

編號：CCMP99-RD-102

紅麴加上益生菌對降血脂作用之評估 (2-2)

李建瑩

中山醫學大學附設醫院 中藥臨床試驗中心

摘要

研究目的：

探討紅麴（一種 HMG-CoA 還原酶抑制劑）在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 Fibrinogen、platelet aggregation function test、Homocysteine、Adiponectin 濃度、發炎指數 hs-CRP、免疫反應 (TNF- α)、Leptin 濃度及骨代謝生化指標之相關性。

研究方法：

受試者於第 0、4、8、12 週回診抽血四次，共保存 240 管 stock serum 本年度將第一年留存的研究用 stock serum，進行下列生化機轉及免疫檢驗：1. 凝血功能試驗：Fibrinogen、platelet aggregation function test、Homocysteine、2. 免疫及發炎試驗：hs-CRP、TNF- α 、monocyte chmoprotein-1 (MCP-1)、Adiponectin、leptin 及 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)。

結果與討論：

本研究共納入 60 位受試者，並隨機分派於治療組(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。故本年度將第一年完成全部試驗程序的 49 位病人留存研究用 stock serum，進行生化機轉及免疫檢驗。

研究顯示紅麴加上益生菌(Monascaceae + Lactobacillus casei)與紅麴加上安慰劑(Monascaceae + Placebo)比較，在第 8 週發現 Osteocalcin 與 Fibrinogen 的改變，p 值分別為 p=0.084 與 p=0.094，表示紅麴加入益生菌 Lactobacillus casei 後對 Osteocalcin 與 Fibrinogen 的改變較單獨使用紅麴較明顯，雖未達統計上差異，但

有改變的趨勢。Adiponectin、Plasma leptin、Homocysteine、Fibrinogen、C-Telopeptide、Osteocalcin、Tumor necrosis factor-alpha(TNF- α)、Monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)的改變可在各別 Monascaceae + Lactobacillus casei 組別或 Monascaceae + Placebo 組別出現有統計上的差異，但 collagen and epinephrine (Col/Epi)凝血時間延長只在 Monascaceae + Placebo 一組出現有意義的改變，而 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組並無出現，顯示加入益生菌 Lactobacillus casei 反而抵銷掉紅麴抗凝血功能。

關鍵詞：紅麴、益生菌、抗發炎、降血脂

Number: CCMP99-RD-102

The Cholesterol-Lowering Effect of LipoCol Forte Combined Lactobacillus Casei (2-2)

Chien-Ying Lee
Chung Shan Medical University Hospital

ABSTRACT

Aim:

To investigate the mechanism of LipoCol Forte (red yeast rice) and Lactobacillus casei in patients with hyperlipidemia.

Method:

Sixty patients with hyperlipidemia were enrolled and randomized equally to group A (Monascaceae + Lactobacillus casei) or group B (Monascaceae + 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-alpha (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 (Monascaceae + Lactobacillus casei) had a trend of higher serum osteocalcin ($p=0.084$) and fibrinogen ($p=0.094$), as compared to group B (Monascaceae + placebo), although not statistically significant. Both groups showed significant change of adiponectin, leptin, homocysteine, fibrinogen, C-Telopeptide, osteocalcin, tumor necrosis factor-alpha (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. Platelet 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 Monascaceae.

Keywords: Monascaceae, Lactobacillus casei, Anti-inflammation, Hyperlipidemia

壹、前言

中藥之療效雖有數千年歷史為依據，由於其理論基礎與西方醫學不同，又缺乏明確的評估指標（End-point）與科學化數據之支持，使得中草藥至今仍無法獲得國際醫藥主流市場的認可；雖然我國中藥製藥技術已向科學化邁進，但如何結合科學實證方法，確認固有典籍中藥處方之新療效，以及利用天然中藥材開發新藥，關鍵在於嚴謹可信的臨床試驗。

國內外研究者發現 adiponectin 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)、三酸甘油酯(triglyceride, TG)及高密度脂蛋白膽固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、血壓(blood pressure)等等，有非常密切的關聯。血中 adiponectin 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(coronary artery disease, CAD)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。

紅麴在我國食用上已有千年的歷史，被廣泛的用於食品及醫藥上，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」。而其中活血部分，與近來研究發現紅麴其二次代謝物中有 monacolin K 具有降血脂之功能、 γ -氨基酪酸(γ -amino-n-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。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。

紅麴(Anka; Red mold rice; Red rice)是中國傳統食品添加物與中藥，其功效有促進血液循環及加速代謝之功能，紅麴是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，其中 monacolin K (lovastatin)已是廣泛被使用的臨床用藥。因此我們利用動物實驗來瞭解紅麴降血脂的功效。

Adiponectin 是專門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，adiponectin 的訊息核糖核酸(messenger RNA, mRNA)的含量，會被誘導合成約 100 倍以上。Adiponectin 之分子量大約是 30 kDa 左右，在成年人類的血漿濃度約為 2-20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ⁽¹⁾。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 adiponectin 濃度，

遠比非肥胖者為低⁽²⁾。

在動物實驗中，將合成的重組 adiponectin 蛋白(recombinant adiponectin) 打入老鼠體內，不僅可以增加胰島素的敏感度、進一步改善胰島素所引起的血漿葡萄糖、脂肪酸濃度降低⁽³⁾，甚至可以減輕實驗動物的脂肪肝的嚴重度⁽⁴⁾，不論脂肪肝是由酒精性或非酒精的因素所造成，並且改善實驗動物的動脈硬化的嚴重程度⁽⁵⁾⁽⁶⁾，而且有減重的效果⁽⁷⁾。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有關的疾病，甚至用來治療現代人相當常見的脂肪肝。

以前國內外研究者發現 adiponectin 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)、三酸甘油酯(triglyceride, TG)及高密度脂蛋白膽固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、血壓(blood pressure)等等，有非常密切的關聯⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾。血中 adiponectin 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(coronary artery disease, CAD)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⁽¹¹⁾，表示 adiponectin 可能與大血管的病變(macroangiopathy)有關。最近，adiponectin 被發現有抗發炎，抗糖尿病和抗動脈粥狀硬化的作用⁽²⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾。

