

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22300235

研究課題名(和文)唾液ストレスタンパクのモニタリングによるコンディション低下の予防に関する研究

研究課題名(英文)Monitoring stress protein in saliva to prevent impairment of physical condition in athletes and elderly individuals

研究代表者

河野 一郎 (KONO, Ichiro)

筑波大学・名誉教授

研究者番号：00132994

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円、(間接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、唾液中のヒートショックプロテイン70(HSP70)が競技選手および高齢者のコンディション評価指標としての有用性について検討した。一過性高強度運動で唾液HSP70が増加することを示した。また継続的な高強度運動で安静時のHSP70は顕著な変動はしないが、その原因として高強度運動に対するHSP70応答の個人差が考えられた。さらに継続的な運動で高齢者の安静時HSP70が高まり、さらにHSP70がT細胞活性経路の亢進メカニズムに関わる可能性が示された。以上より、唾液HSP70によるコンディション評価は、競技選手では個々の変動が異なるため検討が必要であり、高齢者では有用である可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was evaluating the availability of salivary HSP70 to assess the physical condition in athletes and elderly individuals. The salivary HSP70 was increased after the acute intensive exercise. In athletes, continuous intensive exercise did not markedly change resting salivary HSP70 levels. This result might be influenced by individual differences of HSP70 responses to intensive exercise. In elderly subjects, continuous moderate exercise training enhanced resting salivary HSP70. In addition, HSP70 might be involved with T-cell activation in response to exercise training. In conclusion, salivary HSP70 might be useful to assess the physical condition in elderly subjects, while it might require to consideration in athletes.

研究分野：スポーツ医学

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学 応用健康科学

キーワード：ヒートショックプロテイン 運動 加齢 免疫機能

1. 研究開始当初の背景

Heat Shock Protein 70 (HSP70)は、主に熱に反応するストレスタンパクとして知られており、血液中や筋などの組織中に存在する。組織中のHSP70は、分子シャペロンとしてタンパク質のフォールディングを促し、また細胞表面のHSP70は損傷組織の再生や損傷の再発予防において重要な役割を持つとされている。また血中のHSP70は、単球に結合することでT細胞の活性化を促進させる役割があるとされている。

組織中および血中のHSP70は、運動に対して応答することが報告されている。筋中のHSP70は一過性高強度運動により増加し、継続的な運動トレーニングによって発現が低下する。このことから、運動由来の筋損傷の回復過程においてHSP70が関与することや、長期間の運動に対するストレス耐性の向上という観点においてもHSP70が関与することが示唆される。さらに血中のHSP70は、長時間・高強度の運動や暑熱環境により増加することが示されている。

近年、HSP70が唾液中に含まれていることが発見された。唾液は非侵襲的かつ簡便に採取可能な試料である。従って、対象に大きな負担を与えることなく採取できることから、ストレス評価に適している。しかし、唾液中HSP70に対する運動応答を検討した研究は1例のみであり、不明な点が多い。

これらのことから本研究において、唾液中HSP70の運動応答について検討し、簡便なストレス指標としての有用性を検討すること、またHSP70、T細胞および単球の運動応答を検討することで、運動によるT細胞活性経路の亢進メカニズムを明らかにすることを目的とした。これらを明らかにすることは、競技選手のコンディショニングや高齢者の免疫機能の改善に有効なプログラム開発の基礎資料として極めて重要であり、社会的要請に基づいた研究課題である。

2. 研究の目的

本研究では、競技選手や高齢者の良好なコンディション維持のため、ストレスタンパクであるHSP70に注目し、唾液中HSP70によるコンディションの評価の有用性、および免疫系の運動応答メカニズムに対するストレスタンパクの関与を明らかにするため、(1) HSP70の一過性運動応答を明らかにする。(2) 連続した一過性運動運動に対するHSP70の応答を明らかにする。(3) 合宿中の競技選手のHSP70の応答を明らかにする。(4) 高齢者の運動トレーニングに対するHSP70の応答を明らかにする。本研究は、HSP70に注目し、唾液HSP70は高強度運動で高まり、ストレス指標として有用であること、高齢者の運動トレーニングによって唾液および血中HSP70が高まり、T細胞活性経路の亢進に寄与するという仮説の立証を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 一過性高強度運動に対する唾液 HSP70 の応答

