



电子、语音版

·论著·

肌萎缩侧索硬化液体生物标志物与临床特征的相关性

汤锦秀, 樊露, 隋晓菲, 高根善

十堰市人民医院神经内科, 湖北 十堰 442000

摘要:目的 探讨肌萎缩侧索硬化(ALS)液体生物标志物与临床特征之间的相关性。方法 2019年1月至2023年2月十堰市人民医院神经内科前瞻性招募了27例ALS患者(ALS组)以及28例无中枢神经系统疾病的志愿者(对照组)。采用夹心酶联免疫吸附分析检测血浆及脑脊液(CSF)中的血管内皮生长因子(VEGF)、VEGF受体2(VEGFR2)、视神经蛋白(OPTN)、反式激活反应DNA结合蛋白43(TDP-43)、血管生成素(ANG)和单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)水平。在采集样本时收集患者临床资料。比较2组受试者的临床特征和液体生物标志物的差异。结果 ALS组患者的血浆及CSF中VEGF、VEGFR2、OPTN、TDP-43和ANG均低于对照组($P<0.05$),而MCP-1高于对照组($P<0.05$)。通过单变量线性回归分析及校正后,ALS患者的血浆VEGF与疾病进展率呈负相关($P<0.05$),血浆VEGF、VEGFR2、OPTN与修订版ALS功能评定量表(ALSFRS-R)评分呈正相关($P<0.05$);同时,CSF中VEGF也与疾病进展率呈负相关($P<0.05$),CSF中VEGF、VEGFR2与ALSFRS-R评分呈正相关($P<0.05$)。经校正后则显示,血浆ANG与疾病进展率呈负相关($P<0.05$)。通过单变量线性回归分析及校正后,ALS患者的血浆及CSF中TDP-43均与年龄呈正相关($P<0.05$),ALS患者的血浆MCP-1与疾病进展率呈正相关($P<0.05$),与ALSFRS-R评分呈负相关($P<0.05$);单变量回归分析显示,CSF中MCP-1也与疾病进展率呈正相关($P<0.05$)。经斯皮尔曼秩相关性分析,血浆生物标志物间均呈正相关($P<0.05$);CSF生物标志物中VEGF与VEGFR2呈正相关($P<0.05$),TDP-43与其他标志物呈正相关($P<0.05$)。结论 6种液体生物标志物与ALS患者的年龄、疾病严重程度以及疾病进展相关。

关键词:肌萎缩侧索硬化;血管内皮生长因子;血管内皮生长因子受体2;视神经蛋白;反式激活反应DNA结合蛋白43;血管生成素;单核细胞趋化蛋白-1

中图分类号:R746.4

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2025.06.004

Correlation between fluid biomarkers and clinical features in amyotrophic lateral sclerosis

TANG Jinxiu, FAN Lu, SUI Xiaofei, GAO Genshan

Department of Neurology, Shiyan People's Hospital, Shiyan, Hubei 442000, China

Corresponding author: GAO Genshan, Email: 569612885@qq.com

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between fluid biomarkers and clinical features in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). **Methods** A total of 27 ALS patients who were treated in Shiyan People's Hospital from January 2019 to February 2023 were enrolled as ALS group, and 28 volunteers without central nervous system disorders were enrolled as control group. Sandwich ELISA was used to measure the levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF receptor 2 (VEGFR2), optineurin (OPTN), TAR DNA-binding protein 43 (TDP-43), angiopoietin (ANG), and monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) in plasma and cerebrospinal fluid (CSF). Related clinical data were collected at the time of sample collection, and clinical features and fluid biomarkers were compared between the two groups.

Results Compared with the control group, the ALS group had significantly lower levels of VEGF, VEGFR2, OPTN, TDP-

基金项目:湖北省卫生健康委科研项目(WJ2023M196)。

收稿日期:2025-06-26;修回日期:2025-12-06

作者简介:汤锦秀(1988—),女,本科,主治医师,主要从事周围神经病、神经肌肉疾病的研究。Email: t13986877074@163.com。

通信作者:高根善(1989—),男,硕士,主治医师,主要从事脑血管病、周围神经病的研究。Email: 569612885@qq.com。

43, and ANG and a significantly higher level of MCP-1 in plasma and CSF ($P<0.05$). After univariate linear regression analysis and correction, plasma VEGF was negatively correlated with disease progression rate ($P<0.05$), and plasma VEGF, VEGFR2, and OPTN were positively correlated with the score of ALS Functional Rating Scale-Revised (ALSFRS-R) ($P<0.05$); in addition, VEGF in CSF was negatively correlated with disease progression rate ($P<0.05$), and VEGF and VEGFR2 in CSF were positively correlated with ALSFRS-R score ($P<0.05$). After correction, plasma ANG was negatively correlated with disease progression rate ($P<0.05$). After univariate linear regression analysis and correction, TDP-43 in plasma and CSF was positively correlated with age in ALS patients ($P<0.05$), and plasma MCP-1 was positively correlated with disease progression rate and was negatively correlated with ALSFRS-R score ($P<0.05$); the univariate regression analysis showed that MCP-1 in CSF was also positively correlated with disease progression rate ($P<0.05$). The Spearman rank correlation analysis showed positive correlations between plasma biomarkers ($P<0.05$); as for the CSF biomarkers, VEGF was positively correlated with VEGFR2 ($P<0.05$), and TDP-43 was positively correlated with other biomarkers ($P<0.05$). **Conclusions** Six fluid biomarkers are associated with age, disease severity, and disease progression in ALS patients.

