

動脈硬化症に関する実験的研究

第 III 編

家兎血液中に於けるコレステリンの消長特に遊離

コレステリンとコレステリンエステルとの関係に就て

岡山大学医学部病理学教室 (主任: 妹尾左知丸教授)

矢 部 忠 孝

〔昭和 33 年 7 月 23 日受稿〕

序

Achoff¹⁾, Frey²⁾, Burger³⁾ (1939) 等が人の動脈硬化症発生機構に於てコレステリン及び脂肪の占める意義を強調して以来、血液中コレステリンと動脈硬化症に関する業績は多数にある⁴⁻¹³⁾³⁶⁾ 然して血中コレステリンが動脈硬化症に密接な関係を示すが、動脈硬化症の高度のものに必ずしも増加しているとは限らず、正常値内にあるものが相当に認められ、又その後の研究によりコレステリン: 磷脂質の比, Chylomicron 等が問題になり、更に Gofmann²⁶⁾ らの超遠心器による Lipoprotein の研究、電気泳動の研究へと飛躍しているが未だ決定的な因子は見出されていない。著者は第 I 編³⁶⁾、第 II 編³⁷⁾ に於ける家兎実験に於てコレステリン乳液を注射せる家兎には其の大動脈に所謂アドレナリン型乃至ビタミン D 型の動脈硬化症の発生を見、又コレステリン経口投与家兎に於ては主として所謂コレステリン型の動脈硬化症の発生を見、従来全く別の原因で起る様に考えられていた二つの型の動脈硬化症は実は同様の脂質代謝異常に基くものである事を指摘すると共に之等の差は血中に於けるコレステリンの化学的組成の差異によつて生ずるものと予想した。本編では之等投与方法の差異に依つて血中の脂質組成が如何に違つた状態を示すかを観察する一方 Nor-Adrenalin の家兎注射時に於ける血中コレステリンの組成をも併せ観察して両種の動脈硬化症発現の本質を明らかにすべく試みた。

実験材料と実験方法

1) 2.0~3.0 歳の白色成熟家兎 8 匹 (雄 5 匹, 雌 3 匹) を使用した。飼育方法は第 I 編に述べたと同

様である。

2) 経口投与実験群 (2 匹) に於てはコレステリンを 10% の割に綿実油に混じて 1 回 7 cc を胃消息子で胃中に注入し経口投与した。

3) コレステリン注射群に於ては第 I 編の実験に使用したと同様な 1% コレステリン乳液を家兎耳静脈より 10 cc 静注し、定められた時間毎に耳静脈より採血した (第 1 表参照)

4) 血清中のコレステリンの定量: コレステリン量測定法に関しては種々の工夫が試みられており²⁹⁻³⁰⁾³²⁻³⁴⁾、真のコ量測定に関する定説は不明の様である。今回の実験に於ては Schoenheimer-Sperry 法³¹⁾ を利用した。本法の優れている点は比較的精度に富むと云われ、後述の如く時に発色操作の点にあるとされて居る。尚原法のままでは不備の点が存するので、北大の安田教授の諸報告²⁹⁾ を参考にして改良を加えた。測定の概要を記せば、先づ試料血清よりの抽出溶媒には等量混合のアセトン・エタノールを用いる。抽出の完全化を期す為に加熱し沸騰に至らしめる。得られた抽出液を二分し、一方は遊離コレステリン量の測定に、他方は総コレステリン量の測定に供した。従つて両者の差がエステル型コレステリン量となる。コレステリンの分離には抽出液を酸性化しチギトニンを加えチギトニドを生成せしめ分離、精製する。エステル型のコレステリンはチギトニドを生成しないから、一旦アルカリでエステルの加水分解を図つた後、同様な操作でチギトニドを得る。エーテル洗滌で精製されたチギトニドを得る。エーテル洗滌で精製されたチギトニドは加熱氷醋酸に溶解せしめ、之に失水醋酸・硫酸混液を加え即ち Liebermann-Burchard 反応により呈色せしめ、之を比色測定に供した。本実験で注意

第 1 表 コレスチレン注射液家兎血清中のコレステリン量 (mg/100cc)

