

# 老年人阿尔茨海默病生物标志物研究进展

檀春玲 王桦 张艳芳

【关键词】阿尔茨海默病;生物标志物;老年人

doi:10.3969/j.issn.1004-5511.2019.03.004

【中图分类号】R592

【文献标识码】A

【文章编号】1004-5511(2019)03-0241-04

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种起病隐匿的进行性发展的神经系统退行性疾病,临床表现为记忆、学习、定向、语言、理解和判断等能力减退,是老年痴呆最为常见的类型,65岁以前发病者,称早老性痴呆,65岁以后发病者称老年性痴呆。AD发病率随年龄增加而增加,随着人口老龄化发展,全球神经退行性疾病人数增加,中国2010年痴呆症总人数为9190万,AD为5690万,主要集中在60岁以上老年人<sup>[1]</sup>,预计中国老年期痴呆患病人数在未来仍继续增长,2030年老年期痴呆患病人数为2010年的2.8倍,85岁以上老年人痴呆的患病人数将达607万<sup>[2]</sup>。AD患者随病情进展,症状逐渐加重,最终失去生活能力,给家庭、社会带来沉重的负担。然而,目前尚不能对阿尔茨海默病进行有效的对因或对症治疗。因此,在社会老龄化发展的背景下,早期诊断及预防AD具有重要意义。

虽然病理诊断为AD的金标准,但随着生物技术的不断发展,诊断标准已发展为临床症状、影像学、生物标志物等综合诊断。目前认为,AD患者从开始有病理改变到出现临床症状是一个连续变化的过程,病理生理改变在临床症状出现的前15~20年就已经开始。2011年美国国家老化研究所和AD协会推荐了新的AD诊断标准,将AD分为临床前阶段、轻度认知障碍阶段(mild cognitive impairment, MCI)和痴呆阶段。临床前阶段是指没有临床表现或临床症状极其轻微但已出现神经病理改变,MCI是指记忆力或其他认知功能进行性减退,不影响日常生活能力,且未达到痴呆的诊断标准。多年来,研究者为了更好地揭示神经变性的机制以及帮助AD的早期诊断,已经进行了大量的探索和试验,寻找可靠的生物标志物可以帮助AD的临床前诊断,为早期预防和治疗提供重要依据。目前对于AD早期诊断的生物标志物研究主要集中在AD的病理改变,包括脑 $\beta$ -

淀粉样蛋白(amyloid  $\beta$ , A $\beta$ )沉积和神经原纤维缠结,涉及脑脊液、血液、唾液等生物标本检测及眼底、神经系统影像学等辅助检查。本文将AD近年的生物标志物研究概况做如下笔谈。

## 1 脑脊液中的生物标志物

脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)和脑组织直接接触,可相对敏感地反映脑组织的病理改变。目前已经广泛研究的脑脊液标志物为A $\beta$ 和tau蛋白,A $\beta$ 由 $\beta$ 淀粉样前体蛋白经酶水解成多肽,最多见的亚型为A $\beta$ 42与A $\beta$ 40,A $\beta$ 42有较强的神经毒性,在神经细胞外异常沉积形成A $\beta$ 斑块,是AD的典型病理表现。tau蛋白为构成神经细胞骨架微管的相关蛋白,其过度磷酸化与神经原纤维缠结、神经退行性改变密切相关,主要通过检测CSF中总tau(T-tau)和磷酸化tau(P-tau)来反映病变。目前,CSF中A $\beta$ 42降低、T-tau和P-tau升高被认为是AD患者痴呆期的特征性表现。研究表明,与认知正常人相比,AD中CSF A $\beta$ 42水平平均下降50%,T-tau增加300%,P-tau增加200%<sup>[3]</sup>,这组生物标志物被认为是AD病理学的核心标志物,并被纳入AD的修订诊断标准。2014年国际工作组(International Working Group, IWG)发表了IWG-2标准,将脑脊液A $\beta$ 和tau、淀粉样蛋白正电子发射型计算机断层显像(positron emission tomography, PET)和AD致病基因携带作为AD的诊断标志物。

