

DOI: 10.13376/j.cblls/2021064

文章编号: 1004-0374(2021)05-0611-10

## 阿尔茨海默病生物标志物研究进展

赵 慧, 沈 逸\*

(浙江大学脑科学与脑医学学院, 卫生部医学神经生物学重点实验室, 杭州 310058)

**摘 要:** 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种常见的神经退行性疾病, 以胞外淀粉样蛋白 (amyloid- $\beta$ , A $\beta$ ) 沉积和胞内神经纤维缠结为主要病理特征。AD 发病机理尚未完全探明, 并且缺乏有效的早期临床诊断方法, AD 患者往往在轻度认知障碍 (mild cognitive impairment, MCI) 和痴呆 (dementia) 阶段才会就医, 错过治疗的最佳有效期。生物标志物可以帮助诊断特定疾病的有无及其病理进程, 因此, 研发 AD 生物标志物对筛查早期 AD 患者和及时干预治疗 MCI 患者具有重要的临床意义。与现有 AD 可能的致病假说相似, AD 生物标志物的研究主要集中在 A $\beta$ 、微管相关蛋白 (tau protein, Tau) 和炎症相关因子等方面。该文对近年来 AD 生物标志物的类别、应用依据及优缺点等方面展开综述。

**关键词:** 阿尔茨海默病; 生物标志物; 轻度认知障碍; 临床诊断;  $\beta$ -淀粉样蛋白

中图分类号: R741 文献标志码: A

## Biomarkers for Alzheimer's disease

ZHAO Hui, SHEN Yi\*

(Department of Neurobiology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China)

**Abstract:** Alzheimer's disease (AD) is a common neurodegenerative disease characterized by the occurrence of senile plaques containing amyloid  $\beta$  (A $\beta$ ) aggregates and neurofibrillary tangles formed by hyperphosphorylated tau in the brain. However, the pathogenesis of AD has not been fully explored. Due to the lack of effective early clinical diagnosis, AD patients usually miss the best treatment period since patients tend to seek medical advice at the symptomatic stages of mild cognitive impairment (MCI) or dementia. Biomarkers are molecular signatures and indicators of normal biological and pathological processes. Thus, the development of AD biomarkers has important clinical significance for screening early AD patients and timely intervention and treatment of MCI patients. The majority of biomarkers for AD has focused on the A $\beta$  cascade hypothesis, hyperphosphorylated tau and inflammatory factors. In this review, we describe the categories, application basis, advantages and disadvantages of AD biomarkers in recent years, and raise a few key open questions in the research field.

**Key words:** Alzheimer's disease; biomarkers; mild cognitive impairment; clinical diagnosis; amyloid- $\beta$

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是最常见的神经退行性疾病之一, 也是导致痴呆的最重要原因。截至 2020 年, 全球 AD 患者人数约 3 500 万, 预计到 2050 年, 这一数字将增至 1.52 亿<sup>[1]</sup>。中国有超过 1 000 万的 AD 患者, 患者数量和发病率增速均位于世界首列。然而, 与庞大的患者数量相比, 临床上 AD 患者就诊率只有 25%~26%, 其中接受规范化治疗的患者不足五分之一<sup>[2]</sup>。其主要原因是 AD 前期病程隐匿, 现有临床检测手段匮乏, 患者

不能尽早确诊并接受治疗。

AD 的病程分为症状前阶段 (pre-symptomatic phase)、前驱阶段 (prodromal phase) 或轻度认知障碍 (mild cognitive impairment, MCI) 和痴呆阶段

收稿日期: 2020-12-23; 修回日期: 2021-02-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(81971139); 中央高校基本科研业务费专项资金资助(2019FZA7004)

\*通信作者: E-mail: yshen2@zju.edu.cn; Tel: 0571-88208546

(dementia), 整个病程约 20~30 年<sup>[1,3]</sup>。AD 症状前阶段或 MCI 阶段的患者仅能在脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 或血液中检测到  $\beta$ -淀粉样蛋白 (amyloid- $\beta$ , A $\beta$ )、微管相关蛋白 (tau protein, Tau) 等因子的变化, 此阶段认知功能没有或轻微损伤。痴呆阶段患者, 即我们常说的 AD 患者, 已经处于病程后期, 表现出明显的临床症状, 如难以执行日常任务、出现性格和行为改变, 甚至卧床不起、进食饮水困难, 最终死亡。5 年随访研究表明, 65 岁以上的 MCI 患者中约 32% 最终发展为 AD 痴呆<sup>[4]</sup>。由于目前 AD 发病机理尚未探明, 并且缺乏有效的早期诊断方法, 患者往往出现明显的认知障碍后才就医。美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 现已批准的 AD 治疗药物只能暂时改善患者认知功能, 例如卡巴拉汀、多奈哌齐等; 美金刚虽然推荐中重度患者使用, 但 FDA 并没有专门批准用于治疗中、重度 AD 认知损伤症状的药物<sup>[1]</sup>。有效治疗 AD 药物的研发缓慢的重要原因之一是仍不清楚 AD 病程中精确的分子变化过程<sup>[1]</sup>。这些临床现状督促研究者们尽早开发出高效、精准、快速的针对症状前阶段和 MCI 阶段的检测手段, 使患者在早期就能确诊, 并能精确区分患者的不同病程阶段, 从而为针对性的诊疗手段提供依据。生物标志物是可以被测量的, 指示疾病的存在或不存在、发生疾病的风险或疾病进展的生物学因素, 适用于肿瘤、心血管病变等疾病<sup>[5]</sup>。如果可以通过检测生物标志物将潜在的症状前阶段或 MCI 阶段的 AD 患者筛查出来, 在患者出现明显认知损伤前进行合理的临床干预, 能大大缓解患者、患者家庭及整个社会的压力。此外, 发展 AD 生物标志物对临床受试者选择、药物效用检测和 AD 治疗等都有巨大的意义。

## 1 AD生物标志物发展史

Cliffor 等<sup>[5]</sup>在 2010 年对 AD 的病因假说进行归纳, 认为脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 中 A $\beta$  水平异常下降、A $\beta$  寡聚体或纤维体在胞外不正常聚集、胞内过磷酸 tau 蛋白 (p-Tau) 含量上升和细胞氧化应激, 会引起神经元损伤、钙平衡紊乱和炎症因子释放的增加, 从而使突触功能失调, 神经元代谢异常, 功能脑区萎缩, 最后导致认知损伤。影像学研究证明 AD 病变最早影响的脑区是内嗅皮层, 患者的空间记忆受损; 继而扩散到海马、侧脑室、杏仁核等区域, 对患者认知功能产生影响<sup>[6-7]</sup>。由于目前缺乏 AD 发病机理的确切证据, 临床上常根

