

알츠하이머병 뇌척수액 생체표지자 다기관 연구를 위한 예비연구

박선아* · 김종현† · 김형준*
김태은* · 김윤정* · 이동현*
박정호* · 채원석‡ · 임수재§
서상원|| · 나덕렬|| · 최성혜¶

순천향대학교 부천병원 신경과*,
국민건강보험 일산병원 신경과†,
순천향대학교 부천병원 마취과‡,
순천향대학교 부천병원 정형외과§,
성균관대학교 의과대학 삼성서울병원
신경과||, 인하대학교 의과대학 신경과¶

Received: August 13, 2012
Revision received: February 12, 2013
Accepted: February 12, 2013

Address for correspondence

Seong Hye Choi, M.D.
Department of Neurology, Inha University School
of Medicine, 366 Seobae-daero,
Jung-gu, Incheon 400-103, Korea
Tel: +82-32-890-3659
Fax: +82-32-890-3864
E-mail: seonghye@inha.ac.kr

*본 연구는 보건복지부 보건연구개발사업의
지원에 의하여 이루어짐(A092004와 A102065).

Preliminary Study for a Multicenter Study of Alzheimer's Disease Cerebrospinal Fluid Biomarkers

Sun Ah Park, M.D.*, Jung Hun Kim, M.D.†, Hyeong Jun Kim, M.D.*, Tae Eun Kim, M.D.*,
Yoon-Jeong Kim, M.S.*, Dong Hyun Lee, M.D.*, Jeong Ho Park, M.D.*,
Won Seok Chae, M.D.‡, Soo Jae Yim, M.D.§, Sang Won Seo, M.D.||, Duk L. Na, M.D.||,
Seong Hye Choi, M.D.¶

Departments of Neurology*, Anesthesiology*, and Orthopedic surgery§, Soonchunhyang University Bucheon
Hospital, Bucheon; Department of Neurology†, Ilsan Hospital, National Health Insurance Corporation, Goyang;
Department of Neurology||, Sungkyunkwan University School of Medicine, Samsung Medical Center, Seoul;
Department of Neurology¶, Inha University School of Medicine, Incheon, Korea

Background: The usefulness of cerebrospinal fluid (CSF) concentrations of amyloid beta protein 1-42 (Aβ42), phosphorylated tau (pTau) and total tau (tTau) have been increasing in Alzheimer's disease (AD). However, the direct adoption of previously reported standard values is not appropriate due to interlaboratory variability. We started this study to set up an accessible system to measure CSF biomarkers in our country with high reproducibility and validity. **Methods:** Including CSFs from four different institutes the levels of Aβ42, pTau181 and tTau were measured in one lab. The intertest variability and difference in the levels of biomarkers depending on diseases were assessed. Through analysis of receiver operating characteristic cut points and binary logistic regression the cut-off values of Aβ42, pTau and tTau level were obtained, and their validity was evaluated. **Results:** The intertest consistency was high in measuring CSF biomarkers. The value of Aβ42 was markedly decreased in AD (n = 17) and other dementia (n = 9) compared to normal control (n = 12). The levels of pTau181 and tTau were high in AD, but not in other dementia and normal control. The threshold values of Aβ42, pTau181 and tTau were 290.3 pg/mL, 54.3 pg/mL, and 320.7 pg/mL in differentiating AD from normal control showing high sensitivity and specificity. Especially, the ratios of pTau181/Aβ42 (> 0.16) and tTau/Aβ42 (> 0.76) showed the prime validity. **Conclusions:** Our data of CSF Aβ42, pTau181, and tTau levels were highly reproducible. pTau181/Aβ42 and tTau/Aβ42 ratios were the greatly helpful in differentiating AD from normal control.

Key Words: Alzheimer's disease, Amyloid beta protein, Biomarker, Enzyme-linked immunosorbent assay, Cerebrospinal fluid, Tau

서 론

알츠하이머병의 핵심 병리인 베타아밀로이드 단백질과 과인산화 tau 단백을 표적으로 하는 신약들이 예측과 달리 대규모 임상연구에서 연이어 실패하면서, 이들 약물의 투약 시점을 알츠하이머병 병리 발생 이후지만, 임상적으로는 치매가 발생하지 않은 '치매 전단계'로 앞당겨야 한다는 주장이 높아지고 있다[1, 2]. 이를 위해서는 정확한 알츠하이머병 조기 진단이 필요하기에, 그 어느 때 보다 알츠하이머병 병리진행을 반영하는 생체표지자(biomarker)의 개발과

이용에 대한 관심이 높다[3]. 혈액, 뇌척수액, 뇌자기공명영상(MRI), 그리고 양전자방출단층촬영(PET) 등을 이용한 알츠하이머병 생체표지자 국제공동 연구를 활발히 진행하고 있는 'Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI)' 는 이 같은 고양된 국제적 관심의 대표적 예이다[4]. 국내에서도 국제적 수준의 뇌영상 생체표지자 연구가 진행되고 있고, 혈장 생체표지자 개발 위한 연구들도 지속적으로 보고되고 있다[5-8]. 그러나 이에 비해 뇌에 가까이 있어 뇌의 대사물의 변화를 잘 반영하는 뇌척수액을 이용한 생체표지자 연구는 상대적으로 적다[9].

알츠하이머병과 연관되어 뇌척수액에서 변화를 보이는 여러 단백질 중, 베타아밀로이드1-42 ($A\beta_{42}$), 인산화tau단백(pTau) 그리고 총 tau단백(tTau)이 가장 유용한 생물표지자로 알려져 있다[10]. $A\beta_{42}$ 는 알츠하이머병 뇌척수액에서 질환 초기부터 약 50% 감소되고[11], 반면 tTau와 이의 인산화 형태인 pTau는 약 2-3배 증가된다[12]. $A\beta_{42}$ 의 감소는 알츠하이머병의 초기진단에 도움이 되나, 다른 퇴행성 뇌질환에서도 감소되는 경우가 있어, pTau의 증가의 동반이 다른 퇴행성 뇌질환으로부터 알츠하이머병을 감별하는데 도움이 된다[13]. 따라서, $A\beta_{42}$, pTau, tTau 각각보다, 이들의 조합인 pTau/ $A\beta_{42}$ 혹은 tTau/ $A\beta_{42}$ 비가 알츠하이머병을 진단하거나, 경도인지장애 환자가 알츠하이머병으로 진행되는 것을 예측하는데 유용하여, 민감도와 특이도가 85-91%에 이른다[14, 15]. 이처럼 유용성이 증명되어, 국제적으로 널리 이용되는 뇌척수액 $A\beta_{42}$, pTau, tTau 농도의 실제 이용이 국내에서는 매우 드물게 이루어져 왔다[16]. 그나마 보고된 연구에서도 이용된 측정 방법이 국제적으로 널리 사용하는 방법이 아니었고, 같은 검체를 이용한 반복 검사의 일치도 검증이 없어, 향후 국내 연구 데이터로 지속적으로 참조하는데 한계가 있다. 이에 본 연구자들은 알츠하이머병 진단을 위한 뇌척수액 $A\beta_{42}$, pTau 및 tTau의 국내 기준치 마련 및 변동성이 적고 유용한 측정값을 제공하는 시스템 구축이 향후 이들 생물표지자를 이용한 활발한 국내 연구를 위해 선행되어야 한다고 생각하여 본 연구를 시작하였다.

