

運動量とマウス免疫担当細胞の関係

東京慈恵会医科大学 小川 芳 徳
(共同研究者) 同 米 本 恭 三
民生科学研究所 藤 卷 正 人
同 内 間 高 夫

Relationship Between Quantity of Exercise and Immunocytes under Voluntary Exercise in Mice

by

Yoshinori Ogawa, Kyozo Yonemoto

Sports Medicine Laboratory, The Jikei University School of Medicine

Masato Fujimaki, Takao Uchima

Public Welfare Scientific Research Foundatin

ABSTRACT

A study was conducted to investigate the effects of voluntary exercise, and the relationship between the quantity of exercise and immunocytes, in mice. Twenty six-weeks old inbred C57BL/6Cr mice used for the experiment were divided into two groups: sedentary controls ($n=6$), and mice taking voluntary exercise ($n=14$) on running wheels. The period of exercise training was 6 weeks. Beginning at the age of 6 weeks, the daily number of wheel rotations was measured as the quantity of exercise.

The total number of rotations during the 6-week period ranged from 377,480 to 587,324, with an average of $492,505 \pm 69,685$ (mean \pm S.D.). The daily average numbers of rotations for each week in the training period were $6,802 \pm 1,165$, $11,668 \pm 2,445$, $13,262 \pm 2,561$, $12,696 \pm 2,396$, $12,333 \pm 1,779$ and $11,859 \pm 1,760$ (mean \pm S.D.).

The percentage of Thy 1.2⁺, L3T4⁺ and Lyt-2⁺ cells in blood in

the voluntary exercise group was significantly increased compared with the control group. However, the percentage of Ig⁺ cells in the voluntary exercise group was significantly decreased. There was no significant relationship between the quantity of exercise and the percentage of immunocytes in mice. The coefficients of correlation between the quantity of exercise and each type of immunocyte were $r = 0.1140$ (Thy 1.2⁺), $r = 0.2429$ (L 3 T 4⁺), $r = 0.4278$ (Lyt- 2⁺) and $r = 0.1703$ (Ig⁺), respectively.

要 旨

マウスに長期間の自由運動を行わせ、運動の免疫担当細胞に及ぼす影響、および運動量と免疫担当細胞の間に一定の関係があるか否かを検討した。被検動物として、C 57 BL/6 Cr マウス 20 匹を用いた。マウスは、自由運動群 (14 匹) とコントロール群 (6 匹) に分けられた。自由運動群の運動開始は 6 週齢とした。自由運動群は回転ドラム付きケージ (夏目製作所製: 東京) で飼育され、一日の運動量をその回転数として求めた。トレーニング期間は 6 週間であった。免疫能の指標として血中の Thy 1.2⁺, L 3 T 4⁺, Lyt- 2⁺ 細胞, Ig⁺ 細胞がフローサイトメータを用いて測定された。

6 週間の全回転数は 377,480 ~ 587,324 の範囲で、各マウスの平均値 ± 標準偏差は 492,505 ± 69,685 回転であった。1 日平均回転数は 1 週目 6,802 ± 1,165 回/日であり、2 週目以降、6 週目までの回転数は、それぞれ 11,668 ± 2,445 回/日、13,262 ± 2,561 回/日、12,696 ± 2,396 回/日、12,333 ± 1,779 回/日、11,859 ± 1,760 回/日 (平均値 ± 標準偏差) であった。

Thy 1.2⁺, L 3 T 4⁺, Lyt- 2⁺ 細胞は、コントロール群に比べ運動群で有意に高値を示したが、Ig⁺ 細胞は、運動群の方がコントロール群より有意に低かった。運動量 (6 週間の全回転数) と免

疫担当細胞 (Thy 1.2⁺ 細胞, L 3 T 4⁺ 細胞, Lyt- 2⁺ 細胞, Ig⁺ 細胞) の相関係数は、それぞれ $r = 0.1140$, $r = 0.2429$, $r = 0.4278$, $r = 0.1703$ であり、免疫担当細胞と運動量の関係は統計的に有意な関係ではなかった。

はじめに

医学の分野において免疫系は、炎症、腫瘍、臓器移植などに大きな関わりを有している。また、ヒトが健康な生活を営む上では免疫系の働きが不可欠であることは周知の事実である。一方、健康な状態を維持する目的でヒトは運動を行い、また「運動」により免疫能は影響を受ける^{3,7,8)}ことが報告されている。