据非生物标志物和 CSF 生物标志物检测来判断患者是否患有 AD。

### 1.1 AD非生物标志物及其局限性

非生物标志物是指除生物学因素外的其他能够判定疾病有无及病理进程的方法。目前非生物标志物诊断方式主要包括简易精神状态检查量表 (mini-mental state examination, MMSE)、磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 和 <sup>18</sup>F 标记的脱氧葡萄糖 - 正电子发射断层扫描 (<sup>18</sup>FDG-PET) 技术。MMSE 是目前公认的痴呆筛查量表, 包括记忆力、定向力、计算力与注意力、回忆、语言等 11 个方面, 易于操作<sup>[8]</sup>。MRI 能检测认知相关脑区的形态学变化程度, 如皮层 (特别是内嗅皮层)、海马的萎缩程度、侧脑室的扩大面积等, 为诊断患者痴呆水平提供依据<sup>[9]</sup>。<sup>18</sup>FDG-PET 技术可以间接反映神经元生理状况, 结合相关数据建模分析能相对准确地判断功能脑区连接性的变化, 在一定程度上能特异性区分 AD 病理进程<sup>[10-11]</sup>。上述三种方法在 AD 诊断、病程判断过程中提供了一定程度的帮助, 但是局限性也相对较大, 表现为以下 4 点<sup>[8-12]</sup>: (1) 三种方法几乎在患者发展到 AD 中晚期才能发挥作用, 而无法“预防”潜在 AD 或在早期神经元代谢活动异常时做出诊断; (2) MRI、PET 设备体积庞大, 成本较高, 对研究人员数据分析能力要求高; (3) MRI、PET 实验结果因仪器品牌、参数设置、数据分析等因素不同, 会导致跨国或跨洲研究数据的波动性大, MMSE 测试准确性也因患者表现而受一定程度的限制; (4) 仅用非生物标志物检测方法无法将 AD 与其他病因导致的痴呆区分开。相比之下, 生物标志物因其诊断期早、成本较低、灵敏度高等特点在近年备受关注。

### 1.2 AD生物标志物发展历史

1989 年, Bliwise 等<sup>[13]</sup>和 Sharma 等<sup>[14]</sup>两个研究组首次以论文形式正式提出 AD 生物标志物的概念。迄今 31 年间有 7 000 余篇文章探究该问题, 且发表文章数量逐年攀升。研究者早期工作侧重于开发能区别 AD 与其他痴呆症的生物标志物, 如血浆总半胱氨酸 (plasma total homocysteine)、异前列腺素 (isoprostanines) 等<sup>[15]</sup>, 但后续研究发现, 上述标志物往往在患者出现严重认知功能损伤时才能被检测到。随着研究深入, 人们发现患者 CSF 和血液中 A $\beta$ 、Tau 等生物标志物在症状前阶段和 MCI 阶段即可检测, 尤其是毒性较大的 A $\beta$ <sub>42</sub>, 在认知功能正常的患者 CSF 中检测到异常下降; 随后可以检测到

患者 CSF 中 Tau 升高及患者大脑结构的异常变化——这些都发生在 AD 症状前阶段<sup>[5]</sup>。因此, 欧洲药品管理局、FDA 分别于 2011 年、2013 年宣布  $A\beta_{42}$  和 Tau 可以作为筛查 AD 的生物标志物。之后, AD 的生物标志物还细分出诊断型生物标志物 (diagnostic biomarker)、预后型生物标志物 (prognostic biomarker) 等概念。另外, 随着基因测序及生物信息学的发展, 人们期望能在早期筛查到自己是否有高患病率, 风险因子型生物标志物 (risk factor biomarker) 应运而生, 检测载脂蛋白 E 基因 (apolipoprotein E, APOE) 的等位基因型、拷贝数一定程度上可预测患病风险<sup>[16-17]</sup>, 但目前尚未成为 AD 的临床诊断标准。

Shaw 等<sup>[18]</sup>认为, 理想的 AD 生物标志物应具有以下特点: (1) 能检测 AD 基本的病理特征; (2) 对患者入侵性小; (3) 结果易于分析; (4) 价格便宜; (5) 对疾病的特异性及敏感性足够高; (6) 最好能预示出 AD 最佳的治疗阶段; (7) 能一定程度反映治疗的作用机理。尽管现在尚未开发出满足上述特点的试剂, 但是全球 AD 研究机构及药企正为之努力。

## 2 现有AD生物标志物

2018 年, 美国国家老龄研究所 - 老年痴呆症协会 (NIA-AA) 基于 AD 的不同病理测量过程将生物标志物分为:  $A\beta$  累积相关生物标志物 (A)、Tau 累积相关生物标志物 (T) 及神经退行 (neurodegeneration, N) 相关生物标志物或特定病理过程的其他生物标志物, 简称为 ATN<sup>[19]</sup>。如果患者检测  $A\beta$  累积相关生物标志物阳性, 则可认为其处在 AD 病理连续状态中。生物标志物呈阳性的组别越多, AD 病理阶段就越高。但需要注意的是, 生物标志物的 ATN 评分与临床症状无关<sup>[19-20]</sup>。

### 2.1 $A\beta$ 累积相关生物标志物

#### 2.1.1 $A\beta_{42}$

1995 年, Motter 等<sup>[21]</sup>首次用酶联免疫吸附测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 方法检测 CSF 中  $A\beta_{42}$  含量, 结果显示 AD 患者 CSF 内  $A\beta_{42}$  含量显著减少。尸检结果表明 CSF 内  $A\beta_{42}$  量与斑块量成反比, 且  $A\beta_{42}$  在淀粉样沉积斑块中占主导, 预示其能代表皮质  $A\beta$  沉积的情况<sup>[22-23]</sup>。2014 年, Weiner 等<sup>[12]</sup>发现, AD 患者 CSF 内  $A\beta_{42}$  含量较正常人低 50% 左右, 可以作为临床上 AD 的检测标准。在实际应用时发现, CSF 中  $A\beta_{42}$  含量虽然最早出现变化, 但其单独作为诊断依据的检测效率低于  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  比值的检测<sup>[23-24]</sup>。这是因为  $A\beta_{42}$  会形成

