

# 阿尔茨海默病患者神经丝轻链蛋白水平与临床特点相关性分析

王露露, 周敏, 严旺, 陈才敬

**摘要:** **目的** 探讨阿尔茨海默病患者神经丝轻链蛋白(neurofilament light chain, NfL)与临床特点相关性。**方法** 分析2020年6月—2022年12月宁波市第二医院收治的58例阿尔茨海默病患者的临床资料为研究对象。检测58例阿尔茨海默病患者的神经丝轻链蛋白水平。Simoa法检测阿尔茨海默病患者神经丝轻链蛋白水平,探索神经丝轻链蛋白表达与临床因素的关联性。**结果** 58例患者中女性患者33例,NfL水平为(24.93±17.07) pg/ml;男性患者24例,NfL水平为(28.14±17.98) pg/ml,差异无统计学意义。不同文化程度与NfL水平分别为:文盲[(27.87±14.75) pg/ml (7/58)]、小学[(15.22±9.62) pg/ml (7/58)]、初中[(27.95±15.60) pg/ml (14/58)]、高中[(12.84±2.97) pg/ml (4/58)]、中专[(37.35±26.63) pg/ml (7/58)]、大专[(33.79±21.81) pg/ml (5/58)]、大学[(15.22±9.62) pg/ml (7/58)],结果无统计学差异。用相关分析研究NfL和年龄、病程、海马分级,日常生活活动能力评定量表(Activities of Daily Living, ADL)分值,简易精神状态检查表(Mini-Mental State Examination, MMSE)分值,长谷川痴呆量表(Hasegawa Dementia Scale, HDS)分值之间的相关关系,Pearson相关系数( $r$ )表示相关关系的强弱情况。NfL和年龄的 $r$ 值为0.448,提示NfL和年龄呈正相关。NfL和病程之间的 $r$ 值为0.045,且 $P>0.05$ ,说明NfL和病程无相关关系。NfL和海马分级的 $r$ 值为0.345,说明NfL和海马分级有正相关关系。NfL和ADL分值之间的 $r$ 值为0.242, $P>0.05$ ,说明NfL和ADL分值无相关关系。NfL和MMSE分值的 $r$ 值为-0.099, $P>0.05$ ,说明NfL和MMSE分值无相关关系。NfL和HDS分值的 $r$ 值为-0.096, $P$ 值为0.475 $>0.05$ ,说明NfL和HDS分值之间没有相关关系。**结论** 阿尔茨海默病患者血清神经丝轻链蛋白水平与患者年龄、磁共振海马分级呈正相关,与性别、文化程度、病程、ADL分值、MMSE分值、HDS分值无相关关系。

**关键词:** 阿尔茨海默病; 神经丝轻链蛋白; 临床因素; 相关性

中图分类号:R749.1+6

文献标识码:A

**Relationship between neurofilament light chain protein levels and clinical characteristics in patients with Alzheimer disease** WANG Lulu, ZHOU Min, YAN Wang, et al. (Ningbo No. 2 Hospital, Ningbo 315010, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the relationship between neurofilament light chain protein (NfL) and clinical features in patients with Alzheimer disease. **Methods** We included 58 patients with Alzheimer's disease admitted to Ningbo No. 2 Hospital from June 2020 to December 2021. NfL levels were measured for the 58 patients with Alzheimer's disease. Correlation analysis was performed to study the correlation between NfL and age, disease course, hippocampal grade, Activities of Daily Living (ADL) score, Mini-Mental State Examination (MMSE) score, and Hasegawa Dementia Scale (HDS) score. The Pearson correlation coefficient ( $r$ ) represented the strength of correlation. **Results** Among the 58 patients, 33 were females, with a mean NfL level of (24.93±17.07) pg/mL, and 24 were males, with a mean NfL level of 28.14 ± 17.98 pg/mL, which were not significantly different. NfL levels for different educational attainments had no significant difference: illiteracy (7/58), (27.87 ± 14.75) pg/mL; primary school (7/58), (15.22±9.62) pg/mL; middle school (14/58), (27.95±15.60) pg/mL; high school (4/58), (12.84±2.97) pg/mL; technical secondary school (7/58), (37.35±26.63) pg/mL; junior college (5/58), (33.79±21.81) pg/mL; and university (7/58), (15.22±9.62) pg/mL. NfL was positively correlated with age ( $r=0.448$ ) and hippocampal grade ( $r=0.345$ ), and not significantly correlated with the course of disease ( $r=0.045$ ,  $P>0.05$ ), ADL score ( $r=0.242$ ,  $P>0.05$ ), MMSE score ( $r=-0.099$ ,  $P>0.05$ ), and HDS score ( $r=-0.096$ ,  $P>0.05$ ). **Conclusion** Serum NfL levels in patients with Alzheimer disease are positively correlated with age and hippocampal grade on magnetic resonance imaging, but not associated with sex, education attainments, the course of disease, ADL score, MMSE score, and HDS score.