대상과 방법

대상

노인성치매임상연구센터의 다기관 시료연구를 위해 해당 기관의 임상시험심사(Institutional Review Board, IRB)의 승인을 얻은 국내 4기관에서 이루어졌다. 여러 임상목적으로 시행된 뇌척수액 채취가 본 연구에 적합하게 이루어지고, 뇌척수액 공여자가 $A\beta_{42}$, pTau181, tTau 측정에 동의한 경우 연구에 포함시켰다. 추가로 뇌척수액의 채취와 인지장애 유무를 판단하기 위한 간이정신상태검사(Korean version of the minimal state examination, K-MMSE) 및 임상치매평가척도(Clinical dementia rating, CDR) 검사 사이의 간격이 2개월 이내이고, 병력채취, 신경학적 진찰, 그리고 뇌영상이고, 뇌척수액 채취 후 임상적 추적이 6개월 이상 이루어진 경우로 대상을 제한하였다. 알츠하이머병에 의한 치매 진단은 National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association criteria for AD (NINCDS-ADRDA)의 진단 기준에 근거하여 probable/definite 알츠하이머병[17]이면서, revised academic criteria [18]에 따라 MRI 혹은 PET에서

알츠하이머병 영상소견을 추가로 보이는 경우로 하여, 예비 연구를 위해 엄격한 알츠하이머병에 의한 치매 진단기준을 정하였다. 즉, MRI에서 해마 등 내측두엽의 위축이 보이는 경우 또는/그리고, FDG-PET이나 Amyloid PET에서 양측 측두-두정엽의 포도당대사 저하 혹은 $A\beta$ 리간드를 이용한 PET에서 알츠하이머병에 합당한 이상을 보이는 경우로 하였다. 정상인은 치매 임상증상이 없고, 인지 기능 검사에서 정상(MMSE인 경우는 27점 이상), 그리고, 뇌 MRI 혹은 컴퓨터단층촬영(CT)에서 뇌위축을 포함한 기타 특기할 이상이 없는 경우로 하였다. 기타 질환의 경우는 임상적으로 인지 기능 저하를 보였으나, 진단 기준, 뇌영상, 그리고 추적 임상경과를 통해 알츠하이머병이 아닌 타질환으로 진단된 경우로 하였다. 파킨슨병 치매는 Emre 등[19]의 진단기준에 따라, 레비소체치매는 McKeith 등[20]의 진단기준에 따라, 전두측두엽치매는 1998년 합의된 진단기준에 따라[21], 진행핵상마비는 National Institute of Neurological disorders and Stroke (NINDS)-Society for Progressive Supranuclear Palsy (SPSP) 진단기준에 따라[22], 혈관성치매는 NINDS-Association Internationale pour la Recherche en l'Enseignement en Neurosciences (AIREN) 진단기준[23]에 따라 정하였다. 그 외 정신과적 질환은 진료 초반에 치매가 의심되었지만, 여러 진단기준에 맞지 않고, 정신과 의사에 의한 약물 치료로 증상이 호전된 경우로 정하였다.

뇌척수액 채취 및 분석

뇌척수액 채취는 8시간 이상 금식 후 오전 8시를 가장 권장하였으나, 오전 10시까지 포함하였다. 23G needle로 시행하였고, 첫 2 mL는 임상적 필요에 의한 검사(화학성상 및 세포 수 분석 등)를 시행하는데 사용하였고, 그 후 배출되는 뇌척수액 5 mL를 polypropylene 재질의 튜브에 받아 2시간 이내에 4°C, 4,000 g에서 10분간 원심분리하였다. 그 후 polypropylene 재질의 1.5 mL frozen tube 혹은 eppendorf tube에 70% 차도록 나누어 담은 뒤 밀봉 후 -70 ~ -80°C 초저온 냉동고에 검체 분석하기 전까지 보관하였다. 분석기관에서 가까운 외부기관 시료의 경우 채취 당일 날 실온에서 2시간 이내에 분석기관으로 운반 후 원심 분리부터 같은 과정으로 검체를 분하여 보관하였다. 거리가 있어 2시간 이내 운반이 어려운 외부기관에서는 같은 프로토콜에 따라 검체 분리 후 초저온냉동 보관 후 드라이아이스가 채워진 보온상자를 이용하여 분석기관으로 운반되었다. 이 같은 검체 채취, 분리 및 보관 기준은 'Dominantly Inherited Alzheimer Network (DIAN)' (<http://www.dian-info.org/resourcedb/PDFs/Biomarker.pdf>)와 'ADNI' [14]의 뇌척수액 수집 프로토콜을 따른 것이다.

초저온냉동고에 저장된 분주된 뇌척수액은 분석 당일 4°C에서 해동 후 항원의 서로 다른 부위를 인식하는 두 개의 항체를 이용한 INNOTEST® ELISA kit (Innogenetics, Ghent, Belgium)에 명시된 대로

진행하였다. 표준농도 샘플 및 검체 샘플 모두 한 판 내에 이중(duplicate)으로 측정하였고, 두 값의 차이는 cost variance percent (CV%, = 표준편차/평균%)로 계산하였다. 또한, A β 42는 1개월의 간격으로 35개 샘플에 대해, pTau181과 tTau는 7개 샘플에 대해 9개월 간격으로 두 차례 ELISA 측정하여, 같은 샘플의 ELISA 검사에 따른 측정값 차이를 분석하였다. 모든 ELISA 검사는 동일한 연구자에 의해 동일한 장소에서 시행되었다.

