



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101726580 A

(43) 申请公布日 2010.06.09

(21) 申请号 200810223978.9

(22) 申请日 2008.10.13

(71) 申请人 中国科学院生物物理研究所
地址 100101 北京市朝阳区北沙滩大屯路
15号

(72) 发明人 赫荣乔 张金玲 童志前 卢静
李芳序

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任
公司 11021

代理人 王旭

(51) Int. Cl.

G01N 33/48 (2006.01)

G01N 30/02 (2006.01)

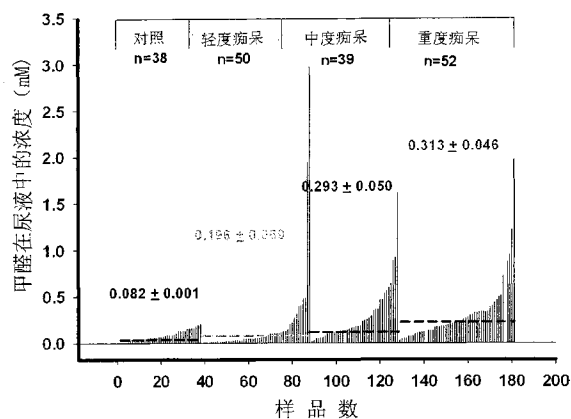
权利要求书 1 页 说明书 18 页 附图 5 页

(54) 发明名称

内源性甲醛用于制备老年痴呆症的诊断剂的应用

(57) 摘要

本发明涉及内源性甲醛在制备老年痴呆症的诊断剂中的应用,其中将内源性甲醛用作老年痴呆症的生物标志物,通过检测受试者尿液样品中的甲醛浓度,将其与健康受试者尿液中的甲醛浓度进行比较,来确定所述受试者是否患有老年痴呆症,并且初步判断所述受试者的老年痴呆症的程度。



1. 甲醛在制备老年痴呆症的诊断剂中的应用,其中将内源性甲醛用作老年痴呆症的生物标志物,通过检测受试者尿液样品中的甲醛浓度,将其与健康受试者尿液中的甲醛浓度进行比较,来确定所述受试者是否患有老年痴呆症,并且初步判断所述受试者的老年痴呆症的程度。

2. 按照权利要求 1 的应用,其中使用高效液相荧光色谱(HPLC-荧光)检测所述受试者尿液样品中的甲醛浓度。

3. 按照权利要求 1 或 2 的应用,其还通过纵向监测所述受试者在生命过程中不同时间阶段的尿液甲醛浓度,用来判断所述受试者发展老年痴呆症的危险。

4. 按照权利要求 1 或 2 的应用,其还通过监测所述受试者在服用抑制老年痴呆症的药物之前和之后不同时间阶段尿液甲醛浓度,用来评价所述药物的药效。

内源性甲醛用于制备老年痴呆症的诊断剂的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及甲醛在诊断剂制药领域中的新用途,具体而言,涉及内源性甲醛在制备老年痴呆症的诊断剂中的新用途,其中将内源性甲醛用作老年痴呆症的生物标志物。

背景技术

[0002] 老年痴呆病 (Alzheimer's disease, 简称 AD) 是一种神经退行性疾病 (Francis et al., 1999, Varadarajan et al., 2000), 随着人类寿命的不断延长, 老年痴呆发病率也在逐年上升, 65 岁和 85 岁以上发病率分别为 5% 和 8% 左右 (施安国等, 2000)。老年痴呆是继肿瘤、心脏病和脑血管病之后引起老年人死亡的第四大病因, 从而引起国内外学者的广泛关注。WHO 已将老年痴呆定为二十世纪五大重点病之一 (魏红梅, 2008), 因 AD 发病机理复杂, 表征与其他病症易混淆, 临床很难确诊。目前已确定的 AD 类型有: ①血管性痴呆: 即多发梗塞性痴呆, 是种种原因所致的脑组织供血不足所致的痴呆, 最常见的是脑梗塞和动脉硬化; ②阿尔茨海默痴呆: 主要由脑皮质萎缩而引起, 导致神经细胞大量减少 (达 30% 以上)、脑室扩大、以至神经网的变性崩解。阿尔茨海默痴呆的病理变化有两个显著特点: 老年斑、神经原纤维缠结变性, 神经元丢失等。一般性老年痴呆行为特征表现为记忆、计算、思维、语言、定向力和情感障碍以及人格的改变, 并出现社会活动能力的减退 (倪琦炜, 陆基宗, 2007)。老年痴呆病发病率的上升已严重影响了老年人的生活质量并已成为一个严重的社会问题。

[0003] 大量研究表明, 迄今为止尚未发现一种临床上切实可行的、操作方便并确诊率高的诊断方法, 老年痴呆的诊断方法目前仍停留在当患者已明显出现严重的表征时才被诊断为 AD 阶段, 据报道, 即便如此, 此时的确诊率通过在以后的活检或尸检上也不是 100%, 仍有 20% 左右病例根本与 AD 无关 (McKhann et al., 1984)。因此当临床上被诊断出 AD 时, 其实早已错过了最佳治疗时机。AD 病一旦发展到严重程度就很难挽回, 但是若在早期确诊还是可以用相应药物和治疗手段控制住病情的发展, 延长患者寿命, 提高患者生存质量。由于与 AD 病相关联的因素错综复杂, 目前仍没有发现临床上可行的与之相关的特征性生物分子, 尽管近期有报道, 科学家经努力发现在病人脑脊液中存在 15 种在对照组中不存在的特异性蛋白 (Simonsen et al., 2008), 但是若以此用来作为临床检测手段, 不论在操作复杂程度上还是患者心里能否接受上, 恐怕都是难以推广起来的, 因此找到早期就能明确诊断 AD 病的方法就变得重要而有意义。

[0004] 尽管关于老年痴呆临床特异性标记物的研究工作已有大量报道, 并在某些方面已有了突破性的进展。譬如: 通过腰穿取脑脊液, 利用 SELDI-TOF-MS 技术, 测定其中很多与 AD 相关的蛋白的变化, 找出特征性生物标记物, 可以区别 AD 和健康对照 (Simonsen et al., 2008)。另外通过 elisa 技术, 检测病人脑脊液中 $A\beta_{1-42}$, Ptau 和 tau/ $A\beta_{1-42}$ 的含量, 可以找到有规律的变化 (Femke H. Bouwmana, 2008)。遗憾的是, 目前临床诊断老年痴呆的方法并未从实际应用上得到解决, 通过检测 AD 病人体液中甲醛浓度以找到临床上有特异性生物标记分子的研究工作在国内外也未见报道。

