

引用本文: 李小勇, 郭琴, 郭海志. 可溶性低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 在阿尔茨海默病血清中的表达及临床意义 [J]. 安徽医药, 2022, 26(11): 2249-2252. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.11.029.

◇临床医学◇



可溶性低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 在阿尔茨海默病血清中的表达及临床意义

李小勇^a, 郭琴^b, 郭海志^a

作者单位: 资阳市第一人民医院,^a神经内科, ^b检验科, 四川 资阳 641300

摘要: **目的** 通过检测阿尔茨海默病(AD)病人血清中可溶性低密度脂蛋白受体相关蛋白 1(sLRP-1)的表达水平,分析其与 AD 病人临床指标之间的关系,解析其在 AD 诊断中的临床意义。**方法** 选择 2016 年 7 月至 2020 年 2 月在资阳市第一人民医院确诊的 AD 病人 82 例为 AD 组,同时选择在资阳市第一人民医院进行体检的健康者 95 例为对照组,采用酶联免疫吸附实验(ELISA)法对所有受试者血清中 sLRP-1、 β 淀粉样蛋白 1-42(Amyloid-beta 1-42, A β 1-42)水平进行测定、用全自动生化分析仪对血清中总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量进行测定,分析 AD 病人血清中 sLRP-1 表达水平与临床病理各项指标的相关性,受试者操作特征曲线(ROC)分析血清 sLRP-1 表达水平对 AD 的诊断价值。**结果** AD 病人 ADAS-cog 评分高于对照组[(18.90 $\pm$ 5.06)分比(5.52 $\pm$ 2.38)分, $P < 0.05$],血清中 HDL-C 水平[(1.27 $\pm$ 0.29)mmol/L 比(1.43 $\pm$ 0.22)mmol/L]、ADL 评分[(70.92 $\pm$ 23.13)分比(98.87 $\pm$ 23.73)分]、MMSE 评分[(24.03 $\pm$ 5.17)分比(28.73 $\pm$ 7.37)分]均低于对照组($P < 0.05$);AD 组病人血清 sLRP-1 表达水平显著低于对照组[(11.16 $\pm$ 3.63)mg/L 比(17.84 $\pm$ 5.31)mg/L, $P < 0.05$],血清中 A β 1-42 浓度显著高于对照组[(53.34 $\pm$ 16.07) μ g/L 比(38.31 $\pm$ 10.77) μ g/L],随着痴呆程度的加深,AD 病人血清中 sLRP-1 表达水平呈依次降低趋势($P < 0.05$),血清中 A β 1-42 浓度呈现依次升高趋势($P < 0.05$);Pearson 相关性分析表明 AD 病人血清中 sLRP-1 表达水平与血清中 A β 1-42 浓度、ADAS-cog 评分呈负相关($P < 0.05$),与血清中 HDL-C 水平、ADL 评分、MMSE 评分呈正相关($P < 0.05$);ROC 曲线结果表明,血清 sLRP-1 表达水平诊断 AD 曲线下面积(AUC)为 0.84,95% CI 为(0.77, 0.90),敏感度为 82.1%,特异性为 84.1%,截断值为 13.943 mg/L。**结论** 血清 sLRP-1 表达水平变化与 AD 密切相关,ROC 曲线分析表明血清 sLRP-1 表达水平对 AD 具有一定诊断价值。

关键词: 阿尔茨海默病; 可溶性低密度脂蛋白受体相关蛋白 1; 表达; 临床意义

Expression change and clinical significance of soluble low-density lipoprotein receptor-related protein 1 in patients with Alzheimer's disease

LI Xiaoyong^a, GUO Qin^b, GUO Haizhi^a

Author Affiliation: ^aDepartment of Neurology, ^bDepartment of Laboratory Medicine, The First People's Hospital of Ziyang, Ziyang, Sichuan 641300, China