生物标志物有效性的个体研究差异很大,全面的荟萃分析的结果证实了三种核心标志物均具有80%~90%的敏感性和特异性<sup>[4]</sup>,联合应用标志物比单独使用准确性更高。Lewczuk等<sup>[5]</sup>以A $\beta$ 42/A $\beta$ 40比值诊断AD的敏感性与特异性分别为93.3%和100%。CSF中A $\beta$ 42联合tau蛋白比单独应用两者诊断AD有更高的敏感性和特异性。Forlenza等<sup>[6]</sup>对比研究了CSF中A $\beta$ 42和tau蛋白的不同的水平及组合的敏感性与特异性,发现结合A $\beta$ 42 < 416.5 pg/mL和A $\beta$ 42/P-tau < 9.5能最有效预测2年内发展为AD的风险。

作者单位:430071 湖北武汉,武汉大学中南医院老年医学科

通信作者:王桦,教授,主任医师,硕士生导师, E-mail: hospwh@sina.com

此外,CSF 中  $A\beta_{42}$ 、T-tau 和 P-tau 含量不仅可作为 AD 痴呆期的诊断标志物,还可用于帮助评估 MCI 向 AD 的转归。Rizzi 等<sup>[7]</sup>发现 CSF 中单独的  $A\beta_{42}$  比单独的 P-tau 或其与  $A\beta_{42}$  的联合作为 MCI 进展至 AD 的预测因子效果更显著,说明淀粉样蛋白病理改变早于 tau 的病理变化,CSF  $A\beta_{42}$  在患者认知正常的早期阶段出现异常,而 tau 在疾病进一步发展的后期阶段增加。

CSF 潜在的生物标志物也在不断发现和探索中,近年还研究的一些 CSF 标志物如:(1)突触丢失,是阿尔茨海默病在神经元死亡和症状发作之前的病理改变,在一项交叉队列荟萃分析中,与正常对照区相比,6 种突触蛋白(Calsyntenin-1, GluR4, Neurexin-2A, Neurexin-3A, Syntaxin-1B, Thy-1)在临床前 AD 降低,提示这些蛋白质可能具有评估疾病进展的临床价值<sup>[8]</sup>;(2)神经丝轻链蛋白(neurofilament protein, NFL),是构成神经细胞轴突中间丝的蛋白质,可反映 AD 患者神经元的轴突破坏,脑脊液 NFL 浓度在 AD 的早期临床阶段增加,AD 和 MCI 患者 CSF 中 NFL 浓度显著升高,且 AD 中更高;(3)几丁质酶-3 样蛋白-1(chitinase-3-like protein-1, CHI3L1 or YKL-40),是活化的小胶质细胞和星形胶质细胞的标志物,研究发现 AD 和 MCI 患者 CSF 中 YKL-40 浓度升高,提示 YKL-40 可作为区分 AD 或 MCI 与正常对照组的特异性标志物;(4)人视锥样蛋白 1(visinin-like protein-1, VILIP-1),是神经元胞质中的钙传感蛋白,研究发现 VILIP-1 水平的下降可以预测全脑、海马区和内嗅区的萎缩率,可为早期症状和临床前 AD 中的神经变性提供有用的 CSF 生物标志物替代物;(5) $\beta$  位点的 APP 裂解酶 1( $\beta$ -site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1, BACE1),是  $A\beta$  生成的限速酶,MCI 患者与 AD 患者或对照组相比 BACE1 水平更高;(6)心脏脂肪酸结合蛋白(heart-type fatty acid-binding protein, HFABP),是心脏中富含的一种新型小胞质蛋白,在心脏以外的组织中也有低浓度表达,因为与 CSF  $A\beta_{42}$  水平有关被认为是潜在的 AD 生物标志物之一;(7)神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE),在脑组织细胞的活性较高,研究发现表明 AD 患者 CSF 中 NSE 明显高于正常对照组,具有作为痴呆症特异性标记物的潜力<sup>[9]</sup>。其他脑脊液标志物还有神经生长因子、神经元五聚蛋白 II、微小 RNA、F2-异前列腺素等。一项对 AD 的 15 种生物标志物的 meta 分析结果显示,除了三种核心标志物,CSF 中 NFL 与 AD 密切相关,新出现的生物标志物 NSE、VILIP-

