

中山醫學大學醫學研究所博士論文
Doctor Dissertation, Institute of
Medicine, Chung Shan Medical University

紅麴併用乳酸菌對高血脂患者降血脂
之臨床效用與生化指標評估

Evaluation of Cholesterol-lowering Effect and
Biochemical Markers of Red Yeast Rice
Combined with Lactobacillus Casei
in Patients with Hyperlipidemia

指導教授:施宏哲 博士 Hung-Che Shih PH. D.

共同指導教授:林俊哲 博士 Chun-Che Lin PH. D.

研究生:李建瑩 Chien-Ying Lee

中華民國 一百零二年一月

January, 2013

謝誌

身為在職生進修醫學研究所博士班，就學過程雖然辛苦但總算有成果，要感謝的人非常的多，與風濕免疫科魏正宗主任共同撰寫衛生署中醫藥委員會計畫，承蒙中醫藥委員會提供經費補助（計畫編號：CCMP97-RD-043及CCMP99-RD-102），使本計畫得以順利完成，論文得以完稿，特此致謝！

論文完成初稿時，復蒙指導老師中山醫學大學藥理科施宏哲教授及中山醫學大學醫學系系主任林俊哲教授撥冗審閱，加以悉心修改與指導，使論文更趨完善，在此致上最高的謝意。

在修業期間要感謝父母親的支持與鼓勵，讓我能兼顧工作和學業，老婆與兒女的相伴，更是我完成學業的動力。最後，將此論文獻給我摯愛的父親，雖然我的父親在我求學過程中已往生西方，相信我能完成博士學業，在西方極樂世界的父親應很高興與欣慰。

多年的就學過程中，要感謝所有曾經指導過我的教授。在論文完成即將付梓之際，滿懷的是無限感恩的心。在此，以最誠摯的心，向指導過的老師們說聲感謝。

李建瑩 謹致於

中山醫學大學 醫學研究所

中華民國一百零二年一月

目錄

謝誌.....	I
目錄.....	II
第一部分.....	1
壹、中文摘要.....	2
英文摘要(Abstract)	4
貳、文獻綜論.....	6
一、高血脂症與心血管疾病之相關性.....	6
二、膽固醇之來源.....	8
三、紅麴之簡介.....	8
(一) 紅麴的來源.....	8
(二) 紅麴的製作方法.....	9
(三) 紅麴的主要成分.....	9
(四) 紅麴的臨床運用.....	10
四、益生菌與益生質之簡介.....	11
五、紅麴併用乳酸菌對降血脂之作用.....	13
六、研究目的.....	14
參、材料與方法.....	15
一、收案條件.....	15

二、試驗藥品及材料.....	16
三、執行研究之步驟.....	17
四、樣本數評估及統計分析.....	18
肆、結果.....	19
伍、討論.....	23
陸、結論與建議.....	27
柒、圖、表.....	28
圖一 收納受試者之流程圖.....	28
表一 試者基本資料.....	29
表二 第 0、8 及 12 週治療組與控制組之生化數值.....	30
表三 第 0、8 及 12 週治療組與控制組之變化.....	31
表四 治療組與控制組血壓異常患者在第 4、8 及 12 週血壓之變化	32
表五 治療組與控制組肝功能異常患者在第 4、8 及 12 週肝功能於之變 化.....	33
表六 不良事件.....	34
表七 Statin 藥物降低 LDL-C 之劑量比較(Statin equivalent dosages)	35
圖二 治療組與控制組在第四、八及十二週 LDL-C 的比較.....	36

第二部分.....	38
壹、中文摘要.....	39
英文摘要(Abstract)	41
貳、文獻綜論.....	43
一、免疫及發炎試驗.....	43
(一) adipokine (脂肪素)	43
(二) leptin (瘦體素)	45
(三) hs-CRP.....	47
(四) Tumor necrosis factor alpha (TNF- α , 腫瘤壞死因子 α)	50
(五) monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1, 單核球趨化蛋白	
-1)	51
(六) homocysteine (Hcy, 同型半胱氨酸)	53
(七) fibrinogen (纖維蛋白原)	54
二、紅麴與凝血功能試驗.....	55
三、骨代謝生化指標.....	57
(一) C-telopeptide (CTX)	57
(二) osteocalcin (OC, 血清骨鈣化素)	60

參、材料與方法.....	61
一、研究方法.....	61
二、試驗倫理.....	61
三、研究設計.....	62
四、資料之搜集處理及統計分析方法.....	63
肆、結果.....	67
伍、討論.....	69
陸、結論與建議.....	80
表一 第 0 週之生化數值.....	82
表二 第 4 週與第 0 週生化數值之變化.....	83
表三 第 8 週與第 0 週生化數值之變化.....	84
表四 第 12 週與第 0 週生化數值之變化.....	85
表五 第 0、4、8、12 週之生化數值.....	86
表六 第 4、8、12 週與第 0 週生化數值之變化.....	87
圖一 第四週、八週及十二週，治療組與控制組 adiponectin、 C-telopeptide、osteocalcin、TNF-alpha 與 homocystin 之差異.....	88
圖二 控制組 adiponectin 與其他生化指標之關係.....	89

圖三 控制組 leptin 與其他生化指標之關係.....	90
圖四 治療組 adiponectin 與其他生化指標之關係.....	91
圖五 治療組 leptin 與其他生化指標之關係.....	92
圖六 治療組(Red yeast rice+ Lactobacillus casei)與控制組(red yeast rice+ placebo)在第四、八及十二週 MCP-1 的比較.....	93
柒、參考文獻.....	95



縮寫對照表

膽固醇:cholesterol

極低密度脂蛋白:very-low-density lipoprotein cholesterol, VLDL-C

低密度脂蛋白:low density lipoprotein cholesterol, LDL-C

三酸甘油脂:triglyceride, TG

高密度脂蛋白:high density lipoprotein cholesterol, HDL-C

總膽固醇值:total cholesterol, TC

高膽固醇血症:hypercholesteremia

紅麴:red yeast rice, RYR

心血管疾病:cardiovascular disease, CVD

動脈粥狀硬化:atherosclerosis

冠心疾病:coronary heart disease

益生菌:probiotics

益生質:prebiotics

共生質:synbiotics

乳酸菌:Lactobacillus

HMG-CoA 還原酵素抑制劑:HMG-CoA reductase inhibitor

協同作用:synergistic effect

脂肪素:adipokine

瘦體素:leptin



高敏感性 C 反應蛋白: high sensitive C-Reactive Protein, hs-CRP

腫瘤壞死因子 α : Tumor necrosis factor, TNF- α

單核球趨化蛋白-1 : monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1

同型半胱氨酸: homocysteine, Hcy

纖維蛋白原: fibrinogen


血清骨鈣化素: osteocalcin, OC



第一部分

紅麴併用乳酸菌對高血脂患者降血脂

之臨床效用評估



**Evaluation of Cholesterol-lowering Effect
of Red Yeast Rice Combined with
Lactobacillus Casei in Patients with
Hyperlipidemia**

壹、中文摘要

本研究使用具抑制肝臟合成膽固醇(cholesterol)作用的紅麴與乳酸菌桿菌屬中的 *Lactobacillus casei* 經由胃腸道作用抑制膽固醇吸收，兩者合併使用，觀察同時抑制肝臟合成膽固醇的合成與經由胃腸道作用降低膽固醇的機制是否具有加乘作用。

納入條件：(1)18 歲以上之成年人(2)低密度脂蛋白 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 大於 160mg/dl 或三酸甘油脂(triglyceride, TG)大於 200mg/dl。符合收案條件之 60 位受試者於簽署同意書後，隨機分派為治療組(紅麴加 *Lactobacillus casei*)30 位與控制組(紅麴加安慰劑) 30 位，治療期 8 週，延伸追蹤期 4 週受試者於第 0、4、8、12 週回診接受抽血檢測 LDL-C、高密度脂蛋白 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、血中總膽固醇值(total cholesterol)、TG、血糖 (blood glucose)、尿酸 (uric acid)、高敏感性 C 反應蛋白 (hs-CRP)。

受試者第 0 週之基本資料，未達到統計上之顯著差異。第八週時兩組之 LDL-C 均較第 0 週為低，治療組降低 33.85 ± 26.66 mg/dl，控制組降低 38.11 ± 30.90 mg/dl，但兩組之間未達統計上差異($p=0.58$)。兩組之總膽固醇均較第 0 週為低，但兩組之間未達統計差異 (-46.59 ± 31.11 vs -44.54 ± 27.46 mg/dl, $p=0.79$)。兩組間達統計顯著差異之指標

為第十二週治療組平均舒張壓降低 2.67mmHg，而控制組平均舒張壓增加 4.43 mmHg ($p = 0.021$)。

紅麴可有效降低總膽固醇及低密度脂蛋白，然而併用乳酸菌 *Lactobacillus casei* 並未產生加乘作用。

關鍵詞：紅麴、乳酸菌、高血脂



Abstract

To compare the cholesterol-lowering effect of red yeast rice plus probiotic (*Lactobacillus casei*) and red yeast rice plus placebo.

The study was a 12-weeks' double-blinded placebo-controlled study. After at least 4-week washout /diet control period, sixty patients with primary dyslipidemia defined by low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) more than 160 mg/dl or triglyceride more than 200 were randomized to a 8-week treatment of red yeast rice plus probiotic or red yeast rice plus placebo, then shifted to the second 4-week washout /diet control period. Lipid parameters and safety assessments were done at week 0, 4 and 8. The primary endpoint was the mean percent change of LDL-C from baseline to week 8. The secondary endpoints were the mean percent changes from baseline in total cholesterol, triglycerides and safety issues.

We had enrolled and randomized 60 subjects. The baseline characteristics were comparable between two groups. At week 8, both groups achieved significant reduction of serum LDL (33.9±26.7 vs 38.1±30.6 mg/dl, $p=0.58$) and total cholesterol (-46.6 ±31.1 vs -44.5± 27.5 mg/dl, $p=0.79$) as compared to baseline. There were no statistical significance between two groups regarding reduction of LDL-C and total cholesterol.

Red yeast rice capsule can reduce LDL-C and total cholesterol in patients with hyperlipidemia. But the add-on of probiotic(Lactobacillus casei) had no additional effect.

Key words : Red yeast rice, Lactobacillus, Hyperlipidemia.



貳、文獻綜論

一、高血脂症與心血管疾病之相關性

隨著人口老化，慢性病已成為國人主要的死亡原因，心血管病變相關疾病更是名列前茅，而高血脂症是導致心血管疾病的一個重要因素⁽¹⁾，而降低低密度脂蛋白質(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)可降低心血管疾病 cardiovascular disease (CVD)⁽²⁾。由於高膽固醇血症剛開始時通常沒有症狀，而治療上卻又需要長時間服藥，患者的順應性便是一項很大的挑戰。最近幾年來，由於國人飲食習慣改變，使得心臟血管病變如中風、冠狀動脈硬化性心臟病、高血壓，造成之死亡率有逐漸增加的趨勢，而主要病因為高膽固醇血症(hypercholesteremia)。由於高膽固醇易導致動脈粥狀硬化(atherosclerosis)及冠心疾病(coronary heart disease)等疾病，因此如何預防及治療高血脂症是首要策略。

原發性高血脂症若能得到適當的控制，病患能預防疾病產生，降低醫療費用支出，減少因原發性高血脂症的併發症，提升患者生活品質，亦可提升高血壓、腎臟病、糖尿病、心臟冠狀動脈等疾病預防保健工作之成效。

動脈粥狀硬化認為和膽固醇有關，據近來的臨床、流行病學研究和基因研究都證實是由一些運送膽固醇的脂蛋白，如LDL-C上的不飽

和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid; PUFA) 受到氧化而形成氧化型脂蛋白質 (oxidized LDL; ox-LDL) 所造成的⁽³⁾。大部分的LDL-C由極低密度脂蛋白 (Very-low-density lipoprotein cholesterol, VLDL-C) 轉變而來，少部分由肝臟合成。當血中含有高濃度的LDL-C時，LDL-C容易穿透細胞膜而進入內皮下空隙並受內皮細胞、平滑肌細胞及巨噬細胞氧化修飾成氧化型低密度脂蛋白 (oxidized LDL)。氧化型低密度脂蛋白不斷被巨噬細胞(macrophage)所吞噬，繼而轉變成泡沫細胞 (foamed cells) 累積於動脈管內膜，最後導致動脈管內皮細胞受傷，造成血小板的吸附而釋放PDGF (platelet-derived growth factor)⁽⁴⁾，於是細胞增生而使動脈粥瘤增厚，最後形成動脈粥狀硬塊，即為動脈粥狀硬化 (atherosclerosis)。

許多科學家致力於尋找能減少人體內膽固醇的方法和物質，其中之一即是抑制人體內合成膽固醇的能力。如能以天然健康食品，融入患者的生活，作為預防及早期治療的替代方案，用以預防心血管疾病的發生，不失為可行之法。

過去使用降血脂藥物的經驗顯示，降低血脂可以改善冠狀動脈及周邊血管的內皮功能失調，許多臨床研究發現使用Statin降血脂藥物無論是初級或次級預防，對於降低心血管疾病的罹病率及死亡率皆具有正面療效結果⁽⁵⁾。

二、膽固醇之來源

人體內之膽固醇區分為外源性和內生性，外源性膽固醇(exogenous cholesterol)得自飲食，約佔整體膽固醇的2/3;內生性膽固醇(endogenous cholesterol)主要在肝臟中生成，小部份則在其他器官-主要是在腸道中進行，約佔整體膽固醇的1/3。人體之內生性膽固醇是形成VLDL-C之主要成分，VLDL-C於人體內經由循環系統運送膽固醇及三酸甘油酯到肝臟以外組織。VLDL-C經脂蛋白脂肪酶(lipase)之作用，形成中密度脂蛋白(intermediate low density IDL-C)，而後形成LDL-C為身體內運送膽固醇到周圍組織最主要之運送者⁽⁶⁾。因此欲降低人體內膽固醇的含量，可通過調節內生性和外源性膽固醇來控制。

三、紅麴的簡介

(一) 紅麴的來源

紅麴(Anka; Red mold rice; Red yeast rice)在我國上已有千年食用的歷史，被廣泛的用於食品及醫藥，明代李時珍所著〈本草綱目〉對紅麴有以下描述：「紅麴主治消食活血，健脾燥胃」。近來研究發現紅麴之二次代謝物中有monacolin K具有降血脂之功能、 γ -氨基酪酸(γ -amino-butyric acid; GABA)為中樞神經系統中主要抑制神經傳導之物質，擁有降血壓之功效⁽⁷⁾。因此在人類罹患心血管疾病日益嚴重的趨勢下，紅麴成為一項極被矚目之機能性食品。

(二) 紅麴的製作方法

古代紅麴稱丹麴，是中國典型的熟料米麴，它的傳統生產方法在元朝的《居家必用事類全集》、明朝的《本草綱目》、《天工開物》已有敘述。雖然各家製作生產的方法特點各有不同，但整體流程如下：在來白米→洗浸→瀝乾→蒸米→接種→入池保溫→翻麴→補水→烘乾→成品。

在培養原料的選擇上，大多以無黏性的粳米或秈米為主，主要是其澱粉含量高，營養供應充足，且可吸收較合適水分。至於菌種來源，則是利用紅酒糟接種擴大培養，做為紅麴菌的種菌來源。在接種發酵過程中，控溫和補水是兩件大事。紅麴菌較適合的生長溫度，一般在攝氏30度左右。為了避免繁殖時溫度過高抑制生長，也為了使內外層紅麴菌生長一致，保證紅麴品質，古人創造翻堆和分堆的方法來調節合適的溫度（通常是攝氏30~40度）。紅麴菌在繁殖生長期間，需要適時補充水分。隨著紅麴菌生長階段的不同，會有不同的水量需求，特別是繁殖旺盛時期更需及時補充水分。因此，分段、分批給水是紅麴生產獨有的技術，保持恰當水分可保證紅麴菌良好的生長。

(三) 紅麴的主要成分

紅麴是中國傳統食品添加物與中藥由紅麴菌與米發酵而成，先前有研究指出紅麴菌的二次代謝產物monacolin (K, J, M, X and

dihydromonacolin L) 是HMG-CoA reductase 的抑制劑，可以抑制膽固醇(cholesterol) 的合成⁽⁸⁾，其中monacolin K (lovastatin) 已是廣泛被使用的臨床用藥⁽⁹⁾。紅麴成份monacolin K結構式與人工合成降血脂藥物學名為lovastatin一樣。Endo 學者於1979 年，從紅麴培養液中分離萃取得到膽固醇抑制劑monacolin K，之後由*Aspergillus terreus* 分離出相同的化學物質。又進一步發現紅麴可以產生monacolin J、L、X、M 以及dihydromonacolin K、L 等物質，這些物質皆屬於膽固醇抑制劑，而其中monacolin J是由monacolin L經過monooxygenase 加一個氧原子後所得，monacolin k則是由monacolin J 轉變而來⁽⁹⁾。

美國Merck Sharp & Dohme 藥廠研發的mevacor，所含有效成分lovastatin 即是以monacolin K 為主的降低血膽固醇製劑產品。日本三共藥廠的 mevalotin 為 1994 年全日本第一大暢銷藥品，其中所含有效成分 pravastatin 即是 monacolin K 的構造類似物。

(四) 紅麴的臨床運用

因此在動物實驗結果顯示，紅麴 (2%) 無論在有否引發高血脂老鼠的實驗中，皆可降低血中三酸甘油脂(TG)、總膽固醇 (total cholesterol)、非常低密度脂蛋白-C (VLDL-C)、低密度脂蛋白-C(LDL-C)。另外，紅麴亦能抑制經誘導有高三酸甘油脂症 (hypertriglyceridemia) 的老鼠血中三酸甘油脂濃度的持續增加。這些

實驗結果顯示紅麴有抑制高三酸甘油脂血症(hypertriglyceridemia)和高血脂症(hyperlipidemia)的效果。

四、益生菌與益生質之簡介

益生菌(Probiotics)是指具有改善宿主体内内生性微生物相平衡，並有益於宿主健康的單一或數種微生物⁽¹⁰⁾。一般而言，益生菌被認定為活菌本身，但是，近年發現某類益生菌所衍生之活性物質，也具有促進宿主健康的功效，因此目前已把活菌體、死菌體、菌體的萃取物，甚至其代謝產物等，都歸屬於益生菌的範疇。

益生質(Prebiotics)為不能消化的食物原料，幾乎100%通過上消化道，直到消化道後段才被選擇性發酵。可選擇性刺激腸道內一種或數種益菌的生長及活性，進而對宿主產生有利的效用，以改善宿主健康⁽¹¹⁾。對存在腸道內之一種或數種益菌為一選擇性受質，可刺激生長或活化代謝。常見的益生質包括低聚糖(oligosaccharides)、多聚糖(polysaccharides)、菊糖(inulin)、木寡糖(xylo-oligosaccharide)等。

同時使用益生菌及益生質的混合物，稱為共生質(Synbiotics)，可促進腸道有益菌之生長與定殖，形成腸道菌相生態平衡，進而促進人體健康的目的。一研究使用*L. casei* ASCC 292併用fructo-oligosaccharides (FOS) 和maltodextrin，其降血脂效果比單獨使用益生菌為佳⁽¹²⁾，顯示合併使用益生菌與益生質會增加降血脂效果，

因此臨床上使用益生菌來降低血脂，可加上益生質以發揮較佳效果。

動物研究發現益生菌)和/或益生質可降低膽固醇，包括降低總膽固醇與LDL-C或增加HDL-C。

乳酸菌(Lactobacillus)是相當龐雜的菌群，一般泛指為能利用碳水化合物進行發酵，產生多量乳酸之細菌，通常需碳水化合物、氨基酸、核酸衍生物、維生素及多種生長素等養分方可生長。近年有關乳酸菌的應用研究更是突飛猛進且多元化，其健康訴求除了整腸和抑制致病菌外，還有降低膽固醇、活化免疫系統、抑制腫瘤、調節血壓、減緩過敏反應等功效^(13, 14)，對於許多文明病的預防與醫療輔助均有顯著的效果。

乳酸菌菌種目前已知有二百多種菌株，最有名的是保加利亞乳酸菌(*Lactobacillus bulgaricus*)、比菲德氏菌(*Lactobacillus bifidus*)、*Bifidobacterium bifidum*、嗜酸乳桿菌(*Lactobacillus acidophilus*)，四種乳酸菌都是培養優酪乳的主要菌種，其他對人體有益的乳酸菌尚有*Lactobacillus fermentum*、*Lactobacillus casei*、*Lactobacillus salivores*、*Lactobacillus plantarum*等。

乳酸菌具有降低膽固醇的功效：乳酸菌降膽固醇的可能機制有多種方式，一方面是因為乳酸菌本身具有的膽鹽水解酵素活性，使膽固醇在代謝過程中產生去結合形態的膽鹽，若乳酸菌體對膽鹽去結合活

性的增加，使膽固醇與去結型膽鹽產生共同沉澱作用，從而有更多的膽固醇被沉澱下來，達到降低膽固醇吸收的效果。另一方面，乳酸菌細胞膜可鍵結膽固醇，甚至可將吸附的膽固醇進行同化作用，而代謝成細胞所需物質，其中以乳酸桿菌的降膽固醇的能力較佳^(15, 16)。

在動物試驗中發現乳酸菌可經由抑制腸道降低膽固醇的吸收，*Lactobacillus casei*在實驗室培養基生長時可移除膽固醇⁽¹⁷⁾，*Lactobacillus acidophilus*及*Lactobacillus casei*在生長時可藉由產生bile acid hydrolase將膽酸去結合(deconjugate)^(18, 19)。毒性試驗研究顯示*Lactobacillus*菌株可改善肝功能。*Lactobacillus casei*在改善肝功能，抗膽固醇血症的特性和保護受感染的腸道上，比*Lactobacillus acidophilus*佳。乳酸菌降低血脂之作用機轉可能為(1)與膽酸結合而增加膽酸由糞便排除⁽²⁰⁾；(2)與膽固醇結合而增加飲食中的膽固醇由糞便排除⁽¹⁷⁾。目前研究研究具有降血脂之益生菌以*Lactobacilli* 及 *Bifidobacteria*為主，可作為降血脂的另一種替代療法。具有降血脂作用之乳酸菌包括：*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus fermentum*, 其他包括*Bacillus coagulans*及*Bifidobacterium longum*。

五、紅麴併用乳酸菌對降血脂之作用

HMG-CoA 還原酵素抑制劑(HMG-CoA reductase inhibitor)：

主要為statin類藥品，其主要的的作用機轉是抑制膽固醇合成的速率關鍵酵素HMG-CoA 還原酵素的合成⁽²¹⁾。Statin 類藥物的降血脂療效和劑量之間的關係，並未呈現直線關係，而是曲線關係⁽²²⁾。最常見的副作用有腸胃不適、肌肉疼痛、橫紋肌溶解及肝炎，比較少見的副作用是肌肉病變(myopathy)，曾有病人(<1%)於高劑量時出現肝毒性⁽²³⁾。因此使用劑量超過治療劑量時，不但降低LDL-C效果不好，反而增加副作用發生機率。

有研究顯示ezetimibe為新一類之降血脂藥物，屬於膽固醇吸收抑制劑(cholesterol absorption inhibitor)，藉由抑制 Niemann–Pick C1-Like 1 (NPC1L1) cholesterol transporter⁽²⁴⁾，選擇性抑制食物中及膽汁排出之膽固醇在小腸絨毛被吸收，不影響三酸甘油脂、膽鹽及脂溶性維生素的吸收⁽²⁵⁾，單一使用ezetimibe，每天服用一次，一次服用10 mg，可降低LDL-C約16-20%；與statin類藥物併用後，約25% LDL-C的下降率，且可降低三酸甘油酯(TG) 10-15%及增加HDL-C 2-3%，因此statin類藥物與ezetimibe之併用，對膽固醇降低具有協同作用(synergistic effect)。

若能以天然健康食品如紅麴，融入患者的生活，作為預防及早期治療的替代方案，以預防心血管疾病的發生，不失為可行之方法。

六、研究目的

本研究使用紅麴(Red yeast rice)抑制肝臟合成膽固醇，降低內源性膽固醇，併用經由胃腸道抑制膽固醇吸收的*Lactobacillus casei*，降低外源性膽固醇，觀察降低膽固醇的機制是否類似statin類藥物與ezetimibe併用具有協同作用(synergistic effect)。

