

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 1 日現在

機関番号：23201

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21380067

研究課題名（和文）ビタミン D 水酸化酵素の立体構造に基づく機能改変と阻害剤の設計

研究課題名（英文）Protein Engineering of vitamin D hydroxylases and design of their inhibitors based on their tertiary structure

研究代表者

榊 利之 (SAKAKI TOSHIYUKI)

富山県立大学・工学部・教授

研究者番号：70293909

研究成果の概要（和文）：

放線菌由来ビタミン D 水酸化酵素の立体構造を解明し、2 箇所のアミノ酸変異を導入することにより活性を飛躍的に上昇させることに成功し、有用性の高い 3 種のビタミン D 水酸化体を効率よく製造することに成功した。また、多くの新規ビタミン D 誘導体を合成し、それらの生物活性および代謝様式を調べたところ、体内で代謝されにくく、抗癌作用の高い化合物を得ることに成功した。

研究成果の概要（英文）：

We have successfully generated a highly active actinomycete vitamin D hydroxylase to produce 3 hydroxylated forms of vitamin D which have potent biological activities based on its tertiary structure. In addition, we have successfully synthesized novel vitamin D analogues which show a potent anti-cancer activity and a remarkable metabolism-resistance *in vivo*.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2010 年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2011 年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
年度			
年度			
総計	11,800,000	3,540,000	15,340,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用生物化学

キーワード：ビタミン D、シトクロム P450、癌、骨粗鬆症、

## 1. 研究開始当初の背景

申請者は長年にわたりビタミン D 水酸化酵素の構造と機能および応用に関する研究を実施しており、放線菌由来 CYP105A1 の立体構造の解明と変異体の作製、CYP24A1 の機能解析において研究実績を積んでいた。また、共同研究者である杉本とは CYP105A1 の立体構造の解明、橋高とはビタミン D 誘導体の代謝研究において既に共同研究体制に入って

いた。本研究の開始当初、以下のような状況であった。

## (1) CYP105A1 のビタミン D 水酸化活性

申請者は CYP105A1 の立体構造を明らかにした後、2 箇所のアミノ酸置換により、25 位水酸化活性および 1 $\alpha$ 位水酸化活性を飛躍的に増大させることに成功した。さらに、この二重変異体を発現する放線菌を用いて、ビタ

ミンD<sub>3</sub>から活性型ビタミンD<sub>3</sub>(1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>)への変換に成功した。その生産性は実用化が可能なレベルに達している。

## (2) 新規ビタミンD誘導体の生産と評価

研究分担者の橋高はこれまでにビタミンDの骨格であるセコステロイド骨格のライブラリーとして約200種の化合物を有している。これらの化合物を基質として種々のシトクロムP450による変換を行うことにより、きわめて多種類の新規化合物を得ることができると思われた。

## (3) CYP24A1の立体構造の解明と阻害剤の設計

これまでに開発されたビタミンD誘導体はビタミンD受容体にリガンドとして結合し作用するが、転写調節領域に2箇所のビタミンD応答配列(VDRE)を有するCYP24A1遺伝子も同時に誘導発現するため、ビタミンD誘導体がCYP24A1により速やかに代謝されてしまうことが問題であった。CYP24A1に代謝されにくい誘導体およびCYP24A1阻害剤(既存のビタミンD誘導体とともに投与する)は優れた医薬品になる可能性がある。しかし、CYP24A1の立体構造が決定されておらず、精密なデザインは困難であった。

## 2. 研究の目的

### (1) CYP105A1の機能向上と活性型ビタミンD生産プロセスの確立

本研究ではCYP105A1の二重変異体に更に変異を重ね1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の生産性を向上させるとともに、種々のビタミンD誘導体の生産に応用する。

