

บทบรรณาธิการ

## วิตามินดีกับมะเร็ง

### ทัตตวรรณ แก้วสาคร

สาขาวิชาพยาธิวิทยาคลินิกทางสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วิตามินดี (Vitamin D) หรือ Calcitriol เป็นวิตามินที่มีคุณสมบัติสามารถละลายได้ดีในไขมัน จัดเป็นฮอร์โมนชนิดหนึ่งซึ่งมีหน้าที่สำคัญในการควบคุมเมแทบอลิซึมของกระดูกและรักษาสมดุลของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในกระแสเลือด<sup>(1)</sup> วิตามินดีในธรรมชาติมีที่มา 2 แหล่ง คือ Vitamin D<sub>3</sub> (Cholecalciferol) ซึ่งถูกสังเคราะห์ขึ้นในผิวหนังเมื่อได้รับรังสีอัลตราไวโอเล็ต และมีมากในอาหารบางชนิด เช่น น้ำมันตับปลา ตับสัตว์ ไช้แดง ปลาหู ปลาแซลมอน เป็นต้น<sup>(2)</sup> ส่วน Vitamin D<sub>2</sub> (ergocalciferol) นั้นเป็น Vitamin D ที่แยกได้จากพืช ยีสต์ และเห็ดบางชนิด Vitamin D ที่ร่างกายคนเราได้รับส่วนใหญ่มาจากการสังเคราะห์ในผิวหนัง ส่วนที่ได้รับจากอาหารเป็นเพียงส่วนน้อยเท่านั้น<sup>(3)</sup>

กระบวนการสังเคราะห์ Vitamin D เริ่มต้นจากการที่ Vitamin D precursor (7-dehydrocholesterol) ในผิวหนังได้รับรังสีอัลตราไวโอเล็ตจากแสงอาทิตย์ แล้วเปลี่ยนเป็น Previtamin D<sub>3</sub> (Cholecalciferol) เข้าสู่กระแสโลหิตโดยจับกับ Vitamin D binding protein (DBP) ทั้ง Vitamin D<sub>2</sub> และ Vitamin D<sub>3</sub> จะเข้าสู่กระบวนการ Hydroxylation ครั้งแรกที่ตับ โดยอาศัยเอนไซม์ 25-hydroxylase เปลี่ยนเป็น 25-hydroxycholecalciferol แล้วเข้าสู่กระบวนการ hydroxylation ครั้งที่สองที่เซลล์

ของ Proximal tubule ในไต โดยอาศัยเอนไซม์ 1 $\alpha$  - hydroxylase เพื่อเปลี่ยน 25-hydroxycholecalciferol เป็น 1 $\alpha$ ,25-dihydroxycholecalciferol (Calcitriol) ซึ่งเป็น Biologically active form ของ Vitamin D<sup>(4)</sup> กระบวนการ Hydroxylation ที่ได้นั้น นอกจากจะอาศัยเอนไซม์ 1 $\alpha$ -hydroxylase แล้วยังมีเอนไซม์ 24-hydroxylase ในการเปลี่ยน 25-hydroxycholecalciferol ให้เป็น 24, 25-dihydroxycholecalciferol ซึ่งเป็น inactive form ของวิตามินดี ที่มีความสำคัญในการป้องกันการเกิดภาวะ Hypercalcaemia ที่เป็นผลจากการมีปริมาณของ Calcitriol ในเลือดสูงเกินไป

การออกฤทธิ์ของ Calcitriol จำเป็นต้องอาศัย Vitamin D receptor (VDR) ซึ่งจัดเป็น Nuclear membrane receptor ทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีนในลักษณะ Ligand-dependent manner เมื่อ Calcitriol เข้าสู่เซลล์แล้วไปจับกับ VDR เกิดเป็น Calcitriol-VDR complex จะไปกระตุ้นกระบวนการถอดรหัสพันธุกรรมของยีนเป้าหมาย เช่น Calbindin, osteocalcin, และ 24-hydroxylase เป็นต้น<sup>(5)</sup> โดยทั่วไป VDR สามารถพบได้ในเซลล์ของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของแคลเซียม ได้แก่ เยื่อบุผนังลำไส้เล็ก ผิวหนัง ตับ ไตและกระดูก เป็นต้น แต่จากรายงาน การค้นพบ

