

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告
探討修飾性低密度脂蛋白充當冠狀性病徵血漿標誌之研究
Study on modified low density lipoprotein as a plasma marker
of coronary syndromes.

計劃編號：NSC 89-2314-B-002-406

執行期限：89年8月1日至90年7月31日

主持人：許秀卿 技正 執行機構及單位名稱：國立台灣大學醫學院內科部

電子信箱：hhching@ha.mc.ntu.edu.tw

一、中文摘要：

LDL 可經由細胞、酵素或離子的作用而產生氧化性修飾。生理上也有一種 MDA 修飾的 LDL，修飾性 LDL 會造成血管功能失調，使得血管病徵顯現。本計劃的主要目的在比較修飾性 LDL 與傳統冠心病之危險因子的關連。本結果顯示，利用毛細管電泳法依帶電價不同將 LDL 區分為 4 個子類分別依電價由正到負稱之為 LDL₁、LDL₂、LDL₃ 和 LDL₄。在穩定後的急性心肌梗塞患者具有比健康人多的 LDL₄ 含量(P<0.005)。以 anti-MDA 作一級抗體，anti-apo B₁₀₀ 為二級抗體的 ELISA 方法分析，急性期之心肌梗塞者的含量較健康者高(p<0.001)，利用 anti-nitrotyrosine 為一級抗體以及 anti-apo B₁₀₀ 為二級抗體的 ELISA 分析結果顯示，急性或是穩定期的心肌梗塞或冠心病的發生不相關，卻與糖尿病的存在與否相關。針對不同 LDL 的修飾所採用的分析方法，依其應用原理的不同，也有臨床應用的差別存在。

關鍵詞：修飾型 LDL、毛細管電泳、anti-MDA、anti-nitrotyrosine 心肌梗塞。

Abstract

Low density lipoprotein (LDL) may be modified in physical condition and which is related to atherosclerosis. In the present study, we investigate the clinical implication of detected plasma modified LDL levels, which were assayed by different methods and the association of modified LDL and other atherosclerotic risk factors. Patients with acute myocardial infarction (AMI) have higher negative charged LDL, which was detected by capillary isotachopheresis, at the stable stage but not the acute stage; while modified LDL of ELISA assay (anti-MDA and anti-apoB₁₀₀ as first and second antibody respectively) was higher at acute stage. Either in acute or stable stage, the ELISA assay (anti-nitrotyrosine and anti-apoB₁₀₀ as first and second antibody respectively) of modified LDL levels were not different between AMI patients and healthy persons. However, this modified LDL levels were higher in diabetic patients.

Keywords: Anti-MDA, Modified LDL, Anti-nitrotyrosine, Atherosclerosis, Isotachopheresis

二、緣由與目的：

吞噬細胞由清道夫受體對修飾型 LDL 大量吸收以致脂質屯聚細胞內，形成泡細胞，當泡細胞大量堆積於次內皮層則啟始了粥狀硬式的形成。LDL 可經由細胞、酵素或離子的作用而產生氧化性修飾。生理上也有一種 MDA 修飾的 LDL，其在構造上是完整的 LDL，與生理上其他途徑產生的 MDA 直接結合。修飾性 LDL 會造成血管功能失調，使得血管病徵顯現。在動物模式中證實 LDL 的修飾發生於動脈壁上，而非血流中。在人類粥狀硬塊上則偵測到修飾型的 LDL。然而 LDL 的修飾是否發生於血液中則無直接證據。雖然關於血漿中修飾型 LDL 之來源仍無法定論，已有許多報告證實修飾 LDL 在生理功能扮演重要角色，並且有報告指出血漿中修飾型 LDL 的含量與粥狀硬化，冠心病等疾病相關連。本計劃的主要目的在比較修飾性 LDL 與傳統冠心病之危險因子的關連。並探討偵測血漿修飾型 LDL 與粥狀硬化之病理生理的臨床應用。

