

- [14] CHEN X, YANG F, ZHANG T, et al. MiR-9 promotes tumorigenesis and angiogenesis and is activated by MYC and OCT4 in human glioma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1):99-115.
- [15] ZHU B, XI X, LIU Q, et al. MiR-9 functions as a tumor suppressor in acute myeloid leukemia by targeting CX chemokine receptor 4[J]. Am J Transl Res, 2019, 11(6):3384-3397.
- [16] WANG WX, YU HL, LIU X. MiR-9-5p suppresses cell metastasis and epithelial-mesenchymal transition through targeting

FOXP2 and predicts prognosis of colorectal carcinoma[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(15):6467-6477.

- [17] SETTI BOUBAKER N, CICCHILLITI L, SAID R, et al. The clinical and prognostic value of miR-9 gene expression in Tunisian patients with bladder cancer[J]. Mol Biol Rep, 2019, 46(5):4743-4750.

(收稿日期:2020-06-22,修回日期:2020-08-05)

引用本文:孟林,种亚楠,沈晓燕,等.脑脊液脂质运载蛋白2检测对早期鉴别诊断血管性痴呆和阿尔茨海默病的价值[J].安徽医药,2022,26(8):1540-1543.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.08.013.

◇临床医学◇



脑脊液脂质运载蛋白2检测对早期鉴别诊断血管性痴呆和阿尔茨海默病的价值

孟林,种亚楠,沈晓燕,赵荣健,尤雪梅

作者单位:陕西省第四人民医院神经内科,陕西 西安710043

通信作者:尤雪梅,女,副主任医师,研究方向为帕金森病的基础及临床研究,

脑血管病,神经系统变性疾病,Email:liv682@163.com

摘要: **目的** 探讨脑脊液脂质运载蛋白2(LCN2)对鉴别诊断血管性痴呆症与阿尔茨海默病的价值。**方法** 选取2017年1月至2019年10月在陕西省第四人民医院接受治疗的阿尔茨海默病病人46例(阿尔茨海默病组)、血管性痴呆病人32例(血管性痴呆组)为研究对象,用酶联免疫吸附(ELISA)法检测两组病人脑脊液中LCN2水平、 β -淀粉样蛋白($A\beta_{1-42}$)和总tau蛋白(T-tau)水平,并分析两组脑脊液LCN2水平与 $A\beta_{1-42}$ 蛋白和T-tau蛋白水平、简易精神状态检查量表(MMSE)评分相关性;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析脑脊液LCN2水平对血管性痴呆症和阿尔茨海默病的鉴别诊断价值。**结果** 与阿尔茨海默病组相比,血管性痴呆组MMSE评分[(23.19±4.28)分比(16.74±4.03)分]、脑脊液中LCN2水平[(134.65±31.52)ng/L比(98.92±18.27)ng/L]、 $A\beta_{1-42}$ 蛋白水平[(362.18±62.15) μ g/L比(207.85±36.49) μ g/L]较高($P<0.05$),T-tau蛋白水平[(246.75±48.67) μ g/L比(304.26±61.53) μ g/L]较低($P<0.05$)。血管性痴呆病人脑脊液中LCN2水平与 $A\beta_{1-42}$ 蛋白水平、MMSE评分呈正相关($P<0.05$),与T-tau蛋白水平呈负相关($P<0.05$)。ROC曲线结果显示,脑脊液中LCN2水平对阿尔茨海默病和血管性痴呆症诊断的曲线下面积AUC为0.855,灵敏度为71.90%,特异度为91.30%,95%CI为0.77,0.94。**结论** 血管性痴呆症与阿尔茨海默病病人脑脊液LCN2存在显著变化,是鉴别诊断血管性痴呆症和阿尔茨海默病的生物标志物,有利于病人尽早鉴别病情,对症治疗。

关键词: 痴呆,血管性; 阿尔茨海默病; 脂质运载蛋白2; 脑脊液; 鉴别诊断

The value of cerebrospinal fluid LCN2 detection in early differential diagnosis of vascular dementia and Alzheimer's disease

