持久性ランニングによる口腔局所免疫能の変動

秋本崇之¹⁾ 赤間高雄²⁾ 杉浦弘一³⁾ 龍野美恵子³⁾

香田泰子⁵⁾ 和久貴洋⁶⁾ 河野一郎⁴⁾

ALTERATION OF LOCAL IMMUNITY IN THE ORAL CAVITY AFTER ENDURANCE RUNNING

TAKAYUKI AKIMOTO, TAKAO AKAMA, KOICHI SUGIURA, MIEKO TATSUNO,
YASUKO KODA, TAKAHIRO WAKU and ICHIRO KONO

Abstract

To investigate the effect of intense exercise on immunological factors in saliva, we measured secretory immunoglobulin A (sIgA), lactoferrin and fibronectin. We used a reliable saliva collection method that has already been reported. Timed saliva samples were obtained from 16 healthy young males. Samples were collected before, immediately after, 1 day after and 5 days after endurance running (42.195 km). The concentrations ($\mu\text{g/ml}$) of sIgA, lactoferrin and fibronectin were measured by ELISA, and the secretion rates ($\mu\text{g/min}$) of each were calculated. Immediately after the exercise, the concentration of total protein in saliva increased significantly, but the sIgA secretion rate decreased to 53%. The secretion rates of both lactoferrin and fibronectin did not change significantly. The local immune system plays an important role in mucosal surface defense against upper respiratory tract infection. The sIgA level in the oral cavity was temporarily decreased after intense exercise. A decreased sIgA secretion rate might partly explain the increased susceptibility to upper respiratory tract infection after endurance exercise.

(Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 1998, 47: 53~62)

key words : saliva, sIgA, lactoferrin, fibronectin, endurance running

I. 緒 言

防衛体力の重要な要素に免疫機能がある。近年、運動により免疫機能が変化することについて関心が高まりつつある^{1,2)}。免疫機能が運動によって変化することを示す例としては、上気道感染症の罹患が運動によって影響を受けることが知られている。低・中強度の運動を継続している者は、運動を行わない者よりも上気道感染症の罹病期間が短くなり³⁾、また、高強度の運動後には上気道感染症の罹患率が高まると報告されている^{4~7)}。

上気道感染症の感染防御には、鼻腔および口腔の局所免疫が重要な役割を果たしている。口腔内の局所免疫は唾液と口腔粘膜からなり、唾液の機能は物理的清掃・洗浄と唾液中の液性因子による作用とに分けられる⁸⁾。

唾液中の液性因子では特に、分泌型免疫グロブリン A (secretory Immunoglobulin A: sIgA) が重要な役割を果たしている^{9,10)}。sIgA は血中の IgA とは異なり、J 鎖 (joining chain: J-chain) を介した dimer に secretory component (SC) と呼ばれる糖蛋白が結合し、プロテアーゼに対する抵

¹⁾ 筑波大学医学研究科
〒305 茨城県つくば市天王台1-1-1

²⁾ 筑波大学臨床医学系

³⁾ 筑波大学体育研究科

⁴⁾ 筑波大学体育科学系

⁵⁾ 筑波技術短期大学視覚部
〒305 茨城県つくば市春日4-12-7

⁶⁾ 東京大学教養学部
〒153 東京都目黒区駒場3-8-1

Doctoral Program in Medical Sciences

Institute of Clinical Medicine

Master's Program in Sports Science

*Institute of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba
Division for Visually Impaired, Tsukuba College of Technology*

College of Arts and Sciences, University of Tokyo

抗性が高められている^{11,12)}。

sIgA などの液性因子の変動を観察することは、運動による局所免疫能の変化を検討するうえで有効な情報になる。また、スポーツ選手が感染症予防を中心としたコンディショニングを行う際の指標としても期待できる。

運動による sIgA の変動に関しては急性の持久性運動¹³⁻¹⁶⁾で、sIgA レベルは低下すると報告されている。逆に、適度な運動では変化しない^{17,18)}、あるいは増加する¹⁹⁾という報告も一部見られる。

