

機関番号：15401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20500448

研究課題名（和文） 慢性呼吸器疾患患者の免疫機能改善を目的とした運動療法プログラムの確立

研究課題名（英文） Exercise therapy and immune function in patients with chronic respiratory failure

研究代表者

関川 清一（SEKIKAWA KIYOKAZU）

広島大学・大学院保健学研究科・准教授

研究者番号：30363055

研究成果の概要（和文）：

本研究は、慢性呼吸器疾患患者における運動療法が免疫機能に与える影響を検証することを目的とした。免疫機能は、呼気凝縮液及び唾液中の分泌型免疫グロブリンA（SIgA）を解析した。その結果、気道におけるSIgA産生量が微量で、呼気凝縮液よりの試料分析は困難であった。また、慢性呼吸器疾患患者に対する運動療法を中心した入院期呼吸リハビリテーションは、運動能力の改善のための至適な運動強度であること、防衛体力の指標としての唾液中SIgAが一過性に低下しないことが明らかとなった。さらに、免疫調整機能としての抗酸化力も低下しないことが明らかとなり、免疫機能からみた有効な呼吸リハビリテーションの方法が解明された。

研究成果の概要（英文）：

The objective was to determine the effects of exercise training on changes in salivary and exhaled breath condensate (EBC) immune function in patients with chronic respiratory disease. As an indicator of an immune functions, secretory immunoglobulin A (SIgA) in saliva and EBC was measured. Airway production of SIgA was unable to be measured in EBC specimens and, therefore, EBC specimens cannot be used to monitor SIgA concentration. Hospital-based pulmonary rehabilitation program which designed exercise training and breathing retraining, did not decrease SIgA and immunity with antioxidants in saliva. The result of this study suggests that pulmonary rehabilitation could be a useful for improving immune function, also makes improving physical conditioning and exercise performance.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：リハビリテーション科学

科研費の分科・細目：人間医工学・リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：呼吸器疾患 リハビリテーション 運動療法 免疫 免疫調整機能

1. 研究開始当初の背景

慢性呼吸器疾患患者において、運動療法マニュアルが発表され、一般的診療現場におけ

る運動療法プログラム導入の機運の高まりがある。一方、慢性呼吸器疾患患者において急性上気道感染症の発症・進行予防や局所免

疫機能といった防衛体力を向上させる対策が重要であり、その運動療法プログラムを開発することは急務である。これまでに研究代表者は、慢性呼吸器疾患患者における唾液中の分泌型免疫グロブリンA（以下SIgA）濃度を指標にして、急性上気道感染症との関係、急性および慢性運動負荷の影響を体系化し、呼吸リハビリテーション領域における上気道局所免疫機能の検討意義を構築してきた。この成果では、SIgA濃度のみに着目したため、呼吸リハビリテーション（以下呼吸リハ）における上気道局所免疫機能の意義を検討することが可能であったが、運動時の免疫機能動態メカニズムの解明や免疫調整機能の影響を解明することに限界が生じていた。また、慢性呼吸器疾患において、免疫機能の観点から運動療法の効果検証を実施した研究は散見するのみであり、免疫機能改善を目的とした運動プログラムは確立されていない。

2. 研究の目的

本研究は、運動負荷といった身体ストレス負荷が局所免疫機能を変化させる重要な要因となると考え、唾液中SIgA濃度さらに呼気凝縮液中の免疫系の指標を測定し、その動態メカニズムを解明することが目的である。特に、呼気凝縮液（Exhaled Breath Condensate：以下EBC）の分析においてSIgAの特定が本研究で可能となれば、運動による免疫機能の変化が口腔局所由来なのか、気管支、肺泡領域の関与なのか特定することができ、動態メカニズムの解明につながると考える。

さらに慢性呼吸器疾患において、免疫機能の観点から運動療法の効果検証を実施した研究はほとんどなされていないことから、運動療法の影響を長期的に解析し、運動療法プログラムの免疫機能改善を目的とした観点から検証することも本研究の目的である。

