

## 冠心病患者血清中 IL-1ra 濃度之評估

葉慧儀 龔筠湏<sup>1</sup> 廖東南<sup>2</sup> 黃志強<sup>3</sup> 楊義爵<sup>4</sup> 廖永樑<sup>4</sup> 林靖南<sup>4</sup>

奇美醫院柳營分院 內科部

<sup>1</sup>國立中山大學 生物醫學所

<sup>2</sup>中華醫事科技大學 醫事技術學系

奇美醫院 <sup>3</sup>內科部 <sup>4</sup>病理部

### 摘要

冠狀動脈疾病是一種多因子影響的慢性發炎疾病，IL-1ra 為發炎反應引發的抗發炎性細胞激素，可有效降低發炎反應所引起的過度傷害，我們進一步假設 IL-1ra 與發炎性媒介物間的濃度變化失去平衡對此疾病是有影響。在此篇研究中，我們篩選 70 位健康對照組 (healthy controls)，95 位冠狀動脈疾病 (CAD) 的患者共 165 人，分析兩組間冠狀動脈疾病的危險因子、血清中 IL-1ra 及其它發炎的細胞激素濃度，並探討 IL-1ra 濃度變化對此疾病是否有影響。結果顯示：(1) CAD 的危險因子中 BMI、收縮壓、抽煙、高血壓、血糖、HDL-膽固醇及三酸甘油酯在兩組間有顯著差異；(2) CAD 組抗發炎性細胞激素 IL-1ra 濃度比健康對照組顯著增加 ( $p \leq 0.01$ )，但具抗氧化的 Bilirubin 濃度比健康對照組顯著減少，CAD 組的發炎性檢驗指標 hs-CRP、IL-6、白血球總數、嗜中性球比健康對照組顯著增加；(3) 二組間 IL-1ra 與 HDL-膽固醇、Bilirubin 濃度呈負相關，但與危險因子中的血糖濃度、BMI、TG 皆呈正相關，與發炎性檢驗指標 hs-CRP、IL-6、WBC 也呈現正相關；(4) 以 IL-1ra 依濃度高低級別分析，最高濃度級別比最低濃度級別會增加罹患 CAD 的危險 (Odds ratio, 2.57 ; 95% CI, 1.119 to 5.914 ;  $p = 0.026$ )。本研究結果顯示：冠心病患者血中 IL-1ra 濃度有增加的趨勢。這可能是為避免發炎反應的過度傷害，具抗發炎的生物活性物質如：膽紅素與 IL-1ra 等在冠心病患者血中濃度升高的原因。

關鍵詞：IL-1 receptor antagonist ( IL-1ra )  
Coronary artery disease ( CAD )  
Interleukin-6 ( IL-6 )  
High sensitive C-reactive protein ( hs-CRP )

### 前言

心血管疾病 ( Cardiovascular disease ) 盛行在全球已開發國家，死亡率極高<sup>1,2</sup>。據衛生署統

計，自 1990 年起，台灣因腦血管疾病及心血管  
疾病死亡率始終高居十大死因之第三或第四名，  
其中又以冠狀動脈疾病 ( coronary artery disease;

CAD) 爲主，最常見的症狀是動脈粥狀硬化 (atherosclerosis)<sup>3-5</sup>。冠狀動脈疾病發展的五個要素有：(1) 脂質修飾 (Lipid modified)：氧化、糖化、凝集 (aggregation) 等<sup>6-9</sup>；(2) 內皮細胞缺損 (Endothelial Dysfunction)：抽菸、高血壓、糖尿病、基因變異各種原因引起等<sup>4</sup>；(3) 白血球和血小板活化<sup>10</sup>；(4) 自由基<sup>11</sup>；(5) 病原性的感染：疱疹病毒 (herpesvirus) 或肺炎立克次體 (*Chlamydia pneumoniae*) 等<sup>12-14</sup>。五個要素會交互影響，引發血管壁發炎與動脈粥狀硬化<sup>5</sup>。

動脈粥狀硬化是一種複雜的慢性發炎疾病<sup>3-5</sup>。許多學者的研究顯示：脂質沉積、高濃度的膽固醇和低密度脂蛋白 (LDL) 等，會引發活性氧自由基 (reactive oxygen species) 產生、sphingomyelinase、secretory phospholipase 2 及 myeloperoxidase 等酵素活化，使 LDL 被氧化<sup>15</sup>。巨噬細胞藉由清除者接受器 (scavenger receptor)，吞噬氧化態的 LDL，最後形成油泡細胞 (foam cells)，堆積在血管壁中，引起慢性發炎使血管狹窄變硬，引發心臟血管病變<sup>3-5</sup>。這些堆積在血管內層分子交互作用及壞死，導致血管壁出現纖維化的斑塊 (fibrous plaques)，最後增大的斑塊 (plaques) 破裂及血小板引發的血栓形成 (thrombosis)，造成臨床急性心血管疾病 (Acute Myocardial Infraction) 或中風 (stroke) 發生。

