

· 标准与规范 ·

阿尔茨海默病体液标志物临床应用
中国指南(2024 版)

国家卫生健康委能力建设和继续教育中心 中国神经科学学会 衰老标志物联合体
阿尔茨海默病体液标志物临床应用中国指南写作组

通信作者:唐毅,首都医科大学宣武医院神经内科,北京 100053, Email: tangyi@xwhosp.
org; 王延江,陆军军医大学大坪医院(陆军特色医学中心)神经内科,重庆 400042,
Email: yanjiang_wang@tmmu.edu.cn

【摘要】 阿尔茨海默病是最常见的导致认知障碍的神经退行性疾病,其病程隐匿、早期识别困难,随着疾病修饰疗法的发展,对于阿尔茨海默病早期精准诊断的需求越来越紧迫。阿尔茨海默病体液标志物是指在体液样本中检测到的与疾病密切相关的生物分子,可用于阿尔茨海默病的筛查、诊断、分期、疾病进展预测和临床试验,在临床实践中发挥着越来越关键的作用。本指南系统检索和评价了阿尔茨海默病的体液标志物,提出了体液采集和处理的标准化操作流程,细化了不同类型体液标志物在疾病筛查、诊断、分期、预测疾病进展以及临床试验等场景中的应用规范,并制订 24 条推荐意见。本指南的发布旨在规范体液标志物在临床实践中的应用,推进阿尔茨海默病体液标志物的研究。

【关键词】 阿尔茨海默病; 诊断; 标志物; 指南

基金项目:国家重点研发计划重点专项(2023YFC3605400, 2022YFC3602600); 国家自然科学基金(82220108009, 81970996, 82201568); 首都卫生发展科研专项(首发 2024-2-1032); 中国科协青年托举人才(2021QNRC001); 北京市科技新星(Z211100002121051)

实践指南注册:国际实践指南注册与透明化平台(PREPARE-2024CN079)

Chinese guideline for clinical application of fluid biomarkers for Alzheimer's disease(2024 edition)

National Health Commission Capacity Building and Continuing Education Center; Chinese Neuroscience Society; Aging Biomarker Consortium; The Writing Group for the Chinese Guideline for Clinical Application of Fluid Biomarkers for Alzheimer's Disease

Corresponding authors: Tang Yi, Department of Neurology, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China, Email: tangyi@xwhosp. org; Wang Yanjiang, Department of Neurology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China, yanjiang_wang@tmmu.edu.cn

【Abstract】 Alzheimer's disease is the most prevalent neurodegenerative disorder leading to cognitive impairment, but its progression is subtle and the early recognition is difficult. With advancements in disease-modifying therapies, the need for precise early diagnosis of Alzheimer's disease is increasingly pressing. Fluid biomarkers of Alzheimer's disease, detectable in bodily fluid samples, are intricately associated with the disease. It can be used for screening, diagnosis, staging, prediction of disease progression, and clinical trials, playing an increasingly critical role in clinical practice. This guideline systematically reviews and evaluates the spectrum of fluid biomarkers for

DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20240523-01174

收稿日期 2024-05-23 本文编辑 朱瑶

引用本文:国家卫生健康委能力建设和继续教育中心,中国神经科学学会,衰老标志物联合体,等.阿尔茨海默病体液标志物临床应用中国指南(2024 版)[J]. 中华医学杂志, 2024, 104(35): 3292-3306. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20240523-01174.

Alzheimer's disease, propose standardized protocols for sample collection and processing, and delineates the application standards of fluid biomarkers in disease screening, diagnosis, staging, prognosis of disease progression, and clinical trials. A total of 24 recommendations have been formulated. The publication of this guideline aims to standardize the application of fluid biomarkers in clinical practice, thereby advancing research in Alzheimer's disease fluid biomarkers.

【Key words】 Alzheimer's disease; Diagnosis; Biomarker; Guideline

Fund program: National Key Research and Development Program of China (2023YFC3605400, 2022YFC3602600); National Natural Science Foundation of China (82220108009, 81970996, 82201568); Capital's Funds for Health Improvement and Research (CFH2024-2-1032); Young Elite Scientists Sponsorship Program by CAST (2021QNRC001); Beijing Nova Program (Z211100002121051)

Practice guideline registration: International Practice Guideline Registration for Transparency (PREPARE-2024CN079)

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是我国老龄化社会面临的重大挑战,2015年我国AD患者总社会经济成本约1.03万亿元^[1],占国内生产总值的1.47%^[2]。据估算,我国60岁以上人群AD患者总数目前约为983万^[3]。AD病程进展隐匿,早期识别和早期干预是AD诊治的关键。然而在疾病早期的主观认知功能下降(subjective cognitive decline, SCD)或轻度认知障碍(mild cognitive impairment, MCI)阶段,由于患者临床症状轻微、缺乏特异性,易被忽视,给早期诊断带来困难^[4]。另一方面,随着靶向 β 淀粉样蛋白(Beta-amyloid protein, A β)的单克隆抗体药物相继获批上市,AD疾病修饰疗法初见曙光,然而这些疗法的临床应用需要依赖AD的精准诊断。因此,精准、便捷、经济的生物标志物检测在AD临床实践中发挥着越来越关键的作用^[5]。

AD体液标志物是AD生物标志物的主要类型,是指在体液样本中检测到的与疾病密切相关的生物分子,可用于AD的筛查、诊断、分期、疾病进展预测和临床试验。在过去20年中,AD体液标志物的研究取得了显著进展。最初受到关注的是脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)标志物,尤其是A β 和tau蛋白相关标志物。随后,血液标志物由于微创、便捷和适合大规模应用的特点,受到越来越广泛的关注。此外,尿液、唾液和泪液等来源的体液标志物也逐渐受到关注。体液样本可同时检测多种标志物,能够节约时间成本、提供更丰富的信息,为AD的筛查、诊断和治疗提供了新的方向和途径。

当前,AD体液标志物的临床应用仍面临挑战。首先,缺乏规范的体液采集、处理、存储和检测标准,这影响了检测结果的准确性和一致性。其次,尚缺乏明确的体液标志物在临床各应用场景中的使用说

明,限制了其在临床实践中的广泛应用。为进一步规范和推进AD谱系疾病体液标志物在临床筛查、诊断、分期、预测疾病进展和临床试验上的应用,由国家卫生健康委员会能力建设和继续教育中心、中国神经科学学会、衰老标志物联合体和AD体液标志物临床应用中国指南写作组组织了神经病学、精神病学、老年医学、神经科学和循证医学等领域的专家,针对AD患者CSF、血液和其他体液标志物研究证据进行了充分的分析与讨论,最终形成了本指南。

一、指南制订过程和方法学

(一)指南制订过程

本专家共识由首都医科大学宣武医院神经内科和陆军军医大学大坪医院神经内科牵头,联合国家卫生健康委能力建设和继续教育中心、中国神经科学学会、衰老标志物联合体组建了阿尔茨海默病体液标志物临床应用中国指南写作组40余名专家共同撰写,依据世界卫生组织关于指南的定义,通过系统文献检索、证据质量评价,结合临床医学实践,于2023年7月启动撰写工作,经过4轮专家共识会议讨论后,制订本指南。第一轮专家会议讨论确定临床问题,第二轮会议组织专家对指南初稿进行讨论及修改,第三轮会议对推荐意见进行投票,确定推荐强度,第四轮会议对指南进行修改定稿。

(二)文献检索策略

本专家共识针对AD体液标志物相关问题进行系统的文献检索,检索数据库包括PubMed、Cochrane Library、中国知网和万方数据知识服务平台,检索时间范围自建库至2024年4月。中文关键词为“阿尔茨海默病”“轻度认知障碍”“痴呆”“标志物”“筛查”“诊断”“预测”“临床试验”;英文关键词为“Alzheimer's disease”“mild cognitive impairment”“dementia”“biomarkers”“screening”“diagnosis”

“staging”“prediction”“clinical trial”,通过 AND、OR 和 NOT 布尔逻辑,进行关键词的不同组合检索,并通过不同平台检索引擎的筛选功能,检索不同的研究类型文献。文献纳入类型包括随机对照试验(randomized controlled trial, RCT)、系统评价、荟萃分析、回顾性系统研究、临床病例系列研究、病例报告、指南和专家意见。

(三)证据等级评定标准和推荐强度

采用推荐分级的评估、制定与评价(grading of recommendations assessment, development and evaluation, GRADE)分级系统^[6](<http://www.gradeworkinggroup.org/>),参考已发表的专家共识、指南以及高质量的研究,综合考量后进行推荐。GRADE 证据等级分为高(A)、中(B)、低(C)、极低(D)四个级别,推荐等级分为强(1)和弱(2)两个级别,GRADE 证据质量和推荐强度分级的具体含义汇总见表 1。对于缺乏循证医学证据的情况,根据改良德尔菲法召开指南会议,由全国专家组成的专家委员会经过充分讨论及审查后达成推荐意见“专家共识”。

表 1 GRADE 证据和推荐质量分级与定义

级别	详细说明
证据等级	
高(A)	非常确信观察值接近真实值
中(B)	对观察值有中等程度信心:观察值有可能接近真实值,但仍存在两者不同的可能性
低(C)	对观察值的确信程度有限:观察值可能与真实值不同
极低(D)	对观察值几乎没有信心:观察值很可能与真实值不同
推荐等级	
强推荐使用(1)	充分考虑了证据质量、综合医疗服务水平、患者可能的预后情况和治疗成本形成最终的推荐意见
弱推荐使用(2)	证据价值存在一定不确定性,或可能存在较高的技术要求和治疗成本,倾向于低级推荐

注:GRADE 为证据等级和推荐分级的评估、制定与评价

二、AD 体液标志物的分类

AD 体液标志物可以根据应用目的、体液类型、病理机制关联特点等方式进行分类。根据应用目的分类,AD 体液标志物可分为筛查、诊断、分期、预测疾病预后和临床试验等标志物。其中,AD 筛查标志物指在社区人群中用于筛查患病风险的标志物,筛查患病风险高的阳性人群需要进一步确诊;AD 诊断标志物指在有症状的 MCI 或痴呆患者中用于确诊疾病的标志物。后文将根据标志物应用场

