ラット自発運動の生体防御機構に及ぼす慢性影響

鈴木 克彦 町田 和彦 刈屋 美枝子
有倉 恵子 稲 恭宏 塚本 和正

CHRONIC EFFECTS OF VOLUNTARY EXERCISE ON SRBC-INDUCED HOST DEFENSE REACTIONS IN RATS

KATSUHIKO SUZUKI, KAZUHIKO MACHIDA, MIEKO KARIYA,
KEIKO ARIKURA, YASUHIRO INA and KAZUMASA TSUKAMOTO

Abstract

A study was conducted to evaluate the chronic effects of regular physical activity on nonspecific and specific immune responses. Male Fischer rats (SPF) exercised voluntarily on running wheels for 4 months, and were then injected intraperitoneally with sheep red blood cells (SRBC), followed by measurement of the host defense functions at -2 d, 3 h, 24 h and 4 d of antigen stimulation. The following results were obtained:

1) The ability of circulating neutrophils to produce superoxide measured by the spontaneous NBT test showed an earlier and higher ($p < 0.05$) rise after SRBC injection in the exercise group, suggesting that neutrophils were activated *in vivo* more promptly against foreign-body invasion. This might reflect a priming response of neutrophils at the early phase of SRBC-induced host defense reactions modulated by the previous regular exercise.

2) The ability of neutrophils to produce superoxide in response to *in vitro* stimulation with *Staphylococcus aureus* 209 P was markedly reduced during inflammatory response in the sedentary group, whereas that in the exercise group was maintained at a constant level. The value at 4 d after SRBC injection in the sedentary group was decreased to more than 20% below the baseline ($p < 0.02$). In addition, a significantly ($p < 0.02$) lower value than that in the exercise group was shown, although phagocytic activity was similar in the two groups. This suggested that neutrophil bactericidal activity was decreased in the sedentary group.

3) Plasma IgG levels in the exercise group were consistently and significantly ($p < 0.0001$) higher by about 30% than those in the sedentary group, regardless of SRBC injection. This suggested an enhanced host defense status by regular exercise.

4) The specific humoral immune response to SRBC injection was assessed in terms of hemagglutination and plasma IgM levels, but no significant differences were shown between the groups.

(Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 1993, 42: 145~154)

key words: voluntary exercise, neutrophils, free radicals, immunoglobulins, rats

I. 緒 言

運動習慣と免疫に関する研究は、中高年者の健康の保持・増進やスポーツ選手の健康管理の問題を背景として、近年関心の持たれている研究分野の一つである。最近の総説によれば、激しいトレ

ーニングを継続すると免疫機能は損なわれるが、一方で適度な運動習慣は免疫機能を高める可能性がある」と指摘されている^{2,7,11,14,16}。後者の具体例としては、呼吸器感染症罹患期間の減少とナチュラルキラー細胞活性の上昇²⁴、好中球活性酸素産生能と血清 IgG 値の上昇³、血清免疫グロブリン

値の上昇²²⁾等の報告がある。しかし顕著な効果は認められなかったという報告もあり^{15, 17, 34)}, まだ一致した見解は得られていないというのが現状である。

一口に運動習慣と言っても、その強度、頻度、期間、種類等の条件は多様であり、また生体防御機構も多面的・重層的で、宿主の条件によって変動し易いため、運動習慣の真の影響を把握することは容易ではない。本来ならばヒトを対象として検討を行うべきであるが、個人差が大きいに実験手法上の制約もあり、特に健康づくりのための適度な運動の慢性影響を検討する場合には、適切な対照群の設定や一定条件の運動を長期間継続することが難しく、微妙な変化の把握が困難であることが多い。

そこで本研究では、遺伝的条件と生活条件を厳密に規定でき、かつ *in vivo* で免疫応答を誘導できる動物実験の利点を生かして、運動習慣の影響を検討することにした²⁰⁾。動物実験で報告されてきた適度な運動習慣の効果としては、細菌感染に対する生存率の増加⁴⁾、腫瘍細胞移植に対する増殖遅延効果¹⁰⁾、免疫二次応答時の特異抗体産生能の上昇¹⁸⁾、肺泡マクロファージの細胞数、食食能およびインターロイキン1産生能の上昇^{20, 31)}等がある。しかし好中球機能や免疫グロブリン値への影響については、生体防御機構の重要な構成要素であるにもかかわらず、動物実験ではまだ検討されていないようである。

本研究では、自発運動(運動群)と安静(非運動群)の両条件下で4カ月間飼育した成熟ラットに、T細胞依存性抗体産生反応を誘導する羊赤血球(Sheep Red Blood Cells: SRBC)を接種して実験的に免疫応答を誘導し、それに伴って変動する感染防御を担う主要因子および機能の経時的な測定を通じて、適度な運動習慣によって非特異的な生体防御反応とそれに引き続く特異抗体の産生が強化されるか否かを検討した。