參、材料與方法

一、收案條件

本研究在中山醫學大學進行之隨機雙盲對照研究 (randomized double-blind clinical trial)，收集原發性高血脂症患者60位。

(一)納入條件：

- 1.18歲以上之成年人
- 2.病人LDL大於160mg/dl或TG大於200mg/dl。

(二)排除條件：

- 1.懷孕或正授乳的婦女
- 2.進入篩選期前需停用以下藥物30天：如HMG-CoA 還原酵素抑制劑 (HMG-CoA reductase inhibitor)、膽酸結合劑(bile acid binding resins)、菸鹼酸 (nicotinic acid或niacin)、fibrate 類衍生物(fibrate derivatives) 或膽固醇吸收抑制劑(cholesterol absorption inhibitor)
- 3.進入篩選期前30天內有改變西藥降血糖之用藥：如有服用

α -glucosidase inhibitor、sulfonylurea、biguanide、meglitinide或PPAR agonists

4.進入篩選期前30天內有服用其他保健食品

5.生化值異常:血清creatinine(0.5-1.3 mg/dL) \geq 3.0 mg/dl; ALT(3-37 IU/l) 超過正常數值5倍

二、試驗藥品及材料

(一) 研究用藥:

1.此研究所使用的紅麴為壽美降脂一號(LipoCol Forte Cap)，衛生署認可的適應症是「降低高膽固醇血症、高三酸甘油脂血症」，效能為「消食活血、健脾燥胃」。衛生署中醫藥委員會表示此紅麴具有降低心血管疾病的功效⁽²⁶⁾。研究用藥及對照劑(Placebo)之製備:每顆紅麴含5.7 mg的monacolin K (lovastatin)、6.8 mg的GABA，而Citrinin無法檢測出(<1.0 ppm)。

2.*Lactobacillus casei*則使用由進口法國Antibiophilus 250mg/cap，主成分為*Lactobacillus casei* Variety rhamnosus，衛署藥輸字第015456號。

3. 對照組用藥:*Lactobacillus casei*之安慰劑，以澱粉製成膠囊劑型。

4. 治療組與控制組之定義

4.1 治療組: red yeast rice + *Lactobacillus casei*

4.2 控制組: red yeast rice + placebo

5. 劑量、劑型:

5.1紅麴膠囊：每天2次（早晚飯後30分鐘內服用各一次），

每次1顆。

5.2「*Lactobacillus casei*」膠囊：每天2次（早晚飯後30分鐘內服用各一次），每次2顆。

6.服用方法：配溫開水口服。

7.治療期：8週。

8.延伸追蹤期：4週。

（二）cholesterol、TG、HDL-C 和 LDL-C 使用商業 kits 酵素檢測方法(OLYMPUS AU2700 analyzer)定量。

三、執行研究之步驟

符合收案條件之 60 位受試者於簽署同意書後，隨機分配為治療組 (30 名) 或控制組 (30 名)，受試者需於第 0、4、8、12 週返回門診追蹤。

在研究執行前，先對受試者進行飲食衛教活動，教導患者在服藥期間應進行飲食控制，在第 0、4、8、12 週的回診，除身體例行性檢查（血壓、身高、體重）外，還需要接受生活品質量表（short form [SF-36]）、排便功能之評估，亦需抽血進行肝腎功能(creatinine、ALT)、低密度脂蛋白(LDL-C、高密度脂蛋白(HDL-C)血中總膽固醇值(total

cholesterol)、三酸甘油酯(TG)、血糖(blood glucose)、尿酸(uric acid)、高敏感性 C 反應蛋白 (hs-CRP) 評估，在第 0 及 8 週的回診。

受試者於三個月的試驗中，總共抽血 4 次，每次抽血約 20 ml ，包含 5c.c.的冷凍血(stock serum)供以後研究使用。同時評估副作用及不良事件(Adverse Event，AE)、嚴重不良事件(Serious Adverse Event，SAE)。

四、樣本數評估及統計分析

本研究的分析族群採「符合方案分析法」(per protocol analysis, PP)，排除未能遵從試驗計劃書、中途退出者，僅納入符合試驗計劃書執行方式的受試者進行資料分析。

(一) 評估各組病人研究起始點疾病相關變項的可比較性(baseline characteristics comparison)，當療效指標變項為連續時，如症狀量表分數，將採 t 檢定或 Wilcoxon rank-sum 檢定(將視變項的分布情形)，若療效指標為類別變項，則將採用卡方檢定或 Fisher's exact test (當沒有超過百分之二十格子的期望值小於 5 時將採用卡方檢定，但當有超過百分之二十格子的期望值小於 5 時將採用 Fisher's exact test)。

(二) 評估不同時間點各組療效指標的差異，當療效指標變項為連續時，將採共變數分析或複回歸(當只有一個連續的干擾因子時使用共變數分析，若一個

(三) 樣本數之估算(Samples size estimation):本研究之第一型誤差(Type I error ; α 值)設定為0.05 , 第二型誤差(Type II error ; β 值)設定為 0.1 , 即本研究之檢力(power)為 0.8 , 主要療效指標為低密度膽固醇(LDL) , 治療組($\mu 1$)預期由 200 mg/dL 降至 160 mg/dL , 對照組($\mu 2$)預期由 200 mg/dL 降至 190mg/dL , 標準差 (SD) 設定為 35mg/dL , 則 $(\mu 1 - \mu 2) / SD +$ 預估退出率 25% 的樣本數 , 計算出所需的總樣本數為 60 人。本研究預定收集 60 位病人 , 第一年底期中分析再評估第二年之樣本數 , 樣本數應有充分的統計檢力來偵測此效應。

上述評估資料以 SPSS 10.0 套裝軟體計算 p 值 , p 值小於 0.05 者為具統計學上意義。



肆、結果

圖一為研究收案流程圖 , 在試驗期間中 , 共篩選 60 位受試者 , 因此共有 60 位受試者納入此研究 , 並隨機分配於治療組 ($n = 30$) 與控制組 ($n = 30$)。經過 12 週後 , 完成全部試驗程序 (completed study) 者 , 治療組為 25 位 , 控制組為 24 位。治療組因故退出試驗者為 5 位 , 原因分別為: 3 位因不良事件(Adverse Event , AE ; 3 位 GI-upset) 及 2 位撤回同意 (withdrew consent) 而退出試驗 ; 控制組方面因故退出試

驗者為 6 位，原因分別為：3 位因不良事件（Adverse Event，AE；GI-upset、Hepatitis、Palpitations）、2 位撤回同意（withdrew consent）及 1 位因失去追蹤，而退出試驗。經採用 LOCF 法（使用最後一筆測量值替代；last observation carried forward）插補遺漏值，最後本研究實際分析人數為 55 位。

表一為所有受試者第 0 週之人口學基本特徵、身體測量值、生化檢驗值、排便功能評估與 SF-36 生活品質量表之分佈情形。在人口學基本特徵部分，治療組平均年齡為 49.13 歲，控制組平均年齡為 46.03 歲，未達到統計上之顯著差異 ($p=0.290$)。兩組男性比例為治療組 23 位，控制組 20 位，未達到統計上顯著之差異 (76.7% versus 66.7%, χ^2 test, $p=0.568$)。在身體測量值部分，治療組平均體重為 75.07 ± 10.75 公斤、BMI 為 27.75 ± 3.56 、平均收縮壓為 141.50 ± 24.52 mmHg、平均舒張壓 85.00 ± 15.48 mmHg；而控制組平均體重為 74.36 ± 15.54 公斤、BMI 為 27.38 ± 4.22 、平均收縮壓為 134.20 ± 18.61 mmHg、平均舒張壓 79.31 ± 12.53 mmHg，兩組在以上數值部分皆未達統計上顯著差異 ($p=0.840$ 、 0.720 、 0.207 、 0.127)。治療組低密度脂蛋白為 150.10 ± 31.16 mg/dl、高密度脂蛋白為 42.70 ± 7.55 mg/dL、三酸甘油酯 241.7 ± 36.93 mg/dL；而控制組低密度脂蛋白為 146.80 ± 29.35 mg/dL、高密度脂蛋白為 43.31 ± 10.66 mg/dL、三酸甘油酯 221.10 ± 83.35 mg/dL，

兩組之間在以上數值的差異皆未達統計上顯著差異 ($p = 0.680$ 、 0.800 、 0.316)。其他實驗室生化值檢驗數值如表一所示。

表二為試驗前 (第 0 週) 與接受試驗第 4、8、12 週二組之數值，表三為為試驗前 (第 0 週) 與接受試驗第 4、8、12 週二組之差異比較，以第 4、8、12 週分別減去第 0 週之平均差異顯示，正值代表相較於第 0 週數據為增加，負值代表相較於第 0 週數據為減少。相較於第 0 週數據為增加，負值代表相較於第 0 週數據為減少。在治療組(red yeast rice + *Lactobacillus casei*) LDL-C 在第 4 週降低 39.00 ± 19.42 mg/dL ($p < 0.001$)，在第 8 週降低 33.85 ± 26.66 mg/dL ($p < 0.001$)，在第 12 週降低 6.89 ± 22.19 mg/dL，未達顯著差異。在控制組 LDL-C 在第 4 週降低 39.29 ± 27.15 mg/dL ($p < 0.001$)，在第 8 週降低 38.11 ± 30.90 mg/dL ($p < 0.001$)，在第 12 週降低 9.00 ± 27.93 ，未達顯著差異。在第 4 週及第 8 週發現紅麴可明顯降低 LDL-C，加上 *Lactobacillus casei* 並未具協同作用(additional effect)，治療組與控制組 LDL-C 的差異達顯著差異。治療組與控制組總膽固醇值的差異與 LDL-C 相似。治療組與控制組 TG 在第 4 週降低 12.44 ± 148.00 mg/dL，在第 8 週降低 34.44 ± 133.90 mg/dL，在第 12 週降低 15.11 ± 107.10 mg/dL，皆未達顯著差異。在控制組 TG 在第 4 週降低 3.04 ± 154.30 ，在第 8 週降低 21.86 ± 64.00 mg/dL，在第 12 週降低 16.64 ± 62.19 ，皆未達顯著差異。在第 4 週及

第 8 發現紅麴併用 *Lactobacillus casei* 具有降低 TG 的趨勢，但變異太大所以二組之間並沒有顯著差異。紅麴並不能增加 HDL-C，即使併用 *Lactobacillus casei* 也不能增加 HDL-C。

治療組降低收縮壓在第 4 週達 1.96 ± 17.68 mmHg，第 8 週達 5.70 ± 19.51 mmHg，第 12 週達 5.04 ± 15.82 mmHg。控制組增加收縮壓 1.86 ± 22.39 mmHg，第 8 週降低舒張壓達 0.68 ± 18.32 mmHg，第 12 週降低達 1.79 ± 14.17 。在第 12 週發現治療組(降低舒張壓達 2.67 mmHg，控制組增加舒張壓 4.43 mmHg，在二組統計上達顯著差異($p < 0.05$)。

表四針對收縮壓大於 130 mmHg 或舒張壓大於 80 mmHg 之受試者進行分析，結果顯示，控制組之收縮壓在第四週降低了 6.77 ± 23.08 mmHg，第八週降低了 9.15 ± 19.39 mmHg，第十二週降低了 2.62 ± 11.49 mmHg，皆未達顯著差異；控制組之舒張壓第四週降低了 4.08 ± 3.92 mmHg，第八週降低 3.92 ± 7.73 mmHg，第十二週增加了 0.38 ± 9.32 mmHg，皆為達顯著差異。治療組之收縮壓在第四週降低了 8.47 ± 11.37 mmHg，第八週降低了 15.13 ± 14.66 mmHg，第十二週降低了 12.60 ± 11.74 mmHg，皆達顯著差異($p < 0.05$)；治療組之舒張壓第四週降低了 5.33 ± 12.47 mmHg，第八週降低了 9.00 ± 11.75 mmHg，第十二週降低了 6.60 ± 8.94 mmHg，第八週與第十二週達顯著差異($p < 0.05$)。

有關肝功能(ALT)與腎功能(creatinine)在治療組與控制組皆未發現有明顯改變，顯示本實驗所使用之紅麴與 *Lactobacillus casei* 對肝功能及腎功能沒有影響。

表四顯示服用治療組與控制組後發生不良反應情形，並未發現二組有明顯差異。

伍、討論

此研究發現紅麴能明顯降低 LDL-C 和 TC，降低 TG 和 HDL-C 的作用並不明顯，併用 *L. casei* 降低血脂效果並沒有達到協同作用。其中一種可能的原因為未加入益生質於益生菌中，因加入益生質可增加降血脂作用。另一可能的原因為使用益生菌 *L. casei* 的劑量不足或 *L. casei* 受胃酸或膽鹽破壞。另一可能的原因為治療高血脂症患者，降低血脂應以漸進方式進行，當紅麴降低 LDL-C 效果非常顯著時，人體胃腸道反而會大量吸收脂肪，導致無法呈現出加乘作用。

紅麴成份 lovastatin 之結構式屬於 decalin-ring，屬於天然 type 1 Statin 的 butyryl group⁽²⁷⁾，乳酸菌中所含之賦形劑可能會抑制 lovastatin 的吸收而抵銷紅麴有些作用。

一些研究發現不同組合的共生質(Synbiotics)具有明顯降低降血脂作用。利用反應曲面法(Response surface methodology, RSM)發現

1.71% (w/v)的 *L. casei* ASCC 292 加入低聚果糖 4.95% (w/v) (Fructo Oligosaccharides, FOS) 和 6.64% (w/v)麥芽糊精(maltodextrin)在 *in vitro* 的研究中降低血脂作用最顯著⁽¹²⁾。此最佳組合的方式在大鼠亦觀察到此現象⁽²⁸⁾。在大鼠餵食共生質的實驗中，以 *L. casei* 10⁹ CFU/g 降低總膽固醇(TC) 和 TG 具顯著差異($P < 0.05$)，與對照組比較，總膽固醇(TC)降低 16.7%，TG 降低 27.1%⁽²⁸⁾。由這些研究發現不同的益生質加入益生菌中，降低血脂的作用並不一致。若於本研究中加入低聚果糖(Fructo Oligosaccharides, FOS) 或麥芽糊精(maltodextrin)降低血脂可能具有協同作用，但仍須進一步研究證實。

有一研究以 *L. casei* N19 與 E5 和 *L. acidophilus* L1 與 ATCC 43121 在 pH 6.0 和無控制 pH 值情況下，比較對膽鹽去結合的能力和從 MRS(Lactobacillus 生長的介質) broth 移除膽固醇的能力。無控制 pH 值情況下，培養 20 小時後，pH 值降至 4.2 ~ 4.5，隨著培養基的不同而有差異。不論是否無控制 pH 值，*L. acidophilus* 移除膽固醇的能力相似。而 *L. casei* 在是否控制 pH 值情況下，移除膽固醇的能力有顯著差異。顯示 *L. acidophilus* 不易受 pH 值影響，而 *L. casei* 易受 pH 值影響。*L. casei* 在 pH 值 6.0 情況下，從 MRS broth 移除膽固醇的能力非常的小，但在無控制 pH 值情況下菌數生長達 60 μg cholesterol/mL。在培養基中 *L. acidophilu* 及 *L. casei* 對膽鹽去結合的

能力可達 60 - 90%⁽²⁹⁾。一研究以 8 種益生菌(Probiotics)，包括：*Bifidobacterium longum* B6, *Lactobacillus acidophilus* ADH, *Lactobacillus brevis* KACC 10553, *Lactobacillus casei* KACC 12413, *Lactobacillus paracasei* ATCC 25598, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Leuconostoc mesenteroides* KACC 12312 和 *Pediococcus acidilactici* KACC 12307，評估去膽鹽結合的能力，發現以 *L. acidophilus*, *L. brevis*, 和 *P. acidilactici* 顯示出對膽酸的結合具有最佳的耐受性⁽³⁰⁾。益生菌必須含有活菌或可利用的有機體，經胃腸道後達到一定的有效濃度才能繁殖⁽³¹⁾。需考慮到益生菌是否可通過胃腸道，以免受到胃酸和膽鹽破壞，改變 *L. casei* 劑型減少胃酸和膽鹽的破壞，能有較佳的降血脂作用，但須進一步研究證實。使用其他較 *L. casei* 去膽鹽結合能力較佳的乳酸菌(*Lactobacillus*)，或選用可通過胃腸道，耐胃酸破壞的益生菌，可能會得到較佳的降血脂作用，須經試驗證實。使用多少合適劑量的益生菌及使用頻率才可達到降低血脂的效果，需進一步評估研究。增加益生菌可能可以增加降血脂作用，但須考慮到會發生胃腸道副作用(例如腹瀉、胃腸不適)。

此研究發現治療組與控制組之指標達統計上顯著差異者為第十二週治療組平均舒張壓降低 2.67 mmHg、控制組平均舒張壓增加 4.43mmHg，二組間達顯著差異 ($p = 0.021$)。此研究所使用的紅麴膠

囊每顆含 6.8mg 的 GABA，具有降低血壓的作用，但兩組均服用了紅麴，觀測到兩組舒張壓降低有顯著差異應與 *L. casei* 有關。有一研究收納 28 位高血壓患者，雖然收納人數不多，卻發現在第四週及第八週治療組與控制組收縮壓及舒張壓的降低有顯著差異，在第十二週平均舒張壓的降低有顯著差異($p < 0.05$)，可推論 *L. casei* 具降血壓作用⁽³²⁾，第十二週表示已停藥四週，二組平均舒張壓的降低有顯著差異，可能與 *L. casei* 影響的時間較慢有關，須進一步研究證實。針對收縮壓大於 130 mmHg 或舒張壓大於 80 mmHg 之受試者進行分析結果顯示，治療組降低血壓效果較控制組佳，表示紅麴所含的 GABA 具降血壓作用，當併用乳酸菌 *L. casei* 可加強降血壓作用。

使用 Statins 藥物常見副作用為肝指數升高，statin 相關肌病變 (statin-associated myalgias, SAMs)，包括肌肉疼痛與無力，通常與劑量有相關性。使用 statin 出現肌炎(Myositis)(creatinine phosphokinase [CPK] 升高現象)與橫紋肌溶解(rhabdomyolysis)現象雖不多見，但一發生通常會很嚴重。紅麴的作用與 Statins 藥物相似，亦可能發生肌病變，但在此研究中並未發現。此研究發生的不良反應以胃腸道副作用最多。

布蘭克 (Blanc) 等人指出，*M. purpureus* 和 *M. ruber* 紅麴菌，無論在固態培養或液態培養物中都可能發現橘黴素，含量約為 100 ~

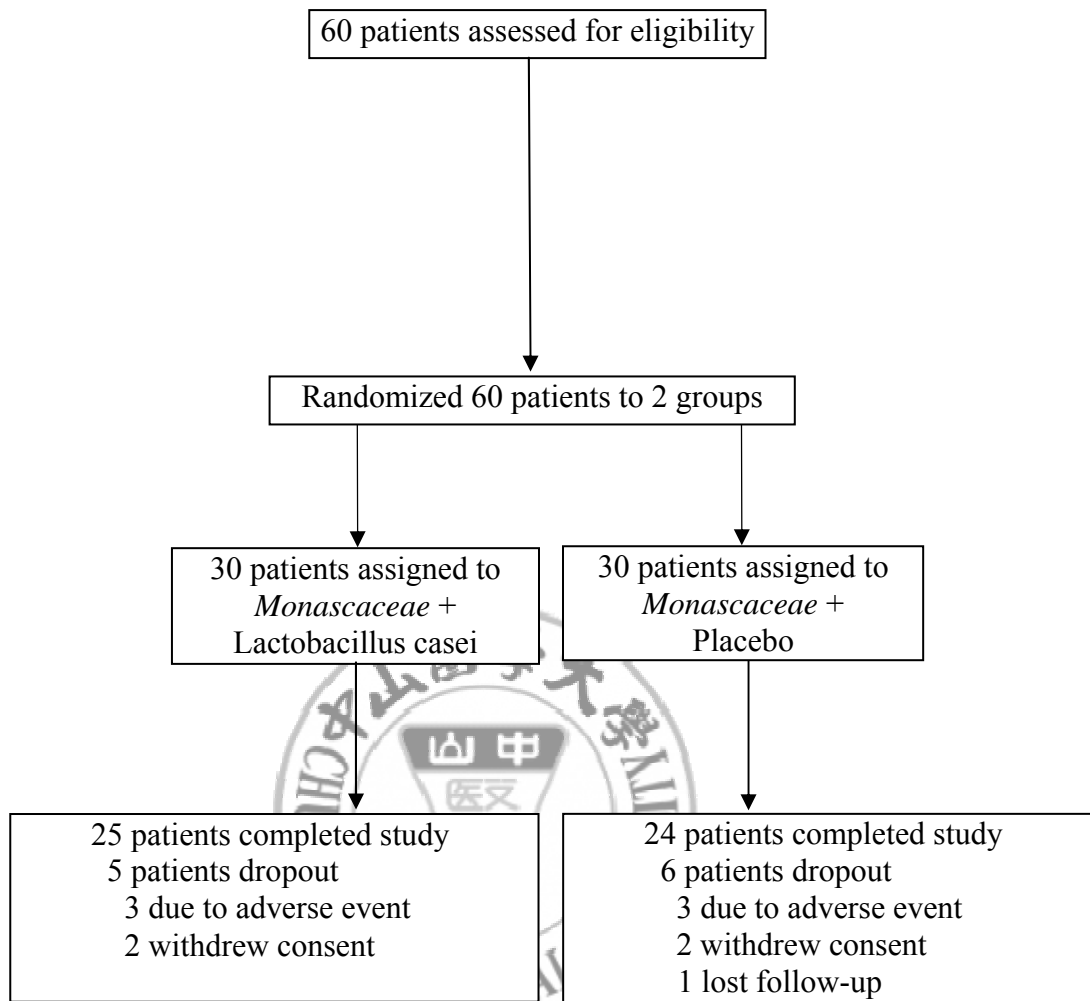
400 mg/L，但也發現有些紅麴米產品中未檢測到橘黴素。過去研究發現在製作紅麴的過程中會產生橘黴素(Citrinin)，具腎臟毒性⁽³³⁾。近幾年紅麴製品橘黴素的污染情況受到特別的關注，1999年荷蘭學者Monica等分析市售12種紅麴發酵米之橘黴素的含量約在0.2~17.1 ppm⁽³⁴⁾。本研究所使用的紅麴膠囊所含的Citrinin無法檢測出(<1.0 ppm)，因此並未發現受試者使用後腎功能(creatinine)與肝功能(ALT)發生異常情況。

陸、結論與建議

表一至表三呈現試驗前後分析結果，紅麴膠囊可有效降低總膽固醇及低密度脂蛋白，併用乳酸菌 *Lactobacillus casei* 對降血脂無協同作用(synergistic effect)。



柒、圖、表



圖一 收納受試者之流程圖

表一 受試者基本資料

	Red yeast rice + <i>Lactobacillus casei</i> (n = 30)	Red yeast rice + Placebo (n = 30)	<i>p</i> value
Age (years)	49.13 ± 9.83	46.03 ± 12.51	0.290
Gender (male%)	23 (76.7%)	20 (66.7%)	0.568
Weight (kg)	75.07 ± 10.75	74.36 ± 15.54	0.840
Height (cm)	164.50 ± 7.15	164.30 ± 9.57	0.956
BMI (kg/m ²)	27.75 ± 3.56	27.38 ± 4.22	0.720
Systolic blood pressure	141.50 ± 24.52	134.20 ± 18.61	0.207
Diastolic blood pressure	85.00 ± 15.48	79.31 ± 12.53	0.127
LDL-C (mg/dL)	150.10 ± 31.16	146.80 ± 29.35	0.680
HDL-C (mg/dL)	42.70 ± 7.55	43.31 ± 10.66	0.800
Total cholesterol (mg/dL)	241.7 ± 36.93	231.10 ± 28.91	0.229
TG (mg/dL)	199.30 ± 66.87	221.10 ± 83.35	0.316
ALT (IU/L)	39.87 ± 28.14	38.97 ± 29.50	0.905
Creatinine (mg/dL)	1.09 ± 0.28	1.01 ± 0.20	0.217
Glucose ac (mg/dL)	104.70 ± 11.95	103.40 ± 13.90	0.704

mean ± SD.

