

免疫-神経-内分泌ネットワーク：環境シグナルと体内シグナルの相互作用

ヒューゴー O. ベセドフスキー

ドイツ マールブルク・フィリップス大学

皆さん、おはようございます。まず最初に、このすばらしい会議で話をする機会をくださった主催者にお礼を申し上げます。また、アブストラクト集に目を通すと、内分泌攪乱化学物質の分野でかくも大きな進歩があったことに私はたいへんに感慨を深くしました。さらに、免疫-神経-内分泌の相互作用について話す機会を与えてくださった主催者と座長の先生に深くお礼を申し上げます。この広大な分野を 25 分間でまとめるというのは、難しい仕事だと言わざるを得ません。実に大変な役目ですが、最善を尽くします。

そこで、皆さんの誰もが知っていることから話を始めたいと思います。脳は、外部環境と内部環境に関する情報を、知覚器官や内部受容器を介して受け取り、その情報の一部が神経-内分泌系に渡されます。同じことが免疫系に対しても起こります。免疫系の特殊化した細胞が、異種抗原の侵入、変化した自己抗原の発現、組織や器官の統合性を感知します。しかし、神経-内分泌系と免疫系の 2 つの系の間で、ネットワークを共有して相互に連絡しあっているという事実は、あまりよく知られていません。これが本日の私の話の中心です。

免疫細胞はホルモン、神経伝達物質、神経ペプチドの受容体を発現し、こうした物質に反応します。その逆に、免疫系は脳と神経-内分泌系にメッセージを送ることができます。脳や神経-内分泌系には、こうしたメッセージを認識し、反応する構造が備わっています。これらが全体で免疫調節に関わるネットワークを構築して複雑な相互作用を行っており、これによっても神経-内分泌系の活動は影響されます。

我々が何年もの間携わってきた仮説を端的に示したのがこの図です。すなわち、この下のところにある免疫系と、上のところにある神経-内分泌系などの中枢神経系が、末梢との間でフィードバックできるという考えです。

免疫系が抗原刺激を受けると、皆さんご存知の免疫反応が起きるだけでなく、神経-内分泌反応が惹起され、それがさらに免疫系にフィードバックされることも、現在では解っています。この図は、我々の作業仮説の核心を示したものです。免疫細胞は、例えばサイトカイン類、特に炎症誘発性サイトカイン類を放出します。これらのサイトカイン類は脳のレベルまたは直接的に内分泌腺や末梢神経に作用して、神経-内分泌作用を引き起こし、それが免疫系にフィードバックされます。

免疫系と脳とがお互いに会話しているということを示すもっとも初期の証拠は、実に単純な実験で得られました。例えば何年も前には、末梢の免疫系が刺激されると、脳の一部において反応が見られるかどうかを調べるために、視床下部レベルのニューロンの記録を取ってみました。そこで何らかのニューロンの活動に変化があれば、免疫系から脳に情報が流れていることを証明できることになります。その実験では、いかなる疾患とも関係のない抗原を接種し、免疫反応を惹起させると、ニューロンの特定集団の活動の変化が観察できるかどうかを調べました。

この実験は 25 年以上昔のもので、ヒツジ赤血球で免疫したものです。ヒツジ赤血球は非常に強い免疫反応を引き起こすという特徴があり、脾臓内の特異抗体産生細胞の数を計測することで免疫反応を測定することができます。その同じ個体で、視床下部の腹内側領域において、ニューロンユニットの細胞外活性記録を取ることができます。このスライドに示したように、ここがコントロールおよび抗原を注入した部位です。実験第 1 日には、脾臓内の抗体産生細胞の数に変化はなく、我々が記録したニューロンの発火頻度にも変化はありませんでした。しかし、免疫反応のピーク時には、視床下部腹内側部のニューロンの発火頻度が 2~3 倍に増加しました。これが、免疫系の活性化によって脳へ情報が流れるようになるということを示す、我々がもっとも初期に得た証拠のひとつで、すなわち、この 2 つのシステムがお互いに非常に密な連絡を取りあいながら、抗原負荷への反応という同じひとつの宿主反応の中で働いているということを示しています。

免疫反応の際におけるその他の神経-内分泌系反応についても我々は調べてきましたが、時間の関係で実例を少ししかお話しできませんので、話題を、我々自身の研究による視床下部-下垂体-副腎系（HPA

系)に限定したいと思います。先ほどお話しした実験とまったく同じ抗原であるヒツジ赤血球を用いて動物を免疫し、HPA系の活動を調べてみました。最初の3日間つまりヒツジ赤血球に対する免疫反応の誘導段階では、HPA系の活動に何も変化が起きませんでした。しかし、脾臓内の抗体産生細胞の出現レベルがピークになったときには、血清中の副腎皮質ホルモンレベルが増大し、最終的に免疫反応が完全に消失するまで持続しました。

