

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 13 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24591611

研究課題名(和文) 発育不全を伴う早産児におけるIGF-Iの役割とrhIGF-I投与に関する検討

研究課題名(英文) Effect of insulin-like growth factor-I in intrauterine growth-restricted preterm infants.

研究代表者

東海林 宏道 (Shoji, Hiromichi)

順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：30365621

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)： 妊娠19日目の母体SDラットに対し、両側子宮動脈を結紮して作成する子宮内発育不全(IUGR)ラットモデルを使用した。生後のラットをIUGR/IGF群：IUGRラットに生後7日から13日までrhIGF-I(2mg/kg)を投与、IUGR/PSS群：IUGRラットに同期間生食を投与、control群：母体に偽手術を施行し出生したラットに同期間生食を投与、の3群に分類したところ、IUGR/IGF群ではIUGR/PSS群、control群に比し、肝臓IGFBP3mRNAの発現が有意に増加した。ヒト早産児の検討では血清IGF-I値がIUGR児の生後の発育不全の予測に有用であることを証明した。

研究成果の概要(英文)： Intrauterine growth restriction was induced by bilateral uterine artery ligation in pregnant rats. IUGR pups were divided into two groups injected daily with rhIGF-I (2mg/kg; IUGR/IGF-I) or saline (IUGR/physiologic saline solution (PSS)) from postnatal day (PND) 7 to 13. Maternal sham-operated pups injected with saline were used as controls (control). Mean bodyweight on PND3 and PND25 in the IUGR pups (IUGR/IGF-I and IUGR/PSS) was significantly lower than that of the control pups. Serum IGF-I and hepatic Igf-ir mRNA in the IUGR pups were significantly lower than those in the control pups. In the IUGR/IGF-I group, hepatic Igfbp3 mRNA and liver immunohistochemical staining were increased. In a human study in preterm infants, IGF-I levels in SGA infants without EUGR were as high as those observed in AGA infants and were significantly different from those in SGA infants with EUGR at 4 and 8 weeks of age.

研究分野：新生児学

キーワード：子宮内発育不全 IGF-1 早産児 極低出生体重児

1. 研究開始当初の背景

子宮内発育不全 (intrauterine growth restriction: IUGR) 児は、神経学的予後及び成長発達予後が不良であるだけでなく、将来の生活習慣病にまで影響することが指摘されている。IGF-I (insulin-like growth factor I) は妊娠後期の胎児発育、胎児～乳児期の脳発育及び乳児期の catch up growth に必要不可欠である。一方、IUGR における血清 IGF-I 低値及び成長ホルモン抵抗性が報告されているが機序は不明である。一方、遺伝子組み換えヒト IGF- (rhIGF-) はインスリン受容体異常症や成長ホルモン抵抗性小人症に対する治療薬であるが、動物実験における rhIGF-I 投与の検討では内因性 IGF- 産生増加、インスリン感受性改善、神経保護作用が報告されている 1)。さらに近年では早産児への投与について pilot study も報告されている 2)。

2. 研究の目的

1) IUGR モデルラットを作成し、rhIGF-I 投与の効果や機序についての検討を行った。

2) IUGR を伴うヒト早産児における出生後発育不全 (extra uterine growth restriction: EUGR) の有無と血清 IGF-I 値との関連について検討した。

3. 研究の方法

1) 妊娠 19 日目の SD ラットに対し吸入麻酔下で両側子宮動静脈を結紮する IUGR モデルを使用した。その後自然経膈分娩で出産させ、以下の 3 群に分類した。IUGR/IGF 群: IUGR ラットに生後 7 日から 13 日に recombinant human (rh) IGF-I (2mg/kg) を投与 (n=16)。IUGR/PSS 群: IUGR ラットに生後 7 日から 13 日に生食 (0.1ml) を投与 (n=16)。Control 群: 偽手術を施行したコントロールラットに生後 7 日から 13 日に生食 (0.1ml) を投与 (n=16)。生後 3 日及び生後 25 日の解剖時に体重測定を行い、生後 25 日に血清中の IGF-I、IGFBP3、IGFBP5 を ELISA で測定し、また肝臓、脳における IGF-I、IGF-IR、IGFBP3、IGFBP5 発現を real time PCR 及び免疫染色で測定した。統計は SPSS による ANOVA 検定を用いた。