Abstract: **Objective** To detect the expression level of soluble low-density lipoprotein receptor-related protein 1 (sLRP-1) in serum of patients with Alzheimer's disease (AD), analyze the relationship between sLRP-1 and clinical indicators of AD patients, and analyze its clinical significance in the diagnosis of AD. **Methods** Eighty-two cases of AD patients diagnosed in Ziyang First People's Hospital from July 2016 to February 2020 were selected as AD group, and 95 healthy people who had physical examination in Ziyang First People's Hospital were selected as control group. The levels of serum sLRP-1 and amyloid β 1-42 (A β 1-42) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the contents of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in serum were determined by automatic biochemical analyzer, the correlation between sLRP-1 expression and clinicopathological parameters was analyzed, and receiver operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the diagnostic value of serum sLRP-1 in AD. **Results** The ADAS-cog score of AD patients was higher than that of the control group [(18.90 $\pm$ 5.06) vs. (5.52 $\pm$ 2.38), $P < 0.05$], and the serum HDL-C level [(1.27 $\pm$ 0.29) mmol/L vs. (1.43 $\pm$ 0.22) mmol/L], ADL score [(70.92 $\pm$ 23.13) vs. (98.87 $\pm$ 23.73)] and MMSE score [(24.03 $\pm$ 5.17) vs. (28.73 $\pm$ 7.37)] were lower than those of the control group ($P < 0.05$); the expression level of serum sLRP-1 in AD group was significantly lower than that in control group [(11.16 $\pm$ 3.63)mg/L vs. (17.84 $\pm$ 5.31) mg/L, $P < 0.05$], and serum A β 1-42 concentration was significantly higher than that in control group [(53.34 $\pm$ 16.07) μ g/L vs. (38.31 $\pm$ 10.77) μ g/L], with the deepening of dementia, the expression level of sLRP-1 in serum of AD patients decreased in turn ($P < 0.05$), and the concentration of serum A β 1-42 increased in turn ($P < 0.05$); Pearson correlation analysis showed that the expression level of sLRP-1 was negatively correlated with A β 1-42 concentration and ADAS-cog score ($P < 0.05$), but positively correlated with HDL-C level, ADL

score and MMSE score ($P < 0.05$); ROC curve showed that the area under curve (AUC) of serum sLRP-1 in the diagnosis of AD was 0.84, 95% CI (0.77, 0.90), sensitivity was 82.1%, specificity was 84.1%, cut-off value was 13.943 mg/L. **Conclusion** The change of serum sLRP-1 expression level is closely related to AD. ROC curve analysis shows that serum sLRP-1 expression level has certain diagnostic value for AD.

Key words: Alzheimer's disease; Soluble low-density lipoprotein receptor-related protein 1; Expression; Clinical significance

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种由社会、生理、心理等多种因素引起的神经退行性疾病,临床上主要表现为注意力涣散、认知障碍、情感障碍、记忆障碍、行为异常等^[1]。AD起病隐匿,病情发展机制复杂,与 β 淀粉样蛋白(amyloid-beta, A β)代谢异常密切相关,主要危害老年型人群,其患病率随着年龄的增长逐渐升高,随着全球人口老龄化的加剧,AD患病人数也逐渐升高,给社会及家庭带来沉重的负担^[2-3]。目前关于AD的治疗仍是世界难题之一,关于缓解或者改善AD病情的药物和方法较少,原因可能是AD发病缓慢,早期症状不明显,且呈现不可逆性^[4]。因此寻找与AD发生发展相关的生物因子仍是研究的热点。可溶性低密度脂蛋白受体相关蛋白1(soluble Low-density lipoprotein receptor-related protein 1, sLRP-1)隶属于低密度脂蛋白受体家族,在脑内、血管等组织中均有表达,与AD病情密切相关,具有维持脑内环境及清除脑内A β 的作用,主要通过调节血管平滑肌细胞、神经胶质细胞、血管内皮细胞等对A β 的摄取功能来发挥其A β 清除能力^[5-6]。本研究通过对AD病人血清中sLRP-1表达水平的测定来分析其与AD之间的关系,为AD的诊断及治疗开发新的靶点。