景详细描述。

1. 根据体液类型分类:标志物可以分为 CSF、血液、尿液、唾液、泪液等。CSF 标志物能够直接反映中枢神经系统的病理生理改变,具有较高的特异度和灵敏度,已在临床上用于 AD 诊断^[7]。然而,CSF 的采集需要由专科医师结合适应证及禁忌证进行腰椎穿刺术,不适用于社区筛查。相比之下,血液标志物采集便捷,适用于 AD 的大规模筛查和长期监测,对于 AD 的早筛、早诊、随访具有重大的意义^[8]。然而,血液标志物浓度变化可能受到血脑屏障的通透性以及全身生理状态变化的影响^[9],标志物在血液中的浓度也显著低于 CSF^[10],因此血液标志物对检测技术的要求较高。此外,针对尿液、唾液、泪液等体液样本的 AD 标志物研究也日益增多,但其特异性和敏感性存在不足,且易受到生理变化的干扰,需要进一步研究和临床验证。

2. 根据病理机制分类:近年来 AD 体液标志物在核心标志物之外不断拓展,涵盖了神经退行性变、胶质细胞激活、炎症、脂质、氧化应激等标志物。2023 年 AD 协会国际会议(Alzheimer's Association International Conference, AAIC)发布了阿尔茨海默病协会制订的 AD 修订版诊断标准征求意见稿(<https://aaic.alz.org/diagnostic-criteria.asp>),将 AD 生物标志物分为 AD 核心标志物、非特异性 AD 病理生理标志物及非 AD 共病理标志物。AD 核心体液标志物指 AD 特异性的 A β 病理和 tau 病理标志物,包括 A β 42 和磷酸化 tau(phosphorylated-tau, p-tau)蛋白,其特征变化模式为 A β 42 降低、A β 42 与 A β 40 的比值(A β 42/40)降低和 p-tau 升高,反映了 AD 淀粉样蛋白沉积和 tau 蛋白过度磷酸化的特征性病理机制。非特异性 AD 病理生理标志物包括神经丝轻链蛋白(neurofilament light chain, NfL)、胶质纤维酸性蛋白(Glial fibrillary acidic protein, GFAP)、总 tau(total-tau, t-tau)蛋白等标志物,反映了参与 AD 发生发展的非特异性病理生理过程。非 AD 共病理标志物包括血管性脑损伤标志物和 α -突触核蛋白标志物等。

三、体液采集和处理的标准化操作流程

AD 体液标志物广泛应用面临的主要挑战之一是标志物的不稳定性。例如,CSF 和血液中的 A β 42 易于黏附和聚集,而 p-tau 则易受温度等环境因素影响,导致标志物浓度在样本处理和检测过程中容易发生变化。当前全自动化体液标志物检测技术的发展已经在一定程度上减少了检测环节中

的不可控因素对结果的影响,但样本采集和前期处理过程仍然对标志物浓度产生显著干扰,进而影响统一诊断界值的确定。本指南基于国际共识及相关研究,对 CSF 和血液样本的标准化操作流程推荐如下(表 2~4)^[11-17]。需指出的是,多数温度和时间相关操作推荐仅基于对 A β 浓度的观察,缺乏对

p-tau 浓度及标志物诊断性能的相关研究,尤其是温度或保存时间等相关操作。因此,相关推荐仍有待进一步验证及更新。

四、体液标志物应用于 AD 筛查、诊断和分期

(一)CSF 标志物用于 AD 诊断

CSF 核心标志物是研究最早和最为深入的 AD

表 2 阿尔茨海默病脑脊液样本的分析前标准化操作流程

步骤	流程
采集	严格判断腰椎穿刺术适应证及禁忌证 告知可能出现的风险和不良反应并签署知情同意书 由经验丰富的临床医师在无菌的环境下操作 采用小直径(0.7 mm)、非切割针头的穿刺针 对操作困难的个体可在超声引导下穿刺,避免对其反复穿刺 采用滴取法,脑脊液从穿刺针直接滴入低吸附聚丙烯(PP)材质采集管内,中间不经其他采集管或离心管的转移,以减少蛋白损失 弃去前 1~2 ml 脑脊液,不用于阿尔茨海默病标志物检测 各管采集脑脊液体积至少为采集管容积的 50% 采集体积根据需求而定,一般一次不超过 10 ml,最多不超过 30 ml
离心	采样后尽快离心 ^a (30 min 内),2 000×g,10 min,室温;若离心前 2~8 ℃短期保存,可 2~8 ℃条件下离心
分装	若不能在短时间内离心分装,24 h 内可存放至 2~8 ℃ 使用低吸附、PP 材质的移液器吸头分装至低吸附、PP 材质冻存管 对于同一采集管中的脑脊液样本可使用 1 个吸头分装,不需更换吸头。但因前 3~5 管样本可能因为吸头的黏附作用导致标志物浓度降低,因此检测 A β 和 tau 时应尽量选择第 3~5 管之后的样本 对于离心样本,离心后直接分装上清,无需将上清转移至新管 根据检测所需决定冻存管规格,分装体积为冻存管容积的 50%~80%
转运/存储	分装后迅速冻存至-80 ℃或液氮中(采集至冻存不超过 2 h),可至少保存 2 年 转运或新鲜样本检测前短期存储:<3 h,室温;3~24 h,2~8 ℃;24 h 至 2 周,-20 ℃或-80 ℃ ^b 待检样本冻融不超过 3 次

注:^a国际推荐仅在肉眼可见血液污染时需离心处理。但研究发现脑脊液于室温下放置 30 min 即可发生蛋白质、氨基酸、代谢分子的显著变化,与脑脊液内白细胞数量相关^[17];且为保持待测样本的一致性,此处建议脑脊液采集后统一离心处理,以去除各种细胞成分;^b国际推荐转运或短期存储条件:2~8 ℃≤14 d,或室温(20~25 ℃)≤2 d。但该推荐仅基于温度和时间对 A β 影响的研究,而缺乏对温度更为敏感的 p-tau 的观察,因此该推荐仍待验证,故此处暂根据血液的存储条件进行推荐

表 3 阿尔茨海默病血浆样本的分析前标准化操作流程

步骤	流程
采集	晨起空腹状态采集 多用真空采血针,采集困难时可采用蝶翼针(皮下注射针可能导致溶血) 采集针型号及采集部位:22 号口径(0.7 mm),肘静脉血 采用 PP 材质管(K2-EDTA)收集血浆 各管采集体积至少为采集管容积的 50% 血样采集完毕即刻轻柔颠倒采血管数次
离心	静置 30 min 后,2 000×g,10 min,室温;若离心前 2~8 ℃短期保存,可 2~8 ℃条件下离心
分装	使用低吸附、PP 材质的移液器吸头和冻存管 将各采血管离心后的上清液转移至同一个低吸附 PP 采集管中混匀 用移液器吸头轻轻反复吹打数次浸润吸头,然后用该吸头继续分装,分装过程中不再更换吸头;边混匀,边分装 分装体积 250/500/1 000 μ l,约为分装管容积的 50%~80%
转运/存储	分装后迅速冻存至-80 ℃或液氮中(采集至冻存不超过 2 h) 转运或新鲜样本检测前短期存储:<3 h,室温;3~24 h,2~8 ℃;24 h 至 2 周,-20 ℃或-80 ℃ 待检样本冻融不超过 2 次

表 4 阿尔茨海默病血清样本的分析前标准化操作流程

步骤	流程
采集	晨起空腹状态采集 多用真空采血针,难以采集时可采用蝶翼针(皮下注射针可能导致溶血) 采集针型号及采集部位:22 号口径(0.7 mm),肘静脉血 采用普通真空血清管收集血清 使用前将采血管放置室温(18~25 ℃)进行温度平衡 各管采集体积至少为采集管容积的 50% 血样采集完毕即刻轻柔颠倒采血管数次 室温凝集至少 15 min
离心	血样采集 60 min 内,1 500×g,15 min,4 ℃
分装	使用低吸附、PP 材质的移液器吸头和冻存管 将各采血管离心后的上清液转移至同一个低吸附 PP 采集管中混匀 用移液器吸头轻轻反复吹打数次浸润吸头,然后用该吸头继续分装,分装过程中不再更换吸头 边混匀,边分装 分装体积为分装管容积的 50%~80%(常见分装体积 0.5 ml)
转运/存储	分装后迅速冻存至-80 ℃或液氮中(采集至冻存不超过 2 ml) 待检样本冻融不超过 2 次

体液标志物,能够较好地反映 AD 脑内病理改变: Aβ42 浓度或 Aβ42/40 比值降低反映 Aβ 沉积,而 p-tau 浓度升高反映 tau 蛋白的过度磷酸化和神经原纤维缠结形成。AD 的 CSF 核心标志物已经在数百项研究中得到了验证,并在 2011 年被美国国家老年研究所-阿尔茨海默病协会(National Institute on Aging-Alzheimer's Association, NIA-AA)纳入 AD 临床诊断标准^[18]。

1. Aβ 病理标志物:AD 的 Aβ 病理标志物研究包括 Aβ 多肽亚型及其比值。一项荟萃分析发现 AD 患者的 CSF Aβ42 明显低于正常对照并且结果稳定^[19]。当以尸检脑组织的 AD 病理作为诊断金标准时,CSF Aβ42 区分 AD 痴呆和认知正常者的曲线下面积(area under the curve, AUC)为 0.94,灵敏度和特异度均为 88%^[20],CSF Aβ42 区分 AD 痴呆与其他类型痴呆的灵敏度为 84%,特异度为 100%^[20]。当以淀粉样蛋白正电子发射断层显像(positron emission tomography, PET)作为诊断金标准时,CSF Aβ42 在认知正常者、MCI 患者和痴呆患者中诊断 AD 的 AUC 为 0.86^[21],在 MCI 患者中诊断 AD 源性 MCI 的 AUC 为 0.94^[22]。因此,CSF Aβ42 可以用于 AD 的早期诊断。此外,CSF 中存在 Aβ40 和 Aβ38 等其他 Aβ 多肽亚型,这些亚型对于 AD 诊断的特异度较差。当以 Aβ-PET 作为诊断金标准时,Aβ38 和 Aβ40 诊断 AD 的 AUC 分别为 0.57 和 0.56,明显低于 Aβ42^[23]。

相对于单独的 Aβ 多肽亚型,Aβ 亚型比值的优

势是能够克服个体差异和客观分析因素的干扰。用于诊断 AD 的 Aβ 亚型比值主要为 Aβ42/40,其 CSF 试剂盒已被美国食品及药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准。当以 Aβ-PET 作为诊断金标准时,CSF Aβ42/40 比值在认知障碍患者中区分 AD 和其他类型认知障碍的准确度约为 90%,且结果稳定,优于单独使用 Aβ42^[24-25]。CSF Aβ42/40 比值诊断 AD 源性 MCI 的 AUC 为 0.95,灵敏度为 96%,特异度为 91%^[26]。有研究认为 CSF Aβ42/38 比值区分 Aβ-PET 阳性和阴性的准确度可能与 Aβ42/40 比值相近且优于单独的 Aβ42^[26],但支持证据不足。

