

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2024.05.012
文章编号: 1005-8982 (2024) 05-0078-05

临床研究·论著

ASC自身抗体及总胆固醇与阿尔茨海默病的相关性研究*

朱晓鹏, 龙艳, 黄亮, 胡小童, 高霞, 邓娟

(陆军军医大学大坪医院 健康管理科, 重庆 400042)

摘要: **目的** 探讨凋亡相关斑点样蛋白自身抗体(NAbs-ASC)及总胆固醇(TC)与阿尔茨海默病(AD)的相关性。**方法** 选取2022年10月—12月陆军军医大学大坪医院神经内科门诊38例AD患者及健康管理科38例为对照组。比较两组血浆NAbs-ASC及总胆固醇水平,分析NAbs-ASC及TC与AD的相关性。**结果** AD组血浆的NAbs-ASC水平低于对照组($P < 0.05$),总胆固醇水平高于对照组($P < 0.05$)。Spearman相关性分析显示,NAbs-ASC水平与总胆固醇水平呈负相关($r_s = -0.290, P < 0.05$),认知功能水平与总胆固醇水平呈负相关($r_s = -0.380, P < 0.05$),而与血浆NAbs-ASC水平呈正相关($r_s = 0.550, P < 0.05$)。多因素Logistic回归分析结果显示,总胆固醇升高为AD的危险因素[$\hat{OR} = 3.004(95\% CI: 1.075, 8.396)$],NAbs-ASC升高为AD的保护因素[$\hat{OR} = 0.998(95\% CI: 0.997, 0.999)$]。**结论** NAb-ASC降低、总胆固醇升高与AD有相关性,并与认知功能水平下降有关。

关键词: 阿尔茨海默病; 凋亡相关斑点样蛋白自身抗体; 总胆固醇; 认知功能

中图分类号: R741

文献标识码: A

Association of plasma naturally occurring antibodies against ASC and total cholesterol with Alzheimer's disease*

Zhu Xiao-peng, Long Yan, Huang Liang, Hu Xiao-tong, Gao Xia, Deng Juan

(Department of Health Management, Daping Hospital, Army Medical University, Chongqing, 400042, China)

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD autoantibodies (NAbs-ASC) and total cholesterol (TC) levels with Alzheimer's disease (AD). **Methods** A total of 38 AD patients from the Neurology Department of Daping Hospital, Army Medical University, between October and December 2022, were selected, along with 38 healthy individuals from the Health Management Department as the control group. Plasma levels of NAb-ASC and TC were compared between the two groups, and the correlation between NAb-ASC, TC, and AD was analyzed. **Results** The plasma levels of NAb-ASC in the AD group were lower than those in the control group ($P < 0.05$), while the TC levels were higher ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis showed a negative correlation between NAb-ASC levels and TC levels ($r_s = -0.290, P < 0.05$), a negative correlation between cognitive function levels and TC levels ($r_s = -0.380, P < 0.05$), and a positive correlation between plasma NAb-ASC levels and cognitive function levels ($r_s = 0.550, P < 0.05$). Multifactorial logistic regression analysis showed that elevated TC was a risk factor for AD [$\hat{OR} = 3.004(95\% CI: 1.075, 8.396)$], while elevated NAb-ASC was a protective factor for AD [$\hat{OR} = 0.998(95\% CI: 0.997, 0.999)$]. **Conclusions** The decrease in NAb-ASC and the increase in TC are correlated with AD and are associated with the decline in cognitive function.

收稿日期: 2023-05-29

* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 82071435)

[通信作者] 邓娟, E-mail: dj941@sina.com

Keywords: Alzheimer disease; apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD autoantibodies; total cholesterol; cognitive function

