



血清色氨酸、酪氨酸与阿尔茨海默病之间的关系

任蜀江 敬小钧 张 华*

(重庆医科大学附属第一医院神经内科, 重庆 400016)

摘要 目的 越来越多的研究表明, 代谢物的失衡与阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 之间存在密切的联系。近年来, 代谢组学的发展使研究 AD 周围代谢的特征性变化成为可能。有研究表明, 血清色氨酸 (tryptophan, Trp)、酪氨酸 (tyrosine, Tyr) 水平与轻度认知功能障碍 (mild cognitive impairment, MCI)、AD 相关。本文拟进一步阐明 MCI 和 AD 中色氨酸、酪氨酸水平的特征。**方法** 将来自阿尔茨海默病神经影像学倡议 1 (Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative-1, ADNI-1) 队列的 765 位参与者, 分为认知正常 (cognitive normal, CN, $n=207$)、稳定性轻度认知功能障碍 (stable mild cognitive impairments, sMCI, $n=201$)、进行性轻度认知功能障碍 (progressive mild cognitive impairments, pMCI, $n=171$) 和 AD 所致痴呆 ($n=186$)。分析血清色氨酸、酪氨酸对 MCI、AD 是否具有诊断价值。分析在不同诊断组中, 血清色氨酸、酪氨酸分别与脑脊液生物标志物、脑结构、脑代谢及认知功能之间的关系。**结果** 与 CN 组相比, sMCI、pMCI、AD 组血清色氨酸水平偏低。pMCI 组、AD 组血清酪氨酸水平显著低于 CN 组。血清色氨酸对 pMCI、AD 有诊断价值。血清酪氨酸仅对 AD 有诊断价值。**结论** 血清色氨酸、酪氨酸有助于 AD 的早期诊断。色氨酸、酪氨酸的检测可以为 AD 的病理学机制研究提供新思路。血清色氨酸、酪氨酸与 AD 核心标志物、认知功能、脑结构、脑代谢之间均无明显相关性, 故血清色氨酸、酪氨酸可能不是 AD 较好的外周生物标志物。

关键词 阿尔茨海默病, 血清色氨酸, 血清酪氨酸, 轻度认知功能障碍

中图分类号 R3, R74

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0056

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是最常见的神经退行性疾病, 也是老年性痴呆最主要的原因, 其发生及进展机制目前尚不明确。越来越多的研究表明, 代谢紊乱与 AD 的发生、发展密切相关^[1-4]。在 AD 的疾病进展过程中, 许多代谢途径受到影响, 包括能量代谢、脂质代谢、神经递质等^[5]。脑葡萄糖代谢受损发生在 AD 认知功能障碍发作前数十年^[6-7]。越来越多的证据支持胰岛素抵抗可促进 AD 发病机制的概念, 因此, AD 可被视为部分由脑胰岛素和胰岛素样生长因子抵抗介导的代谢性疾病^[5]。为研究代谢物与疾病发生和进展之间的关系, AD 代谢组学联盟 (Alzheimer's Disease Metabolomics Consortium, ADMC) 与 AD 神经成像倡议 (Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, ADNI) 合作, 正在为 ADNI-1 队列中的患者创建一个全面的生化数据库^[8]。

皮质下单胺能系统结构和功能的异常与 AD 的病理生理学之间有着令人信服的联系。研究发现,

改善单胺能系统, 既可以恢复认知功能, 又可以减少神经退行性动物模型中与 AD 相关的病理改变^[9-10]。而色氨酸 (tryptophan, Trp)、酪氨酸 (tyrosine, Tyr) 均为单胺类神经递质 (多巴胺、去甲肾上腺素、5-羟色胺 (5-HT)) 的前体物质。动物实验表明, 大鼠大脑中单胺能神经元合成神经递质的速度取决于氨基酸前体色氨酸 (用于 5-HT) 和酪氨酸 (用于多巴胺和去甲肾上腺素) 的可用性^[11]。

色氨酸、酪氨酸均可通过特定的主动转运系统通过血脑屏障进入大脑^[12]。越来越多的研究表明, 体外补充色氨酸、酪氨酸有利于认知功能的改善^[12-15]。AD 的小鼠模型中, 摄入 Trp-Tyr 肽还抑制了小胶质细胞炎症和 β 淀粉样蛋白 ($A\beta$) 的累积,

* 通讯联系人。

Tel: 13629749640, E-mail: zhanghuapro@hospital.cqmu.edu.cn

收稿日期: 2023-02-23, 接受日期: 2023-05-09

从而改善认知能力下降^[16]。目前,AD患者血清色氨酸、酪氨酸减少已得到充分证明^[17]。

然而,血清色氨酸、酪氨酸是否能作为AD外周生物标志物仍需进一步探讨。本研究利用来自ADNI数据库的实验数据分析了在认知正常(cognitive normal, CN)组、稳定性轻度认知功能障碍(stable mild cognitive impairments, sMCI)组、进行性认知功能障碍(progressive mild cognitive impairments, pMCI)组和AD所致痴呆组血清色氨酸、酪氨酸水平差异,检验了血清色氨酸、酪氨酸对AD是否具有诊断价值,通过简易精神状态检查(mini-mental state examination, MMSE)、阿尔茨海默病评估量表认知分量表(Alzheimer's disease assessment scale cognitive subscale, ADAS-cog 13)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)和¹⁸F-氟脱氧葡萄糖正电子发射断层扫描(¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography, FDG-PET)等数据,分析了血清色氨酸、酪氨酸与脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)核心标志物、认知、脑结构和脑代谢之间的关系。

1 数据来源与分析方法

1.1 数据来源

本文所用数据来自ADNI数据库(<http://adni.loni.usc.edu>)。ADNI是一项持续的纵向研究,于2003年启动,作为公私合作伙伴关系推出,由首席研究员Michael W. Weiner领导。ADNI的主要目标是测试序列MRI、正电子发射断层显像(positron emission tomography, PET)、其他生物标记以及临床和神经心理学评估是否可以结合起来,以测量轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment, MCI)和早期AD的进展。ADNI的参与者是从美国和加拿大的59个地点招募。这项研究得到了所有参与机构/研究网站的机构审查委员会的批准。获得了每个站点所有参与者的知情书面同意。如需更多信息,请访问<http://www.adni-info.org>。

在这项研究中,参与者由55~90岁的AD、MCI和健康对照者组成,他们完成了腰椎穿刺、MMSE、ADAS-cog13、临床痴呆评分(clinical dementia rating, CDR)和MRI。根据ADNI提供的临床和行为测量,本文选取其中一个队列(ADNI-1),除了数据库对CN($n=207$)、MCI、AD($n=186$)的分类外,本文根据随访期间病程是否进展将MCI

分为sMCI($n=201$)、pMCI($n=171$)。

1.2 ADNI数据库使用的实验方法

1.2.1 分类标准

CN、MCI或AD痴呆症的诊断是根据认知评估进行的,具体的纳入和排除标准在既往的报告中已有详细描述^[18]。CN受试者没有记忆力缺陷,而MCI和AD痴呆症受试者确实有记忆力缺陷。CN的标准包括MMSE评分介于24和30之间,CDR评分为0^[19]。MCI的标准包括存在主观记忆缺陷,MMSE评分在24至30之间,CDR为0.5,日常生活活动保持,无痴呆^[20]。除了可能AD的NINCD/ADRDA标准外,AD痴呆患者的MMSE评分在20和26之间,CDR为0.5或1.0^[21-22]。本文将sMCI定义为在至少2年的随访期间未进展为AD的MCI受试者,将pMCI定义为在随访期间的任何时间进展为AD的MCI受试者。排除了在基线时被诊断为MCI但在随访期间恢复为CN的受试者,以及在基线时被诊断为AD但在随访期间恢复为MCI的受试者。

