

平成30年度がんサバイバーシップ研究助成金

研 究 報 告 書
(年 間)

令和 2 年 1 月 7 日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀 田 知 光 殿

研究施設 国立精神・神経研究センター

住 所 東京都小平市小川東町 4-1-1

研究者氏名 大久保 亮



(研究課題)

必須脂肪酸・腸内細菌叢バランスとがん再発恐怖の関連：探索的横断研究

平成30年 8 月 2 日付助成金交付のあった標記研究課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

平成 30 年度がんサバイバーシップ研究助成金 研究報告書（年間）

研究課題名：必須脂肪酸・腸内細菌叢バランスとがん再発恐怖の関連：探索的横断研究

研究代表者：大久保亮

国立がん研究センター社会と健康研究センター健康支援研究部外来研究員

国立精神・神経医療研究センタートランスレーショナル・メディカルセンター情報管理
解析部臨床研究計画・解析室長

共同研究者：松岡豊

国立がん研究センター社会と健康研究センター健康支援研究部 部長

1. 背景と研究目的

がんサバイバーの 79%ががん再発恐怖を経験し、その中で 49%は中程度以上、7%は重篤ながん再発恐怖を抱えるため、がん再発恐怖による生活の質や社会機能の低下が問題となっている。国内外の多くの研究で、がん再発恐怖による苦痛は、がんサバイバーにとって一番の満たされていないニーズと報告されている。がん再発恐怖に対しては対症的に薬物療法が施行されているが、がんサバイバーは身体症状や脆弱性を有していることが多く、薬物療法以外の予防法が期待されている。

本研究の目的は、必須脂肪酸バランス（omega3/omega6 脂肪酸比など）、腸内細菌叢バランス（腸内細菌叢の多様性、各細菌の占有率など）とがん再発恐怖の関連を検討することである。申請者は近年、良好な必須脂肪酸バランスが全身性炎症や神経伝達、腸内細菌叢バランスに影響することで恐怖記憶制御機構を改善しがん再発恐怖を軽減するという仮説を提唱した総説を出版した。本研究の成果から、がん再発恐怖の予防・克服を目的とした個別的な栄養学的介入法の開発に繋げていくことができれば、補完的アプローチとして機能性食品による介入や食生活・栄養指導といった行動介入も可能になる。必須脂肪酸、腸内細菌は食経験が十分に確立しており、安全性の観点からも広く受け入れられており、がん再発恐怖の予防法の一つとして日常生活に浸透していくことができる。

2. 方法

本研究は単施設横断研究で行う。対象は国立がん研究センター中央病院に外来治療中である乳がんサバイバーで、適格基準を以下に示す。

適格基準：20 歳以上の外来患者で、1 年以上前に浸潤性乳がんと診断され、研究開始時点でホルモン治療以外のがん治療を終えた人。

研究参加への同意を得た後、がん再発恐怖を Concerns About Recurrence Scale (CARS) を用いて、「診察前までのことを教えてください」と条件をそろえて研究者が面談して評価した。同時に生体試料として糞便、指から一滴の末梢血を採取し、必須脂肪酸、腸内細菌層を測定した。必須脂肪酸、腸内細菌層ともに測定専門会社に測定を委託した。必須脂肪酸に関しては全血中の脂肪酸組成を算出し、腸内細菌叢についてはメタ 16S 解析法を用いて腸内細菌叢の多様性、属レベルの細菌組成を算出した。さらに、不安抑うつ症状、食事内容、背景情報、がん及び他の身体疾患罹患情報を診療録と質問紙を用いて測定した。

