sakaue
Institute of Health Biosciences,
the University of Tokushima Graduate School

ABSTRACT

Several clinical studies show that plasma adiponectin levels were lower in subjects with ischemic stroke than in the controls. However, the involvement of adiponectin in cerebrovascular disease has not been clarified experimentally. In this study, we examined the effect of voluntary exercise on plasma adiponectin concentration and that of the administration of adiponectin on the progression of stroke in rats with spontaneous stroke. Five-week-old male malignant stroke-prone spontaneously hypertensive rats (M-SHRSP) were housed individually for 7 weeks in standard cages with or without a running wheel. The plasma adiponectin levels at post-stroke were significantly lower than that at pre-stroke in sedentary animals. Voluntary exercise delayed stroke-onset and maintained concentration of plasma adiponectin at the pre-stroke level. On the other hand, the administration of recombinant adiponectin did not affect the progression of stroke in post-

stroke animals. Adiponectin may have the preventive effect on the onset of stroke, but it does not have the therapeutic effect on the progression of stroke.

要 旨

脳卒中患者において、血中アディポネクチン濃度が低下するとの報告がある。しかし、脳血管疾患とアディポネクチンの関連は明らかにされていない。本研究では、ヒト脳卒中のモデル動物である悪性脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (M-SHRSP) を用いて、自発的運動が脳卒中発症及び血漿アディポネクチン動態に及ぼす影響を明らかにするとともに、脳卒中発症後の M-SHRSP にアディポネクチンを投与したときの脳卒中病態への影響について検討を行った。5週齢の雄性 M-SHRSP を回転カゴ付きケージに収容し、自発的に運動ができる環境で飼育し、通常ケージで飼育した非運動対照群との比較を行った。その結果、自発運動群は非運動対照群に比べ、脳卒中発症日の遅延及び著明な生存日数の延長が観察された。非運動対照群では、血漿アディポネクチンの低下が観察されたが、自発運動群ではこの血漿アディポネクチンの低下が部分的に改善されていた。一方、脳卒中発症後のアディポネクチン投与は脳卒中病態の進展にほとんど影響を与えなかった。運動習慣は、脳卒中発症時期における血中アディポネクチン濃度の低下を部分的に改善することで脳卒中発症の予防に働く可能性が考えられた。

緒 言

医療の進歩により脳卒中を死因とする死亡率は減少しているものの、脳卒中の患者数は増加の一途をたどっている。脳卒中は社会的影響のきわめて大きい疾患であることから、その予防あるいは脳卒中発症後の脳障害の軽減は非常に重要な課題である。

ヒトの本態性高血圧症や脳卒中の研究に用いられるモデル動物として、1974年に脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (Stroke-prone spontaneously hypertensive rats: SHRSP) が作出され¹⁾、現在もヒト本態性高血圧症や脳卒中の予防・治療研究ならびに医薬品の開発に利用されている。さらに、1985年には SHRSP の選抜交配により、悪性 SHRSP (Malignant SHRSP: M-SHRSP) が開発された²⁾。M-SHRSP は、早期から高血圧を示し、生後11週齢で収縮期血圧は250mmHgに達し³⁾、生後13週齢でほとんどのラットが脳卒中を発症するという性質を持つ⁴⁾。SHRSP 及び M-SHRSP の脳病変は、ヒトにおける高血圧性脳血管障害に極めて類似性が高く⁵⁻⁷⁾、運動及び食習慣等の環境因子による脳卒中予防効果を評価する上で有用なモデルであると考えられる。

運動習慣が脳卒中発症の予防に有効であることは、疫学研究により数多く示されている。Lee らは、1966～2002年までに報告された23の疫学研究についてメタ解析を行い、身体活動量が多いほど脳卒中の発症あるいは脳卒中による死亡のリスクが軽減されることを示している⁸⁾。しかし、脳卒中の発症に対して運動が予防的に作用する機序に関する研究は進んでいない。

