

神经变性疾病脑脊液生物学标志物研究进展

杨丽立 王维治

【摘要】 中枢神经系统变性疾病是一类临床表型复杂、难以早期诊断与鉴别诊断的疾病群,发病隐匿且多呈慢性进行性发展,早期诊断、早期治疗十分关键。探寻神经变性疾病特异性的脑脊液生物学标志物,对指示或评价特定神经变性损害,以及对此类疾病的早期诊断与鉴别诊断有重要价值。本文就脑脊液生物学标志物在常见神经变性疾病(多发性硬化、阿尔茨海默病、帕金森病、肌萎缩侧索硬化症等)中的研究现状,以及对疾病诊断与鉴别诊断的辅助价值进行概述。

【关键词】 神经变性疾病; 脑脊髓液; 生物学标记; 综述

The progress of cerebrospinal fluid biomarkers in patients with neurodegenerative diseases

YANG Li-li, WANG Wei-zhi

Department of Neurology, the 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang, China

Corresponding author: WANG Wei-zhi (Email: wuz_h2008@yahoo.com.cn)

【Abstract】 Neurodegenerative diseases include a heterogeneous group of diseases with complicated and overlapped clinical phenotypes. It is difficult to diagnose or identify this kind of disease due to insidious onset and chronic and progressive development. Since processes in the brain can be monitored by analysis of cerebrospinal fluid (CSF), abundant research efforts focus on the efficacy of biomarkers in CSF to indicate specific neurodegenerative lesions and to assist the diagnosis process, assessing whether one biomarker or several biomarkers together could be the reliable tools for diagnosis of specific neurodegenerative diseases. This article mainly reviews the research status and supplementary value in diagnosis and differentiation of CSF biomarkers in common degenerative diseases [e.g. multiple sclerosis (MS), Alzheimer's disease (AD), Parkinson's disease (PD), amyotrophic lateral sclerosis (ALS)].

【Key words】 Neurodegenerative diseases; Cerebrospinal fluid; Biological markers; Review

神经变性疾病是一类复杂疾病群,具有两个显著的特点:其一为累及神经系统特定部位或功能系统;其二是发病隐匿,经历长时间病理改变后方才出现神经功能障碍,且呈逐渐进展病程。神经变性疾病目前尚不能治愈,但可采取对症治疗,某些新药在疾病早期可逆转或延缓其进展。在临床前期,虽然神经功能障碍尚不十分明显,但脑或神经组织已存在进展性病变,如能检测指示特定病理变化的生物学标志物将对诊断大有裨益。神经变性疾病存在特定神经元细胞群选择性或进行性缺失、特定蛋白质异常沉积、轴突损害、反应性神经胶质增生

及髓鞘减少等,这为生物学标志物(biomarker)的研究提供了可能。1998年,美国国立卫生研究院(NIH)将生物学标志物定义为:一类可以作为生理和病理进程或对某种治疗干预药物有反应的指示剂^[1]。理想的生物学标志物应具备以下特点:与潜在病变的关键特征相关联;可通过确切的神经病理改变加以验证;可于病程早期检出;可鉴别与之相似的疾病;非侵袭性方法;应用简便且费用可以接受。脑脊液检测较血清学更具敏感性和特异性,是神经变性疾病生物学标志物检测的最佳途径,而且较组织病理学检查方法更简便、安全和实用。脑脊液生物学标志物研究可探索疾病发病机制、早期诊断、评价药物疗效及安全性、评价疾病进程及预后,可用于临床试验群体分层和神经影像学检查。本文重点讨论脑脊液生物学标志物对神经变性疾病

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2013.02.004

作者单位:150086 哈尔滨医科大学附属第二医院神经内科

通讯作者:王维治 (Email:wuz_h2008@yahoo.com.cn)

表 1 脑脊液重要生物学标志物与神经变性疾病*

Table 1. Important CSF biomarkers in neurodegenerative diseases*

CSF biomarkers	Neurodegenerative diseases	CSF biomarkers	Neurodegenerative diseases
14-3-3	CJD, ALS	PrP	CJD
8-OHdG	PD	P-tau	AD, MS, DLB, PD, ALS, MSA
Aβ ₃₈	DLB	S-100B	MS, AD, ALS, CJD
Aβ ₄₀	AD	TDP-43	ALS
Aβ ₄₂	AD, DLB, FTD, PD, MSA	T-tau	AD, MS, DLB, PD, CJD, VaD, FTD, ALS, MSA
Aβ-Ox	DLB	α-Synuclein	PD, MSA, DLB
Aβ oligomers	AD	Orexin	DLB
BDNF	MS	HVA	PD
CoQ10	PD, ALS	OPN	MS, PD
DJ-1	PD, MSA, DLB	CystC	ALS
F ₂ -IsoPs	AD, ALS, HD	Melanotransferrin	AD
Flt3 ligand	MSA	Xanthine	PD
GFAP	MS, CJD	MMPs	MS
ICAM	MS	Urate	PD
MBP	MS	Desmoplakin	CJD
MCP-1	ALS	Chemotactic factor CX3 (Fractalkine)	PD
MHPG	DLB	Nitrates and nitrites	MS, AD, ALS
NCAM	MS	Isoprostane	MS
NFH	MS	ApoE	AD
NFL	MS, PD, ALS, CJD, MSA	Plant sterols	AD
NO (x)	MS, AD	Transferrin	CJD
pNFH	ALS, MS, CJD		

