

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2023～2023

課題番号：23K19799

研究課題名（和文）コカインの連続投与により惹起される肺高血圧症のメカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of pulmonary hypertension induced by repeated cocaine administration

研究代表者

温 書恒（WEN, Shuheng）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・特任助教

研究者番号：80981779

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,100,000円

研究成果の概要（和文）：コカインの長期乱用は、冠動脈アテローム性動脈硬化症や肺高血圧症などの心肺血管疾患と関与する。低酸素誘発性血管リモデリングの発症にはHIFシグナル伝達とミトコンドリア分裂が重要な役割を果たすことが示唆されているが、コカイン関連血管リモデリングの発症メカニズムは未だ解明されていない。本研究では、*in vitro*実験により、コカインの長期投与が酸化ストレス/HIF-1 /DRP1依存性ミトコンドリア分裂経路を介して血管平滑筋細胞の過剰増殖を引き起こすことを示された。この機序の解明はコカインによる血管毒性に新たな知見を与えると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺高血圧症の発症機序の解析はここ数年の間に長足の進歩を遂げているが、いまだにコカインによる肺高血圧の発症機序はまだ解明されていない。我々はコカインの長期投与が酸化ストレス/HIF-1 /DRP1依存性ミトコンドリア分裂経路を介して血管平滑筋細胞の過剰増殖を引き起こすことを示された。コカインによる酸化ストレスに起因するDRP1依存性ミトコンドリア分裂の活性化が、コカインによる肺高血圧症の発症機序と明らかになった。この機序の解明は、コカインによる肺高血圧症に対する理解の空白を埋めることになり、コカイン肺毒性に新たな知見を与えることになると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Long-term cocaine abuse is associated with cardiovascular and pulmonary vascular complications. The vascular toxicity of cocaine can lead to vascular remodeling characterized by excessive proliferation of vascular smooth muscle cells. Though HIF signaling and mitochondrial fission have been suggested to play essential roles in the pathogenesis of hypoxia-induced vascular remodeling, pathogenetic mechanism for cocaine-related vascular remodeling remains to be elucidated. In this study, we explore the effect of cocaine on the proliferation of vascular smooth muscle cells by *in vitro* experiments. The findings indicated that the cocaine-induced vascular smooth muscle cell hyperproliferation is achieved by enhancing DRP1-mediated mitochondrial fission and activating HIF-1 signaling. Current findings suggested that mitochondrial fission would play a pivotal role in cocaine-related vascular remodeling and would be helpful in understanding the vascular toxicity of cocaine.

研究分野：法医学

キーワード：コカイン 血管毒性 ミトコンドリア分裂 DRP1 HIF-1

1. 研究開始当初の背景

コカインはコカの葉から抽出された強力な依存性を持つ交感神経刺激薬である。近年、日本を含め世界的にコカイン乱用者数・製造量は増加している。申請者が在籍している教室における法医解剖においても、ここ数年で急激にコカイン検出事例が増加している。コカインの乱用は、喀血、急性の肺症候群、肺高血圧症など、深刻な呼吸器・肺循環疾患と関連している。コカインの強力な交感神経刺激作用により、肺に対する中枢神経系の調節が変化したり、肺血管のアドレナリン受容体を介して肺血管収縮を高めたりすることがある。コカイン乱用者及びそれを模した動物実験において、長期的なコカイン投与が肺小動脈の中膜肥厚および肺動脈圧の増加をもたらすことが明らかになっている。しかしながら、慢性的なコカイン乱用による肺高血圧症の発症機序として、血管収縮作用及びその調節異常、内皮傷害などが仮説として挙げられているが、未だに十分な検討はなされていない。

肺血管リモデリングは肺高血圧症をもたらす主要な要因である。肺動脈は毛細血管を通して、肺と血流の間のガス交換に関与している。肺高血圧症における肺血管リモデリングは、肺血管壁内の血管平滑筋細胞や内皮細胞の過剰増殖、細胞外基質沈着の増加、及び炎症細胞の蓄積などが原因であり、血管肥厚・肺循環系の狭窄をもたらす、血液や組織の酸素化を悪くする。その結果、右心系の負荷が増加し続け、右心機能が損なわれることになる。肺血管のリモデリングは、ストレス下で低酸素誘導性因子経路の活性化による血管平滑筋細胞の過剰増殖が原因の一つと考えられる。実際に、肺動脈平滑筋細胞での低酸素誘導性因子の酸素感受性サブユニットの発現の増加は、肺高血圧の発症に寄与することが確認されている。更に、肺血管細胞における酸化ストレスとミトコンドリア機能異常の相互作用が、HIF-1の活性化因子であることが示唆され、ミトコンドリアの肺高血圧症の発症機序における重要な役割が明らかになった。ミトコンドリア動態は、ミトコンドリアの分裂と融合のバランスにより制御されており、ミトコンドリアの機能や、細胞の増殖とアポトーシスのバランスの維持に中心的な役割を担う。ミトコンドリア分裂の過剰活性化は、肺動脈平滑筋細胞の増殖を促進し、肺高血圧症を誘発することが報告されている。コカインは、神経細胞や心筋細胞においてミトコンドリア動態を変化させることがすでに報告されている。申請者は、14日間コカイン連続投与したラットの肺中小動脈で顕著な中層肥厚、肺における酸化ストレスの蓄積、HIF-1発現の増加、及びミトコンドリア分裂の亢進を確認した。これらの予備的な結果から、コカインによる肺高血圧症での血管リモデリングは、HIF-1の活性化とミトコンドリア動態の変動により誘導されるものと推測した。