### (2) CYP105A1およびCYP24A1を用いた新規ビタミンD誘導体の生産と評価

申請者はCYP24A1の変異体の解析に基づき、分子モデリングによりCYP24A1の立体構造を推定し、水酸化する位置が異なるCYP24A1を作り出すことに成功している。すなわち機能改変である。天然型およびこれまでに得られた変異体を用いることにより22位、23位、24位、26位、27位の一箇所あるいは複数箇所の水酸化体や連続反応によるラクトンや側鎖の一部が切断されたものを、また、前述のCYP105A1変異体との組み合わせにより、きわめて多種多様な化合物を得ることが可能である。研究分担者の橋高が合成した約200種の化合物を基質としてCYP105A1およびCYP24A1による変換を行うことにより、きわめて多種類の新規化合物を得ることができ

る。こうした化合物はいずれも骨粗鬆症や癌の治療薬になる可能性を探る。

## (3) CYP24A1の立体構造の解明と新規ビタミンD誘導体阻害剤の設計

女性ホルモンをつくるシトクロムP450、CYP19の阻害剤が乳癌治療薬として高い評価を得ているが、CYP24A1阻害剤は骨粗鬆症や癌の優れた治療薬になる可能性がある。申請者は既に分子モデリングによりCYP24A1の立体構造を推定しているが、本研究では実際の立体構造に基づき強力な阻害剤の設計を試みる。これまでに開発されたビタミンD誘導体はビタミンD受容体にリガンドとして結合し作用するが、転写調節領域に2箇所のビタミンD応答配列(VDRE)を有するCYP24A1遺伝子も同時に誘導発現するため、ビタミンD誘導体がCYP24A1により速やかに代謝されてしまうことが問題であった。したがって、CYP24A1により代謝されにくいビタミン誘導体は有用性が高い。研究分担者の橋高が現在、注力している2 $\alpha$ 位置換体、19nor体、14-epi体について研究を進める。それらのVDR結合能、CYP24A1遺伝子転写誘導活性、前立腺癌由来細胞増殖抑制作用、ヒト白血病由来細胞分化誘導活性、マウスを用いた血中カルシウム上昇作用などを評価し、有用性が高いものについては特許化したい。

## 3. 研究の方法

### 1. CYP105A1の機能向上と活性型ビタミンD生産プロセスの確立

- ・CY105A1の1アミノ酸置換体の中で特に活性を増強したものの2つを組み合わせた2重変異体を作製したが、数倍程度活性が上昇したものが2種あり、これらを組み合わせた3重変異体を作製した。
- ・CYP105A1に電子を供与するフェレドキシンおよびフェレドキシン還元酵素遺伝子を放線菌からクローニングし、これらを過剰発現させることにより活性増強を図った。
- ・CYP105A1発現組み換え放線菌の培養条件の検討により活性増強を図った。

### (2) CYP105A1およびCYP24A1を用いた新規ビタミンD誘導体の生産と評価

- ・変異型CYP105A1発現放線菌の培養液から得られるビタミンD<sub>3</sub>あるいはビタミンD<sub>2</sub>の代謝物を基質としてCYP24A1に代謝させ、代謝物を分析した。さらに、種々のビタミンD誘導体についてもCYP105A1とCYP24A1の組み合わせで代謝物を分析し、生物活性を評価した。

### (3) CYP24A1 の立体構造の解明と新規ビタミン D 誘導体および阻害剤の設計

・結晶化（基質有無）、X線結晶構造解析により CYP24A1 の立体構造を決定し、基質結合様式を解明するとともに、基質結合ポケットの構造に基づき新規ビタミン D 誘導体および阻害剤を設計することを目的として、成熟型 CYP24A1 を大腸菌内で大量発現させた。

