

タンパク質品質管理機構と心臓リモデリング

著者	薄井 莊一郎
著者別表示	Usui Soichiro
雑誌名	金沢大学十全医学会雑誌
巻	128
号	3
ページ	99-103
発行年	2019-11
URL	http://doi.org/10.24517/00057132



【総説】

タンパク質品質管理機構と心臓リモデリング
The roles of protein quality control during cardiac remodeling

金沢大学附属病院 循環器内科
薄 井 莊 一 郎

心筋細胞は分裂再生能が低い細胞であるため、不良タンパク質の蓄積が細胞の生存や機能維持に大きな影響を与える。タンパク質品質管理機構には、ユビキチン・プロテアソームシステム、オートファジー、小胞体ストレス応答などが複雑に関与している。近年タンパク質品質管理機構の機能不全が糖尿病、神経変性疾患のみならず、心不全、虚血性心疾患、動脈硬化の発症・進展など心血管病の病態形成に大きくかかわっている事が明らかになりつつある。

慢性心不全

心不全とは、なんらかの心臓機能障害、すなわち心臓に器質的あるいは機能的異常が生じて心ポンプ機能の代償機転が破綻した結果、呼吸困難・倦怠感や浮腫が出現し、それに伴い運動耐容能が低下する臨床症候群と定義されている¹⁾。心不全状態では、心臓のポンプ機能が低下するため、末梢主要臓器の酸素需要量に見合うだけの血液量が絶対的にまた相対的に拍出されなくなる。これにより、肺または体静脈系にうっ血をきたし生活機能に障害が生じる。心不全はあらゆる心臓疾患の終末像であり、その原因は長期間にわたる高血圧や、冠動脈粥状硬化に起因する心筋梗塞や虚血性心疾患、心臓弁膜症、心筋炎、先天性心疾患、肥大型心筋症や拡張型心筋症など多岐にわたる。また、糖尿病性心筋症のように全身性の代謝性疾患、内分泌疾患、サルコイドーシスのような炎症性疾患などの一表現型としての心不全、栄養障害や薬剤、化学物質といった外的因子による心筋障害など、心不全の発症原因が心臓以外に存在する場合もある。本邦では、心不全の原因疾患は心筋梗塞などの虚血性心疾患、続いて高血圧症、弁膜症の順であり、近年は虚血性心疾患の率が上昇してきている。心不全による入院患者は年間約24万人で、年に1万人以上の割合で増加している。有病率は高齢者ほど高く75歳以上では10%にも達する。心不全の予後は、3年死亡率は15~25%で以前と比較すると改善傾向にあるが、心不全入院患者の院内死亡率は約10%、心不全の増悪により再入院を繰り返すことが約40%の症例で認められ大きな問題である。これらのことを背景に、最新の心不全診療ガイドラインでは、急性心不全と慢性心不全を連続した病態として、集学的に診療していく重要性が強調されるようになった。

心臓リモデリング

心臓に圧負荷や容量負荷などの物理的負荷がかかると心筋細胞はそれを感じ、タンパク質合成を亢進させ肥

大する。心筋細胞肥大は増大する壁応力を低下させ心臓のポンプ機能を維持するための適応反応である(表1)。この過程には、タンパク質合成の量的変化だけでなく質的变化をとめない構造蛋白の成人型から胎児型アイソフォームへの形質転換が生じる。しかしながら、肥大は限界のある代償機構であり、そのストレスが過大である場合、あるいは長期にわたった場合、その適応は破綻し、心筋収縮力が低下し心臓は拡大する。心拡大はさらに壁応力を増加させる結果となり悪循環に陥る。心機能障害が進行すると低心拍出やうっ血による心不全症状が明らかとなる。この肥大から機能不全に至る心室の形態、容積、機能の変化は心臓リモデリングと呼ばれ、心不全発症・進展の本態であると考えられている。心臓リモデリングにおいては壁応力の増大によってもたらされるアンジオテンシンII、エンドセリン、ノルエピネフリンなどの神経・体液性因子やTNFやIL-1, IL-6などのサイトカインがリモデリングの発症および進展に大きく関与している²⁾。心筋細胞表面には、チロシンキナーゼもしくはセリン/スレオニンキナーゼドメインを有するGタンパク質共役受容体もしくはgp130関連受容体が存在する。これらの受容体にリガンドが結合し、細胞内カルシウムや活性酸素種といったセカンドメッセンジャー濃度の変化が起こり、タンパク質リン酸化酵素などの細胞内情報伝達系を活性化する。近年遺伝子改変動物モデルを用いた研究により、MAPキナーゼのようなタンパク質やカルシニューリン-NFAT経路、IGF-1-PI3K-Akt-mTOR経路などの一連の情報伝達経路が、心臓リモデリング形成に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

