

2009年度 修士論文

**高強度持久性運動が
皮膚の感染防御機能に及ぼす影響**

The effects of high-intensity
endurance exercise on skin immunity.

早稲田大学 大学院スポーツ科学研究科
スポーツ科学専攻 スポーツ医科学研究領域

5008A010-9

枝 伸彦

Eda, Nobuhiko

研究指導教員： 赤間 高雄 教授

目次

I. 緒言	2
A. 運動による免疫機能の変化	3
B. 免疫機能の指標：分泌型免疫グロブリン A	3
C. 皮膚の感染防御機能	4
D. 本研究の目的	4
実験 1. 皮膚分泌型免疫グロブリン A 測定方法(ミキサー法)の確立	4
II-1. 背景	4
III-1. 目的	5
IV-1. 方法	5
V-1. 結果	6
VI-1. 考察	7
実験 2. 高強度持久性運動が皮膚表面および口腔内の感染防御機能に与える影響の検討	8
II-2. 背景	8
III-2. 目的	8
IV-2. 方法	8
V-2. 結果	13
A. 環境条件	13
B. 皮膚 SIgA 濃度	13
C. 皮膚ラクトフェリン	15
D. 黄色ブドウ球菌数	17
E. 角質水分量	18
F. 体水分喪失率	20
G. 唾液分泌速度	21
H. 唾液 SIgA 濃度	22
I. 唾液 SIgA 分泌速度	23
J. 唾液アミラーゼ活性	24
K. POMS の結果	25
L. 相関関係	26
VI-2. 考察	28
VII. 結論	33
謝辞	33
参考文献	33

I. 緒言

競技スポーツを行うアスリートにとって、試合で最高のパフォーマンスを発揮することが最大の目的である。しかしながら、試合前にコンディションを崩し、思い通りのパフォーマンスを発揮できないアスリートも多い。2002 年のアジア大会日本代表選手団を対象とした調査では、試合前にコンディションを崩した経験のある選手は全体の 26.8%を占め、そのうち実際に試合に影響があった選手は 29.4%を占めたことを報告している(久木留ら, 2005)。アスリートにおける主なコンディション不良の原因のひとつとして感染症があげられる。アスリートに多く認められる感染症としては、皮膚感染症と上気道感染症があげられる。

皮膚感染症は、コンタクトスポーツにおける選手同士の接触やスポーツ用具の接触により生じる危険性がある。レスリング選手を対象とした先行研究では、練習や試合後に選手の皮膚に存在する黄色ブドウ球菌の数が増加することから、マット表面に存在する菌の付着が原因として考えられている(久木留ら, 2000)。アメリカンフットボール選手(Bartlett et al., 1982)やバスケットボール選手(Daniel et al., 1989)を対象とした調査でも同様の結果が示されている。癬風は発汗量の多い人にみられる *Malassezia* 属の常在菌によって発症し、前胸部や腋窩、背中などに白っぽく抜けた不正形の斑点またはごく薄い茶色の斑点が発生する。足白癬は、欧米では athlete's foot と呼ばれ、スポーツ選手に多い疾患とされている。上濱ら(1998)は大学生 559 名を対象として、普段運動を行っていない一般学生(非運動群)と運動部に所属するスポーツ選手(運動群)における白癬菌陽性者の割合を比較した。その結果、白癬菌陽性者の割合は非運動群(23.4%)に比べ、運動群(43.4%)で高い割合を示した。種目別では陸上競技の中・長距離(55.6%)、水泳(54.8%)、水球(52.9%)、サッカー(44.3%)、バスケットボール(39.3%)が特に白癬菌陽性者の割合が高い集団であり、様々なスポーツで足白癬の感染リスクは高いと考えられる。単純ヘルペスはアスリートに多くみられる皮膚感染症で、一度感染すると神経細胞の中にウイルスが残り、合宿や遠征における高強度トレーニング、長距離移動によって免疫機能が低下したときに強い痛みや高熱を伴う皮膚の腫脹、水泡などの症状が現れ、パフォーマンス低下の要因となる。レスリングでは、単純ヘルペスの病変が認められた場合には競技に出場できないとされている(国際ルール第 23 条)。

上気道感染症はアスリートにおいて最も罹患頻度の高い疾患であり、一流選手ほど上気道感染症に罹患し、不本意な競技成績に終わる選手が多いと報告されている(Gleeson M, 2000)。上気道感染症の罹患リスクは運動によって変動するとされており、1 日 2 時間以下の中等度運動を行っている人は運動習慣のない人に比べ上気道感染症の罹患リスクが 20-30%減少する(Matthews, 2002)が、数週間の高強度持久性運動では罹患リスクが 100-500%増加する(Nieman, 1990)と報告されている。Cohen et al.(1991)によると、心理的ストレスの程度に応じて上気道感染症の発症が高まることが示されており、ストレスや負の感情が免疫機能に影響を及ぼすことも報告されている(Cohen and Herbert, 1996)。

従って、アスリートの良好なコンディションの維持を考える際に皮膚感染症および上気道感染症への対策は重要な意義があると考えられる。

A. 運動による免疫機能の変化

運動は強度や頻度によって免疫機能に異なった影響を与え、上気道感染症の罹患リスクに影響することが示されている(Gleeson M, 2007)。Nieman(1994)は運動と上気道感染症の関係について、適度な運動習慣を持つ者は運動習慣のない者よりも感染リスクが低く、過度な運動を行っている者は感染リスクが高まるとする J カーブモデルを提唱している。一過性高強度運動では免疫系が刺激された後に免疫機能の低下が起こり、感染に対して無防備に門戸を開いてしまう open window 期が生じる(Pedersen et al., 1998)。open window の状態を表す免疫学的指標としては、末梢血の NK 細胞活性と唾液 SIgA が知られている(Rowbottom et al., 2000)。NK 細胞活性は一過性の高強度運動後に低下し(Pedersen et al., 1994)、唾液 SIgA はフルマラソン後に分泌量が低下すること(秋本ら, 1998)が報告されている。従って、open window 期にはウイルスや細菌による感染リスクが高まるため、感染予防の対策が必要であると考えられる。

B. 免疫機能の指標：分泌型免疫グロブリン A

アスリートのコンディション評価を行う際に、免疫学的指標のひとつである分泌型免疫グロブリン A(Secretory Immunoglobulin A : SIgA)は有用とされ、唾液 SIgA は多くの研究で用いられている。SIgA は、口腔咽頭粘膜、消化管、鼻腔粘膜などの上皮細胞から分泌され、外界から侵入する病原体などに対して特異的に結合することで、粘膜表面における局所免疫機構に関与している。唾液中の SIgA は運動によって変動することが知られている。唾液 SIgA は、高強度持久性運動による一時的な低下(Mackinnon et al., 1993)や、高強度トレーニングによる慢性的な低下(秋本ら, 1998)が報告されている。また、唾液 SIgA は心理的ストレスに対して応答し、記憶力テストや暗算負荷によって一時的に増加することが示されている(Bosch et al., 2001; Willemsen et al., 2002)。さらに、服役中の囚人は SIgA レベルが低いことも報告されており(McClelland et al., 1982)、慢性的な心理的ストレスに対しても応答することが示されている。唾液 SIgA は、病原体の粘膜下への侵入を防ぐ役割があり、口腔内局所免疫能における主要なエフェクターである(Lamm et al., 1995; 名倉と大谷, 1994)。唾液 SIgA 分泌の低下により、上気道感染症の発症率が高くなると考えられている(Nieman, 1990)。フットボールプレイヤーを対象とした 1 年間の縦断的研究では、高強度のトレーニングの期間において上気道感染症の発症率の増加とともに安静時の唾液 SIgA 分泌量の低下が認められたことから、唾液 SIgA が上気道感染症の発症を予測する指標となりうると報告されている(Fahlman, 2005)。

皮膚表面においてもエクリン汗腺から汗とともに SIgA が分泌されることが報告されている(Okada et al., 1988)。また、SIgA がラクトフェリン共存下で黄色ブドウ球菌に対す

る増殖抑制効果を示すこと(田中ら, 1988)や、癬風病巣内における *Malassezia furfur* は汗管開口部周囲には少ないこと(後藤ら, 1995)から、SIgA は皮膚表面においても感染防御に働くと考えられる。従って、皮膚表面における SIgA 分泌を調べることは皮膚のコンディションを把握するうえで有益な情報となり、アスリートにおけるコンディション評価の指標として有用であると考えられる。しかしながら、唾液 SIgA とは異なり、皮膚 SIgA の簡便かつ短時間で非侵襲的に測定する方法は未だ確立されていない。

C. 皮膚の感染防御機能

皮膚表面には外界からの細菌などの侵入を防ぐためにバリア機能や抗菌タンパクのラクトフェリンが存在し、皮膚の感染防御に寄与している。バリア機能の指標としては角質水分量が用いられており、アトピー性皮膚炎や乾燥肌の病態と関連があることが明らかになっている(澄川, 2007)。アトピー性皮膚炎患者と健常者の角質水分量を比較した調査では、手背、前腕内側部、背部のいずれの測定においてもアトピー性皮膚炎患者のほうが健常者と比較して角質水分量が低かったと報告されている(Loden M et al., 1992)。ラクトフェリンは鉄結合性の糖タンパク質で、鉄を喪失させることによって抗菌作用を発揮する(山内, 2006)。また、ラクトフェリンは、SIgA の細菌に対する静菌作用を亢進すると報告されている(Ellison et al., 1988)。

しかしながら、運動が皮膚における SIgA やラクトフェリン、角質水分量などの感染防御機能に及ぼす影響について検討した報告は無く、未だ明らかになっていない。

D. 本研究の目的

本研究では、皮膚 SIgA 測定方法の確立(実験 1)と皮膚表面および唾液中の SIgA、皮膚ラクトフェリンの運動による変動を評価することにより、高強度持久性運動が皮膚表面および口腔内の感染防御機能に与える影響を明らかにすること(実験 2)を目的とした。

実験 1.皮膚分泌型免疫グロブリン A 測定方法(ミキサー法)の確立

II-1.背景

皮膚分泌型免疫グロブリン A(Secretory Immunoglobulin A : SIgA)に関する先行研究は少ない。採取方法としてはピペティング法(河合ら, 1991)と貼付法(Imayama et al., 1995)

が報告されている。ピペッティング法では被験皮膚上にガラス製の円筒を置き、その中に抽出液を入れてマイクロピペットを用いて撹拌したものを採取し、貼付法ではニトロセルロース膜を被験部位に一定時間貼付して採取する。しかしながら、ピペッティング法ではピペッティング手技の技術差に左右されること、貼付法では採取に非常に時間が費やされるという問題点がある。そこで今回は、非侵襲的かつ短時間で採取できるピペッティング法の欠点を改良して、電動ミキサーを用いたミキサー法を新たに考案した。ミキサー法は被験皮膚上にポリプロピレン管を置き、その中の抽出液を電動ミキサーにて撹拌した後にサンプルを採取する方法で、実施者の手技による技術差がなく、短時間で採取が可能であると考えられる。まず、本研究では撹拌時間を検討した。

また、本研究では、運動による皮膚 SIgA の変動を評価するので、日内で複数回の採取が必要となる。しかし、ミキサー法では、採取の際に抽出液によって皮膚表面が洗い流されてしまうため、同一部位における日内の複数回の測定は困難であると考えられる。そこで、隣接する部位間の SIgA 分泌量を比較して、隣接部位の測定によって SIgA の日内変動を評価する方法を検討した。

III-1. 目的

本研究では、皮膚 SIgA を採取測定する方法としてミキサー法を確立することを目的とした。

IV-1. 方法

A. 対象

本研究は、健康な成人男性を対象とし、撹拌時間の検討では成人男性 7 名(22.9 ± 1.4 歳)、隣接する 2 地点における検討では成人男性 7 名(22.1 ± 1.6 歳)を対象とした。すべての対象者には事前に本実験の趣旨、内容について説明し、文書で参加の同意を得た。

B. ミキサー法による皮膚 SIgA の採取

採取部位および採取方法は Fig.1 に示す。撹拌時間の検討では、胸部中央(部位)の皮膚表面に内径 28mm のポリプロピレン管を押し付け、抽出液 2ml を入れた。電動ミキサー(23M, アズワン)を用いて撹拌し、撹拌時間 1 分、3 分および 5 分の時点でピペットを用いてそれぞれ 500 μ l ずつ採取した。抽出液の成分は 1mM EDTA-2Na, 1% Albumin Bovine Serum(BSA) in Phosphate Buffered Saline(PBS), 0.05% tween 20 とした。部位 と隣接する部位 における検討は撹拌時間の検討と同様に測定を行った。ただし、1 回の採取で用いた抽出液は 1ml とし、撹拌時間は 1 分とした。採取したサンプルは-50 で凍結保存した。

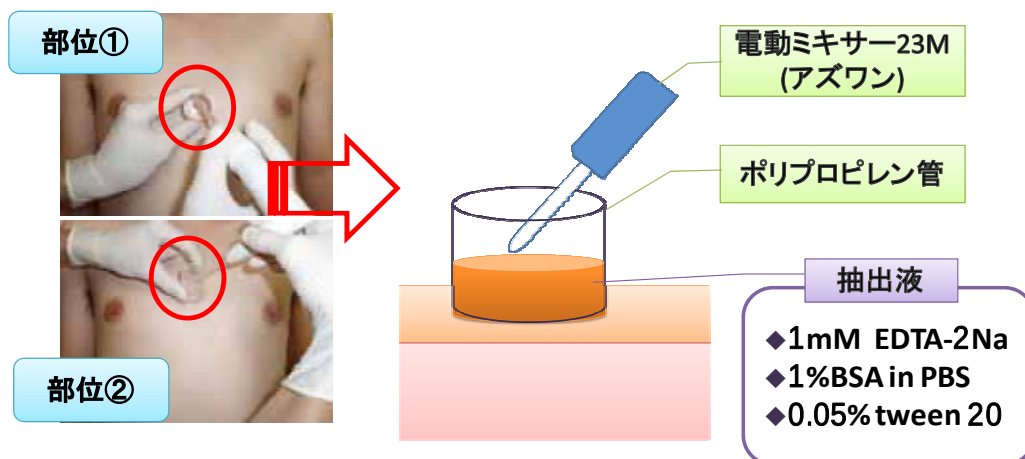


Fig.1. 皮膚 SIgA 採取方法

C. 皮膚 SIgA の定量

採取した試料から酵素免疫測定法(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay : ELISA)にて皮膚 SIgA 濃度を測定した(秋本ら , 1998)。

