<原 著>

Elastase の作用に関する研究 (2)

実験的ラット動脈硬化症における脂質代謝・ 結合組織代謝への elastase の影響

瀬山 義幸 宇佐美英治 山下 三郎* 勝沼 英字
清水 航一 海老原隆郎 岩本 俊彦 清川 道夫**

<要 約> 実験的動脈硬化症における elastase の脂質代謝と結合組織代謝に及ぼす影響を経時的かつ生化学的に検討した。7 週齢 SD-SLC 系雄ラットに 4 日間 Vit D₂ (3.5×10⁵U/kg b.w./day) を経口投与と共に methylthiouracil 含有高脂肪食負荷して実験的動脈硬化症を引起し、同時に elastase (ELA-ES, エーザイ社製, 5mg, 450 EL.U/kg b.w./day) を筋注して予防効果 (E 群) を調べた。また実験的動脈硬化症を起してから後 2 週間 elastase を投与して治療効果 (EE 群) も調べた。

Elastase の 9 日間投与で血清の elastase 活性 (Suc (Ala)₃pNA 分解活性) は上昇し、動脈 collagen の減少を防止した。また elastase の 4 週間投与で E 群では動脈 collagen, elastin の減少、心臓 elastin の増加を抑制すると共に心臓、腎臓、肝臓の cholesterol 沈着も防止した。また EE 群でも動脈 elastin の減少を抑制し、動脈、心臓の cholesterol 沈着を防止した。また elastase の 6 週間投与で腎臓の cholesterol 沈着を防止した。

したがって、外因的に投与した elastase は実験的動脈硬化症での各組織の脂質代謝障害と結合組織代謝障害を予防的又は治療的に改善する効果が認められた。elastase のこの二つの作用が抗動脈硬化作用の発現の一因になると推測される。

Key Words: エラスターゼ, エラスチン, コラーゲン, コレステロール, 動脈硬化

緒 言

実験的家兎高脂血症における脂質代謝異常と結合組織代謝異常を外因的に投与した elastase は改善する作用があることを報告した。本実験ではラットの実験的動脈硬化症における脂質代謝と結合組織の変動およびこれに対する elastase の作用を経時的かつ生化学的に検討した。

実験材料および方法

石原ら²⁾の方法に準じ 7～8 週齢 SD-SLC 系雄ラット (三共ラボサービス) を用い、対照群 (以下 C 群と略す), Atherogenic diet 負荷群 (以下 Ch 群と略す),

Elastase 予防投与群 (以下 E 群と略す), Elastase 治療投与群 (以下 EE 群と略す) にわけた。C 群はラット固型飼料 (オリエンタル-MF, オリエンタル酵母社製) で飼育し、Ch 群, E 群, EE 群には最初の 4 日間ビタミン D₂ 35 万単位/5ml オリーブ油/kg/day を経口投与と同時にオリエンタル-MF にコレステロール 2%, コール酸 0.5%, ラード 10%, ショ糖 (Cane sugar) 5%, メチルチオウラシル 0.2% 添加した固型飼料 (オリエンタル酵母社製) で飼育した。E 群はさらに Elastase (ELA-ES, エーザイ社製) 5mg, 450EL.U/kg.b.w. の割合で 1 日 1 回大腿部に筋注した。また EE 群は elastase を脱血死前の 2 週間だけ E 群と同様に投与した。EE 群だけは 4 週間後、一方 C 群, Ch 群, E 群は 9 日間後, 2 週間後, 4 週間後と経時的に 12hr 絶食させ脱血死させ、採血後、血清を分離、分取した。大動脈 (弓部より下肢分岐部迄)、心臓、肺臓、肝臓、腎臓を摘出し、生理食塩水で洗浄後、各臓器の湿重量を秤量した。

なお本実験に用いた elastase はすでに勝沼ら³⁾の報

Yoshiyuki Seyama, Eiji Usami, Saburo Yamashita :
星薬科大学臨床化学教室

Hideo Katsunuma, Koichi Shimizu, Takao Ebihara,
Toshihiko Iwamoto, Michio Shimizu : 東京医科大学
老年病学教室

受付日 1982. 5. 21.

