

## 唾液中分泌型免疫グロブリンA(sIgA)のモニタリングの意義

韓 延 柏

(2004年9月30日受理)

### Significance of Salivary Secretory Immunoglobulin A (sIgA) Monitoring

Han Yanbai

The impact of 8-week training program by rowers on salivary secretory immunoglobulin A was studied to examine the relationship between the salivary sIgA and the training or the incidence of upper respiratory tract infection (URTI). Saliva was collected every training day in the first week, one day in the second, third, fourth and the eighth week. There were significant increases in salivary sIgA concentration and secretion rate ( $p < 0.001$ ) after individual training sessions. Over the 8-week training program, there were no significant increases in the concentration and secretion rate of sIgA, however, there were significant decreases in the concentration and secretion rate of sIgA in the second, third and fourth week ( $p < 0.05$ ). There was no significant trend for saliva secretion rate. The sIgA concentration and the sIgA secretion rate of subjects with URTI were significantly lower than that of non-infected subjects. The possibility that monitoring salivary sIgA could foresee the onset of URTI was suggested.

Key words : secretory IgA, saliva, exercise, upper respiratory tract infection

キーワード : 分泌型免疫グロブリンA, 唾液, 運動, 上気道感染症

### 緒 言

近年、運動により免疫能が変化することが知られてきた。免疫能は防衛体力の一つでその中心は感染防御能である。特に外部からのウイルスや細菌などの微生物の侵入による感染症を防ぐ感染防御機構に対する運動の影響について上気道感染症 (upper respiratory tract infection; 以下URTIと略) を中心に様々な研究がなされてきている。運動とURTI罹患率の間にはJ字型の関係があると考えられており、中等度の運動を継続して行っている者は、運動を行っていない者、あるいは高強度の運動を行っている者と比較して感染症のリスクの低いことが知られている<sup>1)</sup>。このことが体力増進を目的とした運動療法の有用性を示す根拠の一つになっている。しかし、高強度の運動後にはURTI

の罹患率が高まることが報告されている<sup>2)</sup>。事実、URTIいわゆる風邪はスポーツ選手において最も罹患頻度の高い疾患であり、URTIのためにコンディショニングに失敗し、不本意な競技成績に終わる選手は多いといわれている。これはエリート選手ほど多いことも知られ、URTIへの対応は重要である<sup>3,4)</sup>。URTIの発症には病原体の侵入経路となる鼻腔、口腔をはじめとする上気道の局所免疫が重要な役割を果たしている。上気道の局所免疫は、非特異的免疫機構と特異的免疫機構の二つに大別されるが、唾液が上気道局所免疫に果たす役割は極めて大きい。唾液の非特異的免疫機構として、唾液の物理的洗浄による病原体の直接排除、蛋白分解酵素をはじめとする唾液中抗菌物質による病原体の排除がある。これらの抗菌物質には、リゾチーム、ラクトフェリン、インターフェロンなどがあり、非特異的な感染防御機構を担っている。

一方の唾液の特異的免疫機構においては、唾液中分泌型免疫グロブリンA (secretory immunoglobulin A; 以下sIgAと略) が主に機能している。sIgAは上気道粘膜面での病原菌の不活性化、凝集、粘膜上皮細胞へ

本論文は、博士課程候補論文を構成する論文の一部として以下の審査委員により審査を受けた。

審査委員 : 松岡重信 (主任指導教員), 黒川隆志,  
渡部和彦, 稲水惇 (保健学研究科)

の接着阻止などの作用によって、病原菌の感染性を失活させる。しかし運動とURTIとsIgAの関係については不明な点も多い<sup>1, 3, 5, 6)</sup>。そこで本研究ではボート選手の唾液中sIgAを8週間にわたってモニターすることによって、運動が唾液中sIgAに及ぼす影響、およびスポーツ選手における唾液中sIgAのモニタリングの意義について検討する。

## 研究方法

### 1. 対象

広島大学ボート部選手の男性5名(年齢: 20.2±0.6歳, 身長: 172.4±5.2cm, 体重: 67.0±8.9kg)と女性3名(年齢: 19.8±0.5歳, 身長: 161.0±8.7cm, 体重: 57.7±4.9kg)の8名を対象とした。研究期間は、2004年2月15日～4月10日までの春季合宿期間とした。この合宿は2004年2月28日の岡山大学対抗レースと2004年5月の第57回朝日レガッタに向けての強化練習で、この二ヶ月間全ての日に合宿していた。合宿期間中、2月28日のレース直後の5日間は完全休養日であった。それ以外の日の平均的な1週間の練習日程は、4日間は全日練習、2日間は半日練習、1日が練習なしであった。練習時間は、午前と午後のそれぞれに1.5～2時間ずつであり、一週間では約15時間の練習時間であった。代表的な練習プログラムは、約30分間の準備練習、ついで約1～1.5時間のローリング練習である。なお被験者には事前に実験の主旨などを説明し、実験に関しての同意を得た。