2. 研究の目的

コカイン毒性のメカニズムの解明は法医学における重要な課題の一つである。コカインの長期的な乱用は、肺高血圧症の発症に関与する。肺高血圧症は、重篤な肺血管障害であり、肺血管の閉塞による肺血管抵抗の上昇と右心への負荷増加を引き起こし、最終的に右心不全に至る。肺動脈平滑筋細胞の過剰増殖は、肺高血圧症の重要な原因の一つと考えられており、コカイン乱用者の解剖でよく見られる所見である。その発症機序には、内皮間葉転換、低酸素誘導性因子経路、及びミトコンドリア動態の変化などのメカニズムが関与していることが示されている。本研究ではコカイン乱用モデルとして動物と細胞の両方を用い、コカインによる肺高血圧症の病態におけるミトコンドリア動態の役割に注目して、コカインによる肺高血圧症の発症機序の解明を本研究の目的とする。

3. 研究の方法

動物実験

ラットへのコカイン用量はヒトコカイン急性中毒の典型的な血清濃度を用量変換して条件を確立し、8週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットに尾静脈から14日間に渡り20 mg/kg/日の用量でコカイン投与した。

最終投与24時間後にラットの肺を採取し、更なる組織学的および生化学的分析のために準備した。

コカイン投与後のラット肺と肺血管系の状態を確認するため、組織学的評価を行った。

ラット肺試料の全RNAのトランスクリプトーム解析を応用し、コカイン投与後の肺ゲノムの変化を明らかにした。

その後、ミトコンドリア酵素活性測定、免疫プロット分析、及びリアルタイムPCR分析を行い、関与する因子と経路を確認した。

細胞培養

ラット血管平滑筋細胞 A7r5 細胞株を用いて、7 日間コカインの投与、またはコカインとミトコンドリア分裂阻害剤 Mdivi-1 の共投与を行った。

電子顕微鏡を用いて、A7r5 細胞とミトコンドリアの状態を確認した。

さらに、細胞増殖の評価、ミトコンドリアの蛍光染色、および免疫プロット分析を行い、関与する因子と経路を確認した。

4. 研究成果

本研究では、in vivo および in vitro コカイン乱用モデルで、コカインが酸化ストレス/HIF-1 /DRP1 依存性ミトコンドリア分裂経路を介して vSMC 増殖に及ぼす影響を検証した。14 日間コカイン連続投与したラットでは、肺中小動脈の血管壁肥厚、肺での酸化ストレスの蓄積、HIF-1 発現増加、DRP1 依存性ミトコンドリア分裂の活性化を確認した。7 日間コカイン投与した A7r5 細胞でも、細胞増殖の亢進、酸化ストレスの蓄積、HIF-1 発現増加、DRP1 依存性ミトコンドリア分裂活性化が見られた。更に、ミトコンドリア分裂阻害剤 Mdivi-1 とコカインの共投与した A7r5 細胞では、細胞内酸化ストレスが減少し、HIF-1 発現増加と DRP1 依存性ミトコンドリア分裂の活性化が緩和され、vSMC の増殖も軽減された。これにより、コカインの長期投与が酸化ストレス/HIF-1 /DRP1 依存性ミトコンドリア分裂経路を介して vSMC の過剰増殖を引き起こすことを明らかになった。この機序の解明はコカインによる血管毒性に新たな知見を与えると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Wen Shuheng, Unuma Kana, Funakoshi Takeshi, Aki Toshihiko, Uemura Koichi	4. 巻 676
2. 論文標題 Cocaine induces vascular smooth muscle cells proliferation via DRP1-mediated mitochondrial fission and PI3K/HIF-1 signaling	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 30 ~ 35
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2023.07.020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------