

平成 22 年 6 月 21 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20790149

研究課題名（和文） 大麻主成分の臨床適性使用に向けた予防薬学的基礎研究

研究課題名（英文） Preventive pharmaceutical research for the appropriate use of the principal marijuana constituent in clinical contexts

研究代表者

竹田 修三（TAKEDA SHUSO）

第一薬科大学薬学部・講師

研究成果の概要（和文）：米国において、大麻主成分のテトラヒドロカンナビノール(THC)はがん患者などでモルヒネが効かない重篤な痛み緩和の目的で投与される。本研究は、がん患者、特に乳がん注目し、THC の臨床適正使用に向けた基礎研究である。THC は分子中に、女性ホルモンと類似した部分を有していた。女性ホルモンは乳がん増殖を促進したが、THC の共存下でその効果が消失した。低女性ホルモン条件下(閉経後乳がんモデル)で THC を添加した場合、逆に増殖の促進が見られた。本研究により、THC は女性ホルモンと相互作用し、乳がん増殖に影響を与える可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：In the United States, THC has been used as medicine for patients suffering from heavy pain. We investigated whether or not THC, having a structure resembling estrogen, can affect estrogen-induced breast cancer progression. Although the action of estrogen was interfered with THC, in the low estrogen condition, breast cancer cell growth was stimulated by THC. Thus, it is suggested that there is an interaction between THC and estrogen, and that the action of THC might be influenced by the estrogen contents in the breast tissues.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：大麻草、カンナビノイド、乳がん、テトラヒドロカンナビノール

1. 研究開始当初の背景

大麻主成分であるテトラヒドロカンナビノール(THC)は我が国では厳しい法規制下に

あるが、欧米諸国では、がん患者の悪心・嘔吐予防などの目的で臨床使用されている。このように THC はその有効性が認められており、

一連の薬理作用はカンナビノイド受容体 (CB 受容体) を介した作用であることが知られている。しかし、THC ががん細胞増殖自体に与える影響の有無は不明であった。最近、CB 受容体の発現レベルが、がん等の病態時に変動することが報告された (Caffarel et al., Cancer Res., 66:6615, 2006)。これまでに研究代表者は乳がん研究を行っていたことから、本研究は乳がん焦点を当て、THC がヒト乳がん細胞増殖に与える影響を CB 受容体の発現の多寡に注目して検証することを当初の計画とした。

2. 研究の目的

本研究の当初の目的は、THC がヒト乳がん特異的マーカーおよび予後因子として知られる HER2 の発現レベル増大を引き起す機構において、CB 受容体発現量が THC の作用を規定する鍵因子である可能性を検証し、受容体発現量に応じたカンナビノイド (カンナビノイドとは大麻草中に含まれる成分の総称である) 医薬品の適正使用の概念を導入することであった。本研究は THC の臨床適正使用の確立を目的として、がん患者に THC が投薬された際、その優れた薬効と共に起こりうる副作用を未然に防ぐことを目的とした予防薬学的基礎研究である。

3. 研究の方法

ヒト乳がん細胞モデルとして女性ホルモン感受性細胞株である MCF-7 細胞を用い、常法により薬物型大麻草から THC を抽出・精製し、これを細胞に処理し、増殖に与える影響を解析した (プロメガ社、MTS アッセイ法)。また、mRNA 変動解析 (CB 受容体、HER2、FAAH; Fatty acid amide hydrolase) は RT-PCR 法にて、タンパク質変動解析 (アロマターゼ、シクロオキシゲナーゼ-2) は特異抗体を用いたウエスタンブロット法にて行った。エストロゲン受容体 (女性ホルモンが作用する受容体で、その刺激が細胞増殖の亢進を引き起す) を介したレポータージーンの活性化の解析はプロメガ社の dual-luciferase reporter assay system にて評価した。

4. 研究成果

本研究において、以下のことが明らかになった。

- 1) THC の作用は、乳がん細胞に発現する CB 受容体の発現により大きく影響を受け、特に CB 受容体欠損下あるいは低発現下においては、乳がん細胞増殖の亢進が見られた (図 1)。
- 2) THC は、細胞内女性ホルモン産生系 (シクロオキシゲナーゼ-2/アロマターゼ/女性ホルモン) と相互作用することが明らかに

なった (図 2)。

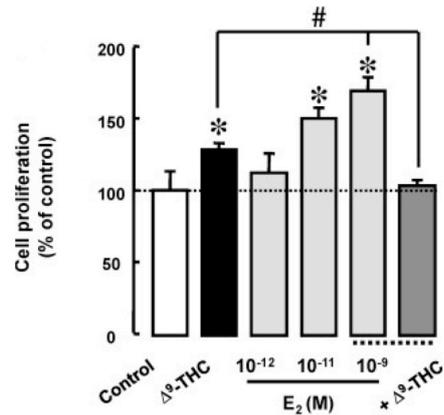


図1: 女性ホルモンとTHCとの相互作用。

女性ホルモン (図中には E₂ と示す) による乳がん細胞増殖の促進 (薄い3本のグレーバー) は THC により抑制された (一番右のバー)。本実験において、生理的濃度の E₂ を添加し、その濃度依存的に細胞増殖率が增加した。図の縦軸は細胞増殖率を示し、横軸は処理した化合物を示す。成績は示していないが、本条件下では、CB1/2 受容体の発現は確認されなかった。

女性ホルモンレベルが低い場合 (閉経後女性におけるレベル) には、乳がん増殖を促進した。詳細なメカニズム解明には至らなかったが、女性ホルモンによる乳がん細胞増殖は THC により拮抗されるという興味深い知見を得た (図 1)。このことは、女性ホルモンによるエストロゲン受容体の活性化が、THC によりその濃度依存的に抑制されるという結果からも支持された。女性ホルモンによる乳がん細胞増殖が THC により抑制されるという研究報告が、同時期に他の研究グループからもなされた (von Bueren et al., Anticancer Res., 28:85, 2008)。

