

# 파킨슨병의 생물표지자: 임상 및 생화학 생물표지자

이주영 마효일<sup>a</sup> 김영은<sup>a</sup>

한림대학교 의과대학 강동성심병원 신경과, 한림대학교 의과대학 한림대학교성심병원 신경과<sup>a</sup>

## Biomarker in Parkinson's Disease: Clinical and Biochemical Biomarker

Ju-Young Lee, MD, Hyeo-il Ma, MD<sup>a</sup>, Young Eun Kim, MD, PhD<sup>a</sup>

*Department of Neurology, Kangdong Sacred Heart Hospital, College of Medicine, Hallym University, Seoul, Korea*

*Department of Neurology, Hallym University Sacred Heart Hospital, College of Medicine, Hallym University, Anyang, Korea<sup>a</sup>*

Parkinson's disease is a neurodegenerative disease compromising progressive motor and non-motor features for a long disease course. Although many drugs controlling parkinsonian symptoms were discovered, treatment with disease-modifying or halting effect was not developed to date. The exploration of reliable biomarkers would be helpful for better predicting disease progression and thereby successful development of disease-modifying therapy. In this review, we will review the clinical biomarkers in the prodromal stage and biomarkers using biological tissue in Parkinson's disease.

J Korean Neurol Assoc 39(4):287-297, 2021

**Key Words:** Parkinson's disease, Biomarkers, Alpha-Synuclein

### 서 론

파킨슨병은 신경퇴행질환으로, 긴 유병 기간에 걸쳐 환자의 운동 및 비운동 증상이 점차 악화된다. 증상 조절을 위한 약물들이 개발되어 파킨슨병 환자들의 삶의 질이 개선되고 있지만, 아직까지 파킨슨병의 경과를 바꿀 수 있는 치료제는 없다. 성공적인 치료제 개발과 삶의 질 개선을 위해서는 이 질환의 조기 진단 및 정확한 진단, 환자군의 분류, 질병 경과 예측, 치료효과 추적 등을 가능하게 하는 유용한 생물표지자의 개발이 매우 중요하다. 이 종설에서는 현재까지 연구된 파킨슨병의 임상적 생물표지자와 생체조직을 이용한 생물표지자를 살펴보고, 한계점과 앞으로의 발전방향을 논의해 보고자 한다.

### 본 론

파킨슨병은 운동완만, 경축, 떨림, 보행장애를 특징으로 하며, 이런 운동 증상이 파킨슨병의 진단기준이 된다.<sup>1</sup> 그러나 이런 운동 증상이 발생하기 수년에서 수십년 전부터 이미 파킨슨병의 병리가 서서히 진행해 오는 것으로 알려져 있으며, 운동 증상으로 진단되기 전에 렘수면행동장애(rapid eye movement sleep behavior disorder), 우울증, 변비, 후각저하 등이 선행하는 것이 잘 알려져 있다.<sup>2</sup> 따라서 이런 운동전 증상(premotor symptoms)은 파킨슨병의 발병을 예측하는 임상적 생물표지자로서 의의가 있다.

실제 파킨슨병의 초기 진단시 파킨슨증(Parkinsonism)을 보이는 환자가 모두 파킨슨병은 아니며, 파킨슨병 이외에도 비전형파킨슨 증후군(atypical parkinsonism) (레비소체치매[dementia with Lewy bodies], 다계통위축증[multiple system atrophy], 피질기저핵변성[corticobasal degeneration], 진행핵상마비[progressive supranuclear palsy])과 이차 파킨슨증(secondary parkinsonism) 등도 비슷한 증상을 나타낼 수 있어 초기에 임상적 특징만으로 질환을 정확히 구분하는 것은 어려울 수 있다. 실제 Meara 등<sup>3</sup>은 파킨슨병의 임상 진단 시 초기 오진율이 25%에 달한다고 보고하였다. 따라서 이러한 질환들의 병리 특성을 기반으로 질병을 구분하는 것이 진단의 특이성을

Received May 5, 2021 Revised July 15, 2021

Accepted July 15, 2021

**Address for correspondence:** Young Eun Kim, MD, PhD  
Department of Neurology, Hallym University Sacred Heart Hospital,  
College of Medicine, Hallym University, 22 Gwanpyeong-ro  
170beon-gil, Dongan-gu, Anyang 14068, Korea  
Tel: +82-31-380-3740  
E-mail: yekneurology@hallym.ac.kr

\*National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korean government (MSIT) (2020R1F1A1076697).

**Table.** Summary of clinical and biochemical biomarkers in Parkinson's disease

Type	Material	Source	Biomarker	Diagnostic biomarker	Prognostic biomarker	Comment	
Clinical		Prodromal stage	RBD	High prediction for ND	Dementia and disease progression	Polysomnography for diagnosis	
			Constipation	Low specificity	N/A		
			Hyposmia	Low specificity	N/A		
			Depression	Low specificity	N/A		
Body fluid /tissue	$\alpha$ Syn	Blood	All types $\alpha$ Syn	Low specificity (higher than NC)	Low specificity	Very high risk of RBC contamination	
			CSF	t- $\alpha$ Syn	Lower than NC		Risk of RBC contamination
				o- $\alpha$ Syn	Higher than NC		Various range of ES
				o- $\alpha$ Syn/t- $\alpha$ Syn ratio	Higher than NC		Improved ES than single test
				p- $\alpha$ Syn	Higher than NC, AP	Higher with disease progression	Improved ES with combination of other form $\alpha$ Syn
			Seeding assay	High sen/high spec (90%)			
		GI/Skin/SMG	Staining	Low sen/high spec			
		Skin/SMG	Seeding assay	High sen/high spec			
	Amyloid beta ( $A\beta$ 42)	CSF	$A\beta$ 42	Lower than NC	Decreased with cognitive dysfunction	p-tau/ $A\beta$ index increased with cognition and motor	
	Tau	CSF	t-tau, p-tau	Lower than NC, AP	Increased with dementia	p-tau/t-tau decreased with motor progression	
	Protein degradation	CSF	UCH-L1	Lower than NC or AP			
		CSF	GBA	Lower than NC		Instability of GBA for storage	
	Neurotrophin	CSF/serum	BDNF	Higher in CSF/lower in serum than NC	Increased with motor progression		
IGF-1			Increased in CSF and serum	Decreased with Dementia			
Oxidative stress	Serum	Urate		Lower level with disease progression			
	Serum	Homocysteine		Higher with dementia and dyskinesia	Levodopa use		
	Serum	AOPP		Lower with higher HY, long disease duration			
	CSF/serum	8-OHdG	Higher than NC	Higher with disease progression			
	CSF/serum	DJ-1	Higher than NC				
		CoQ10	Lower than NC, increased oxidative coq10	Increased with disease progression			
Others		NFL	Lower than AP				
		Peptides	Different with NC, AP				
		miRNA	Differential expression		Preclinical markers		

RBD; rapid eye movement sleep behavior disorder, ND; neurodegenerative disease, N/A; not assessable,  $\alpha$ Syn;  $\alpha$ -Synuclein, NC; normal control, RBC; red blood cell, CSF; cerebrospinal fluid, t- $\alpha$ Syn; total  $\alpha$ -Synuclein, o- $\alpha$ Syn; oligomeric  $\alpha$ -Synuclein, ES; effect size, p- $\alpha$ Syn; phosphorylated  $\alpha$ -Synuclein, AP; atypical Parkinsonism, sen; sensitivity, spec; specificity, GI; gastrointestinal tract, SMG; submandibular gland, p-tau; phosphorylated tau, t-tau; total tau, UCH-L1; ubiquitin C-terminal hydrolase-L1, GBA;  $\beta$ -glucocerebrosidase, BDNF; brain-derived neurotrophic factor, IGF-1; insulin-like growth factor 1, AOPP; advanced oxidized protein products, HY; Hoehn and Yahr scale, 8-OHdG; 8-hydroxydeoxyguanosine, CoQ10; coenzyme Q10, NFL; neurofilament light chain, miRNA; microRNA.

높일 수 있을 것이다. 이런 파킨슨증을 특징으로 하는 신경퇴행질환 중, 크게는 파킨슨병과 레비소체치매, 다계통위축증은 알파시누클레인( $\alpha$ -Synuclein,  $\alpha$ Syn)이라는 단백질의 축적을 특징(synucleinopathy)으로 하고, 피질기저핵변성이나 진행핵상마비는 타우단백(tau protein)의 응집을 특징(tauopathy)으로 하는데, 이런 병리적 차이를 기반으로 생체시료를 이용한 생물표지자 연구가 진행되고 있다.

이외에도 이런 비정상적인 단백질 축적에 기여하는 자가포식-리소솜기능이상(autophagy-lysosomal dysfunction), 신경세포의 사멸과 관련된 산화스트레스, 사립체기능이상, 신경세포사멸로 인한 부산물 등을 측정하여 병의 진단이나 병의 경과를 예측하는 생물표지자로 사용하려는 연구들이 이루어지고 있다.

