

学位論文題名

疲労負荷が免疫系に及ぼす影響

学位論文内容の要旨

緒言

疲労は日常生活の中で誰もが経験することであり、人が生命現象を維持する限り避けられない現象である。疲労は生体に様々な影響を及ぼすことが知られているが、その機序や本質については未だに不明な点が多い。疲労が免疫系に及ぼす影響については、いくつかの報告があるが、急性または慢性の疲労を惹起する負担の長さや強度が、リンパ球系にどのような影響を及ぼすか、などの重要な課題についてはほとんど明らかにされていない。

本研究では疲労を引き起こす負担の強度や負荷時間の違いが、リンパ球数および比率にどのような影響を及ぼすか、また回復過程でどのような変化が起きるのかを明らかにすることを目的として、軽度短期および強度長期の運動負荷直後および回復時の末梢血Tリンパ球サブセットおよび脾臓のリンパ球サブセットの変動を検討した。また、ストレス負荷の指標としてコルチコステロンの変動についても併せて検討した。

対象および方法

実験は20~45週令のウイスター系雄性ラットを用いて軽度短期および強度長期の疲労負荷を与えた。軽度短期の負荷は体重の3%の重りを尾部につけ、 $33 \pm 1^\circ\text{C}$ の温水中で1日2時間(9:00~11:00)1回のみ強制水泳であり、強度長期の負荷では、体重の5%の重りを尾部につけ同じ $33 \pm 1^\circ\text{C}$ の温水中で1日3時間(9:00~12:00)、7日間連続強制水泳させた。

採血および脾臓の摘出は、軽度短期負荷群では水泳負荷の2日前、水泳負荷終了直後および水泳負荷終了1日後に、強度長期負荷群では水泳負荷2日前、水泳負荷終了直後、負荷終了1日後および負荷終了7日後に行った。

白血球及びリンパ球数、好中球数の測定は自動計数法によって行った。リンパ球サブセットはリンパ球を密度勾配遠心法で分離後、fluorescein isothiocyanate (FITC)結合抗ラットT細胞モノクローナル抗体(CD5)、抗ラットヘルパーT細胞モノクローナル抗体(CD4)および抗ラットサプレッサー/サイトトキックT細胞モノクローナル抗体(CD8)を 4°C で30分間遮光して反応させ、フローサイトメトリー(FACSscan)を用いて測定した。血漿中コルチコステロンはCaldarellaらの方法に準じてHPLCおよびUV検出器を用いて測定した。

統計学的解析には2群間の解析では対応のないStudent's t検定を用い、3群の解析では分散分析

法を用いた。分散分析で有意差が認められた場合、多重比較検定(Fisher's protected least significant difference)を用いて検定を行った。

結果

末梢血白血球数の変化は、軽度短期負荷、強度長期負荷ともに疲労負荷終了直後で白血球数およびリンパ球数が有意に低下し、負荷終了1日後には回復した。強度長期負荷では一時的に回復するが、7日後で再び有意な低下を示した。

血中コルチコステロン濃度は、軽度短期負荷、強度長期負荷ともに負荷終了直後で有意に増加し、負荷終了1日後に負荷前の値にまで回復した。末梢血リンパ球と血中コルチコステロン濃度は軽度短期負荷および強度長期負荷で有意な負の相関が認められた。

末梢血のリンパ球サブセットは軽度短期負荷では負荷終了直後の末梢血でCD5陽性細胞比率、CD4陽性細胞比率およびCD8陽性細胞比率がともに有意な増加を示したが、負荷終了1日後には負荷前の値に回復した。強度長期負荷では、負荷終了直後にCD5陽性細胞比率が有意に増加し、負荷終了1日後にCD5陽性細胞およびCD4陽性細胞比率の有意な増加が認められた。

脾臓リンパ球サブセットは、軽度短期負荷では負荷終了直後にCD5陽性細胞比率及びCD4陽性細胞比率が増加し、連続負荷ではCD4陽性細胞比率のみが増加し、負荷終了1日後には負荷前の値に回復した。

考察

疲労は”疲れた”という状態像であり、人の疲労の評価は、質問紙等による自覚症状、心理生理的機能検査など種々の測定法によって行われることが多いが、現在のところ客観的に疲労を測定できる確実な方法は認められていない。

本研究では、T細胞サブセットは身体的な疲労の程度によって、異なった変動を示すことが明らかになった。すなわち、軽度短期負荷の影響はCD5陽性細胞、CD4陽性細胞、CD8陽性細胞の全ての比率の増加として現れるが、強度長期負荷ではCD5陽性細胞、CD4陽性細胞比率の増加として現れ、その影響が遷延し、翌日まで残ることが明らかになった。本研究で認められた疲労負荷によるリンパ球サブセットの変動の機序としては、運動負荷によって変化する種々のホルモン等の作用によると考えられる。運動負荷で変化するとされているホルモン、アミノ酸、微量元素などは複雑に作用して免疫系に影響を生ずるものと考えられている。これらのホルモンのうち、グルココルチコイドはCD4陽性細胞に作用し、カテコールアミンはCD8陽性細胞に作用し、それぞれの細胞を減少させると考えられている。

