運動による腸管感染防御機構の変化に関する基礎的研究 〜運動が抗菌ペプチド defensin に与える影響〜

谷村 祐子

目 次

	要	約	• •	• •	• •	• •	••		•	• •	•	••	•	••	•	••	•	• •	• •	•	••	•	• •	• •	•	••	• •	•	• •	• •	•	••	•	••	••	••	•••		1
Ι.	緒	言	••	• • •	••	••		•	••		•	• •	•	••	•	••	•	••	• •		••	•	••	• •		••	•					••		••	••	••	• • •	,	2
п.	方	法	••	• • •		••		•			•	••	•	••	•	••	•	••	• •			•		• •		••	•				•	••	•	••	••	••	•••	,	4
ш.	結	果		• • •	• •	••	••	•		• •	•	••	•	••	•	••	•	••	• •	•		•	••	• •		••	•		••	• •	•	••	•	••	••	••	•••	,	6
IV.	考	察		• • •	• •	••	••	•		• •	•	••	•	••	•	••	•	••	• •	•		•	••	• •		••	•		••	• •	•	••	•	••	••	••	•••	,	7
v.	謝	辞		• • •	••	••		• •	• •		•	••	•	••	•	••	•		• •		• •	•	••	• •		••	•			• •	•	••	•	••	••	• •	•••	,	9
VI.	参	考	文i	献	••	••	••	•	••	••	•	••	•	••	•	••	•	••	• •	••	••	•	••	• •		••	•	• •	••		• •	••	•	••	••	••	•••	, -	10
VII.	図	• • •							•						•		•]	13

運動による腸管感染防御機構の変化に関する基礎的研究 ~運動が抗菌ペプチド defensin に与える影響~

谷村 祐子, 青井 渉, 高波 嘉一,川合 ゆかり, 内藤 裕二, 吉川 敏一

要約

背景:免疫機能は人が生活するうえで、重要な生体機構である. 運動は免疫機構に影響を与えることはよく知られている. 運動が腸に与える影響は示唆されているものの、これまでは疫学的な調査が中心であり、分子メカニズムについては不明な点が多い. 本研究で着目する defensin は、腸の陰窩に存在するパネート細胞から分泌される物質であり、感染防御の第一線で働く因子として注目されている. マウスのそれは cryptdin と呼ばれ、本研究では最も抗菌活性の強い cryptdin-4(crypt-4)を検討する.

目的:我々は高強度の運動で生じるとされる虚血再灌流障害による crypt-4 の変化を観察することによって、 腸が障害を受けた際の変化について検討した. またその際に、部位による発現の変化についても検討した (実験 1:虚血-再灌流傷害による小腸 crypt-4 の影響). 次に、一過性高強度運動による小腸 crypt-4 の影響を時間経過とともに観察した(実験 2)、さらに加齢と運動トレーニングによって小腸 crypt-4 が受ける影響を検討した(実験 3).

方法: 実験動物には C57BL/6J 雄性マウス(8 週齢, 15±1 カ月齢), ICR 雄性マウス(8 週齢)を各々の実験で用いた. 実験 1 では C57BL/6J 雄性マウス(8 週齢)で虚血再灌流 (IR) 群と対照 (Con) 群の 2 群に分けられた. 実験 2 では ICR 雄性マウス(8 週齢)で運動群と対照群の 2 群に分けられた. 実験 3 では, C57BL/6J 雄性マウスの若齢マウス(8 週齢, Young: Y)と老齢マウス(15±1カ月齢, Aged: A)を用いた. さらにそれぞれをトレーニング群 (Training: T)と非トレーニング群 (Sedentary: S) に分け, 4 群 (YS, YT, AS, AT)とした. 各介入を行ったマウスを解剖し小腸粘膜を摘出後, 定量 RT-PCR にて crypt-4 の発現を評価した.

<u>結果</u>:実験 1)消化管下部へいくに従って発現量が高かった. しかしながら, 虚血再灌流による発現に有意な差は認められなかった. 実験 2) 一過性高強度運動にて PRE と比較して IMM, P3 において増加の傾向が認められた. 実験 3) Y 群と比較して A 群では有意に低下した. しかしながら, 運動トレーニングによる有意な差は認められなかった.

