エラスターゼ（弾性線維分解酵素）の抗動脈 硬化作用について

京都府立医科大学第一内科学教室（指導 吉田秀雄教授）

大 澤 旭

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE EFFECT OF ELASTASE ON ATHEROSCLEROSIS

Akira OSAWA

The First Department of Internal Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine
(Director: Professor Hideo Yoshida)

概要 19世紀中葉から動脈硬化成立の第一因は血液成分の異常にあるとする説が主導的で、内膜の異常も考えられたが、その意義は二次的であるとされた。1935年にDuffがアテローム硬化の成立は血管壁のなんらかの傷害が先発すると唱えてから、この学説の支持者も多く、今日では動脈内膜にmetabolic barrierの存在を仮定するに至り、その損傷をもつて硬化成立の第一因と考えるに至つたが、損傷因子を酸素欠乏等の外的因子に求めている。この外因性という点に疑問を持つ著者は、一つの内因性物質（脾臓エラスターゼ）に抗動脈硬化作用のあることを示し、その生体内での相対的または絶対的欠乏が、metabolic barrierの機能低下と関連し、傷害血管の発生にあずかると考える。コレステロール投与中の雄性家兎に連日エラスターゼ（10mgおよび2mg）を筋注投与し、2カ月後その家兎の血清、大動脈、肝の脂質を抽出し、脂質量、総脂質の脂酸構成、アテロームの形成状況、分画脂質脂酸構成を観察した。アテロームの形成は阻止され、血清の脂質の降下はなかつたが、動脈壁の総コレステロール、中性脂肪は減じ、磷脂質は増加した。また、脂酸構成は血中においても、組織においても改善した。健常家兎とコレステロール投与家兎との血清、大動脈および肝の分画脂質脂酸構成の分析によつて、動脈壁に生理的にmetabolic barrierの存在することを推論し、エラスターゼがこの機構の保護にあずかつていと推定した。別に、実験的アテローム硬化家兎を作製し、その後にエラスターゼ（10mg）を連日投与し、アテロームの回復状況を観察したが、その作用は緩徐であつた。

I. 緒 言

Arteriosclerosisは、有史以来人類にみられる疾患である。1833年にLobsteinが今日用いられるよりはより広義の意味で、この言葉を用いたが、これが近代医学にarteriosclerosisという用語の登場する端緒となつた。初期においても今日と同様

に、arteriosclerosisへの興味はそのpathogenesisにおいて大きく展開された。まず、1841年にRokitanskyがその成因として動脈壁の血栓形成を第一因と唱えたが、Virchowの反論に耐えず、この学説は1946年にDuguidが再発見するまで100年間忘却された。Virchowは、代つて、内膜浮腫説を唱えたのであるが、これは今世紀初頭に至るまで硬化成立にかんする主導的な学説として斯界に受け入れられて来たのである。今日においても

〔昭和44年11月29日受稿〕

1967年（名古屋）、1968年（札幌）の日本老年医学会総会でこの論文の要旨は発表した。

Bredtらにより支持されている⁸⁾。その主張するところは⁷⁾、血漿成分が動脈内膜へ侵入し、内膜に肥厚(Lockerung)を生ぜしめ、内膜にアテローム硬化病変を形成せしめるとする。1913年に至つてAnitschkowがコレステロール投与家兎が実験的アテローム硬化を容易に起こすことを発見してから、脂質沈着説が重要な学説となつた。この学説においては、コレステロールの病毒性が主張され、Learyは、コレステロールが病原性細菌のように、コッホの条件を満たすことを論じた(1936)。

Rokitanskyにおいては無論のこと、Virchow一派においても、Anitschkow一派においても硬化成立の第一因を血液成分、血漿成分または血清脂質に求めようとする傾向があり、1935年にその点にかんして、Duffから反論があり⁹⁾、血液成分の異常は硬化成立に重要な因子であることを認めつつも、Duffは第一因を血管壁のなんらかの傷害(some kind of injury)であると指摘した⁹⁾。この“血管壁の傷害の先発”という考えの支持者は多く、そして血管壁の傷害を論ずるに当つて、傷害を受ける「坐」の存在を考える必要が生じ、血管内膜に、血中脂質の内膜への侵入を制御するmetabolic barrier (Zilversmit, 1966)¹⁰⁾、defence mechanism (Zemplenyi, 1967)¹¹⁾、blood-tissue barrier (Lindner, 1969)¹²⁾等の存在が仮定された。この機構を障害する具体的因子として、Zemplenyiは、動脈壁の酵素学的見地から結論して、それを酸素欠乏にありとしたが、酸素欠乏の原因は説明せず、さらに硬化巣における酵素学的変化と硬化巣との因果関係は不明であるとした。酸素欠乏によるというこの考えの根底には、barrierの障害因子を外因性と考えer思想がみられ、このことはすでに失敗したコレステロール病毒説とその本質が変わらない。

Barrierという機能が存在するならば、必ずこの機能をになう物質群の存在があるはずであり、barrierの機能の低下は必ずこれら物質群の量的または質的な変化を意味するであろう。わたくしはbarrierという機能の存在を認め、この機能を

になう物質群として、ムコ多糖体～エラスターゼ系を推定し、エラスターゼの体内における意義を示すために、エラスターゼ処理家兎を作製し、その動脈壁内の諸変化を脂質代謝の局面から解析した。

