

훈련방법의 차이가 SOD, Neutrophils 및 T세포에 미치는 영향

¹동의대학교 레저스포츠학과, ²서울여자간호대학, 동의대학교 ³생명공학과, ⁴식품영양학과

곽이섭¹ · 엄상용² · 김동은³ · 황혜진⁴

The Effect of Different Type of Exercise on SOD, Neutrophils and T Lymphocytes

Yi-Sub Kwak¹, Sang-Yong Um², Dong-Eun Kim³, Hye-Jin Hwang⁴

¹Department of Leisure and Sport Science, Dong-Eui University, Busan, ²Department of Nursing, Seoul Women's College of Nursing, Seoul, ³Departments of Biotechnology and Bioengineering, ⁴Food and Nutrition, Dong-Eui University, Busan, Korea

ABSTRACT

Background: A physically active lifestyle and regular exercise training incurs many health benefits. One recently recognized benefit of regular moderate exercise is stress reduction and immune enhancement. Thus, a physical stress such as exercise may act at any number of points in the complex sequence of events collectively termed the immune response. Although exercise causes many propound changes in parameters of immune function, the nature and magnitude of such changes rely on several factors including the immune parameters of interest; type, intensity, and duration of exercise; fitness level or exercise history of the subject; environmental factors such as ambient temperature and humidity. **Methods:** This study was undertaken to investigate the effect of different type of exercise on superoxide dismutase (SOD), neutrophils, and T lymphocytes of Sprague-Dawley rats. Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups; a non-Trained group (NTG, n=6), a swim-Trained group (STG), and a treadmill-Trained group (TTG). The exercise regimen was designed in a treadmill (5 times/5 days/week) during 8-weeks for TTG, and swim training (5 times/5 days/week) during 8-weeks for STG, and the volume of exercise training was the same in both groups. **Results:** 8 weeks of regular swim and treadmill training significantly increased liver SOD concentration however, muscle SOD concentration was not statistically significant. In the level of neutrophils, TTG and STG showed significant difference, compared to NTG. TTG was the highest level of neutrophils. In the level of immune cell counts, there was significant difference among TTG, STG, and NTG both in the spleen and thymus. **Conculsion:** In conclusion, it can be stated that eight weeks swim and treadmill exercise training has beneficial effect in improving immune response and antioxidant defence capacity by augmenting immune cells and SOD activities of SD rats. (Immune Network 2005;5(4):232-236)

Key Words: Neutrophils, SOD, T cell

서 론

적절한 강도의 규칙적인 운동 활동은 림프구 수의 증가와 기능을 증가시킴으로 면역력을 증가시킨다는 사실이 널리 알려져 있다(1). 하지만 이러한 운동은 반드시 규칙적이어야 하고 적당한 운동 강도가 좋으며, 장기간 동안 꾸준히 수행하는 것이 면역력의 증가에 도움을 주

책임저자 : 곽이섭, 동의대학교 에체능대학 레저스포츠학과
☎ 614-714, 부산광역시 부산진구 엄광로 995
Tel: 051-890-2213, Fax: 051-890-2643
E-mail: ysk2003@deu.ac.kr

본 연구는 2005년도 동의대학교 교내연구비에 의해 연구되었음 (2005AA203).

고 격렬하거나 간헐적인 운동, 혹은 상당한 스트레스를 받으며 수행하는 운동은 오히려 상기도 감염과 같은 질병이 걸리기 쉽거나 활성산소 등의 영향으로 면역력의 감소를 유발한다는 사실이 보고되고 있다(2,3).