結論:小腸 crypt-4 は一過性運動負荷や加齢に対してその発現を変化させることが明らかになった. 今後の展望として、これらの結果を踏まえつつ様々な運動負荷モデルや、他のパラメータとの関連、またその変化のメカニズムについて検討する必要がある. このような実験を通して、運動による腸管免疫の変化を明らかにし、アスリートへの消化器症状の緩和や高齢者の運動処方に役立つ情報を提供していきたいと考えている.

代表者所属:京都府立医科大学

I. 緒言

免疫機能は人が生活するうえで、重要な生体機構である。運動は免疫機構に影響を与えることはよく知られている。特に、Pedersen et al.らの「中等度の運動は免疫機能を促進し、長時間の高強度運動は回復期において一時的に免疫機能を低下させる」というオープンウィンドウ説は周知されている [1]. 消化管において、トライアスロンやマラソンなどの激しい運動後には、腹痛、下痢、血便などの様々な消化器病態が誘起され、運動負荷は、その強度に依存した消化管血流量の低下(虚血)と再灌流を引き起こし、酸化ストレスの増大、細胞透過性の亢進、そして腸管上皮細胞の部分的傷害を誘発すると考えられている [2]. さらに、運動後にはグラム陰性細菌由来リポ多糖(lipopolisaccalide; LPS)の血中濃度が増加することから、腸管粘膜のバリアが破壊されて細菌が侵入しやすくなっていると考えられる [3]. このことは腸への異物の侵入を容易にし、一種の炎症状態を引き起こす可能性を示唆している。こうした炎症が、激運動後の消化器の様々な症状を誘引している可能性がある [4]. また、Perers et al.は、トライアスロンやマラソンなどの激運動が、腹痛、下痢、血便などの様々な消化器病態を誘起するものの、適度な運動は大腸がんを抑制すると報告している [5]. このように、運動が腸に与える影響は示唆されているものの、これまでは疫学的な調査が中心であり、分子メカニズムについては不明な点が多い。

本研究で着目した defensin は抗菌ペプチドであり、 α -defensin、 β -defensin、 θ -defensin が存在する. 我々は小腸粘膜上皮細胞の陰窩に存在するパネート細胞(の細胞内顆粒中)から刺激によって腸管へ有効な濃度で分泌される α -defensin についての検討を行った. α -defensin は、白血球や様々な上皮組織において細胞融解による殺菌作用を持つ生体防御機構の中心的役割を果たす感染防御の第一線である. 例えば、炎症性腸疾患モデルマウスにおける defensin の発現は低く [6]、ヒトクローン病においてもパネート細胞の細菌活性低下に defensin の構造異常が関与していることが示されている [7]. このように、炎症時には腸のdefensin の発現が低いことが考えられる. 運動によって引き起こされる炎症が defensin に影響する可能性は十分考えられる.

運動と粘膜免疫に関するこれまでの報告では、唾液中分泌型 Immunogloblin A (IgA)の報告が多く [8-10]、全身性の免疫と同様に激運動で低下し、適度な運動では亢進することが報告されている。なかでも免疫機能の低下している高齢者では、運動トレーニングによって、唾液 IgA の低下が抑制することが報告されている [11]. 消化管においても同様の結果が得られると考えられている [12]. 運動と defensin に関しては、上気道感染症に対する効果の検証として一過性の高強度運動後に defensin が増加することを報告している [13,14]. この時に唾液 IgA は低下していることから、他の口腔内の免疫システムが減少にたいする補完作用が働いていると考えられている。同じ粘膜免疫に属する腸においても、同様の現象が観察される可能性が期待できる。また、加齢は胃酸分泌の低下や咀嚼回数の減少から、腸の細菌・ウィルスの易感染が懸念される。 Koga et al.は、加齢によって粘膜免疫が低下することを報告している [15]. 高齢者における感染胃腸炎などのリスクの回避は、重症化をきたさないためにも重要である。

Defensin の中でもマウスのそれは cryptdin と呼ばれ, アイソフォームは 1-6 まで存在する [16]. 中でも

cryptdin-4(crypt-4) は最も抗菌活性が強いと報告されているため [17], 本研究では crypt-4 に着目して研究を行った. 以上のことから, 本研究の目的は運動による腸管免疫の変化に関する基礎的知見を得ることである.

