

## セッション B：「健康と Well-Being」

司会：所 道彦（生科/社会福祉学/教授）

## アミノ酸栄養が遺伝情報の読み取りを制御する －骨形成を調節する未知なる仕組みの解明－

小嶋 瞳希

大阪公立大学 大学院 生活科学研究科 食栄養学分野 生体機能学

### 要旨 (Abstract)

アミノ酸栄養の変化は、生体における遺伝情報の読み取りや細胞分化を動的に制御する重要な要因であるが、個々のアミノ酸がどのように骨形成を調節するかは未解明である。本研究では、分岐鎖アミノ酸(BCAA)の中でバリンが遺伝情報の翻訳過程に影響し、骨芽細胞分化を抑制する仕組みを明らかにした。マウス間葉系幹細胞 ST2 を用いて BCAA を除去した結果、バリン欠乏のみが Wnt/β-カテニンシグナルを低下させた。分子機構解析により、バリン欠乏時には mTORC1/C2 経路(細胞の成長と代謝に関わるシグナル伝達経路)の抑制は起こらず、代わりに GCN2(アミノ酸不足を感じる細胞内のストレス応答経路)が活性化し、ATF4 および C/EBP β の発現が上昇した。C/EBP β のアイソフォーム過剰発現で Wnt/β-カテニン依存性転写が抑制された。さらに、バリン代謝中間体 α-ケトイソバレリン酸(KIV)が β-カテニン活性を回復させたが、イソブチリル CoA (IB-CoA)では効果はなかった。これらの結果から、バリン不足が tRNA 未荷電化を引き起こし、GCN2-ATF4-C/EBPβ 経路を活性化することが明らかとなり、骨形成関連遺伝子の発現が抑制されることが示された。本研究は、アミノ酸栄養と遺伝子発現の新たな接点を提示するものである。

### 緒言 (Introduction)

アミノ酸栄養は、単なるエネルギー源ではなく、生体が遺伝情報の読み取り様式や細胞分化を動的に制御している。しかし、個々のアミノ酸がどのように転写・翻訳制御を通じて骨形成を調節しているのかは、ほとんど明らかにされていない。骨形成は、間葉系幹細胞が骨芽細胞へ分化する過程を通じて進行し、その中心に Wnt/β-カテニンシグナル伝達が重要な役割を担っている。栄養素の変動が細胞内の翻訳環境を再構成し、興津が細胞分化に影響を与える可能性がある。

BCAA は、筋肉・肝臓・骨などでエネルギー代謝を支える必須栄養素であり、そのうちロイシンは mTORC1 を介してタンパク質合成を促進する「アナボリックアミノ酸」として知られている。一方で、同じ BCAA であるバリンやイソロイシンの骨代謝における役割は不明であり、特に「不足時にどのような遺伝的応答が起こるのか」は未解明であった。

本研究では、バリン欠乏が骨芽細胞分化をどのように阻害するかを解析し、栄養状態が遺伝情報の読み取り過程に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

### 材料および方法 (Materials and Methods)

マウス間葉系幹細胞 ST2 を 10%FBS 含有あるいは FBS 不含有 DMEM で培養後、各 BCAA を 0-800 μM に段階的に除去した培地で処理した。

- 骨芽細胞分化指標: 7 日後に ALP 染色を実施。
- Wnt/β-カテニン活性: Wnt3a 刺激下で TCF ルシフェラーゼレポーターを実施。
- 遺伝子発現: ATF4, C/EBP β を qPCR で解析。
- タンパク質発現: mTORC1/2 (S6K, AKT), p-eIF2α, ATF4, C/EBP β をウエスタン blot で解析。
- C/EBP β アイソフォームの機能解析: LAP\*, LAP, LIP を過剰発現させ、Wnt/β-カテニン活性を評価。