血中のHSP70は高強度運動後に一過性に上昇することが報告されている。しかし唾液HSP70の運動応答について検討した研究は1例のみであり、不明な点が多い。本研究では、一過性高強度運動が唾液中HSP70に及ぼす影響について検討することを目的とした。喫煙・服薬および運動習慣のない若年健康常男性15名(年齢 23.7 ± 1.5 歳、身長 171.8 ± 6.2 cm、体重 67.3 ± 5.8 kg)を対象とし、自転車エルゴメーターを用いて最大酸素摂取量の75%の強度で60分間運動を行った。運動開始前、運動終了直後、運動終了1時間後、運動終了2時間後、運動終了3時間後、運動終了4時間後に唾液を採取し、ELISA法を用いてHSP70濃度を測定した。

(2) 短期間の高強度トレーニングが唾液 HSP70 に及ぼす影響

研究方法(1)において、唾液HSPは高強度運動に対して応答することが示された。本研究では合宿を想定し、高強度運動の連続した実施が安静時の唾液HSP70に及ぼす影響について検討することを目的とした。喫煙・服薬および運動習慣のない若年健康常男性8名(年齢 23 ± 3 歳、身長 170 ± 3.0 cm、体重 63.5 ± 0.7 kg、 VO_{2max} 40.7 ± 3.8 ml/min/kg)を対象とした。被験者は、自転車エルゴメーターを用いて最大酸素摂取量の75%の強度で60分間運動を実施し、これを3日間連続して行った。運動期間開始前(1日目運動前)および運動期間終了24時間後(4日目)に唾液を採取し、ELISA法を用いて唾液HSP70濃度を測定した。

(3) 合宿期間中のトレーニングが競技選手の唾液 HSP70 に及ぼす影響

研究方法(2)において短期間の高強度運動では、安静時の唾液HSP70に影響を及ぼさない可能性が示された。本研究では長期間(4週間)の合宿が唾液HSP70に及ぼす影響について検討することを目的とした。大学競泳選手34名(男子23名、女性11名;年齢 20.0 ± 1.3 歳、身長 172.2 ± 7.4 cm、体重 65.6 ± 8.2 kg)を対象とし、夏季合宿期間中の唾液を採取した。合宿開始1週間前、合宿開始1週間後、2週間後、3週間後、4週間後において、唾液採取を行った。得られた唾液よりELISA法を用いて唾液HSP70濃度を測定した。また、同じタイミングで主観的な疲労感を調べた。

(4) 高齢者の中等度運動トレーニングが唾液 HSP70 および白血球に及ぼす影響

本研究では高齢者の中等度運動トレーニングが唾液HSP70、血中リンパ球および単球に及ぼす影響について検討することを目的とした。運動習慣の無い健康な高齢者32名を運動群(13名、年齢 67.5 ± 1.0 歳)と対象群(19名、年齢 67.5 ± 0.8 歳)に分けた。運

動群は週2回、12週間の運動(マシンおよび自重負荷によるレジスタンストレーニング、自転車運動:最大酸素摂取量の40%で30分間)を実施し、対象群は日常生活を維持した。運動開始前および開始3ヶ月後の安静時に唾液および血液を採取し、ELISA法を用いて唾液HSP70、多項目血球分析装置を用いて白血球分画(リンパ球、好中球、好酸球、好塩基球、単球)、FACS法を用いてT細胞分画(Th細胞、Tc細胞)、CD28発現T細胞、CD80発現T細胞、Toll受容体4発現単球を測定した。

4. 研究成果

(1) 一過性高強度運動に対する唾液 HSP70 の応答

本研究において、一過性高強度運動の終了4時間後に唾液 HSP70 濃度が上昇した。このことから唾液 HSP70 は運動に応答することが示された。従って、唾液 HSP70 は運動による影響下において対象のコンディションを把握する客観的指標となる可能性が示された。しかし、一過性高強度運動後の唾液 HSP70 の応答は、先行研究で報告されている血中 HSP70 の応答とは異なり、血中 HSP70 濃度は運動中または運動直後に上昇するのに対し、唾液 HSP70 は運動終了4時間後に上昇するというタイムラグが認められた。このため、唾液 HSP70 の分泌経路については、これまで考えられていた血漿成分からの漏出以外の経路についても検討していく必要がある。運動時間や運動強度の違いによって唾液 HSP70 の応答が異なる可能性がある。本研究では、高強度運動の連続実施および長期間の合宿と運動頻度や運動種目に幅をもたせ、HSP70 の運動応答について次に続く研究で調べた。

