

120

胎児発育におけるIGFBP-1の燐酸化の意義の研究

課題番号06671692

平成6年度～平成7年度文部省科学研究費補助金
(一般研究C) 研究報告書



平成9年3月

研究代表者 **岩下光利**

(東京女子医科大学医学部母子総合医療センター教授)

7
2
2

はしがき

平成6年度～平成7年の2年間にわたり「胎児発育におけるIGFBP-1の磷酸化の意義の研究」に対し、文部省科学研究費補助金（一般研究C）の交付を受けた。ここに研究成果を報告する。

研究組織

研究代表者：岩下光利 東京女子医科大学医学部 教授

研究分担者：工藤美樹 東京女子医科大学医学部 講師

研究分担者：酒井啓治 東京女子医科大学医学部 助手

研究経費

平成6年度 1,200 千円

平成7年度 500 千円

計 1,700 千円

研究発表

1. 学会誌等

- 1) 工藤美樹、岩下光利、武田佳彦：IUGRの病態解明、病態生理 13：484-486、1994.
- 2) M. Iwashita, T. Adachi, E. Katayama, Y. Kudo, Y. Takeda: Regulation and physiological role of insulin-like-growth-factor-binding protein -1 in human granulosa cells. Horm. Res. 41:22-28, 1994.
- 3) 岩下光利、武田佳彦：IGF-Iと胎児発育、医学のあゆみ171：611-614、1994.
- 4) 武田佳彦、岩下光利、工藤美樹：ラット胎仔肝よりのIGFBP-1分泌に及ぼすアミノ酸の影響、産婦人科治療 68：489、1994.
- 5) 岩下光利：胎児発育・成熟におけるIGF-Iとその結合蛋白の意義-特に脱落膜/胎盤局所の調節と発育・成熟に伴う細胞内代謝機構の発現への関与について- 日本産科婦人科学会雑誌 46：659-715、1994.
- 6) 岩下光利、武田佳彦：胎児発育と成長因子、ペリネイタルケア 165：81-86、1995.
- 7) 岩下光利、武田佳彦：胎児発育とIGF 内分泌・糖尿病科 1：459-468、1995.
- 8) 岩下光利、武田佳彦：IGF-Iと胎児発育 HORMONE FRONTIER 2：57-61、1995.
- 9) 小林万利子、工藤美樹、岩下光利、武田佳彦：胎仔発育障害におけるIGF-Iとその結合蛋白の動態と栄養因子による調節機序の解析 日本産科婦人科栄養・代謝研究会誌 1：42-43、1995.
- 10) 森晃、岩下光利、武田佳彦：IUGR産婦人科の実際 44:1703-1708、1995.

2. 口頭発表

- 1) 岩下光利：胎児発育とIGF-I第1回新生児医療研修会 1994. 8. 27.
- 2) 小林万利子、工藤美樹、中山摂子、網野幸子、酒井啓治、岩下光利、武田佳彦；胎仔発育障害におけるIGF-Iとその結合蛋白の動態と栄養因子による調節機序の解析 第46回日本産科婦人科学会学術講演会 1994. 4. 11.
- 3) 大久保由美子、肥塚直美、岩下光利、高野加寿恵、安本久美子、福田いずみ、下條千

佳、鎮目和夫、鈴木智子、出村博：胎児発育に及ぼすIGF、IGF結合蛋白に関する検討
第67回日本内分泌学会総会 1994. 6. 1.

