

平成 8 年度 日本体育協会スポーツ医・科学研究報告

No.VI ジュニア期におけるスポーツ活動と防衛体力に関する研究

— 第 1 報 —

財団法人 日本体育協会

平成 8 年度 日本体育協会スポーツ医・科学研究報告

No. VI ジュニアにおけるスポーツ活動と防衛体力に関する研究

—第 1 報—

班長：河野 一郎¹⁾
班員：赤間 高雄¹⁾ 新開 省二²⁾ 永富 良一³⁾
宮坂 信之⁴⁾ 村田 光範⁵⁾ 森口 覚⁶⁾ 和久 貴洋⁷⁾
担当研究員：伊藤 静夫⁸⁾

目 次

I. はじめに.....	1
II. 災症とサイトカイン.....	5
III. カゼのメカニズムから考えるカゼ対策 一大事な時にカゼをひかないようにするために—.....	11
IV. フィールドワーク..... (茨城県水海道市・小学生における感染症罹患状況の調査)	19
V. 基礎実験	
1) LP-BM 5 レトロウイルス感染に伴うマウスエイズ発症 に対する運動トレーニングの影響に関する基礎実験.....	25
2) 急性運動後の一過性免疫抑制とコルチゾール分泌.....	31
3) スポーツ選手の口腔内局所免疫能の評価に関する研究 —唾液採取の実験上の問題点.....	39

1) 筑波大学 2) 愛媛大学 3) 東北大学 4) 東京医科歯科大学 5) 東京女子医科大学

6) 徳島大学 7) 東京大学 8) (財)日本体育協会スポーツ科学研究所

I はじめに

報 告 者 河野 一郎¹⁾

ジュニア期におけるスポーツ活動はその必要性が広く認識され、さまざまな角度から検討されている。なかでも心身の発育・発達とくに体力の面へのアプローチが数多くなされている。体力はいわゆる行動体力と防衛体力に分けて考えられるが、これまでのアプローチの多くは行動体力に関するものが多い。ヒトの健康の維持・増進に欠かすことのできない防衛体力とスポーツ活動との関わりについての関心が最近高まっているが、その詳細についてはいまだ不明な点が多い。

防衛体力は種々のストレッサーに対する抵抗力とみることができる。われわれをとり巻くストレッサーのなかで人類が常に戦ってきたものの1つが細菌やウイルスなどの生物学的なストレッサーである。この生物学的ストレッサーによりもたらされる疾病が感染症である。この感染症へ対抗するためのキーファクターは免疫機能を中心とする防衛体力である。抗生素の開発など医科学の進歩により治療方法が確立している疾病は数多くあり多くの人々が恩恵を受けている。また、日常的なものとして風邪やインフルエンザ、最近社会的な問題となっている後天性免疫不全症（AIDS）を例にとっても解決していないものも多い。防衛体力が十分でなければしばしば不幸な転帰をたどる。また、ジュニア期にはさまざまな感染症と遭遇し、防衛体力の面での変化も大きい。

本研究ではまずフィールドワークとしてジュニア期における感染症について風邪症候群に焦点をあて検討した。茨城県水海道市の小学生を対象として風邪症状を指標としてその状況を調査した。スポーツ活動と感染症について検討する上での貴重の知見を得ることができた。わが国ではこのよ

うなフィールドワークが少なく、日本体育協会として行う応用研究の独自性を生かすことができたと考えられる。

スポーツ選手の口腔内局所免疫機能についての研究は、非侵襲的にサンプルを得られる唾液を用いた研究である。剣道の寒稽古後に分泌型 IgA が低下するという知見を得ており、今後スポーツ活動による防衛体力の変動を評価する上で現場で利用しうる指標の1つとして有用性が期待される。

基礎研究として行われた急性運動負荷後の免疫抑制とコルチゾール分泌に関する研究では、現場でしばしば遭遇する激しい運動後の易感染症の機序について検討した。経験的に知られている現象を詳細に検討することにより、現場での課題を解決していく方向性につながっていくと考えられる。

AIDS の問題は前述したようにスポーツ界にとって深刻な問題の1つである。わが国では競技現場で AIDS に罹患した選手との接触という側面が取り上げられることが多いが、諸外国では AIDS に罹患した場合のスポーツ活動についても関心が高まっている。今回実施したマウスを用いた AIDS 進展に関する運動トレーニングの影響についての研究は、まさに社会的ニードの高いテーマと考えられる。本研究により運動トレーニングにポジティブな効果が期待されることが示され今後の成果が期待される。

スポーツ活動には様々な局面で炎症という現象が関与してくる。炎症は生体の防御反応という側面も持っており、スポーツ活動そして防衛体力を考えていく上で重要な現象である。宮坂班員によりこの炎症現象と情報伝達物質の1つであるサイトカインについての概説が行われた。適度なスポ

1) 筑波大学

ーツ活動は適量のサイトカインを産生させて免疫系を賦活して防衛体力を向上させると推測させる。今後重要なテーマである。

今回はフィールドワークと基礎的な研究という2つの柱をたてて研究を進めたが、それぞれ有用な成果が得られた。今後、フィールドワークをさ

らに発展させ、現場における状況を解析し防衛体力からみたジュニア期におけるスポーツ活動のあり方を検討していきたい。また、基礎研究については進歩の早い免疫領域の知見を踏まえ、スポーツ活動が防衛体力に与える影響の機序についての研究を今後進めていく必要があろう。

II 炎症とサイトカイン

報告者 宮坂 信之¹⁾

はじめに

炎症とは、さまざまな侵襲に対する生体の局所的あるいは全身性の反応である。

生体に外傷、細菌感染などの侵襲が加わると、その部位では血管の拡張に次いで血管の透過性の亢進、血漿成分の滲出が起こる。次いで好中球を中心とする炎症細胞浸潤が起こり、さまざまな炎症性の起因物質（メディエーター）が产生される。その結果、発赤、腫脹、疼痛、発熱という炎症の4主徴が起こることとなる。これが急性炎症における一連の過程である。

捻挫を例にとってみると、この現象を理解することが容易になろう。捻挫をすると、まず局所の痛みとともに腫れが始まる。これは血漿成分の滲み出しによるためである。また、痛みを起こすさまざまな物質も局所で產生される。そして捻挫を起こした局所は熱を持って赤く腫れ上がる。これは血流の増加やさまざまな起炎物質の產生によるところが大である。このような一連の過程を軽減するために冷たい湿布をして安静を取るのである。

これに対して、何らかの原因により炎症が遷延すると、病変局所にはリンパ球、形質細胞やマクロファージが浸潤し、肉芽腫の形成、線維化などが起こる。これが慢性炎症である。この場合には、炎症を起こした局所は硬く腫れるものの、血流は増加せず、熱を持つこともない。生体は肉芽腫を形成することにより、異物を中に封じ込めるのである。これらの反応は生体の防御反応の一つであるともいえる。この場合には温かい湿布をした方が血流が増加し、炎症の軽減には良い。

このような炎症の過程において、サイトカインと呼ばれる一連の物質が产生され、病態形成に關

与している。サイトカインとは、細胞同志が相互作用を営むために必要な液性物質の総称である。また、このような炎症に際して產生される一連のサイトカインは炎症性サイトカインと呼ばれる。

I. 炎症性サイトカイン

炎症性サイトカインは多様である（表1）。これらが多くは単球・マクロファージ系の細胞によってまず產生される。生体にはどこにでも単球・マクロファージ系の細胞が分布しており、さまざまな刺激に対して炎症性サイトカインを產生して対応することができる。このような炎症反応のごく早期に產生されるインターロイキン1（IL-1）、腫瘍壞死因子（TNF α ）などは‘alarm cytokine’とも呼ばれる。この他にも、線維芽細胞、血管内皮細胞などの組織間質を構成する細胞もこれらのサイトカインを產生する能力を有している。その結果、細菌、ウイルス、外傷などによって刺激されたこれらの細胞群が、局所においてつぎつぎに多彩な炎症性サイトカインを產生するのである。勿論、炎症の過程において血管の中から組織へと浸潤してくる好中球などの炎症細胞もこれらのサイトカインを產生する。

表1 炎症性サイトカイン

IL-1	EGF
IL-6	FGF
IL-8	PDGF
GM-CSF	IFN γ
TNF α	MCP-1
TGF β	RANTES など

2. 炎症細胞浸潤とサイトカイン

1) 好中球增多

生体に細菌感染、火傷などの強い物理的刺激が

1) 東京医科歯科大学第一内科

起こると、血中に白血球（特に好中球）の増加が起こり、同時に白血球の中でも幼若な細胞が増加する（核の左方移動）。これは骨髄から未熟な骨髓系細胞が動員されるのと、末梢の血管床などから好中球が動員されるためである。正常の状態において骨髄の中では、SCF (stem cell factor), IL-1, IL-6 が、次いで GM-CSF や IL-3 が作用

して骨髄系細胞の増殖・分化が起こっている。炎症が起こると、さらに GM-CSF や G-CSF などのサイトカインが産生され、白血球の分化や動員が促進され、血液の中で好中球が増加するのである（図 1）。虫垂炎の診断に白血球数を測定するのはこのためである。

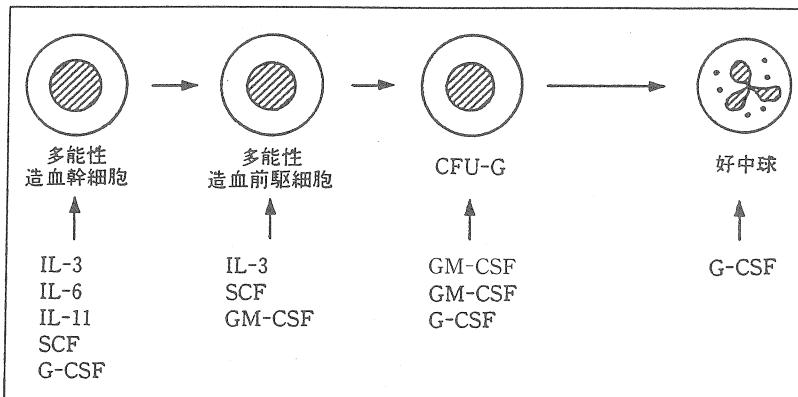


図 1 好中球增多とサイトカイン
CFU: colony forming unit
SCF: stem cell factor

2) 接着分子発現

炎症細胞浸潤が起こるためには、炎症細胞と血管内皮細胞の細胞表面にそれぞれ対応する接着分子と呼ばれる一連の分子が発現されていなければならぬ。これらの分子が『鍵』と『鍵穴』の関係ではまり合うと、初めて血管内皮細胞の上に白

血球が接着することができる。その結果、血液の中を流れている白血球が血管外へ遊走し、細胞浸潤の過程が開始される（図 2）。

なかでも、血管内皮細胞の細胞表面の ICAM-1, VCAM-1, E-セレクチンなどと呼ばれる一連の分子は、IL-1 や TNF α などによってその発

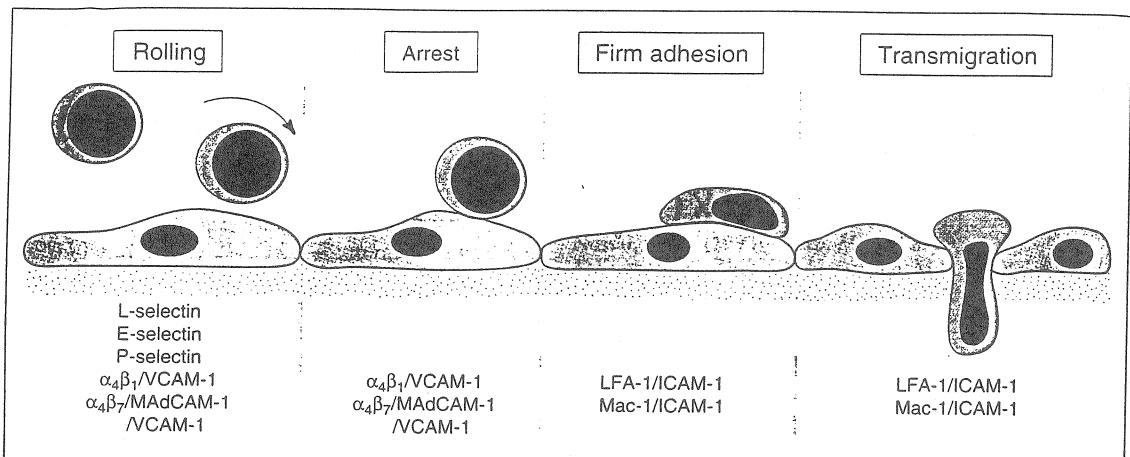


図 2 白血球の血管壁接着・遊走に関与する接着分子群

現が増強される。すなわち、炎症によって産生された IL-1 や TNF α がさらに血管内皮細胞に作用することによって細胞浸潤が促進されるのである。

3) ケモタキシス (chemotaxis)

炎症などの刺激によって血管外に細胞が遊走してくる現象をケモタキシスと呼ぶ。ケモタキシスによって浸潤してくる炎症細胞の種類を決定する一つの重要な因子は走化因子である。走化因子には、まず炎症刺激に応じて瞬時に産生される物質として、補体分解産物 (C3a, C5a), ロイコトリエン B₄, 血小板活性化因子 (PAF) などがある。また、IL-8 などのケモカインと呼ばれるサイトカインは、細菌菌体成分であるリポポリサッカライド (LPS) や炎症性サイトカインである IL-1 や TNF α などの刺激により、数時間以内に産生される。

組織浸潤をしてくる炎症細胞の種類は、産生されるケモカインによっても大きく異なってくる (図 3)。たとえば、好中球の浸潤には IL-8 が強く関与するのに対して、単球・マクロファージの

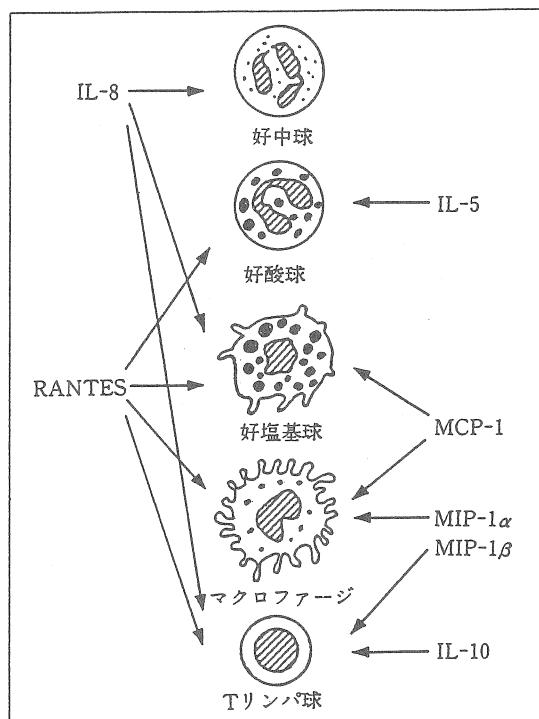


図 3 炎症細胞のキモタキシスに関わるサイトカイン

浸潤には MCP-1, RANTES などのサイトカインが関与する。また、T 細胞の浸潤には MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES が、肥満細胞の場合は MCP-1, RANTES, MIP-1 α などが関与している。

たとえば、虫垂炎の炎症局所に好中球が浸潤するのは IL-8 によるところが大であり、アレルギー性鼻炎の鼻粘膜に好酸球が浸潤するのは RANTES などのケモカインによるのである。

4) 炎症細胞の活性化

上述の過程を経て局所に浸潤してきた炎症細胞は、さらに IL-1, TNF α などのサイトカインにより活性化される。これらのサイトカインは線維芽細胞や血管内皮細胞に由来するものもあるが (パラクリン機序), 慢性炎症では好中球やマクロファージなどの炎症細胞が产生する炎症性サイトカインが自らの活性化を起こすことが知られている。このような機序は上述のパラクリン機序に対してオートクリン機序と呼ばれ、炎症が遷延する一つのメカニズムとして重要視されている。この他、浸潤してきた炎症細胞がラミニンやコラーゲンなどの細胞外マトリックス (ECM) と接着分子を介して結合して、さらに活性化される機序もある。

3. 急性炎症反応とサイトカイン

1) 発熱、体重減少

生体に発熱を誘導する物質は発熱物質と呼ばれる。従来、内因性発熱物質と呼ばれていたものは、IL-1, TNF α , インターフェロン γ (IFN γ) などのサイトカインである。これらのサイトカインは大量に産生されると血中へと移行し、脳内の視床下部にある体温中枢に作用して局所でのプロスタグランジン (PG) 産生を介して発熱を誘導する (図 4)。一方、これらの炎症性サイトカインは、同時に副腎皮質ホルモン (グルココルチコイド) の産生を誘導することにより炎症性サイトカイン産生を抑制する。これは生体のネガティブ・フィードバック機構の一つである。

多くの消炎鎮痛剤 (たとえばアスピリン) は、PG 合成阻害を介して解熱鎮痛作用を発揮する。これに対して、副腎皮質ステロイド剤は、PG 合

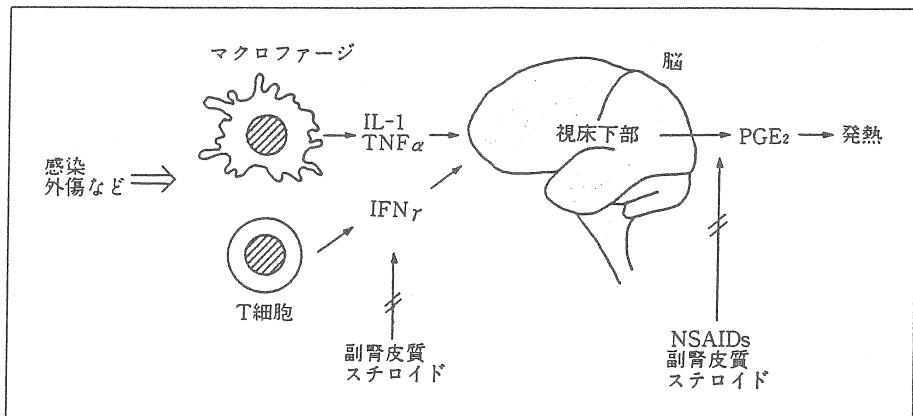


図4 サイトカインによる発熱誘導のメカニズムと解熱剤の作用点

成のみならず IL-1 などの炎症性サイトカインの産生も強く抑制する。このため、ステロイド剤の抗炎症効果は一般の消炎鎮痛剤よりもはるかに強い。

IL-1 や TNF α などのサイトカインは大量に産生されると、筋肉におけるアミノ酸の異化を亢進させるため、筋肉が萎縮する。スポーツ活動を過剰にやり過ぎた場合にもこの現象は起こり、体重減少の原因となる。このほか、これらのサイトカインが大量に血中に流出すると、全身倦怠感、易疲労感、眠気などの自覚症状を引き起こす。

2) 急性炎症タンパクの产生誘導

急性炎症では、CRP をはじめとする急性炎症タンパクが血中に増加するため、炎症の程度を推し量る指標として用いられる。このような急性炎症タンパクの产生誘導をするサイトカインとして代表的なものに IL-1, TNF α , IL-6 などがある。いずれのサイトカインも肝細胞に作用し、IL-1, TNF α は CRP, 血清アミロイド A (SAA) の、また IL-6 はフィブリノーゲン、ハプトグロビンなどの急性炎症タンパク産生を誘導する (表2)。また、炎症の指標として赤沈 (赤血球沈降速度) も日常検査としてよく用いられるが、赤沈が亢進するのはフィブリノーゲンの増加によるためである。

3) 敗血症性ショック

グラム陰性菌の感染などによって起こる敗血症では、発熱、頻脈に引き続いて血圧低下が起こ

る。このような病態では、血中の TNF α , IL-1, IL-8 などが上昇している。これらのサイトカインは血管内皮細胞や血管平滑筋細胞に作用して、PGI $_2$, 一酸化窒素 (NO) などの産生を介して血管透過性の亢進、血管拡張を起こし、二次的に血圧低下やショックを引き起こす (図5)。

