

血浆外泌体中神经颗粒素对阿尔茨海默病患者脑结构和功能的影响研究

柳美菱子^{1,2} 赵维纳^{1,2} 王振琪^{1,2} 李施雨¹ 赵泳莉¹ 付雪莲^{3*}

1. 牡丹江医科大学附属红旗医院神经内三科 黑龙江牡丹江 157000

2. 黑龙江省缺血性脑卒中防治重点实验室 黑龙江牡丹江 157000

3. 牡丹江医科大学附属红旗医院病理科 / 海林市人民医院神经内科 黑龙江牡丹江 157100

摘要: 随着人口的老齡化痴呆发病率越来越高, 对社会经济造成了极大的影响。其中引起老年痴呆最常见的原因因为阿尔茨海默病 (AD)^[1]。除了淀粉样蛋白和 tau 蛋白外, 突触功能障碍是 AD 重要的病理生理改变, 神经颗粒素参与调节突触可塑性, 但目前血浆神经颗粒素在 AD 早期的变化及其与认知和神经退行性变之间的关系尚未明确。本项目拟通过比较早期 AD 患者与正常对照血浆神经源性外泌体中的神经颗粒素, 明确其随 AD 进展的改变模式及诊断效能进一步分析神经颗粒素含量与认知下降和脑结构及功能之间的相关性。将通过本项目明确血浆神经颗粒素在 AD 早期的改变模式及其对 AD 病程的影响机制, 阐明神经颗粒素在 AD 患者认知、脑结构和功能改变中所起到的作用, 从而为 AD 早期诊断和认知下降预测提供新的标记物。

关键词: 阿尔茨海默病; 遗忘型轻度认知障碍; 外泌体; 结构磁共振; 神经颗粒素

引起老年人痴呆最常见的原因是 AD, 但不幸的是目前针对 AD 淀粉样蛋白病理的药物均宣告失败。突触功能障碍和丢失也是 AD 一个重要的病理生理改变, 在 AD 患者认知下降和神经退行性变起到十分关键的作用^[2], 明确突触功能障碍在 AD 发病过程中的机制并实现对其的检测将有助于实现 AD 的早期诊断和新型治疗的研究。

神经颗粒素是一种分布于树突的突触后蛋白, 主要由新皮层和海马的兴奋性神经元分泌, 参与调节突触可塑性, 因而在记忆巩固等方面发挥重要作用^[3]。研究发现神经颗粒素在 AD 患者中显著升高并且与 AD 患者 tau 蛋白之间存在相关性, 可预测认知下降和神经退行性变^[4]。但研究多集中在脑脊液, 脑脊液检查存在有创性在临床开展困难, 故血液检测十分重要。虽然有研究发现 AD 患者血浆神经颗粒素较正常对照无明显变化^[5], 但近来发现血浆外泌体中神经颗粒素在 AD 患者中有所升高^[6]。若能应用多模态磁共振联合血浆外泌体中神经颗粒素研究在不同阶段的 AD 患者中的改变及其与疾病严重程度、认知下降和神经退行性改变之间的相关性, 将为 AD 早期检查和治疗提供新的标记物, 为 AD 的

早期诊疗奠定基础。

1. AD 患者神经颗粒素改变及其与认知的相关性研究

研究发现脑脊液神经颗粒素水平可以区分早期 AD 和正常对照, 受试者工作特征曲线显示鉴别曲线下面积可达 0.71, 可以预测正常对照未来可能出现的认知损伤和痴呆患者认知的进一步下降^[4]。其中典型 AD 患者中神经颗粒素高于非典型 AD^[7]。脑脊液神经颗粒素在 AD 患者病程进展过程中含量逐渐增加^[8]。此外研究进一步发现进展型较稳定型 MCI 的脑脊液神经颗粒素含量更高^[9, 10]。在轻度认知障碍 (MCI) 患者中研究发现脑脊液神经颗粒素水平越高, 其基线期记忆功能越差, 通过回归分析发现神经颗粒素可以预测记忆和执行功能下降, 神经颗粒素水平越高, 记忆和执行功能下降速率越快, 但其与正常老年人的认知功能无相关性^[11]。且研究发现正常老年人中脑脊液神经颗粒素逐渐增长, 而在 MCI 和 AD 痴呆患者中则不再改变, 提示这是一个早期指标^[10]。一项在认知正常老年人中进行的研究发现神经颗粒素与年龄, p-tau, t-tau 和海马体积存在相关性, 但其与淀粉样蛋白之间无关。根据神经颗粒素水平分为三组, 含量最低