唾液中には抗菌タンパクのラクトフェリンも含まれる。ラクトフェリンは鉄と結合し、鉄を喪失させることによって抗菌作用を発揮する^{20,21)}。また、接着性タンパクであるフィブロネクチン (fibronectin: FN) は細菌結合活性やオプソニン活性を持つことが知られ、口腔局所免疫においても何らかの役割を果たしていることが考えられる。しかし、運動による唾液中ラクトフェリン、FN の変動についての報告はない。

唾液は試料として非侵襲的かつ容易に採取可能である反面、唾液中の因子は様々な条件の影響を受けやすい。そこで、本研究では先に我々が報告した信頼性のある唾液の採取法²³⁾を用い、長時間持久性運動前後に唾液を採取し、唾液中 sIgA、ラクトフェリン、および FN を測定し、運動による口腔局所免疫能の変動を検討した。

II. 材料及び方法

1. 唾液採取法

唾液の採取には我々がすでに報告している方法²³⁾を用いた。まず、1 回あたり蒸留水 30 ml で計 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。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 製) を 1 分間咀嚼することによって、新たに分泌された唾液を綿に吸いとらせ唾液を採取した。試料は採取後直ちに 3000 rpm、5 分間遠心して唾液を回収し、容量を測定後、分注して -80℃ で凍結保存した。

2. sIgA の定量

唾液中 sIgA の測定には抗 SC 抗体と抗 IgA 抗体を用いて、sIgA を特異的に検出する ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) を用いた。マイクロプレート (IMMULON-2: DYNATECH 製) に抗ヒト SC ウサギ IgG (MBL 製) を 20 mM bicarbonate buffer (pH = 9.8) で終濃度 60.5 μ g/ml に希釈し、各ウェルに 100 μ l ずつ加え 4℃、一晚静置し抗体を固相化した。翌日、上清を除き 1% bovine serum albumin (BSA) を含む phosphate buffered saline (PBS) を 250 μ l ずつ加え、室温で 2 時間ブロッキングした。凍結保存してある測定試料を 37℃ 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 21 倍に希釈し、標準物質としてヒト sIgA (ORGANON TEKNIKA 製) を同様に調製し、各ウェルに 100 μ l ずつ加え、Micro mixer (三光純薬製) を用いて室温で 1 時間振盪した。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 ヤギ IgG (MBL 製) を 1% BSA を含む PBS で 1000 倍に希釈した溶液を 100 μ l ずつ加え、室温で 1 時間振盪した。0.05% Tween-20 を含む PBS で 3 回洗浄し、基質反応液 (0.43 mg/ml o-phenyldiamine, 0.025 M citric acid, 0.05 M Na₂HPO₄, 0.03% H₂O₂) (pH 5.0) を 100 μ l ずつ加え 10 分間室温で反応させた。その後、4 N 硫酸を 50 μ l 加え反応を停止させた。490 nm の吸光度を microplate reader (Bio Rad 製) によって測定した。標準物質のヒト sIgA で検量線を作成し、試料の sIgA 濃度を求めた (Fig. 1A)。試料のかわりに sIgA を含まない緩衝液を反応させた場合の吸光度は 0.027 であった。血清由来の IgA (10 μ g/ml) を反応させた場合の吸光度は 0.080 であった。

3. ラクトフェリンの定量

固相化抗体に抗ヒトラクトフェリンウサギ IgG (ORGANON TEKNIKA 製)、酵素標識抗体にペルオキシダーゼ標識抗ヒトラクトフェリンウサギ IgG (ORGANON TEKNIKA 製)、標準物質にヒトラクトフェリン (CALBIOCHEM-BEHRING 製) を

Fig. 1. Standard curves of each ELISA (A: sIgA, B: lactoferrin, C: FN).

