

## 基于生物信息学分析阿尔茨海默病相关多脑区免疫机制及治疗中药预测

宋晓娜<sup>1</sup>, 高耀<sup>4</sup>, 王晓堂<sup>1,2</sup>, 陈文璐<sup>1,2</sup>, 闫晓如<sup>1,2</sup>, 范 焯<sup>1,3\*</sup>, 宋国华<sup>1,2\*</sup>

1. 山西医科大学 基础医学院, 山西 太原 030001

2. 山西医科大学 实验动物中心, 山西 太原 030001

3. 山西医科大学 转化医学研究中心, 山西 太原 030001

4. 山西医科大学第一医院 精神卫生科, 山西 太原 030001

**摘要:** **目的** 利用生物信息学技术筛选阿尔茨海默病(AD)不同脑区差异表达基因, 探讨各脑区的免疫机制, 以预测潜在的治疗中药。**方法** 从GEO数据库获得AD的样本数据, 进行差异表达基因(DEGs)分析及加权基因共表达网络分析(WGCNA), 对各脑区最相关的模块进行蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络分析获得核心基因, 并使用受试者工作特征曲线(ROC)曲线评估其诊断价值。对差异基因进行免疫通路富集分析, 并使用CIBERSORT算法分析免疫细胞浸润模式, 通过Coremine Medical筛选治疗AD的潜在中药。**结果** 大脑的内嗅皮层(EC)区有3 280个差异基因、海马体(HIP)区有1 591个差异基因、内侧颞回(MTG)区有3 995个差异基因、后扣带(PC)区有2 056个差异基因、额上回(SFG)区有907个差异基因、初级视觉皮层(VCX)区有1 480个差异基因。其中EC与VCX区与blue模块相关性高、HIP与PC区与turquoise模块相关性高、MTG、SFG别与绿色和黄色模块相关性高。PPI网络显示EC区有4个Hub基因, HIP区有13个Hub基因, MTG区有4个Hub基因, PC区有9个Hub基因, SFG区有17个Hub基因, VCX区有13个Hub基因。不同脑区富集有不同免疫通路的模块。通过基因映射到姜黄为治疗AD的潜在中药, 其映射到EP300、PPARG、CCND1、GSK3B、BCL2、EGFR、KDR、MYC和IL1B等基因上。**结论** AD患者在不同脑区表现出多样化的免疫途径, 这种差异与AD发病机制紧密相连。姜黄有望作为治疗AD的潜在中药。

**关键词:** 阿尔茨海默病; 生物信息学; 中药筛选; 免疫细胞浸润; 姜黄

**中图分类号:** R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2024)07-1520-09

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.07.011

## Bioinformatics predictions of immune mechanism and traditional Chinese medicine of multi-brain region of Alzheimer's Disease

SONG Xiaona<sup>1</sup>, GAO Yao<sup>4</sup>, WANG Xiaotang<sup>1,2</sup>, CHEN Wenlu<sup>1,2</sup>, YAN Xiaoru<sup>1,2</sup>, FAN Zhao<sup>1,3</sup>, SONG Guohua<sup>1,2</sup>

1. School of Basic Medical Sciences, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

2. Laboratory Animal Center, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

3. Translational Medicine Research Center, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

4. Department of Psychiatry, First Hospital/First Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

**Abstract: Objective** To identify differentially expressed genes (DEGs) in different brain regions of Alzheimer's disease (AD) using bioinformatics techniques, explore the immune mechanisms in each brain region, and predict potential therapeutic drugs. **Methods** AD sample data were obtained from the GEO database, and DEGs analysis and weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) were performed on each brain region. The core genes in the most related modules were obtained by protein-protein interaction (PPI) network analysis, and their diagnostic value was evaluated by ROC curve. Differential genes were subjected to

收稿日期: 2023-12-13

基金项目: 山西省科技创新人才团队项目(202204051002032); 山西省中医药管理局资助项目(2023ZYJC2034); 山西省卫健委卫生健康科研课题(2021031)

第一作者: 宋晓娜(1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为生物信息分析。E-mail: songxiaona1219@163.com

\*共同通信作者: 范 焯(1968—), 女, 硕士生导师, 研究方向为人体生理学—计算神经。E-mail: fanzhao316@163.com

宋国华(1973—), 女, 博士生导师, 研究方向为人类疾病动物模型。E-mail: ykdsgh@sxmu.edu.cn

immune pathway enrichment analysis, and immune cell infiltration patterns were analyzed using CIBERSORT algorithm. Potential therapeutic drugs for AD were screened using Coremine Medical. **Results** A total of 3 280 differential genes were identified in the EC region, 1 591 in the HIP region, 3 995 in the MTG region, 2 056 in the PC region, 907 in the SFG region, and 1 480 in the VCX region. EC and VCX were highly related to the blue module, HIP and PC were highly related to the turquoise module, and MTG and SFG were highly related to the green and yellow modules. The PPI network showed that there were four Hub genes in the EC region, 13 in the HIP region, four in the MTG region, nine in the PC region, and 17 in the SFG region. Different brain regions were enriched with different immune pathway modules. Subsequently, *Curcumae Longae Rhizoma* was identified as a potential traditional Chinese medicine (TCM) for AD treatment based on its association with key genes such as *EP300*, *PPARG*, *CND1*, *GSK3B*, *BCL2*, *EGFR*, *KDR*, *MYC*, and *IL1B*. **Conclusion** AD patients exhibit diverse immune pathways across distinct brain regions, and this disparity is intricately associated with the pathogenesis of AD. *Curcumae Longae Rhizoma* holds promising potential as a Chinese medicinal intervention for the treatment of AD.