4. 炎症と免疫反応

IL-1 は T 細胞の活性化を介して免疫反応を活性化する。活性化されたヘルパー T 細胞 (Th) は産生するサイトカインより Th1 と Th2 の 2 群に大別される。Th1 は IL-2, IFN γ などのサ

表2 急性炎症蛋白产生誘導にかかるサイトカイン(文献¹⁾を改変)

サイトカイン	誘導される急性炎症蛋白
IL-1型サイトカイン (IL-1 α , IL-1 β , TNF α , TNF β)	CRP 血清アミロイド A (SAA) α_1 -acid glycoprotein 補体第3成分
IL-6型サイトカイン (IL-6, IL-11, LIF, OSM, CNTF)	フィブリノーゲン α_1 -antitrypsin α_1 -antichymotrypsin ハプトグロビン ヘモペキシン セルロプラスミン

LIF : leukemia inhibitory factor

OSM : oncostatin M

CNTF : ciliary neurotrophic factor

サイトカインを産生することにより細胞性免疫に関与する。一方、Th2はIL-4, IL-5, IL-6, IL-10などの産生を介して抗体産生誘導に関与する。Th1から産生されるIL-2やIFN γ はTh2の増殖を誘導し、Th2から産生されるIL-4, IL-10は逆にTh1の増殖を抑制する。またTh0から産生されるIL-12は、Th0からTh1への分化を促進するのに対して、IL-10によって誘導されるTh0からTh2への分化を抑制する(図6)。さらにTh1が産生するIFN γ はマクロファージ活性化因子(MAF)として知られるが、Th2から産生されるIL-4, IL-10, IL-13などはマクロファージからのIL-1, TNF α 産生を強く抑制する。このように、マクロファージとT細胞はサイトカイン産生を介して緊密な相互作用を営み、免疫系の制御に関与している。

5. サイトカイン・インヒビター

炎症においては、炎症性サイトカインのみではなく、それらに対するインヒビターも産生されており、サイトカインの作用を中和する。なかでも、IL-1の活性を強く阻害する物質としてIL-1レセプター・アンタゴニスト(IL-1ra)がある。IL-1raはIL-1レセプターにIL-1と競合的に結合するためにIL-1活性を阻害する。通常では、IL-1の産生に引き続いてIL-1raの産生が起こり、IL-1活性が阻害される。

細胞表面に発現されているサイトカイン・レセプターは、ときに細胞表面から剥がれ、血中に出現する。このようなものを可溶性サイトカイン・レセプターと呼ぶ。可溶性サイトカイン・レセプターもサイトカイン・インヒビターとして作用する。可溶性IL-1レセプター(sIL-1R)は、過剰に産生されたIL-1と結合することにより、IL-1活性を抑制する。また、IL-4, IL-10, IL-13などのサイトカインはマクロファージからのIL-1, TNF α などの産生を阻害することにより、サイトカイン・インヒビターとしての作用を有している。さらに、IL-4やIL-13はIL-1ra産生を増強することによっても炎症の制御に関与している。

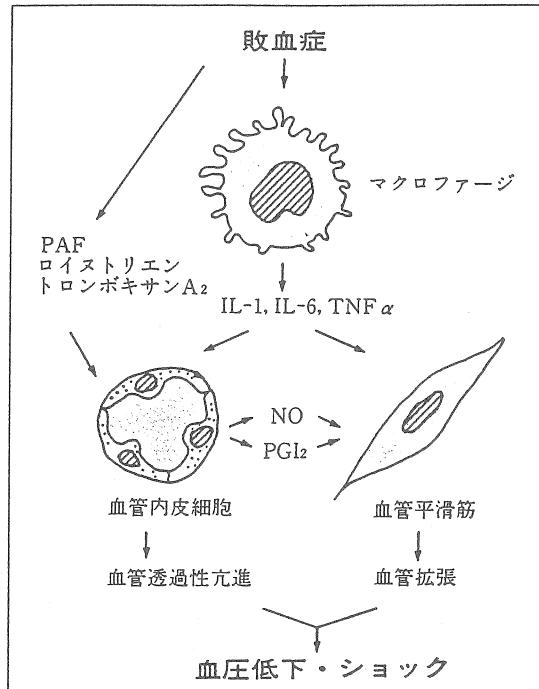


図5 敗血症における血压低下ショックとサイトカイン
PAF: 血小板活性化因子。NO: 一酸化窒素

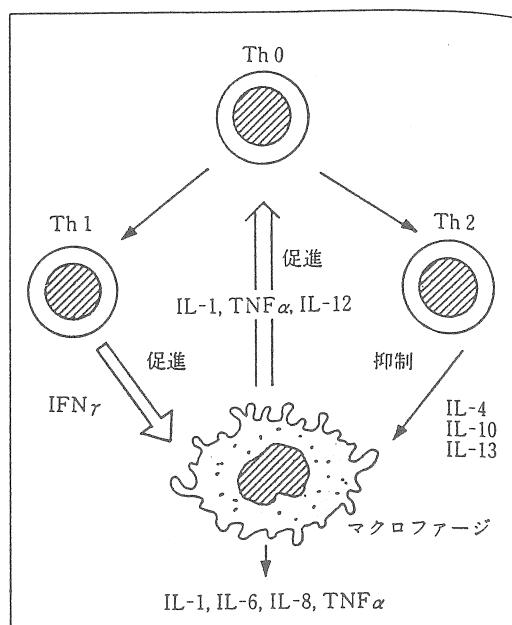


図6 ヘルパーT細胞(Th1, Th2)からのサイトカイン産生とマクロファージとの相互作用

6. 炎症の修復

炎症の修復過程では、病変局所での線維芽細胞の増殖が起こり、その結果、線維化がみられる。このような線維化を促進するのもサイトカインであり、IL-1, TNF α , FGF, EGF, PDGF, TGF β などが知られている。これらのサイトカインはマクロファージや線維芽細胞から産生され、創傷治癒に関与する。

7. 炎症と抗サイトカイン療法

このように炎症における病態形成にサイトカインは深く関与している。このため、抗サイトカイン療法が新たな炎症の治療法となる可能性がある。

炎症性サイトカインの産生阻害剤としては、すでに副腎皮質ステロイド剤が知られている。副腎皮質ステロイド剤のサイトカイン産生抑制作用はきわめて強力であり、その抗炎症効果は他に類を見ない。そのため、スポーツ外傷を始め、さまざまな急性炎症に対する治療薬剤として応用されている。しかし、その一方で、ステロイド剤の持つさまざまな副作用のため、その使用はきわめて限定されるべきものであることはいうまでもない。特に過度のステロイド剤の投与は、急性炎症の軽減には貢献するものの、創傷治癒を遅延させ、易感染性を亢進させる。

一方、各種の非ステロイド系消炎鎮痛剤にはサイトカイン産生抑制作用は全くない。すでに述べたように、一般の消炎鎮痛剤はPG合成を抑制することによって、解熱鎮痛効果を発揮している。

最近では、IL-1産生阻害剤などの開発が行われているが、副作用が少なく、かつ有効なものは未だみられていない。すでに述べたように、IL-4, IL-10, IL-13, TGF β は抗炎症性サイトカイ

ンとして知られており、実際にIL-4, TGF β などは動物実験において急性炎症を抑制することが知られている。

抗サイトカイン抗体や可溶性サイトカインレセプターは、当該のサイトカイン活性を中和することができる。すでに、イギリスのグループが慢性関節リウマチ患者に抗TNF α 抗体を投与し、投与開始直後より著明な臨床症状と検査成績の改善がみられたことを報告している。ただ、再発後に同抗体を投与した場合には当初のような有効性が必ずしも得られないことも指摘されており、今後、その投与法や投与量などに関しては検討の余地があろう。

おわりに

一般に、適度なスポーツ活動は生体を刺激して適当な量のサイトカインを産生させ、免疫系を賦活化することにより防衛体力を形成する。しかし、過度のスポーツ活動は生体からの過剰なサイトカイン産生を誘導し、その結果、炎症を助長することとなり、生体は疲弊して防衛体力は低下することとなる。したがって、サイトカイン産生を人為的に制御することは防衛体力向上にとってはきわめて重要であり、この面から新たな薬剤を開発しようとする知験も進められている。

今後、過度なスポーツ活動がいかにして過剰なサイトカイン産生を誘導して炎症を引き起こすのか、炎症におけるサイトカインのバランスの乱れをどのように是正すれば防衛体力が向上するのか、などの課題がさらに分子のレベルあるいは遺伝子のレベルで解明されることが求められよう。また、生体にとって適度なスポーツ活動の量をどのように決定するのか、果してサイトカインがその指標となりうるのか、なども今後の重要な研究課題として残されている。

III カゼのメカニズムから考えるカゼ対策 一大事な時にカゼをひかないようにするために—

報告者 永富 良一¹⁾

研究協力者 桜井 政夫²⁾ 餅田 みゆき¹⁾ 吉田 祐子¹⁾

A はじめに

われわれはカゼの防御に関する基礎的な実験を行っています。運動は健康によいと言われ、定期的に運動をしているとカゼをひきにくいと思っている人がいる一方、高いレベルの競技者ではむしろカゼをひきやすいことも知られています。しかしカゼのひきやすさに関わっているのは、必ずしも運動の量や、強さ、種類だけではありません。精神的なストレスも、ストレスのレベルが高いほどカゼにかかりやすくなるといわれており、いずれにしても一筋縄ではいきません。現段階では、カゼのひきやすさ、ひきにくさにどうやら精神的なストレスや、運動の量などが関係しているだということはわかっていても、どれくらい運動したら、あるいはどれくらいストレスがたまつたら、かぜをひきやすくなるのか、あるいはひきにくくなるのか、はっきりしたことはまだわかっていないません。これは、まだカゼをひきやすい、ひきにくいという現象がなぜ起こるのかがはっきりわかっていないからです。われわれはこの問題に答えるべく、様々な実験を行っていますが、残念ながら、まだスポーツの現場での的確なアドバイスを行えるような結果は得ていません。しかしおのの予防や、カゼをひいたときの対策を考える上で多少なりとも役に立つデータを得ていますので、本稿ではカゼ症候群というウイルス感染にともなう病気のメカニズムを考えながら、われわれの結果を紹介し、少しでもカゼ対策の役に立つよう解説をしてみます。

B カゼのなりたち¹⁾

カゼと俗に言わるのは、ウイルスが、主に鼻

1) 東北大大学

2) 大塚製薬(株)佐賀研究所

やのどなどの上気道の粘膜の細胞に感染して、粘膜の細胞を傷害した結果おこる急性上気道感染症のことをさします。われわれが普段かかるカゼのうちおよそ30%はライノウイルスによるものだといわれています。他に、RSウイルス、エコーウィルス、コクサッキーウィルス、パラインフルエンザウイルスやインフルエンザウイルスなども原因ウイルスとして知られています。図1にウイルスがどのように感染し、カゼ症候群が起こるかを模式的に示してみました。ウイルスはまず、鼻やのどの粘膜に接触します。ウイルスは粘膜の細胞の特定の構造に結合し、細胞の中に侵入します。ウイルスが結合する場所は、ウイルスの種類によって異なります。ウイルスに結合しやすい構造を持った細胞にウイルスは結合しますが、臓器や体の部分によって細胞の構造は違いますし、同じ粘膜でもウイルスに感染する細胞と、そうでない細胞があるのは、粘膜にもいろいろな種類の細胞が含まれているからです。ウイルスは細胞の中で、細胞の複製機構や材料を利用して増殖します。増殖したウイルスは再び細胞外に放出され、近くの細胞に再感染していきます。このとき多くの場合、ウイルスが増殖した細胞は破壊されます。しかしわれわれの細胞はウイルスが感染した場合、ただだまって破壊されるのを待っているだけではなく、さまざまな防御反応を起こしウイルスを排除しようとします。じつは、カゼに伴う様々な症状、たとえばのどの痛み、鼻づまり、鼻水、発熱、セキなどの諸症状は、確かにウイルスが感染する結果起こるものですが、これらはむしろわれわれの体がウイルスを排除しようとする防御反応に起因する場合がほとんどです。

C 試験管内でのウイルス感染モデル（実験方法の紹介）²⁾

カゼに対する防御反応とカゼの諸症状の関連を

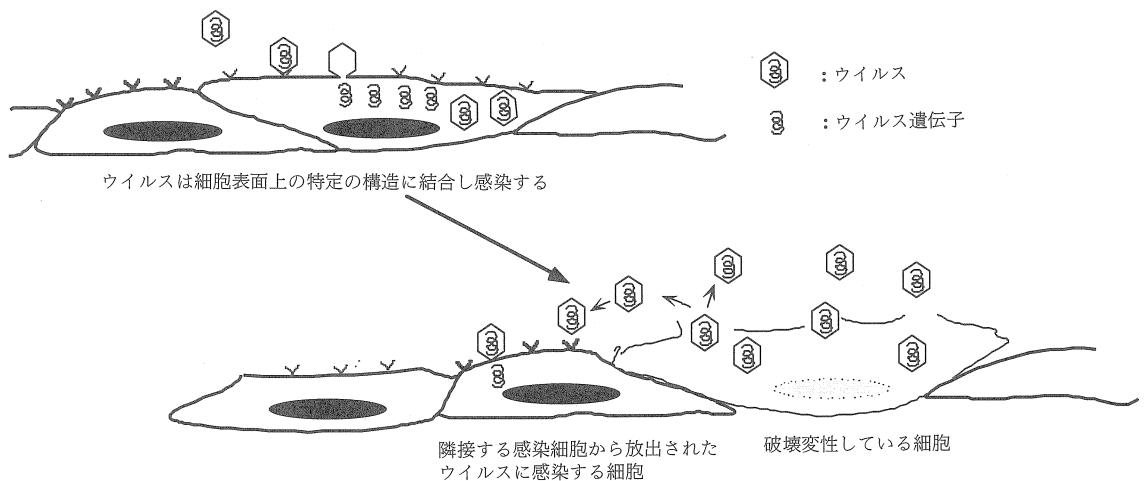


図1 ウィルスが細胞に感染する様子

みる前に、われわれが、ウィルス感染防御について検討するために用いた実験系を簡単に紹介しておきましょう。われわれの実験では、カゼの原因のかなりの部分を占めると考えられているライノウイルスを用いました。ライノウイルスは、ヒトの線維芽細胞（線維芽細胞：皮膚の下、臓器や血管の周囲にある隙間を埋めている細胞）に感染して増殖することができるので、図2のようにあらかじめプラスチックの容器に線維芽細胞を生やしておきます。細胞培養液の中には、細菌による汚染を防ぐために抗生素質を入れておきます。容器の底面が線維芽細胞ですっかり覆われたら、ライノウイルスを加え、培養を続けます。するとウィルスは細胞内で増殖し、線維芽細胞を破壊します。1週間後に、生きている細胞の数に応じて色がつく色素を入れて、色の濃さによって生き残った細胞の割合を調べます。図3のように添加するウイルスの量が多いほど、生き残る細胞が少なくなることがあります。われわれはこの実験系を用いて、線維芽細胞にあらかじめ特定の処置を施した場合、あるいはウイルスに特定の処置を施した場合、細胞の生存率にどのように影響するかを検討してみました。

さてそれではいよいよカゼをひいたときに体の中で何が起こるのかを、われわれの実験系で確認しながら、調べてみましょう。

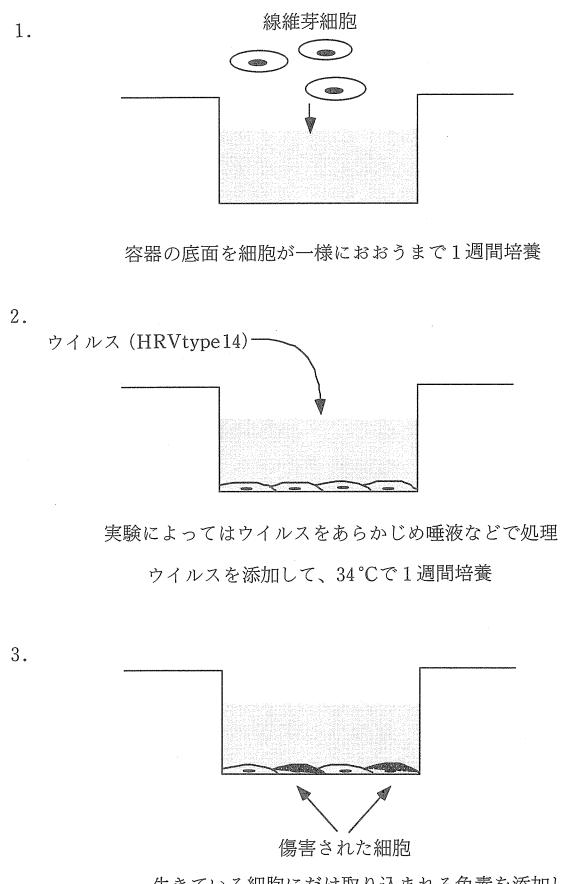


図2 実験の概略

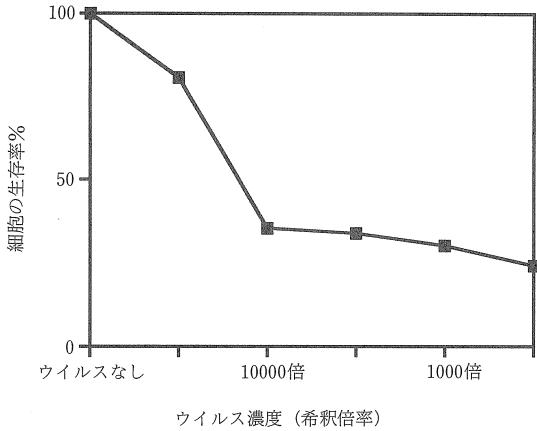


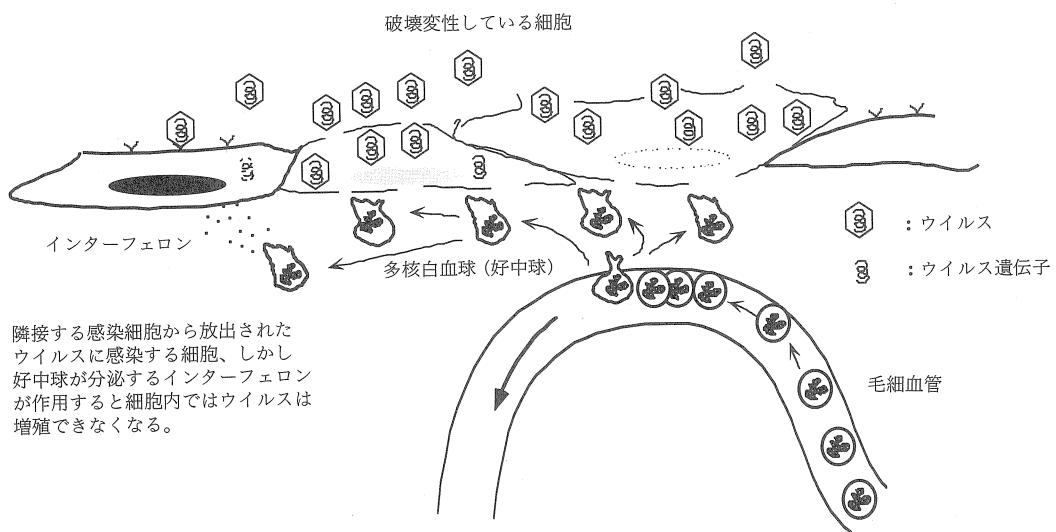
図3 ウィルスの量と線維芽細胞の生存率

D カゼの症状と防御反応¹⁾

ウイルスが感染した細胞の多くは破壊されますが、図4のようにこのとき緊急事態に対応すべく血液中の白血球が傷害された部位に集まってきます。その部分の血流が増え、充血し、血管内の白血球が血管の外の細胞がこわされた部分に出ていくので、その部分が腫れる結果、痛みが生じます。集まった白血球はインターフェロンという物質を分泌します。インターフェロンがまだ破壊されていない周囲の細胞に結合すると、その細胞はウイルスに対する抵抗性を獲得します。ウイルス

