

【課題番号：SHP2506】

筋形成におけるケト酸の生理作用 ～慢性腎臓病とサルコペニアの合併症の新たな食事療法にむけて～

乗鞍 敏夫^{1)*}

1) 青森県立保健大学 栄養学科

Key Words ① ケト酸 ② 慢性腎臓病 ③ サルコペニア ④ 筋芽細胞

I. はじめに

高齢者においては、慢性腎臓病とサルコペニアの合併（CKD-SP）が高頻度に認められる。しかし、CKD に対するたんぱく質摂取制限と、サルコペニアに対する積極的なたんぱく質摂取という、相反する食事療法が求められるため、その両立は極めて困難である。超高齢社会が急速に進行する我が国において、CKD-SP に適した食事療法の確立は、重要かつ喫緊の課題といえる。

ケト酸は、分子内にケトン基とカルボキシ基を有する有機酸の総称であり、生体内ではオキサロ酢酸、 α -ケトグルタル酸、ピルビン酸など、多種多様な形態で存在している。窒素を含まないケト酸は、腎機能低下時に蓄積する尿毒素（窒素化合物）へと代謝されることなく、体内で速やかにアミノ酸へと相互変換される（図1）。そのため、CKD 患者における非窒素性のアミノ酸供給源として期待されており、これまでもヒトを対象とした介入研究に用いられてきた。しかし、既存の試みはケト酸の種類や配合比率に関する学術的根拠に乏しく、特に必須アミノ酸の中でも BCAA 由来のケト酸（BCKA）に偏った配合となっている。この組成の偏りが、従来のケト酸サプリメントにおける効果を限定的なものにしている一因と考えられる。

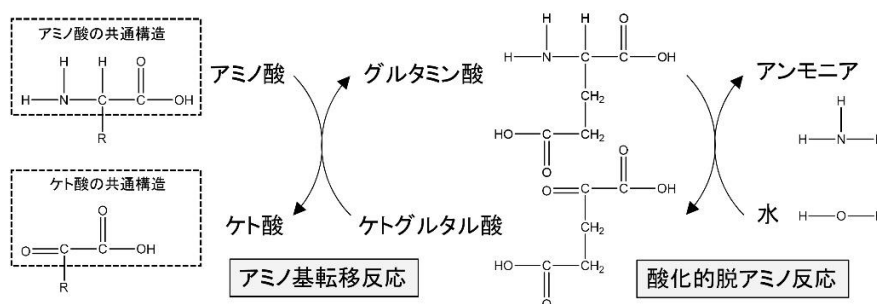


図1 ケト酸（窒素を含まない）とアミノ酸（窒素を含む）の代謝

培養細胞を用いた実験系は、得られた知見をそのままヒトへ外挿することには限界があるものの、高い再現性をもって実験を反復できるという利点がある。したがって、培養細胞を用いることで、多様なケト酸の種類や組み合わせが細胞レベルで及ぼす生理的影響を、詳細かつ網羅的に検討することが可能となる。

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その質量を維持している。しかし、この恒常性が崩れると筋量および筋機能の低下を招き、さまざまな疾患を惹起する。特にサルコペニアにおいては、筋芽細胞の分化能の減退や、細胞内のミトコンドリア含量の低下がその発症機序に深く関与していることが知られている。筋芽細胞の分化能の低下や筋細胞内のミトコンドリア含量の低下に起因することが知られている。

II. 目的

本研究は、培養細胞を用いた実験を通して、慢性腎臓病の食事療法によるたんぱく質低栄養状態を模倣した培養条件を構築し、この条件下において筋細胞の分化とミトコンドリア含量の機能維持に最適なケト酸の組成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 (図 2-C) を用いることで、従来のシャーレ(図 2-A)やフラスコ (図 2-B) の約 15 倍量の培地を用いた条件でラット由来の筋芽細胞 (L6 細胞) を培養した。培地量を増加させることで、細胞の消費による栄養素の濃度低下をゆるやかにすることができる。この培養フラスコを用いて、慢性腎臓病の食事療法によるたんぱく質低栄養状態を模倣した培養条件を検討した。
2. リアルタイム PCR 分化誘導培地で 6 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 6 日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。

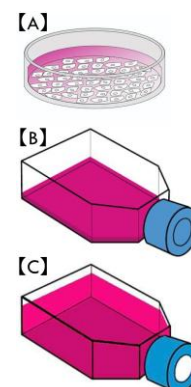


図 2 培養条件

IV. 結果・考察

アミノ酸低栄養状態 (アミノ酸 15%) において、筋芽細胞の分化の指標である *Lmod2* と *Myog* の遺伝子発現量は顕著に低下した。これらの低下は、TCA 回路関連ケト酸 (以下: T-KA) であるピルビン酸、 α -ケトグルタル酸、オキサロ酢酸の混合添加によって抑制された。一方、BCAA 由来のケト酸 (以下: BCKA) の添加は、さらにこれらの分化の指標である遺伝子発現量を顕著に低下させた (図 3-A, B)。

同様に、アミノ酸低栄養状態 (アミノ酸 15%) において、筋芽細胞のミトコンドリア含量の指標である *Tfam* と *Cs* の遺伝子発現量は顕著に低下した。これらの低下は、T-KA の添加によって抑制されたが、BCKA 添加による顕著な変化は見られなかった (図 3-C, D)。また、アミノ酸低栄養状態 (アミノ酸 15%) によるミトコンドリア DNA のコピー数の低下は、T-KA の添加によって抑制された (図 3-E)。

