

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03174

研究課題名(和文) 低糖質高脂肪食・プレハビリテーションががん免疫・外科侵襲時の生体反応に及ぼす影響

研究課題名(英文) Influences of low carbohydrate-high fat diets and prehabilitation on cancer immunity and host response to surgical insults

研究代表者

深柄 和彦 (Fukatsu, Kazuhiko)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：70323590

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 8,800,000円

研究成果の概要(和文)：低糖質高脂肪食の耐糖能異常や進行がん患者の栄養管理への応用が注目されている。しかし、高度外科侵襲やがんの予後に及ぼす影響については不明であった。今回の動物実験で、外科侵襲時の炎症反応を調節し予後を改善する働きがあることが示唆される一方、がん性腹膜炎モデルではむしろがん免疫を低下させがんの進展を助長し予後を悪化させることが判明した。また、強化する脂肪の種類によってがん免疫への影響は異なることも明らかになった。外科侵襲前のプレハビリテーションの効果については、オートファジー・アポトーシスを修飾し、過剰な炎症反応を抑え予後を改善することが明らかになった。今後の臨床応用が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ある病態に対して有効な栄養療法が紹介されると、すべての病態に同様に有効であると考えられがちである。しかし、耐糖能異常や進行がん患者の治療に有効と注目されている低糖質高脂肪食も、病態によっては有効(外科侵襲時)であったり、むしろ悪影響(がん性腹膜炎時)を及ぼす場合があることが、明らかになった。今後は新規栄養療法の導入は、病態ごとに基礎研究により効果を精査する必要があることが再認識された。手術後の筋肉量と筋力の維持により回復を促進すると期待されてきたプレハビリテーションには、侵襲後の炎症反応調節作用もあることが判明し、運動の重要性が示された。

研究成果の概要(英文)：We investigated whether low carbohydrate high fat diets(LCHFDS) modulate host response to surgical insults and cancer immunity in a murine carcinomatous peritonitis model. LCHFD decreased inflammatory response after gut ischemia reperfusion and improved outcome, while LCHFD reduced cancer immunity and worsened survival. However, we found that types of fats affected the cancer immunity, i.e. soy bean oil exacerbated the detrimental effects, but fish oil rather improved the immunity.

With regard to the prehabilitation effects on host response to surgical insult, modulation of autophagy, apoptosis and heat shock protein was observed, thereby reducing organ injury and improving outcome.

研究分野：外科侵襲学

キーワード：低糖質高脂肪食 腸管虚血再灌流 がん性腹膜炎 がん免疫 オートファジー 炎症反応

## 1. 研究開始当初の背景

栄養と運動により健康寿命を延ばし、国民の幸福と医療費削減を目指す取り組みが進んでいる。栄養療法、運動療法の有効性は低栄養やフレイル、メタボリック症候群のような慢性病態で広く知られているが、近年では手術などの高度外科侵襲（急性病態）に対する生体反応、がんの治療効果への好影響も次々と報告されている。その中でも最近、特に注目されているのが、栄養療法としては低糖質高脂肪食、運動療法としてはプレハビリテーションである。前者はメタボリック症候群の予防・治療、糖質の代謝障害が生じるがん患者の栄養管理（ESPENがん患者の栄養療法ガイドライン2016年版）に、後者は手術前の運動療法で骨格筋の量を増加・機能を向上させることによる侵襲後のADL早期改善に、有効性が示されており実臨床への導入が進んでいる。しかし、新たな治療法導入で、想定外の有害事象・逆に期待していなかった好影響が生じることがあり、その検証なしに標準的な治療としての展開はできない。

## 2. 研究の目的

以下を動物実験で明らかにすること。

- (1) 低糖質高脂肪食は、がんに対する抗腫瘍免疫、がん自体の進展抑制の点でも有効なのか。
- (2) 低糖質高脂肪食を長期間摂取している患者数の増加が見込まれる中、当該患者が高度外科侵襲にさらされた場合、患者管理に特別な配慮は必要ないのか。
- (3) プレハビリテーションによる術後早期回復効果の背景に、筋肉の量と筋力改善以外に生体反応調節作用があるのではないのか。