VDR ในอวัยวะอื่นๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องโดยตรงกับเมแทบอลิซึมของแคลเซียม เช่น เต้านม ลำไส้ใหญ่ ต่อมลูกหมาก เยื่อบุกระเพาะปัสสาวะ และ เซลล์เม็ดเลือดขาว ทั้งในเซลล์ปกติ และเซลล์มะเร็ง<sup>(6)</sup> แสดงให้เห็นว่า Calcitriol สามารถออกฤทธิ์ในอวัยวะเหล่านี้ได้เช่นกัน โดยมีรายงานการศึกษาจำนวนมากทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ<sup>(7)</sup> การศึกษาโดยใช้สัตว์ทดลอง<sup>(8)</sup> และการศึกษาทางคลินิก<sup>(9)</sup> ที่ชี้ให้เห็นว่า Calcitriol มีหน้าที่นอกเหนือจากการรักษาสมดุลของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในร่างกาย โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ และกระตุ้นให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงไป เป็นเซลล์ที่เจริญเต็มที่ (Differentiation) โดยอาศัย VDR ซึ่งมีผลชะลอการเจริญของมะเร็งชนิดต่างๆ ยกตัวอย่างเช่น มะเร็งเต้านม (Breast cancer)<sup>(10)</sup> มะเร็งต่อมลูกหมากและภาวะต่อมลูกหมากโต (Prostate cancer และ benign prostatic hyperplasia)<sup>(11)</sup> มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Leukemia)<sup>(12)</sup> และมะเร็งลำไส้ใหญ่ (Colon cancer)<sup>(13)</sup> เป็นต้น และเป็นที่น่าสนใจว่ามีเซลล์หลายชนิด เช่น Keratinocyte เซลล์มะเร็งเต้านม และเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก สามารถสร้างเอนไซม์  $1\alpha$ -hydroxylase ทำให้สามารถสังเคราะห์ Calcitriol ได้จาก 25-hydroxycholecalciferol เช่นเดียวกับ ที่เกิดในไต โดยการตอบสนองของเซลล์ดังกล่าวต่อ Calcitriol ที่สร้างได้เองนั้นเป็นแบบ Autocrine และ Paracrine<sup>(14)</sup>

กลไกในการยับยั้งการเจริญของเนื้องอกโดย Calcitriol เป็นกระบวนการที่ซับซ้อน ประกอบไปด้วยหลายวิถี (Pathway) ซึ่งสามารถอธิบายโดยย่อได้ดังนี้

1) การควบคุมวัฏจักรเซลล์ (Regulation of cell cycle)

จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยใช้สายพันธุ์ของเซลล์ (Cell line) หลายชนิด แสดงให้เห็นว่า Calcitriol ทำให้เซลล์หยุดการแบ่งตัวอยู่ที่ระยะ G0/G1 ดังนั้นเซลล์ที่จะเข้าสู่ระยะ S จึงมีจำนวนลดลง มีผลให้ก้อนเนื้องอกชะงักการขยายขนาด<sup>(14-15)</sup> การหยุดชะงักของวัฏจักรเซลล์ที่ระยะ G0/G1 นี้ เกิดจากการที่ Calcitriol ไปมีอิทธิพลต่อเอนไซม์ที่สำคัญที่ทำให้เกิดวัฏจักรเซลล์ เช่น ไปเพิ่มการสร้าง Cyclin dependent kinase (CDK) inhibitor p21 และลดการสร้าง p27 ทำให้การเปลี่ยนจากระยะ G0/G1 เข้าสู่ระยะ S ในวัฏจักรเซลล์ถูกยับยั้ง<sup>(16)</sup> แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานพบว่า Calcitriol สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากสายพันธุ์ PC-3 ได้โดยไม่มี การเปลี่ยนแปลงในวัฏจักรเซลล์และปริมาณ p21<sup>(17)</sup> ซึ่งชี้ให้เห็นว่าฤทธิ์ของ Calcitriol ในการควบคุมวัฏจักรเซลล์มีความจำเพาะต่อชนิดของเซลล์ และน่าจะมีหลายกลไกเข้ามาเกี่ยวข้อง

2) การกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์ (Induction of apoptosis)