無論是血管內或血管外因素造成的發炎反應，皆會引發一連串免疫反應，產生前發炎性之細胞激素 (pro-inflammatory cytokine)，如 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 等，這些細胞激素會影響脂質的代謝，促使肝臟分泌急性期蛋白，並刺激內皮細胞的活化，表現黏著分子如 ICAM-1、VCAM-1，吸引更多免疫發炎細胞前來病灶區<sup>16-20</sup>。因此，血清中 IL-1 $\beta$  的濃度增加，對血管壁的發炎與發展動脈粥狀硬化極爲重要<sup>21-23</sup>。依分子結構的差異，可將 IL-1 分爲 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-1ra 三種型態。IL-1 $\beta$  與第一型接受體結合後會負責傳送活化訊息<sup>24</sup>。IL-1ra 是抗發炎性細胞激素，藉由與 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  競爭結合第一型接受體，而終止 IL-1 $\beta$  的訊息傳導<sup>19, 25-27</sup>。這是一種調節發炎反應的方法，可避免過度的發炎傷害<sup>28-31</sup>。研究指出利用重組的 IL-1ra 可以抑制強烈的發炎反應，來改善類風濕性關節炎

(rheumatoid arthritis)<sup>32</sup>。以 ApoE 缺乏的老鼠 (ApoE gene knockout mice) 所作的動物實驗結果顯示，高膽固醇的攝取會增加心血管阻塞，若同時伴隨著 IL-1ra 缺乏 (IL-1ra gene knockout) 會造成嚴重血管發炎反應。故內源性的 IL-1 及 IL-1ra 比率高低在發炎反應扮演控制的重要角色<sup>28, 33</sup>。本研究中除了要證實許多學者之推測，也進一步探討 IL-1ra、危險因子、其它發炎標幟物、與抗氧化物質 Bilirubin 的相關性，冀望能提供了早期診斷心臟血管疾病及預後的新指標，以降低心血管疾病之發生。

## 材料與方法

### 病人與對照組

將所有採檢樣本分爲二組：健康成人對照組共 70 人，包括男生 51 人，女生 19 人，均爲奇美醫院健康檢查結果在臨床及檢驗上排除 CAD 或缺血性心臟病，以及肝功能正常受檢者 (臨床上以 Treadmill Exercise Test 或 Thallium Scan 排除受檢人員罹患 CAD 的可能性)。冠狀動脈疾病 (CAD) 病患共 95 人，包括男生 65 人，女生 30 人。經奇美醫院心導管檢查診斷爲冠狀動脈疾病之心臟內科病患，至少有一條冠狀動脈有超過 50% 以上的狹窄，病人固定服用 Aspirin 與 Statin 藥物。全部採集檢體須經受檢者同意，並取得受檢者的書面同意書。分組後紀錄受檢者其年紀、身高、體重、性別、血壓、抽菸、高血壓、糖尿病、家族史、血糖、等基本個人資料，綜合於 (表一)。

### IL-1ra 與 IL-6 測量

IL-1ra、IL-6 的測量是採用商業用的成套試劑 ELISA (R & D system)，取等量的血清和分析稀釋液加入每個 well 內，室溫培育兩個小時。以 Wash Buffer 洗去未結合的物質，再分別加入抗 IL-1ra 與抗 IL-6 的多株抗體 200  $\mu$ l (Conjugated with Horseradish peroxidase)，於室溫培育兩個小時，以 Wash Buffer 洗去未結合的物質，再加入 200  $\mu$ l Substrate Solution [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + tetramethylbenzidine mixture (1 : 1)] 至每一個 well 內，室溫避光培育 20 分鐘，最後加入 50  $\mu$ l Stop solution (2N sulfuric acid) 終止呈色反應。以光學比色計 30 分鐘內測吸光值 (OD 450nm)，求得已知濃度樣品之標準曲線，再定量待測物濃度。每

表一：對照組與冠心病組群組資料

	Controls (n=70)	CAD (n=95)	p value
Age, mean (range)	59.1 (41-83)	62.0 (40-79)	NS
Gender, M/ F (M%)	51/19 (72.9)	65/30 (68.4)	NS
BMI, kg/m <sup>2</sup>	24.0 ± 3.2 <sup>a</sup>	25.8 ± 3.8	< 0.01
Diastolic Blood pressure, mmHg	79.2 ± 9.5	79.4 ± 11.6	NS
Systolic Blood pressure, mmHg	124.7 ± 18.3	134.9 ± 18.4	< 0.001
Risk factors of CAD(%)			
Family history of CAD	10.7	12.3	NS
Smoker	21.6	42.6	< 0.01
Hypertension	33.3	57.4	< 0.01
Diabetes	20.0	31.5	NS
Glucose, mg/dl	105.9 ± 32.4	152.2 ± 80.0	< 0.001
Cholesterol, mg/dl			
Total	219.9 ± 39.8	214.5 ± 49.5	NS
LDL	133.3 ± 40.3	133.6 ± 39.6	NS
HDL	59.4 ± 26.3	43.9 ± 11.3	< 0.001
Triglycerides, mg/dL	118.36 ± 80.0	196.1 ± 120.8	< 0.001

