

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：21401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K05882

研究課題名（和文）Sg IIIノックアウトマウスを用いた、根深ネギによる喘息症状改善の解析

研究課題名（英文）The analysis of asthma remedy by negi extract in sg III knockout mice

研究代表者

岩下 淳（Iwashita, Jun）

秋田県立大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：70315597

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：喘息などの呼吸器疾患のある患者で観察される、気道におけるムチンを主成分とする粘液の過剰分泌を抑制するため、ムチン分泌機構の解明が目的に解析を行った。我々は細胞外基質（ECM）の主要成分の一つである4型コラーゲンがマウスにおいてムチンの過剰産生、分泌を、リン酸化酵素ERK等を介した経路で抑制する結果を得て海外誌に報告を行った。他に根深ネギなどの食品などに含まれる低分子が培養細胞やマウスにおいて気道におけるムチン分泌を抑制する結果を得た。SgIIIについても解析を行ったが、OVAによる喘息モデルマウスでのMUC5AC増加が小さく、現在も手法を再検討して解析を継続している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

喘息などの呼吸器疾患のある患者の気道において過剰に分泌される粘液ムチンの抑制は、その症状改善につながるため注目されている。本研究で培養細胞、そして生体マウスにおいて、ECMの主要な成分である4型コラーゲン投与や根深ネギ成分の投与により、気道でのムチン過剰分泌の抑制されることを報告した。この結果は喘息の症状改善に、コラーゲンなどの成分が有効である可能性を示しており、社会的に有意義な発見である。また生体マウスの気道におけるERKなどの活性の変動についても同時に解析を行い、学術的に意義ある結果を得ることができた。

研究成果の概要（英文）：Patients with respiratory diseases such as asthma have excessive mucus secretion in the airways, mainly mucin. We have studied the regulation of mucin secretion by the extracellular matrix (ECM), which is a major component of the airway. We obtained the results that type 4 collagen suppresses mucin production and secretion in model mice via phosphorylase ERK and other pathways, and reported the results in an overseas journal. Other small molecules contained in food suppress mucin secretion in cultured cells and in the airways of mice, and these results are useful.

We also analyzed the function of SgIII in mucin secretion, but the increase in MUC5AC in knockout mice induced by OVA was small and difficult to analyze. We are continuing our analysis while changing the analysis method.

研究分野：細胞生物学

キーワード：muc5ac ムチン 分泌 4型コラーゲン

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

喘息やCOPD患者の気道では粘液が過剰に分泌され(健常者の40-200倍)、空気の流れを妨げ、呼吸を困難にする。粘液ムチンの分泌を抑制できれば、空気の流れが改善し、呼吸困難の症状を緩和することができる。近年特にCOPD患者が急増しており、その改善方法の開発は社会的に意義が大きい。喘息、COPD治療薬は新薬発売や適応拡大が積極的に行われており、中国など国内外で薬剤市場を牽引している。現在喘息治療にはステロイド剤や去痰薬など優れた効果を持つ薬剤が開発され、広く使用されているが高血圧、肥満、骨粗しょう症などの副作用もあり、より副作用が少なく摂取が容易な長期治療法が社会的に強く求められている。我々は、民間療法で気管支炎に対する効果があるとされている根深ネギに焦点を当て、根深ネギ抽出成分が気道での粘液ムチンの分泌にどのような影響を与えるか、培養細胞を用いて解析した。また、細胞を外側から支持し、様々なシグナルを細胞内に伝える細胞外マトリックス(ECM)がムチンの産生・分泌に影響を及ぼすことを我々は見出した。このように我々はこれまでにネギ成分や4型コラーゲン(Co14)が培養細胞で粘液ムチンMUC5ACの産生・分泌を抑制することを明らかにした(図1)。しかし根深ネギ成分や4型コラーゲンなどの摂取による生体の気道での粘液ムチンの分泌抑制は未だ報告されておらず、その最適な投与条件、及び根深ネギ成分の作用機作は明らかとなっていなかった。また細胞からの小胞分泌に大きな影響を持つセクレトグラニンIIIなどの分子が気道粘液分泌経路における役割も、解析が行われていない。

