

運動による循環白血球数増多とG-CSFとの関係

江島, 準一
九州大学医学部第一内科

金谷, 庄藏
九州大学健康科学センター

下田, 和哉
Cancer center, Kyushu University

津田, 泰夫
九州大学医学部第一内科

他

<https://doi.org/10.15017/553>

出版情報 : 健康科学. 13, pp.35-40, 1991-02-08. Institute of Health Science, Kyushu University
バージョン :
権利関係 :

運動による循環白血球数増多と G-CSF との関係

江島 準 一* 金谷 庄 藏 下田 和 哉**
津田 泰 夫* 岡村 精 一** 藤野 武 彦
仁保 喜 之*

Relation of circulating leukocytosis and serum G-CSF level during exercise.

*Junichi EJIMA, Shozo KANAYA, **Kazuya SHIMODA, *Yasuo TSUDA,
**Seiichi OKAMURA, Takehiko FUJINO and *Yoshiyuki NIHO.

Summary

We studied the relation of serum granulocyte colony-stimulating factor(G-CSF) and leukocytosis during exercise. Eleven healthy subjects were given graded exercise by treadmill. Complete blood cell counts, G-CSF, plasma adrenaline(Ad), plasma noradrenaline(NA), lactate, blood sugar(BS), serum sodium(Na), serum potassium(K) were determined before and during exercise. Heart rate(HR) and blood pressure(BP) were monitored during exercise.

The results were as follows: 1) White blood cells(WBC) markedly increased without the significant change of G-CSF. Moderate exercise induced the increase of granulocyte and lymphocyte number while heavy exercise caused the higher rate of increased in lymphocyte than in granulocyte. 2) Hematocrit(Ht) showed significant increase during exercise although both red blood cells(RBC) and hemoglobine(Hb) hardly changed. The rate of increase in Ht was lower than that of WBC. 3) Exercise induced the increase of catecholamine, resulting in the increases of HR, BP and K.

These results show that exercise-induced leukocytosis is independent on G-CSF. It is suggested that exercise induced catecholamine causes the increase of both β_2 -adrenoreceptor density and adrenergic responsiveness of leukocyte, resulting in leukocytosis followed by the increase of lymphocyte.

(Journal of Health Science, Kyushu University. 13 : 35-40, 1991)

緒 言

種々の運動により循環血液中の白血球増加が起こることはよく知られた事実である。この事実に関してはいろいろな報告があるが^{1),2),3),4)}、機序としては、安静時に血管壁に付着していた白血球の血中への遊離、運動

ストレスによるコルチゾル分泌の増大などが考えられている^{1),3)}が、まだ十分には確立されていない。

ところで、最近、白血球減少症や重症感染症の治療に Granulocyte Colony - Stimulating Factor(G-CSF)が用いられるようになった^{5),6)}。この造血を調整するサイトカインの一種である G-CSF は、顆粒球系に特

Institute of Health Science, Kyushu University 11, Kasuga 816, Japan

*First Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka 812, Japan.

**Cancer center, Kyushu University Hospital 71, Fukuoka 812, Japan.

異的に作用し末梢血液中の白血球を増加させる^{5),6)}。そこで本論文では、運動中に見られる白血球増加へのG-CSFの関与について検討した。

対象及び方法

対象は、健康成人男子11名で平均年齢は、 31.0 ± 6.3 歳である。疼痛を与えることなく任意の時点で採血できるように、あらかじめ被検者の前腕静脈に翼状針を留置した。運動負荷はトレッドミルを用い、Bruceのプロトコールに従い全員 stage 1より stage 5まで漸増負荷をおこなった。安静時及び負荷中も心電図、血圧(BP)を同時に記録した。血圧は日本コーリン社製STBP-680を用い、マンシエット法により1分毎に連続記録した。安静仰臥位にて心電図、血圧測定、採血を行い、その後、段階的運動負荷を開始した。軽い運動負荷として予想最大心拍数 $((220 - \text{年齢}) \times 0.85)$ の1/2の時点で採血し、stage 5の終了直前に採血した。

血漿や血清は、直ちに冷凍遠心分離後凍結し、白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、ヘマトクリット(Ht)、ヘモグロビン(Hb)、血小板(plt)は自動血球計算機(東亜医用電子、シメックス-3000)により測定した。白血球分類は血液塗沫標本をGimsa染色し鏡検した。血

