

孤独症谱系障碍患儿血清 NFL、t-tau 表达水平及临床意义

潘 萌,周 德

(黄冈市中心医院儿童保健科,湖北 黄冈 438000)

[摘 要]目的 探讨孤独症谱系障碍(ASD)患儿血清神经丝蛋白轻链(NFL)、tau 蛋白(t-tau)表达水平及临床意义。方法 选取 2021 年 5 月至 2023 年 1 月期间我院门诊初次诊断为 ASD 的 78 例患儿作为研究对象(ASD 组),根据儿童期孤独症评定量表(CARS)评分结果将分为轻中度组(n=51)和重度组(n=27)。另选同期来我院进行健康检查的 120 例健康儿童作为健康组。对比组间血清 NFL、t-tau 水平差异;采用 Pearson 相关分析探讨血清 NFL、t-tau 与 CARS 评分的关系;采用受试者工作特性(ROC)曲线评估血清 NFL、t-tau 对 ASD 发生的预测价值。**结果** ASD 组患儿基本资料与健康组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。ASD 组患儿血清 NFL、t-tau 水平均明显高于健康组(t 值分别为 46.795 和 76.669,均 $P<0.05$)。重度组患儿血清 NFL、水平均明显高于轻中度组(t 值分别为 11.753 和 30.382,均 $P<0.05$)。Pearson 相关分析结果显示,ASD 患儿血清 NFL、t-tau 水平与 CARS 评分均呈正相关(r 值分别为 0.503 和 0.442,均 $P<0.05$)。ROC 曲线结果显示,血清 NFL、t-tau 预测 ASD 发病的曲线下面积(AUC)(95%CI)分别为 0.752(0.701~0.803)、0.837(0.786~0.888),截断值分别为 18.74pg/mL、516.71ng/L,特异度分别为 55.27%、66.14%,灵敏度为 91.24%、91.24%;两者联合预测的 AUC(95%CI)为 0.905(0.854~0.956),特异度为 87.31%,灵敏度为 86.05%。**结论** 血清 NFL、t-tau 水平在 ASD 患儿中表达上调,且与病情严重程度密切相关,有望作为预测 ASD 发生的潜在血清标记物。

[关键词]孤独症谱系障碍;儿童;神经丝蛋白轻链;tau 蛋白;病情严重程度

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2024.01.013

[中图分类号]R179 **[文献标识码]**A **[文章编号]**1673-5293(2024)01-0081-05

Serum NFL and t-tau expression levels and clinical significance in children with autism spectrum disorder

PAN Meng,ZHOU De

(Department of Child Health,Huanggang Central Hospital,Hubei Huanggang 438000,China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression levels and clinical significance of serum neurofilament light chain (NFL) and tau protein (t-tau) in children with autism spectrum disorder (ASD). **Methods** A total of 78 children who were first diagnosed with ASD in the outpatient clinic of our hospital between May 2021 and January 2023 were selected as the study subjects (ASD group), and were divided into the mild-moderate group (n=51) and the severe group (n=27) according to the scores of the Childhood Autism Rating Scale (CARS). Another 120 healthy children who came to our hospital for health examination during the same period were selected as the healthy group. The differences in serum NFL and t-tau levels were compared between the groups; Pearson correlation analysis was used to explore the relationship between serum NFL, t-tau and CARS scores; and the predictive value of serum NFL and t-tau on the occurrence of ASD was assessed using the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The difference in basic characteristics between the children in the ASD group and the healthy group were not statistically significant ($P>0.05$). The serum NFL and t-tau levels of children in the ASD group were significantly higher than those in the healthy group ($t=46.795$ and 76.669 , respectively, $P<0.05$). The serum NFL, levels of children in the severe group were significantly higher than those in the mild-moderate group ($t=11.753$ and 30.382 , respectively, $P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that the serum NFL, t-tau levels of children with ASD were positively correlated with the CARS scores ($r=0.503$ and 0.442 , respectively, $P<0.05$). The results of the ROC curves showed that the area under curve (AUC) (95%CI) of serum NFL and t-tau in predicting the onset of ASD were 0.752 (0.701-0.803) and 0.837 (0.786-0.888), with cut-off values of 18.74 pg/mL and 516.71 ng/L, respectively, and specificity of 55.27% and 66.14%, respectively, and sensitivity of 91.24% for both; the AUC (95%CI) for the combined prediction of the two was 0.905 (0.854-0.956), with specificity of 87.31% and sensitivity of 86.05%. **Conclusion** Serum NFL and t-tau levels were up-regulated in expression in children with ASD and closely correlated with the severity of the disease.

