

報道関係各位

2020年1月15日

国立大学法人 東京医科歯科大学

## 「カンナビジオールは腫瘍性破骨細胞の誘導を抑制する」 — 癌による骨破壊の新たな治療薬開発を目指して —

### 【ポイント】

- 破骨細胞は破骨細胞誘導因子 RANKL によってマクロファージから分化しますが、破骨細胞前駆細胞から異なる機構で破骨細胞分化が起こりうることをつきとめました。
- カンナビノイドの一種、カンナビジオールが、破骨細胞誘導をほぼ完全に阻害することを口腔扁平上皮癌の破骨細胞誘導系を用いて見出しました。
- 本研究の成果により、破骨細胞前駆細胞が癌の骨破壊に対する新たな治療標的になると期待されます。

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科口腔病理学分野の池田通教授と土谷麻衣子大学院生らの研究グループは、ヒト口腔扁平上皮癌細胞をマウス由来マクロファージと共存培養してもほとんど破骨細胞が誘導されないのに対し、破骨細胞誘導因子 RANKL の弱い刺激を受けて破骨細胞への分化が運命づけられた破骨細胞前駆細胞からは多数の破骨細胞が誘導されること、この破骨細胞誘導は癌細胞が分泌する細胞外小胞が担っていることを明らかにしました。また、この破骨細胞前駆細胞からの破骨細胞誘導は、破骨細胞誘導のマスター転写因子\*1である NFATc1 の発現上昇を伴わない新たな機構によるものであることを示しました。さらに、広く用いられている骨吸収抑制薬デノスマブ(ヒト型 RANKL 中和抗体)は、この破骨細胞誘導に無効ですが、カンナビジオールという薬物がほぼ完全に阻害することを発見しました。本研究は、破骨細胞前駆細胞からであれば多彩な機構で破骨細胞が誘導されることを初めて示したもので、癌による骨破壊に対する新たな治療薬の開発に結びつく可能性があります。研究成果は、国際科学誌 International Journal of Molecular Sciences に 2019 年 12 月 6 日に採択され、2019 年 12 月 9 日にオンライン版で発表されました。

### 【研究の背景】

破骨細胞は骨を吸収する細胞で、骨を形成する骨芽細胞と連携して骨の代謝バランスを保ち、骨の健康を維持しています。このバランスが吸収優位の方に傾くと過剰な骨吸収が起こり、骨粗鬆症の原因ともなります。形成優位の方に傾くと骨の異常な硬化を伴う疾患の原因ともなります。体内の白血球の一種である単球が血管外に出たマクロファージという細胞が破骨細胞誘導因子 RANKL の刺激を受けると、その情報が細胞の核内

に伝わり、破骨細胞誘導のマスター転写因子 NFATc1 の発現を上昇させ、破骨細胞が誘導されることが知られています。このことから、デノスマブが癌の骨転移や骨粗鬆症による過剰な骨吸収の治療薬として広く使用されています。

しかし、RANKL を阻害する治療法には副作用もあり、全身の骨代謝が抑制された結果、顎骨に難治性の骨髄炎を起こすリスクが高まり、投薬治療を受けた患者さんの抜歯等の歯科処置に大きな制約が生じます。さらに、骨吸収抑制薬関連顎骨壊死(MRONJ)と呼ばれるこの副作用による患者数は、高齢者の増加とともに増え続けています。特に癌の骨転移に対する治療を受けた患者さんにMRONJが生じやすく、全身の骨代謝を阻害することなく、癌による骨の過剰吸収のみを特異的に抑制できる薬物の開発が強く望まれています。

### 【研究成果の概要】

本グループでは、ヒト口腔扁平上皮癌細胞とマウスのマクロファージの共存培養系と、癌細胞の培養上清をマウスのマクロファージに作用させる実験系で、破骨細胞以外の細胞にも分化可能なマクロファージではなく、RANKL の弱い刺激によって破骨細胞への分化が運命づけられた破骨細胞前駆細胞に癌細胞が作用することで、今まで知られていない機構により破骨細胞誘導が起こっている可能性があること、破骨細胞前駆細胞からの口腔扁平上皮癌による破骨細胞誘導には RANKL 阻害が無効であることを、報告しました(Wada et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 509:108-113, 2019)。本研究では、破骨細胞前駆細胞から破骨細胞を誘導できる口腔扁平上皮癌細胞 3A と破骨細胞を誘導できない口腔扁平上皮癌細胞 HO-1-N1 から分泌された細胞外小胞をそれぞれ採取し、破骨細胞を誘導できる 3A 細胞の細胞外小胞には破骨細胞誘導能があり、破骨細胞を誘導できない HO-1-N1 の細胞外小胞には破骨細胞誘導能がないことを見出しました(図 1)。

