

課題番号 59

運動による Th2 免疫応答制御分子機構の解明

[1] 組織

代表者：坂本 譲

(東北学院大学)

対応者：高井 俊行

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 3 万円

[2] 研究経過

[研究目的]

適切な強度・頻度の運動は健康増進の手段としてその有効性が示されており、免疫機能への影響についてもこれまで多くの検討が行われている。免疫機能は運動時に血中に分泌されるホルモン、神経伝達物質、サイトカイン、骨格筋や脂肪細胞より分泌される近年報告が相次ぐマイオカインやアディポカインと総称される生理活性因子群、さらにそれら液性因子により影響を受けた免疫担当細胞間の相互作用によって制御されていると推察される。しかし運動による免疫機能修飾の分子機序について、また運動がアレルギー反応や炎症応答などの免疫恒常性の偏向に功罪どのような影響を及ぼすのかについては、未だ明確な回答は得られていない。そこで我々は細胞活性化の状態に応じサイトカイン産生機構を変化させ Th2 免疫応答の制御に関与する好塩基球に注目し、これまでに抑制性シグナル配列 ITIM を有する免疫制御受容体 PirB が好塩基球の活性化制御に関与すること、また長期継続的な運動が好塩基球の状態に影響を及ぼす知見を得ている。そこで本研究は PirB による好塩基球の Th2 免疫応答制御に注目し、運動による免疫機能修飾の分子機構の解明を目的とした。

以下、研究活動状況の概要を記す。

[研究活動状況]

本共同研究は、主に東北大学加齢医学研究所遺伝子導入研究分野において実施した。研究費は全て物件費として主に消耗品等の購入費用に使用した。また、研究の進捗および実験結果に関する研究打ち合わせ等は、研究課題の進捗状況に応じ E-mail もしくは同分野研究室において高井教授および関係する他の研究の有意な濃度低下が観察された。これら結果から好塩

者と適宜実施した。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、予算的制約もありこれまでの研究を伸展させるには至っていない。しかしこれまでの成果をまとめると、本共同研究では、運動が好塩基球の機能修飾をもたらす、その結果 Th2 免疫応答やアレルギー感受性に変化をもたらすとの仮説を検証するため、まず運動が好塩基球に及ぼす影響を検討する目的で野生型 C57BL/6 (B6) マウスに数週間のトレッドミル強制走運動 (1 日 60 分、週 5 日) を負荷し適切な運動期間の検討を行った。同時に運動負荷前、負荷期間中、負荷期間終了後に採血を行い、運動による血中サイトカインの変化についての検討を行った。さらに、運動負荷期間終了後に骨髄および脾臓細胞を分離回収し、フローサイトメトリー解析を行った。

その結果、6 週間のトレッドミル強制走運動により運動群の骨髄中の好塩基球の割合が非運動群と比較して有意に低下した。一方、脾臓好塩基球では運動群と非運動群の間にはこの様な変化は観察されなかった (図 1)。また、運動前後の血中サイトカインの変動

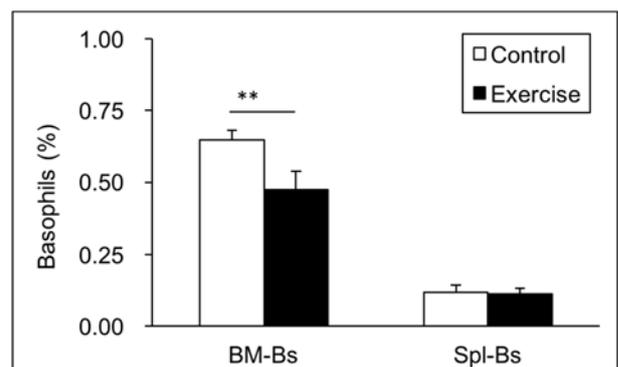


図 1. 運動によるマウス好塩基球数の変動

野生型 B6 マウスに 6 週間のトレッドミル強制走運動を負荷後、骨髄および脾臓細胞を分離回収し、フローサイトメトリー解析により好塩基球 (Fc γ RI α ⁺e-kit⁺DX5⁺) の割合を観察した。データは平均値±標準偏差で示した (n=5)。BM-Bs: bone marrow basophils, Spl-Bs: spleen basophils. ** P<0.01.

に注目すると、運動群では炎症性サイトカイン IL-1 α 好塩基球の分化や活性化の状況により運動に対する感受

性の違いと生体内の炎症応答性に変化が生じる可能性が示唆された。そこでその要因を検討するため、まず運動負荷期間による血中サイトカイン濃度の変化について Th2 サイトカインを中心に広範な検討を行ったが、好塩基球の増減や炎症応答への関与を示す変化は観察されなかった。そこで免疫応答の Th1/Th2 バランスが Th2 に偏向した状況下での運動の影響を検討する目的で、予備検討として Th2 偏向の状態を呈することが報告されている抑制性受容体 PirB 欠損マウスにおける血中サイトカイン濃度を野生型マウスと比較したところ Th1/Th2 バランスや好塩基球の機能への影響が示されている IL-3、IL-12、GM-CSF、TSLP の血中濃度に差異が観察された。よって、これら結果から運動が好塩基球に影響を及ぼす直接的な機序は現在のところ不明であるが、長期継続的な運動により液性因子の全身性の変動を伴いながらマウス好塩基球の分化・増殖に局所的に影響を及ぼす可能性が示唆された。今後は、好塩基球の①分化・増殖能、②サイトカイン産生、③Th2 免疫応答制御への運動の影響について、特に抑制型受容体 PirB の関与も含め検討を進めていく予定である。

(3-2) 波及効果と発展性など

運動による免疫機能調節に関する研究はこれまでに多くの検証が行われているものの、運動に起因する免疫担当細胞の機能調節やその分子機序について、その全容は未だ不明である。また運動により骨格筋から放出される IL-6 などの種々の生理活性物質マイオカインによる生体機能制御についても近年注目が集まっている。本研究では、免疫応答やアレルギー反応への関与が報告される好塩基球に焦点を当て、運動が好塩基球に及ぼす影響を分子レベルで検証する点で応用健康科学の研究としては学術的な特色があり、運動による健康増進や炎症応答、アレルギー感受性の制御に向けた1つの手がかりとなることが期待される。

[4] 成果資料

[学会発表他]

- (1) 坂本 譲. 骨格筋修復における免疫制御受容体の役割. 第11回運動免疫学研究会・第33回筋肉の会ジョイントミーティング(岩手) (2016.9)
- (2) 萱場敦子、坂本 譲、運動による免疫記憶劣化の予防に関する研究、第32回(2015年度)明治安田厚生事業団 若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書 65-69 (2017.4)
- (3) Sakamoto Y, Tobinai-Sugawara A, Takai T. A role of DAP12, an activating-type immune-regulatory molecule in skeletal muscle regeneration. 13th International Society for Exercise and Immunology Symposium

(Coimbra, POR) (2017.7)

- (4) 坂本 譲. ELISA 法/フローサイトメトリー法. ワークショップ2「Experimental Tips ～分子生物学的手法における再現性・妥当性を求めて～」. 第72回日本体力医学会(愛媛) (2017.9)