

博士論文

スポーツ活動における口腔内局所粘膜免疫能
の低下および回復

平成 27 年度

筑波大学大学院人間総合科学研究科
スポーツ医学専攻

花岡 裕吉

目次

本研究で使用する略語と記号

第 1 章 序論	1
1-1. 本研究の背景	1
1-2. 本研究の目的	12
第 2 章 本研究の課題	13
第 3 章 上気道感染症と競技パフォーマンスとの関係	15
3-1. 大学運動選手における上気道感染症に対する実態調査（研究 1）	15
3-1-1. 緒言	15
3-1-2. 方法	16
3-1-3. 結果	16
3-1-4. 考察	22
3-1-5. 結論	23
第 4 章 唾液 hBD2 の身体的および精神的ストレスによる応答と上気道感染症との関係	24
4-1. 身体的ストレスに対する唾液 hBD2 および SIgA の応答（研究 2）	24
4-1-1. 緒言	24

4-1-2. 方法.....	25
4-1-3. 結果.....	33
4-1-4. 考察.....	37
4-1-5. 結論.....	39
4-2. 精神的ストレスに対する唾液 hBD2 および SIgA の応答 (研究 3)	40
4-2-1. 緒言.....	40
4-2-2. 方法.....	41
4-2-3. 結果.....	46
4-2-4. 考察.....	52
4-2-5. 結論.....	53
4-3. 継続的高強度運動に対する唾液 hBD2 および SIgA の応答 (研究 4) .	54
4-3-1. 緒言.....	54
4-3-2. 方法.....	55
4-3-3. 結果.....	60
4-3-4. 考察.....	66
4-3-5. 結論.....	67
第 5 章 口腔内局所粘膜免疫能の回復を促す介入.....	69
5-1. 乳酸菌が継続的な高強度運動に対する唾液 hBD2 の応答 (研究 5) ...	69
5-1-1. 緒言.....	69
5-1-2. 方法.....	70
5-1-3. 結果.....	75
5-1-4. 考察.....	79
5-1-5. 結論.....	81

5-2. 鍼刺激が一過性高強度運動後に対する唾液 hBD2 の応答 (研究 6) ...	82
5-2-1. 緒言	82
5-2-2. 方法	83
5-2-3. 結果	89
5-2-4. 考察	93
5-2-5. 結論	95
第 6 章 総合討論	96
6-1. 本研究の目的	96
6-2. 本研究で得られた成果	96
6-3. 本研究で得られた成果の意義および今後の課題	97
第 7 章 結語	101

謝辞

参考文献

付記

本研究で使用する用語の定義と略語

鍼刺激：怪我や病気の治療を目的とせず，鍼を行うこと

鍼治療：怪我や病気の治療を目的に，鍼を行うこと

ACTH：adrenocorticotropic hormone：副腎皮質刺激ホルモン

BMI：body mass index：体格指数

CD：cluster of differentiation：白血球分化抗原

ELISA：enzyme-linked immunosorbent assay：酵素免疫測定法

hBD：human beta defensin：ヒトβ-ディフェンシン

hBD1：human beta defensin 1：ヒトβ-ディフェンシン 1

hBD2：human beta defensin 2：ヒトβ-ディフェンシン 2

hBD3：human beta defensin 3：ヒトβ-ディフェンシン 3

HR：heart rate：心拍数

IFN：interferon：インターフェロン

IL：interleukin：インターロイキン

pIgR：polymeric immunoglobulin receptor：多量体免疫グロブリン受容体

RSV : respiratory syncytial virus : RS ウイルス

SC : secretory component : 分泌成分

SIgA : secretory immunoglobulin A : 分泌型免疫グロブリン A

Tc : T-cytotoxic : 細胞傷害性 T 細胞

Th : T-helper : ヘルパー T 細胞

Th1 : T-helper type 1 : Th1 細胞

Th2 : T-helper type 2 : Th2 細胞

Th17 : T-helper type 17 : Th17 細胞

TNF- α : tumor necrosis factor - alpha : 腫瘍壊死因子- α

URTI : upper-respiratory tract infection : 上気道感染症

$\dot{V}O_{2\max}$: maximal oxygen uptake : 最大酸素摂取量

第1章 序論

1-1. 本研究の背景

1-1-1. アスリートにおける上気道感染症

アスリートが、高いパフォーマンスを発揮するためには、強度の高いトレーニングが必要不可欠である。しかし、高強度トレーニングの反復は、免疫系、神経系、内分泌系の失調をもたらし、慢性疲労や感染症の罹患を引き起こすことが知られている (Gabriel et al., 1997)。したがってアスリートは、高強度運動によるこのような負の影響を最小限に留めながら、競技大会に向けてパフォーマンスや体調を最高の水準に調整することが必要である。

インフルエンザウイルスやライノウイルス、respiratory syncytial virus (RS ウイルス) などによってもたらされるかぜ症候群は、上気道感染症 (upper-respiratory tract infection : URTI) と呼ばれ、鼻水、喉頭痛、咳、頭痛、発熱、倦怠感、吐き気などの諸症状を伴う。さらに上気道感染症は、気管支炎などの下気道感染症や肺炎などに重篤化するため、注意を要する疾患でもある。このような上気道感染症は、アスリートの体調を著しく悪化させ、ハイパフォーマンスの発揮を困難にし、試合や練習への長期離脱やチーム内への蔓延を招く可能性もあるため、特に罹患を避けたい疾患である。そのため、アスリートにおける上気道感染症に対する易感染性は、競技現場において重要な問題である。

赤間 (2008) は、国際競技大会において内科的症状を訴えた選手の多くが上気道感染症に罹患していたことを報告している。また清水ら (2007) は、体重階級制種目における急速減量 (短期間で行う減量) によって上気道感染症状が増加することを示している。さらに、マラソン競技に出場した選手は、出場しなかった選手に比べて上気道感染症状の発症率が高いことも示

されている (Peters et al., 1983 ; Nieman et al., 1990).

上気道感染症と運動との関係を検討した報告は多い (Neiman, 1990 ; Heath et al., 1991 ; Cannon, 1993 ; Gleeson et al., 2000 ; Nieman, 2010). 高強度トレーニングの反復によって上気道感染症の罹患リスクが高まることや (Cannon, 1993), アスリートにおける上気道感染症の罹患率はトレーニング量が多いほど高い傾向にあることが示されている (Heath et al., 1991). Gleeson et al. (1995) は, 運動量の多いトレーニング期間において競泳選手の上気道感染症症状が増加したことを報告している. しかし一方では, 適度な有酸素運動を継続的に行うことによって上気道感染症症状の発生率が低下することが報告されている (Nieman, 1990 ; 2010). このような運動強度と上気道感染症の関係について, Nieman et al. (1994a ; 1994b) は, “J-shaped model” を提唱しており (Fig. 1-1-1), 運動習慣のない者 (sedentary) と比較して, 中等度 (moderate) の強度・時間の運動を行う者の罹患リスクは低く, 一方で高強度 (very high) の運動を行う者の罹患リスクは高いとしている. これらより, 適度な運動は免疫機能を高めるが, 高強度の運動は免疫機能を低下させることが示されている.

高強度運動による免疫抑制状態は運動直後から認められ, ウイルスなどの感染感受性を高めて不顕性感染を招き, さらに臨床的な感染症をきたすという “open window theory (侵入門戸開放理論)” が Pedersen et al. (1995 ; 1994) によって提唱されている. 高強度の運動後の open window 期の特徴としては, 好中球および顆粒球, ナチュラルキラー (Natural killer: NK) 細胞, マクロファージなど自然免疫を担う免疫細胞群の量的および質的機能低下とともに, 獲得免疫において細胞性免疫の機能低下を示している (Nieman DC, 1997 ; 2007 ; Ostrowski et al., 1999 ; Suzuki et al., 2000). 一過性の open window は, 運動後に一定の回復期間を設けることで解消さ

れる。しかし、回復が十分でないままに高強度のトレーニングを繰り返すと慢性的な免疫機能の低下が生じることが予想される。そのため、継続的に高強度トレーニングを行っているアスリートは、積極的な休養や回復方法を取り入れ、免疫能を維持あるいは向上させコンディションを整えることが重要である。

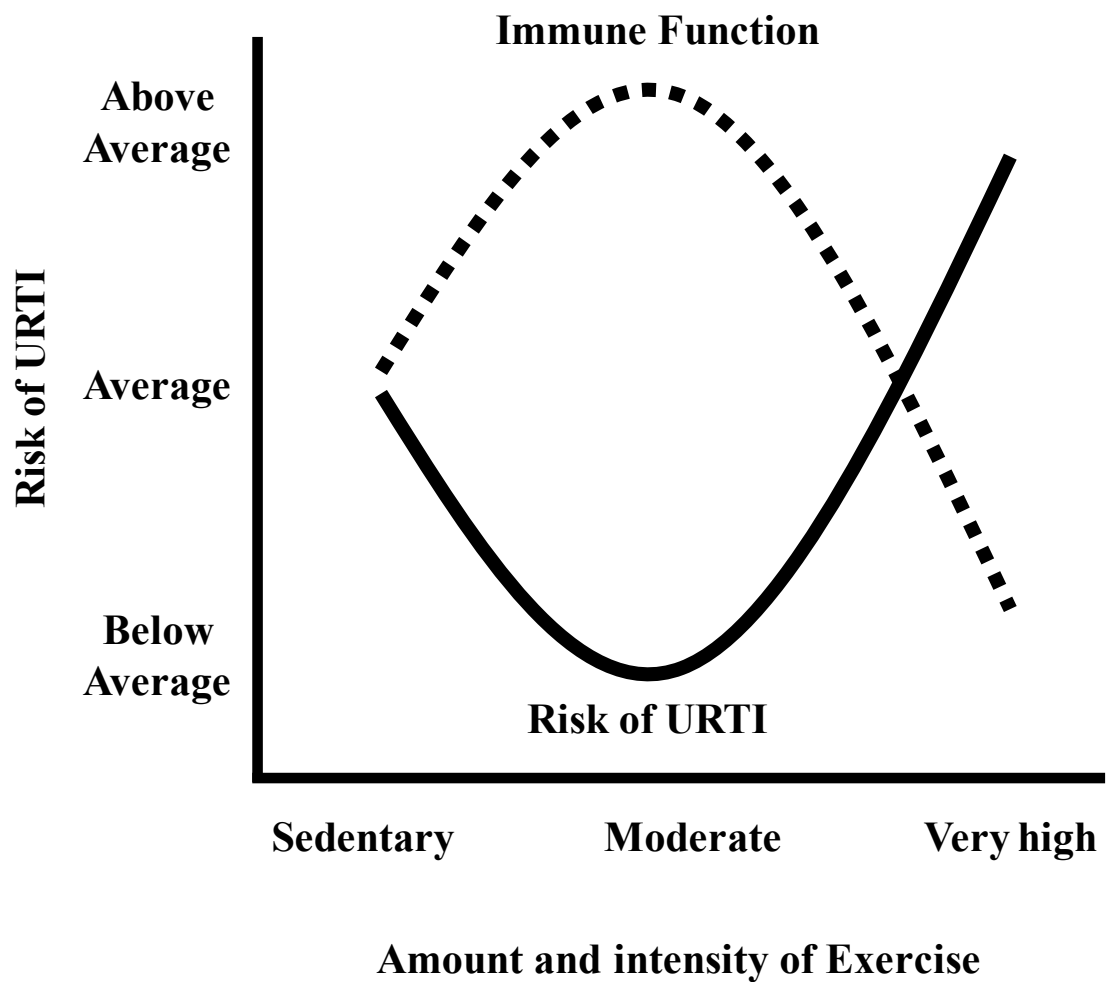


Fig. 1-1-1. J-shaped model of relationship between varying amounts of exercise and risk of URTI, and immune function (modified Nieman, 1994a ; 1994b).

1-1-2. 免疫機能と運動

免疫系は、血液やリンパ液を介して全身に広く分布した全身免疫系と口腔や気道、腸管などの粘膜下に存在する局所粘膜免疫系に大別される。これらが相互に働くことで、外界から侵入する病原微生物や異物の排除、変異した細胞や老廃物の除去が行われ、生体の恒常性が維持されている。

呼吸や飲食などによって、生体内に病原体が侵入する際には、必ず口腔や鼻腔、咽頭、喉頭、気管などに存在する粘膜を介する。粘膜は、単層の粘膜上皮のみで覆われている脆弱な組織であるため、微生物が侵入しやすい。そのため粘膜では、糖タンパクであるムチンを大量に含んだ粘液を絶えず分泌することで、粘膜上皮と外界との直接的な接触を防いでいる(笹月ら, 2003)。粘液中には、多くの抗菌タンパクが存在し、粘膜における感染防御を担っている。抗菌タンパクとは、最も原始的な免疫能であり、哺乳類だけでなく昆虫や植物などにおいても感染防御を司る抗菌物質として知られている(Wiesner and Vilcinskis, 2010)。その中でもディフェンシンは、幅広い抗細菌・抗真菌・抗ウイルス作用を有している(Hancock et al., 2000; Selsted et al., 2005)。ディフェンシンは、約20-50個のアミノ酸からなるペプチドであり、アルギニン(R: arginine)やリシン(K: lysine)などの塩基性アミノ酸を多く含んでいる。ヒトのディフェンシンは、構造の違いにより α 型と β 型に分類されている。

ヒトの β -defensin (human beta defensin: hBD)は、皮膚、肺、気管、腎臓、生殖器などの粘膜上皮に発現し、human beta defensin 1 (hBD 1)とhuman beta defensin 2 (hBD 2)とhuman beta defensin 3 (hBD3)の3種類が同定されている(Zhao et al., 1996; Harder et al., 1997; Bals et al., 1998)。hBD 1は、主に腎、子宮などの泌尿生殖器で発現している。hBD 2は、hBD 1と相同性をもつ新たな抗菌タンパクとして単離

されている。hBD2は全身臓器にその発現がみられるが、特に皮膚、気管および肺で強く発現がみられ、唾液中からも検出されている。hBD2は細菌感染や炎症性サイトカインによってその発現が誘導されるという特徴がある(Harder et al., 1997; Singh, 1998)。またhBD2は、インフルエンザAウイルス、RSウイルスの粘膜下への侵入を防ぐことで上気道感染の防御に働くことや(Doss et al., 2009; Kota et al., 2008)、細菌性肺炎患者の血漿hBD2濃度は、健常者と比較して有意に高値であったとの報告がある(Hiratsuka et al., 1998)。以上のことからhBD2は、上・下気道感染症や肺炎などの呼吸器感染とより密接な関係をもつことが考えられる。hBD-3は、皮膚、扁桃、気管、胎盤、睪丸、胸腺、心臓などに発現している(Harder, 2001)。また、炎症性サイトカインである tumor necrosis factor- α (TNF- α)によって発現が誘導されることが知られている(García JR et al., 2001)。

分泌型免疫グロブリンA (secretory immunoglobulin A: SIgA)は、涙、唾液、尿、乳汁中に多量に分泌され、外界から侵入する微生物などに対して特異的に結合することでさまざまなウイルスや毒素を中和し、病原微生物の接着と複製を防ぐ。またSIgAの分泌量が低下すると、上気道感染症の罹患リスクが高まると考えられている(Mazanec, 1993; Lamm, 1997)。

口腔粘膜免疫能と運動に関する研究は多く報告されているが、そのほとんどが唾液中SIgAに関するものである(Gleeson et al., 2000; Neville et al., 2008; Fahlman et al., 2005)。SIgA分泌は一過性高強度運動によって低下することが知られている。Mackinnon et al, (1987)は、70–75% $\dot{V}O_{2max}$ 負荷で120分間の自転車ペダリング運動を行ったところ、唾液SIgA濃度が低下することを示しており、秋本ら(1998b)は、フルマラソン実施後に唾液SIgA濃度が顕著に低下することを報告している。また秋本ら(1998a)

は、寒稽古中における大学剣道部員を対象とし、安静時における SIgA 濃度が寒稽古によって高強度トレーニングの維持で有意に低下したことを報告している。さらに、Neville et al. (2008) は、ヨット競技選手を対象とし、トレーニング期間中に安静時の SIgA 分泌の低下とともに上気道感染症状の発症が確認されたことを報告している。また、Yamauchi et al. (2011) は、大学ラグビー選手における強化合宿期間中の安静時の SIgA 分泌が低下し、それとともに、上気道感染症状が増加することを報告している。これらのことから、高強度運動の反復によって安静時の SIgA 分泌が低下し、上気道感染症の罹患リスクが高まると考えられる。

運動に伴う hBD2 の変動に関する研究は、ほとんどない (Usui et al., 2011; Usui et al., 2012; Eda et al., 2013; 李ら, 2014)。Usui et al. (2011) は、健常成人男性を対象に $75\% \dot{V}O_{2max}$ 負荷の自転車ペダリング運動を 60 分間行ったところ、運動直後に唾液中 hBD2 濃度が上昇することを報告している。しかし、エリートマラソンランナーは健常成人と比べて安静時の唾液 hBD2 分泌が低下しているとの報告がある (Usui et al., 2012)。さらに Eda et al. (2013) は、中高齢者を対象にヨガストレッチング (中等度運動) を 60 分間行ったところストレッチング前と比べてストレッチング直後に唾液 hBD2 分泌が増加したことを報告しているが、李ら (2014) の報告では、太極拳を 90 分間行ったところ太極拳の前と比べて太極拳後に唾液 hBD2 が低下したことを報告している。

これらのことより、hBD2 の運動応答は一定の見解を得られていない。しかしながら、唾液 hBD2 の応答を調べることは、口腔内局所粘膜免疫能を評価する上で有益な情報になる。特に唾液は、非侵襲的で簡便に採取することができる。また短期間に繰り返し採取することができるため、競技選手のコンディション評価において有用な指標となることが期待できる。よって、本

研究においては先行研究の多い SIgA と共に hBD2 のスポーツ活動に伴うストレス応答を明らかにする。

1-1-3. 乳酸菌と免疫機能

乳酸菌は、古くから世界中で多種多様な発酵食品の製造に用いられてきた有益な細菌である。近年、健康志向の高まりとともに、乳酸菌は腸内の善玉菌として広く注目されるようになった。乳酸菌は *Leuconostoc* 属、*Pediococcus* 属、*Streptococcus* 属、*Lactobacillus* 属の 4 つの属に大きく分類されるが、化学分類学的手法、遺伝学的手法の導入により再分類や新たな属の分類・報告などで現在では 30 以上の属が乳酸菌として報告されている。

乳酸菌の作用としては、整腸作用による腸内環境改善、便秘改善、栄養素の消化吸收改善や血圧降下作用、脂質代謝改善作用、免疫調節作用による感染防御やアレルギー抑制作用などがある。乳酸菌による免疫調節作用としては、ヘルパーT 細胞 (T-helper: Th 細胞) 応答の調節が知られている。Th 細胞は、主にインターフェロン (Interferon: IFN) - γ を産生するヘルパー T 細胞 1 型 (T-helper type 1: Th1 細胞) と、主にインターロイキン (Interleukin: IL) -4, IL-5, IL-13 を産生する Th2 細胞、IL-17 を産生するヘルパーT 細胞 17 型 (T-helper type 17: Th17 細胞) に分類される。先行研究の多くは、乳酸菌が IL-12 の産生を誘導し、Th1 細胞の分化を促進することが報告されており、IL-12 誘導による Th1 細胞増強効果が示されている (Cox et al., 2010; Shida et al., 1998)。

近年、乳酸菌の摂取で上気道感染症の予防や症状軽減を試みた研究が報告されている (de Vrese et al., 2006; Hatakka et al., 2001)。乳酸菌の継続的な摂取によって上気道感染症状の継続日数が短縮されることや (岸ら, 2006)、上気道感染症状を軽減させることが報告されている (Kotani et al.,

2010). また、フィンランドにおいて乳幼児に乳酸菌を7ヶ月摂取させると呼吸器感染症が有意に減少し、さらに入院日数の減少、抗生物質の必要投与量の減少が確認されている。

乳酸菌の摂取がアスリートの口腔内局所粘膜免疫能に及ぼす影響を検討した研究は少ない。Cox et al. (2010) は、4週間の乳酸菌含有カプセルの摂取で上気道感染症状の罹患数および出現日数が減少したことを報告している。また Gleeson et al. (2011) は、運動習慣のある成人男女を対象に、16週間の乳酸菌飲料の摂取によって上気道感染症状の出現日数が短縮したことを報告している。

これらのことから、継続的な乳酸菌の摂取によって口腔内局所粘膜免疫能の応答に対して好影響を及ぼすことが考えられるが、唾液中 hBD2 への影響を検討した研究はなく、不明である。

1-1-4. 鍼治療と免疫機能

鍼治療は、コンディショニングの一つとして競技現場において広く用いられており（森山，2000；古屋ら，2006；泉，2011；宮本，2011），疼痛の軽減，筋緊張の緩和，局所循環の改善，疲労の回復などを目的として行われている。大学競技スポーツ選手を対象とした鍼治療の実態調査によると，鍼治療を選択した理由として「痛みの軽減」や「疲労の除去」，「筋肉の張りの緩和」と整形外科的な内容が多いが，中には「コンディショニング」や「内科的疾患」を選択理由とした選手も確認され，鍼治療は内科的なコンディショニングの調整にも役立てられていることがわかる（秋本ら，1998c）。

古くから鍼治療は全身のバランスを整えることで，自然治癒力を増強し，疾患の予防や治療に効果を示すと考えられている。Joos et al. (2000) は，気管支喘息患者に鍼治療を行い，治療後に全身症状の改善が認められ，T 細

胞および T 細胞サブセットのヘルパー T (T-helper : Th) 細胞の増加, 血中の炎症に関わるサイトカインである IL-6 および IL-10 の減少, IL-8 の増加を報告している. 鈴木ら (2006) は, 薬物による喘息のコントロールが不良であった気管支喘息患者に鍼治療を行ったところ, 自覚症状や呼吸機能の改善が認められ, 高値を示していた末梢血の好酸球数が基準値 (5%以下) まで改善したと報告している.

健常人を対象とした先行研究に関しては, 鍼刺激によって Natural Killer (NK) 細胞や T 細胞サブセットの Th 細胞および細胞傷害性 T (T-cytotoxic : Tc) 細胞の増加や (山口ら, 2002), 好中球の呼吸バースト活性の亢進が報告されている (Karst, 2003). 動物実験では, 鍼刺激によってラット脾臓中の NK 細胞活性が増強することが報告されている (Sato et al., 1996). さらに鍼刺激によって, T 細胞活性に関わる IL-2, 抗ウイルス作用を示す IFN- γ , 免疫系の調節に関わる副腎皮質ホルモンであるコルチゾールの放出を促す副腎皮質刺激ホルモン (adrenocorticotrophic hormone : ACTH) および β -エンドルフィンの増加が報告されており, 鍼刺激はサイトカインやホルモン動態にも影響を与えることが知られている (Yu et al., 1997 ; 1998 ; Pan et al., 1996).

