

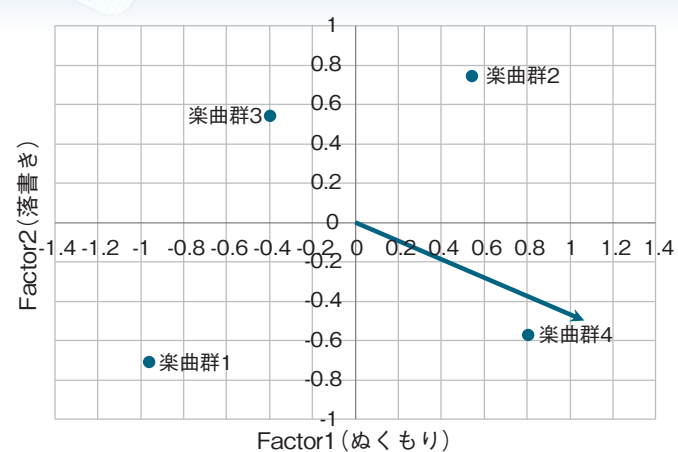


図1.ポジショニングマップ

この結果、楽曲群4が最適な「居心地の良い空間」を作りうることが読み取れる。

次に、音楽に設定した要素とFactor1,2との関係を調べるため、それぞれの重回帰分析を行った。結果を表6に示す。この結果からFactor1は音の高さの要素に最も反応し、Factor2はテンポに反応していることがわかった。最も好ましい結果となっている楽曲群4は、音が高く、テンポが遅い楽曲であるため、こうした条件が「居心地の良い空間」をつくるものと考えられる。

表6 音楽に設定した要素とFactor1,2との重回帰分析結果

変数名	Factor1			Factor2		
	回帰係数	p値	偏回帰係数	回帰係数	p値	偏回帰係数
切片	0.075	.225		0.000	1.000	
調	0.282	.000	.294	-0.016	.685	-.018
音高	0.602	.000	.627	0.086	.029	.099
テンポ	0.151	.087	.136	0.644	.000	.743

4 考 察

Factor1の「ぬくもり」において、表4より安心感や温かさといった項目が影響を与えていることが読み取れる。また、Factor1において音高に反応していると表6から分かるため、安心感や温かさなどは高い音からもたらされると言える。故に、高い音は明るい感情や落ち着いた感情を引き起こすということが考えられる。Factor2の「活発さ」においては、表4より静けさといった項目が影響を与えていることが読み取れる。Factor2においてテンポに反応していることから、静けさは遅いテンポからもたらされることが分かる。したがって、人間の心理に落ち着きという状態を引き起こすことが居心地の良さを感じさせる一因であるのではないだろうか。

5 まとめ

本研究では、研究の対象を食堂や店舗などで「居心地のよい空間」をつくることで顧客を増やし、結果として売上向上につなげる方策を検討する予備実験として、本荘キャンパスの学生を対象としたアンケートを実施し、「居心地の良い空間」を構成する音楽のあり方を検討した。その結果、音の高さに反応する潜在的項目と、テンポに反応する潜在的項目を発見し、最も好ましい組み合わせが、音が高く、テンポが遅い楽曲であることをつきとめた。このことは、音楽を用いて「居心地の良い空間」を演出できることを示唆している。

6 今後の課題

本稿の冒頭で、湯沢市にあるA社の社員食堂の協力を得ることに成功したことを記した。研究期間中に、A社食堂の食券売り場にRaspberry Piを用いて1日ごとに音楽を自動で流す“ジュークボックス”を配置し、音楽を流さなかった場合と流した場合とで、購入した食券に変化があるかどうかを調査するデータを得ることができた。しかし、このデータは食券のチケットを収集したものであったため、研究期間中に解析可能なデータに変換することができなかった。このデータを利用すると、音楽と売上高の関係を明らかにできる可能性があるため、この解析の実施が今後の課題として残されている。

また、予備実験においてアンケート項目の制約から評価項目や曲数を十分に試すことができなかった。評価項目については既往研究を十分に実施して適切な項目群を作らなければならないため、今後の研究課題と考える。

謝 辞

アンケートに回答した本荘キャンパスの関係者と、実験の場を提供くださったA社の社長ならびに協力いただいた従業員の皆様に御礼を申し上げます。

参考文献

- [1] 神田範明：“ポジショニング分析”，神田教授の商品企画セミナー,日科技連,pp.101-110,2013.
- [2] 神田範明：“コンジョイント分析”,神田教授の商品企画セミナー,日科技連,pp.111-134,2013.
- [3] 小松原明哲：“セマンティックディファレンシャル法”,エンジニアのための人間工学(改訂第6版),日本出版サービス,pp.186-188,2021.
- [4] 清水裕士：フリーの統計分析ソフトHAD：機能の紹介と統計学習・教育、研究実践における利用方法の提案,メディア・情報・コミュニケーション研究,1,pp.59-73,2016.



