

## 論文内容の要旨

Bortezomib induces Rho-dependent hyperpermeability of endothelial cells synergistically with inflammatory mediators  
ボルテゾミブは Rho 依存性に炎症性メディエーターにより  
相乗的に内皮細胞の透過性を亢進させる。

日本医科大学大学院医学研究科 呼吸器内科学分野

大学院生 二島駿一

BMC Pulmonary Medicine

Volume 24, Issue 1, December 2024

## 【背景】

ボルテゾミブは多発性骨髄腫等に使用されるプロテアソーム阻害剤で、26S プロテアソームに結合し、ユビキチン修飾を受けた蛋白質が分解される作用を阻害し腫瘍細胞をアポトーシスに導く作用を有する。Capillary leak syndrome(以下 CLS)はボルテゾミブによる薬剤性肺障害として知られており、既報ではボルテゾミブ投与後数日で発熱、炎症反応とともに胸部 CT で広義間質の肥厚や気管支壁の肥厚、気道狭小化、胸水貯留を認めステロイド投与が奏効すると報告されている。CLS を併発した患者における血清の炎症マーカー(IL-6, TNF- $\alpha$ , CRP)の上昇が報告されており、またボルテゾミブにより巨核球中の RhoA 蛋白の増加および RhoA 活性が高まり血小板減少を惹起させることが報告されている。しかしボルテゾミブによる CLS の発症機序は未だ明らかとなっていない。

## 【目的】

「ボルテゾミブが内皮細胞での Rho 蛋白蓄積および活性化を介した血管透過性亢進により肺障害を惹起する」という仮説を立て、それを検証することを目的とした。

## 【方法】

ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)で FITC-デキストランを用いた透過性アッセイを行った。次に HUVEC を用いて免疫染色を行いボルテゾミブ投与下での stress fiber および VE-cadherin および vinculin の変化を観察した。またボルテゾミブ投与下で Rho キナーゼ阻害剤(Y27632) を作用させ透過性アッセイおよび免疫染色を行った。さらにボルテゾミブ投下に Rho 阻害剤である C3 エクソエンザイムを作用させ免疫染色を行った。HUVEC におけるボルテゾミブ投与下での RhoA, B, C の観察はウエスタンブロット法で行った。最後に、炎症性メディエーターであるヒスタミンをボルテゾミブ投与下に HUVEC に作用させ免疫染色を行った。

## 【結果】

透過性アッセイよりボルテゾミブにより内皮細胞の透過性がコントロールと比較し亢進した。また免疫染色でボルテゾミブにより内皮細胞中の stress fiber の増加および VE-cadherin 接着の減弱、vinculin の増加が観察された。ボルテゾミブによる内皮細胞中の stress fiber の増加によりそれに連なる細胞間接着分子である VE-cadherin に構造変化が生じ、血管透過性が亢進することが示唆された。

Rho キナーゼ阻害剤(Y27632)による透過性アッセイおよび免疫染色、C3 エクソエンザイムを用いた免疫染色では、ボルテゾミブによる反応が抑制されボルテゾミブによる細胞間接着の減弱は Rho シグナルの活性化によることが示唆された。またウエスタンブロット法ではボルテゾミブにより内皮細胞中の RhoA, C 増加し、ボルテゾミブにより内皮細胞中に RhoA, C が蓄積されることが示唆された。

炎症性メディエーターであるヒスタミンを用いた免疫染色により、ヒスタミンによる vinculin の増加する作用がボルテゾミブにより相乗的に増強されボルテゾミブにより炎症性メディエーターによる細胞間接着の減弱が相乗的に増強されることが示唆された。

### 【考察】

本研究は、ボルテゾミブによる CLS の発症機序を内皮細胞の透過性に着目し研究を行った。ボルテゾミブにより内皮細胞内の RhoA, C の蓄積が生じ、Rho キナーゼを介した stress fiber の増加とそれに伴う VE-cadherin 接着の減弱により透過性が亢進することが明らかとなった。またボルテゾミブより炎症性メディエーターであるヒスタミンによる細胞接着の減弱が相乗的に増強することが示され、肺に起こる炎症がボルテゾミブによる CLS を起こしやすくする要因になることが示唆された。

Rho シグナルの強弱は GTP の結合した活性型と GDP の結合した非活性型 Rho のバランスによってコントロールされている。このことを踏まえるとボルテゾミブによる RhoA, C の増加により活性型 GTP 結合型 RhoA, C が増加し Rho シグナルを介し細胞間接着の減弱を来した可能性がある。

またヒスタミンやトロンボキサン A2 やブラジキニンは Rho シグナルを介した stress fiber 形成により血管透過性を亢進させることが知られている。ボルテゾミブにより内皮細胞における RhoA, C が増加し、さらに炎症性メディエーターにより活性型である GTP 結合型が著明に増加し細胞間接着の減弱を介した透過性増強を来すことが想定される。多発性骨髄腫においてボルテゾミブ投与前にステロイドの前治療を行うことが推奨されているが炎症反応の抑制により薬剤性肺障害の発症予防に寄与している可能性がある。

### 【結論】

ボルテゾミブと炎症による相乗的な Rho シグナルを介した血管透過性亢進が CLS の原因となる可能性が示唆された。