運動と免疫系について金子ら²⁾は、日常ジョギングを習慣的に行っている高齢者のグループは、一般のグループより末梢血リンパ球幼若化反応、リンパ球サブセット、血清免疫グロブリン値、免疫グロブリン産生能の値が若年者の値に近いことを報告している。また、自己免疫疾患系の MRL/lpr マウスに自由運動を行わせると、運動なしで飼育した群より長命であったという報告⁹⁾、および細菌に対する抵抗力は、運動トレーニングしたマウスで生存率が高いという報告¹⁾がある。すなわち、運動トレーニングが何らかの形で主たる生体防御系である免疫系を賦活するものと思われる。

そこで今回、マウスに長期間の自由運動を行わせ、運動の免疫担当細胞に及ぼす影響、および運動量と免疫担当細胞の間に一定の関係があるか否かを検討した。

1. 方法

被検動物として C57BL/6Cr マウス 20 匹を用いた。マウスを、自由運動群 (14 匹) とコントロール群 (6 匹) に分けた。自由運動群の運動開始は 6 週齢とした。自由運動群は回転ドラム付きのケージ (夏目製作所製: 東京) で飼育され、一日の運動量をその回転数として求めた。回転ドラム付きケージでのトレーニング期間は 6 週間であった。すなわち、6 週齢より開始し、12 週齢時に終了した。コントロール群はマウス用のプラスチックケージ内で、6 週齢より 12 週齢まで飼育された。運動群、コントロール群とも 12 時間の明暗サイクル下で飼育し、えさ、水の摂取は自由とした。採血はエーテル麻酔下にてマウスを背位に保定し、鼠径部の動静脈を切断し、注射筒で無菌的に行った。血液の処理は血液 100 μ l に試薬 3 μ l, PBS (リン酸緩衝液) 100 μ l を加え、4°C で 30 分間反応させたのち、溶血剤 2 ml を加え室温で 10 分間放置、のち PBS で洗浄し、上澄みを除去した沈殿物に PBS 1 ml を加えたものをサンプルとして用いた。

Ig⁺ (B 細胞) の測定にはこの操作の前に血液 100 μ l を PBS で洗浄、1,500 rpm で 10 分間遠心、37°C で 1 時間反応させ、さらに PBS で洗浄、遠心後上澄みを除去する操作を順に行った。PBS に浮遊したサンプルをレーザフローサイトメータ (Cytoron Absolute; Ortho Diagnostic Systems) で測定した。T 細胞、ヘルパー T 細胞、サプレッサー T 細胞、B 細胞を測定するために、FITC 標識の抗 Thy 1.2, 抗 L3T4, 抗 Lyt-2 (ファームジョン), およびヤギ抗マウス Ig (ベクトンデッキンソン) の抗体を用いた。

2. 結果

トレーニング 6 週後のマウスの体重は 23.77 \pm 0.86 g であり、同週齢のプラスチックケージで飼育されたマウス (コントロール群: 27.18 \pm 1.43 g) と比べ有意に低かった。

図 1 は、運動群のマウス 14 匹における自由回転ケージの回転数を示したものである。A は各マウスにおける 6 週間の全回転数を示し、B は各マウスにおける週当たりの 1 日平均回転数を示した。6 週間の全回転数は 377,480 ~ 587,324 の範囲で、各マウスの平均値 \pm 標準偏差は 492,505 \pm 69,685 回転であった。B の個々のマウスについての週当たりの 1 日回転数は、1 週目で 4,875 ~ 9,153 回であり、2 週目以降、6 週目までの回転数は、それぞれ 7,269 ~ 16,473 回, 8,348 ~ 17,463 回, 8,019 ~ 16,442 回, 9,346 ~ 14,839 回, 8,762 ~ 14,621 回の範囲であった。同様に週当たり 1 日平均回転数は、1 週目 6,802 \pm 1,165 回/日であり、2 週目以降、6 週目までの回転数は、それぞれ 11,668 \pm 2,445 回/日, 13,262 \pm 2,561 回/日, 12,696 \pm 2,396 回/日, 12,333 \pm 1,779 回/日, 11,859 \pm 1,760 回/日 (平均値 \pm 標準偏差) であった。

