

運動により変動する免疫担当細胞は血液— 臓器間をどう動くか？

東京慈恵会医科大学 小川 芳 徳
(共同研究者) 同 米 本 恭 三

Distribution of Murine Immunocyte in Blood, Thymus, Spleen, Lymph Node in Voluntary Exercise Training

by

Yoshinori Ogawa, Kyozo Yonemoto
Sports Medicine Laboratory, The Jikei University School of Medicine

ABSTRACT

A study was conducted to investigate the mobilization of murine immunocytes in the thymus, spleen, lymph nodes and blood during voluntary exercise training. Twelve six-week old inbred C57 BL/6 Cr mice used for the experiment were divided into two groups: sedentary controls (n=5), and mice taking voluntary exercise training (n=7) on running wheels. When the mice were 6 weeks at age, a 6-week period of voluntary exercise training was started. Spleen weight was decreased in mice taking voluntary exercise training, but the weights of thymus and lymph nodes did not change significantly compared with the control group. The percentages of CD4⁺ and CD8⁺ immunocytes were increased in blood. The percentage of CD8⁺ cells was increased in the spleen, but the percentage of CD45 R/B220 cells in the spleen was decreased significantly. The relationships between immunocytes in various organs and spleen weight were significant (CD8⁺ in blood and spleen weight; $P < 0.05$, CD8⁺ in thymus and spleen/BW; $P < 0.05$, CD45 R/B220 in spleen and spleen/BW; $P < 0.05$). The relationships between immunocytes in various

organs were correlated with CD4⁺ cells in blood and CD4⁺ cells in lymph nodes ($r = -0.816$; $P < 0.05$). These results suggest that the percentages of immunocytes in mice during voluntary exercise training vary among different organs.

要 旨

トレーニングによる免疫担当細胞の臓器間の動態を検討するために、回転ドラム付ケージによる自由運動をC57BL/6マウスに課した。マウスは自由運動群(7匹)とコントロール群(5匹)に分けられた。自由運動群の運動開始は6週齢とし、トレーニング期間は6週間であった。総運動量は回転ドラム1回転を1mとして概算すると、 507 ± 90 kmであった。

6週間のトレーニングにより脾臓重量は統計的に有意に減少を示したが、胸腺、リンパ節(腸間膜)の重量に変化はなかった。血液、胸腺、脾臓、リンパ節のCD90⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD45R/B220⁺の相対値において統計的に有意な変化を示したのは、血中のCD4⁺とCD8⁺(上昇)、および脾臓のCD8⁺とCD45R⁺(上昇、低下)であった。

各臓器の免疫担当細胞と各臓器の重量の関係で統計的に有意な変化を示したのは、血中のCD8⁺と脾臓重量、胸腺のCD8⁺と脾臓(／体重)重量、および脾臓のCD45R⁺と脾臓(／体重)重量であった。

各臓器の免疫担当細胞間の関係は血中のCD4⁺とリンパ節のCD4⁺間に $r = -0.816$ ($P < 0.05$)の相関がみられた。血中のCD4⁺は、リンパ節のCD4⁺と負の相関($P < 0.05$)があり、CD8⁺は脾臓重量と有意な相関($r = -0.872$; $P < 0.05$)がみられたことから血中への細胞の供給はその源を異にする可能性が示唆された。また、血液、脾臓におけるリンパ球の構成比の変化は細胞数の絶対値の増減というより、細胞による臓器間の移動

と解釈するのが妥当と結論した。

緒 言

Soppiら¹⁾はヒトを対象に6週間の身体トレーニングを行い、一過性の運動に対してPHA, Con AによるLymphocyte transformationが高まると報告している。また、動物実験においてもトレーニング群はコントロール群より長命であったという報告²⁾、トレーニング群とコントロール群に細菌を注入しその生存率を追跡した結果、生存率は常にトレーニング群がコントロール群を上回っていたという報告³⁾などから、運動が生体防御系を賦活させていることは容易に推測できる。事実、われわれ⁴⁾も長期間にわたるマウス自由運動において血中の免疫担当細胞の変化を調べた結果、トレーニング群は非トレーニング群に比べT細胞、ヘルパーT細胞、サプレッサーT細胞の上昇を示した。しかしながら、これら血中の免疫担当細胞の変化は、臓器間の移動によるものか細胞自体の数の増減によるものかは明らかでない。