Keywords: amyotrophic lateral sclerosis; vascular endothelial growth factor; vascular endothelial growth factor receptor 2; optineurin; TAR DNA-binding protein 43; angiopoietin; monocyte chemoattractant protein 1

肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种较为罕见的多系统神经退行性疾病^[1]。ALS的特征是进行性肌肉无力和萎缩,可导致呼吸衰竭和死亡^[2]。ALS的临床诊断通常很棘手,因为其症状与其他神经系统疾病有重叠,而且缺乏特异性的诊断测试。迄今为止,由于ALS的复杂性以及对其潜在致病机制了解有限,目前尚无治疗方法^[3]。为了开发新的治疗方法,客观且高灵敏度的生物标志物对于成功开展临床试验、提供有关疾病预测或进展的重要信息至关重要。在ALS中,多种生物标志物正处于研究探索阶段。目前在神经科学领域最受关注的神经营养因子之一是血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),ALS患者的脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)中VEGF水平显著升高,被认为是ALS的潜在生物标志物^[4-5]。除VEGF外,血管生成素(angiopoietin, ANG)在ALS患者的CSF中降低,而VEGF受体2(VEGF receptor 2, VEGFR2)则升高^[6]。与遗传相关的反式激活反应DNA结合蛋白43(transactive response DNA binding protein 43, TDP-43)、视神经蛋白(optineurin, OPTN)也是ALS相关的重要生物标志物,TDP-43在高达97%的ALS病例中,在脑和脊髓中可发现含有TDP-43的细胞质包涵体,病理性TDP-43通过影响细胞内多种生理过程可介导神经退变的发生,在ALS患者的血液及CSF中升高^[7]。OPTN突变是ALS的相关突变,可能导致免疫反应低效和(或)损伤堆积^[8]。此外,神经炎症与ALS的发病也显著相关,研究发现单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)可能在ALS发病机制中具有协同作用^[9]。但目前,各项研究的结果缺乏一致性,这使得这些指标作为疾病预测生物标志物的潜力并不可靠。本研究尝试检测ALS患者血浆

和CSF中的上述生物标志物表达情况,旨在提出可能用于ALS早期诊断的生物标志物组合。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2019年1月至2023年2月由十堰市人民医院神经内科门诊前瞻性招募研究受试者。

纳入标准:(1)年龄 ≥ 18 岁;(2)首次因疑似ALS而前往十堰市人民医院神经内科门诊就诊,接受标准化诊断流程,包括神经系统检查、肌电图、腰椎穿刺和辅助检查等,根据修订的El Escorial诊断标准^[10]被诊断为确诊、拟诊、可能的ALS,所有可能诊断分级的ALS患者在随访期间均转化为拟诊或确诊的ALS;(3)作为常规护理的一部分进行血液采样和腰椎穿刺采集CSF样本,并经患者或其家属同意(签署知情同意书)将样本用于生物标志物研究。

排除标准:(1)合并甲状腺功能减退症或甲状腺功能亢进症;(2)合并认知功能障碍、重度抑郁症、精神分裂症、痴呆(包括阿尔茨海默病)。

根据临床诊断和神经肌电图,27例参与者被纳入ALS组;其他28例参与者最终证实无中枢神经系统疾病,被纳入对照组。

本研究经十堰市人民医院医学伦理委员会批准(编号:syrmyy2019-011)。所有受试者都签署了知情同意书。

1.2 数据收集

所有受试者在诊断时都进行了CSF及血液样本取样。采集样本时收集临床资料,包括年龄、性别、体重指数(body mass index, BMI)、吸烟史、饮酒史、病程、疾病进展率、爱丁堡ALS认知行为筛查量表(Edinburgh Cognitive and Behavioral Assessment Screen, ECAS)^[11]、上

运动神经元(upper motor neuron, UMN)^[12]评分、修订版 ALS 功能评定量表(Revised Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale, ALSFRS-R)^[13]评分。

UMN 评分包括病理性敏捷反射的总和,即双侧肱二头肌、旋后肌、三头肌、手指、膝盖和脚踝反射、足底反应、面部和下颌反射的评估,最高评分为 16 分。英国医学研究理事会(Medical Research Council, MRC)评分^[14]为双

侧手臂外展、肘关节屈伸、腕关节屈伸、髋部屈伸、膝关节屈伸、踝背屈的徒手肌力评估总分,评分范围为 0~60 分,是下肢运动神经元症状的肌肉无力程度的敏感指标。

疾病进展率=(48 - 初次就诊时的 ALSFRS-R)评分/首次发病到初次就诊的时间(月)^[15]。

对照组与 ALS 组患者的年龄、性别比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 受试者临床资料比较

