

DOI: 10.13376/j.cblls/2021102

文章编号: 1004-0374(2021)08-0939-07

# 阿尔茨海默症生物标志物在脑脊液和血液中的研究

艾力克木·艾尔肯, 全贞贞, 庆 宏\*

(北京理工大学生命学院, 北京 100081)

**摘要:** 阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 是一种常见的神经退行性疾病。因为疾病本身很难被治愈, 因此早期预测诊断对 AD 的防治尤为重要。目前, 痴呆前期 AD 的主要诊断方法是脑脊液生物标志物的检测和正电子发射式计算机断层扫描 (PET), 但是这两种诊断方法侵入性强, 价格昂贵, 不容易普及。而对血液中的 AD 相关标志物进行检测, 可以使 AD 的诊断更为普及且更为方便。该文总结了目前 AD 主要的几种生物标志物, 概述了它们在 AD 患者和正常个体脑脊液和血液中的变化, 最后也讨论和分析了未来 AD 生物标志物在血液检测中可能遇到的挑战。

**关键词:** 阿尔茨海默症; 生物标志物; 脑脊液; 血液检测

中图分类号: R741.04; R749.16 文献标志码: A

## Biomarkers of Alzheimer's disease in cerebrospinal fluid and blood

AILIKEMU Aierken, QUAN Zhen-Zhen, QING Hong\*

(School of Life Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China)

**Abstract:** Alzheimer's disease (AD) is a common neurodegenerative disease, which is difficult to cure. Therefore, early diagnosis is pivotal in the prevention and treatment of AD. At present, the main diagnostic methods for early diagnosis of AD are the detection of cerebrospinal fluid biomarkers and positron emission computed tomography (PET), but they are highly invasive, expensive and not easy to promote. While, blood testing for early diagnosis of AD can solve these problems. In this review, we summarize the main representatives of current AD biomarkers, outline their changes in the cerebrospinal fluid and blood of AD patients and normal individuals, and finally discuss and analyze the possible challenges in future AD blood testing.

**Key words:** Alzheimer's disease; biomarkers; cerebrospinal fluid; blood testing

随着全球人口老龄化, 老年疾病问题愈发凸显。据世界卫生组织 (WHO) 和国际阿尔茨海默症协会 (ADI) 预测, 老年人的护理费用会持续升高; 至 2050 年, 老年人罹患痴呆症的人数将会增加 3 倍以上。而阿尔茨海默症 (AD) 作为典型的老年疾病一直是研究热点。AD 是一种缓慢进行性神经退行性疾病, 其特征是情景记忆逐渐恶化以及其他认知功能持续受损, 继而导致一般性痴呆综合征<sup>[1]</sup>。AD 的典型病理学说是淀粉样蛋白  $\beta$  (A $\beta$ ) 沉积形成的老年斑和磷酸化 Tau 引起的神经原纤维缠结 (NFT)<sup>[2]</sup>。随着研究的不断深入, 越来越多的致病因素和潜在标志物已被发现。尽管对 AD 致病机制的研究不断深入, 但到目前为止仍未找到有效的治疗手段。因

此, 研究的重点转移到了对症状的缓解, 以及更为核心的早期诊断、预防以及早期干预治疗。目前 AD 的诊断方法主要是脑脊液标志物的检测、正电子发射型计算机断层显像 (positron emission computed tomography, PET) 技术和更为基础的量表测试。其中, PET 影像技术是 AD 诊断的金标准, 其准确性、灵敏度和可信度优于脑脊液标志物检测; 通常在研究脑脊液潜在标志物时, 也会与 PET 结果相关联, 增加其可信度。PET 检测技术的原理是先将发射正

收稿日期: 2021-03-02; 修回日期: 2021-03-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(81870844)

\*通信作者: E-mail: hqing@bit.edu.cn

电子的放射性核素(如 $^{18}\text{F}$ 等)标记到 $\text{A}\beta$ 或者 Tau 上,然后通过显像来得到对应的诊断。PET 虽然是目前能够较早诊断出 AD 的手段,但其高昂的费用严重阻碍了它的普及。除此之外,量表测试存在无法及时区分和预测可能患病风险的问题,而脑脊液抽取的强侵入性也让人们很少主动选择。血液检测作为各种疾病诊断的基础手段,正是解决以上难题的首选方案。越来越多的研究已经开始着手于通过血液来诊断和预测 AD,其生物标志物作为血液检测的核心内容也需要更充分的发掘。本综述主要致力于总结  $\text{A}\beta$ 、Tau、载脂蛋白 E (ApoE)、神经颗粒素 (Ng)、生长相关蛋白 43 (GAP-43) 以及非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 在 AD 患者中的变化,并讨论未来研究中可能遇到的挑战。

