癌転移における血小板の役割

——各種抗血小板物質の癌転移に及ぼす影響——

坂東 弘康* 山下 喬* 螺良 英郎*

Role of platelets in cancer metastasis formation

——The effect of antiplatelet agents on pulmonary metastases——

Hiroyasu BANDO*, Takashi YAMASHITA* and Eiro TSUBURA*

Key words: blood-borne, pulmonary metastases, B16 melanoma, Lewis lung carcinoma, antiplatelet agents, ADP or thrombin induced platelet aggregation

The outcome of metastasis depends on the interaction of tumor cells with their host in the different metastatic process. Blood coagulation-fibrinolysis-platelet system is a great important host factor. Our previous studies have shown that intravascular coagulation in the target organ was a very important mechanism at an early stage of hematogenous metastasis.

In order to clarify the role of platelets on cancer metastasis, we studied the effects of various antiplatelet agents with different acting mode, such as ticlopidine, diltiazem, dipyridamole and trapidil on the intravenously induced or spontaneous pulmonary metastases. B16 melanoma or Lewis lung carcinoma cells were inoculated via a tail vein or subcutaneously implanted into foot pad. Pulmonary metastases were assayed grossly by counting the numbers of pulmonary metastatic nodules 2 to 3 weeks after intravenous inoculation, or 3 to 5 weeks after subcutaneous inoculation of tumor cells.

Optimal inhibitory dose in ADP-induced platelet aggregation was 60–120 mg/kg in ticlopidine, 180 mg/kg in trapidil, 60 mg/kg in dipyridamole or 2 mg/kg in diltiazem, respectively. Marked inhibition of intravenously induced pulmonary metastases by B16 melanoma was obtained by the treatment of all these antiplatelet agents with dose described above. Significant reduction of spontaneous metastases by these substances was also observed only after removal of the primary tumor. Role of platelets was discussed with respect to the thrombus

* 徳島大学医学部第三内科〔〒770 徳島市蔵本町2丁目50〕, Third Department of Internal Medicine, The University of Tokushima, School of Medicine, Tokushima, Japan.

formation in the lodgement of tumor cells and participation of platelet-derived tumor growth factor in the growth of micrometastases in the lung.

はじめに

癌転移形成機序は複雑であり、癌細胞側および宿主側の種々の要因の相互作用によって決定されている。とくに凝固・線溶・血小板系の関与は免疫系と共に重要な宿主要因の一つである。これまでに種々の硫酸化多糖、線溶促進、抑制物質を用いて血行性転移の初期過程には血管内凝固が重要であることを明らかにしてきた^{1,2)}。今回血小板の癌転移形成における役割を解明するために作用機作の異なる各種抗血小板物質を用いて血行性転移に及ぼす影響をマウス

の血行性転移実験モデルで検討した。

I. 実験方法

C57BL/6 マウスの同系、自然発生腫瘍である B16 melanoma および Lewis lung carcinoma (3LL) を用いた。癌転移実験系は癌細胞の着床に注目した静注肺転移系と癌細胞の遊離を加味した自然発生肺転移系との二系により、いずれも肺転移結節数を指標とした。抗血小板物質として ticlopidine (adenylate cyclase activator), diltiazem (Ca-antagonist), dipyridamole (phosphodiesterase inhibitor), trapidil

Fig. 1 Inhibitory effect of ADP-induced platelet aggregation by antiplatelet agents, such as ticlopidine, diltiazem, dipyridamole and trapidil.

Fig. 2 Inhibitory effect of thrombin-induced platelet aggregation by antiplatelet agents.

(thromboxane synthetase inhibitor) を用い経口投与した。各物質の投与量は処理マウスの血小板の ADP 凝集, thrombin 凝集を抑制しえた量を用い, 投与期間は静注肺転移系では癌細胞を尾静脈より移植 2 日前より 1~2 回/日, 連日投与した。自然発生肺転移系にあっては癌細胞の足蹠皮下移植後一定期に原発巣を切除し, 切除後 2~3 週目の肺転移をみた。この際抗血小板物質は癌細胞の遊離期あるいは原発巣切除後の微小肺転移巣の増殖期に投与した。

II. 結 果

各抗血小板物質の ADP 凝集に対する最大抑制能は ticlopidine (60—120 mg/kg), trapidil (180 mg/kg), dipyridamole (60 mg/kg), diltiazem (2 mg/kg) の順に強く (図 1), thrombin 凝集抑制能は trapidil でやや強く, 他は同程度であった (図 2)。

