

中強度運動負荷中の 唾液中分泌型免疫グロブリンAの変化

朱 博¹⁾, 高橋 真¹⁾, 對東 俊介¹⁾, 堂面 彩加¹⁾, 小西 華奈¹⁾,
木村 達志²⁾, 関川 清一¹⁾, 稲水 惇¹⁾, 濱田 泰伸^{1,*)}

キーワード (Key words) : 1. 唾液中分泌型免疫グロブリンA (salivary secretory immunoglobulin A)
2. 中強度運動 (moderate exercise)
3. 免疫機能 (immune function)

唾液中分泌型免疫グロブリンA (secretory immunoglobulin A : SIgA) は上気道局所免疫機能の指標の1つとして知られている。SIgAは運動後に変動することが報告されているが、運動中の経時的变化については不明である。そこで、本研究は健常者を対象とし、中強度で60分間の自転車運動を行い、運動中および運動後の唾液分泌量、唾液中SIgA濃度、唾液中SIgA分泌量の経時的变化を検討した。その結果、運動開始15分後以降で唾液分泌量と唾液中SIgA分泌量は運動開始前と比較して有意に低下し、運動終了後15分で運動開始前のレベルに回復した。一方、唾液中SIgA濃度は運動中及び運動後に有意な変化を認めなかった。中強度運動中の唾液中SIgA分泌量の低下は、唾液中SIgA濃度ではなく、唾液分泌量の低下に起因することが明らかとなった。

緒 言

免疫機能とは、病原体など外敵の侵入に対する生体防御機構のことであり、身体の恒常性を維持する抵抗力(防御体力)の主要部分を担う重要な体力要因である。近年、運動によって免疫機能が変化することが知られようになってきており、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防御機構に対する運動の影響について、上気道感染症を中心に様々な研究が行われている¹⁾。

上気道感染症の防御には病原体の侵入経路となる鼻腔及び口腔をはじめとした上気道の局所免疫が重要な役割を果たしている²⁾。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、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 : SIgA) が主に機能している^{3,4)}。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。唾液中SIgAは免疫の指標として、多くの長所を有する。第1に、血液検査に比較して唾液の採取は非侵襲的で、唾液は容易にしかも、必要に応じて毎日何回でも採取可能である。第2に、SIgA産生はT細胞およびB細胞機能に依存しており、SIgA産生速度は速く、半減期は短い。したがって、SIgAを指標として微細な免疫学的変化を観察することが可能である。第3に、粘膜免疫は相互間に協同作用があり、唾液中SIgAの意義は他の粘膜免疫においても同じ意義をもつ。このように唾液中SIgAは簡便に免疫機能を評価できる指標であり、これまでに唾液中SIgAを用いて運動による免疫機能の変化が検討されてきた⁵⁻⁸⁾。

一般に推奨されているアメリカスポーツ医学会が提唱した運動処方では、運動の効果が得られる強度は、最大酸素摂取量 ($\dot{V}O_{2max}$) の40~60%程度の中強度であるとされている⁹⁾。中強度運動による唾液中SIgAに関する先行研究では、SIgA濃度とSIgA分泌量は中強度運動によって変化しないことが報告されている¹⁰⁻¹²⁾。しかしながら、中強度運動によって、SIgA濃度は増加し、SIgA分泌量は低下するという報告¹³⁾やSIgA濃度は増加し、SIgA分泌量は変化しないという報告^{14,15)}もあり、

・ Changes in salivary secretory immunoglobulin A levels during moderate exercise

・ 1) 広島大学大学院保健学研究科 2) 安田女子短期大学

・ *連絡先: 濱田泰伸 〒734-8553 広島市南区霞1-2-3

広島大学大学院保健学研究科

TEL: 082-257-5420 FAX: 082-257-5420 E-mail: hirohadama@hiroshima-u.ac.jp

・ 広島大学保健学ジャーナル Vol.10(1): 20~25, 2011

一致した見解が得られていないのが現状である。この理由としては、研究対象、運動時間、運動様式の違いなどが考えられている。さらに、中強度運動と唾液中 SIgA の関係を検討したすべての先行研究は、運動前後で唾液中 SIgA を比較しており、運動中の経時的変化については検討されていない。