## 1 $\text{A}\beta$

$\text{A}\beta$  是 AD 的主要病理性标志物,是淀粉样前体蛋白 (APP) 依次被  $\beta$  分泌酶和  $\gamma$  分泌酶切割后形成的短肽<sup>[3]</sup>。由于  $\gamma$  分泌酶有不同的切割位点,所以产生了不同类型的  $\text{A}\beta$ ,主要包括: $\text{A}\beta_{38}$ 、 $\text{A}\beta_{40}$  和  $\text{A}\beta_{42}$ 。目前  $\text{A}\beta_{40}$  和  $\text{A}\beta_{42}$  被认为具有神经毒性,可在脑内聚集形成老年斑,并损害神经元和其他神经细胞<sup>[4-5]</sup>。小胶质细胞作为神经系统中的固有免疫细胞,可以通过多种信号通路清除一定量的老年斑。在 AD 患者中,过多的老年斑会导致小胶质细胞功能受损,无法行使正常的免疫功能<sup>[6-7]</sup>。在过去的二十年中, $\text{A}\beta_{42}$  被确认为 AD 病理生理过程中的重要生物标志物,脑脊液中的  $\text{A}\beta_{42}/\text{A}\beta_{40}$  比例更是显示出很高的病程相关性和准确性<sup>[8-10]</sup>。在 AD 患者脑脊液中, $\text{A}\beta_{42}$ 、 $\text{A}\beta_{42}/\text{A}\beta_{40}$  均显著下降,但  $\text{A}\beta_{42}/\text{A}\beta_{40}$  能够更好地区分正常个体与 AD 患者,将其作为 AD 的诊断指标以及生物标志物能更好地预测轻度认知障碍 (mild cognitive impairment, MCI) 患者发展成为 AD 的几率<sup>[11]</sup>。除了常见的  $\text{A}\beta_{42}$  与  $\text{A}\beta_{40}$  之外,有研究发现  $\text{A}\beta_{38}$  也与 AD 有关。当脑脊液中  $\text{A}\beta_{38}$  的含量较高时,被检测人员表现出更缓慢的认知衰退和更低的 AD 患病和发展风险<sup>[12]</sup>。也有研究报道在血液中检测到的  $\text{A}\beta$  与脑脊液中检测到的结果相关。目前血浆  $\text{A}\beta$  被视为一种简单且无创的 AD 诊断生物标志物。华盛顿大学医学院的 Randall Bateman 发现,大脑中 30%~50% 的  $\text{A}\beta$  进入血液<sup>[13]</sup>。AD 组和 MCI 组血液中的  $\text{A}\beta_{42}/40$  与正常组相比均显著降低<sup>[14-16]</sup>。同时,在与脑脊液的对比研究中,血液检测结果与脑脊液检测结果以及 PET

影像诊断的结果都具有较好的相关性<sup>[17-18]</sup>。这都表明了  $\text{A}\beta_{42}$  或  $\text{A}\beta_{42}/40$  在血液中的诊断潜力,同时血液检测也有可能成为早期 AD 诊断的新方法。 $\text{A}\beta$  作为 AD 病理学说中的核心蛋白质之一,完善其在血液中的变化有着重要的意义,以  $\text{A}\beta$  为主联合其他生物标志物或许能更好地完成 AD 的早期诊断和预测。

## 2 Tau

Tau 蛋白是 NTF 病理学说中的核心蛋白。它是一种微管结合蛋白,其异常磷酸化会导致细胞微管解聚,并最终引起神经原纤维缠结。磷酸化的 Tau 蛋白 (P-Tau) 和总 Tau 蛋白 (T-Tau) 是两个重要的检测指标。越来越多的研究指出血液中的 Tau 蛋白可以诊断和区分正常个体和 AD 患者,同时还可以预测衰老过程中脑对 AD 病理的易感性<sup>[19-22]</sup>。研究表明,AD 患者脑脊液中 T-Tau 显著升高,其 T-Tau 浓度约为正常衰老个体的 3 倍<sup>[23]</sup>。同样,Tau 蛋白在血液中也表现出很好的疾病相关性<sup>[24]</sup>。P-Tau-181 是 AD 中一种重要的异常磷酸化 Tau。血液中的 P-Tau-181 表现出了很好的诊断价值,它在正常对照、MCI 和 AD 中持续升高,这与其在脑脊液中的含量变化表现出一致性。Tau 蛋白的 PET 影像结果也和血液中的检测值呈现良好的相关性。2020 年,研究发现,血液中的 Tau 蛋白 N 端片段 (N-terminal fragment of tau, NT1) 与认知表现有关,较高水平的 NT1 与更显著的认知损伤相关,而更高水平的血液 NT1 与更明显的颞部区域以及额叶区域中的皮质萎缩显著相关。此项研究还表明,在  $\text{A}\beta$  沉积较重的患者中,NT1 水平与颞部 Tau PET 的纵向增长相关<sup>[25]</sup>。

