

早稲田大学審査学位論文
博士 (スポーツ科学)

皮膚および粘膜の
感染防御機能に対する運動の影響

Effects of Exercise on the Local Barrier Functions
of the Skin and Mucosal Surface.

2013 年 1 月

早稲田大学大学院 スポーツ科学研究科

枝 伸彦

Eda, Nobuhiko

研究指導教員: 赤間 高雄 教授

第1章. 序論

1-1. 本研究の背景

ヒトは、病原性微生物の侵入口である外界と、皮膚および粘膜で接している。病原性微生物に対する感染防御機能として免疫系が重要な役割を担っており、異物や微生物を無差別に攻撃する非特異的機構と特定の相手を認識して反応する特異的機構とに分類される。免疫機能は運動によって変動することが知られている。低強度運動では免疫機能は低下しないが、高強度運動では免疫機能が低下し、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)。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、感染症予防の対策が必要であると考えられる。特に外界と接している皮膚や口腔内の粘膜からの感染症として、皮膚感染症や上気道感染症への対策が重要である。皮膚感染症は特にアスリートのコンディショニングにおいてしばしば問題となり、また、上気道感染症対策はアスリートのコンディショニングや中高齢者の健康維持において重要な課題である。

1-1-1. 皮膚感染症防御機能に対する運動の影響

全米大学競技協会(The National Collegiate Athletic Association; NCAA)が、レスリング選手を対象に 1988 年から 2004 年にかけて行った調査では、最も練習時間の妨げになる要因は全体の 17%を占める皮膚感染症の罹患であったと報告している(Agel et al., 2007)。アスリートは様々な皮膚感染症に対して罹患リスクを有しているが特にアスリートに多い皮膚感染症として黄色ブドウ球菌による感染症が知られており、フットボール、バスケットボール、ラグビー、ホッケー、レスリングなど様々なコンタクトスポーツで感染が報告されている(Adams, 2002)。黄色ブドウ球菌は、実際のスポーツ現場で、膿痂疹(impetigo; Brenner et al., 1994)、せつ(furuncle; Sosin et al. 1989),

蜂窩織炎(cellulitis; Bowers et al., 2008)を引き起こすことが知られている. 110名のフットボール選手と8名のトレーナーを対象とした研究では, 67名(57%)の皮膚表面から黄色ブドウ球菌が検出され, その内の8名(12%)が黄色ブドウ球菌感染症を発症していた(Fontanilla et al., 2010). Sosin et al. (1989)は, 124名の男子高校生アスリートを調査した結果, 31名(25%)が黄色ブドウ球菌感染症を発症しており, 皮膚の傷を有する者の発症リスクは2~3倍に増加すると報告している. フットボール(Bartlett et al., 1982), バスケットボール(Sosin et al., 1989), レスリング(久木留ら, 2000)の選手を対象とした研究では, 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, 選手同士の接触やスポーツ用具との接触が黄色ブドウ球菌増加の要因であると推察されている. アスリートの皮膚表面は, 練習やトレーニング時の発汗によってふやけ, 日常的に黄色ブドウ球菌などの病原性微生物が繁殖しやすい状態であると考えられる. また, スポーツ活動に伴う皮膚の外傷によって, 病原性微生物が皮膚のより深くまで侵入し, 感染を引き起こす可能性がある(Adams, 2002). 従って, アスリートは皮膚感染症の罹患リスクが高く, 皮膚感染症がアスリートのコンディション悪化の要因となる可能性がある.

皮膚は人体で最も表層にあり, 直接外界と接している臓器である. 皮膚の総面積は約 1.6 m^2 で重量は平均で体重の約 16%といわれている. 皮膚の厚さは部位によって異なるがおよそ 2~3mmで, 上から表皮, 真皮, 皮下組織によって構成されている. 表皮は角化細胞とエクリン汗管などからなり, それぞれ基底層, 有棘層, 顆粒層, 角質層を形成する基底細胞, 有棘細胞, 顆粒細胞, 角質細胞から構成されている. 皮膚は皮脂や汗でできた皮脂膜で覆われており, 細菌などの侵入や繁殖を防ぐために常に弱酸性に保たれている. また, 人体の約 66%は水分で構成されているため, 体内からの水分の蒸散も防がなければならない. 皮膚表面には, 液性免疫や細胞性免疫による免疫バリア(Immune barrier), 角層細胞と細胞間脂質による水分保持能と物質透過制御に働く物理的バリア(Physical barrier), 抗菌ペプチドや脂質などによる

生化学的バリア(Biochemical barrier)の 3 つの主要なバリア機能が存在する(照井, 2008).

皮膚の免疫バリアのひとつとして、分泌型免疫グロブリン A(Secretory immunoglobulin A; SIgA)が皮膚表面にも存在することが報告されている(Okada et al., 1988). 免疫グロブリン(immunoglobulin; Ig)は、IgA, IgD, IgE, IgG, IgM の 5 つのクラスに分類され、IgA は 1 量体が血漿中に存在し、2 量体が主に粘膜表面などに存在している(Kobayashi, 1986). 2 量体 IgA は上皮で産生され、分泌成分(secretory component; SC)と複合体を形成している. この SC は、上皮細胞が IgA を結合し、上皮上に転送するレセプターとなっていたものであり、重合体の Ig を捕えることから、多量体免疫グロブリン受容体(polymeric immunoglobulin receptor; pIgR)と呼ばれる(Tomasi and Plaut, 1985). SC は、IgA をタンパク質分解酵素から保護する役目がある. これらの複合体である SIgA は粘膜上皮細胞(口腔咽頭粘膜、消化管粘膜、鼻腔粘膜など)から分泌される(Mucosal-SIgA)以外に、皮膚のエクリン汗腺上皮細胞から分泌されている(Dermal-SIgA). Mucosal-SIgA は、粘膜面の病原性微生物の侵入に対する初期防御機構として働いており(Lamm et al., 1995), Mucosal-SIgA によってオプソニン化された黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*; *S.aureus*)は多形核白血球によって有意に貪食される(Gorter et al., 1987). また、黄色ブドウ球菌数は汗管開口部では低値を示すため、Dermal-SIgA は Mucosal-SIgA と同様に、皮膚表面の病原性微生物に対する初期防御機構として働いていると考えられる(Goto et al., 1995). アトピー性皮膚炎患者の Dermal-SIgA は健常人と比較して低値を示し(Imayama et al., 1994), 黄色ブドウ球菌が日常的にコロニー形成をしていると報告されている(Hauser et al., 1985; Nilsson et al., 1992). 従って、Dermal-SIgA が皮膚感染症の罹患リスクに関与している可能性が考えられる.

皮膚の物理的バリアの主体である角質層は、細菌や異物などの外的刺激を防御しているとともに、体外への過剰な水分蒸散を防ぐ働きを担っている. このような皮膚

の物理的なバリア機能の指標として角質水分量が用いられている(田上, 2005). 皮膚の過度な湿潤および乾燥はいずれも皮膚感染症の罹患リスクを増大させる因子であると考えられている(Bibel et al., 1989; Lodén et al., 1992; Champion and Parish, 1986; Leung et al., 1987). 黄色ブドウ球菌や溶血性連鎖球菌のコロニー形成は角質層の含水量に応じて増加することが知られており(Bibel et al., 1989), 臨床的にも湿潤した皮膚では感染が生じやすく, 腋窩, 乳房下部, 鼠径部, 足底表面などの摩擦部位は皮膚感染症の好発部位である. 一方, 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(Lodén et al., 1992). 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 and Parish, 1986; Leung et al., 1987). 従って, 皮膚の乾燥も皮膚感染症の易感染性に関与すると考えられている.

ディフェンシン(Defensin)は皮膚表面に発現している抗菌ペプチドであり, 皮膚の生化学的バリアにおいて主要な役割を担っている(Ganz and Lehrer, 1994; Lehrer et al., 1993). ディフェンシンは分子量約 3~4kDa の陽性荷電したペプチドで, 構造により α -defensin (human neutrophil peptides: HNP-1 to HNP-3), β -defensin (HBD-1 to HBD-4) and θ -defensin に分類される(Ganz, 2003). 皮膚では α -defensin は好中球が, β -defensin は表皮角化細胞が産生する(Ganz and Lehrer, 1995). ディフェンシンは, 細菌, 真菌, ウイルスなど広範囲に抗菌スペクトルをもち(Ganz, 1999), 病原性微生物の脂質二重層の疎水性コアを破壊することで抗菌作用を発揮することが知られている(Oren et al., 1999; Schaller et al., 2000). Human β -defensin 2 (HBD-2)は, ブドウ球菌, 大腸菌, 緑膿菌などの菌体成分や(Dinulos et al., 2003), tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-1 β による刺激で表皮細胞からの発現が誘導される(Harder

et al., 2000). アトピー性皮膚炎患者の皮膚では, HBD-2 の発現が蛋白, 遺伝子レベルともに減少しており, アトピー性皮膚炎病変部で黄色ブドウ球菌が多く検出される原因のひとつと考えられている(Yang et al., 1999).

黄色ブドウ球菌による皮膚感染症はアスリートに頻繁に発生しており, 免疫バリアの Dermal-SIgA, 物理的バリアの指標である角質水分量, 生化学的バリアの皮膚 HBD-2 がそれぞれ皮膚感染症の感染防御に重要な役割を担っていると考えられる。しかしながら, Dermal-SIgA, 角質水分量, 皮膚 HBD-2 と運動の関係を検討した研究はなく, 未だに明らかになっていない。

1-1-2. 上気道感染症防御機能に対する運動の影響

アスリートにおいて最も罹患頻度の高い疾患として上気道感染症が知られており, 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, 2000). ソウルオリンピックにおける日本選手団の報告によると, 大会期間中の受診理由の約 4 割が感染症であり, その大多数が上気道感染症であった(河野, 1992). また, 530 名のランナーを対象に 1 年間のコホート研究を行った研究では, トレーニング量と上気道感染症の発症率に正の相関があることが示されている(Heath et al., 1991). 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。

上気道感染症は, 中高齢者においても特に発症率が高く深刻な疾病とされている(Houston et al., 1997). 中高齢者では加齢にともなって免疫機能が低下し, 感染症が重症化しやすいとされている(Akama et al., 2003). 上気道感染症の進行は, 肺炎などの下気道感染症を併発し, 肺炎による死亡率は加齢に伴って急増することが示されている(人口動態統計 2011). 従って, 上気道感染症の予防はアスリートのコンディショニングだけでなく, 中高齢者の健康維持にも重要であると考えられる。

唾液中にも皮膚表面と同様に SIgA が分泌されており、上気道感染症の初期防御機構として働くと考えられている。唾液 SIgA レベルと上気道感染症罹患には関連性が認められている(Fahlman, 2005; Gleeson et al., 1999; Klentrou et al., 2002; Nakamura et al., 2006)。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)。また、加齢によって唾液 SIgA レベルは低下し、中高齢者の上気道感染症罹患リスクを高める主な原因のひとつであると考えられている(Miletic et al., 1996; Tanida et al., 2001)。唾液 SIgA は運動によって変動し、高強度運動による一過性の低下や(Mackinnon and Hooper, 1994; Akimoto et al., 1998)、高強度トレーニングによる慢性的な低下が報告されている(Akimoto et al., 1998)。一方で、中等度の継続性トレーニングが唾液 SIgA レベルを増加させることが示されているが(赤間ら, 2005; Akimoto et al., 2003)、低・中強度の一過性運動では変動しないと報告されている(McDowell et al., 1991; Allgrove et al., 2008)。唾液 SIgA は心理ストレスに対しても応答し(Bistow et al., 1997; Bosch et al., 2001)、リラクゼーション効果によって増加することが示されている(Knight and Rickard, 2001; Wardell and Engebretson, 2001)。故に、中高齢者を対象とした低強度運動であっても、リラクゼーション効果を伴う運動は唾液 SIgA 分泌を増加させる可能性が考えられるが、未だに検討がなされていない。

また、HBD-2 も口腔内や気道の上皮細胞から唾液中に発現しており、感染症に対する初期防御機構として働いていると考えられている(Ganz 2003)。唾液 HBD-2 は高強度運動後に増加することが報告されているが(Usui et al., 2011)、低・中強度運動による変動は検討されていない。唾液 HBD-2 も心理ストレスに応答し、ストレスホルモンであるグルココルチコイドによって発現が抑制されることや(Tomita et al. 2002; McDermott et al. 2003; Starner et al. 2005)、グルココルチコイドの一種であるコルチゾ

ールと負の相関を示すことが報告されている(Usui et al., 2011). 従って, 唾液 HBD-2 においても, リラクゼーション効果を伴う運動は免疫機能の亢進に寄与する可能性が考えられる.

1-2. 本研究の目的, 構成

1-2-1. 皮膚バリア機能に対する運動の影響

本研究では, Dermal-SIgA, 角質水分量, 皮膚 HBD-2 を用いて高強度運動が皮膚バリア機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とし、以下の課題を設けた(研究課題 1, 2, 3).

研究課題 1. 高強度持久性運動による Dermal-SIgA および細菌数の関連性を示す.

研究課題 2. 高強度持久性運動による角質水分量および心理状態に及ぼす影響を明らかにする.

研究課題 3. 一過性高強度運動後の Dermal-SIgA, 角質水分量, 皮膚 HBD-2, 細菌数の経時的変化を示す.

1-2-2. 口腔内の局所粘膜免疫能に対する運動の影響

唾液 SIgA, 唾液 HBD-2 を用いて中高齢者の口腔内局所免疫機能に対するリラクゼーションを目的とした低強度運動の影響を明らかにすることを目的とし、以下の課題を設けた(研究課題 4, 5).

研究課題 4. ストレッチングヨガが唾液 SIgA および心理状態の関連性を示す.

研究課題 5. ストレッチングヨガが唾液 HBD-2 発現に及ぼす影響を明らかにする.

これらの研究課題を明らかにすることで、アスリートのコンディション評価に有用な指標を確立するための知見を提供でき、一方で、中高齢者の健康維持増進のためのより安全で効果的な身体活動プログラムを策定するための知見が提供できると考える.

第 2 章. 研究課題 1: 高強度持久性運動が皮膚の分泌型免疫グロブリン A および細菌数に及ぼす影響

2-1. 緒言

実際のスポーツ現場では、アスリートが様々な皮膚感染症に罹患している。特に多い皮膚感染症として、黄色ブドウ球菌による感染症が知られている。黄色ブドウ球菌は選手同士の接触やスポーツ用具の接触により感染し、黄色ブドウ球菌感染症はフットボールやバスケットボール、ラグビー、ホッケー、レスリングなどのコンタクトスポーツで多くみられる感染症である(Adams, 2002)。皮膚感染症はアスリートのパフォーマンスや試合への出場に影響を及ぼす可能性が考えられるが、皮膚コンディション評価に有用な指標は未だに確立されていない。

免疫バリアのひとつとして、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; Goto et al., 1995)。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。しかしながら、Dermal-SIgA の分泌に関する研究は少なく、運動が Dermal-SIgA に与える影響について検討したものは無い。

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 and Engels, 2005)、Dermal-SIgA も同様に皮膚感染症の罹患リスクを評価する指標として有用であると考えられる。また、Dermal-SIgA は、簡便かつ非侵襲的に短時間で測定が可能のため、アスリートにおける皮膚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。従って、本研究では、高強度持久性運動が Dermal-SIgA および細菌数に及ぼす影響について明らかにすることを目的とした。

2-2. 方法

2-2-1. 対象者

本研究は、健康な成人男性 7 名(age; 22.3 ± 2.0 years)を対象とした。対象者の身体組成は **Table 2-1** 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。

2-2-2. 実験手順

実験の概要を **Figure 2-1** に示す。実験は、18:00 に集合し、18:30 から翌日 7:00 までの測定を連続した 2 日で実施した。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(安静日)の 20:30 (安静前; pre), 21:30 (安静後; post), 22:30 (シャワー入浴後; after shower), 翌朝 7:00 (翌朝; next morning), 2 日目(運動日)の 20:30 (運動前; pre), 21:30 (運動後; post), 22:30 (シャワー入浴後; after shower), 翌朝 7:00 (翌朝; next morning)において計 8 回実施した。

Table 2-1. Body composition of participants (n=7)

Age (years)	22.3 ± 2.0
Height (cm)	174.8 ± 7.4
Body weight (kg)	67.6 ± 7.6
BMI (kg/m ²)	22.1 ± 1.8
Body fat percentage (%)	16.1 ± 4.4

Values are expressed as means ± SD; BMI, body mass index.

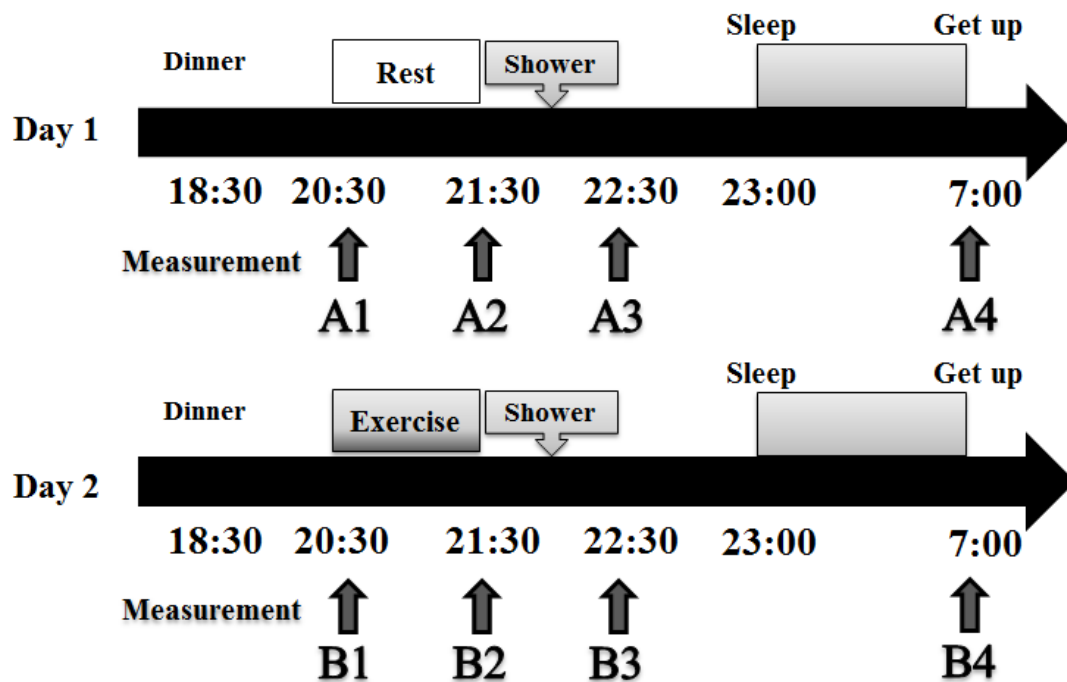


Figure 2-1. Experimental protocol. The measurements were carried out, on the first day (Day 1), at 20:30 (Before rest; A1), 21:30 (After rest; A2), 22:30 (After shower; A3), next morning at 7:00 (A4), and on the second day (Day 2), at 20:30 (Before exercise; B1), 21:30 (After exercise; B2), 22:30 (After shower; B3), next morning at 7:00 (B4).

2-2-3. 運動負荷

対象者は、事前に自転車エルゴメーター(75XL III; コンビウエルネス, 東京)の体力テストのプログラムを使用して、運動中の脈拍値と負荷値をそれぞれサンプリングして直線回帰を求め、内蔵されている多数の負荷値と酸素摂取量の男女別平均の関係式のデータを合成することによって最大心拍数(HRmax)を求めた。体力テストは、エルゴメーターに座り、1 分間の安静後に 15W/min 漸増のランプ負荷運動を 75%HRmax に至るまで行い、75%HRmax における仕事率(PWC75%HRmax)を測定した。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°C、湿度 35%の環境下で実施した。

2-2-4. 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, 京都)を用いて、室温、湿度および湿球黒球温度(WBGT)を測定した。

2-2-5. 皮膚試料の採取

皮膚試料は胸部中央(Ch)および前腕内側部(Fa)より採取した。皮膚表面に内径 28 mmのポリプロピレン管(Centrifuge Tubes; AGC Techno Glass, Chiba)を置き、抽出液を 1 mL入れた後、電動ミキサー(23M; As One, Osaka, Japan)を用いて 9,000 rpmで 1 分間攪拌したものを採取した(**Figure 2-2**)。A1, A3, B1, B3 ではChest (Ch)1 とForearm (Fa)1 を用い、A2, A4, B2, B4 ではCh2 とFa2 を用いて胸部および前腕における皮膚試料を採取した(**Figure 2-3**)。本測定方法で用いる隣接する 2 地点は、7 名の健康な成人男性(age; 22.1 ± 1.6 years)を対象として検討されている。Dermal-SIgA濃度は、Ch1 (12.71 ± 8.75 ng·mL⁻¹)とCh2 (13.14 ± 9.39 ng·mL⁻¹) (p = 0.813; paired t-test),

Fa1 ($1.50 \pm 0.76 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)とFa2 ($1.63 \pm 0.92 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) ($p = 0.598$; paired t-test)で有意差がないことが示された. 抽出液の成分は, 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dehydrate (Sigma, St Louis, MO), phosphate buffered saline containing 1% bovine serum albumin (Sigma, St Louis, MO), and 0.05% Tween 20 (Promega, Madison, WI)とした. 採取した皮膚試料はDermal-SIgA濃度の測定に用いた後, $-50 \text{ }^\circ\text{C}$ で凍結保存した.