LDL-C, low density lipoprotein cholesterol; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; BMI, body mass index; TG, triglyceride; ALT, alanine transaminase.

The student's t-test was conducted to compare the difference between

Red yeast rice + *Lactobacillus casei* and Red yeast rice + Placebo

1 表二 第 0、8 及 12 週治療組與控制組之生化數值

2

	Red yeast rice + <i>Lactobacillus casei</i> (n = 27)				Red yeast rice + Placebo (n = 28)				p value #
	Baseline	Week4	Week8	Week12	Baseline	Week4	Week8	Week12	
Weight (kg)	75.8 ± 10.9	75.4 ± 10.9	75.2 ± 10.3	75.04 ± 11.0	75.2 ± 15.2	75.1 ± 15.5	75.7 ± 15.5	74.5 ± 15.2	0.893
BMI (kg/m ²)	27.7 ± 3.6	27.5 ± 3.5	27.5 ± 3.6	27.4 ± 3.7	27.6 ± 4.1	27.5 ± 4.2	27.4 ± 4.2	27.3 ± 4.1	0.971
Systolic blood pressure (mmHg) ^a	141.9 ± 24.2	139.9 ± 20.6	136.2 ± 17.6	136.9 ± 15.3	134.1 ± 18.9	136.0 ± 20.1	133.4 ± 19.4	132.3 ± 20.3	0.291
Diastolic blood pressure (mmHg) ^a	85.6 ± 15.6	84.3 ± 13.6	81.5 ± 11.8	82.9 ± 13.2	79.1 ± 12.7	77.2 ± 16.3	78.8 ± 12.1	83.6 ± 14.5	0.242
LDL-C (mg/dL)	152.7 ± 28.9	113.7 ± 26.5	118.9 ± 32.8	145.8 ± 28.8	147.8 ± 29.4	108.5 ± 27.3	109.7 ± 26.5	138.8 ± 34.6	0.322
HDL-C (mg/dL)	42.7 ± 7.8	43.1 ± 9.0	43.5 ± 7.8	42.6 ± 6.8	43.3 ± 10.9	43.8 ± 9.9	44.0 ± 14.1	40.9 ± 9.5	0.997
Total cholesterol (mg/dL)	243.1 ± 37.9	194.4 ± 27.3	196.5 ± 35.7	231.9 ± 34.4	231.2 ± 29.4	185.9 ± 33.8	186.6 ± 30.6	216.6 ± 34.2	0.137
TG (mg/dL)	252.8 ± 139.9	240.3 ± 140.7	218.3 ± 126.3	237.7 ± 139.6	228.6 ± 98.4	225.5 ± 209.0	206.7 ± 102.9	211.9 ± 87.1	0.531
ALT (IU/L)	42.2 ± 28.7	55.7 ± 54.2	47.7 ± 43.8	46.1 ± 44.1	39.8 ± 29.7	42.0 ± 29.5	40.8 ± 30.8	41.3 ± 32.9	0.460
Creatinine (mg/dL)	1.1 ± 0.3	1.1 ± 0.3	1.1 ± 0.2	1.1 ± 0.2	1.0 ± 0.2	1.0 ± 0.2	1.0 ± 0.2	1.0 ± 0.2	0.078
Glucose ac (mg/dL)	104.6 ± 12.6	106.7 ± 14.8	108.7 ± 16.0	106.6 ± 13.8	103.0 ± 14.0	105.3 ± 16.6	106.0 ± 15.3	104.5 ± 12.7	0.594

此研究之治療期八週，延伸期 4 週

Mean ± SD LDL-C, low density lipoprotein cholesterol; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; BMI, body mass index; TG, triglyceride; ALT, alanine transaminase.

#The p-value is that Compare the time trend curves for each endpoint between Red yeast rice + *Lactobacillus casei* and Red yeast rice + Placebo group by using a repeated measures ANOVA.

表三 第 0、8 及 12 週治療組與控制組生化數值之變化

	Red yeast rice + <i>Lactobacillus casei</i> (n = 27)			Red yeast rice + Placebo (n = 28)		
	Week4-Week0	Week8-Week0	Week12-Week0	Week4-Week0	Week8-Week0	Week12-Week0
Weight (kg)	-0.43 ± 1.41	-0.56 ± 1.30*	-0.76 ± 1.78*	-0.06 ± 1.28	-0.46 ± 1.51	-0.63 ± 1.73
BMI (kg/m ²)	-0.17 ± 0.52	-0.20 ± 0.47*	-0.27 ± 0.64*	-0.07 ± 0.49	-0.22 ± 0.58	-0.27 ± 0.72
Systolic blood pressure (mmHg)	-1.96 ± 17.68	-5.70 ± 19.51	-5.04 ± 15.82	1.86 ± 22.39	-0.68 ± 18.32	-1.79 ± 14.17
Diastolic blood pressure (mmHg)	-1.26 ± 12.78	-4.04 ± 11.93	-2.67 ± 9.32	-1.96 ± 12.33	-0.36 ± 9.86	4.43 ± 12.43
LDL-C (mg/dL)	-39.00 ± 19.42*	-33.85 ± 26.66*	-6.89 ± 22.19	-39.29 ± 27.15*	-38.11 ± 30.90*	-9.00 ± 27.93
HDL-C (mg/dL)	0.37 ± 3.95	0.74 ± 3.82	-0.11 ± 4.59	0.50 ± 4.57	0.75 ± 9.54	-2.32 ± 5.31*
Total cholesterol (mg/dL)	-48.67 ± 22.75*	-46.59 ± 31.11*	-11.19 ± 27.12*	-45.32 ± 30.45*	-44.54 ± 27.46*	-14.61 ± 26.00*
TG (mg/dL)	-12.44 ± 148.00	-34.44 ± 133.90	-15.11 ± 107.10	-3.04 ± 154.30	-21.86 ± 64.00	-16.64 ± 62.19
ALT (IU/L)	13.52 ± 42.59	5.52 ± 27.46	3.96 ± 27.62	2.25 ± 14.62	1.04 ± 18.51	1.54 ± 22.72
Creatinine (mg/dL)	-0.01 ± 0.11	-0.01 ± 0.12	0.00 ± 0.12	-0.03 ± 0.09	0.00 ± 0.13	-0.01 ± 0.10
Glucose ac (mg/dL)	2.19 ± 9.18	4.15 ± 8.62*	2.04 ± 8.24	2.32 ± 8.77	3.04 ± 7.98	1.57 ± 5.00

此研究之治療期八週，延伸期 4 週

第八週時兩組之 LDL-C 均較第 0 週降低，治療組降低 33.85±26.66 mg/dl，控制組降低 38.11±30.90 mg/dl，但兩組之間未達統計上差異 ($p=0.58$)。兩組之總膽固醇(Total cholesterol)均較第 0 週降低，但兩組之間未達統計上差異(-46.59 ± 31.11 vs -44.54 ± 27.46 mg/dl, $p=0.79$)。

兩組之指標達統計上顯著差異者為第十二週治療組平均舒張壓降低 2.67、控制組平均舒張壓增加 4.43mmHg ($p = 0.021$)。

The variables were presented by differences between visits after treatment compared to baseline (week 4-week 0; week 8-week 0; week 12-week 0).

* The Paired t-test was conducted to compare the difference from baseline for each variable, $p<0.05$.

表四 治療組與控制組血壓異常患者在第 4、8 及 12 週血壓之變化

	Red yeast rice + <i>Lactobacillus casei</i> (n = 15)			Red yeast rice + Placebo (n = 13)		
	Week4-Week0	Week8-Week0	Week12-Week0	Week4-Week0	Week8-Week0	Week12-Week0
Systolic blood pressure (mmHg) ^a	-8.47 ± 11.37 [#]	-15.13 ± 14.66 [#]	-12.60 ± 11.74* [#]	-6.77 ± 23.08	-9.15 ± 19.39	-2.62 ± 11.49*
Diastolic blood pressure (mmHg) ^a	-5.33 ± 12.47	-9.00 ± 11.75 [#]	-6.60 ± 8.94 [#]	-4.08 ± 14.45	-3.92 ± 7.73	0.38 ± 9.32
Mean blood pressure (mmHg) ^a	-26.00 ± 11.56 [#]	-11.04 ± 11.69 [#]	-15.83 ± 10.60 [#]	-24.15 ± 15.10	-7.67 ± 8.37	-12.50 ± 9.87

Mean ± SD

血壓異常定義：舒張壓 > 130 或者收縮壓 > 80

此研究之治療期八週，延伸期 4 週

* Student's t test and Wilcoxon's rank-sum test was conducted to compare the difference between Red yeast rice + *Lactobacillus casei* and Red yeast rice + Placebo, $p < 0.05$.



表五 治療組與控制組肝功能異常患者在第4、8及12週肝功能於之變化

	Red yeast rice + <i>Lactobacillus casei</i> (n = 16)			Red yeast rice + Placebo (n = 16)		
	Week4-Week0	Week8-Week0	Week12-Week0	Week4-Week0	Week8-Week0	Week12-Week0
ALT (IU/L)	9.56 ± 26.19	2.00 ± 12.13	0.06 ± 10.45	3.38 ± 6.69	1.25 ± 6.14	1.00 ± 6.50

此研究之治療期八週，延伸期 4 週

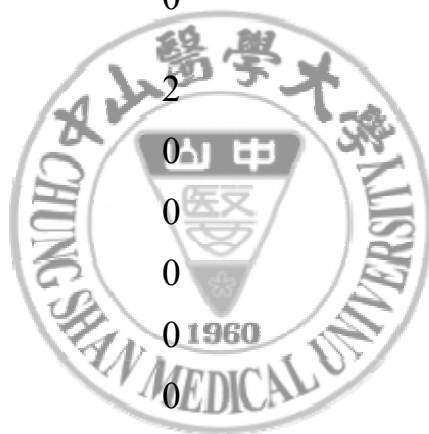
Mean ± SD

肝功能異常定義：ALT > 37



表六 不良事件

	Red yeast rice + <i>Lactobacillus</i> <i>casei</i> (n = 27)	Red yeast rice + Placebo (n = 28)	<i>p</i> value
Upper respiratory tract infection (n)	1	1	1.000
Headache (n)	0	1	1.000
Leg edema (n)	1	1	1.000
Flank soreness (n)	0	1	1.000
Fever (n)	0	2	0.492
Left breast throbbing pain (n)	0	1	1.000
GI-upset (n)	2	3	1.000
Chest tightness (n)	0	1	1.000
Insomnia (n)	0	1	1.000
Palpitations (n)	0	1	1.000
Soreness (n)	0	1	1.000
Organic mental disorder (n)	0	1	1.000
Pneumonia (n)	0	1	1.000
Abdominal distention (n)	1	0	1.000
Dyspepsia (n)	1	0	1.000
Oral ulcer (n)	1	0	1.000

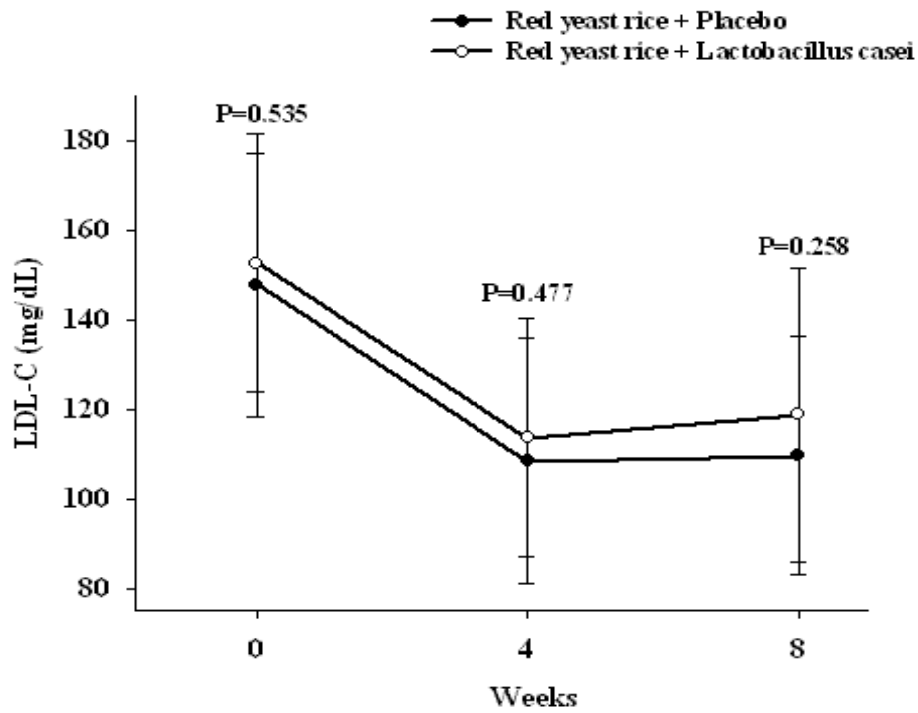


表七 Statin藥物降低LDL-C之劑量比較(Statin equivalent dosages)

(35, 36)

%LDL-C reduction (approx.)	Atorvastatin	Fluvastatin	Lovastatin	Pravastatin	Rosuvastatin	Simvastatin
10-20 %		20 mg	10 mg	10 mg		5 mg
20-30 %		40 mg	20 mg	20 mg		10 mg
30-40 %	10 mg	80 mg	40 mg	40 mg	5 mg mg	20 mg
40-45 %	20 mg		80 mg	80 mg	5-10 mg	40 mg
46-50 %	40 mg				10-20 mg	80 mg
50-55 %	80 mg				20 mg	
56-60 %					40 mg	





圖二 治療組與控制組在第四、八及十二週LDL-C的比較





中山醫學大學附設醫院人體試驗委員會

Institutional Review Board

Chung Shan Medical University Hospital

No.110, Sec.1, Chien-Kuo N. Road, Taichung, Taiwan 402

Phone: 04-24739595 Fax: 04-23248199

CSMUH No: CS08142

計畫名稱：紅麴加上益生菌對降血脂作用之評估

計劃編號：

計畫主持人：李建瑩

版本：【Protocol: CSH-CMCTC-97-011-Pro-V2.0, Date:21/Oct/2008；ICF：

CSH-CMCTC-97-011-ICF-V2.0, Date:21/Nov/2008;Case

Report:CSH-CMCTC-97-011-CRF-V2.0,Date:21/Nov/2008;POP:CSH-CMCTC-97-

011-POP-V2.0,Date:21/Nov/2008;DSMP:CSH-CMCTC-97-011-DSMP-V2.0,

Date:21/Nov/2008】

同意函有效期：98年11月21日

上述計畫已於97年11月20日經本院人體試驗委員會九十七年度第十一次會議決議通過執行。有關計畫主持人的職責、義務、及注意事項均詳列於背面，請參閱並遵守。



主任委員 韓志平

中華民國九十七年十一月二十一日

Permission of Clinical Trial

Chung Shan Medical University Hospital

Date: November 21, 2008

Protocol Title:

Protocol No:

Principle Investigator: Chien-Ying Lee

Version: see above

Above study has been approved by Institutional Review Board of the Chung Shan Medical University Hospital on 21 November 2008 and valid through 21 November 2009. About the essential duties, obligations and responsibilities of the principal investigator please refer to the back page.

Chih-Ping Han

Chih-Ping Han, MD/PhD

Chairman

Institutional Review Board



第二部分

紅麴併用乳酸菌對生化指標之評估

**Evaluation of Biochemical Markers of Red Yeast
Rice Combined with *Lactobacillus Casei* in
Patients with Hyperlipidemia**

壹、中文摘要

目的：

探討血脂異常與血脂正常的患者以紅麴治療後，對血漿中生化指標的影響，包含凝血功能試驗、免疫及發炎試驗及骨代謝生化指標之相關性探討。

研究方法：

受試者於第0、4、8、12週回診，抽血共四次，將第一年留存的研究用冷凍血(stock serum)，進行下列生化及免疫指標之檢驗：

(1)凝血功能試驗：platelet aggregation function test，(2)免疫及發炎試驗：adiponectin、leptin、hs-CRP、TNF- α 、monocyte chmoprotein-1(MCP-1)、homocysteine 及 fibrinogen，(3)骨代謝生化指標：骨形成 (bone formation) -血清骨鈣化素 (osteocalcin, OC)、骨吸收 (bone resorption)：carboxyterminal cross-linking telopeptide of bone collagen(CTX)。

結果：

本研究共納入60位受試者，並隨機分配於治療組 (n = 30) 與控制組 (n = 30)。經過12週後，完成全部試驗程序 (completed study) 者，治療組為25位，控制組為24位。進行其血清之生化及免疫指標檢驗。

研究結果顯示，紅麴併用乳酸菌與紅麴加上控制組比較，在第8

週發現osteocalcin與fibrinogen， p 值分別為 $p=0.084$ 與 $p=0.094$ ，表示紅麴併用*Lactobacillus casei*後，對osteocalcin與fibrinogen的改變較單獨使用紅麴明顯，雖未達統計上差異。Adiponectin、plasma leptin、homocysteine、fibrinogen、C-telopeptide、osteocalcin、tumor necrosis factor-alpha(TNF- α)、monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)的改變在治療組或控制組皆出現有統計上的差異，但collagen and epinephrine (Col/Epi)凝血時間延長只在控制組出現有意義的改變，而治療組並無差異，顯示併用*Lactobacillus casei*反而抵銷了紅麴之抗凝血功能。



Abstract

Aim: To investigate the mechanism of red yeast rice and *Lactobacillus casei* in patients with hyperlipidemia.

Method: Sixty patients with hyperlipidemia were enrolled and randomized equally to group A (red yeast rice + *Lactobacillus casei*) or group B (red yeast rice + Placebo) for 8 weeks, followed by extension follow at week 12. Forty-nine patients completed the study. Serum samples were collected at baseline, week 4 and 8 to test for adiponectin, leptin, homocysteine, osteocalcin, C-Telopeptide, hs-CRP, tumor necrosis factor- α (TNF- α), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) by ELISA kits, fibrinogen and Platelet aggregation time measured by collagen and epinephrine (Col/Epi) method.

Results & Discussion: Sixty patients with hyperlipidemia were randomized and 49 patients completed this study. At week 8, group A (red yeast rice + *Lactobacillus casei*) had a trend of higher serum osteocalcin ($p=0.084$) and fibrinogen ($p=0.094$), as compared to group B (red yeast rice + placebo), although not statistically significant. Both groups showed significant change of adiponectin, leptin, homocysteine, fibrinogen, C-Telopeptide, osteocalcin, tumor necrosis factor- α

(TNF- α), monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1) after treatment, as compared with baseline. No statistical significance was found in serum level of adiponectin、leptin、homocysteine, C-Telopeptide、hs-CRP, tumor necrosis factor-alpha(TNF- α)、monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1) between groups. Platlet aggregation time measured by collagen and epinephrine (Col/Epi) increased in group B, but not group A, indicating Lactobacillus casei might diminish anti-coagulation effect of red yeast rice.



貳、文獻綜論

一、免疫及發炎試驗：

(一) adipokine (脂肪素)

脂肪素(adipokine)為分化的脂肪組織所分泌的細胞激素(cytokine)⁽³⁷⁾，由 244 個胺基酸組成⁽³⁸⁾，與動脈粥狀硬化與心血管疾病有相關性⁽³⁹⁾，參與身體許多生理功能，例如胰島素敏感性與能量平衡⁽⁴⁰⁾。在肥胖⁽⁴¹⁾或高血脂⁽⁴²⁾的患者可發現血漿中的脂肪素降低。

脂締素是由脂肪組織所分泌出來的一種在人體內含量很豐富的蛋白質。在脂肪細胞分化的過程中，脂締素的訊息核糖核酸(messenger RNA, mRNA)的含量，會被誘導合成約 100 倍以上。脂締素之分子量大約是 30 kDa 左右，在成年人的血漿濃度約為 2-20 $\mu\text{g/mL}$ ⁽⁴³⁾。雖然它是由脂肪組織所分泌，直覺上會以為脂肪組織愈多的人，體內濃度應該愈高，但事實上卻剛好相反。在肥胖的健康人體內的脂締素濃度，遠比非肥胖者為低⁽⁴¹⁾。

血漿中的脂締素降低與冠狀動脈疾病(coronary artery disease)有相關性⁽⁴⁴⁾，且脂肪素的低下可預測冠心症的嚴重性⁽³⁹⁾。

在動物實驗中，將合成的重組脂締素蛋白(recombinant adiponectin)打入大鼠體內，不僅可以增加胰島素的敏感度、進一步造成血漿中葡萄糖、脂肪酸濃度降低⁽⁴⁵⁾，甚至可以減輕實驗動物的脂肪

肝的嚴重度⁽⁴⁶⁾，不論脂肪肝是由酒精性或非酒精的因素所造成，並且改善實驗動物動脈硬化的嚴重程度^(47, 48)，而且有減重的效果⁽⁴⁹⁾。看起來 adiponectin 對於人體的代謝相關指數有非常好的預測價值，實驗動物的研究也顯示，adiponectin 在未來有很大的機會可以用於治療新陳代謝或動脈硬化相關的疾病，甚至用來治療現代人相當常見的脂肪肝。

脂締素幾乎與所有代謝症候群有關的參數，包括身體質量指數 (body mass index, BMI)、腰圍(waist circumference)、腰臀圍比例 (waist hip ratio, WHR)、空腹血漿葡萄糖濃度(pre-prandial plasma glucose)、血清胰島素 (serum insulin)、TG 及 HDL-C、血壓等等，有非常密切的關聯⁽⁴⁹⁻⁵²⁾。血中脂締素濃度過低，不只會伴隨代謝症候群 (metabolic syndrome) 的危險性增加，也與冠狀動脈心臟病的發生有關，在冠心病患者的血中脂締素濃度明顯的較一般人為低⁽⁵³⁾，表示脂締素可能與大血管的病變(macroangiopathy)有關。最近，脂締素)被發現有抗發炎，抗糖尿病和抗動脈粥狀硬化的作用^(40, 41, 54, 55)。

脂締素在成年男子血漿中的濃度比在成年婦女為低，而在動物模型中觀察到由雄激素引起的脂締素下降的現象可以解釋這些差異。過去的研究顯示，血漿脂締素濃度與 TG 及 LDL-C 呈負相關，而與 HDL-C 呈正相關^(56, 57)。脂締素具有抗血管發炎的作用、

增加游離脂肪酸(free fatty acid)的氧化而降低了 TG 及血糖，進而增加了胰島素的敏感性、降低胰島素阻抗，因此具有抗糖尿病的作用。在動物及人體可發現脂締素可抑制動脈粥狀硬化的發展⁽⁵⁸⁾。因為動脈粥狀硬化是一種慢性發炎果，所以脂締素亦具有抗動脈粥狀硬化的作用。另外，脂締素亦可增加一氧化氮(NO)的產生，改善了內皮細胞功能，進而改善了動脈粥狀硬化及高血壓的發生。

(二) leptin (瘦體素)

自從肥胖基因(*obese (ob) gene*)及其相關產物發現後，瘦體素(leptin)和脂肪組織被認為不只是能量儲存的地方，同時也是分泌各種不同荷爾蒙的組織⁽⁵⁹⁾。瘦體素是一個分子量大約 16KDa 的蛋白質荷爾蒙，在調節能量代謝上扮演重要角色，經由與腦部及胰臟、肝臟、脂肪組織和免疫系統等週邊組織的 leptin 接受體結合後，可降低食慾，增加能量代謝⁽⁶⁰⁾。

瘦體素由皮下脂肪組織所分泌，和過多的脂肪量有明確的相關性。瘦體素的製造與形成，是遵循著蛋白質製造的通則—基因上的密碼由傳訊者核糖核酸 (mRNA) 轉錄後，再轉譯成胺基酸，形成蛋白質。瘦體素於 1994 年由美國洛克菲勒大學費德曼 (Friedman) 博士的研究小組，在一種遺傳性肥胖的 ob/ob 小鼠找

到其肥胖基因 (ob gene) 後所發現。Ob 基因只在脂肪細胞表現，其基因產物即為瘦體素(leptin)。對肥胖 ob/ob 小鼠而言，即因為其 ob 基因突變無法合成正常的瘦體素(leptin)，而使原本應該對腦中樞的回饋作用受阻，進而出現嗜食、產熱缺陷與肥胖。然而瘦體素缺陷的 db/db 肥胖小鼠（瘦體素瘦體基因突變），其因並非缺乏瘦體素分泌，而是有較高的瘦體素濃度，但體內對於瘦體素無反應或減弱，稱為瘦體素阻抗(leptin resistance)，因此，補充瘦體素對於瘦體素阻抗的肥胖患者，沒有太大效用。