NS : not significant. P>0.05

<sup>a</sup> : mean ± SD

個檢體測量兩次而分析時的變異性小於 10%。

#### hs-CRP 測量

High sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) 的定量，將塗覆有特異性抗人類 CRP 單株抗體 polystyrene particle 加入含 CRP 之血清，會與蛋白質凝集入射光通過檢體時，遇到凝集會造成散射光 (Behring BN II nephelometer)，凝集產生的散射光強弱會與凝集的量呈正比，由已知標準濃度來估算結果。

#### 血脂質與膽紅素測量

血清中 Cholesterol、LDL、TG、HDL-C、Total Bilirubin 皆使用商業用成套試劑 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd)，以 HITACHI 7070 自動分析儀分析檢測。

#### 統計學分析

所有的結果統計數據以 SPSS 軟體 12.0 版本進行分析。用 Chi-Square test 用來評估不連續資料的相關性，兩個獨立樣本檢定以 Independent t test 分析，如果實驗結果並非常態分布，就以無母數 Mann-Whitney U test 分析。Spearman's test 評估相關性及相關程度。以 multiple Logistic regression 分析，並調整危險因子對此生化數據的影響。將 IL-1ra 濃度範圍由低至高分為四等分

(Levels 1~4)，預測或判斷 IL-1ra 濃度高低對罹患 CAD 有無影響，並分析相對危險性 (relative risk)，全部實驗數值以 mean ± standard deviation (SD) 表示，有顯著意義值設為  $p < 0.05$ 。

#### 結果

##### 危險因子在兩組間的差異

為了得知 CAD 危險因子在研究族群中的變化，我們隨機選取對照組；其中健康成人組共 70 人，其中男性 51 人，女性 19 人，平均年齡 59 (41-83) 歲。CAD 組共 95 人，其中男性 65 人，女性 30 人，平均年齡 62 (40-79) 歲。其中兩組的年紀、性別、舒張壓、家族病史、糖尿病、總膽固醇及 LDL-膽固醇濃度並無顯著的差異 (表一)。而兩組間的 BMI、收縮壓、抽煙、高血壓、血糖、與 TG 在 CAD 組有顯著增加，並有統計學上的意義。HDL-膽固醇在 CAD 組有顯著降低，並有統計學顯著的差異 (表一)。

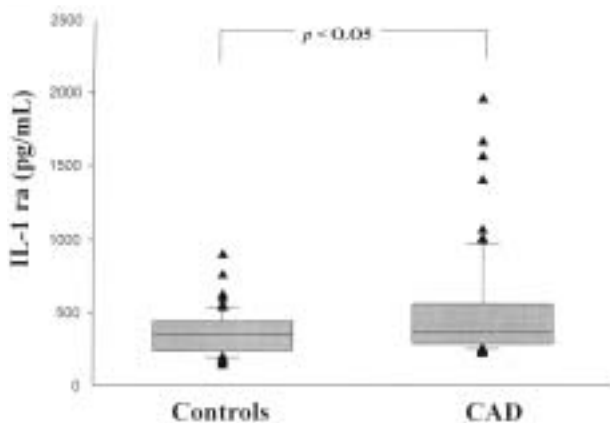
##### 發炎與抗發炎標幟物在兩組間的差異

為了研究抗發炎性細胞激素在兩組間血中濃度之變化，我們比較 IL-1ra 血中濃度發現 (表二)，CAD 組的 IL-1ra 濃度比健康對照組有顯著增加 ( $492.2 \pm 337.9$  V.S.  $355.4 \pm 146.6$  pg/mL,  $p \leq 0.01$ )

表二：對照組與冠心病抗發炎與發炎標幟物之檢測

	Controls n=70	CAD n=95	p value
IL-1ra, pg/mL	355.4 ± 146.6	492.2 ± 337.9	< 0.05
Bilirubin, mg/dl	0.95 ± 0.4	0.48 ± 0.2	< 0.001
IL-6, ng/L	0.99 ± 2.9	13.6 ± 45.5	< 0.001
hs-CRP, mg/L	2.5 ± 4.6	11.5 ± 21.7	< 0.001
WBC, × 10 <sup>3</sup> /μL	6.4 ± 1.8	7.7 ± 2.1	< 0.001
Neutrophil, %	56.6 ± 8.8	61.2 ± 10.7	< 0.001
Monocyte, %	7.4 ± 2.2	7.5 ± 2.5	NS

