

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25750358

研究課題名(和文) 加齢による口腔免疫能の低下に対する継続的な運動の効果に関する研究

研究課題名(英文) The effects of continuous exercise training on age-related impairment of oral immunity

研究代表者

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、歯周病予防に貢献するディフェンシン(mBD3)に着目し、加齢による口腔免疫能の低下に対する継続的な運動の効果について検討した。一過性の疲労困憊運動で唾液腺mBD3発現について、低下の傾向はあるが、統計的に有意な変動は認められなかった。老化マウスとコントロールマウスのmBD3発現について有意な差は認められなかった。8週間の自発運動により老化マウスのmBD3発現は有意に低下した。本研究結果より、唾液腺mBD3は加齢の影響を受けず、運動に応答する可能性が示された。今後は、より多くの対象に対して効果を検討することやトレッドミルによる運動量を管理したトレーニングの効果を検討する必要がある。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to examine the effects of continuous exercise training on age-related impairment of oral immunity. Mouse beta-defensin 3 (mBD3) expression in salivary gland did not show significant change after the acute exhaustive exercise. There was no significant difference between aged and control mice in mBD3 expression in salivary gland. 8 weeks of voluntary wheel running significantly decreased mBD3 expression in salivary gland in aged mice. Consequently, mBD3 in salivary gland might be not influenced by aging, and response to exercise. Future study needs to examine the effects of aging and exercise on mBD3 by using more sample size and treadmill, which controls intensity and volume of exercise.

研究分野：スポーツ医学

キーワード：免疫機能 運動 加齢

1. 研究開始当初の背景

加齢は免疫系の機能不全を招き、感染症や自己免疫疾患への罹患リスクを高めると考えられている。実際、高齢者の主な死因として悪性新生物や心疾患、肺炎、脳血管疾患が多いと報告されている。近年、口腔疾患が全身性疾患の原因となることや全身性疾患の症状を修飾することが注目されている。歯周病は、高齢者に多く認められる疾患のひとつであり、歯周病の原因菌が心疾患や肺炎、脳血管疾患、糖尿病などの発症に関係することが示されている。特に肺炎は、2011年の人口動態統計によると、日本人の死因順位において脳血管疾患を上回って第3位となり、今後さらに注意を要する疾患である。従って、高齢者の健康寿命の延伸という観点において、歯周病を予防することは、肺炎や心疾患等の全身性疾患の予防につながる極めて重要な課題である。

近年、唾液から抗菌ペプチドである「ディフェンシン」が見出された。ディフェンシンは、 α 型および β 型の主要な型を持ち、歯周病菌を始め、広範囲の細菌やウイルスの殺滅に働く。ディフェンシンは、上皮細胞より分泌され、特に歯周病との関連について多く検討されている。しかし、加齢とともに口腔上皮細胞の減少や退縮が報告されており、抗菌ペプチドが営む口腔免疫能は減退し、歯周病等の口腔疾患の罹患の増加につながると考えられる。実際、歯周病患者は唾液中ディフェンシン濃度が低いことが示されている。

近年、加齢に伴う免疫機能の低下を中等度の運動トレーニングによって改善しようとする試みがなされている。これまで研究代表者は、病原体の口腔粘膜下への侵入を防ぐ唾液分泌型免疫グロブリンA (SIgA) および獲得免疫応答の中心的役割を果たすT細胞に着目し、高齢者における身体活動量と免疫機能との関係や継続的な運動が免疫機能に及ぼす効果について検討してきた。SIgA分泌やT細胞機能は加齢とともに低下するが、日常生活におけ

る適度な身体活動量の維持は、高齢者のSIgA分泌量を高めることを明らかにし、また継続的な中等度の運動の介入によって、唾液量の増加やSIgA分泌、血中T細胞機能および血中単球機能が亢進することを明らかにした。また研究代表者は、唾液中ヒトディフェンシン2型 (hBD2) に着目し、若齢者において唾液中hBD2が運動応答を示すこと、適度な身体活動量を維持する高齢者の唾液中hBD2分泌量は、身体活動量が低い高齢者に比べて高値を示すことを明らかにした。しかしながら、継続的な運動に対するディフェンシンの応答やそのメカニズムについて検討した研究はない。

