

異所性脂肪由来のアディポカインが運動による 動脈硬化度低下に及ぼす影響

立命館大学 長谷川 夏輝
(共同研究者) 同 家 光 素 行
同 内 田 昌 孝
同 堀 居 直 希
同 外 山 雄 大

Effect of Adipokine Secretion from Ectopic Fats on The Exercise-Induced Reduction of Arterial Stiffness

by

Natsuki Hasegawa, Motoyuki Iemitsu,
Masataka Uchida, Naoki Horii, Yuta Toyama
Ritsumeikan University

ABSTRACT

Aging-induced increase in fat accumulation causes arterial stiffness. Ectopic fat accumulation with aging may be more important than whole-body fat content for predicting cardiovascular disease. Aerobic exercise training (AT) decreases fat accumulation, concomitant with an elevation of serum level of adiponectin, as an anti-inflammatory adipokine, resulting reduction of arterial stiffness. Recently, C1q/TNF-related protein 5 (CTRP5) has been identified as a novel adipokine which is paralog of adiponectin and exerts vasodilator effect. Although AT increases serum CTRP5 levels, concomitant with a reduction of fat accumulation, the differences of AT-induced increases in CTRP5 secretion from ectopic adipose tissues remain unclear.

PURPOSE: This study aimed to clarify whether AT increases mRNA expression

level of CTRP5 from ectopic fats in senescence mice.

METHODS: Seventeen 38-week-old senescence-accelerated mouse prone 1 (SAMP1) mice were divided into sedentary control (CON; n=7) and AT (voluntary wheel running for 12-weeks; n=10) groups. Expression level of CTRP5 mRNA in epididymal, perivascular, subscapular subcutaneous and brown fats were measured by using real-time RT-PCR. The vasodilatory response of acetylcholine treatment was assessed by using aortic vascular rings.

RESULTS: Compared with CON group, AT group showed significantly lower epididymal fat mass, and significantly higher vasodilatory response of acetylcholine treatment by using aortic vascular rings. However, there was no significant difference in expression levels of CTRP5 mRNA in epididymal, perivascular, subscapular subcutaneous and brown fats between two groups.

CONCLUSION: These results suggest that AT-induced increases in CTRP5 mRNA may be occurs in tissues other than epididymal, perivascular, subscapular subcutaneous and brown fats.

要 旨

加齢に伴う異所性脂肪の蓄積は動脈硬化度を増大させるが、有酸素性トレーニングによりそのリスクは低下する。近年、血管拡張作用を有するアディポカインである C1q/TNF related protein 5 (CTRP5) が同定された。有酸素性トレーニングにより体脂肪の低下とともに血中 CTRP5 濃度が増加するが、運動により異所性脂肪組織の CTRP5 遺伝子発現が増加するかは明らかでない。【目的】本研究は老齢マウスの有酸素性トレーニングによる異所性脂肪での CTRP5 遺伝子発現が増加するかを検討した。【方法】38 週齢の SAMP1 マウスを有酸素性トレーニング群および安静対照群に分け、12 週間後に精巣上体脂肪、大動脈血管周囲脂肪、肩甲下皮下脂肪、肩甲下褐色脂肪を摘出し、CTRP5 mRNA 発現量を測定した。また、動脈血管の血管拡張能を測定した。【結果】有酸素性トレーニングにより、動脈血管における血管拡張能は改善したが、CTRP5 mRNA 発

現量はいずれの脂肪組織においても有意な変化は認められなかった。【結論】有酸素性トレーニングによる CTRP5 遺伝子発現量の増加は、精巣上体脂肪、大動脈血管周囲脂肪、肩甲下皮下脂肪、肩甲下褐色脂肪以外の組織で生じている可能性が示唆された。

