

GCP の血管肉腫細胞 (ISOS-1) に対するアポトーシス誘導作用

古用 里奈¹⁾, 若命 浩二¹⁾, 我妻 千尋¹⁾, 袁 嵐¹⁾,
前田亜希子²⁾, 浜田 祐子²⁾, 増澤 幹男²⁾

1) (株)アミノアップ化学生物化学研究室, 2) 北里大学医学部皮膚科

GCP is a functional supplement containing rich content of genistein. We investigated apoptosis related parameters in ISOS-1 cells by treated with GCP *in vitro*. The morphological observation showed the topological and apoptotic changes in ISOS-1 cells treated by GCP. GCP treatment markedly inhibited the proliferation of ISOS-1 cells. FACS analysis showed the Annexin V stained cells increased, the cell cycle analysis showed GCP decreased G₁S phase of ISOS-1 cells. These results suggest that GCP inhibit the proliferation of ISOS-1 cells by induction of apoptosis at early stage.

【目的】

GCP はアポトーシスの誘導物質であるアグリコン型イソフラボン (ゲニステイン) などを主成分とする健康食品である。この GCP は 2001 年度より北里大学医学部皮膚科において、治療の補助として血管肉腫の患者に使用されている。今回我々は GCP のアポトーシス誘導作用に注目し、同施設にて樹立されたマウス血管肉腫 (ISOS-1) を用いて *in vitro* の系で検討した。

【方法】

培養した ISOS-1 細胞に GCP を 100, 200, 300 μ g/ml 添加し 24 時間インキュベートした。その後、光学顕微鏡による形態変化, MTT 法による IC₅₀ の算出, FACS 解析 (Annexin , PI 染色性, 細胞周期) を検討した。またウエスタンブロット法によりアポトーシス関連蛋白 CDK-4 の検出を行った。

【結果と考察】

GCP 添加により ISOS-1 細胞は用量依存的に増殖抑制を示した (IC₅₀ = 105.9 μ g/mL) また、形態的にシャーレ内に著しく伸展した細胞が多く確認された。FACS 解析の結果, GCP 量に依存して Annexin 染色性の細胞が増加していた。また, 細胞周期に関しては, G₁S 期の減少細胞が確認された。またウエスタンブロット法によりアポトーシス関連蛋白 CDK-4 の検出を行い, GCP 処理により減少していることが確認された。

以上の結果より, GCP は ISOS-1 細胞に対してアポトーシス誘導による細胞増殖抑制作用があることが確認された。その理由として, アポトーシスの比較的早期の段階での細胞膜表面の変化が確認できたこと (Annexin 陽性), アポトーシス細胞の細胞周期に特徴的な G₁S 期の減少が確認できたことがあげられる。さらに G₁ 期のチェックポイントである CDK-4 が減少していたことから, GCP は DNA 合成阻害によりアポトーシスを誘導していることが確認された。