

• 数据挖掘与循证医学 •

基于方剂-证候-疾病关联的抗阿尔茨海默病可入血成分的筛选

郭鹏飞^{1,2}, 姜孟孟^{1,2}, 胡胜全^{1,2}, 姜倩倩^{1,2}, 李利民^{1,2}, 吴俊红¹, 马玉翠¹, 吴正治^{1,2,3*}

1. 深圳大学第一附属医院, 深圳市转化医学研究院, 广东 深圳 518035

2. 吴正治院士工作站, 宁波卫生职业技术学院, 浙江 宁波 315800

3. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410073

摘要: 目的 通过整合网络推理算法、机器学习、类药性评估、分子对接和动力学模拟等方法, 旨在筛选阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 的生物标志物, 阐明其发病机制, 并探索其潜在治疗靶点及可入血成分 (blood-absorbed constituents, BACs)。方法 基于中药入血成分及代谢产物数据库 (Database of Constituents Absorbed Into Blood and Metabolites of Traditional Chinese Medicine, DCABM-TCM) 筛选含有 BACs 的经典名方, 通过证候本体与方剂数据库 (Syndrome Ontology and Formula Database, SoFDA) 检索经典名方所对应的证候及其靶点。利用基于加权有向图网络的推理 (weighted signed directed tensor network-based inference, wSDTNBI) 算法预测 BACs 靶点。通过基因表达综合数据库 (gene expression omnibus, GEO) 挖掘筛选 AD 差异性表达基因 (differential gene expression, DEGs), 并采用基因本体 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 分析 DEGs 靶向证候基因所涉及参与的主要生物学过程和信号通路。采用最小绝对收缩和选择算法 (least absolute shrinkage and selection operator, LASSO)、支持向量机递归特征消除 (support vector machine-recursive feature elimination, SVM-RFE) 方法、蛋白质-蛋白质相互作用网络 (protein-protein interaction, PPI) 和文本挖掘的方法筛选 AD 核心基因。结合泛分析干扰化合物 (employ pan-assay interference compounds, PAINS)、Lipinski (Ro5) 和 Lipinski (Ro3) 的过滤和分子对接来筛选候选 BACs。结果 通过筛选 193 个经典名方, 最终纳入 10 个含 94 个 BACs 的方剂及对应 15 种证候。预测得到 1 520 个证候基因和 552 个 BACs 靶点。进一步筛选出证候可靶向的 528 个上调及 697 个下调 DEGs。富集分析显示 DEGs 主要参与神经元抗凋亡及突触功能等生物学过程, 并显著富集于磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路、黏着斑及 AD 发生通路。BACs-DEGs-AD 网络表明上调和下调的 DEGs 分别可以靶向 90 和 74 个 BACs, 与 9 种证候相关。进一步通过 PPI 网络共分析得到度值较大的 AD 核心基因 5 个, 分别是 β 2 肾上腺素能受体 (β 2 adrenergic receptor, ADRB2)、P 物质受体 1 (substance-P receptor 1, TACR1)、前列腺素 G/H 合酶 2 (prostaglandin G/H synthase 2, PTGS2)、丝氨酸蛋白酶 HTRA1A (serine protease, HTRA1A) 和代谢型谷氨酸受体 1 (metabotropic glutamate receptor 1, GRM1)。类药性评估筛选得到 22 个候选 BACs, 其中药理学文献验证有 11 个 BACs 具有抗 AD 活性。通过分子对接与动力学模拟结果表明, 与上市药物多奈哌齐、加兰他敏和卡巴拉汀比较, unii-x87dcb9gst 与 5 个 AD 核心基因中的乙酰胆碱脂酶 (acetylcholinesterase, AChE) 具有最稳定的综合结合能。结论 通过多模态算法筛选出 AD 的生物标志物, 通过富集分析揭示 AD 相关的生物过程及信号通路, 从分子层面阐释中医证候-AD 基因的交互作用机制。同时, 筛选得到的 unii-x87dcb9gst 可能为经典名方中治疗 AD 的候选 BACs。不仅多维度解析 AD 发病的分子机制, 更为抗 AD 药物研发提供创新性的生物标志物筛选体系和研究范式。

关键词: 阿尔茨海默病; 方剂; 证候; 可入血成分; 网络推理算法; 机器学习; 分子对接; 分子动力学模拟; unii-x87dcb9gst
中图分类号: TP18; R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)09-3203-19

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.09.018

Screening of blood-absorbed constituents against Alzheimer's disease based on prescription-syndrome-disease association

GUO Pengfei^{1,2}, JIANG Mengmeng^{1,2}, HU Shengquan^{1,2}, JIANG Qianqian^{1,2}, LI Limin^{1,2}, WU Junhong¹, MA Yucui¹, WU Zhengzhi^{1,2,3}

收稿日期: 2024-12-16

基金项目: 国家科技部重大新药创制项目 (2017ZX09301001); 深圳市科技计划重点项目 (JCYJ20220818101806014); 国家自然科学基金资助项目 (81574038); 深圳大学第一附属医院有组织医学科学研究基金项目 (2024YZZ11)

作者简介: 郭鹏飞, 博士, 研究方向为抗阿尔茨海默病中药创新药物研发。E-mail: 18810918051@163.com

*通信作者: 吴正治, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事老年神经系统疾病中西医结合研究。E-mail: szwzz001@163.com

1. The First Affiliated Hospital of Shenzhen University, Shenzhen Institute of Translational Medicine, Shenzhen 518035, China
2. Wu Zhengzhi Academician Workstation, Ningbo College of Health Sciences, Ningbo 315800, China
3. Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410073, China

Abstract: Objective This study aims to screen biomarkers for Alzheimer's disease (AD), elucidate its pathogenesis, and explore potential therapeutic targets and blood-absorbed constituents (BACs) by integrating network inference algorithms, machine learning, drug-likeness evaluation, molecular docking, and molecular dynamics simulations. **Methods** Classical TCM formulas containing BACs were screened based on the database of constituents absorbed into the blood and metabolites of traditional Chinese medicine (DCABM-TCM) and the corresponding syndromes and their targets were retrieved from the from syndrome ontology to network-based evaluation of syndrome ontology and formula database (SoFDA). The weighted signed directed tensor network-based inference (wSDTNBI) algorithm was used to predict BACs targets. Differential expressed genes (DEGs) related to AD were identified by mining the GEO database. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analyses were performed to explore the biological processes and pathways associated with up- and down-regulated DEGs. Core AD genes were screened using the least absolute shrinkage and selection operator (LASSO), support vector machine-recursive feature elimination (SVM-RFE), protein-protein interaction (PPI) network analysis, and text mining. Candidate BACs were further filtered using pan-assay interference compounds (PAINS), Lipinski's Rule of Five (Ro5), and Rule of Three (Ro3), followed by molecular docking. **Results** First, a total of 10 classical TCM formulas containing 94 BACs and corresponding to 15 syndromes were selected from 193 formulas. A total of 1 520 syndrome-related genes and 552 BAC targets were predicted. Additionally, 528 up-regulated and 697 down-regulated DEGs targeted by syndromes were identified. Enrichment analysis revealed that these DEGs were primarily involved in biological processes such as positive regulation of gene expression, neuronal anti-apoptosis, and synaptic function, and were significantly enriched in pathways such as phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-protein kinase B signaling pathway (Akt) signaling, focal adhesion, and AD pathways. The BACs-DEGs-AD network indicated that up- and down-regulated DEGs could target 90 and 74 BACs, respectively, associated with nine syndromes. PPI network analysis identified five core AD genes with high degrees: beta-2 adrenergic receptor (ADRB2), substance-P receptor (TACR1), prostaglandin G/H synthase 2 (PTGS2), serine protease HTRA1A, and metabotropic glutamate receptor 1 (GRM1). Drug-likeness evaluation screened 22 candidate BACs, 11 of which were pharmacologically validated to have anti-AD activity. Molecular docking results showed that unii-x87dcb9gst exhibited superior comprehensive binding energy with the five core AD genes compared to marketed drugs such as donepezil, galantamine, and rivastigmine. Finally, molecular dynamics simulations further confirmed the stable binding of unii-x87dcb9gst to the acetylcholinesterase (AChE) complex. **Conclusion** This study identified AD biomarkers through multimodal algorithms and revealed AD-related biological processes and signaling pathways through enrichment analysis, providing molecular insights into the interaction mechanisms between TCM syndromes and AD genes. Additionally, unii-x87dcb9gst, screened as a candidate BAC from classical TCM formulas, may serve as a potential therapeutic agent for AD. This research not only offers a multidimensional understanding of AD pathogenesis but also establishes an innovative biomarker screening system and research paradigm for anti-AD drug development.

Key words: Alzheimer's disease; formulas; syndromes; constituents absorbed into blood; network inference algorithms; machine learning; molecular docking; molecular dynamics simulations; unii-x87dcb9gst

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种起病隐匿、呈进行性发展的神经退行性疾病, 其临床特征主要表现为认知障碍、精神行为异常和社会生活功能减退等^[1]。中国是世界上 AD 患者数量最多的国家之一, 占全球患者总数的五分之一左右, 给医疗和经济造成了严重的负担^[2]。AD 确切病因尚不完全清楚, 目前公认的发病因素主要包括遗传、环境和生活方式等因素, 且主流学说为 β -淀粉样蛋白斑块沉积、Tau 蛋白缠结学说、胆碱能假说和神经炎症学说等。但遗憾的是, 由于 AD 的发病

机制复杂, 至今仍未完全揭示其准确的机制, 也没有发现治疗 AD 的特效药物^[3-5]。因此, 如何能够更加有效地探索 AD 的发病机制, 找到有效干预和治疗的药物, 对于老龄化社会至关重要。

中医证候是中医学理论体系中的一个核心概念, 是在发病过程中对患者的症状和体质进行分析归纳后的某一阶段病理状态的综合描述。这与网络药理学针对“多成分-多靶点-多通路”进行干预的思想不谋而合, 如抗氧化、抗炎和改善能量代谢等^[6-8]。吴正治等^[9]提出“肝气郁滞-内质网应激关联”AD 病

理新假说,假说核心观点认为老年性痴呆的核心病机可归结为肝气郁滞,其亚细胞层面的病理机制与内质网应激密切相关,通过疏肝解郁法可有效调控内质网应激反应,从而延缓或拮抗该病的进展。张艳萍等^[10]发现轻度认知障碍和中医证候密切相关,如虚证和虚实夹杂证。Zhou 等^[11]建立网络医学框架,通过中药靶点与症状模块的网络接近程度预测中药治疗症状的有效性,揭示中医症状“通用模块”治疗疾病的科学原理。此外,中医药提供了大量天然产物用于治疗临床症状的病例,而这些病例可以关联到患者的疾病表型,这为基于表型的药物发现(phenotypic drug discovery, PDD)提供指导^[12-13]。例如, Huo 等^[14]通过高通量筛选体系,对中医治疗胆结石的 20 种常用“利胆”中药进行筛选,从中药灯盏细辛中分离出药效活性小分子——灯盏乙素。Jia 等^[15]发现秦艽关键成分桉叶素可以通过调节能量代谢和对巨噬细胞重编程来有效改善类风湿性关节炎的症状。此外,从传统平喘中药麻黄中分离出的麻黄碱成为首个应用于哮喘治疗的 β 受体激动剂^[16]。从抗疟中药青蒿中提取的青蒿素,其独特的过氧桥结构赋予强效抗疟活性,极大降低了全球疟疾死亡率^[17]。整合中医药整体观与现代疾病分子机制的“中药-证候-疾病”多维研究模式可成为发现新型候选药物的创新策略。中药含有的大多数成分只有在被吸收到血液中后才会产生药理作用,而因首

过效应或肠道菌群代谢发生显著改变不能被吸收入血的成分变为无活性的成分,这极大地制约了中药新药的筛选和结构优化^[18]。据此,寻找可入血成分(blood-absorbed constituents, BACs)对于发现具有生物活性及可吸收性的中药衍生类药物化合物以及 AD 药物的研发至关重要^[19]。

