

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 24 年 6 月 1 日現在

機関番号：32507

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22700698

研究課題名（和文）高強度運動後に生じる免疫機能低下に対する運動トレーニング効果に関する研究

研究課題名（英文）Effect of exercise training on strenuous exercise-induced immunosuppression

研究代表者

北村 裕美 (KITAMURA HIROMI)

和洋女子大学・生活科学系・助教

研究者番号：00360090

研究成果の概要（和文）：高強度運動後には、一時的な免疫機能低下（オープンウィンドウ現象）が生じる。本研究では、この現象に対する運動トレーニング効果について明らかにするために、4週間あるいは10週間の運動トレーニング終了後にラット疲労困憊運動後にリポポリサッカライド(LPS)を投与するオープンウィンドウ現象の動物実験モデルを用いて検討した。その結果、運動トレーニングはオープンウィンドウ現象に影響しない可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Strenuous exercise induces a temporary immunosuppression. The aim of this study was to investigate the effect of exercise training on exercise-induced immunosuppression, using the lipopolysaccharide (LPS) injection model. As a result, exercise training affects LPS-induced tumor necrosis factor (TNF)-alpha after acute exercise. This study indicates a possibility that exercise training might not affect the open-window phenomenon.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：スポーツ免疫学

1. 研究開始当初の背景

運動と免疫系について、中強度運動は免疫機能を亢進させるが、高強度の運動は免疫機能を一時的に低下させることが広く知られている。特に高強度運動については、運動後に免疫機能が抑制され細菌やウイルスなどが生体内に侵入しやすい状態をきたすという「オープンウィンドウ」説が提唱されてい

る (Pedersen BK et al. 1994)。オープンウィンドウ現象が生じている期間にアスリートは細菌やウイルスなどの病原体の生体への侵入を許してしまうため、かぜ症状に代表される上気道感染症にかかりやすいと考えられている。

我々はこれまで、このオープンウィンドウ現象に着目し、F344系雌ラットを用いてその

機序解明に関する研究を行ってきた。そしてβブロッカーがオープンウィンドウ現象を抑制することを報告し (Kitamura H et al. 2007), カテコールアミンがβアドレナリン受容体を介してオープンウィンドウ現象を誘発している可能性を示唆した。しかしながら、これは急性運動実験による成果であり、オープンウィンドウ現象に対する運動トレーニングの影響については未だ不明である。

近年、運動トレーニングが安静レベルの感染防御に重要なサイトカイン産生能を増強するとの報告がなされ (Kizaki T et al. 2008, Criswell DS et al. 2004), 免疫機能に対する運動トレーニングの効果が明らかにされつつある。このように免疫機能に対する運動トレーニングの効果は徐々に明らかになってきているが、先行研究は安静レベルのみの検討であり、運動トレーニングによって修飾された免疫機能が急性運動後にどのような応答を示すかについてはほとんど研究されていない。運動トレーニングの効果が急性運動後の免疫機能におよぼす影響やその機序が明らかとなれば、スポーツにおけるコンディショニングや健康のための運動実施に役立つ知見が提供できるものと思われる。

2. 研究の目的

本研究は、オープンウィンドウ現象に対する運動トレーニング効果を明らかにすることを目的として、(1) 運動トレーニングによる安静時免疫機能に対する影響、(2) 運動トレーニングによるオープンウィンドウ現象に対する影響について、リポポリサッカライド (LPS) に対する tumor necrosis factor (TNF) -alpha 応答を免疫機能の指標に用い検討した。

3. 研究の方法

(1) 実験 1

① 実験動物

F344 系雌ラットを用いた。ラットはトレーニング (T) 群とコントロール (S) 群に分けた。

② 運動トレーニング条件

T 群には 15% 傾斜、15~21m/分のドレッドミル走を 1 日 15~30 分、週 5 日、4 週間の運動トレーニングを負荷した。なお、運動トレーニング条件は、先行研究 (Kizaki T et al. 2008) を参考に設定した。

③ LPS 投与

ラットにイソフルラン麻酔下にて LPS (1mg/kg) を静注した。すなわち、鼠径部を剃毛しアルコール消毒した後切開し、腸骨静脈より投与した。

④ サンプルングと測定項目

安静時、LPS 投与 1 時間後に行い、速やかに凍結保存した。

測定項目は TNF-alpha (血漿, ELISA 法), interleukin (IL) -10 (血漿, ELISA 法), 組織中 TNF-alpha mRNA (肝臓および腎臓, real-time RT-PCR 法), カテコールアミン (血漿, HPLC 法), コルチコステロン (血漿, ELISA 法), 組織重量 (心臓, 副腎, およびヒラメ筋, 秤量法) であった。

