

## 一過性運動が唾液リゾチームに及ぼす影響について

### The effect of moderate and high-intensity exercise on the saliva lysozyme

内 藤 祐 子 \*, 小野寺 識 \*\*, 金見 修 \*\*\*

Yuko NAITO \*, Satoshi ONODERA \*\* and Osamu KANEMI \*\*\*

#### ABSTRACT

Lysozyme, non-specific immune salivary protein, is a key component of the innate host defense system in the oral cavity. The present study examined whether the secretion of salivary lysozyme was increased by physical exercise. Five male subjects performed on a cycle ergometer for 4 minutes at the anaerobic threshold (AT) level and at the all-out level. Whole saliva was collected before and after exercise and lysozyme concentration was measured by nephelometer analysis. It was found that the salivary flow rate and salivary protein showed a tendency to decrease and to increase after the exercise at all-out level, respectively. The salivary lysozyme concentration and lysozyme output were increased significantly after the exercise at the high-intensity. Strong positive correlation was observed between salivary lysozyme level and salivary CgA ( $p < 0.001$ ), and also salivary lysozyme level correlated with heart rate ( $p < 0.05$ ) immediately after exercise. It is concluded that the high-intensity and short exercise increases secretion of lysozyme into saliva.

*Key words; lysozyme, saliva, non-specific immune system, autonomic nervous system*

#### 緒 言

運動と免疫との関連については近年興味もたれ、多くの研究がなされている<sup>7, 10, 11)</sup>。中等度の運動は免疫能を促進し、適度な運動習慣は免疫機構を増強する。その一方で、長時間に及ぶ激しい運動後にはリンパ球濃度の減少などをもち、易感染しやすい状態を作り出す。Niemanら<sup>10)</sup>は運動強度と上気道感染症の罹患率との関係をJ字に例えて、運動活動が少なすぎてもあるいは過度

でも感染率は高まると報告している。さらに、フルマラソンのような強い運動後には分泌型IgAの減少が観察された<sup>11)</sup>。一方で非特異的な生体防禦機構を担っている好中球は運動後に増加することが明らかとなっている<sup>9)</sup>。

こうした免疫系の変化は内分泌系や自律神経系との相互関係によってもたらされる。この3つの調節機構の連結が生体内に様々な反応を引き起こしている。特に免疫機能との関係ではアドレナリンやノルアドレナリンなどの投与は好中球やNK

\* 国土館大学体育学部スポーツ医科学科 (Department of Sport and Medical science, faculty of Physical education, Kokushikan University)

\*\* 国土館大学大学院スポーツシステム研究科 (Graduate School of Sports System, Kokushikan University)

\*\*\* 東北大学大学院医学系研究所 (Department of Medicine and Science in Sports and Exercise, Graduate school of Medicine, Tohoku University)

細胞を増加させる一方で、T細胞やB細胞などのリンパ球を減少させることが観察されている<sup>2, 13)</sup>。運動をストレスと捉えるならば生体は運動によってストレスホルモンや他の生理活性物質の分泌を促進し、結果として免疫応答を活性化する。そして免疫増強効果あるいは抑制効果として相反する作用を示す。

このように生体における免疫反応は多岐にわたっている。ここでは非特異的な生体防禦物質であるリゾチームに注目し、一過性の運動を与えることによって唾液中のリゾチームがどのような変化を示すかを検討した。

## 方 法

### I 対象

本大学体育学部に所属する男子大学生5名（年齢：23±1歳）を対象とした。被験者の身体的特徴は表1に示した。今回の被験者の多くは過去に積極的に運動を実施していた者で、現在でも軽い運動を週に2～3日程度実施している。なお、実験に先立ち実験内容や手順については詳細な説明を行い、本実験への参加の同意を得た後、実験に参加させた。

### II 実験プロトコル

被験者の体力レベルの指標に用いたATを求めするため、あらかじめ漸増運動負荷テストを実施した。測定方法は自転車エルゴメーターを用いて

表1 被験者の身体的特性

被験者	年齢(歳)	身長(cm)	体重(kg)
K.N.	23	172	73
N.S.	23	169	60
Y.H.	22	170	62
N.M.	23	173	60
S.M.	22	171	70
Mean±S.D.	23±1	171±2	65±6

60rpmのペダリング運動中に採取した血中乳酸濃度と呼気ガスからATを決定した。

定量負荷運動テストは以下のような手順で実施した。被験者は自転車エルゴメーター場で5分間の安静をとった後、1分間の無負荷ペダリングによる予備運動に続いてATレベル強度の主運動を4分間実施した。各運動終了後は自転車エルゴメーター上で安静を保った。50分間の休憩をとり、安静心拍数に戻ったのを確認してから1分間の無負荷ペダリングによる予備運動に続いてall-outレベル強度の主運動を4分間実施した。