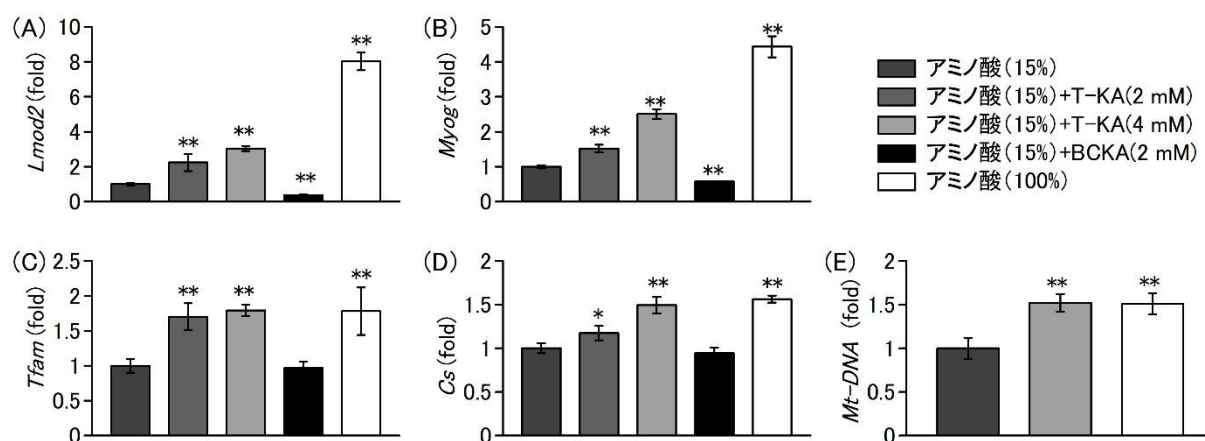


図 3 筋芽細胞の分化とミトコンドリア含量に及ぼすケト酸の生理作用

V. 結論

本研究の結果、アミノ酸低栄養状態 (15%) は筋芽細胞の分化誘導能およびミトコンドリア活性を著しく減退させるが、これらに対し TCA 回路関連ケト酸 (T-KA) と BCAA 由来ケト酸 (BCKA) は相反する作用を示すことが明らかとなった。

具体的には、低アミノ酸培地による分化指標 (*Lmod2*, *Myog*) およびミトコンドリア関連指標 (*Tfam*, *Cs*, mtDNA コピー数) の低下は、ピルビン酸や α -ケトグルタル酸、オキサロ酢酸を含む T-KA の添加によって抑制され、筋機能の維持に寄与した。一方で、既存の臨床研究でケト酸タブレットの主成分である BCKA は、ミトコンドリア指標に改善を示さないばかりか、分化指標の遺伝子発現をさらに低下させ、筋機能を低下させる可能性が示唆された。

以上の知見は、従来のヒト介入研究においてケト酸サプリメントの効果が限定的であった一因が、BCKA に偏重した配合組成にある可能性が示唆された。したがって、非必須アミノ酸由来のケト酸を適切なバランスで配合した次世代型ケト酸製剤の確立は、慢性腎臓病とサルコペニアの合併症 (CKD-SP) に対する新たな食事療法の戦略となり得ることが示唆された。

VI. 発表 (採択年度から過去 2 年間)

学術集会での発表

- ① 乗鞍敏夫, 池森大輝, 鳴海知夏, 山本実果, たんぱく質低栄養状態におけるケト酸の筋肉における生理作用, 2025 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 18 回学術集会合同集会, ポスター発表, ポスター発表, 2025 年 12 月
- ② 小貫勇司, 小林幸来乃, 福土果梨, 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
- ③ 小貫勇司, 福土果梨, 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
- ④ 乗鞍敏夫, 小山萌花, 小林幸来乃, 福土果梨, 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
- ⑤ 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
- ⑥

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*, 2025
- ② S. Nakamatsu, M. Nakata, **T. Norikura**, Y. Sasaki, I. Matsui-Yuasa, A. Omura, K. Kiyomoto, A. Kojima-Yuasa, Sesaminol Inhibits Adipogenesis by Suppressing Mitotic Clonal Expansion and Activating the Nrf2-ARE Pathway, *Nutrients*, 2025
- ③ Y. Sasaki, N. Mizushima, T. Norikura, I. Matsui-Yuasa, A. Kojima-Yuasa, Ethyl p-methoxycinnamate inhibits tumor growth by suppressing of fatty acid synthesis and depleting ATP, *Scientific reports*, 2025
- ④ 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

- ⑤ N. Nanashima, **T. Norikura**, M. Nakano, C. Hata, K. Horie, Silencing of ERR α gene represses cell proliferation and induces apoptosis in human skin fibroblasts, *Molecular Medicine Reports*. 2024
- ⑥ K. Iwai, **T. Norikura**, Simultaneous ingestion of apple pectin enhances the absorption and antioxidant activity of quercetin in rats. *Food Science and Biotechnology*. 2024
- ⑦ 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
- ⑧ 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 β . *Food Science & Nutrition*, 2023
- ⑨ 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
- ⑩ **T. Norikura**, Y. Sasaki, A. Kojima-Yuasa, A. Kon, Glyoxylic acid, an α -keto acid metabolites derived from glycine, promotes myogenesis in C2C12 cells. *Nutrients*, 2023