## 3 $\beta$ 分泌酶(BACE1)

BACE1 是  $\text{A}\beta$  形成的关键蛋白,是体内主要的  $\beta$ -分泌酶。BACE1 的主要酶切位点位于 APP 的第 695 个氨基酸残基,该酶切割 APP 形成的产物进一步在  $\gamma$ -分泌酶作用下从细胞中释放出全长的  $\text{A}\beta$  ( $\text{A}\beta_{42}$  或  $\text{A}\beta_{40}$ )。BACE1 是一种含有 501 个氨基酸残基的 I 型跨膜天门冬氨酸蛋白激酶,广泛存在于体内各种组织细胞的高尔基体和内涵体中,但在神经细胞中活性最强<sup>[26]</sup>。研究表明,AD 患者脑组织中 BACE1 的活性远远高于正常人,而且 BACE1 的活性增加与老年性痴呆发病的进程呈正相关<sup>[27]</sup>。还有研究发现,MCI 患者血液中的 BACE1 水平较正常对照有明显上升,其升高与受试者的认知量表

测试结果 (MoCA) 呈负相关, 而且受试者的认知衰退在视空间能力和视觉相关记忆中尤为明显<sup>[28]</sup>。除了作为 AD 的潜在药物靶标之外, BACE1 活性可能反映 AD 临床状态或发展风险。支持此观点的研究表明, 在 MCI 患者的脑脊液中, BACE1 酶促活性和蛋白质水平显著升高, 这通常被认为是高风险的 AD 前兆状态<sup>[29-31]</sup>。作为 A $\beta$  产生的关键因素, 已有研究通过在血液中检测 BACE1 活性发现, 相较于正常个体, MCI 和 AD 患者血液中的 BACE1 活性分别提升了 53.2% 和 68.9%。那些最终发展为 AD 的 MCI 患者也比未发展为 AD 的 MCI 患者表现出更高水平的 BACE1 活性<sup>[32]</sup>。此外, 血液中的 BACE1 活性也与其他 AD 生物标志物 (神经丝轻链和 T-Tau) 呈正相关, 同时全年 BACE1 含量的变化还与基底前脑体积相关<sup>[33]</sup>。

#### 4 载脂蛋白E (ApoE)

ApoE 是一种多态性蛋白, 参与脂蛋白的转化与代谢过程。正常状态下, ApoE 可以参与脑内 A $\beta$  斑块的清除。ApoE 转基因小鼠血液中的 A $\beta$ 42 含量比野生型小鼠高 2 倍, 这也就意味着 ApoE 转基因小鼠脑内老年斑的清除效果比野生型小鼠高<sup>[34]</sup>。而在变异存在时, 这种清除功能被破坏, 致使其成为 AD 的隐患。ApoE 具有三种常见的亚型, 分别是 E2、E3 和 E4。其中, E4 亚型会导致 ApoE 蛋白产生一个特殊的新盐键, 该盐键恰好锁住 ApoE 蛋白尾部的脂质结合区域, 进而影响这一区域与油脂分子的结合能力和选择性<sup>[35]</sup>。早在 1993 年就有研究指出, 携带 E4 亚型纯合子和杂合子的 AD 患者平均比非携带者提前患病 16 年和 8 年<sup>[36]</sup>。在正常人和 AD 患者的脑脊液样本中发现, ApoE4 蛋白水平与 A $\beta$ 42 水平呈正相关, 并且脑脊液中较低水平的 ApoE4 与大脑中 A $\beta$  沉积增加有关<sup>[36-38]</sup>。其他研究也指出, ApoE4 还可能通过影响血脑屏障和炎症反应进而增加 AD 的患病风险<sup>[39]</sup>。除此之外, 在对正常老年个体的研究中发现, 脑脊液中的载脂蛋白水平会影响 ApoE4 等位基因和 Tau 的关系, 但不影响其与 A $\beta$ 42 的关系<sup>[40]</sup>。这也暗示 ApoE4 也许能通过除 A $\beta$  以外的途径增加罹患 AD 的风险。然而, 由于 ApoE 在血液中是一种很常见的蛋白, 神经特异性低, 因此其血液检测仍是难题。如果能够有效地富集和分离来自神经系统的 ApoE, 或探究血液中 ApoE 的入脑过程, 会很大程度地加速对 AD 诊断的研究。

