

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：33801

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K05917

研究課題名(和文) ケトン食が抗腫瘍免疫能を賦活化し、腫瘍の成長・予後を改善するメカニズム

研究課題名(英文) The mechanism by which a ketogenic diet activates anti-tumor immune function and suppresses tumor growth.

研究代表者

中田 隆博 (NAKATA, Takahiro)

常葉大学・健康プロデュース学部・教授

研究者番号：40273932

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：普通食をケトン食に置換することによって、実験開始14日後の血中ケトン濃度は、顕著に上昇した。ガン転移モデルマウスを用いて、ケトン食による延命効果を検証した。ケトン食の投与の有無によって延命効果が見られる場合とみられない場合があり、結果が安定しなかった。型糖尿病の治療薬であるメトフォルミン水溶液(5mg/ml)を作成し、自由飲水にて担癌マウスに投与したが、メトフォルミン投与群に延命効果は認められなかった。しかし、メトフォルミン投与群には体重の増加を抑制する顕著な効果が見られた。メトフォルミンは担癌マウスに溜まった腹水によるQOLの低下を抑制する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌を移植したマウスモデルを、癌患者と見立てて実験を行った。型糖尿病の治療薬であるメトフォルミンには延命効果は認められなかったが、ケトン食との併用によって、体重の増加を顕著に抑制する効果がみられた。メトフォルミンは、癌が移植されたマウスに溜まりつづける腹水の貯留を抑制することが示唆された。このことは癌患者における腹水貯留によるQOLの低下を抑制する可能性がある。今後の研究の進展が期待される。

研究成果の概要(英文)：By substituting normal food with a ketogenic diet, the blood ketone levels significantly increased after 14 days of experimentation. The life-prolonging effect of the ketogenic diet was examined using a cancer metastasis model in mice. The results varied, with some cases showing a life-prolonging effect depending on the administration of the ketogenic diet, while others did not exhibit such effects, leading to unstable outcomes. A metformin solution (5 mg/ml), a treatment for type 2 diabetes, was prepared and administered to tumor-bearing mice via free drinking water. However, no life-prolonging effect was observed in the metformin-treated group. Nevertheless, a significant effect was noted in suppressing weight gain in the metformin-treated group. Metformin was suggested to potentially alleviate the decline in quality of life caused by accumulated ascites in tumor-bearing mice.

研究分野：Neuroscience, Anatomy, Cancer Research

キーワード：metformin ketogenic diet CT26 tumor quality of life

1. 研究開始当初の背景

ヒト患者やモデル動物を用いた研究から、癌が全身免疫能を変化させることが分かっている (Nature Reviews Cancer, 21, 345-359, 2021)。癌は原発部位局所の問題ではなく、全身の問題であると認識されている。

一方、ケトン食が大腸がんの発症や腫瘍成長を抑制することが報告されている。たとえば、ヒト多形神経膠芽腫の患者において、腫瘍を外科的に部分切除したのち、ケトン食による食事制限によって、一定期間、腫瘍の再発が抑制されたことが報告されている (Nutr Metab, 7, 2010)。しかし、ヒト癌患者がケトン食による食事制限によって寛かいした報告はまだ数少ない。

ケトン食が癌の増殖を抑制するのかどうか、他の薬や食事と併用することによるがん増殖抑制効果を持つのかどうかを調べるためにはモデル動物を用いた検討が必要である。ヒト患者に対して根拠の乏しい介入を行うことは倫理的に問題があるからである。我々はこれらのことを調べるために本研究を開始した。

2. 研究の目的

本研究では、ケトン食が癌モデルマウスの全身免疫能を増強させて癌の増殖を抑制するか否かを検討することを目的とした。さらに、がん抑制効果が期待される、他の食事療法や既存の薬剤との併用によって、その癌増殖抑制効果が相乗的に働くか否かを検討することを目的とした。さらに、ケトン食単独、もしくは、これらの薬剤との組み合わせによって、癌増殖抑制効果が観られた際には、全身免疫能を調べることを調べ、その作用機序を明らかにすることを目指した。

本研究で明らかとなる知見は、単にケトン食が癌患者の腫瘍局所、および全身免疫能に及ぼす影響を明らかにするのみならず、癌の予防や治療に有益な新規の情報を提供すると期待された。すなわち、本研究課題の研究成果を応用して、将来的に国民・社会に還元することを目指した。