表1

生理的心肥大	成長や運動などの生理的ストレスによって誘導される心肥大。心機能低下を伴わない。
病的的心肥大	圧負荷や容量負荷、過剰な神経調節因子やホルモン刺激など病的なストレスにより誘導される心肥大
代償性心肥大	病的ストレスによって誘導される機能低下を伴わない時期の肥大状態
非代償性心肥大	病的なストレスによって誘導される心機能低下をきたした肥大状態

心筋細胞

心臓は生体が生存している間は常に刺激伝導系の電気的興奮を収縮という力学的仕事にかえ、拍動し続けている。心筋細胞は刻々と変化する圧負荷や容量負荷といった物理的ストレスに対して、その収縮力を変化させ、適応している。様々なストレスに対して適応するために、心筋細胞では短期的な収縮力の調整や、時間を要する遺伝子発現変化のような細胞生存のためのストレス適応機構が高度に進化している。しかしながら、適応現象は何らかの機転で破綻をきたし細胞死に陥る。また、心筋細胞は神経細胞と並んで終末分化細胞であり、増殖する能力が極めて低い。したがって障害によって心筋細胞死が生じると、心臓は低下した心機能を心筋細胞増殖によって回復することができないため機能不全は遷延し心不全に陥る。

タンパク質品質管理機構

細胞や臓器機能を保つために、細胞内においてタンパク質や細胞内小器官の品質を維持することは重要である。心臓では臓器不全につながる細胞死を避けるために、外的ストレスに対して細胞内環境の恒常性維持機構が整備されている。細胞を構成しているタンパク質や細胞内小器官の品質維持には、合成と分解の両者が関与しており、そのバランスを適切に制御することが必要である。分解系のタンパク質品質管理機構には、ユビキチン・プロテアソームシステム、オートファジー、小胞体ストレス応答などが関与する³⁾(図1)。タンパク質品質管理機構は細胞へのストレスの有無にかかわらず機能低下を起し不要となったタンパク質などを分解・除去し、これらの品質を維持することで細胞内環境の恒常性を維持している。

ユビキチン・プロテアソームシステム

ユビキチン・プロテアソームシステムは、酵母からヒトに至るまで保存されており、真核生物において短命なタンパク質を標的とした分解に必要である。ユビキチン・プロテアソームシステムは、基質分子を特異的に認識しポリユビキチンを付加するユビキチン化酵素系と、ポリユビキチン化された基質分子を認識しATP依存的に分解する巨大なプロテアーゼ複合体であるプロテアソームという2つの酵素系によって構成されている。ユビキチン化酵素系は分解に関与するとともに、タンパク質翻訳後の修飾も行い、タンパク質の機能の発現調整に重要

な役割を持つ。ユビキチン化酵素系では標的タンパク質がユビキチン活性化酵素E1, ユビキチン結合酵素E2, ユビキチンリガーゼE3によってユビキチン鎖が付加された後、プロテアソームに認識され、分解される。ユビキチン化酵素系の特徴は、多様な標的タンパク質を分解に導くこと、そして明確な基質特異性があることである。この特徴は、ユビキチンリガーゼがもつ基質分子の認識に関する「多様性」と「特異性」によってもたらされる。

