

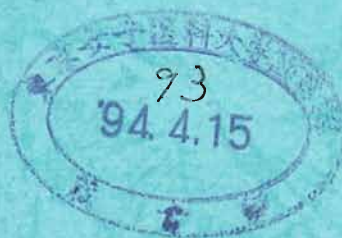
胎児発育における IGF-I および IGF 結合蛋白の
生理学的意義の研究

(課題番号 03670800)

平成5年度科学研究費補助金

(一般研究C) 研究成果報告書

平成6年2月



研究代表者 岩下光利
(東京女子医科大学医学部助教授)

はしがき

平成3年～5年の3年間にわたり「胎児発育におけるIGF-IおよびIGF結合蛋白の生理学的意義の研究」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助教授)

研究分担者：安達知子(東京女子医科大学医学部講師)

研究分担者：三室卓久(東京女子医科大学医学部助手)

研究経費

平成3年度	1300千円
平成4年度	400千円
平成5年度	400千円
計	2100千円

研究発表

(1)学会誌等

- 1) 安達知子、岩下光利、渡辺正子、武田佳彦、坂元正一
胎仔、胎盤發育におよぼす母体IGF-Iの影響
日本内分泌学会誌67:636-644, 1991.
- 2) 岩下光利
Insulin-like growth factor-I (IGF-I) の胎盤に対する生物
作用とその調節機序
産婦人科治療 62:76, 1991.
- 3) N. Hizuka, K. Takano, K. Asakawa, I. Sukegawa, I.
Fukuda, H. Demura, M. Iwashita, T. Adachi and K.
Shizume
Measurement of free form of insulin-like growth factor
I in human plasma
Growth regulation 1:51-55, 1991.
- 4) 岩下光利
胎児發育におけるIGF-Iの意義およびその調節機序
日本新生児学会雑誌 27:764-768, 1991.
- 5) 岩下光利、三室卓久、中山摂子、武田佳彦、坂元正一
Insulin-like growth factor-I(IGF-I)の胎児發育における生
理学的意義
産婦人科の世界 44:3-9, 1992.
- 6) 岩下光利、瀬戸山啄也、松尾明美、三室卓久、安達知子、
中山摂子、武田佳彦、坂元正一
胎盤の内分泌調節
産婦人科治療 64:560-567, 1992.
- 7) M. Iwashita, M. Kobayashi, A. Matsuo, S. Nakayama,
T. Mimuro, Y. Takeda and S. Sakamoto
Feto-maternal interaction of IGF-I and its binding
proteins in fetal growth.
Early Human Development 29:187-191, 1992.

- 8) 岩下光利、坂元正一、中山摂子、三室卓久、渡辺正子、安達知子、武田佳彦、安井修司、永井厚志
IGF-Iとその結合蛋白の胎仔発育および胚成熟にあたる影響
日本界面医学会雑誌 23:69-71, 1992.
- 9) 岩下光利、武田佳彦
IGFと生殖内分泌
ホルモンと臨床 41:17-22, 1993.
- 10) 岩下光利
Current research 妊娠におけるIGF-Iの意義
臨床婦人科産科 47:885-893, 1993.
- 11) 岩下光利、工藤美樹、武田佳彦
生殖内分泌領域におけるInsulin-like growth factor (IGF)とその結合蛋白の意義
産婦人科の実際 42:1841-1846, 1993.
- 12) 工藤美樹、岩下光利、武田佳彦
IUGRの発症機転と成長因子
臨床婦人科産科 47:1291-1293, 1993.
- 13) Y. Takeda, M. Iwashita
Role of growth factors on fetal growth and maturation.
Annals Acad Med 22:134-141, 1993.
- 14) T. Okajima, M. Iwashita, Y. Takeda, S. Sakamoto, T. Tanabe, T. Yasuda, RG, Rosenfeld
Inhibitory effects of insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins-1 and -3 on IGF-activated glucose consumption in mouse BALB/c 3T3 fibroblasts.
J Endocrinol 136:457-470, 1993.

