

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

自律神経 (1990.10) 27巻5号:485～489.

インターロイキン-1による摂食抑制
ACTHを放出因子(CRF)の関与

上原 聡、奥村利勝、高杉佑一、並木正義

インターロイキン-1による摂食抑制： ACTH 放出因子（CRF）の関与

上原 聡 奥村利勝 高杉佑一 並木正義

キーワード：インターロイキン-1 (IL-1), 摂食調節, ACTH 放出因子 (CRF), 免疫神経内分泌学, 急性感染症

抄録：私達は先に、免疫調節因子のインターロイキン-1 (IL-1) が、脳内の ACTH 放出因子 (CRF) の分泌を亢進させることを報告した。一方、CRF は中枢作用として食欲抑制を引き起こすことが知られている。そこで今回私達は、IL-1 の摂食調節に及ぼす影響を検討した。実験には Wistar 系雄ラットを用いて、IL-1 および内因性 IL-1 の産生刺激剤である lipopolysaccharide (LPS) を腹腔内投与した後の 24 時間摂食量を測定した。LPS の投与により、摂食量は用量反応性 (1~100 $\mu\text{g}/\text{rat}$) に低下した。24 時間摂食量は IL-1 そのものの投与によっても用量依存性 (1~25 μg) に減少した。しかし、抗 CRF 血清 (10 μl) を側脳室内へ前投与して内因性の CRF の作用を消失させたラットでは、IL-1 を投与しても摂食量の減少はみられなかった。以上の結果より、IL-1 が脳内の CRF の作用を介して摂食量の低下を引き起こすことが明らかにされた。

(自律神経, 27: 485~489, 1990)

目 的

最近の研究により、神経内分泌系で産生される脳ホルモンが免疫機能を調節すること、逆に免疫系で産生される免疫調節因子が神経内分泌系に影響を及ぼすことが明らかにされつつある。この一環として私達は、免疫調節因子のインターロイキン-1 (IL-1) が、脳内の ACTH 放出因子 (CRF) の分泌を亢進させることによって、ストレス反応の中軸をなす視床下部-下垂体-副腎皮質系を賦活化する事実を発見した⁶⁾⁻⁸⁾。さらに、この内分泌軸の最終産物である副腎皮質ホルモンが IL-1 の分泌を抑制することも報告し、免疫系と神経内分泌系との間に負のフィードバック機構の存在する可能性を提唱している⁹⁾。

一方、細菌感染症などの免疫系が賦活化される病態で、食欲不振やうつ気分といった精神・神経症状の現われることが日常臨床の場でしばしば経験される。しかし、その病態の詳細なメカニズムはいまだ不明で

ある。CRF は、その名前の示す通り、下垂体からの ACTH 分泌に対する放出因子として単離・同定されたが、その後の研究で種々の中枢作用を有することが明らかにされつつある。その作用の一つとして食欲抑制効果が報告されている⁴⁾。そこで本研究では、IL-1 が脳内の CRF を介して食欲を抑制するかもしれないとの仮説を立てて、Wistar 系雄ラットを用いて検討した。

材料と方法

1) 試薬：内因性 IL-1 の産生・分泌刺激剤として lipopolysaccharide (LPS) を用いた。IL-1 製剤としては、大塚製薬の平井博士より提供して頂いた遺伝子組換え型ヒト IL-1 β を使用した。副腎皮質ホルモンとしては、prednisolone sodium succinate (水溶性プレドニン) を使用した。いずれも 0.5 ml の生理食塩水に溶解して腹腔内へ投与した。また、内因性 CRF の免疫中和実験には、当研究室で作成した家兎抗 CRF 血清¹⁰⁾ とその対照として正常家兎血清 (NRS) を用いた。

2) 実験動物と飼育条件：体重約 200 g の Wistar 系雄ラットを被験動物として用いた。実験開始 1 週間前に個別ケージに移し、以後実験終了までそこで飼育し

た。標準ラット固形飼料と水道水を自由摂取させ、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ の室温と12時間明暗サイクル(07:00~19:00明)下で飼育した。

3) 摂食量の測定: 24時間絶食させたラットに、LPSまたはIL-1を16:30~17:00の間に腹腔内投与し、その後24時間の飼料摂取量を測定した。対照群には生食を投与した。なお、摂取量の算定は、前もって測定しておいた飼料重量と、24時間後の残量との差より行った。摂取されずにケージ内へこぼれ落ちた飼料重量も測定し、摂取量を補正した。