実験	注射後の採血時間	注射後の採血時間											摘	要
		注射前	注射後 (0分)	15分	30分	1時間	3時間	6時間	12時間	24時間				
第 1 実験	総コレステリン (T)mg%	63.8	75.4	41.1	36.8	48.2	36.8	48.8	62.5	71.5	家兎 (A401) の体重2.4kg に1.0%コレステリン注射液10ccを耳静脈より徐々に注射			
	遊離コレステリン (F)mg%	22.5	45.4	28.6	21.3	16.3	11.8	17.5	15.6	22.2				
	コレステリンエステルmg%	41.3	30.0	12.5	15.5	31.9	25.0	31.3	46.9	49.3				
	F/T (%)	35	56	70	58	34	32	36	28	31				
第 2 実験	総コレステリン (T)mg%	28.1	35.0	25.6	31.1	27.2	31.1	32.5	31.8	39.0	家兎 (A402) の体重2.5kg に1.0%コレステリン注射液10ccを耳静脈より徐々に注射			
	遊離コレステリン (F)mg%	10.0	17.5	10.2	10.2	11.1	12.7	9.3	12.4	13.6				
	コレステリンエステルmg%	18.1	17.5	15.4	20.9	16.1	18.4	23.2	18.4	25.4				
	F/T (%)	36	50	40	33	40	40	30	38	35				
第 3 実験	総コレステリン (T)mg%	116.9	128.6	122.7	140.9	136.3	127.2	115.9	135.2	136.3	家兎 (A402) の (第 2 実験家兎と同じ) に1.0%コレステリン注射液10cc宛毎日連続6日間耳静脈より注射, 第6日目注射後採血			
	遊離コレステリン (F)mg%	40.9	61.8	59.0	53.7	42.4	40.9	30.0	47.7	56.8				
	コレステリンエステルmg%	75.0	66.8	63.7	87.2	93.9	96.3	85.9	97.5	79.5				
	F/T (%)	35	48	46	38	31	28	26	35	39				
第 4 実験	総コレステリン (T)mg%	219.7	215.9	180.7	189.8	189.7	165.9	138.5	154.5	196.6	1) 家兎 (A403) の体重2.6kg に1.0%コレステリン注射液10ccを耳静脈より徐々に注射			
	遊離コレステリン (F)mg%	77.7	75.9	73.6	78.4	73.2	60.0	690.2	56.8	68.6	2) 日令高齡のためか高値を示した			
	コレステリンエステルmg%	242.0	140.0	107.1	108.4	116.5	105.9	78.3	97.7	128.0				
	F/T (%)	35	35	41	42	38	36	43	35	35				
第 5 実験	総コレステリン (T)mg%	343.4	343.4	295.4	402.2	255.6	323.8	304.5	284.7	343.5	家兎 (A403) の (第 4 実験家兎と同じ) に1.0%コレステリン注射液を10cc宛毎日連続6日間耳静脈より注射, 第6日目注射後採血			
	遊離コレステリン (F)mg%	118.1	98.8	127.2	173.1	105.6	113.4	91.5	93.4	119.0				
	コレステリンエステルmg%	225.3	244.6	168.2	229.1	150.0	210.4	213.0	191.3	224.5				
	F/T (%)	34	29	43	43	32	35	30	33	34				
平	均	35	44	48	43	35	34	33	36	35	F/T は遊離コレステリン: 総コレステリン比を示す			

しなければならぬ事は濃硫酸による呈色反応であるから、全て試薬は純品を用いなければならない。又発色時の条件を一定にしなければならない。と云うのは周知の如く、L-B反応による呈色は不安定なものであつて温度、反応開始より測定迄の時間を一定化する必要がある²⁹⁾。又エステル型のまま比色に供していた従来の方法では定量には向かない³⁰⁾。以上の事に関しては安田のすぐれた報告がある²⁹⁾³⁴⁾。それ従つて著者も氷冷下に失水醋酸・硫酸混液を製し、25°CでL-B反応を行はしめ、25~35分の間で、660 mμの波長を用い、比色する条件に従つて施行している。尚発色時に要するコレステリン絶対量は0.1mg前後が適当とされる。

5) Nor-Adrenalin は三共製薬製(0.1%ノルアドレナリン) 1ccを使用し、これを5倍に溜水にて稀釈し、其の5ccを耳静脈より注射し定められた時間毎に耳静脈より採血した(第3表参照)。

実験成績

1) 家兎はコレステリン乳液静脈注射直後より約30分乃至1時間交感神経興奮状態となり、爾後正常に復する。血清コレステリンの定量成績は第1表及び図1~5の通りで之を詳述すれば次の通りである。

総コレステリン量は動物に依りその値は著しく異なるが注射直後は一般に一過性の上昇傾向を示す。然し之は速かに減少し概ね3~6時間頃までは減少の状態を継続し爾後は遂次正常に復する。時には注射前の値以上の値に達する(表1及び図1~5)

反覆の注射により遂次血中の総コレステリン量は上昇する(表1)即ちA 402に於ては注射前28.1mg%であつたが第1日、39.0mg%、第6日には136.3mg%となり、又A403に於ても注射前219.7mg%であつたものが第6回の注射後には343.5mg%に上昇している。(表1)

次に遊離コレステリンはその絶対量は動物に依り著しく異なるが、その総コレステリンに対する比(F/T比と略記す)は一般正常値(0.32~0.38)⁹⁾¹¹⁾²⁷⁾の間にあり略

第2表 胃に投与後の時間 家兎飼養血清中のコレステリン量 (mg/100cc)

実験	投与前		胃に投与後の時間										要
	30分	1時間	1.5時間	2時間	3時間	4時間	6時間	12時間	24時間				
第1実験	総コレステリン (T)mg%	63.4	69.5	69.6	78.0	64.0	64.3	63.6	66.8	111.3	家兎 (L501) ♂ 2.3kg にコレステリン10%を含む綿菜油7ccを胃消息子にて胃中に投与		
	遊離コレステリン (F)mg%	21.1	18.4	27.5	27.9	25.0	23.0	24.9	23.4	36.3			
	コレステリンエステルmg%	42.3	51.1	40.1	51.1	39.0	35.3	35.7	43.4	74.0			
	F/T (%)	33	27	39	36	39	35	39	34	32			
第2実験	総コレステリン (T)mg%	158.0	153.8	130.0	144.0	130.0	135.2	109.3	135.3	155.4	家兎 (L502) ♀ 2.2kg に同上家兎と同様に投与		
	遊離コレステリン (F)mg%	44.0	40.4	31.1	44.0	41.8	33.4	44.0	53.1	60.9			
	コレステリンエステルmg%	114.0	113.4	98.9	100.0	88.2	101.8	65.3	82.2	94.5			
	F/T (%)	28	26	26	30	32	29	31	38	39			
第3実験	総コレステリン (T)mg%	606.8	650.9	650.9	552.2	625.0	649.7	552.2	597.7	632.2	家兎 (L502) ♀ (第2実験家兎と同じ) に同上の如くして6日間連続、第6日目投与後採血測定		
	遊離コレステリン (F)mg%	214.0	213.2	217.7	207.2	217.5	224.0	206.3	208.4	214.0			
	コレステリンエステルmg%	391.8	447.7	433.2	345.0	407.5	423.7	355.6	389.3	418.2			
	F/T (%)	35	39	34	38	35	35	37	34	34			
平均	F/T (%)	32	31	33	34	35	33	36	35	35	F/Tは遊離コレステリン:総コレステリン比を示す		

