

## 赤血球変形能の定量的測定と冷え性女性における解析

丸山, 徹  
九州大学健康科学センター

有吉, 恭子  
九州大学大学院医学研究院病態修復内科学

<https://doi.org/10.15017/10777>

---

出版情報 : 健康科学. 30, pp.11-18, 2008-04-15. 九州大学健康科学センター  
バージョン :  
権利関係 :

—総説—

## 赤血球変形能の定量的測定と冷え性女性における解析

丸山 徹<sup>1)\*</sup>, 有吉恭子<sup>2)</sup>

### Quantitative Investigation of Erythrocyte Filterability with Special Reference to Females with Cold Intolerance

Toru MARUYAMA<sup>1)\*</sup> and Kyoko ARIYOSHI<sup>2)</sup>

#### Abstract

The deformability is essential for passage of human erythrocytes through microvascular network in the physiological microcirculation. However, the concept of erythrocyte deformability has no strict definition as a physical quantity. Therefore, evaluation of erythrocyte deformability depends on the modality of the measurement techniques. Deformability has been quantified as filterability in the erythrocyte filtration experiments, where erythrocyte deformation shows bending configuration. Although filtration technique evaluates physiological *in vivo* deformation of intact erythrocytes, conventional filtration experiment was not quantitative and reproducible due to filter membrane properties. Contrary, newly developed nickel mesh filtration technique is highly sensitive and quantitative. This technique has been applied to clinical science such as hematological diseases but not to life science in our laboratory. Therefore, we investigated the erythrocyte filterability in 47 Japanese women with cold intolerance (so-called 'Hie-Sho'). Filterability was found to be impaired significantly ( $p < 0.001$ ) in these subjects (84 to 85%) relative to the controls (88%). This finding was not influenced by menopause and administration of flavanol which is believed to exert antioxidant, anti-inflammatory and antiplatelet actions. These observations are supportive to our hypothesis that women with cold intolerance show small vessel constriction to respond cold stimuli and to prevent heat loss in periphery, which causes mechanical stress on intact erythrocytes and impairs erythrocyte filterability, leading to further disturbance in microcirculation and heat transfer. Considering the negative effects of flavanol, mechanical but not oxidant stress is involved in the impaired filterability and skin capillary constriction is a compensatory mechanism of thermoregulation in cold intolerance.

*key words*: cold intolerance, erythrocyte, filterability, hemorheology, microcirculation

(Journal of Health Science, Kyushu University, 30: 11-18, 2008)

---

1) 九州大学健康科学センター

2) 九州大学大学院医学研究院病態修復内科学

\*連絡先：九州大学健康科学センター 〒816-8580 福岡県春日市春日公園 6-1

\*Correspondence to: Institute of Health Science, Kyushu University, Kasuga-Koen 6-1, Kasuga, Fukuoka 816-8580, Japan  
TEL: 092-583-7685, FAX: 092-592-2866, e-mail: maruyama@ihs.kyushu-u.ac.jp

## 1. はじめに

レオロジー (rheology) とは物質の変形と流動に関する科学であり、物理学 (固体力学, 流体力学), 基礎医学 (循環生理学), 臨床医学 (血液学や心臓病学など) などの複合領域である。レオロジーのうち生命現象に関連した領域をバイオレオロジー (biorheology), 血液の流動特性や循環中の血球の挙動に関連した領域をヘモレオロジー (hemorheology) という。最近では健康ブームもあって「血液サラサラ, ドロドロ」という言葉をよく耳にするし, 言葉だけが独り歩きしているようにも見受けられる。この言葉の血液学的に意味するところは全血粘度, 血漿粘度, ヘマトクリットなどさまざまであろうが, 赤血球の「しなやかさ」を意味する変形能 (deformability) もそのひとつであろう。赤血球の変形能は微小循環の重要な規定因子であるが, これを評価するための方法論が確立する以前は定義や結果の解釈に多少の混乱が生じていた。われわれはこの赤血球変形能を定量的で再現性の高い測定法で解析しつつあり, これを踏まえて今回赤血球変形能の概念と測定法の変遷を振り返り, 最近の女性の冷え性における赤血球変形能についてわれわれの解析結果を健康科学的な観点で概説する。

## 2. 赤血球変形能の概念

血液の流体としての特徴は, 赤血球という生理的に変形する浮遊細胞を多数含む血漿タンパク溶液であることに帰する。また工学的には血液は赤血球というマイクロカプセルを多数含有する分散系流体と見なすことができる。血液が円筒管を通過する時, 管径が約  $300\mu\text{m}$  以下になると, Hagen-Poiseuille の法則が成り立たず, 見かけの血液粘度は管径の減少にともなって著しく減少する (図 1A)。この現象は一般に  $\sigma$  (シグマ) 効果と呼ばれる。赤血球の直径は約  $8\mu\text{m}$  であるから, 自己の直径より細い毛細血管を通過する際は, ずり応力により赤血球はパラシュート状やスリッパ状に折れ曲がった形に変形しながら通過する (図 1B)。すなわち健全な赤血球は, 毛細血管網を通過する際には極度の折れ曲がり変形を起こし (変形能), 通過後はその変形を元に修復して (修復能), 元の形態をしばらく保持する能力 (形態保持能) があり, 管径に応じてこの変化を周期的にくりかえしている。 $\sigma$  効果はこの赤血球

