

牛乳・乳製品摂取が身体活動・加齢にともなう 免疫機能の変化に及ぼす影響

国立健康・栄養研究所 健康増進研究部 研究代表者 樋口 満

要 旨

近年、我が国でも高齢者の人口増加に伴い、高齢者の健康保持に関して注目が集まっている。高齢者の健康保持には運動と栄養が重要であり、運動習慣の獲得によりQOLが向上することが明らかになっている。高齢者の栄養摂取は社会経済的影響が強く、一人暮らしや身体に障害をもつ高齢者は、食事が不規則になったり栄養摂取が偏る傾向が見られ、特にタンパク質摂取が不足することが明らかにされている。牛乳・乳製品は、良質のタンパク質を多く含む食品であり、高齢者のタンパク質不足を解消するために欠かせない食品であると考えられる。また、高齢者は感染症に罹りやすくしかもワクチン投与を受けていても効きにくい。これは、加齢に伴って免疫機能が低下するためと考えられている。高齢者の免疫機能の低下は、タンパク質が不足した場合さらに増大する。従って、高齢者の栄養状態と運動がその免疫機能に及ぼす影響を検討することは、高齢者が健康で活動的に生活するために重要である。

本研究は、日常的に運動を行っている高齢女性、運動を行っていない同年齢の女性、また運動を行っていない若い女性を対象に、その栄養と免疫機能を横断的に比較検討した。社会経済状態がほぼ同じと考えられる高齢女性（62±3歳 vs. 65±4歳；運動群 vs 非運動群）を対象に1年間以上の水泳トレーニング（1回の練習；90分, 1500m, 75-80%HRmax）を週1.2回行った運動群、行わなかった非運動群に分け、さらに若者群を加えて次の項目を測定した。持久性能力の指標である最大酸素摂取量（ $\dot{V}O_2\max$ ）、筋力の指標である脚伸展力、栄養状態、T細胞機能としてPHA刺激によるリンパ球の幼若化機能、 CD^3 数、 CD^4/CD^8 比、NK細胞傷害活性などである。なお、被験者の栄養状態については、3日間の食事を秤量法により調査し、さらに血中の栄養状態も同時に測定した。その結果、高齢運動群は、非運動群より $\dot{V}O_2\max$ 脚伸展力ともに高かった。エネルギー摂取量は運動群の方が非運動群より有意に高いが、摂取エネルギー比率に群間の違いはなかった。また、血中のビタミンの状態も群間に差はなく、両群とも適正量の摂取が認められた。免疫機能の項目では、2群間でT細胞機能に差はなかったが、高齢運動群のNK細胞傷害活性は、高齢非運動群や若者群に比べて非常に高く、しかも $\dot{V}O_2\max$ と有意な相関がみられた。以上のことから、栄養状態がほぼ一致する高齢女性は、運動トレーニングにより持久性運動能力が増加すると、NK細胞傷害活性が向上することが示唆された。

Key words；ナチュラルキラー細胞、水泳トレーニング、高齢女性

1. はじめに

感染症、自己免疫疾患、悪性新生物などの疾病は、高齢者にとって重篤な慢性疾患をもたらし、死に至る場合が多い。このような疾患に罹患しやすい原因は、加齢にともなう免疫機能の変化もしくは低下ではないかと考えられている⁷⁾。加齢とともに変化する免疫機能は、抗体や補体などの体液性免疫よりも、リンパ球、マクロファージなどを中心とする細胞性免疫の変化が著しいことが知られている。その中でも、リンパ球の幼若化能の低下¹³⁾、成熟T細胞 (CD³⁺) の数の減少⁸⁾、T細胞のうちヘルパーT細胞 (CD⁴⁺) の割合が増加もしくは維持、またT細胞のうちキラーT細胞 (CD⁸⁺) の割合が減少、ヘルパーT細胞のうちTh₁の割合の減少、Th₂の割合の増加、さらにメモリー細胞 (CD⁴⁵RO) の増加、ナイーブ細胞 (CD⁴⁵RA) の減少⁸⁾ など、T細胞に関連する免疫機能の変化は、加齢にともない顕著である。このような加齢にともなうT細胞の変化は、さらにIL-2産生の低下²⁾、IL-3、IL-4産生の増加²⁾、IL-6産生の増加²⁾をもたらすことが報告されている。

一方NK細胞は、さまざまな癌細胞に対して、主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) に非拘束性に細胞傷害活性を有するエフェクター細胞である²⁶⁾。加齢に伴うNK細胞の数や機能の変化についての報告はかなり多く、最近、NK細胞の細胞傷害性は若年者と高齢者ではほぼ等しいが、若年者よりも高齢者のほうがNK細胞数は多いことが明らかになってきた³⁰⁾。これは、高齢者のほうが細胞あたりで考えるとそのNK細胞傷害活性が若年者より低いことを示している。実際にNK細胞傷害活性が低い高齢者は、重篤な感染症に罹患したり、感染症が原因で死に至ることが多いことが疫学的に明らかにされている¹⁸⁾。また、2年間の追跡調査によって、NK細胞数が少ない高齢者は、多い高齢者よりも死亡率が3倍にも上ることが示されている²²⁾。これらのことから、高齢者の免疫機能の特徴としてT細胞だけでなくNK細胞の重要性が理解できる。