唾液採取は安静時と各運動終了直後から2分間に口腔内に貯留した混合唾液をSalivette™で採取した。採取した唾液は遠心(3000rpm)したのち、エッペンドルフポリプロピレンチューブに移し、測定時まで-80℃で冷凍保存した。

### III 唾液成分の測定

唾液中の総タンパク量はBradford法、リゾチームは比濁法、コルチゾールはGammaCoat™ cortisol kit® (DADE BEHRING)、唾液クロモグラニンA (CgA) はhuman ChromograninA kit (矢内原研究所)によってそれぞれ測定した。リゾチーム測定の比濁法ではMicrococcus lysodeikticusの乾燥菌体を基質として使用した。

### IV 統計処理

各測定値は平均値および標準誤差で示した。唾液成分の比較には一元配置分散分析を行い、有意差が認められた場合に、FisherのPLSDを用いて群間検定を行った。リゾチームと各物質との相関関係の有意差検定にはピアソンの相関係数検定法を用いた。ともに統計学的有意水準は5%未満とした。

## 結 果

### I. 運動後のリゾチームおよび唾液成分の変化

安静時、ATレベルでの運動直後、all-outの運動

表2 運動による唾液成分の変化

	運動前	AT運動後	all-out 運動後
分泌速度 (ml/min)	0.73±0.15	0.73±0.13	0.56±0.06
総タンパク質 (mg/ml)	2.7±0.2	3.0±0.3	5.1±1.0*
リゾチーム (μg/ml)	3.8±1.6	12.0±6.4	29.6±11.9*
コルチゾール (μg/dl)	0.20±0.05	0.23±0.05	0.23±0.07
CgA (pmol/ml)	2.9±0.4	7.8±3.6	16.5±3.2*, **

Values are mean±SE

\*:p<0.05 (運動前とallout運動後との比較)

\*\* :p<0.05 (ATレベルでの運動後とall-out運動後との比較)

