

平成 26 年 6 月 4 日

## 虚血性血管新生におけるカテプシン K による Notch1 活性化の新たなメカニズムの解明

名古屋大学大学院医学系研究科(研究科長・高橋雅英)地域在宅医療学・老年科学講座の成憲武(せいけんぶ)特任准教授、葛谷雅文(くずやまさふみ)教授らの研究グループは、同研究科循環器内科学講座の室原豊明(むろはらとよあき)教授と健康増進医学講座の押田芳治(おしだよしはる)教授の研究グループとの共同研究により、ノックアウトマウスを用いた研究からカテプシン K というプロテアーゼが虚血性血管新生に深く関与することを発見した。

同グループは、心血管疾患発症進展におけるカテプシン・ファミリー、特にカテプシン K の新たな機能について研究を続けてきた。今回、血管細胞の運命を制御する膜貫通受容体 Notch1 に着目し、カテプシン K が血管内皮細胞と骨髄由来内皮前駆細胞における Notch1 活性化及びその下流の Hes1-Hey1/2 転写因子発現と VEGF/R1-PI3K/Akt シグナル経路の活性化を介して虚血性血管新生をコントロールすることが認められた。また、選択的カテプシン K 阻害はカテプシン K 遺伝子欠損と同様に Notch1 活性化及び虚血性血管新生を抑制した。

今回の成果は、カテプシン K が Notch1 を活性化し血管新生を促進するという新たな機序により、閉塞性動脈硬化症 による下肢虚血などの動脈硬化を基盤とする虚血性心血管疾患を制御する可能性を示唆した。

本研究成果は、英国科学誌「ネイチャー・コミュニケーションズ(Nature Communications)」(英国時間 2014 年6月4日付の電子版)に掲載された。

# プレスリリース

## タイトル

虚血性血管新生におけるカテプシンK による Notch1 活性化の新たなメカニズムの解明

## ポイント

- 動脈硬化を基盤とする心血管疾患において重要な役割を果たすとされるカテプシンK (cathepsin K) は、虚血（低酸素）ストレスにより産生が誘導される。
- 虚血ストレスにより誘導されたカテプシンKは、Notch1 活性化及びその下流の Hes1-Hey1/2 遺伝子発現と VEGF/R1-PI3K/Akt シグナル経路の活性化を介して虚血性血管新生に対して促進的に関与することを明らかにした。
- 虚血性血管新生におけるカテプシンK の Notch1 活性化への関与が初めて解明され、今後、カテプシンK は虚血性疾患の治療薬開発の標的になることが期待される。

## 要旨

名古屋大学大学院医学系研究科（研究科長・高橋雅英）地域在宅医療学・老年科学講座の成憲武（せいけんぶ）特任准教授、葛谷雅文（くずやまさふみ）教授らの研究グループは、同研究科循環器内科学講座の室原豊明（むろはらとよあき）教授と健康増進医学講座押田芳治（おしだよしはる）教授の研究グループとの共同研究により、ノックアウトマウスを用いた研究からカテプシンK というプロテアーゼが虚血性血管新生に深く関与することを発見した。

同グループは、心血管疾患発症進展におけるカテプシン・ファミリー、特にカテプシンKの新たな機能について研究を続けてきた。今回、血管細胞の運命を制御する膜貫通受容体 Notch1 に着目し、カテプシンK が血管内皮細胞と骨髄由来内皮前駆細胞における Notch1 活性化及びその下流の Hes1-Hey1/2 転写因子発現と VEGF/R1-PI3K/Akt シグナル経路の活性化を介して虚血性血管新生をコントロールすることが認められた。また、選択的カテプシンK 阻害はカテプシンK 遺伝子欠損と同様に Notch1 活性化及び虚血性血管新生を抑制した。

今回の成果は、カテプシンK が Notch1 を活性化し血管新生を促進するという新たな機序により、閉塞性動脈硬化症 による下肢虚血などの動脈硬化を基盤とする虚血性心血管疾患を制御する可能性を示唆した。

本研究成果は、英国科学誌「ネイチャー・コミュニケーションズ（Nature Communications）」（英国時間 2014 年 6 月 4 日付の電子版）に掲載された。

## 1. 背景

従来、システイン・プロテアーゼ（cysteine protease）であるカテプシンは、リソソームで種々のタンパク質の scavenger として働くタンパク分解酵素として認識されてきた。しかし、近年では、1) 細胞核におけるヒストン H3 修飾、2) 膜結合されている酸性ミク