マイクロプレート(IMMULON-2 , DYNATECH)に 500 倍希釈した Anti-Secretory Component(SC) mouse mono Ab-2(LVC)を各ウェルに 100 μ l ずつ加え、4 で一晩静置し抗体を固相化した。翌日、デカンテーションで上清を除き 1%BSA in 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解凍し、3500rpm で 10 分間遠心した後、その上清および標準物質として 1%BSA in PBS で調整した Purified human secretory IgA(CAPPEL)を各ウェルに 100 μ l ずつ加え、PLATE SHAKER(NISSIN)を用いて室温で 1 時間振盪した。0.05%Tween-20 in PBS で 3 回洗浄し、1%BSA in PBS で 1000 倍希釈した HRP 標識 anti-human IgA(α -chain) goat IgG Fab (MBL)を各ウェルに 100 μ l ずつ加え、室温で 1 時間振盪した。0.05%Tween-20 in PBS で 3 回洗浄し、基質反応液を 100 μ l ずつ加え 10 分間室温で反応させた。その後、4N H₂SO₄を 50 μ l ずつ加え反応を停止させた。492nm の吸光度を microplate reader(MTP-800 , コロナ電機)によって測定した。標準物質の human secretory IgA で検量線を作成し、皮膚 SIgA 濃度を求めた。

D. 統計処理

各測定値は、平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。攪拌時間 1 分、3 分および 5 分の比較には一元配置分散分析および Bonferroni の多重比較検定を用い、1 分と 3 分の比較と隣接する部位と部位 における比較には対応のある 2 群間における t 検定を行った。統計処理は統計解析ソフト SPSS 14.0 for Windows を用いて行い、有意水準はいずれも 5%未満とした。

V-1. 結果

SIgA 濃度は攪拌時間 1 分では 13.0 ± 13.3 ng/ml、3 分では 14.6 ± 15.5 ng/ml、5 分では

14.4 ± 14.5ng/ml であった。攪拌時間 1 分、3 分、5 分の各群間で有意差はみられなかった。また、隣接する部位 では 12.7 ± 8.8ng/ml、部位 では 13.1 ± 9.4ng/ml であった。隣接する部位 と部位 についても有意差は認められなかった。

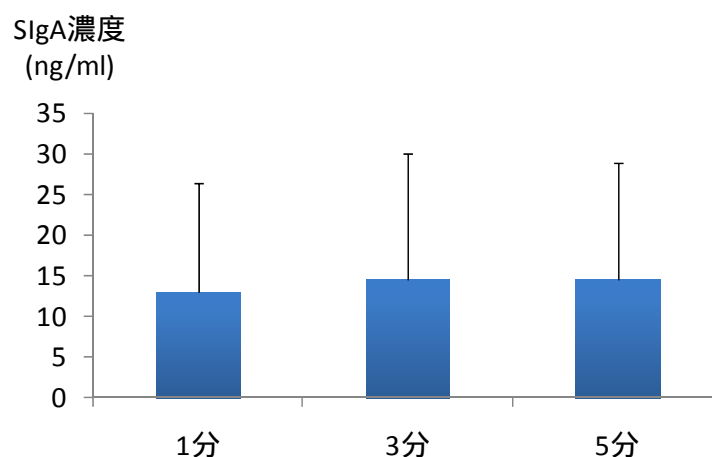


Fig.2. 攪拌時間ごとの皮膚 SIgA 濃度

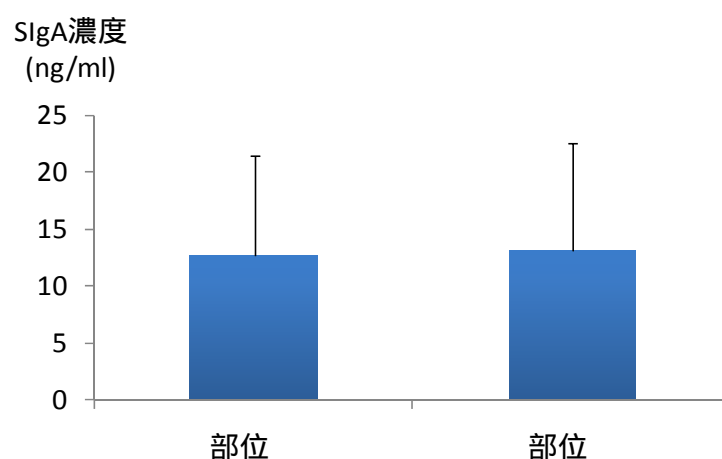


Fig.3. 隣接する 2 地点における皮膚 SIgA 濃度

VI-1. 考察

本研究で用いたミキサー法により簡便かつ非侵襲的に皮膚 SIgA を測定できることが確認された。攪拌時間 1 分、3 分および 5 分のいずれの群においても有意差が認められなかったから、1 分間の攪拌で十分に皮膚 SIgA を採取できると考えられた。また、隣接する部位 と部位 においても有意差が認められなかったことから、隣接する部位を用いることで日内に複数回の採取を行い、比較することが可能であると推察された。

実験 2. 高強度持久性運動が皮膚表面および口腔内の感染防御機能に与える影響の検討

II-2. 背景

唾液中の SIgA は高強度持久性運動による一時的な低下(Mackinnon et al. , 1993)、急性の心理的ストレスによる一時的な増加(Bosch et al. , 2001 : Willemsen et al. , 2002)、慢性的な心理的ストレスによる低下(McClelland et al. , 1982)などが報告されている。唾液 SIgA は、病原体の粘膜下への侵入を防ぐ役割があり、口腔内局所免疫能における主要なエフェクターである(Lamm et al. , 1995 : 名倉と大谷, 1994)。唾液 SIgA は、上気道感染症の発症を予測する指標となりうるとされており(Fahlman , 2005)、アスリートのコンディション評価の指標として有用であると考えられている。

皮膚表面においてもエクリン汗腺から汗とともに SIgA が分泌されることが報告されており(Okada et al. , 1988)、皮膚表面の感染防御に働くと考えられている(田中ら , 1988 : 後藤ら , 1995)。従って、皮膚表面における SIgA 分泌を調べることは皮膚のコンディションを把握するうえで有益な情報となり、アスリートにおけるコンディション評価の指標として有用である可能性が考えられる。しかしながら、皮膚の感染防御機能に運動が与える影響について検討したものは無く、未だに明らかにされていない。

III-2. 目的

本研究では、皮膚表面における SIgA、ラクトフェリンおよび唾液中の SIgA の運動による変動を評価することにより、高強度持久性運動が皮膚表面および口腔内の感染防御機能に与える影響を明らかにすることを目的とした。

IV-2. 方法

A. 対象

本研究は、健康な成人男性 7 名(22.3 ± 2.0 歳)を対象とした。対象者の身体組成は Table.1 に示す。すべての対象者には事前に本実験の趣旨、内容について説明し、文書で参加の同意を得た。本研究は、「早稲田大学人を対象とする研究に関する倫理委員会」の承認を得て実施した。

Table.1. 対象者 7 名の身体組成

年齢	身長(cm)	体重(kg)	体脂肪率(%)
22.3 ± 2.0	174.8 ± 7.4	67.6 ± 7.6	16.1 ± 4.4
平均値 ± 標準偏差			

B. 実験プロトコール

実験の概要を Fig.4 に示す。対象者は、早稲田大学 110 号館フロンティアリサーチセンターに 2 日間連続で宿泊した。1 日目は、18:30 に夕食をとったのち、就寝まで安静状態とした。2 日目は、18:30 に 1 日目と同じ夕食をとり、20:30-21:30 間に 1 時間の運動負荷を実施した。2 日目の運動負荷以外の時間は安静状態とした。測定は、1 日目の 20:30(A1)、21:30(A2)、22:45(A3)、翌朝 7:00(A4)、2 日目の 20:30(B1)、21:30(B2)、22:45(B3)、翌朝 7:00(B4)において計 8 回実施した。

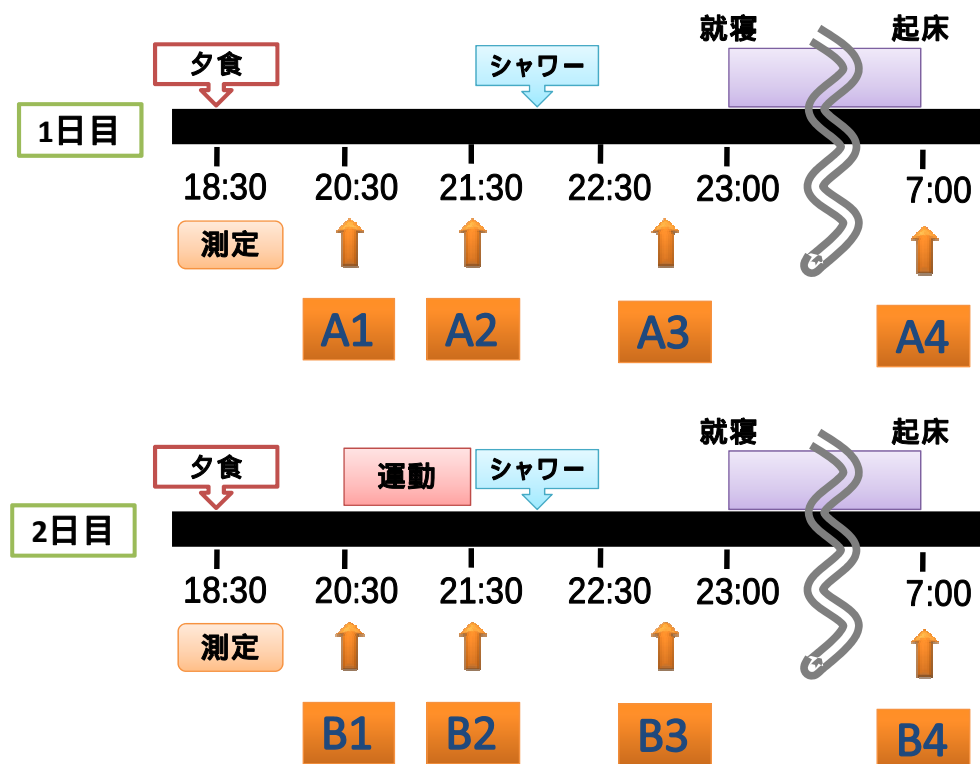


Fig.4. 実験プロトコール

C. 運動負荷

対象者は、事前に自転車エルゴメーター(75XL , コンビウエルネス)を用いた負荷運動によって 75%HRmax における仕事率(PWC75%HRmax)を測定した。エルゴメーターに座

り、1 分間の安静後に 15W/min 漸増のランブ負荷運動を 75%HRmax に至るまで行った。運動中のペダル回転数は 50rpm を維持するように指示した。

本研究で用いた高強度持久性運動負荷は、50%HRmax の負荷で 1 分間のウォーミングアップを行い、75%HRmax の負荷で 59 分間の自転車ペダリング運動を行った。運動負荷は人工気象室にて行い、室温 25℃、湿度 35%の環境下で実施した。

D. 測定項目

1). 皮膚試料の採取

Fig.5 に皮膚試料の採取部位を示す。胸部中央(部位 a、部位 b)および前腕内側部(部位 c、部位 d)の皮膚表面に内径 28mm のポリプロピレン管を置き、抽出液を 1ml 入れて電動ミキサー(23M, アズワン)を用いて 1 分間撹拌したものを採取した。A1、A3、B1、B3 では部位 a、部位 b を用い、A2、A4、B2、B4 では部位 c、部位 d を用いて胸部および前腕における皮膚試料を採取した。採取した皮膚試料は皮膚 SIgA 濃度および皮膚ラクトフェリン濃度の測定に用いた。抽出液の成分は 1mM EDTA-2Na, 1%BSA in PBS, 0.05% tween 20 とした。測定後、皮膚試料は-50℃で凍結保存した。

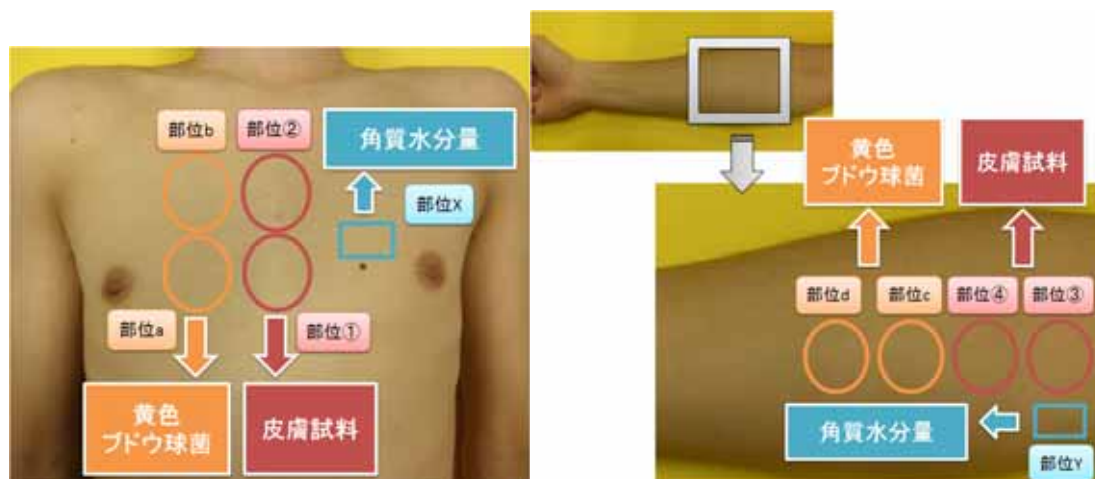


Fig.5. 測定部位

2). 皮膚 SIgA の定量

皮膚表面より採取した試料から ELISA 法によって皮膚 SIgA 濃度を測定した。ELISA 法は、秋本らの方法(1998)では、感度が不足したため、ビオチン化抗体とアビジンを用いた ELISA 法を開発した。