が細胞の中で増えるのを妨げる物質が細胞内に合成されるからです。一部の細胞、たとえば線維芽細胞といって、皮膚の下、臓器や血管の周囲にある細胞はウイルスが感染しただけでも、インターフェロンを作り分泌することが知られています。実際にわれわれの実験系で、線維芽細胞にウイルスを感染させると一緒にインターフェロンを入れておくと、図5のように細胞はほとんど傷害されなくなります。この結果だけをみると、スポーツ選手のかぜ予防にインターフェロンを使えば、絶大な効果があがりそうに思えます。たしかにウイルス感染は、かなりの確率で防げるでしょう、しかし残念ながら、インターフェロンこそが、一連のかぜ症状を起こしている代表的な分泌因子の一つなのです。現在インターフェロンが医薬品として用いられる疾患としてウイルス肝炎があげられますが、インターフェロンを投与された患者さんの多くは発熱、全身倦怠感、易疲労感、食欲低下などかぜをひいたときと同じ様な症状に悩まされます。結局インターフェロンを薬として使っても使わなくても、ウイルスが感染すれば、インターフェロンが体内でできてウイルスを排除しようとしますので、自覚症状としては同じになってしまふわけです。

さて防御反応としてインターフェロンが働く一連の反応はウイルスが感染して数時間から半日位



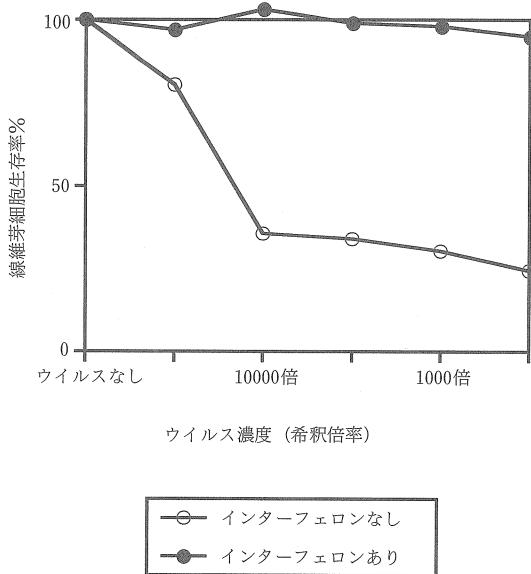


図5 ウィルスによる細胞傷害に対するインターフェロンの効果

の間に起こる反応だと考えられています。ところでも上述したようにインターフェロンには、細胞のウィルスに対する抵抗性を誘導するだけではなく、体温を上昇させる作用もあります。これはインターフェロンあるいはそれによって誘導されたいくつかの分泌因子が、脳の視床下部に働き体温を上昇させるからです。実はこの体温上昇、いわゆる発熱も、ウィルスに対する防御にとって重要なことです。われわれの実験系でも、温度環境の影響を確かめるために、ウィルスを感染させた線維芽細胞を培養する温度を変えてみました。ひとつは37°Cに、他方は34°Cで一週間培養してみました。図6に示すように34°Cでは細胞はウィルスの濃度依存性に傷害されますが、37°Cではほとんど傷害されませんでした。このように熱があがることはウィルスの排除にとても重要な反応の一つなのです。したがって、カゼをひいたら脱水にならない限りは、むやみやたらに熱をさげるような薬を使わない方が、カゼを早く治そうと思った場合には有利なはずです。また、カゼをひくとよく他人にうつさないようにという配慮のもとにマスクをかけます。しかしウィルスのような小さい粒子はひとたびせき込めば、いとも簡単に市販の

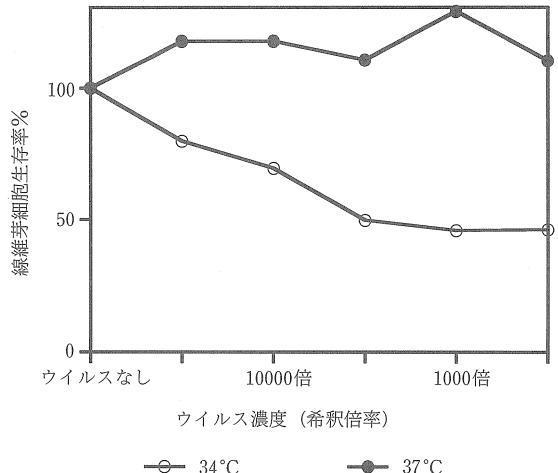


図6 ウィルスによる細胞傷害性におよぼす温度環境の影響

マスクの目を通り抜けて飛散します。ではマスクをカゼひきの人がかける意味がないかというと、決してそんなことはありません。特に寒いとき、マスクをすることは、口腔、鼻腔の温度を下げずに保温し、ウィルスの排除に役立つ可能性があるので、決しておろそかにはできません。

ところで、鼻水や、それによる粘膜刺激によるくしゃみ、セキは、細胞外に出たウィルスを洗い流すのに有効ですが、逆にウィルスを含んだ鼻水や分泌液が飛散あるいは付着し他者への感染の原因になります。ですから鼻をかんだりセキ込んだときにはよく手を洗うことが必要です。

さてインターフェロンが分泌されて、ウィルスが増殖の場を失うと、カゼは治ります。この段階までが局所感染とよばれ、少しのどが痛くなったり、鼻水がでたりする程度で治ってしまいます。ところがインターフェロンや、白血球で片づかないときは、ウィルスは血液を介して全身にばらまかれ全身感染となります。体中のあちらこちらでインターフェロンや白血球が反応するので、症状も激しくなりますし、熱も高くなることがあります。感染部位近くのリンパ腺（リンパ節）では、感染したウィルスに反応するリンパ球が増えて抗体を作り、血液中に放出するようになります。抗体は血液などの体液中のウィルスと結合しますが、抗体が結合するとウィルスは細胞に接着

できなくなるばかりでなく、白血球に食べられたり壊されることになります。抗体は鼻水や唾液などの分泌液にも放出され、再感染を防ぐことになります。ただしこのようにしてできた抗体は、その時感染したウイルスにしか反応しません。別の種類のウイルスには役に立ちません。こうやってカゼウイルスは排除されてゆき、カゼが治るわけです。大事なことは基本的には薬を使わないでも自力で治るということです。ただカゼの治癒に必要なエネルギーを他にふりむけてしまっては、治癒が遅れる可能性があります。勇気をもって休むことが重要です。

さてここまでみてきたようにカゼの経過にはさまざまな細胞がウイルスの排除に関与することがわかりますが、最近、多くの研究者が、運動時の免疫系の細胞の変化を報告しています。リンパ球、NK細胞、好中球、単球などの分布や機能が運動やトレーニングで様々な変化を示すことが知られています。これらの変化は、ウイルス感染のメカニズムから考えれば、カゼのひきやすさ、ひきにくさに関与するというよりは、カゼにかかった場合早く治るか、遅く治るかに結びつきうるものですが、残念ながらいずれの結果も、直接カゼの経過に影響を及ぼすかどうかは明らかになつていません。今後の解析が待たれるところです。

E カゼのひきやすさ・ひきにくさ²⁾

それではカゼをひきやすい、あるいはひきにくいという現象があるとするならば、どこにその原因があるのでしょうか。当然のことながら、生活環境すなわちウイルスに暴露されるチャンスが多いか、少ないかを現実的には大きな問題ですが、仮にチャンスが等しいとすれば、ウイルスが体内に侵入する時点で、ウイルスに対して防御的に働くものがあれば、その機能の善し悪しが、カゼのひきやすさ、ひきにくさにつながるだらうとわれわれは考えてみました。前項で述べたような理由から、リンパ球、NK細胞や、食細胞（好中球・単球/マクロファージ）などの白血球は、カゼをひいてから関与する細胞群で、カゼのひきやすさ、ひきにくさには直接は関係がなさそうです。ウイルスの入り口になる鼻やのどの粘膜で、防御

的に働くものには、粘膜の細胞、あるいはそれを覆う唾液などの粘液が考えられます。粘膜の細胞を直接分析することはなかなか難しいので、われわれは唾液に注目してみました。

唾液には分泌型 IgA といって、血液中の免疫グロブリンと同様に抗体として、病原性微生物や、異物に結合する蛋白質があります。たとえばウイルスの場合、ウイルスが粘膜の細胞に結合する部分に IgA が結合してしまえば、もはやウイルスは細胞の中に侵入できないため、感染は成立しません。ただし IgA はどんな微生物や、異物にでも結合するかというと、そうではありません。ひとつの IgA は特定の相手にしか結合しません。したがってあるウイルスが口の中に飛び込んでいても、そのウイルスに対する IgA がなければ、いくら IgA の総量が多くても感染は成立してしまいます。逆に IgA 全体の量が少なくても、そのウイルスに対する IgA が粘液中に含まれていれば、感染しなくてすむわけです。では人の唾液中にはどんなウイルスに対する IgA が含まれているのでしょうか。残念ながらカゼウイルスに対する IgA 抗体は、感染した後には増えますが、平常時はほとんどないようです。したがって IgA は確かに防御的に働きますが、その量はカゼのひきにくさにはつながらないようです。

そこでわれわれは、唾液の粘性のもとになっている成分に注目してみました。唾液を集めて、遠心分離すると、沈殿する成分です。われわれは%心拍予備で 70%以上に相当する 30 分の高強度の運動を、被験者に行ってもらい、運動前後に唾液を、試験管に採取し、沈殿する成分を分離しました。この成分にライノウイルスを含む溶液を加えて、30 分たってから、沈殿する成分を除去して、残ったウイルスを含む溶液を、前に説明した、線維芽細胞に加えます。このまま 1 週間培養します。当初われわれは、この分画にウイルスが吸着する結果、細胞に感染するウイルスが減り、細胞の破壊が軽減されるものと予測していました。しかし図 7 のように、むしろ唾液の沈殿する分画で処理したウイルスの方が、細胞を破壊する程度が高まる結果になりました。さらに運動前後を比べると、運動後に採取した唾液の沈殿分画の方が、

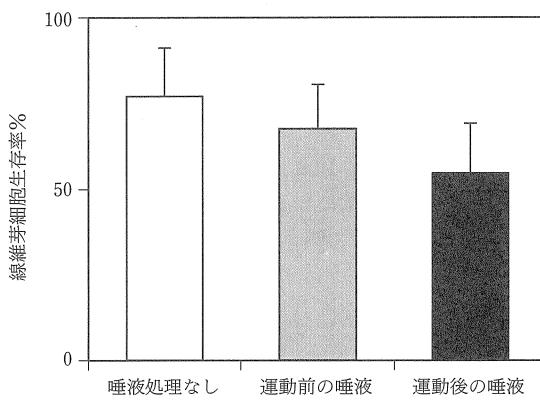


図7 唾液成分で処理したウイルスによる細胞傷害性の増強

細胞破壊を増強する効果が大きいこともわかりました。運動後には、唾液全体の分泌量は少なくなるものの、この沈殿する分画はむしろ増加することから、運動後の唾液によってウイルスの細胞傷害性が高まるのは、この沈殿する成分の量が増えるからと考えられました。

この成分は電気泳動を行い、糖蛋白質を染色するPAS染色を行うと、強く染色されるので、糖蛋白を主成分とするムチンとよばれる分画と考えられます。運動後には水分を喪失するので、あるいは粘膜の乾燥とそれによる機械的な損傷を防ぐため、粘性の高いクッションの役目をするムチンの分泌量が増えるのかもしれません。

このことがライノウイルスの感染を助長するとなれば、やはり運動したあとは早めにうがいをして、ネバネバ（ムチン）を洗い流すこと、粘膜の乾燥を防ぐため、早めに水分を補給することが、カゼをひかないと重要なことになります。従来、俗にいわれてきたことは案外正しいようです。ただ今回の実験結果はあくまでも試験管内の話で、またライノウイルスという鼻カゼウイルスを用いた時の話です。運動の条件も、比較的高い強度でしか行っていません。他のウイルスについても同様なことが起こるのか、あるいは逆に別のウイルスは、ムチンが濃い運動後の方が、感染しにくいということもあるかもしれません。

引き続き検討を重ねていく予定です。

F カゼをひいたらどうしたらよいか³⁾

さてわれわれの次の重大な関心事はカゼをひいてしまったらどうするかという点にもあります。カゼ薬をのんで寝ていればよいとよく言われますが、実際のところはどうすればよいのでしょうか。忘れてはならないのは、カゼ薬はカゼを治す薬ではないということです。カゼ薬はカゼの症状を緩和するものです。したがって上に示した理由からカゼ薬を飲んだからといってカゼが早く治る可能性はありません。また一部のカゼ薬、特に咳止めの成分がはいっているものは、たとえ漢方薬といえどもドーピングの禁止薬剤に該当しますので、注意を要します。競技選手は、カゼ薬も自由にのめないなどと聞かされることがあります。むしろ余計な薬をのまざにいられてこれ幸いとプラスに考えた方がよいでしょう。熱がでてもこれはウイルスを退治するためだと思えば、少々つらくとも我慢できるでしょう。ただ熱が数日続く場合は、抗生物質が必要な細菌性の肺炎や溶連菌による扁桃腺炎になっている可能性もあるので、医師の診断を仰ぐべきです。また先にあげた上気道感染ウイルス以外にもカゼ症状ではじまるウイルス感染症が多数ありますので、注意を要します。

よくカゼ症状で病院にかかると抗生物質を処方されることがあります。抗生物質は細菌を殺す薬で、ウイルスをやっつける薬ではありません。われわれの実験では細胞培養液の中に細菌による汚染を防ぐために抗生物質をいれてありますが、当然のことながら、ライノウイルスの感染と、細胞の破壊にはなんら影響しません。ただ特に高齢者、乳幼児では、ウイルス感染と同時に連鎖球菌などの細菌感染が合併し、肺炎や扁桃腺炎などを起こすがあるので抗生物質が使われます。一方で抗生物質の乱用は薬剤耐性菌を生んだり、またわれわれが通常共存している腸内細菌を破壊して消化器系のトラブルを招くこともありますので、カゼの時の不用意な抗生物質の使用は極力避けるべきです。

ようするにカゼをひいたら、十分な栄養補給を行い、体を冷やさないように、一方で脱水になら

ないように注意しながら、じっと休んでいるのが最善ということになります。特に全身感染になつたら、残念ながら競技や練習は、あきらめた方が賢明です。熱がでなくなり、食事が十分たべられるようになつたら、少しづつ運動を開始してもよいでしょう。せっかく積み上げてきたトレーニングを無にしてしまうカゼは、このようにかかってしまうと治るまでの数日間は、気力でカバーし得ないほど、身体的な消耗は大きいと言わざるを得ません。カゼにかかるないようにすめば、それにこしたことはありません。それではどのようにしたらカゼにからずすむのでしょうか。

G カゼの予防

俗に体を冷やすとカゼをひく、運動した後にすぐ汗をふかないとカゼをひくといわれますが、先に示したように、ウイルスが高い温度に弱く、低い温度環境下の方が、細胞傷害性が高くなることを考えると、あながち間違えではありません。しかしこれはあくまでもウイルスがあつての話で、ウイルスなしにはカゼはひきません。カゼを予防しようと思ったら、ウイルスが鼻、口に飛び込むのを防げばよいわけです。ただ、ウイルスは肉眼では絶対に見えない微粒子なので、ウイルスを防ぐといつてもそうたやすいことではありません。カゼをひいている人の鼻水などの分泌液にはウイルスが含まれてる可能性があります。多くの場合、感染ルートは、くしゃみ、セキにより飛沫感染をしたり、分泌液が付着したところを手で触れて、ウイルスが手を介して鼻やのどに侵入することになります。また先に示した実験の結果からもウイルス量が多いほど、細胞の傷害の度合いが大きいことは明らかです。ウイルスが少ない方が、防御反応にとっても有利です。このようなことをふまえて対策を考えると、つぎのようになります。

- 1) カゼをひいている人には近づかない。
- 2) 不特定多数が集まる場所を極力さける。
- 1), 2)が避けられない場合は、
 - 3) マスクを着用する。
 - 4) 飲食前や、顔周辺に手を近づける前に

手を洗い、手洗い後に、洗顔も行い、うがいを行う。

スポーツの現場での状況を考えると、

- 5) タオル、給水ボトルなどを共用しない。
- 6) 運動後には体温が急速に低下しやすいので、特に鼻、のどを含めて保温をはかる。

鼻やのどの粘膜を通常おおっている粘液は、ウイルスを洗い流す効果のみならず、ウイルスにたいする防御因子を含んでいます。したがって、

- 7) 鼻やのどの乾燥を防ぐ。室内環境に注意するのみならず、特に運動後はすみやかにうがいを行い、給水を行うことが重要である。

寝不足、精神的な緊張も、どのようなメカニズムによるのかは明らかではありませんが、カゼをひきやすくなる要因になると考えられていますので、寝不足にならないようにすること、リラックスすることも重要です。食事のリズムも、直接体の内分泌リズムに影響を及ぼすので、不規則な食事は避けるべきでしょう。

H まとめ

たかがカゼ、されどカゼ。じつとしていれば、薬なしに治ってしまうカゼも、時と場合によっては、大きな損失を生むことになります。また目にみえない敵は、見えない故にこわいものです。今回の実験は本来、カゼのひきやすさ・ひきにくさに関与する生理的な要因を探ることになりましたが、実験を行っている間に、カゼの姿を、わかりやすくとらえることができるデータをいくつか得ることができました。少しでも、指導者、選手の皆さんにカゼのイメージをつかんでいただき、大事な場面で、カゼをできるだけひかないよう役立ていただければ幸いです。

参考文献

- 1) 大里外齋郎編：医科ウイルス学，南江堂，東京，1992.

- 2) 永富良一, 桜井政夫, 吉田祐子たち：運動後の急性上気道感染症に対する易感染性の一因. 健康医科学, 明治生命厚生事業国第12回（平成7年度）研究助成論文集, 12: 115~122, 1997
- 3) 永富良一：発熱, スポーツ医学におけるプライマリケア. 臨床スポーツ医学, 12: 97-103, 1995.