Statin 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 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，Statins 通過刺激一氧化氮(NO)合成酶活性以及抗氧化作用而血管內皮細胞的功能。它可以強化 NO 生物活性⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾，減少血小板粘附⁽¹⁷⁾，減少血栓形成⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾，加強斑塊穩定性和抗發炎作用⁽²⁰⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾⁽²³⁾⁽²⁴⁾。

除了降血脂作用，3-hydroxy-3-methyl-glutaryl coenzyme A (HMG-CoA) 還原酶抑制劑(或 statins)有助於內皮細胞功能的改善。Statins 可活化一氧化氮(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⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾、改善血小板的附著⁽²⁷⁾、血管的栓塞⁽²⁸⁾⁽²⁹⁾、血塊穩定性、及發炎反應⁽³⁰⁾⁽³¹⁾⁽³²⁾⁽³³⁾。

Adiponectin 在成年男子血漿中的含量比在成年婦女的低，而在動物模型中觀察到由雄激素引起的 adiponectin 下降的現象可以解釋這些差異。既

往研究顯示，血漿 adiponectin 濃度與三酸甘油酯(triglyceride)及低密度脂蛋白 (LDL) 膽固醇呈負相關，而與高密度脂蛋白 (HDL) 膽固醇呈正相關⁽³⁴⁾⁽³⁵⁾。Adiponectin 具有抗血管發炎的作用、增加 free fatty acid 的氧化而降低了三酸甘油酯及血糖，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。因為動脈粥狀硬化是慢性發炎所造成的結果，所以 adiponectin 亦具有抗動脈粥狀硬化的作用。另外，adiponectin 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。

瘦體素(Leptin)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。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，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⁽³⁶⁾。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，但體內對於瘦體素則無反應或減弱，其稱為瘦體素阻抗(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(Plasma leptin)於周邊作用可抑制 acetyl CoA carboxylase 的活性、脂質合成、降低三酸甘油酯(triglyceride)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⁽³⁶⁾。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，可瞭解兩者於瘦體素機制之不同。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。異言之，個體肥胖乃是為達成瘦體素可正常運作於生理機能所產生的一種補償性反應。

一、hs-CRP 在心血管疾病風險評估

近年來有許多前瞻性的流行病學研究發現：hs-CRP 在健康者未來發生心血管疾病風險的評估上，是個獨立且強而有力的預測指標。在 1997 年的 Physician,s Health Study(PHS)中，Ridker 等人針對 1,086 名美國男醫師超過 8 年的前瞻式研究發現：血清中的 hs-CRP 愈高者，其將來發生心肌梗塞(MI)及中風(stroke)的可能性就愈大；另外，他在針對 300 多名健康的美國中年女性所做的研究也發現：hs-CRP 愈高者，將來發生心血管疾病的風險愈高，且它是一個獨立因子（不受到高血壓、糖尿病、抽菸、血膽固醇及家族史的影響）。而 Kuller 的 Multiple Risk Factor Intervention Trial(MRFIT)則提出 hs-CRP 與冠心病(CHD)死亡率在男性吸菸者有直接關係；

在 Tracy 的 CHS/RHPP (Cardiovascular Health Study, Rural Health Promotion Project)研究也發現 hs-CRP 與未來的冠心病呈正向關係，其中亦包括大於 65 歲男女性併有潛在性的心血管疾病者。至今為止，已有約 20 篇的相關文獻指出：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 (<130mg/dL)而高 hs-CRP (>3mg/L)的族群，其罹病風險仍高於高濃度 LDL-C (>160mg/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 與膽固醇和 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。

在成年人，Leptin 與體重具有相關性。成年肥胖者血漿中 Adiponectin 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 Adiponectin 與 Leptin 濃度與體重和 body mass index (BMI)相關性。

無論是血管內及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。

二、Fibrinogen

Fibrinogen(第一因子)合成於肝臟，經由 thrombin 作用後，轉變成不溶

性的 fibrin，與血小板結合來凝固血液。Fibrinogen 上升於組織傷害與急性感染發炎，類風濕症關節炎，肝炎，與月經。Fibrinogen 下降於流產，嚴重燒傷，後天溶血性貧血，攝護腺癌及肺癌轉移，肝硬化生產不足，凝固因子缺損，先天第一因子缺損，冷凝球蛋白血症，multiple myeloma，macroglobulinemia，DIC，羊水栓塞，白血病，淋巴瘤，血小板減少性紫癜，以及 streptokinase、urokinase 治療。

三、Homocysteine

將 Protein bound 及雙硫鍵還原後，測定總量。Homocysteine(Hcy)被認為是動脈栓塞的危險因子，所以列入凝固機能亢進的評估。Homocysteine 是 methionine 藉由 cobalamin、folate、pyridoxine、riboflavin 代謝的產物，所以 Hcy 常與 folate 成反比，Hcy 增加 5 umol/L 會增加男性 1.6 女性 1.8 倍冠狀動脈血管疾病的危險。除了與各種血管疾病相關，與胎兒神經管缺損、流產、胎盤梗塞、老年人的認識力、腎毒素有關。

四、hs-CRP

急性發炎期，肝臟產生異常醣蛋白 CRP，當發炎舒解時立刻下降，可視為感染贅瘤，組織傷害敏感的指標。這是一個高敏感度的分析方法，所以可以用來預測心臟血管疾病的危險性，但是不適合作為 CVD 治療效果的 monitor。hsCRP 也被用來作為慢性低程度炎症治療的指標，例如腹部肥胖，使用 statins 及魚油治療調節脂肪時。使用類固醇有可能遮避掉 CRP 的反應。

五、C-Telopeptide (CTX)