#### 4. 研究成果

##### (1) CYP105A1 の機能向上と活性型ビタミン D 生産プロセスの確立

3 重変異体 R73V/R84A/S236A および R73V/R84A/I293A を作製し、その活性を測定したが、二重変異体(R73V, R84A) と大差なかった。そこで、CYP105A1 の二重変異体 R73V/R84A 遺伝子を放線菌 *S. lividans* 菌体内で発現誘導した。その結果、L あたりの R73V/R84A 発現量は 3000 nmol/L と高いレベルであることがわかった。基質添加法の検討の結果、 $\beta$ -シクロデキストリンの添加により、反応がきわめて効率良く進むことがわかった。培養液に 20mg/mL で基質ビタミン D<sub>3</sub> (VD<sub>3</sub>) を添加し、24 時間ごとに代謝物を回収し HPLC 分析したところ、25D<sub>3</sub>、1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (活性型 VD<sub>3</sub>) および未知代謝物が生成した。25D<sub>3</sub> は 24 時間後に最大濃度 8.0 mg/mL、1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> は 72 時間後に最大濃度 3.0mg/L を示し、実用化レベルに達していることがわかった。フェレドキシン還元酵素については 2 種クローニングし、同時発現を試みたが、顕著な活性上昇は見られなかった。宿主である *S. lividans* 由来のフェレドキシン還元酵素から電子が供給されている可能性が高い。

##### (2) CYP105A1 および CYP24A1 を用いた新規ビタミン D 誘導体の生産と評価

(1) で得られた未知代謝物は 96 時間後に最大濃度 2.0 mg/mL に達し、LC-MS、<sup>1</sup>H-NMR 分析、キラルカラム分析を行った。その結果、この代謝物は 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> がさらに水酸化された 1 $\alpha$ ,25,26(OH)<sub>3</sub>D<sub>3</sub> であることがわかり、26*R*(OH)体と 26*S*(OH)体を 5 : 1 の割合で含むことがわかった。ヒト前立腺由来不死化細胞株を用いて生物活性を評価した。その結果、この代謝物は強い細胞増殖抑制作用と弱いカルシウム作用を示し、癌治療薬への応用が期待されるため、特許出願した。この代謝物を CYP24A1 により代謝させたところ、複数の代謝物が見られたが、これらの生物活性は検討していない。

### (3) CYP24A1 の立体構造の解明と新規ビタミン D 誘導体および阻害剤の設計

平成 22 年ラットの CYP24A1 の立体構造が明らかにされた。基質結合型ではなく、情報量としては不十分であったが、ドッキングモデリングにより、化合物の親和性をかなり正確に予測することが可能になった。分担者の橘高が新たに合成したビタミン D 誘導体はいずれも CYP24A1 の基質になりにくいと予測され、実際に CYP24A1 による代謝を調べたところ、いずれもほとんど代謝されなかった。特に 2 $\alpha$  位に置換基を有する種々のビタミン D 誘導体を合成し、その性質を調べたところ、14*epi* 体において特筆すべき成果が得られた。特に、14-*epi*-Mart10 はビタミン D 受容体への親和性が 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の約 4 分の 1 であるにもかかわらず、種々の生物活性において、1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> よりもはるかに優れていることが明らかになった。CYP24A1 による代謝を受けにくく、効果が持続することに依ると考えられる。以下に詳細な結果を示す。

#### (i) 2 $\alpha$ 位置換体

次に、2 $\alpha$ 位置換体である 2 $\alpha$ -[(2*R*)-2,3-ジヒドロキシプロポキシ]-ビタミン D 誘導体 (MT-1) と 2 $\alpha$ -[(2*R*)-2-ヒドロキシプロポキシ]-VD 誘導体 (MT-3)、およびその *S* 体である MT-2、MT-4 を合成した。ヒト CYP24A1 に対する代謝効率を調べたところ、いずれもきわめて代謝されにくく、生体内半減期の長いリガンドであることが示唆された。All-*trans*-レチノイン酸 (ATRA) 耐性ヒト前骨髄球性白血病細胞株における ATRA との併用の有効性を検証した。その結果、ATRA と併用処理した細胞では増殖抑制とともに分化誘導が認められた。

#### (ii) 14-*epi* 体

CD 環が *cis* 配置の 14-*epi* 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> は、[1,7]-シグマトロピー転位により、より安定なプレ型に熱的平衡が偏っている。ビタミン D 受容体 (VDR) への親和性は低くなるが、CYP24A1 による代謝を受けにくくなる。プレ型ビタミン D の生理活性を純粹に調べるため、[1,7]-シグマトロピー転位の起こり得ない 19 位メチル基を除去した化合物を合成した。この化合物の誘導体を種々、合成したところ、強い転写活性を示すものが見出された。プレ型構造を持つ限り、この結果は説明できないことから、トリエン構造への異性化が示唆された。HPLC で精査したところ、予想通り 6,7-*cis* 結合 (19-*norprevitamin* D<sub>3</sub>) から 6,7-*trans* 結合 (14-*epi*-19-*nor*

