

29-0534 W49-7

5-Fluorouracil による細胞障害に対して抵抗性を示すヒトペプチドトランスポータ (hPEPT1) の調節機構

○井上 真由美¹, 寺田 智祐¹, 桂 敏也¹, 乾 賢一¹ (¹京都大病院薬)

【目的】我々は昨年度の年会において、ヒト胃癌培養細胞 MKN45 に発現するペプチドトランスポータ (SLC15A1、hPEPT1) は、抗癌剤 5-Fluorouracil (5-FU) の細胞障害に対して抵抗性であることを報告した。本研究では hPEPT1 が 5-FU に対して抵抗性を示す要因を明らかにするため、hPEPT1 mRNA の変動に着目し検討を加えた。

【方法】経時的に 5-FU で処理した MKN45 細胞から RNA を抽出し、逆転写後、hPEPT1 並びに促進拡散型グルコーストランスポータ(hGLUT1)の mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法で調べた。輸送機能については hPEPT1 の特異的基質である [³H]glycylsarcosine (Gly-Sar) を用いて解析した。また、hPEPT1 プロモーター領域を組み込んだレポーターコンストラクトを MKN45 細胞にトランスフェクションし、5-FU 処理後、ルシフェラーゼ活性を測定した。

【結果および考察】MKN45 細胞を 10 µg/mL 5-FU で 6~72 時間処理したところ、hGLUT1 mRNA 発現量は時間依存的に減少したが、hPEPT1 mRNA 発現量は未処理群と同程度維持されていた。また、転写阻害剤である Actinomycin D 存在下、MKN45 細胞を 5-FU で処理し Gly-Sar の輸送活性を測定したところ、hPEPT1 の活性低下は認められなかった。さらに、ルシフェラーゼアッセイによって 5-FU の hPEPT1 の転写に対する影響を調べた結果、5-FU 処理に対して転写活性の亢進は認められなかった。以上の結果から、5-FU に対して hPEPT1 の輸送機能が維持される要因は、hPEPT1 の転写活性の亢進ではなく、mRNA の安定性に起因していることが示唆された。