Pink Reborn

2年 中山 莉穂 (千葉県／江戸川学園取手高校出身)

生物資源科学部／応用生物科学科

指導教員 村田 純 教授
(応用生物科学科)

Q1 取り組んだ学生自主研究について教えてください。

癌で死に至る最大の要因は、転移です。この転移形成に重要な癌細胞の運動性を抑制することができれば、癌転移を抑制できると考えられます。今回は、女性の部位別癌死亡率が第4位の乳癌に着目し、神経ペプチドが癌細胞の運動性にどのような影響を及ぼすかについて研究を行いました。その結果、オキシトシンとプロラクチンという2つの神経ペプチドが乳癌細胞の運動性を抑制することを明らかにしました。



Q2 学生自主研究で得たことや良かったことを教えてください。

学生自主研究では、癌の知識や実験の基礎技術を先取りして学ぶことができ、私にとって大きな強みとなりました。村田先生から教わった内容は、3年生になった現在の講義をより深く理解する土台になっています。また、研究を通して乳癌への興味が大きく膨らみました。熱心にご指導くださった村田先生との素晴らしい出会い、そして深い信頼関係を築くことができたのは、学生自主研究の最大の魅力だと思います。



高校生へのメッセージ

Message from seniors

私は「大学では何でも挑戦しよう」という気持ちだけで学生自主研究を始めました。しかし、自主研究を通して乳癌研究の楽しさにのめり込み、今では研究室でもこの研究を続けたいと強く願っています。最初からやりたいことが決まっていない人こそ、自主研究で自分のやりたいことが見つかると思います。秋田県立大学の先生方は熱心に導いてくださるので、大学生活を充実させたいというやる気だけを持って、ぜひ挑戦してみてください。



応用生物科学科

教授 村田 純

PROFILE
学 位 / 理学博士
専門分野 / 分子腫瘍学

指導教員がきめ細かく研究をサポート

SUPPORT

研究内容 癌転移に不可欠な癌細胞の運動性に関する研究

癌は、我が国で死因の第1位を占める疾患ですが、癌で死に至る最大の要因は癌細胞の他臓器・組織への転移です。癌細胞は、組織へ浸潤(組織のタンパク質を酵素で破壊し、壊れた組織内を運動)することで組織内の毛細血管や毛細リンパ管に侵入し、遠くの臓器や周辺のリンパ節に転移します。したがって、癌細胞の浸潤(組織破壊と運動性)を阻害すれば、癌転移は抑制され、ひいては癌死亡率の低下に寄与すると考えられます。当研究室では、癌転移に必要な癌細胞の運動性に着目し、そのメカニズムを分子レベルおよび細胞レベルで解明するとともに、細胞運動を阻害する生体内の生理活性物質を探索し、運動性阻害に基づく転移抑制について、マウスを用いた個体レベルで検討しています。こうした研究を通じて、癌転移抑制剤を開発するためのヒントを探索しています。

高校生へのメッセージ

高校生の皆さんは日常生活で、“それって、なぜ？”と様々なことに疑問を持つことと思います。特に関心を持ったことは、とことん掘り下げて調べてください。大学では意欲次第で“なぜ”の答えを深く追究することが可能です。本学部では、生物好きの好奇心を掻き立てる多様な研究室が皆さんをお待ちしています。

1 背景

癌で死に至る最大の要因は、癌細胞の他臓器・組織への転移である。癌細胞は、最寄りの組織へ浸潤(組織を酵素で破壊し、破壊された組織内を移動)することで、組織内の血管やリンパ管に侵入し、遠隔臓器や周辺リンパ節に転移する。したがって、癌細胞の浸潤(組織破壊と運動性)を阻害すれば、癌転移は抑制されると考えられる。

生体内に存在するホルモン等の生理活性物質は、癌の機能に様々な影響を与えていると考えられる。部位別癌死亡率が女性で第4位の乳癌では、ステロイドホルモンのエストロゲンが細胞の増殖を促進することが知られているが、乳腺に作用するプロラクチン、オキシトシン、心房性ナトリウム利尿ペプチド等のペプチドホルモン(神経ペプチド)の影響はほとんど明らかにされていない。