[收稿日期]2023-04-25

[作者简介]潘 萌(1986—),女,主治医师,硕士研究生,主要从事儿童保健、儿童康复、孤独症谱系障碍、生长发育的临床研究。

[通讯作者]周 德,主任医师。

which is expected to be used as potential serum markers to predict the occurrence of ASD.

[Key words] autism spectrum disorders; children; neurofilament protein light chain; tau protein; severity of condition

孤独症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD)简称自闭症或孤独症,是一种与神经系统发育异常有关的精神系统疾病,多起病于婴幼儿时期。2020年美国一项纳入11个监测站点的大型研究显示,各州儿童的ASD患病率在2.76%~4.49%,其中有三分之一被归类为智力障碍,成年后生活自理能力明显不足,给家庭及社会造成了严重的负担^[1]。迄今为止临床尚未有根治ASD的有效手段,其治疗原则是以教育干预为主,药物治疗为辅,大部分患儿预后欠佳^[2]。近年来,随着对ASD发病机制的深入研究,部分血清标记物可为临床医师早期诊断ASD提供参考依据,已成为现阶段临床研究的热点。神经丝蛋白轻链(neurofilament light chain, NFL)是神经微丝的一种亚型,其血清含量增加与神经轴突损害密切相关^[3]。国外相关研究已证实,血清NFL可为诊断ASD的潜在生物标志物^[4]。tau蛋白(total tau, t-tau)是一种与微管形成有关的蛋白,在维持神经元的稳定和极性中发挥重要的作用。相关研究发现,t-tau参与多种神经系统退行性疾病的病情进展过程^[5]。然而现阶段国内少有研究报道血清NFL、t-tau与ASD之间的关系。基于此,本研究主要探讨ASD患儿血清NFL、t-tau表达水平及临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象及分组

选取2021年5月至2023年1月期间我院门诊收治的78例ASD患儿作为本次研究对象。纳入标准:①首次诊断符合ASD的相关诊断标准^[6];②年龄为2~14岁;③儿童期孤独症评定量表(childhood autism rating scale, CARS)评分 ≥ 30 分。排除标准:①合并先天性疾病、染色体异常疾病者;②合并强迫症、注意缺陷多动障碍、选择性缄默症等其他神经发育障碍性疾病者;③免疫系统或血液系统功能障碍者;④合并肝、心、肺等重要脏器功能不全者。另选同期来我院进行健康检查的2~14岁健康儿童120例纳入健康组。本研究获本院伦理委员会审批,所有研究对象的监护人均知情同意自愿参与研究。

1.2 血清NFL、t-tau水平检测

入院第2天清晨采集ASD患儿的空腹静脉血标本4mL,经离心机加速离心后(转速:3 500r/min,时间:15min,离心半径:10cm),留取上层血清液体,采用酶联免疫吸附法检测两组患儿血清NFL、t-tau水平。NFL试剂盒购于杭州齐誉生物科技有限公司,t-tau试剂盒购于上海科翰盛生物科技有限公司,具体检测流程严格按照使用说明书进行。

1.3 病情严重程度

采用CARS^[6]评估ASD患儿的病情严重程度,量表包括情绪反应、对变化的适应、言语交流、视觉反应、听觉反应等15个项目,采用1~4级计分法,总计15~60分。CARS评分30~36分为轻中度组($n=51$);CARS评分 ≥ 37 分为重度组($n=27$)。

1.4 统计学分析

所有数据用SPSS 24.0统计软件分析,符合正态分布的计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料用例数(n)和百分比(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用Pearson相关分析探讨血清NFL、t-tau与CARS评分的关系;采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评估血清NFL、t-tau对ASD发生的预测价值。双侧检验水准为 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

ASD组患儿年龄、性别、生产方式、是否足月生产和出生体重与健康组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

