doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.09.021

血清 Klotho 蛋白、视锥蛋白样蛋白 -1、高迁移率族蛋白 1 与阿尔茨海默病患者认知功能和预后不良的关系 *

常 琳 高永红△ 赵 洲 连雪梅 李亚男

（北京航天总医院干部医疗科 北京 100076）

摘要 目的：探讨阿尔兹海默病(AD)患者血清 Klotho 蛋白、视锥蛋白样蛋白 -1(VILIP-1)、高迁移率族蛋白 1(HMGB1)与认知功能及预后的关系。**方法：**选取 2019 年 4 月 -2021 年 5 月在我院接受治疗的 136 例 AD 患者作为 AD 组，另选取 150 例同时期在我院进行体检的健康志愿者作为对照组，应用酶联免疫吸附法检测两组血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 表达水平，采用简易精神状态检查量表(MMSE)评估两组认知功能，采用 *Pearson* 相关性分析以上三指标与 MMSE 评分之间的关系；AD 患者根据治疗 1 年后的预后情况分为预后良好组(n=74)与预后不良组(n=62)，应用单因素、多因素 *Logistic* 回归分析引发 AD 患者预后不良的危险因素；采用受试者工作特征(ROC)曲线评估血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 联合检测对 AD 患者预后的预测效能。**结果：**AD 组的 MMSE 评分、血清 Klotho 蛋白水平显著低于对照组，而血清 VILIP-1 及 HMGB1 水平显著高于对照组（均 $P<0.05$）；Pearson 相关性结果显示血清 Klotho 蛋白水平与 MMSE 评分之间呈显著正相关（$P<0.05$），而血清 VILIP-1、HMGB1 水平与 MMSE 评分之间呈显著负相关(均 $P<0.05$)；多因素 Logistic 回归分析显示血清 VILIP-1、HMGB1 水平升高是引发 AD 患者预后不良的独立危险因素，而血清 Klotho 蛋白水平升高是其保护因素($P<0.05$)；ROC 曲线显示 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 联合检测 AD 患者曲线下面积为 0.839，敏感度为 80.65%，特异度为 83.78%。**结论：**血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 表达水平与 AD 患者认知功能和预后均具有较强的关联性，临床可以通过联合检测以上三指标辅助评估 AD 患者的预后。

关键词：阿尔兹海默病；高迁移率族蛋白 1；视锥蛋白样蛋白 -1；Klotho 蛋白；认知功能；预后

中图分类号：R749.16 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2023)09-1706-06

Relationship between Serum Klotho Protein, Visinin-Like Protein 1, High Mobility Group Box 1 Protein and Cognitive Function and Poor Prognosis in Patients with Alzheimer's Disease*

CHANG Lin, GAO Yong-hong△, ZHAO Zhou, LIAN Xue-mei, LI Ya-nan

(Department of Special Medical Treatment, Beijing Aerospace General Hospital, Beijing, 100076, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the relationship between serum Klotho protein, visinin-like protein 1 (VILIP-1), high mobility group box 1 protein (HMGB1) and cognitive function and prognosis in patients with Alzheimer's disease (AD). **Methods:** 136 patients with AD who received treatment in our hospital from April 2019 to May 2021 were selected as the AD group, and another 150 healthy volunteers who underwent physical examination in our hospital during the same period were selected as the control group. The expression levels of serum Klotho protein, VILIP-1 and HMGB1 in the two groups were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The cognitive function in the two groups was assessed by the Mini-Mental State Examination Scale (MMSE), and the relationship between the above three indicators and MMSE score was analyzed by *Pearson* correlation. The patients with AD were divided into good prognosis group (n=74) and poor prognosis group (n=62) according to the prognosis at 1 year after treatment. Univariate and multivariate *Logistic* regression were used to analyze the risk factors of poor prognosis in patients with AD. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the predictive efficacy of combined detection of serum Klotho protein, VILIP-1 and HMGB1 in patients with AD. **Results:** MMSE score and serum Klotho protein level in the AD group were significantly lower than those in the control group, while serum VILIP-1 and HMGB1 levels were significantly higher than those in the control group (all $P<0.05$). *Pearson* correlation results showed that serum Klotho protein level was significantly positively correlated with MMSE score ($P<0.05$), while serum VILIP-1 and HMGB1 levels were significantly negatively correlated with MMSE score (all $P<0.05$). Multivariate *Logistic* regression analysis showed that increased serum VILIP-1 and HMGB1 levels were independent risk factors for poor prognosis in patients with AD, while increased serum Klotho protein level was a protective factor ($P<0.05$). ROC curve showed that the area under the curve of Klotho protein, VILIP-1 and HMGB1 in the combined detection of patients with AD was 0.839, the sensitivity was 80.65%, and the specificity

* 基金项目：北京市自然科学基金项目(8183291)

作者简介：常琳(1986-)，女，硕士，主治医师，研究方向：脑血管病与认知功能障碍，E-mail: changlin1030@163.com

△ 通讯作者：高永红(1970-)，女，硕士，主任医师，研究方向：老年医学及心脑血管，E-mail: gyh711@vip.sina.com

（收稿日期：2022-10-07 接受日期：2022-10-30）

was 83.78%. **Conclusions:** The serum Klotho protein, VILIP-1 and HMGB1 expression levels are strongly correlated with the cognitive function and prognosis of patients with AD, and the above three indicators can be used to assist the prognosis assessment of patients with AD.

