

琉球大学学術リポジトリ

[原著] 頭頸部腫瘍における血小板機能：第1報 ADP, collagen 凝集能

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学医学部 公開日: 2014-07-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 津嘉山, 務, 野田, 寛, 有賀, 康裕, 小杉, 忠誠, 金城, 清勝, Tsukayama, Tsutomu, Noda, Yutaka, Ariga, Yasuhiro, Kosugi, Tadayoshi, Kinjo, Kiyokatsu メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016348

頭頸部腫瘍における血小板機能

第 I 報 ADP, collagen 凝集能

琉球大学医学部附属病院耳鼻咽喉科

津嘉山 務 野田 寛

琉球大学医学部生理学講座

有賀 康裕 小杉 忠誠 金城 清勝

緒 言

実験動物を用いての悪性腫瘍における腫瘍の増殖, 進展, 転移と protease, antiprotease に関する報告は数多くみられている^{1)~8)}。一方, ヒト悪性腫瘍においても, protease および antiprotease に関する基礎的, 臨床的意義についての報告も数多くみられている^{9)~15)}。これらの報告の終極の目的は, 臨床場面における悪性腫瘍患者への治療への応用を展望しているものといえる。頭頸部腫瘍に関する protease, antiprotease についての報告は未だ少く, 血中凝固線溶能, 血中 protease 活性についての検索をみるのみである¹⁶⁾¹⁷⁾。われわれは, すでに頭頸部悪性腫瘍患者の血中凝固線溶能を測定し, 凝固亢進と線溶亢進が同時に進行している結果を得た。その根拠としては, Antithrombin 活性の減少, 血中 euglobulin の fibrin 分解活性の亢進がみられる点にあった¹⁸⁾。そこで今回は, この凝固亢進病態を深く解析するために血小板機能の解析を行った。すなわち本研究の目的は, 頭頸部腫瘍患者での凝固亢進に関連する血小板機能, とくに凝集能の解析を通して, 腫瘍細胞の増殖転移と protease, antiprotease の関与を動的に把握する点にある。

対象患者および実験方法

対象患者としては喉頭癌 1 例, 舌癌 3 例, 中咽頭癌 1 例, 下咽頭癌 1 例, 頸部悪性腫瘍 2 例の合計 8 例であった。採血は抗凝固剤として 3.8

%クエン酸ソーダ¹⁹⁾容を入れた注射器にて, 肘静脈より採血し, 直ちに室温にて遠心し PRP, PPP を採取した¹⁹⁾。血小板凝集計は二光バイオサイエンス社製 Hematracer I を用いた。凝集惹起物質としては, Sigma 社製 ADP (M.W. 497.1) を生理的食塩水にて, 稀釈して用いた。Collagen は, Hormon-Chemie 社製 collagen reagent "Horm" (ウマアキレス腱由来) を SKF Horm buffer に溶解して用いた。その操作として, あらかじめ 37°C incubate を恒温槽にて行い, 次いで PRP および PPP をキュベットに注入し, それを試料室に入れた。ついでレコーダーを作動し, PRP の透過度を 0% にセットし, ついで PPP を 100% に調整した。再度 PRP で 0% に合わせ緩衝液 20 μ l を添加し, 約 1 分間透過度の変化がみられないことを確認し, ついで凝集惹起物質 20 μ l を添加し, 記録計に凝集パターンを描記した。約 15 分間記録し, 最大凝集率を算出した。その測定方法の原理の概略は, Fig. 1 に示したごとく吸光度法を用いた^{20)~22)}。なお, ADP 凝集に用いた ADP の濃度は, 10^{-3} M, collagen は 100 μ g/ml を用いた。さらに患者の血小板数の算定にはトーア CC-800 cell counter を用いた。

測定結果

1) 健常者の凝集 Pattern

25 才, 女性, 28 才, 男性の ADP 凝集 Pattern を Fig. 2 に, collagen 凝集 pattern を Fig. 3 に示した。ADP での最大凝集率は 65%

