

顕微フーリエ変換赤外分光法を用いた動脈壁 コレステロールエステルの測定

東京医科大学内科学教室第三講座

*東京医科大学第二生理学教室 (指導: 伊藤久雄主任教授)

西村 晴美 佐藤 潤一 會沢 勝夫*

【要旨】 顕微フーリエ変換赤外分光法 (FT-IR 分光法) を用いて, 食餌性高脂血症ラビットの動脈壁内膜におけるコレステロールエステル (CE) の沈着状態を調べ, 組織学的所見と比較検討した。さらにプロブコールを投与し, 動脈壁への CE 沈着抑制作用を検討した。実験材料は雄性 JW ラビットの大動脈弓を用いた。対照群では組織学的に内膜の肥厚は認められず, FT-IR スペクトル測定で蛋白 (アミド I) のピークは認めるものの, CE のピークはほとんど検出されなかった。一方コレステロール食群では内膜の肥厚が著明で, FT-IR 法にて CE の高いピークが認められた。構造蛋白に対する CE 沈着量を示す CE/アミド I 比は, コレステロール食群で, 抗マクロファージ抗体陽性細胞集簇部において高値を示した。さらにコレステロール+プロブコール食群では, 内膜の肥厚はコレステロール食群よりも少なく, CE/アミド I 比は低値であった。

以上より, FT-IR 分光法は動脈壁の脂質沈着の同定や, 粥状動脈硬化進展度の判定に有用であると考えられた。

緒 言

赤外分光法は分子構造の解析手段として有用であることが注目され, 1911 年 Coblenz ら¹⁾が生物試料の測定を報告して以来, 生物学分野への応用が盛んになった。1970 年代フーリエ変換赤外分光法 (FT-IR 分光法) の導入により, その迅速性, 感度の高さと, 生体の非破壊的な分析という有用性から医学分野でも急速に発展をみた²⁾。以後医学の分野では, 白内障をおこした水晶体を FT-IR 分光法で測定し, アミド I, アミド II のスペクトルの変化によりコラーゲン構造の変化を証明した研究³⁾, 白血病細胞や肺癌細胞⁴⁾, 大腸癌細胞⁵⁾ を用いて赤外スペクトル (FT-IR スペクトル) を測定し, DNA の PO₂⁻¹ のスペクトルが正常細胞より増加するという報告がなされている。動脈壁については, Kodali ら⁶⁾がラビット動脈壁を用いて FT-IR スペクトルを測定し, 脂質分布について解析を試みた。そして動脈硬化形成部位に, 特に不飽和脂肪酸アシル基やコレステロールエステルによる FT-IR スペクトルが良く観察され

たことに注目している。會沢らは⁷⁾最近顕微 FT-IR 分光法を用いて, 高脂血症ラビットの動脈壁の FT-IR スペクトルを測定し, 粥状硬化の進行と, 脂肪酸アシル基とコレステロールエステルによる FT-IR スペクトルの増加が, 相関していることを明らかにした。

初期粥状動脈硬化血管内膜には, コレステロールエステルを始めとする脂質の沈着が認められるが⁸⁾, その局在を測定する方法は確立されていない。そこで今回, 我々は顕微 FT-IR 分光法を用いて高脂血症ラビットの動脈壁内膜の脂質 (コレステロールエステル) 沈着状態を調べるとともに, 量的評価を試み, かつその部位の組織所見と比較検討した。

また, プロブコールはその抗酸化作用が注目され, 動脈壁中の酸化脂質を減少させたり⁹⁾, fatty streak を抑制すること¹⁰⁾が知られている。そこで顕微 FT-IR 分光法にて, プロブコール投与群の動脈壁コレステロールエステルの沈着状態についても検討を行った。

1995 年 1 月 17 日受付, 1995 年 1 月 31 日受理)

キーワード: 顕微フーリエ変換赤外分光法, 粥状動脈硬化, コレステロールエステル, プロブコール。
(別刷請求先: 東京都新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学内科学教室第三講座 西村晴美)

実験方法

1. 実験動物

日本白色家兔(雄性 10-15 週齢), 平均体重 2.9 kg を用いた. 各 9 羽ずつ 3 群に分け, 以下の飼料で 5 週間から 20 週間飼育した. 飼料は一日 200 g 給餌し自由摂取させた. 各群の飼育飼料は次の通りである.

- 1) コントロール群; 家兔標準飼料 (RC4, 日本クレーア)
- 2) 高コレステロール食群 (以下 HC 群); 1% コレステロール含有標準飼料
- 3) 高コレステロール食+プロブコール群 (以下 HCP 群); 1% コレステロール+1% プロブコール (第一製薬より提供) 含有標準飼料

なお各動物とも, 飼料は毎日ほぼ全量摂取していた.