### 2. 実験方法

#### 2.1 唾液の採取

最初の連続した5日間と10日目(2週目), 17日目(3週目), 23日目(4週目), 53日目(8週目)において、原則として午前中の練習前(午前6～7時)と練習直後(午前8～9時)および午後の練習前(午後2～3時)と練習直後(午後4～5時)に唾液採取を行った。唾液採取にはサリベット<sup>TM</sup>を用いた。すなわち採取に先立ち、水で口腔内をよくすすぎ、その後、口腔内に貯留した唾液を喀出し、サリベット<sup>TM</sup>に付属の綿を1秒に1回、1分間噛み、咀嚼刺激により分泌された唾液を綿に吸収させた。この綿を遠心管に入れ、15分間、3000rpmで遠心した。唾液容量を計測後、分注してsIgA測定まで-80°Cで凍結保存した。唾液量は、唾液分泌速度(ml/min)で表した。

#### 2.2 sIgAの測定

唾液中sIgA濃度の測定にはELISA (Enzyme linked

immunosorbent assay) 法を用いた。ELISAプレートの各ウェルに固相化溶液(抗-sIgA 溶液)を100μl加えて、4°Cで一晩固相化を行った。翌日、各ウェルの固相化溶液を捨て、ブロッキング溶液(1%ウシアアルブミン溶液)100μlを各ウェルに加え、室温度ブロッキングを行った。その後、ブロッキング溶液を捨て、3回洗浄を行った。標準液(20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 μg/ml)あるいは唾液検体(20倍希釈)を各ウェルに100μl加え、37°Cで2時間培養した。ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgA溶液を各ウェルに100μl加え、37°Cで1時間培養した。ABTS基質溶液を各ウェルに100μl加え、37°Cで30分間培養した。30分後に3M硫酸を50μl加え、反応を停止させた。反応停止後、microplate readerを用いて415nmで各ウェルの吸光度を測定した。測定は1サンプルにつき2回測定し、その平均値をsIgA濃度とした。

唾液中sIgAは、sIgA濃度(μg/ml)およびsIgA濃度と唾液分泌速度の積であるsIgA分泌速度(μg/min)で表した。

#### 2.3 健康調査

研究全期間中毎日アンケートで、その日の体調、上気道感染症状(発熱、頭痛、咳、痰、鼻水、鼻閉、咽喉痛)、食欲、サプリメント摂取等のチェックを行った。同時に二つ以上の上気道感染症状を有するか、一つの症状でも二日間以上症状が続く場合を上気道感染と判定した。

#### 2.4 統計

午前と午後の各練習前後の8週間全てのデータを集計して急性運動の効果を検討した。sIgA濃度と分泌速度は非正規分布を示すため、sIgA濃度は対数変換し、sIgA分泌速度はSQRT変換し、練習前後の平均値の差の検定には対応のあるt-testを行った。sIgAとURTIの関係は独立したサンプルのt-testを行い、上気道感染者と非感染者のsIgAを比べて検討した。p<0.05を統計学的に有意とした。

## 成績

### 1. 急性運動の影響

練習後のsIgA濃度とsIgA分泌速度は練習前に比べて有意に増加した(それぞれp<0.001, p<0.01)。唾液分泌速度には急性運動前後で有意な変化はみられなかった(Table 1)。

### 2. 慢性運動の影響

sIgA濃度は合宿の経過とともに減少傾向にあった

が、5日目までは有意な変動ではなかった。2週目、3週目および4週目の午前練習前のsIgA濃度と分泌速度は、初日に比べて有意な減少がみられた ( $p<0.05$ )。また2週目午後練習後のsIgA濃度と分泌速度は、初日に比べて有意な減少がみられた ( $p<0.05$ )。4週目以降は合宿の経過とともに増加傾向にあったが、8週目のsIgA濃度と分泌速度は初日に比べて、有意な差はみられなかった (Fig. 1, 2)。

