

· AD的基础和临床研究专题 ·

尿沉渣指标对阿尔茨海默病相关神经丝蛋白检测水平的影响

金贺 陈国栋 赵丽 王蓉

541001 桂林医学院附属医院检验科(金贺、陈国栋、赵丽); 100053 北京, 首都医科大学宣武医院中心实验室(王蓉); 100053 北京市老年病医疗研究中心(王蓉); 100053 北京脑重大疾病研究院(王蓉)

通信作者: 王蓉, Email: rongwang72@aliyun.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2022.11.003

【摘要】目的 探讨不同性别人群尿常规指标对阿尔茨海默病相关神经丝蛋白(AD7c-NTP)检测水平的影响。**方法** 纳入2021年7—10月在桂林医学院附属医院进行健康体检的314名受试者,采集尿液标本进行AD7c-NTP酶联免疫吸附剂测定,收集年龄、性别及尿沉渣检测指标数据,分析不同性别人群的尿沉渣指标对AD7c-NTP水平的影响。**结果** 不同红细胞、白细胞、上皮细胞、小圆上皮细胞、管型、类酵母菌、结晶水平的男性受试者尿液中的AD7c-NTP水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);男性受试者低电导率、中电导率和高电导率之间的AD7c-NTP水平比较[$(0.68(0.48, 1.40))\text{ng/ml}$ 比 $0.50(0.32, 1.06)\text{ng/ml}$ 比 $0.34(0.31, 0.51)\text{ng/ml}$],差异有统计学意义($Z = -3.823, P < 0.05$)。不同红细胞、白细胞、上皮细胞、小圆上皮细胞、管型、类酵母菌、电导率水平的女性受试者尿液中的AD7c-NTP水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);高结晶水平的女性受试者尿液中的AD7c-NTP水平低于低结晶水平的女性受试者[$0.51(0.33, 0.62)\text{ng/ml}$ 比 $0.65(0.42, 1.18)\text{ng/ml}$],差异有统计学意义($Z = -2.331, P < 0.05$)。**结论** 男性尿液电导率和女性尿液结晶可能对AD7c-NTP检测水平产生影响。

【关键词】 阿尔茨海默病; 生物标志物; 阿尔茨海默病相关神经丝蛋白; 尿沉渣

基金项目: 首都卫生发展科研专项(2020-2Z-1034); 国家自然科学基金(82160258)

The effects of urine sediment test indicators on the detection level of Alzheimer-associated neuronal thread protein

Jin He, Chen Guodong, Zhao Li, Wang Rong
Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541001, China (Jin H, Chen GD, Zhao L); Department of Central Laboratory, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China (Wang R); Beijing Geriatric Medical Research Center, Beijing 100053, China (Wang R); Beijing Institute for Brain Disorders, Beijing 100053, China (Wang R)

Corresponding author: Wang Rong, Email: rongwang72@aliyun.com

【Abstract】Objective To explore the effects of urine sediment indicators on the detection level of Alzheimer-associated neuronal thread protein (AD7c-NTP). **Methods** A total of 314 healthy physical examination subjects in Affiliated Hospital of Guilin Medical University from July 2021 to October 2021 were included. Urine samples were collected for AD7c-NTP enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) detection. Age, gender, and urine sediment detection indicators were collected and the effects of urinary sediment indexes on AD7c-NTP levels were analyzed. **Results** The levels of AD7c-NTP in the urine of male subjects with different levels of red blood cells, white blood cells, epithelial cells, casts, yeast like bacteria and crystals showed no statistically significant difference ($P > 0.05$); In males, the AD7c-NTP levels in low conductivity group [$0.68(0.48, 1.40)\text{ng/ml}$], medium conductivity group [$0.50(0.32, 1.06)\text{ng/ml}$] and high conductivity group [$0.34(0.31, 0.51)\text{ng/ml}$] showed a significant decreasing trend. The difference is statistically significant ($Z = -3.823, P < 0.05$). There is no statistically significant difference in AD7c-NTP levels in urine of female subjects with different levels of red blood cells, white blood cells, epithelial cells, small round epithelial cells, tube types, yeast like bacteria and electrical conductivity ($P > 0.05$); The AD7c-NTP levels in urine of female subjects with high crystal level [$0.51(0.33, 0.62)\text{ng/ml}$] was lower than that of female subjects with low crystal level [$0.65(0.42, 1.18)\text{ng/ml}$]. The difference is statistically significant ($Z = -2.331, P < 0.05$). **Conclusions** Among all the urine sediment indicators, the conductivity in male and the crystal in female may affect the detection level of AD7c-NTP.

