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

自律神経 (1989.10) 26巻5号:469～475.

インターロイキン-1と視床下部-下垂体-副腎皮質系
免疫系と神経内分泌系との負のフィードバック調節機構

上原　聡、奥村利勝、関谷千尋、高杉佑一、並木正義

●原　著

インターロイキン-1と視床下部―下垂体―副腎皮質系：免疫系と神経内分泌系との負のフィードバック調節機構

上原　聡　　奥村利勝　　関谷千尋
高杉佑一　　並木正義

キーワード：免疫神経内分泌学，インターロイキン-1，視床下部―下垂体―副腎皮質系，負のフィードバック調節機構

抄録：免疫調節因子のインターロイキン-1(IL-1)と，ストレス反応の中軸をなす視床下部―下垂体―副腎皮質系（H-P-A系）との相互作用を多角的に検討した．

方法：in vivoの実験では右心房内へカテーテルを慢性的に留置したWistar系雄ラットを，in vitroでは下垂体単層培養法を用いた．IL-1分泌量の検討はヒト末梢血単核球培養法を用いて行った．結果：①IL-1の静注により血中ACTH値は有意に上昇し，ピーク値は投与10分後に見られた．②IL-1は下垂体培養細胞からのACTH分泌には影響を与えなかった．③次に，IL-1によるACTH上昇反応が視床下部のCRFを介していることを確かめるために，CRF抗体を用いた免疫中和実験を行った．CRF抗体で前処置された群ではIL-1静注による血中ACTH反応は観察されなかった．④プレドニソロンはヒト末梢血単核球からのIL-1分泌を用量反応性に抑制した．

結論：IL-1とH-P-A系との間に負のフィードバック調節機構の存在が示唆された．

（自律神経，26：469～475，1989）

緒　言

日本には古来「病は気から」という諺があるように，精神（脳の機能）と身体（生体防御機能）の密接な関連が経験的に知られている．これらの事実は，例えば，配偶者との死別といった心理的・精神的ストレスが感染症の罹患率や発ガンのリスクを増加させるという疫学的報告[14]でも裏付けられている．また逆に，感染症などに罹患すると食欲不振や抑うつ状態などの精神・神経症状がしばしば見られることも臨床医学の場ではよく経験されるところである．しかし，この諺の意味するところの「心身相関」についての病態生理学的機序は，その研究方法論が確立されていないこともあり，未だ解明されていない部分が多く残されている．

旭川医科大学第3内科
〒078　旭川市西神楽4線5号3―11
（受付日：平成1年4月28日）

しかし，最近の研究により，神経内分泌系（中枢神経系）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（生体防御系）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（文献[2)4)]の総説参照）．これらの研究成果は，「immuno-neuro-endocrinology（免疫神経内分泌学）」とか「psycho-neuro-immunology（精神神経免疫学）」と呼ばれる学際的な新しい研究領域の誕生をもたらしている．

インターロイキン-1(IL-1)は，免疫系が細菌やウイルスなどによって賦活化されたときに免疫担当細胞より分泌されるサイトカインの一つで，種々の免疫作用を有している[5]．さらに，IL-1が発熱作用[6]や食欲抑制[11]などの中枢神経系に対する作用を持つことが明らかにされつつある．一方，免疫系が亢進する病態で副腎皮質ステロイドホルモンの分泌が上昇するという報告があり[1)3)]，免疫系で産生される液性因子が視床下部

一下垂体一副腎皮質系に対して何らかの影響を持つことが推測されている．また，副腎皮質ホルモンが免疫作用を広く抑制することは周知の事実である．そこで今回私たちは,「免疫系と神経内分泌系との相互連絡」を探る目的で, Wistar 系雄ラット及びヒト末梢血培養単核球を用いて次の二点について検討を加えた．先ず始めに，IL-1 がストレス反応の中軸をなす視床下部一下垂体一副腎皮質系に及ぼす影響について検討した（実験Ｉ）．さらには，この内分泌軸の最終産物である副腎ステロイドホルモンが IL-1 の産生・分泌に対してどのような作用を持つかを調べた（実験II）.