(2)口頭発表

- 1) 岩下光利、三室卓久、武田佳彦、坂元正一
Insulin-like growth factor I (IGF-I)の胎児発育における生理学的意義
ワークショップ、第15回産婦人科栄養・代謝研究会、神戸、1991. 8. 25

- 2) 岩下光利
胎児発育におけるIGF-Iの意義およびその調節機序
教育講演、第27回新生児学会 東京、1991. 7.7
- 3) 中山摂子、岩下光利、松尾明美、瀬戸山琢也、吉井大介、
安達知子、武田佳彦、坂元正一
胎児発育および成熟におよぼすIGF結合蛋白の生理学的意義
第43回日本産科婦人科学会総会 京都、1991. 3.25.
- 4) 三室卓久、岩下光利、安達知子、吉井大介、菖蒲由美子、
小林万利子、武田佳彦、坂元正一
胎盤細胞の物質輸送に及ぼすIGF-Iの効果
第43回日本産科婦人科学会総会 京都、1991. 3.25.
- 5) 岩下光利、中山摂子、三室卓久、渡辺正子、安達知子、武
田佳彦、安井修司、永井厚志
IGF-Iとその結合蛋白の胎仔発育および肺成熟にあたる影
響
第26回日本界面医学会 東京、1991. 10.19.
- 6) S. Nakayama, M. Iwashita, T. Mimuro, T. Adachi, M.
Watanabe, S. Yasui, A. Nagai, Y. Takeda and S.
Sakamoto
Effect of neutralization of IGF-I and IGFBP-1 on fetal
development in mice.
2nd International Symposium on insulin-like growth
factors/somatomedins San Francisco, 1991. 1.13.
- 7) T. Mimuro, M. Iwashita, T. Adachi, M. Watanabe, S.
Nakayama, Y. Takeda and S. Sakamoto
Effect of IGF-I on amino acid and glucose transport by
cultured trophoblast cells.
2nd International Symposium on insulin-like growth
factors/somatomedins San Francisco, 1991. 1.13.
- 8) M. Iwashita
Feto-maternal interaction of IGF-I and its binding
proteins in fetal growth: Symposium in Evaluation of
fetal growth and development.
First International Congress of Perinatal Medicine,
Tokyo, 1991. 11. 6.

- 9) T. Mimuro, M. Iwashita, M. Kobayashi, A. Matsuo, S. Nakayama, T. Adachi, Y. Takeda, S. Sakamoto
Physiological significance of IGF-I on nutrients transfer to the fetus.
First International Congress of Perinatal Medicine, Tokyo, 1991. 11. 7.
- 10) S. Nakayama, M. Iwashita, T. Mimuro, M. Watanabe, T. Adachi, Y. Takeda, S. Sakamoto, S. Yasui and A. Nagai.
Physiological significance of IGF-I and its binding protein on fetal growth and maturation.
First International Congress of Perinatal Medicine, Tokyo, 1991. 11. 6.
- 11) 三室卓久、岩下光利、安達知子、工藤美樹、小林万利子、武田佳彦、坂元正一
IGF-IとIGF結合蛋白による母体から胎仔への物質輸送の動的解析
第16回日本産科婦人科栄養・代謝研究会 札幌、1992. 8. 22.
- 12) M. Watanabe, M. Iwashita, T. Mimuro, S. Nakayama, Y. Takeda, S. Sakamoto
Physiological significance of growth factors on fetal growth in mice.
Ninth International Congress of Endocrinology Nice, 1992.9.1.
- 13) Y. Kudo, M. Iwashita, M. Kobayashi, A. Matsuo, Y. Takeda, S. Sakamoto
The levels of IGF and its binding protein in cord serum from maternal diabetes.
Ninth International Congress of Endocrinology Nice, 1992.9.3.
- 14) M. Iwashita, S. Nakayama, Y. Takeda, S. Sakamoto
Insulin-like growth factor binding proteins in cord sera:analysis by western blot.
Ninth International Congress of Endocrinology Nice, 1992.9.3.