第 3 表 Nor-Adrenalin 注射家兎血中ノコレステリン量 (mg/100cc)

注射後採血迄の時間	注射前	注射直後(0分)										摘 要	
		15分	30分	1時間	2時間	3時間	6時間	12時間	24時間				
第 1 実験	総コレステリン (T)mg%	147.7	137.5	123.8	150.0	127.2	90.9	103.4	110.2	134.0	144.0	144.0	家兎 (N601) ♂ 2.4kg に 0.1% ノルアドレナリン 1cc を 5 倍の溜水に稀釈し全量を耳静脈より徐々に注射
	遊離コレステリン (F)mg%	51.1	55.2	61.1	37.0	30.6	32.6	30.7	35.2	45.4	46.0	46.0	
	コレステリンエステル mg% F/T (%)	96.6 34	82.3 40	62.7 49	113.0 25	96.6 24	52.3 35	72.7 30	72.7 30	75.0 32	88.9 34	98.0 32	98.0 32
第 2 実験	総コレステリン (T)mg%	109.0	71.5	45.4	61.3	68.2	81.8	81.8	86.3	111.3	115.9	115.9	家兎 (N602) ♀ 2.1kg に同上家兎と同様に実施
	遊離コレステリン (F)mg%	41.5	34.0	29.0	25.7	31.5	25.0	21.3	26.1	39.0	41.8	41.8	
	コレステリンエステル mg% F/T (%)	67.5 38	37.5 47	16.4 64	35.6 42	36.7 46	56.8 30	60.5 26	60.5 26	60.2 30	72.3 35	74.1 36	74.1 36
第 3 実験	総コレステリン (T)mg%	44.0	36.8	35.0	34.3	31.3	32.0	32.2	37.5	42.5	45.0	45.0	家兎 (N603) ♂ 2.3kg に同上家兎と同様に実施
	遊離コレステリン (F)mg%	13.8	14.5	15.7	7.5	9.3	12.2	10.9	14.5	15.2	15.4	15.4	
	コレステリンエステル mg% F/T (%)	30.2 31	22.3 40	19.3 46	26.8 22	22.0 30	19.8 36	21.3 34	21.3 34	23.0 38	27.3 36	29.6 34	29.6 34
平均	F/T (%)	34	42	53	30	33	35	30	33	35	34	34	F/T 遊離コレステリン : 総コレステリン比を示す

々一定している。コレステリン乳液を静注する場合には F/T 値は注射直後著明に上昇するが (0.43~0.70 となる) 1 時間後には略々正常値に復する (表 1 及び図 1~5)。その後は概ね正常値を保つて経過する。コレステリンエステルの量はこの間むしろ減少する傾向にある。

2) コレステリン経口投与家兎に於ける血清コレステリンの定量成績は 2 表及び図 6~8 の如くで之を詳述すれば次の通りである。

総コレステリンは L501 では経口投与後 2 時間で少し増加し後に正常値にかえり、更に徐々に上昇して翌日はこの値の 2 倍に達している。L502 では中等度の変動を示して低下し 6 時間後に最低値に達し、その後上昇して 1 日後に正常値に達している。又 L502 に連続 6 日間毎日経口投与して血中コレステリン量が相当上昇したものでは投与後可成り強い変動を示しているが (8 図) 24 時間後にはもとの値を上廻る程度で一定値に達している。投与を繰返へす毎に血中濃度は上昇する。例えば L502 に於て投与前 158 mg% であつたものが連続毎日投与第 6 日目には 632 mg% になる。

F/T 比は何れも僅かの変動を示したが概ね毎常正常値 (0.32~0.38)⁹⁾¹¹⁾²⁷⁾ の範囲内に止つている (6, 7, 8 図)

3) Nor-Adrenalin 耳静脈注射後約 1 時間は家兎は交感神経興奮の状になり、末梢血管の収縮著明である。血清コレステロールの定量成績は 3 表及び図 9~11 の如くで之を詳述すれば次の通りである。

総コレステリン量は注射直後より急激に減少し概ね 30 分~2 時間に最低値を達し、その後徐々に恢復し 24 時間後には元の値にかえり又は僅に高い値を示す (図 9~11)。

F/T 比は注射直後より概ね 1 時間著明の上昇 (0.43~0.53) を示している。之の期間に於ける曲線の状態はコレステリン乳液注射の場合とよく類似している (12 図参照)。

Fig. 1. 家兎 A401 の血清総コレステリン量 (mg/100 cc) 並びに F/T 比 (%)
(第 1 回コレステリン乳液注射後)

— は総コレステリン量 (mg %) --- は遊離コレステリン : 総コレステリン比 (F/T %) (以下同じ)

