

文章编号 1006-8147(2020)01-0047-04

论 著

脑脊液生物标志物在特发性正常压力脑积水中的应用

王仕勤¹, 何宇豪², 黄 楹²

(1.巴中市中心医院神经外科中心, 巴中 636000; 2.天津市环湖医院神经外科, 天津 300350)

摘要 目的:探讨特发性正常压力脑积水(iNPH)的病理生理学特点,并评估脑脊液(CSF)生物标志物的诊断和预后价值。方法:收集2016年10月-2018年6月在我院行脑室腹腔分流术的iNPH患者18例。获取手术前(术前组)及手术后6个月(术后组)的脑脊液;同时获取12例健康老年人(对照组)的脑脊液。运用酶联免疫吸附实验(ELISA)测定脑脊液生物标志物神经丝轻链蛋白(NFL),淀粉样蛋白- β 42(A β 42),总tau蛋白(T-tau),磷酸化tau蛋白(P-tau),水通道蛋白1(AQP1)和白蛋白(Albumin)的含量。评估iNPH患者术前及术后6个月主要临床症状。结果:18例iNPH患者脑室腹腔分流术后6个月复查时,13例(72%)iNPH评分有所改善。iNPH患者术前组脑脊液中NFL和AQP1高于对照组,比值分别为1.53和1.48($P<0.05$);而T-tau、P-tau和A β 42低于对照组,比值分别为0.64,0.68和0.48($P<0.05$);两组间白蛋白水平无明显差异($P>0.05$)。iNPH患者术后组脑脊液中NFL、A β 42、P-tau、白蛋白水平较术前组增加,对应比值为0.72,0.62,0.47和0.48($P<0.05$);然而AQP1和T-tau水平较术前组下降,对应比值为2.01和1.15($P<0.05$)。结论:特发性正常压力脑积水可引起脑室周围代谢水平降低和轴突变性,但没有主要的皮质损伤。

关键词 正常压力脑积水;脑脊液;神经丝轻链蛋白;淀粉样蛋白- β 42;tau蛋白;水通道蛋白1

中图分类号 R742.7

文献标志码 A

Application of cerebrospinal fluid biomarkers in idiopathic normal pressure hydrocephalus

WANG Shi-qin¹, HE Yu-hao¹, HUANG Ying²

(1. Department of Neurosurgery Center, Bazhong Central Hospital, Bazhong 636000, China; 2. Department of Neurosurgery, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300350, China)

Abstract Objective: This study aimed to explore the pathophysiology of idiopathic normal pressure hydrocephalus (iNPH) and to evaluate the diagnostic and prognostic value of CSF biomarkers. **Methods:** 18 patients with iNPH who underwent ventriculoperitoneal shunt in our hospital from October 2016 to June 2018 were enrolled. Cerebrospinal fluid (CSF) was obtained before surgery (preoperative group) and 6 months after surgery (postoperative group), and CSF was collected from 12 healthy elderly individuals (control group). The levels of CSF biomarkers NFL, A β 42, T-tau, P-tau, AQP1, and Albumin were analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The clinical symptoms of iNPH patients before and 6 months after surgery were evaluated. **Results:** At 6 months after ventriculoperitoneal shunt surgery, 13 (72%) of the 18 iNPH patients had an improved iNPH score. The levels of NFL and AQP1 in the iNPH preoperative group were higher than those in the control group, the ratios were 1.53 and 1.48, respectively ($P<0.05$); while the levels of T-tau, P-tau and A β 42 were lower than the control group, the ratios were 0.64, 0.68 and 0.48, respectively ($P<0.05$); there was no significant difference in albumin between the two groups ($P>0.05$). The levels of NFL, A β 42, P-tau and albumin in the iNPH postoperative group increased compared with the iNPH preoperative group, and the corresponding ratios were 0.72, 0.62, 0.47 and 0.48 ($P<0.05$). However, the levels of AQP1 and T-tau were decreased compared with the preoperative group, and the corresponding ratios were 2.01 and 1.15 ($P<0.05$). **Conclusion:** The pathophysiology of iNPH is characterized by reduced periventricular metabolism and axonal degeneration but no major cortical damage.

