

# イヌのグルコース輸送体4(GluT4)の分子構造と組織発現

## *Molecular structure and distribution of canine glucose transporter 4 (GluT4)*

落合 秀治<sup>1\*</sup>, 吉村 彰紘<sup>1</sup>, 印牧 信行<sup>2</sup>, 佐藤 礼一郎<sup>3</sup>, 恩田 賢<sup>3</sup>

<sup>1</sup>麻布大学 生物科学総合研究所, <sup>2</sup>獣医学部附属動物病院, <sup>3</sup>獣医学部内科学第三研究室  
〒252-5201 神奈川県相模原市中央区淵野辺1-17-71 麻布大学生物科学総合研究所

Hideharu Ochiai<sup>1</sup>, Akihiro Yoshimura<sup>1</sup>, Nobuyuki Kanemaki<sup>2</sup>, Reiichiro Sato<sup>3</sup>, Ken Onda<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Biosciences, <sup>2</sup>Animal Teaching Hospital, <sup>3</sup>Laboratory of Internal Medicine 3, Azabu University, School of Veterinary Medicine, 1-17-71 Fuchinobe, Chuo-ku, Sagami-hara, Kanagawa 252-5201, Japan

**Abstract:** Molecular structure and distribution of canine glucose transporter 4 (GluT4) were investigated. Canine GluT4 was consisted of 1637 nucleotides encoding 510 amino acids, which is one amino acid longer than human and mouse. Canine GluT4 exhibited 95.2% and 93.7% identity to human and mouse, respectively. RT-PCR analysis indicated that its expression was confirmed in heart, skeletal muscle and lipocytes. Western blot analysis showed the molecular weight of canine GluT4 was 50kDa. Molecular structure and distribution of insulin-sensitive GluT4 will contribute to a better understanding of the patho-physiology of canine diabetes.

**要約:** イヌのグルコース輸送体4 (GluT4) の分子構造と組織発現を調べた。イヌ GLUT4 の cDNA 配列全長 1637bp であり、510 のアミノ酸から構成され、ヒトとマウスより 1 アミノ酸大きいことが明らかとなった。このアミノ酸はヒト GluT4 と 95.2%、マウス GluT4 と 93.7% の相同性を示した。RT-PCR の結果、心臓・骨格筋・脂肪組織に発現がみられた。ウェスタンブロット解析により、GluT4 タンパクは 50kDa の質量をもつことが示された。イヌのインシュリン感受性グルコース輸送体4の構造が判明したことにより、イヌの糖尿病の病態生化学の理解に寄与するものと考えられる。

## 緒言

近年、ペットの犬を飼育する環境は、大きく変化した。その一つは、犬の食生活の変化である。たとえば40年前はドッグフードを与える飼い主は少なく、人間の食事の残り物を餌として与えていることが多かったが、現在は、栄養バランスの整ったペットフードを与えるようになり、栄養の偏りが原因で病気になることも少なくなった。このような犬の飼育環境の変化は、犬の寿命を大きく延ばし、7歳を越す高齢犬の割合は増加した。一方、この変化は、慢性的な運動不足やエサの与えすぎによって、肥満体型の犬を増やすことにもつながった。7歳を越す高齢犬は、個体の代謝

能力が大きく低下し、肥満になりやすいという報告がある。そのため、肥満体型の犬が増え、それに伴う糖尿病や心不全など、さまざまな生活習慣病にかかる犬の数も同様に増加している。このような、飼育環境の変化や高齢犬の増加などの背景があり、肥満と糖尿病の関連や発症メカニズムを解明する研究が、今重視されている。

糖尿病は、インスリンの作用不足のため、糖代謝の異常が起こる疾患であり、持続的な高血糖と耐糖能の低下が、その特徴である。長期の糖尿病では、血中の糖による体内タンパク質への修飾作用が起こり、細小血管症やニューロパシー、動脈硬化症などの合併症を引き起こす。また、タンパク質の合成阻害や脂質代謝

