

Title	活性型ビタミンD3フッ素誘導体Falecalcitriolの体内動態研究
Author(s)	小室, 勢津子
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43055">https://hdl.handle.net/11094/43055</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	小 室 勢 津 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 9 7 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 11 年 10 月 29 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	活性型ビタミン D <sub>3</sub> フッ素誘導体 Falecalcitriol の体内動態研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 西 原 力 (副査) 教 授 小 林 資 正 教 授 松 田 敏 夫 教 授 東 純 一

## 論 文 内 容 の 要 旨

Falecalcitriol は、活性型ビタミン D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub>) の26位および27位の水素をフッ素に置換した誘導体 (26,26,26,27,27,27-Hexafluoro-1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub>、以下 F<sub>6</sub>VD<sub>3</sub>) であり、内因性の活性型ビタミン D<sub>3</sub> である 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub> (以下、1,25VD<sub>3</sub>) と比較し強力で持続的なカルシウム代謝改善作用を有する化合物である。

1,25VD<sub>3</sub> の生体における作用については、カルシウム代謝調節作用、分化誘導作用、免疫系に対する作用等極めて多岐にわたり、生体内の多くの組織 (小腸、骨組織、副甲状腺、腎臓、皮膚等) で、その作用を発現している。1,25VD<sub>3</sub> およびそのプロドラッグ (1 $\alpha$ (OH) vitamin D<sub>3</sub>、以下、1 $\alpha$ VD<sub>3</sub>) は、ビタミンD代謝異常に伴う疾患である慢性腎不全、副甲状腺機能低下症、およびクル病・骨軟化症に対し、低カルシウム血症、テタニー、骨痛、骨病変の改善薬、骨粗鬆症の治療薬として使用されている。強いカルシウム代謝改善作用を有する F<sub>6</sub>VD<sub>3</sub> においても、同様の疾患における治療薬として、より有用であることが期待されている。

1,25VD<sub>3</sub> は、ビタミン D<sub>3</sub> レセプター (VDR) を介して、上述の作用を発現することが明らかになっており、F<sub>6</sub>VD<sub>3</sub> においても同様の作用メカニズムが推定されるが、F<sub>6</sub>VD<sub>3</sub> の *in vivo* における強力な作用メカニズムは十分に解明されていない。私は、本研究において F<sub>6</sub>VD<sub>3</sub> の体内動態について調べ、F<sub>6</sub>VD<sub>3</sub> が 1,25VD<sub>3</sub> よりも高活性を発現するメカニズムについて体内動態面から検討した。

まず、ラット (Wistar 系、雄、以下同じ。) における基本的な体内動態を検討した。[1 $\beta$ -<sup>3</sup>H]F<sub>6</sub>VD<sub>3</sub> を単回経口投与した時、血清中放射能および F<sub>6</sub>VD<sub>3</sub> 濃度は投与後 2 hr に最高濃度に達した後に低下し、血清中では主として未変化体として存在した。体内分布については、標的組織である小腸 (粘膜部分) および腎臓に、概ね投与後 24 hr まで高く分布した。このような標的組織への高濃度で持続的な分布は、本剤に特徴的であった。また、骨については、ラジオルミノグラフィにより骨内分布を調べ、骨幹端部に放射能の局在を確認した。さらに、排泄バランスについては、投与量の約 19% が吸収された後主として胆汁から排泄され、その約 39% が再吸収されることが明らかとなった。

次に、ラットにおける *in vivo* の代謝物について radio-HPLC 法を中心に検討した。[1 $\beta$ -<sup>3</sup>H]F<sub>6</sub>VD<sub>3</sub> 投与後の血清については、F<sub>6</sub>VD<sub>3</sub> が主として存在しその他に、23S(OH)F<sub>6</sub>VD<sub>3</sub>、F<sub>6</sub>VD<sub>3</sub> がわずかに認められた。胆汁中の代謝物と