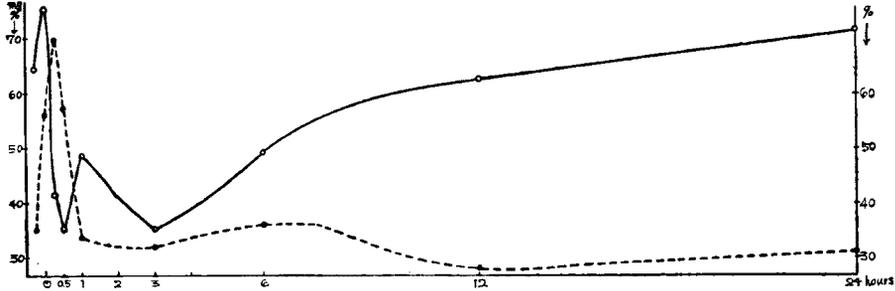


Fig. 2. 家兎 A 402 の血清総コレステリン量 (mg/100 cc) 並びに F/T 比 (%)
(第 1 回コレステリン乳液注射後)

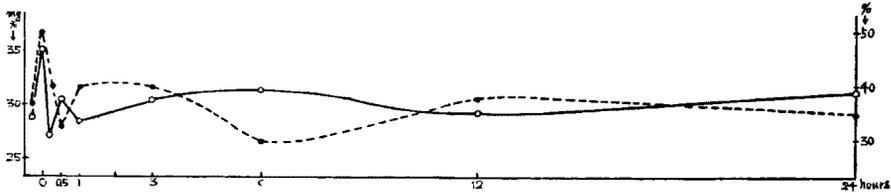


Fig. 3. 家兎 A 402 の血清総コレステリン量 (mg/100 cc) 並びに F/T 比 (%)
(第 6 回コレステリン乳液注射後)

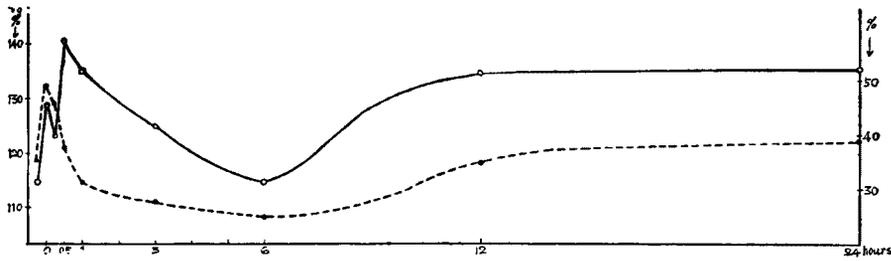


Fig. 4. 家兎 A 403 の血清総コレステリン量 (mg/100 cc) 並びに F/T 比 (%)
(第 1 回コレステリン乳液注射後)

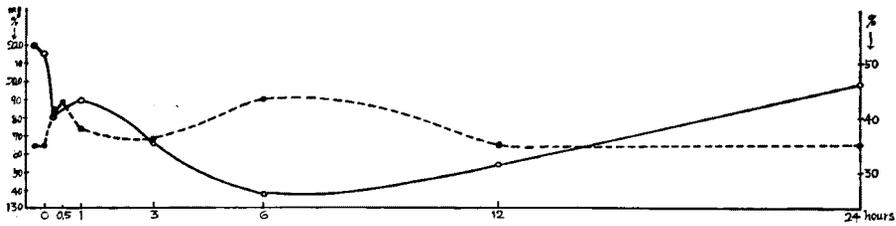


Fig. 5. 家兎 A 403 の血清総コレステリン量 (mg/100 cc) 並びに F/T 比 (%)
(第 6 回コレステリン乳液注射後)

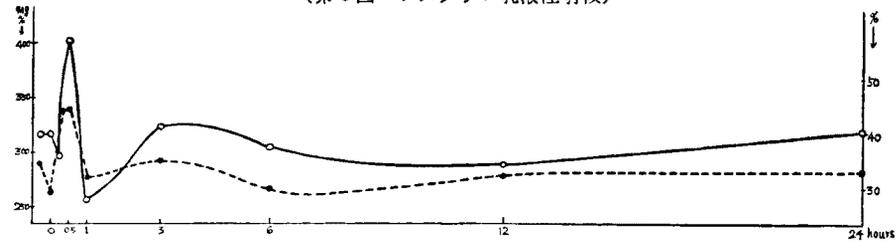


Fig. 6. 家兎 L 501 の血清総コレステリン量 (mg/100 cc) 並びに F/T 比 (%)
(第1日コレステリン経口投与後)

— は総コレステリン量 (mg %)
--- は遊離コレステリン : 総コレステリン比 (F/T %)

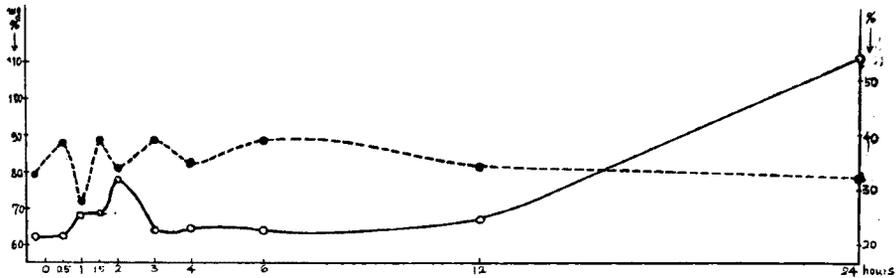


Fig. 7. 家兎 L 502 の血清総コレステリン量 (mg/100 cc) 並びに F/T 比 (%)
(第1日コレステリン経口投与後)