#### 5 神经颗粒素(Ng)

Ng 是主要在成人或动物的大脑皮层、海马和嗅球后突触内表达的蛋白, 与突触可塑性相关<sup>[41]</sup>, 是蛋白激酶 C (PKC) 底物和钙调蛋白 (CaM) 储库<sup>[42]</sup>。而大部分 CaM 激活的蛋白质参与长时程增强 (LTP) 和长时程抑制 (LTD), 因此 Ng 可能通过调节 CaM 控制突触后 Ca<sup>2+</sup>/CaM 依赖性信号转导的空间记忆模式来影响突触传递<sup>[43-44]</sup>。多篇报道指出, Ng 与神经退行性疾病 (包括帕金森症、精神病、AD 等) 密切相关<sup>[45-48]</sup>。由于突触损伤和减少出现在 AD 病程的较早时期, Ng 作为一个可以影响突触可塑性的蛋白有着十分重要的研究意义。研究表明, 与正常人相比, AD 患者脑脊液中的 Ng 显著增加<sup>[49-50]</sup>。同时, Ng 在脑脊液中的含量也可以预测 MCI 到 AD 的发展风险, 脑脊液中 Ng 含量较多的 MCI 患者更容易发展成为 AD; 而且, 若在 MCI 阶段已经有老年斑存在, 则会进一步加快 AD 发展进程和认知退化进程<sup>[51-52]</sup>。在脑脊液中, Ng 与其他标志物 (A $\beta$ 、P-Tau、T-Tau) 也有着很高的关联性<sup>[53]</sup>。在检测血液中含量较少的标志物时, 面临的最大挑战是如何有效地从众多杂蛋白中富集出目标蛋白。外泌体作为各种细胞分泌物的运输囊泡, 可以为蛋白质富集提供一些思路, 而神经源性的外泌体可以更好地反映出脑部的蛋白变化。近几年, 很多实验室开始通过富集神经源性的外泌体来检测神经疾病相关蛋白。在血液中富集得到的神经源性外泌体中, Ng 含量在 MCI 和 AD 患者中都有显著的下降, 并与其在脑脊液中的变化呈现显著的负相关性<sup>[54]</sup>。除此之外, 在神经源性的外泌体中, 突触结合素、突触小体相关蛋白 25 显著下降, 并与其在脑脊液中的变化呈负相关<sup>[54]</sup>。

#### 6 生长相关蛋白43 (GAP-43)

GAP-43 是一种膜锚定的神经元生长相关蛋白 (也称为神经调节蛋白或 B50), 在生长锥和突触末端高水平表达, 主要与神经元新连接的形成、突触可塑性以及损伤后再生有关。与 Ng 类似, GAP-43 作为与突触可塑性相关的蛋白或许在 AD 的早期就会受到影响而产生变化。Blennow 团队先后在 1998 年和 2000 年发表相关研究成果, 指出早期和晚期 AD 患者的前额皮层 GAP-43 含量有所下降, 同时其在海马和前额皮层的表达量显著下降并与认知衰退呈正相关, 其表达量与海马中的斑块堆积呈负相

关<sup>[55-56]</sup>。然而,在脑脊液中,AD患者的GAP-43与正常个体相比上升了2.3倍,并在AD中与T-Tau表现出较强的相关性( $r = 0.717$ ),在正常个体中与T-Tau和P-Tau都表现出较强的相关性( $r$ 值分别为0.818和0.802)<sup>[57-58]</sup>。其他研究表明,GAP-43与A $\beta$ 2也存在较弱的相关性,同时GAP-43可能与ApoE也有所关联,在ApoE4基因携带者脑脊液中GAP-43的含量明显升高<sup>[58]</sup>。2021年,研究人员在血液中检测到了GAP-43的变化:血液中GAP-43的含量在整个病程中呈下降趋势,并且在MCI和AD患者之间也有着显著的差异;此外,血液中的GAP-43含量与其在脑脊液中的含量呈负相关,而且在脑脊液中MCI与AD患者未表现出差异<sup>[54]</sup>。这也进一步表明检测血液中的GAP-43相较于脑脊液存在一定优势。进一步探寻血液中其他类似的相关蛋白能够更好地辅助AD的检测与诊断。