緒 言

近年、加齢に伴う心疾患や脳血管疾患といった動脈硬化を起因とする死亡原因が日本国内における全死亡原因の約 24% を占めており、いかにして動脈硬化性心血管疾患を予防するかが重要な課題となっている。動脈硬化性心血管疾患が引き起こされる原因の一つとして、体内の過剰な脂肪蓄積が大きく関与している。過体重者や肥満者の心血管疾患などによる死亡率を検討した結果、肥満者の動脈硬化性心血管疾患による死亡リスクは、正常体重者と比較して 1.5 倍であることが報告されている¹⁾。また、加齢に伴い筋量は低下する一方、体脂肪は増大することが報告されていることから

2), 加齢に伴う動脈硬化性心血管疾患の発症リスク増大には体内の過剰な脂肪蓄積が大きく影響していると考えられる。

これまで、肥満であるか否かは BMI もしくは全身の体脂肪率によって判定されてきた^{3,4)}。しかしながら、近年、体内の脂肪蓄積は内臓や皮下脂肪だけでなく、各臓器においても蓄積され、それらは異所性脂肪と総称されている⁵⁾。異所性脂肪の中でも脂肪の蓄積する部位により、動脈硬化度への影響が異なることが報告されている⁵⁾。これらの先行研究により、単に全身の脂肪蓄積のみが動脈硬化度を増大させるのではなく、蓄積する脂肪部位によって生体内へ及ぼす影響が異なる可能性が考えられる。

一方、習慣的な有酸素性運動は体脂肪を減少させるとともに動脈硬化度を低下させることが知られている⁶⁾。さらに、そのメカニズムとして、脂肪の減少により脂肪細胞から産生されるアディポカインと総称される生理活性物質が血液を介して動脈血管に作用することが関与する可能性が示され、その中でも抗動脈硬化作用を有する adiponectin が有力であることが報告されてきている⁷⁾。adiponectin は脂肪組織にほぼ特異的に発現が認められ、血中 adiponectin 濃度は BMI や内臓脂肪面積と有意な負の相関を示すことが報告されている⁸⁾。これらの先行研究から、adiponectin は体内の脂肪蓄積に伴う動脈硬化性心血管疾患における重要なバイオマーカーであり、その血中濃度を維持・増加させることが動脈硬化度の低下に重要である可能性が考えられる。

近年、アディポネクチンと共通の遺伝子配列を持つ新規アディポカインとして 15 種類の Clq/TNF-related protein (CTRP) が同定された。その中で CTRP5 は adiponectin と同様に脂肪組織における遺伝子の発現が最も高いことが認められている⁹⁾。ラットから摘出した大動脈を用いて adiponectin および CTRP5 を添加した際の弛

緩応答を検討した結果、CTRP5 は adiponectin と同程度の血管拡張作用があることが報告されている¹⁰⁾。また、我々は、中高齢者を対象に 8 週間の有酸素性トレーニングを実施した結果、血中 CTRP5 濃度は有意に増加し、有酸素性トレーニングによる動脈硬化度の低下度と CTRP5 の血中濃度の増加度との間には有意な負の相関関係があることを報告した¹¹⁾。これらの先行研究から、有酸素性トレーニングによる体脂肪の低下に伴う血中 CTRP5 濃度の増加は動脈硬化度の低下に関与する可能性が考えられるが、有酸素性トレーニングによる血中 CTRPs 濃度の増加は、全身のどこに蓄積された脂肪から分泌されているものかを反映しているのかについては明らかでない。

そこで本研究は、老齡モデルマウスを対象として、運動により増大する血中 CTRP5 はどこの脂肪組織から分泌するのかを同定することを目的とする。

1. 研究方法

1.1 対象

老化促進マウスである Senescence-accelerated mouse prone 1 (SAMP1, 日本エスエルシー株式会社) マウス 38 週齢を 17 匹、老齡モデルマウスとして用いた。38 週齢まで飼育後、各群の体重が均等になるように、老齡安静対照群 (Con 群) 7 匹、有酸素性トレーニング群 (AT 群) 10 匹に分け、50 週齢時に解剖した。飼育は、室温 26 ± 1°C、湿度 50 ± 5%、12 時間ごとの明暗サイクル (8:00 a.m. - 8:00 p.m.) の環境下で行い、飼料 (CE-2, 日本クレア製) および脱イオン蒸留水は自由摂取させた。本研究における実験は、立命館大学びわこ・くさつキャンパス動物実験委員会の承認を得て実施した。