してはグルクロン酸抱合体が最も多く(胆汁中代謝物全体の約50%)、23S(OH) $F_6VD_3$ 、 $F_6VD_3$  および calcitroic acid のグルクロン酸抱合体が検出された。小腸、腎臓および骨では、 $F_6VD_3$  の他、23S(OH) $F_6VD_3$  および23oxo- $F_6VD_3$  が検出され、時間の経過とともに23S(OH) $F_6VD_3$  が増加し、投与後24 hr には大半を占めた。腎臓あるいは小腸粘膜ホモジネート ( $F_6VD_3$  を3日間前投与したラットから採取) を用いた *in vitro* 代謝により、 $F_6VD_3$  は腎臓あるいは小腸粘膜で23S(OH) $F_6VD_3$  に代謝されること、前投与により代謝が亢進することが明らかになった。

さらに、ラットに  $F_6VD_3$  を反復投与時には、血清中  $F_6VD_3$  濃度が低下することが示され、この低下現象は、 $F_6VD_3$  が小腸で吸収される際の23S(OH) $F_6VD_3$  への代謝の亢進に起因したものであることが示唆された。小腸および腎臓にはミトコンドリア型 P450 の一種である CYP24 が存在し、1,25 $VD_3$  は、この酵素により側鎖の24位の水酸化を受けることが報告されている。従って、 $F_6VD_3$  においても CYP24 によって23S(OH) $F_6VD_3$  に代謝され、さらに、反復投与により CYP24 が誘導される可能性が考えられた。 $F_6VD_3$  を前投与したラット小腸の CYP24-mRNA を測定したところ、投与後4 hr に最大値を示す mRNA の増加、すなわち、*in vivo* における小腸の CYP24 の誘導が確認された。

以上のとおり、 $F_6VD_3$  の動態・代謝面での特徴として、“ $F_6VD_3$  を投与したとき、標的組織である腎臓、小腸あるいは骨に代謝物23S(OH) $F_6VD_3$  が持続的に存在すること”が明らかになった。この23S(OH) $F_6VD_3$  は、VDR への結合能が  $F_6VD_3$  とほぼ等しく、 $F_6VD_3$  よりも弱いものの同様の薬理活性を示すことが明らかになっている。一方、1,25 $VD_3$  については、今まで検出された代謝物にはいずれも薬理活性のないことが報告されている。従って、 $F_6VD_3$  においては、標的組織である小腸や腎臓に、 $F_6VD_3$  とともに活性代謝物である23S(OH) $F_6VD_3$  が高い割合で存在し、しかも長時間留まることが、 $F_6VD_3$  の1,25 $VD_3$  に対する薬理活性面での優位性を裏付ける体内動態面における大きな特徴であることが明らかになった。

一方、私は、 $F_6VD_3$  の臨床用定量法として、特異性および感度に優れた定量法である、GC/MS を用いた HR-SIM (High resolution selected ion monitoring) 法を開発し、ヒト血清中  $F_6VD_3$  濃度の超微量定量を可能にした(定量限界: 2 pg/ml、血清 2 ml 使用時)。本定量法では、高分解能で超選択的にイオンを選択することで、感度および特異性を飛躍的に増大させたものである。 $F_6VD_3$  ソフトカプセルを服薬後のヒトにおける血清中濃度を測定し、動物(ラット、イヌ)での推移と比較したところ、最高濃度到達時間および半減期はほぼ同様で、曝露量(最高濃度、AUC)はヒトのほうが高いこと等が明らかになり、この定量法の開発によりヒトでの有効用量・安全域の把握が可能となった。

## 論文審査の結果の要旨

小室君は、高いカルシウム代謝改善作用を示す活性型ビタミンD<sub>3</sub> (1,25 $VD_3$ ) のフッ素置換誘導体 ( $F_6VD_3$ ) について、ラットおよびヒトにおける体内動態研究を実施した。すなわち、これらの超高感度分析法を開発するとともに、血中動態は1,25 $VD_3$  と大差ないが、 $F_6VD_3$  は1,25 $VD_3$  とは異なり分布した標的臓器において酵素的に23位が水酸化を受け、高薬理活性を示す水酸化体が持続的に高濃度を維持することが  $F_6VD_3$  の高い薬理作用の発現機構であることを示した。

以上の成果は、単に一医薬品候補物質としての  $F_6VD_3$  の作用発現機構を明らかにしただけではなく、ビタミンDの代謝研究、作用発現機構、さらには適切な臨床使用にも有益な知見と方法を与え、学術的にも臨床的にも高く評価されるものであり、博士(薬学)学位論文として充分価値あるものと認められる。