材料と方法

実験Ｉ: IL-1 が視床下部一下垂体一副腎皮質系に及ぼす影響の検討

1）試薬

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み換え型ヒト IL-1 β[8]を使用した．ラットの ACTH 分泌刺激因子（CRF）は米国 Peninsula 社より購入した．また, 内因性 CRF の免疫中和実験には当研究室で作成された家兎抗 CRF 血清[18]を，その対照には正常家兎血清（NRS）を，それぞれ用いた．

2）実験プロトコール

体重約 200 g の Wistar 系雄ラットを被験動物として用いた．オリエンタル酵母工業社製の標準ラット飼料 MF と水道水を自由摂取させ, 25± 2 ℃の室温と 12 時間明暗サイクル（07：00～19：00 明）下で飼育した．

IL-1 静注後の視床下部一下垂体一副腎皮質系の変化を無麻酔・無拘束下で観察するために，先に報告した方法にて[16]，ラットの右心房内へカテーテルを慢性的に留置した．このルートを介して IL-1 を静脈内投与した後，経時的に採血して血中 ACTH 値を測定した．

さらに，IL-1 の下垂体に対する直接作用の有無を検討するためには，以前報告した下垂体単層培養法[18]を用いて IL-1 添加後の ACTH の分泌動態を調べた．

3）ホルモン測定

血中及び培養液中の ACTH 値の測定は，米国国立衛生研究所（NIH）より提供された標準 ACTH を対照として Euro-Diagnostics 社（オランダ）製の ACTH IRMA キット「SRL」を用いて行った[17]．血中プロラクチン値は NIH より供給された RIA キットにより測定した．

実験II：副腎皮質ステロイドホルモンが IL-1 の分泌に及ぼす影響の検討

1）試薬

内因性 IL-1 の産生刺激剤として lipopolysaccharide（LPS，大腸菌由来 serotype　055：B 5，Sigma Chemical Co.）を用いた．副腎皮質ステロイドホルモンとしては，prednisolone sodium succinate（水溶性プレドニン，塩野義製薬）を使用した．

2）ヒト末梢血単核球培養法

ヒト末梢血単核球（PBMNC）の培養は以前報告された方法[15]に準じて行った．すなわち，先ず始めに，一晩絶食した健常人よりヘパリン加末梢血を採取し，Ficoll-Conray（Pharmacia）による比重遠沈法で PBMNC を分離した．次にこれら分離細胞を，10% fetal calf serum，5×10^{-5}M 2-mercaptoethanol，100 U/ml penicillin 及び 100 μg/ml streptomycin を加えた RPMI-1640 培養液（GIBCO）で 3 回洗浄した後，最終濃度が 1×10^{6}個/ml/well となるように調整した．LPS は 25 μg/ml の濃度で，プレドニゾロンは 1×10^{-12}M～1×10^{-7}M の濃度でそれぞれ用いた．培養は 24-well culture plate（Costar）を用いて，CO_2 incubator 内（95%air/ 5 %CO_2，37℃，湿度 100%）で行った．培養開始 48 時間後に，遠沈（400 g，10 分間）により培養上清を回収し，IL-1 の測定に供するまで −80℃にて保存した．

3）IL-1 の測定

培養上清の IL-1 値は，最近米国 Cystron 社で開発されたヒト IL-1 β　RIA キットを用いて測定した．本 RIA 系に用いられている抗体は IL-1 β に特異的であり，IL-2 やインターフェロンなどとは交叉活性を示さなかった．また，プレドニゾロンの存在そのものは本 RIA 法による IL-1 測定に対して影響を与えなかった（data not shown）.

結　果

実験Ｉ: IL-1 が視床下部一下垂体一副腎皮質系に及ぼす影響の検討

先ず始めに，右心房にカテーテルを留置したラットに IL-1（1 μg/rat）を静脈内投与して，その前後における血中 ACTH 値の変化を検討した．Fig. 1 に示すように，IL-1 の静注により血中 ACTH 値は有意に上昇した（$p<0.01$)．最大反応は投与 10 分後に見られ，その後徐々に減少し 2 時間後には投与前値に戻った．一方，生理食塩水を投与した群では血中 ACTH 値の変動は見られなかった．さらに，投与する IL-1 の量を

Table 1 Dose-response effects of IL-1 on the plasma levels of ACTH.

	plasma ACTH levels, pg/ml
saline vehicle	35.6 ± 2.5
0.3 ug/animal	52.9 ± 8.2
1.0 ug/animal	110.4 ± 10.6
2.0 ug/animal	196.5 ± 18.3
3.0 ug/animal	220.7 ± 21.8

IL-1 or control vehicle was intravenously injected at the indicated doses, and blood samples were collected 10 min after injection. Each value represents the mean ± SEM of ACTH determination from 6 animals.