**Key words:** Alzheimer disease; Neurofilament light chain protein; Clinical factor; Correlation

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是一种以含 $\beta$ -淀粉样蛋白(amyloid- $\beta$ , A $\beta$ )的细胞外斑块和含tau的细胞内神经原纤维缠结为特征的神经退行性疾病<sup>[1]</sup>。过往阿尔茨海默病的诊断往往依赖于临床

收稿日期:2023-10-08;修订日期:2023-12-01

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2020KY848)

作者单位:(宁波市第二医院,浙江宁波 315010)

通信作者:陈才敬, E-mail:2969108960@qq.com

的认知障碍特征,在病理检查之前无法明确作出AD的诊断。随着神经影像学 and 脑脊液生物标记物的出现,临床医生对于AD的诊断能力得到了极大的提升。临床研究发现AD患者脑脊液A $\beta$ 42减少,总tau蛋白和磷酸化tau蛋白升高。但由于腰椎穿刺术采集脑脊液检查属于有创操作,因此常规使用脑脊液诊断AD的方法并未被广泛采用<sup>[2]</sup>。

能够有效反映脑脊液生物标记物的血液阿尔茨海默病生物标志物正在成为现实<sup>[3]</sup>。荟萃分析结果显示,除了核心病理生物标志物(如A $\beta$ 和磷酸化tau)之外,神经变性的血液标志物神经丝轻链蛋白具有很高的应用潜力<sup>[4]</sup>。研究发现,神经丝轻链蛋白在AD和轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment, MCI)患者中血浆中表达升高<sup>[5]</sup>,血清NfL浓度与主要影响中枢神经系统疾病的脑脊液中NfL浓度呈中度至强相关性,血清NfL与脑脊液NfL水平呈高度相关,这提示血清NfL水平能准确反映中枢神经系统内的NfL释放,即血清NfL浓度可以反应中枢神经系统疾病中NfL浓度的高低<sup>[6]</sup>。这个生物标志物在脑脊液和血浆中同步异常,使之具有潜力成为临床实践和试验中早期和精确诊断、预后或监测疾病进展和治疗效果的有力工具<sup>[3]</sup>。

神经丝轻链蛋白是一种轴突支架蛋白,高度表达于大径髓鞘轴突中,在轴突的生长和稳定以及中枢神经系统突触功能中起着重要作用<sup>[7,8]</sup>。神经丝轻链蛋白已作脑损伤或神经变性的生物标志物<sup>[7]</sup>。在许多神经退行性疾病如阿尔茨海默病、额颞叶痴呆、血管痴呆和非典型帕金森病、肌萎缩侧索硬化中都发现了脑脊液和外周血的NfL浓度增加,在多发性硬化、老化、周围神经病和创伤性脑损伤中也发现了NfL浓度增加<sup>[6,8,9]</sup>。神经丝轻链蛋白在多种变性病中呈现升高状态,可反应神经退行性变过程的强度,并作为疾病严重程度的生物标志物和预测生存率的指标<sup>[10]</sup>。

目前的很多研究都显示NfL在AD患者中表达升高,但是对于NfL升高的机制缺乏进一步明确。我们的研究想探讨阿尔茨海默病患者外周血浆神经丝轻链蛋白(NfL)水平与临床特点相关性,以此探寻NfL在AD疾病进展中的影响部分,为日后研究NfL在AD中的病理生理机制提供启发和方向。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 以2020年6月—2022年12月宁波市第二医院收治的58例阿尔茨海默病患者的临床资料为研究对象,均符合AT(N)框架的认知障碍诊断标准<sup>[11]</sup>;排除标准:(1)脑外伤、脑血管疾病及精神疾病史,患有影响认知的全身或系统性疾病,如慢性传染病、糖尿病或其他代谢、内分泌或自身免疫性疾病、甲状腺功能不全、营养不良、恶性肿瘤等;有严重焦虑、抑郁和精神分裂症;(2)在纳入前4周内服用胆碱酯酶抑制剂,抗胆碱能抗抑郁药,神经抑制剂,抗帕金森药物,慢性抗焦虑药,镇静剂,利尿剂,或经常使用麻醉剂;(3)MRI常规扫描发现有局灶性或弥漫性脑内病灶者;由于其他原因(如体内金属异物、幽闭恐惧症等)不能完成MRI检查者;(4)有精神类药物服用史。

