

日常生活における高レベルの身体活動が中高齢者の 免疫機能に及ぼす影響

The effect of daily high levels of physical activity on immune function in elderly people

清水和弘¹⁾, 木村文律¹⁾, 田辺匠²⁾, 小林大祐¹⁾,

秋本崇之³⁾, 赤間高雄⁴⁾, 河野一郎¹⁾

Kazuhiro Shimizu¹⁾, Fuminori Kimura¹⁾, Takumi Tanabe²⁾, Daisuke Kobayashi¹⁾,

Takayuki Akimoto²⁾, Takao Akama⁴⁾, Ichiro Kono¹⁾

¹⁾ 筑波大学大学院人間総合科学研究科

²⁾ 板橋区立高島第二中学校,

³⁾ 東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター,

⁴⁾ 早稲田大学スポーツ科学学術院

¹⁾ Department of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba,

²⁾ Itabashi-Kuritsu Takashima 2nd Junior High School,

³⁾ Division of Biomedical Materials and Systems,

Center for Disease Biology and Integrative
Medicine, Faculty of Medicine, The University of Tokyo,

⁴⁾ Faculty of Sport Sciences, Waseda University

キーワード: 中高齢者, 身体活動, SIgA, T 細胞

Key words: elderly, physical activity, SIgA, T cell

抄 録

【目的】本研究では, 中高齢者を対象として高レベルの身体活動が口腔内局所粘膜免疫能および全身免疫能に及ぼす影響を検討すること。

【方法】1~1.5 時間のランニングを週3~5 回行うランニングクラブの中高齢ランナー11名 (RUN 群, 57.8 ± 6.0 歳) と運動習慣の無い中高齢者12 名 (CON 群, 62.5 ± 3.9 歳) を対象とした。安静時に唾液と血液を採取し, 唾液分泌型免疫グロブリンA (SIgA) をELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) 法, 血中リンパ球サブセット (T, Th, Tc, NK およびCD28+ Th 細胞) 細胞数をFACS (Fluorescence activated cell sorter) により測定した。日常の身体活動量について, 歩数, エネルギー消費量 (EE) および4 段階の活動レベル (inactive, light, moderate, hard) における活動時間を, 簡易身体活動量測定器により測定した。

【結果】身体活動に関する項目について, RUN 群 (歩数: 15,637 ± 1,725 step/day, EE: 543 ± 90 kcal/day) はCON 群 (歩数: 6,610 ± 821 step/day, EE: 178 ± 32 kcal/day) に比べ有意に高値を示し

た($p < 0.01$). hard レベル(5.2METs 以上)の身体活動では, RUN 群(32.5 ± 6.3 min/day)はCON 群(1.28 ± 0.40 min/day)に比べ有意に高い値を示した($p < 0.01$).

SIgA 分泌速度について, RUN 群はCON 群に比べ有意に低値を示した($p < 0.01$). RUN 群の CD28+Th 細胞数は, CON 群に比べて有意に低値を示し($p < 0.05$), Th 細胞は低い傾向を示した($p = 0.053$). T 細胞, Tc 細胞およびNK 細胞は, 両群間に有意な差は認められなかった.

【結論】 高い身体活動レベルの中高齢者は、運動習慣の無い中高齢者と比べて、唾液中SIgA レベルおよび血中CD28 発現Th 細胞が低値を示した。

スポーツ科学研究, 5, 19-33, 2008 年, 受付日:2007 年 8 月 30 日, 受理日:2008 年 3 月 12 日

連絡先: 清水和弘 筑波大学大学院人間総合科学研究科

〒305-8574 茨城県つくば市天王台1-1-1 TEL/FAX: 029-853-2656

E-mail: shimikazu@med.taiiku.tsukuba.ac.jp

I. 序論

加齢とともに免疫機能は低下し, 感染症や悪性腫瘍, 自己免疫疾患等の疾患を招くと考えられている(Nieman et al., 1993). 特に, カゼやインフルエンザ等は上気道感染症

(Upper-respiratory tract infection: URTI)と呼ばれ, 中高齢者において一般的且つ深刻な疾患とされている(Houston et al., 1977). URTI は肺炎を招き, 肺炎による死亡者数は 60 歳代の中高齢層より急増することが報告されており(人口動態統計2004), 中高齢者における感染症への抵抗性は, 若齢者と比べて低いと考えられている.

免疫系は, 局所粘膜免疫能と全身免疫能に大別される. 局所粘膜免疫能は, 主に病原体の粘膜下への侵入を防ぐ機能を示し, 全身免疫能は, 免疫系の調節と侵入した病原体の排除に機能する.

唾液中に存在する分泌型免疫グロブリンA (Secretory immunoglobulin A: SIgA)は, 口腔内局所粘膜免疫能における主要なエフェクターであり, 病原体の粘膜下への侵入を防ぐ役割がある(Lamm et al., 1995). 従ってSIgA レベルの低下は, 病原体の侵入を容易にし, URTI への罹患リスクが高まると考えられている(Gleeson et al., 1999). しかし, 唾液中SIgA分泌は加齢とともに低

下することから, 中高齢者におけるURTI への易感染性の原因として考えられている(Miletic et al., 1996; Tanida et al., 2001).

T 細胞は全身免疫能の中心的役割を果たしており, ヘルパーT(T-helper: Th)細胞と細胞傷害性T(T-cytotoxic: Tc)細胞のサブセットが存在する. Th 細胞は主に免疫応答の調節, Tc 細胞は主に異物の排除の機能を有する. しかし, 加齢とともにTh 細胞およびTc 細胞の細胞数の減少や機能の低下が報告されている(Utsuyama et al., 1992; Vallejo, 2005). T細胞機能の加齢現象として最も顕著な変化の一つに, CD28 受容体発現の減少があげられる(Vallejo, 2005). CD28 はT 細胞表面上に恒常的に発現しており, 抗原提示細胞からの共刺激シグナルがCD28 を介してT 細胞に伝わることで, サイトカイン産生が促進し, T 細胞の活性化を誘導することから, CD28 はT 細胞の分化・増殖に関わる重要な受容体である(Bian et al., 2005; Lenschow et al., 1996). しかしながら, 加齢に伴いCD28 発現は減少することから(Vallejo, 2005), 中高齢者におけるT 細胞の活性が低下すると考えられている. CD28 が発現していないT 細胞(CD28^{null}T 細胞)は, 自己免疫疾患患者(Effros, 2000)において確認され, またCD28 発現の低下によってURTI に対