- 4) 酒井啓治、中山摂子、岩下光利、小林万利子、工藤美樹、安達知子、武田佳彦：IGF結合蛋白-1の磷酸化異性体の胎児発育における意義 第67回日本内分泌学会総会 1994. 6. 1.
- 5) 中谷晃、重松和人、入江準二、河合紀生子、岩下光利、宮本勉：妊娠ラット子宮・胎盤におけるIGFBPsの発現部位の検索 第67回日本内分泌学会総会 1994. 6. 1.
- 6) 網野幸子、岩下光利、武田佳彦：胎盤と脱落膜におけるIGF結合蛋白の発現と局在-免疫組織染色法による解析 第67回日本内分泌学会総会 1994. 6.3.
- 7) 大久保由美子、肥塚直美、安本久美子、福田いずみ、高野加寿恵、岩下光利、鎮目和夫、出村博：血糖調節とIGFBP-1 第67回日本内分泌学会秋季大会 1994.11.17.
- 8) Y. Ohkubo, N. Hizuka, M. Iwashita, K. Takano, K. Asakawa-Yasumoto, I. Fukuda, T. Suzuki, H. Demura, C. Shimojoh and K. Shizume: Insulin-like growth factor binding protein 2 in fetal cord serum inversely correlated with birth weight. 76th Annual Meeting The Endocrine Society, 1994. 6. 16.
- 9) T. Mimuro, M. Iwashita, Y. Kudo and Y. Takeda: Effect of insulin-like growth factor-1 (IGF-I) on transplacental transfer of amino acid to fetus. 1st International Meeting of World Placenta Associations 1994. 10. 26-27.
- 10) K. Sakai, M. Iwashita, S. Nakayama and Y. Takeda: Physiological significance of phosphorylated isomers of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) in fetal growth. XIV FIGO World Congress 1994. 9. 26.
- 11) M. Kobayashi, Y. Kudo, M. Iwashita and Y. Takeda: Regulation of IGF-binding protein-1 production by nutrients in rat fetal liver. XIV FIGO World Congress 1994. 9. 26.
- 12) M. Iwashita, Y. Kudo and Y. Takeda: Role of insulin-like growth factor-1 (IGF-I) and IGF-binding protein-1 (BP-1) in pathogenesis of IUGR. Seminar Intrauterine growth retardation. XIV FIGO World Congress 1994. 9. 28.
- 13) 岩下光利、工藤美樹、酒井啓治、武田佳彦：脱落膜からのIGF結合蛋白およびそのプロテアーゼ分泌の胎盤ホルモンによる調節 第2回日本胎盤研究会 1994. 11. 10.
- 14) 網野幸子、岩下光利、武田佳彦：胎盤におけるIGF結合蛋白の局在-免疫組織染色法による解析 第2回日本胎盤研究会 1994. 11. 10.

- 15) 小林万利子、工藤美樹、岩下光利、武田佳彦：胎仔発育障害におけるIGF-Iとその結合蛋白の動態と栄養因子による調節機序の解析 第18回日本産婦人科栄養・代謝研究会
- 16) M. Iwashita, K. Sakai, Y. Kudo, Y. Takeda: Phosphoisomers of IGFBP-1 during pregnancy 77th Annual Meeting of Endocrine Society 1995. 6. 16.
- 17) 酒井啓治、岩下光利、工藤美樹、武田佳彦：胎児IGF結合蛋白-1燐酸化異性体の胎児発育における意義の研究 第47回日本産科婦人科学会学術講演会 1995. 4.24.
- 18) Y. Takeda, Y. Kudo, A. Mori, M. Iwashita: Phosphoisomers of IGFBP-1 during pregnancy. Fetus as patients 1995.5.17.
- 19) 酒井啓治、岩下光利、森晃、中林正雄、武田佳彦：IUGR胎児およびその母体におけるIGF結合蛋白-1の動態 日本新生児学会 1995.5.16.
- 20) 小林万利子、工藤美樹、岩下光利、武田佳彦：ラット胎仔肝細胞におけるIGF-Iによるアミノ酸輸送の調節 第48回日本産科婦人科学会総会 1996.4.8.
- 21) J. Yu, M. Iwashita, Y. Kudo, Y. Takeda: Effect of insulin-like growth factor binding protein-1 phosphoisomers on IGF-I-induced amino acid uptake by trophoblast cells. 第48回日本産科婦人科学会総会 1996.4.8.
- 22) 原誠、岩下光利、安達知子、工藤美樹、小野寺潤子、武田佳彦：卵胞発育におけるIGF結合蛋白プロテアーゼの意義 第48回日本産科婦人科学会総会 1996.4.8.
- 23) M. Iwashita: Role of IGFs in fetal development. The 8th Tokyo Symposium on Growth Hormone and Related Factors 2.17.1996.
- 24) T. Hasegawa, Y. Hasegawa, M. Takeda, Y. Tsuchiya, M. Iwashita: Increased free form of insulin-like growth factor-I in circulation throughout normal human pregnancy. The 8th Tokyo Symposium on Growth Hormone and Related Factors 2.17.1996.
- 25) J. Yu, M. Iwashita, Y. Kudo, Y. Takeda: Effect of IGFBP-1 phosphoisomers on IGF-I-induced amino acid uptake by trophoblast cells. The 8th Tokyo Symposium on Growth Hormone and Related Factors 2.17.1996., Yokohama
- 26) M. Iwashita: IUGR-intrauterine treatment. Recent advances in perinatal medicine 1996. 3. 5. Erice, Italy