血清瘦體素於周邊作用可抑制 acetyl CoA carboxylase 的活性、脂質合成、降低 TG 及增加脂肪酸氧化。當個體攝食過量時，雖會增加瘦體素濃度，但隨著濃度持續增加後，體內會產生瘦體素阻抗的調節作用，若長期有此反應時，瘦體素的周邊作用將會減弱，而腦部作用則不受影響。當個體的體脂肪量增多或脂肪細胞體積變大時，瘦體素分泌量將伴隨增加，並經由血液循環運送至下視丘與 Ob-Rb 結合，進而抑制神經胜肽 Y (NPY) 合成，促使個體減少攝食並提高能量消耗，避免體脂肪過度累積。

Kacsoh (2000)認為肥胖者血中瘦體素濃度異於常人，可區分為兩大類：一為脂肪細胞分泌瘦體素的量低於常人；二為瘦體素無法順利運作於標的組織(target tissue)，進而影響正常回饋機制。

Kacsoh(2000)認為脂肪組織體積變大是一種適當回饋機制，可能為補償個別脂肪細胞低水平瘦體素合成或脂肪細胞藉由下視丘補償瘦體素阻抗作用。換言之，個體肥胖乃是為達成瘦體素正常運作於生理機能所產生的一種補償性反應。

在成年人，瘦體素與體重具有相關性。成年肥胖者血漿中脂締素濃度降低與發展為肥胖及胰島素阻抗性具有相關性。此研究監測血漿中脂締素與瘦體素濃度與體重和 BMI 相關性。無論是血管內或血管外因素所造成的發炎反應，皆會引發一連串免疫反應，如：IL-1 β 、TNF- α 等，這些細胞激素會影響脂質的代謝，促使肝臟分泌急性蛋白。

紅麴對脂締素和瘦素的作用已在一些研究評估中，有需要進一步研究紅麴與脂締素、瘦體素和血脂之相關性，同時觀察高血脂患者服用紅麴後相關臨床檢驗數值的變化，是一項值得研究的課題，本研究既在探討此一主題。

(三) hs-CRP 在心血管疾病的風險評估

高敏感性C反應蛋白 (hs-CRP, high sensitive C-Reactive Protein) 是一種由肝臟生成的特殊蛋白⁽⁶¹⁾。原本當作發炎的指標，當體內有急性炎症、細菌感染、組織的破壞、惡性腫瘤時很快就出現，而治癒時

又很快就消失，又稱為急性期反應蛋白(acute phase reactant)⁽⁶²⁾。CRP 正常上限為0.3 mg/dL。在一般輕微發炎或是病毒感染時CRP 上升至1 to 5 mg/dL，此外年齡性別、肥胖、抽菸、飲酒、運動習慣與服用藥物（抗發炎藥或賀爾蒙藥物）也會影響濃度⁽⁶³⁾。近年來發現在正常範圍內的偏高CRP可以預測心血管疾病的風險^(64, 65)。CRP在心臟血管系統疾病發作（急性心肌梗塞、腦血管障礙等）時也會上升。此外CRP也是一個可以預測急性冠狀動脈症候群預後的好指標⁽⁶⁶⁾，它與粥狀硬化斑塊不穩定及可能會破裂相關^(67, 68)。在冠狀動脈硬化上升的機轉尚未明白，不過很多學者認為CRP的上升對於預期心臟血管系統疾病發作有其重要性，是一種危險因素，對於預期血管硬化症有其價值。

臨床上hs-CRP使用免疫呈色法(ELISA)測定，敏感度高，能測到0.08 mg/L，針對心血管疾病危險指標之標準為<3.24 mg/L。臨床上對冠心症之初級預防，除了LDL-C 外，可以加上hs-CRP之測定。研究顯示，CRP可能會造成血管粥狀斑塊剝落。一旦碎片進入血液循環，會造成血栓、心肌梗塞、中風。目前研究顯示，hs-CRP不超過1.0 mg/L 時為低危險群，1.0~3.0 mg/L 有中度危險，如果超過3.0 mg/L 時則為高危險群⁽⁶²⁾，尤其是在超出正常值的患者⁽⁶⁹⁾，即使LDL-C 值在正常範圍也須考慮是否要作預防性治療。

在罹患心血管疾病的風險方面（包括冠狀動脈疾病、心肌梗塞、

腦中風、週邊血管疾病及突發性心猝死等)，hs-CRP值最高的族群相較於最低的族群，其相對危險性高出2至4倍。此外，在Ridker的Women's Health Study中，針對超過2萬7千名的健康女性研究亦發現：當把所有的心血管疾病之危險因子加以調整後(包括高血壓、糖尿病、抽菸、年紀及荷爾蒙治療)，血中LDL-C值在預測心血管疾病風險的能力上就會降低，但相對的，hs-CRP卻還保有相當的鑑別率。更進一步的分析發現：即使是相同的LDL-C，只要hs-CRP愈高，將來罹患心血管疾病的風險就愈高；甚至發現在低濃度LDL-C (<130 mg/dL)而高hs-CRP(>3mg/L)的族群，其罹病風險仍高於高濃度LDL-C(>160 mg/dL)而低hs-CRP (<1mg/L)的族群。並且依據Framingham Risk Score(包括輸入年紀、性別、總膽固醇、高密度脂蛋白、收縮壓、及抽菸與否)可計算出患者在未來十年內罹患心血管疾病的風險率，在相同的分數下，hs-CRP愈高者，心血管事件發生的機會還是相對較高。另外，一些研究發現：若將hs-CRP及HDL-C的比例(TC: HDL-C ratio)做聯合判斷，可明顯增加心血管疾病風險的評估力。hs-CRP也被用來作為慢性低程度炎症治療的指標。

在in vitro研究及臨床試驗顯示，Statins可明顯降低hs-CRP^(70, 71)。罹患急性冠心症的患者服用statin藥物，若LDL-C控制在70 mg/dl以下，CRP在2 mg/L以下，在2.5年內再次罹患急性冠心症的比率或死亡率較

LDL-C在70 mg/dl以上，CRP在2 mg/L以上低許多。使用statin藥物，CRP數值提供另一項參考⁽⁶²⁾。在一收納50位患有冠狀動脈疾病的雙盲實驗，25位每天服用1200mg的紅麴，25位服用安慰劑，經過6週的治療，服用紅麴這一組CRP由2.7降至1.3 ($p < 0.001$)，服用安慰劑這一組CRP由2.7降至2.1 ($p < 0.05$)⁽⁷²⁾。

(四) Tumor necrosis factor alpha (TNF- α , 腫瘤壞死因子 α)

腫瘤壞死因子 α 是一種重要的促進發炎反應細胞素 (proinflammatory cytokine)，其分子量為17,000，主要是由單核球 (monocytes) 所合成的⁽⁷³⁾，其合成量多寡也與白血球表面抗原(Human Leukocyte Antigen, HLA) class II基因型(genotype)有關⁽⁷⁴⁾。低濃度TNF- α 的主要生物活性有下列幾種：(1)TNF- α 能誘發血管內皮細胞表現新的附著分子(adhesion molecules)，使白血球(嗜中性白血球、單核球、淋巴球)能附著在內皮細胞表面，使得白血球聚集在發炎的部位。(2)TNF- α 能活化白血球，以殺死微生物；特別是活化嗜中性白血球，其次為巨噬細胞。(3)能結合細胞表面受體，啟動計劃性死亡的步驟，誘發標的細胞凋亡。當身體受到致病菌的攻擊或其他傷害的刺激時，便會刺激吞噬細胞(macrophage)產生必須且充足的TNF來調節局部或全身性的發炎反應。局部組織傷害誘導TNF增加所造成的發炎反應，其主要症狀為紅、腫、熱、痛，當組織傷害經降低心輸出量(cardio output)

而誘導TNF 全身系統性的增加時，則會誘發微血管栓塞，及全身微血管通透性增加造成水腫(systemic capillary leakage syndrome, SCLS)^(75, 76)。TNF 放大及延長發炎反應，是藉由活化其他細胞釋放兩種細胞激素IL-1(interleukin-1)和high mobility group B1(HMGB1)，以及其他的調節分子如eicosanoids，NO，氧氣濃度等⁽⁷⁷⁾。TNF 在局部傷害反應之後，正常情況下便會降低TNF 的濃度來限制發炎反應。TNF 在濃度低時，會幫助宿主促進凝固作用(coagulation)而限制住入侵者，預防致病菌經由循環系統擴散，並會刺激受傷的組織生長⁽⁷⁸⁾。

TNF- α 會刺激脂肪溶解並且能經由自泌調節(autocrine)的功能明顯改變脂肪細胞的生理活性⁽⁷⁹⁾。許多動物的研究也發現基因表現為肥胖及胰島素阻抗的大鼠，例如 ob/ob、db/db 及 fa/fa 大鼠，都有 TNF- α 過度表現的情形⁽⁸⁰⁾。在人類的研究上則發現 TNF- α 在脂肪 m-RNA 以及蛋白質的表現上有較低的現象，但是與身體脂肪量呈現正相關，減重後則有 TNF- α 降低的現象⁽⁸¹⁾。

(五) monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1, 單核球趨化蛋白-1)

單核球趨化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1) 在 1990 時被純化出來，MCP-1 是一種由 76 個氨基酸所組成的蛋白質，是一醣化蛋白，分子量為 14 kDa⁽⁸²⁾，屬於 CC-Chemokine

family (monocyte)之一員，基因定位於染色體 17q11、2-12⁽⁸³⁾，對單核球(monocyte)的趨化移行具專一性，使單核球可以穿過內皮細胞層進入到內皮下間隙⁽⁸⁴⁾，一些研究也指出除單核球外對於 T lymphocyte 與 NK cell 也具有吸引力⁽⁸²⁾。在單核細胞表面有 MCP-1 高親合力的特異性結合受體，125I 標記的 MCP-1 能很迅速地與單核細胞相結合。當只存在一個跨內皮細胞層的濃度梯度時，MCP-1 才能促進單核細胞的遷移，說明其作用是可溶性趨化，而非接觸性趨化⁽⁸⁵⁾。於動脈硬化斑巨噬細胞聚集的區域，有大量的 MCP-1 出現⁽⁸⁶⁾。因此，MCP-1 被認為跟動脈硬化的形成有正相關。這類的細胞趨化素會與細胞膜上 G 蛋白偶合的 CC 細胞趨化素接受器 (chemokine receptor, CCR) 結合，進而活化細胞⁽⁸⁷⁾。

MCP-1 可由許多細胞所產生，例如在氧化壓力(oxidative stress)下產生、由細胞激素(cytokine)、成纖維細胞、平滑肌細胞、內皮細胞生長因子(growth factors) 等所分泌⁽⁸³⁾。MCP-1 主要受到 macrophage 與一些發炎相關的 chemokine 刺激後所分泌，可能影響的 chemokine 包括 IL-6、TNF- α 、IL1b 等⁽⁸⁸⁾。除了 macrophage 外，其他細胞包括: fibroblast、epithelial cell 以及一些腫瘤細胞亦會分泌 MCP-1⁽⁸⁹⁾。因 MCP-1 對於細胞的作用具有專一性，被認為對於一些單核球浸潤有關的疾病進程可能有很大的關聯性，如類風濕性關節炎(rheumatoid arthritis)⁽⁹⁰⁾。此外

在骨發炎反應(osseous inflammation)亦會觀察到MCP-1的分泌上升⁽⁹¹⁾。相關的研究已有證據指出，內皮細胞、單核球、巨噬細胞、纖維母細胞 (fibroblast)、平滑肌細胞等受到氧化態的低密度脂蛋白(minimally modified LDL, MM-LDL)⁽⁹²⁾、PDGF、bFGF、白細胞介素-1 β 和tumor necrosis factor α (TNF- α)⁽⁹³⁻⁹⁵⁾等表現在病灶處的物質刺激後，均會表現並釋放MCP-1，以吸引更多的單核球⁽⁹⁶⁾。有研究指出，MCP-1參與在許多與發炎反應相關的疾病中，如風濕性關節炎⁽⁹⁷⁾。

(六) Homocysteine (Hcy, 同型半胱氨酸)

同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)是一種體內常見的氨基酸，在血液中會侵犯動脈的內層細胞，也會導致血小板的凝集增加，進而增加心血管疾病的風險。葉酸(Folic acid)是水溶性維他命，常被稱為「造血維他命」或維他命 B9、維他命 M，在人體健康上的重要性遠超過一般維他命，扮演著重要的健康功效⁽⁹⁸⁾。主要的生理功能在於幫助身體中蛋白質及胺基酸的利用，是生成核酸相當重要的維生素。Homocysteine 是 methionine 藉由 cobalamin、folate、pyridoxine、riboflavin 代謝的產物，所以 Homocysteine 常與 folate 成反比。高同型半胱氨酸血症(Hyperhomocysteinemia)是葉酸 (folate)和維他命 B12 缺乏的一項敏感性指標⁽⁹⁹⁾。Homocysteine 數值受到生理因素、生活型態、遺傳及種族影響⁽¹⁰⁰⁾。1969 年 McCully

解剖兩個罹患同型胱胺酸尿症 (homocysteinuria) 小孩，首先發現血液中 homocysteine 濃度偏高 (正常人約為 10.6 nmol/mL)，會產生嚴重動脈粥狀硬化和阻塞。許多研究佐證血中 homocysteine 的濃度為心血管疾病的獨立危險因子^(101, 102)，當血中含有高濃度的 homocysteine 可能提高相關疾病如冠狀動脈疾病、心血管疾病以及週邊血管硬化症的發生機率⁽¹⁰³⁾。一統合性分析(Meta-analyses) 研究顯示，降低 homocysteine 濃度 3 mmol/l 或減少 25%，降低心臟疾病的危險性 11–16%及降低中風的危險性 19–24%⁽¹⁰⁴⁾。目前學者認為血中高濃度的同型半胱胺酸可能會經由提高氧化壓力，增加 LDL 被氧化的機會，減低血管內皮細胞功能，進而促進血栓的形成與堆積，誘使動脈粥狀硬化的發生⁽¹⁰⁵⁾。40 歲以前血中 homocysteine 濃度通常穩定，40 歲之後突增，70 歲以上上升更快，且男性血中的 homocysteine 濃度比同年齡的女性高；男性平均血中濃度約為 11.1 mmol/l，女性約為 8.1 mmol/l。在一針對台灣平均年齡 71 歲的老年人所作的研究，男性平均血中濃度約為 13.3±0.6 mmol/l，女性約為 10.6±0.7 mmol/l⁽¹⁰⁶⁾。腎臟功能愈差，血液中累積的 homocysteine 也愈多，尿毒症患者血中 homocysteine 濃度約正常人 2~3 倍。

(七) fibrinogen (纖維蛋白原)

血液纖維蛋白原(Fibrinogen)為第一凝血因子，於肝臟合成，在血液凝固過程中扮演著關鍵性的角色，經由凝血酶(thrombin)裂解後，轉變成不溶性的fibrin，與血小板結合來凝固血液。在血漿中的含量豐富，平均血漿濃度大約在1.5-3 mg/mL⁽¹⁰⁷⁾。纖維蛋白原過高(>3.43 g/L)與心血管疾病相關，是冠狀動脈疾病的獨立危險因子⁽¹⁰⁸⁾。過高時會大幅增加中風的機率，而為引發中風的獨立危險因子。若伴隨其它諸如高血壓、抽菸等因子時，中風的風險就更高了。歐洲一個大規模試驗證明，纖維蛋白原是一預測中風的因子，適用於各類中風：死亡性的、非死亡性的、首次發作的、出血性的或缺血性等。如果將試驗者依纖維蛋白原濃度的高低分成四個等級，每升一級，中風的危險性就增加50%，最高者得出血性中風的機率是最低者的七倍，而因中風而死亡的機率可達二倍⁽¹⁰⁹⁾。另一針對2000名男女的研究發現，罹患冠狀動脈疾病的患者比沒有罹患冠狀動脈疾病者之纖維蛋白原濃度較高，進一步針對這些病人持續追蹤後發現，纖維蛋白原濃度最高者死亡的百分比是最低者的七倍⁽¹¹⁰⁾。

一項針對因血脂過高導致脂肪代謝異常的大鼠研究顯示，紅麴具有降低血脂、血液黏稠度、纖維蛋白原(Fibrinogen)含量、增加血液循環和降低凝血功能等⁽¹¹¹⁾。

二、紅麴與凝血功能試驗

元朝飲膳太醫忽思慧在《飲膳正要》中提及紅麴的功效，包括「健脾、益氣、溫中」和「紅麴釀酒，破血行藥勢」。明代李時珍所著《本草綱目》對紅麴有以下描述：「紅麴主治消食活血，健脾燥胃」。中國大陸出版的中藥大辭典，把紅麴的主要藥效歸納為「活血化瘀，健脾消食，治產後惡露不淨，瘀滯腹痛，食積飽脹，赤白下痢和跌打損傷」，說明紅麴具抗凝血功效，值得進一步臨床研究證實。

紅麴能明顯抑制氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein)誘導的組織因子(Tissue factor, TF)過度表現，對高膽固醇飲食誘導的主動脈粥狀硬化的大鼠能明顯降低血液凝血狀態和組織因子(Tissue factor, TF)的表現⁽¹¹²⁾。

紅麴與 Statin 藥物的作用機轉皆是作用在 HMG-CoA reductase reductase，可以抑制膽固醇(cholesterol)的合成，而 Statin 藥物被發現可以增加 circulating endothelial progenitor cells (EPCs)的量。EPCs 會增進缺氧誘導的新生血管(ischemia-induced neovascularization)形成，和促進缺氧後心臟的功能。事實上，Statin 藥物是藉由抑制血管平滑肌細胞的增生、轉移和活化 EPCs 來誘導新生血管形成。除了降低血脂含量的功能之外，Statin 藥物通過刺激一氧化氮(NO)合成酶活性，並藉由抗氧化作用來造成 NO 生物活性的提高^(113, 114)、減少血小

板的附著⁽¹¹⁵⁾、減少血栓形成^(116, 117)、加強斑塊穩定性和抗發炎作用⁽¹¹⁸⁻¹²¹⁾。

(一) platelet aggregation function test

血小板抗凝血功能一般利用膠原蛋白/腎上腺素(collagen and epinephrine, Col/Epi)或膠原蛋白/ADP (collagen and adenosine diphosphate, Col/ADP)檢測。PFA-100的試藥匣為毛細管、檢體儲存槽、生化活性膜(中心有孔洞)所組成，含抗凝固劑的全血檢體由檢體儲存槽經由毛細管高速吸取到生化活性膜上，生化活性膜已塗覆上膠原蛋白(collagen)。膠原蛋白為次內皮細胞產生的蛋白質，在啟動血小板附著功能上扮演重要的角色，而血小板附著則是生理性刺激血小板活化的起始步驟。生化活性膜除了含膠原蛋白外，另外有塗覆有 epinephrine或ADP，皆被廣泛使用於凝集測試中活化血小板功能上。Col/Epi正常值在82 -150秒，Col/ADP正常值在62 - 100秒。當結果落在參考範圍 (reference range) 內表示血小板功能為正常，落在參考範圍上限以上時表示血小板功能為異常^(122, 123)。

三、骨代謝生化指標

(一)骨吸收 (bone resorption) 指標：C-telopeptide (CTX)

近來有些研究探討降血脂藥物Statins其對骨細胞之作用機轉，結

果發現Statins 除了可有效抑3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase，降低血中cholesterol及罹患心血管疾病之風險外，並可活化bone morphogenic protein 2 (BMP-2) gene 之promoter，而BMP-2是一種骨生長因子，可促進成骨細胞之分化⁽¹²⁴⁾。Chung等學者以Statins 藥物治療69 位高血脂合併糖尿病病人15 個月後，發現其骨質密度 (bone mineral density; BMD) 有顯著的增加⁽¹²⁵⁾。而bisphosphonates是骨溶蝕 (bone resorption) 的抑制劑，可抑制破骨細胞 (osteoclast) 的形成及活化，一直被廣泛地用於治療骨質疏鬆症。用teriparatide藥物治療骨質疏鬆時，在一開始時第一個月，C-telopeptide濃度會先上升，進行蝕骨活動，以利日後骨質的形成^(126, 127)，第一個月後開始明顯上升，第三個月達到最高，第三個月至第六個月仍處於上升狀態⁽¹²⁷⁾，經過長時間治療間後，第六個月至第十八個月C-telopeptide濃度逐漸下降⁽¹²⁸⁾，停藥後逐漸恢復到原來正常數值。

其他的人體實驗亦顯示，長期服用Statin類藥物的高血脂症病人，其骨密度有明顯的上升，且骨折發生的機率有明顯的下降⁽¹²⁹⁾。Statins 藥物由口服吸收後，經由腸壁進入血液中，會在肝臟先被利用，導致生體可用率偏低⁽¹³⁰⁾。

2006 年，Gutierrez 等人指出將12 週大大鼠，以管餵的方式服

用紅麴或是lovastatin，為期5週，實驗結束後測量大鼠之骨密度，發現服用紅麴的大鼠其骨密度有明顯的提升，且較相對來說高劑量的Lovastatin效果更好，之後亦在*in vitro*中得到相同的結果。這個結果初步證實了能降低血脂肪的功能成分亦可增強骨密度的想法，但仍需更多的證據來作為佐證⁽¹³¹⁾。在一動物實驗顯示骨質缺陷組與對照組比較，利用3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay和alkaline phosphatase (ALP) activity，發現紅麴可明顯增加骨質密度，而在*in vivo*和*in vitro*實驗證實紅麴萃取物可促進骨質生成⁽¹³²⁾。

Statin類藥物具有促進BMP-2的表現而推動造骨細胞的骨形成作用，亦可能透過MAPK路徑引起造骨細胞的增生，同時亦具有抑制GTP-binding protein的異戊二烯化（prenylation）而抑制破骨細胞的骨質回收作用，整體而言，可以發現和雙磷酸鹽類的抑制作用似乎十分相似⁽¹³³⁾。Lovastatin可能是透過細胞膜上的G-protein觸動Ras蛋白，並藉由PI3K的路徑，經過Akt或是MAPK來引發BMP-2 Gene大量表現，使BMP-2的蛋白表現量提高，藉此促進造骨細胞的分化⁽¹³⁴⁾。

破骨細胞(Osteoclast, OC)是一種含有多核之巨大細胞(Giant Cells)。當進行溶蝕作用(resorption)時會形成一不規則之邊緣，內含氫離子幫浦(Proton Pump)，把氫離子打出細胞外，使外在環境處於酸性

狀態下，以利其所釋放之酵素(Ex: Acid Phosphatase、Proteases, Lysosomal et al)對骨骼進行溶蝕作用。

造骨細胞(Osteoblast, OB)之來源為骨髓中之間質細胞(Stromal Cell)，它們分泌大量膠原蛋白第一型(Type I Collagen):骨基質蛋白(Bone Gla Protein, BGP, osteocalcin)與 alkaline phosphatase。但在不同情況下，OB 之反應迥異，例如：副甲狀腺素如以週期性給予則對 OB 產生刺激作用，反之如以連續性之方式給予則反而對 OB 產生抑制作用。

氮末端胜鏈 (N-telopeptide, NTX) 及碳末端胜鏈(C-telopeptide, CTX) 末端胜鏈是骨骼中第一型膠原蛋白之 α 多胜鏈氮末端及碳末端之結構，當第一型膠原蛋白被分解後成為最終產物，故NTX 及CTX 均可作為骨質的分解指標^(135, 136)。

(二)骨形成(bone formation)指標: osteocalcin(OC, 血清骨鈣化素)

骨鈣素 (osteocalcin, OC)是一種 49 個胺基酸的小蛋白質，富含 glutamic acid，是骨骼內非膠原蛋白中含量最多的一種，又稱為 bone GLA protein(BGP)，也可以在牙齒牙本質發現，其功能尚未清楚，可能是促使氫氧磷灰石結晶，由造骨細胞所合成⁽¹³⁷⁾，是其中一種小分子且能跟鈣離子結合的指標蛋白，因在進入基質時部分片段被釋放入