マイクロプレート(IMMULON-2, DYNATECH)に 500 倍希釈した Anti-SC mouse mono Ab-2(LVC)を各ウェルに 100μl ずつ加え、4℃で一晩静置し抗体を固相化した。翌日、デカンテーションで上清を除き 1%BSA in PBS を 250μl 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解凍し、3500rpm で 10 分間遠心した後、その上清および標準物質として 1%BSA in PBS で調整した Purified human secretory IgA(CAPPEL)を

各ウェルに 100 μ l ずつ加え、PLATE SHAKER(NISSIN)を用いて室温で 1 時間振盪した。0.05%Tween-20 in PBS で 3 回洗浄し、1%BSA in PBS で 250 倍希釈した Biotinylated anti-human IgA (α -chain) (VEC)を各ウェルに 100 μ l ずつ加え、室温で 1 時間振盪した。0.05%Tween-20 in PBS で 3 回洗浄し、1%BSA in PBS で 8000 倍希釈した High sensitivity streptavidin HRP(Pierce) を各ウェルに 100 μ l ずつ加え、室温で 1 時間振盪した。基質反応液を 100 μ l ずつ加え 10 分間室温で反応させた。その後、4N 硫酸を 50 μ l ずつ加え反応を停止させた。492nm の吸光度を microplate reader(MTP-800 , コロナ電機)によって測定した。標準物質の human secretory IgA で検量線を作成し、皮膚 SIgA 濃度を求めた。

3). 皮膚ラクトフェリンの定量

皮膚表面より採取した試料から ELISA 法によって皮膚ラクトフェリン濃度を測定した。皮膚ラクトフェリン濃度の測定には Human Lactoferrin ELISA kit(Hbt)を用いた。凍結保存してある測定試料を解凍し、3500rpm で 10 分間遠心した後、その上清および dilution buffer で調整した標準物質を anti-human lactoferrin antibody がコーティングしてある ELISA plate の各ウェルに 100 μ l ずつ加え、CO₂ インキュベーター(SANYO)にて 37 で 1 時間静置した。wash buffer で 4 回洗浄し、biotinylated antibody を各ウェルに 100 μ l ずつ加え、室温で 1 時間静置した。Tween-20 を含む wash buffer で 4 回洗浄し、streptavidin-peroxidase conjugate を各ウェルに 100 μ l ずつ加え、室温で 1 時間静置した。wash buffer で 4 回洗浄し、TMB substrate solution を 100 μ l ずつ加え 20 分間室温で反応させた。その後、2.0M citric acid を含む stop solution を 100 μ l ずつ加え反応を停止させた。450nm の吸光度を microplate reader(MTP-800 , コロナ電機)によって測定した。標準物質の human lactoferrin で検量線を作成し、皮膚ラクトフェリン濃度を求めた。

4). 皮膚表面細菌数の測定

本研究では、皮膚表面に存在する細菌の中でも黄色ブドウ球菌を測定した。測定部位は Fig.5 に示す。分析試料採取はフードスタンプ(ニッスイ)を使用し、対象者の胸部(部位 a、部位 b)および前腕(部位 c、部位 d)の皮膚表面に押し付ける方法(久木留ら ,2000)を用いた。A1、A3、B1、B3 では部位 a、部位 c を用い、A2、A4、B2、B4 では部位 b、部位 d を用いて胸部および前腕における黄色ブドウ球菌数を測定した。使用培地は TGSE 寒天培地(黄色ブドウ球菌用)を使用した。培養条件は CO₂ インキュベーター(SANYO)を用いて 37 で 3 日間とした。培養後、コロニー数を肉眼でカウントし、colony forming unit(CFU)で表した。

5). 角質水分量の測定

角質水分量の測定はモイスターチェッカー(MY-808S , スカラ)を用いて実施した。モイスターチェッカーは体内に微弱な電流を通して体の電気抵抗を測定し、水分・油分など

の割合を導き出す装置である。測定部位は Fig.5 に示す。センサーを胸部(部位 X)および前腕内側部(部位 Y)の皮膚表面に軽くあて、角質水分量をパーセント表示された数値で求めた。皮膚にセンサーを押し当てる強さによって誤差が生じることがあるため同一人物が同じ強さで毎回全員の測定を行った。一度の測定で 3 回計測し、その平均値を測定値とする方法(李ら, 2006)を用いた。

6). 体水分喪失率の測定

体水分喪失率は体水分喪失量を時間で割ることにより求めた。体水分喪失量は体重減少量と水分摂取量の和によって求めた(森谷ら, 2009)。安静時の体重減少は、呼吸および皮膚表面からの水分喪失、発汗による影響と考えられる。運動時の体重減少には体内の糖類代謝等による減少があるが、糖類等の代謝は極微量であり、発汗による水分喪失の影響と考えられる。体重は排尿後、下着 1 枚で体重計(UC-322, エー・アンド・デイ)によって測定した。水分摂取量はデジタルクッキングスケール(KD-171, タニタ)を用いて各測定時点におけるミネラルウォーターの質量を測定し、その質量差から求めた。

7). 唾液採取

唾液採取は、先行研究(秋本ら, 1998)における方法に基づいて実施した。蒸留水を用いて口腔内を 30 秒間×3 回すぎ、5 分間座位姿勢にて安静をとった。口腔内に貯留した唾液を嚥下した後、無味の滅菌綿(SALIVETTE, SARSTEDT)を 1 分間、毎秒 1 回のペースで咀嚼し、分泌された唾液を滅菌綿に吸収させて採取した。採取した唾液は、3500rpm で 10 分間遠心分離し、唾液量を測定後に-50℃で凍結保存した。

8). 唾液 SIgA の定量

実験 1 の皮膚 SIgA の定量と同じ ELISA 法で唾液 SIgA 濃度を求めた。唾液 SIgA 濃度($\mu\text{g/ml}$)と唾液分泌速度(ml/min)の積により唾液 SIgA 分泌速度($\mu\text{g/min}$)を算出した。本研究では唾液 SIgA レベルを唾液 SIgA 濃度と唾液 SIgA 分泌速度の両方から評価した。

9). 唾液アミラーゼ活性の測定

唾液腺の働きは主に交感神経によって支配されており、唾液中の消化酵素であるアミラーゼ活性も交感神経によって支配されているため、交感神経の神経活動を測るための指標になると考えられている(山口, 2007)。簡易型ストレス測定器(ココロメーター, ニプロ)を用いて唾液アミラーゼ活性を測定した。

10). 心理状態の評価

心理状態の評価には、日本語版 Profile of Mood States(POMS)短縮版(金子書房)を用いた。実施時の気分状態を表す緊張 - 不安(Tension-Anxiety: T-A)、抑うつ(Depression: D)、怒

り - 敵意(Anger-Hostility : A-H)、活気(Vigor : V)、疲労(Fatigue : F)、混乱(Confusion : C)を 5 段階で評価し、標準化得点(T 得点)として算出した。6 つの気分尺度は、すべて T 得点にて評価した。さらに、活気以外の 5 項目の得点を加算し、その値から活気の得点を減算して算出された値(Total Mood Disturbance : TMD)から総合的に心理状態を評価した。

11). 環境の測定

環境条件の測定には暑熱環境計(WBGT-102 , 京都電子工業)を用いて、気温、湿度および WBGT を測定した。

E. 統計処理

各測定値は、平均値 ± 標準偏差で示した。同一測定日内および各測定日間の比較には反復測定による一元配置分散分析および Tukey-Kramer の多重比較検定を実施した。測定 2 日目の運動前(B1)と運動後(B2)の比較には対応のある 2 群間における t 検定を行った。各測定項目の相関関係は Pearson の積率相関係数を用いて評価した。統計処理は統計解析ソフト SPSS for Windows を用いて行い、有意水準はいずれも 5%未満とした。

V-2. 結果

A. 環境条件

各測定日の環境条件の結果を Table.2 に示す。A1 から B4 までのいずれの時点においても WBGT($p=0.869$)、気温($p=0.707$)、湿度($p=0.978$)に有意差は認められなかった。

Table.2. 各測定日の環境条件

1日目				
	A1	A2	A3	A4
WBGT	19.1 ± 1.0	19.1 ± 0.7	19.5 ± 0.9	18.9 ± 0.7
気温()	25.0 ± 0.9	24.9 ± 0.7	25.3 ± 0.5	24.9 ± 0.2
湿度(%)	36.5 ± 5.3	36.7 ± 5.9	35.2 ± 6.0	35.7 ± 4.7
2日目				
	B1	B2	B3	B4
WBGT	19.2 ± 0.8	19.1 ± 0.7	19.4 ± 0.7	19.0 ± 0.8
気温()	24.9 ± 0.5	24.8 ± 0.8	25.2 ± 0.4	25.1 ± 0.3
湿度(%)	37.0 ± 4.9	37.6 ± 6.3	36.9 ± 5.7	34.7 ± 4.6
平均値 ± 標準偏差				

B. 皮膚 SIgA 濃度

Fig.6 に各測定日の胸部 SIgA 濃度の比較を示す。1 日目の胸部 SIgA 濃度は、A1(20:30)では 17.29 ± 13.55 ng/ml、A2(21:30)では 12.43 ± 11.46 ng/ml、A3(22:45)では 4.14 ± 7.56

ng/ml、A4(翌朝 7:00)では 8.00 ± 10.91 ng/ml であった。1 日目の胸部 SIgA 濃度における有意な変動は認められなかった。2 日目の胸部 SIgA 濃度は、B1(20:30)では 39.00 ± 47.38 ng/ml、B2(21:30)では 2.57 ± 2.23 ng/ml、B3(22:45)では 2.00 ± 3.16 ng/ml、B4(翌朝 7:00)では 16.00 ± 38.82 ng/ml であった。B1 と B2($p=0.084$)、B1 と B3($p=0.075$)において胸部 SIgA 濃度に減少傾向がみられたが、有意な変動は認められなかった。1 日目と 2 日目の各測定時点における胸部 SIgA 濃度に有意な差は認められなかった。

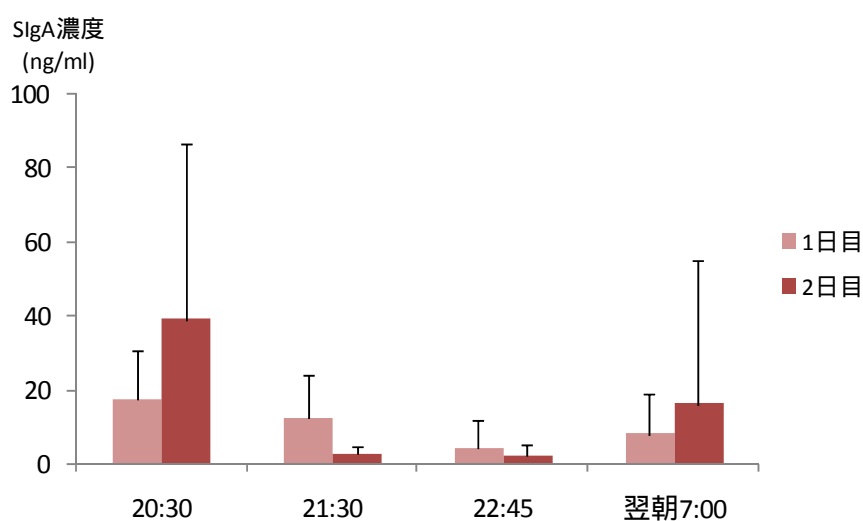


Fig.6. 各測定日における胸部 SIgA 濃度の比較

Fig.7 に各測定日の前腕 SIgA 濃度の比較を示す。1 日目の前腕 SIgA 濃度は、A1(20:30)では 3.29 ± 2.75 ng/ml、A2(21:30)では 3.00 ± 3.00 ng/ml、A3(22:45)では 0.71 ± 0.76 ng/ml、A4(翌朝 7:00)では 1.86 ± 1.46 ng/ml であった。1 日目の前腕 SIgA 濃度における有意な変動は認められなかった。2 日目の前腕 SIgA 濃度は、B1(20:30)では 3.43 ± 2.37 ng/ml、B2(21:30)では 1.29 ± 1.11 ng/ml、B3(22:45)では 0.29 ± 0.49 ng/ml、B4(翌朝 7:00)では 1.29 ± 0.95 ng/ml であった。B1 と B2($p<0.05$)、B1 と B3($p<0.05$)において前腕 SIgA 濃度に有意な減少が認められた。1 日目と 2 日目の各測定時点における前腕 SIgA 濃度に有意差はみられなかった。

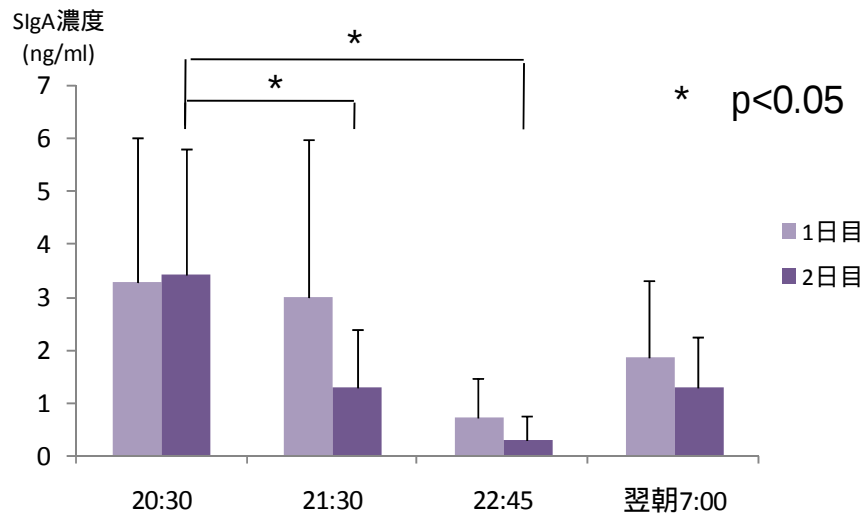


Fig.7. 各測定日における前腕 SIgA 濃度の比較

C. 皮膚ラクトフェリン

皮膚ラクトフェリンは、一部の検体で測定した。Fig.8 に各測定日の胸部ラクトフェリン濃度の比較を示す。1 日目の胸部ラクトフェリン濃度は、A1(20:30)では $0.12 \pm 0.19 \text{ ng/ml}$ 、A2(21:30)では $0.21 \pm 0.37 \text{ ng/ml}$ 、A4(翌朝 7:00)では $0.20 \pm 0.50 \text{ ng/ml}$ であった。1 日目の胸部ラクトフェリン濃度における有意な変動は認められなかった。2 日目の胸部ラクトフェリン濃度は、B1(20:30)では $0.44 \pm 0.83 \text{ ng/ml}$ 、B2(21:30)では $0.18 \pm 0.38 \text{ ng/ml}$ 、B4(翌朝 7:00)では $0.39 \pm 1.02 \text{ ng/ml}$ であった。2 日目の胸部ラクトフェリン濃度における有意な変動は認められなかった。1 日目と 2 日目の各測定時点における胸部ラクトフェリン濃度に有意な差は認められなかった。