高齢者の免疫機能と運動に関する研究において、長期的な中程度の運動トレーニングは、免疫機能の亢進をもたらすことが明らかにされている¹⁴⁾ ²⁰⁾。これらの先行研究は、適切な持久性運動を習慣的に行うと加齢にともなう免疫機能の低下が抑制もしくは回避されるのではないかと仮説を導くことになる²⁵⁾。

高齢者の免疫反応に対する運動の影響についての先行研究では、一過性の運動は、加齢にともなう影響が少ないことが示唆されている¹⁹⁾。しかし、いくつかの加齢にともなう変化は観察されている。たとえば、PHA刺激によるリンパ球幼若化機能は、一過性の運動後、若年者の幼若化機能が有意に低下するのに比べ、高齢者は運動後も幼若化機能の低下はあまり観察されない¹¹⁾ ¹²⁾。一方、一過性運動後のNK細胞傷害活性は、若年者、高齢者ともに増加し、加齢による違いが認められていない¹⁾ ³⁾。

長期的な運動習慣が高齢者の免疫機能に及ぼす影響については、横断的な研究、縦断的な研究がなされているが、縦断研究の結果はまちまちで統一的な見解は未だ得られていない。Cristらは、高齢女性 (73±1歳) に16週間のトレッドミル走行 (3日/週 at 50% of the heart rate reserve) を行わせ、16週間後のNK細胞傷害活性は運動前にくらべて有意に増加していたことを報告している¹⁾。それに対し、

Niemanらは、日常的に運動を行っていない高齢女性（73±1歳）に12週間のウォーキングプログラム（5日/週 at 60% of heart rate reserve）を行わせたが、運動前に比べて12週間後のNK細胞活性の増加は認められなかった¹⁶⁾。また、10週間のレジスタンストレーニング後の安静時NK細胞活性も、運動前と10週間後に変化は観察されなかった¹⁷⁾。他に、6ヶ月の有酸素性トレーニングプログラム（3 day/wk at 52% of heart rate reserve）でも運動前と6ヶ月後のNK細胞傷害活性に変化は認められていない²⁰⁾。

縦断研究に比べ、横断研究はあまり多く行われていない。しかし、一つの先行研究によれば、日常的に運動を行い、高齢でなお競技を行っているような高齢アスリート女性（73±2歳）は、日常的に運動を行っていない同年齢の女性に比べて、NK細胞傷害活性もT細胞機能も高いことが示唆されている¹⁶⁾。しかし、レクリエーション的にマラソンを行っている高齢男性（64±1歳）を対象としたもう一つの研究では、日常的に運動を行っていない同年齢の男性に比べてT細胞機能は高いものの、NK細胞傷害活性の違いは認められていない²⁵⁾。

以上の先行研究より、6ヶ月以下の短期間の中程度のトレーニングは、高齢者にとってNK細胞傷害活性を増加させるには不十分な刺激であると考えられるが、何年にも渡ってトレーニングを行っている高齢者では、運動を行っていない同年齢の者に比べて、NK細胞傷害活性は増加することが推察される。しかし、このような高齢者の免疫機能に及ぼす運動の影響を検討したヒューマンスタディは非常に少ない。さらに、運動の種類として水泳について検討したものはほとんどみられない。そこで、本研究では、高齢女性を対象に、水泳トレーニングが免疫機能に及ぼす影響を検討することを目的とした。

2. 方法

2-1 対象

研究の対象は、水泳トレーニング群として57-71歳（平均年齢62±1歳；平均値±標準誤差の女性10名、高齢非トレーニング群として60-71歳（65±1歳）の女性10名、若齢非トレーニング群として21-33歳（27±1歳）の女性9名である。水泳トレーニング群、高齢非トレーニング群とも、高齢者群は、全員、国立健康・栄養研究所が主催する「働く女性のための水泳教室」に登録している女性である。水泳教室は毎週2回行われており、登録者が何回教室に参加したかを記録している。1回のトレーニングは1時間15分で、約1500m泳ぐトレーニングメニューの詳細を表1に示した。そのうち、1999年4月から2000年3月までの1年間に、出席回数の多い者とほとんど参加していない者に分け、出席回数の多い高齢者を水泳トレーニング群、ほとんど出席していない者を高齢非トレーニング群とした。水泳トレーニング群の1年間の出席回数の平均は1週間に1.2回であり、1週間に1回以上は水泳を行っている高齢女性である。それに対して、高齢非トレーニング群の1年間の出席回数の平均は1ヶ月に1回以下であり、ほとんど水泳をしなかった高齢女性である。なお、被験者は、さらに次の4つの基準を満たすことを条件とした。

表1 1回の練習内容

17:30-17:45	柔軟体操、ストレッチ、筋力トレーニング
17:45-17:55	水中歩行(100m), 板キック(200m)
18:00-19:15	クロール(1000m)
	背泳ぎ(150-200m)
	平泳ぎ(150-200m)
	バタフライ(100-150m)
	クーリングダウン

