

- in vivo screen reveals multiple transcription factors that control HPV E6-regulated hTERT in keratinocytes[J]. Virology, 2013, 446(1/2): 17-24.
- [21] Javier RT, Rice AP. Emerging theme: cellular PDZ proteins as common targets of pathogenic viruses[J]. Journal of Virology, 2011, 85(22): 11544-11556.
- [22] Subbiah VK, Kranjec C, Thomas M, Banks L. PDZ domains: the building blocks regulating tumorigenesis[J]. Biochemical Journal, 2011, 439(2): 195-205.
- [23] Bilder D. Epithelial polarity and proliferation control: links from the Drosophila neoplastic tumor suppressors[J]. Genes and Development, 2004, 18(16): 1909-1925.
- [24] Thomas M, Narayan N, Prim D, et al. Human papillomavirus, cervical cancer and cell polarity[J]. Oncogene, 2008, 27(55): 7018-7030.
- [25] Christian K, Lawrence B. A systematic analysis of human papillomavirus (HPV) E6 PDZ substrates identifies MAG I-1 as a major target of HPV type 16(HPV-16) and HPV18 whose loss accompanies disruption of tight junctions[J]. Journal of virology, 2011, 85(4): 1757-1764.
- [26] Zheng ZM, Wang X. Regulation of cellular miRNA expression by human papillomaviruses[J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1809(11/12): 668-677.
- [27] Ribeiro J, Sousa H. MicroRNAs as biomarkers of cervical cancer development: a literature review on miR-125b and miR-34a[J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(15): 1525-1531.
- [28] Wang X, Wang HK, McCoy JP, et al. Oncogenic HPV infection interrupts the expression of tumor-suppressive mir-34a through viral oncoprotein E6[J]. RNA, 2009, 15(4): 637-647.
- [29] Yu Y, Zhang Y, Zhang S. MicroRNA-92 regulates cervical tumorigenesis and its expression is upregulated by human papillomavirus-16 E6 in cervical cancer cells[J]. Oncol Lett, 2013, 6(2): 468-474.
- [30] Zhang J, Li S, Yang Q, et al. Interferon- β induced microRNA-129-5P down-regulates HPV-18 E6 and E7 viral gene expression by targeting SPI in cervical cancer cells[J]. Plos one, 2013, 8(12): e81366.
- [31] Tan S, Hougardy BM, Mersma GJ, et al. Human papillomavirus 16 E6 RNA in interference enhances cisplatin and death receptor-mediated apoptosis in human cervical carcinoma cells[J]. Mol Pharmacol, 2012, 81(5): 701-709.
- [32] 侯潇潇, 江彤, 蒋欣泉, 等. HPV16 型 E5 基因对人永生化口腔上皮细胞 E6、E7 基因表达的影响[J]. 上海口腔医学, 2011, 20(4): 368-372.
- [33] Hu L, Plafker K, Vorozhko V, et al. Human papillomavirus 16 E5 induces bi-nucleated cell formation by cell-cell fusion[J]. Virology, 2009, 384(1): 125-134.
- [34] Boulouvar S, Weyn C, Van Noppen M, et al. Effects of HPV-16 E5, E6 and E7 protein on survival, adhesion, migration and invasion of trophoblastic cells[J]. Carcinogenesis, 2010, 31(3): 473-480.

(收稿日期: 2016-10-23 修回日期: 2016-12-24)

阿尔茨海默病血液生物学标志物研究现状

黄志强^{1,2} 综述, 王龙海¹, 何其胜^{1△} 审校

(1. 四川省达州市中西医结合医院神经内科 635000; 2. 甘肃中医药大学, 兰州 730000)