Open circles show various concentrations of each standards. Closed square shows serum IgA (10 μg/ml) (A).

用い, sIgA と同様に ELISA で測定した (Fig. 1 B). 試料のかわりにヒトラクトフェリンを含まない緩衝液を反応させた場合の吸光度は0.067であった。

4. FN の定量

固相化抗体に抗ヒトフィブロネクチンウサギ

IgG (Dako 製), 酵素標識抗体にペルオキシダーゼ標識抗ヒトフィブロネクチンウサギ IgG (Dako 製), 標準物質にヒト血漿より精製したヒトフィブロネクチンを用い²²⁾, sIgA と同様に ELISA で測定した (Fig. 1 C). 試料のかわりにヒトフィブロネクチンを含まない緩衝液を反応させた場合の吸光度は0.049であった。

5. 総タンパクの定量

唾液中総タンパクの測定には Bradford 法²⁴⁾を用い, BSA を標準とした。

6. 運動

健康な成人男性16名(平均年齢 25.1 ± 1.4 歳, 身長 171.1 ± 2.7 cm, 体重 65.0 ± 3.4 kg)を対象とした。長時間持久性運動として 42.195 km のランニングを行った。ランニングの成績は平均4時間 17 ± 23 分であった。運動中の水分, 軽食の摂取は自由とした。運動の1日前, 直後, 1日後, 5日後(9名のみ)に唾液を採取した。なお, すべての対象者には事前に実験の主旨などを説明し, 実験に関しての同意を得た。

7. 統計

1分間の唾液採取量を1分間の唾液分泌量と考えて唾液分泌速度 (ml/min) を求めた。さらに, 唾液中 sIgA 濃度と唾液分泌速度から sIgA 分泌速度を算出した。同様にラクトフェリン, FN 分泌速度を算出した。

被験者のプロフィールは平均値 $\pm$ 標準偏差, 各測定値は平均値 $\pm$ 標準誤差で表わした。分析は paired Student's t-test を用い, 有意水準 5 % ($p < 0.05$) 及び 1 % ($p < 0.01$) をもって有意差ありとみなした。

Ⅲ. 結 果

1. 唾液

長時間持久性ランニング1日前, 直後, 1日後, 5日後の1分あたりの唾液分泌速度の変動を Fig. 2. に示す。1分あたりの唾液分泌速度は運動の1日前, 直後, 1日後, 5日後でそれぞれ 0.91 ± 0.11 ml/min (mean $\pm$ SE), 0.55 ± 0.04 ml/min, 0.74 ± 0.08 ml/min, 1.28 ± 0.20 ml/min であった。運動直後, 1日後で1日前に比べ有意に低下した ($p < 0.01$)。

唾液中総タンパク濃度の変動を Fig. 3. に示す。唾液中総タンパク濃度は運動の1日前, 直後, 1日後, 5日後でそれぞれ 0.64 ± 0.10 mg/ml, 1.18 ± 0.14 mg/ml, 0.57 ± 0.06 mg/ml, $0.61 \pm$

Fig. 2. Effect of endurance exercise on saliva flow rate.

X-bar were indicated 1 day before (steady state at rest), immediately after, 1 day after, 5 days after 42.195 km running. Values are mean $\pm$ SE. P value were calculated using Student's t-test, ** ; $p < 0.01$.

Fig. 3. Effect of endurance exercise in saliva total protein concentration.

Sample were assayed for total protein by modified Bradford's method. Each sample was assayed in duplicate. X-bar were indicated 1 day before (steady state at rest), immediately after, 1 day after, 5 days after 42.195 km running. Values are mean $\pm$ SE. P value were calculated using student t-test, ** ; $p < 0.01$.

0.08 mg/ml であった。運動直後で1日前に比べ有意に増加した ($p < 0.01$)。

2. 唾液中 sIgA

唾液中 sIgA 濃度の変動を Fig. 4. に示す。sIgA 濃度は運動の1日前, 直後, 1日後, 5日後でそれぞれ 39.76 ± 4.84 μ g/ml, 27.48 ± 4.59

Fig. 4. Effect of endurance exercise in saliva sIgA concentration.