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种以认知功能进行性下降为主要表现的神经退行性疾病,患者的认知、行为、情感及其他神经功能会出现不同程度的损害^[1-2]。AD的主要病理表现为老年斑的沉积与神经元纤维缠结。然而最新的研究发现AD可能是一种自身免疫性疾病,在AD患者的脑脊液中发现了针对自身组织的特异性抗体(自身抗体),并且在AD的发病过程中其自身抗体谱发生紊乱^[3],同时,AD患者血脑屏障的破坏或通透性增加^[4],可能使免疫细胞更容易进入脑组织,并产生自身抗体来攻击神经元而引起神经元死亡。这说明自身免疫可能在AD的病理中起着核心作用。凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)在巨噬细胞、树突状细胞等免疫细胞中表达。研究发现ASC在 β 淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)聚集和沉积方面的重要调控作用。ASC促进A β 的产生,而过多的A β 可激活小胶质细胞促使ASC斑点形成,ASC斑点迅速与A β 结合进而促进A β 的聚集。因此,阻断ASC与A β 的聚集可能具有防治AD的作用。既往研究表明,自身免疫性疾病患者血浆中存在针对ASC的自身抗体(naturally occurring antibodies against ASC, NAbs-ASC)^[6]。NAbs-ASC通过与ASC斑点特异性结合具有减少A β 聚集的作用,然而目前其在AD中的变化特点及对AD发生、发展的作用尚不明确。总胆固醇(total cholesterol, TC)是神经细胞膜的重要组成部分,高TC水平可增加血脑屏障的通透性。研究发现脑内TC水平增加,与A β 的降解与产生有关,并且降低TC水平,自身ASC水平也随之降低^[8-10]。表明ASC与TC可能存在一定的相关性,但其具体的机制尚不清楚。本研究旨在探讨NAbs-ASC及TC与AD的相关性,以期进一步研究AD的发病机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2022年10月—12月陆军军医大学大坪医院神经内科门诊38例AD患者及健康管理科38例为对照组。AD纳入标准:①45岁 \leq 年龄 $<$ 85岁;

②AD的诊断依据2018版NIA-AA标准^[11]并经匹兹堡B型化合物正电子发射断层扫描(PiB-PET)确认阳性。对照组纳入标准:①45岁 \leq 年龄 $<$ 85岁;②简易精神状态检查(mini-mental state examination, MMSE)评估其认知功能正常者^[12]。排除标准:①既往有AD家族史;②既往有其他神经退行性病变史或其他中枢神经系统疾病,包括脑部肿瘤、癫痫、脑外伤等;③既往有恶性肿瘤,严重心、肝、肾等重要器官疾病及各类急慢性炎症;④其他全身性情况,如甲状腺功能减退、维生素B12或叶酸缺乏、烟酸缺乏、严重贫血、低钠血症、低钙血症、神经梅毒、人类免疫缺陷病毒感染、酒精及药物滥用等;⑤拒绝签署知情同意书者。本研究所有研究对象经本院体检中心或门诊自愿签署知情同意书,完成体格检查及实验室检查等相应指标。本研究遵循《赫尔辛基宣言》,通过陆军军医大学陆军特色医学中心(大坪医院)伦理委员会批准,伦理审批号:2022-290。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集 包括年龄、性别、既往病史(高血压病、糖尿病、冠心病、脑卒中等)、吸烟、饮酒、空腹血糖、TC、甘油三酯等。

1.2.2 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测NAbs-ASC水平 受试者空腹抽取5 mL静脉血置于肝素抗凝管中,使用低速台式离心机(cenceTD5A-WS,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)2 000 r/min离心10 min,取上清液保存至-80 °C冰箱。ELISA步骤如下:①标准品的稀释:把原倍标准品稀释为5个不同浓度。②加样:分别设空白孔(不加样品及酶标试剂)、标准孔、待测样品孔。在标准孔中加入标准品50 μ L,待测样品孔中先加样品稀释液40 μ L,然后再加待测样品10 μ L。③温育:用封板膜封板后置于37 °C条件下温育30 min。④配液:浓缩洗涤液稀释备用。⑤洗涤:弃去液体,加入洗涤液30 s后弃去,重复5次。⑥加酶:每孔加入酶标试剂50 μ L,空白孔除外。⑦温育:操作同③。⑧洗涤:操作同⑤。⑨显色:每孔依次加入显色剂A与显色剂B各50 μ L,轻轻震荡混匀,37 °C避光显色10 min。⑩终止:每孔加终止液50 μ L。⑪测定:酶标仪450 nm波长处测量各孔的吸