本研究では、末梢血と脾臓において変化が認められたリンパ球サブセットの種類がほぼ一致したことから、リンパ球サブセットの変動は末梢血のみに現れるものではなく、リンパ組織全体に認められる変化と考えられる。しかし、末梢血では強度長期負荷において負荷終了1日後でもリンパ球サブセットの変化が持続したが、脾臓においては強度長期負荷でも負荷終了1日後に負荷前の値にほぼ回復していたことから、疲労の生体に及ぼす影響の測定には、末梢血の方がより敏感に反応することが明らかとなった。

結語

本研究により，身体的疲労の客観的測定方法の一つとして，末梢血リンパ球サブセットの測定が有効であることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 齋 藤 和 雄
副 査 教 授 本 間 研 一
副 査 教 授 小 野 江 和 則

学 位 論 文 題 名

疲労負荷が免疫系に及ぼす影響

疲労は生体に様々な影響を及ぼすことが知られているが、その機序については未だに不明な点が多い。疲労が免疫系に及ぼす影響についてはいくつかの報告があるが、急性または慢性の疲労を惹起する負担の長さや強度が、リンパ球系にどのような影響を及ぼすかについてはほとんど明らかにされていない。

本研究では疲労を惹起する負担の強度や負荷時間の違いおよび疲労の回復過程で、リンパ球数および各リンパ球の比率にどのような変化が起きるのかを明らかにすることを目的として、軽度短期および強度長期の運動負荷直後および回復時の末梢血Tリンパ球サブセットおよび脾臓のリンパ球サブセットの変動を検討した。

実験は20~45週令のウイスター系雄性ラットを用いて、軽度短期および強度長期の疲労負荷を与えた。軽度短期の負荷は体重の3%の重りを尾部につけ、 $33\pm 1^{\circ}\text{C}$ の温水中で1日2時間(9:00~11:00)1回のみ強制水泳であり、強度長期の負荷では、体重の5%の重りを尾部につけ同じ $33\pm 1^{\circ}\text{C}$ の温水中で1日3時間(9:00~12:00)、7日間連続強制水泳させた。

採血および脾臓の摘出は、軽度短期負荷群では水泳負荷の2日前、水泳負荷終了直後および水泳負荷終了1日後に、強度長期負荷群では水泳負荷2日前、水泳負荷終了直後、負荷終了1日後および負荷終了7日後に行い、白血球数、Tリンパ球サブセット(CD5, CD4, CD8)および血漿中コルチコステロンを測定した。

末梢血白血球数およびリンパ球数は、軽度短期負荷、強度長期負荷ともに疲労負荷終了直後で有意に低下し、負荷終了1日後には回復した。強度長期負荷では7日後で再び有意な低下を示した。

末梢血のリンパ球サブセットは身体的な疲労の程度によって、軽度短期負荷では負荷終了直後の末梢血でCD5陽性細胞比率、CD4陽性細胞比率およびCD8陽性細胞比率がともに有意な増加を示したが、負荷終了1日後には負荷前の値に回復した。強度長期負荷では、負荷終了直後にCD5陽性細胞比率が有意に増加し、負荷終了1日後にCD5陽性細胞およびCD4陽性細胞比率の有意な増加が認められ、疲労負荷による影響が遷延することが明らか

になった。

脾臓リンパ球サブセットは、軽度短期負荷では負荷終了直後にCD5陽性細胞比率及びCD4陽性細胞比率が増加し、連続負荷ではCD4陽性細胞比率のみが増加し、負荷終了1日後には負荷前の値に回復した。

血中コルチコステロン濃度は、軽度短期負荷、強度長期負荷ともに負荷終了直後で有意に増加し、負荷終了1日後に負荷前の値にまで回復した。末梢血リンパ球と血中コルチコステロン濃度は軽度短期負荷および強度長期負荷で有意な負の相関が認められた。

本研究において末梢血と脾臓において変化が認められたリンパ球サブセットの種類がほぼ一致したことから、リンパ球サブセットの変動は末梢血のみに現れるものではなく、リンパ組織全体に認められる変化と考えられる。しかし、末梢血では強度長期負荷において負荷終了1日後でもリンパ球サブセットの変化が持続したが、脾臓においては強度長期負荷でも負荷終了1日後に負荷前の値にほぼ回復したことから、疲労の生体に及ぼす影響の測定には、末梢血の方がより敏感に反応することが明らかとなった。

審査にあたって副査の本間教授からCD4,CD8などのマーカー発現の安定性、結果について比率ではなく絶対値の変化、ステロイドホルモンによると考える影響のメカニズム、時間経過、運動負荷後のリンパ球の低下の意味とその理由について、次いで副査の小野江教授から脾臓および胸腺におけるリンパ球変化、単球、マクロファージの検討およびラットに存在するCD5陽性B細胞の測定の有意性について示唆を受けた。さらに細川眞澄男教授からストレスに対する慣れおよびアドレナリン、アセチルコリンなどの測定に関して質問を受けた。申請者からはこれらの質問に対しほぼ満足する回答が得られた。

本論文は身体的疲労の客観的測定方法の1つとして末梢血リンパ球サブセットの測定が有効であることを示したもので、審査員一同は疲労の評価と解明に有益な知見を提供するものであり、大学院課程における研鑽や取得単位などを併せ、申請者は博士（医学）の学位を受けるのに充分資格を有するものと判定した。