血液中，故可作為一種骨質生成的指標。在基質合成過程有些骨鈣素釋放於血液循環中，其型式有完整分子(a.a.1-49，36%)、N端大片斷(a.a.1-43，40%)、及三個小片斷(a.a.1-19、20-43、29-49，34%)，這些片段半衰期短，主要由腎臟清除⁽¹³⁸⁾。骨鈣素 (osteocalcin)是身體的一種荷爾蒙，能促進胰臟β細胞分泌胰島素，也會作用在脂肪細胞釋放脂締素，增加對胰島素的敏感性⁽¹³⁹⁾。已有研究證實很多刺激因子能刺激造骨細胞表現骨鈣素，以及促進其礦物化，其中包含了維他命C。

使用治療骨質疏鬆藥物 teriparatide、alendronate 時，在一開始時第一個月至第六個月，osteocalcin 濃度會先下降，以利日後骨質的形成，經過長時間治療間後第六個月至第十二個月，osteocalcin 濃度明顯上升，第十二個月以後，osteocalcin 濃度仍處於上升狀態⁽¹⁴⁰⁾。

參、材料與方法

一、研究方法

試驗時間：99年11月15日至100年11月20日

收案人數：共60位

二、試驗倫理

本試驗遵循 International Conference on Harmonization Guideline for Good Clinical Practice (GCP) 與赫爾辛基宣言。於中山醫學大學附設醫院醫學倫理暨人體試驗委員會 (institutional review board ; IRB) /independent ethics committee (IEC) 通過審查計畫書與受試者同意書 (informed consent form ; ICF) 後，在中山醫學大學附設醫院臨床試驗中心進行研究，由風濕免疫過敏科醫師篩選符合收案及排除標準的類風濕性關節炎受試者。

三、研究設計

受試者於第 0、4、8、12 週回診抽血四次，將第一年留存的研究用 stock serum，進行下列生化及免疫檢驗：

(一)凝血功能試驗：platelet aggregation function test

(二)免疫及發炎試驗：Adiponectin、leptin、hs-CRP、TNF- α 、monocyte chmoprotein-1(MCP-1)、homocysteine 及 fibrinogen

(三)骨代謝生化指標：osteocalcin、CTX。

委由中山醫學大學附設醫院檢驗科中央實驗室分析：fibrinogen、platelet aggregation function test、hs-CRP、osteocalcin、CTX，利用商用試劑檢測；中山醫學大學醫學系微免科詹明修副教授進行分析。

homocysteine、TNF- α 、mcp-1，利用酵素連結免疫吸附分析法

(enzyme-linked immunosorbent assay ; ELISA)；adiponectin、leptin

檢體外送至台北聯合醫事檢驗所分析。

四、資料之搜集處理及統計分析方法：

(一) 本研究納入統計分析的資料，採用 ITT 法(intend-to-treat analysis)

與 PP 法 (Per-Protocol)，因此分析族群的定義以隨機分配之治療為

主(based on their assigned treatment)，而不論其醫囑性(compliance)，

此法的缺點為評估療效較為保守，但若在保守的評估之下試驗用藥

依然有效，則真正的療效必然更好。因為未遵醫囑通常為非隨機的，

在研究進行中病人覺得沒有療效而退出試驗或不願意用藥，若將此

類病人排除，將有高估療效的可能，此方法亦為臨床試驗分析中最

常被使用。

(二)利用 Kolmogorov-Smirnov test 來評估連續性資料是否呈現常態分佈。

1.資料若為常態分佈：數值以 mean \pm SD 呈現。

2.資料若為非常態分佈：數值以 median (IQR) 呈現。

(三)評估治療組與對照組之間，連續性變項分佈的差異情形 (如：年

齡、體重、血壓、生化指標)：

1.資料呈現常態分佈:採用 student *t*-test。

2.資料呈現非常態分佈:採用 Wilcoxon rank-sum test。

(四)評估治療組與對照劑組之間，類別變項分佈的差異情形 (如：功能指標、proportion、frequency)，則採用 Chi-square (χ^2) test。

(五)評估治療組、對照組，於第 4 週、第 8 週、第 12 週連續性變項分相較於第 0 週連續性變項分佈的差異情形：

1.資料呈現常態分佈，採用 paired *t*-test。

2.資料呈現非常態分佈，採用 Wilcoxin signed-rank test。

(六)樣本數之估算 (Sample size estimation)：本研究之第一型誤差 (α) 設定為 0.05，第二型誤差 (β) 設定為 0.2，即本研究之統計檢定力 ($1-\beta$) 為 0.8，研究主要療效指標為第 8 週相較於第 0 週之血壓有效率(response rate) 差異，預期治療組用藥後降低 35%，對照組用藥後預期降低 3.5%，治療組與控制組隨機分派比例為 1：1，則計算出所需樣本數為 48 人，預估退出率為 20%，本研究預定總樣本數收集 60 人，樣本數應有充分的統計檢定力來偵測此效應。

(七)主要療效指標、次要療效指標、安全性指標、患者情形、副作用、不良事件(Adverse Event, AE)、嚴重不良事件(Serious Adverse Event, SAE)、及退出試驗原因皆進行記錄與評估。

(八)遺漏資料處理與記錄：遺漏值之插補採用 LVCF 法 (Last Value Carried Forward)，即使用最後一筆測量值替代。

(九)資料的追蹤與確認 (data clean up 資料清洗): 目的在確認研究資料的正確性 (accuracy), 確保研究資料的完整性 (completion) 與堪用程度 (availability)。資料處理人員, 於資料收集完畢之後, 在進入真正的統計分析之前, 需進行資料預檢, 目的在於資料除錯及是否有遺漏值與疑問值。

(十)當資料分析採用 intention-to-treat (ITT) 原則時, 必須插補退出試驗者的資料。當資料插補及清理 (clean up) 完畢之後, 才可以進行第一階段的揭盲。其納入原則為受試者至少必須服用一包藥 (one dose), 才可以將該筆資料列入分析。

(十一)當資料分析採用 Per-Protocol (PP) 原則時, 需將沒有遵照計畫書完成試驗的樣本剔除 (至少要完成 75%), 且只要療效指標必須是有效的測量, 才能將該筆資料納入分析。利用此法分析資料要注意退出率不可太高。

(十二)離群值與極端值的處理原則: 偏離值 (outlier) 一指變項偏離常態、不尋常的數值, 也就是與多數受測者的反應數值極端不同的狀況。極端值 (extreme) 為嚴重的偏離值, 其認定最好同時具有醫學及統計學上的意義。在醫學的文獻上, 對於這些測量值都會有一個適當的範圍 (appropriate action)。

(十三)上述評估資料以 SPSS 10.0 套裝軟體及 SAS 9.0 計算 p 值， p 值小於 0.05 者為具統計學上意義。



肆、結果

表一為所有受試者於第 0 週的生化檢測結果，在凝血功能試驗指標部分，platelet aggregation function test (Epi/ADP) 於兩組間均未達到統計差異，免疫及發炎指標部分 TNF-alpha、MCP-1、plasma leptin、adiponectin、homocysteine、fibrinogen 及 hs-CRP 於兩組間也均未達到統計顯著差異，而骨質代謝生化指標中，代表骨溶蝕的 C-telopeptide (CTX) 於治療組平均為 0.26 ng/mL，控制組平均為 0.37 ng/mL，兩組在統計上達顯著差異 ($p=0.008$)，另外代表骨質形成的 osteocalcin 於兩組間並未達顯著差異。

表二為受試者第 4 週與第 0 週的差異比較，數值以第 4 週減去第 0 週之平均差異顯示，正值代表相較於第 0 週數據為增加，負值代表相較於第 0 週數據為減少。治療組中除了 hs-CRP 以外其餘指標於第 4 週的結果相較於第 0 週，均有顯著增加或降低，並達到統計差異；而控制組僅 C-telopeptide、osteocalcin、TNF-alpha、adiponectin、homocysteine 及 fibrinogen 於第 4 週的結果相較於第 0 週，均有顯著增加或降低，並達到統計差異；但治療組與控制組間無統計差異。

表三為受試者第 8 週與第 0 週的差異比較，數值以第 8 週減去第 0 週之平均差異顯示，正值代表相較於第 0 週數據為增加，

負值代表相較於第 0 週數據為減少。治療組中 adiponectin 於第 8 週相較於第 0 週平均增加 19.10 μ g/mL，並達統計顯著差異 ($p<0.0001$)，plasma leptin 也增加 2.81 ng/mL ($p=0.021$)，其餘包括 C-telopeptide、TNF-alpha、MCP-1、homocysteine 及 fibrinogen 於第 8 週的結果相較於第 0 週均有增加或降低，達到統計顯著差異；控制組中 osteocalcin 第 8 週的結果相較於第 0 週減少 1.69 ng/mL ($p=0.0009$)，adiponectin 於平均增加 35.83 μ g/mL，並達統計差異 ($p=0.017$)，其餘包括 C-telopeptide、TNF-alpha、homocysteine、fibrinogen 及 platelet time i 達統計差異；治療組及控制組間僅 osteocalcin 達邊緣顯著差異 (治療組-0.65 ng/mL，控制組-1.69 ng/mL， $p=0.084$)。

表四為受試者第 12 週與第 0 週的差異比較，數值以第 12 週減去第 0 週之平均差異顯示，正值代表相較於第 0 週數據為增加，負值代表相較於第 0 週數據為減少。各指標數值於治療組與控制組均無顯著差異。

圖一為受試者從第 0 週至第 12 週其生化指標的改變，且服藥前後之差異值於治療組或控制組均達統計顯著差異，包括 C-telopeptide、osteocalcin、TNF-alpha、adiponectin 及 homocysteine。

圖二為控制組之受試者，其生化指標: adinopectin與 leptin、BMI、hs-CRP、LDL-C、HDL-C、TG和 total cholesterol之相關性。adinopectin與HDL-C呈現正相關($r^2=0.39$; $p=0.001$)，與和其他指數(leptin, BMI, hs-CRP, LDL-C, TG 和total cholesterol)未呈現相關性。

圖三控制組之受試者，其生化指標: leptin與BMI、hs-CRP、LDL-C、HDL-C、TG和 total cholesterol之相關性。leptin和TG呈現負相關($r^2=0.19$; $p=0.035$)，和其他指數(BMI, hs-CRP, LDL-C, HDL-C 和total cholesterol)未呈現相關性，和HDL-C的相關性具有趨勢，但未達顯著意義($r^2=0.16$; $p=0.052$)。而adinopectin與BMI的相關性未達顯著差異($r^2=0.03$; $p=0.405$)，瘦體素(leptin)和BMI亦無相關性($r^2=0.11$; $p=0.106$)。

圖四為治療組服藥後，其生化指標adiponectin 與 leptin、BMI、hs-CRP、LDL-C、HDL-C、TG和 total cholesterol之相關性，未呈現相關性。圖五為受試者服用治療組服藥後，其生化指標leptin與BMI、hs-CRP、LDL-C、HDL-C、TG和 total cholesterol之相關性，亦未呈現相關性。

伍、討論

在第4週與第0週比較，在治療組，adiponectin增加了 $20.33 \pm$

42.46 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($p<0.0001$)；第8週與第0週比較，在治療組adiponectin增加了19.10 \pm 19.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($p<0.0001$)，在控制組，adiponectin平均增加了35.83 \pm 67.85 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($p=0.017$)，表示兩組皆能增加adiponectin，且達到顯著意義，表示可減少代謝症候群 (metabolic syndrome) 的危險性，也可改善冠心病患者的病變。停藥後一個月，在治療組，adiponectin逐漸降低，與第0週相比僅增加0.33 \pm 3.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($p=0.680$)，未達到顯著意義，在控制組，adiponectin減少0.12 \pm 0.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，反而下降，表示停用後adiponectin會逐漸降低，恢復到原來正常數值。此研究顯示紅麴可明顯增加adiponectin，顯示紅麴具有降低代謝症候群及冠狀動脈心臟病的潛力。服用控制組之受試者，其生化指標: adiponectin與HDL-C呈現正相關($r^2=0.39$; $p=0.001$)，adiponectin與BMI的相關性未達顯著差異($r^2=0.03$; $p=0.405$)。受試者服用治療組後，其生化指標adiponectin 與 leptin、BMI、hs-CRP、LDL-C、HDL-C、TG和 total cholesterol之間，未呈現相關性。

血漿中的adiponectin降低與冠狀動脈疾病有相關性⁽⁴⁴⁾，且低的adiponectin可預測冠心症的嚴重性⁽³⁹⁾。血中adiponectin濃度過低，不會伴隨代謝症候群 (metabolic syndrome) 的危險性增加，也與冠狀動脈心臟病的發生有關，在冠心病患者的血中adiponectin濃度明顯的較一般人為低，表示adiponectin可能與大血管的病變(macroangiopathy)

有關。 adinopectin被發現有抗發炎，抗糖尿病和抗動脈粥狀硬化的作用。

在第4週與第0週比較，在治療組，plasma leptin平均增加了 2.65 ± 6.69 ng/mL ($p=0.060$)，有增加的趨勢，但未達明顯意義，在控制組，增加了 0.23 ± 12.47 ng/mL ($p=0.928$)，有稍微增加的趨勢，但未達顯著意義，第8週與第0週比較，在治療組，plasma leptin下降了 1.50 ± 14.03 ng/mL，但未達顯著意義 ($p=0.605$)，表示Lactobacillus casei可幫助紅麴增加plasma leptin。停藥後一個月，治療組plasma leptin改變了 0.61 ± 4.66 ng/mL ($p=0.522$)，在控制組，plasma leptin降低了 0.52 ± 8.0 ng/mL ($p=0.756$)。在成年人，leptin與體重具有相關性。leptin在調節能量代謝上扮演重要角色，經由與腦部及胰臟、肝臟、脂肪組織和免疫系統等週邊組織的leptin接受體結合後，可降低食慾，增加能量代謝⁽⁶⁰⁾。plasma leptin於周邊作用可抑制acetyl CoA carboxylase的活性、脂質合成、降低TG 及增加脂肪酸氧化。當個體攝食過量時，雖會增加瘦體素濃度，但隨著濃度持續增加後，體內會產生瘦體素阻抗的調節作用，若長期有此反應時，瘦體素的周邊作用將會減弱，而腦部作用則不受影響。

控制組之生化指標leptin和TG呈現負相關($r^2=0.19$; $p=0.035$)，和其他指(BMI、hs-CRP、LDL-C, HDL-C和total cholesterol未呈現相關

性，和HDL-C的相關性具趨勢，但未達顯著差異($r^2=0.16$; $p=0.052$)。

治療組之leptin與BMI、hs-CRP、LDL-C、HDL-C、TG和 total cholesterol 亦未呈現相關性。

CRP在心臟血管系統疾病發作（急性心肌梗塞、腦血管障礙等）時會上升，同時CRP 也是一個預測急性冠狀動脈症候群預後的好指標⁽⁶⁶⁾，它與粥狀硬化斑塊不穩定及可能會破裂相關^(67, 68)。CRP可能造成血管粥狀斑塊剝落。一旦碎片進入血液循環，會造成血栓、心肌梗塞、中風。臨床上對冠心症之初級預防，除了LDL-C 外，可以增加hs-CRP之測定。研究顯示，目前研究顯示，hs-CRP不超過1.0 mg/L 時為低危險群；1.0~3.0 mg/L 就有中等度的危險；超過3.0 mg/L 時則為高危險群⁽⁶²⁾，尤其是LDL-C超出正常值的患者⁽⁶⁹⁾，在正常範圍也須考慮是否要作預防性治療。在第4週與第0週比較，在治療組，hs-CRP下降了 $-0.076 \pm 0.308 \text{ mg/mL}^3$ ($p=0.229$)，有下降的趨勢，但未達顯著意義，在控制組，hs-CRP下降了 $0.084 \pm 0.378 \text{ mg/mL}^3$ ($p=0.286$)，有下降的趨勢，但未達顯著意義。第8週與第0週比較，在治療組，hs-CRP下降 $0.027 \pm 0.373 \text{ mg/mL}^3$ ($p=0.721$)，在控制組，hs-CRP下降了 $0.122 \pm 0.420 \text{ mg/mL}^3$ ($p=0.167$)，有下降的趨勢，但未達顯著意義。停藥後一個月，在治療組，hs-CR下降了 $0.009 \pm 0.195 \text{ mg/mL}^3$ ($p=0.826$)，顯示逐漸恢復到原來正常狀態，在控制組，hs-CR下降

了 $0.125 \pm 0.404 \text{ mg/mL}^3$ ($p=0.143$)，逐漸恢復到原來正常狀態。

治療組之 homocysteine 第 0 週的數值為 $6.8 \pm 7.0 \text{ mmol/L}$ ，第 4 週時上升到 $11.0 \pm 6.3 \text{ mmol/L}$ ，第 8 週時上升到 $12.2 \pm 6.9 \text{ mmol/L}$ ，停藥後一個月，恢復到 $5.1 \pm 5.6 \text{ mmol/L}$ 。控制組之 homocysteine 第 0 週的數值為 $6.4 \pm 9.6 \text{ mmol/L}$ ，第 4 週時上升到 $10.0 \pm 3.6 \text{ mmol/L}$ ，第 8 週時上升到 $11.3 \pm 3.4 \text{ mmol/L}$ ，停藥後一個月，恢復到 $5.8 \pm 9.4 \text{ mmol/L}$ 。在第 4 週與第 0 週比較，治療組之 homocysteine 增加了 $4.3 \pm 8.3 \text{ mmol/L}$ ($p=0.017$)，控制組之 homocysteine 增加了 $3.6 \pm 7.6 \text{ mmol/L}$ ($p=0.031$)。第 8 週與第 0 週比較，治療組之 homocysteine 增加 $5.5 \pm 8.3 \text{ mmol/L}$ ($p=0.003$)，控制組之 homocysteine 增加 $4.9 \pm 6.8 \text{ mmol/L}$ ($p=0.002$)，達顯著意義，但 homocysteine 的數值皆在 13 mmol/L 以下，對人體並不會造成不良影響。停藥後一個月，治療組之 homocysteine 降低了 $1.7 \pm 6.1 \text{ mmol/L}$ ($p=0.183$)；控制組之 homocysteine 降低了 $0.6 \pm 3.2 \text{ mmol/L}$ ($p=0.360$)。顯示不論是使用治療組或控制組，皆於停藥一個月 homocysteine 回升至正常狀態。homocysteine 的濃度的升高為心血管疾病的獨立危險因子⁽¹⁰¹⁾，當血中含有高濃度的 homocysteine 可能提冠狀動脈疾病、心血管疾病及週邊血管硬化症的發生機率。血中高濃度的 homocysteine 可能會經由提高氧化

壓力，增加 LDL-C 被氧化的機會，減低血管內皮細胞功能，進而促進血栓的形成與堆積，誘使動脈粥狀硬化的發生⁽¹⁰⁵⁾。血中的 homocysteine 濃度應小於 12 mmol/L，12-15 mmole/L 是邊緣值，homocysteine 濃度 ≥ 15 mmol/L 則被認為會增加罹患心臟血管疾病的危險性⁽¹⁰⁶⁾。根據一篇報導顯示，血液中 homocysteine 的濃度如果超過 15.8 mmol/L，則發生心肌梗塞的機率要高出 3 倍左右。另外，據新英格蘭醫學週刊 1995 年的報導，在對 1041 名老年人血液中測試 homocysteine 的濃度，發現血中 homocysteine 的濃度較高的人(超過 11.4 mmol/L)，其頸動脈硬化且動脈狹窄發生栓塞的機會約高 2 倍。

治療組第 0 週的數值為 103.89 mg/dL，第 4 週時上升到 131.94 mg/dL，第 8 週時上升到 135.00 mg/dL，停藥後一個月，恢復到 104.17 mg/dL。控制組第 0 週的數值為 101.02 mg/dL，第 4 週時上升到 136.39 mg/dL，第 8 週時上升到 146.11 mg/dL，停藥後一個月，恢復到 99.86 mg/dL。當第 4 週與第 0 週比較，治療組之 fibrinogen 增加了 26.94 mg/dL ($p < 0.0001$)，控制組增加了 31.25 mg/dL ($p < 0.0001$)，達顯著意義，第 8 週與第 0 週比較，治療組之 fibrinogen 增加了 35.00 mg/dL ($p < 0.0001$)，控制組增加了 42.92 mg/dL ($p < 0.0001$) 達顯著意義。停藥後一個月在治療組降低了

0.56 mg/dL ($p=0.715$), 控制組增加了 0.14 mg/dL ($p=0.952$)。不論是治療組或控制組皆於停藥一個月後, fibrinogen 回升至正常狀態。Fibrinogen 血漿濃度大約在 1.5-3 mg/mL (150-300 mg/dL)⁽¹⁰⁷⁾。Fibrinogen 過高(>3.43 g/L)與心血管疾病相關, 是冠狀動脈疾病的獨立危險因子⁽¹⁰⁸⁾。

一開始時治療組與控制組之 C-telopeptide 有統計學上差異 ($p=0.008$), 治療組之 C-telopeptide 為 0.26 ± 0.11 ng/mL, 控制組之 C-telopeptide 為 0.37 ± 0.16 ng/mL。本研究結果顯示, 在第 4 週與第 0 週比較, 治療組之 C-telopeptide 增加 0.13 ± 0.19 ng/mL ($p=0.003$), 控制組之 C-telopeptide 增加 0.20 ± 0.23 ng/mL ($p=0.0004$), 第 8 週與第 0 週比較, 治療組之 C-telopeptide 增加 0.18 ± 0.21 ng/mL ($p=0.0003$), 控制組之 C-telopeptide 增加 0.23 ± 0.26 ng/mL ($p=0.0003$)。停藥後一個月在治療組, C-telopeptide 幾無改變。此結果顯示, 紅麴對骨質疏鬆影響, 開始時, C-telopeptide 濃度會先上升, 進行蝕骨活動, 以利日後骨質的形形成。C-telopeptide 為骨溶蝕的指標, 測量血清中 C-telopeptide 被建議當成監測骨質疏鬆症或其他骨質疾病的方法。C-telopeptide 正常值在 50 至 450 pg/mL⁽¹⁴¹⁾, 指數高表示蝕骨活動的進行、骨質流失。C-telopeptide 上升於停經、原發性副甲狀腺亢進症、骨質疏鬆症。

大量骨質流失乃在於合成與流失作用之失調，停經後缺乏雌激素分泌導致流失上升。用 teriparatide 藥物治療骨質疏鬆時，在一開始時第一個月，C-telopeptide 濃度會先上升，進行蝕骨活動，以利日後骨質的形成^(126, 127)，第一個月後開始明顯上升，第三個月達到最高，第三個月至第六個月仍處於上升狀態⁽¹²⁷⁾，經過長時間治療間後，第六個月至第十八個月 C-telopeptide 濃度逐漸下降⁽¹²⁸⁾，停藥後逐漸恢復到原來正常數值。

血清骨鈣化素 (osteocalcin) 為骨形成 (bone formation) 的指標。本研究結果顯示，在第 4 週與第 0 週比較，治療組之 osteocalcin 降低了 1.01 ± 2.05 ng/mL ($p=0.021$)，控制組之 osteocalcin 降低了 2.14 ± 2.72 ng/mL ($p=0.001$)，第 8 週與第 0 週比較，治療組之 osteocalcin 降低了 0.65 ± 1.98 ng/mL ($p=0.116$)，控制組之 osteocalcin 降低了 1.69 ± 2.102 ng/mL ($p=0.0009$)。二組之 osteocalcin 有顯著差異 ($p=0.084$)，表示使用紅麴與紅麴併用乳酸菌後對骨形成指標 osteocalcin 不同程度影響。停藥後一個月在治療組降低了 0.67 ± 2.17 ng/mL ($p=0.136$)，控制組降低了 0.13 ± 2.47 ng/mL ($p=0.797$)。使用治療骨質疏鬆藥物 teriparatide、alendronate 時，在一開始時第一個月至第六個月，osteocalcin 濃度會先下降，以利日後骨質的形成，經過長時間治療間後第六個

月至第十二個月，osteocalcin 濃度明顯上升，第十二個月以後，osteocalcin 濃度仍處於上升狀態⁽¹⁴⁰⁾。由 C-telopeptide 與 osteocalcin 的數據可推測紅麴具有預防骨質疏鬆的潛力，但需長期使用的研究再加以證實。

