

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18643

研究課題名(和文) 妊娠糖尿病における耐糖能異常発症分子機構の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism of impaired glucose tolerance in gestational diabetes mellitus

研究代表者

渡邊 真由 (Watanabe, Mayu)

岡山大学・医歯薬学域・助教

研究者番号：20794332

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)：インスリン分泌能の低下は2型糖尿病発症のリスクとなる。耐糖能異常妊婦における妊娠～分娩後のインスリン分泌能の変化について検討し、妊娠糖尿病も2型糖尿病合併妊婦も同様のインスリン分泌能の変動を認め、2型糖尿病合併妊婦では妊娠後期のインスリン分泌が低値であれば産後の血糖が悪化する可能性があることが示唆された。

Gal-9ノックアウトC57B/5Jマウス(雌)を高脂肪・高蔗糖食もしくは通常食で飼育し、野生型C57B/5Jマウス(雄)と交配して、妊娠14日に糖負荷テストを施行し、さらに18日間に胎盤と胎仔を得た。Gal-9の胎盤における免疫染色やウエスタンブロットと、血中濃度の測定を施行した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Galectin-9 (gal-9) はT cell immunoglobulin mucin-3 (Tim-3) のリガンドとして活性化Th1細胞をアポトーシスへ誘導し、1型糖尿病、糖尿病性腎症、糸球体腎炎への治療効果が証明されている。本研究では、妊娠糖尿病(gestational diabetes mellitus: GDM) 妊婦とGDMモデルマウスにおいてgal-9とGDM発症との関連を検討する。現在、耐糖能正常妊婦、GDM妊婦、糖尿病合併妊婦の研究対象者の登録、検体の採取・解析を進めている。また、GDMモデルマウスの各種臓器におけるgal-9の発現検討を行っている。

研究成果の概要(英文)： We examined changes in insulin secretion capacity from pregnancy to postpartum in pregnant women with impaired glucose tolerance and found similar changes in insulin secretion capacity in both gestational diabetes and pregnant women complicated with type 2 diabetes (T2DM pregnant women), suggesting that low insulin secretion in the third trimester of pregnancy in T2DM pregnant women may worsen postpartum. The results suggest that T2DM pregnant women may have worse glycemic control postpartum if insulin secretion is low in the third trimester of pregnancy.

Gal-9 knockout C57B/5J mice (female) were bred on a high-fat, high-sucrose diet or normal diet, mated with wild-type C57B/5J mice (male), glucose tolerance test was performed at 14 days gestation, and placenta and fetuses were obtained at 18 days. Gal-9 immunostaining and Western blotting of placentas and measurement of blood levels of Gal-9 were performed.

研究分野：内分泌代謝内科学

キーワード：妊娠糖尿病

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

妊娠糖尿病 (gestational diabetes mellitus: GDM) は、全妊婦の約 10% に発症し、GDM は巨大児、流産、早産、肩甲難産などの周産期合併症、母体の産後の糖尿病発症、新生児重症低血糖などの児の分娩時合併症、成長後の肥満、糖尿病発症などの重大な危険因子であり、産後の母体と児の糖尿病発症に関与する重大な危険因子である。また Galectin-9 (gal-9) は T cell immunoglobulin mucin-3 (Tim-3) のリガンドとして活性化 Th1 細胞をアポトーシスへ誘導し、1 型糖尿病、糖尿病性腎症、糸球体腎炎への治療効果が証明されている。GDM 妊婦の末梢血では、炎症性 CD4 陽性 T 細胞の割合が増加していることが報告されており、炎症性 CD4 陽性 T 細胞を抑制することで GDM の発症や重症化を予防できる可能性が示唆される。GDM における耐糖能異常発症機序を明らかにすることは、母体のみならず児の将来の耐糖能異常発症を予防できる可能性があり、我が国における糖尿病患者数を減少させ、国民の健康維持、増進に有益であると考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究では、GDM 妊婦と GDM モデルマウスにおいて gal-9 と GDM 発症との関連を検討すること、Gal-9 ノックアウト C57B/5J マウスを用いた GDM モデルマウスを検討することによって耐糖能異常に対する効果を検討することの 2 点を目標とする。