1.2 血浆NfL测定 所有研究对象均采集外周静脉分离凝胶-促凝血标本3 ml。4 h内处理血液样本,送至实验室离心(5 000 g, 10 min),取上清液分装后直接放入-80 °C冰箱冷藏保存,进行生物学标记物NfL的测定。

1.3 认知评定 认知测试采用MMSE和HDS来评估认知水平。

1.4 神经影像学检查 依据2020阿尔茨海默病MR检查规范中国专家共识中的标准<sup>[12]</sup>,对AD患者采集海马MR图像:斜轴面成像定位线平行海马长轴,在冠状面上调整角度,定位线平行两侧颞叶连线。斜冠状面成像定位采用双定位方法,在矢状面上定位线垂直于海马长轴,在横断面上调整角度,使定位线垂直于大脑中线。分别采集T<sub>1</sub>WI、T<sub>2</sub>WI、T<sub>2</sub>FLAIR等图像。扫描参数设置:适用场强1.5T的MR扫描仪,采用2D扫描序列,在斜冠状面和斜横断面上采集T<sub>1</sub>WI和T<sub>2</sub>WI序列图像,同时采集斜冠状面的T<sub>2</sub>FLAIR序列以综合显示海马。FOV 20 cm × 20 cm~24 cm × 24 cm,层厚2 mm~3 mm,间距0.5~1.0 mm,矩阵均大于256 mm × 224 mm。

1.5 统计学方法 本研究采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析,采用S-W检验对计量资料进行正态性检验,符合正态分布的计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,不符合正态分布的计量资料采用中位数(四分位数间距),计数资料采用n(%)表示,组间比较采用方差分析或独立样本t检验表示;采用Pearson相关系数检验符合正态分布的两变量的相关性, $P < 0.05$

被认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 一般资料 本组 58 例 AD 患者中男性 24 例,女性 34 例,年龄 42~85 岁,平均(69±11)岁;中位病程 1.25(1,2)年。其中文盲 7 人(12.0%),小学 14 人(24.1%),初中 14 人(24.1%),高中 4 人(6.9%),中专 7 人(12.0%),大专 5 人(8.6%),大学 7 人(12.0%)。

性别与 NfL 表达的相关性(见表 1)。58 例 AD 患者中男性 24 例,女性 34 例。男性患者 NfL 表达量为(28.14±17.98) pg/ml,女性为(24.93±17.07) pg/ml。采用独立样本 *t* 检验去研究性别对于 NfL 表达的差异性,两组样本 *P*>0.05,不同性别对于 NfL 水平不会表现出显著性差异。

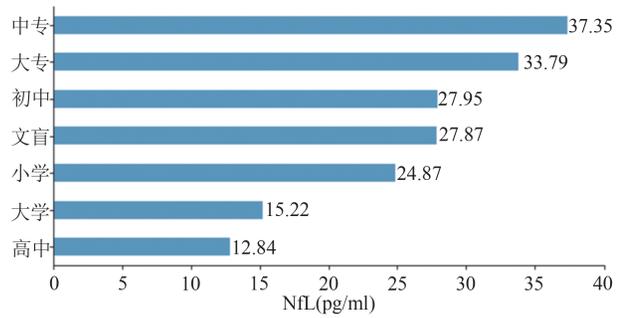
表 1 性别与 NfL 表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

性别	NfL(pg/ml)
女( <i>n</i> = 34)	24.93 ± 17.07
男( <i>n</i> = 24)	28.14 ± 17.98
<i>t</i> 值	-0.691
<i>P</i> 值	0.493

文化程度与 NfL 表达的相关性(见表 2、图 1)。利用单因素方差分析研究文化程度对于 NfL 表达的差异性,从下表可以看出不同文化程度对于 NfL 表达水平均不会表现出显著性(*P*>0.05),意味着不同文化程度样本对于 NfL 全部表现出一致性,并没有差异性,文化程度对于 NfL 表达水平无影响。

表 2 文化程度与 NfL 表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

文化程度	NfL(pg/ml)
文盲( <i>n</i> =7)	27.87±14.75
小学( <i>n</i> =14)	24.87±15.64
初中( <i>n</i> =14)	27.95±15.60
高中( <i>n</i> =4)	12.84±2.97
中专( <i>n</i> =7)	37.35±26.63
大专( <i>n</i> =5)	33.79±21.81
大学( <i>n</i> =7)	15.22±9.62
<i>F</i> 值	1.656
<i>P</i> 值	0.151