ユビキチン化酵素系 (E1, E2, E3) と心不全

ヒトゲノム遺伝子上においてE1は2種類、E2は約30種類しか存在しない。一方E3に関しては約600以上の遺伝子の存在が知られており、その多様性が基質認識のための決定的な役割を担っている。ヒト不全心においてE1, E2, E3の発現が増加していることが複数の研究で報告されている。またユビキチンリガーゼE3が心不全の発症、進展に果たす役割についても研究が進んでいる。

MDM2 (mouse double mutant 2 homologue) はがん抑制因子p53を標的とするユビキチンリガーゼで、心臓特異的Mdm2遺伝子欠損マウスは、心臓形成が行われず胎生致死に至ることが知られている。一方心肥大形成や心不全発症において、Mdm2は、GRK2 (G protein-coupled receptor kinase 2) をユビキチン化することで β -アドレナリン受容体発現およびシグナル伝達を制御し、p53非依存性にGRK2を介したアドレナリン受容体の脱感作を制御し、負荷に対する心収縮力維持に抑制に寄与する。MAFbx (muscle atrophy F-box) は筋特異的ユビキチンリガーゼで様々な環境やストレスによりおこる筋萎縮を制御することが知られている。MAFbxは心筋細胞にも発現しており、圧負荷誘導される心不全モデルでもMAFbx発現は増加した。MAFbx欠損マウスでは圧負荷による非代償性心筋肥大が抑制され、トランスクリプトーム解析から転写因子NF- κ B結合配列をプロモーター部位にもつ遺伝子群の発現が、MAFbx欠損マウスでは抑制されていることが明らかとなった⁴⁾。内因性のMAFbxは、プロテアソームを介したI- κ Bの分解、NF- κ Bの核移行などNF- κ B経路を制御することで圧負荷に伴う心臓リモデリング、心不全発症に対して促進的に作用していることが示された(図2)。さらに、MAFbxは心筋梗塞後の心破裂促進作用も有しており⁵⁾、MAFbx阻害が心不全発症、突然死予防など新たな心臓病治療の介入点となる可能性がある。また、MuRF-1 (muscle ring finger protein) は横紋筋に存在するタイチンやトロポニンなど筋タンパク質を認識するユビキチン連結酵素であるが、カルシニューリンの分解も制御しており、MuRF-1欠損マウスに肥大刺激が持続すると、カルシニューリンが蓄積しカルシニューリン-NFAT経路が増強され非代償性心肥大促進作用を有することが示されている⁶⁾。多様なユビキチンリガーゼが標的タンパク質の発現を調整することによって心不全の発症・進展に関与することが明らかになった。

プロテアソームと心不全

プロテアソームはユビキチン化された標的タンパク質を分解する酵素の複合体として、1つの20Sコアサブユニットと2つの19S調整キャップサブユニットから構成されている。19Sはユビキチン化タンパク質を認識し、

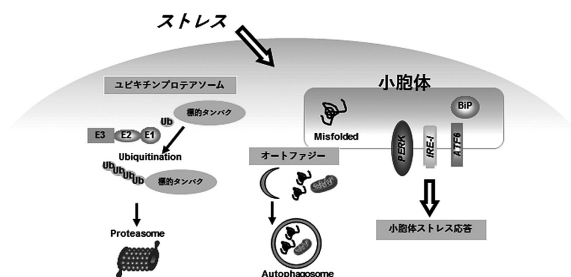


図1. タンパク質品質管理機構

様々な外的ストレスにより生じた異常なタンパク質や障害された細胞内小器官を除去し細胞内の恒常性を維持するために、ユビキチンプロテアソームシステム、オートファジー、小胞体ストレス応答などのタンパク質品質管理機構が作用する。