2. 血清脂質の測定

各群, 実験開始時及び 5, 10, 20 週後に, 一夜絶食の後, 耳静脈より採血を行い, 血清総コレステロール (T-Cho), 中性脂肪 (TG), HDL コレステロール (HDL-C) の測定を行った. なお T-Cho, TG は酵素法¹¹⁾, HDL-C はヘパリンカルシウム・ニッケル沈殿法¹²⁾にて測定した.

3. 組織の摘出と標本の作製

5 週, 10 週, 20 週で各群 3 羽ずつ pentobarbital 静脈麻酔 (50 mg/kg) 下で, 皮膚および胸骨を縦切開し, 大動脈を心基部より鎖骨下動脈分岐部まで摘出した. 摘出した大動脈弓は動脈の長軸に垂直に切断し, 心基部より 1 cm の部分を実験に供した. さらに同部位を 5 mm ずつに二分割した. 一方は水溶性包埋剤 (OCT コンパウンド) に包埋して液体窒素により -80 度に凍結させた後, クライオスタットにて厚さ 4 μm の大動脈横断切片を作製し, フッ化カルシウム板に貼付し, FT-IR 用標本とした.

他方はホルマリン固定後パラフィン切片を作製し, HE 染色および抗マクロファージ (M ϕ) モノクローナル抗体 (RAM11, ダコ・ジャパン) にて免疫組織学的染色し, 顕微鏡観察用標本とした.

4. 動脈壁厚の測定

顕微鏡観察用標本を用いて, 一標本につき平均 10 カ所の内膜, 中膜, 外膜の厚さを接眼, 対物ミクロメーター (OLYMPUS) にて測定した.

5. 顕微 FT-IR 分光器による測定

顕微 FT-IR 分光器は Micro FT-IR-100 (日本電子

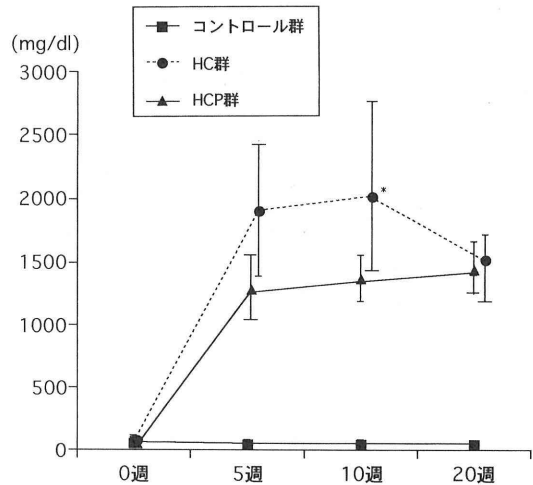


図 1 血清 T-Cho 値の推移 * $p < 0.01$ HC 群 vs HCP 群

社) を使用した. FT-IR スペクトルの解析, 記録には FX80 ソフトウェア (JIR-DIAMOND 20) を用いた. 測定方法は, 標本を顕微鏡下において 20 \times 20 μm^2 の領域で赤外光を照射し, FT-IR スペクトルを測定した.

各データの統計学的検定は Wilcoxon signed-rank test にてを行い, $p < 0.05$ を有意とした.

実験結果

1. 血清脂質

図 1 に示したように血清 T-Cho 値は, コントロール群では実験開始時 68 \pm 18 mg/dl から 20 週 59 \pm 9 mg/dl とほぼ一定値であった. HC 群は前値 84 \pm 37 mg/dl から 5 週で 1904 \pm 519 mg/dl と著増し, 20 週にても 1529 \pm 129 mg/dl と高値を持続した. HCP 群では前値 63 \pm 23 mg/dl から 5 週で 1294 \pm 258 mg/dl と著増し, 以後ほぼ一定値であった. HC 群と HCP 群を比較すると, HCP 群は 10 週では HC 群より有意に低かったが, 5 週, 20 週では両群間で有意差は認めなかった.

図 2 に血清 HDL-C 値の変化を示す. コントロール群は実験開始時 33 \pm 8 mg/dl から 20 週 34 \pm 2 mg/dl とほぼ不変であり, HC 群でも実験開始時 28 \pm 7 mg/dl から 20 週 22 \pm 7 mg/dl と全経過を通じて有意な変化は認めなかった. HCP 群は実験開始時 26 \pm 6 mg/dl から 20 週では 11 \pm 2 mg/dl と有意に低下した. HCP 群とコントロール群を比較する