**Key words:** Alzheimer's disease; bioinformatics; screening of traditional Chinese medicines; immune cell infiltration; *Curcumae Longae Rhizoma*

阿尔茨海默病(AD)是一种起病隐匿的进行性发展的神经退行性疾病<sup>[1]</sup>。据2020年1项全国性横断面研究显示,我国60岁及以上人群中AD患者983万例。随着老龄化时代的到来,AD患者的数量在不断增加,它已经成为世界上重大的公共卫生问题之一<sup>[2]</sup>。AD具有复杂的发病机制,其中 $\beta$ 淀粉样蛋白(A $\beta$ )以及Tau蛋白异常积累都被认为AD标志性病理过程。然而,最新研究发现与大脑萎缩密切相关的是Tau的异常聚集<sup>[3]</sup>,而与A $\beta$ 沉积无关<sup>[4]</sup>。尽管如此,目前对于Tau介导的神经退行性变的机制仍然难以捉摸。越来越多的证据表明,AD不仅仅是一种蛋白质疾病,还涉及小胶质细胞激活和外周免疫细胞浸润大脑等免疫病理机制<sup>[5]</sup>。在临床前阶段,Tau缠结的形成开始于内嗅皮层中,特别是在靠近鼻周皮层边界的跨内嗅区的神经元中。缠结随后在轻度认知障碍(MCI)阶段传播到内侧颞叶结构,使得前海马体和后扣带皮层之间的连接性降低,最后在痴呆期扩散到各种皮质区域<sup>[6]</sup>。大脑的各脑区在AD的临床早期发生不同程度的病理改变,因此筛选各个脑区优先表达的基因信息并探究其机制十分重要。

免疫分析研究表明,小胶质细胞<sup>[7]</sup>和外周免疫细胞(包括骨髓细胞、T细胞和B细胞)在大脑维持中发挥关键作用,包括神经元功能、大脑发育和空间学习<sup>[8]</sup>。但是,探索外周免疫细胞在AD患者各脑区中的作用的相关研究仍处于相对初级阶段。另一方面,尽管改善认知症状的药物<sup>[9]</sup>在一定程度上能恢复损伤功能,但也会带来很多不良反应。因此,迫切需要新的治疗来预防和减缓AD的进程。临床试验表明,中医药对AD患者早期预防以及改善认知和大脑活动有积极作用<sup>[10]</sup>。因此,进一步探

究AD的发生发展机制及开发新的药物具有重要意义。

本研究从GEO数据库中获得原始数据,利用R语言分析不同脑区的差异基因。使用加权基因共表达网络分析(WGCNA)分析每个脑区的关键模块,再使用STRING数据库进一步发掘核心基因,并对核心基因进行受试者工作特征曲线(ROC)分析判断关键基因的诊断价值。通过对全体基因进行免疫富集分析,并基于CIBERSORT算法分析免疫细胞浸润模式,以及核心基因与免疫细胞的相关性,从而探究AD的病理机制、免疫细胞浸润水平与治疗靶点。再将核心基因与中药相互映射,从而发现对AD治疗靶点有干预作用的中药,为AD分子机制和治疗药物的研究提供思路。

## 1 方法

### 1.1 数据提取

通过GEOquery包<sup>[11]</sup>从GEO数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中下载GSE5281<sup>[12]</sup>。该芯片基于GPL570测序平台,研究选取74例正常衰老的成人脑(正常组)和87例AD患者的脑(AD组)。将脑分成6个区域:脑的内嗅皮层<sup>[13]</sup>(EC)、海马体<sup>[14]</sup>(HIP)、内侧颞回<sup>[6]</sup>(MTG)、后扣带<sup>[15]</sup>(PC)、额上回<sup>[16]</sup>(SFG)和初级视觉皮层(VCX),进行后续分析<sup>[17]</sup>。

### 1.2 差异基因(DEGs)筛选

本研究中,分别将正常组和AD组的6个脑区进行差异分析。通过R语言“limma”包的normalize between arrays函数标准化数据。利用GPL平台注释文件对探针进行注释,去除掉一个探针对应多个分子的探针;对于同一个分子的多个探针时,仅保留信号值最大的探针。利用limma包进行两组的差

异分析,以 $|\log_2FC|>1$ 和 $P<0.05$ 为标准筛选DEGs。

### 1.3 WGCNA分析

WGCNA<sup>[18]</sup>是指利用DEGs的信息来识别感兴趣的基因集,并与表型进行显著性关联分析。因此,本研究利用R软件包WGCNA来构建关于DEGs的加权基因共表达网络。利用PickSoftThresholded包确定软阈值,并构建无尺度网络和拓扑重叠矩阵。还合并了距离 $<0.25$ 的模块,将表达具有高度相关性的基因划分至同一个基因模块中,对关键模块和感兴趣的性状进一步挖掘,观察基因与模块的相关性(module membership, MM)和基因与性状的相关性(gene significance, GS)之间是否有某种关联,并对相关性最高的基因模块进行互作分析。