統計解析は、CARS の総得点を目的変数とする重回帰分析を行った。統計解析にはすべて統計解析ソフト R (ver.3.2.1)を用いた。

3. 結果

1) 研究参加者

患者選択の流れを図1に示す。

研究に参加同意した130名のうち、126名を最終的な解析対象者とした。

解析対象者の患者背景を表1に示す。

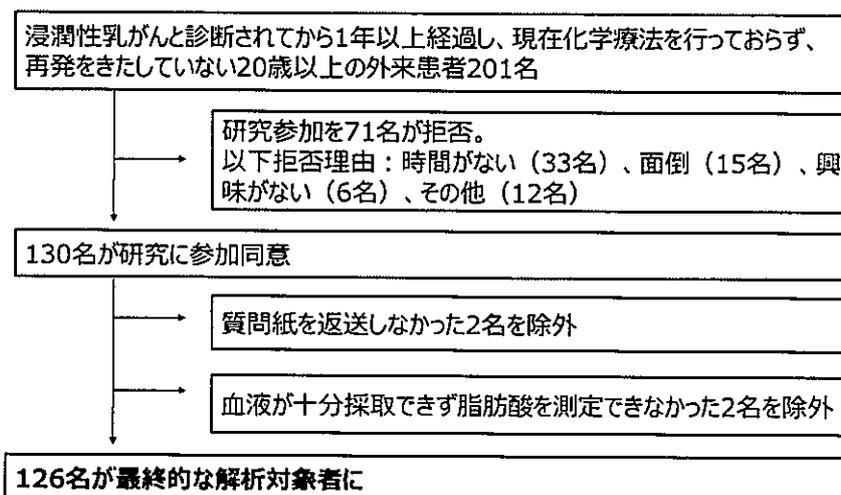


図1 患者選択の流れ

表1 患者背景 (n = 126)

Characteristics	Number or mean (SD)
Age, years	58 (11)
Sex (female:male)	125:1
History of family cancer history (yes:no)	95:31
Living alone (yes:no)	20:106
Cancer stage	
I	59
II	59
III	8
History of chemotherapy (yes:no)	57:69
Duration from cancer diagnosis (year)	5 (3)
Hospital Anxiety and Depression Scale	7.8 (5.6)
Concerns About Recurrence Scale	3.1 (1.1)
Polyunsaturated fatty acids, %	
Total n-3 PUFAs	6.0 (1.9)
ALA	0.5 (0.2)
EPA	1.9 (1.0)
DHA	2.7 (0.8)
Total n-6 PUFAs	23.3 (4.3)
LA	16.1 (3.1)
AA	4.9 (1.3)
n-6/n-3 ratio	4.2 (1.2)

Abbreviations: EPA, eicosapentaenoic acid; DHA, docosahexaenoic acid; ALA, alpha-linolenic acid; LA, linoleic acid; AA, arachidonic acid.

2) 必須脂肪酸とがん再発恐怖の関連

必須脂肪酸とがん再発恐怖の関連について、重回帰分析を用いて検討した。結果を表2に示す。

必須脂肪酸のうち、アルファリノレン酸 (alpha-linolenic acid; ALA) の血中濃度が高いほど、有意に CARS 総得点が低いという結果が、想定される交絡因子 (年齢、性別、単身生活、家族のがん既往、診断からの期間、がん病期、化学療法有無) を調整した後 (Model 1) も認められた (Beta=-0.169, p=0.046)。さらに、抑うつ症状を調整したモデル (Model 2)、外傷的ストレス体験症状を調整したモデル (Model 3) でも同様の関連が認められた。

表2 必須脂肪酸組成と CARS 総得点の関連の検討 (n = 126)

Independent variables	R ²	Beta	P value
Model 1			
Total n-3 PUFAs	0.14	0.053	0.53
ALA	0.16	-0.169	0.046
EPA	0.14	0.010	0.90
DHA	0.14	0.120	0.13
Total n-6 PUFAs	0.14	0.082	0.33
LA	0.14	0.094	0.27
AA	0.14	0.069	0.44
n-6/n-3 ratio	0.14	-0.003	0.97
Model 2			
Total n-3 PUFAs	0.21	0.053	0.52
ALA	0.24	-0.176	0.03
EPA	0.21	0.023	0.78
DHA	0.22	0.120	0.14
Total n-6 PUFAs	0.21	0.043	0.61
LA	0.21	0.061	0.46
AA	0.21	0.035	0.68
n-6/n-3 ratio	0.21	-0.017	0.84
Model 3			
Total n-3 PUFAs	0.25	0.037	0.64
ALA	0.27	-0.165	0.04
EPA	0.25	0.001	0.94
DHA	0.26	0.108	0.17
Total n-6 PUFAs	0.25	0.056	0.49
LA	0.25	0.071	0.38
AA	0.25	0.033	0.69
n-6/n-3 ratio	0.25	0.001	0.90

Each row was calculated using the following models. Model 1: adjusted for age, sex, living alone, history of family cancer, duration from diagnosis, cancer stage, and history of chemotherapy. Model 2: adjusted for the variables of Model 1 and the total score on the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS). Model 3: adjusted for the variables of Model 2 and the total Impact of Event Scale-Revised (IES-R) score. Abbreviations: ALA, alpha-linolenic acid; EPA, eicosapentaenoic acid; DHA, docosapentaenoic acid; LA, linoleic acid; AA, arachidonic acid.