これまで鍼刺激が運動に対する粘膜免疫系の応答に及ぼす影響について検討した研究はいくつか散見される (Akimoto et al., 2003; 松原ら, 2010b; Matsubara et al., 2010). Akimoto et al. (2003) は, 大会期間中の女子サッカー選手に継続的な鍼刺激を行ったところ, 安静時の唾液中 Secretory immunoglobulin A (SIgA) 分泌の低下が抑制されたことを示し, スポーツ選手のコンディショニングとして鍼治療の有用性を述べている. また Matsubara et al. (2010) は, 健常成人男性を対象とし, 高強度の自転車運動後に鍼刺激を行ったところ, 唾液中 SIgA 分泌の低下が抑制されたことを

報告している。これらのことから、鍼刺激は高強度運動に対する口腔内の粘膜免疫能の応答に対して好影響を及ぼすことが考えられるが、唾液中 hBD2 への影響を検討した研究はなく、不明である。

1-2. 本研究の目的

本研究では、口腔内局所粘膜免疫能を反映する唾液 hBD2 に着目して、スポーツ活動による口腔内局所粘膜免疫能の低下および回復を明らかにすることを目的とし、これを達成するために以下の課題を設けた。

1. 大学アスリートを対象に上気道感染症と競技パフォーマンスとの関係性を示す。
2. スポーツ活動に関わる身体的および精神的ストレスが口腔内局所粘膜免疫能に及ぼす影響を明らかにする。
3. 高強度運動で低下した口腔内局所粘膜免疫能の回復方法について探る。

これらの研究課題を明らかにすることで、口腔内局所粘膜免疫能という観点から、アスリートにおける、上気道感染症の罹患予防に役立つコンディショニングプログラムを策定するための知見が提供できるものと考えられる。

第 2 章 本研究の課題

本博士論文は、(1) 上気道感染症と競技パフォーマンスとの関係、(2) 唾液 hBD2 の身体的および精神的ストレスによる応答と上気道感染症との関係、(3) 口腔内局所粘膜免疫能の回復を促す介入、の 3 つの研究課題から構成されている。

研究課題 1：上気道感染症と競技パフォーマンスとの関係

日常的に高強度運動を行っている大学アスリートを対象として、上気道感染症と競技パフォーマンスとの関係を検討する（研究 1）。

研究課題 2：唾液 hBD2 の身体的および精神的ストレスによる応答と上気道感染症との関係

研究課題 2 では新規ストレスマーカーである hBD2 の身体的および精神的ストレス応答を SIgA とともに検討する。

口腔内局所粘膜免疫能を反映する唾液 hBD2 を指標として、身体的ストレスに対する一過性の応答を明らかにするために、一過性高強度運動に対する唾液 hBD2 応答について SIgA とともに検討する（研究 2）。また、精神的ストレスに対する一過性の応答を明らかにするために、算術負荷に対する唾液 hBD2 応答について SIgA とともに検討する（研究 3）。さらに、継続的なストレス応答を明らかにするために、合宿期間中における安静時の唾液 hBD2 応答について SIgA とともに検討する（研究 4）。

研究課題 3：口腔内局所粘膜免疫能の回復を促す介入

継続的な乳酸菌の摂取が唾液 hBD2 を指標とした口腔内局所粘膜免疫能とトレーニング合宿期間中における，上気道感染症状に及ぼす影響について検討する（研究 5）．さらに，鍼刺激が唾液 hBD2 を指標とした口腔内局所粘膜免疫能に及ぼす影響について検討する（研究 6）．

第3章 上気道感染症と競技パフォーマンスとの関係

3-1. 大学運動選手における上気道感染症に対する実態調査（研究1）

3-1-1. 緒言

アスリートは競技大会においてハイパフォーマンスを発揮するために日常的に高強度のトレーニングを行っている。しかし、高強度トレーニングの継続は免疫機能を低下させ上気道感染症の罹患リスクを増大させることが知られている (Heath et al., 1991; Cannon, 1993)。実際に、オリンピックや世界選手権などの重要な国際大会期間中にも関わらず多くのアスリートが上気道感染症を罹患していたことが報告されている (渡部, 2006; 赤間, 2008; Engebretsen et al., 2013)。

上気道感染症とは、いわゆるかぜ症候群のことであり、一般的な初期症状は、鼻や喉頭の不快感などの呼吸器症状からはじまる。鼻の粘膜で炎症が起きると、くしゃみや鼻汁、鼻づまりの症状が現れ、喉頭の粘膜で炎症が起きると、咳や痰、痛みの症状が現れる。さらに症状が進むと、発熱や悪寒、頭痛、筋肉痛、関節痛などの全身症状に至ることもある。上気道感染症の進行は、ガス交換機能を含め肺機能が低下することや (Cate et al., 1973)、上気道感染症による発熱は、心拍出量および一回拍出量を低下させる (Montague et al., 1988)。さらにウイルス感染症では筋痛や筋力低下が報告されている (Daniels et al., 1985)。このように上気道感染症は心肺機能や筋力などスポーツ活動を支える機能を低下させ、パフォーマンスに影響を与えることが懸念される。

しかし、アスリートを対象に上気道感染症に対する実態調査を行った研究はない。そこで本研究では、大学アスリートが自覚する上気道感染症と競技パフォーマンスについての実態を明らかにする。

3-1-2. 方法

3-1-2-1. 対象

S 大学体育会に所属する学生を対象とした。対象者には、本研究内容を説明し、同意の得られた対象者に質問紙を配布した。なお、本研究は「ヘルシンキ宣言」の趣旨に従い、且つ「筑波大学人間系研究倫理審査委員会」の承認を得て実施した（承認番号：筑 25-171 号）。

3-1-2-2. 調査方法

調査方法は、自記式質問紙法によるアンケート形式を用いた。アンケートの項目は、1.プロフィールについて（年齢、性別、競技名、競技レベル）、2.上気道感染症（過去1年間に罹患した上気道感染症の回数、上気道感染症感染中のパフォーマンス）についてとした。

3-1-2-3. 統計処理

すべての項目に対し、単純集計を実施した後に、適合度検定（ χ^2 検定）を用いて統計処理を実施した。なお、有意水準は 5%未満とした。

3-1-3. 結果

3-1-3-1. 質問紙の回収数と対象者のプロフィール

S 大学運動部の学生 85 名（19.7 ± 1.7 歳）（男性 54 名，女性 31 名）より回答を得ることができた。競技は、陸上競技（45 名），サッカー（13 名），バスケットボール（13 名），バレーボール（10 名），野球（3 名），テニス（1 名）の 6 競技であった（Table 3-1-1）。競技レベルは、全国大会出場レベルが 7 名，地区大会出場レベルが 20 名，県大会出場レベルが 40 名，記録会出

場レベルが 16 名，不明が 2 名であった (Table 3-1-2).

3-1-3-2. 上気道感染症の罹患回数・期間

過去 1 年間に上気道感染症を罹患した回数では，年に 1 回が 35%(29 名)，年に 2 回 (6 ヶ月に 1 回) が 32% (27 名)，年に 4 回 (3 ヶ月に 1 回) が 25% (21 名) であった (χ^2 値 = 41.4; $p < 0.01$) (Fig. 3-1-1). 上気道感染症の罹患期間としては，1-3 日が 39 名 (47.6%)，4-7 日が 37 名 (45.1%)，8-14 日が 6 名 (7.3%) であった.

3-1-3-2. 上気道感染症罹患時のパフォーマンス

上気道感染症罹患時のパフォーマンスについては，「パフォーマンスは下がる」が 67 名 (82%) と最も多く，「パフォーマンスは変わらない」が 9 名 (11%)，「パフォーマンスは高まる」が 6 名 (7%) であった (χ^2 値 = 86.5; $p < 0.01$) (Fig. 3-1-2).

Table 3-1-1. Athletic event of subjects

	Field and track	Volleyball	Soccer	Baseball	Basketball	Tennis
<i>n</i>	45	10	13	3	13	1

Table 3-1-2. Competition score of subjects

level	unknown	Under prefectural	Prefectural	regional	National	International
<i>n</i>	2	16	40	20	7	0

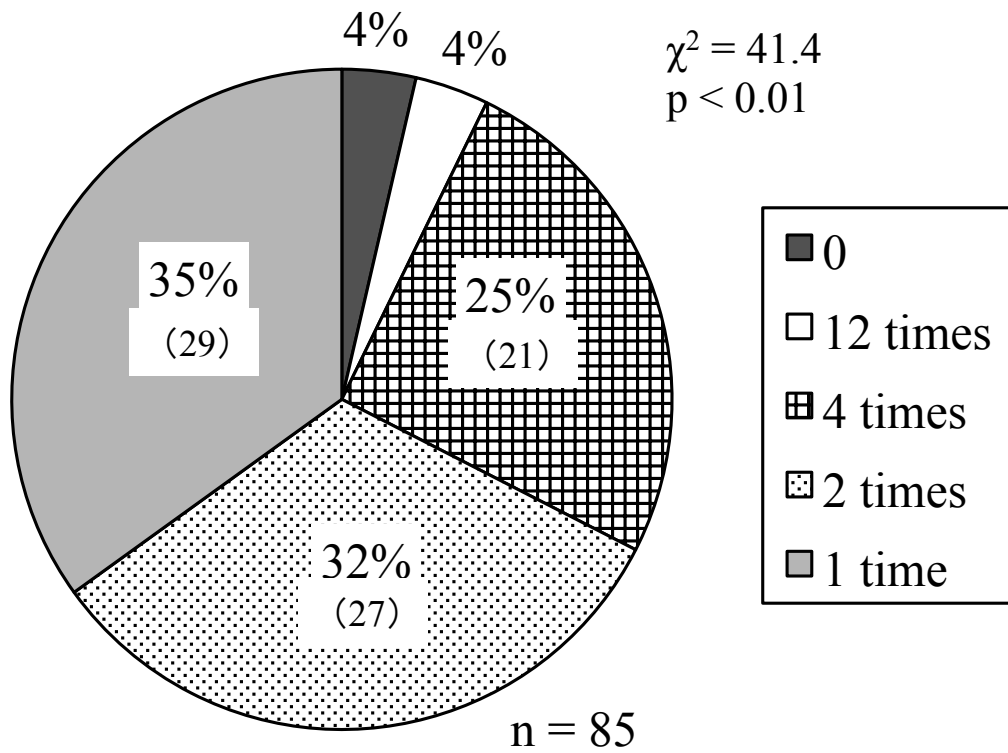


Fig. 3-1-1. The number of Upper respiratory tract infection in a yea

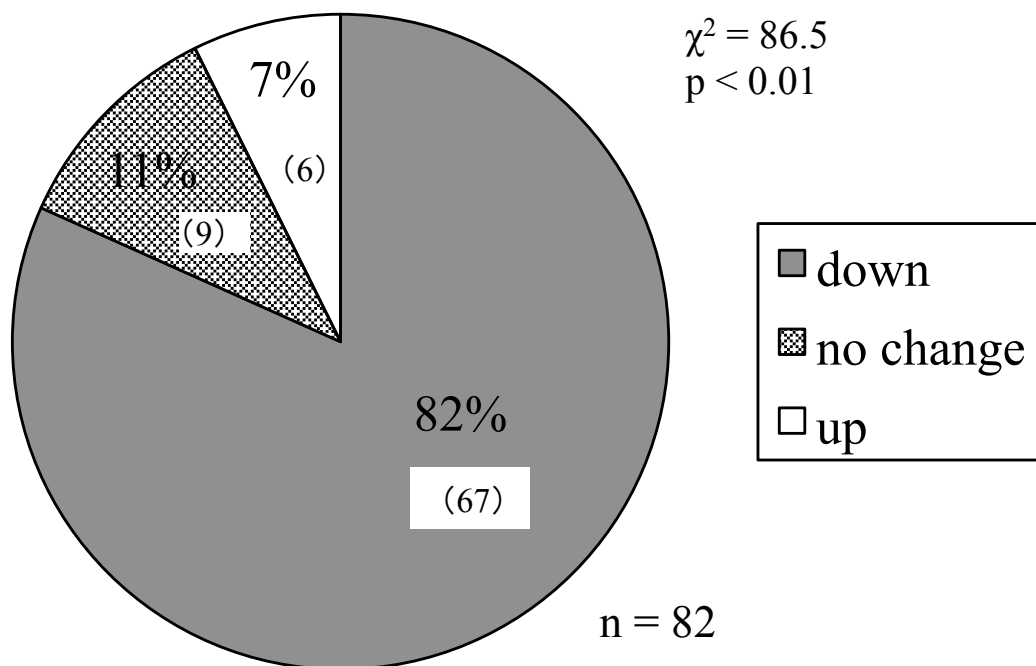


Fig. 3-1-2 Athletics performance among upper respiratory tract infection

3-1-4. 考察

本研究では、大学アスリートを対象に上気道感染症に対する実態調査を行った。多くの大学アスリートが上気道感染症の罹患を経験しており、多くのアスリートが上気道感染症によってパフォーマンスが低下すると考えていることが示された。

先行研究より、適度な運動の継続は、免疫機能を向上させ感染リスクを低下させるが、過度な運動の継続は免疫機能を低下させ、感染リスクを高めることが報告されている (Heath et al., 1991; Cannon, 1993)。また先行研究より、日常的に高強度運動を行っているアスリートは健常成人と比較して粘膜免疫能が低下していることが報告されている (Nieman DC, 1994b; Usui et al., 2012)。これらのことより、アスリートは免疫機能が慢性的に低下した状態であると考えられている。本研究結果より、96%の選手が上気道感染症を年に1回以上罹患していた。「日本の風邪事情」調査(2011年)によると、日本人が1年間に風邪を罹患した回数は、全国平均2.34回であった。本研究の対象者の平均回数は2.4回とほぼ同等の回数であった。そのため、本研究の対象者は平均的な上気道感染症罹患回数であったが、全国大会出場経験のある選手7名では平均回数は4.0回であった。このことから、競技レベルの高い選手は上気道感染症への罹患リスクが高いことが示唆され、先行研究と同様の結果が示された。

先行研究より、高強度運動の継続は免疫機能を低下させ、上気道感染症の罹患リスクを高めることが報告されている (Neville V et al., 2008; Yamauchi et al., 2011)。しかし、上気道感染症とアスリートとのパフォーマンスについては調べられておらず、アスリートの主観は示されていなかった。本研究結果より、上気道感染症の罹患時にはパフォーマンスが低下すると考えている

選手が多いことが示された。上気道感染症罹患中に身体パフォーマンスが低下する要因とされているのが、筋肉タンパク質の異化、循環器系の調節障害およびミトコンドリアの異常が報告されており、これらの要因で筋力や持久力が低下し競技パフォーマンスが低下すると考えられる (Friman et al., 1995; Maffulli et al., 1993; Behan et al., 1993)。これらのことより、アスリートのコンディションを維持しパフォーマンスを高めるためにも、免疫機能の状態を把握し、免疫機能が低下しないように維持していくことが重要である。

3-1-5. 結論

競技レベルの高いアスリートは上気道感染症への罹患リスクが高いことが示された。また、上気道感染症は競技パフォーマンスを低下させることから、競技力を維持および向上させるためにも免疫機能を評価し、上気道感染症の予防に努めることが重要である。

第4章 唾液 hBD2 の身体的および精神的ストレスによる応答と上気道感染症との関係

4-1. 身体的ストレスに対する唾液 hBD2 および SIgA の応答 (研究2)

4-1-1. 緒言

高強度の運動は免疫機能を低下させ、上気道感染症の罹患リスクを高めることが知られている (Nieman et al., 1994a ; 1994b). 上気道感染症を引き起こす病原体は、粘膜から侵入することから、粘膜免疫能の役割は感染防御の観点において非常に重要である。唾液 human beta defensin 2 (hBD2) は、幅広い抗細菌・抗真菌・抗ウイルス作用を有し (Hancock et al., 2000 ; Selsted et al., 2005), 病原体の殺菌・静菌作用によって上気道感染症を引き起こす病原体の侵入を防ぐことが知られている (Kota et al., 2008).

分泌型免疫グロブリン A (secretory immunoglobulin A : SIgA) は、微生物などに対して特異的に結合することでさまざまなウイルスや毒素を中和し、病原微生物の接着と複製を防ぐ (Mazanec, 1993 ; Lamm, 1997).

口腔粘膜免疫能と運動に関する研究は多く報告されているが、そのほとんどが唾液中 SIgA に関するものであり、一過性高強度運動によって SIgA は低下することが知られている (Mackinnon et al., 1987 ; 秋本ら, 1998b).

一方で、運動に対する hBD2 の応答に関する研究はほとんどない (Usui et al., 2011; Usui et al., 2012, Eda et al., 2013). Usui et al. (2011) は、自転車ペダリング運動 (75%VO_{2max}, 60 分間) 後に唾液 hBD2 分泌が上昇することを報告している。一方で、エリートマラソンランナーは一般健常成人男性と比較して安静時の hBD2 分泌が少ないことを報告している (Usui et al., 2012). また Eda et al (2013) は、ヨガストレッチ後に高齢者の唾液 hBD2 分泌が

有意に増加したことを報告している。これらのことより、hBD2は運動に応答するものの、その応答性については一定の見解を得られておらず不明な点が多い。

そこで本研究では、健常成人男性を対象として、口腔内局所粘膜免疫能を反映する唾液 hBD2 を指標として、一過性高強度運動が唾液 hBD2 に及ぼす影響についてについて SIgA とともに検討した。

4-1-2. 方法

4-1-2-1. 対象

若年成人男性 8 名を対象とした (Table 4-1-1)。対象者は日常において高強度運動を習慣的に行っておらず、喫煙習慣はない。また対象者に対して、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、文章による参加の同意を得た。なお、本研究は「ヘルシンキ宣言」の趣旨に従い、且つ「筑波大学体育系研究倫理審査委員会」の承認を得て実施した (承認番号：体 24-57 号)。

4-1-2-2. 調査方法

本研究では、はじめに最大運動負荷テストにより $\dot{V}O_{2max}$ を測定した後、1 週間以上の期間をあけて、定常運動負荷を行わない Control 実験を行った。その後、3 日以上の期間をあけて定常運動負荷テストを実施する Exercise 実験を行った (Fig. 4-1-1)。なお Control 実験は、7:30 (pre), 8:30 (post), 9:30 (post 1h), 10:30 (post 2h), 11:30 (post 3h), 翌日 8:30 (post 24h) に測定を行った。一方 Exercise 実験は、定常運動負荷テスト前の運動前 (pre), 運動直後 (post), 運動終了 1 時間後, 2 時間後, 3 時間後, 24 時間後 (post 1h, post 2h, post 3h, post 24h) に唾液採取を行い、Control 実験の採取時間と合

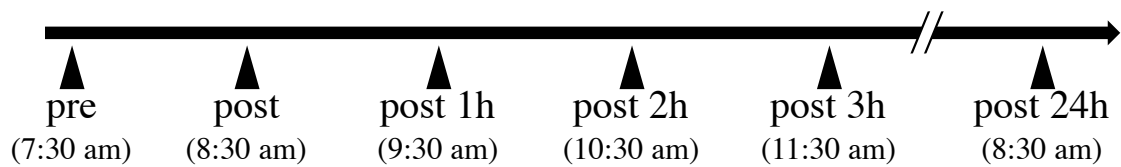
わせた. pre における唾液採取は, 午前 7 時 20 分-7 時 40 分の間に行った.
対象者は, 前日の運動および前日 22 時から当日の飲食 (水のみ許可した)
を控えるように指示した.

Table 4-1-1. Characteristics of subjects

<i>n</i>	8
Age (yr)	23.4 ± 0.6
Height (cm)	171.6 ± 1.3
Body mass (kg)	65.3 ± 1.9
Body fat (%)	17.7 ± 0.7
Body Mass Index (kg/m ²)	22.1 ± 0.4
VO _{2max} (ml/kg/min)	42.8 ± 4.8
Maximal Borg scale during exercise	17.6 ± 0.5
Maximal Heart Rate during exercise (bpm)	170.1 ± 4.2

All values are expressed as means ± SE.

Control experiment



Exercise experiment

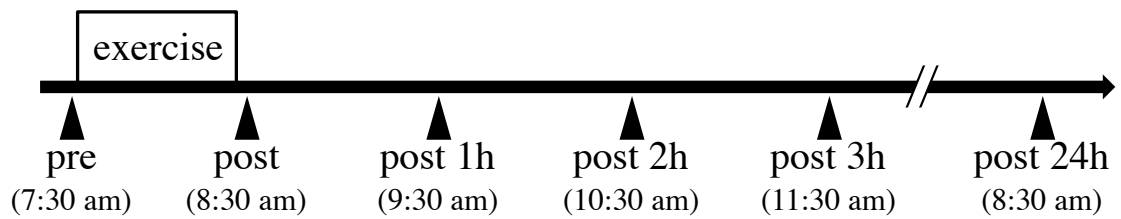


Fig. 4-1-1. Experimental design of the study

The subjects in exercise experiment performed an exercise on a bicycle, equipped with an ergometer, for 60 minutes at 75% $\dot{V}O_{2max}$, while subjects in control experiment did not exercise.

4-1-2-3. 最大運動負荷テスト

対象者は、自転車エルゴメーター（75XL3（Ⅲ）, コンビウエルネス社, 東京）を用いた運動負荷によって最大酸素摂取量（ $\dot{V}O_{2max}$ ）を測定した。自転車エルゴメーターのサドルに座り、2分間の安静後に10 W からスタートして3分後に100 W になるように負荷（30 W/min のランプ負荷）を設定して3分間のウォーミングアップを行い、その後、疲労困憊に至るまで15 W/min のランプ負荷運動を行った。運動中のペダル回転数は60 rpm を維持するように指示した。テスト終了条件は、①呼気ガス分析装置（AE-310S, ミナト医科学社, 大阪）によりモニターされた酸素摂取量（ VO_2 ）がプラトーに達した時点、②ガス交換比が1.10 を上回った時点、③心拍数が予測最大心拍数（220-年齢）を超えた時点のうち、いずれか2つに該当した時点とした。ランプ負荷運動中の VO_2 を呼気ガス分析装置により、breath by breath 法にて測定し、それらの30秒毎の平均値より $\dot{V}O_{2max}$ を求めた。

4-1-2-4. 定常運動負荷テスト

対象者は、75% $\dot{V}O_{2max}$ の50%の負荷で、5分間のウォーミングアップを行い、75% $\dot{V}O_{2max}$ 負荷で60分間の自転車ペダリング運動を行った。なお、このテスト時には運動強度を75% $\dot{V}O_{2max}$ 負荷に保つため、5分毎に VO_2 を測定し、得られた VO_2 に応じて適宜運動強度を調節した。

4-1-2-5. 唾液採取方法

唾液採取は、先行研究（秋本ら, 1998a ; 1998b ; 清水ら, 2007 ; Matsubara et al., 2010）において用いられた方法を実施した。唾液採取の流れを Fig. 4-1-2 に示した。対象者は座位安静の状態、ミネラルウォーターを用いて口腔内を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, Germany) を 120 秒間に 120 回 (1 秒間に 1 回の割合) 咀嚼し, 分泌された唾液をその滅菌綿に吸収させ, 3,000 rpm で 15 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, 容量を測定した後に -40°C で凍結保存した.

4-1-2-6. hBD2 測定方法

hBD2 濃度タンパク補正值 (hBD2/TP) (pg/mg) は, hBD2 濃度 (pg/ml) を市販の ELISA キット (β -Defensin 2, Human, ELISA Kit, Phoenix Pharma 社, Germany) で測定した後に, 総タンパク濃度 (mg/ml) で除して算出した. なお唾液中総タンパク濃度の定量には, 測定キット (Pierce 660nm Protein Assay Kit, Thermo SCIENTIFIC 社, USA) を用いて測定した.

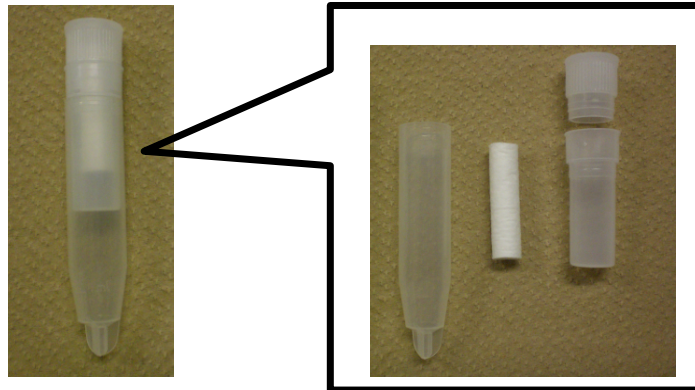
4-1-2-7. SIgA 測定方法

唾液中 SIgA 濃度 ($\mu\text{g/ml}$) の定量は, ELISA 法によって測定した. 96 well のマイクロプレートに 20 mM の coating buffer (6 mM, NaCO_3 , 14 mM NaHCO_3 ; pH9.8) で 1,000 倍に希釈した Anti-Human Secretary Component (DACO 社, デンマーク) を各 well に 100 μl 加え, 4°C で 8 時間以上静置して抗体を個相化した. 上清を除き, 1%BSA/PBS を 250 μl ずつ加え, 常温にて 2 時間ブロッキングを行った. 凍結保存した唾液は, 融解した後に, 10,000 rpm で 1 分間遠心した後に, 上清を 1%BSA/PBS によって 51 倍希釈した. 標準物質としてヒト SIgA (ICN Pharmanceuuticals 社, USA) を 6 段階の濃度に希釈した. ブロッキング終了後, 51 倍希釈した唾液サンプルを各 well に 100 μl ずつ加え, ダイレクトミキサーを用いて常温で 1 時間振盪した. 振盪後, PBS によって 1,000 倍希釈した 0.05% Tween20 (Bio Rad 社, USA) 溶液を用いて各 well を 4 回洗浄し, 1%BSA/PBS で 1,000 倍希釈した Anti-Human IgA

(MBL 社, 名古屋) を各 well に 100 μ l ずつ加え, ダイレクトミキサーを用いて常温で 1 時間振盪した. 0.05% Tween20/PBS によって 4 回洗浄し, 反応基質液 OPD/0.05 M クエン酸/0.1 M Na₂HPO₄/30%H₂O₂ を各 well に 100 μ l ずつ加え, 常温にて 10 分間反応させた. その後, microplate reader を用いて 490 nm の吸光度を測定した. 標準物質であるヒト SIgA の吸光度より描かれた標準曲線より, 唾液中 SIgA 濃度を求めた (秋本ら, 1998a ; 1998b ; 清水ら, 2007 ; Matsubara et al., 2010). SIgA 濃度タンパク補正值 (SIgA/TP) (μ g/mg) は, SIgA 濃度 (μ g/ml) を総タンパク濃度 (mg/ml) で除して算出した.

4-1-2-8. 統計処理

各測定値は, 平均値 \pm 標準誤差で示した. Exercise 実験および Control 実験における運動前後の変数の比較にはくり返しのある二元配置分散分析を用いて解析した. Posthoc テストは, Tukey-Kramer を用いて多重比較検定を行った. いずれの場合も有意水準は 5%とした. なお, すべての統計処理は, 統計解析ソフトウェア StatView 5.0 日本版 (HULKINKS 社, 東京) を用いて行った. 外れ値については, Thompson 棄却検定により, 有意水準 5%で棄却した.