ロソーム小胞や膜近位リソソームにおいて生理活性物質やホルモンの放出ならびに活性化制御、といったタンパク質のリサイクル以外への関与が注目されている。

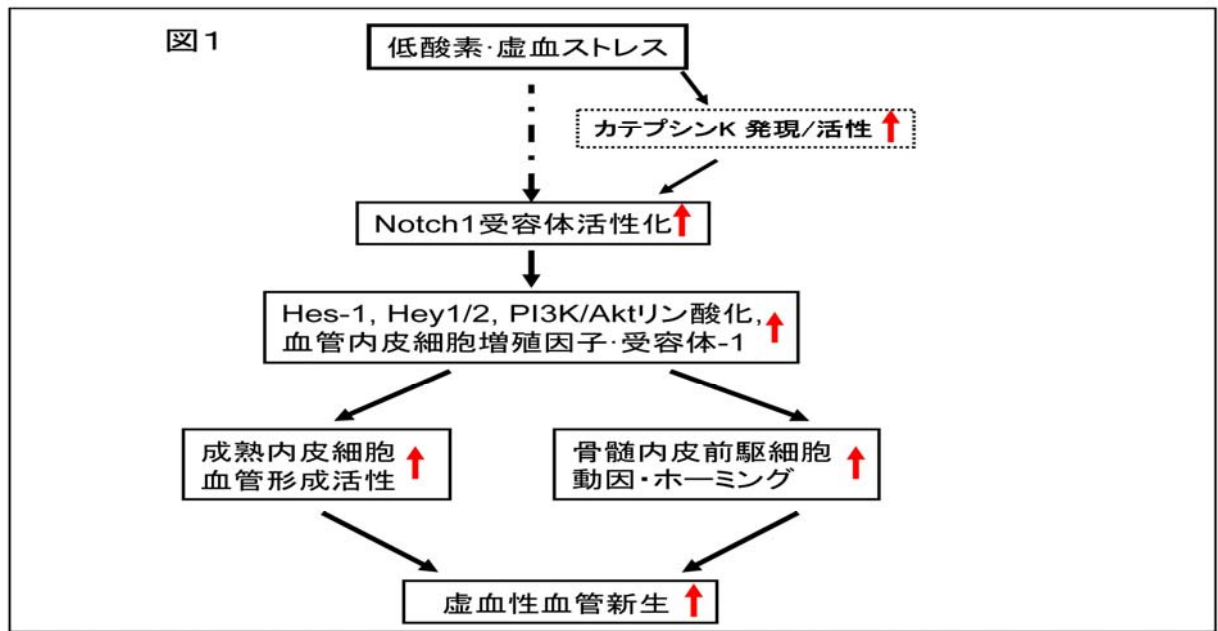
膜貫通受容体 Notch にそれに対するリガンドが結合すると、 $\gamma$ -セクレターゼ ( $\gamma$ -secretase)により Notch の細胞内領域が切断され、結果として Notch 細胞内ドメイン (NICD) が産生される。NICD は核内へ移行して、標的遺伝子の転写を活性化する。 $\gamma$ -セクレターゼによる Notch の活性化は Notch シグナル伝達の最初の重要なステップであり、血管細胞の分化・増殖やアポトーシスにおいて極めて重要な役割を果たすことが知られているが、近年、Notch の切断には  $\gamma$ -セクレターゼ以外の他のプロテアーゼの関与があるのではないかと指摘されている。

## 2. 研究成果

- 1) 同研究グループは、マウスにヒト虚血性疾患に類似した下肢虚血モデルを作成し、虚血筋肉組織においてカテプシン K が高発現することや、その遺伝子欠損動物において、術後の血流回復や毛細血管新生が抑制されることを明らかにした。また、カテプシン K 遺伝子欠損マウスにおいて、野生型に比較して虚血後に誘導される Notch1 活性化及びその下流の Hes1-Hey1/2 転写因子発現と VEGF/R1-PI3K/Akt シグナル経路の活性化が低下することを見出した。さらに、カテプシン選択的阻害剤投与実験では、Notch1 活性化抑制とともに血流回復抑制が認められた。
- 2) 細胞実験においては、カテプシン K 抑制により培養内皮細胞において低酸素ストレスに誘導される Notch1 活性化及びその下流の Hes1-Hey1/2 転写因子発現と VEGF/R1-PI3K/Akt シグナル経路の活性化が低下し、細胞移動能、増殖能ならびに細管形成能が低下した。一方、カテプシン K の強制発現より、細胞レベルでの Notch1 活性化及び下流の Hes1-Hey1/2 転写因子発現と VEGF/R1-PI3K/Akt シグナル経路の活性化の亢進が認められた。
- 3) また、カテプシン K 遺伝子欠損マウス骨髄由来内皮前駆細胞において、野生型マウスに比較して虚血後に誘導される Notch1 活性化及び下流の Hes1-Hey1/2 転写因子発現が抑制され、細胞機能も低下した。さらに、骨髄移植により骨髄由来内皮前駆細胞においてもカテプシン K の重要性が証明された。

## 3. 今後の展開

本研究より、カテプシン K による新たな Notch1 活性化経路が初めて明らかになった。虚血による低酸素刺激により筋肉組織や血管細胞（血管内皮、骨髄由来内皮前駆細胞）においてカテプシン K 活性は亢進し、Notch1 活性化及び下流の Hes1-Hey1/2 転写因子発現と VEGF/R1-PI3K/Akt シグナル経路の活性化を介して虚血性血管新生を促進することが明らかになった（図 1）。遺伝的ならびに薬理的カテプシン K の阻害により虚血性血管新生が著しく抑制されることから、本研究で解明した生体内における新たな Notch1 活性化経路は、閉塞性動脈硬化症 による下肢虚血などの動脈硬化を基盤とする虚血性心血管疾患を制御するうえで極めて重要な情報を提供すると考えられる。また、今後は、非虚血性疾患（アルツハイマー病、サルコペニア等）の病態とカテプシン K-Notch1 活性化の関係についても調べていく予定である。



#### 4. 発表雑誌：

Jiang H, Cheng XW, Shi GP, Hu L, Inoue A, Yamamura Y, Wu H, Takeshita K, Li X, Huang Z, Song H, Asai M, Hao CN, Unno K, Koike T, Oshida Y, Okumura K, Murohara T, Kuzuya M. Cathepsin K-Mediated Notch1 Activation Contributes to Neovascularisation in Response to Hypoxia. *Nature Communications* (2014年6月4日付の電子版に掲載).

English ver.

[http://www.med.nagoya-u.ac.jp/english01/dbps\\_data/\\_material/\\_nu\\_medical\\_en/\\_res/ResearchTopics/Notch1\\_20140604en.pdf](http://www.med.nagoya-u.ac.jp/english01/dbps_data/_material/_nu_medical_en/_res/ResearchTopics/Notch1_20140604en.pdf)