

## ケトン体の筋芽細胞の分化促進作用 ～ ケトジェニックダイエットモデルを用いた作用メカニズムの解明 ～

乗鞍 敏夫<sup>1)\*</sup> 小貫 勇司<sup>1)</sup>

1) 青森県立保健大学 栄養学科

Key Words ① ケトン体 ② オキサロ酢酸 ③ 筋芽細胞

### I. はじめに

骨格筋は、損傷と再生のサイクルを絶えず繰り返すことで筋量を維持している。このサイクルのバランスが崩れると、筋量および筋機能が低下し、さまざまな疾患を引き起こす。超高齢社会においては、加齢や低栄養に起因するサルコペニアが大きな問題となっている。サルコペニアは、筋芽細胞の分化能の低下や筋形成の阻害に起因することが知られている(図1)。

ケトジェニックダイエットとは、糖質(炭水化物)の摂取を極端に制限し、その代替エネルギーとして脂質を利用する食事法であり、体重減少を目的としたダイエット法として広く認知されている。血中ケトン体濃度の上昇は、ケトジェニックダイエットのみならず、飢餓状態、過度のダイエット、糖尿病などにも共通する生理的特徴であり(図2)、一般には望ましくない状態と見なされることが多い。

栄養性ケトosisとは、主に低炭水化物食により血中ケトン体濃度が最大5 mMまで上昇した状態を指し、pHの変化を伴わない生理的な栄養状態である(Nasser S, world J Diabetes, 2020)。近年では、ケトン体サプリメントの摂取により、低炭水化物食のような極端な食事制限を行わなくても栄養性ケトosisを達成することが可能となった。さらに、アスリートを対象とした介入研究では、ケトン体を含有する飲料の摂取により筋パフォーマンスの向上が報告されており、その効果に対するケトン体の関与が示唆されている(Naoki H, Med Sci Sports Exerc, 2023)。しかし、その作用メカニズムはいまだ十分に解明されていない。

これまでの培養細胞を用いた実験では、高濃度のグルコースやアミノ酸を含む培地が使用されており、生理的な栄養状態とは異なる条件下で行われてきた(Manabe Y, Anal Biochem, 2016)。そのため、高血糖状態を伴うケトosisに関する医学的研究は進展しているものの、高血糖状態を伴わない栄養性ケトosisに関する栄養学的知見は、いまだ十分に得られていない。

### II. 目的

本研究は、申請者らが一昨年度に構築したケトジェニックダイエットモデルを用いて、ケトン体の筋芽細胞の分化における作用メカニズムを明らかにすることを目的とする。

### III. 研究方法

1. 培養条件 疎水性メンブレンを装着したフラスコを用いたケトジェニックダイエットモデル(一昨年度のHP戦略研究の採択課題の成果)により、ラット由来の筋芽細胞(L6細胞)を本培養(4日間)した。

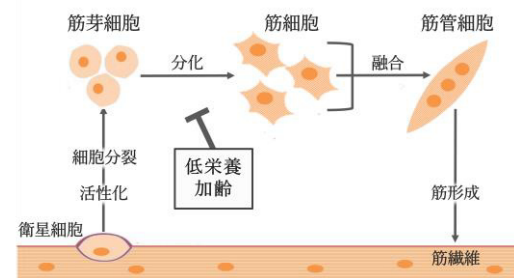


図1. 筋芽細胞の分化と筋形成

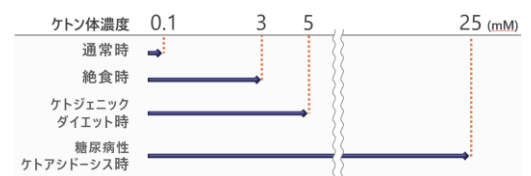


図2. ケトン体の血中濃度の変化

2. リアルタイム PCR 分化誘導培地で 4 日間培養した細胞から抽出した mRNA を逆転写反応で cDNA を合成した後、リアルタイム PCR 法により遺伝子発現量を相対定量 ( $\Delta\Delta Ct$  法) した。
3. ミトコンドリア DNA のコピー数 分化誘導培地で 48 時間培養した細胞から抽出した DNA をリアルタイム PCR 法によりミトコンドリア DNA とゲノム DNA の相対定量 ( $\Delta\Delta Ct$  法) することでミトコンドリア DNA コピー数を測定した。
4. ATP 含量の測定 CellTiter-Glo 2 キットを用いたルシフェラーゼ法による測定した。
5. タンパク質の定量 細胞から抽出したタンパク質をウェスタンブロッティング法により相対定量した。
6. 統計解析 一元配置の分散分析および Tukey-Kramer 法により群間の平均値の差を評価した

