

文章编号 1006-8147(2023)05-0486-08

论著

基于生信分析对阿尔茨海默病炎症相关关键基因的筛选及鉴定

司蕊豪¹,刘羽茜¹,朱仲康²,王旭³,侯文晓¹,赵丹玉¹

(辽宁中医药大学中西医结合学院 1.生物化学教研室;2.生理学教研室;3.组织与胚胎学教研室,沈阳 110847)

摘要 目的:筛选并鉴定阿尔茨海默病(AD)神经炎症相关关键基因。方法:用 R 语言 limma 包分别筛选 GEO 数据库中的数据 GSE144459(Healthy=16,AD=16)和 GSE135999(Healthy=6,AD=7)中的差异基因(DEGs);用在线韦恩图工具对上述获得的差异表达基因(DEG1、DEG2)与 NCBI 数据库获得(IRGs)取交集,以获得差异表达的 IRGs;用 R 语言 clusterProfiler 包对其进行功能富集分析;通过 STRING 数据库(<https://string-db.org>)和 Cytoscape 软件对差异表达 IRGs 进行 PPI 网络构建,并用 cytoHubba 插件来筛选 PPI 中的关键节点作为候选基因。后续用于 LASSO 回归分析进一步筛选特征基因并构建分类器,用数据集 GSE122063(AD=56,Control=44)验证特征基因的表达并绘制箱线图。结果:本研究共获得 106 个差异表达的 IRGs。富集分析与金黄色葡萄球菌感染、中性粒细胞外陷阱形成、Toll 样受体、Fc γ R 介导吞噬作用等功能及信号通路相关。经过 PPI 网络的构建、LASSO 回归分析、分类器构建及受试者工作特征(ROC)曲线绘制以及特征基因的表达验证,最终得出 *Fcgr2b*、*Cd14*、*Fcgr1*、*Fcgr3*、*Ly86* 在 AD 中具有较强的预测诊断能力。结论:*Fcgr2b*、*Cd14*、*Fcgr1*、*Fcgr3*、*Ly86* 在 AD 中起着关键作用,可以作为 AD 潜在的诊断和治疗靶点。

关键词 阿尔茨海默病;炎症;生信分析

中图分类号 R742.8+9

文献标志码 A

Screening and identification of key genes associated with Alzheimer's disease inflammation based on bioinformatics analysis

SI Rui-hao¹, LIU Yu-xi¹, ZHU Zhong-kang², WANG Xu³, HOU Wen-xiao¹, ZHAO Dan-yu¹

(1.Biochemistry Teaching and Research Section;2.Physiology Teaching and Research Office;3.Histology Embryology Teaching and Research Section, Department of College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China)

Abstract Objective: To screen and identify key genes associated with neuroinflammation in Alzheimer's disease(AD). **Methods:** The limma package in R language was used to screen the differentially expressed genes(DEGs) in the datasets GSE144459(Healthy=16, AD=16) and GSE135999 (Healthy=6,AD=7) in the GEO database, respectively. The online VennDiagram tool was used to intersect the above differentially expressed genes(DEG1,DEG2) with the inflammation-related genes(IRGs) in NCBI database to obtain the differentially expressed IRGs. The clusterProfiler package in R language was used to perform functional enrichment analysis. PPI networks were constructed for differentially expressed IRGs using the STRING database(<https://string-db.org>) and Cytoscape software, and key nodes in the PPI were screened as candidate genes using the cytoHubba plugin. Subsequently, LASSO regression analysis was performed to further screen feature gene and classifier construction, and the expression of the feature gene was verified using the dataset GSE122063(AD=56, Control=44) and the box plot was drawn. **Results:** A total of 106 differentially expressed IRGs were obtained in this study. Enrichment analysis was associated with Staphylococcus aureus infection, neutrophil extracellular trap formation, Toll-like receptor signaling pathway, Fc γ R-mediated phagocytosis and other functions and signaling pathways. After the construction of PPT network, LASSO regression analysis, classifier construction, ROC curve plotting and expression verification of feature genes, it is concluded that the *Fcgr2b*, *Cd14*, *Fcgr1*, *Fcgr3*, and *Ly86* had strong predictive and diagnostic capabilities in AD. **Conclusion:** *Fcgr2b*, *Cd14*, *Fcgr1*, *Fcgr3*, and *Ly86* play key roles in AD and can be used as potential diagnostic and therapeutic targets for AD.