Data are shown as mean ± SD

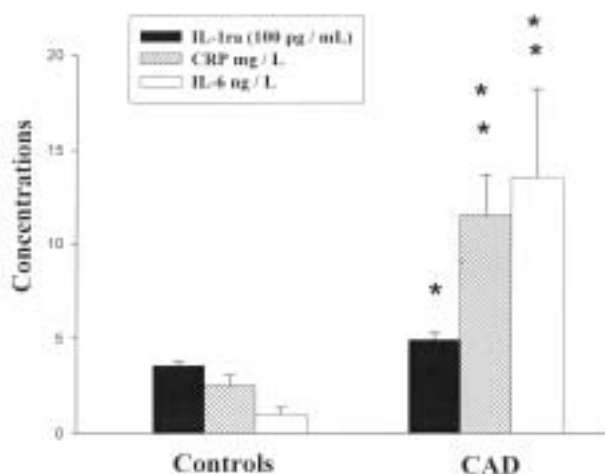


圖一：對照組與冠心病組血清中IL-1ra 含量  
Levels of IL-1ra are presented as median、25<sup>th</sup>、75<sup>th</sup> percentile, triangle represent outlier values.

(圖一)。若比較同時具有抗氧化與抗發炎能力的Bilirubin 濃度發現，CAD 組比健康對照組顯著減少(0.48 ± 0.2 V.S. 0.95 ± 0.4 mg/dl,  $p < 0.001$ )。CAD 組的發炎性檢驗指標中hs-CRP (11.5 ± 21.7 V.S. 2.5 ± 4.6 mg/L,  $p < 0.001$ )、IL-6 (13.6 ± 45.5 V.S. 0.99 ± 2.9 ng/L,  $p < 0.001$ )、WBC (7,700 ± 2,100 V.S. 6,400 ± 1,800,  $p < 0.001$ )、Neutrophil (61.2 ± 10.7 V.S. 56.6 ± 8.8%,  $p < 0.001$ ) 皆比健康對照組顯著增加，在統計學上有顯著差異(表二)。IL-1ra 在血清中的濃度遠高於IL-6 和CRP，冠心病組中IL-1ra, IL-6, hs-CRP 較健康對照組，有顯著增加(圖二)。

### IL-1ra 在其他變數之間相關性

為進一步分析危險因子、發炎性指標、抗氧化物質與IL-1ra 的相關性，迴歸分析統計後，結果如(表三)所示：(1) IL-1ra 與 TG、hs-CRP，WBC 在健康對照組有正相關的趨勢，而在冠心病組 IL-1ra 與 hs-CRP 有顯著正相關的趨勢 ( $p < 0.01$ )；



圖二：對照組與冠心病組，血清中IL-1ra，hs-CRP，IL-6 的含量  
Data are mean ± SEM, \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.01$ , comparing differences between controls and CAD patients.

表三：對照組與冠心病IL-1ra 與其它變異因子 (variables) 之相關性 (Correlation Coefficient)

	Controls	CAD	All
Glucose, mg/dl	0.155	0.177	0.250**
BMI, kg/m <sup>2</sup>	0.241	0.199	0.264**
TG, mg/dL	0.352**	0.110	0.275**
HDL-choesterol, mg/dL	-0.229	-0.121	-0.234**
LDL-choesterol, mg/dL	0.104	-0.108	-0.013
Total Cholesterol, mg/dl	0.031	-0.144	-0.069
Hs-CRP, mg/L	0.393**	0.284**	0.360**
IL-6, ng/L	0.019	0.185	0.172*
Total Bilirubin, mg/dl	-0.181	-0.06	-0.219**
Neutrophil %	0.115	0.017	0.114
Monocyte %	-0.151	-0.053	-0.084
WBC, × 10 <sup>3</sup> /UL	0.637**	0.194	0.414**

Values are Spearman rank correlation coefficient.

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$

(2) 二組中所有個體的 IL-1ra 分別與具CAD 保護能力的HDL-膽固醇 ( $r = -0.234, p < 0.01$ )、Bilirubin 濃度皆呈負相關 ( $r = -0.219, p < 0.01$ )；(3) 但 IL-

表四：IL-1ra 依濃度分成四等分進行logistic 迴歸分析 CAD 的相對危險性，並排除其他變數 ( variables ) 的影響

IL-1ra Levels ( range, pg/mL )	Controls, % ( n )	CAD, % ( n )	Odds ratio 95% CI	p value
1 (135~265)	28.8 (23)	16.7 (18)		
2 (265~361)	18.8 (15)	24.1 (26)	1.85 0.827~4.117	0.135
3 (361~498)	25 (20)	20.4 (22)	1.17 0.537~2.552	0.691
4 (498~1955)	15 (12)	26.9 (29)	2.57 1.119~5.914	0.026

p values were calculated by logistic regression analyses. CI denotes confidence interval.