실제 유용한 생물표지자라 하면, 효과크기(effect size)가 크고 (곡선하면적[area under the curve, AUC] >0.8), 생물표지자의 검사 수치가 질병 간 혹은 정상인 그룹과 중복되는 범위가 적어야 하며, 재검 시에도 일관성 있는 결과를 도출하면서, 다른 기저질환 및 간섭요인들에 의해 영향을 덜 받아야 한다.<sup>4</sup> 현재까지 파킨슨병에서 위의 특징을 이용한 다양한 생물표지자가 연구되고 있으나 대부분 이와 같은 기준을 만족시키지는 못하고 있어 효율성을 증진시키기 위한 많은 연구들이 진행 중이다. 이에 현재까지의 연구 성과를 살펴보고 나아가 방향을 논의해 보고자 한다(Table).

## 1. 파킨슨병 예측의 임상적 생물표지자

파킨슨병에서 병을 진단하기 전단계는 임상전단계(preclinical stage)와 전구단계(prodromal stage)로 나눌 수 있는데, 임상전단계는 병리가 진행되고 있으나 어떤 증후나 증상도 없는 상태이며, 전구단계는 증상과 증후가 관찰되나 파킨슨병의 진단기준에 맞는 운동 증상이 발현되지 않은 단계이다.<sup>5</sup> 이런 전구단계에 관찰될 수 있는 임상 증상들은 파킨슨병 발생을 예측하는 데 유용하게 사용될 수 있다. 대표적으로 전구단계에서 관찰되는 비운동 증상으로는 렘수면행동장애, 후각저하, 변비, 우울증 등이 있다.

### 1) 렘수면행동장애

렘수면행동장애는 렘수면(rapid eye movement sleep) 동안 정상적으로 사라져야 하는 근육의 긴장도가 감소하지 않고, 꿈속의 내용을 말이나 몸으로 나타내는 수면장애로, 그 내용은 흔히 공격적이거나 폭력적인 내용이 많다.<sup>6</sup> 렘수면행동장애는 일반인구에서 빈도가 1% 정도로 낮은 반면 파킨슨병 환자에서는 20-72%로 매우 높은 빈도를 보이며 파킨슨병 환자의 약 18-52%에서 운동 증상 발생 전 전구단계에 발생한다.<sup>6</sup> 렘수면행동장애 환자의 10년 경과

추적 시 50%, 더 긴 경과 추적 시에 대부분의 환자에서 파킨슨병을 포함한 synucleinopathy를 특징으로 하는 신경퇴행질환이 발생하기 때문에, 렘수면행동장애는 신경퇴행질환의 초기 진단을 위한 생물표지자로서 매우 유용하다.<sup>6</sup> 또한 렘수면행동장애는 파킨슨병의 예후와도 관련되어 있다. 초기 파킨슨병 환자에서 렘수면행동장애가 있는 경우 치매, 환각(hallucination)의 발생 가능성이 높다고 알려져 있으며, Parkinson's Progression Markers Initiative (PPMI) 코호트의 초기 파킨슨병 환자에서 렘수면행동장애가 있는 경우 4년간 추적한 도파민운반체(dopamine transporter)영상에서 도파민신경의 퇴행이 더 빠르게 나타났다.<sup>6,7</sup> 이는 렘수면행동장애가 파킨슨병 환자의 나쁜 예후와 관련되어 있음을 시사한다. 그러나 렘수면행동장애는 임상 증상만으로는 진단 정확도가 떨어져 수면다원검사를 이용해야 하는 어려움이 있고 모든 파킨슨병 환자에게 나타나는 것은 아니며, 질병의 전 기간에 걸쳐 일관되게 나타나는 것이 아니라는 한계점이 있다.

### 2) 변비

파킨슨병에서 알파시누클레인 병리가 중추신경계에 나타나기 이전에 장관신경계(enteric nervous system) 등 말초신경에서 나타난다는 것이 부검(autopsy) 연구나 위장관 생검 연구를 통해 알려져 왔다.<sup>8-10</sup> 파킨슨병 환자에서 장관신경계에 알파시누클레인의 축적이 관찰되고, 장내 미생물(microbiome) 구성에도 변화가 있음이 밝혀졌으며, 이는 파킨슨병 환자들이 임상 진단 전부터 오랜 기간 변비를 흔히 호소하는 근거라고 할 수 있다. 파킨슨병 환자에서 변비 자체는 파킨슨병이 없는 일반인구에서도 유병률이 매우 높아, 변비만 있는 사람의 추후 파킨슨병 발병률은 24년 기간 동안 약 1.6%로 매우 낮은 파킨슨병 발병을 예측하기 위한 특이적 생물표지자로서의 가치는 낮다.<sup>13</sup> 다만 최근 연구 결과, 정상인과 비교하여 파킨슨병 환자에서 장내 미생물의 변화가 관찰되는데, 연구 결과마다 차이가 있기는 하지만, 대체적으로 *Prevotellaceae*와 *butyrate-producing bacteria* (Roseburia와 *Faecalibacterium*)의 감소, *Akkermansia* 종의 증가가 보고되었다. 또한 전구단계인 특발렘수면행동장애 환자에서도 장내 미생물 변화가 보고되어 대변 내의 장내 미생물 변화 측정이 진단적 생물표지자로서 가치가 있을지는 추가 연구 결과를 주목할 필요가 있다.<sup>14,15</sup>

### 3) 후각저하

파킨슨병 환자에서 후각저하(hyposmia)는 매우 흔한 증상으로 초기 파킨슨병에서 그 빈도가 대략 90%까지 보고되고 있다.<sup>16</sup> 후

각신경은 파킨슨병의 병리 단계상 가장 처음 이상 소견을 보이는 해부학 구조 중 하나(Braak stage I)로, 실제 후각저하는 파킨슨병 전구단계에서 흔히 관찰된다.<sup>17</sup> 따라서 후각저하는 파킨슨병을 예측하는 초기 진단적 생물표지자로서 가치가 있으며, 2015년에 개정된 Movement Disorder Society 파킨슨병 진단기준에 보조진단 기준(supportive criteria)으로 포함되었다.<sup>1</sup> Honolulu-Asia Aging Study 코호트에서, 2,267명의 치매와 파킨슨병이 없는 정상 노인의 후각을 측정하고 8년간 추적 관찰한 결과 35명의 파킨슨병 환자가 발생하였다. 이는 후각기능이 가장 낮은 4분위수에 속한 그룹에서 파킨슨병 발병 승산비(odds ratio)가 상위 4분위수에 비해 5.2 배로 높아 후각 손상이 파킨슨병 발병의 위험도를 예측하는 데 유용한 스크리닝 방법이 될 수 있음을 시사한다.<sup>18</sup> 또한 후각저하 환자의 선조체에서 도파민운반체(dopamine transporter) 밀도를 측정 한 결과, 후각저하가 있는 환자에서 11%, 정상인에서는 1% 만이 저하되어 있어, 후각저하가 도파민 신경퇴행을 예측하는 데 가치가 있음을 시사한다.<sup>19</sup> 후각저하는 파킨슨병 이외에도 알츠하이머 병과 같은 다른 신경퇴행질환에서도 나타날 수 있어, 높은 민감도에 비해 단독 증상만으로는 상대적으로 파킨슨병 예측에 대한 특이도가 떨어진다. 하지만 후각저하가 렘수면행동장애와 같은 다른 비운동 증상들과 함께 있다면 진단적 생물표지자로서의 가치는 매우 높다고 할 수 있다.

4) 우울증

파킨슨병에서 우울증(depression)은 비교적 흔한 증상이지만, 운동 증상이 생기기 전 전구단계에서 우울증 단일 증상만으로는 파

킨슨병 예측의 민감도와 특이도가 낮다.<sup>5</sup> 일반인구에서 우울증은 약 2%의 빈도이나 이 중 약 1.4% 만이 24년의 관찰 기간 동안 신경퇴행질환이 발생하였고, 우울증 환자에서 파킨슨병 발생의 위험비(hazard ratio)는 3.13였다.<sup>20</sup>

2. 생화학 생물표지자(biochemical biomarker)

1) 알파시누클레인을 이용한 생물표지자

파킨슨병의 생물표지자 연구는 대부분 파킨슨병의 병리나 병인에 근거하여 발전해 왔다. 파킨슨병의 주요 병리 소견은 중뇌(midbrain)의 도파민 신경세포의 사멸과 함께, 신경세포 내의 레비소체(Lewy body)라는 단백질 응집체가 발견되는 것을 특징으로 한다.<sup>21</sup> 이 레비소체는 알파시누클레인( $\alpha$ Syn)이라는 단백질을 주구성성분으로 한다. Figure는  $\alpha$ Syn이 응집되어 레비소체를 형성하기까지의 단계이다.