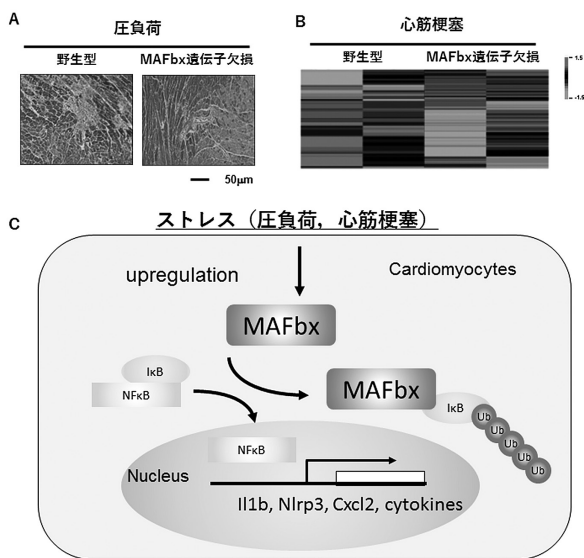


図2. ユビキチン連結酵素を心臓リモデリング
 A: マウス圧負荷モデル後の心臓組織染色 (AZAN 染色)
 野生型に比して MAFbx 遺伝子欠損マウスでは線維化が顕著に抑制されている。
 B: マウス心筋梗塞モデル後の心臓での網羅的遺伝子解析 (マイクロアレイ)
 野生型と MAFbx 遺伝子欠損マウスでは、心筋梗塞3日後の遺伝子発現プロファイルが大きく異なっていた。
 C: MAFbx の心臓リモデリングにおける概略図
 MAFbx は、NF- κ B シグナル伝達系を制御し心臓リモデリングに対して促進的作用を有する。

それらを20S コアサブユニットに移し、標的タンパク質が分解される。圧負荷誘導性マウス不全心やヒト不全心において、プロテアソーム機能障害が存在すること、遺伝子操作によるプロテアソーム活性の促進がミスフォールドタンパクの蓄積を改善し心保護作用を有することが明らかにされており、プロテアソームは、心臓の機能維持に重要な役割を果たしている。培養心筋細胞ではプロテアソーム阻害薬は、心筋細胞アポトーシス関連因子 Bax やカルシニューリンなど蓄積させ、心筋細胞アポトーシスや心筋細胞肥大を引き起こすことが示されている。多発性骨髄腫の治療薬としてプロテアソーム阻害薬が使用されており、投与患者では心不全発症に注意を払う必要がある。

オートファジー

オートファジーは分解酵素を内包するリソソームに障害を受けた細胞小器官や古くなった細胞内のタンパク質を運搬して分解・除去する細胞内分解システムである。オートファジーは、酵母や哺乳類、鳥類、昆虫、植物細胞など幅広い生物種において確認されており、真核生物が普遍的に有しているシステムで栄養枯渇時にアミノ酸供給やタンパク・細胞小器官の品質を保つ役割を担うことにより、細胞生存に重要な役割を果たしている。オートファジーの分子制御機構の解明は、2016年にノーベル医学・生理学賞を受賞した大隅良典博士が酵母を用いてオートファジー制御にかかわる重要な遺伝子群を発見したのを機に目覚ましい発展を遂げた。それに伴い、オートファジーが細胞生存に関わる多様な細胞内の機能に関わって

いることや、オートファジーの制御異常が多くのヒト疾患の原因に関わっていることが明らかとなってきた。オートファジーには複数の経路が存在し、その中で分子機構や生理的意義が最も広く解析が進んでいるマクロオートファジーを一般的にオートファジーと称することが多い。マクロオートファジーでは、最初に隔離膜と呼ばれる二重膜構造が生成され、この膜状層板が延長して、球体の二重膜構造体であるオートファゴソームが形成される。このオートファゴソームによって細胞質の一部、細胞小器官、タンパク質の凝集塊、病原体などを取り囲むことで周囲の細胞質から隔離される。その後オートファゴソームは、リソソームと融合してオートリソソームとなり、内容物はリソソーム内の酵素によって分解される。オートファジーと心不全