の異常なども起こる。体内の多くの細胞は、グルコースを自発的に取り込むことができず、膵臓から分泌されるインスリンの働きによって、取り込みが支配されている。インスリンは、食事後の血糖値の上昇に反応して分泌される内分泌ホルモンである。細胞膜上のインスリン受容体にインスリンが結合し、細胞内部に情報が伝達されることで、グルコース輸送体は膜表面に浮上し、細胞内にグルコースが取り込めるようになる。また、インスリン受容体からの細胞内情報伝達によって、グリコーゲンの合成促進や細胞の成長、細胞分裂の促進などの働きも起こる。糖尿病は、その発生とインスリン分泌の関係によって、大きく2つの型に分類される。インスリン依存性の1型、インスリン非依存性の2型である。1型糖尿病は、膵臓の $\beta$ 細胞の障害によってインスリンの分泌が低下して起こる。これは、抗ランゲルハンス島抗体の産生によって選択的に $\alpha$ 細胞が破壊される、遺伝的な疾患である。また、2型糖尿病も、個体の遺伝的素因が強く関与しており、インスリン抵抗性が先天的に高い個体に、インスリン分泌の増加という後天的な要因が合わさって、発症にいたる。個体の肥満によって、発症の可能性が高まる糖尿病は、2型であり、生活習慣病としての糖尿病もこれに分類される。肥満によって、インスリン抵抗性の増加が起こる機序はさまざまであるが、インスリン受容体の発現の減少やインスリンの結合親和性が下がることが主にあげられる。また、グルコース輸送体の数の減少やその活性の低下など、インスリン受容体の作用以降の障害の関与も示唆されている。

グルコースは、ほとんどすべての細胞の代謝に不可欠な栄養素である。食事によって摂取された炭水化物は、単糖のグルコースに分解後、小腸で吸収される。グルコース分子は極性を持つため、細胞膜を通過するのに、特定の膜輸送タンパクが必要である。また、細胞内部のグルコースは細胞外への拡散を防ぐため、リン酸化されたグルコース-6-リン酸の形で維持されている。細胞内部へのグルコースの輸送は、能動輸送と受動輸送の大きく2つに分かれる。能動輸送は、 $\text{Na}^+$ 依存性グルコース共輸送体 (GluT) の働きであり、小腸や腎臓でのグルコースの移動を行う[6]。GluTは、12回膜貫通型の膜内在タンパクで、結合部位にグルコースが結合するとタンパク構造の変化が起こり、グルコースを細胞膜の内部に放出する働きがある。これ

までの研究で、GluTのアイソフォームは、13種類同定されており、それぞれのアイソフォームは、組織の発現パターン、基質特異性、輸送速度の違いなどの生理学的な特性が異なる[11]。インスリンの作用によって細胞膜表面に出現するグルコース輸送体は、GluT1とGluT4である[13]。GluT1は、血中のインスリン濃度が高い時、積極的に膜表面に発現するが、インスリン濃度が低い状態でも持続的に発現している。そのため、細胞の最低限の生命維持に必要なグルコースを、常に確保するための輸送体として働く。一方GluT4は、インスリンの作用によってのみ、発現を開始する輸送体である。GluT4は、脂肪細胞、骨格筋、心筋に多く発現が確認される。GluT4は、個体全体の運動に必要なエネルギーを生み出すなど、大量のグルコースの移動に関わる輸送体である。そのため、GluT4の発現の有無が、血液中のグルコース濃度の高低に深く関与する。

最近の研究で、糖尿病だけでなく、加齢や肥満によって心筋細胞のGluT4の発現が減少することが報告されている[1]。心筋の糖質代謝異常は、心筋梗塞などの疾患を発症する要因となる[9]。また、糖尿病罹患マウスを使った実験では、成長期の長骨のGluT4の発現が減少し、骨格の形成異常をきたすことも報告されている[7]。本研究ではイヌのGluT4に着目して、その分子構造の解明と組織内の分布の解析を行った。