파킨슨병이  $\alpha$ Syn 단백질의 변형과 응집(phosphorylation, misfolding, aggregation, accumulation)을 주요 병리 기전으로 하는 것에 착안하여 뇌척수액이나 혈액을 포함한 신체의 여러 부위에서 발견되는 여러 형태의  $\alpha$ Syn, 즉 단량체(monomer), 소중합체(oligomer), 원섬유(fibril) 등을 측정하여 이를 파킨슨병의 생물표지자로 사용하려는 연구들이 있어 왔다. 가장 많이 연구된 생체시료는 혈액과 뇌척수액이며, 최근 피부조직 등 말초조직을 이용한 연구가 활성화되고 있다.

(1) 혈액

그간 혈액내(주로 혈청이나 혈장) 총  $\alpha$ Syn 양을 측정하는 여러

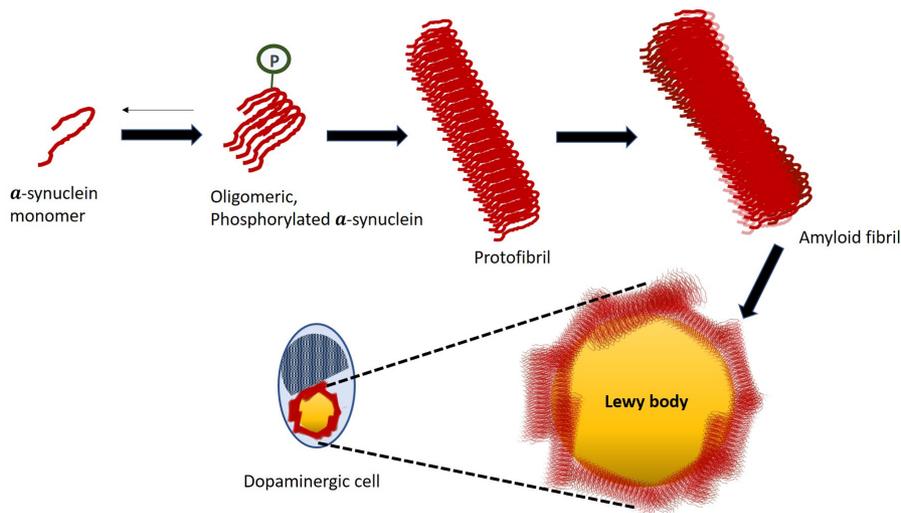


Figure. Morphological change of alpha-synuclein and lewy body formation.

연구들이 진행되어 왔으나 연구 결과 간의 일관성이 매우 떨어졌다. 이는 적혈구가 혈액내 99% 이상의  $\alpha$ Syn을 가지고 있기 때문에 약간의 적혈구 용혈이나 간섭만으로도 결과에 큰 차이가 생길 수 있기 때문이다.<sup>22</sup> 메타분석에서는 혈장  $\alpha$ Syn 양이 파킨슨병 환자에서 정상인에 비해 약간 높게 측정되나 검사 방법이 다양하고 데이터의 일관성이 떨어졌다.<sup>23</sup> 이런 문제점 때문에 혈액의 총  $\alpha$ Syn 양을 측정하는 대신 병적인 특정 형태의  $\alpha$ Syn을 측정하는 연구도 진행되었다. El-Agnaf 등<sup>24</sup>이 파킨슨병 환자의 혈액에서 oligomer 형태의  $\alpha$ Syn이 정상인에 비해 증가되어 있다고 보고하였으나 민감도는 높지 않았다. 또한 다른 연구에서는 적혈구의 oligomeric  $\alpha$ Syn/총단백질(total protein)의 비율을 측정하여 이것이 정상인보다 증가되어 있다는 것을 보고하였으나 여전히 검사의 민감도와 예민도는 높지 않았다.<sup>25</sup>

## (2) 뇌척수액

뇌척수액은 뇌와 가장 가까이 위치하고, 적혈구의 오염으로 검사 결과에 영향을 줄 가능성이 적기 때문에 혈액에 비해 생물표지자 개발을 위한 생체시료로서 가치가 높으며, 따라서 현재까지 가장 많이 연구된 생체시료이다. 다만 혈액보다 샘플 채취가 침습적이라는 문제점이 있다.

### ① 총 $\alpha$ Syn

파킨슨병 환자의 뇌척수액내 총  $\alpha$ Syn (total  $\alpha$ Syn, t- $\alpha$ Syn) 양을 측정하는 많은 연구가 있었으며, 최근 몇 개의 메타분석에 의하면 파킨슨병 환자의 뇌척수액내 총  $\alpha$ Syn 수치는 정상인과 비교해서 10-15% 정도 감소되어 있다.<sup>26-30</sup> 그러나  $\alpha$ Syn 절대값 수치가 실험마다 일관되지 않고 정상인에서의 총  $\alpha$ Syn 수치와 겹쳐지는 범위가 커서 단독검사만으로는 파킨슨병과 정상인을 구분하기는 어렵다.<sup>26,28,30</sup> 또한 병의 기간에 따라 측정된  $\alpha$ Syn 수치도 질병의 심각도를 반영하지 못하는 것으로 보고되었다.<sup>31,32</sup> 이 검사의 한계점은 뇌척수액에 아주 적은 양의 적혈구 오염도  $\alpha$ Syn 수치의 큰 차이를 나타낼 뿐만 아니라, 환자군 선별, 질병 단계, 약물 사용 등이 결과에 대한 혼동요인으로 작용했을 가능성이 있다.

### ② Oligomeric $\alpha$ Syn

Oligomer, fibril, 인산화(phosphorylation) 등  $\alpha$ Syn 단백질의 형태 변화는 파킨슨병에서 흔히 관찰되는 병리적 현상이다. 이런 병적인  $\alpha$ Syn 형태를 측정하고 여러  $\alpha$ Syn 형태의 비율을 측정하는 연구가 이루어지고 있는데 총  $\alpha$ Syn 양만 측정하는 것에 비해 진단적 정확도가 높다. 뇌척수액의 oligomer 형태의  $\alpha$ Syn (oligomeric  $\alpha$ Syn, o- $\alpha$ Syn)은 정확도는 높지 않았으나(민감도/특이도, 71%/64%) 파킨슨병 환자에서 정상인에 비해 높게 측정되었다.<sup>27,30</sup> 또한 뇌척수액의 o- $\alpha$ Syn/t- $\alpha$ Syn의 비율 측정은 한 가지 검사 수치보다 파킨슨

병 진단의 정확도를 다소 개선할 수 있다(AUC, 0.78-0.948).<sup>33-35</sup>

### ③ Phosphorylated $\alpha$ Syn

$\alpha$ Syn의 인산화는 파킨슨병의 병인에 중요한 단백질변형으로  $\alpha$ Syn의 독성을 증가시키거나, 혹은  $\alpha$ Syn의 소섬유 형성(fibrillation)이나 레비소체 형성을 억제하는 과정에서 일어난다고 보고되며, 레비소체에서 발견되는  $\alpha$ Syn 변형의 90% 이상을 차지한다.<sup>36</sup> 뇌척수액에서 인산화 형태의  $\alpha$ Syn 측정에 대한 데이터는 아직 많지 않지만, 몇 개의 연구에서 이 수치가 파킨슨병에서 정상인에 비해 증가되어 있다고 보고하였다.<sup>30</sup> Foulds 등<sup>37</sup>은 파킨슨병이 진행할수록 비인산화 형태의  $\alpha$ Syn은 감소하고, 인산화 형태의  $\alpha$ Syn은 증가함을 보고하고 질병 진행을 예측하는 생물표지자로서의 가능성을 제시하였다.<sup>38</sup> 또한 뇌척수액의 인산화  $\alpha$ Syn (phosphorylated alpha synuclein, p- $\alpha$ Syn)은 정상인뿐만 아니라 다계통위축증, 진행 핵상마비 환자보다 증가되어 있어 감별진단의 가치가 있다.<sup>39</sup> 아직 연구가 더 필요하나, 다른 형태의  $\alpha$ Syn (o- $\alpha$ Syn/t- $\alpha$ Syn, p- $\alpha$ Syn, phosphorylated tau [p-tau]; AUC, 0.86)과 함께 측정하면 진단적 정확도가 다소 높아진다.<sup>35</sup>

### ④ $\alpha$ Syn fibril and truncated form

$\alpha$ Syn이 합쳐져 원섬유(fibril) 형태로 되어 신경세포 내에 축적되고, 이 원섬유 형태의  $\alpha$ Syn을 실험동물에 주사하면  $\alpha$ Syn이 뇌 내에 점차 퍼지고, 축적되어 도파민 신경의 손상이 발생한다.<sup>40</sup> 따라서 원섬유형태의  $\alpha$ Syn이 생물표지자로서 가치가 있을 수 있으나 아직까지 연구 데이터는 없다. 그 외에  $\alpha$ Syn은 plasmin, calpain 1, neurosin, 20s Proteasome에 의해 잘려진 형태(truncated form)로 변형되기도 하는데, 이런 형태는 원섬유 형성을 유도하고  $\alpha$ Syn의 응집을 유도하는(seeding) 능력을 증가시킨다. 따라서  $\alpha$ Syn truncated form을 측정하여 파킨슨병의 진단에 이용할 수 있을 것으로 기대되나 추가 연구가 필요하다.<sup>41</sup>

