

肝芽腫、腎ラブドイド腫瘍における  
栄養代謝経路に着目した腫瘍制御(要約)

日本大学大学院医学研究科博士課程  
外科系小児外科学専攻

武藤衣里

修了年 2024年

指導教員 上原秀一郎

## はじめに

小児悪性固形腫瘍の治療成績は集学的治療により改善してきたが、高リスクな症例の予後は依然として不良である。また、その特徴として、強力な化学療法による患者の生活の質の低下や成長障害、妊孕性に対する影響など晩期障害が問題となっている。そのため治療成績を改善し、さらに既存治療の強度低減を可能とする新たな治療法の開発が切望されている。

近年がんに対する新規治療法の標的としてがん特異的な栄養代謝機構が注目されており、その 1 つとしてがんにおける糖、ケトン体代謝が挙げられ、この代謝機構を標的とした治療法がケトン食療法である。特に成人がんの領域で、その有効性に関する肯定的な報告が多くされており、さらにケトン食療法はてんかんに対する治療法として小児においても安全性が確立されていることから小児がんに対する栄養療法としても応用可能と考えられる。しかし、小児悪性固形腫瘍に対するケトン食療法の報告は神経芽腫や脳腫瘍など一部の腫瘍におけるもののみで、肝腫瘍や腎腫瘍を対象とした報告はない。

## 目的

本研究では、細胞株を用いて、ケトン食療法によって未だ報告のない肝芽腫 (Hepatoblastoma; HB)、腎ラブドイド腫瘍(Rhabdoid Tumor of the Kidney; RTK)の増悪がないかどうかを検討することを目的とした。

## 対象と方法

ヒト HB 細胞株(Huh6)、ヒト RTK 細胞株(G401, WT-CLS1)、コントロール細胞としてヒト正常包皮由来線維芽細胞(HFF)を対象とし、通常培地、グルコース不含培地、グルコース不含培地にケトン体(Acetoacetate,  $\beta$ -hydroxybutyrate)を添加した培地の各条件下で培養し、それぞれの生存細胞数の割合を WST(Water soluble Tetrazolium salts)-8 assay で解析した。次いで、各種細胞株において細胞生存に影響を与える要因の検討として、前述の各条件下で Adenosine triphosphate(ATP) assay を行った。また、ミトコンドリア内でケトン体を代謝する酵素である Succinyl-CoA: 3-oxoacid CoA transferase(SCOT)、3-hydroxybutyrate dehydrogenase 1(BDH1)の発現変化を遺伝子レベルで Quantitative RT-PCR(qRT-PCR)を用いて解析した。

## 結果

WST-8 assay では、コントロールである HFF においてグルコース欠乏下、ケトン体添加下で生存細胞数の割合は低下しなかったが、Huh6、G401、WT-CLS1 の生存細胞数の割合はグルコース欠乏下で低下し、ケトン体を添加しても改善しなかった。ATP assay では、コントロールである HFF において各条件下で細胞内 ATP 濃度の変化は認めず、Huh6、G401 ではグルコース欠乏下で細胞内 ATP 濃度は低下し、ケトン体を添加しても改善しなかった。一方、WT-CLS1 において、各条件下で細胞内 ATP 濃度の有意な変化を認めなかった。qRT-PCR では、Huh6、G401、WT-CLS1 において、コントロールである HFF と比較し、SCOT、BDH1 の発現が有意に低下していた。

## 考察

本研究では、HB 細胞株(Huh6)、RTK 細胞株(G401, WT-CLS1)においてグルコース欠乏下で低下した生存細胞数の割合が、ケトン体を添加しても改善しないことが示された。このことから、グルコースを制限し高脂質を摂取することにより、ケトン体代謝を正常細胞の主なエネルギー産生源とするケトン食療法が、これらの細胞株に対して有効である可能性が示唆された。その作用機序として細胞内 ATP 濃度を検討したところ、Huh6、G401 においてグルコース欠乏下で

低下した細胞内 ATP 濃度がケトン体添加下で改善しなかったが、WT-CLS1 では各条件下で細胞内 ATP 濃度の有意な変化を認めなかった。また Huh6、G401、WT-CLS1 においてミトコンドリア内でケトン体を代謝する酵素である SCOT、BDH1 の発現が有意に低下していることが明らかとなった。

成人がんの領域ではケトン食療法の有効性に関して多くの報告があるが、小児悪性固形腫瘍においては神経芽腫細胞株に対してケトン体の抗腫瘍効果が報告されている他、脳腫瘍患者を対象とした臨床研究が行われているが少ない症例数にとどまり、肝腫瘍や腎腫瘍におけるケトン食療法の有効性を検討した報告はない。本研究では未だ報告のない HB、RTK に対してケトン食療法が有効である可能性を示すことができた。

ケトン食療法が細胞生存に与える影響の機序として、ミトコンドリアでケトン体を代謝する酵素である SCOT、BDH1 の発現低下による、細胞内 ATP 産生量の低下が報告されている。本研究では、HB 細胞株(Huh6)、RTK 細胞株(G401)においてグルコース欠乏下で低下した細胞内 ATP 濃度がケトン体添加下で改善しないことが示された。また Huh6、G401 では SCOT、BDH1 の発現がコントロールである HFF と比較して有意に低下していた。以上より、Huh6、G401 ではケトン体代謝酵素である SCOT、BDH1 の発現低下によって細胞内 ATP 産生が抑制されることが、ケトン食療法が細胞生存に与える影響の機序の 1 つである

と考えられた。一方、RTK 細胞株のうち WT-CLS1 では、グルコース欠乏下、ケトン体添加下で細胞内 ATP 濃度の低下は認めなかった。また SCOT、BDH1 の発現はコントロールである HFF と比較すると有意に低下していたが、RTK 細胞株である G401 と比較すると SCOT の発現は有意に高く、BDH1 の発現は高い傾向であった。このことから、RTK では細胞株によってケトン体代謝酵素の発現変化およびケトン食療法が細胞生存に与える影響の機序が異なる可能性が示唆された。

ケトン食療法が細胞生存に与える影響の機序として、Reactive Oxygen Species(ROS)産生量や低酸素条件の影響、血管新生因子の発現変化、AMP-activated protein kinase(AMPK)経路をはじめとするシグナル伝達経路の異常などが報告されており、これらが WT-CLS1 においてケトン食療法が細胞生存に与える影響の機序の 1 つである可能性が考えられた。また、動物実験や臨床検体を用いた検討は、将来的な臨床応用に向けた課題である。

## 結語

本研究では、HB 細胞株(Huh6)、RTK 細胞株(G401, WT-CLS1)において、グルコース欠乏下で細胞生存が抑制され、ケトン体を添加しても改善しないことが明らかとなり、これらの細胞株においてケトン食療法が有効である可能性が示唆された。