II. 実験対象および実験方法

(1) 実験動物の作製

実験動物として、体重 2.5～3.0kgの白色雄性家兎を用い、市販家兎用固形食(以下フ食と略す)を1日1羽当り100gで10日間飼育し、飼料に慣らしたのちに、実験を開始した。5羽ずつ6群を作り、I群は直ちに屠殺、II群は上記のフ食に1.5%の割合にコレステロールを添加調製した固形飼料(以下コ食と略す)で2カ月飼育後屠殺、III群は2カ月コ食を与え、同時に、ブタバパクレアチンより抽出せるエラスターゼ(弾性線維分解酵素、純度50%)10mgを生食水1ccに溶解して、1日1回連日殿筋に筋注射与したのちに屠殺、IV群はコ食2カ月投与と同時にエラスターゼ2mgを1mlの生食水に溶解して1日1回連日筋注射与後屠殺、3群はコ食2カ月投与したのちにフ食で1カ月飼育して屠殺、4群はコ食で2カ月飼育したのちにフ食で飼育しつつ、エラスターゼを10mg1ccの生食水に溶かして1日1回1カ月筋注射与後屠殺(1群はI群と、2群はII群と共通)、I～IV群は実験前および2カ月後に、3群、4群は実験前、2カ月後、3カ月後に、12時間の絶食をさせのちに、耳静脈から採血、各群の家兎は屠殺後直ちに開腹、門脈より生食水灌流を行なつて、肝内血液をできるだけ排除したのちに、大動脈、肝、腹壁脂肪組織を取り出し、大動脈は周囲組織とともに外膜を剝離し、各臓器を秤量後(湿重量)、おのおの乳鉢に入れ、ブロア液を少量加えて、大動脈にはさらに石英砂を加えて、磨碎し脂質の抽出を行なつた。

(2) 脂質の抽出、分離、測定

血液は血清を分離し、可及的速やかに、Dole法でNEFAを測定し、総コレステロール(以下CHと略す)はZurkowski変法で測定し、中性脂肪

Table 1. Lipids and fatty acid composition (prophylactic).

SERUM	I	II	III	IV
Total cholesterol (mg/dl)	57 (7)	1502 (278)	1127 (134)	572 (127)
NEFA (mEq/l)	520 (127)	639 (69)	536 (208)	666 (59)
Triglyceride (mg/dl)	15 (5)	143 (52)	158 (68)	43 (5)
Phospholipid (mg/dl)	92 (10)	335 (97)	402 (210)	280 (120)
C 14:0 (%)	0.9 (0.1)	1.1 (0.2)	0.8 (0.1)	1.0 (0.2)
C 16:0	25.4 (1.8)	25.3 (3.3)	24.7 (3.8)	22.0 (4.3)
C 16:1	3.3 (0.9)	8.1 (2.2)	4.7 (1.0)	5.9 (1.5)
C 18:0	10.1 (1.8)	7.7 (4.1)	7.2 (1.1)	8.1 (1.4)
C 18:1	21.4 (2.8)	37.0 (2.5)	31.5 (5.7)	31.0 (7.1)
C 18:2	32.0 (3.1)	16.3 (2.4)	26.5 (4.6)	27.1 (4.5)
C 18:3	4.3 (0.8)	2.9 (0.5)	3.1 (0.8)	3.3 (0.5)
C 20:4	2.6 (0.5)	1.6 (0.5)	1.4 (0.9)	1.6 (0.5)
L/O	1.58 (0.36)	0.45 (0.08)	0.85 (0.28)	0.88 (0.16)
Saturated, mono-ene (%)	61.1	79.2	68.9	68.0
Polyunsaturated (%)	38.9	20.8	31.1	32.0
Body Weight (kg) final		3.08 (0.39)	2.67 (0.15)	2.78 (0.11)
AORTA THORACICUS	I	II	III	IV
Total cholesterol (mg/g)	1.77 (0.53)	2.70 (1.22)	2.51 (1.52)	1.60 (0.69)
Triglyceride (mg/g)	1.09 (0.58)	6.60 (0.51)	6.42 (5.25)	0.60 (0.40)
Phospholipid (mg/g)	2.27 (0.35)	1.07 (0.82)	1.20 (0.91)	3.00 (1.97)
C 14:0 (%)	2.9 (0.6)	3.8 (0.8)	3.4 (0.7)	3.3 (1.3)
C 16:0	31.8 (6.8)	31.6 (6.9)	32.8 (2.4)	24.2 (10.1)
C 16:1	4.8 (1.1)	7.5 (1.6)	3.9 (0.3)	4.4 (2.7)
C 18:0	9.5 (2.4)	6.2 (1.5)	8.9 (0.9)	10.8 (6.0)
C 18:1	21.3 (2.9)	26.8 (4.8)	25.6 (7.1)	29.4 (4.2)
C 18:2	19.9 (4.6)	17.7 (1.7)	19.9 (2.7)	21.3 (8.1)
C 18:3	5.7 (0.9)	3.4 (0.3)	3.8 (0.4)	3.4 (2.4)
C 20:4	4.1 (1.6)	3.0 (2.8)	1.7 (1.4)	3.2 (1.4)
L/O	0.93 (0.13)	0.68 (0.10)	0.82 (0.12)	0.76 (0.29)
Saturated, mono-ene (%)	70.3	75.9	74.4	72.1
Polyunsaturated (%)	29.7	24.1	25.6	27.9
LIVER	I	II	III	IV
Total cholesterol (mg/g)	2.17 (0.35)	12.36 (2.97)	7.82 (2.00)	6.30 (2.98)
Triglyceride (mg/g)	0.04 (0.66)	16.45 (0.01)	0.76 (0.48)	0.08 (0.07)
Phospholipid (mg/g)	11.50 (7.73)	5.02 (2.95)	6.71 (3.57)	2.20 (0.76)
C 14:0 (%)	3.5 (0.9)	1.4 (0.1)	1.1 (0.1)	1.1 (0.6)
C 16:0	26.6 (2.3)	19.7 (2.7)	28.0 (4.0)	27.8 (7.3)
C 16:1	4.2 (1.1)	8.7 (2.1)	3.2 (0.7)	4.9 (1.7)
C 18:0	8.7 (1.9)	7.1 (1.9)	14.0 (1.9)	12.8 (2.9)
C 18:1	23.5 (1.8)	49.2 (5.4)	26.6 (4.0)	28.9 (5.3)
C 18:2	25.1 (0.8)	10.4 (2.2)	32.2 (1.9)	20.8 (3.8)
C 18:3	3.8 (1.5)	1.6 (0.2)	1.5 (0.4)	2.0 (0.3)
C 20:4	4.6 (2.0)	1.9 (0.6)	2.4 (1.1)	2.1 (1.6)
L/O	1.22 (0.11)	0.22 (0.06)	0.87 (0.20)	0.76 (0.42)
Saturated, mono-ene (%)	66.5	86.1	72.9	75.5
Polyunsaturated (%)	33.5	13.9	27.1	24.5