【Key words】 Alzheimer disease; Biomarkers; Alzheimer-associated neuronal thread protein; Urine sediment

Fund programs: The Capital Health Research and Development of Special (2020-2Z-1034); National Natural Science Foundation of China (82160258)

AD是引起老年痴呆的主要原因,通常起病隐匿,患者从轻度记忆力受损,逐渐发展为认知障碍,进而出现日常行为能力异常以及失能。AD病程长、合并症多,其医疗花费和家庭护理给社会造成了沉重的负担。随着生育率下降和人类预期寿命的延长,人口结构老龄化导致的AD患病负担将日益严峻。据估计,到2050年全球痴呆症患者人数将从2019年的5700万增加至15000万^[1]。而近年来围绕AD病理改变进行的药物研发是目前该领域面临的瓶颈问题。因此,大量研究强调了对AD进行早期风险监测的重要性,即通过遗传、生物标志物等在早期确定个体患病风险,再进行个体化精准干预^[2-3]。

AD相关神经丝蛋白(Alzheimer-associated neuronal thread protein, AD7c-NTP)属于NTPs超家族成员,是一种在神经元胞体中表达的分子量约41 kD的跨膜磷蛋白^[4]。AD7c-NTP在轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment, MCI)以及AD患者脑组织、脑脊液、尿液中的表达量均升高,并且升高程度与病情严重程度具有相关性,是MCI/AD高危人群早期筛查的重要生物标志物之一^[5-8]。近年来,不同国家和地区对AD7c-NTP的诊断效能进行了验证,由于检测试剂盒及研究采纳的AD诊断标准不一致,AD7c-NTP灵敏度为65.0%~91.7%,特异性为77.6%~95.3%^[9]。课题组前期研究表明AD7c-NTP水平不受教育程度、职业状态、体重指数、居住地等人口因素,以及高血压、脑卒中、糖尿病、血脂异常、肾功能不全、癌症、慢性肝病、慢性肝病和抑郁症状等老年期常见病的影响^[10]。尿检流程中可采用随机尿标本代替晨尿标本进行AD7c-NTP ELISA检测,并且4℃储存条件下硼酸可以作为一种稳定的防腐剂^[11]。AD7c-NTP存在于尿液中,但尿液理化性质对其检出水平是否产生影响仍然未知。因此,本研究收集60岁及以上健康体检人群尿液,分析尿沉渣计数指标对AD7c-NTP检测水平的影响,现报道如下。

一、对象与方法

1. 研究对象:选择2021年7—10月桂林医学院附属医院的314名健康体检者为研究对象。纳入标准:(1)认知功能正常;(2)年龄≥60岁。排除标准:(1)神经系统检查阳性体征、头颅MRI显示脑部局灶性病变;(2)血脂代谢紊乱,患有高血压病、糖尿病;(3)患有严重肝脏、肾脏、心脏循环障碍、脑血管疾病;(4)近期急性感染,患有癌症、PD、抑郁症、焦虑症、甲

状腺功能减退;(5)有脑外伤史、酒精或药物滥用^[12]。研究对象或其监护人自愿参加本研究,并签署知情同意书。本研究已通过桂林医学院附属医院伦理委员会审批(批准编号:GLMC202103149)。