まず、我々は高強度の運動で生じるとされる虚血再灌流障害による crypt-4 の変化を観察することによって、腸が障害を受けた際の変化について検討した。またその際に、部位による発現の変化についても検討した(実験 1:虚血-再灌流傷害による小腸 crypt-4 の影響). 次に、一過性高強度運動による小腸 crypt-4 の影響を時間経過とともに観察した(実験 2)、さらに加齢と運動トレーニングによって小腸 crypt-4 が受ける影響を検討した(実験 3).

本研究では、上述した実験 1~3 について明らかにし、運動による腸管免疫の変化を明らかにすることによって、アスリートへの消化器症状の緩和や高齢者の運動処方に役立つ知見を得ることを目的としている.

Ⅱ. 方法

1. 実験動物

実験動物には C57BL/6J 雄性マウス (8 週齢, 15 ± 1 カ月齢), ICR 雄性マウス (8 週齢) を各々の実験で用いた. マウスは京都府立医科大学動物飼育ガイドラインに沿って, 1 ゲージ 5 匹ずつ, 12 時間の明暗サイクルの環境下で飼育した. 本実験は本大学の動物倫理委員会の承認を得て行われた. 虚血再灌流実験に用いたマウスは C57BL/6J 雄性マウス (8 週齢) で虚血再灌流 (IR) 群 (n=3) と対照 (Con) 群 (n=3) の 2 群に分けられた. 一過性運動実験に用いられたマウスは ICR 雄性マウス (8 週齢) で運動群 (n=10) と対照群 (n=8) の 2 群に分けられた. 運動トレーニング実験では、C57BL/6J 雄性マウスの若齢マウス (8 週齢, Young: Y) と老齢マウス (15 ± 1 カ月齢、Aged: A) を用いた. さらにそれぞれをトレーニング群 (Training: T) と非トレーニング群 (Sedentary: S) に分け、4 群 (YS: n=11, YT: n=11, AS: n=6, AT: n=7) とした.

2. 虚血-再灌流障害モデル(実験 1)

運動による小腸への虚血再灌流の影響を調べるため、上腸間膜動脈を結紮し(虚血)30分後、結紮を解除し(再灌流)、その60分後に組織を採取した.組織はイソフルラン(マイラン製薬株式会社、東京、日本)麻酔下にて脱血処理後、安楽死させて小腸組織を肛門側(Anus: A)、中間部(Medium: M)、幽門側(Pylorus: P)に分けて各々6 cm 採取した. 採取後は-80° C で保存した.

3. 一過性運動プロトコル(実験 2)

一過性高強度運動による小腸の影響を調べるために、2週間の慣らし運動(10-30 m/min, 3 回/週)を行った後、急性運動負荷(30 m/min 1 時間)のトレッドミル運動を課した(MK680,室町機械,東京,日本). 運動前(PRE-exercise: PRE)、運動直後(immediate: IMM)、運動終了3時間後(POST 3h:P3)、運動終了6時間後(POST 6h:P6)、そして運動終了24時間後(POST 24h:P24)に解剖を行った。組織はイソフルラン麻酔下にて脱血処理後、安楽死させて小腸組織のAを6cm採取した。採取後は-80°Cで保存した.

4. 運動トレーニングプロトコル(実験3)

運動トレーニングは 20m/min, 30 分, 週 3 回にて 8 週間のトレッドミル運動を行った。最後のトレーニング終了 24 時間後に,イソフルラン麻酔下にて脱血処理後,安楽死させて小腸組織の A δ δ cm 採取した.採取後は -80° C で保存した.