4) 側脳室カニューレと免疫中和実験: 脳内CRFの免疫中和実験は先に報告した方法に準じて行った³⁾。すなわち、ネブタール麻酔下でステンレス製カニューレを脳定位固定装置を用いて頭蓋骨(ラムダより前方6.5 mm, 矢状縫合より左方1.3 mm)上に歯科セメントにて固着した。そしてこれらのラットを術後1週目に用いた。24時間絶食させた後、 $10 \mu\text{l}$ の抗CRP血清あるいはNRSを頭蓋骨に装着されたカニューレを介して側脳室内に投与した。引き続きIL-1あるいは生食を腹腔内へ投与し、24時間摂食量を測定した。なお、実験終了後に1%エバンスブルー溶液を注入してカニューレが側脳室内に正確に挿入されていることを確認した。

結果

まず始めに、内因性IL-1の産生刺激剤であるLPSの摂食量に及ぼす影響を検討した。図1に示すように、LPSの腹腔内投与によって、ラットの24時間摂食量

は用量反応性に抑制された。わずかに $1 \mu\text{g}/\text{rat}$ のLPS投与で、対照群と比較して有意に摂食量の減少がみられ($p < 0.01$)、 $100 \mu\text{g}/\text{rat}$ では対照群の25%にまで抑制された。LPSによるこの現象は可逆的で、投与前摂食量まで回復するのに要した日数はLPSの投与量に比例した。

副腎皮質ホルモンは内因性のIL-1分泌を抑制するので⁹⁾、次に、LPSによる摂食量減少反応がステロイドホルモンの投与によってどのように変化するかを検討した。プレドニンを $1 \text{mg}/\text{rat}$ 前投与すると、LPS($50 \mu\text{g}/\text{rat}$)による食欲減少反応が有意($p < 0.01$)に抑えられた(対照群: 21.5 ± 1.3 ; LPS群: 6.3 ± 1.0 ; LPS+プレドニン群: $12.8 \pm 1.5 \text{g}/24 \text{hr}$, mean \pm SEM)。これは、プレドニンがLPSによる内因性のIL-1産生を抑制したための結果と推測される。なお、プレドニン投与それ自体は本実験条件下での摂食量には影響を与えなかった。

次に、IL-1を外因性に投与することによっても同様に摂食量の抑制がみられるか否かを検討した。図2に示すように、被験動物の24時間摂食量は、IL-1($1 \mu\text{g}/\text{rat}$)の腹腔内投与により有意に減少した($p < 0.01$)。さらに、このIL-1による摂食抑制作用は用量依存性であることが確認された。以上の結果より、IL-1は、内因性に分泌された場合も外因性に投与された場合も、強力な食欲抑制効果を有することが明らかになった。

最後に、このIL-1によって生じる食欲不振が脳内のCRFを介した作用であることを確かめるために、抗

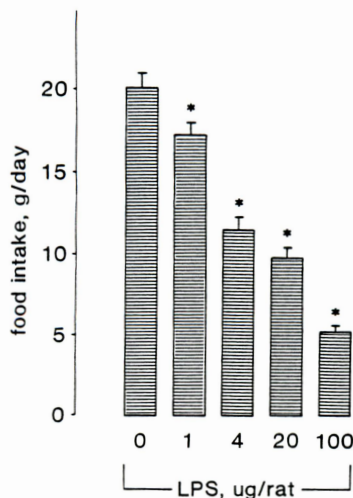


図1 LPSの腹腔内投与によって生じる摂食量の変化

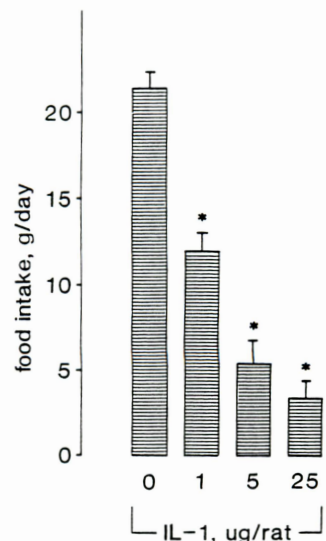


図2 IL-1の腹腔内投与によって生じる摂食量の変化

表1 抗CRF血清および正常家兎血清(NRS)の脳室内投与がIL-1による摂食量減少反応に及ぼす影響

	n	food intake (g/day)
saline+NRS	6	19.7±1.8
IL-1+NRS	6	10.4±1.2*
IL-1+CRF antiserum	6	16.5±2.0**
saline+CRF antiserum	6	20.0±1.5

Mean±S.E.M. of the indicated number of rats.