Salivette; SERSTED, Germany

Saliva collection

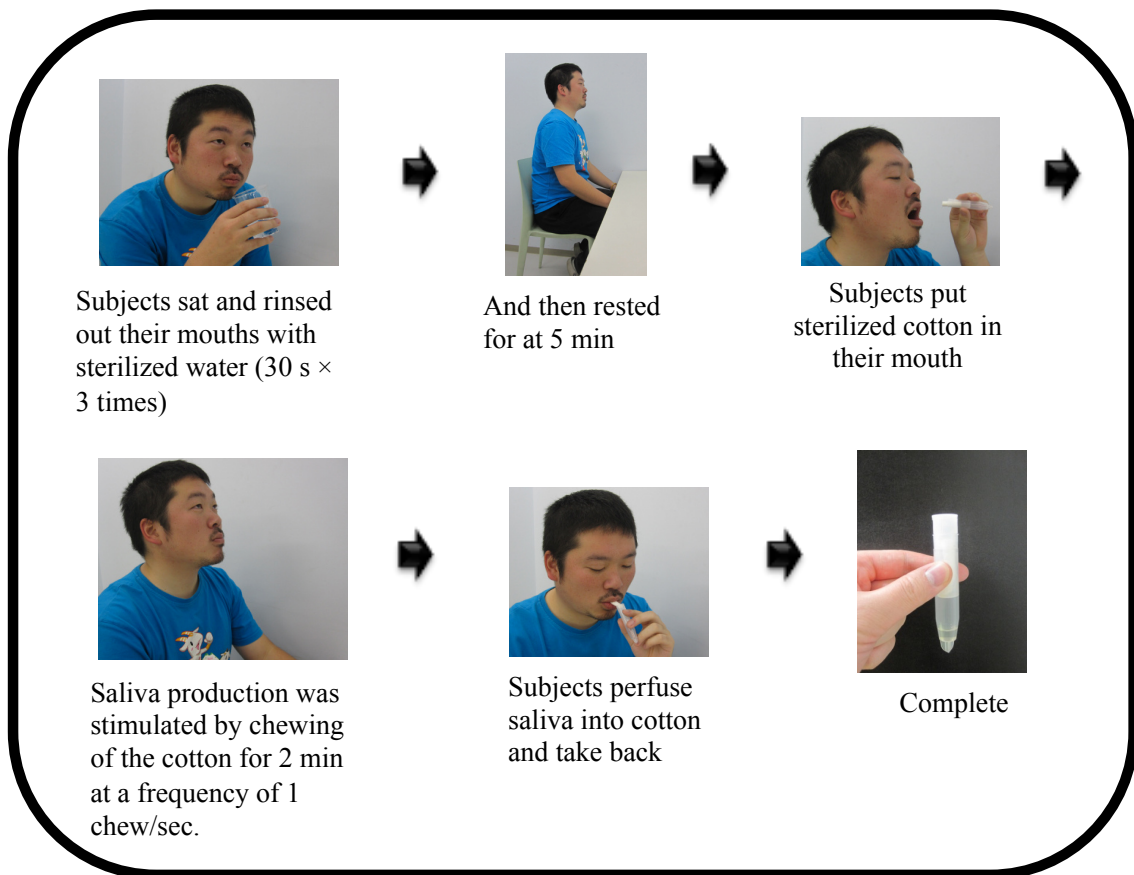


Fig. 4-1-2. saliva collection

4-1-3. 結果

4-1-3-1. 唾液データ

唾液分泌量の変動を Table 4-1-2 に示した. Control 実験および Exercise 実験における唾液分泌量の変動について, 両実験間に交互作用はみられなかった. また, Control 実験および Exercise 実験について, それぞれの唾液分泌量に有意な変動はみられなかった.

総タンパク濃度の変動を Table 4-1-2 に示した. Control 実験および Exercise 実験における唾液中総タンパク濃度の変動について, 両実験間に交互作用はみられなかった. また, Control 実験において, 総タンパク濃度の有意な変動はみられなかった. Exercise 実験においては, 運動前と比べて運動直後に総タンパク濃度の有意な上昇がみられた ($p < 0.05$).

hBD2 濃度の変動を Table 4-1-2 に示した. Control 実験および Exercise 実験における hBD2 濃度の変動について, 両実験間に交互作用はみられなかった. Control 実験および Exercise 実験において, それぞれの hBD2 濃度に有意な変動はみられなかった.

hBD2/TP の変動を Fig. 4-1-3 に示した. Control 実験および Exercise 実験の変動における hBD2/TP の変動について, 両実験間に交互作用はみられなかった. Control 実験において, hBD2/TP の有意な変動はみられなかった. Exercise 実験においては, 運動前と比べて運動直後, 運動終了 1 時間後, 2 時間後に hBD2/TP の有意な低下がみられた ($p < 0.05$).

SIgA 濃度の変動を Table 4-1-2 に示した. Control 実験および Exercise 実験における SIgA 濃度の変動について, 両実験間に交互作用がみられた ($p < 0.05$). Control 実験においては, pre (7:30) と比べて post 2h (9:30), post 3h (10:30) に SIgA 濃度の有意な低下がみられた ($p < 0.05$). Exercise 実験においては, 運動前と比べて運動終了 1 時間後, 2 時間後, 3 時間後に SIgA

濃度の有意な低下がみられた ($p < 0.05$).

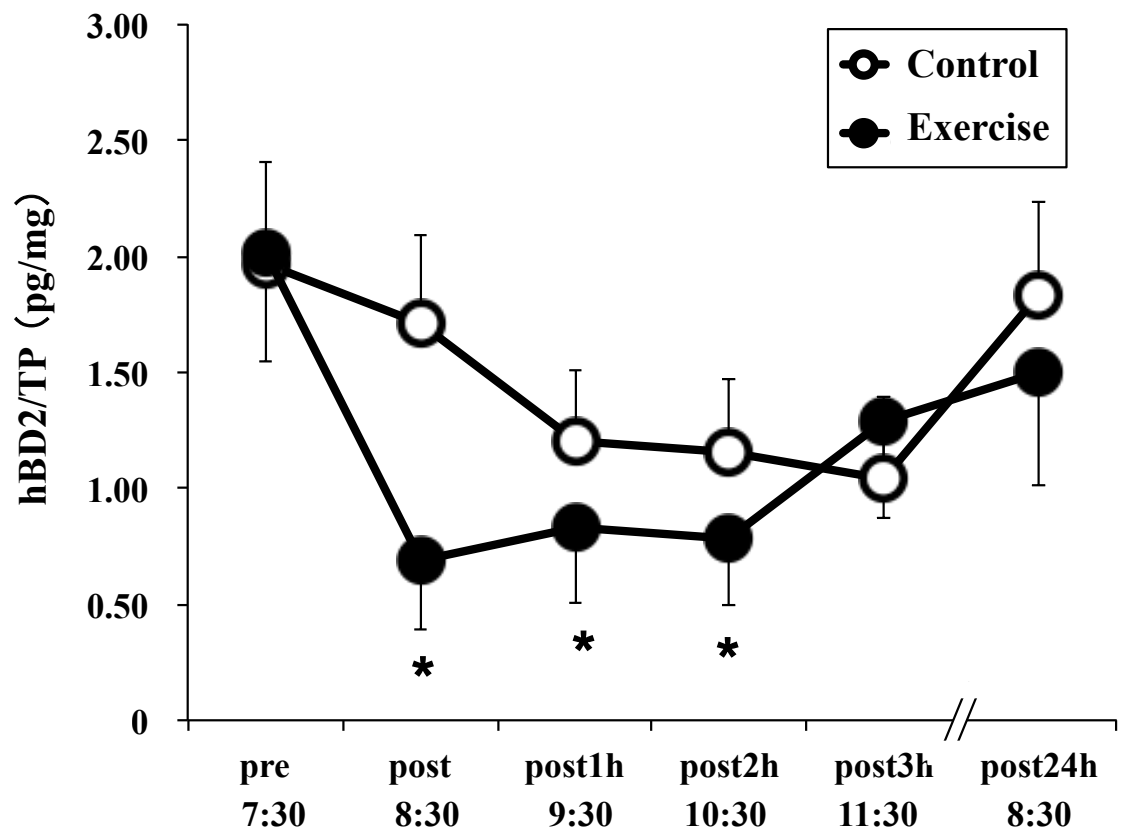
SIgA/TP の変動を Fig. 4-1-4 に示した. Control 実験および Exercise 実験における SIgA/TP の変動について, 両実験間に統計的な有意差がみられた ($p < 0.05$). Control 実験においては, pre (7 : 30) と比べて post 2h (9 : 30), post 3h (10 : 30) に SIgA/TP の有意な低下がみられた ($p < 0.05$). Exercise 実験においては, 運動前と比べて運動直後, 運動終了 1 時間後, 2 時間後, 3 時間後, 24 時間後に SIgA/TP の有意な低下がみられた ($p < 0.05$).

Table 4-1-2. The changes of saliva data in control and exercise experiments

	pre (7:30)	post (8:30)	post 1h (9:30)	post 2h (10:30)	post 3h (11:30)	post 24h (8:30)
Saliva flow rate (ml/2min)						
Control	2.5 ± 0.3	2.8 ± 0.5	2.6 ± 0.4	2.7 ± 0.4	2.7 ± 0.4	2.3 ± 0.4
Exercise	1.7 ± 0.3	1.8 ± 0.3	2.1 ± 0.3	2.3 ± 0.3	2.3 ± 0.3	2.0 ± 0.3
Total protein (mg/ml)						
Control	232.4 ± 26.0	200.9 ± 28.2	230.6 ± 21.5	256.8 ± 32.1	245.1 ± 18.4	236.8 ± 29.1
Exercise	247.8 ± 30.2	393.9 ± 39.1#	264.7 ± 20.5	251.3 ± 26.4	257.7 ± 20.4	281.5 ± 26.3
hBD2 concentration (pg/ml)						
Control	781.1 ± 330.5	413.7 ± 126.3	346.4 ± 91.8	321.1 ± 91.2	306.4 ± 93.9	704.2 ± 242.8
Exercise	591.8 ± 195.5	375.9 ± 135.5	244.0 ± 84.3	256.2 ± 82.2	367.4 ± 113.5	477.2 ± 197.7
SIgA concentration (µg/ml)						
Control	30.3 ± 4.4	22.1 ± 2.9	23.0 ± 3.6	19.9 ± 2.8*	19.6 ± 1.9*	29.1 ± 3.2
Exercise	39.1 ± 4.6	36.1 ± 5.4	27.7 ± 3.1*	21.3 ± 2.3*	21.2 ± 2.0*	34.6 ± 3.4

*: $P < 0.05$ vs. pre

All values are described as mean ± SE



*p < 0.05 vs. pre.

Fig. 4-1-3. The changes of hBD2/TP in Control and Exercise experiments

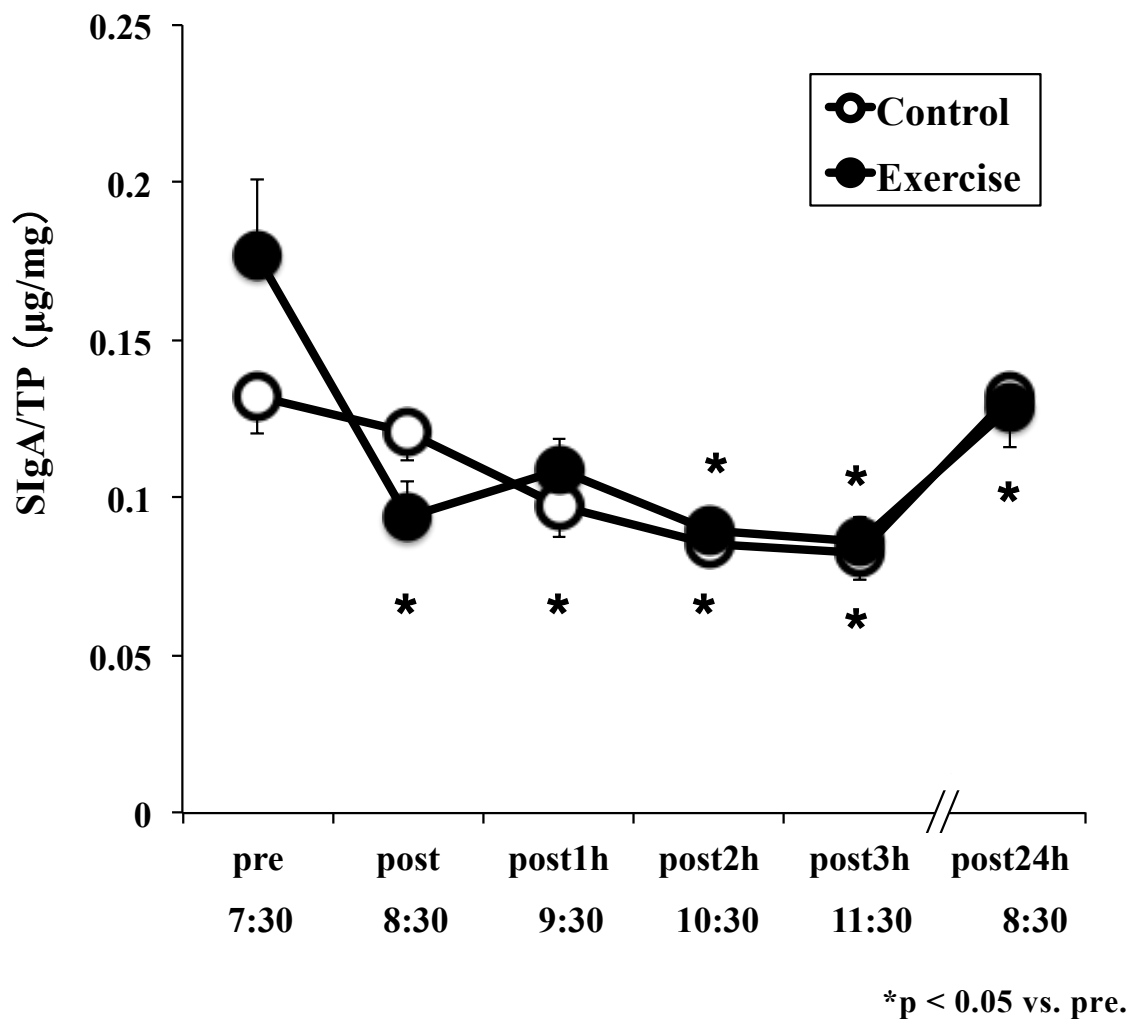


Fig. 4-1-4. The changes of SIgA/TP in Control and Exercis experiments

4-1-4. 考察

本研究より、 $75\% \dot{V}O_{2max}$ 負荷で 60 分間の自転車ペダリング運動によって唾液 hBD2/TP は運動前と比べて運動直後から運動終了 2 時間後まで有意に低下し、唾液 SIgA/TP は運動前と比べて運動直後から運動終了 24 時間後まで有意に低下した。このことから、唾液 hBD2 および SIgA によって営まれる口腔内局所粘膜免疫能は一過性高強度運動によって低下する可能性が示された。

hBD2 は、口腔や気道、気管・気管支の粘膜に多く発現し、気道粘膜上皮細胞への感染防御に働くことから、上・下気道感染症や肺炎などの呼吸器感染とより密接な関係を持つと考えられている。これまで、一過性高強度運動が唾液 hBD2 に及ぼす影響を調べた研究は、Usui et al. (2011) の報告のみであり、hBD2 濃度が運動直後から上昇し、運動 2 時間後においても高値を維持することが示されている。しかしながら本実験では、唾液 hBD2 濃度は変動せず、hBD2/TP は、運動直後から運動終了 2 時間後まで低値を示しており、Usui et al. (2011) とは異なる結果となった。

本研究では、高強度運動によって hBD2/TP は低下した。hBD2 の分泌は TNF- α および IL-1 β などの炎症性サイトカインによって促進されることが報告されている。しかし、本研究で設定した運動 ($75\% \dot{V}O_{2max}$ 負荷で 60 分間の自転車ペダリング運動) では、TNF- α および IL-1 β の炎症性サイトカインの関与はせず (Suzuki et al., 2002)、他の要因が関与している可能性がある。hBD2 の産生は、Th 細胞のサブセットである Th17 細胞から産生される IL-17 によって調節されることが知られている (Kao et al., 2004)。さらに IL-17 の分泌は、マクロファージや樹状細胞が産生する Interleukin-23 (IL-23) によって調節される (McGeachy et al., 2007)。Sugama et al. (2012) は、長時間の高強度運動によって、血漿および尿中の IL-17 および IL-23 が低下し

たことを報告している。さらに Nieman et al. (1994c) は、高強度運動によって Th 細胞が減少することを示している。これらのことより、本研究においても hBD2 分泌に関わる Th17 細胞や IL-17 および IL-23 が高強度運動の継続によって唾液 hBD2 を低下させた可能性が示唆された。

本研究では、Exercise 実験において、SIgA/TP は運動直後から有意に低下し、24 時間後においても運動前と比べて低値を示した。先行研究の多くが一過性高強度運動によって SIgA が低下することを報告しており、本研究結果を支持する結果となった。このことより、本研究の運動プロトコルは、SIgA の低下を招くほどの運動強度であり、先行研究の少ない hBD2 が一過性高強度運動によって低下する現象を支持するものである。

さらに、先行研究よりエリートアスリートの安静時の唾液 hBD2 および SIgA は健常成人と比べて低下していることや (Usui et al., 2012)、中等度の運動によって唾液 hBD2 および SIgA 分泌は高まることことが報告されている。これらのことと本研究の結果より、hBD2 は SIgA と同様に高強度運動によって低下し、中等度の運動によって高まるマーカーである可能性がある。

本研究より、hBD2 および SIgA は運動によって低下することが示された。しかし、先行研究では hBD2 分泌に上昇がみられたように、hBD2 分泌の運動に対する応答は一定の見解を得られていない。今後は hBD2 の運動応答について、さらに詳細に調べていくことが必要である。

4-1-5. 結論

60 分間の高強度自転車ペダリング運動によって唾液 hBD2 および SIgA は低下を示した。以上のことから、唾液 hBD および SIgA によって営まれる口腔局所粘膜免疫能は高強度運動によって低下する可能性が示唆された。

第4章 唾液 hBD2 の身体的および精神的ストレスによる応答と上気道感染症との関係

4-2. 精神的ストレスに対する唾液 hBD2 および SIgA の応答 (研究3)

4-2-1. 緒言

アスリートは勝利へのプレッシャーや過度な緊張によって精神的ストレスを受ける機会が多い(芝紀ら, 2006)。過度な精神的ストレスは、身体に様々な不調を引き起こすことが知られている。その一つに免疫機能の低下が挙げられる。免疫系は神経系および内分泌系と相互に作用し、生体の恒常性を維持しているが、過度なストレスを慢性的に受けることで胸腺やリンパ節が萎縮し、免疫機能の低下が引き起こされると考えられている。実際に、精神的ストレスを強く感じている者ほど、上気道感染症への罹患率が高いことが報告されている(Cohen et al., 1991; 1999)。

過度な身体的ストレスもまた、身体に悪影響を及ぼすことが知られているが、過度な運動は免疫機能を低下させ、上気道感染症の罹患リスクを高めると報告されている(Cannon, 1993)。さらに、過度な運動の繰り返しはオーバートレーニング症候群を招くおそれがある(Mackinnon et al., 1994)。オーバートレーニング症候群のアスリートには免疫機能の低下が認められるだけでなく、うつ状態などの精神的な不調が出現する(Guskiewicz et al., 2007)。これらのことより、身体的ストレスと精神的ストレスは密接に関わり、免疫機能に影響することが考えられる。

唾液中に存在する SIgA は、病原体の侵入を防ぎ、上気道感染症の予防に機能する。唾液 SIgA はストレス指標として古くから研究されており、算術負荷テストやミラーテスト、聴衆前でのスピーチなどの急性の精神的ストレ

ス負荷によって高まることが報告されている。一方で、唾液中に存在する hBD2 は、上気道感染症を引き起こすウイルスに対しても有効であることが知られている。これまで、hBD2 に関する精神的ストレスの応答を調べた研究は少ないが、精神的ストレスを強く感じる者と感じていない者との間に差がないことが示されている (Forte et al., 2010)。従って、唾液 SIgA は精神的および身体的ストレスに対して応答を示すが、唾液 hBD2 は精神的ストレスによる影響は受けない可能性がある。しかし、唾液 hBD2 に対する精神的ストレスの影響に関する研究は非常に少なく、新規のストレス指標とするためには不明な点が多い。

そこで本研究では、計算作業による一過性の精神的ストレスが、唾液 hBD2 に及ぼす影響について SIgA と共に検討した。

4-2-2. 方法

4-2-2-1. 対象

若年成人男性 11 名を対象とした (Table 4-2-1)。対象者は日常において高強度運動を習慣的に行っておらず、服薬および喫煙の習慣はない。また対象者に対して、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、文章による参加の同意を得た。なお、本研究は「ヘルシンキ宣言」の趣旨に従い、且つ「筑波大学体育系研究倫理審査委員会」の承認を得て実施した (承認番号：体 25-97 号)。

Table 4-2-1. Characteristics of subjects

<i>n</i>		11
Age	(yr)	23.9 ± 0.8
Height	(cm)	172.9 ± 0.6
Body mass	(kg)	73.1 ± 3.7
Body fat	(%)	19.0 ± 1.7
body mass index	(m ² /kg)	24.4 ± 1.2

All values are described as mean ± SE.

