

HMGB1 与 Th17 在阿尔兹海默症中的诊断价值

韩榕¹, 胡金莲²

1. 香港理工大学, 香港 999077; 2. 香港城市大学, 香港 999077

摘要: **目的** 分析高迁移率族蛋白 1(HMGB1)与辅助性 T 细胞(Th17)在阿尔兹海默症(AD)患者中的诊断价值,为临床应用提供依据。**方法** 选取 2019 年 7 月至 2020 年 2 月于山西医科大学第二医院就诊的 107 例 AD 患者作为 AD 组,选择同期的 107 例健康人作为对照组,用酶联免疫吸附测定法和流式细胞仪分别检测血清中的 HMGB1 和 Th17 计数,并用 ROC 曲线分析 HMGB1 及 Th17 单独及联合诊断 AD 的效能。**结果** AD 组 HMGB1 及 Th17 显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。严重意识障碍 AD 患者血清中 HMGB1 及 Th17 显著高于轻度意识障碍患者($P < 0.01$)。联合检测诊断 AD 的特异度、敏感度高于单独 HMGB1 和单独 Th17 检测诊断。HMGB1 与 Th17 对于 AD 诊断准确度的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.754、0.812。**结论** HMGB1 与 Th17 是诊断 AD 的敏感度高、特异性强的标志物,有利于监测 AD 患者病情、观察疗效和指导治疗。二者的联合使用对于 AD 的鉴别诊断有重要意义。

关键词: 高迁移率族蛋白 1; 辅助性 T 细胞; 阿尔兹海默症; 诊断价值

中图分类号: R749.1+6 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2021)02-0224-03

Diagnosis value of HMGB1 combined with Th17 in Alzheimer's disease

HAN Rong*, HU Jin-lian

* Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong 999077, China

Abstract: Objective To analyze the diagnosis value of high mobility group box 1 protein(HMGB1) combined with T helper cell 17(Th17) in Alzheimer's disease(AD), and to provides evidence for clinical application. **Method** From July 2019 to February 2020, 107 patients from the Second Affiliated Hospital of Shanxi Medical University with AD were selected as the AD group and 107 healthy people were collected as the control group. Serum HMGB1 and Th17 levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay and flow cytometry. ROC curve was used to analyze the efficacy of HMGB1 and Th17 alone and in combination in diagnosing AD. **Results** HMGB1 and Th17 in AD group were higher than those in control group, the difference was statistically significant ($P < 0.01$). The serum levels of HMGB1 and Th17 in AD patients with severe consciousness disorder were higher than those in patients with mild consciousness disorder ($P < 0.01$). The specificity and sensitivity of combined testing in the diagnosis of AD were higher than those of HMGB1 alone and Th17 alone. The area under the ROC curve (AUC) of HMGB1 and Th17 for AD diagnosis accuracy were 0.754 and 0.812, respectively. **Conclusions** HMGB1 and Th17 are highly sensitive and specific markers of AD, which are helpful for monitoring the condition of AD patients, observing the efficacy and guiding treatment. The combined use of HMGB1 and Th17 is of great significance for the differential diagnosis of AD.

Keywords: High mobility group box 1 protein; T helper cell 17; Alzheimer's disease; Diagnosis value

阿尔兹海默症(Alzheimer's disease, AD)属于痴呆症中的一种。老年痴呆症以 AD 最多(50% ~ 80%),其次为帕金森病(PD)、亨廷顿病(HD)、肌萎缩侧索硬化症(ALS)等^[1]。研究表明,老年痴呆症的发病因素具有遗传性,但是该病的确切病因仍未知。关于高迁移率族蛋白 1(high mobility group box 1 pro-