## 3. 研究の方法

- (1) 低糖質高脂肪食が担がん生体のがん免疫に及ぼす影響：雄性C57BL/6Jマウスを、標準的な低糖質高脂肪食（脂肪エネルギー比62%、ラード添加）、あるいは通常食（脂肪エネルギー比9%）で飼育、マウス睪がん細胞株であるPanc02を腹腔内接種しがん性腹膜炎モデルを作成。腹腔内がん腫瘍個数と重量、腹腔内及び血中のサイトカインレベル、免疫細胞数とそのphenotype・活性化の評価（腹腔内・播種腫瘍中・脾臓中）（免疫細胞としては、細胞傷害性T細胞・制御性T細胞・マクロファージ(M1, M2)等をフローサイトメトリーで解析)する。高脂肪食における脂肪の組成を大豆油(□-6系脂肪酸)あるいは魚油(□-3系脂肪酸)に変更した食餌についても同様の検討を行う。
- (2) 低糖質高脂肪食が高度外科侵襲後の臓器障害に及ぼす影響：(1)と同じ食餌で飼育後、腸管虚血再灌流(上腸間膜動脈のクランプと解除による)を施行。腸管・肺の臓器障害、血中及び腸管組織中のサイトカインレベル・一酸化窒素(NO)・NO合成酵素発現レベル、血中・脂肪組織中のアディポカイン(アディポネクチン・レプチン)レベルの評価、レーザードップラー

による腸管・全身の血行動態測定。

(3) プレハビリテーションが腸管虚血再灌流傷害に及ぼす影響：

トレッドミル運動を負荷し、(2)と同様の腸管虚血再灌流を施行する。(2)同様の項目に加え、骨格筋重量とその機能(筋力)、骨格筋・血中のマイオカインレベル、オートファジー、アポトーシス等を測定する。

#### 4. 研究成果

(1) ラードを強化した低糖質高脂肪食の投与は、標準食に比べ、がん性腹膜炎モデルにおける生存を悪化させた。腹腔内の播種結節は低糖質高脂肪食群で多く、重量も重かった。腹腔内のサイトカインレベル・制御性T細胞数は、低糖質高脂肪食群で高かった。脾臓のNK細胞、細胞傷害性T細胞数はいずれも低糖質高脂肪食群で少なかった。

