エラスターゼ抑制物質に関する研究

塚 越 至 信

群馬大学医学部第2内科教室 (主任 中尾喜久 教授 前主任 村上元孝 教授)

序 論

動脈硬化症の複雑な成因の一つとして動脈壁中の弾力線維の消長が深い関係をもつと考えられているが、1949年にBalóおよびBanga¹⁾が大動脈より作ったエラスチンを完全に融解する物質が豚の脾抽出物中にあることを見出した。その後の研究によりこれをエラスターゼと名付けて以来、Lansing²⁾等は弾力線維の化学的性状の詳細な研究と共にエラスチンの構造を知るためエラスターゼを用いて種々検索し、Benitz³⁾等は家兎大動脈の硬化部位の一部にエラスターゼ消化試験を行なって後にこれを組織化学的に検索し、弾力線維の崩壊像と同時にメタクロマジー様物質の消失を認めている。

またエラスターゼと動脈硬化症の関係についてBaló⁴⁾等は人、牛、家兎の血清中にエラスターゼ活性を抑制する作用があり、動脈硬化症患者の血清では抑制効果の減少若しくは消失するであろうとする簡単な報告がある。

その後動脈硬化症では脾中のエラスターゼが恐らく増加しているであろうとの想定のもとに定量しているが結果は全く逆で、動脈硬化症では全例減少し、半数では消失していたとの報告が見られる⁵⁾。

本邦ではこれらの問題を中心とした研究は殆ど顧みられていなかったが、著者はエラスチンとエラスターゼの関係について検討を加え、若干の基礎的研究を行ない、血清中にエラスターゼ抑制物質のあることを確認し、新たに血清中エラスターゼ抑制物質比色定量法を試み、エラスターゼ抑制物質の基礎的及び臨牀的研究を行なって2、3の興味ある結果を得たのでここに報告する。

エラスターゼ抑制物質に関する基礎的研究

実験材料

イ) エラスチン

エラスチンはLansing²⁾等の記載に準じて馬の Lig. nuchaeから精製して乾燥粉末とし、オルセイン(メルク社製)を1%塩酸性70%アルコールに1%の割合で溶解した染色液で24時間染色した後、過剰の色素を70%アルコール及び溜水で洗滌して除き、乾燥したものを基質として用いた。なおこの染色エラスチンはエラスターゼを含まない溶液中でIncubateしても、遠心沈澱後の上清は着色しない。

ロ) エラスターゼ

エラスターゼはSachar⁶⁾等の記載に準じて豚の脾を脱脂粉末としたものより精製した。

このエラスターゼは冷蔵保存すると2週間はその力価が保たれる。3週間以上にわたると力価の低下が見られた。

実験直前に1規定苛性ソーダで、pH8.6に補正して実験に供した。本実験ではエラスチン1mgを20分間に消化する酵素活性を1単位、これを阻止するものを1抑制単位と定めた。

実験方法

イ) エラスチン消化試験

10mgの染色エラスチンを試験管(13mm×125mm)に秤量分取し、これにpH8.6ペロナル緩衝液1cc、溜水1cc、エラスターゼ溶液1ccを順次加え、20分間37°CでIncubateし、この間1分間約46回の割合で振盪する。その後pH6.0の0.7M磷酸緩衝液2cc及び溜水2ccを加え酵素活性を停止せしめた後、2,000rpm、30分間遠心し、オルセイン染色エラスチンの消化により生じた上清の着色を波長570mμで比色定量した。

ロ) 検量曲線

5mg, 10mg, 15mg, 20mg, 25mgの染色エラスチンを秤量分取して、24時間上述のエラスチン消化試験を行ない、エラスチンを完全に消化融解させたのち、

エラスチンの重量と消化により遊離したオルセイン濃度との関係を検討した(図1)。図1に示すごとく両者

図1 溶液中のエラスチンmg

の間にはきれいな直線関係がみとめられた。なおブランクには不活性化エラスターゼを加え同様の操作を行なったものを用いた。

ハ) 血清中エラスターゼ抑制物質比色定量法

染色エラスチン10mg, ペロナル緩衝液 1cc, 血清0.1cc, 溜水1cc, 7単位のエラスターゼ1ccを順次加え, 20分間37°Cで Incubateし, この間1分間約46回位の割合で振盪した。

その後磷酸緩衝液を加えてpH6.0に補正し酵素活性を停止せしめた後, 溜水を加えてよく混和し, 2,000 rpmで30分間遠心沈澱した後, 上清を比色に供した。