- 代謝補填実験: KIV または IB-CoA を添加し、 $\beta$ -カテニン活性の回復を確認。

### 結果 (Results)

- BCAA 欠乏は骨芽細胞分化を抑制する  
各々の BCAA 欠乏下では ALP 染色性が著しく低下し、骨芽細胞分化が阻害された。
- バリン欠乏では Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナルを低下させる  
TCF ルシフェラーゼアッセイにより、ロイシンとイソロイシン欠乏では、 $\beta$ -カテニン活性に影響を与えたが、バリン欠乏は Wnt3a 刺激依存的な $\beta$ -カテニン活性を大きく抑制した。抑制は濃度依存的であった。
- バリン代謝中間体 KIV がシグナルを回復させる  
バリン代謝経路の主要中間体である KIV は $\beta$ -カテニン活性を回復させた。一方、下流代謝物の IB-CoA は効果を示さなかった。したがって、バリン代謝の初期段階がシグナル維持に重要であると考えられる。
- バリン欠乏は mTOR 経路を抑制せず、GCN2-ATF4 経路を活性化する  
ロイシン欠乏では mTORC1/2 活性が低下したが、バリン欠乏では変化がなく、代わりに GCN2 および eIF2 $\alpha$  リン酸化の上昇が認められた。これに伴い ATF4 および C/EBP $\beta$  の転写が誘導され、統合的ストレス応答(integrated stress response: ISR)が活性化した。
- C/EBP $\beta$  のアイソフォームが Wnt シグナルを抑制する  
バリン存在下でも、C/EBP $\beta$  の LAP\* および LAP を過剰発現させると、Wnt/ $\beta$ -カテニン依存性転写が顕著に低下した。C/EBP $\beta$  は骨形成関連遺伝子群の転写抑制因子として機能することが示唆された。
- イソロイシン欠乏下でバリンを低下させると同様の抑制が再現される  
イソロイシン欠乏下でバリン濃度を 50  $\mu$ M に低下させると $\beta$ -カテニン活性が抑制された。これは Ile-tRNA 合成酵素(IleRS)がバリンにも部分的親和性を持ち、バリン不足時に未荷電 tRNA が蓄積して GCN2 が活性化することを示唆する。

### 考察 (Discussion)

本研究は、アミノ酸栄養が「遺伝情報の読み取り」を翻訳レベルで制御し、細胞分化に影響を及ぼすという概念を、骨芽細胞分化のモデル系を用いて初めて実験的に検証した。バリン不足は mTOR によるタンパク質合成抑制ではなく、tRNA 未荷電化を起点とする GCN2-ATF4-C/EBP $\beta$  経路を活性化し、 $\beta$ -カテニン依存的転写を抑制する。すなわち、栄養ストレスが転写因子ネットワークを再編成することで、骨形成関連遺伝子の発現を抑制する新たな調節機構の存在が示された。さらに、バリン代謝中間体 KIV によるシグナル回復は、細胞内代謝状態と核内転写活性の結合を示唆し、骨代謝における代謝-転写カップリングの新たな分子機構を明らかにした。これらの成果は、栄養不良や老化に伴う骨量減少に対し、アミノ酸栄養を介した新たな治療戦略の可能性を示唆する。アミノ酸補正を通じて遺伝情報制御を再活性化するアプローチが、今後の新たな治療戦略の可能性を提示する。

### 結論 (Conclusion)

バリン欠乏は GCN2-ATF4-C/EBP $\beta$  経路を介して Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナルを抑制し、骨芽細胞分化を

阻害する。この機構は mTOR とは独立した新しいアミノ酸応答経路であり、アミノ酸栄養が遺伝情報の翻訳・発現を通じて骨形成を調節することを明確に示した。本研究は、栄養と遺伝子発現のクロストークという新たな生理的制御機構を解明する基盤となる。

### 最後に紡ぐ言葉 (Legacy)

「一葉知秋(いちようちしゅう)」『淮南子・説山訓』より。

「一葉の落つるを見て、歳の将に暮れんとするを知る」という言葉は、自然の中の微細な変化が、全体の変化を映し出すことを示している。森の中で一枚の葉が静かに落ちるとき、その森全体の季節の移ろいを感じ取るように、わずかな前兆から全体の動きを洞察する力を教えている。

本研究により、細胞の世界でも、BCAA 欠乏という小さな変化が、骨芽細胞分化という生命の森全体に影響を及ぼすことが示された。微細な栄養の変化が、森のように複雑に連なった生命のネットワークに波紋を広げる。その繊細なつながりの中に、私たちは「知の森」—生命の深い秩序—の奥深さを見ることができる。