3) 腸内細菌叢バランスとがん再発恐怖の関連

研究参加者の腸内細菌叢組成について、結果を表3に示す。占有率（腸内細菌層全体の中で当該細菌が占める割合）が1%を超え、解析対象者の95%以上から検出された細菌（属レベル）のみを解析対象とした。

表3 研究参加者の腸内細菌叢組成 (n = 126)

Characteristics	Total
Phylum	
Firmicutes (%)	55.8 (11.1)
Bacteroidetes (%)	35.1 (10.0)
Actinobacteria (%)	5.3 (6.0)
Proteobacteria (%)	2.7 (3.4)
Genus	
Bacteroides (%)	27.6 (11.5)
Faecalibacterium (%)	9.1 (5.7)
Blautia (%)	7.2 (3.5)
Lachnospiraceae.g (%)	4.2 (2.2)
Coprococcus (%)	3.9 (2.6)
Ruminococcus (%)	5.0 (4.8)
[Ruminococcus] (%)	3.5 (2.9)
Lachnospiraceae. (%)	1.3 (1.0)
Diversity	
Shannon index	5.3 (0.5)

腸内細菌叢組成と CARS 総得点の関連について、重回帰分析を用いて検討した。結果を表4に示す。Bacteroides 属のみで有意な関連が認められた (Beta=0.180, p=0.03)。

表4 腸内細菌叢組成と CARS 総得点の関連の検討 (n = 126)

Independent variables	R ²	beta	P value
Phylum			
Firmicutes	0.19	-0.072	0.40
Bacteroidetes	0.21	0.157	0.07
Actinobacteria	0.19	-0.021	0.80
Proteobacteria	0.20	-0.110	0.17
Genus			
Bacteroides	0.22	0.180	0.03
Faecalibacterium	0.19	-0.025	0.76
Blautia	0.19	0.028	0.74
Lachnospiraceae.g	0.21	-0.132	0.10
Coprococcus	0.19	-0.007	0.93
Ruminococcus	0.19	-0.022	0.79
[Ruminococcus]	0.19	0.061	0.47
Lachnospiraceae.	0.19	0.031	0.72
Diversity			
Shannon	0.20	-0.098	0.24

Each row was calculated using the following models adjusted for age, sex, body mass index, history of family cancer, duration from diagnosis, cancer stage, and the total sc

ore on the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS).

さらに腸内細菌叢組成と CARS 総得点の関連について、化学療法の有無で層別して検討した。結果を表 5 に示す。化学療法既往なしの群 (n=69) では腸内細菌叢のすべての項目で CARS 総得点と有意な関連は認められなかった。

しかしながら、化学療法既往ありの群 (n=57) では、以下の腸内細菌叢 (属レベル) で有意な関連が認められた (表 5)。 *Bacteroides* (beta=0.297, p<0.01)、 *Lachnospiraceae.g* (beta=-0.253, p=0.03)、 *Ruminococcus* (beta=-0.298, p=0.02)。また、腸内細菌叢の多様性を示す指標である、Shannon diversity index も CARS 総得点と有意な関連を認めた (beta=-0.244, p=0.04)。

