

# 老年阿尔茨海默病患者血清 Lp-PLA2, NLRP3 水平表达及其与认知功能损害的相关性

孙祝平, 陈红英, 陈思路(上海市长宁区精神卫生中心精神科, 上海 200335)

**摘要:**目的 分析阿尔茨海默病(AD)患者血清脂蛋白相关磷脂酶 A2(lipoprotein related phospholipase, Lp-PLA2), NOD 样受体家族蛋白 3(nod-like receptor family protein 3, NLRP3)的表达,及其与认知功能损害的关系。方法 测定 110 例 AD 患者(AD 组)及 50 例健康体检者(对照组)血清中 Lp-PLA2 和 NLRP3 表达水平,并采用蒙特利尔认知评估量表(MoCA)、简易精神状态量表(MMSE)和临床痴呆量表(CDR)评估患者认知能力。根据 CDR 评分将 AD 组患者分为轻度 AD 组( $n=61$ )和中重度 AD 组( $n=49$ )。分析各组血清 Lp-PLA2 和 NLRP3 表达水平与认知功能损害的相关性。结果 与轻度 AD 组比较,中重度 AD 组 MoCA 和 MMSE 评分均明显下降,CDR 评分明显升高( $t=10.21, 9.17$  和  $7.96$ , 均  $P<0.05$ )。与对照组比较,轻度、中重度 AD 组血清 Lp-PLA2, NLRP3 水平均明显升高( $P<0.05$ )。与轻度 AD 组比较,中重度 AD 组血清 Lp-PLA2, NLRP3 水平亦显著升高( $P<0.05$ )。Pearson 线性相关分析显示,AD 患者血清 Lp-PLA2, NLRP3 水平与 MoCA, MMSE 评分均呈显著正相关,与 CDR 评分呈显著负相关( $P<0.05$ )。结论 AD 患者血清 Lp-PLA2, NLRP3 表达异常升高,与认知功能损害密切相关,可作为反映认知功能损害程度的早期血清学标志物。

**关键词:**阿尔茨海默病;脂蛋白相关磷脂酶 A2;NOD 样受体家族蛋白 3;认知功能;相关

**中图分类号:**R749.16;R392.11 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2020)01-049-04

**doi:**10.3969/j.issn.1671-7414.2020.01.013

## Expression of Serum Lp-PLA2 and NLRP3 in Elderly Patients with Alzheimer's Disease and Its Relationship with Cognitive Impairment

SUN Zhu-ping, CHEN Hong-ying, CHEN Si-lu

(Department of Psychiatry, Shanghai Changning District Mental Health Center, Shanghai 200335, China)

**Abstract; Objective** To investigate the expression of serum lipoprotein related phospholipase A2 (Lp-PLA2) and NOD-like receptor family protein 3 (NLRP3) in elderly patients with Alzheimer's disease (AD), and analyze its relationship with cognitive impairment. **Methods** The expression levels of serum Lp-PLA2 and NLRP3 in 110 patients with AD (AD group) and 50 healthy subjects (control group) were measured, and the cognitive ability was evaluated by the Montreal cognitive assessment scale (MoCA), simple mental state scale (MMSE) and clinical dementia scale (CDR). According to the CDR score, patients in the AD group were divided into mild AD group ( $n=61$ ) and moderate and severe AD group ( $n=49$ ). The correlation between serum Lp-PLA2 and NLRP3 expression and cognitive impairment was analyzed. **Results** Compared with the mild AD group, MoCA and MMSE scores in the moderate and severe AD group were significantly decreased, and CDR scores were significantly increased ( $t=10.21, 9.17$  and  $7.96$ , all  $P<0.05$ ). Compared with the control group, serum Lp-PLA2 and NLRP3 levels in mild, moderate and severe AD groups were significantly increased ( $P<0.05$ ). Serum Lp-PLA2 and NLRP3 levels were also significantly increased in the moderate to severe AD group compared with the mild AD group ( $P<0.05$ ). Pearson linear correlation analysis showed that serum Lp-PLA2 and NLRP3 levels were significantly positively correlated with MoCA and MMSE scores and negatively correlated with CDR scores ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The levels of serum Lp-PLA2 and NLRP3 in patients with AD was overexpressed, which was closely related to cognitive impairment and can be used as early serological markers to reflect the degree of cognitive impairment.