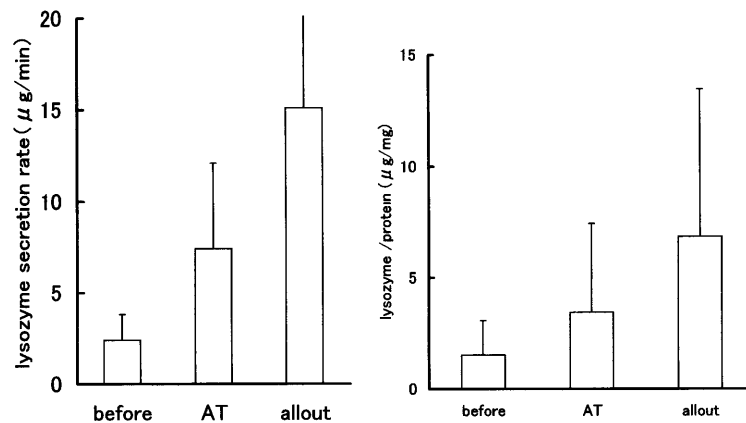


図1 1分間あたりの唾液リゾチーム分泌量およびタンパク質補正唾液リゾチームの運動後の変化

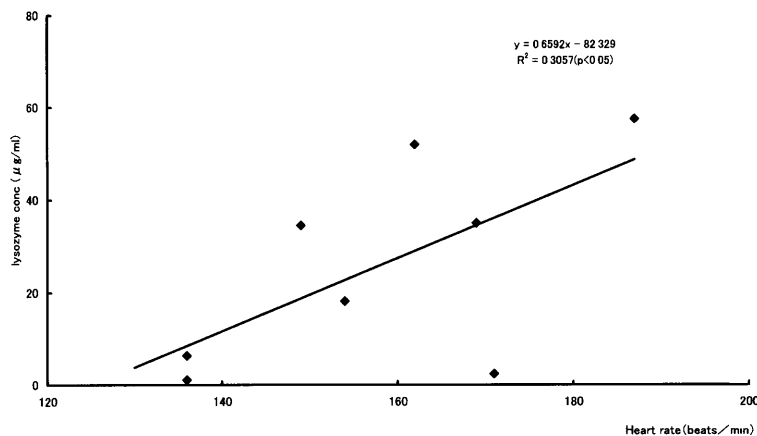


図2 運動時の心拍数とリゾチーム濃度との関係

後の心拍数の平均値はそれぞれ65±10拍/min、141±10 拍/min、172±9 拍/minであった。

表2に安静時と運動後の唾液成分の平均値を示した。唾液分泌速度は運動前に比べてall-outレベルの運動後には低下する傾向を示したが、有意な変化ではなかった。唾液中の総タンパク質、リゾチーム、クロモグラニンA濃度は運動後に増加する傾向を示し、特にall-outレベルの運動後には有意な増加(p<0.05)を示した。ストレスホルモンであるコルチゾールは変化がなかった。運動前後の1分間あたりのリゾチーム分泌量とタンパク補正したリゾチーム濃度を図1に示した。1分間あたりの唾液リゾチーム分泌量は運動前と比べて増加傾向を示したが、統計学的には有意な変化ではなかった(運動前: 2.4±1.4 μg/min、AT運動後: 7.4±4.7 μg/min、all-out運動後: 15.1±6.3 μg/min)。タンパク質補正したリゾチーム濃度も同様の傾向を示した(運動前: 2.4±1.4 μg/mg、AT運動後: 3.4±1.7 μg/mg、all-out運動後: 6.8±2.9 μg/mg)。

## II. リゾチームに影響を及ぼす因子

図2に運動における心拍数とリゾチーム濃度との関係を示した。両者の間には

統計学的に有意な正の相関 ( $r^2=0.3057$ ,  $p<0.05$ ) が示された。また、唾液CgA濃度とリゾチーム濃度との間にも有意な正の相関係数 ( $r^2=0.4973$ ,  $p<0.05$ ) が示された (図3)。

### 考 察

ATレベルおよびall-outレベルでの運動強度で4分間の自転車エルゴメーターの運動を実施すると唾液中のリゾチーム、タンパク質濃度はそれぞれ上昇した。特に高強度の運動後におけるリゾチーム濃度の増加は有意 ( $p<0.05$ ) であった。1分間あたりの唾液リゾチーム分泌量ならびにタンパク補正したリゾチーム濃度も増加の傾向は見られたが、有意な変化ではなかった。久保ら<sup>6)</sup>は中等度の強度での20分間の自転車運動で唾液リゾチームの分泌量は増加したと報告している。永田ら<sup>8)</sup>は最大酸素摂取量の60%強度や80%強度での60分間の走運動では唾液中リゾチーム濃度は増加したが、タンパク濃度で補正すると60%強度では変化がなく、80%強度では低下する傾向があったと報告している。

唾液中のリゾチームは大唾液腺である顎舌下腺や小唾液腺などの唾液腺の腺房細胞から分泌されるだけでなく、食細胞にも由来する<sup>5)</sup>。全唾液中

には血液由来の白血球が存在するが、白血球の崩壊で顆粒中のリゾチームが唾液中に放出されることが実験的に示されている<sup>12)</sup>。さらに、歯肉溝浸出液においては単球やマクロファージも積極的にリゾチームを分泌してリゾチーム活性にかかわっていることが知られている。

末梢血中の好中球数は急性の運動直後に一時的に増加する。しかも、この増加は運動強度や運動継続時間と平行である<sup>3)</sup>。急性運動に伴った好中球数の増加は血流分布の変化やカテコールアミンの増加にともなった現象であると考えられている。本実験での一過性運動に伴う唾液リゾチーム濃度の増加は心拍数や自律神経活動の指標となりえる唾液クロモグラニンA (CgA) <sup>9)</sup>ともよく相関していた。こうした結果から急性運動ストレスは唾液においても末梢血中と同様の現象を引き起こし、リゾチーム濃度を増加させる可能性が考えられる。生体防禦機構として適応免疫は特異性にすぐれている上に強力で持続性もあるが、反応の確立までにはある程度の時間を要する。その間、生体は第一義的な防護機構である自然免疫 (innate immunity) によって侵入する微生物などの異物から生体を防禦している。特に、HIV-1感染者のようなcompromised hostを日和見感染から予防するためにも自然免疫の中心的な抗菌物質

であるリゾチームの口腔内局所における役割は重要である。

運動強度が高いと短時間でも唾液分泌量は減少する傾向が見られた。こうした分泌量の減少はフルマラソンのような運動強度が高く長時間に及ぶスポーツでは顕著となる<sup>1)</sup>。唾液は物理的または生化学的メカニズムによって機械的清掃作用の役割を果たしていると同時に生体防禦作用としての