心筋細胞でオートファジーの機能が抑制されると、古くなったタンパクやミスフォールドタンパクが凝集して細胞内に蓄積し、細胞死に至る。 β 受容体刺激による心肥大ではオートファゴソームが減少すること、圧負荷心肥大モデル動物においてもオートファジーの抑制が報告されている。オートファジーの必須分子である Atg7 を欠損させた心筋細胞では、オートファジー活性が抑制され、心筋細胞肥大が誘導される。代償性心肥大期にはオートファジーの活性が抑制されることでタンパク質などの細胞内構造物の分解が低下し、心臓の肥大反応に関与している可能性がある。

一方、肥大刺激が持続すると心筋細胞内では、異常タンパク質やミトコンドリアなどの細胞内小器官の障害などが生じる。心肥大時にオートファジーが減少することもあり、細胞内に障害ミトコンドリアや異常タンパク質が蓄積され、活性酸素種の産生や炎症、心筋細胞死が誘導される。これらに引き続き心筋細胞の脱落、線維化が生じ徐々に心機能が低下し、心不全に移行する可能性がある。オートファジー必須因子のひとつである Atg5 を心筋細胞特異的欠損させたマウスの解析では、10週令までの成長に伴う生理的心肥大において心機能は野生型マウスと比較して有意な変化は認めなかったが、大動脈縮窄により誘導された病的な圧負荷刺激では、野生型マウスに比して、心筋特異的 Atg5 欠損マウスは著明な左室拡大及び左室収縮能低下と肺うっ血をきたし心不全状態を呈した。Atg5 欠損マウスの心臓では、ユビキチン化タンパク質の蓄積、小胞体ストレスの増加、心筋細胞アポトーシスの増加などが認められた。セリン/スレオニンキナーゼである Mst1 (Mammalian sterile 20-like kinase 1) は、心筋虚血や圧負荷などのストレスに伴い活性化して心筋のアポトーシスを誘導するが⁷⁾、それとともにオートファジーも制御することが明らかになった。オートファジー制御因子 Beclin1 が Mst1 によりリン酸化され、Beclin1 と Bcl-2/Bcl-xL の結合が増強し Beclin1 のホモ二量体化が促進される。Beclin1 の二量体化により、クラス III-PI3 キナーゼの活性化作用が失われ、オートファゴソーム形成が低下する⁸⁾。これらの知見から非代償性肥大期においてオートファジーは、肥大刺激の持続により細胞内に増加するミスフォールドタンパクや障害ミトコンドリアを処理し、心不全を予防する心保護機構であることが示された。

心筋細胞特異的Atg5欠損マウスは加齢とともに左室拡大が進行し心不全を発症する。Atg5欠損マウスの心臓ではクリステ構造が破綻したミトコンドリア蓄積やミトコンドリアの配列異常が観察され、ミトコンドリア機能低下が酸化ストレスを促進し心筋細胞死を誘導している可能性が示唆されている。病的な血行動態ストレス以外の定常状態でのオートファジーがミトコンドリアの品質管理を行い、心臓の機能維持に重要な役割を持つことも示されている。また、長寿関連遺伝子として同定されたFoxO1 (forkhead box O1) は、細胞内におけるさまざまなエネルギー代謝調節にかかわっている転写因子であるが、このFoxO1がSirtuin1を介したオートファジー活性化効果を持ち心筋保護的に作用を有するなど、オートファジーの活性化が、加齢性に生じる細胞内恒常性破綻の原因の一つと考えられている。一方、過剰なオートファジーは心筋細胞内で必要なタンパク質やオルガネラまで分解することで、細胞を傷つけautophagyとよばれる細胞死を誘導することも明らかにされてきた。オートファジーが心筋保護作用を有するとの知見も積みあがってきているが、オートファジーの活性化が効果的な心保護効果を発揮するためには、適切なオートファジー誘導が重要と考えられる。