また一方で、トレーニングにより胸腺、脾臓、リンパ節のヘルパーT細胞が上昇するという報告⁵⁾もあり、臓器および臓器間のトレーニングに対する応答の違いも考えられる。ヒトにおいては血液中の免疫能を対象にして生体全体の防御能を推測しているが、臓器での応答を正確に捉えることは重要であると考え。そこで運動による血中の免疫担当細胞の変化と免疫臓器の関係を検討することを本研究の目的とした。

1. 方 法

被検動物としてC57BL/6マウス12匹を用い

た。マウスを自由運動群（7匹）とコントロール群（5匹）に分けた。自由運動群は回転ドラム付のケージ（夏目製作所：東京）で飼育され、1日の運動量をその回転数として求めた。回転ドラム付ケージでのトレーニング回数は週7回、期間は6週間であり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週間飼育された。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。採血はマウスを背位に保定し、後大静脈より行った。同時に胸腺、脾臓、リンパ節（腸間膜リンパ節）を注射針、はさみを用いて注意深く摘出した。

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分間反応させた後、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を PBS 1 ml に浮遊させたものをサンプルとして用いた。胸腺細胞、脾細胞、リンパ節細胞の調整は摘出した臓器を 2% FCS, 0.1% NaN₃ 添加冷 PBS 中でピンセット、はさみを用いて細かくし、50 μ m のメッシュでろ過後、PBS で遠心洗浄し細胞を 1 \times 10⁷ cells/ml の濃度に調整しサンプルとした。用いた抗体は抗マウス CD 90 (Thy1.2⁺: T細胞), 抗マウス CD 4 (L3T4⁺: ヘルパー T細胞), 抗マウス CD 8 (Ly-2⁺: サプレッサー T細胞), 抗マウス CD 45 R/B 220 (B cell) (ファミンジェン) である。解析は FACSscan (Lysis II: Becton Dickinson) を用いた。

2. 結果

図1は自由運動群のマウス7匹における1日当たりの平均回転数を示した。平均回転数は1週目で7,000回転であり、2週目以降から6週目までほぼ12,000回転前後であった。トレーニング中における1日当たりの回転数の範囲は4,747~19,572であった。また、個々のマウスの6週間に

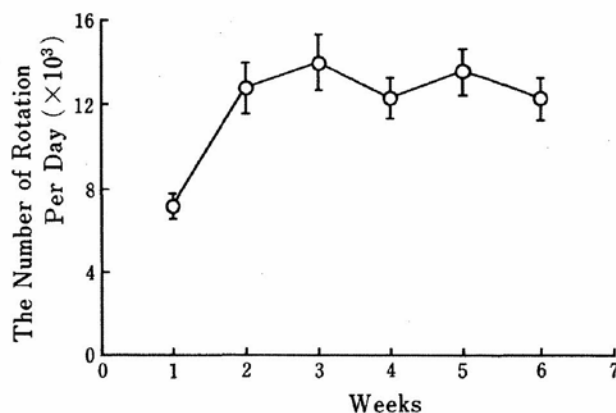


図1 マウス自由運動群7匹における1日当たりの平均回転数

表1 トレーニング6週後におけるコントロール群、自由運動群の体重、臓器重量と体重当たりの臓器重量 (* ; P<0.05)

	Control	V. Exercise
Body weight (g)	27.7 ± 0.8	26.2 ± 0.6
Thymus (mg)	54.1 ± 3.2	60.0 ± 4.3
Spleen (mg)	88.9 ± 4.2	66.1 ± 1.1*
Lymph node (mg)	29.8 ± 2.6	24.4 ± 1.9
Thymus/BW (mg/g)	2.0 ± 0.1	2.3 ± 0.2
Spleen/BW (mg/g)	3.2 ± 0.2	2.5 ± 0.1*
L. N./BW (mg/g)	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.1

における総回転数は408,142~686,235であり、平均±標準偏差は507,409 ± 90,815であった。

表1は体重、および臓器重量と体重当たりの臓器重量を示した。体重はコントロール群と運動群間に差はなかった。トレーニングにより影響を受けた免疫臓器は脾臓であり、6週間のトレーニングにより脾臓重量は統計的に有意に減少を示した。他の臓器については有意な変化ではなかった。

表2はコントロール群、自由運動群における血液、胸腺、脾臓、リンパ節の CD 90⁺, CD 4⁺, CD 8⁺, CD 45 R/B 220⁺ (B細胞:以降 CD 45 R⁺) の相対値を示した。コントロール群と、自由運動群において統計的に有意な変化を示したのは血中の CD 4⁺と CD 8⁺, および脾臓の CD 8⁺と CD 45 R⁺であった。これら有意に変化した血中の CD