本研究利用数据挖掘、基于加权有向图网络的推理(weighted signed directed tensor network-based inference, wSDTNBI)的方法挖掘中药经典方剂证候和 BACs 及其靶标。利用基因表达综合数据库(gene expression omnibus, GEO)数据库获取 AD 患者和正常人群的全基因组谱数据,结合机器学习模型筛选 AD 的生物标志物。本研究采用类药性评估、文本挖掘和分子对接和动力学模拟筛选治疗 AD 的关键 BACs,以期提高药物筛选的准确率,减少药物筛选过程中的同质化现象,为防治 AD 的 BACs 研发提供参考依据,研究流程见图 1。

1 数据与方法

1.1 古代经典名方中可入血成分的挖掘

从国家中医药管理局发布的《古代经典名方目录(第一批)》和《古代经典名方目录(第二批-汉族医药)》中共收集得到 193 个古代经典名方,内容包括方剂的编号、方名、出处和处方组成等。通过中药入血成分及代谢产物数据库(Database of

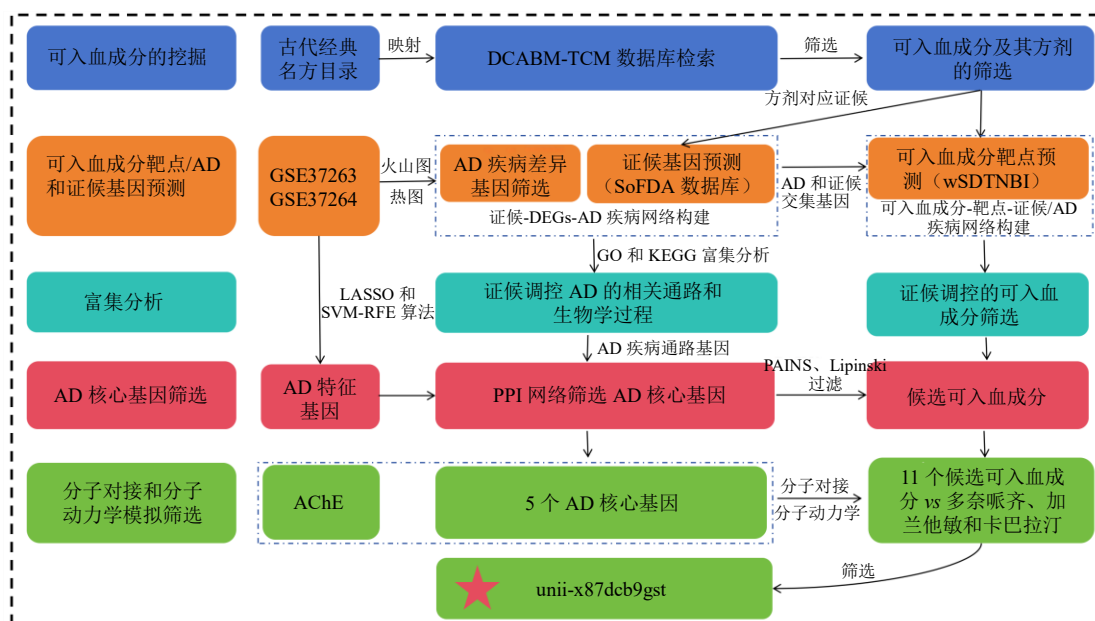


图 1 研究流程

Fig. 1 Research process

Constituents Absorbed into Blood and Metabolites of Traditional Chinese Medicine, DCABM-TCM) [18] (<http://bionet.ncpsb.org.cn/dcabm-tcm/#/Home>) 挖掘古代经典名方中的 BACs。共收集到包含可入血成分的方剂 21 个、BACs 228 个, 通过 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 检索可入血成分的 CID 号、Smiles、Inchikey 等信息。

1.2 方剂证候及其基因集的挖掘

通过证候本体与方剂数据库 (Syndrome Ontology and Formula Database, SoFDA) [20] (<http://www.tcmip.cn/Syndrome/front/#/>) 对 21 个方剂证候进行检索, 最后筛选出 10 个含 BACs 的方剂。通过在 SoFDA 数据库检索每个证候, 得到每个证候的主症相关基因、次症相关基因和主次症相关基因, 本研究选择主次症相关基因作为证候基因集。

1.3 AD 基因的挖掘

1.3.1 基于 GEO 数据库全基因组谱数据集分析 首先从 GEO 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 获取 AD 患者皮层基因表达改变的全基因组谱 (whole-genome sequencing, WGS) GSE37263 [21]、GSE37264 [22] 和血液基因表达改变的 WGS GSE97760 [23]。3 个基因表达谱分别基于 GPL5175-3188、GPL5188-122 和 GPL16699-15607 平台。借助临床生信之家 (<https://www.aclbi.com/static/index.html#/geo>) 进行数据的标准化和批次效应的处理。以差异表达倍数 (fold change, FC) $\log_2|FC| > 2$ 且 $P < 0.05$ 为阈值筛选 AD 治疗组和正常组之间的差异性表达基因 (differential gene expression, DEGs), 并确定上调和下调基因。通过绘制火山图对 DEGs 进行可视化分析。通过 Venny 2.1.0 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) 对 AD 的 DEGs 进行可视化。最后, 将证候基因和 AD 的 DEGs 取交集, 构建“证候-DEGs-AD”网络, 并通过 Gephi 0.10.1 软件进行可视化。

1.3.2 基于机器学习筛选 AD 特征基因 通过构建支持向量机递归特征消除 (support vector machine-recursive feature elimination, SVM-RFE) [24] 和最小绝对收缩和选择算法 (least absolute shrinkage and selection operator, LASSO) 回归模型 [25] 进一步筛选 AD 特征基因。其中, SVM-RFE 利用支持向量机来识别和选择最有信息量的特征子集。LASSO 回归是一种线性模型, 其通过 L1 正则化来实现特征选择和复杂度控制。使用 R 4.42 软件的“e1071”和

“glmnet”软件包分别开展 SVM-RFE 和 LASSO 回归分析。

1.4 可入血成分的靶点预测

BACs 的靶点通过 wSDTNBI [26] 进行预测。采用加权药物-靶标互动网络 (weighted drug-target interaction network, WDTIs) 结合相似性方法, 计算所有潜在的药物靶标预测分数。在计算之前设置分子指纹为 Morgan, 此指纹使用 RDKit 中的 GetMorganFingerprint (半径=2, useFeatures=True) 生成; 设置参数 $\alpha=0.4$, $\beta=0.2$, $\gamma=-0.5$, $\delta=20$, $\epsilon=4$, 资源扩散过程的数量 (k) 为 2; 每个 BACs 的预测靶标数量取前 50 个。随后分别取 BACs 靶点与 AD 上调和下调 DEGs 的交集基因, 通过 Cytoscape 3.10.3 构建 BACs-DEGs-证候网络。

1.5 基因本体 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析

通过 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) 数据库对证候靶向的上调和下调 DEGs 进行 GO 和 KEGG 富集分析。其中, GO 富集主要包括生物学过程 (biological process, BP)、分子功能 (molecular function, MF) 和细胞组成 (cell component, CC) 3 个部分。设定生物种类为 “homo sapiens”, 分析结果均以 $P < 0.05$ 作为筛选条件。

1.6 蛋白质-蛋白质相互作用网络 (protein-protein interaction, PPI) 构建

将 DEGs 导入 STRING 数据库 (<https://cn.stringdb.org/>), 生物种类设定为 “homo sapiens”, 设定最小相互作用得分 ≥ 0.4 , 将结果导入 Gephi 0.10.1 软件构建 PPI 网络, 通过分析网络拓扑性质参数自由度大小确定 AD 核心基因。

1.7 可入血成分的药性筛选

通过 ADMETlab 3.0 数据库 (<https://admetlab3.scbdd.com/>) 对筛选得到的 BACs 进行泛分析干扰化合物 (employ pan-assay interference compounds, PAINS) 过滤 [27] 和 Lipinski (Ro5) [28] 筛选。筛选得到的阳性结果为 “accepted”, 阴性结果为 “rejected”。结合 Lipinski (Ro3) [29], 将筛选得到的 BACs 的相对分子质量限制在 300~500 [30]。

1.8 分子对接

使用 AutoDock Vina v1.2.0 对 BACs 靶向的 AD 核心基因进行对接分析。受体蛋白晶体结构从 RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 中

下载, 包括 $\beta 2$ 肾上腺素能受体 ($\beta 2$ adrenergic receptor, ADRB2, PDB ID: 3NYA, 3.16 Å, 1 Å=0.1 nm) [31]、P 物质受体 1 (substance-P receptor 1, TACR1, PDB ID: 6HLP, 2.20 Å) [32]、前列腺素 G/H 合酶 2 (prostaglandin G/H synthase 2, PTGS2, PDB ID: 5F19, 2.04 Å) [33]、5-羟色胺受体 1A (5-hydroxytryptamine receptor 1A, HTR1A) (PDB ID: 3TAO, 1.45 Å) [34]、代谢型谷氨酸受体 1 (metabotropic glutamate receptor 1, GRM1, PDB ID: 1EWV, 4.00 Å) [35] 和乙酰胆碱脂酶 (acetylcholinesterase, AChE, PDB ID: 6O4W, 2.35 Å, 共晶为多奈哌齐) [36]。蛋白 3D 结构使用 MGL AutoDock Tools 进行准备。对接盒子的大小和中心位点通过 PrankWeb (<https://prankweb.cz/>) [37] 进行预测。BACs 的 3D 结构从 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库下载, 通过 Chem3D 16.0 进行能量最小化 (MMFF94 立场)。根据对接自由能 (kcal/mol, 1 kcal/mol=4.2 kJ/mol) 选择最佳对接姿势, 如果结合能 (ΔG) ≤ -5.0 kcal/mol, 配体-受体复合物形成稳定的构象。本研究使用 PyMOL 对 BACs 和 AD 核心基因结合的活性位点残基进行可视化分析。分子对接的结果通过 Python 的 pandas、seaborn 和 matplotlib 库绘制的热图进行可视化。

1.9 分子动力学模拟

利用 GROMACS (2020.6) [38] 进行动力学模拟来验证候选 BAC 和 AChE 的对接结果。首先, AChE 的拓扑结构通过 pdb2gmx 生成。其次, 候选 BAC 的拓扑结构通过 sobtop 1.0 (<http://sobereva.com/soft/sobtop>) 生成, 模拟前在 Gaussian 16 进行能量校正 [39]。将配体信息添加到蛋白质拓扑文件中, 形成复合物信息文件。另外, 本研究进行如下操作和设置: 采用 AMBER99SB-ILDN 力场和 TIP3P 水模型进行计算; 将复合物体系限制在边长 1.0 nm 的正立方体盒子中; 添加 SPC216 水溶剂, 并通过添加 Na^+/Cl^- 离子以平衡电荷; 在 26.85 °C 下, 对复合物进行 1000 步的能量最小化; 在 26.85 °C 下进行正则平衡, 使用 ParrinelloRahman 压力耦合在 1 bar 条件下进行恒定原子数、体积、温度 (constant atoms, volume, temperature, NVT) 系综与恒定原子数、压力、温度 (constant atoms, pressure, and temperature, NPT) 系综平衡。最后, 每个体系进行 100 ns 的模拟, 对分子轨迹进行校正后用以后续评估和分析。模拟完成

后, 使用 qtgrace v026 对模拟轨迹进行分析, 包括均方根偏差 (root mean square deviation, RMSD) 和均方根波动 (root mean square fluctuation, RMSF)。

2 结果

2.1 含可入血成分的方剂及其证候的筛选

通过 DCABM-TCM 数据库对古代经典名方进行筛选, 继而通过 SoFDA 数据库的方剂-证候映射功能, 实现方剂对应证候及其异名的精准匹配。通过明确含有 BACs 且具备完整的方剂-证候 (证候异名) 关联网络的筛选条件, 最后得到麻黄汤、半夏泻心汤、温经汤、四妙勇安汤、茵陈蒿汤、黄芩汤、附子泻心汤、栀子豉汤、泻心汤和茵陈术附汤 10 个方剂。结果表明, 麻黄汤对应风寒犯肺证、太阳表实证和小儿风寒束表证, 温经汤对应冲任寒证和胞宫寒凝证, 其他的方剂对应的证候见表 1。已有临床研究表明, 气滞血瘀证是导致 AD 发病的主要原因之一 [40-41], 而四妙勇安汤主要针对的症状为气滞血瘀肢端失养证。此外, 周霞等 [42] 研究表明, 冲任寒证和胞宫寒凝证使女性肾精不足、髓海不充, 最终导致脑转耳鸣、失眠健忘、认知障碍和意志低下等症状, 这与温经汤的证候相对应。另一项调查研究表明, AD 的中医证候以髓减证、肾虚证、阳虚证和痰浊证为主要表现 [43]。因此, 将方剂证候和 AD 的病症结合起来, 不仅验证了中医“同病异治”理论的适用性, 也为进一步探究方剂证候与 AD 之间的分子机制提供理论依据。