2. tau 病理标志物:一项荟萃分析显示 CSF p-tau 能有效区分 AD 和正常对照,结果稳定性高^[19]。研究提示 AD 患者 tau 蛋白的增加及其特定位点的磷酸化有一定时间顺序:在 AD 认知障碍症状出现前 21 年、19 年、17 年、13 年左右,分别出现苏氨酸 217 位点磷酸化(p-tau217)、苏氨酸 181 位点磷酸化(p-tau181)、t-tau 增加以及苏氨酸 205 位点磷酸化(p-tau205)^[27]。研究最早、最充分的 tau 病理标志物是 CSF p-tau181,已在 2018 年被 NIA-AA 纳入 AD 诊断标志物^[28]。CSF p-tau217 可能是 AD 诊断性能最高的磷酸化 tau,无论以 Aβ-PET 或 tau-PET 作为诊断金标准,CSF p-tau217 与 Aβ 和 tau 病理均具有高相关性,能够准确区分 AD 和其他神经退行性疾病^[29]。最新研究发现 p-tau231 可能具有与 p-tau217 相近的 AD 诊断性能^[30]。

磷酸化 tau 与非磷酸化 tau 的比值(p-tau%)可能比单独的 p-tau 诊断性能更优。当以 A β -PET 作为诊断金标准时,通过质谱法检测的 CSF p-tau217% 诊断性能最佳(AUC=0.98),优于单独的 p-tau 和其他 p-tau%,并且 p-tau217% 与 A β -PET Centiloid 值相关性最高($p=0.76$)^[29, 31]。

此外,CSF p-tau205、含第 243 位残基的微管结合区域 tau 蛋白(microtubule-binding region of tau containing the residue 243, MTBR-tau243)、非磷酸化 tau 以及 t-tau 均与 tau 病理相关,目前尚无证据表明与 A β 病理相关^[19, 31-32],不能作为 AD 特异性标志物。

3. CSF 标志物组合:与单一标志物相比,联合检测 A β 、t-tau 和 p-tau,尤其是 A β /tau 比值,可以提升诊断的准确性和稳定性。当以尸检脑组织的 AD 神经病理作为诊断金标准时,CSF A β 42/p-tau181 比值区分 AD 和认知正常者的 AUC 为 0.97,灵敏度 94%,特异度 90%,CSF A β 42/p-tau181 比值区分 AD 痴呆和非 AD 痴呆的灵敏度为 88%,特异度为 100%^[20]。当以 A β -PET 作为诊断金标准时,CSF A β 42/p-tau181 比值在认知障碍患者中区分 AD 和其他类型认知障碍的准确度约为 90%,且结果稳定^[24]。

4. 其他 CSF 标志物:在 A β 病理和 tau 病理之外,AD 还表现为皮质广泛的神经损伤和神经胶质细胞激活。CSF 中一些神经变性标志物(如 NFL)和神经胶质细胞激活标志物(如 GFAP)在 AD 与认知正常者之间呈现显著的浓度差异,且其浓度与认知障碍严重程度相关。但这些指标不具有 AD 特异性,不适合单独用于 AD 的诊断^[19, 33-34]。

5. CSF 标志物检测方法:CSF 标志物诊断性能的提高依赖于全自动化检测技术的发展。CSF 标志物的浓度可以通过多种技术定量,包括但不限于酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、电化学发光检测免疫测定(electrochemiluminescence immunoassay, ECLIA)、化学发光酶免疫测定(chemiluminescent enzyme immunoassay, CLEIA)和单分子阵列(Single molecule array, Simoa)等。其中,用于检测 A β 42/40 比值的 Lumipulse G β -Amyloid Ratio (1-42/1-40)检测试剂盒和用于检测 A β 42/p-tau181 比值的 Elecsys[®] β -Amyloid (1-42) II (A β 42)、Elecsys[®] Phospho-Tau (181P) CSF (p-tau181)试剂盒,均已获美国 FDA 批准上市,用于 55 岁以上有认知损害人群的 AD 体外诊断。上述试剂盒均采用电化学发

光平台检测 CSF 中 A β 和 tau 蛋白相关的病理改变。

推荐意见 1:推荐 CSF 检查为拟诊 AD 的常规检查。(专家共识)

推荐意见 2:CSF A β 42 水平可用于诊断 AD。(1A)

推荐意见 3:可使用多种 CSF 标志物联合用于 AD 诊断,诊断性能优于单个 CSF 标志物。CSF A β 42/40 比值、A β 42/p-tau181 比值诊断 AD 的性能优于 A β 42。(1A)

推荐意见 4:CSF A β 42/38 比值可用于诊断 AD,诊断性能优于 A β 42。(2B)

推荐意见 5:CSF p-tau181、p-tau217、p-tau231、p-tau217% 可用于诊断 AD。(1A)

推荐意见 6:CSF NFL、GFAP 等非 AD 特异性标志物提示脑内神经变性或炎症等病理改变,反映 AD 病程进展严重程度,不能单独用于诊断 AD。(1A)

(二)CSF 标志物用于 AD 筛查

用于 AD 筛查的标志物主要包括 AD 核心标志物及标志物组合。在认知正常老年人中,单独的 CSF A β 42 及 A β 42/40、A β 42/p-tau181、A β 42/t-tau 比值区分 A β -PET 阳性和阴性的 AUC 均达到 0.89 以上,并且使用标志物比值的诊断特异度(86%~94%)优于单独使用 A β 42(74%~86%)^[35-36]。中国认知和老龄化研究(China Cognition and Ageing Study, COAST)长达 20 年的纵向随访发现,AD 患者 CSF A β 42、A β 42/40 比值、p-tau 分别在进展为 AD 痴呆前 18 年、14 年、11 年开始变化,早于海马萎缩和临床症状的出现,证实了 CSF A β 42、A β 42/40 比值、p-tau 对于预测 AD 发生和早期筛查的准确性^[37]。在 SCD 和 MCI 患者中,CSF A β 42 与 A β -PET 标准摄取值比值(standardized uptake value ratio, SUVR)之间的一致性为 86%,而 p-tau/A β 42 和 t-tau/A β 42 的比值与 A β -PET SUVR 的一致性为 92%^[38]。但对于 A β 42/40 比值以及 A β 42 和 tau 的比值,尚缺乏证据表明哪种比值的诊断准确性更高。此外,我国 COAST 队列发现 CSF NFL 在进展为 AD 痴呆前 9 年开始升高^[37],但对 AD 风险的预测缺乏特异性。

尽管存在上述优势,CSF 的采集仍需要由专科医师结合适应证及禁忌证进行腰椎穿刺术。虽然对认知障碍患者进行腰椎穿刺是一项成熟且相对安全的临床操作^[39-40],但仍有大约 13% 的 AD 患者在该过程中出现腰椎穿刺相关并发症^[12, 41]。因此,

CSF 的采集对操作人员的要求较高,患者的接受度较低,难以用于社区大规模筛查。

推荐意见 7: CSF A β 42、A β 42/40 比值、A β 42/p-tau181、A β 42/t-tau 和 p-tau 水平在 AD 临床前期出现变化,可以用于 AD 高危人群的早期筛查。(1A)

推荐意见 8: CSF 样本需要通过腰椎穿刺术采集,不适用于大规模社区筛查。(专家共识)

(三) 血液标志物用于 AD 诊断

相对于 CSF, 血液生物标志物具有采集方便、适合大规模筛查和长期监测等优势,因而近年来受到越来越广泛的关注。

1. A β 病理标志物: 血液 A β 标志物在 AD 诊断中具有重要价值。尸检研究发现, 血浆 A β 42/40 比值与脑内 A β 病理变化相关^[42]。荟萃分析显示, 血浆 A β 42 在区分 AD 患者和认知正常者方面表现出较高的特异度和灵敏度(灵敏度 88%, 特异度 81%), 同时也可以很好地区分 AD 源性 MCI 和认知正常者(灵敏度 86%, 特异度 90%)^[43]。此外, 以 CSF A β 42/40 比值作为诊断金标准, 一项基于两个独立队列的研究发现血浆 A β 42/40 比值在认知正常者、MCI 和 AD 痴呆患者中能够准确反映 CSF A β 42/40 比值异常者(AUC=0.81~0.87), 验证了血浆 A β 42/40 比值在 AD 诊断中的价值^[44]。

2. tau 病理标志物: 血液 p-tau 在 AD 患者中水平上升, 诊断 AD 的性能可能优于 A β 标志物。在 BioFINDER-2 队列中, 血浆 p-tau181 水平在 AD 连续疾病谱中呈现逐渐升高的趋势: 在 CSF A β 阴性的认知正常老年人和 MCI 患者中最低, 其次是 CSF A β 阳性的认知正常老年人和 MCI 患者, 再次是 CSF A β 阳性的 AD 痴呆患者^[45]。血浆 p-tau181 鉴别 AD 痴呆和其他神经退行性疾病的 AUC 为 0.82~1.00, 区分 tau-PET 阳性和阴性的 AUC 为 0.83~0.93, 区分 A β -PET 阳性和阴性的 AUC 为 0.76~0.88^[45-47]。此外, 研究发现血浆和血清 p-tau181 水平高度相关($r=0.8202$)^[45]。

相对于其他磷酸化 tau, 血液 p-tau217 在 AD 患者中变化幅度更大^[10, 48], 能够更早地识别 AD 病理改变, 诊断准确性不亚于 CSF 标志物。对于 A β 病理, 血浆 p-tau217 能准确识别 A β -PET 阳性者(AUC=0.92~0.93)和 CSF A β 42/40 比值降低者(AUC=0.96)^[49]。对于 tau 病理, 血浆 p-tau217 能准确识别 tau-PET 阳性者(AUC=0.93~0.95)和 CSF p-tau181 升高者(AUC=0.97)^[49]。尸检研究也证实了血浆 p-tau217 和 AD 病理的相关性^[42, 50]。与 CSF

标志物相比, 血浆 p-tau217 或 p-tau217% 区分 A β -PET 与 tau-PET 阳性和阴性的性能不亚于 CSF A β 42/40 和 CSF p-tau181/A β 42 比值, 并且在认知正常者和认知障碍患者中均具有相似的诊断性能^[49, 51]。与其他血浆 AD 核心标志物相比, p-tau217 区分脑 A β 病理和 tau 病理的性能最好, 优于 p-tau181、p-tau231 和 A β 42^[42, 49]。此外, 血浆 p-tau212 和 p-tau217 在区分 CSF A β 42/40 比值正常和异常方面具有高度一致性, p-tau212 诊断 AD 的性能可能接近 p-tau217 且优于 p-tau181、p-tau231, 但需要更大规模的高质量研究进一步验证^[50]。