1.2.2 血清色氨酸、酪氨酸测定

在隔夜禁食后,在CSF采集前的上午8点采集血液标本,立即放在干冰上,并于同一天运送到宾夕法尼亚大学的ADNI生物标志物核心进行处理。使用Absolute IDQ-p180试剂盒(BIOCRA TES Life Science AG, Innsbruck, Austria)和超高效液相色谱(UPLC)/MS/MS系统,采用靶向代谢组学方法定量测量血清代谢物。AbsoluteIDQ-p180试剂盒已根据欧洲医药机构生物分析方法验证指南进行了充分验证。氨基酸使用苯基异硫氰酸酯衍生化,并使用AB SCIEX 4000 QTrap质谱仪(AB SCIEX, Darmstadt, Germany)通过液相色谱串联质谱(HPLC-MS/MS)进行电喷雾电离分析^[23-24]。以 $\mu\text{mol/L}$ 为单位测量每种代谢物的浓度。

1.2.3 CSF中t-tau、p-tau181测定

使用多重xMAP-Luminex平台(Luminex Corp, Austin, TX, USA)和Innogenetics INNO-BIA AlzBio3免疫分析试剂定量测定CSF磷酸化tau蛋白(phosphorylated-tau at threonine, p-tau)和总tau蛋白(total-tau, t-tau)。有关CSF采集和测量的ADNI方法以及质量控制程序的更多详细信息,请访问<http://www.adni-info.org>。

1.2.4 认知功能评估

受试者的认知功能由MMSE和ADAS-cog13评分评估。所有受试者都进行了5次评分:基线、

12、24、36和48个月。

1.2.5 神经影像学方法

MRI 协议，包括扫描仪规格、图像采集和图像处理，详见 www.adni-info.org。简而言之，协议包括 T1 加权 MR 图像，包括 1.25 mm×1.25 mm 平面空间分辨率的矢状体积 3D MPRAGE，1.2 mm 厚的矢状切片，8° 翻转角度，目标 TR 约为 8.9 mm，TE 约为 3.9 ms^[25]。本文使用海马和脑室体积来表示神经系统退行性病变。选择了 5 个时间点的成像数据：基线、12 个月、24 个月、36 个月和 48 个月。

1.2.6 脑代谢

利用 FDG-PET 研究脑葡萄糖代谢。ADNI 中 PET 成像数据的获取和处理参照 Lovelace 等^[26] 的描述。注射后 30~60 min 采集 FDG 图像数据，并在预处理后从 ADNI 网站下载图像。使用外侧和内侧前额叶、前扣带和后扣带区域以及外侧顶叶和外侧颞叶的平均计数来估计每个参与者的 FDG 标准化吸收值比值（standardized uptake value ratio, SUVR）。FDG-PET 图像数据是在基线和 12 个月、24 个月、36 个月和 48 个月时获得的。

1.3 统计方法

利用方差分析和卡方检验分析组间基线人口统计学显著差异。采用 LSD 检验分别分析色氨酸、酪氨酸各组间差异。Spearman 相关性用于分析色氨酸、酪氨酸与其他 AD 核心标志物之间的关系。使用 ROC 曲线分析获得每个生物标记物的总体诊断准确率（曲线下面积，AUC）。使用 bootstrap 方

法分析来自所有两对不同变量的两个 AUC 之间的潜在差异。色氨酸、酪氨酸与 AD 发病率之间的相关性通过使用调整年龄和性别比例的风险回归分析计算 95% 置信区间（CIs）的风险比（HRs）来评估。在进行 Cox 比例风险回归分析时，根据每个生物标志物的中位数将血清色氨酸、酪氨酸分为两组。用线性混合效应模型分别分析血清色氨酸、酪氨酸水平与纵向脑代谢、脑结构和认知的关系。然后将截距（基线值）和斜率（变化率）用作线性回归模型中的结果，其中分别将色氨酸、酪氨酸作为预测因子（分析血清色氨酸、酪氨酸与脑代谢之间关系时调整年龄、性别；分析血清色氨酸、酪氨酸与脑室容积之间关系时调整年龄、性别、颅内容积；分析血清色氨酸、酪氨酸与海马体积之间关系时调整年龄、性别、脑室容积及颅内容积；分析血清色氨酸、酪氨酸与认知之间的关系时调整年龄、性别、受教育程度）在诊断组内。所有统计数据均使用 SPSS 22 版进行。所有分析的统计显著性定义为 $P<0.05$ 。

2 结 果

2.1 人口统计学结果

本文研究对象的基线人口统计学、生物标志物的差异如表 1 所示。各组间年龄无明显差异。各组间性别、受教育年限、APOEε4 基因型个体百分比、生物标志物水平、平均 MMSE、平均 ADAS-cog13、脑室体积、海马体积和全脑体积均具有显著差异（表 1）。

Table 1 Demographics of subjects at baseline

Variable	CN	sMCI	pMCI	AD
Age	75.68±4.98	74.71±7.63	74.72±7.02	75.26±7.46
Female	101 (48.79%) ^b	68 (33.83%) ^{ad}	66 (38.60%)	89 (47.85%) ^b
Education/year	16.08±2.88 ^d	15.55±3.23 ^d	15.73±2.88 ^d	14.66±3.11 ^{abc}
APOE4	0 (0, 1) ^{bcd}	0 (0, 1) ^{acd}	1 (0, 1) ^{ab}	1 (0, 1) ^{ab}
FDG-PET	1.29±0.12 ^{bcd}	1.22±0.13 ^{acd}	1.15±0.11 ^{abd}	1.07±0.13 ^{abc}
t-tau/(ng·L ⁻¹)	232.73±89.17 ^{bcd}	298.39±165.55 ^{acd}	335.92±115.87 ^{ab}	355.05±133.86 ^{ab}
p-tau/(ng·L ⁻¹)	21.52±9.04 ^{bcd}	29.42±17.96 ^{ad}	33.45±13.27 ^a	35.91±15.6 ^{ab}
ADAS-cog13	9.26±4.15 ^{bcd}	17.22±6.09 ^{acd}	21.24±5.44 ^{abd}	29.07±7.63 ^{abc}
MMSE	29.1±1.02 ^{bcd}	27.28±1.79 ^{acd}	26.65±1.71 ^{abd}	23.3±2.06 ^{abc}
Ventricles/mm ³	35 038.93±20 166.52 ^{bcd}	42 632.57±23 854.75 ^{ad}	47 184.31±23 250.63 ^a	50 467.87±25 291.42 ^{ab}
Hippocampus/mm ³	7 267.32±897.41 ^{bcd}	6 670.52±1 003.98 ^{acd}	6 010.71±1 001.87 ^{abd}	5 588.48±1 008.74 ^{abc}
Whole brain/mm ³	1 006 643.75±100 784.35 ^{cd}	1 007 521.09±107 108.02 ^{cd}	981 233.53±112 614.77 ^{abd}	953 251.77±107 515.33 ^{abc}

Measurement data are expressed by mean and standard error unless otherwise indicated. *P* values indicate the values assessed with analyses of variance for each variable except gender and APOEε4, where a contingency Chi-square was performed. Post hoc analysis provided significant differences between groups: a from CN; b from sMCI; c from pMCI; d from AD.

2.2 血清色氨酸、酪氨酸各组间差异

与CN组相比,AD组(71.03 ± 14.54) $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.01$)、pMCI组(69.97 ± 15.66) $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.001$)和sMCI组(72.55 ± 15.72) $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$)血清色氨酸水平均显著低于CN组(74.88 ± 13.7) $\mu\text{mol/L}$ 。然而,sMCI组与pMCI组之间以及sMCI组与AD组之间血清色氨酸水平无显著差异。

pMCI组和AD组之间血清色氨酸水平亦无显著差异。AD组(81.12 ± 18.43) $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.01$)和pMCI组(82.69 ± 17.78) $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$)血清酪氨酸水平均明显低于CN组(86.48 ± 21.19) $\mu\text{mol/L}$ 。然而AD组与sMCI组、pMCI组之间,sMCI组与CN组、pMCI组之间无显著差异(图1)。

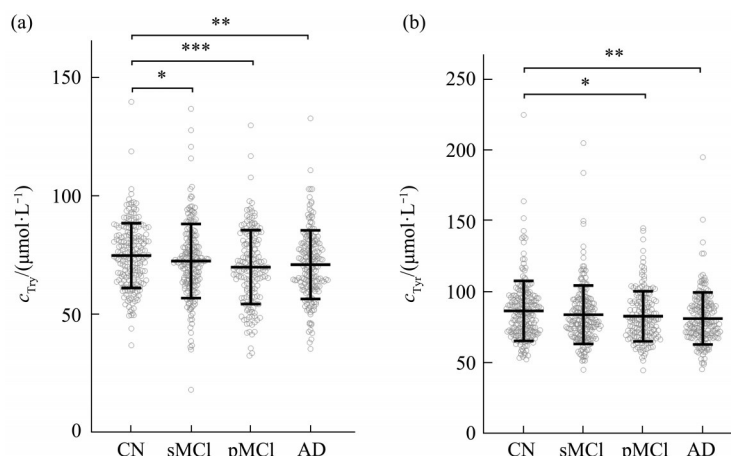


Fig. 1 Serum tryptophan (a) and tyrosine (b) levels in different diagnostic groups

Differences between groups were tested by LSD test, adjusted for age and gender. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

2.3 血清色氨酸、酪氨酸分别与Tau的关系

在CN组(Try, $r = 0.146$, $P = 0.148$; Tyr, $r = -0.056$, $P = 0.583$)、sMCI组(Try, $r = -0.082$, $P = 0.433$; Tyr, $r = 0.049$, $P = 0.644$)、pMCI组(Try, $r = -0.134$, $P = 0.220$; Tyr, $r = -0.113$, $P = 0.301$)、AD组(Try, $r = -0.113$, $P = 0.275$; Tyr, $r = 0.018$, $P = 0.860$)中,血清色氨酸和酪氨酸与脑脊液t-tau之间均无显著相关性(图2a, c, e, g)。不同诊断组血清色氨酸和酪氨酸与脑脊液P-Tau之间亦无显著相关性(CN: Try, $r = 0.149$, $P = 0.140$; Tyr, $r = -0.066$, $P = 0.514$; sMCI: Try, $r = -0.092$, $P = 0.378$; Tyr, $r = 0.036$, $P = 0.731$; pMCI: Try, $r = -0.129$, $P = 0.239$; Tyr, $r = -0.114$, $P = 0.297$; AD: Try, $r = -0.123$, $P = 0.234$; Tyr, $r = -0.020$, $P = 0.844$), (图2b, d, f, h)。

2.4 血清色氨酸、酪氨酸和脑脊液核心标志物对MCI及AD诊断的准确性

进行ROC分析,检测血清色氨酸、酪氨酸、

CSF t-tau和CSF p-tau与sMCI、pMCI和AD临床诊断的相关性。与CN相比,CSF t-tau和p-tau对sMCI(表2和图3a)、pMCI(表2和图3b)和AD(表2和图3c)有显著的诊断准确性。血清色氨酸对pMCI(表2和图3b)、AD(表2和图3c)有显著的诊断准确性,而对sMCI(表2和图3a)无显著诊断准确性。血清酪氨酸仅对AD(表2和图3c)具有显著诊断的准确性,而对sMCI(表2和图3a)、pMCI(表2和图3b)均无诊断价值。与单独的CSF t-tau、CSF p-tau相比,血清色氨酸、酪氨酸分别与CSF t-tau或CSF p-tau的组合能提高对sMCI、AD诊断的准确性(表2和图3a, c),但没有统计学差异。与单独的CSF t-tau相比,血清色氨酸、酪氨酸分别与CSF t-tau的组合能提高对pMCI诊断的准确性(表2和图3b)。与CSF p-tau相比,血清色氨酸、酪氨酸分别与CSF p-tau的组合并不能提高对pMCI诊断的准确性(表2和图3b)。

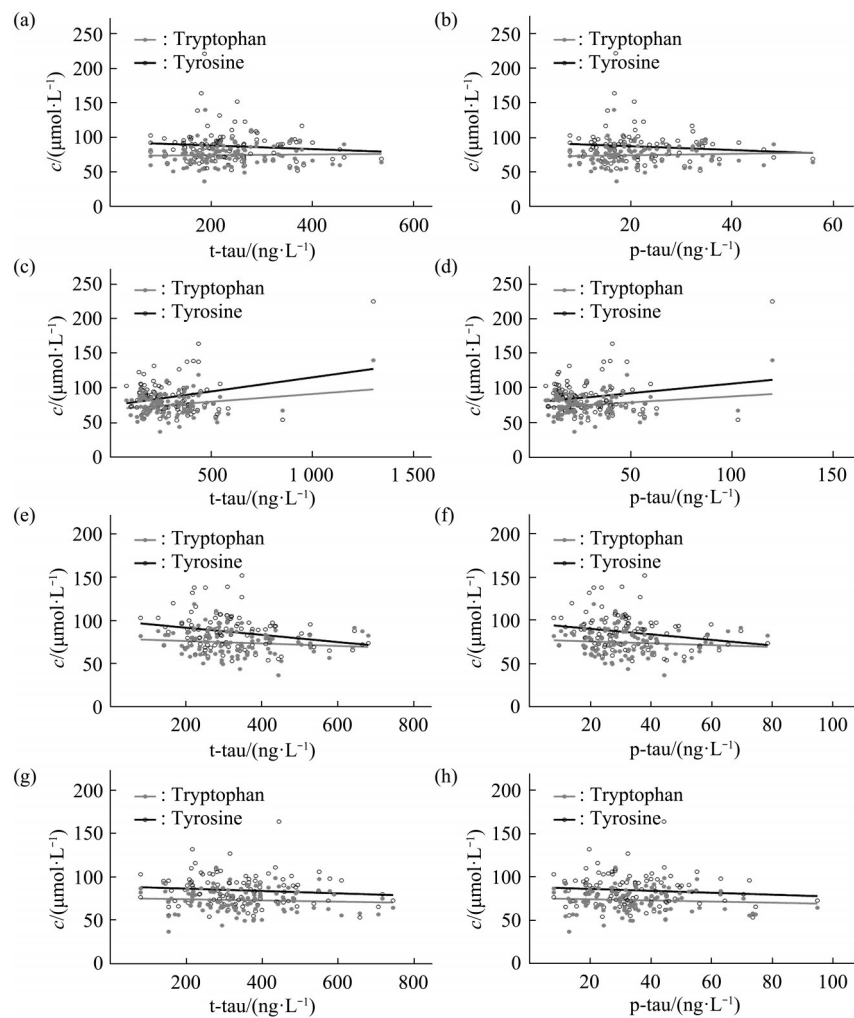


Fig. 2 Serum tryptophan and tyrosine in relation to CSF tau
Correlations between serum tryptophan or tyrosine levels and CSF t-tau in CN (a), sMCI (c), pMCI (e) and AD (g). Correlations between serum tryptophan or tyrosine levels and CSF p-tau in CN (b), sMCI (d), pMCI (f) and AD (h).

Table 2 AUC of biomarkers								
	Tryptophan	Tyrosine	t-tau	p-tau	t-tau+ tryptophan	p-tau+ tryptophan	t-tau+ tyrosine	p-tau+ tyrosine
sMCI	0.549 (0.494, 0.604) <i>P</i> =0.080	0.545 (0.490, 0.599) <i>P</i> =0.113	0.614 (0.535, 0.692) <i>P</i> =0.005	0.623 (0.544, 0.702) <i>P</i> =0.003	0.625 (0.547, 0.704) <i>P</i> =0.002	0.634 (0.556, 0.712) <i>P</i> =0.001	0.644 (0.568, 0.720) <i>P</i> <0.001	0.651 (0.575, 0.727) <i>P</i> <0.001
pMCI	0.591 (0.534, 0.648) <i>P</i> =0.002	0.554 (0.497, 0.611) <i>P</i> =0.066	0.770 (0.704, 0.836) <i>P</i> <0.001	0.787 (0.723, 0.851) <i>P</i> <0.001	0.773 (0.707, 0.838) <i>P</i> <0.001	0.787 (0.723, 0.851) <i>P</i> <0.001	0.773 (0.707, 0.838) <i>P</i> <0.001	0.786 (0.722, 0.850) <i>P</i> <0.001
AD	0.578 (0.523, 0.634) <i>P</i> =0.006	0.583 (0.528, 0.638) <i>P</i> =0.004	0.779 (0.715, 0.844) <i>P</i> <0.001	0.793 (0.729, 0.856) <i>P</i> <0.001	0.783 (0.719, 0.847) <i>P</i> <0.001	0.796 (0.733, 0.860) <i>P</i> <0.001	0.787 (0.724, 0.850) <i>P</i> <0.001	0.802 (0.740, 0.865) <i>P</i> <0.001

AUC: area under the receiver operator characteristics curve; sMCI: stable mild cognitive impairment; pMCI: progressive mild cognitive impairment; AD: Alzheimer's disease.

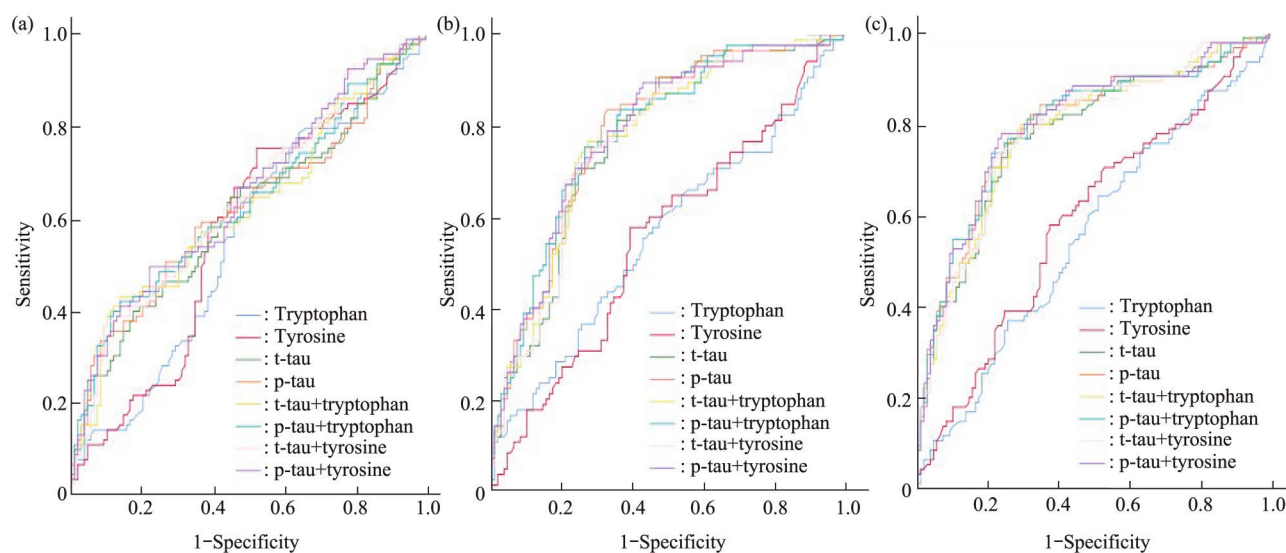


Fig. 3 ROC analyses

ROC analyses were performed to test the CSF biomarkers, serum tryptophan and tyrosine in relation to clinical diagnoses for sMCI (a), pMCI (b) and AD (c).

2.5 血清色氨酸、酪氨酸是否能预测MCI向AD转化

本文研究了血清色氨酸、酪氨酸是否能预测MCI到AD的转化。校正性别、年龄和受教育年限后，对作为连续变量的血清色氨酸、酪氨酸进行

Cox 比例风险回归。使用血清色氨酸、酪氨酸的中位值作为阈值，计算血清色氨酸、酪氨酸的HRs作为二分变量。结果表明，血清色氨酸、酪氨酸均不能预测MCI向AD的转化（图4a, b）。

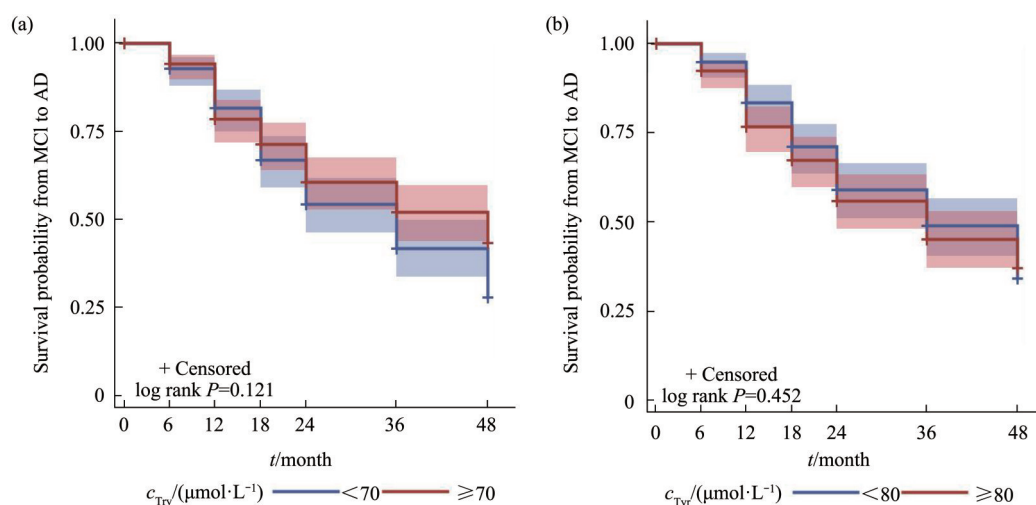


Fig. 4 Baseline serum measures of tryptophan and tyrosine as a predictor of conversion from MCI to AD

Cox proportional hazard regression analyses were used to evaluate the relationships between tryptophan, tyrosine and the incidence of AD. Conversion from MCI to AD as a function of serum tryptophan (a), tyrosine (b) measures (dichotomized at the median values) are shown. Analyses were adjusted for age, education, and gender. Cutoff values were 70 $\mu\text{mol/L}$ and 80 $\mu\text{mol/L}$ for tryptophan and tyrosine, respectively.

2.6 血清色氨酸、酪氨酸与认知功能之间的关系

在各诊断组中, 血清色氨酸与基线时的 MMSE、ADAS-cog13 评分或随访期间 MMSE、ADAS-cog13 的变化率无关 (图 5a, b, e, f)。同

样的, 血清酪氨酸与基线时的 MMSE、ADAS-cog13 评分或随访期间 MMSE、ADAS-cog13 的变化率亦无关 (图 5c, d, g, h)。

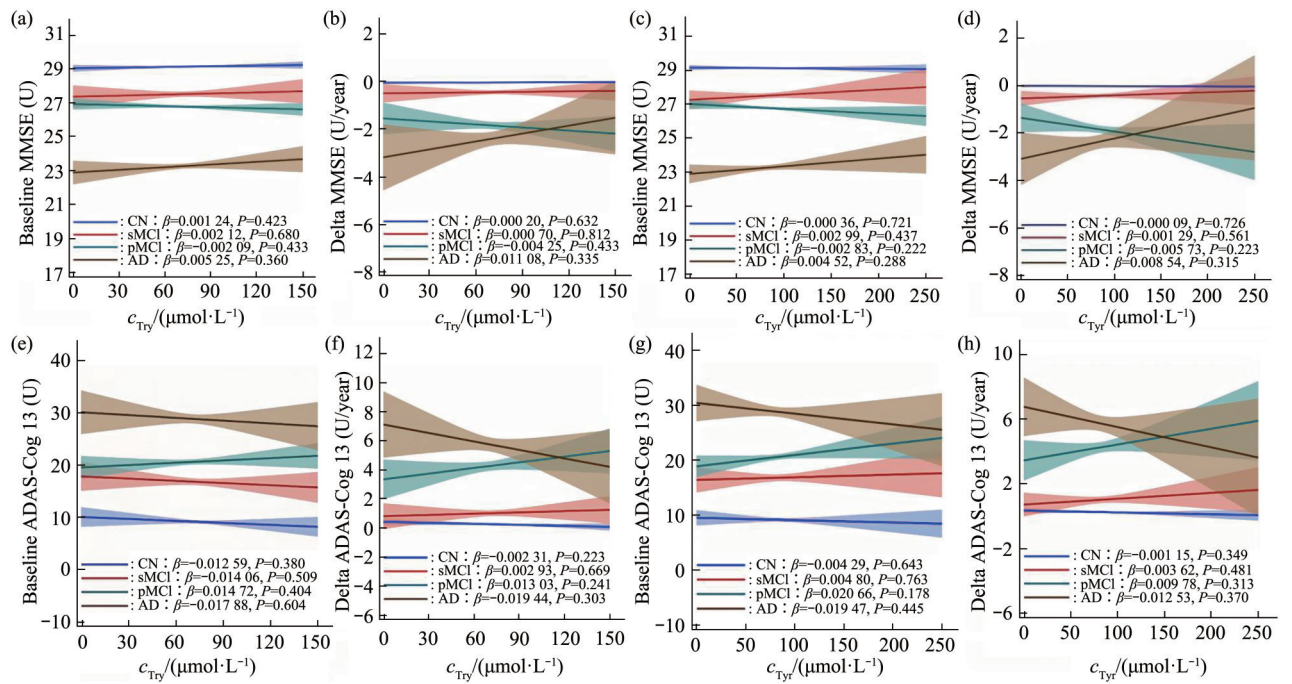


Fig. 5 Serum tryptophan and tyrosine in relation to cognition and future cognitive change

MMSE and ADAS-cog13 at baseline (a, e) and overtime (b, f) as a function of baseline serum tryptophan in different diagnostic groups. MMSE and ADAS-cog13 at baseline (c, g) and overtime (d, h) as a function of baseline serum tyrosine in different diagnostic groups.

2.7 血清色氨酸、酪氨酸与脑结构、脑代谢之间的关系

最后, 本文探索了血清色氨酸、酪氨酸与通过 MRI 测得的脑室容积、海马体积和通过 FDG-PET 测得的脑代谢之间的关系。在各诊断组中, 血清色氨酸、酪氨酸与基线时的脑室容积、海马体积没有

相关性 (图 6a, c, e, g), 与随访期间脑室容积、海马体积的变化率亦没有相关性 (图 6b, d, f, h)。同样的, 血清色氨酸、酪氨酸与基线时的 FDG-PET、随访期间 FDG-PET 的变化率均没有相关性 (图 6i, j-l)。

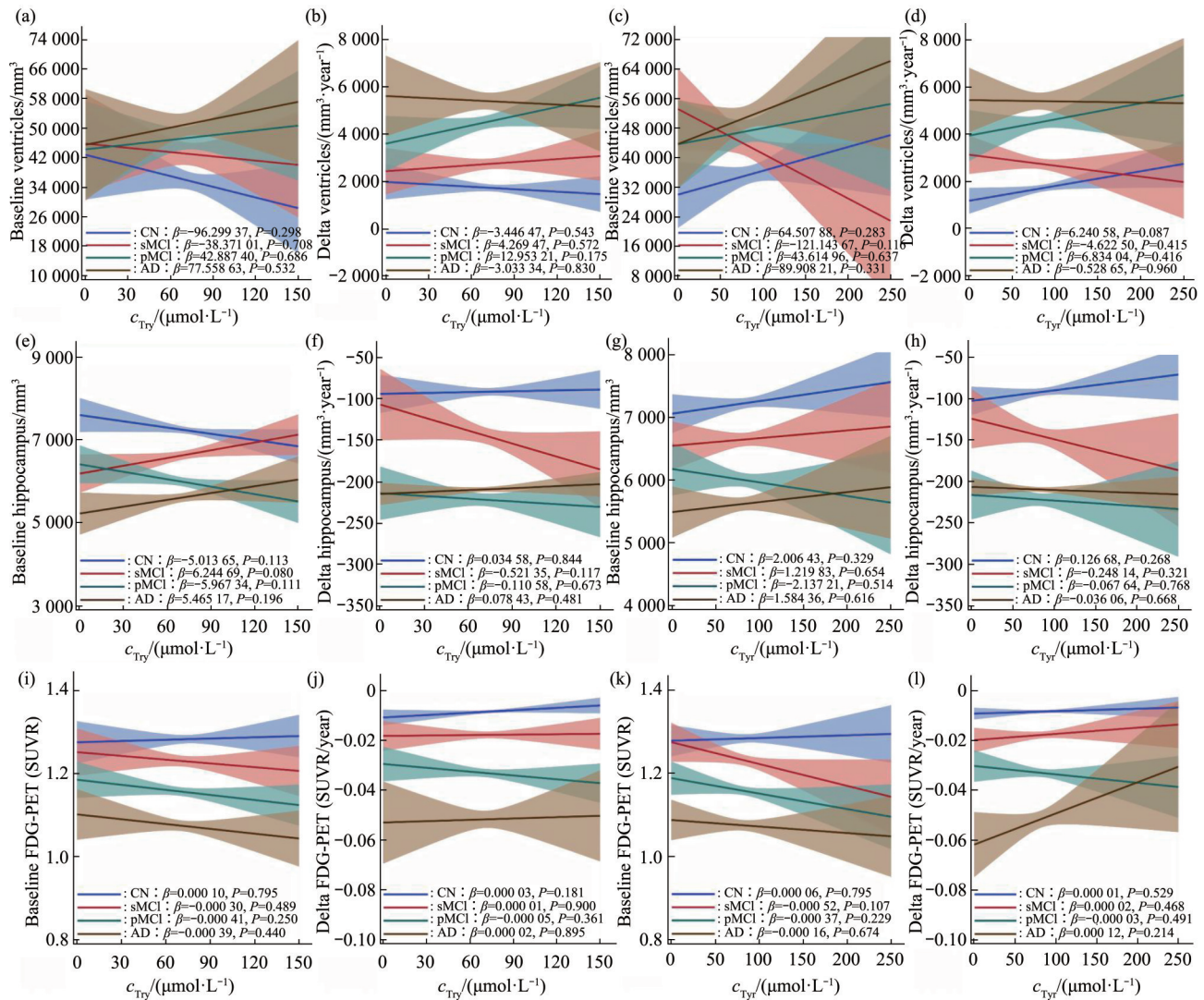


Fig. 6 Serum tryptophan and tyrosine in relation to brain structure and FDG-PET

Ventricular volume, hippocampal volume, and FDG-PET at baseline (a, e, i) and over time (b, f, j) as a function of baseline serum tryptophan in different diagnostic groups. Ventricular volume, hippocampal volume, and FDG-PET at baseline (c, g, k) and over time (d, h, l) as a function of baseline serum tyrosine in different diagnostic groups.

3 讨 论

本文分析了ADNI-1队列中血清色氨酸、酪氨酸与AD的诊断、核心生物标志物、脑结构、认知功能及脑代谢之间的关系。分析结果表明：与CN组相比，AD组、pMCI组和sMCI组血清色氨酸水平明显偏低；与CN组相比，AD组和pMCI组血清酪氨酸水平明显偏低。在各诊断组中，血清色氨酸、酪氨酸与tau蛋白无相关性。血清色氨酸对pMCI、AD均具有诊断准确性；血清酪氨酸对AD具有诊断准确性。血清色氨酸、酪氨酸均不能预测MCI向AD的转化。血清色氨酸、酪氨酸与认知功

能、脑结构、脑代谢均无明显关系。

越来越多研究表明，AD是一种代谢性疾病，受影响的代谢途径包括能量代谢、脂质代谢、氨基酸代谢、神经递质代谢、激素代谢等^[23, 27]。色氨酸是必须由饮食供给的必需氨基酸，是5-HT、褪黑素及犬尿氨酸（KYN）的前体物质^[10, 26-27]。色氨酸主要通过5-HT途径和犬尿氨酸途径（KP）分解代谢成多种生物活性代谢物^[28]。色氨酸被色氨酸羟化酶（TPH）催化为5-羟基色氨酸（5-HTP），5-HTP经芳香脱羧酶催化产生5-HT。5-HT最终可转化为褪黑素。KP是色氨酸代谢的主要分解代谢途径。在吡哆胺2,3-双加氧酶（IDO-1）或色氨酸

2,3-双加氧酶 (TDO) 作用下将色氨酸转化为N-乙酰基犬尿氨酸, 然后产生 KYN、犬尿酸 (KYNA)、喹啉酸 (QUIN)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD⁺) 等。5-HT 能神经元的缺失与AD的严重程度、记忆功能障碍和精神症状相关^[29]。褪黑素在AD的动物模型中可以防止 β 淀粉样蛋白肽的毒性聚集^[30-31]。补充褪黑素, 可以改善睡眠质量^[32]。研究表明, 睡眠障碍会导致中老年人AD的患病风险增加^[33]。KP的过分激活会导致包括KYNA在内的神经毒性产物在神经胶质细胞中的累积^[10]。NAD⁺在线粒体能量代谢中起着重要的作用^[1]。在神经免疫反应期间能量需求大幅增加, 故KP是大脑免疫系统的关键调节器^[34]。色氨酸代谢物还具有影响小胶质细胞和相关细胞因子的能力, 以调节引发AD促炎细胞毒性的神经炎症和神经免疫因子^[28]。急性色氨酸耗竭通过降低其前体L-色氨酸的可用性, 导致大脑中5-HT合成暂时整体减少^[35]。有研究表明, 在AD和帕金森病(PD)的色氨酸耗竭实验期间, 整体认知状态会降低^[36]。

酪氨酸是去甲肾上腺素和多巴胺的前体物质。酪氨酸被限速酶酪氨酸羟化酶转化为L-3,4-二羟基苯丙氨酸, 然后催化成多巴胺。在 β 羟化酶将多巴胺转化为去甲肾上腺素。由于酪氨酸羟化酶仅约75%被酪氨酸饱和, 酪氨酸的膳食补充可以增加多巴胺和去甲肾上腺素的合成和传递^[37]。多巴胺和去甲肾上腺素均为儿茶酚胺类神经递质。去甲肾上腺素可以通过 β 肾上腺素能依赖性诱导生长因子和p-tau去除直接预防A β 诱导的毒性作用。在动物模型中, 产生去甲肾上腺素和多巴胺的蓝斑损伤诱导淀粉样斑块周围的星形胶质细胞增生和小胶质细胞增生以及细胞因子和促炎因子的释放。总之, AD中的儿茶酚胺能损伤在神经退行性和神经炎症过程中起着关键作用^[38]。实验表明, 补充酪氨酸可逆转应激或认知需求下的认知能力下降^[13-15]。小鼠实验表明含Trp-Tyr的肽可穿透大脑, 抑制单胺氧化酶B(MAO-B)活性并增加大脑中的多巴胺(DA)水平, 从而预防与年龄相关的认知能力下降^[39]。早在1989年, 一项针对血浆氨基酸的研究表明, AD患者血浆色氨酸、酪氨酸浓度均低于正常对照组^[40]。

本文的分析结果表明, 与CN组相比, AD组、pMCI组、sMCI组的血清色氨酸显著降低, 但pMCI与sMCI组、pMCI组与AD组之间无显著差异。与CN组相比, AD组、pMCI组的血清酪氨酸

显著降低, 但CN组与sMCI组之间, sMCI组与pMCI组、AD组之间, pMCI组与AD组之间均无明显差异。上述结果提示在AD的疾病进展过程中, 血清色氨酸、酪氨酸的浓度变化缓慢。目前已有研究表明, 与正常对照组相比, MCI组及AD组血清色氨酸浓度明显偏低^[41], AD组血清酪氨酸浓度明显偏低^[17]。本文的分析与之前的研究结果一致, 表明血清色氨酸、酪氨酸测定有助于AD的早期诊断。

p-tau和t-tau是公认的生物标志物, 广泛用于AD的早期诊断^[42-43]。目前已有大量关于色氨酸、酪氨酸及其代谢产物与AD发病机制之间的联系的相关研究, 但尚无血清色氨酸、酪氨酸对于MCI、AD的诊断价值的相关研究。本文的分析结果表明, 血清色氨酸对pMCI、AD具有显著的诊断准确性, 血清酪氨酸对AD具有显著的诊断准确性。虽然色氨酸、酪氨酸对AD的诊断敏感性明显弱于p-tau、t-tau。与单独使用t-tau、p-tau相比, 血清色氨酸、酪氨酸分别联合t-tau或p-tau对AD的诊断准确性提高, 提示血清色氨酸、酪氨酸可与AD的核心诊断标志物联合使用以提高AD的诊断准确性。

多尺度代谢物共表达网络显示, 色氨酸和酪氨酸与AD的严重程度和认知特征显著相关^[44]。AD的代谢网络分析提示, MCI和AD与色氨酸、酪氨酸、甲硫氨酸和嘌呤途径的重叠扰动模式相关, 并表明深刻的生化改变与异常的A β 42和tau蛋白代谢有关^[9]。目前已知在MCI和AD患者中, CSF tau蛋白含量升高, 认知功能明显减退, 脑室体积增大, 海马及大脑体积缩小, 脑代谢率降低。单胺能神经系统退行性病变与认知功能障碍密切相关^[10]。已知色氨酸代谢产物NAD⁺在线粒体能量代谢中起着重要的作用^[1], 因此推测血清色氨酸含量与脑代谢相关, 但目前尚无相关研究证明其相关性。在本研究中, 血清色氨酸、酪氨酸与tau、认知功能、脑结构、脑代谢之间均无相关性。可能原因如下: 血清色氨酸、酪氨酸受多种代谢途径影响; 本文未纠正饮食、药物和APOE4等混杂因素影响。因此, 色氨酸、酪氨酸是否能作为AD患者早期诊断生物标志物仍需进一步探讨。

4 研究的局限性

首先, ADNI数据库参与者均为受过高等教育的白人, 这可能会导致选择上的偏差。其次, 目前

仍不能确定血清色氨酸、酪氨酸水平是否能反映颅内色氨酸、酪氨酸的水平。最后,只有基线是血清色氨酸、酪氨酸水平测定,无纵向比较,不能直接反映疾病发展过程中血清色氨酸、酪氨酸水平的变化。因此,未来还需要在种族、受教育水平多样化的样本中,在疾病发展的不同阶段采集血液样本,验证本文的研究结果,进一步探讨疾病的发病机制。

5 结 论

sMCI、pMCI和AD患者血清色氨酸浓度均明显降低,且色氨酸对pMCI和AD具有一定的诊断准确性。pMCI和AD患者血清酪氨酸浓度明显偏低,且血清酪氨酸对AD具有一定的诊断准确性。由于血清色氨酸、酪氨酸与AD核心标志物、认知功能、脑结构、脑代谢之间均无明显相关性,血清色氨酸、酪氨酸可能不能作为AD的外周生物标志物。未来,需要将色氨酸、酪氨酸定位为参与AD发病机制的关键代谢途径,为AD治疗方面提供新的治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] Maszka P, Kwasiak-Butowska M, Cysewski D, *et al.* Metabolomic footprint of disrupted energetics and amino acid metabolism in neurodegenerative diseases: perspectives for early diagnosis and monitoring of therapy. *Metabolites*, 2023, **13**(3):369
- [2] Liu Y, Li N, Zhou L, *et al.* Plasma metabolic profiling of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease using liquid chromatography/mass spectrometry. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 2014, **14**(2): 113-120
- [3] Gonzalez-Dominguez R, Sayago A, Fernandez-Recamales A. Metabolomics in Alzheimer's disease: the need of complementary analytical platforms for the identification of biomarkers to unravel the underlying pathology. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2017, **1071**: 75-92
- [4] Huo Z, Yu L, Yang J, *et al.* Brain and blood metabolome for Alzheimer's dementia: findings from a targeted metabolomics analysis. *Neurobiol Aging*, 2020, **86**: 123-133
- [5] De La Monte S M, Tong M. Brain metabolic dysfunction at the core of Alzheimer's disease. *Biochem Pharmacol*, 2014, **88**(4): 548-559
- [6] Ezkurdia A, Ramirez M J, Solas M. Metabolic syndrome as a risk factor for Alzheimer's disease: a focus on insulin resistance. *Int J Mol Sci*, 2023, **24**(5):4354
- [7] Chen Z, Zhong C. Decoding Alzheimer's disease from perturbed cerebral glucose metabolism: implications for diagnostic and therapeutic strategies. *Prog Neurobiol*, 2013, **108**: 21-43
- [8] St John-Williams L, Mahmoudiandehkordi S, Arnold M, *et al.* Bile acids targeted metabolomics and medication classification data in the ADNI1 and ADNI2 cohorts. *Sci Data*, 2019, **6**(1): 212
- [9] Kaddurah-Daouk R, Zhu H, Sharma S, *et al.* Alterations in metabolic pathways and networks in Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry*, 2013, **3**(4): e244
- [10] Trillo L, Das D, Hsieh W, *et al.* Ascending monoaminergic systems alterations in Alzheimer's disease. translating basic science into clinical care. *Neurosci Biobehav Rev*, 2013, **37**(8): 1363-1379
- [11] Wurtman R J, Fernstrom J D. Control of brain monoamine synthesis by diet and plasma amino acids. *Am J Clin Nutr*, 1975, **28**(6): 638-647
- [12] Silber B Y, Schmitt J A. Effects of tryptophan loading on human cognition, mood, and sleep. *Neurosci Biobehav Rev*, 2010, **34**(3): 387-407
- [13] Jongkees B J, Hommel B, Kuhn S, *et al.* Effect of tyrosine supplementation on clinical and healthy populations under stress or cognitive demands--a review. *J Psychiatr Res*, 2015, **70**: 50-57
- [14] Bloemendaal M, Frobose M I, Wegman J, *et al.* Neuro-cognitive effects of acute tyrosine administration on reactive and proactive response inhibition in healthy older adults. *eNeuro*, 2018, **5**(2): ENEURO.0035-17.2018
- [15] Zaragoza J, Tinsley G, Urbina S, *et al.* Effects of acute caffeine, theanine and tyrosine supplementation on mental and physical performance in athletes. *J Int Soc Sports Nutr*, 2019, **16**(1): 56
- [16] Ano Y, Yoshino Y, Kutsukake T, *et al.* Tryptophan-related dipeptides in fermented dairy products suppress microglial activation and prevent cognitive decline. *Aging (Albany NY)*, 2019, **11**(10): 2949-2967
- [17] Gonzalez-Dominguez R, Garcia-Barrera T, Gomez-Ariza J L. Metabolite profiling for the identification of altered metabolic pathways in Alzheimer's disease. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, **107**: 75-81
- [18] Petersen R C, Aisen P S, Beckett L A, *et al.* Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI): clinical characterization. *Neurology*, 2010, **74**(3): 201-209
- [19] Berg L. Clinical dementia rating (CDR). *Psychopharmacol Bull*, 1988, **24**(4): 637-639
- [20] Aisen P S, Petersen R C, Donohue M C, *et al.* Clinical core of the Alzheimer's disease neuroimaging initiative: progress and plans. *Alzheimers Dement*, 2010, **6**(3): 239-246
- [21] McKhann G, Drachman D, Folstein M, *et al.* Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of department of health and human services task force on Alzheimer's disease. *Neurology*, 1984, **34**(7): 939-944
- [22] Tierney M C, Fisher R H, Lewis A J, *et al.* The NINCDS-ADRDA work group criteria for the clinical diagnosis of probable Alzheimer's disease: a clinicopathologic study of 57 cases. *Neurology*, 1988, **38**(3): 359-364
- [23] Toledo J B, Arnold M, Kastenmuller G, *et al.* Metabolic network failures in Alzheimer's disease: a biochemical road map. *Alzheimers Dement*, 2017, **13**(9): 965-984
- [24] Varma V R, Oommen A M, Varma S, *et al.* Brain and blood

- metabolite signatures of pathology and progression in Alzheimer disease: a targeted metabolomics study. *PLoS Med*, 2018, **15**(1): e1002482
- [25] Jack C R, JR., Bernstein M A, Fox N C, *et al*. The Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI): MRI methods. *J Magn Reson Imaging*, 2008, **27**(4): 685-691
- [26] Lovellace M D, Varney B, Sundaram G, *et al*. Recent evidence for an expanded role of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism in neurological diseases. *Neuropharmacology*, 2017, **112**(PtB): 373-388
- [27] Trushina E, Dutta T, Persson X M, *et al*. Identification of altered metabolic pathways in plasma and CSF in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease using metabolomics. *PLoS One*, 2013, **8**(5): e63644
- [28] Savonije K, Weaver D F. The role of tryptophan metabolism in Alzheimer's disease. *Brain Sci*, 2023, **13**(2):292
- [29] Rodriguez J J, Noristani H N, Verkhatsky A. The serotonergic system in ageing and Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*, 2012, **99**(1): 15-41
- [30] Rosales-Corral S, Acuna-Castroviejo D, Tan D X, *et al*. Accumulation of exogenous amyloid-beta peptide in hippocampal mitochondria causes their dysfunction: a protective role for melatonin. *Oxid Med Cell Longev*, 2012, **2012**: 843649
- [31] Dragicevic N, Copes N, O'Neal-Moffitt G, *et al*. Melatonin treatment restores mitochondrial function in Alzheimer's mice: a mitochondrial protective role of melatonin membrane receptor signaling. *J Pineal Res*, 2011, **51**(1): 75-86
- [32] Friedman M. Analysis, nutrition, and health benefits of tryptophan. *Int J Tryptophan Res*, 2018, **11**: 1178646918802282
- [33] Sabia S, Fayosse A, Dumurgier J, *et al*. Association of sleep duration in middle and old age with incidence of dementia. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 2289
- [34] Routy J P, Routy B, Graziani G M, *et al*. The kynurenine pathway Is a double-edged sword in immune-privileged sites and in cancer: implications for immunotherapy. *Int J Tryptophan Res*, 2016, **9**: 67-77
- [35] Sambeth A, Blokland A, Harmer C J, *et al*. Sex differences in the effect of acute tryptophan depletion on declarative episodic memory: a pooled analysis of nine studies. *Neurosci Biobehav Rev*, 2007, **31**(4): 516-529
- [36] Mace J L, Porter R J, Dalrymple-Alford J C, *et al*. Acute tryptophan depletion and lewy body dementias. *Int Psychogeriatr*, 2016, **28**(9): 1487-1491
- [37] Mathar D, Erfanian Abdoust M, Marrenbach T, *et al*. The catecholamine precursor tyrosine reduces autonomic arousal and decreases decision thresholds in reinforcement learning and temporal discounting. *PLoS Comput Biol*, 2022, **18**(12): e1010785
- [38] Motta C, Assogna M, Bonomi C G, *et al*. Interplay between the catecholaminergic enzymatic axis and neurodegeneration/neuroinflammation processes in the Alzheimer's disease continuum. *Eur J Neurol*, 2023, **30**(4): 839-848
- [39] Ano Y, Ayabe T, Kutsukake T, *et al*. Novel lactopeptides in fermented dairy products improve memory function and cognitive decline. *Neurobiol Aging*, 2018, **72**: 23-31
- [40] Watkins S E, Thomas D E, Clifford M, *et al*. Plasma amino acids in patients with senile dementia and in subjects with Down's syndrome at an age vulnerable to Alzheimer changes. *J Ment Defic Res*, 1989, **33**(Pt 2): 159-66
- [41] Horgusluoglu E, Neff R, Song W M, *et al*. Integrative metabolomics-genomics approach reveals key metabolic pathways and regulators of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2022, **18**(6): 1260-1278
- [42] Zheng Y, He J, Hong T. Biomarkers of Alzheimer's disease in body fluids. *Sci China Life Sci*, 2010, **53**(4): 490-496
- [43] Blennow K. CSF biomarkers for mild cognitive impairment. *J Intern Med*, 2004, **256**(3): 224-234
- [44] Shaw L M, Vanderstichele H, Knapik-Czajka M, *et al*. Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Ann Neurol*, 2009, **65**(4): 403-413

The Associations of Serum Tryptophan and Tyrosine With Alzheimer's Disease

REN Shu-Jiang, JING Xiao-Jun, ZHANG Hua*

(Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract Objective A growing body of research suggests a strong link between metabolic imbalance and Alzheimer's disease (AD). In recent years, the development of metabolomics makes it possible to study the characteristic changes of peripheral metabolism in AD. Serum levels of tryptophan and tyrosine were associated with mild cognitive impairment (MCI) and AD. The purpose of this study is to further characterize tryptophan and tyrosine levels in MCI and AD. **Methods** We stratified 765 participants from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative-1 (ADNI-1) cohort into cognitively normal (CN; $n=207$), stable mild cognitive impairment (sMCI; $n=201$), progressive mild cognitive impairment (pMCI; $n=171$), and dementia due to AD ($n=186$). Serum tryptophan and tyrosine were analyzed for diagnostic value of MCI and AD. To evaluate the relationships between serum tryptophan and tyrosine and cerebrospinal fluid (CSF) biomarkers, brain structure (magnetic resonance imaging, MRI), cerebral glucose metabolism (^{18}F -fluorodeoxyglucose-positron emission tomography, FDG-PET), and cognitive declines, through different cognitive subgroups. **Results** Serum tryptophan was decreased in patients with AD, pMCI or sMCI compared with CN. Serum tyrosine was decreased in patients with AD or pMCI compared with CN. Serum tryptophan has diagnostic value for pMCI and AD. Serum tyrosine has diagnostic value for AD. **Conclusion** Serum tryptophan and tyrosine contribute to the early diagnosis of AD. The detection of tryptophan and tyrosine can contribute to the pathogenesis of AD. Serum tryptophan and tyrosine were not significantly associated with core AD markers, cognitive function, brain structure and brain metabolism, so serum tryptophan and tyrosine may not be good peripheral AD biomarkers.

Key words Alzheimer's disease, serum tryptophan, serum tyrosine, mild cognitive impairment

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0056

* Corresponding author.

Tel: 86-13629749640, E-mail: zhanghuapro@hospital.cqmu.edu.cn

Received: February 23, 2023 Accepted: May 9, 2023