## 7 非编码RNA

除了对AD相关蛋白的探索,近几年的研究也在关注各种RNA在AD中的变化。RNA是蛋白质合成前的重要分子,其含量可以一定程度地表明对应蛋白的表达情况。随着研究的深入,除了最为人熟知的转运RNA(transfer RNA, tRNA)和核糖体RNA(ribosomal RNA, rRNA)以外,其他类型的非编码RNA也相继被科研人员发现,包括微小RNA(microRNA, miRNA)、小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)以及长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)等。miRNA是一类通常为22~23 nt的非编码RNA,它可以通过与mRNA 3'端的非翻译区(3'-UTR)结合来调节基因表达<sup>[59]</sup>。miRNA-195已被报道与AD病程相关联,从正常人到MCI再到早期AD,miRNA-195的表达呈现下降的趋势;同时,脑脊液中较高的miRNA-195含量与更好的认知表现相关<sup>[60]</sup>。此外,与正常人相比,AD患者脑和血液中的miRNA-455-3p显著上调<sup>[61]</sup>。其他研究还发现,miRNA-501-3p和miRNA-26b-5p也在血液中分别呈现出显著的下调和上调<sup>[62]</sup>。siRNA也称为短干扰RNA或沉默RNA,是一类双链RNA分子,长度为20~25 bp,能干扰mRNA并使其被细胞识别为异常,从而导致mRNA降解,不能被翻译为蛋白质,最终沉默编码该mRNA的基因。因此,siRNA可作为疾病的基因治疗手段,通过沉默疾病相关的风险基因改善症状。lncRNA是长度大于200 nt的非编码RNA,在表观遗传调控、细

胞周期调控和细胞分化调控等众多生命活动中发挥重要作用。研究发现,lncRNA NEAT1可以调节miR-124/BACE1轴,从而调控AD的发展<sup>[63]</sup>。同时,AD患者血液中的lncRNA BACE1含量也明显高于正常个体<sup>[64]</sup>。以上研究结果表明了非编码RNA在AD的诊断和治疗中的重要价值。

## 8 总结与展望

生物标志物是AD诊断和预测的重要工具。目前AD生物标志物的大多数研究都集中在脑脊液中。由于可直接与大脑交换物质,脑脊液具有明显的优势,但是很少有人愿意在明显的痴呆症状出现之前使用这种侵入性的方法进行诊断和预防。而研究血液中生物标志物的变化可以很好地解决现存的问题。血液是人体各系统物质运输和交换的纽带。虽然脑是相对独立的,血脑屏障的存在给中枢神经系统与血液的物质交换带来了一定的阻碍,但也还是会有一部分蛋白通过脑内的毛细血管进入血液。然而,血液成分复杂,全身的细胞都会通过血液来进行物质交换和运输,研究血液生物标志物最棘手的一点就是如何精准高效地分析目标蛋白而不受其他杂蛋白的影响。幸运的是,近期的研究找到了突破口。外泌体是由细胞分泌的包含较多蛋白成分的小囊泡,依靠它本身的磷脂双分子层膜,在跨越血脑屏障的时候具有很大的优势。许多研究开始通过富集和纯化血液中的神经源性外泌体来对其中的蛋白进行检测分析。以神经源性的外泌体作为神经系统的蛋白池,不仅可以更好地表征神经系统中的变化,也可以尽可能地排除血液中其他蛋白的影响。如果能够不断完善神经源性外泌体的富集和纯化手段,便可成功提取出纯度足够高的神经源性外泌体,从而更快地实现AD的血液检测和诊断。

目前的研究已表明,主要的AD标志物均在AD患者的血液中具有显著性的变化,这为血液诊断今后的研究奠定了良好的基础。但要实现真正临床可用的血液诊断,还有许多问题需要解决。当把某一种标志物单独作为判定标准时,诊断结果往往不如多蛋白联合诊断的准确性高,这就提示我们或许建立血液中多个AD标志物的联合诊断更为有利。AD的发病历程长达15~20年,但目前的研究仍大多停留在MCI阶段,这对更早的诊断和预防来说还远远不够。近几年提出的主观认知障碍(SCD),作为AD发病前更早期的阶段,具有重要的研究意义。目前AD病程中的不同阶段划分主要是依靠量

表测试, 虽然 SCD 的判定仍然存在争议, 但是若能在 SCD 阶段检测出血液中 AD 相关标志物的变化, 并探究这种变化是否能够预测 AD 的发展和病程, 将对 AD 的预防提供极大的帮助。对不同阶段的研究可以更好地呈现不同阶段的变化, 从而找到最能区分 MCI 和 AD 两个阶段的蛋白, 并进一步寻找最能区分 SCD 和其他阶段的差异蛋白; 然后对这几种蛋白进行联合检测和关联, 也许能够作为最终 AD 血液诊断的方法。最后, 完整的检测体系需要严格的衡量标准, 建立和完善血液诊断标准以区分 AD 的各阶段, 同时在 AD 发生之前的数年对 AD 做出预测, 是更好地开展防治工作的重要基础。

