

血清晚期糖基化终末产物和可溶性晚期糖基化终末产物受体与阿尔茨海默病及血管性痴呆关系的研究

马宗艳¹, 蔡宏斌¹, 裴丽娟², 郭文婷¹, 范祯祯¹, 杨玉¹, 葛朝明¹

1. 兰州大学第二医院神经内科, 甘肃省兰州市 730030

2. 甘肃省第三人民医院神经内科, 甘肃省兰州市 730000

摘要:目的 探讨血清中晚期糖基化终末产物(AGEs)、可溶性晚期糖基化终末产物受体(sRAGE)的水平与阿尔茨海默病(AD)、血管性痴呆(VaD)的关系。方法 收集兰州大学第二医院神经内科2017年2月到2018年1月收治的149例患者,根据MMSE量表及相应的纳入排除标准,将患者进行分组,其中AD组34例,脑梗死后痴呆(VaD)组64例,脑梗死非痴呆(N-VaD)组51例,选择同期在性别、年龄、文化程度上无差异、无严重疾病的住院体检者31例作为正常对照组。比较4组间的一般资料及简易智能精神状态检查量表(MMSE)评分,比较血清AGEs、sRAGE在不同组别之间的差异,并分析其与AD和VaD的关系。结果 AD组和N-VaD组的AGEs水平高于VaD组和正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。VaD组和正常对照组之间,AD组和N-VaD组之间的AGEs水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。ROC曲线分析显示血清AGEs对AD有较低诊断价值。Spearman秩相关分析显示,年龄($r = -0.168, P < 0.05$)与MMSE评分呈负相关;体重指数($r = 0.151, P < 0.05$)与MMSE评分呈正相关。4组在性别、年龄、糖尿病方面不存在显著性差异($P > 0.05$)。4组间sRAGE水平比较无显著性差异($P > 0.05$)。结论 血清AGEs可能与AD的发生、发展有关;AGEs对AD有较低的诊断价值。

关键词:阿尔茨海默病;血管性痴呆;晚期糖基化终末产物;可溶性晚期糖基化终末产物受体

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2019.01.012

Association of serum advanced glycation end products and soluble receptor for advanced glycation end products with Alzheimer's disease and vascular dementia

MA Zong-Yan, CAI Hong-Bin, PEI Li-Juan, GUO Weng-Ting, Fan Zhen-Zhen, Yang Yu, GE Zhao-Ming. Department of Neurology, The Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China

Corresponding author: GE Zhao-Ming, E-mail: 13893285120@163.com

Abstract: Objective To investigate the association of the serum levels of advanced glycation end products (AGEs) and soluble receptor for advanced glycation end product (sRAGE) with Alzheimer's disease (AD) and vascular dementia (VaD). **Methods** A total of 149 patients who were admitted to Department of Neurology in Lanzhou University Second Hospital from February 2017 to January 2018 were enrolled, and according to Mini-Mental State Examination (MMSE) score and inclusion/exclusion criteria, they were divided into AD group with 34 patients, VaD group with 64 patients (with VaD after cerebral infarction), and N-VaD group with 51 patients (without VaD after cerebral infarction). A total of 31 inpatients on physical examination who had no severe diseases and were well matched for sex, age, and education level were enrolled as normal control group. The four groups were compared in terms of general information, MMSE score, and serum levels of AGEs and sRAGE, and the association of serum levels of AGEs and sRAGE with AD and VaD was analyzed. **Results** The AD group and the N-VaD group had a significantly higher level of AGEs than the VaD group and the normal control group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the level of AGEs between the VaD group and the normal control group, as well as between the AD group and the N-VaD group ($P > 0.05$). The ROC curve showed that serum AGEs had a low

基金项目:兰州市科技发展计划项目(2016-3-118)

收稿日期:2018-07-31;修回日期:2018-10-28

作者简介:马宗艳(1991-),女,住院医师,硕士,主要研究方向为认知障碍与神经康复。

通信作者:葛朝明(1963-),男,主任医师,教授,主要研究方向为神经康复。E-mail:13893285120@163.com。

value in the diagnosis of AD. The Spearman rank correlation analysis showed that age was negatively correlated with MMSE score ($r = -0.168, P < 0.05$) and body mass index was positively correlated with MMSE score ($r = 0.151, P < 0.05$). There were no significant differences in sex, age, and diabetes between the four groups ($P > 0.05$). There was no significant difference in the level of sRAGE between the four groups ($P > 0.05$). **Conclusions** Serum AGEs may be associated with the development and progression of AD. AGEs have a low value in the diagnosis of AD.