中专(37.35 pg/ml)、大专(33.79 pg/ml)、初中(27.95 pg/ml)、文盲(27.87 pg/ml)、小学(24.87 pg/ml)、大学(15.22 pg/ml)、高中(12.84 pg/ml)。

图 1 文化程度与 NfL 水平(平均值)比较柱状图

2.2 年龄、病程、海马分级、ADL 分值、MMSE 分值、HDS 分值与 NfL 表达的分析(见表 3、图 2) 利用相关分析去研究 NfL 分别和年龄、病程、海马分级、ADL 分值、MMSE 分值、HDS 分值共 6 项之间的相关关系,使用 Pearson 相关系数去表示相关关系的强弱情况。具体分析可知:NfL 和年龄之间的相关系数值为 0.448,并且呈现出 0.01 水平的显著性,因而说明 NfL 和年龄之间有着显著的正相关关系。NfL 和病程之间的相关系数值为 0.045,接近于 0,并且 *P* 值为 0.737>0.05,说明 NfL 和病程之间并没有相关关系。NfL 和海马分级之间的相关系数值为 0.345,并且呈现出 0.01 水平的显著性,因而说明 NfL 和海马分级之间有着显著的正相关关系。NfL 和 ADL 分值之间的相关系数值为 0.242,接近于 0,并且 *P* 值为 0.067>0.05 说明 NfL 和 ADL 分值之间并没有相关关系。NfL 和 MMSE 分值之间的相关系数值为-0.099,接近于 0,并且 *P* 值为 0.458>0.05,说明 NfL 和 MMSE 分值之间并没有相关关系。NfL 和 HDS 分值之间的相关系数值为-0.096,接近于 0,*P* 值为 0.475>0.05,说明 NfL 和 HDS 分值之间并没有相关关系。

表 3 年龄、病程、海马分级、ADL 分值、MMSE 分值、HDS 分值与 NfL 表达的相关性分析( $\bar{x}\pm s$ )

项目	NfL(pg/ml)	<i>P</i> 值
年龄	0.448**	0.000
病程	0.045	0.737
海马分级	0.345**	0.009
ADL 分值	0.242	0.067
MMSE 分值	-0.099	0.458
HDS 分值	-0.096	0.475