2. 尿沉渣指标检测及分组:采用UF-5000尿液有形成分分析仪(日本Sysmex公司)及配套试剂进行尿沉渣检测。依据《全国临床检验操作规程》^[13]以50%临床cut-off值作为分组依据,将红细胞、白细胞、上皮细胞、小圆上皮细胞、管型、细菌、类酵母菌、结晶分为高值组和低值组;电导率分为低值(0~10 ms/cm)、中值(<10~20 ms/cm)、高值(<20~30 ms/cm)3组。

3. 尿液AD7c-NTP ELISA检测:收集研究对象尿液标本,每份1 ml置于1.5 ml EP管中,添加硼酸作为防腐剂(2 g/L),4℃冰箱保存。采用AD7c-NTP ELISA检测试剂盒(深圳安群生物工程有限公司),将100 μl尿液标本加到包被有AD7c-NTP抗体的微孔板上,标本中的AD7c-NTP与包被抗体结合,通过洗板,将未结合的游离成分洗去;加入AD7c-NTP多抗,温育后洗涤,再加入辣根过氧化物酶标记的二抗,最终形成抗体-抗原-酶标二抗的复合物,显色剂显色,终止反应,在450 nm处检测吸光度(A)值,试验重复3次,取平均值,根据校准品绘制的标准曲线计算出样品中AD7c-NTP含量。

4. 统计学方法:采用IBM SPSS 26.0软件进行统计分析。计数资料采用频数表示。采用Kolmogorov-Smirnov方法对计量资料进行正态性检验,符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本t检验或单因素方差分析;非正态分布的计量资料以中位数及四分位数[M(P₂₅, P₇₅)]表示,组间比较采用Kruskal-Wallis H检验或Mann-Whitney U检验。双侧检验,P<0.05为差异有统计学意义。

二、结果

1. 不同性别、年龄受试者的AD7c-NTP水平比较:男性受试者年龄(68.8±6.4)岁,女性受试者年龄(69.7±7.6)岁,两组比较差异无统计学意义(P>0.05),具有可比性。男性受试者AD7c-NTP水平低于女性,差异有统计学意义(P<0.05);60~69岁、70~79岁和80~89岁受试者之间的AD7c-NTP水平比较,差异有统计学意义(P<0.01),见表1。

表1 不同特征的314名受试者的AD7c-NTP水平比较 [ng/ml, $M(P_{25}, P_{75})$]

项目	人数	AD7c-NTP水平	Z值	P值
性别				
男	161	0.51(0.34, 0.99)	-2.036	0.042
女	153	0.62(0.39, 1.06)		
年龄(岁)				
60~69	193	0.50(0.34, 0.87)	3.590	<0.001
70~79	87	0.67(0.36, 1.23)		
80~89	34	0.77(0.50, 1.19)		

注: AD7c-NTP 阿尔茨海默病相关神经丝蛋白

2. 男性受试者尿沉渣指标对AD7c-NTP水平的影响: 不同红细胞、白细胞、上皮细胞、小圆上皮细胞、管型、类酵母菌、结晶水平的男性受试者尿液中的AD7c-NTP水平比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 不同电导率的男性受试者尿液中的AD7c-NTP水平比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 见表2。

3. 女性尿沉渣指标对AD7c-NTP水平的影响: 不同红细胞、白细胞、上皮细胞、小圆上皮细胞、管型、类酵母菌、电导率的女性受试者尿液中的AD7c-

NTP水平比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 高结晶水平的女性受试者尿液中的AD7c-NTP水平低于低结晶水平, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表3。