II. 方 法

A. 実験動物および飼育条件

8週齢のFischer系SPF雄ラット(日本チャ

ールズ・リバー社)を、1週間の予備飼育の後、運動群と非運動群(対照群)に15匹ずつ体重を揃えて分けた。運動群は1周1m、幅15cmの水車式回転籠(夏目製作所LB5-1)で、非運動群はラット代謝ケージ(高さ20×20×25cm、夏目製作所KN-646B)で、各群それぞれ1匹飼いで4カ月間飼育した。飼育環境は、外部の騒音を遮断し感染を制御したセミバリア室内で、室温25±2℃、湿度55±10%、さらに9時から21時までの12時間照明による明暗周期を設定し、一定条件下で飼育した。またラットは飼育環境の変化に敏感に反応し、その結果自発的でない運動を行って運動量を極端に増加させてしまうため^{26, 29)}、セミバリア室は飼育全期間にわたり本実験専用とし、飼育作業以外の立ち入りを制限した。餌は高圧蒸気滅菌済固形飼料(日本クレアCE-2)を、水は蒸留水を両者ともに自由摂取で与えた。飼育期間中、運動量測定装置の回転数を自発運動量として週2度記録した。また体重は月に2度、摂食量と摂水量は月に1度測定した。

B. 異物接種条件および経時的測定の概要

経時的測定は、一過性の運動や概日リズムの影響を避けるため、ラットの非活動時(明時)の定刻に行った。異物としては、20% SRBC(日本バイオテスト)を無菌的に調製し、ラットの腹腔内に体重100g当り0.5ml注射した。その2日前、接種後3時間目、24時間目、4日目の計4点でラットの尾静脈より採血し、白血球数とその構成比、好中球の食食能と活性酸素産生能、液性因子としては血漿で免疫グロブリン値(IgG, IgM)と補体系の中心成分C3を測定した。接種後4日目には、エーテル麻酔下でラットの股動脈より全採血し、血清を分離して抗SRBC抗体価の測定に用いた。

C. 白血球数と好中球殺菌能の測定法

総白血球数はメランジュール法、白血球構成比の算定はメイ・ギムザ染色法、好中球の殺菌能検査法としてはNBT還元試験を松田⁹⁾の毛細管法に準じて実施した。NBT還元試験は、食細胞によって生成されるスーパーオキシドとNBTが特異的に反応し、細胞内に有色の凝固物(フォルマザン)を形成する酸化還元反応を原理とする⁹⁾。

本実験では、普通寒天培地で一晚培養した黄色ブドウ球菌 (*St. aureus*) 209 P (カタラーゼ陽性, H_2O_2 非産生株でより強く活性酸素の生成を促す) を刺激粒子として用いる刺激 (stimulated) 試験と、ブドウ球菌を加えない対照としての無刺激 (spontaneous) 試験を同時に実施した。ブドウ球菌は 1×10^9 個/ml の濃度で最終濃度 0.1% の NBT (Nitroblue Tetrazolium, Sigma Grade III) の PBS (pH 7.2) 溶液に添加した。その NBT 溶液を等量の静脈血とヘパリン処理毛細管 (Dramond 社) 内で混和し、37℃で20分間反応させた後、塗抹標本を作成してライト・ギムザ染色を行った。本試験は、オプソニン活性も測定結果に反映できる全血をサンプルとして用いることができ、かつ採血直後に反応を開始するため、生体内での機能発現により近い活性を測定できる。また1回の測定に要する血液もヘマトクリット毛細管1本分で済むため、経時的測定を行ってもラットの負担を最小限に抑えられるという利点がある。標本は1,000倍で検鏡し、1標本で50個の好中球についてフォルマザンの形成を観察した。その際、朝永³⁰⁾の組織化学的半定量法に準ずる分析パネル (当教室作成) を参照しながら、フォルマザンの沈着パターンを類型化して活性酸素産生能をスコア化した。またブドウ球菌で好中球を刺激した場合には、細胞内に取り込まれた細菌粒子数を貪食能として同時に測定した。