### 1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建及核心基因筛选

将WGCNA分析所得最高模块的基因导入STRING(12.0)数据库(<https://string-db.org/>),物种设置为“homo sapiens”,获得PPI关系,其互作分数 $>0.4$ 。利用Cytoscape 3.9.1软件对PPI网络进行可视化展示,使用CytoHubba插件中MNC、EPC、MCC、degree值筛选排名前20的基因<sup>[19]</sup>。

### 1.5 GSEA分析

利用从MSigDB库(<https://www.gsea-msigdb.org/gsea/msigdb/collections.jsP>)下载c2.cP.all.v2022.1.Hs.symbols.gmt [All Canonical Pathways](3050)子集,评估全部基因相关途径<sup>[20]</sup>。将基因表达谱和表型分组设定最小基因集为10,最大基因集为5 000,筛选 $P<0.05$ 和 $FDR(q)<0.25$ 的富集结果。

### 1.6 免疫浸润分析

CIBESORT是基于线性支持向量回归的原理对人类免疫细胞亚型的表达矩阵进行去卷积的分析。利用R包的CIBESORT函数方法分析22种免疫细胞在不同脑区的浸润程度分析,设置置换检验的次数为100,并通过“ggPlot”包可视化分析。

### 1.7 关键基因与免疫浸润的相关性分析以及ROC分析

通过Pearson统计分析的方法计算关键基因与免疫细胞丰度之间的相关性,并通过“ggPlot”包可视化分析。并利用“PROC”包对关键基因进行ROC分析,将各脑区的关键基因在GSE5281数据集进行验证。

### 1.8 中药预测

将筛选出来的Hub基因映射到Coremine Medical(<http://www.coremine.com/medical/>)数据库中,以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义,进行中药筛选。

## 2 结果

### 2.1 差异表达基因的筛选结果

本研究利用R语言将各个脑区进行差异分析后,以 $|\log_2FC|>1$ 和 $P<0.05$ 为条件筛选出6个脑区的差异基因,具体上调和下调情况见表1,该结果说明AD患者不同脑区的基因表达是有差异的。

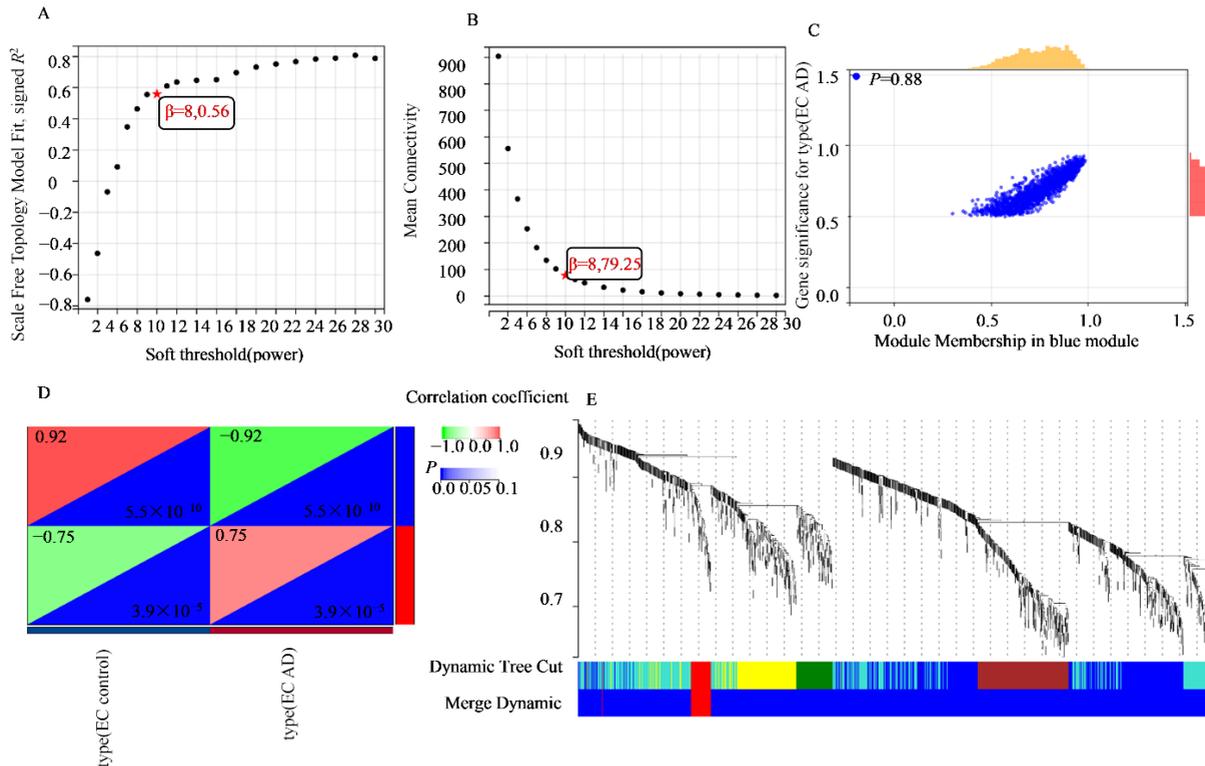
表1 各脑区的差异基因

Table 1 Differential genes in each brain region			
脑区	差异基因/个	上调/个	下调/个
EC	3 280	1 401	1 879
HIP	1 591	668	923
MTG	3 995	2 152	1 843
PC	2 056	703	1 353
SFG	907	734	173