**Keywords:** Alzheimer's disease; lipoprotein related phospholipase A2; nod-like receptor family protein 3; cognitive function; correlation

**基金项目:**上海市长宁区卫生和计划生育委员会(编号:20163003)。

**作者简介:**孙祝平(1983-),女,本科,中级,研究方向:精神心理,E-mail:zhuping198306@sina.com。

**通讯作者:**陈红英(1970-),本科,副高级,研究方向:精神心理,康复,E-mail:xxtchy@139.com。

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是以记忆力衰退、认知障碍为主要表现的中枢神经系统退行性疾病,随着我国人口老龄化进程的加快,其发生率呈逐年上升趋势<sup>[1]</sup>。认知功能障碍的早期发现和早期干预有助于减少延缓AD病程的进展,改善患者生活质量,减轻家庭及社会负担,具有十分重要的现实意义。近年来研究发现,AD患者脑神经元改变与大脑固有免疫异常密切相关,其中脑血管损害、神经性炎症反应发挥着关键作用<sup>[2]</sup>。有研究显示,脂蛋白相关磷脂酶A2(lipoprotein related phospholipase A2, Lp-PLA2)作为炎症标记物,其水平异常升高可导致AD的发生,同时NOD样受体家族蛋白3(nod-like receptor family protein 3, NLRP3)炎症小体信号通路也可能参与AD的炎性过程,但二者与患者认知功能损害的关系研究鲜有报道,仍缺乏循证学依据<sup>[3,4]</sup>。本研究通过检测AD患者血清Lp-PLA2和NLRP3的表达水平,探讨其对认知功能损害的影响,现报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 选择2016年1月~2018年12月在我院精神科住院的AD患者110例。入组标准:①均符合美国精神病协会《精神障碍诊断和统计工作手册第四版修正版(DSM-IV-R)》中AD的诊断标准<sup>[5]</sup>;②年龄 $\geq 65$ 岁,且临床资料齐全;③排除自身免疫性疾病、语言交流障碍、并发精神分裂症或其他精神疾病,或严重躯体疾病的患者。其中男性61例,女性49例;年龄65~82( $69.4 \pm 3.8$ )岁;病程1~12( $6.9 \pm 1.2$ )年;文化程度:小学及以下36例,初中、高中54例,大专及以上20例。另选择本院同期健康体检者50例作为对照组,均无精神病家族史及既往史。其中男性25例,女性25例;年龄65~80( $69.1 \pm 4.2$ )岁;文化程度:小学及以下12例,初中、高中26例,大专及以上12例。两组患者在年龄、性别构成比、文化程度等方面差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。本研究均符合《赫尔辛基宣言》,所有患者家属均自愿参加,并签署知情同意书。

1.2 试剂和仪器 人Lp-PLA2试剂盒(上海信帆生物科技有限公司),NLRP3试剂盒(美国TPI公司);贝克曼库尔特AU400e自动分析仪。

### 1.3 方法

1.3.1 认知功能评估:采用蒙特利尔认知评估量表(montreal cognitive assessment, MoCA)、简易精神状态量表(mini-mental state examination, MMSE)和临床痴呆量表(clinical dementia rating, CDR)进行认知功能评估。其中,MoCA量表包含语言、记忆、执行功能等

