



2024年10月、国立大学法人「東京科学大学」が誕生します

プレス通知資料（研究成果）

2024年8月8日

国立大学法人東京医科歯科大学

2024年10月、国立大学法人「東京科学大学」が誕生します

「Mst1によるFoxO1およびC/EBP- β のリン酸化は心筋細胞における細胞保護機構を刺激する」
— 心不全に対する治療法を開発する端緒として期待 —



【ポイント】

- セリン/スレオニンキナーゼ Mst1^{※1} はアポトーシス促進作用を担っている一方で、FoxO1^{※2} と C/EBP- β ^{※3} という 2 つの転写因子をリン酸化することによってアポトーシスに対して負の制御を行っていることを発見しました。
- Mst1 による FoxO1 と C/EBP β のリン酸化が「抗酸化作用」と「アポトーシス促進作用」という相反する FoxO1 の機能を切り替える役割を担っていることが解明できたため、Mst1 および FoxO1 が細胞の生存に及ぼす影響についての研究の更なる発展への寄与が見込まれます。
- 本研究成果は、Mst1-FoxO1-C/EBP β の制御系の異常に起因した心不全の病態解明を促進し、新規治療法の開発への応用が期待されます。

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 循環制御内科学分野の前嶋康浩准教授とラトガース・ニュージャージー医科大学(米国)細胞生物学講座の佐渡島純一主任教授の研究グループは、スタンフォード大学(米国)、忠北大学校(韓国)との共同研究で、FoxO1 転写因子が Mst1 キナーゼによってリン酸化されると C/EBP β 転写因子と協調して細胞保護的に働くことを発見し、このメカニズムを介して心保護的に働くことを見いだしました。この研究は文部科学省科学研究費補助金、米国公衆衛生局研究助成、米国心臓協会研究助成、Leducq 財団ならびに万有生命科学振興国際交流財団(現 MSD 生命科学財団)の支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、国際科学誌 *Nature Communications* (ネイチャー コミュニケーションズ)に、2024年7月25日にオンライン版で発表されました。

【研究の背景】

細胞内の様々な機能を調節している FoxO1 は、リン酸化やアセチル化などの翻訳後修飾によって厳密にコントロールされており、その制御系の異常は心不全、悪性腫瘍、糖代謝異常といった様々な疾患に関与しています。また、FoxO1 は長寿関連転写因子として知られており、抗酸化作用を促進するなどして細胞の生存を維持する方向に働きます。その一方、FoxO1 はアポトーシスを促進する働きも有しており、この二面性がどのように制御されているのかについては全く解明されていませんでした。

Mst1 は Hippo シグナル経路^{※4} の主要制御因子であるほか、様々な基質をリン酸化することによって Hippo シグナル経路とは独立したメカニズムで細胞内の機能を制御しています。実際、Mst1 は Histone H2B をリン酸化してクロマチン凝集を促進することによってアポトーシスを促進することが知られており、研究グループは以前に Mst1 がオートファジー制御因子 Beclin1 をリン酸化してオートファジーを抑制することを報告しています (<https://first.lifesciencedb.jp/archives/7831>)。また、Mst1 は FoxO1 の核内移行を促進することで神経細胞のアポトーシスを誘導する一方で *C. elegans*^{※5} では Mst1 オルソログ^{※6} *cst-1* が FoxO オルソログ *DAF-16* のリン酸化を介して寿命の延長に寄与することも知られていますが、この Mst1 を介した FoxO1 の相反する機能を制御するしくみについても未解明のままです。

このような背景を踏まえ、今回研究グループは FoxO1 を介した細胞の生存に関わる遺伝子の発現が Mst1 によってどのようにして制御されているのかについて検討しました。