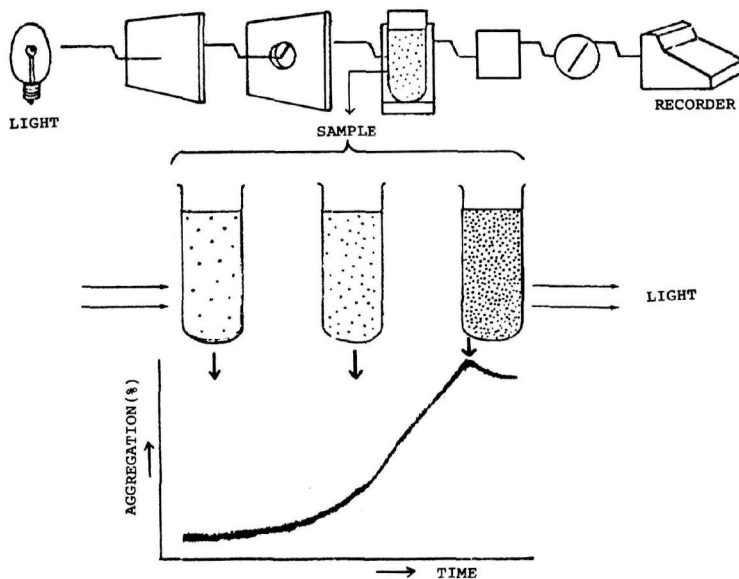


Fig. 1. Principle of measurement on platelet aggregation by means of optical density (Born & O'Brien)

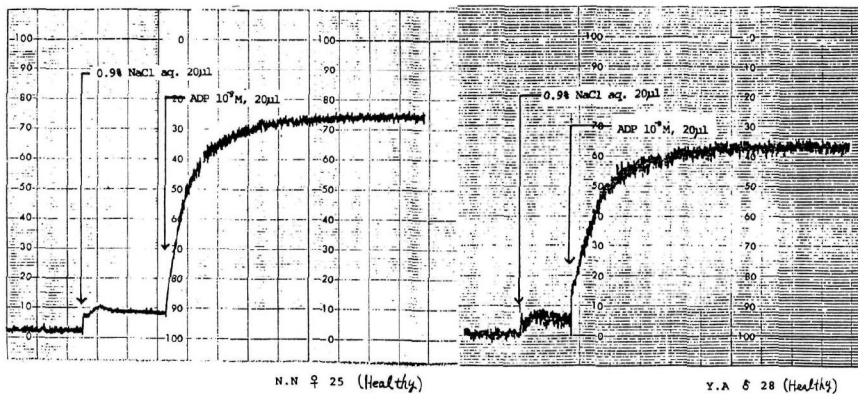


Fig. 2. Pattern of ADP aggregation in healthy adults

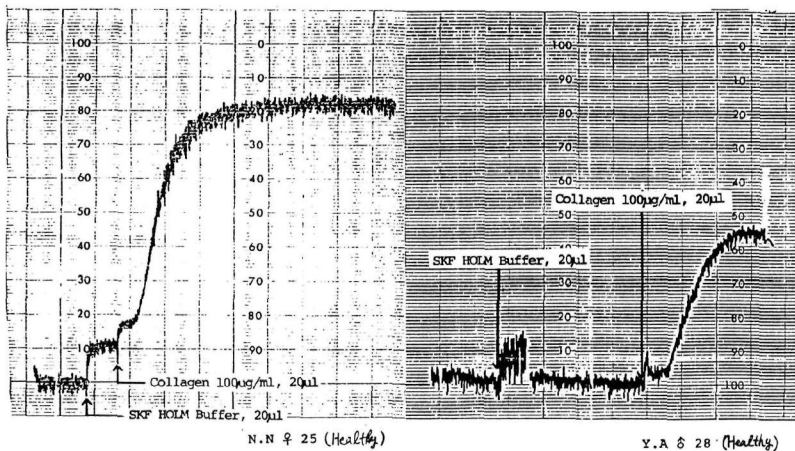


Fig. 3. Pattern of collagen aggregation in healthy adults

と60%であり, collagen での最大凝集率は70%と45%であった。

2) 頭頸部悪性腫瘍患者の凝集 Pattern

70才, 男性, 喉頭癌症例で, ADP, collagen 凝集パターンはFig.4に示したごとく, ADPでの最大凝集率は70%, collagen での最大凝集率は65%であり, 測定時での血小板は $36.7 \times 10^4 / \text{cmm}$ であった。