2-2-6. Dermal-SIgA の定量

Dermal-SIgA 濃度は enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)法を用いて測定した. 96-well microtitre plate (Immulon II; Dynex Technologies, Chantilly, VI)に, sodium carbonate (Kanto Chemical, Tokyo, Japan)と sodium hydrogen carbonate (Kanto Chemical, Tokyo, Japan)で構成された coating buffer で 500 倍希釈した anti-secretory component Ab-2 mouse monoclonal antibody (Thermo Fisher Scientific, Fremont, CA)を各ウェルに 100 μL ずつ加え, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 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% bovine serum albumin (BSA) in phosphate buffered saline (PBS)を 250 μL ずつ加え, 室温で 2 時間ブロッキングした. 凍結保存してある皮膚試料を解凍し, 5,000 rpm で 10 分間遠心分離した後, 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 (MP Biomedicals, Illkirch, France)を各ウェルに 100 μL ずつ加え, plate shaker (Nissinrika, Tokyo, Japan)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 specific; Vector Laboratories, Burlingame, CA)を各ウェルに 100 μL 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 500 倍希釈した high sensitivity streptavidin HRP (Thermo Fisher Scientific, Fremont, CA)を各ウェルに 100 μL 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,

citric acid monohydrate (Kanto Chemical, Tokyo, Japan), disodium hydrogenphosphate 12-water (Kanto Chemical, Tokyo, Japan), hydrogen peroxide (Kanto Chemical, Tokyo, Japan), o-phenylenediamine dihydrochloride (Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan)で構成された substrate solution を 100 μ L ずつ加え 10 分間室温で反応させた. その後, sulfuric acid (Kanto Chemical, Tokyo, Japan)を 50 μ L ずつ加え反応を停止させた. 492 nm の吸光度を microplate reader (MTP-800; Corona Electric, Hitachinaka, Japan)によって測定した. 標準物質の human secretory IgA で検量線を作成し, Dermal-SIgA 濃度を求めた.

2-2-7. 皮膚表面細菌数の測定

皮膚表面に存在するブドウ球菌は, agar-based media composed of tellurite-glycine-salt-egg yolk (Food Stamp; Nissui Pharmaceutical, Tokyo, Japan)を胸部(Ch)および前腕(Fa)の皮膚表面に押し付ける方法を用いて測定した(久木留ら, 2000). A1, A3, B1, B3 では Ch3 と Fa3 を用い, A2, A4, B2, B4 では Ch4 と Fa4 を用いて胸部および前腕におけるブドウ球菌を採取した(**Figure 2-3**). 本測定方法で用いる隣接する 2 地点は, 7 名の健康な成人男性(age; 22.1 ± 1.6 years)を対象として検討されている. ブドウ球菌数は, Ch3 (5.00 ± 5.75 CFU)と Ch4 (4.71 ± 7.80 CFU) ($p = 0.872$; paired t-test), Fa3 (2.75 ± 2.71 CFU)と Fa4 (2.88 ± 1.64 CFU) ($p = 0.882$; paired t-test)で有意差がないことが示された. 培養条件は CO₂ incubator (B111-9; Sanyo Electric, Osaka, Japan)を用いて 37 °C で 3 日間とした. 培養後, コロニー数を肉眼でカウントし, 周囲の培地が白濁している黒色コロニーを黄色ブドウ球菌(*S. aureus*), 白濁していない黒色コロニーをコアグララーゼ陰性ブドウ球菌(*coagulase-negative staphylococcus*)として判別し, その合計をブドウ球菌数(staphylococci)として colony forming unit (CFU)を用いて表した.

2-2-8. 統計処理

各測定値は、平均値±標準偏差で示した。測定値は、反復測定による一元配置分散分析を用いて解析し、Post-hoc テストとして Tukey-Kramer 法の多重比較検定を行った。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。統計処理は統計解析ソフト SPSS 14.0 J for Windows を用いて行い、有意水準はいずれも5%未満とした。

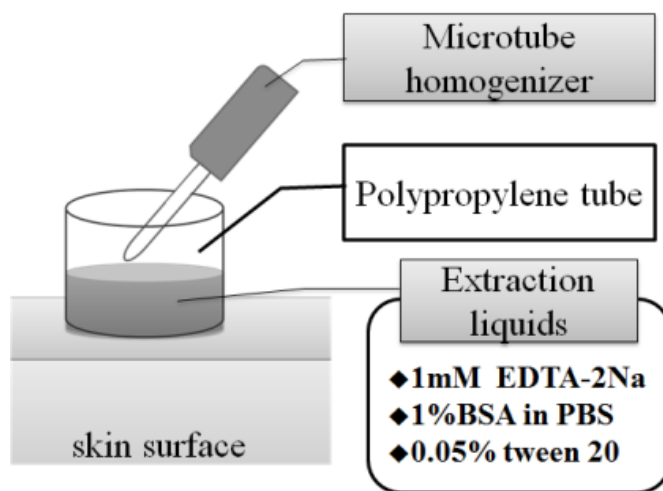


Figure 2-2. Skin surface SIgA collection. First, the open end of a polypropylene tube was placed on the skin surface. Second, 1 mL of extraction liquid was poured into the tube. Finally, the liquid was stirred at 9,000 rpm with a microtube homogenizer for 60 s and collected.

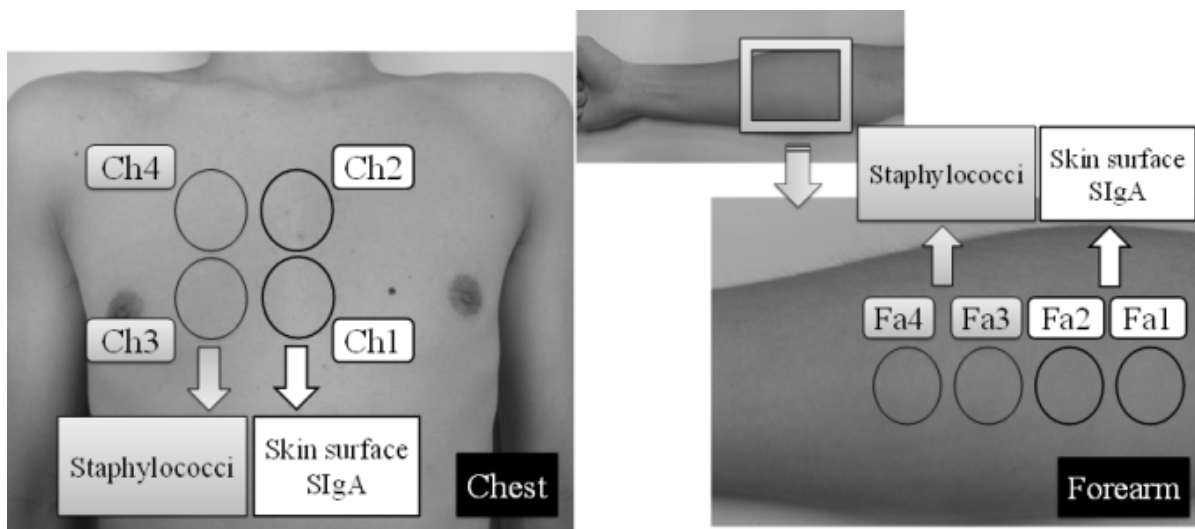


Figure 2-3. Skin-SIgA and staphylococci collection sites. Skin-SIgA was collected from Ch1 and Fa1 at A1 (Before rest), A3 (After shower), B1 (Before exercise), and B3 (After shower), and Ch2 and Fa2 at A2 (After rest), A4 (Next morning), B2 (After exercise), and B4 (Next morning). Staphylococci were harvested from Ch3 and Fa3 at A1, A3, B1, and B3, and Ch4 and Fa4 at A2, A4, B2, and B4.

2-3. 結果

2-3-1. 環境条件

各測定日の環境条件の結果を **Table 2-2** に示す。安静日と運動日のいずれの時点においても WBGT, 室温, 湿度に有意差は認められなかった。また, 安静日と運動日におけるいずれの環境条件も交互作用は認められなかった。

2-3-2. Dermal-SIgA 濃度

1 日目(安静日)における胸部のDermal-SIgA濃度は, 17.29 ± 13.55 (A1), 12.43 ± 11.46 (A2), 4.14 ± 7.56 (A3), 8.00 ± 10.91 ng·mL⁻¹ (A4)であり, 有意な変動を示さなかった(**Figure 2-4a**)。2 日目(運動日)における胸部のDermal-SIgA濃度は, 39.00 ± 47.38 (B1), 2.57 ± 2.23 (B2), 2.00 ± 3.16 (B3), 16.00 ± 38.82 ng·mL⁻¹ (B4)であり, 運動後(B2; $p = 0.084$)およびシャワー入浴後(B3; $p = 0.075$)に運動前(B1)と比べて低下する傾向がみられた(**Figure 2-4b**)。

1 日目(安静日)における前腕のDermal-SIgA濃度は, 3.29 ± 2.75 (A1), 3.00 ± 3.00 (A2), 0.71 ± 0.76 (A3), 1.86 ± 1.46 ng·mL⁻¹ (A4)であり, 有意な変動を示さなかった(**Figure 2-4c**)。2 日目(運動日)における前腕のDermal-SIgA濃度は, 3.43 ± 2.37 (B1), 1.29 ± 1.11 (B2), 0.29 ± 0.49 (B3), 1.29 ± 0.95 ng·mL⁻¹ (B4)であり, 運動後(B2; $p < 0.05$)およびシャワー入浴後(B3; $p < 0.05$)に運動前(B1)と比べて有意に低値を示した(**Figure 2-4d**)。

2-3-3. ブドウ球菌数

胸部のブドウ球菌数は, 1 日目(安静日)に 11.29 ± 12.12 (A1), 10.00 ± 14.35 (A2), 20.43 ± 20.90 (A3), 9.57 ± 17.11 CFU (A4)であり, 2 日目(運動日)に 8.14 ± 8.69 (B1), 33.43 ± 49.14 (B2), 16.71 ± 7.95 (B3), 17.00 ± 33.26 CFU (B4)であった。1 日目

(Figure 2-5a)と2日目(Figure 2-5b)のいずれにおいても、ブドウ球菌数に有意な変動は認められなかった。

1日目(安静日)における前腕のブドウ球菌数は、 2.29 ± 1.25 (A1), 1.71 ± 2.87 (A2), 15.43 ± 11.91 (A3), 3.57 ± 4.79 CFU (A4)であり、有意な変動を示さなかった(Figure 2-5c)。2日目(運動日)における前腕のブドウ球菌数は、 2.57 ± 1.40 (B1), 23.14 ± 21.24 (B2), 8.00 ± 3.65 (B3), and 3.29 ± 3.04 CFU (B4)であり、運動後(B2)に運動前(B1; $p < 0.01$)および翌朝(B4; $p < 0.01$)と比べて有意に高値を示した(Figure 2-5d)。

Table 2-2. The values of environmental condition at each measurement points (n=7).*†

Day 1	A1	A2	A3	A4
WBGT	19.1 ± 1.0	19.1 ± 0.7	19.5 ± 0.9	18.9 ± 0.7
Temperature (°C)	25.0 ± 0.9	24.9 ± 0.7	25.3 ± 0.5	24.9 ± 0.2
Humidity (%)	36.5 ± 5.3	36.7 ± 5.9	35.2 ± 6.0	35.7 ± 4.7

Day 2	B1	B2	B3	B4
WBGT	19.2 ± 0.8	19.1 ± 0.7	19.4 ± 0.7	19.0 ± 0.8
Temperature (°C)	24.9 ± 0.5	24.8 ± 0.8	25.2 ± 0.4	25.1 ± 0.3
Humidity (%)	37.0 ± 4.9	37.6 ± 6.3	36.9 ± 5.7	34.7 ± 4.6

*WBGT = Wet bulb globe temperature; A1 = Before rest; A2 = After rest; A3 = After showering; A4 = Next morning in Day 1, B1 = Before exercise; A2 = After exercise; A3 = After showering; A4 = Next morning in Day 2.

†Values are expressed as means ± SD.

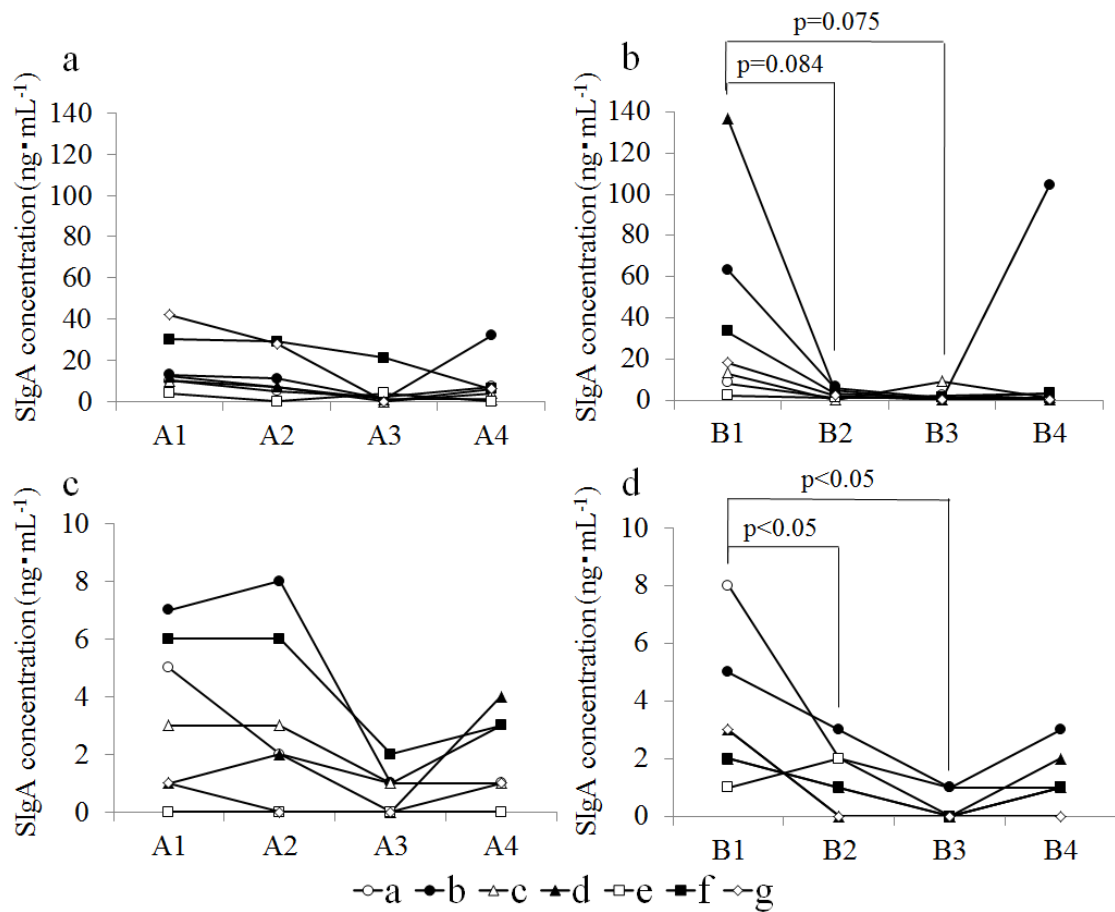


Figure 2-4. Individual response data of SIgA concentration on the middle chest (Ch) in Day 1 (a) and Day 2 (b) and the medial side of the forearm (Fa) in Day 1 (c) and Day 2 (d). A1 = Before rest, A2 = After rest, A3 = After showering, A4 = Next morning in Day 1, B1 = Before exercise, B2 = After exercise, B3 = After showering, B4 = Next morning in Day 2. Values are expressed as means \pm SD.

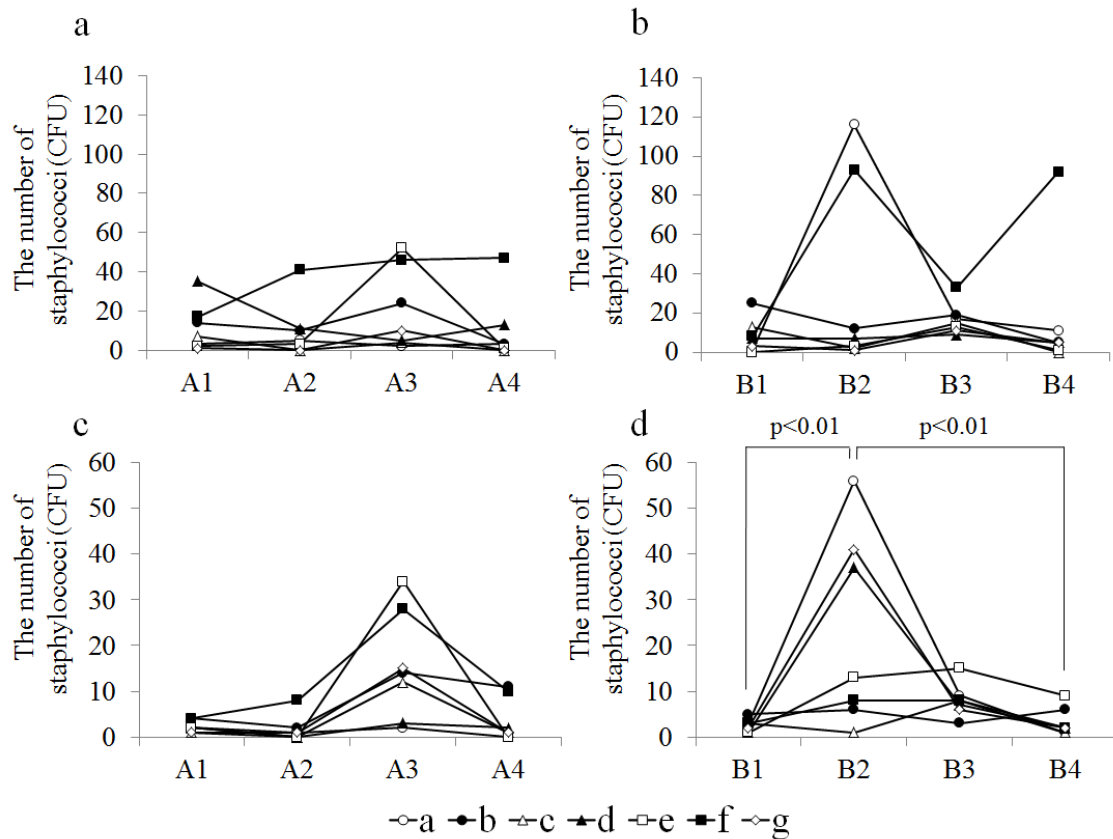


Figure 2-5. Individual response data of staphylococci on the middle chest (Ch) in Day 1 (a) and Day 2 (b) and the medial side of the forearm (Fa) in Day 1 (c) and Day 2 (d). A1 = Before rest, A2 = After rest, A3 = After showering, A4 = Next morning in Day 1, B1 = Before exercise, B2 = After exercise, B3 = After showering, B4 = Next morning in Day 2. Values are expressed as means \pm SD.

2-4. 考察

本研究では、75%HRmax 負荷で 60 分間の自転車ペダリング運動が Dermal-SIgA 濃度を減少させ、皮膚表面のブドウ球菌数を増加させることが明らかになった。従って、高強度持久性運動が皮膚表面の免疫バリアを低下させ、皮膚感染症の罹患リスクを増大させる可能性が考えられる。

WBGT ($p=0.869$), 気温($p=0.707$), 湿度($p=0.978$)が、A1 から B4 までの各測定時点において有意差がみられなかったことから、本研究の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 (Kobayashi, 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)。アトピー性皮膚炎患者を対象とした研究では、Dermal-SIgA 濃度が健常者よりも低く (Imayama et al., 1994)、黄色ブドウ球菌が日常的にコロニー形成をしていることが報告されている (Hauser et al., 1985; Nilsson et al., 1992)。

本研究では、運動前(B1)と比較して運動後(B2)およびシャワー入浴後(B3)において胸部 SIgA 濃度に減少傾向がみられ、前腕 SIgA 濃度に有意な減少が認められた。胸部では、対象者 7 名すべての Dermal-SIgA 濃度が運動後(B2)およびシャワー入浴後(B3)に低下した。前腕の Dermal-SIgA 濃度において、6 名が運動後(B2)に低下し、7 名すべてがシャワー入浴後(B3)に低下した。Dermal-SIgA は、運動時の発汗やシャワーによって洗い流されたために減少したと推察される。また、高強度持久性運動が Dermal-SIgA の分泌を減少させた可能性も考えられる。唾液 SIgA に関する研究では、高強度持久性運動が SIgA の分泌を減少させることが報告されている (Akimoto et al., 1998; Mackinnon et al., 1987; Mackinnon and Hooper, 1994)。IgA は

粘膜固有層の形質細胞で産生され、二量体の IgA に結合する polymeric immunoglobulin receptor (pIgR)の断片が secretory component となった後、上皮細胞より SIgA が分泌される(Mostov et al., 1984). 一過性の高強度運動が pIgR の発現を減少させることが報告されており、SIgA 分泌量の低下に関与していると考えられている(Kimura et al., 2008). Dermal-SIgA も唾液 SIgA と同様のメカニズムでエクリン汗腺より分泌されている(Goto et al., 1995; Okada et al., 1988). 従って、高強度持久性運動が唾液 SIgA のように Dermal-SIgA の分泌を減少させ、皮膚感染症の易感染性に関与する可能性が考えられる.

