

阿尔茨海默病早期诊断标志物研究进展

韩 璎 孙 宇

〔作者简介〕 韩璎,首都医科大学宣武医院神经内科主任医师,教授,博士生导师。担任中华医学会放射学分会磁共振学组委员,中国老年保健医学研究会理事,中国神经科学学会神经影像学分会委员,中国针灸学会针灸医学影像专业委员会委员。担任北京脑重大疾病研究院阿尔茨海默病研究所兼任教授,北京理工大学、牡丹江医学院红旗医院和深圳龙岗医院等医院的兼职教授。1988年毕业于哈尔滨医科大学医疗系,从事神经内科诊断、教学和科研工作28年,具有扎实的神经内科理论知识和丰富的临床工作经验。2000年10月经国家教委选派赴法国里尔大学地区医疗中心 Roger Salengro 医院神经病学系与记忆中心深造,师从阿尔茨海默病研究领域国际著名专家 Florence Pasquier 教授(该教授是 AD 国际诊断标准 NINCDS - ADRDA 2007 版、2010 版、2014 版及 VASCOG 2014 版作者之一)。2001 年留学归国后获得北京市留学归国人员启动基金资助,继续开展轻度认知障碍的多模态磁共振和临床研究工作。2008 年起主要从事 AD 临床诊治和认知障碍的神经影像学研究工作。国内较早将多模态磁共振成像方法应用于轻度认知障碍早期评价,证实在轻度认知障碍早期即可出现脑结构和功能改变。迄今共发表专业论文 82 篇,其中 SCI 收录论文 32 篇。主持国家自然科学基金面上项目 2 项,以第一合作者参与国家自然科学基金重点项目 1 项。

摘 要 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 作为老年痴呆最常见的类型,是全球社会最为关注的重要公共卫生问题之一。科学技术的发展和对 AD 研究的不断深入,使得 AD 的临床分期逐渐细化,利用各种生物标志物检测脑内 AD 相关病理改变和特征性改变,使得 AD 的诊断阶段不断提前,为疾病早期识别、干预争取了有效时间窗。

关键词 阿尔茨海默病 临床前期 基因诊断 生物标志物

中图分类号 R74 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.08.001

一、阿尔茨海默病诊断演变

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 作为老年痴呆最常见的类型,是一种进行性加重的神经系统退行性疾病,晚期严重影响患者的日常生活能力,对家庭和社会造成沉重的负担。从 1984 年由国立神经病学与语言障碍、卒中和阿尔茨海默病及相关疾病协会 (The National Institute of Neurological and Communicative disorders and Stroke - Alzheimer Disease and Related Disorders Association, NINCDS - ADRDA) 发表的第一个国际公认的 AD 诊断标准演变至今,科学技术的发展和对 AD 研究的不断深入,使得 AD 的临床分期逐渐细化^[1]。目前研究已经证实:AD 患者在认知下降和痴呆症状出现之前的数十年间其大脑内即出现了 AD 特征性病理改变^[2]。利用各种生物标志物探测脑内 AD 相关的病理改变和特征性改变,使得 AD 的诊断阶段不断提前,诊断标准也随之更新^[3]。

2011 年美国国立老化研究院和阿尔茨海默病协会 (The National Institute on Aging and the Alzheimer's Association, NIA - AA) 指南和 2014 年的世界工作组 (International Working Group, IWG) AD 诊断标准修订版中,分别在生物标志物的指导下对极轻微症状/无症状但是脑内存在 AD 病理证据的群体进行了诊断层面上的定义^[2,4]。2014 年主观认知下降概念启动组 (subjective cognitive decline initiative, SCD - I) 提出的 AD 临床前期的 SCD 概念框架,特别提出伴有 ApoE ε4 等位基因、AD 病理相关的生物标志物阳性等条件可以增加其作为 AD 临床前期的特异性^[5]。因此,继续深入和完善 AD 相关诊断标志物的研究,有助于临床诊断极早期 AD,在不可逆性神经元受损和认知障碍症状发生之前进行早期干预,为治疗打开有效时间窗,具有重大意义。

二、基因诊断

AD 是遗传和环境共同作用的多因素疾病,遗传因素可占 25% ~ 40%,据此 AD 可以分为家族性 AD 和散发性 AD;以发病年龄 65 岁为界限,AD 可以分为早发型 AD (发病年龄 < 65 岁) 和晚发型 AD (发病年龄 ≥ 65 岁)。

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (31371007, 81430037);北京市科委首都市民健康培育基金资助项目 (Z131100006813022)

作者单位:100053 北京,首都医科大学宣武医院神经内科

通讯作者:韩璎,电子信箱:hanying@xwh.ccmu.edu.cn

约 5% 的 AD 患者是早发型 AD, 且其中 61% 为家族性 AD, 具有家族性遗传致病基因^[6]。目前发现的家族性致病基因突变主要位于 21 号染色体的淀粉样蛋白前体 (APP) 基因, 14 号染色体的早老素 1 (PSEN1) 基因和 1 号染色体上的早老素 2 (PSEN2) 基因^[7-9]。由于这些基因通常是家族显性遗传, 所以极少发生变异, 外显率很高, 几乎接近 100%。目前仅有两个研究报道在个案中发现隐性的 APP 突变, 因此对于家族谱系中有早发型 AD 的个体来说, 对 APP, PSEN1, PSEN2 的基因检查可以作为临床诊断手段之一^[10,11]。

第 1 个发现的散发性 AD 易感基因为 APOE ϵ 4, 并且其在人群中分布的多态性与 AD 发病危险性具有共显性^[12]。研究发现有一个 APOE ϵ 4 等位基因携带者易得 AD 的风险性是非携带者的 3 倍, 而有两个 APOE ϵ 4 等位基因者患 AD 的风险高达 14 倍^[13]。在 1995 ~ 2009 年间共有超过 500 个潜在易感基因被报道, 但是这之中几乎没有被重测得到确认的基因^[14]。在 2009 年, 欧洲 AD 研究协作组 (European Alzheimer's Disease Initiative, EADI) 和 AD 遗传与环境风险研究组织 (The Genetic and Environmental Risk in Alzheimer's Disease, GERAD) 发现了 3 个新的 AD 易感基因位点^[15,16]。在 2010 年, 心脏与老年基因组学队列 (The Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology, CHARGE) 与 EADI 和 GERAD 合作发表了 1 个已经得到证实新位点^[17]。在 2011 年, 经过与上述 3 个研究组织背靠背研究, AD 遗传学联盟 (The Alzheimer's Disease Genetics Consortium, ADGC) 发表了新的 5 个位点^[18]。以上 4 个组织合作形成了一个最强大的国际基因计划 (The International Genomics of Alzheimer's Project, IGAP), 截至 2015 年, 总共发现 39 个不同位点上的易感基因, 其中被确认的基因位点 26 个。在个体水平将易感基因位点用于基因检测仍比较受限, 因为缺乏可靠的风险评估。

因此, 基因检测可以被用来识别和划分具有不同 AD 患病风险程度的人群, 可以在症状出现之前用于临床前期 AD 早期的诊断, 但是对于基因组学的研究还应进一步加强国际间合作和数据分享。

三、生化诊断标志物

1. 脑脊液标志物: AD 最典型的病理改变是以细胞外 β 淀粉样蛋白聚集形成的神经炎性斑块和过度磷酸化的微管结合蛋白 tau 组成的神经纤维缠结为特点, 这些病理改变最终导致了脑内大量神经元受

损、凋亡, 进而造成脑萎缩。通过腰椎穿刺术取得脑脊液是临床上一种常用的辅助检查手段。脑脊液中的总 tau (T-tau) 和磷酸化 tau (P-tau) 蛋白浓度的升高以及 A β 1-42 浓度的降低, 对于 AD 的诊断具有重要的提示和指导意义^[2]。有观点认为脑脊液中 A β 1-42 与 P-tau 的比值与 AD 的病理改变密切相关^[19]。一项队列研究显示在 SCD 和遗忘型轻度认知障碍 (mild cognitive impairment, MCI) 中分别有 52% 和 79% 的患者具有脑脊液 A β 1-42 减少和 T-tau 蛋白增多, 且具有脑脊液特征改变的患者其携带有 APOE ϵ 4 的比例明显增高, 对其进行 3 年随访, 发现具有脑脊液改变的遗忘型 MCI 中 51% 进展为 AD 痴呆^[20]。脑脊液标志物与 AD 早期病理改变密切相关, 并有助于在 MCI 阶段预测 AD 的出现, 但是由于其属于有创操作, 所以不利于在老年人中推广及作为长期监测的手段, 且实验室内缺乏统一标准化。目前国际临床生化实验医学联盟和全球生物标志物标准化组织正在努力制定标准化方法和检测材料, 致力于使脑脊液标志物得到更准确和广泛的应用^[21,22]。目前欧洲的记忆专科门诊对于脑脊液标志物的检测已经成为临床诊断流程的一部分, 但是在其他许多国家还有待完善。

2. 外周血液标志物: 在 A β 外周血液研究中, AD 患者外周血细胞膜上 A β 42 二聚体水平较正常对照组中显著增加, 并和简易精神状态量表分数、脑灰质体积以及分子探针标记的脑 A β 负荷呈显著相关^[23]。血浆凝溶胶蛋白 (gelsolin, GSN) 具有抑制 A β 纤维化和解聚 A β 纤维的作用^[24]。在 AD 患者的外周血液研究中, 已发现血浆 GSN 较认知正常对照组显著下降, 并与每年简易精神状态量表分数下降的速度显著相关^[25]。MMP3 是 GSN 主要的降解酶, 目前研究显示脑脊液中 MMP3 浓度与 AD 早期发病机制相关, 在老年人、SCD、MCI 以及 AD 患者脑脊液中, MMP3 水平均与 T-tau 及 P-tau 水平密切相关, 但是血液中 MMP3 与 AD 的关系尚无相关研究结果^[26-28]。虽然血液标本较易获取, 侵袭性小且便宜, 但研究结果在不同实验中具有较大变异, 因此目前在 AD 早期诊断的临床应用中还尚未出现可靠的能够广泛应用的外周血液标志物。

3. 尿液标志物: 近年研究发现, AD 患者尿液中 AD7c-NTP 蛋白含量显著高于健康同龄人^[29,30]。该蛋白最早于 1992 年发现, 与神经原纤维缠结相关, 且在 AD 的早期过程中也可以检测到尿 AD7c-NTP 蛋

白含量的增加,使其有可能成为早期辅助诊断 AD 的生物标志物^[31-33]。

四、影像学标志物

1. A β 标志物正电子发射断层显像 (positron emission tomography, A β - PET): A β - PET 示踪剂包括 ¹¹C - PiB、florbetapir (AV - 45)、flutemetamol (¹⁸F - PiB derivative)、florbetaben (AV - 1) 和 AZD4694^[34,35]。A β - PET 可以提供神经炎性斑块在大脑的分布和受累程度信息,和尸检结果的一致率可达 96%,作为可以在活体显示 A β 病理改变的诊断标志物,具有广阔的临床应用前景^[36]。但是在无症状个体中发现 A β - PET 结果阳性,或者家族性 AD 患者或经尸检证实存在 A β 的 AD 患者其 A β - PET 结果阴性,这些发现还需要进一步的研究来解释^[37]。

2. 氟标记脱氧葡萄糖 - PET (fluorodeoxyglucose - PET, FDG - PET): FDG - PET 被认为是突触受损的敏感度指标,可以准确显示葡萄糖代谢改变的区域,且可以在大脑结构萎缩之前就显现出来。以记忆受损为主的 AD 患者的 FDG - PET 结果为颞顶联合区、楔前区和扣带回后部皮质出现低代谢,而非典型 AD 患者的 FDG - PET 结果为相应的新皮质区低代谢。在 AD 临床前期的 SCD 患者发现右内侧颞叶出现高代谢,提示可能为疾病初期的代偿表现。一项包含 102 位患者的研究表明,FDG - PET 预测 MCI 向痴呆的进展的敏感度为 95%,特异性为 79%。因此 FDG - PET 用于脑功能改变的衡量指标,对 AD 疾病进展过程中脑功能减退的评估价值更高。

3. 结构磁共振成像技术 (magnetic resonance imaging, MRI): 内侧颞叶 (包含海马) 萎缩是 MCI 进展到 AD 痴呆的最佳标志物。随着 AD 临床前期 SCD 的确立,越来越多的研究发现与正常对照相比,SCD 患者的海马体积、双侧内嗅皮质体积缩小,且右侧杏仁核体积缩小更明显。不仅如此,利用结构 MRI 研究发现海马和灰质的萎缩可以预测 4 年后 SCD 的发生。2014 年 IWG 的 AD 诊断标准的修订中提示 MRI 显示的内侧颞叶灰质萎缩是最好的预测 AD 临床前期向 AD 痴呆发展的标志。