### 2.2 WGCNA分析结果

针对不同脑区的DEGs基因表达谱,在去除了离群的基因和样本后计算得到的不同脑区的软阈值(Power)。EC、HIP、MTG、PC、SFG、VCX的软阈值分别为8、12、14、8、14和8。利用最优软阈值构建共表达网络,高度表达的基因被聚类到不同的模块中,此外还合并了距离 $<0.25$ 的模块,EC区最终获得了2个共表达模块如图1-E,而grey模块包含未参与聚类的基因(图1-D)。利用相关性的绝对值筛选最相关的模块。EC区选择blue模块( $P=5.5\times 10^{-10}$ ,  $R=-0.92$ )、HIP区选择turquoise模块( $P=1.8\times 10^{-15}$ ,  $R=0.98$ )、MTG区选择green模块( $P=3.7\times 10^{-12}$ ,  $R=0.92$ )、PC区选择turquoise模块( $P=2.4\times 10^{-9}$ ,  $R=0.92$ )、SFG区选择yellow模块( $P=2.0\times 10^{-8}$ ,  $R=0.8$ )、VCX区选择blue模块( $P=2.7\times 10^{-5}$ ,  $R=0.68$ )。EC与VCX富集到blue模块、HIP与PC区富集turquoise模块,其余脑区共表达模块是有差异的(图1-D)。

对关键模块与EC区进一步挖掘,发现blue模块的基因显著性(GS)与模块成员(MM)关系图间呈正相关(图1-C)。从MM-GS相关性图中可以看出EC对应blue模块内比较重要的基因( $R=0.88$ );HIP对应turquoise模块内比较重要的基因( $R=0.96$ );MTG对应green模块内比较重要的基因( $R=$



A-软阈值参数与无尺度拟合指数分析;B-软阈值参数与平均连接度分析;C-blue模块的基因显著性(GS)与模块成员(MM)关系图;D-模块与表型之间相关性热图;E-模块聚类图。

A-soft threshold parameter and scale-free fitting index analysis; B-analysis of soft threshold parameters and average connectivity. C- represents the relationship between gene significance (GS) and module members (MM) of blue module; D-heat map of correlation between module and phenotype; E-module cluster diagram.

图1 EC区的WGCNA分析

Fig. 1 Analysis of WGCNA in EC region

0.93); PC对应turquoise模块内比较重要的基因( $R=0.8$ );相较于其他脑区,SFG与yellow模块的相关性较低( $R=0.45$ )、VCX与blue模块的相关性较低( $R=0.24$ )。其中对于blue模块,PC区比VCX区相关性高;对于turquoise模块,HIP区比PC区相关性高(图1-C)。

### 2.3 构建PPI网络及筛选核心基因

对每个脑区最相关的模块进行PPI分析,设定最低关联分数为0.4,将STRING数据库的结果导入Cytoscape 3.9.1软件中进一步分析。利用CytoHubba插件的MNC、EPC、MCC、degree值筛选排名前20的基因后取交集,最终发现EC区有4个Hub基因,HIP区有13个Hub基因,MTG区有4个Hub基因,PC区有9个Hub基因,SFG区有17个Hub基因,VCX区有13个Hub基因,见表2。不同脑区的核心基因也是有差异的,即使对于相同模块,各脑区的差异基因也是有区别的。

### 2.4 GSEA分析结果

通过对基因的表达矩阵进行GSEA分析,每个

区域富集到不同的免疫信号通路。其中EC区富集到白细胞介素-18(IL-18)信号通路、Toll样受体通路、免疫细胞和MicroRNA的相互作用以及PD1阻断的癌症免疫微环境;HIP区富集到IL-6信号通路;PC区富集到IL-5信号通路;MTG富集到B细胞受体信号通路、IL-4信号通路、免疫细胞和MicroRNA的相互作用;VCX区富集到B细胞受体信号通路;SFG富集到B细胞、IL-18、IL-4、IL-6信号通路,其中MTG和SFG区都富集到B细胞受体信号通路和IL-4信号通路,见图2。