MENG Lin,ZHONG Yanan,SHEN Xiaoyan,ZHAO Rongjian,YOU Xuemei

Author Affiliation:Department of Neurology, The Fourth People's Hospital of Shaanxi Province,Xi'an,Shaanxi 710043, China

Abstract: **Objective** To investigate the value of lipocalin-2 (LCN2) in the differential diagnosis of vascular dementia and Alzheimer's disease.**Methods** A total of 46 patients with Alzheimer's disease (Alzheimer's disease group) and 32 patients with vascular dementia (vascular dementia group) who were treated in the Fourth People's Hospital of Shaanxi Province from January 2017 to October 2019 were selected as the study objects. The levels of LCN2, β - amyloid protein 1-42 ($A\beta_{1-42}$) and total tau protein (T-tau) in cerebrospinal fluid of the two groups were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the correlation between the level of LCN2 and levels of $A\beta_{1-42}$ protein, T-tau protein and MMSE score was analyzed; in addition, receiver operating characteristic curve (ROC) was drawn to analyze the value of cerebrospinal fluid LCN2 level in the differential diagnosis of vascular dementia and Alzheimer's disease.

er's disease. **Results** Compared with those in the Alzheimer's disease group, MMSE score [(23.19±4.28) scores *vs.* (16.74±4.03) scores], the levels of LCN2 [(134.65±31.52) ng/L *vs.* (98.92±18.27) ng/L] and A β_{1-42} protein [(362.18±62.15) μ g/L *vs.* (207.85±36.49) μ g/L in cerebrospinal fluid of vascular dementia group were higher ($P<0.05$), and the level of T-tau protein [(246.75±48.67) μ g/L *vs.* (304.26±61.53) μ g/L] was lower ($P<0.05$). The level of LCN2 in cerebrospinal fluid was positively correlated with the level of A β_{1-42} protein and MMSE score ($P<0.05$), and negatively correlated with the level of T-tau protein ($P<0.05$). The results of ROC showed that the area under curve (AUC) of LCN2 in cerebrospinal fluid for the diagnosis of Alzheimer's disease and vascular dementia was 0.855, the sensitivity was 71.90%, the specificity was 91.30%, and 95% CI was 0.77,0.94. **Conclusions** There is a significant change of LCN2 in cerebrospinal fluid of patients with vascular dementia and Alzheimer's disease, which is a biomarker for the differential diagnosis of vascular dementia and Alzheimer's disease. It is helpful for patients to differentiate the disease and treat the disease as soon as possible.

Key words: Dementia,vascular; Alzheimer disease; Lipocalin-2; Cerebrospinal fluid; Differential diagnosis

阿尔茨海默病是神经退行性疾病,临床表现为持续性丧失记忆,认知能力发生改变^[1]。血管性痴呆,被认为是仅次于阿尔茨海默病,导致痴呆的第2位原因,临床表现为记忆力减退、认知功能障碍和执行管理能力障碍^[2]。血管性痴呆病理机制尚未完全阐明,多认为炎症在血管性痴呆疾病发生中发挥重要作用,其主要是通过破坏血脑屏障功能来发挥作用^[3-4]。脂质运载蛋白2(lipocalin-2, LCN2)可由活化的血管细胞(小胶质细胞、反应性星形胶质细胞、受损的神经元和内皮细胞)合成并分泌,对中枢神经系统炎症和损伤作出反应^[5],神经炎症损伤进一步导致血脑屏障通透性增加,便于有害物质进入脑组织,加重脑损伤^[6]。Llorens等^[7]研究发现血管性痴呆病人脑脊液中LCN2水平显著高于阿尔茨海默病病人。本研究探讨血管性痴呆病人和阿尔茨海默病病人脑脊液中LCN2水平变化,旨在早日鉴别病人病情并做对症治疗,帮助病人早日康复。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2017年1月至2019年10月在陕西省第四人民医院接受治疗的阿尔茨海默病病人46例(阿尔茨海默病组)、血管性痴呆32例(血管性痴呆组)为研究对象。阿尔茨海默病组男25例,女21例,年龄范围为60~74岁,年龄(66.47±4.12)岁。血管性痴呆组其中男18例,女14例,年龄范围为60~74岁,年龄(66.83±4.25)岁。纳入标准:(1)阿尔茨海默病诊断标准:符合美国精神障碍诊断与统计手册第4版(DSM-IV)中阿尔茨海默病诊断标准^[8],均经头颅CT诊断及神经影像学检查确诊;(2)血管性痴呆诊断标准:符合DSM-IV中血管性痴呆的诊断标准;(3)病人临床资料完整;(4)对本研究知情并同意参加。排除标准:(1)病人有精神病史、精神分裂症;(2)病人合并有脑积水、神经系统疾病及其他神经系统疾病;(3)病人患有恶性肿瘤;(4)严重肝、肾功能损伤者;(5)病人由其他原因所致的痴呆。本研究符合《世界医学协会赫尔