光度值。ELISA 试剂盒购自上海泛柯实业有限公司。

1.2.3 MMSE 量表评估认知功能 该量表共 11 项, 各项内容计分总和为 30 分, 涉及定向力、记忆力、注意力和计算力、回忆、语言 5 个方面的内容。初中及以上学历者 > 26 分, 小学学历者 > 22 分, 文盲 > 19 分为认知功能正常。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 26.0 与 GraphPad Prism 9.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 或中位数 (四分位数) [M (P₂₅, P₇₅)] 表示, 比较采用 *t* 检验或秩和检验; 计数资料以构成比或率 (%) 表示, 比较采用 χ^2 检验; 相关分析用 Spearman 法; 影响因素的分

析采用多因素一般 Logistic 回归分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

两组的性别构成、受教育年限、高血压占比、糖尿病占比、冠心病占比、脑卒中占比、吸烟占比、饮酒占比、甘油三酯水平比较, 差异均无统计学意义 (P > 0.05)。两组的年龄、空腹血糖、TC 水平、MMSE 评分比较, 差异有统计意义 (P < 0.05); AD 组患者年龄低于对照组, 空腹血糖、TC 水平高于对照组, MMSE 评分低于对照组。见表 1。

表 1 AD 组与对照组的一般资料比较 (n=38)

组别	男/女/例	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	受教育年限/[年, M(P ₂₅ , P ₇₅)]	高血压 例(%)	糖尿病 例(%)	冠心病 例(%)	脑卒中 例(%)
AD 组	12/26	67.18 \pm 1.77	9.0(6.0, 12.0)	18(48.65)	9(25.00)	5(13.20)	2(5.60)
对照组	15/23	72.18 \pm 1.34	7.5(7.5, 9.75)	20(52.60)	11(28.90)	10(26.30)	5(13.20)
$\chi^2 / t / Z$ 值	0.517	2.247	1.729	0.119	0.146	1.766	1.247
P 值	0.472	0.028	0.084	0.730	0.702	0.184	0.264

组别	吸烟 例(%)	饮酒 例(%)	空腹血糖/[mmol/L, M(P ₂₅ , P ₇₅)]	TC/[mmol/L, $\bar{x} \pm s$]	甘油三酯/[mmol/L, M(P ₂₅ , P ₇₅)]	MMSE 评分 [M(P ₂₅ , P ₇₅)]
AD 组	3(7.90)	5(13.20)	5.69(5.08, 6.56)	4.90 \pm 0.18	0.98(0.81, 1.41)	14(8, 19)
对照组	5(13.20)	3(7.90)	4.91(4.44, 6.48)	4.13 \pm 0.11	1.15(0.85, 1.72)	27(26, 28)
$\chi^2 / t / Z$ 值	0.559	0.559	2.474	3.574	1.153	7.523
P 值	0.455	0.455	0.013	0.001	0.249	0.000

2.2 两组血浆 NAb_s-ASC 水平的比较

AD 组患者的血浆 NAb_s-ASC 水平为 1 587.95 ng/L (1 329.43, 1 901.92), 对照组的血浆 NAb_s-ASC 水平为 2 650.95 ng/L (2 186.32, 3 114.77), 经秩和检验, 差异有统计学意义 (P < 0.05); AD 组患者低于对照组。见图 1。

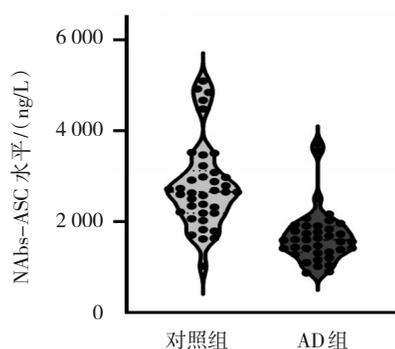


图 1 两组血浆 NAb_s-ASC 水平的比较

2.3 NAb_s-ASC 和 TC 的相关性及两者与 MMSE 评分的相关性

Spearman 相关性分析显示, NAb_s-ASC 与 TC 呈负相关 ($r_s = -0.290$, P = 0.012); MMSE 评分与 TC 呈负相关 ($r_s = -0.380$, P = 0.000), 与 NAb_s-ASC 呈正相关 ($r_s = 0.550$, P = 0.000)。见图 2。

