

疲労困憊運動による好中球の活性酸素産生および脱顆粒の検討 Examination of active oxygen production and degranulation by neutrophils after exhausting exercise

1K09A172-7

指導教員 主査 鈴木克彦 先生

新原 弘之

副査 赤間高雄 先生

【緒言】

活性酸素とは通常の酸素よりも活性化された酸素および関連物質である。活性酸素はミトコンドリアでの産生や白血球による産生、虚血再灌流による産生が知られている。激しい持久性運動時には、好中球により活性酸素が産生されることが知られている。

運動時には好中球による活性酸素の産生が増加することが知られている。高強度運動では、L-セレクトインの発現量が高い好中球が骨髄貯留プールから動員されるが、この細胞集団は活性酸素産生量が高いことが報告されている。

運動時において、好中球が活性化し脱顆粒を起こすと血中ミエロペルオキシダーゼ(MPO)濃度が増加することが報告されている。MPOはスーパーオキシド(O_2^-)と過酸化水素(H_2O_2)を消費し、次亜塩素酸(HOCl)を産生する。したがって、運動による活性酸素産生は好中球の脱顆粒が生じMPOが増加することにより引き起こされることが考えられる。

中強度、高強度運動における好中球による活性酸素産生および脱顆粒に関する研究が報告されている。また疲労困憊運動であるマラソンにおける好中球による活性酸素産生および脱顆粒に関する研究が報告されている。しかしながらヒトでは個体差が大きくマウスのように疲労困憊運動のプロトコルが確立されていない。そこで本研究では、マウスを用いて疲労困憊運動における好中球による活性酸素産生および脱顆粒について検討することを目的とした。

【方法】

C57BL/6J マウスにトレッド・ミルを用いて疲労困憊運動を負荷した。速度は 8 m/min から開始し、3 分毎に 2 m/min ずつ上昇させ、最終的に 24 m/min に達したところで維持し、マウスが疲労困憊状態に達したと判断できるまで負荷した。安静群と疲労困憊運動群をイソフルラン吸入麻酔下で解剖し、腹部大動脈から血液を採取した。

疲労困憊運動後に、好中球の活性酸素産生量(ルミノール依存性化学発光量)および遊走能を検討した。白血球中の好中球の構成割合はフローサイトメトリー法により検討した。また好中球の活性化マーカーである CD62L、好中球の脱顆粒マーカーである CD107a の好中球表面における発現強度をフローサイトメトリー法で検討した。さらに好中球の脱顆粒を検討するために、ELISA 法により血中 MPO 濃度を検討した。

【結果】

マウスの走行時間は平均 108 ± 30 分であった。

疲労困憊運動負荷後の好中球の活性酸素産生量は安静群と比較して有意な高値を示した(図 1)。好中球の遊走能は安静群と比較して有意な影響は認められなかった。白血球中の好中球の構成割合は安静群と比較して有意な高値を示した。好中球の活性化マーカーである CD62L、脱顆粒マーカーである CD107a の発現強度は安静群と比較して有意な影響は認められなかった。また、血中 MPO 濃度も安静群と比較して有意な影響は認められなかった。

【考察・結論】

疲労困憊運動負荷後に、好中球の活性酸素産生量は有意な高値を示した。しかしながら活性化マーカーである CD62L、脱顆粒マーカーである CD107a、および血中 MPO 濃度は安静群と比較して有意な影響は認められなかった。したがって疲労困憊運動後に好中球の活性化および脱顆粒は生じていない可能性が示唆された。本研究は先行研究と異なり、マウスにより研究を行った。マウスはヒトと比べ好中球の活性が低いために、本研究では疲労困憊運動後に好中球の活性化および脱顆粒は生じなかった可能性が考えられる。

好中球による活性酸素産生は、好中球に存在する NADPH-oxidase によって誘導されることが明らかになっている。また好中球には活性が高いものも存在する。本研究では、白血球中の好中球の構成割合は安静群と比較して有意な高値を示した。したがって、本研究における疲労困憊運動負荷後の好中球の活性酸素産生量の増加は、好中球の脱顆粒に伴う活性酸素産生量の増加ではなく、白血球中の好中球の構成割合の増加に伴う NADPH-oxidase の増加や、活性の高い細胞集団が増加し、疲労困憊運動負荷後の好中球の活性酸素産生量が増加した可能性が示唆された。

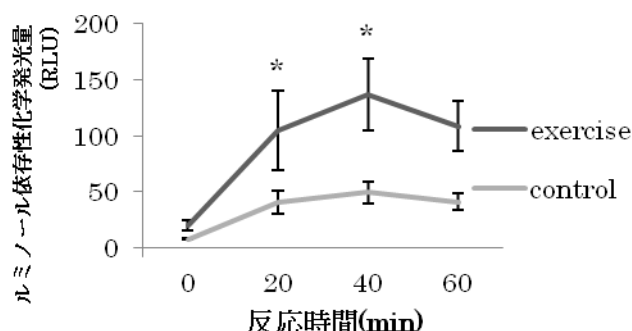


図 1. 疲労困憊運動後の好中球の活性酸素産生量