図 2 は、コントロール群と運動群の血中 Thy 1.2⁺ (全 T 細胞), L3T4⁺ (ヘルパー T 細胞), Lyt-2⁺ (サプレッサー T 細胞), Ig⁺ (B 細胞) 細胞について示したものである。Thy 1.2⁺, L3T4⁺, Lyt-2⁺ 細胞はコントロール群に比べ運動群で有意に高値を示したが、Ig⁺ 細胞は運動群の方がコントロール群より有意に低かった。

図 3 は、Thy 1.2⁺, L3T4⁺, Lyt-2⁺, Ig⁺ 細胞とそれぞれのマウスの 6 週間の全回転数との関係を示したものである。Thy 1.2⁺, L3T4⁺, Lyt-2⁺, Ig⁺ 細胞と全回転数の相関係数はそれぞれ $r = 0.1140$, $r = 0.2429$, $r = 0.4278$, $r = 0.1703$ であり、免疫担当細胞と全回転数の関係は統計的

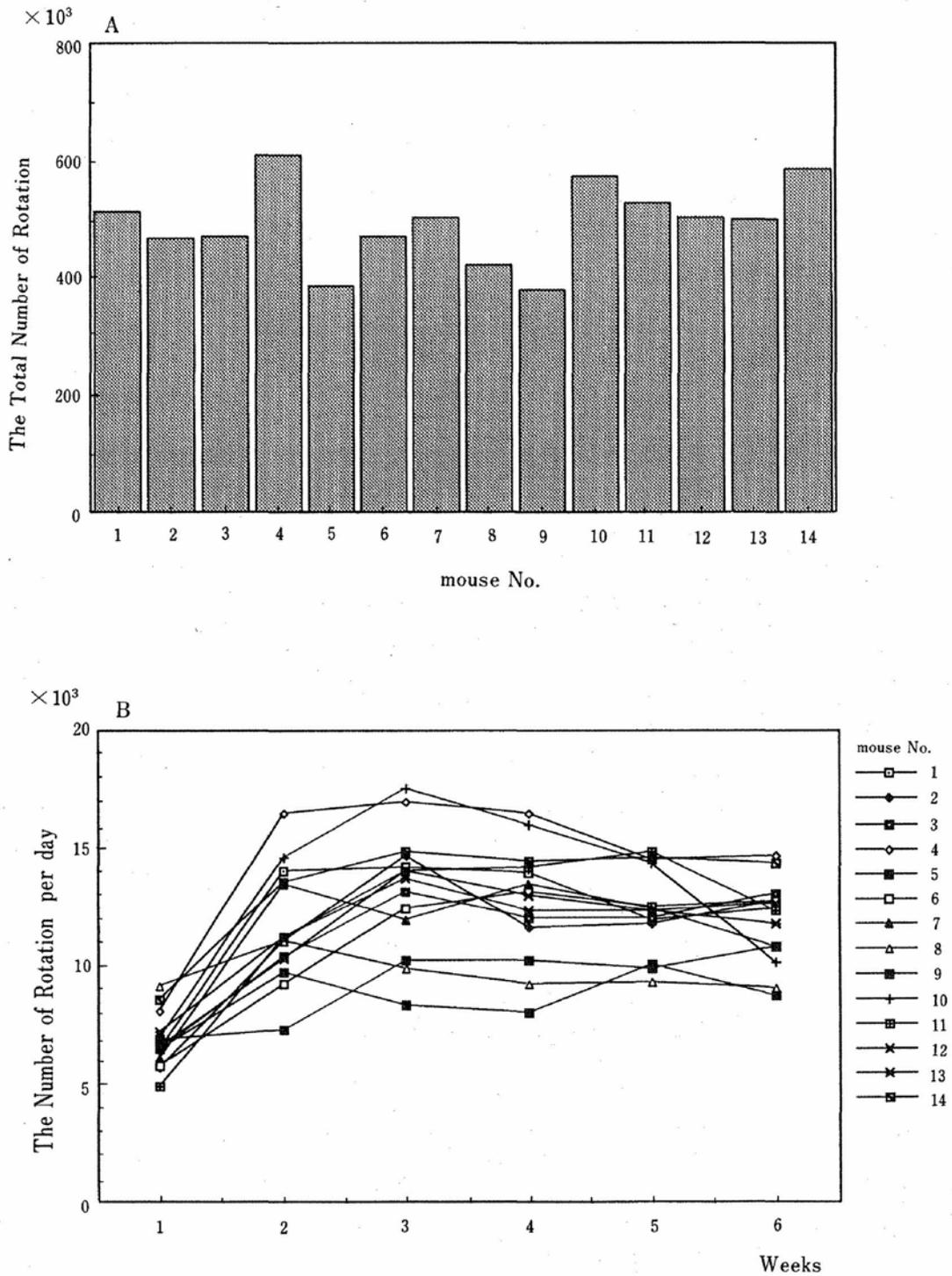


図1 マウス自由運動群における6週間のドラム回転数
 Aは各マウスの6週間における全回転数
 Bは各マウスにおける週当たりの1日平均回転数

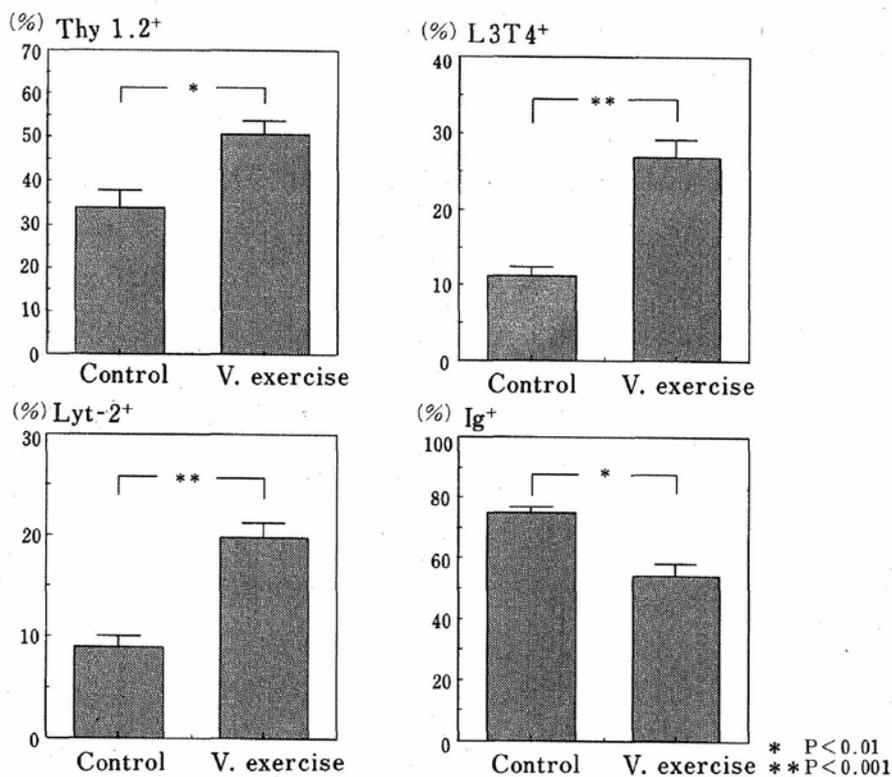


図2 自由運動群とコントロール群の免疫担当細胞の比較
 Thy 1.2⁺, L3T4⁺, Lyt-2⁺, Ig⁺ はそれぞれ T細胞,
 ヘルパー T細胞, サプレッサー T細胞, B細胞を示す