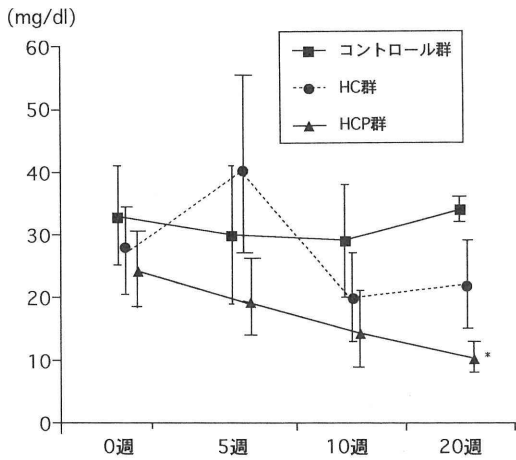


図 2 血清 HDL-C 値の推移 *p<0.01 コントロール群 vs HCP 群

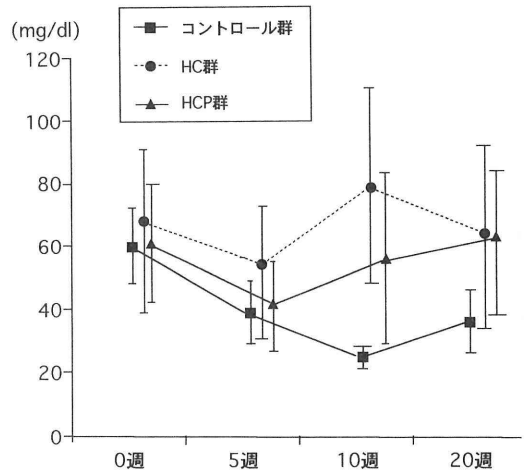


図 3 血清 TG 値の推移

と、20 週では HCP 群で有意に低下していたが、HCP 群と HC 群とでは有意差はなかった。

図 3 に血清 TG 値の変化を示す。コントロール群は実験開始時 60±12 mg/dl から 20 週では 36±10 mg/dl と低下する傾向にあった。HC 群、HCP 群では 20 週で 64±29, 62±23 mg/dl と経過中ほぼ不変であった。また 20 週において各群間に有意差はなかった。

2. 組織所見と内膜肥厚度

図 4～図 6 にコントロール群、HC 群、HCP 群の 20 週の光顕像を示す。コントロール群は、内膜の肥厚は認められず、抗マクロファージ(Mφ)モノクローナル抗体陽性細胞は内膜にも中膜にも認められなかった。HC 群では内膜の肥厚は著明であり、抗 Mφモノクローナル抗体陽性細胞は、内膜上層部に多数集簇して認められた。HCP 群では内膜の肥厚は認められるが、HC 群より軽度であった。抗 Mφモノクローナル抗体陽性細胞は、内皮細胞直下と内膜に不均一に認められた。前述の方法で内膜の肥厚度を測定すると(図 7)、コントロール群は 5 週 35 μm から 20 週 35 μm とほぼ不変であった。HC 群は 5 週 50 μm, 10 週 272 μm, 20 週 639 μm と内膜は顕著に肥厚を認めた。HCP 群では 5 週 44 μm, 10 週 134 μm, 20 週 481 μm と肥厚を認めたが、HC 群と比べ軽度であった。

3. FT-IR スペクトル所見

図 8～図 10 に各群の内皮細胞直下部における FT-IR スペクトルを示す。コントロール群の主なバ

ンド(吸収帯)は 2930 cm⁻¹, 1650 cm⁻¹, 1540 cm⁻¹, 1448 cm⁻¹ に認められ、コレステロールエステルを示す¹³⁾ 1735 cm⁻¹ のバンドはほとんど認められなかった。HC 群では、コントロール群で認められたバンドに加えて、2850 cm⁻¹, 1735 cm⁻¹, 1456 cm⁻¹, 1167 cm⁻¹ など脂質のバンド¹³⁾ が認められた。HCP 群の FT-IR スペクトルは HC 群と同様のバンドが認められるが、1735 cm⁻¹ のバンドのピーク(矢印で示す)は HC 群よりも小さかった。

次に HC 群 20 週の内膜の最肥厚部で、内皮細胞直下から中膜まで、内腔に垂直方向に FT-IR スペクトルを測定し、コレステロールエステルの分布を調べた。図 11 に内皮細胞から 40 μm (a), 100 μm (b), 300 μm (c) の部位の FT-IR スペクトルを示す。コレステロールエステルの沈着量を比較するため、Kodali ら⁹⁾の方法により、1735 cm⁻¹ の吸光度(CE, コレステロールエステル)/1650 cm⁻¹ の吸光度(アミド I, 蛋白質)比を求めた。すなわち、単位体積当たりのコレステロールエステルを沈着量として数値化し比較すると (a) 0.47, (b) 0.86, (c) 0.25 であり、(b) の部位が最も高値であった。組織所見では (b) には抗 Mφモノクローナル抗体陽性細胞の集簇が認められた(図 5)。

4. コレステロールエステル沈着量の週齢による変化

コントロール群、HC 群、HCP 群の 5 週、10 週、20 週のラビットの動脈壁を用いて、動脈壁内皮細胞直下部位を各標本の 1/2 周にわたり内腔に水平方向に連続スキャンし(一標本につき 50-100 回)、得ら