唾液分泌速度は合宿の経過とともに減少傾向にあったが、有意な変動ではなかった (Fig. 3)。

### 3. sIgAとURTIの関係

健康調査の結果では、4名にURTIの症状が観察された。すなわち、1名に咳、鼻水、鼻閉、咽喉痛が1週間、1名に咽喉痛が4日間と発熱が2日間、他の2名に鼻水、鼻閉が3日間みられた。いずれも練習を休まなくてはならないほどの重症なものではなかった。

午前と午後の各練習前後の8週間分のデータをすべて集計し比較したところ、上気道感染者の練習前のsIgA濃度とsIgA分泌速度のいずれも非上気道感染者に比べて有意に低値であった ( $p<0.05$ )。練習後のsIgA濃度は上気道感染者と非感染者の間に有意の差はみられなかったが、sIgA分泌速度は非感染者より、感染者が有意に低値であった ( $p<0.05$ ) (Table 2)。

上気道感染者における上気道感染時のsIgA濃度の個々人の最高レベルのsIgA濃度に対する比率 (%) は、感染時練習前56.9%、練習後52.1%であった。また上気道感染時のsIgA分泌速度の個々人の最高レベルのsIgA分泌速度に対する比率 (%) は感染時練習前50.4%、練習後44.2%であった (Table 3)。

Table 1 The overall parameters for the pre-training and post-training over the eight-week

Parameter	pre-training Mean±SD	Post-training Mean±SD	p value
sIgA concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	106.9±55.9 (1.97±0.23) <sup>a</sup>	136.4±82.9 (2.08±0.21) <sup>a</sup>	<0.001***
sIgA secretion rate ( $\mu\text{g/min}$ )	104.5±76.9 (9.62±3.48) <sup>b</sup>	118.7±57.5 (10.57±2.64) <sup>b</sup>	0.006**
Saliva secretion rate (ml/min)	0.97±0.43	0.94±0.38	0.434

a: log transformed data      b: SQRT transformed data  
\*\*:  $p<0.01$       \*\*\*:  $p<0.001$

Table 2 Pre-and post-training concentration and secretion rate of sIgA for infected and non-infected rowers

Parameter	Infected Mean±SD	Non-infected Mean±SD	p value
Pre-training			
Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	97.0±50.4 (1.92±0.24) <sup>a</sup>	126.6±75.5 (2.04±0.22) <sup>a</sup>	0.015 *
Secretion rate ( $\mu\text{g/min}$ )	90.3±61.2 (8.97±3.17) <sup>b</sup>	126.4±86.2 (10.72±3.42) <sup>b</sup>	0.010 *
Post-training			
Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	126.7±51.0 (2.06±0.19) <sup>a</sup>	128.8±56.1 (2.07±0.18) <sup>a</sup>	0.793
Secretion rate ( $\mu\text{g/min}$ )	104.0±53.8 (9.84±2.70) <sup>b</sup>	131.1±58.8 (11.18±2.49) <sup>b</sup>	0.012 *

a: log transformed data      b: SQRT transformed data  
\*:  $p<0.05$

Table 3 Percentage of sIgA during URTI period to best condition

Parameters	Best condition Mean±SD	URTI period/ Best condition
Pre-training		
sIgA Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	168.4±23.3	56.9 %
sIgA Secretion rate ( $\mu\text{g/min}$ )	173.9±73.1	50.4 %
Post-training		
sIgA Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	202.8±40.5	52.1 %
sIgA Secretion rate ( $\mu\text{g/min}$ )	213.0±33.8	44.2 %

