慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

| | |
|---|---|
| Title | The Influence of Platelets on the Promotion of Invasion by Tumor Cells and Inhibition by Antiplatelet Agents |
| Sub Title | 血小板による腫瘍細胞浸潤能促進作用と抗血小板剤の効果 |
| Author | 鈴木, 慶一(Suzuki, Keiichi) |
| Publisher | 慶應医学会 |
| Publication year | 2005 |
| Jtitle | 慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.35- |
| JaLC DOI | |
| Abstract | |
| Notes | 号外 |
| Genre | Journal Article |
| URL | https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0035 |

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# The Influence of Platelets on the Promotion of Invasion by Tumor Cells and Inhibition by Antiplatelet Agents

（血小板による腫瘍細胞浸潤能促進作用と抗血小板剤の効果）

鈴　木　　慶　一

## 内容の要旨

【目的】腫瘍細胞は血小板凝集を促進し、一方、活性化された血小板は腫瘍細胞の浸潤能に対して促進的に働くことが以前より指摘されてきた。そこで、血小板が腫瘍細胞と共存することで浸潤能が増強するメカニズムを、chemoinvasion assayおよびmatrix metalloprotease（MMP）産生量の点から考察すべく以下の実験を計画した。さらに抗血小板製剤が、血小板による腫瘍細胞浸潤能促進作用に対して抑制効果を持つかどうかについて検討した。

【方法】実験１：Chemoinvasion assayにより、血小板存在の有無による膵癌株浸潤能の変化を観察した。腫瘍細胞はSW.1990、SU86.86.、Capan-2、BxPC-3、AsPC-1の５種のヒト膵癌株を用いた。腫瘍細胞のみ、腫瘍細胞＋非活性型血小板、腫瘍細胞＋活性型血小板の３群に分け、それぞれを共培養しマトリゲル内を移動した腫瘍細胞の数を測定した。実験２：血小板存在下で腫瘍細胞からのMMP-9産生量の増加をgelatin zymography法を用いて確認した。上記３種の共培養上清を用いて比較検討した。実験３：実験２で検出されたバンドがMMP-9であることを確認するためにWestern Blot法を行った。腫瘍細胞は実験１で最も浸潤能を促進したBxPC-3を用いた。実験４：抗血小板製剤の浸潤能抑制作用を観察するため、血小板と腫瘍細胞との共培養にさらにprostacyclin、EPA製剤、cylostazolの３種の抗血小板製剤を加えそれぞれ共培養し、実験１と同様にchemoinvasion assayを行った。実験５：さらに血小板、腫瘍細胞、cylostazolの共培養上清を用い、ELISA法により腫瘍細胞から産生されるMMP-9を定量した。

【結果】実験１：Chemoinvasion assayでは全ての腫瘍細胞で、血小板を加えた群は腫瘍細胞のみの群に比べ有意に浸潤細胞数が増加していた。実験２：Gelatin zymographyでは、全ての腫瘍細胞において血小板と共培養した上清の方が腫瘍細胞のみの上清よりMMP-9のバンドが高濃度に検出された。実験３：抗ヒトMMP-9抗体を用いて、検出されたバンドがMMP-9であることが確認された。実験４：EPA製剤、cylostazolを加えて共培養すると、これらの抗血小板製剤非添加群より有意に浸潤細胞数は減少した。実験５：MMP-9の生産量はcylostazolを添加することによって有意に減少しており、抗血小板剤の濃度に依存する傾向を示した。

【結論】血小板がヒト膵癌細胞の浸潤能を促進し、これはMMP-9の分泌量が関与することが示唆された。さらに抗血小板剤の添加により、MMP-9の分泌量は減少し、浸潤能は低下した。膵悪性腫瘍の浸潤は抗血小板剤によって抑制される可能性が示唆された。

## 論文審査の要旨

血小板と腫瘍細胞との相互作用については以前から指摘され着目されていたが、その多くは腫瘍細胞によって血小板がいかに活性化されるかという点が問題とされていた。本研究では活性化血小板が腫瘍細胞に及ぼす影響に着目し、そのメカニズムの一つを解明した。さらに抗血小板剤による腫瘍細胞浸潤能抑制と言う新しい側面を明らかにした。

審査ではまず、ヒト膵癌株を実験に選んだ理由と浸潤能に着目した理由について質問があり、一般外科領域では浸潤性膵管癌が最も臨床的悪性度が高く高浸潤性であるためと説明され、さらに当科での検討で、膵管癌切除例のうち術前術後の血小板数が$40\times10^4/\mu\ell$以上の症例は$40\times10^4/\mu\ell$未満の症例に比べ有意に予後不良であるとの成績について回答された。次ぎに、浸潤能の評価においてMMPに着目した理由を求められ、MMPが腫瘍細胞の浸潤、転移過程において極めて重要な役割を演じていることは広く認められている。膵癌患者からの腫瘍切片より活性化MMP-2が発現していたとの報告があり、さらに血小板の存在下でヒト乳癌株腫瘍細胞からのMMP-9分泌が増加し、浸潤能に促進的に作用するとの報告があるとの説明がなされた。

次ぎにchemoinvasion assayで高浸潤性を示した腫瘍細胞が必ずしもMMP-9を多く産生しているわけではないとの指摘があり、本実験系では細胞の遊走能やchemoattractantとの親和性など様々な要因によって浸潤能は影響を受けるため、MMP産生の多寡と浸潤能とは必ずしも相関せず、MMP-9は多くの浸潤能促進作用メカニズムの一つであると説明された。Gelatin zymographyにおけるMMP-9の上昇は腫瘍細胞内のMMP-9が放出されたためか、産生能が上昇したためかとの議論があったが、蛋白合成阻害剤であるcycloheximideを加えることによりMMP-9の産生は80－90%阻害されとの報告があることから、血小板によるMMP-9合成促進により発現が増加したと想定された。

次ぎに、抗血小板剤を用いた実験系においてトロンビンと抗血小板剤とを添加した時期について質問され、まずトロンビンで血小板を活性化し、ヒルディンで中和した後に各種抗血小板剤を添加し、共培養したと回答された。

最後に、血小板の腫瘍細胞浸潤能促進作用のメカニズムについて質問があった。腫瘍細胞に作用するのは活性化血小板から放出されたsoluble factorsではなく、活性化した血小板の細胞表面に発現するgranular membraneの一つが関与していると考えられているが、それはP-selectinやGP IIb-IIIaではないことが確認されている。しかしその膜抗原はいまだ同定されていないと説明された。さらに今後はこの膜表面に発現する原因物質の同定を行なう必要性があることが助言された。

以上のように、本研究ではさらに検討されるべき課題は残されているものの、今までとは異なった観点より血小板と腫瘍細胞との相互作用を研究し、そのメカニズムの一つを追求することにより今後の新たな治療戦略の端緒を開いたともいえ、更なる発展を期待し有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者　主査　外科学　北島　政樹
内科学　池田　康夫　　病理学　岡田　保典
病理学　坂元　亨宇
学力確認担当者：北島　政樹、鈴木　則宏
審査委員長：池田　康夫

試問日：平成17年 2月 1日