

学 位 論 文 題 名

Sympathetic regulation of hepatic interleukin
expression during non-invasive stress

（非炎症性ストレスによる肝インターロイキン産生とその交感神経性調節）

学位論文内容の要旨

人や動物は環境や心理的なストレスに対し、自律神経系、内分泌系、免疫系といった調節系を変化させてストレスに適応しようとする。これらの調節系は独立したものではなく、互いに連関している。例えば炎症によって生じた Interleukin (IL)-1は血行性に脳に達し、発熱や食欲抑制、下垂体－副腎皮質系の活性化などを誘発する。一方、非炎症性のストレスによって交感神経－副腎髄質系の活動が亢進し、リンパ球の幼若化反応やナチュラルキラー細胞活性の低下をもたらすことが知られている。

炎症のメディエーターであるIL-1やIL-6の血中レベルは、拘束や運動など炎症を伴わないストレス負荷時にも増加することが知られている。さらに拘束ストレスによる血中IL-6レベルの上昇は肝部分切除術や肝に分布する交感神経の切断によって抑制されること、これは主に肝実質細胞でのIL-6産生によること、などが明らかにされている。しかし、その詳細な機構については不明なままである。一方、ストレスによる血中IL-1上昇の機序やその分泌臓器については全く明らかにされていない。そこで本研究では、第1章で非炎症性ストレスである振動ストレスをラットに負荷し、肝臓でのIL-1 β mRNAの発現とその交感神経性調節機構について、脾臓と比較しながら検討した。第1章の結果をふまえ、第2章では初代培養肝実質細胞におけるIL-6 mRNA発現について、交感神経系の直接作用と非実質細胞を介する間接作用について調べた。

第1章で得られた結果は次のとおりである。ラットに30分の振動ストレスを負荷すると肝臓および脾臓でのIL-1 β mRNA発現が増加した。この反応は肝臓および脾臓のマクロファージを除去するGadolinium chlorideの投与によって消失し、化

学的交感神経遮断薬の投与と副腎摘出術の両処置によって完全に抑制された。さらに β -Adrenergic blockerの投与によっても抑制された。これらの結果から、振動ストレスによって交感神経終末と副腎髄質よりカテコールアミンが放出され、肝臓と脾臓でのIL-1 β mRNA発現を増加させること、またその発現はマクロファージの β -アドレナリン受容体を介することが示された。

第2章で得られた結果は以下のとおりである。肝臓におけるIL-6 mRNAの発現も振動ストレスによってIL-1 β と同様に増大した。ラットの肝臓をコラゲナーゼで処理し、肝実質細胞と非実質細胞を分離し、in vitroで48時間培養した。培養した肝実質細胞では弱いながらもIL-6 mRNAの発現を認め、この細胞をノルエピネフリン(NE)で刺激するとさらにIL-6 mRNAの発現が濃度依存性に増加した。Adrenergic blockerはNEによるIL-6 mRNAの誘導を抑制した。非実質細胞をNEで刺激すると、上清中のIL-1 β 濃度は増加した。この非実質細胞培養上清を肝実質細胞に加えるとIL-6 mRNAの発現が増大した。この効果はIL-1 receptor antagonistによって抑制された。また、IL-1 β , IL-6, およびtumor necrosis factorで肝実質細胞を刺激すると、IL-1 β で刺激した時のみIL-6 mRNAの発現増大が認められた。これらの結果から、NEは直接肝実質細胞に作用してIL-6 mRNAの発現を増加させること、さらに肝非実質細胞にも作用してIL-1産生を増大させることによって肝実質細胞のIL-6の発現を誘導することが、示された。

以上のように、本研究では非炎症性の振動ストレスによって交感神経-副腎髄質系が活性化し、そこから放出されたカテコールアミンの β 作用によって、肝臓マクロファージのIL-1 β と肝実質細胞でのIL-6の遺伝子発現が誘導されることが明らかにされた。さらに、産生されたIL-1 β は肝実質細胞でのIL-6の発現を誘導することも示された。今後、肝臓でのサイトカインがストレス反応において果たす役割の解明が望まれる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 齊 藤 昌 之