4-2-2-2. 調査方法

本研究では、クロスオーバー方式を用いて、対象者に計算作業負荷テストを行う Calculate 実験（精神的ストレス負荷）と、計算作業負荷テストを行わない Control 実験の 2 実験を行った。測定は、介入前（pre; 11:30）、介入直後（post; 12:30）、介入終了 1 時間後（post 1h; 13:30）、介入終了 2 時間後（post 2h; 14:30）、介入終了 3 時間後（post 3h; 15:30）の計 5 回行った（Fig. 4-2-1）。

4-2-2-3. 計算作業負荷テスト

対象者は、内田クレペリン精神検査（日本・精神技術研究所，東京）を用いて計算作業負荷テストを行った。簡単な一桁の足し算を 15 分間，5 分間の休憩をはさみ，計 3 回行った。

4-2-2-4. 唾液の採取方法

研究課題 4-1-2 と同様の方法を用いて行った。

4-2-2-5. hBD2 の測定

研究課題 4-1-2 と同様の方法を用いて行った。

4-2-2-6. SIgA の測定

研究課題 4-1-3 と同様の方法を用いて行った。

4-2-2-7. 心理状態の調査

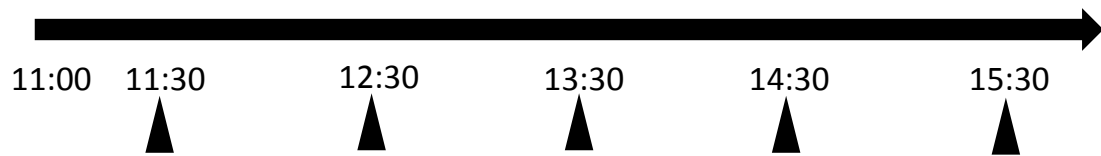
心理プロフィール検査（profile of mood states : POMS，金子書房，東京）を用いて，緊張-不安，抑うつ-落ち込み，怒り-敵意，活気，疲労，混乱の

気分尺度を評価した。

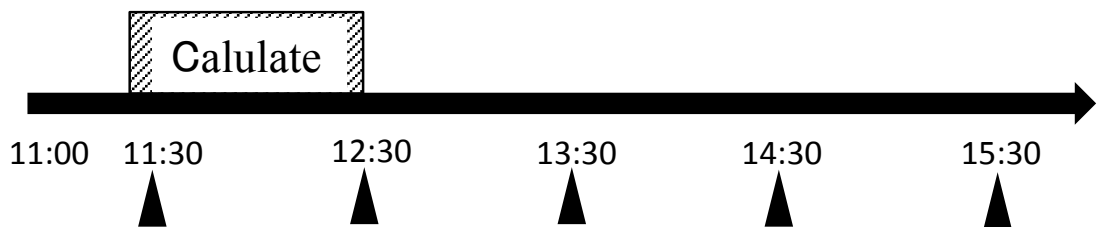
4-2-2-8. 統計処理

各測定値は、平均値 ± 標準誤差で示した。Calculate 実験および Control 実験における変数の比較にはくり返しのある二元配置分散分析を用いて解析した。Posthoc テストは、Tukey-Kramer を用いて多重比較検定を行った。いずれの場合も有意水準は 5%とした。なお、すべての統計処理は、統計解析ソフトウェア StatView 5.0 日本版（HULKINKS 社，東京）を用いて行った。

Control experiment



Calculate experiment



▲ : saliva, POMS

Fig. 4-2-1. Experimental design of the study

4-2-3. 結果

4-2-3-1. 唾液データ

唾液分泌量，唾液中タンパク濃度，hBD2 濃度，SIgA 濃度の変動を Table 4-2-2 に示した．唾液分泌量について，両実験間に交互作用はみられなかった．また両実験において，有意な変動はみられなかった．

唾液中タンパク濃度について，両実験間に交互作用はみられなかった．また両実験において，有意な変動はみられなかった．

hBD2 濃度について，両実験間に交互作用はみられなかった．また両実験において，有意な変動はみられなかった．

hBD2/TP の変動を Fig. 4-2-2 に示した．hBD2/TP について，両実験間に交互作用はみられなかった．また両実験において，有意な変動はみられなかった．

SIgA 濃度について，両実験間に交互作用はみられなかった．Control 実験においては，pre (11 : 30) と比べて post 3h (15 : 30) に SIgA 濃度の有意な低下がみられた．Calculate 実験においては，計算作業直後 (12 : 30) と比べて計算作業終了 1 時間後 (13 : 30)，2 時間後 (14 : 30)，3 時間後 (15 : 30) に SIgA 濃度の有意な低下がみられた ($p < 0.05$)．

SIgA/TP について，両実験間に交互作用はみられなかった．Control 実験において，有意な変動はみられなかった．Calculate 実験においては，計算作業直後 (12 : 30) と比べて計算作業終了 3 時間後 (15 : 30) に SIgA/TP の有意な低下がみられた ($p < 0.05$)．

4-2-3-2. POMS

緊張-不安，抑うつ-落ち込み，怒り-敵意，活気，疲労，混乱，総合得点の変動を Table 4-2-3 に示した．

緊張-不安について、両実験間に交互作用はみられなかった。また両実験において、有意な変動はみられなかった。

抑うつ-落ち込みについて、両実験間に交互作用はみられなかった。また両実験において、有意な変動はみられなかった。

怒り-敵意について、両実験間に交互作用はみられなかった。また両実験において、有意な変動はみられなかった。

活気について、両実験間に交互作用はみられなかった。Calculate 実験において、計算前と比べて計算直後、計算終了 1 時間後、2 時間後、3 時間後に有意な低下がみられた ($p < 0.05$)。一方で、Control 実験において、有意な変動はみられなかった。

疲労について、両実験間に交互作用がみられた ($p < 0.05$)。Calculate 実験において、計算前と比べて計算直後に有意な増加がみられた ($p < 0.05$)。また、計算直後と比べて計算終了 1 時間後、2 時間後、3 時間後に有意な低下がみられた ($p < 0.05$)。一方で、Control 実験において、有意な変動はみられなかった。

混乱について、両実験間に交互作用がみられた ($p < 0.05$)。Calculate 実験において、計算前と比べて計算直後に有意な増加がみられた ($p < 0.05$)。また、計算直後と比べて計算終了 1 時間後、2 時間後、3 時間後に有意な低下がみられた ($p < 0.05$)。一方で、Control 実験において、有意な変動はみられなかった。

総合得点について、両実験間に交互作用がみられた ($p < 0.05$)。Calculate 実験において、計算前と比べて計算直後に有意な増加がみられた ($p < 0.05$)。また、計算直後と比べて計算終了 1 時間後、2 時間後、3 時間後に有意な低下がみられた ($p < 0.05$)。一方で、Control 実験において、有意な変動はみられなかった。

Table 4-2-2. Change in saliva data

	pre (11:30)	post (12:30)	post 1h (13:30)	post 2h (14:30)	post 3h (15:30)
Saliva flow rate (ml/min)					
Control	2.71±0.53	2.73±0.58	2.88±0.58	2.66±0.47	2.68±0.51
Calculate	2.82±0.67	2.87±0.61	2.92±0.63	2.82±0.59	2.58±0.54
Salivary protein concentration (mg/ml)					
Control	249.1±15.1	238.9±13.5	231.6±11.2	239.7±12.4	232.8±10.5
Calculate	256.9±19.2	250.5±15.5	235.3±16.4	241.7±18.8	253.5±21.7
hBD2 concentration (pg/ml)					
Control	876.6±77.7	820.5±104.9	806.4±109.9	947.5±178.1	820.9±109.2
Calculate	784.8±78.0	819.1±82.5	850.3±84.0	809.3±64.3	794.7±71.9
SIgA concentration (µg/ml)					
Control	22.3±1.6	21.6±1.6	20.7±1.9	20.6±1.6	19.5±1.9*
Calculate	24.0±1.9	26.1±2.6	21.5±2.4#	21.2±1.9#	21.7±2.2#

* : $p < 0.05$ vs. pre; #: $p < 0.05$ vs. post

All values are described as mean ± SE.

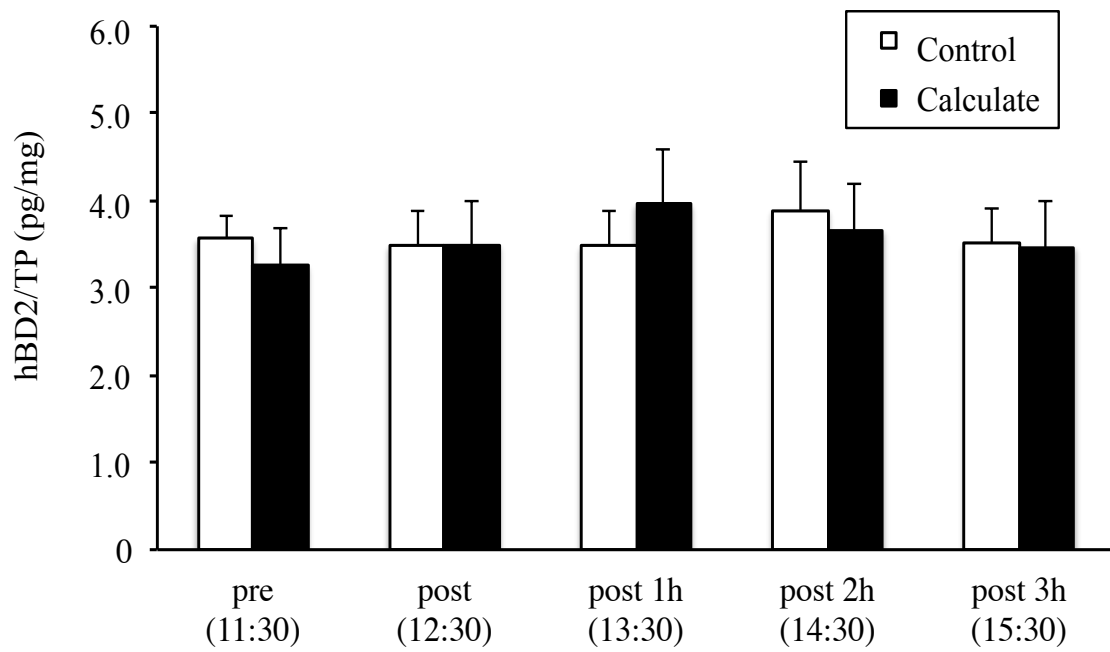
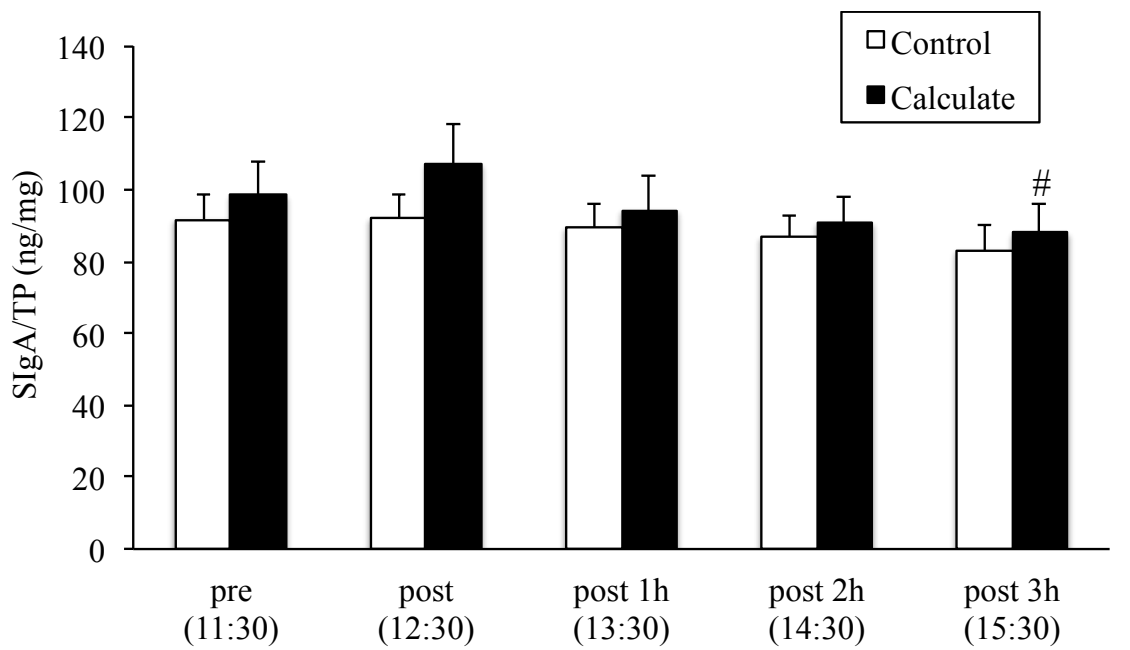


Fig. 4-2-2. Changes in hBD2/TP



#: $p < 0.05$ vs. post

Fig. 4-2-3. Changes in SIgA/TP

Table 4-2-3. Changes in profile of moods

	pre (11:30)	post (12:30)	post 1h (13:30)	post 2h (14:30)	post 3h (15:30)
Tension-Anxiety					
Control	36.1 ± 1.4	35.5 ± 1.5	35.3 ± 1.4	35.3 ± 1.5	35.6 ± 1.7
Calculate	37.6 ± 1.5	38.6 ± 1.5	36.1 ± 1.6	34.8 ± 1.1	35.1 ± 1.4
Depression					
Control	40.5 ± 1.1	40.5 ± 1.3	40.3 ± 1.1	40.7 ± 1.5	40.7 ± 1.5
Calculate	39.8 ± 0.8	41.2 ± 1.6	40.5 ± 1.1	40.1 ± 1.1	40.3 ± 1.3
Anger-History					
Control	39.6 ± 2.0	39.2 ± 2.2	39.2 ± 2.2	39.2 ± 2.2	39.2 ± 2.2
Calculate	40.5 ± 2.2	41.2 ± 2.0	39.5 ± 2.0	39.2 ± 2.0	39.0 ± 2.0
Vigor					
Control	42.5 ± 3.3	41.1 ± 3.3	39.9 ± 3.0	40.4 ± 3.0	41.5 ± 3.6
Calculate	44.2 ± 3.8	39.7 ± 3.6*	38.7 ± 3.9*	37.9 ± 3.7*	39.4 ± 3.7*
Fatigue †					
Control	38.3 ± 2.2	37.4 ± 2.4	36.6 ± 1.9	36.5 ± 2.0	36.3 ± 2.0
Calculate	37.2 ± 2.0	45.5 ± 2.4*	37.6 ± 1.7#	37.1 ± 1.7#	36.5 ± 1.8#
Confusion †					
Control	44.3 ± 2.0	44.0 ± 1.4	43.5 ± 1.5	43.7 ± 1.7	43.3 ± 1.8
Calculate	45.0 ± 1.2	49.5 ± 1.7*	45.3 ± 1.1#	44.5 ± 1.2#	44.5 ± 1.0#
Total Mood Disturbance †					
Control	156.3 ± 9.0	155.4 ± 8.5	154.9 ± 8.8	155.0 ± 9.4	153.5 ± 10.0
Calculate	156.6 ± 8.0	174.5 ± 8.6*	159.9 ± 8.3	157.5 ± 7.5	155.5 ± 7.8

All values are described as mean ± SE.

*: p < 0.05 vs. pre; #: p < 0.05 vs. post; †: p < 0.05 interactio

4-2-4. 考察

本研究では、一過性の計算作業負荷試験による精神的ストレスが唾液 hBD2 に及ぼす影響について検討した。本研究結果より唾液 hBD2 は、計算作業負荷による精神的ストレスに応答しなかったことから、精神的ストレスの影響は受けないことが示唆された。

唾液 hBD2 は、幅広い抗細菌・抗真菌・抗ウイルス作用を有し (Hancock et al., 2000; Selsted et al., 2005), 殺菌・静菌によって上気道感染症を引き起こす病原体の粘膜への侵入を防いでいる (Hancock et al., 2000; Selsted et al., 2005; Abiko et al., 2007)。本研究結果より、一過性の算術負荷による精神的ストレスで唾液 hBD2 に顕著な変動はみられなかった。hBD2 における精神的ストレスに対する応答に関する研究は非常に少ない。Forte et al. (2010) は、精神的ストレスを強く感じている者と感じていない者との間に唾液 hBD2 濃度の有意な差がみられなかったことを報告している。また動物実験において、通常ゲージで飼育したマウスと、5×5 mm のたわみ線のできたゲージで日常的に精神的ストレス負荷を受けて飼育されたマウスの歯肉中 hBD2 発現に差はみられないことも報告されている (Kawashima et al., 2014)。

本研究における計算作業負荷試験は、クレペリン検査用紙を用いて、簡単な一桁の足し算を 1 分ごとに行を変えながら 5 分間休憩を挟み各 15 分間ずつ 3 回行った (合計 55 分間)。先行研究において、計算作業負荷試験によって唾液中のアミラーゼや SIgA などのストレスマーカーが増大することが報告されている (Deinzer et al., 2000; Ring et al., 2002; 鷺野ら, 2011)。Ring et al. は、24 名の大学生を対象として、33 分間の暗算によって唾液 SIgA が有意に増加したことを報告している。本研究では、Calculate 群において計算前と比べて計算直後に SIgA の有意な変動はみられなかった。しかしながら、計算

作業直後の SIgA 濃度は、計算作業終了 1 時間後、2 時間後、3 時間後と比べて有意に高く、計算作業直後の SIgA/TP は計算作業終了 3 時間後と比べて有意に高かった。POMS の活気の項目の低下や疲労・混乱の項目が計算前と比べて計算後に増加していることより、精神的ストレスは負荷されたが唾液 SIgA に顕著な変動をもたらす程の負荷ではなかった可能性が考えられる。

本研究においては、唾液 hBD2 の変動はみられなかったが、POMS テストより計算作業負荷前後で Calculate 群は、活気の低下、および疲労、混乱、総合得点の有意な上昇が示された。これらのことより、本研究において行われた計算作業負荷は被験者の主観的な心理状態に影響を及ぼす十分な負荷量であったと推察できる。これらのことより、唾液 hBD2 は精神的ストレスに対しては応答しない可能性が示された。

4-2-5. 結論

本研究では、唾液 hBD2 に着目し、精神的ストレスに対する応答について検討した。その結果、唾液 hBD2 は精神的ストレスの影響は受けない可能性が示唆された。

第4章 唾液 hBD2 の身体的および精神的ストレスによる応答と上気道感染症との関係

4-3. 継続的高強度運動に対する唾液 hBD2 および SIgA の応答 (研究 4)

4-3-1. 緒言

上気道感染症は、アスリート個人の体調や競技力を著しく低下させるだけでなく、チームに蔓延し、チーム全体の競技力低下にもつながる注視すべき疾患である。実際、オリンピックの様な重要な国際大会期間中にもかかわらず、多くのアスリートが上気道感染症に罹患していることが報告されている (Engebretsen et al., 2013; 赤間, 2008)。

唾液中の hBD2 は、幅広い抗細菌・抗真菌・抗ウイルス作用を有している (Hancock et al., 2000 ; Selsted et al., 2005), 病原体を殺菌・静菌することで病原体の粘膜下への侵入を防いでいる (Hancock et al., 2000 ; Selsted et al., 2005)。hBD2 の運動応答に関する研究は少なく、不明な点が多い。研究課題 4-1 で一過性の高強度運動により唾液 hBD2 は一時的に低下することを示した。また横断的研究より、エリートマラソンランナーは健常成人と比較して唾液 hBD2 分泌が低下しており、上気道感染症の罹患リスクが高いことが報告されている (Usui et al., 2012)。これらのことより、高強度運動の継続が安静時の唾液 hBD2 の低下を招き、上気道感染症の発症リスクを高めていることが予想される。唾液 SIgA は、高強度運動によって低下し (Mackinnon et al., 1987 ; 秋本ら, 1998b), 安静時の SIgA 分泌の低下が上気道感染症の罹患リスクを高めることが報告されている (山内ら, 2009; Neville et al., 2008)。しかし、継続的な高強度運動が唾液 hBD2 に及ぼす影響を調べた研究はなく不明である。

そこで、本研究では大学ラグビー選手を対象に、合宿期間中における継続的な高強度運動による唾液 hBD2 分泌の応答について唾液 SIgA 分泌とともに上気道感染症との関係も含めて検討した。

4-3-2. 方法

4-3-2-1. 対象

関東大学対抗戦 A グループに所属する男子大学ラグビー選手 31 名 (20.3 ± 0.3 歳) を対象とした (Table 4-3-1)。全ての対象者に事前に実験の主旨や手順を説明し、研究参加の同意を得た。なお、本研究は「ヘルシンキ宣言」の趣旨に従い、且つ「筑波大学体育系研究倫理審査委員会」の承認を得て実施した (承認番号：体 23-70 号)。

4-3-2-2. 調査方法

測定は、合宿期間中に行った。合宿は練習合宿期間 (1st training term) と試合合宿期間 (2nd training term) に大きく分かれており、練習合宿期のトレーニングは主に基礎トレーニングが中心であり、試合合宿期は他チームとの練習試合が中心に行われた。Fig. 4-3-1 に合宿期間中のトレーニング内容、時間について示した。

4-3-2-3. 唾液の採取方法

唾液の採取は合宿期間中に 3 回 (合宿前、通常合宿最終日、試合合宿最終日)、起床後、朝食前 (6 時 30 分～7 時 30 分) に行った。対象者は座位安静の状態、ミネラルウォーターを用いて口腔内を洗浄した後、滅菌綿 (SALIVETTE, SERSTED 社, Germany) を 60 回 (1 秒間に 1 回の割合) 咀嚼し、分泌された唾液を滅菌綿に吸収させ、3,000 rpm で 15 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。

4-3-2-4. hBD2 の測定

hBD2 分泌速度 (pg/min) は、hBD2 濃度 (pg/ml) を市販の ELISA キット (β -Defensin 2, Human, ELISA Kit, Phoenix Pharma 社, Germany) で測定した後、唾液量 (ml/min) との積で算出した。

4-3-2-5. SIgA の測定

唾液中 SIgA 濃度 ($\mu\text{g/ml}$) の定量は、ELISA 法によって測定した。96 well のマイクロプレートに 20 mM の coating buffer (6 mM, NaCO_3 , 14 mM NaHCO_3 ; pH9.8) で 1,000 倍に希釈した Anti-Human Secretory Component (DACO 社, デンマーク) を各 well に 100 μl 加え、 4°C で 8 時間以上静置して抗体を個相化した。上清を除き、1%BSA/PBS を 250 μl ずつ加え、常温にて 2 時間ブロッキングを行った。凍結保存した唾液は、融解した後、10,000 rpm で 1 分間遠心した後、上清を 1%BSA/PBS によって 51 倍希釈した。標準物質としてヒト SIgA (ICN Pharmanceuuticals 社, USA) を 6 段階の濃度に希釈した。ブロッキング終了後、51 倍希釈した唾液サンプルを各 well に 100 μl ずつ加え、ダイレクトミキサーを用いて常温で 1 時間振盪した。振盪後、PBS によって 1,000 倍希釈した 0.05% Tween20 (Bio Rad 社, USA) 溶液を用いて各 well を 4 回洗浄し、1%BSA/PBS で 1,000 倍希釈した Anti-Human IgA (MBL 社, 名古屋) を各 well に 100 μl ずつ加え、ダイレクトミキサーを用いて常温で 1 時間振盪した。0.05% Tween20/PBS によって 4 回洗浄し、反応基質液 OPD/0.05 M クエン酸/0.1 M Na_2HPO_4 /30% H_2O_2 を各 well に 100 μl ずつ加え、常温にて 10 分間反応させた。その後、microplate reader を用いて 490

nm の吸光度を測定した。標準物質であるヒト SIgA の吸光度より描かれた標準曲線より、唾液中 SIgA 濃度を求めた（秋本ら，1998a；1998b；清水ら，2007；Matsubara et al.，2010）。SIgA 分泌速度（ $\mu\text{g}/\text{min}$ ）は、唾液分泌量（ ml/min ）と唾液中 SIgA 濃度（ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）との積により算出した。

Table 4-3-1. Characteristics of subjects

<i>n</i>	31
Age (yr)	20.3 ± 0.3
Height (cm)	175.6 ± 1.1
Body mass (kg)	85.3 ± 2.0
Body fat (%)	19.8 ± 0.9

All values are expressed as means ± SE.

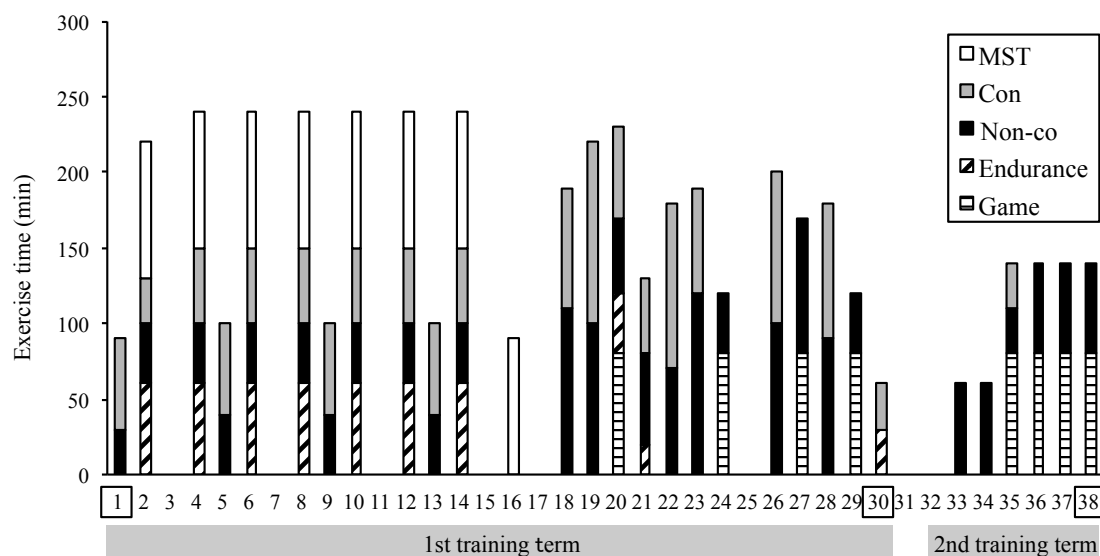


Fig. 4-3-1. Experimental design of the study

Saliva samples were collected at day 1, 30, and 38. There were 6 days without training: 3, 7, 11, 15, 26, and 32. There were 2 moving days i.e., day 17 and 31

MST: muscle strength training, Con: practice including contact play, Non-co: practice without contact play, Endurance: intermittent and endurance training, Game: rugby games

4-3-2-5. 上気道感染症状の調査

上気道感染症状の調査は、赤間ら（1995）の報告を参考とし、調査用紙を用いて行った。対象者には毎日調査用紙に上気道感染症状の有無を記載するように指示した。喉頭痛、咳、鼻水の3項目について、自覚症状の有無を調べ、1週間おきの平均発生件数を示した。

4-3-2-6. 統計処理

各測定値は、平均値 ± 標準誤差で示した。合宿期間中の変数の比較には繰り返しのある一元配置分散分析を用いて解析し、有意水準は5%未満とした。Bonferroni/Dunnのpost hocテストを用いて多重比較を行った。post hocテストは1.67%未満で有意差ありとみなした。なお、すべての統計処理は、統計解析ソフトウェアSPSS 22 日本版（IBM社、東京）を用いて行った。

4-3-3. 結果

4-3-3-1. 唾液データ

合宿期間中における唾液分泌量、hBD2濃度、hBD2分泌速度、SIgA濃度、SIgA分泌速度の変動についてTable 4-3-2に示した。

唾液分泌量は0 weekと比べて4 weeksと5 weeksに有意な低下がみられた（ $p < 0.003$ ）。

hBD2濃度に有意な変動はみられなかった。

hBD2分泌速度の変動について示した。hBD2分泌速度は0 weekと比べて4 weeksと5 weeksに有意な低下がみられた（4 weeks: $p < 0.0167$, 5 weeks: $p < 0.0033$ ）（Fig. 4-3-2）。

SIgA濃度に有意な変動はみられなかった。

SIgA分泌速度の変動について示した。SIgA分泌速度は0 weekと比べて4

weeks と 5 weeks に有意な低下がみられた (4 weeks: $p < 0.0033$, 5 weeks: $p < 0.0167$) (Fig. 4-3-3).

