

急性運動の強度が動脈血栓形成能に及ぼす影響

神戸商科大学 鷗木 秀夫
(共同研究者) 兵庫県立看護大学 柴田 真志
神戸市看護大学 柴田 しおり
神戸学院大学 高(大石)智 美
同 山本 順一郎

Effects of Exercise at Different Intensities on the Thrombotic Tendency

by

Hideo Ikarugi

Laboratory of Health and Sport Sciences, Kobe University of Commerce

Masashi Shibata

College of Nursing Art and Science Hyogo

Shiori Shibata

Kobe City College of Nursing

Tomomi Oishi-Taka, Junichiro Yamamoto

Laboratory of Physiology, Faculty of Nutrition and High Technology Research Center

Kobe Gakuin University

ABSTRACT

Platelets play an important role in the pathogenesis of cardiovascular diseases. It is believed that regular low-intensity exercise can reduce the risk of cardiovascular diseases but high-intensity exercise provokes some cardiac events such as angina, myocardial infarction, and sudden death. The aim of the present study was to investigate the effects of exercise at different intensities, low and high on the basis of ventilatory threshold (VT), on platelet reactivity and coagulation using a novel *in vitro* method, haemostatometry.

Seven healthy young men (age: 20-29 years) performed bicycle ergometer exercise tests of 30-min duration at intensities of 90% (EX-90%VT) and 130% (EX-130%VT) to each individual VT. The exercise was performed at the same time of the day on two separate days. Blood samples were collected from the antecubital vein before (at rest), immediately after and 30 minutes after exercise. Haemostatology: The instrument (haemostatometer) was built in the Laboratory of Physiology, Faculty of Nutrition, Kobe Gakuin University and was identical with the original one described by P. Görög and I.B.Kovacs (1989-92). The unique features of this method are in using non-anticoagulated (native) blood and forming platelet-rich thrombus by shear-induced platelet activation.

Blood cell counts (erythrocytes, leucocytes, platelets), haematocrit, blood lactic acid and plasma catecholamine levels were slightly but significantly increased after EX-90%VT and markedly after EX-130%VT. Subsequently these were restored to the resting levels at 30 minutes after both EX-90%VT and EX-130%VT. Platelet reactivity and coagulation were significantly enhanced immediately after and 30 minutes after EX-130%VT. But EX-90%VT did not change significantly both platelet reactivity and coagulation.

The present study demonstrated that high-intensity exercise induced platelet hyperreactivity and hypercoagulable state, which might be related to the increased risk of cardiovascular disease by acute exercise. It was also confirmed that low-intensity exercise did not affect the thrombotic state.

要 旨

本研究は、各個人の換気性作業域値 (VT) に基づく運動強度の違いが血小板反応性および凝固能に及ぼす影響を検討することを企図した。若年健常者7名に、各被験者のVT強度の130% (EX-130%VT)、および90% (EX-90%VT) に相当する強度の30分間の運動を負荷した。各強度の運動前、運動終了直後、運動終了30分後に採血し、血小板反応性、凝固能、血球数、ヘマトクリット値、血中乳酸値、血漿カテコールアミン濃度を測定した。血小板反応性、凝固能の測定にはHaemostatometer法を用いた。運動終了直後の血球数、ヘマトクリット値、乳酸値、カテコールアミン濃度は、EX-90%VTによって有意ではあるが僅かに、EX-130%VTによって顕著に上昇した。これらの測定値は両強度の運動とも終了30分後

には運動前のレベルに低下した。血小板反応性、凝固能は、EX-90%VTで有意な変化はなく、EX-130%VTではどちらも有意に亢進した。この亢進は運動終了30分後も維持された。これらのことから、運動実施により誘引される冠動脈疾患のリスク上昇に運動強度が関与していることが示唆された。

緒 言

身体運動は生活習慣病の予防・改善に有効であるが、冠動脈疾患のリスクも上昇させることが、"The Paradox of Exercise"として指摘されている¹⁾。この運動実施に誘引される突然死や心筋梗塞は、血小板血栓による冠動脈の閉塞が原因と考えられており、これら疾患の発症に血小板反応性が重要な働きをしていることが知られている²⁾。これまで、身体運動が血栓形成能に及ぼす影響について