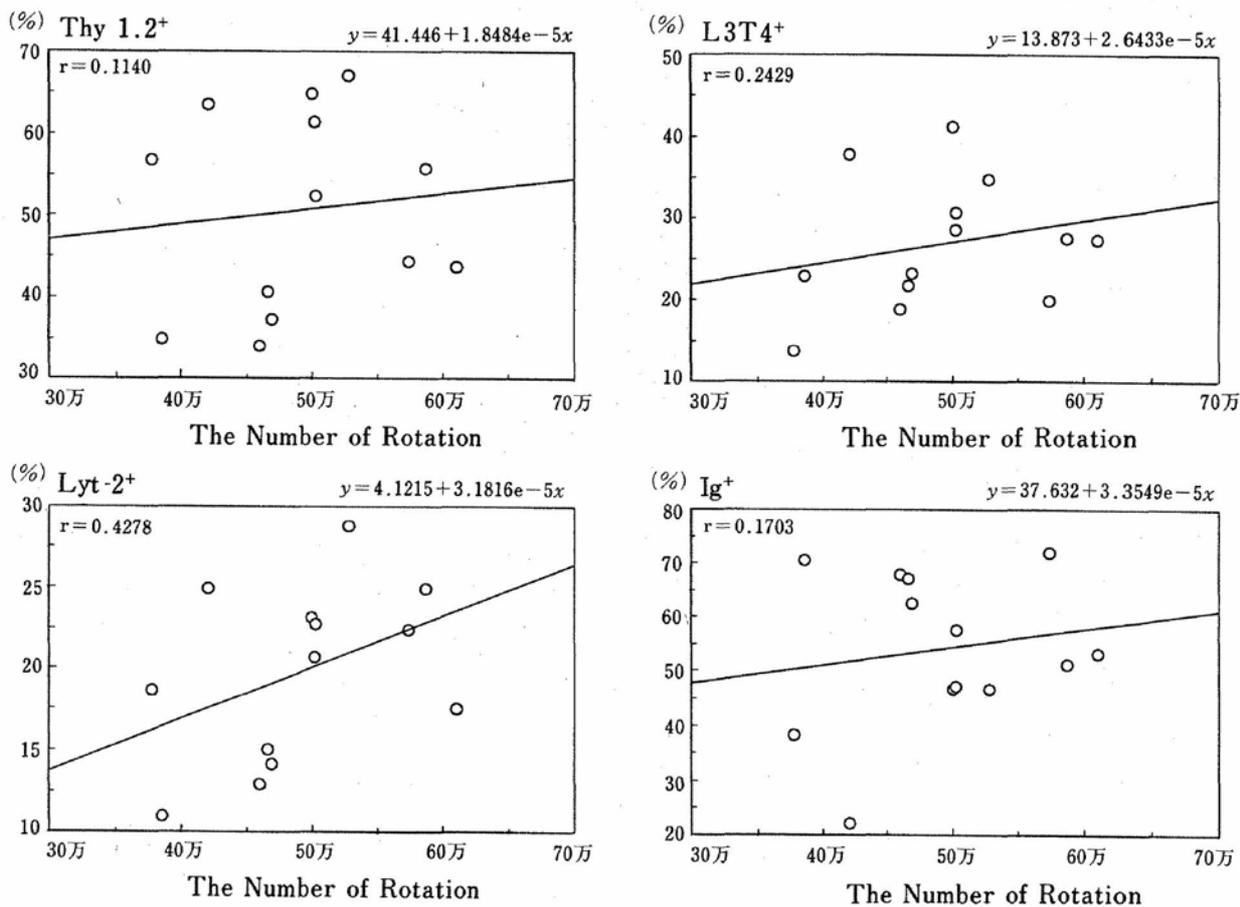


図3 運動量（6週間の全回転数）と免疫担当細胞との関係

に有意な差は認められなかった。

3. 考 察

運動量と免疫担当細胞の関係を調べるために回転ドラム付きのケージを用いた。この回転ドラムは、直径が32 cmで1回転は約1 mの距離に相当する。今回調べられたマウスの6週間のトレーニングで行った総回転数は、377,480回転から587,324回転の範囲であった。簡略化してドラム1回転を1 mで概算すると、377 kmから587 kmを走行したことになる。同様に、1週目から6週目までの1日平均走行距離は、それぞれ4.8～9.1 km, 7.2～16.4 km, 8.3～17.4 km, 8.0～16.4 km, 9.3～14.8 km, 8.7～14.6 kmの範囲であり、平均すると6.8 km, 11.6 km, 13.2 km, 12.6 km, 12.3 km, 11.8 kmであった。