4-3-3-4. 上気道感染症状の回数

Fig. 4-3-4 は、一週間ごとの喉頭痛、咳、鼻水の平均回数を示している。合宿期間中に各上気道感染症状は徐々に増加した ($p < 0.0167$)。

Table 4-3-2. Saliva parameters for the camp

	0 week	4-week	5-week
saliva flow rate (mg/min)	1.86 ± 0.15	1.22 ± 0.10 †	1.17 ± 0.09 †
hBD2 concentration (pg/ml)	612.9 ± 41.3	590.1 ± 36.4	520.5 ± 36.4
hBD2 secretion rate (pg/min)	1121.5 ± 110.2	736.1 ± 76.2 *	627.9 ± 68.2 †
SIgA concentration (µg/ml)	43.6 ± 2.6	38.2 ± 3.0	47.5 ± 4.0
SIgA secretion rate (pg/ml)	78.1 ± 6.3	43.4 ± 3.5 †	55.0 ± 6.1 *

All values are described as mean ± SE

* : p < 0.016 vs. 0 week; †: p < 0.0033 vs. 0 week

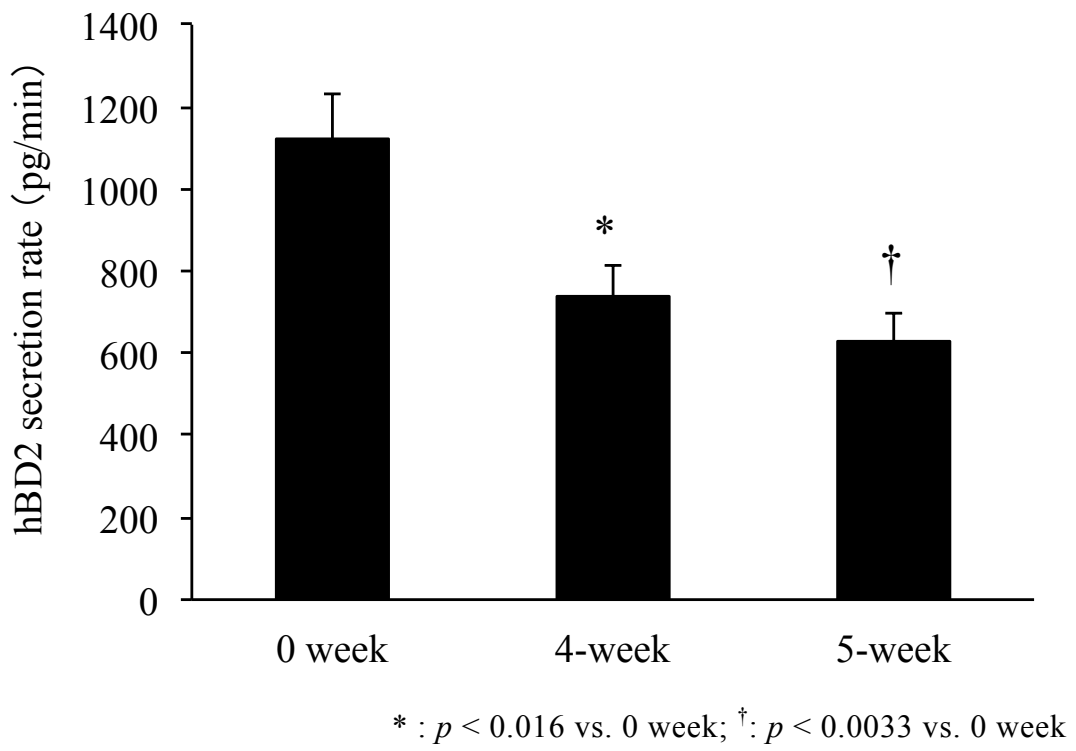


Fig. 4-3-2. Change in hBD2 secretion rate

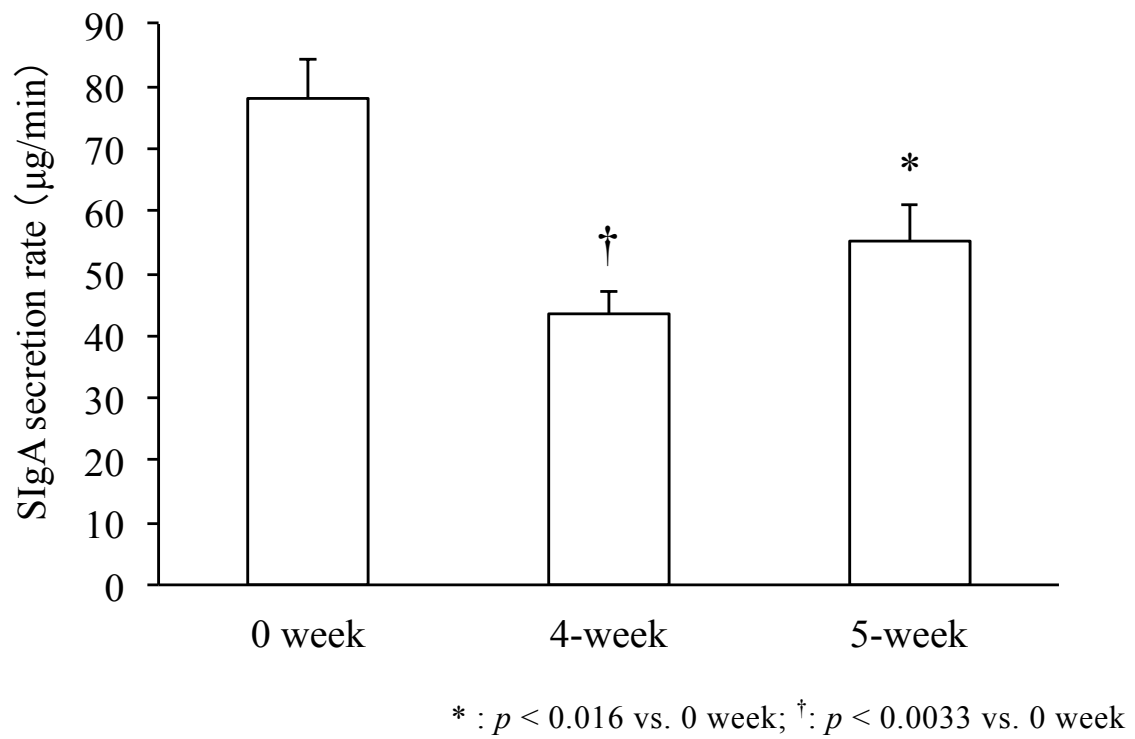
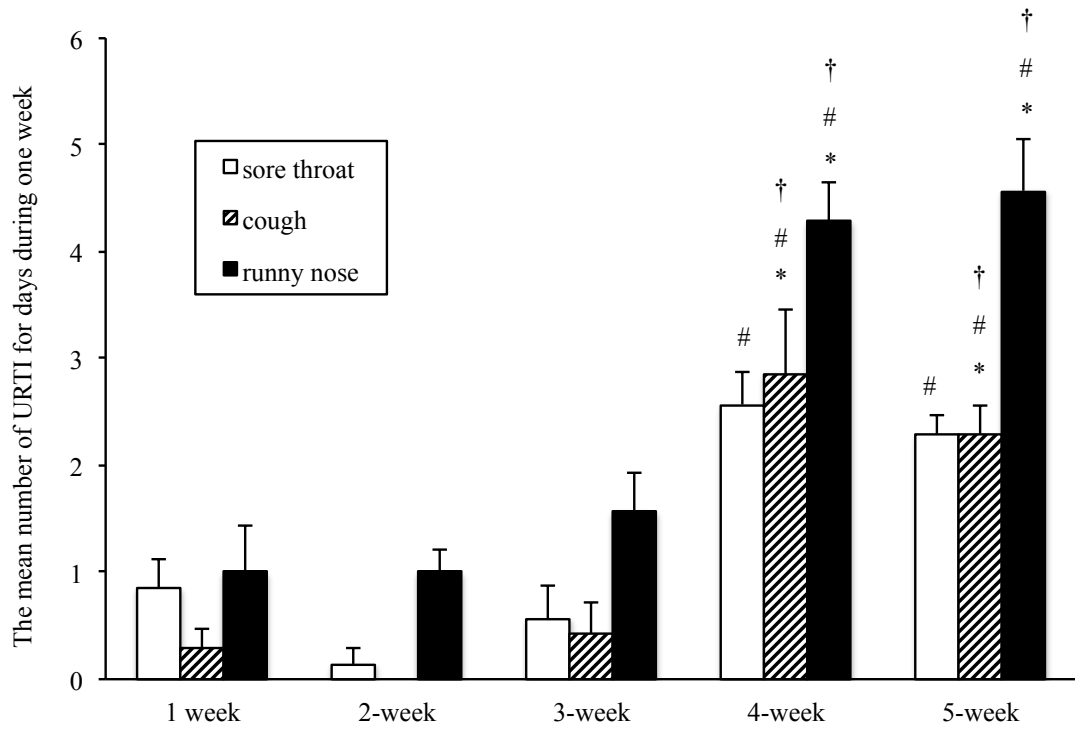


Fig. 4-3-3. Change in SIgA secretion rate



*: $p < 0.016$ vs. 1 week; #: $p < 0.016$ vs. 2-week; †: $p < 0.016$ vs. 3-week

Fig. 4-3-4. The number of URTI symptoms

The mean number of upper respiratory tract infection symptoms, such as sore throat, cough, and runny nose for days during one week.

4-3-4. 考察

本研究は継続的な高強度運動による安静時の hBD2 分泌および SIgA 分泌と上気道感染症について調べた。本研究結果より、高強度運動の継続によって安静時の唾液 hBD2 分泌および唾液 SIgA は徐々に低下を示し、上気道感染症は徐々に増加を示した。これらのことより、高強度運動の継続は hBD2 および SIgA によって営まれる口腔内局所粘膜免疫能を低下させ、上気道感染症への罹患リスクを高めることが示唆された。

hBD2 は、幅広い抗細菌・抗真菌・抗ウイルス作用を有しており (Hancock et al., 2000 ; Selsted et al., 2005), 病原体の粘膜への侵入を防ぐことで上気道感染症の罹患の予防に貢献している。本研究結果より hBD2 分泌は合宿前と比べて徐々に低下した。本研究課題 4-1 より一過性高強度運動によって hBD2 レベルは運動前と比べて低下した。また、横断的研究においてエリートマラソランナーの hBD2 分泌は一般健常成人男性と比べて有意に低値を示し、上気道感染症の罹患回数も多いことが報告されている。これらのことより、高強度運動の継続によって安静時の唾液 hBD2 は低下する可能性が考えられる。

hBD2 の産生は、Th 細胞のサブセットである Th17 細胞から産生される IL-17 によって調節されることが知られている (Kao et al., 2004)。さらに IL-17 の分泌は、マクロファージや樹状細胞が産生する IL-23 によって調節される (McGeachy et al., 2007)。Sugama et al. (2012) は、長時間の高強度運動によって、血漿および尿中の IL-17 および IL-23 が低下したことを報告している。さらに Nieman et al. (1994c) は、高強度運動によって Th 細胞が減少することを示している。これらのことより、本研究においても hBD2 分泌に関わる Th17 細胞や IL-17 および IL-23 が高強度運動の継続によって安静時の唾液 hBD2 を低下させた可能性が示唆された。

本研究は、合宿期間中に行った。合宿は練習合宿期と試合合宿期に大きく分かれており、練習合宿期のトレーニングは主に基礎トレーニングが中心であり、試合合宿期は他チームとの練習試合が中心に行われた。Yamauchi et al. (2011) は、過去に本研究と同様のラグビー部を対象に SIgA 分泌に着目した研究を行っている。その結果、運動強度の高い練習合宿期においては SIgA による免疫機能が低下し、運動強度の低くなる試合合宿期では低下していた SIgA が回復してくることが報告されている。本研究結果においても、SIgA は合宿前と比べて練習合宿終了の合宿開始 4 週間目と試合合宿終了の合宿開始 5 週目に有意に低値を示した。統計学的にみると合宿前と比べて 4 週目 ($p < 0.0033$) であり、5 週目 ($p < 0.0167$)。先行研究の多くが年間において、練習オフ期に免疫機能は高く、トレーニング期や試合期に免疫機能が低くなることが報告されている。これらのことより、hBD2 は SIgA と比べて回復が遅い指標である可能性がある。また、Kon et al. (2010) によるとスピードスケート選手は大会前に SIgA 分泌が高まり大会後に SIgA 分泌が低下したことを報告している。論文中で、試合に向けての交感神経の活動が高まり、SIgA 分泌を増加したと考察されている。研究課題 4-2 で hBD2 は精神的ストレスに影響を受けない可能性を示した。従って、hBD2 は精神的ストレスによる交感神経の影響を受けない可能性も考えられる。しかし、本研究では精神的な評価をしていない。今後は心理的な状態も踏まえて hBD2 の応答を注視する必要がある。

4-3-5. 結論

本研究では、大学ラグビー選手を対象に継続的な高強度運動が安静時の唾液 hBD2 と上気道感染症状に及ぼす影響について調べた。その結果、高強度運動の継続により安静時の唾液 hBD2 分泌が有意に低下し、上気道感染症状

の件数の増加が認められた。これらのことより、高強度運動の継続は、安静時の唾液 hBD2 分泌を低下させ上気道感染症の罹患リスクを高めることが明らかとなり、唾液 hBD2 はアスリートにおけるコンディション評価の有用な指標となる可能性が示唆された。

第 5 章 口腔内局所粘膜免疫能の回復を促す介入

5-1. 乳酸菌が継続的な高強度運動に対する唾液 hBD2 の応答（研究 5）

5-1-1. 緒言

上気道感染症の予防は、アスリートの良好なコンディション維持の観点において重要な課題である。上気道感染症を引き起こす病原体のほとんどが口腔や鼻腔などの粘膜から侵入してくることより、粘膜免疫能を高めることは感染予防の観点より非常に重要である。

唾液中の hBD2 は、幅広い抗細菌・抗真菌・抗ウイルス作用を有し (Hancock et al., 2000 ; Selsted et al., 2005), 病原体を殺菌・静菌することで病原体の粘膜下への侵入を防いでいる (Hancock et al., 2000 ; Selsted et al., 2005)。唾液 hBD2 は研究課題 4-1 で一過性の高強度運動により一時的に低下し、さらに研究課題 4-3 で高強度運動の継続により安静時レベルの低下とともに上気道感染症の発症が認められている。従って、hBD2 の低下を抑制することや、あらかじめ hBD2 を高めておくことで上気道感染症の予防に貢献できると考えられる。

近年、乳酸菌の摂取で上気道感染症の予防や症状軽減を試みた研究がなされている (de Vrese et al., 2006; Hatakka et al., 2001)。乳酸菌の摂取がアスリートの口腔内局所粘膜免疫能に及ぼす影響を検討した研究は、Cox et al. (2010) によると 4 週間の乳酸菌の摂取で上気道感染症状の罹患数および出現日数が減少したことを報告している。また Gleeson et al (2011) は、運動習慣のある成人男女において 16 週間の乳酸菌飲料の摂取で上気道感染症状の出現日数が短縮したことを報告している。

本研究で用いる *Lactobacillus gasseri* OLL2809 株 (MG2809) は、免疫刺激

活性を指標に選抜された乳酸菌である。また MG2809 乳酸菌は、タブレット錠剤に加工されているため、持ち運びおよび保存時の熱安定性に優れている。これまで、MG2809 乳酸菌による抗原特異的 IgE の抑制やスギ花粉抗原で誘発された好酸球増多の抑制 (Gotoh et al., 2009; Sashihara et al., 2008)、子宮内膜症患者のナチュラルキラー (natural killer: NK) 細胞活性の亢進および月経痛症状の軽減が報告されている (Itoh et al., 2011)。また、大学サッカー選手における 4 週間の MG2809 乳酸菌摂取によって一過性高強度運動後の NK 細胞活性の低下が抑制されることが報告されている (Sashihara et al., 2013)。しかし、MG2809 乳酸菌の摂取が継続的な高強度運動に対する免疫応答に及ぼす影響については不明である。

そこで本研究では、大学ラグビー選手を対象とし、9 週間の MG2809 乳酸菌の摂取が唾液 hBD2 分泌および上気道感染症状に及ぼす影響について検討した。

5-1-2. 方法

5-1-2-1. 対象

関東大学対抗戦 A グループに所属する男子大学ラグビー選手 67 名を対象とした。対象者は事前に年齢、身長、体重の調査を実施した。研究内容を知らない第 3 者によって、スクリーニング検査の結果を用いて、対象者を、MG2809 乳酸菌のタブレットを摂取する MG2809 群 (33 名) およびプラセボタブレットを摂取するプラセボ群 (34 名) に分けた (Table 5-1-1)。なお、本研究は「ヘルシンキ宣言」の趣旨に従い、且つ「筑波大学体育系研究倫理審査委員会」の承認を得て実施した (承認番号: 体 23-70 号)。

Table 5-1-1. Characteristics of subjects

	MG2809 (n = 33)	Placebo (n = 34)	
Age (year)	20.0 ± 0.2	20.2 ± 0.2	n.s
Height (cm)	176.4 ± 1.1	175.0 ± 1.0	n.s
Body mass (kg)	84.8 ± 1.8	85.3 ± 1.9	n.s

All values are described as mean ± SE.

n.s: non- significant.

5-1-2-2. 調査方法

測定は、合宿期間中に行った。唾液採取は、乳酸菌あるいはプラセボを摂取する前 (0 week)、摂取開始 2 週間後 (2 weeks)、4 週間後 (4 weeks)、6 週間後 (6 weeks)、8 週間後 (8 weeks)、9 週間後 (9 weeks) の合計 6 回行った (Fig. 5-1-1)。なお、運動や食事による影響を考慮し、唾液の採取は起床後・朝食前・練習前の条件が揃う午前 6 時から 7 時の間に行った。

5-1-2-3. MG2809 乳酸菌

MG2809 乳酸菌タブレット 1 錠には、 1×10^{10} 個の熱処理された *Lactobacillus gasseri* OLL2809 株の乳酸菌が含まれている。MG2809 乳酸菌タブレットおよびプラセボタブレットは同形状の小瓶に入れて対象者に配布した。タブレットの原材料は、乳酸菌末 (MG2809) あるいはプラセボ粉末 (タンパク質および糖質) に、還元麦芽糖水飴、結晶セルロース、安定剤 (CMC-Ca)、ステアリン酸 Ca、微粒二酸化ケイ素が含有されている。対象者には、1 日に 2 錠 (エネルギー 1.9kcal, タンパク質 0.050g, 脂質 0.010g, 炭水化物 0.41g, ナトリウム 0.75mg) のタブレット (MG2809 およびプラセボタブレットともに同等) を、噛まずに水などと一緒に摂取するように指示した。摂取の時間帯は指定せず、対象者それぞれのタイミングの良いときに摂取してもらった。

5-1-2-4. 唾液の採取方法

研究課題 4-2-2 と同様の方法を用いて行った。

5-1-2-3. hBD2 の定量方法

研究課題 4-2-2 と同様の方法を用いて行った。

5-1-2-4. 上気道感染症状の調査

上気道感染症状の調査は、赤間ら（1995）の報告を参考とし、調査用紙を用いて行った。対象者には毎日調査用紙に上気道感染症状の有無を記載するように指示した。鼻水、咳、咽喉痛、痰、熱感、悪寒、吐き気の7項目について、自覚症状の有無を調べ、1つ以上の症状が3日以上続いた場合の発生件数を示した。

5-1-2-5. 統計処理

各測定値は、平均値 ± 標準誤差で示した。各群における0 week との比較には Wilcoxon signed-rank test を用いた。両群における感冒症状の出現者数および出現回数、出現日数の比較には Mann-Whitney U test を用いた。有意水準は5%未満とした。なお、すべての統計処理は、統計解析ソフトウェア StatView 5.0 日本版（SAS 社，東京）を用いて行った。

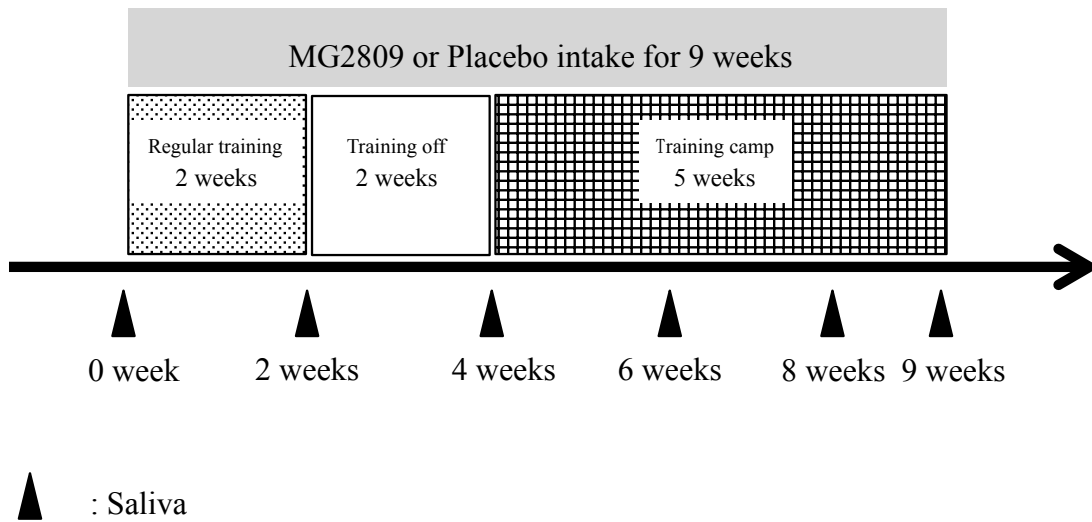


Fig. 5-1-1. Experimental design of the study

This research was conducted for 9 weeks. Saliva samples were collected before (0 week) and after 2, 4, 6, 8, and 9 weeks of the MG2809 intakes.

5-1-3. 結果

5-1-3-1. 唾液データ

唾液分泌量，hBD2 濃度，hBD2 分泌速度の変動を Table 5-1-2 に示した．

唾液分泌量について，両群間に交互作用はみられなかった．また両群において，乳酸菌摂取前（0 week）と比べて有意な変動はみられなかった．

hBD2 濃度について，両群間に交互作用はみられなかった．また両群において，乳酸菌摂取前（0 week）と比べて有意な変動はみられなかった．

hBD2 分泌速度の変動を Table 5-1-2 に示した．hBD2 分泌速度について，両群間に交互作用はみられなかった．また両群において，乳酸菌摂取前（0 week）と比べて有意な変動はみられなかった．

hBD2 分泌速度における変化比を Figure 5-1-2 に示した．hBD2 分泌速度変化比について，両群間に交互作用はみられなかった．また両群において，乳酸菌摂取前（0 week）と比べて有意な変動はみられなかった．

5-1-3-2. 上気道感染症状

研究期間中において上気道感染症状を訴えた選手は，MG2809 群で 16 名，プラセボ群で 17 名であった．上気道感染症状を訴えた選手の平均罹患回数は，MG2809 群で 2.19 ± 0.38 回／人，プラセボ群で 1.97 ± 0.40 回／人であり，両群間に有意な差は認められなかった．上気道感染症状が 3 日以上出現した選手における症状の出現日数を Fig. 5-1-3 に示した．MG2809 群はプラセボ群と比べて上気道感染症状の出現日数が有意に短かった ($p < 0.05$)．

Table 5-1-2. Changes in saliva data

	0 week	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks	9 weeks
saliva flow rate (ml/min)						
MG2809	1.02 ± 0.11	1.08 ± 0.10	1.19 ± 0.17	1.04 ± 0.10	0.93 ± 0.10	0.96 ± 0.09
Placebo	1.12 ± 0.13	1.06 ± 0.12	1.12 ± 0.11	1.05 ± 0.10	0.95 ± 0.10	0.97 ± 0.09
hBD2 concentration (pg/ml)						
MG2809	2854.1 ± 361.9	3100.0 ± 477.3	2692.3 ± 355.2	2829.6 ± 319.7	3248.1 ± 553.6	3064.9 ± 544.8
Placebo	3270.0 ± 518.4	3395.6 ± 516.2	2931.8 ± 466.3	3830.8 ± 844.5	3257.6 ± 318.2	2962.5 ± 355.7
hBD2 secretion rate (pg/min)						
MG2809	2738.6 ± 443.1	2952.5 ± 382.2	2854.3 ± 501.4	2587.4 ± 354.6	2646.2 ± 386.5	2625.7 ± 432.4
Placebo	3817.2 ± 840.4	3524.4 ± 710.4	3283.4 ± 727.6	3535.9 ± 671.5	3123.8 ± 472.2	2822.6 ± 422.6*

All values are described as mean ± SE.

