

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 18 日現在

機関番号：35413

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460182

研究課題名(和文)大麻主成分の内分泌かく乱：第2のエストロゲン受容体ER を介した機構とその意義

研究課題名(英文) Delta9-Tetrahydrocannabinol, a major component of marijuana, disrupts estrogen-signaling through estrogen receptor beta

研究代表者

竹田 修三 (Takeda, Shuso)

広島国際大学・薬学部・准教授

研究者番号：00460379

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：欧米諸国では、9-テトラヒドロカンナビノール(9-THC)は医療用大麻としての地位を確立しており、がん患者の嘔吐予防などの目的で使用されている。しかし、9-THCには内分泌かく乱作用があることが示唆されており、その臨床使用には課題が残る。本研究では、9-THCの臨床使用における内分泌かく乱の問題について、これまで謎であった内分泌かく乱のメカニズムを解明し、9-THCの臨床適正使用に向けた予防薬学的基礎研究を実施した。その結果、9-THCは第二のエストロゲン受容体であるER β の発現を増加させ、さらには活性化させることで女性ホルモンの作用をかく乱(=抑制)することが明らかとなった。

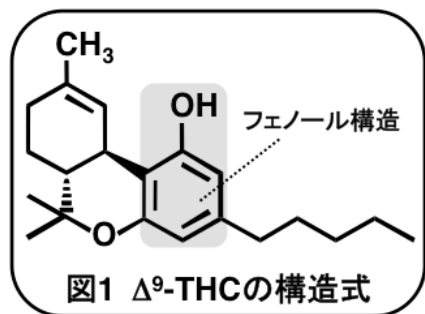
研究成果の概要(英文)：Is 9-tetrahydrocannabinol (9-THC) an anti-estrogenic chemical? Since 9-THC is used both recreationally and medicinally for the treatment of pain and nausea in cancer patients undergoing chemotherapy in the United States and other countries, it is important to investigate the mechanistic basis of 9-THC's 17 β -estradiol (E2) signaling disruption. By using estrogen receptor (ER)-positive human breast cancer cell line MCF-7, we report here that 9-THC's growth suppressive effects on MCF-7 cells are drastically seen in the presence of E2, and that 9-THC inhibits E2-stimulated ER β activation, leading to cell growth. Mechanistically, by performing several lines of biochemical analyses, it is demonstrated that i) 9-THC up-regulates ER β , being recognized as a repressor of ER β function and ii) 9-THC function as an activator for the ER β to interfere with ER β . The data here suggest that anti-estrogenic 9-THC disrupts E2/ER β signaling via the second type of ER β .

研究分野：分子毒性学

キーワード：テトラヒドロカンナビノール 薬物型大麻草 内分泌かく乱 ER β 乳がん

1. 研究開始当初の背景

これまで大麻は乱用の観点から注目されてきたが、アメリカ、カナダなどの諸外国ではその有用成分が注目され、「医療用大麻」として医薬品の地位を確立している。大麻草にはカンナビノイドと総称される特異成分が 60 種類以上含まれるが、成分とともに薬効が確認されたものは Δ^9 -テトラヒドロカンナビノール(Δ^9 -THC)を含め数種類にすぎない。 Δ^9 -THC は安全であるか否か? 現在までに、 Δ^9 -THC の安全性について十分なエビデンスをもって答えることのできる研究者は少ない。 Δ^9 -THC は薬物型大麻草の主成分として含まれているが、その含量は少ない。1964 年に Mechoulam ら単離・精製に成功し(J. Am. Chem. Soc., 86:1646-1647)、 Δ^9 -THC の生物活性に関する研究は飛躍的に進んだ。しかし同時に、1970 年頃から、 Δ^9 -THC は性ホルモン系、特に女性ホルモン(E2)の作用をかく



乱(拮抗)する作用があるのではないかと議論が持ち上がった。一般に

E2 は、エストロゲン受容体 α (ER α)に作用することで、その生理作用を示すものと考えられている。 Δ^9 -THC には、E2 に含まれるフェノール構造が存在し(図1)、これが ER α に結合することで E2 に対し競合的に拮抗するとの考え方が大勢であった。しかし、現在では、多くの研究者らによってこの可能性は完全に否定されている(Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 98: 793-795, 2001 など)。

2. 研究の目的

欧米諸国では、 Δ^9 -THC は医療用大麻としての地位を確立しており、がん患者の悪心や嘔吐予防の目的で臨床使用がされている。しかし、 Δ^9 -THC には以前から“内分泌かく乱作用”がある可能性が示唆されており、その臨床使用には課題が残ったままであった。申請者らは、ごく最近、 Δ^9 -THC 処理後のサンプルの DNA マイクロアレイ解析から、 Δ^9 -THC の内分泌かく乱作用を説明しうるヒントを得ることに成功した。