D. IgG, IgM, C3 の測定法

血漿はヘパリン処理ヘマトクリット毛細管 (Dramond 社) を用い、11,000 rpm で5分間遠心分離して得た。その際、発汗等による血液濃縮の結果、血漿成分が見かけ上増加していないかどうか確認するため、ヘマトクリット値も記録した。血漿の IgG, IgM, C3 の各濃度は、ネフェロテック^{TM}システム (京都第一科学) で測定した。IgG の抗血清は抗ラット IgG ヤギ IgG (Cappel 社 55722) を、検量線用標準物質はラット IgG (Zymed 社 02-9602) を使用した。IgM の抗血清は抗ラット IgM ヤギ IgG (Cappel 社 55730) を、標準物質はラット IgM (Chemicon 社 pp 70) を使用した。C3 の抗血清は抗ラット C3 ヤギ IgG (Cappel 社

55730) を使用し、標準物質は入手できなかったため、散乱光値 (LSU) を測定値とした。

E. 抗 SRBC 抗体価の測定

抗 SRBC 抗体価は、血清を 56℃, 30分間の非働化後、赤血球凝集反応で測定した。まず非働化血清の2倍希釈系列 ($2^0:2^6 (=1)$ 倍から 2^{11} 倍まで) をU字形マイクロタイター用プレートの各穴に 25 μ l ずつ準備し、0.5% SRBC 溶液を各希釈血清に 25 μ l ずつ添加して混和した。室温で2時間反応させた後、凝集陽性反応の終末点の希釈倍数 (n) を対数値 ($\log_2 n$) で表して赤血球凝集価 (抗 SRBC 抗体価) とした。

F. 統計処理

測定結果は平均値±標準偏差で表し、群間の有意差の検定には Student's t-test を行い、個体内 (経時的測定間) の有意差の検定には Paired t-

Fig. 1. Daily running distance in exercising rats (●) and body weight in sedentary (○) and exercise (●) groups during the experimental period.

Daily running distance in the exercise group averaged 1422 ± 387 m/d, reached a peak (2839 ± 888 m/d) within the 1st month and waned over time, reaching a plateau (about 1000 m/d) on and after the 3rd month. Following SRBC-injection, the activity dropped off by 45% to the minimum quantity (555 ± 236 m/d).

Body weights in the exercise group were significantly lower than those in the sedentary group consistently. Both parameters were so constant in the latter half of the experimental period that a proper condition was thought to have been set for evaluation of the chronic effects of regularly performed exercise. (*: $p < 0.01$, **: $p < 0.001$, ***: $p < 0.0001$)

Table 1. Food intake, water intake and final body weight of rats in sedentary and exercise groups after 4-month period of voluntary exercise.

Items (units)	Sedentary (n=15)	Exercise (n=15)	t-test
Food intake (g/day)	15.3 ± 1.4	17.8 ± 1.7	p<0.001
Water intake (ml/day)	19.2 ± 2.1	23.6 ± 2.0	p<0.0001
Body weight (g)	393.5 ± 13.4	367.3 ± 15.6	p<0.001

(Mean ± S. D.)

While food and water intakes in the exercise group were much higher than those in the sedentary group, the increases in body weight were significantly inhibited in the exercise group. These results suggest that moderate regular exercise has a remarkable effect on prevention of obesity.

test を行った. 相関関係には Pearson の相関係数を用い, その有意性には無相関の検定を行った.

III. 結 果

A. 運動量の推移

運動量は, Fig. 1 のように飼育開始後 1 カ月目に $2,839 \pm 888$ m/d でピークに達し, それ以降は減少傾向を示して 3 カ月目にプラトーに至った. 飼育期間の後半では, 運動群全体としての平均運動量が 1,000 m/d 程度で安定して推移したのみならず, 個体毎の運動量も一定に固定・習慣化し, 活発なラットは常に多い運動量を維持する一方で, 非活動的なラットは常に低い運動量で推移した. このことは, 飼育 3 カ月目と最後の 1 カ月 (4 カ月目) の各 1 カ月間の平均運動量を個体毎に相関分析すると正の相関が認められ ($r=0.665$, $p<0.01$, $n=15$), また最後の 1 カ月間と飼育全期間の平均運動量の間にも正の相関が認められた ($r=0.670$, $p<0.01$, $n=15$) ことから確認できた. なお SRBC 接種後 4 日間の一日常運動量は, 接種直前の 55% に当たる 555 ± 236 m/d まで有意に減少した ($p<0.001$).