（以下TGと略す）はVan Handel-Zilversmit法の福井変法で、燐脂質は（以下PLと略す）Fiske-Sabbarow法で測定した。

脂酸構成をみるために、血清1ccから脂質を20倍量のブロア液で2回加温抽出を行ない、最終抽出を石油エーテルで行なつて、抽出された脂質を10%苛性カリメタノールで鹸化し、不鹸化物を除去したのち、2%硫酸メタノールで脂酸のメチルエステルを作り、ガスクロマト用の試料とした（総脂質脂酸構成）。

家兎の臓器は前述のように磨碎し、微細泥状となつたものを約30mlのブロア液で有栓遠沈管に移し、密栓して一晚冷暗所に保存し、その後、血清の場合と同様に抽出し、抽出液に0.5%NaCl溶液を20cc加えて石油エーテル層を分離、残液を石油エーテルで抽出し、この脂質の石油エーテル液を一定量とり、CHはZack-Henryの柴田変法で、TGは福井法で、PLはFiske-Sabbarow法で測定した。ガスクロマト用の試料は、この脂質溶液を血清の場合と同様に処理してメチルエステルを

Table 2. Lipids and fatty acid composition (prophylactic).

AORTA ABDOMINALIS	I	II	III	IV
Total Cholesterol (mg/g)	2.75 (0.74)	1.85 (0.77)	1.84 (0.36)	1.60 (0.35)
Triglyceride (mg/g)	1.14 (0.47)	18.99 (0.62)	9.62 (5.70)	0.75 (0.57)
Phospholipid (mg/g)	2.13 (0.81)	1.21 (0.32)	0.83 (0.23)	3.73 (3.19)
C 14:0 (%)	4.2 (1.3)	4.0 (0.4)	3.2 (0.2)	5.5 (1.1)
C 16:0	34.0 (4.0)	30.8 (5.1)	33.9 (1.4)	39.2 (6.6)
C 16:1	5.3 (0.5)	9.8 (2.0)	4.4 (1.0)	6.7 (1.7)
C 18:0	8.0 (2.2)	5.8 (1.2)	9.5 (1.1)	9.9 (3.2)
C 18:1	22.0 (2.7)	26.6 (1.7)	24.6 (0.8)	20.8 (3.8)
C 18:2	19.7 (3.4)	18.1 (2.2)	19.7 (2.5)	14.0 (6.1)
C 18:3	5.2 (1.1)	3.5 (0.7)	3.2 (1.0)	2.2 (0.9)
C 20:4	1.6 (0.6)	1.4 (1.0)	1.5 (1.6)	1.9 (1.6)
L/O	0.90 (0.10)	0.86 (0.06)	0.80 (0.11)	0.52 (0.24)

DEPOT. FAT	I	II	III	IV
C 14:0 (%)	3.2 (0.4)	3.5 (0.5)	4.0 (0.7)	3.7 (0.9)
C 16:0	31.4 (2.6)	30.2 (2.3)	31.6 (2.6)	34.7 (9.1)
C 16:1	4.0 (0.9)	7.9 (1.6)	3.7 (0.5)	5.9 (2.1)
C 18:0	7.5 (5.2)	6.7 (2.8)	7.4 (0.7)	7.4 (5.2)
C 18:1	21.1 (5.2)	26.5 (3.1)	24.7 (0.4)	23.7 (7.5)
C 18:2	24.2 (1.5)	18.7 (2.5)	24.5 (3.9)	20.2 (9.0)
C 18:3	8.2 (2.4)	6.4 (3.2)	4.1 (0.2)	3.4 (1.9)
C 20:4	0.3 (2.4)	trace	trace	1.0 (0.7)
L/O	1.16 (0.69)	0.71 (0.10)	0.99 (0.16)	0.91 (0.42)

作った。

また、各脂質の分画の脂酸構成をみるために、血清および臓器の脂質抽出液の一定量を取り、1群ごとに合わせて、珪酸カラムクロマトグラフィで各分画脂質に分け、その各分画を上記の方法で、鹼化およびエステル化を行なつて、ガスクロマト用の試料を調製した（分画脂質脂酸構成）。

(3) 実験的アテローム硬化の発症の程度の表現法

実験的アテローム硬化の発症の程度の数量的表現法として、全大動脈内面積に対するアテロームの面積百分率を算出し、これから表3のように6度に分けて客観的表現を試みた。

III. 実験成績

(1) 実験的粥状硬化家兎における脂質代謝およびアテローム形成度(表1, 表2, 表3)

健常家兎と実験的アテローム硬化家兎との血清および臓器の脂質量および総脂質脂酸構成を表1, 表2のI群およびII群の項にそれぞれ示す脂質の量的変化は、血清ではCH, TG, PL

Table 3. Atheroma-Formation.