1 资料与方法

1.1 样本量估算 本研究假说认为sLRP-1表达水平对AD病人具有一定的诊断价值,能有效区分健康对照和AD病人,根据前期预实验结果,sLRP-1曲线下面积为0.7,设单侧 $\alpha = 0.005$, $\beta = 0.95$,组间比例1:1,采用PASS 15软件估算样本量,AD组样本量 $N_1 = 69$ 例,对照组样本量 $N_2 = 69$ 例,考虑失访、拒访的情况10%计算,最终至少需要AD组、对照组各77例,总计至少纳入154例。

1.2 一般资料 选择2016年7月至2020年2月在资阳市第一人民医院确诊的AD病人82例为AD组,年龄范围为67~86岁,年龄(76.1 $\pm$ 14.4)岁,病史范围为1~14年,病史(8.4 $\pm$ 2.7)年,男性35例,女性47例。同时选择在资阳市第一人民医院进行体检的健康者95例为对照组,年龄范围为70~85岁,年龄(75.7 $\pm$ 12.6)岁,男性46例,女性49例,两组研究对象的年龄及性别差异无统计学意义($P > 0.05$)。

纳入标准:(1)AD的诊断标准参考美国国立神

经病语言障碍卒中研究所及阿尔茨海默病协会(NINCDS-ADRDA)制定的诊断标准^[7];(2)临床资料完整。排除标准:(1)突然起病或卒中样发作;(2)早期有偏瘫、共济失调、感觉丧失、视野缺损等局灶性神经性体征;(3)有精神分裂、抑郁等精神类疾病史;(4)伴严重心脏、肝脏、肾脏等器官疾病等。

痴呆分级标准:根据个人自理状况、记忆力、解决问题能力、业余习惯嗜好、社会事物认知、意动定向力、家居生活料理等方面进行测评,采用临床痴呆分级量表(CDR)评定,由临床经验丰富的医师进行汇总,分为轻度痴呆(1分)、中度痴呆(2分)、重度痴呆(3分)。

所有相关样品的采集均获得病人及其近亲属知情同意并签字,本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》。

1.3 主要试剂与仪器 全自动生化分析仪,购自美国Bio-Rad公司;sLRP-1、A β 1-42 ELISA试剂盒,购自于美国Invitrogen公司。

1.4 研究方法

1.4.1 血液样品预处理 采集所有受试者空腹静脉血3~5 mL,室温静置20 min,3 000 r/min,4 $^{\circ}$ C,离心10 min,收集血清装至特定离心管中,于-80 $^{\circ}$ C冰箱保存备用,用于后续相关指标的测定。

1.4.2 ELISA法检测血清sLRP-1的表达水平及相关指标的测定 根据相应ELISA试剂盒中的说明书测定所有受试者血清中sLRP-1、A β 1-42含量;用全自动生化分析仪测定血清中三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量。计算病人体质指数(BMI)、日常生活能力评估量表(ADL评分)、AD评定量表认知(ADAS-cog评分)、智力状况检查评分(MMSE评分)。

1.5 统计学方法 利用SPSS 23.0进行统计学分析。以 $\bar{x} \pm s$ 对计量资料进行表述,两组比较采用 t 检验,三组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用SNK- q 法,ROC法分析血清sLRP-1表达水平对AD的诊断价值,Pearson相关性分析血清sLRP-1表达水平与临床指标之间的相关性;计数资料用例(%)进行描述,行 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较 与对照组相比,AD病人年龄、性别、文化程度、BMI、血清中TG、TC、LDL-C水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),AD病人ADAS-cog显著升高($P<0.05$),血清中HDL-C、ADL评分、MMSE评分均显著下降($P<0.05$)。结果见表1。

2.2 两组血清sLRP-1表达水平及A β 1-42浓度比较 与对照组相比,AD组血清sLRP-1表达水平降低($P<0.05$),血清中A β 1-42浓度升高($P<0.05$)。

