

· 短篇论著 ·

血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 联合对阿尔茨海默症的诊断价值

伍明超, 万争艳[△]

(武汉市优抚医院精神科, 湖北武汉 430023)

摘要:目的 探讨血清中神经丝蛋白(NFL)、微管相关蛋白 Tau(T-tau)、可溶性神经调节蛋白-1(sNRG-1)联合对阿尔茨海默症的诊断价值。方法 纳入 2017 年 7 月至 2018 年 7 月该院收治的阿尔茨海默症患者 70 例作为研究组, 70 例血管性痴呆患者作为对照组。检测 2 组患者血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 的水平。用受试者工作特征曲线(ROC)的 AUC 分析 NFL、T-tau、sNRG-1 检测在阿尔茨海默症中的诊断意义。结果 阿尔茨海默症患者血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 均高于血管性痴呆患者($P < 0.05$)。血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 单项诊断阿尔茨海默症患者和血管性痴呆患者的灵敏度分别为 87%、83%、85%, 特异度分别为 87%、85%、82%。血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 联合对阿尔茨海默症诊断的灵敏度为 95%, 特异度为 83%。结论 血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 可作为阿尔茨海默症诊断的潜在标志物。

关键词:神经丝蛋白; 微管相关蛋白 Tau; 可溶性神经调节蛋白-1; 阿尔茨海默症; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.06.033

中图法分类号:R446.11

文章编号:1673-4130(2020)06-0760-04

文献标识码:B

阿尔茨海默症(AD)是最常见的痴呆症,是一种神经退行性疾病,其特征是进行性认知衰退,例如记忆丧失和执行功能障碍,以及精神症状和行为障碍^[1]。至 2030 年,预计痴呆症患者人数将从 2 400 万增加到超过 6 500 万^[2]。目前,AD 的明确诊断只能在死后进行,AD 的临床诊断仍然很困难,特别是对于非专科医生^[3]。目前诊断 AD 的方法包括详细的病史询问和神经心理学测试以确定痴呆的存在。可溶性神经调节蛋白-1(sNRG-1)是神经调节蛋白-1(NRG-1)的可溶形式,是神经调节蛋白家族成员之一,并且在神经系统中起重要作用^[4]。CHANG 等^[5]报道,血浆 sNRG-1 可能是 AD 早期诊断的新型可靠生物标志物。微管相关蛋白 Tau(T-tau)可促进微管组装和提升稳定性,并可能参与神经元极性的建立和维持^[6]。T-tau 在 AD 的临床阶段增加,并且与脑萎缩和认知衰退相关^[7]。神经丝蛋白(NFL)在细胞内到轴突和树突的转运过程发挥作用^[8]。IDLAND 等^[9]发现 NFL 与较低脑容量以及海马萎缩之间存在关联。基于此,本研究旨在探讨血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 联合对 AD 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入 2017 年 7 月至 2018 年 7 月本院收治的 AD 患者 70 例为研究组,年龄 60~80 岁,平均年龄(73.51±8.12)岁。纳入的 AD 患者均根据 DSM-IV 临床指南进行诊断^[10],CDR 评分>1、MMSE 评分<24。排除标准:(1)长期使用皮质类固醇激素及免疫抑制剂者;(2)患有精神疾病者;(3)患有癌症

者;(4)患有慢性肾病者;(5)多胎妊娠者;(6)接受相关治疗者。纳入 2017 年 7 月至 2018 年 7 月至本院体检的 70 例血管性痴呆患者作为对照组,年龄 60~77 岁,平均(72.48±7.49)岁。本研究获本院伦理委员会批准,且受试者家属均签署知情同意书。AD 患者与血管性痴呆患者的基础临床资料,见表 1。AD 患者与血管性痴呆患者在年龄、男性比例和体质量指数等方面差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 AD 患者与血管性痴呆患者的基础临床资料

组别	n	年龄($\bar{x} \pm s$, 年)	男性比例 [n(%)]	体质量指数 ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)
研究组	70	73.51±8.12	33(47.14)	20.3±4.2
对照组	70	72.48±7.49	35(50.00)	20.9±4.8