关键词: 阿尔茨海默病; 血液; 生物学标志物

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 09. 026

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)09-1227-03

阿尔茨海默病(AD)是老年中最常见的痴呆类型, 我国的发病率为 3%~7%, 且随着年龄的增长, AD 患病率逐渐升高。临床上 AD 分为痴呆前期和痴呆阶段; 痴呆前期分为轻度认知功能障碍前期(pre-MCI)和轻度认知功能障碍期(MCI); 痴呆阶段又可分为轻度、中度、重度。大量临床研究发现 AD 患者脑脊液 β 1-42 淀粉样蛋白($A\beta$ 1-42)水平升高, 总 Tau 蛋白和磷酸化 Tau 蛋白增高, 这些研究成果对 AD 的早期诊断具有重要价值。2012 年, 国际阿尔茨海默病协会多名专家联名撰文呼吁^[1]; 研究者应着力寻找 AD 血液生物学标志物, 尤其寻找适合于疑似临床前期或 MCI 患者诊断和筛查的新的血液生物学标志物。本文就 AD 血液生物学标志物的研究现状进行综述。

1 血浆蛋白组学

在神经变形疾病研究领域中, 运用蛋白芯片和质谱法技术检测血清生物标志物取得了突破性进展^[2], Britschgi 等^[3]发现 18 种蛋白分析物中的大部分与脑脊液中的 A 或 Tau 蛋白存在明显相关性。Wu 等^[4]发现, 在 AD 患者血清中, 血浆内淀

粉样前体蛋白裂解酶和可溶性淀粉样前体蛋白显著升高, 对 AD 的诊断可能有价值。多中心研究表明, 在 AD 患者血清中 N 末端脑钠肽原(NT-proBNP)水平升高^[5], 因此 NT-proBNP 似乎是一种 AD 病理相关的分子, 但是 NT-proBNP 也是水肿和心力衰竭的标志物。此外, 炎症谱标志物、微循环标志物, 如肾上腺髓质素前体中段、C 端内皮素前体片段, 这些物质在 AD 组和正常对照组比较时具有良好的诊断价值, 对 MCI 向 AD 进展有潜在的评估作用^[6]。虽然 AD 的血浆蛋白组学生物标志物方面取得了大量研究成果, 但仍缺乏临床试验的标准化水平实施方案, 其可行性还有待观察。

2 血浆脂质组学

和其他神经变形疾病一样, AD 与脂质代谢紊乱也有密切联系。大量研究表明, 血脂参数的变化可能直接影响复杂神经炎症斑和神经原纤维缠结生成的病理过程^[7]。鞘脂类包括神经酰胺、鞘磷脂、硫脂, 这些物质在神经功能中起着主要的作用, 同时也是 AD 病理生理相关生物活性代谢产物^[8]。Han 等^[9]运用鸟枪脂质学方法比较 AD 组与对照组, 发现 AD 组中

神经酰胺与鞘磷脂比率比配对的对照组高,同时发现该比值与认知功能相关,而纵向调查研究并没有发现鞘磷脂对 AD 诊断有价值。最近研究发现,AD 组血浆中长链胆固醇酯(ChEs)水平明显低于 MCI 组、正常对照组,预测血浆 ChEs 对 AD 的诊断可能有重要价值,但并没有发现胆固醇、前体胆固醇酯与 AD 有关系^[10]。进一步的成果,还需要更大样本的纵向研究。

3 血源性遗传标志物

在 AD 早发性遗传标志物中,已经证明 APOE 4 基因与 AD 的发病风险密切相关^[11]。对 APOE ϵ 4 基因进行表观遗传学分析,出现的一些现象可能有利于 AD 的诊断。比如,和正常对照组比较,AD 患者大脑组织和血淋巴细胞 APOE 启动区出现 DNA 甲基化现象,同时非正常的甲基化基因可能对 AD 的影响更大。因此,血淋巴细胞可能成为 AD 的标志物^[12]。除了甲基化现象,研究发现,外周血中,端粒缩短也可能成为 AD 的标志物^[13]。因转录和 DNA 改变的血清检测发生在循环的细胞中,因此,该方法并没有完全反映 AD 的病理过程,但这些发现对阐明 AD 的遗传学具有主要的作用。