他の操作を全く同様にして60°C30分間加熱し, 非活性化したエラスターゼを用いたものをブランクとした。比色で得られた価より検量曲線を用いてエラスターゼ抑制単位を算出した。

実験成績

イ) エラスターゼの至適水素イオン濃度

ペロナル塩緩衝液を用い種々の pHでエラスチン消化試験を行なった。図2の如く, pH

図2 エラスチン消化試験のpHについて

8.4~pH8.9の間では最も酵素活性が大きく, 比較的安定した巾をとるので, この範囲内では僅かなpHの変動では, 酵素活性に影響を受けず, 定量には極めて好都合である。なおpH6.0以下では酵素活性は停止する。

ロ) エラスチン消化試験の温度および時間による変化

種々の温度でエラスチン消化試験を行なった。

図3の如く, 37°C~38°Cで最もよく消化されるが, 20°Cでも消化作用が認められる。

エラスチン消化試験による酵素活性の変化を時間的経過を追って観察した。図4の如く5分, 10分, 20分と急激な基質の分解がみとめられるが, 20分以後は分解が極めて緩慢となり, 定量操作に要する時間的ずれによる影響が軽微となるため, 消化試験の Incubateは37°C20分以上が適切な条件となる。

図 3

図 4

エラスターゼ溶液は60°C30分間加熱により、消化作用は全く消失する。

ハ) Mg, Ca, K塩類溶液, F Na 溶液の影響

$5 \times 10^{-2} \text{M}$ Mg Cl_2 , $5 \times 10^{-2} \text{M}$ K Cl 溶液のエラスターゼ抑制作用を観察したが、この濃度ではそれぞれ 4.76, 4.81 抑制単位で対照に比してははっきりとした影響はみとめられなかった。

$5 \times 10^{-2} \text{M}$ Ca Cl_2 溶液には 6.22 抑制単位のエラスターゼ抑制効果がみとめられた。 $5 \times 10^{-2} \text{M}$ F Na 溶液中では 4.80 抑制単位で消化が抑制されなかった。

ニ) 血清透析とエラスターゼ抑制物質との関係について

エラスターゼ抑制物質を 4.8 抑制単位を含む血清 1 cc をセロファンを用い 24 時間流水で、その後更に溜水で 5 時間透析した後これをオイグロブリンと非オイグロブリンに分け、各々に含まれる抑制物質量を測定した。大部分の抑制物質は非オイグロブリン分劃に含まれ、極めて僅少な量が一部オイグロブリン中にみとめられた。なお透析前には 4.8 抑制単位、透析後も 4.8 抑制単位であった。このことから抑制物質の大部分は非オイグロブリン分劃に属する非透析性物質であることが判った。

ホ) 血清蛋白分劃との関係

上述の実験から抑制物質が蛋白質であろうと推測されるので、高濃度の抑制物質を有する血清を Paper-electrophoresis により、各蛋白分劃に分け、これを各分劃毎に別個に濾紙より抽出し、抑制物質の存在する分劃を探索した。

図 5 の如く、抑制物質は A lbumin + α_1 globulin の分劃に多く含まれ、 α_2 -globulin, β -globulin, γ globulin の分劃には極く少量しか含まれていない。また蛋白分解酵素の基質としてよく用いられるゼラチンの 7% 溶液を作り、その 0.1 cc を加えてエラスチン消化試験を行なったが、抑制効果は全く認められなかった。

ヘ) 血清中エラスターゼ抑制物質の耐熱性

エラスターゼ抑制物質を認めた血清を 57°C 10 分間加熱した後、エラスチン消化試験を行なっ

図5 血清蛋白の各分劃に含まれるエラスターゼ抑制単位

たが、抑制作用は全く消失した。

ト) ペパリン静注後の血清中エラスターゼ抑制物質の消長

ヘパリンが動脈壁の脂質代謝に関連をもつという成績や、脂質の沈着により弾力線維が影響を受けることなどから、ペパリンとエラスターゼ抑制物質間に何等かの関係が予想せられるので、ペパリンを静注し、これによるエラスターゼ抑制物質の変動を追求した。

若年健康男子にヘパリン 50mg 静注し、静注前、静注後 5 分、10 分、30 分、60 分に得た血清中のエラスターゼ抑制単位の変動を測定したが、静注前 4.1 抑制単位で静注後は 4.1, 4.08, 4.1, 4.06, 4.1 抑制単位となっており、殆どヘパリンの影響を受けていなかった。