통계

통계분석을 위해서는 SPSS 13.0 윈도우버전을 이용하였다. 세 군 사이 비교를 위해 ANOVA test와 Chi-square를 시행하였다. 사후 검정으로 Tukey test를 이용하였다. 기간을 두고 같은 샘플을 이용하여 시행한 ELISA 측정치 사이의 차이를 CV%로 분석하였고, Pearson's correlation test 이용한 상관도 분석도 하였다. A β 42, pTau181, tTau, pTau/A β 42, 그리고 tTau/A β 42 값의 알츠하이머병 진단 효용에 대해서는 정상군을 대조군으로 하여 이항 로지스틱 회귀분석(binary logistic regression)을 통해 검증하였고, receiver operating characteristic (ROC) curve 분석을 통해 cut-off value, 민감도 및 특이도를 산출하였다.

결 과

대상군 분석

연구 참여에 동의하면서 연구 기준에 합당하게 뇌척수액 채취 및 보관을 하였고, 임상정보를 얻을 수 있었던 대상 군은 알츠하이머병에 의한 치매 17명, 정상 12명, 기타 치매 9명이었다(Table 1). 알츠하이머병에 의한 치매군이 정상 및 기타 치매군에 비해 의미 있게 연령이 적었고($p < 0.05$), MMSE와 CDR 점수는 정상군은 정상범위였으나, 알츠하이머병에 의한 치매와 기타 치매군에서는 저하되어 있었다($p < 0.05$). 교육연령은 알츠하이머병에 의한 치매 환자가 나머지 두 군에 비해 높았다($p < 0.05$). 기타 치매군은 파킨슨병치매 2

명, 레비소체치매 1명, 전두측두엽치매 1명, 진행핵상마비 1명, 혈관성치매 2명, 그리고 정신질환 2명이었다.

뇌척수액 반복 측정 사이의 일치도

한 ELISA 판 내에서 이중으로 측정된 동일 샘플의 측정값 차이(CV%)는 A β 42의 경우 $5.7 \pm 4.4\%$, pTau181은 $2.3 \pm 2.8\%$, 그리고 tTau는 $5.8 \pm 5.2\%$ 였고, 모두 INNOTEST® ELISA kit에서 허용하는 CV% 한도 20% 이내였다(Table 2).

1개월의 간격으로 두 차례 시행한 A β 42 ELISA 검사에서 중복 측정된 35개 샘플의 측정값 차이는 48.3 ± 44.1 pg/mL로, $14.5 \pm 14.6\%$ 의 CV%를 보이면서, 높은 수준의 일치도를 나타냈다($r^2 = 0.834$, $p = 0.000$). 9개월 간격으로 두 차례 시행한 pTau181과 tTau ELISA에서 중복 측정된 7개 샘플의 측정값도 각각 6.1 ± 5.0 pg/mL과 36.2 ± 35.8 pg/mL의 차이를 보이면서, CV%가 $5.9 \pm 4.2\%$ 와 $7.0 \pm 7.1\%$ 정도로 좋았고, 높은 수준의 일치도를 나타냈다($r^2 = 0.977$, $p = 0.000$ for pTau181, $r^2 = 0.974$, $p = 0.000$ for tTau).

질환군별 뇌척수액 A β 42, pTau181, tTau

첫 ELISA검사에는 본 연구에 해당되지 않는 환자의 샘플이 같이 있었기에, 질환군별 뇌척수액 생물표지자 분석은 두 번째 시행한 ELISA에서 얻은 수치로 하였다(Table 3). 알츠하이머병에 의한 치매 군이나 기타 치매군의 A β 42 농도는 정상군에 비해 의미 있게 낮았

Table 1. Demographic characteristics of the subjects (mean \pm SD)

Characteristics	AD	NC	Other D
Number	17	12	9
Gender	F:6, M:11	F:8, M:4	F:3, M:6
Age, year-old	$59 \pm 8^*$	63 ± 9	70 ± 9
MMSE	15 ± 7	$28 \pm 1^*$	18 ± 8
CDR (CDR SOB)	1.3 ± 1.2 (7 \pm 7)	0 ± 0 (0 \pm 0)*	1.3 ± 1.6 (7 \pm 9)
Education, year	$12 \pm 4^*$	6 ± 4	8 ± 5

* $p < 0.05$.

AD, Alzheimer's disease; CDR, clinical dementia rating; D, dementia; F, female; M, male; MMSE, mini-mental state examination; NC, normal control; SD, standard deviation; SOB, sum of box.

Table 2. The coefficient of variance percent (CV%) within a test and intertest correlations

	A β 42	pTau181	tTau
Intrate CV% (range)	5.7 ± 4.4 (0.1-13.8)	2.3 ± 2.8 (0-17)	5.8 ± 5.2 (0.5-19.3)
Intertest variance (pg/mL)	48.3 ± 44.1 (4.2-184.0)	6.1 ± 5.0 (0.4-13.1)	36.2 ± 35.8 (2.1-84.3)
Intertest CV% (range)	14.5 ± 14.6 (0.7-80.0)	5.9 ± 4.2 (0.6-12.6)	7.0 ± 7.1 (0.4-21.7)
Intertest correlations	$r^2 = 0.834$, $p = 0.000$	$r^2 = 0.977$, $p = 0.000$	$r^2 = 0.974$, $p = 0.000$

Mean \pm standard deviation.

CV%, coefficient of variance percent.

Table 3. The concentrations of A β 42, pTau181, tTau in cerebrospinal fluid

		A β 42 (pg/mL)	pTau181 (pg/mL)	tTau (pg/mL)	pTau181/A β 42	tTau/A β 42
NC	M \pm SD	383.5 \pm 101.8*	46.5 \pm 9.0	198.4 \pm 60.1	0.13 \pm 0.02	0.53 \pm 0.13
	[95% CI]	[318.8-448.1]	[40.8-52.1]	[160.2-236.5]	[0.11-0.14]	[0.44-0.61]
AD	M \pm SD	194.0 \pm 88.7	80 \pm 31.0*	571.2 \pm 254.1*	0.47 \pm 0.23*	3.52 \pm 2.44*
	[95% CI]	[148.4-240]	[64.1-96.0]	[440.5-701.8]	[0.36-0.59]	[2.27-4.77]
Other D	M \pm SD	184.5 \pm 121	38.6 \pm 22.6	234.7 \pm 170.8	0.33 \pm 0.36	2.30 \pm 3.18
	[95% CI]	[91.5-277.6]	[21.2-56.0]	[103.4-366.0]	[0.05-0.61]	[-0.15-4.73]

* $p < 0.05$.

