

## 0-10

# 筋肉細胞における霊芝菌糸体培養培地抽出物 (MAK) の GLUT4 膜移行促進作用

Enhancement of translocation of glucose transporter-4 (GLUT4) and glucose uptake by a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK) in L6 myotubes.

○西川 祐未<sup>1)</sup>, 神内 伸也<sup>1)</sup>, 岩田 直洋<sup>1)</sup>, 岡崎 真理<sup>1)</sup>  
鈴木 史子<sup>2)</sup>, 飯塚 博<sup>2)</sup>, 日比野 康英<sup>1)</sup>

1) 城西大院・薬, 2) 野田食菌工業 (株)

We have reported that long-term treatment with a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK), which is used as a health food, reduced hyperglycemia and enhanced glucose transporter-4 (GLUT4) translocation to the plasma membrane in skeletal muscles and adipose tissue in KK-A<sup>y</sup> mice, a type 2 diabetic animal model with obesity. However, the mechanism of the GLUT4 translocation is unclear. In this study, we examined the mechanism of MAK-induced GLUT4 translocation in L6 myotubes. The expression of GLUT4 in the plasma membrane on the MAK-treated L6 myotubes increased in a dose-dependent manner. Moreover, MAK increased the glucose uptake, and induced the phosphorylation of phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) and Akt. These results indicate that hypoglycemic effect of MAK may be due to the enhancement of glucose uptake through GLUT4 translocation by activating the PI3K/Akt pathway.

### 【目的】

健康食品として用いられている霊芝菌糸体培養培地抽出物 (MAK) は、これまでに 2 型糖尿病モデル (KK-A<sup>y</sup>) マウスへの長期投与により血糖上昇抑制作用を示し、さらに、筋肉および脂肪組織で、グルコーストランスポーター4 (GLUT4) の膜移行を亢進することを明らかにしている。しかし、MAK による GLUT4 膜移行メカニズムの詳細は明らかとなっていないことから、本研究では、ラット骨格筋由来培養細胞 (L6 細胞) を用いて、そのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

### 【方法】

L6 細胞を MAK (0.01, 1, 100 µg/ml) 存在下で 24 時間培養した。同時にインスリン存在下で 30 分間もしくはトログリタゾン存在下で 24 時間培養した。これらの細胞を用いて、GLUT4 の膜局在量を蛍光免疫染色法とウェスタンブロット法により解析した。また、GLUT4 mRNA 発現量を Real Time RT-PCR 法により解析した。同時に、2-Deoxy-D-[1-<sup>3</sup>H]glucose (2-DG) の細胞内取り込み量から、GLUT4 の膜局在と機能の相関を検討した。また、GLUT4 の膜移行に関与するシグナル伝達因子をウェスタンブロット法により解析した。

### 【結果】

MAK 添加による GLUT4 の細胞膜局在量は、MAK の処理濃度に伴って増加した。しかし、MAK は GLUT4 mRNA および、タンパク質発現量に影響を与えなかった。さらに、2-DG の細胞内取り込み量は、MAK の処理濃度に従って増加した。また、GLUT4 膜移行メカニズムに関与するシグナル伝達因子を解析した結果、リン酸化 PI3K、Akt の増加が認められた。

### 【結論】

MAK は L6 細胞に直接的に作用し、PI3K、Akt のリン酸化を引き起こすことで PI3K/Akt シグナル伝達経路を活性化し GLUT4 の膜移行を増加させ、細胞内への糖の取り込みを促進することが明らかとなった。現在、KK-A<sup>y</sup> マウスの筋肉組織を用いて、2 種類の糖尿病治療薬の作用機序について比較・検討をし、MAK の詳細な作用メカニズムを解析中である。