する易感染性が示されている(Beck et al., 2003). Th 細胞は, 病原体への反応において中心的な役割を持つ細胞であり(Walzer et al., 1977; 1989), Th 細胞の選択的な減少によってURTI 罹患が高まることが示されている(Harmsen and Stankiewicz, 1990). 感染症に対する易感染性は主にTh 細胞の細胞数や機能によって評価されており, 例えば, HIV 感染者における肺炎への感染リスクの評価として, 血中Th 細胞数が200 cells/ μ l を下回る場合は肺炎の発症の危険性があるとされている(Stansell et al., 1997). またTh 細胞数が正常であったとしても, CD28 発現の無いTh 細胞が多い場合は, 肺炎による易感染性を示すことから(Beck et al., 2003), Th 細胞やCD28 発現Th 細胞の細胞数の観察は免疫機能の評価として有用な指標である. 加齢に伴うTh 細胞やCD28 発現Th 細胞の減少は, 中高齢者において頻発するURTI や自己免疫疾患の罹患の原因として考えられる.

近年, 身体活動が免疫系に及ぼす影響について多くの関心が寄せられており, 特に身体活動の強度や時間の違いが免疫機能や感染症罹患に対して異なる影響を及ぼすことが報告されている(Pedersen and Hoffman-Goetz, 2000). Nieman et al.(1990;1993)は, 運動習慣の無い低レベルの身体活動量の者と比較して, 中等度強度・適度な時間の中等度レベルの身体活動量を維持する者の感染症罹患リスクは低く, 一方で高強度・長時間の高レベルの身体活動量を維持する者の罹患リスクは高いという“J-shaped モデル”を提唱している. この身体活動と感染症罹患の関係は, 他の先行研究においても示されている(Kostka et al.,2000; Matthews et al., 2002; Nieman et al., 1990). 我々は先行研究において, 中等度の運動トレーニング(エアロバイクによる持久性および自重負荷による抵抗性の複合トレーニング)による中高齢者のSIgA レベルの増加

(赤間ら, 2005; Akimoto et al., 2003), 血中Th細胞やCD28 発現Th 細胞の増加(小泉ら, 2003; Shimizu et al., unpublished data)を示した. また我々は, 3 ヶ月間の中等度ウォーキング(80% VT 強度)の介入によっても中高齢者のSIgA レベルが増加することを示した(Kimura et al., 2006). これより, 中等度のウォーキングやエアロバイク, 自重負荷による抵抗性トレーニング等によって中高齢者の口腔内局所粘膜免疫能および全身免疫能が高まる可能性が考えられる.

ウォーキングの様な歩行活動は, 簡便でポピュラーな身体活動であり, 目標値の設定が容易で, その目標値に対する達成度の把握も容易である. アメリカスポーツ医学会(The American College of Sports Medicine: ACSM)とアメリカ疾病対策センター(Centers for Disease Control and Prevention: CDC)は身体活動のガイドラインとして, 1 日30 分以上の中等度レベルの運動を勧めており(Pate et al., 1995; U.S. Department of Health and Human Services, 1996), この運動量は, 中高齢者において約3,400 step に相当することが示されている(Tudor-Locke et al., 2002). さらに健康・体力づくり事業財団(Japan Health Promotion and Fitness Foundation: JHPFF)は, 70 歳以上の高齢者に対する歩数のガイドラインとして1日当たり男性6,700 step/day 以上, 女性5,900 step/day 以上を提示している(国民栄養調査2002). 先の研究において我々は, 中高齢者の免疫機能に有効な身体活動量を検討するため, 日常生活における身体活動(意識的な運動以外にも家事や仕事等において生じる活動量も含む)と唾液中SIgA の関係を調べた. その結果, 1 日約7,000 step/day を維持する中高齢者は1 日約3,000 step/day を維持する中高齢者に比べてSIgA レベルが高いことが示された(Shimizu et al., 2007). これより, 中高齢者の口腔内局所粘膜免疫能の改善に有効な身体活動量として1 日

約7,000 歩という値が示された (Shimizu et al., 2007).

近年, 健康に対する興味・関心の高まりから, 中高齢者の運動参加の機会が増加している. 特にランニングやジョギング, マラソンは, 幅広い世代においてポピュラーな種目であり, 中高齢者においても実施者が多い種目である (レジャー白書 2006). 従って, 歩数による身体活動のガイドラインは, このような中高齢者に対して健康の維持・増進に有効な目標値として提示できる有用な方法であると考えられる. しかし, これまでの身体活動のガイドラインに上限値は定められていない. 先行研究において, 高強度・長時間の高レベルの身体活動を行うことによって免疫機能が低下する可能性が示されている. 若齢者を対象とした先行研究では, 高強度・長時間の自転車運動によって唾液SIgA レベルが低下することや (Mackinnon et al., 1987), 日常の身体活動レベルが高い競技選手の安静時SIgA レベルは運動習慣の無い者と比べると低値を示すと報告されている (Levando, 1988; Tomasi et al., 1982) また, 若齢者のフルマラソン実施後に, 唾液SIgA レベルの低下や (秋本ら, 1998a), 白血球数およびT細胞数の減少 (Castell et al., 1997) が報告され, マラソンランナーの安静時の白血球数や好中球数は運動習慣の無い者と比べて低い傾向にあることが示されている (Nieman et al., 1995). これまで, 中高齢者を対象とし, 高レベルの身体活動が免疫機能に及ぼす影響を検討した研究は無く, 明確な見解は得られていない. これを明らかにすることによって, 身体活動ガイドラインの上限値の設定に役立つと考えられる. 若齢者に比べて免疫機能が低い中高齢者が身体活動を行う場合, 身体活動量の上限値を把握しておくことによって免疫機能の低下を防ぐことが可能となる. また上限値を提示することによって, 運動プログラムの設定や免疫機能の低下を未然に防ぐためのコンデ

ィショニングの実施に役立つ.

従って本研究では, 身体活動レベルが高い中高齢者と運動習慣の無い中高齢者を対象として, 高レベルの身体活動が口腔内局所粘膜免疫能および全身免疫能に及ぼす影響を検討することを目的とした.