告と同一の酵素で、ブタ臓臓を原料として Lewis ら⁴⁾の方法に準じ、抽出、精製し、トリプシン、キモトリプシンを含まず、Grant, Robbins⁵⁾の方法で90EL.U/mgの比活性を有す。

生化学的検討: A. 血清中の酵素活性 Suc (Ala)₃ pNA 分解活性, Gly-Pro-pNA 分解活性, B. 血清脂質定量法, C. 組織中の総コレステロール定量法は前報¹⁾のごとく行った。D. 組織中の collagen 量と elastin 量の定量は Fischer ら⁶⁾の方法に準じて行った。総コレステロール定量用に脱脂した組織にアセトンを加え一昼夜放置後アセトンを除去し、50~60°で恒量迄乾燥後精秤した(乾燥重量)。この組織に一定量の脱イオン水を加えオートクレイブで121°, 18hr 加温処理し、さらに同じ方法で3hr 加温処理後、得た可溶画分(collagen)および残渣(elastin)をそれぞれ6N HCl で110°, 18hr 加水分解後、この一定量を Kivirikko ら⁷⁾の方法で hydroxyproline (以下 hypro と略す)を定量し、乾燥重量あたりの collagen と elastin との hypro 量を算出した。また組織の乾燥重量を測定後 collagen, elastin に分画せず、直接6N HCl, 110°, 18hr 加水分解後、前述と同様に hypro を定量、乾燥重量あたりの hypro 量を算出し total hypro とした。

成 績

本実験条件下では elastase 投与群に本実験期間中は抗原抗体反応によるショック症状はみられず、死亡率も体重も Ch 群と差がなかった。

A. 血清中の酵素活性

1) 表1のごとく血清中の Suc (Ala)₃ pNA 分解活性は9日間 elastase 投与したE群ではCh群より有意に上昇し、4週間、6週間 elastase 投与したE群でも、それぞれCh群より上昇傾向であった。

2) 表1のごとく血清中の Gly-Pro-pNA 分解活性は elastase 投与によりE群、EE群共に変化はなかった。

B. 血清脂質量

1) 表2のごとく血清総コレステロール量はCh群で9日、4週、6週経過すると、いずれもC群より有意に増加したが、E群では6週のみCh群より低下傾向であった。

2) 表2のごとく血清リン脂質量はCh群で4週、6週経過すると、いずれもC群より有意に増加したが、E群は6週のみCh群より低下傾向であった。

3) 表2のごとく血清トリグリセリド量はいずれの

群でも差がなかった。

C. 臓器中の collagen, elastin 含量又は total hypro 含量

表3のごとく、1) 大動脈の collagen, elastin 含量は9日、4週、6週経過したCh群でC群と比較して有意に減少した。またこの含量は9日、4週、6週経過したE群でCh群と比べ有意に増加しC群とほぼ同じであった。この傾向は4週経過したEE群でも認められ

Table 1 Effect of exogenous elastase on serum enzymatic activity in experimental atherosclerotic rats

Suc (Ala)₃ pNA hydrolyzing activity
(μ mole/min/1, serum: Mean $\pm$ SD)

Group	9 days (n)	4 weeks (n)	6 weeks (n)
C	(6) 0.258 $\pm$ 0.023	(4) 0.350 $\pm$ 0.082	(4) 0.417 $\pm$ 0.014
Ch	(4) 0.306 $\pm$ 0.028	(9) 0.469 $\pm$ 0.085	(5) 0.728 $\pm$ 0.116
E	(5) 0.523 $\pm$ 0.130 ^{a)}	(7) 0.837 $\pm$ 0.420	(5) 0.877 $\pm$ 0.101
EE		(7) 0.559 $\pm$ 0.086	

Gly-Pro-pNA hydrolyzing activity
(μ mole/min/1, serum: Mean $\pm$ SD)

C	(6) 46.0 $\pm$ 1.9	(4) 49.6 $\pm$ 3.5	(4) 37.4 $\pm$ 5.6
Ch	(4) 55.8 $\pm$ 17.5	(9) 62.7 $\pm$ 13.0	(5) 93.7 $\pm$ 31.0
E	(5) 56.7 $\pm$ 6.0	(7) 59.6 $\pm$ 10.9	(5) 99.3 $\pm$ 27.6
EE		(7) 67.7 $\pm$ 13.4	

a) ; p<0.01

Table 2 Effect of exogenous elastase on the content of serum lipid in experimental atherosclerotic rats

Total cholesterol (mg/dl; Mean $\pm$ SD)