การเกิด Apoptosis เป็นกลไกการควบคุมการผันเวียนของเซลล์ตามปกติในร่างกาย

กระบวนการ Apoptosis เกี่ยวข้องอย่างใกล้ชิดกับวัฏจักรเซลล์และอยู่ภายใต้การควบคุมที่ซ้อนเหลื่อมกัน โดยทั่วไปเซลล์มะเร็งจะไม่เกิด Apoptosis ตามปกติ เช่นที่เกิดในเซลล์ทั่วไปทำให้เซลล์มะเร็งสามารถแบ่งตัวได้อย่างต่อเนื่องถึงแม้จะมีความผิดปกติเกิดขึ้นในโครโมโซม จากการศึกษาพบว่า Calcitriol สามารถกระตุ้นให้เกิด Apoptosis ในเซลล์หลายชนิด ทั้งเซลล์ปกติ และเซลล์มะเร็ง<sup>(18-20)</sup> โดย Calcitriol ไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับโปรตีนที่ควบคุมการเกิด

Apoptosis เช่น โปรตีนในกลุ่ม Bcl-2 เช่น Bcl-2, Bcl-xl, Bax, และ Bak<sup>(14, 21)</sup> แต่อย่างไรก็ตามการกระตุ้นให้เกิด Apoptosis โดย Calcitriol เป็นกระบวนการที่ซับซ้อน และมีรายงานพบว่า Calcitriol สามารถกระตุ้น Apoptosis ได้แม้ในเซลล์ที่ไม่สามารถสร้างโปรตีน Bcl-2 ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีกลไกอื่นที่เกี่ยวข้อง<sup>(14, 22)</sup> นอกจากนี้การยับยั้งการเกิด Apoptosis โดย Calcitriol ยังมีความจำเพาะต่อชนิดเซลล์ เช่นเดียวกับการควบคุมวัฏจักรเซลล์ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้เซลล์มะเร็งบางชนิดไม่ตอบสนองต่อฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Calcitriol<sup>(23)</sup>

3) การกระตุ้นให้เซลล์เปลี่ยนสภาพไปเป็นเซลล์ที่เจริญเต็มที่ (Induction of cell differentiation)

การเปลี่ยนสภาพของเซลล์ไปเป็นเซลล์ที่เจริญเต็มที่และทำหน้าที่จำเพาะ จากการศึกษาจำนวนมากแสดงให้เห็นว่า Calcitriol มีฤทธิ์ต่อการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ ซึ่งวัดได้โดยอาศัยผลผลิตของเซลล์นั้นเป็นตัวชี้บอก<sup>(24-25)</sup> ยกตัวอย่างเช่น Calcitriol ไปมีผลทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเปลี่ยนสภาพโดยวัดได้จากการแสดงออกของ CD14 และ CD18 ที่ผิวเซลล์ความสามารถในการสร้าง Superoxide และการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์<sup>(26-27)</sup> นอกจากนี้ Prostate specific antigen (PSA) ได้ถูกใช้เป็นตัวชี้บอกการเจริญของเซลล์ในการศึกษามะเร็งต่อมลูกหมากและภาวะต่อมลูกหมากโต โดยผู้ป่วยต่อมลูกหมากโตที่ได้รับการรักษาด้วย Calcitriol มีอัตราการเพิ่มขึ้นของระดับ PSA ในเลือดลดลง เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่ได้รับยา<sup>(28-29)</sup> อย่างไรก็ตามกลไกที่ใช้อธิบายฤทธิ์ของ Calcitriol ต่อการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัด

4) การยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ และการแพร่กระจายของมะเร็ง (Anti-angiogenesis และ inhibition of metastasis)

การเกิดหลอดเลือดใหม่มีความจำเป็นต่อการเจริญและการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของหลอดเลือดใหม่มีทั้งชนิดที่กระตุ้นและยับยั้งการสร้างหลอดเลือด ปัจจัยที่มีผลกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่ที่มีการศึกษาอย่างมาก เช่น Vascular endothelial growth factor (VEGF) และ Platelet-derived endothelial growth factor (PD-ECGF) จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่า Calcitriol สามารถยับยั้งการสร้าง VEGF และการขยายออกของแขนงหลอดเลือดใหม่ นอกจากนี้จากผลการศึกษามะเร็งชนิดต่างๆ ในสัตว์ทดลอง เช่น มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งเต้านมได้แสดงให้เห็นว่า Calcitriol ทำให้เส้นเลือดที่มหาล่อเลี้ยงก้อนเนื้องอกมีจำนวนและการแตกแขนงน้อยลง ทำให้ก้อนมะเร็งมีขนาดเล็กลง และลดอัตราการแพร่กระจายของมะเร็งไปยังอวัยวะอื่นๆ เมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์ทดลองกลุ่มควบคุม<sup>(30)</sup>