组延迟记忆表现最好，与记忆之间的相关性独立于 AD 其他生物标记物^[3]。此外神经颗粒素与载脂蛋白 E 基因之间亦存在相关性，研究发现遗忘型轻度认知障碍（aMCI）患者中 APOE ε 4 携带者较非携带者神经颗粒素含量增高^[12]。尽管神经颗粒素与 tau 蛋白显著相关，而与淀粉样蛋白之间的相关性较弱^[8]，但研究发现神经颗粒素有较高的特异性，在 AD、帕金森病和路易体痴呆三组人群进行比较发现，AD 患者脑脊液神经颗粒素含量高于其他两组人群^[13]。与重度抑郁之间进行比较，同样发现 AD 患者脑脊液神经颗粒素含量显著高于重度抑郁患者，并且 AD 痴呆前期患者较其他源性的 MCI 患者含量亦升高^[14, 15]。多种神经退行性疾病之间的比较研究发现 AD 患者脑脊液神经颗粒素含量显著增加，此外除语义性痴呆外，行为变异型额颞叶痴呆、路易体痴呆、帕金森痴呆、多系统萎缩均未发现显著差异^[16]。其鉴别 AD 痴呆和非 AD 痴呆的曲线下面积是 0.76^[17]。

2. 神经颗粒素与 AD 患者脑结构及功能的相关性研究

常规结构磁共振（sMRI）可揭示大脑灰质的细微改变，弥散张量成像（DTI）可以测量水分子的扩散速度，检测水分子弥散的方向性，也可以推断组织的显微结构、白质纤维束的解剖和变化。功能磁共振（fMRI）可用于皮层的激活功能定位，也可同时进行认知功能测试，以明确识别特定任务和刺激激活的脑区。在我们之前的研究中显示单纯比较 MCI 和正常老化的健康老人及 AD 患者的脑结构发现，MCI 的灰质萎缩模式与 AD 相似，处于更早阶段的 AD 临床前期主观认知下降（SCD）时也可以出现类似的脑结构萎缩，有些部位可以表现为随疾病的临床进展，这些萎缩的区域有一定的趋势变化^[18-20]。在感兴趣区径向扩散系数、平均扩散系数和各向异性出现扩大变化，在皮层和海马旁回顶部径向扩散系数及平均扩散率也出现改变，而轴向扩散系数呈双相，各向特异性不稳定。而 MCI 与对照组比较，扩散系数、平均弥散率和部分各向异性都有变化，并且楔前叶和顶下皮质变薄，海马缩小。正常老年人中，对海马体积进行研究发现神经颗粒素水平越高，海马体积越小^[3]。AD 痴呆患者中发现，脑脊液神经颗粒素和脑萎缩相关^[4]。MCI 患者中研究发现 MCI 基线期脑脊液神经颗粒素含量高，提示着皮层葡萄糖代谢和海马体积的进行性下降^[9]。

3. AD 患者血浆神经颗粒素检测研究进展

上述研究多采用的样本为脑脊液，血液研究方面研究

较少，直接检测血浆中神经颗粒素含量发现 AD 患者血浆中含量较正常对照无显著差异，并且神经颗粒素在血浆和脑脊液中的含量无相关性。一项研究采用质谱法检测了血浆和脑脊液中的神经颗粒素多肽，发现 16 个多肽中有 6 个多肽只存在于血浆中，神经颗粒素 48-76 只存在于脑脊液中。并且虽然脑脊液中神经颗粒素水平在 AD 患者中显著增加，但是血浆神经颗粒素在两者中相类似^[5]。尽管上述研究均未发现血浆神经颗粒素的变化，但随着血浆中神经元分泌的外泌体检测技术的发展，使得我们能够在血浆中检测 AD 患者神经退行性变相关神经元蛋白的改变。和 AD 脑脊液中神经颗粒素升高不同，NDEs 中神经颗粒素呈相反改变，可能是由于血浆中的神经颗粒素转运入脑脊液所致。研究发现正常老年人血浆 NDEs 中淀粉样蛋白、tau 蛋白和组织蛋白酶在 3 至 11 年随访逐渐升高，而神经颗粒素逐渐下降，但远未达到 AD 患者的水平。研究发现血浆中 NDEs 中神经颗粒素在 AD 患者中有所降低，并且在 AD 痴呆数年前就可以出现下降^[6]。