AD, Alzheimer's disease; CI, confidence interval; D, dementia; M, mean; NC, normal control; SD, standard deviation.

Table 4. Receiver operating characteristic (ROC) curve parameters

	A β 42 (pg/mL)	pTau181 (pg/mL)	tTau (pg/mL)	pTau181/A β 42	tTau/A β 42
Test accuracy	84.00%	86.20%	86.20%	96.60%	96.60%
Positive predictive value	88.20%	93.30%	93.30%	100.00%	100.00%
Negative predictive value	83.30%	78.60%	78.60%	92.30%	92.30%
ROC AUC	0.917	0.868	0.922	0.941	0.995
Cut-off value (pg/mL or ratio)	≤ 290.335	> 54.297	> 320.737	> 0.163	> 0.758
Sensitivity	88.20%	82.40%	82.40%	94.10%	94.10%
Specificity	83.30%	91.70%	100%	100%	100%

ROC, receiver operating characteristic; AUC, area under the curve.

다($p < 0.05$). 알츠하이머병에 의한 치매군이나, 치매증상을 보인 기타 치매군 사이에 의미 있는 A β 42 농도 차이는 없었다. 반면, pTau181은 알츠하이머병에 의한 치매군에서 정상군이나 기타 치매군에 비해 의미 있게 증가되어 있었다($p < 0.05$). 기타 치매군에서는 pTau181 농도가 정상군과 비슷한 수준으로 낮았다. tTau 농도도 pTau181과 같은 경향을 보여 알츠하이머병에 의한 치매군에서 의미 있게 증가하였고($p < 0.05$), 정상군과 기타 치매군에서는 비슷한 수준으로 낮았다. 추가로 pTau181/A β 42 및 tTau/A β 42의 질환군별 차이를 분석하였다. 모두 알츠하이머병에 의한 치매군이 정상군에 비해 의미 있게 증가되었다($p < 0.05$). 그러나, 기타 치매군은 알츠하이머병에 의한 치매군과 정상군 사이의 농도를 보였는데, 사후 검증에서 정상군이나 알츠하이머병에 의한 치매군에 비해 의미 있는 차이가 없었다.

뇌척수액 생체표지자의 알츠하이머병 진단 유용성 분석

기타 치매군에는 치매증상을 보이는 다양한 뇌질환이 포함되었고, 대상 환자수가 충분치 않아 뇌척수액 생체표지자의 알츠하이머병에 의한 치매 진단 유용성을 위한 분석에서 제외하였다. 정상군과 알츠하이머병에 의한 치매군 사이에 이항 로지스틱 회귀분석을 시행하였고, 더불어 ROC curve 분석을 하여 cut-off value를 구하고, 이의 유용성을 확인하였다(Table 4). A β 42 농도로 알츠하이머병에 의한 치매군의 88.2%를 알츠하이머병에 의한 치매로 진단하였고, 정상군의 83.3%를 정상으로 진단하여, 검사정확도는 84%였다. pTau181와 tTau농도로 알츠하이머병에 의한 치매군의 93.3%를 알츠하이머

병에 의한 치매로 진단하였고, 정상군의 78.6%를 정상이라고 진단하여 모두 86.2% 정도의 검사정확도를 보였다. 추가로 분석한 pTau181/A β 42 비 및 tTau/A β 42 비는 96.6% 높은 수준의 검사정확도를 보였는데, 알츠하이머병에 의한 치매군의 100%를 알츠하이머병에 의한 치매로 진단하였고, 정상군의 92.3%를 정상으로 진단하였다.

ROC curve 분석으로 구한 알츠하이머병에 의한 치매 진단을 위한 생체표지자의 cut-off 농도는 A β 42 290.335 pg/mL, pTau181 54.297 pg/mL, tTau 320.737 pg/mL이었고, pTau181/A β 42 및 tTau/A β 42는 각각 0.163과 0.758 이었다. 이들 cut-off 농도의 민감도와 특이도는 A β 42 경우, 88.2%와 83.3%, pTau181은 82.4%와 91.7%, tTau는 82.4%와 100%였다. pTau181/A β 42와 tTau/A β 42의 cut-off 값은 동일하게 94.1%의 민감도와 100%의 특이도를 나타냈다.

고 찰

본 연구에서는 17명의 알츠하이머병에 의한 치매, 12명의 정상, 그리고 9명의 치매 증상을 보인 기타 치매를 대상으로 뇌척수액의 A β 42, pTau, tTau 농도를 측정하여, ELISA 검사간 측정값의 일치도, 질환군별 차이 그리고, 정상-알츠하이머병에 의한 치매 사이의 감별 진단을 위한 각 생체표지자 농도의 cut-off 값 및 이들의 진단 유용성에 대한 결과를 얻었다.

뇌척수액 A β 42, pTau181, tTau 농도의 알츠하이머병 진단 효용성 및 진단기준치가 보고한 센터마다 차이가 크다(Table 5). 이의 원인