指标	ALS 组($n=27$)	对照组($n=28$)	t/χ^2 值	P 值
年龄/岁; $(\bar{x}\pm s)$	58.11 \pm 12.30	56.39 \pm 13.21	0.499	0.620
性别			0.010	0.919
男 $[n(\%)]$	17(63.0)	18(64.3)		
女 $[n(\%)]$	10(37.0)	10(35.7)		
病程/月; $[M(P_{25}, P_{75})]$	12(10.00, 27.50)	—	—	—
临床诊断				
确诊 $[n(\%)]$	6(22.2)	—	—	—
拟诊 $[n(\%)]$	6(22.2)	—	—	—
可能 $[n(\%)]$	15(55.6)	—	—	—
ECAS/分; $(\bar{x}\pm s)$	86.16 \pm 11.87	—	—	—
ALSFRS-R 评分/分; $(\bar{x}\pm s)$	40.07 \pm 7.00	—	—	—
UMN 评分/分; $(\bar{x}\pm s)$	5.15 \pm 4.36	—	—	—
MRC 评分/分; $(\bar{x}\pm s)$	51.04 \pm 8.83	—	—	—

注:ALS=肌萎缩侧索硬化;ECAS=爱丁堡 ALS 认知行为筛查量表;ALSFRS-R=修订版 ALS 功能评定量表;UMN=上运动神经元;MRC=医学研究理事会;—=无相关数据。

1.3 样本分析

1.3.1 样本采集

经腰椎穿刺收集的 CSF 样本置于聚丙烯小瓶中,收集后立即在 4℃ 下 400 r/min 离心 10 min。血浆样本通过肘静脉穿刺获得,收集在含有乙二胺四乙酸的管中,血浆在 3 000 r/min 下离心 10 min,放入聚丙烯小瓶中。获得的 CSF 和血浆样本立即保存在 -80℃ 环境中以待分析。

1.3.2 样本检测

采用夹心酶联免疫吸附分析(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)进行样本检测。按照制造商提供的说明书检测血浆及 CSF 中的 VEGF、VEGFR2、OPTN、TDP-43、ANG 和 MCP-1 水平。VEGF、VEGFR2、OPTN、TDP-43 和 ANG 的 ELISA 试剂盒购自 Qayee Biological Technology(中国);MCP-1 的 ELISA 试剂盒购自 Diaclone SAS(法国)。免疫测定按照供应商提供的说明书进行。血浆样本稀释 10 倍,CSF 样本未稀释。操作步骤简单概括为:加入样品和辣根过氧化物酶偶联物后,在培养皿中孵育。然后清洗微孔板,加入底物试剂。之后加入终止液,在加入终止液后 20 min 内检测板。用酶联免疫吸附仪(Bio-Rad Laboratories, 美国)在 450 nm 处测定吸光度。绘制每个实验的标准曲线,并计算所有样品中各自蛋白质的吸光度值。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。连续变量采用 Shapiro 检验进行正态分布检验。正态分布的连续变量以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验;偏态分布的连续变量以中位数和四分位距 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney 非参数检验。分类变量以例数和百分率 $[n(\%)]$ 表示,组间比较采用卡方检验。采用单变量、多变量线性回归分析血浆及 CSF 生物标志物与临床特征的相关性。为避免过度拟合,对单变量进行 LASSO 回归分析进行筛选。血浆及 CSF 生物标志物间相关性分析采用斯皮尔曼等级相关分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血浆及 CSF 中生物标志特征谱

ALS 组患者血浆及 CSF 的 VEGF、VEGFR2、OPTN、TDP-43 和 ANG 均低于对照组,而 MCP-1 高于对照组($P<0.05$),见表 2、表 3。

2.2 ALS 患者血浆及 CSF 中 VEGF 与临床特征的关系

单变量线性回归分析显示,ALS 患者血浆和 CSF 中 VEGF 与疾病进展率均呈负相关($P<0.05$),与 ALSFRS-R 评分均呈正相关($P<0.05$),见表 4。

为避免过度拟合,进行 LASSO 回归分析,结果显示性

表2 ALS组和对照组血浆中生物标志物表达水平的比较

 $M(P_{25}, P_{75})$

组别	例数	VEGF/(pg/mL)	VEGFR2/(pg/mL)	OPTN/(pg/mL)	TDP-43/(pg/mL)	ANG/(ng/mL)	MCP-1/(pg/mL)
对照组	28	700(640,890)	210(190,260)	2 800(2 610,3 660)	850(710,1050)	2 530(2 240,2 870)	141(120,230)
ALS组	27	590(500,820)	190(120,220)	2 070(1 250,2 590)	660(580,860)	2 090(985,3 320)	260(205,345)
<i>t/Z</i> 值		-2.118	-2.160	-2.398	-2.544	-2.078	-2.860
<i>P</i> 值		0.043	0.031	0.022	0.011	0.048	0.009

注:ALS=肌萎缩侧索硬化;VEGF=血管内皮生长因子;VEGFR2=VEGF受体2;OPTN=视神经蛋白;TDP-43=反式激活反应DNA结合蛋白43;ANG=血管生成素;MCP-1=单核细胞趋化蛋白-1。