そこで、本研究では健康男性を対象とし、中強度運動負荷中および運動負荷後の唾液中 SIgA の経時的変化を検討し、運動負荷中の上気道局所免疫機能の変化を明らかにすることを目的とした。

対 象

健康男性 10 名を対象とした。対象者の特徴を表 1 に示す。倫理的配慮として、対象者に口頭及び文書で研究の趣旨を説明し、同意を得てから測定を行った。なお、本研究は広島大学大学院保健学研究科心身機能生活制御科学講座倫理委員会の承認を得て行った（承認番号：1003）。

表 1. 対象者の特徴

年齢 (years)	21.6 ± 2.5
身長 (cm)	173.6 ± 5.6
体重 (kg)	64.4 ± 6.7
運動習慣	
頻度 (回/週)	2.0 ± 1.4
時間 (時間/回)	2.3 ± 1.7
Mean ± SD	

方 法

1. 多段階運動負荷試験

自転車エルゴメータ (STB-2400, COMBI 社)、無線心電計 (DS-3140, フクダ電子)、呼気ガス分析装置 (AE-300S, MINATO 医科学) を用いて、多段階運動負荷試験を行い、心拍数と酸素摂取量 ($\dot{V}O_2$) を連続的に記録した。プロトコールは安静 3 分間の後、30W でウォーミングアップを 3 分間行い、75W, 125W, 175W の 3 段階の強度で各 3 分間運動し、クールダウン (30W) を 3 分間実施し、運動負荷試験を終了した。得られた心拍数と $\dot{V}O_2$ から予測 $\dot{V}O_{2max}$ を算出し、60% $\dot{V}O_{2max}$ に相当する心拍数を決定した。

2. 定量運動負荷

多段階運動負荷試験終了後一日以上空けて、自転車エルゴメータ (STB-2400, COMBI 社) を用いて、60% $\dot{V}O_{2max}$ 相等の運動強度で 60 分間の定量運動を行った。測定は常温常湿環境下 (23.0 ± 1.2°C, 43.6 ± 8.3%)

で実施した。測定中は無線心電計 (DS-3140, フクダ電子) を用いて、心電図を測定し、心拍数を確認しながら 60% $\dot{V}O_{2max}$ 強度に相等するように運動負荷量を調整した。

唾液採取のタイミングは、運動直前 (Pre)、運動開始後 15 分、30 分、45 分、60 分 (Ex15, Ex30, Ex45, Ex60)、運動終了後 15 分、30 分、45 分、60 分 (Post15, Post30, Post45, Post60) の計 9 ポイントとした。

3. 唾液採取方法

唾液採取には唾液採取用チューブ (サリベット®, Sarstedt 社) を用いた。唾液採取前に、50 ml の水を口に含んで、15 秒間十分に口をゆすぎ、飲水させた。唾液採取は運動直前 1 回、運動中 4 回、運動終了後 4 回の計 9 回実施したため、測定中に合計 450 ml 飲水させた。唾液採取はメトロノームの音に合わせて、運動開始直前と運動終了後 15, 30, 45, 60 分では 1 分間で 50 回綿を噛み、運動中 15, 30, 45, 60 分では 2 分間で 100 回綿を噛み、それぞれ咀嚼刺激により分泌された唾液を綿に吸収させた。

採取した唾液は遠心機 (H-18 AUTO SERIES, KOKUSAN) を使用して、3000 rpm で 10 分間遠心した後、唾液分泌量 (ml/min) を測定し、SIgA 濃度測定まで -30°C で凍結保存した。