腹腔内のがん腫瘍中では、低糖質高脂肪食群で制御性T細胞が多く、腹腔内および脾臓のM1/M2マクロファージ比は低糖質高脂肪食群で低かった。

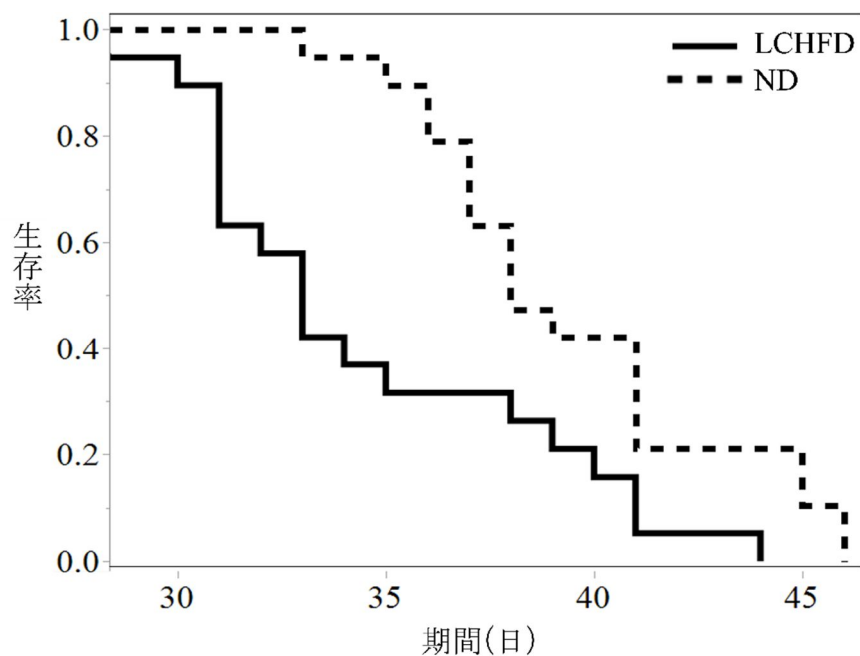


図1：低糖質高脂肪食(LCHF)、標準食(ND)の生存曲線

以上より、ラードを強化した低糖質高脂肪食は、腹腔内・脾臓・がん腫瘍内のがん免疫を低下させ、腹腔内の炎症を増悪させ、がん腫瘍の増悪を招き予後を悪化させることが判明した。一方、強化する脂肪を魚油、大豆油にそれぞれ変えた低糖質高脂肪食について同様の検討をおこなった結果、大豆油強化群では、がん免疫がさらに低下すること、魚油強化群ではむしろ増強することが判明した。

以上より、強化する脂肪の種類によって、がん免疫の修飾効果が異なること、進行がん患者への魚油強化低糖質高脂肪食の応用の可能性が示唆された。

(2) 低糖質高脂肪食群では再灌流後早期の生存率が改善していた。この機序として、再灌流後の血中アディポネクチンレベルの上昇、腸管組織中のNO(一酸化窒素)活性とNO合成酵素発現の低下、腸管・肺の臓器傷害度の軽減が認められた。

また、低糖質高脂肪食群では腸管の血流低下の早期回復と全身循環悪化の改善が観察された。以上より、低糖質高脂肪食は、腸管の低灌流を生じるような大手術前の栄養管理として有効である可能性が示唆された。

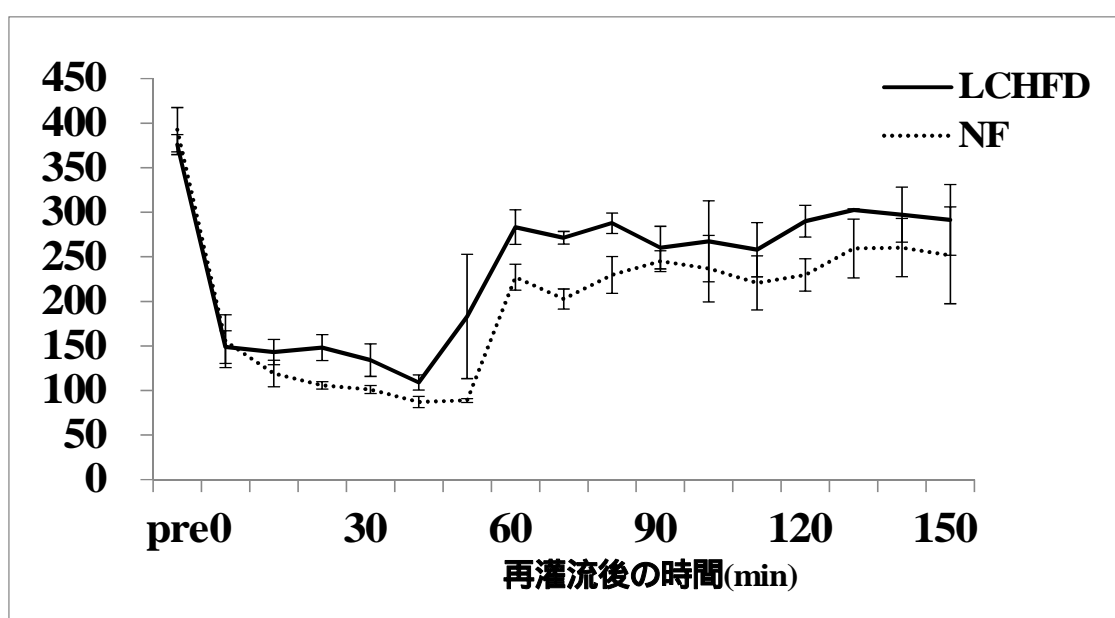


図2：腸管虚血再灌流時の空腸血流の変化 (LCHF：低糖質高脂肪食、NF：標準食)

(3) プレハビリテーションは、対照群に比べ腸管虚血再灌流後の生存を改善し、腸管・肺の組織傷害度を軽減した。プレハビリテーション群は、腸管のATPレベルが高値、腸管のMCP-1, IL-6レベル、MPO活性が低値、血中のIL-6レベルが低値、IL-10レベルが高値、全身の酸化ストレスマーカーが低値であった。運動プロトコル終了後の腸管のオートファジー、heat shock proteinの発現は、対照群よりも高値であり、プレハビリテーションによって腸管虚血再灌流に対する耐性が高まり、再灌流後の炎症反応の制御・臓器傷害軽減・予後改善につながったと推察された。