Key words: Alzheimer's disease; High mobility group box 1 protein; Visinin-like protein 1; Klotho protein; Cognitive function; Prognosis

Chinese Library Classification(CLC): R749.16 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2023)09-1706-06

前言

阿尔兹海默病(Alzheimer's disease,AD)作为常发于老年群体的神经系统变性疾病,是引发老年痴呆的主要原因之一[1]。该病早期症状多表现为运动、协调能力降低,并出现进行性的认知功能障碍,但大多数症状无显著特异性,具有一定隐匿性[2]。目前临床中对于 AD 的发病机制尚不明确,但多数研究结果显示其与遗传、年龄等多种影响因素均有密切联系,且目前仍缺乏有效评估 AD 病情进展及预后的相关机制 [3,4]。随着对 AD 研究的不断深入,有研究表明 Klotho 基因为一种与抗衰老有密切联系的基因, 在 Zhao Y [5] 等学者的动物实验中表示 Klotho 基因过表达的 AD 小鼠具有更加优秀的学习与记忆能力,但作为 Klotho 基因的产物 -Klotho 蛋白表达水平与 AD 患者之间的关系还尚不清楚。另外据研究显示,视锥蛋白样蛋白-1(Visinin-like protein-1,VILIP-1)作为主要表达于人脑内海马区及内皮质的一种神经系统钙传感蛋白,能够在一定程度上反应神经元损伤情况,并参与 AD 发展过程[6,7]。近年来还有研究显示 AD 发生与炎症反应之间也有重要联系[8],其中高迁移率族蛋白 1(high mobility group box 1 protein,HMGB1)作为参与机体固有性免疫应答的一类炎性介质 [9], 推测其可能也参与 AD 炎性反应过程。因此本研究主要通过分析 AD 患者血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 表达水平与认知功能和预后的关系,为评估 AD 患者病情及预后提供有效的预测指标奠定理论基础。

1 资料及方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 4 月 -2021 年 5 月在我院接受治疗的 136 例 AD 患者作为 AD 组,纳入标准:(1)符合《2018 中国痴呆与认知障碍诊治指南(二):阿尔茨海默病诊治指南》中 AD 的相关诊断标准[10];(2)患者表现出明显的运动、协调、认知能力下降等症状;(3)患者或其家属知情并同意本研究;(4)具有完整的临床及一般资料。排除标准:(1)合并重度脑血管疾病;(2)由药物、代谢、外伤等因素导致的痴呆症状;(3)随访期间内失访;(4)伴有其他严重脏器疾病;(5)精神疾病患者。另选取 150 例同时期在我院进行体检且认知功能均为正常水平的健康志愿者作为对照组, 两组基线资料比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),具有可比性,见表 1。本研究承诺对患者的一般信息及临床资料采取保密措施,不做其他用途。研究方案经由我院伦理委员会审核批准。

表 1 AD 组与对照组基线资料对比

Table 1 Comparison of baseline data in the AD group and control group

Baseline data	AD group(n=136)	Control group(n=150)	χ^2/t	*P*
Age(years)	61.73±8.35	59.67±9.83	1.900	0.058
Male[n(%)]	56(41.18)	69(46.00)	0.675	0.411
BMI(kg/m^2)	21.49±1.32	21.42±1.41	0.433	0.666
Education level[n(%)]			0.321	0.792
Primary School and below	89(65.44)	105(70.00)		
Middle School to High School	39(28.68)	34(22.67)		
University or above	8(5.88)	11(7.33)		
High density lipoprotein(mmol/L)	1.00±0.58	1.07±0.48	-1.116	0.266
Low density lipoprotein(mmol/L)	2.06±0.67	2.01±0.65	0.640	0.523
Total cholesterol(mmol/L)	3.98±1.02	3.83±1.14	1.168	0.244

1.2 方法

1.2.1 血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 检测 收集 AD 组、对照组清晨空腹静脉血各 5 mL,加入抗凝管中处理后放入离心机中,设置离心参数 3000 rpm(离心速率)、12.5 cm(离心半径)、10 min(离心时间),离心完毕后留取上层清液放入冰箱中待测, 采用酶联免疫吸附法测定两组血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 表达;用套有橡皮吸头的 0.2 mL 吸管小心吸取用包被液稀释好的抗原, 沿孔壁准确滴加 0.1 mL 至每个塑料板孔中,防止气泡产生,置于 37℃恒温箱过夜;快速甩动塑料板,倒出包被液。用另一根吸管吸取洗涤液,加入板孔中,洗涤液量以加满但不溢出板孔为宜, 室温放置 3 min, 甩出洗涤液,再加洗涤液,重复上述操作三次;用三根套有橡皮吸头的