寡聚态或结合其他阻断检测抗体识别表位的分子, 降低了 ELISA 检测效率<sup>[25-26]</sup>。 $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  比值构成“CSF AD 曲线”, 其下降趋势在 AD 患者中异常明显<sup>[27]</sup>, 能更可靠地检测 AD 早期的病理变化, 并为药物测试提供参考依据。此外, 研究表明截短形式及翻译修饰后的  $A\beta$  片段 (如焦谷氨酸  $A\beta_{42}$ ) 可能更容易产生致病性聚集<sup>[28-29]</sup>, 因此在 AD 检测中确定要测量何种形式的  $A\beta_{42}$  显得尤为重要。

#### 2.1.2 淀粉样蛋白PET

应用 11C-PiB (11C-6-OH benzothiazole) 或 <sup>18</sup>F-florbetaben 对  $A\beta$  进行特异性标记并结合 PET 技术能观察到患者脑内  $A\beta$  的分布情况。这使得发现及预测早期 AD 成为可能, 且便于医生结合功能脑区诊断疾病<sup>[30]</sup>。淀粉样蛋白 PET 能准确检测前驱性 AD 及预测 MCI 向 AD 转化的风险<sup>[31-32]</sup>。

## 2.2 Tau累积相关生物标志物

### 2.2.1 p-Tau

分子生物学结果显示, AD 患者脑内的 Tau 倾向于在 181、231 位点的苏氨酸发生磷酸化, 也有研究认为 p-Tau<sub>217</sub> 更能表征 AD 的有无<sup>[33-34]</sup>。异常的 p-Tau 丧失其稳定微管的功能, 在神经元中聚集形成有毒的神经纤维缠结, 因此 p-Tau 水平对于前驱阶段患者向 AD 晚期转化的可能性评估意义重大。与路易体痴呆 (dementia with lewy body, DLB)、额颞叶痴呆 (frontotemporal dementia, FTD)、血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 等其他痴呆不同, AD 患者 CSF 中 p-Tau 水平随病程进展明显上升<sup>[23]</sup>。P-Tau<sub>181</sub>/ $A\beta_{42}$  比值与 AD 临床表型的严重程度呈正相关, 并能预测患者未来的认知水平<sup>[34]</sup>。Apostolova 等<sup>[35]</sup>发现, p-Tau 与海马体萎缩相关程度最强。故 p-Tau 能在一定程度上特异性诊断 AD, 甚至能区分 AD 病理进程的不同阶段。

### 2.2.2 Tau蛋白相关PET

Tau PET 示踪剂可与异常折叠的 Tau 蛋白结合, 这使得研究者能观察到衰老的大脑中的 Tau, 并从病理学角度阐明 Tau 蛋白与 AD 的关系<sup>[36]</sup>。研究表明, 与对照组相比, Tau PET 结合信号水平在家族性 AD 患者中升高, 且这种现象可能出现在认知功能障碍的起始阶段<sup>[37]</sup>。2020 年, La Joie 等<sup>[38]</sup>对 32 位处在 MCI 或轻度痴呆期的患者进行 Tau PET 和淀粉样蛋白 PET 检测, 发现 Tau PET 对患者未来脑萎缩程度预测效果较好。同时, Tau PET 预测结果能根据患者就医时的认知水平做出相应调整, 突出了 Tau PET 作为精准医疗工具的重要性和可能性。

## 2.3 神经变性相关生物标志物

### 2.3.1 t-Tau

1995年,名为“INNOTEST”的ELISA试剂盒发布,其能识别Tau的六个亚型,因此被称为总Tau蛋白(t-Tau)测定<sup>[39]</sup>。t-Tau反映神经变性的程度,相对于健康人,多数AD患者CSF中t-Tau水平升高。不仅如此,CSF中t-Tau的蛋白水平与MCI向AD转化的速度有关<sup>[40]</sup>。但CSF内t-Tau的正常并不能排除患者后续会发展成AD的可能,单纯以t-Tau水平作为AD的鉴别诊断并不可靠。Schneider等<sup>[41]</sup>经数据分析发现,log(t-Tau/A $\beta_{42}$ )能更有效地评估MCI发展为AD的过程,并与MRI的评分结果一致。

## 2.4 A $\beta$ 病理学其他生物标志物

### 2.4.1 A $\beta$ oligomers

越来越多的研究者认为,A $\beta$ 寡聚物(A $\beta$  oligomers)在AD发病过程中起关键作用。AD动物模型研究发现,A $\beta$ 寡聚物是引起AD早期神经元突触前功能紊乱的重要原因<sup>[42]</sup>。小鼠海马切片经寡聚态A $\beta$ 处理后,神经元长时程增强(long-term potentiation, LTP)被抑制,长时程抑制(long-term depression, LTD)被增强,树突棘密度减小<sup>[43-44]</sup>。Sinha等<sup>[45]</sup>证明寡聚态A $\beta$ 与神经元内外泌体存在很强的共定位,表明外泌体在A $\beta$ 分选和寡聚化中起作用。这在一定程度上解释了A $\beta$ 是如何通过种子形式在不同细胞间进行传递的。

检测AD患者CSF或者血液中A $\beta$ 寡聚物量的变化用于AD的预测或诊断一度被寄予厚望。但实际应用中,ELISA或单分子荧光显微方法检测CSF或血浆中A $\beta$ 寡聚物含量的结果并不理想,甚至出现相反结论<sup>[46-49]</sup>。Schuster等<sup>[50]</sup>认为,由于A $\beta$ 寡聚物自身的多态性及不稳定性、溶液中含低且存在A $\beta$ 单体等原因,目前没有较好的方法证明其在AD临床诊断上的作用。但未来若能解决上述问题,A $\beta$ 寡聚物不失为一个很好的AD生物标志物。

### 2.4.2 BACE1

淀粉样前体蛋白 $\beta$ 位点裂解酶1( $\beta$ -amyloid precursor protein cleaving enzyme 1, BACE1)主要在大脑神经元中丰富表达,其活性异常增加会剪切更多的淀粉样前体蛋白(amyloid-precursor protein, APP)产生A $\beta$ 。在AD小鼠模型和患者的大脑中,淀粉样斑块周围正常和营养不良的神经元突触前末梢均有BACE1累积,推测BACE1可能是通过增加神经突触附近A $\beta$ 的产生而加速AD病程<sup>[51]</sup>。所以,监测CSF中BACE1或其上游分子的活性变化能帮助预

测AD病程的发展。研究表明,MCI患者、AD患者、正常人的CSF和血浆内BACE1活性或蛋白含量依次递减<sup>[52-53]</sup>。与病理进程稳定的MCI或AD患者相比,由MCI最终向AD转变的患者的血浆BACE1活性更高<sup>[54]</sup>,故BACE1对筛选AD早期患者具有很高的临床价值。

