

·老年性痴呆专题·

编者按:阿尔茨海默病(AD)是最常见的老年退行性病,也属脑重大疾病,其以进行性认知障碍为临床表现,常见于60岁以上人群,故又称老年性痴呆。我国是全球AD患者最多的国家,有近700万人。自从德国精神病学家 Alois Alzheimer 1907年首次描述该病以来,在过去的100多年里,AD的研究取得许多喜人的成果。尽管如此,AD的发病机制尚未完全阐明,临床上也无有效延缓AD进程的药物。每年9月21日为“世界老年痴呆日”,9月为AD宣传月。为落实《健康中国行动(2019-2030)》计划,推动国内AD研究,本刊特约请皮荣标教授组织有关专家,特设老年性痴呆专题,在本期集中发表AD相关文章6篇,内容包括从AD血液蛋白标志物的研究最新进展,到神经元死亡或可塑性改变机制以及抗AD药物研发。在此,本刊对所有参与本项工作的作者和编审专家表示衷心的感谢!也祝愿AD早日被攻克!

阿尔茨海默病血液蛋白标志物的研究进展

徐俊

(首都医科大学附属北京天坛医院神经认知科,北京100070)



作者简介:徐俊,首都医科大学附属北京天坛医院主任医师,博士生导师,认知障碍方向学术带头人;北京市青年拔尖团队带头人,中华医学会肠外肠内营养分会脑健康营养协作组主委,中国卒中学会脑健康分会副主委,中国老年医学学会认知障碍分会副会长。先后主持国家自然科学基金课题4项、北京市科委青年拔尖团队项目1项、省部级课题20项。主要从事认知障碍疾病临床诊治和发病机制研究,相关成果以第一或通讯作者发表SCI论文29篇,中文核心期刊110余篇。获授权发明专利2项,软件著作权4项,出版科普专著2部,参编/翻译专著6部,获得省级科研项目奖项3项。

摘要:阿尔茨海默病(AD)作为常见的中枢神经系统退行性疾病,早诊对其治疗非常重要。然而目前临床确诊需要进行有创的腰椎穿刺或昂贵的A β /Tau PET检查,导致早期诊断滞后。外周血因具有无创易获取、适于疾病追踪随访等优点,多年来研究一直在其中寻找AD的早期特异性生物标志物。但由于血液中脑源性蛋白的浓度较低,且易受到血浆基质蛋白的干扰,既往应用传统的酶联免疫吸附法(ELISA)对血液中AD相关蛋白检测的研究结果并不一致。近年来,一些超灵敏检测技术逐渐应用于AD血液蛋白标志物研究,有关结果表明血液中A β 、p-Tau以及外泌体在AD的早期诊断、鉴别和预测等方面有潜在的应用价值。故本文对近5年来血液中AD蛋白标志物的研究进展进行综述,以提高对血液生物标志物在AD诊疗中的认识,并为其更好的早期应用于临床提供指导。

关键词:阿尔茨海默病;血液生物标志物;超灵敏检测技术

中图分类号:R74

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2021)05-0651-08

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2021.0502

Research Progress in Blood-based Protein Biomarkers in Alzheimer's Disease

XU Jun

(Department of Cognitive Neurology, Beijing Tian Tan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100070, China)

Correspondence to: XU Jun; E-mail: neurojun@126.com

收稿日期:2021-05-11

基金项目:国家自然科学基金(81870821, 81471215, 82071187);北京市青年拔尖人才支持计划(2018000021223TD08)

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is a common degenerative disease of the central nervous system, and early diagnosis is very important for treatment. However, invasive lumbar puncture or expensive A β /Tau PET examination for definite diagnosis is required, which leads to a delay in early diagnosis. Because it is non-invasive and convenient to collect blood sample, researchers have been trying to find cost-effective early AD biomarkers in it. However, due to the low concentration of brain-derived proteins in the blood and the susceptibility to interference from plasma matrix proteins, research outcomes about AD-related protein biomarkers in blood detected with traditional enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were not consistent. In recent years, ultra-sensitive technologies have been applied to AD biomarkers detection, in which results indicated that A β , p-Tau and exosomes in the blood was valuable to the diagnosis, differential diagnosis and prediction of AD. Therefore, this article reviewed the research progress in AD protein biomarkers in blood in the past 5 years, in order to improve the understanding of blood biomarkers in AD diagnosis and treatment, and provide guidance for early clinical application.