*CSF biomarkers, 脑脊液生物学标志物; 14-3-3, 14-3-3 蛋白; 8-OHdG, 8-羟基脱氧鸟苷; Aβ, β-淀粉样蛋白; Aβ-Ox, Aβ 氧化; Aβ oligomers, Aβ 寡聚体; BDNF, 脑源性神经营养因子; CoQ10, 辅酶 Q10; DJ-1, DJ-1 蛋白; F₂-IsoPs, F₂-异前列烷; Flt3 ligand, Flt3 配体; GFAP, 胶质纤维酸性蛋白; ICAM, 细胞间黏附分子; MBP, 髓鞘碱性蛋白; MCP-1, 单核细胞趋化蛋白-1; MHPG, 3-甲氧基-4-羟苯乙醇胺; NCAM, 神经细胞黏附分子; NFH, 神经微丝重链; NFL, 神经微丝轻链; NO(x), 一氧化氮降解产物; pNFH, 磷酸化神经微丝重链; PrP, 朊蛋白; P-tau, 磷酸化 tau 蛋白; S-100B, S-100B 蛋白; TDP-43, TAR DNA 结合蛋白 43; T-tau, 总 tau 蛋白; α-synuclein, α-突触核蛋白; orexin, 阿立新; HVA, 高香草酸; OPN, 骨桥蛋白; CystC, 胱氨酸蛋白酶抑制剂 C; melanotransferrin, 黑素转铁蛋白; xanthine, 黄嘌呤; MMPs, 基质金属蛋白酶; urate, 尿酸盐; desmoplakin, 桥粒斑蛋白; chemotactic factor CX3, 趋化因子 CX3; nitrates and nitrites, 硝酸盐和亚硝酸盐; isoprostane, 异前列烷; ApoE, 载脂蛋白 E; plant sterols, 植物甾醇; transferrin, 转铁蛋白。neurodegenerative diseases, 神经变性疾病; CJD, Creutzfeldt-Jakob 病(克-雅病); ALS, 肌萎缩侧索硬化症; PD, 帕金森病; DLB, 路易体痴呆; AD, 阿尔茨海默病; FTD, 额颞叶痴呆; MSA, 多系统萎缩; MS, 多发性硬化; HD, 亨廷顿病; VaD, 血管性痴呆

诊断与鉴别诊断的辅助价值(表 1)。

一、多发性硬化的脑脊液生物学标志物

脑脊液检查对多发性硬化(MS)的诊断与鉴别诊断颇为重要,因此美国多发性硬化治疗评价小组(MSTCG)强烈建议应在多发性硬化患者开始接受免疫调节治疗前获得脑脊液的阳性结果^[2]。

1. 神经轴突损害相关生物学标志物 (1)神经微丝蛋白(NF):为成熟神经元细胞骨架的主要成分,在轴索中大量存在,轴突损害后神经微丝蛋白被降解和释放进入脑脊液。由 3 种相对分子质量不同的亚单位组成的多聚体,分别为轻链(NFL)、中链(NFM)和重链(NFH)。Norgren 等^[3]对 99 例多发性

硬化患者的观察发现,其脑脊液神经微丝轻链水平显著升高,且与复发及疾病进展有关,提示脑脊液神经微丝轻链水平可定量评价神经轴突损伤程度。脑脊液神经微丝重链与临床孤立综合征(CIS)及复发-缓解型多发性硬化(RRMS)患者复发活性及残疾评分有关,而重链结合 tau 蛋白对预测临床孤立综合征转变为复发-缓解型多发性硬化较 MRI 改变更具特异性^[4];神经微丝重链在继发进展型多发性硬化(SPMS)患者的脑脊液中表达水平更高,可能提示持续的神经轴突损伤^[5]。多发性硬化可见轴突磷酸化神经微丝重链(pNFH),其在脑脊液中表达显著^[6],此与神经微丝蛋白运输减慢及轴突横径扩展

有关;肌萎缩侧索硬化症(ALS)患者神经轴突也存在磷酸化神经微丝重链异常积累,具体机制不明。(2)tau蛋白:作为阿尔茨海默病(AD)的重要生物学标志物,是一种可稳定神经轴突微管网络的磷蛋白,其与多发性硬化也存在关联性^[7]。Bartosik-Psujek 和 Stelmasiak^[8]研究发现,复发缓解型多发性硬化患者脑脊液总 tau 蛋白(T-tau)和磷酸化 tau 蛋白(P-tau)水平显著升高,但与疾病活动无关联。

2. 神经胶质激活或神经胶质增生相关生物学标志物 神经胶质激活是多发性硬化免疫炎症进程中的早期事件。可于急性多发性硬化星形胶质细胞过度损伤的斑块中发现 S-100B 蛋白及胶质纤维酸性蛋白(GFAP)。S-100B 蛋白是星形胶质细胞及少突胶质细胞中含量最为丰富的酸性钙结合蛋白,为星形胶质细胞病变的生物学标志物^[3,5]。多发性硬化患者脑脊液 S-100B 蛋白水平显著升高^[5],且各亚群之间差异无统计学意义。但 S-100B 蛋白诊断特异性不如胶质纤维酸性蛋白,后者是星形胶质细胞特异性高表达蛋白,为细胞骨架的主要成分,是慢性多发性硬化病灶中的主要蛋白质组成,该蛋白质的累积反映星形胶质细胞与小胶质细胞被激活,导致星形胶质化斑块形成^[3]。有研究显示,胶质纤维酸性蛋白在复发缓解型多发性硬化患者 24 个月的观察期中持续升高,与神经功能障碍进展有关^[5];而且继发进展型多发性硬化或原发进展型多发性硬化(PPMS)患者脑脊液中胶质纤维酸性蛋白表达水平也显著升高^[3]。

3. 髓鞘损伤相关生物学标志物 多发性硬化发病后的脱髓鞘损伤是其主要病理改变,已知抗体包括髓鞘损伤相关性髓鞘碱性蛋白(MBP)降解产物和针对髓鞘的自身抗体[抗髓鞘少突胶质细胞糖蛋白(MOG)、抗髓鞘碱性蛋白、抗髓鞘蛋白脂质蛋白(PLP)抗体]^[5]。脑脊液髓鞘碱性蛋白水平升高与中枢神经系统急性髓鞘损伤密切相关,但并非特异性,其他中枢神经系统疾病也可检出。

4. 其他生物学标志物 氧化应激在多发性硬化的病理改变过程中起重要作用,目前正在进行Ⅲ期临床试验的新药 BG-12 的主要作用即为抗氧化应激反应,已显示显著疗效。多发性硬化患者脑脊液和血清一氧化氮及其代谢产物(硝酸盐与亚硝酸盐)水平显著高于神经系统非炎症性疾病^[5],而且脑脊液一氧化氮降解产物 NO(x)水平亦显著升高,其高浓度与复发时限延长及临床和 MRI 进展有关,但在

临床孤立综合征患者无改变^[9]。多发性硬化患者脑脊液硝酸盐及亚硝酸盐水平升高,与 MRI 检查强化病灶容量有关,同时其脑脊液异前列烷水平也升高,并与残疾程度有关^[10]。在多发性硬化免疫应答过程中,脑脊液炎症因子和趋化因子均升高,可能与 MRI 所显示的脑组织炎症病灶活动相关,但缺乏特异性,仅提示脑脊液炎症反应^[5]。免疫细胞释放的神经营养因子在多发性硬化病灶中可刺激髓鞘再生并促进恢复,例如:多发性硬化患者脑脊液神经细胞黏附分子(NCAM)水平随病情的加重而逐渐升高;继发进展型多发性硬化患者脑源性神经营养因子(BDNF)水平显著降低,可能与疾病进展和轴索损伤有关;脑脊液细胞间黏附分子-1(ICAM-1)水平与复发活性、MRI 病灶、血-脑脊液屏障功能障碍及髓鞘碱性蛋白水平相关^[5];基质金属蛋白酶(MMPs)则与脑血管损伤有关,经研究证实,复发缓解型多发性硬化患者脑脊液 MMP-9 水平升高^[11];多发性硬化活动期脑脊液骨桥蛋白(OPN)水平升高,此为脱髓鞘及髓鞘再生过程中巨噬细胞产生的免疫调节反应,但未发现与残疾程度相关^[5,12]。

二、阿尔茨海默病脑脊液生物学标志物

阿尔茨海默病是老年性痴呆的主要原因。其病理改变早在症状出现前 20~30 年即已产生,在此阶段 β -淀粉样蛋白($A\beta$)与神经原纤维缠结(NFTs)大量沉积于脑组织引起发作性记忆障碍,可定义为轻度认知损害(MCI)^[1]。特异性脑脊液生物学标志物对阿尔茨海默病的早期诊断、轻度认知损害向阿尔茨海默病演变的预测具有重要临床意义。近年来,在阿尔茨海默病研究中对脑脊液生物学标志物的研究进展十分显著。

1. 神经炎性斑相关生物学标志物 以 $A\beta$ 沉积为核心的神经炎性斑[NPs, 又称老年斑(SPs)]是阿尔茨海默病的病理学特征之一,脑脊液 $A\beta_{42}$ 为 β -淀粉样蛋白前体(APP)导致淀粉样变性及形成神经炎性斑过程的副产物,其表达水平下降可以反映斑块沉积程度。经研究证实,阿尔茨海默病患者脑脊液 $A\beta_{42}$ 减少,且诊断灵敏度和特异度均 $> 80\%$; $A\beta_{42} > 500 \text{ pg/ml}$ 可作为阿尔茨海默病与正常老龄化的分界值^[13]。脑脊液 $A\beta_{42}$ 水平降低在轻度认知损害阶段即可检出,预示轻度认知损害向阿尔茨海默病转化^[14]。此外,脑脊液 $A\beta_{42}$ 水平降低也可见于路易体痴呆(DLB)、额颞叶痴呆(FTD)等其他痴呆类型。有研究显示,阿尔茨海默病患者脑脊液 $A\beta_{42}$ 水平可

较其他类型痴呆更低^[15],但亦有研究显示二者无差异^[16]。探索新型 A β 类生物学标志物是当前的研究热点之一。研究显示, A β_{40} /A β_{42} 比值较单纯 A β_{42} 更具诊断价值^[17];可溶性 A β 寡聚体在诱发淀粉样蛋白级联反应的早期病理事件中起关键作用,已在阿尔茨海默病患者的脑脊液中检出高水平的 A β 寡聚体^[1,18]。Fukumoto 等^[9]发现,检测 A β 寡聚体可更准确地分辨轻度认知损害与阿尔茨海默病。

2. 神经原纤维缠结相关生物学标志物 tau 蛋白可由于细胞内激酶及磷酸酶失平衡而致异常磷酸化,扭转为成对螺旋丝,聚集成神经原纤维缠结,此为阿尔茨海默病的重要神经病理学特征;tau 蛋白磷酸化还可导致其与微管分离、微管降解,破坏轴突运输使轴突变性离断,导致神经元死亡,神经元溶胞作用后磷酸化与非磷酸化 tau 蛋白可释放进入脑脊液。阿尔茨海默病患者脑脊液平均 T-tau 水平可以提高 3 倍,对鉴别阿尔茨海默病与正常老龄化的灵敏度为 40%~86%、特异度为 65%~86%。轻度认知损害尚未进展至阿尔茨海默病时,脑脊液 T-tau 不升高,进展至阿尔茨海默病时其水平显著升高,轻度认知损害患者脑脊液 T-tau 升高可能预示阿尔茨海默病^[10]。然而,Creutzfeldt-Jakob 病(克-雅病, CJD)、路易体痴呆、额颞叶痴呆、血管性痴呆(VaD)、急性脑卒中等也可表现为脑脊液 T-tau 增加, T-tau 通常不具有鉴别诊断意义。虽然近年开展的一项大样本临床试验显示,阿尔茨海默病患者脑脊液 T-tau 水平显著高于路易体痴呆、帕金森病(PD)^[15],但是并未获得一致性结果。阿尔茨海默病患者脑脊液 P-tau 呈高表达且其特异性优于 T-tau; Creutzfeldt-Jakob 病和急性脑卒中患者脑脊液 P-tau 水平多于正常值范围,其对阿尔茨海默病诊断的平均灵敏度为 80%,特异度尤佳,约为 92%。

3. 氧化应激相关生物学标志物 氧化应激是阿尔茨海默病的重要病理学机制,由于脑组织不饱和脂肪酸水平升高,脂质过氧化反应是活性氧(ROS)相关性脑损伤的主要结果,可直接损伤细胞膜或导致脑组织广泛损伤。F₂-异前列腺素(F₂-IsoPs)为反映机体脂质过氧化反应的生物学标志物,阿尔茨海默病患者在疾病早期即可出现脑脊液 F₂-IsoPs 水平升高,可辅助早期诊断,与 A β 和 tau 蛋白相结合可提高诊断与鉴别诊断效能,还可定量评价抗氧化治疗效果^[19],但脑脊液 F₂-IsoPs 特异性较差,肌萎缩侧索硬化症、亨廷顿病(HD)和急性脑损伤患者均可升高。

4. 其他相关生物学标志物 (1)S-100B 蛋白:炎症反应参与阿尔茨海默病的发生与发展,有研究显示,阿尔茨海默病患者脑脊液 S-100B 蛋白水平轻至中度升高,可能提示有轴突斑块形成,与脑萎缩相关^[20]。(2)铁蛋白类:黑素转铁蛋白(melanotransferrin)是一种表达淀粉样蛋白沉积物的小胶质细胞鞘内铁结合蛋白,在阿尔茨海默病患者脑脊液中显著升高^[21]。(3)载脂蛋白:载脂蛋白 E(ApoE)是提示中枢神经系统胆固醇重新分布和髓鞘再生的蛋白质,其脑脊液水平变化与正常老龄化和中枢神经系统退行性疾病或炎症有关,其与阿尔茨海默病的相关性尚无明确结论^[21]。(4)甾醇类:Vanmierlo 等^[22]发现阿尔茨海默病患者脑脊液中与胆固醇结构相似的植物甾醇水平显著降低,与 P-tau 及 A β_{42} 结合可以增加阿尔茨海默病的预测值,可能与血-脑脊液屏障破坏有关。

5. 阿尔茨海默病生物学标志物联合检测 虽然低水平 A β_{42} 、高水平 T-tau 和 P-tau 是阿尔茨海默病的脑脊液标志,但单个标志物特异性不高,联合检测方可提高临床诊断价值。研究证实,上述蛋白质联合检测对鉴别阿尔茨海默病与正常老龄化的准确度 > 85%、阳性预测率 > 90%^[11,16],更可分辨阿尔茨海默病与其他类型痴呆。根据 2012 年报道的一项纳入 1200 例患者的大型临床试验, A β_{42} 与 P-tau 联合检测诊断效能最高^[23]。Parnetti 等^[24]最近报告了对轻度认知损害患者长达 4 年的追踪分析,表明 A β_{42} /P-tau 比值是鉴别轻度认知损害转化为阿尔茨海默病和持续轻度认知损害的最佳参数(诊断灵敏度 81%、特异度 95%),与疾病进展速度显著相关。Montine 等^[12]采用脑脊液 F₂-IsoPs、A β_{42} 及 tau 蛋白联合检测以鉴别阿尔茨海默病与其他类型痴呆,灵敏度为 84%、特异度为 89%。近年来, Hall 等^[15]对脑脊液 T-tau、P-tau、A β_{42} 、神经微丝轻链和 α -突触核蛋白(α -Syn)等五种生物学标志物进行联合分析也获得满意结果。

三、帕金森病相关脑脊液生物学标志物

帕金森病为临床常见神经变性疾病,发病机制复杂,对其生物学标志物的研究已逾 40 年,其脑脊液生物学标志物的研究直到近年才取得进展^[25]。

1. 多巴胺代谢产物类生物学标志物 黑质-纹状体系统多巴胺(DA)生成障碍是帕金森病的主要病理生理学变化,所涉及代谢产物及其相关化合物包括高香草酸(HVA)、尿酸盐、黄嘌呤等。高香草

酸为多巴胺的主要代谢产物,能够反映多巴胺神经元缺失。早期文献报道,帕金森病患者脑脊液高香草酸水平显著降低^[25]。但近年研究表明,帕金森病患者脑脊液高香草酸平均基线值与正常对照者相近,且其变化亦与帕金森病严重程度无关^[26]。

2. Lewy 小体相关生物学标志物 1913 年 Lewy 发现的 Lewy 小体已成为帕金森病的重要病理学特征。 α -突触核蛋白为 Lewy 小体的主要成分,DJ-1 蛋白、tau 蛋白、 $A\beta$ 、神经微丝轻链亦与 Lewy 小体的形成有关。(1) α -突触核蛋白:细胞内 α -突触核蛋白蓄积是突触核蛋白病(synucleinopathy)如帕金森病、路易体痴呆和多系统萎缩等的主要病理学特征。许多研究显示,帕金森病患者脑脊液 α -突触核蛋白表达水平显著下降^[13-14,27],以 1.60 pg/ μ l 为分界值的诊断灵敏度为 71%,特异度 53%^[28]。Hong 等^[14]采用高敏感性检测技术使脑脊液 α -突触核蛋白诊断帕金森病灵敏度提高至 92%,特异度为 58%。 α -突触核蛋白可明确鉴别帕金森病与阿尔茨海默病,但对突触核蛋白病则无显著鉴别诊断差异^[28-29]。另外亦有研究显示,抗 α -突触核蛋白抗体对帕金森病亦有诊断价值,Yanamandra 等^[30]发现,约 90% 的家族性帕金森病和 51% 的散发性帕金森病患者脑脊液中均可检出自身抗体,而对照组仅为 31%。(2)DJ-1 基因(PARK7):DJ-1 基因突变与帕金森病有关,DJ-1 蛋白亦参与帕金森病的发生与发展^[27]。DJ-1 基因和 α -synuclein 基因为目前检测帕金森病最为广泛的脑脊液生物学标志物,均呈现低表达^[14]。最近开展的一项大样本临床试验证实,单纯脑脊液 DJ-1 基因检测即是预测帕金森病最为敏感的指示剂,灵敏度可高达 97%,但特异性欠佳^[31]。(3)tau 蛋白与 $A\beta$:这两种物质亦参与 Lewy 小体的形成^[32],但至今尚未获得脑脊液 tau 蛋白和 $A\beta_{42}$ 检测对帕金森病诊断作用的一致性结果,有研究显示二者均显著降低^[31,33],也有文献报道二者无明显差异^[34],推测可能与样本量、检测技术等因素有关。在 Shi 等^[31]开展的研究中,采用高敏感性 Luminex 检测技术对 126 例帕金森病和 137 例健康志愿者进行观察,结果显示,帕金森病患者脑脊液 $A\beta_{42}$ 、T-tau 和 P-tau 水平显著降低。

3. 其他生物学标志物 许多研究表明,神经胶质激活和氧化应激参与帕金森病的病理生理学过程。(1)趋化因子 CX3(fractalkine):为广泛表达于中枢神经系统的神经元化学因子,维持小胶质细胞活

性。帕金森病患者脑脊液趋化因子 CX3 表达水平随着疾病严重程度而逐渐升高,且与病情快速进展有关^[31]。(2)8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG):为活性氧反应产生的稳定并与 DNA 损伤相关的生物学标志物,其在帕金森病患者脑脊液中的表达水平亦显著升高^[35]。(3)辅酶 Q10(CoQ10):为氧化应激标志物,在帕金森病患者的脑脊液中其氧化形式/总 CoQ10 比值明显增加,且与 8-OHdG 表达水平相关^[35]。(4)其他新型脑脊液生物学标志物:与不同神经保护作用相关的中枢神经系统来源的骨桥蛋白,在帕金森病患者的脑脊液中显著下降^[36]。

4. 生物学标志物联合分析 由于帕金森病的临床异质性和神经变性疾病之间的共通特性,常需不同类型的生物学标志物联合分析以获得满意的诊断敏感性和特异性。一项大样本临床研究对五大类脑脊液生物学标志物鉴别诊断帕金森病、路易体痴呆、多系统萎缩、阿尔茨海默病等神经变性疾病的效能进行分析,发现在以痴呆为主要临床症状的帕金森病患者中,脑脊液 $A\beta_{42}$ 和神经微丝轻链表达变化对鉴别帕金森病与路易体痴呆具有较高诊断价值,脑脊液 α -突触核蛋白表达变化对区别帕金森病与阿尔茨海默病效能最佳;这五大类脑脊液生物学标志物联合应用诊断帕金森病与阿尔茨海默病、路易体痴呆的灵敏度可达 90%,特异度为 81%;脑脊液神经微丝轻链对鉴别帕金森病与所有非典型帕金森病具有较高敏感性,五种生物学标志物联合分析灵敏度 85%、特异度 92%,其中以神经微丝轻链贡献最大^[15]。

四、肌萎缩侧索硬化症相关脑脊液生物学标志物

对仅表现为局部症状的肌萎缩侧索硬化症诊断十分困难,平均诊断时间于首发症状后 16~19 个月。目前研究提示,细胞骨架成分可能是导致肌萎缩侧索硬化症神经变性的关键因子,脑脊液细胞骨架蛋白检测可以作为早期诊断及神经变性监测的生物学标志物。

1. 细胞骨架成分相关蛋白 多项研究证实,细胞骨架蛋白如神经微丝蛋白、tau 蛋白及 14-3-3 蛋白可以作为肌萎缩侧索硬化症的脑脊液生物学标志物,可能与疾病进展速度有关^[37-38]。肌萎缩侧索硬化症患者脑脊液中神经微丝轻链水平显著升高^[39],但特异性不显著。研究发现,磷酸化神经微丝重链可在肌萎缩侧索硬化症患者的运动神经元轴突中

蓄积,且脑脊液水平显著升高^[37-38,40],该项标志物亦可用于鉴别肌萎缩侧索硬化症与肌萎缩侧索硬化拟态^[37],其检测阳性与疾病进展有关^[38]。近年研究发现,脑脊液中磷酸化神经微丝重链于 0.635 ng/ml 时其诊断肌萎缩侧索硬化症的灵敏度为 84.40%,特异度为 93.50%^[37]。

2. 泛素化蛋白相关生物学标志物 在肌萎缩侧索硬化症患者发生变性的神经元中存在泛素化蛋白包涵体,分析其相关蛋白质水平可探索发病机制。相对分子质量为 43×10^3 的 TAR DNA 结合蛋白 43 (TDP-43) 是肌萎缩侧索硬化症泛素化蛋白包涵体的主要成分,在脑脊液中呈高表达,且具有较高的特异性,可鉴别肌萎缩侧索硬化症与帕金森病、多发性硬化、吉兰-巴雷综合征 (GBS) 等神经变性疾病,以 27.90 ng/ml 为阈值,其诊断灵敏度为 59.30%,特异度为 96%^[41-42]。

3. 其他生物学标志物 星形胶质细胞激活和氧化应激反应是肌萎缩侧索硬化症的重要发病机制。(1) S-100B 蛋白: 脑脊液中星形胶质细胞标志物 S-100B 蛋白水平可随肌萎缩侧索硬化症病程的延长而逐渐下降,并能预示肌萎缩侧索硬化症患者的生存期^[43]。(2) 硝酸盐与 3-硝基酪氨酸 (3-NT): 对肌萎缩侧索硬化症患者的研究显示,其脑脊液硝酸盐和 3-硝基酪氨酸水平显著升高^[44]。(3) 还原型 CoQ10: 为抗氧化物质,在肌萎缩侧索硬化症患者的脑脊液中呈高表达,与病程呈负相关^[44]。(4) 胱氨酸蛋白酶抑制剂 C (CystC): 该项标志物在肌萎缩侧索硬化症患者的脑脊液中呈低表达,可以作为判断疾病进展、评价患者生存期的实验室指标,但对肌萎缩侧索硬化症的诊断不具特异性^[45]。(5) 炎性细胞及炎性因子: 肌萎缩侧索硬化症患者的脑脊液中均可检出炎性细胞及炎性因子^[37],其中单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 是肌萎缩侧索硬化症发生过程中的重要炎性因子,在脑脊液中呈高表达。

五、其他神经系统变性疾病相关脑脊液生物学标志物

1. 路易体痴呆 是除阿尔茨海默病外最常见的神经变性痴呆,临床区分路易体痴呆与阿尔茨海默病、血管性痴呆、帕金森病等存在困难,目前发现脑脊液 α -突触核蛋白^[27]、T-tau^[46]、P-tau^[46] 可辅助鉴别路易体痴呆与阿尔茨海默病,但亦有一些研究得到相反的结论^[47]。一项针对路易体痴呆的前期临床研究及扩大样本临床试验显示,路易体痴呆患者

脑脊液新型 $A\beta$ 氧化 ($A\beta$ -Ox) α -螺旋型肽显著升高,可高敏感性和特异性地区分路易体痴呆与其他痴呆类型^[48]。另有研究显示,脑脊液 $A\beta_{38}$ 及 $A\beta_{42}/A\beta_{38}$ 亦可有效区别路易体痴呆与阿尔茨海默病^[49]。Aerts 等^[29]联合检测 $A\beta_{42}$ 、P-tau 和 T-tau,结果显示,其鉴别诊断路易体痴呆与阿尔茨海默病的灵敏度为 92.90%,特异度为 90%;加入 3-甲氧基-4-羟基苯乙二醇 (MHPG) 后灵敏度高达 97.60%,特异度为 95%。有文献报道,神经肽阿立新 (orexin) 可能指示路易体痴呆,但尚有待进一步研究^[50]。

2. Creutzfeldt-Jakob 病 作为致死性神经变性疾病家族,检测脑脊液生物学标志物可为 Creutzfeldt-Jakob 病的诊断提供极大的帮助。早在 10 年前,世界卫生组织即已将脑脊液 14-3-3 蛋白检测纳入散发型 Creutzfeldt-Jakob 病 (sCJD) 的诊断标准,14-3-3 蛋白对 Creutzfeldt-Jakob 病的诊断作用已经临床试验所证实,但并非完全特异性,有许多急性神经元损伤相关性疾病均可导致脑脊液 14-3-3 蛋白阳性。近年来,探寻辅助脑脊液 14-3-3 蛋白诊断的生物学标志物已有一些进展,例如脑脊液朊蛋白 (PrP)^[51]、桥粒斑蛋白 (desmoplakin)^[52]、转铁蛋白 (transferrin)^[53]、S-100B 蛋白^[54] 和 tau 蛋白^[54] 等均获得较好结论。Chohan 等^[54]对 1997-2007 年英国报道的已经神经病理学检查证实的 245 例确诊散发型 Creutzfeldt-Jakob 病 (definite CJD)、163 例可能散发型 Creutzfeldt-Jakob 病 (possible CJD) 和 171 例对照组受试者的脑脊液生物学标志物进行分析证实,以脑脊液 14-3-3 蛋白灵敏度最高 (86%)、S-100B 蛋白特异度最高 (90%),二者联合检测可能是最佳预测标志。

3. 多系统萎缩 多系统萎缩与帕金森病等突触核蛋白病的鉴别诊断尤为重要。近年开展的两项大样本临床试验结果证实,多系统萎缩患者脑脊液 $A\beta_{42}$ 、T-tau、P-tau、Flt3 配体、神经微丝轻链及 α -突触核蛋白水平显著降低^[15,31];其中以 Flt3 配体水平降低更为显著,作为鉴别多系统萎缩与帕金森病的灵敏度高达 99%,特异度达 95%,若联合 α -突触核蛋白和 P-tau/T-tau 比值仍可获得 90% 的灵敏度和 71% 的特异度^[31]。Flt3 配体是中枢神经系统具有神经营养和抗凋亡作用的细胞因子,可辅助神经元及神经胶质增生、分化和存活,多系统萎缩患者脑脊液 Flt3 配体水平降低则反映其在中枢神经系统中的水平降低,可能与多系统萎缩少突胶质细胞髓鞘变

性有关。

六、挑战与展望

神经变性疾病因其长期进展性病程及流行率日益增加,已为全球患者及家庭带来严重后果。由于大多数神经变性疾病发病隐匿,临床表型复杂或可共存,导致诊断困难。寻找可广泛应用和高敏感性、特异性的生物学标志物,对疾病临床前诊断颇具重要意义。目前脑脊液生物学标志物的应用仍有诸多限制,如标本采集、检测方法、试剂及分析阈值等,使各实验室的检测结果不尽一致,规范检测和分析方法才能使脑脊液生物学标志物早日广泛应用于临床。

参 考 文 献

- [1] Forlenza OV, Diniz BS, Gattaz WF. Diagnosis and biomarkers of predementia in Alzheimer's disease. *BMC Med*, 2010, 8:89.
- [2] Rieckmann P, Toyka KV; Austrian - German - Swiss Multiple Sclerosis Therapy Consensus Group. Escalating immunotherapy of multiple sclerosis. *Eur Neurol*, 1999, 42:121-127.
- [3] Norgren N, Sundström P, Svenningsson A, Rosengren L, Stigbrand T, Gunnarsson M. Neurofilament and glial fibrillary acidic protein in multiple sclerosis. *Neurology*, 2004, 63:1586-1590.
- [4] Bretschneider J, Petzold A, Junker A, Tumani H. Axonal damage markers in the cerebrospinal fluid of patients with clinically isolated syndrome improve predicting conversion to definite multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2006, 12:143-148.
- [5] Tumani H, Hartung HP, Hemmer B, Teunissen C, Deisenhammer F, Giovannoni G, Zettl UK; BioMS Study Group. Cerebrospinal fluid biomarkers in multiple sclerosis. *Neurobiol Dis*, 2009, 35:117-127.
- [6] Teunissen CE, Iacobaeus E, Khademi M, Brundin L, Norgren N, Koel-Simmelink MJ, Schepens M, Bouwman F, Twaalfhoven HA, Blom HJ, Jakobs C, Dijkstra CD. Combination of CSF N-acetylaspartate and neurofilaments in multiple sclerosis. *Neurology*, 2009, 72:1322-1329.
- [7] Frederiksen J, Kristensen K, Bahl JM, Christiansen M. Tau protein: a possible prognostic factor in optic neuritis and multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2012, 18:592-599.
- [8] Bartosik-Psujek H, Stelmasiak Z. The CSF levels of total-tau and phosphotau in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neural Transm*, 2006, 113:339-345.
- [9] Fukumoto H, Tokuda T, Kasai T, Ishigami N, Hidaka H, Kondo M, Allsop D, Nakagawa M. High-molecular-weight beta-amyloid oligomers are elevated in cerebrospinal fluid of Alzheimer patients. *FASEB J*, 2010, 24:2716-2726.
- [10] Maruyama M, Arai H, Sugita M, Tanji H, Higuchi M, Okamura N, Matsui T, Higuchi S, Matsushita S, Yoshida H, Sasaki H. Cerebrospinal fluid amyloid beta (1-42) levels in the mild cognitive impairment stage of Alzheimer's disease. *Exp Neurol*, 2001, 172:433-436.
- [11] Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurol*, 2006, 5:228-234.
- [12] Montine TJ, Kaye JA, Montine KS, McFarland L, Morrow JD, Quinn JF. Cerebrospinal fluid Aβ₄₂, tau, and F2-isoprostane concentrations in patients with Alzheimer disease, other dementias, and in age-matched controls. *Arch Pathol Lab Med*, 2001, 125:510-512.
- [13] Waragai M, Sekiyama K, Sekigawa A, Takamatsu Y, Fujita M, Hashimoto M. α-Synuclein and DJ-1 as potential biological fluid biomarkers for Parkinson's disease. *Int J Mol Sci*, 2010, 11:4257-4266.
- [14] Hong Z, Shi M, Chung KA, Quinn JF, Peskind ER, Galasko D, Jankovic J, Zabetian CP, Leverenz JB, Baird G, Montine TJ, Hancock AM, Hwang H, Pan C, Bradner J, Kang UJ, Jensen PH, Zhang J. DJ-1 and alpha-synuclein in human cerebrospinal fluid as biomarkers of Parkinson's disease. *Brain*, 2010, 133:713-726.
- [15] Hall S, Ohrfelt A, Constantinescu R, Andreasson U, Surova Y, Bostrom F, Nilsson C, Widner H, Decraemer H, Nägga K, Minthon L, Londos E, Vanmechelen E, Holmberg B, Zetterberg H, Blennow K, Hansson O. Accuracy of a panel of 5 cerebrospinal fluid biomarkers in the differential diagnosis of patients with dementia and/or parkinsonian disorders. *Arch Neurol*, 2012.[Epub ahead of print]
- [16] Mattsson N. CSF biomarkers in neurodegenerative diseases. *Clin Chem Lab Med*, 2011, 49:345-352.
- [17] Blennow K, Hampel H, Weiner M, Zetterberg H. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*, 2010, 6:131-144.
- [18] Santos AN, Ewers M, Minthon L, Simm A, Silber RE, Blennow K, Prvulovic D, Hansson O, Hampel H. Amyloid-β oligomers in cerebrospinal fluid are associated with cognitive decline in patients with Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2012, 29:171-176.
- [19] Montine TJ, Montine KS, McMahan W, Markesbery WR, Quinn JF, Morrow JD. F2-isoprostanes in Alzheimer and other neurodegenerative diseases. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7:269-275.
- [20] Steiner J, Bogerts B, Schroeter ML, Bernstein HG. S100B protein in neurodegenerative disorders. *Clin Chem Lab Med*, 2011, 49:409-424.
- [21] Torreilles F, Touchon J. Pathogenic theories and intrathecal analysis of the sporadic form of Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*, 2002, 66:191-203.
- [22] Vanmierlo T, Popp J, Kölsch H, Friedrichs S, Jessen F, Stoffel-Wagner B, Bertsch T, Hartmann T, Maier W, von Bergmann K, Steinbusch H, Mulder M, Lütjohann D. The plant sterol brassicasterol as additional CSF biomarker in Alzheimer's disease. *Acta Psychiatr Scand*, 2011, 124:184-192.
- [23] Schoonenboom NS, Reesink FE, Verwey NA, Kester MI, Teunissen CE, van de Ven PM, Pijnenburg YA, Blankenstein MA, Rozemuller AJ, Scheltens P, van der Flier WM. Cerebrospinal fluid markers for differential dementia diagnosis in a large memory clinic cohort. *Neurology*, 2012, 78:47-54.
- [24] Parnetti L, Chiasserini D, Eusebi P, Giannandrea D, Bellomo G, De Carlo C, Padiglioni C, Mastrocola S, Lisetti V, Calabresi P. Performance of Aβ₁₋₄₀, Aβ₁₋₄₂, total tau, and phosphorylated tau as predictors of dementia in a cohort of patients with mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis*, 2012, 29:229-238.
- [25] LeWitt P. Recent advances in CSF biomarkers for Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 2012, 18 Suppl 1:49-51.
- [26] LeWitt P, Schultz L, Auinger P, Lu M; Parkinson Study Group DATATOP Investigators. CSF xanthine, homovanillic acid, and their ratio as biomarkers of Parkinson's disease. *Brain Res*, 2011, 1408:88-97.
- [27] Henchcliffe C, Dodel R, Beal MF. Biomarkers of Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Prog Neurobiol*, 2011, 95:601-613.
- [28] Mollenhauer B, Locascio JJ, Schulz-Schaeffer W, Sixel-Döring F, Trenkwalder C, Schlossmacher MG. α-Synuclein and tau

- concentrations in cerebrospinal fluid of patients presenting with parkinsonism: a cohort study. *Lancet Neurol*, 2011, 10:230-240.
- [29] Aerts MB, Esselink RA, Claassen JA, Abdo WF, Bloem BR, Verbeek MM. CSF tau, A β 42, and MHPG differentiate dementia with Lewy bodies from Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2011, 27:377-384.
- [30] Yanamandra K, Gruden MA, Casate V, Meskys R, Forsgren L, Morozova-Roche LA. α -synuclein reactive antibodies as diagnostic biomarkers in blood sera of Parkinson's disease patients. *PLoS One*, 2011, 6:E18513.
- [31] Shi M, Bradner J, Hancock AM, Chung KA, Quinn JF, Peskind ER, Galasko D, Jankovic J, Zabetian CP, Kim HM, Leverenz JB, Montine TJ, Ghingina C, Kang UJ, Cain KC, Wang Y, Aasly J, Goldstein D, Zhang J. Cerebrospinal fluid biomarkers for Parkinson disease diagnosis and progression. *Ann Neurol*, 2011, 69:570-580.
- [32] Shi M, Zhang J. CSF α -synuclein, tau, and amyloid β in Parkinson's disease. *Lancet Neurol*, 2011, 10:681.
- [33] Zhang J, Sokal I, Peskind ER, Quinn JF, Jankovic J, Kenney C, Chung KA, Millard SP, Nutt JG, Montine TJ. CSF multianalyte profile distinguishes Alzheimer and Parkinson diseases. *Am J Clin Pathol*, 2008, 129:526-529.
- [34] Holmberg B, Johnels B, Blennow K, Rosengren L. Cerebrospinal fluid Abeta42 is reduced in multiple system atrophy but normal in Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy. *Mov Disord*, 2003, 18:186-190.
- [35] Isobe C, Abe T, Terayama Y. Levels of reduced and oxidized coenzyme Q - 10 and 8 - hydroxy - 2' - deoxyguanosine in the cerebrospinal fluid of patients with living Parkinson's disease demonstrate that mitochondrial oxidative damage and/or oxidative DNA damage contributes to the neurodegenerative process. *Neurosci Lett*, 2010, 469:159-163.
- [36] Maetzler W, Berg D, Schalamberidze N, Melms A, Schott K, Mueller JC, Liaw L, Gasser T, Nitsch C. Osteopontin is elevated in Parkinson's disease and its absence leads to reduced neurodegeneration in the MPTP model. *Neurobiol Dis*, 2007, 25: 473-482.
- [37] Ganesalingam J, An J, Shaw CE, Shaw G, Lacomis D, Bowser R. Combination of neurofilament heavy chain and complement C3 as CSF biomarkers for ALS. *J Neurochem*, 2011, 117:528-537.
- [38] Brettschneider J, Petzold A, Sussmuth SD, Ludolph AC, Tumani H. Axonal damage markers in cerebrospinal fluid are increased in ALS. *Neurology*, 2006, 66:852-856.
- [39] Zetterberg H, Jacobsson J, Rosengren L, Blennow K, Andersen PM. Cerebrospinal fluid neurofilament light levels in amyotrophic lateral sclerosis: impact of SOD1 genotype. *Eur J Neurol*, 2007, 14: 1329-1333.
- [40] Steinacker P, Fang L, Kuhle J, Petzold A, Tumani H, Ludolph AC, Otto M, Brettschneider J. Soluble beta-amyloid precursor protein is related to disease progression in amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One*, 2011, 6:E23600.
- [41] Noto Y, Shibuya K, Sato Y, Kanai K, Misawa S, Sawai S, Mori M, Uchiyama T, Isole S, Nasu S, Sekiguchi Y, Fujimaki Y, Kasai T, Tokuda T, Nakagawa M, Kuwabara S. Elevated CSF TDP - 43 levels in amyotrophic lateral sclerosis: specificity, sensitivity, and a possible prognostic value. *Amyotroph Lateral Scler*, 2011, 12:140-143.
- [42] Kasai T, Tokuda T, Ishigami N, Sasayama H, Foulds P, Mitchell DJ, Mann DM, Allsop D, Nakagawa M. Increased TDP-43 protein in cerebrospinal fluid of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol*, 2009, 117:55-62.
- [43] Süssmuth SD, Sperfeld AD, Hinz A, Brettschneider J, Endruhn S, Ludolph AC, Tumani H. CSF glial markers correlate with survival in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*, 2010, 74:982-987.
- [44] Murata T, Ohtsuka C, Terayama Y. Increased mitochondrial oxidative damage in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci*, 2008, 267:66-69.
- [45] Wilson ME, Boumaza I, Lacomis D, Bowser R. Cystatin C: a candidate biomarker for amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One*, 2010, 5:E15133.
- [46] Sinha N, Firbank M, O'Brien JT. Biomarkers in dementia with Lewy bodies: a review. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2012, 27:443-453.
- [47] Reesink FE, Lemstra AW, van Dijk KD, Berendse HW, van de Berg WD, Klein M, Blankenstein MA, Scheltens P, Verbeek MM, van der Flier WM. CSF α -synuclein does not discriminate dementia with Lewy bodies from Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2010, 22:87-95.
- [48] Bibl M, Mollenhauer B, Lewczuk P, Esselmann H, Wolf S, Trenkwalder C, Otto M, Stiens G, Rütger E, Kornhuber J, Wiltfang J. Validation of amyloid - beta peptides in CSF diagnosis of neurodegenerative dementias. *Mol Psychiatry*, 2007, 12:671-680.
- [49] Mulugeta E, Londos E, Ballard C, Alves G, Zetterberg H, Blennow K, Skogseth R, Minthon L, Aarsland D. CSF amyloid β 38 as a novel diagnostic marker for dementia with Lewy bodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2011, 82:160-164.
- [50] Wennström M, Londos E, Minthon L, Nielsen HM. Altered CSF orexin and α -synuclein levels in dementia patients. *J Alzheimers Dis*, 2012, 29:125-132.
- [51] Torres M, Cartier L, Matamala JM, Hernández N, Woehlbier U, Hetz C. Altered Prion protein expression pattern in CSF as a biomarker for Creutzfeldt-Jakob disease. *PLoS One*, 2012, 7:E36159.
- [52] Gawinecka J, Ciesielczyk B, Sanchez - Juan P, Schmitz M, Heinemann U, Zerr I. Desmoplakin as a potential candidate for cerebrospinal fluid marker to rule out 14-3-3 false positive rates in sporadic Creutzfeldt - Jakob disease differential diagnosis. *Neurodegener Dis*, 2012, 9:139-144.
- [53] Singh A, Beveridge AJ, Singh N. Decreased CSF transferrin in sCJD: a potential pre-mortem diagnostic test for prion disorders. *PLoS One*, 2011, 6:E16804.
- [54] Chohan G, Pennington C, Mackenzie JM, Andrews M, Everington D, Will RG, Knight RS, Green AJ. The role of cerebrospinal fluid 14-3-3 and other proteins in the diagnosis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in the UK: a 10-year review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2010, 81:1243-1248.

(收稿日期:2012-11-12)

本期广告目次

- 必存(南京先声东元制药有限公司)…………… 封二
 恩必普(石药集团恩必普药业
 有限公司)…………… 封三
 乐萌(成都国弘医药有限公司)…………… 封四