多くの報告がなされているが、結果は一致しておらず、混乱を生じているのが現状である³⁾。この原因の一つは、これまで実施されてきた血栓形成傾向の測定方法にあると思われる。近年の血栓研究において、血栓形成における“ずり応力 (shear stress)”という流体力学的要因の重要性が明らかにされ、このずり応力による血小板主体の血栓形成法の有用性が注目を集めている^{4,5)}。われわれはこれまでに、ずり惹起血栓形成法の一つである Thrombotic Status Analyser (TSA) 法、および Haemostatometer 法を用いて、中程度の強度の運動が血小板反応性を亢進させ、この亢進にノルエピネフリンの関与が大きいことを報告している⁷⁻⁹⁾。

そこで、本研究は、Haemostatometer 法を用いて、各個人の換気性作業域値 (VT) を指標とした運動強度の違いが血小板反応性および凝固能に及ぼす影響を、回復期も含めて検討することを目的とした。

1. 方法

1.1 被験者

日頃適度な運動を実施している男性健常者7名を対象にした。被験者の平均年齢は 21.9 ± 1.2 歳 (平均値 \pm 標準誤差)、身長は 175.1 ± 1.7 cm、体重は 64.0 ± 2.1 kg であった。全ての被験者に喫煙習慣はなく、測定実施前2週間はいかなる薬剤も服用していなかった。なお、実験に先立ち、事前に被験者に対し、口頭と文書で実験の趣旨、内容

および手順を十分に説明して、その内容を理解したうえで、実験に参加することの承諾を得た。

1.2 実験手順

各被験者の VT を事前に Wasserman らの報告に従って決定した¹⁰⁾。自転車エルゴメーター (Aerobike 820, Combi, Japan) を用いて、各個人の VT の 90% 強度 (EX-90% VT) と 130% 強度 (EX-130% VT) の運動を 30 分間実施した。この強度の異なる運動は、温度を 23°C に維持した部屋で、別の日の同じ時間帯に実施した。

採血は、運動前の安静時、運動終了直後、運動終了 30 分後に、正中皮静脈から行った。最初に得られた血液サンプル 7ml を血中乳酸値、血球数、ヘマトクリット値、血漿カテコールアミン濃度の計測に、次の 7ml を Haemostatometer 法に用いた。

なお、運動実施の 2 時間前から運動終了 30 分後の採血を終了する間、被験者は飲食、飲水は行わなかった。

1.3 血栓形成傾向の測定 (Haemostatometer 法)

本研究で血栓形成傾向の評価に用いた Haemostatometer は、Görög ら¹¹⁾ によって開発され、神戸学院大学栄養学部生理学研究室で作製された装置である。その測定原理を図 1 に示す。2ml の抗凝固処理しない血液の入った注射筒を図中 (A) のホルダーにセットする。注射筒内の血

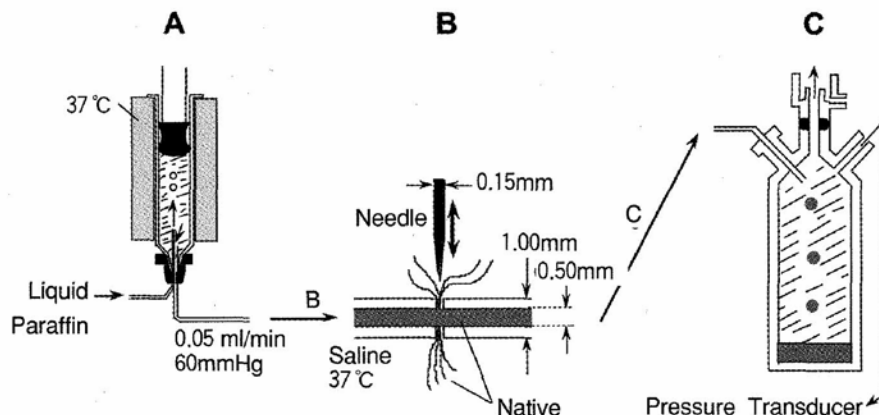


図 1 Haemostatometer の模式図

液は、ポリエチレンチューブ内を一定の流速で入ってくる流動パラフィンによって、押し出され、一方のポリエチレンチューブ内を一定の流速で流れる。血液は (B) の 37℃ の生理食塩水中を通った後、(C) の血液溜に流入する。採血 2 分 30 秒後に (B) において直径 0.15mm の針を用いてチューブを穿刺する。穿刺によりチューブにできた穴は、高いずり応力 (穿刺直後 625 dyne/cm²) により惹起された血小板止血栓により塞がれ、血液は再度チューブ内を流れる。その後、血流は凝固により停止する。この一連の現象をチューブ内の圧変化として記録し、コンピューターにより解析する。