2 目的

本研究では、転移形成に重要な癌細胞の運動性に及ぼす神経ペプチド(プロラクチン、オキシトシン、心房性ナトリウム利尿ペプチド)の影響について、ヒト乳癌細胞株MCF-7を用いて検討した。

3 材料と方法

1. 癌細胞株

ヒト乳癌細胞株MCF-7は、JCR細胞バンク(大阪)より分譲された。MCF-7は、10%非働化ウシ胎児血清(FBS)を含む1%非必須アミノ酸溶液添加EMEM培地中にin vitroで継代、維持した。

2. 神経ペプチド

オキシトシンは、ペプチド研究所(大阪)より購入した。プロラクチンは、Fujifilm Irvine Scientific Inc.(Santa Ana, CA,USA)より購入した。心房性ナトリウム利尿ペプチドは、当研究室所蔵のものをを用いた。

いずれの神経ペプチドも、滅菌精製水を用いて希釈した。なお、実験では、神経ペプチドの一般的な生理学的濃度(10^{-12} ~ 10^{-10} M)から薬効を検討するための薬理学的濃度(10^{-9} ~ 10^{-6} M)にわたり検討した。

3. 細胞運動実験

孔径8 μ mのフィルター下面にFibronectin(20 μ g/ml)をコートしたTranswell chamberに、0.1%ウシ血清アルブミン(BSA)添加EMEM培地にて調整した癌細胞(細胞密度: 1×10^6 cell/ml)を99 μ lと各濃度(最終濃度: 10^{-12} ~ 10^{-6} M)の神経ペプチドを1 μ l加え、594 μ lのEMEM(0.1%BSA)培地と6 μ lの神経ペプチド(10^{-12} ~ 10^{-6} M)を添加した24穴プレートに積載し、インキュベーター内で37 $^{\circ}$ C、5%CO₂の条件下で24時間培養した。フィルター上の癌細胞を100%メタノールで固定した後、ヘマトキシリンで核を、エオジンで細胞質を各々染色した(H-E染色)。フィルター上部の移動しなかった細胞を綿棒で除去し、下部に移動した細胞の個数を光学顕微鏡下(400倍)で計測した。移動細胞数は、5視野の平均値 $\pm$ 標準偏差で算出した。

4. 細胞増殖実験

EMEM(10%FBS)培地で 5×10^4 cell/mlに調製した癌細胞の浮遊液を96穴プレートの各ウェルに50 μ lずつ播種した後、EMEM(10%FBS)培地で調製した各濃度(最終濃度: 10^{-12} ~ 10^{-6} M)の神経ペプチドを50 μ lずつ添加し、インキュベーター内で37 $^{\circ}$ C、5%CO₂の条件下で24時間培養した。水溶性テトラゾリウム塩(WST-8)を各ウェルに10 μ lずつ添加して4時間後、生細胞がWST-8を還元することにより生じるWST-8ホルマゼンの呈色反応(橙色)に基づき、マイクロプレートリーダーにて各ウェルの吸光度(波長: 450nm)を測定した。細胞増殖は、同一処理をした3ウェルの平均値 $\pm$ 標準偏差で算出した。

5. 有意差検定

対照群と処置群との統計的有意差は、Student's two-tailed t-testにより検定した。P<0.05(5%)以下を統計的に有意とした。

4 結果

1.各種神経ペプチドがヒト乳癌細胞の運動に及ぼす影響

乳腺の機能に関する神経ペプチドの心房性ナトリウム利尿ペプチド(以後、ANPと略)、オキシトシン(以後、OXTと略)及びプロラクチン(以後、PRLと略)が、ヒト乳癌細胞株MCF-7の運動に及ぼす影響を、癌細胞の垂直方向への運動を測定するTranswell chamberを用いた膜透過法にて解析した。

その結果、ANPは、コントロール(神経ペプチドの溶媒として用いた滅菌精製水のみ添加)と比較し、MCF-7乳癌細胞に対して顕著な運動抑制作用は見られなかった(図1)。一方、OXTは、 10^{-12} ~ 10^{-9} Mで濃度依存的にMCF-7乳癌細胞の運動を抑制した(図2)。特に、 10^{-9} MのOXTでは、コントロールと比較して約90%の運動阻害がみられた。しかしながら、 10^{-8} ~ 10^{-7} MのOXTで運動が上昇し、 10^{-6} MのOXTでは再び運動抑制がみられた。さらに、PRLは、 10^{-10} ~ 10^{-7} Mで濃度依存的にMCF-7細胞の運動を抑制した(図3)。特に、 10^{-7} MのPRLは、コントロールと比較して90%以上運動を阻害した。