図 4 コントロール群 20 週の組織所見
左側 HE 染色 ×25
右側抗マクロファージモノクローナル抗体免疫染色 ×25

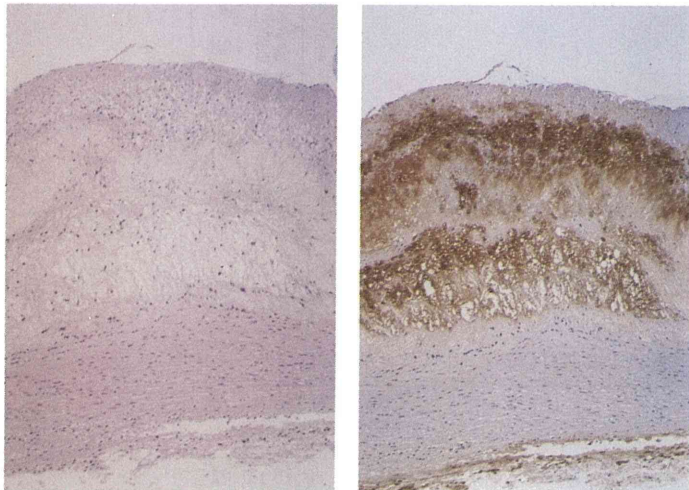


図 5 HC 群 20 週の組織所見
左側 HC 染色 ×25
右側抗マクロファージモノクローナル抗体免疫染色 ×25

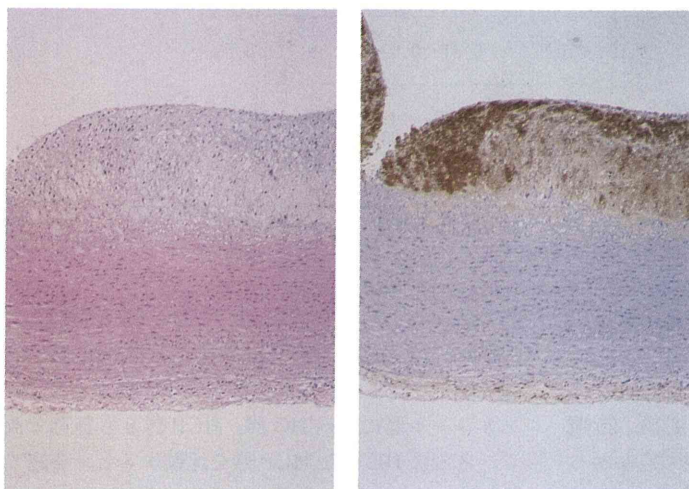


図 6 HCP 群 20 週の組織所見
左側 HE 染色 ×25
右側抗マクロファージモノクローナル抗体免疫染色 ×25

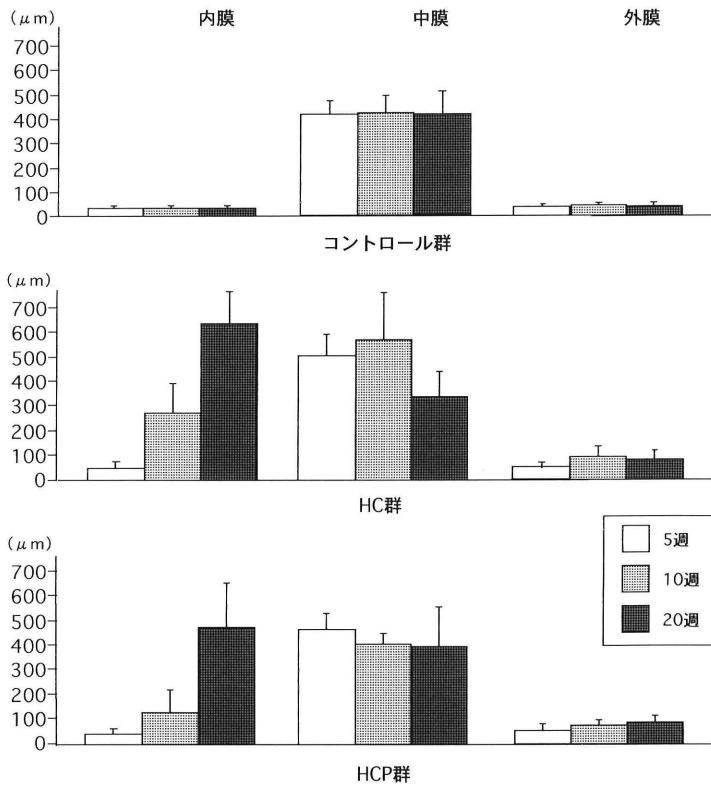


図 7 各群の内膜，中膜，外膜の厚さを示した。

表 1 週齢による平均 CE/アミド I 比の推移

	CE/アミド I 比 (mean±S.E.)		
	5 週	10 週	20 週
コントロール群	0.05±0.01	0.13±0.01	0.16±0.02
	N.S.		N.S.
HC 群	0.19±0.02	0.61±0.02	0.71±0.03
	*	N.S.	
HCP 群	0.11±0.02	0.40±0.04	0.55±0.03
	*	N.S.	