2.2 两组血清NFL、t-tau水平比较

ASD组患儿血清NFL、t-tau水平均高于健康组,差异有统计学意义($P<0.001$)。见表2。

2.2 不同病情严重程度的ASD患儿血清NFL、t-tau水平比较

重度组患儿血清NFL、t-tau水平均高于轻中度组,差异有统计学意义($P<0.001$)。见表3。

表 1 两组基本资料比较 [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

Table 1 Comparison of basic information between the two groups [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

变量	ASD 组 (n=78)	健康组 (n=120)	t/χ^2	P
年龄(岁)	6.51±1.48	6.46±1.43	0.237	0.813
性别			2.671	0.102
男	61(78.21)	81(67.50)		
女	17(21.79)	39(32.50)		
生产方式			0.590	0.442
顺产	44(56.41)	61(50.83)		
剖宫产	34(43.59)	59(49.17)		
足月生产			0.197	0.658
是	74(94.87)	112(93.33)		
否	4(5.13)	8(6.67)		
出生体重(kg)	3.05±0.63	3.12±0.68	0.728	0.467

表 2 两组血清 NFL、t-tau 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum NFL and t-tau levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

检测指标	ASD 组 (n=78)	健康组 (n=120)	t	P
NFL(pg/mL)	29.04±4.32	8.43±1.74	46.795	<0.001
t-tau(ng/L)	682.25±36.04	351.16±24.73	76.669	<0.001

表 3 不同病情严重程度的 ASD 患儿

血清 NFL、t-tau 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum NFL and t-tau levels in children with ASD of different disease severity ($\bar{x} \pm s$)

检测指标	轻中度组 (n=51)	重度组 (n=27)	t	P
NFL(pg/mL)	24.58±4.11	37.46±5.43	11.753	<0.001
t-tau(ng/L)	593.37±31.43	850.13±42.26	30.382	<0.001

表 5 血清 NFL、t-tau 对 ASD 发生的预测价值

Table 5 Predictive value of serum NFL and t-tau for ASD occurrence

检测指标	AUC	95%CI	截断值	特异度(%)	灵敏度(%)
NFL	0.752	0.701~0.803	18.74pg/mL	55.27	91.24
t-tau	0.837	0.786~0.888	516.71ng/L	66.14	91.24
NFL+t-tau	0.905	0.854~0.956	—	87.31	86.05

3 讨论

ASD 是一种神经发育障碍性疾病,发病机制尚无统一论定,大部分学者认为是遗传、环境等因素之

2.3 ASD 患儿血清 NFL、t-tau 水平与 CARS 评分的关系

Pearson 相关分析显示,ASD 患儿血清 NFL、t-tau 水平与 CARS 评分均呈正相关($P<0.001$)。见表 4。

表 4 ASD 患儿血清 NFL、t-tau 水平与 CARS 评分的关系

Table 4 Relationship between serum NFL and t-tau levels and CARS scores in children with ASD

检测指标	CARS 评分	
	r	P
NFL(pg/mL)	0.503	<0.001
t-tau(ng/L)	0.442	<0.001

2.4 血清 NFL、t-tau 对 ASD 发生的预测价值

联合指标预测灵敏度稍弱与单一指标预测,而特异度明显高于单一预测指标。曲线下面积(area under the curve,AUC)显示,血清 NFL、t-tau 联合预测 ASD 发病效果优于单独预测效果。见图 1、表 5。

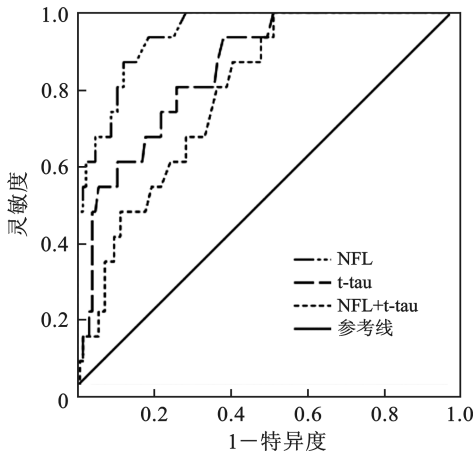


图 1 血清 NFL、t-tau 预测 ASD 发生的 ROC 曲线

Fig.1 ROC curves of serum NFL,t-tau in predicting ASD occurrence

间的相互作用所致,主要表现为社交沟通障碍、兴趣狭窄、刻板重复行为等症状^[7]。据流行病学调查结果显示,全球范围内 ASD 的发病率为 1%~2%,且每年的新增病例数呈现不断增加的趋势,而我国患

