

【論文】

長期トレーニングに対する好中球数 および好中球機能の変化

Changes of neutrophil count and neutrophil function to long-term training

高階 曜 衣
TAKASHINA Terue

目次

- 1 緒言
- 2 対象と方法
 - (1) 対象
 - (2) 実験手順
 - (3) 測定項目
 - (4) 統計分析
 - (5) 倫理的配慮
- 3 結果
 - (1) 好中球数の変化
 - (2) 好中球貪食能および好中球殺菌能の変化
 - (3) 補体 C3 の変化
 - (4) アドレナリンの変化
 - (5) 変化率間の相関関係
- 4 考察
 - (1) 好中球数低下の原因
 - (2) 好中球数および好中球機能の関連
 - (3) 本研究の限界および今後の課題
- 5 結論

要旨

ヒトは身体の恒常性を保つために免疫能を備えている。免疫は、病原体に対し、非特異

的な働きをする自然免疫系反応と、特異的な働きをする獲得免疫系反応に分けられる。病原体が生体内に侵入すると、最初に反応を示すのが自然免疫系反応である。その中でも、いち早く反応する免疫細胞が好中球といわれている。

これまで、運動に対する好中球に着目した研究が数多く報告されている。一過性運動や長期トレーニング実施後に新たな運動負荷を課した場合、好中球数は、有意に増加し、好中球貪食能および好中球殺菌能は、低下あるいは増加することが明らかになっている。しかし、長期トレーニングそのものに対する変化を検討した報告は調査した限り見当たらない。そこで本研究は、長期トレーニングの一例として、25日間のトレーニング合宿に着目し、長期トレーニングに対する好中球数および好中球貪食能、好中球殺菌能の変化を明らかにすることを目的とした。さらに、好中球の働きに關与する補体C3、アドレナリンを測定し、好中球との関連を検討した。その結果、好中球数および好中球貪食能、好中球殺菌能は長期トレーニング前後で有意に低下することを明らかにした。他方、補体C3およびアドレナリンは長期トレーニング前後で有意な変化を示さなかった。さらに、好中球数変化率と補体C3変化率の間に有意な正の相関が認められた。なお、変化率は、長期トレーニング前から長期トレーニング後の値より算出した。

以上のことから、本研究で実施した長期トレーニングにより、すべての病原体に対する免疫が抑制されたと考えられる。

1 緒言

世界では、健康や体力の改善と維持を目的とした運動処方指針が作成されている。American College of Sports Medicineも、健康や体力の改善と維持を目的とした運動処方指針を示している。指針では、最大酸素摂取予備能40 - 60%の中等度運動を1日30分以上、週5日以上実施する、あるいは、最大酸素摂取予備能60%以上の高強度運動を1日20 - 25分以上、週3日以上実施する、もしくは、中等度と高強度を組み合わせた運動を1日20 - 30分以上、週3 - 5日実施することが推奨されている (American College of Sports Medicine, 2011)。日本でも、厚生労働省が策定した「健康づくりのための身体活動基準2013」において、健康保持・増進のために身体活動、とりわけ運動が推進されている。具体的には、血糖・血圧・脂質に関する健康診断結果が基準範囲内である18 - 64歳に対して、3メッツ以上の強度の身体活動（歩行またはそれと同等以上の身体活動）を毎日60分、3メッツ以上の強度の運動（息が弾み汗をかく程度の運動）を30分以上、週2日以上行うことが推奨されている (厚生労働省, 2013)。実際に、中等度運動を実施することで、免疫能が亢進し、上気道感染症の罹患率が低減することが報告されている (Keast et al., 1988; Nieman, 1994; Matthews et al., 2002; Martin et al., 2009)。つまり、推奨されている運動は、目的に掲げている通り、私たちの健康保持・増進に寄与するといえるだろう。

しかし、運動を行うことが必ずしも健康保持・増進に結びつくとも限らない。中等度運動とは異なり、高強度運動や長時間運動の実施は、免疫能が抑制され、上気道感染症の罹

患率が高まることが指摘されている (Keast et al., 1988 ; Nieman, 1994 ; Matthews et al., 2002 ; Martin et al., 2009)。高強度運動には、健康や体力の改善と維持を目的とした運動だけでなく、スポーツ選手が日々行うトレーニングが含まれる。スポーツ選手は、試合での勝利や競技会での自己記録更新を目標とし、日常的に強度の高いトレーニングを行っている。したがって、スポーツ選手は日々のトレーニング実施により、競技力の向上を図ると同時に、免疫能が低下するという不利益を被っている可能性がある。

ヒトは生体の恒常性を保つために、ウイルスや細菌などの病原体に抵抗するための免疫能を有している (小川, 1992)。免疫は、自己と非自己を見分けて、非自己を排除する生体反応である。主に、病原体に対し、非特異的な働きをする自然免疫系の反応と、特異的働きをする獲得免疫系の反応に分けられる。病原体が生体内に侵入すると、初期に反応を示すのが自然免疫系であり、その後、自然免疫系からの刺激により、獲得免疫系が反応する (宮坂・小安, 2013)。自然免疫系の中心的役割を担うのは、白血球の大部分 (38 - 58 %) を占める好中球 (その他、白血球はリンパ球 26.6 - 46.6 %, 単球 2.3 - 7.7 % で構成されている) である。好中球は、病原体の侵入に対しいち早く反応を示す免疫細胞である (小澤・福田, 1985 ; 矢田, 2003)。細菌へ遊走する能力 (以下「好中球遊走能」と略す)、菌を貪食する能力 (以下「好中球貪食能」と略す)、菌に対する殺菌能 (以下「好中球殺菌能」と略す) を有しており、これらが生体防御の第一線として働いている。具体的には、病原体が生体内に侵入すると、好中球遊走能により感染局所に好中球が集積し、病原体を貪食、そして自らが産生する活性酸素種 (Reactive oxygen species, 以下「ROS」と略す) により殺菌を行う (町田, 2002 ; Silva and Correia-Neves, 2012)。通常、ROS を除去するための抗酸化能により、ROS の生成と除去のバランスが保たれている。しかし、抗酸化能が追いつかなくなると、必要以上の ROS が蓄積し、正常な細胞をも障害する作用を示すといわれている (町田, 2002)。つまり、ROS 産生能の亢進は、病原体に対する殺菌能の高まりを示唆するだけでなく、ROS が過剰産生され、正常な細胞が組織障害を受けやすい状態にあることを示す可能性もある。一方、ROS 産生能の低下は、病原体に対する殺菌能低下を示唆するものである。