- 15) M. Iwashita
Growth factors in IUGR
Second Scientific Meeting "Critical Review of Perinatal Care" Singapore, 1992 10.24.
- 16) 網野幸子、岩下光利、松尾明美、小林万利子、武田佳彦、坂元正一、肥塚直美、高野加寿恵
妊娠中の母体血中IGFの動態
第65回日本内分泌学会総会 徳島、1992. 5.29.
- 17) 松尾明美、岩下光利、小林万利子、武田佳彦、坂元正一、肥塚直美、高野加寿恵
妊娠中の母体血中IGF結合蛋白の動態
第65回日本内分泌学会総会 徳島、1992. 5.29.
- 18) 小林万利子、岩下光利、松尾明美、武田佳彦、坂元正一、清水明実、大森安恵
糖尿病母体におけるIGF-IとIGF結合蛋白の動態
第65回日本内分泌学会総会 徳島、1992. 5.29.
- 19) 中山摂子、岩下光利、松尾明美、小林万利子、武田佳彦、坂元正一
胎児におけるIGF-Iとその結合蛋白の胎児発育への意義
第65回日本内分泌学会総会 徳島、1992. 5.29.
- 20) 三室卓久、岩下光利、安達知子、工藤美樹、小林万利子、武田佳彦、坂元正一
IGF-IとIGF結合蛋白による母体から胎仔への物質輸送の動的解析
第65回日本内分泌学会総会 徳島、1992. 5.30.
- 21) 岩下光利、坂元正一、中山摂子、松尾明美、武田佳彦、加藤幸雄
飢餓ラットの胎仔IGFとIGF結合蛋白の動態
第65回日本内分泌学会総会 徳島、1992. 5.30.
- 22) 母体血中IGF結合蛋白に対するプロテアーゼの解析
安達知子、岩下光利、中山摂子、武田佳彦、坂元正一
第65回日本内分泌学会総会 徳島、1992. 5.30.

- 23) 工藤美樹、岩下光利、松尾明美、武田佳彦、坂元正一、清水明実、大森安恵、肥塚直美、高野加寿恵
糖尿病母体より出生した胎児血中IGFとIGF結合蛋白の動態
第65回日本内分泌学会総会 徳島、1992. 530.
- 24) 長谷川泰延、長谷川行洋、土屋裕、岩下光利
臍帯血および新生児早期の血中IGF結合蛋白2,3(IGFBP-2, 3)
第65回日本内分泌学会総会 徳島、1992. 530.
- 25) 松尾明美、岩下光利、工藤美樹、安達知子、武田佳彦
脱落膜からのIGF結合蛋白分泌に及ぼす糖の影響
第66回日本内分泌学会 金沢、1993.6.3.
- 26) A. Matsuo, M. Iwashita, Y. Kudo, Y. Takeda
Regulation of IGF-binding protein production in decidua by nutritional factors.
VIIIth World Congress on Human reproduction
Bali, Indonesia 1993.4.5.
- 27) M. Kobayashi, Y. Kudo, M. Iwashita, Y. Takeda
The effects of nutrients on IGF and IGFBP production in rat hepatocyte monolayer culture.
2nd World Congress of Perinatal Medicine Rome
1993.9.2.
- 28) S. Nakayama, M. Iwashita, T. Mimuro, Y. Takeda
Role of IGF in the pathogenesis of IUGR.
2nd World Congress of Perinatal Medicine Rome
1993.9.21.

(3) 出版物

- 1) M. Iwashita, M. Kobayashi, A. Matsuo, S. Nakayama, T. Mimuro, Y. Takeda and S. Sakamoto
Feto-maternal interaction of IGF-I and its binding proteins in fetal growth.
in Advances in perinatal medicine, S. Sakamoto, Y. Takeda (Eds) Excerpta Medica p.187-191, 1992.