2.4 AD 患者相关危险因素的 Logistic 回归分析

单因素一般 Logistic 回归分析显示, TC 升高 [$\hat{OR} = 2.532$ (95% CI: 1.407, 4.557)] 为 AD 的危险因素 (P < 0.05); NAb_s-ASC 升高 [$\hat{OR} = 0.998$ (95% CI: 0.997, 0.999)]、年龄 [$\hat{OR} = 0.948$ (95% CI: 0.902, 0.995)] 为 AD 的保护因素 (P < 0.05)。多因素一般 Logistic 回归分析 (矫正性别、年龄、甘油三酯、高血压、冠心病、糖尿病、脑卒中、吸烟、饮酒、空腹血糖后) 显示: TC 升高 [$\hat{OR} = 3.004$ (95% CI: 1.075, 8.396)] 为 AD 的危险

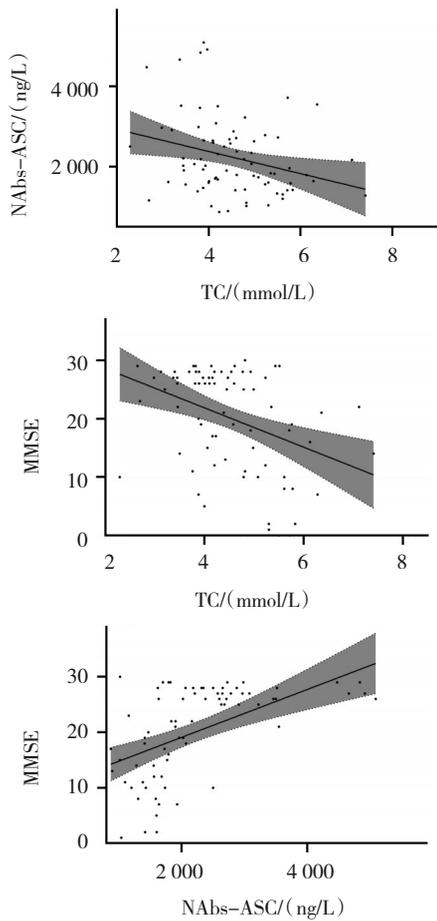


图2 NAbs-ASC和TC的相关性及两者与MMSE评分的相关性线性图

因素 ($P < 0.05$); NAbs-ASC 升高 [$OR = 0.998$ (95% CI: 0.997, 0.999)] 为 AD 的保护因素 ($P < 0.05$)。见图 3。

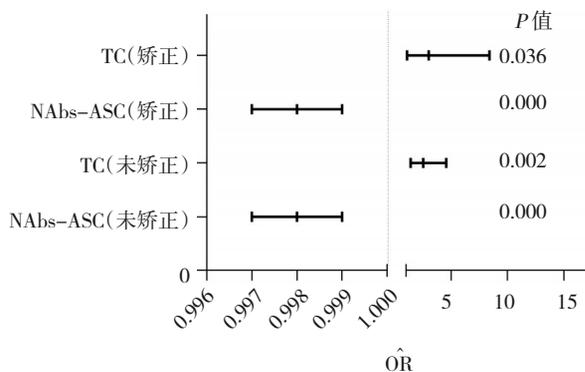


图3 一般Logistic回归分析AD的危险因素

3 讨论

本研究结果显示, AD 患者血浆 TC 水平高于对照组, 并且 TC 水平与 MMSE 评分呈负相关, 提示 TC 升高与认知功能下降相关。本研究发现 AD 患者 TC 水平高于对照组, 与既往研究结论一致^[13-14], 高 TC

与认知障碍相关, 也有研究发现高 TC 对 AD 无明显影响^[15-16], 这说明 TC 对 AD 的影响存在一定的争议。研究发现 TC 升高可能具有抑制 α -分泌酶, 增加 β -分泌酶的作用, 增加 A β 生成进而促进其沉积^[17-18]。此外, 高水平的胆固醇导致脑血管动脉硬化形成引起管腔狭窄, 脑细胞存在不同程度的缺血缺氧引起氧自由基生成, 进而加重 AD 病理与认知障碍^[19], 这可能是 TC 水平与认知功能下降相关的原因。