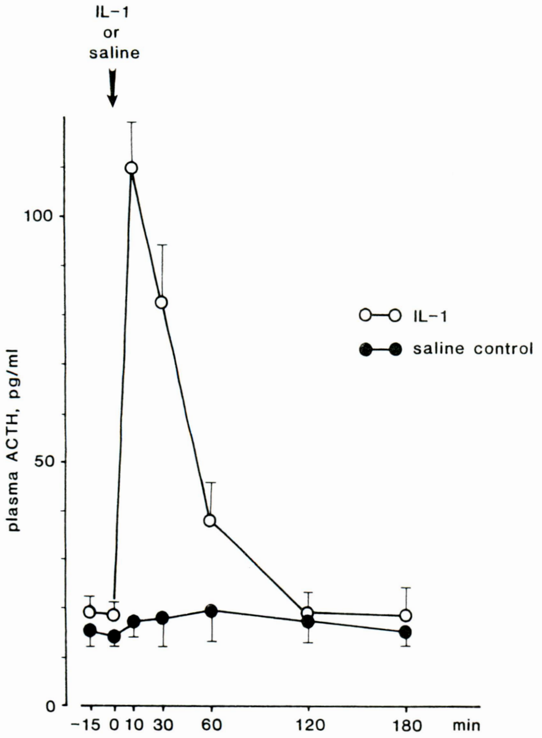

Fig. 1 Time-course changes in plasma ACTH levels following the intravenous injection of IL-1 or vehicle control. Each point represents the mean ± SEM of ACTH determination from 7 animals.

変えて同様の検討を行ったところ，IL-1によるACTH分泌反応は用量依存性であることが明らかとなった(Table 1)．尚，この現象がIL-1製剤に起因する非特異的反応でないことを確かめるために，別のストレスホルモンであるプロラクチンの血中レベルも同時に測定したが，投与前後で特別な変化は認められなかった(投与前：25.0±1.2，10分後：26.3±2.6，30分後：24.3±2.4 ng/ml，mean±SEM)．

次に，IL-1によって生じる血中ACTH値上昇反応が，IL-1の下垂体に対する直接作用によるものか，あるいは視床下部のCRFを介したものであるかを検討した．先ず始めに，下垂体単層培養細胞に種々の濃度のIL-1を添加して，培養液中に分泌されるACTH量を検討した．Table 2に示すように，0.001 nMから100 nMまでのIL-1で刺激したが，下垂体細胞からのACTH分泌量は対照値と有意の差はなかった．一方，測定系の内部標準として用いた合成CRF製剤では，ACTHの分泌が用量反応性に刺激された．これらの結果より，IL-1の下垂体に対する直接作用はないと判断した．

そこで，IL-1静注後に見られる血中ACTH値の上昇は下垂体のCRFを介した作用であると推測して，次にCRF抗体を用いた免疫中和実験を行った．すなわち，抗CRF血清(0.5 ml)を前投与し内因性のCRFの作用を消失させた状態を作り，その時に見られるIL-1に対するACTH反応を検討した．Fig. 2で見られるように，対照として0.5 mlの正常家兎血清(NRS)を前投与したラットでは，IL-1による血中ACTH値の上昇が先の実験と同様に観察されたが，一方，抗CRF血清で前処置されたラットでは，IL-1を投与してもACTH反応が全く見られなかった．

以上の結果より，免疫調節因子のIL-1は，視床下部

Table 2 Dose-response effects of IL-1 and rat hypothalamic CRF on ACTH release in monolayer rat pituitary cell cultures during a 3-hour incubation period.

	ACTH release, ng/ml	
	CRF	IL-1
control	0.96 ± 0.10	0.92 ± 0.09
1×10^{-12} M	1.35 ± 0.09	0.99 ± 0.10
1×10^{-11} M	2.25 ± 0.12	0.88 ± 0.06
1×10^{-10} M	2.78 ± 0.19	0.94 ± 0.07
1×10^{-9} M	3.21 ± 0.21	0.96 ± 0.12
1×10^{-8} M	3.18 ± 0.17	1.05 ± 0.15
1×10^{-7} M	3.25 ± 0.23	0.98 ± 0.11

Each value represents the mean ± SEM of 4 replicate cultures.