- 2) M. Iwashita, Y. Takeda
Physiological roles of insulin-like growth factor-1
(IGF-I) in the placenta.
Fourth Lake Shirakaba Placenta Conference, Eds; T.
Nakayama, T. Makino p. 61-68, 1992.

研究成果のまとめ

1. 母体および胎児血中IGF-I,IGFBPと胎児発育との相関およびこれらの物質の他のホルモンとの相関関係の検討
2. 胎盤絨毛細胞系におけるアミノ酸および糖取り込みに与えるIGF-IとIGFBP-1の影響
3. 妊娠マウス母体への抗IGF-I抗体および抗IGFBP-1抗体投与時の胎仔への栄養移送の検討
4. 胎児血中IGF結合蛋白のligand blotによる解析

1. 母体および胎児血中IGF-I,IGFBPと胎児発育との相関およびこれらの物質の他のホルモンとの相関関係の検討

母体のIGF-Iは妊娠初期より上昇し末期ではさらに増加するが、産褥期早期に非妊時以下のレベルにまで低下する。IGF-Iは内分泌と栄養因子の双方により制御されているが、非妊時のIGF-Iの最も大きな制御因子は下垂体の成長ホルモン（GH）である。しかし、母体のGHとIGF-Iには妊娠中は相関が見られず、一方、胎盤のhuman placental lactogen（hPL）とIGF-I値には弱いながら相関がみられる。以上より、妊娠時の母体のIGF-Iは視床下部・下垂体の制御系から胎盤による制御系に移行することが示唆される。母体のIGF結合蛋白の動態もIGF-I同様、非妊時とは大きく異なる。IGFBP-1の免疫活性は妊娠初期より上昇し、妊娠中期には非妊時のレベルの10倍以上となる。IGFBP-3の免疫活性も妊娠初期から末期にかけて徐々に増加し、妊娠末期には初期の約2倍となる。IGFBP-3の最大の産生臓器は肝臓であり、IGFBP-3はGH依存性に血中に増加することが分かっている。ところが、母体のGHとIGFBP-3には相関が見られず、IGF-Iと同じくhPLとの間に弱い相関を認める。従って、IGFBP-3も妊娠中は下垂体でなく胎盤の制御を受けるようになると考えられる。妊娠24～36週の母体のIGF-I値と出生時児体重は相関し、同じくIGFBP-1値と出生時児体重は逆相関する。IGF-Iは胎盤通過性がないため、母体のIGF-Iが胎児発育に参与する機構としては胎盤の栄養輸送を介してであろうと推測される。

妊娠中期から後期にかけての胎児血中IGF-Iは母体のIGF-Iの1/10以下の低値ではあるが、妊娠週数と共に増加していく。さらに、満期産の臍帯血中IGF-Iとpercentile birth weightとの間には母体のIGF-Iと同様に相関を認める。妊娠中期以降の臍帯血中IGFBP-1値は母体と比較して非常に高値であり、妊娠週数と共に減少していく。また、満期産の臍帯血中IGFBP-Iと

percentile birth weightとの間には母体と同じく負の相関を認める。以上より、母体と同じく胎児のIGF-Iは胎児発育に促進的に、IGFBP-1は抑制的に作用していると考えられる。ただし、胎児の低IGF-I・高IGFBP-1という状態と驚異的な胎児発育との間には矛盾があり、胎児のIGF-I・IGFBP系による胎児発育機序は、母体とは異なっている可能性が示唆される。

