

Alzheimer 病与血管性痴呆患者脑脊液中 β -淀粉样蛋白₁₋₄₂水平的对照研究

李 毅¹, 郝 伟¹, 张中兴², 吕路线²

(1. 中南大学湘雅二医院, 湖南 长沙 410011; 2. 新乡医学院第二附属医院, 河南 新乡 453002)

【摘要】 目的: 探讨脑脊液(CSF)中 β -淀粉样蛋白₁₋₄₂(β -amyloid protein₁₋₄₂, $A\beta_{1-42}$)的水平对 Alzheimer 病(AD)的诊断价值, 寻找 AD 理想的生物学标志。方法: 将符合美国国立神经病、语言障碍和卒中研究所—老年性痴呆及相关性疾病协会(NINCDS-ADRDA)的“很可能 AD”标准的 22 例 AD 患者, 同时将 20 例血管性痴呆(vascular dementia, VD)和 21 例正常对照(normal control, NC)纳入研究。用酶联免疫吸附法(ELISA)分别检测 AD 组、VD 组和 NC 组 CSF 中的 $A\beta_{1-42}$ 水平。同时评定: AD、VD 组患者的简易智能量表(MMSE)、HACHINSKI 缺血量表及临床痴呆量表(CDR)等参数。结果: 三组 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 平均浓度($\bar{x} \pm s$) (pg/ml) 如下: AD 组 343.94 ± 165.87 ; VD 组 466.65 ± 222.46 ; NC 组 480.40 ± 217.16 AD 组明显低于 NC 组($P < 0.05$); 虽然 AD 组低于 VD 组、VD 组低于 NC 组, 但差异均无显著性($P > 0.05$); AD 组 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度与 CDR、MMSE 评分明显相关($P < 0.05$)。结论: Alzheimer 病患者 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度降低是其重要的实验室表现, 可以作为 AD 的辅助的诊断指标。

【关键词】 Alzheimer 病; 脑脊液; β -淀粉样蛋白₁₋₄₂

中图分类号: R395.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-3611(2004)03-0269-03

The Comparison of CSF Levels of β -Amyloid Peptide₁₋₄₂ between Patients with Alzheimer's Disease and Those with Vascular Dementia

LI Yi, HAO Wei

Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China

【Abstract】 **Objective:** To investigate the cerebrospinal fluid (CSF) levels of β -amyloid peptide₁₋₄₂ ($A\beta_{1-42}$) in patients with Alzheimer's disease (AD) and their diagnostic value for AD. **Methods:** The subjects were 22 patients with AD and 41 controls, including 20 patients with vascular dementia (VD) and 21 normal controls (NC). The CSF levels of $A\beta_{1-42}$ of each subject were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Subjects in the groups of both AD and VD were assessed for parameters with MMSE, CDR and Hachinski rating scales. **Results:** (1) The mean CSF levels (pg/ml) of $A\beta_{1-42}$ of AD group was 343.94 ± 165.87 , VD 466.65 ± 222.46 , and NC 480.40 ± 217.16 . The CSF levels of $A\beta_{1-42}$ of AD group were significantly lower than that of NC ($P < 0.05$). However, no significant difference was observed between other two groups ($P > 0.05$). (2) In AD group, there were significant correlations between the CSF levels of $A\beta_{1-42}$ and the MMSE or CDR scores ($P < 0.05$). **Conclusions:** The CSF levels of $A\beta_{1-42}$ of patients with AD are significantly lower than that in NC group. Decreased CSF levels of $A\beta_{1-42}$ may be a marker for AD, which is helpful in diagnosing AD.

【Key words】 Alzheimer's disease; Cerebrospinal fluid; β -amyloid peptide₁₋₄₂

Alzheimer 病(AD)是一种病因未明、原发性、退行性的大脑疾病。自德国神经病学家 Alois Alzheimer 于 1907 年在世界上首先报道以来, 至今已有 90 余年的研究历史。AD 是工业化社会成人痴呆症中最常见的一种, 在某些西方发达国家 AD 成为继心脏病、肿瘤、卒中之后的第四位死亡原因。但是目前 AD 的诊断仍依赖于对其临床表现、相应的心理测验及病程演变过程中的动态变化等的综合分析, 同时参考相应的实验室指标来排除其他原因引起的痴呆而诊断。确诊有赖于脑活检, 可是临床上无法实行, 故影响诊断的因素较多, 诊断的难度较大。故寻找有意义的生物学标记来方便 AD 的诊断, 特别是早期的诊断是很有必要的。

神经元纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)和老年斑(senile plaques, SP)分别是 AD 的特征性神经病理改变。有研究者认为: CSF 中 tau 蛋白水平可能是大脑神经元纤维缠结形成范围信息的间接反应, 可以作为逐渐进展的神经元和轴突变性的指标^[1], 可以把 CSF 中的 tau 蛋白水平看作诊断 AD 有用的生物学指标^[2], 可是遗憾的是不能用它来与某些神经系统疾病进行很好地相互鉴别^[3]。 β -淀粉样蛋白(β -amyloid protein, $A\beta$), 是一种由 39~43 个氨基酸组成的, 分子量约为 4Kda、有具 β 片层结构的多肽。 $A\beta$ 是 AD 老年斑形成的始动因子, 也是老年斑核中的重要成分。AD 患者的老年斑中的 β -淀粉样蛋白(β -amyloid peptide, $A\beta$)聚集/沉积以

$A\beta_{1-42}$ 居多,因 CSF 中 $A\beta$ 水平可部分反映 $A\beta$ 的产生和清除障碍^[4],故 AD 患者的 CSF 中的 $A\beta_{1-42}$ 水平与老年斑的病理改变关系可能比较密切^[5],对 AD 的诊断可能有一定的帮助。

1 对象和方法

1.1 研究对象与分组

1.1.1 AD 组 符合 NINCDS-ADRDA 的“很可能 AD”的标准,MMSE 评分 <24 分,Hachinski 缺血指数量表评分 <4 分;根据临床表现,详细的神经、精神检查,CT 或 MRI 和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。共收集符合上述条件的 AD 患者 22 例;男性 6 例,女性 16 例;年龄 51~77 岁,平均 64.77 ± 7.08 岁。

1.1.2 VD 组 根据病史、临床表现、量表检测及头颅 CT 或 MRI 检查均符合 VD 诊断标准。VD 组共收集 20 例;男 11 例,女 9 例;年龄 43~81 岁,平均 67.85 ± 9.95 岁。

1.1.3 NC 组 同期选择 21 例性别年龄相匹配的无中枢神经系统疾患、无痴呆表现的腰麻手术者或其他患者,其中男性 9 例,女性 12 例;年龄 58~71 岁,平均 64.38 ± 3.94 岁。所有研究对象均知情同意。

1.2 研究方法

标本采集和处理:三组病人在入组后,分别行腰椎穿刺术,抽取脑脊液 2 毫升分装置 -70°C 冰箱冻存待测;

MMSE、CDR、Hachinski 量表评定:AD 组、VD 组研究对象入组后与腰穿的同时分别评定;

CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 测定:采用双抗夹心 ELISA 试剂盒(比利时 innogenetics N.V. 公司提供)测定 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 含量,在此过程中使用 DG5032 型酶标仪(南京华东电子集团产品)读取吸光度 A 值,依照标管浓度梯度及吸光度 A 值求取 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度的回归曲线和回归方程,根据曲线或方程求出 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度。

所有采集的资料均用 SPSS.10.0 软件处理。

2 结 果

2.1 研究组与对照组的一般资料

从表 1 看出:三组研究对象之间在性别和年龄方面无显著性差异($P>0.05$),表明三组一般资料齐同,具有良好的可比性。

表 1 研究组与对照组的性别和年龄比较

	例数	性别		年龄(岁)
		男	女	
AD 组	22	6	16	64.77 ± 7.08
VD 组	20	11	9	67.85 ± 9.95
NC 组	21	9	12	64.38 ± 3.94

注:性别用 χ^2 检验,年龄用方差分析, $P>0.05$ 。

2.2 三组 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 水平

CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度标管浓度梯度及吸光度 A 值如下,见表 2。CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度的标准曲线:如图 1 所示。

表 2 标准管 $A\beta_{1-42}$ 浓度值与吸光度 A 值

管号	1	2	3	4	5	6	7
$A\beta_{1-42}(\text{pg/ml})$	2000	1500	1000	500	250	125	0
A	0.97	0.81	0.77	0.48	0.33	0.06	0

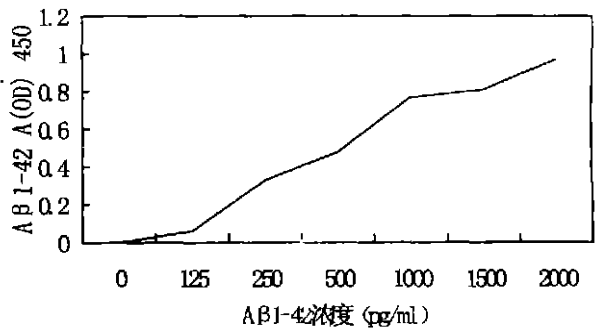


图 1 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度标准曲线

根据表 2 中数据求得 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度的回归方程为: $A\beta_{1-42}$ 浓度 $=1889.959A-155.523$,根据回归方程求得 CSF 中的 $A\beta_{1-42}$ 浓度($\bar{x} \pm s$)(pg/ml):AD 组为 343.49 ± 165.87 ,VD 组为 466.65 ± 222.46 ,NC 组 480.40 ± 217.16 。结果:AD 组 $A\beta_{1-42}$ 浓度明显低于 NC 组($P<0.05$),而 AD 组与 VD 组之间,VD 组与 NC 组之间 $A\beta_{1-42}$ 浓度差异均无显著性($P>0.05$)。

表 3 AD 组、VD 组 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度与其他参数及临床资料的关系

	年龄	病期	MMSE	CDR	HACHINSKI
AD 组	-0.191	-0.196	0.588*	-0.447*	0.055
VD 组	0.107	0.314	0.07	0.085	-0.110

注: * $P<0.05$

2.3 AD 组、VD 组 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度与其他参数及临床一般资料的关系

AD 组中 CSF 的 $A\beta_{1-42}$ 浓度与 MMSE 和 CDR 评分明显相关($P<0.05$),而 VD 组 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度与年龄、MMSE 评分、CDR 评分、HACHINSKI 评分等

临床参数之间均无明显相关($P > 0.05$)。见表 3。

3 讨 论

β -淀粉样蛋白(β -amyloid protein, $A\beta$), 是一种由 39~43 个氨基酸组成的, 分子量约为 4Kda、有具 β 片层结构的多肽。 $A\beta$ 是 AD 老年斑形成的始动因子, 也是老年斑核中的重要成分。 $A\beta$ 是淀粉样肽前体蛋白(amyloid peptide precursor, APP)经过 β 与 γ 分泌酶协同作用而产生的。细胞正常代谢过程中产生 $A\beta_{1-40}$ 及 $A\beta_{1-42}$, 其中 90% 的 $A\beta$ 是 $A\beta_{1-40}$, 10% 是 $A\beta_{1-42}$ ^[6]。 $A\beta$ 可存在于正常人和 AD 患者血液和脑脊液中^[7], 并具有重要的生理功能, 是维持神经功能不可或缺的多肽^[8]。老年斑中以 $A\beta_{1-42}$ 居多, 由于其在脑组织内的沉积过多, 很可能会导致脑脊液中含量明显减少。本研究结果: AD 组 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 水平明显低于 NC 组, 这与 Motter R^[9]、Kanai M^[10]、Andreasen N^[11] 等人报告的相一致, 提示: CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 的低水平可能部分地反映了 $A\beta$ 的产生和清除障碍, 说明 AD 患者存在影响可溶性 $A\beta$ 成为不溶性聚集的因素, 从而产生了聚集相关毒性作用, 引起相应的临床表现, 故 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度的降低可能是 AD 的重要的实验室表现, 对临床诊断 AD 有一定的帮助。同时, AD 组与 VD 组 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度无明显差异, 提示: 单纯应用 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度降低来诊断 AD 缺乏特异性, 使其临床应用受到一定的限制。此外, 本研究中, 可能由于病例选择、样本大小、操作等因素, 三组 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 的含量变化范围较大, 故未计算应用 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 的水平来诊断 AD 的敏感性和特异性。另外, 本研究结果表明: AD 组患者 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度与 MMSE 和 CDR 评分明显相关($P < 0.05$), 提示: 老年斑的病理改变可能与 AD 临床表现有一定的关联, 通过临床量表的测评也许能部分反映 CSF 中 $A\beta_{1-42}$ 浓度变化和/或 AD 患者的老年

斑的神经病理学变化情况。

参 考 文 献

- 1 Blennow K, Vanmechelen E. Combination of the different biological markers for increasing specificity of in vivo Alzheimer's testing. *J Neural Transm Suppl*, 1998, 53: 223-35
 - 2 Arai H, Higuchi S, Sasaki H. Apolipoprotein E genotyping and cerebrospinal fluid tau protein: implications for the clinical diagnosis of Alzheimer's disease. *Gerontology*, 1997, 43 suppl 1: 2-10
 - 3 Green AJ, Harvey RJ, Thompson EJ, et al. Increased tau in the cerebrospinal fluid of patients with frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 1999, 259 (2): 133-135
 - 4 Nakaumra T, Shoji M, Harigaya Y, et al. Amyloid beta protein levels in cerebrospinal fluid are elevated in early-onset Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 1994, 36 (6): 903-911
 - 5 Chartier-Harlin MC, Crawford F, Houlden H, et al. An early-onset Alzheimer's disease caused by mutations at codon 717 of the beta-amyloid precursor protein gene. *Nature*, 1991, 353: 384-385
 - 6 Andreasen N, Hesse C, Davidsson P, et al. Cerebrospinal fluid β -amyloid(1-42) in Alzheimer's disease: differences between early and late-onset Alzheimer's disease and stability during the course of disease. *Arch Neurol*, 1999, 56(6): 673-680
 - 7 Brion JP. The role of neurofibrillary tangles in Alzheimer disease. *Acta Neurol Belg*, 1998, 98(2): 165-174
 - 8 Anderton BH, Dayanandan R, Killick R, et al. Does dysregulation of the Notch and wingless/Wnt pathways underlie the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Mol Med Today*, 2000, 6(2): 54-59
 - 9 Motter R, Vigo Pelfrey C, Kholodenko D, et al. Reduction of beta-amyloid peptide 42 in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 1995, 38: 643-648
 - 10 Kanai M, Matsubara E, Ise K, et al. Longitudinal study of cerebrospinal fluid levels of tau, $A\beta_{1-40}$ and $A\beta_{1-42}$ (43) in Alzheimer's Disease: A study in Japan. *Ann Neurol*, 1998, 44: 17-26
 - 11 Andreasen N, Hesse C, Davidsson P, et al. Cerebrospinal fluid β -amyloid(1-42) in Alzheimer's disease: differences between early and late-onset Alzheimer's disease and stability during the course of disease. *Arch Neurol*, 1999, 56(6): 673-680
- (收稿日期: 2004-02-28)
-
- (上接第 268 页)
- 8 Rodin J, McAvay G. Determinants of change in perceived health in a longitudinal study of older adults. *J Gerontol*, 1992, 47: 373-384
 - 9 Petersen RC, Doody R, Kuiz A, et al. Current concepts in Mild Cognitive Impairment. *Arch Neurol*, 2001, 58: 1985-1992
 - 10 Collie A, Maruff P, Currie J, et al. Behavioral characterization of Mild Cognitive Impairment. *J Clin Exp Neuropsychol*, 2002, 24: 720-733
 - 11 Rijdsdijk FV, Sham PC, Sterne A, et al. Life events and depression in a community sample of siblings. *Psychol Med*, 2001, 31: 401-410
 - 12 Vaillant GE, Mukamal K. Successful aging. *Am J Psychiatry*, 2001, 158: 839-847
 - 13 Garfein AJ, Herzog AR. Robust aging among the young-old, old-old, and oldest-old. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci*, 50: S77-87
 - 14 王玲凤, 傅根跃. 农村老年人心理健康状况的调查分析. *中国临床心理学杂志*, 2003, 11: 128-129
 - 15 戴 静, 刘协和, 马渝根, 等. 老年人生活质量及影响因素调查. *中国临床心理学杂志*, 2002, 10: 246-248
- (收稿日期: 2003-12-29)