

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 10 日現在

機関番号：32682

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2012

課題番号：21300257

研究課題名（和文） 運動がナチュラルキラー細胞サブセットのレセプター発現におよぼす影響

研究課題名（英文） Effects of Exercise on Intensities of Expressions of Receptors on NK Cell Subsets

研究代表者

鈴木 正敏（SUZUI MASATOSHI）

明治大学・経営学部・教授

研究者番号：10187693

研究成果の概要（和文）：ヒトにおいて一過性の運動および慢性運動（トレーニング）がNK細胞の機能性レセプターにおよぼす影響を検討した。その結果、いずれの運動でもレセプターの発現に変化を起こすことが明らかとなった。これらの変化は主に CD56^{dim} NK 細胞に生じ、一部はNK細胞の動態を反映するものであった。しかし、傷害活性との関連性は示されなかった。マウスの実験では1回の運動でも細胞のターンオーバーが促進される可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：In these studies, we examined the impacts of acute and chronic exercise on the functional receptors on NK cell in human. The results indicated that both induced changes in the expressions of molecules. These changes were mainly found in CD56^{dim} NK cell. Some of changes in adhesion molecules seemed to contribute to cell mobilization. However, changes in activating/inhibitory receptors did not directly relate to the cell cytotoxicity. We also indicated the possibility that acute exercise stimulated cell turnover in the liver in mice.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	300,000	90,000	390,000
年度			
総計	5,700,000	1,710,000	7,410,000

研究分野：総合分野

科研費の分科・細目：健康・スポーツ・応用健康科学

キーワード：NK細胞，運動，レセプター，CD56^{dim}，CD56^{bright}

1. 研究開始当初の背景

NK細胞はストレスへの反応が高い細胞であることが知られている。一過性の運動では他のリンパ球に比較して運動中には強度依存性に著しく増加する。運動終了後には速やかに低下するが、強度が高い運動後には安静時を下回る低下が見られる。このような細胞

数の増減を反映して傷害活性もほぼ同じパターンで変化する。ただ、この活性の変化は濃度（実際は総リンパ球数に対する比率）の変化を反映したものであり、細胞あたりの活性は変わっていない。このように一過性の運動に対する動態についてはコンセンサスが得られた結果が示されている。しかしながら、

運動の影響が全て明らかになっているわけではない。トレーニングのような慢性運動については、一定した結果は得られておらず、不明な点が多い。加えて、NK 細胞上に発現する機能性分子に対する運動の影響についての報告はほとんど無い。

2. 研究の目的

(1) 一過性運動が NK 細胞上の活性化レセプター、抑制性レセプター、ケモカインレセプター、サイトカインレセプターなどの発現状態に与える影響を検討する。

(2) 慢性運動（トレーニング）が NK 細胞上の抑制性レセプター、ケモカインレセプター、サイトカインレセプターなどの発現状態に与える影響を検討する。

(3) 一過性運動前後の組織における NK 細胞サブセットの動態を検討する。

3. 研究の方法

(1) 一過性運動の実験

被験者は健康な大学生 6 名とし、個々人の乳酸蓄積開始点 (OBLA) を強度とした 30 分間の自転車運動を行った。採血は運動前、運動終了直前、運動終了後 30 分、60 分、120 分、180 分に行った (Figure 1)。NK 細胞傷害活性の測定を ^{51}Cr 法で行った。また、CD56^{dim} および CD56^{bright} NK 細胞上の CD16, CD56, CD44, CD62L, CD159a, CD197, CD212, CD226, CD314, CD335, CX3CR1 の発現強度をフローサイトメータで測定した。

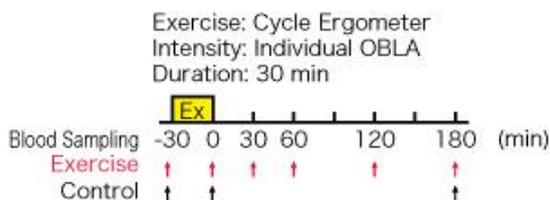


Figure 1. Experimental Protocol.

(2) 慢性運動の実験

被験者は大学運動部に所属する学生 5~8 名を用い、2~4 週間の合宿トレーニングを対象に行った。実験は計 3 回。運動量は通常の



Figure 2. Experimental Protocol.

