

# 静岡特産温州みかん果皮成分の心不全治療への応用

静岡県立大学 薬学部 教授 森本 達也

## 1 目的

心不全は増加しつつある虚血性心疾患、高血圧性心疾患の最終像であり、この問題を解決することは社会的、臨床的に極めて重要である。我々は内因性ヒストンアセチル化酵素（HAT）活性を有する p300が心不全発症における遺伝子発現調節に極めて重要であり、心不全のターゲットとなることを示した（*Mol Cell Biol* 2003;23:3593-606、*Circulation* 2006; 113:679-690）。さらに、p300の特異的アセチル化阻害作用を持つクルクミンが、心不全ラットモデルにおいて心不全の進展・増悪を阻止することを見出した（*J Clin Invest.* 2008: 118:868-878）。より強力に心臓特異的に作用する化合物を模索してきたが、その過程で、静岡特産温州みかん果皮抽出物であるノビレチンがクルクミンよりも強力な肥大抑制効果をもつことを見出した。さらに、ノビレチンがラット心筋梗塞後の心不全の進行を抑制することを見出した（特願2009-188813）。そこで、本研究の目的は、ノビレチンを用いた心筋細胞核をターゲットとしたより良い心不全治療法の開発を目指すことである。

## 2 研究方法

### (1) 培養細胞を用いたノビレチンによる心筋細胞肥大抑制効果の検討

ラット初代新生仔培養心筋細胞に、フェニレフリン刺激にて心筋細胞肥大を誘導する系にノビレチンを投与しその効果を検討した。フェニレフリンおよびノビレチンを投与48時間後、 $\beta$ -MHCの抗体で心筋細胞を染色し、構造の観察と細胞面積の測定を行った。また、心筋細胞肥大反応マーカーであるET-1のプロモーターの転写活性を測定した。

### (2) 心筋梗塞ラットを用いたノビレチンによる心不全抑制効果の検討

8～9週齢オスのSDラット（体重250-290g）の左冠動脈の近位部位を結紮し、心筋梗塞を作成した。心筋梗塞作成1週間後のラット30匹を心機能評価後、5群に分け、ノビレチン（20mg/kg、1mg/kg）およびコントロールを6週間連日経口投与した。体重や血圧、心エコーによる生理学的評価、および組織学的評価を行った。

### (3) ノビレチンによるGATA4複合体形成に対する効果の検討

我々はこれまで、心筋特異的転写因子GATA4が心筋細胞肥大の転写制御で中心的な役割を果たしていることを見出した。GATA4はホモロジーの高いGATA6と結合することから、GATA4は自身と結合して、2量体を形成して転写を制御しているのではないかと考えた。そこで、大腸菌を用いて、GSTタグの付いたGATA4とHisタグの付いたGATA4を作成し、GST-pull down assayにてGATA4同士が結合するか検討した。さらに、その結合をノビレチンが抑制するかどうかを検討した。

### 3 研究結果

- (1) ノビレチンは培養心筋細胞におけるフェニレフリンによる心筋細胞肥大を抑制した

ノビレチン(10-150 nM)はフェニレフリンによる心筋細胞径の増大など心筋細胞肥大反応を濃度依存性に抑制し、ET-1などのプロモーターのフェニレフリンによる転写活性の亢進を有意に抑制した。ノビレチンの単独投与では、細胞の形態や大きさに影響はなかった。

- (2) ノビレチンは心不全ラットモデルでの心不全進行を抑制した

ラット心筋梗塞モデルにおいてノビレチン投与が心筋梗塞後の心機能を著明に改善することも確認した。さらに、心筋梗塞ラットでは、シャム手術群に比べて心室壁の肥厚が認められたが、ノビレチンの投与によりその肥大は抑制され、個々の心筋細胞の径も心筋梗塞ラットでは増大するが、ノビレチンの投与により抑制された。体重、血圧、血液検査や各臓器など特に副作用は認めなかった。

- (3) ノビレチンはGATA4複合体形成を阻害した

GST- pull down assayよりGATA4同士が結合することを見出した。さらに、その結合をノビレチンが抑制した。

### 4 考察

- (1) ノビレチンは心筋細胞肥大抑制効果をもつ柑橘類果皮成分である

ノビレチンが、培養心筋細胞で肥大反応を抑制したことにより、心不全治療薬として用いられる可能性が示唆された。特に、ノビレチンは低用量で効果があり、強力な肥大抑制作用をもつことが示された。また、単独投与では、細胞の形態や大きさに影響はなかったことより、心筋細胞に対する細胞毒性は低いと考える。

