

アディポカイン「バスピン」の同定とメタボリックシンドロームにおける意義

和田 淳

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学

キーワード: metabolic syndrome, adipokine, atherosclerosis, endothelial cells, apoptosis

Identification of the adipokine ‘vaspin’ and its significance in metabolic syndrome

Jun Wada

Department of Nephrology, Rheumatology, Endocrinology and Metabolism, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

はじめに

近年、メタボリックシンドローム・肥満の増加とともに、これを背景として発症する心血管疾患も増加し、生命予後を悪化させる大きな要因となっている。メタボリックシンドロームの病態の上流には内臓脂肪蓄積があり、内臓脂肪から分泌されるアディポカインが、インスリン抵抗性・耐糖能異常、高血圧、脂質代謝異常を惹起し、動脈硬化に起因する脳・心血管合併症や脂肪肝炎を起こすことが知られている。またアディポカインが慢性炎症にも関与することが注目されている。これまでに TNF- α や PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1)、レプチン、アディポネクチン、レジスチン、近年ではケマリンや Sfrp 5 (secreted frizzled-related protein 5) など数多くの新規アディポカインが同定され、機能解析が行われてきた (図 1)。本稿では、我々が発見したアディポカイン「バスピン」について紹介したい。

バスピンの発見

メタボリックシンドロームの病態に深く関与する新規アディポカインを同定するために、2 型糖尿病・肥満の動物モデルである Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットとコントロールである Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO) ラットの内臓脂肪を用いて、PCR を用いた cDNA 遺伝子サブトラクション法を行い、内臓脂肪特異的に発現が亢進する遺伝子のスクリーニングを行った¹⁾。その結果、肥満や糖尿病において内臓脂肪に発現が亢進する遺伝子バスピン: vaspin (visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor) を発見した (図 2)。バスピンは $\alpha 1$ -antitrypsin と 40.5% のホモロジーを有し、ヒト・マウス・ラットで相同性が高く、その構造から serpin (serine protease inhibitor) 遺伝子ファミリーに属することが明らかとなった²⁾ (図 3)。そしてバスピンは serpin clade A, member 12 (SERPINA12) に分類されており、バスピンが存在する 14q32.1 の領域には、SERPINA1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12 の遺伝子がクラスターを形成しており³⁾、このクラスターには、キモトリプシンやアンチキモトリプシン、ステロイド

平成28年2月受理
〒700-8558 岡山市北区鹿田町 2-5-1
電話: 086-235-7232 FAX: 086-222-5214
E-mail: junwada@okayama-u.ac.jp

◆ プロフィール ◆



1988年3月 岡山大学医学部卒業、岡山大学医学部第三内科学教室入局
1988年8月～1990年9月 倉敷中央病院 内科 研修医
1992年3月 岡山大学大学院医学研究科修了
1992年4月 岡山大学医学部附属病院 第三内科 医員
1992年10月 ノースウェスタン大学医学部 病理学 Research Associate
1996年12月 国立療養所邑久光明園 内科 医長
1997年4月 岡山大学医学部 第三内科 助手
2001年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学 助手
2005年5月 岡山大学医学部・歯学部附属病院 腎・免疫・内分泌内科 講師
2006年8月～2008年7月 文部科学省研究振興局学術調査官 (兼任)
2010年1月1日 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学 准教授
2010年4月1日 岡山大学病院 腎臓・糖尿病・内分泌内科 診療科長
2011年4月1日 岡山大学病院 リウマチ・膠原病内科 診療科長
2015年8月1日 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学 教授