B. 摂食・摂水量と体重の変化

飼育 4 カ月後の SRBC 接種前に測定した 1 日摂食量は, Table 1 のように非運動群 15.3 ± 1.4 g に対し運動群 17.8 ± 1.7 g となり, 運動群に有意な高値が認められた ($p<0.001$). 1 日摂水量も, 非運動群 19.2 ± 2.1 ml に対し運動群 23.6 ± 2.0 ml で, 運動群に有意な高値が認められた ($p<0.001$). しかし SRBC 接種前の体重は, Table 1 のように

非運動群 393.5 ± 13.4 g に対し運動群 367.3 ± 15.6 g で, Fig. 1 でも一貫して認められたように運動群

Fig. 2. Changes of total circulating leukocyte count and neutrophil count before and after intraperitoneal SRBC-injection in sedentary (○) and exercise (●) groups. Total leukocyte count increased immediately after SRBC-injection in both groups and it was due to the increase in neutrophil count. But any significant differences were not seen in the numbers of the cells between the groups. (**: $p<0.02$, ***: $p<0.01$, ****: $p<0.001$)

に有意な低値が認められた ($p<0.001$)。したがって運動群のラットは餌・水を多く摂取していたにもかかわらず、体重の増加は抑制されていた。また SRBC 接種後 4 日目の体重は、接種直前に比べ、非運動群は 3.7 g 減少して 389.8 ± 13.1 g に ($p<0.05$)、運動群は 2.7 g 減少して 364.6 ± 16.6 g に ($p<0.01$)、両群ともに有意に減少した。

C. 好中球の細胞数および食食能・活性酸素産生能の経時的変動

静脈血中の総白血球数は、Fig. 2 のように SRBC 接種後 3 時間目に両群ともに有意に増加し、それ以後は減少して 4 日目には接種前値まで戻った。この増加は同図から明らかなように好中球数の急激な増加によるもので、3 時間目にピークを示した後、24 時間目には接種前値近くまで戻った。なおリンパ球数、単球数、好酸球数には、有意な変化は認められなかった。

SRBC 接種直後に両群ともに増加した好中球について、食食能と活性酸素産生能を検討した結果を Fig. 3 に示した。まず好中球をブドウ球菌で刺激しない場合の spontaneous NBT 還元スコアは、Fig. 3 (a) に示したように SRBC 接種後両群ともに有意に上昇し、特に 3 時間目においては、非運動群 24.0 ± 12.3 に対し運動群 35.1 ± 16.0 となり、運動群に有意な高値が認められた ($p<0.05$)。運動群の好中球は 3 時間目にピークを示し、それが非運動群で 24 時間目に示されたピークよりも高いことから、運動群では SRBC 接種後のより早い時期に spontaneous NBT 還元能がより高く立ち上がるという現象が認められた。

Fig. 3 (b) には、ブドウ球菌で好中球を刺激した場合の食食能と stimulated NBT 還元スコアを示した。まず食食能は、接種後 3 時間目に両群ともに有意に低下したが、24 時間目には回復し、以

Fig. 3. Changes of neutrophil NBT reduction score (Superoxide-producing competence) before and after intraperitoneal SRBC-injection in sedentary (○) and exercise (●) groups. (a) Spontaneous NBT reduction score in the absence of stimulant; The ability of circulating neutrophils to produce superoxide in the exercise group significantly rose high and that at once following SRBC-injection, suggesting that neutrophils were activated *in vivo* more rapidly against the invasion of foreign body in the exercise group. (b) Phagocytic activity using *St. aureus* 209 P and stimulated NBT reduction score; The ability of neutrophils to produce superoxide in response to *in vitro* stimulation with bacteria showed a remarkable downward trend in the sedentary group, though phagocytic activity was similar in both groups, suggesting that neutrophil bactericidal activity may be decreased in the sedentary group. (*: $p<0.05$, **: $p<0.02$, ***: $p<0.01$)

後一定の値を示した。一方 stimulated NBT 還元スコアは, 細菌の貪食で刺激され, spontaneous NBT 還元スコアより例外なく高値を示した。運動群の好中球では, SRBC 接種前から接種後4日目まで一貫してほぼ同じ値の stimulated NBT 還元スコアが維持されたのに対し, 非運動群では低下傾向がみられ, 接種前値が 61.5 ± 14.3 に対し4日目には 46.9 ± 14.4 になり, 20%以上の有意な低下が認められた ($p < 0.02$)。さらに群間で比較しても, 4日目の stimulated NBT 還元スコアは運動群 59.7 ± 13.0 に対し非運動群 46.9 ± 14.4 となり,

Fig. 4. Plasma levels of immunoglobulins and complement 3 before and after intraperitoneal SRBC-injection in sedentary (○) and exercise (●) groups.

Plasma IgG levels in the exercise group were significantly higher by about 30% than those in the sedentary group consistently regardless of SRBC-injection. (***: $p < 0.01$, ****: $p < 0.001$, *****: $p < 0.0001$)

非運動群に有意な低値が認められた ($p < 0.02$).