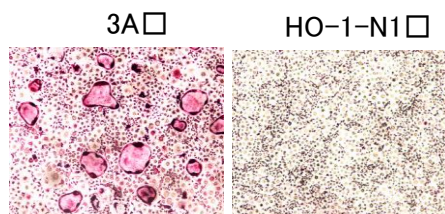


図1: 口腔扁平上皮細胞由来細胞外小胞による破骨細胞誘導  
3AとHO-1-N1からそれぞれ採取した10 μg/mLの細胞外小胞を破骨細胞前駆細胞に添加したところ、3A細胞由来の細胞外小胞では破骨細胞誘導能が認められた。

この癌細胞の細胞外小胞による破骨細胞誘導にデノスマブが無効であることを確認し、さらに細胞外小胞による破骨細胞誘導を阻害する目的で、細胞外小胞分泌阻害作用があると報告されている複数の薬物を用いて破骨細胞誘導への影響を調べたところ、そのうちのひとつであるカンナビジオールによって、デノスマブが無効の破骨細胞誘導がほぼ完全に阻害されることを見出しました(図 2)。

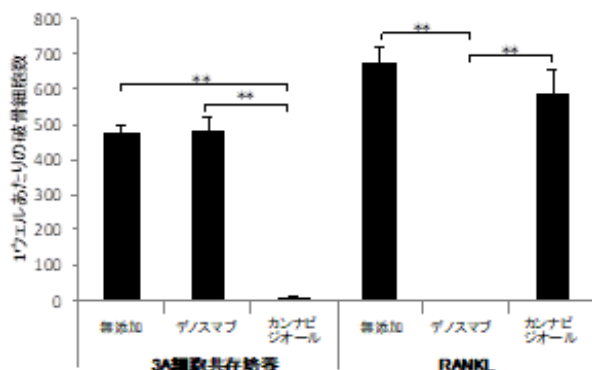


図2: 3A細胞と破骨細胞前駆細胞の共存培養およびRANKL添加による破骨細胞誘導における阻害薬効果  
3A細胞と破骨細胞前駆細胞を共存培養すると多くの破骨細胞が誘導される。この破骨細胞誘導に対してデノスマブは無効であるが、カンナビジオールはほぼ完全な阻害効果を示した。一方、RANKL添加による破骨細胞誘導に対して、デノスマブは完全に阻害したが、カンナビジオールは無効であった。

カンナビジオールは主に神経系の疾患に対する治療薬として海外で臨床応用されています。また、生体内で生理的に産生されているエンドカンナビノイドが骨代謝の調節に重要な働きがあるとの報告もあり、注目されています。予想に反し、カンナビジオールの添加により口腔扁平上皮癌細胞からの細胞外小胞の分泌は全く阻害されませんでした。また、3A 細胞の培養上清から細胞外小胞を除去しても破骨細胞誘導能が完全にはなくならなかったことから、口腔扁平上皮癌による破骨細胞前駆細胞からの破骨細胞誘導には、癌細胞の細胞外小胞のみならず他の癌細胞由来因子も関与する可能性が考えられました。しかし、いずれにしてもカンナビジオールによってこの癌細胞による破骨細胞誘導がほぼ完全に阻害されることがわかりました。

カンナビジオールによって阻害される破骨細胞誘導機構の詳細はまだ不明ですが、RANKL 刺激で発現上昇する破骨細胞誘導のマスター転写因子 NFATc1 には無関係であることも今回の研究で明らかにされたことから、これまで知られていない新たな機構であると考えられます。

これまで破骨細胞誘導は、マクロファージに RANKL が作用することで NFATc1 の発現上昇を来して起こることが唯一のルートと考えられてきましたが、本研究成果は、破骨細胞誘導に RANKL が不可欠であるのは、マクロファージから破骨細胞への分化が運命づけられた破骨細胞前駆細胞を誘導する初期段階のみであり、破骨細胞前駆細胞をスタートとすれば、今まで知られていなかった破骨細胞誘導の経路があることを示しています。