11个项目,分数为0~30分,26分以上为正常。MMSE量表包含语言理解、即刻记忆、延迟记忆、定向、注意力和计算力及视空间等6个维度,共30个条目,总分30分。文盲 $< 17$ 分,小学 $< 20$ 分和中学及以上 $< 24$ 分视为存在认知功能障碍。CDR量表评估项目包括记忆力、判断和解决问题能力、社会事务、家庭生活业余爱好和个人照料6个方面,每个方面均为无损害~重度损害五级评分,但评分不叠加,根据总评分标准将6个方面能力的评定综合为一个总分,结果分为健康(0分)、可疑AD(0.5分)、轻度AD(1分)、中度AD(2分)和重度AD(3分)。所有评估均由经过专业培训的高年资精神科医师完成。

1.3.2 Lp-PLA2和NLRP3炎症小体检测:分别抽取AD患者、对照组清晨空腹肘静脉血3ml,置于含EDTA的真空采血管中,4h内3000 r/min离心10min后留取上层血浆置于 $-70^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存备检。采用酶联免疫吸附法测定血清中Lp-PLA2和NLRP3炎症小体表达水平。

1.4 统计学分析 应用SPSS 20.0版统计软件包。计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析,两两比较采用LSD-*t*检验,采用Pearson线性相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 不同病情程度的AD患者认知功能障碍比较 见表1。与轻度组比较,中重度组MoCA,MMSE评分均明显下降,CDR评分明显升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

2.2 不同病情程度的AD患者血清Lp-PLA2,NLRP3表达水平比较 见表2。方差分析显示,三组血清Lp-PLA2,NLRP3表达水平比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与对照组比较,轻度、中重度组血清Lp-PLA2,NLRP3水平均明显升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与轻度组比较,中重度组血清Lp-PLA2,NLRP3水平亦显著升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

2.3 Lp-PLA2,NLRP3与认知功能障碍的相关性分析 Pearson线性相关分析显示,AD患者血清Lp-PLA2,NLRP3水平与MoCA,MMSE评分均呈显著正相关,与CDR评分呈显著负相关( $P < 0.05$ )。见表3。

## 3 讨论

AD是我国中老年人群常见的致残性疾病,目前患病人数高达950万,位居全球首位<sup>[6]</sup>。本研究显示,随着AD程度的加重,MoCA,MMSE评分均明显下降,CDR评分明显升高( $P < 0.05$ ),由此可见AD

患者主要表现为不同程度的认知功能障碍。研究认为,认知功能障碍早期阶段是治疗的关键窗口期,但因症状相对较轻,缺乏特异性表现,早期诊断困难,易被临床忽视<sup>[7-8]</sup>。一旦进展为AD,临床尚无特殊

有效药物,治疗效果不理想。实验室指标的变化通常先于临床症状的出现,有助于灵敏反映机体病变的发生,故寻找AD患者认知功能损害的特异性生物学标记物一直是国内外研究的热门话题<sup>[9]</sup>。

表1 不同病情程度的AD患者认知功能( $\bar{x} \pm s$ ,分)

类别	轻度组(n=61)	中重度组(n=49)	t	P
MoCA	25.7 ± 2.8	20.3 ± 2.7	10.21	<0.05
MMSE	22.6 ± 3.1	17.3 ± 2.9	9.17	<0.05
CDR	1.7 ± 0.3	2.4 ± 0.6	7.96	<0.05

表2 不同病情程度的AD患者血清Lp-PLA2,NLRP3表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	对照组	轻度组	中重度组	F	P
Lp-PLA2(μg/L)	22.5 ± 4.9	39.0 ± 7.1	61.6 ± 11.7	277.96	<0.05
NLRP3(pg/ml)	79.2 ± 27.3	106.3 ± 29.3	131.1 ± 37.1	34.00	<0.05

表3 血清Lp-PLA2,NLRP3与认知功能障碍的相关性

项目	MoCA		MMSE		CDR	
	r	P	r	P	r	P
Lp-PLA2(μg/L)	0.451	0.002	0.447	0.003	-0.407	0.015
NLRP3(pg/ml)	0.440	0.004	0.418	0.010	-0.388	0.018

