

運動與人體唾液 IgA 抗體濃度 關係之研究

蔡忠昌／陳信穎／徐 冰
國立彰化師範大學

摘 要

適量運動有助於提昇免疫力，過度運動則可能導致免疫力下降。本研究蒐集感冒、不太運動與常運動同學唾液，以免疫酵素連結分析(ELISA)測量唾液中 IgA 抗體濃度。實驗結果發現感冒者唾液 IgA 抗體濃度明顯低於未感冒者，顯示 IgA 抗體濃度的減少與病毒抵抗力減弱罹患感冒有密切關係。另外，實驗結果也顯示運動量的突然增加，例如運動訓練，會短時間的造成受試者唾液 IgA 抗體濃度下降。推測此一造成免疫力下降的原因可能與增加運動量同時，壓力荷爾蒙腎上腺皮質素的上升，以及肌肉的細胞損傷所釋放的發炎相關分子可能有關。

關鍵詞：運動、免疫力、唾液 IgA

壹、前 言

一、運動與免疫功能的變化

一般而言，適量的體育活動或是規律的運動習慣對於免疫功能的提升與對於健康的助益效果極為顯著(Winett and Carpinelli, 2001)。相反的，長時間劇烈的運動或訓練卻可能導致免疫力下降，而影響運動成績的表現甚或有害健康(Pederson and Nieman, 2000)。免疫力下降往往造成進行運動訓練的選手及教練在實施訓練

時造成困擾，可是對於運動選手或是體育系學生而言，長時間較大的訓練量卻是不可缺少，因此，免疫功能與運動之間關係的探討，在運動科學的領域中日益受到重視(Pync, et al., 2000; Bassit, et al. 2002)。

搜尋運動與免疫功能變化的研究論文顯示，許多的研究皆以分析人體唾液中 IgA 抗體的變化作為評估運動員免疫力與運動之間的關係，雖然唾液 IgA 抗體只是免疫系統的一小部分，不過由於它容易收集分析，因此特別適合作為評估運動員免疫力變化的指標。研究結果證實無論是急劇或者是長時間的運動都會影響唾液 IgA 抗體之分泌量，而黏膜組織 IgA 抗體量減少，則與上呼吸道感染 (URTI-upper respiratory tract infecton, 如感冒等)頻率的增加有明顯密切的關係。Nieman (2002)的研究顯示，參加馬拉松比賽的選手，在比賽之後唾液 IgA 抗體的分量變低，並且因而特別容易發生上呼吸道感染症狀。在進行高強度持續數小時的自行車競賽選手、高強度的游泳選手也發現有唾液 IgA 抗體的分量減少的情形，較低強度的運動卻對唾液 IgA 沒有同樣的影響。

二、黏膜免疫在人體防禦機制的角色

人體免疫系統包含的組織、細胞、功能分子極多，依其分布位置大致可以分為以血液淋巴為主的系統性免疫(systemic immunity)，以及以黏膜組織為主的黏膜性免疫(mucosal immunity)。系統性免疫包含骨髓、脾臟、淋巴結等器官，黏膜性免疫包含口腔、消化道如胃、腸、呼吸道如鼻腔、氣管、泌尿生殖道等黏膜組織。由於大部分免疫學的研究甚或是教科書的內容均著重於系統性免疫機制的探討，黏膜性免疫常常被忽略。但是，人體黏膜組織介於外界環境與體內環境之間，隨時必須隔絕空氣食物中的潛在病毒細菌的入侵，許多學者因此認為黏膜組織是防禦病原微生物重要的第一道屏障。

黏膜組織具有許多隔絕潛在病毒細菌的機制，例如以黏液包裹病原並將之排出體外，製造抗菌分子如 lactoferrin, defensin 等抑制病菌的生長，或是分泌 IgA 抗體對抗病毒細菌，這其中 IgA 抗體的分泌尤其重要。在人體分泌的五種形式抗體分子中，血液中抗體主要為 IgG，IgA 抗體只佔整個血漿中免疫球蛋白量的 10~15%，但是在黏膜所分泌的抗體則幾乎全為 IgA 抗體，對黏膜免疫有著顯著的影響。黏膜組織作為防禦病原微生物重要的屏障，其重要性並不亞於系統性免疫機制這其中，例如，比較 IgG，IgA 抗體每天分泌量可以發現，人體每天所分泌之 IgG 抗體約在 3000 mg，而 IgA 抗體分泌量則約為 9200 mg，是 IgG 抗體量的三倍，由此可見，黏膜免疫之重要性不可被輕易的忽略。(Mestecky, et al. 1986)