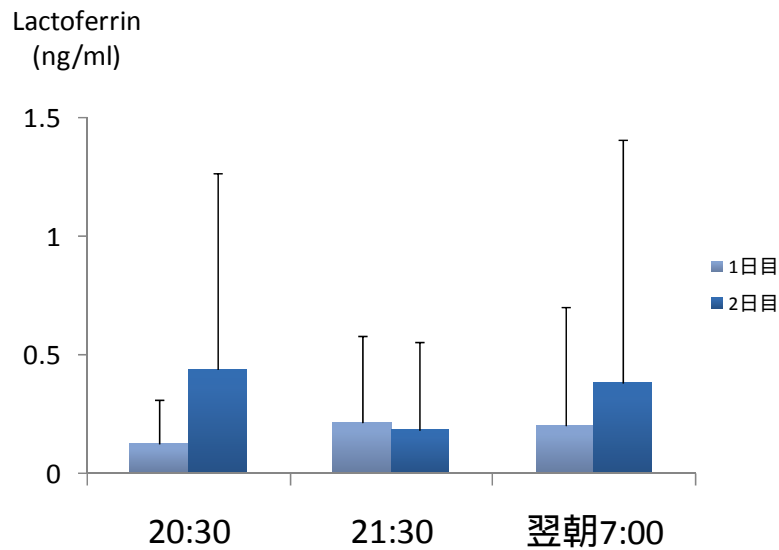


Fig.8. 各測定日における胸部ラクトフェリン濃度の比較

Fig.9 に各測定日の前腕ラクトフェリン濃度の比較を示す。1 日目の前腕ラクトフェリン濃度は、A1(20:30)では $1.20 \pm 1.64 \text{ ng/ml}$ 、A2(21:30)では $0.34 \pm 0.52 \text{ ng/ml}$ であった。1 日目の前腕ラクトフェリン濃度における有意な変動は認められなかった。2 日目の前腕ラクトフェリン濃度は、B1(20:30)では $4.02 \pm 3.01 \text{ ng/ml}$ 、B2(21:30)では $1.71 \pm 1.53 \text{ ng/ml}$ であった。2 日目の前腕ラクトフェリン濃度における有意な変動は認められなかった。1 日目と 2 日目の各測定時点における前腕ラクトフェリン濃度に有意な差は認められなかった。

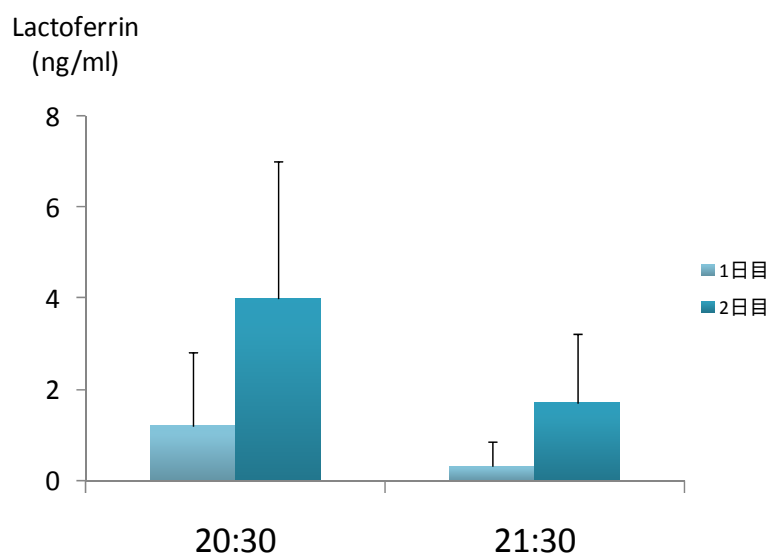


Fig.9. 各測定日における前腕ラクトフェリン濃度の比較

D. 黄色ブドウ球菌数

Fig.10 に各測定日の胸部における黄色ブドウ球菌数の比較を示す。1 日目の胸部における黄色ブドウ球菌数は、A1(20:30)では 11.29 ± 12.12 CFU、A2(21:30)では 10.00 ± 14.35 CFU、A3(22:45)では 20.43 ± 20.90 CFU、A4(翌朝 7:00)では 9.57 ± 17.11 CFU であった。1 日目の胸部における黄色ブドウ球菌数に有意な変動は認められなかった。2 日目の胸部における黄色ブドウ球菌数は、B1(20:30)では 8.14 ± 8.69 CFU、B2(21:30)では 33.43 ± 49.14 CFU、B3(22:45)では 16.71 ± 7.95 CFU、B4(翌朝 7:00)では 17.00 ± 33.26 CFU であった。2 日目の胸部における黄色ブドウ球菌数に有意な変動は認められなかった。1 日目と 2 日目の各測定時点における胸部の黄色ブドウ球菌数に有意な差は認められなかった。

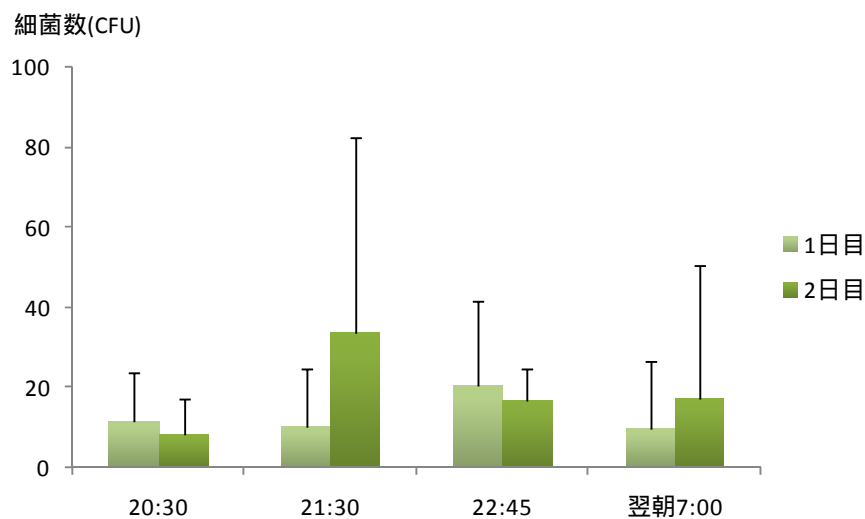


Fig.10. 各測定日における胸部黄色ブドウ球菌数の比較

Fig.11 に各測定日の前腕における黄色ブドウ球菌数の比較を示す。1 日目の前腕における黄色ブドウ球菌数は、A1(20:30)では 2.29 ± 1.25 CFU、A2(21:30)では 1.71 ± 2.87 CFU、A3(22:45)では 15.43 ± 11.91 CFU、A4(翌朝 7:00)では 3.57 ± 4.79 CFU であった。1 日目の前腕における黄色ブドウ球菌数に有意な変動は認められなかった。2 日目の前腕における黄

色ブドウ球菌数は、B1(20:30)では 2.57 ± 1.40 CFU、B2(21:30)では 23.14 ± 21.24 CFU、B3(22:45)では 8.00 ± 3.65 CFU、B4(翌朝 7:00)では 3.29 ± 3.04 CFU であった。B1 と B2($p < 0.01$)、B2 と B4($p < 0.01$)において前腕の黄色ブドウ球菌数に有意な差が認められた。B2 と B3 においては前腕の黄色ブドウ球菌数に減少傾向がみられた($p = 0.053$)。1 日目と 2 日目の 21:30 における黄色ブドウ球菌数に有意な差が認められた($p < 0.01$)。

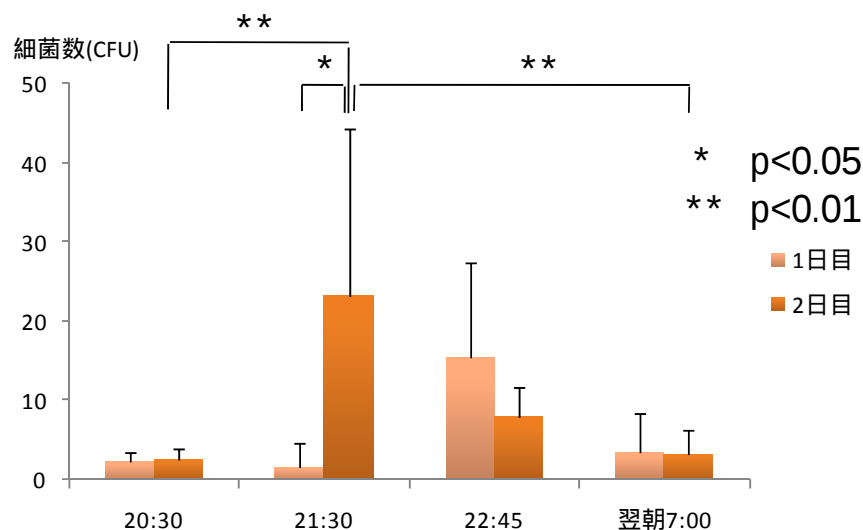


Fig.11. 各測定日における前腕黄色ブドウ球菌数の比較

E. 角質水分量

Fig.12 に各測定日の胸部における角質水分量の比較を示す。1 日目の胸部における角質水分量は、A1(20:30)では $36.79 \pm 4.35\%$ 、A2(21:30)では $36.17 \pm 2.89\%$ 、A3(22:45)では $33.03 \pm 2.41\%$ 、A4(翌朝 7:00)では $35.11 \pm 2.72\%$ であった。1 日目の胸部における角質水分量に有意な変動は認められなかった。2 日目の胸部における角質水分量は、B1(20:30)では $36.36 \pm 2.87\%$ 、B2(21:30)では $40.53 \pm 4.79\%$ 、B3(22:45)では $33.93 \pm 2.10\%$ 、B4(翌朝 7:00)では $34.38 \pm 2.09\%$ であった。B1 と B2($p < 0.01$)、B2 と B3($p < 0.01$)、B2 と B4($p < 0.05$)において胸部の角質水分量に有意な差が認められた。1 日目と 2 日目の各測定時点における胸部の角質水分量に有意な差はみられなかった。

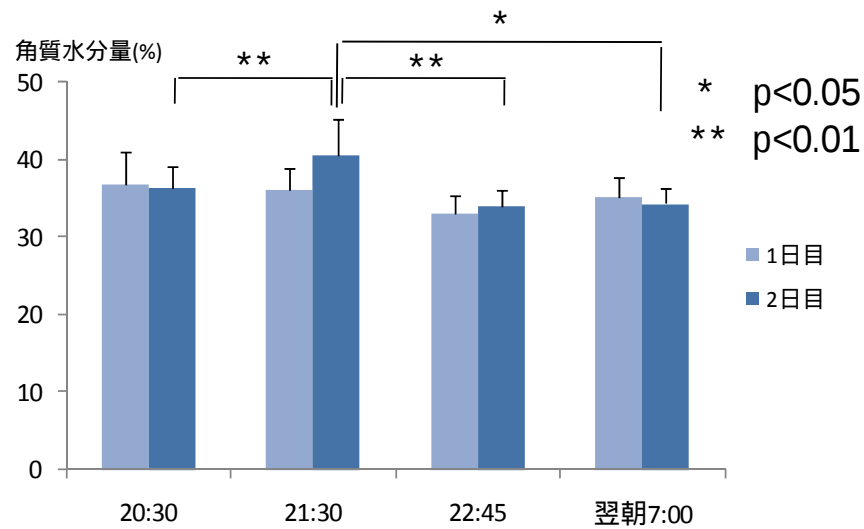


Fig.12. 各測定日における胸部角質水分量の比較

Fig.13 に各測定日の前腕における角質水分量の比較を示す。1 日目の前腕における角質水分量は、A1(20:30)では $32.09 \pm 2.03\%$ 、A2(21:30)では $31.89 \pm 2.03\%$ 、A3(22:45)では $30.51 \pm 1.96\%$ 、A4(翌朝 7:00)では $30.85 \pm 2.38\%$ であった。1 日目の前腕における角質水分量に有意な変動は認められなかった。2 日目の前腕における角質水分量は、B1(20:30)では $31.97 \pm 1.67\%$ 、B2(21:30)では $34.88 \pm 3.33\%$ 、B3(22:45)では $30.46 \pm 1.65\%$ 、B4(翌朝 7:00)では $30.13 \pm 1.91\%$ であった。B1 と B2($p<0.05$)、B2 と B3($p<0.01$)、B2 と B4($p<0.01$)において前腕の角質水分量に有意な差が認められた。1 日目と 2 日目の各測定時点における前腕の角質水分量に有意な差はみられなかった。