II. 方法

1. 対象

対象は, ランニングクラブに所属する中高齢ランナー11名 (RUN 群; 男性8名, 女性3名) および運動習慣の無い中高齢者12名 (CON 群; 男性6名, 女性6名) とした. RUN群は, 1時間~1時間30分のランニングトレーニングを週3~5回実施していた. 対象者の中に, 服薬, 喫煙および過度な飲酒習慣, 測定日3か月以内における感染症罹患, アレルギー疾患, 高血圧, 糖尿病の疾患を持つ者はいなかった. 対象者に対して, 事前に研究の主旨, 実験方法, 起こりうる危険性および参加の任意性について説明し, 文書による参加の同意を得た. 本研究は「ヘルシンキ宣言」の趣旨に従い, 且つ「筑波大学大学院人間総合科学研究科研究倫理審査委員会」の承諾を得て実施した.

2. 測定項目

唾液および血液の採取は, 朝8時30分~9時30分の間に行った. 対象者は, 前日の運動および夜9時以降の飲食を避け, 測定当日は朝食を摂取せずに測定に参加した.

1) 唾液採取およびSIgA 測定

唾液採取は, 先行研究 (秋本ら, 1998a; 1998b) において用いられた方法を実施した.

対象者は座位安静の状態ですべて蒸留水を用いて口腔内を30秒間×3回すすぎ, 5分間座位姿勢にて安静をとった. その後, 滅菌綿 (SALIVETTE,

SERSTED社, ドイツ)を60秒間に60回咀嚼し, 分泌された唾液を滅菌綿に吸収させ, 3,000 rpmで5分間遠心して滅菌綿から分離させることで唾液を回収した. 唾液サンプルは, 容量を測定した後, -40°Cで凍結保存した.

唾液SIgA濃度は, 先行研究(秋本ら, 1998a; 1998b)に従い, Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)法によって測定した. SIgA分泌速度(1分間あたりのSIgA分泌量; $\mu\text{g}/\text{min}$)は, 唾液分泌速度(1分間あたりの唾液分泌量; ml/min)とSIgA濃度($\mu\text{g}/\text{ml}$)の積より算出した.

2) 血液採取およびリンパ球分画測定

血液は, 座位安静の状態です肘正中静脈より4 ml 採取した. 採取した血液を2本のEDTA-2K加採血管(2 ml 用)に2 ml ずつ分注し, 4°Cにて保存した. そのうち1本(2 ml)を, (株)三菱化学メディエンスに依頼し, 多項目血球分析装置(SE-9000, シスメックス社, 神戸)を用いた白血球数および白血球分画の測定に使用した. もう1本の血液サンプル(2 ml)は, Fluorescence activated cell sorter (FACS; FACSCalibur, BD Biosciences 社, USA)によるリンパ球分画の分析に使用した. 全血染色法によるリンパ球分画の測定には, 3種の蛍光標識 (Fluorescein isothiocyanate: FITC; Phycoerythrin: PE; Allophycocyanin: APC)のモノクローナル抗体を用いた(小泉ら, 2003). モノクローナル抗体は, CD3 (FITC, クローン: UCHT1, DakoCytomation 社, デンマーク), CD4 (APC, クローン: 13B8.2, Immunotech社, フランス), CD8 (PE, クローン: DK25, DakoCytomation 社), CD28 (FITC, クローン: CD28.2, BD Biosciences 社, USA), CD56 (APC, クローン: N901-NKH1-, Immunotech社)を用いて, CD3+細胞(T細胞), CD4+CD8-細胞(Th細胞), CD8+CD4-細胞(T-cytotoxic: Tc細胞), CD28+CD4+細胞

(CD28+Th細胞), CD56+CD3-細胞(Natural Killer: NK細胞)とした. 全血染色法は, 先行研究(小泉ら, 2003)において用いられている方法に従った.

全血100 μl に各抗体を2 μl ずつ分注混和し, 室温にて15分間暗所静置した. Lysing solution (0.15M NH_4Cl , 10 mM KHCO_3 , 0.1 mM EDTA-2Na) 1 ml を加え, 転倒混和し, さらに室温にて10分間暗所静置した. 20°C, 3,000 rpmで5分間遠心後, 上清を取り除いた.

0.1%BSA/0.1% NaN_3 /PBS を1 ml を加えて洗浄後, 0.1% BSA/0.1% NaN_3 /PBS を300 μl 加え, チューブに分注した. リンパ球分画の計測には, Fluorescence activated cell sorter (FACSCalibur, BD Biosciences 社)を用いた. 1サンプルあたり10,000個の細胞数をカウントし, 得られたデータを, ソフトウェア (CELLQuest, BD Biosciences 社)を用いて解析した. リンパ球分画の各細胞の絶対値は, リンパ球の絶対値 (cells/ μl)と各分画の陽性細胞率(%)との積で算出した.

3) 身体活動量測定

身体活動量の評価には, 簡易活動量測定器 (Kenz Lifecorder, スズケン社, 名古屋)を用いた. 先行研究において, この測定器における歩数のカウントの正確性 (Scheider et al., 2003) およびエネルギー消費量評価の有効性 (Kumahara et al., 2004) が示されている. 対象者は, 14日間連続して, 入浴と就寝の時間を除いた全ての時間に測定器をウェスト部に装着した. 簡易活動量測定器は, 鉛直方向(Z軸)の加速度を測定し, 4秒毎に計測した最大振動を加速値とした. 活動レベルは, 加速値の大きさによって11段階(0.0, 0.5, 1.0~9.0)にクラス分けされ, エネルギー消費量(kcal)を算出するアルゴリズムを用いて変換し, Metabolic equivalents (METs)として算出した (Kumahara et al., 2004, Shimizu et al., 2007).

Table 1. Descriptive data for RUN and CON subjects

		RUN	CON
N		11	12
Age	(yr)	57.8 ± 1.9	60.8 ± 1.3
Height	(cm)	161.9 ± 3.0 *	159.2 ± 3.5
Body Weight	(kg)	56.4 ± 2.1	60.4 ± 3.9
Body mass index	(kg/m ²)	21.5 ± 0.5 *	23.6 ± 0.7
Energy expenditure	(kcal/day)	543.1 ± 90.5 **	177.9 ± 31.7
Steps per day		15,637 ± 1,725 **	6,610 ± 821
Inactive	(min/day)	1,307 ± 13 **	1,362 ± 12
Light-intensity activity	(min/day)	73.0 ± 7.7	66.4 ± 9.0
Moderate-intensity activity	(min/day)	27.3 ± 5.3 *	10.2 ± 3.9
Hard-intensity activity	(min/day)	32.5 ± 6.3 **	1.28 ± 0.40

Values are means ± SE. * p < 0.05, ** p < 0.01 compared with CON subjects.

