

機関番号：32682

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650450

研究課題名(和文) 運動時における血中免疫細胞動態と循環・自律神経・ホルモン分泌調節の関係性

研究課題名(英文) Relationships of the immune-cells dynamic state in circulatory blood and regulations of cardiovascular, autonomic nerve activity and hormonal secretion during exercise

研究代表者

一之瀬 真志 (Ichinose, Masashi)

明治大学・経営学部・准教授

研究者番号：10551476

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ハンドグリップ運動後の前腕阻血により筋代謝受容器を刺激し、大きな循環血流量の増加なしに交感神経活動の亢進とカテコールアミン分泌を引き起こした場合には、循環血中のNK細胞濃度と傷害活性が高まることを明らかにした。また、受動的自転車運動により循環血流量の増加とカテコールアミン濃度の低下を引き起こした場合には、ヘルパーT細胞、キラーT細胞およびB細胞の循環血中濃度が増加することが明らかになった。これらの研究成果は、運動時の血中免疫細胞動態の制御メカニズムの解明を進め、運動による健康増進の効果などを考える上で有意義な学問的基盤となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we found that when the muscle metaboreflex activation by forearm muscle ischemia after the handgrip exercise caused increase in sympathetic nerve activity and secretion of catecholamine without large rise in circulatory blood flow, the circulating count of NK cells as well as NK cell cytotoxicity increased. In addition, when passive bicycle exercise induced increase in circulatory blood flow and the fall of catecholamine concentration, we found that the circulating count of helper T cells, killer T cells and B cells increased. These findings advance elucidation of regulatory mechanisms of immune-cells dynamic state in circulatory blood during exercise, and will be a significant academic base in considering the efficacy of the exercise training in promotion of health.

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 循環調節 自律神経調節 NK細胞 末梢反射

1. 研究開始当初の背景

運動強度の増加にともない、循環血液中の好中球やリンパ球は増加する。これは、身体活動にともなう外傷や出血などに対して極めて効果的な生体防御システムであると考えられる。循環血中への好中球とリンパ球の動員メカニズムは異なり、それを反映して増加の様態も異なる(鈴井, 2009)。好中球は主に末梢血流量の増加によって貯蔵部位から剥されるようにして動員されると考えられている。運動強度の増加に対して好中球は直線的に増加するが、これは、末梢血流量の直線的増加を反映するものと考えられる。一方、リンパ球の動員にはカテコールアミンの増加が反映されている。アドレナリンやノルアドレナリンは無酸素性作業閾値(AT)を超える運動強度から急激に増加する。これらのカテコールアミンがリンパ球上の接着分子の発現を低下させたり、脱落させたりするために動員される。そのため、AT以上の強度においてリンパ球の顕著な増加がみられると考えられる。したがって、運動時における白血球数増加には、循環調節および自律神経・ホルモン分泌調節が深く関与していると考えられるが、これらの関係については不明な点が多く残されている。

(1) 筋代謝受容器反射が血中免疫細胞動態に及ぼす影響

活動筋内に代謝産物が蓄積すると、筋内にあるグループ A 求心性神経が刺激され、反射性に交感神経活動が増加して血圧が上昇する。この反射は、筋代謝受容器反射と呼ばれ、静的運動時や AT 強度以上の動的運動時における顕著な交感神経活動の増加やカテコールアミンの分泌、血圧上昇に関与すると考えられる(Rowell 1990)。この反射に関しては、循環調節や自律神経調節の観点から研究されてきたが、免疫細胞の動態に及ぼす影響については、ヒトおよび実験動物を問わず、これまで国内外で検討されていない。

(2) 受動的運動が血中免疫細胞動態に及ぼす影響

前述の通り、運動時の好中球増加は、主に末梢血流量の増加によるものと考えられている。末梢血流量は、随意運動のみでなく、受動的運動によっても増加する。例えば、被験者の脚を検者が動かすことで受動的な下肢の運動を行うと下肢血流量は顕著に増加