이제까지 많은 운동생리학자들은 규칙적인 운동이 심폐기능을 포함하는 심혈관계를 튼튼하게 하고, 골밀도를 좋게 하는 등 면역력의 활성을 도모한다는 사실을 밝히고 있으며, 이러한 연구는 운동의 형태에 따라 서로 다르게 반응하여 중력과 같은 저항성을 가지는 운동은 골밀도 성장에, 수영과 같은 전신운동은 관절이 좋지 않은 피험자나 전신운동을 필요로 하는 사람에게 더욱 효과가 있는 것으로 밝히고 있다. 항산화제와 면역계도 같은 운동 강도로 비슷한 기간 운동을 한다면 운동의 지속시간이나 형태에 따라 서로 다르게 반응하는 것으로 여겨진다. 하지만 이제까지의 운동과 면역에 관한 연구들은 적절한 강도의 운동이 면역력의 활성을 도모하고, 간헐적이거나 격렬한 운동은 면역력을 오히려 감소시키는 등 운동 후에도 면역력의 감소가 상당히 지속될 수 있다는 것에 관한 연구보고와 항산화제 투여에 따른 운동 시 면역반응의 변화에 관한 연구 등에 초점을 맞추었으며, 같은 운동 강도와 같은 운동 시간 중 서로 다른 환경과 다른 형태의 운동이 면역력에 미치는 영향을 서로 비교하고, 이때 항산화 효소의 반응 차이를 비교한 연구는 부족한 실정에 있다. 따라서 본 연구는 수영과 트레드밀 달리기 운동을 서로 같은 운동 시간, 기간 및 강도로 수행한 후 항산화 효소, 적혈구, 및 neutrophils의 변화와 흉선과 비장에서 CD4, CD8 T세포의 차이를 비교하여 다른 형태의 운동이 항산화제와 면역계에 미치는 효과를 분석하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

실험동물. 본 연구에서 사용한 실험동물은 대한바이오텍에서 제공하는 특정병원체 무배양동물(specific pathogen free, SPF)로서 평균체중이 129~134 g 되는 6주령의 Sprague-Dawley rat (male)을 이용하여 D 대학교 동물실험실의 통제된 환경(온도 $22\pm1^{\circ}\text{C}$, 습도 $60\pm5\%$, 조명 12시간 light-dark cycle)에서 사육하였다. 실험동물을 통

제군, 트레드밀 훈련군, 및 수영 훈련군 등의 세 그룹으로 무작위 구분하였으며, 적응훈련을 실시한 후 적응여부를 가려 실험에 사용하였다. 또한 사육하는 동안 무균 음료와 멸균사료를 자유롭게 섭취하도록 하는 등 실험동물이 생활하는데 최적의 환경을 제공하였다. 실험에 사용된 각 그룹별 신체적 특성과 체중의 변화는 Table 1에 나타나 있다.

실험처치. 실험동물은 우선 1주간 환경적응을 가지고, 1주간의 적응훈련을 실시하였다. 우선 수영훈련은 실험동물이 수영을 하기에 적당한 $28\sim31^{\circ}\text{C}$ 의 수조 (지름: 180 cm, 높이: 90 cm) 에서 10분간 적응 훈련을 실시하였으며, 시간을 주 단위로 5분씩 늘리다가 최종 수영시간을 50분으로 (5 times/5 day/week) 마지막까지 지속하도록 하였다.

트레드밀 훈련은 대조기에서 제작한 6 레인의 트레드밀을 이용하여 최초 10 meter/min의 속도로 10분간 적응훈련을 실시한 후 주 단위로 5분씩 훈련시간을 늘렸으며, 최종 10 meter/min의 운동 강도로 훈련 마지막까지 50분간 (5 times/5 day/week) 실시하였다. 이는 결국 훈련 방법의 차이로써 선행연구(4)를 고려할 때 본 운동 시 수영과 트레드밀 운동은 실험동물에게 있어 최대산소 섭취량의 40~50% 정도의 운동 강도로 적절한 유산소 운동이라고 할 수 있다.

SOD와 면역세포 측정. 1주간 환경적응, 1주간의 적응훈련 및 6주간의 본 훈련을 마친 후 훈련으로 인한 일시적인 운동효과를 배제하기 위하여 48시간 후에 샘플링을 실시하였고, 12시간 절식 후에 에틸에테르(ethyl ether)를 이용하여 마취 한 후 복부 대동맥에서 동맥혈을 채취하였다. 그리고 무균 처리된 해부 도구를 가지고 SOD측정을 위하여 간과 근육을 면역세포측정을 위하여 흉선과 비장조직을 적출하여 무게를 정량하였다. 우선 정량된 조직샘플은 0.25 M sucrose, 0.5 mM EDTA, 5 mM HEPES 용액으로 10% 희석하여 10,000 rpm으로 30분간 원심 분리하여 상층 1ml에 에탄올 0.25 ml, chloroform 0.15 ml를 약 2분간 혼합한 후 다시 10,000 rpm으로 30분간 원심 분리하여 상층 1.0 ml를 취하여 SOD를 분석하였다. SOD는 50 mM Tris(hydroxymethyl)-aminomethan에 10mM EDTA와 1N HCL을 혼합한 Tris-EDTA-HCL buffer (pH 8.5)에 샘플 0.1 ml를 혼합한 뒤 pyrogallol solution 0.1 ml를 혼합하여 water bath에서 25°C 로 10분간 반응시킨 뒤 1N HCL 용액 0.05 ml를 넣고 혼합하여 흡광도 420 nm에서 측정하는 Marklund 등(5)의 방법으로 분석하였다.