清カリウム(K)、ナトリウム(Na)血糖(BS)は、自動分析器(HITACHI 736)により測定した。血中アドレナリン(Ad)、ノルアドレナリン(NA)は、高速液体クロマトグラフィーにより測定した。

G-CSFは、モノクローナル抗体を用いたサンドイッチELISA法にて行った⁷⁻⁹⁾。抗G-CSFモノクローナル抗体($1.25 \mu\text{g/ml}$)を室温にて一晚放置し、プレート上に固相した。5%スキムミルクでブロッキング後、各濃度のrecombinant G-CSF(rG-CSF)および0.2% Tween20を加えたリン酸緩衝生理液(PBS)で2倍に希釈した被検血清を各穴に $200 \mu\text{l}$ づつ加え、 4°C にて一晚反応させた。Tween20を含んだPBSで洗浄した後、1%スキムミルク、0.1% Tween20を含むPBS(PBS-TS)に家兎抗G-CSFポリクローナル抗体(IgG, F(ab)₂ $5 \mu\text{g/ml}$)を $100 \mu\text{l}$ づつ加え室温で2時間反応させた。洗浄後、更にペルオキシダーゼ結合山羊抗家兎IgG抗体を加え、室温で2時間反応させた。洗浄後、3,3',5,5'-テトラメチルベンチジンと H_2O_2 を加え反応させた。反応停止後microplate colorimeterにて450nmの波長でODを計測してrG-CSFによる標準曲線から血清中のG-CSF濃度を算出した。

Table 1. Changes of estimated parameters during exercise.

	REST	stage 2	stage 5
HR (beat/min)	76.1±14.4	120.6±14.2	188.9±12.4
systolic BP (mmHg)	124.9±9.4	147.0±14.9	172.1±18.8
diastolic BP (mmHg)	66.6±6.2	70.3±8.6	68.3±13.3
WBC (μl^3)	6309.1±1573.2	7672.7±2046.0	9709.0±2665.5
granulocyte	3763.3±1262.9	4567.8±1668.2	5205.7±1777.9
lymphocyte	1825.3±305.9	2276.7±683.1	3539.4±1222.5
RBC ($\times 10^4 / \mu\text{l}^3$)	473.9±23.8	494.0±28.3	517.3±37.9
Plt ($\times 10^4 / \mu\text{l}^3$)	22.9±5.1	23.9±5.1	27.0±6.0
Hb (g/dl)	15.0±0.	15.7±0.72	16.4±1.1
Ht (%)	43.3±1.8	45.3±1.7	48.1±3.0
Na (mEq/l)	143.7±3.7	145.3±3.5	149.1±3.6
K (mEq/l)	3.78±0.29	4.35±0.40	5.27±0.65
Lactate (mg/dl)	10.7±3.4	15.8±7.5	63.1±27.4
BS (mg/dl)	93.9±13.5	92.0±12.4	81.8±13.1
Ad (ng/ml)	0.06±0.03	0.08±0.03	0.44±0.34
NA (ng/ml)	0.25±0.12	0.53±0.17	3.06±1.89
G-CSF (pg/ml)	<20	<20	<20

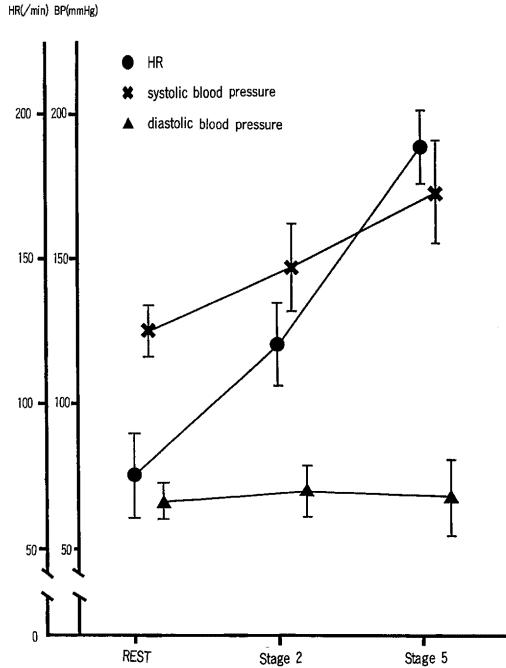


Fig. 1: Changes in heart rate(●), systolic blood pressure(×) and diastolic blood pressure (▲) during exercise.