2.2 AD 差异性基因的筛选

在对 3 组基因芯片数据进行预处理并消除批次效应后, 基于 GSE37263 数据集 (包含 7 例 AD 样本和 8 例正常样本) 的差异表达分析结果显示, 共筛选出 134 个上调 DEGs 和 18 个下调 DEGs (图 2-A); GSE37264 数据集包含 8 例 AD 样本和 8 例正常样本, 经数据分析处理后, 共得出 66 个上调 DEGs 和 38 个下调 DEGs (图 2-B); GSE97760 数据集包含 9 例 AD 样本和 10 例正常样本, 差异表达分析结果显示, 共有 2 922 个上调 DEGs 和 1 983 个下调 DEGs (图 2-C)。3 个数据集的 DEGs 关联分析见图 2-D。结果显示, AD 共筛选出 2 159 个上调 DEGs 和 2 974 个下调 DEGs。

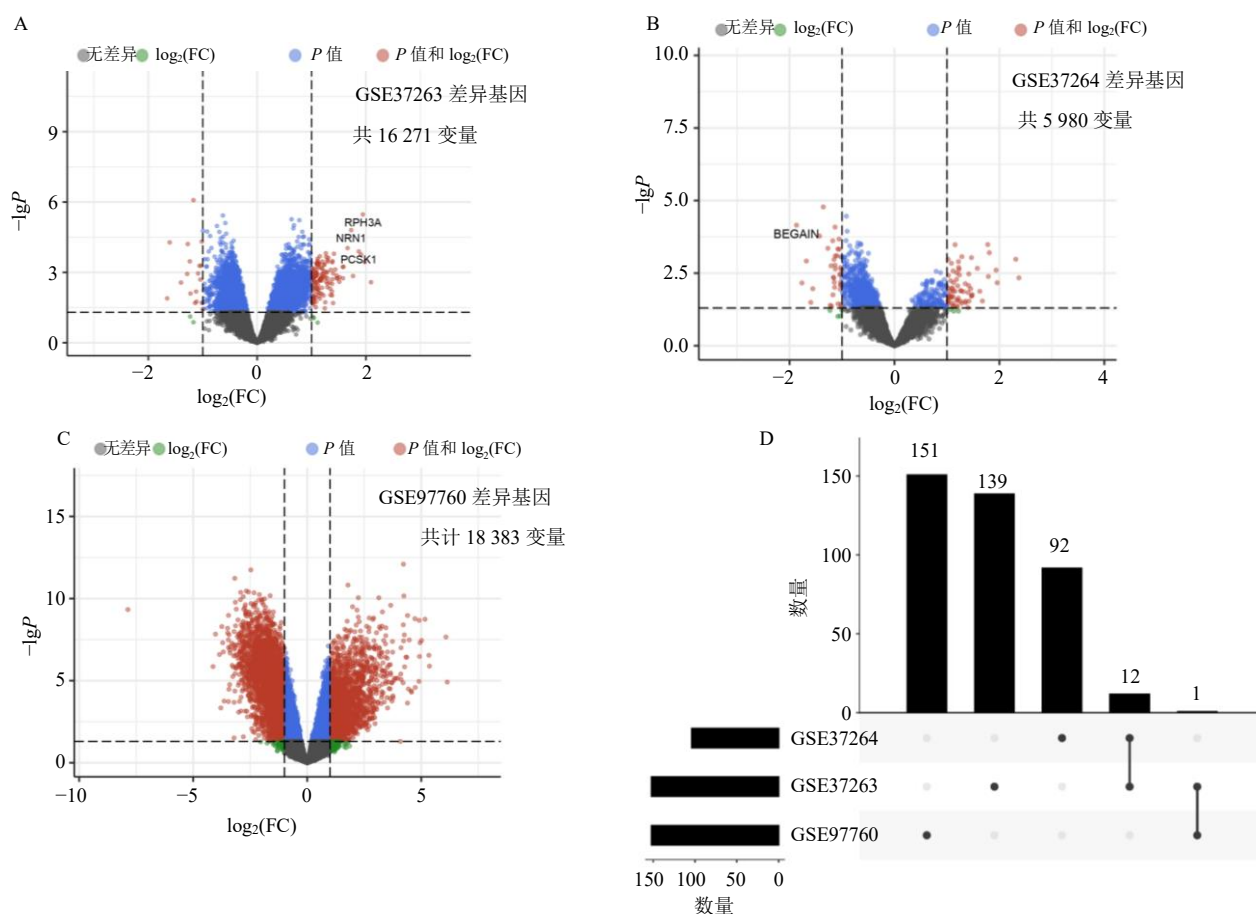
2.3 证候-DEGs-AD 网络的构建

本研究通过 SoFDA 数据库检索了 15 种方剂证候相关基因, 其中风寒犯肺证 (Syndrome 9)、太阳表实证 (Syndrome 294)、小儿风寒束表证 (Syndrome

表 1 含有可入血成分的方剂及其证候筛选

Table 1 Screening of formulations containing blood-absorbed constituents and their corresponding syndromes

含有入血成分的 古代经典名方	SoFDA 方剂 ID	英文名	SoFDA 证候 ID	方剂对应证候	证候异名
麻黄汤	Formula 20	Mahuang Decoction	Syndrome 9	风寒犯肺证	风寒束肺证
	Formula 20		Syndrome 294	太阳表实证	太阳伤寒证、麻黄汤证
	Formula 20		Syndrome 4	小儿风寒束表证	小儿外感风寒证
半夏泻心汤	Formula 92	Banxiaxiexin Decoction	Syndrome 14	寒热互结痞证	半夏泻心汤证
温经汤	Formula 65	Wenjing Decoction	Syndrome 253	冲任寒证	寒入血室证
	Formula 65		Syndrome 15	胞宫寒凝证	风寒袭胞证
四妙勇安汤	Formula 281	Simiao Yongan Decoction	Syndrome 282	气滞血瘀肢端失养证	气血凝滞肢端失养证
茵陈蒿汤	Formula 332	Yinchenhao Decoction	Syndrome 118	阳明湿热里实证	阳明瘀热发黄证、茵陈蒿汤证
黄芩汤	Formula 45	Huangqin Decoction	Syndrome 45	热入气分证	气分热感证
	Formula 45		Syndrome 94	太阳少阳邪迫大肠证	黄芩汤证
附子泻心汤	Formula 138	Fuzi Xiexin Decoction	Syndrome 277	热痞兼表阳虚证	附子泻心汤证
栀子豉汤	Formula 79	Zhizichi Decoction	Syndrome 40	热扰胸膈证	热郁胸膈证、热阻胸膈证
	Formula 79		Syndrome 87	太阳热扰胸膈证	栀子豉汤证
泻心汤	Formula 317	Xiexin Decoction	Syndrome 231	—	心火炽盛证
茵陈术附汤	Formula 333	Yinchen Zhufu Decoction	Syndrome 254	太阴寒湿郁结证	太阴发黄证



A~C-GSEA37263、GSEA37264 和 GSEA97760 的火山图；D-GSEA37263、GSEA37264 和 GSEA97760 的 DEGs 数量关系。

A—C—volcano plots of GSEA37263, GSEA37264, and GSEA97760; D—quantity relationship of DEGs for GSEA37263, GSEA37264 and GSEA97760.

图 2 健康群体与 AD 患者皮质和血液的差异表达基因分析

Fig. 2 Analysis of DEGs in blood and cortex between healthy population and AD patients

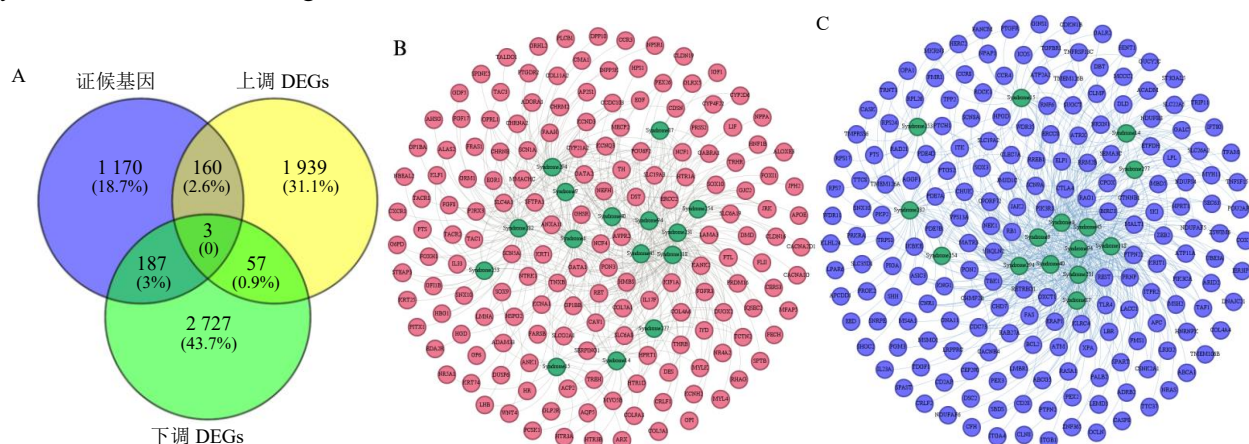
4)、寒热互结痞证 (Syndrome 14)、冲任寒证 (Syndrome 253)、胞宫寒凝证 (Syndrome 15)、气滞血瘀肢端失养证 (Syndrome 282)、阳明湿热里实证 (Syndrome 118)、热入气分证 (Syndrome 45)、太阳少阳邪迫大肠证 (Syndrome 94)、热痞兼表阳虚证 (Syndrome 277)、热扰胸膈证 (Syndrome 40)、太阳热扰胸膈证 (Syndrome 87)、心火炽盛证 (Syndrome 231) 和太阴寒湿郁结证 (Syndrome 254) 分别获得 425、507、606、337、178、256、392、614、763、370、182、276、208、494 和 41 个相关基因。经过去重处理后, 最终获得 1 520 个证候相关基因。通过将 AD 的上调与下调 DEGs 分别与证候相关基因进行交集分析, 发现 160 个 AD 上调 DEGs 与证候基因重叠, 同时有 187 个 AD 下调 DEGs 与证候基因重叠 (图 3-A)。

将上述上调和下调的重叠 DEGs 分别映射至 15 种证候相关基因中, 构建了证候-DEGs-AD 相互作用网络 (图 3-B、C)。网络图中绿色节点代表 15 种证候, 红色节点代表证候靶向的 AD 显著性上调 DEGs。网络拓扑分析显示, 节点度 (degree) 值排名前 5 的证候分别为热入气分证 (Syndrome 45)、阳明湿热里实证 (Syndrome 118)、小儿风寒束表证 (Syndrome 4)、气滞血瘀肢端失养证 (Syndrome 282) 和心火炽盛证 (Syndrome 231), 其调控的上调 DEGs 数量分别为 63、60、54、54 和 51 个。而排名前 5 的上调的 DEGs 分别为中性粒细胞胞质因子 4 (neutrophil cytosol factor 4, NCF4, degree=11)、加压素受体 2