Key words: Alzheimer's disease; blood biomarkers; ultra-sensitive technologies

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2021, 42(5): 651-658]

阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease, AD)是以淀粉样蛋白沉积(amyloid- β , A β)和Tau蛋白形成的神经纤维缠结为主要病理特征的进行性中枢神经系统退行性疾病。该病目前的发病机制不明,临床上尚无有效的治愈药物。2011年,美国国立老年研究所-阿尔茨海默病协会(National Institute on Aging-Alzheimer's Association, NIA-AA)在AD诊断指南中指出AD是连续发展的疾病,在认知损害出现的至少10年之前AD患者脑内就已有相关病理改变(称为临床前期)^[1]。这一指南促进了早期识别AD病理的生物标志物研究,并促进对AD进行早期诊断和干预的研究转向。脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)和正电子发射计算机断层显像(positron emission computed tomography, PET)检查能够反映脑内A β 和Tau蛋白病理,多年来一直被推荐作为AD的特异性病理生物标志物,是AD的早期诊断、临床研究和药物研发中所监测的指标之一。2018年,NIA-AA推荐基于"A"(A β)"T"(Tau)"N"(神经变性)病理标志物划分AD和非AD谱系疾病,再次肯定了CSF和PET检查对AD诊断的意义^[2]。但CSF和PET检测技术因价格昂贵,创伤性大,技术要求高,患者依从性差等缺点而无法在临床中普及^[3],因此目前临床上主要结合临床表现和认知量表对AD进行诊断,特异性较低。

血液因具有易于采样、安全性高、可重复实施、适于疾病追踪随访等优点,研究者们一直尝试在其

中寻找经济有效的AD早期生物标志物,以期打破AD目前面临的诊疗困境。然而,既往关于血液中AD蛋白生物标志物(主要是A β 和Tau)与AD病理标志物(CSF和PET)的相关性研究、血液中A β 和Tau对AD的诊断和预测等方面的研究结果并不一致^[4-9]。主要的原因包括^[10]:①脑源性A β 或Tau在外周血中的浓度较低,传统的酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测范围有限;②血液中A β 和tau可能还来源于外周组织;③血浆中其他含量丰富的蛋白质如白蛋白、免疫球蛋白会影响检测结果;④A β 或Tau蛋白在血液中的半衰期较短。此外,种族差异和样本量的大小,纳入和排除的标准不同也会对研究结果产生影响^[11-12]。近年来,超灵敏检测技术如单分子免疫阵列(single-molecule array, Simoa),免疫沉淀-质谱联用(immunoprecipitation mass spectrometry, IP-MS),MSD(Meso Scale Discovery, MSD)电化学发光,免疫磁减量(immunomagnetic reduction, IMR)的应用使得血液中AD蛋白标志物研究有了极大的进展。相关研究结果表明血液中部分生物标志物(如A β 、p-Tau、外泌体)能够早期反映AD的病理状态,并对AD进行早期诊断和预测,有望于成为AD早期特异性体液生物标志物。因此本文通过对近5年来血液中AD蛋白生物标志物的研究进展进行总结,以提高对血液生物标志物在AD诊疗中的认识,并为其更好的早期应用于临床提供指导。

1 血浆A β 检测

1.1 血浆A β 对AD的诊断

与单独血浆A β_{42} 相比,通过Simoa检测的血浆A β_{42} /A β_{40} 对AD的诊断更为可靠。在瑞典神经退行性疾病早期可靠的生物标志物(Biomarkers For Identifying Neurodegenerative Disorders Early and Reliably, BioFINDER)队列中的一项大型回顾性研究表明^[13],与轻度认知障碍(mild cognitive impairment, MCI)和对照组相比,Simoa检测的血浆A β_{42} 、A β_{40} 、A β_{42} /A β_{40} 在AD患者中均明显下降,但仅血浆A β_{42} /A β_{40} 在对照组和MCI组间有显著差异。Startin等^[14]应用Simoa比较不同患者的血浆A β ,研究发现唐氏综合征(Down syndrome, DS)患者的血浆A β_{42} 与散发性AD(sporadic AD, sAD)和对照组相比明显升高,sAD与对照组间的血浆A β_{42} 无明显差异性;但DS和sAD的血浆A β_{42} /A β_{40} 均显著低于对照组。