黄色ブドウ球菌による皮膚感染症は、アスリートにとって重要な問題であり(Bartlett et al., 1982; Lindenmayer et al., 1998; Sosin et al., 1989), パフォーマンス低下の要因となる危険性がある(Brenner et al., 1994; Fontanilla et al., 2010; Pecci et al., 2009). Bartlett et al. (1982)は、フットボール選手の皮膚の黄色ブドウ球菌が練習後に増加することを報告しており、選手同士やスポーツ用具との接触が皮膚感染症の感染経路であると考えられている. 本研究では、黄色ブドウ球菌とコアグララーゼ陰性ブドウ球菌の総数をブドウ球菌数として評価した. 前腕のブドウ球菌数は運動前(B1)および翌朝(B4)と比較して運動後(B2)に有意に高い値を示した. 6 名の対象者における前腕ブドウ球菌数が運動後(B2)に増加した. ブドウ球菌は皮膚の常在菌であり、運動時の発汗によって毛穴から出現したと推測される. Yamada et al. (1991)は、ブドウ球菌が水や洗浄剤による洗浄後にも存続し、スキンプラシによる洗浄が皮膚表面を傷つけ、毛穴からのブドウ球菌の出現を促進すると報告している. 本研究におけるシャワー入浴前後のブドウ球菌数に有意な変動がみられなかったのも同様の要因が考えられる. 胸部のブドウ球菌数においては、運動前後に 3 名が増加、3 名が減少、1 名が変動せず、全体で有意な変動がみられなかった. 対象者は半袖のシャツを着て運動を実施しており、3 名の胸部ブドウ球菌数はシャツによって拭き取られたため減少したと推察される. また、3 名の胸部ブドウ球菌数は増加しているため、対象者を増やし、

運動時に上半身に衣類を着ない状態で詳細に検討を行う必要がある。一方で、前腕は外部に露出されており、着衣との接触はなかった。また、自転車エルゴメーターからの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、運動中もタオル等で測定部位を拭かないように十分に配慮した。故に、前腕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。以上のことから、コンタクトスポーツだけでなく、ノンコンタクトスポーツにおいても皮膚表面のブドウ球菌が増加し、皮膚感染症の罹患リスクが高まる危険性が考えられる。シャワー入浴は、皮膚表面を強く洗浄しなければ(Yamada et al., 1991)、皮膚感染症の予防に効果的であるが(Yamaguchi, 2007)、特に若いアスリートはスポーツ活動後のシャワー入浴に関する指導を十分に受けていないことが知られている(Hirose et al., 2008)。従って、コーチやサポートスタッフは、選手の皮膚感染症を予防するために、スポーツ活動後の迅速なシャワー入浴を選手に推奨していくべきだと考えられる。

2-5. 結論

60 分間の高強度持久性運動が Dermal-SIgA 濃度を低下させ、ブドウ球菌数を増加させることが明らかになった。従って、高強度持久性運動が皮膚表面の免疫バリアを低下させ、皮膚感染症の罹患リスクを増大させる可能性が考えられる。

第3章. 研究課題2: 高強度持久性運動が皮膚の角質水分量および心理状態に及ぼす影響

3-1. 緒言

皮膚の物理的バリア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(田上, 2005). アトピー性皮膚炎患者では, 皮膚の角質水分量が低く(Lodén et al., 1992), 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 and Parish, 1986; Leung et al., 1987). 角質水分量は心理ストレスによって影響を受けることも知られており(林田ら, 2006), 特に Profile of Mood States (POMS) の抑うつ(Depression; D)得点と皮膚状態が強い負の相関関係を示すと報告されている(針谷ら, 2000).

角質水分量の測定には, 皮表に微弱電流を通電したときの抵抗を表す伝導度や電気容量を計測する方法が用いられている(菊池, 2008). 故に, 角質水分量は, 簡便かつ非侵襲的に短時間で測定が可能なため, アスリートの皮膚コンディション評価の有用な指標と考えられる. しかしながら, これまでに運動が角質水分量に及ぼす影響について検討した報告はなく, 未だに明らかになっていない. そこで, 本研究では一過性の高強度持久性運動が角質水分量および心理状態に与える影響について検討した.

3-2. 方法

3-2-1. 対象

本研究は, 健康な成人男性7名(age; 22.3 ± 2.0 years, height; 174.8 ± 7.4 cm, body mass; 67.6 ± 7.6 kg, body fat percentage; 16.1 ± 4.4 %, body mass index; $22.1 \pm$

1.8 kg・m²)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。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。

3-2-2. 実験手順

実験は研究課題 1 と同様に実施し、概要を **Figure 3-1** に示す。実験は、18:00 に集合し、18:30 から翌日 7:00 までの測定を連続した 2 日で実施した。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(安静日)の 20:30 (安静前; pre), 21:30 (安静後; post), 22:30 (シャワー入浴後; after shower), 翌朝 7:00 (翌朝; next morning), 2 日目(運動日)の 20:30 (運動前; pre), 21:30 (運動後; post), 22:30 (シャワー入浴後; after shower), 翌朝 7:00 (翌朝; next morning)において計 8 回実施した。

3-2-3. 運動負荷

対象者は、事前に自転車エルゴメーター(75XL III; コンビウエルネス, 東京)の体力テストのプログラムを使用して、運動中の脈拍値と負荷値をそれぞれサンプリングして直線回帰を求め、内蔵されている多数の負荷値と酸素摂取量の男女別平均の関係式のデータを合成することによって最大心拍数(HRmax)を求めた。体力テストは、エルゴメーターに座り、1 分間の安静後に 15W/min 漸増のランプ負荷運動を 75%HRmax に至るまで行い、75%HRmax における仕事率(PWC75%HRmax)を測定した。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°C、湿度 35%の環境下で実施した。

3-2-4. 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, 京都)を用いて, 室温, 湿度および湿球黒球温度(WBGT)を測定した.

3-2-5. 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, 東京)を用いた(McNair et al., 1971; Yokoyama et al., 1990). 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.

3-2-6. 角質水分量の測定

角質水分量の測定はモイスチャーチェッカー(MY-808S; スカラ, 東京)を用いて実施した. モイスチャ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. モイスチャーチェッカーは, センサーを皮膚表面に軽くあて, パーセント表示された数値から角質水分量を求めるため, 簡便かつ非侵襲的に測定可能な装置であり, 様々な先行研究で使用されている(Asano-Kato et al., 2001; Matsumoto et al., 2007). 測定部位は, 胸部および前腕内側部を用いた. 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(Lee and Shimagami, 2006)を用いた. 本研究では, モイスチャーチェッカーによる角質水分量の測定値の信頼性分析を級内相関係数(intraclass correlation coefficient; ICC)を用いて行った. ICCが0.75以上であれば, その測定における信頼性は良好であると考えられている. モイスチャーチェッカーによ

る角質水分量の測定値は、胸部で ICC=0.860、前腕で ICC=0.937 を示し、非常に高い信頼性を示した。

3-2-7. 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(Moriya and Ohira, 2009)。安静時の体重減少は、呼気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, 東京)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, 東京)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。

3-2-8. 統計処理

各測定値は、平均値±標準偏差で示した。測定値は、反復測定による二元配置分散分析を用いて解析し、有意差が認められた場合は、Post-hoc テストとして Dunnett 法の多重比較検定を行った。統計処理は統計解析ソフト SPSS 14.0 J for Windows を用いて行い、有意水準はいずれも 5% 未満とした。

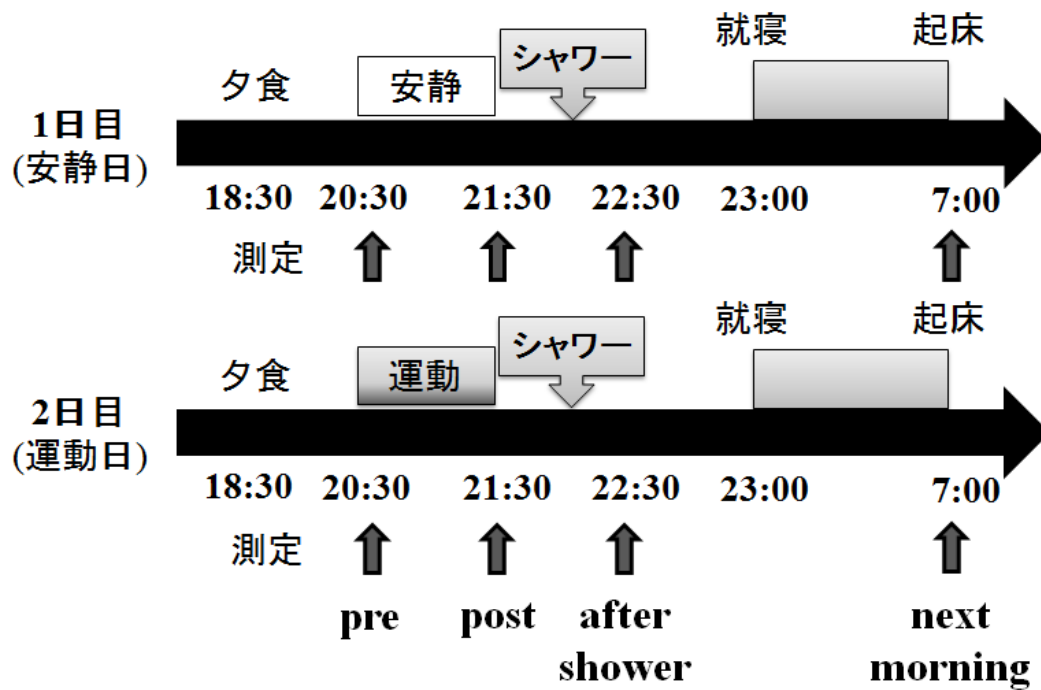


Figure 3-1. Experimental protocol. The measurements were carried out, on the first day (Day 1), at 20:30 (Before rest; pre), 21:30 (After rest; post), 22:30 (After shower), next morning at 7:00 (Next morning), and on the second day (Day 2), at 20:30 (Before exercise; pre), 21:30 (After exercise; post), 22:30 (After shower), next morning at 7:00 (Next morning).

3-3. 結果

3-3-1. 環境条件

各測定日の環境条件の結果を **Table 3-1** に示す。安静日と運動日のいずれの時点においても WBGT, 室温, 湿度に有意差は認められなかった。また, 安静日と運動日におけるいずれの環境条件も交互作用は認められなかった。

3-3-2. 心理状態

Table 3-2 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)は, 安静日の安静前(pre)と比較してシャワー入浴後(after shower; $p < 0.05$), 翌朝(next morning; $p < 0.05$)に有意に低値を示し, 運動日の運動前(pre)と比較して運動後(post; $p < 0.05$), シャワー入浴後(after shower; $p < 0.05$), 翌朝(next morning; $p < 0.05$)に有意に低値を示した。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。また, 安静日と運動日におけるいずれの POMS スコアも交互作用は認められなかった。

3-3-3. 角質水分量

各測定日の胸部における角質水分量の比較を **Figure 3-2** に示す。胸部角質水分量は, 安静日の安静前(pre)と比較してシャワー入浴後(after shower; $p < 0.01$)に有意に低値を示し, 運動日の運動前(pre)と比較して運動後(post; $p < 0.01$)に有意に増加した。運動日の胸部角質水分量は, 運動前(pre)と比較してシャワー入浴後(after shower)に低値を示す傾向がみられた($p = 0.073$)。また, post の胸部角質水分量は, 安静日と運動日の間で有意な交互作用が認められ($p < 0.05$), after shower の胸部角質水分量は, 安静日と運動日の間で交互作用を示す傾向がみられた($p = 0.075$)。

各測定日の前腕における角質水分量の比較を **Figure 3-3** に示す。前腕角質水分量は、安静日の安静前(pre)と比較してシャワー入浴後(after shower; $p < 0.01$), 翌朝(next morning; $p < 0.01$)に有意に低値を示し、運動日の運動前(pre)と比較して運動後(post; $p < 0.01$)に有意に増加した。運動日の前腕角質水分量は、運動前(pre)と比較して翌朝(next morning)に低値を示す傾向がみられた($p = 0.055$)。また、post の前腕角質水分量は、安静日と運動日の間で有意な交互作用が認められ($p < 0.05$), next morning の前腕角質水分量は、安静日と運動日の間で交互作用を示す傾向がみられた($p = 0.08$)。

3-3-4. 体水分喪失率

各測定日の体水分喪失率の比較を **Figure3-4** に示す。安静日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。運動日における体水分喪失率は、運動後—シャワー入浴後(post – after shower; $p < 0.01$), シャワー入浴後—翌朝(after shower – next morning; $p < 0.01$) と比較して運動中(pre – post)に有意に高値を示した。また、pre – post ($p < 0.01$), post – after shower ($p < 0.05$)の体水分喪失率は、安静日と運動日の間で有意な交互作用が認められた。

Table 3-1. The values of environmental condition at each measurement points (n=7).*†

Day 1	pre	post	afte shower	next morning
WBGT	19.1 ± 1.0	19.1 ± 0.7	19.5 ± 0.9	18.9 ± 0.7
Temperature (°C)	25.0 ± 0.9	24.9 ± 0.7	25.3 ± 0.5	24.9 ± 0.2
Humidity (%)	36.5 ± 5.3	36.7 ± 5.9	35.2 ± 6.0	35.7 ± 4.7

Day 2	pre	post	afte shower	next morning
WBGT	19.2 ± 0.8	19.1 ± 0.7	19.4 ± 0.7	19.0 ± 0.8
Temperature (°C)	24.9 ± 0.5	24.8 ± 0.8	25.2 ± 0.4	25.1 ± 0.3
Humidity (%)	37.0 ± 4.9	37.6 ± 6.3	36.9 ± 5.7	34.7 ± 4.6

*WBGT = Wet bulb globe temperature; pre = Before rest; post = After rest in Day 1, pre = Before exercise; post = After exercise in Day 2. T-A = Tension-Anxiety; D = Depression; A-H = Anger-Hostility; V = Vigor; F = Fatigue; C = Confusion.

†Values are expressed as means ± SD.

Table 3-2. The scores of POMS at each measurement points (n=7).*†

		POMS scores					
		T-A	D	A-H	V	F	C
Day 1	pre	43.7 ± 5.2	42.3 ± 3.7	40.9 ± 4.0	48.9 ± 7.8	43.0 ± 6.0	45.9 ± 6.1
	post	40.0 ± 4.2	42.9 ± 5.5	40.1 ± 4.2	45.4 ± 9.2	43.0 ± 6.0	44.1 ± 5.2
	after shower	38.0 ± 4.0*	41.1 ± 3.2	39.7 ± 4.1	44.9 ± 8.9	40.6 ± 5.4	44.0 ± 4.6
	next morning	38.3 ± 5.7*	45.4 ± 9.0	40.4 ± 4.0	42.3 ± 8.1	41.3 ± 5.9	44.4 ± 5.3
Day 2	pre	41.9 ± 5.3	42.0 ± 4.4	40.7 ± 4.9	44.4 ± 10.3	40.9 ± 5.9	44.0 ± 3.5
	post	37.4 ± 4.5 [†]	40.3 ± 1.9	41.0 ± 5.5	46.4 ± 15.3	47.3 ± 8.7	43.6 ± 6.1
	after shower	37.9 ± 4.4 [†]	41.9 ± 3.7	40.1 ± 4.2	40.3 ± 7.9	44.6 ± 6.4	44.4 ± 3.6
	next morning	36.6 ± 4.3 [†]	41.9 ± 3.0	39.0 ± 2.9	44.4 ± 6.8	39.3 ± 5.2	43.4 ± 5.0

* p < 0.05 vs pre (Day 1), † p < 0.05 vs pre (Day 2), pre = Before rest; post = After rest in Day 1, pre = Before exercise; post = After exercise in Day 2.

†Values are expressed as means ± SD.

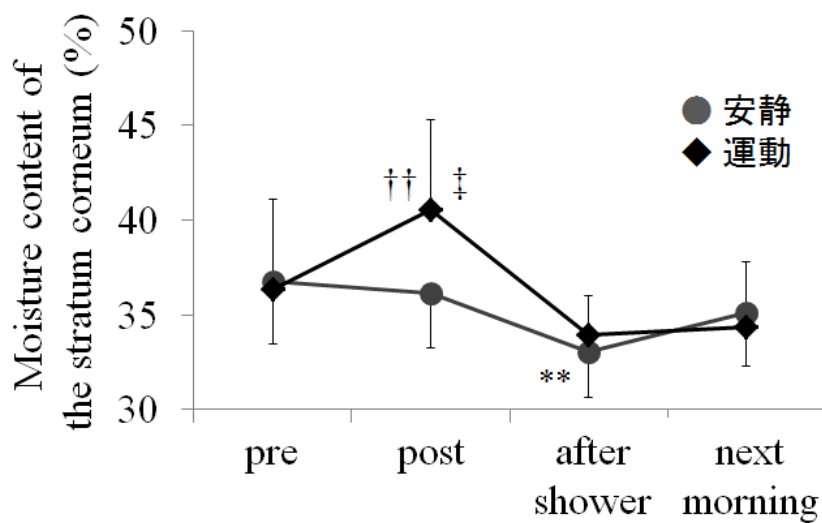


Figure 3-2. Moisture content of the stratum corneum on the chest in Day 1 (Rest) and Day 2 (Exercise). Values are expressed as means \pm SD. ** $p < 0.01$ vs pre (Rest), †† $p < 0.01$ vs pre (Exercise), ‡ $p < 0.05$; Rest vs Exercise. pre = Before rest, post = After rest in Day 1, pre = Before exercise, post = After exercise in Day 2.

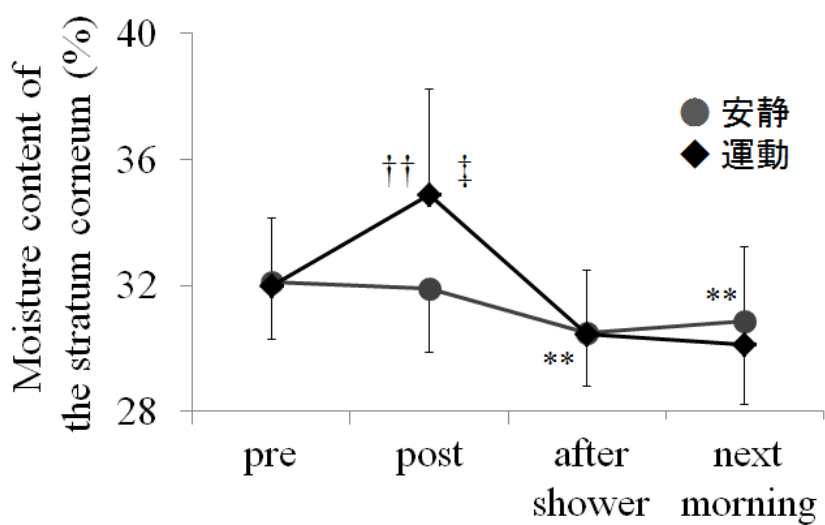


Figure 3-3. Moisture content of the stratum corneum on the forearm in Day 1 (Rest) and Day 2 (Exercise). Values are expressed as means \pm SD. ** $p < 0.01$ vs pre (Rest), †† $p < 0.01$ vs pre (Exercise), ‡ $p < 0.05$; Rest vs Exercise. pre = Before rest, post = After rest in Day 1, pre = Before exercise, post = After exercise in Day 2

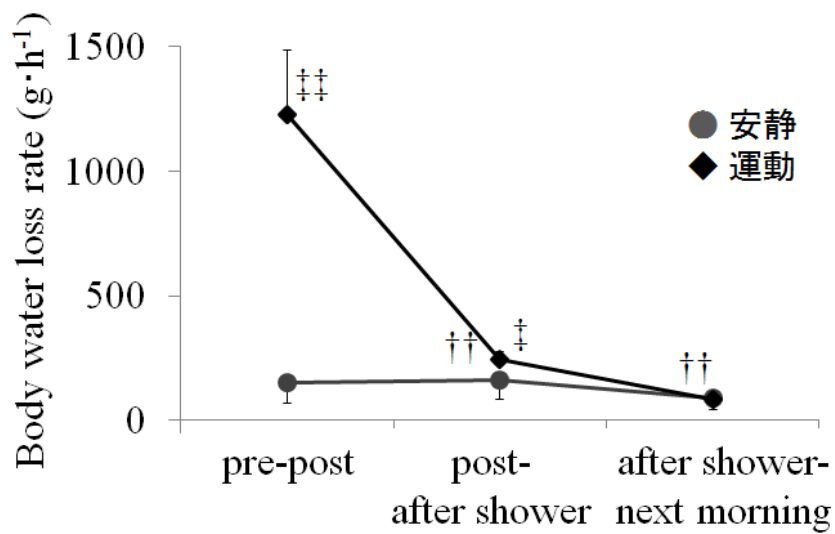


Figure 3-4. Body water loss rate in Day 1 (Rest) and Day 2 (Exercise). Values are expressed as means \pm SD. †† p < 0.01 vs pre (Exercise), ‡ p < 0.05, ‡‡ p < 0.01; Rest vs Exercise. pre - post = Before rest - After rest, post - after shower = After rest – After shower in Day 1, pre - post = Before exercise - After exercise, post - after shower = After exercise – After shower in Day 2

3-4. 考察

本研究では、高強度持久性運動が皮膚の角質水分量に及ぼす影響を検討した。75%HRmax 負荷による60分間の自転車ペダリング運動が角質水分量を一時的に増加させ、その後平常時より低下させることが明らかになった。従って、高強度持久性運動後には皮膚ケアが重要であり、高強度運動を日常的に行うアスリートは皮膚のコンディショニングを行う必要があると考えられる。

角質層は、皮膚の最外層にあり、細菌や異物などの外的刺激を防御しているとともに、体外への過剰な水分蒸散を防ぐ働きを担っている。このような皮膚の物理的なバリア機能の指標として角質水分量が用いられている(田上, 2005)。皮膚の過度な湿潤および乾燥はいずれも皮膚感染症の罹患リスクを増大させる因子であると考えられている(Bibel et al., 1989; Lodén et al., 1992; Champion and Parish, 1986; Leung et al., 1987)。黄色ブドウ球菌や溶血性連鎖球菌のコロニー形成は角質層の含水量に応じて増加することが知られており(Bibel et al., 1989)、臨床的にも湿潤した皮膚では感染が生じやすく、腋窩、乳房下部、鼠径部、足底表面などの摩擦部位は皮膚感染症の好発部位である。一方、アトピー性皮膚炎の患者は、健常者と比べ角質水分量が低く(Lodén 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ため(Champion and Parish, 1986; Leung et al., 1987)、皮膚の乾燥も皮膚感染症の易感染性に関与すると考えられている。

角質層は外部に直接露出しているため、環境条件の影響を受けやすく(Canizares, 1960)、湿度の急激な低下により、角質水分量が急速に低下することが報告されている(Guéhenneux et al., 2012)。本研究では、安静日と運動日のいずれの時点においても WBGT、室温、湿度に有意差は認められなかった。従って、本研究の結果において、環境による皮膚への影響はなかったものと考えられる。

角質水分量は心理ストレスによって変動することが知られている。POMS の抑うつ(D)の得点が、角質水分量と強い負の相関を示し、表皮 pH や黄色ブドウ球菌と正の

相関を示すことから、特に D 得点と皮膚状態がよく相関すると報告されている(針谷ら, 2000). 本研究では、緊張－不安(T-A)は、安静日の安静前(pre)と比較してシャワー入浴後(after shower; $p < 0.05$), 翌朝(next morning; $p < 0.05$)に有意に低値を示し、運動日の運動前(pre)と比較して運動後(post; $p < 0.05$), シャワー入浴後(after shower; $p < 0.05$), 翌朝(next morning; $p < 0.05$)に有意に低値を示した. 運動介入実験に参加するに当たって、対象者が多少緊張していたと推察される. しかしながら、D 得点や他の POMS の項目に有意な変動が見られなかったことから、本研究における角質水分量の変化に対して心理状態が影響した可能性は低いと考えられる.