回転数の測定は毎朝8～9時の間に行われ、また、日中はほとんどドラムが動いていないことから、10 km以上の走行は夜間に行われていたと推察される。1日の走行距離が4.8 km～17.4 kmであり、夜間を12時間とすると、分速にして6.6 m/min～24.1 m/minの速度で走行していたことになる。この速度がどの程度の「運動」に相当するか Hoffman—Goetzら^{4,5)}の先行研究と比較した。彼らはマウスを用いて、トレッドミル走を8週間行っている。トレッドミル運動の速度、時間は30 m/min, 30分であり、距離に換算すると900 mである。すなわち、本研究の1日の総走行距離10 km以上、および推定で24 m/minという平均速度はかなりの運動量であったことが推察される。

今回われわれが得た自由運動トレーニングの成績は、血中の免疫担当細胞を指標とし、Thy 1.2⁺, L3T4⁺, Lyt-2⁺細胞の上昇、Ig⁺細胞の低下をみた。これらの結果は、Hoffman—Goetzら⁴⁾の脾臓、リンパ節のL3T4⁺細胞が上昇した成績と一致する。しかしながら、同時に彼らは脾臓、

リンパ節のThy 1.2⁺, Lyt-2⁺細胞が変化しないことを報告している。彼らとの成績の違いが運動の質的な差を反映するものかは不明である。

動物について運動トレーニングと免疫能に関する先行研究をみると、Tharp & Preuss¹²⁾は、ラットに8週間のトレッドミルトレーニングを行わせた結果、Con A (Concanavalin A) に対する脾臓リンパ球の増殖反応は高まったことを報告している。一方、Pahlavaniら⁹⁾は、ラットに対し水泳トレーニングを6ヵ月間行い、Con AとLPS (Lypopolysaccharide) による脾臓リンパ球の増殖能の低下を報告している。Markら⁶⁾は、running wheelを設置したプラスチックケージでマウスを飼い、自由に運動を行わせた群の脾臓細胞はCon Aによる増殖能が低いという結果を報告している。また、Simpsonら¹¹⁾は、マウスの8週間のトレーニングでThy 1.2⁺, L3T4⁺, Lyt-2⁺, Ig⁺細胞に変化は見られなかったことを報告しており、運動トレーニングの免疫能に対する影響は一致をみていない。

本研究の成績は、運動トレーニングによる免疫系のメカニズムについて言及することはできないが、これら研究結果の違いは、各研究者が用いた被検動物の違い、トレーニング条件の違い、あるいは免疫能を評価するために用いられた指標の違い等が考えられ、実験条件を整え比較検討する必要があると思われる。事実、Markら⁶⁾のマウスはC57BLであり、本研究のマウスと同系統である。しかしながら、彼らのマウスの1日の走行距離は3～4 kmであり、われわれの10 kmと比較すると $\frac{1}{2}$ ～ $\frac{1}{3}$ であった。またトレーニング期間は3週間と短く、同系統のマウスでも総運動量の違いにより免疫能の応答は異なる可能性も考えられる。さらに、Hoffman—Goetzら⁵⁾は、トレーニング後30分ではコントロール群に比べLPSとPWM (Pokeweed mitogen) による脾臓細胞の増殖反応が低下したが、トレーニング終了後から

72時間の休養を与えた群では、コントロール群に比べ増殖能は上昇したという成績を示しており、免疫能の運動に対する応答は、時間の経過に伴って変化する可能性が示唆される。

また、Reyes & Lerner¹⁰⁾は、強制的な水泳トレーニングを負荷したマウスでは胸腺の萎縮が起こることを報告している。Hoffman-Goetzら⁴⁾は、各臓器における免疫担当細胞の測定で、胸腺のT細胞の減少、ヘルパーT細胞の上昇、脾臓、リンパ節ではT細胞、サプレッサーT細胞に変化はなく、ヘルパーT細胞は上昇を示したことを報告している。本研究で得たサンプルは、血中の免疫担当細胞を指標とし、T細胞、ヘルパーT細胞、サプレッサーT細胞の上昇、B細胞の低下という成績を得た。これら運動に対する免疫応答の違いは、トレーニングに伴い各臓器の免疫担当細胞の応答が異なることを意味し、臓器間の相互連絡、あるいは相互作用について検討する必要があるものと考えられる。

運動量は、運動の強度と時間の積で表わされる。本研究における走行速度の平均値は、2週目以降10 m/min～24 m/minの範囲であった。この速度はマウスの活動時間帯を夜間12時間とした時の平均速度であり、休憩時間を考慮していないことから、少なくともこれ以上の速度で走行しているものと推察される。すなわち、本研究のマウスの運動は、先行研究で報告された運動強度よりも強く、運動に費やす時間も長かったと考えられる。

