

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K10065

研究課題名(和文) 転移がん発症に及ぼす咀嚼刺激の影響

研究課題名(英文) Chewing attenuates metastasis-promoting effects of chronic stress in mice in

研究代表者

東 華岳 (Azuma, Kagaku)

産業医科大学・医学部・教授

研究者番号：20273146

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：転移がんモデルマウスに対するストレス負荷と咀嚼刺激の影響を検討した。対照群に比べ、ストレス群の肺転移巣が有意に増加した。血中コルチコステロン量と転移がん組織のグルココルチコイド受容体、アドレナリン受容体、転移がん関連遺伝子と酸化ストレス因子の発現が上昇した。ストレス負荷中に咀嚼刺激を与えると、肺転移巣が減少した。血中コルチコステロン量と転移がん組織のグルココルチコイド受容体、アドレナリン受容体、転移がん関連遺伝子と酸化ストレス因子の発現が低下した。これらの結果よりストレス負荷中の咀嚼刺激はストレスホルモンとその受容体を介し転移がんの進行を抑制しているものと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ストレス緩和とストレス性転移がんの発症・進行に及ぼす咀嚼刺激の効果を系統的に解明し、がん患者へのヘルス・プロモーションを支える口腔器官の介入を世界初の情報として国内外に発信する上で、学術的かつ社会的に大きな意義がある。今後のがん患者の増加が医療費をさらに押し上げ、近い将来医療経済を揺るがすことが懸念されている中、がんの発症・転移素因が咀嚼刺激によって解除される機構が解明されることにより、「がん治療における口のケア」と同様に、「がん予防における咀嚼行為」の取り組みが可能になり、医療費の削減に大きく寄与することが期待できる。

研究成果の概要(英文)：We examined effects of chewing on lung metastasis of breast cancer in mouse exposing to chronic restraint stress. Human cancer cells were injected into the tail vein of female nude mice. Stress was induced by placing mice in a restraint tube for 7 weeks. Mice in the stress-with-chewing group were allowed to chew during experimental period. The number and size of lung metastatic nodules, blood corticosterone level and the expression of glucocorticoid receptor, adrenaline receptor were higher in stress mice, compared with control mice. As compared to stress group, the number and size of lung metastatic nodules, blood corticosterone level and the expression of glucocorticoid receptor, adrenaline receptor were lower in stress-with-chewing group. These findings showed that chewing could attenuated the promoting effects of chronic stress on lung metastasis by regulating stress hormones and their receptors, and the downstream signaling involving angiogenesis and oxidative stress.

研究分野：医歯薬学

キーワード：転移がん ストレス 咀嚼刺激

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1)日本人の死亡原因の第1位は悪性新生物(がん)であり、2人に1人ががんに罹患し、3人に1人が死亡している(厚労省関連統計データ, 2018)。近年、がん治療の目覚ましい進歩により、発生したがんが局所に留まっている場合には(原発がん)外科手術や放射線治療等が有効であるが、がんが他臓器へ遠隔転移すると(転移がん)治療方法は化学療法や免疫療法等に限定される。結果、死亡例の殆どがこの転移がんといわれている。したがって、転移がんに対する新しい治療法の開発が強く求められている。

(2)慢性ストレスがストレスホルモンとその受容体を介し、がんの遠隔転移を促すことが明らかにされた(Obradović et al, Nature 2019)。我々は実験動物マウスを用いて、ストレス負荷中の咀嚼刺激がストレスを緩和し、乳がんの発症と進行を抑制することを解明した(Zhou et al, Brain Sci 2021)。本研究課題は咀嚼刺激が生存率の低い転移がんの進行に対して抑制効果があるのかを神経内分泌学的、免疫学的、並びに分子生物学的に解明する。

2. 研究の目的

本研究課題は、ヒトがん細胞株をマウス尾静脈注射により転移がんモデルを作成し、ストレス条件下で咀嚼刺激させたマウスと咀嚼刺激させなかったマウスにおいて、肺転移巣の数と大きさ、血中ストレスホルモンの測定、肺転移がん組織におけるストレスホルモン受容体、転移がんの関連遺伝子および酸化ストレス関連因子の発現を定量解析することにより、ストレス関連性転移がんの発症・進行に及ぼす咀嚼刺激の有効性を世界に先駆けて系統的に解明する。