ASC 是炎症小体的重要接头蛋白, 参与细胞焦亡、炎症、免疫反应等过程, 是启动免疫反应的关键蛋白。研究发现 ASC 促进 AD 患者 A β 斑块聚集与神经原纤维缠结, 可能是 AD 进展的驱动因子^[20]。抗 ASC 特异性抗体通过与游离的 ASC 结合, 阻断 ASC 与 A β 的结合, 进而减少 ASC 对 A β 聚集的促进作用^[21-23]。本研究发现 AD 患者的 NAbs-ASC 水平低于对照组, 并与认知功能呈正相关, 这表明 NAbs-ASC 可能对 AD 具有保护作用。研究表明, 机体 TC 水平降低的同时, ASC 的表达也降低, 这提示 ASC 表达与总胆固醇水平可能存在关联^[8-10]。本研究结果发现, 血浆 NAbs-ASC 水平与 TC 水平呈负相关, 这可能与高 TC 水平增加血脑屏障的通透性有关。

单因素一般 Logistic 回归分析显示, TC 升高为 AD 的危险因素, NAbs-ASC 升高为 AD 的保护因素; 且矫正性别、年龄、甘油三酯、高血压、冠心病、糖尿病、脑卒中、吸烟、饮酒、空腹血糖后, 多因素一般 Logistic 回归分析显示, TC 升高仍为 AD 的危险因素, NAbs-ASC 升高仍为 AD 的保护因素。这之前的研究结果: 总胆固醇升高为 AD 的危险因素是一致的^[24]。与其他的研究不同的是^[15, 25], 本研究结果发现, AD 患者与对照组的甘油三酯比较, 差异无统计学意义, 这可能是 AD 患者血脂代谢紊乱, 存在着其他的作用机制, 同时也说明 AD 患者更容易发生 TC 紊乱。本研究还发现 AD 患者与对照组的受教育年限比较, 差异无统计学意义, 这与其他研究结果不同^[26], 可能的原因是本研究样本量少, 纳入的 AD 患者的病理及认知程度的不同带来的结果。

本研究样本量相对较小, 未能进行亚组分析进一步明确性别及年龄可能带来的差异; 也可能存在其他可能影响测量结果的因素, 如前驱糖尿病、胰岛素抵抗、营养不良等^[26], 都可能对结果造成一定的偏倚。同时 MMSE 量表目前已广泛被国内外研究者

用来评估认知功能,但可能会不可避免地对本研究的低学历研究对象带来误差。

综上所述,AD患者TC水平高于对照组而NAb_s-ASC水平低于对照组,NAb_s-ASC水平升高为AD的保护因素,TC水平升高为AD的独立危险因素,且两者呈负相关。但TC与NAb_s-ASC呈负相关的机制目前并不清楚,需要进一步的研究阐明。

参 考 文 献 :