Tumor necrosis factor-alpha(TNF- α)是一種 Cytokine，與全身的發炎反應有關，會刺激急性發炎反應，主要由 macrophages 活化。第 4 週與第 0 週比較，治療組之 TNF- α 增加 49.25 ± 25.88 ng/mL ($p < 0.0001$)，達顯著差異，控制組之 TNF- α 增加 48.61 ± 23.98 ng/mL ($p < 0.0001$)，達顯著差異，第 8 週與第 0 週比較，治療組之 TNF- α 增加 59.49 ± 13.58 ng/mL ($p < 0.0001$)，達顯著差異，治療組之 TNF- α 增加 61.12 ± 12.37 ng/mL ($p < 0.0001$)，達顯著差異。停藥後一個月治療組之 TNF- α 降低了 1.55 ± 11.88 ng/mL ($p = 0.521$)，控制組降低了 1.20 ± 6.15 ng/mL ($p = 0.350$)。據此結果可推論，服用紅麴後，骨質發生改變，類似全身發炎反應，刺激 TNF- α 上升，在第 4 週與第 8 週 TNF- α 明顯增高，達顯著差異，停藥後逐漸恢復到原來正常狀態。

Monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)為發炎及免疫調控之組織介素 (cytokine) 之一員，可作為血管內皮發炎及免疫調控之指標，故本研究以紅麴併用乳酸菌或紅麴併用安慰劑對於血管內皮功能

之影響。本研究結果顯示，第4週與第0週比較，治療組之MCP-1增加 1381.46 ± 385.52 pg/mL ($p < 0.0001$)，達顯著差異，控制組之MCP-1增加 196.02 ± 688.29 pg/mL ($p = 0.176$)，未達顯著差異。第8週與第0週比較，治療組之MCP-1增加 497.89 ± 429.52 pg/mL ($p < 0.0001$)，達顯著差異，控制組之MCP-1增加 266.12 ± 648.11 pg/mL ($p = 0.056$)。停藥後一個月後，治療組之MCP-1增加 7.1 ± 49.8 pg/mL ($p = 0.484$)，未達顯著差異，控制組之MCP-1降低了 16.9 ± 105.33 pg/mL ($p = 0.440$)。據此結果可推論，因服用紅麴後，骨質發生改變，類似全身發炎反應，刺激MCP-1，在第4週與第8週發現MCP-1在治療組明顯增加，達顯著差異，但控制組之MCP-1增加，未達顯著差異，兩組在停藥後逐漸恢復到原來正常狀態。此結果顯示，治療組對MCP-1之影響大於控制組。

第8週治療組之MCP-1增加達顯著差異，上升後的數值在正常值範圍內，表示紅麴併用乳酸菌可增強免疫力。TNF- α 細胞激素可刺激感染部位增加嗜中性球及單核白血球並增強細胞活性以消滅侵入的病原體，第8週治療組與控制組之TNF- α 增加達顯著差異，上升後的數值在正常值範圍內，顯示紅麴與紅麴併用乳酸菌皆可增強免疫力。紅麴增強免疫力功能是否與Th1有關，值得進一步研究證實。

Platelet function assay 包括 collagen and epinephrine (Col/Epi)或

collagen and ADP(Col/ADP), Col/Epi 的參考值為 82 -150 秒, Col/ADP 的參考值為 62 - 100 秒。一開始時, 治療組之 Col/Epi 為 118.16 ± 48.97 sec, 控制組之 Col/Epi 為 114.58 ± 37.98 sec。第 8 週與第 0 週比較, 治療組之 Col/Epi 增加 7.2 ± 34.77 sec ($p=0.311$), 未達顯著差異, 控制組之 Col/Epi 增加 16.13 ± 24.09 sec ($p=0.003$), 達顯著差異。表示紅麴可延長凝血時間, 具有抗凝血功能, 但併用 *Lactobacillus casei* 時, 抗凝血作用減弱。治療組之 Col/ADP 一開始時為 80.4 ± 17.44 sec, 控制組之 Col/ADP 為 93.17 ± 47.86 sec。第 8 週與第 0 週比較, 在治療組之 Col/ADP 降低了 0.24 ± 15.91 sec ($p=0.941$), 控制組之 Col/ADP 增加了 0.67 ± 17.01 sec ($p=0.850$), 顯示兩組皆無差異。組織因子 (Tissue factor, TF) 過度表現發生在脂質核心斑塊, 具高度促凝血活性, 而紅麴明顯抑制氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low-density lipoprotein) 誘導的組織因子之過度表現, 表示紅麴可能具有抗動脈粥樣硬化的潛力⁽¹¹²⁾。

此研究結果是 biomarker 的改變導致 LDL-C 降低, 或是 LDL-C 降低導致 biomarker 的改變, 未來研究應進一步證實其作用機轉與 pathway。

此研究是針對高血脂患者, 對於血脂的影響是可以採信的, 對於其他 subgroup 結果的影響, 可能會有偏差 (bias) 如對骨密度的影響。

陸、結論與建議

經由生化分析結果可發現，osteocalcin 及 fibrinogen 於第 8 週時相較於第 0 週的差異於兩組間達邊緣統計顯著差異， p 值分別為 0.084 與 $p=0.094$ ，顯示紅麴併用乳酸菌對 osteocalcin 與 fibrinogen 的降低較單獨使用紅麴為明顯，雖未達顯著差異，但乳酸菌有增強作用的趨勢。因服用紅麴二週期間，C-telopeptide 濃度會先上升，進行蝕骨活動，而 osteocalcin 濃度會先下降，以利日後骨質的形成，可發現大部分的免疫及發炎指數改變。無論是治療組及控制劑組於第四週與第八週，TNF- α 、homocysteine 及 fibrinogen 皆上升，達顯著差異。第四週與第八週，治療組之 MCP-1 上升，達顯著差異。Col/Epi 凝血時間延長只在控制組出現有意義的改變，顯示併用乳酸菌反而抵銷了紅麴之抗凝血功能。其餘生化指標 adiponectin、plasma leptin、homocysteine、fibrinogen、C-telopeptide、osteocalcin、TNF- α 、MCP-1 的改變可在治療組別或控制組皆出現具統計意義的差異，因此未顯示出乳酸菌對這些生化指標的影響，但也可能因為我們未設計 control 組（未服用紅麴及乳酸菌），因此無從得知這樣的改變趨勢是由紅麴而來或者是受試者本身的自然病程（natural course effect），未來期許能加做 control 組以釐清紅麴對高血脂患者的作用。此外，由此研究可發現原發性高血脂症患者的生化指標於短短兩個月試驗期間有顯

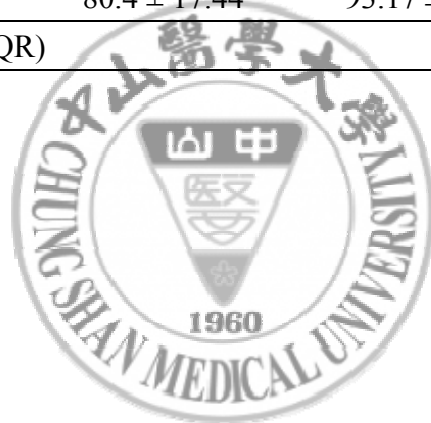
著的改變，但一停止服藥後均回復到原來狀態，因此若能長期觀察這群患者，相信能獲得更多的資訊。



表一 第 0 週之生化數值

	Red yeast rice+ Lactobacillus casei (n = 25)	Red yeast rice + Placebo (n = 24)	<i>p</i> value
C-telopeptide (ng/mL) ^a	0.26 ± 0.11	0.37 ± 0.16	0.008
osteocalcin (ng/mL) ^a	5.01 ± 3.70	6.34 ± 2.56	0.158
TNF-alpha (ng/mL) ^a	14.77 ± 10.25	15.24 ± 12.39	0.887
MCP-1(pg/mL) ^a	115.35 ± 54.00	239.86 ± 689.64	0.387
homocysteine(mmol/L) ^a	6.8 ± 7.0	6.4 ± 9.6	0.884
plasma Leptin (ng/mL) ^a	13.91 ± 3.90	17.64 ± 13.02	0.189
adiponectin (µg/mL) ^a	1.22 ± 0.63	1.26 ± 0.47	0.786
fibrinogen (µg/mL) ^b	103.89 (12.78)	101.02 (15.97)	0.781
hs-CRP(mg/mL ³) ^a	0.27 ± 0.31	0.35 ± 0.43	0.436
Col/Epi (sec) ^a	118.16 ± 48.97	114.58 ± 37.98	0.777
Col/ADP (sec) ^a	80.4 ± 17.44	93.17 ± 47.86	0.228

^a mean ± SD, ^b median (IQR)



表二 第4週與第0週生化數值之變化

	Red yeast rice + Lactobacillus casei (n = 25)	Red yeast rice + Placebo (n = 24)	<i>p</i> value*	<i>p</i> value [#]	<i>p</i> value [§]
C-telopeptide (ng/mL) ^a	0.13 ± 0.19	0.20 ± 0.23	0.003	0.0004	0.286
osteocalcin (ng/mL) ^a	-1.01 ± 2.05	-2.14 ± 2.72	0.021	0.001	0.110
TNF-alpha (ng/mL) ^a	49.25 ± 25.88	48.61 ± 23.98	<0.0001	<0.0001	0.929
MCP-1(pg/mL) ^a	381.46 ± 385.52	196.02 ± 688.29	<0.0001	0.176	0.248
homocysteine(mmol/L) ^a	4.3 ± 8.3	3.6 ± 7.6	0.017	0.031	0.763
plasma Leptin (ng/mL) ^a	2.65 ± 6.69	0.23 ± 12.47	0.060	0.928	0.407
adiponectin (µg/mL) ^a	20.33 ± 42.46	14.08 ± 9.99	0.025	<0.0001	0.486
fibrinogen (µg/mL) ^b	26.94 (41.11)	31.25 (38.47)	<0.0001	<0.0001	0.352
hs-CRP(mg/mL ³) ^a	-0.076 ± 0.308	-0.084 ± 0.378	0.229	0.286	0.933

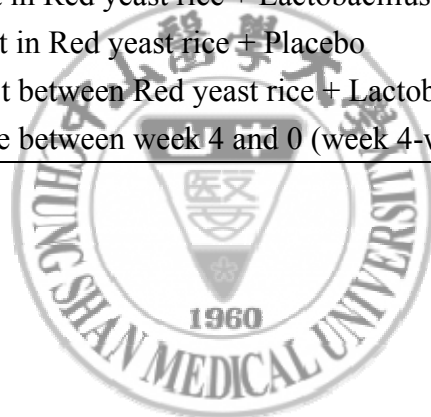
^a mean ± SD, ^b median (IQR)

*Difference of laboratory test in Red yeast rice + Lactobacillus casei

[#] Difference of laboratory test in Red yeast rice + Placebo

[§] Difference of laboratory test between Red yeast rice + Lactobacillus casei and Red yeast rice + Placebo

Data was shown as difference between week 4 and 0 (week 4-week 0)



表三 第8週與第0週生化數值之變化

	Red yeast rice + Lactobacillus casei (n = 25)	Red yeast rice + Placebo (n = 24)	<i>p</i> value [*]	<i>p</i> value [#]	<i>p</i> value [§]
C-telopeptide (ng/mL) ^a	0.18 ± 0.21	0.23 ± 0.26	0.0003	0.0003	0.439
osteocalcin (ng/mL)^a	-0.65 ± 1.98	-1.69 ± 2.10	0.116	0.0009	0.084
TNF-alpha (ng/mL) ^a	59.49 ± 13.58	61.12 ± 12.37	<0.0001	<0.0001	0.663
MCP-1(pg/mL) ^a	497.89 ± 429.52	266.12 ± 648.11	<0.0001	0.056	0.145
homocysteine(mmol/L) ^a	5.5 ± 8.3	4.9 ± 6.8	0.003	0.002	0.800
plasma Leptin (ng/mL) ^a	2.81 ± 5.67	-1.50 ± 14.03	0.021	0.605	0.172
Adiponectin (µg/mL) ^a	19.10 ± 19.56	35.83 ± 67.85	<0.0001	0.017	0.255
fibrinogen (µg/mL) ^b	35.00 (35.60)	42.92 (21.11)	<0.0001	<0.0001	0.094
hs-CRP(mg/mL ³) ^a	-0.027 ± 0.373	-0.122 ± 0.420	0.721	0.167	0.404
Col/Epi (sec) ^a	7.2 ± 34.77	16.13 ± 24.09	0.311	0.003	0.304
Col/ADP (sec) ^a	-0.24 ± 15.91	0.67 ± 17.01	0.941	0.850	0.848

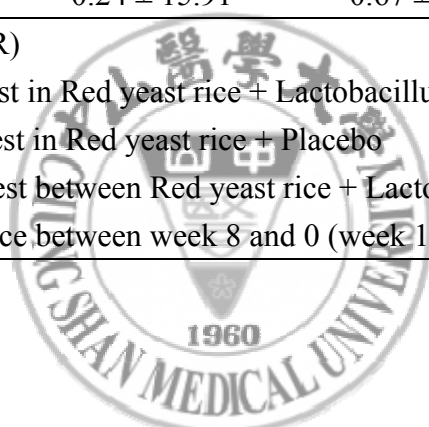
^a mean ± SD, ^b median (IQR)

^{*} Difference of laboratory test in Red yeast rice + Lactobacillus casei

[#] Difference of laboratory test in Red yeast rice + Placebo

[§] Difference of laboratory test between Red yeast rice + Lactobacillus casei and Red yeast rice + Placebo

Data was shown as difference between week 8 and 0 (week 12-week 0)



表四 第 12 週與第 0 週生化數值之變化

	Red yeast rice + Lactobacillus casei (n = 25)	Red yeast rice + Placebo (n = 24)	<i>p</i> value [*]	<i>p</i> value [#]	<i>p</i> value [§]
C-telopeptide (ng/mL) ^a	0.00 ± 0.05	0.03 ± 0.17	0.677	0.346	0.428
osteocalcin (ng/mL) ^a	-0.67 ± 2.17	-0.13 ± 2.47	0.136	0.797	0.429
TNF-alpha (ng/mL) ^a	-1.55 ± 11.88	-1.20 ± 6.15	0.521	0.350	0.897
MCP-1(pg/mL) ^a	7.1 ± 49.8	-16.9 ± 105.33	0.484	0.440	0.319
homocysteine(mmol/L) ^a	-1.7 ± 6.1	-0.6 ± 3.2	0.183	0.360	0.449
plasma Leptin (ng/mL) ^a	0.61 ± 4.66	-0.52 ± 8.09	0.522	0.756	0.556
adiponectin (µg/mL) ^a	0.033 ± 0.393	-0.122 ± 0.334	0.680	0.087	0.144
fibrinogen (µg/mL) ^b	-0.56 (1.75)	0.14 (17.64)	0.715	0.945	0.952
hs-CRP(mg/mL ³) ^a	-0.009 ± 0.195	-0.125 ± 0.404	0.826	0.143	0.211

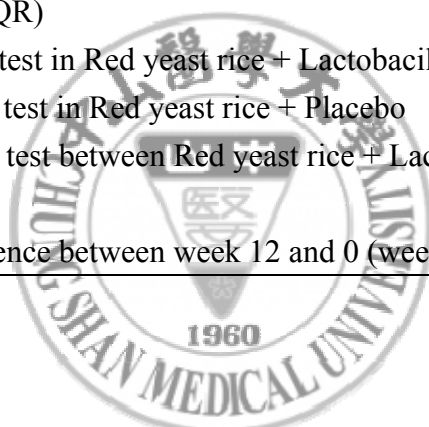
^a mean ± SD, ^b median (IQR)

^{*} Difference of laboratory test in Red yeast rice + Lactobacillus casei

[#] Difference of laboratory test in Red yeast rice + Placebo

[§] Difference of laboratory test between Red yeast rice + Lactobacillus casei and Red yeast rice + Placebo

Data was shown as difference between week 12 and 0 (week 12-week 0)



表五 第 0、4、8、12 週之生化數值

	Red yeast rice + <i>Lactobacillus casei</i> (n = 25)				Red yeast rice + Placebo (n = 24)				p value #
	Baseline	Week4	Week8	Week12	Baseline	Week4	Week8	Week12	
C-telopeptide (ng/mL) ^a	0.26 ± 0.11*	0.40 ± 0.22*	0.44 ± 0.25*	0.27 ± 0.13*	0.37 ± 0.16*	0.57 ± 0.25*	0.60 ± 0.29*	0.40 ± 0.17*	0.732
Osteocalcin (ng/mL) ^a	5.01 ± 3.70	4.00 ± 2.33	4.36 ± 3.05	4.34 ± 2.72*	6.34 ± 2.56	4.15 ± 2.03	4.69 ± 2.06	6.18 ± 3.11*	0.031
TNF-alpha (ng/mL) ^a	14.77 ± 10.25	64.03 ± 27.93	74.27 ± 13.50	13.23 ± 10.58	15.24 ± 12.39	63.85 ± 26.64	76.36 ± 20.50	14.04 ± 10.24	0.968
MCP-1(pg/mL) ^a	115.35 ± 54.00	496.80 ± 426.10	613.24 ± 474.79	122.43 ± 81.45	239.86 ± 689.64	435.88 ± 278.21	505.98 ± 240.84	222.96 ± 589.34	0.474
Homocysteine(mmol/L)	6.8 ± 7.0	11.0 ± 6.3	12.2 ± 6.9	5.1 ± 5.6	6.4 ± 9.6	10.0 ± 3.6	11.3 ± 3.4	5.8 ± 9.4	0.791
Plasma Leptin (ng/mL) ^a	13.91 ± 3.90	16.55 ± 6.01	16.71 ± 4.91	14.51 ± 6.46	17.64 ± 13.02	17.87 ± 5.98	16.14 ± 5.69	17.12 ± 8.59	0.438
Adiponectin (µg/mL) ^a	1.22 ± 0.63	21.55 ± 42.50	20.31 ± 19.59	1.25 ± 0.55	1.26 ± 0.47	15.34 ± 9.99	37.09 ± 67.82	1.14 ± 0.37	0.258
Fibrinogen (µg/mL) ^b	103.89 (12.78)	131.94 (30.28)	135.00 (21.39)*	104.17 (10.56)	102.08 (15.97)	136.39 (29.03)	146.11 (23.06)*	99.86 (12.08)	0.594
Hs-CRP(mg/mL ³) ^a	0.27 ± 0.31	0.19 ± 0.23	0.24 ± 0.35	0.26 ± 0.26	0.35 ± 0.43	0.27 ± 0.36	0.23 ± 0.24	0.23 ± 0.21	0.529

^a mean ± SD, ^b median (IQR)

* Student's t test and Wilcoxon's rank-sum test was conducted to compare the difference between Red yeast rice + *Lactobacillus casei* and Red yeast rice + Placebo, $p < 0.05$.

#The p-value is that Compare the time trend curves for each endpoint between Red yeast rice + *Lactobacillus casei* and Red yeast rice + Placebo group by using a repeated measures

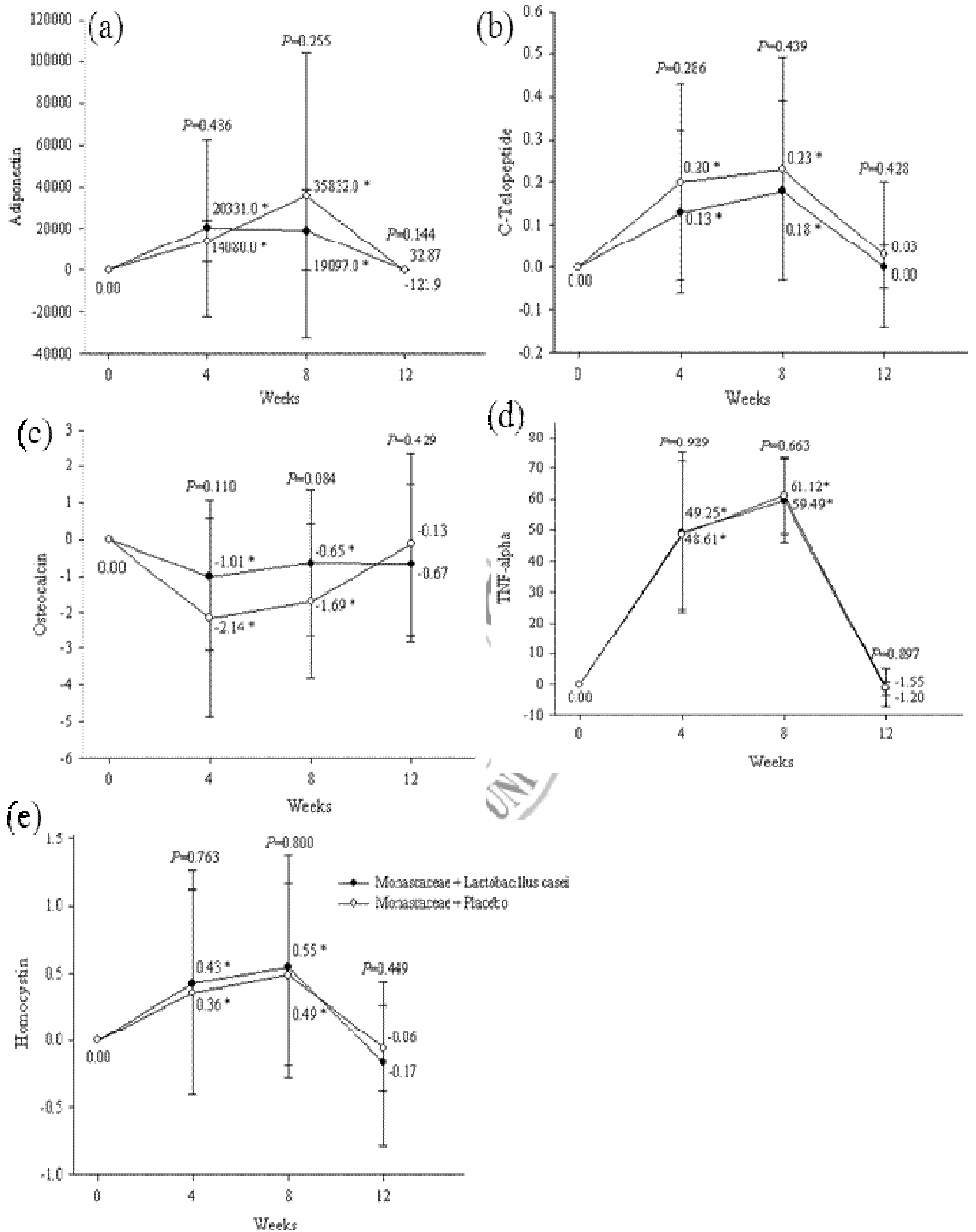
表六 第 4、8、12 週與第 0 週生化數值之變化

	Red yeast rice + <i>Lactobacillus casei</i> (n = 25)			Red yeast rice + Placebo (n = 24)		
	Week4-Week0	Week8-Week0	Week12-Week0	Week4-Week0	Week8-Week0	Week12-Week0
C-telopeptide (ng/mL) ^a	0.13 ± 0.19*	0.18 ± 0.21*	0.00 ± 0.05	0.20 ± 0.23*	0.23 ± 0.26*	0.03 ± 0.17
osteocalcin (ng/mL) ^a	-1.01 ± 2.05*	-0.65 ± 1.98	-0.67 ± 2.17	-2.14 ± 2.72*	-1.69 ± 2.10*	-0.13 ± 2.47
TNF-alpha (ng/mL) ^a	49.25 ± 25.88*	59.49 ± 13.58*	-1.55 ± 11.88	48.61 ± 23.98*	61.12 ± 12.37*	-1.20 ± 6.15
MCP-1(pg/mL) ^a	381.46 ± 385.52*	497.89 ± 429.52*	7.1 ± 49.8	196.02 ± 688.29	266.12 ± 648.11	-16.9 ± 105.33
homocysteine(mmol/L) ^a	4.3 ± 8.3*	5.5 ± 8.3*	1.7 ± 6.1	3.6 ± 7.6*	4.9 ± 6.8*	-0.6 ± 3.2
plasma Leptin (ng/mL) ^a	2.65 ± 6.69	2.81 ± 5.67*	0.61 ± 4.66	0.23 ± 12.47	-1.50 ± 14.03	-0.52 ± 8.09
adiponectin (µg/mL) ^a	20.33 ± 42.46*	19.10 ± 19.56*	0.033 ± 0.393	14.08 ± 9.99*	35.83 ± 67.85*	-0.122 ± 0.334
fibrinogen (µg/mL) ^b	26.94 (41.11)*	35.00 (35.60)*	-0.56 (1.75)	31.25 (38.47)*	42.92 (21.11)*	0.14 (17.64)
hs-CRP(mg/mL ³) ^a	-0.076 ± 0.308	-0.027 ± 0.373	-0.009 ± 0.195	-0.084 ± 0.378	-0.122 ± 0.420	-0.125 ± 0.404
Col/Epi (sec) ^a		7.2 ± 34.77			16.13 ± 24.09*	
Col/ADP (sec) ^a		-0.24 ± 15.91			0.67 ± 17.01	

