

脑脊液生物学标志物在阿尔茨海默病早期诊断中的作用

王军 张莹 郑妍鹏

【关键词】 阿尔茨海默病； 脑脊液； 生物学标记； 综述

【Key words】 Alzheimer disease; Cerebrospinal fluid; Biological markers; Review

Cerebrospinal fluid biomarkers in early diagnosis of Alzheimer's disease

WANG Jun, ZHANG Ying, ZHENG Yan-peng

College of Life Sciences and Bioengineering, Beijing Jiaotong University, Beijing 100044, China

Corresponding author: WANG Jun (Email: junwang1234sup@163.com)

阿尔茨海默病是一种多因素所致的复杂神经变性疾病,因长期、慢性、进行性脑组织损害而出现一系列认知功能障碍的临床综合症状,也是老年期痴呆最为常见的发病原因。组织病理学以 β -淀粉样蛋白(A β)沉积、神经原纤维缠结(NFTs)形成、神经胶质细胞炎症反应和突触功能异常,脑血管淀粉样变和大量神经元缺失,明显脑萎缩为典型特征。

目前,阿尔茨海默病尚无有效的治疗方法,究其原因是发病机制不明,缺乏早期诊断方法和标准。以往对阿尔茨海默病的临床诊断标准主要集中在对痴呆的鉴别和定性,因此明确诊断仅说明疾病处于晚期阶段,神经元损伤呈不可逆状态,药物治疗仅为缓解症状,不能治愈疾病。2011年,美国国家老龄化研究所-阿尔茨海默病学会(NIA-AA)发布新的临床诊断指南,对阿尔茨海默病痴呆、痴呆前有症状阶段和临床前无症状阶段分别提出相应的诊断标准^[1],强调研发和验证生物学标志物的重要性,以尽早实现阿尔茨海默病的早期诊断及针对不同阶段的新药,早日造福患者。

近年研究发现,脑脊液中某些生化改变可以反映早期阿尔茨海默病脑组织损害的主要特征,可以代表其神经病理学的重要性质;在研发和确定阿尔茨海默病早期诊断生物学标志物时,这些脑脊液标志物有可能成为重要的诊断依据^[2-5]。因此,有必要

充分了解并对这些生物学标志物联合应用优势、鉴别诊断作用、存在问题及应用前景进行评价。脑脊液源自脉络丛,可自由地与神经细胞外间隙进行交流,因此中枢神经系统疾病的相关生化改变可以在脑脊液中得以反映。早在20世纪90年代即已发现阿尔茨海默病患者脑脊液A β 、总tau蛋白和磷酸化tau蛋白表达水平的异常变化,并与神经炎症斑[NPs,又称老年斑(SPs)]、轴突变性和神经原纤维缠结形成有关^[6-7]。有研究显示,A β ₁₋₄₂、总tau蛋白和磷酸化tau蛋白对阿尔茨海默病早期诊断具有重要临床价值^[2,4,8]:脑脊液A β ₁₋₄₂表达变化可以反映纤维状A β 含量的变化,从而间接反映A β 斑块在脑组织中的负荷状态,该项指标的异常变化甚至早于¹¹C-PIB PET显像,是认知功能正常个体中发现的更早的病理学证据;总tau蛋白主要反映神经元和轴突损伤程度,磷酸化tau蛋白则反映神经原纤维缠结在脑组织中的进展程度^[7]。在阿尔茨海默病发病机制中,A β 异常沉积被认为是神经元变性的上游反应;tau蛋白过磷酸化则为A β 神经毒性的下游反应,脑脊液总tau蛋白和(或)磷酸化tau蛋白表达升高提示神经元死亡^[9]。目前认为,脑脊液A β 水平降低(tau蛋白水平尚正常)至出现痴呆症状至少有10~20年过渡期^[7,10],为早期干预提供了极佳的机会。因此,以脑脊液A β 和tau蛋白作为阿尔茨海默病早期诊断和疗效评价指标,已成为新的研究热点。