66才, 男性, 下咽頭癌患者でのADP最大凝集率は30%, collagen最大凝集率は75%であり, 血小板数は $13.9 \times 10^4 / \text{cmm}$ であった(Fig.5)。

60才, 男性, 舌癌患者でのADP最大凝集率は30%, collagen最大凝集率は38%であり, 血小板数は $13.5 \times 10^4 / \text{cmm}$ であった(Fig.6)。

73才, 女性, 舌癌症例では, ADP最大

凝集率は60%, collagen最大凝集率は58%であり, 血小板数は $20.8 \times 10^4 / \text{cmm}$ であった(Fig.7)。

77才, 女性, 舌癌症例では, ADP最大凝集率は75%, collagen最大凝集率は65%であり, 血小板数は $33.3 \times 10^4 / \text{cmm}$ であった(Fig.8)。

71才, 男性, 中咽頭癌でのADP最大凝集率は95%, collagen最大凝集率は80%であり, 血小板数は $23.2 \times 10^4 / \text{cmm}$ であった(Fig.9)。

40才, 男性, 頸部腫瘍では, ADP最大凝集率は75%, collagen最大凝集率は70%であり, 血小板数は $22.3 \times 10^4 / \text{cmm}$ であった(Fig.10)。

40才, 男性, 頸部腫瘍では, ADP最大凝集率は55%, collagen最大凝集率は35%であり, 血小板数は $22.9 \times 10^4 / \text{cmm}$ であった(Fig.11)。

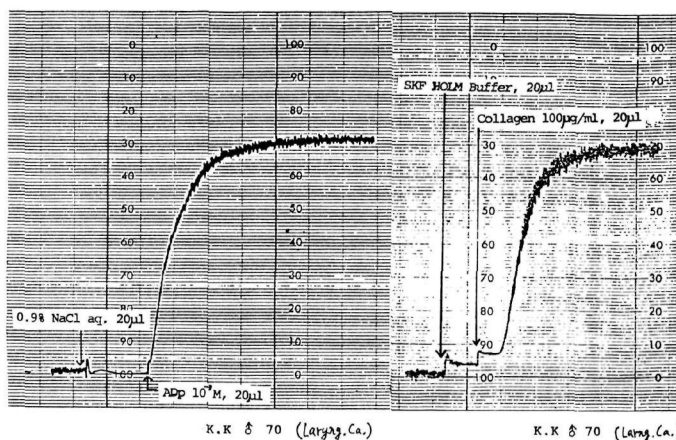


Fig. 4. Pattern of platelet aggregation in patient with laryngeal carcinoma (70 year old male)

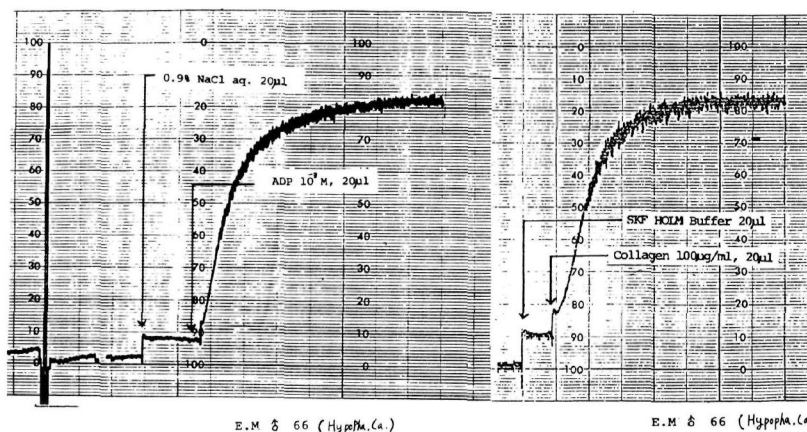


Fig. 5. Pattern of platelet aggregation in patient with hypopharyngeal carcinoma (66 year old male)