发明内容

[0005] 本发明涉及甲醛在制备老年痴呆症的诊断剂中的新用途,其中将内源性甲醛用作老年痴呆症的生物标志物。内源性甲醛作为老年痴呆症的生物标志物,可以用来确定受试者是否患有老年痴呆症或发展老年痴呆症的危险,还可以用来评价治疗老年痴呆症的药物的药效。

[0006] 在本发明中,我们通过对 81 例对照人群(非痴呆患者)和 141 例不同痴呆程度的老年痴呆病人进行 MMSE(Folstein et al.,1975)测试(国际上通用的简易精神智能检查量表),按照分值不同分为正常,轻度痴呆,中度痴呆和重度痴呆。同时收集测试者的尿液进行荧光-HPLC 分析(Luo et al.,2001)。通过实验结果分析,发现 AD 患者体液中的内源性甲醛浓度和对照比较呈现一定的规律性。这一发现有望将内源性甲醛作为临床普查的一个参考指标。

[0007] 在本发明的研究工作中,本发明人经分析发现 AD 患者尿甲醛浓度普遍高于对照(对照:0.082mM, n = 38, AD:0.303±0.032mM, n = 141,对照与文献上报道健康人尿甲醛浓度为 0.08mM 相类似),并随着痴呆程度加重尿甲醛浓度也呈现递增的趋势(见图 3a)。

[0008] 本发明将内源性甲醛用作老年痴呆症的生物标志物,可以用来制备老年痴呆症的诊断剂。本发明的实施方案详细描述了内源性甲醛与老年痴呆症之间的关系,以及它用来制备老年痴呆症的诊断剂的用途。

[0009] 在本发明的一个优选实施方案中,通过检测受试者尿液中的甲醛浓度,将其与健康受试者尿液中的甲醛浓度进行比较,来判断所述受试者是否患有老年痴呆症,并且初步判断所述受试者的老年痴呆症的程度。

[0010] 在本发明的另一个优选实施方案中,通过纵向监测受试者在生命过程不同时间阶段尿液中的甲醛浓度变化,来判断所述受试者发展老年痴呆的危险。

[0011] 在本发明的另一个优选实施方案中,通过监测受试者在服用治疗老年痴呆症的药物之前和之后不同时间阶段的尿液中的甲醛浓度变化,来评价所述药物针对老年痴呆症的药效。

[0012] 在上文所述的应用中,尿液甲醛浓度可以通过高效液相荧光色谱(HPLC-荧光)进行测量,但是本领域的技术人员应该理解,检测方法并不限于此,还可以利用本领域公知的任何其他适当的方法进行检测。

[0013] 与现有技术相比,本发明优点在于:

[0014] 1. 提供了甲醛用于制备老年痴呆症的诊断剂的新用途。内源性甲醛作为老年痴呆症的生物标志物,不但可以用来判断受试者是否患有老年痴呆症,并且可以初步判断所述受试者的老年痴呆症的程度,从而为及时采用适当的治疗提供临床依据;

[0015] 2. 内源性甲醛作为老年痴呆症的生物标志物,还可以通过纵向监测所述受试者在生命过程中的不同时间阶段尿液中甲醛浓度的变化,可以及时预测所述受试者发展老年痴呆症的危险,及时采取医学预防和干预,以免贻误治疗的最佳时机;

[0016] 3. 内源性甲醛作为老年痴呆症的生物标志物,还可以用来评价治疗老年痴呆症的药物的药效,评价方法简单快速,成本低,经济实用;

[0017] 4. 本发明的检测方法简单实用,对受试者不造成身体损害,因此,该方法具有非常

好的实用性。

附图说明

[0018] 从下面结合附图的详细描述中,本发明的上述特征和优点将更明显,其中:

[0019] 图 1 显示荧光高效液相色谱测定的甲醛 (FA) 浓度的标准曲线,以及甲醛浓度与色谱峰面积之间的线性回归方程和线性相关系数 R^2 。Y 轴:色谱峰面积;X 轴:甲醛浓度。线性回归方程: $Y = 15357X + 364.34$; $R^2 = 0.9997$ 。

[0020] 图 2 显示 5 种不同代表性样品的荧光高效液相色谱图。2a. 空白:水;2b. 对照:标准甲醛溶液 (1ppm);2c. 轻度痴呆症的尿液样品;2d. 中度痴呆症的尿液样品;2e. 重度痴呆症的尿液样品。甲醛的保留时间约为 8 分钟。

[0021] 图 3a 显示 4 种不同人群中尿甲醛的浓度测定结果,由图可见痴呆患者尿甲醛的浓度与患者痴呆程度呈正相关,并与对照有显著性差异,图中所用数据均采用平均值 \pm 标准误。所述 4 组不同人群为 1 组健康对照受试者 (不患任何疾病, $n = 38$), 和 3 组 3 种程度 (轻度 ($n = 50$)、中度 ($n = 39$)、重度 ($n = 52$)) 的 AD 患者。3b. 不同痴呆类别中尿甲醛的浓度测定结果,包括血管性痴呆,阿尔茨海默性痴呆,混合性痴呆和其它,由图可见,几种痴呆患者尿甲醛与对照相比均有显著性差异。3c. 显示 AD 患者 (同时患有高血压或糖尿病) 与相应非 AD 患者 (不患任何疾病的健康受试者和分别患有高血压或糖尿病的非 AD 患者) 尿甲醛浓度比较,可以看出 AD 患者的尿甲醛浓度与非 AD 患者有极显著性差异;3d. 患有高血压或糖尿病的非 AD 患者的尿甲醛浓度与健康人 (不患任何疾病) 的尿甲醛浓度比较。

