

cis-diamminedichloroplatinum(Ⅱ)耐性ヒト精巣セミノーマ株 (JKT/DDP) の樹立と Real Time PCR による CDDP 代謝に関連する抗癌剤耐性関連遺伝子の検討

小林 達也

ヒト精巣セミノーマ由来の樹立株である高転移株 (JKT-HM) を用い、長期、少量、間歇的に cis-diamminedichloroplatinum(Ⅱ) (CDDP) を投与することによって CDDP 耐性株 (JKT/DDP) の作成を試みた。その後、original 細胞であるヒト精巣セミノーマ株 (JKT-1)、その高転移株である JKT-HM と成長曲線、CDDP 感受性、CDDP 細胞内濃度について *in vitro* で比較検討した。その結果、JKT/DDP は通常の CDDP 無添加の培養においては JKT-1、JKT-HM と比較して、成長曲線に差は認めなかった。しかし、CDDP 添加による培養では、明らかに成長曲線に差を認めた。また、CDDP 存在下で細胞形態を観察すると、JKT-1、JKT-HM では細胞質が分葉化し、クロマチンの凝集を認めたが、JKT/DDP では紡錘形の細胞が敷石状の増殖を示していた。CDDP に対する感受性について、 IC_{50} 、Collagen gel drop embedded drug sensitivity test (CD-DST) 法で検討した結果、JKT/DDP は他の2つの細胞株と比較して、有意に CDDP 耐性を示した。よって、CDDP 耐性細胞を樹立したと考えられた。次に、JKT-1、JKT-HM および、JKT/DDP における CDDP 細胞内濃度、CDDP 細胞質内代謝に関連する抗癌剤耐性関連遺伝子 (Multidrug resistance 1, MDR1; Multidrug resistance associated protein, MRP; Lung resistance-related protein, LRP; Glutathione-S-transferase π , GST- π) の発現について検討した。CDDP 細胞内濃度は JKT/DDP で他の2種類の細胞よりも低下しており、また、MDR1, MRP, LRP, GST- π の mRNA の発現について Real Time PCR で検討したところ、JKT/DDP は、JKT-1、JKT-HM に比べて MDR1, MRP, GST- π 遺伝子が有意に発現の亢進が認められた。よって、JKT/DDP は JKT-1、JKT-HM に比較して、CDDP に対して耐性化を示しているとともに、CDDP に対する耐性化の機序のひとつに CDDP の細胞外への能動的な排出の亢進が関与していることが示唆された。

(平成14年8月29日受理)

Establishment of cis-diamminedichloroplatinum (Ⅱ) - resistant Human Testicular Seminoma Cell Line JKT/DDP and Analysis of the Expression of the Genes Related to Anticancer Drug-resistance associated with Cytoplasmic CDDP Metabolism

Tatsuya KOBAYASHI