tein, HMGB1)的研究多存在于脓毒症等感染性疾病中,少数有关 HMGB1 的实验研究显示,其在 AD 中的发生发展及预后等疾病演变、病理变化过程中也发挥着重要的作用^[2]。本研究旨在探讨联合监测 HMGB1 与 Th17 对 AD 诊断的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取在2019年7月至2020年2月于山西医科大学第二医院就诊的AD患者,诊断标准参照《中国痴呆与认知障碍诊治指南》^[3],排除长期或严重心源性休克、烧伤、手术后、及创伤的患者。最终107例AD患者纳入研究(AD组)。依据《中国精神疾病分类方案与诊断标准第二版修订本(CCMD-2-R)阿尔茨海默病和谵妄诊断标准》中意识障碍的分类将AD分为严重意识障碍和轻度意识障碍^[4]。随机选取同期体检的107例健康人作为对照组。已获得所有患者或其亲属的知情同意。本研究经医院医学伦理委员会批准。两组受试者性别和年龄等一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。见表1。

1.2 方法 取其外周静脉血标本15 ml于血清分离器凝胶管中,室温3 000 r/min(离心半径13.5 cm)离心15 min。分离的血清置于1 ml冷冻管中,将每一位患者的分离血清一部分用于Th17分析,其余的在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下储存,直到进行HMGB1分析。为避免反复的冻融循环,对样品进行单次测定。采用酶联免疫吸附法检测血清迁移率族蛋白1(HMGB1),仪器为贝克曼AU5808分析仪,试剂购买自美国贝克曼。采用流式细胞仪检测辅助性T细胞(Th17)数量,仪器为Beckman Coulter(贝克曼库尔特),试剂购于美国Beckman Coulter, Inc.。

1.3 统计学方法 采用SPSS 23.0软件处理数据。计数资料以例表示,采用 χ^2 检验比较,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用独立样本 t 检验比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组受试者血清HMGB1及Th17水平比较 AD组HMGB1及Th17显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表1。

2.2 不同意识功能AD患者HMGB1及Th17比较 严重意识障碍患者血清中HMGB1及Th17显著高于轻度意识障碍患者($P < 0.01$)。见表2。

2.3 HMGB1及Th17单独与联合诊断AD的效能 本研究用ROC曲线得出HMGB1诊断AD的临界值为0.6 ng/ml, Th17临界值为1.5个/ μl ; HMGB1诊断AD的约登指数为0.326, Th17为0.752; HMGB1诊断AD特异度为89.00%, 敏感度为49.10%; Th17诊断AD的特异度为93.00%, 敏感度为76.50%;

HMGB1与Th17两者联合诊断AD的特异度为95.00%(HMGB1 > 0.6 ng/ml和/或Th17 > 1.5 个/ μl), 敏感度为86.00%(HMGB1 > 0.6 ng/ml和/或Th17 > 1.5 个/ μl)。联合检测诊断AD的特异度、敏感度高于单独HMGB1和单独Th17检测诊断。HMGB1与Th17对于AD诊断准确度的ROC曲线下面积(AUC)分别是0.754、0.812。见图1。

表1 两组受试者一般资料及血清HMGB1、Th17水平比较 ($n = 107, \bar{x} \pm s$)

组别	男/女(例)	年龄(岁)	HMGB1(ng/ml)	Th17(个/ μl)
AD组	64/43	61.3 \pm 11.3	0.68 \pm 0.12	2.1 \pm 0.6
对照组	72/35	59.3 \pm 12.6	0.11 \pm 0.05	0.5 \pm 0.1
t 值	1.291	1.222	45.354	27.208
P 值	0.256	0.223	< 0.001	< 0.001

表2 不同意识功能AD患者HMGB1及Th17比较 ($\bar{x} \pm s$)

意识功能	例数	HMGB1(mg/L)	Th17(个/ μl)
严重意识障碍	54	0.74 \pm 0.03	2.2 \pm 0.5
轻度意识障碍	53	0.23 \pm 0.08	0.8 \pm 0.3
t 值		43.815	17.522
P 值		< 0.001	< 0.001