(1) 慢性疾患の病歴がなく、現在心臓病や癌に罹患している兆候のないもの。(2) 免疫機能に影響を及ぼす可能性のある薬を服用していないこと。(3) 過去1年以内に健康診断を受け、医師により本研究参加と水泳教室参加許可をうけていること。(4) 慢性的な痛み、睡眠障害、重篤なアレルギー症状、心身症ではないこと。以上の4基準である。実験にあたり、被験者全員に実験の主旨を説明し参加の同意を得た。なお本研究は、国立健康・栄養研究所の倫理委員会の審査を受け、承認されたものである。

被験者の栄養状態を詳しく知るために、被験者の食物摂取状況と血中ビタミン指標の測定を行った。詳細については以下に示す。

<方法>

栄養摂取状況: 運動日1日を含む平常日連続3日間の食物摂取状況を秤量法により調査した。秤量は被験者自身が行い、秤量不能のものは管理栄養士が「四訂日本食品標準成分表」、「五訂日本食品標準成分表—新規食品編—」を用いて、各種栄養素を算定した。

血中ビタミン指標の測定: ビタミンB₁栄養状態の指標としてTDP (Thiamin disphosphate) 添加効果を用いた。ビタミンB₂栄養状態の指標としてFAD (Flavin adenine dinucleotide) 添加効果を用いた。ビタミンC栄養状態は、血中ビタミンC濃度をヒドラジン法によって測定した。

<結果>

栄養摂取状況: 高齢運動群の方が高齢非運動群よりエネルギー摂取量が多かった。摂取エネルギー比率は2群間に差は認められなかった。運動群の方が非運動群よりビタミンの摂取量は多かった。特にビタミンB₂の摂取量で、運動群の方が非運動群より有意に増加していた。ビタミンB₁、B₂、Cの摂取量は、エネルギー摂取量と正の相関を示した(それぞれ、 $r=0.65$ 、 0.69 、 0.44 、 $p<0.01$)。

血中ビタミン指標による栄養状態: TDP添加効果とFAD添加効果は、2群間で差がなかった。ビタミンC濃度は、運動群のほうが非運動群より高い傾向が認められた。

<考察>

日常的に運動を行っている高齢女性は、同年代の運動していない女性に比べ、エネルギー摂取量が

多く、しかもそのエネルギー摂取量に比例して水溶性ビタミン（B₁、B₂、C）類が増加することが明らかになった。なお、摂取エネルギー比や、ビタミンの栄養状態は両群とも良好であった。

2-2 身体組成

身長、体重及び%Body Fatを測定した。%Body Fatは、BOD POD system (LifeMeasurement Instruments, Concord, USA) で測定し、同時にLean body mass (LBM kg) を求めた。

2-3 運動能力

最大脚筋パワーは、Anaeropress 3500 (Combi Co., Tokyo, Japan) で測定した。各被験者とも10秒ごとに5回の脚伸展を行い、5回のうち最も良い2つの成績を平均したものを個人の脚筋パワーとした。

持久性体力の指標となる最大酸素摂取量は、トレッドミル歩行により測定した²³⁾。

2-4 血液栄養状態の評価

被験者の健康状態および栄養状態を評価するため、以下の血液生化学的指標を測定した。採血は、早朝空腹時に安静状態で肘正中皮静脈より採取した。生化学的指標のうち以下の項目は、外部検査会社（株式会社SRL）に委託した。検査項目は、総タンパク量、アルブミン、総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪、血糖、フルクトサミン、安定型ヘモグロビンA_{1c}、尿素窒素、クレアチニン、尿酸、GOT、 γ -GTP、過酸化脂質、CPK、カルシウム、血清鉄以上17項目である。採取した血液は遠心し、分析するまで4℃で保存した。LDLコレステロール濃度は、Friedewald et al.⁵⁾の式により、算出した。

赤血球、白血球数、リンパ球数、モノサイト数、および好中球数の測定も、外部検査会社に委託し、検鏡検査でおこなった。

2-5 末梢血単核細胞 (BMNC) の調整

BMNCの分離は、比重勾配遠心法を用いた。LeucoSep tubes (Greiner, Frickenhausen, Germany) を用い、Lymphoprep (Nyegaard, Oslo, Norway) 20mlにヘパリン 5 U/ml (NOVO, Copenhagen, Denmark) を含む全血を加え、2800rpm、20℃、20minで遠心分離した。分離させたBMNCはRPMI 1640 medium (Gibco, GrandIsland, NY, USA) で3回洗浄した。

2-6 マイトジェン刺激リンパ球幼若化反応

BMNCは10%仔牛血清 (FCS ; Fetal Calf Serum) を加えたRPMI1640培地で96穴round bottomマイクロプレートにて培養した。マイクロプレート1穴に 3.3×10^5 cells/mlの濃度の細胞浮遊液を180 μ l、マイトジェンとしてフィトマグルチニン (PHA) を20 μ l加え、37℃、5%CO₂、100%humidityで72時間培養した。72時間後、thymidine (³H) (5 μ Ci/ml) を加えて24時間ハーベストした。ハーベスト後、ハーベスターで細胞をフィルターに採取し、フィルターを乾燥させた後、シンチレーションカウンター (Top Count, Packard, CT, USA) で測定した。

