

論文の内容の要旨

論文題目 低糖質高脂肪食ががん性腹膜炎の進行に及ぼす影響

氏名 ワトキンス 彩子

序文

進行がん患者の多くは食欲不振と悪液質による異化亢進により、体重が減少し深刻な栄養不良となる。栄養不良は感染防御能を減弱し、がんの治療効果や QOL を著しく低下させるため、がん患者において、栄養不良の改善・予防が重視されている。

がんが進行するとしばしば糖代謝に異常が生じる一方で、脂肪の代謝は維持または亢進していると報告されている。必要エネルギーを充分にがん患者に投与するために、高脂肪食を提供することは栄養療法で用いられる方法の 1 つである。実際に脂肪の割合を増やした栄養補助食品などの使用は、担がん患者の体重減少の抑制・維持効果が示されている。

これらの背景から、低糖質高脂肪食 (Low-carbohydrate high-fat diet ; LCHFD) ががんの栄養療法に有効であると臨床栄養のガイドラインで示されるようになった。ヨーロッパ臨床栄養代謝学会 (ESPEN) のガイドラインでは「体重減少やインスリン抵抗性のあるがん患者には、糖質を抑え脂質の割合を増やす栄養療法が有効」と強く推奨している。

しかし、炎症反応への影響という点では、脂肪摂取ががん患者に不利に働くかもしれない。がんは慢性炎症を特徴とする疾患であり、これまでの研究により炎症はがんの進行に深く関与することが示されている。脂肪による炎症反応の増悪も報告されている。しかし、LCHFD ががん患者の炎症性サイトカインレベルに与える影響や、がん性腹膜炎(腹膜播種)の進行に及ぼす影響を評価した研究は少ない。LCHFD を代謝上の有用性を根拠に投与するのであれば、その担がん動物の予後や代謝以外の生体反応に、どのような影響を及ぼすかを明らかにする必要がある。そのため、我々はマウス由来の膵臓がん細胞 Panc02 を用いて、がん性腹膜炎 (Carcinomatous peritonitis ; CP) のマウスモデルを作成し、以下のように実験を行った。

実験 1

飽和脂肪酸 (SFA) および一価不飽和脂肪酸 (MUFA) を含むラードを主体とした LCHFD (西洋食のモデルとして動物実験で一般的に用いられる組成) を与えたマウスの腹腔内に、Panc02 がん細胞を接種して CP モデルを作成した。その後のがん性腹膜炎の進行に与える影響を検討した。

実験 1-1

・方法・結果

8 週齢雄性 C57BL/6J マウスを通常食群 (Normal diet; ND 群, 脂肪 10%kcal)、LCHFD 群 (脂肪 60%kcal) 群に分け自由摂食をさせた。7 日間それぞれの餌を投与後、腹腔内に 1×

106 個/body の Panc02 細胞を接種した。その結果、LCHFD 群で ND 群よりも生存時間が短縮した。この際、LCHFD 群では ND 群と比較して有意な体重増加があったため、エネルギー過剰による炎症増悪が起きた可能性があった。そのため、投与するエネルギーを統一した LCHFD と ND をマウスに与えて、同様の生存実験を行った。実験期間を通して両群の体重に差は無かったが、自由摂食と同じく生存は LCHFD 群で ND 群と比較して悪化した。

・考察

ラード強化 LCHFD の摂食はがん性腹膜炎時の生存を悪化させたが、その主因としてエネルギー過剰投与よりも、エネルギー組成の割合が高脂肪であることが重要と考えられた。

実験 1-2

・方法・結果

実験 1-1 と同様に、ND あるいは LCHFD をマウスに自由摂食させた。餌開始後 7 日後に、Panc02 がん細胞を腹腔内接種した。各餌の開始後 7 日後 (Panc02 接種前)、21 日後

(LCHFD 群で有意な体重増加があるが、視認できる腹膜播種は無い段階)、35 日後 (すべてのマウスで腹膜播種が形成された段階) に腹腔内洗浄液、脾臓および腫瘍を採取した。腹腔内洗浄液中のサイトカインレベルと免疫細胞数、脾臓の免疫細胞数、腹腔のがん腫瘍の重量と腫瘍中の免疫細胞数を評価した。