그리고 분리한 흉선과 비장조직을 RPMI 1640 (2 mM L-glutamine, 2.2 mg/ml sodium bicarbonate, 100 units/ml penicillin, 100µg/ml streptomycin, 및 2 mM HEPES buffer)이 담겨진 tissue culture dish (Becton Dickinson,

Table 1. Animals (Mean±SD)

Group	N	WKS	WTS (g)
NTG	6	6	131.1±2.139
STG	6	6	133.8±2.376
TTG	6	6	128.2±2.223

NTG: Non-Trained Group; STG: Swim-Trained group; TTG: Treadmill-Trained group. $p<.05$ vs NTG.

USA)에서 멸균된 두 장의 micro slides (frosted end)로 가볍게 압착하여 흉선 및 비장세포를 유리시키고, ACK lysis buffer를 이용하여, 림프구를 분리한 후, 500 μ l의 RPMI에 5×10^5 세포를 넣은 후 항체를 염색하여 cytometry (Becton Dickinson, USA)를 이용하여 각각의 세포를 측정하였다.

자료처리. 본 실험의 결과는 SPSS 통계 package (win 10.0)를 이용하여, 기술통계량을 산출하고, 세 그룹 간에서 8주간의 수영과 트레드밀 훈련에 따른 SOD와 면역세포의 변화를 비교하기 위해 일원분산분석법(One-way ANOVA)를 이용하였으며, 가설검증의 유의수준(α)은 0.05 이하로 설정하였다.

결 과

훈련방법 차이에 따른 SOD의 변화. 본 연구는 수영과 트레드밀 달리기 운동을 서로 같은 운동 시간, 기간 및 강도로 수행한 후 항산화 효소, 적혈구, 및 Neutrophils의 변화 및 흉선과 비장에서의 CD4, CD8 T세포의 차이를 비교하여 다른 형태의 운동이 항산화 효소 SOD의 활성과 면역계에 미치는 효과를 분석하는데 목적이 있었다. 본 연구결과 간 SOD는 통제군에 비하여 수영 훈련군이 현저하게 증가된 수치를 보였고 트레드밀 훈련군도 현저하게 증가된 수치로 나타나 통계적으로도 유의한 차이를 나타내었다(Table II). 특히, 트레드밀 훈련군의 수치는 통제군에 비해 2배 이상의 증가된 결과를 보였으며

Table II. Effects of different type of exercise on SOD contents of liver and muscle in rats (Mean \pm SD)

Group	Liver	Muscle (gastrocnemius)
NTG	5.34 \pm 0.83	23.11 \pm 3.12
STG	9.87 \pm 1.06*	25.53 \pm 3.87
TTG	13.76 \pm 1.19*	25.14 \pm 2.51

NTG: Non-Trained Group, STG: Swim-Trained group, TTG: Treadmill-Trained group. * $p < .05$ vs NTG.

Table III. Effects of different type of exercise on RBC and Neutrophils (Mean \pm SD)

Group	RBC ($10^3/\text{mm}^3$)	Neutrophils (%)
NTG	7.25 \pm 0.23	2.96 \pm 0.10
STG	7.53 \pm 0.65	6.31 \pm 0.08*
TTG	7.34 \pm 0.57	7.14 \pm 0.10*

NTG: Non-Trained Group, STG: Swim-Trained group, TTG: Treadmill-Trained group. * $p < .05$ vs NTG.