1ra 與CAD 危險因子中的血糖濃度 (  $r = 0.250, p < 0.01$  )、BMI (  $r = 0.264, p < 0.01$  )、TG (  $r = 0.275, p < 0.01$  ) 皆呈正相關；(4) 與發炎性檢驗指標hs-CRP、IL-6、WBC 也呈現正相關 (  $p < 0.05$  )。

#### IL-1ra 濃度高低對罹患冠狀動脈疾病之影響

為分析 IL-1ra 濃度的高低對罹患冠狀動脈疾病的影響，我們以Logistical Regression 來作統計，將 IL-1ra 濃度由低至高濃度依序分成四等分 (Levels 1~4)，分別以Levels 2 (265~361 pg/mL)、Levels 3 (361~498 pg/mL)、Levels 4 (498~1955 pg/mL) 濃度與低濃度 Levels 1 (135~265 pg/mL) 作分析，排除所有危險因子的影響，分析相對危險性 ( relative risk )。由結果顯示：IL-1ra Levels 2、Levels 3、Levels 4 與Levels 1 做分析，得到Odds ratio ( 95% CI)分別為 1.85 (0.827~4.117)，1.17 (0.537~2.552)，2.57 (1.119~5.914)，其中只有 Levels 4 與 Levels 1 兩組間有顯著的差異 (  $p < 0.05$  )。由 ( 表四 ) 的結果顯示出：在最高濃度 IL-1ra ( Levels 4 ) 會比最低濃度 ( Levels 1 ) 族群相對增加 2.57 倍罹患 CAD 的危險性。若將 IL-1ra 濃度再細分成四個臨界點，分別為：> 50th，> 75th，> 90th，> 95th，由 ( 表五 ) 得知，在 IL-1ra 濃度 > 50th，> 75th 的百分

比，冠心病組與健康對照組之間並無顯著的差別 (  $p > 0.05$  )。在增加 IL-1ra 濃度 > 90th，> 95th 的百分比，有統計學上的意義 (  $p < 0.01$ ， $p \leq 0.01$  )。

## 討論

抗發炎性細胞激素 IL-1ra，可有效降低發炎反應所引起的過度傷害，本結果顯示：(1) CAD 組抗發炎性細胞激素 IL-1ra 濃度有顯著增加，具抗氧化的 Bilirubin 濃度則顯著減少；(2) CAD 組的發炎性檢驗指標 hs-CRP、IL-6、白血球總數、嗜中性球也會顯著增加；(3) IL-1ra 與 HDL-膽固醇、IL-1ra 與 Total Bilirubin 濃度呈負相關，但與危險因子中的血糖濃度、BMI、TG 呈正相關，與發炎性檢驗指標 hs-CRP、IL-6、WBC 也呈現正相關；(4) 最高濃度 IL-1ra 級別比最低濃度級別會相對增加 2.57 倍罹患 CAD 的危險。本研究發現血清 IL-1ra 濃度是良好的冠狀動脈疾病的指標之一，IL-1ra 濃度與罹患 CAD 的危險性是有正相關。

冠狀動脈疾病是一種多因子影響的慢性發炎疾病<sup>3-5</sup>，最常被廣泛討論的危險因子包括：年齡、肥胖、遺傳、高血壓、抽菸、糖尿病、膽固醇過高及缺乏運動者<sup>27</sup>。在本研究中，分析病人的基本資料證實這些危險因子在兩組間確實有顯著差別 ( 表一 )。有學者研究發現，攝取過高的膽固醇，及其他因素影響，皆會刺激單核球分泌一些細胞激素，如 IL-1  $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 等，促進發炎反應，進而引發心血管疾病<sup>6-25</sup>。此外，也會影響脂質的代謝，促使肝臟分泌急性期蛋白，例如 CRP、纖維蛋白原等<sup>17,18</sup>，我們的研究結果指出：在冠心病的患者危險因子及發炎性指標會高於對照組 ( 表二 )，這與先前許多學者的發現相符。然而，在本實驗中冠心病組都經過 HMG-CoA 還原酶的抑制劑-Statin 類藥物長期治療，造成血液中的總膽固醇、LDL-C 的含量減

表五：將 IL-1ra 濃度分四個臨界點，高濃度 IL-1ra 與增加心血管危險性有關

Cutpoints, percentile	IL-1ra, pg/mL	Controls, % ( n )	CAD, % ( n )	95 % CI	p value
50 <sup>th</sup>	> 361.33	40 ( 32 )	47.2 ( 51 )	-0.2168~0.724	0.324
75 <sup>th</sup>	> 498.49	15 ( 12 )	26.9 ( 29 )	-0.2344~-0.026	0.052
90 <sup>th</sup>	> 757.52	1.3 ( 1 )	13.9 ( 15 )	-0.1970~0.558	0.002
95 <sup>th</sup>	> 995.69	0 ( 0 )	7.5 ( 8 )	-0.125~-0.241	0.012

CI denotes confidence interval.