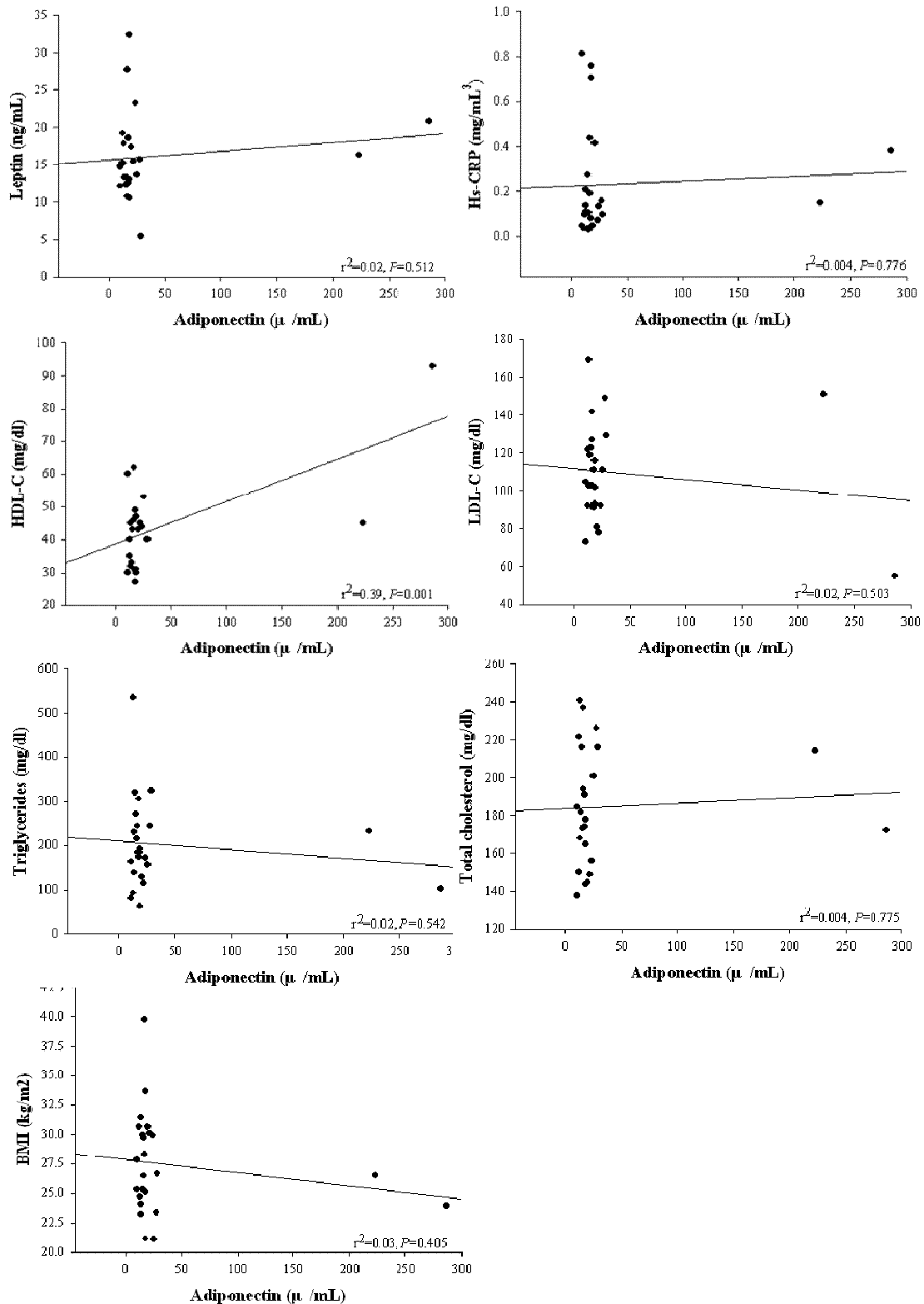
^a mean ± SD, ^b median (IQR)

The variables were presented by differences between visits after treatment compared to baseline (week 4-week 0; week 8-week 0; week 12-week 0).

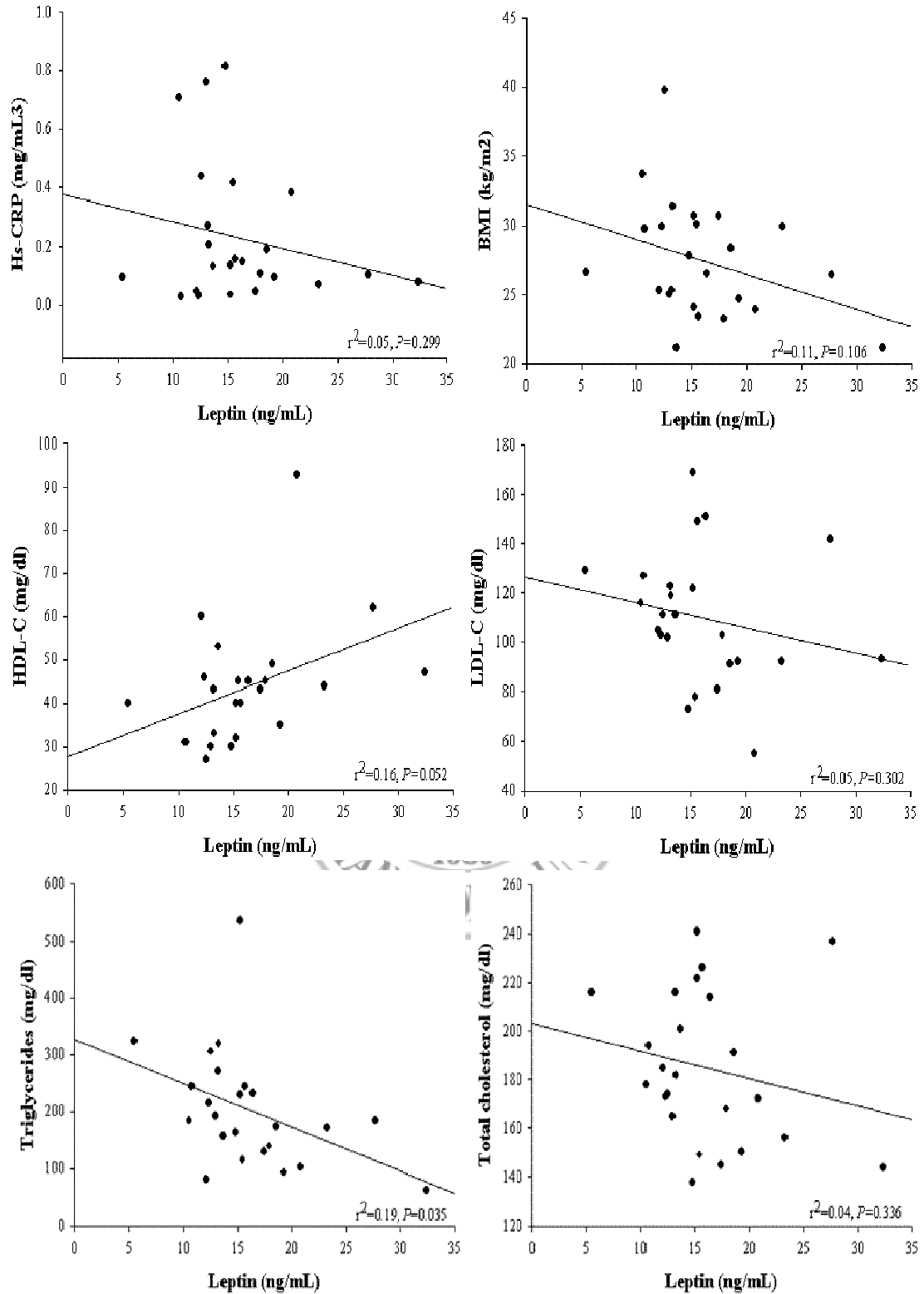
* The Paired t-test was conducted to compare the difference from baseline for each normal distribution variable and Wilcoxon's signed-rank test for nonnormal distribution variable, $p < 0.05$.



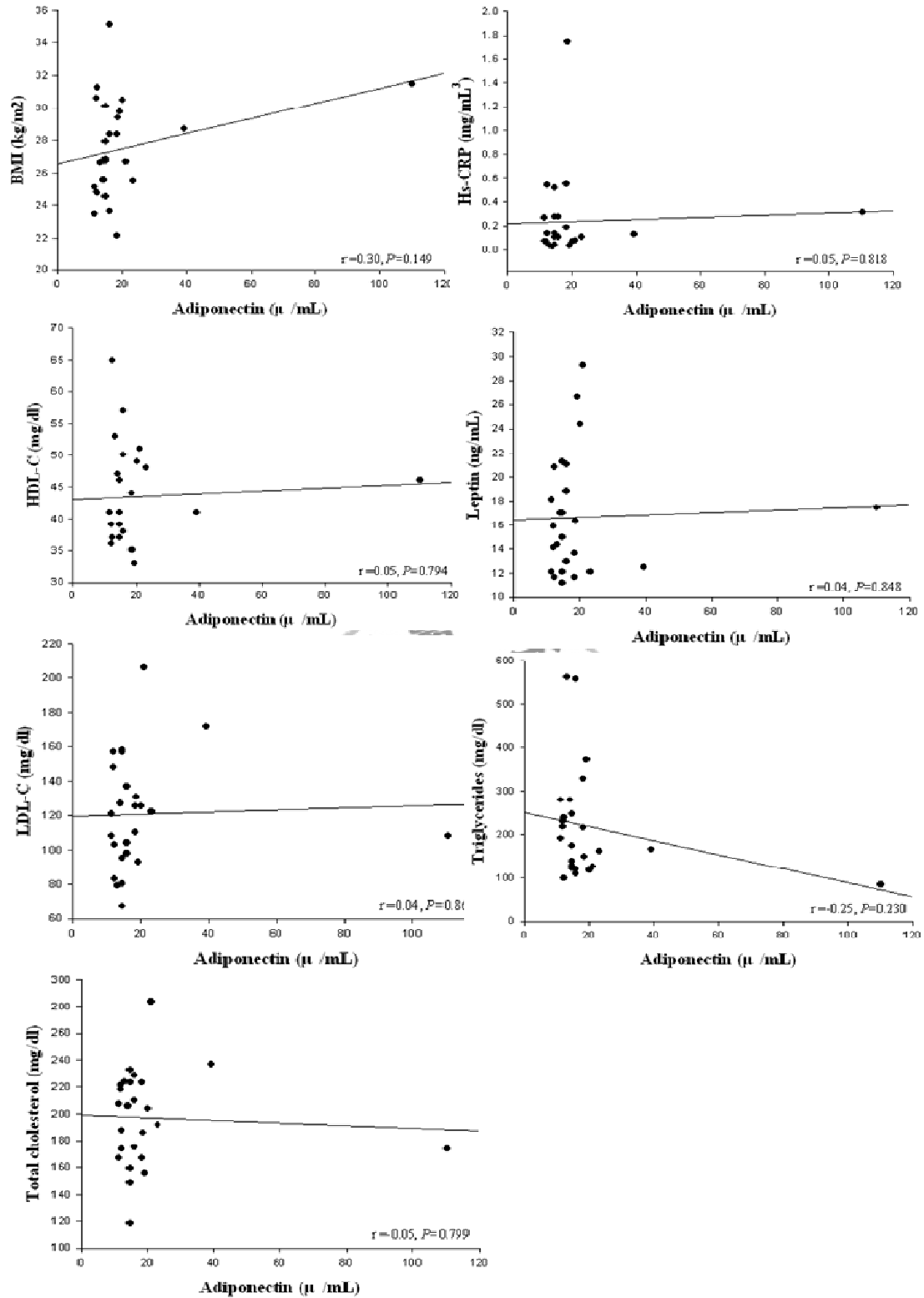
圖一 第四週、八週及十二週時，治療組與控制組：adiponectin、C-telopeptide、osteocalcin、TNF-alpha 與 homocystine 之差異。



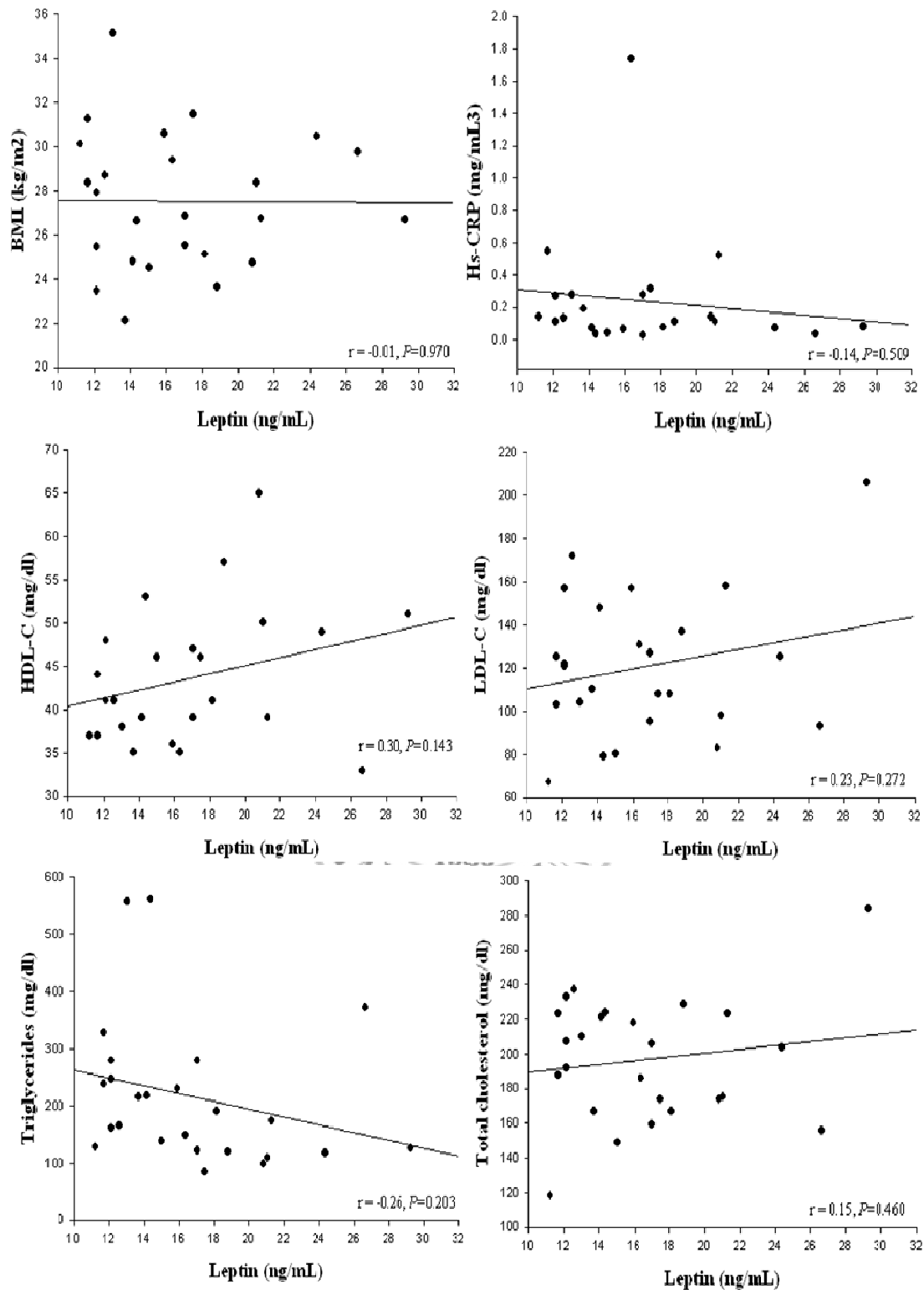
圖二 控制組(red yeast rice+ placebo): adiponectin 與 leptin、BMI、hs-CRP、LDL-C、HDL-C、TG和 total cholesterol在第八週之關係。The correlations among independent variables were determined using linear regression analysis. The line equation and significance were shown in the lower right corner. A $p < 0.05$ was considered statistically significant.



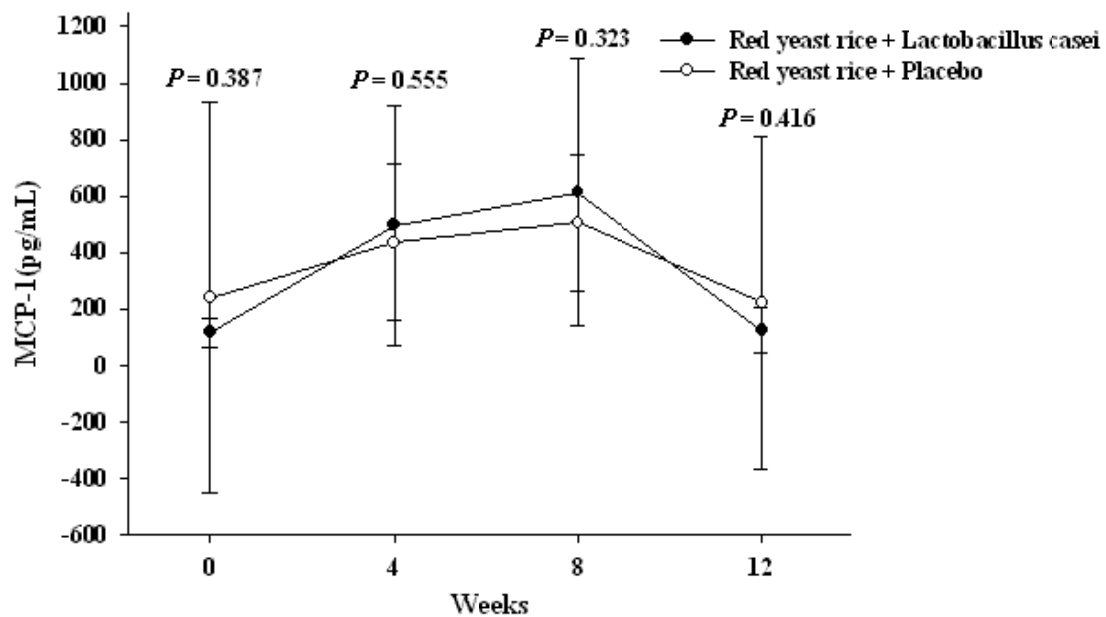
圖三 控制組(red yeast rice+ placebo)：leptin與BMI、hs-CRP、LDL-C、HDL-C、TG和 total cholesterol在第八週之關係。The correlations among independent variables were determined using linear regression analysis. The line equation and significance were shown in the lower right corner. A $p<0.05$ was considered statistically significant.



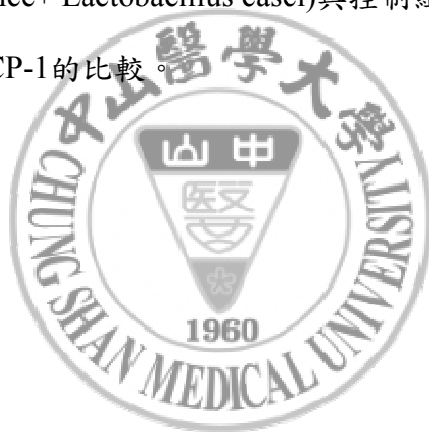
圖四 治療組(Red yeast rice+ Lactobacillus casei)：adiponectin 與 leptin、BMI、hs-CRP、LDL-C、HDL-C、TG和 total cholesterol在第八週之關係。The correlations among independent variables were determined using linear regression analysis. The line equation and significance were shown in the lower right corner. A $p < 0.05$ was considered statistically significant.



圖五 治療組(Red yeast rice+ Lactobacillus casei) : leptin與BMI、hs-CRP、LDL-C、HDL-C、TG和 total cholesterol在第八週之關係。The correlations among independent variables were determined using linear regression analysis. The line equation and significance were shown in the lower right corner. A $p < 0.05$ was considered statistically significant.



圖六 治療組(Red yeast rice+ Lactobacillus casei)與控制組(red yeast rice+ placebo)在第四、八及十二週MCP-1的比較。





中山醫學大學附設醫院人體試驗委員會

Institutional Review Board

Chung Shan Medical University Hospital

No.110, Sec.1, Chien-Kuo N. Road, Taichung, Taiwan 40201

Phone: 04-24739595 Fax: 04-35073516

臨床試驗計畫許可書

CSMUH No:CS09164

計畫名稱：紅鏈加上益生菌對降血脂作用之評估-生化分析及機轉研究

計劃編號：CSH-CMCTC-98-004

計畫主持人：李建登

版本：【Protocol: CSH-CMCTC-98-004-Pro-V2.0, Date: 05/Jan/2010】

同意函有效期：100年2月22日

上述計畫已於98年12月24日經本院人體試驗委員會九十八年度第十二次會議決議修正後同意，於99年2月23日准予執行。有關計劃主持人的職責、義務及注意事項均詳列於背面，請參閱並遵守。



主任委員 韓志平

中華民國九十九年二月二十三日

Permission of for Clinical Trial

Chung Shan Medical University Hospital

Date: February 23, 2010

Protocol Title: The Cholesterol-Lowering Effect of LipoCol Forte Combined Lactobacillus casei—biomarkers analysis

Protocol No: CSH-CMCTC-98-004

Principle Investigator: Chien-Ying Lee

Version: 【Protocol: CSH-CMCTC-98-004-Pro-V2.0, Date: 05/Jan/2010】

Above study has been approved by Institutional Review Board of the Chung Shan Medical University Hospital on February 23, 2010 and valid through February 22, 2011. About the essential duties, obligations and responsibilities of the principal investigator please refer to the back page.




Chih-Ping Hsu, MD/PhD.