図 2 は *Bacteroides* と CARS 総得点、Shannon diversity index と CARS 総得点との関連を図示したものである。

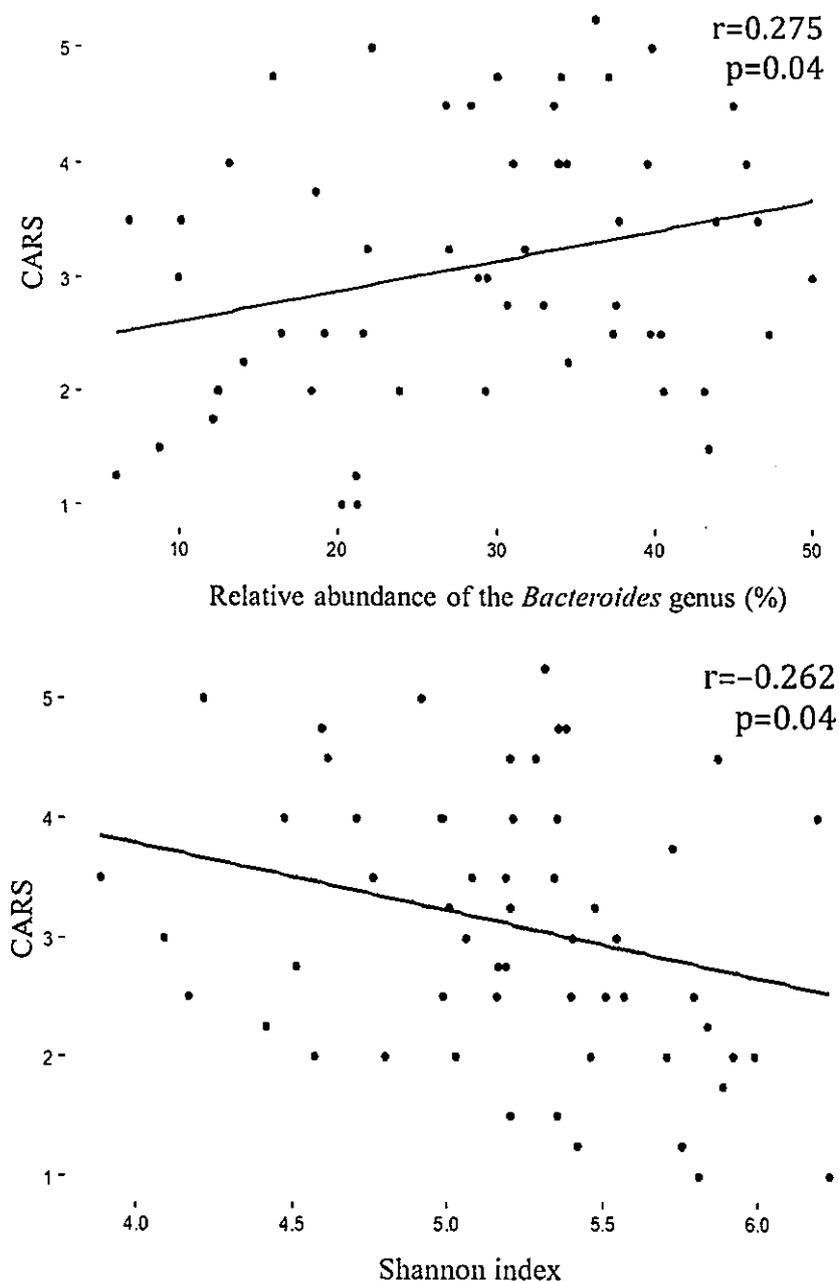


図 2 *Bacteroides*、Shannon diversity index と CARS 総得点の関連

表 5 化学療法の有無で層別した腸内細菌叢組成と CARS 総得点の関連の検討 (n = 126)

Independent variables	No history of chemotherapy (n=69)			History of chemotherapy (n=57)		
	R ²	Standardized beta coefficient (95% CI)	p value	R ²	Standardized beta coefficient (95% CI)	p value
Phylum						
Firmicutes	0.18	0.058 (-0.172, 0.289)	0.62	0.33	-0.285 (-0.218, -0.030)	0.03
Bacteroidetes	0.17	0.035 (-0.203, 0.273)	0.77	0.32	0.245 (0.007, 0.483)	0.04
Actinobacteria	0.18	-0.074 (-0.312, 0.165)	0.54	0.26	0.076 (-0.178, 0.330)	0.55
Proteobacteria	0.18	-0.103 (-0.329, 0.124)	0.37	0.27	-0.116 (-0.347, 0.115)	0.32
Genus						
<i>Bacteroides</i>	0.17	0.020 (-0.219, 0.260)	0.87	0.35	0.297 (0.075, 0.518)	<0.01
<i>Faecalibacterium</i>	0.17	0.003 (-0.228, 0.234)	0.98	0.26	-0.070 (-0.309, 0.168)	0.56
<i>Blautia</i>	0.18	-0.059 (-0.298, 0.181)	0.63	0.27	0.115 (-0.122, 0.353)	0.33
<i>Lachnospiraceae.g</i>	0.17	-0.023 (-0.250, 0.204)	0.84	0.33	-0.253 (-0.480, -0.026)	0.03
<i>Coproccoccus</i>	0.19	0.136 (-0.112, 0.385)	0.28	0.28	-0.134 (-0.378, 0.100)	0.25
<i>Ruminococcus</i>	0.21	0.200 (-0.032, 0.432)	0.09	0.33	-0.298 (-0.553, -0.044)	0.02
[<i>Ruminococcus</i>]	0.17	0.019 (-0.207, 0.245)	0.87	0.26	0.051 (-0.199, 0.302)	0.68
<i>Lachnospiraceae.</i>	0.21	0.187 (-0.038, 0.412)	0.10	0.28	-0.176 (-0.446, 0.094)	0.20
Diversity						
Shannon	0.18	0.079 (-0.155, 0.313)	0.50	0.32	-0.244 (-0.472, -0.017)	0.04

Each row was calculated using models adjusted for age, sex, body mass index, family history of cancer-related death, time since diagnosis, cancer stage, and total score on the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS).