本研究の安静日の結果では、胸部と前腕ともに角質水分量は、安静前(pre)と比較してシャワー入浴後(after shower)に有意に低値を示した($p < 0.01$). Shiohara (2009) は、シャワー入浴後の角質水分量は入浴前よりも低い値を示すと報告しており、本研究の結果と一致する. 角質層は入浴によって著しく膨潤し、水溶性の天然保湿因子(Natural Moisturizing Factor; NMF)やセラミドなどの細胞間脂質が流出するため、入浴後に角質水分量が低下すると考えられている(Shiohara, 2009). 従って、シャワー入浴後には物理的バリアが低下する危険性が考えられ、シャワー入浴後には保湿剤を塗るなどの対策が必要であると推察される(Tabata et al., 2000).

運動日の角質水分量は、胸部と前腕ともに運動前(pre)と比較して運動後(post)に有意に増加し($p < 0.01$), 安静日と運動日の post で有意な交互作用が認められた($p < 0.05$). pre-post では運動実施による体水分喪失率の有意な増加が見られ($p < 0.05$), 発汗によって角質層への水分供給が増加したと推察される. 健常皮膚では皮表近くになると角質水分量は急激に低下するように調節されており(Warner et al., 1988), それが病原微生物のコロニー形成に対して抑制的に働いている(Aly et al., 1978). 角質水分量の急激な増加は細菌のコロニー形成を増加させるので(Bibel et al., 1989), 高強度運動による角質水分量の急激な増加は皮膚感染症の罹患リスクを増大させる危険性があると考えられる.

運動日翌朝(next morning)の前腕角質水分量は、運動前(pre)と比較して低値を示す傾向がみられ($p = 0.055$)、安静日と運動日の next morning で交互作用を示す傾向がみられた($p = 0.08$)。運動時の発汗量の増加によって、角質層が膨潤し、その後のシャワー入浴で NMF やセラミドなどの細胞間脂質がより流出した結果、翌朝においても角質水分量は低値を示したと推察される。細胞間脂質は皮膚の物理的バリアの中心的な役割を果たしており、アトピー性皮膚炎の患者では、細胞間脂質のセラミド含有量の低下や角質水分量の低下がみられ、物理的バリアが低下していると考えられている(Imokawa et al., 1991; 田上, 2005; Lodén et al., 1992)。物理的バリアの低下は、皮膚感染症の発症を増加させる(Champion and Parish, 1986; Leung et al., 1987)。従って、高強度運動による角質水分量の低下は、皮膚の物理的バリア機能の低下を示し、皮膚感染症の罹患リスクを増大させる可能性が考えられる。

アスリートは日常的に高強度運動を行っており、免疫機能低下や感染症罹患が発生しやすい状態にある(Mackinnon, 1998)。さらに、競技中の発汗による皮膚の膨潤や外傷による皮膚組織の破損、他の選手やスポーツ用具との接触が、細菌やウイルスなどの接着と侵入を増加させる危険性が示されている(久木留ら, 2000; Conklin, 1990)。本研究の結果から、高強度持久性運動直後の皮膚の過度な湿潤とシャワー後の皮膚の乾燥がともに皮膚感染症の罹患リスクを増大させる危険性が考えられ、アスリートにおける皮膚のコンディショニングの重要性が示された。角質水分量は非侵襲的かつ簡便に短時間で測定が可能のため、皮膚のコンディショニングに有用な指標であると考えられる。今後は、継続的な運動や、合宿、遠征時など様々な状況で皮膚の評価を行い、皮膚におけるコンディション低下の予測や皮膚感染症の予防に有用な検討を行う必要がある。

3-5. 結論

60 分間の高強度持久性運動後に皮膚の角質水分量が急激に増加し、シャワー入浴後には低下することが示された。また、翌朝の前腕角質水分量は、安静日と比べて運動日で低い値を示した。従って、高強度持久性運動が皮膚の物理的バリアを低下させ、皮膚感染症の罹患リスクを増大させる可能性が考えられる。

第 4 章. 研究課題 3: 一過性高強度運動後の皮膚バリア機能の経時的変化

4-1. 緒言

皮膚表面には、角層細胞と細胞間脂質による水分保持能と物質透過制御に働く物理的バリア(Physical barrier), 抗菌ペプチドや脂質などによる生化学的バリア(Biochemical barrier), 液性免疫や細胞性免疫による免疫バリア(Immune barrier)の 3 つのバリアが存在する(照井, 2008). 物理的バリア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(田上, 2005). 免疫バリアのひとつとして, 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; Goto et al., 1995). 角質水分量は第 3 章の研究課題 2 で, Dermal-SIgA は第 2 章の研究課題 1 で高強度運動による変動を検討している. しかしながら, いずれも運動後にシャワー入浴をしているため, 高強度運動後の経時的変化は確認されていない.

ディフェンシンは, 皮膚の表皮角化細胞から産生され, 皮膚表面の生化学的バリアとして働く抗菌ペプチドである. HBD-2 は, 細菌刺激や(Dinulos et al., 2003), TNF- α , IL-1 β によって発現が誘導される(Harder et al., 2000). また, 唾液 HBD-2 は高強度持久性運動で増加することが報告されている(Usui et al., 2011). しかしながら, 高強度持久性運動による皮膚 HBD-2 発現への影響を検討した研究はなく, 未だに明らかにされていない.

本研究では, 高強度持久性運動後における Dermal-SIgA, 角質水分量, 皮膚 HBD-2 の経時的変化について明らかにすることを目的とした.

4-2. 方法

4-2-1. 対象

本研究は、健康な成人男性 6 名(age, 22.3 ± 1.6 years; height, 176.7 ± 5.0 cm; body mass, 69.4 ± 4.9 kg; body fat percentage, $17.4 \pm 4.8\%$; and body mass index, 22.3 ± 2.0 kg·m⁻²)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。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。

4-2-2. 実験手順

実験の概要を **Figure 4-1** に示す。対象者は、18:30 から 19:30 まで 60 分間の自転車ペダリング運動を行い、測定終了まで座位安静とした。運動負荷および測定は、人工気象室にて行い、環境条件は室温 25 °C、湿度 35 %とした。測定は、18:30 (Before exercise; pre), 19:30 (After exercise; post), 20:30 (After 60 min of exercise; 60 min), 21:30 (After 120 min of exercise; 120 min)において計 4 回実施した。

4-2-3. 運動負荷

対象者は、事前に自転車エルゴメーター(75XLIII; コンビウエルネス, 東京)の体力テストのプログラムを使用して、運動中の脈拍値と負荷値をそれぞれサンプリングして直線回帰を求め、内蔵されている多数の負荷値と酸素摂取量の男女別平均の関係式のデータを合成することによって最大心拍数(HRmax)を求めた。体力テストは、エルゴメーターに座り、1 分間の安静後に 15W/min 漸増のランプ負荷運動を 75%HRmax に至るまで行い、75%HRmax における仕事率(PWC75%HRmax)を測定した。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。

4-2-4. 皮膚試料の採取

皮膚試料は、第 2 章の研究課題 1 と同様の方法で、胸部中央(Ch)および前腕内側部(Fa)より採取した。運動前(Before exercise; pre)は Ch1 と Fa1, 運動後(After exercise; post)は Ch2 と Fa2, 運動 60 分後(After 60 min of exercise; 60 min)は Ch3 と Fa3, 運動 120 分後(After 120 min of exercise; 120 min)は Ch4 と Fa4 を用いて皮膚試料を採取した(**Figure 4-2**)。採取した皮膚試料は、Dermal-SIgA 濃度および皮膚 HBD-2 濃度の測定に用いた後、-50 °C で凍結保存した。

4-2-5. Dermal-SIgA の定量

Dermal-SIgA 濃度は、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)法を用いて、第 2 章の研究課題 1 と同様に測定した。

4-2-6. 皮膚 HBD-2 の定量

皮膚 HBD-2 濃度は ELISA kit (Phoenix Pharmaceuticals, Burlingame, CA)を用いて測定した。96-well microtitre plate を 300 μ L の assay buffer で洗浄し、室温で 5 分間ブロッキングした。凍結保存してある皮膚試料を解凍し、5,000 rpm で 10 分間遠心分離した後、assay buffer で 11 倍希釈した皮膚試料および HBD-2 standard solution を各ウェルに 100 μ L ずつ加え、plate shaker (Nissinrika, Tokyo, Japan)を用いて室温で 2 時間振盪した。assay buffer で洗浄した後、assay buffer で 150 倍希釈した biotinylated anti-human HBD-2 detection antibody を 100 μ L ずつ加え、室温で 2 時間振盪した。assay buffer で洗浄した後、assay buffer で 2000 倍希釈した streptavidin-horseradish peroxidase (SA-HRP) solution を 100 μ L ずつ加え、室温で 2

時間振盪した. assay buffer で洗淨した後, substrate solution (TMB) を 100 μ L ずつ加え 10 分間室温で反応させた. 450 nm の吸光度を microplate reader (MTP-800; Corona Electric, Hitachinaka, Japan)によって測定した. 標準物質の HBD-2 standard で検量線を作成し, 皮膚 HBD-2 濃度を求めた.

4-2-7. 角質水分量の測定

角質水分量の測定はモイスチャーチェッカー(MY-808S; スカラ, 東京)を用いて第 3 章の研究課題 2 と同様に実施した. 測定部位は, 胸部および前腕内側部を用いた (Figure 4-2).

4-2-8. 皮膚細菌数の測定

皮膚表面に存在するブドウ球菌は, 第 2 章の研究課題 1 と同様の方法で, agar-based media composed of tellurite-glycine-salt-egg yolk (Food Stamp; Nissui Pharmaceutical, Tokyo, Japan)を胸部(Ch)および前腕(Fa)の皮膚表面に押し付けて測定した. 運動前(Before exercise; pre)は Ch5 と Fa5, 運動後(After exercise; post)は Ch6 と Fa6, 運動 60 分後(After 60 min of exercise; 60 min)は Ch7 と Fa7, 運動 120 分後(After 120 min of exercise; 120 min)は Ch8 と Fa8 を用いて胸部および前腕におけるブドウ球菌を採取した(Figure 4-2). 培養後, コロニー数を肉眼でカウントし, 周囲の培地が白濁している黒色コロニーを黄色ブドウ球菌(*S. aureus*), 白濁していない黒色コロニーをコアグララーゼ陰性ブドウ球菌(*coagulase-negative staphylococcus*)として判別し, その合計をブドウ球菌数(staphylococci)として colony forming unit (CFU)を用いて表した.

4-2-9. 体水分喪失率の測定

体水分喪失率は, 第 3 章の研究課題 2 と同様の方法を用いて測定した.

4-2-10. 統計処理

各測定値は、平均値±標準偏差で示した。Friedman test を用いて、測定日の全体の変動を検定し、Post hoc テストとして Wilcoxon's signed rank sum test を行った。統計処理は統計解析ソフト SPSS 14.0 J for Windows を用いて行い、有意水準はいずれも 5% 未満とした。

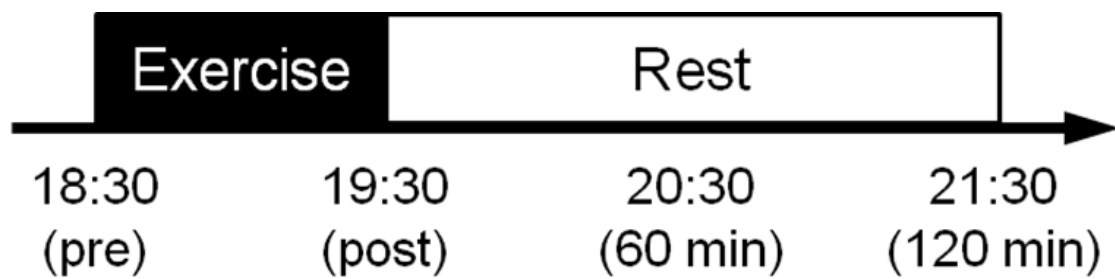


Figure 4-1. Experimental protocol. The measurements were carried out at 18:30 (Before exercise; pre), 19:30 (After exercise; post), 20:30 (After 60 min of exercise; 60 min), and 21:30 (After 120 min of exercise; 120 min).

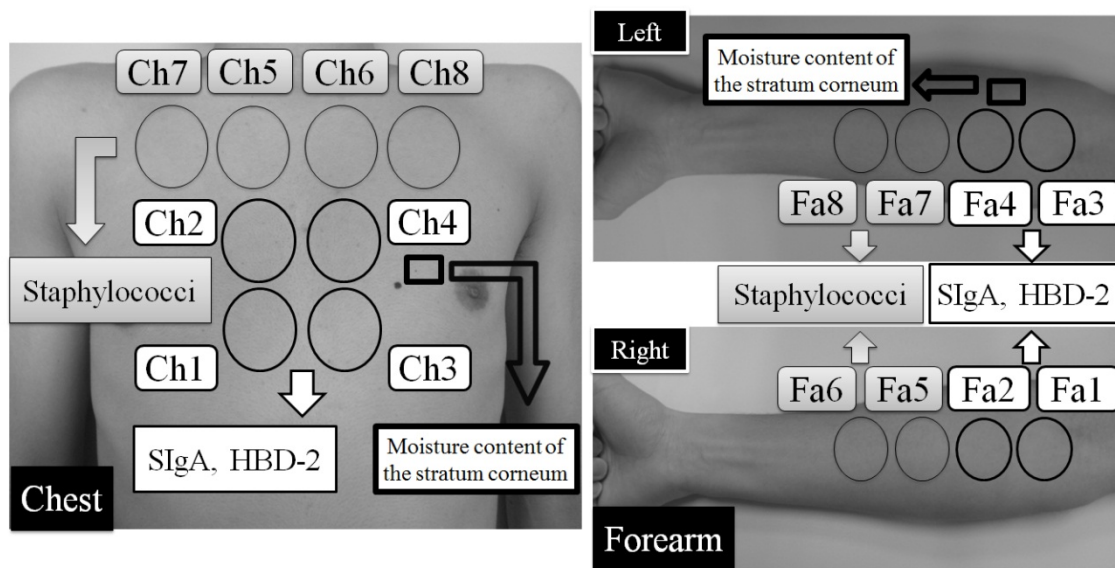


Figure 4-2. Skin-SIgA, HBD-2, staphylococci and moisture content of the stratum corneum measurement sites (b). Skin-SIgA and HBD-2 were collected from Ch1 and Fa1 at 18:30 (Before exercise; pre), Ch2 and Fa2 at 19:30 (After exercise; post), Ch3 and Fa3 at 20:30 (After 60 min of exercise; 60 min), and Ch4 and Fa4 at 21:30 (After 120 min of exercise; 120 min). Staphylococci were harvested from Ch5 and Fa5 at 18:30 (pre), Ch6 and Fa6 at 19:30 (post), Ch7 and Fa7 at 20:30 (60 min), and Ch8 and Fa8 at 21:30 (120 min).

4-3. 結果

4-3-1. Dermal-SIgA 濃度

胸部SIgA濃度は, 8.24 ± 4.23 (pre), 2.97 ± 2.23 (post), 3.01 ± 2.23 (60 min), 3.45 ± 2.78 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (120 min)であり, 運動前(pre)と比較して運動後(post; $p < 0.05$), 運動60分後(60 min; $p < 0.05$), 運動120分後(120 min; $p < 0.05$)に有意に低値を示した(**Figure 4-3a**).

前腕SIgA濃度は, 6.88 ± 4.21 (pre), 4.42 ± 2.50 (post), 2.55 ± 1.52 (60 min), 4.25 ± 2.59 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (120 min)であり, 運動前(pre)と比較して運動60分後(60 min; $p < 0.05$)および運動120分後(120 min; $p < 0.05$)に有意に低値を示し, 運動120分後(120 min)と比較して運動60分後(60 min; $p < 0.05$)に有意に低値を示した(**Figure 4-3b**).

4-3-2. 皮膚 HBD-2 濃度

胸部HBD-2濃度は, 0.56 ± 0.25 (pre), 1.25 ± 0.72 (post), 0.84 ± 1.07 (60 min), 0.94 ± 0.32 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (120 min)であり, 運動前(pre)と比較して運動後(post; $p < 0.05$)および運動120分後(120 min; $p < 0.05$)に有意に高い値を示した(**Figure 4-3c**).

前腕HBD-2濃度は, 0.22 ± 0.08 (pre), 0.36 ± 0.16 (post), 0.18 ± 0.14 (60 min), 0.23 ± 0.08 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (120 min)であり, 運動前(pre; $p < 0.05$), 運動60分後(60 min; $p < 0.05$), 運動120分後(120 min; $p < 0.05$)と比較して運動後(post)に有意に高い値を示した(**Figure 4-3d**).

4-3-3. 角質水分量

胸部角質水分量は, 34.48 ± 2.47 (pre), 40.20 ± 5.33 (post), 33.65 ± 3.04 (60 min), $32.97 \pm 2.61\%$ (120 min)であり, 運動前(pre; $p < 0.05$), 運動60分後(60 min; $p < 0.05$), 運動120分後(120 min; $p < 0.05$)と比較して運動後(post)に有意に高い値を示

し、運動前(pre)と比較して運動 120 分後(120 min; $p < 0.05$)に有意に低い値を示した(**Figure 4-4a**).

前腕角質水分量は、 32.11 ± 2.23 (pre), 35.62 ± 2.12 (post), 33.13 ± 2.59 (60 min), $32.42 \pm 2.11\%$ (120 min)であり、運動前(pre; $p < 0.05$), 運動 60 分後(60 min; $p < 0.05$), 運動 120 分後(120 min; $p < 0.05$)と比較して運動後(post)に有意に高い値を示した(**Figure 4-4b**).

4-3-4. 皮膚表面細菌数

胸部ブドウ球菌数は、 18.33 ± 18.71 (pre), 33.83 ± 28.26 (post), 70.50 ± 80.66 (60 min), 32.83 ± 18.37 CFU (120 min)であり、運動前(pre)と比較して運動後(post; $p < 0.05$)に有意に増加し、運動前(pre)と比較して運動 60 分後(60 min; ; $p = 0.08$)に高い値を示す傾向がみられた(**Figure 4-4c**).

前腕ブドウ球菌数は、 10.00 ± 12.52 (pre), 28.67 ± 29.53 (post), 33.17 ± 43.00 (60 min), 15.50 ± 14.98 CFU (120 min)であり、いずれの時点においても有意差を示さなかった(**Figure 4-4d**).

4-3-5. 体水分喪失率

体水分喪失率は、 1096.67 ± 218.26 (pre - post), 143.27 ± 75.16 (post - 60 min), $71.33 \pm 53.66 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$ (60 min - 120 min)であり、運動後－運動 60 分後(post - 60 min; $p < 0.05$)および運動 60 分後－運動 120 分後(60 min - 120 min; $p < 0.05$)と比較して運動前－運動後(pre - post)で有意に高い値を示した(**Figure 4-5**).

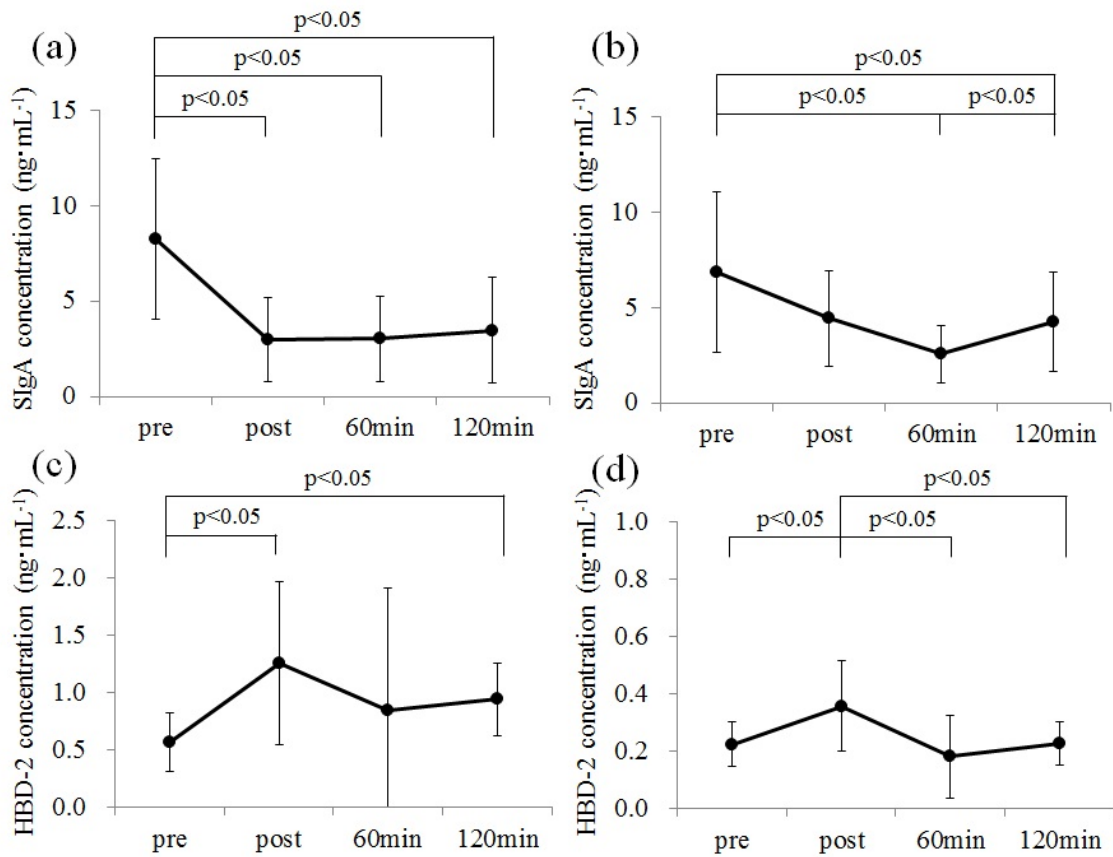


Figure 4-3. Skin-SIgA concentration on the chest (a) and forearm (b), and HBD-2 concentration on the chest (c) and forearm (d). Values are expressed as means \pm SD. pre = Before exercise (18:30), post = After exercise (19:30), 60 min = After 60 min of exercise (20:30), 120 min = After 120 min of exercise (21:30).