4 自身抗体

众所周知,AD 患者存在大量的自身抗体,而自身抗体不仅存在于脑脊液,还存在于血液中,所以 AD 患者血清自身抗体的检测已经成为研究的热点^[14]。研究发现,血液中抗焦谷氨酸 A 自身抗体与认知功能密切相关^[15]。Nagele 等^[16]也发现,AD 患者血清中的自身抗体从发病早期到晚期一直存在,研究者运用 10 种自身抗体面板诊断 AD 的敏感性和特异性达 90% 以上。Mcintyre 等^[17]运用 ELISA 法发现,AD 组血清抗磷脂自身抗体(aPLs)比正常组明显降低,从而推测 aPLs 对 AD 早期诊断可能有临床价值,但自身抗体在 AD 病理方面的保护性或破坏性程度仍然未知,还需要大量的实验研究。

5 miRNA

miRNA 是在真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码 RNA,其大小为 20~25 个核苷酸,占人类所有基因的 1%。研究表明,miRNA 水平的改变与 AD 病理学存在某种关联性^[18]。在 AD 患者组织样本及细胞培养中,miRNA 模式的转变已经进行了深入的研究,Leidinger 等^[19]运用新一代测序方法发现了血清 12-miRNA 可显著区分 AD 及正常对照组,准确率为 93%,特异性 95%,敏感性 92%。在 miRNA 谱的研究方面,Kumar 等^[20]通过 Nanostring 技术,在血浆中发现 7-miRNA,可显著区分 AD 组及对照组,准确率为 95%。Keller 等^[21]检测了血清中 580 种 miRNA,在 AD 组与正常对照组中发现了 148 种异常表达 miRNA 有明显差异($P < 0.05$),从而推测 miRNA 在 AD 诊断方面潜力巨大。

6 β -淀粉样蛋白

β -淀粉样蛋白(A β)作为 AD 的血清学标志物得到广泛研究。Koyama 等^[22]针对 13 项研究涉及 10303 个样本的荟萃分析发现,在痴呆前期和 AD 期,血清 A β 1-42/ A β 1-40 比值下降具有统计学意义($P < 0.05$),同时对认知功能下降也有临床意义。然而,显著的差异性需要对血清 A β 作为 AD 的临床前期标志物做进一步研究。研究显示,显著的差异性可能与受试者的年龄、认知功能、饮食习惯、试验方法、试验间差异有关^[23]。但 Toledo 团队却得出了相反的结论,研究结果显示血清 A β 水平与 AD 临床阶段没有相关性^[23],原因有可能是 A β 不仅存在于大脑,外周组织中也存在,同时与血脑屏障可能也有关系^[24]。Xia 等^[25]运用 ELISA 法对散发性和家族性 AD 血清和脑组织分别进行 A β 寡聚体和 A β 单体检测,发现:A β 1-42 单体和 A β 寡聚体都增高,且两者之间关系密切;但随着疾病进一步发展,血清 A β 1-42 单体和 A β 寡聚体水平均出现不同程

度的下降,可能与大脑中不溶性物质增加有关。

7 Tau 蛋白

血清 Tau 蛋白测定国内外取得了一些研究成果,但研究发现,运用传统检测方法,MCI 或 AD 患者血清 Tau 蛋白几乎检测不到^[26]。另外,很多疾病的病理过程也会产生 Tau 蛋白,如缺血性脑卒中等^[26]。最近,一种超敏感免疫测定定量 Tau 蛋白问世。Randall 等^[27]研究发现,运用此方法,严重脑缺血的患者,如心脏骤停心肺复苏后,血清 Tau 蛋白明显升高,同时其升高程度与临床预后关系密切。初步研究结果表明,AD 组血清 Tau 蛋白水平是认知功能正常对照组的 2 倍^[3]。这些研究成果对 Tau 蛋白作为 AD 的血清标志物提供了可能。