内皮細胞直下部の FT-IR スペクトルから，CE/アミド I 比を計算した。

* p<0.05, ** p<0.05 HC 群 vs HCP 群。

れた FT-IR スペクトルから CE/アミド I 比を算出した。この平均値を，平均 CE/アミド I 比として，週齢による変化を比較検討した (表 1)。

コントロール群は 5 週 0.05，10 週 0.13，20 週 0.16 と低値であり，加齢による影響は見られなかった。HC 群は 5 週 0.19，10 週 0.61，20 週 0.71，HCP

群では 5 週 0.11，10 週 0.40，20 週 0.55 と両群とも 5 週から 10 週にかけて有意に増加したが，10 週と 20 週では差を認めなかった。各群間を比較すると，コントロール群に比べ HC 群，HCP 群とも各週で高く，さらに HC 群と HCP 群を比較すると，各週で HCP 群の方が高く，10 週では有意に高値であった。

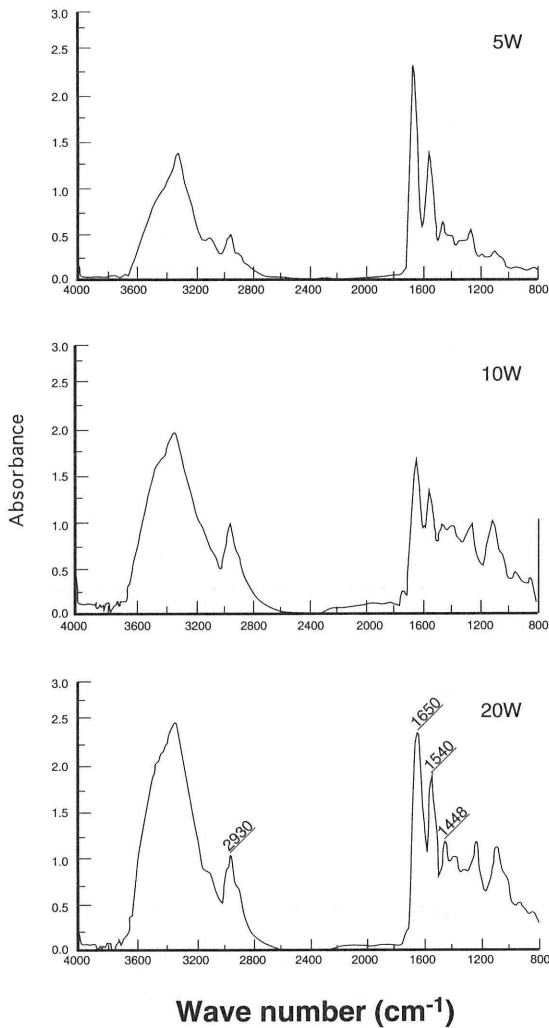


図8 コントロール群のFT-IR スペクトル像
 内皮細胞直下部を測定。1735 cm⁻¹のピークはほとんど認められない。

考 察

今回の実験で、コントロール群の内膜は組織学的所見で肥厚が認められず、FT-IR スペクトル像では、1650 cm⁻¹、1540 cm⁻¹、1448 cm⁻¹のバンド(吸収帯)が主として認められた。これらのバンドは、Parker ら¹⁴⁾によるとすべて蛋白質成分で、各々アミド I、アミド II、蛋白質の C-H bending mode を示すとされている。