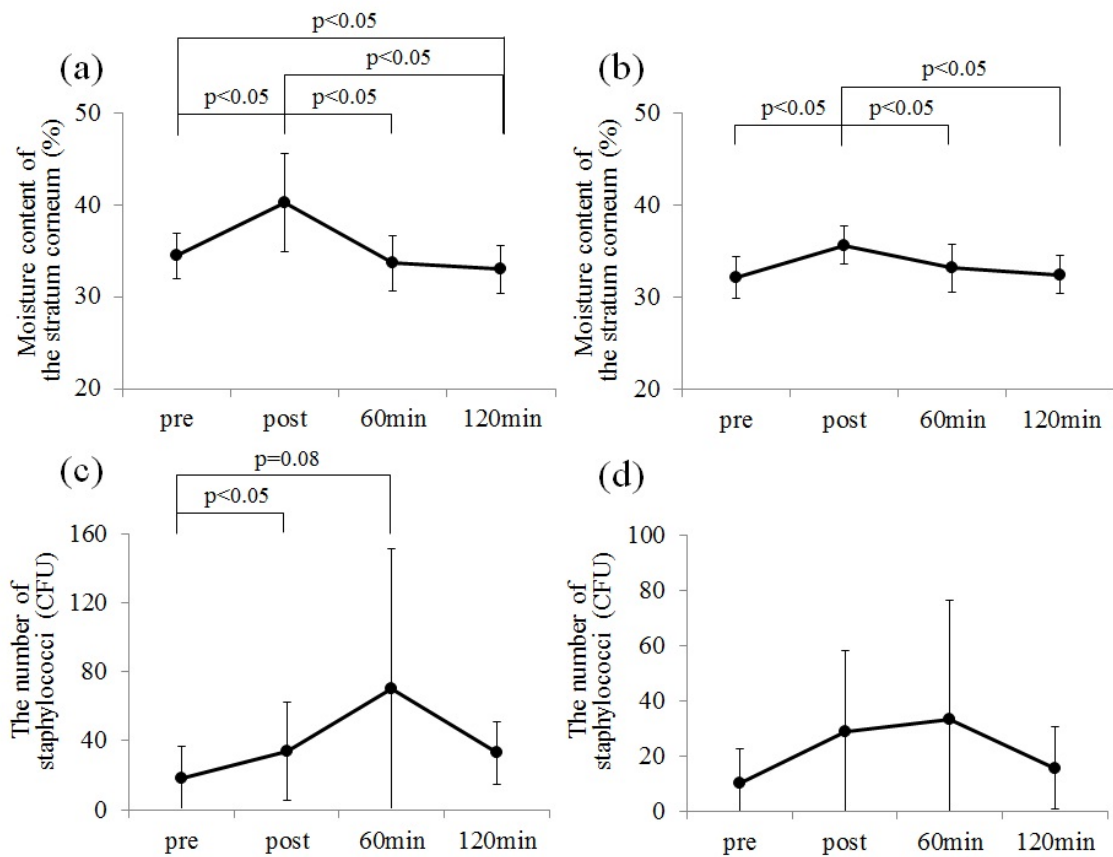


Figure 4-4. Moisture content of the stratum corneum on the chest (a) and forearm (b), and the number of staphylococci on the chest (c) and forearm (d). Values are expressed as means \pm SD. pre = Before exercise (18:30), post = After exercise (19:30), 60 min = After 60 min of exercise (20:30), 120 min = After 120 min of exercise (21:30).

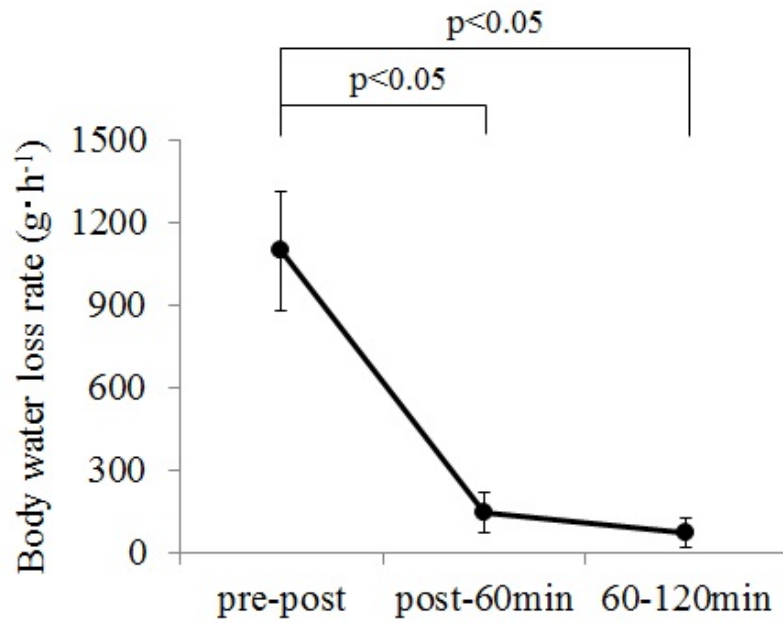


Figure 4-5. Body water loss rate. Values are expressed as means \pm SD. pre-post = Before exercise (18:30) - After exercise (19:30), post-60 min = After exercise (19:30) - After 60 min of exercise (20:30), 60 min-120 min = After 60 min of exercise (20:30) - After 120 min of exercise (21:30).

4-4. 考察

本研究では、Dermal-SIgA、皮膚 HBD-2、角質水分量、ブドウ球菌数における高強度持久性運動後の経時的変化を検討した。75%HRmax 負荷による 60 分間の自転車ペダリング運動が Dermal-SIgA 濃度を低下させ、皮膚 HBD-2 濃度、角質水分量、ブドウ球菌数を増加させることが明らかになった。従って、高強度持久性運動が皮膚表面の免疫バリアおよび物理的バリアを低下させ、生化学的バリアを高める可能性が推察された。

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 (Kobayashi, 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)。アトピー性皮膚炎患者は、健常人よりも角質水分量が低値を示し (Imayama et al., 1994)、普段から皮膚表面に黄色ブドウ球菌がコロニーを形成していると報告されている (Hauser et al., 1985)。本研究では、胸部 SIgA 濃度が運動前 (pre) と比較して運動後 (post)、運動 60 分後 (60 min)、運動 120 分後 (120 min) において有意に減少し、前腕 SIgA 濃度は運動前 (pre) と比較して運動 60 分後 (60 min)、運動 120 分後 (120 min) において有意な減少が認められた。pre - post 間では 60 分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高い値を示した。よって、運動時の発汗による体水分喪失率の有意な増加により、Dermal-SIgA が洗い流されたと推察される。また、高強度持久性運動が皮膚表面における SIgA 分泌を低下させた可能性も考えられる。唾液 SIgA に関する研究では、高強度持久性運動が唾液 SIgA 分泌を低下させることが報告されている (Akimoto et al., 1998; Mackinnon et al., 1987; Mackinnon and Hooper, 1994)。IgA は粘膜固有層の形質細胞から産生され、二量体 IgA が polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) と結合した後、上皮細胞より SIgA として分泌される (Mostov et al., 1984)。ラットを用い

た研究では、高強度運動が顎下腺の pIgR の発現を低下させ、唾液 SIgA 濃度が低下したことを報告している(Kimura et al., 2008). 皮膚表面においても、唾液 SIgA と同様のメカニズムで、エクリン汗腺の上皮細胞から SIgA が分泌されている(Goto et al., 1995; Okada et al., 1988). 従って、高強度持久性運動が Dermal-SIgA 分泌を低下させ、皮膚感染症の感染リスクが高まる可能性が考えられる.

ディフェンシンは 細菌, 真菌, ウイルスなど広範囲に抗菌スペクトルをもつことが知られており, 自然免疫の重要な役割を担っている(Ganz, 1999). HBD-2 は, 皮膚では表皮角化細胞から産生されている(Ganz and Lehrer, 1995). 本研究では, 運動後(post)において, 胸部 HBD-2 濃度は運動前(pre)より有意に高い値を示し, 前腕 HBD-2 濃度は運動前(pre), 運動 60 分後(60 min), 運動 120 分後(120 min)より有意に高い値を示した. 唾液 HBD-2 に関する研究では, 75%VO₂max で 60 分間の運動実施により, 運動後に唾液 HBD-2 が増加することを報告している(Usui et al., 2011). HBD-2 は TNF- α や IL-1 β により発現が誘導され(Harder et al. 1997; Harder et al. 2000), これらのサイトカインの放出は一過性の高強度運動により亢進することが知られている(Ostrowski et al. 1999; van der Poll et al. 1994). 従って, 本研究における運動後の HBD-2 の増加は, TNF- α や IL-1 β によって HBD-2 の発現が誘導されたと推察される. また, 本研究では, 運動 120 分後(120 min)の胸部 HBD-2 濃度が運動前(pre)と比較して有意に高い値を示し, 胸部ブドウ球菌数は運動前(pre)と比較して運動 60 分後(60 min)に増加する傾向を示した. 培養表皮細胞を用いた実験ではブドウ球菌, 大腸菌, 緑膿菌の刺激により表皮細胞からの HBD-2 発現は著明に増加することが報告されている(Dinulos et al., 2003). 従って, 本研究における運動 120 分後(120 min)の HBD-2 の増加は, ブドウ球菌による刺激が HBD-2 発現を増加させた結果である可能性が考えられる.

アトピー性皮膚炎患者にみられる低い角質水分量は, 皮膚の臨床状態に関与していると考えられている(Lodén et al., 1992). 角質水分量は, 皮膚の物理的なバリア機

能の指標として有用とされている(Sumikawa et al., 2007). 本研究では, 胸部と前腕ともに角質水分量は運動前(pre), 運動 60 分後(60 min), 運動 120 分後(120 min)と比較して運動後(post)で有意に高い値を示した. pre-post では運動実施による体水分喪失率の有意な増加が見られ, 発汗によって角質層への水分供給が増加したと推察される. 健全皮膚では皮表近くになると角質水分量は急激に低下するように調節されており(Warner et al., 1988), それが病原微生物のコロニー形成に対して抑制的に働いている(Aly et al., 1978). 黄色ブドウ球菌や溶血性連鎖球菌のコロニー形成は角質層の含水量に応じて増加することが知られており(Bibel et al., 1989), 臨床的にも湿潤した皮膚では感染が生じやすく, 腋窩, 乳房下部, 鼠径部, 足底表面などの摩擦部位は皮膚感染症の好発部位である. また, 本研究では, 運動 120 分後(120 min)の胸部角質水分量が運動前(pre)と比較して有意に低い値を示している. Shiohara (2009) は, シャワー入浴後の角質水分量は入浴前よりも低い値を示すと報告している. 角質層は入浴時の水和によって著しく膨潤し, 水溶性の天然保湿因子(Natural Moisturizing Factor; NMF)やセラミドなどの細胞間脂質が流出するためだと考えられている. 従って, 本研究における運動 120 分後(120 min)の角質水分量の低下は, 運動時の発汗による角質層の膨潤が原因と推察される. Sumikawa et al. (2007) の報告によると, 角質水分量の低下は皮膚の物理的バリア機能の低下や, アトピー性皮膚炎, 乾燥肌の病態と関連を示すとされており, 角質水分量の低下によって皮膚感染症の罹患リスクが高まると考えられる.

黄色ブドウ球菌による皮膚感染症がスポーツ選手において重要な問題とされている(Pecci et al., 2009). 本研究では, 皮膚表面の黄色ブドウ球菌とコアグラールゼ陰性ブドウ球菌を採取し, その総数をブドウ球菌数として評価した. 胸部におけるブドウ球菌数は運動前(pre)と比較して運動後(post)で有意に増加し, 運動 60 分後(60 min)で増加する傾向を示した. ブドウ球菌は皮膚の常在菌である. Yamada et al. (1991) は, 皮膚を洗う際につく微小な傷などからブドウ球菌が出現し, 皮膚表面のブドウ球

菌数が増加することを報告している。また、ブドウ球菌は 37℃の環境下で 28.8 分に 1 回分裂するとされている(Anthony et al., 2010)。従って、本研究におけるブドウ球菌数の増加は、運動時の発汗により皮膚の毛穴に存在するブドウ球菌が皮膚表面に出現し、その後増殖したためであると推察される。

4-5. 結論

60 分間の高強度持久性運動後に皮膚表面の SIgA 濃度が低下し、HBD-2 濃度および角質水分量、ブドウ球菌数は増加することが明らかになった。運動の 60 分後にはブドウ球菌数がさらに増加し、120 分後には運動前と比べ HBD-2 濃度が増加し、角質水分量が低下することが示された。よって、高強度持久性運動が皮膚表面の免疫バリアおよび物理的バリアを低下させる危険性が考えられる。一方で、生化学的バリアは高強度持久性運動後に増加していることから、低下した他の皮膚のバリア機能を補完する働きがあると推察された。

第5章. 研究課題4: ストレッチングヨガが唾液中の分泌型免疫グロブリン A および心理状態に及ぼす影響

5-1. 緒言

近年, 日本は超高齢社会を迎えており, 2035年には約3人に1人が65歳以上の高齢者になると推計されている(総務省統計局, 2011). 高齢者の健康維持のためには, 加齢に伴う免疫機能の低下を抑制することが重要であると考えられる.

高齢者の免疫機能の指標として, 唾液中の分泌型免疫グロブリン A(secretory immunoglobulin A: SIgA)が有用とされている. 唾液 SIgA は加齢とともに低下し(Challacombe et al, 1995; Miletic, 1996), SIgA の低下が上気道感染症の罹患率を高くすることが報告されている(Nieman, 1990; Fahlman and Engels, 2005). 唾液 SIgA は, 高強度運動後に低下するが(Mackinnon and Hooper, 1994), 低・中強度の一過性運動では変動しないと報告されている(McDowell et al., 1991; Allgrove et al., 2008). また, ユーモアビデオ(Dillon et al., 1985)や落語の観賞(Watanuki and Kim, 2005)などの快情動, クラシック音楽鑑賞(Knight and Rickard, 2001)やヒーリング(Wardell and Engebretson, 2001)などのリラクゼーション効果に対しては, 唾液 SIgA 分泌が増加することが示されている.

ストレッチングヨガは, 初心者や体力の低下した中高齢者でも無理なく簡単に行うことができ, 運動不足の解消や健康維持増進に期待されている(厚生労働省, 2006). 近年, ヨガの実施が心理ストレス(Hartfiel et al., 2011; Cowen, 2010)や緊張(Telles et al., 2009; Khalsa et al., 2009), 抑うつ(Khumar et al., 1993; Uebelacker et al., 2010)などの心理状態改善のリラクゼーション効果を示すことが報告されている. 従って, 高齢者を対象とした低強度運動であっても, リラクゼーション効果を伴うストレッチングヨガは免疫機能の亢進に寄与する可能性が考えられる.

本研究では, リラクゼーションを目的としたストレッチングヨガの実施が唾液中の

SIgA 分泌および心理状態に及ぼす影響を検討した。

5-2. 方法

5-2-1. 対象

健康な成人男女 29 名 (2 males and 27 females; age, 59.7 ± 12.1 years; height, 155.4 ± 6.3 cm; body mass, 52.2 ± 7.6 kg; body mass index, 21.6 ± 2.6 kg·m⁻²; body fat percentage, $27.5 \pm 5.5\%$) を対象とした。測定は 2 日間に分けて行った。1 日目は 90 分間の安静状態の前後に測定を行い、2 日目は 90 分間のストレッチングヨガの前後に測定を実施した。安静時およびストレッチングヨガ中は、市販のミネラルウォーターのみの自由飲水とした。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。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。

5-2-2. ストレッチングヨガ

ヨガは腹式呼吸、完全呼吸、ウジャイ呼吸など様々な呼吸法があり、ヨガ未経験者が最初から制御された呼吸を行うのは困難である。よって、本研究では、呼吸法を制限せずに高齢者やヨガ未経験者でも容易に行うことが可能なストレッチングヨガを用いた。ストレッチングヨガは 90 分間実施した(Figure 5-1)。最初の 20 分間は、ウォーミングアップとして足のマッサージとツボ押しを行った。立ち木のポーズ、英雄のポーズ、三角のポーズ、ネコのポーズ、下を向いた犬のポーズなどを 65 分間実施した後、仰臥位で全身の力を抜く無空のポーズを 5 分間行った。

5-2-3. 唾液採取

唾液採取は、先行研究(Akimoto et al., 2003)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; Sersted, Vümbrecht, Germany)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°Cで凍結保存した。

5-2-4. 唾液 SIgA の定量

採取した唾液からELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay)法によってSIgA濃度を測定した(Akimoto et al., 2003)。抗SC抗体のanti-secretory component Ab-2 mouse monoclonal antibody (Thermo Fisher Scientific, Fremont, CA)と抗IgA抗体のanti-human IgA (α -chain) HRP goat IgG Fab' (Medical & Biological Laboratories, Nagoya, Japan)を用いてSIgAを特異的に検出し、SIgA濃度を測定した。唾液SIgA濃度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)と唾液分泌速度($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)の積により唾液SIgA分泌速度($\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$)を算出した。

5-2-5. 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, 東京)を用いて行った(McNair et al., 1971; Yokoyama et al., 1990)。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要素で評価し、標準化得点(T得点)として算出した。

5-2-6. 統計処理

各測定値は、平均値±標準偏差で示した。安静前後およびストレッチングヨガ前後の比較には対応のある2群間におけるt検定(paired-Student *t* test)を実施した。統計

処理は統計解析ソフト SPSS 14.0 J for Windows を用いて行い, 有意水準はいずれも 5%未満とした.

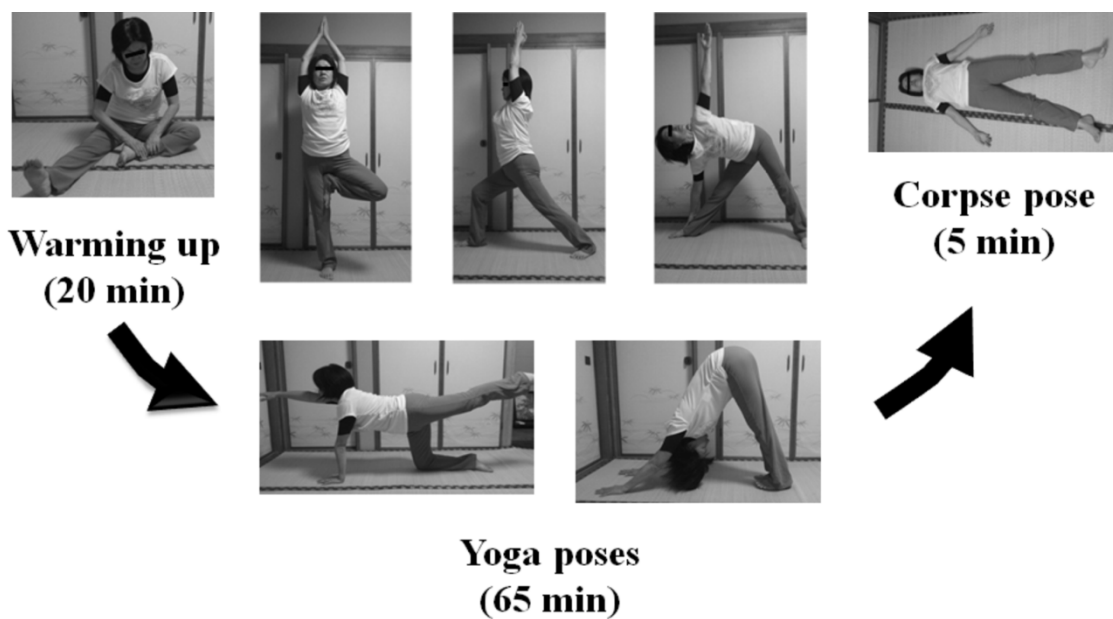


Figure 5-1. Protocol of yoga stretching. First, participants massaged their legs and applied pressure to the acupuncture points for 20 min. Second, they held yoga poses (e.g., warrior pose, extended triangle pose, and downward-facing dog pose) for 65 min. Finally, they lay in the supine position (corpse pose) for 5 min.

5-3. 結果

5-3-1. 唾液分泌速度

安静前後とストレッチングヨガ前後の唾液分泌速度の結果をFigure 5-2aに示した。唾液分泌速度は、安静前 $1.19 \pm 0.53 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、安静後 $1.32 \pm 0.50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、ストレッチングヨガ前 $1.32 \pm 0.52 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、ストレッチングヨガ後 $1.42 \pm 0.52 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ であった。安静前後およびストレッチングヨガ前後における唾液分泌速度に有意な差は認められなかった。

5-3-2. 唾液 SIgA 濃度

安静前後とストレッチングヨガ前後のSIgA濃度の結果をFigure 5-2bに示した。安静前($29.1 \pm 13.8 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)と安静後($30.0 \pm 12.7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)のSIgA濃度に有意な差は認められなかった。ストレッチングヨガ後($32.8 \pm 14.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)のSIgA濃度は、ストレッチングヨガ前($27.8 \pm 11.9 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)と比較して有意に増加した($p < 0.05$)。

5-3-3. 唾液 SIgA 分泌速度

安静前後とストレッチングヨガ前後のSIgA分泌速度の結果をFigure 5-2cに示した。安静前($37.7 \pm 29.8 \mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$)と安静後($41.7 \pm 29.8 \mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$)のSIgA分泌速度に有意な差は認められなかった。ストレッチングヨガ後($49.8 \pm 36.9 \mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$)のSIgA分泌速度に、ストレッチングヨガ前($39.2 \pm 29.8 \mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$)と比較して有意な増加が認められた($p < 0.05$)。

5-3-4. POMS スコア

安静前後とストレッチングヨガ前後のPOMSスコアの結果をTable 5-1に示した。安静前後では、いずれのPOMSスコアも有意な変動を示さなかった。ストレッチングヨガ

後の緊張($p < 0.05$), 抑うつ($p < 0.05$), 怒り($p < 0.05$)の項目が, ストレッチングヨガ前と比較して有意に低い値を示した.

