

令和 4 年 9 月 27 日現在

機関番号：37409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K10699

研究課題名(和文) 温熱プレコンディショニングによるシスプラチン誘発性腎障害軽減の機序解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of cisplatin-induced nephropathy reduction by thermal preconditioning

研究代表者

岩下 佳弘 (Iwashita, Yoshihiro)

熊本保健科学大学・保健科学部・准教授

研究者番号：70623510

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において、温和な温熱刺激の受容にTRPV4チャンネルの関与が示唆された。免疫細胞や炎症性サイトカイン発現経路を介したMSTP作用経路にTRPV4チャンネルが関与する可能性も考えられたが、MSTPの腎保護効果へのTRPV4チャンネルの明確な関与を示すことはできなかった。しかしながら、TRPV4チャンネルの阻害剤はMSTPなしの場合でも腎保護効果を示したことから、TRPV4チャンネルの阻害はシスプラチン腎症に対して保護効果を持つことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗がん剤であるシスプラチンは高い抗がん作用を有する一方で、濃度依存性に急性腎不全を呈する。我々の研究で示した結果は身近な温熱をシスプラチン投与による腎障害の予防・軽減に役立てられる可能性がある。身近な温熱刺激の効果的な利用方法を確立できれば、シスプラチン治療においてより患者の安全性を高めるための一助になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Our studies results suggest that TRPV4 is related to the heat reception of MSTP. Additionally, TRPV4 might influence immune cells and inflammatory cytokines expression. The relationship between TRPV4 and MSTP in the renoprotective effects could not be clarified; however, these data reveal that TRPV4 inhibitor reduces cisplatin-induced renal damage.

研究分野：内部障害系理学療法学

キーワード：シスプラチン 温熱プレコンディショニング TRPV4 Hsp

### 1. 研究開始当初の背景

シスプラチンは癌疾患の約 84%(その内使用頻度順位 5 位以内は約 63%)で使用されている(平成 28 年度第 4 回診療報酬調査専門組織・DPC 評価分科会資料)。しかしながら、用量依存的に急性腎不全を呈するため使用量は制限され、急性腎不全が発症した場合には投与を中止しなければならない。薬剤性腎障害の約 16%がシスプラチンによるものであり、シスプラチン投与に伴う腎障害は臨床において重要な課題である。

我々はマウスに対してシスプラチン投与前の温熱前処置が、Hsp27 を増加させ、シスプラチン誘発性腎障害を有意に軽減することを確認した。しかしながら、深部体温(直腸温)を約 1 上昇させるマイルド加温における熱受容の主要な TRP チャンネルについては不明である。

### 2. 研究の目的

温熱はリハビリテーションにおける物理療法としてのみでなく、特に入浴やサウナは最も日常的な疲労回復、脱ストレス法として広く利用されている。本研究は身近な温熱をシスプラチン投与による腎障害の予防・軽減に役立てようという発想である。

我々はマウスを用いた実験においてシスプラチン投与前の温和な全身温熱刺激によるプレコンディショニング(mild systemic thermal preconditioning, MSTP)はシスプラチン腎症を軽減させることを見出した。本実験において、MSTP による腎保護効果の機序を解明するために transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) チャンネルの関与について検討した。

### 3. 研究の方法

MSTP 実施後の HSP の発現変動を確認するため、通常飼育(Cont)群、MSTP を実施した(Mstp)群、TRPV4 阻害後に MSTP を実施した(Inh + Mstp)群に分けて、MSTP 直後の腎組織を real time PCR 法にて分析した。次に、MSTP による腎保護効果への TRPV4 チャンネルの関与を検討するために薬理的 TRPV4 阻害実験を実施した。マウスを通常飼育(Cont)群、シスプラチン投与(Cis)群、TRPV4 阻害後にシスプラチンを投与した(Inh + Cis)群、MSTP 実施後にシスプラチンを投与した(Mstp + Cis)群、TRPV4 阻害後に MSTP を実施してシスプラチンを投与した(Inh + Mstp + Cis)群に分けた。MSTP はシスプラチン投与の 3 時間前に実施し、シスプラチン投与から 72 時間後の血漿クレアチニン、血漿尿素窒素、KIM-1、炎症関連遺伝子、heat shock protein(HSP)および TRPV4 mRNA の発現量を測定した。MSTP は、直腸温の約 1 °C 以上の上昇が 25 分間保持される強度とした。