Sample were assayed for sIgA by ELISA. Each sample was analyzed in duplicate. X-bar were indicated 1 day before (steady state at rest), immediately after, 1 day after, 5 days after 42.195 km running. Values are mean $\pm$ SE. P value were calculated using student t-test, **: $p < 0.01$.

Fig. 5. Effect of endurance exercise on sIgA secretion rate.

Sample were assayed for sIgA by ELISA. Each sample was analyzed in duplicate. X-bar were indicated 1 day before (steady state at rest), immediately after, 1 day after, 5 days after 42.195 km running. Values are mean $\pm$ SE. P value were calculated using student t-test, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

$\mu\text{g/ml}$, $37.05 \pm 5.22 \mu\text{g/ml}$, $39.52 \pm 9.30 \mu\text{g/ml}$ であった。運動直後の唾液中の sIgA 濃度は 1 日前に比べ有意に減少した ($p < 0.01$)。

sIgA 分泌速度の変動を Fig. 5. に示す。sIgA 分泌速度は運動の 1 日前、直後、1 日後、5 日後でそれぞれ $35.94 \pm 6.13 \mu\text{g/min}$, 16.35 ± 3.60

$\mu\text{g/min}$, $29.04 \pm 5.38 \mu\text{g/min}$, $51.62 \pm 9.90 \mu\text{g/min}$ であった。運動直後 ($p < 0.01$), 1 日後 ($p < 0.05$) の sIgA 分泌速度は 1 日前に比べそれぞれ有意に減少した。

3. ラクトフェリン

長時間持久性ランニングにおける唾液中ラクトフェリン濃度の変動を Fig. 6. に示す。ラクト

Fig. 6. Effect of endurance exercise in saliva lactoferrin concentration.

Sample were assayed for lactoferrin by ELISA. Each sample was analyzed in duplicate. X-bar were indicated 1 day before (steady state at rest), immediately after, 1 day after, 5 days after 42.195 km running. Values are mean $\pm$ SE.

Fig. 7. Effect of endurance exercise on lactoferrin secretion rate.

Sample were assayed for lactoferrin by ELISA. Each sample was analyzed in duplicate. X-bar were indicated 1 day before (steady state at rest), immediately after, 1 day after, 5 days after 42.195 km running. Values are mean $\pm$ SE.

フェリン濃度は1日前, 直後, 1日後, 5日後でそれぞれ $1.11 \pm 0.34 \mu\text{g/ml}$, $1.66 \pm 0.47 \mu\text{g/ml}$, $0.96 \pm 0.18 \mu\text{g/ml}$, $1.02 \pm 0.36 \mu\text{g/ml}$ であった. 運動直後の唾液中のラクトフェリン濃度は運動の1日前, 1日後, 5日後に比べ増加する傾向にあったが, 統計的な有意差は認められなかった. ラクトフェリン分泌速度の変動を Fig. 7. に示す. ラクトフェリン分泌速度は1日前, 直後, 1日後, 5日後でそれぞれ $0.67 \pm 0.10 \mu\text{g/min}$, $0.93 \pm 0.27 \mu\text{g/min}$, $0.63 \pm 0.12 \mu\text{g/min}$, $1.16 \pm 0.50 \mu\text{g/min}$ あった. 唾液中のラクトフェリン分泌速度において統計的に有意な変動は認められなかった.