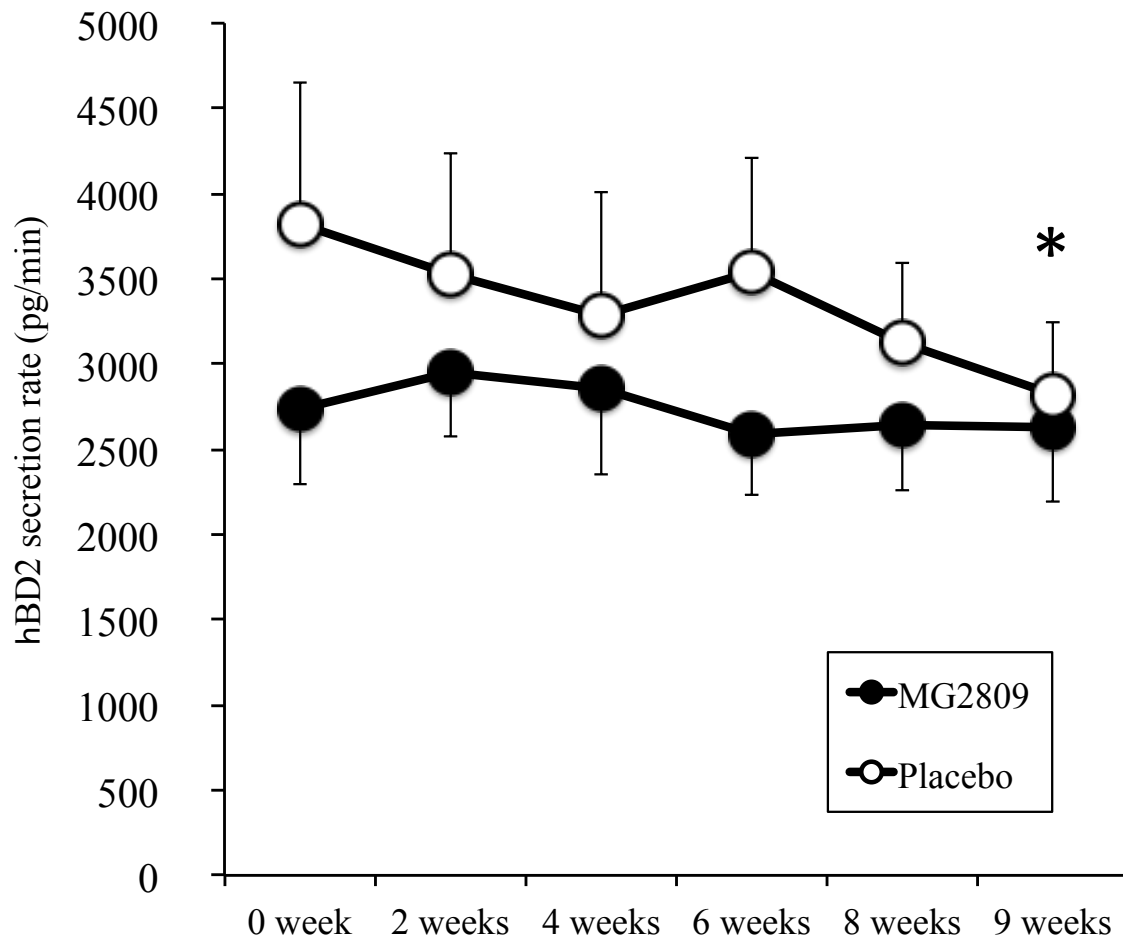
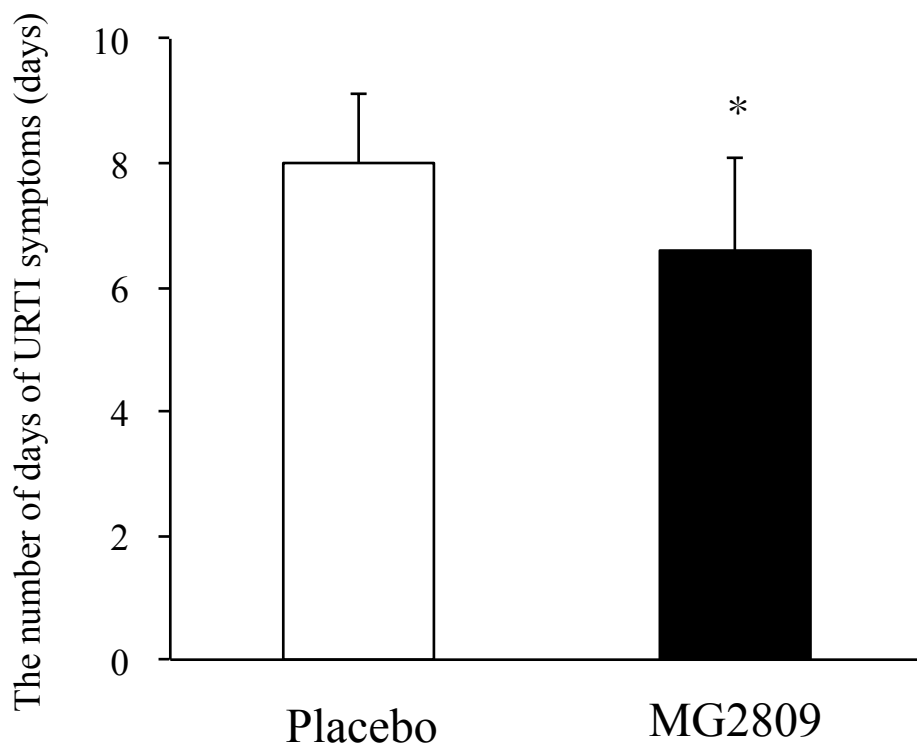


Fig. 5-1-2. Changes in salivary hBD2 secretion rate during the study period.



* : P < 0.05 vs. 0 week.

Fig. 5-1-3. Continuous days of URTI symptoms over three days during the study period.

5-1-4. 考察

本研究では、大学ラグビー選手を対象とし、9週間のMG2809乳酸菌の摂取が唾液 hBD2 および上気道感染症状に及ぼす影響について検討した。本研究結果より、プラセボ群では9週目に唾液 hBD2 が有意に低下したが、MG2809 乳酸菌群では、唾液 hBD2 分泌に有意な変動はみられなかった。また、MG2809 群はプラセボ群と比較して、上気道感染症状の出現日数が短縮することが示された。従って、アスリートにおいてMG2809 乳酸菌を摂取することは、hBD2 の低下が抑制され、上気道感染症状を軽快させる可能性が示唆された。

唾液 hBD2 は、幅広い抗細菌・抗真菌・抗ウイルス作用を有しており (Hancock et al., 2000 ; Selsted et al., 2005), 病原体の粘膜への侵入を防ぐ役割を持っている。従って、hBD2 分泌を高めることは感染防御の観点より非常に重要である。本研究において、プラセボ群では、摂取前と比べて摂取9週間後に hBD2 分泌の有意な低下がみられたが、MG2809 群においては有意な低下はみられなかった。hBD2 の産生は、Th 細胞のサブセットである Th17 細胞から産生される IL-17 によって調節される (Kao et al., 2004)。IL-17 の分泌は、マクロファージや樹状細胞が産生する IL-23 によって調節される (McGeachy et al., 2007)。しかし、IL-17 および IL-23, さらに Th 細胞数は高強度運動によって減少することが示されている (Nieman et al., 1994c ; Sugama et al., 2012)。これらのことより、本研究において、乳酸菌は経口摂取後に小腸上皮から生体内に取り込まれ、マクロファージや樹状細胞を活性化することが知られており、本研究においても MG2809 乳酸菌が小腸上皮から生体内に取り込まれ、マクロファージや樹状細胞の IL-23 分泌を活性化し、Th17 細胞からの IL-17 産生が高まり、唾液中の hBD2 分泌の低下が抑制されたと推察した。

先行研究より、乳酸菌の継続的な摂取によって上気道感染症状の継続日数が短縮されることや（岸ら，2006），上気道感染症状を軽減させることが報告されている（Kotani et al., 2010）．本研究において，上気道感染症状の出現者数および出現回数について両群に差はみられなかったが，MG2809 群はプラセボ群と比較して上気道感染症状の出現日数が短いことから，継続的な乳酸菌の摂取が上気道感染症状の出現日数を短縮させる可能性が考えられた．インフルエンザウイルスやライノウイルス等の上気道感染症を招くウイルスは，粘膜上皮側から上皮細胞に侵入し，感染後に複製されたウイルスは，上皮細胞から粘膜上皮側へ出芽し，再び粘膜上皮側から侵入して感染が広がるといった仕組みとなっている（氷見ら，2013）．これらのことより，MG2809 群においては乳酸菌の摂取によって増加した hBD2 が，複製されたウイルスの再侵入の抑制や毒素の中和に作用することで感染の拡大を抑え，感冒の出現日数の短縮に貢献した可能性が考えられた．また先行研究において，乳酸菌がヒトの血中 IFN- γ レベルやマウス由来細胞における IL-12, および IFN- γ 産生を高めることが報告されている（Cox et al., 2010; Shida et al., 1998）．IL-12 は NK 細胞の活性化を誘導することが知られており，MG2809 乳酸菌の摂取がヒトの NK 細胞活性を高めることも報告されている（Itoh et al., 2011; Sashihara et al., 2013）．従って，MG2809 乳酸菌が IL-12 を介した Th 細胞や NK 細胞などの全身免疫系の亢進に影響を及ぼし，上気道感染症状の出現日数が短縮した可能性も考えられる．今後は全身免疫系の運動応答に対する MG2809 の効果も合わせて検討する必要がある．

研究課題 4-3 では，継続的な高強度運動によって安静時の唾液 hBD2 は低下を示した．本研究は，通常練習期よりスタートし 2 週間の全体練習オフの後，5 週間の強化合宿を実施した．プラセボ群における唾液 hBD2 が変動しなかった理由として，乳酸菌摂取前（0 week）における唾液 hBD2 レベルが

元々低かった可能性が考えられる。本研究の対象は、関東大学対抗戦および全国大学選手権の優勝圏内にあるチームであり、測定を実施した年は例年に比べ通常練習期の練習量が多い状況であった。また、全体練習はオフであったが個人練習は実施されたことが、オフ後（4 week）に hBD2 が回復しなかった理由として考えられる。いずれにせよ、MG2809 群においては乳酸菌摂取開始 6 週間後（6 weeks）で上気道感染症罹患日数は短縮した。高強度運動により、免疫能が低下しやすい期間において、乳酸菌の摂取による上気道感染症罹患日数が短縮したことは、コンディショニングの観点において有益な情報である。

本研究では、錠剤による乳酸菌の摂取を行った。乳酸菌の摂取は、乳製品や発酵食品などから摂取することが望ましい。しかし、栄養価や保存方法など、減量を有する選手や海外を含む長期間の合宿・連戦期間では摂取が困難となることが予想される。そのため、錠剤による乳酸菌の摂取はアスリートにとって摂取が容易となる利点がある。

5-1-5. 結論

本研究では、大学ラグビー選手を対象に MG2809 乳酸菌の継続的な摂取が唾液 hBD2 と上気道感染症状に及ぼす効果について調べた。その結果、MG2809 乳酸菌の摂取により唾液 hBD2 分泌の低下が抑制され、上気道感染症状の継続日数の短縮が認められた。これらのことより、MG2809 乳酸菌の摂取は、hBD2 分泌の低下抑制を促すことで、上気道感染症状の短縮に関与し、アスリートにおける良好なコンディションの維持に有効となる可能性が示唆された。

第 5 章 口腔内局所粘膜免疫能の回復を促す介入

5-2. 鍼刺激が一過性高強度運動後に対する唾液 hBD2 の応答（研究 6）

5-2-1. 緒言

粘液中に含まれている hBD2 は、抗細菌・抗真菌・抗ウイルス作用を持ち、上気道感染症を引き起こす病原体に対して有効であることが報告されている（Kota et al., 2008 ; White et al., 2009）。研究課題 4-1 では、高強度運動によって唾液 hBD2 が低下することを示した。また研究課題 4-3 では、継続的な高強度運動によって安静時の唾液 hBD2 の低下と上気道感染症状の増加が確認された。これらのことより、高強度運動に対する hBD2 の低下の抑制や回復を促進させることで上気道感染症の罹患リスクを低下させることができると考えられる。

鍼治療は、コンディショニングの一つとして競技現場において広く用いられており（森山，2000；古屋ら，2006；泉，2011；宮本，2011），整形外科的および内科的なコンディションの調整に役立てられている（秋本ら，1998c）。また，鍼刺激は免疫系を高めることが報告されており（Kim and Bae, 2010），鍼刺激が運動に対する局所粘膜免疫系の応答に及ぼす影響について調べた研究は Secretory immunoglobulin A（SIgA）を指標としたもののみである。Matsubara et al.（2010）は，鍼刺激が高強度の自転車ペダリング運動後の SIgA 分泌の低下を抑制したことを報告している。また Akimoto et al.（2003）は，競技大会期間中の継続的な鍼刺激が，安静時の SIgA 分泌の低下を抑制したことを報告している。これらのことから，鍼刺激は高強度運動による粘膜免疫能の低下に対して好影響を及ぼす可能性が考えられるが，研究例が少なく，不明な点が多い。また，鍼刺激が hBD2 の運動応答に及ぼす

影響を調べた研究はない。本研究では、鍼刺激が一過性高強度運動に対する口腔内免疫能の応答に及ぼす影響について、唾液中 hBD2 を指標として検討した。

5-2-2. 方法

5-2-2-1. 対象

若年成人男性 7 名を対象とした (Table 5-2-1)。対象者は日常において高強度運動を習慣的に行っておらず、喫煙習慣はない。また対象者に対して、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、文章による参加の同意を得た。なお、本研究は「ヘルシンキ宣言」の趣旨に従い、且つ「筑波大学体育系研究倫理審査委員会」の承認を得て実施した (承認番号：体 24-57 号)。

5-2-2-2. 調査方法

本研究では、はじめに最大運動負荷テストにより $\dot{V}O_{2max}$ を測定した後、10 日以上の期間をあけて、定常運動負荷テストを行った。定常運動負荷テストは少なくとも 1 週間以上の期間をあけて実施した。

各実験の流れを Fig. 5-2-1 に示した。本実験は、クロスオーバー方式を用い、対象者を定常運動負荷テスト後に鍼刺激を行う exercise-acupuncture (ex-acp) 実験と定常運動負荷テスト後に鍼刺激を行わない、exercise-rest (Exercise) 実験の 2 実験に分けて行った。また順序効果が生じないように、対象者を半数ずつそれぞれの群にランダムに割り付けた。

Table 5-2-1. Characteristics of subjects

	ex-rest	ex-acp
n		7
Age (yr)		23.4 ± 0.6
Height (cm)		171.6 ± 1.3
Body mass (kg)		65.3 ± 1.9
Body fat (%)		17.7 ± 0.7
Body Mass Index (kg/m ²)		22.1 ± 0.4
VO _{2max} (ml/kg/min)		42.8 ± 4.8
Maximal Borg scale during exercise	17.6 ± 0.5	17.7 ± 0.6
Maximal Heart Rate during exercise (bpm)	170.1 ± 4.2	169.0 ± 4.6

All values are expressed as means ± SE

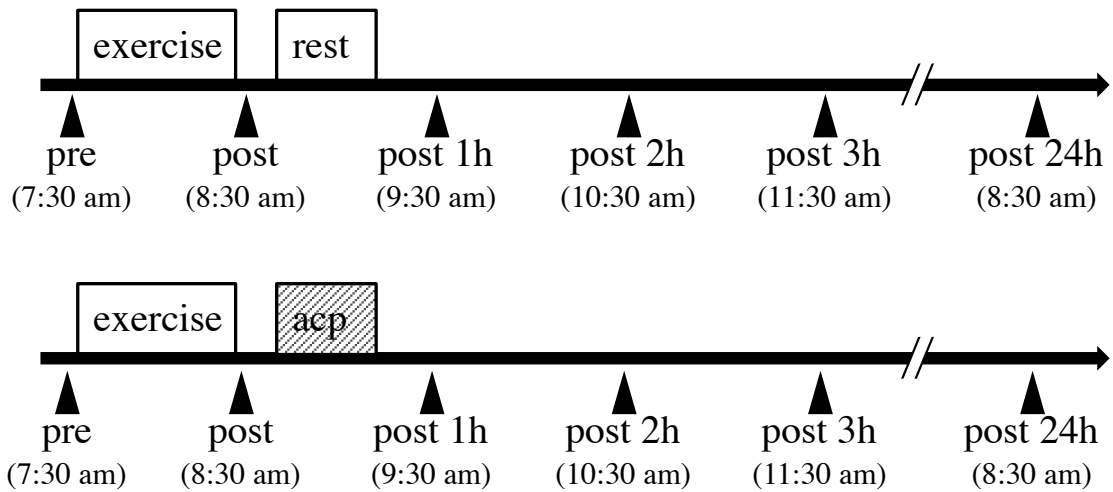


Fig. 5-2-1. Experimental design of the study

In both experiments, subjects performed an exercise on a bicycle, equipped with an ergometer, for 60 minutes at $75\% \dot{V}O_{2\max}$.

After the exercise, subjects in ex-acp experiment were administered acupuncture stimulation for 30 minutes, while subjects in Exercise experiment rested in recumbent position.

5-2-2-3. 最大運動負荷テスト

研究課題 4-1-2 と同様の方法を用いて行った。

5-2-2-4. 定常運動負荷テスト

研究課題 4-1-2 と同様の方法を用いて行った。

5-2-2-5. 唾液採取および hBD2 測定

研究課題 4-1-2 と同様の方法を用いて行った。

5-2-2-6. 鍼刺激方法

鍼刺激は定常運動負荷テスト終了後、休息や着替えを行った後に仰臥位で行った。鍼刺激は、ステンレス製ディスポーザブル鍼灸針（50mm，20 号，セイリン社，静岡）を用いて、衛生的な環境下で実施し、感染の危険性が生じないように配慮した。本実験で用いた経穴を Fig. 5-2-2 に示した。刺激部位は合谷穴（第 1，第 2 中手骨底間の陥凹部），孔最穴（腕橈骨筋内縁陥凹部），足三里穴（脛骨粗面の外方陥凹部），頰車穴（耳垂下端と下顎角との間の陥凹部）の 4 つの経穴（左右 8 部位）とした。鍼は皮膚表面から 5–10 mm，ひびき感が得られるまで刺入した。左の合谷穴と左の孔最穴，右の合谷穴と右の孔最穴および左右の足三里穴間に電極を繋ぎ，針電極低周波治療器（LFP-4500 オームパルサー，全医療器社，福岡）を用いて 2 Hz で 30 分間，低周波鍼通電刺激を行った。頰車穴については 30 分間，置鍼法行い，5 分間毎に 1 回，鍼のひびき感が得られるまで雀啄術にて刺激を行った。なお刺激部位は，先行研究より運動後の粘膜免疫の低下の抑制に効果があるとされる経穴を選択し，同様の鍼刺激方法を行った（Matsubara et al.，2010; Akimoto et al.，2003）。なお，本研究で用いる合谷穴および足三里穴は全身反応を引

き起こす経穴として用いられており、合谷穴への鍼通電刺激によって血漿中 β エンドルフィンが有意に増加することが報告されている(石丸ら, 2003). 鍼通電方法については、先行研究の多くで内因性オピオイドの放出を引き起こしている 2 Hz を採用した (Ulett et al., 1998; Han JS, 2003; 石丸ら, 2003).

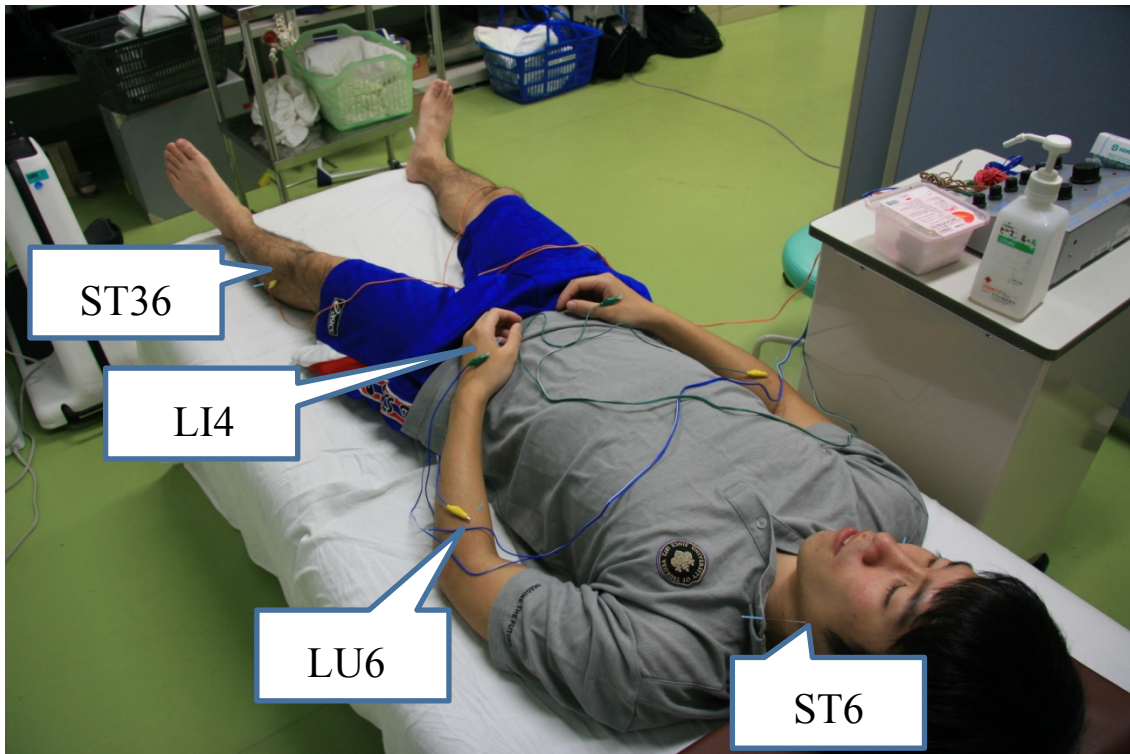


Fig. 5-2-2. The situation of an acupuncture stimuli

Acupuncture needles were inserted through the skin to a depth of 5-10 mm, and manipulated until the subjects felt a sensation from the needles. Electrodes were connected to three points (left LI4-left LU6, right LI4-right LU6, left ST36-right ST36) and then attached to an electric stimulator. The points were electrically stimulated with a low frequency of 3 Hz for 30 min. At the same time, the fourth point (ST36) was manually stimulated for 30 minutes until needle sensation was reached every 5 min.