本研究では、 Δ^9 -THC の臨床使用に際し、今後起こりうる内分泌かく乱の問題について、これまで「謎」であった内分泌かく乱の分子メカニズムを解明し、 Δ^9 -THC の臨床適正使用に向けた予防薬学的基礎研究を実施することを目的とした。

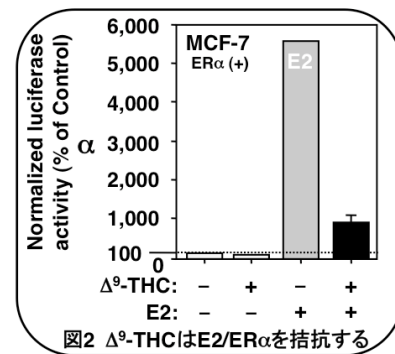
3. 研究の方法

本研究では、生化学的、分子生物学的、お

よび細胞生物学的手法を駆使し、上述の「研究の目的」を達成すべく検討を行った。本研究では、「これまで謎であった Δ^9 -THC による E2 作用のかく乱メカニズムは?」という疑問に対し、その分子標的の解明を行った。

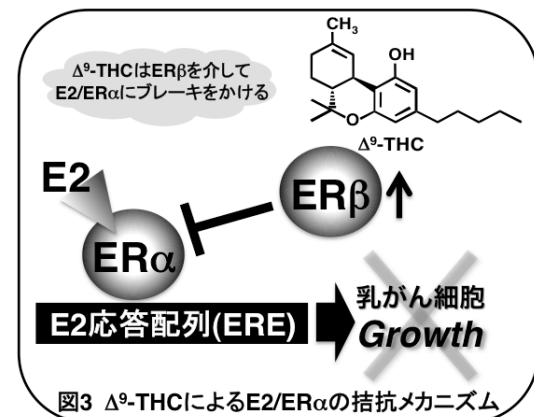
4. 研究成果

Δ^9 -THC が ER α 陽性のヒト乳がん MCF-7 細胞の増殖を止め、死滅させることを見出した。この Δ^9 -THC による MCF-7 細胞の増殖停止・死滅作用は、生理的濃度の E2 の存在下で顕著であった。内分泌かく乱物質とは、「環境中に存在する化学物質のうち、生体に対してホルモン様作用を起こしたり、逆にホルモン作用を“阻害”したりするもの」と定義されている。



E2 による乳がん細胞の増殖シグナルは、エストロゲン応答配列(ERE)を介した ER α の転写活性化

により伝搬される。そこで、MCF-7 細胞を E2 存在下あるいは非存在下 Δ^9 -THC で処理し、ER α の転写活性化をレポータージーンアッセイで評価した。興味深いことに、 Δ^9 -THC は E2 誘導性の転写活性化を顕著に抑制した(図2)。したがって、 Δ^9 -THC は E2 の作用をかく乱(阻害)したことになる。しかしながら、依然として Δ^9 -THC による E2 作用かく乱の分子メカニズムは不明のままである。つぎに、 Δ^9 -THC の作用点を探るべく、 Δ^9 -THC 処理後のサンプルを DNA マイクロアレイ解析にて調査した。その結果、10 倍以上発現が誘導され、かつ乳がん増殖に対して抑制的に作用する遺伝子として第2のエストロゲン受容体として注目されている“ER β ”が見出された。ER β の発現はタンパク質レベルでも認められ、以降の種々の解析により Δ^9 -THC による抗エストロゲン作用の分子標的として ER β が強く示唆された。



タモキシフェンなどの既存の抗エストロゲン薬は直接 ER α に作用し E2 に拮抗するというものであるが、本研究により Δ^9 -THC は、間接的、すなわち ER α に対するブレーキ役である ER β を発現誘導することで ER α (=アクセル)の機能を抑制することが明らかとなった(図 3)。 Δ^9 -THC は、医薬品であると同時に大麻成分である。すなわち、 Δ^9 -THC は制がんの観点からは有用である可能性があるが、一方、ER β を介して内分泌かく乱を来す可能性がある。E2 は、女性生殖器の発育や性周期の維持に関与する生理作用を有する。過去に報告された Δ^9 -THC の内分泌かく乱作用は、正常な雌マウスなどの実験動物で確認されているが、 Δ^9 -THC が、女性(患者)の性周期の破綻を来すことも考えられる。女性(実験動物)の E2 レベル変動についても考慮し、閉経前と閉経後のモデル動物を用いた検討については今後の課題となったが、本研究で得られた知見を基盤として、臨床適正使用につながる十分なエビデンスを蓄積することは、今後、 Δ^9 -THC による乳がん治療戦略を考える際に極めて重要な知見になるものと思われる。

本研究は、がん患者の生活の質 QOL の向上に貢献するために資する基礎研究でもあり、ここで得られた成果は今後極めて意義深いものになると考えられる。なお、本研究にて得られた知見は、これまで半世紀もの間不明であった Δ^9 -THC による内分泌かく乱機序の一端を解明したものであり西日本新聞(7.19.2013 朝刊)に取り上げられた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

1. Okazaki, H.,* Takeda, S.,* Ishii, H., Matsuo, S., Furuta, E., Watanabe, K., and Aramaki, H. HU-210, a synthetic analog of Δ^9 -THC, is not a modifier of estrogen signaling in MCF-7 human breast cancer cells.