チ) 家兎の実験的動脈硬化症に於ける抑制物質の消長について

実験的動脈硬化症として生後 6 カ月前後の雄性家兎を 2 群に分け、1 群は対照として固型飼

料MC5 (オリエンタル酵母工業製) 150~200g/日のみを投与, 他の1群は固型飼料に1日1羽宛5gの脱水ラノリンを混合して投与し, 飼育期間の経過と, 血清中のエラスターゼ抑制物質の変動を観察し, 図6の如き結果を得た. 即ち

図6 実験的動脈硬化症とエラスターゼ抑制物質 (家兎)

投与期間の延長と共に, ラノリン投与群では対照群に比し, エラスターゼ抑制単位は著しく減少する傾向がみとめられた. 6カ月後各々の群の家兎の大動脈の硬化について検討したが, 両群間に硬化の程度に特に著明な差はみとめられなかった.

リ) エラスターゼ静注家兎について

精製エラスターゼ粉末を1日70mgの割合で連日生後9カ月の雄性家兎に静注し, 45日後にその血管病変を検討したが, 予期に反して動脈硬化性変化は全く認められなかった.

エラスターゼ抑制物質に関する臨床的研究

緒言

人血清中に於けるエラスターゼ抑制物質の消長を窺うために, 著者は健康正常成人及び群馬大学医学部附属病院第2内科外来及び入院患者を対象として, エラスターゼ抑制物質の定量を行ない, 年令, 血清総蛋白量, 心電図所見, 眼底所見, 各種疾患等との関係について検討を加えた.

実験方法

基礎的研究で述べたエラスターゼ検量曲線, およびエラスターゼ抑制物質比色定量法を用いて, 被検者の肘静脈より採取分離した血清0.1ccを用いてエラスターゼ抑制物質量を測定し, エラスターゼ抑制単位を算出した.

実験成績

イ) エラスターゼ抑制物質と年令との関係

エラスターゼ抑制物質量と年令との関係を知るため, 10才台から70才台までに至る各年令層を対照とし, エラスターゼ抑制物質量を測定し, 図7の如き結果を得た. 年令の増加と共にエラスターゼ抑制物質の減少するのを認めた.

図7 年令と抑制物質

ロ) 血清総蛋白量との関係

血清総蛋白量とエラスターゼ抑制物質量との関係について, 大まかな傾向を知るため同一血清を用いてエラスターゼ抑制単位測定と, 同時に日立製血清蛋白計を用いて測定した血清総蛋白量との間には, 図8の如く両者の間に, はっきりした関係は認められなかった.

図8 血清総蛋白量とエラスターゼ抑制物質

ハ) 心電図所見との関係

心電図所見上冠疾患に由来するST, Tの変化の有無と, エラスターゼ抑制物質量との関係は, 図9の如く, 心電図に異常所見あるものに

図9 心電図所見とエラスターゼ抑制物質

減少する傾向を認めた。即ち心電図で異常所見のない15例では、平均値は 3.78 ± 1.84 抑制単位、軽微な所見を認めた10例の平均値は 3.45 ± 0.84 抑制単位、はっきりと所見の認められた13例の平均値は 2.40 ± 0.65 抑制単位で所見の明瞭なものに減少する傾向がみとめられ、5%の危険率で正常所見のものと、はっきりした所見の認められたものの間には推計学的に有意の差があった。

二) 眼底所見との関係

眼底所見を Keith-Wagener の分類に従って4群に分け、各群とエラスターゼ抑制物質量との関係を見ると、図10の如くⅡ度、Ⅲ度、Ⅳ度と

図10 眼底所見とエラスターゼ抑制物質

その程度の進むにつれて、エラスターゼ抑制物質減少の傾向が認められた。K. W. I 度のものの7例の平均値は 3.03 ± 1.10 抑制単位、Ⅱ度のもの

の6例の平均値は 2.56 ± 1.49 抑制単位で少しく減少し、Ⅲ度のもの5例の平均値は 1.66 ± 0.99 抑制単位、Ⅳ度のもの7例の平均値は 1.46 ± 0.88 抑制単位となっている。

ホ) 各種疾患とエラスターゼ抑制物質

動脈硬化症に関係深い幾つかの疾患と、エラスターゼ抑制物質量との関係について検討を加え、図11の如き結果を得た。

図11 疾患別とエラスターゼ抑制物質

対照の正常健康成人53例の平均値は 3.79 ± 0.28 抑制単位、狭心症16例の平均値は 2.16 ± 0.49 抑制単位、心筋梗塞14例の平均値は 1.67 ± 0.41 抑制単位で、いずれも明らかに低い値を示した者が多い。