— は総コレステリン量 (mg %)
--- は遊離コレステリン : 総コレステリン比 (F/T %)

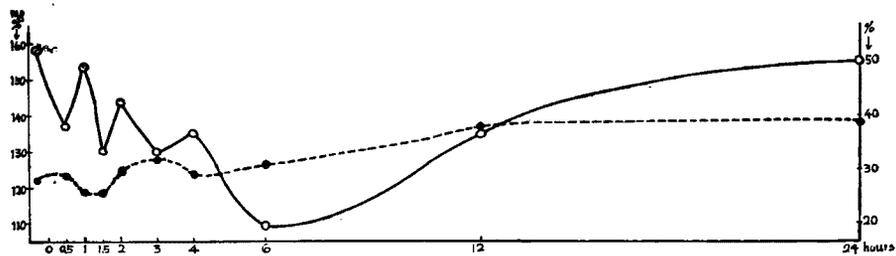
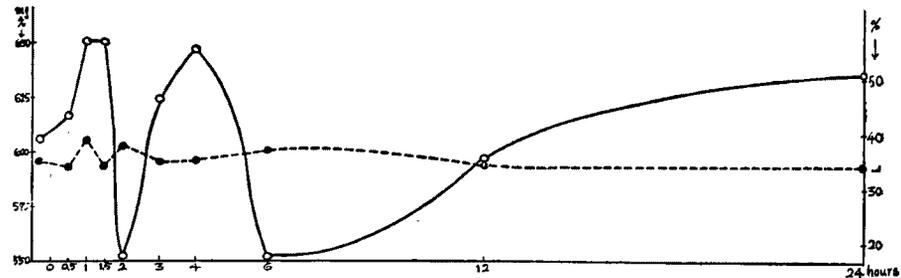


Fig. 8. 家兎 L 502 の血清総コレステリン量 (mg/100 cc) 並びに F/T 比 (%)
(連日投与第6日コレステリン投与後)

— は総コレステリン量 (mg %)
--- は遊離コレステリン : 総コレステリン比 (F/T %)



考 按

第I編及び第II編に於ける実験から予想された様にコレステリン投与後の血中コレステリンの変動は本実験によつて確実に証明された。即ちコレステリン乳液を直接静脈に注入した場合には一過性の血中の総コレステリンの上昇と共に遊離コレステリンの上昇を来すが間もなく正常に復する。この間コレ

ステリンエステルの量が僅かに減少するが之は血中コレステリン量の一つの調節作用のあらはれと見做す事が出来る。一方 Nor-Adrenalin の注射に於ても全く同様に一過性の著明な遊離コレステリンの上昇が認められる。唯此の時には前者の場合と異なり総コレステリン量は急激に減少する。脂肪代謝と自律神経支配との関聯性に就ては Dogiels¹⁴), Küntz²⁰), Stöhr²¹), Page²⁵), Hausberger²²), Kure²⁴), 松本¹⁵),

井上¹⁸⁾、太田¹³⁾、小田¹⁶⁾等の研究があり、喜多¹⁷⁾(1955)はAdrenalin投与による体内コレステリンに及ぼす影響を研究してAdrenalin皮下注射により血中総コレステリン量は変化ないが遊離コレステリンは約10%増加し且6時間後には正常に復し且Cholesterinester → Free cholesterinの径路はAdrenalinに促進的に作用する事を報じている。著

者の実験に於ても12図に示す様にコレステリン乳液注射家兎と¹⁾Nor-Adrenalin注射家兎とに於ける血中遊離コレステリンの変動は非常によく類似性を示している。最も共通した顕著な現象としては遊離コレステロールの急激な増加、直接両者の間に見られる形態学的大動脈乃至臓器の変化に連なるものであると考へて差支えなからう。即ち従来色々と議論

Fig. 9. 家兎 N 601 の血清総コレステリン量 (mg/100 cc) 並びに F/T 比 (%)
(第1回 Nor-Adrenalin 注射後)

—は総コレステリン量 (mg %)
---は遊離コレステリン：総コレステリン比 (F/T %)

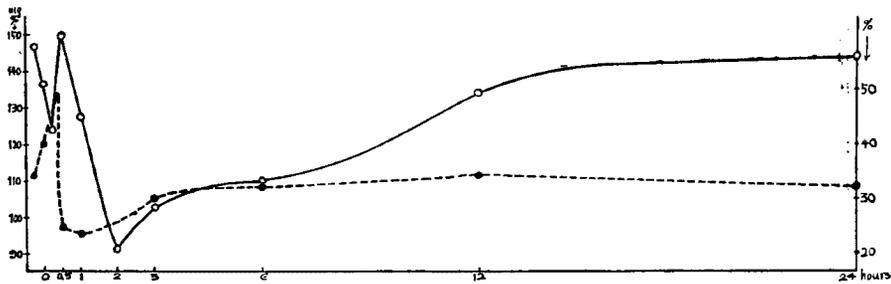


Fig. 10. 家兎 N 602 の血清総コレステリン量 (mg/100 cc) 並びに F/T 比 (%)
(第1回 Nor-Adrenalin 注射後)

—は総コレステリン量 (mg %)
---は遊離コレステリン：総コレステリン比 (F/T %)