tachysterol) へと構造変化した化合物の単離に成功した。そこで、14-*epi*-19-nor tachysterol を直接化学合成し、その異性化体の構造を確定するとともに、生物活性を評価した。14-*epi*-19-nor tachysterol の 2 位メチル体 (2 $\alpha$ 体と 2 $\beta$ 体) を取得し、VDR 結合能を調べたところ、2 位エキソメチレン置換体では天然の活性型ビタミン D<sub>3</sub> の 83% という高い親和性を示した。また、2 位メチル基の立体化学も大きく影響することがわかった。ヒト VDR のリガンド結合領域 (LBD) との共結晶 X 線構造解析を行ったところ、C7,8-*s-trans* と C5,6-*s-trans* 配置をとり、2 位メチル基がある場合にはその立体化学に関わらず、2 つの単結合が *s-trans* 配置をとることがわかった。活性型ビタミン D<sub>3</sub> の VDR 共結晶構造と A 環部および側鎖部は位置的によい一致を見せており、1 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,25 位の水酸基はほぼ同じ位置を占めた。今後、細胞増殖抑制作用および CYP24A1 による代謝を調べる予定である。

#### 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 18 件)

すべて査読有

- ① Kittaka A, Hara H, Takano M, Sakaki T (他 13 名)  
14-*epi*-MART-10 and 14-*epi*-MART-11 with Antiproliferative and Cell Differentiation: *Anticancer Res.* 29, 3563-3569 (2009)
- ② Flanagan JN, Zheng S, Kittaka A, Sakaki T, (他10名)  
Evaluation of 19-nor-2 $\alpha$ -(3-hydroxypropyl)-1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> As a Therapeutic Agent for Androgen-dependent Prostate Cancer *Anticancer Res.* 29, 3547-3553 (2009)
- ③ Matsunawa M, Amano Y, Endo K, Sakaki T, (他3名)  
The aryl hydrocarbon receptor activator benzo[a]pyrene enhances vitamin D<sub>3</sub> catabolism in macrophages *Toxicological Sciences*,109, 50-58 (2009)
- ④ Urushino N, Yasuda K, Ikushiro S, Kamakura M, Ohta M, Sakaki T  
Metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>2</sub> by human CYP24A1 *Biochem. Biophys. Res. Commun.*384, 144-148 (2009)
- ⑤ Saito N, Suhara Y, Sakaki T,Kittaka A (他 3 名)Synthesis of 2 $\alpha$ -Propoxy-1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and Comparison of Its Metabolism by Human CYP24A1 and Rat CYP24A1 *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* 19, 5640-5643(2009)
- ⑥ Honzawa S, Takahashi N, Kittaka A, (他 5 名)  
Synthesis of a 1 $\alpha$ -C-Methyl Analogue of 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub>: Interaction with a Mutant Vitamin D Receptor Arg274Leu" *Tetrahedron*,65, 7135-7145(2009)
- ⑦ Sawada D, Katayama T, Kittaka A, (他9名)  
Synthesis of 2 $\alpha$ -substituted-14-*epi*-previtamin D<sub>3</sub> and its genomic activity *Bioorg. Med. Chem. Lett.*19, 5397-5400 (2009)
- ⑧ Sawada D, Yuya Tsukuda, Kittaka A. (他5名)  
Synthesis and Biological Evaluation of 4-Substituted Vitamin D and 14-Epi-Previtamin D Analogs *Chem. Pharm. Bull.* 57,1431-1433(2009)
- ⑨ Kittaka A, Hara H, Yasuda K, Sakaki T (他 6 名) Studies on Synthesis and Metabolism of 14-*epi*-2 $\alpha$ -(3-Hydroxypropyl)-19-norvitamin D<sub>3</sub> and its 2 $\alpha$ -isomer *Heterocycles* 82, 649-661 (2010)
- ⑩ Hayashi K, Sugimoto H, Kittaka A, Sakaki T (他 6 名)  
Three-step hydroxylation of vitamin D<sub>3</sub> by a genetically engineered CYP105A1 *FEBS J*, 277, 3999-4009 (2010)
- ⑪ Sakaki T, Sugimoto H, Hayashi K, Ikushiro S (他 4 名)  
Bioconversion of vitamin D to its active form by bacterial or mammalian cytochrome P450 *Biochem. Biophys. Acta*, 1814, 249-256 (2011)
- ⑫ Sawada D, Tsukuda Y, Kittaka A,(他6名)  
Synthesis of 2 $\alpha$ -Substituted-14-*epi*-previtamin D<sub>3</sub> and Testing of Its Genomic Activity *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*,121, 20-24 (2010)
- ⑬ Sawada D, Katayama T, Kittaka A, (他7名)  
Synthesis of 2 $\beta$ - and 2 $\alpha$ -Substituted-14-*epi*-previtamin D<sub>3</sub> and Their Genomic Activity *Tetrahedron*, 66, 5407-5423 (2010)
- ⑭ Demizu Y, Nakatsu A,Kittaka A (他 7 名)  
Facile Synthesis of Stereoisomers of the