3. 研究の方法

(1) ケトン食投与実験

ケトン食投与後の血中ケトン濃度、血糖値、体重の推移の解析を行った。食事に関して、マウスは自由摂食の条件下で実験を行っており、ケトン食の摂取量、血中ケトン濃度の上昇が理想的な状態で起こるかどうかを測定する必要があった。

a) ケトン食摂取量と体重の推移

ケトン食の投与量と残量の差からケトン食摂取量を推定した。

b) ケトン食投与後の血中ケトン濃度の上昇

ケトン食投与群がケトン食を食べていることはケトン食残量と体重の推移から確認できた。一方、その結果として実際に、血中のケトン濃度が上昇しているのかを確かめる必要があった。併せて、血糖値はどのように変化しているのかを測定した。血中ケトン濃度の指標として、血中 - OHB 濃度を測定した。

(2) メトフォルミン投与実験

以前より、2型糖尿病の治療薬であるメトフォルミンに、癌に対する抑制効果があるという報告がいくつかなされている (Hongnian Wu et al., Oncol Lett., Jul; 24(1): 204, 2022)。これらの実験結果を、マウス癌モデルを用いて追試することとした。メトフォルミンは 5 mg/ml の濃度に溶かして自由飲水により経口投与した。

4. 研究成果

ケトン食は平均的に 1 匹当たり、1 日当たり 2g 摂取していることが分かった。体重に関して、ケトン食投与群は普通食投与群と変わりなく漸増していることが確認できた。このことから、ケトン食投与群は普通食投与群との間の食事摂取量に大差がないことが推察された。

実験開始 14 日後の血中ケトン濃度は、普通食群が 0.7 ± 0.3 mmol/L であったのに対して、ケトン食投与群は 2.0 ± 0.4 mmol/L と顕著に上昇していた。一方、血糖値の値は、普通食が 103 ± 15 mg/dl に対して、ケトン食投与群は 95 ± 6 mg/dl と若干低いものの大きな差は無かった。これらのことから、ケトン食は血中ケトン濃度の上昇を引き起こしていることが確かめられた。

ガン転移モデルマウスを用いて、ケトン食による延命効果を検証した (図 1)。ケトン食の投与の有無によって延命効果が見られる場合とみられない場合があり、結果が安定しなかった。この状況は何度繰り返しても起こることから、食事以外の何かの条件が結果に影響を与えている

と想像された。したがって、別の切り口で研究を進める必要があると考えた。

最初にケトンの投与方法の変更を検討した。海外では日本では販売されていないサプリ類が販売されていることがある。我々はアメリカで販売されているケトンエステル (ER4, KETONEAID) を輸入し、粉末状のマウスの餌に混合する形で投与した。投与開始3日後に血液を採取して測定を行った。ケトン濃度に関しては、普通食投与群は、 0.9 ± 0.3 mmol/L であったのに対して、KE ケトン投与群は、 1.2 ± 0.3 mmol/L と若干の上昇が認められたが、ケトン食投与群ほどの上昇は認められなかった(図2)。一方、血糖値の値は、普通食が 106 ± 6 mg/dl に対して、ケトン食投与群は 134 ± 16 mg/dl と大幅に上昇した。KE ケトン投与群には普通食に追加する形でKE ケトンを与えていることから、血糖値が下がって、血中ケトン濃度が上昇するというケトン食に特有の血中成分変化が見られなかったと考えられた。担癌マウスに対する延命効果については、KE ケトン投与群と普通食投与群の間に有意差は見られなかった。

