動脈硬化症と血液粘稠度の研究*

皆 川 徹**

Glass fiber wool を用いる Moolten 法にて血液粘稠度を測定し、アテローム硬化との関連性を検討した。

雄家兎 63 羽を群に分け、すなわちラノリン飼育群、Celite 注射群、ラノリン飼育および Celite 注射群、Indion 注射および Celite 注射群、無処置の対照群に分け検討した。

1) ラノリン飼育による大動脈の粥状硬化様の変化の発生は Celite の静注により、より増強され、adhesive index, adhesive platelets とともに増加がみ

られた。

2) Celite を静注すると凝固性の亢進がみられ、また adhesive index, adhesive platelets の軽度増加が認められた。なお血漿フィブリノーゲン量、プロトロンビン値などの凝固因子の軽度減少がみられた。

3) Celite 静注により肺動脈内膜の局所性の肥厚がみられた。

4) Indion 投与によって adhesive platelets はさしたる変化はなく動脈の病変は抑制された。

I. 緒 言

1913 年 Anitschkow¹⁾ が家兎にコレステロール飼育を行なって実験的に粥状硬化症の作製に成功して以来、動脈硬化症の成因におけるコレステロールに仮説は広く一般に認められるようになり、高コレステロール血症が基本的な要因と考えられたが、実験的に作製した動脈硬化の像が人間の場合のそれと種々の点において異なること、および動脈の種属によってその硬化像が異なることなどより、コレステロール血症と動脈硬化症とを直接結びつけて考えるには多くの矛盾が指摘されるようになった。

その後多くの研究者は血清コレステロール値と動脈硬化症との間には必ずしも相関関係が認められないこと、すなわち血清コレステロール値の高い場合でも、必ずしも著明な動脈硬化症が認められるとはかぎらず、コレステロール値が低い場合でも著明な動脈硬化が認められることがあり、少なくともコレステロール仮説はその輝きを減じてきた。

現在、脂質代謝については、コレステロール以外の脂質すなわち磷脂質、c/p 比、リポタンパク、血清の脂酸

構成などが研究され、その代謝異常が注目をあびるようになった。

他方脂質代謝と直接関係のない方法によって動脈硬化症の発生を認めた報告があり、たとえば Hueper (1944)²⁾ は動脈壁乏血説をとえ、また動脈壁自身の代謝障害については種々の酸素活性の測定、沈着物質とくに酸性ムコ多糖体などの組織化学的研究、血管の透過性の問題、血管壁成分と血漿成分との異同性などについて研究が盛んに行なわれるようになった。

近年血栓塞栓症の頻度が増加するにつれて、その成分の脂肪摂取の問題がとりあげられ、食飼性脂血症のさいの血液凝固性の亢進が問題にされるようになった。

松岡ら³⁾ はラノリン飼育家兎に生体内において血液の凝固性を亢進させるために接触因子を活性化せしめるといわれる filter cel すなわち Celite を静注し血液の粘稠性を高め動脈硬化症との関係をみているが、著者も同様の方法で、実験的動脈硬化をつくり、Moolten⁴⁾ 法にて血小板粘稠性を測定し、動脈硬化発生の関係について検討を行なった。

II. 実験方法

体重 1.5~2.0 kg の雄家兎 63 羽を A, B, C, D, E の 5 群に分け、A 群: ラノリン飼育群 15 羽でラノリン 1 日 5 g を経口投与、B 群: Celite 注射群 15 羽で、5 mg の Celite を 5 cc の生食水に suspend し、沸湯中にて

* 本論文の要旨は第 8 回日本老年医学会総会において発表された。

** T. Minagawa: 横浜市立大学医学部第 2 内科学教室(主任: 守一雄教授): 横浜南区浦舟町 4-57。

受付: 1967 年 5 月 18 日。

減菌後、兎の耳静脈よりきわめて緩除に静注した。この操作を週 3 回、12 週にわたり行なった。C 群: ラノリン飼育および Celite 注射群 15 羽で A 群と同様ラノリン飼育を行ないながら、B 群同様に Celite-Suspend の静注を行なった。D 群: Indion および Celite 注射群 10 羽で、血液の凝固性を低下させるためにあらかじめ抗凝血薬 Indion (phenylindanedione) を投与し、血漿プロトロンビン値を 10% 程度に低下せしめた家兎に B 群と同様 Celite-Suspend の静注を行なった。E 群: 8 羽の無処置の対照群として実験を行なった。

1) 血液粘稠性測定は Moolten 法⁴⁾にて行なった。すなわち、glass fiber wool (pyrex No. 800) を三つ編にし (幅が 0.5~1.0 cm になるように)、長さ 7 cm

図 1.