有精神系统疾病的 6 岁以下儿童大约有 11.1 万人,其中 ASD 儿童占 36.9%,已成为影响我国儿童精神健康的重要原因之一^[8]。目前临床上主要通过病史采集、神经精神评估来诊断 ASD,诊断准确率高,但是存在操作繁琐、主观性强、特异度低等局限性^[9]。因此,寻找合适的血清标记物用于预测 ASD 是现阶段临床研究的热点。

3.1 血清 NFL 水平与 ASD 的关系

NFL 作为神经纤维的组成成分之一,主要存在于神经元胞质中,可参与神经元细胞的骨架形成、轴浆运输、神经信号的转导等过程^[10]。凌芳等^[11]研究结果显示,血清 NFL 水平在帕金森综合征中升高,且与精神缺损程度及认知功能障碍严重程度有关。另一项研究表明,阿尔茨海默病患者血清 NFL 水平上调,可作为预测阿尔茨海默病早期的外周血生物标志物^[12]。本研究发现,ASD 组患儿血清 NFL 水平高于健康组,重度组患儿血清 NFL 水平高于轻中度组,且 ASD 患儿血清 NFL 水平与 CARS 评分均呈正相关。提示血清 NFL 水平在 ASD 患儿中表达上调,且与病情严重程度密切相关。ASD 发病与神经网络连接异常有关,既往研究已证实 ASD 患儿存在不同程度的神经退行性变和神经炎症^[13]。正常情况下,脑脊液及血清中 NFL 含量维持在较低水平,而 ASD 发病后神经轴突发生损伤,可导致脑脊液中 NFL 含量增加,并且可透过受损的血-脑屏障进入血液循环中。故 ASD 患儿血清 NFL 水平明显升高,而随着血清 NFL 水平持续上调,轴突形态明显发生改变,可导致神经纤维的传导功能发生异常,继而加重神经元损害^[14]。因此认为 NFL 可能通过影响神经元的功能参与 ASD 发病过程。

3.2 血清 t-tau 水平与 ASD 的关系

t-tau 是微管相关蛋白家族的重要成员之一,在大脑的神经轴突、海马体等中均有分布,其 C 末端和 N 末端结构分别与轴突微管、神经质膜组分相结合,可参与微管形成、轴突生长,并维持神经元的稳定和极性^[15]。Tai 等^[16]构建了模拟自闭症的小鼠模型发现,去除 tau 基因可抑制磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶点 (PI3K/Akt/mTOR) 信号通路的激活,可预防自闭症的行为迹象。Ayaydin 等^[17]研究结果显示,ASD 患儿血清

t-tau 水平明显高于健康儿童,可作为一个诊断 ASD 的重要生物标志物。本研究发现,ASD 组患儿血清 t-tau 水平高于健康组,重度组患儿血清 t-tau 水平高于轻中度组,且 ASD 患儿血清 t-tau 水平与 CARS 评分均呈正相关。提示血清 t-tau 水平在 ASD 患儿中呈高表达,且与病情严重程度密切相关。在病理状态下,t-tau 在微管上的稳定性明显降低,异常磷酸化后其生理功能发生明显改变,进而导致微管系统平衡紊乱,微管解聚异常;同时 t-tau 异常磷酸化后聚集于神经元内,可导致轴突运输受损、突触通信失调、神经退行性变^[18]。ASD 的发病机制中存在突触和髓鞘功能障碍,而 t-tau 是调节髓鞘形成、突触形成及神经元形成的重要因子^[19]。因此,可推测 t-tau 与 ASD 患儿的病情进展有关。

3.3 血清 NFL、t-tau 预测 ASD 发生的效能

ROC 曲线结果显示,血清 NFL、t-tau 预测 ASD 发生的 AUC 分别为 0.752、0.837,特异度分别为 55.27%、66.14%,两者联合预测 AUC 为 0.905,特异度为 87.31%,提示血清 NFL、t-tau 可作为预测 ASD 发生的潜在血清标记物,且两者联合预测的效能高于单项指标预测。因此,可通过监测血清 NFL、t-tau 水平变化情况来辅助评估儿童发生 ASD 的风险,为临床诊疗工作的开展提供参考。