Key words normal pressure hydrocephalus; cerebrospinal fluid; neurofilament light protein; amyloid- β 42; tau protein; aquaporin 1

脑积水的特征是脑脊液容量增加。成人脑积水与脑室内压力和脑脊液流动紊乱以及脑脊液成分改变引起的脑组织损伤有关^[1]。特发性正常压力脑积水(iNPH)病因不明,其特征是脑室非阻塞性扩大但脑脊液(CSF)压力正常,典型的临床症状为步态不稳、认知障碍和尿急/尿失禁。如果患者对CSF引

流有明确反应或CSF流体动力学变化与iNPH一致,则指南推荐进行分流术。患者的手术治疗改善率达80%以上^[2],常用的补充测试^[3]不能排除手术患者。因此,分析CSF生物标志物,可反映中枢神经系统代谢情况,为iNPH的诊断和手术预后诊断提供一种可能性。该研究的目的是测定几种CSF生物标志物,评估所选生物标志物在iNPH中的诊断价值,进一步探索iNPH的病理生理学特点。

作者简介 王仕勤(1991-),男,住院医师,硕士,研究方向:神经肿瘤;通信作者:黄楹,E-mail:Yinghuang00@aliyun.com。

1 资料与方法

1.1 临床资料 连续纳入 2016 年 10 月–2018 年 6 月 18 例在我院诊断为 iNPH 的老年患者(男性 10 例、女性 8 例),平均年龄(69 ± 3.6)岁。诊断标准为患者的症状、体征(符合 iNPH 指南^[4])和 MRI 测量脑室扩大 Evans 指数 >0.3 ^[5]。所有患者均行脑室腹腔分流术,分流装置均为美敦力公司同一型号脑脊液分流套件(Medtronic PS Medical® Strata® II),具有抗虹吸装置、储液囊和磁性可调压阀。在术中和脑室腹腔分流术后 6 个月,根据新型 iNPH 量表评估患者步态、平衡、神经心理学和小便控制情况^[6]。患者 iNPH 量表评分增加 ≥ 5 分则认为改善,否则为未改善。12 例健康老年人(男女各 6 例),平均年龄(70.6 ± 2.5)岁。排除标准包括神经系统疾病或精神疾病(包括酒精或药物成瘾)或背部或脊柱问题。所选择的受试者均未服用中枢性镇痛药或精神药物。所有志愿者知情同意并经医院伦理委员会审批。

1.2 CSF 样本及分组 健康老年人脑脊液(对照组)于侧卧位进行腰椎穿刺收集 20 mL 样本。iNPH 患者术前脑脊液(术前组)在进行分流手术时通过置入右侧脑室的导管留取 20 mL 样本。iNPH 患者术后 6 个月脑脊液(术后组)在术后 6 个月复查时留取 20 mL 样本。头皮充分消毒后,运用小于 25Gauge 的细针经头皮直接穿刺储液囊,不会引起储液囊破损。将所有 CSF 样本收集在聚丙烯管中,进行离心、等分并在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻至分析。

1.3 CSF 分析 使用 NF-Light 试剂盒(Tecan Trading AG, Switzerland),通过 ELISA 技术测量 NFL,检测下限为 100 ng/L。通过电化学发光测定(Meso Scale Discovery, Gaithersburg, USA)分析 A β 42^[7]。使用 INNO-BIA AlzBio3 试剂盒(Innogenetics, Ghent, Belgium),通过 LuminexMAP 技术测量 CSF T-tau 蛋白和 P-tau 蛋白^[8]。通过 ELISA 技术测量 AQP1(武汉中美科技有限公司,中国)。所有分析均由天津市环湖医院临床神经化学实验室分批进行,批内变异系数低于 10%。