수영 훈련군에 비해서도 큰 차이를 나타내어 SOD 효소 증가에 트레드밀 훈련이 가장 효과적임을 알 수 있었다. 하지만 근육에서는 수영훈련이 가장 큰 증가를 보였지만 훈련 형태에 따른 유의한 변화를 나타내지 않았다. **훈련방법차이에 따른 적혈구와 neutrophils의 변화.** 수영 훈련과 트레드밀 훈련에 따른 적혈구와 neutrophils의 차이는 Table III에 있다. 우선 통제군의 적혈구는 $7.25 \pm 0.23 \times 10^3/\text{mm}^3$ 인 반면에 수영 훈련군과 트레드밀 훈련군은 각각 7.53 ± 0.65 와 7.34 ± 0.57 로 증가된 수치를 보였지만 통계적으로 유의성을 나타내지 않았다. 한편 서로 다른 훈련에 따른 neutrophils는 통제군이 $2.96 \pm 0.10\%$ 를 나타낸 반면에 수영 훈련군과 트레드밀 훈련군에서는 $6.31 \pm 0.08\%$ 와 $7.14 \pm 0.10\%$ 를 보여 통계적으로도 유의한 차이를 나타내었다($p < .05$).

훈련방법 차이에 따른 비장 및 흉선 면역세포의 변화. 수영 훈련과 트레드밀 훈련에 따른 비장세포에서의 CD4와 CD8의 차이는 Table IV에 있다. 우선 통제군의 CD4는 $28.4 \pm 0.764\%$ 를 보인 반면에 수영 훈련군과 트레드밀 훈련군에서는 각각 $28.1 \pm 0.691\%$ 와 $30.8 \pm 0.759\%$ 의 수치로 증가하였으나 트레드밀 훈련군에서만 통계적인 유의성을 보였다($p < .05$). 한편 CD8 세포는 통제군에서 $14.6 \pm 0.440\%$ 의 수치를 나타낸 반면, 수영훈련군과 트레드밀 훈련군에서는 $12.2 \pm 0.605\%$ 와 $15.1 \pm 0.344\%$ 의 값을 보였으며, 수영 훈련군에서만 통계적으로 유의한 감소를 나타내었다($p < .05$). 그리고 비장 림프구의 비율은 통제군, 수영훈련군, 트레드밀 훈련군이 각각 1.94, 2.30 및 2.03의 값을 보였다.

한편, 수영 훈련과 트레드밀 훈련에 따른 흉선 세포에서의 면역세포 차이는 Table V에 있다. 우선 통제군의 CD4는 $12.4 \pm 0.514\%$ 의 값을 보였고, 수영 훈련군에서 $16.7 \pm 0.512\%$ 와 트레드밀 훈련군에서 $18.3 \pm 0.358\%$ 의 값을 보여 통계적으로도 유의한 증가를 보였다($p < .05$). 한편, CD8은 통제군에서 $4.25 \pm 0.083\%$ 를 나타낸 반면, 수영훈련군과 트레드밀 훈련군에서는 각각 $5.38 \pm 0.039\%$ 와 $6.15 \pm 0.052\%$ 로 나타나 통계적으로도 유의한 증가를 보였다($p < .05$). 한편 흉선 림프구의 비율은 통제군, 수

Table IV. Effects of different type of exercise on lymphocytes in spleen (Mean \pm SD)

Group	CD4 (%)	CD8 (%)	Ratio (CD4/CD8)
NTG	28.4 \pm 0.764	14.6 \pm 0.440	1.94
STG	28.1 \pm 0.691	12.2 \pm 0.605*	2.30
TTG	30.8 \pm 0.759*	15.1 \pm 0.344	2.03

NTG: Non-Trained Group, STG: Swim-Trained group, TTG: Treadmill-Trained group. * $p < .05$ vs NTG.

Table V. Effects of different type of exercise on lymphocytes in thymus (Mean±SD)

Group	CD4 (%)	CD8 (%)	Ratio (CD4/CD8)
NTG	12.4±0.514	4.25±0.083	2.91
STG	16.7±0.512*	5.38±0.039*	3.10
TTG	18.3±0.358*	6.15±0.052*	2.97

NTG: Non-Trained Group, STG: Swim-Trained group, TTG: Treadmill-Trained group. * $p < .05$ vs NTG.

영훈련군 및 트레드밀 훈련군에서 각각 2.91, 3.10 및 2.97의 값을 나타내었다.