0.2 mL 吸管，小心吸取稀释好的血清（待检、阳性、阴性血清），准确加 0.1 mL 于对应板孔中，第 4 孔中加 0.1 mL 洗涤液，于 37℃恒温箱中放置 10 min，在水池边甩出血清，洗涤液洗三次；用吸管沿孔壁上部小心准确加入 0.1 mL 酶标抗体（不能让血清沾污吸管），37℃恒温箱中放置 10 min，同上倒空，洗涤三次；按比例加过氧化氢（H_2O_2）于配制的底物溶液中，立即用吸管吸取此种溶液，分别加于板孔中，每孔 0.1 mL，置 37℃恒温箱中显色 5～15 min；待阳性对照有明显颜色后，立即加一滴 2 mol/L 硫酸（H_2SO_4）终止反应，酶标仪（背景普朗新技术有限公司，DNM-9602A 型）波长 490nm 处检测吸光度（OD 值），Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 试剂盒均由上海酶联生物科技有限公司提供。所有操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.2 AD 患者的治疗及预后评估 所有 AD 患者均参照相关诊治指南[10]进行治疗，对伴有高血糖、高血压、高血脂的患者实行个体化治疗方案，治疗期间给予患者相应的康复训练、营养支持。所有 AD 患者均接受为期 1 年的治疗。

将由 AD 患者长期卧床引发的深静脉血栓等原因导致的死亡或者由于患者抵抗力下降引发的感染等原因导致的脑卒中视为预后不良。根据治疗 1 年后的预后情况，将 136 例 AD 患者分为预后良好组（74 例）与预后不良组（62 例）。

1.2.3 认知功能障碍评估 本研究采用简易精神状态检查量表（MMSE）对 AD 患者的认知功能进行评估，该量表主要通过 7 个维度、30 个项目对受试者进行检测，按照回答正确、回答错误或答不知道分别计 1、0 分，分值范围在 0~30 分，27 分以下为认知功能障碍；根据文化程度评价认知功能：文盲≤ 17 分，小学≤ 20 分，初中及以上≤ 24 分为痴呆[11]。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析。符合正态分布和方差齐性的计量资料采用均数±标准差表示，组间采用独立样本 t 检验。计数资料以百分率做描述性统计分析，采用 χ^2 检验。Pearson 相关系数检测血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 表达水平与 MMSE 评分的相关性；单因素、多因素 Logistic 回归分析引发 AD 患者预后不良的危险因素；受试者工作特征（ROC）曲线分析血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 联合检测对 AD 患者预后的预测效能。以上数据均以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AD 组与对照组血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1、MMSE 评分对比

AD 组的 MMSE 评分、血清 Klotho 蛋白表达水平显著低于对照组，而血清 VILIP-1、HMGB1 水平显著高于对照组（均 $P<0.05$），详见表 2。

表 2 AD 组与对照组血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1、MMSE 评分对比

Table 2 Comparison of serum Klotho protein, VILIP-1, HMGB1 and MMSE score in the AD group and control group

Groups	n	MMSE(scores)	Klotho protein(pg/mL)	VILIP-1(ng/L)	HMGB1(μmol/L)
AD group	136	14.47±8.68	687.81±29.74	181.63±49.75	29.21±4.42
Control group	150	28.34±1.45	756.63±37.52	136.68±36.29	13.64±3.28
t		-18.766	-17.073	8.785	34.031
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 表达与 MMSE 评分的相关性分析

Pearson 相关性分析显示血清 Klotho 蛋白与 MMSE 评分之间呈显著正相关（r=0.787，$P<0.001$），而血清 VILIP-1、HMGB1 水平与 MMSE 评分之间呈显著负相关（r=-0.669、-0.752，$P<0.001$），详见图 1。

2.3 单因素分析引发 AD 患者预后不良的危险因素

预后良好组与预后不良组在血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 表达、高密度脂蛋白水平、MMSE 评分、体育锻炼比例方面表现出了显著差异（均 $P<0.05$），详见表 3。

2.4 多因素分析引发 AD 患者预后不良的危险因素

将 2.4 中具有差异的因素进行多因素分析，以预后情况作为因变量（预后良好 =0，预后不良 =1）。自变量赋值情况：体育锻炼（有 =0；无 =1），血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 表达水平、高密度脂蛋白水平、MMSE 评分均以原值录入。多因素 *Logistic* 回归分析显示血清 VILIP-1、HMGB1 水平升高是引发 AD 患者预后不良的独立危险因素，而血清 Klotho 蛋白水平升高是其保护因素（$P<0.05$），详见表 4。

2.5 血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 对 AD 患者预后的预测效能

各指标预测效能评估见表 5，ROC 曲线显示 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 联合检测对 AD 患者预后具有较高的预测价值，其曲线下面积为 0.839，敏感度为 80.65%，特异度为 83.78%，详见图 2。