5. RNA 抽出及びリアルタイム定量 PCR

保存した小腸を ISOGEN (ニッポンジーン, 東京, 日本) に浸した状態でホモジナイズし, 得られたサンプルに, クロロホルム (和光純薬工業株式会社, 大阪, 日本) を加えて, 12,000 rpm, 4° C, 15 分遠心する. 遠心にて得られた上清と等量のイソプロパノール (和光純薬工業株式会社, 大阪, 日本) を加え 5 分静置し,

15,000 rpm, 4° C, 15 分遠心する. 上清を捨て, 75%エタノール溶液を加え 15,000 rpm, 4° C, 5 分遠心する. 再び上清を捨て, 得られたペレットを蒸留水にて溶解して total RNA を抽出した. High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, Applied Biosystems (東京, 日本)を用いて cDNA 合成を行った. 定量RT-PCR は cDNA 100 ng, 増幅領域に対応するプライマー(10 μM)とプローブ DNA(10 μM), PCR Master Mix (Power SYBR® Green PCR Master Mix, Applied Biosystems, 東京, 日本)及び水を用いて全量を 25 μl に調整して, Applied Biosystems 7300 リアルタイム PCR システム (Applied Biosystems, 東京, 日本)にて行った. 反応は 95° C 10分で cDNA を変性の後, 95° C 15秒, 60° C 1分を 40サイクルで行った. 内部標準遺伝子としてβ-アクチンを使用した. 使用したプライマーは cryptdin 4(forward: 5-AGAGGACCAGGCTGTGTCTATCTC-3, reverse: 5-CAAACCTCTCAAAGATTTTTCATGAA-3)、β-actin (forward: 5-TATCCACCTTCCAGCAGATGT-3, reverse: 5-AGCTCAGTAACAGTCCGCCTA-3)を用いた. また目的遺伝子のプライマーは Primer Express 2.0 (Applied Biosystems, 東京, 日本)を用いて作成した. Cryptdin 4 mRNA の発現量は、β-actin の発現量にて補正し、対照群を1とした相対値で比較検討した.

6. 統計

全ての数値は、平均値と標準偏差で表した。統計的有意差は多群の比較において、二元配置の分散 分析を用いて行い、事後検定については Dunnet の検定を適用した。二群比較においては対応のない t-testを行なった。統計ソフトには Prism5.0 (GraphPad 社, CA, USA) を用いた。統計的有意差は5%水準と した。

Ⅲ. 結果

1. 虚血—再灌流が部位別の小腸 crypt-4 の発現に及ぼす影響

高強度の一過性運動によって生じるであろう虚血再灌流による腸管の防御機能の変化を調べるために、 上腸間膜動脈を結紮し解放する虚血再灌流モデルを用いて小腸 crypt-4 mRNA の変化を調べた. また、 小腸の部位による発現の変化についても検討した. 二元配置の分散分析において、部位による発現の差 が認められ、A、M、Pの順で発現量が高かった (Fig.1). 特に CON 群の A と P、A と M において A が有意 に高値であった (Fig 1). しかしながら、虚血再灌流による発現に有意な差は認められなかった.

2. 一過性高強度運動が小腸 crypt-4 の発現に及ぼす影響

一過性高強度運動が小腸の crypt-4 の発現にどのような影響を及ぼすかを調べた. 実験 1 にて発現の高い A の部位にて検討した. 一元配置分散分析において, 有意な差が認められた. 事後検定においては PRE と比較して IMM, P3 において増加の傾向が認められた(p=0.06, 0.02)(Fig.2).

3. 加齢と運動トレーニングが小腸 crypt-4 の発現に及ぼす影響

加齢と運動トレーニングが小腸の crypt-4 の発現にどのような影響を及ぼすかを調べた. 二元配置の分散分析によって、Y 群と比較して A 群では有意に低下した(Fig.3). しかしながら、運動トレーニングによる有意な差は認められなかった.

Ⅳ. 考察

本研究では、運動による腸管免疫の変化を調べるために抗菌ペプチドの一種である crypt-4 に着目して検討を行った.