1.2 実験手順

AT 群は最終の有酸素性トレーニングの 48 時

間後に、体重測定を行い、イソフルラン (0.1ml/kg) による吸引麻酔後、眼窩静脈叢から採血を行なった。採血後、頸椎脱臼により安楽死処置し、精巢上体脂肪 (Epididymal fat)、肩甲下皮下脂肪 (Subscapular subcutaneous fat)、大動脈血管周囲脂肪 (Perivascular fat)、肩甲下褐色脂肪 (Subscapular brown fat)、大動脈血管、大腿四頭筋を摘出した。各サンプルは、冷生理食塩水にて洗浄し、付着している血液を取り除き、組織重量を測定した。血液は、遠心分離によって血漿を回収した後に、分析を行うまで -80℃ で冷凍保存した。

1. 3 有酸素性トレーニング

AT 群は回転車輪を用いた自発走運動による 12 週間の有酸素性トレーニングを個別ケージにて行った。

1. 4 摘出大動脈輪を用いた血管拡張能

動脈血管の血管拡張度の指標として、ミオグラフィ (Danish Myo Technology A/S 社製, Aarhus N, Denmark) を用いて測定した¹²⁾。マウスから胸部大動脈を血管内皮細胞が損傷しないように摘出した後、2mm の長さに切断し、大動脈輪として血管標本を作製した。作製された血管標本は、95%O₂ と 5%CO₂ で灌流された 37℃ の Krebs Buffer (NaCl : 130mM, KCl : 4.7mM, KH₂PO₄ : 1.18mM, MgSO₄·7H₂O : 1.18mM, NaHCO₃ : 14.9mM, Glucose : 5.5mM, EDTA : 0.026mM, CaCl₂ : 1.16mM) インキュベーション中にチャンバー内の張力測定用のワイヤーにセットした。張力測定はトランスデューサにて測定し、ポリグラフ上に記録した。安静時張力を 20mN とし、血管標本に対して 300nM の U-46619 (Prostaglandin F2 α , Cayman Chemical 社製, Ann Arbor, MI, USA) で刺激し、最大収縮を確認した後、血管弛緩作用を有するアセ

チルコリン (Acetylcholine: ACh) を添加し、血管弛緩反応を濃度依存曲線で表し、血管拡張反応を評価した。血管弛緩率は、以下の式により算出した。DB = Prostaglandin F2 α 投与時の最大収縮張力、Ddose = ACh 各濃度投与時の最大拡張張力、DR = Krebs Buffer 浸透時の安定張力 (Prostaglandin F2 α 投与前の張力)

$$\text{血管弛緩率} = [(DB - Ddose) / (DB - DR)]$$

1. 5 Citrate Synthase (CS) 酵素活性

大腿四頭筋サンプルを氷冷下でホモジェナイズバッファー : 1mM Tris-HCl (pH 7.4), 130mM NaCl, 250mM sucrose を用いてホモジェナイズした後、9000g, 0℃ で 20 分間遠心し、ペレットにホモジェナイズバッファーを加え、再懸濁した。その後 600g, 0℃ で 10 分間遠心し、得られた上清を 8000g, 0℃ で 15 分間遠心した後、ペレットを 250mM sucrose で再懸濁し、サンプルを作製した。タンパク定量は、Protein Assay Rapid Kit を用いて分光光度計により、605nm にて測定した。CS 活性を評価するために、SIGMA-ALDRICH 社製の実験プロトコルに従い 186 μ l の混合物 (100mM Tris-HCl [pH 8.0], 1mM 5, 5-dithio-bis [2-nitrobenzoic acid]), 2 μ l の 30mM acetyl-CoA と 10mM DTNB, 2-8 μ l のサンプルを混ぜ、30℃ で 2 分インキュベートした。酵素活性反応は 10 μ l の 10mM oxaloacetate を加えた後、マイクロプレートリーダー (xMark microplate spectrophotometer; Bio-Rad Laboratories 社製) を用い 412nm で測定した。