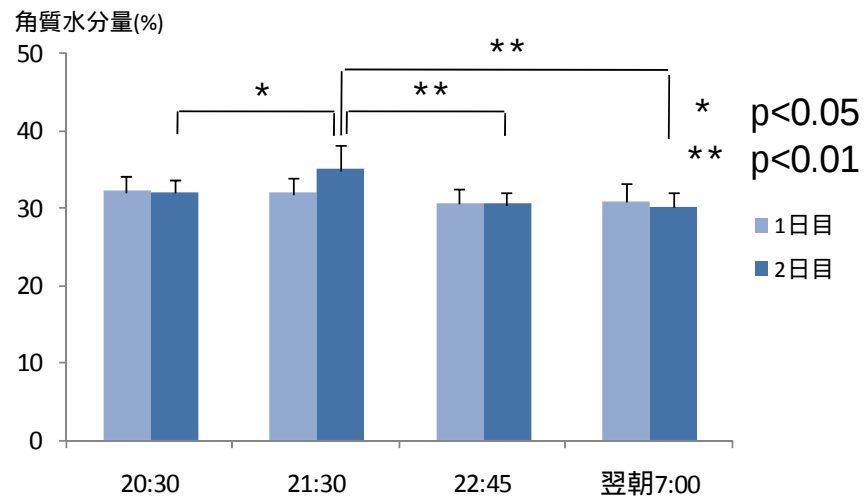


Fig.13. 各測定日における前腕角質水分量の比較

F. 体水分喪失率

Fig.14 に各測定日の体水分喪失率の比較を示す。1 日目の体水分喪失率は、A1-A2(20:30-21:30)では $153.50 \pm 84.85\text{g/h}$ 、A2-A3(21:30-22:45)では $160.78 \pm 75.97\text{g/h}$ 、A3-A4(22:45-翌朝 7:00)では $90.00 \pm 29.50\text{g/h}$ であった。1 日目の体水分喪失率における有意な変動は認められなかった。2 日目の体水分喪失率は、B1-B2(20:30-21:30)では $1226.20 \pm 256.55\text{g/h}$ 、B2-B3(21:30-22:45)では $244.30 \pm 30.23\text{g/h}$ 、B3-B4(22:45-翌朝 7:00)では $82.35 \pm 41.48\text{g/h}$ であった。B1-B2 と B2-B3($p < 0.01$)、B1-B2 と B3-B4($p < 0.01$)において体水分喪失率に有意な差が認められた。1 日目と 2 日目の 20:30-21:30 における体水分喪失率に有意な差が認められた($p < 0.01$)。

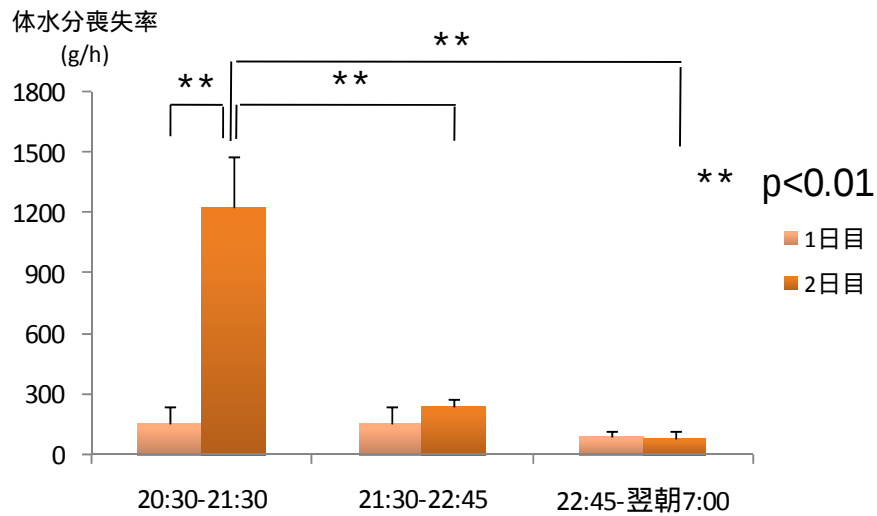


Fig.14. 各測定日における体水分喪失率の比較

G. 唾液分泌速度

Fig.15 に各測定日の唾液分泌速度の比較を示す。1 日目の唾液分泌速度は、A1(20:30)では 1.39 ± 0.38 ml/min、A2(21:30)では 1.61 ± 0.48 ml/min、A3(22:45)では 1.75 ± 0.27 ml/min、A4(翌朝 7:00)では 1.34 ± 0.58 ml/min であった。1 日目の唾液分泌速度における有意な変動は認められなかった。2 日目の唾液分泌速度は、B1(20:30)では 1.72 ± 0.50 ml/min、B2(21:30)では 1.47 ± 0.67 ml/min、B3(22:45)では 1.46 ± 0.59 ml/min、B4(翌朝 7:00)では 1.12 ± 0.62 ml/min であった。B1 と B2 における唾液分泌速度に有意な減少が認められた ($p<0.05$)。1 日目と 2 日目の各測定時点における唾液分泌速度に有意な差は認められなかった。

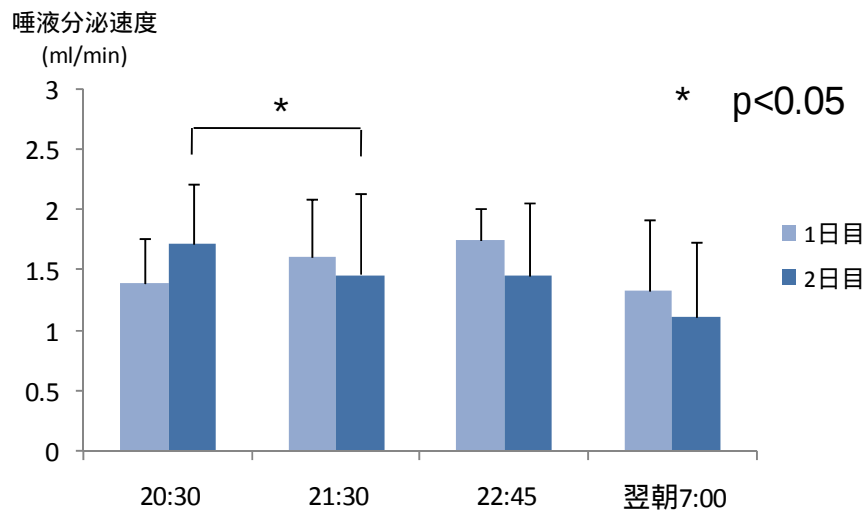


Fig.15. 各測定日における唾液分泌速度の比較

H. 唾液 SIgA 濃度

Fig.16 に各測定日の唾液 SIgA 濃度の比較を示す。1 日目の唾液 SIgA 濃度は、A1(20:30)では $16.91 \pm 5.02 \mu\text{g/ml}$ 、A2(21:30)では $14.78 \pm 4.04 \mu\text{g/ml}$ 、A3(22:45)では $12.72 \pm 3.31 \mu\text{g/ml}$ 、A4(翌朝 7:00)では $21.17 \pm 7.46 \mu\text{g/ml}$ であった。1 日目の唾液 SIgA 濃度における有意な変動は認められなかった。2 日目の唾液 SIgA 濃度は、B1(20:30)では $14.68 \pm 4.62 \mu\text{g/ml}$ 、B2(21:30)では $16.10 \pm 5.07 \mu\text{g/ml}$ 、B3(22:45)では $15.90 \pm 3.83 \mu\text{g/ml}$ 、B4(翌朝 7:00)では $23.80 \pm 9.80 \mu\text{g/ml}$ であった。B1 と B4 において唾液 SIgA 濃度に増加傾向がみられたが($p=0.083$)、2 日目の唾液 SIgA 濃度における有意な変動は認められなかった。1 日目と 2 日目の各測定時点における唾液 SIgA 濃度に有意な差は認められなかった。

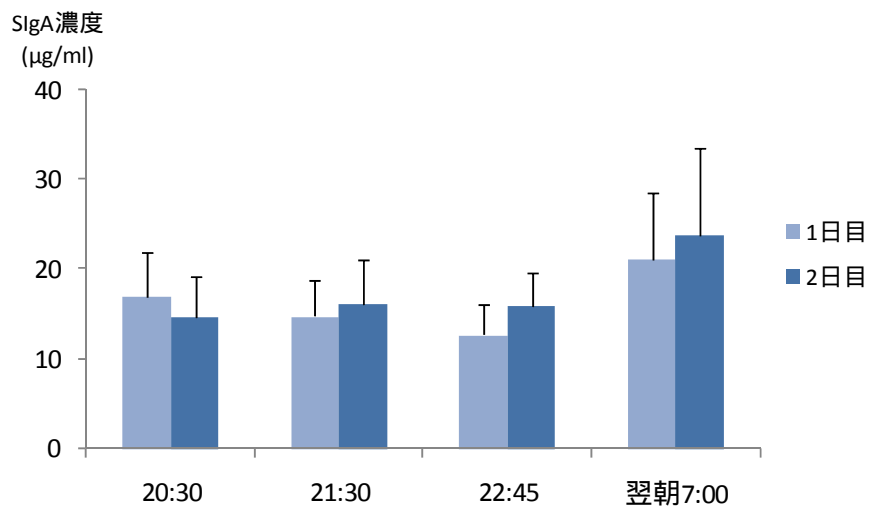


Fig.16. 各測定日における唾液 SIgA 濃度の比較

I. 唾液 SIgA 分泌速度

Fig.17 に各測定日の唾液 SIgA 分泌速度の比較を示す。1 日目の唾液 SIgA 分泌速度は、A1(20:30)では $23.95 \pm 10.74 \mu\text{g}/\text{min}$ 、A2(21:30)では $24.31 \pm 12.48 \mu\text{g}/\text{min}$ 、A3(22:45)では $22.22 \pm 6.85 \mu\text{g}/\text{min}$ 、A4(翌朝 7:00)では $28.71 \pm 16.88 \mu\text{g}/\text{min}$ であった。1 日目の唾液 SIgA 分泌速度における有意な変動は認められなかった。2 日目の唾液 SIgA 分泌速度は、B1(20:30)では $24.42 \pm 9.22 \mu\text{g}/\text{min}$ 、B2(21:30)では $21.40 \pm 8.60 \mu\text{g}/\text{min}$ 、B3(22:45)では $22.05 \pm 6.83 \mu\text{g}/\text{min}$ 、B4(翌朝 7:00)では $23.85 \pm 13.31 \mu\text{g}/\text{min}$ であった。B1 と B2 における唾液 SIgA 分泌速度に有意な減少が認められた($p < 0.01$)。1 日目と 2 日目の各測定時点における唾液 SIgA 分泌速度に有意な差は認められなかった。

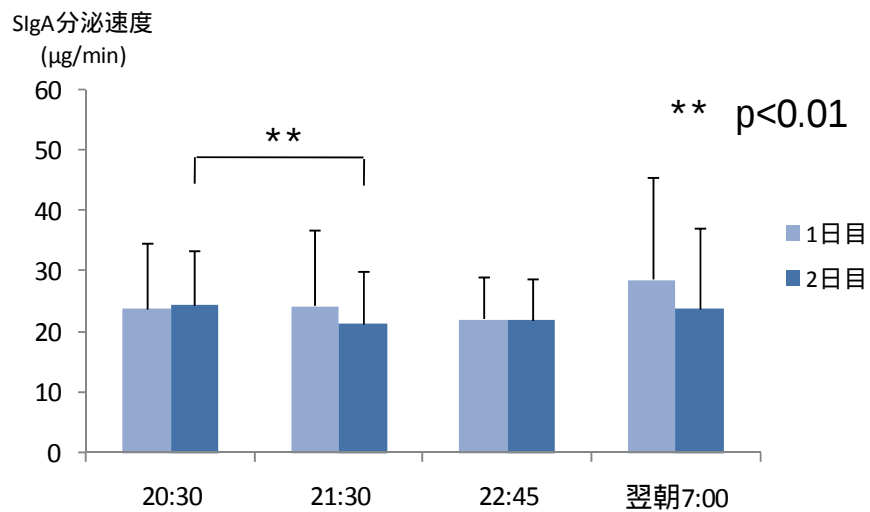


Fig.17. 各測定日における唾液 SIgA 分泌速度の比較

J. 唾液アミラーゼ活性

Fig.18 に各測定日の唾液アミラーゼ活性の比較を示す。1 日目の唾液アミラーゼ活性は、A1(20:30)では $50.57 \pm 20.94 \text{ kU/L}$ 、A2(21:30)では $39.29 \pm 23.18 \text{ kU/L}$ 、A3(22:45)では $43.29 \pm 21.77 \text{ kU/L}$ 、A4(翌朝 7:00)では $29.14 \pm 13.35 \text{ kU/L}$ であった。1 日目の前腕における唾液アミラーゼ活性に有意な変動は認められなかった。2 日目の唾液アミラーゼ活性は、B1(20:30)では $39.14 \pm 21.71 \text{ kU/L}$ 、B2(21:30)では $59.29 \pm 12.24 \text{ kU/L}$ 、B3(22:45)では $32.71 \pm 18.09 \text{ kU/L}$ 、B4(翌朝 7:00)では $22.00 \pm 9.20 \text{ kU/L}$ であった。B1 と B2 において唾液アミラーゼ活性に増加傾向がみられ($p=0.052$)、B2 と B4 において有意な差が認められた($p<0.01$)。1 日目と 2 日目の各測定時点における唾液アミラーゼ活性に有意な差はみられなかった。

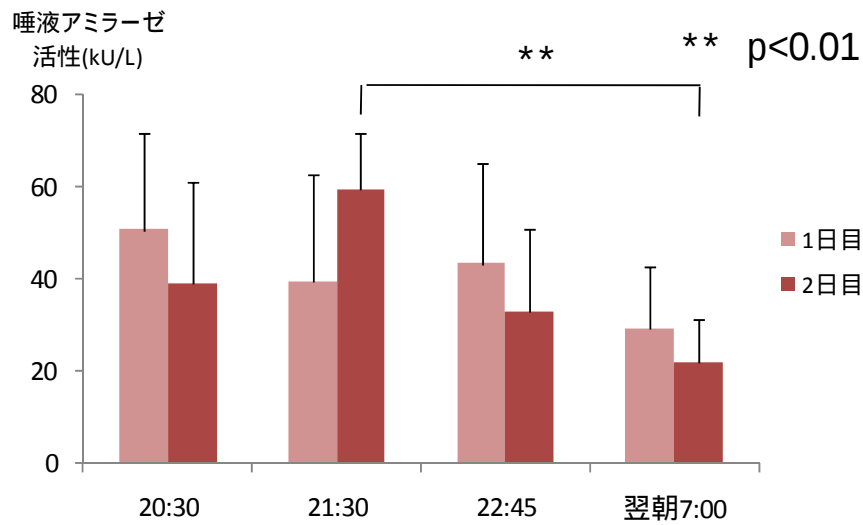


Fig.18. 各測定日における唾液アミラーゼ活性の比較

K. POMS の結果

Table.3 に各測定時点における POMS 各項目の T 得点の結果を示す。緊張 - 不安(T-A)、抑うつ(D)、怒り - 敵意(A-H)、活気(V)、疲労(F)、混乱(C)のいずれの T 得点も各測定時点において有意な変動はみられなかった。