3. 血液标志物组合: 与 CSF 诊断标志物相似, 联合检测 A β 和 p-tau 有助于提高标志物在 AD 诊断中的性能。尸检研究表明结合血浆 p-tau217 和 A β 42/40 比值的模型能够准确反映 A β 病理($R^2=0.57$)^[42]。一项基于两个独立队列的研究发现, 血浆 A β 42/40 比值联合 p-tau181 和载脂蛋白 E (apolipoprotein E, APOE) 基因型能够准确识别 CSF A β 42/40 比值异常(AUC=0.90~0.93), 而将 p-tau181 替换为 p-tau217 时, 诊断性能不变, 但添加其他标志物后则出现边缘效应^[44]。

总体而言, 血液标志物的组合, 或将其与 AD 危险因素、年龄、性别、APOE 基因型和神经心理测评等临床信息相结合, 可能比单一标志物具备更好的诊断性能。但需注意可能存在的边缘效应, 确保诊断模型的准确性和可靠性。

4. 其他血液标志物: 与 CSF 类似, 血液中的非 AD 核心标志物如 NFL 和 GFAP, 能够区分认知障碍患者和认知正常者, 但这些标志物缺乏 AD 特异性。此外, 一些在 CSF 中已初步验证的非 AD 核心标志物在血液样本中的应用受到了限制, 如缺乏商业化试剂盒、研究结果的不一致性、特异度和灵敏度不足, 以及缺乏大规模纵向研究等。因此, 目前尚缺乏足够的证据表明其他血液标志物可以用于 AD 的诊断。

血液核酸、外泌体标志物是新兴的 AD 标志物研究方向。核酸类标志物主要关注基因表达的转录组失调和核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)结合蛋白功能改变^[52]。研究表明, 血细胞中的瞬时受体电位离子通道蛋白 6(transient receptor potential canonical 6, TRPC6)信使 RNA(messenger RNA, mRNA)水平在 AD 患者中特异性降低, 说明外周血 TRPC6 mRNA 可能是 AD 早期诊断的生物标志物^[53]。此外, 微小 RNA(microRNA, miRNA)在外周血中表达异常, 可反映 AD 病理进程。研究表明,

miRNA 组合能够准确区分 AD 痴呆患者 ($AUC=0.855$)^[54]。血液外泌体中携带丰富的生物活性物质,包括 A β 42、t-tau 和 p-tau,其水平与 CSF 相应标志物水平高度相关。研究表明,血液外泌体 A β 42、t-tau 和 p-tau181 区分 AD 和健康对照的 AUC 可分别达到 0.93、0.89、0.88,与 CSF 标志物的诊断效力相当,显示了外泌体生物标志物用于 AD 诊断的潜力^[55]。研究发现,一种反映大脑突触密度的血清突触囊泡蛋白 2A 水平随着 AD 进展逐渐下降,区分 AD 痴呆和认知正常者的 AUC 为 0.87,识别遗忘型 MCI 患者的灵敏度为 97.8%,提示其作为 AD 诊断标志物的潜力^[56],但这类新兴标志物还需要深入研究以明确其在 AD 中的诊断性能。

5. 血液标志物检测方法:目前,血液蛋白标志物的检测技术已从 ELISA 发展为灵敏度更高的 Simoa、ECLIA、免疫沉淀-质谱联用法 (immunoprecipitation-mass spectrometry, IP-MS) 等^[57]。其中,Simoa 和 IP-MS 技术具有最高的灵敏度和特异性。此外,Simoa[®] phospho-tau 181 (p-tau181) 血检试剂盒和 Simoa[®] phospho-tau 217 (p-tau217) 血检试剂盒均已获得美国 FDA 突破性医疗器械认定,用于评估 50 岁及以上认知障碍患者的 AD 风险,辅助诊断 AD;基于酶促化学发光免疫法的 HISCL[™] β -Amyloid 1-42 检测试剂盒与 HISCL[™] β -Amyloid 1-40 检测试剂盒也均已在日本获批,用于 AD 早期诊断。美国华盛顿大学开发的基于 IP-MS 技术的血检方法 (IP-MS-WashU) 已开始对外提供服务,检测早期 AD 患者脑部淀粉样蛋白的异常沉积^[58]。

此外,血液核酸标志物检测技术,如二代基因测序法 (next-generation sequencing, NGS)、聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 溶解曲线法、荧光 PCR 法等,也在 AD 诊断中发挥重要作用。基于 NGS 技术开发的 The Helix Genetic Health Risk App 产品已获美国 FDA 批准,该试剂盒通过检测 18 岁以上人群 APOE 基因多态性 (如 rs429358 和 rs7412 位点),以评估晚发型 AD 的风险。人 APOE 基因分型检测试剂盒 (PCR-荧光探针法) 已获得中国国家药品监督管理局批准,用于辅助 AD 临床诊断。基于 qPCR 检测循环中游离 miRNA 组合的技术也可用于 AD 的筛查和辅助诊断,预测 AD 发生。该技术已在体检中心投入使用。

推荐意见 9: 可谨慎使用基于高灵敏度检测方法的血液生物标志物辅助诊断 AD,但结果应尽可能

能由 CSF 检测或 PET 成像进一步证实。(专家共识)

推荐意见 10: 单独的血浆 A β 42、A β 42/40 比值、p-tau181、p-tau217,以及血浆 A β 42/40 比值联合 p-tau181 或 p-tau217 可以用于诊断 AD。(1B)

推荐意见 11: 血液标志物与 AD 危险因素、年龄、性别、APOE 基因型和神经心理测评等临床信息联合使用,有助于提高 AD 的诊断性能,但具有边缘效应。(2B)

(四) 血液标志物用于 AD 筛查

用于 AD 筛查的血液标志物主要包括 AD 核心标志物及其组合。血浆 p-tau181 可以在社区中用于筛查 AD 患者。在社区队列中,血浆 p-tau181 可以将 AD 患者与认知正常老年人区分开来 ($AUC=0.84$),但不能区分 AD 患者和 MCI 患者 ($AUC=0.55$)^[45]。血浆 p-tau181 水平在 A β -PET 阳性且 tau-PET 阴性的无症状者 (Braak 阶段 0) 中已显著上升^[45],可用于 AD 早期筛查。血浆 A β 42/40 比值在 AD 症状出现前的早期阶段已出现变化,与 A β -PET ($AUC=0.84$) 和 CSF A β 42/40 比值 ($AUC=0.85$) 均具有良好的一致性^[59],对筛查早期 AD 患者脑内 A β 病理具有潜在价值^[60]。一项研究提出了针对 MCI 患者筛查脑内 A β 病理的“两步法”:第一步,通过基于血浆 p-tau217、年龄和 APOE 基因型构建的模型,对患者进行 A β 病理低、中、高风险分层,低风险和高风险患者分别直接归类为 A β 病理阴性和阳性;第二步,仅对中风险患者进行 CSF A β 42/40 检测以确定 A β 病理状态,低风险和高风险患者则无需进行 CSF 检测。以 A β -PET 为金标准,“两步法”筛查 AD 源性 MCI 的准确率达到 88.2%~92.0%,能够减少 61.2%~85.9% 的 CSF 检测次数^[48]。

此外,一项研究发现血浆 NfL 和 GFAP 是神经退行性痴呆的标志物,但不具有 AD 特异性^[61]。基于英国生物样本库 (UK Biobank) 的大样本分析发现,血浆 GFAP、NfL、GDF15 和 LTBP2 能提前 10~15 年预测全因痴呆、AD 和血管性痴呆的风险^[62]。这些研究为应用血液生物标志物开展痴呆筛查提供了证据。

推荐意见 12: 血浆 A β 42/40 比值、p-tau181、p-tau217 可以用于筛查 AD 患者。(1B)

推荐意见 13: 血浆 GFAP、NfL 可以用于筛查痴呆高风险人群,但不具有 AD 特异性。(1B)

(五) 体液标志物用于 AD 分期

AD 患者脑部病理改变包括 A β 沉积、神经原纤维缠结和神经元丢失等,传统的 AD 病理分期方法

包括 Braak 分期^[63]、建立阿尔茨海默病登记联盟 (consortium to establish a registry for AD, CERAD) 分期、AD 神经病理改变 (AD neuropathological changes, ADNC) 分期等。2018 年 NIA-AA 指南提出可以利用 CSF 标志物进行 ATN 分期: 使用 A β 42/40 比值和 A β 42 定义 A 分期; p-tau 定义 T 分期; t-tau 定义 N 分期^[28]。CSF 或血液中的 p-tau217 可以准确区分 ATN 分期^[29, 49, 64]、Braak 分期 (AUC=0.93)、CERAD 分期 (AUC=0.89) 和 ADNC 分期 (AUC=0.88)^[65]。p-tau217 单独使用的分期准确性与 p-tau217 联合 A β 42/40 比值相当^[42], 提示 p-tau217 具有反映 AD 病理分期的潜力。

2023 年 AAIC 发布的 AD 修订版诊断标准拟纳入血浆标志物, 并认为 CSF 和准确的血浆标志物在 AD 分期中等效。该标准按照体液标志物将 AD 分为四期: a 期 (初始期), 出现 A β 42/40 比值、p-tau217、p-tau231、p-tau181 异常, 而 p-tau205、MTBR-243 和非磷酸化 tau 正常; b 期 (早期), 在 a 期的基础上出现 p-tau205 异常, 而 MTBR-243 和非磷酸化 tau 正常; c 期 (中期), 在 b 期的基础上出现 MTBR-243 异常, 而非磷酸化 tau 正常; d 期 (晚期), 上述所有标志物异常。需要注意的是, MTBR-243 和非磷酸化 tau 目前仅在 CSF 中得到验证, 尚无证据表明血液中的 MTBR-243 和非磷酸化 tau 可以用于 AD 分期。

推荐意见 14: CSF A β 42/40 比值、A β 42、p-tau 和 t-tau 可以用于 ATN 分期。(1A)

推荐意见 15: CSF 和血浆 A β 42/40 比值、p-tau217、p-tau231 和 p-tau181 是 AD 初始期标志物, CSF 和血浆 p-tau205 是 AD 早期标志物, CSF MTBR-243 是 AD 中期标志物, CSF 非磷酸化 tau 是 AD 晚期标志物。(1A)