Table 5. Brief summary of the previous literatures

Study group	Subjects	Methods	Results (pg/mL*)
Galasko [42]	AD, 36; CON, 14;	INNOTEST kit	tTau (mean); AD, 509; CON, 177
Hulstaert [43]	AD, 150; MCI, 4; CON, 100; Other D, 79	INNOTEST kit	Aβ42 (mean); AD, 487; MCI, 494; CON, 849; Non-AD D, 603; tTau (mean); AD, 425; MCI, 710; CON, 195; Non-AD D, 220; Aβ42 (cut-off); AD vs. CON, 643 (S 78%, Sp 81%); AD vs. Other D, 551 (S 71%, Sp 63%); tTau (cut-off); AD vs. CON, 252 (S 79%, Sp 70%); AD vs. Other D, 293 (S 71%, Sp 89%)
Andreasen [44]	Probable AD, 274; Depression, 28; CON, 65	INNOTEST kit	tTAU (mean); Probable AD, 690; Depression, 231; CON, 227; tTau (cut-off); 302 (S 93% Sp 86%)
Riemenschneider [45]	AD, 74; FTD, 34; CON, 40	INNOTEST kit	Aβ42 (mean); AD, 394; FTD, 835; CON, 1076; tTau (mean); AD, 540; FTD, 282; CON, 152
Lee EH [16]	AD: 16, CON, 14	Biosource ELISA kit (USA)	Aβ42 (mean); AD, 391; CON, 827; pTau199 (mean); AD, 283; CON, 277; pTau/Aβ42 (mean); AD, 1.01; CON, 0.4
Shaw et al. [14]	AD, 100; MCI, 196; CON, 114	Multiplex xMAP Luminex platform (Luminex Corp, Austin, TX) with Innogenetics kit reagents (INNO-BIA AlzBio3)	Aβ42 (mean); AD, 138; MCI, 146; CON, 217; pTau181 (mean); AD, 36; MCI, 32; CON, 20; tTau (mean); AD, 110; MCI, 86; CON, 61; pTau181/Aβ42 (mean); AD, 0.29; MCI, 0.23; CON, 0.10; tTau/Aβ42 (mean); AD, 0.86; MCI, 0.62; CON, 0.31; Aβ42 (cut-off); AD vs. CON, 192 (S 96%, Sp 77%); pTau181 (cut-off); AD vs. CON, 23 (S 68%, Sp 73%); tTau (cut-off); AD vs. CON, 93 (S 70%, Sp 92%); pTau181/Aβ42 (cut-off); AD vs. CON, 0.1 (S 91%, Sp 71%); tTau/Aβ42 (cut-off); AD vs. CON, 0.39 (S 86%, Sp 85%)
Schoonenboom et al. [27]	AD: 512, FTD: 144, DLB: 52, VD: 34, CBD: 16, PSP: 20, CJD: 6, PSY: 135, SMI: 275	INNOTEST kit	Aβ42 (mean); AD, 447; FTD, 741; DLB, 638; VD, 627; CBD, 681; PSP, 767; CJD, 755; PSY, 906; SMI, 863; tTau (mean); AD, 604; FTD, 350; DLB, 305; VD, 238; CBD, 262; PSP, 203; CJD, 2060; PSY, 213; SMI, 245; pTau (mean); AD, 83; FTLD, 47; DLB, 52; VD, 35; CBD, 50; PSP, 36; CJD, 54; PSY, 41; SMC, 45

*Unit of results. However in case of ratio, there is no unit.

AD, Alzheimer's disease; CBD, corticobasal ganglionic degeneration; CI, cognitive impairment; CON, control; CJD, Creutzfeldt Jacob disease; D, dementia; DLB, diffuse Lewy body dementia; EOAD, early-onset AD; FTD, frontotemporal dementia; LOAD, late-onset AD; MCI, mild cognitive impairment; PSP, progressive supranuclear palsy; SMI, subjective memory impairment; SVD, subcortical vascular dementia; PD, Parkinson's disease; PSY, psychiatric disorder.

으로 사용한 kit 마다의 차이, 뇌척수액 보관 방법의 차이, 측정 전까지 해동/동결 횟수, 측정시 조건의 차이 등이 있지만[24], 최근 Bate-man 등[25]이 제기한 것처럼 Aβ42의 생성과 배출이 하루 중 시간이 나 식사 등 활동에 따라 차이가 있어, 채취시간 및 금식 여부 등이 연구들마다 서로 일치하지 않았던 것도 원인으로 생각된다. 본 연구에서는 대상환자의 채취 시간을 일정하게 하였고, 공복 상태에서 채취하여, 이 같은 원인으로 인한 오류를 최소화 하였다.

한 환자에서 채취한 동일한 뇌척수액을 동일한 조건에서 보관 후, 이를 나누어 서로 다른 센터에서 측정하면, 측정 센터에 따라 차이가 크다[26]. Aβ42가 가장 높아 31-37%이고, INNOTEST kit 사용으로 ELISA 측정 방법을 동일하게 하더라도 센터간의 차이가 22% 정도이다. pTau181과 tTau 경우는 Aβ42보다 적어, 각각 13-15%와 16-21%이다. 이같이 동일 샘플을 이용하더라도 측정 센터간 차이가 상당하여, ADNI 등 국제공동연구에서는, 뇌척수액 채취·보관을 공통 프로토콜에 따라 일정하게 한 뒤, 뇌척수액 분석은 동결 상태로 드라이아이스 상자에 넣어 생물표지자 core 로 지정된 센터로 운반 후 이곳에서 분석하게 하여(<http://adni.loni.ucla.edu/about/centers-cores/biomarker/>) 센터간 측정값 차이에 따른 오류를 피하고 있다. 따라서, 본 연구자들도 검체 수집 후 분석은 한 센터를 정하여 그 곳에서 시행하였다.

동일 센터 내에서 같은 뇌척수액을 반복해서 측정할 때 생기는 차이(intertest variance, CV%)는 해외 여러 센터가 공동으로 한 연구에서는 Aβ42, pTau181, tTau가 각각 21%, 9%, 15%, 혹은 25%, 7%, 18%

였다[26]. 그러나, 최근 대규모 코호트 대상연구에서 보고 된 것처럼 센터를 지정하여 그 곳에서만 지속적으로 시행하게 한 경우에는 Aβ42는 11.3%, pTau181은 9.4%, tTau는 9.3% 정도로 감소한다[27]. 본 연구의 intertest variance는 Aβ42 14.5%, pTau181 5.9%, 그리고 tTau 7%로 보고된 국제적 센터의 수준에 근접한 반복측정 일치도를 보였다.

본 연구에서 알츠하이머병에 의한 치매 환자가 이의 비교군인 정상군에 비해 학력이 의미 있게 높았다(12±4년 vs. 6±4년). 학력이 높은 경우 뇌병리가 있더라도 치매 증상 발현까지 버틸 수 있는 인지능력 저장력(cognitive reserve)이 있어, 같은 수준의 치매 단계 저학력 환자에 비해 뇌병리 진행이 심하다[28]. 따라서, 본 연구 대상 알츠하이머병에 의한 치매인 경우 동일 치매단계 중에서도 비교적 뇌병리가 심한 군이 포함 되었을 가능성이 높다. 반면 정상군은 학력이 낮았기에, 알츠하이머병에 의한 치매의 병리를 가졌으나, 인지 기능 저장력으로 버티고 있던 알츠하이머병에 의한 치매 전단계(혹은 초기) 환자들이 포함되었을 가능성이 고학력 정상인을 포함한 연구에 비해 적다. 그리고, 정상군이 오히려 나이가 많아, 연령이 젊어 초기 알츠하이머병이더라도 인지 기능 장애를 보이지 않은 환자들이 포함될 가능성도 줄었다.