### ⑤ $\alpha$ Syn seeding ability

파킨슨병에서 병적인  $\alpha$ Syn은 주변의  $\alpha$ Syn을 응집시켜 병적인 형태로 변형시키는 씨앗(seed)처럼 작용하는 능력이 있는데 이런 특성을 이용한 연구 방법이 Real time quaking-induced conversion (RT-QuIC)이나 Protein misfolding cyclic amplification (PMCA)이다.<sup>42,43</sup> 이 방법은 다른 검사들에 비해 파킨슨병 진단의 민감도(95%)와 특이도(82-100%)를 매우 증가시켰다.<sup>43-45</sup> 또한 RT-QuIC로 특발형수면행동장애 환자에서도 정상인에 비해 90%의 민감도와 특이도로  $\alpha$ Syn을 측정해 냈고 파킨슨병 발병을 예측할 수 있었다.<sup>46</sup> 그러나 뇌척수액이나 죽은 환자의 뇌조직을 이용했기 때문에 효율적인 사용을 위해서는 좀 더 접근이 쉬운 시료를 이용한 방법에 대한 많은 연구 데이터가 필요하다. 다른 단점으로 검사 결과를

연는데 5일에서 2주까지 오랜 시간이 걸렸었는데 최근에는 돌연변이(mutant)  $\alpha$ Syn을 시료로 이용하여 1-2일 내로 진단시간을 감소시킨 방법이 소개되어 귀추가 주목된다.<sup>47</sup>

(3) 혈액과 뇌척수액 이외의 생체 시료를 이용한  $\alpha$ Syn 생물표지자 뇌척수액이나 뇌조직을 이용한  $\alpha$ Syn 측정 방법은 침습적이라는 단점이 있고, 혈액은 적혈구의 일부 오염만으로도 정확하지 않은 결과를 얻을 수 있다는 문제 때문에, 비교적 쉽게 얻을 수 있는 말초의 생체 시료들, 즉 피부, 후각상피세포, 침샘, 위장관 조직 등에서  $\alpha$ Syn 관련 생물표지자를 찾기 위한 노력들이 계속되고 있다.<sup>48</sup>

대부분 파킨슨병 환자의 말초조직, 즉 피부나 위장관조직, 턱밑샘(submandibular gland)에서 정상인에 비해 총  $\alpha$ Syn이나 인산화 형태의  $\alpha$ Syn의 높은 발현을 보고하였으나 면역염색검사 양성률의 민감도 및 특이도가 연구마다 편차가 매우 크다.<sup>49,50</sup> 이는 말초 조직의 범위가 매우 넓어  $\alpha$ Syn 병리의 시작 부위나 전파의 정도가 사람마다 편차가 있을 수 있고, 연구에 참여한 환자의 병의 단계(진행 정도)가 각각 서로 다른 것이 영향을 주었을 가능성이 있다. 예를 들어 위장관부터 병리가 시작되는 환자도 있으며, 후각에서 병리가 시작되는 경우도 있을 것이고, 위장관이라고 하더라도 병리의 최초 시작 위치는 사람마다 다르거나 병의 단계에 따라 다를 수 있어 아주 작은 조직을 채취하는 검사에서 전체를 반영하는 결과를 얻기는 어려울 수 있다. 예를 들어 턱밑샘 조직염색의 경우 충분한 조직을 얻지 못하는 경우가 많고, 특이도(93%)는 매우 높으나 민감도(68%)는 떨어진다. 피부 조직에서  $\alpha$ Syn 병리를 확인하는 경우 조직을 얻기가 쉬운 장점이 있으나 조직을 얻을 수 있는 피부 위치가 매우 넓어 위치마다 다른 결과를 얻을 수 있고, 검사 방법에 따라 민감도와 특이도가 매우 높기도 하지만, 마찬가지로 검사 방법에 따라 충분한 결과를 얻지 못하고, 민감도와 특이도가 낮게 측정될 수 있다. 메타분석에서도 위장관, 피부, 턱밑샘을 염색했던 결과에서 민감도(42-76%)와 특이도(60-100%)가 불충분하였으며, 비특이적인  $\alpha$ Syn 항체보다는 인산화  $\alpha$ Syn에 대한 항체 사용 시 민감도와 특이도가 높았고 여러 조직 중에서는 피부조직의 진단적 정확도가 가장 높았다.<sup>51</sup> 그러나 검사 방법이 매우 다양하여 메타분석시 결과 해석이 매우 어렵다.<sup>51</sup> 따라서 추후 생물표지자로 사용하기 위해서는 검사 방법 및 조직염색법이 표준화되도록 조정이 필요하다. 반면, 조직염색 방법 이외에 최근에 이런 피부조직을 이용한 seeding assay (PMCA나 RT-QuIC)에서 매우 높은 민감도와 특이도(특히 RT-QuIC assay의 경우 모두 >90% 이상)를 보였으며, 최근 턱밑샘을 이용한 경우도 매우 높은 정확도를 보인다고 보고되었다.<sup>52-54</sup> 말초조직을 이용한 seeding assay의 생물표지자로서의 가치에 대한 후속 연구들을 주목할 필요가 있다.

## 2) 알파시누클레인 이외 단백질 병리의 파킨슨병 생물표지자로서의 가능성

### (1) Amyloid- $\beta$ 1-42 (A $\beta$ 42)

A $\beta$ 42는 알츠하이머병의 주요 병리 소견으로 알려져 있으며,  $\alpha$ Syn처럼 A $\beta$ 42 단백질의 misfolding과 중합(polymerization)으로 아밀로이드판(amyloid plaque)이 만들어진다.<sup>55</sup> 알츠하이머병 환자의 뇌척수액에서 A $\beta$ 42 감소가 확인되었으며, 이는 2018년부터 알츠하이머병의 진단기준에 포함되었다.<sup>56</sup> 파킨슨병 환자의 뇌척수액에도 약간의 A $\beta$ 42 감소 소견을 보이며 이는 특히 인지기능저하가 없는 파킨슨병이나 정상인에 비해, 파킨슨병치매(Parkinson's disease dementia)나 레비소체치매에서 뚜렷이 감소되어 있어 파킨슨병에서의 인지장애를 반영한다.<sup>57-60</sup> 특히 고령에서, 혼합 병리, 즉 여러 단백질 병리가 함께 관찰되는 현상은 드문 일이 아니며, 혼합 병리의 경우 서로 상승작용이 있어 더 심한 증상과 관련되어 있다고 알려져 있다.<sup>61</sup> 이는 A $\beta$ 42가  $\alpha$ Syn의 polymerization을 증가시켜 파킨슨병의 병리의 진행에 기여하는 것과 관련되어 있을 가능성이 있다.<sup>62</sup>

### (2) Tau protein (microtubule-associated protein)

타우(Tau protein) 단백질은 신경의 축삭을 구성하는 물질로, 알츠하이머병의 주요 병리 소견인 신경원섬유매듭(neurofibrillary tangle)의 주요 구성 물질이다. 알츠하이머병에서는 뇌척수액 내에 total tau (t-tau)와 p-tau가 증가되어 있는 것이 잘 알려져 있으며, 이 소견은 A $\beta$ 42와 마찬가지로 2018년 개정된 진단기준에 포함되어 있다. 또한 이 수치는 신경세포 사멸이나 신경원섬유매듭의 병리 정도와도 잘 연관되어 있다.<sup>56</sup> 그러나 파킨슨병에서는 알츠하이머병과 달리 뇌척수액의 t-tau와 p-tau가 증가되어 있지 않으며, 오히려 레비소체치매, 파킨슨병치매, 알츠하이머병, 다계통위축증에 비해서 감소되어 있다.<sup>63</sup> 다만 파킨슨병에서 인지기능저하 정도는 뇌척수액의 t-tau와 p-tau 증가와 관련된 것으로 보고된다.<sup>64,65</sup> 또한 파킨슨병에서 뇌척수액의 p-tau/t-tau의 비율이 낮을수록 통합파킨슨병척도(Unified Parkinson's Disease Rating Scale)는 높거나, 악화가 빠르게 나타난다.<sup>66</sup> t-tau 혹은 p-tau/A $\beta$  지수(index)의 증가는 파킨슨병 환자에서 인지장애나 통합파킨슨병척도 변화와 관련되어 있어서 복합 측정을 통해 생물표지자의 가치를 높일 수 있다.<sup>66,67</sup>