HC 群は 20 週は組織学的に内膜肥厚が著明で、FT-IR スペクトル像では、正常内膜で認められたバ

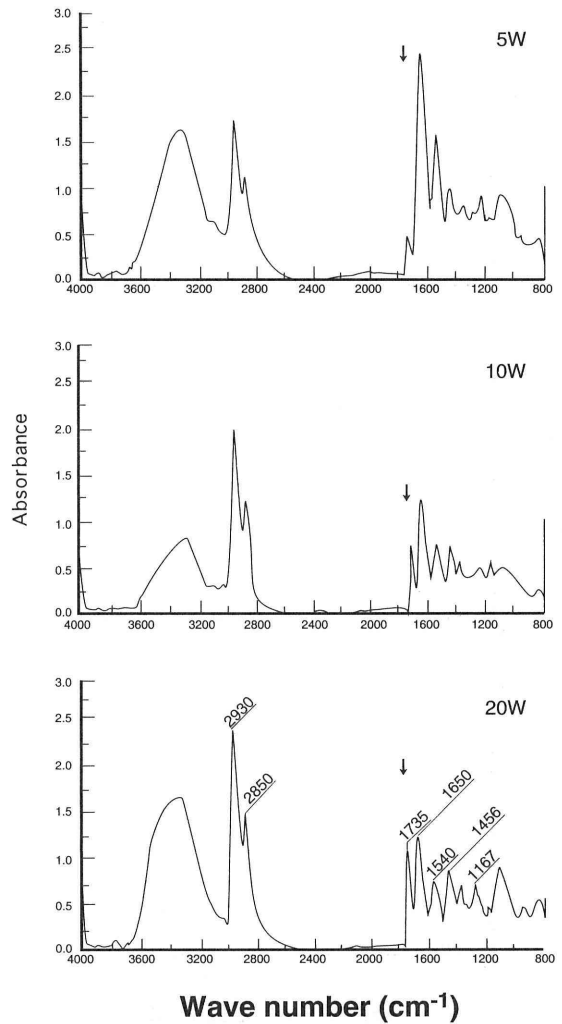


図9 HC 群の FT-IR スペクトル像
 内皮細胞直下部を測定。矢印は 1735 cm⁻¹ のピークを示す。週齢により増加している。

ンド以外に、1735 cm⁻¹、1456 cm⁻¹、1167 cm⁻¹、2850 cm⁻¹ などのバンドが認められた。これらのバンドは、Manoharan ら¹³⁾によると 1735 cm⁻¹ は C=O ester stretching mode、1456 cm⁻¹ は carbonate apatite、1167 cm⁻¹ は C-O ester stretching mode、2850 cm⁻¹ は C-H stretching mode を表すとされており、これらはみな脂質成分である。また 1085 cm⁻¹ はリン脂質を示すとされている。このように内膜肥厚部には組織像で認められるとおり、脂質が沈着していることが確認された。さらに 1735 cm⁻¹ のバンドに注目すると、内膜の部位により吸光度が異なる

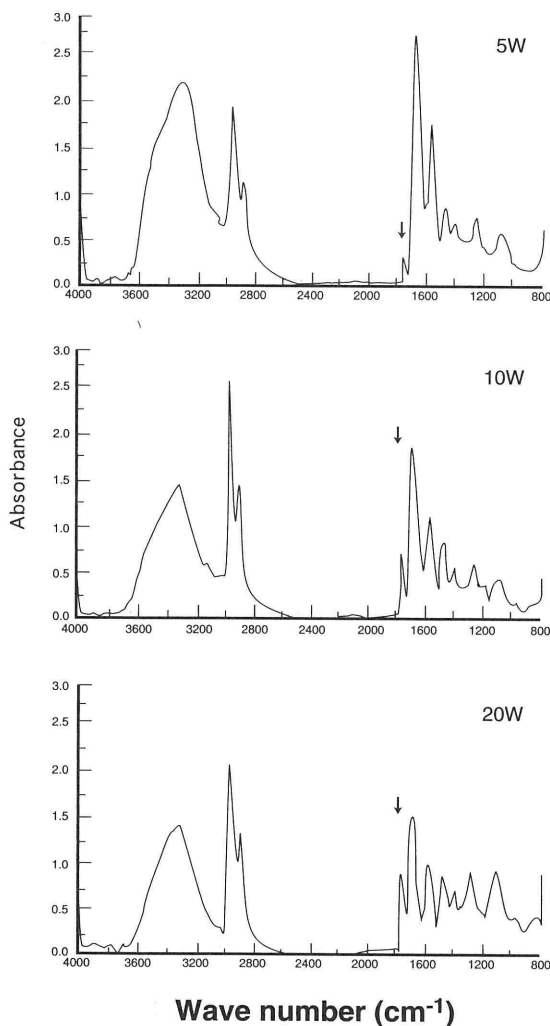


図 10 HCP 群の FT-IR スペクトル像
 内皮細胞直下部を測定。矢印は 1735 cm⁻¹ のピークを示す。

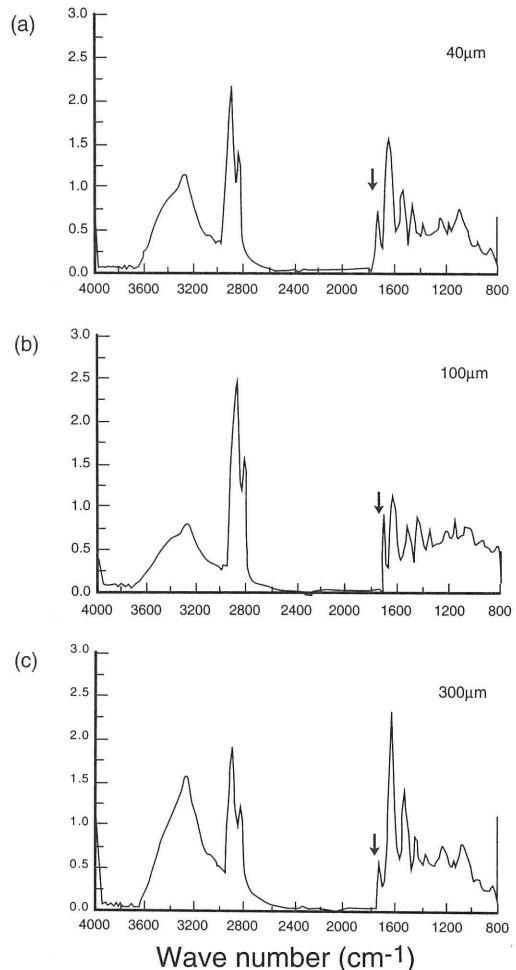


図 11 HC 群 20 週の内膜の FT-IR スペクトル像
 矢印は 1735 cm⁻¹ のピークを示す。
 a) 内皮細胞から 40 μm, CE/アミド I 比は 0.47
 b) 内皮細胞から 100 μm, CE/アミド I 比は 0.86
 c) 内皮細胞から 300 μm, CE/アミド I 比は 0.25