(vasopressin V2 receptor, AVPR2, degree=10)、内皮转录因子 GATA-2 (degree=10)、胆色素原脱氨酶 (porphobilinogen deaminase, HMBS, degree=10) 和原癌基因酪氨酸蛋白激酶受体 RET (degree=10)。其中, GATA2^[44]和 RET^[45-46]已被证明和认知功能密切相关。如图 3-C 所示, 蓝色节点代表证候靶向的 AD 显著性下调 DEGs。网络拓扑分析结果显示, 证候节点度值排名前 3 位的仍为热入气分证、阳明湿热里实证、小儿风寒束表证, 第 4、5 位分别为太阳表实证 (Syndrome 294) 和心火炽盛证 (Syndrome 231)。在靶点分析中, 排名前 5 的关键靶基因为钠通道蛋白 9 型亚基 α (sodium channel protein type 9 subunit alpha, SCN9A)、细胞毒性 T 淋巴细胞蛋白 4 (cytotoxic T-lymphocyte protein 4, CTLA4)、Janus 激酶 2 (Janus kinase 2, JAK2)、杆状病毒 IAP 重复序列含蛋白 3 (baculoviral IAP repeat-containing protein 3, BIRC3) 和黏膜相关淋巴组织淋巴瘤易位蛋白 1 (mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma translocation protein 1, MALT1), 其分别可靶向调控 13、11、11、10 和 10 种证候。其中, CTLA4^[47]、JAK2^[48]已被证明和 AD 疾病密切相关。上述分析结果表明, 15 种证候相关基因与 AD 的 DEGs 存在显著相关性, 这为深入阐释 AD 的潜在分子机制及开发抗 AD 药物提供了重要的理论依据和研究方向。

2.4 GO 和 KEGG 富集分析

利用 DAVID 数据库对 AD 显著性上调和下调 DEGs 进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析 (图 4)。

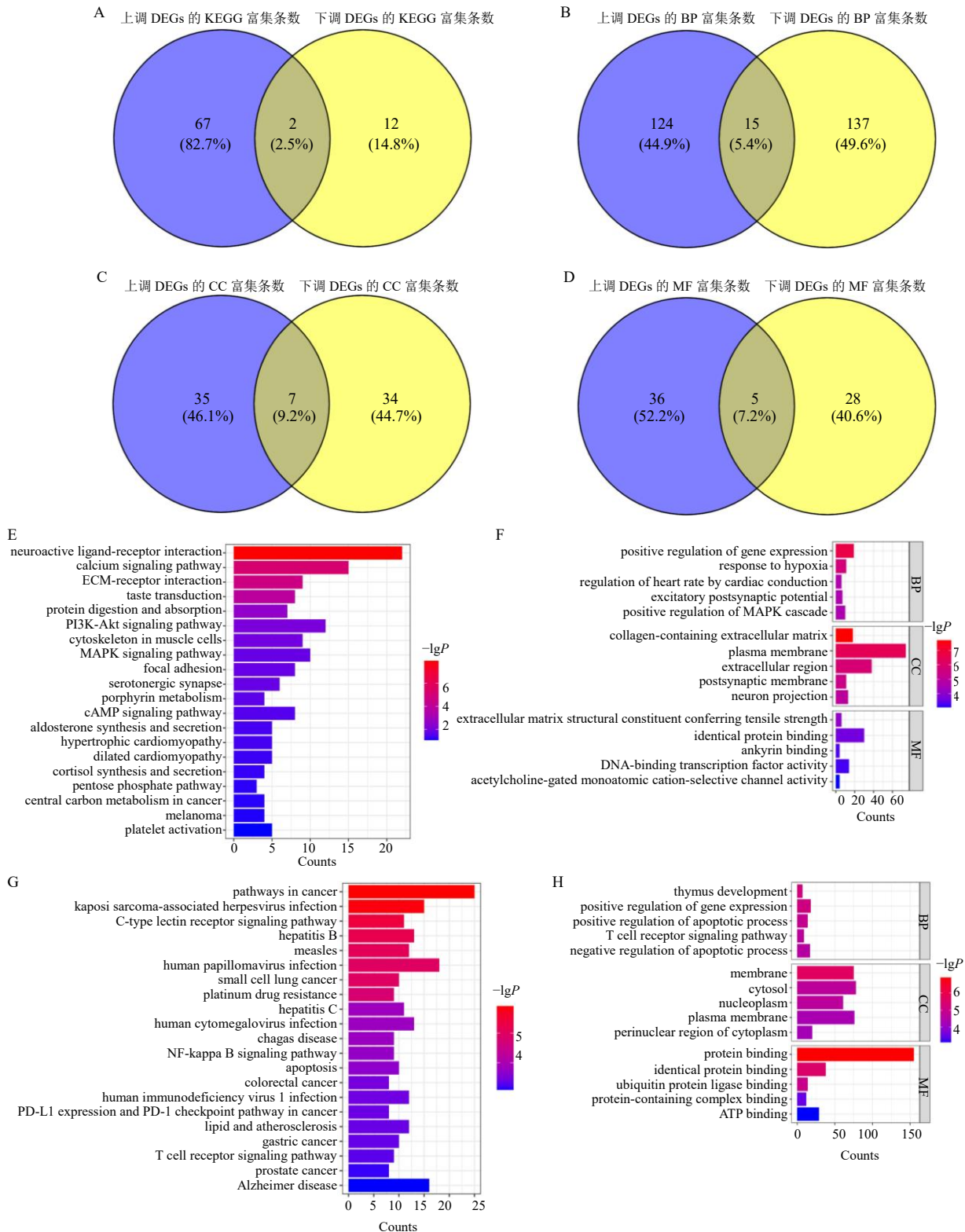


A-显著性上调和下调的 DEGs 和证候基因之间的关系; B、C-显著性上调和下调的 DEGs 和证候基因的网络图; 绿色的节点代表证候, 红色和蓝色的节点分别代表 DEGs 靶向证候的显著性上调和下调的 DEGs。

A-relationship between DEGs significantly up-regulated and down-regulated and syndrome genes; B, C-network diagram of significantly upregulated and downregulated DEGs targeting syndromes; Green nodes represent the syndrome, while red and blue nodes represent the significantly up-regulated and down-regulated DEGs targeting the syndrome, respectively.

图 3 “证候-DEGs-AD” 网络的构建

Fig. 3 Construction of “syndrome-DEGs-AD” network



A~D-AD 显著性上调和下调的 DEGs 的 GO 和 KEGG 富集条目的关系；E、G-AD 显著性上调和下调的 DEGs 的 KEGG 富集分析；F、H-AD 显著性上调和下调的 DEGs 的 GO 富集分析。

A—D-relationship between GO and KEGG enrichment entries in DEGs significantly up-regulated and down-regulated by AD; E and G-KEGG enrichment analysis of DEGs significantly up-regulated and down-regulated by AD; F and H-GO enrichment analysis of DEGs significantly up-regulated and down-regulated by AD.

图 4 GO 和 KEGG 富集分析
Fig. 4 Enrichment analysis of GO and KEGG

以 $P < 0.05$ 为显著性阈值, 结果表明, AD 显著性上调 DEGs 显著富集于 14 条 KEGG 通路, 下调 DEGs 显著富集于 69 条 KEGG 通路 (图 4-A)。其中, 磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路和黏着斑通路是上、下调 DEGs 共同参与调控的关键通路; 下调 DEGs 显著参与 AD 相关通路调控 ($P = 8.22 \times 10^{-4}$), 涉及 COX7B、CSNK2A1 和 CHUK 等关键调控基因 (图 4-E、G)。

同样以 $P < 0.05$ 为阈值, GO 功能分析结果显示, AD 显著性上调 DEGs 在 BP、CC 和 MF 3 个类别中分别显著富集于 139、42 和 41 个功能条目; 而 AD 显著性下调 DEGs 则分别显著富集于 152、41 和 33 个功能条目。根据 P 值排序, 选取各功能类别中排名前 5 的条目进行可视化分析 (图 4-F、H)。进一步分析发现, DEGs 在 BP、CC 和 MF 3 个类别中共同参与调控的功能条目分别为 15、7 和 5 个 (图 4-B~D)。其中, 共同显著调控的 BP 条目主要包括基因表达的正向调控、神经元凋亡过程的负调控以及对雌二醇的反应等; 共同显著调控的 CC 条目主要涉及质膜、突触和细胞表面等细胞组分; 而共同显著调控的 MF 条目则包括蛋白质结合、蛋白质同源二聚活性、ATP 酶结合以及跨膜转运蛋白结合等功能。值得注意的是, MF 类别还显著富集于细胞外基质结构成分、蛋白质结合和锚蛋白结合等通路 (图 4-F、H)。

2.5 可入血成分-DEGs-证候网络的构建

本研究从 10 个经典方中共筛选出 93 个 BACs, 并基于 wSDTNBI 方法预测获得 552 个 BACs 靶标。通过将 15 种证候调控 AD 的 DEGs 与 BACs 靶点进行匹配, 成功构建了 BACs-DEGs-证候 PPI 网络 (图 5-A、B)。网络分析结果显示, 21 个上调 DEGs 可靶向 90 个 BACs, 13 个下调 DEGs 可靶向 74 个 BACs, 其中 72 个 BACs 可同时被上、下调 DEGs 调控 (图 5-C、D)。值得注意的是, 92 个 BACs 参与 DEGs 调控, 占 BACs 总数的 98.9%。进一步分析发现, 上调 DEGs 可靶向 8 种证候, 下调 DEGs 可靶向 5 种证候, 分别占总证候数的 53.3% 和 33.3% (图 5-E)。其中, 4 种证候可同时被上、下调 DEGs 靶向, 分别为风寒犯肺证 (Syndrome 9)、太阳表实证 (Syndrome 294)、冲任寒证 (Syndrome 253) 和小儿风寒束表证 (Syndrome 4)。以冲任寒证为例, 该证候可同时靶向上调 DEG [葡萄糖-6-磷酸 1-脱氢酶

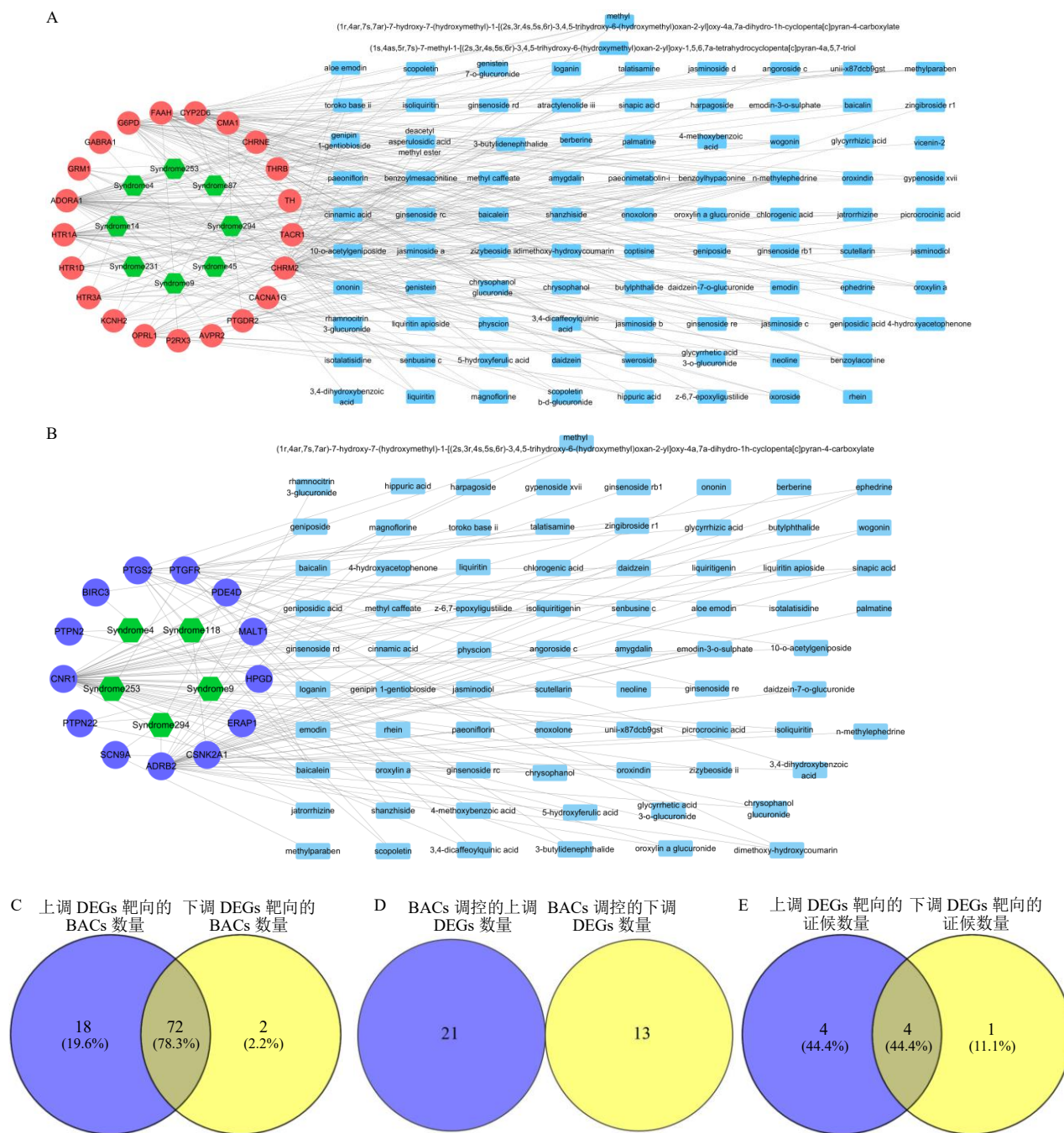
(glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase, G6PD)] 和下调 DEG [前列腺素 F₂- α 受体 (prostaglandin F₂- α receptor, PTGFR)], 分别有 30 个和 13 个 BACs 参与调控。此外, 上调 DEGs 还可特异性靶向热入气分证 (Syndrome 45)、太阳热扰胸膈证 (Syndrome 87)、寒热互结痞证 (Syndrome 14) 和心火炽盛证 (Syndrome 231), 而下调 DEGs 可特异性靶向阳明湿热里实证 (Syndrome 118)。