ACSM(1998)によると、40～64 歳の運動強度についてLight-intensity:2.0～3.9 METs, Moderate-intensity:4.0～5.9, Hard-intensity:>6.0 METs と示している。これに基づいて、本研究では活動レベルを、不活動:Inactive(<2.3 METs), 低強度:Light(2.3～4.3 METs), 中等度強度:Moderate(4.3～6.1 METs)および高強度:Hard-intensity(>6.1 METs)の4段階に分けた(Kumahara et al., 2004, Shimizu et al., 2007)。得られたデータから、1日当たりの平均歩数(step/day), エネルギー消費量(kcal/day)および4段階の活動レベル(inactive, light, moderate, hard)における活動時間(min/day)を算出した。

3. 統計解析

各測定値は、平均値±標準誤差で示した。全ての測定値における群間比較は、unpaired t-testを用いて行った。有意水準は5%未満とした。

II. 結果

1. 体組成

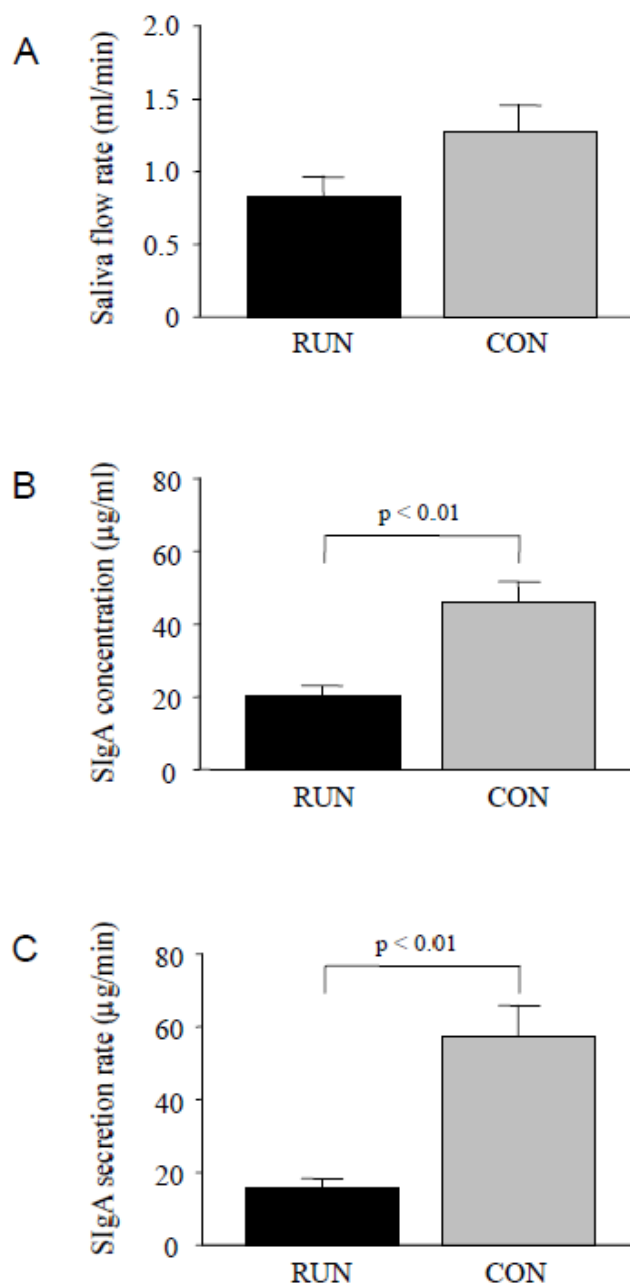
対象者の体組成をTable 1に示した。CON群に比べて、RUN群の身長は有意に高値を示し(p < 0.05), body mass index (BMI)は低値を示した(p < 0.05)。年齢および体重は、両群間に有意な差は認められなかった。

2. 身体活動量

対象者の身体活動に関するデータをTable 1に示した。消費エネルギー量および歩数は、CON群に比べてRUN群の方が有意に高値を示した(p < 0.01)。強度レベル別の活動時間においては、RUN群の不活動の時間はCON群に比べて有意に低値を示した(p < 0.01)。

低強度の活動時間は両群間に有意差は認められなかったが、中等度強度(p < 0.05)および高強度(p < 0.01)の活動時間はRUN群が有意に

Fig. 1 Cross-sectional comparison of saliva-related data.



高値を示した。高強度(6.1METs 以上)の身体活動について、CON 群は1 日あたり1.32 分の実施時間であったのに対し、RUN 群は32.5 分間であった。

3. 唾液量およびSIgA 分泌量

唾液関連のデータをFig. 1 に示した。唾液分泌速度はそれぞれ、 0.84 ± 0.13 ml/min (RUN群) および 1.27 ± 0.19 ml/min (CON 群)であり、両群

間に統計的な有意差は認められなかった。SIgA 濃度はそれぞれ、 20.6 ± 2.4 µg/ml (RUN 群) および 46.4 ± 5.2 µg/ml (CON 群)であり、RUN 群はCON 群に比べて有意に低値を示した($p < 0.01$)。SIgA 分泌速度はそれぞれ、 15.8 ± 2.7 µg/min (RUN 群) および 56.9 ± 9.1 µg/min (CON 群)であり、SIgA 分泌速度もRUN 群は有意に低値を示した($p < 0.01$)。

Table 2. Cross-sectional comparison of leukocyte erythrocyte-related parameters and platelet between RUN and CON subjects

		RUN	CON
Leucocyte	(cells/ μ l)	3,373 \pm 208 **	4,733 \pm 235
Lymphocyte	(cells/ μ l)	1,276 \pm 110 *	1,783 \pm 137
Monocyte	(cells/ μ l)	118.0 \pm 20.1 *	252.9 \pm 21.4
Neutrophil	(cells/ μ l)	1,865 \pm 187 *	2,575 \pm 182
Erythrocyte	($\times 10^4$ cells/ μ l)	455.5 \pm 11.0	447.4 \pm 9.1
Hemoglobin	(g/dl)	14.8 \pm 0.4 *	13.8 \pm 0.3
Hematocrit	(%)	47.8 \pm 0.9 *	43.5 \pm 1.0
Platelet	($\times 10^4$ cells/ μ l)	19.0 \pm 0.9 *	21.9 \pm 1.4

Values are means \pm SE. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with CON subjects.