讨论 尿液和大脑在解剖学上相距较远并且独立, 难以建立两者之间的直接联系, 加之尿液的生理变化(尤其是有型成分的信息挖掘) 尚未得到深入研究, 长期以来, 采用来源于尿液的生物标志物作为评价神经系统疾病的指标一直受到质疑^[14-15]。尽管来自不同国家和地区的多中心实验室已对AD7c-NTP作为AD早期诊断生物标志物的特异性和灵敏度进行了验证, 但可能影响其检测结果的混杂因素仍有待进一步探讨^[16-19]。既往研究都将肉眼血尿、浑浊尿等标本纳入不合格样本^[17-18, 20-21], 但受各种生理和病理因素的影响, 即使尿液外观没有出现肉眼可见的显著异常, 个体间尿液不同成分含量也存在差异^[22]。本研究通过分析314名受试者的尿沉渣检测指标对AD7c-NTP检测水平的影响, 探讨尿液AD7c-NTP检测的潜在影响因素。

本研究结果显示, 女性的尿液AD7c-NTP水平高于男性, 并且具有随年龄增长而增高的趋势, 这与流行病学研究中AD7c-NTP的人口特征分布规律

表2 161名男性受试者尿沉渣指标对AD7c-NTP水平的影响

项目	人数	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	t/F值	P值	AD7c-NTP水平 [ng/ml, $M(P_{25}, P_{75})$]	Z值	P值
红细胞($/\mu\text{l}$)							
低: 0~8.5	105	68.5 ± 6.4	0.997	0.320	0.51(0.34, 0.96)	-0.099	0.921
高: >8.5	56	69.5 ± 6.4			0.51(0.33, 1.07)		
白细胞($/\mu\text{l}$)							
低: 0~8.0	120	68.9 ± 6.5	-0.074	0.941	0.48(0.32, 0.95)	-1.870	0.061
高: >8.0	41	68.8 ± 6.4			0.61(0.35, 1.29)		
上皮细胞($/\mu\text{l}$)							
低: 0~4.0	97	69.4 ± 6.6	-1.283	0.201	0.49(0.33, 1.01)	-0.193	0.847
高: >4.0	64	68.1 ± 6.2			0.52(0.34, 0.96)		
小圆上皮细胞($/\mu\text{l}$)							
低: 0~1.5	84	69.2 ± 6.2	-0.688	0.493	0.49(0.34, 1.06)	-0.205	0.838
高: >1.5	77	68.5 ± 6.7			0.52(0.33, 0.96)		
管型($/\mu\text{l}$)							
低: 0~1.5	144	68.6 ± 6.3	1.550	0.123	0.50(0.34, 1.02)	-0.204	0.839
高: >1.5	17	71.1 ± 7.5			0.52(0.34, 0.77)		
类酵母菌($/\mu\text{l}$)							
低: 0~5	144	68.7 ± 6.4	0.663	0.508	0.50(0.33, 0.96)	-0.979	0.328
高: >5	17	69.8 ± 6.3			0.59(0.34, 1.64)		
结晶($/\mu\text{l}$)							
低: 0~5	131	69.0 ± 6.6	-0.703	0.483	0.51(0.34, 1.00)	-0.536	0.592
高: >5	30	68.1 ± 5.7			0.47(0.32, 0.94)		
电导率(ms/cm)							
低: 0~10	32	68.7 ± 6.8	2.603	0.077	0.68(0.48, 1.40)	-3.823	<0.001
中: <10~20	100	69.6 ± 6.5			0.50(0.32, 1.06)		
高: <20~30	29	66.9 ± 5.3			0.34(0.31, 0.51)		