1.4 统计学方法 采用 IBM SPSS Statistics 25(SPSS, Chicago, IL)进行统计分析。计量资料采用中位数及四分位数[M(Q1–Q4)]表示。运用曼-惠特尼 U 检验(Mann-Whitney U Test)对 iNPH 患者术前(术前组)脑脊液与健康老年人(对照组)脑脊液进行比较。对 iNPH 患者术前(术前组)脑脊液和术后 6 个月(术后组)脑脊液进行相关样本 Wilcoxon 符号秩检验(Wilcoxon signed rank test)。以 $P=0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 脑室腹腔分流术后复查 临床在脑室腹腔分流术后 6 个月复查时,18 例 iNPH 患者中有 13 例(72%)iNPH 评分有所改善。iNPH 评分术前为 56;43~74(中位数;Q1~Q3),复查时为 75;62~86,提高了 15;4~23。其中术后患者步态及认知改善分别 14;3,34 和 9;0,17,平衡和尿失禁无明显改善(表 1)。

表 1 特发性正常压力脑积水患者术前及术后 6 个月临床症状和预后[M(Q1–Q3)]

Tab 1 Clinical symptoms before and 6 months after surgery and outcome[M(Q1–Q3)]

项目	术前组($n=18$)	术后组($n=18$)	预后($n=18$)
步态	42(29~78)	78(51~89)	14(5~34) ^a
认知	62(43~78)	82(53~88)	9(0~17) ^a
平衡	64(61~68)	65(63~81)	0(0~18) ^b
尿失禁	63(23~94)	79(65~83)	0(0~25) ^b
iNPH 量表总分	56(43~74)	75(62~86)	15(4~23) ^b

a.术前与术后比较, $P \leq 0.01$;b.术前与术后比较, P 无明显差异;iNPH:特发性正常压力脑积水

2.2 CSF 分析 iNPH 患者术前(术前组)脑脊液中 NFL 和 AQP1 高于健康老年人(对照组),比值分别为(1.53,1.48, $P < 0.05$);而 T-tau、P-tau 和 A β 42 低于健康老年人(对照组),比值分别为(0.64,0.68,0.48, $P < 0.05$);两组之间白蛋白水平无明显差异($P > 0.05$)(表 2)。iNPH 患者脑室腹腔分流术后 6 个月(术后组)脑脊液中 NFL、A β 42、P-tau、白蛋白水平较术前(术前组)增加,对应比值为(0.72,0.62,0.47,0.48, $P < 0.05$),而 AQP1、T-tau 水平较术前(术前组)下降,对应比值为(2.01,1.15, $P < 0.05$)(表 3)。

表 2 健康老年人及患者术前脑脊液生物标志物对比[M(Q1–Q3)]

Tab 2 Comparison of CSF biomarkers in HI and iNPH preoperative patients[M(Q1–Q3)]

项目	对照组($n=10$)	术前组($n=18$)	术前组/对照组
NFL/(ng/L)	835(658~1 236)	1 280(855~2 280) ↑	1.53 ^a
A β 42/(ng/L)	487(392~667)	236(165~330) ↓	0.48 ^a
T-tau/(ng/L)	383(262~537)	247(126~417) ↓	0.64 ^b
P-tau/(ng/L)	56(44~78)	38(31~76) ↓	0.68 ^b
AQP1/(ng/mL)	0.42(0.36~0.68)	0.62(0.41~0.86) ↑	1.48 ^c
Albumin/(mg/L)	154(95~187)	126(86~166) —	0.82 ^d

^a $P < 0.001$;^b $P < 0.05$;^c $P < 0.01$;^d P 无明显差异;NFL:神经丝轻链蛋白;A β 42:淀粉样蛋白- β 42;T-tau:总 tau 蛋白;P-tau:磷酸化 tau 蛋白;AQP1:水通道蛋白 1;Albumin:白蛋白

表 3 患者术前及术后 6 个月脑脊液生物标志物对比[M(Q1-Q3)]

Tab 3 Comparison of CSF biomarkers between iNPH patients before and 6 months after surgery[M(Q1-Q3)]