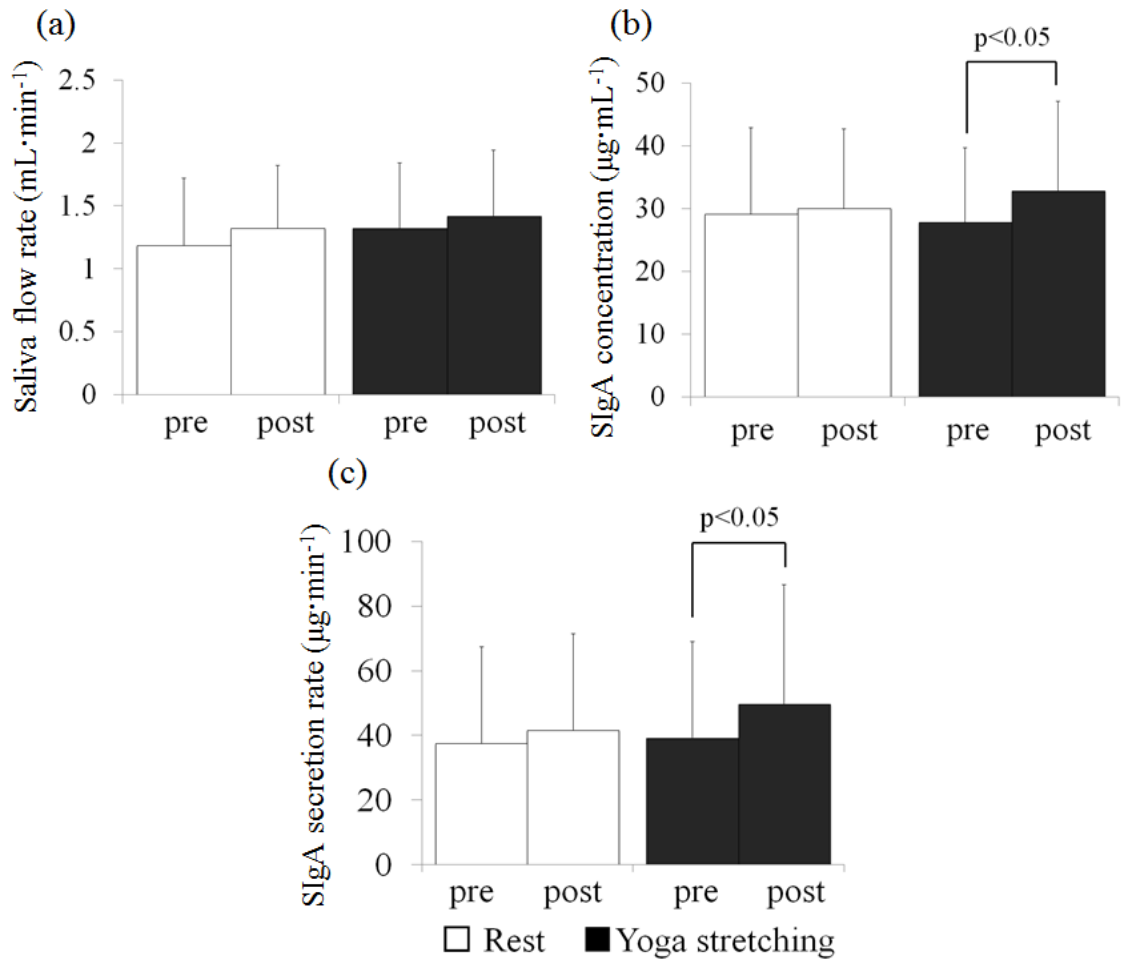


Figure 5-2. Saliva flow rate (a), salivary SIgA concentration (b) and SIgA secretion rate (c) before and after rest and yoga stretching. Data are expressed as mean \pm SD values.

Table 5-1. POMS scores before and after rest and yoga stretching (n=29).

		POMS scores					
		T-A	D	A-H	V	F	C
Rest	pre	40.6 ± 5.7	42.7 ± 4.9	42.1 ± 7.1	45.9 ± 10.3	42.1 ± 7.3	47.0 ± 5.5
	post	38.5 ± 5.4	42.6 ± 4.3	39.4 ± 4.5	43.9 ± 10.7	41.2 ± 6.9	45.9 ± 6.1
Yoga	pre	39.1 ± 5.5	42.9 ± 5.4	39.7 ± 5.1	45.5 ± 10.5	39.3 ± 5.2	45.4 ± 5.7
	post	36.6 ± 3.4*	41.1 ± 3.8*	37.7 ± 1.8*	44.9 ± 11.6	37.8 ± 3.3	43.6 ± 4.3

Values are expressed as means ± SD. *p < 0.05 vs Yoga (pre); T-A, Tension-Anxiety; D, Depression; A-H, Anger-Hostility; V, Vigor; F, Fatigue; C, Confusion

5-4. 考察

本研究では、ストレッチングヨガが心理状態と唾液 SIgA に及ぼす影響について検討した。90 分間のストレッチングヨガが POMS スコアを改善し、唾液 SIgA レベルを増加させることが明らかになった。従って、ストレッチングヨガが心理状態を改善させ、免疫機能を亢進させる可能性が考えられ、高齢者の運動不足解消や健康維持増進に貢献すると推察された。

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における有用な指標となり得る(赤間, 1995)。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(Kuboki and Fujisawa, 1986)。さらに、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。また、先行研究によると、唾液 SIgA の運動による変動は性別や年齢によって有意な差はないと報告されている(Shimizu et al., 2007)。故に、本研究では男女を合わせて対象とし、全唾液を試料として評価した。

唾液分泌速度は、単位時間あたりの唾液の分泌量である。唾液自体の物理的洗浄作用が多く、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)。しかし、本研究では、安静前後およびストレッチングヨガ前後のいずれにおいても唾液分泌速度に有意な変動は認められなかった。

唾液 SIgA 濃度および SIgA 分泌速度は、ストレッチングヨガ前と比較してストレッチングヨガ後に有意な増加を認めた。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(Kobayashi, 1986)。唾液 SIgA は、75% VO₂max 負荷による 90 分間のトレッドミルランニング(Mackinnon and Hooper, 1994)やフルマラソン(Akimoto et al., 1998)などの一過性の高強度運動によって低下することが知られてい

る。しかしながら、低・中強度の一過性運動は SIgA に影響を与えないという報告がある(McDowell et al., 1991; Allgrove et al., 2008)。本研究で用いたストレッチングヨガは高齢者を対象とした低強度運動である(Ainsworth et al., 2000)。

唾液 SIgA は心理ストレスによって応答することが知られている(Bistow et al., 1997; Bosch et al., 2001)。急性心理ストレスにおいては、暗算負荷(Bistow et al., 1997)や記憶テスト(Bosch et al., 2001)などの能動的な心理ストレスでは唾液 SIgA 分泌は増加し、外科手術のビデオを見るなどの受動的な心理ストレスでは唾液 SIgA 分泌は低下することが報告されている(Bosch et al., 2001)。ユーモアビデオ(Dillon et al., 1985)や落語の観賞(Watanuki and Kim, 2005)などの快情動、クラシック音楽鑑賞(Knight and Rickard, 2001)やヒーリング(Wardell et al., 2001)などのリラクゼーション効果に対しては、唾液 SIgA 分泌が増加することが示されている。

近年、ヨガの実施が心理ストレス(Hartfiel et al., 2011; Cowen, 2010)や緊張(Telles et al., 2009; Khalsa et al., 2009)、抑うつ(Khumar et al., 1993; Uebelacker et al., 2010)などの心理状態改善のリラクゼーション効果を示すことが報告されている。イギリスの大学職員 48 名を対象に週 1 回 60 分のヨガを 6 週間行った研究では、ヨガ実施群がコントロール群に比べ Profile of Mood States Bipolar (POMS-Bi)と Inventory of Positive Psychological Attitudes (IPPA)の 8 項目中 7 項目で有意な改善が認められた(Hartfiel et al., 2011)。Telles et al. (2009)は、300 名のヨガ未経験者の男女を対象に 2 時間のヨガ実施が不安を有意に減少することを報告し、Uebelacker et al. (2010)は、11 名の男女を対象に 2 ヶ月間のヨガ実施が抑うつを減少させることを報告している。また、ヨガの実施が α 波を増加させ、血清コルチゾール濃度を減少させることが示されており(Kamei et al., 2000)、ヨガのリラクゼーション効果の要因と考えられている(Field, 2011)。本研究では、POMS の緊張、抑うつ、怒りの得点がストレッチングヨガ後に有意に改善されており、ストレッチングヨガのリラクゼーション効果が確認された。

本研究における唾液 SIgA の変動にはリラクゼーション効果が影響していると考えられる。唾液腺は自律神経によって支配されており(Mathison et al., 1994), 副交感神経系の活動の亢進が SIgA 分泌を促進させることが報告されている(McCraty et al., 1996; Tsujita and Morimoto, 1999). 副交感神経系の活動は, ストレッチや呼吸法を行うリラクゼーションによって亢進することが知られている(Oshima et al., 2011). 従って, 本研究におけるストレッチングヨガ前後の唾液 SIgA の増加は, ストレッチングヨガのリラクゼーション効果によって, 副交感神経系の活動が亢進した結果だと推察される。

5-5. 結論

90 分間のストレッチングヨガが心理状態を改善させ, 唾液 SIgA レベルを増加させることが明らかになった。ストレッチングヨガは, リラクゼーションを目的とした低強度柔軟運動で無理なく簡単に行えるため, 高齢者の運動不足解消や健康維持増進に有用であると考えられる。

第 6 章. 研究課題 5: ストレッチングヨガが唾液中のディフェンシン発現に及ぼす影響

6-1. 緒言

上気道感染症は、中高齢者において特に発症率が高く深刻な疾病とされている(Houston et al., 1997). 中高齢者では加齢にともなって免疫機能が低下し、感染症が重症化しやすいとされている(Akama et al., 2003). 中等度の身体活動(Shimizu et al., 2007)や継続的なトレーニング(Akimoto et al., 2003)が中高齢者の免疫機能を亢進させることが報告されているが、未だに不明な点も多い。

HBD-2 は、口腔内や気道の上皮細胞から発現され、抗菌ペプチドとして感染防御に寄与している(Ganz 2003). 唾液 HBD-2 は高強度持久性運動で増加することが報告されている(Usui et al., 2011). しかしながら、低・中強度運動による唾液 HBD-2 発現への影響を検討した研究はなく、未だに明らかにされていない。また、HBD-2 は、グルココルチコイドによって発現が抑制されることや(Tomita et al. 2002; McDermott et al. 2003; Starner et al. 2005), グルココルチコイドの一種であるコルチゾールと負の相関関係にあることが報告されている(Usui et al., 2011).

ストレッチングヨガは、初心者や体力の低下した中高齢者でも無理なく簡単に行うことができ、運動不足の解消や健康維持増進に期待されている(厚生労働省, 2006). ヨガの実施が α 波を増加させ、血清コルチゾール濃度を減少させることが示されており(Kamei et al., 2000), ヨガのリラクゼーション効果の要因と考えられている(Field, 2011). 従って、ストレッチングヨガのリラクゼーション効果が唾液 HBD-2 に影響を与える可能性が考えられるが、未だに検討がなされていない。

本研究では、リラクゼーションを目的としたストレッチングヨガの実施が唾液中の HBD-2 発現に及ぼす影響を検討した。

6-2. 方法

6-2-1. 対象

健康な成人男女 15 名(2 males and 13 females; age, 60.4 ± 8.0 years; height, 157.1 ± 6.2 cm; body mass, 55.0 ± 8.0 kg; body mass index, 22.2 ± 2.6 kg \cdot m⁻²; body fat percentage, 27.4 ± 6.0 %)を対象とした。測定は 2 日間に分けて行った。1 日目は 90 分間の安静状態の前後に測定を行い、2 日目は 90 分間のストレッチングヨガの前後に測定を実施した。安静時およびストレッチングヨガ中は、市販のミネラルウォーターのみの自由飲水とした。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。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。

6-2-1. ストレッチングヨガ

ヨガは腹式呼吸、完全呼吸、ウジャイ呼吸など様々な呼吸法があり、ヨガ未経験者が最初から制御された呼吸を行うのは困難である。よって、本研究では、呼吸法を制限せずに高齢者やヨガ未経験者でも容易に行うことが可能なストレッチングヨガを用いた。ストレッチングヨガは 90 分間実施した(**Figure 6-1**)。最初の 20 分間は、ウォーミングアップとして足のマッサージとツボ押しを行った。立ち木のポーズ、英雄のポーズ、三角のポーズ、ネコのポーズ、下を向いた犬のポーズなどを 65 分間実施した後、仰臥位で全身の力を抜く無空のポーズを 5 分間行った。

6-2-2. 唾液採取

唾液採取は、先行研究(Akimoto et al., 2003)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; Sersted, Vümbrecht, Germany)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°C で凍結保存した。

6-2-3. 唾液 HBD-2 の定量

唾液HBD-2 濃度はELISA kit (Phoenix Pharmaceuticals, Burlingame, CA)を用いて測定した。96-well microtitre plateを 300 μ Lのassay bufferで洗浄し、室温で 5 分間ブロッキングした。凍結保存してある唾液試料を解凍し、5,000 rpmで 10 分間遠心分離した後、唾液試料およびHBD-2 standard solutionを各ウェルに 100 μ Lずつ加え、plate shaker (Nissinrika, Tokyo, Japan)を用いて室温で 2 時間振盪した。assay bufferで洗浄した後、assay bufferで 150 倍希釈したbiotinylated anti-human HBD-2 detection antibodyを 100 μ Lずつ加え、室温で 2 時間振盪した。assay bufferで洗浄した後、assay bufferで 2000 倍希釈したstreptavidin-horseradish peroxidase (SA-HRP) solutionを 100 μ Lずつ加え、室温で 2 時間振盪した。assay bufferで洗浄した後、substrate solution (TMB) を 100 μ Lずつ加え 10 分間室温で反応させた。450 nmの吸光度をmicroplate reader (MTP-800; Corona Electric, Hitachinaka, Japan)によって測定した。標準物質のHBD-2 standardで検量線を作成し、唾液HBD-2 濃度を求めた。唾液HBD-2 濃度($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)と唾液分泌速度($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)の積により唾液HBD-2 発現速度($\text{pg}\cdot\text{min}^{-1}$)を算出した。

6-2-4. 統計処理

各測定値は、平均値±標準偏差で示した。安静日およびヨガ日におけるすべての測定値は、(Rest vs Yoga) \times (pre vs post)の repeated analysis of variance (ANOVA) を用いて解析した。安静前後およびストレッチングヨガ前後の比較には対応のある 2 群間における t 検定(paired-Student *t* test)を実施した。統計処理は統計解析ソフト SPSS 14.0 J for Windows を用いて行い、有意水準はいずれも 5%未満とした。

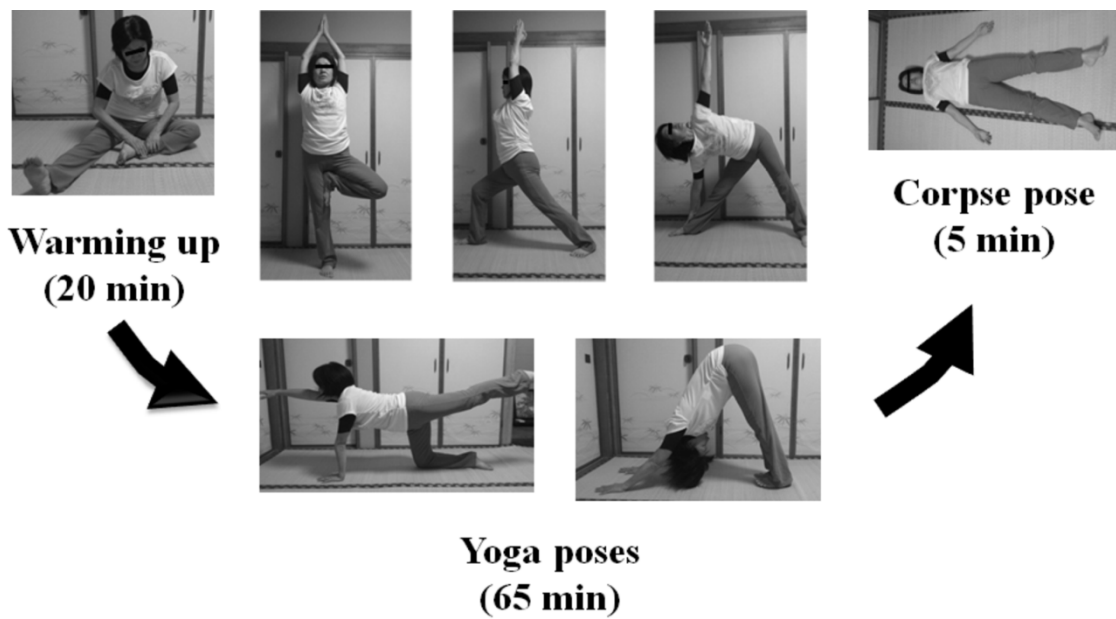


Figure 6-1. Protocol of yoga stretching. First, participants massaged their legs and applied pressure to the acupressure points for 20 min. Second, they held yoga poses (e.g., warrior pose, extended triangle pose, and downward-facing dog pose) for 65 min. Finally, they lay in the supine position (corpse pose) for 5 min.

6-3. 結果

6-3-1. 唾液分泌速度

安静前後とストレッチングヨガ前後の唾液分泌速度の結果をFigure 6-2aに示した。唾液分泌速度は、安静前 $1.31 \pm 0.42 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、安静後 $1.29 \pm 0.33 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、ストレッチングヨガ前 $1.36 \pm 0.51 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、ストレッチングヨガ後 $1.44 \pm 0.36 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ であった。安静前後およびストレッチングヨガ前後における唾液分泌速度に有意な差は認められなかった。

6-3-2. 唾液 HBD-2 濃度

安静前後とストレッチングヨガ前後のHBD-2 濃度の結果をFigure 6-2bに示した。安静前($84.7 \pm 96.9 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)と安静後($82.1 \pm 109.6 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)のHBD-2 濃度に有意な差は認められなかった。ストレッチングヨガ後($165.4 \pm 127.1 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)のHBD-2 濃度は、ストレッチングヨガ前($84.1 \pm 63.4 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)と比較して有意に増加した($p < 0.01$)。postのHBD-2 濃度において、安静日とヨガ日の間に有意な交互作用が認められた($p < 0.05$)。

6-3-3. 唾液 HBD-2 発現速度

安静前後とストレッチングヨガ前後のHBD-2 発現速度の結果をFigure 6-2cに示した。安静前($100.6 \pm 115.1 \text{ pg}\cdot\text{min}^{-1}$)と安静後($109.0 \pm 151.7 \text{ pg}\cdot\text{min}^{-1}$)のHBD-2 発現速度に有意な差は認められなかった。HBD-2 発現速度は、ストレッチングヨガ前($110.7 \pm 96.8 \text{ pg}\cdot\text{min}^{-1}$)と比較してストレッチングヨガ後($232.8 \pm 192.9 \text{ pg}\cdot\text{min}^{-1}$)に有意な増加が認められた($p < 0.01$)。postのHBD-2 発現速度において、安静日とヨガ日の間に有意な交互作用が認められた($p < 0.01$)。

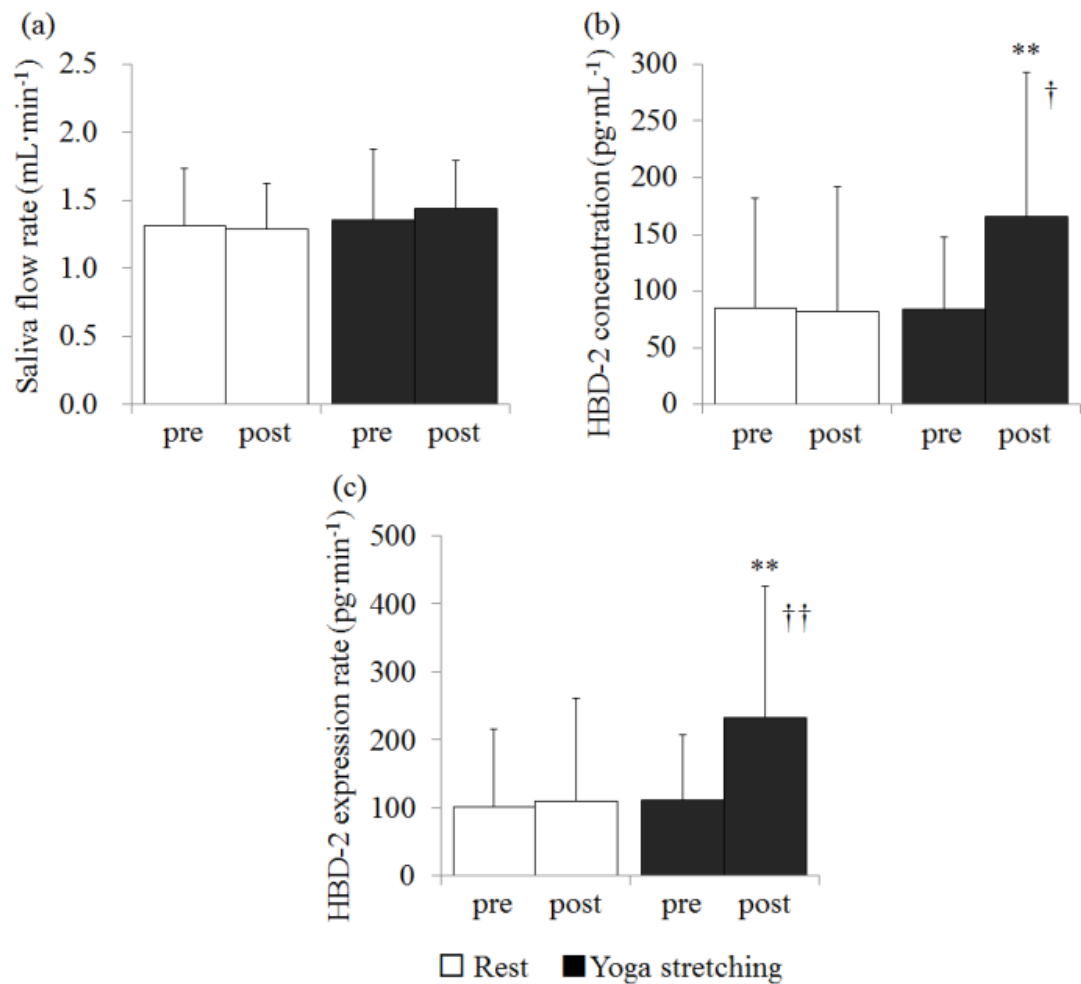


Figure 6-2. Saliva flow rate (a), salivary HBD-2 concentration (b) and HBD-2 expression rate (c) before and after rest and yoga stretching. Data are expressed as mean \pm SD values. ** p < 0.01 vs before yoga (pre), † p < 0.05, †† p < 0.01; Rest vs Yoga.