注:\**P*<0.05;\*\**P*<0.01。

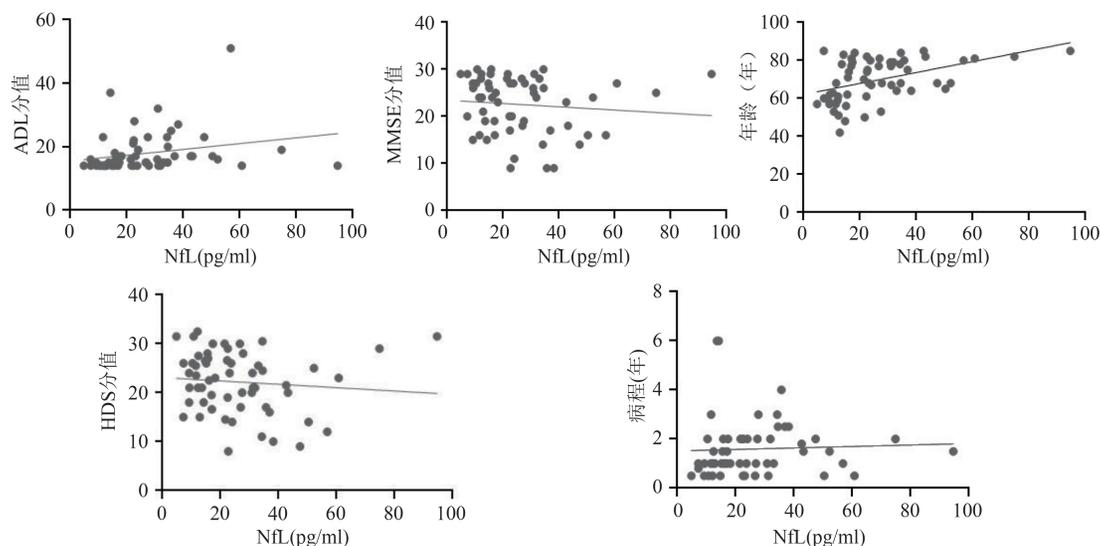


图2 年龄、病程、海马分级、临床评估量表分值与NfL表达的线性相关图

### 3 讨论

我们的研究发现NfL水平与年龄呈正相关,但与教育程度和性别无关,这与Mattsson等<sup>[13]</sup>对AD患者进行的NfL水平研究结果相同。这项纳入了327例痴呆患者的纵向研究显示AD患者血浆NfL水平随病程进展逐渐升高,NfL水平升高越快,脑萎缩和代谢率越快,整体认知恶化越快。因此血浆NfL可作为与AD患者神经退行性变相关的非侵入性生物标志物。Wenjun等<sup>[14]</sup>发现血浆NfL水平与年龄呈正相关。另外的研究发现,在40岁以下人群中,NfL水平与年龄增长无明显相关,但是在40岁以上人群中,NfL水平随着年龄的增长而显著升高。NfL水平在40~59岁组是20~39岁组的2倍,在60~79组更是20~39岁组的4倍<sup>[15]</sup>。人体随年龄增长的最大表现是衰老,而正常的衰老与神经退行性过程有关<sup>[8]</sup>。NfL随年龄增大而上升的现象可能提示慢性、持续性的轴索损伤,也可能是由随年龄增大脑脊液逐渐减少的生理现象引起<sup>[14]</sup>。

我们用ADL分值、MMSE分值、HDS分值这3种量表评分量化患者智能损害的严重程度。上述3种量表的结果一致,痴呆量表的分值与NfL水平无相关。本研究中血浆NfL水平无法有效反映AD患者认知损害程度,可能是由于我们纳入的患者年龄偏大,导致NfL基线水平升高,未能消除年龄对NfL水平的影响引起。另外,我们入组的AD患者痴呆症状相对较轻,病重者就诊少,偏离真实世界,亦可能为原因之一。

阿尔茨海默病的病理特征是错误折叠的A $\beta$ 和

磷酸化的tau (p-tau)蛋白分别在大脑皮质形成细胞外老年斑和颞叶内侧形成神经元内神经原纤维缠结,随后出现在颞叶外侧、顶叶等皮质区域<sup>[16]</sup>。海马萎缩与认知功能下降相关<sup>[17]</sup>。目前的观点认为阿尔茨海默病的进行性海马萎缩最主要的原因是海马神经元丢失的严重程度,而不是tau蛋白的沉积<sup>[18]</sup>。研究发现,NfL水平与磁共振海马分级呈正相关。海马萎缩代表了AD患者在颅脑结构中的损害程度,因此我们认为血浆NfL水平的高低可能更大程度上体现了痴呆患者在结构病理上的损害,即海马萎缩越严重,神经变性越严重,NfL水平更高。在163例AD患者的研究中发现海马萎缩主要有4种模式:(1)59%的患者为典型的海马和皮质双萎缩;(2)19%的患者仅表现为海马萎缩;(3)12%的患者仅表现为皮质萎缩;(4)10%的患者表现为海马及皮质均不萎缩<sup>[19]</sup>。因此,并非所有AD患者均出现海马萎缩,海马萎缩仅是AD结构病变的一方面。AD被视为突触稳态、神经元或神经元网络完整性的丧失<sup>[1]</sup>。我们的研究未进行皮质萎缩的测量,但我们推测NfL作为一种轴突蛋白或许与皮质萎缩、突触稳态异常有很大联系。

我们的研究存在一些局限性:首先是由于在既往的许多研究中都证实AD患者血浆NfL水平明显高于正常对照,因此我们并未设置对照组,而是进行了组内的比较。疾病组的规模有限,纳入的AD患者数量相对较少。因此,我们没有根据疾病严重程度对患者进行分层,应当在大型的队列研究中进一步

验证结果。

其次,我们只对AD患者进行了2项整体认知测试(MMSE、HDS)和一项日常生活能力测试(ADL),缺乏对认知功能对记忆、语言、执行功能、视空间能力和注意力的逐一详细评估。再者我们进行的是横断面研究,如果可以进行纵向的研究,继续跟踪随访每位患者,进一步探讨随着时间延长病情加重,个体AD患者的血浆NFL水平变化,将会对证实NFL的应用价值提供更多有效的信息。AD患者血浆NFL水平较正常健康者升高<sup>[13]</sup>。目前的观点认为血浆NFL可能是一种有效的生物标志物,用于筛选表现出神经精神症状的个体,并且可作为单一的生物标志物明确区分神经退行性痴呆与健康个体,但血浆NFL不能准确区分进行性核上性麻痹、皮质基底节变性、AD和路易体痴呆<sup>[20]</sup>。总之,我们希望发现一种可以有效识别、量化神经退行性变性的生物标记物,这对于神经退行性疾病的诊断和预后判断有着重大帮助。