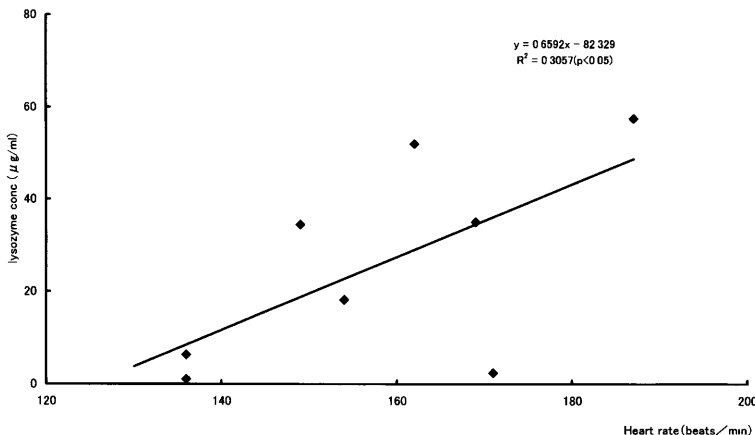


図3 運動時のリゾチーム濃度と唾液CgA濃度

役割も大きい。したがって唾液分泌量の低下は口腔衛生上、問題が発生しやすく、口腔内疾患へのリスクは増大すると考えられる。

唾液の分泌は自律神経によって調節されていて、交感神経が優位に立つと唾液中の水分量は低下し、タンパク質濃度は増加する傾向にある<sup>4)</sup>。本実験ではATレベルの運動強度での唾液の変化は顕著でなく、心拍数が160拍/分を越えるような激しい運動を実施すると、唾液流量は抑制され、唾液中のタンパク質濃度は増加した。久保ら<sup>6)</sup>は運動時には唾液腺房細胞の $\beta$ -1受容体が賦活化されてタンパク質合成が亢進すると考えている。永田ら<sup>8)</sup>は高強度で1時間の運動後のリゾチーム濃度は増加したが、この結果は運動による唾液濃縮の影響だとしている。このことは運動による唾液成分の変動結果を示す際に、自律神経や脱水の影響を考慮しなくてはならないことを示すものである。本実験では運動時間、心拍数、唾液CgAとの関連性からリゾチームの変動を見かけの唾液濃縮の結果によるだけでは説明しにくく、むしろ神経系に連動した免疫系での変化と考えるべきであろう。このためにもさらに免疫系に影響する神経系や内分泌系との相互作用との関連を詳細に検討する必要があると考えられる。

## ま と め

ATおよびall-outレベルの自転車運動を4分間実施した時の唾液リゾチームの濃度変動を検討した。その結果、運動強度とともに唾液中のリゾチーム濃度、1分間あたりのリゾチーム分泌量はともに増加する傾向が見られた。このリゾチーム濃度の増加は心拍数やカテコールアミン分泌関連物質であるCgA濃度とも相関が見られ、自律神経系との関連が示唆された。

## 引用・参考文献

- 1) 秋本崇之, 赤間高雄, 杉浦弘一ほか: 持久性ランニングによる口腔局所免疫能の変動. 体力科学 47:53, 1998
- 2) Beshop RJ, Rodriguez-Feuerhahn M and Schedlowski M: Catecholamine-induced leukocytosis: early observations, current research and future directions. Brain Behavior & Immunity. 10:77, 1996
- 3) Gabriel H, and Kindermann W: The acute immune response to exercise: what does it mean? Int J Sports Med, 18:28, 1997
- 4) 早川太郎, 須田立雄編: 口腔生化学, 192-216, 医歯薬出版, 東京, 1999
- 5) 石川達也, 高江洲義矩編: 唾液の科学, 213-244, 一世印刷, 東京, 1998
- 6) 久保好恵, 小池陽子, 杉浦崇夫ほか: 運動時の口腔局所免疫反応, 山口県体育学研究, 45:43, 2002
- 7) Mackinnon LT: Advances in exercise immunology, Human kinetics, Champaign, 1999
- 8) 永田稔, 稲水惇, 森河亮: 運動が唾液中リゾチームに及ぼす影響について, 体力科学, 51(6)628, 2002
- 9) 内藤祐子, 渡辺剛, 室増男: 運動ストレスによる唾液クロモグラニンAの変動について, 51:630, 2002
- 10) Nieman DC: Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. Med Sci Sports Exerc. 26:128, 1994
- 11) Pedersen BK: Exercise immunology, Springer, Heidelberg, 1997
- 12) Raeste AM: Lysozyme activity of leukocytes and exfoliated epithelial cells in the oral cavity, Scand J Dent Res, 80:422, 1972
- 13) Schedlowski M, Falk A, Rohne A, et al: Catecholamines induce alterations of distribution and activity of human natural killer (NK) cells. J Clin Immunol. 13:334, 1993