4. 赤血球および白血球分画

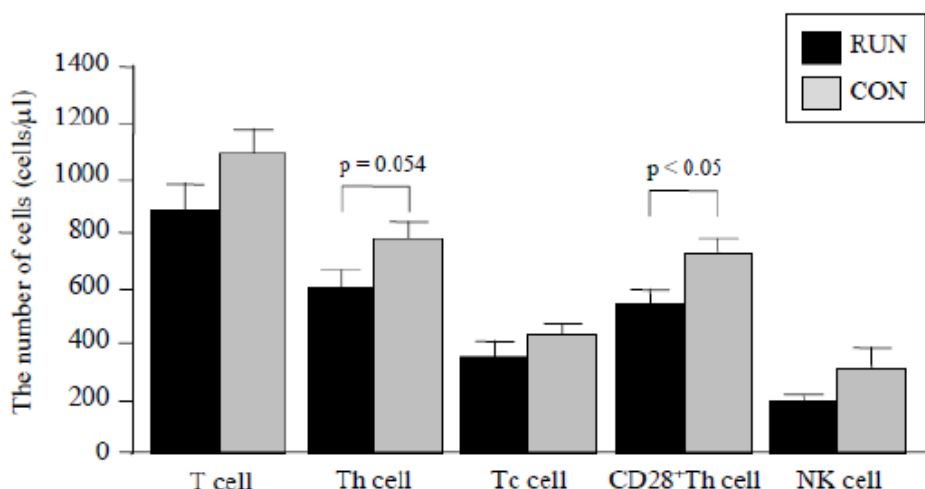
赤血球および白血球に関する結果を**Table 2**に示した。ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値は、CON群に比べてRUN群は有意に高値を示し($p < 0.01$)、血小板数については有意に低値を示した($p < 0.01$)。白血球数、リンパ球数、好中球数および単球数は、CON群に比べてRUN群は有意に低値を示した($p < 0.05$)。

5. リンパ球分画

リンパ球サブセットの各細胞数に関する結果を**Fig. 2**に示した。T細胞数はそれぞれ、884 \pm 91 cells/ μ l (RUN群)および1,084 \pm 92 cells/ μ l (CON群)であり、両群間に統計的な有意差は認められなかった。Th細胞数はそれぞれ、603 \pm

61 cells/ μ l (RUN群)および778 \pm 60 cells/ μ l (CON群)であり、両群間に統計的な有意差は認められなかったがCON群に比べてRUN群が少ない傾向を示した($p = 0.054$)。CD28+Th細胞数は、539 \pm 62 cells/ μ l (RUN群)および724 \pm 55 cells/ μ l (CON群)であり、CON群に比べてRUN群は有意に低値を示した($p < 0.05$)。Tc細胞数はそれぞれ、348 \pm 59 cells/ μ l (RUN群)および429 \pm 46 cells/ μ l (CON群)、Th/Tc比はそれぞれ、2.02 \pm 0.21 (RUN群)および2.02 \pm 0.22 (CON群)、NK細胞数は、186 \pm 25 cells/ μ l (RUN群)および303 \pm 85 cells/ μ l (CON群)であり、いずれも両群間に統計的な有意差は認められなかった。

Fig.2 Cross-sectional comparisons of lymphocyte subsets



III. 考察

本研究では、高レベルの身体活動が中高齢者の口腔内局所粘膜免疫能および全身免疫能に及ぼす影響を検討した。その結果、高レベルの身体活動 (15,600 step/day ;Hard レベル:32.5 min/day) の中高齢者は、運動習慣の無い (6,600 step/day;Hard レベル:1.3 min/day) 中高齢者に比べて唾液SIgA 分泌速度およびCD28 発現Th 細胞数が低値を示すことが示された。従って、高レベルの身体活動量は中高齢者の免疫機能を低下させる可能性が示唆された。

適度な身体活動は、免疫機能の充進に有効な方法であると考えられている (Pedersen and Hoffman-Goetz, 2000)。我々の先行研究において、日常生活における身体活動とSIgA の関係を調べたところ、中等度の身体活動 (約7,000 step/day) を維持する中高齢者は身体活動の少ない中高齢者 (約3,000 step/day) に比べてSIgA レベルが高く、1 日7,000 歩の身体活動は中高齢者の口腔内局所粘膜免疫能を高める可能性が示唆された (Shimizu et al., 2007)。これまで、心疾患等の疫学的な研究結果をもとにACSM・CDC やJHPFF によって身体活動のガイドラインが設定されている (国民栄養調査2002;

Pate et al., 1995; U.S. Department of Health and Human Services, 1996)。しかしながら、それらのガイドラインに上限値は定められていない。そこで本研究では、ガイドラインの上限値の設定の必要性を検討するため、高レベルの身体活動量が中高齢者の免疫機能に及ぼす影響について検討した。

本研究において、RUN 群の1 日平均歩数は15,637 ± 1,725 step/day, CON 群は6,610 ± 821 step/day であり、RUN 群はCON 群に比べて明らかに高い身体活動レベルを維持していた。

JHPFF (国民健康・栄養調査報告2006)によると、日本人60 歳代の1 日平均歩数は6,884 step/day と報告されており、RUN 群の歩数は一般レベルと比べて明らかに多い。また、CON群の歩数は60 歳代の平均歩数に近似した。RUN 群の高強度の活動時間は32.5 ± 6.3 min/dayであった。中等度の身体活動はACSM の推奨身体活動量 (中等度レベルの身体活動を30min/day) および我々の先行研究より示された口腔内局所粘膜免疫能に有効な身体活動量 (中等度レベルの身体活動を22.2 ± 0.9 min/day) に類似している。RUN 群はさらにHardレベルの身体活動をおよそ30 min/day 実施していることから、ジョギングや強度の高いランニングを実施している可能性が考

えられた。しかしながら、本研究では最大酸素摂取量を測定していないため、日常のトレーニングについて相対的な運動強度を示すことはできなかった。

若齢者の対象を用いた先行研究では、日常の身体活動レベルが高い競技選手の安静時SIgA レベルは運動習慣の無い者と比べて低いと報告されている(Levando, 1988; Tomasi et al., 1982)。また、高強度トレーニングの実施によって安静時のSIgA レベルが低下し(秋本ら, 1998b; Tharp and Barnes, 1990), さらにオーバートレーニングの状態と認められた選手は、体調が良好な状態の選手に比べて安静時のSIgA レベルが低い傾向にあることも報告されている(Mackinnon and Hooper, 1994)。従って、日常の身体活動量が高い、もしくは過度の場合は安静時のSIgA レベルが低値を示す可能性が考えられる。本研究において、RUN群の安静時SIgA レベルはCON群に比べて明らかに低値を示した。また、若齢者を対象とした先行研究では、競技選手は運動習慣の無い者に比べて白血球数、リンパ球数および好中球数が少ないことが示されている(Nieman et al., 1995; Mueller et al., 2001)。本研究においても、RUN群の白血球数、好中球数およびリンパ球数はCON群に比べて低値を示したことから、中高齢者においても若齢者と同様の見解が得られた。