の生理的変形とこれによって相対的に辺縁血漿層の厚さが増すことに起因する<sup>1),2)</sup>。しかし管径が  $6\mu\text{m}$  以下になると, 赤血球はその変形限界に近づいて, 辺縁血漿層の厚さは減じ, 見かけの血液粘度は急速に上昇する (図 1A)。 $\sigma$  効果による見かけの血液粘度の低下とその後の急激な上昇がみられる管径は, 生体では  $300\mu\text{m}$  以下の細動脈から細動脈末端・毛細血管 (管径約  $7\sim 4\mu\text{m}$ ) に相当する。したがって仮に赤血球が生理的な変形能を失えば  $\sigma$  効果は消失し, 全身の微小循環はたちまち破綻する。以上より赤血球の生理的変形能が生体微小循環を維持する上でいかに重要であるかが理解される。

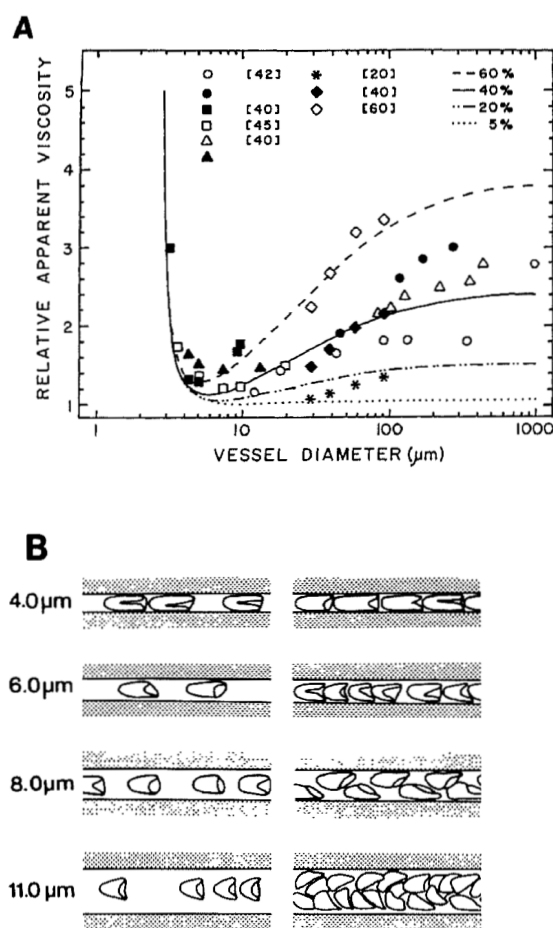


Fig. 1: **A** Relationship between vessel diameter ( $\mu\text{m}$ ) and apparent blood viscosity relative to plasma viscosity as 1.0. Curves (—, ---, etc.) are fitted theoretically based on the experimental data ( $\circ$ ,  $\bullet$ , etc.). Note that  $\sigma$  effect is evident as hematocrit values in parentheses are increased<sup>2)</sup>. **B** Configuration of erythrocytes passing through narrow capillaries showing bending deformation<sup>1)</sup>.

## 3. 赤血球変形能の測定法

循環生理学で赤血球の変形能という用語が定着したのは Braasch が *Physiol Rev* 誌に総説を記した頃

からであるが<sup>3)</sup>、赤血球変形能という用語には物理量としての定義がない。したがってその測定単位や結果の解釈は測定法に依存する。赤血球変形能は主に細胞の幾何学的因子（表面積体積比、形態変化）、細胞内部粘度、細胞膜の粘弾性という三つの要因によって規定される<sup>4-6)</sup>。従来その測定法には、マイクロピペットに細胞全体を吸引してその通過能を、また細胞の一部を吸引して膜の粘弾性を測定するマイクロピペット法<sup>7)</sup>、回転によるずり応力によって赤血球を楕円変形させて、これを顕微鏡で観察するレオスコープ法<sup>8)</sup>、またレーザー光線の回折像で評価するエクタサイトメトリー法<sup>4)</sup>などがある。ここで注意すべき点は、赤血球変形能の評価法自体がいかにか生体での生理的な微小循環における赤血球の挙動を反映しているかである。マイクロピペット法は細胞一個を扱うために赤血球の mass としての情報が得られない。言うまでもなく循環血液中の赤血球は約120日の寿命のなかで様々な加齢段階にあり、加齢によりその変形能が低下していく中で、集合体としての赤血球の変形能を評価する必要がある。また前述のように、パラシュート変形もしくは折れ曲がり変形を生理的変形とする赤血球に、楕円変形を加えることは非生理的であるのみならず、生理的変形の数倍の力を要する。これはレオスコープ法やエクタサイトメトリー法が生理的変形を評価する実験法に比較して、数分の一の測定感度であることを意味する。

