

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

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・腫瘍内科学分野

大学院生 二島 駿一

BMC Pulmonary Medicine. 2024 Dec 18;24(1):617.掲載

DOI: 10.1186/s12890-024-03387-x

ボルテゾミブは、多発性骨髄腫などに使用されるプロテアソーム阻害薬であり、26S プロテアソームに結合してユビキチン修飾を受けたタンパク質の分解を阻害し、腫瘍細胞のアポトーシスを誘導する作用を有する。ボルテゾミブの副作用の一つとして、Capillary Leak Syndrome (CLS) が報告されている。ボルテゾミブの血小板減少の機序として、プロテアソーム阻害により巨核球内の低分子量 G タンパク質である Rho タンパク質の蓄積および活性化が報告されているが、ボルテゾミブによる CLS の発症機序は明らかになっていない。

本研究では、ボルテゾミブが内皮細胞の Rho タンパク質の蓄積および活性化を介して血管透過性を亢進させ、肺障害を惹起するとの仮説を検証することを目的とした。

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用いて透過性アッセイおよび免疫染色を行い、ボルテゾミブ投与下でのストレスファイバー、VE-cadherin、vinculin の発現の変化および Rho キナーゼ阻害薬 (Y27632) と Rho 阻害薬 (C3 エクソエンザイム) による影響を検討した。RhoA、RhoB、RhoC の発現変化はウエスタンブロット法にて評価し、炎症性メディエーターであるヒスタミンの関与も評価した。

HUVEC を用いた透過性アッセイでは、ボルテゾミブ投与により内皮細胞の透過性がコントロールと比較して有意に亢進した。HUVEC を用いた免疫染色では、ボルテゾミブ投与により内皮細胞におけるストレスファイバーおよび vinculin の増加、VE-cadherin 接着の減弱が観察された。Y27632 を用いた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ストレスファイバーと vinculin の増加および VE-cadherin 接着の減弱が抑制された。また、ボルテゾミブ処理により内皮細胞内の RhoA および RhoC タンパク質の増加がウエスタンブロット法にて認められた。さらに、ヒスタミンを用いた免疫染色では、ボルテゾミブによるストレスファイバーと vinculin の増加および VE-cadherin 接着の減弱作用が増強された。

本研究により、ボルテゾミブが内皮細胞内の RhoA および RhoC を蓄積させ、Rho キナーゼを介したストレスファイバーの増加と細胞間接着の破綻を引き起こし、血管透過性を亢進させることを明らかにした。さらに、炎症性メディエーターであるヒスタミンによりボルテゾミブによる細胞接着の破綻が増強することが示され、ボルテゾミブによる CLS を増強する要因になることが示唆された。Rho シグナルは、活性型 (GTP 結合型) と非活性型 (GDP 結合型) のバランスによって制御されており、ボルテゾミブによる RhoA および RhoC の増加により活性型 RhoA, C が増加し、Rho シグナルを介した細胞間接着の破綻を引き起こした可能性が考えられた。

第二次審査では、CLS のリスクファクター、ボルテゾミブの濃度や時間設定、活性型 Rho の増加の評価、ヒスタミン以外の炎症性メディエーターの関与、さらには今後の研究の方向性などに関する幅広い質疑が行われ、いずれも的確に回答された。

本研究は、ボルテゾミブによる Rho シグナルを介した血管透過性亢進が CLS の原因となり、炎症によりその反応が増強する可能性を示した意義のある研究と考えられた。

以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。