β -CrossLaps 是第一型膠原蛋白片斷是碳末端胜鏈(CTX)。對骨骼主要的第一型膠原蛋白分解具有特異性。CTX 作為骨質吸收的指標，測量血清中 CTX 被建議當成監測骨質疏鬆症或其他骨質疾病的抗吸收治療(例如：雙磷酸鹽類、荷爾蒙補充治療)效果的方法。

指數高：蝕骨活動的進行，骨質再吸收流失。上升於停經或卵巢切除、癌症骨轉移、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。

指數低：正常。CTX 作為骨質吸收的指標，治療骨質疏鬆，CTX 濃度下降更明顯。

由於高膽固醇血症剛開始通常沒有症狀，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。原發性高血脂症患者若因使用此試驗用藥方法得到適當的控制，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，提升患者生活品質及身體心像，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，進而降低醫療費用的支出，讓國內的衛生政策邁向另一新的里程碑。

貳、材料與方法

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

試驗倫理：

本試驗將遵循 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。

研究設計：

受試者於第0、4、8、12週回診抽血四次，共保存240管 stock serum 本年度將第一年留存的研究用 stock serum，進行下列生化機轉及免疫檢驗：

- 一、凝血功能試驗：Fibrinogen、platelet aggregation function test、Homocysteine。
- 二、免疫及發炎試驗：hs-CRP、TNF- α 、monocyte chmoprotein-1 (MCP-1)、Adiponectin、leptin。
- 三、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)。

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)；少數檢體外送至台北聯合醫事檢驗所，分析 Adiponectin、leptin。

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來源，將採用 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使

- 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的。
- 二、利用 Kolmogorov-Smirnov test 來評估連續性資料是否呈現常態分佈。
 - (一)資料若為常態分佈，數值則以 mean \pm SD 呈現。
 - (二)資料若為非常態分佈，數值則以 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)：
 - (一)資料呈現常態分佈，採用 student *t*-test。
 - (二)資料非常態分佈，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：
 - (一)資料呈現常態分佈，採用 paired *t*-test。
 - (二)資料呈現非常態分佈，採用 Wilcoxin signed-rank test。
 - 六、樣本數之估算 (Samples 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)、及退出試驗原因皆會被記錄與評估。
 - 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）為嚴重的偏離情形。極端值的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。

參、結果

Figure1 為研究收案流程圖，在試驗期間中，總共篩選了 60 位受試者，因此總共有 60 位受試者被納入於研究，並隨機分派於治療組(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。本年度將第一年完成全部試驗程序的 49 位病人留存研究用 stock serum，進行生化機轉及免疫檢驗。

Table1 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，Homocysteine、Fibrinogen、platelet aggregation function test (Epi/ADP) 於兩組間均無達到統計顯著差異，免疫及發炎指標部分 TNF-alpha、MCP-1、Plasma Leptin、Adiponectin 及 Hs-CRP 於兩組間也均無達到統計顯著差異，而骨質代謝生化指標中，代表骨質吸收的 C-Telopeptide (CTX) 於治療組平均為 0.26ng/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。

Table2 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，並達到統計顯著差異；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，並達到統計顯著差異；但因治療組及控制組於各指標均有看到增加或降低的趨勢，故兩組間無統計顯著差異。

Table3 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 也平均增加 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 週均有顯著增加或降低，並達到統計顯著差異；控制組中 Osteocalcin 第 8 週的結果相較於第 0 週平均減少 1.69

ng/mL ($p=0.0009$)，Adiponectin 於平均增加 35.83 μ g/mL，並達統計顯著差異($p=0.017$)，其餘包括 C-Telopeptide、TNF-alpha、Homocysteine、Fibrinogen 及 platelet aggregation function test Epi 達統計顯著差異；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， $p=0.084$ ）。

Table4 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及控制組均無顯著增加或減少，故均無達統計顯著差異。

Figure2 為受試者從第 0 週至第 12 週其生化指標的改變，且服藥前後平均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。

肆、討論

血中 adiponectin 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(coronary artery disease, CAD)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。最近，adiponectin 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 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，adiponectin 平均增加了 $20.33 \pm 42.46 \mu\text{g/mL}$ ($p < 0.0001$)，第 8 週與第 0 週比較，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組 adiponectin 平均增加了 $19.10 \pm 19.56 \mu\text{g/mL}$ ($p < 0.0001$)，在 Monascaceae + Placebo 一組，adiponectin 平均增加了 $35.83 \pm 67.85 \mu\text{g/mL}$ ($p = 0.017$)，表示兩組皆能增加 adiponectin，且達到明顯意義，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 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，adiponectin，逐漸降低，其與第 0 週相比僅平均增加 $0.33 \pm 3.93 \mu\text{g/mL}$ ($p = 0.680$)未達到明顯意義，在 Monascaceae + Placebo 一組，adiponectin 平均減少 $0.12 \pm 0.33 \mu\text{g/mL}$ ，反而下降，表示停用後 adiponectin 會逐漸降低，恢復到原來正常數值。

血清瘦體素(Plasma leptin)於周邊作用可抑制 acetyl CoA carboxylase 的活性、脂質合成、降低三酸甘油酯(triglyceride)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。在第 4 週與第 0 週比較，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，Plasma Leptin 平均增加了 $2.65 \pm 6.69 \text{ ng/mL}$ ($p = 0.060$)，有增加的趨勢，但未達明顯意義，在 Monascaceae + Placebo 一組，增加了 $0.23 \pm 12.47 \text{ ng/mL}$ ($p = 0.928$)，有稍微增加的趨勢，但未達明顯意義，第 8 週與第 0 週比較，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，Plasma Leptin 下降了 $1.50 \pm 14.03 \text{ ng/mL}$ ，但未達明顯意義($p = 0.605$)，表示 Lactobacillus casei 可幫助 Monascaceae 增加 Plasma leptin。停藥後一個月，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，Plasma leptin 改變了 $0.61 \pm 4.66 \text{ ng/mL}$ ($p = 0.522$)，在 Monascaceae + Placebo 一組，Plasma leptin 改變了 $-0.52 \pm 8.0 \text{ ng/mL}$ ($p = 0.756$)。在成年人，Leptin 與體重具有相關性。