研究テーマ: 糖尿病, 腎臓病, 膠原病・リウマチ, メタボリックシンドローム

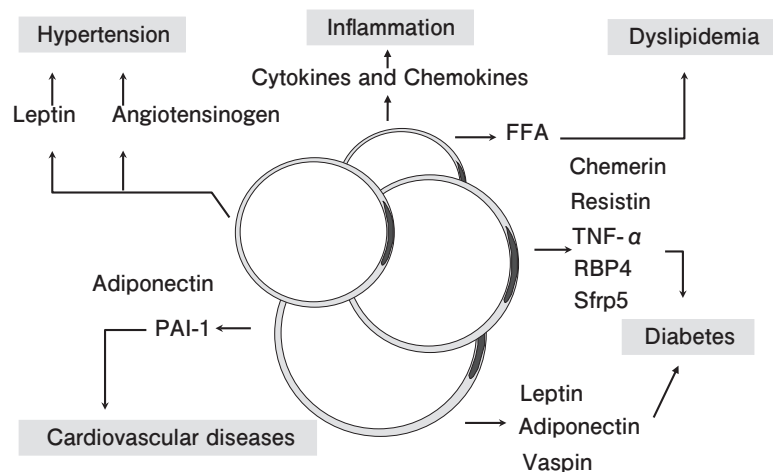


図1 脂肪細胞とアディポカイン

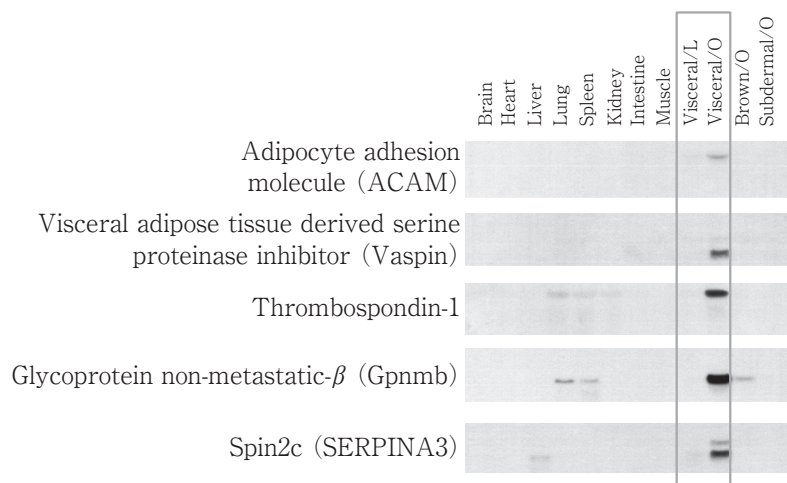


図2 OLETF ラットの内臓脂肪組織よりクローニングした遺伝子群

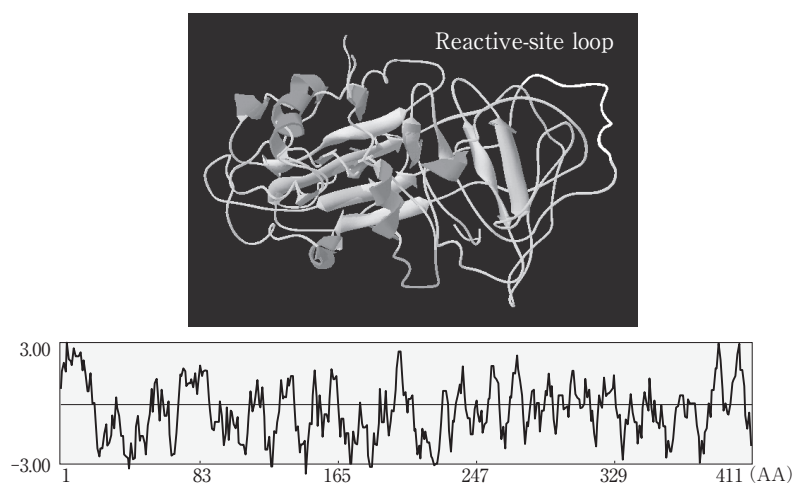


図3 バスピンの構造

結合蛋白，アンジオテンシノーゲンなど多彩な作用をもつ遺伝子が存在している（図4）。

バスピンの肥満・インスリン抵抗性・脂肪肝改善作用

バスピンの作用を解明するために，ヒトバスピンリコンビナント蛋白質（rhVaspin）を精製し，食餌性肥満マウス（ICR マウス）に投与して，糖・インスリン負荷試験を行った。rhVaspin を投与すると，糖負荷試験の血糖2時間値が低下し，インスリン負荷試験においてインスリン感受性が亢進した。次にaP2プロモーターで脂肪組織にバスピンを過剰発現させたトランスジェニックマウス，およびバスピンノックアウトマウスを作製し，通常食および高脂肪高蔗糖食で飼育した。25週齢においてバスピントランスジェニックマウスは，高脂肪高蔗糖食による体重増加が野生型と比較して約8%抑制され，脂肪重量や肝重量も抑制された。また脂肪細胞のサイズの小型化や脂肪肝の改善も認めた。逆に，バスピンノックアウトマウスでは，高脂肪高蔗糖食飼育時の体重が野生型と比較して増加し，糖・インスリン負荷試験ではインスリン抵抗性の増悪を認めた。また脂肪細胞の大型化や脂肪肝の悪化も認めた。これらのことから，バスピンはインスリン抵抗性や肥満・脂肪肝を改善させるアディポカインであることが明らかとなった⁴⁾。

バスピンの動脈硬化抑制作用

バスピンは内臓脂肪から血中に分泌されることから，血管への作用も想定され，我々はバスピンの動脈硬化への作用について検討した。WKY ラットにストレプトゾトシンを投与して糖尿病を誘発し，バルーン擦過実験の際にアデノウイルスを用いて頸動脈にバス

ピンを発現させたところ，LacZ 発現頸動脈と比較して，バスピンを発現させた頸動脈では内膜肥厚が抑制された。また免疫染色や定量PCRを行うと，バスピン発現ラット頸動脈の肥厚した内膜では，macrophage chemoattractant protein-1 (MCP-1)やplatelet-derived growth factor (PDGF)-B, PDGF receptor- β の発現が抑制され，Ki67陽性細胞が減少していた。このことから，バスピンは内膜の炎症や増殖を抑制していると考えられた。さらに，バスピントランスジェニックおよび野生型マウスの大動脈にカフ傷害実験を行い，内膜／中膜比を測定して内膜肥厚を検討したところ，トランスジェニックマウスでは野生型と比べて内膜肥厚の抑制を認めた⁵⁾。