赤血球の生理的変形を評価している点からも、実験の簡便さと解析の容易さからも、赤血球変形能の測定法としてもっとも頻用されてきたのはフィルターの微小孔通過能 (filterability) を評価する濾過 (filtration) 法である。1980年代、nuclepore フィルターを使用した filtration 法は、赤血球変形能が微小循環に果たす役割の重要性を、基礎医学においてはもとより臨床医学の領域でも強く認識させるにいった。実際、さまざまな疾患における赤血球変形能の研究は、その後隆盛を極めることとなった。しかし複雑な臨床医学的研究ではさまざまな要因が交絡するため、赤血球変形能の評価には高い定量性と再現性が求められる。その点で nuclepore フィルターによる filtration 法は、以下の理由でこの条件に耐え得るものではなかった。第一に nuclepore フィルターは微小孔の辺縁が不整形でかつ鋭利である

ため、通常の遠沈洗浄によって得られた赤血球浮遊液に必ず混入している白血球が機械的刺激を受けて活性化される。第二に nuclepore フィルターには融合孔があるので、赤血球はこの部分を変形することなく通過するため、変形能の測定感度が低下する。第三に nuclepore フィルターには内部に微小孔の鋭利な分枝もあるので、赤血球はこの部分で著しい機械的ダメージを受ける。第四に nuclepore フィルターの素材は polycarbonate であり、有効な洗浄法がないため事実上ディスポーザブルである。加えて微小孔の数、形状、分布がフィルターごとに異なるため、実験結果の再現性に決定的な問題点を残している (図 2A)。

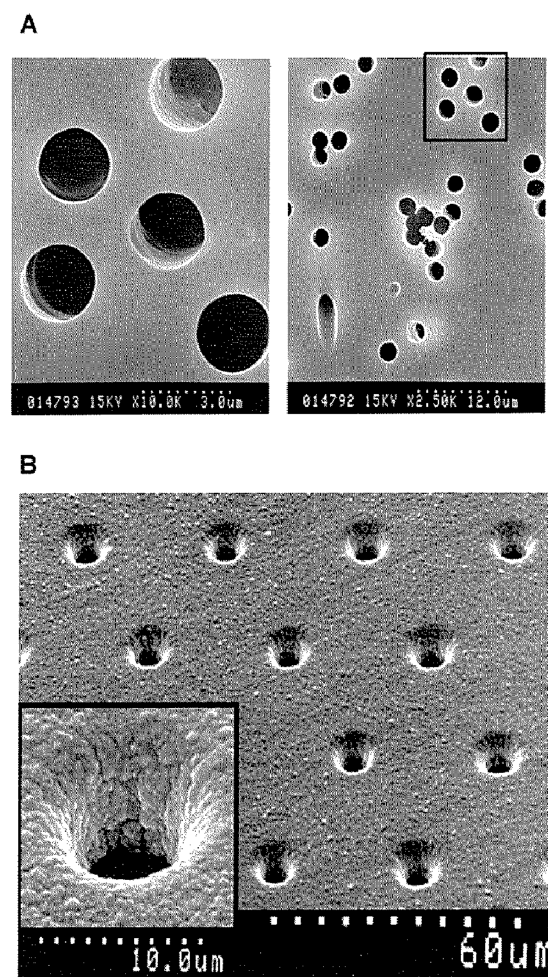


Fig. 2: Scanning electron micrographic findings of Nuclepore filter (A) and nickel mesh filter (B). A Left-sided magnification corresponds to the inside of square in right side. B Left lower magnification demonstrates entrance of a single pore with a diameter ranging 3 to 6  $\mu$ m.

#### 4. Nickel mesh filtration 法

実験結果の定量性と再現性に難点のある nuclepore フィルターを用いた filtration 法に対して、われわれは現在、フィルター特性を理想的に改善した nickel mesh filtration 法を用いて赤血球変形能を評価している。Nickel mesh はフォトレジスト法と特殊メッキ法を組み合わせで作成されたニッケル薄膜フィルターで、微小孔の数、形状、分布が正確に一定であるばかりでなく (図 2B)、数秒間の超音波洗浄によって 100 回以上の再使用が可能である。加えて nickel mesh の微小孔の辺縁は滑らかで、これにより混入白血球が機械的影響を受けることはなく、微小孔には融合や分枝がまったくない。これらの特徴は nickel mesh filtration 法が高い定量性と再現性を保持することを意味する。