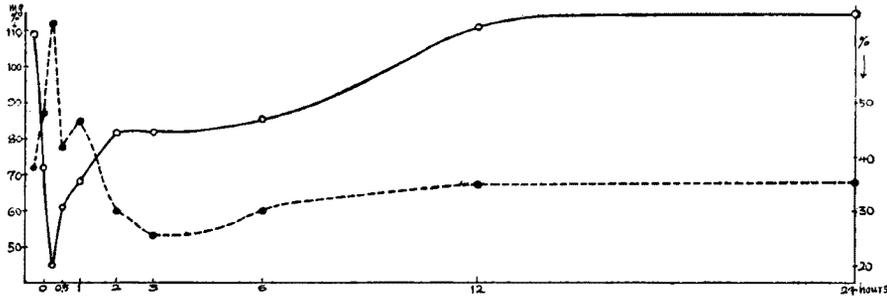


Fig. 11. 家兎 N 603 血清総コレステリン量 (mg/100 cc) 並びに F/T 比 (%)
(第1回 Nor-Adrenalin 注射後)

—は総コレステリン量 (mg %)
---は遊離コレステリン：総コレステリン比 (F/T %)

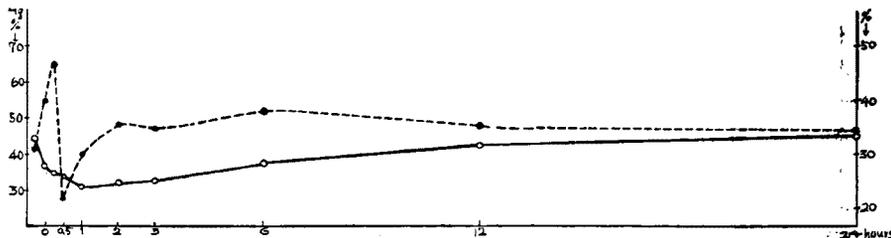
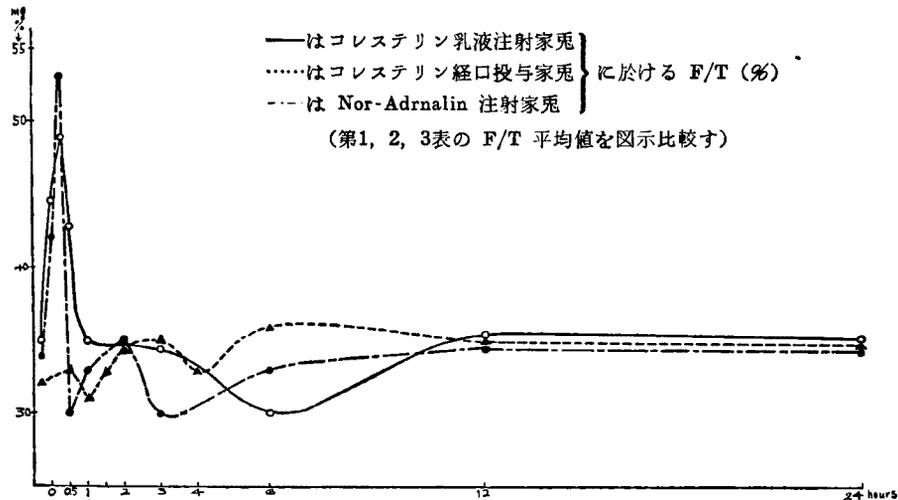


Fig. 12. コレステリン乳液注射, コレステリン経口投与並びに Nor-Adrenalin 注射家兔に於ける血清中の遊離コレステリン: 総コレステリン比 (F/T %) の変動の比較



されて来た Adrenalin 型或は Mönckeberg 型の動脈硬化症は内分泌関係の急激な変化例えば Adrenalin 乃至 Nor-Adrenalin の分泌過剰という様な状態で、先ずコレステリン代謝の急激な異常が起り遊離コレステリンの異常増加を来す事が本質的な原因である様に思われる。この様な考え方は内分泌腺の変化からも或程度違うかがわれるかも知れない。交感神経緊張状態に於て即ち副腎皮質、甲状腺機能の亢進状態に於て遊離コレステリンが上昇するのであれば之を直接血中に注入する場合に第II編に述べた如く之等の内分泌腺が萎縮し、之に類する内分泌腺即ち脳下垂体前葉の好酸性細胞、副腎皮質細胞等が肥大が見られた事も亦当然の結果と見られる。此の様にコレステリンを静脈内に注入する事によつて、或は Adrenalin 乃至 Nor-Adrenalin を注射する事により起こされるコレステリン代謝異常は動脈中膜の筋細胞、弾力繊維の変性を起し、脂肪沈着を起し、更に石灰化に至る一連の Mönckeberg 型動脈硬化症の病変を導くものである。一方経口投与されたコレステリンは上記二つの場合と異つて血液のコレステリン量にそれ程急激な変化を与える事なく遊離コレステリンと総コレステリンとの比は略々一定に保たれつつ投与を続けるに従い総量の上昇を来す。然して此の場合には全く異つた今一つの動脈硬化症の型、即ち Atherom 変性を以て病変は進行する。この様な変化は大動脈内膜のみならず、種々の臓器組織内に種々の起源の細胞から起り得る事、第II編に詳述

した如くである。血中コレステロールの量が如何にして調節されているかは充分には明らかでないが²⁸⁾血中にコレステリンを注入した場合に遊離コレステリン量の増量と同時にコレステリンエステルの減少する事及び Foam Cell の形成が決して遊離コレステリンの上昇を起す如き操作により出現しないという事は血中コレステロールが増加する場合にはコレステリンは主としてそのエステル型に於て網内系細胞、大動脈筋繊維細胞、肝細胞、副腎皮質の細胞、卵巣間質細胞等によりて処理されて Foam Cell が形成されるものと思われる。