1. 6 CTRP5 遺伝子発現量

摘出してきた精巢上体脂肪、肩甲下皮下脂肪、大動脈血管周囲脂肪、肩甲下褐色脂肪の一部から total RNA を ReliaPrep™ RNA Tissue Miniprep System (Promega Corporation, Madison, WI, USA) を用いて抽出した。RNA

は OmniScript reverse transcriptase (QIAGEN, Hilden, Germany) を用いて逆転写し, 各組織の CTRP5 mRNA 発現は TaqMan Gene Expression assay (CTRP5: assay ID Mn04204561_gh, Applied Biosystems 社製) を用いて real-time PCR 法により解析した. Real-time PCR は Prism 7500 Fast Sequence Detection System 2.2 (Applied Biosystems 社製) を用いて行い, 閾値と増幅曲線の交点 (cycle threshold values) はシステムソフトウェアにより自動的に計算された. CTRP5 mRNA 発現量は内部標準である β -actin mRNA (assay ID Mm00607939_s1, Applied Biosystems 社製) の発現量との比により算出した. 各サンプルにおける CTRP5 および β -actin mRNA はデュプリケートで測定し, その2つの値の平均値を用いた.

1. 7 統計解析

本研究結果は, すべて平均値 \pm 標準誤差で表した. Con 群および AT 群の2群間の各測定項目の比較は, 対応のない t 検定を実施した. 血管拡張能における2群間の比較は二元配置共分散分析を行い, 主効果を検討した. すべての統計解析は StatView 5.0 (SAS 社製) を使用した. 危険率 (P) は5%未満を有意水準とした.

2. 研究結果

2. 1 体重, 脂肪重量, 大腿四頭筋 CS 活性の比較

Con 群と比較して AT 群の精巣上部脂肪重量は有意に低値を示し (Con: 38.8 ± 4.5 mg/g body weight vs. AT: 22.3 ± 3.3 mg/g body weight) ($P < 0.05$), 大腿四頭筋 CS 活性は有意に高値を示した (Con: 11.1 ± 0.7 μ mol/min/g tissue vs. AT: 15.2 ± 0.4 μ mol/min/g tissue) ($P < 0.05$). また肩甲下褐色脂肪重量は Con 群と比較して AT 群で高値を示す傾向が認められた. 一方, 体重および肩甲

下皮下脂肪は Con 群と AT 群との間に有意な差が認められなかった.

2. 2 動脈血管の血管拡張能

摘出した大動脈血管より作製した血管標本に対して血管内皮依存性血管弛緩作用を有するアセチルコリンを 10^{-4} M \sim 10^{-9} M まで濃度依存的に添加した結果, Con 群, AT 群ともに有意な血管拡張作用は認められたが, AT 群の血管拡張率は Con 群よりも有意に高値を示した ($P < 0.05$).

2. 3 有酸素性トレーニングによる CTRP5 遺伝子発現の局所的な変化

CTRP5 遺伝子発現は, 精巣上部脂肪, 肩甲下皮下脂肪, 大動脈血管周囲脂肪, 肩甲下褐色脂肪いずれにおいても Con 群と AT 群との間に有意差は認められなかった (図 1).

3. 考察

本研究では, 12 週間の有酸素性トレーニングを老齢モデルマウスに対して実施した結果, 精巣上部脂肪量は有意に低下し, 動脈血管における血管拡張能は改善した. 一方で, CTRP5 遺伝子発現は, いずれの脂肪組織においても有酸素性トレーニングにより有意な変化は認められなかった. これまでの我々の検討から, 有酸素性トレーニングにより血中 CTRP5 濃度は増加し, 動脈硬化度の低下に関連することが示されているが¹¹⁾, 有酸素性トレーニングによる血中 CTRP5 濃度の増加は, 精巣上部脂肪, 肩甲下皮下脂肪, 大動脈血管周囲脂肪, 肩甲下褐色脂肪以外の組織での遺伝子発現量の増加が影響している可能性が示唆された.