ディフェンシンの継続的な運動に対する応答のメカニズムや歯周病菌に対するディフェンシン反応への運動効果を明らかにすることは、運動に対する免疫応答の解明や疾患予防のための具体的な運動プログラムの策定につながる基礎資料となる。本研究は、高齢者の免疫機能の改善および疾患予防に関する研究として極めて重要であり、また社会的要請に基づいた研究課題であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、歯周病予防に貢献するディフェンシンに着目し、加齢による口腔免疫能の低下に対する継続的な運動の効果について明らかにするため、急性運動に対するディフェンシンの応答 (課題1)、加齢がディフェンシン産生に及ぼす影響 (課題2)、継続的な運動に対するディフェンシンの応答 (課題3) について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 急性運動に対するディフェンシン応答の検討

10週齢の雄性C57B6Jマウス15匹を対象とし、運動群 (6匹) および非運動群 (9匹) にランダムに分けた。運動群は、トレッドミルによ

るランニング運動（傾斜0°，15 m/min の速度で開始し，疲労困憊に至るまで実施，電気刺激は使用しない）を行った．非運動群は，稼働中のトレッドミル横に静置して，運動群の運動時間と同程度の時間，安静にさせた．運動もしくは安静後にペントバルビタール麻酔下で脱血による屠殺を行い，唾液腺（顎下腺）を摘出した．唾液腺中の ディフェンシン3（mBD3：ヒトのhBD2に相当）およびGAPDHの遺伝子発現量をRT-PCR 法を用いて定量した．mBD3発現量は，GAPDH発現量で除した値で示した．

(2)加齢がディフェンシン産生に及ぼす影響の検討

32週齢の雄性SAMP1マウス（老化促進マウス）4匹および雄性SAMR1マウス（老化促進マウスのコントロール）7匹を対象とし，SAMP1マウスを高年齢群，SAMR1マウスをコントロール群とした．安静時にペントバルビタール麻酔下で脱血による屠殺を行い，唾液腺（顎下腺）を摘出した．唾液腺中のmBD3およびGAPDHの遺伝子発現量をRT-PCR 法を用いて定量した．mBD3発現量は，GAPDH発現量で除した値で示した．

(3)継続的な運動に対するディフェンシン応答の検討

24週齢の雄性SAMP1マウス11匹を対象とし，運動群（7匹）および非運動群（4匹）にランダムに分けた．運動群のホームケージに，回転ケージを設置し，8週間の自発走を行った．非運動群は，回転ケージ無しで8週間飼育した．8週間経過後，安静時にペントバルビタール麻酔下で脱血による屠殺を行い，唾液腺（顎下腺）を摘出した．唾液腺中のmBD3およびGAPDHの遺伝子発現量をRT-PCR 法を用いて定量した．mBD3発現量は，GAPDH発現量で除した値で示した．

4．研究成果

本研究では，歯周病予防に貢献する抗菌ペプチドのディフェンシン（mBD3）に着目し，加齢による口腔免疫能の低下に対する継続的運動の効果について明らかにするため，ディフェンシンの運動応答，ディフェンシンの加齢変化，加齢モデルにおける継続的運動に対するディフェンシンの応答について検討した．

(1)急性運動に対するディフェンシン応答の検討

本研究では，疲労困憊運動を実施した運動群の唾液腺中 mBD3 発現は，安静群に比べて低い傾向はあるものの，統計的に差は認められなかった．研究代表者の先行研究において，唾液中の ディフェンシンは高強度運動により低下することを示している．従って，運動に対する唾液中の ディフェンシンの応答は，唾液腺中のディフェンシンの応答が反映される可能性もあるが，本研究では，対象数が少ないこともあり，今後さらに対象を追加して検討する必要がある．

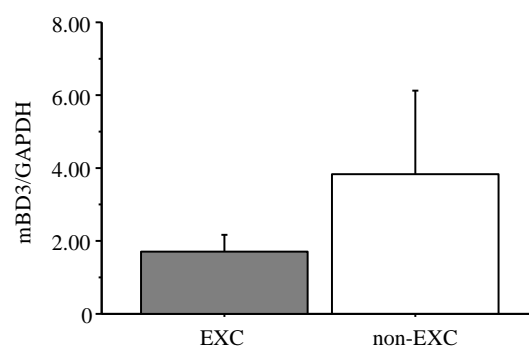


図1．運動群および安静群のmBD3発現の比較

(2)加齢がディフェンシン産生に及ぼす影響の検討

本研究では，mBD3 発現について加齢群およびコントロール群の間に統計的な差は認

められなかった。このことから、唾液腺中の
 ディフェンシン発現は加齢による影響を受けない可能性が考えられる。しかし、研究代表者の先行研究では、唾液中の ディフェンシン分泌量は、加齢により減少することを示している。今回は、老化促進モデルのマウスを用いたこと、また 32 週齢ではディフェンシンの低下が生じない可能性も考えられた。今後は、老化促進モデルではないマウスを用いて若齢マウスと高齢マウスによる比較や、32 週齢よりも高齢のマウスを用いることで加齢変化を検討する必要がある。