Key words Alzheimer's disease; inflammation; bioinformatics analysis

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种

基金项目 国家自然科学基金资助项目(81803854);辽宁省教育厅项目资助(LJKMZ20221317)

作者简介 司蕊豪(1993-),女,硕士在读,研究方向:中医药防治代谢疾病;通信作者:赵丹玉, E-mail: danyu1978@163.com。

常见的慢性神经退行性疾病。据世界卫生组织报道,截至2020年9月,全球约有5000万AD患者^[1]。由于人口老龄化的加剧,预计到2050年AD病例数将增至1.52亿^[2]。AD的主要临床表现为记忆力减退和认知功能障碍,主要病理特征为 β 淀粉样蛋白

(amyloid β -protein, A β)沉积、tau 蛋白过度磷酸化、神经纤维缠结等^[3]。大量研究表明,在 AD 发病过程中,各种炎症及炎症相关细胞因子在不同的大脑区域中异常表达,并且与疾病进展显著相关^[4-5]。因此,研究炎症相关基因(inflammation-related genes, IRGs)的表达对于诊断与防治 AD 尤为重要。本文旨在通过生信分析鉴定 AD 过程中与 IRGs 相关的特征基因,分析特征基因所富集的生物学途径,筛选并鉴定关键基因,为 AD 的临床诊断和治疗提供潜在的靶点。

1 对象与方法

1.1 数据的获取及差异表达 IRGs 的筛选 通过 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)搜索“Alzheimer”并且下载 GSE144459^[6-7](GPL21163 Agilent-074809 SurePrint G3 Mouse GE v2 8x60K Microarray 数据更新至 Aug 25, 2020) 和 GSE135999^[8](GPL21810 Agilent-074809 SurePrint G3 Mouse GE v2 8x60K Microarray [Feature Number version] 数据更新至 Aug 28, 2021)中的 AD 模型小鼠海马和正常小鼠海马转录组数据。使用 limma^[9]包分别分析两个数据集中的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)。筛选标准为: $P < 0.05$ 。并使用 ggplot2^[10]对 DEGs 进行可视化。然后在 NCBI 数据库中的 Gene 子数据库中搜索关键词“Inflammation”及“Musculus”获得 IRGs。运用在线韦恩图工具(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)对上述获得的差异表达基因(DEG1、DEG2)与 NCBI 数据库获得 IRGs 取交集并获得差异表达 IRGs。

1.2 差异表达 IRGs 的功能富集分析 基于 GO 及 KEGG 数据库,使用 clusterProfiler^[11]包对差异表达 IRGs 进行功能富集分析,并对富集结果进行可视化。GO 富集分析包含生物过程、分子功能、细胞组成。本研究中筛选条件为 $P < 0.05$, count ≥ 1 。选取排名前 15 的信号通路探索差异表达 IRGs 的生物学功能。

1.3 PPI 网络构建及候选基因筛选

1.3.1 差异表达 IRGs 的 PPI 网络 为探究差异表达 IRGs 之间是否存在互作关系,利用 STRING 数据库(<https://string-db.org>)对 106 个差异表达 IRGs 进行 PPI 网络构建。置信度为 0.4(Confidence=0.4),去除离散的蛋白。用 Cytoscape 软件对蛋白网络图进行美化,得到 PPI 网络图。

1.3.2 PPI 网络中候选基因筛选-cytoHubba 利用 cytoHubba 插件来筛选 PPI 中的关键节点。根据 nodes

在网络中的属性进行排名。以 MCC、DMNC、MNC、DEGREE、EPC 5 种算法分别进行排序,然后对 5 种算法的 TOP30 基因取交集,获得候选基因。

1.4 特征基因的筛选及鉴定

1.4.1 LASSO 回归分析筛选特征基因 本研究以 GSE144459 (Healthy=16, AD=16)作为训练集,以 GSE135999 (Healthy=6, AD=7)作为验证集,来进行 LASSO 回归分析。设置参数为:family="binomial", type.measure="class";LASSO 分析工具为 R 语言 glmnet^[12]包,以 lambda 最小值取 0.000 时的模型为最佳诊断模型。

1.4.2 鉴定特征基因并绘制受试者工作特征 (ROC)曲线 将筛选得到的特征基因输入文件进行主成份分析(principle component analysis, PCA),以确定对疾病及正常小鼠的区分能力。使用 pROC^[13]包绘制每个特征基因的 ROC 曲线,判断特征基因在 AD 中的预测诊断能力。ROC 曲线下面积(AUC)的值一般在 0.5~1.0 之间。在 0.5~0.7 时预测诊断准确性较低,在 0.7~0.9 时具有一定的预测诊断意义,在 0.9 以上越接近于 1.0,说明其预测诊断效果越好。

1.5 LASSO、SVM、GSVA 分类器构建 分别以 GSE144459 及 GSE135999 作为训练集和验证集,采用 LASSO、SVM、GSVA 3 种不同的算法分别计算 8 个特征基因,使用 R 语言 pROC 包绘制训练集及验证集的 ROC 曲线,并计算 AUC,一般 AUC 值越大,说明预测的结果较为准确,对应的分类器具有较高的分类意义。

1.6 特征基因功能网络 为进一步探索特征基因(adj. $P < 0.05$)所靶向的通路及其发挥的功能,本研究使用 clusterProfiler 包对其进行基于 GO 和 KEGG 的富集分析。并绘制特征基因与通路的网络图并且对富集结果进行可视化。

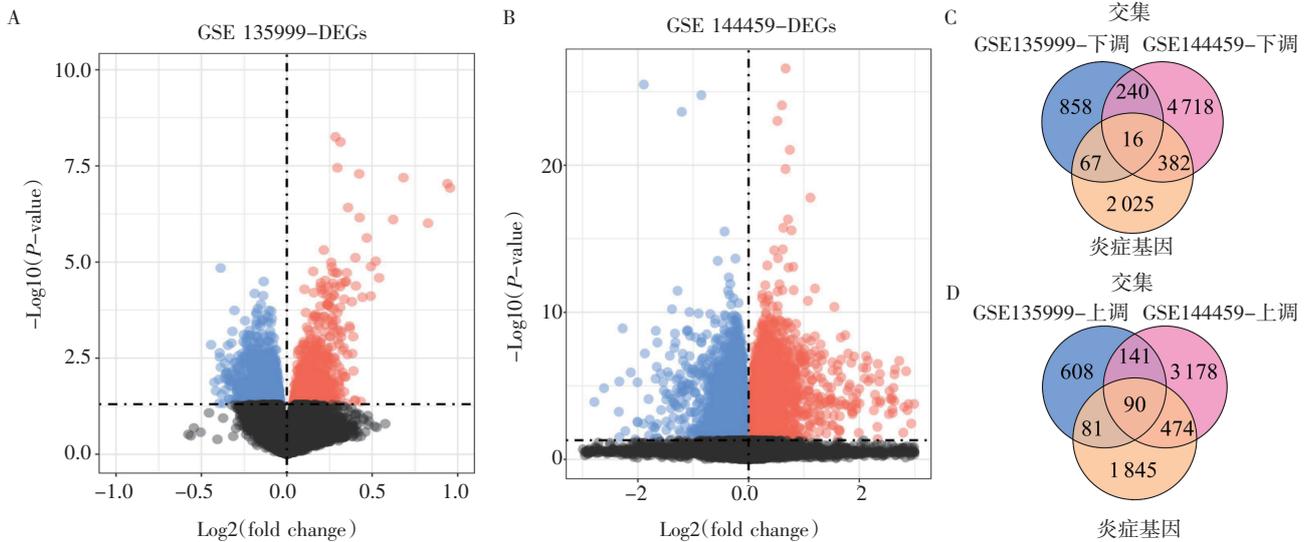
1.7 特征基因的表达验证 用 AD 相关的数据集 GSE122063 (AD=56, Control=44)验证 8 个特征基因(*Fcgr2b*、*Cd14*、*Fcgr4*、*Fcgr1*、*Lyz2*、*Fcgr3*、*Ly86* 及 *Themis2*)。采用秩和检验和 R 语言 ggplot2 包对特征基因的表达进行分析和可视化。

2 结果

2.1 差异表达 IRGs 的筛选 用 limma 包筛选 GSE135999 数据集 AD/WT 小鼠海马组织中共存在 2 101 个差异表达基因(DEG1),其中 920 个上调基因,1 181 个下调基因;GSE144459 数据集 AD/WT 小鼠海马组织中共存在 9 239 个差异表达的基因(DEG2),其中 3 883 个上调基因,5 256 个下调基

因。如图 1A、1B 所示。对上述获得的差异表达基因 (DEG1、DEG2) 与 NCBI 数据库获得 IRGs 取交集,

以获得差异表达的 IRGs。结果共获得 90 个上调表达 IRGs, 16 个下调表达 IRGs, 如图 1C、D 所示。



注:A:GSE135999-DEGs;B:GSE144459-DEGs;C:下调表达 IRGs 韦恩图;D:上调 IRGs 韦恩图;其中红色代表上调基因,蓝色代表下调基因

图 1 差异表达的 IRGs 的筛选

Fig 1 Screening of differentially expressed IRGs

2.2 功能富集分析结果 为探索差异表达 IRGs 的生物学功能,本研究对 106 个差异表达 IRGs 进行 KEGG 功能富集分析后,使用气泡图对 TOP15 通路进行展示(图 2A)。得到差异表达 IRGs 参与了金黄色葡萄球菌感染、中性粒细胞外陷形成、破骨细胞分化、吞噬体、Toll 样受体、Fc γ R 介导吞噬作用、趋化因子等信号通路。此外对 106 个差异表达 IRGs 进行 GO 分析,发现在 BP 中这些基因参与细胞对生物刺激的反应、单核细胞增殖、淋巴细胞增殖、白细胞迁移、炎症反应的调节等方面。在 CC 中与溶酶体、吞噬囊泡、膜微区、膜筏、炎症体复合体等显著相关。在 MF 中与 G 蛋白耦联受体结合、免疫球蛋白结合、Toll 样受体结合、CCR 趋化因子受体结合、细胞因子受体结合等生物学功能相关(图 2B)。

2.3 PPI 网络构建及候选基因筛选

2.3.1 差异表达 IRGs 的 PPI 网络 利用 STRING 数据库(<https://string-db.org>)对 106 个差异表达 IRGs 进行 PPI 网络构建,得到 98 个蛋白的互作网关系,包括 98 个节点,815 条边。然后用 Cytoscape 插件对蛋白网络图进行美化,如图 3。图中绿色表示下调表达,红色表示上调表达,颜色越深,上调/下调的越明显。

2.3.2 PPI 网络中候选基因筛选-cytoHubba 基于 cytoHubba 插件中的算法,对 5 种算法的 TOP30 基因取交集,获得 17 个候选基因。分别是 *Tyrobp*、*Fcgr3*、*Fcgr2b*、*Fcgr1*、*Clqa*、*Cd14*、*Cd86*、*Ctss*、*Irf8*、

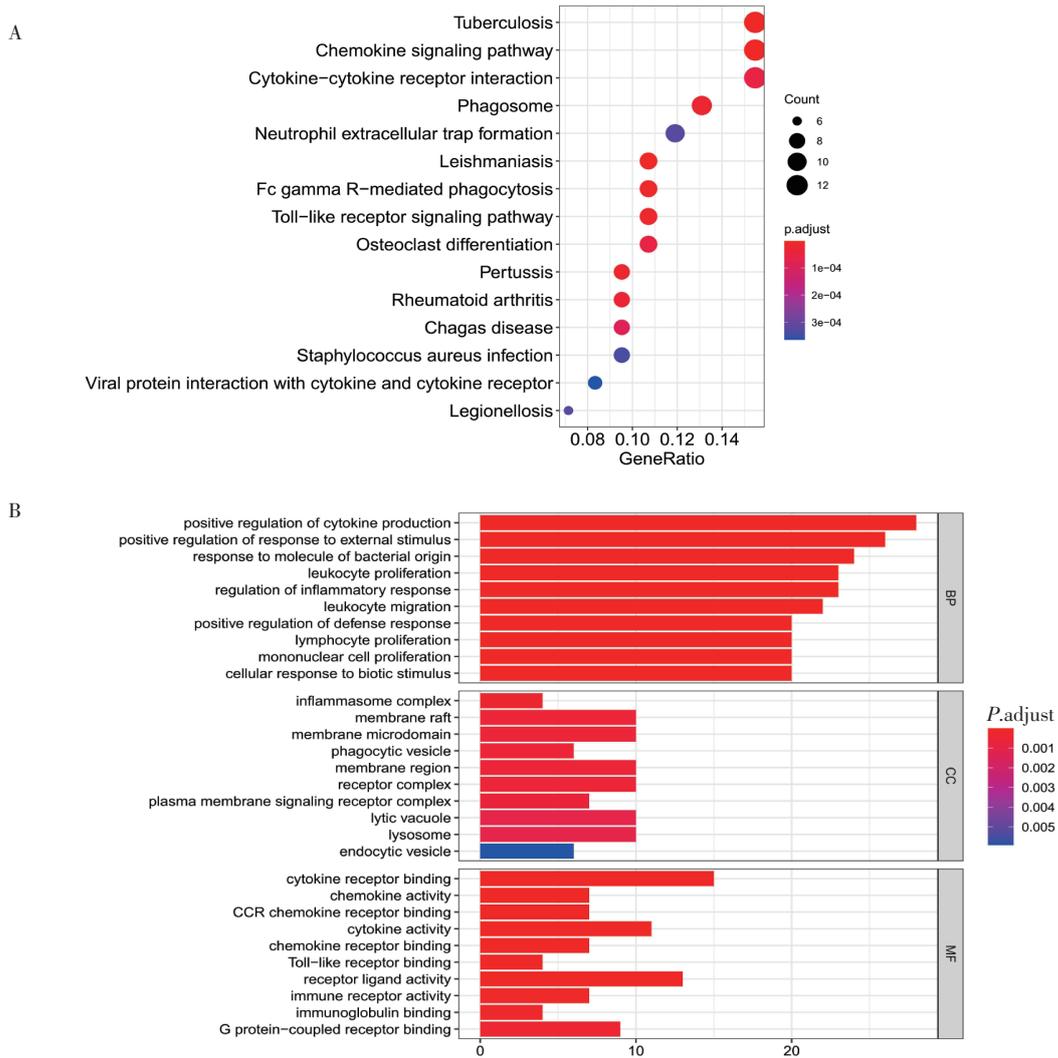
Cd68、*Fcgr4*、*Ccl4*、*Lyz2*、*Ly86*、*Clec7a*、*Ccl3*、*Themis2*。然后使用 UpSetR^[14]包进行可视化,得到 UpSet 图,如图 4。

2.4 特征基因的筛选及鉴定

2.4.1 特征基因的筛选 用 LASSO 回归对训练集 GSE144459(Healthy=16,AD=16)和验证集 GSE135999(Healthy=6,AD=7)进行分析,得到基因系数的图形和交叉验证的误差图。如图 5,以 lambda 最小值取 0.000 时的模型为最佳诊断模型,可见 LASSO 回归分析筛选得到由 8 个基因构成的诊断模型,分别为 *Fcgr2b*、*Cd14*、*Fcgr4*、*Fcgr1*、*Lyz2*、*Fcgr3*、*Ly86* 及 *Themis2*。

2.4.2 鉴定特征基因并绘制 ROC 曲线 对 8 个特征基因进行 PCA 分析得出无论是在 GSE135999 还是 GSE144459 中,特征基因均可较好的区分 AD 组和正常组(图 6)。此外,通过绘制特征基因的 ROC 曲线(图 7)可知每个基因的 AUC 值均在 0.7 以上,由此说明特征基因对 AD 具有较强的预测能力。

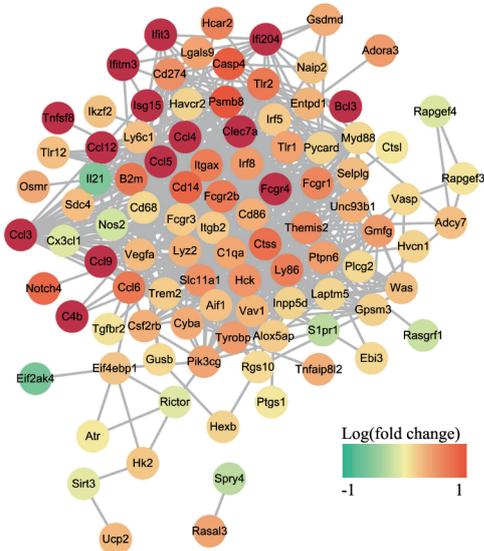
2.5 LASSO、SVM、GSVA 分类器构建 由 LASSO 模型(图 8A)中可以看出,训练集及验证集的 AUC 均大于等于 0.8;SVM 模型中(图 8B)训练集及验证集的 AUC 值均为 1;GSVA 模型中(图 8C)中训练集及验证集的 AUC 值均在 0.9 以上。由此说明 3 种模型均为较好的分类器,对 AD 具有较高的预测能力,因此这 8 个基因可作为 AD 的特征基因。



注:A:KEGG 通路富集分析;B:差异基因 GO 富集分析

图 2 差异表达 IRGs 功能富集分析

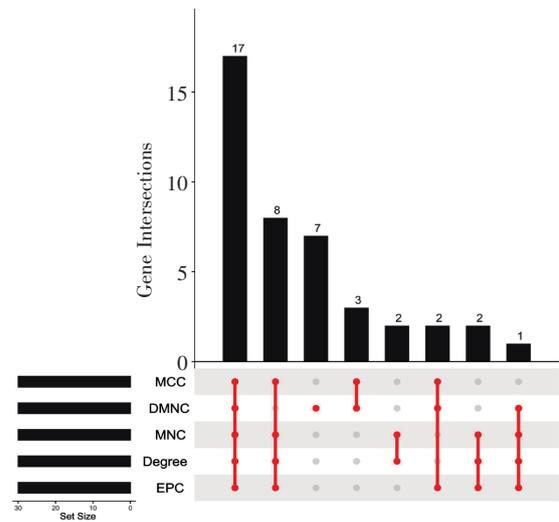
Fig 2 Functional enrichment analysis of differentially expressed IRGs



注:AD 差异基因蛋白质相互作用网络

图 3 差异表达 IRGs 的 PPI 网络

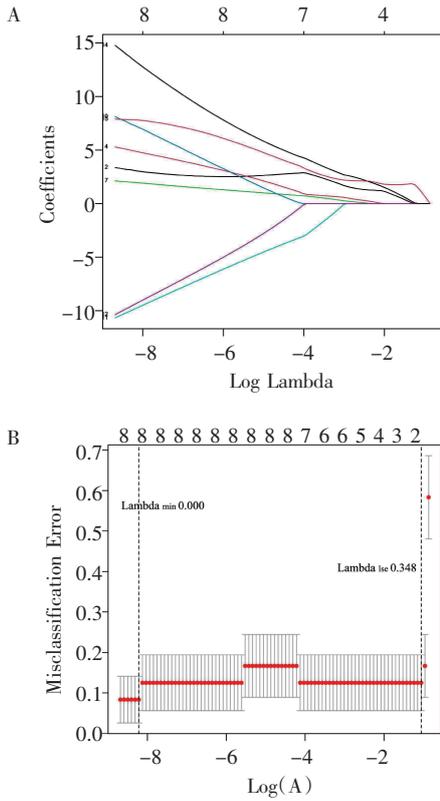
Fig 3 PPI networks for differential expression of IRGs



注:候选基因的 Upset 图

图 4 MCC,DMNC,MNC,DEGREE,EPC TOP30 基因交集 Upset 图

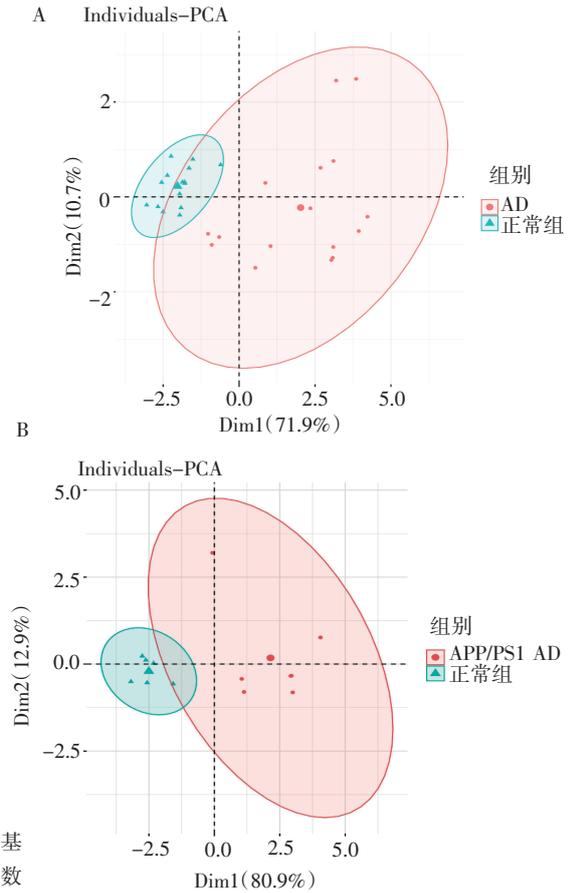
Fig 4 MCC, DMNC, MNC, DEGREE, EPC TOP30 gene intersection Upset diagram



注:A:横坐标 deviance 表示模型解释的残差的比例,显示了特征基因数量随解释的残差的比例(dev)之间的变化关系,纵坐标是基因的系数(左);B:横坐标是 log(Lambda),纵坐标代表交叉验证的误差(右)

图5 LASSO 回归分析筛选特征基因

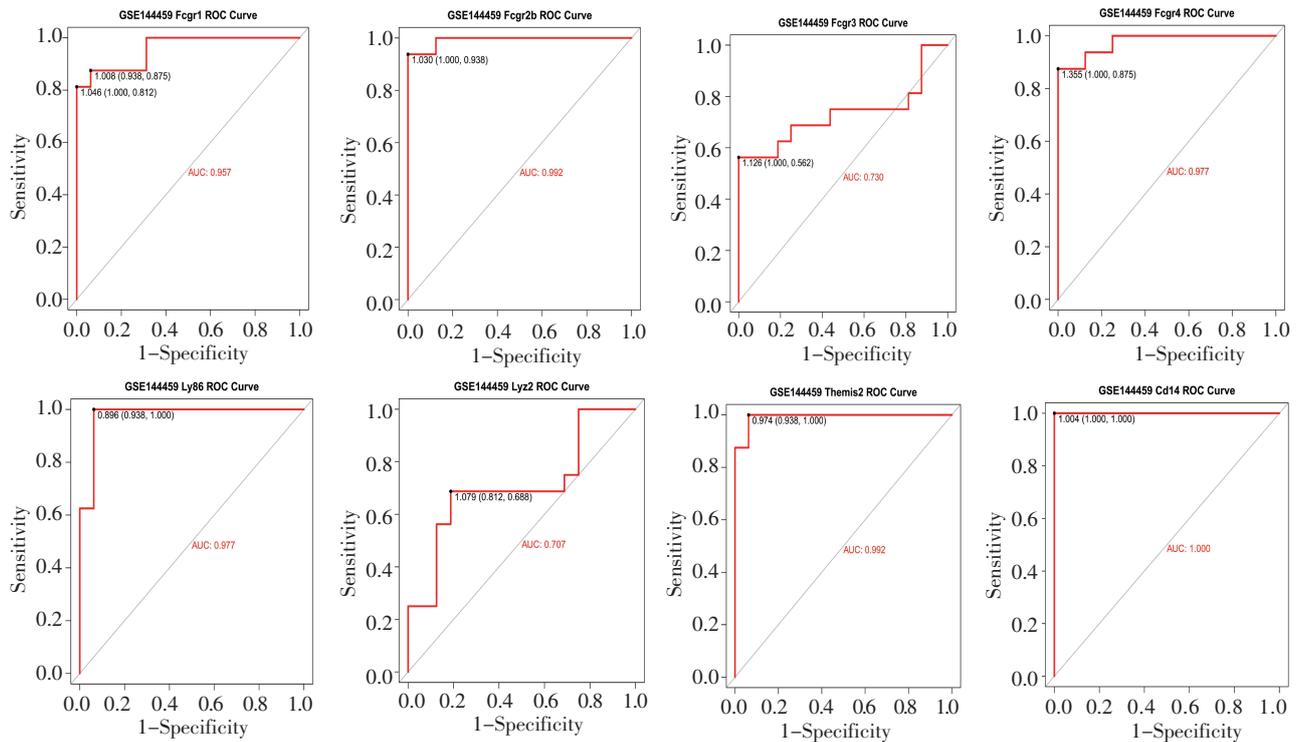
Fig 5 Selection of characteristic genes by LASSO regression analysis



注:A:GSE144459;B:GSE135999

图6 特征基因对样本的 PCA

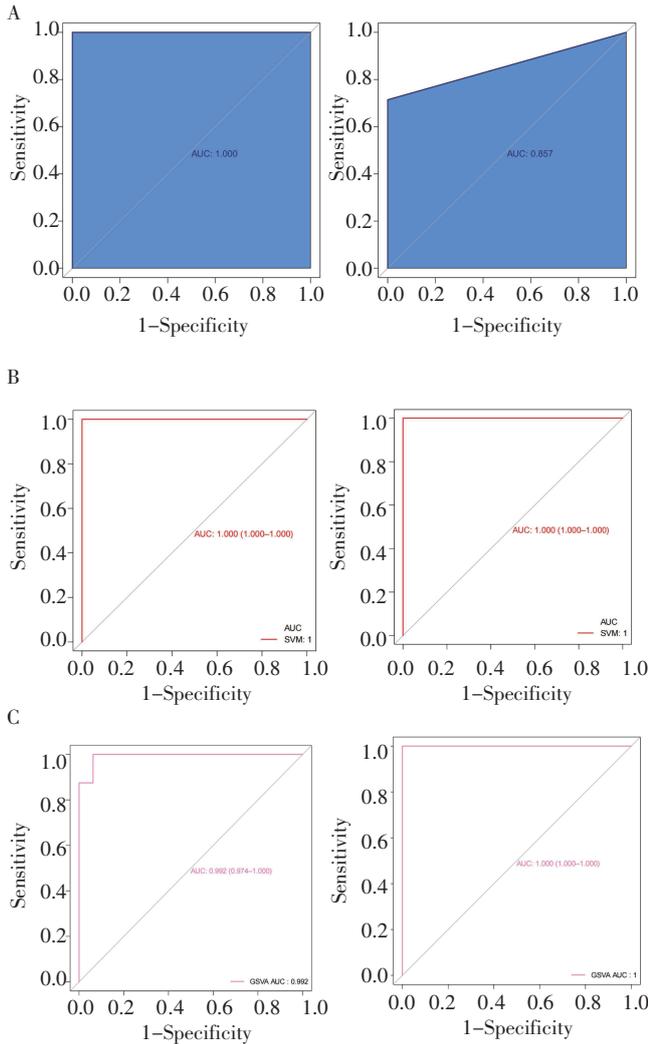
Fig 6 PCA of characteristic gene pair samples