に切断し 1.5 ml 生食水に保存、使用時は直径 2 cm のシリコン処置した試験管に図 1 のごとく操作し心穿刺により採取した血液 1.8 cc に 0.2% citrate を 0.2 cc 加えシリコン処置した直径 1.5 cm の小試験管内にて数回上下に振り、凝固を防ぎ、

a) Pre-filtration platelet count

上記のごとく処置した血液を赤血球メランジュールを用い、0.5 の目盛まで吸い、これに 3.8% citrate+0.2% formalin 混合液にて 1.01 とし 10 分間 (約 200 回) よく振る。

b) Filtration 前処置の血液

1 cc を図のごとく装作した試験管に静かにおとし、30 秒後 3.8% citrate+生食水 (1:9) 8 cc を 1~2 分間隔であふれぬように静かに注ぐ。

c) Post-filtration platelet count Filtration した血液を、filter をはずし、5 回上下に振りよく混和し、白血球メランジュールにて 0.5% まで吸い、さらに 3.8% citrate+0.2% formalin にて 11 とし 10 分間よく振る。

d) 計算

A) Unfiltered, B) Filterell

① RBC (5 small squares)	440	466
② Platelets (25 small squares×2)	188	184
③ Total RBC (corrected for added citrate)	$440 \times 10/9 \times 10,000 = 4,890,000$	

- ④ Total platelets (corrected for added citrate) $188 \times 10/9 \times 1000 = 209,000$
- ⑤ RBC: Platelets ratio 23.4 25.3
- ⑥ Adhesive index (5B/5A) 1.08
- ⑦ Nonadhesive platelets = $\frac{\text{Total platelets}}{\text{Adhesine index} + 0.3}$
- ⑧ Adhesine platelets = Total platelets $\times \left(1 - \frac{1}{\text{Adhesive index} + 0.3}\right)$

[例] Adhesive platelets count

$$= 209,000 \times \left(1 - \frac{1}{1.38}\right) = 58,000$$

2) 全血漿凝固時間

Lee-White 法により、シリコン処置小試験管中で測定を行なった。採血はシリコン処置の注射器にて心穿刺により採取した。

3) 血漿 Fibrinogen 定量

チジン法 (比濁法) にて行なった、シリコン処置の注射器にて心穿刺により採血した。

4) プロトロンビン値測定

Quick 一段法変法にて測定した。この場合のプロトロンビン活性の算定は、A 群ではラノリン投与前のそれぞれの値を 100% とし、B 群、C 群の場合は Celite 注射前のそれぞれの値を 100% とし処置後の活性を算定した。D 群の場合には正常無処置の家兎群 (E 群) のそれについての被検家兎の値を算定した。

5) 血清総コレステロール測定

Zak-Henly 法にて行なった。

III. 実験方法

1) Adhesine index の変動

各群における adhesine index の変動は図 2 に示すごとく、A 群では 6 週以後に増加著明で、B 群では 8 週以後に増加傾向がみられ、C 群では 5 週以後に増加を示し、推計学的にも有意水準 ($p < 0.01$) で増加を示した。D 群では E 群の無処置対照群とはほぼ同様、adhesine index の増減傾向は認められなかった。これらの各群の各週における平均値曲線では 8 週以後において各群の著明な差がみられ、とくに C 群において adhesine index の増加が著明であり、ついで A 群、B 群の順であった。このことは各薬剤投与前後の adhesine index の変動においても、8 週以後に各群の間に差を認め、図 3 に示すごとく、A 群では、家兎を固定し barbitol 麻痺下に No. 2

カテーテルを胃ゾンデの代用として、
 テノリンを温湯にて泥状にし、胃内に
 注入、その前後の adhesive index を
 みた。すなわち、2時間後にやや減少
 傾向がみられ、5時間後にはもとに戻
 った。B群では、さした増減は示さな
 かった。C群では Celite 注射前の
 adhesive index は15分後に減少傾
 向がみられた。D群ではあらかじめ
 index を投与しているため Celite 注
 射によっても、その前後の adhesive
 index にほとんど変動を示さなかつ
 た。