D. IgG, IgM, C3 の経時的変動

IgG 値は, Fig. 4 のように SRBC 接種前において非運動群 $1,132.7 \pm 177.8$ mg/dl に対し運動群 $1,473.0 \pm 195.8$ mg/dl となり, 運動群に30%程度の有意な高値が認められた ($p < 0.0001$). また SRBC 接種に伴う変動はみられず, 一貫してその有意差が保たれたことから, この運動群における IgG 値の上昇は, SRBC 接種とは無関係にそれ以前の長期にわたる運動習慣の影響と判断された。一方 IgM 値は, 接種前から接種後24時間目までは変動がみられず, 4日目に両群ともに有意に上昇したが, 群間に差は認められなかった。また C3 値は運動群で全般的に低値を示し, 特に接種後24時間目には非運動群 $2,579.9 \pm 186.0$ に対し運動群 $2,369.6 \pm 176.5$ となり, 運動群に有意な低値が認められた ($p < 0.01$)。なお以上の結果は, SRBC 接種前のヘマトクリット値に群間で差がなく, 接種後も全くその上昇がみられなかった点から, 血液濃縮の影響ではないことが確認された。

E. 特異抗体産生能

抗 SRBC 抗体価を SRBC 接種後4日目に測定したが, 非運動群 6.23 ± 1.84 に対し運動群 5.03 ± 3.34 で有意差は認められなかった。ただし, 抗 SRBC 抗体価と4日目の IgM 値との間に強い正の相関が認められた ($r = 0.734$, $p < 0.0001$, $n = 30$) ことから, 接種後4日目の IgM 値の上昇は抗 SRBC 抗体産生反応の結果と推定された。

IV. 考 察

A. 運動量の推移

運動量は, 一旦増加して1カ月目にピークに達してから, 以後減少傾向を示し3カ月目にプラトーに至った (Fig. 1)。ピーク時の1日平均運動量は, 前回著者ら²⁹⁾が検討した時は965 m/d であったが, 今回はその約3倍の2,839 m/d となり, またプラトー時でも前回の約2倍の1,000 m/d 前後に増加していた。この理由は, 前は別室を付設した水車式回転籠を使用したのに対し, 今回は別室のない回転籠の中でラットが生活する飼育形態に変更したため, 運動する機会自体が増えたため

と考えられる。しかしそれでも自発走運動モデルを用いた他の先行研究では、ラットが1日に5 kmあるいは10 km以上毎日運動していたという報告が多くみられるので²⁹⁾、本研究は自発運動のなかでも実験条件としては軽度な運動量に位置づけられる。またストレスや感染の防止を含め飼育環境を厳密に規定すると、各ラットの運動量が長期飼育に伴って一定の水準で固定・習慣化することも前回同様に認められ、このような実験条件下で得られる自発運動量には、各ラットの生理的な活動要求性がよく反映されるという著者ら²⁹⁾の推定は妥当なものと考えられる。SRBC接種に伴い自発運動は強く抑制された(45%減)が、Cannonら⁴⁾も自発運動の条件で飼育したマウスにサルモネラ菌を感染させた際に同様な現象を認めており、この自発運動の抑制は、生体に備わる炎症時の防衛的適応と推察される。

B. 摂食・摂水量と体重の変化

運動群のラットは、餌・水を多く摂取していないが、体重増加は逆に有意に抑制されており(Table 1, Fig. 1)、著者ら²⁹⁾が既に詳細に報告した通り、脂肪組織の沈着防止を介した顕著な肥満抑制効果が再現された。また飼育期間後半の運動量と体重の変化は、ともに極めて定常であり(Fig. 1)、その定常状態において諸機能を検討できたので、適度な運動の慢性的な影響を評価する上で、適切な実験条件が設定されていたものと考えられる。

C. 好中球の細胞数および食食能・活性酸素産生能の経時的変動

静脈血中の総白血球数は、異物侵入の初期過程で両群ともに有意に上昇したが、これは感染防御の最前列で働く好中球の動員^{1,12,27)}によるものであった(Fig. 2)。細胞数の増加とともに、spontaneous NBT還元能も両群ともに有意に上昇した(Fig. 3(a))。この上昇は血液中の好中球で示されたことから、好中球が炎症局所へ浸潤する前の段階で活性化され、血中から組織への血管透過や炎症局所での異物排除を容易にするために適応現象を示したものと考えられる^{12,19,27)}。特に運動群のspontaneous NBT還元能は、SRBC接種に伴い