実験1)に関しては、一過性高強度運動で生じる虚血再灌流モデルを用いて小腸のcrypt-4の部位別の発現を検討した。これまでに、高強度運動時には末梢組織である筋肉に血流が送られるため、消化器は一過性の虚血が生じ、運動終了時において血流が元に戻ることによって再灌流が生じると考えられている [18-23]。しかしながら、本研究では虚血再灌流モデルにおいて有意な差は認められなかった。これは個々による発現の大きさが大きいことも一因である可能性がある。さらには、虚血がしっかりと行われていたのかを血流測定による確認も行わなければならない。

また、部位については遠位において有意に発現が高かった。綾部ら [24]は crypt-4 が腸の単離陰窩を用いて十二指腸及び空腸に比べて回腸で遺伝子発現量が数十倍多いことを明らかにして、抗 cryptdin isoform 抗体を用いた免疫染色によっても同様の結果を得ている。本研究の結果は、粘膜組織でも同様の結果を得ることができることを示した。また、先行研究によるとマウスにおける小腸上皮細胞間リンパ球数の分布の部位による差は上部>中部>下部であり、小腸の絨毛の長さと相関した結果であると報告されている [25]。また腸内細菌は消化管の下部にいくに従って増加するといわれている。リンパ球の細胞数をカバーするためや細菌数の局所における違いが、crypt-4 の発現を高めているのかもしれない。しかし、Crypt-4 は常在性の腸内細菌には腸内に共生する常在性の細菌には抗菌作用がほとんど無く、病原性細菌に対して抗菌作用を示すという報告がある [26]。この局所の発現による違いがどのような生体的意義を担っているのかは未だ明らかでない。

実験 2) に関しては、一過性高強度運動による小腸 crypt-4 の発現を経時的に検討した。一過性高強度運動は一過性に小腸 crypt-4 の発現を増加させた。唾液でも同様の現象が報告されている。この増加は、一過性高強度運動による免疫抑制を代償しているものと考えられる [14]. あるいは、運動後の一定時間は虚血となっていた腸に血流が戻ってくる。小腸 Crypt-4 は細菌刺激によって分泌されるため、血流量が増加したことによって、一時的に細菌暴露が増加したため小腸 Crypt-4 の発現が増加した可能性も考えられる。実際にマラソンなどの高強度長時間では、腸管機能の傷害(腸上皮の脱落、腹痛、下痢)を生じると報告されている [27,28]. このような症状と crypt-4 の発現の関連性がある可能性がある.

また、小腸 P 部位に関しても小腸 crypt-4 の発現は A と同様に一過性に増加した(data not shown). このことから小腸全体においてもその発現は全体に増加することが考えられる. よって、運動による刺激に関しては局所的なものではなく全体に影響を与えるものがと思われる.

実験 3) に関しては、老齢マウスを用いて、運動トレーニングによる小腸 crypt-4 の発現を検討した. 加齢によって crypt-4 の発現が低下していた. 加齢による粘膜免疫の低下は先行研究においても示され、腸管関連リンパ組織特にパイエル板と CD4 細胞と樹状細胞の構成が粘膜免疫の調節に主に関与することが報告されている [29]. また、加齢は小腸の腸絨毛が退化して短くなり、大腸の腸内細菌が小腸に侵入し、小腸に炎症を生じさせる [30]. この原因の一つとして小腸 crypt-4 の低下が、細菌感染やウィルス感染の易感染性を引き起こしているのかもしれない.

本研究では、一般的な免疫の指標である小腸 IgA では加齢による変化は認められなかった(data not shown). 先行研究においては、抗原刺激のない状態での糞便中での総 IgA 量は変化しないが、抗原刺激に対しては加齢によってその反応性は低くなる [15]. これは加齢によって、外部刺激による反応が鈍く

なっているものと考えられる. よって,何かしらの刺激を加えた場合には小腸 IgA においても同様の反応を示す可能性がある.

また本研究での運動プロトコルでは小腸 crypt-4 の有意な増加は認められなかったものの、小腸 IgA においてはトレーニングによって増加傾向が認められた(p=0.06、data not shown). トレーニングによる唾液 IgA の増加はこれまでの報告でも認められている [31,32]. 小腸 IgA 細胞は腸管上皮細胞の IL6 の分泌により産生を分化させるものもあるために、運動トレーニングの単回の運動刺激による IL6 の分泌が IgA 産生細胞を増加させることも考えられる.

一方で、crypt-4 は細菌刺激で分泌される [7]. 本研究ではトレーニング中に crypt-4 を分泌させる細菌刺激がなかったものと考えられる. トレーニング効果を検討するためには、トレーニング後に細菌刺激等を与えた反応性を評価する必要があるのかもしれない.