表2 トレーニング6週後におけるコントロール群, 自由運動群の血液, 胸腺, 脾臓, リンパ節(腸間膜)のCD90+, CD4+, CD8+, CD45R/B220+の変化(*; P<0.05)

Blood			Control	V. Exercise
CD90+	(%)		—	—
CD4+	(%)		14.4±1.0	20.0±1.0*
CD8+	(%)		11.6±1.1	17.0±1.6*
CD45R+	(%)		35.1±7.8	39.4±4.2
Thymus			Control	V. Exercise
CD90+	(%)		99.7±0.1	99.6±0.1
CD4+	(%)		98.1±0.2	97.6±0.3
CD8+	(%)		88.3±1.0	86.8±1.1
Spleen			Control	V. Exercise
CD90+	(%)		47.7±2.2	52.0±2.6
CD4+	(%)		17.0±1.5	20.6±0.9
CD8+	(%)		12.6±0.7	14.2±0.2*
CD45R+	(%)		50.0±3.0	38.2±3.1*
Lymph Node			Control	V. Exercise
CD90+	(%)		80.0±2.1	80.1±3.9
CD4+	(%)		36.1±0.4	36.3±0.7
CD8+	(%)		27.6±1.3	26.5±1.2
CD45R+	(%)		24.2±4.1	27.0±4.1

4+とCD8+, および脾臓のCD8+とCD45R+はコントロール群に比べ上昇していた。CD90+はどの臓器においても有意な変化を示さなかった。また、胸腺、リンパ節の免疫担当細胞は不変であった。

各臓器の免疫担当細胞と各臓器の重量の関係をみたのが表3である。相関係数は、-0.872~0.801であったが、統計的に有意な変化を示したのは血中のCD8+と脾臓重量、胸腺のCD8+と脾臓(／体重)重量、および脾臓のCD45R+と脾臓(／体重)重量であった。各臓器の免疫担当細胞間の関係をみたのが表4である。相関係数は-0.816~0.614であり、統計的に有意な関係を示したのは血中のCD4+とリンパ節のCD4+であった(r = -0.816 : P<0.05)。

3. 考察

トレーニングによる免疫担当細胞の臓器間の動態を検討するために、回転ドラム付ケージによる自由運動をマウスに課した。総運動量は回転ドラム1回転を1mとして概算すると、6週間における総運動量は個々のマウスについて平均約507kmであり、前回⁴⁾の成績約492kmとほぼ同じであった。

表3 自由運動群の血液, 胸腺, 脾臓, リンパ節(腸間膜)のCD90+, CD4+, CD8+, CD45R/B220+と臓器重量の相関係数(*; P<0.05)

	Blood			Thymus			Spleen				Lymph node			
	CD4+	CD8+	CD45R+	CD90+	CD4+	CD8+	CD90+	CD4+	CD8+	CD45R+	CD90+	CD4+	CD8+	CD45R+
Thymus (mg)	-0.474	-0.655	0.297	-0.043	0.147	-0.320	-0.496	0.341	-0.710	0.557	0.504	0.547	0.270	-0.442
Spleen (mg)	-0.213	-0.872	-0.009	-0.207	0.100	-0.149	0.323	0.542	-0.182	0.615	-0.032	0.005	-0.560	-0.086
Lymph node (mg)	0.381	-0.087	0.018	-0.341	0.019	-0.231	0.143	0.293	-0.099	0.344	-0.426	-0.553	-0.696	0.742
Thymus/BW (mg/g)	-0.598	-0.625	0.264	0.090	-0.050	-0.502	-0.492	0.223	-0.686	0.614	0.419	0.632	0.342	-0.406
Spleen/BW (mg/g)	-0.703	-0.701	-0.011	0.278	-0.526	-0.813	0.047	0.106	-0.296	0.801	-0.139	0.463	-0.060	-0.060
L.N./BW (mg/g)	0.191	-0.110	-0.026	-0.165	-0.193	-0.438	0.089	0.171	-0.134	0.480	-0.481	-0.364	-0.587	0.725

表4 自由運動群の血液, 胸腺, 脾臓, リンパ節(腸間膜)におけるCD90+, CD4+, CD8+, CD45R/B220+の相互関係(*; P<0.05)

	Blood			Thymus			Spleen													
	CD4+	CD8+	CD45R+	CD90+	CD4+	CD8+	CD90+	CD4+	CD8+	CD45R+										
Thymus	CD4+	0.614	CD8+	0.360	CD45R+	—														
Spleen	CD4+	0.077	CD8+	0.261	CD45R+	-0.421	CD90+	0.410	CD4+	0.652	CD8+	0.420								
Lymph N.	CD4+	-0.816	CD8+	0.154	CD45R+	-0.110	CD90+	-0.598	CD4+	-0.553	CD8+	-0.340	CD90+	-0.639	CD4+	-0.252	CD8+	-0.412	CD45R+	0.063