小川ら⁹⁾は、免疫能に対する運動の影響は運動の「時間」よりも「強度」の因子の方が大きいことを示唆している。本研究の実験設定では、運動の強度と時間の因子を分けて考察することはできない。しかしながら、回転ドラムから算出した平均走行速度および時間は、先行研究の運動強度、時間を相当上回っているものと考えられる。運動量と免疫担当細胞の関係は図3に示されている。

おのおのの免疫担当細胞と運動量（6週間の総回転数）との間には、統計的に有意な関係は認められなかったものの、相関係数は正であった。すなわち、運動量の多少は血中の免疫担当細胞に対して活性化の傾向にあったという解釈が可能なのかもしれない。ただし、Ig⁺細胞は運動トレーニングにより低下を示したが、運動量との相関係数は $r = 0.1703$ という正の関係であった。すなわち、Ig⁺細胞は運動トレーニングにより抑制されるものの、運動量との関係は他の免疫担当細胞と同じ傾向であったことから、相対的な数値よりも絶対的な数値の検討を試みる必要があると考えられた。また、今回行った運動量は、運動の強度の要素、時間の要素を別々に評価できないことから、運動の強度、運動の時間など運動の質を考慮した実験設定が必要と思われた。

文 献

- 1) Cannon, J. G., M. J. Kluger ; Exercise enhances survival rate in mice infected with salmonella typhimurium, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **175**, 518-521 (1984)
- 2) 金子洋昭, 福元知子, 木村達志, 大成浄志 ; 運動と免疫機能に関する研究, 第4報—運動習慣を有する中高年齢者の免疫能, *体力科学*, **39**, 772 (1990)
- 3) Keast, D., K. Cameron, A. R. Morton ; Exercise and the immune response, *Sports Med.*, **5**, 248-267 (1988)
- 4) Hoffman-Goetz, L., R. Thorne, J. A. R. Simpson, Y. Arumugam ; Exercise stress alters murine lymphocyte subset distribution in spleen, lymph nodes and thymus, *Clin. exp. Immunol.*, **76**, 307-310 (1989)
- 5) Hoffman-Goetz, L., R. J. Thorne, M. E. Houston ; Splenic immune responses following treadmill exercise in mice, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **66**, 1415-1419 (1988)
- 6) Mark, D. A., D. Bovbjerg, H. Katzeff, S. Rivilin, M. Weksler ; Effects of voluntary exercise and caloric restriction on murine lymphocyte response, thyroid hormone levels, and life span, In : Nutrition, Im-

- munity and illness in the Elderly, edited by R. K. Chandra, New York : Pergamon, 192-199 (1985)
- 7) Nieman, D. C., S. L. Nehlsen-Cannarella ; The effects of acute and chronic exercise on immunoglobulins, *Sports Med.*, **11**, 183-201 (1991)
- 8) 小川芳徳, 山内秀樹, 山下美紀子, 原田邦彦, 米本恭三, 今西昭雄, 平井徳幸, 福永美賀子, 秋月摂子, 鳥海 純 ; All out 走と1時間走における細胞性免疫と体液性免疫の動態, *デサントスポーツ科学*, **11**, 62-70 (1991)
- 9) Pahlavani, M. A., T. H. Cheung, J. A. Chesky, A. Richardson ; Influence of exercise on the immune function of rats of various ages, *J. Appl. Physiol.*, **64**, 1997-2001 (1988)
- 10) Reyes, M. P., A. M. Lemer ; Diminution i the size of the thymus in mice during forced swimming, *J. Infect. Dis.*, **143**, 292 (1981)
- 11) Simpson, J. A. R., L. Hoffman-Goetz, R. Thome, Y. Arumgam ; Exercise stress alters the percentage of splenic lymphocyte subsets in response to mitogen but not in response to interleukin-1, *Brain Behav. Immun.*, **3**, 119-128 (1989)
- 12) Tharp, G. D., T. L. Preuss ; Mitogenic response of T-lymphocytes to exercise trainig and stress, *J. Appl. Physiol.*, **70**, 2535-2538 (1991)