

ケトン体の神経細胞と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 ～

乗鞍 敏夫^{1)*}

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 神経細胞 ④ 筋芽細胞

I. はじめに

ケトジェニックダイエットとは、糖質（炭水化物）の摂取量を極端に制限し、その代替エネルギーを脂質から摂取する食事法であり、体重減少を目的としたダイエット法として認知されている。近年、ケトジェニックダイエットによる認知機能や競技能力の向上効果が報告されているが、これらの研究結果はまだ限定的であり、さらなる検証が必要である。

ケトン体の血中濃度の上昇は、ケトジェニックダイエットのみならず、飢餓状態（体重減少を目的とした過度のダイエットも含む）や糖尿病とも共通する生理的な特徴であり、一般的にあまり望ましいものではないと認識されているが、全身の機能や代謝にどのように影響（改善または悪化）しているのかは、いまだ十分に明らかにされていない。

神経細胞や骨格筋細胞の実験に用いられる培地には、グルコースとアミノ酸が豊富に（生理的な濃度を超えて）含まれているが、ケトン体は含まれていない。つまり、これらの培養細胞の実験は、ほとんどが高栄養状態で行われているため、グルコースやアミノ酸などの栄養素およびその代謝物の濃度変化が細胞の機能や代謝に与える影響を適切に評価することが難しいという課題がある。

II. 目的

本研究は、生理的な栄養状態（グルコース濃度、アミノ酸濃度）の培地にケトン体（3-ヒドロキシ酪酸、アセト酢酸）を添加したモデル（ケトジェニックダイエットモデル）を用いて、ケトン体の神経細胞と骨格筋細胞における生理作用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 1-C）を用いることで、従来のシャーレ（図 1-A）やフラスコ（図 1-B）の約 15 倍量の培地を用いた条件で培養した（前年度の HP 戦略研究の採択課題の成果）。

2. リアルタイム PCR 分化誘導培地で 48 時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。

1. 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。

IV. 結果（または「成果」等）

神経成長因子の作用により神経突起を伸展させて交感神経細胞様に分化する PC12 細胞¹⁾を神経細胞モデルとして実験に供した。本研究により、PC12 細胞の特徴（培養シャーレへの付着性が弱く、継代培養時の操作の些細な違いによって増殖速度が大きくなる）を把握することができ、

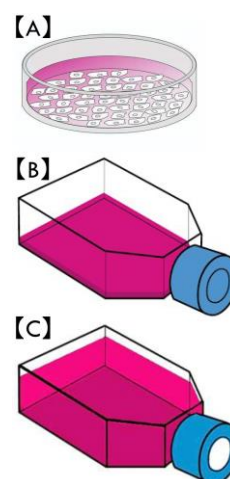


図 1 培養条件

PC12 細胞を増殖・凍結保存することができた。一方、神経成長因子およびケトン体の添加による PC12 細胞の神経突起の伸展における顕著な効果は確認できなかった。

ケトン体とオキサロ酢酸の培地への添加により、ラット由来の筋芽細胞 (L6 細胞) の分化の指標である Myf6 の mRNA 発現量 (図 2-A)、ミトコンドリア生合成の指標である Cs の mRNA 発現量 (図 2-B)、Cs のタンパク質発現量 (Data not shown)、ミトコンドリア DNA のコピー数 (図 2-C) が有意に増加した。L6 細胞の分化およびミトコンドリア生合成の指標である mRNA の発現量は、ケトン体とオキサロ酢酸の添加によって相乗的に増加した (二元配置の分散分析)。

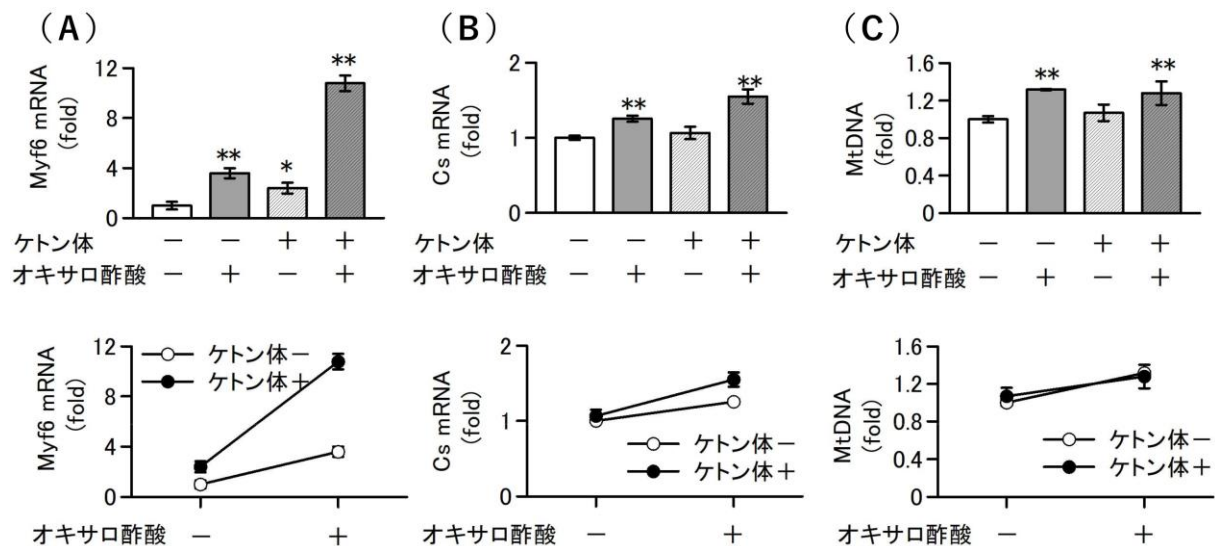


図 2 ケトン体とオキサロ酢酸の筋細胞の分化・ミトコンドリア生合成における生理作用

V. 考察

本研究において、生理的な血中濃度におけるケトン体が筋細胞の分化及びミトコンドリアの生合成を促進することを明らかにした。さらに、アミノ酸の代謝産物であるオキサロ酢酸が、ケトン体によるこれらの生理的効果を相乗的に促進することも明らかにした。

一般に、ケトン体が上昇する状況は望ましい栄養状態とは考えられていない。しかし、本研究では、そのような栄養状態が引き起こす筋肉の委縮に対して、ケトン体が拮抗作用を示し、その結果として血中濃度が上昇する可能性が示唆された。さらに、オキサロ酢酸は、インスリン分泌を促さずに血糖値を維持する作用を持ち、筋機能の維持 (筋細胞の分化とミトコンドリアの生合成に寄与) に寄与することで、低栄養状態による筋機能の低下を防ぐ栄養素であることが示唆された。

VI. 文献

- 1) Benita W. et al. PC12 Cell Line: Cell Types, Coating of Culture Vessels, Differentiation and Other Culture Conditions, Cells, 2020

VII. 発表 (誌上発表、学会発表)

- 1) **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, 15(7), 1763 【欧文誌 (I.F.=)】
- 2) 小貫勇司、**乗鞍敏夫**, ケトン体とオキサロ酢酸は筋細胞の分化およびミトコンドリアの生合成を相乗的に促進する. 2023 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 16 回学術集会合同集会【国内学会発表 (ポスター)】