次に，培養ヒト大動脈内皮細胞にアデノウイルスでバスピンを発現させ，また，リコンビナントバスピン蛋白質を添加して，細胞の増殖・アポトーシスについて検討した。バスピンは，細胞数・BrdU (bromodeoxyuridine) アッセイ・Thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT) アッセイいずれにおいても内皮細胞を増殖させ，アポトーシスを抑制した。これらのことから，バスピンは内皮細胞のアポトーシスを抑制する作用を有し，血管内膜肥厚を抑制していることが示唆された⁵⁾。

バスピンの作用機序の解明

バスピンはセリンプロテアーゼインヒビターに属するため，まず，プロテアーゼ阻害作用を想定して検討した。しかし既知のセリンプロテアーゼに対する阻害作用は明らかでなかった。バスピンが属するserpin clade A には，ホルモン結合蛋白質や，アンジオテンシノーゲンなど多彩な作用を有する蛋白質が含まれる。そこでcorticosteroid binding globulin やthyroxin binding globulin との競合作用も検討したが否定的であった（図5）。

我々はバスピンと相互作用する分子を探索するために，培養肝細胞および培養血管内皮細胞を用いてtandem affinity tag purification 法およびLC-MS/MS解析を行い，バスピンと相互作用する分子として78kDa glucose-regulated protein (GRP78)を同定した。両者の結合はpull down アッセイや，¹²⁵I-バスピンを用いた培養細胞による結合実験でも確認した。GRP78は小胞体存在するシャペロン蛋白質として知られているが，癌細胞や小胞体ストレス誘導時には細胞表面に移動して形質膜にも発現する⁶⁾。そこで，マ

SERPINA1;	Antitrypsin
SERPINA3;	Antichymotrypsin
SERPINA6;	Corticosteroid-binding globulin
SERPINA7;	Thyroxine-binding globulin
SERPINA8;	Angiotensinogen
SERPINA12;	Vaspin

Serpin Clade A members have diverse biological functions, consisting of classical serine proteases inhibitors such as antitrypsin (A1) and antichymotrypsin (A3), hormone-binding proteins (A6 and A7), and angiotensinogen (A8).