得られた代表的な結果を図 2 に示す。穿刺 (図中 ▼) による最大圧降下を 100% とし、30% の圧

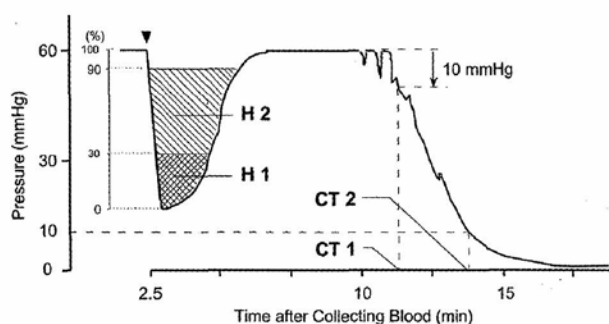


図 2 典型的な Haemostatogram

回復までの面積 (H1, mmHg · sec), 90% の圧回復までの面積 (H2) を求め、血小板反応性の指標とした。また、圧回復後、再度圧が一定のレベルまで低下するまでの時間 (CT1, CT2, min) を求め、凝固能の指標とした。代表値は、3チャンネルの平均値とした。

1. 4 その他の測定

血漿カテコールアミン (エピネフリン, ノルエピネフリン) 濃度は、EDTA 加血を遠心 (3,000rpm, 15min, 4℃) 後、得られた血漿から、高速液体クロマトグラフィー法により測定した。血中乳酸濃度は、簡易型乳酸測定装置 (Lactate ProTM LT-1710, Arkray Factory Inc., Japan) により計測した。また、血球数、ヘマトクリット値は自動血球測定装置 (Microcellcounter SF-3000, Sysmex, Japan) を用いて計測した。

体重はデジタル式体重計 (TBF-511, Tanita, Japan), 心拍数は胸部双極誘導により計測した。

1. 5 統計処理

結果は平均値 ± 標準誤差で示した。運動前、運動終了直後、運動終了 30 分後の 3 群の平均値の差の比較には、反復測定の分散分析およびポストホ

表 1 EX-130%VT および EX-90%VT が心拍数, 体重, および血中因子に及ぼす影響

		Rest	Immediately after	Recovery 30min
Heart rate, beats/min	EX-130%VT	64 ± 2	173 ± 3***	65 ± 1
	EX-90%VT	65 ± 1	142 ± 3***	64 ± 1
Body weight, kg	EX-130%VT	64.6 ± 2.0	63.9 ± 2.0***	63.8 ± 2.0***
	EX-90%VT	64.4 ± 2.1	64.0 ± 2.1***	63.9 ± 2.1***
Erythrocytes, × 10 ⁴ /μL	EX-130%VT	513 ± 9	549 ± 8***	506 ± 8
	EX-90%VT	512 ± 13	539 ± 13***	510 ± 13
Leucocytes, × 10 ² /μL	EX-130%VT	53.4 ± 2.8	86.1 ± 5.4***	53.6 ± 4.0
	EX-90%VT	53.1 ± 3.8	67.6 ± 5.4***	49.2 ± 4.4
Platelets, × 10 ⁴ /μL	EX-130%VT	21.4 ± 1.6	26.1 ± 2.3***	21.3 ± 1.7
	EX-90%VT	20.7 ± 2.4	23.3 ± 2.6**	20.4 ± 2.4
Haematofrit, %	EX-130%VT	46.6 ± 0.9	49.9 ± 0.9***	45.8 ± 0.9
	EX-90%VT	46.5 ± 1.3	49.0 ± 1.2***	46.3 ± 1.3
Lactc acid, mM	EX-130%VT	0.8 ± 0.1	5.5 ± 1.3***	1.5 ± 0.3
	EX-90%VT	0.7 ± 0.03	1.5 ± 0.3*	0.8 ± 0.1
Epineprine, nM	EX-130%VT	0.434 ± 0.057	1.510 ± 0.402**	0.480 ± 0.051
	EX-90%VT	0.323 ± 0.039	0.625 ± 0.102***	0.263 ± 0.047
Norepineprine, nM	EX-130%VT	4.046 ± 0.473	13.679 ± 1.021***	4.396 ± 0.324
	EX-90%VT	3.985 ± 0.355	7.112 ± 0.584***	3.941 ± 0.455

Values are expressed as the mean ± SEM. * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 vs resting values