三、研究目的

本研究主要將建立唾液 IgA 抗體濃度與人體免疫力影響之評估方法。研究結

果除了評估方法建立之外，將可提供運動選手、教練及體育教師從事長時間訓練之依據，並提供未來尋求運動員從事運動訓練時改善免疫力方法之研究基礎。

貳、實驗方法

一、實驗對象與唾液收集

(一) 感冒與未感冒組：感冒者六人與未感冒者七人均為體育系 94 級同學，感冒者之認定為具喉嚨腫痛及咳嗽症狀，對照者則無類似症狀。

(二) 不同運動量者之比較：本實驗分成三組，第一組為體育系 94、95 級同學 15 人(運動量較高)，第二組為生物系系球隊同學 11 名(運動量不固定，遇比賽則運動訓練量高，無比賽則低)，第三組為生物系非系球隊同學 10 人(除每週兩節體育課之外，不做任何運動)。三組同學第一次採集唾液時間為 2003 年 3 月，當時，第二組同學正逢全國大專院校生物杯球類競賽，運動量較平時為高。第二次採集時間為 2003 年 6 月，第一組同學除三月採集者另增加 23 人共 38 人。第二組同學除三月採集者另增加 6 人共 17 人，第三組同學除三月採集者另增加 10 人共 20 人。

(三) 體育系羽球專長同學：體育系羽球隊 7 人於暑假進行八周訓練，每隔一周採集唾液樣本一次。

(四) 唾液收集：受試者於唾液採集前半小時儘量避免飲水或進食，受試者將唾液吐於免洗杯中，每人每次收集 3-5c.c，在 4℃ 溫度下，以 13500 rpm 離心 20 分鐘，收集上清液以除去唾液中雜質和細胞，唾液上清液儲存在 -20℃ 冰櫃保存。

二、IgA 定量

IgA 係以免疫酵素連結法(ELISA)測得。步驟依序為：96 孔測定盤(Nunc)以 coating buffer(Sodium Carbonate/bicarbonate buffer, pH=9.0)稀釋 Rabbit anti human IgA 抗體(Sigma, USA) 500 倍，每孔加入 100 μ l，在 4℃ 冰箱中靜置作用一夜，使抗體附著於盤底。接著以 PBST(0.05% Tween 20 in PBS, pH=7.4)沖洗 6 次後加入 3%BSA 溶液，每孔 50 μ l，室溫 25℃ 搖晃 30 分鐘，再以 PBST 沖洗 6 次。接著加入唾液樣本，唾液樣本以 PBST 稀釋 3200 倍，每孔 100 μ l 室溫 25℃ 搖晃一小時後，以 PBST 沖洗 6 次，洗去殘餘唾液樣本。接著加入接有 peroxidase 第二抗體，goat anti mouse IgG HRP 抗體(Sigma)，抗體以加入 1%BSA 的 PBST 溶液稀釋 10000 倍，每孔加入 100 μ l，於室溫 25℃ 搖晃一小時，以 PBST 沖洗 6 次後，

最後加入呈色試劑，試劑為 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) 溶於 0.2M $\text{Na}_2\text{PO}_4/0.1\text{M}$ citric acid, pH=5.0，加入前添加 0.03% hydrogen peroxide，於室溫下反應 5 分鐘，再以 0.5M 的硫酸停止呈色反應。每孔光度值(optical density)以 ELISA 免疫測定儀於 450 nm 波長讀取。每個測定盤中均保留 36 孔作 IgA 抗體 (Human IgA, Sigma) 做不同 IgA 濃度測量，以不同 IgA 抗體濃度與光度值線性回歸求出其線性相關斜率等數值，回歸 r 值高於 0.98 之測定盤數據方得採計。每一唾液樣本均作三重複測定，取平均值代入求得之線性方程式，求得唾液樣本 IgA 抗體濃度。

三、統計分析

實驗數值利用 SPSS 軟體進行 T-test 或 ANOVA 檢測，以比較各組數據之差異性。

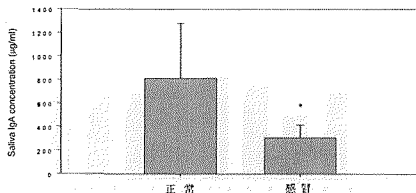
參、實驗結果

一、感冒與唾液 IgA 抗體濃度

比較感冒與未感冒受試者唾液 IgA 抗體濃度之差異，圖一顯示六位有感冒症狀同學唾液 IgA 抗體濃度為 305.8 ± 108.0 g/ml，而另外七位沒有感冒症狀同學的唾液 IgA 抗體濃度為 813.6 ± 465.3 g/ml，感冒者唾液 IgA 抗體濃度明顯低於未感冒者。