表3 ALS组和对照组CSF中生物标志物表达水平的比较

 $(\bar{x}\pm s)$

组别	例数	VEGF/(pg/mL)	VEGFR2/(pg/mL)	OPTN/(pg/mL)	TDP-43/(pg/mL)	ANG/(ng/mL)	MCP-1/(pg/mL)
对照组	28	170.60±8.79	35.00±1.76	632.62±28.83	117.78±11.36	158.37±7.71	590.77±270.69
ALS组	27	155.25±6.29	31.59±1.66	604.08±51.82	101.25±8.39	151.94±9.92	757.40±329.83
<i>t/Z</i> 值		7.424	7.386	2.536	6.120	2.690	2.051
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	0.014	<0.001	0.010	0.045

注:ALS=肌萎缩侧索硬化;CSF=脑脊液;VEGF=血管内皮生长因子;VEGFR2=VEGF受体2;OPTN=视神经蛋白;TDP-43=反式激活反应DNA结合蛋白43;ANG=血管生成素;MCP-1=单核细胞趋化蛋白-1。

表4 单变量线性回归分析ALS患者血浆及CSF中VEGF与临床特征的关系

指标	血浆VEGF			CSF VEGF		
	β	<i>t</i>	<i>P</i> 值	β	<i>t</i>	<i>P</i> 值
年龄	-0.166	-1.222	0.227	-0.036	-0.261	0.795
性别	0.027	0.198	0.844	0.030	0.215	0.830
吸烟史	0.143	1.049	0.299	0.008	0.057	0.955
饮酒史	-0.058	-0.416	0.679	0.005	0.037	0.971
BMI	0.115	0.841	0.404	0.183	1.357	0.180
病程	-0.158	-1.164	0.250	0.090	0.657	0.514
疾病进展率	-0.323	-2.485	0.016	-0.398	-3.159	0.003
临床诊断	0.075	0.544	0.588	0.099	0.724	0.472
ECAS评分	-0.143	-1.054	0.297	-0.190	-1.408	0.165
ALSFRS-R评分	0.365	2.858	0.006	0.436	3.522	0.001
UMN评分	0.173	1.282	0.205	0.107	0.787	0.435
MRC评分	0.004	0.026	0.980	0.002	0.012	0.990

注:ALS=肌萎缩侧索硬化;CSF=脑脊液;VEGF=血管内皮生长因子;ECAS=爱丁堡ALS认知行为筛查量表;ALSFRS-R=修订版ALS功能评定量表;UMN=上运动神经元;MRC=英国医学研究理事会;BMI=体重指数。

别、吸烟史、饮酒史、BMI与疾病进展率无相关性;年龄、性别、饮酒史、吸烟史、BMI与ALSFRS-R评分无相关性。

进一步校正年龄和病程因素后,血浆($\beta=-0.379$, $t=-2.463$, $P=0.018$)和CSF($\beta=-0.446$, $t=-2.956$, $P=0.005$)中VEGF与疾病进展率呈负相关;校正病程因素后,血浆($\beta=0.309$, $t=2.133$, $P=0.039$)和CSF($\beta=0.434$, $t=3.287$, $P=0.002$)中VEGF与ALSFRS-R评分呈正相关。

2.3 ALS患者血浆及CSF中VEGFR2与临床特征的关系

单变量线性回归分析显示,ALS患者的血浆及CSF中VEGFR2与ALSFRS-R评分呈正相关($P<0.05$),见表5。

为避免过度拟合,进行LASSO回归分析,结果显示性别、吸烟史、饮酒史、BMI与ALSFRS-R评分无相关性。

进一步校正年龄和病程因素后,血浆($\beta=0.284$, $t=2.092$, $P=0.043$)和CSF($\beta=0.205$, $t=2.144$, $P=0.039$)中VEGFR2与ALSFRS-R评分均呈正相关。

2.4 ALS患者血浆及CSF中ANG与临床特征的关系

单变量线性回归分析显示,ALS患者的血浆及CSF中ANG与临床特征无相关性($P>0.05$),见表6。

为避免过度拟合,进行LASSO回归分析,结果显示性别、吸烟史、饮酒史与疾病进展率无相关性。

进一步校正年龄、BMI和病程因素后,血浆中ANG与

表5 单变量线性回归分析ALS患者血浆及CSF中VEGFR2与临床特征的关系

指标	血浆 VEGFR2			CSF VEGFR2		
	β	t	P 值	β	t	P 值
年龄	-0.277	-1.699	0.095	0.151	1.115	0.270
性别	0.159	1.173	0.246	-0.067	-0.489	0.627
吸烟史	0.100	0.729	0.469	0.001	0.008	0.994
饮酒史	-0.090	-0.651	0.518	-0.057	-0.409	0.684
BMI	0.178	1.314	0.195	-0.063	-0.462	0.646
病程	-0.081	-0.588	0.559	-0.047	-0.342	0.733
疾病进展率	-0.208	-1.551	0.127	-0.148	-1.089	0.281
临床诊断	0.068	0.495	0.623	-0.193	-1.435	0.157
ECAS	-0.209	-1.554	0.126	0.211	1.570	0.122
ALSFRS-R评分	0.286	2.169	0.035	0.299	2.285	0.026
UMN评分	0.191	1.414	0.163	-0.043	-0.317	0.753
MRC评分	0.104	0.758	0.452	-0.238	-1.780	0.081

