

尿液神经丝蛋白检测对老年阿尔茨海默病患者的临床意义

董艳娟,蔡晓平,刘莹,刘丹,贺昕

(中国人民解放军总医院第七医学中心干部病房三科,北京 100700)

[摘要] **目的** 探讨老年阿尔茨海默病(AD)患者尿液中神经丝蛋白含量检测的临床意义。**方法** AD组:门诊以及住院诊断为AD患者66例(AD组),其中男性60例,女性6例;年龄范围75~96岁,年龄(87.27 ± 4.95)岁;对照组:智能正常老人85名,其中男性72名,女性13名;年龄范围74~98岁,年龄(86.93 ± 5.21)岁,所有受试者进行认知功能测评,包括简易智能状态检查量表(MMSE)、临床痴呆评定量表(CDR),Hachinski缺血指数量表(HIS)。根据量表评分将AD组分为轻、中、重组。采集尿液标本进行尿液中神经丝蛋白(AD7c-NTP)含量检测。**结果** (1)AD组尿AD7c-NTP阳性明显高于对照组,两组阳性率比较,差异有统计学意义($P < 0.001$);(2)两组受试者年龄、性别、教育背景与AD7c-NTP含量的相关性分析(Pearson相关分析)显示,两组尿AD7c-NTP含量与以上诸因素均无明显相关性;MMSE分数与AD7c-NTP含量呈负相关,CDR分数与AD7c-NTP含量呈正相关。(3)轻度AD组与中、重度AD组尿AD7c-NTP含量比较差异有统计学意义($F = 88.756, P < 0.001$),提示尿中的AD7c-NTP含量随疾病严重程度增加而上升。**结论** 通过对老年AD患者尿液中AD7c-NTP含量检测,可以对AD的诊断提供帮助,并可能与病情严重程度有一定的关系。

[关键词] 阿尔茨海默病;神经微丝蛋白类,尿;诊断技术和方法

DOI:10.3969/J.issn.1672-6790.2019.02.009

Clinical significance of urinary AD7c-NTP detection in elderly patients with Alzheimer's disease

Dong Yanjuan, Cai Xiaoping, Liu Ying, Liu Dan, He Xin (Third Department of Cadre Ward, the Seventh Medical Center PLA General Hospital, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the clinical value of the of neuronal thread protein (AD7c-NTP) in urine of elderly patients with Alzheimer's disease. **Methods** AD group: Outpatients and hospitalized patients were diagnosed as AD patients 66 cases (AD group), including 60 males and 6 females; aged 75 to 96 years, mean age (87.27 ± 4.95) years old; control group: normal elderly 85 Names, including 72 males and 13 females; ages 74 to 98 years, mean age (86.93 ± 5.21) years, all participants assessed cognitive function assessment, including Mini-Mental State Examination (MMSE), clinical dementia Scale (CDR), Hachinski Ischemic Index (HIS). According to the scale score, the AD group was divided into mild, moderate, and severe. Urine samples were collected for urinary levels of AD7c-NTP. **Results** 1. The positive rate of urinary AD7c-NTP in AD group was significantly higher than that in control group, $P < 0.001$. 2. The correlation analysis of age, sex, education background and AD7c-NTP content (Pearson correlation analysis) showed that there was no significant correlation between urinary AD7c-NTP and the above factors; MMSE score and urinary AD7c-NTP were negative correlatively, the CDR score was positively correlated with AD7c-NTP. 3. The difference of urinary AD7c-NTP between mild and moderate AD group and severe AD group was statistically significant ($F = 88.756, P < 0.001$), suggesting that the urinary AD7c-NTP increased with the severity of the disease. **Conclusion** The detection of AD7c-NTP in the urine of elderly AD patients can help for clinical diagnosis and assessment of the severity of AD.

[Keywords] Alzheimer disease; Neurofilament proteins, urine; Diagnostic techniques and procedures

近年来,研究发现阿尔茨海默病相关神经丝蛋白(AD7c-NTP)是分子量为41 kD的跨膜磷蛋白,在神经元胞体中表达,在AD患者脑内选择性升高^[1],

与神经炎的萌发以及细胞的死亡有关。AD7c-NTP在AD患者病理特征神经元纤维缠结中大量存在,并在患者脑中呈分泌性上调表达,据此推测AD7c-NTP

基金项目:军队后勤科研面上项目(CWS11J099)

作者简介:董艳娟,主任医师,Email:dyj1219@163.com

表 1 两组基本情况比较

组别	例数	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	性别(例)		受教育年限(例)			MMSE 分数 ($\bar{x} \pm s$, 分)	CDR 分数 ($\bar{x} \pm s$, 分)	HIS ($\bar{x} \pm s$)
			男	女	≤6 年	>6 ~ <12 年	≥12 年			
对照组	85	86.93 ± 5.21	72	13	5	25	55	27.34 ± 1.18	0.0053 ± 0.0016	2.54 ± 0.44
AD 组	66	87.27 ± 4.95	60	6	6	24	36	21.89 ± 1.78	1.04 ± 0.16	2.40 ± 0.48
$t(\chi^2)$ 值		0.410	(1.300)			(1.715)		1.715	58.686	-1.831
P 值		0.682	0.326			0.424		<0.001	<0.001	0.069

