

盐酸美金刚对阿尔茨海默病患者血清 S100B 和抗脑抗体的影响

黄隽超 兰志敏 尚兰 张建新 王志仁 陈松 李佳 杨甫德 谭云龙

【摘要】 目的 分析盐酸美金刚对阿尔茨海默病(AD)患者的疗效及对血清 S100B、抗脑抗体(ABAb)浓度的影响,探讨 S100B、ABAb 在 AD 疾病进展中可能的作用。方法 共纳入 AD 患者 32 例(AD 组),采用盐酸美金刚(10~20 mg/d)治疗,治疗周期 6 个月,分别于治疗基线、3 个月、6 个月进行访视;同期纳入无认知障碍老年对照 40 名(对照组)。采用简易精神状态检查表(MMSE)、日常生活活动量表(ADL)评估所有研究对象认知功能和生活能力,采用 AD 评定量表-认知(ADAS-Cog)进一步评定 AD 患者的认知功能;应用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清 S100B、ABAb 浓度。结果 与对照组比较,AD 患者血清 S100B、ABAb 浓度显著升高($P < 0.01$)。经重复测量方差分析,AD 患者治疗基线、3 个月、6 个月间 S100B [(0.66 ± 0.17) , (0.58 ± 0.18) , (0.50 ± 0.14) $\mu\text{g/L}$; $F=35.22$, $P < 0.01$] 和 ABAb 浓度 [(1.93 ± 0.95) , (1.65 ± 0.81) , (1.30 ± 0.70) U/L; $F=42.93$, $P < 0.01$] 差异均有统计学意义;而 MMSE、ADAS-Cog 总分和 ADL 评分差异无统计学意义。结论 盐酸美金刚可能通过降低中重度 AD 患者 S100B、ABAb 水平影响疾病的进程。

【关键词】 阿尔茨海默病; 盐酸美金刚; S100B 蛋白; 抗脑抗体

doi: 10.3969/j.issn.1009-6574.2017.10.006

Effects of memantine hydrochloride on serum S100B protein and anti-brain anti-body levels in patients with Alzheimer disease HUANG Jun-chao, LAN Zhi-min, SHANG Lan, et al. Huilongguan Clinical Medical School of Peking University, Beijing 100096, China

【Abstract】 **Objective** To analyze the effects of memantine hydrochloride on the Alzheimer disease (AD) patients, the serum S100B protein and the anti-brain anti-body(ABAb) levels, and to discuss the possible effect of S100B and ABAb on the progression of AD. **Methods** In this study, 32 AD patients (AD group) and 40 volunteers without cognitive impairment (control group) were enrolled. AD patients received treatment of memantine hydrochloride (dose: 10-20mg/d) for 6 months, and were interviewed at the baseline, the 3rd and the 6th month from the beginning of the treatment. The cognitive function and living ability were assessed with Mini-Mental State Examination (MMSE) and Activity of Daily Living scale (ADL). The cognitive function of patients was further evaluated with Alzheimer Disease Assessment Scale Cognitive Sub-scale (ADAS-Cog). The serum S100B and ABAb levels were examined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The S100B and ABAb levels of AD patients were markedly increased compared with the control group ($P < 0.01$). Analysis of variance of repeated measures indicated that there were significant differences in the serum S100B [(0.66 ± 0.17) , (0.58 ± 0.18) , (0.50 ± 0.14) $\mu\text{g/L}$; $F=35.22$, $P < 0.01$] and ABAb levels [(1.93 ± 0.95) , (1.65 ± 0.81) , (1.30 ± 0.70) U/L; $F=42.93$, $P < 0.01$] among the baseline and the visit points of 3rd and 6th month after the beginning of the treatment, however, there was no significant difference in the scores of the MMSE, ADL and ADAS-Cog. **Conclusions** Memantine hydrochloride might effect on the progression of patients with moderate and severe AD by decreasing the S100B protein and ABAb levels.

【Key words】 Alzheimer disease; Memantine hydrochloride; S100B protein; Anti-brain anti-body

阿尔茨海默病(Alzheimer Disease, AD)是以 β -淀粉样斑块和神经纤维缠结为病理特征的神经退行性变性病,临床表现为渐进性的认知功能障碍,日常

生活能力下降,常伴有精神行为症状。S100B 蛋白由星形胶质细胞分泌^[1],在生理浓度下,能够促进神经元生长,刺激星形胶质细胞增殖,增加神经元和星形胶质细胞中游离钙离子浓度;而过度表达具有细胞毒性作用,包括过度增殖营养不良的神经元^[2]。营养不良的神经元是 AD 患者 β 淀粉样变性的前体。

基金项目:北京市医管局“登峰”人才培养计划(DFL20151901)

作者单位:100096 北京大学回龙观临床医学院

通讯作者:谭云龙 Email: yltan21@126.com

抗脑抗体(Anti-brain Anti-body, ABAb)是针对脑组织抗原的自身抗体。脑细胞死亡后,释放出自身抗原,通过受损的血脑屏障进入血液循环系统,刺激免疫系统产生ABAb^[3]。盐酸美金刚是目前临床上使用广泛抗AD药物,其作用与抑制胆碱酯酶活性、拮抗N-甲基-D-天门冬氨酸(N-methyl-D-aspartate, NMDA)受体有关。通过阻断NMDA受体,降低谷氨酸的兴奋性毒性作用^[4]。本研通过分析盐酸美金刚对AD患者的疗效及血清S100B、ABAb浓度的影响,探讨S100B、ABAb在AD疾病发展过程中可能的作用。

1 对象与方法

1.1 研究对象

1.1.1 AD组 来自2013年1~12月北京回龙观医院的住院患者。纳入标准:(1)符合美国精神障碍与统计手册第IV版(DSM-IV)^[5]AD的诊断;(2)年龄 ≥ 60 岁;(3)总体健康状况能够合作完成研究设定的测试;(4)简易智能精神状态检查量表(Mini-Mental State Examination, MMSE)^[6] ≤ 16 分。排除标准:(1)符合除AD外其他类型痴呆;(2)有精神分裂症病史或单纯明显抑郁症状;(3)急性或难以控制的躯体疾病;(4)可能导致痴呆的慢性酒精中毒或药物依赖;(5)可能影响神经认知功能的药物使用。共纳入32例,男12例,女20例;吸烟者3例;合并的躯体疾病:高血压病10例,高血脂1例,糖尿病4例;平均年龄(79 \pm 9)岁;平均受教育年限(8.3 \pm 3.9)年;平均病程(5.3 \pm 2.2)年;平均体质指数(22.7 \pm 3.9)kg/m²。

1.1.2 对照组 同期来自北京万龙社区的居民。纳入标准:(1)文盲、小学及中学(含)以上文化程度MMSE分别 ≥ 17 、20、24分;(2)年龄 ≥ 60 岁;(3)总体健康状况能够合作完成研究设定的测试。排除标准:(1)具有精神疾病史或家族史;(2)急性或难以控制的躯体疾病。共纳入40人,男14人,女26人;吸烟者4人;合并的躯体疾病:高血压病12人,高血脂3人,糖尿病5人,前列腺增生1人;平均年龄(76.4 \pm 8.7)岁;平均受教育年限(8.1 \pm 3.2)年;平均体质指数(24.1 \pm 4.4)kg/m²。

本研究获北京回龙观医院医学伦理委员会的批准,所有研究对象或法定监护人入组前签署知情同意书。AD组与对照组的性别比例($\chi^2=0.53$, $P=0.465$)、吸烟状况($\chi^2=0.01$, $P=0.929$)、合并躯体疾病($\chi^2=0.07$, $P=0.882$)、年龄($t=1.23$, $P=0.224$)、受教育年限($t=0.21$, $P=0.829$)等指标差异无统计学意义。

1.2 方法

1.2.1 量表评估 (1)MMSE:用于评估AD患者的认知功能,并依据评分对痴呆的严重程度进行划分。共19项、30小项。MMSE总分和教育程度密切相关,按教育程度的分界值:文盲组17分,小学组20分,中

学或以上文化程度组24分。得分越高表明认知水平越好。(2)日常生活力量表(Activity of Daily Living Scale, ADL)^[6]:用于评定被试的日常生活能力,共有14项。包括躯体生活自理量表和工具性日常生活力量表两部分。得分越高表明生活能力越差。(3)阿尔茨海默病评定量表认知分量表(Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale, ADAS-Cog)^[6]:用于评估AD的认知功能,既可辅助诊断,又可评价疾病的进展。共11题,满分70分。得分越高表明认知水平越差。

1.2.2 盐酸美金刚治疗 本研究采用可调节剂量、逐步加量的方法。治疗第1周5 mg/d,第2周10 mg/d,第3周15 mg/d,第4周20 mg/d;如果某一剂量不能耐受,退回上一剂量。如果可耐受加到第4周,患者的维持治疗剂量为20 mg/d,研究设计剂量为10~20 mg/d。治疗周期为6个月。

1.2.3 血清S100B蛋白和ABAb浓度测定 6:30~7:00取空腹静脉血5 ml,4 h内离心(3 000 g, 10 min),分离血清,-80℃冰箱冻存。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测S100B和ABAb浓度,每一样本双点测定,取平均值;所有样本由同一人测定,批内、批间差异分别不超过5%,8%。试剂盒由北京天海益康科技有限公司提供,测定过程严格按说明书进行操作。

1.3 统计学方法 采用SPSS 13.0软件包进行统计学处理。计数资料用例数(百分比)表示,组间比较采用 χ^2 检验。符合正态分布的计量资料,用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较,采用独立样本 t 检验,治疗前后趋势比较采用重复测量方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 盐酸美金刚对认知和生活功能的影响 见表1。经过6个月的治疗,AD患者基线、治疗3、6个月3次访视点的MMSE、ADL、ADAS-Cog评分差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 AD组患者治疗前后量表评分比较(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	MMSE	ADL	ADAS-Cog
基线	9.43 \pm 3.81	44.13 \pm 8.27	51.84 \pm 12.76
3个月	9.77 \pm 3.90	44.55 \pm 7.69	52.43 \pm 11.48
6个月	10.07 \pm 4.21	45.02 \pm 7.52	52.27 \pm 12.68
F值	0.716	0.608	0.953
P值	0.507	0.548	0.392

2.2 盐酸美金刚对血清S100B蛋白和ABAb浓度的影响 见表2。结果显示,AD组的血清S100B、ABAb浓度在基线显著高于对照组[(0.30 \pm 0.04) μ g/L, (1.31 \pm 0.25)U/L, $t=13.01$, 3.96; $P < 0.01$],治疗3个

月后和 6 个月后, S100B、ABAb 浓度明显下降, 与基线比差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

表 2 AD 组患者治疗前后血清 S100B 和 ABAb 浓度比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	S100B($\mu\text{g/L}$)	ABAb(U/L)
基线	0.66 ± 0.17	1.93 ± 0.95
3 个月	0.58 ± 0.18	1.65 ± 0.81
6 个月	0.50 ± 0.14	1.30 ± 0.70
F 值	35.22	42.93
P 值	< 0.01	< 0.01

3 讨论

盐酸美金刚的作用机制是基于谷氨酸的兴奋性毒性理论。谷氨酸是中枢神经系统重要的兴奋性递质。当脑神经细胞受到损伤时, 细胞外液的谷氨酸浓度急剧增加, 谷氨酸与受体相结合, 导致神经兴奋性毒性^[7]。其中, 谷氨酸与离子型受体 NMDA 受体结合, 引起 Ca^{2+} 通道开放, Ca^{2+} 大量内流^[8]。超载的 Ca^{2+} 可直接使细胞膜自溶, 同时沉积于线粒体的 Ca^{2+} , 使氧自由基增加, 进而攻击细胞膜结构; 增加的 Ca^{2+} 还可激活核酸内切酶诱导细胞凋亡^[9]。而星形胶质细胞对谷氨酸的清除起到至关重要的作用。谷氨酸通过星形胶质细胞完成谷氨酸-谷氨酰胺循环^[10]。有研究表明, 受损的大脑中, 星形胶质细胞能够摄取神经元过度释放的谷氨酸, 从而维持细胞外谷氨酸的浓度水平的稳定性^[11]。神经元和星形胶质细胞均具有谷氨酸受体, 实验发现, 单纯抑制星形胶质细胞的谷氨酸受体, 高浓度的谷氨酸引起神经元兴奋性毒性^[12]。由此推测, 盐酸美金刚可能会通过上述机制对疾病的发展起良好的缓解作用。

本研究显示, AD 患者血清 S100B 水平显著升高。可能的机制为: 激活的星形胶质细胞还产生促炎因子, 包括生长因子、补体、黏附因子等^[13]。细胞因子 S100B 也是产物之一。在 AD 患者中观察到神经胶质增多症, 在神经炎性斑块附近, 激活的星形胶质细胞和小胶质细胞丰富^[14]。健康人大脑中 S100B 浓度以及 S100B RNA 的表达会随着年龄的增长而增加^[15]。 β 淀粉样斑块是 AD 的特征性病理改变。在斑块形成的不同阶段, S100B 的表达也与营养不良的神经元的数量有着密切联系^[16]。 β 淀粉样斑块形成初期, 仅为低浓度和广泛分布的 β 样淀粉变性, 无营养不良神经元。随着 β 淀粉样变性浓度增高, 营养不良神经元增殖, 此时 S100B 浓度最高。有着致密核心的炎性斑块, S100B 浓度较高。致密核心非炎性斑块, 通常理解为“燃烧殆尽”的斑块, 无营养不良神经元, 无 S100B 表达^[17]。大量证据显示, S100B 增多先于淀粉样斑块形成。头外伤的患者呈现出较

高浓度的 S100B, 老年人在脑损伤后, 更易出现 β 淀粉样沉淀。在唐氏综合征 (DS) 中, S100B 的表达高于年龄匹配对照组的 1.5 倍^[18]。 β 淀粉样沉淀在 DS 中逐渐增加, 并且与 S100B 呈现显著的相关性。有证据提示, 在 AD 早期阶段, 血脑屏障结构的改变会导致其渗透性遭到破坏, 引起血液-脑-脑脊液血流动力学的改变^[19]; 而大脑为部分免疫豁免器官, 被破坏血脑屏障使损伤的脑组织抗原进入外周, 导致自身免疫反应, 形成抗体, 外周抗体再次通过血脑屏障进入大脑, 造成神经元损伤, 本研究发现 AD 患者 ABAb 浓度显著升高。

本研究还显示, 经盐酸美金刚治疗 3 个月、治疗 6 个月, 血清 S100B 和 ABAb 浓度显著降低。由此推测, S100B 的过度表达与 β 淀粉样斑块进程形成恶性循环。有研究显示, 低浓度的 S100B 通过缓解线粒体功能异常来实现神经元修复, 并对神经元和胶质细胞具有营养活性。在 AD 患者中, 过度分泌的神经元通过受损的血脑屏障, 引起血清 S100B 水平的提高^[20]。治疗后 ABAb 浓度的降低可能与进入外周脑组织抗原下降有关。经过 6 个月的治疗, 盐酸美金刚对 S100B 浓度的影响较 ABAb 更为明显, 间接提示 S100B 或星形胶质细胞的功能状况与 AD 关系较为密切。

研究发现, 在大鼠的大细胞基底核和海马神经元, 阻断 NMDA 受体能够缓和 $\text{A}\beta$ 诱导的乙酰胆碱神经元的退化。盐酸美金刚阻断的 NMDA 受体离子通道具有快速的动力和高电压依赖。对于正常神经元功能, 盐酸美金刚在阻断低水平受体活性无效, 但对于因高浓度的谷氨酸浓度引起的过度激活的 NMDA 受体, 阻断效果增加。正常的突触活动, NMDA 通道开放时间仅几毫秒, 盐酸美金刚在通道内不能够作用或积累。而在谷氨酸兴奋性毒性的状态下, 突触活动是持续的^[21]。本研究显示在盐酸美金刚的基线水平与治疗, MMSE、ADL、ADAS-Cog 评分无显著差异, 考虑与样本纳入 AD 患者程度偏重有关。

本研究尽管未发现盐酸美金刚在改善 AD 患者临床症状方面有显著疗效, 但 AD 为进展性疾病, 经过 6 个月的干预, 未显示患者疾病呈恶化趋势, 由此推测, 盐酸美金刚可能抑制了疾病的进展速度; 而对 S100B 蛋白和抗脑组织抗体影响可能在治疗机制上起一定作用。但本研究纳入的样本较小、采用的单臂设计、AD 患者的纳入和评估未采用最新标准中的较为特异性的生物学指标等, 在后续研究中将进一步完善设计。

参 考 文 献

- [1] Ghandour MS, Langley OK, Labourdette G, et al. Specific and artefactual cellular localizations of S100 protein: an astrocyte marker in rat cerebellum [J]. *Dev Neurosci*, 1981, 4(1): 66-78.
- [2] Reali C, Pillai R, Saba F, et al. S100B modulates growth factors and costimulatory molecules expression in cultured human astrocytes [J]. *J Neuroimmunol*, 2012, 243 (1/2): 95-99.
- [3] Ghabriel MN, Zdziarski IM, Leigh C, et al. Changes in the blood-CSF barrier in experimental traumatic brain injury [J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2010, 106: 239-245.
- [4] Matsunaga S, Kishi T, Iwata N. Memantine monotherapy for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0123289.
- [5] APA. Diagnostic and Statistical Manual Disorders, (DSM-IV) [M]. 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association, 2000.
- [6] 彭丹涛, 张占军. 神经心理认知量表操作指南 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 5-9; 16-26; 85-86.
- [7] Brosnan JT, Brosnan ME. Glutamate: a truly functional amino acid [J]. *Amino Acids*, 2013, 45(3): 413-418.
- [8] Vandresen-Filho S, Severino PC, Constantino LC, et al. N-methyl-D-aspartate preconditioning prevents quinolinic acid-induced deregulation of glutamate and calcium homeostasis in mice hippocampus [J]. *Neurotox Res*, 2015, 27(2): 118-128.
- [9] Rueda CB, Llorente-Folch I, Traba J, et al. Glutamate excitotoxicity and Ca²⁺-regulation of respiration: Role of the Ca²⁺ activated mitochondrial transporters (CaMCs) [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1857(8): 1158-1166.
- [10] Yao PS, Kang DZ, Lin RY, et al. Glutamate/glutamine metabolism coupling between astrocytes and glioma cells: neuroprotection and inhibition of glioma growth [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 450(1): 295-299.
- [11] Oberheim NA, Goldman SA, Nedergaard M. Heterogeneity of astrocytic form and function [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 814: 23-45.
- [12] Jacobs VL, De Leo JA. Increased glutamate uptake in astrocytes via propentofylline results in increased tumor cell apoptosis using the CNS-1 glioma model [J]. *J Neurooncol*, 2013, 114(1): 33-42.
- [13] Wei L, Sheng H, Chen L, et al. Effect of pannexin-1 on the release of glutamate and cytokines in astrocytes [J]. *J Clin Neurosci*, 2016, 23: 135-141.
- [14] Marshak DR, Pesce SA, Stanley LC, et al. Increased S100 beta neurotrophic activity in Alzheimer's disease temporal lobe [J]. *Neurobiol Aging*, 1992, 13: 1-7.
- [15] Sheng JG, Mrak RE, Rovnaghi CR, et al. Human brain S100 beta and S100 beta mRNA expression increases with age: pathogenic implications for Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 1996, 17: 359-363.
- [16] Sheng JG, Mrak RE, Griffin WS. S100 beta protein expression in Alzheimer disease: potential role in the pathogenesis of neuritic plaques [J]. *J Neurosci Res*, 1994, 39: 398-404.
- [17] Mrak RE, Sheng JG, Griffin WS. Correlation of astrocytic S100 beta expression with dystrophic neurites in amyloid plaques of Alzheimer's disease [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1996, 55: 273-279.
- [18] Griffin WS, Stanley LC, Ling C, et al. Brain interleukin 1 and S-100 immunoreactivity are elevated in Down syndrome and Alzheimer disease [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989, 86: 7611-7615.
- [19] Starr JM, Farrall AJ, Armitage P, McGurn B, et al. Blood-brain barrier permeability in Alzheimer's disease: a case-control MRI study [J]. *Psychiatry Res*, 2009, 171(3): 232-241.
- [20] Chaves ML, Camozzato AL, Ferreira ED, et al. Serum levels of S100B and NSE proteins in Alzheimer's disease patients [J]. *J Neuroinflammation*, 2010, 7: 6.
- [21] Danysz W, Parsons CG. Alzheimer's disease, β -amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine—searching for the connections [J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 167(2): 324-352.

(收稿日期: 2017-07-30)

· 消息 ·

欢迎订阅2018年《神经疾病与精神卫生》杂志

《神经疾病与精神卫生》杂志是神经、精神科学及精神卫生领域的学术性期刊, 国内外公开发行, 2006年被中国科学技术信息研究所收录为中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)。本刊坚持党的出版方针和卫生工作方针, 遵循学科发展规律、适应市场需求规律, 以提高杂志质量、扩大社会效益为使命, 及时反映科学研究的重大进展, 更好地促进国内外学术交流。主要读者对象为广大神经科学、精神科学及精神卫生领域中从事基础、临床医学、教学、科研的工作人员及学生。报道内容包括相关各学科领先的教学、科研成果及临床诊疗经验。主要栏目有专家论坛(述评)、论著、英文原著、学术交流、短篇报道、综述、会议纪要、国内外学术动态等。

《神经疾病与精神卫生》杂志国内邮发代号为82-353, 由北京市邮政局发行; 国外发行代号BM1690, 由中国国际图书贸易总公司发行。每期定价10.00元, 全年120.00元。欢迎直接通过本社订阅。

银行汇款: 开户行: 中国建设银行建华支行 户名: 《神经疾病与精神卫生》杂志社

账号: 23001626251050500949

联系电话: (010)83191160 传真: (010)83191161