

学位授与番号：甲 967 号

氏 名：野矢 三樹

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 26 年 4 月 9 日

学位論文名：

ビタミン D<sub>3</sub> 新規誘導体の *in vitro*, *in vivo* における抗腫瘍効果の研究

主論文名：

ビタミン D<sub>3</sub> 新規誘導体の *in vitro*, *in vivo* における抗腫瘍効果の研究

学位審査委員長：教授 吉田清嗣

学位審査委員：教授 靱山俊彦 教授 秋葉直志

## 論文要旨

論文提出者名	野矢 三樹	指導教授名 浦島 充佳
<p data-bbox="226 445 472 483">主論文題名</p> <p data-bbox="268 501 1331 539">ビタミンD<sub>3</sub>新規誘導体の in vitro, in vivo における抗腫瘍効果の研究</p> <p data-bbox="651 555 1342 593">野矢三樹、タメーズ・セリーナ、土黒一郎、浦島充佳</p> <p data-bbox="858 609 1337 647">慈恵会医大誌. 2012;127:259-73</p> <p data-bbox="212 759 1402 1030">1<math>\alpha</math>, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (1<math>\alpha</math>, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>): 活性型ビタミンD<sub>3</sub>は、がん細胞に対して増殖抑制、分化誘導、アポトーシス誘導作用の報告がある。しかし、高カルシウム血症を来すため、現在活性型ビタミンD<sub>3</sub>誘導体には抗がん剤として臨床応用された薬物は存在しない。そこで我々は in vitro で腫瘍抑制作用が強く発揮され、かつ in vivo で高カルシウム血症を来たさないビタミンD<sub>3</sub>新規誘導体を検索することを目的とし研究を行った。</p> <p data-bbox="212 1046 1402 1796">ビタミンD<sub>3</sub>誘導体で構造を少しずつ変えた46種類について、抗腫瘍効果を検討するために、HL60ヒト白血病細胞を用いて in vitro でスクリーニング検査を行った。コントロール溶液と比較し50%腫瘍増殖を抑制できた濃度を50% inhibitory dose (ID<sub>50</sub>)としたとき、活性型ビタミンD<sub>3</sub>のID<sub>50</sub>は4nMだった。スクリーニング検査の結果、20-epi-1<math>\alpha</math>, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: VD01と20-epi-26, 27-dihomo-1<math>\alpha</math>, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: VD03のID<sub>50</sub>は0.07nMであり、この2つの誘導体が最も強い腫瘍抑制効果を示した。次に、VD01とVD03に対して1<math>\alpha</math>位水酸基を欠く化合物、それぞれ20-epi-25(OH)D<sub>3</sub>: VD47と20-epi-26, 27-dihomo-25(OH)D<sub>3</sub>: VD48を in vitro で同様に検討したところ、抗腫瘍効果を認めたのはVD48だけであり(ID<sub>50</sub> 2.5-1.25nM)、VD47はほとんど腫瘍抑制効果を示さなかった(ID<sub>50</sub> 40nM&lt;)。そこで、in vivo では、VD03とVD48を用いて、抗腫瘍活性と同時に高カルシウム血症を来すかどうかHL60ヒト白血病細胞を移植したC.B-17/lcr-scid/scidJcl(重症複合型免疫不全)マウスの腫瘍モデルで検討した。その結果、VD03投与群のマウスは腫瘍発育以前に死亡したため in vivo での腫瘍抑制効果を評価できなかったが、高カルシウム血症を認めた。一方、VD48投与群では高カルシウム血症を認めなかったが、腫瘍はコントロール群と同程度に増大し、in vivo では抗腫瘍効果を確認できなかった。</p> <p data-bbox="212 1812 1402 1892">今回の研究では抗腫瘍効果を発揮する濃度を維持しながらカルシウム作用を抑えた化合物を検索することはできなかった。</p>		