結 果

各指標の変化を Table 1 に示す。

- 運動強度について：心拍数(HR)は、11名の被検者全員が、運動開始後4、5分後、Bruce stage 2で予想最大心拍数の1/2時点に達した。stage 5では全員が年齢より予想される最高心拍数を越える心拍数に達した(Fig. 1)。収縮期血圧は、運動強度の増大と共に次第に上昇したが、拡張期血圧はあまり変化を示さず、stage 5ではむしろ低下傾向にあった。乳酸は運動強度の増加と共に増加した。
- 白血球、血小板及びG-CSFの変化：Table 1及びFig. 2に示す。白血球は運動強度に伴い増加し、顆粒球、リンパ球共に増加した。しかし、stage 5では、顆粒球よりもリンパ球の増加率の方が大きかった。血小板は、安静時とstage 2ではほとんど変化なく、stage 5にて増加した。G-CSFは、全員が全てのstageにて測定感度の20pg/ml未満であり⁷⁾、有意な増加は認められなかった。
- 赤血球、ヘモグロビンおよびヘマトクリットの変

化：赤血球とヘモグロビンは、運動強度が増加してもほとんど変化しなかったが、ヘマトクリットは運動強度の増加に従い上昇した(Fig. 3)。

- 血中カテコラミンの変化；血中Ad, NA共にstage 2では、わずかに上昇するのみであったが、stage 5では著明な増加を認めた(Fig. 4)。
- その他の指標の変化：血清ナトリウム、カリウム共に運動開始より漸増したが、血糖は安静時とstage 2ではほとんど変化なく、stage 5では低下した。

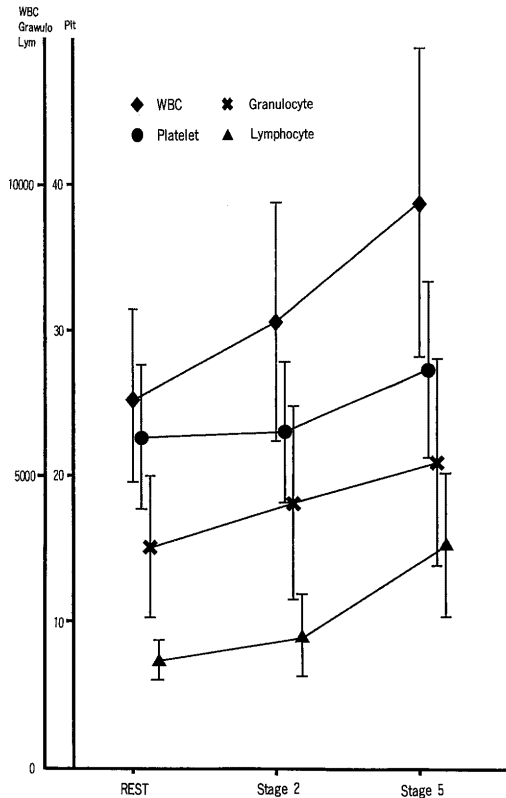


Fig. 2: Changes in white blood cell numbers (◆), granulocyte(×), lymphocyte(▲) and platelet (●) during exercise.

考 案

運動強度と循環器系の反応についてまず考案する。激しい運動にともないカテコラミンの急激な分泌が起こることについてはすでに多くの報告がなされている^{10)~13)}。血圧と心拍数が交感神経支配を受けていることはよく知られているが、今回の結果でもカテコラミ

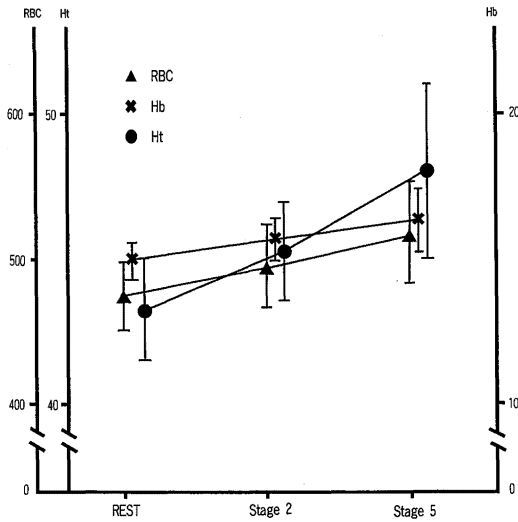


Fig. 3: Changes in red blood cell number (▲), hemoglobin (×) and hematocrit (●) during exercise.