2) 当院に入院した在胎 27 週から 31 週の極低出生体重 (VLBW) 児 42 例を対象とし、出生時、生後 2 週、4 週、6 週、8 週時に血清 IGF-1 値を測定した。在胎期間別出生時体格標準値を用いて対象を分類し、出生時の体重が 10 パーセントイル未満の児を SGA、退院時もしくは修正 40 週時の体重が 10 パーセントイル未満の児を EUGR とした。SGA/EUGR 14 例、SGA/非 EUGR 6 例、AGA 22 例に分類し、各群の血清 IGF-1 値の相違について後方視的に検討した。

4. 研究成果

1) 生後 3 日及び生後 25 日の平均体重は、IUGR/IGF 群と IUGR/PSS 群で control 群に比し有意に低値 ($p < 0.01$) であったが、IUGR/IGF 群と IUGR/PSS 群との間に有意差は認めなかった。脳重量は 3 群間で有意差を認めなかった。

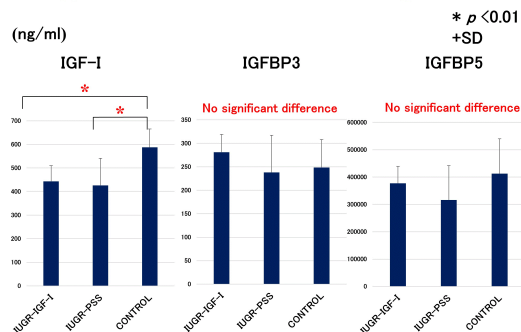
体重・脳重量

		IUGR/IGF-I	IUGR/PSS	CONTROL
PND3	体重	6.83±1.66*	6.42±1.09*	8.56±0.31
	脳重量	1.54±0.16	1.55±0.05	1.55±0.07
PND25	体重	56.51±10.30*	58.66±9.37*	75.19±7.58

* $p < 0.01$
±SD

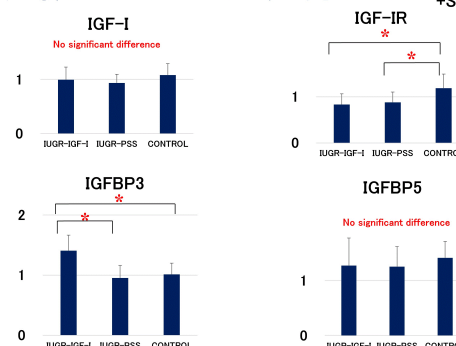
血清 IGF-I 値及び肝臓 IGF-IR mRNA 発現は IUGR/IGF 群と IUGR/PSS 群で control 群に比して有意に低値 ($p < 0.01$) であったが、IUGR/IGF 群と IUGR/PSS 群との間に有意差は認めなかった。

血清 IGF-I・IGFBP3・IGFBP5 値 (PND25)



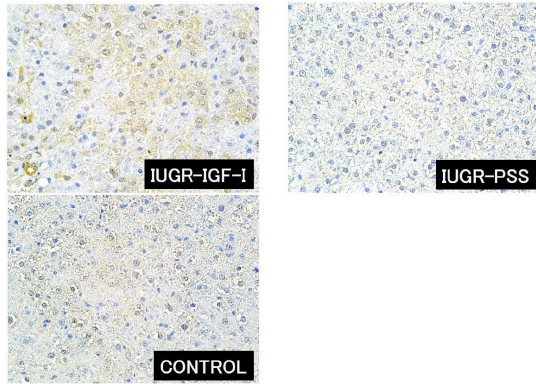
肝臓 IGF-I 及び IGFBP5 mRNA 発現は 3 群間で有意差を認めなかった。一方で肝臓 IGFBP3 mRNA 発現は IUGR/IGF 群で IUGR/PSS 群、control 群に比し有意に増加していた ($p < 0.01$)。