### [参 考 文 献]

- [1] Alzheimer's Association. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*, 2016, 12: 459-509
- [2] Mostafavi S, Gaiteri C, Sullivan SE, et al. A molecular network of the aging human brain provides insights into the pathology and cognitive decline of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci*, 2018, 21: 811-9
- [3] Leong YQ, Ng KY, Chye SM, et al. Mechanisms of action of amyloid- $\beta$  and its precursor protein in neuronal cell death. *Metab Brain Dis*, 2020, 35: 11-30
- [4] Sharma P, Sharma A, Fayaz F, et al. Biological signatures of Alzheimer's disease. *Curr Top Med Chem*, 2020, 20: 770-81
- [5] Hansra GK, Popov G, Banaczek PO, et al. The neuritic plaque in Alzheimer's disease: perivascular degeneration of neuronal processes. *Neurobiol Aging*, 2019, 82: 88-101
- [6] Fu W, Vukojevic V, Patel A, et al. Role of microglial amylin receptors in mediating  $\beta$  amyloid ( $A\beta$ )-induced inflammation. *J Neuroinflammation*, 2017, 14: 199
- [7] Ulrich JD, Ulland TK, Colonna M, et al. Elucidating the role of TREM2 in Alzheimer's disease. *Neuron*, 2017, 94: 237-48
- [8] Niemantsverdriet E, Ottoy J, Somers C, et al. The cerebrospinal fluid  $A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$  ratio improves concordance with amyloid-PET for diagnosing Alzheimer's disease in a clinical setting. *J Alzheimers Dis*, 2017, 60: 561-76
- [9] Kim HJ, Park KW, Kim TE, et al. Elevation of the plasma  $A\beta_{40}/A\beta_{42}$  ratio as a diagnostic marker of sporadic early-onset Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2015, 48: 1043-50
- [10] Pannee J, Portelius E, Minthon L, et al. Reference measurement procedure for CSF amyloid beta ( $A\beta$ )(1-42) and the CSF  $A\beta(1-42)/A\beta(1-40)$  ratio - a cross-validation study against amyloid PET. *J Neurochem*, 2016, 139: 651-8
- [11] Janelidze S, Zetterberg H, Mattsson N, et al. CSF  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  and  $A\beta_{42}/A\beta_{38}$  ratios: better diagnostic markers of Alzheimer disease. *Ann Clin Transl Neurol*, 2016, 3: 154-65
- [12] Cullen NC, Janelidze S, Palmqvist S, et al. CSF  $A\beta_{38}$  levels are associated with Alzheimer-related decline: implications for  $\gamma$ -secretase modulators. medRxiv, 2021, <http://doi.org/10.1101/2021.01.31.21250702>
- [13] Li C, Götz J. Tau-based therapies in neurodegeneration: opportunities and challenges. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16: 863-83
- [14] Ovod V, Ramsey KN, Mawuenyega KG, et al. Amyloid  $\beta$  concentrations and stable isotope labeling kinetics of human plasma specific to central nervous system amyloidosis. *Alzheimers Dement*, 2017, 13: 841-9
- [15] Chouraki V, Beiser A, Younkin L, et al. Plasma amyloid- $\beta$  and risk of Alzheimer's disease in the Framingham Heart Study. *Alzheimers Dement*, 2015, 11: 249-57
- [16] Pérez-Grijalba V, Romero J, Pesini P, et al. Plasma  $A\beta_{42}/40$  ratio detects early stages of Alzheimer's disease and correlates with CSF and neuroimaging biomarkers in the AB255 Study. *J Prev Alzheimers Dis*, 2019, 6: 34-41
- [17] Janelidze S, Stomrud E, Palmqvist S, et al. Plasma  $\beta$ -amyloid in Alzheimer's disease and vascular disease. *Sci Rep*, 2016, 6: 26801
- [18] Nakamura A, Kaneko N, Villemagne VL, et al. High performance plasma amyloid- $\beta$  biomarkers for Alzheimer's disease. *Nature*, 2018, 554: 249-54
- [19] Mielke MM, Hagen CE, Xu J, et al. Plasma phospho-tau181 increases with Alzheimer's disease clinical severity and is associated with tau- and amyloid-positron emission tomography. *Alzheimers Dement*, 2018, 14: 989-97
- [20] Hall S, Janelidze S, Londo E, et al. Plasma phospho-Tau identifies Alzheimer's co-pathology in patients with lewy body disease. *Mov Disord*, 2021, 36: 767-71
- [21] Pase MP, Beiser AS, Himali JJ, et al. Assessment of plasma total Tau level as a predictive biomarker for dementia and related endophenotypes. *JAMA Neurol*, 2019, 76: 598-606
- [22] Cantero JL, Atienza M, Ramos-Cejudo J, et al. Plasma tau predicts cerebral vulnerability in aging. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12: 21004-22
- [23] La Joie R, Bejanin A, Fagan AM, et al. Associations between [ $^{18}F$ ]AV1451 tau PET and CSF measures of tau pathology in a clinical sample. *Neurology*, 2018, 90: e282-90
- [24] Janelidze S, Palmqvist S, Quiroz YT, et al. Phospho-tau217 and phospho-tau181 in plasma and CSF as biomarkers for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2020, 16: e037520
- [25] Chhatwal JP, Schultz AP, Dang Y, et al. Plasma N-terminal tau fragment levels predict future cognitive decline and neurodegeneration in healthy elderly individuals. *Nat Commun*, 2020, 11: 6024
- [26] Ashabi G, Ahmadiani A, Abdi A, et al. Time course study of  $A\beta$  formation and neurite outgrowth disruption in differentiated human neuroblastoma cells exposed to  $H_2O_2$ : protective role of autophagy. *Toxicol In Vitro*, 2013, 27: 1780-8
- [27] Lopez-Font I, Boix CP, Zetterberg H, et al. Characterization of cerebrospinal fluid BACE1 species. *Mol Neurobiol*, 2019, 56: 8603-16