2-7 NK細胞傷害活性

BMNCのNK細胞傷害活性は、ターゲット細胞としてK-562を用い、⁵¹Crによって細胞傷害活性を決定した。エフェクター細胞としてBMNC (5×10^6 cells/ml) を、ターゲット細胞としてK-562細胞

(10×10^4 cells/ml) をそれぞれ $100 \mu\text{l}$ ずつ round-bottom のマイクロプレートで培養した。培養は、5% CO_2 、100% humidity 37°C で4時間行った。エフェクター細胞とターゲット細胞との比率は50:1であった。培養後、上清を LumaPlate (TopCount, Packard, CT, USA) に移し、乾燥させた後、シンチレーションカウンター (TopCount, Packard, CT, USA) で ^{51}Cr を測定した。測定値は、さらに % lysis を計算し、 ^{51}Cr が放出された比率を次の式により求めた。

$$\% \text{ lysis} = (\text{Experimental release} - \text{Spontaneous release}) / (\text{Maximum release} - \text{Spontaneous release}) \times 100\%$$

この時最大値は、10% Triton X-100 を用いた測定値とした。

2-8 細胞表面抗原の測定

細胞表面抗原は、採血直後に調製した BMNC をフローサイトメトリーで測定した。BMNC を 3% FCS を加えた PBS で2回洗浄し、 10×10^5 cells を 3% FCS を加えた PBS 0.1ml に浮遊させ、あらかじめ抗体を加えた試験管で 4°C 、30分間培養した。抗体の量は抗体の種類に応じて、マニュアルの推奨どおりの量を用いた。培養後、ラベルされた細胞を 3% FCS を加えた PBS で3回洗浄し、ただちにフローサイトメトリー (Beckton Dickinson, USA) で測定した。測定と分析は、CellQuest (Beckton Dickinson, USA) を用いた。標識用の抗体は、PE (phycoerythrin) conjugate CD^4 , FITC (fluorescein isothiocyanate) conjugate CD^8 , PerCp conjugate CD^3 であった。ネガティブコントロールとして、標識されていない細胞を用いた。フローサイトメトリーに取り込む細胞数は10000個とした。リンパ球とモノサイトを区別するために全細胞表示をあらかじめ行い、ゲートを決定した。

2-9 サイトカインの測定

培養後の上清は、 -80°C で保存し、IL-6 の濃度を測定した。測定は、市販されているサイトカインキットを用い、ELISA法で測定した (R&D systems, USA)。

2-10 統計処理

統計処理には、STAT View statistical software (Abacus Concepts Inc., Tokyo, Japan) を用いた。全ての項目について一元配置の分散分析を行った。相関はピアソンの相関係数を用いて評価した。危険率は5%以下とした。

3. 結果

3-1 運動能力

脚伸展力：高齢水泳群 (16.8 ± 0.6 Watts/kg) のほうが高齢コントロール群 (14.5 ± 0.8 Watts/kg) より有意 ($P < 0.05$) に脚伸展力が高く、高齢水泳群は脚力に優れていることが認められた。(Table 2)

$\dot{V}\text{O}_2\text{max}$ ：高齢水泳群 (36.0 ± 1.0 ml/kg/min) のほうが高齢コントロール群 (31.1 ± 1.0 ml/kg/min) より有意 ($P < 0.01$) に $\dot{V}\text{O}_2\text{max}$ 値が高く、高齢水泳群は、有酸素能力に優れていることが認められた。(Table 2)

Table 2. Subject Characteristics

	Elderly women		Young women
	Swimmers (n=10)	Controls (n=10)	Controls (n=9)
Age (yr)	62±1	65±1	27±1 ##,\$\$
Height (cm)	152.6±1.4	155.0±1.2	156.8±1.7
Weight (kg)	54.7±2.0	56.4±1.8	51.7±2.2
BMI (kg/cm ²)	22.1±0.6	23.6±1.0	21.0±0.7 #
Body fat (%)	29.8±0.8	33.2±1.5	25.6±1.3 ##,\$\$
Leg extension power (Watt/BW)	16.8±0.6	14.5±0.8 *	-
$\dot{V}O_{2max}$ (ml/BW/min)	36.0±1.0	31.1±1.0 **	-

Values are given as mean ± SEM.

* p<0.05, **p<0.01; significant differences between elderly swimmers and elderly controls.

p<0.05, ##p<0.01; significant differences between elderly swimmers and young controls.

\$ p<0.05, \$\$ p<0.01; significant differences between elderly controls and young controls.