### 2.4.3 APOE

APOE是被广泛认可的AD风险预测生物标志物。APOE促进A $\beta$ 变为神经毒性片段,包括A $\beta$ 寡聚态和纤维态,且A $\beta_{42}$ 的量取决于APOE  $\epsilon 4$ 等位基因的量,其中纯合子相关的A $\beta_{42}$ 浓度最高<sup>[55]</sup>。同时,APOE  $\epsilon 4$ 等位基因通过影响血脑屏障(blood-brain-barrier, BBB)的完整性干扰脑内A $\beta$ 的清除<sup>[56]</sup>。流行病学数据表明,APOE  $\epsilon 4$ 纯合子患AD风险超过50%,APOE  $\epsilon 4$ 杂合子、APOE  $\epsilon 3$ 人群患病概率约为20%~30%<sup>[56]</sup>。在正常老年APOE  $\epsilon 4$ 携带者中,脑室扩张程度与CSF A $\beta_{42}$ 降低水平呈正相关;而在APOE  $\epsilon 4$ 阳性的AD患者中,脑室扩张与CSF Tau含量相关<sup>[57]</sup>。这提示,将APOE与CSF核心生物标志物结合检测,能够提高AD患者临床的诊断准确率。

### 2.4.4 激肽释放酶8

激肽释放酶8(Kallikrein-8, KLK8)是一种与新记忆获取及焦虑相关的蛋白质。动物实验证明,在脑内抑制KLK8表达可以阻碍APP加工,促进A $\beta$ 跨过血脑屏障进行清除<sup>[58]</sup>。临床结果显示KLK8在症状前阶段患者CSF中异常升高,同时其对AD引起的MCI患者的检测效率高于A $\beta_{42}$ <sup>[59]</sup>。尽管目前尚未探明KLK8在AD中的分子机制,但其作为早期AD生物标志物的潜在临床价值已经凸显。

## 2.5 突触功能失调相关生物标志物

AD患者大脑灰质区中的神经元突触在疾病早期阶段明显变性和丧失<sup>[60]</sup>。与淀粉样斑块或Tau缠结相比,突触丢失的严重程度与认知障碍水平的关系更为密切。同时,突触的动态可塑性预示其会随着治疗的成功而迅速改变。所以,突触相关生物标志物的变化情况不仅能预示疾病的发生,还能表征其临床治疗的效果。

### 2.5.1 SNAP-25和syntaxin-1

突触间信息成功传递需要突触小泡与突触前膜进行正常识别和融合,此过程依赖SNARE复合蛋白(soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor),其中主要位于突触小泡上的SNAP-25(synaptosomal-associated protein 25)和位于突触前膜上的syntaxin-1对胞吐作用和递质释放至关重

要<sup>[61]</sup>。尸检发现 AD 患者大脑存在几种突触蛋白水平的改变, 其中 SNAP-25 和 syntaxin-1 在皮层的含量均低于正常人, 而在 AD 及 MCI 组 CSF 中含量则明显高于正常组<sup>[62-63]</sup>。Öhrfelt 等<sup>[62]</sup>开发了一种用于评估 CSF 中 SNAP-25 含量的新型灵敏 ELISA 试剂盒, 这种方法可以较准确区分 AD 患者、MCI-AD 患者及健康人。另外, 后续发展为 MCI 或 AD 的认知功能正常个体的 CSF 中 SNAP-25/A $\beta_{42}$  比值较非进展组显著升高<sup>[64]</sup>, 提示 SNAP-25/A $\beta_{42}$  可能用于特异性筛查进展型 MCI 患者和 AD 患者, 有望开发为 AD 病理进程检测的生物标志物。

### 2.5.2 Neurogranin

Neurogranin (Ng) 在皮层和海马兴奋性神经元中表达, 是钙调蛋白结合蛋白 (calmodulin-binding protein) 之一, 参与突触后信息传递, 在 LTP 活动中起重要作用<sup>[65]</sup>。研究表明自 AD 发病至 AD 晚期, 大脑多个脑区内 Ng mRNA 水平随年龄增加而逐渐减少, 其中 AD 组海马和额叶皮层 Ng 含量明显下降, 表明功能脑区突触后信息传递出现问题<sup>[66]</sup>。2014 年, ADNI 机构<sup>[12]</sup>研究随访 4 年发现, AD 组患者 CSF 中的 Ng 较健康人明显降低; 而在 MCI 患者中, 进展为 AD 的人群的 CSF 中 Ng 量低于其他 MCI 患者<sup>[67-68]</sup>。这些结果表明 Ng 不仅能预测疾病进展, 且一定程度上能预测患者认知受损程度。另一项研究显示, 根据 CSF 中 Ng 的变化水平可以区分 AD 患者和 FTD 患者<sup>[69]</sup>, Ng 与其他生物标志物联合使用在筛查 AD 患者方面有较大的应用价值。

### 2.6 胶质细胞相关炎症反应生物标志物

多种髓系细胞均表达 TREM2 (triggering receptor expressed on myeloid cells 2) 蛋白, 其与受体形成复合物后能激活相关免疫反应。AD 患者脑中异常增加的淀粉样沉积和衰老细胞碎片可能是小胶质细胞上 TREM2 表达增强的原因, AD 早期 TREM2 量和 A $\beta$  量一同上升, 后期 TREM2 过度激活导致相关免疫级联反应增强而产生致病效果<sup>[70]</sup>。研究发现 TREM2 缺失降低了小胶质细胞的存活率, 损害小胶质细胞对包括 APOE 在内的关键底物的吞噬作用, 并抑制了 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 介导的小胶质细胞趋化作用, 最终减弱机体对淀粉样斑块的清除效率<sup>[71]</sup>。

与健康人相比, AD 组和 MCI 组 CSF 中可溶性的 TREM2 (s-TREM2) 略有升高, 但 AD 患者的外周血单核细胞 TREM2 mRNA 及蛋白表达量均明显升高, 这种变化与认知能力呈负相关<sup>[72-73]</sup>。2020 年, 两个课题组分别证明 CSF 中 s-TREM2 的量与 Tau

病程及 A $\beta$  沉积量有关, 并且 CSF 中 s-TREM2 水平表现出与患者年龄明显的正相关性<sup>[74-75]</sup>。故一定程度上, s-TREM2 能作为诊断 AD 患者的参考依据。

### 2.7 血管病变相关生物标志物

心型脂肪酸结合蛋白 (heart-type fatty acid binding protein, hFABP) 是心肌梗死的疾病生物标志物。CSF 中 hFABP 含量仅次于肌肉组织, 但其来源尚不明确<sup>[23]</sup>。内嗅皮层及其他易受 AD 损害脑区的萎缩程度、CSF 中 A $\beta_{42}$  含量与 hFABP 含量存在显著关联。CSF hFABP 可以反映 AD 早期对大脑结构的影响, 但对患者的认知水平无明显影响<sup>[76]</sup>。相反, 另一项 meta 分析显示 CSF 中 hFABP 与 AD 认知障碍有关, 而血液中 hFABP 与 AD 无明显相关性<sup>[77]</sup>。这说明 hFABP 作为 AD 生物标志物可能需要在特定的检测样本中才能发挥作用。在一项 149 个 AD 患者、92 个正常人的研究中, 单独使用 CSF hFABP 区分的敏感度及特异性分别为 57% 和 35%, 但结合 CSF 核心生物标志物共同分析后, 敏感度及特异度可分别提升至 83% 和 86%<sup>[78]</sup>。

### 2.8 昼夜节律相关生物标志物

患有神经退行性疾病的人群表现出严重的昼夜节律紊乱。钟蛋白 (brain and muscle ARNT-like 1, BMAL1) 是控制生物昼夜节律的关键蛋白, 有研究证实 A $\beta$  肽在培养的细胞中可以诱导 BMAL1 降解, 继而引起昼夜节律分子表达水平改变<sup>[79]</sup>。虽然尚未在动物或人类体内证明 A $\beta$  和昼夜节律分子之间存在直接相互作用, 但尸检发现, AD 患者脑组织 BMAL1 启动子出现甲基化改变, 表明了昼夜节律紊乱的潜在表观遗传机制<sup>[80]</sup>。关于昼夜节律紊乱是 AD 的原因还是结果的问题讨论, 有助于确定节律分子是否可以作为 AD 预测的生物标志物, 这还需要更多在体实验和临床试验的验证。

### 2.9 血液相关生物标志物

CSF 的收集具有侵入性且成本较高, 这在一定程度上阻碍了其处在症状前阶段及认知正常 -MCI 期患者的识别。血液中的多种候选生物标志物样本更易制得, 因此发展前景可能会更广阔。Nam 等<sup>[81]</sup>对正常组、MCI 组和轻度痴呆组患者进行为期 4 年的随访研究, 发现血浆 p-Tau 含量上升与 MMSE 得分下降有显著相关性。血浆中神经丝轻链 (neurofilament light chain, NfL) 在家族性 AD 症状前阶段明显上升, 同时血清中 NfL 含量变化率的峰值时期能够匹配患者症状前阶段向 MCI 过渡的时期<sup>[82]</sup>。

测量血液生物标志物具有一定挑战性。首先,

表1 候选AD生物标志物汇总

分类	生物标志物	检测样本	相关病理机制	最早可检测时期及相较于正常组变化	补充说明	参考文献
A	A $\beta$ <sub>42</sub>	CSF	A $\beta$ 病理	症状前阶段, 下降	A $\beta$ <sub>42</sub> /A $\beta$ <sub>40</sub> 检测效率更高	[21-24]
	淀粉样蛋白PET	大脑	A $\beta$ 病理	MCI期, A $\beta$ 沉积水平升高	/	[31-32]
T	P-Tau	CSF	Tau病理	MCI向AD痴呆转化时期, 上升	P-Tau <sub>181</sub> /A $\beta$ <sub>42</sub> 也可表征临床严重程度	[23,34-35]
	Tau蛋白相关PET	大脑	Tau病理	MCI期, Tau沉积水平升高	/	[36-38]
N	T-Tau	CSF	Tau病理	MCI期, 上升	Log(t-Tau/A $\beta$ <sub>42</sub> )评估效果更好	[39-41]
	A $\beta$ oligomers	CSF	A $\beta$ 病理	/	结果不稳定	[46-49]
其他	BACE1	CSF	A $\beta$ 病理	MCI期, 多数结果支持上升	/	[52-54]
	APOE	DNA	A $\beta$ 病理	/	风险预测标志物	[56-57]
	KLK8	CSF	A $\beta$ 病理	症状前阶段, 上升	/	[59]
	SNAP-25	CSF	突触功能失调	MCI期, 上升	SNAP-25/A $\beta$ <sub>42</sub> 也可提示AD病程进展	[62-64]
	Syntaxin-1	CSF	突触功能失调	MCI期, 上升	/	[62-63]
	Neurogranin	CSF	突触功能失调	MCI期, 多数结果支持上升	/	[67-69]
	TREM2	CSF	炎症响应	MCI期, 多数结果支持上升	可溶性TREM2应用较多	[72-75]
	HFABP	CSF	血管病变	MCI期, 上升	/	[76-78]
	BMAL1	脑组织	昼夜节律异常	/	/	[80]
	P-Tau	血浆	Tau病理	MCI期, 多数结果支持上升	/	[81]
	NfL	血浆	突触功能失调	症状前阶段, 上升	/	[82]

血脑屏障的存在使得脑源生物标志物在血液中的含量较低, 对检测灵敏度有更高的要求。其次, 与AD病理相关的一些生物标志物也会在外周表达, 会对检测结果造成一定的干扰。但由于血液标志物的易得性和可操作性, 目前越来越多的研究组正投身于此方向。

本文涉及的候选AD生物标志物信息总结见表1。

### 3 对AD生物标志物的评价及展望

回顾之前研究发现, 大多数生物标志物存在几个缺点: (1) 单独使用一种生物标志物检测, 对疾病的敏感性和特异性不高; (2) 影像学检查结果和CSF生物标志物之间可能不一致; (3) 生物标志物检测结果因实验标准、检测方法、分析方法的不同而具有较大差异; (4) AD在男女中发病率有明显差异, 用同一种生物标志物衡量不同性别受试者患病风险是否科学。目前针对单一生物标志物检测敏感度较低的问题, 科研人员和医生们通过将生物标志物和非生物标志物检测手段结合, 或组合使用多种生物标志物, 提高AD临床检测准确率。联合使用CSF核心生物标志物、PET及MRI后, AD临床检测效率能提升至90%以上<sup>[83]</sup>。CSF生物标志物本质上反映了患者脑内特定时间点相关蛋白质的产生和清除的速率; 成像结果代表了患者脑内随时间推移所累积的神经病理变化损伤。对于两种检测手段结果不同的情况, 研究认为单就病程中某个时间切点分析, 两个量度之间存在时间偏移。但从AD的长期性来看, 两种检测手段预示的结果是一致的<sup>[84-85]</sup>。此外, 目前学界对各地检测标准差异的问题已有相关改进办法: 2009年, 美国AD协会对CSF生物标志物开展质量控制计划, 监管实验室之间以及试剂批次之间生物标志物检测的性能; 统一临床样本处理方式, 从而使不同地区的测量结果具有可比性, 为常规临床诊断AD提供了更广泛的CSF生物标志物使用基础。2018年, Deming等<sup>[86]</sup>对1527位男性和1509位女性患者进行全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)发现, *SERPIN1*、*OSTN*及*CLDN16*基因分别关联淀粉样病变和Tau病变, 且在两性中关联程度不同。这能否作为性别相关AD生物标志物还需后续实验考证, 但的确为未来针对不同性别、种族、年龄段, 甚至生活环境的人群而研制“精准生物标志物”开了好头。