これまで、一過性運動に対する好中球数および好中球機能の変化を検討した研究が数多く報告されている。好中球数に着目した研究では、一過性運動実施後、好中球数が増加することが報告されている (McCarthy et al., 1991 ; Hansen et al., 1991)。McCarthy et al. (1991) は、最大酸素摂取量 84 % の強度で 30 分間の自転車運動を課したところ、運動前と比べ、運動後に好中球数が約 23 % 増加することを明らかにしている。Hansen et al. (1991) が行った 1.7 km の最大努力走を課した研究においても、好中球数は最大努力走後に約 20% 増加することが報告されている。さらに、深田ら (2013) の研究においても、12 分間の最大努力走前後に、好中球数が約 50% 増加し、運動後は臨床検査基準値以上の値を示すことが明らかにされている。

一過性運動に対する好中球機能の変化を検討した報告では、好中球貪食能および好中球殺菌能の指標として多く用いられる ROS 産生能に着目した報告が散見される。Smith et al. (1990) は、自転車エルゴメーターを用い、最大酸素摂取量 60 % の強度で 1 時間の運

動負荷を課したところ、運動負荷後、好中球殺菌能が有意に増加することを報告している。鈴木ら（1996）は、スピードスケート選手およびクロスカントリースキー選手を対象に、漸増的的最大運動負荷試験を実施したところ、運動前と比べ、運動直後、運動終了1時間後に好中球数およびROS産生能が有意に増加することを明らかにしている。男子大学生柔道選手を対象とした研究では、2時間の稽古実施前後で、好中球数とROS産生能が有意に増加し、好中球貪食能は有意に低下することが指摘されている（Kudoh et al., 2014）。Suzuki et al.（2004）は、男子大学生ラグビーフットボール（以下「ラグビー」と略す）選手を対象に、ラグビー試合前後の好中球数および好中球貪食能を比較した。その結果、好中球数は試合前と比べ、試合終了10分後および試合翌日に有意な増加を示した。一方、好中球貪食能は、試合前と比較し、試合翌日に有意に低下することを明らかにしている（Suzuki et al., 2004）。さらに、42.195kmのフルマラソン実施前後では、好中球数が増加し、好中球貪食能およびROS産生能がいずれも有意に低下することが報告されている（Chinda et al., 2003）。

他方、一過性運動ではなく、長期トレーニング実施後に新たな運動負荷を課し、その運動負荷に対する好中球数や好中球機能の変化について検討した報告がある（Mochida et al., 2007；Yamamoto et al., 2008）。Mochida et al.（2007）は、女子大学生柔道選手を対象に、1日当たり6.5時間の高強度トレーニングを6日間行うトレーニング合宿を実施した後、新たに2時間の運動負荷を課した。その結果、2時間の運動負荷前後で好中球貪食能は変化せず、ROS産生能のみ低下することを明らかにしている（Mochida et al., 2007）。男子大学生柔道選手を対象に、1日当たり3.5時間のトレーニングを週6日、6ヶ月間にわたり実施した研究もある（Yamamoto et al., 2008）。トレーニング開始前およびトレーニング開始2ヶ月後、4ヶ月後、6ヶ月後に、統一された2時間の運動負荷を実施し、各測定期における運動負荷前後の好中球数、ROS産生能、好中球貪食能を比較、検討している（Yamamoto et al., 2008）。その結果、トレーニング開始6ヶ月後以外において、好中球数は運動負荷前後で有意に増加し、ROS産生能はトレーニング開始2ヶ月後、4ヶ月後、6ヶ月後において、運動負荷前後で有意に増加することが報告されている。好中球貪食能は、トレーニング前およびトレーニング開始2ヶ月後において運動負荷前後で有意に低下し、4ヶ月後、6ヶ月後では有意な変化が認められなかったと述べられている（Yamamoto et al., 2008）。

以上の報告から、一過性運動や長期トレーニング実施後に新たな運動負荷を課した場合、好中球数は運動後、有意に増加し、好中球貪食能および好中球殺菌能の指標とされるROS産生能は、低下あるいは増加することが指摘されている。つまり、運動が好中球機能に影響を及ぼすことは明らかであるものの、一貫した結果は得られていない。運動やトレーニングが好中球に与える影響に関する確かなエビデンスを得るためにも、好中球数および好中球機能の関係について検討する必要がある。

好中球数および好中球機能の変化を明らかにすることは、日々、競技力向上のためにトレーニングを積んでいるスポーツ選手のコンディショニング管理や健康管理に資するものである。さらに、それはスポーツ選手の競技力向上にも寄与する可能性がある。スポーツ

