

• 临床检验研究论著 •

## 神经丝蛋白 AD7c-NTP 在阿尔茨海默病临床诊断中的应用

方 伟<sup>1</sup>, 张晓晨<sup>2</sup>, 刘遵建<sup>1</sup>, 朱莉莉<sup>3</sup>, 路 伟<sup>3</sup>, 林 萍<sup>1△</sup>

(1. 上海交通大学医学院附属上海市精神卫生中心检验科, 上海 200030; 2. 上海交通大学医学院附属瑞金医院检验科, 上海 200025; 3. 上海交通大学医学院附属上海市精神卫生中心分院检验科, 上海 201108)

**摘 要:**目的 探讨阿尔茨海默病(AD)相关性神经丝蛋白(AD7c-NTP)在 AD 早期诊断中的临床应用价值。方法 采用双抗体夹心酶联免疫吸附法对 AD 患者、血管性痴呆(VD)患者及健康者(对照组)进行尿 AD7c-NTP 水平检测。结果 AD 组、VD 组与对照组尿 AD7c-NTP 水平分别为(1.504±1.766)、(1.463±1.422)、(0.479±0.285) ng/mL, AD 组、VD 组均高于对照组( $P<0.05$ )。当尿 AD7c-NTP 水平为 0.585 ng/mL 时,对 AD 的诊断灵敏度为 65.0%,特异度为 77.6%。结论 尿 AD7c-NTP 定量检测在 AD 早期诊断和病情评估中有一定的临床参考价值。

**关键词:**神经组织蛋白质类; 阿尔茨海默病; 尿; 酶联免疫吸附测定

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.22.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)22-2712-02

## Application of nerve silk protein AD7c-NTP for the diagnosis of Alzheimer's disease

Fang Wei<sup>1</sup>, Zhang Xiaochen<sup>2</sup>, Liu Zunjian<sup>1</sup>, Zhu Lili<sup>3</sup>, Lu Wei<sup>3</sup>, Lin Ping<sup>1△</sup>

(1. Medical Laboratory, Shanghai Mental Health Center, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200030, China; 2. Medical Laboratory, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong

University School of Medicine, Shanghai 200025, China; 3. Medical Laboratory, Shanghai Mental Health Branch Center, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 201108, China)

**Abstract:** Objective To explore the clinical application value of neural silk protein(AD7c-NTP) for the early diagnosis of Alzheimer's disease (AD). **Methods** Double antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay was used to detect urine AD7c-NTP level in patients with AD, patients with vascular dementia(VD) and healthy subjects(control group). **Results** Urine AD7c-NTP levels were (1.504±1.766), (1.463±1.422) and (0.479±0.285) ng/mL respectively in AD group, VD group and control group. Urine AD7c-NTP levels were elevated in AD group and VD group than control group( $P<0.05$ ). The sensitivity and specificity were 65.0% and 77.6% respectively of urine AD7c-NTP level for the diagnosis of AD, taking 0.585 ng/mL as cut-off value. **Conclusion** Quantitative detection of urine AD7c-NTP level might have certain clinical reference value for early diagnosis of AD and disease assessment.

**Key words:** nerve tissue proteins; alzheimer disease; urine; enzyme-linked immunosorbent assay

阿尔茨海默病(AD)是一种年龄相关的以进行性认知功能障碍为特征的脑变性疾病,临床早期诊断率低且诊断滞后可影响 AD 的预防和治疗效果。目前可用于 AD 诊断的生物标记物包括总 tau 蛋白、磷酸化 tau 蛋白和 A $\beta$ 42。神经丝蛋白(NTP)等新标志物的发现和应用提高了 AD 早期诊断的准确性。AD 相关性神经丝蛋白(AD7c-NTP)是 NTP 家族成员之一,作为相对分子质量为  $41\times 10^3$  的跨膜磷蛋白,由神经元表达并定位于神经细胞的轴突中。AD 患者脑组织 NTP 免疫活性及 mRNA 表达显著增强,导致神经元细胞死亡增多,进而使死亡细胞释放大量的 AD7c-NTP 进入脑脊液。de la Monte 等<sup>[1]</sup>首次发现 AD 患者脑脊液 AD7c-NTP 水平明显增加,证实血清 NTP 是通过血-脑屏障转运而来,另有学者发现 AD 患者尿 AD7c-NTP 水平异常增高<sup>[2]</sup>。本文探讨检测尿 AD7c-NTP 在 AD 早期诊断中的临床应用价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2012 年 1~5 月上海市精神卫生中心总院及分院老年病房住院患者中随机选择 AD 痴呆患者与血管性痴呆(VD)患者。2012 年 3~5 月瑞金医院门诊及体检表观健康者纳入对照组。AD 患者均符合美国国立神经病语言障碍卒中研究所、AD 及相关疾病协会(NINCDS-ADRDA)以及中国痴呆诊断 CCMD-3 中“很可能 AD”诊断标准,共 36 例,男 10

例,女 26 例;年龄 53~89 岁,平均 75 岁。VD 患者均符合美国国立神经系统疾病与中风研究所、世界卫生组织国际疾病分类(ICD-10)痴呆诊断标准以及中国痴呆诊断 CCMD-3 中“很可能 VD”诊断标准,共 24 例,男 7 例,女 17 例;年龄 60~87 岁,平均 78 岁。对照组入组标准:年龄至少 60 岁;表观健康,认知功能正常,生活能够自理;排除严重的心、肝、肾等疾病,急、慢性感染,自身免疫性疾病,严重贫血、肿瘤、外伤等任何可能导致神经功能紊乱的疾病,其他神经系统疾病及精神病。对照组 67 例,男 30 例,女 37 例;年龄 64~86 岁,平均 74 岁。

**1.2 仪器与试剂** MULTISKAN ASCENT 酶标比色仪(美国 Thermo),电热恒温水浴箱(上海跃进仪器厂),离心机(美国 Beckman);双抗体夹心酶联免疫吸附法 AD7c-NTP 诊断试剂盒(深圳市安群生物工程有限公司)。

**1.3 方法** 留取所有受试对象晨尿中段尿,要求标本清亮;经尿常规测定出现下列任何一种异常即为不合格标本:(1)尿蛋白异常;(2)尿液中白细胞、红细胞异常或有细菌生长;(3)尿中有结晶;(4)尿比重异常;(5)pH 异常。标本不合格时重新留取。合格标本 3 000 r/min 离心 15 min,取上清液进行 AD7c-NTP 检测,严格按照试剂盒说明书操作。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 统计软件进行数据统计分析。计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,计量资料以百分率表示,组间数据比较

△ 通讯作者, E-mail: cinpingsun2000@yahoo.com.cn.

采用  $\chi^2$  检验、方差分析、秩和检验等。显著性检验水准为  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 各组间基本资料比较** 各组间性别构成差异无统计学意义( $\chi^2=3.683, P>0.05$ )。方差分析显示组间年龄构成方差齐, Homogeneous 分析显示组间年龄构成差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**2.2 各组间尿 AD7c-NTP 水平比较** AD 组、VD 组、对照组尿 AD7c-NTP 水平分别为(1.504±1.766)、(1.463±1.422)、(0.479±0.285)ng/mL, 秩和检验显示老年痴呆组(AD 组+VD 组)、AD 组、VD 组与对照组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ), AD 组与 VD 组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**2.3 尿 AD7c-NTP 水平检测对 AD 的诊断灵敏度和特异度** 应用 SPSS 统计软件, 以痴呆组为阳性, 灵敏度为纵坐标, (1-特异度)为横坐标, 绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线), 见图 1。曲线下面积为 0.746, 说明以尿 AD7c-NTP 水平诊断 AD 具有一定准确性。当浓度为 0.585 ng/mL 时, 诊断灵敏度、特异度分别为 65.0%、77.6%。

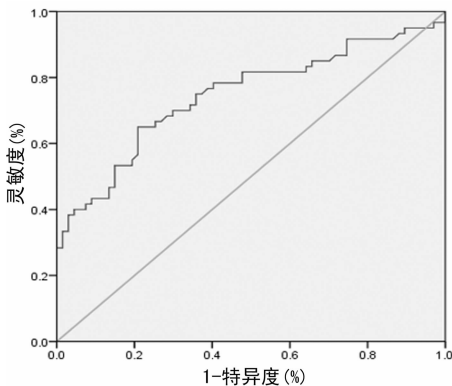


图 1 尿 AD7c-NTP 水平诊断 AD 的 ROC 曲线

## 3 讨论

AD 是老年人常见痴呆症之一, 但目前尚无具有较高特异度、敏感度的 AD 早期诊断分子标记物<sup>[3]</sup>。NTP 是脑组织中的一类磷蛋白, 因与抗胰凝乳蛋白酶(PTP)抗体存在交叉反应而得名<sup>[4]</sup>。在中枢神经系统神经元、胶质细胞以及神经外胚层细胞中, 可检测到多种不同的 NTP 免疫反应阳性分子<sup>[5]</sup>。在 AD 神经元退行性变过程中, AD7c-NTP 表达增加是早期事件, 发生在神经纤维缠结形成之前。脑组织中增加的 AD7c-NTP 很有可能通过 AD 患者的血-脑屏障进入外周血, 随着病情发展, 外周血中水平逐渐升高的 AD7c-NTP 可通过肾小球滤过, 最终进入尿液, 表现为尿 AD7c-NTP 水平升高, 且与病情严重程度呈正相关<sup>[6-7]</sup>。

本研究分别对 AD 患者、VD 患者和健康者尿 AD7c-NTP 水平进行了检测, 结果分别为(1.504±1.766)、(1.463±1.422)、(0.479±0.285)ng/mL, 统计学分析显示, AD 患者、VD 患者尿 AD7c-NTP 水平与健康者比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 但 AD 患者与 VD 患者间无统计学差异( $P>0.05$ )。由此可见, 尿 AD7c-NTP 水平可鉴别痴呆患者与健康者, 但不能有效鉴别 AD、VD 患者, 可能与以下因素有关: (1) 在临床分型中, AD 与 VD 分型困难, 有可能导致确诊不完全正确; (2) 临床病程后期, AD 与 VD 患者均存在 AD7c-NTP 水

平的增高; (3) 所采用试剂盒的抗体有可能存在纯度不够高的问题, 影响了检测结果, 导致不能有效鉴别 AD 和 VD。由于 AD 患者与 VD 患者检测结果无统计学差异( $P>0.05$ ), 故将其合并为“痴呆患者”共同进行分析。结果显示, 痴呆患者与健康者比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 即尿 AD7c-NTP 水平对痴呆具有一定的诊断意义, 可作为筛选指标。

国内外相关研究显示, 尿 AD7c-NTP 水平对 AD 的诊断特异度和灵敏度均可达 90% 左右<sup>[8-10]</sup>。而本研究结果与该结论差异较大, ROC 曲线显示, 当尿 AD7c-NTP 水平大于 0.585 ng/mL 时, 诊断灵敏度为 65.0%、特异度为 77.6%, 可能与存在下列干扰因素有关: (1) 分析前因素主要包括部分病例临床诊断不十分确切, 标本采集不规范, AD7c-NTP 在体内产生及排出时间不明确, 标本处理过程存在缺陷(如离心转速、离心时间不一致等), 标本筛选不当(如仅排除尿常规检测中蛋白质、pH 值、尿比重、红细胞、白细胞等项目异常的标本, 未将有可能影响检测结果的硝酸盐、尿胆原、尿糖等项目纳入筛选项目)以及样本量不够大等; (2) 分析中因素包括操作者技术水平不同, 不同批次试剂盒性能不一致等。

本研究结果显示, 尿 AD7c-NTP 水平检测对 AD 早期诊断具有一定的特异性, 对患者病情评估也有一定的临床参考价值, 且标本易收集, 检测操作简单, 值得临床推广应用。

## 参考文献

- [1] de la Monte SM, Volicer L, Hauser SL, et al. Increased levels of neuronal thread protein in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease[J]. Ann Neurol, 1992, 32(6): 733-742.
- [2] Goodman I, Golden G, Flitman S, et al. A multicenter blinded prospective study of urine neural thread protein measurements in patients with suspected Alzheimer's disease[J]. J Am Med Dir Assoc, 2007, 8(1): 21-30.
- [3] Neugroschl J, Davis KL. Biological markers in Alzheimer disease[J]. Am J Geriatr Psychiatry, 2002, 10(6): 660-677.
- [4] de la Monte SM, Garner W, Wands JR. Neuronal thread protein gene modulation with cerebral infarction[J]. Cereb Blood Flow Metab, 1997, 17(6): 623-635.
- [5] Xu YY, Wands JR, de la Monte SM. Characterization of thread proteins expressed in neuroectodermal tumors[J]. Cancer Res, 1993, 53(16): 3823-3829.
- [6] de la Monte SM, Wands JR. The AD7c-NTP neuronal thread protein mediated cell death is linked to impaired insulin signaling[J]. Neuropathol Exp Neurol, 2001, 60(2): 195-207.
- [7] 王蓉, 姬志娟, 盛树力, 等. 阿尔茨海默病尿神经丝蛋白方法的建立及其临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(1): 46-50.
- [8] 孙宏侠, 白春艳. AD7c-NTP 在 AD 诊断中的研究进展[J]. 中风与神经疾病杂志, 2007, 23(3): 374-375.
- [9] Fitzpatrick J, Munzar M, Fochi M, et al. 7c Gold urinary assay of neural thread protein in Alzheimer's disease[J]. Alz Reports, 2000, 3(2): 155-159.
- [10] Levy S, McConville M, Lazaro GA, et al. Competitive ELISA studies of neural thread protein in urine in Alzheimer's disease[J]. Clin Lab Anal, 2007, 21(1): 24-33.

(收稿日期: 2012-06-12)