4. FN

長時間持久性ランニングにおける唾液中 FN 濃度の変動を Fig. 8. に示す. FN 濃度は1日前, 直後, 1日後, 5日後でそれぞれ $71.83 \pm 14.74 \text{ ng/ml}$, $95.60 \pm 22.33 \text{ ng/ml}$, $71.83 \pm 14.74 \text{ ng/ml}$, $64.35 \pm 117.26 \text{ ng/ml}$ であった. FN 分泌速度の変動を Fig. 9. に示す. FN 分泌速度は1日前, 直後, 1日後, 5日後でそれぞれ $63.05 \pm 11.58 \text{ ng/min}$, $54.30 \pm 15.03 \text{ ng/min}$, $48.92 \pm 9.67 \text{ ng/min}$, $76.44 \pm 28.68 \text{ ng/min}$ あった. 唾液中の FN

Fig. 8. Effect of endurance exercise in saliva FN concentration.

Sample were assayed for FN by ELISA. Each sample was analyzed in duplicate. X-bar were indicated 1 day before (steady state at rest), immediately after, 1 day after, 5 days after 42.195 km running. Values are mean $\pm$ SE.

Fig. 9. Effect of endurance exercise on FN secretion rate.

Sample were assayed for FN by ELISA. Each sample was analyzed in duplicate. X-bar were indicated 1 day before (steady state at rest), immediately after, 1 day after, 5 days after 42.195 km running. Values are mean $\pm$ SE. P value were calculated using student t-test. *: $p < 0.05$.

分泌速度は運動1日後で1日前に比べ有意に減少した ($p < 0.05$).

IV. 考 察

本研究では唾液を試料として, 持久性ランニングによる口腔局所免疫能の変動を検討した. 運動後に唾液中 sIgA が一過性に低下することを確認した. また, 生体防御に関わると考えられるラクトフェリン, FN についてもその変動を検討した.

唾液は口腔の感染防御機構で重要な役割を担っており, 口腔局所免疫能の評価のための有用な試料となり得る. 採取する唾液の種類としては, 個別唾液腺の唾液と全唾液(混合唾液)がある. このうち全唾液は, 口腔内環境を全体として評価するうえで有意義である²⁵⁾. また, 全唾液は採取が容易であり, 被験者の協力が得やすいため, 実際にスポーツ現場での応用にも適している. このため本研究では全唾液を試料として用いた.

全唾液の採取には, 様々な刺激が用いられている²⁶⁾が, できるだけ採取時の条件を一定にするため, 滅菌綿を1分間に60回咀嚼することを刺激とし, 採取は綿に吸収する方法とした. また, 唾液分泌速度は体位によっても変動する²⁵⁾ため, 唾液採取時は座位とした. 我々の唾液採取法を用

いて得られた試料は再現性が高く、安定した値が得られることをすでに報告²³⁾している。

唾液は耳下腺、顎下腺、舌下腺のほか散在する小唾液腺から分泌され、1日の分泌量は0.5～1.5lと言われている²⁵⁾。唾液自体の物理的清掃作用、洗浄作用が多くの細菌に対する感染防御能を有することはシェーグレン症候群や薬物投与により唾液分泌速度が激減した際、齲歯・感染症発症が増加することからも推察できる⁸⁾。運動直後、1日後に唾液分泌速度が低下したことは、唾液自体による物理的清掃・洗浄作用を低下させ、多くの病原微生物に対する感染防御能を低下させることになると考えられる (Fig. 2)。この結果は Mackinnon らの報告^{14, 16, 27)}と一致している。

本測定では、唾液中総タンパクはグロブリン、アルブミン、ムチンなどのタンパク混合物を総量として測定している。唾液中総タンパクは運動直後に有意に増加していたが、グロブリンに含まれる sIgA は運動直後に有意に低下していた。このことから、長時間持久性の急性運動負荷によって sIgA 濃度、sIgA 分泌速度が低下する現象は確実に惹起されていることが確認できた (Fig. 4, Fig. 5)。この現象は運動の種類や運動強度は異なっているものの、トレッドミル^{17, 18)}、ノルディックスキー⁹⁾、自転車エルゴメータ運動^{14, 16)}、水泳¹⁵⁾で測定した報告と一致している。今回の実験では運動の1日前に比べ直後の sIgA 濃度は30%、sIgA 分泌速度は53%低下していた。上気道感染症の罹患は粘膜面を介してなされるため、sIgA レベルの低下は上気道感染症罹患の危険性を増大させる一因となるものと考えられる。