する。このような受動的運動時にも好中球増加など免疫細胞動態に変化がみられるのかはこれまでに検討されていない

2. 研究の目的

本研究では、運動時における血中免疫細胞動態と循環調節および自律神経・ホルモン分泌調節の関係性を検討することを目的として、以下の具体的な研究課題を設定した。

(1) 筋代謝受容器反射が血中免疫細胞動態に及ぼす影響の解明。

(2) 受動的運動が血中免疫細胞動態に及ぼす影響の検討。

3. 研究の方法

研究課題(1)と(2)のそれぞれについて研究の方法を詳述する。

(1) 筋代謝受容器反射が血中免疫細胞動態に及ぼす影響の解明。

10名の健康な男性を被験者とした。被験者は、実験室に入室し、全ての測定機器を取り付けた後、30分以上仰臥位安静を保持した。まず、5分間の安静状態での測定の後、最大随意筋力の50%での静的ハンドグリップ運動を1分間行う。ハンドグリップ運動の終了直前に上腕を240mmHgの圧で6分間阻血する条件(筋代謝受容器刺激条件)と阻血を行わないコントロール条件を設定して比較した。阻血期間中は、運動中に産生された疲労物質が前腕部に留まり、これにより筋代謝受容器反射を選択的に賦活することができる。この方法は、筋代謝受容器を刺激する実験モデルとして確立されており、血圧上昇、筋交感神経活動増加、カテコールアミン分泌を引き起こすことが報告されている(Alam & Smirk 1937; Rowell 1990; Nishiyasu et al. 1994; Ichinose et al. 2006)。運動前の安静状態および運動後4分目と11分目に採血を行った。測定項目は、心拍数(HR)、動脈血圧(大腿部にて測定)、一回拍出量(胸部インピーダンス法; SV)、心拍出量(SV×HRとして求める; CO)、総末梢血管抵抗(平均血圧(MAP)/COとして求める; TPR)であった。また、採血は運動を行わない側の前腕静脈にカテーテルを留置して実施した。血液分析により白血球総数および分画、リンパ球分画、好中球およびリンパ球の接着分子の発現状態、カテコールアミン濃度を測定した。

(2) 受動的運動が血中免疫細胞動態に及ぼす影響の検討

11名の健康男性を被験者とした。被験者は、実験室に入室し、全ての測定機器を取り付けた後、30分以上半仰臥位姿勢で安静を保持した。その後、半仰臥位姿勢において、前方に設置された自転車のペダルに足を固定した。この自転車のペダルを検者が漕ぐことで、被験者に受動的な自転車運動を行わせた(タンデムバイク法)。受動的自転車運動のペダル回転数は、40, 60, 80回転/分の3段階に設定し、それぞれ7分ずつ段階的に実施した。採血は、受動的運動開始前の安静状態において20分の間隔をあけて2回(時間経過の影響を調べるため)、各ペダル回転数での運動開始後5分目、および運動終了後5分目に行った。測定項目は、HR、動脈血圧(非観血連続動脈血圧測定装置; ABP)、SV(胸部インピーダンス法)、CO、拡張末期左心室容積(胸部インピーダンス法; EDV)、TPRであった。また、採血は運動を行わない側の前腕静脈にカテーテルを留置して実施した。血液分析により白血球総数および分画、リンパ球分画、好中球およびリンパ球の接着分子の発現状態、カテコールアミン濃度を測定した。

4. 研究成果

(1) 筋代謝受容器反射が血中免疫細胞動態に及ぼす影響の解明。

図1にコントロールと筋代謝受容器刺激条件での循環反応を示す。コントロールでは、運動後に全ての循環指標が安静時の水準に回復した。筋代謝受容器刺激時には、MAP, HR, CO, TPRは、いずれもコントロールよりも高い値を示した。阻血を解除することで、全ての循環指標が安静時の水準に回復した。

図2は、血漿アドレナリンとノルアドレナリン濃度の変化を示している。コントロールでは、アドレナリンとノルアドレナリン濃度には有意な変化はみられなかった。筋代謝受容器刺激時には、アドレナリンとノルアドレナリン濃度が増加した。阻血解除後には、アドレナリンは安静水準に回復したが、ノルアドレナリンは安静時よりも高い値であった。また、コントロールと筋代謝受容器刺激条件のどちらにおいても、ドーパミン、コルチゾール、CPK、LDHには有意な変化はみられなかった。