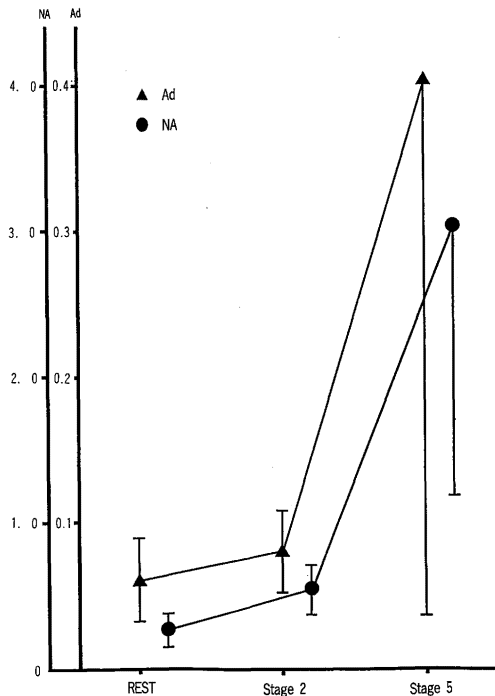


Fig. 4: Changes in plasma adrenaline (▲) and plasma noradrenaline (●) during exercise.

ンの軽度の上昇で心拍数、収縮期血圧は著明に増加した。血清カリウムも増加したがカテコラミンの上昇と平行しており、このことは金谷ら^{11),12)}、山口ら¹³⁾の報告と一致する。

また、血糖は運動強度が増加するにつれ低下した。これは肝臓や筋肉中に貯蔵されているグリコーゲン量が少ないためと思われる。従って今回の被検者が未鍛錬であることを示唆する^{12),14)}。乳酸に関しては従来の報告と同様であった^{15),16)}。

血液の変化について検討を加えると、今回の運動負荷試験では赤血球、ヘモグロビン共に著しい変化は示さず、ヘマトクリットだけが上昇していた。このことは、井川ら¹⁰⁾の報告と一致し、赤血球、ヘモグロビンの軽度の上昇傾向は運動による血液濃縮の影響と思われる。白血球も著明に増加しそれに伴い顆粒球、リンパ球も増加したが、ヘマトクリットの上昇率よりも増加しており、それらの変化の全てがヘマトクリットの上昇によるものではないことは明かである。

従来、運動による白血球増多は血清コルチゾールによるという報告⁹⁾やアドレナリンや自律神経機構により貯蔵されている白血球が放出されるという報告¹⁷⁻¹⁹⁾がある。また、運動による筋肉の挫滅により炎症類似の現象が起こりそのため白血球が増加するという報告もみられる^{20),21)}。しかし、Anderson¹⁷⁾や Ratge²²⁾の報告と同様、我々の結果でも顆粒球よりもリンパ球が増加しており炎症類似現象とは考え難い。Ratgeら²²⁾はその機序として、運動により β_2 -受容体が増加し、最も高い β_2 -受容体密度を持っているBリンパ球や単核球が循環血液中に放出されるためと考えているが、今回の我々の結果も、それを支持すると思われる。

一方、G-CSFは、造血に関与する強力なサイトカインであり、顆粒球系に特異的に作用する。その結果、末梢血中の顆粒球を増加させることが知られている⁹⁾。cyclic neutropeniaの neutropenic phaseや化学療法後、骨髄移植後にG-CSFの血中レベルが上昇しているという報告も見られる⁹⁾⁻⁹⁾。

今回の実験では、運動負荷中に白血球が明かな増加を示したにもかかわらず、G-CSFは有意な増加を示さなかった。現時点でのG-CSFの定量は20pg/ml以上でしか検出できないので、20pg/ml未満の変動が白血球増加に関係している可能性も完全には否定できないが、前述の顆粒球よりもリンパ球増加が著しい結果とあわせ、血清中G-CSFの変動が運動による白血球増加に直接関与している可能性は少ないと思われる。