1、HFABP 和 YKL-40 与 AD 中度相关<sup>[10]</sup>。

CSF 检查费用并不昂贵,被视为可行的诊断 AD 生物标志物来源,除了核心标志物被逐渐认可外,新的标志物敏感性与特异性仍有待研究。然而,脑脊液穿刺取样为有创检查,重复取样受限,我国老年人对其普遍接受程度不高,因此目前多用于临床研究。由于尚缺乏大量科学证据支持 CSF 生物标志物在前驱 AD 的鉴别诊断中的应用,因此 CSF 中生物标志物作为 AD 的临床前阶段的辅助诊断暂未广泛应用。

## 2 外周血中的生物标志物

血液易于获得与检测,是 AD 临床诊断标志物的理想标本,CSF  $A\beta_{42}$  被广泛接受为 AD 的核心生物标志物,因而血浆  $A\beta_{42}$  也引起了研究者的广泛关注。使用超灵敏免疫分析技术发现, $A\beta_{42}$  水平和血浆中  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  的比例与 CSF 中和 PET 测量的脑  $A\beta$  沉积结果相一致,且血浆  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  比例与认知下降的个体进展为 MCI 或痴呆的风险相关。Ovod 等<sup>[11]</sup>使用质谱法发现在 PET 提示  $A\beta$  阳性的个体具有较低水平的血浆  $A\beta_{42}$  和  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ 。除了使用新技术之外,还可以对血浆样品进行化学处理以减少  $A\beta$  的降解并提高血浆  $A\beta$  测量的准确度。全自动血浆免疫测定显示  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  可明显区别 MCI 和 AD 患者。然而,也有研究显示血浆  $A\beta_{42}$ 、 $A\beta_{40}$  与 AD 无明显相关性<sup>[10]</sup>。总体来说,血浆中  $A\beta$  作为标志物的稳定性仍有争议。

除了 CSF 中 tau 生物标志物,血浆 tau 蛋白也显示出临床诊断 AD 潜力。Tau 蛋白可以发生裂解进而释放入外周血中,通过蛋白质组织化学技术手段可以推测出外周血液中 tau 蛋白的浓度。荟萃分析<sup>[10]</sup>显示血浆 T-tau 蛋白和 AD 之间存在关联。纵向研究发现,较高水平的血浆 T-tau 蛋白与认知能力下降和 MCI 风险增加有关<sup>[12]</sup>,但也有研究发现 MCI 受试者和正常对照组之间血浆 T-tau 未见明显差异<sup>[13]</sup>。此外,在 CSF 中可以检测到多种其他 tau 蛋白肽片段,有些可能具有作为 AD 生物标志物的潜力。研究发现<sup>[14]</sup>,与对照组相比,AD 患者中有多种不同的磷酸化 tau 蛋白上调,而非磷酸化 tau 蛋白也具有作为诊断生物标志物的潜力。这些初步研究可能会引申对新型 tau 蛋白生物标志物的进一步研究,并对 tau 蛋白定向疗法的开发尤有助益。

除了与 AD 密切相关的  $A\beta$ 、tau 蛋白之外,其他血浆候选的生物标志物仍在不断被发现,主要包括各种炎症因子、血浆脂蛋白、血脂、尿酸等。在对 40 项