糖尿病6例の平均値は 1.98 ± 0.82 抑制単位、高血圧症30例の平均値は 1.78 ± 0.37 抑制単位、脳循環障害9例の平均値は 1.69 ± 0.37 抑制単位となっている。

ヘ) 血管壁中のエラスターゼ抑制物質

剖検時採出した、人の大動脈を硬化部位と非硬化部位に分け、各々を湿重量で200mgずつ秤量し、生理的食塩水10ccを加えてホモゲナイズし、これを(12,000rpm) 30分間遠心上清をセロファンを用いて24時間透析した後、凍結乾燥した粉末を、10mg/dlの濃度に生理的食塩水に溶解して、エラスターゼ抑制物質の測定を行ない、

図12 血管壁中のエラスターゼ抑制物質

図12の如き結果を得た。即ち動脈硬化のない6例の平均値は 1.58 ± 0.71 抑制単位であるが、動脈硬化のある例をその程度により(±), (+), (⦶), (≡)に分けて測定したが、僅かに動脈硬化を認めた(±)のもの2例では平均値 0.75 ± 0.44 抑制単位、軽度に動脈硬化を認めた(+)5例の平均値は 0.80 ± 0.78 抑制単位、動脈硬化の中等度(⦶)および高度(≡)のもの各4例の平均値は、それぞれ 0.35 ± 0.27 抑制単位で、硬化部位ではいずれもエラスターゼ抑制物質の減少が認められる。

考 察

1949年にBangaが、大動脈より単離精製したエラスチンを消化融解する酵素を、脾臓中に見出しエラスターゼと名付けたのに始まり、その後本酵素の性質について幾つかの報告がある。まだ研究の歴史も浅く、未解決の点も多く残されているが、その作用についても、ムコ多糖類の解重合、蛋白分解、Mukase様作用、Chymotrypsin様作用^{8, 9, 7, 13, 15}等多岐にわたり統一された見解に達するには、なお若干の日時を要すると思われる。一方動脈硬化症と本酵素のつながりは、硬化の進展とこれに伴う弾力線維の断裂崩壊という点で極めて興味深い。従来両者の関係を系統的に追求した報告は殆ど見当らない。著者は動脈硬化症とエラスターゼの関係を、実験的動脈硬化症及び臨牀面から血清中のエラスターゼ抑制物質を中心として比較検討を加えたが、以下前述の成績に2, 3の考察を加えてみたい。

エラスターゼの至適pHについては、Hall及びGardiner⁷⁾はpH8.7~9.2を、Sachar⁹⁾等はpH 8.7~9.4としている。著者の成績ではpH 8.4~8.9で、多少のずれはあるがほぼこれらの成績と一致した。Lansing²⁾はNile-blueで染色したエラスチンを基質として用いた場合、37°C、10~20分でかなりよく消化されるとしているが、オルセイン染色エラスチンを用いた著者の実験でも、同様の傾向を認めた。また消化により溶出したオルセイン濃度と、消化されたエラスチン重量の間に直線関係があり、本消化試験法はエラスターゼ活性の定量法として充分使用し得ることを確かめた。

一方エラスターゼと動脈硬化症発生の関係を実験的に直接証明しようとする試みが幾つか行なわれて来ている。Lansing⁹⁾等はコレステロール飼育家兎にエラスターゼを経口的に投与し、アテローム形成に及ぼす影響を検討し、エラスターゼ投与がアテローム形成に抑制的に働くと報告している。Tennent⁶⁾等はコレステロール飼育家鶏にエラスターゼの経口投与及び筋注を行ない、本酵素は家鶏の体重減少、 α -Lipoprotein及びコレステロールの軽度の増加を来すが、アテローム形成には何等の影響を及ぼさないとしている。精製エラスターゼ溶液を、連日コレステロール投与家兎に静注した著者の成績でも、本酵素の動脈硬化症発現に対する影響は殆ど認められなかった。

しかしながらエラスターゼには、結合性マクロマダー物質を切断遊離させる作用があり、この結果清浄作用を活性化させる可能性も充分予想されるので、これ等の実験成績のみから直ちに両者の関係を否定することはできない。