2) Adhesive platelets の変動

各群における Adhesine Platelets
 の変動は図4に示すごとく、A群で
 は5週以後増加傾向がみられ、B群で
 は10週以後において増加傾向があり、
 C群では、A群同様5週以後に著明な
 増加を認めた。D群では、12週を通
 じ軽度の変動を認めるが推計学的にも
 意味なく、対照群のE群とはほぼ同様
 の傾向を示した。

各群の各週における平均値曲線は8
 週以後に各群の差は著明で、また各薬
 剤投与前後の adhesive platelets の
 変動も8週以後に差を認めた。8週
 における各薬剤投与前後の adhesive
 platelets は図5に示すごとくA群
 では2時間後に減少傾向がみられ、5
 時間後では投与前の値に戻った。B群
 では15分後やや減少傾向があり、C
 群では15分後に著明な減少がみられ、
 30分後には投与前の値より高値を示
 した。D群では抗凝固剤 Indion のあ
 らかじめの投与のため adhesive index
 と同様さしたる変化がなかった。

3) 全血凝固時間の変動

各群における凝固時間の変動は7週
 までは大差をみとめず、8週頃よりや
 やその差位を示した。ここに8~9週
 にかけての各種の凝固時間および薬剤
 投与前後の凝固時間の変動は図6のこ

図 2. Adhesive index

図 3.

図 4. Adhesive platelet

図 5.

とくで、A群では2時間後に著明な凝固時間の短縮がみられ、5時間後ではほぼ投与前の値に戻った。B群では15分後に著明短縮を認め、30分後なお短縮傾向がみられた。C群ではB群同様15分後に著明短縮がみられD群ではやや短縮されるか他の群に比し、なお著しく延長を示した。

4) 血漿フィブリンノーゲン量の変動

図7に示すごとく、A群ではほとんど変化なく、B群、C群においては15分後でやや減少がみられ、D群はほとんど変化を認めなかった。

5) 血漿プロトロンビンの量の変動

Quick 一段変法にて測定した、プロトロンビン活性程度はE群の無処置対照群血漿を用い、生理食塩水で種々の濃度に希釈し、おのおのについてえたプロトロンビン時間を縦軸に、希釈度(活性度)を横軸にとり、プロトロンビン活性度曲線をつくり、被検血漿のプロトロンビン時間をこれにて算出、活性度(%)にて表わし、なお各群の薬剤投与前の値を100%として換算し、前後の活性度を比較した。

図8は上記方法にてえた8~9週にかけての各群の値で、A群にほとんど変化なく、B群、C群では15分後わずかな減少がみられ、D群ではほとんど変化がなかった。

6) 血清総コレステロールの変動

Zak-Henly 法にて測定を行なった。A群およびC群では、ほぼ同様の増加傾向がみられ、図9は各週の平均曲線を示したもので、8週後では著明増加がみられ、700 mg/dl 以上を示した。B群ではわずかな増加傾向がみられるが、12週においても300 mg/dl 程度で、D群ではほとんど増加傾向はみられずE群と同様の値を示した。

7) 組織学的検査成績

各週ごとに剖検を行ない大動脈、肺動脈について検討を行なった。

a) 大動脈所見 A群は、4週目ごろより動脈硬化様変化の初期変化である内皮下組織に、水腫状膨化像がみられ、8週目の剖検では、大動脈内膜に atherom 類似の斑点がみとめられた。また中膜にかけて脂肪沈着がみられ、この変化はしだいに強くなり 12 週目の組織ではもっとも著明にみとめられた。B群は7週目よりA群と同様の変化がみられ Sudan 染色では脂質の沈着は認められなかった。

C群では4週頃よりA群より強い水腫状膨化が内皮下組織にみられ、肉眼的に灰白色の隆起とした atherom 類似の斑点が認められ、この部位の変化もA群同様、内膜下より中膜にわたって結節状に線維組織の増殖が著明で脂肪沈着もより強く認められた。

D群では、大動脈の病変はほとんどでなく、10 週頃より中膜の線維組織の粗造性が認められた。

b) 肺動脈所見 A群では肺動脈には組織学的にほとんど変化はみとめられなかった。

B群では中等大の肺動脈に内膜の局所性の肥厚を示す像がみられた。

C群ではB群と同様の変化がみられ、その変化はB群に比しやや強く、内膜の局所性の肥厚、中膜の組織の不規則な配列をみとめた。D群では、A群同様、肺動脈には組織学的にほとんど病的変化は認められなかった。

IV. 考 案

従来主として止血または出血性素因の解明に関連して行なわれてきた血液凝固の研究も、最近では、血栓症の発生と動脈硬化症の発生に関しても重要な役割を有していることが次第にあきらかにされ、血液凝固の生物学においてしめる役割の範囲は一段と広がってきている。血液がその生理的の使命を果たすためには、一方では流動性を保たねばならないし、他方では生体が損傷を受けたときには、速かに凝固が起こらなければならない。しかし凝固性が病的に低下すると出血が起

図 6.