現在、脂肪細胞から分泌される種々の情報伝達分子“アディポサイトカイン”の発現・分泌の異常が、生活習慣病の発症に関与することを示す知見が集積されつつある⁹⁾。その中において、脂肪細胞特異的な分泌蛋白質であるアディポネクチンは、2型糖尿病の改善作用、脂肪酸燃焼の促進作用、抗動脈硬化作用など、生体にとって好ましい生理活性を有している^{10, 11)}。アディポネクチンの発現・分泌は、脂肪細胞の肥大化、すなわち

肥満傾向により減少することが報告されており、血中アディポネクチンレベルの低下（低アディポネクチン血症）が、肥満症の合併症である2型糖尿病、高血圧症、虚血性心疾患の発症と密接に関係していることが報告されている¹⁰⁻¹²⁾。最近の臨床研究では、初めて脳卒中を発症した患者において、脳卒中発症時の血中アディポネクチン濃度が高いほど5年後の生存率が高いこと¹³⁾、脳梗塞患者において低アディポネクチン血症が生じていること^{14, 15)}が報告されており、アディポネクチンと脳卒中病態との関連が注目されている。しかし、アディポネクチンがどのような機序で脳卒中病態に作用しているかは、未だに明らかではない。

そこで、本研究では、脳卒中モデルラット M-SHRSP に自発的運動をさせたときの、脳卒中に対する影響と血中アディポネクチン動態との関連について明らかにすることを目的に検討を行った。

1. 方法

1. 1 実験動物及び自発的運動の負荷

実験には雄性 M-SHRSP/Kpo（近畿大学医学部実験動物共同研究室より供給）を用いた。飼育室は $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、12時間の明暗サイクルの環境とし、動物には通常固形飼料（SP飼料、船橋農場、千葉）及び水道水を自由に摂取させた。なお、全ての動物実験は、近畿大学動物実験委員会の承認を得て行われた。5週齢の M-SHRSP を無作為に2群に分けた。自発運動群（ $n=15$ ）は、回転カゴ付きケージに収容し、自発的に運動できる環境で飼育した。非運動対照群（ $n=15$ ）は、通常ケージで飼育した。収縮期血圧及び心拍数は、動物を 37°C 、5分保温の後、尾カフ法（UR-5000、ウエダ製作所、東京）にて測定した。血液は、動物を 37°C 、5分保温の後、尾静脈より採取し、血漿アディポネクチン濃度は、ELISA kit（大塚製薬、徳島）を用いて測定した。10週齢以降は、毎日定時に体重の測定を行い、体重の減少及び神経症

状（外見の所見、四肢の麻痺、過敏性）の観察から脳卒中発症を推定した⁴⁾。動物は運動開始7週間後（12週齢）で、50mg/kgのペントバルビタール（ソムノペンチル、共立製薬、東京）を腹腔内に投与し、深麻酔下、腹部大動脈より全血採取により屠殺した。脳を摘出し、脳病変の観察を行った。一部の動物は、生存率の評価のため、自然死するまで飼育した。

1. 2 アディポネクチン投与試験

11週齢の M-SHRSP を、対照群（ $n=4$ ）、アディポネクチン投与群（ $n=5$ ）に分け、全ての動物について、体重の減少、神経症状の観察から個別に脳卒中の発症を推定した。脳卒中発症を推定した2日後から、対照群にはリン酸緩衝生理食塩水（PBS(-)）、アディポネクチン投与群には、500 mg/kgの組換えアディポネクチン（ALX-522-059, ALEXIS Biochem, San Diego, CA）をそれぞれ腹腔内に3日間投与した。薬物投与前、1回目投与の1時間後、2・3回目投与の直前、3回目投与の24時間後にそれぞれ採血を行い、血漿アディポネクチン濃度を測定した。脳卒中病態を評価するため、体重の減少、外見所見、過敏性、前肢麻痺、後肢麻痺の5項目について、それぞれ0点（所見なし）～3点（+++）で評価し、合計15点でスコア化した^{16, 17)}。