注:ALS=肌萎缩侧索硬化;CSF=脑脊液;VEGFR2=血管内皮生长因子受体2;ECAS=爱丁堡ALS认知行为筛查量表;ALSFRS-R=修订版ALS功能评定量表;UMN=上运动神经元;MRC=医学研究理事会;BMI=体重指数。

表6 单变量线性回归分析ALS患者血浆及CSF中ANG与临床特征的关系

指标	血浆 ANG			CSF ANG		
	β	t	P 值	β	t	P 值
年龄	-0.085	-0.618	0.539	0.064	0.470	0.641
性别	0.070	0.508	0.614	-0.162	-1.197	0.237
吸烟史	-0.127	-0.935	0.354	-0.128	-0.940	0.352
饮酒史	-0.174	-1.275	0.208	-0.056	-0.406	0.687
BMI	0.062	0.455	0.651	0.183	1.355	0.181
病程	0.061	0.448	0.656	0.217	1.827	0.064
疾病进展率	-0.243	-1.826	0.073	0.209	1.264	0.092
临床诊断	0.018	0.128	0.898	-0.144	-1.056	0.296
ECAS	-0.011	-0.083	0.934	-0.187	-0.386	0.171
ALSFRS-R评分	-0.102	-0.748	0.458	-0.085	-0.623	0.536
UMN评分	0.253	1.903	0.062	-0.071	-0.520	0.605
MRC评分	0.226	1.690	0.097	-0.315	-2.760	0.058

注:ALS=肌萎缩侧索硬化;CSF=脑脊液;ANG=血管生成素;ECAS=爱丁堡ALS认知行为筛查量表;ALSFRS-R=修订版ALS功能评定量表;UMN=上运动神经元;MRC=英国医学研究理事会;BMI=体重指数。

疾病进展率呈负相关($\beta=-0.301, t=-2.165, P=0.036$);而CSF中ANG与临床特征无相关性($P>0.05$)。

2.5 ALS患者血浆及CSF中TDP-43与临床特征的关系

单变量线性回归分析显示,ALS患者的血浆及CSF中TDP-43与年龄呈正相关($P<0.05$),见表7。

为避免过度拟合,进行LASSO回归分析,结果显示性别、吸烟史、饮酒史与年龄无相关性。

进一步校正BMI和病程因素后,ALS患者的血浆($\beta=0.483, t=3.634, P=0.001$)和CSF($\beta=0.550, t=4.548, P<0.001$)中TDP-43与年龄呈正相关。

2.6 ALS患者血浆及CSF中OPTN与临床特征的关系

单变量线性回归分析显示,ALS患者的血浆中OPTN与ALSFRS-R评分呈正相关($P<0.05$),见表8。

为避免过度拟合,通过LASSO回归分析筛选,性别、吸烟史、饮酒史、BMI与ALSFRS-R评分无相关性。

进一步校正年龄和病程因素后,ALS患者的血浆中OPTN与ALSFRS-R评分呈正相关($\beta=0.311, t=2.139, P=0.038$)。而CSF中OPTN与临床特征无相关性。

2.7 ALS患者血浆及CSF中MCP-1与临床特征的关系

单变量线性回归分析显示,ALS患者的血浆中MCP-1与疾病进展率呈正相关($P<0.05$),与ALSFRS-R评分呈负相关($P<0.05$)。CSF中MCP-1与疾病进展率呈正相关($P<0.05$)。见表9。

为避免过度拟合,进行LASSO回归分析,结果显示性别、吸烟史、饮酒史、BMI与疾病进展率及ALSFRS-R评分均无相关性。

进一步校正年龄和病程因素后,ALS患者的血浆中

MCP-1 与疾病进展率呈正相关 ($\beta=0.345, t=2.374, t=-2.319, P=0.025$)。CSF 中 MCP-1 与疾病进展率则无相关性 ($P=0.022$), 与 ALSFRS-R 评分呈负相关 ($\beta=-0.309, t=-2.319, P=0.025$)。

表7 单变量线性回归分析ALS患者血浆及CSF中TDP-43与临床特征的关系

指标	血浆 TDP-43			CSF TDP-43		
	β	t	P 值	β	t	P 值
年龄	0.442	3.592	0.001	0.580	5.188	<0.001
性别	0.105	0.770	0.445	-0.025	-0.181	0.857
吸烟史	0.114	0.834	0.408	-0.047	-0.345	0.732
饮酒史	0.131	0.953	0.345	-0.067	-0.482	0.632
BMI	-0.245	-1.836	0.072	-0.054	-0.397	0.693
病程	-0.102	-0.750	0.457	-0.028	-0.201	0.842
疾病进展率	-0.084	-0.611	0.544	0.006	0.041	0.967
临床诊断	0.112	0.820	0.416	0.060	0.436	0.664
ECAS	0.016	0.118	0.907	-0.093	-0.682	0.498
ALSFRS-R 评分	0.066	0.484	0.630	-0.119	-0.874	0.386
UMN 评分	0.029	0.208	0.836	-0.010	-0.075	0.940
MRC 评分	-0.130	-0.952	0.345	-0.128	-0.936	0.353

注:ALS=肌萎缩侧索硬化;CSF=脑脊液;TDP-43=反式激活反应DNA结合蛋白43ECAS=爱丁堡ALS认知行为筛查量表;ALSFRS-R=修订版ALS功能评定量表;UMN=上运动神经元;MRC=英国医学研究理事会;BMI=体重指数。

表8 单变量线性回归分析ALS患者血浆及CSF中OPTN与临床特征的关系

指标	血浆 OPTN			CSF OPTN		
	β	t	P 值	β	t	P 值
年龄	-0.179	-1.325	0.191	0.056	0.408	0.685
性别	0.058	0.423	0.674	-0.190	-1.411	0.164
吸烟史	0.135	0.995	0.324	-0.140	-1.027	0.309
饮酒史	-0.058	-0.417	0.679	-0.178	-1.306	0.197
BMI	0.134	0.986	0.328	0.174	1.937	0.065
病程	-0.120	-0.883	0.381	0.211	1.570	0.122
疾病进展率	-0.104	-1.323	0.074	0.207	2.282	0.075
临床诊断	0.092	0.671	0.505	-0.091	-0.662	0.511
ECAS	-0.185	-1.371	0.176	-0.166	-1.862	0.076
ALSFRS-R 评分	0.335	2.587	0.012	-0.026	-0.191	0.849
UMN 评分	0.207	1.536	0.130	-0.088	-0.644	0.522
MRC 评分	0.063	0.457	0.649	-0.170	-1.256	0.215

注:ALS=肌萎缩侧索硬化;CSF=脑脊液;OPTN=视神经蛋白;ECAS=爱丁堡ALS认知行为筛查量表;ALSFRS-R=修订版ALS功能评定量表;UMN=上运动神经元;MRC=英国医学研究理事会;BMI=体重指数。

表9 单变量线性回归分析ALS患者血浆及CSF中MCP-1与临床特征的关系

指标	血浆 MCP-1			CSF MCP-1		
	β	t	P 值	β	t	P 值
年龄	-0.047	-0.340	0.735	-0.144	-1.060	0.294
性别	-0.097	-0.707	0.483	-0.019	-0.136	0.892
吸烟史	0.090	0.659	0.513	0.049	0.358	0.722
饮酒史	-0.031	-0.226	0.822	-0.066	-0.481	0.633
BMI	0.044	0.320	0.750	-0.041	-0.301	0.765
病程	-0.163	-1.206	0.233	-0.014	-0.105	0.917
疾病进展率	0.380	2.995	0.004	0.300	2.286	0.026
临床诊断	-0.015	-0.108	0.915	0.250	1.884	0.065
ECAS	-0.014	-0.099	0.922	-0.046	-0.335	0.739
ALSFRS-R 评分	-0.421	-3.379	0.001	0.090	0.661	0.511
UMN 评分	-0.005	-0.040	0.968	0.203	1.508	0.137
MRC 评分	0.030	0.220	0.827	0.148	1.089	0.281

注:ALS=肌萎缩侧索硬化;CSF=脑脊液;MCP-1=单核细胞趋化蛋白-1;ECAS=爱丁堡ALS认知行为筛查量表;ALSFRS-R=修订版ALS功能评定量表;UMN=上运动神经元;MRC=英国医学研究理事会;BMI=体重指数。

2.8 生物标志物间相关性分析

血浆生物标志物间均呈正相关($P<0.05$),见表10。CSF生物标志物中,VEGF与VEGFR2呈正相关($P<0.05$),TDP-43与其他标志物呈正相关($P<0.05$)。见表11。

表10 血浆生物标志物间相关性分析

项目	VEGF	VEGFR2	ANG	TDP-43	OPTN
VEGFR2	0.691 ^a	—	—	—	—
ANG	0.532 ^a	0.643 ^a	—	—	—
TDP-43	0.446 ^a	0.380 ^a	0.346 ^a	—	—
OPTN	0.946 ^a	0.795 ^a	0.590 ^a	0.273 ^a	—
MCP-1	0.652 ^a	0.360 ^a	0.302 ^a	0.583 ^a	0.592 ^a

注:VEGF=血管内皮生长因子;VEGFR2=VEGF受体2;OPTN=视神经蛋白;TDP-43=反式激活反应DNA结合蛋白43;ANG=血管生成素;MCP-1=单核细胞趋化蛋白-1;—=无相关数据;表中数据为相关系数;a为 $P<0.05$ 。

表11 CSF生物标志物间相关性分析

项目	VEGF	VEGFR2	ANG	TDP-43	OPTN
VEGFR2	0.325 ^a	—	—	—	—
ANG	0.124 ^a	0.643 ^a	—	—	—
TDP-43	0.719 ^a	0.545 ^a	0.332 ^a	—	—
OPTN	0.024 ^a	0.795 ^a	0.093 ^a	0.273 ^a	—
MCP-1	0.246 ^a	0.360 ^a	0.138 ^a	0.425 ^a	0.205 ^a