少，甚至比對照組濃度還低(表一)。

IL-1ra 會與IL-1  $\alpha$ 、 $\beta$  競爭結合到IL-1 第一型接受器，為抗發炎的細胞激素<sup>28,29,32-34</sup>。在發炎反應中，屬於下游的調節物質，會伴隨著IL-1  $\beta$  增加而上升，並維持一定的比例來調控發炎反應引起的傷害<sup>29,34</sup>。我們的研究發現，CAD 組體內的IL-1ra 濃度也較健康對照組顯著增加( $p < 0.05$ ) (圖一)。IL-1ra、IL-6、hs-CRP 皆是參與發炎的物質，在發炎反應中濃度皆會增加<sup>35,36</sup>，我們的研究也有相同的發現(圖二)。有學者提出，hs-CRP 與冠狀動脈疾病是息息相關<sup>37-39</sup>，我們的研究也發現，在冠心病的患者中，IL-1ra 與hs-CRP 有顯著正相關，與IL-6 較無明顯相關，對照組也有相同發現(表三)。CRP 和IL-1ra 都被證實是急性期蛋白<sup>40</sup>，皆會受到前發炎細胞激素刺激而增加，兩者雖執行不同的功能，但對發炎的反應是一致的。為進一步分析IL-1ra 與CAD 防護因子間的相關性，本研究中也發現：所有參與研究者體內的HDL-膽固醇與IL-1ra 濃度呈負相關性。IL-1ra 與抗氧化的Total Bilirubin 濃度也呈負相關(表三)，這些發現強烈印證IL-1ra 雖是抗發炎作用，但是發炎性指標之一。這也可以解釋圖一中CAD 組IL-1ra 濃度較高。Total Bilirubin 濃度在CAD 組會偏低這與我們先前的報告一致<sup>41</sup>。

為瞭解IL-1ra 血中濃度高低與罹患CAD 的相對關係，我們將IL-1ra 依濃度由低至高分成4 等級並評估勝算比(Odds ratio)，統計的結果發現，濃度愈高等級與健康對照組愈有顯著的差異，CAD 組在高濃度區(level 4) 有逐漸增加的趨勢；反之，在健康對照組在高濃度區有逐漸下降的趨勢(表四)、(表五)。這可能是因為冠心症病患體內為了因應發炎反應，避免引起過度的傷害，所以在CAD 組會有較高IL-1ra 的濃度，由此推測，IL-1ra 可視為CAD 的危險因子。

近來有許多研究發現IL-1ra 基因多型性(IL-1ra genepolymorphism; IL-1RN)，會影響發炎反應，在冠心病患者以基因型IL-1RN\*2 (IL-1ra Allel 2) 出現頻率最高<sup>42-47</sup>。此外亦有研究指出，具IL-1RN\*2 型別之IL-1ra 的濃度個體較其它基因型為高<sup>48-50</sup>。我們的研究也證實IL-1ra 在冠心病患者血液中大部分有增加的趨勢，我們將來會進一步研究國人罹

患冠心病患者的基因型是否為IL-1RN\*2。IL-1ra 在生理功能上是扮演抗發炎的角色之外，亦可提供一個發炎反應的指標，除了檢測原有的CAD 危險因子與發炎指標外，結合IL-1ra 與 total bilirubin 的檢測，希望在未來可提供CAD 一個早期診斷及預後的新指標。本研究結果強烈建議血清IL-1ra 濃度是良好的冠狀動脈疾病的指標之一，IL-1ra 濃度與罹患CAD 的危險性是有正相關。

## 參考文獻

1. Braunwald E. Shattuck lecture--cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns, and opportunities. *N Engl J Med* 1997; 337: 1360-9.
2. Breslow JL. Cardiovascular disease burden increases, NIH funding decreases. *Nat Med* 1997; 3: 600-1.
3. Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 1876-90.
4. Francis SE, Camp NJ, Dewberry RM, et al. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and coronary artery disease. *Circulation* 1999; 99: 861-6.
5. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000; 407: 233-41.
6. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem* 1997; 272: 20963-6.
7. Khoo JC, Miller E, McLoughlin P, Steinberg D. Enhanced macrophage uptake of low density lipoprotein after self-aggregation. *Arteriosclerosis* 1988; 8: 348-58.
8. Khoo JC, Miller E, Pio F, Steinberg D, Witztum JL. Monoclonal antibodies against LDL further enhance macrophage uptake of LDL aggregates. *Arterioscler Thromb* 1992; 12: 1258-66.
9. Navab M, Berliner JA, Watson AD, et al. The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 831-42.
10. Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson GK. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis* 1986; 6: 131-8.
11. Maxwell SR, Lip GY. Free radicals and antioxidants in cardiovascular disease. *Br J Clin Pharmacol* 1997; 44: 307-17.
12. Libby P, Egan D, Skarlatos S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation* 1997; 96: 4095-103.
13. Hendrix MG, Salimans MM, van Boven CP, Bruggeman CA. High prevalence of latently present cytomegalovirus in arterial walls of patients suffering from grade III atherosclerosis. *Am J Pathol* 1990; 136: 23-8.
14. Jackson LA, Campbell LA, Schmidt RA, et al. Specificity of detection of Chlamydia pneumoniae in cardiovascular atheroma: evaluation of the innocent bystander hypothesis. *Am J Pathol* 1997; 150: 1785-90.