## 材料と方法

### 1. イヌ GluT4 cDNA 塩基配列の決定

イヌの各組織からIsogen (ニッポンジーン) を用いて、RNAを抽出した。DNase I Amplification Grade (Invitrogen) を用いて、抽出したRNA溶液をDNaseにより混入ゲノムDNAの影響を除外した。SuperScript First-Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen) を用いて逆転写反応を行った。ヒトおよびマウスのGluT4の保存領域の塩基配列からプライマーをデザインした。イヌ骨格筋cDNAを鋳型にして、TaKaRa Ex Taq<sup>TM</sup> Hot Start Version (Takara Bio) を用いてPCRを行った。PCR産物を、2%アガロースゲルで電気泳動し、Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega) を用いて精製し、その塩基配列を直接シーケンスPCRを行った (BigDye

Terminator Ready Reaction Mix ver.3.1, ABI)。イヌ GLUT4の5'および3'末端のcDNAを決定するために、SMARTer™ RACE cDNA Amplification Kit (Clontech)を用いてRapid Amplification of cDNA End (RACE)を行った。

## 2. RT-PCRによるイヌ GluT4の検出

様々なイヌの組織(小脳・気管・腎臓・肝臓・肺・脾臓・唾液腺・膵臓・精巣・心臓・膀胱・筋肉)におけるイヌ GLUT4mRNAの発現を調べるため、TaKaRa Ex Taq™ Hot Start Version (タカラバイオ)を使用し、設計したGluT4プライマーを用いてRT-PCRを行った。PCR条件は94℃ 15秒間, 58℃ 30秒間, 72℃ 60秒間の反応条件を30サイクルとした。GAPDHをターゲットにしたRT-PCRも同じ反応条件で行った。

## 3. Western blotによる GluT4の検出

イヌ GLUT4のC末端の14アミノ酸残基(STELDYLGPDDEND)に対する抗ペプチド抗体を作製した。すなわち、このペプチドのN末端にC(システイン)を付加し、keyhole limpet hemocyanin(オペロン社)に結合させ、これをウサギに免疫して、抗体血清を得た。さらに、このペプチドを結合させたペプチドカラムによりアフィニティカラムクロマトグラフィにより、イヌ GluT4の抗ペプチド抗体を精製した。

各組織の膜タンパク質を12%ポリアクリルアミドゲルに電気泳動し、転写後、一次抗体を5000倍希釈して4℃一晩処理した。洗浄後、二次抗体(anti-rabbit IgG (H+L) goat IgG Fab' HRP, 生化学工業)を20,000倍希釈したもので室温1時間処理し、洗浄後、ECL (GE Healthcare)により、化学発光させ、X線フィルムに、露光させた。

## 結 果

イヌ GLUT4のcDNA配列全長1637bpであり、510のアミノ酸から構成され、ヒトとマウスより1アミノ酸大きいことが明らかとなった(Fig. 1)。また、このアミノ酸はヒト GluT4と95.2%、マウス GluT4と93.7%の相同性を示した(Fig. 2)。イヌの様々な組織中のイヌ GluT4のRT-PCRの結果を示した。心臓・

骨格筋・脂肪組織でGluT4の発現が報告されているが、報告通り上記3つの組織のみに発現がみられた(Fig. 3)。ウェスタンブロット解析により、心臓・骨格筋・脂肪組織でGluT4の50kDaのシグナルが観察された(Fig. 4)。また、心筋と脂肪に50kDaより大きな60kDaのところにシグナルが確認された。

## 考 察

本研究で犬 GluT4のcDNA全塩基配列を決定し、RT-PCRによって組織特異的にGluT4タンパクが発現していることを確認した。犬 GluT4のcDNA配列の全長は1637bpであり、510のアミノ酸から構成されることが明らかになった。また、このアミノ酸構成はヒト GluT4およびマウス GluT4と高い相同性を示した。これまでの報告で、犬 GluT4は骨格筋・心筋・脂肪組織で発現が確認されているが、今回のRT-PCRでも、骨格筋・心筋・脂肪組織に発現が認められ、調べた小脳・気管・腎臓・肝臓・肺・脾臓・唾液腺・膵臓・精巣・膀胱では発現が確認できなかった。また、Western blotで組織膜タンパク質を電気泳動したところ、骨格筋・心筋・脂肪組織にGluT4の発現が認められた。

また、GluT4にある糖鎖付加部位が、GluT4の発現の数や時間に関与している、と指摘する研究もある[5]。一般に、輸送体の細胞内の移動や膜表面への発現のタイミングは、輸送体タンパク質に付与された糖鎖の違いによって管理される[4]。GLUT4を発現する細胞に、インスリン刺激がない状態では、GluT4は細胞内の小胞の中に存在し維持されている。細胞膜のインスリン受容体にインスリンが結合することで、細胞内に情報伝達が起こり、GluT4が細胞膜に移動して、血液中のグルコースが細胞内へ取り込まれる。GluT4にはN型の糖鎖が付与されており、これがインスリン刺激による細胞内情報伝達とGluT4の発現に関与することが報告されている[5]。すなわち、N型糖鎖の付加されたGluT4は、付与されていないGluT4よりも長く細胞膜上にとどまる。骨格筋では、インスリン非依存的にGLUT4が細胞膜表面に発現する機序について、徐々に解明されている。運動によって骨格筋を動かすと、細胞内のAMPキナーゼが活性化し、GluT4が発現してグルコースの取り込みが開始され

```

1  CAGTCGCCTCCCTGTTAACCOCGGTCCCTCGGCATCGGGTCCCTAAGACAAGATGCCGTCGGGCTTCAGCAGATCGGCTCGGAAGACGGGGAACCCOCT 100
      M P S G F Q Q I G S E D G E P P
101 CAGCAGCGAGTCACTGGGACCOCTGGTCCCTTGCCGTGTTCTCTGCTGTGCTCGGCTCCGTCAGTITGGCTATAACATCGGAGTCATTAATGCCACACAGA 200
      Q Q R V T G T L V L A V F S A V L G S L Q F G Y N I G V I N A P Q K
201 AGGTGATTGAACAGAGCTACAATGAGACATGGCTGGGAGGAGGGGGCCCGAGGGCCAGCTCCATCCACCGGACCCCTCACCCTCTCTGGGCTCT 300
      V I E Q S Y N E T W L G R Q G P Q G P S S I P P G T L T T L W A L
301 CTCAGTGGCCATCTTTCTGTGGGTGGGATGATCTCTCTCTCTCCTCCTTGGCATCACTCTCAGTGGCTGGGAAGGAAGGGCAATGGTGGTCAACAC 400
      S V A I F S V G G M I S S F L I G I I S Q W L G R R R A M L V N N
401 GTCCTGGGCTGCTGGGGGGTCCCTCATGGGCTGGCCATGCTGCTGCTCTACGAGATGCTCAITCTTGCGGGTCTCCTATTGGGCTACTCAG 500
      V L A V L G G A L M G L A H A A A S Y E M L I L G R F L I G A Y S G
501 GGCTCACATCGGGGCTGGTCCCATGTACCTGGGAGATCCOCCCACTCACCTGCGGGGCGCTTGGGACACTCAACCACTGGCCATCCTCATGG 600
      L T S G L V P M Y V G E I A F T H L R G A L G T L N Q L A I V I G
601 CATTCTGATCGCCAGGTGCTGGGCTTAGAGTCCATGCTGGGCACTACCACTCCATGGCCACTCTCTCTGGCATCACAGTGTGCTGCTGCTCCTGCGAG 700
      I L I A Q V L G L E S M L G T T T L W P L L L G I T V L P A L L Q
701 CTGGTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 800
      L V L L P F C P E S P R Y L Y I I R N L E G P A R K S L K R L T G W
801 GGGCTGATGATCTGGGCACTGGCTGAGCTGAAGGAGGAGAGCGGAAGCTGGAGCGGAGCGGCGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 900
      A D V S G A L A E L K E E K R K L E R E R P L S L L Q L L G S R T
901 CCACCGGACGCTCTGCTCATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 1000
      H R Q P L V I A V V L Q L S Q Q L S G I N A V F Y Y S T S I F E T
1001 GCAGGGGTCGGGCGAGCCAGCTATGCGACCATAGGAGCTGGTGGTCAACACAGTCTTCACTTGGTCTCGGTGCTCCTGGTGGAGGGGCTGGGCGT 1100
      A G V G Q P A Y A T I G A G V V N T V F T L V S V F L V E R A G R R
1101 GGACTCCTATCTCTGCTGGCCTGGCAGGATGTGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 1200
      T L H L L G L A G M C G C A I L M T I A L L L E R L P A M S Y V
1201 CTCATCGTGGCCTCTTGGCTTTGGGCTCTTTGAGATTGGCCAGCCCACTCCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 1300
      S I V A I F G F V A F F E I G P G P I P W F I V A E L F S Q G P R
1301 CCAGCGCCATGGCGCTGGCTGGCTTCTGCAACTGGACAAGCACTTCATCATTGGCATGGGTTTCCAGTATATCGCGGAGGCATGGGCGCTATGCT 1400
      P A A M A V A C A G F C N W T S N F I I G M G F Q Y I A E A M G P Y V F
1401 TCTTCTGCTGGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 1500
      L L F A V L L L A F F I T T F L K V P E T R G R T F D Q I S A D F
1501 CCGCGGACACCCTCTCTTAGAGCAGGAGTGAAGCCAGCAGCACTGATCTACTAGACCTGACGACGAGAAATGACTGAGGGCCAGGGCAGGG 1600
      R R T P S L E Q E V K P S T E L D Y L G P D D E N D *
1601 TGGGAGGCTATGCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 1637