注:VEGF=血管内皮生长因子;VEGFR2=VEGF受体2;OPTN=视神经蛋白;TDP-43=反式激活反应DNA结合蛋白43;ANG=血管生成素;MCP-1=单核细胞趋化蛋白-1;—=无相关数据;表中数据为相关系数;a为 $P<0.05$ 。

3 讨论

ALS是一种神经退行性疾病,其特征是大脑、脑干和脊髓中的运动神经元死亡,从而导致进行性、无痛性肌无力^[16]。ALS可导致患者瘫痪,在严重病例中,可能导致呼吸衰竭,从而致使患者死亡。在ALS遗传学方面,大约10%的病例可归类为家族性,其余90%的病例被认为是散发性,虽然大多数ALS病例是由单基因突变引起的,但也有一部分病例可归因于几个基因(少基因)突变^[17]。疾病病理生理学的变异性使ALS成为多系统退行性疾病或多变量疾病。这种多系统退化使诊断、预后和治疗策略更加复杂。因此,对疾病进行早期预测和预后预测有助于找到有效的治疗方案,并延缓疾病的进展。

在本研究中,我们对CSF和血浆中多种生物标志物与临床特征的关联,以及这些生物标志物的相互关联进行了分析,结果显示,ALS组患者的血浆及CSF中VEGF、VEGFR2、OPTN、TDP-43和ANG均低于对照组,而MCP-1高于对照组。

TDP-43是一种异质性核糖核蛋白,在生理条件下主要分布在细胞核内。在大多数ALS病例中,被转移到细胞质中,在那里改变结构,并形成包涵体^[18]。研究显示,

TDP-43在患者的血浆及CSF中升高^[19]。然而,有研究认为,ALS患者的CSF中TDP-43的升高并不是神经退行性疾病期间释放到CSF中的简单结果,这种TDP-43在ALS中的过度表达和过量产生可能是一种代偿机制,以维持核内功能^[18]。但在本研究中,仅发现TDP-43在CSF和血浆中的表达与ALS患者年龄相关。TDP-43病理改变主要位于边缘系统区域,而无额颞叶变性,这种病理改变常见于老年人群(>80岁)^[20]。衰老本身就是一系列神经退行性疾病的风险因素,并且随着年龄的增长,并发的神经病理过程较为常见。有针对大量老年人大脑的病理学研究称,至少1/3老年人的大脑存在多种蛋白病,其中就包括TDP-43蛋白病^[21]。

ALS患者经常携带VEGF基因突变,VEGF对运动神经元具有营养和神经保护作用。在运动神经元和内皮细胞分泌VEGF后,促进内皮细胞的形成、周细胞增殖和迁移,从而维持小血管壁的完整性。这保证了局部优化的氧气及能量供应,以及有毒代谢物的去除,从而保护了运动神经元免受氧化应激和谷氨酸介导的兴奋性毒性,同时也避免了磷酸化TDP-43介导的神经变性^[22]。本研究中,VEGF与患者疾病进展率呈负相关,而与ALSFRS-R评分呈正相关,表明VEGF可能是ALS的保护因子。

VEGFR2为VEGF的受体,在ALS患者的脊髓样本中,发现VEGF及VEGFR2表达降低^[23]。本研究结果显示,ALS患者的血浆及CSF中VEGFR2与ALSFRS-R评分呈正相关。

ANG除了在新血管形成中的作用外,还被证明是一种神经营养和神经保护因子。ANG的错义突变通过核糖核酸溶解活性或核易位活性,又或这两种功能都丧失而引起ALS^[24]。本研究也发现在多变量线性回归分析中,血浆ANG与疾病进展率呈负相关。

OPTN具有核因子-κB抑制活性,并抑制肿瘤坏死因子-α介导的核因子-κB活化,OPTN突变激活肿瘤坏死因子-α和半胱天冬酶通路,破坏TDP-43的核定位信号。因此,OPTN作为蛋白质包涵体在ALS患者的运动神经元中增加和积累。有研究认为,ALS患者血浆中OPTN降低,可能阻碍了TDP-43的调节^[4]。

MCP-1是一种8 kDa分泌蛋白,具有促炎作用。在散发性及家族性ALS患者的血清和CSF中均可发现MCP-1水平升高^[25]。本研究中,ALS患者的血浆和CSF中MCP-1与疾病进展率呈正相关。此外,血浆MCP-1与ALSFRS-R评分呈负相关。

本研究中分析的6种液体生物标志物与ALS患者的年龄、疾病严重程度,以及疾病进展有相关性。在血浆和CSF中,VEGF、VEGFR2、ANG、OPTN、TDP-43和MCP-1都存在相关性,表明这6种生物标志物之间存在串扰。因此,需要一项更全面的研究来分析这些生物标志物对疾