Key words: Alzheimer's disease; vascular dementia; advanced glycation end products; soluble receptor for advanced glycation end products

痴呆已成为全球范围内严重的公共卫生负担,根据2016年世界老年痴呆报告,全世界超过4 700万人患有此病,预计到2050年将增加到1.31亿,每年约有770万新发痴呆患者,严重影响老年人的生活质量和身心健康,同时加重了家庭和社区的负担^[1,2]。其中发病率最高的为阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD),在75岁以上老年痴呆患者中约占69%^[3],血管性痴呆(vascular dementia, VaD)在痴呆患者中占第二位,约占全球痴呆病例的17%~25%。越来越多的研究结果表明AD和VaD在发病机制及病理学改变上存在很多的重叠现象^[4,5]。近年来,晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)与认知功能障碍的关系越来越被关注,并认为AGEs可能也是引起AD的原因之一^[6]。闫福岭等^[7]研究表明,AGEs可能是VaD和急性脑梗死患者发病的共同危险因素,推测两因素通过参与脑血管损伤导致脑梗死,进一步引发VaD。有研究证实,血清可溶性RAGE(soluble RAGE, sRAGE)水平与痴呆明显相关^[8,9],但因为对sRAGE水平可造成影响的因素较多,关于sRAGE是否可以作为诊断痴呆的生物标志物,尚存在争议。在同一研究中描述AGEs与sRAGE在VaD、AD、N-VaD及正常对照组间的水平及差异的研究较少。本研究就上述指标在AD、VaD、N-VaD和正常人群之间的差异进行比较,旨在探索不同指标与AD、VaD之间可能的联系,探寻可能的具有诊断价值的生物标志物,为早期发现、诊断、预防疾病提供临床参考依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

收集同期兰大二院神经内科就诊的符合纳入排除标准的34例阿尔茨海默病患者为AD组,其中男14例,女20例,年龄分布为65~87岁,平均年龄为 73.35 ± 6.21 岁;脑梗死后血管性痴呆的64例患者为VaD组,其中男39人,女25人,年龄分布65~88岁,平均年龄为 75.20 ± 6.30 岁;脑

梗死非痴呆组患者51例为N-VaD组,其中男31例,女20例,年龄分布为65~86岁,平均年龄为 73.27 ± 5.59 岁;收集同期的31例健康体检者为对照组,其中男20例,女11例,年龄分布为65~82岁,平均年龄为 73.29 ± 4.50 岁,符合正常对照组的纳入排除标准。

纳入标准:阿尔茨海默病参照美国国家神经病及语言障碍和卒中研究所——阿尔茨海默病及相关疾病协会(NINCDS-ADRDA)标准及美国国立衰老研究院和阿尔茨海默病协会(National Institute on Aging and Alzheimer's Association, NIA-AA)标准;血管性痴呆参照美国精神医学学会的《精神诊断和统计手册》第四版修订版的诊断标准或符合美国国立精神病与卒中研究所/瑞士神经科学研究国际协会(NINDS-AIREN)的血管性痴呆诊断标准;脑梗死非痴呆组有符合全国第四届脑血管病学术会议制定的诊断标准的脑卒中病史,并符合经头颅MR或头颅CT明确有一个或多个缺血病灶,复发性脑梗死或初次梗死后病程 ≥ 3 月,MMSE量表评定在正常范围。正常对照组为无脑卒中病史及神经系统的症状及体征,头颅CT和头颅MR证实无异常,无认知功能减退主诉,MMSE评分在正常范围内,无严重疾病的住院体检者。

排除标准:①额颞叶痴呆、路易体痴呆、脑积水、帕金森病、甲状腺疾病等影响认知功能的疾病;②抑郁、焦虑等精神疾病;③颅内感染及其他严重自身免疫性疾病史;④过去3个月使用影响认知能力的药物;⑤严重疾病(恶性肿瘤,严重的肝肾功能损伤);⑥任何由于其他原因不适合参加。