選手は、上気道感染症に罹患すると、競技パフォーマンスが低下することが報告されている (Pyne et al., 2005; Martensson et al., 2014; Hellard et al., 2015)。したがって、免疫能低下に十分注意を払う必要がある。そこで本研究は、長期トレーニング前後における好中球数および好中球貪食能、好中球殺菌能の変化を明らかにすることを目的とした。同時に、好中球の働きを促進するとされる補体についても検討する。補体は、通常、活性のない状態で血中に存在する。しかし、病原体が生体内に侵入することで活性化されるといわれている。補体が病原体に接着しオプソニン化することで、貪食能の亢進および細菌の溶解が惹起されると指摘されている (坂本・取出, 1997; Silva, 2010)。このことから、補体と好中球の関連についても明らかにする必要がある。

2 対象と方法

(1) 対象

A 大学保健体育審議会ラグビーフットボール部に所属する男子学生 11 名 (年齢 19.1 ± 0.2 歳) を対象とした。被験者のトレーニング合宿参加前の体重は 86.5 ± 3.0 kg, 身長は 173.4 ± 1.9 cm であった。なお、体重は、Inbody 570 Body Composition Analyzer (BIOSPACE Japan Inc., JAPAN) を用いて測定した。

(2) 実験手順

本研究は、長期トレーニングとして運動部のトレーニング合宿に着目した。被験者は、休養日 3 日間を含め、前半 11 日間および後半 11 日間の全 25 日間のトレーニング合宿に参加し、その前後で採血を行った。なお、一過性運動による免疫能の変化は、運動後 24 時間以内に安静値に戻るといわれている (Walsh et al., 2011)。したがって、長期トレーニング後の採血は、運動終了直後に行うのではなく、一過性運動に対する影響が消失した長期トレーニング終了から 24 時間経過後に行った。トレーニング合宿は、関東大学秋季リーグ開幕を控えた夏期に実施した。

トレーニング合宿前半の 11 日間は、主に基礎練習やスキル練習、戦術的な練習を行った。加えて、1 日当たりの総走行距離が約 35km におよぶ持続的トレーニングを実施した。休養日 3 日間を挟んだ後に実施されたトレーニング合宿後半の 11 日間は、他チームとの練習試合を中心に行った。その他、フォーメーション確認や戦術確認を実施した。トレーニング合宿全体を通して、1 日当たりのトレーニング時間は各日 7 時間から 8 時間であった。なお、ウエイトトレーニングは、練習の一環としての時間は設けられておらず、各自が空き時間に取り組んでいた。

トレーニング合宿参加前およびトレーニング合宿前半、後半の具体的内容は以下の通りである。

・トレーニング合宿参加前

トレーニング合宿前の日常トレーニングは、週当たり 6 日間行われていた。1 日合計 3 時間のトレーニング時間が設けられており、持久力や敏捷性の向上を目的としたトレーニ

ングを1時間、ポジションおよびチーム練習を2時間行っていた。他に、チーム全体として、朝とトレーニング後の2回、ウエイトトレーニングを実施していた。

・トレーニング合宿前半（11日間）

1日目は、8時に寮を出発し、宿舎到着後に練習場にてグラウンド設営を行った。その後、軽く汗をかく程度に体を動かした。19時からの夕食を終えた後、20時よりミーティングを実施した。2日目から10日目までのトレーニング合宿は、毎朝4時30分に起床し、各自7時の朝食に間に合うように、片道約4kmのランニングを行った。さらに、午前練習および午後練習の行き帰りは、片道約7kmを各自走って移動した。午前の練習時間は9時から11時までとし、主にポジションごとに練習を行った。午後の練習時間は、15時から17時30分とし、チーム練習が主となり、試合形式での実践練習を行った。19時からの夕食後は、20時より約1時間ミーティングを実施した。その後、就寝時間まで自由時間となり、室内で実施可能なトレーニングを行う選手、休息を取る選手など様々であった。最終日は、午前中にグラウンドの片付け等を行い、その後、寮へ移動し、到着後解散した。

・トレーニング合宿後半（11日間）

ポジション練習やチーム練習を中心に実施したトレーニング合宿前半と比べ、後半はリーグ戦に向けての対外試合を主に行った。1日目は、8時に寮を出発し、グラウンド到着後、15時から17時30分まで他大学と合同練習を行った。19時からの夕食を終えた後、20時よりミーティングを実施した。2日目から6日目までは、練習場所となるグラウンドがホテルに併設されているため、早朝5時30分よりポジションごとに軽めの練習を行った。朝食後、9時から11時までには、午後に行われる練習試合に向けたチーム練習を行い、フォーメーションや戦術確認を実施した。午後は、他大学や他チームとの練習試合を行った。19時から夕食を取った後、20時より試合内容に関するミーティングをし、その後は就寝時間まで自由時間であった。7日目から10日目までのトレーニング合宿は、2日目から6日目にかけて行われた練習試合の内容を踏まえて実施した。トレーニング合宿前半同様、午前中の練習は9時から11時までの2時間、午後の練習は、15時から17時30分までの2時間30分行った。午前中はポジションごとに練習をし、午後はチーム練習を実施した。なお、8日目の午後のみ他大学の練習試合を見学した。最終日は、9時から軽く汗をかく程度に体を動かした。11時には片付けを終え、その後、寮へ移動し、到着後解散した。

(3) 測定項目

長期トレーニング前（トレーニング合宿参加1ヶ月前, pre）と長期トレーニング後（長期トレーニング終了から24時間経過後, post）に医師および看護師が肘正中皮静脈より採血をし、以下の項目について分析した。測定時刻は13時であった。採血実施にあたっては、医師の判断のもと、検査値への影響を避けるため、前日の22時以降の飲食を控えるよう指示した。

1) ヘモグロビンおよびヘマトクリット

血液サンプルをEDTA-2K (Ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium salt dihydrate) 入り容器にて冷蔵保存し、全血を用いてヘモグロビン、ヘマトクリットを求めた。ヘモ