急性發炎期，肝臟產生異常醣蛋白 CRP，當發炎舒解時立刻下降，可視為感染，組織傷害敏感的指標。血清中的 hs-CRP 愈高者，其將來發生心肌梗塞(MI)及中風(stroke)的可能性就愈大，hs-CRP 愈高者，將來發生心血管疾病的風險愈高，且它是一個獨立因子(不受到高血壓、糖尿病、抽菸、血膽固醇及家族史的影響)。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。更近一步的分析發現：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。在第 4 週與第 0 週比較，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，hs-CRP 下降了 $-0.076 \pm 0.308 \text{ mg/mL}^3$ ($p=0.229$)，有下降的趨勢，但未達明顯意義，在 Monascaceae + Placebo 一組，hs-CRP 下降了 $-0.084 \pm 0.378 \text{ mg/mL}^3$ ($p=0.286$)，有下降的趨勢，但未達明顯意義。第 8 週與第 0 週比較，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，hs-CRP 下降了 $-0.027 \pm 0.373 \text{ mg/mL}^3$ ($p=0.721$)，在 Monascaceae + Placebo 一組，hs-CRP 下降了 $-0.122 \pm 0.420 \text{ mg/mL}^3$ ($p=0.167$)，有下降的趨勢，但未達明顯意義。停藥後一個月，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，hs-CR 下降了 $-0.009 \pm 0.195 \text{ mg/mL}^3$ ($p=0.826$)，逐漸恢復到原來正常數值，在 Monascaceae + Placebo 一組，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數值。

Homocysteine 是一種胺基酸，它是製造甲硫胺酸(人體基本胱胺酸)過程所需要的甲烷基的前驅物。正常血中的 homocysteine 濃度是小於 $10\mu\text{mol/L}$ ， $11-12\mu\text{mol/L}$ 是邊緣值， $\geq 15\mu\text{mol/L}$ 則被認為會增加罹患心臟血管疾病的危險性。根據一篇報導顯示血液中同 homocysteine 的濃度如果超過 $15.8\mu\text{mol/L}$ ，則其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，發現血中同 Homocysteine 的濃度較高的人(超過 $11.4\mu\text{mol/L}$)，其頸動脈硬化且動脈狹窄發生栓塞的機會約高 2 倍。在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，homocysteine 一開始的數值為 $6.8 \pm 7.0\mu\text{mol/L}$ ，第 4 週時上升到 $11.0 \pm 6.3\mu\text{mol/L}$ ，第 8 週時上升到 $12.2 \pm 6.9\mu\text{mol/L}$ ，停藥後一個月，恢復到 $5.1 \pm 5.6\mu\text{mol/L}$ 。在 Monascaceae + Placebo 一組，homocysteine 一開始的數值為 $6.4 \pm 9.6\mu\text{mol/L}$ ，第 4 週時上升到 $10.0 \pm 3.6\mu\text{mol/L}$ ，第 8 週時上升到 $11.3 \pm 3.4\mu\text{mol/L}$ ，停藥後一個月，恢復到 $5.8 \pm 9.4\mu\text{mol/L}$ 。在第 4 週與第 0 週比較，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，homocysteine 增加了 $4.3 \pm 8.3\mu\text{mol/L}$ ($p=0.017$)，在 Monascaceae + Placebo 一組，homocysteine 增加了 $3.6 \pm 7.6\mu\text{mol/L}$ ($p=0.031$)。第 8 週與第 0 週比較，在

Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，homocysteine 增加 $5.5 \pm 8.3 \mu\text{mol/L}$ ($p=0.003$)，在 Monascaceae + Placebo 一組，homocysteine 增加 $4.9 \pm 6.8 \mu\text{mol/L}$ ($p=0.002$)，達到明顯意義，但 homocysteine 的數值皆在 13 以下，對人體並不會造成不良影響。停藥後一個月，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，homocysteine 改變了 $-1.7 \pm 6.1 \mu\text{mol/L}$ ($p=0.183$)，在 Monascaceae + Placebo 一組，homocysteine 改變了 $-0.6 \pm 3.2 \mu\text{mol/L}$ ($p=0.360$)。不論是使用 Monascaceae + Lactobacillus casei 或 Monascaceae + Placebo，可使原本較低的 homocysteine 上升至正常數值。

Fibrinogen(第一因子)合成於肝臟，經由 thrombin 作用後，轉變成不溶性的 fibrin，與血小板結合來凝固血液。正常範圍在 200-400 mg/dL。Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，一開始的數值為 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。在 Monascaceae + Placebo 一組，一開始的數值為 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。在第 4 週與第 0 週比較，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，fibrinogen 增加了 26.94 mg/dL ($p < 0.0001$)，在 Monascaceae + Placebo 一組，增加了 31.25 mg/dL ($p < 0.0001$)，達明顯意義，第 8 週與第 0 週比較，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，fibrinogen 增加了 35.00 mg/dL ($p < 0.0001$)，在 Monascaceae + Placebo 一組，增加了 42.92 mg/dL ($p < 0.0001$) 達明顯意義。停藥後一個月在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組改變了 -0.56 mg/dL ($p = 0.715$)，在 Monascaceae + Placebo 一組改變了 0.14 mg/dL ($p = 0.952$)。不論是使用 Monascaceae + Lactobacillus casei 或 Monascaceae + Placebo，可使原本較低的 fibrinogen 上升至正常數值。