【研究成果の概要】

まず、研究グループは Mst1 が FoxO1 をリン酸化してその核内局在を促進することにより FoxO1 をユビキチン-プロテアソーム系^{※7} による分解から保護する一方で、FoxO1 の核内における DNA 結合能を低下させることを見いだしました。次に、FoxO1 が Mst1 による心筋細胞死の誘導に対して抑制的に作用していることも見いだしました。さらに、FoxO1 と Mst1 を共発現させると抗酸化遺伝子の転写が活性化される一方で、細胞死に関連した遺伝子の転写は抑制されることが分かりました。このメカニズムを理解するために FoxO1 の標的遺伝子のプロモーター^{※8} 配列を解析したところ、抗酸化因子 Catalase をコードする *Cat* など複数の抗酸化因子をコードする遺伝子のプロモーターには FoxO 結合部位だけでなく C/EBP- β 結合部位が存在する一方、アポトーシス促進因子 FasL をコードする *Faslg* など複数の細胞死に関連した遺伝子のプロモーターには FoxO 結合部位は存在するが C/EBP- β 結合部位は存在しないことがわかりました。さらに、今回私たちは核内に FoxO1 が存在している条件のもとで Mst1 は C/EBP- β の Thr299(ヒト)/250(マウス)/251(ラット)をリン酸化することと、C/EBP- β のホモ 2 量体化を促進することによって抗酸化遺伝子の発現を増加させることを発見しました。さらに、4 時間虚血に曝されたマウスの心筋組織を比較検討したところ、野生型マウスと比較して心筋特異的 FoxO1 ノックアウトマウスと心筋特異的 C/EBP- β ノックアウト(C/EBP- β cKO)マウスではともに心筋梗塞巣サイズが有意に増加しました。一方、C/EBP- β cKO に FoxO1 を過剰発現させても心筋梗塞巣サイズが低減しなかったものの、C/EBP- β のリン酸化模倣変異体を導入した C/EBP- β -T250E ノックインマウスでは野生型マウスと比較して心筋梗塞巣サイズが有意に低減しました。これらの動物モデルの心筋組織を用いて ChIP シーケンス解析^{※9} を行ったところ、Mst1 によりリン酸化された C/EBP- β は抗酸化遺伝子プロモーターへの結合が強化されることがと、FoxO1 と C/EBP- β が抗酸化遺伝子プロモーター上で結合が競合する可能性があることが示されました。

以上の結果より、Mst1 は FoxO1 のリン酸化を介してその DNA 結合能を低下させることでアポトーシス促進作用を抑制する一方で C/EBP- β の転写活性を促進して細胞保護機能を高め、自らの有するアポトーシス促進作用に負の制御を行っていることを明らかにすることができました。