*These three authors contributed equally to this work (Co-first authors).

Fundam. Toxicol. Sci., 3: 55–61 (2016).

DOI: <http://doi.org/10.2131/fts.3.55>

(査読有)

2. Okazaki, H.,* Kohro-Ikeda, E.,* Takeda, S.,* Ishii, H., Furuta, E., Matsuo, S., Matsumoto, M., Takiguchi, M., and Aramaki, H., Fipronil, an insecticide, acts as an anti-estrogen via the concomitant down-regulation of ER α and PES1.

*These three authors contributed equally to this work (Co-first authors).

Fundam. Toxicol. Sci., 3: 33–37 (2016).

DOI: <http://doi.org/10.2131/fts.3.33>

(査読有)

3. Takeda, S., Recent advances in mechanistic understanding of endocrine disruption by environmental chemicals $-\Delta^9-$

Tetrahydrocannabinol targeting estrogen receptor signaling: The mechanism of action coupled with endocrine disruption–

Biol. Pharm. Bull., 37: 1435–1438 (2014) (an invited review: Current Topics).

DOI: <http://doi.org/10.1248/bpb.b14-00226>

(査読有)

4. Takeda, S., Ikeda, E., Su, S., Harada, M., Okazaki, H., Yoshioka, Y., Nishimura, H., Ishii, H., Kakizoe, K., Taniguchi, A., Tokuyasu, M., Himeno, T., Watanabe, K., Omiecinski, C.J., and Aramaki, H., Δ^9 -THC modulation of fatty acid 2-hydroxylase (FA2H) gene expression: Possible involvement of induced levels of PPAR α in MDA-MB-231 breast cancer cells.

Toxicology, 326: 18–24 (2014).

DOI: 10.1016/j.tox.2014.09.011

(査読有)

5. Takeda, S., Yoshida, K., Nishimura, H., Harada, M., Okajima, S., Miyoshi, H., Okamoto, Y., Amamoto, T., Watanabe, K., Omiecinski, C.J., and Aramaki, H., Δ^9 -Tetrahydrocannabinol disrupts estrogen-signaling through up-regulation of estrogen receptor β (ER β).

Chem. Res. Toxicol., 26: 1073–1079 (2013).

西日本新聞 (2013 年 7 月 19 日号朝刊) で「性ホルモンを抑制する大麻の仕組み一部解明」と題して掲載。

DOI: 10.1021/tx4000446

(査読有)

[学会発表] (計 3 件)

1. 姫野太一, 池田恵理子, 岡崎裕之, 徳安美紀, 谷口彩, 石井宏幸, 垣添和弘, 竹田修三, 原口浩一, 渡辺和人, 荒牧弘範.

エストロゲン受容体 ER β 誘導能を示す化合物の網羅的解析と生体機能への影響解析.

日本薬学会第 135 年会(2015 年 3 月 27 日, 神戸).

2. 姫野太一, 岡崎裕之, 池田恵理子, 垣添和弘, 吉岡靖史, 徳安美紀, 谷口彩, 石井宏幸, 竹田修三, 渡辺和人, 荒牧弘範.

大麻主成分 Δ^9 -THC による子宮機能障害: ER β 機能破綻と細胞外マトリックス分解酵素の発現誘導.

フォーラム 2014: 衛生薬学・環境トキシコロジー(2014 年 9 月 20 日, つくば)

3. 吉田和貴, 竹田修三, 西村 肇, 池田 恵理子, 渡辺 和人, 荒牧 弘範.

Δ^9 -テトラヒドロカンナビノールによる ER β 発現誘導を介したエストロゲン/ER α 機能抑制.

フォーラム 2013: 衛生薬学・環境トキシコロジー(2013 年 9 月 14 日, 福岡).

〔図書〕(計1件)

1. 竹田修三

日本医事新報 2014 (No.4691 2014年3月22日発行)「質疑応答: 医療用大麻とは」(解説依頼)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹田 修三 (TAKEDA, Shuso)

広島国際大学・薬学部・准教授

研究者番号: 00460379