肝臓における IGFs 発現 (PND25) * $p < 0.01$ +SD



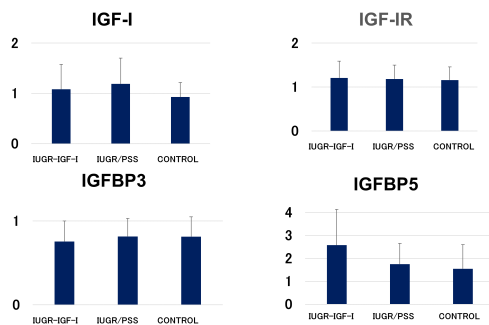
肝臓における IGFBP3 免疫染色においても同様の結果であった。

肝臓: IGFBP3免疫染色(X400)



脳における IGFs は 3 群間で有意差を認めなかった。

脳における IGFs 発現 (PND25) +SD

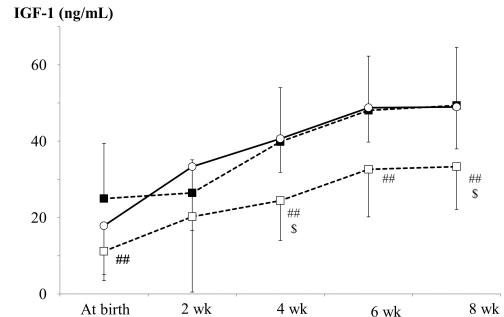


2) SGA/EUGR 群 14 例、SGA/非 EUGR 群 6 例、AGA 群 22 例の臨床情報を以下の表に示す。

	AGA	SGA	SGA/no EUGR	SGA/EUGR	
N (male/female)	22 (11/11)	20 (11/9)	6 (4/2)	14 (7/7)	
Gestational age (wk)	29.3 ± 1.3	30.1 ± 1.0	30.6 ± 1.1	# 29.8 ± 0.9	
At birth	Weight (g)	1226.6 ± 149.2	902.3 ± 228.2	** 1110.8 ± 223.0	812.9 ± 168.2
	Height (cm)	37.5 ± 2.1	34.8 ± 2.7	** 36.3 ± 2.8	34.2 ± 2.5
	Head circumference (cm)	26.9 ± 1.03	25.6 ± 2.13	* 27.2 ± 2.7	24.9 ± 1.5
8 weeks	Weight (g)	2434.2 ± 284.0	1918.4 ± 424.4	** 2244.5 ± 421.5	1778.6 ± 353.2
	Height (cm)	45.2 ± 2.2	42.2 ± 3.0	** 44.4 ± 2.8	41.3 ± 2.7
	Head circumference (cm)	34.0 ± 1.5	33.1 ± 1.5	34.0 ± 1.3	32.7 ± 1.4
PCA 40 weeks	Weight (g)	2959.1 ± 404.4	2369.7 ± 437.1	** 2789.2 ± 268.1	2189.9 ± 368.2
	Height (cm)	47.1 ± 1.9	44.2 ± 3.0	** 47.0 ± 1.5	42.8 ± 2.6
	Head circumference (cm)	34.0 ± 1.5	33.1 ± 1.5	34.0 ± 1.3	32.7 ± 1.4
Mother's age (years)	31.6 ± 4.6	32.3 ± 4.4	31.2 ± 4.7	32.8 ± 4.3	
Mother's BMI (kg/m ²)	20.0 ± 2.2	19.7 ± 1.5	19.8 ± 1.6	19.6 ± 1.5	
Age at feeds > 100 ml/kg/day (days)	8.2 ± 3.7	9.9 ± 6.5	7.3 ± 3.0	10.9 ± 7.3	
Period of parenteral nutrition (days)	10.1 ± 3.9	15.9 ± 15.3	9.3 ± 3.7	18.7 ± 17.6	
Oxygen dependency at 36 weeks of PMA	1	2	2	0	
Ventilation period (days)	3.3 ± 3.0	7.3 ± 13.0	3.7 ± 5.2	8.9 ± 15.1	
IVH (≥grade III)	0	0	0	0	

\$P < 0.05\$, \$\$P < 0.01\$ SGA/EUGR vs. SGA/ no EUGR, #P < 0.05, ##P < 0.01 AGA vs. SGA/ no EUGR.