辛基宣言》相关要求。

1.2 主要试剂与仪器 LCN2 ELISA试剂盒(货号JK-a-5626),上海晶抗生物工程有限公司;A β_{1-42} ELISA试剂盒(货号JK-a-5214),上海晶抗生物工程有限公司;T-tau ELISA试剂盒(货号hd37994),上海恒渡生物科技有限公司;Multiskan MK3酶标仪购自美国赛默飞世尔科技有限公司。

1.3 研究方法

1.3.1 样品采集 收集病人在冻存的入院48 h内行腰椎穿刺取脑脊液3.5 mL,4℃,3 000 r/min离心20 min,分离上清,置于-80℃冰箱保存,待测。

1.3.2 检测脑脊液中LCN2、A β_{1-42} 蛋白和T-tau蛋白水平 采用酶联免疫吸附(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测脑脊液中LCN2、A β_{1-42} 蛋白和T-tau蛋白水平,依次使用LCN2 ELISA试剂盒、A β_{1-42} ELISA试剂盒、T-tau ELISA试剂盒,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 神经心理学测试 简易精神状态检查量表(mini-mental state examination, MMSE)评分评定病人认知功能,MMSE评分总分为0~30分。

1.5 统计学方法 采用软件SPSS 25.0对数据进行分析,计数资料用例(%)表示,采用 χ^2 检验。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立 t 检验,使用Pearson法进行相关性分析。ROC曲线分析LCN2水平对血管性痴呆和阿尔茨海默病的鉴别诊断价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较 两组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),MMSE评分比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。

2.2 两组脑脊液中LCN2、A β_{1-42} 蛋白和T-tau蛋白水平比较 与阿尔茨海默病组相比,血管性痴呆组病人脑脊液中LCN2、A β_{1-42} 蛋白水平较高,T-tau蛋白水平较低,均差异有统计学意义($P<0.05$),见表2。

2.3 脑脊液中LCN2水平与A β_{1-42} 蛋白、T-tau蛋白

表1 血管性痴呆病人和阿尔茨海默病病人一般资料比较

组别	例数	性别 (男/女)/例	年龄/ (岁, $\bar{x} \pm s$)	MMSE 评分/ (分, $\bar{x} \pm s$)
阿尔茨海默病组	46	25/21	66.47 $\pm$ 4.12	16.74 $\pm$ 4.03
血管性痴呆症组	32	18/14	66.83 $\pm$ 4.25	23.19 $\pm$ 4.28
$t(\chi^2)$ 值		(0.03)	0.38	6.78
P值		0.868	0.709	<0.001

注:MMSE为简易精神状态检查量表。

表2 血管性痴呆病人和阿尔茨海默病病人脑脊液中LCN2、 $A\beta_{1-42}$ 蛋白和T-tau蛋白水平比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	LCN2/(ng/L)	$A\beta_{1-42}$ 蛋白/ (μ g/L)	T-tau 蛋白/ (μ g/L)
阿尔茨海默病组	46	98.92 $\pm$ 18.27	207.85 $\pm$ 36.49	304.26 $\pm$ 61.53
血管性痴呆症组	32	134.65 $\pm$ 31.52	362.18 $\pm$ 62.15	246.75 $\pm$ 48.67
t 值		6.32	13.79	4.41
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:LCN2为脂质运载蛋白2, $A\beta_{1-42}$ 为 β -淀粉样蛋白, T-tau为总tau蛋白。