3. 研究の方法

(1)呼吸不全の急性増悪により入院し、呼吸リハ処方があった呼吸器疾患患者を対象とした。呼吸リハ処方日から退院するまでの期間、毎日、唾液採取用チューブを用いて咀嚼刺激による唾液採取を行った。さらに呼吸リハ実施日は、実施前後に唾液採取を行った。なお、各対象の唾液採取は全期間通じてほぼ午後同一時刻に実施した。採取した唾液の検体の取り扱いは、採取後に遠心分離機

(2420：KUBOTA)にて遠心し、唾液容量を計測後に -30°C にて凍結保存した。得られた検体は、酵素標識免疫測定法（Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay：以下ELISA）を用いてSIgA濃度を測定し、SIgA分泌速度を算出した。安静時唾液中SIgA分泌速度の変動の検討のために、個体内変動係数および個体間

変動係数を算出した。

(2)慢性呼吸器疾患で検討する際に、上気道局所免疫機能のみならず、下気道の免疫機能を含めて検討することが可能かどうか、基礎的検証としてEBC中の免疫機能関連物質であるSIgAの解析を試みた。SIgA ELISA kit（測定範囲：22.2-600 ng/ml）を使用して解析した。また、SIgA濃度が $1\mu\text{g/ml}$ となるように調整済EBCを作成し、SIgAの添加回収実験をELISA法にて検討した。

(3)EBC中の免疫機能を調整する関連物質として、健常成人を対象に、過酸化水素濃度および抗酸化力の無酸素性最大運動負荷による動態解析を試みた。抗酸化力の測定は、Biological Anti-oxidant Potential test（BAP test kit：Diacron）と分光光度計（Free Radical Elective Evaluator；Diacron）を用いて解析した。さらに医療用穿刺器（BD ジニーランセット：日本ベクトン・ディッキンソン）を用いて指尖より採血を行い、血漿中変化を合わせて検討した。

(4)慢性呼吸器疾患患者を対象とした免疫指標としての運動療法プログラムの影響を検討するために、唾液中SIgA濃度解析に追加して、抗酸化力を解析した。検体の取り扱いならびに解析方法は、従前の研究方法に沿った。運動療法プログラムは、「呼吸リハビリテーションマニュアル-運動療法-」の内容に沿って実施した。検体採取は、呼吸リハ処方時および退院時の呼吸リハ前後に行った。

4. 研究成果

(1)安静時唾液中SIgA分泌速度の個体内変動係数は39.0%、個体間変動係数は66.5%であった。急性増悪後の慢性呼吸器疾患患者では、安静において上気道局所免疫能が高い日と低い日が存在し、生理的変動が影響する可能性が示唆された。さらに呼吸リハ実施による上気道局所免疫能変動が一様ではない可能性が示唆された。

(2)EBC中のSIgAは検出限界以下の濃度であり、試料分析が困難であった（図1）。さらにSIgAの添加回収実験による回収率は105%~116%であり、全ての検体で理論値よりも実測値が高濃度であったことから、ELISA法における測定阻害は存在せず、EBC中のSIgA濃度は測定限界以下の極めて低値であると証明された。この研究により、EBC中SIgA産生量は微量で、試料分析が困難であり、SIgAを指標にした免疫機能変化が口腔局所由来なのか、気管支肺泡領域の関与なのか特定することが困難であるという成果を得た。今後の展望として、下気道の免疫機能を検討するためには、EBC検体による解析が可能な免疫機能を調整する関連物質を指標して検討が必要であることが明らかとなった。

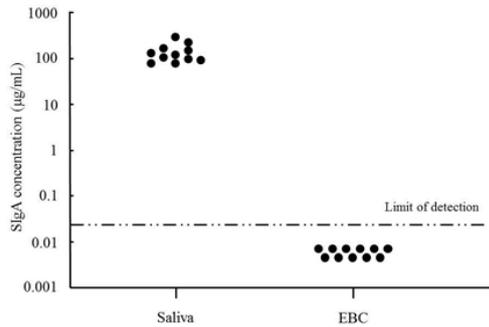


図1. Secretory immunoglobulin A (SIgA) concentrations in saliva and exhaled breath condensate (EBC) measured by ELISA. Dashed line represents the lower limit of detection for the assay.