本研究において, CTRP5 遺伝子発現はどの脂肪組織においても有酸素性トレーニングによる発現変化は認められなかった. 本研究で検討している脂肪組織以外にも筋細胞外脂肪や心外膜脂肪,

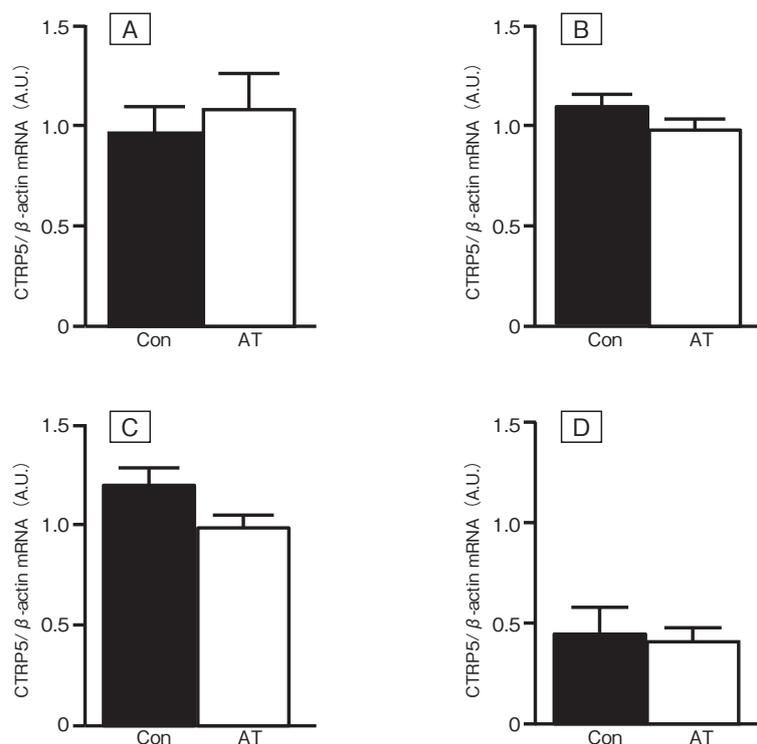


図1 Effects of 12 weeks aerobic training on CTRP5 mRNA expression in epididymal fat (A), subscapular brown fat (B), subscapular subcutaneous fat (C) and perivascular fat (D).

肝臓脂肪などの脂肪組織においても心血管疾患との関連性が認められている⁵⁾。これらの脂肪は内臓脂肪と同様に細胞内に核や細胞小器官が存在する脂肪細胞であることから、CTRP5を含むアディポカインを分泌している可能性は十分に考えられる。しかしながら、本研究では、これらの脂肪組織をマウス検体から摘出してきることができなかったため、検討することはできなかった。今後は、体内に脂肪がより蓄積している肥満モデル動物の使用、もしくは、*In situ* ハイブリダイゼーション法により各組織切片からのCTRP5遺伝子発現を検討する必要がある。また、CTRP5は脂肪組織での遺伝子発現が最も高いことが認められているが⁹⁾、脂肪組織のみではなく、脳、脾臓、精巣、子宮などの他臓器においても遺伝子発現が認められている⁹⁾。そのため、有酸素性トレーニングによるCTRP5遺伝子発現の増加は脂肪組織以外の

組織で認められているかもしれない。今回検討できていない組織において、有酸素性トレーニングによるCTRP5の遺伝子発現が増加するか否かを検討することも今後の検討課題である。