4. 唾液中 SIgA 濃度の測定

唾液中 SIgA 濃度の測定は酵素標識免疫測定法 (Enzyme linked immunosorbent assay : ELISA) を用いた。まず、抗ヒト Secretory component IgA 抗体を 96 ウェルマイクロプレートにコーティングし、4°C で一晩反応させ、抗ヒト Secretory component IgA 抗体をプレートに固相化させた。その後、1% ウシ血清アルブミン (Sigma) 加 Phosphate buffered saline (PBS) (Sigma) 溶液 100 μ l を加え、2 時間ブロッキングを行った。SIgA 標準液 (100, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0 μ l/ml) と 50 倍希釈した唾液検体を各ウェルに 100 μ l 加え、常温で 2 時間反応させた。各ウェルを PBS で洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗ヒト SIgA 抗体溶液を各ウェルに 100 μ l 加え、常温で 1 時間反応させた。さらに、ABTS 基質溶液を各ウェルに 100 μ l 加え、30 分間反応させ、その後、3 M 硫酸を 50 μ l 加えて、反応を停止させた。反応停止後、直ちに micro plate reader (IMMUNO-MINI NJ-2003, 日本インターメッド) を用いて 405 nm で各ウェルの吸光度を測定した。標準液の吸光度を縦軸に、SIgA 濃度を横軸にとり、片対数グラフを用いて検量線を作成し、検体の吸光度を代入し、50 倍して検体の SIgA 濃度 (μ g/ml) を求めた。1 検体につき 3 ウェルの測定を行い、その平均値を採用した。

4. 唾液中 SIgA 分泌量の算出

SIgA 濃度 ($\mu\text{g/ml}$) と唾液分泌量 (ml/min) の積を唾液中 SIgA 分泌量 ($\mu\text{g/min}$) として算出した。

5. 統計解析

得られたデータは全て平均値 (Mean) \pm 標準偏差 (SD) で表した。唾液分泌量, 唾液中 SIgA 濃度, 唾液中 SIgA 分泌量の経時的变化はそれぞれ一元配置分散分析を用いて検討し, Dunnett 法による多重比較検定を行った。統計処理は統計解析ソフト SPSS 13.0J for Windows (SPSS Inc.) を用い, 有意水準は全て 5% 未満とした。

結 果

1. 唾液分泌量

唾液分泌量の経時的变化を図 1-A に示す。唾液分泌量は運動前に比べて, 運動中 15, 30, 45, 60 分で有意な減少を示した ($p < 0.05$)。運動後 15 分以降は運動前と比較して有意な差はなかった。

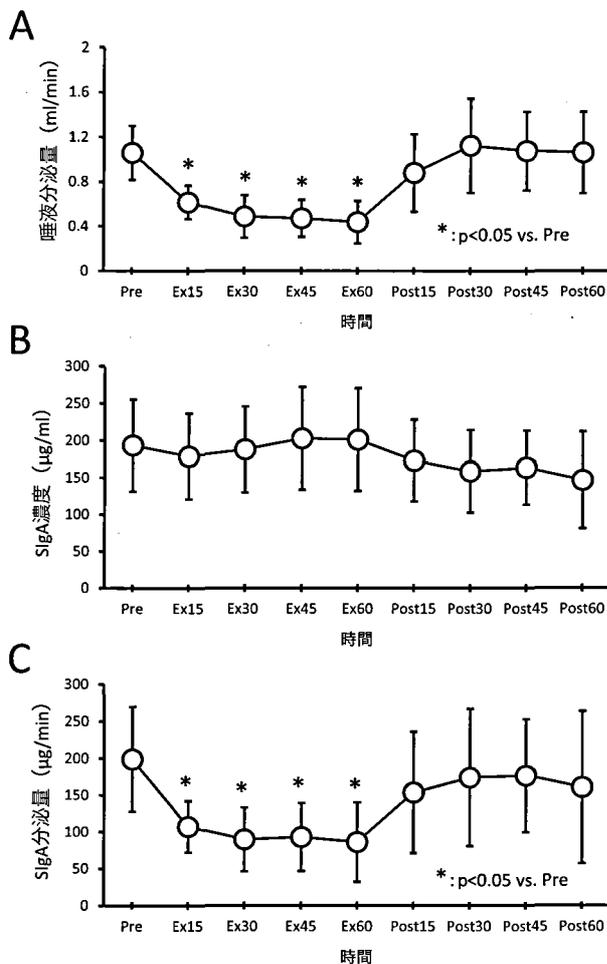


図 1. 唾液分泌量 (A), SIgA 濃度 (B), SIgA 分泌量 (C) の経時的变化

2. 唾液中 SIgA 濃度

唾液中 SIgA 濃度の経時的变化を図 1-B に示す。運動中及び運動終了後において, 唾液中 SIgA 濃度は運動前と比較して有意な変化を認めなかった。

3. 唾液中 SIgA 分泌量

唾液中 SIgA 分泌量の経時的变化を図 1-C に示す。唾液中 SIgA 分泌量は運動前に比べて, 運動中 15, 30, 45, 60 分で有意な減少を示した ($p < 0.05$)。運動後 15 分以降は運動前と比較して有意差は認められなかった。