C-Telopeptide (CTX) 為骨質吸收的指標，測量血清中 CTX 被建議當成監測骨質疏鬆症或其他骨質疾病的方法。指數高表示蝕骨活動的進行，骨質再吸收流失。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。用藥物治療骨質疏鬆，在一開始時，CTX 濃度會先上升，進行蝕骨活動，以利日後骨質的行形成，經過長時間治療間後，CTX 濃度下降更明顯⁽³⁷⁾⁽³⁸⁾。在第 4 週與第 0 週比較，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，C-Telopeptide 增加 $0.13 \pm 0.19 \text{ ng/mL}$ ($p=0.003$)，在 Monascaceae + Placebo 一組 C-Telopeptide 增加 $0.20 \pm 0.23 \text{ ng/mL}$ ($p=0.0004$)，第 8 週與第 0 週比較，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，C-Telopeptide 增加 $0.18 \pm 0.21 \text{ ng/mL}$ ($p=0.0003$)，Monascaceae + Placebo 一組 C-Telopeptide 增加 0.23 ± 0.26

ng/mL ($p=0.0003$)。停藥後一個月在 *Monascaceae* + *Lactobacillus casei* 一組，C-Telopeptide 改變了 0.00 ± 0.05 ng/mL ($p=0.677$)，在 *Monascaceae* + Placebo 一組改變了 0.03 ± 0.17 ng/mL ($p=0.346$)，此結果與用藥物治療骨質疏鬆，在一開始時，CTx 濃度會先上升，進行蝕骨活動，以利日後骨質的行形成相符，但未觀察到長期使用的結果。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，用藥物治療骨質疏鬆，在一開始時，osteocalcin 濃度會先下降，以利日後骨質的行形成，經過長時間治療間後，osteocalcin 濃度明顯上升⁽³⁹⁾。在第 4 週與第 0 週比較，在 *Monascaceae* + *Lactobacillus casei* 一組，osteocalcin 改變了 -1.01 ± 2.05 ng/mL ($p=0.021$)，*Monascaceae* + Placebo 一組 osteocalcin 改變了 -2.14 ± 2.72 ng/mL ($p=0.001$)，第 8 週與第 0 週比較，在 *Monascaceae* + *Lactobacillus casei* 一組，osteocalcin 改變了 -0.65 ± 1.98 ng/mL ($p=0.116$)，*Monascaceae* + Placebo 一組 osteocalcin 改變了 -1.69 ± 2.102 ng/mL ($p=0.0009$)，改變了。停藥後一個月在 *Monascaceae* + *Lactobacillus casei* 一組改變了 -0.67 ± 2.17 ng/mL ($p=0.136$)，*Monascaceae* + Placebo 一組改變了 -0.13 ± 2.47 ng/mL ($p=0.797$)。此結果與用藥物治療骨質疏鬆，在一開始時，osteocalcin 濃度會先下降，以利日後骨質的行形成，但未觀察到長期使用的結果。停藥後逐漸恢復到原來正常數值。由 C-Telopeptide 與 osteocalcin 的數據可發現 *Monascaceae* 具有預防骨質疏鬆的潛力，但需長時間的研究證實。

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，在 *Monascaceae* + *Lactobacillus casei* 一組，TNF- α 增加 49.25 ± 25.88 ng/mL ($p<0.0001$)，達明顯統計意義，*Monascaceae* + Placebo 一組，TNF- α 增加 48.61 ± 23.98 ng/mL ($p<0.0001$)，達明顯統計意義，第 8 週與第 0 週比較，在 *Monascaceae* + *Lactobacillus casei* 一組，TNF- α 增加 59.49 ± 13.58 ng/mL ($p<0.0001$)，達明顯統計意義，在 *Monascaceae* + *Lactobacillus casei* 一組，TNF- α 增加 61.12 ± 12.37 ng/mL ($p<0.0001$)，達明顯統計意義。停藥後一個月在 *Monascaceae* + *Lactobacillus casei* 一組，TNF- α 改變了 -1.55 ± 11.88 ng/mL ($p=0.521$)，*Monascaceae* + Placebo 一組，改變了 -1.20 ± 6.15 ng/mL ($p=0.350$)。因服用藥物後，骨質發生改變，類似全身發炎反應，刺激 TNF- α ，在第 4 週與第 8 週發現 TNF- α 明顯增加，達明顯統計意義，停藥後逐漸恢復到原來正常數值。

Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)，會引起受傷組織吸引單核細胞(monocytes)穿過內皮細胞及上皮細胞屏障，與感染和發炎反應有關。第 4 週與第 0 週比較，在 *Monascaceae* + *Lactobacillus casei* 一組，MCP-1

增加 1381.46 ± 385.52 pg/mL ($p < 0.0001$)，達明顯統計意義，在 Monascaceae + Placebo 一組，MCP-1 增加 196.02 ± 688.29 pg/mL ($p = 0.176$)，未達明顯統計意義。第 8 週與第 0 週比較，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，MCP-1 增加 497.89 ± 429.52 pg/mL ($p < 0.0001$)，達明顯統計意義，在 Monascaceae + Placebo 一組，MCP-1 增加 266.12 ± 648.11 pg/mL ($p = 0.056$)。停藥後一個月後，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組，MCP-1 增加 7.1 ± 49.8 pg/mL ($p = 0.484$)，未達明顯統計意義，在 Monascaceae + Placebo 一組，MCP-1 改變 -16.9 ± 105.33 pg/mL ($p = 0.440$)。因服用藥物後，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 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組明顯增加，達明顯統計意義，但在 Monascaceae + Placebo 一組 MCP-1 增加，但未達明顯統計意義，兩組在停藥後逐漸恢復到原來正常數值。

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，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組 Col/Epi 的數值為 118.16 ± 48.97 sec，在 Monascaceae + Placebo 一組 Col/Epi 的數值為 114.58 ± 37.98 sec。第 8 週與第 0 週比較，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組 Col/Epi 增加 7.2 ± 34.77 sec ($p = 0.311$)，未達明顯統計意義，在 Monascaceae + Placebo 一組 Col/Epi 增加 16.13 ± 24.09 sec ($p = 0.003$)，達明顯統計意義。表示使用 Monascaceae 可延長凝血時間，達明顯統計意義，具有抗凝血功能，但加上 Lactobacillus casei 雖可延長凝血時間，但未達明顯統計差異。一開始時，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組 Col/ADP 的數值為 80.4 ± 17.44 sec，在 Monascaceae + Placebo 一組 Col/ADP 的數值為 93.17 ± 47.86 sec。第 8 週與第 0 週比較，在 Monascaceae + Lactobacillus casei 一組 Col/ADP 改變 -0.24 ± 15.91 sec ($p = 0.941$)，在 Monascaceae + Placebo 一組 Col/ADP 改變 0.67 ± 17.01 sec ($p = 0.850$)，兩組均未達明顯統計意義。