非運動群より早い時期に高い立ち上がりを示し、運動群では好中球による防御網がより迅速に配備される可能性が示唆された。好中球の機能発現の調節機構に関しては、それ自体では刺激にならずに、後から加えられる異なる刺激に対して好中球がより強力に反応をひき起こすプライミングという現象が認められており^{1,19,33)}、これは生体防御機構の一環として好中球を修飾活性化する上で不可欠な機序とも考えられている²⁷⁾。本研究で示されたように、適度な運動という軽度な生体刺激が習慣的に繰り返されていると、異物侵入時に好中球がより迅速でかつ強力に活性化されるという現象は、このプライミング効果によって説明できるのではないかと考えられる。

次にその好中球の炎症局所での異物排除を想定して、実際に*in vitro*で生菌と反応させたところ、食食能は両群ともに同じ傾向を示した。しかしstimulated NBT還元能は、運動群ではSRBC接種前後で一定に維持されていたものの、非運動群では低下傾向を示し、4日目には接種前値よりも20%以上の有意な低下が認められた(Fig. 3(b))。また4日目の食食能は両群ともにほぼ同じ値であったにもかかわらず、非運動群のstimulated NBT還元能は運動群と較べ有意な低値を示し、非運動群の好中球では細菌の食食に引き続く活性酸素の生成が効率的に連動しておらず、殺菌能が炎症の過程で低下していく可能性が示唆された。

また前回の検討²⁹⁾では、今回より2倍長期の8カ月間の自発運動条件において、運動群のstimulated NBT還元能に有意な低値が認められ、今回もSRBC接種前に同様な傾向が示された(Fig. 3(b))。好中球は殺菌という感染防御上重要な役割を担う反面、標的異物への特異性が弱いため、生体内で活性化されるとその強力な活性酸素の生成能力によって正常組織をも破壊するという功罪二面性をもつ³⁵⁾。好中球による活性酸素の過剰生成が諸疾患の原因となることは、虚血性心疾患¹³⁾、高血圧時の臓器障害の進展²⁸⁾、免疫アレルギー疾患³²⁾等における病態形成の機序として急速に解明されつつある¹⁹⁾。したがって、運動習慣によって非感染時に好中球の活性化が抑制され、その機能

が安定化していることは、生体にとってプラスに働くものと考えられる。しかし一旦感染等の異常が生じると、好中球の機能調節機構が、それ以前の適度な運動習慣によって修飾されている結果、非感染時の機能だけでは推定できない積極的な適応を示す可能性が、今回の検討より示された。

D. IgG, C3 の経時的変動

自然抗体としてオプソニン活性を担う IgG は、血液濃縮による見かけ上の増加や SRBC 接種とは無関係に、運動群で一貫して30%程度の有意な高値を示した (Fig. 4)。適度な運動習慣によって安静時の IgG 値が増加したという報告は複数あるが、IgG 値が感染頻度に伴い上昇したり、加齢に伴い自己抗体の性格をもって増加するため、運動習慣によるその増加が健康にプラスに働くのか否かについて議論がなされてきた^{3,22)}。しかし Nieman ら²⁵⁾は、15週間の速歩運動の継続により IgG 値が20%以上増加したのみならず、その増加が呼吸器感染症罹患期間と負の相関を認めたことから、適度な運動習慣による IgG 値の増加は感染抵抗力の強化につながると報告している。また Fröhlich ら⁸⁾は、運動選手の海外遠征時の感染予防のために γ グロブリンを処方すると感染期間が対照群の 1/3 に減少したと報告しており、このことから IgG 値の増加は感染防御に有効に働くものと考えられる。また本研究では、感染を防ぐために SPF ラットをセミバリア室内で飼育しており、風邪や下痢等の異常は認められなかったので、運動群でのみ感染によって IgG 値が増加したとは考えられない。したがって、運動習慣が何らかの機序により IgG 値を増加させ、生体防御機構を強化している可能性が、今回動物実験でも示された。

補体系の中心成分 C3 は、運動群で全般的に低値を示し、特に SRBC 接種後 24 時間目には有意差が認められた。運動習慣と補体系に関しては、Nieman ら²³⁾が中年ランナーにおける C3, C4 値の低下を報告しており、本研究でも同様な傾向が認められた。補体系は感染防御において重要な役割を担う反面、炎症時の組織障害にも関与しており、また本研究も含め補体価等の機能活性につい

てはまだ検討されていないため、この現象が健康にプラスに働くか否かについては現段階では十分に言及できない。

E. 特異抗体産生能

運動習慣が *in vivo* の抗体産生能に及ぼす影響は、ヒトでは実験手法上の制約があるため動物実験で検討されてきたが、一次応答では影響がなかったという報告が多く^{5,14,21)}、二次応答時に効果が認められたという報告が1つあるのみである¹⁸⁾。本研究でも SRBC 接種に対する一次応答には抗体価に差が認められず、IgM 値の上昇も同様であったことから、運動習慣の影響は一次抗体産生能には顕著にあらわれないものと推察される。