项目	术前组(n=18)	术后组(n=18)	术前组/术后组
NFL/(ng/L)	1 280(855~2 280)	1 780(1 106~2 865) ↑	0.72 ^b
Aβ42/(ng/L)	236(165~330)	380(234~568) ↑	0.62 ^a
T-tau/(ng/L)	247(126~417)	123(92~148) ↓	2.01 ^a
P-tau/(ng/L)	38(31~76)	81(67~93) ↑	0.47 ^a
AQP1/(ng/mL)	0.62(0.41~0.86)	0.54(0.36~0.74) ↓	1.15 ^b
Albumin/(mg/L)	126(86~166)	263(213~337) ↑	0.48 ^a

^aP<0.001;^bP<0.05;NFL: 神经丝轻链蛋白;Aβ42: 淀粉样蛋白-β42;T-tau: 总 tau 蛋白;P-tau: 磷酸化 tau 蛋白;AQP1: 水通道蛋白 1;Albumin: 白蛋白

3 讨论

研究发现在 iNPH 和阿尔茨海默病(AD)患者的 CSF 中神经丝轻链蛋白(NFL)的水平升高而淀粉样蛋白-β42(Aβ42)水平降低^[9-13]。然而,这些 CSF 生物标志物的诊断和预测价值在很大程度上仍具有不确定性。NFL 反映大的有髓轴突的退化^[14],Aβ42 与 AD 病理学和斑块存在密切相关;总 tau 蛋白(T-tau)和磷酸化 tau 蛋白(P-tau),分别反映脑皮质轴突变性和缠结形成^[15];水通道蛋白 1(AQP1)位于脉络丛室管膜细胞的顶端,具有水通道的功能^[16-17]。

许多研究已经明确了 Aβ42 在 iNPH 患者脑脊液中减少^[9,18],并且讨论了 iNPH 是否可以通过 Aβ42 在脑细胞外积聚导致 AD 的病理学原理。iNPH 患者 CSF 中 Aβ42 减少的原因,可能是由于脑室周围区域的脑代谢降低,正如 PET 和 MRI 研究所示^[19]。Aβ42 和 tau 蛋白水平降低的另一种可能解释是,由于 iNPH 患者中 CSF 动态逆流引起细胞外液向脑室流量减少,从而导致细胞外液清除率降低。笔者认为脑室周围区域脑代谢降低继发于 CSF 的动力学改变。

本研究发现 iNPH 中的 T-tau 和 P-tau 浓度低于健康老年人。有文献报道,iNPH 患者的 T-tau 水平差异较大,包括降低^[9,18],升高^[20],正常^[11,21];P-tau 降低^[9]或不变^[20-21]。笔者认为 iNPH 病理生理学特点为没有主要的皮质变性。已有研究证实^[9,11,13]NFL 升高表明皮层下脑室周围轴突的损伤,因此是 iNPH 病理生理学的一个特征。

研究中健康老年人与 iNPH 患者之间未发现反映血脑屏障(BBB)功能和中枢神经系统炎症过程的生物标志物存在任何差异,排除了稀释效应导致淀粉样蛋白 β42 和 tau 蛋白的降低。相对不变的蛋白

质含量表明建立了新的 CSF 动态平衡或者通过相当减少蛛网膜下腔中 CSF 来抵消脑室容量的增加,从而保持 CSF 的总量相对恒定^[22]。此外,iNPH 患者脑脊液中蛋白浓度的变化不明显^[21],脑室大小与脑脊液分子之间也没有相关性^[11]。脑室腹腔分流术后淀粉样蛋白 β42 和 P-tau 增加支持这些代谢物的改变在病理生理学上相关。

AQP1 由脉络丛的室管膜细胞选择性表达,并且作为水通道参与 CSF 分泌。已在健康受试者的脑脊液中发现 AQP1,并且发现在患有细菌性脑膜炎的患者中 AQP1 水平更高^[17]。最近研究表明,脑室内皮细胞、脉络丛细胞,可释放含有信号传导和细胞内蛋白的囊泡到脑脊液中^[23-24]。与对照组相比,本研究结果显示 iNPH 患者脑脊液中 AQP1 水平升高,这可能是这些患者脉络丛生理功能异常引起。目前尚没有关于脑积水患者或动物模型 CSF 中 AQP1 水平的报道;对 iNPH 的脑脊液中 AQP1 的表达及意义需进一步研究。