図4 Serine proteinase inhibitor clade A (Serpin clade A) に属する遺伝子群

ウス肝臓、大動脈を採取して、Iodixanol-NaCl/Tricine Density Gradient Method 法により形質膜蛋白質を抽出し、免疫沈降・ウェスタンブロットを行ったところ、肝臓と血管の形質膜におけるバスピンと GRP78 の結合を認めた。しかし GRP78 には膜ドメインが存在しないため、形質膜に局在するためにはアンカー蛋白質との結合が必要となる。既報から、肝臓におけるアンカー蛋白質として murine tumor cell DnaJ-like protein 1 (MTJ-1) が候補に挙がり^{7,8)}、トランスジェニックマウス肝臓の形質膜蛋白質を用いた免疫沈降を行い、バスピンと MTJ-1, GRP78 が複合体を形成することを明らかにした。MTJ-1 を介したシグナルとして Akt が報告されている。そのため、バスピントランスジェニック・ノックアウトマウスにインスリンを投与し、肝臓における Akt リン酸化について検討した。また培養肝

細胞にバスピン蛋白質を添加して、Akt リン酸化について検討した結果、バスピンは肝細胞表面の MTJ-1・GRP78 に結合して、Akt リン酸化および AMPK リン酸化を亢進させて、糖・脂質代謝が改善することが判明した。一方で血管内皮細胞では、GRP78 のアンカー蛋白質として voltage-dependent anion channel (VDAC) が知られており、plasminogen kringle 5 が VDAC・GRP78 に結合すると、細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇しアポトーシスが惹起されることが報告されている⁹⁾。そこで、トランスジェニックマウス大動脈の形質膜蛋白質を用いた免疫沈降を行い、バスピンと VDAC・GRP78 の複合体形成を確認した⁵⁾。また、プルダウンを用いたバスピンと GRP78 の結合実験において kringle 5 を添加すると、kringle 5 濃度依存性にバスピンと GRP78 の結合が阻害された (図 6)。また培養大動脈内皮細胞に