血液标志物研究和 14 项 CSF 标志物研究的荟萃分析<sup>[15]</sup>中,AD 患者相对于对照组,外周血中 IL-6、IL-12、IL-18、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和转化生长因子(TGF)- $\beta$  水平较高。在另一项对 175 项血液标志物研究的荟萃分析<sup>[16]</sup>中,AD 患者相对于对照组,血 IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-6、IL-18、干扰素- $\gamma$ 、同型半胱氨酸、高敏 C 反应蛋白、CXC 基序趋化因子-10、表皮生长因子、血管细胞粘附分子-1、TNF- $\alpha$  转换酶升高,而 TNF 受体 1 和 2、 $\alpha$ 1-抗胰凝乳蛋白酶、IL-1 受体拮抗剂和瘦素偏低。Rui 等<sup>[17]</sup>发现与健康对照组相比,AD 和 VaD 患者的血浆胱抑素 C(cystatinC, Cys C)水平较高,但 HDL 水平较低,血浆 Cys C 和 HDL 水平可能是 AD 或 VaD 患者的有用筛查标志物。荟萃分析发现血清尿酸水平与阿尔茨海默病之间存在负相关,高血清尿酸水平是阿尔茨海默病的保护因素<sup>[18]</sup>。这些新发现的血浆标志物尚待更多研究去检验其特异性和敏感性。

### 3 唾液中的生物标志物

唾液测试是非侵入性的,标本简便易取。最近的研究证明检测唾液  $\beta$  淀粉样蛋白水平可区分 AD 患者与正常对照组。Bermejo-Pareja 等<sup>[19]</sup>分析了来自 AD 患者和年龄性别匹配的对照组共 126 份唾液样本,发现轻度至中度 AD 患者的 A $\beta$ 42 水平显著升高,提示唾液 A $\beta$ 42 水平可作为 AD 的潜在外周标志物。Sabagh 等<sup>[20]</sup>证明发现 AD 患者分泌的 A $\beta$ 42 水平均超过对照组的两倍,提示唾液 A $\beta$ 42 水平可用于诊断 AD 以及预测其未来发病的风险,而且可作为早期阶段诊断 AD 的辅助手段。

### 4 尿液中的生物标志物

AD 相关神经元线蛋白(Alzheimer-associated neuronal thread protein, AD7c-NTP)是存在于神经元轴突的一种脑蛋白,组织学显示大多数 AD 患者与对照组在额叶和颞叶组织中 AD7c-NTP 蛋白的量存在显著差异。研究发现 AD 患者尿 AD7c-NTP 明显高于非 AD 组,且荟萃分析提示尿 AD7c-NTP 是诊断可能 AD 的敏感和特异性检测方法<sup>[21]</sup>。此外,MCI 患者的尿 AD7c-NTP 水平高于健康人,并且介于 AD 患者于正常对照区之间,这表明尿 AD7c-NTP 水平可能是早期诊断 MCI 的重要生物标志物<sup>[22]</sup>。Yoshid 等发现尿液中 3-羟丙基巯基尿酸(3-hydroxypropyl mercapturic acid, 3-HPMA)与肌酐(creatinine, Cre)的比值可协助诊断 AD,尿液中 3-HPMA / Cre 的减少与

AD 患者血浆中 A $\beta$ 40/ A $\beta$ 42 的增加密切相关,AD 患者 3-HPMA/Cre 明显低于健康对照组,而 MCI 患者 3-HPMA/Cre 介于两组之间<sup>[23]</sup>。尿液检测也有望寻找潜在的生物标志物。

### 5 眼部的生物标志物

光学相干断层扫描技术(Optical Coherence tomography, OCT)是近十年迅速发展起来的一种成像技术。最近的研究发现,视网膜结构可能作为痴呆症的生物标志物。痴呆中的神经变性主要通过脑萎缩来评估,而视网膜神经变性可使用 OCT 检测,主要为视网膜神经纤维层(retinal nerve fibre layer, RNFL)和神经节细胞-内丛状层(ganglion cell-inner plexiform layer, GC-IPL)的厚度。荷兰一项五千多人的研究发现<sup>[24]</sup>,RNFL 与痴呆风险增加有关,包括阿尔茨海默病,提示视网膜神经变性可能成为痴呆的临床前生物标志物。不仅 MCI 患者和对照组之间存在显著差异,而且 MCI 患者和其他两组 AD 组(中度和重度 AD)的 RNFL 厚度也存在显著差异<sup>[25]</sup>。最近对 11 项 AD 患者的 OCT 研究的荟萃分析发现,AD 患者平均 RNFL 和黄斑周围的所有 4 个视网膜象限均显著减少<sup>[26]</sup>,在其中三项含有 MCI 患者的研究中,与对照组相比,发现 RNFL 厚度减少。Ong 等<sup>[27]</sup>报道了在老年人群(> 60 岁)中使用 OCT 和 MRI 扫描,他们发现 GC-IPL 厚度变薄反映的视网膜神经元损伤与枕叶和颞叶中的灰质损失独立相关,这表明视网膜中的神经元损伤可能与 AD 患者神经变性是同步的。