注: AD7c-NTP 阿尔茨海默病相关神经丝蛋白

表3 153名女性受试者尿沉渣指标对AD7c-NTP水平的影响

项目	人数	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	t/F值	P值	AD7c-NTP水平 [ng/ml, $M(P_{25}, P_{75})$]	Z值	P值
红细胞(μl)							
低: 0~8.5	70	70.1 ± 7.9			0.66(0.47, 1.25)		
高: >8.5	83	69.4 ± 7.3	-0.636	0.526	0.57(0.35, 0.87)	-1.053	0.292
白细胞(μl)							
低: 0~8.0	68	69.9 ± 7.2			0.57(0.35, 1.06)		
高: >8.0	85	69.6 ± 7.9	-0.260	0.795	0.63(0.44, 1.09)	-1.467	0.142
上皮细胞(μl)							
低: 0~4.0	48	69.4 ± 7.2			0.59(0.39, 1.19)		
高: >4.0	105	69.9 ± 7.7	0.356	0.722	0.62(0.38, 1.00)	-0.142	0.887
小圆上皮细胞(μl)							
低: 0~1.5	41	69.1 ± 7.0			0.60(0.35, 1.14)		
高: >1.5	112	70.0 ± 7.8	0.638	0.524	0.62(0.40, 1.02)	-0.684	0.494
管型(μl)							
低: 0~1.5	138	69.4 ± 7.1			0.62(0.38, 0.92)		
高: >1.5	15	72.1 ± 10.8	1.306	0.194	1.19(0.42, 3.31)	-1.733	0.083
类酵母菌(μl)							
低: 0~5	136	69.7 ± 7.5			0.61(0.29, 1.08)		
高: >5	17	69.9 ± 8.0	0.094	0.925	0.65(0.33, 1.23)	-0.807	0.420
结晶(μl)							
低: 0~5	126	69.9 ± 7.6			0.65(0.42, 1.18)		
高: >5	27	68.7 ± 7.6	-0.768	0.444	0.51(0.33, 0.62)	-2.331	0.020
电导率(ms/cm)							
低: 0~10	36	69.9 ± 7.5			0.65(0.43, 1.48)		
中: <10~20	102	70.0 ± 7.9	0.827	0.439	0.62(0.39, 1.01)	3.481	0.175
高: <20~30	15	67.3 ± 4.8			0.46(0.33, 0.75)		

注: AD7c-NTP 阿尔茨海默病相关神经丝蛋白

一致^[10], 也与 Rocca 等^[23] 报道的 AD 发病率具有随年龄增高且女性发病率高于男性的结果一致, 提示 AD7c-NTP 水平检测对认知功能下降或 AD 发病起到预警作用。

正常人尿液中可偶见红细胞、白细胞、少量鳞状上皮细胞和脱落的尿路上皮细胞, 以及少量透明管型^[24]。本研究结果显示, 不同性别健康体检人群的尿沉渣指标中, 这些有形成分对尿液 AD7c-NTP 水平的影响差异无统计学意义, 说明 AD7c-NTP 在尿液中具有较好的稳定性。目前, 关于尿液中正常存在的有形成分对蛋白质类 ELISA 检测的干扰报道较少。正常尿液应处于无菌状态, 体检人群尿液中存在细菌和类酵母菌可能由于尿沉渣检测标本留取过程中没有严格执行无菌操作, 标本受到阴道分泌物、粪便、环境等的潜在污染, 以及不排除少数患者可能为无症状带菌者或处于轻微炎症状态。结果提示, 在不伴随尿路感染症状时, 尿液中一定含量的细菌或类酵母菌可能不影响 AD7c-NTP 检测结果。但前期研究表明, 在添加碱性防腐剂或不添加任何防腐剂情况下, 尿液标本 4℃ 保存超过 5 d 会导致 AD7c-NTP 检测结果增高, 而这可能与细菌滋生相关^[11]。