注:MMSE 为简易智能状态检查量表;CDR 为临床痴呆评定量表;HIS 为 Hachinski 缺血指数量表;AD 为阿尔茨海默病,下表同

可能与 AD 的病理过程有关^[2]。因此在早期或相对严重的 AD 患者脑脊液中可检测到 AD7c-NTP 的增高,而且脑脊液中 AD7c-NTP 的水平与痴呆的严重程度相关。更进一步的研究表明在患者尿液中 AD7c-NTP 含量的检测可以达到与脑脊液检测相同的效果。本文通过对老年 AD 患者尿液中 AD7c-NTP 的检测分析其对 AD 诊断及病情严重程度的临床意义。

1 对象和方法

1.1 研究对象 选取 2015 年 10 月至 2017 年 8 月在我院干部门诊以及住院诊断为 AD 患者 66 例(AD 组),其中男性 60 例,女性 6 例;年龄范围 75 ~ 96 岁,年龄(87.27 ± 4.95)岁。另外选取在我院门诊及老年科就诊的智能正常老人 85 名作为对照组,其中男性 72 名,女性 13 名;年龄范围 74 ~ 98 岁,年龄(86.93 ± 5.21)岁,均无痴呆表现。两组研究对象基本情况比较见表 1。

全部病例年龄均在 65 岁以上,均进行系统的病史采集、神经专科查体及痴呆相关量表测试,其中包括简易智能状态检查量表(MMSE)、临床痴呆评定量表(CDR),Hachinski 缺血指数量表(HIS)。所有病例均行头部 MRI 检查,排除颅内占位性病变及感染性疾病。AD 组的纳入标准:按照美国国立神经病、语言障碍和卒中研究院(NINCDS)阿尔茨海默病和相关疾病学会(ADRDA)的诊断标准^[3];按照疾病的严重程度,根据 MMSE 与临床痴呆评定表(CDR)评分结果,将患者分为轻、中、重度 3 组,分别为 21、29、16 例;并排除其他原因引起的痴呆。对照组入组标准:无严重心脑血管疾病,血压、心电图正常,血常规、血糖及血脂均在正常范围;全部行头部 CT 及 MRI 检查,除外颅内占位性病变及感染性疾病。无神经系统体征及明显的肝、肾或内分泌疾病。MMSE ≥ 26 分;HIS ≤ 4 分;CDR < 0.5 分。

1.2 标本采集 留取受试者晨尿的中段尿,选取清

亮的标本,经尿液分析,去除不合格标本(尿蛋白异常、尿液中有红白细胞或有细菌生长、尿 PH 值异常、尿糖、酮体、硝酸盐、胆红素或尿胆原阳性)。合格标本离心 5 min,取上清液进行 AD7c-NTP 检测,严格按照试剂盒说明书操作。

1.3 仪器与试剂 深圳汇松科技发展有限公司生产的多功能酶标分析仪(MB-580 型),试剂盒:来自深圳安群生物工程有限公司提供的阿尔兹海默病相关神经丝蛋白检测试剂盒(酶联免疫法)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,计量资料符合正态分布的以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料进行 χ^2 检验,相关分析采用 Pearson 相关分析,组内两两比较采用 LSD 方法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 AD7c-NTP 测定结果 AD 组尿 AD7c-NTP 阳性明显高于对照组,两组阳性率比较,差异有统计学意义($P < 0.001$)。见表 2。AD 组尿 AD7c-NTP 的平均水平(3.02 ± 1.53) μg/L 明显高于健康对照组(1.28 ± 1.16) μg/L,两组间差异有统计学意义($t = 4.439, P < 0.001$)。

表 2 AD 组与对照组尿 AD7c-NTP 阳性率比较

组别	例数	阳性(例)	阴性(例)	阳性率(%)
对照组	85	9	76	10.59
AD 组	66	59	7	89.39
χ^2 值				93.211
P 值				<0.001

2.2 两组间 MMSE、CDR 评分与 AD7c-NTP 含量相关性分析 两组受试者年龄、性别、教育背景与 AD7c-NTP 含量的相关性分析(Pearson 相关分析)显示,两组尿 AD7c-NTP 含量与以上诸因素均无明显相关性;MMSE 分数与 AD7c-NTP 含量呈负相关,CDR 分数与 AD7c-NTP 含量呈正相关。见表 3。