2.6 PPI 网络筛选可入血成分抗 AD 核心基因

采用 2 种机器学习方法 LASSO 回归和 SVM-RFE 算法筛选 AD 潜在生物标志物。LASSO 回归分析共鉴定出 5 个 AD 特征基因 (图 6-A); SVM-RFE 算法筛选获得 2 个 AD 特征基因 (图 6-B)。通过对 2 种方法的结果取交集, 最终确定嗅觉受体家族 10 亚家族 A 成员 4 (olfactory receptor 10A4, OR10A4) 和钙依赖性分泌激活剂 2 (calcium-dependent secretion activator 2, CAPS2) 为 AD 的关键特征基因。研究表明, CAPS2 在内侧缰核中显著表达, 对动物行为、足间核突触传递和单胺中枢神经元活动具有调控作用^[49]。对“2.5”项下 BACs 调控的 34 个 AD 的 DEGs 进行 KEGG 通路富集分析。以 $P < 0.5$ 为显著性阈值, 筛选出 6 条已有研究验证且与 AD 具有调控作用的关键通路 (表 2)。将 6 条关键通路中的 24 个 DEGs 与 2 个 AD 特征基因构建 PPI 网络。根据网络拓扑分析中的度值排序, 筛选出 5 个核心基因, 包括 ADRB2 (下调 DEG, degree=7)、TACR1 (上调 DEG, degree=6)、PTGS2 (下调 DEG, degree=6)、HTR1A (上调 DEG, degree=6) 和 GRM1 (上调 DEG, degree=4), 具体网络见图 6-C。

2.7 基于 BACs 的类药性的虚拟筛选

将“2.6”项下筛选的核心基因映射到“2.5”项下的 BACs-DEGs-证候网络中, 构建 AD 核心基因-BACs 网络。如图 7 所示, 上调和下调核心基因共同靶向 14 个 BACs, 其中 8 个 (50%) 已获得药理学实验验证, 包括芒柄花苷 (ononin)、汉黄芩素 (wogonin) 和大豆苷元 (daidzein) 等活性成分。上调核心基因特异性靶向 17 个 BACs, 其中 5 个 (29.4%) 具有药理学实验报道, 包括黄连碱 (coptisine)、千层纸素 A (oroxylina)、尼奥林 (neoline)、塔拉萨敏 (talatisamine) 和大黄素 (emodin)。下调核心基因特异性靶向 30 个 BACs, 其中 14 个 (46.7%) 已获得实验验证, 如 3,4-二羟



A-“可入血成分-上调 DEGs-证候”网络；B-“可入血成分-下调 DEGs-证候”网络；C~E-上调和下调 DEGs 靶向的 BACs 和证候的数量关系；菱形代表证候；正方形代表 BACs；红色圆形代表上调 DEGs；绿色圆形代表下调 DEGs。

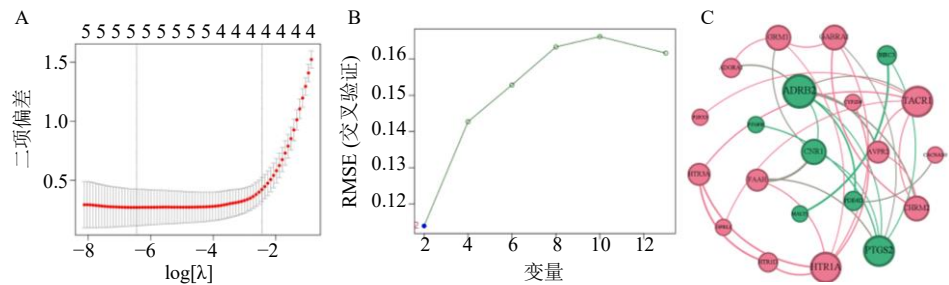
A-network of “BACs-up-regulated DEGs-syndrome”; B-network of “BACs-down-regulated DEGs syndrome”; C~E-quantitative relationship between up-regulation and down-regulation of DEGs targeted BACs and syndrome; diamond represents syndrome; square represents BACs; red circle represents up-regulation of DEGs; green circle represents down-regulation of DEGs.

图 5 “可入血成分-DEGs-证候”网络
Fig. 5 Network of “BACs-DEGs-syndrome”

基苯甲酸 (3,4-dihydroxybenzoic acid)、芦荟大黄素 (aloe emodin) 和大黄酸 (rhein) 等 (表 3)。基于上述分析结果, 本研究首先排除已有文献验证的 BACs, 随后对剩余成分依次进行 PAINS 过滤和

Lipinski 规则筛选, 最终筛选出相对分子质量在 300~500 的 11 个候选 BACs。

2.8 候选 BACs 和 AD 核心基因结合模式预测与分析
以已上市的 AChE 抑制剂 (多奈哌齐、加兰他



A-LASSO 回归分析结果; B-SVM-RFE 分析结果; C-PPI 网络; 红色节点代表 AD 上调的 DEGs, 绿色的节点代表 AD 下调的 DEGs, 节点的大小代表节点度值的大小。

A-analysis results of LASSO regression; B-analysis results of SVM-RFE; C-PPI network; red nodes represent up-regulated DEGs of AD, green nodes represent down-regulated DEGs of AD, and the size of the nodes represents degree value of nodes.

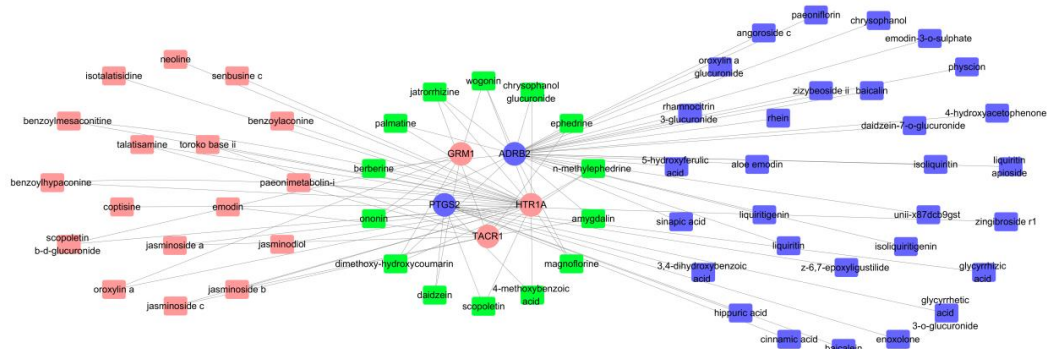
图 6 PPI 网络筛选 AD 核心基因

Fig. 6 PPI network screening for AD core genes

表 2 已有文献验证的与 AD 相关的 KEGG 通路

Table 2 KEGG pathways associated with AD validated in existing literature

通路 ID	通路名称	基因	P 值	PMID
hsa04080	neuroactive ligand-receptor interaction	CHRM2, PTGFR, GABRA1, THRB, AVPR2, HTR1D, HTR1A, OPRL1, TACR1, ADRB2, GRM1, P2RX3, CNR1, CHRNE, ADORA1	2.92×10^{-12}	37925002, 38105702, 36982837
hsa04742	taste transduction	GABRA1, P2RX3, HTR1D, SCN9A, HTR1A, HTR3A, GRM1	3.50×10^{-7}	—
hsa04020	calcium signaling pathway	CHRM2, PTGFR, P2RX3, TACR1, ADRB2, GRM1, CACNA1G	1.76×10^{-4}	31655116, 33463465, 37192560
hsa04726	serotonergic synapse	CYP2D6, HTR1D, HTR1A, HTR3A, PTGS2	5.74×10^{-4}	6306169, 2696574, 33096634
hsa04024	cAMP signaling pathway	CHRM2, PDE4D, HTR1D, ADORA1, HTR1A, ADRB2	8.83×10^{-4}	37770785, 37490542
hsa04723	retrograde endocannabinoid signaling	GABRA1, FAAH, CNR1, PTGS2, GRM1	1.50×10^{-3}	35432724
hsa04064	NF-κB signaling pathway	CSNK2A1, PTGS2, MALT1, BIRC3	5.20×10^{-3}	37697347, 35821145, 33054814
hsa04923	regulation of lipolysis in adipocytes	ADORA1, ADRB2, PTGS2	1.70×10^{-2}	—
hsa05032	morphine addiction	GABRA1, PDE4D, ADORA1	3.80×10^{-2}	—



红色的节点代表上调 DEGs 及其所靶向的 BACs, 蓝色节点代表下调 DEGs 及其所靶向的 BACs, 绿色的节点代表上调和下调 DEGs 共同靶向的 BACs。

Red nodes represent up-regulated DEGs and their targeted BACs, blue nodes represent down-regulated DEGs and their targeted BACs, and green nodes represent BACs targeted by both up-regulated and down-regulated DEGs.

图 7 “AD 核心基因-可入血成分” 网络构建

Fig. 7 Network construction of “AD core genes-BACs”