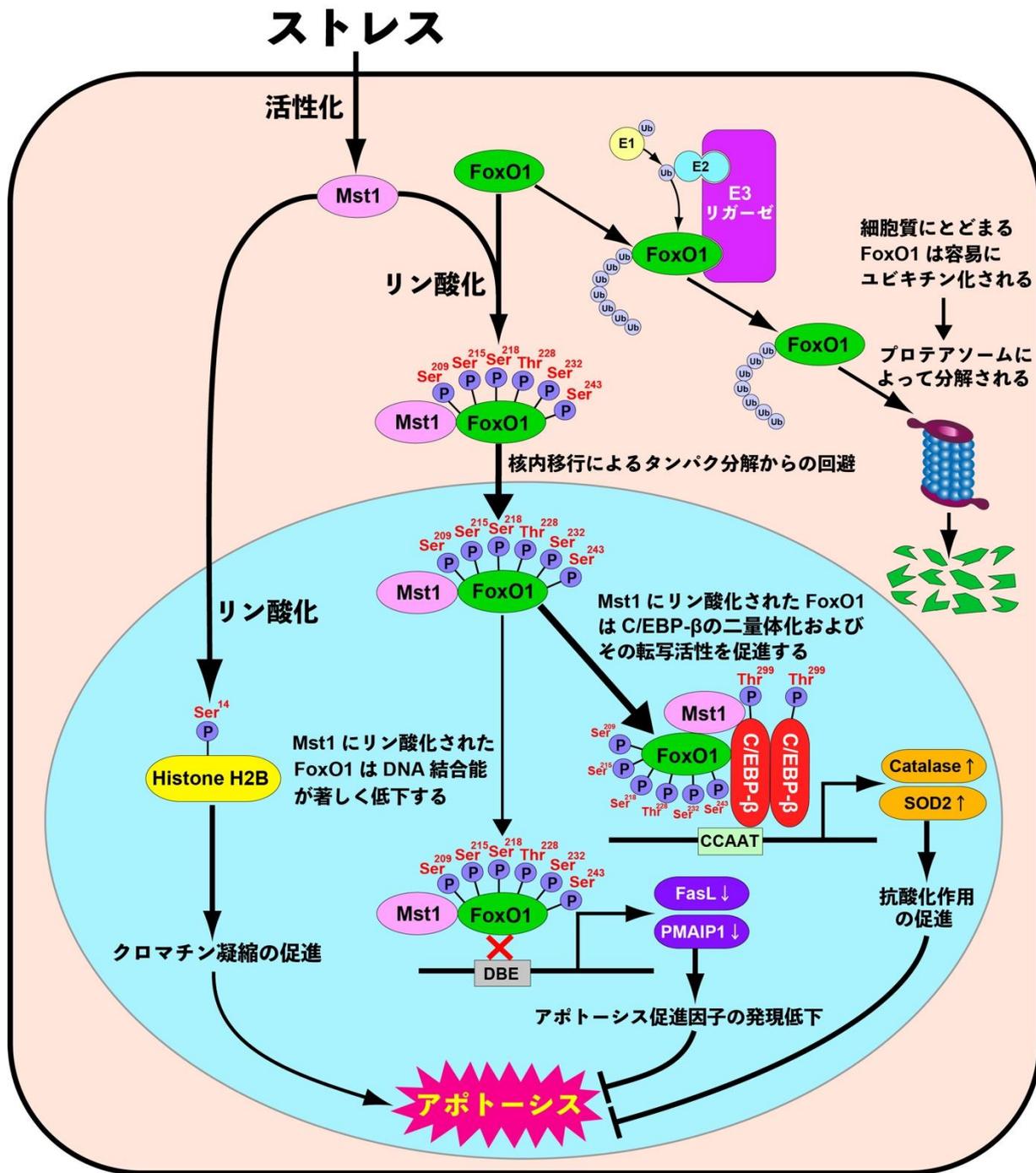


図: Mst1 は Histone H2B などのリン酸化を介してアポトーシス促進作用を担っている一方、FoxO1 と C/EBP- β をリン酸化することによってアポトーシス促進因子の発現を低下させ、抗酸化作用を促進することによってアポトーシスに対して負の制御を行っている

【研究成果の意義】

Mst1 による FoxO1 および C/EBP- β のリン酸化は、心臓における Mst1 を介した細胞死を誘導する機能を緩和する負のフィードバックメカニズムであることを解明することができました。我々の研究で、Mst1 は、心臓で細胞死を促進するだけでなく、細胞死を強力に抑制する作用も持ちあわせることがわかりました。2つの対照

的なメカニズムのうち、Mst1 に作用して後者のみを選択的に促進させるような薬物を開発できれば、心不全の促進を効果的に抑制することが予想されます。増加し続ける心不全患者に対する新規治療の開発は社会における喫緊のニーズであります。本研究成果はそのニーズに応える一助になるものと考えています。さらに、Mst1 および FoxO1 の制御異常は心疾患に限らず、悪性腫瘍、神経変性疾患や糖尿病、脂肪肝、動脈硬化症などの発症にも深く関わっていることが知られていますので、本研究で得られた知見は心臓領域の治療応用に限らず、広く他の疾患へ応用していくことが可能であると考えられます。

【用語解説】

※¹ Mst1 (Mammalian STE20-like kinase 1)……………酵母の STE20 やショウジョウバエの Hippo に相当する、哺乳類に存在するセリン/スレオニンキナーゼ。

※² FoxO1 (Forkhead box protein O1)……………フォークヘッド型とよばれる特徴的な DNA 結合ドメインを有する転写因子。

※³ C/EBP- β (CCAAT/enhancer-binding protein beta)……………塩基性アミノ酸の領域とロイシンジッパーを持った転写因子。

※⁴ Hippo シグナル経路……………細胞増殖および分化を調節し、TEF 転写因子の制御を介して組織の発達や器官の大きさの調節に重要な役割を果たす細胞内シグナル経路。

※⁵ *C. elegans* (*Caenorhabditis elegans*)……………約 1mm の非寄生性の線虫(線形動物門)の一種。

※⁶ オルソログ……………共通の祖先遺伝子から種分岐に伴って派生した相同な遺伝子。

※⁷ ユビキチン-プロテアソーム系……………タンパクに付加されたユビキチン鎖をプロテアソームが認識し、ATP 依存的に迅速かつ不可逆に標的タンパクを分解するシステム。

※⁸ プロモーター……………ゲノム中の遺伝子の転写が開始される際に機能する領域であり、転写開始部位として機能する。

※⁹ ChIP シーケンス解析……………転写因子やヒストンと DNA の複合体を抗体で免疫沈降して濃縮精製した DNA 断片をシーケンスすることで、転写因子と相互作用している DNA 領域や特定のヒストン修飾が濃縮される DNA 領域を明らかにする解析手法。

【論文情報】

掲載誌: *Nature Communications*

論文タイトル: Mst1-mediated phosphorylation of FoxO1 and C/EBP- β stimulates cell-protective mechanisms in cardiomyocytes

DOI: 10.1038/s41467-024-50393-y

【研究者プロフィール】

前嶋 康浩（マエジマ ヤスヒロ） Maejima Yasuhiro

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

循環制御内科学分野 准教授

・研究領域

循環器疾患（心不全、心筋症、動脈硬化症、大型血管炎）の基礎/臨床研究



佐渡島 純一（サドシマ ジュンイチ） Sadoshima Junichi

ラトガース・ニュージャージー医科大学 細胞生物学講座

心臓血管研究所 主任教授

・研究領域

循環器疾患（心不全、心筋症）の基礎研究

【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

循環制御内科学分野 前嶋 康浩（マエジマ ヤスヒロ）

E-mail: ymaeji.cvm@tmd.ac.jp

<報道に関すること>

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL: 03-5803-5833 FAX: 03-5803-0272

E-mail: kouhou.adm@tmd.ac.jp