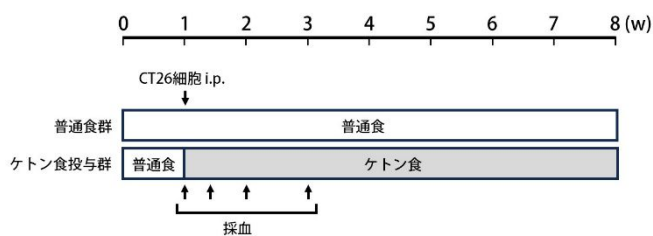


図1 .代表的な実験プロトコル

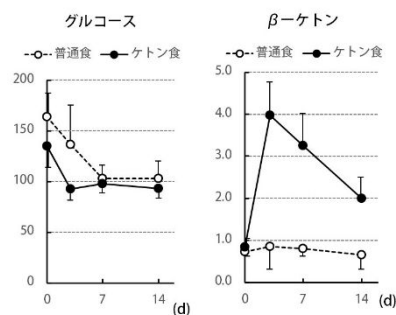


図2 .血中グルコース濃度、血中β-ケトン濃度の推移

ケトン食単独では、癌増殖抑制効果が安定しないことから研究方針を修正した。我々はケトン食と併用でき、相乗効果を発揮する可能性のある実験条件の探索を初めた。以前より、2型糖尿病の治療薬であるメトフォルミンに、癌に対する抑制効果があるという報告がいくつかなされている (Hongnian Wu et al., Oncol Lett., Jul; 24(1): 204, 2022)。我々はメトフォルミン水溶液 (5 mg/ml) を作成し、自由飲水にて担癌マウスに投与した。その結果、残念ながら、メトフォルミン投与群と非投与群との間に、担癌マウスに対する延命効果は認められなかった。しかし、メトフォルミン投与群には体重の増加を抑制する顕著な効果が見られた(図3)。従来、担癌マウスでは、時間の経過とともに腹水が溜まり、溜まった腹水によってQOLが下がっているという観察結果が見られる。メトフォルミンは、この腹水によるQOLの低下を抑制する可能性が示唆された。

研究期間終了後にはなるが、メトフォルミンとケトン食との併用によって、延命効果に関して相乗効果が発揮されるのかどうかを検討する。何らかの表現型が観察されることを期待している。

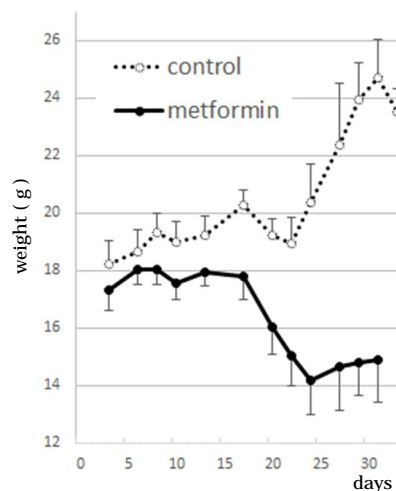


図3 .担癌マウスの体重の推移

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hongo Yu, Matsui Toshiyasu, Nakata Takahiro, Furukawa Hiroyo, Ono Takeshi, Kaida Kenichi, Suzuki Kazushi, Miyahira Yasushi, Kobayashi Yasushi	4. 巻 240
2. 論文標題 Morphological characterization of cholinergic partition cells: A transmitter-specific tracing study by Cre/lox-dependent viral gene expression	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger	6. 最初と最後の頁 151857 ~ 151857
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.aanat.2021.151857	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsui Toshiyasu, Nakata Takahiro, Kurohmaru Masamichi, Kobayashi Yasushi	4. 巻 31
2. 論文標題 Neurochemical characterization of mouse dorsal root ganglion neurons expressing organic cation transporter 2	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 NeuroReport	6. 最初と最後の頁 274 ~ 280
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/WNR.0000000000001416	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Arake Masashi, Ohta Hiroyuki, Nozawa Takashi, Satoh Yasushi, Fujita Masanori, Nakata Takahiro, Meredith Andrea L., Shinomiya Nariyoshi, Ishizuka Toshiaki, Morimoto Yuji	4. 巻 468
2. 論文標題 BK channel dysfunction disrupts attention-controlled behaviors and altered perseverative responses in murine instrumental learning	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Behavioural Brain Research	6. 最初と最後の頁 115015 ~ 115015
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbr.2024.115015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高山英次, 中田隆博, 徳野慎一
2. 発表標題 Systemic immunity on mouse fed with jelly containing hydrogen gas.
3. 学会等名 第10回日本分子状水素医学生物学会大会
4. 発表年 2021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	高山 英次 (TAKAYAMA Eiji) (70533446)	朝日大学・歯学部・准教授 (33703)	
研究分担者	横尾 宏毅 (YOKOO Hiroki) (30332894)	常葉大学・健康プロデュース学部・教授 (33801)	
研究分担者	杉山 千歳 (SUGIYAMA Chitose) (00326125)	常葉大学・健康プロデュース学部・教授 (33801)	
研究分担者	森下 紗帆 (MORISHITA Saho) (30614010)	常葉大学・健康プロデュース学部・助教 (33801)	
研究分担者	佐藤 泰司 (SATO Yasushi) (10505267)	防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・生化学・教授 (82406)	
研究分担者	内田 千晴 (UCHIDA Chiharu) (60223567)	浜松医科大学・光先端医学教育研究センター・准教授 (13802)	

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
---------	---------