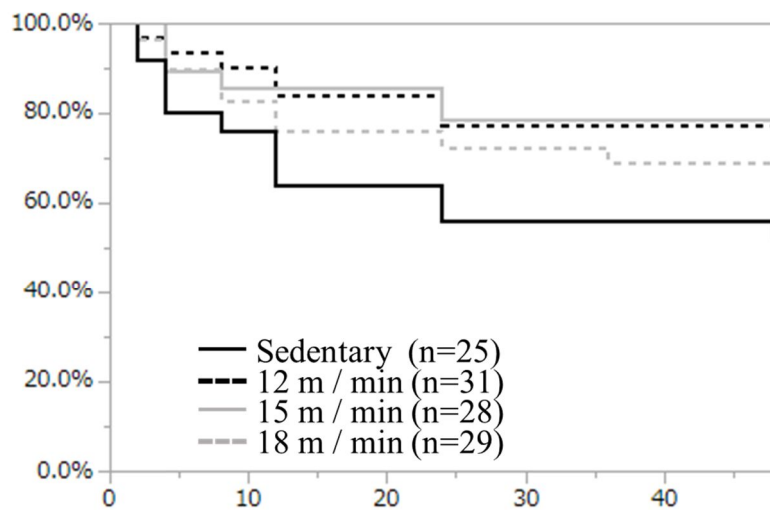


図3：適切なプレハビリテーションによる腸管虚血再灌流後の生存改善（再灌流後の時間）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 2. Higashizono K, Fukatsu K, Watkins A, Watanabe T, Noguchi M, Murakoshi S, Yasuhara H, Seto Y.	4. 巻 25
2. 論文標題 Appropriate treadmill exercise improves survival after gut ischemia reperfusion in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Nutrition Experimental	6. 最初と最後の頁 36-41
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.yclnex.2019.03.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Watkins A, Fukatsu K, Murakoshi S, Watanabe T, Higashizono K, Noguchi M, Yasuhara H
2. 発表標題 Influences of different types of high fat diets on anti-cancer immunity in a murine carcinomatous peritonitis model
3. 学会等名 ESPEN（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Watkins A, Fukatsu K, Murakoshi S, H Higashizono K, Noguchi M, Yasuhara H
2. 発表標題 Influences of different types of high fat diets on peritoneal cytokines in a murine carcinomatous peritonitis model
3. 学会等名 ASPEN（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Higashizono K, Fukatsu K, Watkins A, Watanabe T, Noguchi M, Tominaga E, Ri M, Murakoshi S, Yasuhara H, Seto Y
2. 発表標題 Treadmill running modulates regulatory T cell, macrophage and activated neutrophil numbers in the spleen and blood after gut ischemia reperfusion in mice: A possible mechanism underlying improved survival
3. 学会等名 ASPEN（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Watanabe T, Fukatsu K, Murakoshi S, Higashizono K, Watkins A, Noguchi M, Ueno C, Yasuhara H
2. 発表標題 Both soy bean oil based- and fish oil based-high fat diets reduce plasma and gut pro-inflammatory cytokine levels in a murine gut ischemia reperfusion model
3. 学会等名 ESPEN (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Noguchi M, Fukatsu K, Watkins A, Murakoshi S, Watanabe T, Higashizono K, Takahashi K, Takayama H, Yasuhara H
2. 発表標題 Does enteral feeding improve outcome of mice with carcinomatous peritonitis?
3. 学会等名 ESPEN (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	村越 智  (MURAKOSHI Satoshi)  (10647407)	東京大学・医学部附属病院・講師   (12601)	
研究分担者	齋藤 祐平  (SAITO Yuhei)  (90422295)	東京大学・医学部附属病院・講師   (12601)	
研究分担者	室屋 充明  (MUROYA Mitsuaki)  (90431866)	東京大学・医学部附属病院・講師   (12601)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	安原 洋  (YASUHARA Hiroshi)  (50251252)	東京大学・医学部附属病院・教授    (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関