고 찰

항산화 효소는 유해산소가 생기면 이를 즉시 제거하므로 운동을 하여 체내에 산소 소비량이 증가하더라도 유해산소의 증가량 이상으로 항산화 효소의 활성화가 일어나 산화 스트레스를 막아주는 것으로 알려져 있다. 하지만 이러한 효과는 규칙적이고도 장기적인 운동으로 체계화 될 수 있으며, 규칙적인 운동이 항산화 효소의 활성화를 도모한다는 많은 선행연구들이 있었다(6,7). 본 연구결과 다른 운동형태에 따른 간과 근육에서의 SOD는 훈련에 따라 증가하여 다른 선행연구의 결과와 일치하는 것으로 나타났으며, 본 연구에서 주목되는 점은 훈련에 따른 SOD는 근육보다는 간에서 활성화가 크게 일어나며 물에 저항을 받으며 수행하는 수영훈련보다는 달리는 운동에서 더 크게 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

한편 본 연구에서 사용한 수영 훈련은 주당 5회로 10분의 적응훈련으로부터 주단위로 5분간 시간을 늘려 마지막 훈련 50분까지 실시한 고빈도의 저 강도 훈련법을 실시하였고, 트레드밀 훈련 역시 주 5회로 10분의 적응훈련으로부터 주단위로 5분간 시간을 늘려 마지막 50분까지 실시한 고빈도의 저 강도 훈련을 실시하였다. 하지만 본 연구에서 실시한 수영과 트레드밀의 훈련이 서로 같은 빈도와 시간을 가지고 있지만 정확히 같은 강도의 훈련이라고 할 수 없는 연구의 제한점을 가지고 있다고 할 수 있다. 우선 통계군과 서로 다른 훈련그룹에서의 적혈구수의 변화는 거의 없는 것으로 나타났다. 이는 경쟁력이 있는 운동 활동 후 백혈구의 활성화와 더불어 과도한 철분손실(8)로 인한 적혈구의 손상이 일어난다는 선행연구(9)와는 다른 결과로 적혈구의 수는 고강도의 경쟁력이 있는 운동에서는 손상을 받지만 규칙적인 훈련에서는 변화를 보이지 않고 훈련의 양상에 따라서도 변화하지 않음을 알 수 있었다. 일반적으로 백혈구는 감염 시(infection) 수 시간 내에 몇 배 이상 증가되는 것으로

알려져 있고(10), 마라톤과 같은 장시간 운동 후(11), 혹은 5분간의 체조(12)나 10분간의 계단 오르기(13)에서도 상당히 증가되는 것으로 보고되었다.

운동 시 활성화되는 백혈구는 주로 neutrophils로 알려져 있으며, 이것은 운동 활동 시 혈장에서의 lactoferrin (14)과 elastase (15)의 활성화에 기인한 것으로 알려지고 있다. 하지만 장기간 운동훈련 후 안정시 neutrophils의 활성을 비교한 연구는 체계화 되어있지 않고, 서로 다른 훈련을 비교한 연구는 거의 없는 실정에 있다. 본 연구의 결과로 neutrophils는 장기간의 훈련 시 상당히 증가하여 통계적으로도 유의한 결과를 나타내고 있다($p < .05$). 또한 수영과 트레드밀 훈련의 비교에서 트레드밀 훈련이 더 높은 값을 보이지만 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 이는 비슷한 빈도와 강도의 훈련 시 neutrophils는 증가하지만 훈련의 형태에 따라서 크게 변화하지 않는다는 사실을 알 수 있었다. 그리고 적응성 면역반응을 담당하는 주된 세포인 CD4와 CD8 T 세포는 인체에서 세포매개 면역을 담당하는 세포로서 CD8 T 세포는 항원 제공세포의 MHC class I에 결합된 항원을 인식하고 바이러스, 암세포와 같은 내부에서 생성되는 항원을 인식하는 역할을 하는 세포로 알려져 있고 CD4 T 세포는 모든 면역반응을 담당하는 세포로서 세포매개 뿐만 아니라 항체매개 면역반응까지 조절하는 세포로 연령의 증가에 따라 감소하는 것으로 알려져 있다(16). 그리고 CD4/CD8 비율은 임상적인 질환을 파악하는데 중요한 지표로 사용되며 인체는 항상 일정한 비율을 유지해야 하며 이 비율이 일정하게 유지되는 것이 최적의 면역상태를 유지하는데 필요한 것으로 알려져 있다(17). 본 연구에서 적응성 면역반응을 잘 대변하는 비장에서의 면역세포 변화 시 CD4는 트레드밀 훈련 시 약간의 증가로 통계적인 유의성이 나타났고($p < .05$), CD8은 수영 훈련 시 감소하여 통계적인 유의성을 나타내고 있다($p < .05$). 본 연구의 결과로 수영과 트레드밀 훈련활동에 따라서 CD4 림프구는 증가하는 결과를 보였고 CD8은 거의 유지되거나 약간 증가하는 결과를 나타내었다. 하지만 CD4/CD8은 거의 정상 범위 안에 있고, 거의 비슷한 수치를 나타내어 특정의 변화를 알 수 없었으며, 흉선에서의 면역세포 변화는 CD4와 CD8 T 세포 모두 증가하여 통계적인 변화를 보여($p < .05$), 유산소 훈련 시 면역세포가 활성화 된다는 사실을 알 수 있었고, 운동 활동의 형태에 따라서는 큰 변화를 보이지 않음을 알 수 있다. 이것은 선행연구(18)를 대변하는 것으로 T 세포의 변화가 유산소 훈련을 함에 따라 조직에 따라서도 서로 다른 양상으로 변화한다는 사실을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Jeurissen A, Bossuyt X, Ceuppens JL, Hespel P: The effects