8 总结和展望

脑脊液中 A β 和 Tau 是研究最多、最成熟的生物标记物,其对 AD 的诊断有主要的临床意义,但临床实践中面临着诸多问题,如检查的创伤性、年龄因素、腰椎退行性严重导致腰穿难度增大导致患者及家属拒绝此检查等。AD 血液生物学标志物作为新的研究方向在蛋白组学、脂质组学、自身抗体、miRNA 等方面取得了众多成果,使运用血液生物学标志物早期诊断 AD 成为可能,加上微创伤、简易等优点,患者易于接受,有利于临床的推广应用。但 AD 血液生物学标志物研究时间短,还面临着年龄、性别、环境、基因及健康状态、样本收集与保存、特异性和敏感性、结果的重复性、正常参考范围、临界值、如何有效联合应用各项生物标记物等一系列问题,同时各个医院设备和技术实力差异明显,现今临床运用仍较少。相信随着研究方向更加广泛和深入,血液生物学标志物对 AD 的早期诊断、治疗评估、预后等方面将发挥越来越重要的作用。

参考文献

- [1] 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.
- [2] Lista S, Faltraco F, Hampel H. Biological and methodical challenges of blood-based proteomics in the field of neurological research[J]. *Prog Neurobiol*, 2013, 101(4):18-34.
- [3] Britschgi M, Rufibach K, Huang SL, et al. Modeling of pathological traits in Alzheimer's disease based on systemic extracellular signaling proteome[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2011, 10(10):M111008862.
- [4] Wu G, Sankaranarayanan S, Wong J, et al. Characterization of plasma β -secretase (BACE1) activity and soluble amyloid precursor proteins as potential biomarkers for Alzheimer's disease[J]. *J Neurosci Res*, 2012, 90(12):2247-2258.
- [5] Chang AM, Maisel AS, Hollander JE. Diagnosis of heart failure[J]. *Heart Fail Clin*, 2009, 5(1):25-35.
- [6] Di PG, Kim TW. Linking lipids to Alzheimer's disease: cholesterol and beyond[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2011, 12(1):284-296.
- [7] Wood PL. Lipidomics of alzheimer's disease: current status[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2012, 4(1):5-6.
- [8] Mielke MM, Lyketsos CG. Alterations of the sphingolipid pathway in Alzheimer's disease: new biomarkers and treatment targets? [J]. *Neuromolecular Med*, 2010, 12(4):331-340.
- [9] Han X, Rozen S, Boyle SH, et al. Metabolomics in early Alzheimer's disease: identification of altered plasma