本研究において、RUN群のCD28 発現Th 細胞数はCON群に比べて低値を示した。CD28はT細胞表面において恒常的に発現し、T細胞活性に関わる重要な受容体である(Lenschow et al., 1996)。加齢によるCD28 発現の減少はT細胞活性の低下を意味し、特にTh細胞による免疫系の調節機能の低下を招くことが問題とされている(Vallejo, 2005)。これまで、CD28 発現と運動の関係を示した研究は少なく、一過性の高強度運動によってCD28 発現Th細胞が低下することが報告されているが(Bruunsgaard et al., 1999)、安静時のCD28 発現と日常身体活動との関係を検討した研究は無い。我々の最近の研究において、安静時の血中CD28 発現

Th 細胞数について柔道選手と運動習慣の無い若齢者を比較したところ、統計的に有意ではないが柔道選手のCD28 発現Th 細胞数が少ない傾向が認められた(清水ら, 未発表データ)。また減量を用いた研究では、柔道選手のCD28 発現Th 細胞は、通常期に比べて減量期において30%の減少が認められ、過度な身体的ストレスを日常的に受けることによって安静時のCD28 発現Th 細胞数は減少する可能性も考えられる(Shimizu et al., 2006 in presentation at ECSS)。先行研究より、Th 細胞数が正常であってもCD28 発現Th 細胞数が少ないマウスは肺炎に対して易感染性を示すことが報告されている(Beck et al., 2003)。Th 細胞は腫瘍壊死因子 α (Tumor necrosis factor- α : TNF- α)等のサイトカインを産生し、外来抗原に対する傷害作用を示すと同時にTNF- α によって食細胞を活性化させて抗原排除を誘導する役割を持つ。従って、CD28 発現の低下はTh細胞の機能低下を意味し、感染症の易感染性を招く可能性が考えられる。

本研究では、CD4 およびCD28 等の細胞表面マーカーの組み合わせによる陽性細胞数を測定した。これまで免疫機能の評価として、リンパ球分画の各細胞数とマイトジェン刺激による増殖能を用いた機能の評価が用いられてきた。HIV 患者においては、肺炎感染を防ぐために血中Th 細胞数を調べることで感染罹患リスクが評価されており(Stansell et al., 1997)、免疫機能の評価において細胞数によるアプローチは臨床的有意義性が高い。さらに、T細胞数が正常範囲であってもCD28 発現細胞が少ない場合は感染症の罹患リスクが高まることが示されており(Beck et al., 2003)、CD28 陽性Th 細胞数を調べることでTh細胞の機能面の評価へのアプローチが可能となる。そこで本研究では、T細胞分画に関して細胞数による評価を行った。今後は、リンパ球機能(T細胞活性やNK細胞活性等)やサイトカイン産生についても検討する必要がある。また本研究では、先行研究に従い、CD4+CD8-細胞をTh細胞、CD8+CD4-細胞を

Tc 細胞とした (Kimura et al., 2006; 小泉ら, 2003; Mueller et al., 2001; Nehlsen-Cannarella et al., 1991). CD4 分子は血中Th 細胞表面上に特異的に発現することが示されており (Sprent, 1989), CD8 分子もまたTc 細胞上に特異的に発現していることが示されている (Reinherz et al., 1981; 1983). しかしながら, 本研究ではT 細胞に特異的な受容体であるCD3 分子を用いた解析は行っていない. CD4 およびCD8 に加えてCD3 陽性細胞を解析することによって, より明確にT 細胞としての検出ができることから, 今後はCD3 陽性細胞の解析を行うことが必要である.

本研究では, ランナー群の唾液SIgA レベルや血中CD28 発現Th 細胞数が低値を示した. 一方では, 活発な身体活動レベルの中高齢者は, 適度な身体活動レベルの中高齢者に比べて, インフルエンザウイルスに対する血清中IgG やIgM の反応が高いことが報告されている (Kohut et al., 2002). 従って, 高レベルの身体活動によって, 低下する免疫学的指標もあれば, 高まる指標もある可能性が考えられ, これらが補完的に作用することによって感染に対する防御機構を維持している可能性も考えられる. 従って, 今後は高レベルの身体活動による免疫系の影響について, 他の指標も含め多面的な検討を行う必要がある. また, 免疫機能は身体活動の他にも, 摂取栄養素による影響を受けることが知られている (Scrimshaw and SanGiovanni, 1997). ビタミンA は, ウイルス感染に対するSIgA 応答を高める (Cui et al., 2000). また鉄欠乏は, T 細胞のCD28 発現を低下させ, T 細胞活性の低下を引き起こす (Kuvibidila and Porretta, 2003). 今回, 摂取栄養素の調査は行っておらず, RUN群において栄養摂取状態が不良であった可能性があり, これが免疫機能に影響した可能性も考えられる. 今後は, 栄養摂取状態やサプリメント摂取のモニタリングを行うことで身体活動と免疫機能の関係をさらに明確にすることが必要である.

ランニングやジョギングは簡便に実施可能でポピュラーな身体活動であり, 中高齢者層においても実施

者が多く, 日常からトレーニングを実施する中高齢者も多い (レジャー白書2006). 先行研究において, 高強度運動による免疫抑制状態からの回復について, 若齢者に比べると中高齢者の回復は遅いことが示されている (Ceddia et al., 1999). 従って中高齢者においては, 過度な身体活動を繰り返すことで免疫抑制状態からの回復が追い付かず, 免疫機能の慢性的な低下状態を招きやすい可能性が考えられる. それゆえ中高齢者における身体活動の実施の際は, 特に体調管理への配慮が必要であり, 身体活動ガイドラインの上限の設定も対応策として挙げられる. 本研究では, 高強度 (6.1 METs 以上) の身体活動量を約 30 min/day 含む15,600 step/day の身体活動は, 口腔内局所粘膜免疫能および全身免疫能を低下させる可能性が示唆された. 今後は身体活動レベルの高い対象をさらに追加し, 身体活動量と免疫機能の関係を検討することが必要である.