副 査 教 授 渡 辺 智 正

副 査 助 教 授 木 村 和 弘

副 査 支 場 長 加 藤 憲 夫 (家畜衛生試験場)

学 位 論 文 題 名

Sympathetic regulation of hepatic interleukin expression during non-invasive stress

(非炎症性ストレスによる肝インターロイキン産生とその交感神経性調節)

炎症のメディエーターであるInterleukin (IL)-1やIL-6の血中レベルは、拘束や運動など炎症を伴わないストレス負荷時にも増加することが知られている。さらに拘束ストレスによる血中IL-6レベルの上昇は肝部分切除術や肝に分布する交感神経の切断によって抑制されること、これは主に肝実質細胞でのIL-6産生によること、などが明らかにされている。しかし、その詳細な機構については不明なままである。一方、ストレスによる血中IL-1上昇の機序やその分泌臓器については全く明らかにされていない。そこで本研究では、最初に、非炎症性ストレスである振動ストレスをラットに負荷し、肝臓でのIL-1 β mRNAの発現とその交感神経性調節機構について、脾臓と比較しながら検討した。それらをふまえて次に、初代培養肝実質細胞におけるIL-6 mRNA発現について、交感神経系の直接作用と非実質細胞を介する間接作用について調べた。得られた主な結果は以下の通りである。

1、ラットに30分の振動ストレスを負荷すると肝臓および脾臓でのIL-1 β mRNA発現が増加した。この反応は肝臓および脾臓のマクロファージを除去するGadoliniumchlorideの投与によって消失し、化学的交感神経遮断薬の投与と副腎摘出術の両処置によって完全に抑制された。更に β -Adrenergic blockerの投与によっても抑制された。これらの事実から、振動ストレスによって交感神経終末と副腎髄質よりカテコールアミンが放出され、肝臓と脾臓でのIL-1 β mRNA発現を増加させること、またその発現はマクロファージの β -アドレナリン受容体を介することが示された。

2、肝臓におけるIL-6 mRNAの発現も振動ストレスによってIL-1 β と同様に増大した。ラットの肝臓をコラゲナーゼで処理し、肝実質細胞と非実質細胞を分離し、invitroで48時間培養した。培養した肝実質細胞では弱いながらもIL-6 mRNAの発現を認め、この細胞をNorepinephrine(NE)で刺激するとさらにIL-6 mRNAの発現が濃度依存性に増加した。Adrenergic blockerはNEによるIL-6 mRNA誘導を抑制した。非実質細胞をNEで刺激すると、上清中のIL-1 β 濃度は増加した。この非実質細胞培養上清を肝実質細胞に加えるとIL-6 mRNAの発現が増大した。この効果はIL-1 receptor antagonistによって抑制された。また、IL-1 β 、IL-6、およびTumor necrosis factorで肝実質細胞を刺激すると、IL-1 β で刺激した時のみIL-6 mRNAの発現増大が認められた。これらの結果から、NEは直接肝実質細胞に作用してIL-6 mRNAの発現を増加させること、さらに肝非実質細胞にも作用してIL-1産生を増大させることによって肝実質細胞のIL-6の発現を誘導することが示された。

以上のように本論文では、非炎症性の振動ストレスによって交感神経-副腎髄質系が活性化し、放出されたカテコールアミンの β 作用によって、肝臓マクロファージのIL-1 β と肝実質細胞でのIL-6の遺伝子発現が誘導されることが明らかにされた。さらに、産生されたIL-1 β は肝実質細胞でのIL-6の

発現を誘導することも示された。これらの成果は、哺乳動物の生理学、とりわけ脳・免疫相関という新しい学問分野への貢献が大である。よって審査員一同はBae Dong Jung氏が博士（獣医学）の学位を受ける資格が十分あると認めた。