Table.3. POMS における各項目の T 得点の変動

	T-A	D	A-H	V	F	C
A1	43.7 ± 5.2	42.3 ± 3.7	40.9 ± 4.0	48.9 ± 7.8	43.0 ± 6.0	45.9 ± 6.1
A2	40.0 ± 4.2	42.9 ± 5.5	40.1 ± 4.2	45.4 ± 9.2	43.0 ± 6.0	44.1 ± 5.2
A3	38.0 ± 4.0	41.1 ± 3.2	39.7 ± 4.1	44.9 ± 8.9	40.6 ± 5.4	44.0 ± 4.6
A4	38.3 ± 5.7	45.4 ± 9.0	40.4 ± 4.0	42.3 ± 8.1	41.3 ± 5.9	44.4 ± 5.3
B1	41.9 ± 5.3	42.0 ± 4.4	40.7 ± 4.9	44.4 ± 10.3	40.9 ± 5.9	44.0 ± 3.5
B2	37.4 ± 4.5	40.3 ± 1.9	41.0 ± 5.5	46.4 ± 15.3	47.3 ± 8.7	43.6 ± 6.1
B3	37.9 ± 4.4	41.9 ± 3.7	40.1 ± 4.2	40.3 ± 7.9	44.6 ± 6.4	44.4 ± 3.6
B4	36.6 ± 4.3	41.9 ± 3.0	39.0 ± 2.9	44.4 ± 6.8	39.3 ± 5.2	43.4 ± 5.0

平均値 ± 標準偏差

Fig.19 に各測定日の TMD 得点の比較を示す。1 日目の TMD 得点は、A1(20:30)では 166.9 ± 26.0 、A2(21:30)では 164.7 ± 25.4 、A3(22:45)では 158.6 ± 19.1 、A4(翌朝 7:00)では 167.6 ± 29.4 であった。1 日目における TMD 得点に有意な変動はみられなかった。2 日目の得点は、B1(20:30)では 165.0 ± 25.7 、B2(21:30)では 163.1 ± 32.6 、B3(22:45)では 168.0 ± 21.7 、B4(翌朝 7:00)では 155.7 ± 24.9 であった。2 日目における TMD 得点に有意な変動はみられなかった。1 日目と 2 日目の各測定時点における TMD 得点に有意な差は認められなかった。

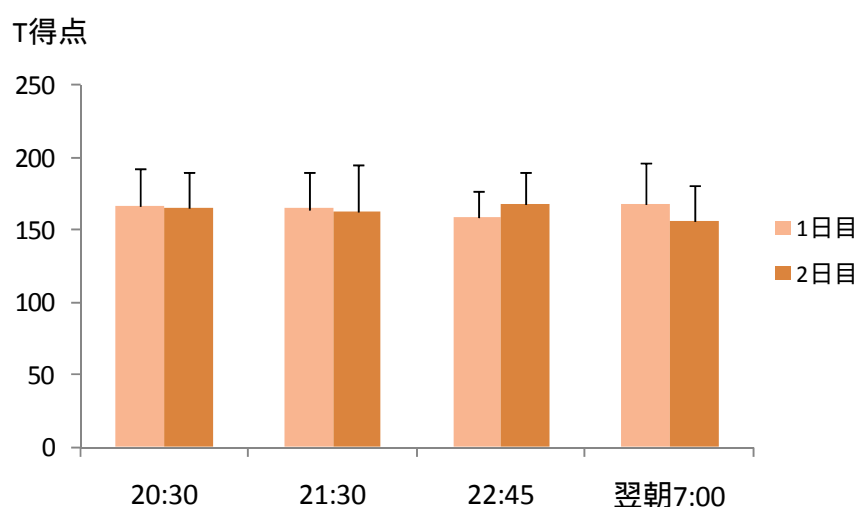


Fig.19. 各測定日における TMD の比較

L. 相関関係

各測定項目における相関関係の検討を行った。体水分喪失率 - 角質水分量(Fig.20、Fig.21)、体水分喪失率 - 黄色ブドウ球菌数(Fig.22、Fig.23)の結果を示す。体水分喪失率 - 胸部の角質水分量($p < 0.01$)、体水分喪失率 - 前腕の角質水分量($p < 0.01$)、体水分喪失率 - 前腕の黄色ブドウ球菌数($p < 0.01$)において有意な相関関係が認められた。

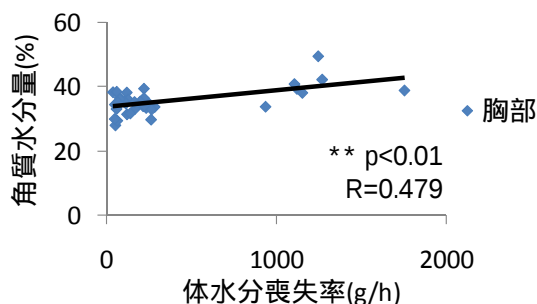


Fig.20.体水分喪失率 - 胸部角質水分量

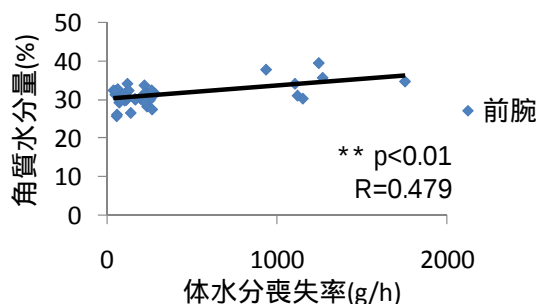


Fig.21.体水分喪失率 - 前腕角質水分量

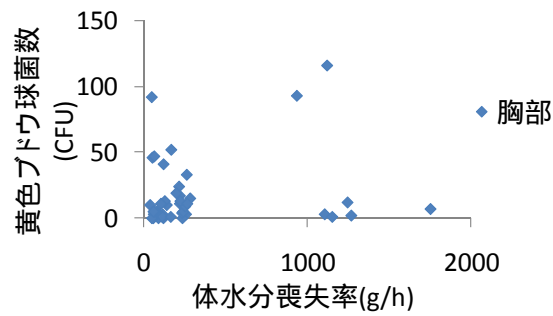


Fig.22.体水分喪失率 - 胸部黄色ブドウ球菌数

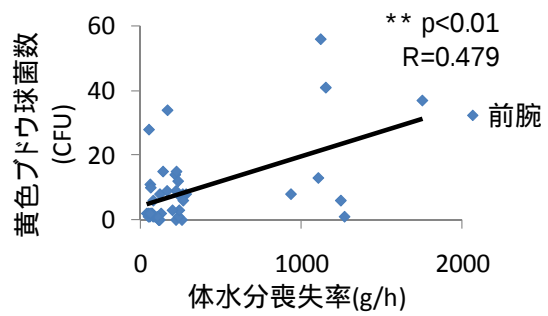


Fig.23.体水分喪失率 - 前腕黄色ブドウ球菌数

安静時(A1、A2、A4、B1、B4)における各測定項目の相関関係を検討した。A3、B3 はシャワーによる影響を受けてしまうこと、B2 は運動による影響を受けてしまうことから、安静時における検討では A3、B2、B3 を除外した。前腕における皮膚ラクトフェリンは A1、A2、B1、B2 の 4 時点のみの測定であったため、皮膚 SIgA - 皮膚ラクトフェリンは A1、A2、B1 の 3 時点のみを用いた。湿度 - 角質水分量(Fig.24、Fig.25)、湿度 - 皮膚 SIgA(Fig.26、Fig.27)、角質水分量 - 皮膚 SIgA(Fig.28、Fig.29)、皮膚 SIgA - 唾液 SIgA(Fig.30、Fig.31) の相関関係を示す。湿度 - 胸部の角質水分量($p<0.01$)、湿度 - 前腕の角質水分量($p<0.01$)、湿度 - 前腕 SIgA($p<0.01$)、前腕における角質水分量 - 皮膚 SIgA($p<0.01$)、胸部 SIgA - 唾液 SIgA($p<0.05$)において有意な相関関係が認められた。皮膚 SIgA - 黄色ブドウ球菌数において有意な相関関係はみられなかった。

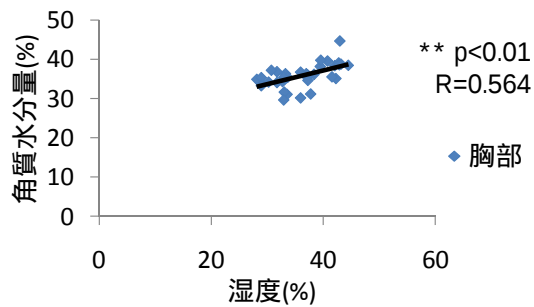


Fig.24. 湿度 - 胸部角質水分量

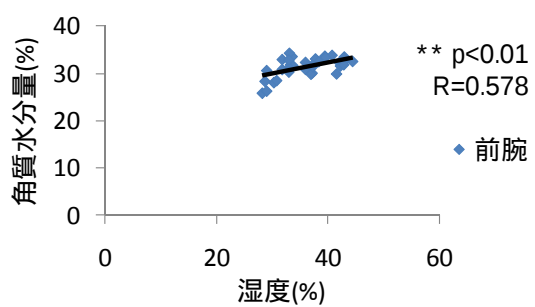


Fig.25. 湿度 - 前腕角質水分量

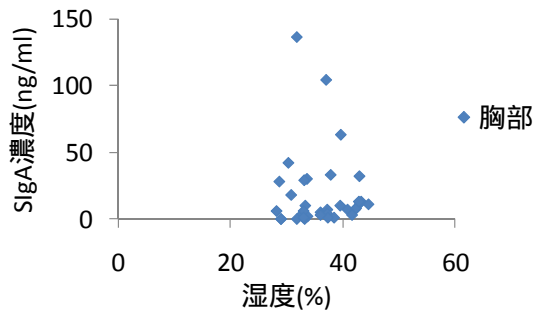


Fig.26. 湿度 - 胸部 SIgA

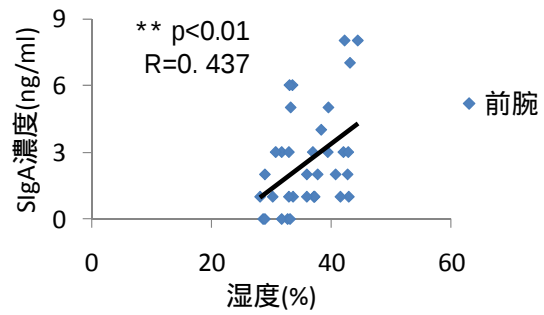


Fig.27. 湿度 - 前腕 SIgA

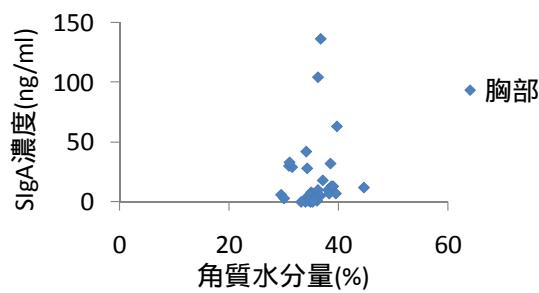


Fig.28. 角質水分量 - 皮膚 SIgA(胸部)

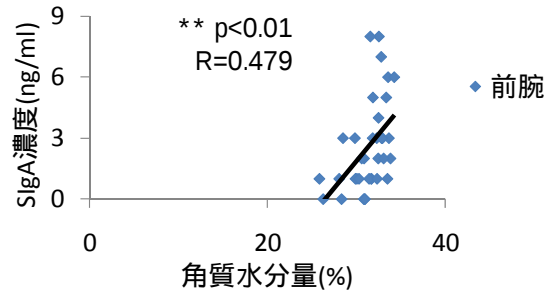


Fig.29. 角質水分量 - 皮膚 SIgA(前腕)

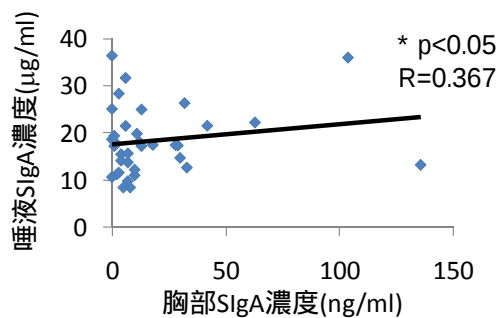


Fig.30. 胸部 SIgA - 唾液 SIgA

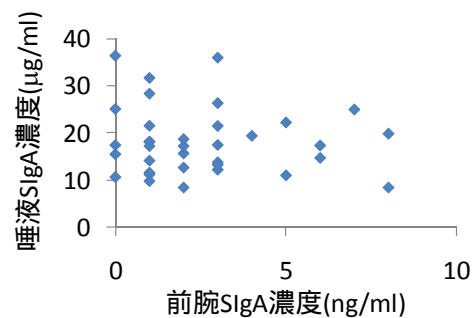


Fig.31. 前腕 SIgA - 唾液 SIgA

VI-2. 考察

本研究では、皮膚表面における SIgA、ラクトフェリンおよび唾液中の SIgA の高強度持久性運動による変動を検討した。75%HRmax 負荷による 60 分間の自転車ペダリング運動は唾液分泌速度、唾液 SIgA 分泌速度の低下を招くことが確認された。さらに、本研究によって、75%HRmax 負荷による 60 分間の自転車ペダリング運動が皮膚 SIgA 濃度の低下を招くことが新たに明らかになった。

本研究では、A1 から B4 までの各測定時点において、WBGT($p=0.869$)、気温($p=0.707$)、湿度($p=0.978$)に有意差がみられなかったことから、環境条件は一定であったと推察された。従って、本研究の測定結果は環境の影響ではなく、高強度持久性運動の影響を検討することが可能であると考えられる。