ことが認められた。Kodali ら⁶⁾の方法により、FT-IR スペクトルからコレステロールエステル含量を、構造蛋白スペクトル量に対する比、すなわち 1735 cm⁻¹ の吸光度 (CE)/1650 cm⁻¹ の吸光度 (アミド I) 比をコレステロールエステル相対沈着量とし、組織所見と比較すると、CE/アミド I 比高値の部位は、抗 Mφ モノクローナル抗体陽性細胞の集簇部位に相当していた。粥状動脈硬化巢の初期病変は、泡沫細胞の集簇が特徴的所見である。Buja¹⁵⁾ らの仕事から、初期巢の泡沫細胞は、ほとんど単球由来の Mφ であることが指摘されている。そして病変部の進行

にともない、血管平滑筋由来の泡沫細胞も出現してくる。さて、初期巢に出現する Mφ 由来の泡沫細胞の分析を行うと、なかに含まれるコレステロールエステルは、ほとんどリポ蛋白 LDL 由来のコレステロールであることがわかっている¹⁶⁾。Goldstein¹⁷⁾ によるスカベンジャー経路についての仮説では、リポ蛋白 LDL が何らかの刺激により変性すると、血管内膜マクロファージ (Mφ) に存在する変性 LDL リセプターによって異物と認識され貪食される。そして Mφ が次第に泡沫化し、いわゆる fatty plaque を形成するとされている。また実際生体内に酸化変

性 LDL が存在することを O'Brien¹⁸⁾ らが証明した。これらのことより血管内に蓄積された脂質、コレステロールエステルの定量は、粥状動脈硬化の進展に関与するため重要と考えられる。今回の実験で、CE/アミド I 比の測定を行ったが、それにより動脈のコレステロールエステル沈着程度が推定できると考えられる。

FT-IR スペクトルをみると、HC 群の動脈壁内膜において早期よりコレステロールエステルによるバンドが認められ、さらに週齢と共に増加した。CE/アミド II 比でも増加することが認められた。

一方、プロブコールは LDL の異化亢進、コレステロールの合成阻害、コレステロールの胆汁中への排泄促進等の作用機序により、高脂血症治療薬として用いられている。さらに抗酸化作用により、LDL の酸化抑制¹⁹⁾ や動脈壁中の酸化脂質を減少させる⁹⁾ ことが報告されている。今回、高脂血症ラビットを用いて、プロブコール投与群と非投与群の動脈壁内膜を脂質沈着の程度を、顕微 FT-IR 分光法を用いて検討した。CE/アミド I 比は、HC 群、HCP 群とも 5 週から 20 週で増加したが、各週で HCP 群が HC 群より低く、10 週では有意に低下していた。しかし 20 週では有意差を認めなかった。しかし、HC 群 20 週の内膜厚は $639 \pm 130 \mu\text{m}$ 、HCP 群 $481 \pm 181 \mu\text{m}$ であり HC 群の方が肥厚していた。CE/アミド I 比は、単位体積当りのコレステロールエステル量を表すので、内膜全体としては HC 群の方がコレステロールエステル沈着量は多いと考えられた。

結 語

1) 高脂血症ラビットの動脈壁を、顕微 FT-IR 分光法を用いて検討を行った。動脈内膜肥厚部には FT-IR 法でコレステロールエステルの高いピークが認められ、抗 M ϕ モノクローナル抗体陽性細胞部位との相関を認めた。これらより FT-IR 法は動脈壁の脂質沈着の同定や、動脈硬化進展度の判定に有用であると考えられた。

2) プロブコールの動脈硬化壁への脂質沈着抑制作用が、本法でも確認された。

なお本稿の要旨は、Xth International Symposium on Atherosclerosis (Montreal) において発表した。

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲を賜りました伊藤久雄教授、能登谷洋子講師、ならびに野本さ