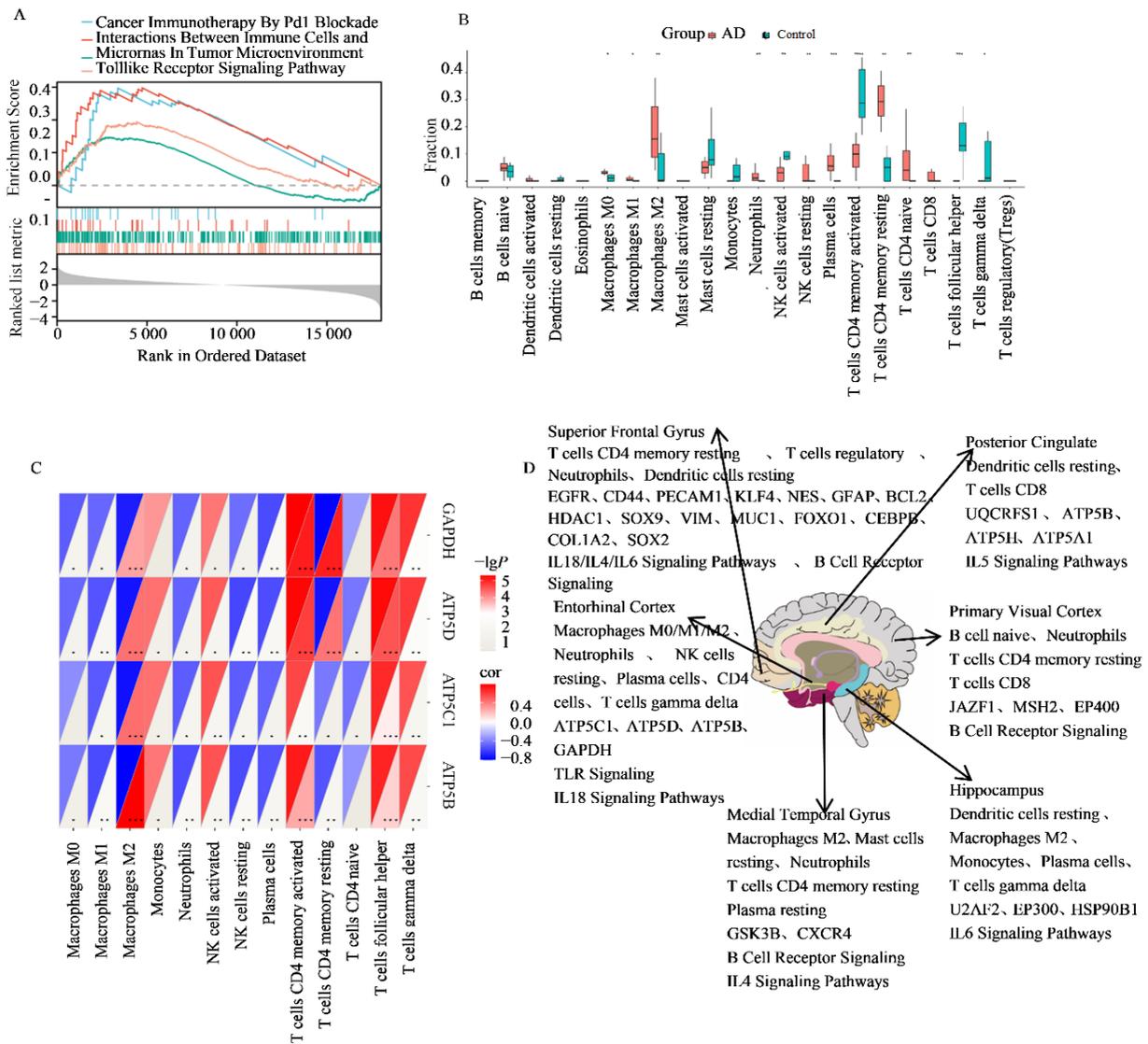
### 2.5 免疫浸润分析结果

基于CIBESORT进行免疫浸润分析。箱式图显示了AD组与正常组脑区中免疫浸润细胞的差异,以 $P<0.05$ 为标准。研究发现与正常组相比,AD组中EC区的M0、M1、M2型巨噬细胞(macrophages M0/M1/M2)、中性粒细胞(neutrophils)、静息态的NK细胞(NK cells resting)、浆细胞(plasma cells)、CD4细胞(CD4 cells)以及 $\gamma\delta$ T细胞(T cells gamma delta)明显增加;

表 2 各脑区的核心靶点

Table 2 Core targets of each brain region

脑区	模块	基因
EC	blue	<i>ATP5C1, ATP5D, ATP5B, GAPDH</i>
HIP	turquoise	<i>ACTB, U2AF2, EP300, CDK9, PPARG, HSP90B1, KDR, GRIN2B, PPP1CA, PRKDC, CDK7, SERPINH1, CD9</i>
MTG	green	<i>CCND1, GSK3B, NANOG, CXCR4</i>
PC	turquoise	<i>UQCERS1, NDUFB5, NDUFAB1, ATP5C1, SDHB, NDUFA5, ATP5B, ATP5H, ATP5A1</i>
SFG	yellow	<i>EGFR, CD44, PECAM1, FN1, KLF4, NES, GFAP, BCL2, SOX2, SOX9, VIM, MUC1, AGT, FOXO1, CEBPB, COL1A2, HDAC1</i>
VCX	blue	<i>MYC, IL1B, FOXM1, CDC20, JAZF1, CSF3R, MSH2, SDHB, FLT3, ALDH1A1, IGF2BP2, FOXA1, EP400</i>



A-EC区免疫相关信号通路分析;B-基于CIBESORT算法对EC区进行免疫浸润分析;C-关键基因与免疫细胞相关性分析;D-EC、PC、HIP、MTG、SFG、VCX脑区的免疫信号通路、免疫细胞以及关键基因的总结。

A-analysis of immune-related signaling pathway in EC region; B-immunoinfiltration analysis of EC region based on CIBESORT algorithm; C- correlation analysis between key genes and immune cells; D-summary of immune signaling pathways, immune cells and key genes in EC, PC, HIP, MTG, SFG, VCX brain regions.