二、運動量與唾液 IgA 抗體濃度之關係

針對三組運動量不同同學的唾液 IgA 抗體濃度，在三月與六月間的變化結果如圖二所示。生物系運動組唾液 IgA 抗體濃度在三月為 396.3 ± 209.2 g/ml，六月則增為 693.2 ± 281.2 g/ml。生物系不運動組唾液 IgA 抗體濃度在三月為 626.8

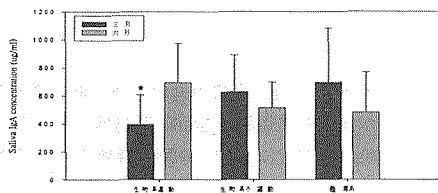


圖一 感冒與未感冒受試者唾液 IgA 抗體濃度
(*代表以 t-test 檢定有顯著差異 $p < 0.05$)

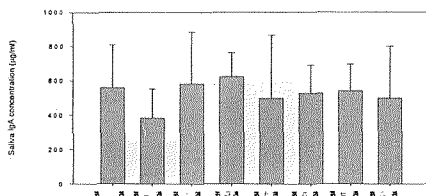
± 182.5 g/ml, 六月則稍減為 512.8 ± 182.5 g/ml。體育系學生唾液 IgA 抗體濃度在三月為 693.3 ± 388.9 g/ml, 六月則減為 481.3 ± 286.9 g/ml。各組三月六月數值經 t-test 統計檢定結果為：生物系運動組有明顯差異 ($P = 0.0005$)，生物系不運動組沒有明顯差異 ($P > 0.05$)，體育系學生六月唾液濃度雖然比起三月濃度減低不少，但是兩者之間並無顯著差異。

三、運動訓練與唾液濃度變化

針對體育系羽球隊隊員唾液 IgA 抗體濃度，於暑假八週訓練期間的變化結果如圖三所示。7 位選手唾液 IgA 抗體濃度第一周到第八周依序為 559.8 ± 249.1 g/ml, 383.1 ± 169.4 g/ml, 582.9 ± 301.1 g/ml, 624.2 ± 139.4 g/ml, 497.4 ± 368.8 g/ml, 527.0 ± 164.1 g/ml, 541.2 ± 153.3 g/ml, 499.1 ± 299.8 g/ml。大致上，唾液 IgA 抗體濃度在訓練期間變化不大，除了第二週唾液 IgA 抗體濃度偏低，但是經統計檢定並無顯著差異。



圖二 運動量與唾液濃度之比較 (*代表以 t-test 檢定三月與六月唾液 IgA 抗體有顯著差異 $P < 0.05$)



圖三 體育系羽球專長選手暑期訓練期間唾液 IgA 抗體濃度之變化

肆、討論

本研究結果顯示，感冒者唾液 IgA 抗體濃度明顯低於未感冒者，此結果顯示 IgA 抗體濃度的減少與病毒抵抗力減弱罹患感冒有密切關係，唾液 IgA 抗體濃度確實合適作為免疫力評估的方法之一。

比較三組不同運動量同學唾液 IgA 抗體濃度，在三月與六月間差異最為明顯的為第二組生物系系球隊同學。這些同學三月間所採集唾液 IgA 抗體濃度明顯較六月為低，推測可能是因為這些同學在三月間準備參加大專生物盃各類球賽，在當時進行密集練習使得運動量高於平時，也因此使得唾液 IgA 抗體濃度下降。第一組體育系的同學以及第三組生物系不運動的同學，他們唾液 IgA 抗體濃度在三月與六月間雖有變化，但是兩者之間並無統計上顯著差異。因此，我們推測運動量的突然增加可能是造成唾液 IgA 抗體濃度下降，並進一步導致免疫力變差的主要原因。