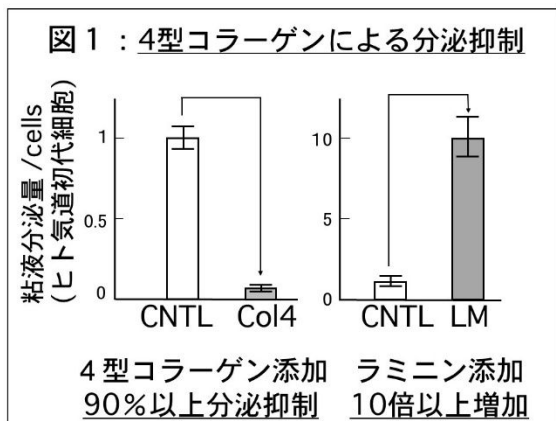
セクレトグラニン III はクロモグラニン A タンパク質などと結合して、主としてホルモン分泌など内分泌に重要な分子であるが、近年外分泌への関与も示唆されている。しかしセクレトグラニン III が、気道での外分泌にあたる粘液ムチンの分泌制御に関与するかなど、ネギ成分や4型コラーゲンによる粘液ムチンの産生・分泌の抑制がどのような機構で行われるか、我々が知る限りでは、完全には明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では培養細胞やOVA感作した喘息様の症状を示すマウスを用いて、4型コラーゲンや根深ネギ抽出物が気道における粘液ムチンの分泌を最も抑制し、喘息症状を改善する条件を探索した。また粘液ムチンの抑制に関わるセクレトグラニン III など分泌にタンパク質を介したシグナル経路を明らかにし、学術的な知見を得ることを目的とした。

またこれらの解析によって、具体的には、嚥下能力は正常だが健康維持上栄養補給が必要な人のQOL(生活の質)の向上だけでなく、ネギによって見た目やおいしさも追求するスマイルケア食品の開発を目指すことを目的とした。

国内外で根深ネギ抽出物や4型コラーゲンなどのECM成分により活性化されるシグナル経路と粘液分泌の関係は、我々が知る限り明らかになっていない。OVA感作マウス系を用いれば、根深ネギ抽出物に限らず、様々な食品成分の喘息症状改善効果を解析、定量化できる、汎用性の高い系とすることを目的とした。さらにセクレトグラニン III ノックアウトマウスを用いること



【1 研究目的、研究方法など(つづき)】

で、セクレトグラニン III と気道粘液ムチン分泌の関連が明らかになる。

3. 研究の方法

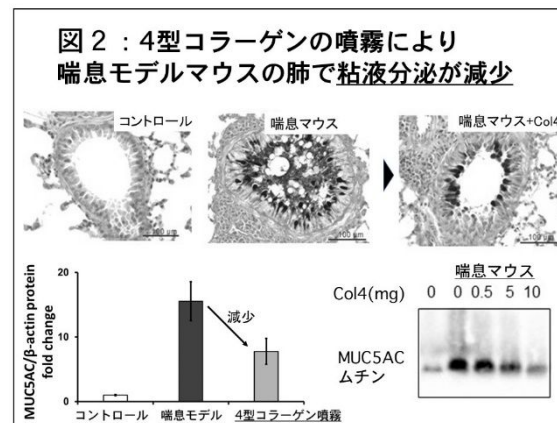
(1) 根深ネギ含有飼料を様々な濃度、様々な期間 OVA 感作マウスに与えて最適な投与条件を探索する。根深ネギの有効成分として、イソアリインなどの低分子が働く可能性がある。イソアリイン単体で根深ネギ含有飼料と同様の活性を示すか、OVA 感作マウスで解析する。

(2) OVA 感作マウスに 4 型コラーゲンを様々な条件(濃度、期間など)で噴霧し、気道で分泌される粘液ムチンの分泌量が最も減少する投与条件を探索する。

またネギ含有成分や 4 型コラーゲンにより気道粘液ムチンの産生・分泌が抑制される際の分子メカニズムを OVA 感作マウスや培養細胞を用いて解析する。そしてセクレトグラニン III ノックアウトマウスを用いて、粘液分泌、根深ネギ抽出物による気道粘液分泌の抑制へのセクレトグラニン III の関与を解析する。

4. 研究成果

(1) OVA感作マウスに 4 型コラーゲンを噴霧すると、肺におけるMUC5ACムチンの過剰分泌と発現が抑制された。



我々は培養細胞(喘息患者気道由来の初代細胞と培養細胞株)で、代表的な細胞外マトリックスである 4 型コラーゲンの添加が、インテグリン経路を介し粘液分泌を抑制することを見出した。さらに今回OVA感作マウスの肺における粘液の分泌を抑制することを見出した(図2)。