在应用IMR检测血浆A β 和Tau蛋白的研究中发现^[15-19],与对照组相比,MCI和AD患者的血浆A β_{42} 和Tau蛋白水平显著升高,血浆A β_{40} 水平降低。进行受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)分析表明,单独血浆A β_{42} 、Tau,或者联合生物标志物A β_{42} /A β_{40} 、Tau \times A β_{42} 对于区分对照组和AD的曲线下面积(area under curve, AUC)均大于90%,但这些指标区分MCI和AD的AUC仅在70%左右。一项纳入83例血液生物标志物的临床研究进行Meta分析表明^[20],与Simoa和ELISA相比,IMR检测的血浆A β_{42} 、A β_{40} 以及A β_{42} /A β_{40} 在AD和对照组间均有显著差异性。可以看出,相比于Simoa,IMR检测的血浆A β 对诊断AD的准确度似乎更高。但在这些研究中,AD的诊断缺乏A β 或Tau病理标志物,因此仍需在有AD病理标志物的队列中进一步研究血浆A β 对AD以及AD临床前期的诊断价值。

值得注意的是,IMR检测的血浆A β_{42} 水平往往是增加的,这与Simoa,IP-MS检测相关的研究结果相反,原因可能在于检测分析的过程不同^[16-17]。首先,SIMOA采用磁珠纯化目标蛋白(此过程通常会导致目标蛋白丢失),而IMR是直接测量目标蛋白;其次,Simoa在检测中使用两种单克隆抗体,而IMR在检测中只用一种特异性捕获C端的抗体,这使得IMR会将血浆中A β_{42} 的单体,寡聚体、复合体等均

检测出来。

1.2 血浆A β 与AD病理标志物的相关性

在MCI和AD患者中,Simoa和IMR检测的血浆A β 与CSF/PET中的AD病理标志物存在一定相关性,但其区分脑内异常AD病理状态的能力有待进一步验证。Janelidze等^[13]通过Simoa检测受试者血浆中的A β ,结果表明MCI者的血浆A β_{42} 与CSF中的A β_{42} 轻度正相关($r=0.27, P<0.001$),与A β PET轻度负相关($r=-0.295, P=0.002$)。另一项应用Simoa检测血浆中A β 的研究指出^[21],遗忘型MCI(amnesic MCI, aMCI)患者的血浆A β_{42} /A β_{40} 与CSF A β_{42} /Tau的正相关性高于对照组($r_{\text{aMCI}}=0.51 > r_{\text{对照}}=0.25$);血浆A β_{42} /A β_{40} 预测aMCI患者脑内A β PET异常状态的AUC为0.86。Teunissen等^[18]在荷兰和瑞典两组队列的AD患者中发现,IMR检测的血浆A β_{42} 和ELISA检测的CSF A β_{42} 中度负相关($r=-0.352$)。在一项中国台湾地区AD神经影像学计划多中心研究中^[22],IMR检测的血浆A β_{42} 以15.58 pg/mL为分界值,结合APOE $\epsilon 4$ 状态,区分早期AD患者脑内A β 异常沉积状态的能力明显提高($AUC_{\text{单独}}=0.611; AUC_{\text{联合}}=0.875$)。

与Simoa和IMR相比,IP-MS检测的血浆A β 能够较为准确的反映认知正常者、MCI以及AD患者的脑内A β 沉积水平^[23]。应用IP-MS对华盛顿医科大学AD研究中心的41例AD患者和认知正常者的血浆A β 进行检测,结果表明血浆A β_{42} /A β_{40} 反映CSF和PET检查中的A β 异常状态的AUC为89%;进一步将该比值与CSF标志物进行相关性分析发现,血浆与CSF中的A β_{42} /A β_{40} 高度相关($r=0.7, P<0.0001$)^[24]。Kaneko等^[25]采用IP-MS检测66个受试者血浆中淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)和A β ,结果显示血浆APP₆₆₉₋₇₁₁/A β_{42} 区分A β PET异常状态的能力($AUC=0.969$)优于A β_{42} /A β_{40} ($AUC=0.798$)。之后该研究团队在日本国立老年医学中心(National Center for Geriatrics and Gerontology, NCGG)和澳大利亚老龄化影像学,生物标志物 and 生活方式研究(Australian Imaging, Biomarker and Lifestyle Study of Ageing, AIBL)数据库中的研究再次证实血浆A β_{42} /A β_{40} , APP₆₆₉₋₇₁₁/A β_{42} 以及他们的复合生物标志物均能作为检测A β PET状态的有效指标($AUC>90%$)^[26]。