表2 AD组与对照组血清可溶性低密度脂蛋白受体相关蛋白1(sLRP-1)表达水平及 β 淀粉样蛋白1-42(A β 1-42)浓度比较 $\bar{x} \pm s$

项目	例数	sLRP-1/(mg/L)	A β 1-42/(μ g/L)
对照组	95	17.84 $\pm$ 5.31	38.31 $\pm$ 10.77
AD组	82	11.16 $\pm$ 3.63	53.34 $\pm$ 16.07
<i>t</i> 值		8.18	7.39
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.3 不同分组AD病人血清sLRP-1表达水平及A β 1-42浓度比较 随着痴呆程度的加深,AD病人血清中sLRP-1表达水平呈依次降低趋势($P<0.05$),血清中A β 1-42浓度呈依次升高趋势($P<0.05$)。结果见表3。

2.4 AD病人血清sLRP-1表达水平与临床指标相关性分析 Pearson相关性分析表明AD病人血清中sLRP-1表达水平与血清中A β 1-42以及ADAS-cog评分呈负相关($r=-0.88, r=-0.74, P<0.05$),与HDL-C水平、ADL评分、MMSE评分呈正相关($r=0.81, r=0.70, r=0.79, P<0.05$)。

2.5 sLRP-1表达水平对AD的诊断价值 ROC曲线结果表明,血清sLRP-1表达水平诊断AD曲线下

表3 轻度、中度、重度痴呆血清可溶性低密度脂蛋白受体相关蛋白1(sLRP-1)表达水平及 β 淀粉样蛋白1-42(A β 1-42)浓度比较 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	sLRP-1/(mg/L)	A β 1-42/(μ g/L)
轻度痴呆	30	13.01 $\pm$ 4.03	46.17 $\pm$ 13.59
中度痴呆	24	11.18 $\pm$ 3.02 ^①	54.39 $\pm$ 16.13 ^①
重度痴呆	28	9.15 $\pm$ 3.05 ^{①②}	60.12 $\pm$ 17.68 ^{①②}
<i>F</i> 值		9.15	5.70
<i>P</i> 值		<0.001	0.005

注:①与轻度痴呆相比, $P<0.05$ 。②与中度痴呆相比, $P<0.05$ 。

面积(AUC)为0.84,95%CI为(0.77,0.90),灵敏度为82.1%,特异度为84.1%,截断值为13.943 mg/L。

3 讨论

AD是常发于老年性人群的神经系统疾病,年龄越大患病率越高,早期AD病人常伴有认知障碍、记忆混乱、社交障碍等临床特征,重度痴呆病人则表现为日常生活不能自理、严重记忆丧失等,完全依赖照护者,具有病程长、治疗效果较差、康复困难等特点,严重影响病人的生活质量及生命健康,给病人家属和社会带来沉重负担。目前全世界AD病人有两千多万例,随着人们寿命的不断延长,AD患病人数也在逐渐增加^[6,8]。关于AD的发病机制假说“A β 级联假说”认为是A β 蛋白代谢异常在AD的病情发生及发展中起到重要作用^[9],A β 蛋白由A β 前体蛋白水解而来,广泛存在于脑脊液、血液、脑间质液中,具有很强的神经毒性作用,能促使血管淀粉样变性、神经纤维缠结、神经元受损,沉积的A β 常会诱发细胞凋亡、炎症、氧化应激等一系列不良反应,进一步加重AD病情^[10-11]。