15. Summary of the second report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). *Jama* 1993; 269: 3015-23.
16. Lopes-Virella MF. Interactions between bacterial lipopolysaccharides and serum lipoproteins and their possible role in coronary heart disease. *Eur Heart J* 1993; 14 (Suppl K): 118-24.
17. Libby P, Ridker PM. Novel inflammatory markers of coronary risk: theory versus practice. *Circulation* 1999; 100: 1148-50.
18. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* 1990; 265: 621-36.
19. Mandrup-Poulsen T, Pociot F, Molvig J, et al. Monokine antagonism is reduced in patients with IDDM. *Diabetes* 1994; 43: 1242-7.
20. Bevilacqua MP, Pober JS, Majeau GR, Cotran RS, Gimbrone MA, Jr. Interleukin 1 (IL-1) induces biosynthesis and cell surface expression of procoagulant activity in human vascular endothelial cells. *J Exp Med* 1984; 160: 618-23.
21. Galea J, Armstrong J, Gadsdon P, Holden H, Francis SE, Holt CM. Interleukin-1 beta in coronary arteries of patients with ischemic heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 1000-6.
22. Tipping PG, Hancock WW. Production of tumor necrosis factor and interleukin-1 by macrophages from human atheromatous plaques. *Am J Pathol* 1993; 142: 1721-8.
23. Loppnow H, Werdan K, Reuter G, Flad HD. The interleukin-1 and interleukin-1 converting enzyme families in the cardiovascular system. *Eur Cytokine Netw* 1998; 9: 675-80.
24. Kosuge K, Sasaki H, Ikarashi T, et al. Risk factors for severe coronary artery disease - a case-control study of patients who have undergone coronary artery bypass grafting. *J Atheroscler Thromb* 2006; 13: 62-7.
25. Arend WP, Malyak M, Guthridge CJ, Gabay C. Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 27-55.
26. McIntyre KW, Stepan GJ, Kolinsky KD, et al. Inhibition of interleukin 1 (IL-1) binding and bioactivity in vitro and modulation of acute inflammation in vivo by IL-1 receptor antagonist and anti-IL-1 receptor monoclonal antibody. *J Exp Med* 1991; 173: 931-9.
27. Dripps DJ, Verderber E, Ng RK, Thompson RC, Eisenberg SP. Interleukin-1 receptor antagonist binds to the type II interleukin-1 receptor on B cells and neutrophils. *J Biol Chem* 1991; 266: 20311-5.
28. Merhi-Soussi F, Kwak BR, Magne D, et al. Interleukin-1 plays a major role in vascular inflammation and atherosclerosis in male apolipoprotein E-knockout mice. *Cardiovasc Res* 2005; 66: 583-93.
29. Hirsch E, Irikura VM, Paul SM, Hirsh D. Functions of interleukin 1 receptor antagonist in gene knockout and overproducing mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 11008-13.
30. Isoda K, Ohsuzu F. The effect of interleukin-1 receptor antagonist on arteries and cholesterol metabolism. *J Atheroscler Thromb* 2006; 13: 21-30.
31. Hayashi H, Onozaki K. [Interleukin-1 (IL-1) alpha, beta, IL-1 receptor, IL-1 receptor antagonist (IL-1ra)]. *Nippon Rinsho* 2005; 63(Suppl 8): 60-4.
32. Hoffman HM, Patel DD. Genomic-based therapy: targeting interleukin-1 for autoinflammatory diseases. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 345-9.
33. Arend WP, Gabay C. Physiologic role of interleukin-1 receptor antagonist. *Arthritis Res* 2000; 2: 245-8.
34. Elhage R, Maret A, Pieraggi MT, Thiers JC, Arnal JF, Bayard F. Differential effects of interleukin-1 receptor antagonist and tumor necrosis factor binding protein on fatty-streak formation in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 1998; 97: 242-4.
35. Blake GJ, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circ Res* 2001; 89: 763-71.
36. 廖永樑, 葉慧儀, 陳惠玲, 廖東南, 楊義爵。冠心病患者其IL-1ra與IL-6之相關性。 *J Biomed Lab Sci* 2004; 16: S66-71.
37. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342: 836-43.
38. Heinrich J, Schulte H, Schonfeld R, Kohler E, Assmann G. Association of variables of coagulation, fibrinolysis and acute-phase with atherosclerosis in coronary and peripheral arteries and those arteries supplying the brain. *Thromb Haemost* 1995; 73: 374-9.
39. Ridker PM. C-reactive protein, inflammation, and cardiovascular disease: clinical update. *Tex Heart Inst J* 2005; 32: 384-6.
40. Gabay C, Smith MF, Eidlen D, Arend WP. Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) is an acute-phase protein. *J Clin Invest* 1997; 99: 2930-40.
41. Yi-Chueh Yang C-NL, Tsuei-Yuang Huang, Chia-Yu Chang, Pei-Chen Hsieh T-NL, Yung-Liang Liao. The correlation of free radical and IL-6 in unstable angina. *Intern Med Taiwan* 2002; 13: 230-6.
42. McGuire W, Hill AV, Allsopp CE, Greenwood BM, Kwiatkowski D. Variation in the TNF-alpha promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 1994; 371: 508-10.
43. Andreotti F, Porto I, Crea F, Maseri A. Inflammatory gene polymorphisms and ischaemic heart disease: review of population association studies. *Heart* 2002; 87: 107-12.
44. Cork MJ, Tarlow JK, Clay FE, et al. An allele of the interleukin-1 receptor antagonist as a genetic severity factor in alopecia areata. *J Invest Dermatol* 1995; 104(5 Suppl): 15S-16S.
45. Mansfield JC, Holden H, Tarlow JK, et al. Novel genetic association between ulcerative colitis and the anti-inflammatory cytokine interleukin-1 receptor antagonist. *Gastroenterology* 1994; 106: 637-42.
46. Blakemore AI, Cox A, Gonzalez AM, et al. Interleukin-1 receptor antagonist allele (IL1RN\*2) associated with nephropathy in diabetes mellitus. *Hum Genet* 1996; 97: 369-74.