1. 3 統計処理

データは平均値±標準誤差で示した。体重、収縮期血圧、心拍数及び血漿アディポネクチン濃度の比較はt検定を行った。脳卒中発症日及び生存率の比較は、Kaplan-Meier法により解析を行い、Logrank testにより検定を行った。脳卒中病態スコアの比較は、Mann-Whiney U-testにより検定を行った。

2. 結果

2.1 自発運動が体重、収縮期血圧及び心拍数に及ぼす影響

自発運動群は回転カゴにより、1日あたり平均 $2722 \pm 76m$ 走行した。自発運動による体重への影響を図1に示した。実験開始1週間後(6週齢)から4週間後(9週齢)にかけて、非運動対照群に比べ、自発運動群で体重上昇が有意に抑制された。実験開始6週間後(11週齢)以降には、非運動対照群の多くにおいて、脳卒中発症に伴う体重減少が観察されたため、自発運動群の体重が有意に高値を示した。

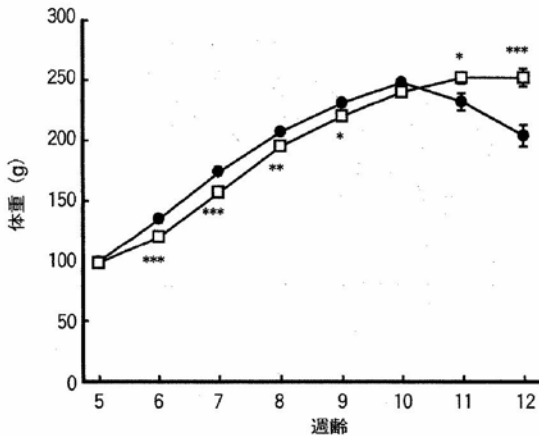


図1 自発運動による体重への影響

●: 非運動対照群 (n=15), □: 自発運動群 (n=15). 平均値±標準誤差. *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001.

自発運動群と非運動対照群の収縮期血圧及び心拍数の変動を示した(図2, 3)。実験開始1週間後に自発運動群で有意な収縮期血圧と心拍数の増加を認めたが、実験開始2週間後以降、両群に差異は認められなかった。

2.2 自発運動が脳卒中発症、生存日数に及ぼす影響

自発運動群と非運動対照群の動物について、個別に脳卒中発症日を推定し、脳卒中発症率の推移を図4に示した。非運動対照群では50%脳卒中発症日が生後74日齢、自発運動群では生後84日

デサントスポーツ科学 Vol.31

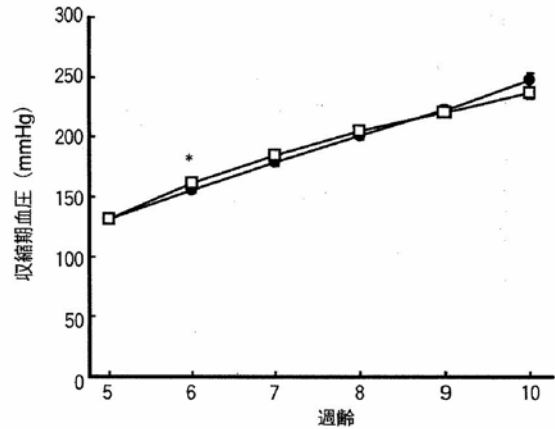


図2 自発運動による収縮期血圧への影響

●: 非運動対照群 (n=15), □: 自発運動群 (n=15). 平均値±標準誤差. *: p<0.05.

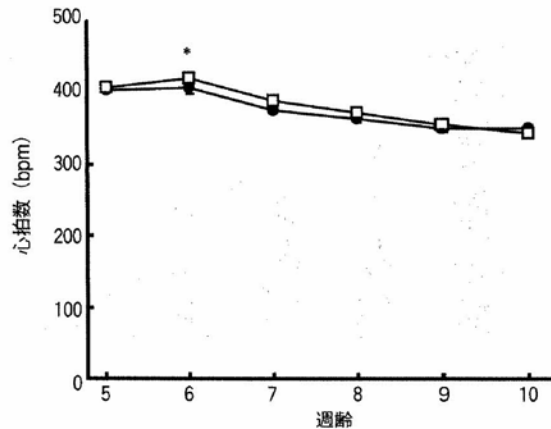


図3 自発運動による心拍数への影響

●: 非運動対照群 (n=15), □: 自発運動群 (n=15). 平均値±標準誤差. *: p<0.05.