病进展的影响,以了解这些标志物在疾病进展中的作用,明确这些生物标志物用于疾病早期诊断的可行性。

参 考 文 献

- [1] RIZEA RE, CORLATESCU AD, COSTIN HP, et al. Understanding amyotrophic lateral sclerosis: pathophysiology, diagnosis, and therapeutic advances[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(18): 9966.
- [2] 郑志隆,郭兴. 肌萎缩侧索硬化症疾病进展与线粒体功能紊乱[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2022, 43(5): 697-704.
- [3] DARABI S, ARIAEI A, RUSTAMZADEH A, et al. Cerebrospinal fluid and blood exosomes as biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis; a systematic review[J]. *Diagn Pathol*, 2024, 19(1): 47.
- [4] CALVO PM, HERNÁNDEZ RG, DE LA CRUZ RR, et al. Role of vascular endothelial growth factor as a critical neurotrophic factor for the survival and physiology of motoneurons[J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(8): 1691-1696.
- [5] THOMAS A, GARG D, SRIVASTAVA AK, et al. Clinical factors and vascular endothelial growth factor as determinants of disease progression in Indian patients with amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 2024, 25(1/2): 46-52.
- [6] MODGIL S, KHOSLA R, TIWARI A, et al. Association of plasma biomarkers for angiogenesis and proteinopathy in Indian amyotrophic lateral sclerosis patients[J]. *J Neurosci Rural Pract*, 2020, 11(4): 573-580.
- [7] CHONG ZZ, SOUAYAH N. Pathogenic TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Drug Discov Today*, 2025, 30(5): 104351.
- [8] XIAO Y, TAN YS, LI CY, et al. Genetic and clinical analysis of OPTN in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *J Med Genet*, 2025, 62(4): 242-248.
- [9] MOȚĂȚĂIANU A, MĂNESCU IB, ȘERBAN G, et al. Exploring the role of metabolic hormones in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(10): 5059.
- [10] BROOKS BR, MILLER RG, SWASH M, et al. El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*, 2000, 1(5): 293-299.
- [11] YE S, JI Y, LI CY, et al. The Edinburgh cognitive and behavioural ALS screen in a Chinese amyotrophic lateral sclerosis population[J]. *PLoS One*, 2016, 11(5): e0155496.
- [12] FLOETER MK, WU TX. Longitudinal evaluation of upper motor neuron burden scales in primary lateral sclerosis[J]. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 2021, 22(1/2): 23-29.
- [13] CEDARBAUM JM, STAMBLER N, MALTA E, et al. The ALSFRS - R: a revised ALS functional rating scale that incorporates assessments of respiratory function. BDNF ALS study group (phase III)[J]. *J Neurol Sci*, 1999, 169(1/2): 13-21.
- [14] DE JONGHE B, BASTUJI - GARIN S, DURAND MC, et al. Respiratory weakness is associated with limb weakness and delayed weaning in critical illness[J]. *Crit Care Med*, 2007, 35(9): 2007-2015.
- [15] BENATAR M, MACKLIN EA, MALASPINA A, et al. Prognostic clinical and biological markers for amyotrophic lateral sclerosis disease progression: validation and implications for clinical trial design and analysis[J]. *EBioMedicine*, 2024, 108: 105323.
- [16] VAN ES MA. Amyotrophic lateral sclerosis; clinical features, differential diagnosis and pathology [J]. *Int Rev Neurobiol*, 2024, 176: 1-47.
- [17] UDINE E, JAIN A, VAN BLITTERSWIJK M. Advances in sequencing technologies for amyotrophic lateral sclerosis research[J]. *Mol Neurodegener*, 2023, 18(1): 4.
- [18] PIOL D, ROBBERECHTS T, CRUZ SDA. Lost in local translation: TDP-43 and FUS in axonal/neuromuscular junction maintenance and dysregulation in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Neuron*, 2023, 111(9): 1355-1380.
- [19] XIN JQ, HUANG S, WEN J, et al. Drug screening and validation targeting TDP - 43 proteinopathy for amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Aging Dis*, 2024, 16(2): 693-713.
- [20] NAG S, SCHNEIDER JA. Limbic - predominant age - related TDP43 encephalopathy (LATE) neuropathological change in neurodegenerative diseases[J]. *Nat Rev Neurol*, 2023, 19(9): 525-541.
- [21] MURAKAMI A, KOGA S, SEKIYA H, et al. Old age amyotrophic lateral sclerosis and limbic TDP-43 pathology[J]. *Brain Pathol*, 2022, 32(6): e13100.
- [22] SCHREIBER S, BERNAL J, ARNDT P, et al. Brain vascular health in ALS is mediated through motor cortex microvascular integrity[J]. *Cells*, 2023, 12(6): 957.
- [23] REI N, VALENTE CA, VAZ SH, et al. Changes in adenosine receptors and neurotrophic factors in the SOD1G93A mouse model of amyotrophic lateral sclerosis: Modulation by chronic caffeine[J]. *PLoS One*, 2022, 17(12): e0272104.
- [24] BRADSHAW WJ, REHMAN S, PHAM TTK, et al. Structural insights into human angiogenin variants implicated in Parkinson's disease and Amyotrophic Lateral Sclerosis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 41996.
- [25] TROLESE MC, SCARPA C, MELFI V, et al. Boosting the peripheral immune response in the skeletal muscles improved motor function in ALS transgenic mice[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(8): 2760-2784.

责任编辑:龚学民