本研究では、*in vitro* (試験管内反応) を中心として解析を行った。我が国における大麻研究者は極めて少ない。一方、国外に目を向けると、大麻研究者は多く存在する。海外で THC を中心とするカンナビノイド医薬品の有用性が認識されつつある今日、本研究成果は THC が女性ホルモン産生系と相互作用して、状況によって (具体的には、CB 受容体の低発現や閉経後などの低い女性ホルモン環境) は乳がんを悪化させるかもしれないという可能性を示唆する。乳がん患者における CB 受容体に関する研究報告はあるものの、十分な例数ではなく、より大規模な解析が必要である。CB 受容体には CB1 および CB2 が存在するが、THC による作用にどちらの受容体が、あ

るいは共に関与しているか否かの検証は残された課題となった。また、乳がん患者はアロマトラーゼ(CYP19ともよばれ、男性ホルモンから女性ホルモンを産生する酵素)阻害剤を服用していることがあり、がん部位における女性ホルモンレベルは極めて低下している(図2参照)。このような状況で、乳がん患者にTHCが投与された場合、乳がん増殖の促進が起こりうるかもしれない。今後は、女性ホルモンレベルとCB受容体(CB1/CB2受容体)発現との関連性を詳細に解析する計画である。

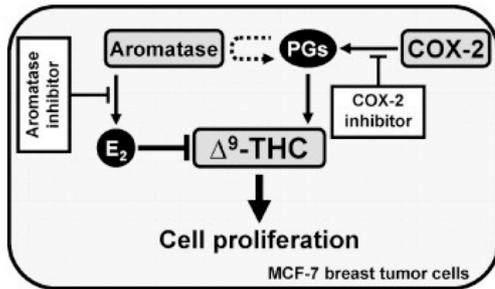


図2: 女性ホルモン産生系とTHCとの相互作用。

女性ホルモン産生系はシクロオキシゲナーゼ-2(図中にはCOX-2と示す)/アロマトラーゼ/E₂から構成される。PGs(プロスタグランジン類はCOX-2の酵素活性により生成する)。アロマトラーゼ阻害剤存在下では、細胞内E₂レベルが低下し、THCは乳がん細胞増殖を促進する。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

原著論文

- ① Takeda, S., Usami, N., Yamamoto, I., and Watanabe, K.
Cannabidiol-2',6'-Dimethylether, a Cannabidiol Derivative, Is a Highly Potent and Selective 15-Lipoxygenase Inhibitor.
Drug Metab. Dispos., **37**:1733 - 1737 (2009). (査読あり)
- ② Takeda, S., Yamamoto, I., and Watanabe, K.
Aromatase in MCF-7 Breast Cancer Cell Growth Induced by Δ^9 -Tetrahydrocannabinol.
Toxicology, **259**:25-32 (2009). (査読あり)

- ③ Takeda, S., Misawa, K., Yamamoto, I., and Watanabe, K.
Cannabidiolic acid as a selective cyclooxygenase-2 inhibitory component in cannabis.
Drug Metab. Dispos., **36**:1917 - 1921 (2008). (査読あり)

- ④ Takeda, S., Yamaori, S., Motoya, E., Matsunaga, T., Kimura, T., Yamamoto, I., and Watanabe, K.
 Δ^9 -Tetrahydrocannabinol enhances MCF-7 cell proliferation via cannabinoid receptor-independent signaling.
Toxicology, **245**:141-146 (2008). (査読あり)

紀要(北陸大学、査読なし)

- ① 渡辺和人, 木村敏行, 山折大, 竹田修三, 宇佐見則行, 山本郁男
大麻文化科学考(その19), 32:1-11 (2008).

[学会発表] (計5件)

- ① 竹田修三
Cannabidiol-2',6'-dimethylether, a potent and selective inhibitor for low-density lipoprotein-producing enzyme
第3回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム
2009年11月15日(福岡)
- ② 竹田修三
動脈硬化症予防を目指した新規バイオプローブの開発: 悪玉コレステロール生成酵素阻害に基づくアプローチ
第8回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム
2009年11月14日(名古屋)
- ③ 竹田修三
カンナビジオール誘導体、カンナビジオール-2',6'-ジメチルエーテル: 選択的かつ強力な15-リポキシゲナーゼ阻害剤
日本薬学会第129年会
2009年3月26日(京都)
- ④ 竹田修三
 Δ^9 -テトラヒドロカンナビノールによるMCF-7乳がん細胞増殖の細胞内エストロゲン産生系による調節
日本薬学会衛生部会: フォーラム2008: 衛生薬学・環境トキシコロジー
2008年10月17日(熊本)
- ⑤ 竹田修三
カンナビジオール酸, 大麻草中の選択的シ

クロオキシゲナーゼ-2 活性阻害成分
日本法中毒学会第 27 年会
2008 年 6 月 14 日(東京)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

氏名：竹田 修三
所属研究機関・部局：第一薬科大学・薬学部
職名：講師
研究者番号：00460379

(2) 研究協力者

氏名：渡辺 和人
所属研究機関・部局：北陸大学・薬学部
職名：教授
研究者番号：30113038

(3) 研究協力者

氏名：山本 郁男
所属研究機関・部局：九州保健福祉大学・薬学部
職名：教授
研究者番号：50069746

(4) 研究協力者

氏名：山折 大
所属研究機関・部局：北陸大学・薬学部
職名：助教
研究者番号：40360218