近年来,Lp-PLA2已被大量研究证实为脑血管病的独立危险因素之一,而脑血管病又与认知功能损害及AD密切相关<sup>[10]</sup>。Lp-PLA2是一种血管特异性炎症酶,可反映动脉内膜的炎症反应,进而造成血管异常收缩、水钠潴留、血压升高,从而增加脑卒中等脑血管意外的发生风险。此外,Lp-PLA2亦属于磷脂水解酶家族,可与低密度脂蛋白胆固醇结合形成炎症信号传导通路,促进动脉粥样硬化斑块并降低其稳定性,影响缺血性脑卒中的发生。上述两种作用机制均可使大脑因结构和功能改变而出现认知功能异常,最终促进血管性AD的发生<sup>[11-12]</sup>。本研究中,AD患者血清Lp-PLA2较对照组明显升高,且随着病情加重依次升高,相关性分析结果显示,血清Lp-PLA2水平与MoCA,MMSE评分均呈显著正相关,与CDR评分呈显著负相关( $P < 0.05$ ),与尹楠等<sup>[13]</sup>研究结果基本相符,进一步说明Lp-PLA2在AD患者认知功能减退中发挥着重要作用。

最近研究报道显示,NLRP3炎症小体作为NLRs家族的一个重要成员,由10号染色体NLRP3编码的蛋白质结合半胱氨酸蛋白酶、凋亡相关微粒蛋白共同组成<sup>[14]</sup>。学者认为其主要通过以下两个方面影响

认知功能:(1)调控IL-1水平及神经元变性相关神经毒素的合成与分泌;(2)减少β-淀粉样蛋白之间的间隙,促进沉积的增加,从而诱导正反馈循环,最终导致认知功能障碍进展及AD发生<sup>[15]</sup>。本研究结果发现,AD患者NLRP3表达水平高于正常人群,AD程度与认知功能损害显著相关。这一结果提示,NLRP3可能参与了AD患者认知功能损害的发生发展,其水平升高可能作为认知功能障碍的早期辅助诊断指标,对正确识别和早期治疗具有一定指导意义。SARESELLA等<sup>[16]</sup>研究认为,NLRP3可激活促炎蛋白酶,促进C反应蛋白、IL-6和肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor factor-α, TNF-α)等多种促炎细胞因子合成释放,其中TNF-α可使T淋巴细胞激活,启动适应性免疫应答而产生强烈的局灶性炎性反应,造成神经细胞凋亡。ROSSOL等<sup>[17]</sup>实验发现,NLRP3敲除小鼠中,β-淀粉样蛋白沉积减少,空间记忆有所改善。由此推测,从抑制NLRP3炎症小体活化聚集角度防治AD认知功能障碍是一条值得探索的新路径。