- of physical exercise on the immune system. *Ned Tijdschr Geneesk* 147;1347-1351, 2003
2. Nieman DC: Current perspective on exercise immunology. *Curr. Sports Med Rep* 2;239-242, 2003
3. Sanchez-Morillas L, Iglesias CA, Zapatero RL, Reano MM, Rodriguez MM, Martinez MMI: Exercise-induced anaphylaxis after apple intake. *Allergo. Immunopathol (Madr)* 31;240-243, 2003
4. Sheperd RE, Gollnick PD: Oxygen uptake of rats at different work intensities. *Pflugers Arch* 362;219-222, 1976
5. Marklund SL, Andersen PM, Forsgren L, Nilsson P, Ohlsson PI, Wikander G, Oberg A: Normal binding and reactivity of copper in mutant superoxide dismutase isolated from amyotrophic lateral sclerosis patients. *J Neurochem* 69;675-681, 1997
6. Chang SP, Chen YH, Chang WC, Liu IM, Cheng JT: Increase of anti-oxidation by exercise in the liver of obese Zucker rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 31;506-511, 2004
7. Radak Z, Chung HY, Goto S: Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology*. 6;71-75, 2005
8. Santos-Silva A, Rebelo MI, Castro EM, Belo L, Guerra A, Rego C, Quintanilha A: Leukocyte activation, erythrocyte damage, lipid profile and oxidative stress imposed by high competition physical exercise in adolescents. *Clin Chim Acta* 306;119-126, 2001
9. Sakurada K, Tanaka J: Sport-anemia: studies on hematological status in high school boy athletes. *Rinsho Byori* 44;616-621, 1996
10. Davis JM, Gallin JI: The neutrophil, in cellular functions in immunity and inflammation, p77, Elsevier North Holland. New York, 1981
11. Camus G, Poortmas J, Nys M, Deby-Dupont G, Duchateau J, Deby C, Lamy M: Mild endotoxaemia and the inflammatory response induced by a marathon race. *Clin Sci* 92; 415-422, 1997
12. Martin HE: Physiological leukocytosis. *J Physiol* 75;113, 1932
13. Loppnow H, Libby P: Proliferating or interleukin-1-activated human vascular smooth muscle cells secrete copious il-6. *J Clin Invest* 85;731, 1990
14. Taylor C, Rogers G, Goodman C, Baynes RD, Bothwell TH, Bezwoda WR, Kramer F, Hattings J: Hematologic, iron-related and acute-phase protein responses to sustained strenuous exercise. *J Appl Physiol* 62;464, 1987
15. Cannon JG, Fiatarone MA, Meydani M, Scott L, Blumberg JB, Evans WJ: Aging and dietary modulation of elastase and interleukin-1 β secretion. *Am J Physiol* 268;R208, 1995
16. Utsuyama M, Ichikawa M, Konno-Shirakawa A, Fujita Y, Hirokawa K: Retardation of the age-associated decline of immune functions in aging rats under dietary restriction and daily physical exercise. *Mech Aging Dev* 91;219-228, 1996
17. Hansbrough JF, Bender EB, Zapata-Sirvent R, Andersen J: Altered helper and suppressor lymphocyte populations in surgical patients. *American Journal of Surgery* 148;304-307, 1984
18. Hoffman-Goetz L, Thorne R, Simpson JA, Arumugam Y: Exercise stress alters murine lymphocyte subset distribution in spleen, lymph nodes and thymus. *Clin Exp Immunol* 76;307-310, 1989