推荐意见 16: CSF 和血浆 p-tau217 可以单独用于 AD 病理分期。(2B)

五、体液标志物应用于预测疾病进展

AD 标志物水平可以预测疾病进展, 定期检测体液标志物可以跟踪 AD 患者的病情进展程度。

CSF AD 核心标志物被认为是预测未来认知功能下降和疾病进展风险的指标。在认知正常人群中, CSF A β 42 和总 tau 水平异常者与正常者相比, 1 年内进展为 AD 痴呆的风险由 1% 增加至 16%, 3 年内进展为 AD 痴呆的风险由 6% 增加至 64%; 在 MCI 人群中, CSF A β 42 和 t-tau 水平异常者与正常者相比, 1 年内进展为 AD 的风险由 2% 增加至

26%, 在 3 年内进展为 AD 痴呆的风险由 9% 增加至 82%^[66]。此外, 较高的 CSF p-tau181 水平和 p-tau181/A β 42 比值与认知正常者 7 年内进展为 MCI 的风险相关, 而较低的 CSF A β 42/40 比值与认知正常者 7 年后进展为 MCI 的风险相关^[67]。CSF A β 42、p-tau/A β 42 和 t-tau/A β 42 比值还能够预测 MCI 患者未来 2 年认知功能下降程度, 生物标志物阳性者 2 年内临床痴呆评定量表 (clinical dementia rating, CDR) 总分进展约 1.5 分, 而生物标志物阴性者的 CDR 总分进展 <0.5 分^[38]。CSF A β 42/p-tau 比值较低者在未来 9.2 年内进展为 AD 痴呆的阳性预测值为 91%, 阴性预测值为 86%^[68]。结合我国 COAST 队列对 CSF 标志物的前瞻性纵向研究^[37], CSF A β 42/40 比值可以预测 10 年及以上远期发生认知障碍的风险, p-tau 可用于评估 10 年内近期发生认知障碍的风险, 而 A β 42/p-tau 比值可以评估近期和远期风险。综上所述, 定期检测 CSF 生物标志物可以有效追踪 AD 患者的病情进展。

多种血液标志物与 CSF 中的相应标志物表现出一致的变化趋势, 可以用于预测 AD 进展。血浆 p-tau181 水平升高与更快的认知功能下降速度、颞叶及海马灰质密度下降相关^[45, 47], 可预测认知正常者 ($HR=2.5$) 和 MCI 患者 ($HR=3.1$) 5 年内进展为 AD 痴呆的风险, 优于血浆 A β 42/40 比值、t-tau 和 NFL^[46]。ADNI 队列中, 血浆 p-tau181 能够预测认知正常者 4 年内进展为 MCI 的风险 ($HR=1.82$) 和 MCI 患者 4 年内进展为 AD 痴呆的风险 ($HR=2.06$)^[69]。BioFINDER 队列中, 血浆 p-tau181 能够预测认知正常者 (AUC=0.84) 和 MCI 患者 (AUC=0.81) 6 年内进展为 AD 痴呆的风险^[44]。血浆中的其他磷酸化 tau 如 p-tau217 和 p-tau231 也表现出预测疾病进展的潜力^[44, 70-71], 但目前尚缺乏充足的证据来区分不同 p-tau 在预测性能上的差异。此外, 血浆 A β 42/40 比值较低的认知正常者在 18 个月内由 A β -PET 阴性进展为 A β -PET 阳性的风险升高 15 倍^[72]。组合使用血液核心标志物能够提高认知正常者和 MCI 患者向 AD 痴呆进展风险的预测准确性。在血浆 p-tau181 的基础上结合血浆 p-tau217, 预测认知正常者 6 年内进展为 AD 痴呆的 AUC 从 0.84 提高至 0.86。此外, 在血浆 p-tau181 的基础上结合血浆 p-tau217 和 A β 42/40 比值, 预测 MCI 患者 6 年内进展为 AD 痴呆的 AUC 从 0.81 提高至 0.87^[44]。

除 AD 核心标志物外, CSF 和血液中的 NFL、GFAP、突触相关标志物等也具有预测大脑皮质萎

缩和认知下降的潜能^[27, 60, 73-75]。年龄、性别、共病等因素导致的个体异质性会影响临床进程和疾病发展,将这些因素纳入预测模型可以提高对 AD 进展的预测准确性。

此外,miRNA 也表现出预测 AD 进展的潜力。循环血液中游离 miRNA-206 水平增加与认知功能下降($r^2=0.243\ 5$)和记忆力下降($r^2=0.543\ 4$)密切相关^[76]。5 年随访研究结果显示,血清 miRNA-206 在 MCI 向 AD 痴呆进展过程中表达水平升高($HR=3.60$),有预测 MCI 转化为 AD 痴呆的潜力($AUC=0.95$)^[77]。有研究发现血浆 miRNA 组合可以准确区分认知正常的 A β 阴性和阳性者($AUC=0.857$)、MCI 患者($AUC=0.823$)以及 AD 痴呆患者($AUC=0.817$),且在 AD 疾病进展过程中反映病理变化,是潜在的预后标志物^[78]。未来需要研究出更稳定、高效的 miRNA 标志物。

推荐意见 17: CSF A β 42/40 比值对于 10 年及以上发生 AD 源性认知障碍的风险具有一定的预测价值,p-tau 可用于评估 10 年内发生认知障碍的风险,而 A β 42/p-tau 比值可以评估近期风险和远期风险。(2B)

推荐意见 18: 血浆 p-tau181、p-tau217、A β 42/40 比值可以预测 AD 进展风险。(1B)

推荐意见 19: 血液 miRNA 标志物组合可以用于预测 AD 进展。(2B)

六、体液标志物应用于临床试验

(一)受试者入组

对于不同 AD 病理机制的药物研究,应通过检测针对性的标志物进行受试者入组。

既往靶向 A β 及 tau 蛋白的单克隆抗体药物试验中,常采用 A β 或 tau-PET 辅助筛选^[79-80]。体液标志物可以通过一次样本采集检测多种标志物,是受试者入组的高效手段,相比 PET 检查具有无辐射、成本低、可及性高的优势,临床研究已开始使用 CSF 和血液标志物作为 PET 的补充或替代^[81-82]。例如,仑卡奈单抗(Lecanemab)Ⅲ期临床试验中,使用 CSF A β 检测替代 A β -PET 作为入组标准来评估受试者脑部淀粉样蛋白沉积^[82];更汀芦单抗(Gantenerumab)Ⅲ期临床试验则以 CSF 生物标志物作为主要入组标准,以筛选前驱期 AD 患者^[83]。

此外,血液样本具有采集便捷、快速的优势,能够减少受试者入组的时间和经济成本^[84]。当前,血液标志物也被广泛应用于 AD 药物临床试验入组,如多奈单抗(Donanemab)、仑卡奈单抗、更汀芦单

抗的临床试验采用了血液 p-tau、A β 等标志物作为受试者筛查工具,排除存在 AD 病理可能性较小的患者^[85]。多奈单抗Ⅲ期临床试验中,血浆 p-tau181 筛选 A β -PET 阳性和 tau-PET 阳性患者的表现优于单独的 A β -PET 或 tau-PET^[86]。仑卡奈单抗Ⅲ期临床试验 AHEAD 3-45 中,血浆 A β 42/40 比值被用于排除脑内无 A β 异常沉积的受试者,提高受试者筛选和入组的效率^[87]。

(二)疗效监测和试验终点

体液标志物与 AD 疾病进展和干预效果密切相关,因此体液标志物有望用于监测 AD 临床试验的疗效^[88]。在 AD 临床药物试验中,CSF 标志物被广泛采用,如苏兰珠单抗(Solanezumab)、更汀芦单抗和仑卡奈单抗的临床试验均采用 CSF A β 、tau、NfL 等作为结局指标,全面评估药物对多个病理机制的影响^[82, 89]。CSF 标志物可以反映药物对靶点的直接影响,也可以反映干预对下游通路的影响,有助于分析药物作用下的病理变化^[90]。2023 年 AAIC 发布的 AD 修订版诊断标准建议可采用 ATN 标志物,即 A β 42/40 比值、p-tau181 和 p-tau217、NfL 和 GFAP,以监测 AD 疗效。

同时,随着分析方法发展达到足够的灵敏度、精确度,血液标志物也开始用于监测生物学疗效、临床疗效、不良反应以及延长给药间隔的安全性^[88, 91-92]。在治疗期间,血液标志物可能提供比认知测评更及时、更可量化的疗效监测。在仑卡奈单抗的Ⅲ期临床试验(Clarity AD)中,血浆 p-tau181、A β 42/40 比值、GFAP 被用作关键次要终点的评估方法,用于监测仑卡奈单抗的疗效^[82, 85]。多奈单抗的Ⅱ期临床试验(Trailblazer ALZ)采用了血浆 A β 42/40 比值、p-tau217、GFAP 作为疗效监测的参考指标^[85],该药物的药代动力学、药效学分析则采用了血浆 p-tau217 与 GFAP 作为疗效监测参考指标^[92]。

体液标志物在临床试验中作为潜在的替代终点也面临一些挑战。美国 FDA 建议,开发新的生物标志物作为临床试验潜在的替代终点需要流行病学、治疗学、病理生理学或其他科学证据的多方验证;同时在获批上市后,也需要继续进行临床研究来验证药物的最终临床效果。

推荐意见 20: CSF 标志物可用于评估患者是否为试验药物的潜在受益者。(1A)

推荐意见 21: 血液标志物可用于临床受试者入组预筛查,排除存在 AD 病理可能性较小的患者。(1A)

推荐意见 22: 体液标志物不应作为关键试验的主要终点,但可以作为临床试验中决策的参考依据,根据试验数据灵活调整研究设计。(专家共识)

推荐意见 23: CSF 标志物可用于疗效评估及病情监测。(2B)

七、其他体液标志物研究现状

唾液、泪液和尿液作为潜在 AD 生物标志物的研究受到越来越多的关注。这些体液的采集相比于 CSF 和血液更为简单、无创,在大规模筛查中具有潜在的推广价值,但相关研究仍处于早期探索阶段。