7 日後では、脾臓のナチュラルキラー (NK) 細胞数が LCHFD 群で ND を摂食したマウスと比較して減少した。それ以外の評価項目で両群間に差はなかった。21 日後には、LCHFD 群で ND 群と比較して、腹腔洗浄液中の炎症性サイトカインレベルおよび抗炎症性サイトカインレベルの上昇がみられた。35 日後には、LCHFD 群で ND 群より腹腔内のがん腫瘍の増加と、体重減少が有意にみられた。更に LCHFD 群では腹腔洗浄液中のサイトカインレベル上昇と共に、脾臓中の活性化 NK 細胞と細胞傷害性 T 細胞 (CTL)、腫瘍中の M1 型マクロファージなどの抗腫瘍性リンパ球数が ND 群と比較して減少した。興味深いことに、35 日目において LCHFD 群は免疫抑制に関わる制御性 T 細胞 (Treg) の増加と、マクロファージのサブセットである M1 型/M2 型の比が低下しており、宿主の免疫反応の抑制が示唆された。

・考察

ラード主体の LCHFD の摂食は、炎症増悪と宿主免疫反応の抑制を通して、マウスがん性腹膜炎を増悪させ、生存に影響を及ぼすことが示唆された。

実験 2

脂肪はその種類によって炎症反応や免疫に及ぼす影響が大きく異なる。例えば多価不飽和脂肪酸の中では、n-6 系多価不飽和脂肪酸(n-6 PUFA)から産生される生理活性物質は炎症促進性に働き、一方で n-3 系多価不飽和脂肪酸 (n-3 PUFA) は抗炎症性に働く。脂肪酸の中では、n-3 PUFA の投与にがん細胞の増殖抑制効果があることも示されている。また消化器がん患者の術後管理においても、栄養剤の n-3 PUFA と n-6 PUFA 比が生体反応に大きな影響を与えるこ

と、特に n-6:n-3=2:1 が炎症反応調節や免疫能改善に有効との報告がある。よって我々は次の実験で、n-6:n-3=2.1:1 に調整した餌(魚油強化)、n-6 PUFA を強化した餌 (大豆油強化、n-6:n-3=7.0:1)、前の実験と同じく SFA、MUFA を強化した餌 (ラード強化、n-6:n-3=8.8:1) を作成し、自由摂食させて、マウスがん性腹膜炎の進行に与える影響を検討した。

実験 2-1

・方法・結果

実験 1-1 と同じマウス Panc02 がん性腹膜炎モデルを用いて各種 LCHFD が予後に及ぼす影響を検討した。8 週齢雄性 C57BL/6J マウスを通常食群 (ND 群,脂肪 10%kcal)、ラード高脂肪食 (HF-L) 群、大豆油高脂肪食 (HF-S) 群、魚油高脂肪食 (HF-F) 群 (いずれも脂質 60% kcal) に分け、各食餌を自由摂食させた。7 日間の給餌後、Panc02 膵臓がん細胞 (1×10^6 個/body) を腹腔内に接種し、マウスの生存を評価した。その結果、HF-L 群、HF-S 群は、ND 群、HF-F 群と比較して生存時間が短縮した。Panc02 と異なる ID8 卵巣がん細胞 (3×10^6 個/body) を腹腔内に接種した CP モデルでも同様の結果であった

・考察

同量の脂肪を含む LCHFD でも、強化する脂肪の種類によって、がん性腹膜炎モデルマウスの生存に及ぼす影響が大きく異なることが明らかになった。その機序を調べる為、次に宿主の炎症や免疫細胞、更にはがん細胞の増殖に各 LCHFD が与える影響について検討を行うこととした。