1.3 血浆A β 对认知进展的预测

部分SCD和aMCI患者脑内可能出现AD早期

病理变化因而更有可能出现认知功能恶化^[27],而Simoa和IMR检测的血浆A β 与AD病理标志物存在相关性从而能够在一定程度上预测认知水平的下降。Verberk等^[3]对248例主观认知下降者(subjective cognitive decline, SCD)平均随访3年,并应用Simoa对其血浆中的A β 进行检测,建立Cox比例风险回归模型后发现,在调整年龄和性别因素后,血浆A β_{42} /A β_{40} 比值下降的SCD进展为MCI和痴呆的风险增加1.67倍(95%CI: 1.15-2.44),然而血浆A β_{42} 、A β_{40} 以及Tau并不能预测MCI和痴呆的进展。Chen等^[28]对22例aMCI患者平均随访1.5年,结果表明在调整年龄、性别、文化程度、APOE因素后,IMR检测的血浆A β_{42} 、Tau或者Tau \times A β_{42} 升高至少增加5倍以上的认知功能下降的风险。

2 血浆Tau检测

2.1 血浆Tau对AD的诊断

2.1.1 血浆t-Tau在AD中的诊断 AD患者和正常人群中的血浆总Tau蛋白(total-Tau, t-Tau;前文中所提到的血浆Tau即指t-Tau)重叠程度较高,并不能作为AD的特异性生物标志物,但可反映病情的进展程度。应用Simoa检测的血浆t-Tau虽在AD患者中显著升高,但并不能有效的区分AD和MCI及认知正常人群^[29-31]。而Yang等^[32]采用IMR检测台湾大学医院215例招募者的血浆t-Tau,结果显示在17.43 pg/mL的分界值下,血浆t-Tau能够区分痴呆与认知正常者(AUC=90.8%),但并不能有效区分AD和非AD痴呆。

2.1.2 血浆p-Tau在AD中的诊断 近来,血浆中过度磷酸化的Tau蛋白(phosphorylated tau, p-Tau)作为AD血液生物标志物逐渐受到关注,目前研究较多的磷酸化位点有p-Tau181和p-Tau217,也有关于血浆p-Tau231在AD中的研究报道^[33-34]。

血浆p-Tau181和p-Tau217在MCI阶段乃至临床前期即显著升高,对于AD的早期诊断和鉴别诊断均具有良好的区分性能。采用IMR对73例受试者血浆p-Tau181进行检测,结果表明在不同的分界值水平,血浆p-Tau181能够识别认知正常者、MCI以及轻度AD患者^[35]。应用Simoa和MSD检测血浆p-Tau181的研究发现^[36-39],血浆p-Tau181在A β +的MCI和对照组中明显升高,在AD阶段随着病情进展进一步增加,对鉴别临床诊断或病理解剖

证实的AD与非AD退行性疾病的AUC在90%左右。Palmqvist等^[40]率先应用MSD对不同队列人群中的血浆p-Tau217检测发现,血浆p-Tau217对于区分亚利桑那州神经病理队列和BioFINDER队列中的AD和其他神经变性疾病的AUC超过95%。应用MSD对华盛顿高地-英伍德哥伦比亚老龄化项目(Washington Heights-Inwood Columbia Aging Project, WHICAP)中的3个种族人群的血浆p-Tau进行检测发现^[41],血浆p-Tau217和p-Tau181能够有效区分解剖和临床队列中的不同种族的AD和对照组。

2.2 血浆Tau与AD病理的相关性

2.2.1 血浆t-Tau与AD病理标志物的相关性 AD患者中Simoa检测的血浆t-Tau和CSF中AD标志物的相关性微弱,并不能成为AD特异的病理标志物,但能够反映神经损伤的严重程度。在梅奥临床队列(Mayo Clinic Study of Aging, MCSA)中的研究表明,血浆t-Tau升高与认知水平下降,海马体积缩小以及皮层厚度减少有关,但与脑内A β 沉积、神经纤维缠结病理并不相关^[29,42-43]。一项对AD神经影像学计划(Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, ADNI)数据库中的189例认知正常、195例MCI和179例AD患者在2年内的血浆t-Tau变化的回顾性研究分析表明^[30],在调整诊断、年龄、性别、文化程度、APOE后,血浆t-Tau升高与认知进展速度,海马萎缩程度以及葡萄糖代谢下降水平有关;研究人员同时在对BioFINDER队列人群中发现AD患者的血浆t-Tau与CSF t-Tau的相关性并不强($\beta = 0.13$, 95% CI: 0.039-0.22)。在纽约大学医学院(New York University School of Medicine, NYUSOM)队列中的一项研究也同样显示AD患者的血浆和CSF中的t-Tau无明显相关性($r=0.2$, $P=0.33$)^[31]。