47. Tarlow JK, Blakemore AI, Lennard A, et al. Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Hum Genet* 1993; 91: 403-4.
48. Danis VA, Millington M, Hyland VJ, Grennan D. Cytokine production by normal human monocytes: inter-subject variation and relationship to an IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism. *Clin Exp Immunol* 1995; 99: 303-10.
49. Wilkinson RJ, Patel P, Llewelyn M, et al. Influence of polymorphism in the genes for the interleukin (IL)-1 receptor antagonist and IL-1beta on tuberculosis. *J Exp Med* 1999; 189: 1863-74.
50. Hurme M, Santtila S. IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) plasma levels are co-ordinately regulated by both IL-1Ra and IL-1beta genes. *Eur J Immunol* 1998; 28: 2598-602.

## Assessment of Serum IL-1 Receptor Antagonist Level in Patient with Coronary Artery Disease

Hui-Yi Yap, Yun-Chen Kung<sup>1</sup>, Tung-Nan Liao<sup>2</sup>, Chih-Chiang Huang<sup>3</sup>,  
Yi-Chueh Yang<sup>4</sup>, Yung-Liang Liao<sup>4</sup>, and Ching-Nan Lin<sup>4</sup>

*Department of Internal Medicine, Chi-Mei Foundation Hospital Liou Ying Campus*

*<sup>1</sup>Institute of Biomedical Science, National Sunyat-Sen University*

*<sup>2</sup>Department of Medical Technology, Chung-Hwa College of Medical Technology*

*<sup>3</sup>Department of Internal Medicine, Chi-Mei Foundation Hospital*

*<sup>4</sup>Department of Pathology, Chi-Mei Foundation Hospital*

Previous studies show that coronary artery disease (CAD) is a multi-factors and chronic inflammatory disease. IL-1ra is a naturally occurring anti-inflammatory molecules that block the action of IL-1. However, little is known about the dysbalance among IL-1ra, bilirubin, and inflammatory mediators in CAD. We attempted to investigate the relationships between inflammatory mediators and serum IL-1ra levels in patients with CAD. In 95 patients with angiographically defined CAD, and 70 healthy controls were studied in a case-control manner. Serum levels of IL-1ra, IL-6, bilirubin, hs-CRP and the risk factor of CAD were examined. Our major finding include: (1) The risk factors such as elevated BMI, systolic BP, smoking, hypertension, blood glucose, and TG was more frequently found in the CAD group than the control group ( $p < 0.001$ ). The HDL-C was significantly higher in control group than the CAD group; (2) Five different inflammatory markers were significantly elevated including IL-1ra, hs-CRP, IL-6, leukocyte count, and neutrophil percentage between healthy controls and CAD patients. In contrast, control group with elevated bilirubin than CAD group ( $p < 0.001$ ); (3) By contrast, levels of IL-1ra and other variables such as blood glucose, BMI, TG, IL-6, hs-CRP, and leukocyte count were significantly correlated ( $p < 0.01$ ) in all study subjects. In contrast, the levels of IL-1ra were inversed correlation in bilirubin, and HDL-C; (4) In the multiple logistic regression analysis, adjustment was made for variables. The relative risk of CAD for the highest quartile of IL-1ra, as compared with the lowest quartile, had an odds ratio 2.57 (95% confidence intervals, 1.119-5.914,  $p=0.026$ ) increase in risk for CAD. In conclusion, we find a significant association of elevated IL-1ra in the patients with CAD. Thus, in part, may be explained by the anti-inflammatory effects of IL-1ra and bilirubin on CAD. (*J Intern Med Taiwan* 2007; 18: 262- 269 )