12週間の有酸素性トレーニングを老齢モデルマウスに対して実施した結果、CTRP5遺伝子発現に有意な変化は認められなかったが、精巣上体脂肪量は有意に低下し、動脈血管における血管拡張能は改善した。これらの結果から、有酸素性トレーニングによる脂肪低下に伴う動脈硬化度の低下にはCTRP3以外の要因が影響している可能性も考えられる。有酸素性トレーニングにより血中濃度が増加する抗炎症性アディポカインとしては、adiponectinやCTRP3、IL-10、SFRP5なども挙げられる^{11,13,14)}。また、有酸素性トレーニングによる体脂肪の低下に伴い、抗炎症性アディポカインの増加だけではなく、炎症性アディポカイ

ンの血中濃度が低下することも報告されている。肥満者を対象に12週間の中強度ウォーキング介入によって、全身体脂肪率が低下するとともに、炎症性アディポカインであるTNF- α やIL-6, Resistin, Leptinの血中濃度は有意に低下したことが報告されている¹⁵⁾。これらの先行研究から、有酸素性トレーニングによる動脈硬化度の低下には、CTRP5以外にも、抗炎症性アディポカインであるadiponectin, CTRP3, IL-10, SFRP5の増加に加え、炎症性アディポカインの減少も影響している可能性が考えられる。血中adiponectin濃度は血中CRPやTNF- α 濃度と負の相関関係が認められている^{16,17)}。また、adiponectin遺伝子欠損マウスの脂肪組織において、TNF- α の遺伝子発現は増加すること¹⁸⁾、反対に炎症性アディポカインIL-6遺伝子欠損マウスにおいては、体重の低下、血中および脂肪組織中adiponectin濃度の増加が認められた¹⁹⁾。これらの先行研究から、抗炎症性アディポカインと炎症性アディポカインは相互に影響をおよぼし合っている可能性が考えられ、脂肪組織における抗炎症性アディポカインと炎症性アディポカインのアンバランスが生じることにより動脈硬化性心血管疾患の進展につながる可能性も考えられる。そのため、抗炎症性アディポカインと炎症性アディポカインとの相互作用を検討していくことが今後の検討課題である。

4. 結 論

本研究では、老齢モデルマウスを対象に、12週間の有酸素性トレーニングによる局所に蓄積する脂肪組織におけるCTRP5遺伝子発現量の変化と動脈硬化度との関連について検討した。その結果、有酸素性トレーニングにより、精巣上体脂肪量は有意に低下し、動脈血管における血管拡張能は改善したが、CTRP5遺伝子発現量はいずれの脂肪組織においても変化しなかった。以上の結果

から、有酸素性トレーニングによる血中CTRP5濃度の増加には精巣上体脂肪、肩甲下皮下脂肪、大動脈血管周囲脂肪、肩甲下褐色脂肪以外の組織でのCTRP5遺伝子発現量の増加が影響している可能性が示唆された。

謝 辞

この研究の遂行にあたり、研究助成を賜りました公益財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に厚く御礼申し上げます。また、本研究実施にあたり多大なご協力を頂いた東京医科大学：浜岡隆文先生、筑波大学：藤江隼平先生、立命館大学：井上健一郎氏に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) McGee D.L., Body mass index and mortality: a meta-analysis based on person-level data from twenty-six observational studies, *Ann. Epidemiol.*, **15**: 87-97 (2005)
- 2) NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants, *Lancet*, **387**: 1377-1396 (2016)
- 3) Deurenberg P., Yap M., van Staveren W.A., Body mass index and percent body fat: a meta analysis among different ethnic groups, *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, **22**: 1164-1171 (1998)
- 4) Gómez-Ambrosi J., Silva C., Galofré J.C., Escalada J., Santos S., Millán D., Vila N., Ibañez P., Gil M.J., Valentí V., Rotellar F., Ramírez B., Salvador J., Frühbeck G., Body mass index classification misses subjects with increased cardiometabolic risk factors related to elevated adiposity, *Int. J. Obes.*, **36**: 286-294 (2012)
- 5) Lim S., Meigs J.B., Links between ectopic fat and vascular disease in humans, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **34**: 1820-1826 (2014)
- 6) Ashor A.W., Lara J., Siervo M., Celis-Morales C., Mathers J.C., Effects of exercise modalities on arterial stiffness and wave reflection: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *PLoS One*, **9**: e110034 (2014)