目前,脑脊液生物学标志物对阿尔茨海默病进程,甚至对临床前期的诊断是较为直接和准确的方法,而且与尸体解剖结果一致性良好^[11]。脑脊液生

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2014.04.001

作者单位: 100044 北京交通大学生命科学与生物工程研究院

通讯作者: 王军(Email: junwang1234sup@163.com)

生物学标志物的优势在于:较外周血更精确地反映 A β 和 tau 蛋白代谢变化,尤其可在体直接观察患者脑组织病理生理学变化。例如,联合分析脑脊液 A β_{1-42} 降低和 tau 蛋白升高两项指标,能够显著提高阿尔茨海默病诊断的特异性。有研究显示,A β_{1-42} 和总 tau 蛋白联合应用对阿尔茨海默病诊断的灵敏度可达 85.29%、特异度 96.77%^[12];而且脑脊液 A β_{1-42} 、总 tau 蛋白和磷酸化 tau 蛋白联合应用可使阿尔茨海默病诊断的灵敏度提高至 95%,但其特异度仅能达到 87%^[13]。对脑脊液生物学标志物进行研究的价值是能够鉴别认知功能尚处于正常状态但已有早期病理改变证据的个体,tau/A β_{1-42} 和磷酸化 tau/A β_{1-42} 比值可用于预测这一群体向轻度认知损害(MCI)转化及轻度认知损害向阿尔茨海默病转化的可能性。一项为期 42 个月的纵向研究结果显示,正常对照组脑脊液 tau/A β_{1-42} 比值增高者,进展至轻度认知损害的概率极高,而比值正常者则无一例进展至轻度认知损害^[14]。由此可见,脑脊液 tau/A β_{1-42} 比值增高的老年人,虽未表现出认知功能下降的临床症状与体征,但其脑组织业已出现 A β 沉积和神经变性改变,此类人群即有可能是处于临床前期的阿尔茨海默病患者。另一项为期 9~10 年的纵向研究发现,约有 90% 的 tau/A β_{1-42} 比值增高的轻度认知损害患者可进展至阿尔茨海默病^[15]。以脑脊液生化改变预测轻度认知损害向阿尔茨海默病转化,1 年内 tau 蛋白变化比 A β_{1-42} 明显、3 年内 A β_{1-42} 变化比 tau 蛋白显著。tau 蛋白仅为神经轴突损伤的一般性标志物,而磷酸化 tau181 和 tau231 则对阿尔茨海默病诊断的特异性更高,常被用于鉴别阿尔茨海默病与正常老龄化、额颞叶痴呆(FTD)、路易体痴呆(DLB)、血管性痴呆(VaD)和抑郁症(depression)。其中,磷酸化 tau 蛋白是特异性较好的脑脊液标志物,至今已至少鉴别出 30 个磷酸化位点,磷酸化 tau231~235 或 tau396~404 可用于鉴别阿尔茨海默病与额颞叶痴呆、路易体痴呆和血管性痴呆^[9,16]。此外,也有关于磷酸化 tau199、tau199 和 tau202、tau396 和 tau404 用于上述疾病鉴别的报道,但主要集中在磷酸化 tau181 和 tau231。

另外,卓有成效的研究也集中在多种生物学标志物与影像学的联合应用,如脑脊液标志物与 MRI、淀粉样蛋白 PET 显像和 ¹⁸F-FDG PET 显像联合应用,其阳性检出率高、临床诊断价值评价良好^[17]。联合应用与单一临床试验数据相比,前者使从轻度