**キーワード：**バリン欠乏、分岐鎖アミノ酸、GCN2、ATF4、C/EBP  $\beta$ 、Wnt/  $\beta$ -カテニン、骨芽細胞分化、遺伝情報翻訳、アミノ酸センシング、栄養シグナル伝達

## ジゴキシンやデセン酸エチルエステルによるシナプス新生の促進が運動学習や運動機能回復に及ぼす効果

藤田えりか

大阪公立大学大学院 リハビリテーション学研究科 博士後期課程2年

### 【緒言】

外傷性脳損傷 (Traumatic Brain Injury: TBI) は、神経機能障害の主要な原因の一つであり、多くの人が TBI による運動機能障害を経験している。2021年の世界全体における TBI の発症例は 2084 万例にのぼる<sup>1</sup>。神経機能障害からの回復には、残存する神経細胞間で新たなシナプスを形成することによる神経回路再構築が重要である。しかし先行研究により、神経機能障害からの回復には、発症後一定期間を過ぎると回復が制限される、時期的制約が存在することが明らかになっている<sup>2,3</sup>。そこで、薬剤によってシナプス形成を促進させ、運動機能回復の時期的制約を克服する可能性を検討するため、まず本研究では候補薬剤であるジゴキシンおよびデセン酸エチルエステルの運動学習への効果を評価した。

成熟期の脳においては、シナプス後部構造である樹状突起スパイン（以下、スパイン）の新生を起点として新たな機能的シナプスが形成されることが知られている。Matsumoto-Miyai ら<sup>4</sup>は、成熟期海馬におけるスパイン前駆体を新生させるシグナル経路として、ニューロトリプシン・アグリン経路を同定した。シナプスに神経可塑性を引き起こす刺激が入力されると、ニューロトリプシンはアグリンを切断する。切断されたアグリンの C 末端断片は、成熟期の脳でスパイン前駆体の新生を促進する。一方で、アグリンの C 末端断片は Na/K-ATPase の機能を調節することも明らかになっており、薬理学的に Na/K-ATPase 活性を調節すれば、スパイン前駆体を新生できる可能性がある。Na/K-ATPase を調節する薬剤として強心配糖体がある。強心配糖体の 1 つであるジゴキシンは腹腔内投与によって脳内に移行し、脳内の Na/K-ATPase 活性を調節することが分かっている<sup>5</sup>。よってジゴキシンにもアグリンの C 末端断片と同様にスパイン前駆体の新生を促進する作用があると考えられる。当研究室ではその可能性を検討し、脳内 Na/K-ATPase を活性化する低用量のジゴキシンの投与が、新生樹状突起スパインの密度を増加させ、運動学習能力を改善させることを見出した<sup>6</sup>。

一方で、脳由来神経栄養因子 (Brain-Derived Neurotrophic Factor: BDNF) は、細胞外に放出された後、その受容体である TrkB に結合することで下流経路が活性化され、シナプス新生を促す<sup>7</sup>。下流経路に存在する ERK1/2 の活性化は、転写因子 CREB のリン酸化を引き起こす。活性化された CREB は、さまざまな標的遺伝子の転写を調節し、神経分化、細胞生存、神経突起の伸長、及び学習と記憶の調節において重要な役割を果たすことが広く報告されている<sup>8,9</sup>。古川ら<sup>10</sup>は、2 位に不飽和結合を持つ炭素 10 個の脂肪酸（すなわち 2-デセン酸）が細胞内のリン酸化 ERK1/2 を相対的に強く増加させる活性を示し、この活性はエステル化によりさらに増強されることを示した。さらに、Kamata ら<sup>11</sup>は、6~8 炭素からなる直鎖中鎖脂肪酸が、リン酸化 ERK1/2 の増加を伴う神経突起の伸長を促進することを報告した。したがって、2-デセン酸エチルエステルはリン酸化 ERK1/2 の増加を通して、シナプス新生をより促進する作用があると考えられる。デセン酸エチルエステルは先行研究より、脳梗塞モデルマウスの運動麻痺からの回復を促進したり<sup>12</sup>、ストレスによって誘発される不安様行動を抑制したり<sup>13</sup>することが明らかになっている。

以上のことから、ジゴキシンとデセン酸エチルエステルは独立した経路でシナプス新生を促進し、運動機能回復を促進することが予想されるため、両薬剤の併用投与によって相乗効果を発揮する可能性が期待される。本研究の目的は、健常マウスにジゴキシンとデセン酸エチルエステルを投与し、運動学習への効果を検証することである。