- [28] Tian S, Huang R, Guo D, et al. Associations of plasma BACE1 level and BACE1 C786G gene polymorphism with cognitive functions in patients with type 2 diabetes: a cross-sectional study. *Curr Alzheimer Res*, 2020, 17: 355-64
- [29] Saravanan K, Sivanandam M, Hunday G, et al. Investigation of intermolecular interactions and stability of verubecestat in the active site of BACE1: development of first model from QM/MM-based charge density and MD analysis. *J Biomol Struct Dyn*, 2019, 37: 2339-54
- [30] Schaevebeke J, Gille B, Adamczuk K, et al. Cerebrospinal fluid levels of synaptic and neuronal integrity correlate with gray matter volume and amyloid load in the precuneus of cognitively intact older adults. *J Neurochem*, 2019, 149: 139-57
- [31] 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
- [32] Vergallo A, Lemercier P, Cavado E, et al. Plasma  $\beta$ -secretase1 concentrations correlate with basal forebrain atrophy and neurodegeneration in cognitively healthy individuals at risk for AD. *Alzheimers Dement*, 2021, 17: 629-40
- [33] Bachmeier C, Paris D, Beaulieu-Abdelahad D, et al. A multifaceted role for apoE in the clearance of  $\beta$ -amyloid across the blood-brain barrier. *Neurodegener Dis*, 2013, 11: 13-21
- [34] Kanekiyo T, Xu H, Bu G. ApoE and A $\beta$  in Alzheimer's disease: accidental encounters or partners? *Neuron*, 2014, 81: 740-54
- [35] Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*, 1993, 261: 921-3
- [36] Martínez-Morillo E, Hansson O, Atagi Y, et al. Total apolipoprotein E levels and specific isoform composition in cerebrospinal fluid and plasma from Alzheimer's disease patients and controls. *Acta Neuropathol*, 2014, 127: 633-43
- [37] Minta K, Brinkmalm G, Janelidze S, et al. Quantification of total apolipoprotein E and its isoforms in cerebrospinal fluid from patients with neurodegenerative diseases. *Alzheimers Res Ther*, 2020, 12: 19
- [38] Marizzoni M, Ferrari C, Babiloni C, et al. CSF cutoffs for MCI due to AD depend on *APOE $\epsilon$ 4* carrier status. *Neurobiol Aging*, 2020, 89: 55-62
- [39] Riphagen JM, Ramakers I, Freeze WM, et al. Linking *APOE- $\epsilon$ 4*, blood-brain barrier dysfunction, and inflammation to Alzheimer's pathology. *Neurobiol Aging*, 2020, 85: 96-103
- [40] Slot RER, Kester MI, Van Harten AC, et al. ApoE and clusterin CSF levels influence associations between APOE genotype and changes in CSF tau, but not CSF A $\beta$ 42, levels in non-demented elderly. *Neurobiol Aging*, 2019, 79: 101-9
- [41] Garrido-García A, de Andrés R, Jiménez-Pompa A, et al. Neurogranin expression is regulated by synaptic activity and promotes synaptogenesis in cultured hippocampal neurons. *Mol Neurobiol*, 2019, 56: 7321-37
- [42] Chen SJ, Sweatt JD, Klann E. Enhanced phosphorylation of the postsynaptic protein kinase C substrate RC3/neurogranin during long-term potentiation. *Brain Res*, 1997, 749: 181-7
- [43] Seeger C, Talibov VO, Danielson UH. Biophysical analysis of the dynamics of calmodulin interactions with neurogranin and  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin-dependent kinase II. *J Mol Recognit*, 2017, 30: e2621
- [44] Li L, Lai M, Cole S, et al. Neurogranin stimulates  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin-dependent kinase II by suppressing calcineurin activity at specific calcium spike frequencies. *PLoS Comput Biol*, 2020, 16: e1006991
- [45] Hall S, Janelidze S, Zetterberg H, et al. Cerebrospinal fluid levels of neurogranin in Parkinsonian disorders. *Mov Disord*, 2020, 35: 513-8
- [46] Santillo AF, Lundgren S, Xu C, et al. Neurogranin as a potential synaptic marker in the cerebrospinal fluid of patients with a first episode psychosis. *Schizophr Res*, 2019, 208: 490-2
- [47] Wang L. Association of cerebrospinal fluid neurogranin with Alzheimer's disease. *Aging Clin Exp Res*, 2019, 31: 185-91
- [48] Bruno D, Reichert Plaska C, Clark DPA, et al. CSF  $\alpha$ -synuclein correlates with CSF neurogranin in late-life depression. *Int J Neurosci*, 2021, 131: 357-61
- [49] Tarawneh R, D'Angelo G, Crimmins D, et al. Diagnostic and prognostic utility of the synaptic marker neurogranin in Alzheimer disease. *JAMA Neurol*, 2016, 73: 561-71
- [50] Wellington H, Paterson RW, Portelius E, et al. Increased CSF neurogranin concentration is specific to Alzheimer disease. *Neurology*, 2016, 86: 829-35
- [51] 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
- [52] Öhrfelt A, Dumurgier J, Zetterberg H, et al. Full-length and C-terminal neurogranin in Alzheimer's disease cerebrospinal fluid analyzed by novel ultrasensitive immunoassays. *Alzheimers Res Ther*, 2020, 12: 168
- [53] Kester MI, Teunissen CE, Crimmins DL, et al. Neurogranin as a cerebrospinal fluid biomarker for synaptic loss in symptomatic Alzheimer disease. *JAMA Neurol*, 2015, 72: 1275-80
- [54] Jia L, Zhu M, Kong C, et al. Blood neuro-exosomal synaptic proteins predict Alzheimer's disease at the asymptomatic stage. *Alzheimers Dement*, 2021, 17: 49-60
- [55] Davidsson P, Blennow K. Neurochemical dissection of synaptic pathology in Alzheimer's disease. *Int Psychogeriatr*, 1998, 10: 11-23
- [56] Bogdanovic N, Davidsson P, Volkman I, et al. Growth-associated protein GAP-43 in the frontal cortex and in the hippocampus in Alzheimer's disease: an immunohistochemical and quantitative study. *J Neural Transm (Vienna)*, 2000, 107: 463-78