2.2.2 血浆p-Tau与AD病理的相关性 在脑内出现AD病理之前,血浆p-Tau181和p-Tau217水平已有升高,二者与A β 和Tau病理密切相关,能够准确反映AD病理。对痴呆病例登记(Dementia Case Register, CDR)和英国阿尔茨海默病研究(Alzheimer's Research UK, ARUK)队列中的115人的血浆p-Tau181采用Simoa进行检测,并对参与者去世后进行神经病理评估,研究表明AD病理出现的至少8年之前血浆p-Tau181就有升高,区分AD病理和非AD病理的AUC达97%^[44]。在ADNI数据库中的一项关于血浆p-Tau181(Simoa检测)在AD病程中的

变化情况的纵向研究中,研究者采用线性混合效应模型分析表明在A β PET和CSF A β_{42} 达到异常水平之前,血浆 p-Tau181即随着A β 病理的进展而升高,并且在调整了年龄,性别,认知状态后,A β +组中血浆 p-Tau181的纵向增加与6年后Tau蛋白的广泛聚集相关^[45]。在应用Simoa和MSD检测血浆 p-Tau181的横断面研究中发现,仅在A β +组(不论认知状态)中血浆 p-Tau181与CSF p-Tau以及Tau PET有显著相关性^[34,36-38,42,46]。Palmqvist等^[40]关于MSD检测的血浆 p-Tau217与AD病理的相关性研究表明,在尸检病理证实的A β +组中血浆 p-Tau217与神经缠结的密度评分相关($r=0.64, P<0.001$);该团队在BioFINDER队列中的研究发现,血浆 p-Tau217对识别A β /Tau PET异常状态的能力可比拟CSF中的AD标志物($AUC_{\text{血液 p-Tau217}}:0.87-0.93; AUC_{\text{CSF}}:0.80-0.97$)。对来自华盛顿大学招募的AD患者和健康对照者进行A β PET和CSF检查,并应用IP-MS检测受试者血浆中的p-Tau,研究表明血浆和CSF中的p-Tau217高度相关($r>0.7, P<0.0001$),ROC分析结果显示血浆 p-Tau217对识别A β PET异常状态的AUC超过90%^[47]。

2.3 血浆 Tau 对认知进展的预测

Janelidze等^[36]对219例认知正常者和125例MCI患者随访8年,以是否转化为AD为结局指标建立Cox比例风险回归模型,结果表明在调整血浆 t-Tau, A β_{42} /A β_{40} ,神经丝轻链等因素后,高血浆 p-Tau181增加非痴呆者转化为AD的风险(HR:3.59, 95%CI:2.55-5.04)。Palmqvist等^[40]在哥伦比亚常染色体显性AD登记注册研究队列中发现在PSEN1变异的AD患者至少在出现认知损害的20年前血浆 p-Tau217即有升高。随后该团队对BioFINDER队列中的250位受试者随访6年,使用线性混合效应模型分析表明,在A β +的认知正常者和MCI人群中血浆 p-Tau217随着时间而增加,并且与认知能力下降和脑萎缩相关^[48]。Brickman等^[41]对WHICAP临床队列中的169例认知正常者进行随访,研究表明在调整性别、年龄、种族和APOE因素后,血浆 p-Tau217和p-Tau181升高增加4年后AD的发生风险(OR:2.27, 95%CI:1.31-3.93; OR:2.74, 95%CI:1.54-4.86)。

3 血液外泌体检测

外泌体是包括神经元在内的多种细胞所分泌的直径为30~150纳米的囊泡结构,其可于血液、脑脊液、尿液等多种体液中分离、提取。外泌体内含有大量蛋白质、脂质、微小RNA(microRNA, miRNA)等来自母体细胞的内容物,因此可以作为反映中枢系统疾病的生物标志物^[49]。目前外泌体在AD方面的研究主要通过对其中的AD相关蛋白(A β 、Tau、突触蛋白等)和miRNA进行检测。

现有的研究提示血液外泌体中的部分蛋白质可以早期识别AD并且能够准确反映AD病理变化。通过ELISA检测的外泌体A β 、Tau、p-Tau181在AD临床前期明显升高,并且联合生物标志物对区分AD、aMCI和对照组的能力优于单一标志物^[50-51]。在我国的一项探究血液中神经源性外泌体(ELISA检测)和CSF中AD标志物的一致性的多中心研究中发现,血液外泌体和CSF中的A β_{42} 、t-Tau, p-Tau181彼此高度相关($R^2=0.76-0.86, P<0.0001$)^[51]。新近的研究发现血液外泌体中的突触蛋白组合能在临床症状出现的5~7年前预测AD的发生($AUC=0.87-0.89$)^[52]。