具体实施方式

[0022] 以下通过实施例来进一步阐明本发明。但是应该理解,所述实施例只是举例说明的目的,并不意欲限制本发明的范围和精神。

[0023] 1. 材料与方法

[0024] 1.1 材料和仪器

[0025] 氨苄青霉素,甲醛 (37%, W/V) (优级纯,购自 sigma 公司),三氯乙酸,氯化钠 (分析纯,购自鼎国生物公司),乙腈,乙醚 (液相色谱纯,购自 Tedia 公司),水均为 Milli-Q 超纯水。尿液采自广东汕头医学院,北京市顺义县居民社区,老年医院和老年公寓中的老年受试者。荧光-高效液相色谱仪 (HP1100, agilent),氮气吹干仪 (上海过望化工有限公司)。

[0026] 1.2 简易智能精神状态量表 (MMSE) 的测定

[0027] 在社区随机抽取 112 例健康人做调查,健康人的调查是在中关村医院老年病科和精神病科的医生指导下,在居民社区 (社区没有任何与其他居民社区不同的居住环境) 随机入户调查取样的,调查取样符合规范科学的方法,样本真实具有代表性和普遍性。临床调查人数不少于 30 人,具有统计意义。最后去掉了少数无统计意义且本身伴有除高血压和糖尿病之外病症的人群,剩下 81 人做痴呆调查的对照。痴呆患者的调查者是在老年公寓和老年医院住院或门诊病人,经专业医生诊断确诊后再进行的调查。

[0028] 痴呆患者共 141 人,在正规医院 (北京老年医院) 和几个敬老院取样调查,此过程完全是在老年病房主任的指导下完成的,按照科学规范的方法取样,样本具有代表性和普遍性。

[0029] 1.3 尿液的采集和处理

[0030] 测试者当天禁酒和高脂肪饮食,第二天清晨空腹留尿,暂存于 -70°C ,待测。

[0031] 1.4 样品的衍生化反应

[0032] 标准曲线制作:将甲醛用水配成 1mM 的母液,用水系列稀释成八个不同浓度的标准 $0, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.6\text{mM}$,用水作空白对照。将不同浓度甲醛溶液 0.8ml 加到 8 个含有 $200\ \mu\text{l}$ 健康人尿液的 2ml 带盖的玻璃管中(加尿液是为了与后面测定样品时扣除本底的需要),再分别加 0.1ml 氨苄青霉素 ($2.5\text{mg}/\text{ml}$ 的水溶液)和 0.25ml 三氯乙酸 (20% 的水溶液),充分振荡 30 秒,随即置于 90°C 水浴锅中 1 小时。然后,降至室温,并将管中溶液转移至 10ml 玻璃离心管中,将刚才的 2ml 管子用 1ml 乙醚分别洗两次并合并到该 10ml 管中,并于每管中加入少量氯化钠(约 0.5g),激烈震荡 1 分钟, 1000g 离心 5 分钟,将上层有机相转移到 5ml 的玻璃管中,再用 2ml 乙醚萃取水相两次,与有机相一起合并。在 40°C 用氮气吹干仪吹干有机相,用 $800\ \mu\text{l}$ 乙腈-水溶液(体积比:1:1)溶解,震荡 30 秒,用 $0.45\ \mu\text{m}$ 有机滤器过滤于液相色谱专用样品瓶中,密封待测。

[0033] 样品衍生化:样品衍生化同上操作,准备如下:试剂空白: 1ml 水;尿液空白: $800\ \mu\text{l}$ 水 + $200\ \mu\text{l}$ 尿液;尿液+标准: $300\ \mu\text{l}$ 水 + $500\ \mu\text{l}$ 甲醛标准 (1ppm) + $200\ \mu\text{l}$ 尿液;待测样本: $800\ \mu\text{l}$ 水 + $200\ \mu\text{l}$ 待测尿液。处理过程同上述,最后用 $500\ \mu\text{l}$ 乙腈-水溶液(体积比:1:1)溶解。试剂空白,尿液空白,尿液+标准,待测样本,每次均做两个平行,再取均值用于计算。

[0034] 计算:样本的甲醛浓度(单位 ppm) = (每个样本的峰面积减去试剂空白的峰面积) \div (尿液+标准的峰面积减去尿液空白的峰面积) $\times 0.5$ (标准浓度) $\times 5$ ($200\ \mu\text{l}$ 尿液)。最后换算成 mM 。

[0035] 1.5 高效液相荧光色谱的条件

[0036] 荧光-HPLC 柱:HP Zorbax StableBondSB-C18, $5\text{m}, 250\text{mm} \times 4.6\text{mm}$ (德国),柱温 40°C ,进样量 $10\ \mu\text{l}$,流动相:乙腈:水(体积比:25:75),流速: $1\text{ml}/\text{min}$,荧光检测器。

[0037] 2. 结果与讨论

[0038] 2.1 液相色谱测定甲醛 (FA) 的标准曲线

[0039] 从图 1 中看到甲醛浓度与色谱峰面积有良好的线性关系,回归方程已表明线性相关系数为 0.9997 。因此用此方法完全可以测定血液或尿液中微量甲醛的浓度。

[0040] 2.2 高压液相色谱图,临床调查及尿甲醛测定结果

[0041] 从图 2 可看出,色谱图中甲醛出峰的保留时间是相当稳定的(约为 8 分钟),此方法用于定性和定量都是可行的。标准品的回收率 ($> 95\%$),日内偏差和日间差 ($< 5\%$) 均达到要求。

[0042] 图 2 的结果表明,内源性甲醛的浓度随着痴呆程度加重而递增,表示内源性甲醛可以用作诊断和判断老年痴呆程度的生物标志物。

[0043] 2.3 不同老年痴呆患者临床调查情况及尿甲醛浓度测定结果

[0044] 表 1 总结了随机选取的 141 名不同程度的老年痴呆症患者的临床流行病学调查结果和他们的尿液甲醛浓度的测定结果。

[0045] 表 2 总结了对照人群(包括 81 名个体)调查情况及它们的尿液甲醛浓度测定结果。所述对照人群包括没有患有任何疾病的健康个体和患有除 AD 外的一种或多种疾病的

个体,所述除 AD 外的疾病包括,但不限于,高血压、高血糖、糖尿病、中风、心脏病、血栓、脑血栓、半身不遂、和记忆力下降等。

[0046] 表 1. 不同老年痴呆患者临床调查情况一览表及尿甲醛浓度测定结果

[0047]