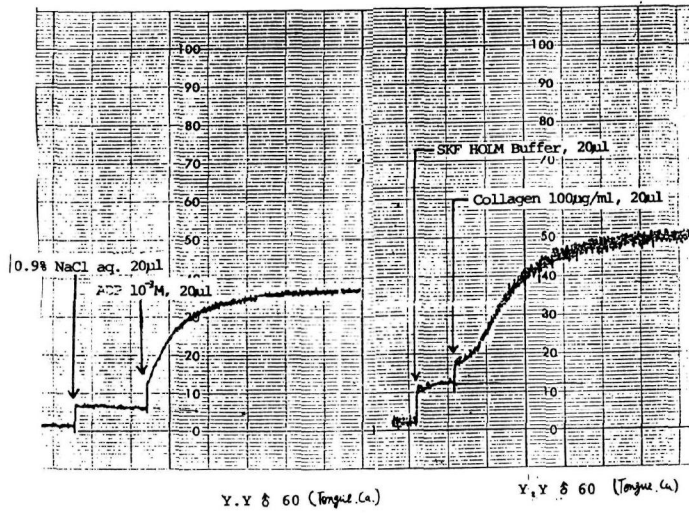


Fig. 6. Pattern of platelet aggregation in patient with tongue carcinoma (60 year old male)

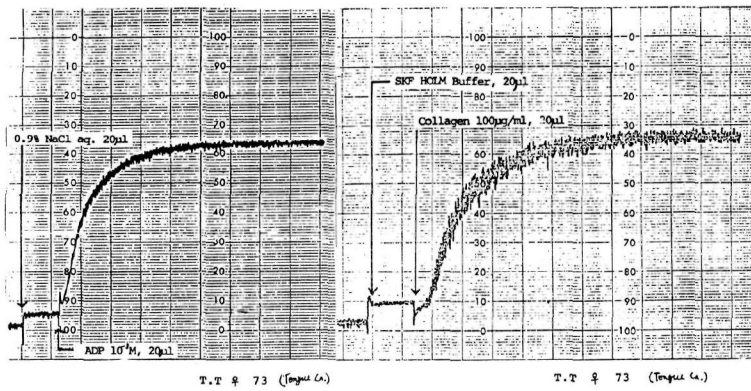


Fig. 7. Pattern of platelet aggregation in patient with tongue carcinoma (73 year old female)

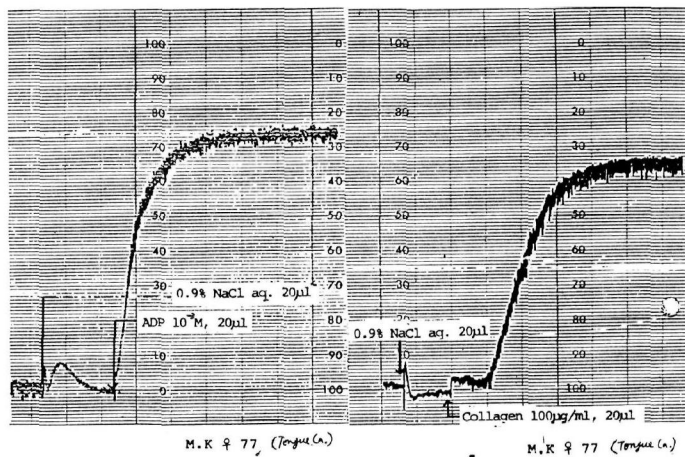


Fig. 8. Pattern of platelet aggregation in patient with tongue carcinoma (77 year old female)

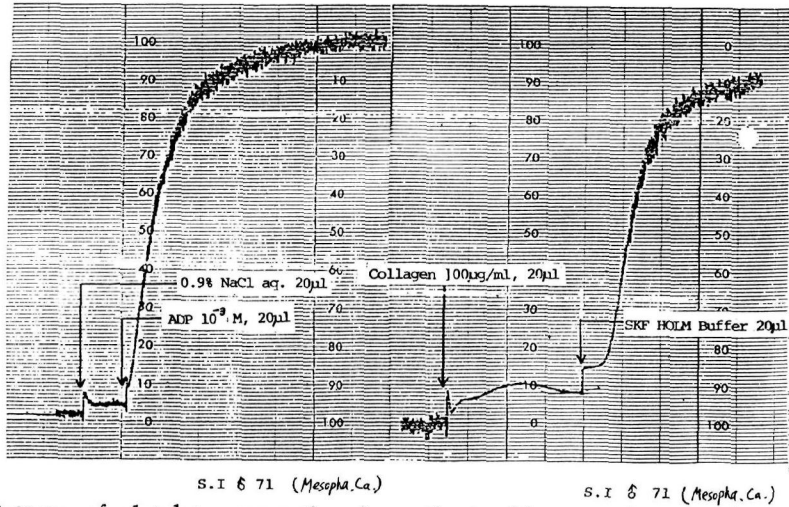


Fig. 9. Pattern of platelet aggregation in patient with mesopharyngeal carcinoma (71 year old male)