実験 2-2

・方法・結果

8 週齢雄性 C57BL/6J マウスを ND 群、HF-L 群、HF-S 群、HF-F 群に分け、各食餌を自由摂食させた。7 日間の給餌後、Panc02 細胞を腹腔内に接種した。全てのマウスで腹膜播種が形成された 35 日目に血液、腹腔洗浄液および腫瘍を採取した。腹腔洗浄液および血清中の炎症性・抗炎症性サイトカイン、腹腔洗浄液中及び腫瘍中の免疫細胞の数と機能、更にその産生を制御する腫瘍中のシグナルたんぱく質を評価した。

その結果、HF-L 群では、ND 群と比較して腹腔洗浄液中の Treg 数の増加と、マクロファージの M1/M2 比の低下が観察された。HF-S 群では、腹腔洗浄液中の抗腫瘍性サイトカインの IL-12、IFN- γ レベル、M1 型マクロファージ数、腫瘍中の NK 細胞数が ND 群と比べて減少した。また、自己免疫寛容に関わる PD-1 受容体の増加が、腹腔内の CD8⁺T 細胞上でみられ、更にシグナルたんぱく質の COX-2 発現が他群と比較して増加した。興味深いことに n-3 PUFA を多量に含有する魚油を強化して、大豆油と魚油を n-6PUFA:n-3PUFA が 2 : 1 になるように配合すると、がん細胞の増殖・転移に関わるサイトカインである IL-6 や MCP-1 レベル、CD8⁺T 細胞上の PD-1 発現が抑えられた。更にはがん増殖を促進する NF κ B、HIF-1 α 、ERK の腫瘍中における活性化が抑えられていた。その一方で、抗腫瘍性の因子である血液中の IFN- γ 、IL-

12、アディポネクチンのレベルや、腹腔洗浄液中の CD8⁺T 細胞や CTL 数が他群と比較して高く保たれた。

・考察

HF-L の投与は、実験 1 の結果と同様に免疫抑制性の細胞数の増加を招いた。それにより宿主のがん免疫が低下し、生存が悪化したと推察された。

HF-S に含まれる n-6 PUFA はアラキドン酸に代謝され、さまざまな生理活性物質に代謝される。その中でも COX-2 によって産生されるプロスタグランジン E2 (PGE2) は炎症誘発物質作用が強く、がんの増殖に関わる。PGE2 はリンパ球の CTL、NK 細胞の分化および機能を抑制し、マクロファージの M2 型への分化を促進する。n-6 PUFA を強化した LCHFD の摂食は、抗腫瘍性サイトカインの減弱と、PGE2 産生増加による抗腫瘍性の免疫細胞数の低下、更に自己免疫寛容といった多方面の因子が重なることで、腹膜播種の増悪と生存の悪化につながった可能性がある。

その一方で HF-F の投与は、LCHFD の高エネルギー摂取により体重は増加しつつも、腹膜播種の減少につながる可能性が示された。n-3 PUFA の摂取増加は、ERK の発現低下を招き、HIF-1 α 、NF κ B、PD-1 の発現を阻害し、がん細胞の増悪を抑制した可能性がある。

結論

本研究によって、進行がん生体においてエネルギー代謝上有利とされる低糖質高脂肪食の、がん免疫や炎症反応、予後に及ぼす影響が明らかになった。西洋諸国で一般的に用いられる SFA や MUFA を豊富に含んだ LCHFD (ラード強化食) は、むしろ担がん生体の炎症反応を増悪し、がん免疫を低下し、予後を悪化する可能性が示された。大豆油強化の LCHFD は、ラード強化 LCHFD よりも更にこれらの反応を悪化させた。一方、魚油を強化して n-3:n-6 比を低くすると、低糖質高脂肪食であっても炎症反応を調節してがん免疫を増強した。

したがって、栄養療法に関するガイドラインが示すがん患者への代謝上の有利性を根拠とした、低糖質高脂肪食投与を行う場合には、強化する脂肪の種類に特段の注意を払う必要があることが示唆された。今後は魚油を強化した低糖質高脂肪食の臨床効果を検証していくことで、安全で有効な進行がん患者の栄養療法の開発が可能と期待している。