图 2 EC区免疫浸润分析

Fig. 2 Immunoinfiltration analysis in EC region

HIP 区的静息态的树突状细胞(dendritic cells resting)、M2型巨噬细胞、单核细胞(monocytes)、以及 $\gamma\delta$  T细胞(T cells gamma delta)明显增加;MTG区的M2型巨噬细胞、静息态肥大细胞(mast cells resting)、中性粒细胞、浆细胞、记忆性CD4(T cells CD4 memory resting)明显增加;PC区的树突状细胞(dendritic cells resting)、CD8 T细胞(T cells CD8)明显增加;SFG区的静息态树突状细胞、中性粒细胞、静息态记忆性CD4(T cells CD4 memory resting)以及调节T细胞(T cells regulatory)明显增加;VCX区的幼稚B细胞(B cell naive)、中性粒细胞、静息态记忆性CD4以及CD8 T细胞明显增加,如图2-B所示。

## 2.6 关键基因与免疫浸润的相关性分析

将每个脑区筛选的Hub基因与每个脑区有差异变化的免疫细胞进行相关性热图分析。EC区中ATP5C1与M2型巨噬细胞有较高的负相关性( $R=-0.75$ )、ATP5D、ATP5B和GAPDH与CD4<sup>+</sup>T活化记忆细胞有较高正相关性( $R>0.7$ );MTG区中CCND1与滤泡性辅助T细胞有较高的负相关性( $R=-0.71$ )、GSKB和CXCR4与CD4<sup>+</sup>T静息态记忆细胞有较高正相关性( $R=0.72$ );HIP区中ACTB与活化的NK细胞有高的正相关性( $R=0.82$ )而HSP90B1与活化的NK细胞有高的负相关性( $R=-0.74$ )、CDK7与静息态的树突状细胞有高的负相关性( $R=-0.7$ );PC区中ATP5A1、ATP5B、ATP5C1、NDUFA5、NDUFAB1、NDUFB5、UQCERS1与CD8<sup>+</sup>T细胞有高负相关性( $R<-0.7$ );SFG区中KLF4和FOXO1与CD4<sup>+</sup>T静息态记忆细胞呈高正相关性( $R>0.7$ )、GFAP、SOX9、SOX2、AGT、HDAC1和BCL2与肥大细胞呈高负相关性( $R<-0.7$ );VCX区中JA2F1与幼稚B细胞呈高负相关性( $R=-0.72$ )。红色表示正相关,蓝色表示负相关,颜色越深,相关性越高,见图2-C。

## 2.7 关键基因的表达情况及ROC曲线

在GSE5281数据集中通过ROC分析探究关键基因对AD患者和正常样本的区分能力。结果显示这些基因的AUC都大于0.7,具有诊断意义(图3A~D)。并且这些基因在AD和正常样本中有不同表达模式,其中HDAC1、COL1A2、MUC1、EP300、VIM、SOX9、GFAP、BCL2、HSP90B1、FOXO1、EGFR、FNI、CD44、CEBPB、CXCR4、U2AF2、KLF4、IGF2BP2、PECAMI、EP400、SOX2的表达水平在AD样本中较高,ATP5H、CDK7、ATP5D、ATP5C1、

GSK3B、JAZF1、UQCERS1、MSH2、PPPICA、ATP5B、ATP5A1基因在AD样本中较低(图3-E)。

## 2.8 中药预测

应用Coremine Medical数据库筛选出治疗AD的中药,将筛选到各个脑区的中药( $n>1$ )取交集发现4个脑区HIP、MTG、SFG、VCX聚焦到姜黄、黄丝郁金2种中药,映射到HIP区EP300、PPARG;MTG区CND1、GSK3B;SFG区BCL2、EGFR基因,此外姜黄还映射到HIP区的KDR基因、VCX区的MYC和IL1B基因(图4)。

## 3 讨论

免疫系统在AD中起着关键作用,同时分泌细胞因子以消除病原体和调节脑稳态。因此,利用生物信息学分析AD和正常衰老各脑区的数据集进行研究,来发现各个脑区优先表达的基因信息。通过GEO筛选、WGCNA分析、GSEA分析、细胞免疫浸润分析以及PPI网络构建可以为早期诊断和治疗提供潜在枢纽基因和通路。

EC、MTG、PC、SFG区虽都在记忆中起着重要作用,但是不同的脑区发挥的功能各不相同,WGCNA结果也显示不同脑区映射到不同的模块且具有高相关性。其中EC区的显著基因与能量释放与代谢有关且表达降低。VCX区是大脑对实现视觉信息处理的一部分。SFG区可以保存时间较短的信息。在各脑区筛选的显著基因中,增殖激活受体 $\gamma$ (PPARG)可以调节淀粉样蛋白生成途径,通过抑制 $\beta$ 位点淀粉样蛋白前体蛋白裂解酶1(BACE1)启动子活性来减少A $\beta$ 沉积,并可能通过泛素化增加淀粉样蛋白前体蛋白降解的速率。此外,PPARG的激活还可以改善线粒体功能,这可能对AD患者记忆和认知产生有益的影响<sup>[21]</sup>。MYC在神经元中的表达增加不会诱导它们的增殖,但会导致神经元细胞死亡。MYC似乎通过端粒酶逆转录酶(TERT)和P53的表达来控制轴突再生,在端粒延伸、细胞衰老和癌症的调节中发挥作用<sup>[22]</sup>。在中枢神经系统(CNS)中,GSK3- $\beta$ 含量最高,其表达水平随年龄增长而增加,其活性与记忆巩固、神经发生、突触可塑性、长期增强和炎症。作为主要的Tau激酶之一,GSK3- $\beta$ 促进tau过度磷酸化和NFT的形成<sup>[23]</sup>。表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂能够抑制反应性星形胶质细胞的活化<sup>[24]</sup>,增强自噬<sup>[25]</sup>,改善A $\beta$ 毒性,神经炎症<sup>[26]</sup>,促进轴突再生,并减少再生过程中的阻碍<sup>[27]</sup>。综上,本研究揭示了大脑记忆功能背后的特定脑区和基因调控机制,并阐明了这些调控与