オートファジーとリバースリモデリング

さまざまな負荷により誘導される心肥大は可逆性のある状態であり、心肥大の進行を抑制もしくは退行させることはリバースリモデリングと呼ばれている。薬剤による高血圧の治療や、弁置換術や機械による心負荷の改善などによって、心拡大や心肥大の退行が認められる。リバースリモデリングは、心筋細胞断面積の減少、酸化ストレスの減少、興奮収縮連関やミトコンドリア機能といった心筋細胞機能の改善を伴う可能性があり、心臓病患者の治療標的として注目されている。リバースリモデリングによる心重量の減少は、細胞内タンパク質の合成の低下もしくは分解の増加で生じると考えられる。タンパク質合成に関与するmTORシグナリングの抑制が、圧負荷による心不全をリバースすることから、タンパク質合成低下が関与することが示唆されている。タンパク質分解系の関与は、薬剤投与や動脈縮窄により作成された圧負荷誘導性心肥大モデルで検討されている。野生型マウスでは負荷の除去によりオートファジー活性が増加し肥大が退行する⁹⁾。一方心臓特異的Atg5欠損によるオートファジー不全マウスでは、肥大の退行が著明に抑えられた。これらの結果からタンパク質合成の低下とオートファジーによるタンパク質分解促進の両者がリバースリモデリング時の肥大の退行にかかわっていることが示唆されている。

オートファジー制御による心不全治療

抗マライア薬やワートマニンなどのPI3K阻害薬、免疫抑制薬として使用されているmTOR阻害薬であるラパマイシンなどがオートファジーを抑制することが知られている。さらに心不全の予後改善効果を有するカルベジロールがオートファジーを誘導することが示され、β遮断薬の心保護作用のひとつとして、オートファジーが関与している可能性がある。また、豆類や全粒穀物などに

含まれているポリアミン化合物スベルミジンがオートファジー誘導を介して心保護作用を有することが報告されている。オートファジーに影響する様々な報告があるが、これらの薬剤などはオートファジー制御以外の多面的な効果を有することから、その結果の解釈には注意を要する。Rubiconはオートファゴソームとリソソームの融合を抑制し、オートファジーを制御するリミッターとして機能しており、薬剤(ドキソルビシン)誘導性心不全モデルにおいてRubiconの発現が増加し、オートファジー活性低下の原因となることが示されている。オートファジー制御を臨床応用するには、オートファジー特異的な薬剤の開発が必要であり、心不全発症との関連からもオートファジー特異的誘導剤Rubicon阻害薬の開発が注目されている。

小胞体ストレス応答

小胞体はタンパク質合成、折りたたみ、修飾、脂質合成、カルシウム貯蔵などの機能を有する細胞内器官である。タンパク質は小胞体内で一次構造から正しい三次構造を有し、さらに修飾を受けその機能を発揮する。一方、酸化ストレスやタンパク質の過剰合成などにより正しい高次構造に折りたたまれなかったミスフォールドタンパクは小胞体に蓄積する。このように小胞体内でミスフォールドタンパクが過剰に蓄積した状態が小胞体ストレスである。小胞体膜を貫通する構造を有する小胞体ストレスセンサー(ATF6, IRE-1, PERK)が、小胞体内でのミスフォールドタンパクの蓄積を感知し、一連の小胞体ストレス応答を誘導する。活性化されたストレスセンサーは、タンパク質の折りたたみを促進する小胞体シャペロンGRP78など小胞体ストレス関連遺伝子発現を誘導ならびに新規タンパク質合成を抑制することにより、ミスフォールドタンパク蓄積を軽減し小胞体ストレスを改善する。しかし小胞体ストレスが重度または遷延した場合、小胞体ストレス由来アポトーシスシグナリングであるcaspase-12, CHOPが活性化され、細胞アポトーシスが誘導される。