	9 days (n)	4 weeks (n)	6 weeks (n)
C	(6) 38.6 $\pm$ 12.2	(4) 47.4 $\pm$ 5.9 ^{c)}	(4) 53.4 $\pm$ 29.1 ^{b)}
Ch	(4) 143.8 $\pm$ 98.2 ^{a)}	(9) 157.2 $\pm$ 174.4	(5) 174.4 $\pm$ 343.6
E	(5) 155.7 $\pm$ 106.2	(7) 561.6 $\pm$ 220.0	(5) 563.4 $\pm$ 258.7
EE		(7) 439.6 $\pm$ 191.3	

Phospholipid (mg/dl; Mean $\pm$ SD)

C	80.2 $\pm$ 13.9	72.6 $\pm$ 7.6 ^{b)}	116.9 $\pm$ 17.3 ^{b)}
Ch	159.9 $\pm$ 94.7	265.7 $\pm$ 84.9	346.1 $\pm$ 117.9
E	150.0 $\pm$ 71.8	270.2 $\pm$ 118.0	221.6 $\pm$ 74.2
EE		212.2 $\pm$ 74.4	

Triglyceride (mg/dl; Mean $\pm$ SD)

C	141.8 $\pm$ 27.8	80.9 $\pm$ 11.6	135.1 $\pm$ 29.9
Ch	240.0 $\pm$ 114.9	139.2 $\pm$ 50.9	137.7 $\pm$ 50.2
E	172.4 $\pm$ 64.5	139.2 $\pm$ 62.9	111.8 $\pm$ 50.0
EE		121.9 $\pm$ 22.8	

a) : P<0.05, b) : P<0.01, c) : P<0.001

Table 3 Total hydroxyproline content and hydroxyproline in collagen and elastin in various tissues in rats

	9 days		4 weeks		6 weeks	
Aorta	collagen	elastin	collagen	elastin	collagen	elastin
C	48.6±3.4	7.22±0.34	57.3± 5.2	6.18±0.26	46.1±3.5	6.59±0.61
Ch	32.6±5.4 ^{c)}	5.31±0.69 ^{c)}	44.5±10.6 ^{a)}	5.53±0.49 ^{a)}	34.6±4.8 ^{c)}	4.84±1.11 ^{a)}
E	44.8±6.1 ^{b)}	5.84±1.20	55.8± 6.7 ^{a)}	6.93±1.09 ^{c)}	33.2±5.4	4.70±0.94
EE			50.6± 9.7	6.50±0.97 ^{b)}		
Heart	collagen	elastin	collagen	elastin	total(collagen+elastin)	
C	4.86±0.71	0.277±0.064	4.02±0.85	0.200±0.026	3.82±1.05	
Ch	5.29±2.08	0.244±0.080	6.58±0.28 ^{d)}	0.268±0.016 ^{d)}	7.39±1.10 ^{c)}	
E	5.15±1.20	0.275±0.028	6.23±1.45	0.231±0.019 ^{d)}	7.95±1.38	
EE			6.66±1.60	0.268±0.031		
Lung	collagen	elastin	collagen	elastin	total(collagen+elastin)	
C	13.2±0.84	1.10±0.08	15.5±1.9	1.43±0.12	15.6±1.7	
Ch	13.4±0.99	1.11±0.06	12.1±2.4	1.06±0.15	12.4±1.6 ^{a)}	
E	13.3±1.11	0.97±0.34	12.3±0.8	1.09±0.11	13.4±2.4	
EE			13.3±3.1	1.09±0.14		
Kidney	collagen	elastin	collagen	elastin	total(collagen+elastin)	
C	3.15±0.19	0.150±0.017	3.99±0.68	0.178±0.048	3.78±0.57	
Ch	3.52±0.50	0.186±0.032 ^{a)}	5.15±0.71 ^{b)}	0.176±0.014	6.11±0.69 ^{c)}	
E	3.91±0.28	0.165±0.023	4.38±0.96	0.177±0.014	5.39±0.76	
EE			5.08±0.69	0.159±0.027		
Liver	total(collagen+elastin)		total(collagen+elastin)		total(collagen+elastin)	
C	1.91±0.09		1.89±0.15		1.10±0.13	
Ch	2.17±0.11		1.94±0.23		1.32±0.37	
E	1.64±0.10		2.04±0.12		1.35±0.39	
EE			1.83±0.10			

