



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on teratogenicity of maternal hypoglycemia in rats and rabbits [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	桑田, 千春
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	乙第7168号
Issue Date	2022-12-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/88086
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Chiharu_Kuwata_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：桑田 千春

学位論文題名

Studies on teratogenicity of maternal hypoglycemia in rats and rabbits

（ラットとウサギにおける母動物低血糖と催奇形性に関する研究）

インスリンは、現在妊婦に使用できる唯一の糖尿病治療薬である。インスリンは、妊娠動物への投与で胎子毒性を示すとの報告があるものの、分子量が約 5800 と比較的大きいため胎盤を受動拡散で通過することができず、胎子に直接作用を及ぼさないと考えられ、妊婦でも服薬が可能とされている。一方、その他の経口糖尿病治療薬の多くは分子量が小さく胎盤を通過して胎子に直接影響を与える可能性があり、動物実験で催奇形性又は胚・胎子致死作用を示したため、妊娠期の服薬は禁忌とされている。経口糖尿病治療薬として開発されていたグルコキナーゼアクチベーターである DS-7309 を妊娠ラット及び妊娠ウサギに投与すると胎子に奇形がみられた。しかし、DS-7309 がどのように胎子異常を引き起こすのか、それは DS-7309 の胚・胎子への直接作用なのか、あるいは母動物の低血糖を介した間接作用なのかは明らかではない。そこで、本研究では、DS-7309 によって引き起こされる奇形について、包括的な検討を行った。

第一章では、DS-7309 を用いて、マウスとウサギの妊娠及び胚・胎子の発達に及ぼす影響並びに母動物の血糖値推移を調べた。DS-7309 を 0、3、10、100 mg/kg で Sprague-Dawley ラットの妊娠 7 から 17 日に 1 日 1 回経口投与し、妊娠 20 日に剖検及び胎子観察を行った。その結果、3 及び 10 mg/kg 群で母動物の重度の低血糖（約 50 mg/dL）がみられたが、投与 7 時間後には回復し、胎子毒性も認められなかった。一方、100 mg/kg 群では 7 時間以上続く持続的かつ重度の母動物の低血糖がみられ、胎子の眼部奇形及び胎子体重の減少が認められた。また、New Zealand White ウサギの妊娠 6 から 18 日に 0、10、30、100 mg/kg で経口投与し、妊娠 28 日に剖検及び胎子観察を行った。ウサギを用いた試験では、10 及び 30

mg/kg 群で母動物の血糖値が 60～90 mg/dL まで低下したが 7 時間後に回復し、胎子毒性は認められなかった。一方、100 mg/kg では重度の低血糖（約 60 mg/dL）が投与 24 時間後まで継続し、胎子生存率の減少及び胎子骨格異常が認められた。以上のことから、DS-7309 はラットとウサギで胎子に奇形を引き起こすこと、それらには母動物の重篤かつ持続的な低血糖が関連している可能性が考えられた。

第二章では、胎盤を通過しないため胎子に直接作用を示さないインスリンを妊娠ラットに投与し、母動物の低血糖と胎子の異常について詳細に検討した。4 種の異なるインスリン製剤（ヒトインスリン、インスリンアスパルト、インスリン グラルギン、インスリンデテミル）又は生理食塩水（対照群）を各 1～2 用量で妊娠 6 から 11 日まで Sprague-Dawley ラットに 1 日 1～2 回皮下投与し、妊娠 20 日に剖検して胎子観察を行った。また母動物の投与後血糖値の推移を確認した。ヒトインスリン群及びインスリンアスパルト低用量群では、約 50 mg/dL の重篤な低血糖が 6 時間持続したが、胎子異常は認められなかった。一方、インスリンアスパルト高用量群では、重篤な低血糖が 9 時間持続し、胎子骨格異常が認められた。インスリン グラルギン群及びインスリンデテミル群では、重篤な低血糖が 15 時間以上持続し、胎子観察で眼及び骨格に異常が認められた。以上の結果から、インスリンによる母動物低血糖は胎子の眼及び骨格に異常を引き起こし、その異常は DS-7309 投与で胎子に認められた異常と同質であることが確認された。さらに、インスリンによる催奇形性には母動物の低血糖の重篤度及びその持続時間が重要であることが示唆された。

第三章では、母動物低血糖により生じる胎子の眼の異常について病理学的検査を実施し、異常発生推移を詳細に検討し、さらには異常発生に関与する因子の探索を行った。妊娠 6 から 11 日の Sprague-Dawley ラットに、第二章と同用量のインスリン グラルギン又は生理食塩水（対照群）を 1 日 1 回皮下投与し、胎齢 10 から 20 日に経時的な病理学的検査を行った。その結果、胎齢 10 日では対照群及びインスリン群共に発生異常は認められなかったが、対照群では胎齢 11 日で眼杯が発生しているにも関わらず、インスリン群では眼杯が認められなかった。胎齢 12 日において、対照群では神経網膜、網膜色素上皮、水晶体、角膜予定域が分化した一方、インスリン群での分化は眼杯及び水晶体窩までであった。さらに、対照群では発生が進み神経網膜層及び色素上皮層間の空隙が消失したのに対し、インスリン群では消失せず残存していた。胎齢 13 から 15 日にかけて、インスリン群では網膜、水晶体、及び角膜の欠損、変性、及び低形成を主体とする発生異常が認められ、胎

齢 20 日には小眼球症や無眼球症がみられた。さらに、網膜又は水晶体予定域に発現し、互いの発現を調節することで初期眼部発生に必須の役割を果たす転写因子 MITF と chx10 の発現を調べたところ、胎齢 11 日で発現の異所性及び抑制が認められた。したがって、母動物へのインスリン投与による胎子の無眼球症や小眼球症は、単なる発生遅延ではなく発生異常により生じていると考えられた。加えて、胎齢 11 日における網膜予定域と水晶体予定域の形態学的な変化により生じた網膜予定域と水晶体予定域の相互作用障害がこの発生異常のトリガーであり、続いて眼胞／眼胚や水晶体板／水晶体胞の変性を伴う低形成が惹き起こされたと示唆された。

以上、本研究により、グルコキナーゼアクチベーターである DS-7309 の妊娠ラットや妊娠ウサギへの投与でみられた胎子の眼及び骨格の奇形は、胎盤を通過しないインスリンにより誘発される胎子奇形と同質のものであり、さらに母動物の持続的かつ重篤な低血糖の関与が示唆された。つまり、DS-7309 は胎子に直接作用して奇形を惹起しているのではなく、インスリンと同様に母動物の低血糖を介して間接的に胎子奇形を引き起こしていると考えられた。また、母動物の低血糖により生じる無・小眼球症は発生遅延ではなく発生異常であり、胎齢 11 日に認められる網膜予定域と水晶体予定域の相互作用障害がトリガーである可能性が示唆された。以上、本研究により、母動物の低血糖が胎子に与えるリスクについて新たな知見が得られ、妊婦が経口糖尿病治療薬を服薬する際には、血糖値の適切なモニター及びコントロールにより胎子の眼と骨の奇形を防ぐことが重要であると考えられた。