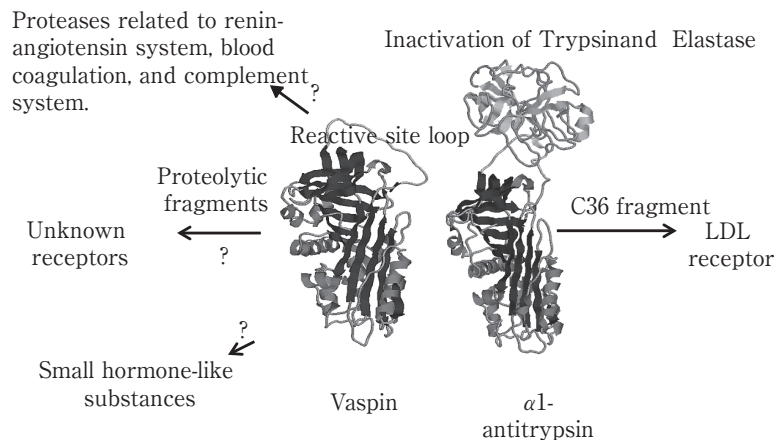


図 5 バスピンとその想定される生物学的機能

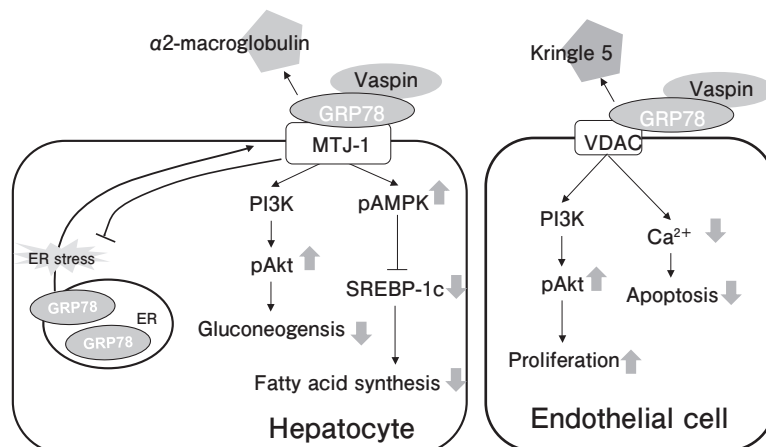


図 6 バスピンによるインスリン抵抗性改善と血管保護効果の分子機構

kringle 5を添加してアポトーシスアッセイを行うと、バスピン添加濃度依存性にアポトーシスが抑制された。さらに肝細胞と同様、培養大動脈内皮細胞においても、バスピン蛋白の添加による Akt リン酸化の亢進を認めた。以上から、バスピンは VDAC・GRP78複合体への結合において kringle 5と競合し、kringle 5によるアポトーシス経路を阻害することで、血管内皮細胞のアポトーシスを抑制することが明らかになった⁵⁾ (図 6)。

血清バスピン濃度の臨床的意義

我々はミリポア社 (LINCO Research) と共同で、¹²⁵I-バスピンを用いた RIA の測定系を開発した。この測定系を用いた我々の検討では0.23ng/mlから60ng/mlまで広い濃度範囲で測定可能であった。空腹時血糖正常者 (NGF; n = 259) と 2 型糖尿病患者 (T2D; n = 275) を対象としてバスピン濃度を測定したところ、全対象のうち93% は、その濃度が NGF 群で0.2～2 ng/ml, T2D では0.2～3 ng/mlに分布していた (図 7)。

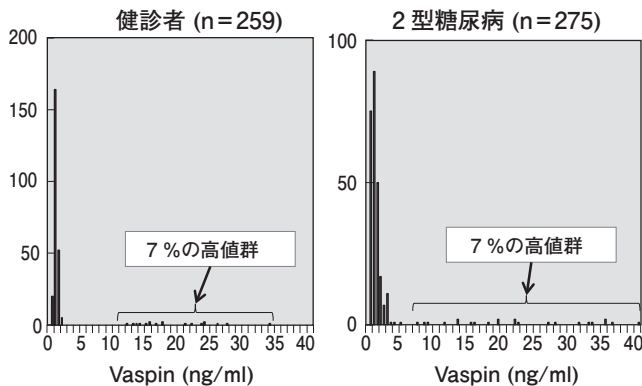


図 7 健診者および 2 型糖尿病患者の血清バスピン濃度

一方で残りの 7 % は10～40ng/mlと非常に高濃度に分布していたが、バスピン高値を呈する 7 % の臨床的特徴を見出すことはできていない。しかし、バスピン血中濃度が0.2～3 % に分布する93% の症例においては、T2D におけるバスピン血中濃度が健常者に比べて有意に高値であった (0.99 ± 0.04 vs. 0.86 ± 0.02 ng/ml; $P < 0.01$)。また、血清バスピン濃度とインスリン抵抗性指数 (HOMA-IR) との正の相関を認めた¹⁰⁾。

次に、さまざまな BMI の日本人被験者1,138名を対象として、SERPINA12 (バスピン) 遺伝子領域の塩基配列を決定したところ、一塩基多型を 5 つ発見した。その中で、rs77060950がバスピン血中濃度と強い相関を有し、CC (0.6 ± 0.4 ng/ml), CA (18.4 ± 9.6 ng/ml), AA (30.5 ± 5.1 ng/ml) ($P < 2 \times 10^{-16}$) であった。以上より、血中バスピン濃度はインスリン抵抗性と相関するが、日本人の 7 % は rs77060950のマイナーアリル (A) を有し非常に高い血中バスピン値を呈することが明らかになった¹⁰⁾ (図 8)。

2005年に我々がバスピンを初めて報告²⁾ してから現在まで、ヒト血中バスピン濃度に関する報告が増加してきている。しかし販売されている ELISA では、測定可能な上限が～2 ng/mlであるため、日本人の 7 % に相当する高値群は外れ値として除外されている可能性もあり注意を要する。現在までのバスピン血中濃度に関する報告の多くは、対象や観察期間の違いがあったり、横断的・後向き研究が多く、さらにさまざまな要因によるバスピン値への影響が混在するため、必ずしも結論が一致していない。しかし総じて、バスピン値は男性と比べて女性の方が高値であること、また 2 型糖尿病患者で高値でありインスリン抵抗性と関係している、という結論の報告が多い。