4. 考察

1) 必須脂肪酸とがん再発恐怖の関連

本研究は、必須脂肪酸とがん再発恐怖の関連を世界で初めて検討した研究である。血中 ALA（えごま油、アマニ油、くるみに多く含まれる）の血中濃度が高い程、再発恐怖が低いとの関連がみられ、その関連は抑うつ症状など他の精神症状と独立したものの結果が認められた。

ALA とがん再発恐怖の関連の背後にあるメカニズムとして、ALA の恐怖記憶処理促進作用が考えられ、それを支持する動物実験 (Thiebaud et al., 2014; Yamamoto et al., 1988)、臨床試験 (Miller et al., 2018)が報告されている。

上記研究成果を以下の論文として発表した。

Fear of cancer recurrence among breast cancer survivors could be controlled by prudent dietary modification with polyunsaturated fatty acids. *Journal of Affective Disorders* 2019; 245: 1114-1118 (IF=3.786)

2) 腸内細菌叢バランスとがん再発恐怖の関連

本研究は、がん再発恐怖と腸内細菌叢の関連を調べた世界初の研究である。乳がんサバイバーの特に化学療法の既往のある方で、便中の腸内細菌叢の多様性を含む、複数の腸内細菌が再発恐怖と有意な関連を認めた。その関連は年齢、性別、BMI、抑うつ症状など想定される交絡因子と独立したものであった。

この研究結果から、化学療法による腸内細菌叢の変化が再発恐怖と関連していることが示唆された。今回再発恐怖と有意な関連が認められたのは、化学療法による変化が報告されている腸内細菌 (Montassier et al., 2015)であり、炎症を惹起するとされる細菌 (*Bacteroides* 属) との正の関連や、腸管粘膜保護作用や抗酸化作用のある酪酸産生菌 (*Lachnospiraceae*, *g*, *Ruminococcus*) との負の関連であった。さらに、CRP など炎症マーカーとの関連が報告されている腸内細菌の多様性指標とも正の関連を認めた。これらの結果から、化学療法により腸内細菌叢の変化が起こり、それが腸管粘膜保護機能を低下させ、全身性の炎症を増加させ、結果的に再発恐怖に影響している可能性が示唆された。

上記研究成果を以下の論文として発表した。

Impact of chemotherapy on the association between fear of cancer recurrence and the gut microbiota in breast cancer survivors. *Brain Behavior Immunity* (2019, in press) (IF=6.306)

3) 今後の検討

さらに現在、追加の解析を行っており、上記結果を含めた研究成果を基に、がん再発恐怖に対する栄養学的介入法の開発を進めている。

参考文献

- Miller, H. C., Struyf, D., Baptist, P., Dalile, B., Van Oudenhove, L., & Van Diest, I. (2018). A mind cleared by walnut oil: The effects of polyunsaturated and saturated fat on extinction learning. *Appetite*, *126*, 147-155. doi:10.1016/j.appet.2018.04.004
- Montassier, E., Gastinne, T., Vangay, P., Al-Ghalith, G. A., Bruley des Varannes, S., Massart, S., . . . Knights, D. (2015). Chemotherapy-driven dysbiosis in the intestinal microbiome. *Aliment Pharmacol Ther*, *42*(5), 515-528. doi:10.1111/apt.13302
- Thiebaud, N., Johnson, M. C., Butler, J. L., Bell, G. A., Ferguson, K. L., Fadool, A. R., . . . Fadool, D. A. (2014). Hyperlipidemic diet causes loss of olfactory sensory neurons, reduces olfactory discrimination, and disrupts odor-reversal learning. *J Neurosci*, *34*(20), 6970-6984. doi:10.1523/JNEUROSCI.3366-13.2014
- Yamamoto, N., Hashimoto, A., Takemoto, Y., Okuyama, H., Nomura, M., Kitajima, R., . . . Tamai, Y. (1988). Effect of the dietary alpha-linolenate/linoleate balance on lipid compositions and learning ability of rats. II. Discrimination process, extinction process, and glycolipid compositions. *J Lipid Res*, *29*(8), 1013-1021.