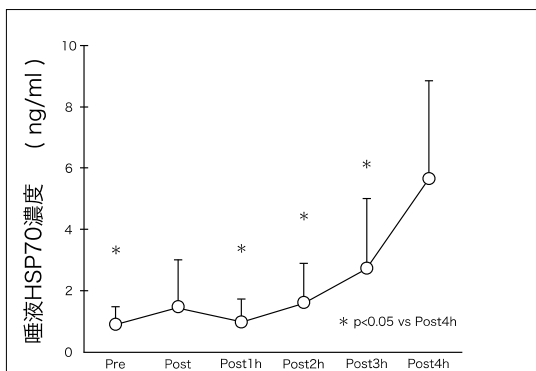


図1. 一過性高強度運動に対する唾液HSP70の応答

(2) 短期間の高強度トレーニングが唾液 HSP70 に及ぼす影響

本研究において、連続した3日間の高強度運動に対する唾液 HSP70 濃度の変動は認められなかった。研究成果(1)において、一過性高強度運動後に唾液 HSP70 濃度が増加することが示されたため、本研究では運動期間前と比較し、期間後で唾液 HSP70 濃度が上昇すると仮説を立てたが、本研究方法の結果

とは一致しなかった。その原因として、HSP70 濃度の変動に大きな個体差があったことが考えられた。運動期間後に HSP70 が大きく増加した者とほとんど変動しなかった者がいた。課題(3)では、対象者を多くすることで個々の変動による影響を減じて検討した。HSP70 によるコンディション評価は、個人個人で見えていくものであるため、運動応答が個々で異なる知見は非常に重要である。今後は対象の運動習慣やリカバリー期間での過ごし方についても調査し、実際の現場利用に向け、検討していく必要がある。

(3) 合宿期間中のトレーニングが競技選手の唾液 HSP70 に及ぼす影響

研究成果(2)より、短期間の高強度運動では唾液 HSP70 濃度に変化は認められなかった。本研究では、4週間の長期間の高強度運動が HSP70 に及ぼす影響を検討するため、またスポーツ現場での HSP70 の応答を検討するため、長期合宿に参加する競技選手を対象とした。本研究において、唾液 HSP70 濃度は、合宿開始前に比べて合宿開始3週目高まる傾向を示した。また、主観的疲労感も同様に合宿3週目に高値を示したが、HSP70 との相関関係は認められなかった。唾液 HSP70 は、運動ストレスに対して応答するが、必ずしも自覚的な疲労感の変動と関係するものでないことが示された。競技選手の中には、自分の疲労状態について自覚できる選手もいれば、できない選手もいる。従って唾液 HSP70 は、客観的な疲労評価に有用である可能性があり、今後は運動パフォーマンスとの関連について検討することも必要である。

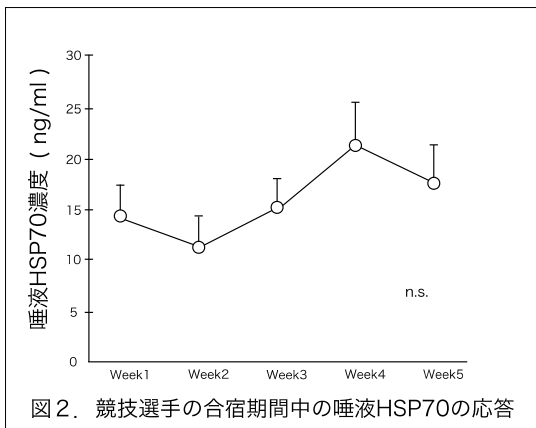


図2. 競技選手の合宿期間中の唾液HSP70の応答

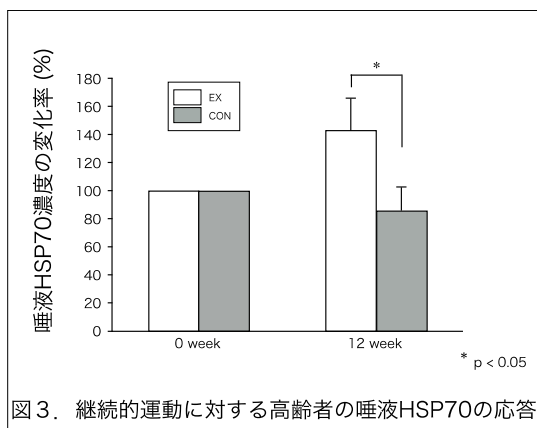
(4) 高齢者の中等度運動トレーニングが唾液 HSP70 および白血球に及ぼす影響

唾液量について有意な変動はなかったが、唾液 HSP70 濃度は運動期間後の変化率が対象群と比較して有意に高値を示した。血中の白血球、リンパ球、単球、T細胞、Th細胞、Tc細胞、Toll受容体4発現単球の細胞数は両群ともに有意な変動は認められなかったが血中のCD28発現Tc細胞数およびCD80発現単球数は運動群において有意に増加した。