- [1] KNOPMAN D S, AMIEVA H, PETERSEN R C, et al. Alzheimer disease[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7(1): 33.
- [2] WEUVE J, HEBERT L E, SCHERR P A, et al. Prevalence of Alzheimer disease in US states[J]. *Epidemiology*, 2015, 26(1): e4-e6.
- [3] DEMARSHALL C A, NAGELE E P, SARKAR A, et al. Detection of Alzheimer's disease at mild cognitive impairment and disease progression using autoantibodies as blood-based biomarkers[J]. *Alzheimers Dement (Amst)*, 2016, 3: 51-62.
- [4] STORCK S E, HARTZ A M S, PIETRZIK C U. The blood-brain barrier in Alzheimer's disease[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2022, 273: 247-266.
- [5] ARSHAVSKY Y I. Alzheimer's disease: from amyloid to autoimmune hypothesis[J]. *Neuroscientist*, 2020, 26(5-6): 455-470.
- [6] FRANKLIN B S, BOSSALLER L, de NARDO D, et al. The adaptor ASC has extracellular and 'prionoid' activities that propagate inflammation[J]. *Nat Immunol*, 2014, 15(8): 727-737.
- [7] MCGUINNESS B, O'HARE J, CRAIG D, et al. Cochrane review on 'statins for the treatment of dementia'[J]. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2013, 28(2): 119-126.
- [8] KONG N, XU Q, CUI W, et al. PCSK9 inhibitor inclisiran for treating atherosclerosis via regulation of endothelial cell pyroptosis[J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10(22): 1205.
- [9] FU Y, YUAN J Y, SANG F, et al. Biejiajian pill ameliorates diabetes-associated atherosclerosis through inhibition of the NLRP3 inflammasome[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 9131178.
- [10] FANG Q L, LI X P, WANG M M, et al. Walnut green husk ethanol extract improves gut microbiota and their metabolites associated with NLRP3 in non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Food Funct*, 2022, 13(11): 6387-6403.
- [11] JACK C R, BENNETT D A, BLENNOW K, et al. NIA - AA research framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease[J]. *Alzheimer's & Dementia*, 2018, 14(4): 535-562.
- [12] SALAMI M, ALINAGHIPOUR A, DANESHVAR R, et al. Adapted MMSE and TYM cognitive tests: how much powerful in screening for Alzheimer's disease in Iranian people[J]. *Aging Ment Health*, 2020, 24(6): 1010-1017.
- [13] WANG P, ZHANG H H, WANG Y, et al. Plasma cholesterol in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia[J]. *Transl Neurosci*, 2020, 11(1): 116-123.
- [14] FU J J, HUANG Y, BAO T, et al. Effects of sex on the relationship between apolipoprotein E gene and serum lipid profiles in Alzheimer's disease[J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14: 844066.
- [15] SAKURAI H, HANYU H, SATO T, et al. Vascular risk factors and progression in Alzheimer's disease[J]. *Geriatr Gerontol Int*, 2011, 11(2): 211-214.
- [16] LI L, CAO D F, DESMOND R, et al. Cognitive performance and plasma levels of homocysteine, vitamin B12, folate and lipids in patients with Alzheimer disease[J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2008, 26(4): 384-390.
- [17] XIONG H Q, CALLAGHAN D, JONES A, et al. Cholesterol retention in Alzheimer's brain is responsible for high beta- and gamma-secretase activities and Abeta production[J]. *Neurobiol Dis*, 2008, 29(3): 422-437.
- [18] KOJRO E, GIMPL G, LAMMICH S, et al. Low cholesterol stimulates the nonamyloidogenic pathway by its effect on the alpha -secretase ADAM 10[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(10): 5815-5820.
- [19] ZHANG X L, TONG T, CHANG A, et al. Midlife lipid and glucose levels are associated with Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(1): 181-193.
- [20] HULSE J, BHASKAR K. Crosstalk between the NLRP3 inflammasome/ASC speck and amyloid protein aggregates drives disease progression in Alzheimer's and Parkinson's disease[J]. *Front Mol Neurosci*, 2022, 15: 805169.
- [21] WHITE C S, LAWRENCE C B, BROUGH D, et al. Inflammasomes as therapeutic targets for Alzheimer's disease[J]. *Brain Pathol*, 2017, 27(2): 223-234.
- [22] SARESELLA M, LA ROSA F, PIANCONE F, et al. The NLRP3 and NLRP1 inflammasomes are activated in Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurodegener*, 2016, 11: 23.
- [23] VENEGAS C, KUMAR S, FRANKLIN B S, et al. Microglia-derived ASC specks cross-seed amyloid- β in Alzheimer's disease[J]. *Nature*, 2017, 552(7685): 355-361.
- [24] CHEN H, DU Y, LIU S, et al. Association between serum cholesterol levels and Alzheimer's disease in China: a case-control study[J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2019, 70(4): 405-411.
- [25] HELZNER E P, LUCHSINGER J A, SCARMEAS N, et al. Contribution of vascular risk factors to the progression in Alzheimer disease[J]. *Arch Neurol*, 2009, 66(3): 343-348.
- [26] BAE J B, KIM Y J, HAN J W, et al. Incidence of and risk factors for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment in Korean elderly[J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2015, 39(1/2): 105-115.
- [27] WEN H T, GRIS D, LEI Y, et al. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(5): 408-415.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 朱晓鹏, 龙艳, 黄亮, 等. ASC自身抗体及总胆固醇与阿尔茨海默病的相关性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2024, 34(5): 78-82.

Cite this article as: ZHU X P, LONG Y, HUANG L, et al. Association of plasma naturally occurring antibodies against ASC and total cholesterol with Alzheimer's disease[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2024, 34(5): 78-82.