グロビン法は、ラウリル硫酸ナトリウム - ヘモグロビン法 (SRL Inc., Tokyo, Japan) を用いて測定し、ヘマトクリットは、赤血球パルス波高値検出方式 (SRL Inc., Tokyo, Japan) を用いて測定した。

Kargotich et al. (1997) は、血漿量の減少により、運動後の血中成分の測定値は高値を示すと報告している。運動に伴い、測定値が高値を示すことから、血漿量の減少による血液濃縮の影響を補正する必要がある (Kargotich et al., 1997)。そこで、運動に対する血液濃縮の影響を除くため、Dill and Costill (1974) の方法に従い、ヘモグロビンおよびヘマトクリットを用い、血漿変化率を求めた。血漿変化率を、長期トレーニング後の測定値に掛け、求められた数値を長期トレーニング後の測定値から減じることで、血液濃縮の影響を補正した (Dill and Costill, 1974)。したがって、長期トレーニング後の測定値は、すべて補正後の値である。

2) 好中球数

血液サンプルを EDTA-2K 入り容器にて冷蔵保存し、全血を用いて好中球数を求めた。血液塗抹標本から May-Giemsa 重染色法 (SRL Inc., Tokyo, Japan) により、好中球の百分率を求め、白血球数をもとに好中球数を算出した。

・好中球貪食能および好中球殺菌能

血液サンプルをヘパリン入り容器にて攪拌混和し、全血を用いて求めた。好中球貪食能の測定には、フローサイトメトリー法 (SRL Inc., Tokyo, Japan) を用い、蛍光粒子の貪食した割合を求めた。好中球殺菌能は、 H_2O_2 (Hydrogen peroxide) を検出する蛍光プローブとして DCFH-DA (2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate) を用いたフローサイトメトリー法 (SRL Inc., Tokyo, Japan) により求めた。

3) 補体 C3

血液サンプルを完全に凝結した後、遠心分離して得られる上清を容器に移し、検体とした。測定には、Mayer 法相対比濁法 (SRL Inc., Tokyo, Japan) を用いた。

4) アドレナリン

血液サンプルを EDTA-2K 入り容器内で攪拌混和させ、低温 (4°C) にて、15 分間、3000 回 / 分で遠心分離した。その後、血球成分と分離した血漿を冷凍保存し、アドレナリンの測定に用いた。測定には、高速液体クロマトグラフィー法 (SRL Inc., Tokyo, Japan) を用いた。

(4) 統計分析

測定結果はすべて平均 \pm 標準誤差 (mean \pm S.E.) で示した。長期トレーニング前後の比較には対応のある t 検定を用い、有意水準を Holm 法によって補正した。好中球数変化率と補体 C3 の変化率の相関関係を検討するため、Pearson の積率相関係数を求めた。なお、変化率は、各測定項目における長期トレーニング前から長期トレーニング後の値より算出した (福井ら, 2014; 深田ら, 2015)。計算式は、(長期トレーニング後の値 - 長期トレーニング前の値) \div 長期トレーニング前の値 \times 100 である。有意水準は 5% 未満とした。分析には、SPSS statistics 22.0 (IBM, USA) を用いた。

(5) 倫理的配慮

本研究は、ヘルシンキ宣言に則り実施され、被験者には以下の倫理的配慮がなされた。

- 1) 研究の内容と危険性
- 2) 研究への参加を辞退することが被験者にとって不利益にはならない
- 3) いつでも途中辞退ができる
- 4) 研究で得た個人的データは個人が特定できないように管理をする

以上を説明した後、文書による研究への参加の同意を得た。なお、本研究は所属機関における倫理委員会の承認を得て実施された。

3 結果

(1) 好中球数の変化

好中球数は長期トレーニング前と比較して長期トレーニング後、有意に低下した (pre : $3392.9 \pm 362.6 /\mu\text{L}$, post : $2908.6 \pm 340.4 /\mu\text{L}$, $t(10) = 4.687$, $p < 0.01$, $r = 0.83$)。

(2) 好中球貪食能および好中球殺菌能の変化

好中球貪食能は長期トレーニング前と比較して、長期トレーニング後に有意に低下し (pre : $92.8 \pm 0.7 \%$, post : $83.4 \pm 1.3 \%$, $t(10) = 6.012$, $p < 0.01$, $r = 0.89$)、好中球殺菌能は長期トレーニング前と比べ、長期トレーニング後に有意に低下した (pre : $98.2 \pm 0.3 \%$, post : $86.2 \pm 1.9 \%$, $t(10) = 6.633$, $p < 0.01$, $r = 0.90$)。

(3) 補体 C3 の変化

補体 C3 は長期トレーニング前後で有意な変化は認められなかった (pre : $111.1 \pm 3.4 \text{ mg/dL}$, post : $111.4 \pm 4.1 \text{ mg/dL}$, $t(10) = 0.063$, $n.s.$, $r = 0.02$)。