5-2-2-7. 統計処理

各測定値は、平均値 ± 標準誤差で示した。Exercise 実験および Control 実験における運動前後の変数の比較にはくり返しのある二元配置分散分析を用いて解析した。Posthoc テストは、Tukey-Kramer を用いて多重比較検定を行った。いずれの場合も有意水準は 5%とした。なお、すべての統計処理は、統計解析ソフトウェア StatView 5.0 日本版（HULKINKS 社，東京）を用いて行った。

5-2-3. 結果

5-2-3-1. 唾液データ

唾液分泌量の変動を Table 5-2-2 に示した。ex-acp 実験および Exercise 実験における唾液分泌量の変動について、両実験間に交互作用はみられなかった。ex-acp 実験について、唾液分泌量は運動直後と比べて運動終了 2 時間後に有意な増加がみられた ($p < 0.05$)。Exercise 実験における唾液分泌量について、有意な変動はみられなかった。

総タンパク濃度の変動を Table 5-2-2 に示した。ex-acp 実験および Exercise 実験における総タンパク濃度の変動について、両実験間に交互作用はみられなかった。ex-acp 実験における総タンパク濃度について、有意な変動はみられなかった。Exercise 実験における総タンパク濃度について、運動前と比べて運動直後に有意な上昇がみられた ($p < 0.05$)。

hBD2 濃度の変動を Table 5-2-2 に示した。ex-acp 実験および Exercise 実験における hBD2 濃度の変動について、両実験間に交互作用はみられなかった。ex-acp 実験および Exercise 実験それぞれにおいて、hBD2 濃度の有意な変動はみられなかった。

hBD2/TP の変動を Fig. 5-2-3 に示した。ex-acp 実験および Exercise 実験に

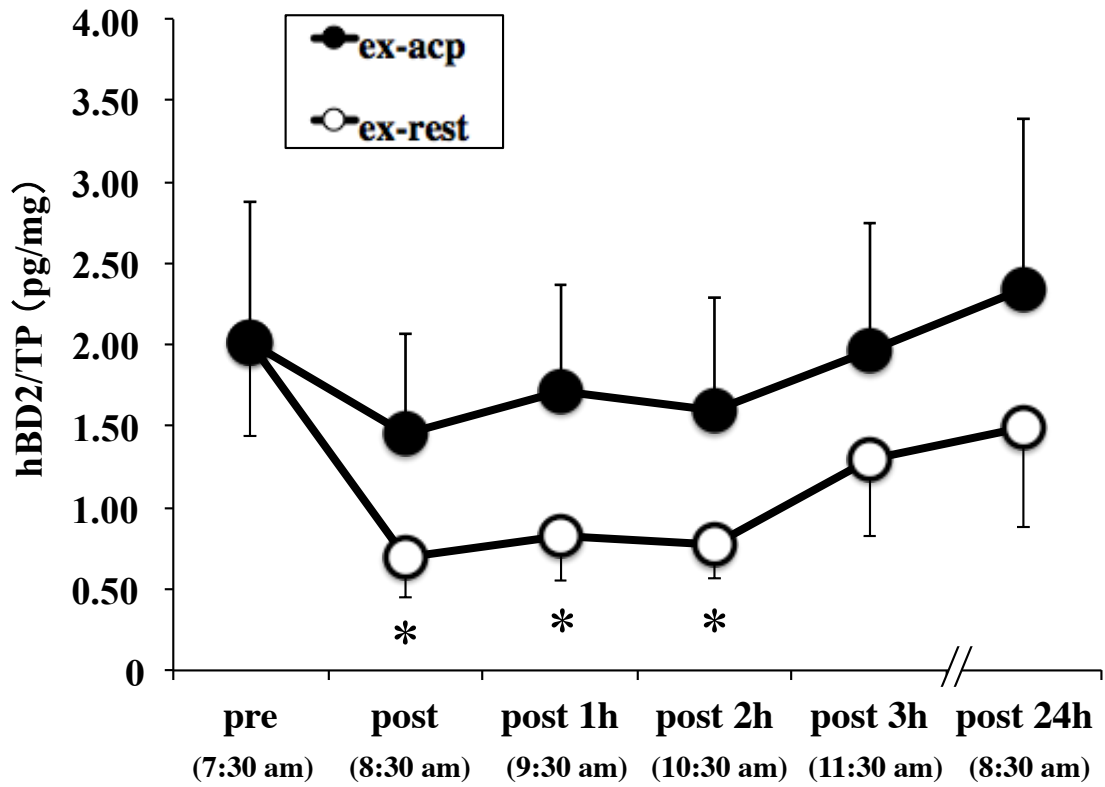
おける hBD2/TP の変動について、両実験間に交互作用はみられなかった。
ex-acp 実験において、hBD2/TP の有意な変動はみられなかったが、Exercise
実験においては、運動前と比べて運動直後、運動終了 1 時間後、運動 2 時間
後に hBD2/TP の有意な低下がみられた ($p < 0.05$)。

Table 5-2-2. The changes of saliva data in Exercise and ex-acp experiments

	pre (7:30)	post (8:30)	post 1h (9:30)	post 2h (10:30)	post 3h (11:30)	post 24h (8:30)
Saliva flow rate (ml/2min)						
ex-rest	1.72±0.33	1.77±0.29	2.12±0.25	2.27±0.25	2.28±0.26	2.03±0.28
ex-acp	1.86±0.22	1.73±0.21	2.42±0.2	2.61±0.26#	2.26±0.27	2.07±0.32
Total protein (mg/ml)						
ex-rest	247.7±26.6	376.6±36.0*	261.8±21.4#	254.7±27.7#	250.7±19.9#	272.5±25.7#
ex-acp	242.3±23.6	296.1±34.1	282.4±19.5	249.6±19.2	260.7±18.0	278.5±36.8
hBD2 concentration (pg/ml)						
ex-rest	552.6±9.1	288.3±6.7*	236.9±6.1*	201.2±5.2*	299.6±6.3	454.1±9.3
ex-acp	496.5±9.1	322.4±6.5	408.6±7.4	251.3±5.1	383.4±6.8	433.8±8.9

All values are described as mean ± SE

*: $P < 0.05$ vs. pre; #: $P < 0.05$ vs. post.



*: $P < 0.05$ vs. pre.

Fig. 5-2-3. The changes of hBD2/TP in Exercise and ex-acp experiments

5-2-4. 考察

本研究より、運動後に鍼刺激を行わなかった Exercise 実験においては、運動前と比べて運動直後、1 時間後、2 時間後に hBD2/TP の有意な低下がみられた。一方で、鍼刺激を行った ex-acp 実験では hBD2/TP に有意な変動はみられなかった。このことから、鍼刺激が運動による hBD2 の低下を抑制した可能性が示唆された。

hBD2 は、病原体の粘膜への侵入を防ぐことで上気道感染症の罹患の予防に貢献している。本研究結果より、Exercise 実験では運動前と比べて運動終了直後から運動終了 2 時間後まで有意に低下することが示された。Usui et al. (2011) の報告によると、本研究と同様の運動様式 ($75\% \dot{V}O_{2max}$ の負荷で自転車ペダリング運動、60 分間) を用いたが、hBD2 分泌は運動前と比べて運動終了直後から運動終了 2 時間後まで有意な上昇を示した。hBD2 の運動応答に関する研究は少ないが、研究課題 4-3 では、継続的な高強度運動によって大学ラグビー選手の hBD2 分泌は有意に低下を示している。さらに Usui et al. (2012) は、エリートマラソランナーの hBD2 分泌は一般健常成人男性と比べて有意に低値であったことを示している。よって、唾液 hBD2 は高強度運動によって低下する可能性が示唆された。

鍼刺激は古くから上気道感染症の治療に用いられてきた (吉川ら, 1984; Kawakita et al., 2008)。さらに、鍼刺激はサイトカインや免疫細胞に影響を及ぼし免疫機能を高めることが報告されている (Hisamitsu et al., 2002)。本研究において ex-acp 実験では、運動後に hBD2 の低下はみられなかったことより、鍼刺激が運動による hBD2 の低下を抑制した可能性が示唆された。先行研究より Matsubara et al. (2010) は、鍼刺激が一過性高強度運動後の SIgA 分泌の低下を抑制したことを報告している。また Akimoto et al. (2003) は、継続的な鍼刺激が試合期間中の女子サッカー選手の SIgA 分泌の低下を抑制

したことを報告している。これらのことより、高強度運動後の鍼刺激は口腔内局所粘膜免疫能の低下を抑制し、上気道感染症の予防に役立つ可能性が示唆された。

hBD2 の産生は、Th 細胞のサブセットである Th17 細胞から産生される IL-17 によって調節されることが知られている (Kao et al., 2004)。さらに IL-17 の分泌は、マクロファージや樹状細胞が産生する IL-23 によって調節される (McGeachy et al., 2007)。しかし、IL-17 および IL-23、さらに Th 細胞は高強度運動によって減少することが示されており、このことが hBD2 の低下に関与する可能性が考えられる (Nieman et al., 1994c; Sugama et al., 2012)。一方で、鍼刺激は古くから鎮痛を目的に行われており、そのメカニズムとして脳内のエンドルフィン量の増加が関わっていることが古くより示されている。Guo et al. (2012) は鍼刺激が末梢神経を介して脳中のエンドルフィンの産生を高めることを示している。エンドルフィンにはマクロファージや樹状細胞の一種であるランゲルハンス細胞に作用し、サイトカインの放出を高めることが報告されている (Hosoi et al., 1999)。これらのことより、鍼刺激によって放出されたエンドルフィンが局所にあるランゲルハンス細胞を含むマクロファージや樹状細胞に IL-23 の産生を促し、Th17 細胞から分泌された IL-17 が hBD2 の分泌を高めた可能性が考えられる。ただし、本研究では hBD2 の調節に関わっている Th 細胞やサイトカインを調べていない。また、IL-17 や IL-23 に対する鍼刺激の効果については研究がなく不明であることから、今後検討する必要がある。

本研究において、鍼刺激が高強度運動による hBD2 の低下を抑制する可能性が示唆された。この hBD2 の低下の抑制は、上気道感染症の罹患リスクの低下に寄与すると考えられ、スポーツ現場における鍼治療が感染予防の一助となる可能性が示された。

5-2-5. 結論

本研究より，鍼刺激が高強度運動による唾液 hBD2 低下の抑制を促す可能性が示唆された．このことから，鍼刺激は高強度運動による口腔内免疫能の低下に好影響を及ぼし，上気道感染症の罹患リスクの低下に寄与する可能性が示唆された．

第 6 章 総合討論

6-1. 本研究の目的

本研究の目的は、アスリートのコンディションに悪影響を及ぼす上気道感染症の罹患予防に関係し、口腔内局所粘膜免疫能を反映する唾液 hBD2 に着目し、より有用性のあるコンディショニングプログラムを策定するための知見を提供することを念頭におき、スポーツ活動による口腔内局所粘膜免疫能の低下および回復を明らかにすることである。

6-2. 本研究で得られた成果

6-2-1. 研究課題 1：上気道感染症と競技パフォーマンスとの関係

研究 1 では、大学アスリートを対象として、上気道感染症と競技パフォーマンスとの関係を調べた。その結果、多くの大学アスリートが上気道感染症によって競技パフォーマンスが低下することが確認された。また競技レベルの高い大学アスリートは、上気道感染症の年間の罹患回数が多いことが確認された。

6-2-2. 研究課題 2：唾液 hBD2 の身体的および精神的ストレスによる応答と上気道感染症との関係

研究 2 では、健常成人男性を対象として、口腔内局所粘膜免疫能を反映する唾液中の hBD2 を用いて、一過性高強度運動による唾液 hBD2 の応答について検討した。その結果、運動後に唾液 hBD2 は有意に低下した。したがって、唾液 hBD2 は運動による口腔内局所粘膜免疫能の応答を反映し、高強度の運動で低下することが確認された。

研究 3 では、健常成人男性を対象として、算術負荷試験による精神的スト

レスが唾液 hBD2 に及ぼす影響について検討した。その結果、算術負荷試験によって安静時の唾液 hBD2 は応答を示さなかった。したがって、hBD2 は精神ストレスに影響を受けない可能性が示唆された。

研究 4 では、大学ラグビー選手を対象として、合宿期間中における継続的な高強度運動が唾液 hBD2 および上気道感染症状に及ぼす影響について検討した。その結果、継続的な高強度運動によって安静時の唾液 hBD2 分泌の低下と上気道感染症状の増加が認められ、唾液 hBD2 と上気道感染症との関係性が確認された。

6-2-3. 研究課題 3：口腔内局所粘膜免疫能の回復を促す介入

研究 5 では、大学ラグビー選手を対象として、乳酸菌の摂取が合宿期間中における hBD2 および上気道感染症状に及ぼす影響について検討した。その結果、乳酸菌の摂取によって hBD2 分泌に変動は認められなかったが、上気道感染症罹患日数の短縮が確認された。

研究 6 では、健常成人男性を対象として、鍼刺激が高強度運動後の hBD2 応答に及ぼす影響について検討した。その結果、鍼刺激は高強度運動による hBD2 の低下を抑制することが示された。

6-3. 本研究で得られた成果の意義および今後の課題

研究課題 1 では、大学アスリートの多くが上気道感染症によって競技パフォーマンスが低下を自覚することが確認された。また競技レベルの高い大学アスリートは、上気道感染症の年間の罹患回数が多いことが確認された（研究 1）。しかしながら、本研究の対象に国際大会出場経験のある、いわゆるトップアスリートは含まれていない。また、サンプル数ならびに競技種目も限られている。そのため、今後はより競技レベルの高いトップアスリートも

含め、より多くの種目の選手を対象に実態調査を行うことでアスリートの上気道感染症とパフォーマンスの実態がより明確になることが予想される。

研究課題 2 では、身体的および精神的ストレスが口腔内局所粘膜免疫能を反映する唾液 hBD2 に及ぼす影響、および、継続的な高強度運動が安静時の hBD2 分泌と上気道感染症に及ぼす影響について SIgA とともに検討した。唾液 hBD2 は、一過性高強度運動によって低下したが（研究 2）、一過性算術負荷試験では応答しないことが示された（研究 3）。hBD2 は身体的ストレスに反応し、精神的なストレスに対しては反応しなかったことより、身体的ストレスと精神的ストレスを区別できる新しいストレス指標となりうる可能性が示唆された。アスリートは日々のトレーニングによる身体的なストレスに加えて、過度な緊張や心理的不安による精神的ストレスを受けている。これらのストレスによって免疫能は徐々に磨耗し、上気道感染症を含む様々な不調が身体に出現する（Cannon, 1993; Mackinnon et al., 1994）。そのため、hBD2 が精神的ストレスの影響を受けないストレス指標として確立すれば、唾液 hBD2 の観察により生体に影響するストレスの種類を分別して評価でき、アスリートの体調管理に大いに貢献できる可能性がある。よって今後は、スピーチテストや手術中の映像を閲覧するなど受動的な精神的ストレスによる hBD2 の応答や、動物を用いて長期的な精神的ストレスが唾液 hBD2 にどのような影響を及ぼすかなど、より詳細な検討を行う必要がある。

合宿期間中における継続的な高強度運動によって安静時の hBD2 分泌および SIgA 分泌は低下を示し、上気道感染症症状数は増大した（研究 4）。合宿は 4 週間の練習合宿と 1 週間の試合合宿から構成されている。練習合宿期のトレーニングは主に基礎トレーニングが中心であり、試合合宿期は他チームとの練習試合が中心に行われた。Yamauchi et al. (2011) によると、トレーニング強度および量は練習合宿期間の方が高いため、試合合宿では SIgA が営

む免疫機能は回復していくことを報告されており、本研究でも同様の応答を示した。一方で、hBD2 分泌は練習合宿から試合合宿にかけて回復はみられなかった。そのため、hBD2 は SIgA と異なるストレス応答を示す可能性がある。スポーツの現場において、選手の上気道感染症からの復帰のタイミングは難しい。団体競技であれば他の選手に伝染する恐れもあり、不完全回復のまま復帰することでコンディションが上がらない原因になることや症状が悪化することも考えられる。上気道感染症からの復帰時期は多くの場面で、選手個人に任せられており、選手の多くは症状の有無で判断しているのが実際である（永富ら、1998）。hBD2 が SIgA と比べてより正確に口腔内局所粘膜免疫能を反映するのであれば、アスリートの上気道感染症からの復帰に役立つ指標となる可能性がある。

研究課題 2 では、hBD2 の身体的および精神的ストレス応答について検討した。今後、スポーツ活動に関わるストレスと hBD2 の応答が詳細になっていくことで hBD2 のスポーツ現場への応用が期待される。しかし、病原体の初期防衛に関わっている抗菌タンパクは多く存在することから、今後は hBD2 および SIgA だけでなく抗菌タンパクの網羅的に行うことも検討していく必要がある。本研究は、その基礎資料にもなる。

研究課題 3 では、高強度運動による口腔内局所粘膜免疫能の低下による上気道感染症罹患予防に役立つ介入方法を検討した。本研究結果より、継続的な乳酸菌の摂取によって、安静時の唾液 hBD2 分泌の低下は抑制され、上気道感染症の罹患日数は短縮した（実験 5）。一方で、鍼刺激によって高強度運動後の hBD2 の低下は抑制された。上気道感染症はアスリートに頻繁にみられる疾患であり、アスリートのコンディションを低下させ、パフォーマンスに悪影響を及ぼす。そのため、上気道感染症の予防あるいは早期回復を促すことはコンディショニングの観点において非常に重要である。上気道感染

症（かぜ症候群）に対しての治療薬の多くにメチルエフェドリンや麻黄，フェニルプロパノールアミンが含まれている．これらはドーピング禁止物質であり，アスリートはこれらが含まれている薬剤を摂取することはできない．乳酸菌の摂取や鍼刺激が免疫能を高め上気道感染症の予防に寄与することが報告されている．乳酸菌は個々の自然治癒力を増大させることで感染に対する抵抗力を高める．また，過剰の摂取による副作用はなくアスリートが安心して服用することができる．一方で，鍼治療は多くのアスリートの疼痛軽減や筋緊張の緩和を目的に用いられており，コンディショニングツールの一つとして確立している．本研究で行った鍼刺激は特定の経穴に行うものであり，はり師の資格を有していれば誰にでもできる刺激方法である．これらのことから日頃の治療と合わせて免疫能を高めることができる．また，経穴（ツボ）への指圧刺激が全身調整に効果があるとの記事が散見していることより，セルフコンディショニングの基礎資料作成のためにも指圧刺激による効果も検討の余地がある．

本研究より，口腔内局所粘膜免疫能を反映する hBD2 を高めるため方法として，乳酸菌の摂取および鍼刺激の優位性は調べていないが，日々の乳酸菌の摂取によってあらかじめ免疫力を高め高強度運動による免疫能の低下を抑制し，高強度運動後は鍼刺激を行うことで免疫能の早期回復を促すことが望ましいと考えられる．よって，これらの手法を用いることでアスリートの上気道感染症の予防に繋がり，コンディショニングの維持に貢献できると考える．

第 7 章 結語

本研究の目的は、口腔内局所粘膜免疫能を反映する唾液 hBD2 を指標とし、スポーツ活動による応答性を調べることで、高強度トレーニングに伴い低下するアスリートの口腔内局所粘膜免疫能を評価し、回復を促す介入方法を検証することである。

1. アスリート自身が、上気道感染症の罹患でパフォーマンスの低下を自覚しているおり、競技レベルの高いアスリートは、上気道感染症に罹患するリスクが高いことが示された。
2. 一過性高強度運動によって、唾液 hBD2 レベルは低下した。このことから、唾液 hBD2 の運動による口腔内局所粘膜免疫能の応答を反映する指標としての有用性が確認された。
3. 一過性の算術負荷試験による精神的ストレスによって、唾液 hBD2 は応答しなかった。このことから、唾液 hBD2 は身体的ストレスと精神的ストレスを区別できる可能性が示唆された。
4. 継続的な高強度運動によって、安静時の唾液 hBD2 の低下とともに上気道感染症状が増加した。このことから、唾液 hBD2 と上気道感染症には関係があることが示された。
5. 乳酸菌の摂取によって hBD2 分泌の低下は抑制され、アスリートの上気道感染症の罹患継続日数は短縮した。このことから、乳酸菌の摂取はア

スリートの上気道感染症の予防に役立つことが示された。

6. 高強度運動後の鍼刺激によって hBD2 の低下が抑制された。このことから、鍼刺激は高強度運動による免疫低下を抑制し、感染リスクの低下に寄与する可能性が示された。

以上の成果は、アスリートの上気道感染症の予防に役立つ新しい知見を加えるものであり、口腔内局所粘膜免疫能という観点からみたより安全で効果的なアスリートのコンディショニングプログラムを策定するために応用できる知見として意義のあるものとする。

謝辞

本研究を遂行し論文を作成するにあたり，親切丁寧なご指導ご助言を賜りました筑波大学人間系・宮本俊和教授に厚く御礼申し上げます。

大学院に入学する前より，多くの助言と励ましを賜りました筑波大学・河野一郎特命教授に厚く御礼申し上げます。また，博士論文の作成にあたり多くの貴重なご意見，ご指導を賜りました筑波大学体育系・宮川俊平教授に深謝の意を申し上げます。勉強会を始め，多大な助言をいただきました筑波大学体育系・渡部厚一准教授に厚く御礼申し上げます。

研究への視野，研究遂行方法など多くの助言と励ましを賜りました早稲田大学スポーツ科学学術院・赤間高雄教授，日本スポーツ振興センター・スポーツ・インテグリティ・ユニット長・勝田 隆先生に厚く御礼申し上げます。

私に研究の基礎から懇切丁寧にご指導を賜りました国立スポーツ科学センター・清水和弘研究員，筑波大学体育系・木村文律研究員に心より厚く御礼申し上げます。また，研究のご助言から私生活まで大変お世話になりました筑波大学体育系・高木英樹教授，東京大学医学系研究科附属疾患生命工学センター・秋本崇之講師，筑波大学体育系・田辺 解研究員，東洋大学ライフデザイン学部・村瀬陽介助教，筑波大学スポーツ Research & Development コア・大垣 亮助手に心より厚く感謝致します。

研究活動を通じて，多大な協力や励ましを賜りました日本アンチ・ドーピング機構・鈴木智弓氏，筑波大学大学院人間総合科学研究科・及川哲志氏，曾根良太氏，筑波大学大学院人間総合科学研究科・宮本研究室の皆様ならびに OB，OG，関係者の皆様，筑波大学大学院人間総合科学研究科スポーツ医学専攻の同期・先輩・後輩の皆様心より厚く感謝致します。また，公私にわたり，多大な励ましを賜りました専修大学文学部・相澤勝治准教授，中京

大学国際教養学部・今 有礼准教授, 愛知東邦大学人間学部・谷村祐子助教,
筑波大河野研究室秘書・宮山恭子氏に心より感謝致します。また, 被験者な
らびに測定検者としてご協力頂いた皆様に心より厚く感謝致します。

最後にいつも温かく見守って頂いた父・母・兄・姉・甥・祖母・親戚の皆
様に心より深く感謝申し上げます。

参考文献

1. 赤間高雄. (2008) 【予防としてのスポーツ医学 スポーツ外傷・障害とその予防・再発予防】 内科・その他の疾患とその予防 感染症とその予防 (解説/特集). 臨床スポーツ医学. 25 臨増 : 454-458.
2. 赤間高雄, 和久貴洋, 和久美紀, 杉浦弘一, 秋本崇之, 龍野美恵子, 香田泰子 (1995) 感染症アンケートの実施及び集計について, 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-: 19-24.
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 (1998a) 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 (2) : 245-251.
4. 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. (1998b) 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
5. 秋本崇之, 香田泰子, 赤間高雄, 柳川真美, 龍野美恵子, 杉浦弘一, 柿山哲治, 前田清司, 河野一郎, 松田光生. (1997) 一過性運動負荷による唾液中分泌型 IgA の変動 視覚障害者における検討. 体力科学. 46 (5) : 523-527
6. 秋本崇之, 宮本俊和, 河野一郎. (1998c) 大学競技スポーツ選手における鍼治療の実態. 臨床スポーツ医学. 15 (1) : 87-93.
7. 李恩宰, 佐藤文香, 鈴木智弓, 枝伸彦, 清水和弘, 赤間高雄. (2014) 中高齢者の太極拳による口腔内の免疫機能と気分尺度の変化. スポーツ科学研究. 11: 225-235.
8. 石丸圭荘, 関戸玲奈, 咲田雅一. (2003) 合谷鍼通電における内因性鎮痛

と経絡の関係. 全日本鍼灸学会雑誌. 53(2) : 184-189

9. 泉 重樹. (2011) 【スポーツ損傷予防と競技復帰のためのコンディショニング技術ガイド】 コンディショニングに用いる手法 損傷予防と競技復帰に向けて 鍼灸 (解説/特集). 臨床スポーツ医学. 28 臨増 : 280-284.
10. 泉水宏臣, 肥田裕久, 藤本敏彦, 永松俊哉 神疾患患者への運動療法 (2011) : デイケア施設における実践からの提言. 体力研究. 109: 9-16.
11. 岸 和正, 小谷吉史, 山平聡子, 戸羽正道, 岡 松洋, 三原修一, 鶴田容子, 竹原美沙, 赤星亜朱香, 南 久則. (2006) *Lactobacillus plantarum* ONRICb0240 は健常成人の唾液 IgA 量を高める, 日本乳酸菌学会誌, 17: 132-7.
12. 笹月健彦. (2003) 免疫生物学-免疫系の正常と病理. 南江堂.
13. 芝紀代子. (2006) 睡眠中の化学成分から得られる豊富な生体情報. 日本唾液腺学会誌. 47: 37-48.
14. 清水和弘, 相澤勝治, 鈴木なつ未, 久木留毅, 木村文律, 赤間高雄, 目崎登, 河野一郎. (2007) 唾液中 SIgA を用いた全日本トップレスリング選手の急速減量時のコンディション評価. 日本臨床スポーツ医学会誌. 15 (3) : 441-447.
15. 鈴木雅雄, 苗村健治, 江川雅人, 矢野忠. (2006) 気管支喘息に対する鍼治療の臨床的効果の検討. 全日本鍼灸学会雑誌. 56 (4) : 616-627.
16. 永富良一, 小川恵子, 伊藤静夫 (1998) 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, 平成 9 年度 日本体育協会スポーツ医・科学研究報告 No.V-第 2 報- : 17-27.
17. 氷見徹夫, 高野賢一, 大國 毅, 小笠原徳子, 正木智之, 小幡和史, 堤裕幸, 小島 隆, 澤田典均, 横田伸一. (2013) ウイルス性上気道炎で

- の免疫応答と鼻粘膜上皮の役割, 耳鼻咽喉科展望, 56 : 162-177.
18. 古屋英治, 金子泰久, 小川裕雄, 石川慎太郎, 坂本 歩. (2006) 国体セーリング選手のコンドィション調整に対する鍼治療の検討. 全日本鍼灸学会雑誌 56 (2) : 166-174
 19. 松原裕一, 清水和弘, 宮本俊和, 河野一郎. (2010a) 鍼刺激が高強度運動による好中球およびリンパ球の応答に及ぼす影響. 日本温泉気候物理医学会雑誌. 73 (2) : 92-100.
 20. 松原裕一, 宮本俊和, 河野一郎. (2010b) 鍼刺激が合宿期間中の唾液分泌型免疫グロブリン A に及ぼす影響. 日本温泉気候物理医学会雑誌. 73 (3) : 191-201
 21. 宮本俊和. (2011) スポーツ領域の鍼灸 筋疲労・筋力・筋損傷への効果 筑波大学におけるスポーツ外傷・障害に対する鍼治療. 日本臨床スポーツ医学会誌. 19 (2) : 228-230.
 22. 森山朝正 . (2000) 【スポーツにおける鍼治療の応用】 コンドィショニングに対する鍼治療 リコンディショニングとコンディショニングに応用する鍼の役割(解説/特集). 臨床スポーツ医学. 17(9) : 1051-1062.
 23. 山内亮平, 清水和弘, 古川拓生, 渡部厚一, 竹村雅裕, 赤間高雄, 秋本崇之, 河野一郎. (2009) 大学ラグビー選手における合宿期間中の唾液中分泌型免疫グロブリン A の変動. 体力科学. 58(1): 131-141
 24. 山口宣夫, 橋本英樹, 荒井松男, 高田外司, 河田奈都子, 多留淳文, 李愛麗, 泉 久子, 杉山 清. (2002) 鍼灸治療効果の研究 鍼刺激後の白血球及びリンパ球亜群に対する量的影響. 日本温泉気候物理医学会雑誌. 65 (4) : 199-206.
 25. 吉川恵士, 西條一止, 矢沢一博. (1984) 鍼治療による反復性扁桃炎の予防に関する臨床的研究 (第 3 報). 全日本鍼灸学会雑誌. 33 (1) : 15-21.