3. 研究の方法

本研究目的を達成するために、ヒトがん細胞をマウスの尾静脈注射により転移がんモデルを作成する。咀嚼刺激グループと咀嚼刺激なしのグループにおいて、ストレスホルモンとその受容体の発現定量解析、転移巣の数と大きさの測定、ストレス負荷による転移がんの発症と進行に及ぼす咀嚼刺激の影響を検索する。次いで、ストレスホルモンとその受容体、転移がんの関連遺伝子、および酸化ストレス関連因子の発現を定量分析する。

(1)ヌードマウスの転移がんモデルの作成

7週齢雌性BALB/cヌードマウスを使用する。ヒト乳がん細胞MDA-MB-231(ATCC)を培養し、細胞カウンターを用いて細胞濃度を決定する。1×10⁶細胞をマウス尾静脈に注射することにより転移がんのモデルを作成した。

(2)ストレス負荷と咀嚼刺激

がん細胞接種日から開始する。1日3回、1回45分のストレスを負荷し、これを7週間継続する。咀嚼刺激はストレス負荷中に木製の爪楊枝をマウスの前歯に近づける。マウスは自ら積極的に噛みつきチューイングを始める。

(3)転移がんの病理組織学的観察

実験終了後に、マウスの肺を採取し、肺における転移巣の数とサイズを光学顕微鏡下で計測した。

(4) 血中コルチコステロン濃度の解析

ストレスが負荷されると、血中ストレスホルモンが増加される。イムノアッセイ法を用いて、マウス血中コルチコステロン濃度を測定した。

(5) ストレスホルモン受容体の発現解析

ウエスタンブロット法を用いて、肺転移がん組織におけるコルチコステロン受容体、 β 2アドレナリン受容体の発現量を比較検討した。

(6) 転移がん関連遺伝子と酸化ストレス因子の発現解析

がんの浸潤と転移を促進する MMP2、MMP9、TGF- β 、TNF- α 、VEGF、酸化ストレス因子、誘導型NO合成酵素、4-HNE、SOD2 の発現量を比較検討した。

4. 研究成果

ヒト乳がん細胞接種 7 週間後には、肺転移巣の数と大きさが対照群よりストレス群のほうが有意に増加した。咀嚼刺激群の肺転移巣の数と大きさがストレス群より有意に減少した。血中コルチコステロン濃度はイムノアッセイ法により測定した。対照群に比べ、ストレス群の血中コルチコステロン濃度が有意に上昇した。一方、咀嚼刺激群の血中コルチコステロン濃度はストレス群より有意に低下した。

肺転移がん組織におけるコルチコステロン受容体、 β 2アドレナリン受容体、誘導型NO合成酵素、4-HNE、SOD2 の発現が対照群よりストレス群のほうが有意な高値を示した。一方、ストレス群に比し咀嚼刺激群のコルチコステロン受容体、 β 2アドレナリン受容体、誘導型NO合成酵素、4-HNE、SOD2 の発現が有意な低値を示した。

以上の結果から、ストレス負荷中の咀嚼刺激はストレスホルモンとその受容体、および酸化ストレスを介し乳がんの肺転移を抑制する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Zhang J-H, Wang K-Y, Kubo KY, Azuma K	4. 巻 14
2. 論文標題 Chewing Behavior Attenuates Lung-Metastasis-Promoting Effects of Chronic Stress in Breast-Cancer Lung-Metastasis Model Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 5950
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers14235950	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 -
1. 著者名 Zhang J-H, Tasaki T, Tsukamoto M, Wang K-Y, Kubo KY, Azuma K.	4. 巻 10
2. 論文標題 Deletion of Wnt10a is implicated in hippocampal neurodegeneration in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 1500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biomedicines10071500	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 -
1. 著者名 Zhang J-H, Tasaki T, Tsukamoto M, Wang K-Y, Azuma K	4. 巻 19
2. 論文標題 Deficiency of Wnt10a causes female infertility via the -catenin/Cys19a1 pathway in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Med Sci	6. 最初と最後の頁 701-710
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/ijms.71127	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 -
1. 著者名 Kin-ya Kubo, Akifumi Ogasawara, Hiroko Tsugane, Mitsuo Iinuma, Toru Takahashi, Kagaku Azuma	4. 巻 123
2. 論文標題 Environmental enrichment improves hypomyelination, synaptic alterations, and memory deficits caused by tooth loss in aged SAMP8 mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arch Oral Biol	6. 最初と最後の頁 105039
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.archoralbio.2021.105039	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 -