综上所述,AD患者血清Lp-PLA2,NLRP3表达异常升高,与认知功能损害密切相关,可作为反映认知功能损害程度的早期血清学标志物。

## 参考文献:

- [1] HOLZ M R, KOCHHANN R, FERREIRA P, et al. Cognitive performance in patients with Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's disease with white matter hyperintensities: an exploratory analysis [J]. *Dement Neuropsychol*, 2017, 11(4):426-433.
- [2] CUMMINGS J, LEE G, MORTSDORF T, et al. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2017 [J]. *Alzheimers & Dementia Translational Research & Clinical Interventions*, 2017, 3(3):367-384.
- [3] DANIELS M J, RIVERS-AUTY J, SCHILLING T, et al. Fenamate NSAIDs inhibit the NLRP3 inflammasome and protect against Alzheimer's disease in rodent models [J]. *Nature Communications*, 2016, 7:12504.
- [4] GATTAZ W F, TALIB LL, SCHAEFFER E L, et al. Low platelet ip-PLA2 activity predicts conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease: a 4-year follow-up study [J]. *Journal of Neural Transmission*, 2014, 121(2):193-200.
- [5] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-VI) [M]. 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association Publishing, 1994.
- [6] LIVINGSTON G, SOMMERLAD A, ORGETA V, et al. Dementia prevention, intervention, and care [J]. *Lancet*, 2017, 390(10113):2673-2734.
- [7] 许丽春. 阿尔茨海默病患者认知功能障碍的特征及相关危险因素研究 [J]. *饮食保健*, 2016, 3(14):39-40.  
XU Lichun. Study on the characteristics and risk factors of cognitive dysfunction in Alzheimer's patients [J]. *Diet Health*, 2016, 3(14):39-40.
- [8] KABARIA S, CHOI D C, CHAUDHURI A D, et al. Inhibition of miR-34b and miR-34c enhances alpha-synuclein expression in Parkinson's disease [J]. *FEBS Letters*, 2015, 589(3):319-325.
- [9] DOMINGUES C, DA CRUZ E, SILVA OAB, et al. Impact of cytokines and chemokines on Alzheimer's disease neuropathological hallmarks [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2017, 14(8):870-882.
- [10] 高宏娥, 李荫桂, 黄海云, 等. 缺血性脑卒中患者血浆脂蛋白相关磷脂酶 A2 测定的临床意义 [J]. *现代检验医学杂志*, 2015, 30(2):58-60, 64.  
GAO Honge, LI Yingui, HUANG Haiyun, et al. Clinical significance of plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 detecting in patients with ischemic cerebral stroke [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2015, 30(3):58-60, 64.
- [11] 高瑞, 易晓淑, 晏宁. 阿尔茨海默病患者认知功能与自主神经功能关系的研究进展 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2018, 26(10):14-17.  
GAO Rui, YI Xiaoshu, YAN Ning. Progress on relationship between cognitive function and autonomic nervous function in patients with Alzheimer's disease [J]. *Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease*, 2018, 26(10):14-17.
- [12] 郝建华, 王田园, 张然蓉, 等. 阿尔茨海默病患者 AD7C-NTP 和 Aβ42 检测的价值探讨 [J]. *现代检验医学杂志*, 2014, 29(1):44-47.  
HAO Jianhua, WANG Tianyuan, ZHANG Ranrong, et al. Significance of detecting urine AD7C-NTP and blood Aβ42 protein level of Alzheimer patients [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2014, 29(1):44-47.
- [13] 尹楠, 岳月红, 邢星, 等. TH、Lp-PLA2、血脂与非痴呆型血管性认知功能障碍的相关性研究 [J]. *河北医药*, 2015, 37(22):3417-3419.  
YIN Nan, YUE Yuehong, XING xing, et al. Correlation of TH, Lp-PLA2, blood lipid and non-dementia vascular cognitive dysfunction [J]. *Hebei Medical Journal*, 2015, 37(22):3417-3419.
- [14] AHMED M E, IYER S, THANGAVEL R, et al. Co-localization of glia maturation factor with NLRP3 inflammasome and autophagosome markers in human Alzheimer's Disease brain [J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 60(3):1143-1160.
- [15] 刘俐杰, 柏华. NLRP3 炎症小体的活化机制及其在阿尔茨海默病发生发展中的作用 [J]. *癫痫与神经电生理学杂志*, 2018, 27(2):118-121.  
LIU Lijie, BAI Hua. Activation mechanism of NLRP3 inflammasome and its role in the development of Alzheimer's disease. [J]. *Journal of Epileptology and Electroneurophysiology (CHINA)*, 2018, 27(2):118-121.
- [16] SARESELLA M, LA ROSA F, PIANCONE F, et al. The NLRP3 and NLRP3 inflammasomes are activated in Alzheimer's disease [J]. *Molecular Neurodegenerat*, 2016, 11(1):23.
- [17] ROSSOL M, PIERER M, RAULIEN N, et al. Extracellular Ca<sup>2+</sup> is a danger signal activating the NLRP3 inflammasome through G protein-coupled calcium sensing receptors [J]. *Nature Communicat*, 2012, 3:1329.

收稿日期:2019-08-02

修回日期:2019-08-30