在唾液方面,研究发现不同队列中 A β 和 p-tau 等核心标志物在唾液中的含量存在差异,但现阶段尚无法作为 AD 诊断的可靠生物标志物^[93]。唾液中的乳铁蛋白^[94]和外泌体 miRNA^[95]等可能成为 AD 生物标志物,但仍需进一步研究。唾液样本也可用于 APOE 基因型检测。在泪液方面,一种真核细胞翻译起始因子(eukaryotic translation initiation factor 4E, eIF4E)^[96]和 miRNA^[96]等也可能作为 AD 的生物标志物,但由于可获得的泪液量较少,其对 AD 的诊断价值仍需进一步验证。在尿液方面,甲醛代谢异常是年龄相关认知障碍的重要特征之一,尿液中的甲醛^[97-98]和甲酸^[99]升高是潜在的 AD 生物标志物。AD 相关神经丝蛋白(AD7c-NTP)是 AD 患者大脑中过表达的一种 cDNA^[100],其在尿液中的水平与 AD 的病程呈现正相关趋势^[101],但其具体的分界值尚需进一步研究确定。目前已有 AD7c-NTP 检测试剂盒获得国家药品监督管理局批准,用于 AD 临床早期筛查以及 AD 高风险人群的筛查。

推荐意见 24: 唾液、泪液、尿液等体液标志物在 AD 中的应用价值有待进一步的证据支持。(2C)

八、展望

随着全球深度老龄化趋势的不断加剧,AD 早期筛查、早期诊断以及有效治疗的需求日益迫切,对筛查和诊断方法的便捷性和准确性的要求不断提高。目前,CSF AD 核心标志物已逐步推广到专业医疗机构,尤其是三级医院中,成为临床实践的重要依据。血液标志物则有望在近年成为 AD 大规模筛查和预测疾病风险的关键工具,普及应用至社区医疗中心等基层医疗机构。需要强调的是,生物标志物反映的是脑内的病理状态,AD 诊断不能仅基于生物标志物,还需结合临床证据,如病史、查体、神经心理评估以及共病情况等综合判断。

AD 体液标志物的研究需要关注以下几点:

第一,需要基于 AD 发病机制研究,发现新的标志物类型。第二,需要开发准确性更高的检测方法,提高检测标志物的特异性和敏感性。第三,需要在多样化和代表性人群中进行大规模的真实世界研究和头对头比较研究。第四,需要稳定性分析,评估标志物水平的变异性和可接受的误差范围,进而完善标志物检测和解读的标准化流程和规范。第五,需要进行前瞻性验证,了解一般情况、共病、药物使用、遗传变异和其他健康因素对标志物水平的潜在影响。体液标志物的应用需谨慎评估各种情况下的风险、成本和效益,如假阳性或假阴性的可能后果,以及所选择诊断参数对增量改善或边缘改善的实际好处^[102]。

随着 AD 体液标志物的研究不断深入和检测技术的进步,体液标志物在 AD 中的应用将更加广泛和精准。未来的应用场景可能包括:在社区记忆门诊中实施血液标志物检测,结合神经心理测评、年龄、APOE 基因型等资料进行 AD 风险筛查,排除低风险人群;然后将中高风险人群转诊至认知中心,通过 CSF 标志物检测和 PET 检查等进行进一步确诊。体液标志物应用结合分级诊疗,有助于早期识别 AD、降低医疗成本,早期干预以改善患者预后。在实际应用中,要建立结合患者病史、体格检查、影像检查、基因型检测、生物标志物检测等多个维度的 AD 综合诊断模型。

本指南制订专家组成员

撰写组长: 唐毅(首都医科大学宣武医院神经内科);王延江[陆军军医大学大坪医院(陆军特色医学中心)神经内科]

执笔专家: 秦琪(首都医科大学宣武医院神经内科);王俊[陆军军医大学大坪医院(陆军特色医学中心)神经内科];苏畅(广东省小分子新药创新中心)

专家委员会成员(按照姓氏笔画顺序): 马晓伟(河北医科大学第一医院神经内科);王伟(首都医科大学基础医学院);王雪(首都医科大学宣武医院图书馆);王鑫(厦门大学医学院);宁玉萍(广州医科大学附属脑科医院神经内科);吕洋(重庆医科大学附属第一医院神经内科);朱铃强(华中科技大学同济医学院);刘光慧(中国科学院动物研究所);刘军(广州医科大学附属第二医院神经内科);刘强(中国科学技术大学);李阳(山西医科大学第一医院神经内科);沈璐(中南大学湘雅医院神经内科);宋伟宏(温州医科大学);张云武(厦门大学医学院);张杰(厦门大学);张杰文(河南省人民医院神经内科);张研(北京大学);张振涛(武汉大学人民医院神经内科);张晨(首都医科大学基础医学院);张楠(天津医科大学总医院神经内科);杨海梅[陆军军医大学大坪医院(陆军特色医学中心)预防保健科];赵国栋(北京中医药大学中药学院);郁金泰(复旦大学附属华山医院神经内科);

郑小然(同济大学);郑加麟(同济大学);施炯(中国科学技术大学附属第一医院);郭军红(山西医科大学第一医院);贺电(贵州医科大学附属医院神经内科);袁增强(军事医学科学院);徐志卿(首都医科大学病理学系);黄珊[陆军军医大学大坪医院(陆军特色医学中心)神经内科];曹云鹏(中国医科大学附属第一医院神经内科);彭国平(浙江大学医学院附属第一医院神经内科);费宇彤(北京中医药大学中医学院临床流行病学及医学统计学系)

秘书:夏心怡(首都医科大学宣武医院神经内科)

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Jia J, Wei C, Chen S, et al. The cost of Alzheimer's disease in China and re-estimation of costs worldwide[J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(4):483-491. DOI: 10.1016/j.jalz.2017.12.006.
- [2] Jia L, Quan M, Fu Y, et al. Dementia in China: epidemiology, clinical management, and research advances[J]. *Lancet Neurol*, 2020, 19(1): 81-92. DOI: 10.1016/S1474-4422(19)30290-X.
- [3] Jia L, Du Y, Chu L, et al. Prevalence, risk factors, and management of dementia and mild cognitive impairment in adults aged 60 years or older in China: a cross-sectional study[J]. *Lancet Public Health*, 2020, 5(12): e661-e671. DOI: 10.1016/S2468-2667(20)30185-7.
- [4] 首都医科大学宣武医院国家神经疾病医学中心, 中国疾病预防控制中心慢性非传染性疾病预防控制中心, 国家卫生健康委能力建设和继续教育中心, 等. 中国阿尔茨海默病蓝皮书(精简版)[J]. *中华医学杂志*, 2024, 104(29): 2701-2727. DOI: 10.3760/cma.j.cn12137-20240416-00883.
- [5] 张杰文, 陈帅. 阿尔茨海默病精准诊断的困境与综合考量[J]. *中华医学杂志*, 2024, 104(29): 2683-2687. DOI: 10.3760/cma.j.cn12137-20240507-01056.
- [6] Guyatt G, Oxman AD, Akl EA, et al. GRADE guidelines: 1. Introduction-GRADE evidence profiles and summary of findings tables[J]. *J Clin Epidemiol*, 2011, 64(4):383-394. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2010.04.026.
- [7] Blennow K, Zetterberg H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future[J]. *J Intern Med*, 2018, 284(6): 643-663. DOI: 10.1111/joim.12816.
- [8] Varesi A, Carrara A, Pires VG, et al. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis and progression: an overview[J]. *Cells*, 2022, 11(8):1367. DOI: 10.3390/cells11081367.
- [9] Wang J, Chen M, Masters CL, et al. Translating blood biomarkers into clinical practice for Alzheimer's disease: challenges and perspectives[J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(9):4226-4236. DOI: 10.1002/alz.13116.
- [10] Barthélemy NR, Horie K, Sato C, et al. Blood plasma phosphorylated-tau isoforms track CNS change in Alzheimer's disease[J]. *J Exp Med*, 2020, 217(11): e20200861. DOI: 10.1084/jem.20200861.
- [11] Vanderstichele H, Bibl M, Engelborghs S, et al. Standardization of preanalytical aspects of cerebrospinal fluid biomarker testing for Alzheimer's disease diagnosis: a consensus paper from the Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative[J]. *Alzheimers Dement*, 2012, 8(1):65-73. DOI: 10.1016/j.jalz.2011.07.004.
- [12] Shaw LM, Arias J, Blennow K, et al. Appropriate use criteria for lumbar puncture and cerebrospinal fluid testing in the diagnosis of Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(11): 1505-1521. DOI: 10.1016/j.jalz.2018.07.220.
- [13] Verberk I, Misdorp EO, Koelewijn J, et al. Characterization of pre-analytical sample handling effects on a panel of Alzheimer's disease-related blood-based biomarkers: results from the Standardization of Alzheimer's Blood Biomarkers (SABB) working group[J]. *Alzheimers Dement*, 2022, 18(8): 1484-1497. DOI: 10.1002/alz.12510.
- [14] Rózga M, Bittner T, Batrla R, et al. Preanalytical sample handling recommendations for Alzheimer's disease plasma biomarkers[J]. *Alzheimers Dement (Amst)*, 2019, 11:291-300. DOI: 10.1016/j.dadm.2019.02.002.
- [15] Musso G, Cosma C, Zaninotto M, et al. Pre-analytical variability of the Lumipulse immunoassay for plasma biomarkers of Alzheimer's disease[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2023, 61(3):e53-e56. DOI: 10.1515/cclm-2022-0770.
- [16] Ashton NJ, Suárez-Calvet M, Karikari TK, et al. Effects of pre-analytical procedures on blood biomarkers for Alzheimer's pathophysiology, glial activation, and neurodegeneration[J]. *Alzheimers Dement (Amst)*, 2021, 13(1):e12168. DOI: 10.1002/dad2.12168.
- [17] Rosenling T, Slim CL, Christin C, et al. The effect of preanalytical factors on stability of the proteome and selected metabolites in cerebrospinal fluid (CSF) [J]. *J Proteome Res*, 2009, 8(12): 5511-5522. DOI: 10.1021/pr9005876.
- [18] McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2011, 7(3):263-269. DOI: 10.1016/j.jalz.2011.03.005.
- [19] Olsson B, Lautner R, Andreasson U, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(7): 673-684. DOI: 10.1016/S1474-4422(16)00070-3.
- [20] Seeburger JL, Holder DJ, Combrinck M, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers distinguish postmortem-confirmed Alzheimer's disease from other dementias and healthy controls in the OPTIMA cohort[J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 44(2): 525-539. DOI: 10.3233/JAD-141725.
- [21] Zwan MD, Rinne JO, Hasselbalch SG, et al. Use of amyloid-PET to determine cutpoints for CSF markers: a multicenter study[J]. *Neurology*, 2016, 86(1):50-58. DOI: 10.1212/WNL.0000000000002081.
- [22] Palmqvist S, Zetterberg H, Blennow K, et al. Accuracy of brain amyloid detection in clinical practice using cerebrospinal fluid β -amyloid 42: a cross-validation study against amyloid positron emission tomography[J]. *JAMA Neurol*, 2014, 71(10): 1282-1289. DOI: 10.1001/jamaneurol.2014.1358.