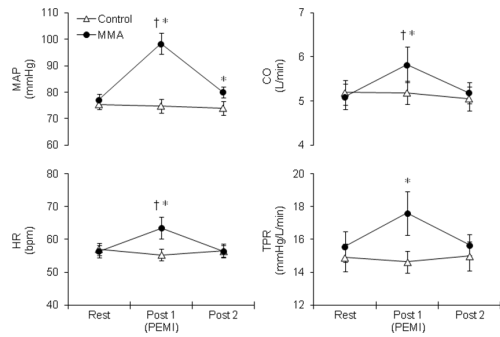


図1. コントロールと筋代謝受容器刺激条件における循環反応。

MMA: 筋代謝受容器刺激条件, PEMI: 運動後阻血. † p < 0.05 vs. rest, * p < 0.05 vs. control.

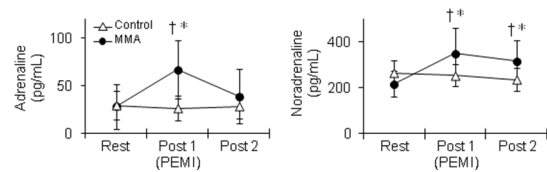


図2. 血漿アドレナリン, ノルアドレナリン濃度の変化。

図3は、白血球数および白血球分画の変化を、図4は、リンパ球分画の変化を示す。白血球数、好中球数、リンパ球数には、いずれの条件においても有意な変化はみられなかった。しかし、筋代謝受容器刺激時には、リンパ球分画におけるNK細胞(主要分画であるCD56^{dim} NK細胞)濃度だけが増加した。このことから、NK細胞の循環血への動員には、他の白血球分画に比べてカテコールアミンが強く関与することが示唆される。また、このNK細胞濃度の増加に伴い、傷害活性(Effector: Target = 20:1)が増加した(図5)。

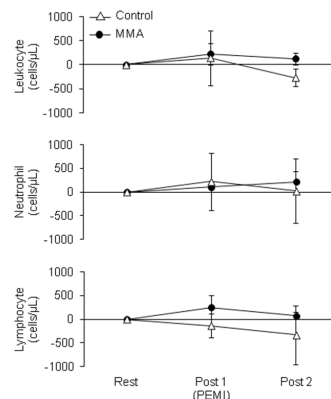


図3. 白血球数および白血球分画の変化(安静時からの変化量)

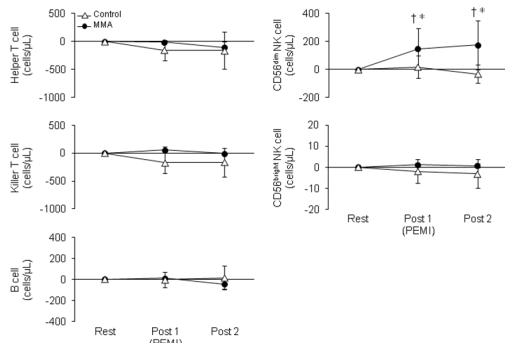


図 4 . リンパ球分画の変化 (安静時からの変化量)

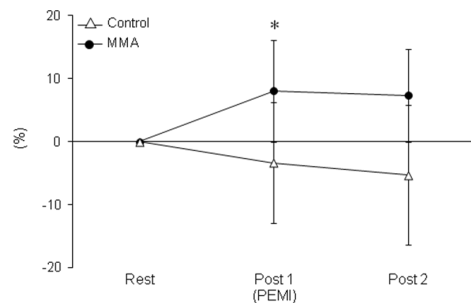


図 5 . NK 細胞傷害活性の変化 (安静時からの変化率)

図 6 は, NK 細胞膜上の接着分子の変化を示している. 筋代謝受容器刺激により, CD44 は低下したが, CX3CR1 は増加した.