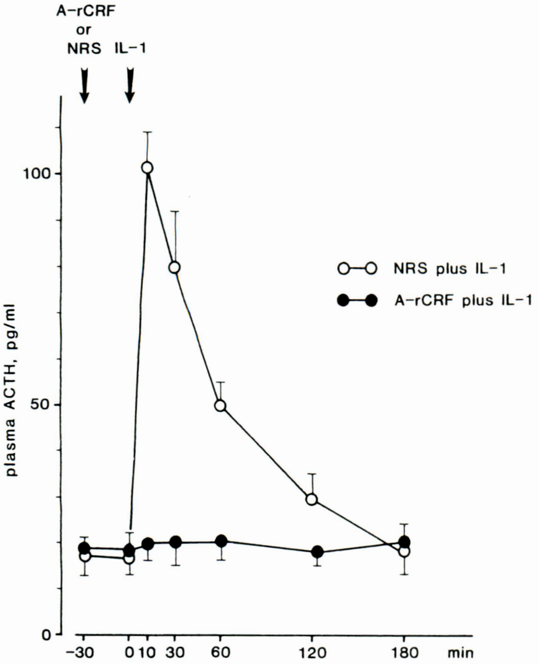

Fig. 2 Effect of the immunoneutralization of endogenous CRF on the elevation of plasma ACTH levels induced by IL-1. Each point represents the mean ± SEM of ACTH determination from 6 animals.

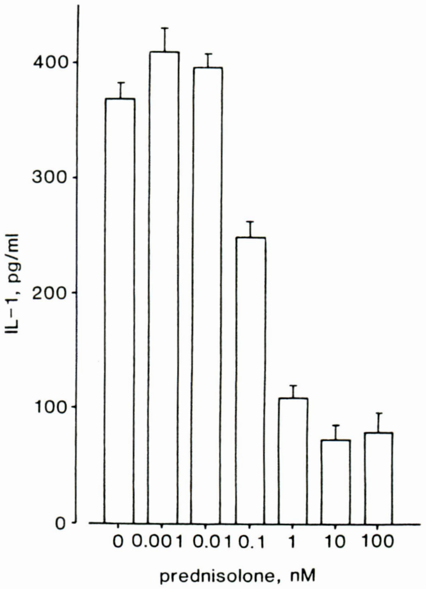

Fig. 3 Effect of prednisolone on the lipopolysaccharide-induced IL-1 release from human peripheral mononuclear cells in culture. Each bar represents the mean ± SEM of 4 replicate cultures.

のCRF分泌を亢進させることにより，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ことが明らかになった.

実験II：副腎皮質ステロイドホルモンがIL-1の分泌に及ぼす影響の検討

副腎皮質ステロイドホルモンが広く免疫作用を抑制することは良く知られている．そこで次に，IL-1と視床下部—下垂体—副腎皮質系との間に負のフィード

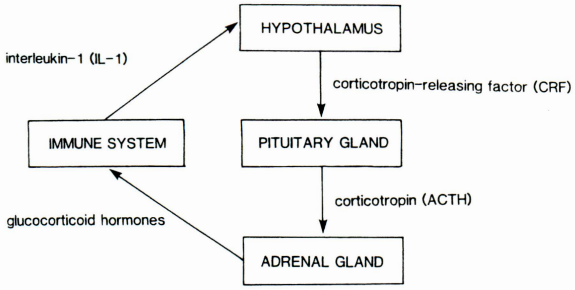

Fig. 4 A hypothetical model for an immunoregulatory negative feedback circuit between the immune and neuroendocrine systems. In this circuit, IL-1 acts as an afferent hormonal signal and glucocorticoid as an efferent one.

バック調節機構が存在するかもしれないとの仮説を立てて，副腎皮質ステロイドがIL-1分泌に及ぼす影響を検討した．

LPS無添加での培養上清中IL-1値は一貫して最小検出感度以下，すなわち50 pg/ml以下であった．しかし，LPS添加によってIL-1分泌量は7倍以上に上昇した（357.4±4.5 pg/ml, mean±SEM).