Aβ42는 노년판(senile plaque)의 주요 성분으로 알츠하이머병 발생에 핵심역할을 하며, 뇌의 실질로 유리되어 있다가 이 중 일부가 뇌척수액으로 나온다. 이 중 가장 응집력이 높고, 세포 독성이 높은 42개의 펩타이드로 구성된 Aβ42의 농도가 알츠하이머병 뇌척수액에서 질환 초기부터 감소하는데, 정상인에 비해 약 50% 정도 감소한다

[29, 30]. Pittsburgh compound B (PIB)를 이용한 PET와 뇌척수액 A β 42 농도를 비교하면 뇌척수액 농도 변화가 PIB-PET보다 이른 시기에 오고[31, 32], 이 둘 사이에는 높은 수준의 음의 상관도가 있다[33]. 이는 뇌척수액의 A β 42 농도 감소가 뇌 침착 증가로 인해 뇌척수액으로의 A β 42 배출이 감소하기 때문이라는 가설을 뒷받침 한다[10]. 그러나, 알츠하이머병 뇌척수액의 A β 42 농도 감소가 뇌척수액 농도 측정에 이용하는 대부분의 ELISA kit 가 monomer 형태의 A β 42를 측정하는 것이라, 알츠하이머병에서 A β 42가 monomer 상태로 있기보다 서로 응집하여 쉽게 oligomer 형태이기에 측정되는 A β 42의 양이 감소되게 나타나는 것이지, oligomer 형태의 A β 42 농도를 측정해 보면 오히려 알츠하이머병에서 증가 된다는 주장도 있다[34].

미세관(microtubule)을 안정시키는 정상 단백질 tau는 과인산화되면서 미세관으로부터 유리되어 망가진 신경돌기(neurite)들과 결합하여 세포내 신경원섬유매듭(neurofibrillary tangle)을 형성한다. 이로 인해 신경세포기능이상이 신경세포사로 이어져 세포가 파괴되고, 그 안에 있던 tau 단백질이 세포밖으로 유출된 후 다시 뇌척수액으로 나오기에 알츠하이머병 환자 뇌척수액에서 2-3배 농도 증가가 관찰된다. 알츠하이머병에서 인산화가 증가되는 tau 단백질의 위치에 따라 pTau181, pTau231-235, 그리고 pTau396-404의 농도를 구분하여 측정한 연구들이 있는데[13, 35, 36], 뇌척수액내의 pTau의 증가가 알츠하이머병과 다른 퇴행성뇌질환 사이에 감별진단에 도움이 된다고 알려져 있다. A β 42, pTau181 그리고 tTau의 이상은 알츠하이머병 환자에서 단편적 비교를 해 볼 때, 인지기능 장애 정도 등 치매 정도와 상관성을 보이지 않으나, 경도인지장애 환자가 알츠하이머병에 의한 치매로 진행되는 것을 예측하는데 도움이 된다[37, 38]. 즉, 이들 단백질의 변화는 알츠하이머병 초기에 변화한 후에는 그 이상 정도가 일정한 범위 내에서 유지되는 것으로 생각된다. 사후 부검 뇌와 생전 뇌척수액의 변화를 비교하여 보고한 기존 보고들을 종합해 볼 때 A β 42, pTau181, tTau 각각 보다, 이들의 조합인 pTau181/A β 42 혹은 tTau/A β 42가 알츠하이머병을 진단하거나, 경도인지장애 환자가 알츠하이머병으로 진행되는 것을 예측하는데 유용하여, 민감도와 특이도가 85-91%에 이른다[14, 15]. 본 연구에서는 대상환자 수는 적었지만, 알츠하이머병에 의한 치매군과 정상군을 기존 연구들에 비해 엄격한 기준으로 선별하였고, 알츠하이머병에 의한 치매군은 정상군에 비해 학력이 높고, 나이는 많아, 확실한 알츠하이머병리를 가지는 군과 정상병리를 가지는 군을 비교하고자 노력하였다. 이를 통해 얻은 A β 42, pTau181 및 tTau 측정값의 양성(음성) 예측도는 각각 88.2% (88.3%), 93.3% (78.6%), 93.3% (78.6%)였고, 검사정확도는 각각 84%, 86.2%, 86.2%였다. 이전 보고들처럼 추가 분석한 pTau181/A β 42 및 tTau/A β 42 비의 양성(음성) 예측도가 100% (92.3%)였고, 검사정확도가 높아 96.6%였다. 이는 ADNI에서 사후부검으로 알츠하이머병을 확진한 환자의 생전 뇌척수액과 인지기능 정상인의 뇌척수액을

이용해서 진행한 연구에서 보고한 A β 42, pTau181, tTau의 양성(음성) 예측도, 81.8% (95.2%), 73.1% (67.9%), 90.7% (73.8%) 및 검사정확도 87%, 70.4%, 80.6%와 비슷한 수준이다[14]. A β 42, pTau181 그리고 tTau의 알츠하이머병에 의한 치매군과 정상군에서의 평균농도 및 ROC curve 분석으로 얻은 cut-off 값은 이전 결과들과 비슷하거나 차이가 있는데(Table 5), 위낙 분석 센터마다 차이가 있을 수 있는 수치이기 때문에 본 연구에서 분석이 시행된 센터의 측정치로 향후 이용하면 될 것이다. 얻은 cut-off 농도로 분석한 알츠하이머병에 의한 치매 진단의 민감도와 특이도는 A β 42 경우, 88.2%와 83.3%, pTau181은 82.4%와 91.7%, tTau는 82.4%와 100%, pTau181/A β 42 비와 tTau/A β 42 비는 동일하게 94.1%와 100%로 이전 보고들 중 높은 수준의 민감도와 특이도를 보고한 그룹들과 비슷한 수준이었다[14, 15].