Non-Secosteroidal Ligand LG190178 and their Evaluation Using the Mutant Vitamin D Receptor

*Lett. Org. Chem.* 8, 43-47(2010)

- ⑮安田佳織、杉本宏、橘高敦史、榊利之 (他 6 名)  
CYP105A1 二重変異体を発現する放線菌を用いた活性型ビタミン D<sub>3</sub> の生産  
*ビタミン誌*, 82, 649-661 (2010)
- ⑯Munetsuna E, , Kittaka A, Sakaki T. (他 8 名)  
Mechanism of the Anti-proliferative Action of 25-Hydroxy-19-nor-vitamin D<sub>3</sub> in Human Prostate Cells  
*J Mol Endocrinol* 47, 209-218 (2011)
- ⑰Iglesias-Gato D, Zheng S, Flanagan J. N., Jiang L, Kittaka A, Sakaki T,. (他 5 名)  
Substitution at carbon 2 of 19-nor-1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> with 3-hydroxypropyl group generates an analog with enhanced chemotherapeutic potency in PC-3 prostate cancer cells. *J. Steroid. Mol. Biol.* 127, 269-275 (2011)
- ⑱Chen TC, Sakaki T, Yamamoto K, Kittaka A. The roles of cytochrome P450 enzymes in prostate cancer development and treatment.  
*Anticancer Res.* 32, 291-298 (2012)

[学会発表] (計 51 件)

- ①林恵子, 安田佳織, 生城真一, 鎌倉昌樹, 城宜嗣, 太田美穂, 榊利之  
CYP105A1 二重変異体を発現する放線菌を用いた活性型ビタミン D<sub>3</sub> の生産  
日本ビタミン学会第 6 1 回大会  
2009.5.30-31
- ②漆野奈穂子, 安田佳織, 生城真一, 鎌倉昌樹, 太田美穂, 榊利之  
ヒトおよびラット由来 CYP24A1 による 1 $\alpha$ ,25-ジヒドロキシビタミン D<sub>2</sub> の代謝  
同上
- ③高野真史, 澤田大介, 林恵子, 生城真一, 榊利之, 橘高敦司 (他 7 名) 活性型ビタミン D<sub>3</sub> 誘導体における核内受容体 Water Channel の維持と生物活性  
同上
- ④Sakaki T  
Construction of a highly active vitamin D hydroxylase based on crystal structure of CYP105A1 and its application to production of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>  
第 16 回シトクロム P 4 5 0 国際会議  
2009.6.21-2
- ⑤Sakaki T Mechanism of inhibition of cell proliferation by vitamin D<sub>3</sub>