26. 鷺野 嘉映, 西田 弘之 計算負荷の非浸襲的ストレス評価への影響.
(2011) 岐阜聖徳学園大学短期大学部紀要. 43 : 51-57.
27. 渡部厚一. (2006) 第 11 回世界水泳選手権(カナダ・モントリオール)帯
同医事報告, 臨床スポーツ医学. 23(3) : 316-22
28. Abiko Y, Saitoh M. (2007) Salivary defensins and their importance in oral
health and disease. *Curr Pharm Des.* 13 (30) : 3065-3072.
29. Akimoto T, Nakahori C, Aizawa K, Kimura F, Fukubayashi T, Kono
I. (2003) Acupuncture and responses of immunologic and endocrine markers
during competition. *Med Sci Sports Exerc.* 35 (8) : 1296-1302.
30. Behan PO, Behan WM, Gow JW, Cavanagh H, Gillespie S. (1993)
Enteroviruses and postviral fatigue syndrome. *Ciba Found Symp.* 173: 54-9.
31. Cannon JG. (1993) Exercise and resistance to infection. *J Appl Physiol.*
74 (3) : 973-81.
32. Cannon JG. (1993) Exercise and resistance to infection. *J Appl Physiol*, 74,
973-981.
33. Cate TR, Roberts JS, Russ MA, Pierce JA. (1973) Effects of common colds
on pulmonary function. *Am Rev Respir Dis.* 108(4): 858-65.
34. Cohen S, Doyle WJ, Skoner DP. (1999) Psychological stress, cytokine
production, and severity of upper respiratory illness. *Psychosom Med*, 61,
175-180.
35. Cohen S, Doyle WJ, Skoner DP. (1999) Psychological stress, cytokine
production, and severity of upper respiratory illness. *Psychosom Med.* 61 (2) :
175-80.
36. Cohen S, Tyrrell DA, Smith AP. Psychological stress and susceptibility to the
common cold. *N Engl J Med.* 1991 Aug 29;325 (9) : 606-12.

37. Cox AJ, Pyne DB, Saunders PU, Fricker PA. (2010) Oral administration of the probiotic *Lactobacillus fermentum* VRI-003 and mucosal immunity in enduranceathletes. *Br J Sports Med* 44: 222-26.
38. Daniels WL, Vogel JA, Sharp DS, Friman G, Wright JE, Beisel WR, Knapik JJ. (1985) Effects of virus infection on physical performance in man. *Mil Med.* 150(1): 8-14.
39. Deinzer R, Kleineidam C, Stiller-Winkler R, Idel H, Bachg D. (2000) Prolonged reduction of salivary immunoglobulin A (sIgA) after a major academic exam. *Int J Psychophysiol.* 37 (3) :219-32.
40. de Vrese M, Winkler P, Rautenberg P, Harder T, Noah C, Laue C, Ott S, Hampe J, Schreiber S, Heller K, Schrezenmeir J. (2006) Probiotic bacteria reduced duration and severity but not the incidence of common cold episodes in a double blind, randomized, controlled trial. *Vaccine.* 10;24(44-46):6670-4.
41. Doss M, White MR, Tecle T, Gantz D, Crouch EC, Jung G, Ruchala P, Waring AJ, Lehrer RI, Hartshorn KL. (2009) Interactions of alpha-, beta-, and theta-defensins with influenza A virus and surfactant protein D. *J Immunol.* 15; 182(12):7878-87.
42. Engebretsen L, Soligard T, Steffen K, Alonso JM, Aubry M, Budgett R, Dvorak J, Jegathesan M, Meeuwisse WH, Mountjoy M, Palmer-Green D, Vanhegan I, Renström PA. (2013) Sports injuries and illnesses during the London Summer Olympic Games 2012, *Br J Sports Med.* 47(7): 407-14
43. Eda N, Shimizu K, Suzuki S, Tanabe Y, Lee E, Akama T. (2013) Effects of yoga exercise on salivary beta-defensin 2. *Eur J Appl Physiol* 113: 2621-27.
44. Forte LF, Cortelli SC, Cortelli JR, Aquino DR, de Campos MV, Cogo K, Costa FO, Franco GC (2010) : Psychological stress has no association with

- salivary levels of β -defensin 2 and β -defensin 3, *J Oral Pathol Med*, 39, 765-769.
45. Friman G, Wesslén L, Karjalainen J, Rolf C. (1995) Infectious and lymphocytic myocarditis: epidemiology and factors relevant to sports medicine. *Scand J Med Sci Sports*. 5(5):269-78.
 46. Gabriel H, Kindermann W. (1997) The acute immune response to exercise : what does it mean? *Int J Sports Med*. 18 Suppl 1 : 28-45.
 47. Ganz T, Selsted ME, Szklarek D, Harwig SS, Daher K, Lehrer RI. (1985) Defensins (natural peptide antibiotics of human neutrophils). *J Clin Invest*. 76 : 1427- 1435.
 48. García JR, Jaumann F, Schulz S, Krause A, Rodríguez-Jiménez J, Forssmann U, Adermann K, Klüver E, Vogelmeier C, Becker D, Hedrich R, Forssmann WG, Bals R. (2001) Identification of a novel, multifunctional beta-defensin (human beta-defensin 3) with specific antimicrobial activity. Its interaction with plasma membranes of *Xenopus* oocytes and the induction of macrophage chemoattraction. *Cell Tissue Res*. 306 (2) : 257-264.
 49. Gleeson M, Bishop NC, Oliveira M, Tauler P. (2011) Daily Probiotic' s (*Lactobacillus casei* Shirota) reduction of infection incidence in athletes. *Int J Sport Nutr Metab* 21: 55-64.
 50. Gleeson M, McDonald WA, Cripps AW, Pyne DB, Clancy RL, Fricker PA. (1995) The effect on immunity of long-term intensive training in elite swimmers. *Clin Exp Immunol*. 1995 . 102 (1) : 210-6.
 51. Gleeson M. Salivary mucosal immunity and respiratory illness in elite athletes. (2000) *Int J Sports Med* 21 : 33-43

52. Gotoh M, Sashihara T, Ikegami S, Yamaji T, Kino K, Orii N, Taketomo N, Okubo K. (2009) Efficacy of oral administration of a heat-killed *Lactobacillus gasseri* OLL2809 on patients of Japanese-cedar pollen-specific IgE. *Biosci Biotechnol Biochem* 73: 1971-1977.
53. Guo ZL, Li M, Longhurst JC. (2012) Nucleus ambiguus cholinergic neurons activated by acupuncture: relation to enkephalin. *Brain Res* 9: 25-35.
54. Guskiewicz KM, Marshall SW, Bailes J, McCrea M, Harding HP Jr, Matthews A, Mihalik JR, Cantu RC. (2007) Recurrent concussion and risk of depression in retired professional football players. *Med Sci Sports Exerc.* 39(6):903-9.
55. Han JS. (2004) Acupuncture and endorphins. *Neurosci Lett.* 6; 361(1-3): 258-61.
56. Hancock RE, Diamond G. (2000) The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. *Trends Microbiol.* 8 (9) : 402-410.
57. Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder JM. (1997) A peptide antibiotic from human skin. *Nature.* 387 : 861.
58. Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder JM. (2001) Isolation and characterization of human beta -defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J Biol Chem.* Feb 23. 276 (8) : 5707-5713.
59. Hatakka K, Savilahti E, Pönkä A, Meurman JH, Poussa T, Näse L, Saxelin M, Korpela R. (2001) Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial, *BMI* (clinical research ed.) 322: 1-5.
60. Heath GW, Ford ES, Craven TE, Macera CA, Jackson KL, Pate RR. (1991) Exercise and the incidence of upper respiratory tract infections. *Med Sci Sports Exerc.* 23 (2) : 152-157.

61. Hill CP, Yee J, Selsted ME, Eisenberg D. (1991) Crystal structure of defensin HNP-3, an amphiphilic dimer. : mechanism of membrane permeabilization. *Science*. 25 : 1481-1485.
62. Hiratsuka T, Nakazato M, Date Y, Ashitani J, Minematsu T, Chino N, Matsukura S. (1998) Identification of human beta-defensin-2 in respiratory tract and plasma and its increase in bacterial pneumonia. *Biochem Biophys Res Commun*. 28. 249 (3) : 943-947.
63. Hisamitsu T, Kasahara T, Umezawa T, Ishino T, Hisamitsu T. (2002) The effect of acupuncture on natural killer cell activity. *Int. Cong. Ser* 1238: 125-31
64. Hosoi J, Ozawa H, Granstein RD. (1999) beta-Endorphin binding and regulation of cytokine expression in Langerhans cells. *Ann N Y Acad Sci*. 20: 405-13.
65. Itoh H, Uchida M, Sashihara T, Ji ZS, Li J, Tang Q, Ni S, Song L, Kaminogawa S. (2011) *Lactobacillus gasseri* OLL2809 is effective especially on the menstrual pain and dysmenorrhea in endometriosis patients: randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Cytotechnology* 63: 153-161.
66. Joos S, Schott C, Zou H, Daniel V, Martin E. (2000) Immunomodulatory effects of acupuncture in the treatment of allergic asthma : a randomized controlled study. *J Altern Complement Med*. 6 : 519-525
67. Kao CY, Chen Y, Thai P, Wachi S, Huang F, Kim C, Harper RW, Wu R. (2004) IL-17 markedly up-regulates beta-defensin-2 expression in human airway epithelium via JAK and NF-kappaB signaling pathways. *J*

- Immunol. 173 (5) : 3482-3491.
68. Karst M, Scheinichen D, Rueckert T, Wagner T, Wiese B, Fink M. (2002) Acupuncture has no immediate treatment effect on the neutrophil respiratory burst : a randomized single-blinded two-period crossover study. *Brain Behav Immun.* 16 (6) : 813-6.
69. Kawakita K, Shichidou T, Inoue E, Nabeta T, Kitakoji H, Aizawa S, Nishida A, Yamaguchi N, Takahashi N, Sumiya E, Okada K, Umeda T, Yano T, Tanzawa S. (2008) Do Japanese style acupuncture and moxibustion reduce symptoms of the common cold? *Evid Based Complement Alternat Med.* 5(4): 481-9.
70. Kawashima R, Shimizu T, To M, Saruta J, Jinbu Y, Kusama M, Tsukinoki K. (2014) Effects of stress on mouse β -defensin-3 expression in the upper digestive mucosa. *Yonsei Med J.* 55(2):387-94.
71. Kim SK, Bae H. (2010) Acupuncture and immune modulation. *Auton Neurosci.* 28 ; 157 (1-2) : 38-41.
72. Kon M, Iizuka T, Maegawa T, Hashimoto E, Yuda J, Aoyanagi T, Akimoto T, Takahashi H. (2010) Salivary secretory immunoglobulin a response of elite speed skaters during a competition period. *J Strength Cond Res.* 24(8): 2249-54.
73. Kotani Y, Shinkai S, Okamatsu H, Toba M, Ogawa K, Yoshida H, Fukaya T, Fujiwara Y, Chaves PH, Kakumoto K, Kohda N. (2010) Oral intake of *Lactobacillus pentosus* strain b240 accelerates salivary immunoglobulin A secretion in the elderly: A randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Immunity & ageing* 7: 1-11.
74. Kota S, Sabbah A, Chang TH, Harnack R, Xiang Y, Meng X, Bose

- S . (2008) Role of human beta-defensin-2 during tumor necrosis factor-alpha/NF-kappaB-mediated innate antiviral response against human respiratory syncytial virus. *J Biol Chem.* 15 ; 283 (33) : 22417-29.
75. Mackinnon LT, Hooper S. (1994) Mucosal (secretory) immune system responses to exercise of varying intensity and during overtraining. *Int J Sports Med.* 15 : S179-S183.
76. Matsubara Y, Shimizu K, Tanimura Y, Miyamoto T, Akimoto T, Kono I. (2010) Effect of acupuncture on salivary immunoglobulin A after a bout of intense exercise. *Acupunct Med.* 28 (1) : 28-32.
77. McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, Tato CM, Blumenschein W, McClanahan T, Cua DJ. (2007) TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology. *Nat Immunol.* 8 (12) : 1390-1397.
78. Montague TJ, Marrie TJ, Bewick DJ, Spencer CA, Kornreich F, Horacek BM. (1988) Cardiac effects of common viral illnesses. *Chest.* 94(5): 919-25.
79. Neville V, Gleeson M, Folland JP. (2008) Salivary IgA as a risk factor for upper respiratory infections in elite professional athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 40 : 1228–1236.
80. Nieman DC. Immune response to heavy exertion. (1997) *J Appl Physiol* (1985). 82(5): 1385-94.
81. Nieman DC. Marathon training and immune function. (2007) *Sports Med.* 37(4-5): 412-5.
82. Nieman DC, Henson DA, Austin MD, Sha W. (2010) Upper respiratory tract infection is reduced in physically fit and active adults. *Br J Sports Med.* Sep ; 45 (12) : 987-992.

83. Nieman DC, Johanssen LM, Lee JW, Arabatzis K. (1990) Infectious episodes in runners before and after the Los Angeles Marathon. *J Sports Med Phys Fitness.* 30 (3) : 316-328.
84. Nieman DC. (1994a) Exercise, infection, and immunity. *Int J Sports Med.* 15 Suppl. 3 : 131-141.
85. Nieman DC. (1994b) Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Med Sci Sports Exerc.* 26 (2) : 128-139.
86. Ostrowski K, Rohde T, Asp S, Schjerling P, Pedersen BK. (1999) Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *J Physiol.* 515 : 287-291.
87. Pan B, Castro-Lopes JM, Coimbra A. (1996) Activation of anterior lobe corticotrophs by electroacupuncture or noxious stimulation in the anaesthetized rat, as shown by colocalization of Fos protein with ACTH and beta-endorphin and increased hormone release. *Brain Res Bull.* 40 (3) : 175-182.
88. Pedersen BK, Bruunsgaard H. How physical exercise influences the establishment of infections. (1995) *Sports Med.* 19(6): 393-400.
89. Pedersen BK, Ullum H. NK cell response to physical activity: possible mechanisms of action. (1994) *Med Sci Sports Exerc.* 26(2): 140-6.
90. Peters EM, Bateman ED. (1983) Ultramarathon running and upper respiratory tract infections. An epidemiological survey. *S Afr Med J.* 64 (15) : 582-584.
91. Ring C, Drayson M, Walkey DG, Dale S, Carroll D. (2002) Secretory immunoglobulin A reactions to prolonged mental arithmetic stress: inter-session and intra-session reliability. *Biol Psychol.* 59 (1) :1-13.

92. Sashihara T, Ikegami S, Sueki N, Yamaji T, Kino K, Taketomo N, Gotoh M, Okubo K. (2008) Oral administration of heat-killed *Lactobacillus gasseri* OLL2809 reduces cedar pollen antigen-induced peritoneal eosinophilia in Mice. *Allergology International* 57: 397-403.
93. Sashihara T, Nagata M, Mori T, Ikegami S, Gotoh M, Okubo K, Uchida M, Itoh H. (2013) Effects of *Lactobacillus gasseri* OLL2809 and α -lactalbumin on university-student athletes: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Appl Physiol Nutr Metab* 38: 1228-1235.
94. Sato T, Yu Y, Guo SY, Kasahara T, Hisamitsu T. (1996) Acupuncture stimulation enhances splenic natural killer cell cytotoxicity in rats. *Jpn J Physiol.* Apr 46 (2) : 131-136.
95. Selsted ME, Harwig SS, Ganz T, Schilling JW, Lehrer RI. (1985) Primary structures of three human neutrophil defensins. *J Clin Invest.* 76 : 1436-1439.
96. Selsted ME, Ouellette AJ. (2005) Mammalian defensins in the antimicrobial immune response. *Nat Immunol.* (6) : 551-557.
97. Shida K, Makino K, Morishita A, Takamizawa K, Hachimura S, Ametani A, Sato T, Kumagai Y, Habu S, Kaminogawa S. (1998) *Lactobacillus casei* inhibits antigen-induced IgE secretion through regulation of cytokine production in murine splenocyte cultures. *Int Arch Allergy Immunol* 115: 278-87.
98. Singh PK, Jia HP, Welsh MJ, Ganz T, Tack BF, McCray PB Jr. (1998) Production of β -defensins by human airway epithelia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95 : 14961-14966
99. Sugama K, Suzuki K, Yoshitani K, Shiraishi K, Kometani T. (2012)

- IL-17, neutrophil activation and muscle damage following endurance exercise. *Exerc Immunol Rev.* 18 : 116-127.
100. Suzuki K, Yamada M, Kurakake S, Okamura N, Yamaya K, Liu Q, Kudoh S, Kowatari K, Nakaji S, Sugawara K. (2000) Circulating cytokines and hormones with immunosuppressive but neutrophil-priming potentials rise after endurance exercise in humans. *Eur J Appl Physiol.* 81(4): 281-7.
101. Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Totsuka M, Sato K, Sugawara K. (2002) Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. *Cytokine kinetics. Exerc Immunol Rev.* 8: 6-48.
102. Ulett GA, Han S, Han JS. (1998) Electroacupuncture: mechanisms and clinical application. *Biol Psychiatry.* 15; 44(2): 129-38.
103. Usui T, Yoshikawa T, Orita K, Ueda SY, Katsura Y, Fujimoto S, Yoshimura M . (2011) Changes in salivary antimicrobial peptides, immunoglobulin A and cortisol after prolonged strenuous exercise. *Eur J Appl Physiol.* 111 (9) : 2005-2014.
104. Usui T, Yoshikawa T, Orita K, Ueda S, Katsura Y, Fujimoto S. (2012) Comparison of salivary antimicrobial peptides and upper respiratory tract infections in elite marathon runners and sedentary subjects . *J Phys Fit Sports Med* . (1) : 175-181
105. White MR, Helmerhorst EJ, Ligtenberg A, Karpel M, Teclé T, Siqueira WL, Oppenheim FG, Hartshorn KL. (2009) Multiple components contribute to ability of saliva to inhibit influenza viruses. *Oral Microbiol Immunol.* 24 (1) : 18-24.
106. Wiesner J, Vilcinskas A. (2010) Antimicrobial peptides : the ancient arm of the human immune system. *Virulence.* 1 (5) : 440-464.

107. Yamauchi R, Shimizu K, Kimura F, Takemura M, Suzuki K, Akama T, Kono I, Akimoto T. (2011) Virus activation and immune function during intense training in rugby football players. *Int J Sports Med.* 32 (5) : 393-398.
108. Yu Y, Kasahara T, Sato T, Asano K, Yu G, Fang J, Guo S, Sahara M, Hisamitsu T. (1998) Role of endogenous interferon-gamma on the enhancement of splenic NK cell activity by electroacupuncture stimulation in mice. *J Neuroimmunol.* 90 (2) : 176-186.
109. Yu Y, Kasahara T, Sato T, Guo SY, Liu Y, Asano K, Hisamitsu T. (1997) Enhancement of splenic interferon-gamma, interleukin-2, and NK cytotoxicity by S36 acupoint acupuncture in F344 rats. *Jpn J Physiol.* 47 (2) : 173-178.
110. Zhao C, Wang I, Lehrer RI. (1996) Widespread expression of beta-defensin hBD-1 in human secretory glands and epithelial cells. *FEBS Lett.* 396(2-3): 319-22.

付記

研究業績

著者の研究業績を以下に記す.

原著論文

【本博士論文に係る原著論文】

1. 花岡裕吉, 清水和弘, 鷺谷浩輔, 田村 明, 竹村雅裕, 古川拓生, 宮本俊和, 渡部厚一, 赤間高雄. (2015) MG2809 乳酸菌の摂取が大学ラグビー選手の口腔内免疫能に及ぼす影響. *体力科学*. 64 (3) : 315-322
2. 花岡裕吉, 清水和弘, 青木謙介, 原 賢二, 遠藤桃子, 平岡拓晃, 佐藤卓弥, 和田恒彦, 宮本俊和. (2015) 大学スポーツ競技選手を対象とした内科的疾患に対する鍼治療の実態調査. *東方医学*. 31 (3,4) : 1-8
3. Yukichi Hanaoka, Kazuhiro Shimizu, Koichi Watanabe, Takao Akama, Toshikazu Miyamoto. (2016) Effect of acupuncture stimulation on salivary human beta-defensin 2 after a single strenuous exercise in young male subjects. *Japanese Acupuncture and Moxibustion*. 12 (1) (in press)
4. Yukichi Hanaoka, Kazuhiro Shimizu, Satomi Suzuki, Ryo Ogaki, Takuo Furukawa, Masahiro Takemura, Ichiro Kono, Koichi Watanabe, Takao Akama, Toshikazu Miyamoto. Intensified training decreases resting salivary human beta-defensin 2 in athletes. (Revise)

報告

【本博士論文に関する報告】

1. **花岡裕吉**, 清水和弘, 曾根良太, 村瀬陽介, 渡部厚一, 河野一郎, 宮本俊. (2015) メンタルヘルスに役立つ唾液中タンパクを用いたメンタルストレスおよびフィジカルストレスの新たな評価法の検討. 若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書第30回: 33-38

研究助成

【本博士論文に関する研究助成】

1. **花岡裕吉**, 清水和弘, 宮本俊和. (2013) メンタルヘルスに役立つ唾液中タンパクを用いたメンタルストレスおよびフィジカルストレスの新たな評価法の検討. 第30回明治安田厚生事業団健康科学研究助成

学会発表

【本博士論文に関する学会発表】

1. **Hanaoka Y**, Shimizu K, Oikawa S, Kimura F, Sone R, Watanabe K, Akama T, Kono I, Miyamoto T. Effects of strenuous exercise on salivary human neutrophil peptides 1-3 and blood neutrophil cells in young male subjects. European College of Sport Science 20th annual meeting, Malmo, (2015.6)
2. **花岡裕吉**, 清水和弘, 鷺谷浩輔, 田村 明, 竹村雅裕, 古川拓生, 宮本俊和, 渡部厚一, 赤間高雄. MG2809 乳酸菌の摂取が強化練習期間におけるアスリートの唾液中分泌型免疫グロブリン A に及ぼす影響. 第69回日本体力医学会大会. 長崎, 2014年9月

3. **Hanaoka Y**, Shimizu K, Suzuki S, Kimura F, Ogaki R, Takemura M, Akama T, Kono I, Miyamoto T. Chronic effects of exercise training on resting salivary human beta defensin 2 in rugby athletes. American college of sports medicine annual meeting, Florida, (2014.5)
4. **花岡裕吉**, 原賢二, 佐藤卓弥, 和田恒彦, 宮本俊和. 大学スポーツ競技選手における内科疾患に対する鍼治療の実態調査. 第 63 回全日本鍼灸学会学術大会. 愛媛, 2014 年 5 月
5. **Hanaoka Y**, Shimizu K, Suzuki S, Oikawa S, Akama T, Kono I, Miyamoto T. Effect of acute intensive exercise on salivary alpha and beta defensins, and Secretary IgA in young male subjects. European College of Sport Science 18th annual meeting, Balcelona, (2013.6)
6. **Hanaoka Y**, Shimizu K, Matsubara Y, Tanimura Y, Kimura F, Akama T, Kono I, Miyamoto T. Effect of acupuncture on salivary HBD-2 after a bout of intense exercise. European College of Sport Science 17th annual meeting, Bruges, (2012.7)
7. **花岡裕吉**, 佐藤卓弥, 藤本英樹, 功刀 峻, 佐藤厚志, 畠山郁子, 宮本俊和. 鍼刺激が安静時の唾液量と分泌型免疫グロブリン A に及ぼす影響. 第 61 回全日本鍼灸学会学術大会. 三重, 2012 年 6 月