본 연구에서 알츠하이머병에 의한 치매군과 기타 치매군 사이의 감별에서 뇌척수액 생물표지자들의 유용성에 대한 분석은 앞서 언급한 이유들로 인해 시행하지 않았다. pTau181과 tTau 농도는 알츠하이머병에 의한 치매군에 비해 감소되어 정상군과 비슷한 수준이었으나, A β 42 농도는 알츠하이머병에 의한 치매군과 비슷한 수준으로 감소되어 있었다. 포함된 기타 치매 환자들은 임상적 치매 증상을 보인 파킨슨병치매, 레비소체치매, 전두측두엽치매, 진행핵상마비, 혈관성치매, 그리고 정신질환이었다. 파킨슨병이나 레비소체치매에서 A β 침착이 흔히 관찰되는데, 치매로 진행된 경우 더욱 그렇고[39, 40], 혈관성치매에서도 드물지 않게 관찰된다[41]. 이 같은 이유가 기타 치매군에서 A β 42 농도 감소의 원인이었을 가능성이 크다. 그러나, 6개월 이상 임상적 추적을 하였더라도, 기타 치매의 경우 임상진단기준에 의지하여서 질환 분류를 하였기에, 알츠하이머병에 의한 치매 환자가 일부 포함되었을 가능성도 배제할 수는 없다.

결론적으로, 본 연구자들은 알츠하이머병 진단에 유용한 A β 42, pTau181 및 tTau의 뇌척수액농도의 기준치 마련을 위한 예비연구를 통해 정상인과 알츠하이머병에 의한 치매를 감별하는데 도움이 될 A β 42, pTau181, tTau, pTau181/A β 42 및 tTau/A β 42에 대한 수치를 제시하였다. 반복 측정사이의 일치도 및 cut-off 농도의 민감도와 특이도가 높아 뇌척수액 생물표지자를 이용한 다기관 국내연구에 이용할 만큼 신뢰도 있는 뇌척수액 A β 42, pTau181, tTau 농도 측정 위한 국내 네트워크를 만들었다는데 본 연구의 의의가 있다. 향후 치매를 보이는 여러 기타 치매와 알츠하이머병에 의한 치매의 감별 유용성 및 더 많은 환자수를 대상으로 한 검증 등이 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Asien PS, Andrieu S, Sampaio C, Carrillo M, Dhachaturian ZS, Dubois B, et al. Report of the task force on designing clinical trials in early (pre-

- dementia) *AD. Neurol* 2011; 76: 280-6.
2. Golde TE, Schneider LS, Koo EH. *Anti- $\alpha\beta$ therapeutics in Alzheimer's disease: the need for a paradigm shift. Neuron* 2011; 69: 203-13.
 3. Cummings JL. *Biomarkers in Alzheimer's disease drug development. Alzheimers Dement* 2011; 7: e13-44.
 4. Mueller SG, Weiner MW, Thal LJ, Petersen RC, Jack CR, Jagust W, et al. *Ways toward an early diagnosis in Alzheimer's disease: the Alzheimer's disease Neuroimaging Initiative (ADNI). Alzheimers Dement* 2005; 1: 55-66.
 5. Choi J, Lee HW, Suk K. *Plasma level of chitinase 3-like 1 protein increases in patients with early Alzheimer's disease. J Neurol* 2011; 258: 2181-5.
 6. Han SH, Jung ES, Sohn JH, Hong HJ, Hong HS, Kim JW, et al. *Human serum transthyretin levels correlate inversely with Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis* 2011; 25: 77-84.
 7. Kim SM, Song J, Kim S, Han C, Park MH, Koh Y, et al. *Identification of peripheral inflammatory markers between normal control and Alzheimer's disease. BMC Neurol* 2011; 11: 51.
 8. Lee KS, Chung JH, Lee KH, Shin MJ, Oh BH, Hong CH. *Bioplex analysis of plasma cytokines in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. Immunol Lett* 2008; 121: 105-9.
 9. Lee JW, Namkoong H, Kim HK, Kim S, Hwang DW, Na HR, et al. *Fibrinogen gamma-A chain precursor in CSF: a candidate biomarker for Alzheimer's disease. BMC Neurol* 2007; 7: 14.
 10. Holtzman DM. *CSF biomarkers for Alzheimer's disease: current utility and potential future use. Neurobiol Aging* 2011; 32: S4-9.
 11. Zetterberg H, Blennow K, Hanse E. *Amyloid beta and APP as biomarkers for Alzheimer's disease. Exp Gerontol* 2010; 45: 23-9.
 12. Blennow K, Vanmechelen E, Hampel H. *CSF total tau, A β 42 and phosphorylated tau protein as biomarkers for Alzheimer's disease. Mol Neurobiol* 2001; 24: 87-97.
 13. Buerger K, Zinkowski R, Teipel SJ, Tapiola T, Arai H, Blennow K, et al. *Differential diagnosis of Alzheimer disease with cerebrospinal fluid levels of tau protein phosphorylated at threonine 231. Arch Neurol* 2002; 59: 1267-72.
 14. Shaw LM, Vanderstichele H, Knapik-Czajka M, Clark CM, Aisen PS, Petersen RC, et al. *Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. Ann Neurol* 2009; 65: 403-13.
 15. Welge V, Fiege O, Lewczuk P, Mollenhauer B, Esselmann H, Klafki HW, et al. *Combined CSF tau, p-tau181 and amyloid-beta 38/40/42 for diagnosing Alzheimer's disease. J Neural Transm* 2009; 116: 203-12.
 16. Lee EH, Youn YC, Park KY, Min JH, Kwon OS, Lee HO, et al. *The effect of acetylcholine esterase inhibitor on cerebrospinal fluid β -amyloid 1-42 and phosphorylated tau protein in Korean Alzheimer's disease patients: Preliminary study. J Korean Neurol Assoc* 2008; 26: 224-30.
 17. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. *Clinical diagnosis of Alzheimer's disease—report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's disease. Neurology* 1984; 34: 939-44.
 18. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, DeKosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, et al. *Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. Lancet Neurol* 2007; 6: 734-46.
 19. Emre M, Aarslan D, Brown R, Burn DJ, Kuyckaerts C, Mizuno Y, et al. *Clinical diagnostic criteria for dementia associated with Parkinson's disease. Mov Disord* 2007; 22: 1689-707.
 20. McKeith IG, Dickson DW, Lowe J, Emre M, O'Brien JT, Feldman H, et al. *Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: third report of the DLB Consortium. Neurology* 2005; 65: 1863-72.
 21. Neary D, Snowden JS, Gustafson L, Passant U, Stuss D, Black S, et al. *Frontotemporal lobar degeneration: a consensus on clinical diagnostic criteria. Neurology* 1998; 51: 1546-54.
 22. Litvan I, Agid Y, Calne D, Campbell G, Dubois B, Duvoisin RC, et al. *Clinical research criteria for the diagnosis of progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome): report of the NINDS-SP-SP international workshop. Neurology* 1996; 47: 1-9.
 23. Roman GC, Tatemichi TK, Erkinjuntti T, Cummings JL, Masdeu JC, Garcia JH, et al. *Vascular dementia. Diagnostic criteria for research studies: Report of the NINDS-AIREN international workshop. Neurology* 1993; 43: 250-60.
 24. Bjerke M, Portelius E, Minthon L, Wallin A, Anckarsäter H, Anckarsäter R, et al. *Confounding factors influencing amyloid beta concentration in cerebrospinal fluid. Int J Alzheimers Dis* 2010; 2010: 986310.
 25. Bateman RJ, Wen G, Morris JC, Holtzman DM. *Fluctuations of CSF amyloid- β levels: Implications for a diagnostic and therapeutic biomarker. Neurology* 2007; 68: 666-9.
 26. Verwey NA, van der Flier WM, Blennow K, Clark C, Sokolow S, De Deyn PP, et al. *A worldwide multicenter comparison of assays for cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease. Ann Clin Biochem* 2009; 46: 235-40.
 27. Schoonenboom NS, Reesink FE, Verwey NA, Kester MI, Teunissen CE, van de Ven PM, et al. *Cerebrospinal fluid markers for differential dementia diagnosis in a large memory clinic cohort. Neurology* 2012; 78:

- 47-54.
28. Kemmppainen NM, Aalto S, Karrasch M, Nagren K, Savisto N, Oikonen V, et al. Cognitive reserve hypothesis: Pittsburgh Compound B and fluorodeoxyglucose positron emission tomography in relation to education in mild Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2008; 63: 112-8.
 29. Motter R, Vigo-Pelfrey C, Kholodenko D, Barbour R, Johnson-Wood K, Galasko D, et al. Reduction of beta-amyloid peptide42 in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1995; 38: 643-8.
 30. Sunderland T, Linker G, Mirza N, Putnam KT, Friedman DL, Kimmel LH, et al. Decreased beta-amyloid 1-42 and increased tau levels in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer disease. *JAMA* 2003; 289: 2094-103.
 31. Fagan AM, Mintun MA, Mach RH, Lee SY, Dence CS, Shah AR, et al. Inverse relation between in vivo amyloid imaging load and cerebrospinal fluid Abeta42 in humans. *Ann Neurol* 2006; 59: 512-9.
 32. Fagan AM, Mintun MA, Shah AR, Aldea P, Roe CM, Mach RH, et al. Cerebrospinal fluid tau and ptau(181) increase with cortical amyloid deposition in cognitively normal individuals: implications for future clinical trials of Alzheimer's disease. *EMBO Mol Med* 2009; 1: 371-80.
 33. Weigand SD, Vemuri P, Wiste HJ, Senjem ML, Pankratz VS, Aisen PS, et al. Transforming cerebrospinal fluid Aβ42 measures into calculated Pittsburgh compound B units of brain Aβ amyloid. *Alzheimers Dementia* 2011; 7: 133-41.
 34. Englund H, Degerman Gunnarsson M, Brundin RM, Hedlund M, Kilander L, Lannfelt L, et al. Oligomerization partially explains the lowering of Abeta42 in Alzheimer's disease cerebrospinal fluid. *Neurodegener Dis* 2009; 6: 139-47.
 35. Hampel H, Buerger K, Zinkowski R, Teipel SJ, Goernitz A, Andreasen N, et al. Measurement of phosphorylated tau epitopes in the differential diagnosis of Alzheimer disease: a comparative cerebrospinal fluid study. *Arch Gen Psychiatry* 2004; 61: 95-102.
 36. Hu YY, He SS, Wang X, Duan QH, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, et al. Levels of nonphosphorylated and phosphorylated tau in cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients: an ultrasensitive bienzyme-substrate-recycle enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Pathol* 2002; 160: 1269-78.
 37. Vemuri P, Wiste HJ, Weigand SD, Shaw LM, Trojanowski JQ, Weiner MW, et al. MRI and CSF biomarkers in normal, MCI, and AD subjects: predicting future clinical change. *Neurology* 2009; 73: 294-301.
 38. Vemuri P, Wiste HJ, Weigand SD, Knopman DS, Trojanowski JQ, Shaw LM, et al. Serial MRI and CSF biomarkers in normal aging, MCI, and AD. *Neurology* 2010; 75: 143-51.
 39. Montine TJ, Shi M, Quinn JF, Peskind ER, Craft S, Ginchina C, et al. CSF Aβ(42) and tau in Parkinson's disease with cognitive impairment. *Mov Disord* 2010; 25: 2682-5.
 40. Rowe CC, Ng S, Ackermann U, Gong SJ, Pike K, Savage G, et al. Imaging beta-amyloid burden in aging and dementia. *Neurology* 2007; 68: 1718-25.
 41. Lee JH, Kim SH, Kim GH, Seo SW, Park HK, Oh SJ, et al. Identification of pure subcortical vascular dementia using 11C-Pittsburgh compound B. *Neurology* 2011; 77: 18-25.
 42. Galasko D, Clark C, Chang L, Miller B, Green RC, Motter R, et al. Assessment of CSF levels of tau protein in mildly demented patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 1997; 48: 632-5.
 43. Hulstaert F, Blennow K, Ivanoiu A, Schoonderwaldt HC, Riemenschneider M, DeDeyn PP, et al. Improved discrimination of AD patients using beta-amyloid(1-42) and tau levels in CSF. *Neurology* 1999; 52: 1555-62.
 44. Andreasen N, Minthon L, Clarberg A, Davidsson P, Gottfries J, Vanmechelen E, et al. Sensitivity, specificity, and stability of CSF-tau in AD in a community-based patient sample. *Neurology* 1999; 53: 1488-94.
 45. Riemenschneider M, Wagenpfeil S, Diehl J, Lautenschlager N, Theml T, Heldmann B, et al. Tau and Abeta42 protein in CSF of patients with frontotemporal degeneration. *Neurology* 2002; 58: 1622-8.