免疫反応における副腎皮質ホルモンの血中レベルの上昇には生物学的に意味があることを示す実験データを我々は持っていますが、それをお話ししている時間がありません。そこで、体内の2つの異なる構造(免疫系と内分泌系)の間の連携がどのように成立しているかについて触れておきたいと思います。このスライドの下半分にあるのが免疫系で、上半分にあるのが内分泌系です。免疫系からHPA系を活性化できる経路やメッセージが存在しているはずですが。

我々がこのような原始的なやり方をしていた当時は、サイトカインの存在などほぼまったく分かっていませんでした。当時我々がやろうとしていたのは、*in vivo*で起きている現象を、ヒトの末梢白血球を用いたいわゆる混合リンパ球反応を誘導することで、*in vitro*で再現することでした。その結果、ヒトリンパ球を*in vitro*で刺激して免疫反応を起こさせ、そこから得た無細胞性の上清が、無処置動物のHPA系の活動の亢進を誘発することが分かりました。この実験が、免疫系が視床下部-下垂体系にどのようにして影響を与えることができるのかを示した、最初のものでした。

後に、それは1種類の因子ではなく、同じ影響を誘発することができるサイトカインが少なくとも12種類あることが分かりました。これはきわめて大きな作用冗長(退縮)性です。サイトカイン類やインターロイキン類と視床下部-下垂体-副腎(HPA)系についての論文をMedlineで見ると、1,000本以上あります。我々が調べた最初のサイトカインはインターロイキン-1(IL-1)であり、この全体的な反応を引き起こすことができるものとしては、現在でも依然としてもっとも強力な物質です。

発熱を起こさない程度の低用量のIL-1を注射すると起きることを、このスライドに示しました。ACTHとコルチコステロンの両方のレベルが増大し、視床下部のCRH(副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン)産生ニューロンが活性化します。HPA系全体が、IL-1によって活性化したわけですが。先ほど述べたように、免疫細胞が産生し、同様な作用を引き起こすことができるサイトカインが12種類以上あります。

例えば、次の2枚のスライドにあるように、IL-6とTNFもHPA系を活性化しますが、IL-1と同程度の作用を得るには20倍以上の用量が必要です。基本的に作用は同じですが、IL-1のほうがはるかに強力です。

今述べたようなデータによって、初めての免疫-神経-内分泌系回路の輪郭がつかめました。現在では、交感神経系を含む複数の回路や、視床下部-下垂体-内分泌系を含む複数の回路が見つっていますが、ここではこのひとつに話を限定します。

このスライドは、免疫系を刺激すると、IL-1が放出される様子を図にしたものです。ずいぶん古いスライドですが、免疫系を刺激すると、IL-1が放出されるだけでなく、その免疫反応の種類に応じて、一般的にグルココルチコイド増加因子と呼ばれるファミリーに属するその他のサイトカイン類も放出されます。このサイトカイン類は、視床下部レベル、下垂体レベル、副腎レベルのいずれにおいても作用して、グルココルチコイドのレベルを上昇させます。グルココルチコイドの放出が増大すると、ほとんどのサイトカイン類の産生はグルココルチコイドによって抑制されますので、フィードバックが成立します。すなわち、サイトカイン類がHPA系を活性化すると、その活性化が免疫系にフィードバックされて、何種類かのサイトカイン類の産生を抑えるわけです。サイトカインが関与するHPA系の活性化は、感受性のある個体における自己免疫疾患やリンパ球増殖性疾患の出現の促進に働くであろうと考えられるリンパ球の増殖と活性も抑制します。この回路に関連する実例を2つだけ挙げます。

グラム陰性菌のエンドトキシンであるLPSを、動物を発熱させたり、死亡させたりはしない程度のごく低用量注射すると、コルチコステロンの血中レベルが増大します。この上昇をなくす、つまり阻害すると、動物が100%死亡することから、この上昇は非常に重要です。すなわち、生きるか死ぬかの問題なのです。

この作用は、エンドトキシンの何らかの直接作用によるものではなく、IL-1などのサイトカイン類の放出によるものです。事実、このスライドに示したように、IL-1受容体をアンタゴニストでブロックすると、エンドトキシンのHPA系への作用が大幅に消失します。細菌産生物でToll-like受容体を刺激してこの回路を操作する事例が多数あり、それらはサイトカイン-HPA系回路が自然免疫に関係していることを示しています。しかし特定の免疫反応の際には、この回路が生死にも関係しているのです。