実際の実験装置は、垂直に立てたガラス管 (vertical tube) にタイゴンチューブを介して nickel mesh ホルダーを接続し、通常 15 cm の高さ (height:  $h$ ) より HEPES バッファーで調整した生理食塩水で作成した赤血球浮遊液を濾過させる。ガラス管の周囲は恒温水を還流させて、試料を定温に保っている。ガラス管のゼロレベルに設置した圧力 (pressure:  $P$ ) トランスデューサーで試料を濾過する際の圧力降下を連続的に検出し、これを増幅器と AD 変換器を介してパソコンに取り込み、流量 (flow rate:  $Q$ ) を計算する (図 3A)。流量は圧力を高さに変換し ( $P = \rho gh$ )、高さ-時間 ( $h-t$ ) 曲線の微分値 ( $dh/dt$ ) を取って、これにガラス管の断面積 ( $a$ ) を乗じて得られる ( $Q = dh/dt \cdot a$ )。血球を含まないコントロール溶液 (HEPES バッファー調整生食水: ニュートン流体) の圧-流量曲線を対照として、赤血球浮遊液の圧-流量曲線の一定圧 (通常は  $100 \text{ mm} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) での対照に対する赤血球浮遊液の流量 (%) をもって赤血球変形能を評価している (図 3B)。流体力学の基本関係式である連続的な圧-流量曲線から変形能を評価する点も、本法の定量性を保証する一つの特徴である<sup>9)</sup>。さらに最近では、減衰負圧を駆動力とする nickel mesh filtration 法を開発・確立し、操作の簡便化と半自動化、および実験の測定系と解析系の分離を図り、臨床検査法としての歩みも進めている<sup>10)</sup>。

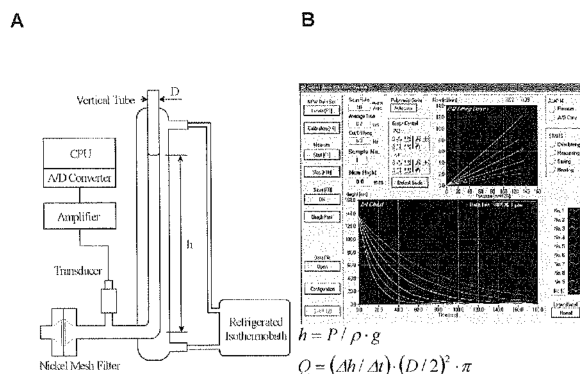


Fig.3: **A** Schematic illustration of nickel mesh filtration technique. Pressure fall is continuously monitored by pressure transducer and transformed to height of liquid level of preparation ( $h$ ). Flow rate is calculated by the first time derivative of  $h$  ( $\Delta h/\Delta t$ ) and cross-sectional area of vertical tube. **B**  $P$ - $Q$  and  $h$ - $t$  relations visualized on the computer screen. Preparation is dextran sulfate diluted with various extents showing Newtonian behavior.  $P$ : pressure,  $Q$ : flow rate,  $\rho$ : density of preparation,  $D$ : diameter of vertical tube.

#### 5. 貧血と赤血球変形能

Nickel mesh filtration 法の高い定量性と再現性は、血液疾患における臨床応用を可能にした。鎌状赤血球症 (sickle cell disease) は、ヘモグロビン (Hb)  $\beta$  鎖のグロビン遺伝子の突然変異 (コドン  $\beta 6\text{GAG}$  (グルタミン酸)  $\rightarrow$   $\text{GTG}$  (バリン)) により生じた sickle Hb (HbS, genotype: SS) が病因で、初めて見いだされた「分子病」であり<sup>11),12)</sup>、赤血球の変形能低下による典型的な微小循環障害を呈する (図 4)。われわれの協同研究者である Uyesaka らは一連の研究で、1) 鎌状赤血球の著明な変形能低下は、低酸素状態で細胞内 HbS がポリマーを形成することにより内部粘度が上昇することが主要な原因であること、2) 赤血球膜障害による変形能低下への寄与は、ポリマー形成による変形能低下に比べてはるかに低いこと、3) したがって、HbS のポリマー形成を阻害する胎児 Hb (Fetal Hb: HbF) を増やす治療 (hydroxyurea, erythropoietin) によって変形能は顕著に改善すること、4) 赤血球の形態変化は細胞内 HbS のポリマー形成や変形能と直接的な関係はなく、レオロジー特性を表す妥当な指標ではないこと、などを明らかにした<sup>13)-15)</sup>。また不安定ヘモグロビン症<sup>9)</sup>や遺伝性球状赤血球症<sup>16)</sup>においても、本法による赤血球変形能の評価は疾患の病態生理の解明や治療法の選択、治療効果の判定などに大きく貢献している。さらに一般的な鉄欠乏性貧血においても臨床的に末梢循環状態が悪化する傾向が指摘されており<sup>17)</sup>、先のマイクロピペット法でも赤血球の変形能が低下することが観察されている<sup>18)</sup>。