- [23] Janelidze S, Zetterberg H, Mattsson N, et al. CSF A β 42/A β 40 and A β 42/A β 38 ratios: better diagnostic markers of Alzheimer disease[J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2016, 3(3): 154-165. DOI: 10.1002/acn3.274.
- [24] Leuzy A, Mattsson-Carlsson N, Cullen NC, et al. Robustness of CSF A β 42/40 and A β 42/P-tau181 measured using fully automated immunoassays to detect AD-related outcomes[J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(7): 2994-3004. DOI: 10.1002/alz.12897.
- [25] Amft M, Ortner M, Eichenlaub U, et al. The cerebrospinal fluid biomarker ratio A β 42/40 identifies amyloid positron emission tomography positivity better than A β 42 alone in a heterogeneous memory clinic cohort[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2022, 14(1): 60. DOI: 10.1186/s13195-022-01003-w.
- [26] Pannee J, Portelius E, Minthon L, et al. Reference measurement procedure for CSF amyloid beta (A β)1-42 and the CSF A β 1-42/A β 1-40 ratio-a cross-validation study against amyloid PET[J]. *J Neurochem*, 2016, 139(4): 651-658. DOI: 10.1111/jnc.13838.
- [27] Barthélemy NR, Li Y, Joseph-Mathurin N, et al. A soluble phosphorylated tau signature links tau, amyloid and the evolution of stages of dominantly inherited Alzheimer's disease[J]. *Nat Med*, 2020, 26(3):398-407. DOI: 10.1038/s41591-020-0781-z.
- [28] 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. DOI: 10.1016/j.jalz.2018.02.018.
- [29] Janelidze S, Stomrud E, Smith R, et al. Cerebrospinal fluid p-tau217 performs better than p-tau181 as a biomarker of Alzheimer's disease[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1683. DOI: 10.1038/s41467-020-15436-0.
- [30] Ashton NJ, Benedet AL, Pascoal TA, et al. Cerebrospinal fluid p-tau231 as an early indicator of emerging pathology in Alzheimer's disease[J]. *EBio Medicine*, 2022, 76:103836. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.103836.
- [31] Barthélemy NR, Saef B, Li Y, et al. CSF tau phosphorylation occupancies at T217 and T205 represent improved biomarkers of amyloid and tau pathology in Alzheimer's disease[J]. *Nat Aging*, 2023, 3(4):391-401. DOI: 10.1038/s43587-023-00380-7.
- [32] Horie K, Barthélemy NR, Sato C, et al. CSF tau microtubule binding region identifies tau tangle and clinical stages of Alzheimer's disease[J]. *Brain*, 2021, 144(2):515-527. DOI: 10.1093/brain/awaa373.
- [33] Benedet AL, Milà-Alomà M, Vrillon A, et al. Differences between plasma and cerebrospinal fluid glial fibrillary acidic protein levels across the Alzheimer disease continuum[J]. *JAMA Neurol*, 2021, 78(12): 1471-1483. DOI: 10.1001/jamaneurol.2021.3671.
- [34] Vrillon A, Ashton NJ, Karikari TK, et al. Comparison of CSF and plasma NFL and pNFH for Alzheimer's disease diagnosis: a memory clinic study[J]. *J Neurol*, 2024, 271(3):1297-1310. DOI: 10.1007/s00415-023-12066-6.
- [35] Keshavan A, Wellington H, Chen Z, et al. Concordance of CSF measures of Alzheimer's pathology with amyloid PET status in a preclinical cohort: a comparison of Lumipoint and established immunoassays[J]. *Alzheimers Dement (Amst)*, 2021, 13(1):e12131. DOI: 10.1002/dad2.12131.
- [36] Schindler SE, Gray JD, Gordon BA, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers measured by Elecsys assays compared to amyloid imaging[J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(11): 1460-1469. DOI: 10.1016/j.jalz.2018.01.013.
- [37] Jia J, Ning Y, Chen M, et al. Biomarker changes during 20 years preceding Alzheimer's disease[J]. *N Engl J Med*, 2024, 390(8):712-722. DOI: 10.1056/NEJMoa2310168.
- [38] Hansson O, Seibyl J, Stomrud E, et al. CSF biomarkers of Alzheimer's disease concord with amyloid- β PET and predict clinical progression: a study of fully automated immunoassays in BioFINDER and ADNI cohorts[J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(11): 1470-1481. DOI: 10.1016/j.jalz.2018.01.010.
- [39] Duits FH, Martinez-Lage P, Paquet C, et al. Performance and complications of lumbar puncture in memory clinics: results of the multicenter lumbar puncture feasibility study[J]. *Alzheimers Dement*, 2016, 12(2):154-163. DOI: 10.1016/j.jalz.2015.08.003.
- [40] Hampel H, Shaw LM, Aisen P, et al. State-of-the-art of lumbar puncture and its place in the journey of patients with Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2022, 18(1):159-177. DOI: 10.1002/alz.12372.
- [41] Baldaranov D, Garcia V, Miller G, et al. Safety and tolerability of lumbar puncture for the evaluation of Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement (Amst)*, 2023, 15(2):e12431. DOI: 10.1002/dad2.12431.
- [42] Salvadó G, Ossenkoppele R, Ashton NJ, et al. Specific associations between plasma biomarkers and postmortem amyloid plaque and tau tangle loads[J]. *EMBO Mol Med*, 2023, 15(5): e17123. DOI: 10.15252/emmm.202217123.
- [43] Chen YR, Liang CS, Chu H, et al. Diagnostic accuracy of blood biomarkers for Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment: a meta-analysis[J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 71:101446. DOI: 10.1016/j.arr.2021.101446.
- [44] Palmqvist S, Stomrud E, Cullen N, et al. An accurate fully automated panel of plasma biomarkers for Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(4): 1204-1215. DOI: 10.1002/alz.12751.
- [45] Karikari TK, Pascoal TA, Ashton NJ, et al. Blood phosphorylated tau 181 as a biomarker for Alzheimer's disease: a diagnostic performance and prediction modelling study using data from four prospective cohorts [J]. *Lancet Neurol*, 2020, 19(5): 422-433. DOI: 10.1016/S1474-4422(20)30071-5.
- [46] Janelidze S, Mattsson N, Palmqvist S, et al. Plasma P-tau181 in Alzheimer's disease: relationship to other biomarkers, differential diagnosis, neuropathology and longitudinal progression to Alzheimer's dementia[J]. *Nat Med*, 2020, 26(3): 379-386. DOI: 10.1038/s41591-020-0755-1.
- [47] Simrén J, Leuzy A, Karikari TK, et al. The diagnostic and prognostic capabilities of plasma biomarkers in Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2021, 17(7): 1145-1156. DOI: 10.1002/alz.12283.
- [48] Brum WS, Cullen NC, Janelidze S, et al. A two-step workflow based on plasma p-tau217 to screen for amyloid β positivity with further confirmatory testing only in uncertain cases[J]. *Nat Aging*, 2023, 3(9): 1079-1090. DOI: 10.1038/s43587-023-00471-5.
- [49] Ashton NJ, Brum WS, Di Molfetta G, et al. Diagnostic accuracy of a plasma phosphorylated tau 217