#### IV. 結果・考察

オキサロ酢酸は、ラット由来の筋芽細胞 (L6 細胞) において、ミトコンドリア DNA のコピー数 (図 3-A)、ATP 含量 (図 3-B)、ミトコンドリア生合成の指標である Cs の mRNA 発現量 (図 3-C) およびタンパク質発現量 (図 3-D) を有意に増加させた。一方、ケトン体 (KB) は、リン酸化 AKT の発現量を有意に増加させた (図 3-E)。本研究では、ケトン体とオキサロ酢酸が異なるメカニズムを介して筋芽細胞の分化を相乗的に促進することを明らかにした (表 1)。

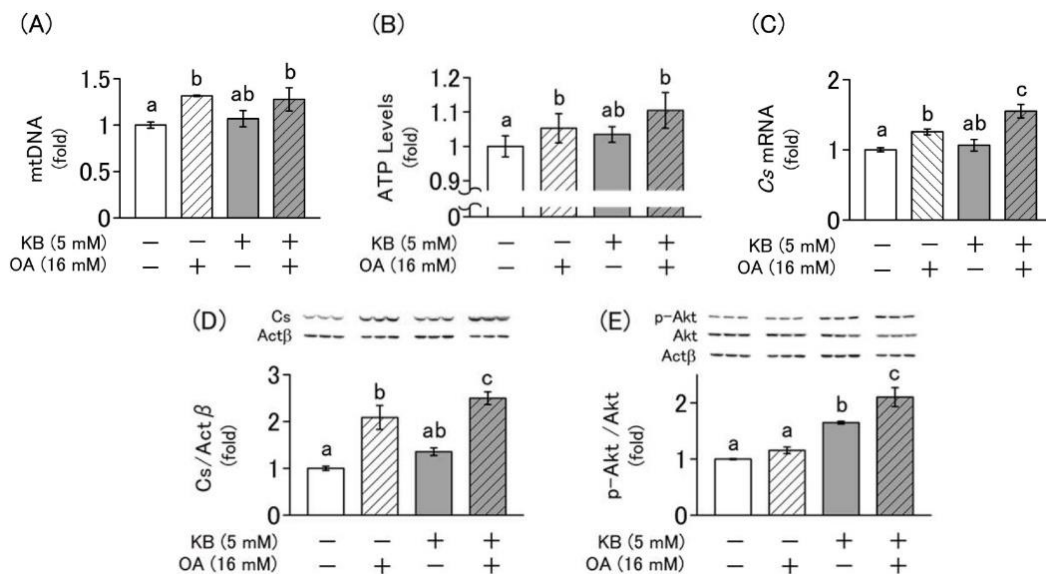


図 3 ケトン体とオキサロ酢酸の筋芽細胞の分化に及ぼす作用メカニズム

表 1 ケトン体とオキサロ酢酸の筋芽細胞に及ぼす作用メカニズムのまとめ

測定対象	ケトン体	オキサロ酢酸	ケトン体 + オキサロ酢酸
筋分化 (Lmod2, Ckm)	↑	↑	↑↑↑
ミトコンドリアDNAコピー数	—	↑	↑
ミトコンドリア生合成(Cs)	—	↑	↑↑↑
ATP	—	↑	↑↑
P-Akt	↑	—	↑↑