力而被指定为细胞毒性T细胞)。在AD初始阶段,改变的血脑屏障(BBB)促进T细胞(包括Treg)的进入,有助于中枢神经系统的免疫保护。与正常组相比,AD患者各脑区的T细胞的活化程度更高,这些T细胞进一步促进外周血单核细胞释放促炎因子。在神经炎症条件下,树突状细胞在衰老过程中提高他们参与神经退行性过程的可能性<sup>[28]</sup>。M1型巨噬细胞主要通过分泌促炎细胞因子发挥促炎作用。M2型巨噬细胞可以减轻炎症反应,修复组织损伤与GSK3B有关。综上,该研究揭示了免疫信号通路的富集情况、免疫细胞在中枢神经系统的参与程度、AD各脑区内免疫细胞类型的分布情况、T细胞在AD发展过程中所扮演的角色以及巨噬细胞在神经炎症条件下所起到的作用。这些重要发现对于深入理解AD发生机制并开展新型治疗策略具有显著意义。

本研究筛选出治疗各个脑区的中药各有差异,但是4个脑区HIP、MTG、SFG、VCX都聚焦到姜黄、黄丝郁金。而黄丝郁金为植物姜黄的干燥块根。大量的研究发现,姜黄的主要成分姜黄素可以抑制淀粉样蛋白 $\beta$ 斑块的形成并促进分解<sup>[29-30]</sup>,减弱tau的过度磷酸化并增强其清除,修饰小胶质细胞活性<sup>[31]</sup>,抑制乙酰胆碱酯酶,介导胰岛素信号通路,是一种抗氧化剂<sup>[32]</sup>。姜黄的另一成分芳樟醇属于链状萜烯醇类,降低了A $\beta$ 诱导的活性氧(ROS)水平<sup>[33]</sup>、氧化应激,逆转了AD的组织病理学特征,并通过抗炎作用恢复认知和情绪功能。

综上,通过基于生物信息学的信息挖掘技术,对AD的各脑区进行基因差异分析,筛选出的Hub基因并与中药映射,姜黄及其活性成分可能成为治疗AD的潜在新药物,而EP300、PPARG、CND1、GSK3B、BCL2、EGFR、KDR、MYC和IL1B在预测结局上诊断效果好,可能会为AD的治疗提供新的生物制剂靶点。但本研究仍存在一些不足,如基因表达谱芯片的样本量有限、分析存在偏倚和误差等,未来仍需进一步的基础和临床实验来验证治疗靶点以及所预测的中药活性成分对AD的治疗效果。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 2023 Alzheimer's disease facts and figures [J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(4): 1598-1695.
- [2] Ren R, Qi J, Lin S, et al. The China Alzheimer Report 2022 [J]. *Gen Psychiatr*, 2022, 35(1): e100751.
- [3] Chen X Y, Firulyova M, Manis M, et al. Microglia-mediated T cell infiltration drives neurodegeneration in tauopathy [J]. *Nature*, 2023, 615(7953): 668-677.
- [4] Musiek E S, Holtzman D M. Three dimensions of the amyloid hypothesis: Time, space and 'wingmen' [J]. *Nat Neurosci*, 2015, 18(6): 800-806.
- [5] Chen X Y, Holtzman D M. Emerging roles of innate and adaptive immunity in Alzheimer's disease [J]. *Immunity*, 2022, 55(12): 2236-2254.
- [6] Berron D, van Westen D, Ossenkoppele R, et al. Medial temporal lobe connectivity and its associations with cognition in early Alzheimer's disease [J]. *Brain*, 2020, 143(4): 1233-1248.
- [7] 段丛妍, 张明杰, 王少峡. 小胶质细胞极化中的糖代谢重编程研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2023, 46(4): 890-896.
- [8] Duan C Y, Zhang M J, Wang S X. Research progress of glucose metabolic reprogramming in microglia polarization [J]. *Drug Eval Res*, 2023, 46(4): 890-896.
- [9] Jorfi M, Maaser-Hecker A, Tanzi R E. The neuroimmune axis of Alzheimer's disease [J]. *Genome Med*, 2023, 15(1): 6.
- [10] Liang W S, Reiman E M, Valla J, et al. Alzheimer's disease is associated with reduced expression of energy metabolism genes in posterior cingulate neurons [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(11): 4441-4446.
- [11] Jarrell J T, Gao L, Cohen D S, et al. Network medicine for Alzheimer's disease and traditional Chinese medicine [J]. *Molecules*, 2018, 23(5): 1143.
- [12] Davis S, Meltzer P S. GEOquery: A bridge between the gene expression omnibus (GEO) and BioConductor [J]. *Bioinformatics*, 2007, 23(14): 1846-1847.
- [13] Liang W S, Dunckley T, Beach T G, et al. Gene expression profiles in anatomically and functionally distinct regions of the normal aged human brain [J]. *Physiol Genomics*, 2007, 28(3): 311-322.
- [14] Igarashi K M. Entorhinal cortex dysfunction in Alzheimer's disease [J]. *Trends Neurosci*, 2023, 46(2): 124-136.
- [15] Mu Y L, Gage F H. Adult hippocampal neurogenesis and its role in Alzheimer's disease [J]. *Mol Neurodegener*, 2011, 6: 85.
- [16] Yamashita K I, Uehara T, Prawiroharjo P, et al. Functional connectivity change between posterior cingulate cortex and ventral attention network relates to the impairment of orientation for time in Alzheimer's disease patients [J]. *Brain Imaging Behav*, 2019, 13(1): 154-161.
- [17] Xu P, Chen A, Li Y P, et al. Medial prefrontal cortex in neurological diseases [J]. *Physiol Genomics*, 2019, 51(9): 1527-1536.

