

原 著

ラットに対する強度の異なる運動が 血液流動性に及ぼす影響

昭和大学医学部第一生理学教室

久保 哲也 石川慎太郎 藤原 博士
三村 直巳 砂川 正隆 佐藤 孝雄
久 光 正

要約：生体における血液流動性の低下は、心臓血管系疾患の重要な誘因の1つである。環境の変化に対して、自律神経系や内分泌系を通じて、末梢血管抵抗や心機能を変動させて、循環系は調節される。また生体へのさまざまな刺激は血小板凝集能、白血球粘着性、赤血球変形能などの性質を変化させる。例えば、生体へのストレス負荷は血小板凝集能を高め、血液流動性を低下させる。運動をおこなう際には、心臓血管系が活性化されることは周知であるが、血液流動性の変動に関する報告は散見に乏しい。そこで今回、強度の違う走運動の負荷が血液流動性に与える影響について検討した。約150gのウィスター系雄ラットを用いた。走運動は、ラット用トレッドミルを用い、約75分間、5～10m/分の低速（低強度）群と5～25m/分の高速（高強度）群の負荷を与えた。また対照群は実験群と同時間、餌と水の摂取を制限した状態で静置した。運動直後、ペントバルビタール麻酔下で開腹し、下大静脈より採血した。血液サンプルは、ヘパリンナトリウム、EDTA-2K、クエン酸ナトリウムで凝固を阻止し、各検査に用いた。血液流動性の検査には、Micro Channel Array Flow Analyzer (MC-FAN) を、血小板のADPに対する反応性の検査には、血小板凝集能測定装置 (PA-20) を用いた。また血漿中の血糖値、コルチコステロンおよび乳酸値を測定した。ストレスの指標となるコルチコステロンは、対照群に比べ、高速群は有意に増加 ($P < 0.05$) し、低速群では有意な差は認められなかった。MC-FANにおける血液通過時間は、高速群では対照群に比べ有意な増加 ($P < 0.05$) を示し、流動性の低下がみられた。血小板凝集能についても高速群では凝集の指標となる大きな凝集塊形成が増加 ($P < 0.05$) し、凝集能が亢進した。また、低速群では、高速群とほぼ同量の水分喪失が生じたにもかかわらず、血液流動性および血小板凝集能には、対照群との間に有意な差は認められなかった。これらのことから強い強度の運動では、血小板凝集能を亢進することで血液流動性を悪化させる可能性が示された。健康分野やリハビリテーション分野に用いられている運動指導プログラム作成に寄与することが期待される。

キーワード：血液流動性, MC-FAN, 強度, 血小板凝集能, テレッドミル

生体にさまざまな刺激を加えると自律神経系や内分泌系を介して心臓血管系の機能、特に血管内径が変化し、その結果、血流に変動が起きると考えられている。また、この種の血液流路の変化によることのみならず、生体に対する各種刺激の負荷による血液粘度の上昇や血液細胞成分の性状、特に血小板凝集能や白血球粘着能の亢進、赤血球変形能の変化も血液流動性の変化に大きな影響を与えている^{1,2)}。

近年、わが国では脳梗塞や心筋梗塞、肺梗塞など血栓生成が原因とされている疾患が増加しており、その対策が望まれている。血栓の成因としては喫煙

や耐糖能低下などによる血管内皮細胞の障害^{3,4)}、外傷など外的要因による血流の低下⁵⁾、高脂血症、老齢による血液・血管の性状の変化などに加え、慣れない運動や激しい運動もその成因の1つとして挙げられている^{6,7)}。また、上述した疾患の治療や再発予防にワーファリンやアスピリンなどの血栓生成抑制薬が使用される⁸⁻¹⁰⁾。一方で動脈硬化などの予防という観点から日常における運動が奨励されている一面もあるが、血液の流動性という観点での調査は散見されない。

われわれの研究室では、これまでに動物に対する

ストレスの負荷により血液の流動性が低下するという報告をした¹¹⁾。また、運動の強度・頻度・期間が脳内 β エンドルフィンの発現に差違をもって影響することについても報告し、その中で抗ストレスホルモンとして、苦痛を軽減したり多幸感を与えたりする働きがあるとされている β エンドルフィンが、比較的強度の強い運動で発現されることが示唆された¹²⁾。そこで今回、この手法を参考に、ラットにとってストレスとなると考えられる強い強度の運動と比較的軽い運動という観点から血液流動性および血小板凝集能に及ぼす影響について検討した。

研究方法

1. 実験動物

本実験では4週齢、150 gの雄性Wistarラット(日本生物材料センター(株)、東京)を使用した。実験日までの1週間、上記ラットを底面に金網が張られているケージに収容し、室温 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、12時間の明暗サイクルで飼育し馴化させた。飼育中は飼料および水分を自由摂取させた。実験に際して、動物を無作為に5匹ずつの群に分け、実験に用いた。また、本実験は昭和大学実験動物倫理委員会承認(00072)を受けている。

2. ラットへの運動負荷

走運動は、ラット用トレッドミルを用い、また対照群は実験群と同時間、餌と水の摂取を制限した状態で静置した。運動直後、ペントバルビタール麻酔下で開腹し、下大静脈より採血した。血液サンプルは、ヘパリンナトリウム、EDTA-2K、クエン酸ナトリウムで凝固を阻止し、各検査に用いた。

運動負荷はラット専用のトレッドミル(シナノ(株)、東京)を用いて、強度を変えて行った(Fig. 1)。運動負荷の回数は、運動非常習者を想定し、1回のみとした。運動時間はいずれの実験においても75分間とし、被験ラットの数はいずれのグループも5匹とした。運動の方法と速度(強度)については、朝比奈らの方法¹²⁾を参考として15分毎にトレッドミルの速度を上げていく方法(シャトルラン方式)を採用した(Table 1)。また動物を、10 m/分まで加速させる低速(低強度)群と脳内で β エンドルフィンの分泌が促される25 m/分まで加速させる高速(高強度)群の2グループに分けた(Fig. 2)。運動開始直前から、餌および水分の摂取はさせなかった。ま



Fig. 1 The shuttle run with the treadmill

Table 1 Time courses low and high speed exercise loading by shuttle run

Exercise time (sec)	Speed (m/min)	
	Low speed	High speed
0-900	5	5
900-1800	10	10
1800-2700		15
2700-3600		20
3600-4500		25

た対照群は、実験群と同等の期間の餌および水分の摂取を制限して静置後、採血を行った。

3. 血液の採取と凝固阻止

被験ラットは、運動終了後5分以内にペントバルビタール(ネプタール、大日本住友製薬(株))50 mg/kgの腹腔注射により麻酔され、下大動脈から22 Gの針を用いて3.5 mlの血液を採取した。採取した血液は、血液1.0 mlに45単位のヘパリンナトリウムを、2.0 mlの血液に3.2%のクエン酸ナトリウムを、0.5 mlの血液に2.4 mgのEDTA-2Kを添加して凝固阻止した¹³⁾。

4. 血液流動性の測定

血液流動性は血液流動性測定装置 Micro Channel Array Flow Analyzer KH-6 (MC-FAN; エムシー研究所(株))を用いて測定した。ヘパリンナトリウムおよびEDTA-2Kで凝固を阻止した被験血液100 μl が毛細血管を模したシリコンチップ上の溝を流れる様子をモニターで確認しながら、その通過時間を流動性の指標とした¹³⁾。

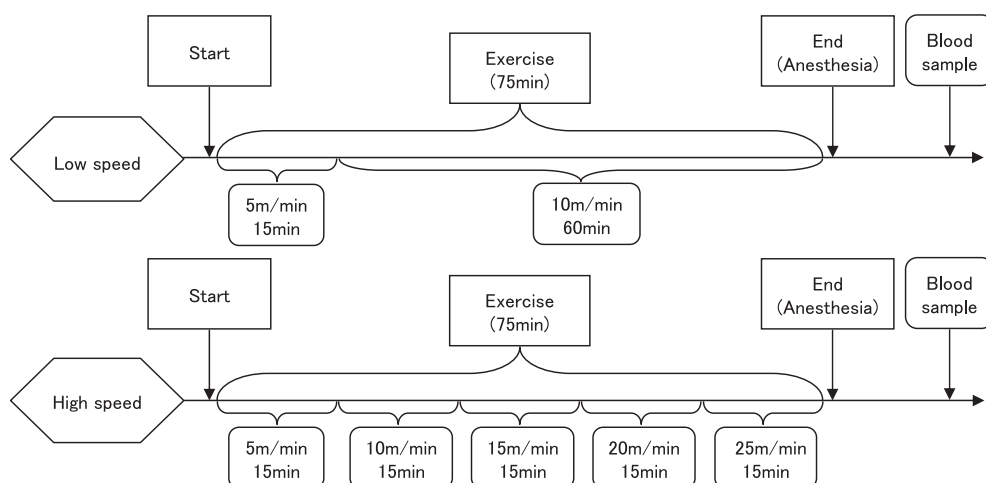


Fig. 2 Time progress and the summary of the experiment
Schematic schedule of low and high speed exercise loading under the same room temperature humidity and time.

5. 血漿の採取

クエン酸ナトリウムで凝固を阻止した血液 2 ml を 400 G で 5 分間の遠心分離後、得られた上清を多血小板血漿 (platelet-rich plasma: PRP) とした。PRP を採取した残りの血液を再び 2,300 G で 5 分間遠心分離し、その上清を乏血小板血漿 (platelet-poor plasma: PPP) とした。

6. 血液中の細胞成分の測定 (血算) および生理活性物質の測定

血液細胞成分 (血算) の測定には動物用全自動血球計数装置 PCE-210 (エルマ販売 (株)) を用いた。EDTA-2K で凝固阻止した血液を用いて、赤血球・白血球・血小板の各血球数およびヘマトクリットを測定した。また、血小板凝集能が血小板数によって左右されないようにするために、血小板凝集能の測定を行う直前に、PRP の血小板数が血漿 1 μ l あたり 30 万個となるように PPP によって希釈・調整 (調整 PRP) して測定に用いた。

血糖値の測定にはグルテストエース (三和化学研究所 (株)) を、乳酸値の測定にはラクテート・プロ (アークレイ (株)) を用いた。また、血中コルチコステロンは、Assay Max Corticosterone ELISA Kit (AaayPro LLC) を用いて測定を行った。本キットの測定限界は 40 pg/ml であった。

7. 血小板凝集能の測定

血小板凝集能は血小板凝集能測定装置 PA-20 (興

和 (株)) を用いて測定した。PA-20 は透過光法 (混濁度法) および散乱光計測法 (粒子測定法) を同時に測定できる装置である。ガラスキュベットに調整 PRP を 270 μ l 取り、37 $^{\circ}$ C で予備加熱した後、アゴニストとして ADP (ORIENTAL YESAST CO., LTD) を生理食塩水で 100 μ M に調整した溶液 30 μ l を加えて凝集能を測定した。光の透過性を計測する透過光法に対して、散乱光計測法では血小板の凝集塊を大きさによって 3 ランクに分類する。小凝集塊は直径 9 ~ 25 μ m, 中凝集塊は直径 25 ~ 50 μ m, 大凝集塊は直径 50 ~ 70 μ m を示す¹⁴⁾。大凝集塊が多く形成され、長時間継続する状態が血小板凝集能の亢進を示す¹⁵⁾。

8. 統計学的処理

得られた値の有意差検定は分散分析 (ANOVA) ならびに posthoc test として Fisher's PLSD test を用い、危険率 5% 未満をもって有意と判定した。

結 果

1. 各群の基礎検査

Table 2 に示したように、血液流動性に影響を与える可能性の高い血球数、血糖値、乳酸値では、群間に有意な差は認められなかった。また、水分喪失量は対照群と比較して、低速および高速の両運動群は有意に増加していた ($P < 0.05$)。しかし、低速群および高速群の両群間には有意な差は認められな

Table 2 The blood chemistry is immediately after low and high speed exercise.

	PLT ($1 \times 10^4/\mu\text{L}$)	RBC ($1 \times 10^4/\mu\text{L}$)	WBC ($1 \times 10^3/\mu\text{L}$)	Hct (%)	BSL (mg/dL)	LAV (mmol/L)	QWL (g)
Control	47.1 \pm 4.20	639.0 \pm 8.00	4.8 \pm 1.10	40.8 \pm 0.15	138.0 \pm 14.00	2.8 \pm 0.85	1.2 \pm 1.05
Low speed	48.9 \pm 2.60	637.0 \pm 19.00	4.3 \pm 1.10	40.9 \pm 0.75	144.0 \pm 15.00	2.5 \pm 0.35	8.0 \pm 0.41 *
High speed	51.1 \pm 2.45	656.0 \pm 21.00	4.8 \pm 1.60	43.4 \pm 0.35	147.5 \pm 14.50	3.9 \pm 3.90	8.3 \pm 0.75 *

(Each group n=5, mean \pm SE: *p<0.05)

PLT: platelet, RBC: red blood cell, WBC: white blood cell, Hct: hematocrit

BSL: blood sugar level, LAV: lactic acid value, QWL: quantity of water loss

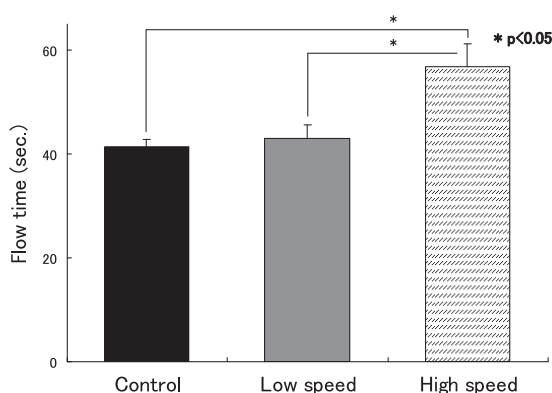


Fig. 3 Blood fluidity immediately after two kind of exercise when heparin as was used anticoagulant

※shows the statistical significance at the level of p < 0.05 (Each group n=5, mean \pm SE)

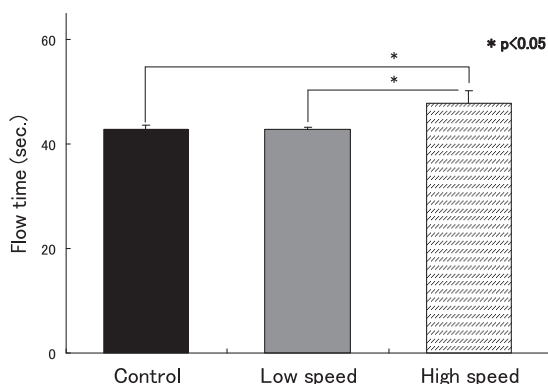


Fig. 4 Blood fluidity immediately after two kind of exercise when EDTA was used anticoagulant

※shows the statistical significance at the level of p < 0.05 (Each group n=5, mean \pm SE)

かった。ヘマトクリット値に関しては群間に有意差は認められなかった。

2. 血液流動性に及ぼす運動の影響

異なる運動を负荷した被験ラットから血液を採取し、その流動性への影響をMC-FANを用いて検討した。Fig. 3に示したように対照群および低速群ラットから採取した血液にヘパリンを添加し、100 μl の血液通過時間を測定したところ前者は41.4 \pm 1.43秒、後者は43.0 \pm 2.58秒で、両群間に有意な差はみられなかった。一方、高速群ラット血液を対象に同様の検討を行ったところ、その通過時間は56.7 \pm 4.40秒と対照群および低速群のそれと比較し有意に延長していた (Fig. 3)。次に、EDTAで凝固阻止した血液の通過時間を検討した。この実験においても Fig. 4に示したように被験ラット血液流動時間は対照群および低速群ラットのそれと比較して有意に延長していた。

3. 血小板凝集能に対する運動の影響

強度の異なる運動を负荷した被験ラットから血液を採取、PRPを分離、血小板凝集能への影響を検討した。透過光法では対照群に対して運動群の混濁度が上昇していた (Fig. 5)。次に散乱光測定法ではPRPへのADP添加後6分間で生成される血小板凝集塊の大きさを3段階に分けて測定した。高速群ラットから得られたPRPでは、対照群ラットにおけるそれと比較し、小凝集塊の有意な低下、大凝集塊の有意な増加が観察された (Fig. 6)。

4. 血中コルチコステロンに対する運動による影響

運動负荷したラットから採取した血液を対象に、ELISA法によりコルチコステロン濃度を測定した。Fig. 7に示したように対照群に比べ、高速群では有意な上昇していた (P < 0.05)。

また、低速群では対照群および高速群との間に有

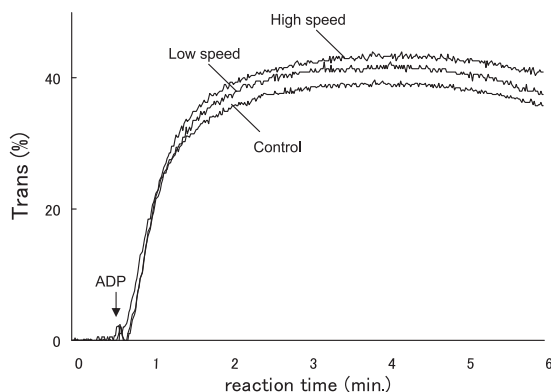


Fig. 5 Platelet aggregation by the Light Transmission Method using PA-20
It shows the degree of muddiness of PRP just after two kind of exercise. (Each group n=5, mean)

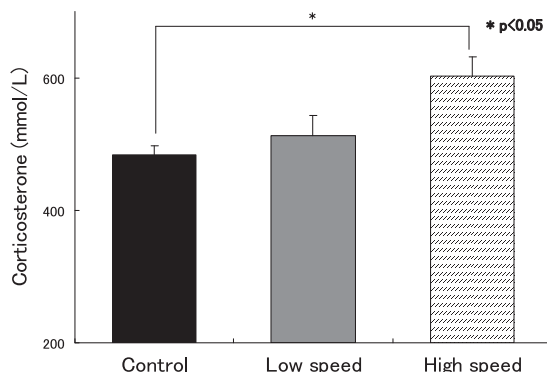


Fig. 7 The plasma corticosterone levels soon after two kind of exercise measured by ELISA
※shows the statistical significance at the level of $p < 0.05$ (Each group n=5, mean \pm SE)

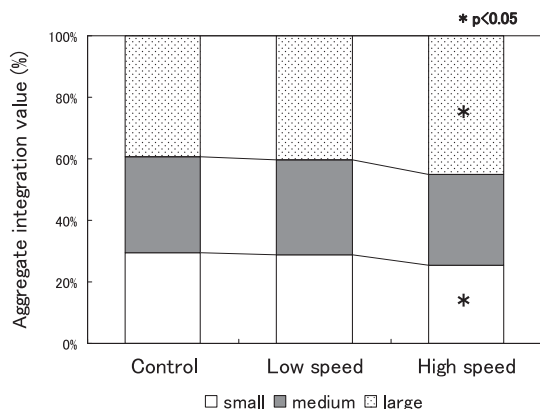


Fig. 6 Platelet aggregation by the Scattered-Light Method using PA-20
It shows the changes of Platelet aggregation soon after two kind of exercise. It shows the correlation of large size Platelet aggregation and aggregation ability. ※shows the statistical significance at the level of $p < 0.05$ (Each group n=5, mean)

意な差はみられなかった。

考 察

心臓血管系の障害には、高血圧症、心疾患、脳血管障害などがありそのいずれもが血液の流動性と深い関連性がある。血液流動性に影響を与える血液成分には、赤血球・白血球・血小板のほか、血漿タンパク質やブドウ糖、各種脂質などが考えられている。ヘマトクリット値の増加は流動性を低下させる主因であると言われ¹⁶⁾、赤血球変形能の低下は毛

細血管などの細い血管を通過する際の抵抗となる^{17, 18)}。白血球の活性化による接着性や血小板凝集能あるいは白血球と血小板双方の結合能の増加はボアズイユの法則により血液粘性を増加させるといわれる^{19, 20)}。また、白血球は血管壁に沿って移動する性質があり、その接着性が増加した場合には血管壁側と血管中央部の間で血液の流速に違いが生じ、Newtonの粘性法則から血管内の摩擦（ズリ応力）を大きくし、流動性を低下させるといわれている^{21, 22)}。そしてストレスや加齢、血糖値増加などは、赤血球変形能低下、白血球接着能と血小板凝集能の増加を招くと考えられている²³⁾。

本実験ではまず、上述した血液の流動性に影響を与える成分をすべて含んだ全血を用いて、血液流動性に対する運動の影響をMC-FANを用いて観察した。結果に示したように使用した抗凝固剤の種類に関係なく高速群の被験ラットでは血液流動性が有意に低下した。この結果は、強い強度の運動負荷がラットの血液に何らかの影響を及ぼし、流動性を低下させたことを示している。また、低速群ラットの血液流動性は対照群との差は認められなかったことから、運動強度の違いが血液流動性に反映されることを示唆している。

ヘパリンの血液凝固阻止作用機序は、抗トロンビン、抗Xa因子作用で、ヘパリンはアンチトロンビンIIIと複合体を作り、トロンビンや凝固因子Xa, XIIa, 等の活性を阻害することにより血液の凝固を阻止し、血液凝固に重要な役割を果たしている血小

板の凝集能には影響しない。一方、EDTA には二価の金属イオンをキレートする作用があり、血液に EDTA を添加すると血液凝固に必須であるカルシウムイオンがキレートされ、凝固因子であるタンパクと脂質の結合が阻害されるため、血液凝固系ならびに血小板の凝集が抑制される。これらを考慮すると MC-FAN を用いての血液流動性の観察では抗凝固剤がヘパリンの場合、血小板の凝集能と赤血球の変形能及びその数の変化を、抗凝固剤が EDTA の場合は赤血球の変形能とその数の変化が反映されることとなる。したがって、ここに示した結果は高速群での強度の強い運動が血小板の凝集能を亢進したことを示唆している。また、運動群と対照群の間でヘマトクリット値と赤血球数に変化が認められなかったことから、走運動は赤血球の変形能を低下させている可能性も示唆される。血小板を ADP、カテコールアミン、コラーゲンなどで刺激するとその凝集能が亢進する²⁴⁾。ヒトで ADP を用いた血小板凝集を観察すると、ADP の直接作用による一次凝集の後に、血小板放出物質による二次凝集がみられる²⁴⁾。

しかしながら、ラット血液は一次凝集のみを起こし、その反応は可逆的に推移する²⁴⁾。この特性をふまえ、多血小板血漿 (PRP) に ADP を添加し、血小板凝集測定装置 (PA-20) を用いて血小板凝集塊の大きさを測定したところ、高速群では対照群と比較し、大凝集塊の比率が上昇し、小凝集塊が低下していた (Fig. 6)。血小板凝集能は透過光法が普及しているが、検出感度が低く、今回の実験においても明らかな差は得られなかった (Fig. 5)。本実験で採用した散乱光測定法はレーザー光線を血小板凝集塊に照射し、反射する散乱光を測定する。散乱光受光センサのパルス信号の大きさとパルス数から凝集塊の大きさと数を得ることができる。その散乱強度により、血小板凝集塊の大きさを小・中・大の3段階に分類し、その比率を検索できる。この試験法では、大凝集塊が多く現れることは血小板同士の結合が強固であることを示している。したがって、Fig. 6 に示した結果は強い強度の走運動ラットでは ADP による血小板の凝集がより強く生じていることを示唆している。

糖質コルチコイドはその誘導ホルモンである ACTH と同様に、ストレス負荷と関連が強いこと

が広く知られており²⁵⁾、昨今、運動負荷の指標である乳酸値との相関性が確認されている²⁵⁾。コルチコステロンは、コルチゾル、コルチゾンと同様に副腎皮質から分泌される糖質コルチコイドの一種であり、コレステロールから合成され、副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) により分泌がコントロールされる。ラットやマウスでは、副腎の 17 α -ヒドロキシラーゼ活性の欠如からコルチコステロンからコルチゾルへの合成が進まないため、唯一の糖質コルチコイドとなる。本研究において運動直後の血中乳酸値およびコルチコステロン濃度を測定した結果、高速群ではコルチコステロンの濃度が有意に増加した。血中乳酸値は、個体間のバラツキが大きく有意な上昇は認められなかったが、対照群に比べ上昇する傾向がみられた。これらの結果は、負荷した運動が高速群の被験ラットにとってストレスとなっていた可能性を示唆する。

低速群および高速群では同等の水分喪失があるにも関わらず、同程度の脱水ではヘマトクリット値には群間に差はみられなかった。血液流動性は血液のヘマトクリット値に大きく左右されるとの報告があるが²⁶⁾、今回の実験では失われた水分を体外から補給していないことを考慮すると、血液に対して間質液や細胞内液から水分が移動する恒常性が脱水の影響を上回ったと示唆される。しかしながら、ヘマトクリット値に変化がなかったにも関わらず血液流動性に違いがみられたことから、細胞内脱水など血液細胞や血管内皮細胞など血液流動性に影響を及ぼす組織に対して、脱水の影響が及んだ可能性もあり、水分補給と血液流動性の観点からの追試が必要であろうと考える。

今回の運動モデルは、馴化されていない運動を選択した。これはわれわれ人間に置き換えて考えると、運動不足の者が急に運動をしたときの反応に類似するかもしれない。運動常習者と非運動常習者という、運動頻度の観点からの検討も今後必要であると考え。健康分野やリハビリテーション分野に用いられている運動指導プログラム作成に寄与することが期待される。

文 献

- 1) 渡辺 剛, 永吉英記, 内藤祐子, ほか: MC-FAN における血液流動性評価に影響を与える血

- 液成分. 国士館大学体育研究所報 22 : 67-70, 2004.
- 2) Hirata C, Kobayashi H, Mizuno N, *et al*: Effect of Normal Human Erythrocytes on Blood Rheology in Microcirculation. *Osaka City Medical Journal* 53(2) : 73-85, 2007.
- 3) 丸山征郎: 糖尿病合併症のための検査と評価 糖尿病合併症と凝固機能異常. 総合臨床 57 (7) : 1973-1975, 2008.
- 4) 西村裕之, 立花久大: たばこ脳血管障害. 成人病と生活習慣病 33(7) : 821-825, 2003.
- 5) 池澤輝男, 松下昌裕, 新美清章: 上肢虚血症状を呈したバレーボール選手の1例 外傷性後上腕骨回旋動脈血栓閉塞からの末梢血栓症. 日本血管外科学会雑誌 15(4) : 445-448, 2006.
- 6) El-Sayed MS, Ali N and El-Sayed Ali Z: Haemorheology in exercise and training. *Sports Med* 35(8) : 649-670, 2005.
- 7) 岡本貴行, 鈴木宏治: メタボリックシンドロームと血管内皮障害. 分子心血管病 10(3) : 276-284, 2009.
- 8) Hoshi K, Zhou X and Hiida M: The effect of COX-2 inhibitor on platelet aggregation using MC-FAN and light scattering (PA-200). *Nihon Hemoorogi Gakkaishi* 8(2) : 15-20, 2006.
- 9) Albert SG, Hasnain BI, Ritter DG, *et al*: Aspirin sensitivity of platelet aggregation in diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 70(2) : 195-199, 2005.
- 10) Becker DM, Segal J, Vaidya D, *et al*: Sex differences in platelet reactivity and response to low-dose aspirin therapy. *JAMA* 295(12) : 1420-1427, 2006.
- 11) 石野徳子, タインライン, 石川慎太郎, ほか: 拘束ストレスが血流の流動性に与える影響. 昭和医会誌 63 : 309-313, 2003.
- 12) 朝比奈茂, 浅野和仁, 須永美歌子, ほか: 運動がラット視床下部 β -エンドルフィン産生におよぼす作用. 昭和医会誌 67 : 414-421, 2007.
- 13) 石川慎太郎, 砂川正隆, 藤原博士, ほか: コンドロイチン硫酸が血液流動性に及ぼす影響. 薬理と治療 38(4) : 349-356, 2010.
- 14) Matsuno H, Tokuda H, Ishisaki A, *et al*: P2Y12 receptors play a significant role in the development of platelet microaggregation in patients with diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 90(2) : 920-927, 2005.
- 15) Yamamoto T, Kamei M, Yokoi N, *et al*: Platelet aggregates in various stages of diabetic retinopathy: evaluation using the particle-counting] light-scattering method. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 243(7) : 665-670, 2005.
- 16) 今野弘規: MCFAN による血液流動性と健康診断所見との関連. *Pharma Medica* 25(12) : 213-216, 2007.
- 17) Hirata C, Kobayashi H, Mizuno N, *et al*: Effect of Normal Human Erythrocytes on Blood Rheology in Microcirculation. *Osaka City Medical Journal* 53(2) : 73-85, 2007.
- 18) 丸山 徹, 藤野武彦, 上坂伸宏: cAMP と Ca^{2+} を介した赤血球変形能の制御機構. 臨牀と研究 84(9) : 1270-1274, 2007.
- 19) Jayalalitha G, Shanthoshini DV and Uthayakumar R: Fractal model for blood flow in cardiovascular system. *Comput Biol Med* 38(6) : 684-693, 2008.
- 20) Leschke M: Rheology and coronary heart disease. *Dtsch Med Wochenschr* 133 : 270-273, 2008.
- 21) Nash GB, Watts T, Thornton C, *et al*: Red cell aggregation as a factor influencing margination and adhesion of leukocytes and platelets. *Clin Hemorheol Microcirc* 39(1-4) : 303-310, 2008.
- 22) Zhao-Rang H, Feng-Qi L, Bai Y, *et al*: Study on laminar viscosity and zero shear viscosity of latex systems. *J Colloid Interface Sci* 251(2) : 447-451, 2002.
- 23) Ishino T, Thein H, Ishikawa S, *et al*: THE EFFECTS OF RESTRAINT STRESS ON THE BLOOD FLUIDITY OF RATS. *Showa Univ J Med Sci* 63(3) : 309-313, 2003.
- 24) 周藤俊樹: 実験動物の血小板凝集能の測定法. 日本血栓止血学会誌 3 : 265-269, 2003.
- 25) 征矢英昭, 川島 均, 斎藤 剛, ほか: 運動時のストレス反応と ACTH 分泌: 視床下部による分子調節. ホルモンと臨床 54(10) : 887-898, 2006.
- 26) 今野弘規: MCFAN による血液流動性と健康診断所見との関連. *Pharma Medica* 25(12) : 213-216, 2007.

DIFFERENTIAL RESPONSIVENESS OF BLOOD FLUIDITY BY DIFFERENT TREADMILL RUNNING SPEEDS IN RAT

Tetsuya KUBO, Shintaro ISHIKAWA, Hiroshi FUJIWARA,
Naomi MIMURA, Masataka SUNAGAWA, Takao SATO
and Tadashi HISAMITSU

Department of Physiology, Showa University School of Medicine

Abstract — A decrease of blood fluidity is known to be one of the factors causing cardiovascular disorders. The circulatory system is under the control of the autonomic nervous system and the endocrine system through modulation of peripheral vessel resistance and cardiac output. Furthermore, blood viscosity, which varies according to the state of platelet aggregation, leukocyte adherence and erythrocyte deformability also affect blood fluidity. We have reported that blood fluidity shows dynamic changes by restraint stress, acupuncture stimulation, adrenaline receptor agonists and antagonists. In the present study, the influence of different treadmill running speeds, on blood fluidity and platelet aggregation were examined in the rat. SPF male Wistar rats weighing 150 g were used. The experimental animals were given high or low speed run load about 75 minutes for once a day using a treadmill for animals; in the control group, the same period and environment were given. Blood samples were mixed with heparin, EDTA-2K or sodium citrate as anticoagulant. Blood fluidity was measured with a Micro Channel Array Flow Analyzer (MC-FAN). A PA-20 examined platelet aggregation by the reaction to ADP, which activates platelets for aggregation. The high speed run loaded rats showed a lengthen blood passing time ($p < 0.05$) and a significant increase of large-sized aggregates of platelets ($p < 0.05$). High speed run load decreased blood fluidity at least through the increase of platelet aggregation.

Key words: blood fluidity, MC-FAN, intensity, platelet aggregation, treadmill

〔受付：2月4日，受理：2月28日，2011〕