その例のひとつですが、例えばミエリン塩基性タンパク質のような抗原をLewisラットに投与することでいわゆる実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）を誘発させると、これらのラットは、免疫後、12日から14日目に、麻痺発作を発現します。

これらの、ミエリン塩基性タンパク質に特異的な免疫反応を起こした動物における血清中のコルチコステロン濃度を測定してみると、コルチコステロンが上昇しています。これらの動物は、副腎を切除すると、すべて死亡することが分かっています。切除しなければ、全個体が生存します。この防御的作用もやはり、サイトカイン-HPA回路に基づいています。というのも、このEAE動物のIL-1受容体をブロックすると、コルチコステロンのレベルが上昇したままで、病態が顕著に良くなるからです。

この2つの例は、免疫系と神経-内分泌系との間の相互作用がとても重要であることを示しているだけでなく、この相互作用が環境因子を初めとする様々な因子によって攪乱されることが宿主にどんなに重要であるかということも示しています。免疫系と神経-内分泌系との間の供役的な反応が、感染、自己免疫疾患、新生物疾患の制御に寄与していると考えられるならば、こうした反応の攪乱の原因となるものはどのようなものでも、深刻な医学的問題として現われうることになります。

ここまで私が述べてきましたのは、いわゆるロングループ回路というものについてでした。しかし今では、末梢に由来し、神経-内分泌反応に関与するものと同じサイトカイン類が、脳でも産生されていることが分かっています。では、それが脳で産生されるのはいったい何のためなのでしょう。IL-1、IL-6、TNF、インターフェロンなどのサイトカイン類が脳の細胞、特に星状膠細胞や小膠細胞で産生されており、一部のニューロンでも産生されています。

LPSを、脳血液関門を通過せず脳に侵入しないことが分かっている程度のごく低用量で、動物の末梢に注射してみると、このエンドトキシンは視床下部、脳幹、海馬において数種のサイトカイン類の遺伝子発現を誘導しました。大脳皮質、小脳、視床では非常に低くしか誘導されませんでした。このように、末梢の免疫細胞が活性化することによって、脳においてIL-1、IL-6、TNF、インターフェロンといったサイトカイン類が産生されるか、少なくとも遺伝子の発現が引き起こされたのであり、すなわち、末梢レベルで免疫細胞が刺激されれば、脳内でこうしたサイトカイン類が発現しうることを示しています。

この作用は、ノルアドレナリン性（NA）ニューロンによって制御されています。なぜならば、脳の中のこうしたニューロンを神経毒物である6-ヒドロキシドーパミンで破壊すると、視床下部におけるIL-1の発現は処置前の発現レベル近くで維持されますが、同時に、コルチコステロンレベルが、脳のNAニューロンが損なわれていない個体に比べて顕著に減少するからです。

脳におけるサイトカイン類の遺伝子発現を研究している時に、IL-1を動物の腹腔内に投与すると脳内でもIL-1遺伝子が発現するという驚くべきもう一つの発見がありました。すなわち、末梢のIL-1が、視床下部で自分自身の遺伝子発現を誘導しているのです。そのことの意義を探るために、我々は中枢神経系のIL-1受容体をブロックして末梢にIL-1やLPSを投与すると、HPA系や血糖値にどのような影響が起こるかを調べました。

再びHPA系です。このスライドに示されているように、脳のIL-1受容体をブロックすると、LPSまたはIL-1による視床下部-下垂体系の刺激の誘発にはまったく変化が起きませんでした。しかし、これらの物質への反応の維持相においては、血中コルチコステロンレベルが低下することが観察されました。この低下は、脳内のIL-1遺伝子の発現量と並行しています。すなわち、脳由来の内因性IL-1は、HPA系の反応の維持に関与しています。

次のスライドにあるように、IL-1を末梢に投与するとグルコースレベルが長時間にわたって低下することにも我々は気づいていましたが、これについても事情は同じです。この作用は、アデノウイルスをキャリアにして脳内のIL-1受容体アンタゴニストを過剰発現させるか、IL-1受容体拮抗タンパク質を用いる