各抗血小板物質の癌転移に及ぼす影響は上記の血小板凝集抑制至適投与量を用いた場合, 静

Table 1 Effect of various antiplatelet agents on pulmonary metastasis

Pulmonary metastasis	Tumor	No. of pulmonary metastatic nodules (mean±SE)				
		Control	Ticlopidine	Diltiazem	Dipyridamole	Trapidil
Intravenously induced	B16 melanoma	24.2±2.6	14.4± 2.5***	13.2±1.4***	17.3±3.5	8.0±2.5***
	3LL	26.0±6.6	55.7±10.0**	18.9±3.8	63.7±5.6****	64.8±7.4****
	3LL ^{a)}	16.8±3.2	7.5± 2.3*	9.4±1.4*	23.7±5.7	10.2±1.8
Spontaneous	B16 melanoma	11.4±3.1	17.4± 6.5	7.5±4.0	12.1±5.0	14.2±4.9
	3LL	18.1±4.4	25.7± 9.0	12.9±3.3	24.9±7.0	29.5±6.7
Early treatment	B16 melanoma	4.5±1.7	1.4± 0.8	0.2±0.1*	0.2±0.1*	1.2±0.5
	3LL	16.8±2.5	4.9±1.8****	5.4±1.4	3.1±0.9****	7.1±2.3**
Late treatment						

5×10⁶ cells of B16 melanoma or 1×10⁶ cells of 3LL were implanted intravenously or into foot pads of mice. For intravenously induced pulmonary metastases, antiplatelet agents were given orally 2 days before tumor inoculation. a) antiplatelet agents were given from 1 day before to 6 days after tumor inoculation. Primary tumor of 3LL was removed 9 days after tumor implantation, and that of B16 melanoma was also removed 17 days after implantation. In the early treatment, mice bearing B16 melanoma were given antiplatelet agents for 8 days before removal of primary tumor. Mice bearing 3LL were given for 5 days before removal. In late treatment, mice were given for 7 days after removal of primary tumor.

* p<0.05, ** p<0.02, *** p<0.01, **** p<0.001

注肺転移系にあって B16 melanoma ではないずれの物質にあって転移抑制をみた。3LL では逆に転移促進傾向をみた。しかし癌細胞移植前日より移植後6日目までの投与ではticlopidine, diltiazem 投与群に転移抑制をみた。

自然発生肺転移系にあっては癌細胞の遊離期に投与した場合, diltiazem を除く他の抗血小板物質に転移促進傾向を認めた。また原発巣切除後の微小肺転移の増殖期に投与した場合には全ての抗血小板物質で肺転移抑制をみた(表1)。

III. 考 案

癌細胞の血行性転移形成過程にあって癌細胞の着床, 微小転移巣の増殖期に血小板機能を抑制することにより, 血行性転移を抑制しえた。抗血小板物質による癌細胞の着床抑制効果の発現は癌細胞の血小板凝集活性に関連し, 血栓形成抑制作用によりみられ, B16 melanoma のごとく凝集能の高い腫瘍に強く, 3LL のごとく凝集活性の低い腫瘍では弱いことが考えられる^{3,4,5,6)}。一方, 微小転移巣の増殖期に血小板機能を抑制することにより転移抑制効果をみたことはこの時期における血小板由来腫瘍増殖因子等の関与⁷⁾も考えられた。

文 献

- 樋口佑次, 他: 硫酸化多糖の抗凝固作用と実験的腫瘍転移抑制に関する研究。血液と脈管, **9**; 257~263, 1978.
- 樋口佑次, 他: 腫瘍増殖・転移におよぼす Difi-brinogenation の影響。血液と脈管, **11**; 35~39, 1980.
- Gasic, G.J. et al.: Platelet-tumor cell interactions in mice. The role of platelets in the spread of malignant disease. Int. J. Cancer, **11**; 704~18, 1973.
- Hilgard, P.: The role of blood platelets in experimental metastasis. Br. J. Cancer, **28**; 429~435, 1973.
- Kohga, S. et al.: Effects of 5-(2-chlorobenzyl)-4,5,6,7-tetrahydrothieno [3,2-C] pyridine Hydrochloride (Ticlopidine), a Platelet Aggregation Inhibition, on Blood-borne Metastasis. Cancer Res., **41**; 4712~4714, 1981.
- Tanaka, N. et al.: Platelet aggregating activities of metastasizing tumor cells. Invasion and Metastasis, **2**: 289~289, 1982.
- 茂木良弘, 他: ヒト癌細胞の血小板凝集能と血小板由来増殖因子の腫瘍細胞におよぼす作用。血液と脈管, **12**; 260~262, 1981.