```

Figure 1. 本実験で決定したイヌ GLUT4 の cDNA 全塩基配列とアミノ酸配列。アスタリスクは終止コドン。

```

dGluT4 AA 1:MPSGFQQIGSEDEGPEPPQQRVTGTLVAVFSAVLSLQFGYNIQVINAPQKRVIEQSYNETWLRQGPQGPSSIPPGLTTLWALSVAIFSVGGMISFLIG 100
hGluT4 AA 1:MPSGFQQIGSEDEGPEPPQQRVTGTLVAVFSAVLSLQFGYNIQVINAPQKRVIEQSYNETWLRQGPQGPSSIPPGLTTLWALSVAIFSVGGMISFLIG 100
mGluT4 AA 1:MPSGFQQIGSDDEGPEPPQQRVTGTLVAVFSAVLSLQFGYNIQVINAPQKRVIEQSYNETWLRQGPQGPSSIPPGLTTLWALSVAIFSVGGMISFLIG 100
      ***** .....
dGluT4 AA 101:IIISQWLGRKRAMLVNVLAVLGGALMGLAHAASAYEMLILGRFLIGAYSGLTSLVEMVYVEIAPTHLRGALGTLNQLAIVIGILIAQVGLGESLGT 200
hGluT4 AA 101:IIISQWLGRKRAMLVNVLAVLGGALMGLAHAASAYEMLILGRFLIGAYSGLTSLVEMVYVEIAPTHLRGALGTLNQLAIVIGILIAQVGLGESLGT 200
mGluT4 AA 101:IIISQWLGRKRAMLVNVLAVLGGALMGLAHAASAYEMLILGRFLIGAYSGLTSLVEMVYVEIAPTHLRGALGTLNQLAIVIGILIAQVGLGESLGT 200
      ***** .....
dGluT4 AA 201:LWELLGLITVLPALLQLVLLPFCPEPRYLVIIRNLEGPARKSLKRLTGWADVSGALAELEKKEKRLERERPLSLLQLLSRTRHRQPLVIAVVLQLSQQL 300
hGluT4 AA 201:LWELLGLITVLPALLQLVLLPFCPEPRYLVIIRNLEGPARKSLKRLTGWADVSGVLAELKDEKRLERERPLSLLQLLSRTRHRQPLVIAVVLQLSQQL 300
mGluT4 AA 201:LWELLGLITVLPALLQLVLLPFCPEPRYLVIIRNLEGPARKSLKRLTGWADVSDALAELEKDEKRLERERPLSLLQLLSRTRHRQPLVIAVVLQLSQQL 300
      ***** .....
dGluT4 AA 301:SGINAVFYYSSTSIFFETAGVGPAYATIGAGVNTVFTLVSVLVERAGRRLHLLGLAGMCGCAILMTIALLLLERLPAMSYVSIIVIFGVAFPEIGP 400
hGluT4 AA 301:SGINAVFYYSSTSIFFETAGVGPAYATIGAGVNTVFTLVSVLVERAGRRLHLLGLAGMCGCAILMTIALLLLERLPAMSYVSIIVIFGVAFPEIGP 400
mGluT4 AA 301:SGINAVFYYSSTSIFFESAGVGPAYATIGAGVNTVFTLVSVLVERAGRRLHLLGLAGMCGCAILMTIALLLLERLPAMSYVSIIVIFGVAFPEIGP 400
      ***** .....
dGluT4 AA 401:PIFWFIVAEFLSQGPRPAAAVAGFCNWTNFIIGMGFYVAEAMGYPVFLFAVLLLAFPIFTFLKVPETRGRTFDQISADFRRTPSLLQEVKPSSTEL 500
hGluT4 AA 401:PIFWFIVAEFLSQGPRPAAAVAGFSCNWTNFIIGMGFYVAEAMGYPVFLFAVLLLAFPIFTFLKVPETRGRTFDQISADFRRTPSLLQEVKPSSTEL 500
mGluT4 AA 401:PIFWFIVAEFLSQGPRPAAAVAGFSCNWTNFIIGMGFYVAEAMGYPVFLFAVLLLAFPIFTFLKVPETRGRTFDQISADFRRTPSLLQEVKPSSTEL 500
      ***** .....
dGluT4 AA 501:DYLGPDDEND 510
hGluT4 AA 501:EYLGPDDEND- 509
mGluT4 AA 501:EYLGPDDEND- 509
      *****