จากที่กล่าวมาทั้งหมดข้างต้นถึงกลไกการยับยั้งการเจริญของมะเร็งโดย Calcitriol ยังมีปัจจัยหนึ่งที่สำคัญและเป็นข้อจำกัดของการใช้ Calcitriol ในทางคลินิก เพื่อให้ได้ผลในการยับยั้งการเจริญของมะเร็ง นั่นคือร่างกายต้องได้รับ Calcitriol ในระดับที่สูงกว่าระดับปกติทางสรีรวิทยาเป็นระยะเวลาสั้น ซึ่งผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นคือ ภาวะ Hypercalcemia และ Hypercalciurea ดังนั้นนักวิจัยจึงมีความพยายามที่จะสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Calcitriol หลายชนิดโดยมีวัตถุประสงค์ให้มียุทธิต่อแคลเซียมเมแทบอลิซึมในร่างกายน้อยที่สุด

แต่ยังคงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์ ตัวอย่างอนุพันธ์สังเคราะห์ที่ได้รับการพัฒนาจนเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์ เช่น Calcipotriol (Dovonex<sup>®</sup>) ซึ่งใช้ในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน (Psoriasis) นอกจากนี้ได้มีการทดลองใช้ Calcitriol ร่วมกับวิธีเคมีบำบัดอื่นๆ เพื่อลดขนาดยาที่ต้องใช้ลง และลดผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นจาก Calcitriol ยกตัวอย่างเช่น การใช้ Calcitriol ร่วมกับ Mitoxantrone และ Prednisone<sup>(31)</sup> หรือ Calcitriol ร่วมกับ Docetaxel<sup>(32)</sup> ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งต่อมลูกหมาก เป็นต้น

สำหรับในวงการสัตวแพทย์ Calcitriol เป็นที่รู้จักทางคลินิกในการรักษาภาวะไตวายเรื้อรังในสัตว์เลี้ยง ในขณะที่ฤทธิ์ของ Calcitriol ต่อเนื้องอกยังไม่เป็นที่รู้จักหรือมีการวิจัยกว้างขวางนักเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในคน ทั้งนี้มีรายงานการศึกษาในห้องปฏิบัติการ และการใช้สัตว์ทดลองที่ชี้ให้เห็นถึงผลของ Calcitriol และอนุพันธ์สังเคราะห์ในการยับยั้งการเจริญของสายพันธุ์ของเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติจากสุนัข เช่น Squamous cell carcinoma<sup>(33)</sup> เซลล์เยื่อกระดูกเพาะปัสสาวะ<sup>(14)</sup> และเซลล์ต่อมลูกหมาก<sup>(34)</sup> เป็นต้น นอกจากนี้รายงานการศึกษาโดย Rassnick KM และคณะ<sup>(35)</sup> ซึ่งทดลองใช้ Calcitriol ร่วมกับ Cisplatin ในการรักษาสุนัขป่วยโดยมะเร็งชนิดต่างๆ เช่น มะเร็งกระดูกและกระดูกอ่อน มะเร็งต่อมไทรอยด์ Squamous cell carcinoma และ Melanoma พบว่ามะเร็งมีขนาดเล็กลงในสุนัข 3 ตัว จากสุนัขที่เข้าร่วมการทดลองทั้งหมด 8 ตัว และสุนัขทุกตัวไม่แสดงอาการข้างเคียงจากการใช้ยาทั้งสองชนิด จากที่กล่าวมาข้างต้นชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการพัฒนาการใช้ Calcitriol เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษามะเร็งในสัตว์เลี้ยง แต่อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นที่

จะต้องทำการวิจัยเพื่อขยายผลของการศึกษาจากห้องปฏิบัติการ และการศึกษาเพิ่มเติมในทางคลินิกต่อไป