表 3 候选可入血成分的筛选
Table 3 Screening of candidate blood-entering components

	BACs	分子式	相对分子质量	Pubchem CID	Lipinski	PAINS	PMID
DEGs 共同	ononin	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	430.13	442813	Accepted	Accepted	34354404
靶向	jatrorrhizine	C ₂₀ H ₂₀ NO ₄ ⁺	338.14	72323	Accepted	Accepted	31862965, 27401065
	magnoflorine	C ₂₀ H ₂₄ NO ₄ ⁺	342.17	73337	Accepted	Accepted	36812746, 36687096
	berberine	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄ ⁺	336.12	2353	Accepted	Accepted	37609432, 38678955, 37910530
	palmatine	C ₂₁ H ₂₂ NO ₄ ⁺	352.15	19009	Accepted	Accepted	38003731, 37609432, 35997646
	wogonin	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.07	5281703	Accepted	Accepted	25596147, 22070681
	daidzein	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	254.06	5281708	Accepted	Rejected	30897277, 24058373
	scopoletin	C ₁₀ H ₈ O ₄	192.04	5280460	Accepted	Accepted	34455957, 35498835, 32671342
上调 DEGs	jasminoside c	C ₁₆ H ₂₄ O ₇	328.15	102507169	Accepted	Accepted	—
靶向	jasminoside a	C ₁₆ H ₂₆ O ₇	330.17	98050833	Accepted	Accepted	—
	jasminoside b	C ₁₆ H ₂₆ O ₈	346.16	102507168	Accepted	Accepted	—
	scopoletinb-D-glucuronide	C ₁₆ H ₁₆ O ₁₀	368.07	25791063	Accepted	Accepted	—
	toroko base II	C ₂₅ H ₄₁ NO ₆	451.29	20055812	Accepted	Accepted	—
	senbusine c	C ₂₄ H ₃₉ NO ₇	453.27	14163819	Accepted	Accepted	—
	coptisine	C ₁₉ H ₁₄ NO ₄ ⁺	320.09	72322	Accepted	Accepted	25079795
	neoline	C ₂₄ H ₃₉ NO ₆	437.28	120682	Accepted	Accepted	33814448
	talatisamine	C ₂₄ H ₃₉ NO ₅	421.28	159891	Accepted	Accepted	22561032, 18601983
	oroxylin a	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.07	5320315	Accepted	Accepted	33147823
	emodin	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.05	3220	Accepted	Accepted	38405501, 30407508, 32799401
下调 DEGs	emodin-3-O-sulphate	C ₁₅ H ₁₀ O ₈ S	350.01	139585570	Accepted	Accepted	—
靶向	isoliquiritin	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	418.13	5318591	Accepted	Accepted	—
	daidzein-7-O-glucuronide	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₀	430.09	11316354	Accepted	Accepted	—
	unii-x87dcb9gst	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432.11	156028036	Accepted	Accepted	—
	oroxylin A glucuronide	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₁	460.10	44567248	Accepted	Accepted	—
	enoxolone	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	470.34	10114	Accepted	Accepted	26886723, 37678474
	liquiritin	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	418.13	503737	Accepted	Accepted	27399208, 24888902, 27589374
	baicalin	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	446.08	64982	Rejected	Accepted	30676698, 37719746, 25108596
	paeoniflorin	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	480.16	442534	Accepted	Accepted	38027768, 37448137, 37169480
	3,4-dihydroxybenzoic acid	C ₇ H ₆ O ₄	154.03	72	Accepted	Rejected	17531386
	aloe emodin	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.05	10207	Accepted	Rejected	25453793
	rhein	C ₁₅ H ₈ O ₆	284.03	10168	Accepted	Rejected	24568372, 23777400, 35360200
	baicalein	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.05	5281605	Accepted	Rejected	28634902, 38006681, 36978955
	physcion	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.07	10639	Accepted	Accepted	31223328, 39338361
	sinapic acid	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	224.07	637775	Accepted	Accepted	33266113, 39082749, 29521253
	liquiritigenin	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256.07	114829	Accepted	Accepted	34371131, 33965487, 36544815
	chrysophanol	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	254.06	10208	Accepted	Accepted	34791341, 37780805, 36976486
	isoliquiritigenin	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256.07	638278	Accepted	Rejected	35498835, 30443212, 33642990
	cinnamic acid	C ₉ H ₈ O ₂	148.05	444539	Accepted	Rejected	39219429, 33915461, 30578827
	glycyrrhizic	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆	822.40	14982	Rejected	Rejected	39510337, 27238153, 31073286

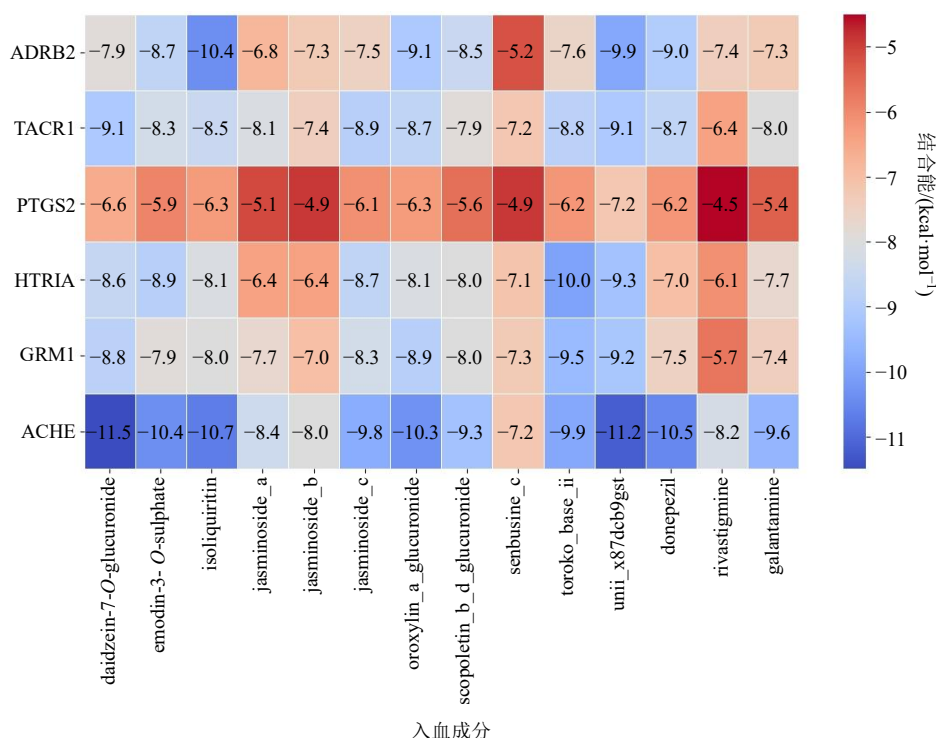


图 8 AD 核心基因和待验证的可入血成分之间的对接打分

Fig. 8 Docking score between AD core genes and validated BACs

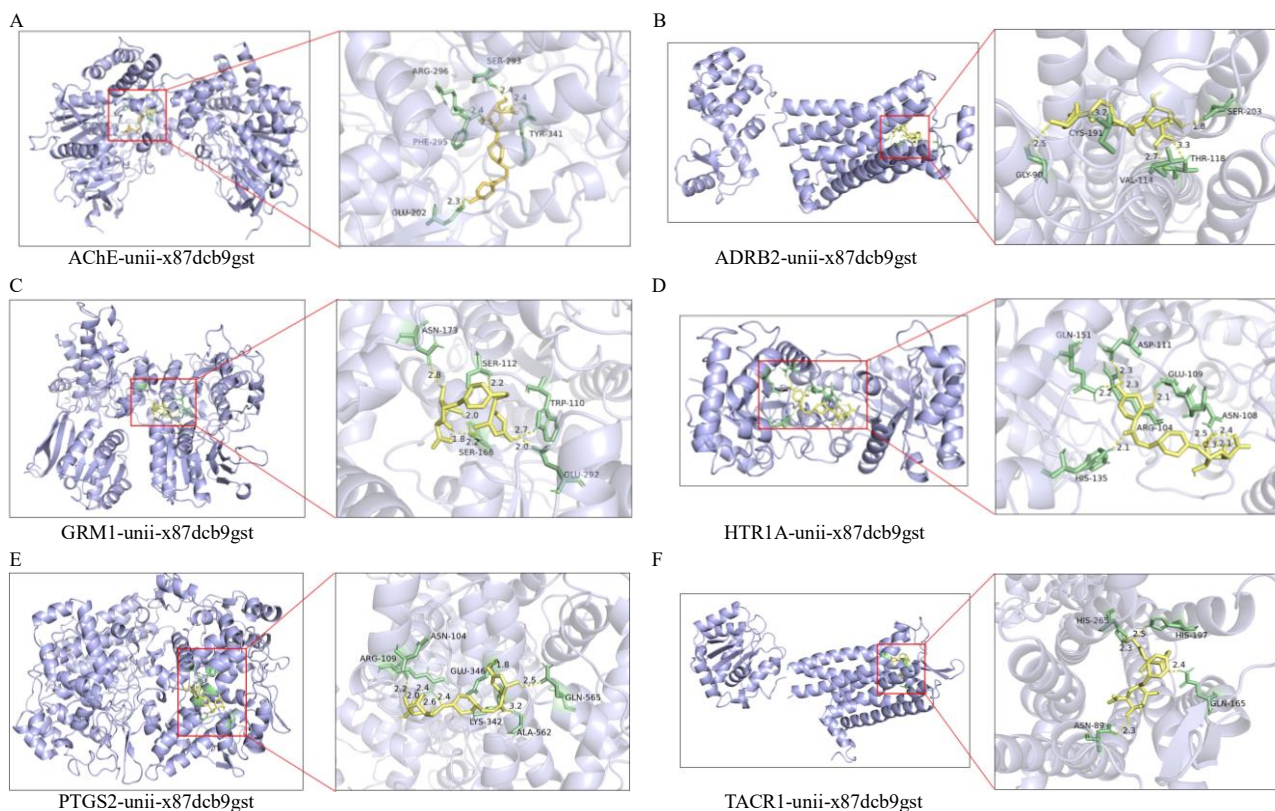
敏和卡巴拉汀)作为阳性对照进行分子对接验证,如图 8 所示,除 PTGS2 与部分 BACs 的结合能大于 -5.0 kcal/mol 外,其余核心基因与 BACs 的结合能均小于 -5.0 kcal/mol,表明 AD 核心基因与 BACs 之间可形成稳定的分子构象。与 AChE 结合能最佳的阳性对照药物多奈哌齐(-10.5 kcal/mol)比较,大豆苷元-7-O-葡萄糖苷酸(daidzein-7-O-glucuronide)和异甘草素葡萄糖醛酸苷(unii-x87dcb9gst)表现出更强的 AChE 结合能力,其结合能分别为 -11.5 、 -11.2 kcal/mol。ADRB2 与异甘草苷(isoliquiritin)的结合能最优(-10.4 kcal/mol),优于多奈哌齐(-9.0 kcal/mol)。HTR1A 和 GRM1 与展花乌头宁(toroko base II)的结合能分别为 -10.0 、 -9.5 kcal/mol,均优于阳性对照药物。此外,PTGS2 和 TACR1 与 unii-x87dcb9gst 的结合能分别为 -7.2 和 -9.1 kcal/mol,其中 TACR1 与大豆苷元-7-O-葡萄糖苷酸(daidzein-7-O-glucuronide)的结合能同样达到 -9.1 kcal/mol。基于天然产物多靶点的特性,研究发现 unii-x87dcb9gst 与 6 个 AD 核心基因综合打分最好。对 unii-x87dcb9gst 与 AD 核心基因进行结合位点的可视化分析,如图 9 所示,unii-x87dcb9gst 与 AChE 的氨基酸 ARG-296 (2.4 Å)、PHE-295 (2.5 Å)、GLU-202 (2.3 Å)、SER-293 (2.4 Å)、TYR-341 (2.4

Å)形成氢键,有效地结合到活性位点。此外,unii-x87dcb9gst 与 AD 核心基因的主要结合的氨基酸类型包括天冬酰胺(ASN-104、ASN-108、ASN-173 和 ASN-89)、谷氨酰胺(GLN-151、GLN-165 和 GLN-565)、谷氨酸(GLU-109、GLU-292 和 GLU-346)和组氨酸(HIS-135、HIS-197 和 HIS-265),对接的详细结合能和氨基酸信息见表 4。

选择 unii-x87dcb9gst 和多奈哌齐与 AChE 进行动力学模拟。结果表明,复合物体系均在 50 ns 下 RMSD 值达到稳定状态,体系的 RMSD 值波动程度均较小(<0.1 nm)。表明 unii-x87dcb9gst 可以和 AChE 稳定结合,见图 10-A。RMSF 分析显示蛋白整体柔性稳定,复合物在 250~300 s 和 500~600 ns 存在较大的柔性,可能与蛋白调整构象相关(图 10-B)。

3 讨论

AD 是一种认知功能逐渐下降和记忆能力缓慢减退为主要临床表现的神经退行性疾病,发病机制仍不清楚。目前治疗 AD 的临床药物主要包括 AChE 抑制剂多奈哌齐、加兰他敏和卡巴拉汀和谷氨酸受体拮抗剂美金刚。上述药物可以在一定程度上缓解症状或延缓疾病进展,但它们并不能治愈 AD 或显著改变疾病的自然进程^[50-51]。中医药对于 AD 的治



A~F-unii-x87dcb9gst 分别与 AChE、ADRB2、GRM1、HTR1A、PTGS2 和 TACR1 的三维结合模式图；左侧展示 BACs 在蛋白口袋结合位置，右侧展示 BACs 和蛋白相互作用模式；浅蓝色代表蛋白质的三维结构，黄色结构代表 BACs，黄色虚线代表疏水相互作用。

A—F-three dimensional binding mode diagram of unii-x87dcb9gst and AChE, ADRB2, GRM1, HTR1A, PTGS2 and TACR1; left legend showed the binding position of BACs in the protein pocket, while the right legend displays the interaction mode between BACs and proteins. Light blue represents the three-dimensional structure of proteins, yellow structures represent BACs, and yellow dashed lines represent hydrophobic interactions.