a) : P<0.05, b) : <0.02, c) : P<0.01, d) : P<0.001

Table 4 Total cholesterol content in various tissues in rats

	(n)	9 days	4 weeks	6 weeks
Aorta	C	(6) 7.63 ± 0.63	(4) 5.44 ± 0.68	(4) 8.34 ± 1.08
	Ch	(4) 5.69 ± 0.79	(9) 6.76 ± 0.74 ^{b)}	(5) 11.54 ± 1.22 ^{c)}
	E	(5) 6.85 ± 1.06	(7) 7.24 ± 1.90	(5) 11.07 ± 0.86
	EE		(7) 5.66 ± 1.05 ^{a)}	
Heart	C	3.14 ± 0.11	1.99 ± 1.05	2.57 ± 0.22
	Ch	3.45 ± 0.37	5.96 ± 1.42 ^{d)}	6.02 ± 2.13 ^{b)}
	E	3.29 ± 0.29	3.31 ± 2.04 ^{b)}	4.40 ± 1.13
	EE		3.04 ± 1.79 ^{c)}	
Lung	C	5.43 ± 0.42	5.13 ± 0.76	5.05 ± 1.06
	Ch	6.25 ± 0.64	6.96 ± 1.36 ^{a)}	6.58 ± 2.60
	E	5.96 ± 0.76	7.46 ± 0.92	6.43 ± 0.80
	EE		6.45 ± 0.57	
Kidney	C	5.21 ± 0.71	5.24 ± 0.57	5.28 ± 0.26
	Ch	5.05 ± 0.23	6.21 ± 0.56 ^{b)}	6.58 ± 0.69 ^{d)}
	E	4.97 ± 0.80	5.03 ± 0.63 ^{c)}	5.46 ± 0.28 ^{d)}
	EE		5.37 ± 1.51	
Liver	C	5.45 ± 0.98	5.02 ± 0.44	3.88 ± 0.90
	Ch	8.58 ± 2.39	16.37 ± 2.12 ^{d)}	14.44 ± 1.49 ^{d)}
	E	8.57 ± 4.36	13.96 ± 1.57 ^{a)}	12.16 ± 0.89
	EE		16.03 ± 1.50	

Legends to Tables 1 to 4.

C: Control group; kept on the control diet.
Ch: Cholesterol group; kept on the atherogenic diet (see text).
E: Elastase group (prophylactic); kept for 9 days, 4 weeks or 6 weeks.
EE: Elastase group (therapeutic); elastase was given orally only for 2 weeks just prior to sacrifice at the 4th week.
(n)'s in Table 3 are the same as those in Table 1, 2 and 4 for each group.
Numbers in the Table 3 are expressed as μg Hypo/mg (dry weight): Mean±S.D.
Numbers in the Table 4 are expressed as μg Cholesterol/mg (wet weight): Mean±S.D.

た。

2) 心臓の collagen, elastin 含量は4週, 6週経過したCh群でC群と比較して増加傾向, 又は有意に増加した。また elastin 含量は4週経過したE群でCh群と比較して有意に減少した。

3) 肺臓の total hypro 含量は4週, 6週経過したCh群でC群と比較して減少傾向又は有意に減少した。E群, EE群共にCh群と差がなかった。

4) 腎臓の collagen, elastin 含量又は total hypro 含量は9日, 4週, 6週経過したCh群でC群と比較して増加傾向又は有意に増加した。しかし, このCh群とE群とでは差がなかった。

5) 肝臓の total hypro 含量は9日, 4週, 6週経過したC群, Ch群, E群, EE群, いずれの群にも差がなかった。

D. 臓器中の cholesterol 含量

表4のごとく大動脈, 心臓, 腎臓, 肝臓, 肺臓の cholesterol 含量はCh群で9日経過してもC群と差がないが, Ch群で4週, 6週経過するとC群と比べ有意に増加した。これに対し4週経過したE群の心臓, 腎臓, 肝臓の cholesterol 含量はCh群に比べ有意に減少した。また4週経過したEE群の大動脈, 心臓の cholesterol 含量もCh群に比べ有意に減少した。さらに6週経過したE群の腎臓の cholesterol 含量もCh群に比べ有意に減少した。

考 察

石原ら²⁾はラット実験の動脈硬化症の病態モデルの作製について基礎的に検討すると共に, これを用い pantethine 等の抗動脈硬化作用の薬効評価結果を報告しており, また勝沼ら³⁾はこれと同じモデルを用いて elastase の抗動脈硬化作用があることを病理学的に評価している。