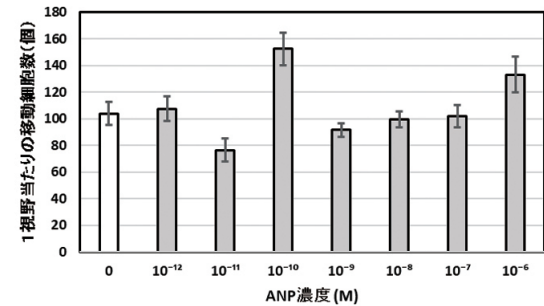


図1 ANPがヒト乳癌細胞の運動に及ぼす影響

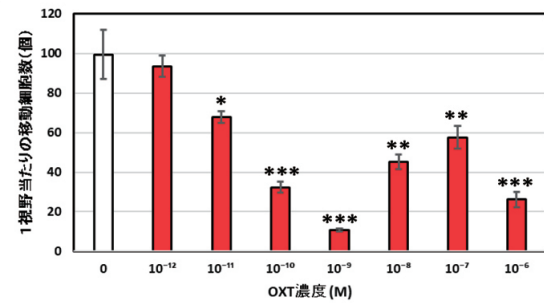


図2 OXTがヒト乳癌細胞の運動に及ぼす影響

*P<0.01,**P<0.005,***P<0.001

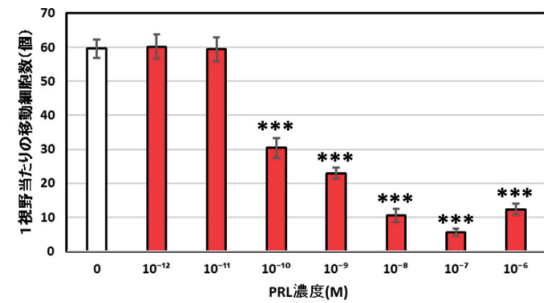


図3 PRLがヒト乳癌細胞の運動に及ぼす影響

2. 各種神経ペプチドがヒト乳癌細胞の増殖に及ぼす影響

OXTやPRLはMCF-7乳癌細胞の運動を顕著に抑制したが、今回用いた細胞運動実験では実験終了まで24時間培養していることから、神経ペプチドが癌細胞の増殖を抑制することで、フィルター下面に移動した細胞が減少していることも考えられる。

神経ペプチドのANP、OXT及びPRLが、MCF-7乳癌細胞の増殖に及ぼす影響を、生細胞による水溶性テトラゾリウム塩(WST-8)の還元に基づいた呈色反応にて解析した。

その結果、ANPは、コントロールと比較し、用いたいずれの濃度(10^{-12} ~ 10^{-6} M)でMCF-7乳癌細胞の増殖にほとんど影響が認められなかった(図4)。また、 10^{-12} ~ 10^{-9} Mで濃度依存的にMCF-7乳癌細胞の運動を抑制したOXTは、 10^{-12} ~ 10^{-6} MでMCF-7乳癌細胞の増殖にほとんど影響を与えなかった(図5)。さらに、 10^{-10} ~ 10^{-7} Mで濃度依存的にMCF-7乳癌細胞の運動を抑制したPRLについても、 10^{-12} ~ 10^{-6} Mの濃度範囲でMCF-7乳癌細胞の増殖にほとんど影響が認められなかった(図6)。