4. 功能磁共振成像技术: 功能 MRI 可以检测疾病早期出现的神经元和突触功能异常,其改变往往出现在结构 MRI 改变之前。笔者的研究团队发现,SCD 患者与 NC 相比在双侧顶下小叶、右侧颞回、枕回和小脑后叶的局部低频波动振幅增加,提示 SCD 患者在这些区域存在功能代偿;同时其功能代偿增加与情

景记忆测试分数存在一定相关性;提示静息态功能 MRI 作为一种有潜力的影像学标志物可以为 AD 的极早期诊断提供一定的影像学证据。但是目前关于功能 MRI 不同研究间的结果变异较大,因此更多的研究还需要进一步进行验证。

五、AD 早期诊断标志物的前景与展望

目前,AD 早期诊断标志物的应用正处于科研与临床应用的过渡期,如果能够将多种诊断标志物联合使用,将为 AD 早期准确的诊断提供巨大帮助。但是目前仍存在一定问题,比如各种诊断标志物的检查手段缺乏一定的规范化和标准化、患者缺乏对疾病早期的认识和接受度、国家经济支持等各方面问题,使得 AD 的早期诊断存在一定难度。随着理论研究的不断更新和检查手段的持续发展,科学研究推动 AD 早期诊断的可能性不断增加,为开展疾病的早期干预和防治、最大程度延缓疾病进展而做出努力。

参考文献

- 1 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[J]. *Neurology*, 1984, 34 (7): 939 - 944
- 2 Sperling RA, Aisenb PS, Beckett LA, *et al.* Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations From The National Institute On Aging - Alzheimer's Association Workgroups on Diagnostic Guidelines for Alzheimer's D[J]. *Alzheimers Dement*, 2011, 7(3): 280 - 292
- 3 王晓妮,唐毅,韩璠. 阿尔茨海默病诊断标准的演变[J]. *医学研究生学报*, 2015, 2: 195 - 198
- 4 Dubois B, Feldman HH, Jacova C, *et al.* Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG - 2 criteria[J]. *Lancet Neurol*, 2014, 13(6): 614 - 629
- 5 Jessen F, Amariglio RE, van Boxtel M, *et al.* A conceptual framework for research on subjective cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease[J]. *Alzheimer's Dement*, 2014, 10 (6): 844 - 852
- 6 Campion D, Dumanchin C, Hannequin D, *et al.* Early - onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum[J]. *Ame J Human Gene*, 1999, 65 (3): 664 - 670
- 7 Goate A, Chartier - Harlin MC, Mullan M, *et al.* Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease[J]. *Nature*, 1991, 349: 704 - 706
- 8 Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, *et al.* Cloning of a gene bearing missense mutations in early - onset familial Alzheimer's disease[J]. *Nature*, 1995, 375: 754 - 760
- 9 Levy - Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, *et al.* Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus[J]. *Science*, 1995, 269: 973 - 977

- 10 Tomiyama T, Nagata T, Shimada H, *et al.* A new amyloid beta variant favoring oligomerization in Alzheimer's - type dementia[J]. *Ann Neurol*, 2008, 63: 377 - 387
- 11 Di Fede G, Catania M, Morbin M, *et al.* A recessive mutation in the APP gene with dominant - negative effect on amyloidogenesis [J]. *Science*, 2009, 323: 1473 - 1477
- 12 Strittmatter WJ, Weisgraber KH, Huang DY, *et al.* Binding of human apolipoprotein E to synthetic amyloid beta peptide: isoform - specific effects and implications for late - onset Alzheimer disease[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 8098 - 8102
- 13 Farrer LA, Cupples LA, Haines JL. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta - analysis[J]. *JAMA*, 1997, 278: 1349 - 1356
- 14 Bertram L, McQueen MB, Mullin K, *et al.* Systematic meta - analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database[J]. *Nat Genet*, 2007, 39: 17 - 23
- 15 Lambert JC, Heath S, Even G, *et al.* Genome - wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease[J]. *Nat Genet*, 2009, 41: 1094 - 1099
- 16 Harold D, Abraham R, Hollingworth P, *et al.* Genome - wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease[J]. *Nat Genet*, 2009, 41: 1088 - 1093
- 17 Seshadri S, Fitzpatrick AL, Ikram MA, *et al.* and the CHARGE Consortium, and the GERAD1 Consortium, and the EADII Consortium. Genome - wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer disease[J]. *JAMA*, 2010, 303: 1832 - 1840
- 18 Naj AC, Jun G, Beecham GW, *et al.* Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late - onset Alzheimer's disease[J]. *Nat Genet*, 2011, 43: 436 - 441
- 19 Alzheimer's Association. 2014 Alzheimer's disease facts and figures [J]. *Alzheimers Dement*, 2014, 10(2): e47 - 92
- 20 Visser PJ, Verhey F, Knol DL, *et al.* Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study [J]. *Lancet Neurol*, 2009, 8(7): 619 - 627
- 21 Carrillo MC, Blennow K, Soares H, *et al.* Global standardization measurement of cerebral spinal fluid for Alzheimer's disease: an update from the Alzheimer's Association Global Biomarkers Consortium [J]. *Alzheimers Dement*, 2013, 9: 137 - 140
- 22 Leinenbach A, Pannee J, Düllfer T and the IFCC Scientific Division Working Group on CSF proteins. Mass spectrometrybased candidate reference measurement procedure for quantification of amyloid - β in cerebrospinal fluid[J]. *Clin Chem*, 2014, 60: 987 - 994
- 23 Victor LV, Keyla AP, Kerry EP, *et al.* Blood - Borne amyloid dimer correlates with clinical markers of Alzheimer's disease[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(18), 6315 - 6322
- 24 Ray I, Chauhan A, Wegiel J, *et al.* Gelsolin inhibits the fibrillization of amyloid beta - protein, and also defibrillizes its preformed fibrils [J]. *Brain Res*, 2000, 853: 344 - 351
- 25 Guntert A, Campbell J, Saleem M, *et al.* Plasma gelsolin is decreased and correlates with rate of decline in Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2010, 21: 585 - 596
- 26 Park SM, Hwang IK, Kim SY, *et al.* Characterization of plasma gelsolin as a substrate for matrix metalloproteinases [J]. *Proteomics*, 2006, 6: 1192 - 1199
- 27 Hanzel CE, Iulita MF, Eyjolfssdottir H, *et al.* Analysis of matrix metallo - proteases and the plasminogen system in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid [J]. *J Alzheimers Dis*, 2014, 40: 667 - 678
- 28 Stomrud E, Bjorkqvist M, Janciauskiene S, *et al.* Alterations of matrix metalloproteinases in the healthy elderly with increased risk of prodromal Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2010, 2: 20
- 29 Munzar M, Levy S, Rush R, *et al.* Competitive ELISA format urinary assay of neural thread protein in Alzheimer's disease[J]. *Alzheimer's Rep*, 2001, 4: 61 - 65
- 30 Munzar M, McConville M, Yung J, *et al.* A retrospective clinical study of urinary neural thread protein in Alzheimer's disease [J]. *Alzheimer's Rep*, 2002, 5: 1 - 6
- 31 de la Monte SM, Wands JR. Neuronal thread protein overexpression in brains with Alzheimer's disease lesions [J]. *J Neurol Sci*, 1992, 113: 152 - 164
- 32 de la Monte SM, Ghanbari K, Frey WH, *et al.* Characterization of the AD7C - NTP cDNA expression in Alzheimer's disease and measurement of a 41 - kD protein in cerebrospinal fluid [J]. *J Clin Invest*, 1997 Dec 15, 100(12): 3093 - 3104
- 33 Ma L, Chen J, Wang R, *et al.* The level of Alzheimer - associated neuronal thread protein in urine may be an important biomarker of mild cognitive impairment [J]. *J Clin Neurosci*, 2015, 22(4): 649 - 652
- 34 Joshi AD, Pontecorvo MJ, Clark CM, *et al.* Performance characteristics of amyloid PET with florbetapir F 18 in patients with Alzheimer's disease and cognitively normal subjects [J]. *J Nuclear Med*, 2012, 53
- 35 Rowe C, Pejoska S, Mulligan RS, *et al.* Head - to - head comparison of ^{11}C - PiB and 18F - AZD4694 for beta - amyloid imaging in aging and dementia [J]. *Alzheimers Dement*, 2012, (Suppl 4): 91
- 36 Schoill M. Low PiB PET retention in presence of pathologic CSF biomarkers in arctic APP mutation carriers [J]. *Neurology*, 2012, 79(3): 229 - 236
- 37 Cairns NJ. Absence of Pittsburgh compound B detection of cerebral amyloid beta in a patient with clinical, cognitive, and cerebrospinal fluid markers of Alzheimer disease: a case report [J]. *Archi Neurol*, 2009, 66(12): 1557 - 1562

(收稿日期:2015 - 05 - 09)

(修回日期:2015 - 05 - 12)