三、結果與討論

本結果顯示，利用毛細管電泳法

直接將血漿中的脂蛋白分離，並且依帶電價不同將 LDL 區分為 4 個子類別依電價由正到負稱之為 LDL₁、LDL₂、LDL₃ 和 LDL₄。以脂質的總含量來推算 LDL₁~LDL₄ 含量，則顯示在穩定後的急性心肌梗塞患者具有比健康人多的 LDL₄ 含量(P<0.005)，若在急性發作期時，LDL₁~LDL₄ 會有波動變化，個別性差異很大，無法比較與健康人之差異。當以 anti-MDA 作一級抗體，anti-apo B₁₀₀ 為二級抗體的 ELISA 方法分析修飾型 LDL 結果則顯示此分析在急性期之心肌梗塞者的含量較健康者高(p<0.001)，當病情穩定後的一個月，則此項參數逐漸降低，和健康者並沒有顯著差異。利用 anti-nitrotyrosine 為一級抗體以及 anti-apo B₁₀₀ 為二級抗體的 ELISA 分析結果顯示，此項參數和急性或是穩定期的心肌梗塞或冠心病的發生不具統計意義相關，卻與糖尿病的存在與否相關，有糖尿病患者之此參數值比不具糖尿病者較高(P<0.01)。針對不同 LDL 的修飾所採用的分析方法，依其應用原理的不同，也有臨床應用的差別存在，毛細管電泳適合區分已達穩定期的冠心病患者之鑑別，而 anti-MDA & anti-apo B 的 ELISA 法適用於急性發作期，關於 anti-nitrotyrosine & anti-apo B 之 ELISA 法於冠心病的鑑別在本研究中不具意義。

四、計畫成果自評

本計畫結果，如原定目標，完成了針對目前已發展出的偵測修飾型 LDL 之方法於臨床病人的應用，達成了本計畫之預期成效。

五、參考資料

1. Liao, J.K., Shin, W.S., Lee, W.Y., Clark, S.L. Oxidized low-density lipoprotein decreases the expression of endothelial nitric oxide synthase. *J. Biol. Chem.* 1995;270:319-324.
2. Cox, D.A., Cohen, M.L. Effects of oxidized low-density lipoprotein on vascular contraction and relaxation: clinical and pharmacological implications in atherosclerosis. *Pharmacol. Rev.* 1996;48:3-19.
3. Selwyn, A. P., Kinlay, S., Libby, P., and Ganz, P. Atherogenic lipids, vascular dysfunction, and clinical signs of ischemic heart disease. *Circulation.* 1997;95:5-7.
4. Holvoet, P., and Collen D. β VLDL hypercholesterolemia relative to LDL hypercholesterolemia is associated with higher levels of oxidized lipoproteins and a more rapid progression of coronary atherosclerosis in rabbits. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997;17:2376-2382.
5. Holvoet, P., Theilmeier, G., Shivalkar, B., Flameng, W., and Collen, D. LDL hypercholesterolemia is associated with accumulation of oxidized LDL, atherosclerotic plaque growth, and compensatory vessel enlargement in coronary arteries of miniature pigs. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998;18:415-422.
6. Hsu H. C., Chen M. F., Lee C. M., Lee Y. T. A determinative role of peroxidized low density lipoprotein on myocardial thromboxane synthesis during pacing-induced ischemia. *Clin Sci.* 1998, 94: 29-34.
7. Hsu H. C., Chen M. F., Lee Y. T. Exercise shifts the platelet aggregation modulatory role from native to mildly oxidized LDL. *Med Sci Sports Exe.* 2000, 32: 933-939.
8. Holvoet, P., Vanhaecke, J., Janssens, S., Werf, F. V., and Collen, D. Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation.* 1998;98:1487-1494.
9. Holvoet, P., Stassen, J.M., Cleemput, J.V., Collen, D., and

- Vanhaecke, J. Oxidized low density lipoproteins in patients with transplant-associated coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998;18:100-107.
10. Holvoet P., Collen D., and Werf F. V. Malondialdehyde-modified LDL as a marker of acute coronary syndromes. *JAMA.* 1999;281:1718-1721.
11. Bittolo-Bon, G., and Cazzolato, G. Analytical capillary isotachopheresis of total plasma lipoproteins: a new tool to identify atherogenic low density lipoproteins. *J. Lipid Res.* 1999;40:170-177.