

令和 4 年 5 月 15 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09459

研究課題名(和文) 生後のIGF-1投与が未熟児網膜症に与える影響の基礎研究

研究課題名(英文) Basic research on the effect of postnatal IGF-1 administration on retinopathy of prematurity

研究代表者

齋藤 雄太 (Saito, Yuta)

昭和大学・医学部・准教授

研究者番号：70407477

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：Insulin-like growth factor-1 (IGF-1)は網膜血管の正常な発達に必要で、未熟児における長期間の血清IGF-1の低値は未熟児網膜症、気管支肺異形成症、脳室内出血、壊死性腸炎などのリスクを高めると報告され、生後早期から血清IGF-1濃度を高く保つことが生後の合併症を予防する方法となりえると考えられている。本研究では、未熟児網膜症動物モデルにIGF-1を投与することで網膜症の発症・重症化が抑制できるか検討した。その結果、予想に反して動物モデルでは、生直後のIGF-1の低値が網膜症の悪化には寄与せず、むしろIGF-1の投与によって網膜症が悪化することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Insulin-like growth factor-1 (IGF-1)は網膜血管の正常な発達に必要で、未熟児における長期間の血清IGF-1の低値は未熟児網膜症のリスクを高めると報告されているが、本研究の結果から生後早期から血清IGF-1濃度を高く保つためにIGF-1を投与することでは未熟児網膜症の発症・重症化を予防することが困難であることが予測される。

研究成果の概要(英文)：Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) is necessary for normal development of retinal vessels, and long-term low serum IGF-1 levels in premature infants are reported to increase the risk of retinopathy of prematurity, bronchopulmonary dysplasia, intracerebral hemorrhage, and necrotizing enterocolitis. It is believed that maintaining a high serum IGF-1 level from early in life may be a way to prevent postnatal complications. In this study, we examined whether administration of IGF-1 to an animal model of retinopathy of prematurity could prevent the onset and severity of retinopathy. The results revealed that, contrary to expectations, low levels of IGF-1 immediately after birth did not contribute to the worsening of retinopathy in the animal model, but rather that administration of IGF-1 worsened retinopathy.

研究分野：眼科

キーワード：未熟児網膜症 IGF-1 VEGF OIR 動物モデル

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

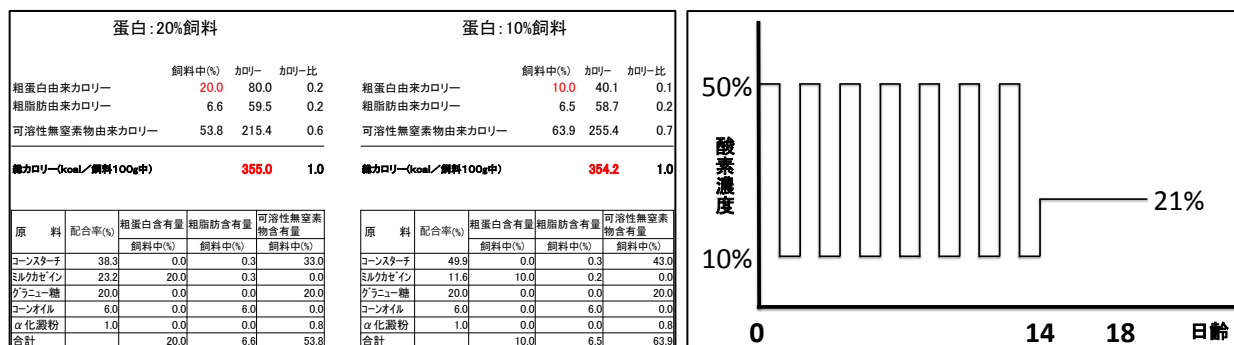
Insulin-like growth factor-1 (IGF-1)は網膜血管の正常な発達に必要で、未熟児における長期間の血清 IGF-1 の低値は未熟児網膜症 (ROP)、気管支肺異形成症 (BPD)、脳室内出血 (IVH)、壊死性腸炎 (NEC) などのリスクを高めると報告され、未熟児においては生後早期から血清 IGF-1 濃度を高く保つことが生後の合併症を予防する方法となりえると考えられている。そこで本研究では、動物モデルを用いて IGF-1 を外因的に投与することで未熟児網膜症の発症・重症化が抑制できるか検討した。

2. 研究の目的

出生時の血清 IGF-1 濃度が低値である動物モデルを以前に作製した (科研費 25870737)。すなわち妊娠ラットに蛋白制限した食餌を与えて、胎仔の子宮内発育不全を誘発させ、低出生体重で出生したラットを Small for gestational age (SGA)モデル (SGA-rat) とした。この SGA-rat を用いて Oxygen-Induced Retinopathy (OIR)モデルを作り、SGA-rat の生後の発育や網膜症の重症化、並びに外因的 IGF-1 の補充が発育や網膜症に与える影響をそれぞれコントロールと比較検討することを目的とした。

3. 研究の方法

SGA ラットを作製するため妊娠 Sprague-Dawley ラットを購入して、妊娠 13 日目からカロリーは同等の普通食 (20%蛋白含有) (コントロール群: Cnt-rat) もしくは低たんぱく食 (10%蛋白含有) (SGA-rat) を与えて飼育した。生直後より別に用意していた普通食で飼育した代理母を用いて、母ラット 1 匹に対して仔ラット 14 匹を再配分した。OIR モデルの作製は、生直後から 50%O<sub>2</sub>/24h、その後 10%O<sub>2</sub>/24h を 1 サイクルとして 7 サイクル (日齢 14 まで) OxyCycler を用いて酸素負荷を行い、日齢 14~18 までは大気中で飼育した (Penn JS et al.: Pediatr Res 36: p724-731, 1994)。