ことで、ブロックできました。スライドに示されているように、脳内の IL-1 受容体がブロックされると、これらの動物で観察される末梢の低血糖が妨害されます。

すると、次の疑問も浮かんできます。ニューロン活動が増加しても、脳のレベルにおいてサイトカインが産生されるようになるのでしょうか。そこで我々は、海馬のニューロン活動の長時間にわたる増加、すなわち長期増強 (LTP) を誘導するモデルを用いました。長期増強は、学習と記憶のある形態に関係しているので、非常によく研究されている現象です。しかし LSP の過程は、シナプス前のレベルにおけるごく短時間のニューロン刺激によって、数時間程度、または *in vivo* では数日間やさらには数週間という長期間持続できるニューロン刺激が引き起こされることが基本になっていますので、我々は研究用ツールとしてこの LTP を利用し、こうした長期間のニューロン活動の増強によって、サイトカイン類の局所的な誘導が起きるのかどうかを調べてみました。

LTP の様子を示したのがこのスライドです。最初に、処置前のニューロン活動の背景レベルを記録し、続いて、1 分以内に 3 回の強縮刺激を行うと、シナプス効率が急速かつ長期持続して増強しました。このことは、例えば **population spike amplitude** などの、いろいろな方法で測定可能です。我々が *in vivo* で得た結果をお見せします。同様の結果は、海馬スライス標本実験でも得ています。

このスライドで示すように、LTP 刺激の 8 時間後に、同側の海馬において IL-1 の mRNA の発現が対側に比べて増加しましたが、偽処置個体では影響がまったく見られませんでした。偽処置は 2 週間から 3 週間の長期間、動物の脳の中に電極をインプラントしておくというものです。LTP が 3 時間しか持続しない場合は、5 時間後には IL-1 遺伝子の発現にまったく増加が見られませんでした。しかしもっと重要なのは、LTP の引き起こす NMDA、すなわちグルタミン酸受容体をブロックすると、IL-1 遺伝子の誘導もブロックされたことです。

当然我々は、海馬における IL-1 発現の意義は何なのかを調べようと思いました。そのためには、IL-1 受容体の発現をブロックする必要があります。なぜならば、我々が測定したいのはタンパク質ではなくて遺伝子だからです。天然の IL-1 受容体アンタゴニスト (IL-1ra) を側脳室に注入すると、注入が強縮性刺激よりも前か、刺激と同時に行われたならば、何も起こりませんでした。しかし、IL-1 遺伝子が完全に発現している 2 時間後に、このブロッカーを投与すると、増強されたニューロンの活動レベルが基準レベルまでに減少しました。すなわち、内因性 IL-1 は、これらの動物における LTP の維持に寄与しています。スライド次お願いします。

我々は、IL-6 についてもまったく同じことをしました。その詳細については割愛しますが、このサイトカインの遺伝子も、LTP を起こしている個体の、同側の視床下部で遺伝子が発現します。対照群では、このサイトカインの遺伝子発現が増加した個体はありませんでした。すなわち、LTP の時には IL-6 も増加します。しかし、炎症誘発性サイトカイン類のすべてが LTP 過程中に発現するものではないことも分かっています。というのも、TNF 遺伝子の発現は LTP の際に増加しません。それに対して、IL-1 ファミリーの他のメンバーである IL-1 受容体アンタゴニストや IL-18 は LTP の時に発現します。

このスライドは、抗 IL-6 中和抗体を脳に注射すると LTP に起こることを示したものです。この抗体を注射された動物には、LTP 持続時間に明瞭な増大が見られ、IL-6 はちょうど IL-1 の反対の作用を働きます。このことから、両方のサイトカインはともに、LTP 維持の微調整に関わっているものと考えられます。

今度は、免疫系に戻しましょう。極低用量の LPS を動物に腹腔内に投与した場合に起きることを見てみましょう。LTP は、すでに述べたように多くの種類の行動や記憶の形成に関わっています。LPS を末梢に投与すると、この LTP が抑制されます。

では、まとめに入ります。脳のレベルで作用するサイトカイン類は、免疫系と神経-内分泌系との間のコミュニケーションにおいて不可欠な役割を果たしています。しかし、通常状態では、これらのメディエーター類は、末梢では免疫レギュレーターとして、脳では神経モジュレーターとして働いています。サイトカイン類は、末梢レベルでは液性経路や神経性経路を介して間接的に、もしくは脳の脈管レベルで作用して、神経-内分泌反応を開始させ、脳のいろいろな部位においてサイトカイン類を産生させます。

脳で産生されたサイトカイン類は、神経-内分泌反応を長期間持続させ、そうすることで免疫制御に関与します。末梢の免疫シグナル物質および、長期持続する神経刺激で誘導されたシグナル物質の両方によ

って、脳内のサイトカイン産生が起こります。この2つの種類のシグナル物質が、脳のサイトカイン産生細胞に働きかけ、免疫の中枢レベルと神経性の影響を統合しているものと我々は考えており、これが、脳のレベルで免疫-神経-内分泌系がどのように統合されているのかについての説明になると思われます。外部環境とミクロな体内環境から発した神経系/知覚系刺激および免疫系刺激に対する協調した反応が、疾患時の適応メカニズムを構成しています。しかし、こうした協調的な適応反応は外来因子によって攪乱されることがあります。