(2) 実験 2

① 実験動物

実験 1 と同様に F344 系雌ラットを用いた。

② 運動トレーニング条件

T 群のラットは 1 回転 1m の回転ケージを用いた 10 週間の自発運動を負荷した。回転数は付属のカウンターによって計測し、走行距離を求めた。

③ 急性運動条件

トレーニング期間終了後、T 群と S 群のラットをそれぞれ Ex 群と R 群に分け、Ex 群には速度漸増法にて疲労困憊に達するまでトレッドミル運動を負荷した。

④ LPS 投与

実験 1 と同様に、イソフルラン麻酔下にて LPS (1mg/kg) を腸骨静脈より投与した。

⑤ サンプルングと測定項目

採血および組織摘出も、実験 1 と同様に行った。

測定項目は、実験 1 の測定項目に加え、組織中 TNF-alpha (肝臓, 腎臓, ELISA 法), 組織中 β2 アドレナリン受容体 (AR) および Toll 様受容体 (TLR) 4 mRNA (肝臓および腎臓, real-time RT-PCR 法) であった。

4. 研究成果

(1) 運動トレーニングによる安静時免疫機能に対する影響

BALB/C マウス (雄) や SD 系ラット (雌) を用いた先行研究において、運動トレーニングが安静時サイトカイン産生能を増強させることが報告されている。一方、我々は F344 系雌ラットを用いて炎症性サイトカインである TNF-alpha 産生能について急性運動後の動態を検討してきた。そこで、先行研究と異なる動物種・系においても同様の結果となるかを明らかにするため、実験 1 では F344 系雌ラットを用いて、4 週間の走行トレーニングを実施した後、LPS 投与後の TNF-alpha 濃度および mRNA 発現を測定した。

その結果、LPS 投与後の TNF-alpha 濃度や mRNA 発現は T 群と S 群との間にいずれも有意な差はみられなかった。すなわち、先行研究とは異なる結果となった。この理由として、実験 1 の運動トレーニング条件はトレーニングとして十分はなかったことが考えられた。すなわち、運動トレーニング効果の指標として用いられる心臓、副腎およびヒラメ筋の湿重量について、副腎湿重量は T 群が S 群より

も有意に重かった ($p < 0.01$) もの、心臓および副腎は T 群と S 群との間に有意な差はみられなかった。また、カテコールアミンやコルチコステロン濃度についても、T 群と S 群との間に有意な差はみられなかった。

そこで実験 2 では、我々がこれまでの研究で F344 系雌ラットにおける運動トレーニング効果をj確認している 10 週間の自発的運動トレーニングを実施した。

回転ケージを用いた 10 週間の自発的運動トレーニングによって、F344 系雌ラットの心臓、副腎およびヒラメ筋の湿重量は、これまでの研究と同様に、有意に増大した (それぞれ $p < 0.01$)。すなわち、運動トレーニング効果が確認された。そして、LPS 投与後の TNF- α mRNA 発現は肝臓・腎臓中ともに T 群と S 群との間に有意な差はみられなかったが、TNF- α 濃度は T 群の方が S 群よりも有意な高値を示した ($p < 0.01$)。

F344 系雌ラットにおいて、先行研究と同様に、運動トレーニングが安静時免疫機能を亢進させる可能性が明らかとなった。

(2) 運動トレーニングによるオープンウィンドウに対する影響

オープンウィンドウ現象は、一過性の高強度運動後に生じる一時的な免疫機能低下のことを指す。我々は、オープンウィンドウ現象の動物実験モデルとして用いてきた、F344 系雌ラットに疲労困憊運動を負荷し、終了直後に LPS を投与する方法を用いて検討した。

実験 1 の結果より、4 週間の走行トレーニングでは、Ex 群の血漿中 TNF- α 濃度が R 群に比べて有意に低く ($p < 0.01$)、オープンウィンドウ現象が観察された。安静時同様、疲労困憊運動後においても LPS 投与後の TNF- α 濃度や組織中 mRNA 発現、IL-10 濃度は T 群と S 群との間にいずれも有意な差はみられず、走行トレーニングの影響はみられなかった。

一方実験 2 の結果より、10 週間の自発的運動トレーニングでは、Ex 群の血漿中 TNF- α 濃度が R 群に比べて有意に低く ($p < 0.01$)、オープンウィンドウ現象が観察された。また、T 群の TNF- α 濃度は S 群に比べて有意に高く ($p < 0.01$)、交互作用も確認された ($p < 0.01$)。しかし、抗炎症性サイトカインである IL-10 濃度については、Ex 群が R 群に比べて有意に高かったが ($p < 0.01$)、自発的運動トレーニングの影響は観察されなかった。