电导率是反映肾脏尿液浓缩稀释功能的指标, 低电导率是指尿液中电解质成分少, 反之, 高电导率指尿液中电解质成分多^[25]。男性 AD7c-NTP 水平随电导率的升高而降低, 女性这一指标的差异虽然没有统计学意义, 但尿液 AD7c-NTP 水平受电导率影响的趋势与男性一致, 提示尿液中电解质成分增加或肾脏浓缩稀释功能异常可能影响 AD7c-NTP 检测结果。尿液中结晶受 pH 值、浓度及温度影响, 正常尿液中偶见少量草酸钙结晶、尿酸盐结晶等, 一般无临床意义^[24]。本研究结果显示, 女性尿液中结晶成分增加会对 AD7c-NTP 水平产生影响, 导致 AD7c-NTP 检出水平降低, 男性同样表现出 AD7c-NTP 水平随结晶数量增多而降低, 提示结晶的存在可能是干扰 ELISA 检测效能的因素之一。前期研究表明, 尿液标本在冻存后, AD7c-NTP 检测水平可能由于冷凝集导致明显异常^[11], 但尿液中结晶含量与 AD7c-NTP 之间的关系仍有待进一步深入研究。值得注意的是, 尿液作为机体排泄废物的主要途径之一, 其在反映机体病理生理状态方面具有优势, 但尿液检测极易受饮水、药物、污染等因素的影响, 综合评估检测结果是提高诊疗质量的关键^[26]。

综上所述,尿沉渣指标中结晶和电导率升高可能会对AD7c-NTP水平产生影响,对于AD7c-NTP送检标本是否合格以及检测结果的判读,需参考患者尿沉渣数据。本研究仍存在一些不足之处,小样本单中心研究具有一定局限性;并且目前已发表文献对ELISA影响因素的探讨大多是关于血液检测,ELISA尿液检测的影响因素报道较少,本研究仅来源于对临床数据的观察分析,缺乏深入的机制研究。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突
作者贡献声明 样本收集为陈国栋,数据分析为赵丽,论文撰写为金贺,构思、设计与论文修订为王蓉

参 考 文 献

[1] GBD 2019 Dementia Forecasting Collaborators. Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet Public Health*, 2022, 7(2): e105-e125. DOI: 10.1016/S2468-2667(21)00249-8.

[2] Livingston G, Huntley J, Sommerlad A, et al. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission [J]. *Lancet*, 2020, 396(10248): 413-446. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30367-6.

[3] Pedditzi E, Peters R, Beckett N. The risk of overweight/obesity in mid-life and late life for the development of dementia: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies [J]. *Age Ageing*, 2016, 45(1): 14-21. DOI: 10.1093/ageing/afv151.

[4] Monte SM, Ghanbari K, Frey WH, et al. Characterization of the AD7C-NTP cDNA expression in Alzheimer's disease and measurement of a 41-kD protein in cerebrospinal fluid [J]. *J Clin Invest*, 1997, 100(12): 3093-3104. DOI: 10.1172/JCI119864.

[5] de la Monte SM, Wands JR. The AD7c-NTP neuronal thread protein biomarker for detecting Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2001, 3(3): 345-353. DOI: 10.3233/jad-2001-3310.

[6] Ghanbari K, Ghanbari HA. A sandwich enzyme immunoassay for measuring AD7C-NTP as an Alzheimer's disease marker: AD7C test [J]. *J Clin Lab Anal*, 1998, 12(4): 223-226. DOI: 10.1002/(sici)1098-2825(1998)12:4<223::aid-jcla6>3.0.co;2-8.

[7] Ghanbari H, Ghanbari K, Beheshti I, et al. Biochemical assay for AD7C-NTP in urine as an Alzheimer's disease marker [J]. *J Clin Lab Anal*, 1998, 12(5): 285-288. DOI: 10.1002/(sici)1098-2825(1998)12:5<285::aid-jcla6>3.0.co;2-5.

[8] Ma LN, 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. DOI: 10.1016/j.jocn.2014.10.011.

[9] Jin H, Wang R. Alzheimer-associated neuronal thread protein: research course and prospects for the future [J]. *J Alzheimers Dis*, 2021, 80(3): 963-971. DOI: 10.3233/JAD-201273.

[10] Jin H, Guan SC, Wang R, et al. The Distribution of Urinary Alzheimer-Associated Neuronal Thread Protein and Its Association with Common Chronic Diseases in the General Population [J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 65(2): 433-442. DOI: 10.3233/JAD-180441.