次に，LPS刺激によって生じるIL-1分泌に及ぼすプレドニソロンの影響を検討した．Fig. 3に示すように，IL-1の分泌量はプレドニソロンによって用量反応性に抑制された(対照群：368.3±10.8，プレドニソロン1×10^{-12}M：410.3±20.7，1×10^{-11}M：398.5±10.0，1×10^{-10}M：251.0±13.4，1×10^{-9}M：108.5±11.6，1×10^{-8}M：72.3±12.4，1×10^{-7}M：81.3±16.3 pg/ml, mean±SEM)．最大抑制効果はプレドニソロン10 nMの濃度で見られ，0.1 nMで50%抑制が観察された．

考　察

本研究結果より，免疫調節因子のIL-1が，視床下部のCRFの分泌を亢進させることにより，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ことが明らかとなった．細菌やウイルス等を「免疫学的ストレッサー」と考えたとき，これらの外来侵入物によって生じる「免疫学的ストレス」が他のストレス反応に共通する神経内分泌学的変化を引き起こすと考えることが出来るかもしれない．更に，この内分泌軸の最終産物である副腎皮質ステロイドホルモンがIL-1の産生を用量依存性に抑制することも判明した．これらの結果より，IL-1と視床下部—下垂体—副腎皮質系との間に負のフィードバック調節機構の存在することが強く示唆された（Fig. 4).

さて，この免疫系と神経内分泌系との間の調節機構は免疫系のovershootingを監視するひとつのメカニズムとして機能していることが推測され，自己免疫性疾患の病態との関連が興味深い．事実，ごく最近になって，橋本病の実験動物モデルとして知られているObese strain of chickensにおいて，その自己免疫性機序の発現に免疫系と神経内分泌系のフィードバック機構の異常が関与している可能性が示唆されている[10]．

CRFは，下垂体からのACTH分泌刺激因子としての主要な生理学的作用の他に，中枢神経系に対しても様々な影響を及ぼす[9]．例えば，食欲抑制や抑うつ気分といった精神・神経症状がCRFの分泌動態と深く関連していることが報告されている．具体的には，CRFを側脳室内へ投与するとラットの食行動の抑制が見られるし[12]，また臨床的には，神経性食欲不振症患者[7]やうつ病患者[13]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る．

一方，細菌感染症などに罹患した時に食欲不振やうつ的な気分などが生じることは経験的に良く知られているところである．細菌感染が免疫担当細胞からのIL-1分泌を刺激すること[5]と，IL-1が視床下部でのCRF産生を促すことを考え合わせると，免疫系が賦活化されたときに見られる食欲不振や抑うつ気分が免疫調節因子のIL-1によって引き起こされるかもしれないと推測される．

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．細菌やウイルス等も外来刺激と捉えることが出来るが，従来言われるところ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担当細胞によって捕捉され，それがIL-1等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，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作用）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」としての役割も果たしていると言えるかもしれない．これがいわゆる俗に言われるところの「第六感」と呼ばれるものなのか否かはまさに想像の域を出ないものであるが，実に興味深い仮説と考えられる．

種々の器質的及び機能的疾患に対する生体の防御機

構において，「免疫系と神経内分泌系との相互連絡」が体内のホメオスターシスの維持の面で大きな役割を果たしていると考えられる．これらの研究は，いわゆる「免疫神経内分泌学」とか「精神神経免疫学」と呼ばれる学際的な新しい学問領域の誕生と共に進展しつつある．今後この新しい観点からのアプローチにより，種々の疾患の病態生理がより一層解明されるものと期待される．

稿を終わるにあたり，遺伝子組み換え型ヒト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御礼申し上げます．又，ACTH及びプロラクチンのRIAキットを供給して頂いた米国NIHと本研究の助成を頂いた明治生命厚生事業団に心より感謝致します．尚，本論文の要旨は第41回日本自律神経学会（昭和63年11月12日，大分）において発表致しました．

§ References

1) Beisel, W.R.: Magnitude of the host nutritional responses to infection. Am. J. Clin. Nutr., 30 : 1236-1247, 1977.

2) Berczi, I. (ed.): Pituitary Function and Immunity. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1986.

3) Besedovsky, H., Sorkin, E., Keller, M. & Muller, J.: Changes in blood hormone levels during the immune response. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 150 : 466-470, 1975.

4) Cotman, C.W., Brinton, R.E., Galaburda, A., McEwen, B. & Schneider, D.M. (eds.): The Neuro-Immuno-Endocrine Connection. Raven Press, New York, 1987.

5) Dinarello, C.A.: Interleukin-1. Rev. Infect. Dis., 6 : 51-95, 1984.

6) Dinarello, C.A., Cannon, J.G. & Wolff, S.M.: New concepts on the pathogenesis of fever. Rev. Infect. Dis., 10 : 168-189, 1988.

7) 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.