IV フィールドワーク

茨城県水海道市・小学生における感染症罹患状況の調査

報 告 者 和久 貴洋¹⁾ 伊藤 静夫²⁾ 永富 良一³⁾
赤間 高雄⁴⁾ 河野 一郎⁴⁾

I. はじめに

継続的なスポーツ活動や身体運動は、全身持久力や筋力、パワー、スピードなどの体力要素を向上させ、健康の維持・増進に役立つことはよく知られている。スポーツ活動や運動によって改善されるこれらの体力要素は、身体的要素としての行動体力と捉えられている。これらの体力要素にスポーツ活動や運動が及ぼす影響については数多くの研究がある。

一方、防衛体力については、「運動するようになってから、風邪をひきにくくなつた」などというように、スポーツ活動と疾病に対する抵抗力に関する経験的な知見がある。最近、スポーツ活動が防衛体力に及ぼす影響について注目されるようになり、スポーツ活動と感染症に対する抵抗力との関係を科学的に検証しようとした研究がいくつか散見されるようになった。

Douglas らは¹⁾、大学競技選手における 9 週間のトレーニング期間中の上気道症状の発生頻度を一般学生と比較し、大学競技選手の方が有意に高い頻度で上気道症状を訴えたことを報告している。このほか、マラソンや激しいトレーニングにより上気道感染症の頻度が高まるという報告がある^{2,5,6,8,9,10)}一方で、適度な運動により感染症に対する抵抗力が増すという報告³⁾もある。

一方、競技スポーツにおいて重要な課題とされているオーバートレーニングに関して、河野らは、陸上長距離選手において、トレーニング量が増えるに従い、疲労感や脱力感、睡眠障害などの症状が現われ、風邪をきっかけにオーバートレーニングが発症したケースを報告し⁴⁾、オーバート

レーニングと感染症に対する抵抗力の低下の問題を指摘している。

さて、小学生から高校生を中心としたジュニア期のスポーツ活動は、健全な発育・発達、さらには競技スポーツ選手としての基礎づくりにおいて重要な役割がある。とりわけ多くの小学生は、スポーツ少年団に所属し、そこでスポーツ活動を積極的に行なっている。実際、平成 7 年度スポーツ少年団登録状況⁷⁾をみても、団登録は全国で 34,162 団と報告され、登録団員数は 1,007,857 名にのぼっている。このうち、小学生は 895,379 名であり、スポーツ少年団員のほとんどを小学生が占めている。小学期という成長の著しい時期のスポーツ活動は、健全な発育・発達と健康づくりの点から重要視されている。さらに最近では、競技スポーツにおいて低年齢化が進んでおり、小学生といえども高度なトレーニングを実施するようになってきている。

このような背景から考えても、小学期におけるスポーツ活動と、免疫機能を中心とする防衛体力との関係について明らかにしていく必要があると考えられる。そこで、「ジュニア期のスポーツ活動と防衛体力に関する研究」では、フィールドワークとして、小学期におけるスポーツ活動と風邪をはじめとする感染症罹患状況について調査することにした。本年度は、調査概要と調査実施までの手続き、および単純集計結果について報告する。

II. 調査実施までの計画と手続き

1. 研究班における計画

平成 7 年度に行なった感染症調査パイロットスタディーより、感染症調査の実施にあたって、表 1 に示すような課題や問題点があることが明らかにされている。これらのこと考慮にいれ、新た

1) 東京大学, 2) 日本体育協会

3) 東北大学, 4) 筑波大学

に調査用紙（原案）を作成し、第2回研究班打合せ会議（1996年6月24日）で検討を行なった。その結果、調査対象が小学生の場合には、調査用紙の表現や調査方法をさらに簡略化すること、保護者も対象に加えること、成長段階の指標として身長と体重の定期的な測定を行うこと、などの必要性が示され、これらの点を考慮して調査計画を作成することになった。

調査計画は、和久班員、赤間班員、永富班員によって原案が作成された。作成された調査計画は各班員に送付され、原案の検討が行なわれた。原案の検討結果は和久班員に送られ、検討結果にしたがい原案の修正を行なった。

第3回研究班打合せ会議（同年8月19日）にて、修正された調査計画案が提出され、研究班にて検討が行なわれた。また、調査対象とその規模、調査に関する事前説明会の実施などについて

も審議され、資料1に示した調査実施計画が立案された。

2. 調査実施者との検討

調査の実施にあたって、スポーツ活動を行なっている小学生への調査については茨城県水海道市スポーツ少年団に、スポーツ活動を行なっていない小学生への調査は同市教育委員会に依頼した。水海道市スポーツ少年団については日本体育協会・日本スポーツ少年団運営課から依頼し、水海道市教育委員会については和久班員が行なった。

同年9月12日に水海道市スポーツ少年団より調査の内諾が得られた。一方、水海道市教育委員会に依頼した調査は、同市小学校校長会にて検討され、同年10月17日に調査の内諾が得られた。その後、本調査の事前説明会実施のための日程調整を行ない、水海道市スポーツ少年団指導員への事前説明会を同年10月21日に、水海道市の小学

資料1 感染症調査の実施計画

「ジュニア期におけるスポーツ活動と防衛体力に関する研究」 フィールドワーク実施計画	
A. 目的 本研究は、ジュニア期の発育・発達、あるいは健康維持に重要な防衛体力（免疫機能）に対して、スポーツ活動がどのような効果をもたらすかを検討することを目的として、ジュニア期の青少年を対象にスポーツ活動状況と風邪を中心とした感染症の罹患状況等についての総合的調査を行う。	
B. 調査対象 ジュニア期の青少年（小学生～高校生）と小学生の保護者、およびスポーツ少年団の指導者を対象とする。	
1. 小学生	2. 中学・高校生を対象とした調査
スポーツ活動群：スポーツ少年団などに所属し、定期的にスポーツ活動を行っている小学生 コントロール群：定期的なスポーツ活動を行っていない小学生 保護者：対象小学生の保護者	(1) 中学・高校での調査は、運動部単位もしくはクラス単位で行う。 (2) 調査は、運動部の指導者またはクラス担任に依頼する。 (3) 部員または生徒は、日誌形式の調査用紙に毎日または週1回、記入を行う。
3. スポーツ少年団の指導者に対する調査	3. スポーツ少年団の指導者に対する調査 (1) スポーツ少年団の指導者に対して防衛体力や感染症に関する簡単な意識調査を行う。 (2) 本調査はSenior Leader Schoolの課題として行う。 (3) 調査項目の原案は永富班員が作成する。
E. 調査内容	E. 調査内容 調査用紙1：小学生用 調査用紙2：保護者用 調査用紙3：中学・高校生用
F. 調査用紙の作成について	F. 調査用紙の作成について 調査用紙については、調査の目的や記入方法、調査期間分の記録用紙をまとめた小冊子を作成する。調査の実施にあたって、調査用小冊子と筆記用具を対象に配布する。配布した筆記用具は対象にプレゼントする。
G. 調査実施にあたっての注意事項	G. 調査実施にあたっての注意事項 1. 調査実施前の説明会 (1) 調査を実施する前に、調査の目的、内容、方法などについての説明会を行う。 (2) 説明会の実施方法の詳細については調査対象が具体的に決定した後に検討する。 (3) 説明会の実施にあたっては、できる限り同一条件で行うよう工夫する。 (4) 小学生については、本人とその保護者も同伴させる。 2. 感染症の罹患判定基準 感染症の判定については、次の基準にしたがう。 (1) 発熱については、単独症状の場合でも2日以上続いた場合には感染症とする。 (2) 発熱以外の症状については、2つ以上の項目が2日以上続いた場合には感染症とする。 (3) 症状が1日空いても同一エピソードとみなす。2日以上空いた場合には別のエピソードとする。 3. 調査を依頼した後のフォロー 調査依頼後のフォローとして、以下のフォローを行う。 (1) 講演会、セミナーの開催 対象：学校関係者や保護者、スポーツ少年団関係者 内容：本調査の目的や意義、結果など 備考：教育委員会主催の講演会があるので、その機会を利用する (2) 測定のための器具やマンパワーの援助 調査依頼関係者からの要望に応じて行う

校体育主任への事前説明会を同年10月29日に実施することに決定した。

水海道市スポーツ少年団指導員への事前説明会において、本調査の目的や方法について説明を行ない、調査に関して意見交換を行なった。その結果、水海道市スポーツ少年団の指導者は、そのほとんどが水海道市の各小学校の教諭であること、保護者に対しては、少年団指導者よりも学校教諭の立場からの方が調査を依頼しやすいこと、さらには水海道市スポーツ少年団員のほとんどが水海道市の小学生であり、水海道市的小学生4~6年生を調査対象にした場合、対象数を満たすことが可能であることなどが明らかになった。その結果、本調査は水海道市教育委員会への調査依頼に一本化された。

同年10月29日、水海道市教育委員会にて、本研究班員と水海道市小学校・体育主任との事前説明会が行なわれた。調査項目について、学校のこと、放課後のこと、健康状態に関するこのカテゴリーに分けた方が実施しやすい、記入例を示した方がよいなどの指摘があり、指摘のあった点を修正し、調査実施方法が確定した。

III. 調査の概要

上記の手続きを踏み、本年度には次のように調査が実施された。

1. 目的

本研究は、ジュニア期の発育・発達、あるいは健康維持に重要な防衛体力（免疫機能）に対して、スポーツ活動がどのような効果をもたらすかを検討することを目的として、小学生を対象に、スポーツ活動状況と風邪を中心とする感染症の罹患状況について縦断的に調査する。

2. 方法

1) 対象

本調査における対象は、茨城県水海道市の絹西小学校、三妻小学校、豊岡小学校、菅原小学校、大生小学校、菅生小学校、大花羽小学校、および五箇小学校の8校に在籍する小学4~6年生728名とその保護者である。

2) 調査期間

1996年11月~1997年1月

3) 内容と方法

調査内容は、パーソナルプロフィールとして、氏名、性別、生年月日、通学距離、好きな科目、スポーツ種目、1週間当たりのスポーツ活動の頻度を調査した。

学校における身体活動状況として、学校の休み時間に行なった身体活動の時間を調査した。

放課後の活動としては、起床・就寝時間、スポーツ実施の有無、屋外での遊び時間、ファミコンやテレビなどの座位活動時間、スポーツ少年団、道場、スイミングスクールなどの練習の欠席日、かぜの有無、のどの痛み、鼻水・鼻詰まり、咳・咳痰、腹痛、発熱、身体の具合、疲労、身体のだるさの感染症症状、朝飲食の有無医療機関受診日、薬物服用日、その他の特記事項などについて調査した。実際の調査に用いた調査用紙の一部を表1および表2に示す。

調査方法は、小学生に対する調査は、各小学校における4~6年生のクラス担任が週1日もしくは毎日、調査用紙を生徒に配布して調査を行ない、その都度回収、管理した。

また、同様の調査項目からなる調査用紙を保護

表1 感染症罹患状況調査パイロットスタディーにおける課題

1. 実施上の課題

- (1) 調査用紙の配布と回収は、できるだけその場で行なう。
- (2) 調査用紙への記入は、配布時に行なう。
- (3) 学校行事が多い時期は避ける。
- (4) 調査実施者の負担軽減

2. 調査用紙の課題

- (1) 日付の明確化
- (2) 体育授業の時間の換算方法の明確化
- (3) クラブ活動の明確化
- (4) 発熱の基準の設定

3. 調査内容に関する課題

- (1) 感染症症状項目の見直し
- (2) 観察日数のバラツキを最少限にする。
- (3) 記入方法の指示を分かりやすくする。
- (4) 感染症症状以外で修正が必要な項目
 - a. 通学方法
 - b. 朝食欠食
 - c. 薬物服用
 - d. 医療機関の受診
 - e. 基礎体温

表2 スポーツ活動と健康についての日誌（小学生用）

	12月2日（月）	12月3日（火）	12月4日（水）	12月5日（木）	12月6日（金）	12月7日（土）	12月8日（日）
今日1日、学校の休み時間にどのくらい運動（スポーツ、ボールあそび、おにごっこなど）をしましたか？ あてはまる時間に○をつけてください	0～10分 10～30分 30分以上						
学校を休んだ日に○をつけてください							
きのうは何時にねましたか	時 分	時 分	時 分	時 分	時 分	時 分	時 分
けさは何時におきましたか	時 分	時 分	時 分	時 分	時 分	時 分	時 分
今日はスポーツをしましたか (どのくらいの時間しましたか)	はい・いいえ (時間 分)						
今日は、外でどのくらいあそびましたか	時間 分						
今日、ファミコンをしたりテレビをみた時間は	時間 分						
スポーツ少年団、剣道や柔道の道場、スイミングスクールなどの練習を休んだ日に○をつけてください							
今、かぜをひいていますか	はい・いいえ						
今日は、次のようなことがありましたか？ もしあったら○をつけてください							
のどがいたかった							
はなみずがでた、はながつまっていた							
せきやたんがでた							
おなかがいたかった							
ねつがあった（ 度）	(度)	(度)	(度)	(度)	(度)	(度)	(度)
今日は、からだのくさいがわるかった							
今日は、つかれていた							
今日は、からだがだるかった							
朝ごはんをたべなかっただ							
病院に行った日に○をつけてください							
くすりをのんだ日に○をつけてください							
今日は、次のようなことがありましたか？ あてはまるところに○をつけてください (あてはまるものがなければ、何も書かないでください)	スポーツの試合 運動会 遅足 学校の体育 じゅく おかげごと						

表3 お子さんのことについて記入してください（保護者用）

	12月23日（月）	12月24日（火）	12月25日（水）	12月26日（木）	12月27日（金）	12月28日（土）	12月29日（日）
昨日、お子さんは何時に寝ましたか	時 分	時 分	時 分	時 分	時 分	時 分	時 分
今朝、お子さんは何時に起きましたか	時 分	時 分	時 分	時 分	時 分	時 分	時 分
今、お子さんはかぜをひいていますか	はい・いいえ						
お子さんに以下のよう症状はありましたか（該当する症状があった日に○を付けてください）							
のどの痛み							
鼻水・鼻づまり							
せき・たん							
吐き気・嘔吐							
腹痛・下痢							
頭痛							
発熱（ 度）	(度)	(度)	(度)	(度)	(度)	(度)	(度)
医療機関を受診した日に○をつけてください							
薬を服用した日に○をつけてください (薬の名前：わかれれば記入してください)							
お子さんに次のようなことがありましたか（該当する事があった日に○を付けてください）							
今日は、普段より元気がなかった							
今日は、普段よりつかれていた							
今日は、普段より顔色が悪かった							
今日は、普段より食欲がなかった							
欠食（食べなかった食事に○を付ける）	朝食・昼食・夕食						
女子のみ記入してください							
生理があった日に○をつけてください							
生理痛があった日に○をつけてください							
毎日、朝おきて、同じ時間に体温をはかる人だけ、はかった体温をかいてください							
健康体温	度	度	度	度	度	度	度

者に配布し（表2），保護者は子供の状態について記録した。

IV. 調査の経過

1. 調査の実施・データ回収

調査は、各学校における調査の準備期間を含めて1996年11月18日より開始され、1997年1月31日に終了した。1997年2月1日～17日の間に水海道市教育委員会に調査用紙が回収された。このうち有効データ数は小学生723名、保護者704名であった。本調査における観察のペ日数は49,041日であった。

2. 単純集計

本調査において、調査対象の1日あたりの平均睡眠時間は 8.8 ± 1.1 時間（平均値±標準偏差）、スポーツ活動時間は 1.3 ± 2.5 時間、外で遊んだ時間は 0.7 ± 1.2 時間、テレビやファミコンをした時間は 2.9 ± 2.2 時間であった。

本調査における観察のペ日数の23.96%にかぜが観察された（11751日）。また、感染症症状については、こどの痛みが9.95%（4882日）、鼻水鼻づまりが24.51%（12020日）、せき・たんが13.02%（6384日）、腹痛が3.01%（1476日）、発熱が2.16%（1057日）、からだの具合が悪いが2.50%（1226日）、疲れが4.94%（2425日）、からだがだるいが3.05%（1495日）に観察された。

これまでの報告によれば、10歳以上の学童1人当たりの年間かぜ罹患回数は1.2～5.4回/年/人であり、研究成果は必ずしも一致してはいない。本調査におけるかぜ罹患率を1年間当たりに換算すると約13.5回/年/人となる。調査年代、調査地域、調査期間、あるいは調査方法などが異なるため単純に結論づけることはできないが、本調査においてかぜに罹患した者が多かった可能性は考えられる。

これらのことから、小学生は高率にかぜに罹患している可能性が示され、スポーツ活動と防衛体力との関連を明らかにする必要性が強く考えられた。

3. 分析方法

今後は、先の集計結果について以下の視点から検討を加える予定である。

1) 群分け

パーソナルプロフィールの記録から、対象を次のようなカテゴリーからグルーピングする。

(a) スポーツ活動の有無による分類

スポーツ活動の頻度より、スポーツ活動を週5日以上行なっている群、週3～4日実施している群、週1～2日行なっている群、全く実施していない群に分類する。

(b) スポーツ活動の種類による分類

(c) その他（月経の有無など）

2) 分析パラメータ

調査記録から、感染症に関連するパラメータを抽出する。

(a) 各症状毎に有症状日数(日)、または有症状率(日/観察期間)を求める。

(b) 連續した症状（2日以上の間隔がない；間隔が1日の場合は連續とみなす）を1回の事象としてとらえ、各症状毎に症状出現回数(回)もしくは症状出現率(回/観察期間)を求める。

(c) より現実的にかぜ症候群として把握するために、一連の症状をエピソードとしてまとめ、かぜ症候群の罹患回数もしくは罹患率(回/観察期間)を求める。

【かぜ症候群罹患の判定基準について】

予め次の条件を満たした場合をかぜ症候群の罹患と定義した。

(i) 調査用紙における「かぜをひいていますか」の項目に「はい」と回答し、さらに以下の条件を満たしていること。

(ii) 38度以上の発熱が2日以上ある場合は、他の症状がなくてもかぜ症候群とする。

(iii) 38度以上の発熱がない場合は、38度未満の発熱（ただし発熱の項目に記載がある場合かつ37度以上の場合）を一症状とし、その他の5つ（小学生用）または7つ（保護者用）の症状項目の中で2項目以上ある場合、かつ症状の発現が2日以上にわたっている場合をかぜ症候群とする。

ただし、症状の間隔（同一の症状でも異なる症状でも）が2日以上あるときは別の感染とみなす。逆に間隔が1日であれば同一の感染事象としてみなす。

(iv) その他

●病院にいった、クスリを飲んだ、学校を休んだ、スポーツ活動を休んだの4項目は付帯状況として、カゼ症候群を小分類する subclass にする。これらの分析パラメータを群間で比較する。

IV. まとめ

以上、茨城県水海道市・小学生における感染症罹患状況の調査概要と調査実施までの手続き、および単純集計結果について報告した。昨年度の感染症罹患のパイロットスタディーでは長期間という調査の特徴から高いデータ回収率を得ることはできなかつたが、本調査では同様に長期間の調査にも関わらず、高いデータ回収率を得ることができた。このように高いデータ回収率が得られた背景には、調査実施者と調査依頼者において調査の目的や内容、実施方法などについて検討を行ない、調査実施者の要望が実施方法に反映されたことが考えられる。長期間にわたる調査において高いデータ回収率を得るためにには、調査に先立って調査実施者とその実施方法について十分に検討することが必要と考えられる。

また、単純集計の結果では、本調査におけるかぜの罹患率は高く、スポーツ活動と防衛体力との関連をさらに検討する必要性が考えられた。

参考文献

- 1) Douglas, D. and Hanson, P.: Upper respiratory infections in the conditioned athlete. *Med. Sci. Sports* 10 : 55, 1978
- 2) Heath, G. W. et al.: Exercise and the incidence of upper respiratory tract infections. *Med. Sci. Sports Exerc.* 23 : 152-157, 1991
- 3) 池上晴夫：筑波大学国民体力特別研究プロジェクト. 国民体力研究第3報：10-19, 1977
- 4) 河野一郎：免疫からみたオーバートレーニング. *臨床スポーツ医学* 7 : 557-560, 1990
- 5) Linde, F.: Running and upper respiratory tract infections. *Scand. J. Sports Sci.* 9 : 21-23, 1987
- 6) Nieman, D. C. et al.: Infections episodes in runner before and after the Los Angeles Marathon. *J. Sports Med. Phys. Fitness* 30 : 316-328, 1990
- 7) 日本体育協会 日本スポーツ少年団：平成7年度スポーツ少年団育成事業報告書：9-14, 1996
- 8) Peters, E. M.: Altitude fails to increase susceptibility of ultramarathon runners to post-race upper respiratory tract infection. *S. Afr. J. Sports Med.* 5 : 4-8, 1990
- 9) Peters, E. M. et al.: Vitamin C supplementation reduces the incidence of post-race symptoms of upper-respiratory-tract infection in ultramarathon runners. *Am. J. Clin. Nutr.* 57 : 170-174, 1993
- 10) Peters, E. M. and Bateman, E. D.: Respiratory tract infections: an epidemiological survey. *S. Afr. Med. J.* 64 : 582-584, 1983