#### เอกสารอ้างอิง

1. DeLuca HF. The vitamin D story: a collaborative effort of basic science and clinical medicine. *FASEB J.* 1988;2: 224-36.
2. Moyad MA. Vitamin D: a rapid review. *Urol Nurs.* 2008;28(5):343-9.
3. Schwartz GG, Hall MC, Stindt D, Patton S, Lovato J, Torti FM. Phase I/II study of 19-nor-1 $\alpha$ -25-dihydroxyvitamin D2 (paricalcitol) in advanced, androgen-insensitive prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2005;11(24 Pt 1):8680-5.
4. Jones G, Strugnell SA. Current understanding actions of vitamin D. *Physiol Rev.* 1998;78:1193-231.
5. Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev.* 2005 Aug;26(5):662-87.
6. McCarthy K, Laban C, Bustin SA, Ogunkolade W, Khalaf S, Carpenter R, Jenkins PJ. Expression of 25-hydroxyvitamin D-1 $\alpha$ -hydroxylase, and vitamin D receptor mRNA in normal and malignant breast tissue. *Anticancer Res.* 2009 Jan;29(1):155-7.
7. Cicarma E, Tuorkey M, Juzeniene A, Ma LW, Moan J. Calcitriol treatment improves methyl aminolaevulinate-based photodynamic therapy in human squamous cell carcinoma A431 cells. *Br J Dermatol.* 2009 Apr 29.
8. Ghoreishi M, Bach P, Obst J, Komba M, Fleet JC, Dutz JP. Expansion of antigen-specific regulatory T cells with the topical vitamin d analog calcipotriol. *J Immunol.* 2009 May 15;182(10):6071-8.
9. Blanke CD, Beer TM, Todd K, Mori M, Stone M, Lopez C. Phase II study of calcitriol-enhanced docetaxel in patients with previously untreated metastatic or locally advanced pancreatic cancer. *Invest New Drugs.* 2008 Oct 9.
10. Welsh J. Targets of vitamin D receptor signaling in the mammary gland. *J Bone Miner Res.* 2007 Dec;22 Suppl 2:V86-90.

11. Petrioli R, Pascucci A, Francini E, Marsili S, Sciandivasci A, De Rubertis G, et al. Weekly high-dose calcitriol and docetaxel in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer previously exposed to docetaxel. *BJU Int.* 2007 Oct;100(4):775-9.
12. Suzuki T, Ishigami Y, Okada N, Kaneko A, Fukutomi R, Isemura M. Differentiation-associated alteration in gene expression of importins and exportins in human leukemia HL-60 cells. *Biomed Res.* 2008 Jun;29(3):141-5.
13. Pendás-Franco N, Aguilera O, Pereira F, González-Sancho JM, Muñoz A. Vitamin D and Wnt/beta-catenin pathway in colon cancer: role and regulation of DICKKOPF genes. *Anticancer Res.* 2008 Sep-Oct;28(5A):2613-23.
14. Kaewsakhorn T, Kisseberth WC, Capen CC, Hayes AK, Calverley MJ, Inpanbutr N. Effects of calcitriol, seocalcitol, and medium-chain triglyceride on a canine transitional cell carcinoma cell line. *Anticancer Res.* 2005;25:2689-96.
15. Luo W, Chen Y, Liu M, Du K, Zheng G, Cai T, et al. EB1089 induces Skp2-dependent p27 accumulation, leading to cell growth inhibition and cell cycle G1 phase arrest in human hepatoma cells. *Cancer Invest.* 2009 Jan;27(1):29-37.
16. Gedlicka C, Hager G, Weissenböck M, Gedlicka W, Knerer B, Kornfehl J, et al. 1,25(OH)<sub>2</sub>Vitamin D<sub>3</sub> induces elevated expression of the cell cycle inhibitor p18 in a squamous cell carcinoma cell line of the head and neck. *J Oral Pathol Med.* 2006 Sep;35(8):472-8.
17. Zhuang SH, Burnstein KL. Antiproliferative effect of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in human prostate cancer cell line LNCaP involves reduction of cyclin-dependent kinase 2 activity and persistent G1 accumulation. *Endocrinology.* 1998;139:1197-1207.
18. Peehl DM, Shinghal R, Nonn L, Seto E, Krishnan AV, Brooks JD, Feldman D. Molecular activity of 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in primary cultures of human prostatic epithelial cells revealed by cDNA microarray analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004;92:131-41.
19. Golovko O, Nazarova N, Tuohimaa P. Vitamin D-induced up-regulation of tumour necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) in prostate cancer cells. *Life Science.* 2005;77:562-77.
20. Samuel S, Sitrin MD. Vitamin D's role in cell proliferation and differentiation. *Nutr Rev.* 2008 Oct;66(10 Suppl 2):S116-24.
21. Zhang A, Wang Y, Xie H, Zheng S. Calcitriol inhibits hepatocyte apoptosis in rat allograft by regulating apoptosis-associated genes. *Int Immunopharmacol.* 2007 Aug;7(8):1122-8.
22. Diaz GD, Paraskeva C, Thomas MG, Binderup L, Hague A. Apoptosis is induced by the active metabolite of vitamin D<sub>3</sub> and its analogue EB1089 in colorectal adenoma and carcinoma cells: possible implications for prevention and therapy. *Cancer Res.* 2000;60: 2304-12.
23. Chung I, Yu WD, Karpf AR, Flynn G, Bernardi RJ, Modzelewski RA, et al. Anti-proliferative effects of calcitriol on endothelial cells derived from two different microenvironments. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2007 Mar;103(3-5):768-70.
24. Zhou YS, Liu YS, Tan JG. Is 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> an ideal substitute for dexamethasone for inducing osteogenic differentiation of human adipose tissue-derived stromal cells in vitro? *Chin Med J (Engl).* 2006;119:1278-86.
25. Mosieniak G, Sliwinska M, Piwocka K, Sikora E. Curcumin abolishes apoptosis resistance of calcitriol-differentiated HL-60 cells. *FEBS Lett.* 2006;580:4653-60.
26. Hansen CM, Hamberg KJ, Binderup E, Binderup L. Seocalcitol (EB 1089): a vitamin D analogue of anti-cancer potential. Background, design, synthesis, pre-clinical and clinical evaluation. *Curr Pharm Des.* 2000;6:803-828.
27. Hansen CM, Binderup L, Hamberg KJ, Carlberg C. Vitamin D and cancer: effects of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and its analogs on growth control and tumorigenesis. *Front Biosci.* 2001;6:D820-D848.
28. Gross C, Stamey T, Hancock S, Feldman D. Treatment of early recurrent prostate cancer with 1, 25-dihydroxyvitamin D (calcitriol). *J Urol.* 1998;159:2035-2040.