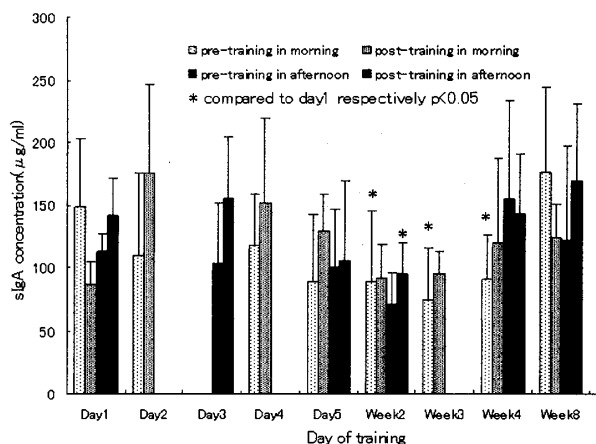


Fig.1 Trend of sIgA concentration

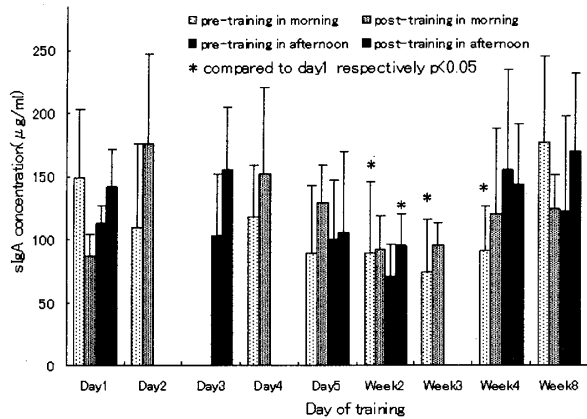


Fig.2 Trend of sIgA secretion rate

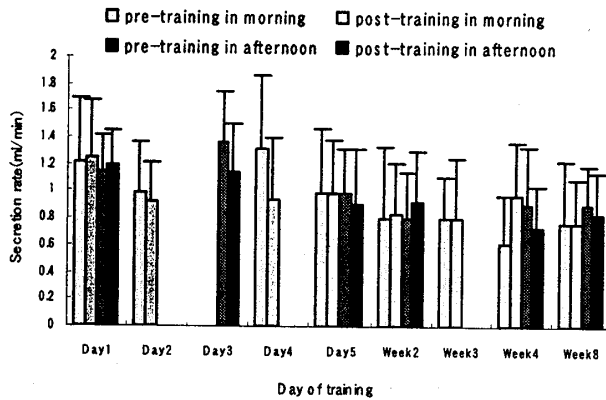


Fig.3 Trend of saliva secretion rate

### 考 察

唾液採取の方法には、刺激下あるいは無刺激下に唾液を喀出させて採取する方法、吸引器を使用して採取する方法、ピペットを使用して採取する方法、あるいは綿にしみ込ませて採取する方法がある。採取方法によって分泌唾液量さらには唾液中物質の濃度に影響することが知られ、研究目的によって採取方法が選択されている。本研究では、運動負荷以外にはできる限り自然状態における唾液について検討する必要があるため、無刺激綿を咀嚼することによって分泌される唾液を採取する方法を採用した。

唾液中sIgAの表現方法については、まず単位唾液量当たりの濃度 (µg/ml) による表現方法がある。これは安静時のsIgAの検討には優れているが、運動場面では運動による喪失水分量、摂取水分量等によって唾液の濃縮あるいは希釈などのために単位唾液量当たりの濃度は変動することが予想される。この唾液の濃縮あるいは希釈の影響を除外するために、Mackinnon

らは唾液中蛋白量によってsIgA濃度を補正することを提案している<sup>7)</sup>。しかし運動後の唾液中蛋白分泌速度も増加することから、sIgA濃度と単位時間当たりの唾液分泌量 (唾液分泌速度) の積で表わされるsIgA分泌速度が適切な表現方法と考えられている<sup>3, 8)</sup>。

唾液の分泌は自律神経系の支配の下に行なわれており、耳下腺、顎下腺、舌下腺のほか散在する小唾液腺から分泌され、無刺激状態では1分間に約0.5mlの割合で口腔内へ分泌されるとされている。

本研究では、唾液分泌速度は練習前と練習後に有意な変化はみられなかった。その結果、sIgA濃度とsIgA分泌速度との間には高い相関がみられた (練習前後でそれぞれ $r=0.84$   $p<0.001$ ,  $r=0.78$   $p<0.001$ )。

Niemanらはマラソンレース後、唾液分泌速度は減少したと報告している<sup>9)</sup>。またPilaudeauらは高地などの低酸素環境では、唾液分泌速度が増加したことを報告している<sup>10)</sup>。本研究は寒い時期の2月から4月まで、練習中は積極的に自由に飲水し、さらに本研究における練習環境は低酸素環境下でもなく、唾液分泌速度に有意な変動がなかったものと考えられる。