研究发现sLRP-1在血管内皮细胞、胶质细胞、神经元等细胞中均有表达,与脑老化、脑萎缩等过

表1 阿尔茨海默病(AD)组及对照组一般资料比较

项目	对照组(<i>n</i> =95)	AD组(<i>n</i> =82)	<i>t</i> (χ^2)值	<i>P</i> 值
年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	75.7 $\pm$ 12.6	76.1 $\pm$ 14.4	0.20	0.844
性别(男/女)/例	46/49	35/47	(1.29)	0.199
文化程度(高中及高中以上/高中以下)/例	48/47	46/36	(1.19)	0.234
高血压病/例	21	19	(1.33)	0.186
BMI/(kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	22.46 $\pm$ 1.89	22.71 $\pm$ 1.61	0.94	0.349
TG/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	1.87 $\pm$ 0.55	1.74 $\pm$ 0.57	1.82	0.071
TC/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	5.16 $\pm$ 0.93	5.39 $\pm$ 0.82	1.73	0.085
HDL-C/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	1.43 $\pm$ 0.22	1.27 $\pm$ 0.29	4.17	<0.001
LDL-C/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	2.31 $\pm$ 0.77	2.55 $\pm$ 0.86	1.96	0.052
ADL评分/(分, $\bar{x} \pm s$)	98.87 $\pm$ 23.73	70.92 $\pm$ 23.13	7.91	<0.001
ADAS-cog评分/(分, $\bar{x} \pm s$)	5.52 $\pm$ 2.38	18.90 $\pm$ 5.06	23.00	<0.001
MMSE评分/(分, $\bar{x} \pm s$)	28.73 $\pm$ 7.37	24.03 $\pm$ 5.17	4.84	<0.001

注: BMI为体质质量指数, TG为三酰甘油, TC为总胆固醇, HDL-C为高密度脂蛋白胆固醇, LDL-C为低密度脂蛋白胆固醇, ADL为日常生活能力评估量表, ADAS-cog为AD评定量表认知, MMSE为智力状况检查评分。

程密切相关,是人体血脑屏障中转运A β 的主要受体之一,A β 与sLRP-1的相关配体(A β 前体蛋白、载脂蛋白等)结合形成复合物,被sLRP-1识别,通过血脑屏障将可溶性的A β 转运出脑,研究发现低表达的sLRP-1会加剧血管及脑内A β 的聚集,进而影响神经元的状态,诱导神经细胞过早凋亡^[6,12]。曹利等^[13]研究显示,AD病人血清sLRP水平显著低于血管性痴呆、非AD变性痴呆及正常人,且对AD的甄别具有一定价值。本研究中,AD组病人血清sLRP-1表达水平显著低于对照组,血清中A β 1-42浓度显著高于对照组,随着痴呆程度的加深,AD病人血清中sLRP-1表达水平呈依次降低趋势,血清中A β 1-42浓度呈现依次升高趋势,提示血清sLRP-1水平与AD的发生及发展有关,可能原因为sLRP-1水平下降可能加速A β 蛋白在脑组织中的积累,促进AD的发展,但具体机制有待进一步探讨。

资料显示ADAS-cog评分及ADL评分可以反映病人的口头表达能力、词语回忆、词语辨析、语言理解能力、回忆能力、日常生活能力等,对于评估AD病人的认知能力具有良好的信度和效度^[14],MMSE评分能反应AD病人的智力情况,研究发现AD的发生与老年人血脂水平存在一定的关联,HDL-C具有一定的抗炎作用及抑制脑内A β 生成作用,高HDL-C水平还具有调节大脑结构稳定及神经细胞流动性等作用,研究显示AD病人体内HDL-C水平呈现低水平^[15-16],本次研究发现,AD病人ADAS-cog评分高于对照组,血清中HDL-C、ADL评分、MMSE评分均低于对照组,与相关研究一致。Pearson相关性分析表明AD病人血清中sLRP-1表达水平与血清中A β 1-42浓度、ADAS-cog评分呈负相关,与血清HDL-C水平、ADL评分、MMSE评分呈正相关,进一步提示血清sLRP-1表达水平与AD病人病情进展密切相关。ROC曲线结果表明,血清sLRP-1表达水平诊断AD曲线下面积(AUC)为0.84,95%CI为(0.77,0.90),灵敏度和特异度较高,对AD病情具有一定的诊断价值,当sLRP-1水平低于13.943 mg/L时,有发生AD的风险,需加强监测与预防。