Group	No. of Rabbit (Grade of Atheroma)	Grade	Portion of Atheroma
I	C ₁ (O) C ₂ (O) C ₃ (O) C ₄ (O) C ₅ (O)	O	0 %
II	C ₁ (c) C ₂ (O) C ₃ (e) C ₄ (e) C ₅ (d)	a	~ 2.4
III	E ₁ (b) E ₂ (b) E ₃ (b) E ₄ (O)	b	2.5~ 4.9
IV	E ₁ (O) E ₂ (O) E ₃ (a) E ₄ (a) E ₅ (a)	c	5.0~ 9.9
3	E ₆ (c) E ₇ (a) E ₈ (d) E ₉ (c)	d	10.0~19.9
4	E ₁₀ (c) E ₁₁ (b) E ₁₂ (O) E ₁₃ (e) E ₁₄ (d)	e	20.0~

は硬化家兎には著しく増加し、NEFAは軽度増加する。大動脈では、PLは減じている。肝でもCH, TGが増加し、PLが減じている。

総脂質脂酸構成は、健常家兎に比べて、硬化家兎では、血清でパルミトオレイン酸(C_{16:1})、オレイン酸(C_{18:1})の百分比の増加が著しく、リノール酸(C_{18:2})、リノレン酸(C_{18:3})、アラキドン酸(C_{20:4})が著しく減じ、いずれも推計学的に有意の差をもつて認められた(p<0.05)。胸部および腹部大動脈、および脂肪組織ではほぼ血清のものに一致する脂酸構成がみられた。肝ではそのほかにパルミチン酸の百分比が減じている。なお()

Table 4. Fractioned fatty acid composition (prophylactic).

SERUM %	CE-Fraction				TG-Fraction				PL-Fraction			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
C 14 : 0	1.1	0.1	0.6	0.6	1.0	0.2	2.0	3.6	2.2	0.1	1.9	1.1
C 16 : 0	23.6	17.3	28.8	23.4	37.4	34.9	45.1	12.7	28.7	27.0	28.7	31.8
C 16 : 1	3.5	10.3	3.7	6.5	4.9	10.7	3.7	7.2	5.6	3.2	3.1	2.6
C 18 : 0	4.5	4.1	7.6	5.6	6.0	3.5	4.8	6.4	23.1	16.5	20.6	14.5
C 18 : 1	20.2	50.5	31.8	39.3	21.9	31.7	21.6	37.3	15.4	18.2	13.8	16.5
C 18 : 2	40.1	13.8	23.0	18.9	22.8	15.5	20.8	28.1	20.0	29.7	25.8	26.9
C 18 : 3	4.5	3.1	3.9	4.6	4.6	2.9	2.0	3.9	1.5	1.5	1.6	2.6
C 20 : 4	2.5	0.8	0.6	1.1	1.4	0.6	tr.	0.8	3.5	3.8	4.5	4.0
S-FA	52.9	82.3	72.5	75.4	71.2	81.0	77.2	67.2	75.0	65.0	68.1	66.5
P-FA	47.1	17.7	27.5	24.6	28.8	19.0	22.8	32.8	25.0	35.0	31.9	33.5
L/O	1.84	0.27	0.72	0.48	1.23	0.49	0.96	0.75	1.32	1.36	1.87	1.57
AORTA THOR. %	CE-Fraction				TG-Fraction				PL-Fraction			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
C 14 : 0	4.0	2.3	1.9	—	3.0	4.5	4.4	4.8	2.4	4.7	3.7	8.5
C 16 : 0	27.0	21.1	25.5	—	33.2	31.8	37.3	55.1	33.1	30.0	38.5	56.6
C 16 : 1	6.7	7.9	5.5	—	4.1	9.0	4.5	4.2	5.7	5.6	4.4	3.7
C 18 : 0	10.6	5.5	6.9	—	6.5	5.9	8.0	9.5	16.4	16.4	20.6	19.9
C 18 : 1	24.2	50.5	35.4	—	21.0	24.4	22.8	18.1	26.6	22.2	15.3	4.1
C 18 : 2	21.3	10.1	21.8	—	24.8	19.0	19.1	6.7	10.0	12.6	7.0	2.4
C 18 : 3	3.6	2.9	2.8	—	7.0	4.9	3.9	1.5	1.2	2.2	tr.	2.2
C 20 : 4	2.6	0.2	0.2	—	0.4	0.5	tr.	0.1	4.6	6.3	10.5	2.6
S-FA	72.5	86.8	75.2	73.4	67.8	75.6	77.1	91.7	84.2	78.9	82.5	92.8
P-FA	27.5	13.2	24.8	26.6	32.2	24.4	23.0	8.3	15.8	21.1	17.5	7.2
L/O	0.88	0.20	0.62	—	1.30	0.78	0.84	0.38	0.80	0.57	0.46	0.57
LIVER %	CE-Fraction				TG-Fraction				PL-Fraction			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
C 14 : 0	4.7	1.4	0.9	1.3	3.2	3.6	2.5	3.3	0.4	3.0	1.7	3.6
C 16 : 0	19.8	16.7	28.7	36.4	40.6	27.8	50.9	56.9	23.8	25.1	26.5	32.6
C 16 : 1	4.6	11.6	4.2	16.2	4.8	10.0	3.3	4.4	1.6	4.8	2.2	4.3
C 18 : 0	6.0	4.7	8.4	8.8	8.4	10.5	8.6	6.8	21.4	20.3	28.2	19.0
C 18 : 1	43.2	54.4	40.9	18.5	23.9	35.8	20.1	19.4	14.0	21.1	12.5	12.3
C 18 : 2	6.0	8.4	14.0	15.3	15.4	8.0	10.9	7.4	29.0	18.3	25.7	27.4
C 18 : 3	0.7	2.5	2.2	3.1	1.5	1.9	2.3	1.6	1.3	2.1	1.0	0.3
C 20 : 4	15.0	0.3	0.7	0.4	2.2	2.4	1.4	0.2	8.5	5.3	2.2	0.5
S-FA	78.3	88.8	83.1	81.2	80.9	87.7	85.4	90.8	61.8	74.3	71.1	71.0
P-FA	21.7	11.2	16.9	18.8	19.1	12.3	14.6	9.2	38.2	25.7	28.9	28.2
L/O	0.14	0.15	0.34	0.83	0.64	0.31	0.54	0.32	2.07	0.87	2.06	2.22

S-FA (Saturated and mono-enoic fatty acids)

P-FA (Polyunsaturated fatty acids)

内は標準偏差を示す

アテロームの形成状況は表3のようにI群では全く認めないが、II群では高度の形成をみた。

(2) エラスターゼ投与によるアテローム硬化阻止実験(表1, 表2, 表3)