本研究では急性運動後のsIgAの濃度および分泌速度はともに練習前に比べて有意に増加した。Reidらの研究によれば、健康成人を対象として、自転車エルゴメーターを用いて、60%HRmaxで30分間運動を负荷した場合、唾液中sIgA濃度は有意に増加したが、sIgA分泌速度には有意な変化がみられていない<sup>11)</sup>。急性運動後のsIgAの増加は、運動負荷という身体的ストレスに対して生体が反応する防御反応の一つと考えられる。しかし防御反応をも越えるような高強度の運動負荷では逆にsIgAは低下するものと考えられる。事実、Nehlsenらは、女子ボート選手を対象にして、2時間の練習 (82% HRmax, 平均心拍数: 151/分) 後に唾液中sIgA濃度は45%も減少し、90分後にも回復しなかったことを報告している<sup>12)</sup>。またSteerenbergらもトライアスロン選手を対象として、トライアスロン競技後にはsIgA分泌速度が減少したと報告している<sup>13)</sup>。一方、Walshらは、自転車エルゴメーターによる60分間高強度運動負荷後のsIgA濃度は変化しなかったと報告している<sup>8)</sup>。

本研究では、午前中の練習後に増加したsIgA濃度および分泌速度は、午後の練習前には午前の練習前のレベルに回復している。一過性の運動によって変化したsIgAが元のレベルに回復するまでの時間については、1.5時間では回復しないとの報告もあるが<sup>12)</sup>、1時間で回復するとの報告もある<sup>14, 15)</sup>。

慢性運動の唾液中sIgAに対する影響について、Gleesonらは12週間の水泳練習後には、練習前のsIgA

濃度が有意に増加したと報告している<sup>6)</sup>。Tharpらは競技会に向けて3ヶ月間の水泳練習後、唾液中sIgAレベルが減少したと報告している<sup>16)</sup>。

一方、Mackinnonらは6ヶ月間の練習後、sIgAに有意な変化がみられなかったと報告している<sup>17)</sup>。このように慢性運動がsIgAにおよぼす影響についても意見の一致はみられていない。この原因は運動の種類、運動時間、運動強度、運動量などの違いによるものと考えられる。

本研究では、sIgA濃度とsIgA分泌速度ともに合宿の経過とともに徐々に減少し、3週目に最も低値を示した。これは2月28日(合宿13日目)の競技会に向けてハードな練習を重ね、その結果疲労も蓄積し、身体的および心理的ストレスも増大し、sIgAは低下し、その減少が競技会終了後の3週目にまで及んだものと考えられる。このように急性、慢性を問わず、高強度運動後にみられる局所免疫能の低下は“open window”と呼ばれ、URTIの易感染期とされている。スポーツ選手にとってこの時期における健康管理やコンディショニング調整の失敗は、直接競技パフォーマンスの低下につながり、極めて重要な時期である。また最近心理的ストレスも身体的ストレスと同様に局所免疫能を低下させることも明らかとなってきた<sup>18)</sup>。本研究における競技会直前のsIgAの減少に心理的ストレスも関与していることも考えられ、今後心理学的視点からの検討も必要であろう。

Tomasiは一過性のsIgA欠乏がウイルスや細菌の感染を惹起しやすくなることを最初に指摘した<sup>19)</sup>。またMackinnonは唾液中sIgAが低値のスポーツ選手はURTIの頻度が高いことを最初に実証している<sup>20)</sup>。本研究においても上気道感染者の練習前のsIgA濃度と分泌速度は、非感染者に比べて有意に低値であった。したがって、安静時のsIgAレベルが低いことは、URTIのリスクファクターの一つといえる。本研究では、例数が少ないためにどのレベル以下の低値がリスクファクターであるかの閾値について言及できないが、今後この閾値を決めていくことが必要である。一方、個々人のsIgAの最高値を対象者それぞれのベストレベル、上気道感染時のsIgA値を感染レベルとして、感染レベルのベストレベルに対する割合をみると、練習前では、sIgA濃度は56.9%、sIgA分泌速度は50.4%、練習後では、sIgA濃度は52.1%、sIgA分泌速度は44.2%であった。このことは個々人のベストレベルの45~55%までsIgAが低下するとURTI発症の危険性が高くなることを示唆しているものと考えられる。この点についても今後さらに検討を重ねていく必要がある。解決すべき事項はまだ残されている

が、定期的に唾液中sIgA値をモニターすることは、URTIの危険性を予知し、早めの対応が可能となり、スポーツ選手の良好なコンディション作りに役立つ可能性がある。

## 総括

1. 急性運動後のsIgA濃度、sIgA分泌速度はともに運動前に比べて有意な増加がみられた。
2. 合宿開始から2週目、3週目、4週目の練習前のsIgA濃度、sIgA分泌速度はともに初日に比べて有意な低下がみられた。
3. 上気道感染者のsIgA濃度、sIgA分泌速度はともに非感染者に比べて有意に低値であった。
4. 上気道感染時のsIgAレベルは、個々人の最高レベルの45~55%であった。
5. 唾液中sIgA値のモニタリングによって、URTIの発症を予知できる可能性が示唆された。