血中及び血管壁中に微量なエラスターゼを証明することが非常に難しいので、一方では血中のエラスターゼ抑制物質から、本酵素の代謝面の探索が行なわれている。Benetz³⁾等は人、家兎、牛の血清中にエラスターゼ抑制物質が存在することを報告しているが、本抑制物質の本質に触れた業績は今までのところ殆ど見当らない。

い。著者も人、家兎の血清に抑制物質の存在を確認し得たが、人血清中の本物質は非透析性で、殆どがAlbuminと α_1 -globulin分劃に含まれ、極めて僅かな量が α_2 -, β -, α -globulinに分布していることを明らかにし得た。しかしながら血清各蛋白分劃の分離精製に濾紙泳動法を用いたため、3つのglobulinに含まれる抑制物質は、Albuminのtailingによるcontaminationに由来する可能性も否定出来ない。またこの血清中の抑制物質はLewisやWilliams¹⁰⁾が脾臓中に見出した物質とは、透析性の点で全く別個の物で、大部分が非オイグロブリン分劃に含まれ、加熱によりその抑制能を殆ど失うことから恐らく蛋白質であると考えられるが、血清総蛋白量との相関が認められない点からはAlbumin及び α_1 -globulin分劃の質的な面にかなり密接なつながりのあることが予想される。エラスターゼに対する塩類の阻害では、Ca塩が抑制作用を示すが、人の血清中の抑制物質は透析により殆ど活性を失わないことから、血清中のCaが抑制物質の本態でないことは明白である。

血管壁とエラスターゼの関係については、Benitz⁹⁾等が本酵素によるエラスチンの消化融解と、メタクロマゼー物質の消失を組織学的に証明している。また村上,^{11,12)}堀堀¹⁴⁾等は大動脈壁中のメタクロマゼー陽性のヘパリン様物質の存在を確認し、本物質が硬化の進むにつれて減少することを認めている。これ等の成績からヘパリンが脂質代謝とのつながりを持ちながら、エラスチンの消長に影響を及ぼす可能性も予想せられるので、ヘパリン静注後のエラスターゼ抑制物質の変動を観察したが著明な変化は認められなかった。しかしながら、人の大動脈で硬化ある部位では、正常な部位に比してエラスターゼ抑制物質の減少が著明で、硬化の進むにつれて、この傾向は著明であった。

ラノリン投与家兎を用いた実験的動脈硬化症でも、硬化の進展につれて血中エラスターゼ抑制物質の減少が認められた。人血清についても同様年令の増加するにつれて、エラスターゼ抑

制物質が減少し、動脈硬化症発現頻度の高い高齢者ではこの傾向が更に明白となる。また眼底所見との関係でも、硬化度の強いものでは減少が高度で、糖尿病、冠疾患、脳循環障碍、高血圧症等の動脈硬化と関連の深い疾患では、いずれも正常人に比して減少がみとめられた。更に心電図上冠疾患に由来するST-Tに変化のみとめられる異常所見群でも、正常所見群に比して減少がみとめられた。これ等の成績は動脈硬化症患者ではエラスターゼ抑制物質が減少するであろうとするBaLó等の見解を支持する。

現在なお人血中や動脈壁中にエラスターゼの存在を証明し得る実験的根拠が得られないため、結論を急ぐことはつつしまねばならないが、上述の幾つかの知見は、動脈硬化症の進展にエラスターゼ抑制物質が関与している一つの証左を示唆しているものといえよう。

結 語

エラスターゼについて、酵素学的な2, 3の基礎的事項及び血清エラスターゼ抑制物質を中心に、動脈硬化症を実験的、臨牀的な面から考察を加え、次の結果を得た。

- 1) エラスターゼの至適pHは8.4~8.9であった。
- 2) エラスターゼはカルシウム塩により阻害を受ける。
- 3) 人、家兎血清中には、エラスターゼ抑制物質が存在する。本物質は血清蛋白中Albumin, α_1 -globulin分劃にその殆どが含まれ、非透析性で、非オイグロブリンに属し、加熱により容易にその活性を喪失する。
- 4) エラスターゼ抑制物質と、血清総蛋白量との間には有意の相関は認められない。
- 5) エラスターゼ抑制物質はヘパリンにより影響を受けない。
- 6) ラノリン投与家兎では動脈硬化症の進展と共に、血清エラスターゼ抑制物質は減少する。
- 7) 眼底動脈の硬化所見の顕著なものでは、