该研究已得到伦理委员会批准,并已取得研究对象的知情同意。

1.2 研究方法

研究对象于入院4 h内由专业神经科医师询问病史并记录人口学资料,同时行神经系统体格检查;入院第2日清晨空腹肘静脉采血。标本置于无抗凝剂离心管中,1 h后以3 000 r/min离心10 min

后分离出血清,将分离的血清用冻存管分装后于-80度冰箱冻存,用于血清 AGEs 及 sRAGE 等指标的检测。将冻存的标本置于 37℃ 水浴箱中速溶后检测血清 AGEs、sRAGE 水平,使用全波长 GeminiXPS 荧光型酶标仪进行分析。

完善头颅 CT 或头颅 MR、心电图、胸片等检查。收集纳入研究对象的姓名、性别、年龄、身高、体重、糖尿病史、脑卒中病史;评定简易智力状态检查(Mini-mental State Examination, MMSE)及缺血指数量表(HachinskiInchemicScore, HIS)评分;计算体重指数(BMI) = 体重/身高²(kg/m²)。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行分析,对所有计量资料在分析前进行正态性检验。满足正态分布者以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用两独立样本 *t* 检验进行两组间比较,采用单因素方差分析进行多组间比较;对不满足正态分布者以中位数[M(P25, P75)]表示,组间及组内比较采用非参数检验。计数资料采用例数或百分比(%)表示,组间比较采用卡方检验。相关性分析采用 Spearman 秩相关分

析法;绘制 ROC 曲线,计算 AGEs 对 AD、VaD 的诊断价值。

2 结果

2.1 4 组间基本资料比较

四组患者在性别、年龄、糖尿病史、BMI 方面无显著性差异($P > 0.05$)。在 MMSE 评分上存在显著性差异,其中 VaD 组、AD 组的 MMSE 评分明显低于 N-VaD 组和正常对照组($P < 0.05$);N-VaD 组和正常对照组的 MMSE 评分无显著性差异($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 4 组间 AGEs、sRAGE 水平比较

血清 AGEs 在四组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。AD 组 AGEs 水平高于 VaD 组和正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);N-VaD 组 AGEs 水平高于 VaD 组和正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);其中 VaD 组和正常对照组之间,AD 组和 N-VaD 组之间无显著性差异($P > 0.05$)。sRAGE 水平在 4 组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 4 组间基本资料比较 [M(P25, P75); $\bar{x} \pm s$]

项目	VaD 组(n=64)	AD 组(n=34)	N-VaD 组(n=51)	正常对照组(n=31)	χ^2/t	<i>P</i>
男性	39	14	31	20	4.869	0.182
年龄(岁)	75.20 ± 6.30	73.35 ± 6.21	73.27 ± 5.59	73.29 ± 4.50	1.474	0.223
BMI(kg/m ²)	22.70 ± 2.70	23.52 ± 3.37	23.95 ± 3.45	23.50 ± 3.52	1.521	0.211
糖尿病	26	8	17	7	4.594	0.204
AGEs(ng/L)	425.97(362.19, 488.24) ^{bc}	510.85(414.32, 646.02) ^{ad}	531.14(454.20, 617.27) ^{ad}	438.30(335.68, 487.39) ^{bc}	23.267	0.000
sRAGE(ng/L)	250.17(193.56, 293.43)	221.02(182.24, 275.73)	246.01(178.81, 321.57)	238.31(179.75, 280.51)	1.417	0.702
MMSE 评分	13.55 ± 6.68 ^{bcd}	18.12 ± 5.36 ^{acd}	27.67 ± 1.52 ^{ab}	27.74 ± 1.21 ^{ab}	112.370	0.000

注:a 为与 VaD 组比较;b 为与 AD 组比较;c 为与 N-VaD 组比较;d 为与正常对照组比较。

2.3 相关性分析

采用 Spearman 秩相关法,对年龄、糖尿病、BMI、AGEs、sRAGE 等指标与 MMSE 评分进行相关性分析,结果显示,年龄与 MMSE 评分呈负相关;BMI 与 MMSE 评分呈正相关;糖尿病史、AGEs、sRAGE 与 MMSE 评分无明显相关性。见表 2。