小胞体ストレス応答と心不全

心肥大時には心筋細胞内でタンパク質合成が亢進し、心筋細胞内タンパク質合成機能を担う小胞体に負担がかかるため、心肥大から心不全への進展に小胞体ストレスが関連している可能性がある。マウス圧負荷誘導性心不全モデルの検討では、圧負荷による心肥大時に小胞体ストレスセンサーの活性化や小胞体シャペロンGRP78発現の増加がみられ、小胞体ストレス応答が心保護作用を有していた。一方圧負荷が持続することによって、小胞体ストレス由来アポトーシスシグナルCHOPが誘導される。野生型マウスと比較してCHOP遺伝子欠損マウスでは圧負荷による心筋細胞死や心不全症状が改善されるため、圧負荷による心肥大から心不全への発症に小胞体ストレス由来アポトーシスシグナルが関与することが明らかになった。

Mst1は心筋細胞にアポトーシスが誘導されたときに最も活性化しているキナーゼの一つであるが、心臓特異的にMst1を過剰発現させたトランスジェニックマウス(Tg-Mst1)では、生後3ヶ月から肺うっ血や早期死亡が認められ、心収縮は低下し心腔の拡大および左室壁の菲薄

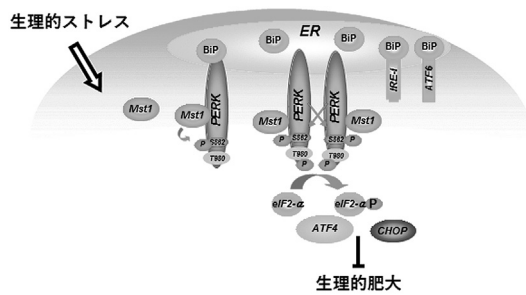


図3. 小胞体ストレス応答と心臓リモデリング
アポトーシスシグナルMst1は、小胞体ストレスマーカーPERK系とクロストークし、生理的肥大を抑制し心不全発症に至る。

化が認められ拡張型心筋症様の病態を呈する。このTg-Mst1マウスの心臓では小胞体ストレスが活性化しており、Mst1がPERKと結合しeIF2α経路さらに小胞体ストレス由来アポトーシスシグナリングCHOPを促進することが明らかになった(図3)¹⁰⁾。心不全の進展にMst1の活性化—小胞体ストレスを介した情報伝達経路も関与している可能性が示唆されている。

小胞体シャペロン

ATF6やIRE-1の下流で誘導されるGRP78は小胞体中でもっとも多く存在しているシャペロンであり、小胞体内カルシウム代謝の恒常性維持、タンパク質の正しい折りたたみの促進など重要な役割を果たしている。抗がん剤である、ドキシソルビシンがGRP78発現を抑制し、同時に小胞体ストレス由来細胞アポトーシスシグナルcaspase-12を活性化させることにより、心機能低下が生じることが示されている。小胞体シャペロン作用を有するケミカルシャペロン4-PBAの補充はcaspase-12活性を抑制し、ドキシソルビシンによる心機能低下を軽減した。さらに4-PBAは、心筋虚血再灌流による心筋細胞死も抑制すること¹¹⁾や圧負荷誘導性心不全および虚血性心不全にも治療効果を持つことが示されており、小胞体ストレス応答に制御が心血管病の新しい治療介入点として期待されている。

結 語

細胞の生存や機能維持に正常なタンパク質品質管理機構が不可欠である。特に心筋細胞は分裂、再生しないため、タンパク質品質管理機構の機能障害による不良タンパク質の蓄積の影響は大きいと考えられる。最近の研究により、心不全発症に至る心臓リモデリングの進展に重要な役割を果たすことが明らかになりつつあるが、関連分子の活性化に関する機序には不明な部分が多く残されている。これらのメカニズムを解明することによって、タンパク質の恒常性維持、改善を標的とした新たな心不全ならびに心血管病治療の開発が期待される。

謝 辞

本総説の執筆にあたり、ご指導賜りました、金沢大学医薬保健研究域医学系循環器内科学 高村雅之教授に深謝致します。また、執筆の機会を与えてくださいました金沢大学十全医学会誌編集委員長の杉山和久教授並びに関係の方々には厚くお礼申し上げます。