練習時間の 2 倍とし、採血はトレーニング前、トレーニング直後、終了後 3~5 日目（回復

期）の 3 回とした (Figure 2)。NK 細胞傷害活性と上述 (1) と同じレセプター（一部の実験ではそれらに CD25 と CD119 を加えた）の発現強度を測定した。

(3) 組織における NK 細胞動態を検討する実験

7~8 週齢の雌の C57B/6 マウスを用い、トレッドミル (35m/分) の運動を 30 分間 (勾配は 0%) 行わせた。マウスは運動前 (n=4)、運動終了直後 (n=4)、運動後 30 分 (n=3)、120 分 (n=3) に処理し (Figure 3)、末梢血、脾臓、肝臓、肺臓を摘出した。各組織からリンパ球を分離し、CD3, NK1.1, CD11b および CD27 モノクローナル抗体により染色した。その後、フローサイトメータにより T 細胞, NK 細胞, NKT 細胞を同定し、NK 細胞は CD11b と CD27 の発現を元に 4 分画に分類した。

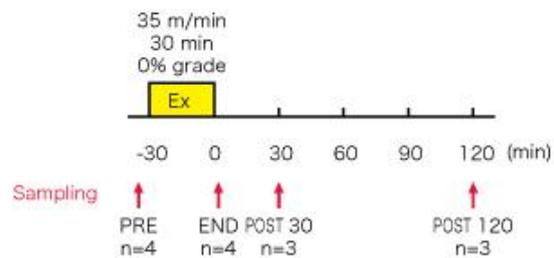


Figure 3. Experimental Protocol.

4. 研究成果

(1) 一過性運動の実験

安静時において、CD16, CD56, CD44, CD62L, CD314, CD335, CD159a, CX3CR1 の発現が NK 細胞サブセット間で異なっていた。レセプターの発現の変化はおもに CD56^{dim} NK 細胞で観察された。接着分子では CD62L (L-selectin) の発現が運動終了直前に低下する傾向を示し、その後、運動終了後 30 分では有意に増加した。これは CD62L を発現していないポピュレーション (CD62L^{negative} NK 細胞) の変動を反映したものであった。このパターンと逆の変化が CX3CR1 (フラクタルカインレセプター) に見られた。CX3CR1 の発現はさらに運動後 120 分と 180 分で低下した。活性化/抑制性レセプターでは CD16 (Fc γ R III) の発現が運動終了直前で低下した (Figure 4)。CD212 (IL-12R) の発現は運動終了直前から終了後 30 分にかけて低下し、反対に CD335 (Nkp46) は増加した。CD226 (DNAM-1) は例外的に両方のサブセットで運動後 3 時間目に低下するという変化が示された (Figure 5)。以上の結果から、一過性の運動は NK 細胞上の機能性分子の発現に影響すること、その変化には運動終了直前を中心として起こるものと終了後 3 時間目に見られるような遅延した変化があることが明らかとなった。これらの結果はこれまでに報告されていない新たな知見

である。

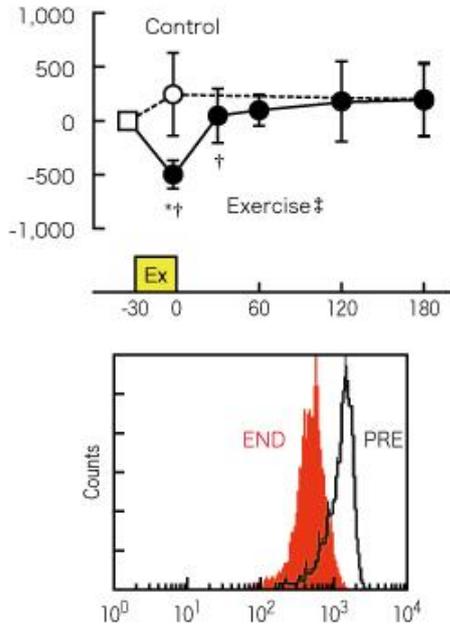


Figure 4. Expression of CD16 (FcγR III) on CD56^{dim} NK Cell

Data were means ± SD. *, Significant difference from PRE exercise value, †; Significant difference from previous time point, ‡; significant one-F ANOVA interactions, $p < 0.05$. Typical changes in CD56^{dim} NK cell were plotted in histogram.

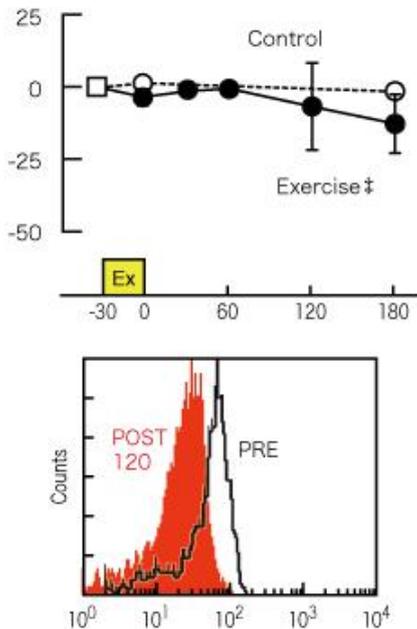


Figure 5. Expression of CD226 (DNAM-1) on CD56^{dim} NK Cell

Data were means ± SD. ‡; significant one-F ANOVA interactions, $p < 0.05$. Typical changes in CD56^{dim} NK cell were plotted in histogram.