表 2 MMSE 评分与年龄、糖尿病史、BMI、AGEs、sRAGE 相关性分析

统计值	年龄	糖尿病史	BMI	AGEs	sRAGE
<i>r</i>	-0.168	-0.094	0.151	0.135	0.001
<i>P</i>	0.023	0.210	0.043	0.700	0.986

2.4 ROC 曲线

血清 AGEs 诊断 AD 的受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC curve),曲线下面积(area under curve, AUC)为 0.617, $P < 0.05$,95% CI 为 0.510 ~ 0.725,说明血清 AGEs 对 AD 有较低诊断价值,血清 AGEs 诊断 AD 的临界值为 541.1364,对应的诊断灵敏度为 50%,特异度为 76%(图 1)。血清 AGEs 诊断 VaD 的 ROC 曲线,AUC 为 0.364, $P < 0.05$,95% CI 为 0.282 ~ 0.446,AUC 小于 0.5,说明血清 AGEs 对 VaD 不具有诊断价值(图 2)。

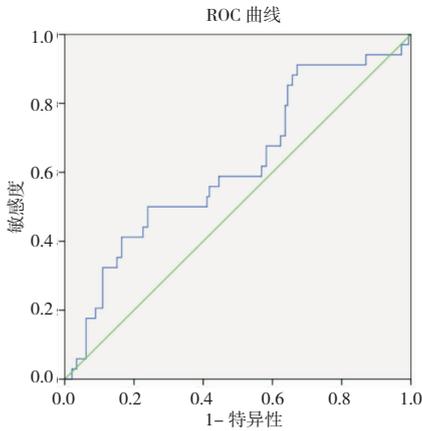


图1 AGEs 诊断 AD 的 ROC 曲线

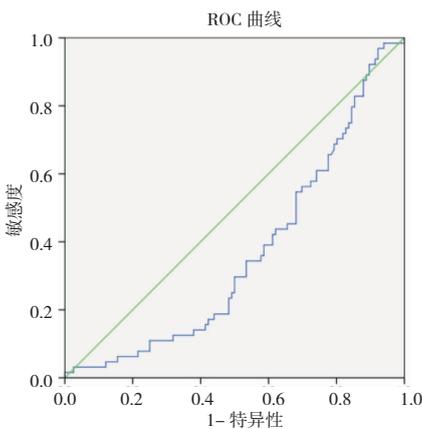


图2 AGEs 诊断 VaD 的 ROC 曲线

3 讨论

在正常情况, AGEs 修饰蛋白可以作为一种信号参与机体清除衰老组织及结构重建的过程;病理状态下, AGEs 可引起组织的细胞结构和功能异常,从而产生一系列病理变化^[10]。关于 AGEs 与 AD 关系的研究较多,其主要导致发病的机制可能表现在 AGEs 通过对 $A\beta$ 和 Tau 蛋白的修饰,影响细胞代谢;影响神经元的细胞周期;导致线粒体功能障碍;产生氧化应激损伤;影响自噬过程;影响血脑屏障的通透性;引发炎症反应等^[11]。关于 AGEs 与 VaD 的研究较少,多表现在 AGEs 通过损伤血管内皮,促进血小板的黏附聚集,促进血栓形成,使一氧化氮的生成和释放减少,导致血管壁水肿、影响血脑屏障的通透性等,即 AGEs 通过其直接作用及其和受体相互作用促进脑卒中和 VaD 的发生和发展^[12-15]。在本研究中发现, AGEs 在 AD 组和 N-VaD 组明显高于正常对照组,这与文献报道^[6,16]相符,提示 AGEs 可能通过上述多种机制促进 AD 的发生、发展。在本研究中 AGEs 在 AD 患者中的 ROC 曲