運動量的突然增加導致唾液 IgA 抗體濃度下降的猜測，可以再從體育系羽球專長同學暑期訓練期間唾液 IgA 抗體濃度變化得到證實。這些同學在開始訓練後一周，也就是第二週採集唾液 IgA 抗體濃度降低，雖然經統計檢定 P 值稍大於 0.05，不過，八周期間，就屬第二週採集唾液 IgA 抗體濃度最低，其餘時間變化則不大。因此，我們有理由相信運動量的突然增加會短時間的造成唾液 IgA 抗體濃度下降，而隨著相同運動量的維持或者是休息一段時間，都能夠讓唾液 IgA 抗體濃度回升，使下降的免疫力恢復。

運動量的增加或者劇烈的運動如何導致引起免疫系統的變動值得討論。Deinzer, et al. (2000) 的文章指出，劇烈長時間的運動會造成內分泌系統的變動。運動期間，血糖的減少引起壓力荷爾蒙如腎上腺素、正腎上腺素、生長激素、及腎上腺皮質素(cortisol)等分泌的增加，其中，特別是腎上腺皮質素(cortisol)對於免疫系統的抑制最值得重視。此外，訓練或比賽期間所累積的心理壓力也很容易經由神經系統影響免疫組織，進而導致人體整體免疫力的下降(Willemsen, et al. 2000)。

而除了荷爾蒙的影響之外，Malm et al., (2000) 的文章指出，劇烈運動造成肌肉的細胞損傷，並引發免疫細胞的活化，產生一連串發炎-修復的反應，免疫系統因而產生變動。免疫系統的變化往往是全面性的，包括顆粒性白血球和淋巴球數量的變化，自然殺手細胞(natural killer cell)與單核細胞(monocyte/macrophage)的活性變化，免疫細胞黏附功能的增強，細胞活性的變化連帶導致抗體分子、抗

菌分子製造的減少，造成整體免疫力的下降 (Mackinnon, 2000; Pederson and Nieman, 2000; Pederson and Toft, 2000)。

總之，本研究證實了運動量的突然增加會短時間的造成唾液 IgA 抗體濃度下降，而其原因極可能與壓力荷爾蒙腎上腺皮質素的增加，以及肌肉的細胞損傷所釋放的發炎相關分子有密切關係。

參考文獻

- Bassit, R.A., Sawada, L.A., Bacurau, R.F.P., Navarro, F., Martins, E., Santos, R.V.T., Caperuto, E.C., Rogeri, P. and L.F.B.P. Costa Rosa (2002). Branched-chain amino acid supplementation and the immune response of long-distance athletes. *Nutrition*, 18, 376-379.
- Deinzer, R., Kleineidama, C., Stiller-Winkler, R., Idelb, H. and D. Bachgc (2000). Prolonged reduction of salivary immunoglobulin A sIgA after a major academic exam. *International Journal of Psychophysiology*, 37, 219-232.
- Mackinnon, L.T. (2000). Exercise immunology: current issues. In *Nutrition and exercise immunology*, ed. By D.C. Nieman & B.K. Pederson. CRC Press.
- Mestecky, J. MW Russell, S Jackson, TA Brown. (1986). The human IgA system: a reassessment. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 40,105-114.
- Malm C. Nyberg, P., Engstrom, M., Sjodin, B., Lenkei, R., Ekblom, B. and I. Lundberg (2000). Immunological changes in human skeletal muscle and blood after eccentric exercise and multiple biopsies. *Journal of Physiology*, 329, 240-262..
- Nieman, D.C. (2002). Change in salivary IgA following a competitive marathon race. *International Journal of Sports Medicine*, 23, 69-75.
- Pederson, B.K. and D.C. Nieman (2000). Exercise, immune function, and nutrition. In *Nutrition and exercise immunology*, ed. By D.C. Nieman & B.K. Pederson. CRC Press.
- Pederson, B.K. and A.D. Toft (2000). Effects of exercise on lymphocytes and cytokines. *British Journal of Sports Medicine*, 34, 246-251.

- Pyne, D.B., Gleeson, M., MacDonald, W.A., Clancy, R.L., Perry Jr, C. and P.A. Fricker. (2000). Training strategies to maintain immunocompetence in athletes. *International Journal of Sports Medicine*, 21 Suppl 1, S51-60.
- Willemsen, G. Ring, C., McKeever, S. and D. Carroll (2000). Secretory immunoglobulin A and cardiovascular activity during mental arithmetic: effects of task difficulty and task order. *Biological Psychology*, 52, 127-141.
- Winett, R.A. and R.N. Carpinelli (2001). Potential health-related benefits of resistance training. *Preventive Medicine*, 33(5), 503-13.