近几年, 一些新技术的运用也为AD生物标志

物领域注入新鲜血液。AD出现临床症状前的15~20年, A $\beta$ 肽的二级结构由正常状态转变为 $\beta$ -sheet富集的病理状态, 并倾向于自我聚集。根据此项发现, Nabers等<sup>[87]</sup>于2018年研制出一种免疫红外传感器, 该传感器无需特异标记肽段就能直接监测血浆中A $\beta$ 二级结构的分布。该方法仅需极少量的血浆, 即可进行经济高效且稳定的检测。也有许多研究者着眼于将微小RNA(microRNA)和长链非编码RNA(long non-coding RNA)等发展为AD生物标志物<sup>[88-89]</sup>, 为领域开拓了新的研究思路。总之, 对AD生物标志物优缺点的评价最后都要回归于AD病理机制的问题讨论。只有对AD的发病机制进行更为深入的研究, 才能正确划分疾病进程, 构筑检测关键时间点, 发展AD生物标志物的研究, 从而进一步促进AD早期临床诊断和有效治疗。

### [参 考 文 献]

- [1] Alzheimer's Association. 2020 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement*, 2020, 16: 391-460
- [2] Jia L, Quan M, Fu Y, et al. Dementia in China: epidemiology, clinical management, and research advances. *Lancet Neurol*, 2020, 19: 81-92
- [3] Dubois B, Feldman HH, Jacova C, et al. Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon. *Lancet Neurol*, 2010, 9: 1118-27
- [4] Ward A, Tardiff S, Dye C, et al. Rate of conversion from prodromal Alzheimer's disease to Alzheimer's dementia: a systematic review of the literature. *Dement Geriatr Cogn Disord Extra*, 2013, 3: 320-32
- [5] Clifford RJ, Knopman DS, Jagu WJ. Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet Neurol*, 2010, 9: 119-28
- [6] Stranahan AM, Mattson MP. Selective vulnerability of neurons in layer II of the entorhinal cortex during aging and Alzheimer's disease. *Neural Plast*, 2010, 2010: 108190
- [7] Asai H, Ikezu S, Tsunoda S, et al. Depletion of microglia and inhibition of exosome synthesis halt tau propagation. *Nat Neurosci*, 2015, 18: 1584-93
- [8] 马蔚蔚, 张晓玲. 阿尔茨海默病社区筛查和诊断的研究进展. *中国全科医学*, 2021, 24: 643-51
- [9] Chandra A, Dervenoulas G, Politis M, et al. Magnetic resonance imaging in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *J Neurol*, 2019, 266: 1293-302
- [10] Karow DS, McEvoy LK, Notestine CF, et al. Relative capability of MR imaging and FDG PET to depict changes associated with prodromal and early Alzheimer disease. *Radiology*, 2010, 256: 932-42
- [11] Qiu Y, Zhou XH. Estimating c-level partial correlation graphs with application to brain imaging. *Biostatistics*, 2020, 21: 641-58
- [12] Weiner MW, Veitch DP, Aisen PS, et al. 2014 Update of

- the Alzheimer's disease neuroimaging initiative: a review of papers published since its inception. *Alzheimers Dement*, 2015, 11: e1-120
- [13] Bliwise DL, Tinklenberg J, Yesavage JA, et al. REM latency in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*, 1989, 25: 320-8
- [14] Sharma M, Bois JP, Schwartz G, et al. Circadian rhythms of melatonin and cortisol in aging. *Biol Psychiatry*, 1989, 25: 305-19
- [15] Shaw LM, Korecka M, Clark CM, et al. Biomarkers of neurodegeneration for diagnosis and monitoring therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6: 295-303
- [16] Thal LJ, Kantarci K, Reiman EM, et al. The role of biomarkers in clinical trials for Alzheimer's disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2006, 20: 6-15
- [17] Marizzoni M, Ferrari C, Babiloni C, et al. CSF cutoffs for MCI due to AD depend on APOEepsilon4 carrier status. *Neurobiol Aging*, 2020, 89: 55-62
- [18] Shaw LM, Vanderstichele H, Czajka MK, et al. Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Ann Neurol*, 2009, 65: 403-13
- [19] Jack CR, Bennett DA, Blennow K, et al. NIA-AA research framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2018, 14: 535-62
- [20] Cummings J. The National Institute on Aging-Alzheimer's Association Framework on Alzheimer's disease: application to clinical trials. *Alzheimers Dement*, 2019, 15: 172-8
- [21] Motter R, Pelfrey CV, Kholodenko D, et al. Reduction of  $\beta$ -amyloid peptide<sub>42</sub> in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 1995, 38: 643-8
- [22] Blennow K. CSF biomarkers for mild cognitive impairment. *J Intern Med*, 2004, 256: 224-34
- [23] Molinuevo JM, Ayton S, Batrla R, et al. Current state of Alzheimer's fluid biomarkers. *Acta Neuropathol*, 2018, 136: 821-53
- [24] Palmqvist S, Insel PS, Stomrud E, et al. Cerebrospinal fluid and plasma biomarker trajectories with increasing amyloid deposition in Alzheimer's disease. *EMBO Mol Med*, 2019, 11: e11170
- [25] Sten H, Englund H, Lord A, et al. Amyloid- $\beta$  oligomers are inefficiently measured by enzyme-linked immunosorbent assay. *Ann Neurol*, 2005, 58: 147-50
- [26] Sastre M, Calero M, Pawlik M, et al. Binding of cystatin C to Alzheimer's amyloid  $\beta$  inhibits *in vitro* amyloid fibril formation. *Neurobiol Aging*, 2004, 25: 1033-43
- [27] Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, et al. Prediction of Alzheimer's disease using the CSF  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  ratio in patients with mild cognitive impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2007, 23: 316-20
- [28] Lopez-Noguerola JS, Giessen NME, Ueberück M, et al. Synergistic effect on neurodegeneration by N-truncated  $A\beta_{4-42}$  and pyroglutamate  $A\beta_{3-42}$  in a mouse model of Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*, 2018, 10: 64
- [29] Bayer TA, Wirths O. Focusing the amyloid cascade hypothesis on N-truncated  $A\beta$  peptides as drug targets against Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*, 2014, 127: 787-801
- [30] Falgàs N, Tort-Merino A, Balasa M, et al. Clinical applicability of diagnostic biomarkers in early-onset cognitive impairment. *Eur J Neurol*, 2019, 26: 1098-104
- [31] Ong KT, Villemagne VL, Bahar-Fuchs A, et al.  $A\beta$  imaging with 18F-florbetaben in prodromal Alzheimer's disease: a prospective outcome study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2015, 86: 431-6
- [32] Blazhenets G, Ma Y, Sørensen A, et al. Predictive value of <sup>18</sup>F-florbetapir and <sup>18</sup>F-FDG PET for conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer dementia. *J Nucl Med*, 2020, 61: 597-603
- [33] Janelidze S, Stomrud E, Smith R, et al. Cerebrospinal fluid p-tau217 performs better than p-tau181 as a biomarker of Alzheimer's disease. *Nat Commun*, 2020, 11: 1683
- [34] Van Hulle C, Jonaitis EM, Betthausen TJ, et al. An examination of a novel multipanel of CSF biomarkers in the Alzheimer's disease clinical and pathological continuum. *Alzheimers Dement*, 2021, 17: 413-45
- [35] Apostolova LG, Morra JH, Green AE, et al. Automated 3D mapping of baseline and 12-month associations between three verbal memory measures and hippocampal atrophy in 490 ADNI subjects. *Neuroimage*, 2010, 51: 488-99
- [36] Leuzy A, Chiotis K, Lemoine L, et al. Tau PET imaging in neurodegenerative tauopathies-still a challenge. *Mol Psychiatry*, 2019, 24: 1112-34
- [37] Gordon BA, Blazey TM, Christensen J, et al. Tau PET in autosomal dominant Alzheimer's disease: relationship with cognition, dementia and other biomarkers. *Brain*, 2019, 142: 1063-76
- [38] La Joie R, Visani AV, Baker SL, et al. Prospective longitudinal atrophy in Alzheimer's disease correlates with the intensity and topography of baseline tau-PET. *Sci Transl Med*, 2020, 12: eaau5732
- [39] Mori H, Hosoda K, Matsubara E et al. Tau in cerebrospinal fluids: establishment of the sandwich ELISA with antibody specific to the repeat sequence in tau. *Neurosci Lett*, 1995, 186: 181-3
- [40] Brettschneider J, Tredici KD, Lee VM, et al. Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: a focus on human studies. *Nat Rev Neurosci*, 2015, 16: 109-20
- [41] Schneider LS, Thomas RG, Hendrix S, et al. Safety and efficacy of edonergic maleate for patients with mild to moderate Alzheimer disease: a phase 2 randomized clinical trial. *JAMA Neurol*, 2019, 76: 1330-9
- [42] He Y, Wei MD, Wu Y, et al. Amyloid  $\beta$  oligomers suppress excitatory transmitter release via presynaptic depletion of phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate. *Nat Commun*, 2019, 10: 1193
- [43] Umeda T, Ramser EM, Yamashita M, et al. Intracellular amyloid  $\beta$  oligomers impair organelle transport and induce dendritic spine loss in primary neurons. *Acta Neuropathol Commun*, 2015, 3: 51
- [44] Wei W, Nguyen LN, Kessels HW, et al. Amyloid  $\beta$  from axons and dendrites reduces local spine number and



- plasticity. *Nat Neurosci*, 2010, 13: 190-6
- [45] Sinha MS, Schultz AA, Civitelli L, et al. Alzheimer's disease pathology propagation by exosomes containing toxic amyloid- $\beta$  oligomers. *Acta Neuropathol*, 2018, 136: 41-56
- [46] Savage MJ, Kalinina J, Wolfe A, et al. A sensitive A $\beta$  oligomer assay discriminates Alzheimer's and aged control cerebrospinal fluid. *J Neurosci*, 2014; 34: 2884-97
- [47] Yang T, Hong S, Malley T, et al. New ELISAs with high specificity for soluble oligomers of amyloid  $\beta$ -protein detect natural A $\beta$  oligomers in human brain but not CSF. *Alzheimers Dement*, 2013, 9: 99-112
- [48] Wang MJ, Yi S, Han JY, et al. Oligomeric forms of amyloid- $\beta$  protein in plasma as a potential blood-based biomarker for Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*, 2017, 9: 98
- [49] Horrocks MH, Lee SF, Gandhi S, et al. Single-molecule imaging of individual amyloid protein aggregates in human biofluids. *ACS Chem Neurosci*, 2016, 7: 399-406
- [50] Schuster J, Funke SA. Methods for the specific detection and quantitation of amyloid- $\beta$  oligomers in cerebrospinal fluid. *J Alzheimers Dis*, 2016, 53: 53-67
- [51] Kandalepas PC, Sadleir KR, Eimer WA, et al. The Alzheimer's  $\beta$ -secretase BACE1 localizes to normal pre-synaptic terminals and to dystrophic presynaptic terminals surrounding amyloid plaques. *Acta Neuropathol*, 2013, 126: 329-52
- [52] Shen Y, Wang H, Sun Q, et al. Increased plasma  $\beta$ -secretase 1 may predict conversion to Alzheimer's disease dementia in individuals with mild cognitive impairment. *Biol Psychiatry*, 2018, 83: 447-55
- [53] Mulder SD, van der Flier WM, Verheijen JH, et al. BACE1 activity in cerebro-spinal fluid and its relation to markers of AD pathology. *J Alzheimers Dis*, 2010, 20: 253-60
- [54] Slaets S, Vanmechelen E, Le Bastard N, et al. Increased CSF  $\alpha$ -synuclein levels in Alzheimer's disease: correlation with tau levels. *Alzheimers Dement*, 2014, 10: S290-8
- [55] Mahley RW, Huang Y. Apolipoprotein E sets the stage: response to injury triggers neuropathology. *Neuron*, 2012, 76: 871-85
- [56] Castellano JM, Kim J, Stewart FR, et al. Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid- $\beta$  peptide clearance. *Sci Transl Med*, 2011, 3: 89ra57
- [57] Ott BR, Cohen RA, Gongvatana A, et al. Brain ventricular volume and cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2010; 20: 647-57
- [58] Herring A, Münster Y, Akkaya T, et al. Kallikrein-8 inhibition attenuates Alzheimer's disease pathology in mice. *Alzheimers Dement*, 2016, 12: 1273-87
- [59] Teuber-Hanselmann S, Rekowski J, Vogelgsang J, et al. CSF and blood Kallikrein-8: a promising early biomarker for Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2020, 91: 40-8
- [60] Masliah E, Mallory M, Alford M, et al. Altered expression of synaptic proteins occurs early during progression of Alzheimer's disease. *Neurology*, 2001, 56: 127-9
- [61] Han J, Pluhackova K, Böckmann RA. The multifaceted role of SNARE proteins in membrane fusion. *Front Physiol*, 2017, 8: 5
- [62] Öhrfelt A, Brinkmalm A, Dumurgier J, et al. A novel ELISA for the measurement of cerebrospinal fluid SNAP-25 in patients with Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 2019, 420: 136-44
- [63] Sutphen CL, McCue L, Herries EM, et al. Longitudinal decreases in multiple cerebrospinal fluid biomarkers of neuronal injury in symptomatic late onset Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2018, 14: 869-79
- [64] Zhang H, Therriault J, Kang MS, et al. Cerebrospinal fluid synaptosomal-associated protein 25 is a key player in synaptic degeneration in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*, 2018, 10: 80
- [65] Mazzucchi S, Palermo G, Campese N, et al. The role of synaptic biomarkers in the spectrum of neurodegenerative diseases. *Expert Rev Proteomics*, 2020, 17: 543-59
- [66] Reddy PH, Mani G, Park BS, et al. Differential loss of synaptic proteins in Alzheimer's disease: implications for synaptic dysfunction. *J Alzheimers Dis*, 2005, 7: 103-17
- [67] Kvartsberg H, Duits FH, Ingelsson M, et al. Cerebrospinal fluid levels of the synaptic protein neurogranin correlates with cognitive decline in prodromal Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2015, 11: 1180-90
- [68] Rabbito A, Dulewicz M, Kulczyńska-Przybyk A, et al. Biochemical markers in Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 1989
- [69] Clarke MTM, Brinkmalm A, Foiani MS, et al. CSF synaptic protein concentrations are raised in those with atypical Alzheimer's disease but not frontotemporal dementia. *Alzheimers Res Ther*, 2019, 11: 105
- [70] Jay TR, von Saucken VE, Landreth GE. TREM2 in neurodegenerative diseases. *Mol Neurodegener*, 2017, 12: 56
- [71] Quade AM, Kang YJ, Hasselmann J, et al. Gene expression and functional deficits underlie TREM2-knockout microglia responses in human models of Alzheimer's disease. *Nat Commun*, 2020, 11: 5370
- [72] Calvet MS, Kleinberger G, Caballero MA, et al. sTREM2 cerebrospinal fluid levels are a potential biomarker for microglia activity in early-stage Alzheimer's disease and associate with neuronal injury markers. *EMBO Mol Med*, 2016, 8: 466-76
- [73] Hu N, Tan MS, Yu JT, et al. Increased expression of TREM2 in peripheral blood of Alzheimer's disease patients. *J Alzheimers Dis*, 2014, 38: 497-501
- [74] Knapskog AB, Henjum K, Idland AV, et al. Cerebrospinal fluid sTREM2 in Alzheimer's disease: comparisons between clinical presentation and AT classification. *Sci Rep*, 2020, 10: 15886
- [75] Ewers M, Biechele G, Calvet MS, et al. Higher CSF sTREM2 and microglia activation are associated with slower rates of  $\beta$ -amyloid accumulation. *EMBO Mol Med*, 2020, 12: e12308
- [76] Leung YY, Toledo JB, Nefedov A, et al. Identifying amyloid pathology-related cerebrospinal fluid biomarkers

- for Alzheimer's disease in a multicohort study. *Alzheimers Dement*, 2015, 1: 339-48
- [77] Olsson B, Lautner R, Andreasson U, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*, 2016, 15: 673-84
- [78] Guo LH, Alexopoulos P, Perneczky R. Heart-type fatty acid binding protein and vascular endothelial growth factor: cerebrospinal fluid biomarker candidates for Alzheimer's disease. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 2013, 263: 553-60
- [79] Song H, Moon M, Choe HK, et al. A $\beta$ -induced degradation of BMAL1 and CBP leads to circadian rhythm disruption in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*, 2015, 10: 13
- [80] Cronin P, McCarthy MJ, Lim ASP, et al. Circadian alterations during early stages of Alzheimer's disease are associated with aberrant cycles of DNA methylation in BMAL1. *Alzheimers Dement*, 2017, 13: 689-700
- [81] Nam E, Lee YB, Moon C, et al. Serum tau proteins as potential biomarkers for the assessment of Alzheimer's disease progression. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 5007
- [82] Preische O, Schultz SA, Apel A, et al. Serum neurofilament dynamics predicts neurodegeneration and clinical progression in presymptomatic Alzheimer's disease. *Nat Med*, 2019, 25: 277-83
- [83] Hampel H, Bürger K, Teipel SJ, et al. Core candidate neurochemical and imaging biomarkers of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2008, 4: 38-48
- [84] Vlassenko AG, McCue L, Jasielec MS, et al. Imaging and cerebrospinal fluid biomarkers in early preclinical Alzheimer disease. *Ann Neurol*, 2016, 80: 379-87
- [85] Palmqvist S, Mattsson N, Hansson O. Cerebrospinal fluid analysis detects cerebral amyloid- $\beta$  accumulation earlier than positron emission tomography. *Brain*, 2016, 139: 1226-36
- [86] Deming Y, Dumitrescu L, Barnes LL, et al. Sex-specific genetic predictors of Alzheimer's disease biomarkers. *Acta Neuropathol*, 2018, 136: 857-72
- [87] Nabers A, Perna L, Lange J, et al. Amyloid blood biomarker detects Alzheimer's disease. *EMBO Mol Med*, 2018, 10: e8763
- [88] Silvestro S, Bramanti P, Mazzon E. Role of miRNAs in Alzheimer's disease and possible fields of application. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 3979
- [89] Fotuhi SN, Khalaj-Kondori M, Hoseinpour Feizi MA, et al. Long non-coding RNA BACE1-AS may serve as an Alzheimer's disease blood-based biomarker. *J Mol Neurosci*, 2019, 69: 351-9