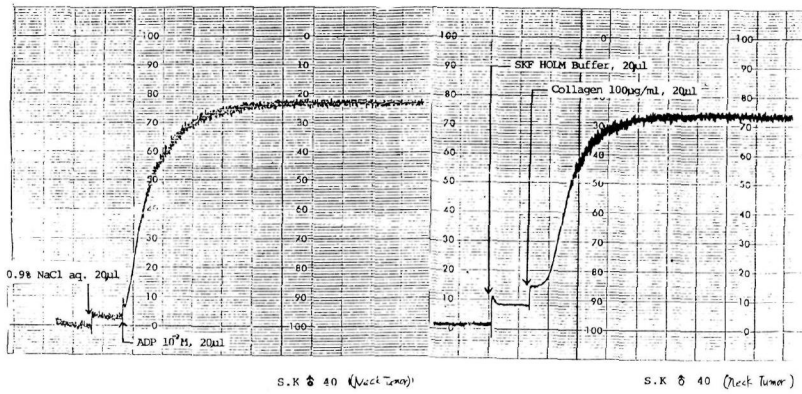


Fig. 10. Pattern of platelet aggregation in patient with neck tumor (40 year old male)

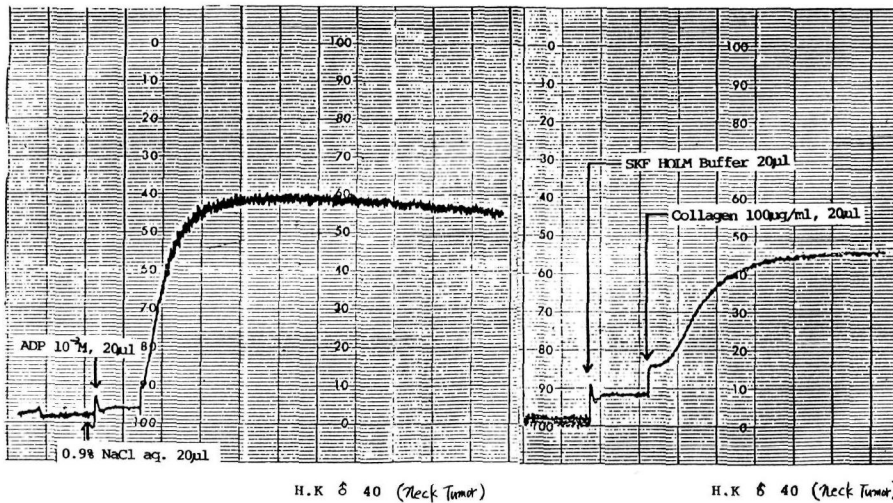


Fig. 11. Pattern of platelet aggregation in patient with neck tumor (40 year old male)

総括と考按

今回の血小板凝集能測定において、健常者のADP最大凝集率を62.5%とすると、腫瘍患者8例中4例に凝集能の亢進がみとめられた。一方、3例に低下がみられた。これらのADP最大凝集率の低下例のうち2例においては、血小板数が 13.9×10^4 個/*cmm*、 13.5×10^4 個/*cmm*と減少傾向を認めた例である。collagen凝集に関しては、健常者の最大凝集率を55%とすると、腫瘍患者では8例中6例に亢進がみられ、2例に低下がみられた。この2例のうち1例には血小板数が 13.5×10^4 個/*cmm*であった。これらの結果より、ADP、collagen凝集の低下例においては、血小板数が10万前後であった点を考慮すると、血小板数の減少例では凝集能の低下が頭頸部腫瘍患者においても認められた。今回測定した患者のうち、ADP、collagen凝集の亢進例は、いずれも血小板数においては、 22×10^4 個/*cmm*から 36×10^4 個/*cmm*であった。すなわち、凝集能亢進例における血小板数はいずれも正常範囲内であった。血小板数と凝集能の相関関係においては、血小板数が15-50万では凝集パターンにあまり大きな変動は見られないとされている²⁾。