考 察

本研究は健康男性を対象とし, 中強度運動中及び運動後の唾液分泌量, 唾液中 SIgA 濃度, 唾液中 SIgA 分泌量の経時的变化を検討した。その結果, 唾液分泌量と唾液中 SIgA 分泌量は運動前と比較して運動中に有意に低下し, 運動終了後に運動開始前のレベルに回復した。一方, 唾液中 SIgA 濃度は運動中及び運動後に有意な変化を認めなかった。以上の結果より, 中強度運動中の唾液中 SIgA 分泌量の低下は, 唾液中 SIgA 濃度ではなく, 唾液分泌量の低下に起因することが明らかとなった。

唾液中 SIgA の表現方法については SIgA 濃度 ($\mu\text{g/ml}$) と SIgA 分泌量 ($\mu\text{g/min}$) の 2 つの表現方法がある。SIgA 濃度は, 単位唾液量あたりの SIgA 量であり, 唾液中に含まれる物質の絶対量を評価するためには不可欠の表現方法である。唾液量に変化しないような安静時の変化を検討する場合には適しているが, 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運動以外の要因で SIgA 濃度は変動する可能性がある。一方, SIgA 濃度と唾液分泌量の積で表される SIgA 分泌量は SIgA 濃度と唾液分泌量に影響する要因を加味して評価できることから, 運動場面においてはより適切な表現方法といえる^{16,17)}。そこで, 本研究では唾液中 SIgA の経時的变化を評価する方法として, 唾液中 SIgA 濃度と唾液中 SIgA 分泌量の 2 つの指標を用いて検討した。

中強度運動による唾液中 SIgA に関する先行研究では, SIgA 濃度と SIgA 分泌量の変化についていくつかの報告がなされており¹⁰⁻¹⁵⁾, 一般に中強度運動の前後では唾液中 SIgA は著明に変化しないと考えられている¹⁸⁾。しかしながら, これらの先行研究は主に運動前後の唾液中 SIgA の変化に焦点を当て検討しており, 我々の知る限り, 運動中の唾液中 SIgA の経時的变化に関する報告はこれまでにない。本研究結果から, 中強度運動中に唾液中 SIgA 濃度は変化しなかったが, 唾液中 SIgA 分泌量は唾液分泌量低下に起因して低下すること

が明らかとなった。

唾液の分泌は自律神経系によって調節され、耳下腺、顎下腺、舌下腺の三大唾液腺と小唾液腺から分泌される。唾液腺は交感神経と副交感神経の両自律神経に支配され、副交感神経は主に水分の分泌に関与し、交感神経は主にタンパク質成分の分泌に関与する¹⁹⁾。したがって、唾液分泌量の調節には主に副交感神経が関与している。一般に運動中は副交感神経活動が低下することがよく知られており²⁰⁾、本研究においても運動中の副交感神経活動の低下によって、唾液分泌量が低下したと考えられる。一方、運動中に交感神経活動が優位となった場合、 α アミラーゼやムチンなどの唾液タンパクが分泌されるため、タンパク濃度は増加する傾向にある²²⁾。しかしながら、唾液中 SIgA の分泌過程は、 α アミラーゼやムチンの分泌とは異なるとされており²³⁾、SIgA 分泌過程における交感神経系の関与については未だ不明な点が多いのが現状である。

また、高温多湿環境下で飲水を制限し長時間運動を行った場合など、脱水によって唾液分泌量は著明に低下することが報告されている²¹⁾。しかしながら、本研究は常温常湿下で運動を行っており、飲水制限を行っていないことから脱水の関与は少ないと考えられる。

マウスやラットを用いた先行研究において、一過性の高強度運動によって唾液中 SIgA が低下する機序として、顎下リンパ節（唾液腺にリンパ球を供給するリンパ組織）におけるヘルパー T 細胞の減少²⁴⁾ や顎下腺中の pIgR の発現量の減少²⁵⁾ が報告されている。本研究において、中強度運動中に唾液中 SIgA 濃度に有意な変化を認めなかったことから、中強度運動は上記 SIgA 分泌過程に影響を及ぼさなかったと考えられる。しかしながら、唾液中 SIgA 分泌メカニズム、さらには運動の影響については未だ不明な点が多く²⁶⁾、今後さらなる研究が必要である。