SNPs	Submitter SNP_ID	SNP Allele	Allele 1/1	Allele 1/2	Allele 2/2
ss182258894	VASP1	C/T			
ss182258888	VASP2	C/T			
ss182258889	VASP3	T/C	1.1 ± 3.4 (1,043)	12.6 ± 11.1 (121)	25.9 ± 11.3 (5)
ss182258890	VASP4	C/A	0.6 ± 0.4 (1,058)	18.4 ± 9.6 (108)	30.5 ± 5.1 (4)
ss182258891	VASP5	G/T	0.7 ± 1 (1,023)	13.6 ± 11.5 (142)	26.5 ± 7.6 (6)
ss182258892	VASP6	A/T	1.6 ± 5 (559)	2.6 ± 6.3 (508)	5.7 ± 9.7 (101)
ss182258893	VASP7	C/T	2.8 ± 6.9 (618)	2.1 ± 5.5 (453)	1.2 ± 4.1 (98)

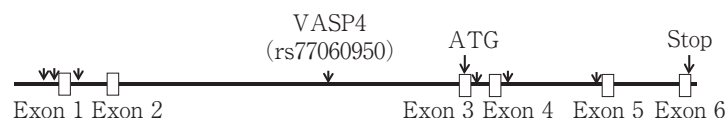


図 8 バスピン遺伝子の single nucleotide polymorphisms (SNPs) の解析

近年、動脈硬化とバスピン血中濃度についての報告も増加してきている。冠動脈疾患を有する場合、健常者と比べてバスピン値は有意に低値で^{11,12)}、安定狭心症、不安定狭心症、急性心筋梗塞の順にバスピン値が低くなること¹²⁾、また冠動脈疾患の重症度と vapsin 値が負の相関を示すことが報告されている¹²⁻¹⁴⁾。一方で Choi らはマルチスライス冠動脈 CT を用いた検討を行い、女性において、冠動脈狭窄の程度とバスピン値が正の相関を示し、また冠動脈石灰化の程度の指標である Agatston スコア > 100 の群は < 100 の群と比べて有意に血中バスピンが高値であったと報告している¹⁵⁾。バスピン高値の症例でインスリン抵抗性および頸動脈の内膜中膜肥厚が高度であるという検討も最近報告された¹⁶⁾。動脈硬化疾患と血中バスピン値について、正・負の相関が様々報告されているが、性別や糖尿病罹病期間、内服薬や併存するリスク因子などにより異なる可能性が考えられる。Vaspin 遺伝子プロモーター領域の rs2236424 が冠動脈疾患の独立寄与因子であるとの報告¹⁷⁾ もあり、さらなる症例の蓄積や、前向き研究が待たれる。

In vitro の検討においても、我々は上述のように血管内皮細胞のアポトーシスをバスピンが抑制することを見出したが⁵⁾、バスピンは Akt リン酸化を亢進させて遊離脂肪酸による血管内皮細胞のアポトーシスを抑制すること¹⁸⁾ や、signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) 活性化による endothelial nitric oxide synthase (eNOS) 活性化を介して血管内皮細胞のアポトーシスを抑制すること¹⁹⁾ が報告されている。さらに、バスピンは血管内皮細胞の AMPK を活性化させて、TNF- α 刺激による NF- κ B 活性化を介した intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)、vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)、E-セレクトリン、MCP-1 などの細胞接着分子の発現を抑制する²⁰⁾ ことから、血管内皮の炎症も抑制していることが示唆される。

血管平滑筋細胞に関しても、高血糖による酸化ストレスおよび NF- κ B 経路を介した細胞増殖²¹⁾ や遊走²²⁾ を抑制したり、また TNF- α による intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) 発現を抑制したりすること²³⁾ が報告されている。これらの報告からも、バスピンは動脈硬化を抑制するアディポカインであることが明らかとなった。