Chairman

Institutional Review Board

柒、參考文獻

1. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Watson AD, and Lusis AJ. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995;91(9):2488-2496.
2. Gould AL, Davies GM, Alemao E, Yin DD, and Cook JR. Cholesterol reduction yields clinical benefits: meta-analysis including recent trials. *Clin Ther* 2007;29(5):778-794.
3. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem* 1997;272(34):20963-20966.
4. Schwartz CJ, Valente AJ, Sprague EA, Kelley JL, and Nerem RM. The pathogenesis of atherosclerosis: an overview. *Clin Cardiol* 1991;14(2 Suppl 1):I1-16.
5. Pedersen TR. Pleiotropic effects of statins: evidence against benefits beyond LDL-cholesterol lowering. *American journal of cardiovascular drugs : drugs, devices, and other interventions* 2010;10 Suppl 1(10-17).
6. Moghadasian MH, McManus BM, Godin DV, Rodrigues B, and

- Frohlich JJ. Proatherogenic and antiatherogenic effects of probucol and phytosterols in apolipoprotein E-deficient mice: possible mechanisms of action. *Circulation* 1999;99(13):1733-1739.
7. Lee BH, and Pan TM. Benefit of Monascus-fermented products for hypertension prevention: a review. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012;94(5):1151-1161.
 8. Endo A, Komagata D, and Shimada H. Monacolin M, a new inhibitor of cholesterol biosynthesis. *J Antibiot (Tokyo)* 1986;39(12):1670-1673.
 9. Endo A, Hasumi K, and Negishi S. Monacolins J and L, new inhibitors of cholesterol biosynthesis produced by *Monascus ruber*. *J Antibiot (Tokyo)* 1985;38(3):420-422.
 10. Lilly DM, and Stillwell RH. Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms. *Science* 1965;147(3659):747-748.
 11. Gibson GR, and Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995;125(6):1401-1412.
 12. Liong MT, and Shah NP. Optimization of cholesterol removal by probiotics in the presence of prebiotics by using a response surface

- method. *Appl Environ Microbiol* 2005;71(4):1745-1753.
13. Lye HS, Kuan CY, Ewe JA, Fung WY, and Liong MT. The improvement of hypertension by probiotics: effects on cholesterol, diabetes, renin, and phytoestrogens. *Int J Mol Sci* 2009;10(9):3755-3775.
 14. Mai V, and Draganov PV. Recent advances and remaining gaps in our knowledge of associations between gut microbiota and human health. *World J Gastroenterol* 2009;15(1):81-85.
 15. Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, and Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J Appl Microbiol* 2006;100(6):1171-1185.
 16. Ouwehand AC, Salminen S, and Isolauri E. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2002;82(1-4):279-289.
 17. Park YH, Kim JG, Shin YW, Kim HS, Kim YJ, Chun T, Kim SH, and Whang KY. Effects of *Lactobacillus acidophilus* 43121 and a mixture of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium longum* on the serum cholesterol level and fecal sterol excretion in hypercholesterolemia-induced pigs. *Biosci Biotechnol Biochem*

- 2008;72(2):595-600.
18. Kobashi K, Nishizawa I, Yamada T, and Hase J. A new hydrolase specific for taurine-conjugates of bile acids. *J Biochem* 1978;84(2):495-497.
 19. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results. II. The relationship of reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. *JAMA* 1984;251(3):365-374.
 20. De Smet I, De Boever P, and Verstraete W. Cholesterol lowering in pigs through enhanced bacterial bile salt hydrolase activity. *Br J Nutr* 1998;79(2):185-194.
 21. Davignon J, Montigny M, and Dufour R. HMG-CoA reductase inhibitors: a look back and a look ahead. *Can J Cardiol* 1992;8(8):843-864.
 22. Comparative efficacy and safety of pravastatin and cholestyramine alone and combined in patients with hypercholesterolemia. Pravastatin Multicenter Study Group II. *Arch Intern Med* 1993;153(11):1321-1329.
 23. Sathasivam S. Statin induced myotoxicity. *Eur J Intern Med* 2012;23(4):317-324.

24. Garcia-Calvo M, Lisnock J, Bull HG, Hawes BE, Burnett DA, Braun MP, Crona JH, Davis HR, Jr., Dean DC, Detmers PA, Graziano MP, Hughes M, Macintyre DE, Ogawa A, O'Neill K A, Iyer SP, Shevell DE, Smith MM, Tang YS, Makarewicz AM, Ujjainwalla F, Altmann SW, Chapman KT, and Thornberry NA. The target of ezetimibe is Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1). Proc Natl Acad Sci U S A 2005;102(23):8132-8137.
25. Jankowski P, Loster M, and Kawecka-Jaszcz K. Ezetimibe: New perspectives in lipid lowering treatment. *Cardiol J* 2007;14(3):232-237.
26. Yang CW, and Mousa SA. The effect of red yeast rice (*Monascus purpureus*) in dyslipidemia and other disorders. *Complementary therapies in medicine* 2012;20(6):466-474.
27. Hamelin BA, and Turgeon J. Hydrophilicity/lipophilicity: relevance for the pharmacology and clinical effects of HMG-CoA reductase inhibitors. *Trends Pharmacol Sci* 1998;19(1):26-37.
28. Liong MT, and Shah NP. Effects of a *Lactobacillus casei* synbiotic on serum lipoprotein, intestinal microflora, and organic acids in rats. *J Dairy Sci* 2006;89(5):1390-1399.

29. Brashears MM, Gilliland SE, and Buck LM. Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus casei*. *J Dairy Sci* 1998;81(8):2103-2110.
30. He X, Zou Y, Cho Y, and Ahn J. Effects of bile salt deconjugation by probiotic strains on the survival of antibiotic-resistant foodborne pathogens under simulated gastric conditions. *J Food Prot* 2012;75(6):1090-1098.
31. Kailasapathy K. Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Curr Issues Intest Microbiol* 2002;3(2):39-48.
32. Sanders ME. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J Nutr* 2000;130(2S Suppl):384S-390S.
33. Deruiter J, Jacyno JM, Davis RA, and Cutler HG. Studies on aldose reductase inhibitors from fungi. I. Citrinin and related benzopyran derivatives. *J Enzyme Inhib* 1992;6(3):201-210.
34. Sabater-Vilar M, Maas RF, and Fink-Gremmels J. Mutagenicity of commercial *Monascus* fermentation products and the role of citrinin contamination. *Mutat Res* 1999;444(1):7-16.
35. Shepherd J, Hunninghake DB, Barter P, McKenney JM, and

- Hutchinson HG. Guidelines for lowering lipids to reduce coronary artery disease risk: a comparison of rosuvastatin with atorvastatin, pravastatin, and simvastatin for achieving lipid-lowering goals. *Am J Cardiol* 2003;91(5A):11C-17C; discussion 17C-19C.
36. Liu J, Zhang J, Shi Y, Grimsgaard S, Alraek T, and Fonnebo V. Chinese red yeast rice (*Monascus purpureus*) for primary hyperlipidemia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Chin Med* 2006;1(4).
37. Trayhurn P, and Wood IS. Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity. *Biochem Soc Trans* 2005;33(Pt 5):1078-1081.
38. Brennan AM, and Mantzoros CS. Drug Insight: the role of leptin in human physiology and pathophysiology--emerging clinical applications. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2006;2(6):318-327.
39. Lau DC, Dhillon B, Yan H, Szmitko PE, and Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;288(5):H2031-2041.
40. Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, Matsuzawa Y, Tanaka S, Tataranni PA, Knowler WC, and Krakoff J. Adiponectin and

development of type 2 diabetes in the Pima Indian population.

Lancet 2002;360(9326):57-58.

41. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, and Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;257(1):79-83.
42. Lin LY, Liao CS, Yang WS, and Su TC. Decreased serum adiponectin in adolescents and young adults with familial primary hypercholesterolemia. *Lipids* 2005;40(2):163-167.
43. Berg AH, Combs TP, and Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2002;13(2):84-89.
44. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994;344(8934):1383-1389.
45. Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, Bihain BE, and Lodish HF. Proteolytic cleavage product of

- 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(4):2005-2010.
46. Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, and Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest* 2003;112(1):91-100.
47. Matsuda M, Shimomura I, Sata M, Arita Y, Nishida M, Maeda N, Kumada M, Okamoto Y, Nagaretani H, Nishizawa H, Kishida K, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Nagai R, Funahashi T, and Matsuzawa Y. Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. The missing link of adipo-vascular axis. *J Biol Chem* 2002;277(40):37487-37491.
48. Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, Nishida M, Arita Y, Kumada M, Ohashi K, Sakai N, Shimomura I, Kobayashi H, Terasaka N, Inaba T, Funahashi T, and Matsuzawa Y. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2002;106(22):2767-2770.
49. Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL,

- Chen CL, Tai TY, and Chuang LM. Plasma adiponectin levels in overweight and obese Asians. *Obes Res* 2002;10(11):1104-1110.
50. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, and Matsuzawa Y. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(6):1595-1599.
51. Huang KC, Chen CL, Chuang LM, Ho SR, Tai TY, and Yang WS. Plasma adiponectin levels and blood pressures in nondiabetic adolescent females. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(9):4130-4134.
52. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, and Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24(1):29-33.
53. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, and Matsuzawa Y. Novel modulator for endothelial

adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin.

Circulation 1999;100(25):2473-2476.

54. Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K, Maeda N, Kuriyama H, Nagaretani H, Matsuda M, Kondo H, Furuyama N, Kihara S, Nakamura T, Tochino Y, Funahashi T, and Matsuzawa Y. Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. Diabetes 2002;51(9):2734-2741.
55. Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, Chen CL, Tai TY, and Chuang LM. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. J Clin Endocrinol Metab 2001;86(8):3815-3819.
56. Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, Nishikai K, and Saruta T. Adiponectin, an adipocyte-derived protein, predicts future insulin resistance: two-year follow-up study in Japanese population. J Clin Endocrinol Metab 2004;89(1):87-90.
57. Chan KC, Chou HH, Wu DJ, Wu YL, and Huang CN. Diabetes mellitus has an additional effect on coronary artery disease. Jpn Heart J 2004;45(6):921-927.
58. Ben Ounis O, Elloumi M, Ben Chiekh I, Zbidi A, Amri M, Lac G,

- and Tabka Z. Effects of two-month physical-endurance and diet-restriction programmes on lipid profiles and insulin resistance in obese adolescent boys. *Diabetes Metab* 2008;34(6 Pt 1):595-600.
59. Kontush A, and Chapman MJ. Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis. *Pharmacol Rev* 2006;58(3):342-374.
60. Bjorbaek C, and Kahn BB. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent Prog Horm Res* 2004;59(305-331).
61. Pepys MB, and Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003;111(12):1805-1812.
62. Kao PC, Shiesh SC, and Wu TJ. Serum C-reactive protein as a marker for wellness assessment. *Ann Clin Lab Sci* 2006;36(2):163-169.
63. Ledue TB, and Rifai N. Preanalytic and analytic sources of variations in C-reactive protein measurement: implications for cardiovascular disease risk assessment. *Clin Chem*

2003;49(8):1258-1271.

64. Rost NS, Wolf PA, Kase CS, Kelly-Hayes M, Silbershatz H, Massaro JM, D'Agostino RB, Franzblau C, and Wilson PW. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham study. *Stroke* 2001;32(11):2575-2579.
65. Ridker PM, Stampfer MJ, and Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA* 2001;285(19):2481-2485.
66. Morrow DA, Rifai N, Antman EM, Weiner DL, McCabe CH, Cannon CP, and Braunwald E. C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes: a TIMI 11A substudy. *Thrombolysis in Myocardial Infarction. J Am Coll Cardiol* 1998;31(7):1460-1465.
67. Lagrand WK, Visser CA, Hermens WT, Niessen HW, Verheugt FW, Wolbink GJ, and Hack CE. C-reactive protein as a cardiovascular

- risk factor: more than an epiphenomenon? *Circulation* 1999;100(1):96-102.
68. Reynolds GD, and Vance RP. C-reactive protein immunohistochemical localization in normal and atherosclerotic human aortas. *Arch Pathol Lab Med* 1987;111(3):265-269.
69. Rifai N, and Ridker PM. Population distributions of C-reactive protein in apparently healthy men and women in the United States: implication for clinical interpretation. *Clin Chem* 2003;49(4):666-669.
70. Chang LT, Sun CK, Chiang CH, Wu CJ, Chua S, and Yip HK. Impact of simvastatin and losartan on antiinflammatory effect: in vitro study. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007;49(1):20-26.
71. Quist-Paulsen P. Statins and inflammation: an update. *Curr Opin Cardiol* 2010;25(4):399-405.
72. Zhao SP, Liu L, Cheng YC, Shishebor MH, Liu MH, Peng DQ, and Li YL. Xuezhikang, an extract of cholestin, protects endothelial function through antiinflammatory and lipid-lowering mechanisms in patients with coronary heart disease. *Circulation* 2004;110(8):915-920.

73. Fransen L, Muller R, Marmenout A, Tavernier J, Van der Heyden J, Kawashima E, Chollet A, Tizard R, Van Heuverswyn H, Van Vliet A, and et al. Molecular cloning of mouse tumour necrosis factor cDNA and its eukaryotic expression. *Nucleic Acids Res* 1985;13(12):4417-4429.
74. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature* 2002;420(6917):853-859.
75. Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT, Kuo GC, Lowry SF, and Cerami A. Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature* 1987;330(6149):662-664.
76. Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, Merryweather J, Wolpe S, Milsark IW, Hariri RJ, Fahey TJ, 3rd, Zentella A, Albert JD, and et al. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* 1986;234(4775):470-474.
77. Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakat JM, Ombrellino M, Che J, Frazier A, Yang H, Ivanova S, Borovikova L, Manogue KR, Faist E, Abraham E, Andersson J, Andersson U, Molina PE, Abumrad NN, Sama A, and Tracey KJ. HMG-1 as a late mediator

- of endotoxin lethality in mice. *Science* 1999;285(5425):248-251.
78. Tracey KJ, Vlassara H, and Cerami A. Cachectin/tumour necrosis factor. *Lancet* 1989;1(8647):1122-1126.
79. Xu H, Uysal KT, Becherer JD, Arner P, and Hotamisligil GS. Altered tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) processing in adipocytes and increased expression of transmembrane TNF-alpha in obesity. *Diabetes* 2002;51(6):1876-1883.
80. Moller DE. Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 2000;11(6):212-217.
81. Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, and Ranganathan G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;280(5):E745-751.
82. Leonard EJ, and Yoshimura T. Human monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). *Immunol Today* 1990;11(3):97-101.
83. Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, and Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *J Interferon Cytokine Res* 2009;29(6):313-326.

84. Navab M, Imes SS, Hama SY, Hough GP, Ross LA, Bork RW, Valente AJ, Berliner JA, Drinkwater DC, Laks H, and et al. Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemoattractant protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. *J Clin Invest* 1991;88(6):2039-2046.
85. Randolph GJ, and Furie MB. A soluble gradient of endogenous monocyte chemoattractant protein-1 promotes the transendothelial migration of monocytes in vitro. *J Immunol* 1995;155(7):3610-3618.
86. Yla-Herttuala S, Lipton BA, Rosenfeld ME, Sarkioja T, Yoshimura T, Leonard EJ, Witztum JL, and Steinberg D. Expression of monocyte chemoattractant protein 1 in macrophage-rich areas of human and rabbit atherosclerotic lesions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88(12):5252-5256.
87. Ben-Baruch A, Michiel DF, and Oppenheim JJ. Signals and receptors involved in recruitment of inflammatory cells. *J Biol Chem* 1995;270(20):11703-11706.

88. Yoshimura T, and Leonard EJ. Identification of high affinity receptors for human monocyte chemoattractant protein-1 on human monocytes. *J Immunol* 1990;145(1):292-297.
89. Yoshimura T, and Leonard EJ. Secretion by human fibroblasts of monocyte chemoattractant protein-1, the product of gene JE. *J Immunol* 1990;144(6):2377-2383.
90. Namiki M, Kawashima S, Yamashita T, Ozaki M, Hirase T, Ishida T, Inoue N, Hirata K, Matsukawa A, Morishita R, Kaneda Y, and Yokoyama M. Local overexpression of monocyte chemoattractant protein-1 at vessel wall induces infiltration of macrophages and formation of atherosclerotic lesion: synergism with hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22(1):115-120.
91. Graves DT, Jiang Y, and Valente AJ. The expression of monocyte chemoattractant protein-1 and other chemokines by osteoblasts. *Front Biosci* 1999;4(D571-580).
92. Shih PT, Elices MJ, Fang ZT, Ugarova TP, Strahl D, Territo MC, Frank JS, Kovach NL, Cabanas C, Berliner JA, and Vora DK. Minimally modified low-density lipoprotein induces monocyte

- adhesion to endothelial connecting segment-1 by activating beta1 integrin. *J Clin Invest* 1999;103(5):613-625.
93. Strieter RM, Wiggins R, Phan SH, Wharram BL, Showell HJ, Remick DG, Chensue SW, and Kunkel SL. Monocyte chemotactic protein gene expression by cytokine-treated human fibroblasts and endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;162(2):694-700.
94. Rollins BJ, Yoshimura T, Leonard EJ, and Pober JS. Cytokine-activated human endothelial cells synthesize and secrete a monocyte chemoattractant, MCP-1/JE. *Am J Pathol* 1990;136(6):1229-1233.
95. Wang Z, Castresana MR, and Newman WH. Reactive oxygen and NF-kappaB in VEGF-induced migration of human vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;285(3):669-674.
96. Jordan NJ, Watson ML, Williams RJ, Roach AG, Yoshimura T, and Westwick J. Chemokine production by human vascular smooth muscle cells: modulation by IL-13. *Br J Pharmacol* 1997;122(4):749-757.

97. Koch AE, Kunkel SL, Harlow LA, Johnson B, Evanoff HL, Haines GK, Burdick MD, Pope RM, and Strieter RM. Enhanced production of monocyte chemoattractant protein-1 in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1992;90(3):772-779.
98. Iqbal MP, Ishaq M, Kazmi KA, Yousuf FA, Mehboobali N, Ali SA, Khan AH, and Waqar MA. Role of vitamins B6, B12 and folic acid on hyperhomocysteinemia in a Pakistani population of patients with acute myocardial infarction. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005;15(2):100-108.
99. Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B(12) and folate. *Clin Chem* 2000;46(8 Pt 2):1277-1283.
100. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J, Johnston C, Engbaek F, Schneede J, McPartlin C, and Scott JM. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004;50(1):3-32.
101. Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D, Tishler PV, and Hennekens CH. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US

- physicians. JAMA 1992;268(7):877-881.
102. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, and Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. JAMA 1995;274(13):1049-1057.
103. Warren CJ. Emergent cardiovascular risk factor: homocysteine. Prog Cardiovasc Nurs 2002;17(1):35-41.
104. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. JAMA 2002;288(16):2015-2022.
105. Postea O, Krotz F, Henger A, Keller C, and Weiss N. Stereospecific and redox-sensitive increase in monocyte adhesion to endothelial cells by homocysteine. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006;26(3):508-513.
106. Moon HW, Whang DH, Ko YJ, Joo SY, Yun YM, Hur M, and Kim JQ. Reference interval and determinants of the serum homocysteine level in a Korean population. J Clin Lab Anal 2011;25(5):317-323.
107. Lang T, Johanning K, Metzler H, Piepenbrock S, Solomon C, Rahe-Meyer N, and Tanaka KA. The effects of fibrinogen levels on

thromboelastometric variables in the presence of thrombocytopenia.

Anesth Analg 2009;108(3):751-758.

108. Ernst E, and Resch KL. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a meta-analysis and review of the literature. *Ann Intern Med* 1993;118(12):956-963.
109. Chong PH, and Bachenheimer BS. Current, new and future treatments in dyslipidaemia and atherosclerosis. *Drugs* 2000;60(1):55-93.
110. Acevedo M, Foody JM, Pearce GL, and Sprecher DL. Fibrinogen: associations with cardiovascular events in an outpatient clinic. *Am Heart J* 2002;143(2):277-282.
111. Chen Y, Zhang G, and Ye Z. [Lowered lipids efficiency of compound red yeast rice extract in rats with hyperlipidemia]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 2010;35(4):504-507.
112. Li P, Yang Y, and Liu M. Xuezhikang, extract of red yeast rice, inhibited tissue factor and hypercoagulable state through suppressing nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase and extracellular signal-regulated kinase activation. *J Cardiovasc Pharmacol* 2011;58(3):307-318.

113. Koh KK. Effects of statins on vascular wall: vasomotor function, inflammation, and plaque stability. *Cardiovasc Res* 2000;47(4):648-657.
114. Koh KK, Cardillo C, Bui MN, Hathaway L, Csako G, Waclawiw MA, Panza JA, and Cannon RO, 3rd. Vascular effects of estrogen and cholesterol-lowering therapies in hypercholesterolemic postmenopausal women. *Circulation* 1999;99(3):354-360.
115. Merten M, Dong JF, Lopez JA, and Thiagarajan P. Cholesterol sulfate: a new adhesive molecule for platelets. *Circulation* 2001;103(16):2032-2034.
116. Notarbartolo A, Davi G, Averna M, Barbagallo CM, Ganci A, Giammarresi C, La Placa FP, and Patrono C. Inhibition of thromboxane biosynthesis and platelet function by simvastatin in type IIa hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15(2):247-251.
117. Lacoste L, Lam JY, Hung J, Letchacovski G, Solymoss CB, and Waters D. Hyperlipidemia and coronary disease. Correction of the increased thrombogenic potential with cholesterol reduction. *Circulation* 1995;92(11):3172-3177.

118. Jialal I, Stein D, Balis D, Grundy SM, Adams-Huet B, and Devaraj S. Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme a reductase inhibitor therapy on high sensitive C-reactive protein levels. *Circulation* 2001;103(15):1933-1935.
119. Strandberg TE, Vanhanen H, and Tikkanen MJ. Effect of statins on C-reactive protein in patients with coronary artery disease. *Lancet* 1999;353(9147):118-119.
120. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks F, and Braunwald E. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* 1999;100(3):230-235.
121. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks FM, Moyer LA, Goldman S, Flaker GC, and Braunwald E. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* 1998;98(9):839-844.
122. Harrison P. The role of PFA-100 testing in the investigation and management of haemostatic defects in children and adults. *Br J Haematol* 2005;130(1):3-10.

123. Favaloro EJ. Utility of the PFA-100 for assessing bleeding disorders and monitoring therapy: a review of analytical variables, benefits and limitations. *Haemophilia* 2001;7(2):170-179.
124. Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G, Boyce B, Zhao M, and Gutierrez G. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* 1999;286(5446):1946-1949.
125. Chung YS, Lee MD, Lee SK, Kim HM, and Fitzpatrick LA. HMG-CoA reductase inhibitors increase BMD in type 2 diabetes mellitus patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(3):1137-1142.
126. Miyauchi A, Matsumoto T, Shigeta H, Tsujimoto M, Thiebaud D, and Nakamura T. Effect of teriparatide on bone mineral density and biochemical markers in Japanese women with postmenopausal osteoporosis: a 6-month dose-response study. *J Bone Miner Metab* 2008;26(6):624-634.
127. Glover SJ, Eastell R, McCloskey EV, Rogers A, Garnero P, Lowery J, Belleli R, Wright TM, and John MR. Rapid and robust response of biochemical markers of bone formation to teriparatide therapy. *Bone* 2009;45(6):1053-1058.
128. Burshell AL, Moricke R, Correa-Rotter R, Chen P, Warner MR,

- Dalsky GP, Taylor KA, and Krege JH. Correlations between biochemical markers of bone turnover and bone density responses in patients with glucocorticoid-induced osteoporosis treated with teriparatide or alendronate. *Bone* 2010;46(4):935-939.
129. Edwards CJ, Hart DJ, and Spector TD. Oral statins and increased bone-mineral density in postmenopausal women. *Lancet* 2000;355(9222):2218-2219.
130. Cummings SR, and Bauer DC. Do statins prevent both cardiovascular disease and fracture? *JAMA* 2000;283(24):3255-3257.
131. Gutierrez GE, Mundy B, Rossini G, Garrett IR, Chen ST, and Mundy GR. Red yeast rice stimulates bone formation in rats. *Nutr Res.* 2006;26(124-129).
132. Wong RW, and Rabie B. Chinese red yeast rice (*Monascus purpureus*-fermented rice) promotes bone formation. *Chin Med* 2008;3(4).
133. Zaidi M, Blair HC, Moonga BS, Abe E, and Huang CL. Osteoclastogenesis, bone resorption, and osteoclast-based therapeutics. *J Bone Miner Res* 2003;18(4):599-609.

134. Ghosh-Choudhury N, Mandal CC, and Choudhury GG. Statin-induced Ras activation integrates the phosphatidylinositol 3-kinase signal to Akt and MAPK for bone morphogenetic protein-2 expression in osteoblast differentiation. *J Biol Chem* 2007;282(7):4983-4993.
135. Cosman F, Nieves J, Zion M, Woelfert L, Luckey M, and Lindsay R. Daily and cyclic parathyroid hormone in women receiving alendronate. *N Engl J Med* 2005;353(6):566-575.
136. Greenspan SL, Rosen HN, and Parker RA. Early changes in serum N-telopeptide and C-telopeptide cross-linked collagen type 1 predict long-term response to alendronate therapy in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(10):3537-3540.
137. Cancela L, Hsieh CL, Francke U, and Price PA. Molecular structure, chromosome assignment, and promoter organization of the human matrix Gla protein gene. *J Biol Chem* 1990;265(25):15040-15048.
138. Minisola S, Rosso R, Romagnoli E, DE E, Manfredi G, Damiani C, De Antoni F, and Mazzuoli G. Serum osteocalcin and bone mineral density at various skeletal sites: a study performed with three

- different assays. *J Lab Clin Med* 1997;129(4):422-429.
139. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, Dacquin R, Mee PJ, McKee MD, Jung DY, Zhang Z, Kim JK, Mauvais-Jarvis F, Ducy P, and Karsenty G. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 2007;130(3):456-469.
140. Finkelstein JS, Wyland JJ, Lee H, and Neer RM. Effects of teriparatide, alendronate, or both in women with postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(4):1838-1845.
141. Marx RE, Cillo JE, Jr., and Ulloa JJ. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2007;65(12):2397-2410.