



Title	RAW264.7細胞におけるcalcitriolの影響に関する研究 [全文の要約]
Author(s)	笠井, 満知子
Citation	北海道大学. 博士(歯学) 甲第15934号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/92484">http://hdl.handle.net/2115/92484</a>
Type	theses (doctoral - abstract of entire text)
Note	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。
Note(URL)	<a href="https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/">https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/</a>
File Information	Machiko_Kasai_summary.pdf



[Instructions for use](#)

# 学位論文内容の要約

## 学位論文題目

RAW264.7 細胞における calcitriol の影響に関する  
研究

博士の専攻分野名称 博士（歯学）氏名 笠井 満知子

ビタミン D は体内で骨やミネラル代謝、細胞分化、免疫の調節に影響を与えることが知られており、さらに疫学的データによりビタミン D ががんの発生率や死亡率にも関与している可能性が示唆されている。また活性型ビタミン D である calcitriol はがん細胞において分化や抗増殖作用、アポトーシスを誘導することが分かっており、これは calcitriol ががん細胞の悪性化に対して抑制的に作用することを示している。しかし反対に calcitriol ががん細胞に対して細胞死を抑制する作用があることも報告されており、細胞によって calcitriol による影響は様々であると考えられる。そこで本研究ではマウス白血病単球由来マクロファージ様細胞 (RAW264.7 細胞) における calcitriol 刺激の影響および細胞死の経路を明らかにし、ビタミン D ががん治療に適用される一助となることを目的とした。

RAW264.7 細胞を calcitriol で刺激し、位相差顕微鏡での観察、乳酸脱水素酵素 (LDH) 測定および Annexin V-FITC/PI 染色により細胞死の測定を行った。また Western blot 法にてアポトーシス関連タンパク質である caspase 8 および cleaved caspase 3 の発現レベルを測定した。さらに ELISA による calcitriol 刺激した細胞培養上清中の IL-1 $\beta$  の測定や、汎カパーゼ阻害剤 Z-VAD-FMK またはネクロプトーシス阻害剤である Necrostatin-1 処理後に calcitriol 刺激を行うことで細胞死の経路を検討した。

calcitriol (10  $\mu$  M) で 3 時間刺激すると RAW264.7 細胞の形態が変化することが位相差顕微鏡によって観察された。また calcitriol 刺激により濃度依存的、時間依存的に細胞培養上清中の LDH が増加した。さらに Annexin V-FITC/PI 染色では calcitriol 刺激によりコントロールと比較して Annexin V および PI で染色される細胞が増加した。これらのことから calcitriol が RAW264.7 細胞に細胞死を引き起こすことが明らかとなった。また calcitriol 刺激により caspase 8 が減少し、cleaved caspase 3 が増加した。さらに calcitriol によるこれらの変化は Z-VAD-FMK の前処理により抑制されたため、calcitriol による細胞死はカパーゼ依存的な経路の関与が示唆された。アポトーシスには外因性経路と内因性経路があり、cleaved caspase 3 はその両方の経路で活性化されるが caspase 8 は外因性経路のみで活性化される。今回 caspase 8 の発現も変化したことから calcitriol による RAW264.7 細胞の細胞死にはアポトーシスの外因性経路が関与していることが示唆された。

ELISA では calcitriol による 12 時間刺激後の細胞培養上清からは IL-1 $\beta$  は検出されなかったため calcitriol 刺激により RAW264.7 細胞がパイロトーシスを起こしている可能性は低いことが示唆された。Necrostatin-1 の前処理では calcitriol 刺激による細胞培養上清中の LDH の増加が抑制されなかったことから RAW264.7 細胞が calcitriol 刺激によりネクロプトーシスを起こしている可能性も低いことが示唆された。

本研究では calcitriol の刺激が RAW264.7 細胞のアポトーシスを誘導することを示した。calcitriol による RAW264.7 細胞の細胞死経路の一部を明らかにしたことはビタミン D を抗がん剤として適用するための一助となる可能性がある。