

DOI: 10.3969/j.issn.1006-9771.2017.09.022

· 临床研究 ·

帕金森病患者血浆和红细胞 α -突触核蛋白寡聚体水平及临床意义

梁杨, 顾英, 李晓红

[摘要] 目的 探讨帕金森病患者外周血浆及红细胞中 α -突触核蛋白(α -syn)寡聚体含量对帕金森病诊断以及与病程、疾病严重程度相关性。方法 2013 年 3 月至 2014 年 12 月, 采集 30 例帕金森病患者(患者组)及 30 例健康体检者(对照组)血液, 采用酶联免疫吸附测定法检测血浆及红细胞中 α -syn 寡聚体含量。结果 对照组血浆及红细胞中 α -syn 寡聚体含量低于患者组($t=2.346$, $P<0.05$); 两组红细胞中 α -syn 寡聚体含量高于血浆中含量($t=2.242$, $P<0.05$); 患者组血浆及红细胞中 α -syn 寡聚体含量与病程、Hoehn-Yahr 分期、帕金森病综合评分量表第 3 部分评分、帕金森病非运动症状问卷评分、简易精神状态检查评分均无相关性($P>0.05$)。结论 帕金森病患者外周血浆及红细胞中 α -syn 寡聚体含量有助于帕金森病诊断, 但不具有监测疾病进展价值。

[关键词] 帕金森病; α -突触核蛋白寡聚体; 外周血; 血浆; 红细胞

Level of Alpha-Synuclein Oligomers in Speripheral Blood Plasma and Red Blood Cells in Parkinson's Disease

LIANG Yang, GU Ying, LI Xiao-hong

Department of Neurology, Dalian Friendship Hospital, Dalian, Liaoning 116000, China

Correspondence to LI Xiao-hong. E-mail: xhlihh@126.com

Abstract: Objective To investigate the level of alpha-synuclein (α -syn) oligomers in peripheral blood plasma and red blood cells (RBC) in patients with Parkinson's disease (PD), and the value of it for diagnosis and evaluation of PD. **Methods** From March, 2013 to December, 2014, peripheral blood samples were collected from 30 PD patients and 30 healthy controls, and the level of α -syn oligomers in plasma and RBC was detected with enzyme linked immunosorbent assay. **Results** The level of α -syn oligomers was less in both plasma and RBC in the controls than in the patients ($t=2.346$, $P<0.05$), and was more in RBC than in plasma in both the controls and the patients ($t=2.242$, $P<0.05$). The level of α -syn oligomers of patients did not correlate with their course, Hoehn-Yahr Stage, the scores of Unified Parkinson Disease Rating Scale Part 3, Non-Motor Symptom Quest and Mini-Mental State Examination, both in plasma and RBC ($P>0.05$). **Conclusion** The level of α -syn oligomers in peripheral RBC and plasma may be helpful for diagnosis of PD, but less for the evaluation of the illness.

Key words: Parkinson's disease; alpha-synuclein oligomer; peripheral blood; plasma; red blood cells

[中图分类号] R742.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1006-9771(2017)09-1096-03

[本文著录格式] 梁杨, 顾英, 李晓红. 帕金森病患者血浆和红细胞 α -突触核蛋白寡聚体水平及临床意义[J]. 中国康复理论与实践, 2017, 23(9): 1096-1098.

CITED AS: Liang Y, Gu Y, Li XH. Level of alpha-synuclein oligomers in speripheral blood plasma and red blood cells in Parkinson's disease [J]. Zhongguo Kangfu Lilun Yu Shijian, 2017, 23(9): 1096-1098.

帕金森病是中老年人常见退行性疾病之一, 我国 65 岁以上人群总体患病率为 1700/10 万。随着病程进展, 抗帕金森病药物疗效下降, 药物副作用及并发症使患者病死率明显增高。帕金森病病理改变主要为中脑黑质致密部多巴胺神经元选择性变性、死亡, 以及路易小体生成。 α -突触核蛋白(alpha-synuclein, α -syn)为路易小体主要成分^[1]。研究显示, 帕金森病患者出

现运动症状多处于病理损害中晚期, 此时黑质致密部多巴胺神经元已丢失 50% 以上; 而在黑质多巴胺神经元丢失之前, 可在脊髓、嗅球等处发现 α -syn 聚集^[2]。 α -syn 可通过血脑屏障进入外周血, 故可在外周血中检测到 α -syn 水平异常。目前国内外对帕金森病患者外周血血浆及红细胞中 α -syn 寡聚体研究结果不一致^[3-7], 难以作为可靠的实验室指标加以应用。

作者单位: 大连市友谊医院, 辽宁大连市 116000。作者简介: 梁杨(1988-), 女, 汉族, 辽宁大连市人, 硕士, 医师, 主要研究方向: 帕金森病、脑血管病。通讯作者: 李晓红。E-mail: xhlihh@126.com。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取 2013 年 3 月至 2014 年 12 月就诊于大连市友谊医院神经内科, 确诊为帕金森病的患者 30 例为患者组。其中男性 16 例, 女性 14 例; 年龄 60~80 岁, 平均(70.5±7.18)岁; 平均病程(4.3±1.25)年; Hoehn-Yahr (H-Y)分期 I~IV 期; 帕金森病综合评分量表第 3 部分(Unified Parkinson Disease Rating Scale, Part 3, UPDRS 3)评分平均(30.07±15.14); 帕金森病非运动症状问卷(Non-Motor Symptom Quest, NMSQuest)评分平均(54.7±47.8); 简易精神状态检查(Mini-Mental State Examination, MMSE)评分平均(25.9±2.12)。

同期选取与患者组性别、年龄相匹配的健康体检者 30 例作为对照组。男性 16 例, 女性 14 例; 平均年龄(69.37±5.79)岁。

1.2 方法

两组禁食 12 h 以上, 抽取空腹静脉血 5 ml, 置含有 EDTA 抗凝剂塑料管中, 4℃、3000 r/min 离心 20 min, 取上层血浆及红细胞分装于 Eppendorf 管中, -80℃超低温冰箱中保存备用。样本在采血后 2 h 内完成检测。

采用酶联免疫吸附测定法, 按试剂盒(上海博古生物科技有限公司)说明书对血浆及红细胞中 α -syn 寡聚体含量进行测定。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计分析。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用独立样本 t 检验及配对样本 t 检验; 相关性采用 Pearson 相关分析。显著性水平 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

对照组血浆和红细胞中 α -syn 寡聚体含量均低于患者组($P<0.05$); 且两组红细胞中 α -syn 寡聚体含量均高于血浆含量($P<0.05$)。见表 1。

相关性分析显示, 患者组血浆和红细胞中 α -syn 寡聚体含量与病程、H-Y 分期、UPDRS3 评分、NMS-Quest 评分、MMSE 评分均无明显相关性($P>0.05$)。见表 2。

表 1 两组血浆及红细胞中 α -syn 寡聚体含量(pg/ml)

组别	n	红细胞	血浆	t	P
对照组	30	97.432±36.131	77.861±39.211	2.242	0.031
患者组	30	177.417±72.212	111.216±66.232	3.663	<0.001
t		2.346	5.432		
P		0.021	<0.001		

表 2 患者组血浆及红细胞中 α -syn 寡聚体含量与临床特征的相关性(n=30)

临床特征	血浆		红细胞	
	r	P	r	P
病程	0.331	0.076	-0.112	0.584
H-Y 分期	0.182	0.341	0.081	0.673
UPDRS3 评分	0.251	0.194	0.219	0.251
NMSQuest 评分	0.029	0.867	-0.129	0.459
MMSE 评分	0.003	0.989	0.151	0.513

3 讨论

α -syn 在脑内含量丰富^[8], 既维持突触正常功能, 又与神经退行性疾病有关。 α -syn 在体内以无定型聚集物、寡聚体等多种结构形式存在, 各种形式 α -syn 均有神经毒性, 但寡聚体毒性大于单体^[9-10]。

α -syn 寡聚体神经毒性机制尚未明确, 考虑原因如下。① α -syn 正常、错误折叠及其寡聚化之间存在动态平衡, 形成路易小体时可避免神经元损害; 但这种保护作用短暂, 当聚集成寡聚体降低多巴胺神经细胞中线粒体膜电位, 导致多巴胺神经元死亡; ② α -syn 寡聚体病理性聚集可影响突触小泡膜的通透性及其循环, 进而影响突触囊泡完整性和胞内多巴胺水平, 导致多巴胺神经元死亡^[11]; ③在人中脑神经元胶质细胞培养系统中, 细胞外聚集 α -syn 单体和寡聚体, 可激活小胶质细胞, 生成大量氧自由基, 导致多巴胺神经元死亡^[12]; ④ α -syn 过表达可诱导线粒体功能失常, 降低蛋白酶体活性, 增加线粒体对凋亡刺激的敏感性^[13]。

目前针对帕金森病患者 α -syn 寡聚体检测国内外已有较多报道。Mollenhauer^[14]证实, 脑脊液中异常聚集 α -syn 可作为帕金森病的诊断方法之一; 但腰椎穿刺为有创操作, 存在较多禁忌症, 限制了其在临床中的应用。后研究发现, 脑脊液中 α -syn 单体和寡聚体可透过血脑屏障进入外周血; 获取外周血样本较脑脊液难度和创伤性均明显降低, 故近 10 年来国内外多个研究对帕金森病患者外周血中 α -syn 单体及寡聚体水平进行研究, 主要集中在血浆样本上, 且未得到一致结论。近期国外有学者发现, 帕金森病患者外周血红细胞样本 α -syn 水平的变化可能较血浆更加显著。

目前国内外对于外周血血浆中 α -syn 相关研究存在相互矛盾的结果。El-Agnaf 等^[3]发现帕金森病患者组 α -syn 含量显著高于对照组。李昕等^[4]发现 α -syn 寡聚体在帕金森病患者血浆中含量显著高于对照组。但 Foulds 等^[5]发现, 患者组血浆中磷酸化 α -syn 显著高于

对照组,但总 α -syn 和 α -syn 寡聚体水平与对照组无显著性差异。

本研究发现,患者组血浆中 α -syn 寡聚体含量高于对照组。原因除考虑与帕金森病患者脑内增多的 α -syn 寡聚体可通过血脑屏障进入外周血中外,还考虑如下因素:①尹娜等^[6]发现,帕金森病患者外周血血浆促进 α -syn 形成 α -syn 寡聚体;②帕金森病患者血浆中氧化应激水平升高,而 α -syn 聚集除了受浓度影响外,还受氧化修饰影响,推测帕金森病患者可能因氧化修饰途径导致血浆 α -syn 寡聚。

本研究发现,患者组红细胞 α -syn 寡聚体含量高于对照组,且红细胞内含量高于血浆含量。这与 Barbour 等^[7]研究结果一致。该团队认为,约 99% 的 α -syn 存在于红细胞,而血浆仅为 0.1%。帕金森病患者外周血红细胞 α -syn 寡聚体含量升高,考虑原因为:①脑脊液中 α -syn 寡聚体透过血脑屏障进入外周血,绝大部分聚集在红细胞中;②研究发现,帕金森病患者黑质致密部铁水平增高,且铁可增加 α -syn 寡聚体聚集^[15];红细胞内的血红蛋白含铁较高,某些环境下,红细胞内还存在较高浓度游离铁,可能为红细胞内 α -syn 聚集的原因。

本研究未发现患者组血浆和红细胞中 α -syn 寡聚体含量与病程、H-Y 分期、UPDRS3 评分、NMSQuest 评分、MMSE 评分相关。这与 Parnetti 等^[16]的研究结果相同。 α -syn 的异常寡聚体更多作用于多巴胺神经元凋亡的促发阶段,而非多巴胺神经凋亡的结果。因此帕金森病患者外周血血浆及红细胞中 α -syn 寡聚体水平不具有监测病程进展的价值。

[参考文献]

- [1] Cersosimo MG, Benarroch EE. Neural control of the gastrointestinal tract: implications for Parkinson disease [J]. *Mov Disord*, 2008, 23(8): 1065-1075.
- [2] George S, Rey NY, Reichenbach N, et al. α -synuclein: the long distance runner [J]. *Brain Pathol*, 2013, 23(3): 350-357.
- [3] El-Agnaf OM, Salem SA, Paleologou KE, et al. Detection of oligomeric forms of alpha-synuclein protein in human plasma as a potential biomarker for Parkinson's disease [J]. *FASEB J*, 2006, 20(3): 419-425.
- [4] 李昕,杨巍巍,于顺,等. 一种检测帕金森患者血浆促进 α -突触核蛋白寡聚体形成能力的方法[J]. *首都医科大学学报*, 2013, 34(6): 830-834.
- [5] Foulds PG, Mitchell JD, Parker A, et al. Phosphorylated alpha-synuclein can be detected in blood plasma and is potentially a useful biomarker for Parkinson's disease [J]. *FASEB J*, 2011, 25(12): 4127-4137.
- [6] 尹娜,陈予东,李昕,等. 帕金森病患者血浆增强 α -突触核蛋白寡聚体形成[J]. *首都医科大学学报*, 2013, 34(6): 840-843.
- [7] Barbour R, Kling K, Anderson JP, et al. Red blood cells are the major source of alpha-synuclein in blood [J]. *Neurodegener Dis*, 2008, 5(2): 55-59.
- [8] Claton DJ, George JM. Synucleins in synaptic plasticity and neurodegenerative disorders [J]. *J Neurosci Res*, 1999, 58(1): 120-129.
- [9] 李雁,殷娟娟,李昕. α -突触核蛋白寡聚体对多巴胺能神经细胞线粒体膜电位的影响[J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2008, 8(1): 26-32.
- [10] Ono K, Yamada M. Alpha-synuclein in blood and cerebrospinal fluid of patients with alpha-synucleinopathy [J]. *Rinsho Byori*, 2014, 62(3): 241-245.
- [11] Landis GN, Tower J. Superoxide dismutase evolution and life span regulation [J]. *Mech Ageing Dev*, 2005, 126(3): 365-379.
- [12] Zhang W, Wang TG, Pei Z, et al. Aggregated alpha-synuclein activates microglia: a process leading to disease progression in Parkinson's disease [J]. *FASEB J*, 2005, 19(6): 533-542.
- [13] Martin LJ, Pan Y, Price AC, et al. Parkinson's disease alpha-synuclein transgenic mice develop neuronal mitochondrial degeneration and cell death [J]. *J Neurosci*, 2006, 26(1): 41-50.
- [14] Mollenhauer B. Quantification of α -synuclein in cerebrospinal fluid: How ideal is this biomarker for Parkinson's disease? [J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2014, 20(1): S76-S79.
- [15] Haacke EM, Cheng NY, House MJ, et al. Imaging iron stores in the brain using magnetic resonance imaging [J]. *Magn Reson Imaging*, 2005, 23(1): 1-25.
- [16] Parnetti L, Chiasserini D, Bellomo G, et al. Cerebrospinal fluid Tau/ α -synuclein ratio in Parkinson's disease and degenerative dementias [J]. *Mov Disord*, 2011, 26(8): 1428-1435.

(收稿日期:2016-12-27 修回日期:2017-06-26)