- sphingolipidome using shotgun lipidomics[J]. PLoS One, 2011, 6(7):21643-21645.
- [10] Proitsi P, Kim M, Whitley L, et al. Plasma lipidomics analysis finds long chain cholesteryl esters to be associated with Alzheimer's disease[J]. Transl Psychiatry, 2015, 5(1):494-497.
- [11] Cummings JL. Biomarkers in alzheimer's disease drug development[J]. Alzheimers Dement, 2011, 7(3):e13-e44.
- [12] Kaddurah-Daouk R, Rozen S, Matson W, et al. Metabolic changes in autopsy-confirmed Alzheimer's disease [J]. Alzheimers Dement, 2011, 7(3):309-317.
- [13] Lukens JN, Van Deerlin V, Clark CM, et al. Comparisons of telomere lengths in peripheral blood and cerebellum in Alzheimer's disease[J]. Alzheimers Dement, 2009, 5(6):463-469.
- [14] Colasanti T, Barbat C, Rosano G, et al. Autoantibodies in patients with Alzheimer's disease: pathogenetic role and potential use as biomarkers of disease progression [J]. Autoimmun Rev, 2010, 9(12):807-811.
- [15] Kleinschmidt M, Schoenfeld R, Göttlich C, et al. Characterizing aging, mild cognitive impairment, and dementia with Blood-Based biomarkers and neuropsychology[J]. J Alzheimers Dis, 2015, 50(1):111-126.
- [16] Nagele E, Han M, Demarshall C, et al. Diagnosis of Alzheimer's disease based on disease-specific autoantibody profiles in human sera[J]. PLoS One, 2011, 6(8):23112-23115.
- [17] McIntyre JA, Ramsey CJ, Gitter BD, et al. Antiphospholipid autoantibodies as blood biomarkers for detection of early stage Alzheimer's disease[J]. Autoimmunity, 2015, 48(5):344-351.
- [18] Geekiyanage H, Jicha GA, Nelson PT, et al. Blood serum miRNA: non-invasive biomarkers for Alzheimer's disease [J]. Exp Neurol, 2012, 235(2):491-496.
- [19] Leidinger P, Backes C, Deutscher S, et al. A blood based 12-miRNA signature of Alzheimer disease patients[J]. Genome Biol, 2013, 14(7):78-79.
- [20] Kumar P, Dezso Z, Mackenzie C, et al. Circulating miRNA biomarkers for Alzheimer's disease[J]. PLoS One, 2013, 8(7):69807-69809.
- [21] Keller A, Backes C, Haas J, et al. Validating alzheimer's disease micro RNAs using next-generation sequencing [J]. Alzheimers Dement, 2016, 12(5):565-576.
- [22] Koyama A, Okereke OI, Yang T, et al. Plasma amyloid- β as a predictor of dementia and cognitive decline: a systematic review and meta-analysis[J]. Arch Neurol, 2012, 69(7):824-831.
- [23] Toledo JB, Vanderstichele H, Figurski M, et al. Factors affecting A β plasma levels and their utility as biomarkers in ADNI[J]. Acta Neuropathol, 2011, 122(4):401-413.
- [24] Schneider P, Hampel H, Buerger K. Biological marker candidates of Alzheimer's disease in blood, plasma, and serum[J]. CNS Neurosci Ther, 2009, 15(4):358-374.
- [25] Xia W, Yang T, Shankar G, et al. A specific enzyme-linked immunosorbent assay for measuring beta-amyloid protein oligomers in human plasma and brain tissue of patients with Alzheimer disease[J]. Arch Neurol, 2009, 66(2):190-199.
- [26] Noguchi-Shinohara M, Hamaguchi T, Nozaki IA, et al. Serum tau protein as a marker for the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease[J]. J Neurol, 2011, 258(8):1464-1468.
- [27] Randall J, Mörtberg E, Provuncher GK, et al. Tau proteins in serum predict neurological outcome after hypoxic brain injury from cardiac arrest: results of a pilot study [J]. Resuscitation, 2013, 84(3):351-356.

(收稿日期:2016-11-24 修回日期:2017-01-20)

• 综 述 •

外泌体在肿瘤发生发展中的研究进展

陈 光 综述, 郑永晨[△]审校

(吉林大学第二医院中心实验室, 长春 130000)

关键词: 外泌体; 肿瘤诊断; 肿瘤进展

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 09. 027

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)09-1229-04

外泌体最初被发现时,人们一直认为它是一种细胞的废弃物。直到最近几年,人们发现这种纳米级膜泡中含有大量与其来源密切相关的蛋白质、脂质和 RNA 分子,可以在细胞之间传递,发挥对受体细胞的调节作用。这些发现引起了人们的极大兴趣,使外泌体逐渐成为研究热点之一。随着相关技术的不断改善,越来越多的研究将目光投向了外泌体在肿瘤的发生发展中的作用及机制。肿瘤来源及肿瘤相关外泌体有望代替组织活检,辅助肿瘤的早期诊断、疗效评价和预后分析。此外,外泌体还具有免疫激活、直接诱导肿瘤细胞凋亡等作用。尽管不断有报道发现肿瘤外泌体潜在的抗肿瘤作用,但也有证据表明

外泌体抑制抗肿瘤的免疫应答,参与肿瘤侵袭和转移,从而促进肿瘤进展。

1 外泌体简介

1.1 外泌体生物特点 1983 年 Jhonstone 等^[1]首次发现羊成熟网织红细胞可释放一种膜性小囊泡,起初这种小囊泡被认为是用来排除细胞内容物中的“垃圾”,并将其称为外泌体。直到 1996 年,Harding 等^[2]发现 B 淋巴细胞释放的外泌体中含有大量的主要组织相容性复合体 II 类分子(MHC-II),并且这些外泌体可以激活特异性的淋巴细胞。随着研究的不断进展,目前外泌体的描述为:直径大多介于 30~100 nm 的囊泡样结构;在

[△] 通信作者, E-mail: jlyzc@yahoo. com. cn.