脑室腹腔分流术为脑室系统的 CSF 创造了一条新的循环途径。更重要的是其阻力较低,降低了脑室周围白质的应力。并使细胞外液得以正常进入脑室内,以及使细胞外液动力学的正常化。脑室腹腔分流术后 Aβ42 和 tau 蛋白水平相应比例增加可能反映了脑室周围组织代谢正常化。

iNPH 患者术前和术后 CSF 之间没有发现有关炎症标志物的变化,表明淀粉样蛋白和其他物质的变化可能与一般的机械因素无关。手术后 tau 蛋白略有改变,P-tau 升高,T-tau 降低,表明皮质神经元无明显损伤。但是不能排除 tau 蛋白水平与个体严重程度之间的相关性。之前对术后 CSF 的研究发现 T-tau 减少和白蛋白比增加^[11],可能是由于脑代谢和脑血流量的增加所致。

根据本研究,iNPH 患者 CSF 生物标志物的特征是 Aβ42 和 tau 蛋白的水平降低,结合 NFL 和 AQP1 升高,并且没有炎症或血脑屏障损伤的迹象^[9,11,13,18,20-21]。然而,如果在临床中作为常规生物标志物,必须与其他鉴别诊断例如 AD 进行比较。将 Aβ42,T-tau 和 P-tau 与 NFL 结合起来有利于进行鉴别诊断。本研究结果不支持使用炎症标记物或血脑屏障标记物进行 iNPH 诊断。上述方法须进一步在前瞻性研究中进行经济有效的分析验证。

iNPH 可引起脑室周围脑代谢水平降低和轴突变性,但没有主要的皮质损伤。当满足临床和影像学标准时,测定 CSF 生物标志物有助于 iNPH 的诊断,具有较高灵敏度。尽管 CSF 生物标志物无法预

测脑室腹腔分流术后的结果,但这些 CSF 标志物与 iNPH 的当前诊断标准之间密切相关。对 CSF 生物标志物的进一步研究,有助于了解 iNPH 的病理生理学特征,以及脑室腹腔分流系统对 CSF 循环的影响。

参考文献:

- [1] Blomsterwall E, Bilting M, Stephensen H, et al. Gait abnormality is not the only motor disturbance in normal pressure hydrocephalus[J]. Scand J Rehabil Med, 1995, 27(4):205
- [2] Klinge P, Hellström P, Tans J, et al. One-year outcome in the European multicentre study on iNPH[J]. Acta Neurol Scand, 2012, 126(3):145
- [3] Marmarou A, Bergsneider M, Klinge P, et al. The value of supplemental prognostic tests for the preoperative assessment of idiopathic normal-pressure hydrocephalus[J]. Neurosurgery, 2005, 57(3 Suppl): S17
- [4] Schirinzi T, Sancesario G M, Ialongo C, et al. A clinical and biochemical analysis in the differential diagnosis of idiopathic normal pressure hydrocephalus[J]. Front Neurol, 2015, 6:86
- [5] Pfanner T, Henri-Bhargava A, Borchert S. Cerebrospinal fluid biomarkers as predictors of shunt response in idiopathic normal pressure hydrocephalus: a systematic review[J]. Can J Neurol Sci, 2018, 45(1):3
- [6] Hellström P, Klinge P, Tans J, et al. A new scale for assessment of severity and outcome in iNPH[J]. Acta Neurol Scand, 2012, 126(4): 229
- [7] Jingami N, Asada-Utsugi M, Uemura K, et al. Idiopathic normal pressure hydrocephalus has a different cerebrospinal fluid biomarker profile from Alzheimer's disease[J]. JAD, 2015, 45(1): 109
- [8] Luikku A J, Hall A, Nerg O, et al. Multimodal analysis to predict shunt surgery outcome of 284 patients with suspected idiopathic normal pressure hydrocephalus[J]. Acta Neurochir (Wien), 2016, 158(12):2311
- [9] Hong Y J, Kim M J, Jeong E, et al. Preoperative biomarkers in patients with idiopathic normal pressure hydrocephalus showing a favorable shunt surgery outcome[J]. J Neurol Sci, 2018, 387:21
- [10] Tarnaris A, Toma A K, Chapman M D, et al. Use of cerebrospinal fluid amyloid- β and total tau protein to predict favorable surgical outcomes in patients with idiopathic normal pressure hydrocephalus[J]. J Neurosurg, 2011, 115(1):145
- [11] Laiterä T, Kurki M I, Pursiheimo J P, et al. The expression of transthyretin and amyloid- β protein precursor is altered in the brain of idiopathic normal pressure hydrocephalus patients[J]. J Alzheimers Dis, 2015, 48(4):959
- [12] Patel S, Lee E B, Xie S X, et al. Phosphorylated tau/amyloid beta 1-42 ratio in ventricular cerebrospinal fluid reflects outcome in idiopathic normal pressure hydrocephalus[J]. Fluids Barriers CNS, 2012, 9(1):7
- [13] Nakajima M, Miyajima M, Ogino I, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers for prognosis of long-term cognitive treatment outcomes in patients with idiopathic normal pressure hydrocephalus[J]. J Neurol Sci, 2015, 357(1/2):88
- [14] Friede R L, Samorajski T. Axon caliber related to neurofilaments and microtubules in sciatic nerve fibers of rats and mice[J]. Anat Rec, 1970, 167(4):379
- [15] Craven C L, Baudracco I, Zetterberg H, et al. The predictive value of T-tau and AB1-42 levels in idiopathic normal pressure hydrocephalus[J]. Acta Neurochir (Wien), 2017, 159(12):2293
- [16] Carmona-Calero E M, Gonzalez-Toledo J M, Castañeyra-Ruiz L, et al. Expression of aquaporin-1 in the choroid plexus in communicating and non-communicating hydrocephalic rats[J]. Eur J Anat, 2015, 19(2):125
- [17] Blocher J, Eckert I, Elster J, et al. Aquaporins AQP1 and AQP4 in the cerebrospinal fluid of bacterial meningitis patients[J]. Neurosci Lett, 2011, 504(1):23
- [18] Tarnaris A, Toma A K, Pullen E, et al. Cognitive, biochemical, and imaging profile of patients suffering from idiopathic normal pressure hydrocephalus[J]. Alzheimers Dement, 2011, 7(5):501
- [19] Momjian S, Owler B K, Czosnyka Z, et al. Pattern of white matter regional cerebral blood flow and autoregulation in normal pressure hydrocephalus[J]. Brain, 2004, 127(Pt 5):965
- [20] Nakajima M, Miyajima M, Ogino I, et al. Preoperative phosphorylated Tau concentration in the cerebrospinal fluid can predict cognitive function three years after shunt surgery in patients with idiopathic normal pressure hydrocephalus[J]. J Alzheimers Dis, 2018, 66(1):319
- [21] Ray B, Reyes P F, Lahiri D K. Biochemical studies in Normal Pressure Hydrocephalus (NPH) patients: change in CSF levels of amyloid precursor protein (APP), amyloid- β (A β) peptide and phospho-tau[J]. J Psychiatr Res, 2011, 45(4):539
- [22] Kitagaki H, Mori E, Ishii K, et al. CSF spaces in idiopathic normal pressure hydrocephalus: morphology and volumetry[J]. Am J Neuro-radiol, 1998, 19(7):1277
- [23] Street J M, Barran P E, Mackay C L, et al. Identification and proteomic profiling of exosomes in human cerebrospinal fluid[J]. J Transl Med, 2012, 10:5
- [24] Baird G, Montine T J, Chang J J, et al. Cerebrospinal fluid total Tau is increased in normal pressure hydrocephalus patients who undergo successful lumbar drain trials[J]. Cureus, 2017, 9(5):e1265

(2019-01-20 收稿)