### 3) $\alpha$ Syn 분해에 관여하는 단백질들의 변화

Ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (UCH-L1)은 뇌신경에 매우 특이적으로 많이 발현하는 효소로 뇌의 단백질 대사를 조절하며, proteasome pathway와 결합하여  $\alpha$ Syn 응집(agggregation)과 같은 비정상적인 단백질을 제거하는 역할을 한다. 따라서 이 단백질이 줄

어떤  $\alpha$ Syn이 분해되지 않고 축적된다. 파킨슨병 환자의 뇌척수액에서 UCH-L1 농도는 정상인에 비해서 감소되어 있으며, 특히 비전형파킨슨증후군(다계통위축증, 진행핵상마비)에 비해서도 농도가 떨어져 있다.<sup>68</sup> UCH-L1의 파킨슨병 진단의 민감도/특이도는 89%/67%이고, 뇌척수액  $\alpha$ Syn 수치와 UCH-L1 농도는 양의 상관관계를 보인다.<sup>69</sup>

$\beta$ -glucocerebrosidase (GBA)는 당지질 분해 효소(lysosomal hydrolyase)로  $\alpha$ Syn 분해에 중요한 역할을 한다. 따라서 GBA의 변이는 파킨슨병의 위험인자로 알려져 있으며, 몇몇 연구에서는 이 효소의 활성도가 GBA 유전자 변이를 가진 파킨슨병뿐만 아니라 특발파킨슨병 환자의 뇌척수액에서도 감소되어 있다고 보고하였다.<sup>70</sup> 그러나 이 효소를 생물표지자로 이용하는 데 있어서 효소의 불안정성과 각 연구들의 검체 수집 및 보관 방법이 다양하여 결과 해석은 주의가 필요하다. 따라서 좀 더 표준화된 시료 채취와 보관 및 분석을 통한 연구 결과가 필요하다. 뇌척수액뿐만 아니라 혈액의 백혈구에서 이 효소의 활성도 측정을 연구하고 있으나 주로는 특발파킨슨병에서보다 GBA 이상을 가진 파킨슨병에서 효소 활성도 감소가 뚜렷하게 관찰된다.<sup>71</sup>

**4) 신경보호인자의 변화(neurotrophins)**

신경보호물질은 파킨슨병에만 특이적인 물질은 아니지만, 신경세포의 사멸을 억제하므로 그 변화 여부가 질병의 진행을 반영하는 예후인자로서 이용될 수 있다. 대표적으로 뇌유래신경성장인자(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)는 파킨슨병 환자의 흑색질에서 감소되어 있으며, 뇌척수액에서는 증가, 혈청에서는 감소되어 있다고 보고되었다.<sup>72,73</sup> 혈청 BDNF는 병이 진행될수록, 운동 증상 악화와 인지기능이 좋을수록 함께 증가되는 소견을 보인다.<sup>73</sup> 또 다른 신경보호인자인 인슐린유사성장인자(insulin-like growth factor 1, IGF-1)는 맥락얼기(choroid plexus)에서 분비되며, 흑색질에서 많이 발현되고, 도파민 신경의 생존에 관여한다. 파킨슨병 환자의 뇌척수액나 혈청에서는 IGF-1이 증가가 관찰된다.<sup>74,75</sup> 또한 IGF-1의 감소가 전두엽기능저하와 관련되어 있어서 파킨슨병치매의 초기진단 생물표지자로 이용될 수 있다.<sup>76</sup>

**5) 파킨슨병의 산화스트레스 기전과 관련된 생물표지자**

Urate는 간이나 소장에서 만들어지며 항산화효과가 있는 물질이다. 이런 항산화효과가 없다면 신경세포가 산화스트레스에 노출되어 사멸될 가능성이 높아지며, 파킨슨병에서도 산화스트레스는 도파민 신경세포 손상의 원인 중 하나로 알려져 왔다.<sup>77</sup> 실제 Deprenyl and Tocopherol Antioxidative Therapy of Parkinsonism

(DATATOP) trial과 Parkinson Research Examination of CEP-1347 trial (PRECEPT) 같은 파킨슨병 환자의 항산화 치료 연구에서 파킨슨병 환자의 혈청 urate 수치가 높을수록 질병의 진행이 느리게 나타났다.<sup>78</sup>

호모시스테인(homocysteine)은 신경독성 특히 도파민 신경에 대한 독성효과가 보고되었으며, 파킨슨병 발병의 위험인자로 알려져 있다.<sup>79</sup> 파킨슨병 환자에서 homocysteine 수치는 정상인보다 높게 측정될 뿐만 아니라 알츠하이머병이나 대뇌아밀로이드혈관병증(cerebral amyloid angiopathy) 같은 혈관질환보다도 높게 측정된다.<sup>80</sup> 또한 homocysteine 수치의 증가가 파킨슨병에서 인지기능 악화와 관련되고<sup>80,81</sup> 이상운동증(dyskinesia)의 발생을 높인다.<sup>81</sup> 그러나 homocysteine 수치는 레보도파 사용시 증가할 수 있기 때문에 연관성 해석에 혼동요인으로 작용할 수 있다.

Advanced Oxidized Protein Products (AOPP)는 phagocytic overstimulation에 의해 유도되는 산화스트레스에 관련된다. 파킨슨병 환자에서 혈청 AOPP는 정상인에 비해 높게 측정되며, 혈청 AOPP 수치가 낮을수록 Hoehn-Yahr척도와 사용 중인 파킨슨병약물의 농도가 높고, 유병 기간이 긴 것으로 나타난다.<sup>82</sup>

8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)은 산화스트레스에 의한 DNA 손상을 반영하며, 파킨슨병 환자에서 혈청과 뇌척수액의 8-OHdG 수치는 정상인보다 높게 측정되며, 파킨슨병의 유병 기간이 길어질수록 높게 측정된다.<sup>83</sup> 또한 소변으로 배출되어 파킨슨병 환자의 소변에서 정상인보다 높게 측정되며, 이는 Hoehn-Yahr척도와 환각과 관련된다.<sup>84</sup>

Protein DJ-1의 돌연변이는 PARK7 열성유전 파킨슨병의 원인 유전자로, 산화스트레스에서 신경보호작용을 한다고 알려져 있다. 파킨슨병 환자의 혈청이나 뇌척수액에서 DJ-1 수치는 정상인에 비해 상승되어 있는 것으로 알려져 있다.<sup>85</sup> 이 수치와 질병의 심각도와와의 관련성에 대해서는 연구 방법에 따라 일관되지 않은 결과를 보고하였다.

보조효소Q10 (Coenzyme Q10, CoQ10)은 잘 알려진 항산화 물질로 미토콘드리아 전자전달계의 기능을 증진시켜, 신경손상을 막는다.<sup>86</sup> 전체 CoQ10 수치 중에서 산화(oxidation) 형태의 비율은 산화스트레스의 마커로 사용될 수 있다. 실제 파킨슨병 환자에서 혈장 총 CoQ10 수치가 감소하고, 산화된 형태의 비율이 증가하는 것을 보고하였다. 또한 이 산화된 형태의 CoQ10 비율은 Hoehn-Yahr 척도에 따라 증가한다.<sup>87</sup>

**6) 기타**

Neurofilament light chain (NFL)은 축삭의 주요 구성 물질이며 신경전도와 형태 유지에 관여한다. NFL 증가는 축삭의 손상을 의

미하는데, 파킨슨병과 비교하여, 질병 진행이 빠른 비전형파킨슨 증후군의 뇌척수액이나 혈청에서 NFL이 매우 증가되어 있다.<sup>88</sup> 따라서 NFL은 파킨슨증후군과의 감별진단이나 질병의 심각도를 반영하는 생물표지자로서 가능성이 있다.

Proteomics의 발전에 따라, 파킨슨병 환자와 정상인에서 펩타이드(peptide) 발현의 차이점을 분석하는 연구도 활성화되고 있다. 이런 단백질들은 체내에서 파킨슨병과 관련한 수용체 및 효소 등으로 파킨슨병 환자의 뇌척수액에서 17개의 peptide가 정상인과 비교해서 명확한 차이를 보이고 대부분의 peptide가 연령이나 성별과 상관없이 차이를 보인다. 이 중 secreted phosphoprotein 1 (SPP1)과 low density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1)이 파킨슨병의 진단적 가치가 높았다. 뿐만 아니라 5개 peptide (SPP1, LRP1, colony stimulating factor receptor 1, ephrin type-A receptor 4, tissue inhibitor of metalloproteinases-1)를 합하면, 파킨슨병과 정상을 구분하는데 있어 AUC가 0.873이며, 알츠하이머병과의 구분은 AUC 0.99로 진단적 가치가 높았다.<sup>89,91</sup>

MicroRNA (miRNA)는 타겟 유전자의 발현을 조절할 수 있는 아주 작은 non-coding sequence로 파킨슨병 관련 유전자가 이 miRNA에 의해 조절되고 비정상적인 상태로 발현되어 파킨슨병의 발현에 영향을 줄 수 있다. 또한 이런 miRNA가 파킨슨병의 발병 훨씬 이전부터 비정상적으로 조절되어 있는 것이 알려지면서 파킨슨병의 초기 생물표지자로서의 가능성을 보여준다. Microarray를 포함한 여러 가지 방법으로 파킨슨병 환자에서 차별적으로 발현되는 miRNA가 있음이 여러 연구를 통해 보고되었다.<sup>92,93</sup> 최근 보고된 miR-4639-5p는 파킨슨병 환자에서 성별, 발병 연령, 질병의 심각도, 약물 치료 등과 상관없이 매우 증가된 것이 보고되어 파킨슨병 초기 진단의 생물표지자로서의 가능성을 보여주었다.<sup>94</sup> miRNA는 진단적 생물표지자로서도 유망하지만 이 원리를 이용한 치료적 옵션으로도 주목할 만하다.