コレステロール投与と同時にエラスターゼを投与した家兎群の血清および臓器の脂質および総脂質脂酸構成を表1, 表2のIII群(エラスターゼ10mg)とIV群(エラスターゼ2mg)の項に示す

脂質の変化は血清, 大動脈, 肝のいずれにおいても, III群およびIV群は, I群(正常群)とII群(コレステロール投与群)との中間の値を示して

いる。ただ血清では, III群, IV群の値はI群よりもII群の値に近い。したがってエラスターゼには血清脂質降下力は弱いといえる。総脂質脂酸構成の変化は, L/O比に端的に表現されているように, おおむね, III群およびIV群の値はI群とII群の中間の値を示す。さらに大動脈のアテロームの形成は, 表3に示すように, II群よりは軽く, I群より強い。すなわち, エラスターゼによりアテロームの形成が阻止されている。

(3) 実験的アテローム硬化家兎における分画脂質脂酸構成(表4, 表1; 表5, 表6, 図A) 表4は実験的アテローム硬化家兎の血清, 胸部

Table 5. Saturated, mono-ene and polyunsaturated in fatty acid composition (prophylactic).

	fr.	Saturated and mono-ene (S)				Polyunsaturated (P)			
		I	II	III	IV	I	II	III	IV
SERUM	TF	61.1	79.2	68.9	68.0	38.9	20.8	31.1	32.0
	CE	52.9	82.3	72.5	75.4	47.1	17.7	27.5	24.6
	TG	71.2	81.0	77.2	67.2	28.8	19.0	22.8	32.8
	PL	75.0	65.0	68.1	66.5	25.0	35.0	31.9	33.5
		%				%			
AORTA THO.	TF	70.3	75.9	74.4	72.1	29.7	24.1	25.8	27.9
	CE	72.5	86.8	75.2	73.4	27.5	13.2	24.8	25.6
	TG	67.8	75.6	77.1	91.7	32.2	24.4	23.0	8.3
	PL	84.2	78.9	82.5	92.7	15.8	21.1	17.5	7.2
		%				%			
LIVER	TF	66.5	86.1	72.9	75.5	33.5	13.9	27.1	24.5
	CE	78.3	88.8	83.1	81.2	21.7	11.2	16.9	18.8
	TG	80.9	87.7	85.4	90.8	19.1	12.3	14.6	9.2
	PL	61.8	74.3	71.1	71.8	38.2	25.7	28.9	28.2
		%				%			

大動脈, 肝のコレステロールエステル (以下CEと略す) 分画, TG分画, PL分画についての分画脂質脂肪酸構成である。分析の対象とした代表的脂酸8種のうち, 体内合成可能な脂酸(飽和およびmonoene)をS脂酸と呼び, 多価不飽和脂酸をP脂酸と呼ぶことにする。前者に属するものは, ミリスチン酸 ($C_{14:0}$), パルミチン酸 ($C_{16:0}$), パルミトオレイン酸, ステアリン酸 ($C_{18:0}$), オレイン酸の5種であり, 後者に属するものは, リノール酸, リノレン酸, アラキドン酸の3種である。

表1および表4から, S脂酸およびP脂酸の項の数値を取り出して整理すると表5のようになる。この表5において, 各脂質分画ごとに, I群を基準としたII群, III群, IV群の増減をS脂酸については ΔS , P脂酸については ΔP として整理

Table 6. Deviation of fatty acid composition from normal.

	fr.	ΔS of Saturated, mono-ene			ΔP of Polyunsaturated		
		II	III	IV	II	III	IV
SERUM	TF	+18.1%	+7.8%	+6.9%	-18.1%	-7.8%	-6.9%
	CE	+29.4	+19.6	+22.5	-29.4	-9.6	-22.5
	TG	+19.8	+6.0	-4.0	-19.8	-6.0	+4.0
	PL	-10.0	-6.9	-8.5	+10.0	+6.9	+8.5
AORTA THO.	TF	+5.6	+4.1	+1.8	-5.6	-4.1	-1.8
	CE	+14.3	+2.7	+0.9	-14.3	-2.7	-0.9
	TG	+7.8	+9.3	+23.9	-7.8	-9.3	-23.9
	PL	-5.3	-1.7	+8.5	+5.3	+1.7	-8.5
LIVER	TF	+19.6	+6.4	+9.0	-19.6	-6.4	-9.0
	CE	+10.5	+4.8	+2.9	-10.5	-4.8	-2.9
	TG	+6.8	+4.5	+9.9	-6.8	-4.5	-9.9
	PL	+12.5	+9.3	+10.0	-12.5	-9.3	-10.0

すると表6のようになる。

表6においてまず, 硬化家兎群 (II群) の ΔP (または ΔS)の数値に注目すると臓器ごとの四つの ΔP (または ΔS)の値に興味ある組合せをみる。すなわち, 血清では, 総脂質脂肪酸構成 (TF) の $\Delta P = -18.9\%$, CEの $\Delta P = -29.4\%$, TGの $\Delta P = -19.8\%$, PLの $\Delta P = +10.0\%$ となっており, 胸部大動脈では, TFの $\Delta P = -5.6\%$, CEの $\Delta P = -14.3\%$, TGの $\Delta P = -7.8\%$, PLの $\Delta P = +5.3\%$ であり, 肝ではTFの $\Delta P = -19.6\%$, CEの $\Delta P = -10.5\%$, TGの $\Delta P = -6.8\%$, PLの $\Delta P = -12.5\%$ となっている。 ΔS はいずれも対応する ΔP と絶対値が等しく符号が反対である。ここで気付くことは, 血清と大動脈とでは, TF, CE, TG, PLの

Fig. A₁. Serum. Fig. A₂. Aorta thoracicus. Fig. A₃. Liver.

Fig. B₁. Serum. Fig. B₂. Aorta thoracicus. Fig. B₃. Liver.

ΔP （または ΔS ）の符号の組合せが等しく、肝では異なっているという特徴である。この関係を図示したものが、Ⅱ群については、図Aであり、Ⅲ群については図Bであつて、硬化成立に伴う各

脂質分画の ΔS および ΔP の変化の方向が血清と大動脈と一致し、肝で異なっていることが明瞭となる。Ⅳ群については図示しなかつた。

(4) エラスターゼ投与による阻止実験の分画

Table 7. Lipids and fatty acid composition (recovery).

SERUM	1	2	3	4
Total cholesterol (mg/dl)	57 (7)	1502 (278)	406 (135)	222 (78)
Triglyceride (mg/dl)	15 (5)	143 (52)	74 (41)	61 (30)
Phospholipid (mg/dl)	92 (10)	335 (97)	251 (65)	119 (50)
C 14:0 (%)	0.9 (0.1)	1.1 (0.2)	0.7 (0.2)	1.0 (0.1)
C 16:0	25.4 (1.8)	25.3 (3.3)	20.7 (1.3)	28.6 (1.1)
C 16:1	3.3 (0.9)	8.1 (2.2)	8.8 (1.0)	3.6 (1.4)
C 18:0	10.1 (1.8)	7.7 (4.1)	5.8 (1.8)	9.2 (1.3)
C 18:1	21.4 (2.8)	37.0 (2.5)	37.0 (6.0)	22.8 (5.0)
C 18:2	32.0 (3.1)	16.3 (2.4)	21.5 (3.2)	27.2 (5.0)
C 18:3	4.3 (0.8)	2.9 (0.5)	3.4 (1.1)	4.2 (1.3)
C 20:4	2.6 (0.5)	1.6 (0.5)	2.1 (2.0)	3.8 (2.0)
L/O	1.58 (0.36)	0.45 (0.08)	0.57 (0.51)	1.28 (0.54)
Body Weight (kg) final		3.08 (0.39)	3.39 (0.22)	2.94 (0.62)
AORTA THORACICUS	1	2	3	4
Total cholesterol (mg/g)	1.77 (0.53)	2.70 (1.22)	2.95 (2.37)	4.14 (4.13)
Triglyceride (mg/g)	1.09 (0.58)	6.60 (0.51)	15.50 (12.33)	13.55 (14.56)
Phospholipid (mg/g)	2.27 (0.35)	1.70 (0.82)	0.90 (0.15)	0.89 (0.37)
C 14:0 (%)	2.9 (0.6)	3.8 (0.8)	3.0 (0.4)	4.3 (1.0)
C 16:0	31.8 (6.8)	31.6 (6.9)	31.4 (4.4)	28.5 (2.3)
C 16:1	4.8 (1.1)	7.5 (1.6)	6.0 (0.8)	6.7 (0.7)
C 18:0	9.5 (2.4)	6.2 (1.5)	7.0 (0.8)	8.0 (1.6)
C 18:1	21.3 (2.9)	26.8 (4.8)	25.3 (4.6)	27.2 (4.1)
C 18:2	19.9 (4.6)	17.7 (1.7)	20.4 (3.5)	19.3 (3.0)
C 18:3	5.7 (0.9)	3.4 (0.3)	4.4 (0.4)	4.7 (2.3)
C 20:4	4.1 (1.6)	3.0 (2.8)	2.5 (1.2)	1.3 (1.3)
L/O	0.93 (0.13)	0.68 (0.10)	0.79 (0.19)	0.70 (0.15)
LIVER	1	2	3	4
Total cholesterol (mg/g)	2.17 (0.35)	12.36 (2.97)	9.18 (7.45)	4.20 (1.82)
Triglyceride (mg/g)	0.04 (0.06)	16.45 (0.01)	0.88 (0.25)	0.86 (0.24)
Phospholipid (mg/g)	11.50 (7.73)	5.02 (2.95)	7.96 (2.34)	7.58 (2.58)
C 14:0 (%)	3.5 (0.9)	1.4 (0.1)	0.8 (0.3)	0.8 (0.2)
C 16:0	26.6 (2.3)	19.7 (2.7)	26.5 (4.2)	27.4 (2.3)
C 16:1	4.2 (1.1)	8.7 (2.1)	5.3 (3.8)	2.5 (1.0)
C 18:0	8.7 (1.9)	7.1 (1.9)	10.3 (3.8)	20.7 (1.9)
C 18:1	23.5 (1.8)	49.2 (5.4)	29.4 (12.0)	16.8 (2.8)
C 18:2	25.1 (0.8)	10.4 (2.2)	21.6 (7.5)	25.6 (1.1)
C 18:3	3.8 (1.5)	1.6 (0.2)	3.0 (0.6)	1.9 (1.0)
C 20:4	4.6 (2.0)	1.9 (0.6)	3.1 (1.9)	4.3 (0.9)
L/O	1.22 (0.11)	0.22 (0.06)	0.98 (0.70)	1.58 (0.33)

Table 8. Lipids and fatty acid composition (recovery).

AORTA ABDOMINALIS	1	2	3	4
Total cholesterol(mg/g)	2.75 (0.74)	1.85 (0.77)	1.68 (0.45)	1.27 (0.56)
Triglyceride (mg/g)	1.14 (0.47)	18.99 (0.62)	35.43 (19.9)	11.48 (4.97)
Phospholipid (mg/g)	2.13 (0.81)	1.21 (0.32)	1.32 (0.45)	1.14 (0.38)
C 14:0 (%)	4.2 (1.3)	4.0 (0.4)	3.4 (0.3)	4.8 (0.5)
C 16:0	34.0 (4.0)	30.8 (5.1)	32.1 (1.5)	34.0 (1.7)
C 16:1	5.3 (0.5)	9.8 (2.1)	8.2 (1.8)	7.6 (1.1)
C 18:0	8.0 (2.2)	5.8 (1.2)	5.8 (0.6)	6.9 (0.8)
C 18:1	22.0 (2.7)	26.6 (1.7)	22.6 (1.7)	24.6 (2.7)
C 18:2	19.7 (3.4)	18.1 (2.2)	21.2 (1.9)	17.2 (2.1)
C 18:3	5.2 (1.1)	3.5 (0.7)	5.4 (1.0)	3.7 (1.9)
C 20:4	1.6 (0.6)	1.4 (1.0)	1.3 (0.5)	1.1 (0.7)
L/O	0.90 (0.10)	0.86 (0.06)	0.95 (0.15)	0.70 (0.14)
DEPOT FAT	1	2	3	4
C 14:0 (%)	3.2 (0.4)	3.5 (0.5)	3.7 (0.6)	4.3 (0.7)
C 16:0	31.4 (2.6)	30.2 (2.3)	29.7 (5.1)	31.1 (1.5)
C 16:1	4.0 (0.9)	7.9 (1.6)	5.2 (2.0)	4.3 (1.3)
C 18:0	7.5 (5.2)	6.7 (2.8)	6.0 (0.3)	6.5 (0.7)
C 18:1	21.1 (5.2)	26.5 (3.1)	23.6 (3.0)	24.1 (5.1)
C 18:2	24.2 (1.5)	18.7 (2.5)	25.2 (3.8)	22.7 (3.1)
C 18:3	8.2 (2.4)	6.4 (3.2)	6.6 (5.4)	6.5 (1.6)
C 20:4	0.3 (2.4)	trace	trace	0.5 (1.2)
L/O	1.16 (0.69)	0.71 (0.10)	1.10 (0.20)	0.97 (0.30)

脂質脂酸構成 (表5, 表6, 図B)

前項と同様にして, 表6のⅢ群の項を作り, 図Aにグラフを書き加えると図Bとなる. 血清と肝では, エラスターゼ投与により, ΔS , ΔP の絶対値がおさえられるが, 変化の方向は前項と同様の特徴がある. 大動脈のTG分画の ΔS , ΔP はエラスターゼ投与で絶対値がむしろ増大している.

(5) エラスターゼ投与によるアテローム硬化回復実験 (表7 表8)

表7と表8がこの実験の成績であり, 脂質の変化は3群(対照群)と4群(エラスターゼ10mg投与)を比較して, 血清ではCH, TG, PLのいずれも幾分か減少の傾向があり, 肝ではCHが減じ, 胸部大動脈では変化をみなかつた.

総脂質脂酸構成は, 血清では $C_{16:0}$ と $C_{18:0}$ の百分比が増し, $C_{16:1}$, $C_{18:1}$ の百分比が減じ, $C_{18:2}$, $C_{18:3}$, $C_{20:4}$ の百分比が増す. 肝でも同様の傾向がみられるが, 大動脈と脂肪組織では著変をみとめない. すなわち, 既成の実験的アテローム硬化巣に対するエラスターゼの作用は, 1カ月の投与では, 血清と肝の脂質へは影響を与えるが, 大動脈には余り及んでいない. アテロームの形成状況は表3に示すとおり, 回復は著しくない.

IV. 考 案

1) エラスターゼの抗動脈硬化作用について

Anitschkowの実験¹⁾以来, 家兎にコレステロールを投与すると, 大動脈にヒトのアテローム硬化に似た血管病変の起こることが, 多くの研究者²⁾によつて確かめられている. 著者もコレステロール投与により家兎に血清脂質および脂酸構成の異常, あるいはアテロームの形成等, 動脈硬化症患者³⁾のそれと類似の状態を作りえた. そしてコレステロールと同時に脾臓性のエラスターゼ(弾性線維分解酵素)を投与すると, この家兎大動脈の血管病変の進展が軽度にとどまり, 血清および大動脈の脂質量, 脂酸構成もより健常に保たれるという抗硬化作用を認めた. 蛋白同化ステロイド, リノール酸エチルエステル, デキストラン硫酸³⁾, VB₂酪酸エステル, その他についても同様の抗硬化作用のあることが発表されているが, 生理的に体内に存在しない物質か, または壁代謝に関与が明らかでない物質である. それに反して, ここに示したエラスターゼは生理的に体内で産生される内因性物質であり, 後述するように, 大動脈の壁代謝に関連する物質である.

エラスターゼは1904年にEijkmanによつてpseudomonas pyocyaneaに発見され, 1949年にBaló

およびBangaによつてウシの脾臓から発見された⁴⁾。エラスターゼは脾臓の α 細胞より生成され、と考えられるホルモン様の物質で⁴⁾、*in vitro*では特異的にエラスチンを分解する⁵⁾。エラスターゼはエラスチンの分解ばかりでなく、合成にも決定的意義があり、かつ、エラスターゼは無傷のエラスチンの維持にさらに重要であることが指摘された。エラスターゼは成分的には単一でなく、elastomucase (E_1)とelastoproteinase (E_2)との2成分から成り立ち、 E_1 または E_2 だけの純品の精製は困難とされる。 E_2 はエラスチンの分解に特異的であるが、 E_1 は酸性ムコ多糖体（以下AMP Sと略す）に関係するといわれ⁶⁾、その作用点が種々に論議されている。

2) 既成のアテローム病変に対するエラスターゼの作用について

既成のアテロームに対しては、エラスターゼの1カ月の投与では、アテロームの回復は著しくない（表7、表8）。これはエラスターゼが新たな脂質沈着は防ぎ得ても、脂質の内膜からの除去には直接の能力をもたぬためであろう。

3) 動脈壁におけるmetabolic barrierの存在について

表1において、血清と大動脈と肝との脂酸構成を健全の家兎群（I群）の場合について比較してみると、かなりよく互いに類似しているが全く同一でない。この健全家兎にコレステロールを投与すると、表1のII群の項の脂酸構成を示すようになるのであるが、I群からII群への脂酸の変動の様相を、表1の総脂質脂酸構成のみならず、表4の分画脂質脂酸構成も考慮して作製したのが、表5、表6であり、表6の図表化したものが図A（1～3）である。その特徴はすでに実験成績の項の（3）で説明した。その要点は、コレステロール投与時、図A中の折線が端的に明示するように、脂酸の動きが血清と大動脈とでは一致し、肝では異なっていることである。コレステロール投与前には、血清と大動脈は、それぞれ異なつた脂酸構成を維持していたのであるのに、コレステロ