おわりに

メタボリックシンドロームや肥満では、内臓脂肪蓄積に起因するアディポカイン分泌異常や慢性炎症により種々の全身合併症が起り、臓器連関により多重化した病態を呈する。バスピンは、肥満やインスリン抵抗性、糖・脂質代謝異常を改善させるのみならず、血管にも作用し動脈硬化を改善させることが明らかとなった。他臓器への作用も想定して現在検討を行っている。肥満は高血圧や脂質代謝異常、血液凝固系異常、動脈硬化、慢性腎臓病などを介して循環器疾患のリスク因子となるが、睡眠時無呼吸症候群も肥満と循環器疾患を繋ぐ因子である。重度の閉塞性睡眠時無呼吸症候群ではバスピンが有意に低値であるという報告²⁴⁾ もあり、肥満におけるバスピンの多彩な臨床的意義についてもさらに検討を進めたい。

謝 辞

稿を終えるにあたりご指導を賜りました榎野博史先生（岡山大学病院長）に深く感謝申し上げます。また本研究を行いました中司敦子先生、江口潤先生、勅使川原早苗先生、肥田和之先生に心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) Hida K, Wada J, Zhang H, Hiragushi K, Tsuchiyama Y, Shikata K, Makino H : Identification of genes specifically expressed in the accumulated visceral adipose tissue of OLETF rats. *J Lipid Res* (2000) 41, 1615-1622.
- 2) Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, Seida A, Hashimoto I, Okada T, Yasuhara A, Nakatsuka A, Shikata K, Hourai S, Futami J, Watanabe E, Matsuki Y, Hiramatsu R, Akagi S, Makino H, Kanwar YS : Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor : a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2005) 102, 10610-10615.
- 3) Namciu SJ, Friedman RD, Marsden MD, Sarausad LM, Jasoni CL, Fournier RE : Sequence organization and matrix attachment regions of the human serine protease inhibitor gene cluster at 14q32.1. *Mamm Genome* (2004) 15, 162-178.
- 4) Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Hida K, Eguchi J, Horiguchi CS, Ogawa D, Matsuki Y, Hiramatsu R, Yagita H, Kakuta S, Iwakura Y, Makino H : Vaspin is an adipokine ameliorating ER stress in obesity as a ligand for cell-surface GRP78/MTJ-1 complex. *Diabetes* (2012) 61, 2823-2832.
- 5) Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A,