水平及MMSE评分相关性分析 Pearson分析显示,血管性痴呆病人脑脊液中LCN2水平与 $A\beta_{1-42}$ 蛋白、MMSE评分呈正相关($P<0.05$),与T-tau蛋白水平呈负相关($P<0.05$);阿尔茨海默病病人脑脊液中LCN2水平与 $A\beta_{1-42}$ 蛋白水平、T-tau蛋白水平、MMSE评分无相关性($P>0.05$)。见表3,4。

表3 阿尔茨海默病组LCN2水平与 $A\beta_{1-42}$ 蛋白、T-tau蛋白水平及MMSE评分相关性分析

LCN2	$A\beta_{1-42}$	T-tau	MMSE评分
r 值	-0.153	0.187	-0.215
P值	0.108	0.119	0.136

注:LCN2为脂质运载蛋白2, $A\beta_{1-42}$ 为 β -淀粉样蛋白, T-tau为总tau蛋白, MMSE为简易精神状态检查量表。

表4 血管性痴呆症组LCN2水平与 $A\beta_{1-42}$ 蛋白、T-tau蛋白水平及MMSE评分相关性分析

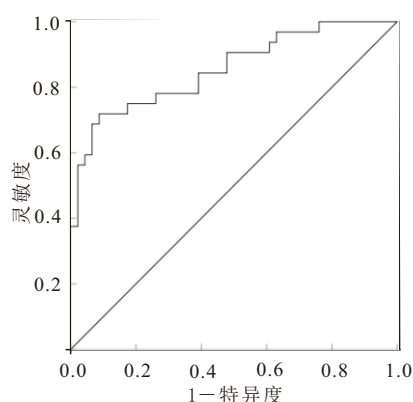
LCN2	$A\beta_{1-42}$	T-tau	MMSE评分
r 值	0.708	-0.697	0.753
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注:LCN2为脂质运载蛋白2, $A\beta_{1-42}$ 为 β -淀粉样蛋白, T-tau为总tau蛋白, MMSE为简易精神状态检查量表。

2.4 脑脊液中LCN2水平对阿尔茨海默病和血管性痴呆症的诊断价值 ROC曲线结果显示,脑脊液中LCN2水平对血管性痴呆症的诊断的曲线下面积AUC为0.855,截断值129.03 ng/L,灵敏度为71.90%,特异度为91.30%,95%CI为(0.77, 0.94)。见图1。

3 讨论

阿尔茨海默病是神经变性导致病人出现认知

**图1** ROC曲线分析LCN2水平对血管性痴呆症和阿尔茨海默病的诊断价值

功能障碍的疾病,其病理特征是 $A\beta_{1-42}$ 沉积形成的神经纤维缠结,伴随着神经元变性和突触损伤。血管性痴呆症是因脑血管保护屏障破裂引发脑组织受损,导致病人的认知功能发生障碍^[9]。血管性痴呆症的发病机制尚不明确,有文献报道,血管性痴呆症可能与炎症、脑神经元损伤、氧化应激、脑白质病变等有关。炎症因子主要有两个来源,一是由巨噬细胞和中性粒细胞分泌,二是由中枢神经系统的星形胶质细胞、小胶质细胞和受损的神经元细胞分泌等。血脑屏障是大脑的天然保护屏障,是保护中枢神经系统功能正常的重要结构,其主要结构是脑微血管内皮细胞,当脑微血管内皮细胞紧密连接减少,会导致血脑屏障通透性增加^[10]。