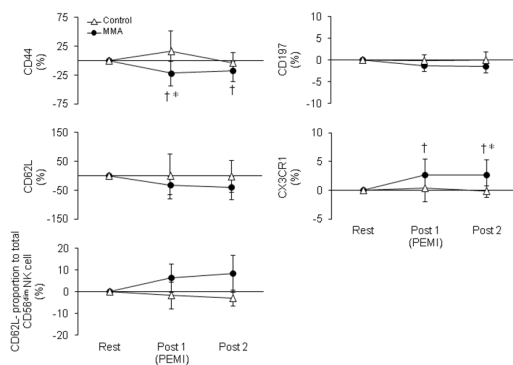


図 6 . NK 細胞膜上の接着分子の変化 (安静時からの変化率)

(2) 受動的運動が血中免疫細胞動態に及ぼす影響の検討

図 7 は, 受動的運動に対する循環反応を示している. 受動的運動のペダル回転数の増加にともなって, 収縮期血圧, HR, SV, CO, EDV は増加した. 一方, TVR はペダル回転数の増加にともなって低下し, また, 拡張期血圧も 80 回転/分においては低下がみられた. これらの結果から, 脚部の受動的運動により静脈

還流が促進されて EDV と SV が増加するとともに, 心拍数が増加することで心拍出量が増えたと考えられる. また, TVR の低下は主に受動的運動が行われている脚部での血管拡張の結果であろうと推察される. これを反映して拡張期血圧は低下したものと考えられる.

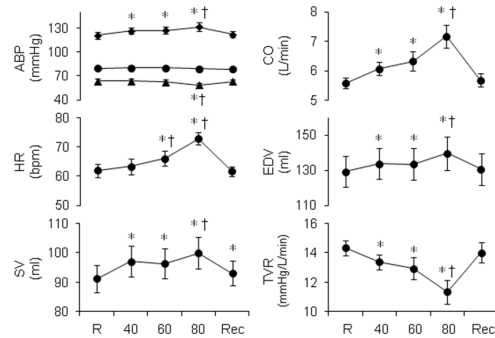


図 7 . 受動的運動に対する循環反応

R: 安静時, 40, 60, 80: 受動的運動のペダル回転数, Rec: 回復期. * $p < 0.05$ vs. R, † $p < 0.05$ vs. 40.

図 8 に, 血漿アドレナリンとノルアドレナリン濃度の変化を示す. アドレナリンは, 受動的運動のいずれのペダル回転数においても, 安静時よりも低い値であった. ノルアドレナリンは, 安静時の測定 2 回目 (R2) において, 1 回目 (R1) よりも低下した. また, 受動的運動のペダル回転数 40 回転/分においては, さらに低下がみられたが, 60 および 80 回転/分では安静時との差はみられなかった. このようなカテコールアミンの変化は, 圧反射性の応答の結果であると考えられる. すなわち, 前述の通り, 脚部の受動的運動によって静脈還流が促進されて, 中心部血液量が増加する. これにより, 心肺圧受容器が負荷されたことでカテコールアミン分泌が抑制されたものと推察される.

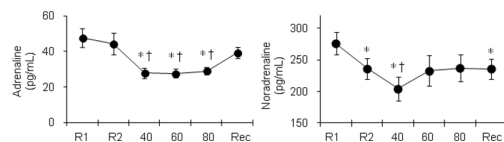


図 8 . 血漿アドレナリン, ノルアドレナリン濃度の変化. R1: 安静時採血 1 回目, R2: 安静時採血 2 回目. * $p < 0.05$ vs. R1, † $p < 0.05$ vs. R2.

図 9 は, 白血球数および白血球分画の変化を示したものである. 白血球数は, R2 において R1 から低下がみられた. 受動的運動の 60

および 80 回転 / 分において, R2 よりも増加したが R1 との有差はみられなかった. 好中球数, リンパ球数には, いずれの条件においても有意な変化はみられなかった.