## 論文審査の結果の要旨

野矢三樹氏の学位申請論文は主論文1編、参考論文2編からなり、主論文は「ビタミンD<sub>3</sub>新規誘導体の *in vitro*、*in vivo*における抗腫瘍効果の研究」という題名の和文論文で、浦島光佳教授の研究指導のもとに作成され2012年に慈恵医大誌に発表された。以下、これらの論文に基づく thesis の要旨と審査委員会の審査結果を報告する。

1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> は、がん細胞に対して増殖抑制、分化誘導、あるいはアポトーシス誘導作用の報告がある。しかし同時に高カルシウム血症を来すため、これまでに抗がん剤として臨床応用された活性型ビタミン D<sub>3</sub> 誘導体薬物は存在しない。そこで野矢氏らは *in vitro* で腫瘍抑制作用が強く発揮され、かつ *in vivo* で高カルシウム血症を来たさないような新規活性型ビタミン D<sub>3</sub> 誘導体を検索することを目的として研究を行った。ビタミンD<sub>3</sub> 誘導体で構造を少しずつ変えた46種類について、抗腫瘍効果を検討するためにHL60ヒト白血病細胞を用いて *in vitro* でスクリーニング検査を行った。コントロール溶液と比較し腫瘍増殖を50%抑制できた濃度を50% inhibitory dose (ID<sub>50</sub>)としたとき、活性型ビタミン D<sub>3</sub> の ID<sub>50</sub> は4nMだった。スクリーニングを行った結果、VD01とVD03と命名した誘導体の ID<sub>50</sub>は0.07nMであり、この2つの誘導体が最も強い腫瘍増殖抑制効果を示した。次に、このVD01とVD03に対して1 $\alpha$ 位水酸基を欠く化合物、それぞれVD47とVD48を *in vitro* で同様の手法により検討したところ、抗腫瘍増殖効果を認めたのはVD48だけであった。そこで *in vivo* では、VD03とVD48を用いて抗腫瘍活性と同時に高カルシウム血症を来すかどうかについて、HL60ヒト白血病細胞を移植した重症複合型免疫不全マウスの腫瘍モデルで検討した。その結果、VD03投与群のマウスは腫瘍塊形成以前に死亡したため *in vivo* での腫瘍抑制効果を評価できなかったが、高カルシウム血症を認めた。一方VD48投与群では、高カルシウム血症は認められなかったが、腫瘍はコントロール群と同程度に増大し、*in vivo* では抗腫瘍効果を確認することができなかった。以上の結果より、今回の研究では抗腫瘍効果を発揮する濃度を維持しながらカルシウム作用を抑えた化合物を見いだすことはできなかった。

平成26年3月27日、浦島教授、靱山俊彦教授、秋葉直志教授のご出席のもと公開学位審査委員会を開催し、野矢氏による研究概要の発表に続いて口頭試験を行った。席上、

- 活性型ビタミンD<sub>3</sub>における抗腫瘍効果は固形腫瘍にもあるのか？
- 白血病細胞を使って研究を行った理由は何か？

- 活性型ビタミンD<sub>3</sub>における抗腫瘍効果を生かすために高カルシウム血症を別の方法で抑えることはできないのか？
- In vitroとIn vivoの効果は対応しているのか？
- ビタミンDレセプターはHL-60細胞に存在しているのか？
- 誘導体はどのように作製したのか？
- マウスにおける致死的なカルシウム濃度はどれくらいか？
- 細胞毒性の評価はどのように行ったのか？
- 活性型ビタミンD<sub>3</sub>誘導体が抗腫瘍効果に対して製剤化されるとして、他の抗がん剤と比較してどのようなアドヴァンテージが期待されるか？

など多くの質問があり、野矢氏はいずれに対しても的確に回答し、活発な議論がなされた。その後、糸山、秋葉両教授と慎重に審議した結果、本論文は抗腫瘍効果を狙った新規活性型ビタミンD<sub>3</sub>誘導体の開発というこれまでに成功例のないチャレンジングなテーマに取り組んでおり、萌芽的ではあるものの研究成果に多いに将来性を予見させ、学位申請論文として十分価値があるものと認めた次第である。