本実験も以上と同じ病態モデルを用い, 外から投与した elastase の抗動脈硬化作用を生化学的に調べるため, 本病態モデルの脂質代謝, 結合組織代謝の変動を経時的に検索し, またこの変動に対し投与した elastase の影響について基礎的に検討した。ブタ脾 elastase という異種酵素蛋白投与による体重減少, ショック症状, 致死という抗原抗体反応による副作用はみられない。すでに elastase 投与は体重に変化を与えないという他の報告⁴⁾⁷⁾もみられ, elastase の抗原性は弱いと考えられる。投与した elastase の血中の酵素活性を調べるため Sue (Ala)₃ pNA 分解活性を測定した。こ

の活性は elastase 投与9日後で上昇したが, この投与4週後では明らかな上昇はみられなかった。一方, Elastase の基質でなく, collagen 由来の peptide を分解する酵素の基質の Gly-Pro-pNA 分解活性は変化していない。このことから上昇した Sue (Ala)₃ pNA 分解活性は主に外因的に投与した elastase によるものと考えられる。なお4~6週後でのこの上昇が明らかでないのは, 外から投与したため, この活性が上昇し, 過剰の活性に伴ない, これに対するインヒビターの上昇がみられたためと推測される。このことはすでに報告¹⁾した家兎での実験でも同様の傾向がみられたことから示唆される。

atherogenic diet 負荷9日後でCh群の動脈 collagen, elastin 含量は減少し, 腎臓 elastin 含量は増加した。このことから, この実験的動脈硬化性病変の初期には何らかの結合組織の代謝障害を引き起こし, 結合組織代謝の同化作用と異化作用のバランスが乱され, その結果, 臓器による差はあるが, collagen, elastin 含量が変化したと推測される。一方, 血清脂質量は増加しても臓器中の cholesterol 量は変動していない。これは, この時期の各臓器での脂質代謝障害は少ないと考えられる。このような初期の代謝障害に対し, 投与した elastase は動脈 collagen と elastin 含量を増加し, ほぼ対照の含量迄に回復した。投与した elastase は結合組織代謝の異化作用又は同化作用に直接的又は間接的に影響し, その代謝障害を改善したと推測される。

atherogenic diet 負荷4週後ではこの負荷が9日後より代謝障害が進み, 動脈 collagen, elastin 含量は減少し, 心臓 collagen, elastin 含量は増加した。臓器による差があるが, 結合組織の代謝障害が認められた。これと共に血清脂質量, 各臓器(動脈, 心臓, 腎臓, 肝臓)の cholesterol 含量が増加しており, 各臓器の脂質代謝障害をきたし cholesterol 沈着が起きたと考えられる。これに対し, 投与した elastase は各臓器での結合組織と脂質代謝への作用は異なっていた。心臓では elastin 含量の増加を抑制し, cholesterol 沈着も防止した。しかし, 動脈では, collagen, elastin 含量の減少を抑制したが, cholesterol 沈着を防げなかった。また腎臓, 肝臓では collagen, elastin 含量に変化を及ぼさないが cholesterol 沈着は防げた。このように外因的に投与した elastase は別々に結合組織代謝障害と脂質代謝障害に対し予防効果をもつと考えられる。

また atherogenic diet で2週間処理後 elastase を

2週間治療的に投与しても動脈 elastin 含量, 動脈と心臓の cholesterol 含量を対照のそれぞれの含量近く迄回復した。このことから投与した elastase は結合組織代謝障害と脂質代謝障害を治療する効果もあると考えられる。

atherogenic diet 負荷 6 週後では動脈 collagen, elastin 含量の減少, 肺臓 total hypro 量減少, 心臓と腎臓の total hypro 量増加というように前述 4 週間後では認められなかった動脈, 心臓以外の臓器中の total hypro 量も変動しており, また各臓器中の cholesterol 含量も増加傾向がみられた。これに対し, 投与した elastase は 4 週間後での作用より弱く, 結合組織含量の変動をもたらしませんが, 腎臓の cholesterol 含量だけ低下させた。この実験でのラット数が少ないことも一因と考えられるが, また atherogenic diet 負荷の延長により結合組織代謝障害および脂質代謝障害が強まり投与した elastase の作用が現われにくくなったと推測される。