Table 3 Biochemical variables in blood

	Elderly women			Young women
	Swimmers (n=10)	Controls (n=10)		Controls(Untrained) (n=9)
Alkaline phosphatase	142±20	180±18 **		104±8
Total cholesterol	245±9 ††	222±9 **		168±9
Triglyceride	87±13	100±21 *		43±6
Phospholipid	245±9 ††	237±11 **		198±8
LDL cholesterol	162±8.8 ††,\$	134±8.5 **		87±5.7
Peroxide lipid	2.3±0.2 ††	2.2±0.1 **		1.8±0.1
HbA1c	5.0±0.04 ††	5.2±0.07 **		4.5±0.08

Values are given as mean ± SEM

*p<0.05, **p<0.01; significant differences were detected between the elderly controls and the young controls

††p<0.01; significant differences were detected between the elderly swimmers and the young controls

\$ p<0.05; significant differences were detected between the elderly swimmers and the elderly controls

以上のように高齢水泳群は、高齢コントロール群に比べて筋力や有酸素性運動能力が高く、これは、1年以上にわたる水泳トレーニングの効果であることが示唆された。

3-2 身体組成

BMIと%body fatは、高齢水泳群、高齢コントロール群ともに若齢コントロール群よりも有意に高く、高齢者群では、水泳群、コントロール群の間には有意な差は認められなかった。このことは、運動をしているかしていないかにかかわらず、高齢者は若年者よりBMIや%body fatが大きいことを示している。また、高齢水泳群と高齢コントロール群にBMIや%body fatの差が認められないのは、高齢者の場合、週1～2回の水泳トレーニングでは、BMIや%body fatの改善が認められないことを示唆している。

3-3 血液生化学的指標

血中栄養状態について、血液生化学的指標値を分散分析により検討した結果、高齢水泳群と高齢コントロール群ともに若齢群より有意に高い値を示した項目は、アルカリフォスファターゼ、総コレステロール、中性脂肪、リン脂質、ヘモグロビンA_{1c}、過酸化脂質、LDLコレステロール値であった。高齢水泳群と高齢コントロール群との間に有意な差が認められたのは、LDLコレステロール値だけであった。LDLコレステロールは、高齢水泳群の方が高齢コントロール群よりも有意に高く、本研究の対象者が行っていた水泳トレーニングでは、LDLコレステロール値の改善が認められるわけではないことが示唆された。また、高齢水泳群と高齢コントロール群の血中栄養状態の差は小さく、高齢者の場合、運動をしているかしていないかにかかわらず、これらの血中脂質の指標は若齢群よりも高く、運動による改善の要素よりも加齢にともなう変化であることが示唆された。また、本研究における高齢水泳群、コントロール群とも血液生化学的指標で見ると、両群の血中栄養状態は、ほぼ等しいことが推測された。

3-4 免疫学的指標

高齢水泳群、高齢コントロール群、若齢群、の3群間で、白血球数、リンパ球数、好中球数に有意な差は認められなかった。(Table 4)

3群間で有意な差が認められたのは、NK細胞傷害活性であり、高齢水泳群が、高齢コントロール群や若齢コントロール群よりも有意にNK細胞傷害活性が高かった。高齢コントロール群と若者コントロール群では、若齢群のほうが高齢コントロール群よりもNK細胞傷害活性が高いが、有意な差は認められなかった。さらに、高齢水泳群と高齢コントロール群とを合わせた場合、NK細胞傷害活性と $\dot{V}O_2$ maxとに有意な正の相関 ($p < 0.01$, $r = 0.66$) が認められ、高齢者では $\dot{V}O_2$ maxが高いとNK細胞傷害活性も高くなることが示唆された。(Fig. 1)

その他、CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺濃度は、3群間で有意な差は認められなかったが、高齢水泳群は若齢群よりもCD⁸⁺の%が有意に低かった。しかし、CD⁸⁺濃度では両群に差は認められなかった。

PHA刺激幼若化機能は、若齢群が最も高値を示し、若者群と高齢コントロール群では、若者群のほうが高齢コントロール群よりも有意に幼若化機能が高かった。しかし、高齢水泳群と高齢コントロール群に有意な差は認められず、高齢者では、運動による幼若化機能の違いが認められなかった。むしろ加齢による幼若化機能の差のほうが顕著であることが示唆された。(Table 4)