健康増進を目的とした場合、中強度の運動が推奨されている。高強度の運動によって上気道感染症の罹患率が高まるが、中強度の運動トレーニングを行うと上気道感染症のリスクが軽減することがよく知られている¹⁾。しかしながら、本研究においてみられた中強度運動中の唾液中 SIgA 分泌量の低下が、免疫機能の面からどのような意義を持つのか、さらに上気道感染症との関係について、本研究からは明らかにすることはできない。また、運動は SIgA だけでなく、液性因子、免疫細胞など体内の様々な免疫調節機構に影響を与える。唾液中のリゾチーム、ラクトフェリン、インターフェロンなどの非特異的防御機構は特異的防御機構である SIgA と協同的に作用することで相乗効果を発揮する。さらに、運動によって血中ナチュラルキラー細胞数や機能、T 細胞機能などの一過性の抑制^{27,28)}、免疫抑制作用のあるストレスホル

モンや炎症性サイトカインの分泌²⁹⁾ が引き起こされることが報告されている。今後は唾液中 SIgA だけでなく、他の免疫調節機構と運動の関連についても検討していくことが重要である。

まとめ

本研究は健康男性を対象とし、60% $\dot{V}O_{2max}$ 強度で 60 分間の自転車運動を行い、運動中及び運動後の唾液分泌量、唾液中 SIgA 濃度、唾液中 SIgA 分泌量の経時的変化を検討した。その結果、運動開始 15 分後以降で唾液分泌量と唾液中 SIgA 分泌量は運動開始前と比較して有意に低下し、運動終了後 15 分で運動開始前のレベルに回復した。一方、唾液中 SIgA 濃度は運動中及び運動後に有意な変化を認めなかった。以上の結果より、中強度運動中の唾液中 SIgA 分泌量の低下は、唾液中 SIgA 濃度ではなく、唾液分泌量の低下によることが明らかとなった。

文 献

1. Nieman, D.C.: Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 26: 128-139, 1994
2. Brandtzaeg, P., Farstad, I.N. and Johansen, F.E. et al.: The B-cell system of human mucosae and exocrine glands. *Immunol. Rev.*, 171: 45-87, 1999
3. 伊藤康彦: 呼吸器感染の防御メカニズム. *臨床と研究*, 81: 1910-1913, 2004
4. 黒野祐一: 上気道粘膜免疫の誘導機序. *耳鼻咽喉科免疫アレルギー*, 22: 1-5, 2004
5. Gleeson, M.: Mucosal immune responses and risk of respiratory illness in elite athletes. *Exerc. Immunol. Rev.*, 6: 5-42, 2000
6. 韓 延柏: 唾液中分泌型免疫グロブリン (sIgA) のモニタリングの意義. *広島大学大学院教育学研究科紀要 第二部*, 53: 353-358, 2004
7. 河元岩男, 大津隆一, 松木直人 他: 虚弱高齢者に対する運動トレーニングが口腔内局所免疫機能に与える影響. *理学療法*, 27: 473-479, 2010
8. Klentrou, P., Cieslak, T. and MacNeil, M. et al.: Effect of moderate exercise on salivary immunoglobulin A and infection risk in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 87: 153-158, 2002
9. American College of Sports Medicine: ACSM's guide-lines for exercise testing and prescription. p.152-182, Lippincott Williams &Wilkins, Philadelphia, 2009
10. McDowell, S.L., Chaloa, K. and Housh, T.J. et al.: The effect of exercise intensity and duration on salivary