6-4. 考察

本研究では、ストレッチングヨガが唾液 HBD-2 に及ぼす影響について検討した。90 分間のストレッチングヨガが唾液 HBD-2 濃度および HBD-2 発現速度を増加させることが明らかになった。従って、ストレッチングヨガが免疫機能を亢進させる可能性が考えられ、高齢者の運動不足解消や健康維持増進に貢献すると推察された。

唾液は、様々な病原微生物に対して物理的洗浄作用を有し(Mataga, 2009)、口腔内の感染防御機能の評価に有用な指標とされている(Lamm et al., 1995)。唾液は、耳下腺、顎下腺、舌下腺、小唾液腺から分泌され、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(Kuboki and Fujisawa, 1986)。しかしながら、本研究では、安静前後およびストレッチングヨガ前後のいずれにおいても唾液分泌速度に有意な変動は認められなかった。

ディフェンシンは 細菌、真菌、ウイルスなど広範囲に抗菌スペクトルをもつことが知られており(Ganz, 1999)、病原性微生物の脂質二重層の疎水性コアを破壊することで抗菌作用を発揮することが知られている(Oren et al., 1999; Schaller et al., 2000)。HBD-2 は、口腔や気道の上皮細胞から発現されている(Ganz, 2003)。本研究では、唾液中の HBD-2 濃度および HBD-2 発現速度がストレッチングヨガ後に有意に増加した。唾液 HBD-2 は高強度持久性運動によって変動することが知られている(Usui et al., 2011; Ostrowski et al., 1999)。Usui et al. (2011)は、75% VO₂max で 60 分間の運動実施により、運動後に唾液 HBD-2 が増加することを報告している。HBD-2 は、ブドウ球菌、大腸菌、緑膿菌などの菌体成分や(Dinulos et al., 2003)、TNF- α 、IL-1 β による刺激で表皮細胞からの発現が誘導され(Harder et al. 1997; Harder et al. 2000)、これらのサイトカインの放出は一過性の高強度運動により亢進することが知られている(Ostrowski et al. 1999; van der Poll et al. 1994)。しかしながら、本研究で実施したストレッチングヨガは、高齢者に適した低強度柔軟運動である(Ainsworth et al., 2000)。従って、本研究におけるストレッチングヨガ後の唾液 HBD-2 の増加に関して、TNF- α

や IL-1 β によって HBD-2 の発現が誘導された可能性は低いと推察される。

近年、ヨガはリラクゼーション効果を有することが報告されている(Hartfiel et al., 2011; Telles et al., 2009; Kamei et al., 2000)。イギリスの大学職員 48 名を対象に週 1 回 60 分のヨガを 6 週間行った研究では、ヨガ実施群がコントロール群に比べ Profile of Mood States Bipolar (POMS-Bi)と Inventory of Positive Psychological Attitudes (IPPA)の 8 項目中 7 項目で有意な改善が認められた(Hartfiel et al., 2011)。Telles et al. (2009)は、300 名のヨガ未経験者の男女を対象に 2 時間のヨガ実施が緊張－不安を有意に減少させることを報告している。

HBD-2 の発現はストレスホルモンによって変動することが知られている(Tomita et al. 2002; McDermott et al. 2003; Starner et al. 2005)。心理的ストレスや身体的ストレスが視床下部－下垂体－副腎系(hypothalamus - pituitary - adrenal; HPA)からグルココルチコイドの一種であるコルチゾールを放出させ、コルチゾールは様々な運動に対する生体指標として用いられている(Greiwe et al. 1999; Kirschbaum and Hellhammer 1994)。グルココルチコイドは HBD-2 の発現に対して抑制的に作用する(Tomita et al. 2002; McDermott et al. 2003; Starner et al. 2005)。高強度持久性運動後における唾液コルチゾール濃度の増加量が多いほど、唾液 HBD-2 の増加量は小さく、コルチゾールと HBD-2 は負の相関関係にあると報告されている(Usui et al., 2011)。また、7 名のヨガインストラクターを対象とした研究では、ヨガの実施が α 波を増加させ、血清コルチゾール濃度を減少させることが示されている(Kamei et al., 2000)。従って、本研究では、ストレッチングヨガのリラクゼーション効果が唾液中のコルチゾール濃度を低下させ、その結果、唾液 HBD-2 の発現が増加したと推察される。しかしながら、本研究では、唾液中のコルチゾール濃度を測定していない。また、唾液 HBD-2 は高強度持久性運動の 180 分後まで高い値を示したことが報告されている(Usui et al., 2011)。故に、今後の検討において、唾液 HBD-2 とともに唾液コルチゾールも測定し、ストレッチングヨガの 180 分後まで経時的に観察する必要があると考えられる。

6-5. 結論

90 分間のストレッチングヨガが唾液 HBD-2 濃度および HBD-2 発現速度を増加させることが明らかになった。従って、リラクゼーションを目的とした低強度なストレッチングヨガは免疫機能を亢進させる可能性があり、高齢者の運動不足解消や健康維持増進に有用であると考えられる。

第7章. 総合討論

7-1. 本研究の目的

7-1-1. 皮膚バリア機能に対する運動の影響

本研究では、皮膚のバリア機能を担う Dermal-SIgA, 角質水分量, 皮膚 HBD-2 に着目して, アスリートの皮膚コンディション評価に有用な指標を確立するための知見を提供することを念頭におき, 高強度運動が皮膚バリア機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした(研究課題 1, 2, 3).

7-1-2. 口腔内の局所粘膜免疫能に対する運動の影響

本研究では、口腔内においても局所粘膜免疫能として働く SIgA および HBD-2 に着目して, 中高齢者の健康維持増進のためのより安全で効果的な身体活動プログラムを策定するための知見が提供することを念頭におき, ストレッチングヨガが中高齢者の局所粘膜免疫能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした(研究課題 4, 5).

7-2. 本研究で得られた成果

7-2-1. 研究課題 1: 高強度持久性運動が皮膚の分泌型免疫グロブリン A および細菌数に及ぼす影響

研究課題 1 では、若年成人男性を対象として、皮膚の免疫バリアのひとつである SIgA を用いて、一過性高強度運動に対する Dermal-SIgA およびブドウ球菌数の変動について検討した。その結果、運動後に Dermal-SIgA 濃度は明らかに低下し、ブドウ球菌数は増加することが示された。従って、一過性の高強度運動が皮膚の免疫バリアを低下させ、細菌数を増加させることから、皮膚感染症の罹患リスクを増大させる可能性が考えられた。

7-2-2. 研究課題 2: 高強度持久性運動が皮膚の角質水分量および心理状態に及ぼす影響

研究課題2では、若年成人男性を対象として、高強度持久性運動が皮膚の物理的バリアの主体である角質層に及ぼす影響を検討した。その結果、角質水分量は高強度運動直後に明らかな増加を示し、翌朝には運動前よりも低下することが示された。また、シャワー入浴後には角質水分量が低下することが示された。従って、高強度持久性運動やシャワー入浴が皮膚の物理的バリア機能を低下させる可能性が考えられた。

7-2-3. 研究課題 3: 一過性高強度運動後の皮膚バリア機能の経時的変化

研究課題3では、若年成人男性を対象として、一過性の高強度持久性運動後における皮膚バリア機能および細菌数の経時的変化を検討した。その結果、免疫バリアである Dermal-SIgA は運動直後に低下し、運動 120 分後まで低値を維持し、物理的バリアの指標である角質水分量は、運動直後に増加し、運動 120 分後には運動前よりも低下した。また、ブドウ球菌数は運動 60 分後にかけて増加したため、高強度持久性運動後には時間経過とともに皮膚感染症の罹患リスクが増大する危険性が推察された。一方で、生化学的バリアである HBD-2 は運動直後に増加し、運動 120 分後にも運動前より高い値を示した。従って、皮膚の生化学的バリアは高強度持久性運動後に低下する免疫バリアや物理的バリアに対して補完的に働く可能性が考えられた。

7-2-4. 研究課題 4: ストレッチングヨガが唾液中の分泌型免疫グロブリン A および心理状態に及ぼす影響

研究課題4では、中高齢者を対象としてストレッチングヨガが唾液 SIgA および心理状態に及ぼす影響について検討した。その結果、90 分間のストレッチングヨガ後に唾液 SIgA 濃度および唾液 SIgA 分泌速度が明らかに増加した。また、POMS の緊張、

抑うつ、怒りの項目がストレッチングヨガ後に有意に改善された。従って、ストレッチングヨガが心理状態改善のリラクゼーション効果を有することが確認され、唾液 SIgA 分泌を亢進させる可能性が考えられた。

7-2-5. 研究課題 5: ストレッチングヨガが唾液中のディフェンシン発現に及ぼす影響

研究課題 5 では、中高齢者を対象として、ストレッチングヨガが唾液 HBD-2 に及ぼす影響について検討した。その結果、ストレッチングヨガ後に唾液 HBD-2 濃度および唾液 HBD-2 発現速度が有意に増加した。従って、ストレッチングヨガのリラクゼーション効果が、唾液 HBD-2 発現を亢進させる可能性が考えられた。

7-3. 本研究で得られた成果の意義および今後の展望

7-3-1. 皮膚バリア機能に対する運動の影響

研究課題 1 では、Dermal-SIgA およびブドウ球菌数の運動に対する応答を明らかにすることを目的とした。高強度運動による Dermal-SIgA 濃度の低下、ブドウ球菌数の増加が示されたことから、Dermal-SIgA は運動による皮膚の免疫バリアへの影響を反映する指標として有用である可能性が考えられた。また、高強度運動後のブドウ球菌数の増加への対策として、運動直後のシャワー入浴が推奨される(Yamaguchi, 2007)。しかしながら、シャワー入浴時に、皮膚表面をボディータオルなどで強く洗浄すると、皮膚表面に微小な傷が付き、ブドウ球菌の皮膚表面への出現を助長してしまうことが考えられている(Yamada et al., 1991)。特に若いアスリートはスポーツ活動後のシャワー入浴に関する指導を十分に受けていないため(Hirose et al., 2008)、コーチやサポートスタッフは、選手の皮膚感染症を予防するために、スポーツ活動後の迅速なシャワー入浴を選手に指導していくべきだと考えられる。

研究課題 2 では、運動が角質水分量に及ぼす影響について検討した。角質水分量は、シャワー入浴後に低下し、高強度運動後とその翌朝にも低値を示した。研究

課題 1 の結果から、スポーツ活動後には迅速なシャワー入浴が推奨されるが、シャワー入浴後には物理的バリアの低下が考えられるため、入浴直後に保湿剤を皮膚表面に塗付するなどの対策が必要である(Tabata et al., 2000).

研究課題 3 では、高強度持久性運動後の皮膚バリア機能の経時的変化を検討した。その結果、Dermal-SIgA は運動直後に低下し、運動 120 分後まで低値を維持し、角質水分量は、運動直後に増加し、運動 120 分後には運動前よりも低下した。また、ブドウ球菌数は運動 60 分後にかけて増加したため、高強度持久性運動後には時間経過とともに皮膚感染症の罹患リスクが増大する危険性が推察された。従って、運動後には迅速なシャワー入浴、保湿剤の塗付が必要であることが示され、スポーツ現場での皮膚コンディショニングに有用な情報となった。一方で、HBD-2 は運動直後に増加し、運動 120 分後にも運動前より高い値を示した。従って、皮膚の生化学的バリアは高強度持久性運動後に低下する免疫バリアや物理的バリアに対して補完的に働く可能性が考えられた。

皮膚表面において、実際に SIgA、角質水分量、HBD-2 のブドウ球菌感染に対する感染防御に関して検討した研究はない。皮膚は人体で最も表層にあり、直接外界と接している臓器であるため、環境による影響を受けやすいため、測定条件のコントロールが非常に難しい。また、実際に人体を用いて、人為的にブドウ球菌感染を引き起こすことは倫理的にも不可能である。そこで、ヒト表皮を三次元培養した LabCyte EPI-MODEL(Japan Tissue Engineering, Aichi, Japan)が有用であると考えられる。LabCyte EPI-MODEL は、高度に分化し、ヒト皮膚構造に類似した基底層・有棘層・顆粒層・角質層の重層化した 3 次元構造をとっている。現在は、予備研究の段階で、表皮の生細胞数の測定や添加物の透過性試験を行っている段階である。今後の課題として、培養表皮に黄色ブドウ球菌を添加し、SIgA 濃度、角質層の厚さ、HBD-2 濃度の違いによる黄色ブドウ球菌感染への影響を検討していく。

本研究では、実際のスポーツ現場を想定して高強度運動による皮膚バリア機能へ

の検討を中心に行った。しかしながら、皮膚バリア機能の運動による影響は全く検討されていない。免疫機能は、中等度の継続的トレーニングや適度な身体活動によって亢進されることが知られている(Shimizu et al., 2007; Shimizu et al., 2008)。従って、今後の課題として、皮膚バリア機能の中等度の継続的トレーニングや身体活動による影響を検討する必要がある。また、合宿などの練習強化期には高強度運動による皮膚バリア機能の低下が慢性的に発生する危険性が考えられるため、実際に皮膚のコンディション評価を実施し、詳細を明らかにする必要がある。

7-3-2. 口腔内の局所粘膜免疫能に対する運動の影響

研究課題 4 では、ストレッチングヨガが唾液 SIgA および心理状態に及ぼす影響について検討した。その結果、90 分間のストレッチングヨガ後に唾液 SIgA 濃度および唾液 SIgA 分泌速度が増加した。従って、ストレッチングヨガの実施が唾液 SIgA 分泌を亢進し、免疫機能を高めることが示唆された。また、POMS の緊張、抑うつ、怒りの項目がストレッチングヨガ後に有意に改善され、ストレッチングヨガが心理状態改善のリラクゼーション効果を有することが確認された。イギリスの大学職員を対象に行った研究では、職場でのヨガの実施が心理ストレスを軽減させることが報告されており、ヨガは仕事効率を高める有用なエクササイズであると考えられている(Hartfiel et al., 2011)。また、アスリートのスポーツ傷害の要因として、心理ストレスが関与していることが報告されており(Smith et al., 2000)、リラクゼーション効果がアスリートの傷害発生率を減少させることが示されている(Davis, 1991)。従って、本研究で確認されたストレッチングヨガのリラクゼーション効果は、職場での仕事効率の増大やアスリートのコンディショニングに応用可能な情報であると期待される。

研究課題 5 では、ストレッチングヨガが唾液 HBD-2 に及ぼす影響について検討した。その結果、ストレッチングヨガ後に唾液 HBD-2 濃度および唾液 HBD-2 発現速度が有意に増加した。従って、ストレッチングヨガの実施が、研究課題 4 で明らかになっ

た唾液 SIgA 分泌の亢進だけでなく、唾液 HBD-2 発現も高める可能性が認められた。ストレッチングヨガは、呼吸法を制限せずに中高齢者やヨガ未経験者でも容易に行うことが可能な低強度運動である(Ainsworth et al., 2000)。故に、ストレッチングヨガは中高齢者の健康維持増進に有用であると推察される。本研究では、ストレッチングヨガは前後の変動のみを観察しているため、今後の検討として、ストレッチングヨガ後の免疫機能の亢進やリラクゼーション効果を経時的に検討する必要がある。また、唾液 SIgA は、中等度の継続的トレーニングや適度な身体活動によって亢進されることが知られている(Akimoto et al., 2003; Shimizu et al., 2007)。従って、継続的なストレッチングヨガの実施が安静時の唾液 SIgA 分泌および HBD-2 発現を亢進させる可能性がある。故に、その影響を検討することによって、中高齢者の健康維持増進により貢献することのできる運動プログラムの作成に寄与できると期待される。

第 8 章. 結論

本研究の目的は、運動が皮膚および粘膜の感染防御機能に及ぼす影響を明らかにすることである。皮膚のバリア機能を担う Dermal-SIgA, 角質水分量, 皮膚 HBD-2 に着目して、高強度運動が皮膚バリア機能に及ぼす影響を明らかにし、中高齢者を対象とした低強度運動が口腔内の局所粘膜免疫能に及ぼす影響を検討した。

- 1). 60 分間の高強度持久性運動後に、Dermal-SIgA 濃度は低下し、ブドウ球菌数が増加した。故に、高強度運動によって皮膚感染症の罹患リスクが増大する可能性が考えられた。
- 2). 角質水分量は、60 分間の高強度持久性運動直後に増加し、翌朝には運動前より低下した。また、シャワー入浴にも角質水分量の低下がみられた。よって、高強度運動やシャワー入浴が皮膚の物理的バリア機能を低下させると推察された。
- 3). 高強度運動後に Dermal-SIgA 濃度は低下し、運動 120 分後まで低値を維持した。角質水分量は、運動直後に増加し、運動 120 分後には運動前よりも低下した。このことから、高強度持久性運動後には時間経過とともに皮膚感染症の罹患リスクが増大する危険性が推察された。一方で、皮膚 HBD-2 濃度は運動直後に増加し、運動 120 分後にも運動前より高い値を示した。従って、皮膚の生化学的バリアは高強度持久性運動後に低下する免疫バリアや物理的バリアに対して補完的に働く可能性が考えられた。
- 4). 中高齢者を対象として、90 分間のストレッチングヨガが心理状態を改善し、リラクゼーション効果を有することが確認された。また、ストレッチングヨガ後には唾液

SIgA 濃度および唾液 SIgA 分泌速度が明らかに増加し、ストレッチングヨガが唾液 SIgA 分泌を亢進させる可能性が示された。

- 5). 中高齢者を対象として、ストレッチングヨガが唾液 HBD-2 濃度および唾液 HBD-2 発現速度を明らかに増加させることが示された。従って、ストレッチングヨガが口腔内局所粘膜免疫能を高め、中高齢者の健康維持増進に有用なエクササイズであると推察された。

以上の成果は、アスリートのコンディション評価および中高齢者の健康維持増進に関して新しい知見を加えるものであり、局所感染防御機能という観点からみた、より簡便に測定できるコンディション指標およびより安全で効果的な中高齢者の運動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考えられる。

参考文献

1. Adams BB (2002) Dermatologic disorders of the athlete. *Sports Med.* 32, 309 - 321
2. Agel J, Ransone J, Dick R, Oppliger R, Marshall SW (2007) Descriptive epidemiology of collegiate men's wrestling injuries: National Collegiate Athletic Association Injury Surveillance System, 1988-1989 through 2003-2004. *J Athl Train.* 42(2), 303 - 310
3. Ainsworth BE, Haskell WL, Whitt MC, Irwin ML, Swartz AM, Strath SJ, O'Brien WL, Bassett DR Jr, Schmitz KH, Emplaincourt PO, Jacobs DR Jr, Leon AS (2000) Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. *Med Sci Sports Exerc.* 32(9 Suppl), 498 - 504
4. 赤間高雄 (1995) スポーツ活動が口腔内局所免疫能に与える影響 - 唾液採取法の検討 - . 平成 7 年度日本体育協会スポーツ医・科学研究報告. No.IX スポーツ活動が免疫に与える影響に関する研究 - 第 2 報 - . 7 - 17
5. Akama T, Kimura F, Akimoto T, Kono I (2003) Effects of exercise on immune function in elderly persons. *The Japanese Society of Physical Fitness and Sport Medicine.* 52 Suppl, 65 - 72
6. 赤間高雄, 木村文律, 小泉佳右, 清水和弘, 秋本崇之, 久野譜也, 河野一郎 (2005) 42 ヶ月間の運動継続による中高年者の唾液分泌型免疫グロブリン A の変化. *スポーツ科学研究.* 2, 122 - 127
7. Akimoto T, Akama T, Sugiura K, Tatsuno M, Koda Y, Waku T, Kono I (1998) Alteration of local immunity in the oral cavity after endurance running. *The Japanese Society of Physical Fitness and Sport Medicine.* 47(1), 53 - 62
8. Akimoto T, Akama T, Koda Y, Waku T, Hayashi E, Tatsuno M, Sugiura K, Amano

- K, Kono I (1998) Effects of repetitious intense exercise training on resting salivary IgA. *The Japanese Society of Physical Fitness and Sport Medicine*. 47(2), 245 - 252
9. Akimoto T, Kumai Y, Akama T, Hayashi E, Murakami H, Soma R, Kuno S, Kono I (2003) Effects of 12 months of exercise training on salivary secretory IgA levels in elderly subjects. *Br J Sports Med*. 37(1), 76 - 79
 10. Allgrove JE, Gomes E, Hough J, Gleeson M (2008) Effects of exercise intensity on salivary antimicrobial proteins and markers of stress in active men. *J Sports Sci*. 26, 653 - 661
 11. Aly R, Shirley C, Cunico B, Maibach HI (1978) Effect of prolonged occlusion on the microbial flora, pH, carbon dioxide and transepidermal water loss on human skin. *J Invest Dermatol*. 71(6), 378 - 381
 12. Anthony S, Jennifer S, Danielle MS (2010) *Microbiology; a clinical approach*. 1st edition. Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC, New York.
 13. Asano-Kato N, Fukagawa K, Tsubota K, Urayama K, Takahashi S, Fujishima H (2001) Quantitative evaluation of atopic blepharitis by scoring of eyelid conditions and measuring the water content of the skin and evaporation from the eyelid surface. *Cornea*. 20(3), 255 - 259
 14. Bartlett PC, Martin RJ, Cahill BR (1982) Furunculosis in a high school football team. *Am J Sports Med*. 10, 371 - 374
 15. Bibel DJ, Miller SJ, Brown BE, Pandey BB, Elias PM, Shinefield HR, Aly R (1989) Antimicrobial activity of stratum corneum lipids from normal and essential fatty acid-deficient mice. *J Invest Dermatol*. 92(4), 632 - 638
 16. Bistow M, Hucklebridge F, Clow A, Evans P (1997) Modulation of secretory immunoglobulin A in saliva in relation to an acute episode of stress and arousal. *J*