目前虽有较多 AD 患者中神经颗粒素相关研究，这些研究多基于脑脊液，由于各种因素限制脑脊液的检查临床应用。随着 NDEs 检测技术的发展，使我们能够在血浆中检测到神经颗粒素，目前关于 AD 患者 NEDs 神经颗粒素的研究较少，且主要为 AD 痴呆期的研究，缺乏 AD 早期研究，以及与认知下降和神经退行性变之间的相关性研究。本研究拟明确 AD 不同阶段多模态磁共振和血浆 NEDs 中神经颗粒素的改变特征，并通过 2 年随访，阐述其对认知下降的预测价值，进一步分析血浆 NEDs 中神经颗粒素与 AD 患者海马结构及功能之间的相关性，从认知和脑结构与功能角度阐明血浆 NEDs 在 AD 诊断和认知预测中的作用及其对结构及功能的影响模式，从而为 AD 早期诊断和指标提供新靶点。

参考文献：

- [1]1990—2019 年中国偏头痛发病趋势及其年龄-时期-队列分析[J]. 徐若愚;王家琛;林羽彤;冯善刚;张建华. 中国循证医学杂志,2024(06)
- [2] 宋皓,李玉萍,王松华,等. 阿尔茨海默症突触功能障碍研究进展[J]. 生命科学,2018,30(01):20-26.DOI:10.13376/j.cbbs/2018003.
- [3]Willems EAJ, Sieben A, Somers C, Vermeiren Y, De Roeck N, Timmers M, Van Broeckhoven C, De Vil B, Cras P, De Deyn PP, Martin JJ, Teunissen CE, Engelborghs S, Bjerke M.

Neurogranin as biomarker in CSF is non-specific to Alzheimer's disease dementia. *Neurobiol Aging*. 2021 Dec;108:99–109.

[4]Tarawneh R, D' Angelo G, Crimmins D, Herries E, Griest T, Fagan AM, Zipfel GJ, Ladenson JH, Morris JC, Holtzman DM. Diagnostic and Prognostic Utility of the Synaptic Marker Neurogranin in Alzheimer Disease. *JAMA Neurol* 2016, 73(5): 561–571.

[5]Yoong SQ, Lu J, Xing H, Gyanwali B, Tan YQ, Wu XV. The prognostic utility of CSF neurogranin in predicting future cognitive decline in the Alzheimer's disease continuum: A systematic review and meta-analysis with narrative synthesis. *Ageing Res Rev*. 2021 Dec;72:101491..

[6]Goetzl EJ, Kapogiannis D, Schwartz JB, Lobach IV, Goetzl L, Abner EL, Jicha GA, Karydas AM, Boxer A, Miller BL. Decreased synaptic proteins in neuronal exosomes of frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *FASEB J* 2016, 30(12): 4141–4148.

[7]Tahami Monfared AA, Byrnes MJ, White LA, Zhang Q. Alzheimer's Disease: Epidemiology and Clinical Progression. *Neurol Ther*. 2022 Jun;11(2):553–569.

[8]Lista S, Toschi N, Baldacci F, Zetterberg H, Blennow K, Kilimann I, Teipel SJ, Cavado E, Dos Santos AM, Epelbaum S, Lamari F, Dubois B, Nistico R, Floris R, Garaci F, Hampel H, Alzheimer Precision Medicine I. Cerebrospinal Fluid Neurogranin as a Biomarker of Neurodegenerative Diseases: A Cross-Sectional Study. *J Alzheimers Dis* 2017, 59(4): 1327–1334.

[9]Portelius E, Zetterberg H, Skillback T, Tornqvist U, Andreasson U, Trojanowski JQ, Weiner MW, Shaw LM, Mattsson N, Blennow K, Alzheimer's Disease Neuroimaging I. Cerebrospinal fluid neurogranin: relation to cognition and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Brain* 2015, 138(Pt 11): 3373–3385.