### 3. 다양한 생물표지자의 조합(combinations of multiple biomarkers)

지금까지 소개한 여러 가지 생체시료들이 파킨슨병의 진단이나 예후와 관련하여 생물표지자로서 가능성을 나타내나, 각각의 예민도와 민감도가 매우 높은 단독검사는 부족하다. 이는 파킨슨병의 병리기전이 복잡적이고, 긴 유병 기간으로 인한 여러 가지 혼동요인들의 작용이 관여하기 때문일 것이다. 따라서 단독 생물표지자가 어렵다면 효과적인 몇몇 생물표지자들을 결합하여 효율성을 높이는 것이 도움이 될 것이고 실제로 진단 정확도를 향상시킨다. 예

를 들어, 뇌척수액의 NFL/Aβ42 비율은 단독검사에 비해 파킨슨병을 진행핵상마비와 구분하는 데 유용하며, 1년 추적검사로 진단적 정확도가 더 증가하는 것을 확인하였다(AUC, 0.95).<sup>95</sup> 마찬가지로, NFL, Aβ1-42, heart fatty acid-binding protein을 결합하여 파킨슨병에서 치매 발생 예측의 정확도를 높였다.<sup>95</sup> 뇌척수액의 αSyn과 함께 NFL, Aβ42, p-tau, t-tau를 함께 분석하면, 파킨슨병과 비전형파킨슨증후군을 더 정확하게 구분하는 데 도움이 된다.<sup>63</sup> o-αSyn/t-αSyn 비율과 GBA를 결합하면 파킨슨병 진단의 민감도와 특이도가 증가한다.<sup>70</sup> 또한 초기 파킨슨병 환자에서 렘스면행동장애가 있으면서 뇌척수액의 Aβ42의 수치가 낮으면 인지기능장애가 빨리 나타난다.<sup>96</sup>

따라서 생체시료 생물표지자뿐만 아니라, 임상적 생물표지자, 이 소설에서는 소개하지 않았으나 영상 표지자들을 결합하여 파킨슨병의 진단, 예후 생물표지자를 개발하는 것이 병을 분류하고, 더 효율적으로 진단하며, 예후를 추정할 수 있는 더 정확한 생물표지자를 개발하는 데 도움이 될 것이다.

## 결론

파킨슨병의 생물표지자로서 가능성 있는 후보들이 많이 있지만, 중요한 점은 연구 방법이나 샘플 채취 및 보관 방법 등이 모두 달라 그 효용성을 평가하고 임상시험 등에 적용하기가 매우 어렵다는 점이다. 이에 현재 파킨슨병 환자의 생물표지자 연구를 위해 사용되는 여러 생체조직을 채취하여 유용하게 관리하고, 샘플처리와 저장, 데이터 분석 방법들을 표준화하여 연구에 기여하기 위하여, 국제적으로 여러 가지 생물표지자 코호트가 운영되고 있다. 예를 들어, The Parkinson's Disease Biomarkers Program (PDBP; pdbp.ninds.nih.gov)과 BioFIND study (biofind.loni.usc.edu), the Parkinson's Progression Marker Initiative (PPMI; www.ppmi-info.org)가 있으며, 이 외에도 여러 가지 생물표지자 코호트가 운영되고 있다. 이런 생물표지자 코호트는 추후 임상시험 시 치료효과를 표준화하는 데 도움이 될 것이다.<sup>4</sup> 또한 여러 가지 생물표지자의 측정을 표준화하고, 이런 생물표지자들을 복합적으로 해석하여 예후 예측 시스템을 구축해 나가는 노력이 효율적인 생물표지자의 개발에 중요할 것으로 생각된다.

## REFERENCES

1. Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord* 2015;30:1591-1601.
2. Postuma RB, Aarsland D, Barone P, Burn DJ, Hawkes CH, Oertel W, et

- al. Identifying prodromal Parkinson's disease: pre-motor disorders in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2012;27:617-626.
3. Meara J, Bhowmick BK, Hobson P. Accuracy of diagnosis in patients with presumed Parkinson's disease. *Age Ageing* 1999;28:99-102.
  4. Chen-Plotkin AS, Albin R, Alcalay R, Babcock D, Bajaj V, Bowman D, et al. Finding useful biomarkers for Parkinson's disease. *Sci Transl Med* 2018;10:eaam6003.
  5. Mahlknecht P, Seppi K, Poewe W. The concept of prodromal Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis* 2015;5:681-697.
  6. Kim YE, Jeon BS. Clinical implication of REM sleep behavior disorder in Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis* 2014;4:237-244.
  7. Kim YE, Kim YJ, Hwang HS, Ma HI. REM sleep behavior disorder in early Parkinson's disease predicts the rapid dopaminergic denervation. *Parkinsonism Relat Disord* 2020;80:120-126.
  8. Braak H, Del Tredici K. Invited article: nervous system pathology in sporadic Parkinson disease. *Neurology* 2008;70:1916-1925.
  9. Lebouvier T, Neunlist M, Bruley des Varannes S, Coron E, Drouard A, N'Guyen JM, et al. Colonic biopsies to assess the neuropathology of Parkinson's disease and its relationship with symptoms. *PLoS One* 2010;5:e12728.
  10. Wakabayashi K, Takahashi H, Takeda S, Ohama E, Ikuta F. Parkinson's disease: the presence of Lewy bodies in Auerbach's and Meissner's plexuses. *Acta Neuropathol* 1988;76:217-221.
  11. Cheon SM, Ha MS, Park MJ, Kim JW. Nonmotor symptoms of Parkinson's disease: prevalence and awareness of patients and families. *Parkinsonism Relat Disord* 2008;14:286-290.
  12. Martinez-Martin P, Schapira AH, Stocchi F, Kapil Sethi, Per Odin, Graeme MacPhee, et al. Prevalence of nonmotor symptoms in Parkinson's disease in an international setting: study using nonmotor symptoms questionnaire in 545 patients. *Mov Disord* 2007;22:1623-1629.
  13. Abbott RD, Petrovitch H, White LR, Masaki KH, Tanner CM, Curb JD, et al. Frequency of bowel movements and the future risk of Parkinson's disease. *Neurology* 2001;57:456-462.
  14. Haikal C, Chen QQ, Li JY. Microbiome changes: an indicator of Parkinson's disease? *Transl Neurodegener* 2019;8:38.
  15. Heintz-Buschart A, Pandey U, Wicke T, Sixel-Döring F, Janzen A, Sittig-Wiegand E, et al. The nasal and gut microbiome in Parkinson's disease and idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder. *Mov Disord* 2018;33:88-98.
  16. Doty RL. Olfaction in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2007;13 Suppl 3:S225-S228.
  17. Goldman JG, Postuma R. Premotor and nonmotor features of Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol* 2014;27:434-441.
  18. Ross GW, Petrovitch H, Abbott RD, Tanner CM, Popper J, Masaki K, et al. Association of olfactory dysfunction with risk for future Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2008;63:167-173.
  19. Jennings D, Siderowf A, Stern M, Seibyl J, Eberly S, Oakes D, et al. Imaging prodromal Parkinson disease: the Parkinson associated risk syndrome study. *Neurology* 2014;83:1739-1746.
  20. Schuurman AG, van den Akker M, Ensink KT, Metsemakers JF, Knottnerus JA, Leentjens AF, et al. Increased risk of Parkinson's disease after depression: a retrospective cohort study. *Neurology* 2002;58:1501-1504.
  21. Schapira AH. Etiology and pathogenesis of Parkinson disease. *Neurol Clin* 2009;27:583-603, v.
  22. Barbour R, Kling K, Anderson JP, Banducci K, Cole T, Diep L, et al. Red blood cells are the major source of alpha-synuclein in blood. *Neurodegener Dis* 2008;5:55-59.
  23. Bougea A, Stefanis L, Paraskevas GP, Emmanouilidou E, Vekrelis K, Kapaki E. Plasma alpha-synuclein levels in patients with Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Neurol Sci* 2019;40:929-938.
  24. El-Agnaf OM, Salem SA, Paleologou KE, Curran MD, Gibson MJ, Court JA, et al. Detection of oligomeric forms of alpha-synuclein protein in human plasma as a potential biomarker for Parkinson's disease. *FASEB J* 2006;20:419-425.
  25. Wang X, Yu S, Li F, Feng T. Detection of alpha-synuclein oligomers in red blood cells as a potential biomarker of Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2015;599:115-119.
  26. Parnetti L, Gaetani L, Eusebi P, Paciotti S, Hansson O, El-Agnaf O, et al. CSF and blood biomarkers for Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2019;18:573-586.
  27. Zhou B, Wen M, Yu WF, Zhang CL, Jiao L. The diagnostic and differential diagnosis utility of cerebrospinal fluid alpha-synuclein levels in Parkinson's disease: a meta-analysis. *Parkinsons Dis* 2015;2015:567386.
  28. Gao L, Tang H, Nie K, Wang L, Zhao J, Gan R, et al. Cerebrospinal fluid alpha-synuclein as a biomarker for Parkinson's disease diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Neurosci* 2015;125:645-654.
  29. Sako W, Murakami N, Izumi Y, Kaji R. Reduced alpha-synuclein in cerebrospinal fluid in synucleinopathies: evidence from a meta-analysis. *Mov Disord* 2014;29:1599-1605.
  30. Eusebi P, Giannandrea D, Biscetti L, Abraha I, Chiasserini D, Orso M, et al. Diagnostic utility of cerebrospinal fluid alpha-synuclein in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord* 2017;32:1389-1400.
  31. Mollenhauer B, Caspell-Garcia CJ, Coffey CS, Taylor P, Shaw LM, Trojanowski JQ, et al. Longitudinal CSF biomarkers in patients with early Parkinson disease and healthy controls. *Neurology* 2017;89:1959-1969.
  32. Hall S, Surova Y, Öhrfelt A; Swedish BioFINDER Study, Blennow K, Zetterberg H, et al. Longitudinal measurements of cerebrospinal fluid biomarkers in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2016;31:898-905.
  33. Tokuda T, Qureshi MM, Ardah MT, Varghese S, Shehab SA, Kasai T, et al. Detection of elevated levels of alpha-synuclein oligomers in CSF from patients with Parkinson disease. *Neurology* 2010;75:1766-1772.
  34. Parnetti L, Farotti L, Eusebi P, Chiasserini D, De Carlo C, Giannandrea D, et al. Differential role of CSF alpha-synuclein species, tau, and Abeta42 in Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci* 2014;6:53.
  35. Majbour NK, Vaikath NN, van Dijk KD, Ardah MT, Varghese S, Vesterager LB, et al. Oligomeric and phosphorylated alpha-synuclein as potential CSF biomarkers for Parkinson's disease. *Mol Neurodegener* 2016;11:7.
  36. Fujiwara H, Hasegawa M, Dohmae N, Kawashima A, Masliah E, Goldberg MS, et al. Alpha-synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions. *Nat Cell Biol* 2002;4:160-164.
  37. Foulds PG, Mitchell JD, Parker A, Turner R, Green G, Diggle P, et al. Phosphorylated alpha-synuclein can be detected in blood plasma and is potentially a useful biomarker for Parkinson's disease. *FASEB J* 2011;25:4127-4137.
  38. Stewart T, Sossi V, Aasly JO, Wszolek ZK, Uitti RJ, Hasegawa K, et al. Phosphorylated alpha-synuclein in Parkinson's disease: correlation depends on disease severity. *Acta Neuropathol Commun* 2015;3:7.
  39. Wang Y, Shi M, Chung KA, Zabetian CP, Leverenz JB, Berg D, et al. Phosphorylated alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Sci Transl Med*