TNF- α 産生細胞であるマクロファージを多く含有する肝臓と、血中炎症性サイトカインの除去を担う腎臓の組織中 TNF- α 濃度、および組織中 TNF- α mRNA 発現を検討した結果、肝臓では、組織中 TNF- α 濃度、および組織中 TNF- α mRNA 発現とも

に急性運動の影響はみられたが (それぞれ $p < 0.01$)、自発的運動トレーニングの影響はみられなかった。腎臓では、組織中 TNF- α 濃度、および組織中 TNF- α mRNA 発現とも急性運動の影響はみられなかったが、T 群の TNF- α 濃度が S 群よりも有意に低く ($p < 0.05$)、自発的運動トレーニングの影響がみとめられた。しかしながら、肝臓・腎臓ともに、オープンウィンドウ現象への自発的運動トレーニングの影響は観察されなかった。

自発的運動トレーニングは免疫機能 (炎症性サイトカイン産生能) を増強させるものの、オープンウィンドウ現象には影響しない可能性が明らかとなった。

我々はオープンウィンドウ現象がアドレナリンの作用により誘発されることを報告している。そこで、運動トレーニングの影響はアドレナリンの動態に影響されるとの仮説を立て、ストレスホルモンであるアドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン、コルチコステロンの血漿濃度を分析した。

いずれのストレスホルモンにおいても、Ex 群が S 群よりも有意な高値を示し (それぞれ $p < 0.01$)、急性運動の影響はみられたものの、T 群と R 群に有意な差はみられず、自発的運動トレーニングの影響はみられなかった。加えてアドレナリン受容体である $\beta 2AR$ mRNA 発現は、自発的運動トレーニングにより腎臓中 $\beta 2AR$ mRNA 発現は低下する傾向を示したものの、有意性はみられなかった。

これらの結果より、オープンウィンドウ現象に対する自発的運動トレーニングの影響がみられなかった一因として、ストレスホルモンが変化しなかったためと推察された。

さらに、ストレスホルモンの他に TNF- α 産生に影響すると予想される LPS 受容体である TLR4 の組織中 mRNA 発現についても検討したところ、自発的運動トレーニングにより、肝臓中 TLR4 mRNA 発現は有意に増加した ($p < 0.05$)。腎臓では、急性運動の影響がみられたものの ($p < 0.01$)、自発的運動トレーニングの影響は認められなかった。

肝臓には TNF- α 産生細胞である Kupffer 細胞が多く存在するため、肝臓中 TLR4 発現の増加は LPS 刺激に対する TNF- α 産生に大きく寄与するものと思われる。しかしながら、その発現は LPS 投与 1 時間後に観察されており、今回の TLR4 mRNA 発現増加が血中 TNF- α 濃度の増加に直接的に関与していないことが推察される。この結果と本研究における血中 TNF- α 応答との関連については、今後さらに検討が必要である。

(3) まとめと今後の展望

10 週間の自発的運動トレーニングは、LPS

に対する TNF- α 応答を血中や腎臓中で変化させるものの、オープンウィンドウ現象そのものには影響しない可能性が明らかとなった。本研究結果は、オープンウィンドウ現象が運動トレーニングによる影響を受けない可能性を示唆するものである。

今後は、運動トレーニングが誘発した免疫機能(炎症性サイトカイン産生能)亢進の機序やオープンウィンドウ現象の意義について、さらに研究を進める予定である。

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)

[学会発表] (計3件)

- ① Kitamura H, Umetsu Y, Minato K, and Yano H, Effect of moderate exercise training on LPS-induced TNF-alpha production in rats, 第8回日本運動免疫学研究会, 2011年9月16日, 海峡メッセ下関 (山口県)
- ② Kitamura H, Umetsu Y, Minato K, and Yano H, Effect of moderate exercise training on LPS-induced TNF-alpha production in rats, the 10th International Sports and Exercise Immunology Symposium, 2011年7月11日, Oxford, UK
- ③ Kitamura H, Shiroya Y, and Yano H, TNF-alpha production in response to LPS is inhibited by exercise training in rats, 57th Annual Meeting of the American College of Sports Medicine, 2010年6月4日, Baltimore, Maryland, USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北村 裕美 (KITAMURA HIROMI)
和洋女子大学・生活科学系・助教
研究者番号：00360090

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：

(4) 研究協力者

湊 久美子 (MINATO KUMIKO)
和洋女子大学・生活科学系・教授
研究者番号：70211589

矢野 博己 (YANO HIROMI)

川崎医療福祉大学・医療技術学部・准教授
研究者番号：20248272