(2) 慢性運動の実験

慢性運動の実験は3回、同様な設定で行った。

① 被験者8名を使った1ヶ月間のトレーニング実験

NK細胞サブセットの細胞数、比率、およびNK細胞活性には変化がなかった。CD56^{dim} NK細胞のCD314 (NKG2D) の発現がトレーニング終了直前と回復期で増加し、逆にCD226 (DNAM-1) の発現はトレーニング終了直前で低下した (Figure 6)。

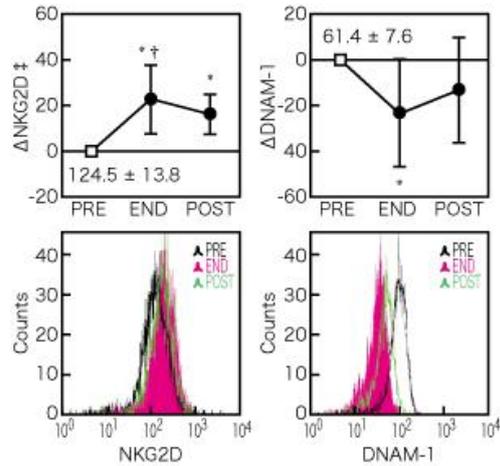


Figure 6. Expression of CD314 (NKG2D) and CD226 (DNAM-1) on CD56^{dim} NK Cell Before and After Training

Data were means ± SD. *, Significant difference from PRE exercise value, †; Significant difference from previous time point, ‡; significant one-F ANOVA interactions, $p < 0.05$. Typical changes in CD56^{dim}

② 被験者5名を使った2週間のトレーニング実験

NK細胞サブセットの細胞数と比率には変化がみられなかったが、総傷害活性はトレーニング終了時に有意に低下した (Figure 7)。CD56^{dim} NK細胞のCD226 (DNAM-1) が回復期に低下する傾向を示したが、有意ではなかった。その他のレセプターの発現にも変化はみられなかった。

③ 被験者5名を使った3週間のトレーニング実験

NK細胞サブセットの細胞数、比率、およびNK細胞活性には変化がなかった。CD56^{dim} NK細胞のCD16 (FcγR III) とCD119 (INF-γ), CD159a (NKG2A) の発現が回復期に低下した。CD56 (NCAM) の発現はトレーニング終了直前と回復期に低下した。反対にCD212 (IL-12R) の発現が回復期に増加した。

以上の結果から、トレーニングでは機能性レセプターの発現に変化が生じることがあ

るものの、一定した傾向は見られなかった。

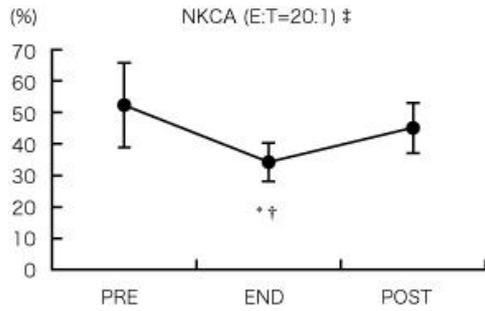


Figure 7. Changes in NK Cell Cytotoxicity Before and After Training.

Data were means \pm SD. *: Significant difference from PRE exercise value, †: Significant difference from previous time point, ‡: significant one-F ANOVA interactions, $p < 0.05$.

(3) 組織におけるNK細胞動態を検討する実験

運動直後に末梢血で単核球の増加が起こり、運動後30分で元の値に戻った。これと逆のパターンが脾臓で示された。末梢血、脾臓、肝臓、肺のいずれの組織においても、T細胞、NK細胞、NKT細胞の比率に変化はみられなかった。NK細胞の分画では、肝臓において、CD11b^{lo} CD27^{lo} NK細胞の比率が運動後30から120分にかけて増加し、CD11b^{lo} CD27^{hi} NK細胞の比率も運動後120分に増加した (Figure 8)。これらの分画はいずれも未成熟細胞の分画であり、一過性の運動が新たな細胞新生を引き起こしている可能性が示された。