ックテストとしてFisherのPLSD法を用いた。統計学的有意水準は5%未満とした。

2. 結果

2.1 運動が心拍数、体重に及ぼす影響

EX-130%VT, EX-90%VTが心拍数、体重に及ぼす影響を表1に示す。運動終了直後の心拍数の平均値は、EX-90%VTで 142.0 ± 2.9 拍/分、EX-130%VTで 173.3 ± 3.2 拍/分であった。この心拍数は運動中ほぼ維持された。運動終了30分後、心拍数は安静時レベルに低下した。体重は、運動終了直後に有意に減少し (EX-130%VT, EX-90%VT共に $p < 0.001$)、運動終了30分後も低下した状態が維持された (EX-130%VT, EX-90%VT共に $p < 0.001$)。

2.2 運動が血球数、ヘマトクリット値、血中乳酸値、血漿カテコールアミン濃度に及ぼす影響

EX-130%VT, EX-90%VTが血球数、ヘマトクリット値、血中乳酸値、血漿カテコールアミン濃度に及ぼす影響を表1に示す。運動終了直後の

血球数、ヘマトクリット値、血中乳酸値、血漿カテコールアミン濃度は、EX-90%VTによって有意ではあるが僅かに、EX-130%VTによって顕著に上昇した。これらの測定値は両強度の運動とも運動終了30分後には運動前のレベルに低下した。

2.3 運動が血小板反応性、凝固能に及ぼす影響

EX-130%VT, EX-90%VTが血小板反応性 (H1, H2)、凝固能 (CT1, CT2) に及ぼす影響を図3, 図4に示す。EX-130%VTは運動終了直後 (H1, H2共に $p < 0.05$)、運動終了30分後 (H1; $p < 0.05$) 共に血小板反応性を亢進させた。同様に凝固能も運動終了直後 (CT1; $p < 0.001$, CT2; $p < 0.01$)、運動終了30分後 (CT1; $p < 0.01$, CT2; $p < 0.05$) 共に亢進させた。EX-90%VTは血小板反応性、凝固能を有意に変化させなかった。

3. 考察

ヒト血管内でのずり応力は、大きな動脈や静脈では小さく、血管内径が小さくなるにつれて大きくなる¹²⁾。動脈硬化による血管内腔の狭窄によ

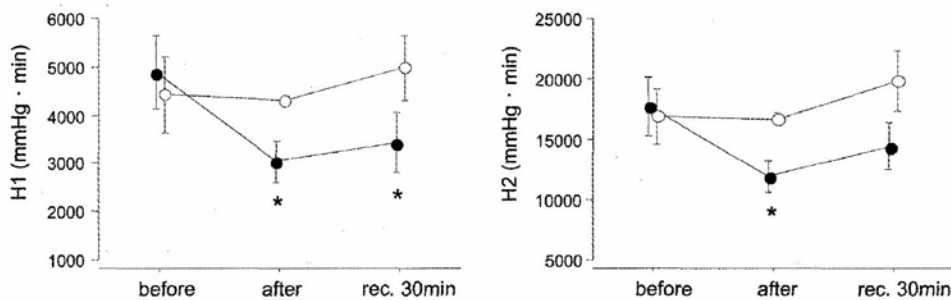


図3 EX-130%VTおよびEX-90%VTが血小板反応性に及ぼす影響
●; EX-130%VT, ○; EX-90%VT, * $p < 0.05$ vs before

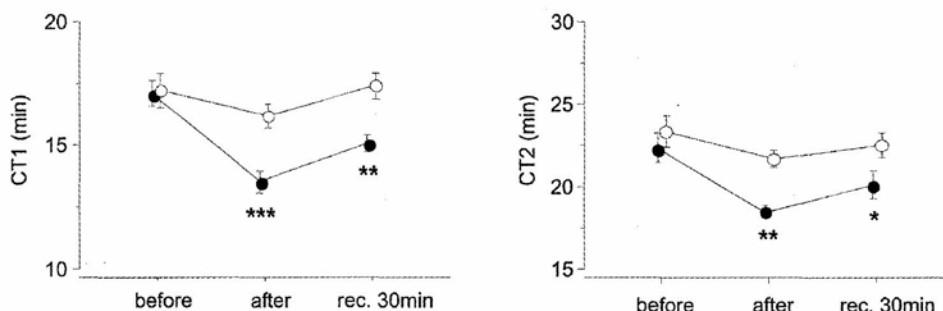


図4 EX-130%VTおよびEX-90%VTが凝固能に及ぼす影響
●; EX-130%VT, ○; EX-90%VT, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs before