HSP70 には粘膜上皮細胞の保護作用があ

り、唾液中の HSP70 は病原体から口腔・咽頭の粘膜を保護しているものと考えられる。本課題の結果より、唾液 HSP70 濃度は運動トレーニングにより高まることが示され、高齢者の口腔免疫能を高める可能性が示された。また、唾液 HSP70 は運動トレーニングの効果を免疫機能の観点から評価できる指標として有用である可能性が示唆された。

さらに加齢により低下するとされている CD28 および CD80 による T 細胞活性経路が運動トレーニングによって亢進する可能性が示唆された。HSP70 は単球に結合することで T 細胞の活性に関わることが知られている。従って、高齢者における運動トレーニングが HSP70 を介して T 細胞活性の経路の亢進に働く可能性が考えられた。



本研究では唾液 HSP70 に着目し、日常より激しい運動が強いられる競技選手のコンディション評価として、加齢による免疫機能低下が問題となる高齢者のコンディション評価として、それぞれの有用性について検討した。本研究結果において、高強度一過性運動に対して唾液 HSP70 は応答することが示された。しかし、その応答には個体差があり、競技選手に対して HSP70 によるコンディション評価を行う場合は、事前に選手個人個人の変動の特徴を把握する必要がある。従って HSP70 の実用に向け、対象の運動習慣や運動種目などの条件を幾つか設定し、基礎資料の収集を継続していく必要がある。さらに、テーピング（試合に向けた運動量の調整）やリハビリ（物理療法やサプリメントなど）など、競技現場で行われている調整方法との組み合わせについても検討し、より競技現場における実用化につながる研究を進める必要がある。

また本研究結果より、継続的な運動トレーニングで高齢者の唾液 HSP70 は増加することが示された。従って高齢者における運動トレーニング効果の評価として、免疫機能の評価として、唾液 HSP70 は有用である可能性が示された。さらに本研究結果より、HSP70 は免疫系の中心的な役割を持つ T 細胞の活性経路の運動応答に関わる可能性が示された。今回は直接的な関係を検討していないが、今後

は HSP70 および T 細胞、単球との関連とともに加齢や運動の影響をさらに詳細に検討することで、唾液 HSP70 を用いた免疫機能評価と合わせた免疫機能の亢進に有効な運動プログラムの開発につながり、高齢者における疾患予防に貢献できる可能性が考えられる。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計4件)

清水和弘, 花岡裕吉, 鈴木智弓, 河野一郎, 赤間高雄. 高齢者における日常の身体活動量が唾液中ディフェンシンに及ぼす影響. 第24回日本臨床スポーツ医学会, 2013年10月27日, 熊本市民会館(熊本県).

花岡裕吉, 清水和弘, 鈴木智弓, 河野一郎(ほか4名). 合宿期間中における指尖脈波を用いた安静時心拍変動の変化. 第24回日本臨床スポーツ医学会, 2013年10月27日, 熊本市民会館(熊本県).

Yukichi Hanaoka, Kazuhiro Shimizu, Satomi Suzuki, Ichiro Kono (ほか2名) Effect of acute intensive exercise on salivary alpha and beta defensins, and Secretory IgA in young male subjects. European College of Sport Science 18th annual meeting, 2013.6.28, Barcelona, Spain.

Yukichi Hanaoka, Kazuhiro Shimizu, Yuko Tanimura, Yuichi Matsubara, Toshikazu Miyamoto, Takao Akama, Ichiro Kono. Effect of acupuncture on salivary HBD-2 after a bout of intense exercise. European College of Sport Science 17th annual meeting. 2012.7.6, Bruges, Belgium.

〔図書〕(計3件)

清水和弘. 化学同人, スポーツ医学(内科). 2014, pp 217.

清水和弘. ブックハウス・エイチディ, Training Journal 2013年3月号 2013, pp 98.

清水和弘, 赤間高雄, 河野一郎. 文光堂, スポーツ損傷予防と競技復帰のためのコンディショニング技術ガイド. 2011, pp2-10.

6. 研究組織

(1)研究代表者

河野 一郎 (KONO, Ichiro)

筑波大学・名誉教授

研究者番号: 00132994

(2)研究分担者

清水 和弘 (SHIMIZU, Kazuhiro)

筑波大学・スポーツ R&D コア・研究員

研究者番号: 00508286

(3)連携研究者

赤間 高雄 (AKAMA, Takao)
早稲田大学・スポーツ科学学術院・教授
研究者番号：60212411

秋本 崇之 (AKIMOTO, Takayuki)
東京大学・医科学系研究科研究院・講師
研究者番号：00323460

渡部 厚一 (WATANABE, Koichi)
筑波大学・体育系・准教授
研究者番号：30447247