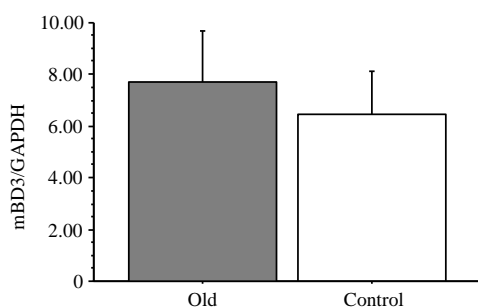


図2 . 高齢群およびコントロール群のmBD3発現の比較

(3) 継続的な運動に対するディフェンシン応答の検討

本研究では、8 週間の自発運動を行った運動群の唾液腺中 mBD3 発現は、非運動群に比べて有意に低値を示した ($p < 0.05$)。研究代表者の先行研究では、1 日約 7,000 歩の歩行量を維持する高齢者は、約 3,000 歩の歩行量の高齢者に比べて ディフェンシンが高いことから、適度な身体活動量の維持は ディフェンシンを高める可能性を示している。また、アスリートの合宿における高強度の運動トレーニングは、安静時の ディフェンシン分泌量を低下させることも示している。本研究において実施された運動量が多い可能性も考えられる。本研究では、運動群における 8 週間の自発走は、1 日あたり 4.69 ± 1.66 km であり、先行研究に比べると多い運動量とは言えない。今後はトレッドミルを用いて運動

量を管理し、ディフェンシンにおける継続的な運動効果を検討する必要があると考えられた。

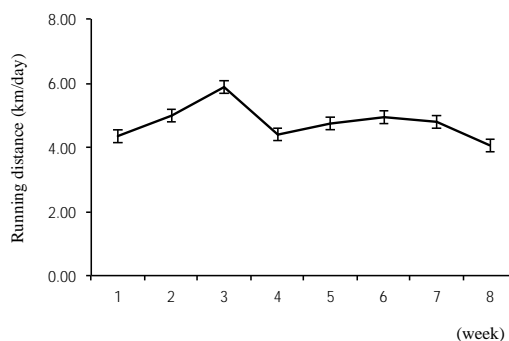


図3-1 . 運動群における 1 日あたりの走行距離

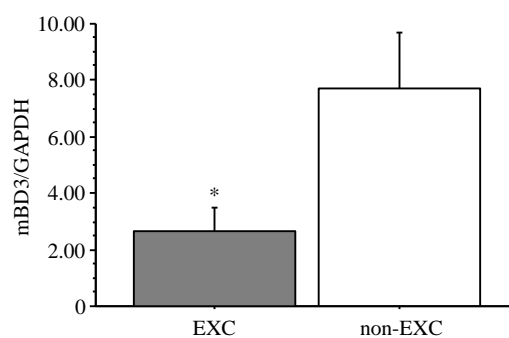


図3-2 . 運動群および非運動群のmBD3発現の比較

以上の結果より、唾液腺中の ディフェンシン発現は運動に応答することが示され、唾液中の ディフェンシンの運動応答を反映する可能性が示された。また、唾液腺 ディフェンシン発現は、加齢変化せず、継続的な運動に対して応答する可能性が示されたが、運動応答の規則性について、運動強度や運動量、頻度などを検討し、さらに研究する必要性が考えられた。

5 . 主な発表論文等 [雑誌論文] (計 1 件)

Shimizu K, Kon M, Tanimura Y, Hanaoka Y, Akama T, Kono I. Coenzyme Q10 supplementation down-regulates the increase of toll-like receptor 4 expressing monocytes in responses to 6-day intensive training in kendo athletes. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* (印刷中), 2015.

〔図書〕(計2件)

清水和弘．化学同人，スポーツ医学（内科），2014．217（13-27）

清水和弘．化学同人，スポーツ医学（内科），2014．217（143-155）

6．研究組織

(1)研究代表者

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