OVA感作したマウスに 4 型コラーゲンを曝露すると、肺におけるMUC5ACムチンの過剰分泌と発現が抑制された。しかし外来の異物からの生体防御に重要なMUC5Bムチンには影響しなかった。細胞外マトリックスと細胞をつなぐ代表的な分子はインテグリンである。OVA感作マウスの肺におけるインテグリン 2および 1タンパク質の発現亢進は、4 型コラーゲン曝露後に抑制された。一方、OVA感作マウスの肺で抑制されていたインテグリン 3の発現は、4 型コラーゲン曝露により増加した。OVA感作マウスではAktおよびERKのリン酸化レベルは低下したが、気管では 4 型コラーゲン曝露後に上昇した。これらの結果は、4 型コラーゲン曝露がインテグリンサブユニットの発現およびAkt/ERK活性の変化を介して肺におけるMUC5AC過剰分泌を抑制することを示唆している。以上の結果から、Col4曝露は喘息治療の改善に寄与する可能性がある。

インテグリン、リン酸化ERK、リン酸化Aktのレベルは、OVA感作マウスの肺と気管で異なっていた。OVA感作した肺では、インテグリン 2と 1の発現は増加したが、Akt活性は変化しなかった。OVA感作した気管では、インテグリン 1はほとんど検出されなかったが、AktとERK活性は低下した。このように肺と気管でインテグリンサブユニット、Akt、ERKの挙動が異なり、それらがMUC5AC分泌に及ぼす影響は複雑である。しかしOVA処理によって誘導された変化は、4 型コラーゲン曝露後にコントロールレベルに近づいた。この結果から、MUC5AC産生はin vivoでは組織特異的に制御されており、MUC5AC分泌に対するERKの影響は気管よりも肺で大きいことが示唆された。今後は、MUC5AC発現に対する 4 型コラーゲンの効果と、in vivoにおけるERKおよびAkt調節

【1 研究目的、研究方法など(つづき)】

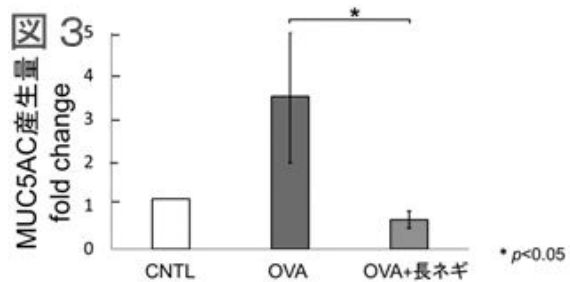
経路を含むインテグリン介在経路との関係を明らかにすることを目指す。

(2) 根深ネギ含有飼料を摂取したOVA感作マウスは肺で分泌される粘液ムチンが減少した

OVA 感作マウスに根深ネギから抽出した成分を加えた飼料を自由摂取させた。その結果、根深ネギのエタノール抽出物が、OVA 感作マウス肺で粘液ムチンの分泌を減少させることを見出した(図3)。さらに根深ネギ抽出物を含む飼料をOVA 感作マウスに自由摂取させることによって、生体内でも ERK や Akt などのキナーゼ活性制御を介して気道で粘液ムチンを大きく減少させることを見出した。この結果は長ネギ含有成分が培養細胞に加え、マウスなどの生体内でも気道での粘液ムチンの過剰産生・分泌を抑制する可能性を示している。

SgIII についても解析を行ったが、OVA による喘息モデルマウスでの MUC5AC 増加が想定より小さく、現在も手法を再検討して解析を継続している。

以上の結果から、コラーゲンやネギ成分などが喘息などの疾患による気道粘液過剰分泌の抑制に有用である可能性が示された。さらに今回その分子機構の一部が明らかとなったことで学術的な意義が生じるとともに、より分子的な粘液ムチンの分泌抑制法の開発につながることを期待できる。