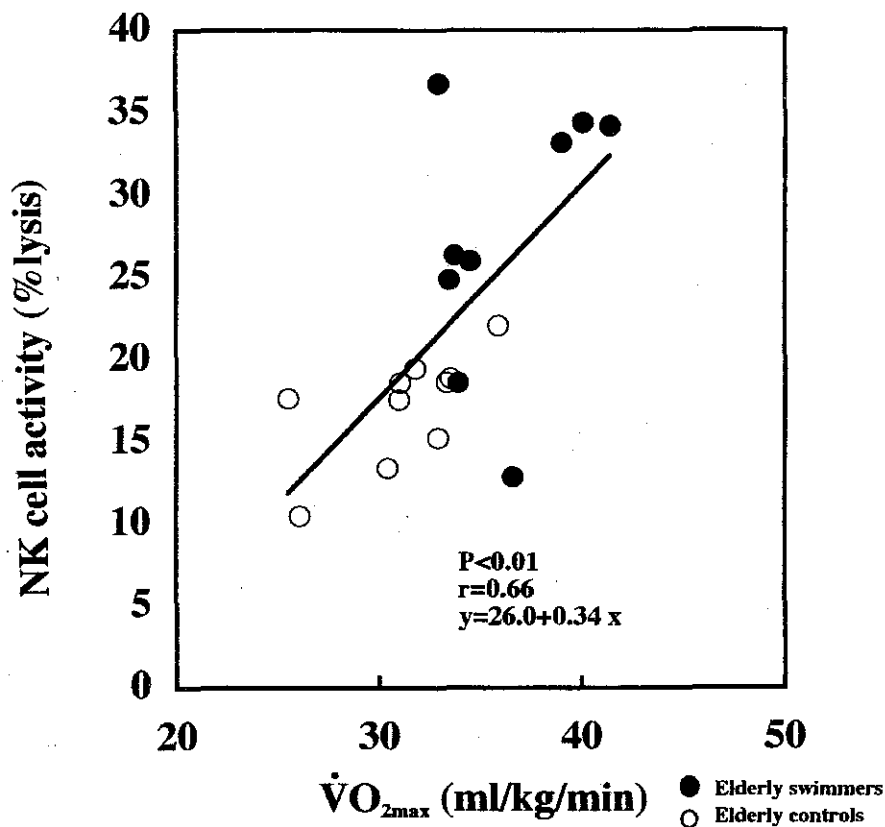


Fig 1 Simple regression between $\dot{V}O_{2max}$ and NK cell activity

Table 4 Immune response in each group

	Elderly women		Young women
	Swimmers (n=10)	Control (n=10)	Control (n=9)
Total leukocytes(cells/ μ l)	5760 \pm 440	5460 \pm 300	5330 \pm 300
Neutrophils(cells/ μ l)	3600 \pm 420	3250 \pm 260	3400 \pm 330
Lymphocytes(cells/ μ l)	1790 \pm 260	1900 \pm 240	1560 \pm 140
Natural Killer cell activity (% lysis)	27.4 \pm 2.4**††	17.2 \pm 1.1	19.0 \pm 2.1
Percentages of CD3+	51.9 \pm 5.2	56.6 \pm 3.5	61.8 \pm 4.0
Percentages of CD4+	49.1 \pm 4.7	55.6 \pm 5.1	57.0 \pm 2.8
Percentages of CD8+	22.2 \pm 2.3 †	25.2 \pm 2.1	30.1 \pm 2.9
Concentrations of CD3+ (cells/ μ l)	2390 \pm 370	2450 \pm 290	2070 \pm 240
Concentrations of CD4+ (cells/ μ l)	1290 \pm 240	1450 \pm 250	1160 \pm 140
Concentrations of CD8+ (cells/ μ l)	600 \pm 120	660 \pm 110	610 \pm 90
PHA stimulated proliferation (CPM)	5400 \pm 3110	4850 \pm 2520 #	7090 \pm 4870

Values are given as mean \pm SEM

**; $p < 0.01$: Significant differences between elderly swimmers and elderly controls

†; $p < 0.05$, ††; $p < 0.01$: Significant difference between elderly swimmers and young controls

#; $p < 0.05$: Significant difference between elderly controls and young controls

4 考察

本研究において得られた最も重要な結果は、高齢水泳群は高齢コントロール群や若齢群よりもNK細胞傷害活性が高く、さらに高齢水泳群と高齢コントロール群とを合わせた場合に、NK細胞傷害活性と $\dot{V}O_2\text{max}$ とに有意な正の相関 ($p < 0.01$, $r = 0.66$) が認められ、高齢者では $\dot{V}O_2\text{max}$ が高いとNK細胞傷害活性も高くなることが示唆されたことである。

長期にわたる運動の免疫機能への影響を見る場合、鍛錬者と非鍛錬者の安静レベルを比較する方法がとられる。この方法は、長期（数年間）にわたる一つのライフスタイルとしての運動の免疫への影響を知ることが可能にさせている。しかし、このような研究の場合、完全な安静値レベルを確定するのが難しい。特に鍛錬者としてトップアスリートを被験者とした場合、練習の完全休止を求めることはかなり難しく、しかも24時間以内の運動は様々な免疫学的指標に影響を及ぼすことが知られている。また、このような研究では交絡因子の影響を排除することが難しい¹⁹⁾。たとえば、被験者の身体特性²⁴⁾や栄養状態⁹⁾、心理的ストレス¹⁷⁾などは、免疫機能に影響を及ぼす交絡因子と考えられる。本研究は、横断的研究であるがこれらの交絡因子の影響をかなり小さく抑えられたのではないかと考えられる。たとえば、本研究における高齢被験者は、水泳群、非運動群ともに30年以上職業を続けてきた女性であり、そのため彼女らの社会経済的レベルは平均よりも高いと考えられる。さらに、そのバックグラウンド（たとえば職業など）、ライフスタイル、健康志向などはほぼ同じと思われる。また、総コレステロール以外の血中栄養指標は、両群ともに全て標準値内²⁷⁾にあり、両群の栄養状態は良好であって、似かよっていると考えられた。ただし、総コレステロール値は、両群とも標準値を超えており、総コレステロールの高い傾向が認められた。しかし、両群とも同様に総コレステロール値が高く、両群の栄養状態に差は認められなかった。加えて、血中栄養状態から見て、栄養失調の者は一人もいなかった。これらのことから、免疫機能に影響を及ぼすと考えられる諸因子について見ると、水泳群と非運動群との差は非常に少ない。そこで、高齢水泳群の1年間にわたる水泳トレーニングは、 $\dot{V}O_2\text{max}$ を増加させ、その結果としてNK細胞傷害活性が向上したのではないかと考えられた。