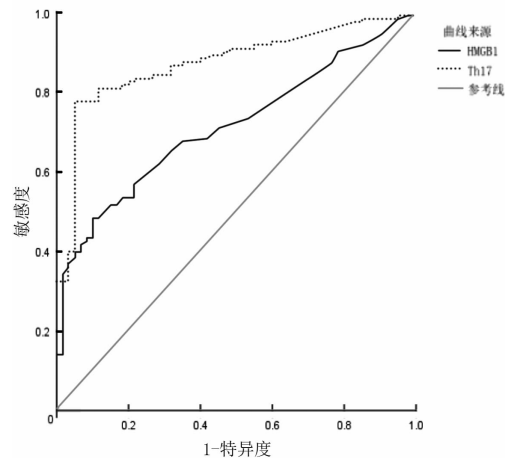


图1 HMGB1与Th17对于AD诊断效能的ROC曲线

3 讨论

AD可能的发病机制包括A β 沉积、tau蛋白过度磷酸化、神经血管功能紊乱、细胞周期异常、炎症、氧化应激、线粒体功能障碍^[5]。而由A β 沉积引起的炎症反应在其发病机制中至关重要。HMGB1及晚期糖基化终末产物受体(RAGE)均可参与A β 沉积而在AD中发挥作用,两者结合后也可引起炎症反应等效应,促进AD的进展^[6]。Th17细胞、调节性T细胞(Treg)是近年来新发现的CD4⁺T细胞亚群^[7]。研究表明,Th17、Treg及其平衡在人体自身免疫稳定和抗肿瘤免疫过程中起着重要作用。通过ELISA检测AD患者发现损伤组上清液中HMGB1、IL-1 β 、TNF- α

均高于正常细胞组^[8]。体外 rhHMGB1 刺激后, PB-MCs 内 RAGE、IL-6 和 ROR γ t mRNA 表达明显增高, 而 Foxp3 mRNA 表达降低^[9]。在 AD 患者中, 其外周血 Th1 和 Th17 细胞百分比显著上升, 而 Th2 和 Treg 细胞下降, IL-2 和 IFN- γ 水平上升, 而 IL-4 下降^[10]。

Th17 与 AD 高度相关。高盐分首先杀死肠道中的微生物, 从而刺激身体中分泌白细胞介素的 Th17 细胞增殖, 这会增加血液中的一种 IL-17^[11]。白细胞介素是在白细胞或免疫细胞间相互作用的淋巴因子, 它和血细胞生长因子相互协调作用, 共同完成造血和免疫调节^[12]。但这种物质在量大时又会损伤血管, 增加心脑血管疾病风险, 影响血管壁上的平滑肌正常舒张, 最终导致脑部供血减少, 引发认知障碍^[13]。

miR-181a 调控 Th17/Treg 细胞免疫在 AD 中的作用及机制研究^[14]。有研究表明外周血 HMGB1 经 RAGE-IL-6 途径调控 Th17/Treg。AD 前期患者外周血中高表达的 HMGB1, 可能通过 RAGE-IL-6 信号途径, 调节 Th17/Treg 平衡向 Th17 方向偏移, 加重炎症反应, 参与 AD 前期的发病。另一些研究分析了 AD 前期患者外周血中 HMGB1 与 Th17、Treg 细胞及细胞因子水平的关系, 发现 HMGB1 通过 RAGE-IL-6 轴影响 Th17/Treg 平衡的机制^[15]。RAGE 配体不仅有 RAGE, 还包括 A β 、S100b 和 HMGB1。RAGE 与这些配体相互作用导致炎症状态的发生, 进而导致多种慢性疾病如糖尿病、炎症和 AD。

AD 患者血清与脑脊液中的 HMGB1 表达不同。HMGB1 在 AD 患者血清中的表达量显著升高, 可能对 AD 的早期治疗具有重要临床意义。但脑脊液中 HMGB1 的表达量与正常对照组无差异^[16]。