- 432-442.
- [17] Liang W S, Dunckley T, Beach T G, et al. Altered neuronal gene expression in brain regions differentially affected by Alzheimer's disease: A reference data set [J]. *Physiol Genomics*, 2008, 33(2): 240-256.
- [18] Langfelder P, Horvath S. WGCNA: An R package for weighted correlation network analysis [J]. *BMC Bioinformatics*, 2008, 9: 559.
- [19] 安淑荣, 宋琳, 李莉, 等. 基于网络药理学的南、北五味子治疗阿尔茨海默病作用机制比较研究 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(1): 26-37.
- An S R, Song L, Li L, et al. Comparative study on mechanism of *Schisandra sphenanthera* and *Schisandra chinensis* in treatment of Alzheimer's disease based on network pharmacology [J]. *Drug Eval Res*, 2024, 47(1): 26-37.
- [20] Subramanian A, Tamayo P, Mootha V K, et al. Gene set enrichment analysis: A knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(43): 15545-15550.
- [21] Roses A D, Saunders A M, Huang Y, et al. Complex disease-associated pharmacogenetics: Drug efficacy, drug safety, and confirmation of a pathogenetic hypothesis (Alzheimer's disease) [J]. *Pharmacogenomics J*, 2007, 7(1): 10-28.
- [22] Marinkovic T, Marinkovic D. Obscure involvement of MYC in neurodegenerative diseases and neuronal repair [J]. *Mol Neurobiol*, 2021, 58(8): 4169-4177.
- [23] Lauretti E, Dincer O, Praticò D. Glycogen synthase kinase-3 signaling in Alzheimer's disease [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2020, 1867(5): 118664.
- [24] Mansour H M, Fawzy H M, El-Khatib A S, et al. Lapatinib ditosylate rescues memory impairment in D-galactose/ovariectomized rats: Potential repositioning of an anti-cancer drug for the treatment of Alzheimer's disease [J]. *Exp Neurol*, 2021, 341: 113697.
- [25] Tavassoly O, Del Cid Pellitero E, Larroquette F, et al. Pharmacological inhibition of brain egfr activation by a BBB-penetrating inhibitor, AZD3759, attenuates  $\alpha$ -synuclein pathology in a mouse model of  $\alpha$ -Synuclein propagation [J]. *Neurotherapeutics*, 2021, 18(2): 979-997.
- [26] Lee H J, Jeon S G, Kim J, et al. Ibrutinib modulates A $\beta$ /tau pathology, neuroinflammation, and cognitive function in mouse models of Alzheimer's disease [J]. *Aging Cell*, 2021, 20(3): e13332.
- [27] Wakatsuki S, Furuno A, Ohshima M, et al. Oxidative stress-dependent phosphorylation activates ZNRF1 to induce neuronal/axonal degeneration [J]. *J Cell Biol*, 2015, 211(4): 881-896.
- [28] Brezovakova V, Valachova B, Hanes J, et al. Dendritic cells as an alternate approach for treatment of neurodegenerative disorders [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2018, 38(6): 1207-1214.
- [29] Jakubowski J M, Orr A A, Le D A, et al. Interactions between curcumin derivatives and amyloid- $\beta$  fibrils: Insights from molecular dynamics simulations [J]. *J Chem Inf Model*, 2020, 60(1): 289-305.
- [30] Yang F S, Lim G P, Begum A N, et al. Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid *in vivo* [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(7): 5892-5901.
- [31] Ghasemi F, Bagheri H, Barreto G E, et al. Effects of curcumin on microglial cells [J]. *Neurotox Res*, 2019, 36(1): 12-26.
- [32] Ege D. Action mechanisms of curcumin in Alzheimer's disease and its brain targeted delivery [J]. *Materials*, 2021, 14(12): 3332.
- [33] Yuan C Y, Shin M, Park Y, et al. Linalool alleviates A $\beta$  42-induced neurodegeneration via suppressing ROS production and inflammation in fly and rat models of Alzheimer's disease [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 8887716.

[责任编辑 刘东博]