## 【方法】

運動学習効果の検証にはロータロッド試験を用いた。ロータロッド試験は、加速する回転棒上にマウスが留まっている時間を計測する試験である。試行を重ねるごとに棒上に留まっている時間が延長することから、協調運動学習の指標となる。また、自発運動量がロータロッド試験の成績に影響を及ぼす可能性があると予測し、オープンフィールド試験を実施した。オープンフィールド試験は、一定時間内にマウスが限られた区画内（オープンフィールド）を移動した総距離とルートを計測する試験である。これは、探索のための自発活動や不安の解析に広く用いられているものである。さらに、新たな抗不安薬となる可能性があるといわれている<sup>13</sup>デセン酸エチルエステルの投与により、ストレスが軽減され、自発運動量増加によって運動学習を促進する可能性を予測し、デセン酸エチルエステルの投与が長期的な自発運動量に与える影響をランニングホイール試験により検証した。ランニングホイールは、飼育されているケージ内に置くことができ、マウスの自発運動量を継続的に測ることができる。

## 【結果】

本研究では健常マウスを用いて、ジゴキシン、デセン酸エチルエステル、または両者の投与が、運動学習能力および自発運動量に及ぼす影響を比較検討した。その結果、ジゴキシンはオープンフィールド試験において自発運動量に影響を与えず、ロータロッド試験における初期の運動学習成績を改善したものの、最終的な成績には影響を及ぼさなかった。一方、デセン酸エチルエステルはオープンフィールド試験において自発運動量を増加させたが、ランニングホイール試験では影響を示さず、ロータロッド試験での運動学習にも影響を与えなかつた。これに対して、ジゴキシンとデセン酸エチルエステルの併用投与は、ロータロッド試験における最終的な成績を改善した。

## 【考察】

ジゴキシンとデセン酸エチルエステルの併用投与では、どちらか一方の単独投与よりも顕著に運動学習を改善する効果を示し、脳損傷後の運動機能回復を促進する新たな治療戦略となる可能性が示された。

## 【文献】

1. Zhong H, Feng Y, Shen J et al. (2025) Global Burden of Traumatic Brain Injury in 204 Countries and Territories From 1990 to 2021. Am J Prev Med, 68(4):754-763
2. Biernaskie J, Chernenko G and Corbett D (2004) Efficacy of rehabilitative experience declines with time after focal ischemic brain injury. J Neurosci, 24(5):1245-54
3. Duncan PW, Lai SM and Keighley J (2000) Defining post-stroke recovery: implications for design and interpretation of drug trials. Neuropharmacology, 39(5):835-41

4. Matsumoto-Miyai K, Sokolowska E, Zurlinden A et al. (2009) Coincident pre- and postsynaptic activation induces dendritic filopodia via neurotrypsin-dependent agrin cleavage. *Cell*, 136(6):1161-71
5. Oselkin M, Tian D and Bergold PJ (2009) Low-dose cardiotonic steroids increase sodium-potassium ATPase activity that protects hippocampal slice cultures from experimental ischemia. *Neurosci Lett*, 473(2):67-71
6. Hashimoto J, Fujita E, Tanimoto K et al. (2024) Effects of Cardiac Glycoside Digoxin on Dendritic Spines and Motor Learning Performance in Mice. *Neuroscience*, 16;541:77-90
7. 脳科学辞典 (2020) “神経栄養因子” [accessed on 10.20.2025]
8. Kaplan DR and Miller FD. (2000) Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol*, 10(3):381-91
9. Lonze BE and Ginty DD (2002) Function and regulation of CREB family transcription factors in the nervous system. *Neuron*, 35(4):605-23
10. Furukawa S (2015) Basic Research on Neurotrophic Factors and Its Application to Medical Uses. *Yakugaku Zasshi*, 135(11):1213-26
11. Kamata Y, Shiraga H, Tai A et al. (2007) Induction of neurite outgrowth in PC12 cells by the medium-chain fatty acid octanoic acid. *Neuroscience*, 146(3):1073-81
12. Tanaka Y, Fukumitsu H, Soumiya H, et al. (2012) 2-decenoic acid ethyl ester, a compound that elicits neurotrophin-like intracellular signals, facilitating functional recovery from cerebral infarction in mice. *Int J Mol Sci*, 13(4):4968-4981
13. Makino A, Iinuma M, Fukumitsu H et al. (2013) Anxiolytic-like effect of trans-2-decenoic acid ethyl ester in stress-induced anxiety-like model mice. *Biomed Res*, 34(5):259-67

## データを行動へ：ジンバブエの若者における肥満と心代謝リスク

Pencil Ashleigh  
大阪公立大学大学院生活科学研究科 PD

### 背景：

ジンバブエでは、急速な栄養転換と非感染性疾患の増加が進行している。食習慣の変化により、小児期の肥満および関連する健康リスクが増加している。栄養の知識は食習慣に影響を与えることが知られているが、青年期の栄養知識および食習慣に関する報告は限られている。