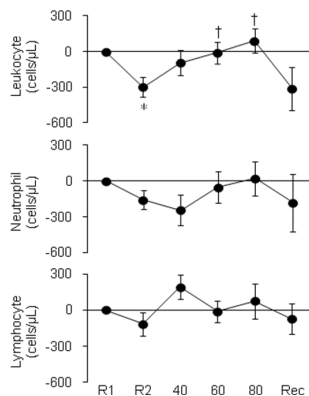


図 9 . 白血球数および白血球分画の変化 (安静時からの変化量)

図 10 にリンパ球分画の変化を示す. ヘルパー T 細胞とキラー T 細胞は, 受動的運動の 40 回転 / 分において増加した. また, B 細胞は受動的運動の全てのペダル回転数において, R1 よりも高い値であった. 他方, CD56^{dim} NK 細胞は R2, 60 および 80 回転 / 分, および回復期において, R1 から低下したが, R2 からの有意な変化は見られなかった. また, NK 細胞の傷害活性, および NK 細胞膜状の接着分子には, 有意な変化はみられなかった.

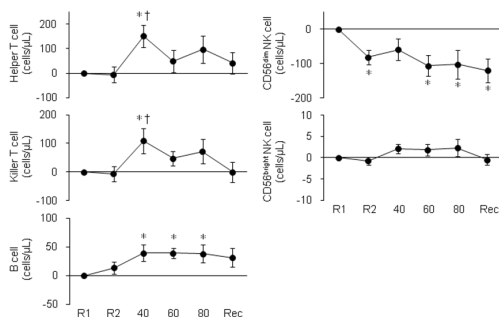


図 10 . リンパ球分画の変化 (安静時からの変化量)

まとめ

研究課題 (1) の結果から, 高強度運動時には, 活動筋内に代謝産物が蓄積することで筋代謝受容器反射が賦活され, これが誘因となって NK 細胞が血中に動員されると考えられる. 筋代謝受容器反射は, 自律神経とホルモン分泌を介して循環調節を行うとともに, 血中免疫細胞動態にも関与するという極めて統合的な生体機能調節メカニズムが明らかとなった.

研究課題 (2) の結果から, 脚部の受動的運動により循環血流量を増加させた場合には, ヘルパー T 細胞, キラー T 細胞および B 細胞の血中への動員が促進されるが, NK 細胞数は減少する傾向にあった. このような変化には, 循環血流量の増加に加えて, カテコールアミン濃度の低下が関与している可能性が考えられる.

本研究により得られた研究成果は, 運動時の血中免疫細胞動態の制御メカニズムの解明を進め, 運動による健康増進の効果などを考える上で有意義な学問的基盤となると考えられる.

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)

[雑誌論文] (計 9 件)

Amano T, Ichinose M, Nishiyasu T, Inoue Y, Koga S, Miwa M, Kondo N. Sweating response to passive stretch of the calf muscle during activation of forearm muscle metaboreceptors in heated humans. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 306(10):R728-734, 2014. 査読有 . DOI: 10.1152/ajpregu.00515.2013.

Watanabe K, Ichinose M, Tahara R, Nishiyasu T. Individual differences in cardiac and vascular components of the pressor response to isometric handgrip exercise in humans. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 306(2):H251-260, 2014. 査読有 . DOI: 10.1152/ajpheart.00699.2013.

Ichinose M, Maeda S, Kondo N, Nishiyasu T. Blood pressure regulation II: what happens when one system must serve two masters--oxygen delivery and pressure regulation? *European Journal of Applied Physiology* 114(3):451-465, 2014. 査読有 . DOI: 10.1007/s00421-013-2691-y.

Ichinose M, Watanabe K, Fujii N, Kondo N, Nishiyasu T. Muscle metaboreflex activation speeds the recovery of arterial blood pressure following acute hypotension in humans. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 304(11), 1568-1575, 2013. 査読有 . DOI: 10.1152/ajpheart.00833.2012.

Coutsos M, Sala-Mercado JA, Ichinose M, Li Z, Dawe EJ, O'Leary DS. Muscle metaboreflex-induced coronary vasoconstriction limits ventricular contractility during dynamic exercise in heart failure. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 304(7), 1029-1037, 2013. 査読有 . DOI: 10.1152/ajpheart.00879.2012.

Fujii N, Ichinose M, Honda Y, Tsuji B, Watanabe K, Kondo N, Nishiyasu T. Changes in arterial blood pressure elicited by severe passive heating at rest is associated with hyperthermia-induced hyperventilation in humans. *European Journal of Applied Physiology* 113(1), 51-62, 2013. 査読有
DOI: 10.1007/s00421-012-2413-x.