图 9 AD 核心基因与可入血成分对接的三维结合模式

Fig. 9 Three dimensional binding patterns of AD core genes and their docking with BACs

表 4 unii-x87dcb9gst 和 AD 核心基因的对接结果

Table 4 Docking results between unii-x87dcb9gst and core

AD genes			
蛋白	PDB ID	结合能/ (kcal·mol ⁻¹)	氨基酸
AChE	6o4w	-11.2	ARG-296, PHE-29, GLU-202, SER-293, TYR-341
ADRB2	3nya	-9.9	GLY-90, CYS-191, VAL-114, THR-118, SER-203
GRM1	1ewv	-9.2	ASN-173, SER-112, AER-166, TRP-110, GLU-292
HTR1A	3tao	-9.3	GLN-151, ASP-111, HIS-135, ARG-104, GLU-109, ASN-108
PTGS2	5f19	-7.2	ARG-109, ASN-104, GLU-346, LYS-342, ALA-562, GLN-565
TACR1	6hlp	-9.1	HIS-265, ASN-89, HIS-197, GLN-165

疗颇具优势，形成了以整体观念和辨证论治为特点的理论体系。中医通常将 AD 症状归类于“痴呆”

“健忘”和“神志异常”等范畴^[52-53]。然而，在 AD 研究领域，针对证候相关基因的潜在生物标志物及抗 AD BACs 的系统研究仍较为不足。据此，本研究创新性地整合网络药理学、生物信息学分析、机器学习算法、类药性评价体系及分子对接技术等多模态计算方法，筛选与 AD 证候相关的诊断标志物，解析其生物学通路，并筛选潜在的治疗性 BACs。

3.1 基于网络推理的 BACs 靶标预测和基于 WGS 的 AD 疾病基因预测

采用 WDTIs 网络方法 wSDTNBI 标志着从传统的“单药-单靶点-单病症”模式向“多药-多靶点-多病症”的全新模式转变。wSDTNBI 不仅考虑节点之间的连接关系，还考虑连接的方向性和权重，这使模型能够更好地模拟真实的生物网络。同时，通过引入负样本，在训练过程中更加有效区分真阳性和假阳性，提高了预测的置信度^[26,54]。本研究基于 wSDTNBI 获得具有高质量的 21 个靶向上

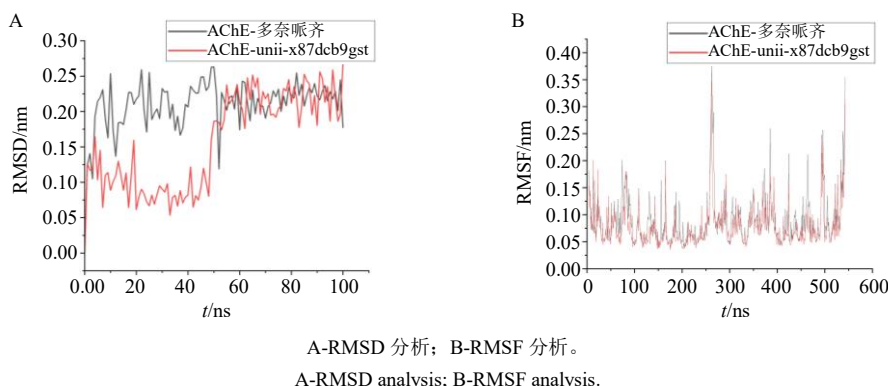


图 10 unii-x87dcb9gst 和 AChE 的分子动力学模拟

Fig. 10 Molecular dynamics simulation of unii-x87dcb9gst and AChE

调 DEGs 和 13 个靶向下调 DEGs 的 BACs 的靶标。此外,与传统的基因芯片比较,WGS 可以检测整个基因组的序列信息,识别单核苷酸多态性、插入/缺失和拷贝数变异等多种类型的遗传变异,分辨率极高。同时,WGS 不需要预先设计探针,因此可以发现新的基因、突变或结构变异,适用于未知基因组的研究^[55-56]。本研究基于 AD 患者血液和皮质的 WGS 共得到 3 122 个上调的 DEGs 和 2 039 个下调的 DEGs。

3.2 古代经典名方的证候基因与 AD 的 DEGs 密切相关

中医学认为,证候是导致老年性痴呆发病的病理基础。中医将痴呆的辨证分型分为肾精亏虚型、痰浊阻滞型、肝肾阴虚型和瘀血内阻型等^[57-58]。而方剂的证候和痴呆的辨证分型紧密相关。本研究通过对古代经典名方证候基因的预测,发现其和 AD 的 DEGs 密切相关。同时,根据网络拓扑学的分析筛选得到度值排名前 5 的上调 DEGs 和下调 DEGs 与 AD 疾病密切相关。KEGG 富集分析表明,靶向证候的下调 DEGs 参与调控 AD 通路,且具有显著性差异。而靶向证候上调的 DEGs 参与神经活性配体-受体相互作用、钙离子信号通路和 PI3K-Akt 信号通路^[59],同样和 AD 疾病密切相关。此外,靶向证候的上调和下调的 DEGs 能够调控的 BP 包括神经元凋亡过程、突触和基因表达等。这为解释证候调控 AD 疾病的机制提供参考。

3.3 基于靶向证候的 DEGs 对 BACs 筛选方法的探讨

网络药理学是基于“药物-靶点-疾病-症状”多层次网络关系,能够筛选中药成分,并阐释其防治复杂疾病的机制。但是,基于网络药理学方法筛选

出来“异病-异方”关键成分的同质化现象很严重,如槲皮素、山柰酚和 β -谷甾醇等同质化成分^[60]。据此,本研究引入证候这个中医学理论体系中的核心概念来进行药物筛选,结合药理学文献,以期减少成分同质化的现象,提高筛选的准确率,同时探讨证候和疾病之间的关系。本研究表明,证候可能通过靶向多个 DEGs 进而调控多个 BACs 来起到治疗疾病的作用,这与中医药多靶点、多成分治疗疾病的理论相吻合。例如,冲任寒证可能同时靶向 G6PD 和 PTGFR 导致 AD 疾病的发生,而与 G6PD 和 PTGFR 相关的 BACs 可能改善冲任寒证而减轻 AD 疾病症状。基于证候-DEGs-BACs 网络分析,结合 PAINS 过滤、Lipinski 筛选,最后发现上调和下调 DEGs 共同作用的 8 个 BACs 全部有药理学文献的验证。此外,上调的 DEGs 筛选得到 11 个 BACs,其中 5 个(45.4%)有药理学文献验证。下调的 DEGs 筛选得到 20 个 BACs,其中 15 个(75%)有药理学文献验证,说明预测的结果较为准确。本研究结果表明,BACs 和 AD 核心靶点 ADRB2、TACR1、PTGS2、HTR1A 和 GRM1 均有较好的结合能力。基于天然产物多靶点的特点,本研究筛选得到 unii-x87dcb9gst 与 AD 核心基因的综合打分最好。相比上市药物多奈哌齐和 AChE 的结合能,分子动力学验证 unii-x87dcb9gst 和 AChE 的结合能同样稳定。

3.4 unii-x87dcb9gst 抗 AD 的可能机制探讨

本研究整合机器学习、KEGG 富集和 PPI 的方法,共筛选到 5 个 AD 核心基因,包括 ADRB2、TACR1、PTGS2、HTR1A 和 GRM1。研究表明,ADRB2 可以减轻 $A\beta$ 诱导的线粒体功能障碍^[61];PTGS2 可以通过调控炎症反应造成 $A\beta$ 的聚集和

沉积以及神经原纤维缠结等 AD 的病理变化^[62]；HTR1A 则可以减轻 A β 诱导的 SH-SY5Y 细胞的氧化反应^[63]。基于此，unii-x87dcb9gst 可能通过下调 ADRB2 和 PTGS2，上调 HTR1A 来减少 A β 沉积的产生，从而减缓 AD 的病理进程。KEGG 富集分析进一步揭示，unii-x87dcb9gst 还可能通过下调 ADRB2 和 PTGS2 进而调控神经活性配体-受体相互作用、钙信号通路、NF- κ B 信号通路等。同时，通过上调 HTR1A 来调控含血清素的神经突触和环磷酸腺苷（cyclic adenosine monophosphate, cAMP）信号通路。此外，在对人和秀丽隐杆线虫转录组学的分析表明，GRM1 是 AD 的生物标志物之一^[64-65]。Ting 等^[66]通过 RNA 序列分析 AD 潜在的生物标志物，最后发现 *TACR1* mRNA 在 5 $\times$ FAD 小鼠海马中差异性表

达。以上结果表明 GRM1 和 TACR1 是 unii-x87dcb9gst 抗 AD 的潜在的生物标志物，同时也说明基于靶向证候的 DEGs 筛选 AD 核心基因的科学性。而 KEGG 富集结果也说明，unii-x87dcb9gst 可能通过上调 GRM1 和 TACR1 进而调控神经活性配体-受体相互作用、钙信号通路和逆行内源性大麻素信号来对 AD 进行干预。此外，分子对接结果显示，与临床常用药物多奈哌齐比较，unii-x87dcb9gst 与 AChE 具有更强的结合能力，这为其潜在的临床应用提供了理论依据。

综上，unii-x87dcb9gst 通过多靶点作用特性，可同时调控多条信号通路，进而发挥抗 AD 作用，包括减少 β 淀粉样蛋白沉积、抑制氧化应激反应以及调节神经元突触可塑性等药理作用，最终实现对 AD 的多维度干预（图 11）。

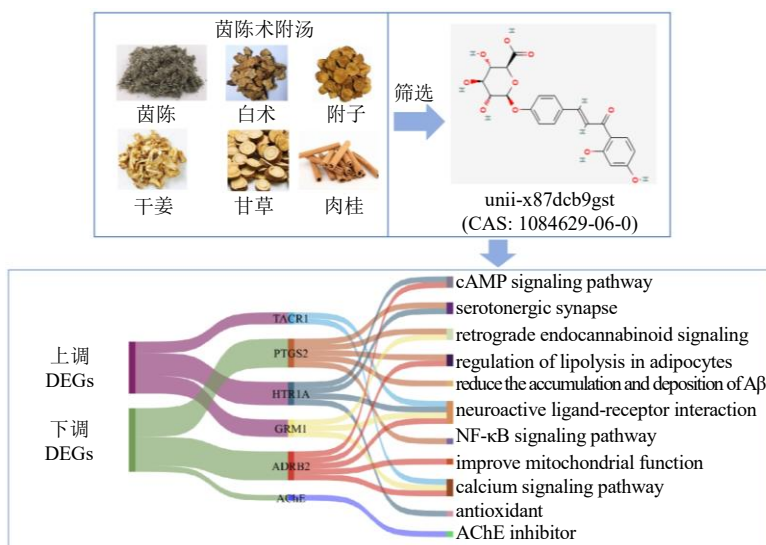


图 11 unii-x87dcb9gst 抗 AD 的潜在机制

Fig. 11 Potential mechanism of unii-x87dcb9gst against AD

4 结论

本研究基于“证候-DEGs-AD-BACs”多维网络分析，利用多模态算法筛选关键抗 AD 的 BACs。通过对 DEGs 富集分析得到 AD 相关的生物过程及信号通路，为解释证候调控 AD 的发病机制提供一定的依据。该研究不仅丰富了中医药从宏观整体到微观分子水平治疗 AD 的作用机制理论体系，而且创新了中药 BACs 筛选的研究思路，为科研和临床工作者进一步研究 AD 的分子机制、药物发现提供一定的参考依据。但本研究收集的经典名方的数据量较少，中药含 BACs 数据库单一，后续可扩大数据库种类和相关文献研究的收集，以获得更为丰富

的 BACs 数量进行预测筛选；AD 的 DEGs、证候基因和 BACs 靶标的预测仍然存在假阳性的可能，后续需要结合更多药理学的实验数据进行综合分析；本研究虽然基于 BACs 的可成药性进行分析，并通过分子对接和动力学模拟的综合打分进行分析，但结果仍需药理学实验及临床研究的进一步验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, *et al.* Alzheimer's disease [J]. *Lancet*, 2021, 397(10284): 1577-1590.
- [2] Cummings J, Zhou Y D, Lee G, *et al.* Alzheimer's disease drug development pipeline: 2023 [J]. *Alzheimers Dement*,