- immunoassay for Alzheimer disease pathology[J]. *JAMA Neurol*, 2024, 81(3): 255-263. DOI: 10.1001/jamaneurol.2023.5319.
- [50] Kac PR, González-Ortiz F, Emeršič A, et al. Plasma p-tau212 antemortem diagnostic performance and prediction of autopsy verification of Alzheimer's disease neuropathology[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1):2615. DOI: 10.1038/s41467-024-46876-7.
- [51] Barthélemy NR, Salvadó G, Schindler SE, et al. Highly accurate blood test for Alzheimer's disease is similar or superior to clinical cerebrospinal fluid tests[J]. *Nat Med*, 2024, 30(4): 1085-1095. DOI: 10.1038/s41591-024-02869-z.
- [52] Rybak-Wolf A, Plass M. RNA dynamics in Alzheimer's disease[J]. *Molecules*, 2021, 26(17):5113. DOI: 10.3390/molecules26175113.
- [53] Lu R, Wang J, Tao R, et al. Reduced TRPC6 mRNA levels in the blood cells of patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment[J]. *Mol Psychiatry*, 2018, 23(3): 767-776. DOI: 10.1038/mp.2017.136.
- [54] Siedlecki-Wullich D, Català-Solsona J, Fábregas C, et al. Altered microRNAs related to synaptic function as potential plasma biomarkers for Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2019, 11(1): 46. DOI: 10.1186/s13195-019-0501-4.
- [55] Jia L, Qiu Q, Zhang H, et al. Concordance between the assessment of A β 42, T-tau, and P-T181-tau in peripheral blood neuronal-derived exosomes and cerebrospinal fluid [J]. *Alzheimers Dement*, 2019, 15(8): 1071-1080. DOI: 10.1016/j.jalz.2019.05.002.
- [56] Wang X, Zhang X, Liu J, et al. Synaptic vesicle glycoprotein 2 A in serum is an ideal biomarker for early diagnosis of Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2024, 16(1): 82. DOI: 10.1186/s13195-024-01440-9.
- [57] Teunissen CE, Verberk I, Thijssen EH, et al. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease: towards clinical implementation[J]. *Lancet Neurol*, 2022, 21(1): 66-77. DOI: 10.1016/S1474-4422(21)00361-6.
- [58] Janelidze S, Teunissen CE, Zetterberg H, et al. Head-to-head comparison of 8 plasma Amyloid- β 42/40 assays in Alzheimer disease[J]. *JAMA Neurol*, 2021, 78(11):1375-1382. DOI: 10.1001/jamaneurol.2021.3180.
- [59] Li Y, Schindler SE, Bollinger JG, et al. Validation of plasma Amyloid- β 42/40 for detecting Alzheimer disease amyloid plaques[J]. *Neurology*, 2022, 98(7): e688-e699. DOI: 10.1212/WNL.00000000000013211.
- [60] Wojdała AL, Bellomo G, Gaetani L, et al. Trajectories of CSF and plasma biomarkers across Alzheimer's disease continuum: disease staging by NF-L, p-tau181, and GFAP [J]. *Neurobiol Dis*, 2023, 189: 106356. DOI: 10.1016/j.nbd.2023.106356.
- [61] Baiardi S, Quadalti C, Mammanna 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. DOI: 10.1186/s13195-022-01093-6.
- [62] Guo Y, You J, Zhang Y, et al. Plasma proteomic profiles predict future dementia in healthy adults[J]. *Nat Aging*, 2024, 4(2):247-260. DOI: 10.1038/s43587-023-00565-0.
- [63] Braak H, Braak E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes[J]. *Acta Neuropathol*, 1991, 82(4):239-259. DOI: 10.1007/BF00308809.
- [64] Woo MS, Tissot C, Lantero-Rodriguez J, et al. Plasma pTau-217 and N-terminal tau (NTA) enhance sensitivity to identify tau PET positivity in amyloid- β positive individuals[J]. *Alzheimers Dement*, 2024, 20(2): 1166-1174. DOI: 10.1002/alz.13528.
- [65] Mirra SS, Heyman A, McKeel D, et al. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part II . Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease[J]. *Neurology*, 1991, 41(4):479-486. DOI: 10.1212/wnl.41.4.479.
- [66] van Maurik IS, Zwan MD, Tijms BM, et al. Interpreting biomarker results in individual patients with mild cognitive impairment in the Alzheimer's biomarkers in daily practice (ABIDE) project[J]. *JAMA Neurol*, 2017, 74(12):1481-1491. DOI: 10.1001/jamaneurol.2017.2712.
- [67] Greenberg BD, Pettigrew C, Soldan A, et al. CSF Alzheimer disease biomarkers: time-varying relationships with MCI symptom onset and associations with age, sex, and ApoE4[J]. *Neurology*, 2022, 99(15): e1640-e1650. DOI: 10.1212/WNL.0000000000000953.
- [68] Buchhave P, Minthon L, Zetterberg H, et al. Cerebrospinal fluid levels of β -amyloid 1-42, but not of tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of Alzheimer dementia[J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2012, 69(1): 98-106. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2011.155.
- [69] Therriault J, Benedet AL, Pascoal TA, et al. Association of plasma P-tau181 with memory decline in non-demented adults[J]. *Brain Commun*, 2021, 3(3): fcab136. DOI: 10.1093/braincomms/fcab136.
- [70] Ashton NJ, Janelidze S, Mattsson-Carlsson N, et al. Differential roles of A β 42/40, p-tau231 and p-tau217 for Alzheimer's trial selection and disease monitoring[J]. *Nat Med*, 2022, 28(12): 2555-2562. DOI: 10.1038/s41591-022-02074-w.
- [71] Palmqvist S, Tideman P, Cullen N, et al. Prediction of future Alzheimer's disease dementia using plasma phospho-tau combined with other accessible measures [J]. *Nat Med*, 2021, 27(6): 1034-1042. DOI: 10.1038/s41591-021-01348-z.
- [72] Schindler SE, Bollinger JG, Ovod V, et al. High-precision plasma β -amyloid 42/40 predicts current and future brain amyloidosis[J]. *Neurology*, 2019, 93(17): e1647-e1659. DOI: 10.1212/WNL.00000000000008081.
- [73] Bacioglu M, Maia LF, Preische O, et al. Neurofilament light chain in blood and CSF as marker of disease progression in mouse models and in neurodegenerative diseases[J]. *Neuron*, 2016, 91(1):56-66. DOI: 10.1016/j.neuron.2016.05.018.
- [74] Liu T, Zuo H, Ma D, et al. Cerebrospinal fluid GFAP is a predictive biomarker for conversion to dementia and Alzheimer's disease-associated biomarkers alterations among de novo Parkinson's disease patients: a prospective cohort study[J]. *J Neuroinflammation*, 2023, 20(1):167. DOI: 10.1186/s12974-023-02843-5.
- [75] Salvadó G, Larsson V, Cody KA, et al. Optimal combinations of CSF biomarkers for predicting cognitive decline and clinical conversion in cognitively unimpaired participants and mild cognitive impairment patients: a multi-cohort study[J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(7): 2943-2955. DOI: 10.1002/alz.12907.

- [76] Kenny A, McArdle H, Calero M, et al. Elevated plasma microRNA-206 levels predict cognitive decline and progression to dementia from mild cognitive impairment [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(11): 734. DOI: 10.3390/biom9110734.
- [77] Xie B, Liu Z, Jiang L, et al. Increased serum miR-206 level predicts conversion from amnesic mild cognitive impairment to Alzheimer's disease: a 5-year follow-up study[J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 55(2): 509-520. DOI: 10.3233/JAD-160468.
- [78] Guévremont D, Tsui H, Knight R, et al. Plasma microRNA vary in association with the progression of Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement (Amst)*, 2022, 14(1): e12251. DOI: 10.1002/dad2.12251.
- [79] Mintun MA, Lo AC, Duggan Evans C, et al. Donanemab in early Alzheimer's disease[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(18): 1691-1704. DOI: 10.1056/NEJMoa2100708.
- [80] Salloway S, Chalkias S, Barkhof F, et al. Amyloid-related imaging abnormalities in 2 phase 3 studies evaluating aducanumab in patients with early Alzheimer disease[J]. *JAMA Neurol*, 2022, 79(1): 13-21. DOI: 10.1001/jamaneurol.2021.4161.
- [81] Honig LS, Vellas B, Woodward M, et al. Trial of solanezumab for mild dementia due to Alzheimer's disease[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(4): 321-330. DOI: 10.1056/NEJMoa1705971.
- [82] van Dyck CH, Swanson CJ, Aisen P, et al. Lecanemab in early Alzheimer's disease[J]. *N Engl J Med*, 2023, 388(1): 9-21. DOI: 10.1056/NEJMoa2212948.
- [83] Ostrowitzki S, Lasser RA, Dorflinger E, et al. A phase III randomized trial of gantenerumab in prodromal Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2017, 9(1): 95. DOI: 10.1186/s13195-017-0318-y.
- [84] Schindler SE, Li Y, Li M, et al. Using Alzheimer's disease blood tests to accelerate clinical trial enrollment[J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(4): 1175-1183. DOI: 10.1002/alz.12754.
- [85] Angioni D, Hansson O, Bateman RJ, et al. Can we use blood biomarkers as entry criteria and for monitoring drug treatment effects in clinical trials? A report from the EU/US CTAD task force[J]. *J Prev Alzheimers Dis*, 2023, 10(3): 418-425. DOI: 10.14283/jpad.2023.68.
- [86] Abstract: symposia, conferences, oral communications: 14th clinical trials on Alzheimer's disease (CTAD) November 9-12, 2021[J]. *J Prev Alzheimers Dis*, 2021, 8(S1): S2-S72.
- [87] Rafii MS, Sperling RA, Donohue MC, et al. The AHEAD 3-45 study: design of a prevention trial for Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(4): 1227-1233. DOI: 10.1002/alz.12748.
- [88] Budd Haeberlein S, Aisen PS, Barkhof F, et al. Two randomized phase 3 studies of aducanumab in early Alzheimer's disease[J]. *J Prev Alzheimers Dis*, 2022, 9(2): 197-210. DOI: 10.14283/jpad.2022.30.
- [89] Salloway S, Farlow M, McDade E, et al. A trial of gantenerumab or solanezumab in dominantly inherited Alzheimer's disease[J]. *Nat Med*, 2021, 27(7): 1187-1196. DOI: 10.1038/s41591-021-01369-8.
- [90] Olsson B, Schott JM, Blennow K, et al. The use of cerebrospinal fluid biomarkers to measure change in neurodegeneration in Alzheimer's disease clinical trials [J]. *Expert Rev Neurother*, 2017, 17(8): 767-775. DOI: 10.1080/14737175.2017.1341311.
- [91] Ossenkoppele R, van der Kant R, Hansson O. Tau biomarkers in Alzheimer's disease: towards implementation in clinical practice and trials[J]. *Lancet Neurol*, 2022, 21(8): 726-734. DOI: 10.1016/S1474-4422(22)00168-5.
- [92] Gueorguieva I, Willis BA, Chua L, et al. Donanemab exposure and efficacy relationship using modeling in Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement (N Y)*, 2023, 9(2): e12404. DOI: 10.1002/trc2.12404.
- [93] Zürcher C, Humpel C. Saliva: a challenging human fluid to diagnose brain disorders with a focus on Alzheimer's disease[J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(12): 2606-2610. DOI: 10.4103/1673-5374.373675.
- [94] Bermejo-Pareja F, Del Ser T, Valentí M, et al. Salivary lactoferrin as biomarker for Alzheimer's disease: brain-immunity interactions[J]. *Alzheimers Dement*, 2020, 16(8): 1196-1204. DOI: 10.1002/alz.12107.
- [95] Ryu IS, Kim DH, Ro JY, et al. The microRNA-485-3p concentration in salivary exosome-enriched extracellular vesicles is related to amyloid β deposition in the brain of patients with Alzheimer's disease[J]. *Clin Biochem*, 2023, 118: 110603. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2023.110603.
- [96] Kenny A, Jiménez-Mateos EM, Zea-Sevilla MA, et al. Proteins and microRNAs are differentially expressed in tear fluid from patients with Alzheimer's disease[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 15437. DOI: 10.1038/s41598-019-51837-y.
- [97] Chen F, Wang N, Tian X, et al. The potential diagnostic accuracy of urine formaldehyde levels in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis[J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14: 1057059. DOI: 10.3389/fnagi.2022.1057059.
- [98] Wang Y, Pan F, Xie F, et al. Correlation between urine formaldehyde and cognitive abilities in the clinical spectrum of Alzheimer's disease[J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14: 820385. DOI: 10.3389/fnagi.2022.820385.
- [99] Wang Y, Wang Y, Zhu J, et al. Systematic evaluation of urinary formic acid as a new potential biomarker for Alzheimer's disease[J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14: 1046066. DOI: 10.3389/fnagi.2022.1046066.
- [100] de la Monte SM, Garner W, Wands JR. Neuronal thread protein gene modulation with cerebral infarction[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1997, 17(6): 623-635. DOI: 10.1097/00004647-199706000-00004.
- [101] Kang MM, Wang R. Perspectives in urine AD7c-NTP: a biomarker for Alzheimer's disease[J]. *URINE*, 2022, 4: 3-5. DOI: 10.1016/j.urine.2022.01.001.
- [102] Hampel H, Hu Y, Cummings J, et al. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease: current state and future use in a transformed global healthcare landscape [J]. *Neuron*, 2023, 111(18): 2781-2799. DOI: 10.1016/j.neuron.2023.05.017.