综上所述,血清sLRP-1表达水平与AD病人病情的发生及发展密切相关,对AD具有一定的诊断价值,但是关于sLRP-1在AD病人体内异常表达的具体机制尚不明确,仍需进一步研究。

参考文献

- [1] RAJASEKHAR K, GOVINDARAJU T. Current progress, challenges and future prospects of diagnostic and therapeutic interven-

- tions in Alzheimer's disease[J].RSC Adv, 2018, 8(42):23780-23804.
- [2] 郭婷婷,周地,党文,等.基于网络药理学的倍半萜香豆素抗阿尔茨海默症作用机制研究[J].沈阳药科大学学报,2020,37(1):69-76.
- [3] SWANSON A, WOLF T, SITZMANN A, et al. Neuroinflammation in alzheimer's disease: pleiotropic roles for cytokines and neuronal pentraxins[J].Behav Brain Res, 2018, 347(1):49-56.
- [4] HONIG L, VELLAS B, WOODWARD M, et al. Trial of solanezumab for mild dementia due to Alzheimer's disease[J].NEJM, 2018, 378(4):321-330.
- [5] 姜波,费洪新,宋磊,等.黄芪多糖对阿尔茨海默病大鼠海马超微结构和低密度脂蛋白受体相关蛋白1水平的影响[J].长春中医药大学学报,2016,32(3):451-454.
- [6] 倪杰,房宇,胡燕,等.细叶远志皂苷对阿尔茨海默病大鼠海马低密度脂蛋白受体相关蛋白1水平的影响[J].解剖学报,2016,47(6):744-749.
- [7] MCKHANN, G, DRACHMAN D, FOLSTEIN M, et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the nincds-adrda work group under the auspices of department of health and human services task force on Alzheimer's disease[J].Neurology, 1984, 34(7):939-944.
- [8] 邓春颖,李海滨,毛文静,等.丁苯酞对阿尔茨海默病模型大鼠海马CA1区Wnt3a及 β -连环蛋白表达的影响[J].安徽医药,2020,24(9):1701-1704,后插1.
- [9] PINI L, PIEVANI M, BOCCHETTA M, et al. Brain atrophy in Alzheimer's disease and aging[J]. Ageing Res Rev, 2016, 30: 25-48.
- [10] SUN Y, WU AG, LI X, et al. The seed of Litchi chinensis fraction ameliorates hippocampal neuronal injury in an A β ₂₅₋₃₅ - induced Alzheimer's disease rat model via the AKT/GSK-3 β pathway [J/OL]. Pharm biol, 2019, 2019: 35-43. DOI: 10.1080/13880209.2019.1697298.
- [11] ARBOR SC, LAFONTAINE M, CUMBAY M. Amyloid-beta Alzheimer targets — protein processing, lipid rafts, and amyloid-beta pores[J].Yale J Biol Med, 2016, 89(1):5-21.
- [12] 李小黎,刘晓梅,赵瑞珍,等.何首乌二苯乙烯苷对拟痴呆大鼠学习记忆和海马组织CA1区脑啡肽酶及低密度脂蛋白相关受体1表达的影响[J].中国全科医学,2015,18(32):3948-3951.
- [13] 曹利,戴艳萍,靳美,等.阿尔茨海默病诊断中的sLRP以及sRAGE敏感性和特异性分析[J].中国现代药物应用,2018,12(9):78-79.
- [14] 席俊彦,杨莹,谢明.养老机构下高龄老人认知功能与日常生活能力的相关性[J].中国老年学杂志,2019,39(8):2010-2012.
- [15] 闻慧娟,黄扬.老年人BMI和血脂水平对其老年痴呆症社区调查评分的影响[J].热带医学杂志,2018,18(1):100-103.
- [16] 李晖,蒋毅,刘颖.miR-9和miR-34c在老年痴呆患者血清中的表达及临床意义[J].中风与神经疾病杂志,2018,35(12):1095-1098.

(收稿日期:2021-03-26,修回日期:2021-05-07)