与大脑相似,视网膜具有高度隔离和保护的脉管系统。由于 AD 患者脑中存在血管变化,因此可能在 AD 视网膜中发现类似的变化。在一项研究中 Berisha 等<sup>[28]</sup>发现 AD 患者视网膜静脉直径减小而血流量下降。Cheung 等<sup>[29]</sup>发现 AD 患者的视网膜小静脉结构较复杂,直径较小,较稀疏、曲折,重要的是,MCI 患者的血流介于 AD 患者和对照组之间,这表明视网膜血流量可用于监测疾病进展。视网膜血氧测定用于检测眼代谢的变化,在 AD 也有异常的变化,研究发现 AD 患者的小动脉和小静脉视网膜氧饱和度较正常者高<sup>[30]</sup>。可见,眼部的标志物主要集中在视网膜及血管的变化。

综上所述,AD 的生物标志物是目前 AD 研究的热点,生物标志物在 AD,特别是早期的诊断中具有一定临床意义。目前 CSF A $\beta$  和 tau 蛋白、淀粉样蛋白正电子发射型计算机断层显像和 AD 致病基因携带被列入为 AD 的诊断标志物中。有效的生物标志物需要良好

的敏感性特异性,能够帮助临床诊断,指导治疗,或判断疾病的发展及预后。同时,用于检测标志物的标本以无创、经济、简便易取、重复取用为宜,除了已经广泛研究的核心标志物,血液、尿液、唾液、视网膜等潜在标志物正不断的开发,有望提高患者早期诊断的准确性。