高齢鍛錬者と高齢非鍛錬者の安静時の免疫機能を比較した横断研究は、これまでにいくつか行われている。この中で、本研究の結果は、NK細胞傷害活性が高齢運動群で高い点においてNieman DC.ら¹⁶⁾の結果と同様であった。その他の横断研究の結果としては、若い競技者と若い非鍛錬者とを比較した研究が行われている。それらの結果では、安静時のNK細胞傷害活性は、競技者が非鍛錬者よりも高いことが確認されている^{21) 15)}。一方、今まで行われている縦断研究では、NK細胞数やNK細胞傷害活性が、かならずしも運動と関連することが示されているとは言えない^{3, 16, 4, 28)}。従って、今までの先行研究から考えられるのは、強度の高いトレーニングは若齢者、高齢者ともにそのNK細胞傷害活性を上昇させることになるが、短期間の中程度の強度のトレーニングではNK細胞傷害活性への影響はほとんどない、ということである。しかしながら、本研究の結果は、1年間程度の長期間の運動であれば、中程度の強度の運動トレーニングでもNK細胞傷害活性に影響を与えることを示しており、この分野の

ヒューマンスタディに一つの結果を付加させることができたと考えられる。

高齢者の免疫機能低下に関連する免疫機能の変化の一つとして、最も顕著なのは、PHAなどのマイトジェンで刺激した場合のリンパ球幼若化機能、すなわちT細胞の機能の低下である。本研究においても、PHA刺激による幼若化機能の加齢に伴う低下傾向が認められ、高齢水泳群、高齢コントロール群ともに若年者群よりは、幼若化機能は低かった。しかしながら、有意に低い値を示したのは、高齢コントロール群だけであって、高齢水泳群は、若年者群より幼若化機能は低いものの有意な差は認められなかった。また、高齢水泳群は、高齢コントロール群よりも幼若化機能が高いものの、同様に有意な差は認められなかった。先行研究において、Shinkai Sら²⁵⁾やNieman DCら¹⁶⁾によれば、高齢鍛錬群は高齢非鍛錬群よりも幼若化機能が高いことが明らかにされている。また、高齢鍛錬群であっても高齢者の場合は若年者より幼若化機能が低下する結果が示されている。本研究では、高齢コントロール群は、有意に若年者コントロール群よりも幼若化機能が低いことが示された。さらに、有意な差はないものの高齢水泳群は、高齢コントロール群よりも幼若化機能が高く、若年者群よりも低かった。この傾向は、先行研究と一致しており、高齢者の場合、T細胞の機能は若年者より劣り、T細胞機能は加齢に伴って低下する。加齢に伴うT細胞機能の低下は、運動をすることによって幾分改善されるが、普段運動をしていない若年者と比べても機能低下は免れず、加齢による影響が大きいことが窺える。

総コレステロール値、LDLコレステロール、過酸化脂質、リン脂質については、高齢水泳群、高齢コントロール群ともに若年者群よりも有意に高かった。中性脂肪については、高齢水泳群と若年者群に有意な差は認められなかったが、高齢コントロール群と若年者コントロール群では、高齢コントロール群のほうが若年者群よりも有意に高かった。このように高齢者の脂質指標が、水泳群、コントロール群ともに若年者群よりも有意に高い値であったのは、運動の影響よりも閉経後のホルモンバランスの変化が大きく影響した可能性が考えられた⁶⁾。また、LDLコレステロール値は、高齢水泳群のほうが高齢コントロール群よりも有意に高かったことから、本研究において、水泳トレーニングによる脂質指標の改善は認められなかったと考えられる。

本研究により、高齢女性の水泳トレーニング（1回につき平均水泳距離1500mで1週間に1.2回、1年間）は、NK細胞活性を高めることが示唆された。

参考文献

- 1) Crist DM, Mackiunon LT, Thompson RF, Atterbom HA, and Egan PA. Physical exercise increases natural cellular-mediated tumor cytotoxicity in elderly women. *Gerontol* 1989; 35: 66-71
- 2) Ershler WB. Interleukin-6 and ageing: Blood levels and mononuclear cell production increase with advancing age and in vitro production is modifiable by dietary restriction. *Lymphokine and Cytokine Res* 1993; 12: 225-230
- 3) Fiatarone MA, Morley JE, Bloom ET, Benton D., Solomon GF, and Makinodan T. The effect of