29. Beer TM, Myrthue A. Calcitriol in the treatment of prostate cancer. *Anticancer Res* 2006;26:2647-51.
30. El Abdaimi K, Dion N, Papavasiliou V, Cardinal PE, Binderup L, Goltzman D, et al. The vitamin D analogue EB 1089 prevents skeletal metastasis and prolongs survival time in nude mice transplanted with human breast cancer cells. *Cancer Res*. 2000;60:4412-18.
31. Chan JS, Beer TM, Quinn DI, Pinski JK, Garzotto M, Sokoloff M, et al. A phase II study of high-dose calcitriol combined with mitoxantrone and prednisone for androgen-independent prostate cancer. *BJU Int*. 2008 Dec;102(11):1601-6.
32. Beer TM, Ryan CW, Venner PM, Petrylak DP, Chatta GS, Ruether JD, et al. Intermittent chemotherapy in patients with metastatic androgen-independent prostate cancer: results from ASCENT, a double-blinded, randomized comparison of high-dose calcitriol plus docetaxel with placebo plus docetaxel. *Cancer*. 2008 Jan 15;112(2):326-30.
33. Kunakornsawat S, Rosol TJ, Capen CC, Middleton RP, Hannah SS, Inpanbutr N. Effects of 1,25(OH)2D3, EB1089, and analog V on PTHrP production, PTHrP mRNA expression and cell growth in SCC 2/88. *Anticancer Res*. 2001 Sep-Oct;21(5):3355-63.
34. Kunakornsawat S, Rosol TJ, Capen CC, Omdahl JL, Leroy BE, Inpanbutr N. Effects of 1,25(OH)2D3, 25OHD3, and EB1089 on cell growth and Vitamin D receptor mRNA and 1alpha-hydroxylase mRNA expression in primary cultures of the canine prostate. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2004 May;89-90(1-5):409-12.
35. Rassnick KM, Muindi JR, Johnson CS, Balkman CE, Ramnath N, Yu WD, et al. In vitro and in vivo evaluation of combined calcitriol and cisplatin in dogs with spontaneously occurring tumors. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2008 Oct;62(5):881-91.