### 4. 研究成果

本実験の結果をまとめると、TRPV4 チャンネル阻害剤は MSTP による HSP 誘導を阻害した、シスプラチン投与前の MSTP 実施、および TRPV4 チャンネル阻害剤の投与、またはその両方の実施によりシスプラチン腎症は軽減した、KIM-1 mRNA の発現は、シスプラチン投与前に TRPV4 チャンネル阻害剤を投与して MSTP を実施した群が、MSTP を実施しただけよりも低値を示した、炎症性サイトカインおよび F4/80 mRNA の発現は、シスプラチン投与前に TRPV4 を阻害して MSTP を実施するよりも、MSTP を実施しただけの方が低値を示す傾向があった。の結果は、TRPV4 チャンネルが MSTP の受容に関与する可能性がある。およびの結果から TRPV4 チャンネルが MSTP による腎保護効果に関与していない可能性が考えられた。しかしながら、の結果において、MSTP の実施で認められた炎症性サイトカインおよび F4/80 mRNA 発現の減少が TRPV4 チャンネル阻害剤の投与によって軽度キャンセルされたこと及び TRPV4 チャンネル阻害剤の投与のみでも発現上昇が抑制されることから、TRPV4 チャンネルが炎症経路に関わっている可能性が考えられた。本研究は、MSTP の腎保護効果への TRPV4 チャンネルの関与について、TRPV4 チャンネルを薬理的に阻害することで確認した。MSTP により誘導された HSP の発現は、TRPV4 阻害剤の投与によって有意に減少した。これは、腎組織における MSTP の受容に関しては TRPV4 チャンネルが関与した可能性がある。しかしながら、Mstp + Cis 群と比較して、Inh + Mstp + Cis 群において KIM-1 および HSP70 の発現は低値を示す傾向があったことから、HC-067047 と MSTP の相乗効果による可能性も考えられた。KIM-1 は近位尿細管に局在があり、虚血や細胞毒性等に反応して過剰発現を引き起こす 21)。また、HSP70 に関しては、虚血再灌流性腎障害において、過剰発現するため腎障害マーカーとしての役割が示されている 1)。Inh + Mstp + Cis 群でこれらの腎障害マーカーが減少したのは、TRPV4 チャンネル阻害剤が腎虚血の改善に対して効果を発揮した可能性がある。シスプラチン腎症の発生は、TNF- $\alpha$  の誘導やアポトーシス経路の活性化とともに、シスプラチンによる血管系への障害が腎虚血を引き起こし腎障害の発生に寄与する 2), 3)。最新の研究において、TRPV4 阻害剤が急性腎障害における腎血流を改善することが報告された 4)。これは、Inh + Cis 群における腎保護効果を説明する上で重要な報告である。Inh + Mstp + Cis 群において、TRPV4 阻害剤と MSTP の相乗効果と思われる結果が確認されたことは、MSTP の腎保護効果が TRPV4 チャンネルを介さない経路によって発揮された可能性を示すものである。

Inh + Mstp + Cis 群は腎障害マーカーにおいて相乗効果を示したのに対して、炎症性サイト

カインおよびマクロファージマーカーでは Mstp + Cis 群でより減少する傾向が確認された (Fig 5C, E)。TRPV4 チャンネルはマクロファージにも発現しており、TRPV4 チャンネルに対する刺激が機能の活性やフェノタイプの変化に影響を与える 5)。そのため、MSTP による刺激が TRPV4 チャンネルを介してマクロファージに伝わることで、炎症性サイトカインやマクロファージマーカーの発現量に多少の変化を及ぼした可能性がある。これらのことは、TRPV4 チャンネルが MSTP の腎保護効果への関与を示唆する結果であるが、本実験では詳細を確認することはできなかった。以上のことを Fig にまとめた。TRPV4 チャンネルは MSTP の刺激受容に関与したが、MSTP の腎保護効果に対する TRPV4 の明確な関与は確認できなかった。しかしながら、TRPV4 チャンネルはマクロファージや炎症性サイトカインの発現に対して関与した可能性がある。