8) Kikumoto, Y., Hong, Y.-M., Nishida, T., Nakai, S., Masui, Y. & Hirai, Y.: Purification and characterization of recombinant human interleukin-1 beta produced in Escherichia Coli. Biochem. Biophys. Res. Commun., 147 : 315-321, 1987.

9) Koob, G.F. & Bloom, F.E.: Corticotropin-releasing factor and behavior. Fed. Proc., 44 : 259-263, 1985.

10) Kroemer, G., Brezinschek, H.-P., Faessler, R., Schauenstein, K. & Wick, G.: Physiology and pathology of an immunoendocrine feedback loop. Immunol. Today, 9 : 163-165, 1988.

11) McCarthy, D.O., Kluger, M.J. & Vander, A.V.: Suppression of food intake during infection: Is interleukin-1 involved? Am. J. Clin. Nutr., 42 : 1179-1182, 1985.

12) Morley, J.E. & Levine, A.S.: Corticotropin-releasing factor, grooming and ingestive behavior. Life Sci., 31 : 1459-1464, 1982.

13) Nemeroff, C.B., Widerlov, E., Bissette, G., Walleus, H., Karlsson, I., Eklund, K., Kilts, C.D., Loosen, P.T. & Vale, W.: Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. Science, 226 : 1342-1344, 1984.

14) Palmblad, J.: Stress and immunologic competence: Studies in man. In Psychoneuroimmunology (ed. Ader, R.), pp. 229-257, Academic Press, Orland, Florida, 1981.

15) Uede, T., Kohda, H., Ibayashi, Y., Osawa, H., Diamantstein, T. & Kikuchi, K.: Functional analysis of mononuclear cells infiltrating into tumors. II. Differential ability of mononuclear cells obtained from various tissues to produce helper factors that are involved in the generation of cytotoxic cells. J. Immunol., 135 : 3243-3251, 1985.

16) 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.

17) Uehara, A., Habara, Y., Kuroshima, A., Sekiya, C., Takasugi, Y. & Namiki, M.: Increased ACTH response to corticotropin-releasing factor in cold-adapted rats. Am. J. Physiol., 257 :

E336-E339, 1989.
18) Uehara, A., Minamino, N., Townsend, M.H. & Arimura, A.: Corticotropin-releasing activity in the rat gastric antrum. Proc. Soc. Exp. Biol., 183 : 106-113, 1986.

Abstract

Interleukin-1 and the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: Negative Feedback Circuitry Between the Immune and Neuroendocrine Systems

Akira Uehara, Toshikatsu Okumura, Chihiro Sekiya, Yuichi Takasugi and Masayoshi Namiki
Department of Internal Medicine (III), Asahikawa Medical College

It is becoming increasingly evident that there is bidirectional communication between the immune and neuroendocrine systems. Hormones and neuropeptides affect immune functions and, in turn, immune responses are reflected in neuroendocrine changes. The present study was, therefore, conducted to determine (1) the effect of interleukin-1 (IL-1), a polypeptide produced by stimulated monocytes/macrophages, on the hypothalamic-pituitary-adrenal (H-P-A) axis, and (2) the effect of glucocorticoid hormones, the final products of the H-P-A axis, on the release of IL-1 from human peripheral blood mononuclear cells in culture.

The intravenous injection of IL-1 into freely moving, conscious rats significantly increased the plasma levels of ACTH. The peak response was observed 10 min after injection with a several-fold increase in ACTH levels, and the increase in plasma ACTH caused by IL-1 was dose-related. This ACTH response to IL-1 was, however, completely abolished by preinjection of 0.5 ml of rabbit antiserum generated against rat corticotropin-releasing factor, but not by normal rabbit serum. IL-1 failed to stimulate the release of ACTH from primary monolayer cultures of rat anterior pituitary cells in concentrations ranging from 0.001 to 100 nM. Furthermore, prednisolone, a water-soluble synthetic glucocorticoid hormone, suppressed the secretion of IL-1 in a dose-related fashion. The prednisolone-induced suppression of IL-1 production occurred at low concentrations of the glucocorticoid; 50% inhibition was observed at 0.1 nM.

These results provide further evidence for the recently proposed hypothesis that there is two-way communication between the immune and neuroendocrine systems. A better understanding of the interaction between these two systems would help to explain the pathophysiology of various diseases having immune and neuroendocrine components.

(The Autonomic Nervous System, 26: 469~475, 1989)