

O-2

L6 細胞による霊芝菌糸体培養培地抽出物 (MAK) の GLUT4 膜移行シグナル経路の解析

Analysis of signaling pathway for translocation of GLUT4 by a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK) in L6 myotubes

○岡邑 香里¹⁾, 神内 伸也¹⁾, 岩田 直洋¹⁾, 岡崎 真理¹⁾, 鈴木 史子²⁾, 飯塚 博²⁾, 浅野 哲³⁾, 日比野 康英¹⁾

1) 城西大・薬, 2) 野田食菌工業, 3) 国際医療福祉大・薬

We have reported that long-term intake of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK) reduced hyperglycemia and enhanced glucose transporter-4 (GLUT4) translocation to the plasma membrane in skeletal muscles in KK-*A^y* mice, a type 2 diabetic animal model with obesity. However, the mechanism of the GLUT4 translocation is not clear. In this study, we examined the mechanism of MAK-induced GLUT4 translocation in L6 myotubes. MAK increased the glucose uptake in a dose-dependent manner and enhanced GLUT4 protein content in the plasma membrane. Moreover, MAK induced the phosphorylation of phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K), Akt and acetyl-CoA carboxylase (ACC), and increased the mRNA expression level of PPAR γ . These results indicate that hypoglycemic effect of MAK may be due to enhancement of glucose uptake through GLUT4 translocation to the plasma membrane by activating PI3K/Akt pathway and improving insulin resistant.

【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^y*) マウスの長期摂取により血糖上昇抑制作用を示し、その一因が筋肉及び脂肪組織でのグルコーストランスポーター4 (GLUT4) の膜移行の亢進と、それに伴う糖取り込みの亢進であることが明らかとなっている。本研究ではラット骨格筋由来培養細胞 (L6 細胞) を用いて、MAK による GLUT4 膜移行メカニズムの検討を行った。

【方法】

培養液中に MAK (0.01, 1, 100 μ g/mL: 24 h)、Insulin (1 μ M: 30 min)、Troglitazone (10 μ M: 30 min) を添加し、L6 細胞でのグルコース取り込み量を [³H]2-Deoxy-D-glucose (2-DG) により解析した。続いて、細胞中の GLUT4 発現量および細胞膜存在量を蛍光免疫染色法と Western blot 法により、また、GLUT4 の mRNA 発現量を Real Time RT-PCR 法により検討した。さらに、GLUT4 の膜移行に関与するシグナル伝達因子を Western blot 法、Real Time RT-PCR 法により解析した。

【結果】

細胞への 2-DG 取り込み量は、未処理群と比較して Insulin、Troglitazone 群で増加し、さらに MAK 群においても濃度依存的に増加した。また、GLUT4 の mRNA およびタンパク質発現量はすべての群で変動はなかったが、細胞膜に存在する GLUT4 は MAK 群で濃度依存的に増加した。さらに、MAK 群では、PI3K、Akt および ACC のリン酸化の増加とともに、PPAR γ の mRNA 発現量が増加した。

【考察】

MAK は L6 細胞に直接作用し、PI3K/Akt シグナル伝達経路の活性化、インスリン抵抗性改善に関与する ACC の活性抑制や PPAR γ の活性化により、GLUT4 の細胞膜への移行を増加させ、筋肉細胞内への糖の取り込みを亢進することによって血糖の上昇を抑制することが明らかになった。