## 参考文献

- Chan K Y, Wang W, Wu J J, et al. Epidemiology of Alzheimer's disease and other forms of dementia in China, 1990 ~ 2010; a systematic review and analysis[J]. *Lancet*, 2013, 381(9882):2016-2023.
- 李昂,殷淑琴,徐勇,等. 2010 ~ 2030 年中国老年期痴呆的预测[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(13):3708-3711.
- Burger H, Teipel K, Bokde S J, et al. Core candidate neurochemical and imaging biomarkers of Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2008, 4(1):38-48.
- Blennow K, Hampel H, Weiner M, et al. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease[J]. *Nat Rev Neurol*, 2010, 6(3):131-144.
- Lewczuk P, Lelental N, Spitzer P, et al. Amyloid - $\beta$ 42/40 cerebrospinal fluid concentration ratio in the diagnostics of Alzheimer's disease: validation of two assays[J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 43(1):183-191.
- Forlenza OV, Radanovic M, Talib LL, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease: Diagnostic accuracy and prediction of dementia[J]. *Alzheimers Dement (Amst)*, 2015, 1(4):455-463.
- Rizzi L, Missiaggia L, Roriz - Cruz M. CSF A $\beta$ 1 - 42, but not p - Tau181, Predicted Progression from Amnesic MCI to Alzheimer's Disease Dementia[J]. *Neuro Molecular Med*, 2018, 20(4):491-497.
- Lleó A, Núñez - Llaves R, Alcolea D, et al. Changes in Synaptic Proteins Precede Neurodegeneration Markers in Preclinical Alzheimer's Disease Cerebrospinal Fluid[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2019, 18(3):546-560.
- Molinuevo, José Luis, Ayton S, et al. Current state of Alzheimer's fluid biomarkers[J]. *Acta Neuropathologica*, 2018, 136(6):821-853.
- 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):673-674.
- Ovod V, Ramsey KN, Mawuenyega KG, et al. Amyloid  $\beta$  concentrations and stable isotope labeling kinetics of human plasma specific to central nervous system amyloidosis[J]. *Alzheimers Dement*, 2017, 13(8):841-849.
- Mattsson N, Zetterberg H, Janelidze S, et al. Plasma tau in Alzheimer disease[J]. *Neurology*, 2016, 87(17):1827-1835.
- Dage J L, Wennberg AMV, Airey DC, et al. Levels of tau protein in plasma are associated with neurodegeneration and cognitive function in a population - based elderly cohort [J]. *Alzheimers Dement*, 2016, 12(12):1226-1234.
- Lewczuk P, Lelental N, Lachmann I, et al. Non - Phosphorylated Tau as a Potential Biomaker of Alzheimer's Disease: Analytical and Diagnostic Characterization[J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 55(1):159-170.
- Swardfager W, Krista Lancôt, Rothenburg L, et al. A Meta - Analysis of Cytokines in Alzheimer's Disease [J]. *Biol Psychiatry*, 2010, 68(10):930-941.
- Lai K S P, Liu C S, Rau A, et al. Peripheral inflammatory markers in Alzheimer's disease: a systematic review and meta - analysis of 175 studies[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2017, 88(10):876-882.
- Rui W, Zhaoyu C, Yongmei F, et al. Plasma Cystatin C and High - Density Lipoprotein Are Important Biomarkers of Alzheimer's Disease and Vascular Dementia: A Cross - Sectional Study [J]. *Front Aging Neurosci*, 2017, 9:26.
- Du N, Xu D, Hou X, et al. Inverse Association Between Serum Uric Acid Levels and Alzheimer's Disease Risk [J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(4):2594-2599.
- Bermejo - Pareja F, Antequera D, Vargas T, et al. Saliva levels of Abeta1 - 42 as potential biomarker of Alzheimer's disease: a pilot study[J]. *BMC Neurol*, 2010, 10(1):1-7.
- Sabbagh M N, Shi J, Lee M, et al. Salivary beta amyloid protein levels are detectable and differentiate patients with Alzheimer's disease dementia from normal controls: preliminary findings [J]. *BMC Neurol*, 2018, 18(1):155.
- Zhang J, Zhang C H, Li R J, et al. Accuracy of Urinary AD7c - NTP for Diagnosing Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta - Analysis [J]. *J Alzheimers Dis*, 2014, 40(1):153 - 159.
- Ma L, Chen J, Wang R, et al. The level of Alzheimer - associated neuronal thread protein in urine may be an important biomarker of mild cognitive impairment [J]. *J Clin Neurosci*, 2015, 22(4):649-652.
- Yoshid M, Higashi K, Kuni K, et al. Distinguishing mild cognitive impairment from Alzheimer's disease with acrolein metabolites and creatinine in urine [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 441:115-121.
- Unal M, Colijn J M, Arfan I M, et al. Association of Retinal Neurodegeneration on Optical Coherence Tomography with Dementia: A Population - Based Study [J]. *JAMA Neurology*, 2018, 75(10):1256-1263.
- Liu D, Zhang L, Li Z, et al. Thinner changes of the retinal nerve fiber layer in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease [J]. *BMC Neurol*, 2015, 15(1):14.
- Coppola G, Renzo AD, Ziccardi L, et al. Optical Coherence Tomography in Alzheimer's Disease: A Meta - Analysis [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8):e0134750.
- Ong Y T, Hilal S, Cheung C Y, et al. Retinal neurodegeneration on optical coherence tomography and cerebral atrophy [J]. *Neurosci Lett*, 2015, 584:12-16.
- Berisha F, Fekete G T, Trempe C L, et al. Retinal Abnormalities in Early Alzheimer's disease [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48(5):2285-2289.
- Cheung Y L, Ong Y T, Ikram M K, et al. Microvascular network alterations in the retina of patients with Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Dement*, 2014, 10(2):135-142.
- Einarsdottir A B, Hardarson S H, Kristjansdottir J V, et al. Retinal Oximetry Imaging in Alzheimer's Disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 49(1):79-83.