高強度のトレーニングを継続して行っているスポーツ選手は安静時の sIgA レベルも低下していることが報告^{9, 15, 27)}されている。今回の実験では sIgA レベルは24時間以内にはほぼ運動前のレベルに回復し、5日後までには完全に回復していた。他に1時間以内に回復したとする報告¹⁵⁾や、運動後1時間くらいから回復し始め、24～48時間後には運動前のレベルに回復したという報告¹⁴⁾も散見される。慢性的な sIgA レベルの低下は、運動による一過性の sIgA 低下の蓄積によるものな

のか、一過性の sIgA 低下とは異なるメカニズムによるものなのかは不明である。急性運動負荷による sIgA 濃度の低下の原因として Tomasi ら⁹⁾は運動によって局所を循環する液性因子が変化することや口腔・気道粘膜面を大量の空気が流れることを推定しているが、具体的な証明はなされていない。

sIgA の産生細胞は唾液腺へ移動し、形質細胞となったB細胞である。sIgA は形質細胞から産生された時点では IgA の dimer にJ鎖が結合しただけの状態である。その後、粘膜上皮細胞表面上に発現している poly-Ig receptor に接着し上皮細胞内に取り込まれ、IgA に結合している poly-Ig receptor の断片が SC となり、transcytosis で唾液腺導管へ分泌される。sIgA の分泌機構がこのようなメカニズムである^{28, 29, 30)}ことから sIgA の分泌量の調節には、①IgA を産生するB細胞が唾液腺へホーミングする段階での調節、②形質細胞から IgA が産生される段階での調節、③poly-Ig receptor の発現量による調節、④transcytosis 速度、すなわち細胞内輸送速度による調節、⑤唾液腺内の唾液分泌の wash out による調節などが考えられる。しかし、運動による sIgA の変動がどの段階で調節されているかについては不明である。

ラクトフェリンは唾液腺房細胞、好中球の二次顆粒などで合成され、多くの分泌液中に認められる鉄結合性塩基性タンパクである。ラクトフェリンの機能は鉄イオンを結合することによる細菌の増殖阻害に加え、新たに鉄に依存しない抗菌作用³¹⁾、その他にも多彩な機能を持つことが明らかになってきた³²⁾。

今回の実験では安静時の唾液中ラクトフェリン濃度は $0.78 \pm 0.78 \mu\text{g/ml}$ であった。Nordbo ら²¹⁾は安静時の唾液中ラクトフェリン濃度は $2.0 \pm 1.9 \mu\text{g/ml}$ であったと報告している。この結果の違いは試料である唾液の採取法が Nordbo らと異なるために生じたと考えられる。血清中のラクトフェリン濃度は約 $0.2 \mu\text{g/ml}$ と報告²⁰⁾されており、血中に比べ唾液中のラクトフェリン濃度が高いことは、感染防御機構上、唾液中のラクトフェ

リンの必要性が高いためであると考えられる。

唾液中ラクトフェリン濃度の変動は、運動直後に増加傾向にあったものの、統計的に有意な変動は認められなかった (Fig. 6., Fig. 7.). 脱水による唾液成分の濃縮、運動による自律神経刺激によって腺房細胞のタンパク合成が亢進したことによって、唾液中ラクトフェリンは増加する可能性がある。しかし、この変動は、唾液中総タンパクの変動と同様の変動であり、生体にとって積極的な意義があるかどうかは不明である。運動による唾液中ラクトフェリン濃度の変動に関しては、本研究以外には報告されていないため、この現象の確認にはさらなる検討が必要であると考えられる。