V 基 础 実 験

1) LP-BM5 レトロウイルス感染に伴うマウスエイズ発症に対する運動トレーニングの影響に関する基礎実験

報 告 者 森口 覚¹⁾

はじめに

近年、ヒトのエイズ（AIDS；後天性免疫不全症候群）に対する予防並びに治療について多方面から研究が行われ、種々の試みがなされていますが、未だなお決定的な治療法が見つかっていないのが現状であります。エイズウイルスに感染した子供では著明な胸腺の萎縮が起り、その結果として、T細胞の分化・成熟の低下がみられる一方、脾臓や所属リンパ節では逆に腫大のみられることが知られています¹²⁾。実験的には、LP-BM5 レトロウイルス感染によりマウスに発症する後天性免疫不全症がヒトのエイズに類似していることから、エイズモデルとして用いられています。我々は、すでに高ビタミンE食投与により、マウスエイズの進展が抑制されることを見出すとともに、その機序としてビタミンEの抗酸化能による活性酸素消去や免疫賦活作用としてのインターフェロン-γ (IFN-γ) 産生の上昇並びに腫瘍壞死因子 (TNF-α) 産生の抑制との関連を報告しています⁸⁾。エイズウイルスは TNF-αなどを通じて感染細胞内で産生される活性酸素によって生じた転写促進因子 NF-κB により、その増殖がさらに促進されることが知られています²⁾。酸素摂取の増大を招く運動は、体内での活性酸素産生を高めますが、しかし一方では運動トレーニングに伴いスーパーオキシドディスクターゼ (SOD) などの抗酸化酵素活性の上昇することも見出されており、運動トレーニングがエイズ進展に対して如何なる影響を及ぼすか興味が持たれます。そこで、本研究ではマウスエイズモデルを用いて、エイズ進展に対する運動トレーニングの影響について検討するとともに、そのメカニズム

を活性酸素の产生並びに消去系から検討しました。

方法

動物及びウイルス感染と運動トレーニング：4週齢のC57BL/6雌マウスに LP-BM5 レトロウイルス ($4.5 \log_{10}$ PFU/ml) を腹腔内注射後、運動トレーニングを開始しました。運動トレーニングとしては 34°C の温浴中で体重の 3% の負荷をかけ、遊泳運動を 30 分間、5 日間/週の割合で 10 週間実施しました。10 週間後、ネンブタール麻酔下で下大静脈より採血後、脾臓を無菌的に摘出し、以下の検索を行いました。

ナチュラルキラー細胞 (NK) 活性：既報⁵⁾ の如く、⁵¹Cr ラベルの YAC-1 細胞を標的細胞として脾細胞の NK 活性を測定しました。

幼若化能：既報⁷⁾ の如く、T細胞マイトジエンである PHA あるいは ConA に対する脾細胞の幼若化能を測定しました。

末梢血リンパ球中の T細胞サブセット：既報⁴⁾ の如く、FITC あるいは PE でラベルされた CD4 及び CD8 モノクローナル抗体を用いてリンパ球 10^4 個当たりのサブセットの割合をフローサイトメーターを用いて測定しました。

リンパ球中のグルタチオン (GSH) 濃度：リンパ球中のグルタチオン濃度はモノクロロビメイン (MCB) を用いてフローサイトメーターにて測定された。

筋肉中の過酸化脂質量とスーパーオキシドディスクターゼ (SOD) 活性：筋肉中の過酸化脂質量はマロンジアルデヒド量として表され、数値は nmole MDA/組織として表示した。SOD 活性は キサンチンーキサンチンオキシダーゼチトクローム C 法により測定された。活性値は munits/mg たん白で表した。

1) 徳島大学医学部栄養学科 実践栄養学教室

結果

体重変化：LP-BM 5 レトロウイルス感染後の体重増加は安静群に比し運動トレーニング群において若干低い傾向を認めたが、有意ではなかった（図1）。また、ウイルス感染による影響もほとんどみられなかった。

脾臓重量及び脾細胞数：LP-BM 5 レトロウイルス感染に伴う脾臓や所属リンパ節の腫大は運動トレーニングにより抑制される傾向を認めた（図2, 3）。また、ウイルス感染に伴う脾細胞数の増加もまた運動トレーニングにより抑制されることを認めた（図3）。

末梢血 T リンパ球中の CD 4 及び CD 8 シングルポジティブ T 細胞比 (CD 4/CD 8)：末梢血中の T 細胞サブセットの割合は LP-BM 5 レトロウイルス感染に伴い、CD 4 シングルポジティブ T 細胞率の低下を示すヒトのエイズの場合とは異なり、CD 8 シングルポジティブ T 細胞率の低下を認め、その結果として CD 4/CD 8 は 2-2.5 倍に上昇した（図4）。

脾細胞のナチュラルキラー細胞 (NK) 活性と幼若化能：安静群では LP-BM 5 レトロウイルス感染に伴い脾細胞の NK 活性と幼若化能は著明に低下したが、運動トレーニング群では両者の機

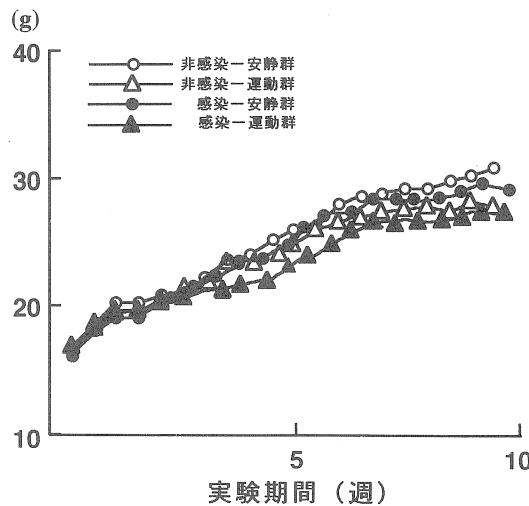


図1 LP-BM 5 レトロウイルス感染後のマウスの体重変化

能は高まる傾向を認め、ウイルス感染による低下も抑制された（図5, 6）。

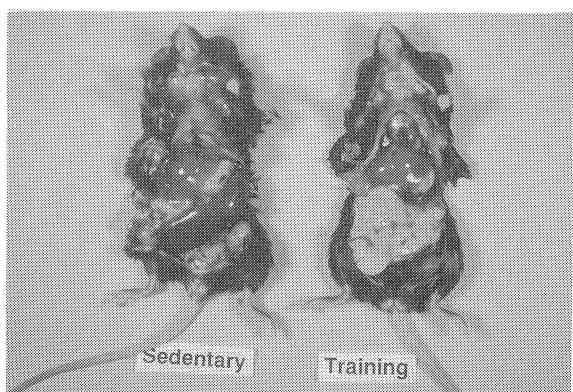


図2 LP-BM 5 レトロウイルス感染 10 週間後のマウス。安静群 (Sedentary) では著明な脾臓の腫大や頸下腺や腋下リンパ節の腫脹を認めるが、運動トレーニング群 (Training) ではそれら変化は軽度である

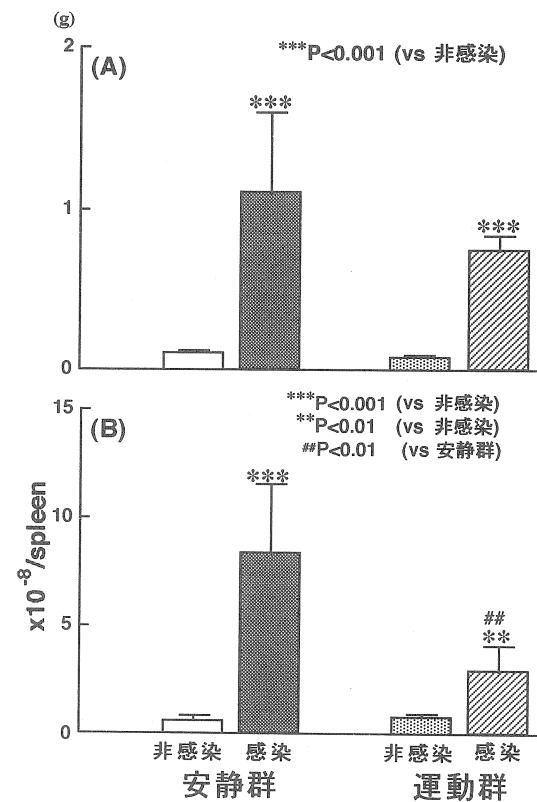


図3 LP-BM 5 レトロウイルス感染に伴う脾臓重量並びに脾細胞数の変化

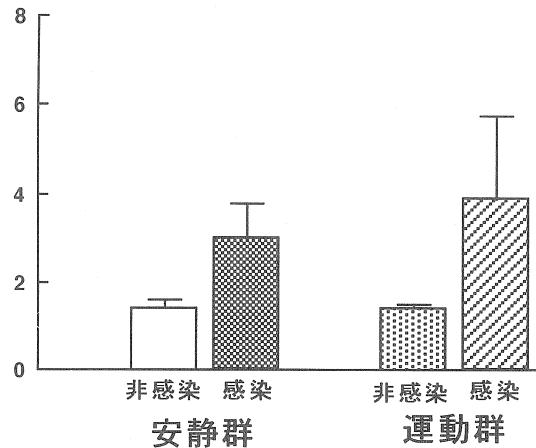


図4 LP-BM5 レトロウイルス感染10週間後のマウス末梢血中のCD4とCD8シングルポジティブT細胞比

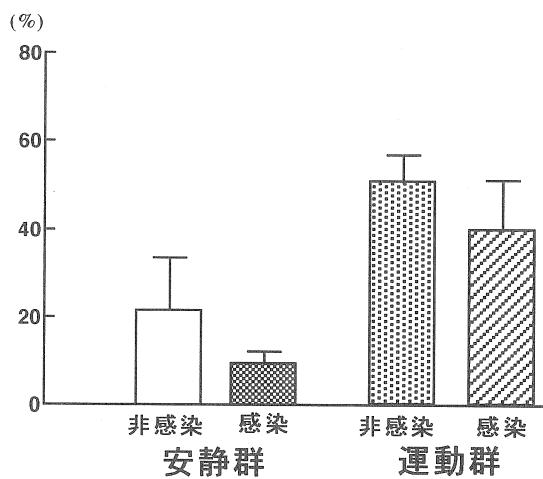


図5 LP-BM5 レトロウイルス感染10週間後の脾細胞のNK活性

脾細胞内のグルタチオン(GSH)濃度：安静群ではLP-BM5 レトロウイルス感染により脾細胞内のGSH濃度は有意な低下を示したが、運動トレーニング群ではウイルス感染によるGSH濃度の低下はみられなかった(図7)。

筋肉中の過酸化脂質量とスーパーオキシドディスマターゼ(SOD)活性：一過性の運動は筋肉中の過酸化脂質の上昇を招くが、運動トレーニングによりその上昇が抑制されるだけでなく、むしろ安静時よりも低下する傾向さえみられた(図8 A)。また、SOD活性は一過性運動負荷に伴い上昇する傾向を認めたが、それは運動トレーニング群において顕著であった(図8 B)。

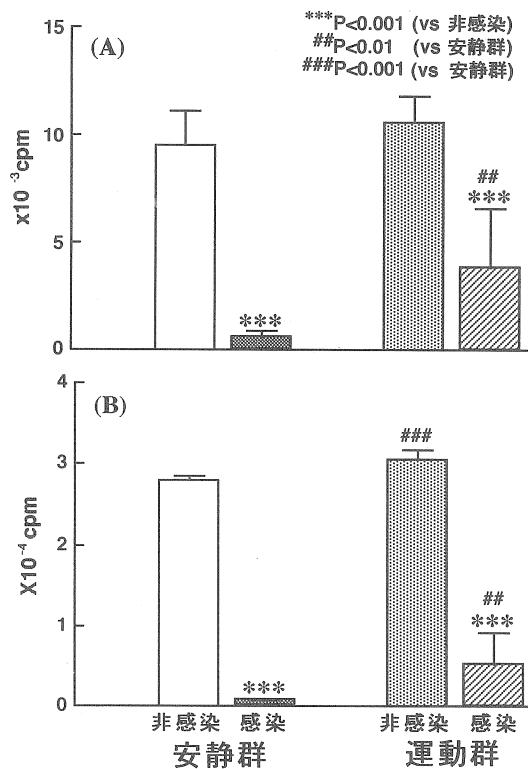


図6 LP-BM5 レトロウイルス感染10週間後の脾細胞のPHA(A)あるいはConA(B)に対する幼若化能

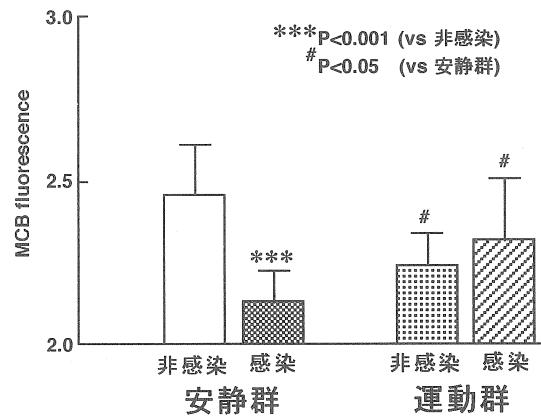


図7 LP-BM5 レトロウイルス感染10週間後の脾細胞中のグルタチオン(GSH)濃度

A)。また、SOD活性は一過性運動負荷に伴い上昇する傾向を認めたが、それは運動トレーニング群において顕著であった(図8 B)。

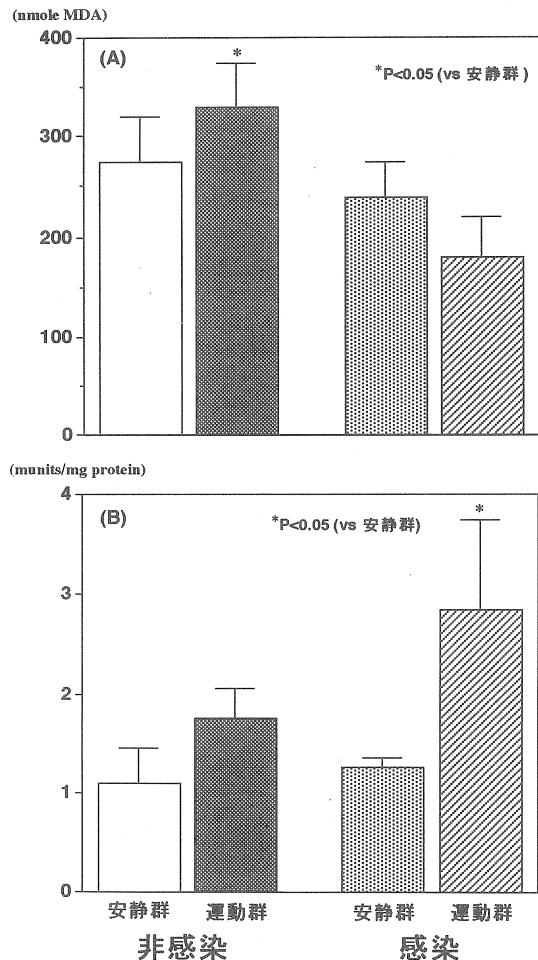


図 8 ラット下肢筋中の過酸化脂質レベル(A)とスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)活性(B)に対する運動トレーニングの影響

考察

エイズ進展に対する運動トレーニングの影響について、LP-BM5 レトロウイルスを感染させたエイズモデルマウスを用いて検討を行った。その結果、エイズ進展に伴う脾臓並びに所属リンパ節の腫大が運動トレーニングにより抑制されることを見出した。形態的にはマウスのエイズ進展にみられる脾臓の腫大は B 細胞のポリクローナルな活性化に伴う細胞の巨大化(形質細胞化)が原因であるとされるが、その機序としては図 4 に示した如く、ヘルパー並びにサプレッサー T 細胞比

の上昇、つまりサプレッサー T 細胞の減少によるこを見出している⁶⁾。また、その結果として本実験では検討していないが、免疫グロブリン G (IgG) や M (IgM) などの血中レベルの上昇することが知られている¹³⁾。

機能的には脾細胞の NK 活性や T 細胞マイトジエンに対する幼若化能がエイズ進展に伴い著明に低下することを認めたが、運動トレーニングによりそれら低下が抑制される傾向にあった。この機序として、エイズ非感染群にみられる如く(図 5, 6)，運動トレーニングによる免疫賦活作用が考えられる。適度な運動トレーニングは宿主免疫能を亢進することが知られており、その結果として抗ウイルス作用を示すインターフェロン-γ (IFN-γ) などの産生が亢進し、ウイルス増殖が抑制された可能性が考えられる。また、エイズウイルスは生体内で産生される活性酸素によりその増殖が著明に亢進されること¹¹⁾が知られており、運動トレーニングに伴う活性酸素産生の増大はエイズウイルスの増殖をさらに促進することが懸念される。しかし、本研究では運動トレーニングがマウスエイズの進展を促進することはなく、むしろ、運動トレーニングによって、マウスエイズの進展が抑制される結果を得た。この機序を活性酸素を中心に抗酸化剤や抗酸化酵素の運動トレーニングに伴う変化から考察したところ、図 9 に示す如く、運動トレーニングに伴い、抗酸化酵素のスーパーオキシドディスムターゼ(SOD) 活性の上昇を認めるとともに、抗酸化剤であるグルタチオン(GSH) のエイズ感染に伴う低下を運動トレーニングが抑制することを認めた。これら

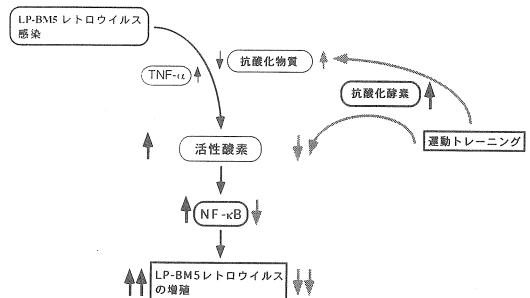


図 9 運動トレーニングのマウスエイズ進展に対する抑制効果発現のメカニズム

の結果として運動トレーニング群では LP-BM 5 レトロウイルス感染に伴う活性酸素レベルの上昇が抑制され、結果として NF- κ B を介したウイルス増殖が抑制されたものと推測された。その他、マクロファージなどから産生される腫瘍壞死因子 (TNF- α) もまた細胞内での活性酸素レベルを高め、NF- κ B を介したウイルス増殖を亢進することが知られている⁹⁾。現在まで TNF- α 産生に対する運動トレーニングの影響については一致した見解は得られておらず、運動トレーニングに伴い上昇¹⁰⁾あるいは低下¹¹⁾することが報告されている。本実験モデルにおいて TNF- α の産生がウイルス増殖並びに運動トレーニングに伴いどの様に変化するか興味が持たれる。さらに、我々はすでに移植腫瘍の増殖が運動トレーニングにより抑制されることを見出しており、それが運動トレーニングの強度と関連することや移植直後から運動トレーニングを始めたものよりも移植前より運動トレーニングを行った方が、移植腫瘍の増殖抑制効果が高いことを報告している³⁾。本研究では LP-BM 5 レトロウイルス感染と同時に運動トレーニングを開始したが、感染前から運動トレーニングを行った場合のマウスエイズの進展についても今後さらに検討していく予定である。

参考文献

- 1) Drenth, J. P. H., Van Uum, S. H. M., et al.: Endurance run increases circulating IL-6 and IL-1 α but downregulates ex vivo TNF- α and IL-1 β production. *J. Appl. Physiol.*, 79: 1497-1503, 1995.
- 2) Griffin, G. F., Leung, K., et al.: Activation of HIV gene expression during monocyte differentiation by induction of NF- κ B. *Nature*, 369: 5008-5015, 1994.
- 3) 森口 覚: 運動と宿主細胞性免疫能に関する研究—栄養および加齢の影響—. *臨床スポーツ医学*, 8: 1037-1044, 1991.
- 4) Moriguchi, S., Miwa, H., et al.: Vitamin E is an important factor in T cell differentiation in thymus of F 344 rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 39: 451-463, 1993.
- 5) Moriguchi, S., Maekawa, K., et al.: Effect of vitamin E supplementation on cellular immune functions decreased with aging in spontaneously hypertensive rats. *Nutr. Res.*, 13: 1039-1051, 1993.
- 6) 森口 覚, 沖島直子他: LP-BM 5 レトロウイルス感染による後天性免疫不全症発症に対する高ビタミン E 食投与の影響. *ビタミン E 研究会編, ビタミン E 研究の進歩*, 共立出版, 東京, p. 153-159, 1996.
- 7) Moriguchi, S., Oonishi, K., et al.: Vitamin E supplementation induces an early recovery of cellular immunity decreased following X-ray irradiation. *Nutr. Res.*, 16: 645-656, 1996.
- 8) Okishima, N., Moriguchi, S., et al.: Vitamin E supplementation normalizes dysfunction in murine AIDS induced by LP-BM 5 retrovirus infection. *Nutr. Res.*, 16: 1709-1720, 1996.
- 9) Packer, L. and Suzuki, Y. J.: Vitamin E and α -lypoate: Role in antioxidant recycling and activation of the NF- κ B transcription factor. *Molec. Aspect. Med.*, 14: 229-239, 1993.
- 10) Rivier, A., Pene, J., et al.: Release of cytokine by blood monocytes during strenuous exercise. *Int. J. Sports Med.*, 15: 192-198, 1994.
- 11) Schreck, R., Rieber, P., et al.: Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF- κ B transcription factor and HIV-1. *EMBO J.*, 10: 2247-2258, 1991.
- 12) Seemayer, T. A., Laroche, A. C., et al.: Precocious thymic involution manifest by epithelial injury in acquired immunodeficiency syndrome. *Hum. Pathol.*, 15: 469-475, 1984.
- 13) Watson, R. R.: Murine models for acquired immune deficiency syndrome. *Life Sci.*, 44: iii-xv, 1989.