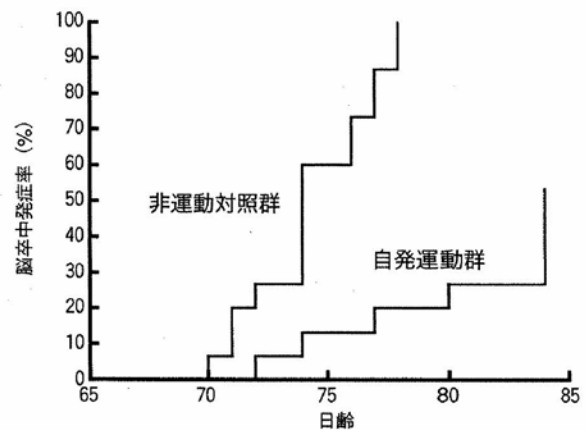


図4 自発運動の脳卒中発症遅延効果

非運動対照群 (n=15), 自発運動群 (n=15). p<0.0001.

齢と10日間の有意な遅延が観察された。生存率の推移を図5に示した。非運動対照群では50%死亡日が生後87日齢、自発運動群では生後151日

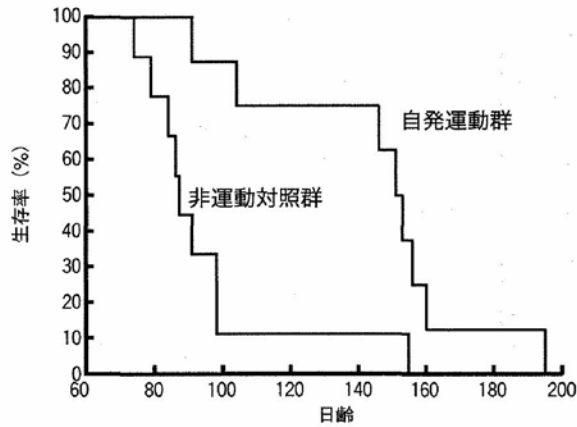


図5 自発運動の生存率への影響
非運動対照群 (n=9), 自発運動群 (n=8). $p < 0.01$.

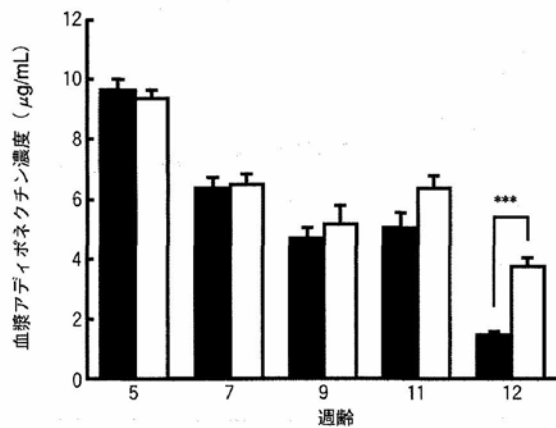


図6 自発運動による血漿アディポネクチン濃度の影響
黒：非運動対照群 (n=6), 白：自発運動群 (n=7).
平均値±標準誤差. ***: $p < 0.001$.