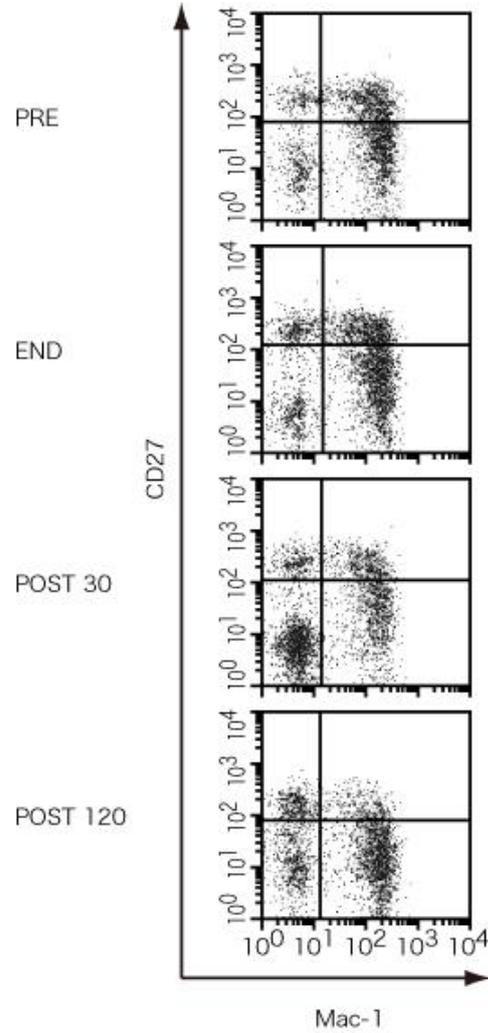


Figure 6. Expression of CD11b (Mac-1) and CD27 in NK Cell Before and After Exercise in Mouse Liver.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

- ① 鈴木正敏, トレーニングがNK細胞の活性化レセプターにおよぼす影響, 明治大学人文科学研究所紀要, 査読有, 74, 2013, 39-64
- ② 鈴木正敏, 運動と免疫 -NK細胞の動態を中心に-, 登山医学, 招待論文, 査読無, 32(1), 2012, 10-14
- ③ 鈴木正敏, 運動すればかぜをひかなくなりますか?, 明治大学経営学部人文科学論集, 査読無, 57, 2011, 37-48
- ④ 鈴木正敏, 強いトレーニングにおける自律神経の変動とNK細胞機能の関係について, 明治大学人文科学研究所紀要, 査読有, 68, 2011, 139-166

[学会発表] (計8件)

- ① 鈴木正敏, 運動と免疫 -NK細胞の動態を中心に- (招待講演), 第32回日本登山医学会学術集会, 福岡, 2012年6月16日
- ② Masatoshi Suzui, Kazuyoshi Takeda, Hideo Yagita, Ko Okumura, Pang N. Shek, Roy J. Shephard, Effects of Acute Exercise on Expressions of Natural Killer Cell Receptors, American College of Sports Medicine 59th Annual Meeting, June 1st, 2012, San Francisco, USA,
- ③ Masatoshi Suzui, Kazuyoshi Takeda, Shuji Ikegami, Hiroyuki Ito, Hideo Yagita, Pang N. Shek, Roy J. Shephard, Ko Okumura, Effect of OLL 1073R-1 Yogurt Intake on NK cell Cytolytic Activities during Intense Training, International Society of Exercise Immunology, The 10th Symposium, July 21st, 2011, Oxford, UK
- ④ Masatoshi Suzui, Kazuyoshi Takeda, Yoshihiro Hayakawa, Hideo Yagita, Ko Okumura, Pang N. Shek, Roy J. Shephard, Impact of Acute Exercise on Natural Killer Cell Subset Distributions in Selected Mouse Tissues, American College of Sports Medicine 58th Annual Meeting, June 3rd, 2011, Denver, Colorado, USA
- ⑤ 鈴木正敏, NK細胞の運動時の変化 (招待講演), 第65回日本体力医学会大会, 2010年9月17日, 千葉県
- ⑥ Masatoshi Suzui, Kazuyoshi Takeda, Hideo Yagita, Ko Okumura, Pang N. Shek, Roy J. Shephard, Effect of NKG2D and DNAM-1 Expression on CD56dim NK Cell and Cytotoxic Activity During Training, American College of Sports Medicine 57th Annual Meeting, June 2nd, 2010, Baltimore, Maryland, USA

⑦ Masatoshi Suzui, Kazuyoshi Takeda, Hideo Yagita, Ko Okumura, Pang N. Shek, Roy J. Shephard, Relationship Between Autonomic Nerve Activity and Distribution of Neutrophil and Lymphocyte Subsets during Intensive Training, The 9th Symposium of the International Society of Exercise and Immunology, September 22nd, 2009, Tübingen, Germany

⑧ Masatoshi Suzui, Kazuyoshi Takeda, Hideo Yagita, Ko Okumura, Pang N. Shek, Roy J. Shephard, Relationship Between Autonomic Nerve Activity and Distribution of Leukocyte Subsets During Intensive Training, American College of Sports Medicine 56th Annual Meeting, May 27th, 2009, Seattle, Washington, USA

[その他]

ホームページ等

<http://www.isc.meiji.ac.jp/~suzui/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 正敏 (SUZUI MASATOSHI)
明治大学・経営学部・教授
研究者番号: 10187693

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: