

動脈硬化症に関する研究

第1報 血清脂質値と実験的粥状硬化症

金沢大学医学部第二内科学教室(主任 村上元孝教授)

松 本 和 之

(昭和38年5月6日受付)

本論文の要旨は、昭和35年第2回日本老年医学会総会および昭和36年第58回内科学会総会において発表した。

動脈硬化症は病変が多様、かつ慢性的であるため臨床的に直接成因を解明し、予防・治療の効果を判定することは、はなはだ困難である。特に本症においては生体動脈の直接観察はほとんど不能であり、適当な対照群の確保にも問題がある。一般にある疾患を実験動物に再現することは、その病態を熟知し、効果的な治療法を発見する上に重要であることは言をまたない。動脈硬化症の病因の追求も早くよりこの実験面に向けられていた。

今世紀の始め、既に Josué (1903年)¹⁾ は家兎へアドレナリン静注による動脈硬化の発生を報告した。しかしこれによる大動脈の硬化性病変は中膜の変化を主とし、その変性壊死、カルシウム沈着をきたすもので病理学的には一般にアドレナリン型硬化症と呼ばれている。そののち人の動脈硬化症と脂質およびコレステロールとの関係が解明されるにつれ実験的にもこの面に関心が集まり、最初 Ignatowsky (1909)²⁾ が家兎に卵、牛乳、肉を与え、内膜にアテローム型の病変を起すことに成功した。そのあと Anitschikow³⁾ の基礎実験により *Ohne Cholesterin kann keine Atherosclerosis entstehen* と結論され、以来卵黄、ラノリンなどのコレステロールに関連した物質の含量の大きい食品、または油脂類の飼育によつてもアテローム硬化を作りうる事が明らかにされた。これ以後動脈硬化症を対象とした病理解剖学的、生化学的研究には、コレステロール飼育家兎によるこのコレステロール型実験的動脈硬化症がひろく用いられ、多くの知見の開発が行なわれて来た。

近年脂質に関する生化学的分析法が進歩するにつれ、血中各脂質はそれぞれ独立して存在するものでな

く、ほとんどが蛋白と結合した高分子物質すなわち lipoprotein として存在し代謝されていることが明らかとなつた。この血清リポ蛋白と動脈硬化症の関係について、各種の分析法が駆使され、血中 low density lipoprotein が atherogenesis に深いつながりをもつこと⁴⁾が明らかにされた。

ところで実験的動脈硬化形成の途上において動物の種族差によりその発現に難易があることは周知のことである。すなわち各種の実験に際してニワトリ・家兎では比較的容易にアテローム硬化を生じうが、犬・ラットでは困難であり、またニワトリにはしばしば動脈硬化の自然発生をみるが、犬・家兎ではほとんど認められない。また同一条件で飼養された同種の動物の間にもしばしば硬化巣の発現の程度に大きな差のあることが知られているが、その理由についてはまだ明らかでなく、個体差という便利な言葉の蔭に隠されてしまつている。もちろんこれに関連した脂質代謝の面よりの検討は皆無の現状である。著者は家兎を用いラノリン負荷を主として実験的動脈硬化症を作成し、その前後における脂質分画の変動から、脂質処理能力の面と従来のいわゆる硬化発現の難易に関連した個体差について若干検討し、2, 3 知見を得たので報告する。

実験方法

1. 血清各脂質分画の測定

β リポ蛋白は Dextran sulfate 法⁵⁾、総コレステロールは Zak-Henly 法⁶⁾、総脂酸はアルカリ滴定法、磷脂質は Zilversmit⁷⁾ 法に若干改良を加えた方法、中性脂肪は Handel & Zilversmit 法⁸⁾、遊離脂酸は Dole 法⁹⁾でそれぞれ測定した。

Studies on Atherosclerosis. I. Serum Lipids Levels and Experimental Atherosclerosis **Kazuyuki Matsumoto**, Department of Internal Medicine (II) (Director: Prof. M. Murakami) School of Medicine, University of Kanazawa.

2. 研究対象

1) 正常家兎

体重 2~3kg の白色成熟雄性家兎を用い、実験基本食としてオリエンタル固形飼料 RC5 を 1日 200g 投

与した。その組成は 100g 中、水分 7.0、粗蛋白質 21.5、粗脂肪 4.8、粗灰分 6.7、粗繊維 11.5、可溶性無窒素物 48.5 である。この固形食のみ投与したものを無処置対照群とした。

Term of Feeding No.	β -lipo. mg%		Cholesterol mg%		Phospholipid mg%		TFA mg%		NF mg%		Scl.
	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	
3M 1	25	771	23	269	65	183	103	258	21	202	+
" 2	10	1702	19	732	28	294	57	602	17	71	+
" 3	28	651	20	265	82	198	40	377	54	70	+
" 4	0	425	42	339	86	334	178	500	120	220	+
" 5	0	595	33	348	52	228	110	270	46	460	+
" 6	38	1397	24	506	51	239	43	418	29	60	++
" 7	56	2100	39	900	93	402	86	925	17	620	++
" 8	130	1302	277	573	121	303	215	497	19	162	++
" 9	115	2860	60	1020	65	395	178	220	38	840	##
" 10	88	5000	11	1938	42	448	44	1800	60	1850	##
mean	49.0	1680.3	54.8	689.0	68.5	302.4	105.4	586.7	42.1	455.5	
Control 11	78	31	30	57	21	84	69	95	34	34	-
" 12	5	95	28	25	48	86	56	145	24	13	-
" 13	52	96	42	36	51	79	133	105	23	51	-
" 14	0	32	30	43	61	226	89	109	42	54	-
mean	34	63	32	40	45	119	87	113	31	38	

Term of Feeding No.	β -lipo. mg%		Cholesterol mg%		Phospholipid mg%		TFA mg%		NF mg%		Scl.
	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	
3W 15	77	722	24	322	48	203	72	171	9	52	+
" 16	76	45	46	10	126	94	50	51	72	36	±
" 17	16	113	14	164	42	166	39	166	55	67	-
" 18	68	90	14	51	39	126	45	86	8	75	-
" 19	24	55	18	25	92	102	60	131	42	43	-
" 20	39	72	58	76	115	127	79	150	43	31	-
" 21	11	0	25	48	118	128	75	160	39	68	-
" 22	30	78	11	23	78	102	81	95	29	48	-
" 23	15	51	33	26	114	91	77	62	46	25	-
" 24	0	17	14	12	87	78	49	53	44	29	-
" 25	0	36	19	57	28	89	33	62	17	30	-
mean	32.4	160	25.1	74.0	80.6	118.7	60.0	107.9	36.7	45.8	
Control 26	33	32	23	11	101	102	50	70	36	33	-
" 27	17	12	17	12	87	105	53	52	39	28	-
" 28	41	27	10	12	70	100	31	44	18	18	-
" 29	33	28	34	9	89	86	62	39	34	21	-
" 30	17	23	16	24	85	94	32	44	23	36	-
mean	28	24	20	13.6	86	97.6	46	50	30	27	

B: Before A: After

2) ラノリン投与家兔

上記の基本食に局方脱水ラノリンを15%の割合に添加したものを同量投与した。

両群とも実験には耳翼中心動脈より採血し、一部は3週間後に、一部は3カ月後に頸動脈より全採血し剖検に供した。

3カ月ラノリン投与群は10例、同対照群4例、3週間ラノリン投与群は11例、同対照群5例計30例を用いて実験を行なった。

実験成績

各群の家兔の実験前後の各血中脂質分画の変動および大動脈壁における変化は、表1に示したごとくである。大動脈のアテローム硬化の程度はその進展範囲と硬化度により、軽度(+)、中等度(++)、高度(+++)の3段階に分類した。

3カ月固形食のみ投与した対照群では前後の血清各脂質分画に著明な差を認めなかつたが、ラノリン投与群ではβリポ蛋白は平均49mg%から1680mg%へ、コレステロールは平均55mg%から689mg%へ、磷脂質は平均69mg%から302mg%へ、総脂酸は105mg%から587mg%へ、中性脂肪は42mg%から455mg%へと各脂質分画とも著しい上昇を示した。3カ月ラノリン投与群の大動脈壁には全例肉眼的アテローム硬化の発現が観察されたが、対照群では硬化の発現はまったく認められなかつた。

3週間固形食のみ投与した対照群では前後の血清各脂質分画にいずれも著差を認めなかつた。3週間ラノリン負荷群ではβリポ蛋白は32mg%から160mg%へ、コレステロールは25mg%から74mg%へ、磷脂質は81mg%から119mg%へ、総脂酸は60mg%から108mg%へ、中性脂肪は37mg%から46mg%へと軽度の上昇を示した。3週間投与後の大動脈壁の変化をみると、血清βリポ蛋白値の高値を示した1例(77mg%→722mg%)にアテローム硬化の発現がみられた。

とくにアテローム硬化とβリポ蛋白値の関係をみると図1のごとく、両者はほぼ平行しており、硬化のはなはだしい例では実験開始前にすでにβリポ蛋白高値を示す傾向が認められ、これらはラノリンを負荷した場合、動脈硬化発現が早期かつ高度であり、始めより低値のもの、とくにa-beta-lipoproteinemiaともいふべきカテゴリーにはいるものは、動脈硬化発現の程度がはるかに弱かつた。また他の脂質分画の上昇の程度も、最初βリポ蛋白値の低いものは小さく、高いものは大きい傾向がみられた。また実験後血清βリポ蛋白

Fig. 1 実験前血清βリポ蛋白値と硬化度

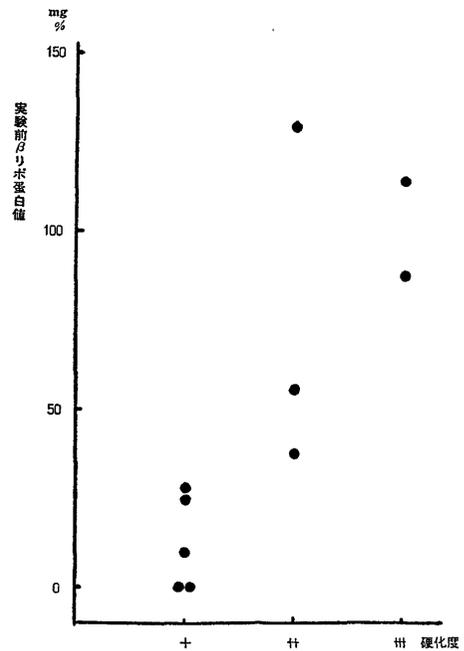
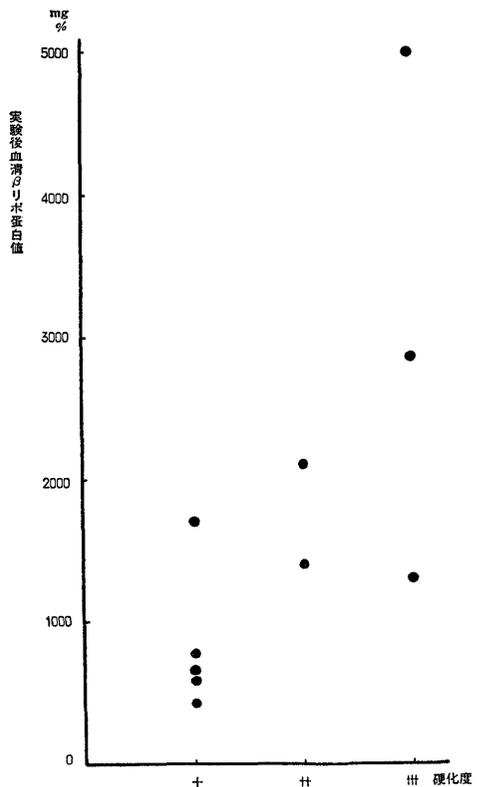


Fig. 2 実験後血清βリポ蛋白値と硬化度



値の高値を示すものに大動脈病変も高度となるごとき傾向がみられた(図2)。

なお一部のニワトリおよびラットについてその血中 β リポ蛋白値を測定したところ、ニワトリは4例平均404mg% (236, 345, 470, 565mg%), ラットは23例平均18.0 \pm 13.1mg% (S.D.)であつた。

考 按

脂質負荷による実験的動脈硬化症に関する業績は古くより数多く、枚挙にいとまがないが、以下著者の成績と関連した面から考按を加えてみる。脂質と硬化発現に関しては、相関を認める傾向のもの¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾、認めないとするもの¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾があるが、個々の例について詳細に検討を加えたものは必ずしも多くない。

Libert¹⁰⁾は家兎およびラットで、コレステロールと各種の脂肪などを組み合わせて実験的動脈硬化症の作成に成功しているが、その際リポ蛋白を含む各種血清脂質分画を測定し、家兎においてもラットにおいても血清脂質値とアテローム硬化の程度との間にはつきりど関係のあることが認められている。

Page¹⁸⁾、Bollman¹⁹⁾は、正常家兎においては血中磷脂質値はコレステロール値より常にいくぶん高く、これに反してコレステロール飼育家兎ではアテローム硬化を伴うようになるとこの関係は反対になつて血中コレステロール値が磷脂質値よりかなり高くなることを認めている。著者の成績ではC/P比は3ヵ月群で平均0.80より2.28へ(対照0.71 \rightarrow 0.34)、3週間群で平均0.31より0.62へ(対照0.23 \rightarrow 0.14)と変化し、3週間群のうちでもはつきり硬化を認めた1例では0.50より1.58へとこの報告に合致している。また一方コレステロール飼育家兎に表面活性剤を静注した場合、磷脂質の上昇が著明で、その高脂血症にもかかわらず、アテローム硬化が軽度であつたとの報告²⁰⁾²¹⁾がある。その他にもコレステロール飼育家兎にその高コレステロール血症を増強しながら一方大動脈の病変を抑制するように働くような機作が2, 3存在することが明らかにされ²²⁾²³⁾、アテローム硬化症の成立についてもただ単に血中のコレステロールないし脂質の量という概念から進展して、血中各脂質の物理化学的性状や相互関係といった質的な面にも関心が向けられて来ている。そして血中各脂質分画の存在様式についても新しい分析法から種々考察が加えられて来ている。Gofman¹²⁾は血中 β リポ蛋白のある分画の濃度がアテローム硬化症の発生に一つの役割を演じている可能性を予想し、超遠心法を用いて血液脂質をfloatation rateにしたがつてSf単位で分画定量し、動脈硬化症

との関係を追求してSf 5-10のリポ蛋白分画が種々の濃度であらゆる正常家兎に存すること、コレステロール飼養により、まずこれらの分画が増加、次いでSf 10-30の分画が増加することを明らかにしている。そして15週飼養後の兎の剖検所見と対比検討し、アテローム硬化の程度が強い程Sf 10-30分画の最終濃度も高く(1000~2000mg%), 反対にこの分画の低値のものでは(200mg%以下)ほとんどあるいは全く肉眼的アテローム硬化層を認めることができなかつたとしている。この所見はDextran sulfate法を用いた著者の成績ともよく一致している。ただし実験開始前のリポ蛋白値を基とした、硬化発現との結びつきについては考察はなされていない。著者はこの実験的動脈硬化症の成績から、硬化を起こしやすい例では、各種条件負荷前にすでに血中 β リポ蛋白の高値のものが多く、これに反し、脂質負荷前に β リポ蛋白のほとんどないものやきわめて低値のものでは動脈硬化の発現しにくい傾向があり、動脈硬化の発現には β リポ蛋白を中心とした脂質代謝に関する素因が重要であるとの成績を得た。

Katz²⁴⁾はラットに比し家兎にアテローム硬化を発生しやすいことを指摘しているが、Constantinides²⁵⁾はこの理由は家兎ではラットに比しmast cellの発達が若く、かつその数も少なくヘパリン分泌能が劣るためであると説明し、Marx²⁶⁾も同様の報告を行なつており、リポ蛋白の処理に関係した清浄因子系列に動物の種属によるかなりの差のあることが考えられる。実験的に動脈硬化を起こしやすく、しばしば自然にも動脈硬化を起こすといわれているニワトリでは特別な条件を負荷しなくてもその血中 β リポ蛋白値が200~600mg%ときわめて高く、ラノリン投与のみでは動脈硬化を起こしにくいラットでは10~30mg%と非常に低い値を示し、草食家兎では特別な飼育条件を負荷しないで100mg%以上に及ぶものから、ほとんど認められないものまでかなり幅広い β リポ蛋白値の開きが認められる。Dextran sulfate法で β リポ蛋白の認められないものは25%、抗 β 血清によるOuchterlony法で19%で、実験に用いられる家兎の中には脂質負荷実験を行なう前にすでに脂質代謝面にかなりひずみをもつたものがあり、こういつたひずみが個体差として従来の成績の中で表現されて来た、硬化発生を左右する一つの因子と考えられる。動脈硬化の発症は、もちろん脂質代謝異常のみに基づくものではなく、多くの因子が関与しているが、少なくともアテローム形成のような脂質の修飾を主体としたものはlow density lipoproteinなどを中心とした脂質代謝異常の

可能性はきわめて大きい。

結 語

家兎においてラノリン飼育により実験的動脈硬化症を作製し、硬化発現の難易に関連した個体差について脂質代謝面から考察を加え次の結果を得た。

1. 硬化を起しやすしい例では各種条件負荷前すでに血中 β リポ蛋白の高値を示すものが多かった。

2. 脂質負荷前 β リポ蛋白低値のもの、とくに β リポ蛋白の認められない a-beta-lipoproteinemia ともいうべき例では動脈硬化が発現しにくかった。

3. 従来個体差として一括表現されて来た動脈硬化発現の強弱には β リポ蛋白代謝に関する素因が重要な役割を演じているものと考えられる。

終わりに御懇切なる御指導・御校閲を賜った恩師村上教授に深く謝意を表わし、あわせて日夜直接御激励・御指導をいただいた関本博士に深謝するとともに、御協力・御援助下さった竹中、小村、藤田、安田、品川博士ならびに辰口、益田、元田、池島、山田諸学上に厚く感謝します。

文 献

- 1) Josué, M. O. : Cited by Hueper, W. C. : Arch. Path., 35, 846 (1943).
- 2) Ignatowski, A. : Virchows Arch. f. Path. Anat., 198, 248 (1909).
- 3) Anitschikow, N. : Beitr. z. Path. Anat. u. z. allg. Path., 56, 379 (1913).
- 4) 村上元孝・他 : 最新医学, 15, 450 (1960).
- 5) 安田義顕 : 日循誌, 27, 印刷中, (1963).
- 6) Zak, B. : Am. J. Clin. Path. 27, 583 (1957).
- 7) Zilversmit, D. B., Davis, A. K. : J. Lab. & Clin. Med. 35, 155 (1955).
- 8) Van Handel, E. : Zilversmit, D. B. : J. Lab & Clin. Med. 50, 152 (1957).
- 9) Dole, V. P. : J. Clin. Invest. 35, 150 (1956).
- 10) Libert, O. & Rogg-Effront, C. : J. Atheroscler. Res. 2, 186 (1962).
- 11) Steiner, A., Varsos, A. & Samuel, P. : Circulation Res. 7, 448 (1959).
- 12) Gofman, J. W., Lindgren, F., Elliott, H., Mantz, W. Hewitt, J., Strisower, B. & Herring, V. : Science 111, 166 (1950).
- 13) Kritchevsky, D., Moyer, A. W., Tesar, W. C., Logan, J. B., Brown, R. A. Davies, M. C. & Cox, H. R. : Am. J. Physiol. 178, 30 (1954).
- 14) Enselme, J., Cottet, J. & Guichard, A. : Presse méd. 68, 81 (1960).
- 15) McMillan, G. C., Weigensberg, B. I. & Ritchie, A. C. : A. M. A. Arch. Path., 70, 220 (1960).
- 16) 古川一郎 : 日循誌, 22, 90 (1958).
- 17) Pierce, F. I. : Circulation 5, 401 (1952).
- 18) Page, I. H. & Bernhard, W. G. : Arch. Path. 19, 530 (1935).
- 19) Bollman, J. G. & Flock, E. V. : Am. J. Path. 17, 439 (1941).
- 20) Kellner, A. : Am. Heart. J. 38, 460 (1949).
- 21) Kellner, A., Correl, J. W. & Ladd, A. T. : J. Exp. Med. 93, 385 (1951).
- 22) Duff, G. L. & Payne, T. P. B. : J. Exp. Med. 92, 299 (1950).
- 23) Adlersberg, D., Schaeffer, L. E. & Wang, C. I. : Science 120, 319 (1954).
- 24) Katz, L. N. : Circulation 5, 101 (1952).
- 25) Constantinides, P. : Science 117, 505 (1953).
- 26) Marx, W. : Proc. Soc. Exp. Biol & Med. 94, 217 (1957).

Abstract

Experimental atherosclerosis was produced in rabbits by lanolin feeding, and the author studied from the viewpoint of lipid metabolism in connection with the individual difference in the ease with which to produce atherosclerosis. The following serum lipids were determined before and after the experiments: β -lipoprotein, cholesterol, phospholipid, non-esterified fatty acid, total fatty acid and neutral fat, and they were compared with the degree of atherosclerosis in the rabbits. The experiments brought about the following results.

1. The rabbits which were easy to produce atherosclerosis abounded in those proved high serum β -lipoprotein levels before the experimental procedure.

2. It was difficult to produce atherosclerosis by the cases which proved low β -lipoprotein levels, especially no β -lipoprotein that might be included as "a-beta-lipoproteinemia" before the procedure.

3. Inferences were drawn from the experiments that the disposition concerning β -lipoprotein metabolism played an important role with regard to inequality on the occasion of experimental atherosclerosis production, which had been regarded collectively as individual difference.