ネギ含有飼料により喘息モデルマウスで増加したMUC5AC産生量が減少した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計27件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 岩下 淳、泉 柚那、村田 純	4. 巻 43
2. 論文標題 シソ抽出物による過剰な肺粘液ムチン分泌の抑制	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 76-79
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下 淳	4. 巻 43
2. 論文標題 気道上皮細胞株におけるロスマリン酸による粘液分泌抑制機構の解析	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 43-46
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下 淳	4. 巻 7
2. 論文標題 粘液ムチン MUC5AC の産生・分泌制御機構	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 77-79
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下 淳	4. 巻 43
2. 論文標題 食品由来低分子による粘液分泌の抑制	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 68-71
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下 淳	4. 巻 44
2. 論文標題 ロスマリン酸によるムチン分泌抑制	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 75-78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jun Iwashita, Hikari Maeda, Momo Ishimura, Jun Murata	4. 巻 13
2. 論文標題 Type IV collagen reduces MUC5AC secretion in the lungs of ovalbumin-sensitized mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2022.851374.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、泉柚那、村田純	4. 巻 42
2. 論文標題 シソ抽出物は喘息モデルマウスの気道においてMUC5ACの分泌を抑制する	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 53-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、泉柚那、村田純	4. 巻 42
2. 論文標題 喘息モデルマウスの気道で過剰に分泌されるMUC5AC粘液タンパク質のシソ抽出物による抑制	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 72-75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、樫谷昌利、村田純	4. 巻 54
2. 論文標題 ヒト初代細胞とNCI-H292細胞株における低分子添加によるムチン分泌抑制	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 月刊「細胞」	6. 最初と最後の頁 54-57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、泉柚那、村田純	4. 巻 6
2. 論文標題 喘息モデルマウスの気道における、シソ抽出物のMUC5AC分泌抑制効果	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 86-90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、泉柚那、村田純	4. 巻 42
2. 論文標題 シソ抽出物による過剰な肺粘液分泌の抑制	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 33-36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳	4. 巻 7
2. 論文標題 シソに由来する成分による気道ムチン産生抑制の試み	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 46-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、榎谷昌利、村田純	4. 巻 6
2. 論文標題 食品に由来する成分が気道由来細胞株と初代細胞でMUC5ACムチンの分泌を抑制する	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 55-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwashita J, Murata J	4. 巻 28
2. 論文標題 Integrin 1 subunit regulates cellular and secreted MUC5AC and MUC5B production in NCI-H292 human lung epithelial cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2021.101124.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、泉柚那、村田純	4. 巻 41
2. 論文標題 シソ由来成分は喘息モデルマウスの気道で粘液分泌を抑制する	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 1104-1107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、榎谷昌利、村田純	4. 巻 5
2. 論文標題 喘息初代細胞とNCI-H292細胞株における食品由来低分子によるムチン分泌の抑制	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 85-89
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、泉柚那、村田純	4. 巻 41
2. 論文標題 喘息モデルマウスの気道におけるシソ抽出物のMUC5AC分泌抑制効果	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 85-88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、榎谷昌利、村田純	4. 巻 41
2. 論文標題 ヒト培養細胞における、喘息で増加する気道粘液MUC5ACの産生と分泌の抑制	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 77-81
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、榎谷昌利、村田純	4. 巻 40
2. 論文標題 肺粘液性類表皮癌由来細胞株NCI-H292と初代細胞における食品成分によるMUC5AC粘液産生と分泌の抑制	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 81-85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、榎谷昌利、村田純	4. 巻 40
2. 論文標題 喘息気道細胞における低分子による粘液タンパク質MUC5AC分泌の抑制	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 76-80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、榎谷昌利、村田純	4. 巻 4
2. 論文標題 喘息患者の気道初代細胞において食品由来の低分子が粘液分泌を抑制する	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 83-87
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、榎谷昌利、村田純	4. 巻 40
2. 論文標題 食品由来成分が喘息患者の気道初代細胞における粘液分泌に及ぼす抑制効果	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 60-64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下淳、榎谷昌利、村田純	4. 巻 40
2. 論文標題 喘息患者に由来する気道初代細胞における食品成分による粘液分泌の抑制	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 70-74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ito Y, Iwashita J, Murata J	4. 巻 20
2. 論文標題 Type IV collagen reduces mucin 5AC secretion in three-dimensional cultured human primary airway epithelial cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2019.100707	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 岩下 淳, 櫻谷 昌利, 村田 純	4. 巻 40
2. 論文標題 喘息患者に由来する気道初代細胞における食品成分による粘液分泌の抑制	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 臨床とアレルギー	6. 最初と最後の頁 70-74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩下 淳, 高橋 直, 村田 純	4. 巻 6
2. 論文標題 MUC5ACムチンの産生に及ぼすラミニン/インテグリン経路の影響	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 秋田県立大学ウェブジャーナルB	6. 最初と最後の頁 50-57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 島 恵司, 岩下 淳, 高嶋亜希子	4. 巻 54
2. 論文標題 去痰作用を有するネギエキス	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 食品と開発誌	6. 最初と最後の頁 78-80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 岩下 淳, 佐々木和香, 近藤大斗
2. 発表標題 ヒト気道細胞株・マウスにおけるロスマリン酸のムチン産生への影響
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩下 淳、渡邊 研、村田 純
2. 発表標題 喘息モデルマウスの気道におけるMUC5ACムチンの分泌に及ぼすIV型コラーゲンの影響
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関