2. 胎盤絨毛細胞系におけるアミノ酸および糖取り込みに与えるIGF-IとIGFBP-1の影響

満期産の胎盤絨毛細胞培養系を用いて、 ^3H -glycineの取り込みを見ると、IGF-Iは ^3H -glycineの取り込みを用量依存性に促進するのが見られる。同様に、IGF-Iは非代謝性の ^3H -2-deoxy-D-glucoseの取り込みも促進する。また、細胞を非代謝性アミノ酸である ^3H - α aminoisobutyric acid (AIB)や ^3H -2-deoxy-D-glucoseで絨毛細胞を飽和しておきIGF-Iを添加すると、培養液中へのこれらの物質の放出が促進される。以上より、IGF-Iは胎盤細胞へのアミノ酸と糖の取り込みを促進し、さらに、取り込まれたこれらの物質の細胞からの放出にも関与していることが示唆される。IGF-Iによる ^3H -glycineの胎盤絨毛細胞への取り込みの実験系に、IGF-Iと同時にIGFBP-1を添加すると、IGFBP-1は用量依存性にIGF-Iのグリシン取り込みを抑制していく。さらに、胎盤の30000g膜分画を用いたIGF-Iのラジオレセプターアッセイ系に ^{125}I -IGF-Iと同時にIGFBP-1を添加すると、IGFBP-1は用量依存性にIGF-Iのレセプターへの結合を抑制する。このことより、母体のIGFBP-1はIGF-Iが胎盤のレセプターに結合するのを抑制することによりIGF-Iの作用を抑制し、胎児発育に抑制的に作用すると考えられる。

3. 妊娠マウス母体への抗IGF-I抗体および抗IGFBP-1抗体投与時の胎仔への栄養移送の検討

IGF-Iは胎盤における物質輸送に影響を与えることが確かめられたが、この作用をさらに詳細に解析するため妊娠マウスを用いてin vivoにおけるIGF-Iの作用を検討した。妊娠マウス母体にDay14から17まで抗IGF-I抗体を投与し母体のIGF-Iを中和すると、Day18の胎仔重量はコントロールより有意に抑制される。抗体投与群の母体にDay18に³H-AIBを投与し胎仔へのAIBの移行を検討すると、AIBの胎仔への移行がAIB投与後60分まで抑制が見られる。このことより、in vivoでも母体のIGF-Iは胎児へのアミノ酸輸送に促進的に働き、この作用はIGF-Iが胎盤の物質輸送系を活性化することにより行われることが推測される。同じく、妊娠マウス母体にDay14-17に抗IGFBP-1抗体を投与し母体血中のIGFBP-1を中和すると、Day18の胎仔重量はコントロールより有意に促進される。抗体投与群の母体にDay18に³H-AIBを投与して胎仔への移行を測定すると、抗体を投与したマウスの方がコントロールより明かに胎仔へのAIBの移行が促進される。従って、in vivoでもIGF-Iの胎盤を介した栄養輸送をIGFBP-1が抑制して胎児発育を抑制する機序が示唆される。

4. 胎児血中IGF結合蛋白のligand blotによる解析

胎児発育におけるIGF結合蛋白の生理学的意義を解析するため臍帯血中のIGF結合蛋白をligand blotで解析した。

満期産正常発育児では母体血と同じく、IGFBP-3, IGFBP-2, IGFBP-1, IGFBP-4 の4つのIGF結合蛋白が同定され、満期産の発育遅延児では正常発育児と比較し、IGFBP-3は減少してお

り、反対にIGFBP-2が増加する。一方、満期産の巨大児ではIGFBP-3が正常発育児よりやや多く、IGFBP-2とIGFBP-1が減少する。早産児ことに発育遅延児の臍帯血のligand blotでは満期産正常発育児に比較し、IGFBP-3の減少とIGFBP-2の増加が特徴的である。

以上より、胎児のIGF結合蛋白は胎児の発育状態や妊娠週数により著しくことなり、胎児の発育や成熟に対応して独自の動態をとることが明らかとなった。また、胎児のIGF-IIは胎児発育にはそれほど相関しないとされてきたが、IGF-IIのregulatorと考えられるIGFBP-2が発育遅延児で増えていることは、IGF-IIの胎児発育における意義を再検討する余地が必要と考えられる。