ールの投与でこのような類似の変化が血清と大動脈の間にみられるのは、恐らく、血清の脂酸構成の変化が直接に大動脈に影響したものとみることができる。ところが、正常には血清と大動脈とは異なつた脂酸構成をもっているのであるから、動脈壁には生理的にmetabolic barrierの存在を推測できる。

4) エラスターゼの抗動脈硬化作用の機序

エラスターゼの E_1 成分がAMP Sの代謝に関与し⁶⁾、人体においても、エラスターゼの活性は脾臓において年令とともに減じているといわれ¹³⁾。また、血中のエラスターゼ阻止物質も硬化患者に高値をみる¹⁴⁾という。これらの観点からエラスターゼが動脈壁の代謝に関与しているといわれている。わたくしの実験においても、エラスターゼ投与時、血中脂質の低下の少ないのに比べてアテロームの形成阻止が大きく、分画脂質脂酸構成で大動脈に特徴があり（図B₂）、回復実験での動脈の脂質代謝の改善に遅延があるなどによつて、エラスターゼの壁代謝関与が考えられる。

その作用点にかんしては、 E_1 がAMP Sの代謝に関与していることのほかに、AMP Sとリポ蛋白には親和性があるから¹⁶⁾、AMP Sとリポ蛋白の結合をエラスターゼが切り離す¹⁷⁾ことによつて脂質の壁への沈着を防ぐという。しかし、硬化巣の限局性なること、発生部位に規則性があることを考えると、AMP Sは本来脂質と親和性が低く、親和性の高い¹⁸⁾エラスチンを保護していると考えるのが妥当であろう。この考え方に立てば、AMP Sは防御反応のための物質であり、metabolic barrierのにない手である。硬化巣にしばしばみられるという¹⁹⁾AMP Sの増量は、一種の生体防御反応の結果とみることができる。そしてエラスターゼはAMP Sの恒常性を維持するために働くものと考えられよう。

硬化巣の規則的な局在性にかんしては、TexonまたはBurton¹⁵⁾の述べている血管局所のLocus Minoris Resistentiaeを考えるのが適當である。

5) アテローム硬化成立機序の一般化した推論

内膜に生理的にmetabolic barrierが存在すると考えるならば、硬化の成立はこの機能の低下に起因し、実験的アテローム硬化の場合には脂質の負荷がきわめて大であるので、相対的に機能不全に陥つたと考えることができる。

他方、自然発生のアテローム硬化症においては、高脂血症が存在せずとも起こっている²⁰⁾、たとえばエラスターゼ等の内因性の因子が絶体的に欠乏して、そのためにmetabolic barrierが機能低下したと考えることができる。無論、血管壁への外因的な有害作用は2次的にmetabolic barrierを破壊しようが、これは本論文の主題を離れる。

V. 結 論

エラスターゼ(一つの内因性物質)の抗動脈硬化作用を示し、その作用機序を考察する。

1) コレステロール投与と同時に脾臓性エラスターゼを雄性家兎に非経口的に投与するとアテロームの形成が阻止され、血清、大動脈、肝の総脂質および分画脂質の脂酸構成が改善され、大動脈と肝の脂質(CH, TG)が減ずる。

既成のアテローム(実験的アテローム硬化)に対してはエラスターゼの1カ月投与ではアテロームは回復しない。脂質の改善および脂酸構成の回復は血清および肝では幾分認められるが、大動脈および腹壁脂肪組織においては軽微である。

2) エラスターゼは脂質代謝よりも、動脈壁の

代謝に関連している事実を認めた。

健常家兎およびコレステロール投与家兎の、血清、大動脈、肝の総脂質および分画脂質(CE, TG, PL)の脂酸構成の分析から、大動脈壁に生理的にmetabolic barrierの存在することが推測された。そこでエラスターゼの作用は、metabolic barrierの保護にあると推定した。

文 献

- 1) Anitschkow, N.: Beitr. Path. Anat., 56 : 375, 1913. —2) Schrade, W.: Klin. Wschr., 38 : 126, 1960. —3) 高畑譲二: 日内会誌 56 (7) : 53, 1967. —4) Butturini, U. et al.: Klin. Wschr., 40 (9) : 472, 1962. —5) Baló, J. et al.: Nature, 164 : 491, 1949. —6) Hall, D.A.: Biochem. J., 70 : 5, 1958. —7) Aschoff, L.: Virchows Archiv für Path. Anat., 235 : 152, 1921. —8) Bredt, H.: Atherosclerosis, 2nd Ed. ed. by F.G. Schettler and G.S. Boyd, Elsevier, Amsterdam(1969). —9) Duff, G.L.: Archiv. Path., 20 : 81, 1935. —10) Zilvermit, D.B. et al.: Circulation, 33 : 7, 1966. —11) Zemlenyi, T.: J. Atheroscler. Res., 7 : 725, 1967. —12) Lindner, J.: Atherosclerosis (Schettler and Boyd), 1969. —13) Baló, J.: Excerpta Med. Sect., 20 (2) : 279, 1959. —14) Lansing, A.I.: J. Gerontol., 9 : 362, 1954. —15) Burton: Amer. J. Physiol., 164 : 319, 1951. —16) 村上他: 最新医学, 18 : 783, 1963. —17) Hall, D.A.: Arch. Biochem. Biophys., 67 : 366, 1957. —18) Labeila, F.S.: Nature, 180 : 1360, 1957. —19) Lindner, J.: Atherosclerosis, (Schettler and Boyd) —20) Kannel, W.B. et al.: Ann. of Internal Med., 61 (51) : 888, 1964.