线显示 AUC 为 0.617, 说明血清 AGEs 对 AD 有较低诊断价值, 血清 AGEs 诊断 AD 的临界值为 541.1364, 对应的诊断灵敏度为 50%, 特异度为 76%。提示 AGEs 参与了 AD 的发病过程, 可能通过阻断 AGEs 作用途径而达到治疗 AD 的目的。在本次研究中, AGEs 在 VaD 组与正常对照组之间无显著性差异, 提示 AGEs 不能作为诊断 VaD 的实验室标志物。也有研究表明 AGEs 在 VaD 组水平明显高于正常对照组^[7], 因为关于 AGEs 与 VaD 关系的研究较少, 脑梗死后时间长短和病情严重程度不同均可能会影响 AGEs 水平, 尚需要更多的研究进一步明确 AGEs 在 VaD 患者中的水平及可能的作用机制。

晚期糖基化终末产物受体 (receptor for advanced glycation end products, RAGE) 是 AGEs 受体, 其细胞外域含 3 个免疫球蛋白样区域: 一个 V 型结构域和紧连的两个 C 型结构域 (C1/C2), V 结构域为配体结合区域^[17]。sRAGE 即 RAGE 细胞外段, 为配体结合部位, 具有 V 型片段紧接着两个 C 型片段的免疫球蛋白样结构^[18], 是构成 RAGE 的重要结构。同前所述, 研究证实血清 sRAGE 水平与痴呆明显相关, 有研究发现 AD 组血清 sRAGE 水平明显低于 VaD 组和正常对照组^[19]。但由于 sRAGE 广泛参与人体内的炎症反应, 其是否可以作为 AD 和 VaD 的特异生物标志物仍需进一步研究。在本研究中我们发现, 虽然 sRAGE 水平在 AD 组低于 VaD 组, 但差异不具有统计学意义, 其中 VaD 组 sRAGE 水平与 N-VaD 组和正常对照组比较差异也没有统计学意义, 提示 sRAGE 并不能作为诊断 AD 及 VaD 的实验室标志物。Liang 等^[20]研究表明 sRAGE 在 AD 组和 VaD 组低于正常对照组, 在 AD 组低于 VaD 组, 差异有统计学意义, 使用 ROC 曲线进行绘图分析, 发现其对 AD 具有诊断价值, 但 sRAGE 不能用于区别 AD 与 VaD 和其他类型的痴呆。Tang 等^[21]的研究表明, 在脑卒中后不同时间 sRAGE 波动在不同水平。有研究在关于糖尿病血管并发症的研究中发现, 正常对照组 sRAGE 水平低于伴有轻度血管并发症的糖尿病患者, 然而在伴有严重血管并发症的糖尿病患者中, sRAGE 水平比正常对照组反而更低, 提示 sRAGE 水平最初可能会减少 AGEs 的有害影响, 但还不足以阻碍其进展, 有可能在反应中逐渐耗竭, 而 AGEs 继续累积^[22,23]。本研究结果和 Liang 等文献报道不符, 我们所观察到的 sRAGE 与 AD 和 VaD 的关系可能只代表了真实关系的一部分, 这可能与干扰 sRAGE 水平

的因素过多,所纳入研究对象认知障碍的严重程度,样本量小等有关,脑梗死后时间长短可能也会影响其水平。关于sRAGE是否能作为诊断AD与VaD的血清标志物及其在AD和VaD患者中水平的差异仍需多中心、大样本排除干扰因素的研究进一步评估。

综上所述,血清AGEs可能与AD、脑卒中的发生有关;AGEs对AD有较低的诊断价值。但由于样本量少,可能导致结果的偏差,需进行大样本、多中心的研究进一步明确上述指标与AD及VaD的关系及可能的发病机制,为临床早期预防,早期诊断和治疗痴呆症提供依据。

参 考 文 献

[1] Adams ML, Grandpre J. Dose-response gradients between a composite measure of six risk factors and cognitive decline and cardiovascular disease [J]. *Prev Med*, 2016, 91: 329-334.

[2] 10 facts on dementia. World Health Organisation. <https://www.who.int/features/factfiles/dementia>, April 2017.

[3] Hishikawa N, Fukui Y, Sato K, et al. Characteristic features of cognitive, affective and daily living functions of late - elderly dementia [J]. *Geriatr Gerontol Int*, 2016, 16(4): 458-465.