2) 急性運動後の一過性免疫抑制とコルチゾール分泌

報 告 者 新開 省二¹⁾

I. 緒言

激しい運動をすると風邪などの上気道感染に罹りやすい、また集中強化トレーニング期にしばしば一流選手が日和見感染に罹る、などの報告がなされている^{11,21,25)}。つまり、激しい運動やトレーニングはからだの感染防御能を低下させる疑いが強い。からだが感染防御能を発揮する主要な手段は免疫システムであるので、激しい運動はからだの免疫能を抑制すると言っても良いであろう。

では激しい運動はどのようにからだの免疫能を抑制するのであろうか、さらに、そのメカニズムはいかなるものであろうか。本研究は、ある強度以上の運動をした後に認められる末梢血液の免疫抑制所見^{17,22,30)}、すなわちナチュラルキラー(NK)細胞を含むリンパ球の濃度の低下が、運動に伴って分泌されるコルチゾール(副腎皮質ステロイドの一種)によって引き起こされるものであるのかどうかを検討したものである。

急性運動は体内で白血球の再分布を引き起こし、末梢血液中の白血球濃度は、運動中と運動後でパターンが異なる二層性の変化をみせる^{14,15,23)}。また、この変動パターンは白血球の種類によって大きく異なる。末梢血液の免疫能は、主にこの数的な変化に相応して高低することがわかっている^{22,28,31)}。したがって運動に伴う末梢血液の白血球濃度の変動パターンとそのメカニズムを知ることは、運動によるからだの感染防御能への影響を知る手がかりにつながり、大変重要なことである。

運動中は顆粒球(好中球、好酸球、好塩基球を含む)、リンパ球、単球とも濃度は増加する。リンパ球サブセットでは CD 16⁺ NK 細胞の増加の程度が最も大きく、次いで CD 8⁺T 細胞(細胞障

害性 T 細胞)、CD 4⁺T 細胞(ヘルパー T 細胞)、CD 19⁺B 細胞と続く^{15,28)}。現在のところ、このメカニズムとして、1) 血液循環の改善が shearing stress として作用し、体内的(特に肺の)末梢血管床に付着している白血球を循環に動員する^{12,20)}、また、運動により交感神経-副腎髄質系が賦活されると、2) 脾臓からリンパ球が血中に動員され^{16,32)}、さらに、3) 血中に分泌されたアドレナリンが血管内皮細胞や白血球の接着分子の発現に影響し、白血球を血中へ遊離しやすくなること^{1,2,26)}、などが知られている。

一方、運動後は顆粒球濃度は引き続き上昇するが、運動強度が強かったり、長時間であったりすると、リンパ球濃度は運動後はかなり低下する²⁷⁾。リンパ球濃度の低下は数時間から一週間程度持続し、これが感染微生物に対する“open window”となるのではないかとの仮説が提起されている²⁴⁾。この運動後の顆粒球濃度の増加とリンパ球濃度の低下のメカニズムについては、一致した見解が得られていない。コルチゾールを経口あるいは静脈内点滴でヒトに投与すると、急性運動の後に見られるような各種白血球濃度の変化パターンが観察される^{4,10)}ことから、運動に伴って分泌されるコルチゾールが主要因であるとする研究者が多い。一方で、運動に伴うコルチゾールの分泌量はわずかであり、その関与は補助的なもので、むしろその他のメカニズム—たとえば成長ホルモンの関与—がより重要だとする意見もある^{15,22)}。そこで本研究では、急性運動に対するコルチゾールの分泌反応に個人差があることに着目し、同一運動を負荷した際に同定されるコルチゾール分泌群と非分泌群の間で、運動に伴う末梢血液の各種白血球濃度の変化、特に運動後のリンパ球濃度の低下を比較し、コルチゾールの役割を解明しようとした。

1) 愛媛大学医学部公衆衛生学

II. 対象および方法

1. 実験のプロトコール

普段は特別な運動習慣のない大学生 21 名（すべて男性）に、研究の主旨とリスクを十分に説明した後、全員より被験者として本研究に参加することの同意書を得た。被験者は、医師による問診と診察、心電図検査により健常であることを確認の上、自転車エルゴメーターを用いた漸増負荷法³⁾により最大酸素摂取量 ($\dot{V}O_{2\max}$) を実測した。呼気ガスはミナト医科(株) Aeromonitor AE-208 で分析した。

被験者には、運動負荷実験の少なくとも 24 時間前はどんな運動も行わないように指示し、実験の直前 10 時間は水以外のどんな飲食も禁じた。午前 8 時 15 分に前腕静脈に採血用カテーテルを挿入し、30 分の座位安静後、運動前の血液を採取した。つづいて各自の 60% $\dot{V}O_{2\max}$ に相当する強度の自転車エルゴメーター運動（60 分間）を開始した。運動中は 30 分、60 分に、運動中止後は座位安静状態にて回復期 30 分、60 分、2.5 時間、および 6 時間の血液を採取した。被験者は午後 0 時 30 分から 1 時 30 分の間に同じ中味の昼食をとった。実験はすべて気温が 20-22°C、相対湿度が 50-60% に維持された人工気候室内で行った。

2. 血清コルチゾールおよび血漿カテコールアミンの分析

コルチゾールは、2-ml のプレーン真空採血管に採った血液から得られた血清を用いて radioimmunoassay (ダイナボット社 RIA キット) で測定した。

カテコールアミンは、EDTA と 0.3 M アスコルビン酸 50 μ l が入った 7-ml の真空採血管（冷却）に採った血液をすぐ冷却遠心し、得られた血漿を -35°C で保存、のちに HPLC-ECD 法¹⁹⁾（島津 LC-4 A システム、エイコムパック MA-ODS およびエイコム ECD-100）で測定した。

3. 白血球総数およびその分画の測定

5-ml のヘパリン加真空採血管に採った血液を用いて、白血球総数をシステム自動血球計測器（東亜医用電子(株) model F-300）で測定した。また、白血球分画としての顆粒球、リンパ球

および単球は、フローサイトメーターのドットプロット上で細胞の大きさと顆粒性により区別し各々の相対頻度を求め、それを白血球総数に乗じて絶対濃度を算出した。

4. リンパ球サブセットの測定

ヘパリン加全血 50 μ l を標識モノクローナル抗体 (mAb) 10 μ l と混和し、暗室で 30 分間氷上インキュベーションした後、4 ml の塩化アンモニウム低張液を加え、赤血球を溶血させた。10 分間室温で静置後、遠心（4°C にて 500 $\times g$ で 6 分間）と洗浄 [氷冷した 0.1% アジ化ナトリウム加リン酸緩衝液 (0.1% NaN₃-PBS) 2 ml にて] を合計 3 回繰り返し、最終的に白血球を 0.5% パラホルムアルデヒド加 0.1% NaN₃-PBS 0.3 ml 中に浮遊させた。用いた標識モノクローナル抗体とその組み合わせ（二重染色法）は次のとおりである：抗 CD 3 mAb (FITC)/抗 CD 19 mAb (PE)，抗 CD 4 mAb (FITC)/抗 CD 8 mAb (PE)，抗 CD 16 mAb (FITC)/抗 CD 14 mAb (PE)。

標識白血球浮遊液は Epics Profile フローサイトメーター (Coulter 社) で分析し、リンパ球全体に占める蛍光染色された細胞（サブセット）の相対頻度を求めた。各サブセットの末梢血液中の絶対濃度は、総リンパ球の濃度にこの相対頻度を乗じることで算出した。

5. データ解析

白血球やリンパ球の濃度は、すべて Dill と Costill の方法⁸⁾を用いて運動に伴う血液量の変化を調整した。データは群（コルチゾール分泌群と非分泌群の 2 群）と採血時点（7 回の採血）を 2 要因とする繰り返しのある分散分析を用いて解析した。群間で運動前値に有意差がないことが確認できた場合は、その後の各採血時点のデータについて Student's t-test を用いて群間で比較した。この際、6 つの多重比較があるので、Bonferroni の調整を行い、P 値が 0.0083 未満のものを有意差ありと判定し、P 値が 0.0083～0.05 の間は傾向ありとみなした。群内において運動前値と各採血時点のデータを比較する場合は、対応のある t-test と Bonferroni の調整を用いて検定した。

III. 結果

1. コルチゾール分泌群と非分泌群の同定

運動前のコルチゾール値に比べて、運動 60 分あるいは回復 30 分のどちらかのコルチゾール値が上回っていた被験者をコルチゾール“分泌群”，いずれも下回っていた被験者を“非分泌群”と定義した。21 名中 13 名がコルチゾール分泌群で、残り 8 名が非分泌群であった（図 1）。分泌群と非分泌群の間では、年齢、体格、体重当たりの $\dot{V}O_{2\max}$ 、最大心拍数、実際に被験者が運動した相対的な仕事率において有意差はなかった（表 1）。

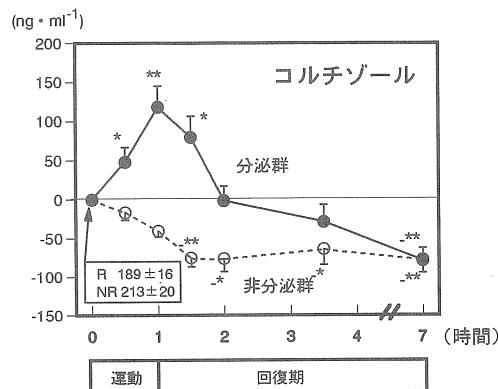


図 1 運動に伴う血中コルチゾールの分泌動態
R：コルチゾール分泌群、NR：コルチゾール非分泌群。それぞれの前値に比較して、*, P<0.05, **, P<0.0083

2. 運動に対するカテコールアミンの分泌

コルチゾール分泌群の方が非分泌群よりも、運動によって血中アドレナリンが上昇しやすい傾向にあった（図 2）。ただ、有意差を認めたのは回復 30 分の値のみであった。一方、ノルアドレナリンの分泌パターンは両群ともほぼ同一であった。

3. 白血球総数および各分画の変化

両群とも運動中の顆粒球および単球の増加はほぼ同程度であったが、リンパ球濃度の増加は、コルチゾール分泌群の方が大きい傾向にあった（運動 30 分と 60 分における群間の差は、それぞれ P=0.063 と P=0.059）（図 3）。

運動後は顆粒球は引き続き増加し、また、単球 (CD 14⁺ 細胞) は運動中止直後いったん前値に回復する傾向を見せた後、再びゆっくりと上昇する傾向にあった。これらの変化は両群間でよく似ていた。一方、リンパ球濃度は運動後すぐに前値に回復した後、コルチゾール非分泌群ではそのレベルが維持されたのに対し、コルチゾール分泌群ではさらに低下を続け、回復 2.5 時間には前値に比べ有意な低値を示し、回復 6 時間に再び前値に戻っていた。

4. リンパ球各サブセットの変化

コルチゾール分泌群では、運動中は全てのリンパ球サブセットの濃度が上昇した（図 4）。CD 16⁺ 細胞濃度の増加が最も大きく、次いで CD 8⁺ 細胞、CD 4⁺ 細胞、CD 19⁺ 細胞であった。コルチゾール非分泌群においても、これらリンパ球サブセットの濃度は程度は小さいが上昇する傾

表 1. コルチゾール分泌群と非分泌群の身体特性および自転車エルゴメーター運動

測定項目	分泌群 (13名)	非分泌群 (8名)
年齢 (歳)	21.2±0.7	20.0±0.7
身長 (cm)	172.2±1.5	172.1±2.4
体重 (kg)	66.8±2.9	59.0±1.5
BMI (kg/m^2)	22.6±1.1	20.0±0.7
7部位皮脂厚 (mm)	137±63	87±36
$\dot{V}O_{2\max}$ (ml/min/kg)	47.7±2.5	48.4±2.1
最大心拍数 (拍/分)	191±2	192±4
運動60分での仕事率 (watts)	116±5	102±4
運動60分での心拍数 (%最大心拍数)	81±2	83±2
運動60分での $\dot{V}O_2$ (% $\dot{V}O_{2\max}$)	64±1	64±1

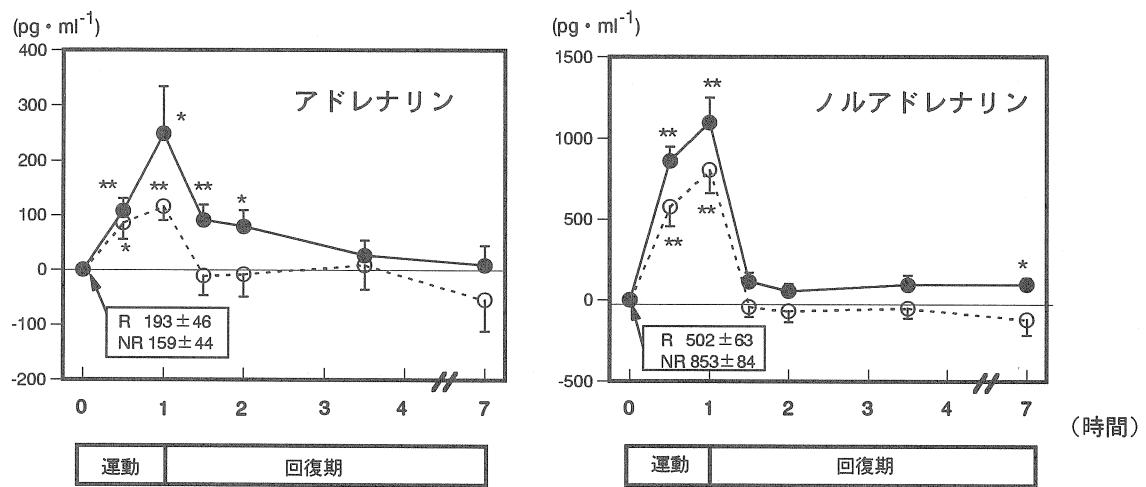


図2 運動に伴う血中catecholamineの分泌動態

R:コルチゾール分泌群(●), NR:コルチゾール非分泌群(○)。それぞれの前値に比較して, *, P<0.05, **, P<0.0083

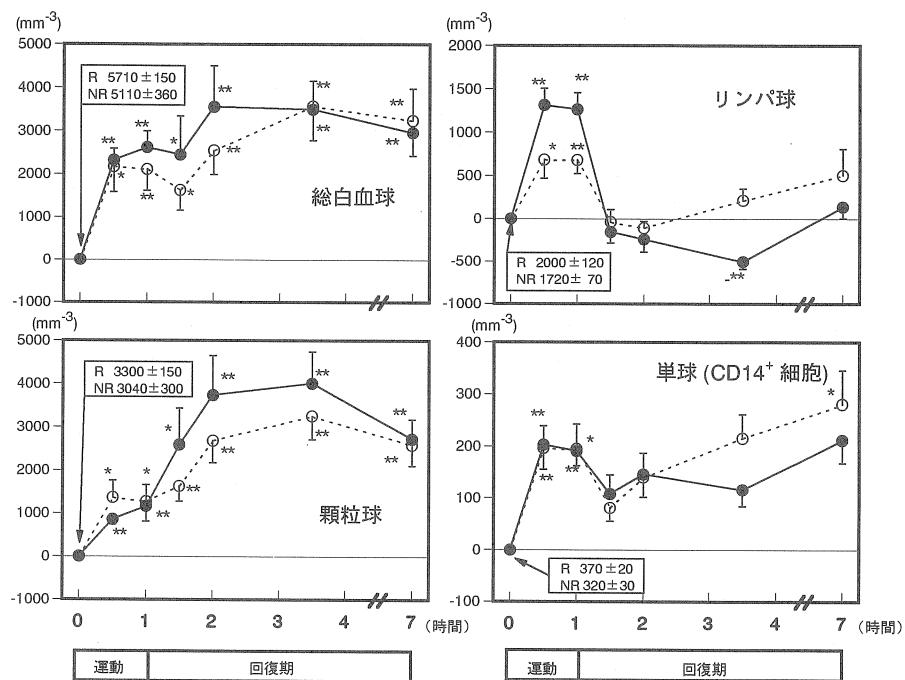


図3 運動に伴う末梢血液中の白血球および分画の濃度の変化

R:コルチゾール分泌群(●), NR:コルチゾール非分泌群(○)。それぞれの前値に比較して, *, P<0.05, **, P<0.0083

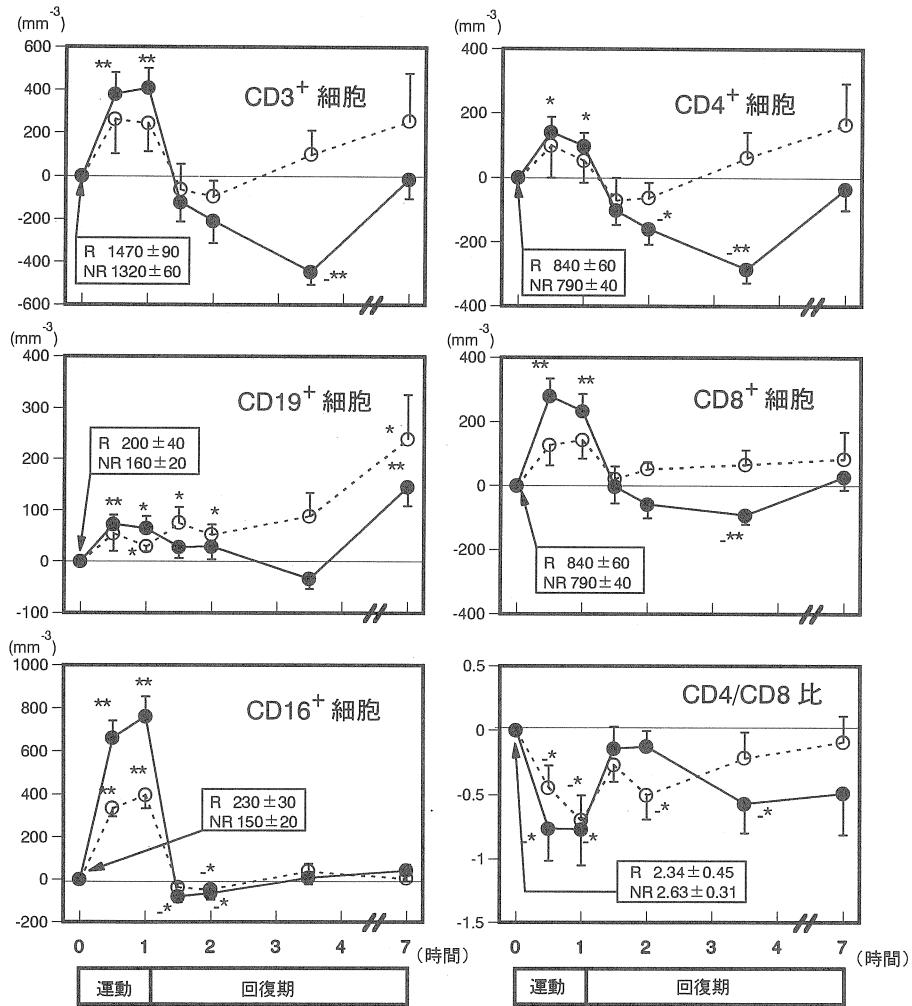


図4 運動に伴う末梢血液中のリンパ球サブセットの濃度の変化

R:コルチゾール分泌群(●), NR:コルチゾール非分泌群(○)。それぞれの前値に比較して, *, P<0.05, **, P<0.0083

向を見せた。

運動を中止すると、コルチゾール非分泌群では、CD 16⁺ 細胞を除くすべてのリンパ球サブセットの濃度は回復 30 分までにはそれぞれの前値にもどっていた。しかし、コルチゾール分泌群では、T 細胞 (CD 3⁺ 細胞) およびそのサブセット (CD 4⁺ および CD 8⁺ 細胞) は前値以下に低下し、回復 2.5 時間には非分泌群の値に比べて有意に低値であった。しかし、回復 6 時間には前値に