今後の課題として、crypt-4の分泌のメカニズムを検討することによって、加齢による低下を抑制できるような運動トレーニングまたは機能性食品などを見出せる可能性がある。例えば、腸絨毛の回復は絶食時よりも摂食時の方が早く、加齢はその回復時間を長くさせる [33]. このように栄養も、腸管免疫に大きく関与する. Masuda et al. は糖脂質(LPS など)の経口投与はパネート細胞からの crypt-4 を誘導し、腸内に侵入した病原性細菌を防御すると報告している [26]. 現段階では、いくつかの抗菌ペプチドの発現誘導剤または分泌促進剤として、アミノ酸、酵母由来マンナンなどを原料にしたものが特許申請されている

(http://www.j-tokkyo.com/2006/A61K/JP2006-241023.shtml,

http://www.j-tokkyo.com/2003/A61K/JP2003-095938.shtml).

本研究は、運動における腸管免疫の変化を観察するために抗菌ペプチドの一種である crypt-4 の発現に着目し、以下のような知見を得た.

- 実験 1) マウスの小腸では近位よりも遠位において crypt-4 の発現が高かった. また本研究の虚血再灌流モデルでは有意な変化は認められなかった.
- 実験 2) 本研究の一過性高強度運動は小腸 crypt-4 を一時的に増加させた.
- 実験3)加齢で小腸 crypt-4 は有意に低下する. しかしその低下は本研究の運動トレーニングでは抑制することはできなかった.

これらのことから、小腸 crypt-4 は運動負荷に対してその発現を変化させることが明らかになった。今後の展望として、これらの結果を踏まえつつ様々な運動負荷モデルや、他のパラメータとの関連、またその変化のメカニズムについて検討する必要がある。このような実験を通して、運動による腸管免疫の変化を明らかにし、アスリートへの消化器症状の緩和や高齢者の運動処方に役立つ情報を提供していきたいと考えている。

V. 謝辞

本研究課題に対して助成頂いた財団法人上月スポーツ・教育財団に深謝申し上げます.

VI. 参考文献

- [1] B.K. Pedersen, T. Rohde, K. Ostrowski, Recovery of the immune system after exercise., Acta Physiologica Scandinavica. 162 (1998) 325-32.
- [2] A. Bosenberg, J.G. Brock-Utne, S.L. Gaffin, M.T. Wells, G.T. Blake, Strenuous exercise causes systemic endotoxemia., Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985). 65 (1988) 106-8.
- [3] M. Hiromi, Y. Hiromi, Acute exercise suppression of tumor necrosis factor-a epression in rat liver, The Japanese Society of Physical Fitness and Sport Medicine NII-Electronic Library Service. 51 (2002) 203-210.
- [4] A. Jeukendrup, K. Vet-Joop, A. Sturk, J.H. Stegen, J. Senden, W.H. Saris, et al., Relationship between gastro-intestinal complaints and endotoxaemia, cytokine release and the acute-phase reaction during and after a long-distance triathlon in highly trained men., Clinical Science (London, England: 1979). 98 (2000) 47-55.
- [5] H.P. Peters, W.R. De Vries, G.P. Vanberge-Henegouwen, L.M. Akkermans, Potential benefits and hazards of physical activity and exercise on the gastrointestinal tract., Gut. 48 (2001) 435-9.
- [6] Y. Inaba, T. Ashida, T. Ito, C. Ishikawa, H. Tanabe, A. Maemoto, et al., Expression of the antimicrobial peptide alpha-defensin/cryptdins in intestinal crypts decreases at the initial phase of intestinal inflammation in a model of inflammatory bowel disease, IL-10-deficient mice., Inflammatory Bowel Diseases. 16 (2010) 1488-95.
- [7] T. Ayabe, D.P. Satchell, C.L. Wilson, W.C. Parks, M.E. Selsted, a J. Ouellette, Secretion of microbicidal alpha-defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria., Nature Immunology. 1 (2000) 113-8.
- [8] T.-L. Li, M. Gleeson, The effect of single and repeated bouts of prolonged cycling and circadian variation on saliva flow rate, immunoglobulin A and alpha-amylase responses., Journal of Sports Sciences. 22 (2004) 1015-24.
- [9] C.A. Leicht, N.C. Bishop, V.L. Goosey-Tolfrey, Mucosal immune responses to treadmill exercise in elite wheelchair athletes., Medicine and Science in Sports and Exercise. 43 (2011) 1414-21.
- [10] C.A. Leicht, N.C. Bishop, A.W. Paulson T, K.E. Griggs, V.L. Goosey-Tolfrey, Salivary Immunoglobulin A and Upper Respiratory symptoms during Five Months of Training in Elite Tetraplegic Athletes., International Journal of Sports Physiology and Performance. (2011).