1.2 酶联免疫吸附试验(ELISA) 于患者治疗前采取 70 例 AD 患者和 70 例血管性痴呆患者的肘前静脉血 6 mL,收集血液中血清置于-80℃冰箱保存,待样本全部收集完毕一起进行 ELISA。NFL ELISA 试剂盒购自上海科顺生物科技有限公司。T-tau ELISA 试剂盒购自焦作路非凡生物科技有限公司。sNRG-1 ELISA 试剂盒购自厦门研科生物技术有限公司(Abnova)。根据相应说明书检测 2 组患者血清 NFL、T-tau、sNRG-1 的水平。3 个指标为同一批样本分批检测,去除极大值和极小值保留其余数据。使用 ELISA 兼容的 PVC 透明微量滴定板(96 孔)并确定测定所需的孔数。将 100 μL 捕获抗体溶液分配到孔中。在板的顶部涂上密封胶防止蒸发。将板在 4℃孵育过

[△] 通信作者, E-mail:wuwuf1@163.com。

本文引用格式:伍明超,万争艳.血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 联合对阿尔茨海默症的诊断价值[J].国际检验医学杂志,2020,41(6):760-

夜。孵育后取出胶带并吸出每个孔试剂。每孔加入 400 μL 洗涤缓冲液。再将板洗涤 2 次,然后将倒置的板轻拍在纸巾上晾干。通过向每个孔中分配 300 μL 试剂稀释剂来封闭板,并在室温下孵育板 60 min。将 100 μL 稀释的样品和标准品加入适当的孔中并盖板上板。在室温下孵育平板 2 h。孵育后,揭开平板并吸出每个孔。向每个孔中分配 100 μL 检测抗体溶液。在室温下孵育 2 h 并盖板上板。将 100 μL 底物溶液分配到每个孔中。盖上平板并在室温下孵育 20 min。显色后,取下盖子,每孔注入 50 μL 终止液,停止酶促反应。使用具有适当吸光度设置的分光光度计/读板仪立即检测每个孔的吸光度。

1.3 统计学分析 采用 SPSS22.0 软件进行统计分析,检测数据均符合正态分布,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。应用受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)分析 NFL、T-tau、sNRG-1 检测在 AD 和血管性痴呆临床诊断中的价值。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 AD 患者与血管性痴呆患者血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 的水平 AD 患者血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 水平均高于血管性痴呆患者($P < 0.05$),见表 2。

表 2 AD 患者与血管性痴呆患者血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 的水平($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NFL(pg/mL)	T-tau(ng/L)	sNRG-1(ng/L)
研究组	70	1 154.41 \pm 124.58*	814.82 \pm 100.27*	1.89 \pm 0.32*
对照组	70	438.59 \pm 53.19	402.53 \pm 55.31	0.94 \pm 0.14

注:与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

2.2 AD 患者与血管性痴呆患者血清 NFL、T-tau、sNRG-1 检测的 ROC 曲线、AUC、灵敏度、特异度和约登指数 为了评估血清 NFL、T-tau、sNRG-1 用于 AD 与血管性痴呆鉴别诊断的价值,绘制 ROC 曲线,

见图 1。NFL 的 ROC 曲线的 AUC 为 0.90(95%CI: 0.848 8~0.958 4),以 740.2 pg/mL 为 NFL 的阳性临界值,其诊断灵敏度为 87%,特异度为 87%;T-tau 的 ROC 曲线的 AUC 为 0.86(95%CI: 0.793 2~0.934 6),以 448.4 ng/L 为 T-tau 的阳性临界值,其诊断灵敏度为 83%,特异度为 85%;sNRG-1 的 ROC 曲线的 AUC 为 0.81(95%CI: 0.725 7~0.898 7),以 1.59 ng/L 为 sNRG-1 的阳性临界值,其诊断灵敏度为 85%,特异度为 82%。见图 1 和表 3。

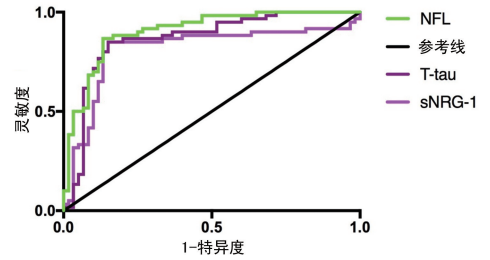


图 1 AD 患者与血管性痴呆患者血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 的 ROC 曲线

2.3 血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 联合检测用于诊断 Logistic 回归联合多指标诊断发现,血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 三者联合诊断的特异度和灵敏度均高于 NFL、T-tau、sNRG-1 两两联合。血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 联合检测对 AD 诊断的灵敏度为 95%,特异度为 83%。见图 2 和表 4、5。

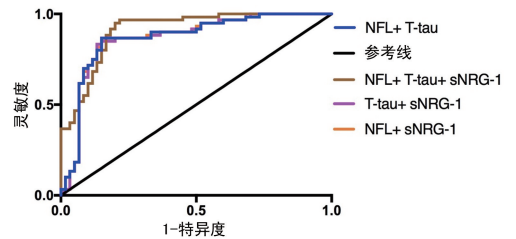


图 2 血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 对 AD 的联合诊断 ROC 曲线

表 3 AD 患者与血管性痴呆患者血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 的 AUC、灵敏度、特异度和约登指数

检测项目	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数	AUC	P	95%CI
NFL	87	87	0.73	0.90	<0.000 1	0.848 8~0.958 4
T-tau	83	85	0.68	0.86	<0.000 1	0.793 2~0.934 6
sNRG-1	85	82	0.68	0.81	<0.000 1	0.725 7~0.898 7

表 4 NFL、T-tau、sNRG-1 的 Logistic 回归分析

项目	β	标准误	瓦尔德	自由度	P	EXP(B)	EXP(B)的 95%CI
NFL	0.013	0.004	8.464	1	0.004	1.013	1.004~1.022
T-tau	0.836	0.277	9.108	1	0.003	2.308	0.992~1.016
sNRG-1	-6.318	2.298	7.561	1	0.006	0.002	0.000~0.163
常量	-3.115	1.062	8.599	1	0.003	0.044	-

注:—表示该项无数据。

表 5 血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 对 AD 的联合诊断价值

指标	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数	AUC	P	95%CI
NFL+T-tau	87	85	0.72	0.87	<0.000 1	0.797 4~0.936 5
NFL+sNRG-1	83	87	0.70	0.87	<0.000 1	0.799 3~0.937 3
T-tau+sNRG-1	87	85	0.72	0.86	<0.000 1	0.794 8~0.935 2
NFL+T-tau+sNRG-1	95	83	0.78	0.91	<0.000 1	0.859 0~0.962 7

3 讨 论

在世界范围内,AD 是最常见的神经退行性疾病^[11-13]。我国 AD 的临床漏诊率高达 76.8%。目前 AD 的早期诊断大都依赖精神量表评分、临床症状和影像学指标等,但能常规用于临床 AD 诊断的检验医学生物标志物较少。因此,寻找新的生物标志物对 AD 的诊断和治疗至关重要。在本研究中,利用 ELISA 法测定血清 NFL、T-tau、sNRG-1 的水平后 Logistic 回归联合多指标诊断发现,血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 三者联合诊断的特异度和灵敏度均高于 NFL、T-tau、sNRG-1 两两联合。血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 联合对 AD 的诊断的灵敏度为 95%、特异度为 83%。

sNRG-1 可诱导上皮细胞,神经胶质细胞,神经细胞和骨骼肌细胞的生长和分化^[14]。在本研究中,发现 AD 患者血清中 sNRG-1 高于血管性痴呆患者($P < 0.05$)。血清中 sNRG-1 单项鉴别诊断 AD 患者和血管性痴呆患者的灵敏度和特异度分别为 85% 和 82%。有研究表明,根据 MMSE 评分,血浆 sNRG-1 水平与疾病严重程度之间存在显著相关性,且与年龄存在相关性。但是,血浆 sNRG-1 水平与血管性痴呆患者对照组的年龄没有任何相关性^[5]。因此,sNRG-1 不仅反映生物学年龄并可作为衰老的候选生物标志物,可作为 AD 的潜在标志物。

NFL 在神经元轴突中很丰富,它们对于轴突径向生长是必需的,但也存在于神经元的体细胞和树突中^[15]。NFL 在中枢神经系统和外周神经系统的神经元中表达,包括海马神经元^[16]。因此,在神经元损伤后,NFL 被释放到细胞外区室中,导致血清中 NFL 水平增加^[17]。在本研究中,发现 AD 患者血清中 NFL 高于血管性痴呆患者($P < 0.05$)。血清中 NFL 单向诊断 AD 患者和血管性痴呆患者的灵敏度和特异度均为 87%。以前的研究表明 NFL 可能反映了正在进行的神经变性的速度,且高水平的 NFL 与神经退行性疾病的进展相关^[18]。因此,NFL 可能反映出正在进行类似的神经退行性过程。

T-tau 的 C 末端结合轴突微管,而 N 末端结合神经质膜组分,参与神经元极性的建立和维持^[19-20]。在本研究中,发现 AD 患者血清中 T-tau 高于血管性痴呆患者($P < 0.05$)。血清中 T-tau 单向诊断 AD 患者和血管性痴呆患者的灵敏度和特异度分别为 83% 和

85%。目前,靶向 AD 中的病理性 tau 蛋白和相关的 tau 蛋白病在动物模型中显示出巨大的潜力^[21]。抗体介导的 tau 聚集体去除的几种互补机制可能存在协同作用,并且每种的重要性可取决于抗体性质、疾病及其阶段^[22]。tau 免疫疗法的临床试验已经开始,并且在不久的将来可能还会开展更多的试验^[23]。因此,tau 除了可作为诊断 AD 的潜在标志,还可作为治疗 AD 的潜在靶标。

然而,本研究仍然存在不足之处:(1)本研究纳入的样本量较少,仅有 70 例 AD,相应的结果需要在更大的样本量中验证;(2)血清中 NFL、T-tau、sNRG-1 的水平未与精神量表评分、临床症状和影像学等临床指标做相关性分析;(3)尽管根据本研究,检测血清中 sNRG-1 的变化对于发现 AD 的风险是很重要的,但是 sNRG-1 的表达异常是造成 AD 的病因还是患 AD 后引起的异常仍然未知,这仍需进一步研究论证。如果是 sNRG-1 的表达异常导致了 AD,可以通过靶向血清中的 sNRG-1 治疗 AD 患者,以改善患者的症状。

参考文献

- [1] 张琳琳,宋宛珊,王凯,等.阿尔茨海默病发病机制及药物治疗研究进展[J].世界中医药,2017,12(5):1200-1203.
- [2] CORBETT A,PICKETT J,BURNS A,et al. Drug repositioning for Alzheimer's disease[J]. Nat Rev Drug Dis, 2012,11(11):833-836.
- [3] 刘群,张琦. CRP、IL-6 在 AD 患者血清中的表达情况及其价值分析[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(17):2426-2428.
- [4] 孔荆荆,来欣,魏雅念,等. 神经调节蛋白-1 对心肌梗死大鼠心脏交感神经重构的保护效应研究[J]. 疑难病杂志, 2017,16(6):614-617.
- [5] CHANG K A,SHIN K Y,NAM E,et al. Plasma soluble neuregulin-1 as a diagnostic biomarker for Alzheimer's disease[J]. Neurochem Int,2016,97(6):1-7.
- [6] 马登磊,张如意. P301L 突变 tau 蛋白转基因动物模型及其应用[J]. 中国比较医学杂志,2018,28(1):123-128.
- [7] MATTSSON N,SCHOLL M,STRANDBERG O,et al. 18F-AV-1451 and CSF T-tau and P-tau as biomarkers in Alzheimer's disease [J]. EMBO Molecular Medicine, 2017,9(9):1212-1223.
- [8] DISANTO G,BARRO C,BENKERT P,et al. Serum neurofilament light:a biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis[J]. Ann Neurol,2017,81(6):857-870.

- [9] IDLAND A V, SALA-LLONCH R, BORZA T, et al. CSF neurofilament light levels predict hippocampal atrophy in cognitively healthy older adults[J]. *Neurobiol Ag*, 2017, 49(1):138-144.
- [10] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders [M]. Washington: Am Psychiatr Assoc, 1994:143-146.
- [11] 胡扬扬, 韩小建, 蒋丽萍. Drp1 的功能调节及其与阿尔茨海默病的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(6):1535-1538.
- [12] 王亮, 孙续国. 阿尔茨海默病中 β 淀粉样变与红细胞异常相关性的研究进展[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2017, 19(10):1111-1113.
- [13] 毛洁萍, 丁正同, 杨新玲, 等. 阿尔茨海默病脑 β 淀粉样蛋白的 PET 显像[J]. *中国临床神经科学*, 2009, 17(6):636-642.
- [14] 姜晓辛. Neuregulin-1 在大鼠脊髓缺血损伤中的早期保护作用[D]. 上海: 复旦大学, 2006.
- [15] 薛丽, 廖维靖, 蔺俊斌, 等. 丰富环境对脑缺血大鼠行为学恢复及神经丝蛋白、突触素表达的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2017, 32(7):763-767.
- [16] 吕浩, 李海龙, 白娜. 检测痴呆患者尿液中神经丝蛋白的含量对诊断其病情的价值[J]. *当代医药论丛*, 2017, 15(5):124-125.
- [17] PETZOLD A. Neurofilament phosphoforms: surrogate markers for axonal injury, degeneration and loss[J]. *J Neurol Sci*, 2005, 233(1/2):183-198.
- [18] STEINACKER P, FENEBERG E, WEISHAUPT J, et al. Neurofilaments in the diagnosis of motoneuron diseases: a prospective study on 455 patients[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2016, 87(1):12-20.
- [19] GUIX F, CORBETT G, CHA D, et al. Detection of aggregation-competent tau in neuron-derived extracellular vesicles[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(3):663-667.
- [20] LU A, DISOMA C, ZHOU Y, et al. Protein interactome of the deamidase phosphoribosylformylglycinamide synthetase (PFAS) by LC-MS/MS[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 513(3):746-752.
- [21] GAO Y, TAN L, YU J T, et al. Tau in Alzheimer's disease: Mechanisms and therapeutic strategies[J]. *Current Alzheimer Research*, 2018, 15(3):283-300.
- [22] CHEN Q, DU Y, ZHANG K, et al. Tau-Targeted Multifunctional Nanocomposite for Combinational Therapy of Alzheimer's Disease[J]. *ACS nano*, 2018, 12(2):1321-1338.
- [23] PEDERSEN J T, SIGURDSSON E M. Tau immunotherapy for Alzheimer's disease[J]. *Trends Molecular Med*, 2015, 21(6):394-402.

(收稿日期:2019-07-08 修回日期:2019-12-10)

(上接第 742 页)

- [21] NACHMIAS N, LANGIER S, BRZEZINSKI R Y, et al. NLRP3 inflammasome activity is upregulated in an in vitro model of COPD exacerbation[J]. *PLoS One*, 2019, 14(5):e0214622.
- [22] DENG X, FU J, SONG Y. Glucocorticoid receptor dysfunction orchestrates inflammasome effects on chronic obstructive pulmonary disease-induced depression: a potential mechanism underlying the cross talk between lung and brain[J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 79:195-206.
- [23] WATERS R P, RIVALAN M, BANGASSER D A, et al. Evidence for the role of corticotropin-releasing factor in major depressive disorder[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2015, 58:63-78.
- [24] SKOLUDA N, STRAHLER J, SCHLOTZ W, et al. Intra-individual psychological and physiological responses to acute laboratory stressors of different intensity[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2015, 51:227-236.
- [25] ISHIKAWA N, MAZUR W, TOLJAMO T, et al. Ageing and long-term smoking affects KL-6 levels in the lung, induced sputum and plasma[J]. *BMC Pulm Med*, 2011, 11:22.
- [26] 翁美芳, 宋正波, 叶萍, 等. 老年肺癌化疗患者抑郁现状调查与分析[J]. *中国急救医学*, 2017, 37(2):259-260.
- [27] MUSTIAN K M, SPROD L K, JANELSINS M, et al. Exercise recommendations for cancer-related fatigue, cognitive impairment, sleep problems, depression, pain, anxiety, and physical dysfunction: a review[J]. *Oncol Hematol Rev*, 2012, 8(2):81-88.
- [28] OZAWA Y, AMANO Y, KANATA K, et al. Impact of early inflammatory cytokine elevation after commencement of PD-1 inhibitors to predict efficacy in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Med Oncol*, 2019, 36(4):33.
- [29] YUAN C, XIANG L, BAI R, et al. MiR-195 restrains lung adenocarcinoma by regulating CD4⁺ T cell activation via the CCDC88C/Wnt signaling pathway: a study based on the Cancer Genome Atlas (TCGA), Gene Expression Omnibus (GEO) and bioinformatic analysis[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(12):263.
- [30] ISHIBASHI N, MAEBAYSHI T, AIZAWA T, et al. Serum tumor marker levels at the development of intracranial metastasis in patients with lung or breast cancer[J]. *J Thorac Dis*, 2019, 11(5):1765-1771.

(收稿日期:2019-06-15 修回日期:2019-11-12)