伍、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分別為 $p=0.084$ 與 $p=0.094$ ，顯示紅麴加入益生菌 *Lactobacillus casei* 後對 Osteocalcin 與 Fibrinogen 的改變較單獨使用紅麴較明顯，雖未達統計上差異，但有改變的趨勢。而 collagen and epinephrine (Col/Epi) 凝血時間延長只在 Monascaceae + Placebo 一組出現有意義的改變，Monascaceae + *Lactobacillus casei* 一組並無出現，顯示加入益生菌 *Lactobacillus casei* 反而抵銷掉紅麴抗凝血功能。其餘生化指標 Adiponectin、Plasma leptin、Homocysteine、Fibrinogen、C-Telopeptide、Osteocalcin、Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)、Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) 的改變可在各別 Monascaceae + *Lactobacillus casei* 組別或 Monascaceae + Placebo 組別出現有統計上的差異，因此未看出 *Lactobacillus casei* 對這些生化指標的影響，但也因為我們未做 control 組（均無為服用紅麴或益生菌），故為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 natural course effect（自然病程）影響，未來期許能加做 control 組以區別紅麴對高血脂患者的作用。此外由此報告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均有顯著的改變，但一停止服藥後均回復到原有數值，故若能長期的觀察這群患者，相信能看到更顯著的差異。

誌謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會計畫編號 CCMP99-RD-102 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. Berg, A.H., Combs, T.P. & Scherer, P.E. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 13, 84-9. (2002).
2. Arita, Y. et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 257, 79-83. (1999).
3. Fruebis, J. et al. 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* 98, 2005-10 (2001).
4. Xu, A. et al. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest* 112, 91-100. (2003).
5. Matsuda, M. et al. Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. The missing link of adipo-vascular axis. *J Biol Chem* 277, 37487-91. (2002).
6. Okamoto, Y. et al. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 106, 2767-70. (2002).
7. Yang, W.S. et al. Plasma adiponectin levels in overweight and obese Asians. *Obes Res* 10, 1104-10 (2002).
8. Hotta, K. et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20, 1595-9 (2000).
9. Huang, K.C. et al. Plasma adiponectin levels and blood pressures in nondiabetic adolescent females. *J Clin Endocrinol Metab* 88, 4130-4. (2003).
10. Matsuzawa, Y., Funahashi, T., Kihara, S. & Shimomura, I. Adiponectin and Metabolic Syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 9, 9 (2003).
11. Ouchi, N. et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 100, 2473-6. (1999).
12. Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, Matsuzawa Y, Tanaka S, Tanaranni PA, Knowler WC, Krakoff J. Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima India population. *Lancet*. 2002; 360:57-58.
13. 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, Matsuzawa Y. Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. *Diabetes*. 2002; 51: 2734-2741.

14. Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, Chen CL, Tai TY, Chuang LM. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 3815-3819.
15. Koh KK. Effects of statins on vascular wall: vasomotor function, inflammation, and plaque stability. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 648-657.
16. Koh KK, Cardillo C, Bui MN, Hathaway L, Csako G, Waclawiw MA, Panza JA, Cannon RO 3rd. Vascular effects of estrogen and cholesterol-lowering therapies in hypercholesterolemic postmenopausal women. *Circulation* 1999; 99: 354-360.
17. Merten M, Dong JF, Lopez JA, Thiagarajan P. Cholesterol sulfate: a new adhesive molecule for patients. *Circulation* 2001; 103: 2032-2034.
18. Notarbartolo A, Davi G, Averna M et.al. Inhibition of thromboxane biosynthesis and platelet function by simvastatin in type IIa hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 247-251.
19. Lacoste L, Lam JY, Hung J, Letchacovski G, Solymoss CB, Waters D. Hyperlipidemia and coronary disease: correction of the increased thrombogenic potential with cholesterol reduction. *Circulation* 1995; 92: 3172-3177.
20. Jialal I, Stein D, Balis D, Grundy SM, Adams-Huet B, Devaraj S. Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitor therapy on high sensitive C-reactive protein levels. *Circulation* 2001; 103: 1933-1935.
21. Strandberg TE, Vanhanen H, Tikkanen MJ. Effects of statins on C-reactive protein in patients with coronary artery disease. *Lancet* 1999; 353: 188-189.
22. Kluft C, de Maat MP, Gevers Leuven JA, Potter van Loon BJ, Mohrschladt MF. Statins and C-reactive protein. *Lancet* 1999; 353: 1274.
23. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks F, Braunwald E. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein: the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) investigators. *Circulation* 1999; 100: 230-235.
24. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, et.al. 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: 839-844.
25. Koh KK. Effects of statins on vascular wall: vasomotor function, inflammation, and plaque stability. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 648-57.