エラスターゼ抑制物質の減少が著明であった。

8) 心電図でST-Tに変化のみられる異常所見者群では、正常所見者群よりもエラスターゼ抑制物質は低値を示した。

9) 各種疾患の血清エラスターゼ抑制物質を測定し、狭心症、心筋硬塞、糖尿病、脳循環障害、高血圧症において低値を認めた。

10) 剖検時採取した人の大動脈を用いて、硬化部位と硬化所見のない部位のエラスターゼ抑制物質量を測定し、硬化所見のある部位では、本物質の低下するのを認めた。

11) 以上の成績からエラスターゼ抑制物質は動脈硬化症の進展に、相当な役割を演じているものと考えられる。

本論文の要旨は昭和31年12月第1回日本シエントロジー学会、及び昭和32年4月第54回日本内科学会に発表した。

稿を終るに臨み御懇篤なる御指導御校閲を賜った恩師村上元孝教授並びに中尾喜久教授並びに種々御援助下さった岸本道太助教授及び終始多くの有益な御助言を与えられ直接御指導下さった関本博士に厚く感謝の意を表する。

文 献

- 1) Baló, J. & Banga, I.: *Schweij. Z. Path.*, 12: 350, 1949.
- 2) Lansing, A. I., Rosenthal, M. A. & Dempsey, E. W.: *Anat. Rec.*, 114: 555, 1952.
- 3) Benitz, K. F.: *Arch. exp. Path. u. Pharmacol.*, 225: 551, 1955.
- 4) Baló, J. & Banga, I.: *Nature*, 164: 491, 1949.
- 5) Baló, J. & Banga, I.: *Acta physiol. acad. Scient. hungar.*, 4: 187, 1953.
- 6) Sachar, L. A., Winter, K. K., Sicher, N. & Frankel, S.: *Exp. Biol. & Med.*, 90: 323, 1955.
- 7) Hall, D. A. & Gardiner, J. E.: *Biochem. J.*, 59: 465, 1955.
- 8) Lansing, A. I.: *J. Gerontol.* 9: 362, 1954.
- 9) Tennent, D., Zenetti, M. E., Ott, W. H. & kuron, G. W.: *Science* 124: 588, 1956.
- 10) Lewis, U. J., Williams, D. E. & Brink, N. G.: *Biol. chem. J.*, 222: 711, 1956.
- 11) 村上元孝他: *綜合臨床*, 6: 150, 1957.
- 12) 村上元孝他: *診断と治療*, 45: 22, 1957.
- 13) Hall, D. A., Reed, R. & Thunbridge, R. E.: *Nature*, 170: 264, 1952.
- 14) 堺堀四郎: *日本循環器学誌*, 23(2): 198, 1959.
- 15) Lewis, U. J., Williams, D. E. & Brink, N. G.: *Biol. chem. J.* 234(9): 2304, 1957.

STUDIES ON ARTERIOSCLEROSIS WITH RESPECT TO ELASTASE-INHIBITOR IN THE SERUM

Yoshinobu TSUKAGOSHI: 2nd Department of Internal Medicine, School of Medicine, Gunma University. (Directors: Prof. Mototaka Murakami, Prof. Kiku Nakao)

The writer has presented his studies on arteriosclerosis from an angle of elastase which is closely connected with the proliferation and destruction of elastin in the artery. Special attention has been given to an elastase-inhibitor in the serum and the findings are as follows:

1. Optimal pH of elastase was from 8.4 to 8.9.
2. The Ca-Salt inhibits elastase activity.

3. Elastase-inhibitor exists in the serum of both men and rabbits. This material is for the most part found in both albumin fraction and α_1 -globulin fraction of the serum protein; it is unstable under heating and its activity is lost by heating (over 60°C); this material has little to do with the quantity of the serum total protein, nor is it influenced by administering heparin injection.

4. In the case of the rabbits which were fed adeps lanae, the more serious arteriosclerosis is, the less serum elastase-inhibitor exists.

5. Elastase-inhibitor in the group which shows serious sclerosis in eyeground exists less than in the group which shows no sclerosis in eyeground.

6. The decline of elastase-inhibitor in the abnormal electrocardiographic group was stronger than in the normal group.

7. The decline of serum elastase-inhibitor is seen in various diseases which were closely related to arteriosclerosis. And in the human aorta, the decline of elastase-inhibitor was greater where sclerosis was clear than in a normal part.

8. From said findings, it is inferred that elastase-inhibitor plays a considerable part in clarifying cause of arteriosclerosis.