

· 论 著 ·

血浆总 tau 蛋白和磷酸化 tau 蛋白在阿尔茨海默病中的诊断意义*

康建华, 杨立顺[△], 李 娜

(天津市中医药大学附属北辰中医医院 300400)

摘要:目的 探讨血浆总 tau(T-tau)蛋白和磷酸化 tau(P-tau)蛋白在阿尔茨海默病(AD)中的诊断意义。方法 以天津市北辰区某社区服务中心≥60 岁的 22 352 例体检者作为调查对象,运用随机整群抽样方法,先采用简易智力状态检查量表(MMSE)和日常生活能力评定表(ADL)进行认知功能和日常能力的评分,评分低于标准者再使用 Hamilton 抑郁量表和 Hachinski 缺血量表进行诊断性评分,相关的实验室检查排除其他中枢神经系统,以及其他系统和物质原因等所致的痴呆患者,最终由神经内科医师确诊 AD 患者 105 例,将无中枢神经系统疾病、无痴呆的非神经系统疾病患者作为健康对照组,共 42 例。采用 ELISA 方法检测两组受试者的血浆 T-tau 蛋白和 P-tau 蛋白水平。结果 AD 组和健康对照组血浆 T-tau 和 P-tau 蛋白水平比较,AD 组血浆 T-tau 水平(15.93±6.59)ng/L 高于健康对照组(14.10±6.32)ng/L,但差异无统计学意义($P>0.05$);AD 组血浆 P-tau 蛋白水平(1.26±0.75)ng/L 高于健康对照组(0.69±0.24)ng/L,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 血浆磷酸化 tau 蛋白水平可能对 AD 患者具有辅助诊断价值。

关键词:阿尔茨海默病; 血浆总 tau 蛋白; 磷酸化 tau 蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.01.014

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)01-0037-02

Diagnostic significance of plasma total tau and phosphorylated tau protein in Alzheimer's disease*

KANG Jianhua, YANG Lishun[△], LI Na

(Subsidiary of Tianjin University of Beichen Traditional Chinese Medicine Hospital, Tianjing 300400, China)

Abstract: Objective To investigate the plasma total tau(T-tau) and phosphorylated protein tau(P-tau) protein in the diagnosis of Alzheimer's disease(AD). **Methods** 22 352 medical patients aged over 60 years in Beichen Area Community Service Center were involved in this survey. Random sampling principle was used for screening. Mini-mental state examination(MMSE) and activities of daily living assessment form(ADL) were conducted for the cognitive function and ability of daily score firstly. When the score below the standard, the Hamilton depression scale and Hachinski ischemic scale were re-used for diagnostic score. Related laboratory tests were conducted to exclude other central nervous system and other systems and material causes of dementia patients. Ultimately, 105 cases of AD, diagnosed by the neurologist, and 42 cases of non central nervous system disease, non dementia non nervous system disease patients as the normal control group were involved. T-tau and P-tau levels in the two groups were determined by ELISA. **Results** the T-tau concentration in AD group(15.93±6.59)ng/L was higher than control group(14.10±6.32)ng/L, no significant difference was found($P>0.05$). However, compared with control group (0.69±0.24)ng/L, P-tau protein in AD group(1.26±0.75)ng/L increased significantly($P<0.05$). **Conclusion** Plasma levels of phosphorylated tau protein might have diagnostic value for AD patients.

Key words: alzheimer's disease; plasma total tau protein; phosphorylation of tau protein

阿尔茨海默病(AD)是一种进行性中枢神经系统退行性疾病,以不断进展的记忆障碍、全面智能减退、个性改变以及精神行为异常为主要临床表现。关于 AD 的确切发病机制尚不清楚,其中血浆总 tau(T-tau)蛋白被认为可能与神经元功能障碍有关,大多研究集中于脑脊液,基于血液标本具有微创、便捷等优点,本课题通过对 AD 患者血浆中 T-tau 蛋白和磷酸化 tau(P-tau)蛋白水平变化的相关性进行研究,为临床诊断 AD 提供生物学参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 AD 组纳入标准:选取 2013 年 3 月至 2014 年 6 月天津市北辰地区(某社区服务中心周边小区)AD 患者 105 例,其中男 58 例,女 47 例,年龄 62~81 岁,平均(74.2±4.2)岁。AD 诊断符合《美国精神疾病诊断和统计手册(第四版)》(DSM-IV)的痴呆诊断标准,并符合美国国立神经疾病、语言障碍及卒中研究所和阿尔茨海默病及相关疾病学会(NINCDS-ADRDA)有关 AD 的诊断标准^[1];健康对照组纳入标准:将无