[11] Jin H, Wang R, Liu ZH, et al. Some Methodological

Characteristics of Alzheimer-Associated Urine Neuronal Thread Protein Detected by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay [J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 63(1): 255-262. DOI: 10.3233/JAD-171109.

[12] Ma LN, Chen J, Wang R, et al. Alzheimer-associated urine neuronal thread protein level increases with age in a healthy Chinese population [J]. *J Clin Neurosci*, 2014, 21(12): 2118-2121. DOI: 10.1016/j.jocn.2014.04.028.

[13] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 170-174.

[14] 中国医师协会检验医师分会. 尿液常规检验诊断报告模式专家共识 [J]. *中华医学杂志*, 2017, 97(18): 1369-1372. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2017.18.003.

[15] Ni YY, Gao YH. Should We Search for Early Brain Disease Biomarkers in Urine [J]. *Author J*, 2016, 1(1): 00003. DOI: 10.15406/aj.2016.01.00003.

[16] Levy S, McConville M, Lazaro GA, et al. Competitive ELISA studies of neural thread protein in urine in Alzheimer's disease [J]. *J Clin Lab Anal*, 2007, 21(1): 24-33. DOI: 10.1002/jcla.20159.

[17] Goodman I, Golden G, Flitman S, et al. A multi-center blinded prospective study of urine neural thread protein measurements in patients with suspected Alzheimer's disease [J]. *J Am Med Dir Assoc*, 2007, 8(1): 21-30. DOI: 10.1016/j.jamda.2006.07.002.

[18] Youn YC, Park KW, Han SH, et al. Urine neural thread protein measurements in Alzheimer disease [J]. *J Am Med Dir Assoc*, 2011, 12(5): 372-376. DOI: 10.1016/j.jamda.2010.03.004.

[19] Ma LN, Wang R, Han Y, et al. Development of a Novel Urine Alzheimer-Associated Neuronal Thread Protein ELISA Kit and Its Potential Use in the Diagnosis of Alzheimer's Disease [J]. *J Clin Lab Anal*, 2016, 30(4): 308-314. DOI: 10.1002/jcla.21856.

[20] Li YX, Kang MM, Sheng C, et al. Relationship between Urinary Alzheimer-Associated Neuronal Thread Protein and Apolipoprotein Epsilon 4 Allele in the Cognitively Normal Population [J]. *Neural Plast*, 2020, 2020: 9742138. DOI: 10.1155/2020/9742138.

[21] Zhang YX, Li Y, Wang R, et al. Elevated Urinary AD7c-NTP Levels in Older Adults with Hypertension and Cognitive Impairment [J]. *J Alzheimers Dis*, 2020, 74(1): 237-244. DOI: 10.3233/JAD-190944.

[22] Shao C, Zhao MD, Chen XZ, et al. Comprehensive Analysis of Individual Variation in the Urinary Proteome Revealed Significant Gender Differences [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2019, 18(6): 1110-1122. DOI: 10.1074/mcp.RA119.001343.

[23] Rocca WA, Mielke MM, Vemuri P, et al. Sex and gender differences in the causes of dementia: a narrative review [J]. *Maturitas*, 2014, 79(2): 196-201. DOI: 10.1016/j.maturitas.2014.05.008.

[24] 中华医学会检验医学分会血液学与体液学学组. 尿液检验有形成分名称与结果报告专家共识 [J]. *中华检验医学杂志*, 2021, 44(7): 574-586. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20210115-00038.

[25] Yoo DW, Lee SM, Moon SY, et al. Evaluation of conductivity-based osmolality measurement in urine using the Sysmex UF5000 [J]. *J Clin Lab Anal*, 2021, 35(1): e23586. DOI: 10.1002/jcla.23586.

[26] Wu JQ, Gao YH. Physiological conditions can be reflected in human urine proteome and metabolome [J]. *Expert Rev Proteomics*, 2015, 12(6): 623-636. DOI: 10.1586/14789450.2015.1094380.

(收稿日期: 2022-03-24)

(本文编辑: 赵金鑫)