V. まとめ

本研究では, 身体活動レベルの高い中高齢者と運動習慣の無い中高齢者の口腔内局所粘膜免疫能および全身免疫能を比較した. その結果, 身体活動レベルの高い対象は唾液SIgA レベル, 血中Th 細胞数およびCD28+Th 細胞数は明らかに低値を示した. 約15,600 step/day (高強度の活動時間32.5 min/day を含む) の身体活動量は過度な身体活動レベルである可能性があり, 中高齢者の免疫機能を低下させる可能性が考えられた.

謝辞

本研究を遂行するにあたり, 協力して頂いた被験者の方々に感謝申し上げます. また本研究は, 科学研究費補助金 (13558003, 18650189, 19300228) の補助を受けて実施した.

文献

1. 赤間高雄, 木村文律, 小泉佳右, 清水和弘, 秋本崇之, 久野譜也, 河野一郎. (2005) 42 ヶ月間の運動継続による中高年の唾液分泌型免疫グロブリンA の変化. *スポーツ科学研究*. 2: 122-127.
2. 秋本崇之, 赤間高雄, 杉浦弘一, 龍野美恵子, 香田泰子, 和久貴洋, 河野一郎. (1998a) 持久性ランニングによる口腔局所免疫能の変動. *体力科学*, 47: 53-62.
3. 秋本崇之, 赤間高雄, 香田泰子, 和久貴洋, 林英輔, 龍野美恵子, 杉浦弘一, 天野和彦, 河野一郎. (1998b) 高強度トレーニングによる安静時唾液中分泌型IgA の変動. *体力科学*, 47: 245-252.
4. Akimoto, T, Kumai Y, Akama T, Hayashi E, Murakami H, Soma R., Kuno S, and Kono I. (2003) Effects of 12 months of exercise training on salivary secretory IgA levels in elderly subjects. *Br.J. Sports Med.* 37: 76-79.
5. Beck JM, Blackmon MB, Rose CM, Kimzey SL, Preston AM, and Green JM. (2003) T cell costimulatory molecule function determines susceptibility to infection with pneumocystis carinii in mice. *J. Immunol.* 171: 1969-1977.
6. Bian Y, Hiraoka S, Tomura M, Zhou XY, Yashiro-Ohhtani Y, Mori Y, Shimizu J, Ono S, Dunussi-Joannopoulos K, Wolf S, and Fujiwara H. (2005) The capacity of the natural ligands for CD28 to drive IL-4 expression in naive and antigen-primed CD4+ and CD8+ T cells. *Int.Immunol.* 17: 73-83.
7. Bruunsgaard H, Jensen MS, Schjerling P, Halkjaer-Kristensen J, Ogawa K, Skinhoj P, and Pedersen BK. (1999) Exercise induces recruitment of lymphocytes with an activated phenotype and short telomeres in young and elderly humans. *Life Sci.* 65: 2623-2633.
8. Castell LM, Poortmans JR, Leclercq R, Brasseur M, Duchateau J, and Newsholme EA. (1997) Some aspects of the acute phase response after a marathon race, and the effects of glutamine supplementation. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 75: 47-53.
9. Ceddia MA, Price EA, Kohlmeier CK, Evans JK, Lu Q, McAuley E, and Woods JA. (1999) Differential leukocytosis and lymphocyte mitogenic response to acute maximal exercise in the young and old. *Med. Sci. Sports Exerc.* 31: 829-836.
10. Cui D, Moldoveanu Z, and Stephensen CB. (2000) High-level dietary vitamin A enhances T-helper type 2 cytokine production and secretory immunoglobulin A response to influenza A virus in BALB/c mice. *J. Nutr.* 130: 1132-1139.
11. Effros B R. (2000) Costimulatory mechanisms in the elderly. *Vaccine* 18: 1661-1665.
12. Gleeson M, McDonald WA, Pyne DB, Cripps AW, Francis JL, Fricker PA, and Clancy RL. (1999) Salivary IgA levels and infection risk in elite swimmers. *Med. Sci. Sports Exerc.* 31: 67-73.
13. Harmsen AG, and Stankiewicz M. (1990) Requirement for CD4+ cells resistance to Pneumocystis carinii pneumonia in mice. *J. Exp. Med.* 172: 937-945.
14. Houston MS, Silverstein DM, and Suman JV. (1977) Risk factors for 30-day mortality in elderly patients with lower respiratory tract infection. Community-based study. *Arch. Intern. Med.* 157: 2190-2195.
15. 人口動態統計2004. (2006) 厚生労働省大臣官房統計情報(編), 財団法人厚生統計協会, 東京, pp 238-239.

16. Kimura F, Shimizu K, Akama T, Akimoto T, Kuno S, and Kono I. (2006) The effects of walking exercise training on immune response in elderly subjects. *Int. J. Sport Health Sci.* 4: 508-514.
17. Kohut ML, Cooper MM, Nickolaus MS, Russell DR, and Cunnick JE. (2002) Exercise and psychosocial factors modulate immunity to influenza vaccine in elderly individuals. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 57: M557-M562.
18. 小泉佳右, 木村文律, 秋本崇之, 赤間高雄, 熊井康こ, 田中宏暁, 石津政雄, 久野譜也, 河野一郎. (2003) 継続的運動が中高年者の末梢血リンパ球サブセットに与える影響. *体力科学*, 52: 93-202.
19. 国民栄養調査2002. (2004) 財団法人健康・体力づくり事業財団(編), 厚生労働省, 東京, pp 1-236.
20. 国民健康・栄養調査報告2004. (2006) 厚生労働省(編), 東京, pp 1-236.
21. Kostka T, Berthouze SE, Lacour J, and Bonnefoy M. (2000) The symptomatology of upper respiratory tract infections and exercise in elderly people. *Med. Sci. Sports Exerc.* 32: 46-51.
22. Kumahara H, Schutz Y, Ayabe M, Yoshioka M, Yoshitake Y, Shindo M, Ishii K, and Tanaka H. (2004) The use of uniaxial accelerometry for the assessment of physical-activity-related energy expenditure: a validation study against whole-body indirect calorimetry. *Br. J. Nutr.* 91:235-243.
23. Kuvibidila SR, and Porretta C. (2003) Iron deficiency and in vitro iron chelation reduce the expression of cluster of differentiation molecule (CD) 28 but not CD3 receptors on murine thymocytes and spleen cells. 90: 179-189.
24. Lamm ME, Nedrud JG, Kaetzel CS, and Mazanec MB. (1995) IgA and mucosal defense. *AMPIS.* 103: 241-246.
25. レジャー白書2006. (2006)財団法人社会生産性本部(編), 文栄社, 東京, pp 1-154.
26. Lenschow DJ, Walunas TL, and Bluestone JA. (1996) CD28/B7 system of T cell costimulation *Annu Rev Immunol* 14: 233-258.
27. Levando VA, Suzdal' nitskii RS, Pershin BB, and Zykov MP. (1988) Study of secretory and antiviral immunity in sportsman. *Sports Training Med. Rehab.* 1: 49-52.
28. Mackinnon LT, Chick TW, van As A, and Tomasi TB. (1987) The effect of exercise on secretory and natural immunity. *Adv. Exp. Med. Biol.* 216A: 869-876.
29. Mackinnon LT, and Hooper S. (1994) Mucosal (secretory) immune system responses to exercise of varying intensity and during overtraining. *Int. J. Sports Med.* 15: S179-S183.
30. Matthews CE, Ockene IS, Freedson PS, Rosal MC, Merriam PA, and Hebert JR. (2002) Moderate to vigorous physical activity and risk of upper-respiratory tract infection. *Med. Sci.Sports Exerc.* 34: 1242-1248.
31. Miletic ID, Schiffman SS, Miletic VD, and Sattely-Miller EA. (1996) Salivary IgA secretion rate in young and elderly persons. *Physiol Behav* 60: 243-248.
32. Mueller O, Villiger B, O' Callaghan B, and Simon HU. (2001) Immunological effects of competitive versus recreational sports in cross-country skiing. *Int. J. Sports Med.* 22: 52-59.
33. Nehlsen-Cannarella SL, nieman DC, Balk-Lamberton AJ, Markoff PA, Chritton DB, Gusewitch G, and lee JW. (1991) The effect of