以上から実験的動脈硬化症における脂質代謝と結合組織代謝は経時的に変化しており, 各臓器の cholesterol 含量はいずれも増加していくが, collagen, elastin 含量は肝臓以外の各臓器で増加又は減少しており, 臓器特異性がみられる。これに対し, 投与した elastase は肺臓以外の各臓器の cholesterol 含量を減少し正常に回復させる傾向がみられたが, collagen, elastin 含量は動脈では上昇し, 心臓では低下し, それぞれ正常に回復させる傾向が認められた。このように投与した elastase の脂質代謝と結合組織代謝への影響は一定ではなく, 臓器特異性がみられた。この原因としては, 1) 投与 elastase には直接作用の他に間接作用がある。2) 投与 elastase には脂質代謝と結合組織代謝とを改善する二つの作用を共有しているか, 又は二つの作用因子が共存している, と考えられる。このように elastase の脂質代謝と結合組織代謝とを改善する作用

を有することが, 外因的に投与した elastase の特異的な抗動脈硬化作用発現の一因になると推測される。

文 献

- 1) 瀬山義幸, 宇佐美英治, 飯島洋美, 山下三郎: Elastase の作用の研究. (1). 実験的家兎高脂血症における Elastase の脂質代謝と結合組織代謝に及ぼす影響. 動脈硬化 9: 135—142, 1981.
- 2) 石原正直, 小河秀正, 俵 克彦, 安孫子雅史: ラットの実験的動脈硬化症に対する Pantethine, Clofibrate および Furazabol の単独および併用による防止効果. 動脈硬化 6: 207—212, 1978.
- 3) 勝沼英字, 清水航一, 海老原降郎, 岩本俊彦, 清水道夫: Elastase の抗動脈硬化作用. 特に弾力線維に及ぼす影響. 動脈硬化 9: 861—873, 1981.
- 4) Lewis UJ, Williams DE, Brink NG: Pancreatic elastase; Purification, properties and function. J Biol Chem 222: 705—720, 1956.
- 5) Grant NH, Robbins KC: Studies on porcine elastase and proelastase. Arch Biochem Biophys 66: 396—403, 1957.
- 6) Fischer GM, Liauroso JG: Collagen and elastin content in canine arteries selected from functionally different vascular bed. Circulation Res 19: 394—399, 1966.
- 7) Kivirikko KI, Latinen O, Prockop DJ: Modification of a specific assay for hydroxyproline in urine. Anal Biochem 19: 249—255, 1967.
- 8) 藤城 昇, 太田秀哉, 川島司郎, 三好成文, 河出芳助, 町田元実: 家兎実験的粥状動脈硬化症に対するエラスターゼの予防効近について. 日本老年医学会雑誌 8: 99—104, 1971.
- 9) 小川和朗, 吾郷泰広: Elastase の抗粥状硬化化作用に関する形態学的研究. 日本老年医学会誌 10: 277—292, 1973.

Abstract

Studies on the Action of Elastase
—Effect of Elastase on the Metabolism of Lipids and
Connective Tissues—

Yoshiyuki Seyama, Eiji Usami, Saburo Yamashita*, Hideo Katsunuma,
Koichi Shimizu, Takao Ebihara, Toshihiko Iwamoto and
Michio Shimizu**

An enzyme, elastase (Elastase, Eisai Co., 450 ELU/Kg. b.w./day) showed the following effects on the experimentally induced atherosclerosis in rats with Vit. D₂, 3.5×10⁵ units/Kg b.w./day, for 4 days, and with atherogenic diet for 9 days, 4 and 6 weeks.

1) Elastase activity, for suc(Ala)₃pNA, was specifically increased in serum in 9 days.

2) Abnormally increased, or decreased amount of

elastin and collagen in the tissues (heart and aorta) were normalized to the normal range in 9 days or 4 weeks.

3) Abnormally increased total cholesterol in the tissues (heart, aorta, kidney and liver) were lowered in 4 weeks.

4) Abnormally increased total cholesterol in kidney was lowered in 6 weeks.

It may be suggested from the above findings that the externally administered elastase improved experimentally induced abnormal metabolisms of lipid and connective tissues, which may be considered to be one of the improving factors in the atherosclerosis.

Key words: *Elastase, elastin, collagen, cholesterol, atherosclerosis*

* Department of Clinical Chemistry, Hoshi College of Pharmacy, Tokyo

** Department of Geriatrics, Tokyo College of Medicine, Tokyo