る血流速度の増加によって高いずり応力が生じ、このような状況下で血小板反応性が亢進し、粘着・凝集が引き起こされ、結果として血小板主体の動脈血栓（白色血栓）が形成されることが知られるようになった^{4,12)}。この動脈血栓は臨床的に重要な心筋梗塞をはじめ脳血管障害などの疾患に発症・増悪因子として深く関わっており、より生体内に近い状況下での血小板反応性を測定することは臨床的にも重要である。近年、このずり惹起血小板反応性の測定が血栓形成傾向の把握に有用であるというデータが蓄積されるに伴い^{4,5,11)}、従来の測定法に代わるものとして注目を集めている。本研究で用いたHaemostatometer法は、ずり惹起血小板反応性を凝固能と共に評価する方法である^{5,6,8,11)}。

本研究の結果、若年健常男性の血栓形成能（血小板反応性、凝固能）は、高強度の運動（130% VT強度、30分間）によって亢進し、運動終了30分後もこの亢進が維持されることが示された。この血栓形成傾向の亢進は、低強度運動（90% VT強度、30分間）ではみられなかった。これまでの報告では、運動後に亢進する血栓形成傾向に血液濃縮（haemoconcentration）と血漿カテコールアミン濃度の上昇が関与していることを示唆するものがあり^{3,8,9,13)}、われわれは特に血漿ノルエピネフリン濃度の関与が大きいことを報告した^{8,9)}。また、TSA法を用いた研究から⁹⁾、運動によるずり惹起血小板反応性の亢進は血漿ノルエピネフリン濃度、赤血球数、ヘマトクリット値の上昇に起因するものと考えられた。しかし、本研究の結果、運動終了後30分間の座位安静によって、血漿エピネフリン濃度、血漿ノルエピネフリン濃度、赤血球数、ヘマトクリット値いずれも運動前のレベルに低下しているにもかかわらず、高強度運動によって亢進した血小板反応性は運動終了30分後も維持された。また、Haemostatometer法を用いた研究において、高温多湿下での発汗が赤血球数

の増加やヘマトクリット値の増加をもたらさないで、血小板反応性を亢進させ、その後の飲水によってその亢進が回復した（山本ら、未発表）。これらのことから、血小板反応性亢進をもたらす因子として、血漿ノルエピネフリン濃度、赤血球数、ヘマトクリット値以外の関与が示唆された。

高強度運動は血小板膜表面上の α_2 -受容体の密度を増大させること¹⁴⁾、血小板の一酸化窒素（NO）への反応性を抑制すること¹⁵⁾が報告されていることから、今回の測定で得られた運動終了30分後における血栓形成傾向の亢進は、これらに関係がある可能性が示唆された。しかし、高強度運動によって、血小板由来のNO放出が増大するとの報告¹⁶⁾もあり、運動が血栓形成傾向に及ぼす影響にNOがどのように関与しているかを検討することは今後の重要な課題と思われる。

本研究の結果、換気性作業閾値以下の強度の運動では、血栓形成傾向に有意な変化を及ぼさなかった（図3、図4）。これまでに、中強度以下の運動は血小板粘着能、血小板タンパクの放出、トロニンBの生成を反映するマーカーに影響を及ぼさないことなど同様な報告がなされている¹⁷⁻¹⁹⁾。

本研究の結果から、高強度の運動は血栓形成傾向を亢進するが、VT強度以下の運動は血栓形成傾向に影響しないことが示された。生体内での血栓形成は、血栓の形成と溶解のバランスによって調整されている²⁰⁾。したがって、正常な血管内皮機能をもつ健常者の場合は、激しい運動が血栓形成の高いリスクにならないことも考えられる。しかし、冠動脈の動脈硬化がある程度進展しているような患者の場合、激しい運動が血小板血栓の形成を促進することが考えられる。このようなリスクを最小限にするために、本研究は、冠動脈疾患のリスクをもつ人はVT強度以下の低強度運動を主に行い、高強度の運動実施は避けなければならないことを示唆した。

結 論

高強度の運動（130% VT強度, 30分間）は血小板血栓形成能を亢進させ、この亢進は運動終了30分後も継続する。この亢進が運動実施時の冠動脈疾患発症に関与していることが考えられる。一方、低強度運動（90% VT強度, 30分間）は血栓形成能に影響しない。

謝 辞

この研究を遂行するにあたり、多大なご協力とご示唆を頂いた医療法人仁恵会石井病院、石井洋光院長に心から謝意を表します。また、本研究に助成を頂いた財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) Maron B.J.; The paradox of exercise. *N. Engl. J. Med.*, 343, 1409-1411 (2000)
- 2) Bartsch P.; Platelet activation with exercise and risk of cardiac events. *Lancet*, 354, 1747-1748 (1999)
- 3) El-Sayed M.S., Sale C., Jones P.G., Chester M.; Blood hemostasis in exercise and training. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 32, 918-925 (2000)
- 4) O'Brien J.R.; Shear-induced platelet aggregation. *Lancet*, 24, 711-713 (1990)
- 5) Yamamoto J., Taka T., Nakajima S., Ueda M., Sugimoto E., Sasaki Y., Muraki T., Seki J., Watanabe S.; A shear-induced *in vitro* platelet function test can assess clinically relevant anti-thrombotic effects. *Platelets*, 10, 178-184 (1999)
- 6) 山本順一郎, 佐々木康人, 山下 勉, 高 智美, 鷗木秀夫; 抗凝固剤を加えない血液を用いる血小板反応性測定法 -*in vivo*の血小板反応性を反映する*in vitro*測定法の検討-。日本血栓止血学会誌, 12, 11-16 (2001)
- 7) Ikarugi H., Taka T., Nakajima S., Kato N., Ueda T., Matsumura K., Haga S., Yamamoto J.; Detection of a prothrombotic state after acute aerobic exercise. *Thromb. Res.*, 85, 351-356 (1997)
- 8) Ikarugi H., Taka T., Nakajima S., Noguchi T., Watanabe S., Sasaki Y., Haga S., Ueda T., Seki J., Yamamoto J.; Norepinephrine, but not epinephrine, enhances platelet reactivity and coagulation after exercise in humans. *J. Appl. Physiol.*, 86, 133-138 (1999)
- 9) Ikarugi H., Shibata M., Ishii K., Yamamoto J.; Shear-induced platelet reactivity in middle-aged women after low-intensity exercise. *Thromb. Res.*, 104, 347-351 (2001)
- 10) Beaver W.L., Wasserman K., Whipp B.J.; A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J. Appl. Physiol.*, 60, 2020-2027 (1986)
- 11) Görög P., Kovacs I.B.; Modelling coronary thrombosis from nonanticoagulated human blood *in vitro*. *Hematol. Pathol.*, 4, 43-52 (1990)
- 12) Hanson S.R., Sakariassen K.S.; Blood flow and antithrombotic drug effects. *Am. Heart J.*, 135, S132-45 (1998)
- 13) Tokue J., Hayashi J., Hata Y., Nakahara K., Ikeda Y.; Enhanced platelet aggregability under high shear stress after treadmill exercise in patients with effort angina. *Thromb. Haemost.*, 75, 833-837 (1996)
- 14) Wang J.S., Cheng L.J.; Effect of strenuous, acute exercise on α_2 -adrenergic agonist-potentiated platelet activation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 19, 1559-1565 (1999)
- 15) Sakita S., Kishi Y., Numano F.; Acute vigorous exercise attenuates sensitivity of platelets to nitric oxide. *Thromb. Res.*, 87, 461-471 (1997)
- 16) Kasuya N., Kishi Y., Sakita S.Y., Numano F., Isobe M.; Acute vigorous exercise primes enhanced NO release in human platelets. *Atherosclerosis*, 161, 225-232 (2002)
- 17) Wang J.S., Jen C.J., Kung H.C., Lin L.J., Hsiue T.R., Chen H.I.; Different effects of strenuous exercise and moderate exercise on platelet function in men. *Circulation*, 90, 2877-2885 (1994)
- 18) Weiss C., Seitel G., Bartsch P.; Coagulation and fibrinolysis after moderate and very heavy exercise in healthy male subjects. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 30, 246-251 (1998)
- 19) Cadroy Y., Pillard F., Sakariassen K.S., Thalamas C., Boneu B., Riviere D.; Strenuous but not moderate exercise increases the thrombotic tendency in healthy sedentary male volunteers. *J. Appl. Physiol.*, 93, 829-833 (2002)
- 20) Sixma J.J.; Interaction of blood platelets with the vessel wall. In: *Haemostasis and Thrombosis*, edited by Bloom AL, Forbes CD, Thomas DP, Tuddenham EGD. London: Churchill Livingstone, p.259-285 (1994)