V. 結 論

適度な運動習慣によって、生体防御機構が強化されるか否かを検討するために、ラットを自発運動の条件下で 4 カ月間飼育した後、SRBC を接種して実験的に免疫応答を誘導した。感染防御を担う主要因子および機能の変動を経時的に測定したところ、免疫応答以前の非特異的な生体防御機構において、いくつかの積極的な適応が認められた。

1) 静脈血中の好中球は、SRBC 接種後 3 時間目に細胞数・活性酸素産生能ともに有意に上昇し、特に運動群の活性酸素産生能は有意な高値を示し、かつその立ち上がりが非運動群より早かった。これは適度な運動習慣による好中球のプライミング効果を反映していると考えられ、運動群では異物接種に伴い好中球がより迅速でかつ強力に活性化される可能性が示唆された。

2) その好中球の炎症局所での異物排除を想定して実際に細菌と反応させたところ、細菌貪食に伴う活性酸素の生成は、運動群では接種後 4 日まで一定に維持されたが、非運動群では接種前値と比べ 4 日目には20%以上の有意な低下を示し、かつ運動群と比較しても有意な低値が認められた。このことから非運動群の好中球では貪食にひき続く活性酸素の生成が効率的に連動しておらず、殺菌能が炎症の過程で低下していく可能性が示唆された。

3) 血漿の IgG 値は、SRBC 接種とは無関係

に運動群で30%程度の有意な高値を示し、運動習慣による生体防御機構の強化が示唆された。

4) SRBC 接種に対する特異抗体産生能については、抗 SRBC 抗体価ならびに IgM 値の上昇を検討したが、顕著な影響は認められなかった。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導ご助言をいただいた帝京大学医学部第一内科松田重三助教授、日本大学医学部付属駿河台病院臨床検査部後藤 清主任、女子栄養大学衛生学教室林 修助教授、国立公衆衛生院労働衛生学部内山巖雄部長、同熊江 隆室長に心よりお礼を申し上げます。また測定機器等ご援助ご協力下さいました早稲田大学人間科学部太田富貴男教授、村岡 功教授、山内兄人教授に深謝致します。

なお、本研究の要旨は、第62回日本衛生学会総会(1992年、愛媛)において報告した。

(受付 平成4年7月7日)

文 献

- 1) 赤尾正樹, 小坂二度見(1989): 感染と好中球. 臨床麻酔, **13**, 199-204.
- 2) Asgeirsson, G. and Bellanti, J. A. (1987): Exercise, immunology, and infection. Semin. Adolesc. Med., **3**, 199-204.
- 3) 綾部光芳, 原 昭典, 七條茂樹, 佐川公橘, 横山三男(1988): ジョガーの免疫能. 体力研究, **69**, 1-7.
- 4) Cannon, J. G. and Kluger, M. J. (1984): Exercise enhances survival rate in mice infected with *Salmonella typhimurium* (41830). Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **175**, 518-521.
- 5) Davis, M. A., Kendrick, Z. V. and Paolone, M. (1986): The measurement of antibody response to influenza virus vaccine in aerobically trained mice. Med. Sci. Sports Exerc., **18**, S9.
- 6) Digregorio, K. A., Cilento, E. V. and Lantz, R. C. (1987): Measurement of superoxide release from pulmonary alveolar macrophages. Am. J. Physiol., **252**, C 677-C 683.
- 7) Fitzgerald, L. (1991): Overtraining increases the susceptibility to infection. Int. J. Sports Med., **12**, S5-S8.
- 8) Fröhlich, J., Simon, G., Schmidt, A., Hitschhold, T. and Bierther, M. (1987): Disposition to infections of athletes during treatment with immunoglobulins. Int. J. Sports Med., **8**, 119.
- 9) 月刊 Medical Technology 編 (1985): 細胞性免疫機能検査法のすべて. 初版. 医歯薬出版, 東京, 12-19.
- 10) Good, R. A. and Fernandes, G. (1981): Enhancement of immunologic function and resistance to tumour growth in Balb C mice by exercise. Fed. Proc., **40**, 1040.
- 11) 池上晴夫(1987): 運動と健康. 公衆衛生, **51**, 17-20.
- 12) 今村隆寿, 神原 武(1991): 炎症過程における好中球, マクロファージの動態. 生体防御, **8**, 85-94.
- 13) 葛谷恒彦, 藤 久和, 多田道彦(1991): 心筋虚血とオキシラジカル. 実験医学, **9**, 44-48.
- 14) Keast, D., Cameron, K. and Morton, A. R. (1988): Exercise and the immune response. Sports Med., **5**, 248-267.
- 15) 喜多尾浩代, 山田 尚, 河野一郎, 桑島士郎, 田中喜代次, 松田光夫, 中塘二三生, 前田如矢(1989): 運動の継続が免疫機能に及ぼす影響. 体力研究, **72**, 70-80.
- 16) 河野一郎(1992): 運動と免疫. 体力科学, **41**, 139-146.
- 17) Kumae, T., Sugawara, K., Machida, K. and Shimaoka, A. (1987): Changes in serum immunoglobulin levels and neutrophilic phagocytosis after exercise. Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med., **36**, 61-67.
- 18) Liu, Y. and Wang, S. (1987): Enhancing effect of exercise on the production of antibody against *Salmonella typhi* in mice. Immunol. Lett., **14**, 117-120.
- 19) 水上茂樹, 柿沼カヅ子, 竹重公一朗(1990): 白血球と生体防御. 初版. 講談社, 東京.
- 20) 森口 覚, 栢下 淳, 岡田 悟, 酒井 徹, 岸野泰雄(1990): 加齢に伴う細胞性免疫能の低下に対する栄養および運動の効果. 体力研究, **75**, 144-151.
- 21) 長尾憲樹, 高居百合子, 小野三嗣(1991): 発育期マウスの運動とスピルリナ (*Spirulina platensis*) 摂取がハプテン特異的免疫応答に及ぼす影響. 体力科学, **40**, 187-194.
- 22) Nehlsen-Cannarella, S. L., Nieman, D. C., Balk-

