

阿尔茨海默病外周血生物学标志物的研究进展

梁芙茹, 王宝军, 耿尚勇, 任凤飞 综述 李月春 审校

内蒙古包头市中心医院神经内科, 内蒙古包头市 014040

摘要: 外周血生物学标志物能够反映阿尔茨海默病(AD)潜在的病理生理过程,如老年斑形成相关蛋白、氧化应激和炎症、脂代谢异常等,并且具有非创伤性、用途更广泛等优于脑脊液生物学标志物的特征,显示出良好的应用前景。有些经过验证和研究证实具有一定的诊断价值,或者能够对AD临床前期和疾病进展进行预测和监测;尽管有的研究结果并不很一致,但也为我们指出了今后进一步研究和探索的方向。

关键词: 阿尔茨海默病; 外周血生物标志物

脑脊液中的 β -淀粉样蛋白(amyloid protein β , $A\beta$)和磷酸化 tau 蛋白作为生物学标志物虽已被广泛用于阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的临床诊断,但因为具有创伤性,并非常规检查。因此,近年来人们将目光逐渐转向非侵袭性、可重复取材,来源于外周血液的生物学标志物,研究其对AD的诊断、预测和临床转归等方面的价值。

1 老年斑形成相关蛋白

1.1 血小板类淀粉前体蛋白

老年斑是AD主要的病理改变,其主要成分是 $A\beta$ 。 $A\beta$ 起源于类淀粉前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)。用单克隆抗体22C11通过Western Blot法可以检测出三种不同分子量的APP亚型:130 kDa、110 kDa和106 kDa。Zainaghi等^[1]研究发现AD患者血小板APP比值(130 kDa/106 kDa或130 kDa/110 kDa)较轻度认知障碍(mild cognitive impairment, MCI)和正常对照显著降低,而MCI与正常对照之间没有显著差异,说明血小板APP比值在AD患者中显著改变。随访研究发现随访期转化为AD的MCI患者血小板APP比值显著降低,这些患者基线期的APP比值水平与AD患者的水平相近^[2],用APP比值预测MCI转化为AD的敏感性和特异性均达到75%,说明它很可能是AD疾病进程中一个代表性的标志物^[2]。最近用另一种抗体能够检测出115 kDa新的APP亚型,这种亚型在MCI和AD患者比正常对照都显著增高,与APP比值、简易精神状态量表(mini-mental state examination, MMSE)都有相关性,也有可能成为用于诊断

临床前期AD的辅助检查^[3]。

APP的代谢途径主要是被 α 分泌酶和 γ -分泌酶先后进行剪切,释放非毒性P3片段和可溶性的N-末端片段——sAPP α (soluble APP α);另外的途径是被 β 分泌酶(BACE1)和 γ -分泌酶先后进行剪切,释放毒性的 $A\beta$ 多肽和可溶性的N-末端片段——sAPP β (soluble APP β)^[4]。最近Wu等^[5]研究发现AD患者血浆sAPP β 、sAPP α 和 $A\beta_{42}$ 水平比对照组都显著增高,提示血浆sAPP β 、sAPP α 可能是新的标志物,从一定程度上反映AD的早期特征。但Perneczky等^[6]的研究结果与之不同,他们对AD患者、正常对照以及行为变异额颞痴呆患者(bvFTD)进行检测发现AD比对照组和bvFTD的sAPP β 都降低,但sAPP α 没有明显差别,提示sAPP β 可能才是AD更有意义的标志物,有可能提高现有标志物诊断的准确性。但因为目前研究结果明显不一致,究竟sAPP β 和sAPP α 对AD的诊断价值如何,尚需扩大样本、重复验证,进一步深入研究。

1.2 血浆 $A\beta$

$A\beta$ 是AD病理学的核心, $A\beta$ 主要有两种构型, $A\beta_{40}$ 和 $A\beta_{42}$ 。脑内 $A\beta$ 负荷与脑脊液 $A\beta_{42}$ 水平呈负相关,即当脑内 $A\beta$ 负荷增加、沉积增多导致AD病理特征形成时,脑脊液 $A\beta_{42}$ 随即降低。血浆中 $A\beta_{42}$ 变化也类似脑脊液,在AD发病之前先升高,随着症状加重、痴呆形成,外周血浆 $A\beta_{42}$ 随即很快下降^[7],体现在有早老素-1(PS1)或APP遗传变异的家族性AD无症状携带者的血浆 $A\beta_{42}$ 和

收稿日期:2014-12-26;修回日期:2015-03-23

作者简介:梁芙茹(1971-),女,博士,主任医师,主要从事Alzheimer病的研究。E-mail: ru_liang@sina.com。

通讯作者:李月春(1957-),女,主任医师,教授,主要从事认知障碍相关疾病的研究。Email: yuechunli@vip.163.com。

A β 42 / A β 40 比值都升高^[8]; 而 AD 及随访中进展为 AD 的 MCI 患者的血浆 A β 42 和 A β 42 / A β 40 比值都显著降低, 这也说明了血浆中的 A β 能够一定程度上体现 AD 及其临床前期的特征^[9]。

但血浆 A β 对于 AD 的预测性的研究结果却很不一致。Meta 分析显示 A β 42 / A β 40 比值降低对于痴呆或 AD 的发展具有显著的预测作用^[10]。但 Lopez 等^[11]认为控制了年龄和其他疾病(包括脑血管病)等因素后, 血浆 A β 40、A β 42 以及 A β 42 / A β 40 比值对于从认知正常转化为 AD 的预测作用并不强。Hansson 等^[12]用新的 A β 检测方法发现血浆 A β 42 单独对 AD 的预测性不是很强, 而且血浆 A β 42 和 A β 40 与脑脊液中的 A β 40 和 A β 42 并没有明显相关性, 说明血浆 A β 与脑脊液 A β 之间的机制联系尚需要进一步研究, 今后需要建立一致的测定方法, 进一步验证血浆 A β 对 AD 的预测作用。

1.3 可溶性低密度脂蛋白受体相关蛋白

低密度脂蛋白受体相关蛋白-1 (low-density lipoprotein receptor related protein-1, LRP1) 是低密度脂蛋白受体家族的成员, 在 AD 患者的老年斑中可以检测到。LRP1 影响 APP 代谢、介导 A β 经血脑屏障的清除过程^[13]。可溶性低密度脂蛋白受体相关蛋白(soluble LRP1, sLRP) 是 LRP1 的胞外段剪切后释放入血浆中的 515 kDa 的蛋白。sLRP 是外周血浆 A β 的主要结合蛋白, 能够结合血浆中约 70% ~ 90% 的 A β , 从而阻止血浆中的 A β 通过血脑屏障再次返回脑内并在脑内集聚^[14], 对于 AD 患者是保护性的。AD 患者血浆中 sLRP 水平比血管性痴呆、非-AD 的其他神经变性疾病以及正常对照都显著降低^[15], 对 AD 诊断的敏感性达到 77.8%, 提示 sLRP 可能是 AD 潜在的生物学标志物。

2 氧化应激

AD 患者脑内神经变性所导致的蛋白、脂质、核苷酸的氧化作用以及抗氧化酶的活性减低等, 都提示氧化应激在 AD 患者疾病演变中的重要作用。Padurariu 等^[16]测定了 AD 和 MCI 患者血清中酶促抗氧化防御系统, 如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX) 并检测脂质过氧化标志物——丙二醛(malondialdehyde, MDA), 发现 AD 和 MCI 的 SOD 和 GPX 比正常对照组都降低, 而 MDA 比正常对照组都增加。另外蛋白质和 DNA 氧化产物的标志物也有报道, AD 患者血清中蛋白碳酰(protein

carbonyls) 水平降低^[17]。但很多因素影响氧化应激, 如共病、服药、吸烟和肥胖等, 故研究结果的一致性不是很好^[18]。

3 炎症及炎症因子

AD 患者脑内的类淀粉沉积物产生一系列炎症反应, 其中研究较多的就是 α -1 抗糜蛋白酶(α 1-antichymotrypsin, α 1-ACT)。AD 患者血浆 α 1-ACT 水平高于正常对照及 MCI 患者^[19]; 随着血清 α 1-ACT 的升高, 认知障碍的风险性增加^[20]。提示血浆 α 1-ACT 可用来监测 AD 的临床前期过程以及疾病的进展。炎症标志物并非 AD 特异性的标志物, 但很多研究发现对 AD 具有预测作用, 白介素-1 β (IL-1 β) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 升高的社区老年人以后发展成 AD 的风险增加^[21]。

4 脂代谢和血管病相关标志物

4.1 载脂蛋白

载脂蛋白(apolipoprotein) 是一组与胆固醇和脂代谢相关的蛋白质, 可能参与神经变性的过程^[22]。血浆总的载脂蛋白 E(apolipoprotein E, ApoE) 在 AD 患者中显著降低^[23]; 载脂蛋白 J(clusterin/apolipoprotein J, ApoJ) 在 APP 和 PS1 的转基因鼠中水平升高, 并且与 A β 共同存在于转基因鼠的老年斑中^[22], 人类血浆 ApoJ 水平升高与内嗅皮质萎缩、AD 患者认知功能快速下降都具有相关性^[22]。

4.2 血浆 24S-羟基胆固醇

脑内过剩的胆固醇转变成 24S-羟基胆固醇(24S-hydroxycholesterol)——脑特异性的氧合胆固醇, 它比血浆总胆固醇更能反应脑内胆固醇的稳定状态^[24], 并且极易透过血脑屏障, 反映脑内产出和肝内代谢的平衡, 但在血浆中的结果不一致。有报道在 AD 患者血浆中升高, 经他汀类治疗后会使其降低^[25]; 但也有报道 AD 患者比 MCI 或仅有主观认知下降而客观检查认知正常血浆 24S-羟基胆固醇都显著降低^[26], 并且在其他神经变性病, 如 Huntington's 舞蹈病中也降低^[27], 说明 24S-羟基胆固醇水平变化可能反映了神经变性病共同的神经细胞功能障碍的特征。它虽然不是诊断 AD 的特异性的标志物, 但有可能成为一个可调控的危险因素。

4.3 同型半胱氨酸

同型半胱氨酸不仅是脑血管病危险因素, 它也参与神经变性的病理过程, 同时神经变性过程也触发了高同型半胱氨酸血症, 互为因果^[28]。高水平的同型半胱氨酸可能是认知下降、向 MCI 或 AD 转

化的预测指标。从认知正常进展为 AD 的患者比进展至 MCI 的患者同型半胱氨酸水平明显升高^[29];进展为 AD 的 MCI 患者在痴呆前就比始终未进展为 AD 的 MCI 患者具有更高的同型半胱氨酸水平^[30]。

5 蛋白组学的研究发现

蛋白组学不同于传统的研究方法,它是进行没有偏倚的轮廓性概括,从中发现新的标志物。近年有学者通过蛋白组学发现了一些潜在的外周标志物,能够将 AD 和对照组区分开来,并能够预测 MCI 是否发展会至 AD。Liao 等^[31]确定了几个标志物: α -1 抗胰蛋白酶(α -1-antitrypsin, AAT)、维生素 D 结合蛋白(vitamin D-binding protein)、胰蛋白酶抑制剂家族重链相关蛋白(inter- α -trypsin inhibitor family heavy chain-related protein)、载脂蛋白 J 前体(apolipoprotein J precursor)、cAMP-依赖性蛋白激酶催化亚单位 α 1(cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit alpha 1)等。Hye 等^[32]研究得到的一系列蛋白质能够区分 AD 与对照组,敏感性和特异性分别达到 56% 和 80%,并进一步证明补体因子 H(complement factor H, CFH)和 α -2-巨球蛋白在 AD 患者的血浆中水平升高。此外还有 2 个新的标志物:丝氨酸蛋白酶抑制剂 F1(serine protease inhibitor F1, serpin F1)和补体 C1 抑制剂(complement C1 inhibitor),它们在 AD 患者血浆中都下降^[33]。最近 Kiddle 等^[34]回顾了以往蛋白组学研究结果并利用 SomaLogic's SOMA 扫描蛋白组学技术发现了 9 个与 AD 相关联的蛋白:胰腺激素原(pancreatic pro hormone)、C-C 趋化因子 18(C-C motif chemokine 18)、 α -1 抗胰蛋白酶(α -1-antitrypsin)、补体 C6(complement C6)、胰岛素样生长因子结合蛋白 2(insulin-like growth factor-binding protein 2)、粒细胞集落刺激因子(Granulocyte colony-stimulating factor)、补体 C3(complement C3)、ApoJ 和 α -胰蛋白酶重链前体 H4(Inter- α -trypsin inhibitor heavy chain H4)。蛋白组学也是在逐渐深入和发展中,对于 AD 外周标志物的研究具有深远的意义。

6 小结

众多有关 AD 外周血生物学标志物的研究,证实了 AD 的病理生理过程必然会在外周血中产生相应的改变,它们对于 AD 的诊断和治疗具有重要的指导和辅助作用,值得我们今后去深入研究和探索。

参 考 文 献

- [1] Zainaghi IA, Forlenza OV, Gattaz WF. Abnormal APP processing in platelets of patients with AD, correlations with membrane fluidity and cognitive decline. *Psychopharmacology (Berl)*, 2007, 192(4): 547-553.
- [2] Zainaghi IA, Talib LL, Diniz BS, et al. Reduced platelet amyloid precursor protein ratio (APP ratio) predicts conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *J Neural Transm*, 2012, 119(7): 815-819.
- [3] Jelic V, Hagman G, Yamamoto NG. Abnormal Platelet Amyloid- β Protein Precursor (A β PP) Metabolism in Alzheimer's Disease: Identification and Characterization of a New A β PP Isoform as Potential biomarker. *J Alzheimer's Dis*, 2013, 35(2): 285-295.
- [4] Borroni B, Agosti C, Marcello E, et al. Blood cell markers in Alzheimer Disease, Amyloid Precursor Protein form ratio in platelets. *Exp Gerontol*, 2010, 45(1): 53-56.
- [5] Wu G, Sankaranarayanan S, Wong J, et al. Characterization of plasma beta-secretase (BACE1) activity and soluble amyloid precursor proteins as potential biomarkers for Alzheimer's disease. *J Neurosci Res*, 2012, 90(12): 2247-2258.
- [6] Pernecky R, Guo LH, Kagerbauer SM, et al. Soluble amyloid precursor protein beta as blood-based biomarker of Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry*, 2013, 3(2): e227.
- [7] Schupf N, Tang MX, Fukuyama H, et al. Peripheral A β subspecies as risk biomarkers of Alzheimer's disease. *PNAS*, 2008, 105(37): 14052-14057.
- [8] Ringman JM, Younkin SG, Pratico D, et al. Biochemical markers in persons with preclinical familial Alzheimer disease. *Neurology*, 2008, 71(2): 85-92.
- [9] Lewczuk PKJ, Vanmechelen EPO, Heuser IMW, et al. Amyloid beta peptides in plasma in early diagnosis of Alzheimer's disease: a multicenter study with multiplexing. *Exp Neurol*, 2010, 223(8): 366-370.
- [10] Koyama A, Okereke OI, Yang T, et al. Plasma amyloid-beta as a predictor of dementia and cognitive decline: a systematic review and meta-analysis. *Arch Neurol*, 2012, 69(7): 824-831.
- [11] Lopez OL, Kuller LH, Mehta PD, et al. Plasma amyloid levels and the risk of AD in normal subjects in the Cardiovascular Health Study. *Neurology*, 2008, 70(19): 1664-1671.
- [12] Hansson O, Zetterberg H, Vanmechelen E, et al. Evaluation of plasma A β 40 and A β 42 as predictors of conversion to Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging*, 2010, 31(3): 357-367.
- [13] Jack CR Jr, Knopman DS, Jagust WJ, et al. Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet Neurol*, 2010, 9(1): 119-128.

- [14] Sagare ADR , Bell RDJB , Hamm KPR , et al. Clearance of amyloid- β by circulating lipoprotein receptors. *Nat Med* , 2007 , 13(9) : 1029-1031.
- [15] Liang F , Jia J , Wang S , et al. Decreased plasma levels of soluble low density lipoprotein receptor-related protein-1 (sL-RP) and the soluble form of the receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in the clinical diagnosis of Alzheimer ' s disease. *J Clin Neurosci* , 2013 , 20 (3) : 357-361.
- [16] Padurariu ACM , Hritcu BSL , Bild W. Changes of some oxidative stress markers in the serum of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer ' s disease. *Neurosci Letters* , 2010 , 469(1) : 6-10.
- [17] Korolainen MA , Pirttila T. Cerebrospinal fluid , serum and plasma protein oxidation in Alzheimer ' s disease. *Acta Neurol Scand* , 2009 , 119(1) : 32-38.
- [18] Galasko D , Montine TJ. Biomarkers of oxidative damage and inflammation in Alzheimer ' s disease. *Biomark Med* , 2010 , 4(1) : 27-36.
- [19] Porcellini E , Davis EJ , Chiappelli M , et al. Elevated plasma levels of alpha-1-anti-chymotrypsin in age-related cognitive decline and Alzheimer ' s disease: a potential therapeutic target. *Curr Pharm Des* , 2008 , 14(26) : 2659-2664.
- [20] Dik MG , Jonker C , Hack CE , et al. Serum inflammatory proteins and cognitive decline in older persons. *Neurology* , 2005 , 64(8) : 1371-1377.
- [21] Tan ZSBAS , Vasan RSRR , Dinarello CAHTB , et al. Inflammatory markers and the risk of Alzheimer disease: the Framingham Study. *Neurology* , 2007 , 68(22) : 1902-1908.
- [22] Thambisetty MSA , Velayudhan LHA , Campbell JZY , et al. Association of plasma clusterin concentration with severity , pathology , and progression in Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry* , 2010 , 67(7) : 739-748.
- [23] Gupta VBLSM , Villemagne VLAD , Bush AIEKA , et al. Plasma apolipoprotein E and Alzheimer disease risk: the AIBL study of aging. *Neurology* , 2011 , 76(12) : 1091-1098.
- [24] 刘扬 ,孙中武. 血管性认知障碍患者血液生物学指标的研究进展. *国际神经病学神经外科学杂志* , 2011 , 38(3) : 276-279.
- [25] Vega GL , Weiner MF , Lipton AM , et al. Reduction in levels of 24S-hydroxycholesterol by statin treatment in patients with Alzheimer disease. *Arch Neurol* , 2003 , 60 (4) : 510-515.
- [26] Solomon A , Leoni V , Kivipelto M , et al. Plasma levels of 24S-hydroxycholesterol reflect brain volumes in patients without objective cognitive impairment but not in those with Alzheimer ' s disease. *Neurosci Lett* , 2009 , 462(1) : 89-93.
- [27] Leoni V , Long JD , Mills JA , et al. Plasma 24S-hydroxycholesterol correlation with markers of Huntington disease progression. *Neurobiol Dis* , 2013 , 55(7) : 37-43.
- [28] Farkas M , Keskitalo S , Smith DE , et al. Hyperhomocysteinemia in Alzheimer ' s disease: the hen and the egg. *J Alzheimers Dis* , 2013 , 33(4) : 1097-1104.
- [29] Blasko I , Jellinger K , Kemmler G , et al. Conversion from cognitive health to mild cognitive impairment and Alzheimer ' s disease: prediction by plasma amyloid beta 42 , medial temporal lobe atrophy and homocysteine. *Neurobiol Aging* , 2008 , 29(1) : 1-11.
- [30] Gabryelewicz T , Styczynska M , Luczywek E , et al. The rate of conversion of mild cognitive impairment to dementia: predictive role of depression. *Int J Geriatr Psychiatry* , 2007 , 22(6) : 563-567.
- [31] Liao PC , Yu L , Kuo CC , et al. Proteomics analysis of plasma for potential biomarkers in the diagnosis of Alzheimer ' s disease. *Proteomics Clin Appl* , 2007 , 1(5) : 506-512.
- [32] Hye A , Lynham S , Thambisetty M , et al. Proteome-based plasma biomarkers for Alzheimer ' s disease. *Brain* , 2006 , 129(Pt 11) : 3042-3050.
- [33] Cutler P , Akuffo EL , Bodnar WM , et al. Proteomic identification and early validation of complement 1 inhibitor and pigment epithelium-derived factor: Two novel biomarkers of Alzheimer ' s disease in human plasma. *Proteomics Clin Appl* , 2008 , 2(4) : 467-477.
- [34] Kiddle SJ , Sattlecker M , Proitsi P , et al. Candidate blood proteome markers of Alzheimer ' s disease onset and progression: a systematic review and replication study. *J Alzheimers Dis* , 2014 , 38(3) : 515-531.