- 26.Koh KK, Cardillo C, Bui MN, et al. Vascular effects of estrogen and cholesterol-lowering therapies in hypercholesterolemic postmenopausal women. *Circulation* 1999; 99:354-60.
- 27.Merten M, Dong JF, Lopez JA, Thiagarajan P. Cholesterol sulfate: a new adhesive molecule for patients. *Circulation* 2001; 103:2032-4.
- 28.Notarbartolo A, Davi G, Averna M, et al. Inhibition of thromboxane biosynthesis and platelet function by simvastatin in type IIa hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15:247-51.
- 29.Lacoste L, Lam JY, Hung J, Letchacovski G, Solymoss CB, Waters D. Hyperlipidemia and coronary disease: correction of the increased thrombogenic potential with cholesterol reduction. *Circulation* 1995; 92: 3172-7.
- 30.Jialal I, Stein D, Balis D, Grundy SM, Adams-Huet B, Devaraj S. Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitor therapy on high sensitive C-reactive protein levels. *Circulation* 2001; 103:1933-5.
- 31.Strandberg TE, Vanhanen H, Tikkanen MJ. Effects of statins on C-reactive protein in patients with coronary artery disease. *Lancet* 1999; 353:188-9.
- 32.Kluft C, de Maat MP, Gevers Leuven JA, Potter van Loon BJ, Mohrschladt MF. Statins and C-reactive protein. *Lancet* 1999; 353:1274.
- 33.Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks F, Braunwald E. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) investigators. *Circulation* 1999; 100:230-5.
- 34.Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, Nishikai K, 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: 87-90.
- 35.Chan KC, Chou HH, Wu DJ, Wu YL, Huang CN. Diabetes mellitus has an additional effect on coronary artery disease-to decrease plasma adiponectin levels. *Japanese Heart Journal* 2004; 45: 921-927.
- 36.陳明德、許惠恆（1997）。瘦體素。臺灣醫學，1（6），748-752。
- 37.Miyauchi A, Matsumoto T, Shigeta H, Tsujimoto M, Thiebaud D, 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):624-34.
- 38.Glover SJ, Eastell R, McCloskey EV, Rogers A, Garner P, Lowery J, et al.

Rapid and robust response of biochemical markers of bone formation to teriparatide therapy. *Bone*. 2009 Dec;45(6):1053-8.

39. Finkelstein JS, Wyland JJ, Lee H, Neer RM. Effects of teriparatide, alendronate, or both in women with postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010 Apr;95(4):1838-45.

柒、圖、表

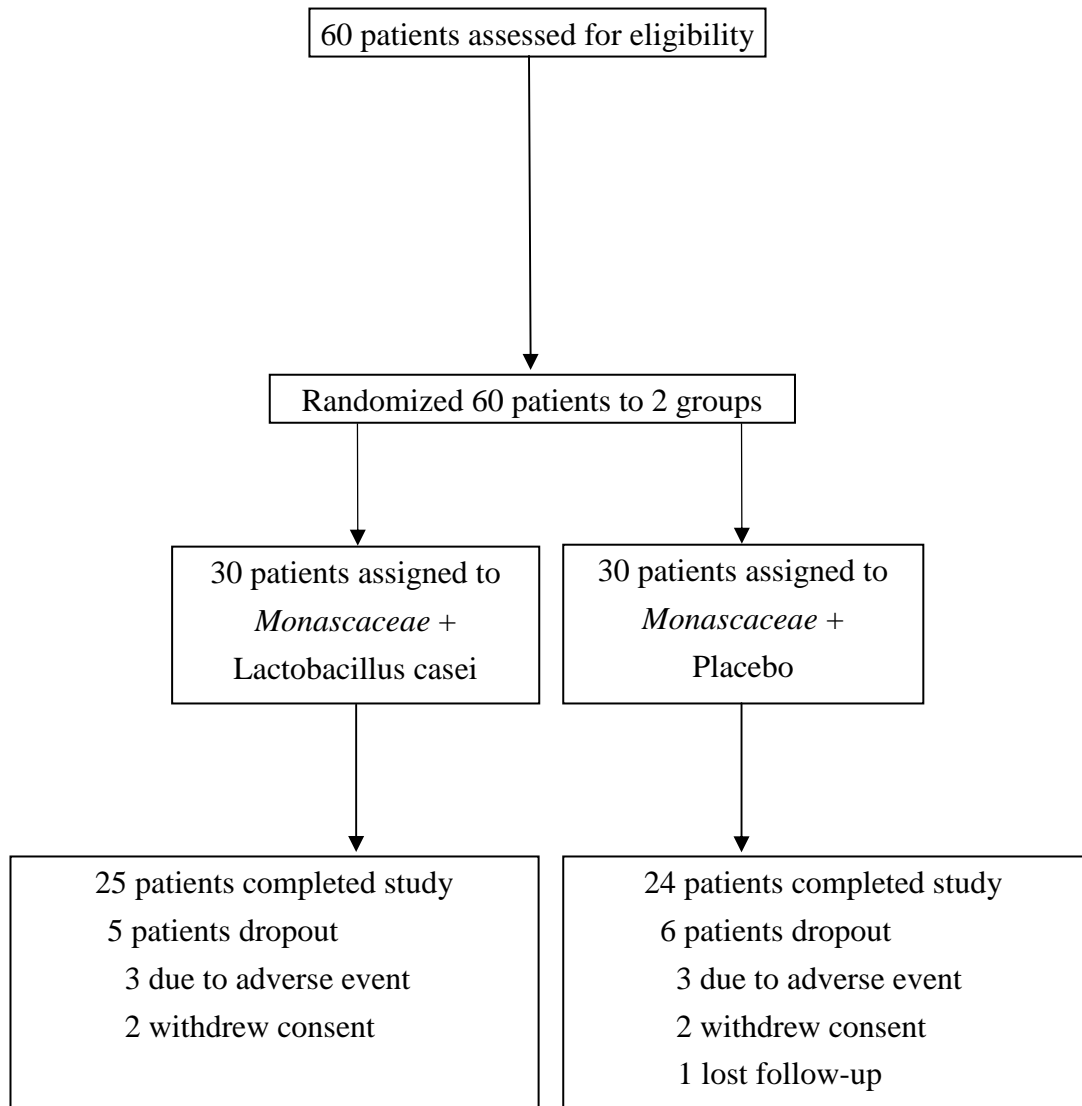


Figure 1 、Flow chart of participants.

Table1、The Result of Laboratory test at Week0.

	<i>Monascaceae</i> + Lactobacillus casei (n = 25)	<i>Monascaceae</i> + Placebo (n = 24)	p 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(nmd/mL) ^a	0.68 ± 0.70	0.64 ± 0.96	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
Epi (sec) ^a	118.16 ± 48.97	114.58 ± 37.98	0.777
ADP (sec) ^a	80.4 ± 17.44	93.17 ± 47.86	0.228

^a mean ± SD, ^b median (IQR)

Table2、The Difference of Laboratory test between Week0 and Week4.