参 考 文 献

- 1) Tsutsui, H. et al. Japanese Circulation, S. & the Japanese Heart Failure Society Joint Working, G. JCS 2017/JHFS 2017 Guideline on Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure- Digest Version. *Circ J* 83, 2084-2184, doi: 10. 1253/circj. CJ-19-0342 (2019).
- 2) Nakamura, M. & Sadoshima, J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy. *Nat Rev Cardiol* 15, 387-407, doi: 10. 1038/s41569-018-0007-y (2018).
- 3) Maejima, Y. The critical roles of protein quality control systems in the pathogenesis of heart failure. *J Cardiol*, doi: 10. 1016/j. jjcc. 2019. 09. 019 (2019).
- 4) Usui, S., Maejima, Y., Pain, J., Hong, C., Cho, J., Park, J. Y., Zablocki, D., Tian, B., Glass, D. J. & Sadoshima, J. Endogenous muscle atrophy F-box mediates pressure overload-induced cardiac hypertrophy through regulation of nuclear factor-kappaB. *Circ Res* 109, 161-171, doi: 10. 1161/CIRCRESAHA. 110. 238717 (2011).
- 5) Usui, S., Chikata, A., Takatori, O., Takashima, S. I., Inoue, O., Kato, T., Murai, H., Furusho, H., Nomura, A., Zablocki, D., Kaneko, S., Sadoshima, J. & Takamura, M. Endogenous muscle atrophy F-box is involved in the development of cardiac rupture after myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol* 126, 1-12, doi: 10. 1016/j. yjmcc. 2018. 11. 002 (2019).
- 6) Maejima, Y., Usui, S., Zhai, P., Takamura, M., Kaneko, S., Zablocki, D., Yokota, M., Isobe, M. & Sadoshima, J. Muscle-specific RING finger 1 negatively regulates pathological cardiac hypertrophy through downregulation of calcineurin A. *Circ Heart Fail* 7, 479-490, doi: 10. 1161/CIRCHEARTFAILURE. 113. 000713 (2014).
- 7) Odashima, M., Usui, S., Takagi, H., Hong, C., Liu, J., Yokota, M. & Sadoshima, J. Inhibition of endogenous Mst1 prevents apoptosis and cardiac dysfunction without affecting cardiac hypertrophy after myocardial infarction. *Circ Res* 100, 1344-1352, doi: 10. 1161/01. RES. 0000265846. 23485. 7a (2007).
- 8) Maejima, Y., Kyoji, S., Zhai, P., Liu, T., Li, H., Ivessa, A., Sciarretta, S., Del Re, D. P., Zablocki, D. K., Hsu, C. P., Lim, D. S., Isobe, M. & Sadoshima, J. Mst1 inhibits autophagy by promoting the interaction between Beclin1 and Bcl-2. *Nat Med* 19, 1478-1488, doi: 10. 1038/nm. 3322 (2013).
- 9) Hariharan, N., Ikeda, Y., Hong, C., Alcendor, R. R., Usui, S., Gao, S., Maejima, Y. & Sadoshima, J. Autophagy plays an essential role in mediating regression of hypertrophy during unloading of the heart. *PLoS One* 8, e51632, doi: 10. 1371/journal.pone. 0051632 (2013).
- 10) Usui, S., Hong, C., Gao, S. M. & Sasoshima, J. Proapoptotic kinase Mst1 restricts myocyte hypertrophy by managing unfolded protein responses. *Circulation* 116, 38-38 (2007).
- 11) Takatori, O., Usui, S., Okajima, M., Kaneko, S., Ootsuji, H., Takashima, S. I., Kobayashi, D., Murai, H., Furusho, H. & Takamura, M. Sodium 4-Phenylbutyrate Attenuates Myocardial Reperfusion Injury by Reducing the Unfolded Protein Response. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 22, 283-292, doi: 10. 1177/1074248416679308 (2017).