FN は細胞の接着・伸展促進、食作用の促進、細胞分化の調節、組織修復の促進など多彩な生物学的活性を持つ。FN は口腔内においても少量ではあるが存在し、その濃度は $143.8 \pm 46.2 \text{ ng/ml}$ であると報告されている³³⁾。口腔内における FN の機能としてバクテリアに接着し、口腔へのバクテリアの接着を阻止することが示されている。

今回の実験において、唾液中 FN は 1 日後に 1 日前に比べ有意な低下が認められた。しかし、その原因については不明である。唾液中 FN の主な由来は小唾液腺の導管上皮細胞であると考えられているが、血漿中には唾液中の 1000 倍以上の濃度で存在する。このため例えば、血漿由来の歯肉溝滲出液、あるいは口腔内の外傷による血漿成分の唾液への漏れだしによる測定値の変動であることも考えられる。

V. 結 論

本研究では唾液中の局所免疫能を検討するため、日差再現性の高い唾液採取法を用いて、長時間持久性運動による唾液中 sIgA、ラクトフェリン、FN の変動を検討し、以下の結果を得た。

16 名の健常者を対象とした持久性ランニングでは運動直後に唾液分泌速度、唾液中 sIgA レベルの有意な低下が認められた。低下した sIgA レベルは 1 日後にはほぼ運動前の値に戻り、5 日後までには完全に運動前のレベルまで回復した。

唾液中ラクトフェリン、FN レベルは、高強度運動によってほとんど変化しなかった。

(本研究の一部は平成 6 年度日本体育協会スポーツ科学研究費によって行われた。)

謝 辞

唾液採取法に関して専門的な助言をいただいた筑波大学臨床医学系・萩原敏之講師、ならびに論文を作成するにあたり有益な助言をいただいた、三菱重工業株式会社・秋本啓介氏に深謝します。

(受理日 平成 9 年 8 月 20 日)

参 考 文 献

- 1) 河野一郎. 運動と免疫. 体力科学, (1992), **41**, 139-146.
- 2) 赤間高雄, 秋本崇之, 河野一郎. スポーツ活動が免疫に与える影響に関する研究の動向. 平成 6 年度日本体育協会スポーツ医・科学研究報告. 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—, (1994), 5-12.
- 3) Nieman D. C., The effects of moderate exercise training on natural killer cells and acute upper respiratory tract infections. *Int. J. Sports Med.*, (1990), **11**, 467-473.
- 4) Peters E. M., Bateman E. D., Respiratory tract infections: an epidemiological survey. *S. Afr. Med. J.*, (1983), **64**, 582-584.
- 5) Nieman D. C., Johanssen L. M., Lee J. W., Arabatzis K., Infectious episodes in runners before and after the Los Angeles Marathon. *J. Sports Med. Phys. Fitness*, (1990), **30**, 316-328.
- 6) Nieman D. C., Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Med. Sci. Sports Exercise*, (1994), **26**, 128-139.
- 7) 赤間高雄, 秋本崇之, 河野一郎. 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—, (1994), 13-20.
- 8) 前田勝正, 吉江弘正, 大石正道. 臨床に役立つ口腔免疫学アトラス, 医歯薬出版株式会社, (1990).
- 9) Tomasi T. B., Tan E. M., Solomon A. et al., Characteristics of an immune system common to certain external secretions. *J. Exp. Med.*, (1965), **121**, 101-124.
- 10) Crawford J. M., Taubman M. A., Smith D. J., Minor Salivary glands as a major source of secretory immunoglobulin A in the human oral cavity. *Science*, (1975), **190**, 1206-1209.
- 11) 赤保内良和. IgA の分子性状とその代謝機構. 臨床免疫, (1986), **18**, 205-218.
- 12) 名倉 宏. 粘膜上皮細胞と分泌型 IgA. 炎症と免疫, (1994), **2(5)**, 64-73.