```

Figure 2. イヌ GLUT4 のアミノ酸配列とヒト GLUT4 およびマウス GLUT4 のアミノ酸配列との比較。同一の残基と同類置換をそれぞれアスタリスクとドットで示した。

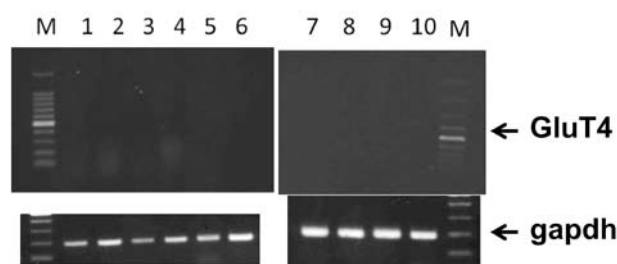


Figure 3. GluT4 の RT-PCR 解析 A: 1. 小脳 2. 気管  
3. 腎臓 4. 肝臓 5. 肺 6. 脾臓 7. 唾液腺  
8. 膵臓 9. 精巣 10. 膀胱 M は 100bp の分子  
重量マーカー。B: 1. 脂肪 2. 筋

る[12]。このような運動によるインスリン非依存的な GluT4 の発現作用は、運動療法として現在の糖尿病の治療に取り入れられている[2]。特に食事後の血糖値の急激な上昇を抑えるため、食後の運動で、インスリン感受性の低い患者が血糖値をコントロールできるようになる。また、運動しなくても運動と同じような GluT4 の発現効果を得るため、GluT4 の産生を促す転写因子を活性化する薬の開発も行われている[8]。また、脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンも、インスリンの作用と似た働きを示す[14]。アディポネクチンが、骨格筋細胞の受容体に結合すると、GluT4 を細胞膜上に移動させ、グルコースを細胞内に取り込む作用がある[3]。このような、インスリンやアディポネクチンと血糖値変動の関連性は、2型糖尿病の発生に、GLUT4 が大きく関与している可能性を示す。脂肪細胞は、細胞内に脂質を多くため込むと、アディポネクチンの分泌が抑制される。アディポネクチンはインスリン感受性を上げる物質であり、肥満でアディポネクチンの分泌が減少すると、糖尿病に罹るリスクが高まる[10]。