- 2023, 9(2): e12385.
- [3] Rostagno AA. Pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 24(1): 107.
- [4] Lane C A, Hardy J, Schott J M. Alzheimer's disease [J]. *Eur J Neurol*, 2018, 25(1): 59-70.
- [5] Graff-Radford J, Yong K X X, Apostolova L G, *et al.* New insights into atypical Alzheimer's disease in the era of biomarkers [J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(3): 222-234.
- [6] 严冬. 多发性硬化中医证候分布及关键证候治疗机制的探索 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2020.
- [7] 吴孝政. COPD 中医证候证素分布规律及与 ACE 基因 SNP 多态性 (I/D) 的相关性研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2018.
- [8] 雷英, 刘丽莎. 蛋白质组学在中医证候学研究中的应用 [J]. *西部中医药*, 2011, 24(12): 89-91.
- [9] 吴正治, 戎志斌. 阿尔茨海默病“肝气郁滞-内质网应激关联”病理新假说 [J]. *中国中医药科技*, 2013, 20(1): 49-50.
- [10] 张艳萍, 吴正治, 钟琪, 等. 轻度认知障碍的中医证候分布规律研究 [J]. *中医药导报*, 2010, 16(5): 1-3.
- [11] Gan X, Shu Z X, Wang X Y, *et al.* Network medicine framework reveals generic herb-symptom effectiveness of traditional Chinese medicine [J]. *Sci Adv*, 2023, 9(43): eadh0215.
- [12] Qiu J. Traditional medicine: A culture in the balance [J]. *Nature*, 2007, 448(7150): 126-128.
- [13] Zhou X Z, Menche J, Barabási A L, *et al.* Human symptoms-disease network [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4212.
- [14] Huo X K, Yu Z L, Zhao F, *et al.* Hepatocyte aquaporin 8-mediated water transport facilitates bile dilution and prevents gallstone formation in mice [J]. *J Hepatol*, 2025, 82(3): 464-479.
- [15] Jia N, Gao Y Z, Li M, *et al.* Metabolic reprogramming of proinflammatory macrophages by target delivered roburic acid effectively ameliorates rheumatoid arthritis symptoms [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 280.
- [16] Chen K K. A pharmacognostic and chemical study of ma Huang (*Ephedra vulgaris* var. *helvetica*). 1925 [J]. *J Am Pharm Assoc*, 2012, 52(3): 406-412.
- [17] Tu Y Y. The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from Chinese medicine [J]. *Nat Med*, 2011, 17(10): 1217-1220.
- [18] Liu X Y, Liu J Y, Fu B Z, *et al.* DCABM-TCM: A database of constituents absorbed into the blood and metabolites of traditional Chinese medicine [J]. *J Chem Inf Model*, 2023, 63(15): 4948-4959.
- [19] Bai G, Zhang T J, Hou Y Y, *et al.* From quality markers to data mining and intelligence assessment: A smart quality-evaluation strategy for traditional Chinese medicine based on quality markers [J]. *Phytomedicine*, 2018, 44: 109-116.
- [20] Zhang Y, Wang N, Du X, *et al.* SoFDA: an integrated web platform from syndrome ontology to network-based evaluation of disease-syndrome-formula associations for precision medicine [J]. *Sci Bull*, 2022, 67(11): 1097-1101.
- [21] Tan M G, Chua W T, Esiri M M, *et al.* Genome wide profiling of altered gene expression in the neocortex of Alzheimer's disease [J]. *J Neurosci Res*, 2010, 88(6): 1157-1169.
- [22] Lai M K P, Esiri M M, Tan M G K. Genome-wide profiling of alternative splicing in Alzheimer's disease [J]. *Genom Data*, 2014, 2: 290-292.
- [23] Naughton B J, Jason Duncan F, Murrey D A, *et al.* Blood genome-wide transcriptional profiles reflect broad molecular impairments and strong blood-brain links in Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 43(1): 93-108.
- [24] Sanz H, Valim C, Vegas E, *et al.* SVM-RFE: Selection and visualization of the most relevant features through non-linear kernels [J]. *BMC Bioinformatics*, 2018, 19(1): 432.
- [25] 郑远腾, 夏漓, 张秀军, 等. 基于机器学习与分子动力学模拟挖掘天南星治疗重度抑郁症的潜在抗炎靶点和关键活性成分 [J]. *中草药*, 2024, 55(15): 5174-5188.
- [26] Wu Z R, Ma H, Liu Z H, *et al.* wSDTNBI: A novel network-based inference method for virtual screening [J]. *Chem Sci*, 2021, 13(4): 1060-1079.
- [27] Baell J B, Holloway G A. New substructure filters for removal of pan assay interference compounds (PAINS) from screening libraries and for their exclusion in bioassays [J]. *J Med Chem*, 2010, 53(7): 2719-2740.
- [28] Carmichael N, Day P J R. Cell surface transporters and novel drug developments [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 852938.
- [29] Lipinski C A, Lombardo F, Dominy B W, *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 46(1/2/3): 3-26.
- [30] Jhoti H, Williams G, Rees D C, *et al.* The 'rule of three'

- for fragment-based drug discovery: Where are we now? [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12(8): 644-645.
- [31] Johnson T O, Odoh K D, Nwonuma C O, *et al.* Biochemical evaluation and molecular docking assessment of the anti-inflammatory potential of *Phyllanthus nivosus* leaf against ulcerative colitis [J]. *Heliyon*, 2020, 6(5): e03893.
- [32] Kokkaliari S, Grauso L, Mangoni A, *et al.* Isolation, structure elucidation, and biological activity of the selective TACR2 antagonist tumonolide and its aldehyde from a marine *Cyanobacterium* [J]. *Chemistry*, 2024, 30(50): e202401393.
- [33] Feng Y, Zhu P, Wu D, *et al.* A network pharmacology prediction and molecular docking-based strategy to explore the potential pharmacological mechanism of *Astragalus membranaceus* for glioma [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(22): 16306.
- [34] Ma J X, Wang B, Li H S, *et al.* Uncovering the mechanisms of leech and centipede granules in the treatment of diabetes mellitus-induced erectile dysfunction utilising network pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 265: 113358.
- [35] Wang C G, Liu Y Y, Liu X, *et al.* Scutellarin alleviates ischemic brain injury in the acute phase by affecting the activity of neurotransmitters in neurons [J]. *Molecules*, 2023, 28(7): 3181.
- [36] Qi L M, Zhong F R, Liu N N, *et al.* Characterization of the anti-AChE potential and alkaloids in Rhizoma Coptidis from different *Coptis* species combined with spectrum-effect relationship and molecular docking [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 1020309.
- [37] Jakubec D, Skoda P, Krivak R, *et al.* PrankWeb 3: Accelerated ligand-binding site predictions for experimental and modelled protein structures [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(W1): W593-W597.
- [38] Zheng Z X, Huang X, Wang N, *et al.* Hydration mechanism and its effect on the solubility of aripiprazole [J]. *Pharm Res*, 2024, 41(1): 113-127.
- [39] Rios G, Tobar F. Compositionally-warped Gaussian processes [J]. *Neural Netw*, 2019, 118: 235-246.
- [40] 高路. 通窍活血汤联合益智四项头针对气滞血瘀型老年痴呆患者认知功能的影响 [J]. *中国民间疗法*, 2019, 27(4): 43-44.
- [41] 杨丽华. 中医综合康复治疗对气滞血瘀型老年性痴呆的临床干预研究 [J]. *中国医药指南*, 2012, 10(34): 294-295.
- [42] 周霞, 张海梅. 女性老年痴呆证与天癸的关系及其防治 [J]. *陕西中医*, 2001, 22(9): 553-555.
- [43] 景岳岚. 阿尔茨海默病与血管性痴呆中医证候分布及相关影响因素比较分析 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2021.
- [44] Nguyen H D, Vu G H, Kim W K. The molecular mechanisms of steroid hormone effects on cognitive function [J]. *Arch Gerontol Geriatr*, 2025, 129: 105684.
- [45] Tohda C, Joyashiki E. Somnion enhances neurite outgrowth and spatial memory mediated by the neurotrophic factor receptor, RET [J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 157(8): 1427-1440.
- [46] Hasan G M, Shamsi A, Sohal S S, *et al.* Structure-based identification of natural compounds as potential RET-kinase inhibitors for therapeutic targeting of neurodegenerative diseases [J]. *J Alzheimers Dis*, 2023, 95(4): 1519-1533.
- [47] Sun D C, Guan X N, Moran A E, *et al.* Identifying phenotype-associated subpopulations by integrating bulk and single-cell sequencing data [J]. *Nat Biotechnol*, 2022, 40(4): 527-538.
- [48] Abubakar M B, Sanusi K O, Ugusman A, *et al.* Alzheimer's disease: An update and insights into pathophysiology [J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14: 742408.
- [49] Yoo H, Yang S H, Kim J Y, *et al.* Down-regulation of habenular calcium-dependent secretion activator 2 induces despair-like behavior [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 3700.
- [50] Singh B, Day C M, Abdella S, *et al.* Alzheimer's disease current therapies, novel drug delivery systems and future directions for better disease management [J]. *J Control Release*, 2024, 367: 402-424.
- [51] Darvesh S. Butyrylcholinesterase as a diagnostic and therapeutic target for Alzheimer's disease [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2016, 13(10): 1173-1177.
- [52] Tan W Y, Qi L J, Hu X Y, *et al.* Research progress in traditional Chinese medicine in the treatment of Alzheimer's disease and related dementias [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 921794.
- [53] Cooper E L, Ma M J. Alzheimer Disease: Clues from traditional and complementary medicine [J]. *J Tradit Complement Med*, 2017, 7(4): 380-385.
- [54] Yu Z H, Wu Z R, Wang Z, *et al.* Network-based methods and their applications in drug discovery [J]. *J Chem Inf Model*, 2024, 64(1): 57-75.
- [55] Green E D, Guyer M S, Institute N H G R. Charting a course for genomic medicine from base pairs to bedside

- [J]. *Nature*, 2011, 470(7333): 204-213.
- [56] Shendure J, Ji H. Next-generation DNA sequencing [J]. *Nat Biotechnol*, 2008, 26(10): 1135-1145.
- [57] 麻小梅, 吴林, 赵海涛, 等. 中医药防治老年性痴呆的研究进展 [J]. *湖南中医杂志*, 2014, 30(11): 177-179.
- [58] 陈维英. 中医药防治老年性痴呆研究的思考 [J]. *中国中医急症*, 2009, 18(9): 1455-1456.
- [59] Kumari S, Dhapola R, Reddy D H. Apoptosis in Alzheimer's disease: Insight into the signaling pathways and therapeutic avenues [J]. *Apoptosis*, 2023, 28(7/8): 943-957.
- [60] Peng K, Xu S, Li M, *et al.* Strategies for Reducing the Homogenization Phenomenon in the Screening of Key Components in Network Pharmacology Based on the Detectability of Components [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2025, 39(12): e10028.
- [61] Chai G S, Wu J J, Gong J, *et al.* Activation of β_2 -adrenergic receptor ameliorates amyloid- β -induced mitophagy defects and tau pathology in mice [J]. *Neuroscience*, 2022, 505: 34-50.
- [62] Guan P P, Wang P. Integrated communications between cyclooxygenase-2 and Alzheimer's disease [J]. *FASEB J*, 2019, 33(1): 13-33.
- [63] Zhang G H, Chin K L, Yan S Y, *et al.* Antioxidant and antiapoptotic effects of Thymosin β_4 in A β -induced SH-SY5Y cells via the 5-HT β_1 /ERK axis [J]. *PLoS One*, 2023, 18(10): e0287817.
- [64] Piras I S, Krate J, Delvaux E, *et al.* Transcriptome changes in the Alzheimer's disease middle temporal gyrus: Importance of RNA metabolism and mitochondria-associated membrane genes [J]. *J Alzheimers Dis*, 2019, 70(3): 691-713.
- [65] Wang C Y, Saar V, Leung K L, *et al.* Human amyloid β peptide and tau co-expression impairs behavior and causes specific gene expression changes in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Neurobiol Dis*, 2018, 109(Pt A): 88-101.
- [66] Sun T, Zeng L, Cai Z D, *et al.* Comprehensive analysis of dysregulated circular RNAs and construction of a *CeRNA* network involved in the pathology of Alzheimer's disease in a 5 $\times$ FAD mouse model [J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14: 1020699.

[责任编辑 潘明佳]