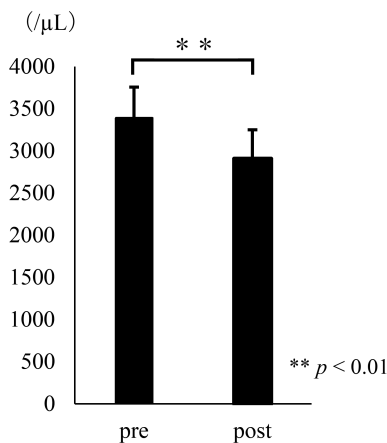


図1 長期トレーニング前後の好中球数変化

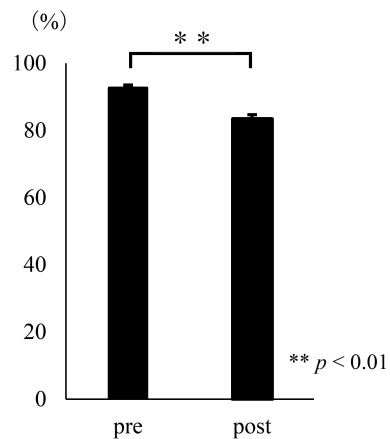


図2 長期トレーニング前後の好中球貪食能変化

長期トレーニングに対する好中球数および好中球機能の変化

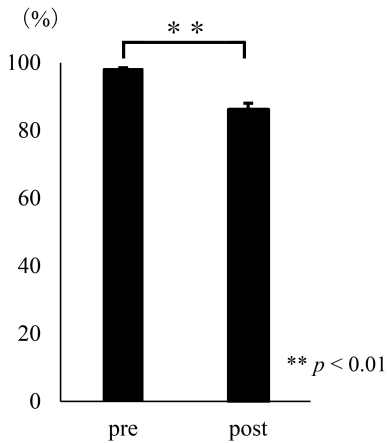


図3 長期トレーニング前後の好中球殺菌能変化

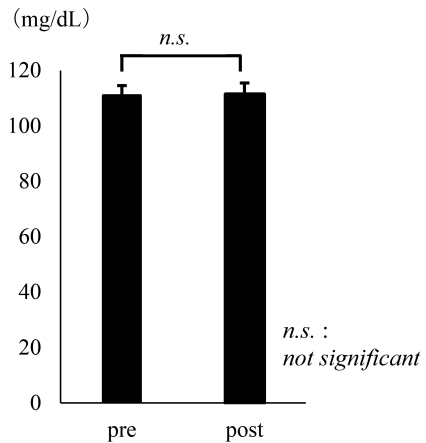


図4 長期トレーニング前後の補体 C3 変化

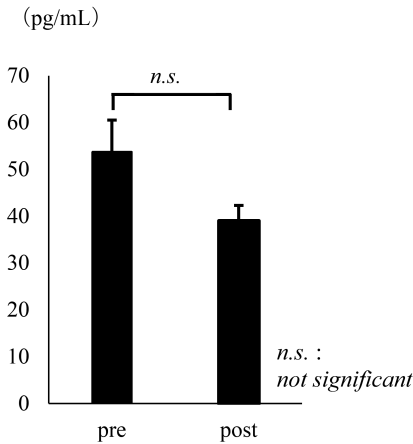


図5 長期トレーニング前後のアドレナリン変化

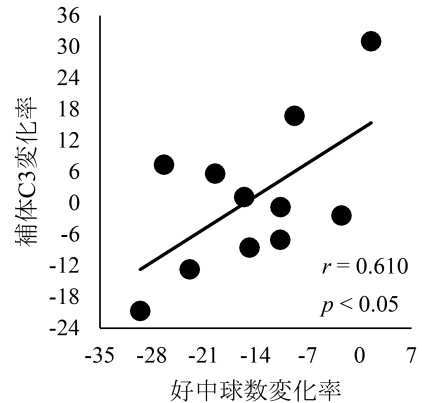


図6 好中球数変化率と補体 C3 変化率の相関関係

(4) アドレナリンの変化

アドレナリンは長期トレーニング前後で有意な変化は認められなかった(pre:53.8 ± 6.7 pg/mL, post: 39.0 ± 3.3 pg/mL, $t(10) = 2.390$, *n.s.*, $r = 0.60$)。

(5) 変化率間の相関関係

好中球数変化率と補体 C3 変化率 ($r = 0.610$, $p < 0.05$) の間に有意な正の相関関係が認められた。

4 考察

(1) 好中球数低下の原因

好中球は、病原体の生体内への侵入に対し最初に反応を示す自然免疫系反応の主たる免

疫細胞である（矢田，2003）。生体内に病原体が侵入すると，血管壁に付着した壁在好中球や末梢血中の好中球は，その感染部位に向かって遊走し，病原体を貪食，殺菌する（小川，2003）。

本研究では，壁在好中球数ではなく，末梢血好中球数を測定した。その結果，長期トレーニング実施前後で，好中球数は有意に低下していた。この結果は，先行研究の報告とは異なる。一過性運動や長期トレーニング実施後に新たな運動負荷を課した場合，好中球数は運動後，有意に増加するといわれている（Yamamoto et al., 2008；Kudoh et al., 2014）。Yamamoto et al. (2008；Kudoh et al., 2014) の報告と本結果が異なる要因として考えられるのが，補体の活性化である。

補体は，好中球の動きを促進させる成分である。通常，補体は非活性の状態で血中に存在するが，病原体の侵入などにより活性化される。活性化した補体は，生体内に侵入した病原体の細胞表面に結合し，補体レセプターを介して貪食細胞である好中球やマクロファージを感染局所に集積させる（小川，2003；小安，2013）。つまり，補体は好中球遊走能を高める走化性因子であり，貪食細胞の動きを補助する役割を主に担っている。本研究において，補体C3が長期トレーニング前後で変化しなかったことは，補体の活性化が生じていなかったことを示している。補体が活性化しなかったことは，長期トレーニング前から長期トレーニング後にかけての好中球数と補体C3の変化率からもみてとれる。本研究において両者に，正の相関関係が認められた。この結果は，長期トレーニング後に認められた好中球数の低下とともに，補体の量が低下していることを示唆している。しかしながら，長期トレーニング後に補体が活性化しなかったメカニズムについては，本研究で言及することはできない。今後はさらに検討を進める必要がある。