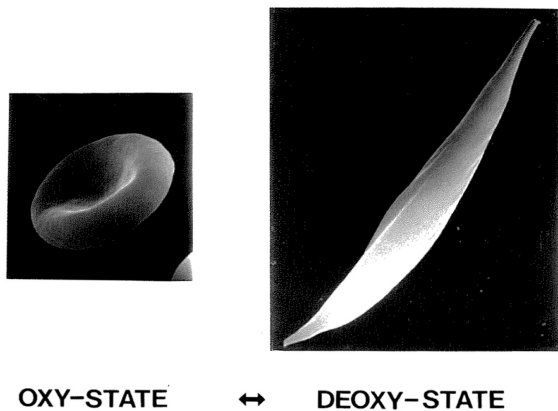


Fig.4: Morphology of erythrocytes from a patient with sickle cell disease in the oxydated (left) and deoxydated (right) conditions (with special courtesy of Nobuhiro Uyesaka, MD, PhD., Department of Physiology, Nippon Medical University).

## 6. 冷え性における検討

いわゆる冷え性には正確な英訳がない。しいて表現すれば cold intolerance (寒さ不耐症), cold hypersensitivity (寒さ過敏症) となる。冷え性は肩こりと並んで東洋人, とりわけ日本人女性に多いとされることから, 疾患というより体質と考えられがちである。またその潜在的な割合は非常に多く, 文献的には日本人女性のおよそ半数に冷えを訴えるという報告もある<sup>19),20)</sup>。冷え性では単に手足の冷えにとどまらず, 肩こり・腰痛, 集中力の低下や全身倦怠感, 食不振, 生理不順などの様々な不定愁訴を有して, 明らかに QOL が低下している例もある。このため最近では冷え性に対して様々な代替医療 (サプリメントなどの健康食品, 鍼・灸, 温熱シートや温感クリーム, ジェルなどの保温グッズ) も行われている。冷え性には様々な成因が考えられており, 病態の複雑さがうかがえる。従来から主たる成因に自律神経失調, 低血圧, 貧血, 更年期特有の内分泌学的な異常などが挙げられており, これらによる皮膚末梢循環不全が病態の中心であろう。また冷え性は女性の年代に関係なくみられ, 閉経後の女性は更年期障害のひとつとして, 若年女性は食習慣や生活習慣との関連が指摘されている。女性ホルモンであるエストロゲンには抗酸化作用があるので, 閉経後の急激なエストロゲンの減少が赤血球にも酸化ストレスを与える可能性は考えられる<sup>21)</sup>。一方冷え性の若年女性は欠食が多く, 肉類や魚介類などの動物性タンパクを好まず, またこれらが不足しているという調査報告もある<sup>22)</sup>。過度のダイエットや偏

食による体熱産生の低下や, 最近の女性ファッションの影響による四肢末梢の寒冷刺激も冷え性の原因として無視できない。女性の冷え性は年代や食習慣・服装・生活環境により各々の対象者で原因を探る必要があるといえる。

最近では男性の冷え性も注目されるが, そもそも女性に冷え性が多いのにはいくつかの理由がある。第一に女性は男性より平熱が 0.3~0.5 度低く, 快適と感じる気温も男女で違うことが予想される。第二に男女ではその体組成にも違いがあり, 女性は男性より筋肉が少なく, 体脂肪が多い<sup>23)</sup>。筋肉は筋収縮によって熱を産生し, 血液を心臓へ送り返す働きがある。そして心臓へ還流した血液は体循環により全身へ熱を伝導させる。さらに女性は思春期・妊娠・出産・更年期で体内のホルモン環境が変化しやすく, 服装や食事などの生活環境の面でも冷え性に関して不利に作用すると考えられる。最近では過剰ダイエットによるカロリー制限をしつつ, 冬でも素足にハイヒールを履いている女性をよく見かける。