tau蛋白被过度磷酸化,以双螺旋、缠结的骨架等形式在细胞内聚集,这种损伤与痴呆程度密切相关;脑脊液中过度磷酸化的T-tau蛋白与 $A\beta_{1-42}$ 蛋白是共存的, $A\beta_{1-42}$ 蛋白也可引起T-tau蛋白被过度磷酸化,同时 $A\beta_{1-42}$ 蛋白沉积形成的非纤维化斑块,加剧血管性痴呆病人病理进程^[11]。也有研究报道 $A\beta_{1-42}$ 蛋白和T-tau蛋白可促进血脑屏障通透性改变^[12]。 $A\beta_{1-42}$ 沉积可加剧炎症反应,并产生细胞毒性,导致阿尔茨海默病病人血脑屏障通透性改变^[10]。于建平和党小军^[13]研究发现阿尔茨海默病病人脑脊液 $A\beta_{1-42}$ 水平显著低于血管性痴呆病人,Tau蛋白水平显著高于血管性痴呆病人。Mesquita等^[14]研究显示,在 $A\beta_{1-42}$ 蛋白作用下,脉络丛上皮细胞和星形胶质细胞大量产生LCN2,而小胶质细胞或神经元则不产生; $A\beta_{1-42}$ 蛋白可以影响星形胶质细胞脱氢酶活性从而影响星形胶质细胞功能,但缺乏LCN2表达的星形胶质细胞不受 $A\beta_{1-42}$ 蛋白影响,表明 $A\beta_{1-42}$ 蛋白对星形胶质细胞的毒性需要LCN2。本研究发现血管性痴呆症组病人脑脊液中 $A\beta_{1-42}$ 水平显著高于阿尔茨海默病病人,T-tau蛋白水平显著低于阿尔茨海默病病人,且血管性痴呆病人脑脊液中

LCN2水平与 $A\beta_{1-42}$ 蛋白、MMSE呈正相关,与T-tau蛋白水平呈负相关,而阿尔茨海默病病人中血清LCN2水平与 $A\beta_{1-42}$ 、T-tau、MMSE均无相关性,提示LCN2可能与血管性痴呆症组病人脑血管损伤的有关。本研究中血管性痴呆病人LCN2水平与 $A\beta_{1-42}$ 、T-tau蛋白呈正相关性,与Du等^[5]研究结果不同,分析原因可能是本研究样本数量和研究区域有所不同,另外本研究是小样本量研究。

人LCN2属于脂质运载蛋白家族,位于染色体9q34.11,是具有25 kDa大小的分泌糖蛋白。脂蛋白2是一种应激蛋白,在正常中枢神经系统中,LCN2很少表达,在损伤或疾病条件下可被多种细胞过度分泌。最近,有研究表明在高水平的LCN2可促进神经元细胞死亡^[15-16]。在中枢神经系统的病理状态下,均存在胶质细胞炎性激活和神经元凋亡现象^[4]。另有研究报道LCN2基因缺失可减轻缺血后再灌注小鼠血脑屏障的完整性、胶质细胞毒性及神经炎性,说明LCN2在缺血再灌注脑损伤中发挥有害的毒性促炎作用^[17]。Zhang等^[3]研究显示LCN2的升高可能会影响损伤内皮细胞间连接蛋白,从而影响血脑屏障功能的完整性。也有研究表明,LCN2可能在脑卒中后促进脑内皮细胞血管生成^[18]。脓毒症可导致中枢神经系统炎症感染和病人认知行为发生障碍,且LCN2基因缺失可显著加剧小鼠行为障碍,说明LCN2可能在中枢神经系统炎症中发挥保护中枢神经系统保护作用^[19]。Du等^[5]研究发现血管性痴呆病人脑脊液中LCN2水平显著高于阿尔茨海默病病人、其他神经退行性痴呆病人、认知功能正常的脑血管病病人。本研究发现血管性痴呆病人脑脊液中LCN2水平显著高于阿尔茨海默病病人,提示LCN2可能与血管性痴呆症的发病有关。ROC曲线结果显示,脑脊液中LCN2水平对阿尔茨海默病和血管性痴呆症诊断的曲线下面积AUC为0.855,灵敏度为71.90%,特异度为91.30%,提示脑脊液中LCN2可作为鉴别诊断阿尔茨海默病和血管性痴呆症的生物指标。

综上所述,病人脑脊液中LCN2水平变化对鉴别诊断阿尔茨海默病和血管性痴呆症具有较高的诊断价值,可作为临床鉴别诊断中有用的辅助手段。但本研究属于回顾性研究,单中心研究,阿尔茨海默病和血管性痴呆症的鉴别诊断还需要综合各种临床信息。

参考文献

[1] 杨文,郑加平,耿洋,等.不同程度阿尔茨海默病患者生活能力和记忆损害特点及其氢质子磁共振波谱的比较[J].安徽医药,2018,22(7):1315-1320.