编号	性别	年龄	既往病史	MMSE	尿中甲醛浓度 (mM)
1	男	82	血管性痴呆,脑出血	0	0.033333
2	男	76	老年性呆,脑梗塞,帕金森,高血压	0	0.066667
3	男	80	血管性痴呆,脑梗塞,高血压	0	0.1
4	男	74	老年性痴呆,II型糖尿病	0	0.133333
5	女	78	帕金森病,缺血缺氧醒脑病	0	0.166667
6	男	83	混合性痴呆,多发性脑更	0	0.2
7	女	80	脑梗塞,高血脂	20	0.233333
8	女	77	老年性痴呆,脑梗塞	0	0.266667
9	男	74	混合性痴呆,帕金森病	6	0.3
10	女	76	老年性痴呆,脑梗塞	0	0.333333
11	女	83	老年性痴呆,高血脂	0	0.366667
12	男	78	混合性痴呆,脑梗,高血脂	20	0.4
13	女	79	高血脂,高血压,痛风	0	0.433333
14	女	81	混合性痴呆,脑梗	0	0.466667
15	女	64	混合性痴呆,脑梗,脑出血	0	0.5
16	男	79	老年性痴呆	0	0.533333

编号	性别	年龄	既往病史	MMSE	尿中甲醛浓度 (mM)
17	男	71	混合性痴呆, 脑梗	0	0.6
18	男	58	老年性痴呆, 脑梗, 高血压	17	0.666667
19	男	78	血管性痴呆, 脑梗, 高血脂	0	0.7
20	男	85	老年性痴呆, 脑梗, 高血压	0	0.733333
21	男	71	脑萎缩	0	0.766667
22	女	73	老年性痴呆, 糖尿病	0	0.8
23	女	79	老年性痴呆, II型糖尿病, 高血脂	17	0.833333
24	男	70	老年性痴呆, 脑梗	0	0.866667
25	男	74	混合性痴呆, 脑梗, 高血压	0	0.9
26	男	78	老年性痴呆	14	0.933333
27	男	86	老年性痴呆, 高血压, 高血脂	0	0.966667
28	女	82	老年型痴呆, 重读营养不良	14	1
29	女	78	老年性痴呆, 脑梗, 高血压	20	1.033333
30	女	69	额颞叶痴呆, 脑梗	0	1.066667
31	女	76	血管性痴呆, 脑梗, 糖尿病	20	1.133333
32	男	70	混合性痴呆, 脑出血后遗症	18	1.166667
33	男	79	脑萎缩, 老年性痴呆	9	1.233333

编号	性别	年龄	既往病史	MMSE	尿中甲醛浓度 (mM)
34	女	60	老年性痴呆, 脑梗, 美尼尔综合症	0	1.333333
35	男	64	脑萎缩, 老年性痴呆	0	1.366667
36	男	64	老年性痴呆, 脑梗	0	1.4
37	女	82	血管性痴呆, 脑梗	14	1.433333
38	男	88	血管性痴呆, 脑梗, 脑萎缩	0	1.533333
39	女	86	脑梗, 抑郁	12	1.6
40	女	70	脑萎缩, 脑梗, 老年性痴呆	0	1.666667
41	男	81	血管性痴呆, 脑梗	0	1.7
42	男	65	高血压	6	3.3
43	男	80	脑梗塞, 血管性痴呆	10	3.4
44	女	76	无	13	3.433333
45	女	74	痴呆	8	3.466667
46	女	77	多发性脑梗, 脑萎缩	7	3.566667
47	女	72	脑梗	13	3.633333
48	男	71	脑萎缩	0	0.766667
49	男	71	老年性痴呆, 脑梗	0	1.466667
50	男	57	高血压, 脑卒中, 糖尿病	13	1.9
51	女	75	无	22	1.933333

编号	性别	年龄	既往病史	MMSE	尿中甲醛浓度 (mM)
52	女	90	无	12	1.966667
53	女	82	糖尿病, 冠心病	20	2
54	女	84	脑梗	6	2.033333
55	女	73	脑血栓, 心梗, 高血压	4	2.066667
56	男	67	脑梗	18	2.1
57	女	76	无	4	2.133333
58	男	71	脑萎缩	15	2.166667
59	男	54	先天大脑发育不全	6	2.2
60	女	73	耳聋	0	2.233333
61	男	71	糖尿病	19	2.266667
62	男	85	无	0	2.3
63	女	76	高血压, 脑供血不足, 脑梗	13	2.333333
64	男	88	脑出血后遗症	6	2.366667
65	女	81	高血压, 冠心病, 脑卒中	13	2.4
66	女	59	抑郁	11	2.433333
67	男	94	老年痴呆	10	2.466667
68	女	71	脑缺血	14	2.5
69	女	38	呆傻, 智力迟	8	2.533333
70	女	88	无	0	2.566667

编号	性别	年龄	既往病史	MMSE	尿中甲醛浓度 (mM)
71	女	91	无	6	2.6
72	男	91	无	15	2.633333
73	男	54	冠心病, 脑卒中	20	2.666667
74	男	61	脑卒中	25	2.7
75	女	85	无	14	2.766667
76	女	106	高血压, 冠心病	11	2.8
77	女	68	无	2	2.833333
78	女	55	脑积水	11	2.866667
79	男	69	冠心病	9	2.9
80	女	91	无	6	2.933333
81	女	80	高血压, 脑萎缩	4	2.966667
82	女	88	无	13	3
83	女	66	高血压, 脑卒中, 糖尿病	13	3.033333
84	男	68	脑卒中	14	3.066667
85	女	80	盲人	15	3.1
86	男	95	无	0	3.133333
87	男	82	无	12	3.166667
88	男	75	高血压	24	3.2
89	男	82	无	23	3.233333

编号	性别	年龄	既往病史	MMSE	尿中甲醛浓度 (mM)
90	女	81	无	0	3.266667
91	男	65	高血压	6	3.3
92	女	83	脑梗,混合性痴呆,高血压	20	3.333333
93	女	79	老年性痴呆,II型糖尿病,高血脂	17	0.833333
94	男	78	高血压,脑梗	16	2.6
95	男	58	高血压,脑卒中	22	1.933333
96	女	76	高血脂,脑梗	19	2.533333
97	男	80	脑出血	20	2.666667
98	男	89	白内障	23	2.966667
99	男	55	高血压,脑出血	19	1.833333
100	女	64	高血压,冠心病	19	2.133333
101	男	83	冠心病	26	2.766667
102	女	84	高血压	20	2.8
103	女	80	高血压,脑梗	20	2.666667
104	男	55	高血压,脑卒中,糖尿病	25	1.833333
105	女	77	高血压40年	23	2.566667
106	男	55	高血压,脑卒中,糖尿病	25	1.833333
107	男	63	无记载	23	2.1