以上の様に考えると之等二つの型の動脈硬化症は夫々コレステリン代謝異常の形の相違によつて起るので Mönckeberg 型の硬変が交感神経の刺戟を極端に高める様な種々の原因により現われる事が理解される。一方又 Atherom 変性が高度の脂肪過多食によつて進行する事実も又よく理解される。

全編に亘る著者の実験結果と理論的考察が将来動脈硬化症の予防乃至治療方面へ向つて一つの礎石となる事を望んでやまない。

結 論

家兔にコレステリン乳液を静注した場合、Nor-Adrenalin を静注した場合及びコレステリンを経口投与した場合とに於ける血中コレステリン総量、遊離コレステリン量を別々に分けて測定し、第I、II編の組織学的乃至細胞化学的变化を比較考察して次

の如き結論に達した。

1. コレステリン乳液の静脈注射は Nor-Adrenalin 注射の場合と同様に一過性且急激な血中遊離コレステリン量の上昇を来し且動脈の筋繊維に変性乃至石灰沈着を惹起する。

2. コレステリンを経口投与した場合には血中のコレステリン総量は徐々に増加するが遊離コレステリン量と総コレステリン量との比は常に正常範囲内に保たれ、此の場合には臓器組織に Foam Cell の形成を見ると共に動脈内膜下に Atherom 変性を見る。

3. 以上の結果から血中の遊離コレステリンの上

昇が動脈の中膜の変性乃至壊死を起す要因として働き、コレステリンエステルの上昇は細胞の変性を来す事なく細胞により吸収処理され、これが高度の場合には動脈の Atherom 変性を来すものと考えた。

稿を終るに当り、本研究の機会を与え、終始御懇切なる御指導と御校閲を賜つた恩師妹尾教授に謝意を表すると共に種々御鞭撻、御援助を賜つた小田助教授並びに木本講師に深謝する。尚実験に当つては桑木学士、内海助手に多大の御援助を受けた事を鳴謝する。

参 考 文 献

- 1) Aschoff, L. : Über arteriosklerose, Ztschr. f. d. ges. Neurolo. u. Psychiat., **167**, 214~237, 1939.
- 2) Frey, W. Arteriosklerose, Ztschr. f. d. ges. Neurolo. u. Psychiat., **167**, 237~273, 1939.
- 3) Burger, M. : Ztschr. d. ges. Neurolo. u. Psychiat., **167**, 273, 1939.
- 4) Schettler, G. Lipidstoffwechsel und Arteriosklerose, Verhandl. deutsch. Gesellsch. inn. Med., Kong, **59**, pp. 194~210, 1953.
- 5) Steiner, A. : Geriatrics, **6**, 209, 1951.
- 6) Oliver, M. F. & Boyd, G. S. : plasma lipids in coronary artery disease, Brit. Heart. J., **15**, 389~392, 1953.
- 7) Steiner, A. & Domnanski, B. : Symposium on cardiovascular-disease, cholesterol in arterio sclerosis, with special reference to coronary arterio sclerosis, M. clin. North-America, **34**, 673~683, 1950.
- 8) Boar, E. P. & Adlersberg, D. : Genetic studies on coronary atherosclerosis developing after age of 60 years, Arch. Inn. Med., **90**, 347~354, 1952.
- 9) 小林 : リポ蛋白質に就て, 臨床生理化学シンポジウム (第1集), **32**, 1957.
- 10) 村上 : 動脈硬化症と脂質代謝, 臨床生理化学シンポジウム (第1集), **47**, 1957.
- 11) 王子 : 内科疾患の類脂質代謝異常とその成因と対策に関する研究, 臨床生理化学シンポジウム (第1集), **64**, 1957.
- 12) 大島 : 動脈硬化症, 最新医学, **10**, 9, 149, 1955.
- 13) 太田, 沢住 : 血液及び組織に於けるコレステロールの飽和並びに不飽和脂肪酸エステルの分布に就て, 生化学, **29**, 9, 604~605, 1957.
- 14) Dogiels : quste from Hausberger, Klin. Wachr., **14**, 77~79, 1935.
- 15) 松本 : 高血圧の成因に就て, 第16回日本循環器学会宿題報告, 1952.
- 16) Oda, T. et all. : Histochemical studies on the nervous and humoral regulations of lipid and carbohydrate metabolism, Acta Medic. Okayama, **11**, 3, 1957.
- 17) 喜多 : Adrenalin 投与による体内コレステリンに及ぼす影響に就て, 日本薬理学雑誌, **52**, 1, 1955.
- 18) 井上 : 自律神経中枢の電気刺激による血中リポイド燐の変化に就て, 坂大医学雑誌, **5**, 457, 1953.
- 19) 井上 : 自律神経中枢の電気刺激による血液総コレステリン量の変化に就て, 坂大医学雑誌, **3**, 3, 79, 1951.
- 20) Kuntz, A. & Sulkin, N. M. : Lesions induced in rabbits cholesterol feeding, with special reference to their origin, Arch. path. **47**, 248~260, 1949.
- 21) Stöhr, P. : Mikroskopische Studien zur Innervation des Magen-Darmkanales, Ztschr. f. Zellforsch. u. Mikr. Anat., **12**, 66~154, 1930, ibid **16**, 123~197, 1932.
- 22) Hausberger, F. X. : Fettorgane, Zschr. f. mikroskop. Anat. Forsch., **36**, 231~265,