い子女史に心から感謝いたします。またプロブコールを提供していただいた第一製薬(株)に、厚く感謝の意を表します。

文 献

- 1) Coblenz, W.W.: Radiometric investigation of water of crystallization, light filters, and standard absorption bands. Bull. Natl. Bur. Standards, Vol. 7: 619~661, 1991
- 2) Kirshman, K. and Hill, S.L.: FT-IR microsampling techniques. Practical Fourier transform infrared spectroscopy: Industrial and Chemical Analysis. Ferrano, J.R. and Kirshman, K. (Eds.) Academic Press, San Diego, 103~165, 1990
- 3) 尾崎幸洋, 岩崎秀夫: 「生体分子分光学入門」107~108, 共立出版(東京), 1992
- 4) Benedetti, E. et al: New possibilities of research in chronic lymphatic leukemia by means of Fourier transform infrared spectroscopy. Leukemia Res. 9: 752, 1985
- 5) Wong, P.T. and Basil Rigas: Infrared spectra of microtome sections of human colon tissues. Appl. Spectro. 44(10): 1715~1718, 1990
- 6) Kodali, D.R. et al: Infrared micro-imaging of atherosclerotic arteries. Appl. Spectro. 45(8), 1310~1317, 1991
- 7) 會沢勝夫: 顕微フーリエ変換赤外分光法による動脈硬化部位の光線力学的治療効果の解析, レーザー学会研究会報告 92(31): 47~52, 1992
- 8) Small, D.M.: Progression and regression of atherosclerotic lesions. Arteriosclerosis 8(2): 103~129, 1988
- 9) Hodis, H.N. et al: Probucool reduces plasma and aortic wall oxysterol levels in cholesterol fed rabbits independently of its plasma cholesterol lowering effect. Atherosclerosis 96: 125~134, 1992
- 10) Kita, T. et al: Probucool prevents the progression of atherosclerosis in WHHL rabbit; An animal model for familial hypercholesterolemia. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84: 5928~5931, 1987
- 11) Allain, C.C. et al: Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin. Chem. 20: 470~475, 1974
- 12) Noma, A. et al: Simultaneous determination of serum cholesterol in high-and low-density lipoproteins with use of heparin, Ca²⁺, and an anion-exchange resin. Clin. Chem. 24(9): 1504~1508, 1978
- 13) Manoharan, R. et al: Biochemical analysis and mapping of atherosclerotic human artery using

- FT-IR microspectroscopy. *Atherosclerosis* **103**: 181~193, 1993
- 14) Parker, F.S. and Ans, R.: Infrared studies of human and other tissues by the ATR technique. *Anal. Biochem.* **18**: 414, 1967
- 15) Buja, L.M. et al: Cellular pathology of progressive atherosclerosis in the WHHL rabbit. An animal model of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* **3**: 87~101, 1983
- 16) Rosenfeld, M.E. et al: Distribution of oxidation specific lipid-protein adducts and apolipoprotein B in atherosclerotic lesion of varying severity from WHHL rabbits. *Atherosclerosis* **10**(3): 336~349, 1990
- 17) Goldstein, J.L., et al: Binding site on macrophage that mediates and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **76**(1): 333~337, 1979
- 18) O'Brien, K. et al: Probucol treatment affects the cellular composition but not anti-oxidized low density lipoprotein immunoreactivity of plaques from Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Atherosclerosis and Thrombosis* **11**: 751~759, 1991
- 19) Parthasarathy, S. et al: Probucol inhibits oxidative modification of low density lipoprotein. *J. Clin. Invest.* **77**: 641~644, 1984

Measurement of Cholesteryl Ester in Rabbit Arterial Walls by FT-IR Microspectrometry

Harumi NISHIMURA, Jun'ichi SATO and Katsuo AIZAWA*

Department of Internal Medicine, Tokyo Medical College
(Director: Prof. Hisao ITO)

*Department of Physiology, Tokyo Medical College

We examined cholesteryl ester deposits on arterial wall intima in hyperlipidemic rabbits using FT-IR microspectrometry, and compared the results with tissue findings in situ. In addition, the effect of probucol administration was studied.

Male JW rabbits were divided into three groups. The animals were fed with standard rabbit diets (control group), diets containing 1% cholesterol (HC group), or diets of 1% cholesterol and 1% probucol (HCP group) for 5, 10 and 20 weeks. After the last observation period, the aortic arches were removed under anesthesia and divided into two pieces. One was employed as a specimen for light microscopic observation. The other was used to prepare 4 μ m thick aortic transverse sections for FT-IR microspectrometry.

Light microscopic findings after 20 weeks in the control group revealed little thickening of the intima. The HC group had marked thickening of the intima. There was a low peak at the 1735 cm^{-1} band, indicating cholesteryl ester (CE), in the control group, but in the HC group, high CE band peaks were found. As compared with tissues, in anti-rabbit macrophage monoclonal antibody cell aggregations (foam cells), a stronger peak at the 1735 cm^{-1} band was detected. The absorbance at 1735 cm^{-1} (CE)/the absorbance at 1650 cm^{-1} (amido I, protein) ratio, indicated the relative intensity of CE. The CE/amido I ratio increased from 5 weeks to 20 weeks, both in the HC group and the HCP group. At 10 weeks, the ratio in the HC group was significantly higher than that in the HCP group.

These results suggest that FT-IR microspectrometry was useful for determining the development of atherosclerosis. Furthermore, this method confirmed the inhibitory action of probucol on lipid deposits in arteries.

<Key words> FT-IR microspectrometry, Atherosclerosis, Cholesteryl ester, Probucol.