一方、血小板数とADP凝集との関係では、一般的には、 30×10^4 /*cmm*前後がもっとも適当であるとされている。しかしながら、血小板数の減少例においては、これを補正し、血小板を増やしてADP凝集能を測定することは、はなはだ困難である。何故ならば、頻回の遠心操作により、血小板に障害を生じる可能性がある。したがって、血小板数の減少を補正して、凝集能を測定することは、日常臨床ではほとんど行われていないのが現状である。今回のわれわれの測定においても、血小板数の補正は行わなかった。したがって、今回の凝集能測定に際しては、最大凝集能の低下の原因の1つとしては、血小板減少のPRPを用いたためと推察された。

本実験の結果から頭頸部腫瘍患者においては、血小板数が正常範囲内であれば、ADP、collagen両惹起物質によって、凝集能の亢進傾向がみられる点が明らかとなった。一般に、悪性腫瘍を

有した担癌生体においては、1) local growth, 2) detachment from the primary tumor, 3) local invasion, 4) penetration, 5) transport in blood or lymph, 6) reentry in extravascular lymph, 7) lodgement in target tissues という病期の進展過程において、血管内皮細胞、血小板、血液凝固線溶系の関与があるとされている¹⁾。臨床的には、これらの過程においてとくに重要なのは、腫瘍増殖の抑制と転移抑制にあるといえる。われわれの先の頭頸部悪性腫瘍患者における血液学的検索では、凝固亢進と線溶亢進が同時に進行しているとの結果が得られており、他領域での悪性腫瘍に対すると同様に、抗凝固、抗線溶療法の併用も臨床場面においては、必要であろうと結論された⁹⁾。今回の検索結果からは、血小板凝集抑制物質の投与による、頭頸部腫瘍患者での機能亢進の是正も一考に値するものといえる。すなわち、頭頸部悪性腫瘍患者においても、凝固能亢進、血小板凝集能の亢進というHyper-coagulability、および血管内血栓易形成性の素地があり、微小血栓への腫瘍細胞とり込みという段階をへての転移形成には、血小板機能が重要な役割りを演じるものといえる。さて、頭頸部腫瘍患者でみられた血小板凝集能亢進のmechanismについては、今後の検討課題であるが、血小板細胞内代謝の亢進あるいは血小板膜receptorの増加などが予想されるところであるが、代謝拮抗剤を用いての凝集能測定、およびADP、collagen以外のthrombin、epinephrineなどによる凝集惹起物質での凝集能については今後の研究課題としたい。

まとめ

- 1) 頭頸部悪性腫瘍患者においては、ADP、collagenによる血小板凝集能の亢進傾向がみられた。
- 2) 凝集能低下例では、血小板数の減少がみられた。
- 3) 頭頸部悪性腫瘍患者においては、血管内血栓易形成性の病態発現があるものと推察された。