長期トレーニング後の好中球数低下には，アドレナリン分泌も関与していると考えられる。これまで，運動に伴う血流増加は，血流と血管内壁との間に生じるずり応力を高めると指摘されている（Marsh and Coombes, 2005）。ずり応力とは，血管壁を引き剥がすように血流の方向へ働く力であり，物理的刺激である。このずり応力は，血管壁に付着した壁在好中球にも影響する。運動強度に依存して分泌されるカテコールアミンは，血流を促進させ，ずり応力で壁在好中球を末梢血中へと遊離させると報告されている（Suzuki et al., 1996；Walsh et al., 2011）。アドレナリンは，カテコールアミンの一種である。つまり，アドレナリンの分泌が亢進するとずり応力が高まり，壁在好中球は，末梢血中へ遊離すると考えられる。本研究において，カテコールアミンの一種であるアドレナリンは，長期トレーニング前後で有意な変化が認められなかった。したがって，本研究で実施した長期トレーニングでは，アドレナリン分泌が促進されず，ずり応力の亢進による血管壁から末梢血への好中球動員が生じなかったと推測される。そのため，本研究において長期トレーニング後の好中球数が低下した可能性がある。

(2) 好中球数および好中球機能の関連

好中球は，約2週間かけ骨髄の多能性幹細胞から分化・成熟し，末梢血中に供給される。末梢血好中球はおよそ6時間で血中から消失し，組織中に遊走，その後，アポトーシスに

より死滅する（町田，2002；小川，2003）。好中球は，病原体の殺菌過程で ROS を生成するが，この ROS は病原体に対する殺菌作用を示す一方，正常な組織を障害する原因ともなることが指摘されている（神林ら，2009）。そのため，死滅までの時間が比較的短いと考えられている（町田，2002；小川，2003）。これらのことから，好中球数と好中球機能は関連することが明らかである。

好中球数と好中球機能の關係に影響を及ぼすものの一つに，運動がある。運動を行うことにより，好中球数および好中球貪食能，好中球殺菌能は，相反する変化を示すといわれている（Chinda et al., 2003；Kudoh et al., 2014）。Chinda et al. (2003) は，フルマラソン実施後に，好中球数が増加し，好中球貪食能および ROS 産生能がいずれも有意に低下したことを明らかにしている。フルマラソン後に好中球数が増加した理由として，運動により生じた好中球機能低下に対する代償性反応であることを指摘している（Chinda et al., 2003）。男子大学柔道選手を対象とした研究においても，同様の結果が報告されている。2時間の稽古実施前後で，好中球数と好中球殺菌能の指標である ROS 産生能が有意に増加し，好中球貪食能は有意に低下することが報告されている（Kudoh et al., 2014）。好中球殺菌能と好中球貪食能が相反する変化を示す原因は，各機能間における補完的役割を果たすためであることが示唆されている（Kudoh et al., 2014）。

好中球は，病原体の排除だけでなく，生体の組織障害をも惹起するという二面性を持っている（神林ら，2009）。生体の組織障害は，好中球貪食能と好中球殺菌能のバランスが崩れることに起因していると指摘されている（町田，2002）。Kudoh et al. (2014) や Chinda et al. (2003) の報告からも，好中球数や好中球貪食能，好中球殺菌能はそれぞれに増減をしながら，互いの過不足を補い合い，生体の恒常性を維持していると考えられる。

しかしながら，本研究では長期トレーニング後に，好中球数および好中球貪食能，好中球殺菌能はいずれも有意に低下した。つまり，先行研究とは異なる結果が示された。この理由として，本研究の対象として取り上げたトレーニングが，一過性ではなく，長期的なトレーニングであったことが影響していると考えられる。一過性運動では，数的あるいは機能的に補完することが可能であったと考えられるが，長期トレーニングでは，それが困難であったと推測される。継続的な高強度運動実施は，慢性的な ROS 産生能の低下を引き起こすと考えられるからである。日常的に高強度運動を実施しているエリート水泳選手と運動習慣のない人を比較した研究では，エリート水泳選手は，運動習慣のない人と比べ，安静時の ROS 産生能が低いことが報告されている（Pyne, 1994）。長期トレーニング期間中の運動時間は，トレーニング合宿前の日常トレーニングの運動時間の約 2 倍に増えていた。さらに，長期トレーニング中のトレーニング内容は，日常トレーニングと同等であったことから，運動時間が約 2 倍に増加したことにより，被験者の身体への負荷は高まっていたと推測される。したがって，長期トレーニングの実施は，好中球数や好中球機能の補完的役割を崩し，好中球数および好中球貪食能，好中球殺菌能の低下を引き起こしたと考えられる。好中球は，カビや細菌感染などの細胞外寄生菌に働く液性免疫能や，ウイルスなどの細胞内寄生菌に対して働く細胞性免疫能を問わず，全ての病原体に対し非特異的反応を示すといわれている。つまり，本研究で実施した休養日 3 日間を含めた全 25 日間の

トレーニング合宿は、全ての病原体に対する免疫能低下を惹起したと考えられる。

(3) 本研究の限界および今後の課題

本研究は、長期トレーニングとして運動部のトレーニング合宿に着目し、その前後で測定を実施した。日常に近い状態でトレーニング合宿を実施したため、実際にスポーツ現場で起こり得る被験者の生体反応を測定することが可能となった。本研究で得られた知見は、スポーツ選手の健康保持・増進や、選手自身あるいは指導者によるトレーニング計画立案に貢献すると考えられる。しかしながら、以下の点が課題として挙げられる。