SIgA は粘膜面での病原微生物の不活性化、凝集、粘膜上皮細胞への接着阻止、ウイルス

や毒素の中和によって局所免疫機能として重要な役割を担っている(小林, 1986)。免疫組織化学および酵素免疫測定法を用いた研究により、SIgA は粘膜面と同様に皮膚においてもエクリン汗腺より産生分泌されると示されている(Okada et al., 1988)。本研究では、運動前 B1(20:30)と比較して運動後 B2 (21:30)において胸部 SIgA 濃度に減少傾向がみられ($p=0.084$)、前腕 SIgA 濃度に有意な減少が認められた($p<0.05$)。B1-B2 間では 1 時間の自転車エルゴメーターを用いた高強度持久性運動が実施され、体水分喪失率が有意に増加した($p<0.01$)。本研究では、体水分喪失率は体重減少量と水分摂取量の和によって求めた体水分喪失量を時間で割ることにより算出した。今回、体重測定は排尿後に行ったため、体水分喪失率は排尿量と発汗量の総和とみなされる。よって、B1-B2 間における体水分喪失率の有意な増加により発汗量の増加が考えられ、皮膚 SIgA が洗い流されたと推察されるが、今後排尿量を測定し検討する必要がある。また、B1 と B3 (22:45)において胸部 SIgA 濃度に減少傾向がみられ($p=0.075$)、前腕 SIgA 濃度は有意に減少した($p<0.05$)。B2-B3 間では対象者はシャワーによって体全体を洗い流しており、皮膚 SIgA も洗い流されて減少したと考えられる。従って、運動やシャワーの後に皮膚 SIgA 濃度は低下し、皮膚感染症の感染リスクが高まる危険性が考えられる。

今回の結果では、いずれの測定時点においても皮膚ラクトフェリンは有意な変動を示さなかった。ラクトフェリンは細菌の生育に必要な鉄をキレート結合で除去する作用による静菌効果だけでなく、細菌に対する直接的な抗菌効果を持つことが示唆されている(山内, 2006; J.Stuart et al., 1984; P.Visca et al., 1990)。ラクトフェリンは黄色ブドウ球菌などの様々な細菌と特異的に結合することが明らかになっており(川上, 1992)、SIgA の細菌に対する静菌作用を亢進すると報告されている(Ellison et al., 1988)。Stephens et al.(1980)は、ラクトフェリンと SIgA は相加効果を示すと報告しており、皮膚 SIgA と皮膚ラクトフェリンは協同して皮膚の感染防御機能を担っていると考えられる。しかしながら、本研究では皮膚ラクトフェリンは検体を限定して測定し、皮膚 SIgA との相加効果は検討していないため、今後検討する必要がある。

黄色ブドウ球菌による皮膚感染症がコンタクトスポーツにおいて重要な問題とされている(Sosin et al., 1989; Bartlett et al., 1982; Lindenmayer et al., 1998)。田神ら(2006)はアメリカンフットボール選手 64 名、レスリング選手 19 名、野球選手 91 名、テニス選手 35 名を対象として、黄色ブドウ球菌の感染状態を調査した。その結果、一時的な症状も含めるとアメリカンフットボール選手においては 54 名(84.4%)、レスリング選手では 16 名(84.2%)、野球選手では 10 名(11.0%)、テニス選手では 4 名(11.4%)の選手が黄色ブドウ球菌感染による症状を訴えた。コンタクトスポーツであるアメリカンフットボールやレスリングの選手が、野球やテニスの選手に比べ黄色ブドウ球菌の感染が多かったことから、選手同士の接触が黄色ブドウ球菌の感染経路のひとつであると考えられる。また、レスリング選手(久木留ら, 2000)、アメリカンフットボール選手(Bartlett et al., 1982)、バスケットボール選手(Daniel et al., 1989)を対象とした先行研究では、練習や試合後に選手の皮膚に

存在する黄色ブドウ球菌の数が増加することが報告されている。久木留ら(2000)はレスリングのマット表面に存在する黄色ブドウ球菌が練習前後で有意に増加していることから、選手同士の接触だけでなくマットなどのスポーツ用具が感染の一因となることを示している。今回の結果では、胸部の黄色ブドウ球菌数に有意な変動はみられなかったが、B2における前腕の黄色ブドウ球菌数はB1($p<0.01$)、B4(翌朝 7:00) ($p<0.01$)における黄色ブドウ球菌数より有意に高い値を示した。対象者は半袖のTシャツを着用の上、自転車ペダリング運動を実施したため、胸部における黄色ブドウ球菌はTシャツによってふき取られたと推察される。一方、前腕は外部に露出されており、着衣との摩擦はなかった。また、自転車エルゴメーターからの黄色ブドウ球菌の付着がないように、対象者には事前に前腕と自転車エルゴメーターとの接触を避けるよう伝え、運動中も十分に配慮した。従って、前腕における黄色ブドウ球菌数は自転車ペダリング運動による影響を評価したと考えられる。また、黄色ブドウ球菌は皮膚の常在細菌であり、皮膚の毛穴などに存在する黄色ブドウ球菌が運動時の発汗によって皮膚表面に出現したため、黄色ブドウ球菌数が運動後に有意に高い値を示した可能性も考えられるが、今後検討が必要である。

アトピー性皮膚炎の患者は健常者に比べ、皮膚におけるSIgA分泌が低い値を示すことが報告されている(Imayama et al., 1994)。また、アトピー性皮膚炎患者の皮膚表面には普段から黄色ブドウ球菌によるコロニーが形成されており(Hauser et al., 1985; Nilsson et al., 1992)、病原微生物やウイルスによる皮膚の病変が頻繁に起こると言われている(Champion et al., 1986; Leung et al., 1987)。SIgAがラクトフェリン共存下で黄色ブドウ球菌に対する増殖抑制効果を示すことが報告されている(田中ら, 1988)。よって、アトピー性皮膚炎患者における皮膚SIgA濃度の低下が皮膚における黄色ブドウ球菌の易感染性に関与していると考えられる。本研究では、運動前B1と運動後B2において、前腕SIgA濃度は有意に減少し($p<0.05$)、前腕の黄色ブドウ球菌数は有意な増加を示した($p<0.01$)。この結果は、アトピー性皮膚炎患者の皮膚表面におけるSIgA濃度低下、黄色ブドウ球菌数増加という先行研究の報告と一致しており、高強度持久性運動が皮膚表面の感染防御機能を低下させ、皮膚感染症の感染リスクを増加させると推察される。しかしながら、今回の測定では、対象者はB3の前にシャワーを浴びたため、運動後の皮膚SIgA濃度と黄色ブドウ球菌数の変化を評価しておらず、今後検討する必要がある。

本研究では、体水分喪失率と前腕の黄色ブドウ球菌数に有意な相関関係が認められた($p<0.01$)。体水分喪失率が有意に増加したB1-B2間($p<0.01$)では、前腕の黄色ブドウ球菌数は有意に増加したが($p<0.01$)、胸部の黄色ブドウ球菌数は有意な変動を示していない。従って、体水分喪失率が黄色ブドウ球菌数に影響を与えたのではなく、体水分喪失率が増加した運動時に前腕における黄色ブドウ球菌数が上昇したために相関関係を示したと考えられる。

皮膚のバリア機能の指標として角質水分量が用いられている(澄川, 2007)。澄川(2007)らの報告によると、角質水分量がアトピー性皮膚炎や乾燥肌の病態と関連を示すとされて

いる。アトピー性皮膚炎患者と健常者の角質水分量を比較した調査では、手背、前腕内側部、背部のいずれの測定においてもアトピー性皮膚炎患者のほうが健常者と比較して角質水分量が低かったと報告されている(Loden M et al., 1992)。本研究では、B2における胸部角質水分量はB1($p<0.01$)、B3($p<0.01$)、B4($p<0.05$)より有意に高い値を示し、B2における前腕角質水分量においてもB1($p<0.05$)、B3($p<0.01$)、B4($p<0.01$)より有意に高い値を示した。また、角質水分量は湿度($p<0.01$)、体水分喪失率($p<0.01$)との間に有意な相関関係を認めた。角質層は皮膚の最外層にあり、外部に直接露出されているため、環境条件の影響を受けやすいとされている(Canizares O, 1960)。従って、角質水分量は湿度と相関関係にあるものと考えられる。また、今回の結果では1時間の自転車ペダリング運動により体水分喪失率が有意に増加した。体水分喪失率は1時間当たりの排尿量と発汗量の総和を示しており、運動と発汗量の関係は明らかにされている(井上, 2005)。井上(2005)は、運動の実施による体温上昇に伴い熱放散能力が高まるため、発汗量は増大すると示しており、今回の結果と合致する。従って、体水分喪失率の増加に伴い皮膚表面への水分供給が増加し、角質水分量に影響を与えたと推察されるが、今後排尿量を測定し検討する必要がある。

唾液は口腔内の感染防御機能として重要な役割を担っており、口腔内局所免疫能の評価のための有用な指標となり得る(秋本ら, 1998)。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がある。このうち全唾液は、口腔内の環境を全体的に評価する上で有意義である(久保木ら, 1986)。また、全唾液は採取が容易であり、実際のスポーツ現場での応用にも適している。故に本研究では全唾液を試料として評価した。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1日0.5~1.5ℓ分泌されると言われている(久保木ら, 1986)。唾液自体の物理的清掃作用、洗浄作用が多く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減少した際に、齲歯や感染症の発症が増加することからも推察できる(前田ら, 1990)。本研究では、B1とB2における唾液分泌速度に有意な減少が認められた($p<0.05$)。70%~75% VO_{2max} 負荷による2時間の自転車ペダリング運動(Mackinnon et al., 1987)やフルマラソン(秋本ら, 1998)の前後で唾液分泌速度の有意な減少がみられたという先行研究の結果とも一致する。従って、唾液分泌速度は高強度持久性運動によって低下し、唾液自体の物理的清掃作用や洗浄作用が低下することで、多くの病原微生物に対する感染防御能が低下すると推察される。

多くの先行研究において、一過性の高強度持久性運動による唾液SIgAレベルの低下が報告されている(秋本ら, 1998; Mackinnon et al., 1987; McDowell et al., 1992; Mackinnon and Hooper, 1994; Tharp and Barnes, 1990; Tomasi et al., 1982)。Mackinnon and Hooper(1994)は、75% VO_{2max} 負荷による90分間のトレッドミルランニングが唾液SIgA分泌速度の低下を招くと報告している。清水(2007)の報告においても、75% VO_{2max} 負荷による1時間の自転車ペダリング運動が唾液SIgA分泌速度を低下させると示されている。今回の結果では、B1とB2における唾液SIgA分泌速度に有意な減少が認められ($p<0.01$)、先行研究の結果とも一致した。従って、75%HR $_{max}$ 負荷による1時間の自転車ペダリング運

動においても先行研究と同様に唾液 SIgA 分泌速度は低下し、口腔内局所免疫能は低下すると確認された。

本研究では、胸部 SIgA 濃度と唾液 SIgA 濃度に有意な相関関係がみられた($p<0.05$)。SIgA は血中の IgA とは異なり、単量体の IgA が J 鎖(joining chain : J-chain)と呼ばれる分子量約 15kDa のペプチドを介し 2 個結合した dimer に上皮細胞で産生された分泌成分(secretory component : SC)と呼ばれる分子量約 70kDa の糖蛋白が結合し、唾液 SIgA は唾液腺導管へ分泌され(Nagura et al. , 1979 : Mostov et al. , 1980 : Mostov , 1994)、皮膚 SIgA はエクリン汗腺から分泌される(Okada et al. , 1988)。しかしながら、本研究では、唾液 SIgA は口腔内を蒸留水で洗浄したのち分泌される唾液より測定し、皮膚 SIgA はエクリン汗腺より分泌されて皮膚表面に蓄積している SIgA を測定している。従って、今回の結果では唾液 SIgA 濃度と皮膚 SIgA 濃度の関係は明らかにならず、今後検討が必要である。前腕 SIgA 濃度は前腕角質水分量($p<0.01$)、湿度($p<0.01$)と有意な相関関係を示した。この結果は、前腕が外部に露出しており、外部環境の影響を受けたためと考えられる。また、前腕 SIgA 濃度が前腕角質水分量と相関関係を示したことから、前腕において局所免疫能を有する SIgA とバリア機能を有する角質水分量が協同して皮膚の感染防御能を担っていると推察できる。

唾液 SIgA レベルは心理ストレスに応答することが示されている(Bosch et al. , 2001 : Willemsen et al. , 2002)。急性ストレスにおいては、記憶テスト(Bosch et al. , 2001)や暗算負荷(Bistow et al. , 1997)などの能動的ストレスで唾液 SIgA レベルは増加し、外科手術のビデオを見る(Bosch et al. , 2001)などの受動的ストレスで唾液 SIgA レベルは低下すると報告されている。また、試験期間中の大学生(Jemmott et al. , 1983)や服役中の囚人(McClelland et al. , 1982)では唾液 SIgA レベルが低下することが報告されており、慢性のストレスにも応答することが示されている。本研究では、ストレスの指標として唾液アミラーゼ活性および POMS を用いた。唾液アミラーゼは、交感神経—副腎髄質系でノルエピネフリンによって制御されているホルモン作用による調節と直接神経に作用する神経作用による調節を受ける(Speirs et al. , 1974)。唾液アミラーゼの神経作用による応答は 1~数分と速く、有用なストレスの指標として用いられている(山口, 2007)。本研究では、B2 における唾液アミラーゼ活性は B4 より有意に高い値を示し($p<0.01$)、B1 より増加する傾向がみられた($p=0.052$)。この結果は、唾液アミラーゼ活性が水中運動の前後で有意に増加するという報告(飛驒ら, 2009)と一致する。高強度の自転車ペダリング運動では交感神経活動が高まることが知られており(Bevegard et al. , 1966)、交感神経活動の亢進によって唾液アミラーゼ活性が増加したと考えられる。よって、本研究における唾液アミラーゼ活性の変動は心理ストレスではなく、高強度持久性運動による交感神経活動亢進の結果と推察される。また、POMS の結果に有意差が認められなかったことから心理状態に有意な変動はみられなかったと考えられる。従って、心理ストレスが唾液 SIgA 濃度、唾液 SIgA 分泌速度に影響した可能性はほとんどないと考えられる。