编号	性别	年龄	既往病史	MMSE	尿中甲醛浓度 (mM)
108	女	78	高血压,冠心病	21	2.6
109	男	73	高血压,冠心病	20	2.433333
110	男	71	高血压 10 年	25	2.366667
111	男	72	高血压,脑血栓	23	2.4
112	女	62	小儿麻痹	25	2.066667
113	男	86	冠心病,糖尿病	26	2.866667
114	男	74	高血压	19	2.466667
115	女	55	高血压,脑出血	26	1.833333
116	男	88	高血压	22	2.933333
117	男	66	高血压,脑出血	20	2.2
118	女	77	帕金森	21	2.566667
119	男	60	脑卒中	25	2
120	女	44	精神障碍	29	1.466667
121	男	59	高血压	19	1.966667
122	女	49	小儿麻痹	25	1.633333
123	女	55	脑出血	18	1.833333
124	男	86	高血压	21	2.866667
125	女	44	无	23	1.466667

编号	性别	年龄	既往病史	MMSE	尿中甲醛浓度 (mM)
126	男	86	不详	23	2.866667
127	男	66	小儿麻痹	24	2.2
128	男	72	高血压,脑卒中	23	2.4
129	女	82	肺炎	21	2.733333
130	男	56	高血压,脑卒中,冠心病	26	1.866667
131	女	66	高血压	22	2.2
132	男	74	精神分裂 30 年	23	2.466667
133	男	54	脑卒中,冠心病	19	1.8
134	男	53	脑卒中	22	1.766667
135	男	72	颈椎病	25	2.4
136	男	61	糖尿病	21	2.033333
137	男	64	高血压	18	2.133333
138	女	83	不详	22	2.766667
139	女	82	糖尿病,冠心病	20	2.733333
140	男	53	高血压	23	1.766667
141	男	75	高血压,前列腺肥大 14 年	24	2.5

[0048]

[0049]

[0050]

[0051]

[0052]

[0053] 表 2 对照人群 * 调查情况一览表及尿甲醛浓度测定结果

[0054]

编号	性别	年龄	既往病史	MMSE	尿甲醛浓度 (mM)
1	女	69	无	27	0.064596
2	女	63	无	28	0.076415
3	男	68	无	27	0.198749
4	男	66	高血压	26	0.02448
5	女	60	血压高	27	0.090435
6	男	73	无	23	0.119551
7	女	63	无	27	0.30344
8	男	60	糖尿病	26	0.17951
9	男	64	无	26	0.024954
10	男	71	高血压	25	0.140127
11	女	70	无	27	0.062137
12	女	65	无	28	0.08776
13	男	71	无	28	0.15915
14	女	65	无	27	0.019131
15	女	64	高血压	29	0.083576
16	女	69	高血压	28	-0.00524
17	女	60	血压高	30	0.10165
18	女	71	高血糖, 高血压	24	0.006966

编号	性别	年龄	既往病史	MMSE	尿甲醛浓度 (mM)
19	男	70	无	28	0.697876
20	男	73	高血压	22	-0.01016
21	女	62	脑供血不足	28	0.018441
22	女	65	高血压,糖尿病	27	0.019433
23	女	70	糖尿病	27	0.048118
24	男	67	无	28	0.050879
25	女	75	无	28	0.131371
26	男	72	无	27	0.263626
27	女	67	高血压,轻度中 风	27	0.044538
28	女	66	心脏病	21	0.068306
29	女	73	糖尿病	25	0.003904
30	女	61	无	28	0.177397
31	男	71	高血压	27	0.035048
32	男	73	无	28	0.28308
33	女	72	糖尿病,高血压	14	0.197628
34	女	75	无	28	0.043891
35	男	63	高血压	13	0.1868
36	女	62	无	27	0.08487

编号	性别	年龄	既往病史	MMSE	尿甲醛浓度 (mM)
37	女	62	高血压	28	0.02944
38	男	68	血压高,半身不遂	15	0.082239
39	男	66	无	30	0.032584
40	女	66	无	30	0.166597
41	女	69	无	30	0.119397
42	女	78	记忆力下降	24	0.073779
43	男	66	无	27	0.004422
44	女	60	糖尿病	27	-0.01052
45	男	64	糖尿病,高血压	25	0.139413
46	男	85	无	27	0.037704
47	女	56	无	25	0.06973
48	女	65	无	27	0.371875
49	男	69	高血压	30	0.130429
50	女	77	无	27	0.16292
51	男	66	高血压	30	0.109761
52	女	84	无	30	0.086813
53	女	66	无	27	0.148815
54	女	60	无	28	0.088349

编号	性别	年龄	既往病史	MMSE	尿甲醛浓度 (mM)
55	女	71	糖尿病	24	0.053112
56	女	65	高血压	29	0.050226
57	男	65	无	28	0.127543
58	女	64	无	21	0.045571
59	女	66	高血压	29	0.03267
60	女	72	无	26	2.45E-05
61	女	70	无	23	0.159827
62	女	72	糖尿病, 高血压	25	0.076524
63	女	69	高血压	28	0.062918
64	女	68	高血压	28	0.048871
65	女	65	血压高	29	0.012114
66	女	72	高血压	29	-0.0152
67	男	68	高血压	27	0.201772
68	男	64	糖尿病, 三高	29	0.016714
69	女	70	高血压, 糖尿病, 血栓	30	-0.03928
70	女	66	无	28	-0.01691
71	女	69	无	26	0.196094
72	女	72	高血压	23	0.092773

编号	性别	年龄	既往病史	MMSE	尿甲醛浓度 (mM)
73	女	63	高血压	23	0.337445
74	男	66	无	30	0.105597
75	女	62	无	30	0.048773
76	男	66	糖尿病,脑血栓	27	0.236375
77	女	56	高血压,高血糖	27	0.093214
78	女	80	无	27	0.12214
79	男	58	高血压	23	-0.0128
80	女	68	糖尿病	28	0.088662
81	女	68	糖尿病,高血压	21	0.054646