## 参考文献

- 1) Nieman D.C.: Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Med. Sci. Sports Exerc.* **26**: 128-139. 1994.
- 2) Nieman D.C.: Infectious episodes in the runners before and after the Los Angeles Marathon. *J.Sports Med. Phys. Fitness.* **11**: 467-473. 1990.
- 3) Gleeson M.: Mucosal immunity and respiratory illness in elite athletes. *Int. J. Sports Med.* **21**suppl: s33-s43. 2000.
- 4) Peters E.M.: Exercise, immunology and upper respiratory tract infections. *Int. J. Sports Med.* **18**suppl: s69-s77. 1997.
- 5) Gleeson M., McDonald W.A. and Pyne D.B.: Salivary sIgA levels and infection risk in elite swimmers. *Med. Sci. Sports Exerc.* **15**: 67-73. 1999.
- 6) Gleeson M., McDonald W.A. and Pyne D.B.: Immune status and respiratory illness for elite swimmers during a 12-week training cycle. *Int. J. Sports Med.* **21**: 302-307. 2000.
- 7) Mackinnon L.T.: Immunoglobulin, anti-body, and exercise. *Exerc. Immunol. Rev.* **2**: 1-35. 1996.
- 8) Walsh N.P., Blannin A.K. and Clark A.M.: The effect of high-intensity intermittent exercise

- on saliva IgA, total protein and  $\alpha$ -amylase. *J. Sports Sci.* **17**: 129-134. 1999.
- 9) Nieman D.C., Henson D.A., Fagoaga O.R. et al.: Change in salivary IgA following a competitive Marathon race. *Int. J. Sports Med.* **23**: 69-75. 2002.
  - 10) Pilardeau P., Rachalet J.P. and Bouissou P.: Saliva flow and composition in humans exposed to acute altitude hypoxia. *Eur. J. Appl. Physiol.* **59**: 450-453. 1990.
  - 11) Reid M.R., Drummond P.D. and Mackinnon L.T.: The effect of moderate aerobic exercise and relaxation on secretory immunoglobulin A. *Int. J. Sports Med.* **22**: 132-137. 2001.
  - 12) Nehlsen C.S.L., Nieman D.C. and Fagoaga O.R.: Saliva immunoglobulins in elite women rowers. *Eur. J. Appl. Physiol.* **82**: 222-228. 2000.
  - 13) Steerenberg P.A., Van Asperen I.A., Van Nieuw Amerongen A. et al.: Salivary levels of immunoglobulin A in triathletes. *Eur. J. Oral Sci.* **105**: 305-309. 1997.
  - 14) McDowell S.L., Hughes R.A. and Hughes R.J.: The effect of exhaustive exercise on salivary immunoglobulin A. *J. Sports Med. Phys. Fitness.* **32**: 412-15. 1992.
  - 15) Blannin A.K., Robson P.J. and Walsh N.P.: The effect of exercise to exhaustion at different intensities on saliva immunoglobulin A, protein, and electrolyte secretion. *Int. J. Sports Med.* **19**: 574-582. 1998.
  - 16) Tharp G.D. and Barnes M.W. : Reduction of saliva immunoglobulin level by swim training. *Eur. J. Appl. Physiol.* **60**: 61-64. 1990.
  - 17) Mackinnon L.T. and Hopper S.: Mucosal immune system responses to exercise of varying intensity and during over-training. *Int. J. Sports Med.* **15**suppl: S179-S183. 1994.
  - 18) Graham N.M.H., Bartholomeusz C.A. and Taboonpong N.: Does anxiety reduce the secretion rate of secretory IgA in saliva?. *Med. J. Aust.* **148**: 131-133. 1988.
  - 19) Tomasi T.B., Tredeau F.B. Czerwinski D. and Erredge S.: Immune parameters in athletes before and after strenuous exercise. *J. Clin. Immunol.* **2**: 173-178. 1982.
  - 20) Mackinnon L.T.: Effect of exercise during sports training and competition on salivary IgA level. *Behavior and Immunity. Boca Daton(FL): CRC press: pp169-177. 1992.*