VII. 結論

本研究の実験 1 では、皮膚 SIgA を採取測定する方法としてミキサー法を検討した。攪拌時間の検討では 1 分間の攪拌で皮膚 SIgA の採取が可能であると考えられた。また、隣接する 2 地点における検討では隣接する部位を用いることで日内に複数回の皮膚 SIgA 採取を行い、比較することが可能であると推察された。

実験 2 では高強度持久性運動による皮膚表面および口腔内の感染防御機能の変動を検討するため、皮膚表面における SIgA、ラクトフェリンおよび唾液中の SIgA の運動による変動を評価した。60 分間の高強度持久性運動が、唾液分泌速度、唾液 SIgA 分泌速度の低下を招くことが確認された。本研究によって、60 分間の高強度持久性運動が皮膚 SIgA 濃度の低下を招くことが新たに明らかとなった。

謝辞

本研究を製作するにあたって、実験の計画から論文の作成まで丁寧にご指導していただいた赤間高雄教授、副査を快く引き受けてくださった鈴木克彦准教授、金岡恒治准教授に厚く御礼申し上げます。

また、実験の計画から実施に至るまで助言していただき、何度も論文添削をしてくださった清水和弘助手、大学院生の鈴木智弓さん、野倉圭輔氏、亀井雄太氏、実験に快く協力してくださった早稲田大学の学生及び院生の皆様、そして、家族をはじめ本日まで支えてくださった方々に心から感謝いたします。

参考文献

- ・ 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．持久性ランニングによる口腔内局所免疫機能の変動．体力科学 47：53-62，1998．
- ・ Bartlett PC．Furunculosis in a high school football team．Am J Sports Med．10(6)：371-374，1982．
- ・ Bevegård BS，Shepherd JT．Circulatory effects of stimulating the carotid arterial stretch receptors in man at rest and during exercise．J Clin Invest．45(1)：132-142，1966．

- Bistow M , Hucklebridge F , et al . Modulation to an acute episode of stress and arousal . J Psychophysiol . 11 : 248-255 , 1997 .
- Bosch JA , de Geus EJ , Kelder A , Veerman EC , Hoogstraten J , Amerongen AV . Differential effects of active versus passive coping on secretory immunity . Psychophysiology . 38 : 836-846 , 2001 .
- Canizares O .Geographic dermatology .Mexico and central America ,Arch Dermatol . 82 , 1960 .
- Champion RH , Parish WE . Atopic dermatitis . In : Textbook of dermatology . Rook A ,Wilkinson DS ,Ebling EJG ,Champion RH ,Burton JL ,eds .London : Blackwell Scientific . 419-434 , 1986 .
- Cohen S , Tyrrel DAJ , Smith AP . Psychological stress and susceptibility to the common cold . N.Engl.J.Med . 325 : 606-612 , 1991 .
- Cohen S ,Herbert TB .Health psychology: psychological factors and physical disease from the perspective of human psychoneuroimmunology . Ann.Rev.Psychology . 47 : 113-142 , 1996 .
- Daniel M . An outbreak of furunculosis among high school athletes . The American Journal of Sports Medicine . 17(6) : 828-832 , 1989 .
- Ellison RT 3rd , Giehl TJ , LaForce FM . Damage of the outer membrane of enteric gram-negative bacteria by lactoferrin and transferrin . Infect Immun . 56(11) : 2774-2781 , 1988 .
- Fahlman MM , Engels HJ . Mucosal IgA and URTI in American college football players : a year longitudinal study . Med Sci Sports Exerc . 37(3) : 374-380 , 2005 .
- Gleeson M . Special feature for the Olympics : effects of exercise on the immune system .Overview: exercise immunology .Immunol Cell Biol .78(5):483-484 ,2000 .
- Gleeson M .Immune function in sport and exercise .J Appl Physiol .103(2):693-699 , 2007 .
- 後藤多佳子 , 行徳隆裕 , 今山修平 , 堀嘉昭 . 汗に含まれる免疫グロブリン sIgA の皮膚表面における機能の検討 . 西日皮膚 . 57(1) : 52-54 , 1995 .
- Hauser C , Wuethrich B , Matter L , Wilhelm JA , Sonnabend W , Schopfer K . Staphylococcus aureus skin colonization in atopic dermatitis patients.Dermatologica . 170(1) : 35-39 , 1985 .
- 飛弾浩一 , 山本佑太 , 岩竹晋也 , 太田克矢 , 長澤悦伸 , 中畑千賀子 , 喬炎 , 野坂俊弥 , 秋山知也 , 那須裕 . 唾液由来の生化学的指標から見た高齢者の水中運動効果 . 信州公衆衛生雑誌 . 4(1) : 52-53 , 2009 .
- Imayama S , Shimozono Y , Urabe A , Hori Y . A simple method for measuring the amount of immunoglobulin A secreted onto the skin surface . Acta Derm Venereol .

75 : 212-217 , 1995 .

- ・ 井上芳光 , 桑原智子 . 夏季スポーツ活動時における思春期前自動の直腸温と総発汗量 . 日本生理人類学会誌 . 10 : 128-129 , 2005 .
- ・ Jemmott JB 3rd , Borysenko JZ , Borysenko M , McClelland DC , Chapman R , Meyer D , Benson H . Academic stress in soccer coaches increased salivary immunoglobulin A . Lancet . 25 : 1400-1402 , 1983 .
- ・ 河合敬一 , 河合享三 , 小西啓介 , 岸本三郎 , 金光健宅 , 亀井宣昭 , 尾林博 , 岡田富雄 , 小西宏明 . 酵素免疫測定法による皮膚表面および汗中における分泌型 IgA 定量の試み . 日皮会誌 . 101(4) : 415-420 , 1991 .
- ・ 川上浩 . ラクトフェリンの生物活性と受容体 . 化学と生物 . 30(12) : 807-812 , 1992 .
- ・ 久保木芳徳 , 藤沢隆一 . 唾液の採取法と取り扱い . 臨床検査 . 30 : 937-942 , 1986 .
- ・ 小林邦彦 . 分泌液中の免疫グロブリン . 臨床検査 . 30(9) : 971-979 , 1986 .
- ・ 久木留毅 , 佐藤満 . 一流競技者の長時間移動を伴う海外遠征時のコンディション変化について . 専修大学社会体育研究所報 . 53 : 41-51 , 2005 .
- ・ 久木留毅 , 佐藤満 , 吉村建治 , 田神一美 . レスリング選手の練習前後における皮膚およびマット表面の微生物調査 : 俗称マット菌の消長 . 臨床スポーツ医学 . 17(11) : 1387-1391 , 2000 .
- ・ Lamm ME , Nedrud JG , Kaetzel CS , Mazanec MB . IgA and mucosal defense . APMIS . 103 : 241-246 , 1995 .
- ・ 李吉英 , 島上和則 . 20 代・日韓女性の皮膚の水分量の季節変動について . 日本生理人類学会誌 . 11(2) : 33-37 , 2006 .
- ・ レスリング国際ルール 2002 , 財団法人日本レスリング協会 .
- ・ Leung DYM , Rhodes AR , Geha RS . Atopic dermatitis . In : Dermatology in general medicine . Fitzpatrick TB , Eisen AZ , Wolff K , Freedberg IM , Austin KF , eds . New York : McGraw-Hill . 1385-1408 , 1987 .
- ・ Lindenmayer JM , Schoenfeld S , O'Grady R , Carney JK . Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a high school wrestling team and the surrounding community . Arch Intern Med . 58(8) : 895-899 , 1998 .
- ・ Lodén M , Olsson H , Axéll T , Linde YW . Friction, capacitance and transepidermal water loss (TEWL) in dry atopic and normal skin . Br J Dermatol . 126(2) : 137-141 , 1992 .
- ・ Mackinnon LT , Chick TW , van As A , Tomasi TB . The effect of exercise on secretory and natural immunity . Adv Exp Med Biol . 216A : 869-876 , 1987 .
- ・ Mackinnon LT , Ginn E , Seymour GJ . Decreased salivary immunoglobulin A secretion rate after intense interval exercise in elite kayakers . Eur J Appl Physiol . 67 : 180-184 , 1993 .

- Mackinnon LT ,Hooper S .Mucosal (secretory) immune system responses to exercise of varying intensity and during overtraining . Int J Sports Med . 15 : S179-S183 , 1994 .
- 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 .
- Matthews CE , Ockene IS , Freedson PS , Rosal MC , Merriam PA , Hebert JR . Moderate to vigorous physical activity and risk of upper-respiratory tract infection . Med Sci Sports Exerc . 34(8) : 1242-1248 , 2002 .
- McClelland DC , Alexander C , Marks E . The need for power, stress, immune function and illness among male prisoners . J Abnorm Psychol . 91 : 61-71 , 1982 .
- McDowell SL , Hughes RA , Hughes RJ , Housh TJ , Johnson GO . The effect of exercise training on salivary immunoglobulin A and cortisol responses to maximal exercise . Int J Sports Med . 13(8) : 577-580 , 1992 .
- 森谷直樹 , 大平勇一 . 屋内バイクトレーニング時のトライアスロン熟練者の発汗量と体表面温度の測定 . 室蘭工業大学紀要 . 58 : 125-134 , 2009 .
- Mostov KE , Kraehenbuhl JP , Blobel G . Receptor-mediated transcellular transport of immunoglobulin : synthesis of secretory component as multiple and larger transmembrane forms . Proc Natl Acad Sci USA . 77(12) : 7257-61 , 1980 .
- Mostov KE . Transepithelial transport of immunoglobulins . Annu Rev Immunol . 12 : 63-84 , 1994 .
- Nagura H , Nakane PK , Brown WR . Translocation of dimeric IgA through neoplastic colon cells in vitro . J Immunol . 123(5) : 2359-2368 , 1979 .
- 名倉宏 , 大谷明夫 . 消化免疫制御機構 . 臨床免疫 . 26 : 1242-1252 , 1994 .
- Nieman DC . The effect of moderate exercise training on natural killer cell and acute upper respiratory tract infections . Int J Sport Med , 11 : 467-473 , 1990 .
- Nieman DC . Exercise, infection and immunity . Int J Sports Med . 15 : 131-141 , 1994 .
- Nilsson EJ , Henning CG , Magnusson J . Topical corticosteroids and Staphylococcus aureus in atopic dermatitis . J Am Acad Dermatol . 27(1) : 29-34 , 1992 .
- Okada T , Konishi H , Ito M , Nagura H , Asai J . Identification of secretory immunoglobulin A in human sweat and sweatgland . J Invest Dermatol . 90 : 648-652 , 1988 .
- Pedersen BK , Ullum H . NK cell response to physical activity : possible mechanisms of action . Med.Sci.Sport Exerc . 26 : 140-146 , 1994 .
- Pedersen BK , Rohde T , Ostrowski K . Recovery of the immune system after exercise . Acta Physiol Scand . 162(3) : 325-32 , 1998 .

- Rowbottom DG , Green KJ . Acute exercise effects on the immune system . Med Sci Sports Exerc . 32 : 396-405 , 2000 .
- 清水和弘 .中高年齢者の局所粘膜免疫能に対する身体活動の影響 .平成 19 年度博士論文 .筑波大学大学院人間総合科学研究科 . 2007 .
- Sosin DM ,Gunn RA ,Ford WL ,Skaggs JW .An outbreak of furunculosis among high school athletes . Am J Sports Med . 17(6) : 828-832 , 1989 .
- Spiers RL , Herring J , Cooper WD , Hardy CC , Hind CR . The influence of sympathetic activity and isoprenaline on the secretion of amylase from human parotid gland . Arch.Oral Biol . 19 : 747-752 , 1974 .
- Stephens S ,Dolby JM ,Montreuil J ,Spik G .Differences in inhibition of the growth of commensal and enteropathogenic strains of Escherichia coli by lactotransferrin and secretory immunoglobulin A isolated from human milk . Immunology . 41(3) : 597-603 , 1980 .
- Stuart J , Norrell S , Harrington JP . Kinetic effect of human lactoferrin on the growth of Escherichia coli 0111 . Int J Biochem . 16(10) : 1043-1047 , 1984 .
- 澄川靖之, 上木裕理子, 三好彰, 程雷, 殷敏, 時海波, 澄川真珠子, 幸野健, 青木敏之, 片山一朗 . 日本、中国の学童におけるアトピー性皮膚炎・皮膚バリア機能調査 . アレルギー . 56 : 1270-1275 , 2007 .
- 田神一美, 久木留毅, 上濱龍也, 一幡良利 . コンタクトスポーツ選手に見られた創傷感染の 2 流行事例 . 筑波大学体育科学系紀要 . 29 : 67-69 , 2006 .
- 田中浩, 岡田富雄, 小西宏明 . 分泌型 IgA 及びラクトフェリンの皮膚細菌に対する増殖抑制効果 . 日皮会誌 . 98 : 210 , 1988 .
- Tharp GD , Barnes MW . Reduction of saliva immunoglobulin levels by swim training . Eur J Appl Physiol Occup Physiol . 60(1) : 61-64 , 1990 .
- Tomasi TB ,Trudeau FB ,Czerwinski D ,Erredge S .Immune parameters in athletes before and after strenuous exercise . J Clin Immunol . 2(3) : 173-178 , 1982 .
- 上濱龍也, 田神一美 . スポーツと足白癬 . 臨床スポーツ医学 . 15(6) : 681-682 , 1998 .
- Visca P , Dalmastrì C , Verzili D , Antonini G , Chiancone E , Valenti P . Interaction of lactoferrin with Escherichia coli cells and correlation with antibacterial activity . Med Microbiol Immunol . 179(6) : 323-333 , 1990 .
- Willemsen G , Carroll D , Ring C , Drayson M . Cellular and mucosal immune reactions to mental and cold stress : associations with gender and cardiovascular reactivity . Psychophysiology . 39 : 222-228 , 2002 .
- 山口昌樹 . 唾液マーカーでストレスを測る . 日本薬理学会誌 . 129 : 80-84 , 2007 .
- 山内恒治 . ラクトフェリン . 日本食品科学工学会誌 . 53(3) : 193 , 2006 .