齢であり, 64日間の著明な遅延が観察された。

2. 3 自発運動が血漿アディポネクチン濃度に及ぼす影響

血漿アディポネクチン濃度の変化を図6に示した。実験開始前(5週齢)の血漿アディポネクチン濃度は, 両群とも約 $9.5 \mu\text{g/ml}$ であったが, 加齢に伴いともに減少した。実験開始前から実験開始4週間後(9週齢)までの血漿アディポネクチン濃度について, 自発運動群と非運動対照群にほとんど差は認められなかったが, 6週間後(11週齢)に自発運動群で高い傾向を示した。実験終了時(12週齢)には, 非運動対照群で血漿アディポネクチン濃度の著明な低下を認めたが, 自発運動群では血漿アディポネクチン濃度の低下がわずかで

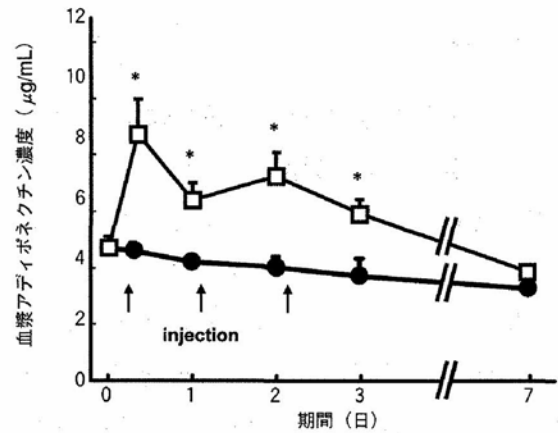


図7 アディポネクチン投与による
血漿アディポネクチン濃度の変化
●: PBS (-) 投与群 (n=4), □: 組換えアディポネクチン投与群 (n=5). 平均値±標準誤差. *: $p < 0.05$.

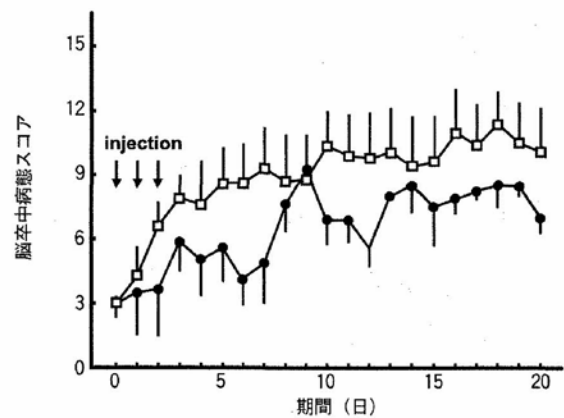


図8 アディポネクチン投与による
脳卒中病態スコアへの影響
●: PBS (-) 投与群 (n=4), □: 組換えアディポネクチン投与群 (n=5). 平均値±標準誤差. 有意差なし.

あり, 両群に有意な差異が観察された。

2. 4 組換えアディポネクチン投与による神経症状への影響

組換えアディポネクチン投与による, 血漿アディポネクチン濃度の変動を図7に示した。PBS(-)投与群に比べ, 組換えアディポネクチン投与群では有意なアディポネクチン濃度の高値が観察された。脳卒中指標のスコア化による脳卒中病態の推移を図8に示した。PBS(-)投与群と組換えアディポネクチン投与群に有意な差は認められなかった。

3. 考 察

本研究では、脳卒中モデルラット M-SHRSP に自発的運動を負荷したときの脳卒中発症への影響とアディポネクチンの関与について検証を行った。本研究で明らかになったことは、脳卒中のモデル動物 M-SHRSP において、1) 加齢に伴い血漿アディポネクチン濃度が低下すること、2) 脳卒中発症時に血漿アディポネクチン濃度が著明に低下すること、3) 自発的運動の負荷は収縮期血圧にはほとんど影響しないものの、脳卒中発症を遅延させ、生存日数を著明に延長すること、4) 自発運動の負荷は血漿アディポネクチン濃度をほとんど上昇させないものの、非運動対照群に比し、血漿アディポネクチン濃度の低下が一部改善されていること、しかし、5) 脳卒中発症後のラットに対し、アディポネクチン補充療法を試みたが、その有効性は認められなかったことである。