出生時、SGA/非 EUGR 群と SGA/EUGR との間で血清 IGF-1 値に有意差を認めなかった。しかし生後 4 から 8 週の間では、SGA/非 EUGR 群の血清 IGF-1 値は AGA 群と同レベルであり、SGA/EUGR 群と比べ有意に高値であった。



\$P < 0.05\$ SGA/EUGR vs. SGA/ no EUGR, ##P < 0.01 AGA vs. SGA/ no EUGR.

また、全 42 症例の各ポイントの IGF-1 値と、同じポイントの身長および体重との間には有意な相関関係を認めた。

	At birth		2 wk		4 wk		6 wk		8 wk	
IGF-1	BW	BL	BW	BL	BW	BL	BW	BL	BW	BL
	0.49**	0.28	0.68**	0.76**	0.86**	0.59**	0.54**	0.60**		

**P < 0.01

【考察・結論】

1) 妊娠ラットの子宮動脈結紮による IUGR モデルを使用した今回の検討結果において、IUGR ラットは生後 25 日においても体重が catch-up しておらず、その原因として血清 IGF-1 及び肝臓 IGF-1R mRNA 発現の低下が持続しているためと考えられた。一方で、肝臓 IGF-1 mRNA 発現量は control 群と差を認めず、生後 25 日は胎児期の血流遮断による影響からの回復過程にあると考えられた。IUGR ラットに対する生後 7 日から 13 日にかけての 2mg/kg rhIGF-1 投与では、体重の catch-up 効果は認めなかった。つまり肝臓 IGF-1R mRNA 発現低下が持続している状況下での外因的 IGF-1 補充では、成長への効果がみられないものと推察された。一方、rhIGF-1 投与による肝臓 IGFBP3 mRNA 発現の増加が認められ、これまで in vitro の研究で報告されていた IGF-1 添加による IGFBP3 産生増加が今回の in vivo の検討モデルでも証明された。

2) SGA を伴う VLBW 児において、生後 8 週間の血清 IGF-1 値は出生後の catch-up growth に関連していることが示唆された。血清 IGF-1 値のモニタリングは、NICU 入院中の VLBW 児における EUGR の予測に有用と考えられた。

両検討ともに、今後 EUGR 防止目的に早産児に対する rhIGF-1 投与が必要かどうかを検討するにあたり、重要な基礎データとなると思われた。

【参考文献】

- 1) Saukkonen T, Shojaee-Moradie F, Williams RM, Amin R, Yuen KC, Watts A, Acerini CL, Umpleby AM, Dunger DB. Effects of recombinant human IGF-1/IGF-binding protein-3 complex on glucose and glycerol metabolism in type 1 diabetes. *Diabetes*. 55:2365-70, 2006.
- 2) Löfqvist C, Niklasson A, Engström E, Friberg LE, Camacho-Hübner C, Ley D, Borg J, Smith LE, Hellström A. A pharmacokinetic and dosing study of intravenous insulin-like growth factor-1 and IGF-binding protein-3 complex to preterm infants. *Pediatr Res*. 65:574-9, 2009.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Ikeda N, Shoji H, Suganuma H, Ohkawa N, Kantake M, Murano Y, Sakuraya K, Shimizu T. Effect of insulin-like growth factor-I during the early postnatal period in intrauterine growth-restricted rats. *Pediatr Int*. 58:353-8, 2016.

Ohkawa N, Shoji H, Ikeda N, Suganuma H, Shimizu T. Relationship between IGF-1, leptin, and ghrelin levels and catch-up growth in small for gestational age infants of 27–31 weeks during neonatal intensive care unit admission. *J Pediatr Child Her in press*.

〔学会発表〕(計 1 件)

池田奈帆、大川夏紀、菅沼広樹、東海林宏道、清水俊明. 子宮内胎児発育不全 (IUGR) モデルラットにおける IGF-I 補充療法が与える影響. 日本周産期新生児医学会学術集会, 2014.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

東海林 宏道 (SHOJI, Hiromichi)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：30365621

(2) 研究分担者

清水 俊明 (SHIMIZU, Toshiaki)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：30260889

奥村 彰久 (OKUMURA, Akihisa)

順天堂大学・医学部・客員准教授

研究者番号：60303624