**伦理学声明:**本研究方案经由宁波市第二医院人体研究伦理委员会审批(批号:PJ-NBEY-KY-2021-049-01)。

**利益冲突声明:**所有作者均声明不存在利益冲突。

**作者贡献声明:**王露露负责设计论文框架、起草论文;周敏负责实验操作、研究过程的实施;王露露负责数据收集、统计学分析、绘制图表;严旺负责论文修改;陈才敬负责拟定写作思路、指导撰写文章并最后定稿。

### [参考文献]

- [1] Knopman DS, Amieva H, Petersen RC, et al. Alzheimer disease [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7: 33.
- [2] Petersen RC. How early can we diagnose Alzheimer disease (and is it sufficient)? The 2017 Wartenberg lecture [J]. *Neurology*, 2018, 91(9): 395-402.
- [3] Teunissen CE, Verberk IMW, Thijssen EH, et al. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease: towards clinical implementation [J]. *Lancet Neurol*, 2022, 21(1): 66-77.
- [4] Sahrai H, Norouzi A, Hamzehzadeh S, et al. SIMOA-based analysis of plasma NFL levels in MCI and AD patients: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Neurol*, 2023, 23(1): 331.
- [5] Disanto G, Barro C, Benkert P, et al. Serum neurofilament light: a biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis [J]. *Ann Neurol*, 2017, 81(6): 857-870.
- [6] Gafson AR, Barthélemy NR, Bomont P, et al. Neurofilaments: neurobiological foundations for biomarker applications [J]. *Brain*, 2020, 143(7): 1975-1998.
- [7] Khalil M, Teunissen CE, Otto M, et al. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders [J]. *Nat Rev Neurol*, 2018, 14(10): 577-589.
- [8] Zetterberg H. Neurofilament light: a dynamic cross-disease fluid biomarker for neurodegeneration [J]. *Neuron*, 2016, 91(1): 1-3.
- [9] Bäckström D, Linder J, Mo SJ, et al. NFL as a biomarker for neurodegeneration and survival in Parkinson disease [J]. *Neurology*, 2020, 95(7): e827-e838.
- [10] Jack CR Jr, 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.
- [11] 中华医学会放射学分会磁共振学组北京认知神经科学学会. 阿尔茨海默病MR检查规范中国专家共识[J]. *中华放射学杂志*, 2019, 53(8): 665-671.
- [12] Mattsson N, Cullen NC, Andreasson U, et al. Association between longitudinal plasma neurofilament light and neurodegeneration in patients with alzheimer disease [J]. *JAMA Neurol*, 2019, 76(7): 791-799.
- [13] Zhou W, Zhang J, Ye F, et al. Plasma neurofilament light chain levels in Alzheimer's disease [J]. *Neurosci Lett*, 2017, 650: 60-64.
- [14] Chen J, Yang X, Zhang Y, et al. Reference values for plasma neurofilament light chain (NFL) in healthy Chinese [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2020, 59(4): e153-e156.
- [15] Rauchmann BS, Schneider-Axmann T, Perneczky R, et al. Associations of longitudinal plasma p-tau181 and NFL with tau-PET, Aβ-PET and cognition [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2021, 92(12): 1289-1295.
- [16] Hanseeuw BJ, Jacobs HIL, Schultz AP, et al. Association of pathologic and volumetric biomarker changes with cognitive decline in clinically normal adults [J]. *Neurology*, 2023, 101(24): e2533-e2544.
- [17] Halliday G. Pathology and hippocampal atrophy in Alzheimer's disease [J]. *Lancet Neurol*, 2017, 16(11): 862-864.
- [18] Byun MS, Kim SE, Park J, et al. Heterogeneity of regional brain atrophy patterns associated with distinct progression rates in Alzheimer's disease [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142756.
- [19] Baiardi S, Quadalti C, Mammana A, et al. Diagnostic value of plasma p-tau181, NFL, and GFAP in a clinical setting cohort of prevalent neurodegenerative dementias [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2022, 14(1): 153.

引证本文:王露露,周敏,严旺,等. 阿尔茨海默病患者神经丝轻链蛋白水平与临床特点相关性分析[J]. *中馈与神经疾病杂志*, 2024, 41(1): 63-67.