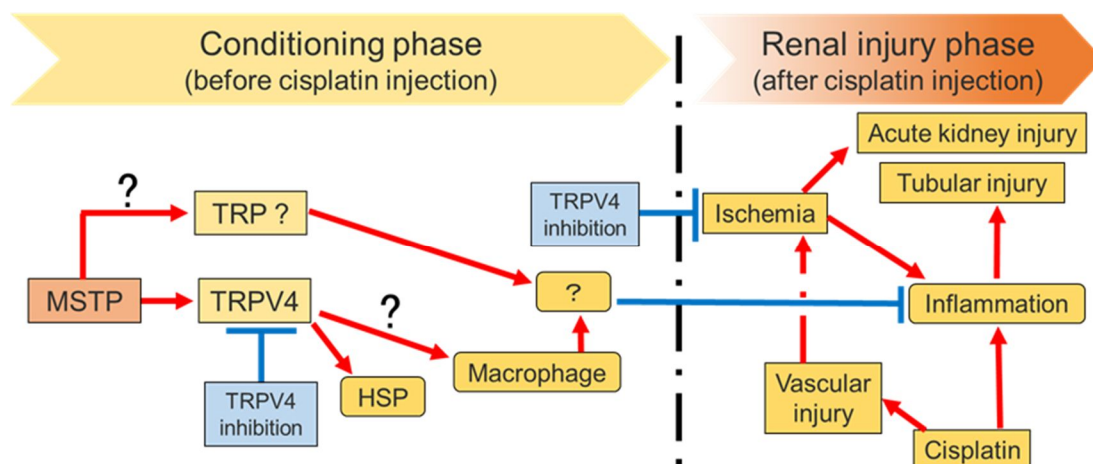


Fig. The schema indicates mechanisms that cisplatin nephrotoxicity amelioration effect of MSTP.

本研究において、温和な温熱刺激の受容に TRPV4 チャンネルの関与が示唆された。免疫細胞や炎症性サイトカイン発現経路を介した MSTP 作用経路に TRPV4 チャンネルが関与する可能性も考えられたが、MSTP の腎保護効果への TRPV4 チャンネルの明確な関与を示すことはできなかった。しかしながら、TRPV4 チャンネルの阻害剤は MSTP なしの場合でも腎保護効果を示したことから、TRPV4 チャンネルの阻害はシスプラチン腎症に対して保護効果を持つことが示された。

#### 引用文献

- 1) Bakthisaran R, Tangirala R, Rao ChM: Small heat shock protein: Role in cellular functions and pathology. *Biochem Biophys Acta*, 1854 (4): 291-319, 2015.
- 2) Pabla N, Dong Z: Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int*, 73 (9): 994-1007, 2008.
- 3) Miller RP, Tadagavadi RK, Ramesh G, Reeves WB: Mechanisms of cisplatin nephrotoxicity. *Toxins*, 2 (11) 2490-2518, 2010.
- 4) Soni H, Peixoto-Neves D, Olushoga MA, Adebisi A: Pharmacological inhibition of TRPV4 channels protects against ischemia-reperfusion-induced renal insufficiency in neonatal pigs. *Clin Sci (Lond)*, 133(9). pii: CS20180815, 2019.
- 5) Rachel G S, Susamma A, Kathryn A N, Brian D S, Lisa M G, et al: TRPV4 mechanosensitive ion channel regulate LPS-stimulated macrophage phagocytosis. *J Immunol*, 196(1): 428-436, 2016.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 渡 孝輔、岩下佳弘、前田曙、山田しょう子、飯山準一
2. 発表標題 温和な全身温熱刺激の反復がADPKDモデルマウスに与える影響 第1報
3. 学会等名 第10回日本腎臓リハビリテーション学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩下佳弘、前田曙、飯山準一
2. 発表標題 マウス腹部浴時の腎皮質血流の変動
3. 学会等名 第85回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前田 曙
2. 発表標題 MSTPIはシスプラチン腎障害における炎症関連遺伝子の発現を抑制する
3. 学会等名 第84回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akira Maeda
2. 発表標題 Involvement of TRPV4 in mild systemic thermal stimulation against cisplatin-induced renal damage
3. 学会等名 World Confederation for Physical Therapy Congress 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩下 佳弘
2. 発表標題 温熱プレコンディショニングによるシスプラチン腎症誘発性炎症の抑制 (シスプラチン腎症モデルマウスを用いた基礎実験)
3. 学会等名 第2回がん理学療法部門研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Maeda A., Iwashita Y., Kuwabara T., Wataru K., Nakamura T., Yamada S., Iiyama J., Mukoyama M.
2. 発表標題 Involvement of TRPV4 in mild systemic thermal stimulation against cisplatin-induced renal damage
3. 学会等名 World Confederation for Physical Therapy (WCPT)2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 前田曙、岩下佳弘、渡孝輔、中村智明、山田しょう子、飯山準一
2. 発表標題 温熱前処置はシスプラチン腎障害における炎症関連遺伝子発現を抑制する
3. 学会等名 第84回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

〔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
研究 分担 者	飯山 準一  (Iiyama Junichi)  (00398299)	熊本保健科学大学・保健科学部・教授   (37409)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	桑原 孝成  (Kuwabara Takashige)  (00393356)	熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・准教授    (17401)	

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