4 血液其他蛋白检测

除了上述血液中主要的AD相关蛋白标志物外,还有研究利用高通量质谱分析对血液中的蛋白检测,结果表明多种血液蛋白指标联合往往能够提高作为AD生物标志物的准确性。在韩国AD早期诊断和预测的脑衰老研究队列中的一项基于质谱检测的蛋白组学分析表明,多个蛋白生物标志物组合可以提高对AD诊断的敏感性和特异性^[53]。我国学者^[54]对AD患者和对照组血清进行蛋白组学分析,选取了与APP相互作用的18个蛋白作为AD候选生物标志物,推测这些蛋白表达水平或功能改变可能影响A β 代谢从而参与AD发生^[53]。

综上所述,应用超灵敏技术检测的血浆中A β 和p-Tau以及血液外泌体与AD病理标志物之间存在明显相关性,能够早期识别AD病理;联合生物标志物检测能够增加对AD早期诊断的准确性并能在一定程度上预测痴呆的进展,有望成为AD早期生物标志物。但不同的检测技术在血液中AD蛋白

标志物方面的研究结果存在一定差异性,除了检测技术原理不同之外,检测流程、不同标志物的分界值,以及不同种族、样本量大小、纳入标准都会对结果产生影响。因此需要对AD蛋白标志物的不同检测方法和流程以及纳入的人群标准作以规范,也需

要更多的Meta分析和建立以“前瞻性、多种族、多中心、大样本、真实世界数据”为基本特征的认知队列以明确血液蛋白标志物在AD中的应用价值,从而推动AD血液蛋白标志物早期应用于临床。

参考文献

- [1] Frisoni GB, Winblad B, O'Brien JT. Revised NIA-AA criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: a step forward but not yet ready for widespread clinical use [J]. *Int Psychogeriatr*, 2011, 23(8):1191 - 1196.
- [2] Jack CR, Bennett DA, Blennow K, et al. NIA-AA Research Framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(4):535 - 562.
- [3] Verberk IM, Slot RE, Verfaillie SC, et al. Plasma amyloid as prescreener for the earliest Alzheimer pathological changes [J]. *Ann Neurol*, 2018, 84(5):648 - 658.
- [4] Blasko I, Jellinger K, Kemmler G, et al. Conversion from cognitive health to mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: prediction by plasma amyloid beta42, medial temporal lobe atrophy and homocysteine [J]. *Neurobiol Aging*, 2008, 29(1):1 - 11.
- [5] Mayeux R, Honig LS, Tang MX, et al. Plasma Aβ40 and Aβ42 and Alzheimer's disease: relation to age, mortality, and risk [J]. *Neurology*, 2003, 61(9):1185 - 1190.
- [6] Hansson O, Zetterberg H, Vanmechelen E, et al. Evaluation of plasma Aβ40 and Aβ42 as predictors of conversion to Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment [J]. *Neurobiol Aging*, 2010, 31(3):357 - 367.
- [7] Lopez OL, Kuller LH, Mehta PD, et al. Plasma amyloid levels and the risk of AD in normal subjects in the Cardiovascular Health Study [J]. *Neurology*, 2008, 70(19):1664 - 1671.
- [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] Zetterberg H. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease—An update [J]. *J Neurosci Methods*, 2019, 319:2 - 6.
- [11] Landau SM, Mintun MA, Joshi AD, et al. Amyloid deposition, hypometabolism, and longitudinal cognitive decline [J]. *Ann Neurol*, 2012, 72(4):578-586.
- [12] Snyder HM, Carrillo MC, Grodstein F, et al. Developing novel blood-based biomarkers for Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Dement*, 2014, 10(1):109 - 114.
- [13] Janelidze S, Stomrud E, Palmqvist S, et al. Plasma β-amyloid in Alzheimer's disease and vascular disease [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:26801.
- [14] Startin CM, Ashton NJ, Hamburg S, et al. Plasma biomarkers for amyloid, tau, and cytokines in Down syndrome and sporadic Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2019, 11(1):26.
- [15] Jiao F, Yi F, Wang Y, et al. The validation of multi-factor model of plasma Aβ₄₂ and total-Tau in combination with MoCA for diagnosing probable Alzheimer disease [J]. *Front Aging Neurosci*, 2020, 12:212.
- [16] Lue LF, Sabbagh MN, Chiu MJ, et al. Plasma levels of Aβ₄₂ and Tau identified probable Alzheimer's dementia: Findings in two cohorts [J]. *Front Aging Neurosci*, 2017, 9:226.
- [17] Yang SY, Chiu MJ, Chen TF, et al. Detection of plasma biomarkers using immunomagnetic reduction: A promising method for the early diagnosis of Alzheimer's disease [J]. *Neurol Ther*, 2017, 6(Suppl 1):37 - 56.
- [18] Teunissen CE, Chiu MJ, Yang CC, et al. Plasma amyloid-β (Aβ₄₂) correlates with cerebrospinal fluid Aβ₄₂ in Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 62(4):1857 - 1863.
- [19] Chiu MJ, Chen TF, Hu CJ, et al. Nanoparticle-based immunomagnetic assay of plasma biomarkers for differentiating dementia and prodromal states of Alzheimer's