われわれは冷え性の女性では食事内容の影響で体熱産生が少なく, そのために体温の恒常性から熱放散を抑制する必要がある, また服飾面での寒冷刺激もあいまって, 皮膚末梢血管が常に収縮状態にあり, これが赤血球に機械的ストレスを与えているのではないかという仮説を立てた。赤血球は機械的刺激を受けるとその変形能を低下させる<sup>24)</sup>。すると前述の  $\sigma$  効果は失われ, 微小循環はさらに悪化して冷え性は慢性化する (図 5)。この仮説を証明するために, 冷え性の女性 47 名 (22-75 才, 平均年齢  $45.1 \pm 16.3$  才) を閉経の有無で二群に分けて, 冷え性のない女性を対照として, 循環改善効果が期待されるフラバノールを内服する前後で, その赤血球変形能を nickel mesh filtration 法によって定量的に検討した<sup>25)</sup>。フラバノールはわれわれの先行研究では生活習慣病の男性において, 赤血球変形能と皮膚微小循環を有意に改善させた<sup>26)</sup>。Nickel mesh は微小孔  $4.56 \mu\text{m}$  のものを用いた。また冷え性の有無は表のチェックリストで判定し, 該当する項目が過半数であれば冷え性と診断した。結果は図 6 に示すように, 冷え性では対照より有意に赤血球変形能が低下しており, これは閉経の有無にかかわらず, また 2 週間のフラバノールの投与前後でも変化はなかった (いずれも  $p < 0.001$ )。赤血球変形能の規定因子は前述のように

幾何学的因子（平均赤血球容積(mean corpuscular volume: MCV)や鏡検での赤血球形態で評価）、内部粘度（平均赤血球ヘモグロビン濃度(mean corpuscular hemoglobin concentration: MCHC)で評価）、膜特性の三つである<sup>4)~6)</sup>。変形能を測定する際の血液検査では MCV や MCHC に冷え性と対照とで有意差はなかった。これらから冷え性での赤血球変形能の低下には赤血球の膜特性の変化が最も考えられ、機械的ストレスがまず赤血球膜の物理化学的な性質を変える可能性が示唆された。さらに冷え性では閉経前 (n = 23, 22-50 才, 平均年齢 30.7 ± 9.1 才) でも閉経後 (n = 24, 52-75 才, 平均年齢 59.0 ± 6.4 才) でも対照より有意に貧血傾向にあった。前述のように、女性に多い鉄欠乏性貧血は赤血球変形能の低下を招く<sup>18)</sup>。以上から皮膚末梢血管の過剰収縮や貧血傾向により赤血球が機械的ストレスを受けることが、赤血球変形能が低下する主因と考えられる。フラバノールは抗血小板作用<sup>27)</sup>、血管内皮機能改善作用<sup>28)</sup>、抗炎症作用、抗酸化作用<sup>29), 30)</sup>を有しており、事実これらの作用機序により生活習慣病の男性で降圧効果や脂質代謝改善効果、赤血球変形能の改善効果が認められた<sup>26)</sup>。赤血球は酸化ストレスを受けると変形能が著明に低下する<sup>31), 32)</sup>。しかし冷え性では機械的ストレスで赤血球の変形能が低下するとすればフラバノールに効果を期待できないのは当然であり、この点もわれわれの仮説に矛盾しないと考えられる。したがって今回の結果が冷え性の女性に送るメッセージは、1) 冷え性での微小循環動態は体熱産生の低下や熱放散の抑制、過度の寒冷刺激に対する一種の代償機転であること、2) そこで冷え性では健康食品に頼り過ぎず各自の冷え性の原因を考えて生活習慣を見直し根本的な対策を立てること、の二点であろう。

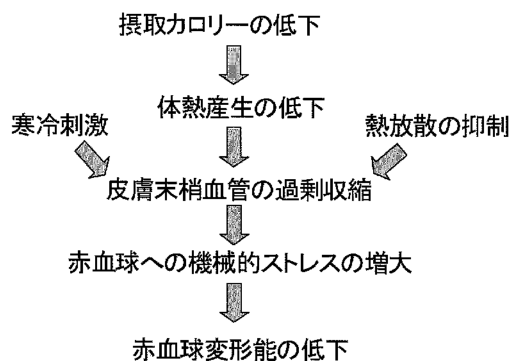
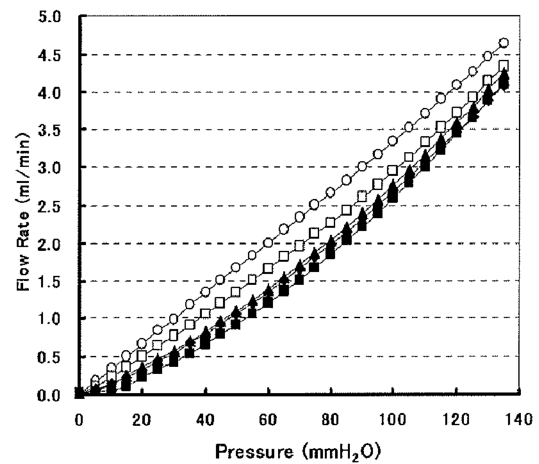


Fig.5: Our hypothesis with respect to the mechanisms of cold intolerance (so-called 'Hie-Sho').