- Psychophysiol. 11, 248 - 255
17. Bosch JA, de Geus EJ, Kelder A, Veerman EC, Hoogstraten J, Amerongen AV (2001) Differential effects of active versus passive coping on secretory immunity. *Psychophysiology*. 38, 836 - 846
 18. Bowers AL, Huffman GR, Sennett BJ (2008) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in collegiate football players. *Med Sci Sports Exerc*. 40(8), 1362 - 1367
 19. Brenner IK, Shek PN, Shephard RJ (1994) Infection in athletes. *Sports Med*. 17, 86 - 107
 20. Canizares O (1960) Geographic dermatology - Mexico and central America. *Arch Dermatol*. 82, 870 - 893
 21. Challacombe SJ, Percival RS, Marsh PD (1995) Age-related changes in immunoglobulin isotypes in whole and parotid saliva and serum in healthy individuals. *Oral Microbiol Immunol*. 10, 202 - 207
 22. Champion RH, Parish WE (1986) Atopic dermatitis. *Textbook of dermatology*. Rook A, Wilkinson DS, Ebling EJM, Champion RH, Burton JL, ed. Blackwell Scientific. London. pp. 419 - 434
 23. Conklin RJ (1990) Common cutaneous disorders in athletes. *Sports Med*. 9, 100 - 119
 24. Cowen VS (2010) Functional fitness improvements after a worksite-based yoga initiative. *J Bodyw Mov Ther*. 14(1), 50 - 54
 25. Davis JO (1991) Sports injuries and stress management: An opportunity for research. *The Sport Psychologist*. 5, 175 - 182
 26. Dillon KM, Minchoff B, Baker KH (1985) Positive emotional states and enhancement of the immune system. *Int J Psychiatry Med*. 15(1), 13 - 18

27. Dinulos JG, Mentele L, Fredericks LP, Dale BA, Darmstadt GL (2003) Keratinocyte expression of human beta defensin 2 following bacterial infection: role in cutaneous host defense. *Clin Diagn Lab Immunol.* 10(1), 161 - 166
28. Fahlman MM, Engels HJ (2005) Mucosal IgA and URTI in American college football players: a year longitudinal study. *Med Sci Sports Exerc.* 37(3), 374 - 380
29. Field T (2011) Yoga clinical research review. *Complement Ther Clin Pract.* 17(1), 1 - 8
30. Fontanilla JM, Kirkland KB, Talbot EA, Powell KE, Schwartzman JD, Goering RV, Parsonnet J (2010) Outbreak of skin infections in college football team members due to an unusual strain of community-acquired methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 48, 609 - 611
31. Ganz T, Lehrer RI (1994) Defensins. *Curr Opin Immunol.* 6(4), 584 - 589
32. Ganz T, Lehrer RI (1995) Defensins. *Pharmac Ther.* 191 - 250
33. Ganz T (1999) Defensins and host defense. *Science.* 286(5439), 420 - 421
34. Ganz T (2003) Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 3(9), 710 - 720
35. Gleeson M, McDonald WA, Pyne DB, Cripps AW, Francis JL, Fricker PA, Clancy RL (1999) Salivary IgA levels and infection risk in elite swimmers. *Med Sci Sports Exerc.* 31(1), 67 - 73
36. Gleeson M, Pyne DB (2000) Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: exercise effects on mucosal immunity. *Immunol Cell Biol.* 78(5), 536 - 544
37. Gorter A, Hiemstra PS, Leijh PC, van der Sluys ME, van den Barselaar MT, van Es LA, Daha MR (1987) IgA- and secretory IgA-opsonized *S. aureus* induce a respiratory burst and phagocytosis by polymorphonuclear leucocytes. *Immunology.*

61(3), 303 - 309

38. Goto T, Gyotoku T, Imayama S, Hori Y (1995) The possible function of sIgA on the skin surface in vivo. *The Nishinohon journal of dermatology*. 57(1), 52 - 54
39. Greiwe JS, Hickner RC, Shah SD, Cryer PE, Holloszy JO (1999) Norepinephrine response to exercise at the same relative intensity before and after endurance exercise training. *J Appl Physiol*. 86, 531 - 535
40. Guéhenneux S, Gardinier S, Morizot F, Le Fur I, Tschachler E (2012) Skin surface hydration decreases rapidly during long distance flights. *Skin Res Technol*. 18(2), 238 - 240
41. Harder J, Bartels J, Christophers E, Schröder JM (1997) A peptide antibiotic from human skin. *Nature*. 387(6636), 861
42. Harder J, Meyer-Hoffert U, Teran LM, Schwichtenberg L, Bartels J, Maune S, Schröder JM (2000) Mucoid *Pseudomonas aeruginosa*, TNF-alpha, and IL-1beta, but not IL-6, induce human beta-defensin-2 in respiratory epithelia. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 22(6), 714 - 721
43. 針谷毅, 平尾哲二, 勝山雅子, 市川秀之, 相原道子, 池澤善郎 (2000) アトピー性皮膚炎患者における心身の状態と皮膚症状の関連性について. *アレルギー*. 49, 463 - 471
44. Hartfiel N, Havenhand J, Khalsa SB, Clarke G, Krayner A (2011) The effectiveness of yoga for the improvement of well-being and resilience to stress in the workplace. *Scand J Work Environ Health*. 37(1), 70 - 76
45. Hauser C, Wuethrich B, Matter L, Wilhelm JA, Sonnabend W, Schopfer K (1985) *Staphylococcus aureus* skin colonization in atopic dermatitis patients. *Dermatologica*. 170(1), 35 - 39
46. 林田草太, 岡孝和, 兒玉直樹, 橋本朋子, 辻貞俊 (2006) 心理社会的ストレス

- により誘発された蕁麻疹の1例. 心身医学. 46(10), 907 - 913
47. 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
 48. Hirose N, Suganami M, Shiraki Y, Hiruma M (2008) Results of questionnaire survey of *trichophyton tonsurans* infection in judo clubs registered under the all Japan judo federation. *Japanese journal of medical mycology.* 49, 197 - 203
 49. Houston MS, Silverstein MD, Suman VJ (1997) Risk factors for 30-day mortality in elderly patients with lower respiratory tract infection. Community-based study. *Arch Intern Med.* 157(19), 2190 - 2195
 50. Imayama S, Shimozone Y, Hoashi M, Yasumoto S, Ohta S, Yoneyama K, Hori Y (1994) Reduced secretion of IgA to skin surface of patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 94(2 Pt 1), 195 - 200
 51. Imokawa G, Abe A, Jin K, Higaki Y, Kawashima M, Hidano A (1991) Decreased level of ceramides in stratum corneum of atopic dermatitis: an etiologic factor in atopic dry skin? *J Invest Dermatol.* 96(4), 523 - 526
 52. Kamei T, Toriumi Y, Kimura H, Ohno S, Kumano H, Kimura K (2000) Decrease in serum cortisol during yoga exercise is correlated with alpha wave activation. *Percept Mot Skills.* 90(3 Pt 1), 1027 - 1032
 53. Khalsa SB, Shorter SM, Cope S, Wyshak G, Sklar E (2009) Yoga ameliorates performance anxiety and mood disturbance in young professional musicians. *Appl Psychophysiol Biofeedback.* 34(4), 279 - 289
 54. Khumar SS, Kaur P, Kaur S (1993) Effectiveness of Shavasana on depression among university students. *Indian J Clin Psychol.* 20, 82 - 87
 55. 菊池克子 (2008) 角質水分量とは. 皮膚科診療最前線シリーズ スキンケア最

前線. 宮地良樹編. メディカルレビュー社. 東京. pp. 120 - 123

56. Kimura F, Aizawa K, Tanabe K, Shimizu K, Kon M, Lee H, Akimoto T, Akama T, Kono I (2008) A rat model of saliva secretory immunoglobulin: a suppression caused by intense exercise. *Scand J Med Sci Sports*. 18(3), 367 - 372
57. Kirschbaum C, Hellhammer DH (1994) Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: recent developments and applications. *Psychoneuroendocrinology*. 19, 313 - 333
58. Klentrou P, Cieslak T, MacNeil M, Vintinner A, Plyley M (2002) Effect of moderate exercise on salivary immunoglobulin A and infection risk in humans. *Eur J Appl Physiol*. 87(2), 153 - 158
59. Knight WE, Rickard PhD NS (2001) Relaxing music prevents stress-induced increases in subjective anxiety, systolic blood pressure, and heart rate in healthy males and females. *J Music Ther*. 38(4), 254 - 272
60. Kobayashi K (1986) Immunoglobulin in secretin. *Journal of medical technology*. 30(9), 971 - 979
61. 河野一郎 (1992) 運動と免疫. *体力科学*. 41, 139 - 146
62. 厚生労働省 (2006) ライフスタイルに応じた身体活動量を増加させるための事例集. *健康づくりのための運動指針 2006*. 37 - 43
63. Kuboki Y, Fujisawa R (1986) Sampling and handling of saliva. *Journal of medical technology*. 30, 937 - 942
64. 久木留毅, 佐藤満, 吉村建治, 田神一美 (2000) 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
65. Kukidome T, Waku T, Katsuta T, Aratani J, Akimoto T, Takano Y, Akama T, Uchiyama H, Kono I (2005) Changes in the condition of top Japanese athletes in

- association with prolonged air travel to foreign countries. The journal of Japanese Society of Clinical Sports Medicine. 13(1), 31 - 41
66. Lamm ME, Nedrud JG, Kaetzel CS, Mazanec MB (1995) IgA and mucosal defense. *APMIS*. 103(4), 241 - 246
 67. Lee K, Shimagami K (2006) A study on seasonal variation of skin hydration in Japanese and Korean women in their 20's. *Japan Society of Physical Anthropology*. 11(2), 87 - 91
 68. Lehrer RI, Lichtenstein AK, Ganz T (1993) Defensins: antimicrobial and cytotoxic peptides of mammalian cells. *Annu Rev Immunol*. 11, 105 - 128
 69. Leung DYM, Rhodes AR, Geha RS (1987) Atopic dermatitis. *Dermatology in general medicine*. Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM, Austin KF, ed. McGraw - Hill. New York. pp. 1385 - 1408
 70. Lindenmayer JM, Schoenfeld S, O'Grady R, Carney JK (1998) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a high school wrestling team and the surrounding community. *Arch Intern Med*. 58(8), 895 - 899
 71. Lodén M, Olsson H, Axéll T, Linde YW (1992) Friction, capacitance and transepidermal water loss (TEWL) in dry atopic and normal skin. *Br J Dermatol*. 126(2), 137 - 141
 72. Mackinnon LT, Chick TW, van As A, Tomasi TB (1987) The effect of exercise on secretory and natural immunity. *Adv Exp Med Biol*. 216, 869 - 876
 73. Mackinnon LT, Ginn E, Seymour GJ (1993) Decreased salivary immunoglobulin A secretion rate after intense interval exercise in elite kayakers. *Eur J Appl Physiol*. 67, 180 - 184
 74. Mackinnon LT, Hooper S (1994) Mucosal (secretory) immune system responses to exercise of varying intensity and during overtraining. *Int J Sports Med*. 15, 179 -

75. Mackinnon LT (1998) Effects of overreaching and overtraining on immune function. *Overtraining in sport*. Kreider RB, Fry AC, O' Toole ML, ed. Human Kinetics. pp. 219 - 242
76. 前田勝正, 吉江弘正, 大石正道 (1990) 臨床に役立つ口腔免疫学アトラス. 歯薬出版株式会社.
77. Mataga I (2009) Dry mouth; Basic and clinical investigations upon history. *Japanese Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 55(4),154 - 162
78. Mathison R, Davison JS, Befus AD (1994) Neuroendocrine regulation of inflammation and tissue repair by submandibular gland factors. *Immunol Today*. 15(11), 527 - 532
79. Matsumoto T, Yuasa H, Kai R, Ueda H, Ogura S, Honda Y (2007) Skin capacitance in normal and atopic infants, and effects of moisturizers on atopic skin. *J Dermatol*. 34(7), 447 - 450
80. McClelland DC, Alexander C, Marks E (1982) The need for power, stress, immune function and illness among male prisoners. *J Abnorm Psychol*. 91, 61 - 71
81. McCraty M, Atkinson G, Ried A.D. Watkins (1996) Music enhances the effect of positive emotional states on salivary IgA. *Stress Med*. 12, 167 - 175
82. McDermott AM, Redfern RL, Zhang B, Pei Y, Huang L, Proske RJ (2003) Defensin expression by the cornea: multiple signaling pathways mediate IL-1beta stimulation of hBD-2 expression by human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 44, 1859 - 1865
83. McDowell SL, Chaloa K, Housh TJ, Tharp GD, Johnson GO (1991) The effect of exercise intensity and duration on salivary immunoglobulin A. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 63(2), 108 - 111

84. McNair DM, Lorr M, Droppleman LF (1971) Profile of Mood States. San Diego. Educational and Industrial. Testing Service.
85. Miletic ID, Schiffman SS, Miletic VD, Sattely-Miller EA (1996) Salivary IgA secretion rate in young and elderly persons. *Physiol Behav.* 60(1), 243 - 248
86. Moriya N, Ohira Y (2009) Measurements of sweat loss and body temperature of an expert triathlete at indoor bike training. *Memoirs of the Muroran Institute of Technology.* 58, 125 - 134
87. Mostov KE, Friedlander M, Blobel G (1984) The receptor for transepithelial transport of IgA and IgM contains multiple immunoglobulin-like domains. *Nature.* 308, 37 - 43
88. Nakamura D, Akimoto T, Suzuki S, Kono I (2006) Daily changes of salivary secretory immunoglobulin A and appearance of upper respiratory symptoms during physical training. *J Sports Med Phys Fitness.* 46(1), 152 - 157
89. Nieman DC (1990) The effect of moderate exercise training on natural killer cell and acute upper respiratory tract infections. *Int J Sport Med.* 11, 467 - 473
90. Nieman DC (1994) Exercise, infection and immunity. *Int J Sports Med.* 15, 131 - 141
91. Nilsson EJ, Henning CG, Magnusson J (1992) Topical corticosteroids and *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol.* 27(1), 29 - 34
92. Okada T, Konishi H, Ito M, Nagura H, Asai J (1988) Identification of secretory immunoglobulin A in human sweat and sweat gland. *J Invest Dermatol.* 90(5), 648 - 652
93. Oren Z, Lerman JC, Gudmundsson GH, Agerberth B, Shai Y (1999) Structure and organization of the human antimicrobial peptide LL-37 in phospholipid membranes: relevance to the molecular basis for its non-cell-selective activity.

Biochem J. 341(Pt 3), 501 - 513

94. Oshima N, Numao S, Chinzei M (2011) Effectiveness of a Relaxation Technique at the Workplace Evaluated by Autonomic Nervous Activity and Psychological Mood. *J Jpn Soc Balneol Climatol Phys Med.* 74(4), 256 - 262
95. Ostrowski K, Rohde T, Asp S, Schjerling P, Pedersen BK (1999) Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *The Journal of Physiology.* 515(Pt 1), 287 - 291
96. Pecci M, Comeau D, Chawla V (2009) Skin conditions in the athlete. *Am J Sports Med.* 37(2), 406 - 418
97. Pedersen BK, Rohde T, Ostrowski K (1998) Recovery of the immune system after exercise. *Acta Physiol Scand.* 162(3), 325 - 332
98. Schaller M, Schackert C, Korting HC, Januschke E, Hube B (2000) Invasion of *Candida albicans* correlates with expression of secreted aspartic proteinases during experimental infection of human epidermis. *J Invest Dermatol.* 114(4), 712 - 717
99. Shimizu K, Kimura F, Akimoto T, Akama T, Otsuki T, Nishijima T, Kuno S, Kono I (2007) Effects of exercise, age and gender on salivary secretory immunoglobulin A in elderly individuals. *Exerc Immunol Rev.* 13, 55 - 66
100. Shimizu K, Kimura F, Akimoto T, Akama T, Tanabe K, Nishijima T, Kuno S, Kono I (2008) Effect of moderate exercise training on T-helper cell subpopulations in elderly people. *Exerc Immunol Rev.* 14, 24 - 37
101. Shiohara T (2009) Atopic dermatitis and sweating: is sweating beneficial or detrimental? *Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 228(1), 31 - 37
102. Smith RE, Ptacek JT, Patterson E (2000) Moderator effects of cognitive and somatic trait anxiety on the relation between life stress and physical injuries. *Anxiety, Stress, and Coping.* 13, 269 - 288

- 103.Sosin DM, Gunn RA, Ford WL, Skaggs JW (1989) An outbreak of furunculosis among high school athletes. *Am J Sports Med.* 17, 828 - 832
- 104.総務省統計局 (2011) 人口の推移と将来人口. 日本の統計. 8 - 9
- 105.Starner TD, Agerberth B, Gudmundsson GH, McCray PB Jr (2005) Expression and activity of beta-defensins and LL-37 in the developing human lung. *J Immunol.* 174, 1608 - 1615
- 106.Sumikawa Y, Ueki Y, Miyoshi A, Cheng L, Yin M, Shi HB, Daitoku Sumikawa M, Kono T, Aoki T, Katayama I (2007) Survey of atopic dermatitis and skin barrier functions in Japanese and Chinese school students. *Arerugi.* 56(10), 1270 - 1275
- 107.Tabata N, O'Goshi K, Zhen YX, Kligman AM, Tagami H (2000) Biophysical assessment of persistent effects of moisturizers after their daily applications: evaluation of corneotherapy. *Dermatology.* 200(4), 308 - 313
- 108.田上八朗 (2005) アトピー性皮膚炎と皮膚のバリア機能. *アレルギー.* 54(5), 445 - 450
- 109.田中浩, 岡田富雄, 小西宏明 (1988) 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
- 110.Tanida T, Ueta E, Tobiume A, Hamada T, Rao F, Osaki T (2001) Influence of aging on candidal growth and adhesion regulatory agents in saliva. *J Oral Pathol Med.* 30(6), 328 - 335
- 111.Telles S, Gaur V, Balkrishna A (2009) Effect of a yoga practice session and a yoga theory session on state anxiety. *Percept Mot Skills.* 109(3), 924 - 930
- 112.照井正 (2008) 皮膚バリア機能. 皮膚科診療最前線シリーズ スキンケア最前線. 宮地良樹編. メディカルレビュー社. 東京. pp. 124 - 127
- 113.Tomasi TB, Plaut AG (1985) Humoral aspects of mucosal immunity. In: Gallin JI, Fauci AS (eds) *Advances in Host Defense Mechanisms.* Raven Press. New York,

pp 31 - 61.

114. Tomita T, Nagase T, Ohga E, Yamaguchi Y, Yoshizumi M, Ouchi Y (2002) Molecular mechanisms underlying human beta-defensin- 2 gene expression in a human airway cell line (LC2/ad). *Respirology*. 7, 305 - 310
115. Tsujita S, Morimoto K (1999) Secretory IgA in saliva can be a useful stress marker. *Environmental Health and Preventive Medicine*. 4, 1 - 8
116. Uebelacker LA, Tremont G, Epstein-Lubow G, Gaudiano BA, Gillette T, Kalibatseva Z, Miller IW (2010) Open trial of Vinyasa yoga for persistently depressed individuals: evidence of feasibility and acceptability. *Behav Modif*. 34(3), 247 - 264
117. 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
118. van der Poll T, Jansen J, Endert E, Sauerwein HP, van Deventer SJ (1994) Noradrenaline inhibits lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor and interleukin 6 production in human whole blood. *Infect Immun*. 62(5), 2046 - 2050
119. Wardell DW, Engebretson J (2001) Biological correlates of Reiki Touch (sm) healing. *J Adv Nurs*. 33(4), 439 - 445
120. Warner RR, Myers MC, Taylor DA (1988) Electron probe analysis of human skin: determination of the water concentration profile. *J Invest Dermatol*. 90(2), 218 - 224
121. Watanuki S, Kim YK (2005) Physiological responses induced by pleasant stimuli. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci*. 24(1), 135 - 138
122. Willemsen G, Carroll D, Ring C, Drayson M (2002) Cellular and mucosal immune reactions to mental and cold stress: associations with gender and cardiovascular

- reactivity. *Psychophysiology*. 39, 222 - 228
123. Yamada Y, Fukunaga M, Hayashi K, Umehara Y, Nakao T (1991) Bacterial contamination of towels in the work of food service management. *Suzuka Junior College*. 11, 121 - 127
124. Yamaguchi J (2007) Rinsing with chlorhexidine gluconate shows comparable anti-bacterial effect to brushing on the preoperative skin treatment for THA. *Hip joint*. 33, 19 - 21
125. Yang D, Chertov O, Bykovskaia SN, Chen Q, Buffo MJ, Shogan J, Anderson M, Schröder JM, Wang JM, Howard OM, Oppenheim JJ (1999) Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science*. 286(5439), 525 - 528
126. Yokoyama K, Araki S, Kawakami N, Tkakeshita T (1990) Production of the Japanese edition of profile of mood states (POMS): assessment of reliability and validity. *Nihon Kosshu Eisei Zasshi*. 37(11), 913 - 918

謝辞

本研究を遂行し論文を製作するにあたって、懇切丁寧なご指導ご助言を賜りました早稲田大学スポーツ科学学術院・赤間高雄教授に厚く御礼申し上げます。

また、本論文の審査を快諾してくださいました早稲田大学スポーツ科学学術院・坂本静男教授、早稲田大学スポーツ科学学術院・鈴木克彦准教授に厚く御礼申し上げます。

さらに、私に研究の基礎からご指導を賜りました東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター・秋本崇之講師、筑波大学大学院人間総合科学研究科・木村文律研究員、筑波大学スポーツ Research & Development コア・清水和弘研究員に心より御礼申し上げます。

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早稲田大学スポーツ科学研究センター・鈴木智弓研究員、日本大学法学部・田辺陽子准教授、早稲田大学大学院スポーツ科学研究科・李恩宰さんに厚く感謝致します。そして、対象者として実験に協力して頂いた皆様に御礼申し上げます。

最後に、いつも温かく見守り、本日まで支えてくださった両親と家族に心より深く感謝申し上げます。