- s disease – A cross-validation study [J]. *Nanomedicine*, 2020, 28:102182.
- [20] Koychev I, Jansen K, Dette A, et al. Blood-based ATN biomarkers of Alzheimer's disease: A meta-analysis[J]. *J Alzheimers Dis*, 2021, 79(1):177 - 195.
- [21] Meyer S de, Schaeverbeke JM, Verberk IM, et al. Comparison of ELISA- and SIMOA-based quantification of plasma A β ratios for early detection of cerebral amyloidosis [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2020, 12(1):162.
- [22] Lin SY, Lin KJ, Lin PC, et al. Plasma amyloid assay as a pre-screening tool for amyloid positron emission tomography imaging in early stage Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2019, 11(1):111.
- [23] Keshavan A, Pannee J, Karikari TK, et al. Population-based blood screening for preclinical Alzheimer's disease in a British birth cohort at age 70[J]. *Brain*, 2021, 144(2):434 - 449.
- [24] Ovod V, Ramsey KN, Mawuenyega KG, et al. Amyloid β concentrations and stable isotope labeling kinetics of human plasma specific to central nervous system amyloidosis [J]. *Alzheimers Dement*, 2017, 13(8):841 - 849.
- [25] Kaneko N, Nakamura A, Washimi Y, et al. Novel plasma biomarker surrogating cerebral amyloid deposition[J]. *Proc Jpn Acad, Ser B, Phys Biol Sci*, 2014, 90(9):353 - 364.
- [26] Nakamura A, Kaneko N, Villemagne VL, et al. High performance plasma amyloid- β biomarkers for Alzheimer's disease[J]. *Nature*, 2018, 554(7691):249 - 254.
- [27] Snitz BE, Wang T, Cloonan YK, et al. Risk of progression from subjective cognitive decline to mild cognitive impairment: The role of study setting [J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(6):734 - 742.
- [28] Chen TB, Lee YJ, Lin SY, et al. Plasma A β_{42} and total tau predict cognitive decline in amnesic mild cognitive impairment[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):13984.
- [29] Dage JL, Wennberg AM, Airey DC, et al. Levels of tau protein in plasma are associated with neurodegeneration and cognitive function in a population-based elderly cohort [J]. *Alzheimers Dement*, 2016, 12(12):1226 - 1234.
- [30] Mattsson N, Zetterberg H, Janelidze S, et al. Plasma tau in Alzheimer disease [J]. *Neurology*, 2016, 87(17):1827 - 1835.
- [31] Fossati S, Ramos Cejudo J, Debure L, et al. Plasma tau complements CSF tau and P-tau in the diagnosis of Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Dement (Amst)*, 2019, 11:483 - 492.
- [32] Yang SY, Chiu MJ, Chen TF, et al. Analytical performance of reagent for assaying tau protein in human plasma and feasibility study screening neurodegenerative diseases[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):9304.
- [33] Ashton NJ, Pascoal TA, Karikari TK, et al. Plasma p-tau231: a new biomarker for incipient Alzheimer's disease pathology [J]. *Acta Neuropathol*, 2021, 141(5):709 - 724.
- [34] Suárez-Calvet M, Karikari TK, Ashton NJ, et al. Novel tau biomarkers phosphorylated at T181, T217 or T231 rise in the initial stages of the preclinical Alzheimer's continuum when only subtle changes in A β pathology are detected[J]. *EMBO Mol Med*, 2020, 12(12):e12921.
- [35] Yang CC, Chiu MJ, Chen TF, et al. Assay of plasma phosphorylated tau protein (Threonine 181) and total tau protein in early-stage Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 61(4):1323 - 1332.
- [36] Janelidze S, Mattsson N, Palmqvist S, et al. Plasma P-tau181 in Alzheimer's disease: relationship to other biomarkers, differential diagnosis, neuropathology and longitudinal progression to Alzheimer's dementia [J]. *Nat Med*, 2020, 26(3):379 - 386.
- [37] Karikari TK, Pascoal TA, Ashton NJ, et al. Blood phosphorylated tau181 as a biomarker for Alzheimer's disease: a diagnostic performance and prediction modelling study using data from four prospective cohorts [J]. *Lancet Neurol*, 2020, 19(5):422 - 433.
- [38] Benussi A, Karikari TK, Ashton N, et al. Diagnostic and prognostic value of serum NfL and p-Tau181 in frontotemporal lobar degeneration[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2020, 91(9):960 - 967.
- [39] Thijssen EH, La Joie R, Wolf A, et al. Diagnostic value of plasma phosphorylated tau181 in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration[J]. *Nat Med*, 2020, 26(3):387 - 397.
- [40] Palmqvist S, Janelidze S, Quiroz YT, et al. Discriminative accuracy of plasma phospho-tau217 for Alzheimer disease vs other neurodegenerative Disorders [J]. *JAMA*, 2020, 324(8):772 - 781.