3. 出版物

- 1) 工藤美樹、岩下光利、武田佳彦：胎児発育異常と成長因子、104-114、胎児発育・成熟とその異常、図説産婦人科view 9、メジカルビュー社、1994.
- 2) 岩下光利、武田佳彦：胎児発育とIGF結合蛋白 図説産婦人科View 15、168-180、メジカルビュー社、1995.
- 3) 武田佳彦、岩下光利：妊婦の栄養管理と胎児発育 臨床新生児栄養学 16-21. 金原出版、1996.
- 4) 岩下光利：IGF受容体とIGF結合蛋白(IGFBP)発生と成長因子・ホルモン、ホルモンの分子生物学6 25-40、学会出版センター 1996.

研究成果

要約

1. 胎仔血中磷酸化IGFBP-1の発現

妊娠ラットを妊娠12日、15日、17日、19日目で屠殺し、胎仔血の磷酸化・非磷酸化IGFBP-1をHPLCのイオン交換クロマトグラフィーで分離すると、1つの非磷酸化と4つの磷酸化IGFBP-1のピークが同定された。同じく、正常満期産児と満期産胎内発育遅延児の臍帯血中磷酸化IGFBP-1を解析すると、ラット胎仔と同じく、1つの非磷酸化と4つの磷酸化IGFBP-1が認められ、磷酸化IGFBP-1の比率が胎内発育遅延児では増加しており、ラットと同じくヒトでも胎児発育に磷酸化IGFBP-1が関与していることが推測された。

2. 胎内発育遅延ラット胎仔における磷酸化IGFBP-1の発現

妊娠ラット母体を飢餓にして胎内発育遅延胎仔を作成し、胎仔血中の磷酸化・非磷酸化IGFBP-1を上記の方法で解析し、正常発育胎仔と比較した。その結果、磷酸化IGFBP-1の比率が胎内発育遅延胎仔では増加しており、胎仔発育に磷酸化IGFBP-1が関与していることが推測された。

3. 磷酸化・非磷酸化IGFBP-1のIGF-Iに対する結合親和性の検討

羊水中の磷酸化・非磷酸化IGFBP-1を上記のイオン交換クロマトグラフィーで分離し、これを用いてIGF-Iの結合阻止実験からIGF-Iに対する結合親和性を解析すると、磷酸化IGFBP-1は非磷酸化型より数倍IGF-Iに対する親和性が高いことが明らかとなった。この結果、磷酸化IGFBP-1のIGF-Iに対する親和性はIGF-Iの受容体に対する親和性より高く、一方、非磷酸化IGFBP-1のIGF-Iに対する親和性は受容体に対する親和性と等しいことが確認された。

4. 磷酸化・非磷酸化IGFBP-1のIGF-I作用に対する影響の検討

満期産胎盤絨毛細胞培養系に磷酸化IGFBP-1とIGF-Iを同時に添加すると、IGF-Iのアミノ酸取り込み促進作用が抑制されたが、反対に非磷酸化IGFBP-1とIGF-Iの同時添加ではIGF-Iの作用が促進された。このことより、磷酸化と非磷酸化IGFBP-1はその生化学的性質が異なるだけでなく、IGF-Iに対する作用もまったく異なることが明らかとなった。

胎仔血中磷酸化IGFBP-1の発現、胎内発育遅延ラット胎仔における磷酸化IGFBP-1

の発現、磷酸化・非磷酸化IGFBP-1のIGF-Iに対する結合親和性の検討、磷酸化・非磷酸化IGFBP-1のIGF-I作用に対する影響の検討の4つの主要研究計画に対し、いずれも成果が得られた。すなわち、ラット胎仔、臍帯血において1つの非磷酸化と4つの磷酸化IGFBP-1が認められ、磷酸化IGFBP-1の比率が胎内发育遅延児では増加していることを確認した。磷酸化IGFBP-1は非磷酸化型より数倍IGF-Iに対する親和性が高いことが明らかとなった。この結果、磷酸化IGFBP-1のIGF-Iに対する親和性はIGF-Iの受容体に対する親和性より高く、一方、非磷酸化IGFBP-1のIGF-Iに対する親和性は受容体に対する親和性と等しいことが確認された。また、磷酸化IGFBP-1はIGF-Iの作用を抑制するのに対し、非磷酸化IGFBP-1は逆に促進することが明らかとなった。