そこで、本研究ではまず、首都ハラレ市の都市部の在学青少年を対象に、過体重／肥満の実態および関連要因を明らかにし、栄養知識の不足と不適切な食習慣との関連を検討するベースライン調査を実施した。次に、結果を基に介入研究として日本の食育の枠組みを活用し、健康的な昼食を促進するための「ヘルシーランチボックスメニュー」を作成し、弁当の栄養、体重、栄養知識、栄養に関するセルフエフィカシーの変化を評価した。

栄養バランスを整える手法として採用した主食・主菜・副菜から成る「3・1・2弁当法」(3=主食、1=主菜、2=副菜)は、栄養密度の高い食事を保証し、エネルギー量を適切に管理する方法である。これにより、家庭外でも栄養バランスの取れた食事を摂取でき、加工食品の過剰摂取を防ぐことが期待される。ジンバブエでは弁当文化自体は存在するが、家庭で作る弁当の栄養の質を高めるための教育およびその評価を目的とした研究はこれまで行われていなかった。本プログラムの目的は、過体重および肥満対策として健康的な弁当作りを促進することとした。

### 方法：

2022年3月～6月、ハラレ市の10校において無記名自記式質問紙調査を実施した。対象は14～19歳の423名で、層化無作為抽出法を用いた。身長・体重を測定し、BMIを算出した。質問票を用いて、社会人口統計学的特性、栄養知識、食習慣を評価した。二項ロジスティック回帰分析を用いて、栄養知識および食習慣の関連要因を解析した。

続く介入研究では、日本の「3・1・2弁当法」に基づく昼食メニューを作成した。まず、青少年期の食事推奨量に関する情報を収集し、エネルギーやたんぱく質を含む16種類の必須栄養素を選定した。1日の推定必要エネルギーは2400kcalとし、1食あたり約800kcalを提供することを目標とした。1日推奨栄養量を3等分することで、昼食1食分の栄養目標を設定し、栄養計算を実施した。次に、「800kcal=800ml弁当箱」という3・1・2弁当箱法に基づき、適切な弁当箱サイズを選定した。

メニュー作成後、2025年3月に15～16歳の72名を介入群と対照群に分けて試行した。質問票により体重、身長、社会人口統計データを収集した後、3・1・2弁当箱法の講義と実習を行い、参加者に無料の弁当箱と食材を提供して、自らこのルールに従って弁当を詰める実践を行った。その後、メニューの適切性、受容性、美味しさ、自己効力感に関する評価を質問票により収集した。

### 結果：

ベースライン調査では、対象者に低体重(9.7%)と過体重・肥満(15.8%)の両方が認められ

た。女子は男子よりも低体重（51.2%、 $p=0.002$ ）および過体重・肥満（73.1%、 $p=0.002$ ）の割合が高かった。

27.1%が肥満の原因と影響を知らず、その割合は女子（67%、 $p=0.001$ ）、14～16歳（51.3%、 $p=0.317$ ）、肥満群（56.7%、 $p=0.001$ ）で特に高かった。果物・野菜摂取の少ない不健康な食習慣（52.2%、 $p=0.001$ ）や、栄養知識の不足（40.4%、 $p=0.230$ ）は、女子に多くみられた。不健康な食習慣は年齢（14～16歳）[OR=1.577(1.019-2.440),  $p=0.041$ ] および居住地[OR=1.816(1.344-2.455),  $p=0.001$ ] と有意に関連しており、低い栄養知識は家族要因、すなわち世帯規模[OR=0.470(0.262-0.042),  $p=0.011$ ] および親の教育水準[OR=1.437(1.063-1.945),  $p=0.019$ ] と有意に関連していた。

健康的な弁当づくりを行う介入では、参加者は弁当を取り入れることに前向きであった（ $p=0.006$ ）。弁当食は満足度が高く、昼食として適切なカロリーを満たしていた（ $p=0.012$ ,  $p=0.001$ ）。ただし、介入群は対照群と比べて自宅で同様の弁当を再現できる自信が低かった。

### **結論：**

本研究の結果、女子および若年層の青少年は過体重・肥満リスクが高いことが示唆された。日本の食育モデルを応用した健康的な弁当プログラムは、ジンバブエの青少年にも受け入れられ、栄養知識と食習慣改善の可能性が示された。青少年の食習慣改善には、幼少期からの栄養教育の重要性が示唆される。