本研究采用 HMGB1 > 0.6 ng/ml 和/或 Th17 > 1.5 个/ μ l 联合诊断 AD 患者, 其敏感性和特异性分别达到 86.00% 和 95.00%。此结果显示, HMGB1 和 Th17 联合应用对诊断 AD 是有效的。

综上所述, HMGB1 与 Th17 是 AD 的敏感度高、特异性强的标志物, 有利于监测 AD 患者病情、观察疗效和指导治疗。二者的联合使用对于 AD 的鉴别诊断有重要意义。

参考文献

[1] 胡潇云, 龙盛双, 邱隆敏, 等. 阿尔兹海默病患者医院感染危险

因素的 meta 分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(8): 1780 - 1784.

- [2] 姜红菊, 王蕾, 李润智, 等. Th1/Th2、Treg/Th17 漂移在急性冠状动脉综合征中的研究进展[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2013, 7(7): 3104 - 3106.
- [3] 中国痴呆与认知障碍诊治指南写作组, 中国医师协会神经内科医师分会认知障碍疾病专业委员会. 2018 中国痴呆与认知障碍诊治指南(八): 快速进展性痴呆的诊断[J]. 中华医学杂志, 2018, 98(21): 1650 - 1652.
- [4] 范肖冬. ICD 10 精神与行为障碍分类[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 50 - 51.
- [5] 梁小仲, 姚华国, 邵义明, 等. 姜黄素对脓毒症大鼠肺组织高迁移率族蛋白 B1 水平的影响[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2011, 5(3): 221 - 223.
- [6] 崔瑶, 秦明照. Th17 细胞生物学功能及与心血管疾病关系的研究进展[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2011, 5(8): 2357 - 2359.
- [7] Zhang YF, Liu MF, Sun HR, et al. Matrine improves cognitive impairment and modulates the balance of Th17/Treg cytokines in a rat model of A β 1-42-induced Alzheimer's disease[J]. Cejoi, 2015, 4: 411 - 419.
- [8] 陈晋广, 刘翔, 朱明芳. Th17 细胞的临床研究[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(6): 1281 - 1283.
- [9] 王健, 杨晶, 穆雅琴, 等. 外周血 HMGB1 经 RAGE-IL-6 途径调控 Th17/Treg 参与子痫前期的发病[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2018, 38(2): 124 - 129.
- [10] 杨利娇, 王虹, 王文丰, 等. 高迁移率族蛋白 B1 与缺血再灌注损伤的研究新进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2017, 19(7): 106 - 108.
- [11] 芦泽兰, 乔宇琪, 冉志华. Th17 细胞和肠道菌群在炎症性肠病发病中的作用[J]. 胃肠病学, 2015, 20(10): 49 - 51.
- [12] Zhang J, Ke KF, Liu Z, et al. Th17 cell-mediated neuroinflammation is involved in neurodegeneration of A β 1-42-induced Alzheimer's disease model rats[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e75786.
- [13] Fujita K, Motoki K, Tagawa K, et al. HMGB1 triggers neurite degeneration via TLR4-MARCKS, and is a potential therapeutic target for Alzheimer's disease[J]. J Neurol Sci, 2017, 381: 64 - 65.
- [14] Sims GP, Rowe DC, Rietdijk ST, et al. HMGB1 and RAGE in inflammation and cancer[J]. Annu Rev Immunol, 2010, 28(1): 367 - 388.
- [15] Paudel YN, Angelopoulou E, Piperi C, et al. Impact of HMGB1, RAGE, and TLR4 in Alzheimer's disease (AD): from risk factors to therapeutic targeting[J]. Cells, 2020, 9(2): 383.
- [16] 潘舒月, 青玉凤, 周京国. 高迁移率族蛋白 B1: 自身免疫性疾病重要炎症分子[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2013, 7(2): 198 - 202.

收稿日期: 2020-03-15 修回日期: 2020-04-02 编辑: 王宇