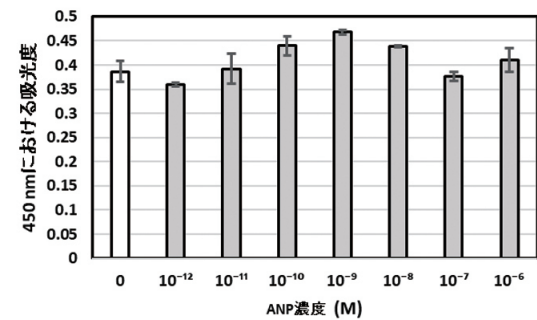


図4 ANPがヒト乳癌細胞の増殖に及ぼす影響

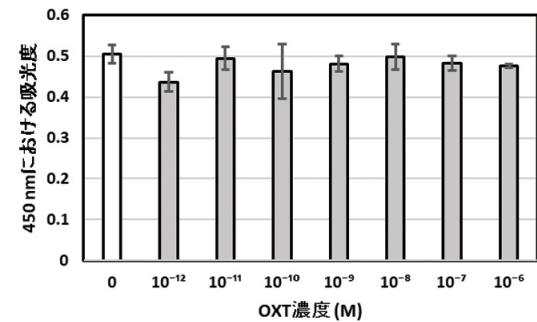


図5 OXTがヒト乳癌細胞の増殖に及ぼす影響

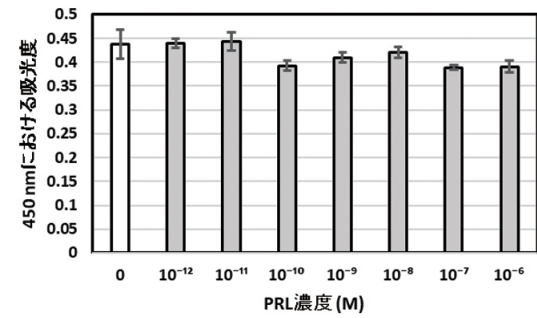


図6 PRLがヒト乳癌細胞の増殖に及ぼす影響

5 考察

乳腺の機能に関する3種類の神経ペプチド(心房性ナトリウム利尿ペプチド: ANP、オキシトシン: OXT、プロラクチン: PRL)が、癌転移を促進する細胞運動に及ぼす影響を、ヒト乳癌細胞株MCF-7を用いて検討した結果、OXT及びPRLに顕著な運動抑制効果が認められた(図2,3)。さらに、OXTとPRLによる運動抑制は、細胞増殖の阻害によるものではないことが明らかとなった(図5,6)。

OXTの血中濃度は健康人(平均 2.5×10^{-11} M)と比較して乳癌患者(平均 2.2×10^{-10} M)で約8.7倍に上昇する一方で、OXT受容体の発現は乳癌組織で顕著に減少することが報告されている1)。

本実験結果で、 10^{-11} ~ 10^{-9} MのOXTはMCF-7乳癌細胞の運動を抑制したが、高濃度(10^{-8} ~ 10^{-7} M)のOXTではMCF-7細胞上のOXT受容体が一時的に発現抑制(ダウンレギュレーション)されることで運動抑制効果が減弱したと考えられる。他方、乳癌患者の体内では、局所で上昇したOXTに長時間暴露されることで、乳癌細胞のOXT受容体がダウンレギュレーションされてOXTへの感受性が低下していることが推測される。今後、OXTで経口的に前処理した乳癌細胞の運動性を解析し、今回の結果と比較する必要がある。

一方、PRLの血中濃度は、健康人と乳癌患者との間でほとんど差はなかったが、癌の高リスク群での上昇が確認された2)。さらに、健康人と比較して乳癌患者ではPRL受容体が過剰に発現しており、全ての乳癌組織においてPRLのmRNAが検出されたことから、癌細胞自身がPRLを産生しオートクリン機構で受容していることが示唆された3)。

本実験結果で、 10^{-10} ~ 10^{-7} MのPRLは濃度依存的にMCF-7細胞の運動を抑制したが、OXT受容体の場合とは異なりPRL受容体が高発現しているため、高濃度(10^{-9} ~ 10^{-6} M)のPRLが作用してもPRLへの感受性が低下しないのかも知れない。今後、遺伝子工学的にMCF-7細胞におけるPRL受容体の発現量を調節することで、PRLの細胞運動への影響を解明していく必要がある。

そして、OXTやPRLが乳癌細胞の組織浸潤やヌードマウスにおける癌転移に及ぼす影響についても解析してみたい。

参考文献

1. Ariana M, Pornour M, Mehr SS, Vaseghi H, Ganji SM, Alivand MR, Salari M, Akbari ME. Preventive effects of oxytocin and oxytocin receptor in breast cancer pathogenesis. Per Med. 2019 Jan;16 (1):25-34. doi:10.2217/pme-2018-0009. Epub 2018 Nov 19. PMID:30451597.
2. Kwa, HG, Jong-Bakker MDe, Engelsman E, Cleton FJ. Plasma prolactin in human breast cancer. The Lancet 1974 Mar 16;1 (7855):433-435. doi:10.1016/s0140-6736 (74)92385-x.
3. Touraine P, Martini JF, Zafrani B, Durand JC, Labaille F, Malet C, Nicolas A, Trivin C, Postel-Vinay MC, Kuttann F, Kelly PA. Increased expression of prolactin receptor gene assessed by quantitative polymerase chain reaction in human breast tumors versus normal breast tissues. J Clin Endocrinol Metab. 1998 Feb;83 (2):667-74. doi:10.1210/jcem.83.2.4564. PMID:9467590.