- exercise on natural killer cell activity in young and old subjects. *J Gerontol Med Sci* 1989; 44: M37-45
- 4) Flynn MG, Fahlman M., Braun WA, Lambert CP, Bouillon LE, Brolinson PG, and Armstrong CW. Effects of resistance training on selected indexes of immune function in elderly women. *J Appl Physiol* 1999; 86: 1905-1913
 - 5) Friedwald WT, Levy RI, and Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18, 499-502
 - 6) Higuchi M, Iwaoka K, Ishii K, Matsuo S, Kobayashi S, Tamai T, Takai H, and Nakai T. Plasma lipid and lipoprotein profiles in pre-and post-menopausal middle-aged runners. *Clini Physiol* 1990; 10: 69-76
 - 7) Hirokawa K. Understanding the mechanism of the age-related decline in immune function. *Nutr Rev* 1992; 50: 361-366
 - 8) Kishimoto S, Tomino S, Inomata K, Kotegawa S, Saito T, Kuroki M, Mitsuya H, and Hisamatsu S. Age-related changes in the subsets and functions of human T lymphocytes. *J Immunol* 1978; 121: 1773-1780
 - 9) Krause D, Mastro AM, Handte G, Smiciklas-Wright H, Miles MP, and Ahluwalia N. Immune function did not decline with aging in apparently healthy, well nourished women. *Mech Ageing Dev* 1999; 112: 43-57
 - 10) Krishnaraj R. Immunoenescence of human NK cells: effects on tumor target recognition, lethal hit and interferon sensitivity. *Immunol Left* 1992; 34: 79-84
 - 11) Mazzeo RS, Rajkumar C, Rolland J, Blaher B, Jennings G, and Esler M. Immune response to a single bout of exercise in young and elderly subjects. *Mech Ageing Dev* 1998; 100: 121-132
 - 12) Mazzeo RS. Exercise, Immunity, and Aging. In: *Exercise and Immune function*, edited by Hoffman-Goetz L. Boca Ranton, FL: CRC, 1996 p199-214
 - 13) Murasko DM, Weiner P, and Kaye D. Decline in mitogen induced proliferation of lymphocytes with increasing age. *Clin Exp Immunol* 1987; 70: 440-448
 - 14) Nieman DC, and Pedersen BK. Exercise and Immune function. Recent developments. *Sports Med* 1999; 27: 73-80
 - 15) Nieman DC, Buckley KS, Henson DA, Warren BJ, Suttles J, Ahle JC, Simandle S, Fagoaga OR, and Nehlsen-Cannarella SL. Immune function in marathon runners versus sedentary controls. *Med Sci Sports Exerc* 1995; 27: 986-992
 - 16) Nieman DC, Henson DA, Gusewitch G., Warren BJ, Dotson RC, Butterworth DE, and Nehlsen-Cannarella SL. Physical activity and immune function in elderly women. *Med Sci Spots Exerc* 1993;

- 17) O'Leary A. Stress, emotion, and human immune function. *Psychological Bull* 1990; 108: 363-382
- 18) Ogita K, Yokose N, Tamura H, An E, Nakamura K, Dan K, and Nomura T. Natural killer cells in the late decades of human life. *Clin Immunol Immunopathol* 1997; 84: 269-75
- 19) Pedersen BK, and Hoffman-Goetz L. Exercise and the immune system: Regulation, integration, and adaptation. *Physiol Rev* 2000; 80: 1055-1081
- 20) Pedersen BK, and Nielsen HB. Acute exercise and the immune system. In: Pedersen BK. *Exercise Immunology*. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag, 1997: 5-38
- 21) Pedersen BK, Tvede N, Christensen LD, Klarlund K, Kragbak S, and Halkjær-Kristensen J. Natural killer cell activity in peripheral blood of highly trained and untrained persons. *Int J Sports Med* 1989; 10: 129-131
- 22) Remarque E., and Pawelec P. T cell immunosenescence and its clinical relevance in man. *Rev. Clin. Gerontol.* 1998; 8: 5-14
- 23) Saltin B, and Astrand P. Maximal oxygen uptake in athletes. *J Appl Physiol* 1967; 23: 353-358
- 24) Scanga CB, Verde TJ, Paolone AM, Andersen RE, and Wadden TA. Effects of weight loss and exercise training on natural killer cell activity in obese women. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30: 1666-1671
- 25) Shinkai S, Kohno H, Kimura K, Komura T, Asai H, Inai R, Oka K, Kuroiwa Y, and Shephard RJ. Physical activity and immune senescence in men. *Med Sci Sports Exerc* 1995; 27: 1516-1526
- 26) Solana R, and Mariani E. NK and NK/T cells in human senescence. *Vaccine* 2000; 18: 1613-1620
- 27) SRL Co. LTD. *SRL Handbook*. Tokyo: SRL Co. LTD., 1996: 119 (in Japanese)
- 28) Vitale M, Zamai L, Neri LM, Galanzi A, Facchini A, Rana R, Cataldi A, and Papa S. The impairment of natural killer function in the healthy aged is due to a postbinding deficient mechanism. *Cell Immunol* 1992; 145: 1-10
- 29) Woods JA, Ceddia MA, Wolters BW, Evans JK, Lu Q, and McAuley E. Effects of 6 months of moderate aerobic exercise training on immune function in the elderly. *Mech Aging Dev* 1999; 109: 1-19
- 30) Woods JA, Evans JK, Wolters BW, Ceddia MA, and McAuley E. Effect of maximal exercise on natural killer cell function and responsiveness to interferon- α in the young and old. *J Gerontol Biol Sci* 1998; 53, B430-43