- [41] Brickman AM, Manly JJ, Honig LS, et al. Plasma p-tau181, p-tau217, and other blood-based Alzheimer's disease biomarkers in a multi-ethnic, community study[J]. *Alzheimers Dement*, 2021.
- [42] 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 [J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(8):989 - 997.
- [43] Mielke MM, Hagen CE, Wennberg AM, et al. Association of plasma total tau level with cognitive decline and risk of mild cognitive impairment or dementia in the Mayo Clinic study on aging [J]. *JAMA Neurol*, 2017, 74(9):1073 - 1080.
- [44] Lantero Rodriguez J, Karikari TK, Suárez-Calvet M, et al. Plasma p-tau181 accurately predicts Alzheimer's disease pathology at least 8 years prior to post-mortem and improves the clinical characterisation of cognitive decline[J]. *Acta Neuropathol*, 2020, 140(3): 267 - 278.
- [45] Moscoso A, Grothe MJ, Ashton NJ, et al. Time course of phosphorylated-tau181 in blood across the Alzheimer's disease spectrum [J]. *Brain*, 2021, 144(1):325 - 339.
- [46] Tatebe H, Kasai T, Ohmichi T, et al. Quantification of plasma phosphorylated tau to use as a biomarker for brain Alzheimer pathology: pilot case-control studies including patients with Alzheimer's disease and down syndrome[J]. *Mol Neurodegener*, 2017, 12(1):63.
- [47] Barthélemy NR, Horie K, Sato C, et al. Blood plasma phosphorylated-tau isoforms track CNS change in Alzheimer's disease [J]. *J Exp Med*, 2020, 217(11): e20200861.
- [48] Mattsson-Carlgen N, Janelidze S, Palmqvist S, et al. Longitudinal plasma p-tau217 is increased in early stages of Alzheimer's disease [J]. *Brain*, 2020, 143(11):3234 - 3241.
- [49] Frühbeis C, Fröhlich D, Krämer-Albers EM. Emerging roles of exosomes in neuron-glia communication [J]. *Front Physiol*, 2012, 3:119.
- [50] Winston CN, Goetzl EJ, Akers JC, et al. Prediction of conversion from mild cognitive impairment to dementia with neuronally derived blood exosome protein profile [J]. *Alzheimers Dement (Amst)*, 2016, 3:63 - 72.
- [51] Jia L, Qiu Q, Zhang H, et al. Concordance between the assessment of A β_{42} , T-tau, and P-T181-tau in peripheral blood neuronal-derived exosomes and cerebrospinal fluid [J]. *Alzheimers Dement*, 2019, 15(8):1071 - 1080.
- [52] Jia L, Zhu M, Kong C, et al. Blood neuro-exosomal synaptic proteins predict Alzheimer's disease at the asymptomatic stage [J]. *Alzheimers Dement*, 2021, 17(1):49 - 60.
- [53] Park JC, Han SH, Lee H, et al. Prognostic plasma protein panel for A β deposition in the brain in Alzheimer's disease [J]. *Prog Neurobiol*, 2019, 183: 101690.
- [54] 许婷婷, 郭鹏, 张巍, 王晓良. 基于液质联用蛋白质组学技术的阿尔茨海默病血清生物标志物及生物信息学研究 [J]. *药学学报*. 2020, 55(07): 1604 - 1613.
- Xu TT, Guo P, Zhang W, et al. Serum biomarkers and bioinformatics of Alzheimer's disease based on LC-MS/MS proteomics [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2020, 55(7): 1604-1613.

(编辑 孙慧兰)