## V. 結論

栄養性ケトosisは、人を対象とした介入研究において、アスリートの筋パフォーマンス向上などの効果が明らかになりつつある。しかし、その詳しい作用メカニズムや、高齢者におけるサルコペニア予防への応用については未解明の部分が多い。サルコペニアの進行には、筋芽細胞の分化阻害が関与している。よって、栄養性ケトosisの状態においてオキサロ酢酸を補給することで、糖新生の基質として低血糖予防に寄与するだけでなく、筋形成をさらに促進する可能性が示唆された。本研究の結果は、栄養性ケトosisによる筋形成の促進を安全かつ効果的に実現するための新たな戦略として、オキサロ酢酸の併用が有効であることを示唆している。

## VI. 発表（採択年度から過去2年間）

### 学術集会での発表

- ① 小貫勇司, 小林幸来乃, 福士果梨, 小山 萌花, 佐々木祐太郎, 小島明子, 乗鞍敏夫, ケトン体とオキサロ酢酸の筋細胞における生理作用 ～ケトジェニックダイエットモデルを用いて～, 令和6年度 青森県栄養士会 栄養学術研究会, 口頭発表, 2024年5月
- ② 小貫勇司, 福士果梨, 小林幸来乃, 小山萌花, 乗鞍敏夫, 筋芽細胞の分化におけるケトン体とオキサロ酢酸の生理作用, 第71回 日本栄養改善学会学術総会, 口頭発表, 2024年9月
- ③ 乗鞍敏夫, 小山萌花, 小林幸来乃, 福士果梨, 小貫勇司, 筋分化におけるケト酸の生理作用, 第71回 日本栄養改善学会学術総会, ポスター発表, 2024年9月
- ④ 小貫勇司, 乗鞍敏夫, 筋芽細胞の分化におけるケトン体とオキサロ酢酸の生理作用, 2024年度青森県保健医療福祉研究発表会・日本ヒューマンケア科学学会第17回学術集会合同集会, ポスター発表, 2024年12月

### 論文発表（すべて、査読付き・欧文の学術雑誌・原著論文）

- ① Y. Onuki, N. Nanashima, Y. Sasaki, A. Kojima-Yuasa, T. Norikura, Oxaloacetate and Ketone Bodies Synergistically Promote Myoblast Differentiation in L6 Cells, *molecules* (Under Review)
- ② S. Koike, T. Norikura, A. Taneichi, K. Yasuda, R. Yano, Impact of the Warm Compress Method Conducted by Nurses Before Venipuncture on Blood Nitric Oxide Concentration. *Journal of Infusion Nursing*, 2025
- ③ N. Nanashima, T. Norikura, M. Nakano, C. Hata, K. Horie, Silencing of ERR $\alpha$  gene represses cell proliferation and induces apoptosis in human skin fibroblasts, *Molecular Medicine Reports*. 2024
- ④ K. Iwai, T. Norikura, Simultaneous ingestion of apple pectin enhances the absorption and antioxidant activity of quercetin in rats. *Food Science and Biotechnology*. 2024
- ⑤ Y. Yasuda, T. Tokumatsu, C. Ueda, M. Sakai, Y. Sasaki, T. Norikura, I. Matsui-Yuasa, A. Kojima-Yuasa, Ecklonia cava Polyphenols Have a Preventive Effect on Parkinson's Disease through the Activation of the Nrf2-ARE Pathway. *Nutrients*, 2024
- ⑥ T. Nakano, Y. Sasaki, T. Norikura, Y. Hosokawa, M. Kasano, I. Matsui-Yuasa, X. Huang, Y. Kobayashi, A. Kojima-Yuasa, The suppression of the differentiation of adipocytes with Mallotus furetianus is regulated through the posttranslational modifications of C/EBP $\beta$ . *Food Science & Nutrition*, 2023
- ⑦ Y. Sasaki, T. Norikura, I. Matsui-Yuasa, R. Fujii, L. Limantara, A. Kojima-Yuasa, Kaempferia galanga L. extract and its main component, ethyl p-methoxycinnamate, inhibit the proliferation of Ehrlich ascites tumor cells by suppressing TFAM expression. *Heliyon*, 2023
- ⑧ T. Norikura, Y. Sasaki, A. Kojima-Yuasa, A. Kon, Glyoxylic acid, an  $\alpha$ -keto acid metabolites derived from glycine, promotes myogenesis in C2C12 cells. *Nutrients*, 2023