- (2) ノビレチンは心不全治療薬となる可能性が示された

ノビレチン投与が心筋梗塞後の心機能を著明に改善することより、心不全の治療薬となりうると考える(図1)。また、血液検査など副作用は認められなかったことより、ヒトにおいて安全に臨床応用できると考える。

- (3) ノビレチンはGATA4複合体形成を阻害することにより、心肥大反応を抑制する

ノビレチンが心肥大を抑制するメカニズムとして、GATA4同士の結合を阻害することにより、GATA4の転写活性能を阻害し、肥大反応を抑制すると考える。

### 5 結論

ノビレチンは柑橘類の果皮に含まれるポリメトキシフラボノイドで、漢方で使われる陳皮(ちんぴ)として、健康食品などとして、広く使用されている。柑橘類の中身でなく通常は捨ててしまう果皮にあるので安価であり、またすでに健康食品として使用されていることから安全性も高いと考えられる。安価で安全性が確認された天然物を用いた心不全治療が臨床応用されれば、医療費の削減に大いに貢献することができると考えられる。

## 6 学会発表

- (1) Sei-ichiro Yabuki, Yoichi Sunagawa, Akira Murakami, Shogo Kawaguchi, Noriyuki Murai, Hiromichi Wada, Kenji Takahashi, Hiroyuki Fukuda, Kazuhide Uemura, Akira Shimatsu, Takeshi Kimura, Masatoshi Fujita, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto: Nobiletin, a citrus flavonoid, prevents the worsening of heart failure in rats with myocardial infarction  
20th World Congress of the International Society for Heart Research 2010  
(Kyoto, Japan), ABSTRACTS, p.82, 2010年5月13日
- (2) 矢吹晴一郎、砂川陽一、和田啓道、村上 明、川口正悟、村井範之、高橋健治、福田宏之、刀坂泰史、木村 剛、島津 章、藤田正俊、長谷川浩二、森本達也：  
生薬陳皮成分 Nobiletin は心筋梗塞後の心不全への進行を抑制する  
第122回日本薬理学会関東部会（静岡）、要旨集、p.79、2010年6月5日
- (3) 矢吹晴一郎、砂川陽一、村上 明、川口正悟、村井範之、和田啓道、高橋健治、福田宏之、刀坂泰史、島津 章、木村 剛、藤田正俊、長谷川浩二、森本達也：  
生薬陳皮成分 Nobiletin は心筋梗塞後の左室リモデリングの改善に有効である  
第10回日本抗加齢医学会総会（京都）、プログラム・抄録集、p.31、  
2010年6月11日
- (4) Seiichiro Yabuki, Yoichi Sunagawa, Akira Murakami, Shogo Kawaguchi, Noriyuki Murai, Hiromichi Wada, Kenji Takahashi, Hiroyuki Fukuda, Akira Shimatsu, Takeshi Kimura, Masatoshi Fujita, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto: Nobiletin, a Citrus Flavonoid, Prevents Deterioration of Systolic Function After Myocardial Infarction in Rats  
第42回日本動脈硬化学会総会・学術集会（岐阜）、プログラム、p.47、  
2010年7月15日
- (5) Yoichi Sunagawa, Seiichiro Yabuki, Hiromichi Wada, Akira Murakami, Hiroyuki Murai, Hiroyuki Fukuda, Yasufumi Katanasaka, Takeshi Kimura, Akira Shimatsu, Masatoshi Fujita, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto: A citrus flavonoid, nobiletin, represses hypertrophic response in cardiac myocytes.  
The 6th China-Japan Cardiovascular Forum（北京，中国）  
大会日程、p.81、2010年10月16日

(6) 矢吹晴一郎、砂川陽一、村上 明、和田啓道、川口正悟、村井範之、富野 翠、高橋健治、福田宏之、刀坂泰史、島津 章、木村剛、藤田正俊、長谷川浩二、森本達也：柑橘類果皮成分ノビレチンは心筋梗塞巣を縮小することなく心機能を改善した

第20回日本病院薬剤師会東海ブロック学術大会・日本薬学会東海支部例会  
合同学術大会（静岡）、プログラム集、p.22、2010年11月28日

### (図1) ノビレチンが心不全治療薬となる可能性を見出した