Selye, H.⁷⁾ は強制的な激しいトレッドミルトレーニングにより胸腺, 脾臓重量が低下するとしており, また Reyes, M. P. ら⁸⁾ は強制水泳トレディングを9日間負荷したラットでは胸腺重量が低下するが, 脾臓重量には変化が見られなかったと報告している. 今回得られたわれわれの成績は, トレーニング群とプラスチックケージで飼育されたコントロール群の体重には変化が見られなかったが, 免疫臓器である脾臓重量は絶対値, および体重当たりの相対値で低下を示した(表1). トレーニングによる免疫臓器への影響の違いの因子として, 動物種の違いや運動負荷(種類, 強度, 時間, 頻度, 期間)の違いがその背景にあると考えられるが, 運動トレーニングの質, 量を問わず免疫臓器は影響を受けるものと思われる.

表2は血液, 胸腺, 脾臓, リンパ節における免疫担当細胞の相対値を示したものである. 血中のリンパ球細胞の構成比は, CD4⁺(ヘルパーT細胞), CD8⁺(サプレッサーT細胞)が有意に上昇を示した. 前回⁴⁾の報告においてもCD4⁺, CD8⁺は上昇しており同じ結果であった. すなわちC57BL/6マウスの自由運動トレーニングは血中のT細胞の上昇をきたすことが確認された. 血中のCD4⁺, CD8⁺の上昇と各臓器の免疫担当細胞との関係を見ると, CD4⁺はリンパ節のCD4⁺と負の相関($P < 0.05$)があり, リンパ節と血液中のCD4⁺の構成比は影響しあうものと解釈される. しかしながら, 血中のCD8⁺は脾臓重量と有意な相関がみられ, ($r = -0.872$; $P < 0.05$), 脾臓との関わりが大きいものと考えられる. すなわち, 細胞により血中への供給はその源を異にする可能性が示唆される.

Hoffman-Goetz ら²⁾は, マウスにトレーニングを負荷した結果, 胸腺, 脾臓, リンパ節のL3T4⁺細胞(CD4⁺)の上昇を報告している. 一方, トレーニングにより脾臓リンパ球の増殖能は低下をきたす^{3, 5, 9)}ことが報告されている. すな

わち, 免疫臓器におけるリンパ球の構成比の変化は細胞数の絶対値の増減というよりも, むしろ細胞による臓器間の移動と解釈するのが妥当と思われる.

また, 胸腺, リンパ節の細胞構成比には変化が見られなかったが, 脾臓ではCD8⁺, CD45R⁺がそれぞれ有意に上昇, 低下を示した. CD8⁺の上昇は脾臓重量がトレーニングにより減少していることから, 脾臓自体の萎縮に伴う相対的な上昇と解釈される. 一方, CD45R⁺について, 表3から脾臓のCD45R⁺と脾臓重量(体重当たり)は有意な相関を示した. すなわちCD45R⁺の変化は脾臓の重量低下に伴う低下のためであり, 脾臓での絶対数の低下と考えられる. 脾臓重量の増減はB細胞の動態を反映していると推察されるが, この点に関しては組織化学的な確認が必要と考える.

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) 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)
- 3) 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, immunity and illness in the elderly, edited by R. K. Chandra, New York: Pergamon, 192-199 (1985)
- 4) 小川芳徳, 米本恭三, 藤巻正人, 内間高夫; 運動量とマウス免疫担当細胞の関係, *デサントスポーツ科学*, 15, 159-166 (1994)
- 5) 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)
- 6) Reyes, M. P., A. M. Lemer K.-L. Ho ;
Diminution in the thymus in mice during
forced swimming, *J. Infect. Dis.*, **143**, 292
(1981)
- 7) Selye, H. ; Stress of life. McGraw-Hill, New
York, 324 (1956)
- 8) Soppi, E., P. Varjo, J. Eskola, L. A. Laitinen ;
Effect of strenuous physical stress on circu-
lating lymphocyte number and function
before and after training, *J. Clin. Lab. Im-
munol.*, **8**, 43-46 (1982)
- 9) Tharp, G. D., T. L. Preuss ; Mitogenic res-
ponse of T-lymphocytes to exercise training
and stress, *J. Appl. Physiol.*, **70**, 2535-2538
(1991)