本研究でイヌ GLUT4 の分子構造と組織分布が明らかになった。今後、抗イヌ GluT4 抗体を用いて、イ



Figure 4. GluT4 の Western blot 解析 1. 腎臓 2. 肝臓  
3. 心臓 4. 膵臓 5. 大脳 6. 筋 7. 脂肪

ヌの GluT4 のインスリンおよびアディポネクチンによる脂肪細胞、筋細胞での局在の変化の詳細を調べたい。

#### 引用文献

1. Ware, B., Bevier, M., Nishijima, Y. Rogers, S., Carnes, C.A. and Lacombe, V.A. Chronic heart failure selectively induces regional heterogeneity of insulin-responsive glucose transporters. *Am. J. Physiol.* **301**, R1300-1306. (2011).
2. Colberg S.R., Sigal, R.J., Fernhall, B., Regensteiner, J.G., Blissmer, B.J., Rubin, R. R., Chasan-Taber, L., Albright, A. L. and Braun, B. Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association : joint position statement. *Diabetes Care.* **33**, 147-167. (2010).
3. Guo, Z., Zheng, C., Qin, Z. and Wei, P. Effect of telmisartan on the expression of cardiac adiponectin and its receptor 1 in type 2 diabetic rats. *J. Pharm. Pharmacol.* **63**, 87-94. (2011).
4. Haga, Y., Ishii, K., Hibino, K., Sako, Y., Ito, Y., Taniguchi, N. and Suzuki, T. Visualizing specific protein glycoforms by transmembrane fluorescence resonance energy transfer. *Nat. Commun.* **3**, 907. (2012).
5. Haga, Y., Ishii, K. and Suzuki, T. N-Glycosylation Is Critical for the Stability and Intracellular Trafficking of Glucose Transporter GLUT4. *J. Biol. Chem.* **286**, 31320-31327. (2011).
6. Hediger, M. and Rhoads, D. Molecular physiology of sodium-glucose cotransporters. *Physiol. Rev.* **74**, 993-1026. (1994).
7. Maor, G., Vasiliver-Shamis, G., Hazan-Brill, R., Wertheimer, E. and Karnieli, E. GLUT4 in murine bone growth: from uptake and translocation to proliferation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **300**, E613-623. (2011).
8. Natali, A. and Ferrannini, E. Effects of metformin and thiazolidinediones on suppression of hepatic glucose

- production and stimulation of glucose uptake in type 2 diabetes. *Diabetologia*. **49**, 434-441. (2006).
9. Russell, R.R., Yin, R., Caplan, M.J., Hu, X., Ren, J., Shulman, G.I., Sinusas, A.J. and Young, L.H. Additive Effects of Hyperinsulinemia and Ischemia on Myocardial GLUT1 and GLUT4 Translocation In Vivo. *Circulation* **98**, 2180-2186. (1998).
  10. Walker, G.E., Marzullo, P., Prodam, F., Bona, G. and Di Blasio A.M. Obesity modifies expression profiles of metabolic markers in superficial and deep subcutaneous abdominal adipose tissue depots. *Endocrine*. **46**, 99-106. (2014).
  11. Walmsley, A.R., Barrett, M.P., Bringaud, F. and Gould, G.W. Sugar transporters from bacteria, parasites and mammals: structure-activity relationships. *Trends. Biochem. Sci.* **23**, 476-481. (1998).
  12. Witczak, C.A., Sharoff, C.G. and Goodyear, L.J. AMP-activated protein kinase in skeletal muscle : from structure and localization to its role as a master regulator of cellular metabolism. *Cell Mol. Life Sci.* **65**, 3737-3755. (2008).
  13. Young, L.H., Renfu, Y., Russell, R, Hu, X, Caplan, M, Ren, J., Shulman G.I. and Sinusas A.J. Low-flow ischemia leads to translocation of canine heart GLUT-4 and GLUT-1 glucose transporters to the sarcolemma in vivo. *Circulation* **95**, 415-422. (1997).
  14. Guo, Z., Zhang, R., Li, J. and Xu, G. Effect of telmisartan on the expression of adiponectin receptors and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase in the heart and aorta in type 2 diabetic rats. *Cardiovascular Diabetology* **11**, 1186-1194. (2012).