最後に聴衆の皆さんにこのメッセージを伝えて終わりたいと思います。主に炎症誘発性であるサイトカイン類は、ここに示した外部環境と体内環境との間の接点において産生されます。また、これらサイトカイン類は、神経-内分泌反応に関与することができ、その反応が長期にわたった場合には、内分泌系に対する攪乱物質として作用することもあります。サイトカイン類は、内分泌攪乱物質のメディエーターとなり得るものとして研究すべきだと皆さんに申し上げておきます。このような研究によって、今後、環境汚染物質への曝露といった過程における内分泌機能攪乱のメカニズムのさらなる理解が得られるものと思います。ご静聴ありがとうございました。

質疑応答

野原：ベセドフスキー先生、たいへんありがとうございました。ひとつ質問をしてよろしいですか。

ベセドフスキー：どうぞ。

野原：確認をしたいのですが、サイトカイン類が免疫細胞で産生される場合、脳血液関門は通過できますか。

ベセドフスキー：それは未解決の問題でして、多くの人は、脳血液関門は通過しないと言うでしょうが、サイトカイン類の脳への影響を解釈するための間接的な経路があるのです。最後にお見せした図に我々が至った理由がそれです。例えば、脳の血管の内皮細胞との接点におけるサイトカイン類によって誘導される、例えばプロスタグランジンや NO といった因子がいくつかあります。そうした因子が次に脳の細胞を間接的に活性化させます。また、脳に伝えられる神経性求心信号、特に迷走神経によるものがあると言う意見もあり、それを示すデータもあります。しかし基本的には、サイトカインのシグナルが脳に到達する経路が直接的なものであろうと間接的なものであろうと、ひとたび脳に到達したならば起きる事柄を知る必要があります。これらメディエーターの作用が長期持続するのも、脳内で自分自身を誘導する能力をそれらが持つからです。それは、私が 2 番目のパートで採り上げた問題でした。

野原：私になぜこのような質問をしたのかと言いますと、サイトカイン類が脳血液関門を通過できるならば、サイトカイン類は、免疫系で見られるサイトカインによるのと同じようなネットワークを、脳でも誘導するのではないかということです。

ベセドフスキー：私の考えでは、サイトカイン類は脳血液関門を通過しません。こうしたサイトカイン類は、いろいろな経路を通じて間接的に作用を発揮します。特に、末梢のシグナル物質が、脳での低レベルのサイトカイン産生を引き起こし、そのサイトカインがその場所で作用するのです。

野原：ただし、脳の中に同様のネットワークを見ることができると……

ベセドフスキー：その通りです。

野原：分かりました。ありがとうございました。

質問：ベセドフスキー先生、あなたはサイトカイン類が内分泌攪乱化学物質のメディエーターである可能性があるかと強くおっしゃっていました。

ベセドフスキー：あると思いますが、その可能性に関してはほとんど研究されていません。

質問：たしか、それを強く言っておられ、おそらくそれが真実だとも、たしかおっしゃっていました。その辺について、もう少し詳しく説明してもらえないでしょうか。そのようにお考えになる実例など何かありますか。

ベセドフスキー：ありません。私にとっても驚きなのですが、文献を調べてみたところ、そのことに関する情報があつたとしてもほんの少ししか見つけられなかったのです。これが、私が皆さんに言っておきたかったことです。その理由ははっきりしており、皆さんがご存知のように、皮膚では身体の中のリンパ性組織よりも大量に IL-1 が産生されています。そして皮膚は粘膜とともに、我々の主要な外界との境界面です。この境界面においては、大量のサイトカイン類の産生が引き起されます。そして、そうしたサイトカイン類が実際にメディエーターとして働いていて、何らかのレベルで組み込まれているのかもしれない。しかし、化学物質や天然物質である何らかの刺激物質や毒性物質に慢性に曝露することでそうしたサイトカイン類が産生されるようになると、サイトカイン類は細胞の代謝に干渉することができるようになります。それによって、サイトカイン類が影響を与えることが分かっている神経-内分泌系野多くにおける攪乱の最後の段階で、サイトカイン類の長期にわたる通常ではない放出が起きているのかもしれない。最後に皆さんに一言申し上げて終わります。炎症誘導性などのサイトカイン類が内分泌攪乱現象に関与している可能性について、是非、真剣に検討してください。

野原：ベセドフスキー先生、たいへんありがとうございました。