- 1) 本研究は、ラグビー部に所属する男子大学生を被験者としているため、競技特性や性差が好中球数や好中球機能に影響するか否かが明らかではない。
- 2) 本研究結果は、ラグビー部を対象に実施した全25日間のトレーニング合宿に対する変化である。
- 3) 長期トレーニング前後に測定を行っているため、経時的な変化を検討することができていない。
- 4) 免疫応答には、心理的ストレスも関与すると指摘されている。
今後はこれらの課題を解決すべく検討を行っていく。

5 結論

本研究は、長期トレーニングの一例として、25日間のトレーニング合宿を実施し、長期トレーニングに対する好中球数および好中球貪食能、好中球殺菌能の変化を明らかにすることを目的とした。その結果、長期トレーニング前後で好中球数および好中球貪食能、好中球殺菌能はいずれも有意に低下することを明らかにした。したがって、長期トレーニングにより、全ての病原体に対する抵抗力が低下したと推測される。

謝辞

本研究を進めるにあたり、多大なるご指導、ご鞭撻を賜りました日本大学文理学部教授 楠英彦先生に心より感謝申し上げます。また、貴重なご助言を賜りました日本大学文理学部人文科学研究所研究協力員 深田喜八郎先生に心より感謝申し上げます。

〔参考文献〕

- 小川道雄 (1992) 「感染に対する生体防御機構」『救急医学』第6巻, pp.251-255。
——— (2003) 「I 生体防御因子としての好中球エラスターゼの作用」『侵襲と好中球エラスターゼー生体防御因子が臓器障害因子に変るときー』株式会社メジカルセンス, pp.1-29。
小澤滯司・福田康一郎 (1985) 『標準生理学』医学書院。
神林 勲・内田英二・日下部未来・武田秀勝 (2009) 「最大負荷運動におけるヒト末梢血

- 好中球の NADPH オキシダーゼ活性と細胞系スーパーオキシド生成能との関係」『体力科学』第 58 巻, pp.255-264。
- 厚生労働省 (2013) 「健康づくりのための身体活動基準 2013 (概要)」<https://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r9852000002xple-att/2r9852000002xppb.pdf> (参照 2020 年 7 月 2 日)。
- 小安重夫 (2013) 『標準免疫学第 3 版』谷口 克監修, 医学書院。
- 坂本元子・取手美穂 (1997) 「生体防衛における補体の役割」『化学と生物』第 35 巻, 第 12 号, pp.878-882。
- 鈴木克彦・佐藤英樹・遠藤 哲・長谷川裕子・望月充邦・中路重之・菅原和夫・戸塚 学・佐藤光毅 (1996) 「スポーツ選手における最大運動負荷の血中白血球数と好中球活性酸素産生能に及ぼす影響」『体力科学』第 45 巻, pp.451-460。
- 深田喜八郎・櫛 英彦・高階曜衣・沖 和磨・越澤 亮・森 昭雄 (2013) 「12 分間最大努力走における好中球数・リンパ球数急性増加に関与する因子」『桜門体育学研究』第 48 巻, 第 1 号, pp.1-9。
- 深田喜八郎・櫛 英彦・高階曜衣・小沼直子・吉田 明・天野喜一郎 (2015) 「過体重の若年男性は, 高強度運動後に 8-isoprostane が上昇する」『体育学研究』第 60 巻, 第 1 号, pp.41-51。
- 福井真司・梅田 孝・沢田かほり・高橋一平・浜野 学・三宅良輔・小山田和行・椿原徹也・田中充洋・須田芳正・中路重之 (2014) 「大学女子サッカー選手の練習試合における脱水が好中球機能に及ぼす影響」『弘前医学』第 65 巻, 第 2-4 号, pp.182-189。
- 町田和彦 (2002) 「運動は免疫能を高めるか? メカニズムをさぐる Ⅲ好中球」『臨床スポーツ医学』第 19 巻, 第 11 号, pp.1303-1309。
- 宮坂昌之・小安重夫 (2013) 『標準免疫学第 3 版』谷口 克監修, 医学書院。
- 矢田純一 (2003) 『医系免疫学』中外医学社。
- American College of Sports Medicine (2011) 『運動処方指針 - 運動負荷試験と運動プログラム - (原著第 8 版)』日本体力医学会体力科学編集委員会監訳, 株式会社南江堂。
- Chinda, D., Nakaji, S., Umeda, T., Shimoyama, T., Kurakake, S., Okamura, N., Kumae, T. and Sugawara, K. (2003) "A competitive marathon race decreases neutrophil functions in athletes," *Luminescence*, Vol. 18, No. 6, pp.324-329.
- Dill, D.B. and Costill, D.L. (1974) "Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration," *Journal of Applied Physiology*, Vol. 37, No. 2, pp.247-248.
- Hansen, J.B., Wilsgård, L. and Osterud, B. (1991) "Biphasic changes in leukocytes induced by strenuous exercise," *European Journal Applied Physiology and Occupational Physiology*, Vol. 62, No. 3, pp.157- 161.
- Hellard, P., Avalos, M., Guimaraes, F., Toussaint, J.F. and Pyne, D.B. (2015) "Training-related risk of common illnesses in elite swimmers over a 4-yr period," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Vol. 47, pp.698-707.