(3) 健康成人(男性 11 人、平均値±標準偏差 21.4±1.7 歳)を対象に、無酸素性最大運動負荷を実施し、EBC 変化を検討した。その結果、運動負荷前後に EBC 中の過酸化水素濃度は有意な変化を認めず(平均値±標準偏差、前: 1.5±0.7 µmol/L、後: 1.2±0.7 µmol/L)、抗酸化力も有意な変化を認めなかった(平均値±標準偏差、前: 247.0±21.7 µmol/L、後: 254.0±31.5 µmol/L)。

合わせて、健康成人(男性 17 人、平均値±標準偏差 20.7±1.2 歳)を対象に血漿中変化を検討した。その結果、運動負荷直後に血漿中のヒドロペルオキシド濃度は有意に増加し、運動負荷後 30 分後は運動負荷前と比べ有意差を認めなかった(平均値±標準偏差、前: 255.1±45.7 UCarr、運動負荷直後: 284.6±46.9 UCarr、運動負荷後 15 分後: 259.2±52.5 UCarr)。抗酸化力は運動負荷直後に有意に増加し、運動負荷後 30 分後は運動負荷前と比べ有意差を認めなかった(平均値±標準偏差、前: 2026.1±326.6 µmol/L、運動負荷直後: 2445.5±288.4 µmol/L、運動負荷後 15 分後: 2167.6±263.1 µmol/L)。

以上の結果より、最大運動負荷による気道中の過酸化水素生成および抗酸化反応は、血液中と異なるメカニズムである可能性が示唆され、一過性運動負荷に対する応答特性や運動療法の効果を明らかにする上での重要な示唆を得た。

(4) 慢性呼吸器疾患患者 10 名(平均値±標準偏差、74.0±6.2 歳)を対象とした上気道局所免疫機能、免疫調整機能としての運動療法プログラムの影響を検討した。その結果、唾液分泌速度は、呼吸リハ前後において有意差を認めなかった(リハ前: 平均 943.8±標準偏差 610.9 µl/min、リハ後 1021.3±522 µ

l/min)。唾液中 SIgA 濃度は、呼吸リハ前後において有意差を認めなかった(リハ前: 170.5±100.5 µg/ml、リハ後 144.4±77.9 µg/ml)(図 2)。また、抗酸化力においても、呼吸リハの実施により有意な低下を認めなかった(リハ前: 3330.3±759.3 µmol/L、リハ後 3954.1±1607.4 µmol/L)(図 3)。

慢性呼吸器疾患患者の運動療法を中心とした入院期呼吸リハビリテーションは、運動能力の向上のための至適運動強度であることのみならず、一貫して局所免疫機能を一過性に低下させることのないプログラムであることが初めて明らかとなった。また、リハビリテーションプログラムは、免疫調整機能として絶対的あるいは相対的欠乏による抗酸化状態に影響しない可能性が示唆された。

本研究は、慢性呼吸器疾患患者において免疫機能の観点から防衛体力の向上に関する運動療法の検証を初めて検討したものであり、一定の成果を得た。しかし、SIgA の免疫動態変化が、口腔局所由来なのか気道肺胞領域由来なのか特定することができなかったため、運動時局所免疫機能のメカニズム解明に関する成果を得ることができなかった。また、入院期にある慢性呼吸器疾患患者に対するの検証であり、長期的にみた運動療法の影響を検討するに至っていない。

今後の展望として、上気道における免疫調整機能としての抗酸化力の意義、口腔局所における免疫機能のみならず、気管支肺胞領域における免疫調整機能の指標に着目し、臨床医学的見地より、安定期にある慢性呼吸器疾患患者に対する免疫機能改善を目的としたリハビリテーションの効果検証をすすめていく必要がある。