[4] Andin U, Gustafson L, Passant U, et al. A Clinico-Pathological Study of Heart and Brain Lesions in Vascular Dementia [J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2005, 19(4): 222-228.

[5] Kalaria RN. Comparison between Alzheimer's disease and vascular dementia: Implications for treatment [J]. *Neurol Res*, 2003, 25(6): 661-664.

[6] Ko SY, Ko HA, Chu KH, et al. The Possible Mechanism of Advanced Glycation End Products (AGEs) for Alzheimer's Disease [J]. *Plos One*, 2015, 10(11): e0143345.

[7] 闫福岭,韩国玲,洪震.血管性痴呆患者的血清AGEs和AB水平研究[J].*中国神经精神疾病杂志*, 2005, 31(6): 464-465.

[8] Geroldi D, Falcone C, Emanuele E, et al. Decreased plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end-products in patients with essential hypertension [J]. *J Hypert*, 2008, 115(7): 1047-1050.

[9] Xu XY, Deng CQ, Wang J, et al. Plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end products in Alzheimer's disease [J]. *Int J Neurosci*, 2017, 127(5): 454-458.

[10] Salahuddin P, Rabbani G, Khan RH. The role of advanced glycation end products in various types of neurodegenerative disease: a therapeutic approach [J]. *Cell Mol Biol Letters*, 2014, 19(3): 407-437.

[11] 马宗艳,蔡宏斌,葛朝明.晚期糖基化终末产物与阿尔茨海默病的关系[J].*解放军医学杂志*, 2018, 43(1): 79-84.

[12] Hangaishi M, Taguchi J, Miyata T, et al. Increased Aggregation of Human Platelets Produced by Advanced Glycation End Products in Vitro [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 248(2): 285-292.

[13] 郑智楷,关瑞锦.晚期糖基化终末产物致动脉硬化的研究及药物干预[J].*中外医学研究*, 2011, 9(16): 163-164.

[14] Hoyer S. The brain insulin signal transduction system and sporadic (type II) Alzheimer disease: an update [J]. *J Neural Transmission*, 2002, 109(3): 341-360.

[15] Hussain M, Bork K, Gnanapragassam VS, et al. Novel insights in the dysfunction of human blood-brain barrier after glycation [J]. *Mechan Ageing Dev*, 2016, 155: 48-54.

[16] Kuhla A, Ludwig SC, Kuhla B, et al. Advanced glycation end products are mitogenic signals and trigger cell cycle reentry of neurons in Alzheimer's disease brain [J]. *Neurobiol Aging*, 2015, 36(2): 753-761.

[17] Sasaki N, Toki S, Chowei H, et al. Immunohistochemical distribution of the receptor for advanced glycation end products in neurons and astrocytes in Alzheimer's disease [J]. *Brain Res*, 2001, 888(2): 256-262.

[18] Boulanger E, Dequiedt P, Wautier JL. Advanced glycosylation end products (AGE): new toxins? [J]. *Néphrologie*, 2002, 23(7): 351.

[19] Southern L, Williams J, Esiri MM. Immunohistochemical study of N-epsilon-carboxymethyl lysine (CML) in human brain: relation to vascular dementia [J]. *BMC Neurol*, 2007, 7(1): 1-8.

[20] Liang F, Jia J, Wang S, et al. Decreased plasma levels of soluble low density lipoprotein receptor-related protein-1 (sLRP) and the soluble form of the receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in the clinical diagnosis of Alzheimer's disease [J]. *J Clin Neurosci*, 2013, 20(3): 357-361.

[21] Tang SC, Wang YC, Li YI, et al. Functional role of soluble receptor for advanced glycation end products in stroke [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(3): 585-594.

[22] Aubert CE, Michel PL, Gillery P, et al. Association of peripheral neuropathy with circulating advanced glycation end products, soluble receptor for advanced glycation end products and other risk factors in patients with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2014, 30(8): 679-685.

[23] El-Mesallamy HO, Hamdy NM, Ezzat OA, et al. Levels of soluble advanced glycation end product-receptors and other soluble serum markers as indicators of diabetic neuropathy in the foot [J]. *J Investig Med*, 2011, 59(8): 1233-1238.