図 7.

こったり、反対に凝固性が病的に亢進すると血管内で血液が凝固して血栓を形成しやすくなるのであるが、この血栓の形成を基盤として動脈硬化が発生すると考えられるようになった。Duguid (1946, 1948)^{5,6)} は動脈硬化にもっとも多くみられる変化、すなわち atherom 性の硬化の成因に血栓が関与するという説を提唱し、その根拠を、動脈系の機能と形態学的に粥状硬化とおなじ病変が動脈血栓の組織化によって生ずるということにおいて

図 8.

図 9. Cholesterol

いる。

これらの機序に関係深い血小板については血管壁の滲透性を調整するといすぐれた見解⁷⁾があるが、血小板は内膜細胞間の接合を緊密化するらしい。血管が傷害を受けると反応性に血小板が増し、形態学的に尋常と思われる内膜に沈着し、ときにこの沈着物は血管壁に結合し化学的变化を起こし、さらに単核細胞による食作用により線維性肥厚から典型的な内膜の atherom 硬化性変化を起こす。動脈血栓の形成に血小板がもっとも重要で実験的に ³²P により血小板減少症にすると血栓はできない。Thrombin には血小板を凝集する作用があるが、血小板表面のタンパクまたは脂タンパク⁸⁾が関係する。

食飼の血液凝固、血栓形成れたいする影響についても

多くの報告があるが、不飽和脂肪よりも飽和脂肪の方が血栓形成作用があり、とくに側鎖の長い飽和脂肪酸がもっとも強力であるといわれ⁹⁻¹²⁾、脂質の血栓形成に対する作用は複雑で、血液凝固以外の機序にも関係すると考えられる。長鎖飽和脂肪酸の血栓形成促進作用は Hageman 因子を活性化するためであろうと考え、Hageman 因子は接触因子として知られており、血液が異物面と接触する際にまず活性化され、この活性の Hageman 因子が以後の血液凝固段階の trigger となって血栓の形成あるいは凝固の完了をもたらすものと考えられている。

松岡⁹⁾は、Celite の静注によって、生体内において、凝固性が著しく亢進することを認め、2~3 の凝固因子の減少はこのさいに生体内において消費するものと考え

え、組織学的に肺動脈に多数の血栓をみとめ裏づけしている。

このように血栓形成に血小板の果たす役割は大きく、ここに血小板粘着性から、すなわち adhesive index および adhesive platelets を算出し、これらの関係について検討を行なったところ、ラノリン飼育家兎にさらに Celite 静注を行なった例において動脈硬化様変化が強く、これに平行し、adhesive index, adhesive platelets の増加を認めた。

以上のべたごとく血液の凝固性は血管壁の代謝、動脈硬化症の成因に関してなんらかの密接な関係があろうと想像され、少なくとも動脈系の血液化学的組成あるいは血液凝固性の状態については局所によって相異なることは考えられないにもかかわらず動脈硬化様の病変は臓器によりあるいは部位によって著しく異にしていることが報告されており、したがってなんらかの局所性の要因が作用していることは否定できない事実であり、動脈硬化症の成因の多様性を指示しているものと思われる。

V. 結 論

1) ラノリン飼育による大動脈の粥状硬化様変化の発生は Celite の静注によって、より増強され、adhesine index, adhesine platelets とともに増加がみられた。

2) 家兎に Celite を静注すると凝固性の亢進がみられ、血漿フィブリノーゲン量、プロトロンゼン値などの凝固因子の軽度減少がみられ、adhesive index, adhesive

図 10. Ranolin 使用例, A 群組織: 大動脈
(8 週目)

図 13. Celite+Indion, D 群組織: 大動脈
(8 週目)

図 11. Celite 使用例, B 群組織: 大動脈
(12 週目)

図 14. Celite, 使用例 B 群組織: 肺動脈
(8 週目)

図 12. Ranolin+Celite, C 群組織: 大動脈
(8 週目)