[10]Kester MI, Teunissen CE, Crimmins DL, Herries EM, Ladenson JH, Scheltens P, van der Flier WM, Morris JC, Holtzman DM, Fagan AM. Neurogranin as a Cerebrospinal Fluid Biomarker for Synaptic Loss in Symptomatic Alzheimer Disease. *JAMA Neurol* 2015, 72(11): 1275–1280.

[11]Headley A, De Leon-Benedetti A, Dong C, Levin B,

Loewenstein D, Camargo C, Rundek T, Zetterberg H, Blennow K, Wright CB, Sun X, Alzheimer's Disease Neuroimaging I. Neurogranin as a predictor of memory and executive function decline in MCI patients. *Neurology* 2018, 90(10): e887–e895.

[12]Jurasova V, Andel R, Katonova A, Veverova K, Zuntichova T, Horakova H, Vyhnaek M, Kolarova T, Matoska V, Blennow K, Hort J. CSF neurogranin levels as a biomarker in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration: a cross-sectional analysis. *Alzheimers Res Ther*. 2024 Sep 6;16(1):199.

[13]Sadeghi M, Azargoonjahromi A, Nasiri H, Yaghoobi A, Sadeghi M, Chavoshi SS, Baghaeikia S, Mahzari N, Valipour A, Razeghi Oskouei R, Shahkarami F, Amiri F, Mayeli M. Altered brain connectivity in mild cognitive impairment is linked to elevated tau and phosphorylated tau, but not to GAP-43 and Amyloid- β measurements: a resting-state fMRI study. *Mol Brain*. 2024 Aug 30;17(1):60.

[14]Sanfilippo C, Forlenza O, Zetterberg H, Blennow K. Increased neurogranin concentrations in cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease and in mild cognitive impairment due to AD. *J Neural Transm (Vienna)* 2016, 123(12): 1443–1447.

[15]Hellwig K, Kvartsberg H, Portelius E, Andreasson U, Oberstein TJ, Lewczuk P, Blennow K, Kornhuber J, Maler JM, Zetterberg H, Spitzer P. Neurogranin and YKL-40: independent markers of synaptic degeneration and neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2015, 7: 74.

[16]Wellington H, Paterson RW, Portelius E, Tornqvist U, Magdalino N, Fox NC, Blennow K, Schott JM, Zetterberg H. Increased CSF neurogranin concentration is specific to Alzheimer disease. *Neurology* 2016, 86(9): 829–835.

[17] 林璐, 马辛, 王刚, 等. 中国阿尔茨海默病早期预防指南 (2024) [J]. 阿尔茨海默病及相关病杂志, 2024, 7(03): 168–175.

[18]Su L, Hayes L, Soteriades S, Williams G, Brain SAE, Firbank MJ, Longoni G, Arnold RJ, Rowe JB, O'Brien JT. Hippocampal Stratum Radiatum, Lacunosum, and Moleculare Sparing in Mild Cognitive Impairment. *J Alzheimers Dis* 2018, 61(1): 415–424.

[19]Wang X, Yu Y, Zhao W, Li Q, Li X, Li S, Yin C, Han Y. Altered Whole-Brain Structural Covariance of the Hippocampal Subfields in Subcortical Vascular Mild Cognitive Impairment and Amnestic Mild Cognitive Impairment Patients. *Front Neurol* 2018, 9: 342.

[20]Zhao W, Wang X, Yin C, He M, Li S, Han Y. Trajectories of The Hippocampal Subfields Atrophy in the Alzheimer' s Disease: A Structural Imaging Study. *Frontiers in Neuroinformatics*, 2019.

作者简介：

柳美菱子（1993-），女，汉族，黑龙江省牡丹江市人，硕士研究生，牡丹江医科大学附属红旗医院，研究方向：缺血性脑卒中及认知功能障碍

基金项目：

黑龙江省自然科学基金项目（SS2023H005）、黑龙江省属高等学校基本科研费科研项目（2022-KYYWF-0662）、牡丹江医学院附属红旗医院博士基金项目（2024-HQBS-12）