本論文の要旨は、第14回日本耳鼻咽喉科学会沖縄県地方部会学術講演会にて発表した。

参考文献

- 1) 穂積本男：プロテアーゼ阻害剤による発癌阻止。最新医学 31, 1065~1071, 1976.
- 2) Kodama, Y., Tanaka, K.: Effect of urokinase on growth and metastasis of rabbit V2 carcinoma. Gann 64, 9~18, 1978.
- 3) Steifert, S. C., Gelfharer, T. D.: Mechanism of dexamethasone inhibition of plasminogen activator in rat hepatoma cells. Proc. Natl. Acad. Sci. 75, 6130~6133, 1978.
- 4) Stein-Werblowsky, R.: On the prevention of haematogenous tumor metastasis to liver and lung. Experientia. 36, 108~109, 1980.
- 5) Freeman, J. G., Lartner, A. L., Turner, G. A., Venables, C. W.: The in vitro effect of aprotinin upon spleen cells from normal and tumor-bearing mice exposed to PPD and tumor cells. Experientia. 36, 247~249, 1980.
- 6) Åstedt, B., Tropé, C.: Effect of tranexamic acid on progress of experimental tumours and on DNA-synthesis. Experientia. 36, 679~680, 1980.
- 7) Stein-Werblowsky, R.: On the prevention of haematogenous tumor metastases in rats. The role of the protease inhibitor "Trasylo1". J. Cancer. Res. Clin. Oncol. 97, 129~135, 1980.
- 8) 田中健蔵：癌と凝固，線溶—とくに線溶阻止による癌の増殖，転移の抑制—。癌の臨床 26, 117~122, 1980.
- 9) Åstedt, B., Mattsson, W., Trope, C.: Treatment of advanced breast cancer with chemotherapeutics and inhibition of coagulation and fibrinolysis. Acta. Med. Scand. 201, 491~493, 1977.
- 10) Åstedt, B., Glifberg, I., Mattsson, W., Trope, C.: Arrest of growth of ovarian tumor by tranexamic acid. JAMA. 238, 154~155, 1977.
- 11) 内藤誠二，他：培養人癌細胞の凝固活性とヌードマウスにおける増殖に関する検討。癌と化学療法。 5, 89~95, 1978.
- 12) Recklies, A. D., Tiltma, K. J., Stoker, A. M., Poole, A. R.: Secretion of proteinases from malignant and nonmalignant human breast tissue. Cancer. Res. 40, 550~556, 1980.
- 13) Donati, M. B., Paggi, A.: Malignancy and Haemostasis. Brit. J. Haematology. 44, 173~182, 1980.
- 14) Wilson, E. L., Becher, M. L. B., Hoal, E. G., Dowdle, E. B.: Molecular species of plasminogen activators secreted by normal and neoplastic human cells. Cancer. Res. 40, 933~938, 1980.
- 15) Markus, G., Takita, H., Camilo, S. M., Corasanti, J. G., Evers, J. L., Hobika, G. H.: Content and characterization of plasminogen activators in human lung tumors and normal lung tissue. Cancer. Res. 40, 841~848, 1980.
- 16) 小杉忠誠，高木一平，佐々木千佳子，美原 恒，岡田修一，森満 保：頭頸部腫瘍と線溶現象—血中凝固線溶能—。耳鼻 27, 27~32, 1981.
- 17) Wilmes, E., Schonberger, O. C., Hochstrasser, K.: Untersuchungen Zur Proteolyse bei malignen Tumoren. Laryng. Rhinol. 58, 861~864, 1979.
- 18) Kosugi, T., Kinjo, K., Mihara, H., Okada, S., Morimitsu, T.: Fibrinolytic activity in patient with cancer of the head and neck (Submitted to laryngoscope)
- 19) 山崎博男：血小板凝集能検査。臨床検査 22, 935~943, 1978.
- 20) Born, G. V. R.: Quantitative investigations into the aggregation of blood platelets. J. Physiol. 162, 67~68, 1962.
- 21) Born, G. V. R., Cross, M. J.: The aggregation of blood platelets. J. Physiol. 168, 178~195, 1963.
- 22) 安永幸二郎：血小板凝集能，日本臨床 37, 2200~2203, 1979.

Platelet Function in Patient With Cancer of Head And Neck

I. ADP And Collagen Aggregation of Platelet

Tsutomu TSUKAYAMA and Yutaka NODA

Department of Otorhinolaryngology, School of Medicine, University of the Ryukyus

Yasuhiro ARIGA, Tadayoshi KOSUGI and Kiyokatsu KINJO

Department of physiology, School of Medicine, University of the Ryukyus

In previous report, it has been appeared that hypercoagulable state has occurred in the blood of patient with cancer and then hyperfibrinolytic activity has followed. In present paper, a further study of the hypercoagulable state was proceeded from the aspect of platelet function in patients with cancer of head and neck. The platelet function, that is, aggregation was analysed using ADP and collagen. The results were obtained as follows. : 1) ADP aggregation was increased in four cases of eight cases in patients with cancer of head and neck. 2) Collagen aggregation was increased in six cases of eight cases. 3) The decreased cases in ADP and collagen aggregation showed the decreased platelet count in the circulating blood.

From these results, it was appeared that patients with cancer of head and neck had a tendency to increase the platelet aggregation.

On the summary of the previous and present results, it was appeared that the thrombus relating to the haematogenous metastasis was apt to form into the blood vessels in patients with cancer of head and neck.