### 3. 研究の方法

ヒトの妊娠中 (正常妊婦と GDM 妊婦) の gal-9 の血中および胎盤組織中濃度測定の検討: 岡山大学病院へ通院中の妊婦で、75gOGTT を施行し、正常型と診断された妊婦 (NGT 群) 妊娠糖尿病と診断された妊婦 (GDM 群) を研究対象者とする。正常耐糖能 (NGT) 群と GDM 群の体重、血糖、脂質、血清インスリン値などの臨床データを測定するとともに、妊娠経過中および産後 3 カ月までの血中 gal-9 濃度を ELISA で測定し検討する。検体の採取は、妊娠 34 週前後、出産直後、産後 3 ヶ月に 20ml の静脈採血を施行して、フィコール処理にてリンパ球を回収して -150 フリーザーあるいは液体窒素に  $5 \times 10^6$  個 / チューブの細胞数で保存する。またその際に得られる血漿も -80 に保存しておき、gal-9 濃度の測定に用いる。これらのデータと上記の臨床情報を比較検討し、血中 gal-9 濃度と GDM 発症やインスリン抵抗性やインスリン分泌との相関を検討する。また、出産時の胎盤の一部を採取して組織中の gal-9 発現を定量 PCR、ウエスタンブロット、免疫染色で検討し、さらに胎盤組織由来間葉系幹細胞の gal-9 発現と増殖能と分化能との関連を検討する。

Gal-9 ノックアウト C57B/5J マウス (雌) および野生型雌マウスを高脂肪・高蔗糖食もしくは通常食で飼育し、野生型 C57B/5J マウス (雄) と交配し、GDM モデルマウスを作出した。耐糖能を腹腔内糖負荷テストで確認し、GDM モデルマウスの各種臓器における gal-9 の発現検討を行った。

### 4. 研究成果

耐糖能異常妊婦における妊娠後期・分娩直後・産後 2 カ月でのインスリン分泌能の変化について。

インスリン分泌能の低下は 2 型糖尿病発症のリスクとなることが知られており<sup>1,2</sup>、GDM 群 7 例、T2DM 群 5 例において妊娠後期 (35 週)、分娩直後 (5 日間以内)、産後 1-2 カ月の耐糖能指標 (HbA1c、グリコアルブミン、空腹時血糖、空腹時 C ペプチド、空腹時 IRI) を前向きに検討した。結果、GDM 群と比較して、T2DM 群はインスリン治療を必要とする症例が有意に多く、必要総インスリン量も有意に高値であった。GDM 群と T2DM 群は両群ともに C ペプチドインデックス (CPI) は妊娠後期に最も高値となり、分娩直後に半分以下に低下するが、産後に再度上昇した。また、T2DM 群では産後グリコアルブミン値は妊娠後期 CPI/分娩直後 CPI 比に負の相関関係を認め (r = -0.970, p=0.030)。以上より、妊娠前の糖尿病罹患の有無にかかわらず GDM と T2DM は分娩前後で同様の CPI の変動を認め、GDM も産後は糖尿病発症のハイリスクグループとして認識する必要があるとあり、T2DM 妊婦では、妊娠後期の CPI が低値であれば産後の血糖コントロールが悪化する可能性があることが示唆された。

1) Kitabchi AE, et al; Diabetes Prevention Program Research Group. Diabetes. 2005 Aug;54(8):2404-14.

2) Lyssenko V, et al. Diabetes 2005; 54: 166-174.

Gal-9 ノックアウト C57B/5J マウス (雌) を高脂肪・高蔗糖食もしくは通常食で飼育し、

野生型 C57B/5J マウス（雄）と交配して、妊娠 14 日に糖負荷テストを施行し、さらに 18 日間に胎盤と胎仔を得た。Gal-9 の胎盤における免疫染色やウエスタンブロットと、血中濃度の測定を施行した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 渡邊真由
2. 発表標題 耐糖能異常妊婦における妊娠後期・分娩直後・産後2カ月のインスリン分泌変化の検討
3. 学会等名 第37回日本糖尿病・妊娠学会年次学術集会
4. 発表年 2021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
---------	---------