- immunoglobulin A. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.*, 63: 108-111, 1991
11. Nieman, D.C., Henson, D.A. and Austin, M.D. et al.: Immune response to a 30-minute walk. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 37: 57-62, 2005
 12. Ring, C., Harrison, L.K. and Winzer, A. et al.: Secretory immunoglobulin A and cardiovascular reactions to mental arithmetic, cold pressor, and exercise: effects of alpha-adrenergic blockade. *Psychophysiology*, 37: 634-643, 2000
 13. Laing, S.J., Gwynne, D. and Blackwell, J. et al.: Salivary IgA response to prolonged exercise in a hot environment in trained cyclists. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 93: 665-71, 2005
 14. Mackinnon, L.T. and Hooper, S.: Mucosal (secretory) immune system responses to exercise of varying intensity and during overtraining. *Int. J. Sports Med.*, 15 Suppl 3: S179-S183, 1994
 15. 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
 16. Gleeson, M.: Mucosal immunity and respiratory illness in elite athletes. *Int. J. Sports Med.*, 21 Suppl 1: S33-S43, 2000
 17. Walsh, N.P., Blannin, A.K. and Clark, A.M. et al.: The effects of high-intensity intermittent exercise on saliva IgA, total protein and alpha-amylase. *J. Sports Sci.*, 17: 129-134, 1999
 18. Bishop, N.C. and Gleeson, M.: Acute and chronic effects of exercise on markers of mucosal immunity. *Front Biosci.*, 14: 4444-4456, 2009
 19. 松尾龍二：唾液分泌の中樞制御機構. *日本薬理学理誌*, 127: 261-266, 2006
 20. Rowell, L.B.: *Human Cardiovascular Control*. p.162-203, Oxford University Press, New York, 1993
 21. Walsh, N.P., Montague, J.C. and Callow, N. et al.: Saliva flow rate, total protein concentration and osmolality as potential markers of whole body hydration status during progressive acute dehydration in humans. *Arch. Oral Biol.*, 49: 149-154, 2004
 22. Steerenberg, P.A., van Asperen, I.A. and van Nieuw Amerongen, A. et al.: Salivary levels of immunoglobulin A in triathletes. *Eur. J. Oral Sci.*, 105: 305-309, 1997
 23. 杉谷博士：唾液腺および唾液. 和泉博湯之, 浅沼直和 (編)：ビジュアル生理学・口腔生理学. p.272-282, 学建書院, 東京, 2010
 24. Boudreau, J., Quadrilatero, J. and Hoffman-Goetz, L.: Voluntary training in mice and submandibular lymphocyte response to acute exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 37: 2038-2045, 2005
 25. Kimura, F., Aizawa, K. and Tanabe, K. et al.: A rat model of saliva secretory immunoglobulin: a suppression caused by intense exercise. *Scand. J. Med. Sci. Sports.*, 18: 367-372, 2008
 26. Walsh, N.P., Gleeson, M. and Shephard, R.J. et al.: Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc. Immunol. Rev.*, 17: 6-63, 2011
 27. Mackinnon, L.T.: Chronic exercise training affects on immune function. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 32: S369-S376, 2000
 28. Imai, T., Seki, S. and Dobashi, H. et al.: Effect of weight loss of T-cell receptor-mediated T-cell function in athletes. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 34: 245-250, 2002
 29. Suzuki, K., Nakaji, S. and Yamada, M. et al.: Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. *Cytokine kinetics. Exerc. Immunol. Rev.*, 8: 6-48, 2002

Changes in salivary secretory immunoglobulin A levels during moderate exercise

Bo Zhu¹⁾, Makoto Takahashi¹⁾, Shunsuke Taito¹⁾, Sayaka Domen¹⁾, Kana Konishi¹⁾, Tatsushi Kimura²⁾, Kiyokazu Sekikawa¹⁾, Tsutomu Inamizu¹⁾ and Hironobu Hamada¹⁾

1) Graduate School of Health Sciences, Hiroshima University

2) Yasuda Women's College

Key words : 1. salivary secretory immunoglobulin A 2. moderate exercise
3. immune function

Salivary secretory immunoglobulin A (SIgA) is well known as a marker reflecting immune function in the upper respiratory tract. Several reports demonstrated that salivary SIgA levels varied after exercise. However, serial changes in salivary SIgA levels during moderate exercise were still unknown. We measured salivary secretion rate, salivary SIgA concentration and secretion rate during and after moderate cycling exercise in healthy subjects. Salivary secretion rate and SIgA secretion rate were significantly decreased throughout exercise and returned the baseline levels at 15 min after exercise. On the other hand, no significant change in SIgA concentration was observed during and after exercise. These results suggest that the decrease in salivary secretion rate, but not salivary SIgA concentration, leads to decrease in salivary SIgA secretion rate during moderate exercise.