1. 著者名 Qian Zhou, Masahisa Katano, Jia He Zhang, Xiao Liu, Ke Yong Wang, Mitsuo Iinuma, Kin ya Kubo, Kagaku Azuma	4. 巻 11
2. 論文標題 Chewing Behavior Attenuates the Tumor Progression Enhancing Effects of Psychological Stress in a Breast Cancer Model Mouse	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Sciences	6. 最初と最後の頁 479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/brainsci11040479	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 -

1. 著者名 Kajimoto K, Hisada C, Ochi S, Yoshikawa E, Suzuki A, Tsugane H, Zhang J, Iinuma M, Kubo KY, Azuma K	4. 巻 130
2. 論文標題 Maternal chewing improves prenatal stress-induced cognitive deficit and anxiety-like behavior associated with alterations of the apoptotic response and serotonin pathway in mouse offspring.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arch Oral Biol	6. 最初と最後の頁 105245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.archoralbio.2021.105245	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 -

1. 著者名 Liu X, Zhou Q, Zhang JH, Wang KY, Saito T, Saido TC, Wang X, Gao X, Azuma K	4. 巻 10
2. 論文標題 Microglia-Based Sex-Biased Neuropathology in Early-Stage Alzheimer's Disease Model Mice and the Potential Pharmacologic Efficacy of Dioscin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 3261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10113261	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 該当する

1. 著者名 Masahisa Katano, Kyoko Kajimoto, Mitsuo Iinuma, Kagaku Azuma, Kin-ya Kubo.	4. 巻 17
2. 論文標題 Tooth loss early in life induces hippocampal morphology remodeling in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Med Sci	6. 最初と最後の頁 517-524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/ijms.40241. eCollection 2020	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 -

1. 著者名 Qian Zhou, Ayumi Suzuki, Mitsuo Iinuma, Ke-Yong Wang, Kin-ya Kubo, Kagaku Azuma.	4. 巻 21
2. 論文標題 Effects of Maternal Chewing on Prenatal Stress-Induced Cognitive Impairments in the Offspring via Multiple Molecular Pathways	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 5627
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21165627	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 -

1. 著者名 Kin-ya Kubo, Akifumi Ogasawara, Hiroko Tsugane, Mitsuo Iinuma, Toru Takahashi, Kagaku Azuma.	4. 巻 123
2. 論文標題 Environmental enrichment improves hypomyelination, synaptic alterations, and memory deficits caused by tooth loss in aged SAMP8 mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arch Oral Biol	6. 最初と最後の頁 105039
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.archoralbio.2021.105039	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 -