*p<0.01, compared with saline+NRS.

**p<0.01, compared with IL-1+NRS.

CRF抗体を用いた免疫中和実験を行った。抗CRF抗体を側脳室内に前投与して脳内のCRFの作用を消失させたラットでは、IL-1(2 μ g/rat)を投与しても摂食量の減少はみられなかった(表1)。一方、NRSの投与はIL-1による食欲抑制現象には何ら影響を与えなかった。

考 察

CRFは、下垂体からのACTH分泌の刺激因子としての主要な生理学的作用を有するほか、種々の中枢神経作用をもつことが明らかにされている。この中で、CRFの食欲抑制作用が注目を集めている。CRFをラットの側脳室内へ投与すると摂食行動の著明な抑制がみられる⁴⁾。また臨床的には、神経性食欲不振症の患者の髄液中CRFレベルが健常人と比較して有意に上昇しているとの報告もあり、本疾患の病因との関連が注目されている²⁾。

一方、細菌感染症に罹患した時に、食欲不振やうつ的な気分が生じることは経験的にもよく知られている。細菌感染が免疫担当細胞からのIL-1分泌を刺激する事実³⁾と、IL-1が視床下部でのCRF産生を促すこと⁷⁾を考え合わせると、免疫系が賦活化されたときに生じる食欲不振に免疫調節因子のIL-1が関与している可能性が推測された。

本研究結果より、内因性に分泌されたIL-1および外因性に投与されたIL-1が、ラットの摂食量を用量依存性に抑制することが明らかとなった。しかも、この反応が脳内のCRFの分泌亢進を介していることも確かめられた。これらの結果は、免疫系で産生されるIL-1が中枢神経系に作用することにより急性感染症などの時に生じる食欲低下に深く関わっていることを示唆するものである。これは同時に、免疫系と中枢神経系との間に連絡機構が存在するという仮説を強く支持する

一つの証拠といえる。

最近私達は、消化器機能に及ぼすIL-1の作用を検討しているが、その一環としてIL-1が幽門結紮ラットにおいて胃酸分泌とペプシン分泌を用量依存性に抑制すること、そしてこの抑制作用が中枢神経系を介していることを発見した⁵⁾¹¹⁾。さらに、IL-1の前投与により、水浸拘束ストレスによって生じる胃潰瘍の発生が有意に抑制されることも見出ししており、これらの研究結果に基づき、免疫系と神経内分泌系との連絡機構にさらに消化器系を加えた、いわゆる「免疫-脳-腸軸」の存在を提唱している¹²⁾。

最近、IL-1が末梢の免疫担当細胞ばかりではなく中枢神経系でも産生されることが報告されるようになった¹⁾。これら脳内で産生されるIL-1がどのような役割を果たしているかは現在のところ不明であるが、本研究で明らかになったように、IL-1が強力な食欲抑制作用を持つこと、及びこの作用の発現に神経性食欲不振症の病因の一つとして注目されている神経ペプチドのCRFが関与していることを考えると、IL-1と本疾患との関連は非常に興味深い問題である。

音や光といった通常の外来刺激は五感と呼ばれる感覚器官にて受容され、その情報は中枢神経系へと伝達される。細菌やウイルスなども外来刺激として捉えることができるが、従来の感覚器官では認識されない。しかし、これらの外来異物は免疫細胞によって捕捉され、それがIL-1などの免疫調節因子の産生を刺激する。そしてこれらの液性因子が免疫機能を活性化すると同時に中枢神経系に対して様々な作用(例えば、視床下部-下垂体-副腎皮質系の賦活化)を持つことを考え合わせると、免疫系自体がある意味では「感覚器官」としての役割を果たしていると言えるかもしれない。

免疫系と神経内分泌系との相互連絡機構に関する研究は、「免疫神経内分泌学」と呼ばれる学際的な新しい研究領域の誕生と共に大きな発展を遂げつつある。この免疫神経内分泌学的観点からのアプローチが、種々の疾患の成因や病態の解明に大いに役立つものと期待される。

稿を終るにあたり、遺伝子組換え型ヒトIL-1 β を提供して頂いた大塚製薬の平井嘉勝博士に厚くお礼申し上げます。また、本研究に助成を下された千代田生命健康開発事業団、および上原記念生命科学財団に深謝いたします。