	<i>Monascaceae</i> + Lactobacillus casei (n = 25)	<i>Monascaceae</i> + Placebo (n = 24)	p value*	p value [#]	p 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(nmd/mL) ^a	0.43 ± 0.83	0.36 ± 0.76	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 *Monascaceae* + Lactobacillus casei

[#] Difference of laboratory test in *Monascaceae* + Placebo

[§] Difference of laboratory test between *Monascaceae* + Lactobacillus casei and *Monascaceae* + Placebo

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

Table3、The Difference of Laboratory test between Week0 and Week8.

	<i>Monascaceae</i> + Lactobacillus casei (n = 25)	<i>Monascaceae</i> + 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(nmd/mL) ^a	0.55 ± 0.83	0.49 ± 0.68	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
Epi (sec) ^a	7.2 ± 34.77	16.13 ± 24.09	0.311	0.003	0.304
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 *Monascaceae* + Lactobacillus casei

[#] Difference of laboratory test in *Monascaceae* + Placebo

[§] Difference of laboratory test between *Monascaceae* + Lactobacillus casei and *Monascaceae* + Placebo

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

Table4、The Difference of Laboratory test between Week0 and Week12.

	<i>Monascaceae</i> + Lactobacillus casei (n = 25)	<i>Monascaceae</i> + 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(nmd/mL) ^a	-0.17 ± 0.61	-0.06 ± 0.32	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 *Monascaceae* + Lactobacillus casei

[#] Difference of laboratory test in *Monascaceae* + Placebo

[§] Difference of laboratory test between *Monascaceae* + Lactobacillus casei and *Monascaceae* + Placebo

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

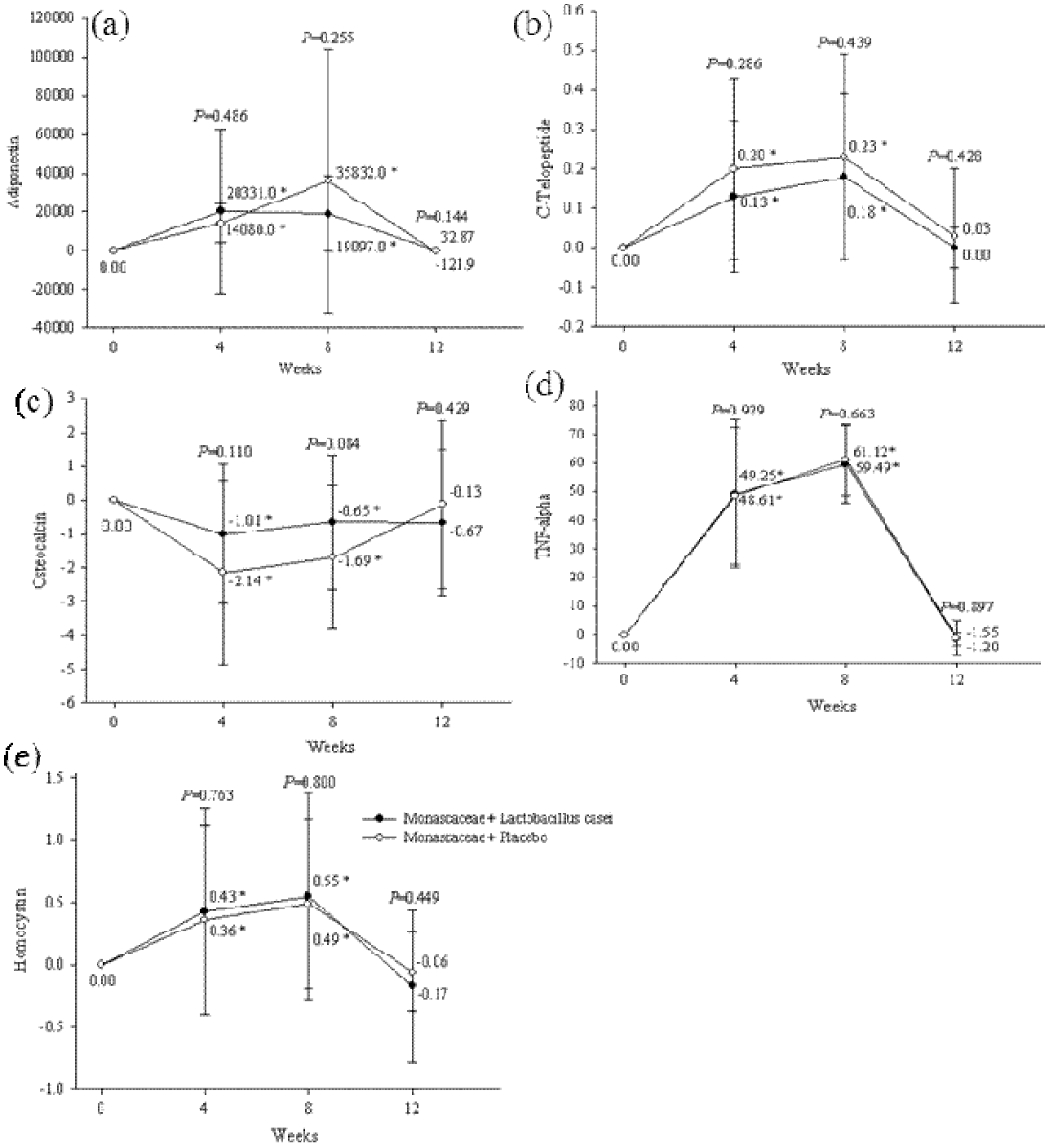


Figure 2、Difference of Laboratory test

- (a) Adiponectin
- (b) C-Telopeptide
- (c) Osteocalcin
- (d) TNF-alpha
- (e) Homocystin in week 4, 8 and 12 in the treatment group and control group.