1. 著者名 Qian Zhou, Masahisa Katano, Jia He Zhang, Xiao Liu, Ke Yong Wang, Mitsuo Iinuma, Kin ya Kubo, Kagaku Azuma.	4. 巻 11
2. 論文標題 Chewing Behavior Attenuates the Tumor Progression Enhancing Effects of Psychological Stress in a Breast Cancer Model Mouse.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Sciences	6. 最初と最後の頁 479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/brainsci11040479	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16件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Kajimoto K, Hisada C, Ochi S, Tsugane H, Iinuma M, Azuma K, Kubo KY
2. 発表標題 Maternal chewing during prenatal stress improves microglia-mediated neuroinflammation
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ochi S, Yoshikawa E, Katano M, Suzuki A, Iinuma M, Azuma K, Kubo KY
2. 発表標題 Effects of masticatory movements during prenatal stress on hippocampal dendrites
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 張 家赫, 王 克鏞, 林 春樹, 安達泰弘, 東 華岳
2. 発表標題 Wnt10Aはマウス海馬の形態と機能を維持するため必要である
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 張 家赫、周 倩、劉 瀟、王 克鏞、林 春樹、安達泰弘、東 華岳
2. 発表標題 Wnt10A欠損マウスの海馬機能形態学的調査
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久田智詠、市橋豊雄、市橋幸子、津金裕子、林 櫻子、飯沼光生、斎藤一誠、東 華岳、久保金弥
2. 発表標題 妊娠母体の咀嚼運動が仔のLPS投与におけるミクログリアの活性化に及ぼす影響
3. 学会等名 第59回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshikawa E, Suzuki A, Iinuma M, Azuma K, Kubo KY
2. 発表標題 Long-term tooth loss affects the hippocampal neuronal dendrite morphology in SAMP8 mice
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ochi S, Saitoh T, Saido T, Iinuma M, Azuma K, Kubo KY
2. 発表標題 The potential role of early tooth loss in the pathogenesis of the App knock-in mouse model
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hisada C, Kajimoto K, Tsukane H, Iinuma M, Azuma K, Kubo KY
2. 発表標題 Effects of maternal chewing during prenatal stress on microglia-mediated neuroinflammation in the hippocampus of the offspring
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久田智詠、吉川英里、梶本京子、津金裕子、飯沼光生、東 華岳、久保金弥
2. 発表標題 豊かな環境は老化促進モデルマウス (SAM) P8の歯の喪失によって誘発される髄鞘低形成、シナプス低形成および記憶障害を改善する
3. 学会等名 第36回老化促進モデルマウス (SAM) 学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 東 華岳、周 倩、張 家赫、久保金弥
2. 発表標題 乳がんの進行に対するストレスと咀嚼刺激の影響
3. 学会等名 第53回日本臨床分子形態学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Qian Zhou, 王 克鏞, 林 春樹, 安達泰弘, 久保金弥, 東 華岳
2. 発表標題 妊娠母体の咀嚼が仔マウス海馬の構造と機能に及ぼす影響
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉川英里、松田成彦、岡野 哲、林 櫻子、飯沼光生、東 華岳、久保金弥
2. 発表標題 歯の早期喪失が海馬の体積に及ぼす影響.
3. 学会等名 第58回日本小児歯科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 越智鈴子、久田智詠、鈴木あゆみ、飯沼光生、東 華岳、久保金弥
2. 発表標題 歯の早期喪失がアルツハイマー病の発症に及ぼす影響.
3. 学会等名 第58回日本小児歯科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 林 櫻子、津金裕子、吉川英里、鈴木あゆみ、東 華岳、飯沼光生
2. 発表標題 若齢期における急性ストレス下での拒食行動は咀嚼運動で緩和される.
3. 学会等名 第58回日本小児歯科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉川英里、越智鈴子、久田智詠、片野雅久、梶本京子、林 櫻子、鈴木あゆみ、津金裕子、飯沼光生、東 華岳、久保金弥
2. 発表標題 歯の早期喪失が老化促進マウス (SAMP8) の海馬体積に影響する
3. 学会等名 第35回老化促進モデルマウス (SAM) 学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Eri Yoshikawa, Suzuko Ochi, Chie Hisada, Masahisa Katano, Kyoko Kajimoto, Sakurako Hayashi, Mitsuo Inuma, Kagaku Azuma, Kin-ya Kubo
2. 発表標題 Long-term tooth loss affects the hippocampal volume and oligodendrocytes in SAMP8 mice.
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

咀嚼（そしゃく）と脳の研究所 http://www.imbs-mastication.org/ 産業医科大学医学部第1解剖学 https://www.uoeh-u.ac.jp/medicine/1kaibo.html
--

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	久保 金弥 (Kubo Kin-ya) (00329492)	名古屋女子大学・健康科学部・教授 (33915)	
研究分担者	飯沼 光生 (Iinuma Mitsuo) (70184364)	朝日大学・歯学部・教授 (33703)	
研究分担者	小野塚 実 (Onozuka Minoru) (90084780)	名古屋女子大学・医療科学部・教授 (33915)	

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