表. 冷え性の問診で使用したチェックリスト

手足が冷えてむくみ、だるい	下痢や便秘をしやすい
朝起きるのが辛い	肩こり・腰痛がひどい
偏頭痛もち	食欲がない
夏も汗をかかず冷房が苦手	トイレが近い
顔色が悪い	疲れやすい
ちょっとした運動で息切れする	イライラしやすい
熟睡できない	やる気・集中力がない
低血圧である	貧血気味である

A



B

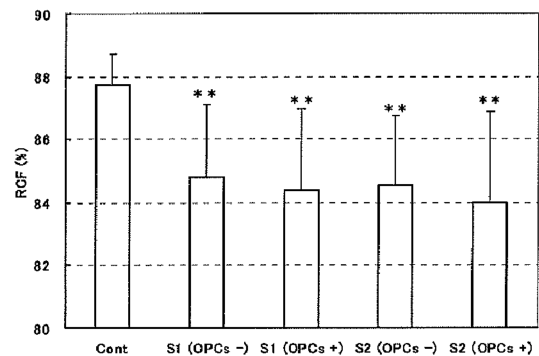


Fig.6: **A** Pressure-flow relationships in control buffer solution (○), erythrocyte suspension of control subjects (□) and those of women with cold intolerance (▲, ●, ■). Pore diameter of nickel mesh is 4.56 μm. **B** Filterability is quantified as percentage of flow rate of erythrocyte suspension relative to that of buffer solution at 100 mmHg. Erythrocyte filterability is impaired in cold intolerance compared with control subjects (p<0.001) irrespective of menopause (i.e., S1: postmenopausal women, S2: premenopausal women) and administration of oligomeric procyanidins (OPCs). RCF: red cell filterability (Reproduced with permission of the Japanese Society of Biorheology<sup>25)</sup>).

## 7. おわりに

ヘモレオロジーの基本概念である赤血球変形能の概念や測定法、微小循環に果たす役割を考え、さらに種々の貧血疾患における赤血球変形能の臨床的な重要性について述べた。冷え性は従来疾患というより体質と考えられていたため、何らかの臨床検査で異常を見出すことは予想もされなかった。しかし今回対照と比べて赤血球変形能の差異が明らかとなったのは nickel mesh filtration 法の優れた定量性と再現性によるものであり、微小循環障害をきたすさまざまな疾患への本法の今後の応用が期待される。

**謝辞**：本稿を終えるに当たり、日本医科大学生理学教室の上坂伸宏准教授、レオロジー機能食品研究所の藤野武彦所長に深謝する。また共同研究者であるレオロジー機能食品研究所の佐藤亜弥、仲島巴美、川床須美子各研究員に感謝する。冷え性の検討は福岡和白病院で行われたものであり、佐々木靖医師とクリニカルリサーチコーディネータの方々の尽力によるものである。本稿の要旨は日本バイオレオロジー学会 30 周年記念公開市民講座（平成 19 年 12 月 1 日、東京）での講演内容であり、一部に文部科学省科学研究費の補助を受けた（課題番号：18500328）。

## 文 献

- 1) Gaetgens P (1980): Flow of blood through narrow capillaries: rheological mechanisms determining capillary hematocrit and apparent viscosity. *Biorheology* 17: 183-189.
- 2) Kiani MF, Hudez AG (1991): A semi-empirical model of apparent blood viscosity as a function of vessel diameter and discharge hematocrit. *Biorheology* 28: 65-73.
- 3) Braasch D (1971): Red cell deformability and capillary blood flow. *Physiol Rev* 51: 679-701.
- 4) Mohandas N, Chasis JA (1993): Red cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. *Semin Hematol* 30: 171-192.
- 5) Arai K, Iino M, Shio H, Uyesaka N (1990): Further investigation of red cell deformability with nickel mesh. *Biorheology* 27: 47-65.
- 6) Nakamura T, Hasegawa S, Shio H, Uyesaka N (1994): Rheologic and pathophysiologic significance of red cell passage through narrow pores. *Blood Cells* 20: 151-165.
- 7) Evans EA and Waugh RE (1980): Mechanochemical study of red cell membrane structure *in situ*, In, *Erythrocyte Mechanics and Blood Flow*. Alan R Liss, Inc., New York, pp 31-56.
- 8) Fischer TM, Stöhr-Liesen M, Schmid-Schönbein H (1978): The red cell as a fluid droplet: tank tread-like motion of the human erythrocyte membrane in shear flow. *Science* 202: 894-896.
- 9) 小山哲司, 賀羽常道, 上坂伸宏 (1998): ニッケルメッシュ・フィルトレーション法の更なる定量化—新計測・解析システムの開発—. *日本バイオレオロジー学会誌* 12: 188-195.
- 10) Koyama T, Maruyama T, Seki R, O'Rear E, Shio H, Uyesaka N (2003): New quantitative nickel mesh filtration apparatus based on continuously decreasing negative pressure. *Jpn J Physiol* 53: 481-486.
- 11) Marotta CA, Wilson JT, Forget BG, Weissman SM (1977): Human  $\beta$ -globin messenger RNA. III. Nucleotide sequences derived from complementary DNA. *J Biol Chem* 252: 5040-5053.
- 12) Pauling L, Itano HA, Singer SJ, Wells IC (1949): Sickle cell anemia: a molecular disease. *Science* 110: 543-548.
- 13) Hiruma H, Noguchi CT, Uyesaka N, Hasegawa S, Blanchette-Mackie EJ, Schechter AN, Rodgers GP (1995): Sickle cell rheology is determined by polymer fraction — not cell morphology. *Am J Hematol* 48: 19-28.
- 14) Hiruma H, Noguchi CT, Uyesaka N, Schechter AN, Rodgers GP (1995): Contributions of sickle hemoglobin polymer and cell membranes to impaired filterability. *Am J Physiol* 268: H2003-H2008.
- 15) Rodgers GP, Dover GJ, Uyesaka N, Noguchi CT, Schechter AN, Nienhuis AW (1993): Augmentation by erythropoietin of the fetal-hemoglobin response to hydroxyurea in sickle cell disease. *N Engl J Med*