- moderate exercise training on immune response. *Med. Sci.Sports Exerc.* 23, 64-70.
34. Nieman DC, Johansen ML, Lee WJ, and Arabatzis K. (1990) Infectious episodes in runners before and after the Los Angeles Marathon. *J. Sports Med. Phys. Fitness.* 30: 316-328.
 35. Nieman DC, Henson DA, Gusewitch G, Warren BJ, Dotson RC, Butterworth DE, and Nehlsen-Cannarella SL. (1993) Physical activity and immune function in elderly women. *Med. Sci. Sports Exerc.* 25: 823-831.
 36. Nieman DC, Buckley KS, Henson DA, Warren BJ, Suttles J, Ahle JC, Simandle S, Fagoaga OR, Nehlsen-Cannarella SL. (1995) *Med. Sci. Sports Exerc.* 27: 986-992.
 37. Pate RR, Pratt M, Blair NS, Haskell LW, Macera AC, Bouchard C, Buchner D, Ettinger W, Heath WG, King CA, Kriska A, Leon SA, Marcus HB, Morris J, Paffenbarger SR Jr, Patrick K, Pollock LM, Rippe MJ, Sallis J, and Wilmore JH. (1995) Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Diseases Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA.* 273: 402-407.
 38. Pedersen BK, Hoffman-Goetz L. (2000) Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiol. Rev.* 80: 1055-1081.
 39. Schneider PL, Crouter SE, Lukajic O, and Bassett DR Jr. (2003) Accuracy and reliability of 10 pedometers for measuring steps over a 400-m walk. *Med. Sci. Sports Exec.* 35: 1779-1784.
 40. Scrimshaw NS, and SanGiovanni JP. (1997) Synergism of nutrition, infection, and immunity: an over view. *Am. J. Clin. Nutr.* 66: 464S-477S.
 41. Shimizu K, Aizawa K, Kimura F, Suzuki N, Mesaki N, Kono I. The influence of rapid weight reduction on immune response in male judo athletes. European College of Sport Science 11th Annual Congress, Lausanne, July, 2006 (presentation).
 42. Shimizu K, Kimura F, Akimoto T, Akama T, Kuno S, and Kono I. (2007) Effect of free-living daily physical activity on salivary secretory IgA in elderly. *Med. Sci. Sports Exerc.* 39: 593-598.
 43. Stansell JD, Osmond DH, Charlebois E, LaVange L, Wallace JM, Alexander BV, Glassroth J, Kvale PA, Rosen MJ, Reichman LB, Turner JR, and Hopewell PC. (1997) Predictors of *Pneumocystis carinii* pneumonia in HIV-infected persons. Pulmonary complications of HIV infection study group. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 155: 60-66.
 44. Tanida T, Ueta E, Tobiume A, Hamada T, Rao F, and Osaki T. (2001) Influence of aging on candidal growth and adhesion regulatory agents in saliva. *J. Oral. Pathol. Med.* 30, 328-335.
 45. Tharp GD, and Barnes MW. (1990) Reduction of saliva immunoglobulin levels by swim training. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 60: 61-64.
 46. Tomasi TB, Trudeau FB, Czerwinski D, and Erredge S. (1982) Immune parameters in athletes before and after strenuous exercise. *J. Clin. Immunol.* 2: 173-178.
 47. Tudor-Locke C, Jones GR, Myers AM, Paterson DH, and Ecclestone NA. (2002b) Contribution of structured exercise class participation and informal walking for exercise daily physical activity in community-dwelling older adults. *Res. Q. Exerc. Sport.* 73: 350-356.
 48. U.S. Department of Health and Human Services. (1996) Physical activity and health: a report of the surgeon general. U.S. Department of Health

- and Human Services; Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta, pp. 87-142.
49. Utsuyama M, Kasai M, Kurashima C, and Hirokawa K. (1991) Age influence on the thymic capacity to promote differentiation of T cells: induction of different composition of T cell subsets by aging thymus. *Mech. Ageing Dev.* 58: 267-277.
50. Vallejo AN. (2005) CD28 extinction in human T cells: altered functions and the program of T-cell senescence. *Immunol Rev* 205: 158-169.
51. Walzer PD, Schnelle V, Armstrong D, and Rosen PP. (1977) Nude mouse: a new experimental model for *Pneumocystis carinii* infection. *Science.* 197: 177-179.
52. Walzer PD, Kim CK, Linke MJ, Pogue CL, Huerkamp MJ, Chrisp CE, Lerro AV, Wixson SK, Hall E, and Shultz LD. (1989) Outbreaks of *Pneumocystis carinii* pneumonia in colonies of immunodeficient mice. *Infect. Immun.* 57: 62-70.