§ References

- 1) Dinarello, C.A.: Biology of interleukin-1. *FASEB J.*, 2 : 108-115, 1988.
- 2) Hotta, M., Shibasaki, T., Masuda, A., Imaki, T., Demura, H., Ling, N. & Shizume, K.: The response of plasma adrenocorticotropin and cortisol to corticotropin-releasing hormone (CRH) and cerebrospinal fluid immunoreactive CRH in anorexia nervosa patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 62 : 319-324, 1986.
- 3) Itoh, S., Hirota, G., Katsuura, G. & Odaguchi, K.: Adrenocortical stimulation by a cholecystokinin preparation in the rat. *Life Sci.*, 25 : 1725-1730, 1979.
- 4) Morley, J.E. & Levine, A.S.: Corticotropin-releasing factor, grooming and ingestive behavior. *Life Sci.*, 31 : 1459-1464, 1982.
- 5) Okumura, T., Uehara, A., Okamura, K., Takasugi, Y. & Namiki, M.: Inhibition of gastric pepsin secretion by peripherally or centrally injected interleukin-1 in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 167 : 956-961, 1990.
- 6) Uehara, A., Gillis, S. & Arimura, A.: Effects of interleukin-1 on hormone release from normal pituitary cells in primary culture. *Neuroendocrinology*, 45 : 343-347, 1987.
- 7) Uehara, A., Gottschall, P.E., Dahl, R.R. & Arimura, A.: Interleukin-1 stimulates ACTH release by an indirect action which requires endogenous corticotropin-releasing factor. *Endocrinology*, 121 : 1580-1582, 1987.
- 8) Uehara, A., Gottschall, P.E., Dahl, R.R. & Arimura, A.: Stimulation of ACTH release by human interleukin-1 beta, but not by interleukin-1 alpha, in conscious, freely-moving rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 146 : 1286-1290, 1987.
- 9) Uehara, A., Kohda, H., Sekiya, C., Takasugi, Y. & Namiki, M.: Inhibition of interleukin-1 beta release from cultured human peripheral blood mononuclear cells by prednisolone. *Experientia*, 45 : 166-167, 1989.
- 10) Uehara, A., Minamino, N., Townsend, M.H. & Arimura, A.: Corticotropin-releasing activity in the rat gastric antrum. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 183 : 106-113, 1986.
- 11) Uehara, A., Okumura, T., Sekiya, C., Okamura, K., Takasugi, Y. & Namiki, M.: Interleukin-1 inhibits the secretion of gastric acid in rats: Possible involvement of prostaglandin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 162 : 1578-1584, 1989.
- 12) Uehara, A., Okumura, T., Shibata, Y., Harada, K., Okamura, K., Takasugi, Y. & Namiki, M.: Gastric antisecretory and anti-ulcer actions of interleukin-1: Evidence for the presence of an "immune-brain-gut" axis. *J. Clin. Gastroenterol.*, (in press).

Abstract

**Interleukin-1 Suppresses Food Intake via Hypothalamic
Corticotropin-Releasing Factor**

Akira Uehara, Toshikatsu Okumura, Yuichi Takasugi and Masayoshi Namiki

Department of Internal Medicine (III), Asahikawa Medical College

Although anorexia is a typical clinical manifestation frequently observed in patients with acute infectious diseases, the precise mechanism(s) by which anorexia develops under such pathophysiological conditions remains to be clarified. We have recently found that interleukin-1 (IL-1), a cytokine produced by activated monocytes/macrophages, stimulates the release of hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF). Since CRF acts centrally in the brain to reduce food intake, we hypothesized that IL-1 might induce anorexia through this central action of CRF. The present study was conducted to examine this hypothesis, using male Wistar rats. Based upon three forms of evidence, we report here that IL-1 is closely involved in the development of anorexia during immunological stress such as in acute infection. First, lipopolysaccharide, a potent stimulant for the release and production of endogenous IL-1, was observed to cause anorexia in a dose-related manner. Second, the intraperitoneal injection of IL-1 resulted in a dose-related suppression of food intake. Third, this anorexia induced by IL-1 was completely diminished by immunoneutralization of endogenous CRF in the brain. These results suggest that the central communication between IL-1 and CRF represents a mechanism by which anorexia results from the activation of the immune system by such immunological challenges as acute infectious diseases.

(The Autonomic Nervous System, 27: 485-489, 1990)