- 2012;4:121ra120.
40. Volpicelli-Daley LA, Luk KC, Patel TP, Tanik SA, Riddle DM, Stieber A, et al. Exogenous alpha-synuclein fibrils induce Lewy body pathology leading to synaptic dysfunction and neuron death. *Neuron* 2011;72:57-71.
  41. He R, Yan X, Guo J, Xu Q, Tang B, Sun Q. Recent advances in biomarkers for Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci* 2018;10:305.
  42. Shah Nawaz M, Tokuda T, Waragai M, Mendez N, Ishii R, Trenkwalder C, et al. Development of a biochemical diagnosis of Parkinson disease by detection of alpha-synuclein misfolded aggregates in cerebrospinal fluid. *JAMA Neurol* 2017;74:163-172.
  43. Fairfoul G, McGuire LI, Pal S, Ironside JW, Neumann J, Christie S, et al. Alpha-synuclein RT-QuIC in the CSF of patients with alpha-synucleinopathies. *Ann Clin Transl Neurol* 2016;3:812-818.
  44. Kang UJ, Boehme AK, Fairfoul G, Shah Nawaz M, Ma TC, Hutten SJ, et al. Comparative study of cerebrospinal fluid alpha-synuclein seeding aggregation assays for diagnosis of Parkinson's disease. *Mov Disord* 2019;34:536-544.
  45. Rossi M, Candelise N, Baiardi S, Capellari S, Giannini G, Orrù CD, et al. Ultrasensitive RT-QuIC assay with high sensitivity and specificity for Lewy body-associated synucleinopathies. *Acta Neuropathol* 2020;140:49-62.
  46. Iranzo A, Fairfoul G, Ayudhaya ACN, Serradell M, Gelpi E, Vilaseca I, et al. Detection of alpha-synuclein in CSF by RT-QuIC in patients with isolated rapid-eye-movement sleep behaviour disorder: a longitudinal observational study. *Lancet Neurol* 2021;20:203-212.
  47. Groveman BR, Orrù CD, Hughson AG, Raymond LD, Zanusso G, Ghetti B, et al. Rapid and ultra-sensitive quantitation of disease-associated alpha-synuclein seeds in brain and cerebrospinal fluid by alphaSyn RT-QuIC. *Acta Neuropathol Commun* 2018;6:7.
  48. Shin J, Park SH, Shin C, Kim JH, Yun TJ, Kim HJ, et al. Submandibular gland is a suitable site for alpha synuclein pathology in Parkinson disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2019;58:35-39.
  49. Fayyad M, Salim S, Majbour N, Erskine D, Stoops E, Mollenhauer B, et al. Parkinson's disease biomarkers based on alpha-synuclein. *J Neurochem* 2019;150:626-636.
  50. Shin C, Park SH, Yun JY, Shin JH, Yang HK, Lee HJ, et al. Fundamental limit of alpha-synuclein pathology in gastrointestinal biopsy as a pathologic biomarker of Parkinson's disease: comparison with surgical specimens. *Parkinsonism Relat Disord* 2017;44:73-78.
  51. Tsukita K, Sakamaki-Tsukita H, Tanaka K, Suenaga T, Takahashi R. Value of in vivo alpha-synuclein deposits in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord* 2019;34:1452-1463.
  52. Wang Z, Becker K, Donadio V, Siedlak S, Yuan J, Rezaee M, et al. Skin alpha-synuclein aggregation seeding activity as a novel biomarker for Parkinson disease. *JAMA Neurol* 2020;78:1-11.
  53. Manne S, Kondru N, Jin H, Serrano GE, Anantharam V, Kanthasamy A, et al. Blinded RT-QuIC analysis of alpha-synuclein biomarker in skin tissue from Parkinson's disease patients. *Mov Disord* 2020;35:2230-2239.
  54. Manne S, Kondru N, Jin H, Anantharam V, Huang X, Kanthasamy A, et al. Alpha-synuclein real-time quaking-induced conversion in the submandibular glands of Parkinson's disease patients. *Mov Disord* 2020;35:268-278.
  55. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Alzheimer's disease. *Lancet* 2011;377:1019-1031.
  56. Lee JC, Kim SJ, Hong S, Kim Y. Diagnosis of Alzheimer's disease utilizing amyloid and tau as fluid biomarkers. *Exp Mol Med* 2019;51:1-10.
  57. Siderowf A, Xie SX, Hurtig H, Weintraub D, Duda J, Chen-Plotkin A, et al. CSF amyloid {beta} 1-42 predicts cognitive decline in Parkinson disease. *Neurology* 2010;75:1055-1061.
  58. Chojdak-Lukasiewicz J, Malodobra-Mazur M, Zimny A, Noga L, Paradowski B. Plasma tau protein and Abeta42 level as markers of cognitive impairment in patients with Parkinson's disease. *Adv Clin Exp Med* 2020;29:115-121.
  59. Vranová HP, Hényková E, Kaiserová M, Menšíková K, Vašík M, Mareš J, et al. Tau protein, beta-amyloid(1)(-)(4)(2) and clusterin CSF levels in the differential diagnosis of Parkinsonian syndrome with dementia. *J Neurol Sci* 2014;343:120-124.
  60. Hu X, Yang Y, Gong D. Changes of cerebrospinal fluid Abeta42, t-tau, and p-tau in Parkinson's disease patients with cognitive impairment relative to those with normal cognition: a meta-analysis. *Neurol Sci* 2017;38:1953-1961.
  61. Compta Y, Parkkinen L, Kempster P, Selikhova M, Lashley T, Holton JL, et al. The significance of alpha-synuclein, amyloid-beta and tau pathologies in Parkinson's disease progression and related dementia. *Neurodegener Dis* 2014;13:154-156.
  62. Clinton LK, Blurton-Jones M, Myczek K, Trojanowski JQ, LaFerla FM. Synergistic interactions between Abeta, tau, and alpha-synuclein: acceleration of neuropathology and cognitive decline. *J Neurosci* 2010;30:7281-7289.
  63. Hall S, Öhrfelt A, Constantinescu R, Andreasson U, Surova Y, Bostrom F, et al. Accuracy of a panel of 5 cerebrospinal fluid biomarkers in the differential diagnosis of patients with dementia and/or parkinsonian disorders. *Arch Neurol* 2012;69:1445-1452.
  64. Liu C, Cholerton B, Shi M, Ghingina C, Cain KC, Auinger P, et al. CSF tau and tau/Abeta42 predict cognitive decline in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2015;21:271-276.
  65. Chen NC, Chen HL, Li SH, Chang YH, Chen MH, Tsai NW, et al. Plasma levels of alpha-synuclein, Abeta-40 and t-tau as biomarkers to predict cognitive impairment in Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci* 2020;12:112.
  66. Zhang J, Mattison HA, Liu C, Ghingina C, Auinger P, McDermott MP, et al. Longitudinal assessment of tau and amyloid beta in cerebrospinal fluid of Parkinson disease. *Acta Neuropathol* 2013;126:671-682.
  67. Montine TJ, Shi M, Quinn JF, Peskind ER, Craft S, Ghingina C, et al. CSF Aβ(42) and tau in Parkinson's disease with cognitive impairment. *Mov Disord* 2010;25:2682-2685.
  68. Jimenez-Jimenez FJ, Alonso-Navarro H, Garcia-Martin E, Agundez JA. Cerebrospinal fluid biochemical studies in patients with Parkinson's disease: toward a potential search for biomarkers for this disease. *Front Cell Neurosci* 2014;8:369.
  69. Mondello S, Constantinescu R, Zetterberg H, Andreasson U, Holmberg B, Jeromin A. CSF alpha-synuclein and UCH-L1 levels in Parkinson's disease and atypical parkinsonian disorders. *Parkinsonism Relat Disord* 2014;20:382-387.
  70. Parnetti L, Chiasserini D, Persichetti E, Eusebi P, Varghese S, Qureshi MM, et al. Cerebrospinal fluid lysosomal enzymes and alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2014;29:1019-1027.
  71. Avenali M, Blandini F, Cerri S. Glucocerebrosidase defects as a major risk factor for Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci* 2020;12:97.
  72. Howells DW, Porritt MJ, Wong JY, Batchelor PE, Kalnins R, Hughes AJ, et al. Reduced BDNF mRNA expression in the Parkinson's disease substantia nigra. *Exp Neurol* 2000;166:127-135.