3 讨论

AD 作为发生于老年前期及老年的中枢神经退行性疾病，该病主要特征为进行性的认知功能障碍及行为损害，因此在临床中多表现为失语、人格及行为改变等症状[12,13]。目前对该病暂无有效的治愈方式，只能通过长期的综合疗法缓解症状，从而延缓病情发展，因此有效的预后预测指标对评估 AD 患者病情发展具有重要意义 [14]。虽目前对 AD 的具体发病机制尚未探明，但随着研究的不断深入，发现炎性介质[15]、神经系统蛋白[16]、抗衰老基因[17]等与 AD 发生、发展有着密切关联。因此本研究通过观察 AD 患者血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 表达情况，并分析其与 AD 患者认知功能及预后的关系，且对其可能

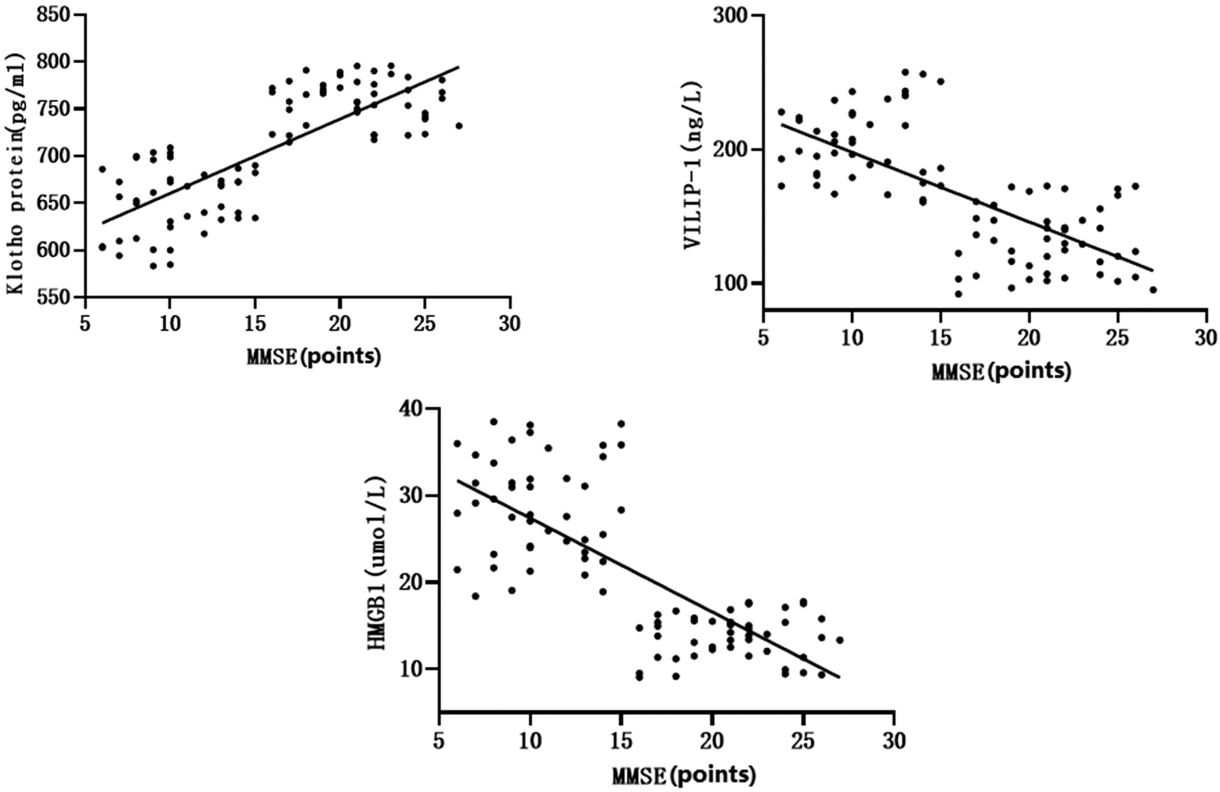

图 1 血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 表达与 MMSE 评分的相关性分析

Fig. 1 Correlation analysis between serum Klotho protein, VILIP-1, HMGB1 expression and MMSE score

表 3 单因素分析引发 AD 患者预后不良的危险因素

Table 3 Univariate analysis of risk factors for poor prognosis in patients with AD

Factors	Good prognosis group(n=74)	Poor prognosis group(n=62)	χ^2/t	*P*
Age(years)	61.52±9.12	61.98±9.45	0.287	0.774
Male[n(%)]	30(40.54)	26(41.94)	0.027	0.869
BMI(kg/m^2)	21.51±1.41	21.47±1.39	0.166	0.869
Diabetes[n(%)]	34(45.95)	32(51.61)	0.434	0.510
Hypertension[n(%)]	37(50.00)	34(54.84)	0.317	0.574
Education level[n(%)]			0.474	0.519
Primary School and below	48(64.86)	41(66.13)		
Middle School to High School	21(28.38)	18(29.03)		
University or above	5(6.76)	3(4.84)		
High density lipoprotein(mmol/L)	1.07±0.36	0.92±0.21	2.893	0.004
Low density lipoprotein(mmol/L)	2.12±0.61	1.99±0.62	1.229	0.221
Total cholesterol(mmol/L)	4.02±0.73	3.93±0.87	0.656	0.513
Klotho protein(pg/mL)	715.53±34.46	654.73±31.28	10.685	<0.001
VILIP-1(ng/L)	167.35±32.57	198.67±45.42	-4.671	<0.001
HMGB1(μmol/L)	25.57±4.46	33.56±4.19	-10.695	<0.001
Physical exercise[n(%)]			6.522	0.011
Yes	58(78.38)	36(58.06)		
No	16(21.62)	26(41.94)		
Course of disease(years)	15.63±4.43	16.02±4.81	-0.491	0.624
MMSE(scores)	15.81±2.12	12.87±3.19	6.417	<0.001

表 4 多因素分析引发 AD 患者预后不良的危险因素

Table 4 Multivariate analysis of risk factors for poor prognosis in patients with AD

Variable	β	*S.E.*	*Wald*χ^2	*P*	*OR*	*95%CI*
Klotho protein	-1.332	0.721	3.411	0.001	0.239	0.080~0.592
VILIP-1	0.067	0.036	3.467	0.012	1.357	1.024~3.183
HMGB1	0.058	0.031	3.516	0.010	1.727	1.124~3.665

表 5 血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 对 AD 患者预后的预测效能

Table 5 Prognostic efficacy of serum Klotho protein, VILIP-1 and HMGB1 in patients with AD

Indicators	Area under the curve	95%CI	Sensitivity(%)	Specificity(%)	Truncation value	Youden index
Klotho protein	0.632	0.545-0.713	53.23	77.03	≤ 672.31pg/ml	0.3026
VILIP-1	0.530	0.442-0.616	70.97	40.54	＞163.61ng/L	0.1151
HMGB1	0.631	0.544-0.712	45.16	77.03	＞29.89umol/L	0.2219
Combined detection	0.839	0.766-0.896	80.65	83.78	--	0.6443

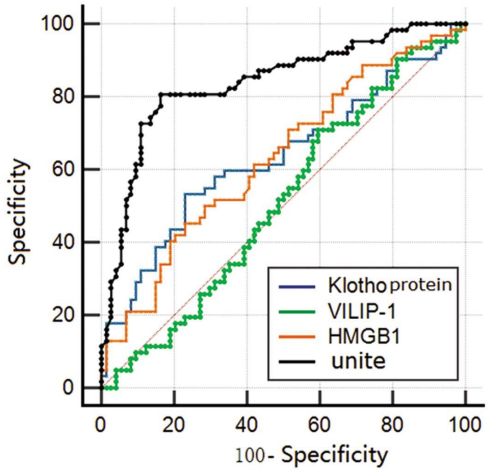

图 2 ROC 曲线评估血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 对 AD 患者预后的预测效能

Fig.2 ROC curve evaluated the predictive efficacy of serum Klotho protein, VILIP-1 and HMGB1 in patients with AD

机制进行说明，为有效评估 AD 患者预后及改善结局提供参考。

研究显示 Klotho 蛋白主要分布于大脑、小肠、前列腺、脑室脉络丛等组织，在前列腺、肾脏等位置所表达的 Klotho 蛋白能够进入血液循环，而分布于脑室脉络丛的 Klotho 蛋白能够直接进入脑脊液，其作为衰老抑制基因，能够通过保护内皮功能及调节一氧化氮分泌从而抑制胰岛素信号及氧化应激反应，起到减缓细胞凋亡速度、抗衰老的作用[18]。Zhou H 等[19]在基础研究中发现 Klotho 蛋白能够改善 AD 小鼠的认知功能，其主要是通过抑制 IGF-1/Akt/mTOR 信号通路中的相关蛋白及基因从而改善记忆障碍。本研究中通过与对照组相比，AD 组患者的血清 Klotho 蛋白显著下降，与 MMSE 评分呈正相关，血清 Klotho 蛋白升高是影响 AD 患者预后的保护因素（$P<0.05$）。Klotho 蛋白能够对 insulin/IGF-1 通路产生调节作用从而改善氧化应激作用，进而充当神经保护因子，而 insulin/IGF-1 通路通过调控 Akt/Fox0 转录因子从而诱导相关抗氧化酶因子的转录水平，进而对体内过表达的活性氧清除[20]，因此说明高表达的 Klotho 蛋白参与了神经保护作用，能够降低 AD 患者神经受损程度。另由于 Klotho 蛋白还是位于肾脏、前列腺、脑等组织的一种钙磷调节蛋白，缺乏 Klotho 蛋白会加速氧化应激反应从而加快细胞衰亡，进而降低组织抵御损伤与自我恢复的能力，因此 Klotho 蛋白作为 AD 患者不良预后的保护因素，其表达水平变化对评估 AD 患者预后具有重要意义[21]。

在 AD 患者病理过程中，钙离子作为信使参与中枢神经系统的信号传导，而 VILIP-1 作为调控神经元内钙离子稳态的蛋白之一，促使神经元发生损伤[22]。Dhiman K 等[23]也在研究中表示，VILIP-1 能够促进神经元细胞的异常磷酸化及凋亡。本研究中，AD 组的血清 VILIP-1 水平显著高于对照组，且与 MMSE 评分呈负相关，并且血清 VILIP-1 水平升高作为影响 AD 患者预后的危险因素，在 AD 的发展过程中具有重要作用。分析其机制主要为当 AD 患者 VILIP-1 表达升高时，过表达的 VILIP-1 通过影响神经元细胞中的钙离子稳态从而促使神经元发生变形直至坏死，而受损、坏死的神经元细胞膜通透性上升会使大量的 VILIP-1 进而释放入脑脊液，形成负反馈调节闭环，进一步加重认知功能障碍[24]。从上述结论中能够进一步证实 AD 患者 MMSE 评分随着 VILIP-1 表达增高而降低，同时 VILIP-1 高表达也预示着 AD 患者神经元细胞受损较为严重，因此整体预后较差。

通过对比两组血清 HMGB1 结果显示，AD 组血清 HMGB1 表达水平显著高于对照组，且与 MMSE 评分呈负相关，且血清 HMGB1 水平升高是影响 AD 患者预后的独立危险因素。首先，HMGB1 作为分布于真核细胞核内的、具有高度保守性的一种非组蛋白核蛋白，其可与多种转录因子或晚期糖基化终末产物受体（receptor of advanced glycation endproducts，RAGE）相结合从而参与基因转录、重组、修复等生物学过程[25,26]。从 HMGB1 易与 RAGE 结合的这一特性来看，当细胞在外界刺激下发生凋亡时，大量的 HMGB1 从细胞核内释放，促进炎性因子的产生[27]。而在 AD 患者中，由于 RAGE 广泛分

布于神经系统的血脑屏障内皮表面、神经元细胞及胶质细胞中，因此当 HMGB1 过表达时，大量的 HMGB1 与 RAGE 相结合，将 β- 淀粉样蛋白（amyloidβ-protein,Aβ）由细胞外转移到细胞内，促进炎性反应发生，从而造成 AD 患者认知功能障碍[28,29]。另外 HMGB1 不仅能参与机体炎症反应并调节免疫反应，还能够通过在坏死细胞中大量释放从而在感染、缺氧、再灌注等生理过程中充当趋化细胞因子，因而血清 HMGB1 水平升高提示 AD 患者病情加重，为 AD 患者预后不良的独立危险因素。

从上述研究结果能够看出 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 在 AD 发生、发展中均发挥着重要作用，并在 AD 患者预后中有着特异性表达，因此本研究通过绘制 ROC 曲线进一步评估以上三指标的联合预测效能。通过 ROC 结果显示，Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 单独检测的效能均较低，分析其主要原因是单一指标在临床中与多种疾病均具有密切联系，如 HMGB1 高表达可参与急性缺血性脑卒中、类风湿等疾病发展，因此单一指标检测对 AD 患者预后的效能较低[30,31]。而联合检测能够有效提升对 AD 患者预后的预估效能，敏感度、特异度均在 80%以上，具有较高的评估价值。

综上所述，血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 与 AD 患者认知功能及预后均具有密切联系，在 AD 患者治疗期间可通过定期检测血清 Klotho 蛋白、VILIP-1、HMGB1 表达水平从而有效评估 AD 患者预后情况，并相应地采取及时、有效的应对措施以改善 AD 患者的预后。

参 考 文 献（References）

[1] Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, et al. Alzheimer's disease[J]. Lancet, 2021, 397(10284): 1577-1590

[2] Breijyeh Z, Kar aman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment[J]. Molecules, 2020, 25(24): 5789

[3] A Armstrong R. Risk factors for Alzheimer's disease [J]. Folia Neuropathol, 2019, 57(2): 87-105

[4] Silva MVF, Loures CMG, Alves LCV, et al. Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures[J]. J Biomed Sci, 2019, 26 (1): 33

[5] Zhao Y, Zeng CY, Li XH, et al. Klotho overexpression improves amyloid-β clearance and cognition in the APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease[J]. Aging Cell, 2020, 19(10): 13239

[6] McGrowder DA, Miller F, Vaz K, et al. Cerebrospinal Fluid Biomarkers of Alzheimer's Disease: Current Evidence and Future Perspectives[J]. Brain Sci, 2021, 11(2): 215

[7] Mavroudis IA, Petridis F, Chatzikonstantinou S, et al. A meta-analysis on the levels of VILIP-1 in the CSF of Alzheimer's disease compared to normal controls and other neurodegenerative conditions [J]. Aging Clin Exp Res, 2021, 33(2): 265-272

[8] Park JC, Han SH, Mook-Jung I. Peripheral inflammatory biomarkers in Alzheimer's disease: a brief review[J]. BMB Rep, 2020, 53(1): 10-19

[9] 安曙光, 覃炳军, 卢广轩, 等. 脓毒症患者血清高迁移率族蛋白 B1 对调节性 T 细胞免疫功能的影响[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(17): 2912-2915

[10] 中国痴呆与认知障碍写作组, 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(二): 阿尔茨海默病诊治指南[J]. 中华医学杂志, 2018, 98(13): 971-977

[11] Galea M, Woodward M. Mini-Mental State Examination (MMSE)[J]. Aust J Physiother, 2005, 51(3): 198

[12] Khan S, Barve KH, Kumar MS. Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease[J]. Curr Neuropharmacol, 2020, 18(11): 1106-1125

[13] Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease [J]. Eur J Neurol, 2018, 25(1): 59-70

[14] Serrano-Pozo A, Growdon JH. Is Alzheimer's Disease Risk Modifiable?[J]. J Alzheimers Dis, 2019, 67(3): 795-819

[15] Lin J, Gao S, Wang T, et al. Ginsenoside Rb1 improves learning and memory ability through its anti-inflammatory effect in Aβ1-40 induced Alzheimer's disease of rats[J]. Am J Transl Res, 2019, 11(5): 2955-2968

[16] Ruan Z, Pathak D, Venkatesan Kalavai S, et al. Alzheimer's disease brain-derived extracellular vesicles spread tau pathology in interneurons[J]. Brain, 2021, 144(1): 288-309

[17] Pukhalskaia AE, Dyatlova AS, Linkova NS, et al. Sirtuins as Possible Predictors of Aging and Alzheimer's Disease Development: Verification in the Hippocampus and Saliva [J]. Bull Exp Biol Med, 2020, 169(6): 821-824

[18] 余伍忠. Klotho 基因及其与衰老相关的研究现状 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2003, 11(6): 8-10

[19] Zhou H, Pu S, Zhou H, et al. Klotho as Potential Autophagy Regulator and Therapeutic Target[J]. Front Pharmacol, 2021, 19(12): 755366

[20] Prud'homme GJ, Kurt M, Wang Q. Pathobiology of the Klotho Antiaging Protein and Therapeutic Considerations [J]. Front Aging, 2022, 12(3): 931331

[21] Fung TY, Iyaswamy A, Sreenivasmurthy SG, et al. Klotho an Autophagy Stimulator as a Potential Therapeutic Target for Alzheimer's Disease: A Review[J]. Biomedicines, 2022, 10(3): 705

[22] Schindler SE, Li Y, Todd KW, et al. Dominantly Inherited Alzheimer Network. Emerging cerebrospinal fluid biomarkers in autosomal dominant Alzheimer's disease [J]. Alzheimers Dement, 2019, 15(5): 655-665

[23] Dhiman K, Blennow K, Zetterberg H, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers for understanding multiple aspects of Alzheimer's disease pathogenesis[J]. Cell Mol Life Sci, 2019, 76(10): 1833-1863

[24] Zhang H, Ng KP, Therriault J, et al. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Cerebrospinal fluid phosphorylated tau, visinin-like protein-1, and chitinase-3-like protein 1 in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease [J]. Transl Neurodegener, 2018, 10(7): 23

[25] Wang B, Huang X, Pan X, et al. Minocycline prevents the depressive-like behavior through inhibiting the release of HMGB1 from microglia and neurons[J]. Brain Behav Immun, 2020, 88(1): 132-143

[26] Li Y, Liu T, Li Y, et al. Baicalin Ameliorates Cognitive Impairment and Protects Microglia from LPS-Induced Neuroinflammation via the SIRT1/HMGB1 Pathway [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 22(1): 4751349

[27] 张蕊, 鲍红光. 高迁移率族蛋白 B1 在炎症性疾病中的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(30): 5988-5990, 5914

（下转第 1730 页）

solid pseudopapillary neoplasm [J]. Endoscopy, 2021, 53 (9): E322-E323

[9] Wang C, Li X, Li C, et al. Good abdominal drainage fluid penetration and pharmacokinetics analysis of vancomycin for severe acute pancreatitis: A case report[J]. J Clin Pharm Ther, 2021(46): 23-27

[10] Xie Y, Yuan Y, Su W, et al. Effect of continuous hemofiltration on severe acute pancreatitis with different intra-abdominal pressure: A cohort study[J]. Medicine, 2021, 100(44): e27641

[11] Zhao M, Yang M, Li X, et al. Acid Sphingomyelinase and Acid β-Glucosidase 1 Exert Opposite Effects on Inter leukin-1β-Induced Interleukin 6 Production in Rheumatoid Arthritis Fibroblast-Like Synoviocytes[J]. Inflammation, 2021, 18(9): 1-15

[12] Xu X H, Liu Y, Feng L, et al. Interleukin6 released by oral lichen planus myofibroblasts promotes angiogenesis [J]. Exp Ther Med, 2021, 21(4): 35-38

[13] Kandasamy S. Is It All Clear if Procalcitonin Clears in Acute Pancreatitis?[J]. Indian J Crit Care Med, 2020, 24(3): 149-150

[14] Liang Y, Zhao X, Meng F. Procalcitonin, C-Reactive Protein, and Neutrophil Ratio Contribute to the Diagnosis and Prognosis of Severe Acute Pancreatitis[J]. Iran J Public Health, 2019, 48(12): 2177-2186

[15] Amouzeshi A, Abedi F, Zardast M, et al. Prognostic Value of Procalcitonin for Morbidity and Mortality in Patients after Cardiac Surgery.[J]. Cardiol Res Pract, 2021, 15(6): 226-228

[16] Paksa B, Sjf A, PJMMD C. A procalcitonin-based algorithm to guide antibiotic use in patients with acute pancreatitis (PROCAP): a single-centre, patient-blinded, randomised controlled trial [J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 7(10): 913-921

[17] Sartelli M, Ansaloni L, Bartoletti M, et al. The role of procalcitonin in reducing antibiotics across the surgical pathway[J]. World J Emerg Surg, 2021, 16(1): 21-25

[18] Liang Y, Zhao X, Meng F. Procalcitonin, C-Reactive Protein, and Neutrophil Ratio Contribute to the Diagnosis and Prognosis of Severe Acute Pancreatitis[J]. Iran J Public Health, 2020, 48(12): 536-538

[19] Ganesh B N, Setty S. C reactive protein as a prognostic indicator of severity in patients with acute pancreatitis [J]. Int Surg J, 2020,7(4): 1169

[20] Mohammed H, Ramadan H, El-Mahdy R, et al. The Prognostic Value of Different Levels of Cortisol and High-sensitivity C-reactive Protein in Early Acute Pancreatitis[J]. Am J Med Sci, 2021, 15(29): 14-17

[21] 李小锋, 曹小平, 龚君佐, 等. 血清 PCT, CRP, IL-6 对急性胰腺炎病情严重性及预后判断 [J]. 湖南师范大学学报：医学版, 2020,17 (4): 106-109

[22] 张涛, 朱孝明, 杨俊玲. D- 二聚体,PCT 和 CRP 检测在重症胰腺炎中的临床价值[J]. 解放军预防医学杂志, 2020, 38(1): 17-18

[23] 李婷婷, 李海燕, 薛乐. 腹部 MSCT 检查联合 AMY, CRP 及 PCT 指标对急性胰腺炎的诊断价值分析 [J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2020, 18(11): 115-117

[24] Baril A A, Beiser A S, Redline S, et al. Interleukin-6 Interacts with Sleep Apnea Severity when Predicting Incident Alzheimer's Disease Dementia[J]. J Alzheimers Dis, 2021, 79(4): 1-7

[25] Yin Y, Wei N, Zheng Z, et al. Relationship between apoA-I, chemerin, Procalcitonin and severity of hyperlipidaemia-induced acute pancreatitis[J]. J Pak Med Assoc, 2022, 72(6): 1201-1204

[26] Fta B, Hlb C, Liang W B, et al. The diagnostic value of serum C-reactive protein, procalcitonin, interleukin-6 and lactate dehydrogenase in patients with severe acute pancreatitis-Science Direct[J]. Clin Chim Acta, 2020, 510(19): 665-670

[27] Huang Z, Mei Q, Huang C, et al. Study on Intestinal Barrier Injury in Acute Necrotizing Pancreatitis Induced by L-Arginine in Mice [J]. Chin J Gastroenterol, 2020, 25(5): 283-287

[28] Yang W, Xu H W, Lu X R, et al. Overexpression of miR-122 Impairs Intestinal Barrier Function and Aggravates Acute Pancreatitis by Downregulating Occludin Expression [J]. Biochem Genet, 2021, 12 (26): 1-6

[29] Ge P, Luo Y, Okoye C S, et al. Intestinal barrier damage, systemic inflammatory response syndrome, and acute lung injury: A troublesome trio for acute pancreatitis [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 132(7): 110770

[30] Chen Y J, Chen M Z, Zhang H W, et al. Effect of Guo Qing Yi Tang combined with Western medicine cluster therapy on acute pancreatitis [J]. Am J Emerg Med, 2021, 15(7): 21-28

（上接第 1711 页）

[28] Han Y, Chen R, Lin Q, et al. Curcumin improves memory deficits by inhibiting HMGB1-RAGE/TLR4-NF-κB signalling pathway in APPswe/PS1dE9 transgenic mice hippocampus [J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(18): 8947-8956

[29] Tan SW, Zhao Y, Li P, et al. HMGB1 mediates cognitive impairment caused by the NLRP3 inflammasome in the late stage of traumatic brain injury[J]. J Neuroinflammation, 2021, 18(1): 241

[30] Kim SW, Lee JK. Role of HMGB1 in the Interplay between NETosis and Thrombosis in Ischemic Stroke: A Review [J]. Cells, 2020, 9(8): 1794

[31] Kaur I, Behl T, Bungau S, et al. Exploring the therapeutic promise of targeting HMGB1 in rheumatoid arthritis [J]. Life Sci, 2020, 1(258): 118164