中枢神经系统疾病、无痴呆的非神经系统疾病患者作为健康对照组,共 42 例,其中男 26 例,女 16 例,年龄 61~80 岁,平均(72.8±3.9)岁,健康对照组和 AD 组性别、年龄差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。所有被检测对象均遵循知情同意且符合医学伦理要求。

1.2 方法 以天津市北辰地区(某社区卫生服务中心周边小区)≥60 岁体检者作为调查对象,共计 22 352 例,运用整群随机抽样原则,先采用简易智力状态检查量表(MMSE)和日常生活能力评定表(ADL)进行认知功能和日常能力的评分,评分低于标准者再使用 Hamilton 抑郁量表和 Hachinski 缺血量表进行诊断性评分,根据临床表现,详细的神经、精神检查,相关的实验室检查排除其他中枢神经系统以及其他系统和物质原因等所致痴呆患者,最终由神经内科医师确诊。

1.3 样本采集及检测 AD 组和健康对照组均在清晨 7:00—9:00 之间,空腹状态下,采用真空管采集肝素抗凝血 5 mL,3 000 r/min 离心 10 min,分离出血浆,分装于 2 只干燥试管置

* 基金项目:天津市北辰区科技发展计划项目(bcws2012-10)。

作者简介:康建华,女,副主任技师,主要从事生物化学与临床方向的研究。△ 通信作者,E-mail:yanglishun@163.com。

于-80℃冰箱内保存待测。T-tau 蛋白和 P-tau 蛋白均采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)测定,试剂盒由比利时 Innogenetics 公司提供。操作严格按试剂盒说明书要求进行,用酶联免疫检测仪于 450 nm 波长处测定各孔的 OD 值,根据标准管浓度及吸光度建立标准曲线,并根据各孔的吸光度计算 T-tau 蛋白和 P-tau 蛋白水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行统计学分析,所有计量资料结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组之间均数的比较采用两组独立样本的 *t* 检验,组内比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2 组血浆 T-tau 和 P-tau 蛋白水平比较 AD 组血浆 T-tau 蛋白水平为 (15.93 ± 6.59) ng/L,健康对照组血浆 T-tau 蛋白水平为 (14.10 ± 6.32) ng/L,组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$);AD 组血浆 P-tau 蛋白水平为 (1.26 ± 0.75) ng/L,健康对照组血浆 P-tau 蛋白水平为 (0.69 ± 0.24) ng/L,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 2 组血浆 T-tau 蛋白和 P-tau 蛋白水平比较($\bar{x} \pm s$,ng/L)

组别	n	T-tau 蛋白	P-tau 蛋白
AD 组	105	15.93±6.59	1.26±0.75
健康对照组	42	14.10±6.32	0.69±0.24

3 讨 论

随着我国人口老龄化的不断加剧,AD 的患病率逐年上升,统计数据表明,2010 年中国的 AD 患者数已如中国的人口数一样跃居世界第 1 位,其作为老年期痴呆最常见的一种类型,必将成为一个重要的医学和社会问题。与其他疾病一样,AD 也必须早期治疗和干预,但结合目前国内外形势,诊治仍处于瓶颈阶段。AD 是一种中枢神经系统退行性病变,其主要病理特征是大脑皮质和海马等处的老年斑和神经纤维缠结(NFT)。NFT 主要由双股螺旋纤维(PHF)构成,其主要成分是过度磷酸化 tau 蛋白的各种异构体,提示 Tau 蛋白过度磷酸化与 AD 相关。因此 tau 蛋白过度磷酸化的分子机制成为 AD 病理研究的关键。

tau 蛋白是一种微管相关蛋白,作为重要的细胞骨架系统,微管参与维持神经元形态、轴索形成和树突状进程,在健康神经元中充当轴突和树突细胞物质运输的通道。它的异常修饰在神经退行性疾病中起重要作用,tau 蛋白功能异常改变可能是神经元功能障碍和死亡的必要环节,以异常磷酸化的 tau 蛋白为核心构成的神经元纤维缠结是 AD 脑中的标志特征。正常生理状态下 tau 蛋白磷酸化去磷酸化处于平衡状态,当 tau 蛋白高度磷酸化,维持微管稳定的活性下降,发生磷酸化与去磷酸化失去平衡,过度磷酸化的 tau 蛋白在脑内形成各种沉积物,沉积在神经元细胞内,引发神经元的改变,导致 AD 的发生。把 tau 蛋白的代谢和功能作为靶点对发展 AD 的针对性治疗是非常有意义的。本研究检测了 105 例 AD 患者血浆 T-tau 蛋白和 P-tau 蛋白浓度水平,血浆 T-tau 蛋白水平与健康对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。国内外大多研究者研究认为 AD 患者脑脊液中 T-tau 蛋白水平显著表达^[2-5]。这可能与血脑屏障的作用有关,另外 tau 蛋白在非神经组织液也有广泛表达,并且不同组织有不同亚型的 tau 蛋白;检测方法的影响也不容忽视。血浆 P-tau 蛋白水平较健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。本研究结果表明

血浆 P-tau 水平可能是诊断 AD 的生物学指标之一,与国内学者提出 AD 的发生与 tau 蛋白磷酸化关系密切相一致^[6-7];与脑脊液相比,血浆中 P-tau 蛋白的水平较低,常常低于可检测的阈值^[8]。目前针对血液中 P-tau 蛋白水平的研究数据较少,因此找到具有较好的灵敏度、特异度、精密性、抗干扰性等 AD 早期诊断的生物标记物检测方法显得至关重要。对于脑脊液 T-tau 蛋白和 P-tau 蛋白的检测方法,在实际研究当中应用得较多的是免疫荧光检测法和蛋白免疫印迹检测法,这两种方法都能非常准确地对 T-tau 蛋白和 P-tau 蛋白进行定量检测;也有将高特异性的 ELISA 与高灵敏度的双酶底物循环方法联在一起,建立了高特异、高灵敏的 ELISA-双酶底物循环技术。能否将上述检测方法应用于血液标本,在实际应用于临床诊断之前还有许许多多的问题需要解决。采集脑脊液需进行腰椎穿刺,其有创性限制了脑脊液标本生物学标志物的广泛应用,而血液样本的采集具有微创、快速、便捷等优点,但迄今为止其敏感性和特异性尚需大样本的临床研究,检测方法的灵敏度还有待提高。

总之,我国人口老龄化不断加速,AD 患者带来的医疗和社会负担日益严重。随着对 AD 发病机制的深入研究及相关检测技术的发展,更多的高灵敏性和特异性的生物标记物将会不断被发现。本研究将进一步扩大样本含量及进行远期随访调查等深入研究,证实血浆中 P-tau 在 AD 中的作用。

参考文献

- [1] Mckhann GM,Knopman DS,Chertkow H,et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2011, 7(3): 263-269.
- [2] Ladas A,Frantzidis C,Bamidis P,et al. Eye Blink Rate as a biological marker of mild cognitive impairment[J]. *Int J Psychophysiol*, 2014, 93(1): 12-16.
- [3] Ewers M,Buerger K,Teipel SJ,et al. Multicenter assessment of CSF-phosphorylated tau for the prediction of conversion of MCI[J]. *Neurology*, 2007, 69(24): 2205-2212.
- [4] 方宇,张璐,朱红灿,等. 脑脊液磷酸化 tau 蛋白及 β 淀粉样蛋白检测在老年期痴呆患者早期鉴别诊断中的价值[J]. *中国老年学杂志*, 2011, 31(13): 2561-2562.
- [5] 薛海波. 阿尔茨海默病的脑脊液标志: 总 Tau 蛋白,磷酸化 Tau 蛋白和 $A\beta_{42}$ [J]. *国际精神病学杂志*, 2006, 1(33): 19-24.
- [6] 胡慧,王平,孔明望,等. 阿尔茨海默病模型大鼠 Tau 蛋白异常磷酸化表达及补肾化痰法的干预作用[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(10): 2681-2683.
- [7] 吴婧琳,孟庆慧,侯文霞. 轻度认知障碍患者血清 Tau 蛋白及 β 淀粉样蛋白水平检测的意义[J]. *实用医学杂志*, 2012, 28(4): 598-600.
- [8] Toledo JB, Vanderstichele H, Figurski M, et al. Factors affecting A beta plasma levels and their utility as biomarkers in ADNI[J]. *Acta Neuropathol*, 2011, 122(4): 401-413.