第 2 回博多シンポジウム「内外環境と生物応答」2009.10.9,10

- ⑥宗綱栄二, 池田進ノ介, 河南理恵, 中林佐知栄, 太田美穂・鎌倉昌樹, 生城真一, 榊利之  
ヒト前立腺由来細胞における 25-hydroxyvitaminD<sub>3</sub> の代謝と細胞増殖抑制作用  
第 8 2 回日本生化学会大会 2009.10.21-24
- ⑦榊利之  
ビタミン D を代謝するシトクロム P450 の構造と機能および医療への応用  
同上
- ⑧K Shindo, M Takano, G Kumagai, N Saito, H Saito, K Takagi, S Kakuda, M Takimoto-Kamimura, K Takenouchi, S
- ⑨Ishizuka, D Sawada and A Kittaka  
Novel C15-Substituted Active Vitamin D<sub>3</sub> Analogs: Design, Synthesis and Biological Activity  
14th Vitamin D Workshop 2009.10.4-8
- ⑩D Sawada, Y, A Kittaka (他 10 名)  
Synthesis and Preliminary Biological Evaluation of New 14-Epi-Previtamin D<sub>3</sub> and Its 19-Nor-Analogs with 2-Modification  
同上
- ⑪松尾実紀、橘高敦史 (他 11 名)  
新規 2 $\alpha$ -[2-(テトラゾール-1-イル)エチル] 活性型ビタミン D<sub>3</sub> の合成  
日本薬学会 第 130 年会 2010.3.28-30
- ⑫熊谷 剛、高野真史、澤田大介、齋藤 博、竹之内一弥、橘高敦史  
新規 16-エン-1 $\alpha$ ,15 $\alpha$ ,25-トリヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> の合成研究  
日本薬学会 第 130 年会 2010.3.28-30
- ⑬澤田大介、橘高敦史 (他 7 名)  
14-エピ-19-ノルタキステロール誘導体の合成と活性評価  
同上
- ⑭Toshiyuki Sakaki PPROTEIN ENGINEERING OF VITAMIN D HYDROXYLASES  
The 5<sup>th</sup> International Conference GPBNM2010  
2010. 6. 4
- ⑮Go Kumagai, Kanako Shindo, Atsushi Kittaka (他 9 名)  
Synthesis of Novel C15-Substituted Active Vitamin D<sub>3</sub> Analogs with 16-Ene CD-Ring  
第 21 回日仏医薬精密化学会議  
2010. 5. 9-12
- ⑯Miki Matsuo, Asami Hasegawa, Atsushi Kittaka (他 10 名) Synthesis of 2 $\alpha$ -[2-(Tetrazolyl)ethyl]-1 $\alpha$ , 25-dihydroxy Vitamin D<sub>3</sub>  
同上
- ⑰澤田大介, 佃 勇也, 橘高敦史