ヒト虚血性脳卒中患者において低アディポネクチン血症が生じるという報告^{14, 15)}があるが、図6に示したように、非運動対照群の全てが脳卒中を発症した12週齢において、血漿アディポネクチンの著明な低下が観察され、脳卒中モデル動物である M-SHRSP においても、ヒトと同様に脳卒中発症時に低アディポネクチン血症を呈することが明らかとなった。並行して行った基礎的な検討では、M-SHRSP において、脳卒中発症に伴い精巢上体周囲脂肪組織におけるアディポネクチン mRNA の発現が低下することを見出している(未発表データ)。先行研究では、マウス心筋一過性虚血モデルにおいて、心病変部にアディポネクチンが集積し、一過性に血中アディポネクチンが低下すること¹⁸⁾、マウス及びラットの中大脳動脈一過性虚血モデルにおいて、脳虚血部の血管内皮細胞にアディポネクチンが集積すること^{19, 20)}が報告されており、今回の検討で観察された M-SHRSP の脳卒中発症時における血中アディポネクチン濃度の低下は、mRNA レベルの低下が原因の一つであるとともに、脳卒中発症後の脳病変領域にアディポネクチンが集積して、引き起こされた可能性も考えられる。

本研究において、M-SHRSP における自発的運動は、血漿アディポネクチン濃度をほとんど上昇させなかった。運動は骨格筋におけるインスリン抵抗性を改善するが、その機序の一つとして、骨格筋の糖取り込みに関与する、糖輸送担体4 (glucose transporter 4: GLUT4) への影響が考えられる。骨格筋細胞内のミクロソームに存在する GLUT4 は、インスリン刺激によって、インスリンレセプター基質1 (IRS-1)、ホスファチジルイノシトール (PI) 3-キナーゼ (PI 3-キナーゼ) といったインスリンシグナル伝達系を経て、細胞膜までトランスロケーションし、骨格筋細胞内に糖を取り込む。

Nagasaki らは、ラットへの自発的運動は、腓腹筋 IRS-1, PI 3-キナーゼ発現を上昇させ、インスリン感受性を上昇させるということを報告している²¹⁾。また、運動による GLUT4 の細胞膜へのトランスロケーションには、インスリン非依存的な AMP キナーゼの活性化を介する機序も提唱されている²²⁾。AMP キナーゼは、筋収縮(エネルギー消費)により、アデノシン3リン酸(ATP)が減少し、アデノシン1リン酸が増加すると活性化され、AMP から ATP の反応を促進するとともに、GLUT4 の細胞膜へのトランスロケーションを促進する。一方で、アディポネクチンは、アディポネクチン受容体 (AdipoR1, AdipoR2) に結合し、AMP キナーゼ活性化を介してインスリン抵抗性を改善すること²³⁾から、運動によるインスリン抵抗性の改善にアディポネクチンあるいはアディポネクチン受容体の発現が関与している可能性も考えられる。しかし、現在のところ、運動が血漿アディポネクチン濃度を上昇させるかどうかについては様々な報告があり、結論は出ていない。

デサントスポーツ科学 Vol. 31

Vuらは、2003～2007年までに報告された33の臨床及び基礎研究についてまとめており、肥満でないヒト（動物）では、運動は血中アディポネクチン濃度に影響しないものの、肥満またはインスリン抵抗性のヒト（動物）において、運動が血中アディポネクチン濃度を上昇させる可能性があることを示している²⁴⁾。本研究と並行して行った基礎的な検討では、M-SHRSPは正常血圧の対照ラットであるWistar Kyoto ratsに比べ、体重、精巣上体周囲脂肪（内臓脂肪）及び皮下脂肪重量の全てが低値であり、いわゆる“やせ型”のモデル動物であることが明らかとなった。そのために、自発的運動が血漿アディポネクチン濃度をほとんど上昇させなかったものと考えられる。