戻っていた。

一方、CD 19⁺ および CD 16⁺ 細胞濃度の運動後の変化は両群で有意差はなかった。CD 19⁺ 細胞濃度は回復期 30 分には前値に戻っていたが、その後次第に上昇し、回復 6 時間には前値よりも有意に高い値を示した。CD 16⁺ 細胞は回復期 30 分および 60 分では低下する傾向にあったが、回復期 2.5 時間には前値に戻っていた。

IV. 考察

本研究で用いた急性運動のプロトコールによって、コルチゾール分泌群と非分泌群の2群を区別することができた。この2群においては、被験者の身体特性、運動前の各種白血球濃度やホルモンレベルに有意な差はなかった。両群とも相対的には同強度の運動を行い、その運動に対する心拍数の反応に違いはなかった。ただ、コルチゾール分泌群は非分泌群に比べ、運動に対するアドレナリンの分泌反応がやや強かった。アドレナリンは末梢血液のリンパ球增多を引き起こす薬理作用をもつことから^{6,16,31)}、このことがコルチゾール分泌群でより運動中のリンパ球增多を認めた主たる原因であろう。

しかし、アドレナリンの血中濃度は両群とも運動中止後30分ではほぼ前値に回復しており、アドレナリンのリンパ球增多の薬理作用は短時間で消失する⁶⁾ことを考慮すると、運動に伴うアドレナリン分泌の影響は、運動後のリンパ球濃度には及ばないと考えられる。血中コルチゾールは、分泌群においては運動後ゆっくりと血中レベルが上昇し、運動60分あるいは回復30分でピークを迎える、回復60分で前値に回復していた。一方、非分泌群では運動に伴う上昇は見られず、回復期30分まで徐々に低下した後、ほぼ一定の値を維持していた。コルチゾールの薬理作用には30分程度の時間的な遅れがある^{10,29)}ことを考慮すると、運動によって分泌されたコルチゾールの作用による影響は、主に運動後の各種白血球濃度の変動に現れると考えるべきであろう。したがって、今回のコルチゾール分泌群と非分泌群の間で認められる運動後の各種白血球濃度の変動パターンの違いには、コルチゾール分泌の有無が密接に関連していると言える。

さて、両群でもっとも顕著にみられた差異は、運動後の全リンパ球および各サブセットの濃度の変化であった。コルチゾール分泌群のみに運動後2.5時間でのリンパ球濃度の低下がみられた。このリンパ球濃度の低下は主にCD3⁺T細胞によるものであり、CD3⁺T細胞内ではCD4⁺T細胞の低下の方が大きかったが⁶⁾、CD8⁺T細胞濃度

も有意に低下した。他方、運動後2.5時間の時点ではCD19⁺B細胞やCD16⁺NK細胞の濃度は前値とほぼ同じレベルであった。これらの結果は、すでに知られている副腎皮質ステロイドが末梢血液リンパ球濃度およびサブセットの分布に及ぼす薬理作用^{4,9)}と符合する。すなわち、今回の結果は、運動によってもたらされるコルチゾールの分泌が、運動後のT細胞を主体とするリンパ球濃度の低下を引き起こしていることを実証したものである。言い換えれば、運動後のリンパ球濃度の低下は、少なくとも部分的には、運動による血中コルチゾールレベルの上昇に依存すると言える。

一方、コルチゾール分泌群と非分泌群の両群において、ほぼ等しく運動後の顆粒球增多や運動直後のNK細胞濃度の低下が生じていたことは、これらの現象はコルチゾール分泌とは無関係であることを示すものである。従来、多くの論文はコルチゾールが運動後の顆粒球增多に寄与しているとしてきた。その理由は副腎皮質ステロイドを投与すると、ヒトでは末梢血液中に顆粒球增多とリンパ球減少が生じるからである。しかし、本研究は運動に伴うコルチゾール分泌の有無と運動後の顆粒球增多およびNK細胞濃度の減少とは直接的な因果関係がないことを明らかにした。成長ホルモンのような液性因子が運動と関連した顆粒球增多の起因物質である可能性が指摘されている¹⁵⁾が、現時点では運動後の顆粒球とNK細胞の濃度の変化を支配する液性因子は不明と言わざるえない。

副腎皮質ステロイドはリンパ球が血液循环に入ることを抑制し、逆に血液循环から出ることを促進することにより、血液中のリンパ球濃度の減少をもたらすとされている^{5,9)}。また、最近の研究⁷⁾によれば、副腎皮質ステロイドは血管内皮細胞に発現している接着分子であるELAM-1およびICAM-1の発現を修飾することによって、白血球の培養血管内皮への付着を制御していることが明らかになった。我々¹⁸⁾およびGabrielら¹³⁾も、循環白血球上のL-セレクチンや β_2 -インテグリンの一種であるLFA-1が運動後の顆粒球增多や、運動中、運動後のリンパ球サブセットの動員やホーミングに関与していることを見いだしている。

今後、接着分子の修飾におけるアドレナリンやコルチゾールの役割を解明することで、運動による末梢血液の各種白血球の変化の詳細なメカニズムを把握することができるだろう。

以上本研究によって、急性運動後の一過性免疫抑制のうち、T細胞を主体とするリンパ球濃度の低下は、コルチゾールによって引き起こされるものであることが明らかとなった。しかし、NK細胞濃度の低下はコルチゾール分泌とは無関係であった。これらのことから、コルチゾールの分泌を生じるような比較的激しい運動あるいは長時間の運動の場合は、コルチゾールの作用により運動後に一過性の免疫抑制状態が生じ、それが感染微生物に対する“open window”を形成する可能性が示唆される。

追記：本研究内容は、Int. J. Sports Med. にすでに発表した（17巻8号P.597-P.603, 1996年）。さらに、本年度の事業として、「急性運動後の一過性免疫抑制に与える運動トレーニングの影響」に関する実験を行ったが、これについては現在データを解析中である。

参考文献

- 1) Benschop, R. J., Oostveen, F. G., et al.: β_2 -adrenergic stimulation causes detachment of natural killer cells from cultured endothelium. Eur. J. Immunol., 23: 3242-3247, 1993.
- 2) Boxer, L. A., Allen, J. M., et al.: Diminished polymorphonuclear leukocyte adherence. Function dependent on release of cyclic AMP by endothelial cells after stimulation of β -receptors by epinephrine. J. Clin. Invest., 66: 268-274, 1980.
- 3) Bruce, R. A., Dusumi, F., et al.: Maximal oxygen intake and nomographic assessment of functional aerobic impairment in cardiovascular disease. Am. Heart J., 85: 546-562, 1973.
- 4) Chiappelli, F., Gormley, G. J., et al.: Effects of intravenous and oral dexamethasone on selected lymphocyte subpopulations in normal subjects. Psychoneuroendo-
- crinol., 17: 145-152, 1992.
- 5) Cox, J. H., Ford, W. L.: The migration of lymphocytes across specialized vascular endothelium. IV. Prednisolone acts at several points on the recirculation pathways of lymphocytes. Cell. Immunol., 66: 407-422, 1982.
- 6) Crary, B., Hauser, S. L., et al.: Epinephrine-induced changes in the distribution of lymphocyte subsets in peripheral blood of humans. J. Immunol., 131: 1178-1181, 1983.
- 7) Cronstein, B. N., Kimmel, S. C., et al.: A mechanism for the antiinflammatory effects of corticosteroids: The glucocorticoid receptor regulates leukocyte adhesion to endothelial cells and expression of endothelial-leukocyte adhesion molecule 1 and intercellular adhesion molecule 1. Proc. Natl. Acad. Sci., 89: 9991-9995, 1992.
- 8) Dill, D. B., Costill, D. L.: Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. J. Appl. Physiol., 37: 247-248, 1974.
- 9) Fauci, A. S.: Mechanisms of corticosteroid action on lymphocyte subpopulations. I. Redistribution of circulating T and B lymphocyte to the bone marrow. Immunology, 28: 669-680, 1975.
- 10) Fauci, A. S., Dale, D. C.: The effect of in vitro hydrocortisone on subpopulations of human lymphocytes. J. Clin. Invest., 53: 240-246, 1974.
- 11) Fitzgerald, L.: Exercise and the immune system. Immunol. Today, 9: 337-339, 1988.
- 12) Foster, N. K., Martyn, J. B., et al.: Leukocytosis of exercise: role of cardiac output and catecholamines. J. Appl. Physiol., 61: 2218-2223, 1986.
- 13) Gabriel, H., Brechtel, L., et al.: Recruitment and recirculation of leukocytes after an ultramarathon run: preferential homing of cells expressing high levels of the adhesion molecule LFA-1. Int. J. Sports Med., 15: S 148-S 153, 1994.
- 14) Hansen, J.-B., Wilsgaard, L., et al.: Biphasic changes in leukocytes induced by

- strenuous exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 62 : 157-161, 1991.
- 15) Hoffman-Goetz, L., Pedersen, B. K.: Exercise and the immune system: a model of the stress response? *Immunol. Today.*, 15 : 382-387, 1994.
- 16) Iversen, P. O., Stokland, A., et al.: Adrenaline-induced leucocytosis: recruitment of blood cells from rat spleen, bone marrow and lymphatics. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 68 : 219-227, 1994.
- 17) Kendall, A., Hoffman-Goetz, L., et al.: Exercise and blood lymphocyte subset responses: intensity, duration, subject fitness effects. *J. Appl. Physiol.*, 69 : 251-260, 1990.
- 18) Kurokawa, Y., Shinkai, S., et al.: Exercise-induced changes in the expression of surface adhesion molecules on circulating granulocytes and lymphocyte subpopulations. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 71 : 245-252, 1995.
- 19) Maruta, K., Fujita, K., et al.: Liquid chromatography of plasma catecholamines, with electrochemical detection, after treatment with boric acid gel. *Clin. Chem.*, 30 : 1271-1273, 1984.
- 20) Muir, A. L., Cruz, M., et al.: Leukocyte kinetics in the human lung: role of exercise and catecholamines. *J. Appl. Physiol.*, 57 : 711-719, 1984.
- 21) Nieman, D. C.: Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 26 : 128-139, 1994.
- 22) Nieman, D. C., Miller, A. R., et al.: Effect of high-versus moderate-intensity exercise on lymphocyte subpopulations and proliferative response. *Int. J. Sports Med.*, 15 : 199-206, 1994.
- 23) Pedersen, B. K.: Influence of physical activity on the cellular immune system: mechanisms of action. *Int. J. Sports Med.*, 12 : S 23-S 29, 1991.
- 24) Pedersen, B. K., Ullum H.: NK cell response to physical activity: possible mechanisms of action. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 26 : 140-146, 1994.
- 25) Peters, E. M., Bateman, E. D.: Ultramarathon running and upper respiratory tract infections. *S. Afr. Med. J.*, 64 : 582-584, 1983.
- 26) Pober, J. S., Slowik, M. R., et al.: Elevated cyclic AMP inhibits endothelial cell synthesis and expression of TNF-induced endothelial leukocyte adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1, but not intercellular adhesion molecule-1. *J. Immunol.*, 150 : 5114-5123, 1993.
- 27) Shek, P. N., Sabiston, B. H., Buguet, A., Radomski, M. W.: Strenuous exercise and immunological changes: A multiple-time-point analysis of leukocyte subsets, CD 4/CD 8 ratio, immunoglobulin production and NK cell response. *Int. J. Sports Med.*, 16 : 466-474, 1995.
- 28) Shinkai, S., Shore, S., Shek, P. N., Shephard, R. J.: Acute exercise and immune function - Relationship between lymphocyte activity and changes in subset counts. *Int. J. Sports Med.*, 13 : 452-461, 1992.
- 29) Tønnesen, E., Christensen, N. J. et al.: Natural killer cell activity during cortisol and adrenaline infusion in healthy volunteers. *Eur. J. Clin. Invest.*, 17 : 497-503, 1987.
- 30) Tvede, N., Kappel, M., et al.: The effect of light, moderate and severe bicycle exercise on lymphocyte subsets, natural and lymphokine activated killer cells, lymphocyte proliferative response and interleukin 2 production. *Int. J. Sports Med.*, 14 : 275-282, 1993.
- 31) Tvede, N., Kappel, M., et al. Evidence that the effect of bicycle exercise on blood mononuclear cell proliferative responses and subsets is mediated by epinephrine. *Int. J. Sports Med.*, 15 : 100-104, 1994.
- 32) Van Tis, L. J. H., Michel, M. C., et al.: Catecholamines increase lymphocyte β_2 -adrenergic receptors via a β_2 -adrenergic, spleen-dependent process. *Am. J. Physiol.*, 258 : E 191-E 202, 1990.

3) スポーツ選手の口腔内局所免疫能の評価に関する研究 －唾液採取の実施上の問題点－

報 告 者 赤間 高雄¹⁾

研究協力者 秋本 崇之¹⁾ 林 栄輔¹⁾ 龍野美恵子¹⁾
杉浦 弘一¹⁾ 天野 和彦²⁾ 香田 泰子²⁾

1. 目的

上気道感染症（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、スポーツ選手のコンディションの維持には上気道感染症（風邪）の予防が必要である。上気道感染症（風邪）の感染防御には口腔内局所免疫が重要な役割を果たしている。唾液は口腔内局所免疫を担う主要な因子であり、唾液中には分泌型 Immunoglobulin A (secretory IgA ; sIgA) などが含まれている。唾液を検体とすることによって、口腔内局所免疫能を評価することができると考えられる。唾液中 sIgA は過度の運動によって減少することが報告されており、過度の運動後に上気道感染症に罹患しやすい要因の1つとなっている可能性がある²⁾³⁾。また、唾液は比較的容易に採取できるため、スポーツ現場への応用も十分可能と考えられる。

唾液を採取すること自体は容易であるが、採取時の様々な条件によって唾液の成分が変化しやすいため、再現性の高い検体として採取するには様々な注意を払う必要がある。昨年、我々は採取時の条件を検討し、詳細な手順を定めることによって再現性の高い唾液採取法を確立することができた¹⁾。しかし、検体の再現性を高めるために唾液採取時の手順をかなり詳細に規定せざるを得なかつたため、スポーツ現場でこの唾液採取法を利用するためには、細かに定めた手順が実際に多数の対象者に対して実施可能かどうかを検討する必要がある。そこで、今回はスポーツ現場での唾液採取の実施上の問題点を明らかにすることを目的として、多数の対象者に対して唾液採取を行つ

た。また、対象者に対して唾液採取法に関するアンケート調査を行い、唾液採取法の印象、および採取法の各手順の問題点・改善点を検討した。

2. 方法

(1) 対象

寒稽古に参加した大学剣道部員の 34 名（男性 25 名、女性 9 名）を対象とした。

(2) 唾液採取

10 日間連続で早朝（午前 5 時から午前 7 時）に行われる寒稽古期間の開始前日の午後 5 時から午後 6 時、および最終日の午後 5 時から午後 6 時に唾液を採取した。

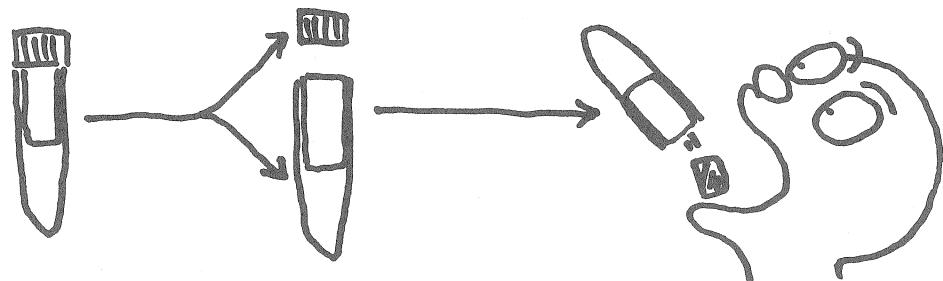
唾液採取方法は以前報告した方法を用いた¹⁾（図 1）。まず、蒸留水 30 ml で 3 回、口腔内を十分にゆすぎ、その後口腔内の水分を吐き出させた（写真 1）。5 分間の座位安静後、口腔内に貯留した唾液を嚥下し、その後、無味の滅菌綿（SALIVETTE : SARSTEDT 社 製）（写真 2）を、60 秒間に 60 回咀嚼することによって、新たに分泌された口腔内に貯留した唾液を綿に吸いとらせて唾液を採取した（写真 3, 4, 5, 6）。

対象者に対しては、唾液採取前 2 時間は水分摂取は自由だが、固体物の摂取はできるだけ控えるようにあらかじめ依頼した。初回の唾液採取時（寒稽古の開始前日）に唾液採取手順についての説明用紙（図 1）を配布し、実際の採取容器を用いて、唾液採取操作を口頭で説明した。採取操作の練習として、口をゆすがずに SALIVETTE を用いて 30 秒間程度の咀嚼の練習を 1 回行った。練習後 15 分間以上の間隔をあけて唾液を採取した。今回の研究では、多数の対象者に対して正確に採取させるために、メトロノームに合わせて咀嚼させた。試料は採取後直ちに 3000 rpm, 5 分

1) 筑波大学 2) 筑波技術短期大学

唾液の採取法（被験者用）

- ① コップに用意してある水を口に含んで、30秒間、充分に口をゆすぐ（歯磨きの後するように）。
- ② ①の操作を3回繰り返す。
- ③ 座った状態で5分間、安静を保つ。
- ④ 口に溜まった唾液を飲み込んだ後、採取容器の最上部のキャップを外し、容器を逆さまにして中の綿を口の中にいれる。



- ⑤ メトロノームの音に合わせて、1分間に60回、綿を噛む。
- ⑥ 口に溜まった唾液を綿に吸い取らせるようにして、綿に手を触れず
に、容器の中に戻す。
- ⑦ 容器に名前を書いて提出する。