- 13) Tomasi T. B., Trudeau F. B., Czerwinski D., Erredge S., Immune parameters in athletes before and after strenuous exercise. *J. Clin. Immunol.*, (1982), **2**, 173-178.
- 14) Mackinnon L. T., Chick T. W., A. van As, Tomasi T. B., The effect of exercise on secretory and natural immunity. *Adv. Exp. Med. Biol.*, (1987), **216A**, 869-876.
- 15) Tharp G. D., Barnes M., Reduction of saliva immunoglobulin levels by swim training. *Eur. J. Appl. Physiol.*, (1990), **60**, 61-64.
- 16) Mackinnon L. T., Jenkins D. G., Decreased salivary immunoglobulins after intense interval exercise before and after training. *Med. Sci. Sports Exercise*, (1993), **25**, 678-683.
- 17) McDowell S. L., Chaloe K., Housh T. J., Tharp G. D., Johnson G. O., The effect of exercise intensity and duration on salivary immunoglobulin A. *Eur. J. Appl. Physiol.*, (1991), **63**, 108-111.
- 18) Housh T. J., Johnson G. O., Housh D. J., Evans S. L., Tharp G. D., The effect of exercise at various temperatures on salivary levels of immunoglobulin A. *Int. J. Sports Med.*, (1991), **12**, 498-500.
- 19) Schouten W. J., Verschuur R., Kemper H. C. G., Habitual physical activity, strenuous exercise, and salivary immunoglobulin A levels in young adults: The Amsterdam Growth and Health Study. *Int. J. Sports Med.*, (1988), **9**, 289-293.
- 20) Hetherington S. V., Spitznagel J. K., Quie P. G., An enzyme-linked immunoassay (ELISA) for measurement of lactoferrin. *J. Immunol. Methods*, (1983), **65**, 183-190.
- 21) Nordbo H., Kolsto A. B., Eriksen H. M., Salivary lactoferrin in a selected group of subjects with exceptional extrinsic dental staining. *J. Oral Pathol.*, (1987), **16**, 392-394.
- 22) Engvall E., Ruoslahti E., Binding of soluble form of fibroblast surface protein, fibronectin, to collagen. *Int. J. Cancer*, (1977), **20**, 1-5.
- 23) 赤間高雄, 秋本崇之, 河野一郎. 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—, (1995), 7-17.
- 24) Bradford M. M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, (1976), **72**, 248-254.
- 25) 久保木芳徳, 藤沢隆一, 唾液の採取法と取り扱い, 臨床検査, (1986), **30**, 937-942.
- 26) Haeckel R., Walker R. F., Colic D., Reference ranges for mixed saliva collected from the literature., *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, (1989), **27**, 249-252.
- 27) Mackinnon L. T., Ginn E., Seymour G. J., Decreased salivary immunoglobulin A secretion rate after intense interval exercise in elite kayakers. *Eur. J. Appl. Physiol.*, (1993), **67**, 180-184.
- 28) Nagura H., Nakane P. K., Brown W. R., Translocation of dimetric IgA through neoplastic colon cells in vitro. *J. Immunol.*, (1979), **123**, 2359-2367.
- 29) Mostov K. E., Kraehenbuhl J. P., Blobel G., Receptor-mediated transcellular transport of immunoglobulin, Synthesis of secretory component as multiple and larger transmembrane forms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, (1980), **77**, 7257-7261.
- 30) Mostov K. E., Transepithelial transport of immunoglobulins., *Annu. Rec. Immunol.*, (1994), **12**, 63-84.
- 31) 早川太郎, 須田立雄. 口腔生化学. 医歯薬出版株式会社, (1994).
- 32) Brock J., Lactoferrin: a multifunctional immunoregulatory protein?. *Immunol. Today*, (1995), **16**, 417-419.
- 33) Kanehisa J., Doi S., Yamanaka T., Takeuchi H., Salivary fibronectin in man: An immunoblotting, radioimmunoassay and immunohistochemical study. *Archs. Oral Biol.*, (1991), **36**, 265-272.