表 3 各指标与尿 NTP 含量相关性分析

统计学处理	性别	年龄	受教育年限	MMSE 分数	CDR 分数	Hachinski 指数
Pearson 相关性	0.004	0.028	-0.024	-0.747	0.853	-0.138
P 值	0.960	0.736	0.769	<0.001	<0.001	0.091

2.3 尿 AD7c-NTP 含量变化与 AD 严重程度的关系 轻度 AD 组 [(2.02 ± 0.48) μg/L] 与中度 [(2.89 ± 0.15) μg/L]、重度 AD 组 [(3.36 ± 0.27) μg/L] 尿 AD7c-NTP 含量比较,三组间两两比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.001$);三组比较,差异有统计学意义 ($F = 88.756, P < 0.001$),且尿中的 AD7c-NTP 含量随疾病严重程度增加而上升。

3 讨论

近年来,随着对于 AD 的研究不断进展,与 AD 相关的生物学标志物逐渐被发现,如 tau 蛋白、磷酸化的 tau 蛋白和 Aβ42^[4]。目前得到公认的诊断阿尔茨海默病的生物学标记有“c-匹兹堡复合物 B”(C-PIB),PET、基因检测,以及脑脊液总 tau 蛋白、磷酸化 tau 蛋白、B-淀粉样蛋白 42(Aβ42),其中,C-PIB PET 和基因检测费用昂贵,检测较为繁琐;而且上述脑脊液标志物的方法均为有创性,患者依从性较差,限制了这些方法的临床应用。

20 世纪末 Monte 等^[1]从 AD 患者的脑脊液中分离出 AD7c-NTP 神经丝蛋白,并发现这种蛋白在神经元中表达,定位于神经细胞轴突,在 AD 患者的皮层神经元、脑组织抽提物、脑脊液中都有升高,并且发现其含量与痴呆的严重程度成相关^[5]。随后的研究发现 AD 患者尿样本中 AD7c-NTP 相对分子质量与脑组织及脑脊液中 AD7c-NTP 相对分子质量相同,对于诊断 AD 有较高的敏感度和特异度^[6],为临床使用尿 AD7c-NTP 含量对 AD 的诊断,提供了一项有重要意义的检测手段。并且尿液 AD7c-NTP 检测为一项无创体外检测方法,样本采集方便,易于被患者接受,这使得通过检测尿液中的 AD7c-NTP 来协助诊断 AD 成为可能。

本研究以老年人为研究对象,对尿液 AD7c-NTP 含量进行检测,结果发现在老年 AD 患者中尿 AD7c-NTP 水平较健康对照组增高,差异有统计学意义 ($P < 0.001$),提示尿 AD7c-NTP 水平检测有助于 AD 的诊断,与国内外研究结果一致^[4-5]。并且 AD7c-NTP 水平与 AD 严重程度呈正相关,轻度、中

度、重度 AD 组尿 AD7c-NTP 的含量有显著差异,并且随病情的严重程度增高,提示尿 AD7c-NTP 水平检测有可能对于 AD 严重程度的判定有一定帮助。尿 AD7c-NTP 属于神经丝蛋白家族,在早中期 AD 患者的脑组织、脑脊液、尿液中均有所升高,有研究报道尿 AD7c-NTP 与认知障碍患者的 Aβ 沉积方面具有较高特异性和中等敏感性^[7];其含量与痴呆的严重程度相关使得其有可能成为 AD 的特异性生物标志物。检测尿液中的 AD7c-NTP 水平,方法具有无创性,标本留取方便,易被老年患者接受;ELISA 检测方法可操作性强、简单、方便,易于在临床开展,有助于早期发现和诊断 AD。

参考文献

[1] DE LA MONTE S M, WANDS J R. The AD7c-NTP neural l thread protein biomarker for detecting Alzheimer's diseaseEJ3[J]. J Alzheimers Dis, 2001, 3(3):345-353.

[2] LEVY S, MCCONVILLE M, LAZARO G A, et al. Competitive ELISA studies of neural thread protein in urine in Alzheimer's diaease[J]. J Clin Lab Anal, 2007, 21(1): 24-33.

[3] DUBOIS B, FELDMAN H H, JACOVA C, et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria[J]. Lancet Neurol, 2007, 6(8):734-746.

[4] RACHAKONDA V, PAN T H, LE W D. Biomarkers of neurodegenerative disorder;How good are they? [J]. Cell Res, 2004, 14(5):347-358.

[5] 李亚健,潘逸茹,王亚岚,等. 老年阿尔茨海默病患者尿液中神经丝蛋白含量的研究[J]. 中国临床神经科学, 2014, 22(2):198-202.

[6] 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.

[7] ZHANG N, ZHANG L, LI Y, et al. Urine AD7c-NTP predicts amyloid deposition and symptom of agitation in patients with Alzheimers disease and mild cognitive impairment[J]. J Alzheimers Dis, 2017, 60(1):87-95.