文 献

- 1) Gimenez, M., Mohan - kumal, T., Humbert, J.C., Detalance, N. and Buisine, J.: Leukocyte, lymphocyte and platelet response to dynamic exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **55**: 465-470, 1986.
- 2) Moorthy, A. V. and Zimmerman, S. W.: Human leukocyte response to an endurance race. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **38**: 271-276, 1978.
- 3) Wells, C. L., Stem, J. R. and Hecht, L. H.: Hematological changes following an marathon race in male and female runners. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **48**: 41-49, 1982.
- 4) 加治良一, 藤野武彦, 山口恭子, 金谷庄藏, 大柿哲朗, 小室史恵, 熊谷秋三: ミネロライアスロン時の血液生化学動態 *健康科学* **9**: 125-131, 1987.
- 5) Niho, Y., Okamura, S., Harada, M., Shibuya, T., Kimura, N., Tanaka, T., Akashi, K.: Colony-stimulating factor in vitro and in vivo effect. *New Horizons of Tumor Immunology*. pp 501-521, Elsevier, Amsterdam, 1989.
- 6) Watari, K., Asano, S., Shirafuji, N., Kodo, H., Ozawa, K., Takaku, F. and Kamachi, S.: Serum granulocyte colony-stimulating factor levels in healthy volunteers and patients with various disorders as estimated by enzyme immunoassay. *Blood*. **73**: 117-122, 1989.
- 7) Shimoda, K., Okamura, S., Omori, F., Harada, M. and Niho, Y.: Serum granulocyte colony-stimulating factor levels in hematological malignancies. *Excepta Medica* (in Press)
- 8) Omori, F., Okamura, S., Takaku, F. and Niho, Y.: Measurement of human G-CSF by enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibody. *Res. Exp. Med.*, **189**: 163-171, 1989.
- 9) Mizuno, Y., Hara, T., Nagata, M., Omori, F., Shimoda, K., Okamura, S., Ueda, K.: Serum granulocyte colony-stimulating factor levels in chronic neutropenia of infancy. *Pediatric Oncol.*, **7**: 377-381, 1990.
- 10) 井川孝雄: 運動負荷と病態情報変動要因の解析 *臨床病理 臨時増刊特集* **38**: 214-232, 1979
- 11) 金谷庄藏, 藤野武彦, 小宮秀一, 大柿哲朗, 小室史恵, 鈴木伸, 緒方道彦, 宅島章, 増田卓二, 吉水浩, 三園良一, 千綿俊機, 安永誠, 町田弘幸: 段階的運動負荷中及び回復期における血中カテコールアミン, 血清カリウム, 脂質及び血糖の動態. *健康科学* **7**: 51-59, 1985.
- 12) 金谷庄藏, 藤野武彦, 小宮秀一, 大柿哲朗, 小室史恵, 加治良一, 山口恭子, 熊谷秋三: 定量的漸増運動負荷中及び回復期における血中カテコールアミン, 血清カリウム, 脂質及び血糖の動態 (第2報). *健康科学* **8**: 35-41, 1986.
- 13) 山口恭子, 藤野武彦, 加治良一, 金谷庄藏, 大柿哲朗, 小室史恵, 三園良一: LTレベルでの長時間運動負荷による血液生化学動態 (第1報) *健康科学* **9**: 117-123, 1987.
- 14) 跡見順子: 運動と糖代謝に関係するホルモン, *Jap. J. Sports Sci.*, **3**: 426-435, 1984.
- 15) Maron, M. B., Howath, S. M., and Wilkerson, J. E.: Blood biochemical alterations during recovery from competitive marathon running. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **36**: 231-238, 1977.
- 16) Galbo, H.: Hormonal and metabolic adaptation to exercise. Thieme Stratton, Inc., New York, 1983, pp64-86.
- 17) Andersen, K. L.: Leukocyte response to brief, severe exercise. *J. Appl. Physiol* **7**: 671-674, 1955.
- 18) McCarty, D. A., Perry, J. D., Melson, R. D. and Dale, M. M.: Leukocytosis induced by exercise. *British Med. J* **295**: 636, 1987.
- 19) Foster, N. K., Martyn, J. B., Rango, R. E., Hogg, J. G. and Pardy, R. L.: Leukocytosis of exercise: role of cardiac output and catecholamines. *J. Appl. Physiol.* **61**: 2218-2223, 1986.
- 20) Galun, E., Burstein, R., Assia, E., Tur-Kaspa, I., Rosenblum, J. and Epstein, Y.: Change of white blood cell count during prolonged exercise. *Int. J. Sports Med* **8**: 253-255, 1987.
- 21) Pipkin, C.: Some haematopathological features of marathon running. *J. Roy. Nav. Med. Serv.* **74**: 173-180, 1988.
- 22) Ratge, D., Wiedemann, A., Koppe, P. and Wisser, H.: Alterations of β -adrenoreceptors on human leukocyte subsets induced by dynamic

exercise: Effects of prednisone. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*.
15:43-53, 1988.