自発的運動負荷の実験終了時において、血漿アディポネクチン濃度は非運動対照群に比し、自発運動群で有意に高値を示した。この結果からは、血漿アディポネクチン濃度が比較的高値に維持されたために脳卒中発症が遅延したものであるか、あるいは運動により脳卒中発症が予防されたために、結果的に血漿アディポネクチン濃度が高値に維持されていたものであるかは現時点では明らかではない。M-SHRSPにおける脳卒中発症2日後からのアディポネクチン補充療法は、今回の実験条件においてその有効性は認められなかった（図8）ことから、少なくともアディポネクチンの治療的な意義は少ないものと考えられる。Nishimuraらは、マウスの中大脳動脈一過性虚血モデルにおいて、虚血の5日前に、アデノウイルスベクターを用いて、アディポネクチン発現を誘導したときに、脳梗塞体積が減少することを報告している¹⁹⁾。また、Nakamuraらは、高食塩負荷SHRSPにチアゾリジン誘導体を投与することにより、血圧には影響しないものの脳卒中発症が遅延されることを示している²⁵⁾。チアゾリジン誘導体はアディポネクチンの発現を誘導する作用をもつことから、脳卒中発症前に血漿アディポネク

チン濃度をより高値に保つことは、脳卒中発症の遅延や、脳卒中病態の進展抑制に有効である可能性が考えられる。

4. 結 論

運動習慣は、脳卒中発症時期における血中アディポネクチン濃度の低下を部分的に改善することで脳卒中発症の予防に働く可能性が考えられた。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました財団法人デサントスポーツ科学振興財団に心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) Okamoto K., Yamori Y., Nagaoka A.: Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHR) *Circ. Res.*, 34 (Suppl 1) : 143-153 (1974)
- 2) Okamoto K., Yamamoto K., Morita N. and Ohta Y.: Establishment and characteristics of rat with precocious and severe hypertension (M-SHRSP) *Acta. Med. Kinki Univ.*, 10: 73-95 (1985)
- 3) Tabuchi M., Umegaki K., Ito T., Suzuki M., Ikeda M., Tomita T.: Disturbance of circadian rhythm in heart rate, blood pressure and locomotive activity at the stroke-onset in malignant stroke-prone spontaneously hypertensive rats., *Jpn. J. Pharmacol.*, 85: 197-202 (2001)
- 4) Tabuchi M., Umegaki K., Ito T., Suzuki M., Tomita I., Ikeda M., Tomita T.: Fluctuation of serum NO (x) concentration at stroke onset in a rat spontaneous stroke model (M-SHRSP) Peroxynitrite formation in brain lesions., *Brain Res.*, 949: 147-156 (2002)
- 5) Amano S.: Vascular changes in the brain of spontaneously hypertensive rats: hyaline and fibrinoid degeneration., *J. Pathol.*, 121: 119-128 (1977)
- 6) Tagami M., Nara Y., Kubota A., Sunaga T., Maezawa H., Fujino H., Yamori Y.: Ultrastructural characteristics of occluded perforating arteries in stroke-prone spontaneously hypertensive rats., *Stroke*, 18: 733-740 (1987)