- [11] T. Akimoto, Y. Kumai, T. Akama, E. Hayashi, H. Murakami, R. Soma, et al., Effects of 12 months of exercise training on salivary secretory IgA levels in elderly subjects., British Journal of Sports Medicine. 37 (2003) 76-9.
- [12] E.P. de Oliveira, R.C. Burini, The impact of physical exercise on the gastrointestinal tract., Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. 12 (2009) 533-8.
- [13] T. Usui, T. Yoshikawa, K. Orita, S.-Y. Ueda, Y. Katsura, S. Fujimoto, et al., Changes in salivary antimicrobial peptides, immunoglobulin A and cortisol after prolonged strenuous exercise., European Journal of Applied Physiology. (2011) 2005-2014.
- [14] G. Davison, J. Allgrove, M. Gleeson, Salivary antimicrobial peptides (LL-37 and alpha-defensins HNP1-3), antimicrobial and IgA responses to prolonged exercise., European Journal of Applied Physiology. 106 (2009) 277-84.
- [15] T. Koga, J.R. McGhee, H. Kato, R. Kato, H. Kiyono, K. Fujihashi, Evidence for early aging in the mucosal immune system., Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950). 165 (2000) 5352-9.
- [16] R. Inoue, T. Tsuruta, I. Nojima, K. Nakayama, T. Tsukahara, T. Yajima, Postnatal changes in the expression of genes for cryptdins 1-6 and the role of luminal bacteria in cryptdin gene expression in mouse small intestine., FEMS Immunology and Medical Microbiology. 52 (2008) 407-16.
- [17] A.J. Ouelleyite, M.M. Hsieh, M.T. Nosek, D.F. Cano-gauci, structures and antibacterial activities of Mouse Paneth Cell Defensins: Primary Structures and Antibacterial Activities of Numerous Cryptdin Isoformst, Microbiology. (1994).
- [18] M. Heer, F. Repond, A. Hany, H. Sulser, O. Kehl, K. Jäger, Acute ischaemic colitis in a female long distance runner., Gut. 28 (1987) 896-9.
- [19] O. Oktedalen, O.C. Lunde, P.K. Opstad, L. Aabakken, K. Kvernebo, Changes in the gastrointestinal mucosa after long-distance running., Scandinavian Journal of Gastroenterology. 27 (1992) 270-4.
- [20] M.I. Qamar, A.E. Read, Effects of exercise on mesenteric blood flow in man., Gut. 28 (1987) 583-7.
- [21] S. Ogoh, Autonomic control of cerebral circulation: exercise., Medicine and Science in Sports and Exercise. 40 (2008) 2046-54.
- [22] P.B. Raven, P.J. Fadel, S. Ogoh, Arterial baroreflex resetting during exercise: a current perspective., Experimental Physiology. 91 (2006) 37-49.