【注意】

口の中をゆすぐ操作は充分に行ってください。

綿を噛む力は一定にするよう心掛けてください。

採取操作は話をせず行ってください。

分からることは遠慮せずに質問してください。

図1 唾液採取法説明用紙

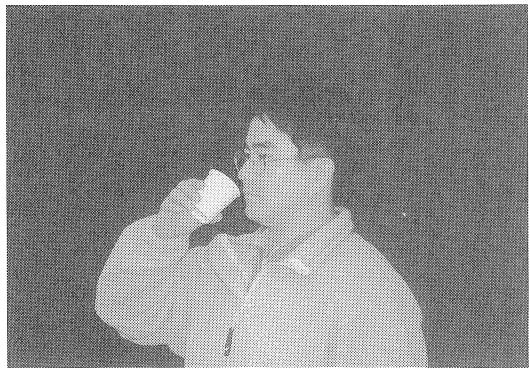


写真1 口腔内洗浄



写真4 SALIVETTEの綿を口に入る。

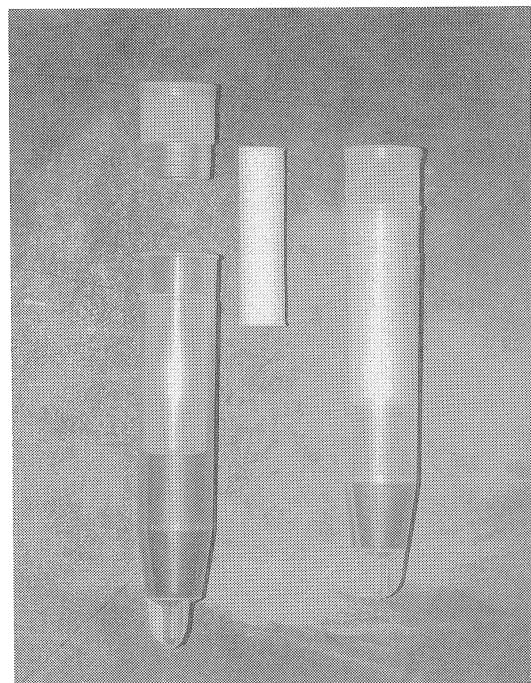


写真2 SALIVETTE: SARSTEDT社製

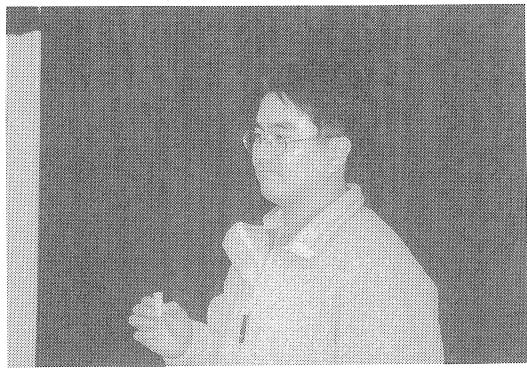


写真5 SALIVETTEの綿を繰り返し噛む。

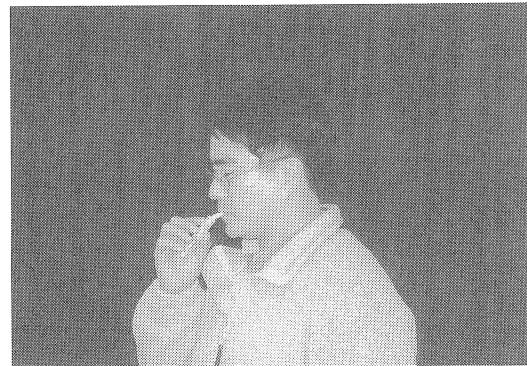


写真6 口腔内の唾液をできるだけ綿に吸収させてから容器に戻す。

間遠心して唾液を回収し、分注して -80°C で凍結保存した。

(3) 採血

唾液採取時に末梢静脈から採血を行った。

(4) sIgA 濃度測定

唾液中の sIgA は ELISA 法で測定した¹⁾。マイクロプレート (IMMULON-2: DYNATECH

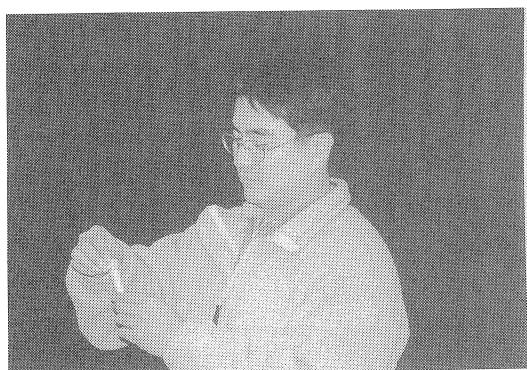


写真3 SALIVETTEの蓋を開ける。

社製)に抗ヒトセクレタリーコンポーネント抗体(MBL社製)を固相化し、1%bovine serum albumin(BSA)を含むphosphate buffered saline(PBS)でブロッキングした。凍結保存してある測定試料を37°Cで融解し10000 rpmで5分間遠心した後、その上清を1%BSAを含むPBSで希釈し、標準物質としてヒト sIgA(ORGANON TEKNIKA製)を同様に調製して、各々ウェルに加えて反応させた。0.05%Tween-20を含むPBSで3回洗浄し、ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgA抗体(MBL社製)を1%BSAを含むPBSで1000倍に希釈した溶液を反応させ、洗浄後、0.43 mg/mlのo-phenylenediamineを含む基質反応液を反応させた。4 N硫酸で反応を停止し、490 nmの吸光度を測定し、ヒト sIgAを標準とした検量線から試料の sIgA濃度を求めた。

(5) 唾液採取の対象者に対するアンケート調査
最後の唾液採取終了後の4日目にアンケート用紙(図2)を用いて、唾液採取方法に対する感想を調査した。調査は、唾液採取全体、唾液採取の各手順、および採血と唾液採取との比較について行った。また、唾液採取の各手順については、対象者として改善してほしい点を記載してもらつた。

3. 結果

(1) 唾液採取の実施

唾液の採取は採血などと併行して行ったため、対象者は2~8人のグループに分かれて唾液が採取された。場所の一角にイスを横に列べ、前方に1人の指導者が立ち、メトロノームをおいた。対象者は順次、口腔を蒸留水でゆすいだ後、イスで座位安静をとらせた。グループ内全員が5分間以上の座位安静をとった後に、指導者の合図で一斉に唾液採取を開始し、指導者のかけ声とメトロノームに合わせて60秒間咀嚼し、一斉に咀嚼を終了した。1グループが唾液採取終了後に交代して、次のグループが唾液を採取した。全グループに対して同一の指導者が指導した。

(2) 唾液 sIgA 濃度

対象者34名(男性25名、女性9名)のうち5

名(男性3名、女性2名)は傷害により当初から練習には参加していない。また、寒稽古期間中の外傷により女性1名が練習への参加を中止したので、それらの6名を除いた28名(男性22名、女性6名)の検体の唾液 sIgA濃度を測定した。

唾液 sIgA濃度は、寒稽古開始前日が38.9±19.2 μg/mlで、最終日が31.4±16.9 μg/mlであり、有意に減少した(対応のあるt検定、p<0.01)(図3)。

(3) 唾液採取に関するアンケート調査

アンケートは28名に配布し、無効な回答1名分を除いて27名分(男性19名、女性8名)の回答を分析した。

唾液採取全体に対する印象は、「わるい」、「どちらでもない」、「よい」と答えた者はそれぞれ7名、17名、2名であった(図4)。唾液採取の手順については、採取前に食事ができないことについて「わるい」、「どちらでもない」、「よい」と答えた者はそれぞれ2名、16名、3名であった。2名が「空腹になつたら困る。」と記載した。唾液採取法の説明について「わるい」、「どちらでもない」、「よい」と答えた者はそれぞれ1名、5名、21名であった。唾液採取法の説明用紙について「わるい」、「どちらでもない」、「よい」と答えた者はそれぞれ0名、12名、15名であった。口をゆすぐ操作について「わるい」、「どちらでもない」、「よい」と答えた者はそれぞれ2名、7名、18名であった。座位安静5分間について「わるい」、「どちらでもない」、「よい」と答えた者はそれぞれ6名、9名、12名であった。3名が安静に対して「面倒だ。時間が長い。」と不満を記載し、「安静にする意味が不明だ。」「時間ががない場合に困る。」と答えた者が1名ずついた。メトロノームに合わせて噛むことについて「わるい」、「どちらでもない」、「よい」と答えた者はそれぞれ2名、9名、16名であった。2名が「頬が疲れる。」と記載した。唾液の採取容器については「わるい」、「どちらでもない」、「よい」と答えた者がそれぞれ2名、12名、12名であった(図5)。1名が「容器が透明で気持ちが悪い。」と答えた。

採血と唾液採取との比較については、採血は「我慢できない」、「どちらでもない」、「我慢でき

唾液採取についての感想

今回は唾液採取に御協力いただきまして誠にありがとうございました。今後の改善に向けての参考とさせていただきますので、唾液採取について感想をおうかがいします。該当するものに○をつけてください。また、「わるい」と答えた方は〔 〕内に具体的に悪い点を書いてください。

(1)唾液採取全体の印象はどうでしたか？ わるい どちらでもない よい

(2)唾液採取操作の手順についておうかがいします。

①採取前に食事ができないことは？ わるい どちらでもない よい

具体的に悪い点：〔 〕

②唾液採取法の説明は？ わるい どちらでもない よい

具体的に悪い点：〔 〕

③唾液採取法の説明用紙は？ わるい どちらでもない よい

具体的に悪い点：〔 〕

④口をゆすぐ操作は？ わるい どちらでもない よい

具体的に悪い点：〔 〕

⑤座って安静5分間は？ わるい どちらでもない よい

具体的に悪い点：〔 〕

⑥メトロノームに合わせて噛むことは？ わるい どちらでもない よい

具体的に悪い点：〔 〕

⑦唾液の採取容器は？ わるい どちらでもない よい

具体的に悪い点：〔 〕

(3)採血と唾液採取についておうかがいします。

①採血は？ 我慢できない どちらでもない 我慢できる

②唾液採取は？ 我慢できない どちらでもない 我慢できる

③採血と唾液採取を比べて 採血がよい どちらでもない 唾液採取がよい

名前：_____ 年齢：__歳 性別： 男・女

ご協力ありがとうございました。

図2 唾液採取についてのアンケート用紙

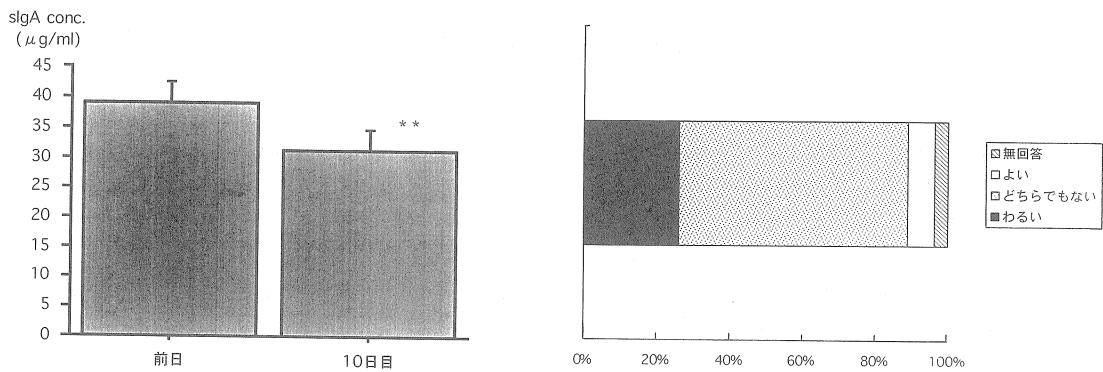


図3 剣道寒稽古前日と10日目（最終日）での唾液中 sIgA 濃度の変動

** : $p < 0.01$

図4 唾液採取操作全体の印象

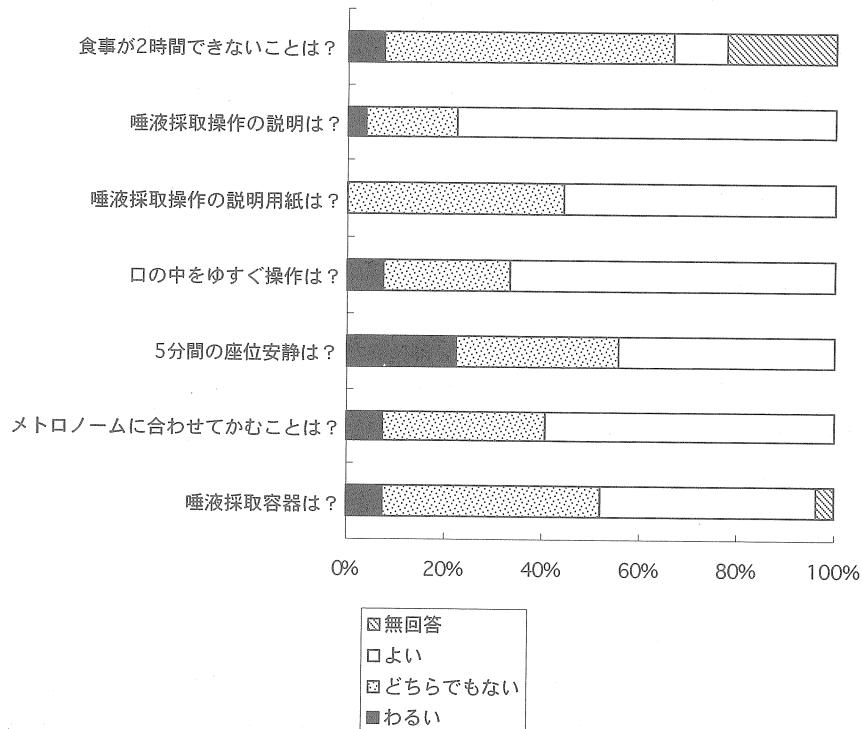
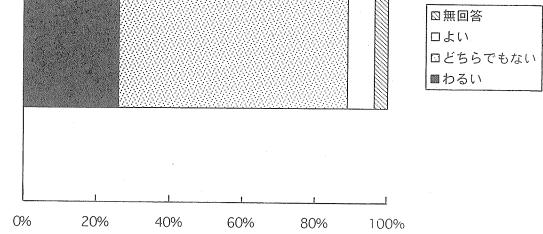


図5 唾液採取操作各手順の印象

る」と答えた者はそれぞれ11名、5名、11名であった。唾液採取は「我慢できない」、「どちらでもない」、「我慢できる」と答えた者はそれぞれ1名、5名、21名であった（図6）。採血と唾液採取を比べて「採血のほうがよい」、「どちらでもない」、「唾液採取のほうがよい」と答えた者はそれ

ぞれ5名、3名、19名であった（図7）。

4. 考察

唾液 sIgA 濃度は、寒稽古開始前日に比して最終日は有意に減少した。これは、比較的激しい運動によって唾液 sIgA 濃度が減少するという従来

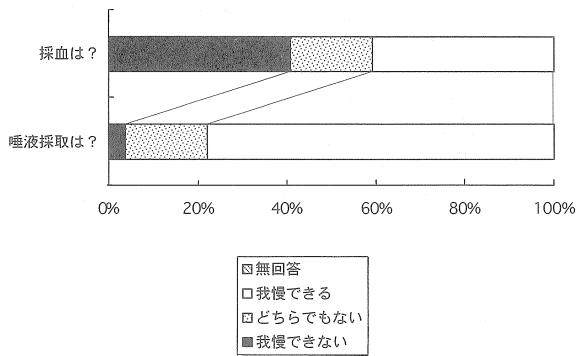


図 6 採血と唾液採取に対する感想

の報告に矛盾しない結果であった。

唾液採取全体の印象について約 1/4 の者が「わるい」と答えた。しかし、唾液採取の各手順については「わるい」と答えた者は少數であった。したがって、唾液採取全体についての印象が悪い者がいた原因としては、採取の操作手順自体の問題以外に、唾液そのものが清潔なイメージを欠いていることが考えられる。これは唾液採取の目的をさらに説明することによって改善してくることが期待される。唾液採取操作手順のなかでは、座位安静の 5 分間が被験者にとって印象が悪かった。これは退屈なことが主な原因になっていると思われ、実施方法に改善の余地があると考えられた。

採血については「我慢できない」、「我慢できる」と答えた者は半々で、被験者の 41% が採血されることに「我慢できない」と答えていた。これに対し、唾液採取を「我慢できない」と答えた者は 1 名であり、唾液採取自体はほとんどの被験者が「我慢できる」と考えていることが明らかとなった。採血と唾液採取を比べて、大部分の者は採血よりも唾液採取のほうがよいと答えた。「採血のほうがよい」と答えた者が 5 名いたが、「採血のほうがよい」と答えた者は全員が、採血も唾液採取も「我慢できる」と答えていた。

今回の研究により、我々の唾液採取方法は比較的多数の対象者に対してスポーツの現場で実施可能であることがわかった。

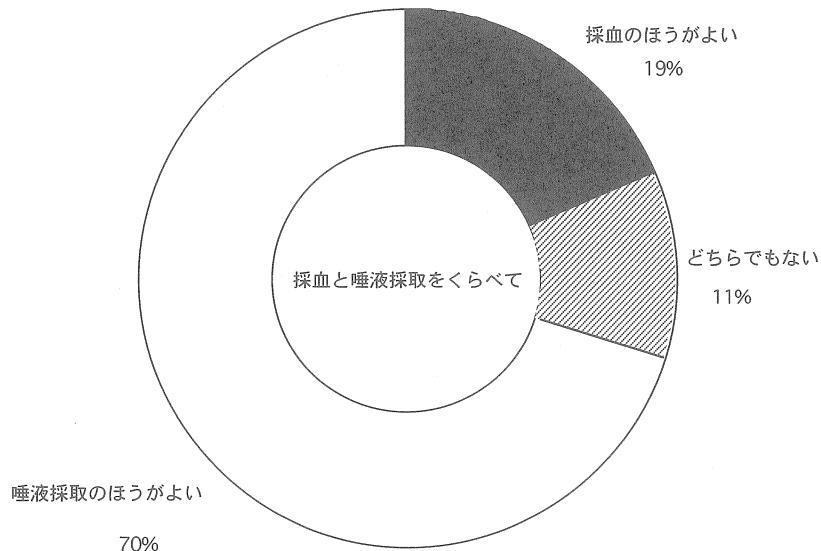


図 7 採血と唾液採取との比較

参考文献

- 1) 赤間高雄, 秋本崇之: スポーツ活動が口腔内局所免疫能に与える影響—唾液採取法の検討—, 平成 7 年度 日本体育協会スポーツ医・科学的研究報告 No. IX スポーツ活動が免疫に与える影響に関する研究—第 2 報—, 7-17, 1996.
- 2) 赤間高雄, 秋本崇之: 急性および慢性のスポーツ活動による液性免疫の変化. 平成 6 年度日本体育協会スポーツ医・科学的研究報告 No. IX スポーツ活動が免疫に与える影響に関する研究—第 1 報—, 13-20, 1995.
- 3) 赤間高雄: 運動に伴う免疫機能の変化. Medical Technology, 24, 996-998, 1996.

平成 8 年度 日本体育協会スポーツ医・科学研究報告

No.VI ジュニア期におけるスポーツ活動と防衛体力に関する研究—第 1 報—

◎発行日：平成 9 年 3 月 31 日

◎編集者：河野一郎（ジュニア期におけるスポーツ活動と防衛体力に関する研究班・班長、筑波大学）

◎発行者：財団法人日本体育協会（〒150-50 東京都渋谷区神南 1-1-1）

◎印 刷：三美印刷㈱

* 本研究は国庫補助を受けて実施したものである