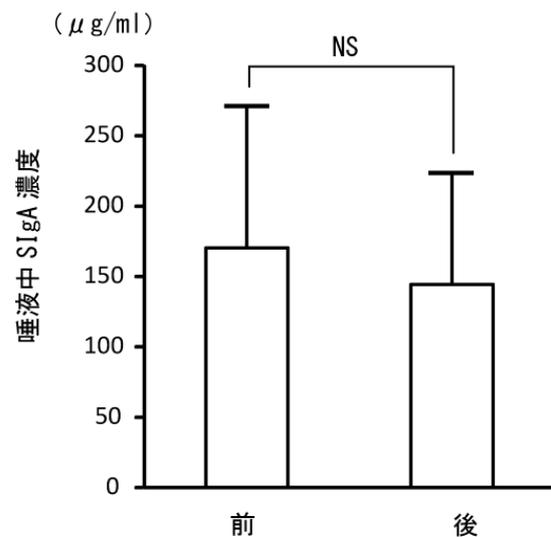


図2. 呼吸リハによる唾液中 SIgA 濃度変化

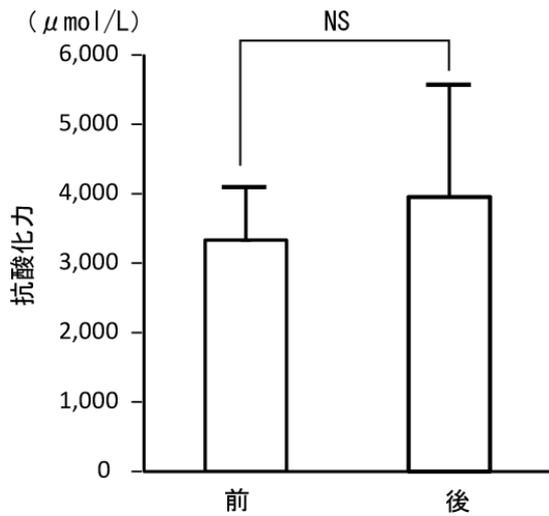


図3. 呼吸リハによる抗酸化力変化

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

1. 堂面彩加, 對東俊介, 小西華奈, 高橋真, 関川清一, 稲水惇, 濱田泰伸, 健常若年者の肺の酸化ストレスは短時間高強度運動負荷によって増大しない, 理学療法科学, 査読有, 印刷中, 2011
2. Taito Shunsuke, Oyama Fumiaki, Takahashi Makoto, Sekikawa Kiyokazu, Inamizu Tsutomu Changes in plasma oxidative stress biomarkers after single-sprint anaerobic exercise, Advances in Exercise and Sports Physiology, 16, 査読有, 2010, pp 7-13
3. Sekikawa Kiyokazu, Taito Shunsuke, Takahashi Makoto, Matsubara Akemi, Inamizu Tsutomu, Analysis of secretory immunoglobulin A concentration in saliva and exhaled breath condensate, Journal of Analytical Bio-Science 33, 査読有, 2010, pp237-241
4. 對東俊介, 関川清一, 河江敏広, 高橋真, 松原朱實, 稲水惇, 高齢者における安静時唾液中分泌型免疫グロブリンAの生理的変動の検討, 生物試料分析 33, 査読有, 2010, pp167-172

[学会発表] (計4件)

1. 對東俊介, 堂面彩加, 高橋真, 関川清一, 稲水惇, 自転車エルゴメータによる無酸素性運動負荷は酸化ストレスに影響するか?, 第45回日本理学療法学会大会, 2010年5月27日, 岐阜市

2. 對東俊介, 関川清一, 高橋真, 松原朱實, 稲水惇, 唾液中および呼気凝縮液中分泌型免疫グロブリンAの検討, 第4回生物試料分析学会 中国四国支部学会, 2009年8月9日, 広島市

3. 関川清一, 對東俊介, 稲水惇, 関川則子, 内野真由子, 渡具知武之, 日野真, 倉岡敏彦, 呼吸不全増悪後の呼吸リハビリテーションは上気道局所免疫機能変動に影響するか?, 第18回日本呼吸ケア・リハビリテーション学会, 2008年10月24日, 松山市

4. 関川清一, 對東俊介, 高橋真, 稲水惇, 唾液採取法の違いによる唾液中分泌型免疫グロブリンAの比較検討, 第63回日本体力医学会大会, 2008年9月18日, 別府市

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関川 清一 (SEKIKAWA KIYOKAZU)

広島大学・大学院保健学研究科・准教授
研究者番号：30363055

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

高橋 真 (TAKAHASHI MAKOTO)

広島大学・大学院保健学研究科・助教
研究者番号：50435690