73. Scalzo P, Kummer A, Bretas TL, Cardoso F, Teixeira AL. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with motor impairment in Parkinson's disease. *J Neurol* 2010;257:540-545.
74. Mashayekhi F, Mirzajani E, Naji M, Azari M. Expression of insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding proteins in the serum and cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease. *J Clin Neurosci* 2010;17:623-627.
75. Godau J, Knauel K, Weber K, Brockmann K, Maetzler W, Binder G, et al. Serum insulinlike growth factor 1 as possible marker for risk and early diagnosis of Parkinson disease. *Arch Neurol* 2011;68:925-931.
76. Picillo M, Pivonello R, Santangelo G, Pivonello C, Savastano R, Auriemma R, et al. Serum IGF-1 is associated with cognitive functions in early, drug-naive Parkinson's disease. *PLoS One* 2017;12:e0186508.
77. Hwang O. Role of oxidative stress in Parkinson's disease. *Exp Neurol* 2013;22:11-17.
78. Ascherio A, LeWitt PA, Xu K, Eberly S, Watts A, Matson WR, et al. Urate as a predictor of the rate of clinical decline in Parkinson disease. *Arch Neurol* 2009;66:1460-1468.
79. Kocer B, Guven H, Comoglu SS. Homocysteine levels in Parkinson's disease: is entacapone effective? *Biomed Res Int* 2016;2016:7563705.
80. Irizarry MC, Gurol ME, Raju S, Diaz-Arrastia R, Locascio JJ, Tennis M, et al. Association of homocysteine with plasma amyloid beta protein in aging and neurodegenerative disease. *Neurology* 2005;65:1402-1408.
81. Zoccollella S, Lamberti P, Iliceto G, Dell'Aquila C, Diroma C, Fraddosio A, et al. Elevated plasma homocysteine levels in L-dopa-treated Parkinson's disease patients with dyskinesias. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:863-866.
82. García-Moreno JM, Martín de Pablos A, García-Sánchez MI, Méndez-Lucena C, Damas-Hermoso F, Rus M, et al. May serum levels of advanced oxidized protein products serve as a prognostic marker of disease duration in patients with idiopathic Parkinson's disease? *Antioxid Redox Signal* 2013;18:1296-1302.
83. Gmitterová K, Heinemann U, Gawinecka J, Varges D, Ciesielczyk B, Valkovic P, et al. 8-OHdG in cerebrospinal fluid as a marker of oxidative stress in various neurodegenerative diseases. *Neurodegener Dis* 2009;6:263-269.
84. Hirayama M, Nakamura T, Watanabe H, Uchida K, Hama T, Hara T, et al. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine correlate with hallucinations rather than motor symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2011;17:46-49.
85. Waragai M, Sekiyama K, Sekigawa A, Takamatsu Y, Fujita M, Hashimoto M. Alpha-Synuclein and DJ-1 as potential biological fluid biomarkers for Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci* 2010;11:4257-4266.
86. Kikusato M, Nakamura K, Mikami Y, Mujahid A, Toyomizu M. The suppressive effect of dietary coenzyme Q10 on mitochondrial reactive oxygen species production and oxidative stress in chickens exposed to heat stress. *Anim Sci J* 2016;87:1244-1251.
87. Sohmiya M, Tanaka M, Tak NW, Yanagisawa M, Tanino Y, Suzuki Y, et al. Redox status of plasma coenzyme Q10 indicates elevated systemic oxidative stress in Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 2004;223:161-166.
88. Magdalino NK, Paterson RW, Schott JM, Fox NC, Mummery C, Blennow K, et al. A panel of nine cerebrospinal fluid biomarkers may identify patients with atypical parkinsonian syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015;86:1240-1247.
89. Jaffe JD, Keshishian H, Chang B, Addona TA, Gillette MA, Carr SA. Accurate inclusion mass screening: a bridge from unbiased discovery to targeted assay development for biomarker verification. *Mol Cell Proteomics* 2008;7:1952-1962.
90. Whiteaker JR, Lin C, Kennedy J, Hou L, Trute M, Sokal I, et al. A targeted proteomics-based pipeline for verification of biomarkers in plasma. *Nat Biotechnol* 2011;29:625-634.
91. Shi M, Bradner J, Hancock AM, Chung KA, Quinn JF, Peskind ER, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers for Parkinson disease diagnosis and progression. *Ann Neurol* 2011;69:570-580.
92. Martins M, Rosa A, Guedes LC, Fonseca BV, Gotovac K, Violante S, et al. Convergence of miRNA expression profiling, alpha-synuclein interact and GWAS in Parkinson's disease. *PLoS One* 2011;6:e25443.
93. Valletlunga A, Ragusa M, Di Mauro S, Iannitti T, Pilleri M, Biundo R, et al. Identification of circulating microRNAs for the differential diagnosis of Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Front Cell Neurosci* 2014;8:156.
94. Chen Y, Gao C, Sun Q, Pan H, Huang P, Ding J, et al. MicroRNA-4639 is a regulator of DJ-1 expression and a potential early diagnostic marker for Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci* 2017;9:232.
95. Bäckström DC, Eriksson Domellöf M, Linder J, Olsson B, Öhrfelt A, Trupp M, et al. Cerebrospinal fluid patterns and the risk of future dementia in early, incident Parkinson disease. *JAMA Neurol* 2015;72:1175-1182.
96. Liguori C, Paoletti FP, Placidi F, Ruffini R, Sancesario GM, Eusebi P, et al. CSF biomarkers for early diagnosis of synucleinopathies: focus on idiopathic RBD. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2019;19:3.