- 7) Youn J.C., Kim C., Park S., Lee S.H., Kang S.M., Choi D., Son N.H., Shin D.J., Jang Y., Adiponectin and progression of arterial stiffness in hypertensive patients, *Int. J. Cardiol.*, **163**: 316–319(2013)
- 8) Arita Y., Kihara S., Ouchi N., Takahashi M., Maeda K., Miyagawa J., Hotta K., Shimomura I., Nakamura T., Miyaoka 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. 1999, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **425**: 560-564(2012)
- 9) Wong G.W., Krawczyk S.A., Kitidis-Mitrokostas C., Revett T., Gimeno R., Lodish H.F., Molecular, biochemical and functional characterizations of C1q/TNF family members: adipose-tissue-selective expression patterns, regulation by PPAR-gamma agonist, cysteine-mediated oligomerizations, combinatorial associations and metabolic functions, *Biochem. J.*, **416**: 161-177(2008)
- 10) Zheng Q., Yuan Y., Yi W., Lau W.B., Wang Y., Wang X., Sun Y., Lopez B.L., Christopher T.A., Peterson J.M., Wong G.W., Yu S., Yi D., Ma X.L., C1q/TNF-related proteins, a family of novel adipokines, induce vascular relaxation through the adiponectin receptor-1/AMPK/eNOS/nitric oxide signaling pathway, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **31**: 2616-2623(2011)
- 11) Hasegawa N., Fujie S., Horii N., Uchida M., Kurihara T., Sanada K., Hamaoka T., Iemitsu M., Aerobic exercise training-induced changes in serum C1q/TNF-related protein levels are associated with reduced arterial stiffness in middle-aged and older adults, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **314**: R94-R101(2018)
- 12) Luttrell M.J., Seawright J.W., Wilson E., Woodman C.R., Effect of age and exercise training on protein: protein interactions among eNOS and its regulatory proteins in rat aortas, *Eur. J. Appl. Physiol.*, **113**: 2761-2768(2013)
- 13) Calegari L., Nunes R.B., Mozzaquattro B.B., Rossato D.D., Dal Lago P., Exercise training improves the IL-10/TNF- α cytokine balance in the gastrocnemius of rats with heart failure, *Braz. J. Phys. Ther.*, **22**: 154-160(2018)
- 14) Fayaz E., Damirchi A., Zebardast N., Babaei P., Cinnamon extract combined with high-intensity endurance training alleviates metabolic syndrome via non-canonical WNT signaling, *Nutrition.*, **65**: 173-178(2019)
- 15) Jung S.H., Park H.S., Kim K.S., Choi W.H., Ahn C.W., Kim B.T., Kim S.M., Lee S.Y., Ahn S.M., Kim Y.K., Kim H.J., Kim D.J., Lee K.W., Effect of weight loss on some serum cytokines in human obesity: increase in IL-10 after weight loss, *J. Nutr. Biochem.*, **19**: 371-375(2008)
- 16) Sung S.H., Chuang S.Y., Sheu W.H., Lee W.J., Chou P., Chen C.H., Relation of adiponectin and high-sensitivity C-reactive protein to pulse-wave velocity and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in the general population, *Am. J. Cardiol.*, **103**: 1411-1416(2009)
- 17) Visentin S., Lapolla A., Londero A.P., Cosma C., Dalfrà M., Camerin M., Faggian D., Plebani M., Cosmi E., Adiponectin levels are reduced while markers of systemic inflammation and aortic remodelling are increased in intrauterine growth restricted mother-child couple, *Biomed. Res. Int.*, 401595(2014)
- 18) 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)
- 19) Di Gregorio G.B., Hensley L., Lu T., Ranganathan G., Kern P.A., Lipid and carbohydrate metabolism in mice with a targeted mutation in the IL-6 gene: absence of development of age-related obesity, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **287**: E182-E187(2004)