- 1934.
- 23) 築根 東京慈恵雑誌, 69, 9, 975, 1954.
- 24) Kure & Okinaka : Beziehung des spinal Parasymphaticus zu der Trophischen Innervation, Klin. Wschr. 51, 1789~1793, 1937.
- 25) Page, I. H., Pasternak, L. & Bust, M. Einfluss des insulins in akuten Versuch auf die Blut-und Organlipid, Biochem. Ztschr., 231, 113~122, 1931.
- 26) Gofmann, J. W. et all : Blood lipids and human atherosclerosis, Circulation, 2, 161~178, 1950.
- 27) West, E. S. & Todt, W. R. : Text book of Biochem., Mc Millan, New York, pp. 544~545, 1951.
- 28) Gould, R. G. : Sterol metabolism and its control, Symposium on Atherosclerosis, National Academy of Sciences, Nation Research Council, pub. 388, 1955.
- 29) 石沢・未発表 (昭32年生化学会報告)
- 30) Saifer, A. : photometric determination of total and free cholesterol and cholesterol ester ratio of serum by a modified Liebermann-Burchard reaction, Am. J. clin. path., 21, 24~32, 1951.
- 31) Schönheimer, R. & W. M. Sperry : A micro-method for the determination of free and combined cholesterol, J. Biol. Chem., 106, 745, 1934.
- 32) Sperry, W. M. & M. Webb : A revision of the Schönheimer and Sperry methode of free and combined cholesterol determination, J. Biol. chem., 187, 97, 1950.
- 33) 柴田 血清コレステロール定量法, 日本医事新報, 1785号 (昭33年7月12日号), 1958.
- 34) 安田 コレステロール並に磷脂質割分定量法補遺, 日本生化学会報, 10, 4, 211, 1936.
- 35) Gardner, C. : Cholesterol Content of Aorta in Relation to Severity of Atherosclerosis, Arch. Path., 59, 3, 1955.
- 36) 矢部 : 動脈硬化症に関する実験的研究, 岡山医学会雑誌, 本巻, 第II編.
- 37) 矢部 動脈硬化症に関する実験的研究, 岡山医学会雑誌, 本巻, 第II編.

Experimental Studies on Arteriosclerosis

Part 3. The Changes of Cholesterols and the Total Cholesterols, especially Free Cholesterols, in the Blood of the Rabbits with Experimental Arteriosclerosis

By

Sadayoshi YABE

Department of Pathology, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Satimaru Seno)

Many investigators are studying on the point that cholesterols and fats are greatly involved in the causative mechanism of arteriosclerosis. However, even in the case of an advanced arteriosclerosis cholesterols in blood are not necessarily increased, but quite many show the cholesterol level within the normal range. Furthermore, subsequent research works indicate the problems such as the ratio of cholesterols against phospho-lipids and chylomicron, as well as studies on lipoproteins and electropaper-chromatography are carried out, but conclusive causative factors still remain to be discovered. As reported in Parts 1 and 2 the author recognized the occurrence of arteriosclerosis of the so-called 'adrenalin-injection type' (Mönckeborg type) in the aorta of the rabbits injected with cholesterol emulsion or administered with

a large amount of cholesterol for consecutive days, and also the occurrence of arteriosclerosis of the so-called 'cholesterol type (atheroma type) in the rabbits orally administered with a small amount of cholesterol for successive days. Thus the author pointed out that what was believed to be two types of arteriosclerosis caused by two entirely different factors was in fact the arteriosclerosis induced by the same abnormality in the fat metabolism, and deduced that the differences observable in this disease arose from the differences in the chemical constitution of cholesterols in the blood. In the present report an attempt has been made to clarify further the actual characteristics in the occurrence of two kinds of arteriosclerosis by observing what differences in the chemical constitution of fats in the blood would be brought about by different methods of administering cholesterols on one hand and also by studying the changes in cholesterol contents in the blood at the time of nor-adrenalin injection into rabbits on the other.

Using 8 rabbits, the present experiments were conducted in three groups; namely, a group (2 rabbits) given oral administration of 0.7 g. cholesterol daily; another group (2 rabbits) given daily intravenous injection of 1.0cc. 1% cholesterol emulsion; and still other group (3 rabbits) given daily intravenous injection of 1 cc. 0.1% adrenalin; and at a fixed interval after the administration, blood was drawn from the auricular vein, and the total amount of cholesterol and the free cholesterol content were determined by the digitonin method.

After weighing these results in conjunction with the histological or cytochemical findings of Parts 1 and 2, the author arrived at the following conclusions:

1. The intravenous injection of cholesterol emulsion the same as the nor-adrenalin injection induces a transient and rapid rise in free cholesterols in the blood and the degeneration of muscle fibers or calcium deposit in the artery.

2. In the case of oral administration of cholesterol the total amount of cholesterols increases step by step, but the ratio of the free-cholesterol content against the total amount of cholesterol increases always within the normal range, showing the foam cell formation in visceral tissues as well as atheroma degeneration under the inner coat of artery in this instance.

3. From these results it is believed that the rise in the free cholesterol content of blood acts as an important factor causing the degeneration or the necrosis of the media of the artery, developing to the Mönckebergs median necrosis of artery, while in the case of the rise in the cholesterol-ester, the cholesterol ester is absorbed by the interstitial cells and disposed, forming a foam cell layer without inducing cell degeneration; and when such an increment is great, the atheroma degeneration of the aorta is brought about.