认知损害向阿尔茨海默病转化预测的准确性显著提高,诊断误差率从 41.30% 降至 28.40% ($P = 0.000$)。

此外,也有一些其他化合物可以作为阿尔茨海默病病程监控的生物学标志物,值得今后进一步开拓。其中具有开发前景的生物学标志物包括^[7,16]: (1) 水解酶,如淀粉样前体蛋白 β 位点剪切酶-1 (BACE-1)、 γ -分泌酶(γ -secretase)抑制剂。(2) A β 寡聚体。(3) 神经元和突触变性生物学标志物。阿尔茨海默病对神经突触影响最大,业已发现脑脊液中有数种突触前、突触后蛋白,包括 Rab3a、突触泡融合蛋白(synaptotagmin)、生长相关蛋白-43(GAP-43)、突触体相关蛋白-25(SNAP-25)、神经颗粒蛋白(neurogranin)、突触囊泡蛋白 2A(SV2A)和突触小泡磷酸酶-1(synaptojanin-1)等。(4) 小胶质细胞活性物质,如 CC 趋化因子配体 2(CCL2)、F2 异前列腺素(F2-isoprostane)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)。另外,半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(cystatin C)、同型半胱氨酸(homocysteine)、 α -突触共核蛋白(α -Syn)、Tar DNA 结合蛋白 43(TDP-43)等也有新的发现^[7],但其临床应用前景尚未达到 A β 和 tau 蛋白那样成熟,进一步深入研究对理解阿尔茨海默病病理学机制和寻找新的有效标志物将十分有益。

虽然 MRI 和 PET 技术可以实时显示脑组织形态学变化,然而由于价格昂贵尚难以在临床普及,脑脊液生物学标志物则操作简便、标本易获取而极具临床应用价值。值得指出的是,目前尚无任何单一生物学标志物(脑脊液、血液、影像学)能够实现阿尔茨海默病的早期诊断和疾病监测,而脑脊液总 tau 蛋白、磷酸化 tau 蛋白、A β_{42} 、载脂蛋白 E(ApoE)和影像学(MRI 和 PET)联合应用、综合分析,对判断 A β 和 tau 蛋白病理学机制和病理生理学变化,其准确性和特异性可显著提高,尤其是可以用于在体实时监测。目前,脑脊液生物学标志物所面临的挑战是:影像学实时检测方法的飞速发展,特别是针对阿尔茨海默病两大核心标志物的检测(A β 和 tau 蛋白)而开发的淀粉样蛋白显像剂 AV-45 已经正式通过美国食品与药品管理局(FDA)批准,tau 蛋白显像剂研制成功已初见成效。若外周血靶蛋白检测技术取得突破,则有可能影响脑脊液生物学标志物今后的应用,尤其是腰椎穿刺的有创性且患者常有顾虑,难以进行大样本采集和研究,此为脑脊液生物学标志物长期应用的局限性。

上述脑脊液和影像学标志物在临床应用过程中尚需解决标准化程序,并存在大样本数据验证的问题,以及建立供临床应用的临界值(cut-off value)和标准参考物。由于目前各种生物学标志物的临床应用缺乏标准化程序,不同实验室在标本采集步骤、处理方式、分析方法和病例纳入标准等方面不统一,使所获得的研究结果存在明显差异。而实验室误差并非脑脊液标志物所独有的问题,也是所有临床医学检验过程中神经变性疾病生物学标志物所共有的问题,此类问题的解决将有助于脑脊液标志物的临床验证。目前,全球性合作研究均致力于统一实验标准、监测实验结果,以缩小差异,从而推进阿尔茨海默病脑脊液生物学标志物的研究步伐。

参 考 文 献

- [1] Tian JZ, Shi J, Zhang XK, Ni JN, Zhang BL, Wang YY. Understanding of "the recommendations from the National Institute on Aging and the Alzheimer's Association workgroup on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease". Zhongguo Yi Xue Qian Yan Za Zhi (Dian Zi Ban), 2011, 3:91-100. [田金洲, 时晶, 张学凯, 倪敬年, 张伯礼, 王永炎. 2011 年美国阿尔茨海默病最新诊断标准解读. 中国医学前沿杂志(电子版), 2011, 3:91-100.]
- [2] Blennow K, Zetterberg H. The application of cerebrospinal fluid biomarkers in early diagnosis of Alzheimer disease. Med Clin North Am, 2013, 97:369-376.
- [3] Engelborghs S. Clinical indications for analysis of Alzheimer's disease CSF biomarkers. Rev Neurol (Paris), 2013, 169:709-714.
- [4] Harari O, Cruchaga C, Kauwe JS, Ainscough BJ, Bales K, Pickering EH, Bertelsen S, Fagan AM, Holtzman DM, Morris JC, Goate AM; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Phosphorylated tau - A β 42 ratio as a continuous trait for biomarker discovery for early - stage Alzheimer's disease in multiplex immunoassay panels of cerebrospinal fluid. Biol Psychiatry, 2014. [Epub ahead of print]
- [5] Skillbäck T, Zetterberg H, Blennow K, Mattsson N. Cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer disease and subcortical axonal damage in 5,542 clinical samples. Alzheimers Res Ther, 2013, 5:47.
- [6] Lehmann S, Delaby C, Touchon J, Hirtz C, Gabelle A. Biomarkers of Alzheimer's disease: the present and the future. Rev Neurol (Paris), 2013, 169:719-723.
- [7] Zetterberg H, Blennow K. Cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer's disease: more to come? J Alzheimers Dis, 2013, 33: S361-369.
- [8] Mondragón - Rodríguez S, Perry G, Luna - Muñoz J, Acevedo - Aquino MC, Williams S. Phosphorylation of tau protein at sites Ser (396-404) is one of the earliest events in Alzheimer's disease and Down syndrome. Neuropathol Appl Neurobiol, 2014, 40:121-135.
- [9] Hampel H, Blennow K, Shaw LM, Hoessler YC, Zetterberg H, Trojanowski JQ. Total and phosphorylated tau protein as biological markers of Alzheimer's disease. Exp Gerontol, 2010, 45:30-40.
- [10] Jack CR Jr, Knopman DS, Jagust WJ, Petersen RC, Weiner MW, Aisen PS, Shaw LM, Vemuri P, Wiste HJ, Weigand SD, Lesnick TG, Pankratz VS, Donohue MC, Trojanowski JQ. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. Lancet Neurol, 2013, 12:207-216.
- [11] Shaw LM, Vanderstichele H, Knapik - Czajka M, Figurski M, Coart E, Blennow K, Soares H, Simon AJ, Lewczuk P, Dean RA, Siemers E, Potter W, Lee VM, Trojanowski JQ; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Qualification of the analytical and clinical performance of CSF biomarker analyses in ADNI. Acta Neuropathol, 2011, 121:597-609.
- [12] Smach MA, Charfeddine B, Lammouchi T, Dridi H, Ben Othman L, Bennamou S, Limem K. Interest of CSF beta - amyloid 1-42 and t - tau protein level determinations for the diagnosis of Alzheimer's disease. Ann Biol Clin (Paris), 2008, 66:531-535.
- [13] 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.
- [14] Li G, Sokal I, Quinn JF, Leverenz JB, Brodey M, Schellenberg GD, Kaye JA, Raskind MA, Zhang J, Peskind ER, Montine TJ. CSF tau/Abeta42 ratio for increased risk of mild cognitive impairment: a follow-up study. Neurology, 2007, 69:631-639.
- [15] Buchhave P, Minthon L, Zetterberg H, Wallin AK, Blennow K, Hansson O. Cerebrospinal fluid levels of beta-amyloid 1-42, but not of tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of Alzheimer dementia. Arch Gen Psychiatry, 2012, 69:98-106.
- [16] Slaets S, Vanmechelen E, Le Bastard N, Decraemer H, Vandijck M, Martin JJ, De Deyn PP, Engelborghs S. Increased CSF α -synuclein levels in Alzheimer's disease: correlation with tau levels. Alzheimers Dement, 2014. [Epub ahead of print]
- [17] Shaffer JL, Petrella JR, Sheldon FC, Choudhury KR, Calhoun VD, Coleman RE, Doraiswamy PM; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Predicting cognitive decline in subjects at risk for Alzheimer disease by using combined cerebrospinal fluid, MR imaging, and PET biomarkers. Radiology, 2013, 266:583-591.

(收稿日期:2014-02-24)

· 小 词 典 ·

中英文对照名词词汇(一)

阿尔茨海默病 Alzheimer's disease(AD)

阿尔茨海默病神经影像学计划

Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative(ADNI)

阿尔茨海默病神经影像学计划(中国)

China-Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative(C-ADNI)

癌胚抗原 carcinoembryonic antigen(CEA)

半高全宽 full width half maximum(FWHM)

胞嘧啶-腺嘌呤-鸟嘌呤 cytosine-adenine-guanine(CAG)

表观扩散系数 apparent diffusion coefficient(ADC)