- 7) Ogata J., Fujishima M., Tamaki K., Nakatomi Y., Ishitsuka T., Omae T.: Stroke-prone spontaneously hypertensive rats as an experimental model of malignant hypertension. I. A light-and electron-microscopic study of the brain., *Acta Neuropathol.*, 51: 179-184 (1980)
- 8) Lee C.D., Folsom A.R., Blair S.N.: Physical activity and stroke risk: a meta-analysis., *Stroke*, 34: 2475-2481 (2003)
- 9) Matsuzawa Y.: The metabolic syndrome and adipocytokines., *FEBS Lett.*, 580: 2917-2921. (2006)
- 10) Ouchi N., Kihara S., Funahashi T., Matsuzawa Y., Walsh K.: Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr. Opin. Lipidol.*, 14: 561-566 (2003)
- 11) Iwashima Y., Katsuya T., Ishikawa K., Ouchi N., Ohishi M., Sugimoto K., Fu Y., Motone M., Yamamoto K., Matsuo A., Ohashi K., Kihara S., Funahashi T., Rakugi H., Matsuzawa Y., Ogihara T.: Hypoadiponectinemia is an independent risk factor for hypertension., *Hypertension*, 43: 1318-1323 (2004)
- 12) 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)
- 13) Efsthathiou S.P., Tsioulos D.I., Tsiakou A.G., Gratsias Y.E., Pefanis A.V., Mountokalakis T.D.: Plasma adiponectin levels and five-year survival after first-ever ischemic stroke., *Stroke*, 36: 1915-1919 (2005)
- 14) Chen M.P., Tsai J.C., Chung F.M., Yang S.S., Hsing L.L., Shin S.J., Lee Y.J.: Hypoadiponectinemia is associated with ischemic cerebrovascular disease. *Arterioscler. Thromb., Vasc. Biol.*, 25: 821-826 (2005)
- 15) Sasaki M., Kawano T., Saito T., Yuzawa M., Saito T., Ikoma A., Tamemoto H., Kawakami M., Ishikawa S.E.: Hypoadiponectinemia in patients with cerebral infarction: comparison with other atherosclerotic disorders., *Am. J. Med. Sci.*, 333: 140-144 (2007)
- 16) Nagaoka A., Kakihana M., Fujiwara K.: Effects of idebenone on neurological deficits following cerebrovascular lesions in stroke-prone spontaneously hypertensive rats., *Arch. Gerontol. Geriatr.*, 8: 203-212 (1989)
- 17) Yamamoto M., Tamura A., Kirino T., Shimizu M., Sano K.: Behavioral changes after focal cerebral ischemia by left middle cerebral artery occlusion in rats., *Brain Res.*, 452: 323-328 (1988)
- 18) Shibata R., Sato K., Kumada M., Izumiya Y., Sonoda M., Kihara S., Ouchi N., Walsh K.: Adiponectin accumulates in myocardial tissue that has been damaged by ischemia-reperfusion injury via leakage from the vascular compartment., *Cardiovasc. Res.*, 74: 471-479 (2007)
- 19) Nishimura M., Izumiya Y., Higuchi A., Shibata R., Qiu J., Kudo C., Shin H.K., Moskowitz M.A., Ouchi N.: Adiponectin prevents cerebral ischemic injury through endothelial nitric oxide synthase dependent mechanisms., *Circulation*, 117: 216-223 (2008)
- 20) Yatomi K., Miyamoto N., Komine-Kobayashi M., Liu M., Oishi H., Arai H., Hattori N., Urabe T.: Pathophysiological dual action of adiponectin after transient focal ischemia in mouse brain., *Brain Res.*, 1297: 169-176 (2009)
- 21) Nagasaki M., Nakai N., Oshida Y., Li Z., Xu M., Obayashi M., Murakami T., Yoshimura A., Fujitsuka N., Shimomura Y., Sato Y.: Exercise training prevents maturation-induced decreases in insulin receptor substrate-1 and phosphatidylinositol 3-kinase in rat skeletal muscle., *Metabolism*, 49: 954-959 (2000)
- 22) Hayashi T., Wojtaszewski J.F., Goodyear L.J.: Exercise regulation of glucose transport in skeletal muscle., *Am. J. Physiol.*, 273, E1039-1051. (1997)
- 23) Yamauchi T., Nio Y., Maki T., Kobayashi M., Takazawa T., Iwabu M., Okada-Iwabu M., Kawamoto S., Kubota N., Kubota T., Ito Y., Kamon J., Tsuchida A., Kumagai K., Kozono H., Hada Y., Ogata H., Tokuyama K., Tsunoda M., Ide T., Murakami K., Awazawa M., Takamoto I., Froguel P., Hara K., Tobe K., Nagai R., Ueki K., Kadowaki T.: Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions., *Nat. Med.*, 13: 332-339 (2007)
- 24) Vu V., Riddell M.C., Sweeney G.: Circulating adiponectin and adiponectin receptor expression in skeletal muscle: effects of exercise., *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 23: 600-611 (2007)

- 25) Nakamura T., Yamamoto E., Kataoka K., Yamashita T., Tokutomi Y., Dong Y.F., Matsuba S., Ogawa H., Kim-Mitsuyama S.: Pioglitazone exerts protective effects against stroke in stroke-prone spontaneously hypertensive rats, independently of blood pressure., *Stroke*, 38: 3016-3022 (2007)