- (他 6 名)  
 $2\alpha$ 位に 2-(1H-テトラゾール-1-イル)エチル基及び 2-(2H-テトラゾール-2-イル)エチル基を有する活性型ビタミン D<sub>3</sub> の合成と生物活性評価  
 日本ビタミン学会第 62 回大会  
 2010. 6. 11-12
- ⑱熊谷 剛, 澤田大介, 橘高敦史 (他11名)  
 新規 15 位置換活性型ビタミン D<sub>3</sub> の合成研究 同上
- ⑲宗綱 栄二、生城 真一、榑 利之(他 6 名)ビタミン D による細胞増殖抑制の作用機構 同上
- ⑳榑 利之  
 25-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> による細胞増殖抑制の作用メカニズム  
 第 328 回脂溶性ビタミン総合研究委員会  
 2010.7.12
- ㉑ Shinobu Honzawa, Naoyuki Takahashi, Atsushi Kittaka (他 5 名)  
 Synthesis of vitamin D analogs as ligands for mutant human vitamin D receptor (Arg274Leu)  
 240th American Chemical Society  
 2010. 8. 22-26
- ㉒本澤 忍、高橋尚志、橘高敦史、榑 利之(他14名)  
 変異 VDR (Arg274Leu) に対するセコステロイドリガンドの設計と合成  
 第 329 回脂溶性ビタミン総合研究委員会  
 2010. 9. 26
- ㉓松尾実紀、高野真史、橘高敦史 (他 9 名)  
 $\alpha$  側鎖上にトリアゾール環を有する活性型ビタミン D<sub>3</sub> 誘導体の合成  
 第 54 回日本薬学会関東支部大会  
 2010. 10. 2
- ㉔熊谷 剛、澤田大介、橘高敦史 (他9名)  
 新規 15 位置換活性型ビタミン D<sub>3</sub> の合成とビタミン D 受容体との相互作用  
 第 54 回日本薬学会関東支部大会  
 2010. 10. 2
- ㉕新藤香菜子、熊谷 剛、橘高敦史(他 10 名)  
 新規 15 位置換活性型ビタミン D<sub>3</sub> の合成とビタミン D 受容体との相互作用  
 第 36 回反応と合成の進歩シンポジウム  
 2010. 11. 1-2
- ㉖松尾実紀、長谷川麻美、橘高敦史 (他 11 名)  
 $\alpha$ -ヘテロアラキル活性型ビタミン D<sub>3</sub> 誘導体の合成と生物活性  
 第 29 回メディシナルケミストリーシンポジウム 2010. 11. 1-2
- ㉗榑 利之 改変型シトクロム P450 を発現する放線菌を用いた活性型ビタミン D の生産  
 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会 2010. 12. 7-10
- ㉘安田佳織、杉本 宏、橘高敦史、榑 利之 (他 5 名)  
 CYP105A1 二重変異体によるビタミン D<sub>3</sub> の代謝とその反応機構  
 同上
- ㉙松本直樹、榑利之、橘高敦史 (他3名)  
 レチノイン酸耐性ヒト前骨髄球性白血病細胞の分化誘導におけるCYP24A1抵抗性新規ビタミンD誘導体の有用性  
 同上
- ㉚宗綱栄二、橘高敦史、榑 利之 (他7名)  
 ヒト前立腺細胞における 25-hydroxy-19-nor vitamin D<sub>3</sub> の作用機構  
 同上
- ㉛ Atsushi Kittaka, Daisuke Sawada, Toshiyuki Sakaki(他 11 名)  
 Synthesis of a series of vitamin D analogs as ligands for human vitamin D receptor: super agonists, antagonists, and studies on metabolism  
 環太平洋国際化学会議 2010. 12. 15-20
- ㉜ Miki Matsuo, Asami Hasegawa, Atsushi Kittaka (他 10 名)  
 Synthesis of  $2\alpha$ -heteroaralkylvitamin D<sub>3</sub> analogs with potent biological activity  
 同上
- ㉝ Go Kumagai, Daisuke Sawada, Atsushi Kittaka (他 11 名)  
 Synthesis of  $2\alpha$ -heteroaralkylvitamin D<sub>3</sub> analogs with potent biological activity  
 同上
- ㉞ Go Kumagai, Daisuke Sawada, Atsushi Kittaka (他 11 名)  
 Synthesis of new C15-substituted 16-ene-1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>  
 同上
- ㉟ Daisuke Sawada, Yuya Tsukuda, Atsushi Kittaka (他 9 名)  
 Evaluation of 14-epi-19-nortachysterol analogs from 14-epi-19-norprevitamin D<sub>3</sub>  
 同上
- ㊱熊谷 剛, 澤田大介, 橘高敦史 (他8名)  
 新規 15 $\beta$ -ヒドロキシ活性型ビタミン D<sub>3</sub> 誘導体の合成と生物活性評価  
 日本薬学会 第 131 年会 2011. 3. 29-31
- ㊲松尾実紀、長谷川麻美、橘高敦史 (他3名)  
 $2\alpha$ 側鎖上にアゾール環を有する活性型ビタミン D<sub>3</sub> 誘導体の合成と生物活性評価  
 同上
- ㊳高野真史、榑 利之、橘高敦史(他11名)  
 hCYP24A1 代謝抵抗性活性型ビタミン D<sub>3</sub> 誘導体の合成と ATRA 耐性 APL 細胞への活性評価 同上
- ㊴ Kittaka A (他 11 名) Synthesis of C15-Modified 16-ene-active vitamin D<sub>3</sub> analogs for the receptor-ligand interaction studies 4th Symposium