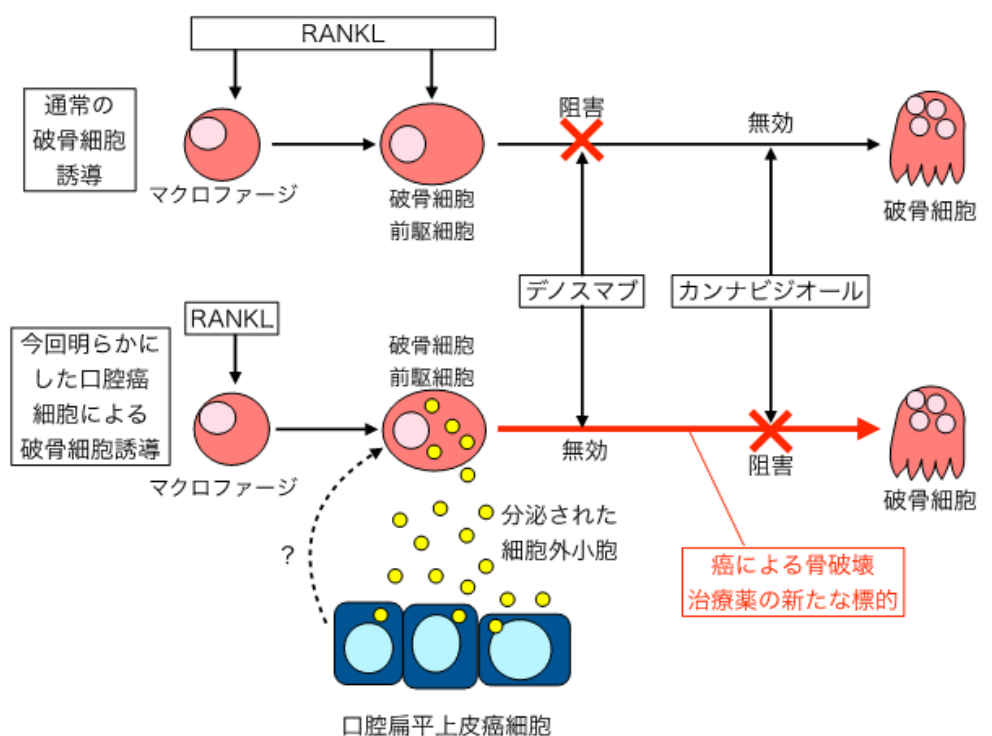


図 3:本研究のまとめ

口腔扁平上皮癌細胞から放出された細胞外小胞が、破骨細胞前駆細胞からの破骨細胞分化を誘導する。その機構における破骨細胞分化に対してデノスマブは無効であるが、カンナビジオールは阻害効果を示す。

## 【研究成果の意義】

本研究には 3 つの大きな発見が含まれます。1 つ目は、破骨細胞前駆細胞をスタートラインにすれば、これまで知られていなかった機構で破骨細胞が誘導されうることを初めて示した点です。破骨細胞誘導に RANKL が不可欠であることは遺伝子改変マウスの研究等ですでに明らかにされていますが、今回の研究成果は、RANKL が不可欠であるのはマクロファージを破骨細胞分化へと運命づける、破骨細胞誘導の初期の段階のみであることを示しました。2 つ目は、癌細胞が分泌する細胞外小胞が破骨細胞を誘導することを示した点です。細胞外小胞には細胞間コミュニケーションの役割があり、癌細胞に対しても多くの研究がなされていますが、今回の研究で、口腔扁平上皮癌細胞の細胞外小胞が破骨細胞前駆細胞から破骨細胞を誘導する作用があることを初めて示しました。3 つ目は、この癌細胞による破骨細胞誘導を、カンナビジオールという薬物がほぼ完全に阻害することを示したことです。これらの発見を足掛かりとして、今後、癌による骨破壊のみを阻害する画期的な治療薬が開発されることが期待されます。

## 【用語解説】

※1 マスター転写因子

細胞分化や機能に不可欠な遺伝子の発現を直接誘導する分子

## 【論文情報】

掲載誌: International Journal of Molecular Sciences

論文タイトル: A Novel, Tumor-Induced Osteoclastogenesis Pathway In sensitive to Denosumab but Interfered by Cannabidiol

## 【研究者プロフィール】

池田 通 (イケダ トオル) Ikeda Tohru

東京医科歯科大学

口腔病理学分野 教授

・研究領域

実験病理学、臨床病理診断学



## 【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

口腔病理学分野 氏名 池田 通(イケダ トオル)

TEL: 03-5803-5451 FAX: 03-5803-0188

E-mail: tohrupth.mpa@tmd.ac.jp

**<報道に関すること>**

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272

E-mail:kouhou.adm@tmd.ac.jp