Ichinose M, Sala-Mercado JA, Coutsos M, Li Z, Ichinose TK, Dawe E, Fano D, O'Leary DS. Dynamic cardiac output regulation at rest, during exercise, and muscle metaboreflex activation: impact of congestive heart failure. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 303(7), 757-768, 2012. 査読有 .
DOI: 10.1152/ajpregu.00119.2012.

Ichinose M, Nishiyasu T. Arterial baroreflex control of muscle sympathetic nerve activity under orthostatic stress in humans. *Frontiers of Physiology* 314, 1-10, 2012. 査読有 .
DOI: 10.3389/fphys.2012.00314.

Ichinose M, Watanabe K, Fujii N, and Nishiyasu T. Cardiovascular regulation during exercise – Contribution of peripheral reflexes. *Journal of Physical Fitness and Sports Medicine* 1(3), 437-445, 2012. 査読なし .
<http://dx.doi.org/10.7600/jpfs.1.437>

〔学会発表〕(計9件)

一之瀬真志, 鈴木正敏, 竹田和由. 筋代謝受容器反射が血中免疫細胞動態に及ぼす影響. 第68回日本体力医学会. 2013年9月21日, 東京都千代田区.

渡邊和仁, 一之瀬真志, 田原麗衣, 西保 岳. 静的ハンドグリップ運動時における心拍出量および末梢血管抵抗の反応の個人差. 第68回日本体力医学会. 2013年9月21日, 東京都千代田区.

Ichinose M, Ichinose T, Nishiyasu T. Increase in Exercising Leg Blood Flow Attenuates Systemic Cardiovascular Responses During Dynamic Planter Flexion Exercise. 60th ACSM annual meeting. 2013年5月31日, Indianapolis, Indiana, USA.

Ichinose M. Reflex cardiovascular control during exercise: contribution of muscle metaboreflex in humans. *Integrated physiology to exercise, exercise training, environment and health (シンポジウム)*. 2012年12月17日. 兵庫県.

一之瀬 真志, 一之瀬 智子, 西保 岳. 動的足底屈運動時における下腿陰圧負荷が活動肢血流量および中心循環反応に及ぼす影響. 第67回日本体力医学会大会. 2012年9月15日. 岐阜県.

天野達郎, 一之瀬真志, 三輪樹生, 井上芳光, 西保 岳, 近藤徳彦. 筋からの複合的な求心性入力が発汗反応に及ぼす影響. 第67回日本体力医学会大会. 2012年9月15日. 岐

阜県.

田原麗衣, 渡邊和仁, 一之瀬真志, 吹田真士, 前田 清, 西保 岳. バトミントン競技選手における血管内皮機能および反射性循環調節に関する研究. 利き腕と非利き腕に着目して. 第67回日本体力医学会大会. 2012年9月16日. 岐阜県.

Ichinose M, Watanabe K, Tsuji B and Nishiyasu T. Muscle metaboreflex modulates dynamic cardiovascular and cerebrovascular responses to acute hypotension in humans. *The Systems Biology of Exercise: Cardio-Respiratory and Metabolic Integration*. 2012年8月16日. Leeds, United Kingdom.

Ichinose M, Watanabe K, Tsuji B and Nishiyasu T. Muscle Metaboreflex Modulates Dynamic Cardiovascular and Cerebrovascular Responses to Acute Hypotension in Humans. American College of Sports Medicine 59th annual meeting. 2012年6月2日. San Francisco, CA, USA.

〔図書〕(計1件)

一之瀬 真志 (編集 宮村美晴). 真興交易(株) 医書出版部. 身体運動と呼吸・循環機能 部 循環機能, 14. 代謝および圧受容器反射の相互作用. 301-309, 2012.

6. 研究組織

(1)研究代表者

一之瀬 真志 (ICHINOSE MASASHI)

明治大学・経営学部・准教授

研究者番号: 10551476

(2)研究分担者

鈴木 正敏 (SUZUI MASATOSHI)

明治大学・経営学部・教授

研究者番号: 10187693

(3)連携研究者

なし ()

研究者番号: