

阿尔茨海默病相关生物标志物的研究现状及进展

李锡海¹, 于明², 吴金美^{1*}

(1. 江苏科技大学生物技术学院, 江苏 镇江 212003; 2. 江苏大学附属医院神经内科, 江苏 镇江 212001)

[关键词] 阿尔茨海默病; 早期诊断; 生物标志物

[中图分类号] R741.04 [文献标志码] B [文章编号] 1671-7783(2013)01-0084-05

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种中枢神经系统常见的、进行性神经退行性疾病,主要病理特征为神经细胞外老年斑(senile plaques, SP)和神经细胞内神经纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)。AD的发病机制非常复杂,迄今尚未完全明确。普遍认为AD为多因素影响的综合征,患者的年龄和家族史为最大致病危险因素。

AD经由症状前AD、轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment, MCI)逐步发展成。AD患者的分子病理学改变先于认知功能损害数年甚至数十年,因此,在人体中及早发现典型的AD样病理物质是早期诊断AD的关键。临床上诊断AD主要借助病史、神经心理鉴定以及排除其他痴呆类型等,但上述方法的特异性和灵敏度都不高。所以,寻找灵敏度高和特异性强的AD生物学标志物并应用于临床诊断就显得尤为重要。

1 与AD相关的主要生物标志物

1.1 淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)与 β -淀粉样蛋白(amyloid beta, A β)

APP基因位于21q21.1~21.3,约为300 kb,含有19个外显子。由该基因编码的蛋白——APP,经 β -分泌酶和 γ -分泌酶水解生成A β 片段,后者是AD患者脑中SP的主要成分。体内外实验证实,A β 具有很强的神经毒性,可以诱导细胞凋亡。AD的发生与A β 的过度生成及在脑内大量沉淀、堆积有关。A β 是各种因素诱发AD的共同通路,是AD形成和发展的关键因素。A β 主要有2种形式,一种是由40个氨基酸残基组成的蛋白片段,称之为A β_{40} ,另一种是由42~43个氨基酸残基组成的蛋白片段,称为A β_{42} 。研究发现,A β_{42} 比A β_{40} 多2个疏水性氨基酸而具有更高的凝聚能力,更容易在AD患者的脑中形成SP。

1.1.1 脑脊液中的A β 早期对A β_{40} 的定量检测结果并不理想,大部分研究显示,AD患者脑脊液中A β_{40} 的水平往往不变或轻度升高^[1]。另有研究表明,由于A β 寡聚化造成的抗原表位被掩盖或A β 结合了载体蛋白,导致ELISA等方法无法检测到A β_{40} 水平的真实变化,只有使用金属离子亲和层析法才能检测到脑脊液中A β_{40} 水平的显著升高^[2]。

大多数研究表明,与健康对照组相比,AD患者早期脑脊液中A β_{42} 浓度降低约50%,甚至在MCI阶段就可以见到A β_{42} 浓度的降低,因此,对AD患者进行脑脊液A β_{42} 定量检测有助于AD的早期诊断^[3]。虽然脑脊液中A β_{42} 水平的降低可以将AD患者与健康对照组正确区分开,但是,A β_{42} 水平的降低并不能将AD与脑内具有A β 沉积的其他疾病区分开,如路易体痴呆、额颞叶痴呆和血管性痴呆等^[4]。因此,将A β_{42} 作为AD生物标志物,其特异性并不高。脑脊液中A β_{42} 水平降低的确切原因尚有待于进一步研究。

研究证实,AD或MCI患者脑脊液中A β_{40} /A β_{42} 的比值较健康对照组明显升高,该指标与上述AD患者早期脑脊液A β_{42} 浓度降低约50%联合应用可以将AD和非AD型痴呆很好地鉴别开,对AD的早期诊断更具有临床价值。Kanai等^[5]和Wiltfang等^[6]研究也都证实了这一结论,即在预测MCI发展成为AD方面,A β_{40} /A β_{42} 的比值比单独检测A β_{42} 水平更有意义。

1.1.2 血液中的A β 由于血液标本易采集,故针对血液中AD的生物标志物研究较多。对于AD患者血浆中A β_{40} 和A β_{42} 水平的检测,其结果也不尽相同。部分研究发现,AD患者血浆A β_{40} 水平显著高于对照组^[7];另有研究表明,在临床前期,AD患者血浆中A β_{42} 浓度明显降低^[8];然而,大多数研究表明,AD患者早期阶段血浆中A β_{40} 和A β_{42} 并无明显

* : 通讯作者

变化,故血浆 $A\beta_{40}$ 和 $A\beta_{42}$ 水平的检测对 AD 的早期诊断并无意义^[9]。彭丹涛等^[10] 研究证实,家族性 AD 患者血浆 $A\beta_{42}$ 水平较对照组显著升高,随着疾病的进展, $A\beta_{42}$ 水平逐渐降低,因此, $A\beta_{42}$ 水平的变化要早于临床症状的发生;而血浆中 $A\beta_{40}$ 水平与对照组比较,差异无统计学意义。这些实验结果的不同可能与血浆中 $A\beta$ 水平较低、影响血浆 $A\beta$ 代谢的肝肾功能及影响血浆 $A\beta$ 来源的外周组织(如骨骼肌可产生 $A\beta$) 有关。因此,血液中 $A\beta$ 水平作为 AD 早期诊断的生物标志物缺乏足够的稳定性和可靠性,对 AD 的临床诊断缺乏应用价值。研究发现,由 $A\beta_{42}$ 聚集形成的可溶性 $A\beta$ 寡聚体是产生神经毒性的主要形式^[11]。 $A\beta$ 寡聚体能够特异地与某些突触相结合,进而引起突触结构损伤和认知功能障碍。值得注意的是,这种损害在 AD 的早期阶段就已经出现,因此,对可溶性 $A\beta$ 寡聚体的检测可能更具有临床诊断意义。

鉴于 AD 患者脑内有 $A\beta$ 的沉积,推测 AD 患者可能存在清除 $A\beta$ 的免疫缺陷,因此,针对抗 $A\beta$ 自身抗体也有大量的研究。研究显示,AD 患者血清中抗 $A\beta$ 自身抗体的水平较健康对照组明显升高^[12-13]。Marcello 等^[14] 分析 AD 患者与健康对照组外周血中不同 $A\beta$ 亚型($A\beta_{1-42}$ 、 $A\beta_{x-40}$ 、 $A\beta_{x-42}$ 和 $A\beta_{pE3}$) 的抗 $A\beta$ 抗体,结果显示,两组除抗 $A\beta_{pE3}$ 抗体有差异外,其他并无明显差异。另有研究发现,抗 $A\beta$ 寡聚体抗体在中重度患者中的水平显著高于轻度 AD 患者^[15],提示其可用于 AD 疾病进程的诊断。目前,关于 AD 患者血浆中抗 $A\beta$ 自身抗体的变化仍有争议,仍需更深层地进行研究。

1.1.3 血小板中的 APP 在血小板中,完整的 APP 被加工成 3 种异构体,相对分子质量分别为 130 000、110 000 和 106 000。研究显示,APP 异构体的代谢变化与 AD 的发病过程有着重要相关性^[16]。Mukaetova-Ladinska 等^[17] 对血小板中的 APP 进行检测,发现其含量与认知程度呈负相关。高分子量的 APP 异构体(130 000)与低分子质量的异构体(110 000 与 106 000 之和)的比值称为 APP 异构体比值。研究表明,AD 患者血小板中该比值低于健康对照组,并且与疾病的严重程度和进程存在着一定的关联,该比值可以作为 AD 的有效生物标志物^[18-19]。

1.2 tau 蛋白

tau 蛋白是一种微管相关蛋白,起到促进微管形成、稳定神经元的作用。在 AD 患者脑内,tau 蛋白发生异常磷酸化、糖基化后形成配对螺旋纤维

(paired helical filaments, PHFs) 进一步形成 NFTs。

在 NFTs 形成早期,总 tau 蛋白(total tau proteins, t-tau) 和水溶性磷酸化 tau 蛋白(phosphorylated tau proteins, p-tau) 可以通过病变神经元的细胞膜进入脑脊液中。研究显示,中重度 AD 患者脑脊液中 t-tau 水平较健康对照组高 2~3 倍^[20];虽有研究发现 t-tau 升高水平与疾病进程无关,但在 AD 发病早期就检测到 t-tau 的升高^[21-22],因此, t-tau 可以用于 AD 的预测。然而 Gloeckner 等^[23] 对 106 例包括 AD、皮质-脊髓-纹状体变性、Lewy 痴呆、额颞叶痴呆以及正常压力脑积水及健康对照组脑脊液中 t-tau 蛋白进行定量分析,结果显示,所有受试者脑脊液中 t-tau 水平都显著增高,因此, t-tau 单独用于 AD 的诊断尚缺乏特异性,不能作为区分其他神经系统疾病的特异性生物标志物。

P-tau 是形成 NFTs 的主要物质。研究发现,AD 患者体内 tau 蛋白至少有 25 个异常磷酸化位点^[24],这些位点主要位于与微管结合的 181-235 和 369-422 氨基酸位点。因此,过度磷酸化易导致 tau 蛋白与微管结合能力下降。目前研究较多的是 p-tau 181、p-tau 199 以及 p-tau 231 这三者的水平均高于健康对照组,而且分别能很好地鉴别 AD 与皮质-脊髓-纹状体变性、Lewy 痴呆与额颞叶痴呆。其中 p-tau 231 鉴别 AD 与其他痴呆类型的灵敏度和特异性高达 85% 和 97%^[25]。另有研究发现,对于急性脑血管病等非特异性脑损伤患者, t-tau 含量升高,但 p-tau 含量并未升高,这更说明 p-tau 具有特异性。对 AD 和其他痴呆疾病的诊断, p-tau 具有较高的灵敏度和特异性。

1.3 载脂蛋白

1.3.1 载脂蛋白 E(ApoE) ApoE 是一种与胆固醇类物质运输相关的血浆蛋白,主要在肝脏合成和分泌,其次在大脑。ApoE 基因具有多态性和遗传上的异质性,它在同一基因位点上有 3 个等位基因: ϵ_2 、 ϵ_3 和 ϵ_4 ; 分别编码 3 种蛋白: ApoE2、ApoE3 和 ApoE4,其中, ApoE4 最不稳定,具有很高的致病活性。研究发现, ApoE 与家族性 AD 和散发性 AD 均有很大关联, ϵ_4 能够提高患 AD 的风险;同时在 SP 和 NFTs 中均含有 ApoE4,并且与 $A\beta$ 的结合能力明显强于 ApoE2 和 ApoE3。Ma 等^[26] 研究发现, ApoE 在与 $A\beta$ 相互作用的过程中, ApoE4 比 ApoE3 更能促进 NFTs 的形成,而 ApoE2 能够有效地预防 $A\beta$ 的聚集。Fagan 等^[27] 研究表明, ApoE4 不是导致 $A\beta$ 沉积的必要因素,但能够促进可溶性 $A\beta$ 形成沉淀。

目前,关于 ApoE 与 $A\beta$ 的作用机制尚不清楚,但值得肯定的是, ApoE 与 $A\beta$ 的产生存在着很大关联。现在普遍认为 ApoE4 与 $A\beta$ 共沉淀,加速了 $A\beta$ 的聚集,提高了患 AD 的风险;而 ApoE2、ApoE3 可以抑制 $A\beta$ 的聚集,起保护作用。

研究发现, ApoE3 能够与未被磷酸化的 tau 蛋白结合,从而防止 tau 蛋白的过度磷酸化;然而 ApoE4 与 tau 蛋白的亲合力较差,不能防止 tau 蛋白的过度磷酸化^[28],致其形成双螺旋丝,随后发展为 NFTs,最终引起 AD 的发生。Hoe 等^[29]研究证明了类似结论: ApoE2 能够降低 tau 蛋白的磷酸化,而 ApoE4 则促进 tau 蛋白的磷酸化。由于 AD 患者 ApoE4 升高且具有较高的特异性,随着研究的深入, ApoE4 将成为一种用于 AD 诊断的重要的生物标志物。

1.3.2 载脂蛋白 J (ApoJ) ApoJ 又称簇集蛋白,在血浆中含量较多。血浆 ApoJ 水平与 AD 存在相关性。研究^[30-31]发现,血浆 ApoJ 含量高的 AD 患者,其嗅皮质、颞上回萎缩速度明显减慢;也有研究发现,血浆 ApoJ 值与内嗅皮质(特别是右侧内嗅皮质) $A\beta$ 呈显著负相关。ApoJ 可能通过某种途径或机制对 AD 的病理生理进程起到保护作用。上述研究均揭示 ApoJ 作为一种 AD 生物标志物的巨大潜能。

1.4 炎症性的生物标志物

炎症反应在 AD 的发病中起着重要作用。研究表明, AD 患者外周血中的白细胞介素(interleukin, IL) 1、4、6、10、12、16 和 18, 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) , 转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 与健康对照组比较, 差异有统计学意义, 尤其是 IL-6、10、12、18, TNF- α 和 TGF- β 的水平均升高^[32]。另有研究发现, 伴有严重的认知功能损害的 AD 患者, 其血浆中 TNF- α 的水平较低^[33]。研究发现, AD 患者 TNF- α 受体 TNF-R1 血清水平明显高于健康对照组^[34]。因此, 与炎症反应相关的细胞因子对 AD 的诊断及预防可能具有一定的指导意义。

1.5 生物学上的功能性金属

金属离子内部稳态的紊乱与 AD 等几种神经性病变更有关。研究发现, 在 AD 患者大脑内的 $A\beta$ 沉淀中, 锌、铜、铁的含量较高。AD 患者血清中锌浓度显著低于健康对照组, 而铁和铜浓度没有显著的差异^[33]。推测可能是由于锌与 AD 患者大脑中的 $A\beta$ 和(或) APP 相结合而致其在血清中的水平下降。

尽管如此, 目前关于 AD 患者血清中生物金属浓度改变的观点尚未达成一致, 仍需要进一步的研究。

1.6 晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)

近来研究发现, AD 发病机制与胰岛素信号转导通路异常密切相关, 而且糖尿病患者较健康人更易患 AD; 因此, 相关的 AD 生物标志物也不断地被发现。AGEs 是一种具有细胞毒性的物质, 随着病程的发展在糖尿病患者体内不断堆积, 在 AD 患者的 SP 和 NFTs 中均能检测到。AGEs 与 AD 的发病机制相关, 参与了 AD 的病理形成, 最终导致神经元坏死; 因此, AGEs 可能成为用于 AD 早期临床诊断的生物标志物。

1.7 阿尔茨海默病相关神经丝蛋白(Alzheimer-associated neuronal thread protein, AD7c-NTP)

AD7c-NTP 是一种跨膜磷蛋白, 可能成为 AD 早期临床诊断的生物标志物之一。在 AD 患者的脑脊液和尿液中均可检测到 AD7c-NTP, 并且其水平的高低与痴呆的严重程度呈正相关, 而与年龄和性别无关^[35]。研究表明, AD 患者脑脊液和尿液中的 AD7c-NTP 水平明显高于健康对照组^[36-37], 并且中晚期 AD 患者 AD7c-NTP 水平要明显高于早期 AD 患者^[37]。鉴于 AD7c-NTP 在早期 AD 患者的脑脊液和尿液中均表现为升高, 且尿液检测无创、方便, 因此, 检测 AD 患者尿液中的 AD7c-NTP 水平具有诊断早期 AD 的临床应用价值。

2 其他 AD 相关生物标志物

除上述生物标志物外, 还有大量关于 AD 生物标志物的报道: ① 异前列腺素(8, 12-iso-iPF2 α -VI isoprostan, IP) 是脂膜氧化损伤产生的物质, 在 MCI 和 AD 患者的脑脊液中呈高表达^[38-39]; 与 $A\beta_{1-42}$ 、p-tau 相比, IP 是唯一随着随访时间延长表达水平增高的标志物。② 研究发现, MCI 和 AD 患者的脑脊液中 β -位点淀粉样蛋白前体蛋白裂解酶 1 (β -site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1, BACE1) 的浓度和活性较健康对照明显升高。BACE1 是促使 APP 裂解成 $A\beta$ 最主要的 β -分泌酶, 其活性与脑脊液中 t-tau 蛋白水平呈正相关^[40]。③ 近来研究显示, miRNA 在神经退行性疾病中起着重要作用, 如 BACE1 基因的 miRNA-29a/b-1 在 AD 中的表达明显降低, 其缺失使 BACE1 蛋白的表达明显上调, 最终导致 $A\beta$ 的积累, 直至引发 AD^[41]。随着进一步研究, miRNA 有可能成为 AD 诊断的生物

标志物之一。④ 蛋白质组学和代谢组学的发展,为寻找 AD 血液的生物标志物提供了巨大的帮助,相关的异常物质如表皮生长因子、溶血磷脂酰胆碱、色氨酸等相继被发现。由于各实验室的实验方法和技术存在着很大差异,且这些标志物与 AD 的病理生理关系还需进一步明确;因此,上述具有潜在应用价值的标志物应用于临床诊断还需要更深入的研究。

3 总结与展望

关于 AD 早期诊断的体液生物标志物的研究已有很多,但迄今尚未发现一种确定的、可靠的生物标志物。脑脊液中 A β 以及 tau 蛋白的研究已取得了较大的成就,对 AD 的临床诊断具有一定的应用价值。但是,脑脊液的采集对患者会造成一定的创伤,而且采集的适应证、禁忌证以及技术性都限制了腰椎穿刺的广泛应用。由于血液采集创伤较小、简单易操作,因此,对血液中 AD 生物标志物的研究更具有临床意义。

寻找一种能及早、准确地检测到 AD 的特异性分子病理学改变的生物标志物,还需要更深入的研究。随着基因组学、蛋白质组学和代谢组学的发展,以及对外周血单个核细胞的深入研究,我们将会发现更多的与 AD 相关的基因及其功能蛋白,进而开发出具有高灵敏度和高特异性的生物标志物。

[参考文献]

- [1] Hampel H, Shen Y, Walsh DM, et al. Biological markers of amyloid beta-related mechanisms in Alzheimer's disease [J]. *Exp Neurol*, 2010, 223(2): 334 - 346.
- [2] Simonsen AH, Hansson SF, Ruetschi U, et al. Amyloid beta 1-40 quantification in CSF: comparison between chromatographic and immunochemical methods [J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2007, 23(4): 246 - 250.
- [3] Tarawneh R, Holtzman DM. Biomarkers in translational research of Alzheimer's disease [J]. *Neuropharmacology*, 2010, 59(4/5): 310 - 322.
- [4] Gloeckner SF, Meyne F, Wagner F, et al. Quantitative analysis of transthyretin, tau and amyloid-beta in patients with dementia [J]. *J Alzheimers Dis*, 2008, 14(1): 17 - 25.
- [5] Kanai M, Matsubara E, Isoe 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 [J]. *Ann Neurol*, 1998, 44(1): 17 - 26.
- [6] Wiltfang J, Esselmann H, Bibl M, et al. Amyloid beta peptide ratio 42/40 but not A beta 42 correlates with phospho-Tau in patients with low and high-CSF A beta 40 load [J]. *J Neurochem*, 2007, 101(4): 1053 - 1059.
- [7] Ertekin-Taner N, Younkin LH, Yager DM, et al. Plasma amyloid beta protein is elevated in late-onset Alzheimer disease families [J]. *Neurology*, 2008, 70(8): 596 - 606.
- [8] Lewczuk P, Kornhuber J, Vanmechelen E, et al. Amyloid beta peptides in plasma in early diagnosis of Alzheimer's disease: A multicenter study with multiplexing [J]. *Exp Neurol*, 2010, 223(2): 366 - 370.
- [9] Fukumoto H, Tennis M, Locascio JJ, et al. Age but not diagnosis is the main predictor of plasma amyloid beta-protein levels [J]. *Arch Neurol*, 2003, 60(7): 958 - 964.
- [10] 彭丹涛,许贤豪,孟晓梅,等.老年性痴呆血浆中 A β 1-42、A β 1-40 及 p-tau (181 P) 蛋白的临床诊断意义 [J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2005, 12(4): 208 - 211.
- [11] Selkoe DJ. Alzheimer's disease is a synaptic failure [J]. *Science*, 2002, 298(5594): 789 - 791.
- [12] Gustaw KA, Garrett MR, Lee HG, et al. Antigen-antibody dissociation in Alzheimer disease: a novel approach to diagnosis [J]. *J Neurochem*, 2008, 106(3): 1350 - 1356.
- [13] Gustaw-Rothenberg KA, Siedlak SL, Bonda DJ, et al. Dissociated amyloid-beta antibody levels as a serum biomarker for the progression of Alzheimer's disease: a population-based study [J]. *Exp Gerontol*, 2010, 45(1): 47 - 52.
- [14] Marcello A, Wirths O, Schneider-Axmann T, et al. Reduced levels of IgM autoantibodies against N-truncated pyroglutamate A β in plasma of patients with Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2011, 32(8): 1379 - 1387.
- [15] Britschgi M, Olin CE, Johns HT, et al. Neuroprotective natural antibodies to assemblies of amyloidogenic peptides decrease with normal aging and advancing Alzheimer's disease [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(29): 12145 - 12150.
- [16] Zoia C, Cogliati T, Tagliabue E, et al. Glutamate transporters in platelets: EAAT1 decrease in aging and Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2004, 25(2): 149 - 157.
- [17] Mukaetova-Ladinska EB, Abdel-All Z, Dodds S, et al. Platelet immunoglobulin and amyloid precursor protein as potential peripheral biomarkers for Alzheimer's disease: findings from a pilot study [J]. *Age Ageing*, 2012, 41(3): 408 - 412.
- [18] Padovani A, Borroni B, Colciaghi F, et al. Abnormalities

- in the pattern of platelet amyloid precursor protein forms in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease [J]. *Arch Neurol*, 2002, 59(1): 71-75.
- [19] Borroni B, Colciaghi F, Corsini P, et al. Early stages of probable Alzheimer's disease are associated with changes in platelet amyloid precursor protein forms [J]. *Neurol Sci*, 2002, 23(5): 207-210.
- [20] Vandermeeren M, Mercken M, Vanmechelen E, et al. Detection of tau proteins in normal and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid with a sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *J Neurochem*, 1993, 61(5): 1828-1834.
- [21] Kaiser E, Schönknecht P, Hunt A, et al. CSF levels of total tau protein in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease [J]. *Z Gerontol Geriatr*, 2008, 41(6): 497-501.
- [22] Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, et al. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study [J]. *Lancet Neurol*, 2006, 5(3): 228-234.
- [23] Gloeckner SF, Meyne F, Wagner F, et al. Quantitative analysis of transthyretin, tau and amyloid-beta in patients with dementia [J]. *J Alzheimer's Dis*, 2008, 14(1): 17-25.
- [24] Ward M. Biomarkers for Alzheimer's disease [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2007, 7(5): 635-646.
- [25] Buerger K, Teipel SJ, Zinkowski R, et al. CSF tau protein phosphorylated at threonine 231 correlates with cognitive decline in MCI subjects [J]. *Neurology*, 2002, 59(4): 627-629.
- [26] Ma J, Brewer HB Jr, Potter H. Alzheimer A beta neurotoxicity: promotion by antichymotrypsin, ApoE4; inhibition by A beta-related peptides [J]. *Neurobiol Aging*, 1996, 17(5): 773-780.
- [27] Fagan AM, Watson M, Parsadian M, et al. Human and murine ApoE markedly alters A beta metabolism before and after plaque formation in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2002, 9(3): 305-318.
- [28] Rapoport M, Dawson HN, Binder LI, et al. Tau is essential to beta-amyloid-induced neurotoxicity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(9): 6364-6369.
- [29] Hoe HS, Freeman J, Rebeck GW. Apolipoprotein E decreases tau kinases and phospho-tau levels in primary neurons [J]. *Mol Neurodegener*, 2006, 1: 18.
- [30] Thambisetty M, An Y, Kinsey A, et al. Plasma clusterin concentration is associated with longitudinal brain atrophy in mild cognitive impairment [J]. *Neuroimage*, 2012, 59(1): 212-217.
- [31] Thambisetty M, Simmons A, Velayudhan L, et al. Association of plasma clusterin concentration with severity, pathology, and progression in Alzheimer disease [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2010, 67(7): 739-748.
- [32] Swardfager W, Lanctôt K, Rothenburg L, et al. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease [J]. *Biol Psychiatry*, 2010, 68(10): 930-941.
- [33] Huang CW, Wang SJ, Wu SJ, et al. Potential blood biomarker for disease severity in the Taiwanese population with Alzheimer's disease [J]. *Am J Alzheimers Dis Other Demen*. 2012, Epub ahead of print.
- [34] Laske C, Schmohl M, Leyhe T, et al. Immune profiling in blood identifies sTNF-R1 performing comparably well as biomarker panels for classification of Alzheimer's disease patients [J]. *J Alzheimers Dis*, 2012, Epub ahead of print.
- [35] 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, 100(12): 3093-3104.
- [36] Ghanbari H, Ghanbari K, Beheshti I, et al. Biochemical assay for AD7C-NTP in urine as an Alzheimer's disease marker [J]. *J Clin Lab Anal*, 1998, 12(5): 285-288.
- [37] Munzar M, Levy S, Rush R, et al. Clinical study of a urinary competitive ELISA for neural thread protein in Alzheimer disease [J]. *Neurol Clin Neurophysiol*, 2002, 2002(1): 2-8.
- [38] Montine TJ, Beal MF, Cudkovic ME, et al. Increased CSF F2-isoprostanes concentration in probable AD [J]. *Neurology*, 1999, 52(3): 562-565.
- [39] Praticò D, Clark CM, Liun F, et al. Increase of brain oxidative stress in mild cognitive impairment: a possible predictor of Alzheimer disease [J]. *Arch Neurol*, 2002, 59(6): 972-976.
- [40] Zetterberg H, Andreasson U, Hansson O, et al. Elevated cerebrospinal fluid BACE1 activity in incipient Alzheimer disease [J]. *Arch Neurol*, 2008, 65(8): 1102-1107.
- [41] Hebert S, Horr  K, Nicol  L, et al. Loss of microRNA cluster miR-29a/b-1 in sporadic Alzheimer's disease correlates with increased BACE1/beta-secretase expression [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(17): 6415-6420.

[收稿日期] 2012-12-10 [编辑] 刘星星