Vitamin D Analogs in Cancer Prevention and Therapy 2011, 5, 20-21

- ④ Sawada D, Kittaka A (他 6 名)  
Evaluation and characterization of 14-epi-19-nortachysterol analogs from 14-epi-19-norprevitamin D<sub>3</sub>  
同上
- ④ 安田佳織、生城真一、鎌倉昌樹、高野真史、齋藤望、橘高敦史、太田美穂、榊利之  
2 $\alpha$ 位に置換基を有するビタミン D 誘導体のヒト体内における代謝予測  
日本ビタミン学会第 63 回大会 2011. 6. 4-5
- ④ 宗綱栄二、河南理恵、太田美穂、安田佳織、生城真一、榊利之  
ビタミン D による細胞増殖抑制の作用機構  
同上
- ④ 松尾実紀、橘高敦史 (他 11 名) 2 $\alpha$ 位にアゾール環側鎖を有する活性型ビタミン D<sub>3</sub>の合成と生物活性評価
- ④ 宗綱栄二、榊利之 (他 4 名)  
ヒト前立腺細胞における 25-ヒドロキシビタミン D の細胞増殖抑制作用  
第 84 回 日本生化学会大会 2011. 9. 21-24
- ④ 榊利之  
活性型ビタミン D<sub>3</sub> 誘導体エルデカルシトール (ED-71) の代謝に関わる酵素の同定  
第 332 回 脂溶性ビタミン委員会 2011. 9. 30
- ④ 澤田大介、橘高敦史 (他 5 名) 14-エピ-19-ノルタキステロールの合成と VDR リガンド骨格としての可能性  
同上
- ④ 澤田大介、橘高敦史 (他 5 名)  
1 $\alpha$ , 4, 25-トリヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> の合成とヒト水酸化酵素による代謝に関する研究 第 37 回反応と合成の進歩シンポジウム 2011, 11, 7-8
- ④ Sawada D, Kittaka A (他 6 名)  
New Skeleton in Vitamin D Family: 14-epi-19-Nortachysterol and Its Unprecedented Binding Configuration for the Human Vitamin D Receptor  
8thAFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 2011)  
2011, 11/29-12/2
- ④ 澤田大介、榊利之、橘高敦史 (他 5 名)  
1 $\alpha$ , 4, 25-トリヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> の合成とヒト水酸化酵素による代謝に関する研究 日本薬学会 第 132 年会 2012, 3. 28-31
- ⑤ 高野真史、榊利之、橘高敦史 (他 11 名)  
活性型ビタミン D<sub>3</sub> 誘導体の 2 $\alpha$ 側鎖上の二級水酸基の効果と生物活性評価  
同上
- ⑤ 倉島恵愛、橘高敦史 (他 4 名)

長鎖アルキル基を持つノンセコステロイド型 VDR リガンドの創製  
同上

[図書] (計 2 件)

① 榊利之、橘高敦史 (他 158 名)  
ビタミン総合事典(624 頁) 朝倉書店 (2010)

② 橘高敦史 薬学用語辞典 東京化学同人 (2012)

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

① 名称: 1 $\alpha$ , 25, 26-トリヒドロキシビタミン D の製造方法

発明者: 榊利之、生城真一、安田佳織

権利者: 富山県

種類: 特許

番号: 2009-14432

出願年月日: 2009.6.17

国内外の別: 国内

② 名称: 25 ヒドロキシビタミン D<sub>2</sub> の製造方法

発明者: 榊利之、生城真一、安田佳織

権利者: 富山県

種類: 特許

番号: 2012-030126

出願年月日: 2012.2.15

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

榊利之 (SAKAKI TOSHIYUKI)

富山県立大学・工学部・教授

研究者番号: 70293909

(2) 研究分担者

杉本 宏 (SUGIMOTO HIROSHI)

理化学研究所・城研・研究員

研究者番号：90344043

橘高敦史 (KITAKA ATSUSHI)

帝京大学・薬学部・教授

研究者番号：00214833

(3)連携研究者

生城 真一 (IKUSHIRO SHINICHI)

富山県立大学・工学部・准教授

研究者番号：50244679