综上所述,血清 NFL、t-tau 水平在 ASD 患儿中表达上调,且与病情严重程度密切相关,可作为预测 ASD 发生的潜在血清标记物。然而本研究为小样本单中心研究,样本来源代表性稍弱,未来可增加纳入样本例数,开展多中心研究,进一步探讨分析血清 NFL、t-tau 水平变化与 ASD 患儿临床结局的关系。

[参考文献]

- [1]Maenner M J, Warren Z, Williams A R, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years-autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2020[J]. MMWR Surveill Summ, 2023, 72(2): 1-14.
- [2]Kodak T, Bergmann S. Autism spectrum disorder: characteristics, associated behaviors, and early intervention[J]. Pediatr Clin North Am, 2020, 67(3): 525-535.
- [3]秦媛媛, 章智. 帕金森病患者脑脊液及血清神经丝轻链水平及意义研究[J]. 华南国防医学杂志, 2021, 35(9): 647-

650.

[4]Simone M,De Giacomo A,Palumbi R,et al.Serum neurofilament light chain and glial fibrillary acidic protein as potential diagnostic biomarkers in autism spectrum disorders:a preliminary study[J].Int J Mol Sci,2023,24(3):3057.

[5]易震,陈晓萍,华蔚,等.帕金森病患者血同型半胱氨酸水平与认知功能、神经损伤、炎症反应的相关性研究[J].临床和实验医学杂志,2019,18(24):2629-2632.

[6]肖婷,肖湘,储康康,等.中文版量化的婴幼儿孤独症筛查量表信效度研究[J].中国儿童保健杂志,2022,30(4):381-385.

[7]胡晓,徐海青.自闭症谱系障碍患儿血清维生素 B12、同型半胱氨酸水平及其与病情严重程度的关系[J].广西医学,2020,42(21):2768-2770.

[8]邹卓,刘芸,黄浩宇,等.儿童孤独症谱系障碍流行现状和家庭干预的研究及策略[J].中国全科医学,2020,23(8):900-907.

[9]马燕,汪学静,韩洁,等.孤独症谱系障碍患儿血清 25 羟维生素 D 和叶酸水平变化及意义[J].山东医药,2019,59(10):75-77.

[10]毛冰洁,刘学源.神经丝蛋白轻链与神经系统变性疾病[J].医学综述,2021,27(24):4800-4804.

[11]凌芳,杨期明,雷勇前,等.老年血管性帕金森综合征患者血清 sNFL、 β -APP 表达及其相关性研究[J].脑与神经疾病杂志,2021,29(8):515-519.

[12]麦尔哈巴·赛里木,郭晨晨,张清瑜,等.神经丝轻链蛋白在阿尔茨海默病早期诊断中的作用研究[J].重庆医科大学学报,2021,46(11):1355-1359.

[13]Paketçi C,Ermi Ç, i man A R,et al.Blood neurofilament light chain and thrombospondin-1 levels of patients with autism spectrum disorder[J].Turk J Med Sci,2022,52(4):1041-1049.

[14]郭改艳,王柳毅,吴瑞,等.血清 NFL、pNFH 水平与急性缺血性脑卒中患者病情及预后的关系[J].疑难病杂志,2022,21(3):252-256,262.

[15]伍明超,万争艳.血清中 NFL、t-tau、sNRG-1 联合对阿尔茨海默症的诊断价值[J].国际检验医学杂志,2020,41(6):760-763.

[16]Tai C,Chang C W,Yu G Q,et al.Tau reduction prevents key features of autism in mouse models[J].Neuron,2020,106(3):421-437.

[17]Ayaydın H,Kirmit A,Çelik H,et al.High serum levels of serum 100 beta protein,neuron-specific enolase,tau, active caspase-3,m30 and m65 in children with autism spectrum disorders[J].Clin Psychopharmacol Neurosci,2020,18(2):270-278.

[18]赵凯红,付洪涛,田渤,等.血清 Tau 蛋白对早产儿脑损伤及其近期预后的评估价值[J].中国儿童保健杂志,2022,30(10):1153-1157.

[19]Chang Q,Yang H,Wang M,et al.Role of microtubule-associated protein in autism spectrum disorder[J].Neurosci Bull,2018,34(6):1119-1126.

[专业责任编辑:陈艳妮]
[中文编辑:孙兰迪;英文编辑:张博星]