- [23] E. Casey, D.J. Mistry, J.M. MacKnight, Training room management of medical conditions: sports gastroenterology., Clinics in Sports Medicine. 24 (2005) 525-40, viii.
- [24] A. Tokiyoshi, パネート細胞ディフェンシンによる腸管の炎症制御メカニズムの解明と応用, 科学研究費補助金研究成果報告書. (2008).
- [25] S. Hodaka, J. Lwang II, O. Taichi, D. Kunio, Regional varietions in the Distribution of small Intestinal Intraepithelial lymphocytes in three incred strains of mice, Japanese Society of Veterinary Science. 62 (2000) 881-887.
- [26] K. Masuda, N. Sakai, K. Nakamura, S. Yoshioka, T. Ayabe, Bactericidal activity of mouse α-defensin cryptdin-4 predominantly affects noncommensal bacteria., Journal of Innate Immunity. 3 (2011) 315-26.
- [27] G. Bounous, A.H. McArdle, Marathon runners: the intestinal handicap., Medical Hypotheses. 33 (1990) 261-4.
- [28] G.W.K. Ho, Lower gastrointestinal distress in endurance athletes., Current Sports Medicine Reports. 8 (n.d.) 85-91.
- [29] K. Fujihashi, J.R. McGhee, Mucosal immunity and tolerance in the elderly., Mechanisms of Ageing and Development. 125 (2004) 889-98.
- [30] J. Gong, J. Xu, W. Zhu, X. Gao, N. Li, J. Li, Epithelial-specific blockade of MyD88-dependent pathway causes spontaneous small intestinal inflammation., Clinical Immunology (Orlando, Fla.). 136 (2010) 245-56.
- [31] K. Shimizu, F. Kimura, T. Akimoto, T. Akama, T. Otsuki, T. Nishijima, et al., Effects of exercise, age and gender on salivary secretory immunoglobulin A in elderly individuals., Exercise Immunology Review. 13 (2007) 55-66.
- [32] P. Klentrou, T. Cieslak, M. MacNeil, A. Vintinner, M. Plyley, Effect of moderate exercise on salivary immunoglobulin A and infection risk in humans., European Journal of Applied Physiology. 87 (2002) 153-8.
- [33] 根塚, 秀昭, 小腸粘膜増殖能の加齢に伴う変化と前初期遺伝子 c-fos,c-jun の発現に関する実験的研究, 金沢大学十全医学会雑誌. (1999) 157-165.

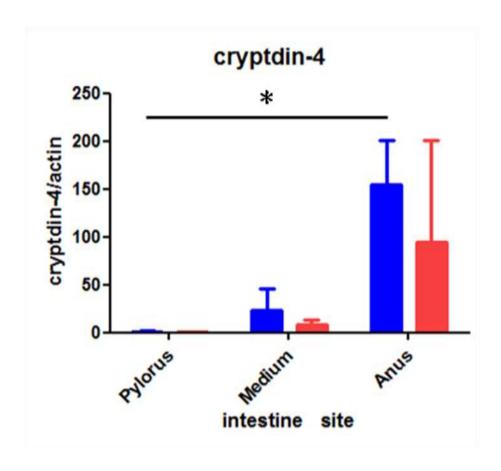


Fig.1. 虚血再灌流による部位別の小腸 crypt-4 の発現の変化

CON 群, IR 群. (平均±標準偏差, *:p>0.05)

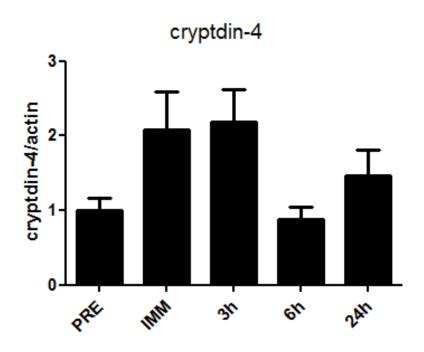


Fig.2. 一過性高強度運動による小腸 crypt-4 の発現の経時的変化 (平均 \pm 標準偏差, *:p>0.05)

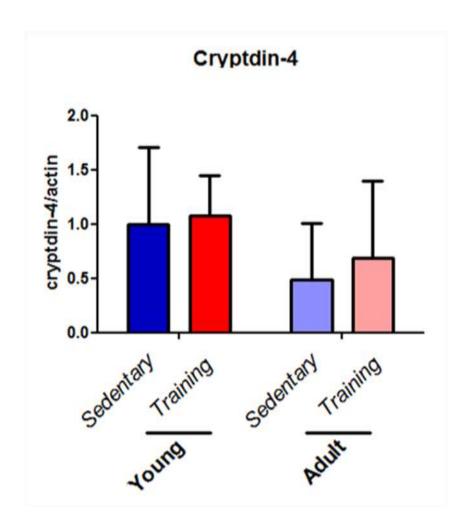


Fig.3. 加齢と運動トレーニングによる小腸 crypt-4 の発現の変化 (平均 ± 標準偏差, *: p>0.05)