[2] 李京民.康复治疗对老年血管性痴呆患者疗效及认知功能障碍的影响[J].中国继续医学教育,2018,10(19):158-159.

[3] ZHANG LG, WANG LJ, SHEN QQ, et al. Paeniflorin improves regional cerebral blood flow and suppresses inflammatory factors in the hippocampus of rats with vascular dementia[J]. Chin J Integr Med, 2017, 23(9):696-702.

[4] CHI GC, FITZPATRICK AL, SHARMA M, et al. Inflammatory biomarkers predict domain-specific cognitive decline in older adults[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2017, 72(6):796-803.

[5] DU Y, LI W, LIN L, et al. Effects of lipocalin-2 on brain endothelial adhesion and permeability [J/OL]. PLoS One, 2019, 14(7):e0218965. DOI:10.1371/journal.pone.0218965.

[6] 黄志华,孙淑君,唐湘祁.脂质运载蛋白2在中枢神经系统疾病中的不同作用[J].医学临床研究,2017,34(7):1325-1328.

[7] LLORENS F, HERMANN P, VILLAR-PIQUÉ A, et al. Cerebrospinal fluid lipocalin 2 as a novel biomarker for the differential diagnosis of vascular dementia [J]. Nat Commun, 2020, 11(1):619-630.

[8] AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, ed. Diagnostic and statistical manual of mental disorders [M]. 4th ed. Washington: American Psychiatric Association, 1994:141-146.

[9] 谭子虎,陈延,谢文婷,等.血管因素与血管性认知功能损伤及痴呆[J].安徽医药,2018,22(12):2291-2294.

[10] 陈易简.血脑屏障完整性与中枢神经系统疾病的发展和转归的相关性研究进展[J].国际神经病学神经外科学杂志,2017,44(3):319-322.

[11] 乔蕾,孙寅轶,曲忠森. tau蛋白和 β -淀粉样蛋白在阿尔茨海默病病理过程中作用及自噬机制的研究概况[J/CD].中华诊断学电子杂志,2019,7(2):94-97. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-655X.2019.02.005.

[12] BLAIR LJ, FRAUEN HD, ZHANG B, et al. Tau depletion prevents progressive blood-brain barrier damage in a mouse model of tauopathy[J]. Acta Neuropathol Commun, 2015, 3(1):8-30.

[13] 于建平,党小军. $A\beta_{1-42}$ 、Tau和P-tau在AD与VD鉴别诊断中的应用价值[J].西南国防医药,2018,28(11):1099-1100.

[14] MESQUITA SD, FERREIRA AC, FALCAO AM, et al. Lipocalin 2 modulates the cellular response to amyloid beta[J]. Cell Death Differ, 2014, 21(10):1588-1599.

[15] EGASHIRA Y, HUA Y, KEEP RF, et al. Lipocalin 2 and blood-brain barrier disruption in white matter after experimental subarachnoid hemorrhage[J]. Acta Neurochir Suppl, 2016, 121(1):131-134.

[16] KIM BW, JEONG KH, KIM JH, et al. Pathogenic upregulation of glial lipocalin-2 in the parkinsonian dopaminergic system[J]. J Neurosci, 2016, 36(20):5608-5622.

[17] JIN M, KIM JH, JANG E, et al. Lipocalin-2 deficiency attenuates neuroinflammation and brain injury after transient middle cerebral artery occlusion in mic [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2014, 34(8):1306-1314.

[18] WU L, DU Y, LOK J, et al. Lipocalin-2 enhances angiogenesis in rat brain endothelial cells via reactive oxygen species and iron-dependent mechanisms[J]. J Neurochem, 2015, 132(6):622-628.

[19] KANG SS, REN Y, LIU CC, et al. Lipocalin-2 protects the brain during inflammatory conditions [J]. Mol Psychiatry, 2018, 23(2):344-350.

(收稿日期:2020-08-05,修回日期:2020-09-23)