- Kargotich, S., Goodman, C., Keast, D., Fry, R.W., Garcia-Webb, P., Crawford, P.M. and Morton, A.R. (1997) "Influence of exercise-induced plasma volume changes on the interpretation of biochemical data following high-intensity exercise," *Clinical Journal of Sport Medicine*, Vol. 7, No. 3, pp.185-191.
- Keast, D., Cameron, K. and Morton, A.R. (1988) "Exercise and the immune response," *Sports Medicine*, Vol. 5, No. 4, pp.248-267.
- Kudoh, H., Yaegaki, M., Takahashi, I., Umeda, T., Sawada, K., Okubo, N., Yamamoto, Y. and Nakaji, S. (2014) "The relationship between muscle damage and reactive oxygen species production capability after judo exercise," *Hirosaki Medical Journal*, Vol. 64, pp.176-185.
- Marsh, S.A. and Coombes, J.S. (2005) "Exercise and the endothelial cell," *International Journal of Cardiology*, Vol. 99, No. 2, pp.165-169.
- Martensson, S., Nordebo, K. and Malm, C. (2014) "High Training Volumes are Associated with a Low Number of Self-Reported Sick Days in Elite Endurance Athletes," *Journal of Sports Science and Medicine*, Vol. 13, pp.929-933.
- Martin, S.A., Pence, B.D. and Woods, J.A. (2009) "Exercise and respiratory tract viral infections," *Exercise and Sport Sciences Reviews*, Vol. 37, No. 4, pp.157-164.
- Matthews, C.E., Ockene, I.S., Freedson, P.S., Rosal, M.C., Merriam, P.A. and Hebert, J.R. (2002) "Moderate to vigorous physical activity and risk of upper-respiratory tract infection," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Vol. 34, No. 8, pp.1242-1248.
- McCarthy, D.A., Grant, M., Marbut, M., Watling, M., Wade, A.J., Macdonald, I., Nicholson, S., Melsom, R.D. and Perry, J.D. (1991) "Brief exercise induces an immediate and a delayed leukocytosis," *British Journal of Sports Medicine*, Vol. 25, No. 4, pp.191-195.
- Mochida, N., Umeda, T., Yamamoto, Y., Tanabe, M., Kojima, A., Sugawara, K. and Nakaji, S. (2007) "The main neutrophil and neutrophil-related functions may compensate for each other following exercise - a finding from training in university judoists," *Luminescence*, Vol. 22, No.1, pp.20-28.
- Nieman, D.C. (1994) "Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Vol. 26, No. 2, pp.128-139.
- Pyne, D.B. (1994) "Regulation of neutrophil function during exercise," *Sports Medicine*, Vol. 17, No. 4, pp.245-258.
- Pyne, D.B., Hopkins, W.G., Batterham, A.M., Gleeson, M. and Fricker, P.A. (2005) "Characterising the individual performance responses to mild illness in international swimmers," *British Journal of Sports Medicine*, Vol. 39, pp.752-756.
- Silva, M.T. (2010) "Neutrophils and macrophages work in concert as inducers and effectors of adaptive immunity against extracellular and intracellular microbial pathogens," *Journal of Leukocyte Biology*, Vol. 87, No.5, pp.805-813.

- Silva, M.T. and Correia-Neves, M. (2012) "Neutrophils and macrophages: the main partners of phagocyte cell systems," *Frontiers in Immunology*, Vol. 3, pp.1-6.
- Smith, J.A., Telford, R.D., Mason, I.B. and Weidemann, M.J. (1990) "Exercise, Training and Neutrophil Microbicidal Activity," *International Journal of Sports Medicine*, Vol.11, pp.179-187.
- Suzuki, K., Sato, H., Kikuchi, T., Abe, T., Nakaji, S., Sugawara, K., Totsuka, M., Sato, K. and Yamaya, K. (1996) "Capacity of circulating neutrophils to produce reactive oxygen species after exhaustive exercise," *Journal of Applied Physiology*, Vol. 81, No. 3, pp.1213-1222.
- Suzuki, M., Umeda, T., Nakaji, S., Shimoyama, T., Mashiko, T. and Sugawara, K. (2004) "Effect of incorporating low intensity exercise into the recovery period after a rugby match," *British Journal of Sports Medicine*, Vol. 38, pp.436-440.
- Walsh, N.P., Gleeson, M., Shephard, R.J., Gleeson, M., Woods, J.A., Bishop, N.C., Fleshner, M., Green, C., Pedersen, B.K., Hoffman-Goetz, L., Rogers, C.J., Northoff, H., Abbasi, A. and Simon, P. (2011) "Position Statement Part One: Immune function and exercise," *Exercise Immunology Review*, Vol.17, pp.6-63.
- Yamamoto, Y., Nakaji, S., Umeda, T., Matsuzaka, M., Takahashi, I., Tanabe, M., Danjo, K., Kojima, A. and Oyama, T. (2008) "Effects of long-term training on neutrophil function in male university judoists," *British Journal of Sports Medicine*, Vol. 42, pp.255-259.

(Abstract)

We possess immunity to keep physical homeostasis. Immunity is a sum total of innate immune system reactions with non-specific functions and acquired immune system reactions with specific functions. The components of the innate immune system are the first to respond to the invasion of pathogens into living organisms. Neutrophils are the components of the innate immune system that aid in mounting a quick reaction.

Many studies examining the changes in neutrophils during and after exercise have been published. Neutrophil count increases significantly and neutrophil phagocytic activity and neutrophil intracellular killing decrease or increase when a new exercise load is applied after transient exercise or long-term training. However, to the best of our knowledge, there are no studies examining changes after long-term training. Therefore, this study focused on a 25-day training camp to examine alterations after long-term training. We aimed to elucidate changes in neutrophil count, neutrophil phagocytic activity, and neutrophil intracellular killing after long-term training. Furthermore, the levels of complement proteins C3, which are involved in the function of neutrophils and adrenaline were measured and the relationship with neutrophils was investigated.

The results of this study showed decreased neutrophil count, neutrophil phagocytic activity and neutrophil intracellular killing after the long-term training. However, complement proteins C3 and adrenaline showed no significant difference. In addition, there was a significant correlation between rate of change in neutrophil count and rate of change proteins C3. Incidentally, each rate of change calculated considering the value before and after the long-term training.

Therefore, the long-term training conducted during this study suppressed immunity to all pathogens.