[0055]

[0056]

[0057]

[0058] *对照人群:包括没有患任何疾病的健康群体和患有的一种或多种除 AD 以外的疾病的非 AD 患者群体。

[0059] 2.4 讨论

[0060] 本发明人的研究结果表明,在 AD 病人的尿液中内源性甲醛浓度与健康人有着明显的不同,那么对临床诊断来讲,这无疑是一个很有实用意义和应用前景的参考指标。在本发明人的研究中,老年痴呆病理切片表明病变是在脑组织中的某些蛋白出现纤维缠结和老年斑等,体外实验结果证明了甲醛在体外可以引起神经系统中存在的一种 tau 蛋白变性形成类似老年痴呆患者中脑组织切片中 tau 蛋白的聚集并形成螺旋纤维缠结,所以,本发明人大胆推测在痴呆患者神经系统中内源性甲醛的浓度可能超出正常人,并且在以后的代谢过程中会有表现。本发明的研究结果证实了这一推测,并且在此基础上本发明人完成了本发明。关于老年痴呆患者尿液中甲醛浓度的异常,本发明人推测这可能是由于甲醛合成酶及降解酶在老年痴呆患者体内失衡造成的。

[0061] AD 病按发病原因分为很多类型:血管性痴呆,单纯老年性痴呆,混合性痴呆及其它(魏红梅,2008)(见图 3b),由图 3 中看到各种类型的 AD 患者的尿甲醛水平与对照相比均有极显著的和显著性差异。为了排除其他疾病的干扰,将伴有高血压或糖尿病的 AD 患者和同时也有相对应疾病的非 AD 患者比较发现(见图 3c),AD 患者的尿甲醛水平与分别患有

这两种相对应疾病的非AD患者比较仍有显著性差异,而从图3d中看出,患有高血压或糖尿病的非AD患者尿甲醛浓度与健康对照相比并没有显著性差异,由此说明尿甲醛浓度的增高至少与老年人常见的高血压和糖尿病没有正相关,即表明尿甲醛浓度的升高将是AD患者尿液中一个特异性的标记物。这为在临床早期诊断老年痴呆上提供对患者无任何伤害的简便易行的参考指标,并为研究治疗痴呆的药物疗效上提供一个评价方法,本研究结果在该研究领域将是一个全新的发现。

[0062] 应该理解,尽管参考其示例性的实施方案,已经对本发明进行具体地显示和描述,但是本领域的普通技术人员应该理解,可以在其中进行各种形式和细节的变化,而不背离由后附的权利要求所定义的本发明的精神和范围。

[0063] 参考文献:

[0064] 1Femke H. Bouwmana(CSF biomarker levels in early and late onset Alzheimer' s disease. *Neurobiology of Aging* 7. 2008).

[0065] 2Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR(" Mini-mental state " .A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12 :189-198. 1975).

[0066] 3Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK(The cholinergic hypothesis of Alzheimer ' s disease :a review of progress. *Journal of Neurology, Neurosurgery&Psychiatry* 66 :137-147. 1999).

[0067] 4Luo W, Li H, Zhang Y, Ang CYW(Determination of formaldehyde in blood plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography B:Biomedical Sciences and Applications* 753 : 253-257. 2001).

[0068] 5McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM(Clinical diagnosis of Alzheimer ' s disease :report of the NINCDS-ADRDA work group. *Neurology* 34 :939-944. 1984).

[0069] 6Simonsen AH, McGuire J, Podust VN, Davies H, Minthon L, Skoog I, Andreasen N, Wallin A, Waldemar G, Blennow K(Identification of a novel panel of cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer' s disease. *Neurobiol Aging* 29 :961-968. 2008).

[0070] 7 施安国 费秋艳 (老年痴呆症药物治疗进展. *药学进展* 24 :338-341. 2000).

[0071] 8 倪琦炜, 陆基宗 (老年痴呆症(阿尔兹海默病)及其药物治疗. *中国保健* 15 : 59-60. 2007).

[0072] 9 魏红梅 (老年痴呆发病机理的研究. *实用预防医学* 15 :621-623. 2008).

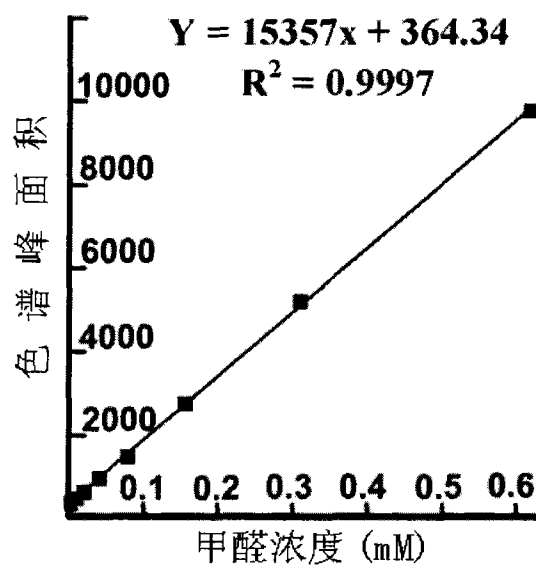
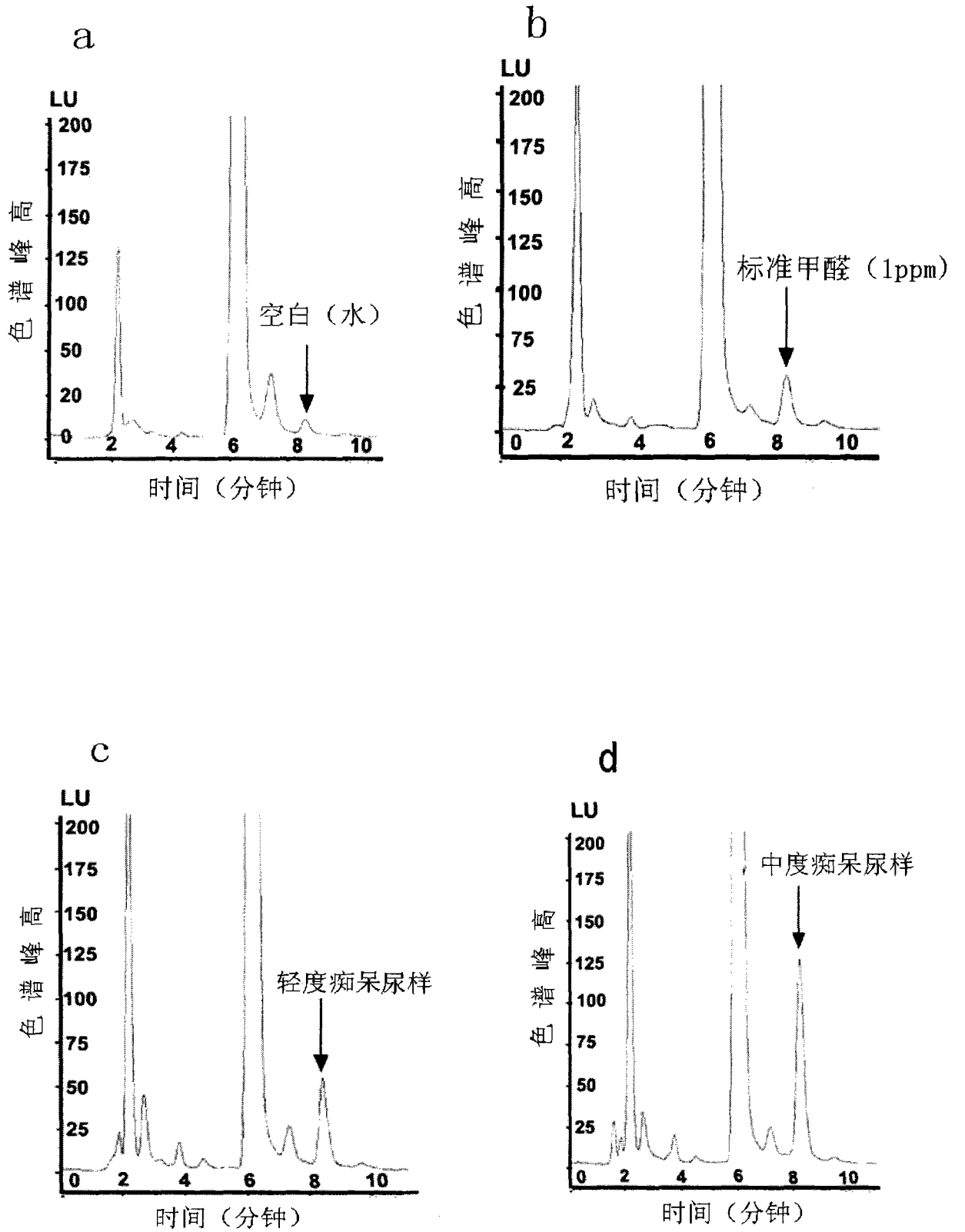


图 1



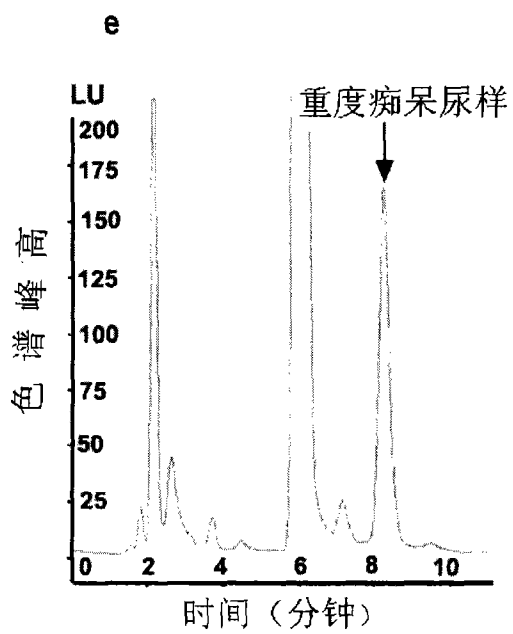
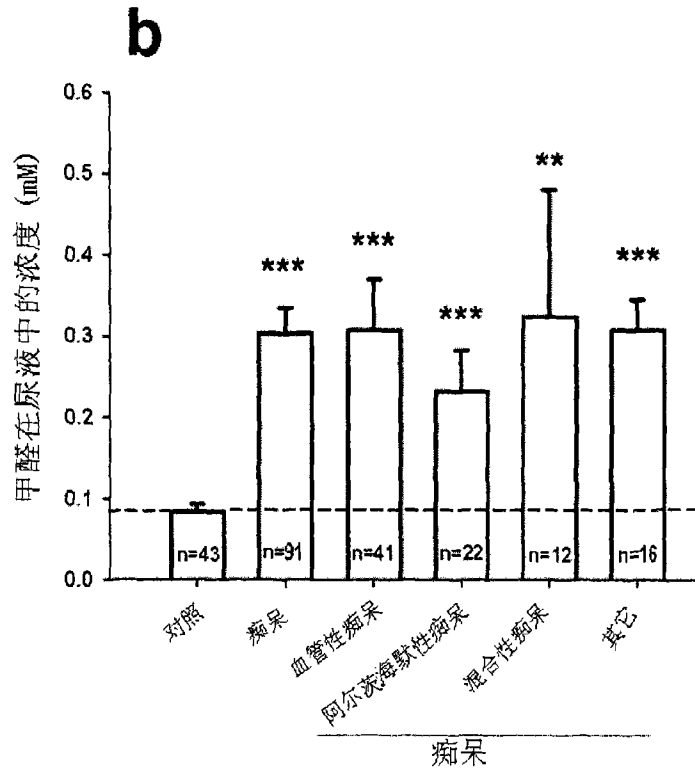
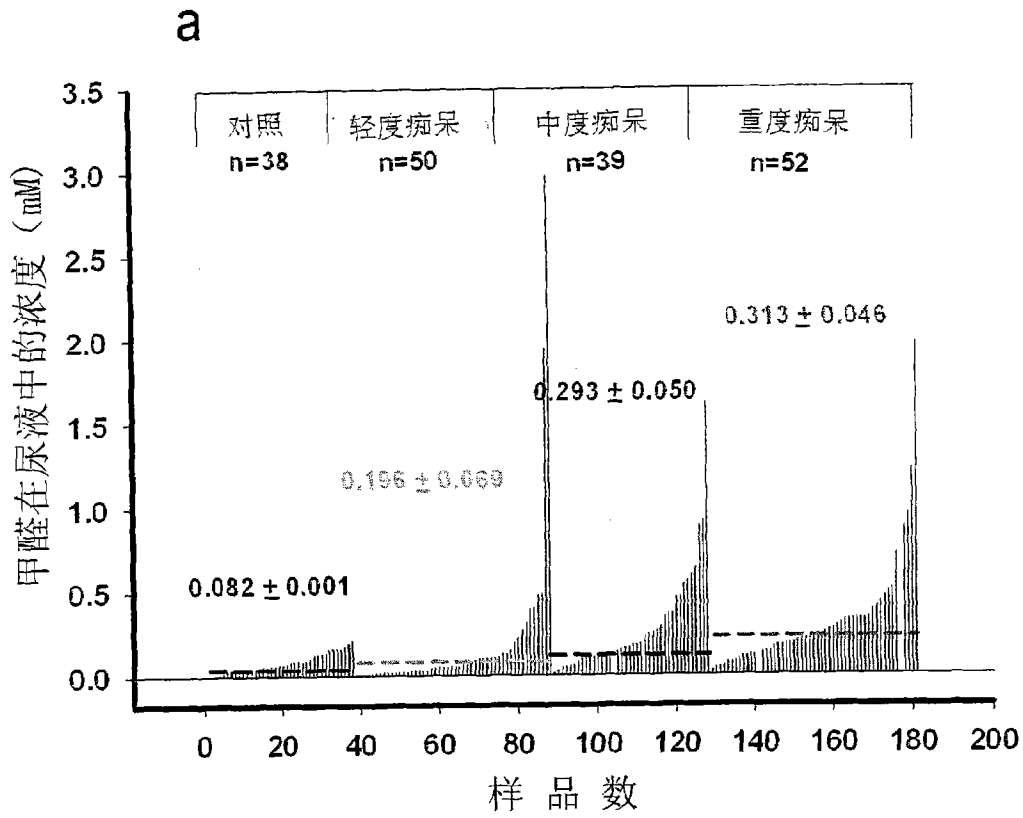