図 15. Ranolin+Celite, C 群組織: 肺動脈
(8 週目)

platelets の軽度増加が認められた。

3) Celits 静注により肺動脈内膜の局所性の肥厚が認められた。

4) 抗凝血薬投与によって adhesive index, adhesive platelets は、さしたる変化はなく動脈の病変は抑制された。

5) これらの事実より、動脈硬化症の成因の1つとして血液の凝固性が大きな役割を果たしていること、および血液粘稠性が動脈硬化症の程度を知る上に非常に意味深いことを知った。

本論文の稿を終わるに当たり、直接ご指導をいただいた本学内科学教授守一雄先生に深く感謝する。

文 献 1) Anitschkov, N.: Über die Veränderungen der Kaninchen Aorta bei exptl. Cholesterins teatose, Beitr. Path.-Anat. Allg. Path., **56**: 379, 1913. 2) Hueper, V.C.: Arteriosclerosis, Arch. Path., **38**, 162, 1944. 3) 松岡松三ほか: 動脈硬化症の成因に関する実験的研究, 最近医学, **18**: 239, 1963. 4) Moolten, S.E. & Vroman, L.: The adhesiveness of blood platelets in thromboembolism and hemorrhagic disorders, Amer. J. Clin. Path., **19**: 701, 1949. 5) Duguid, J.B.: Thrombosis as a factor in the pathogenesis of Coronary atherosclerosis, J. Pathol. Bacteriol., **58**: 207, 1946. 6) Duiguid, J.B.:

Thrombosis as a factor in the pathogenesis of aortic atherosclerosis, J. Path. Bacteriol., **60**: 57, 1949.

7) 松岡松三, 吉田精市: 血栓症と動脈硬化症の成因に関する考察, 老年病, **9**: 711, 1960. 8) 松岡松三: 脳血管障害の成立機序, 最近医学, **16**: 2443, 1961.

9) Keys, A.: Diet and the epidemiology of coronary Heart Disease, J. Amer. Med. Ass., **164**: 1912, 1957. 10) Wilkinson, C.F.: Is there a relation between diet and blood cholesterol? Arch. Int. Med., **85**: 389, 1950. 11) Page, H.: The Lewis A. Conne

memorial Lecture-atherosclerosis. An introduction, Circulation, **10**: 1, 1954. 12) Broute-Stewart, B. & Antonis, A. et al.: Effects of feeding different

fats on serum-cholesterol level, Lancet, **1**: 521, 1956. 13) Moolten, S.E., Jennings, P.B. et al.: Dietary fat and platelet adhesiveness in arterio-

sclerosis and diabetes, Amer. J. Cardiol., **11**, 290, 1963. 14) Salzman, E. W.: Measurement of platelet adhesiveness, J. Lab. & Clin. Med, **11**:

724, 1963. 15) Bennett et al.: Effects of dextran infusion on the Adhesiveness of Human blood-platelets, Lancet, **2**: 1001, 1966. 16) Bennett

et al.: Effects of oestriol on platelet adhesiveness and fibrinolysis in men, Lancet, **2**: 881, 1966.

Abstract

**Studies on Adhesive Index of the Platelet in Experimental
Atherosclerosis in the Rabbits**

Tohru Minagawa*

Adhesive index of the platelet by the use of a glass wool filter (Moolten's method) and other blood clotting factors were determined in the experimental atherosclerosis in the rabbits to assess their relations to the development of atherosclerosis.

The materials were 63 adult, normal rabbits, divided into 5 groups depending on the various pretreatment as follows: lanolin-feeding, with injection of celite (Filter-Cel), injection of celite, celite and phenylindanedion and no pretreatment as the control.

The results were summarized as follows:

1) The intravenous injection of celite into the rabbits produced an increase in blood coagulability as represented by the increase of adhesive index of the platelet. The slight decrease in the clotting

factors in the blood as serum fibrinogen and prothrombin could be explained as the results of increased consumption of these factors in the animals.

2) The development of atheroma of the aorta in the lanolined rabbits was accelerated and the adhesive index was increased after the celite injection.

3) Intravenous injection of celite into the rabbits produced a localized thickening of the endothelium at the pulmonary arteries.

4) Administration of phenylindanedion (anti-coagulant) produced no significant changes in the adhesive index but the pathological alterations were inhibited.

*

*

*

*

*

*

*

*

*

* The Second Department of Internal Medicine (Director: Prof. Kazuo Mori), Yokohama University School of Medicine, Urafune-cho, 4-57, Minami-ku, Yokohama, Japan.