- Hida K, Eguchi J, Ogawa D, Matsuki Y, Hiramatsu R, Yagita H, Kakuta S, Iwakura Y, Makino H : Visceral adipose tissue-derived serine proteinase inhibitor inhibits apoptosis of endothelial cells as a ligand for the cell-surface GRP78/voltage-dependent anion channel complex. *Circ Res* (2013) 112, 771-780.
- 6) Quinones QJ, de Ridder GG, Pizzo SV : GRP78 : a chaperone with diverse roles beyond the endoplasmic reticulum. *Histol Histopathol* (2008) 23, 1409-1416.
- 7) Caminos JE, Bravo SB, Garcés MF, González CR, Cepeda LA, González AC, Nogueiras R, Gallego R, García-Caballero T, Cordido F, López M, Dieguez C : Vaspín and amylin are expressed in human and rat placenta and regulated by nutritional status. *Histol Histopathol* (2009) 24, 979-990.
- 8) Fu BD, Yamawaki H, Okada M, Hara Y : Vaspín can not inhibit TNF- α -induced inflammation of human umbilical vein endothelial cells. *J Vet Med Sci* (2009) 71, 1201-1207.
- 9) González-Gronow M, Kaczowka SJ, Payne S, Wang F, Gawdi G, Pizzo SV : Plasminogen structural domains exhibit different functions when associated with cell surface GRP78 or the voltage-dependent anion channel. *J Biol Chem* (2007) 282, 32811-32820.
- 10) Teshigawara S, Wada J, Hida K, Nakatsuka A, Eguchi J, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Iseda I, Matsushita Y, Miyatake N, McDonald JF, Hotta K, Makino H : Serum vaspín concentrations are closely related to insulin resistance, and rs77060950 at SERPINA12 genetically defines distinct group with higher serum levels in Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab* (2012) 97, E1202-1207.
- 11) Kobat MA, Celik A, Balin M, Altas Y, Baydas A, Bulut M, Aydin S, Dagli N, Yavuzkir MF, İlhan S : The investigation of serum vaspín level in atherosclerotic coronary artery disease. *J Clin Med Res* (2012) 4, 110-113.
- 12) Zhang B, Peng W, Li H, Lu Y, Zhuang J, Wang K, Su Y, Xu Y : Plasma vaspín concentrations are decreased in acute coronary syndrome, but unchanged in patients without coronary lesions. *Clin Biochem* (2013) 46, 1520-1525.
- 13) Li HL, Peng WH, Cui ST, Lei H, Wei YD, Li WM, Xu YW : Vaspín plasma concentrations and mRNA expressions in patients with stable and unstable angina pectoris. *Clin Chem Lab Med* (2011) 49, 1547-1554.
- 14) Kadoğlu NP, Gkontopoulos A, Kapelouzou A, Fotiadis G, Theofilogiannakos EK, Kottas G, Lampropoulos S : Serum levels of vaspín and visfatin in patients with coronary artery disease-Kozani study. *Clin Chim Acta* (2011) 412, 48-52.
- 15) Choi SH, Kwak SH, Lee Y, Moon MK, Lim S, Park YJ, Jang HC, Kim MS : Plasma vaspín concentrations are elevated in metabolic syndrome in men and are correlated with coronary atherosclerosis in women. *Clin Endocrinol (Oxf)* (2011) 75, 628-635.
- 16) Esaki E, Adachi H, Hirai Y, Yamagishi S, Kakuma T, Enomoto M, Fukami A, Kumagai E, Ohbu K, Obuchi A, Yoshimura A, Nakamura S, Nohara Y, Fujiyama T, Fukumoto Y, Imaizumi T : Serum vaspín levels are positively associated with carotid atherosclerosis in a general population. *Atherosclerosis* (2014) 233, 248-252.
- 17) Li HL, Zhang HL, Jian WX, Li Q, Peng WH, Xu YW : Association of vaspín gene polymorphisms with coronary artery disease in Chinese population and function study. *Clin Chim Acta* (2013) 415, 233-238.
- 18) Jung CH, Lee WJ, Hwang JY, Seol SM, Kim YM, Lee YL, Park JY : Vaspín protects vascular endothelial cells against free fatty acid-induced apoptosis through a phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *Biochem Biophys Res Commun* (2011) 413, 264-269.
- 19) Jung CH, Lee WJ, Hwang JY, Lee MJ, Seol SM, Kim YM, Lee YL, Kim HS, Kim MS, Park JY : Vaspín increases nitric oxide bioavailability through the reduction of asymmetric dimethylarginine in vascular endothelial cells. *PLoS One* (2012) 7, e52346.
- 20) Jung CH, Lee MJ, Kang YM, Lee YL, Yoon HK, Kang SW, Lee WJ, Park JY : Vaspín inhibits cytokine-induced nuclear factor- κ B activation and adhesion molecule expression via AMP-activated protein kinase activation in vascular endothelial cells. *Cardiovasc Diabetol* (2014) 13, 41.
- 21) Li H, Peng W, Zhuang J, Lu Y, Jian W, Wei Y, Li W, Xu Y : Vaspín attenuates high glucose-induced vascular smooth muscle cells proliferation and chemokinesis by inhibiting the MAPK, PI3K/Akt, and NF- κ B signaling pathways. *Atherosclerosis* (2013) 228, 61-68.
- 22) Phalitakul S, Okada M, Hara Y, Yamawaki H : A novel adipocytokine, vaspín inhibits platelet-derived growth factor-BB-induced migration of vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* (2012) 423, 844-849.
- 23) Phalitakul S, Okada M, Hara Y, Yamawaki H : Vaspín prevents TNF- α -induced intracellular adhesion molecule-1 via inhibiting reactive oxygen species-dependent NF- κ B and PKC θ activation in cultured rat vascular smooth muscle cells. *Pharmacol Res* (2011) 64, 493-500.
- 24) Kiskac M, Zorlu M, Akkoyunlu ME, Kilic E, Karatoprak C, Cakirca M, Yavuz E, Ardic C, Camli AA, Cikrikcioglu M, Kart L : Vaspín and lipocalin-2 levels in severe obstructive sleep apnea. *J Thorac Dis* (2014) 6, 720-725.