图 2



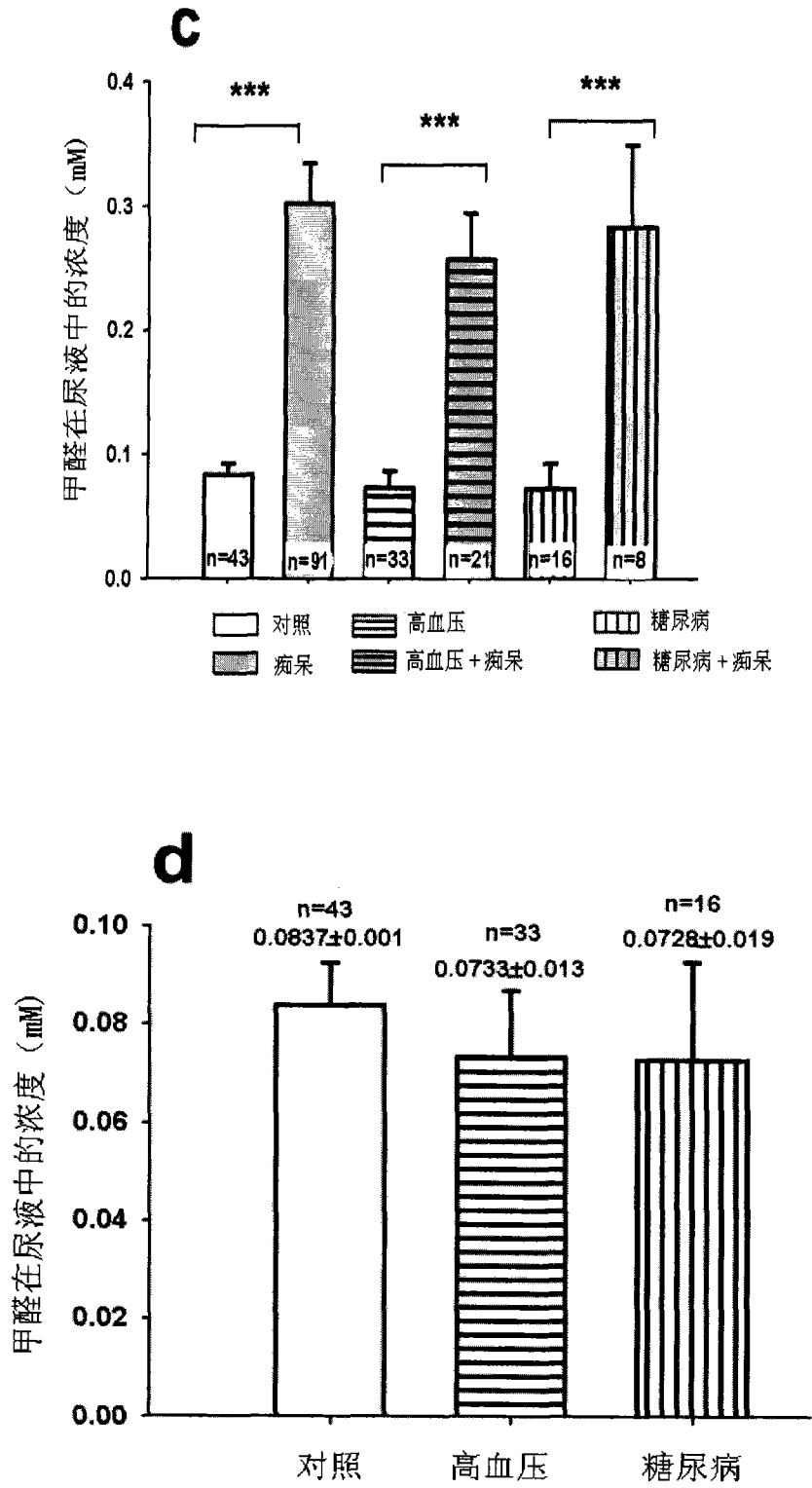


图 3