- 328: 73-80.
- 16) Hasegawa S, Nomura T, Iino M, Shio H, Schechter AN, Uyesaka N (1994): Causal role of dense microspherocyte in the anemia of hereditary spherocytosis: clinical importance of filterability measurements through 3- $\mu$ m pores. Clin Hemorheol 14: 571-584.
- 17) Georgieva Z, Georgieva M (1997): Compensatory and adaptive changes in microcirculation and left ventricular function of patients with chronic iron-deficiency anaemia. Clin Hemorheol Microcirc 17:21-30.
- 18) Kubota K, Tamura J, Shirakura T, Kimura M, Yamanaka K, Isozaki T, Nishio I (1996): The behaviour of red cells in narrow tubes *in vitro* as a model of the microcirculation. Br J Haematol 94: 266-272.
- 19) 久米麻美子, 田中俊誠, 西谷雅史, 藤本征一郎 (1992): 更年期障害と冷え. 治療 74: 1253-1258.
- 20) 藤原素子, 細野剛良, 平田耕造 (1996): 冷え症の成因に関する基礎的研究. 体力研究 91:142-147.
- 21) Bednarek-Tupikowska G, Tworowska U, Jedrychowska I, Rodomska B, Tupikowski K, Bidzinska-Speichert B, Milewicz A (2006): Effects of oestradiol and oestrogen on erythrocyte antioxidative enzyme system activity in postmenopausal women. Clin Endocrinol 64: 463-468.
- 22) 大和孝子, 青峰正裕 (2003): 女子大学生における冷え症と食習慣との関連. 総合健診 30: 323-328.
- 23) 小宮秀一 (2004): BMIと除脂肪量指数(FFMI)及び脂肪量指数(FMI)に関する問題. 健康科学 26: 1-7.
- 24) Oonishi T, Sakashita K, Uyesaka N (1997): Regulation of red cell filterability by  $Ca^{2+}$  influx and cAMP-mediated signaling pathways. Am J Physiol 273: C1828-C1834.
- 25) Ariyoshi K, Sasaki Y, Satoh A, Fujino T, Uyesaka N, Maruyama T (2006): Impaired filterability of erythrocytes from subjects with cold intolerance. J Jpn Soc Biorheol 20: 90-98.
- 26) Ohnishi Y, Fujino T, Satoh A, Takeda S, Harada M, Uyesaka N, Maruyama T (2005): Effects of oligomeric procyanidins (OPCs) on human erythrocyte filterability and microcirculation. J Jpn Soc Biorheol 19: 83-92.
- 27) Pütter M, Grottemeyer KHM, Würthwein G, Araghi-Niknam M, Watson RR, Hosseini S, Rohdewald P (1999): Inhibition of smoking-induced platelet aggregation by Aspirin and Pycnogenol. Thromb Res 95: 155-161.
- 28) Fitzpatrick DF, Bing B, Rohdewald P (1998): Endothelium-dependent vascular effects of Pycnogenol. J Cardiovasc Pharmacol 32: 509-515.
- 29) Catapano AL (1997): Antioxidant effect of flavonoids. Angiology 48: 39-44.
- 30) Hertog MGL, Feskens EJM, Kromhout D (1997): Antioxidant flavonoids and coronary artery disease risk. Lancet 349: 699.
- 31) Uyesaka N, Hasegawa S, Ishioka N, Ishioka R, Shio H, Schechter AN (1992): Effects of superoxide anions on red cell deformability and membrane proteins. Biorheol 29: 217-229.
- 32) Okamoto K, Maruyama T, Kaji Y, Harada M, Mawatari S, Fujino T, Uyesaka N (2004): Verapamil prevents impairment in filterability of human erythrocytes exposed to oxidative stress. Jpn J Physiol 54: 39-46.