- Lamberton, A. J., Markoff, P. A., Chritton, D. B., Gusewitch, G. and Lee, J. W. (1991) : The effects of moderate exercise training on immune response. *Med. Sci. Sports Exerc.*, **23**, 64-70.
- 23) Nieman, D. C., Tan, S. A., Lee, J. W. and Berk, L. S. (1989) : Complement and immunoglobulin levels in athletes and sedentary controls. *Int. J. Sports Med.*, **10**, 124-128.
- 24) Nieman, D. C., Nehlsen-Cannarella, S. L., Markoff, P. A., Balk-Lamberton, A. J., Yang, H., Chritton, D. B., Lee, J. W. and Arabatzis, K. (1990) : The effects of moderate exercise training on natural killer cells and acute upper respiratory tract infections. *Int. J. Sports Med.*, **11**, 467-473.
- 25) Nieman, D. C. and Nehlsen-Cannarella, S. L. (1991) : The effects of acute and chronic exercise on immunoglobulins. *Sports Med.*, **11**, 183-201.
- 26) Roebuck, B. D., McCaffrey, J. and Baumgartner, K. J. (1990) : Protective effects of voluntary exercise during the postinitiation phase of pancreatic carcinogenesis in the rats. *Cancer Res.*, **50**, 6811-6816.
- 27) 佐藤英介, 秋丸国広, 内海耕造, 内海俊彦, 井上正康 (1992) : 疾患時における好中球の代謝動態. *代謝*, **29**, 15-23.
- 28) Schmid-Schönbein, G. W., Seiffge, D., DeLano, F. A., Shen, K. and Zweifach, B. W. (1991) : Leukocyte counts and activation in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Hypertension*, **17**, 323-330.
- 29) 鈴木克彦, 町田和彦, 刈屋美枝子 (1992) : ラットの自発走運動モデルの基礎的検討および健康指標に及ぼす慢性影響. *日衛誌*, **47**, 939-951.
- 30) 朝永万佐男 (1976) : 好中球の Nitroblue-Tetrazolium (NBT) 還元能に関する研究, I 組織化学的半定量化の試み. *臨床血液*, **17**, 1266-1275.
- 31) Ueda, N., Kayashita, J., Moriguchi, S. and Kishino, Y. (1990) : Effect of dietary protein levels on immune function of exercised rats. *Nutr. Res.*, **10**, 429-437.
- 32) 吉川敏一, 谷川 徹, 近藤元治 (1990) : 活性酸素と疾患—炎症を中心として—. *感染・炎症・免疫*, **20**, 247-256.
- 33) Warren, J. S., Kunkel, S. L., Johnson, K. J. and Ward, P. A. (1987) : *In vitro* activation of rat neutrophils and alveolar macrophages with IgA and IgG immune complexes. *Am. J. Pathol.*, **129**, 578-588.
- 34) 渡辺誠一郎 (1990) : 長期継続運動が中高年者の免疫能に及ぼす影響. *愛媛医学*, **9**, 400-409.
- 35) Weiss, S. J. (1989) : Tissue destruction by neutrophils. *N. Engl. J. Med.*, **320**, 365-376.