日齢 18 に仔ラットの体重を測定し、安楽死させて心臓から採血した後、摘出した右眼は固定して網膜展開標本を作製した (Reynaud X et al.: IOVS 35: p3169-3177, 1994)。作製した網膜展開標本から網膜症重症度 (Clock Hours: CH) の評価 (Zhang S et al.: IOVS 41: p887-891, 2000) と網膜全面積に対する無血管領域の割合 (%AVA) を計測 (Hasebe Y et al.: IOVS 41: p2774-2778, 2000) した。左眼からは網膜を摘出し、ホモジェネートした上澄み液を採取して、網膜内 VEGF 及び IGF-1 濃度を ELISA 法で測定した。また血清 IGF-1 濃度測定も ELISA 法を用い

た。SGA-rat と Cnt-rat との間で評価項目を比較した（実験1）。

血清 IGF-1 濃度が低値である SGA-rat に IGF-1 を投与して、血中 IGF-1 濃度を上昇させることで OIR は抑制できるか、という疑問に対して、IGF-1 を投与して SGA-rat への網膜症及び発育への影響を検討した。すなわち SGA-rat に IGF-1 を外因的に補充する目的で、日齢 4~14 の間 IGF-1 (2ug/g 体重) (R&D systems, #291-G1) を 1 日 1 回皮下投与し (SGA-IGF1-rat)、日齢 14 (投与 2 時間後) と日齢 18 における評価項目 (CH、%AVA、網膜内 IGF-1、網膜内 VEGF、血清 IGF-1) (CH は日齢 18 のみ) を、PBS を投与したコントロール群 (SGA-PBS-rat) と比較した（実験 2）。

#### 4. 研究成果

実験 1 の結果、SGA-rat は生後から日齢 18 まで Cnt-rat より体重が少なかった。また日齢 18 において SGA-rat の血清 IGF-1 濃度は Cnt-rat と比較して有意に低値だったが、CH、%AVA、網膜内 IGF-1、網膜内 VEGF には有意差がなかった。

実験 2 の結果、SGA-IGF1-rat は SGA-PBS-rat と比較して、日齢 14 の網膜内 VEGF 濃度が有意に高値、日齢 18 の CH が有意に高スコアであった。

実験1結果				実験2結果				
	SGA-rat (n=14)	Cnt-rat (n=14)	Wilcoxon test p value		SGA-IGF1-rat	SGA-PBS-rat	Wilcoxon test p value	
体重 (g)	日齢1	6.2±0.3	7.6±0.5	<0.0001	日齢14			
	日齢2	7.1±0.4	8.5±0.6	<0.0001	n=11		n=10	
	日齢4	8.1±0.5	9.5±0.6	<0.0001	体重 (g)	14.8 ± 3.5	14.7 ± 3.5	0.7778
	日齢6	9.6±0.5	11.4±0.8	<0.0001	%AVA (%)	40.9 ± 11.1	37.9 ± 9.4	0.4386
	日齢8	12.8±0.8	13.8±1.1	<0.05	網膜内IGF-1 (pg/mg protein)	126.6 ± 29.9	141.6 ± 40.6	0.6221
	日齢10	15.1±0.9	16.7±1.2	<0.01	網膜内VEGF (pg/mg protein)	84.4 ± 17.9	54.7 ± 21.4	0.0137
	日齢12	18.2±1.4	19.2±1.3	<0.05	血清IGF-1 (ng/mL)	125.7 ± 54.9	178.8 ± 83.9	0.0573
	日齢14	21.0±1.4	22.6±1.2	<0.01	日齢18			
	日齢15	23.0±1.4	24.8±1.5	<0.01	n=14		n=16	
	日齢16	24.7±1.5	26.5±1.4	<0.01	体重 (g)	20.3 ± 2.4	19.1 ± 2.4	0.2043
日齢17	26.9±1.6	27.7±1.3	0.1072	CH	5.7 ± 3.7	3.1 ± 3.2	0.0499	
日齢18	27.8±1.7	29.1±1.4	0.0534	%AVA (%)	25.7 ± 9.1	19.5 ± 10.6	0.0963	
CH	5.0±2.9	4.1±2.5	0.4988	網膜内IGF-1 (pg/mg protein)	120.6 ± 28.9	120.2 ± 30.7	0.9337	
%AVA	21.3±11.6	15.7±7.0	0.1826	網膜内VEGF (pg/mg protein)	217.6 ± 64	189 ± 101.1	0.1834	
網膜内IGF-1 (pg/mg protein)	133.7±36.4	148.3±26.7	0.1237	血清IGF-1 (ng/mL)	142.4 ± 79.2	139.2 ± 84.8	0.8191	
網膜内VEGF (pg/mg protein)	181.0±77.4	147.2±50.4	0.2064	平均±標準偏差				
血清IGF-1 (ng/mL)	163.6±20.3	189.2±21.6	<0.01					

以上の結果から SGA-rat では、生直後の IGF-1 が低値であることが網膜症の悪化には寄与せず、むしろ IGF-1 の投与によって網膜症が悪化することが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 齋藤雄太、横山康太、恩田秀寿
2. 発表標題 生後のIGF-1投与が低出生体重ラットの高酸素負荷網膜症モデルに与える影響
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuta Saito, Kota Yokoyama, Hidetoshi Onda
2. 発表標題 Effect of IGF-1 Administration on Retinopathy in a Low-Birth-Weight Rat Model of Oxygen-Induced Retinopathy
3. 学会等名 ARVO2022（国際学会）
4. 発表年 2022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
---------	---------