- [57] Sandelius Å, Portelius E, Brinkmalm G, et al. Presynaptic degradation in Alzheimer's disease measured by novel GAP-43 ELISA in CSF. *Alzheimers Dement*, 2017, 13: P1513
- [58] Sandelius Å, Portelius E, Källén Å, et al. Elevated CSF GAP-43 is Alzheimer's disease specific and associated with tau and amyloid pathology. *Alzheimers Dement*, 2019, 15: 55-64
- [59] Herrera-Espejo S, Santos-Zorroza B, Álvarez-González P, et al. A systematic review of microRNA expression as biomarker of late-onset Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol*, 2019, 56: 8376-91
- [60] Cao J, Hou J, Zhu L, et al. Exploring a role for microRNA195 (MIR195) as a potential Alzheimer's disease biomarker. *Alzheimers Dement*, 2019, 15: 679
- [61] Kumar S, Reddy PH. MicroRNA-455-3p as a potential biomarker for Alzheimer's disease: an update. *Front Aging Neurosci*, 2018, 10: 41
- [62] Hara N, Kikuchi M, Miyashita A, et al. Serum microRNA miR-501-3p as a potential biomarker related to the progression of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun*, 2017, 5: 10
- [63] Zhao MY, Wang GQ, Wang NN, et al. The long-non-coding RNA NEAT1 is a novel target for Alzheimer's disease progression via miR-124/BACE1 axis. *Neurol Res*, 2019, 41: 489-97
- [64] Feng L, Liao YT, He JC, et al. Plasma long non-coding RNA BACE1 as a novel biomarker for diagnosis of Alzheimer disease. *BMC Neurol*, 2018, 18: 4