

Title	Direct Cardiotoxic Effects of Cocaine and Cocaethylene on Isolated Cardiomyocytes
Author(s)	白, 鴻成
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39841">https://hdl.handle.net/11094/39841</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	白 鴻 成
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 2 3 8 5 号
学位授与年月日	平成 8 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科社会系専攻
学位論文名	Direct Cardiotoxic Effects of Cocaine and Cocaethylene on Isolated Cardiomyocytes (コカインとコカエチレンによる心筋障害についての実験的研究—単離心筋細胞を用いて—)
論文審査委員	(主査) 教授 若杉 長英  (副査) 教授 多田 道彦 教授 多田羅浩三

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

コカインは欧米において最も乱用されている麻薬の1つであるが、近年日本においても押収量が増加し、大きな社会問題となっている。コカインの薬用作用は中枢神経系と循環器系に大別されるが、コカイン乱用者の急死例などから循環器系への影響が問題視されている。一方、コカイン乱用者の多くは、アルコールも同時に併用しており、これらの相互作用により循環器系への毒性が増加すると報告されている。コカインとアルコールを同時に摂取すると、コカインの一部は肝臓でエステラーゼによりコカエチレンに代謝される。ラットにおいてコカエチレンの投与はコカインよりも致死率の高いことが報告されている。我々は、コカエチレンの心筋に対する毒性を検討するために、ラットの単離心室筋細胞を用いてコカエチレンとコカインの障害作用を比較検討した。さらに筋小胞体Ca<sup>2+</sup>ATPaseとCa<sup>2+</sup>遊離チャネル活性を測定し、両薬物の心筋に対する障害機序の解明を試みた。

#### 【方法ならびに成績】

##### 1. コカエチレンの合成

まず、塩酸コカインを遊離塩基とした後、Findlayの方法により、ベンゾイルエクゴニンを合成した。更にBrzezinskiらの方法によりコカエチレンを合成した後、濃塩酸存在下で塩酸コカエチレンを精製し、再結晶物を実験に用いた。精製したコカエチレンは、融点、GC-MS、元素分析により確認した。

##### 2. 単離心筋における細胞収縮率と細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度変化の測定

###### 1) 心筋細胞の単離・調製

16週齢のウィスター系ラットを麻酔下に開胸し、心臓摘出後、大動脈より逆行性にランゲンドルフ法にて灌流した。Ca<sup>2+</sup>不含Tyrode-HEPES緩衝液を5分間灌流後、0.05mg/ml collagenase, 0.01mg/ml BSAを添加したTyrode液で約30分間灌流した。心室部分を細かく切断し、Ca<sup>2+</sup>不含Tyrode液中で振盪させ心筋細胞を単離した。その後Ca<sup>2+</sup>濃度を緩徐に2mMまで上昇させ単離心筋細胞を得た。

###### 2) 細胞収縮率の測定

位相差顕微鏡下において観察しながら1Hzの電気刺激下で心筋細胞を拍動させ、CCDカメラ、VTRにより記録した。細胞収縮率は(弛緩期の細胞長-最大収縮期の細胞長)/弛緩期の細胞長と定義し、VTR像の細胞長を解析することにより算出した。50μMのコカエチレンにより細胞収縮率が32.8±13.1% (n=7) 低下したのに対し、

同濃度のコカインでは $18.8 \pm 7.7\%$  ( $n=7$ ) の低下であった。

### 3) 細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度変化の測定

Ca 蛍光指示薬である Indo-1 の acetoxymethyl ester 体 (Indo-1 AM)  $25 \mu\text{M}$  を室温で 5 分間心筋細胞と反応させることにより Indo-1 を細胞内に負荷した。前述の装置下で心筋細胞を拍動させ、 $345\text{nm}$  ( $20\text{msec}^{-1}$ ) 励起光を照射し、 $410\text{nm}$  と  $485\text{nm}$  における蛍光強度比 ( $410\text{nm}/485\text{nm}$ ) をコンピューターにより算出し、単一細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度とした。両薬剤ともに  $\text{Ca}^{2+}$  トランジェントの下降脚における  $t_{1/2}$  は変化しなかったが、ピーク  $\text{Ca}^{2+}$  トランジェントが濃度依存性に低下し、各濃度においてコカエチレンの方がコカインより大きな低下を示した。ピーク  $\text{Ca}^{2+}$  トランジェントが 50% 低下する薬剤濃度はコカインで  $157.5 \mu\text{M}$ 、コカエチレンで  $90.0 \mu\text{M}$  であった。

### 3. 心筋 S R の $\text{Ca}^{2+}$ 依存性 ATPase の測定

Chamberlain の方法を用いて犬の心室筋より心筋小胞体を抽出し、 $\text{Ca}^{2+}$  ATPase 活性を酵素法 (enzyme-linked method) を用いて測定した。その結果、両薬剤は  $\text{K}_{\text{Ca}}$  に対し影響がなかった。また、 $V_{\text{max}}$  は両薬剤により減少したが、両薬剤間に有意な差を認めなかった。

### 4. 心筋 S R からの $\text{Ca}^{2+}$ 遊離の測定

乾の方法を用いて筋小胞体終末槽成分 (terminal cisternae vesicles) を単離した。 $\text{Ca}^{2+}$  遊離  $\text{Ca}^{2+}$  loading rate) の測定は、 $\text{Ca}^{2+}$  指示薬である Antipyrylazo III を用い 2 波長測定分光光度計で  $710$  と  $790\text{nm}$  の差を測定することで求めた。その結果、対照群では Ca 遊離阻害剤である ruthenium red を加えることによって loading rate は約 3 倍になったが、両薬剤とも変化をおこさなかった。

### 【総括】

1. コカイン及びコカエチレンの心筋に対する直接的な影響を単離心筋細胞を用いて検討した。
2. 両薬剤ともに陰性変力作用を示し、濃度依存性に心筋ピーク  $\text{Ca}^{2+}$  トランジェントを低下させた。
3. 心筋小胞体  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase と  $\text{Ca}^{2+}$  release 活性には影響がなかった。
4. コカインとアルコールを摂取することによって体内で生成されるコカエチレンは、コカインよりも心筋に対する直接的な陰性作用が強いことがわかった。

## 論文審査の結果の要旨

コカインによる急性死は欧米、そして、近年日本においても大きな社会問題となっている。コカインとアルコールの同時併用により、肝臓で生成されるコカエチレンはより強い急性毒性のあることが報告されている。本研究ではこれらの薬剤の心筋に対する直接作用を明らかにするため、単離心筋細胞における細胞収縮率と  $\text{Ca}^{2+}$  トランジェントに対する効果を検討した。その結果、コカイン及びコカエチレン共に細胞収縮率及びピーク  $\text{Ca}^{2+}$  トランジェントを低下させ、その効果は後者の方がより強力であった。従ってコカイン、コカエチレンは心筋  $\text{Ca}^{2+}$  シグナリング機能に作用することにより陰性変力作用を示すが、コカエチレンの方により強い毒性のあることが明らかになった。さらに、心筋の興奮収縮連関の障害機序を調べるために心筋小胞体の  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase 及び  $\text{Ca}^{2+}$  遊離チャンネル活性に対し影響を検討したが、両薬剤ともに影響を示さなかった。本研究の結果、コカインとアルコールの併用時における心臓毒性のメカニズムを証明するものであり、本論文は学位論文 (博士) に値する。