注:特征基因的鉴定 ROC 曲线,8个特征基因的 AUC 值均在 0.7 以上

图7 特征基因的鉴定

Fig 7 Identification of characteristic genes



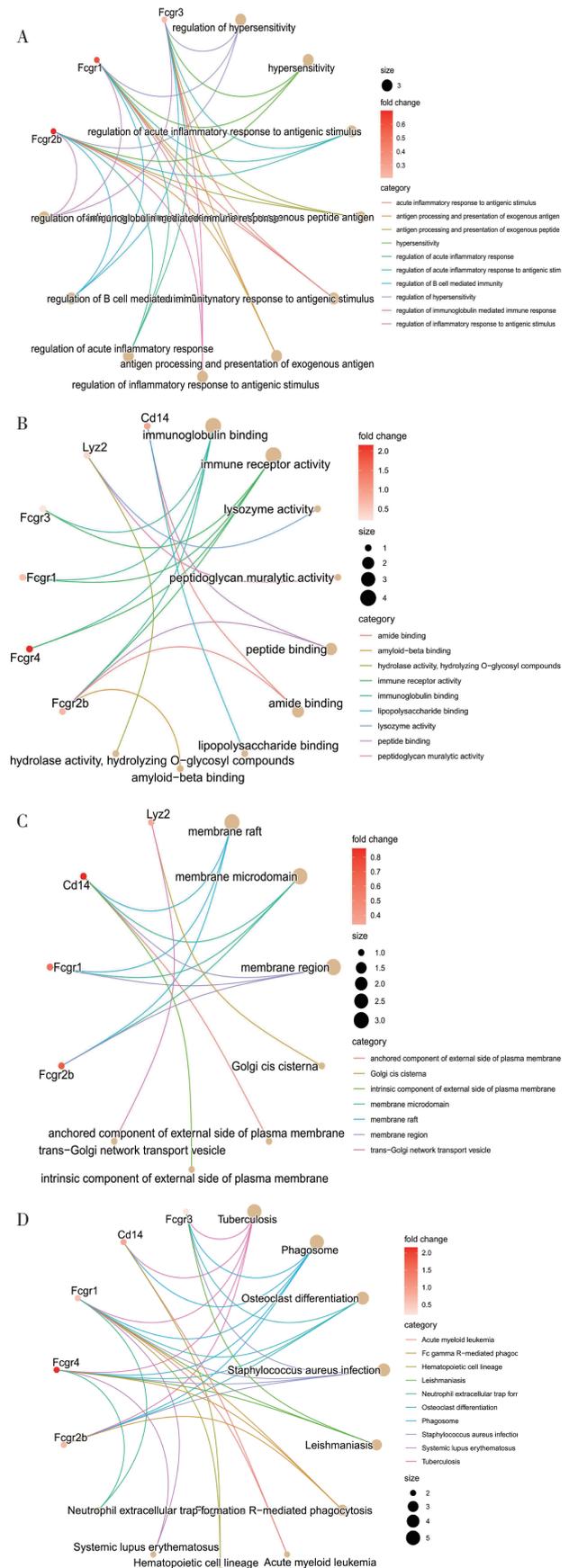
注:A、B、C 分别为 LASSO、SVM、GSVA 分类器的 ROC 曲线,左侧均为训练集曲线,右侧均为验证集曲线

图 8 LASSO、SVM、GSVA 分类器的 ROC 曲线

Fig 8 ROC curve of LASSO, SVM, GSVA classifiers

2.6 特征基因功能网络 在生物过程方面,共获得 151 个 Terms, 特征基因与抗原刺激的急性炎症反应、B 细胞介导免疫的调节、免疫球蛋白介导免疫应答的调节等功能相关(图 9A)。在分子功能方面,共获得 9 个 Terms, 主要与酰胺结合、 β -淀粉样蛋白结合、水解酶活性、免疫受体活性、溶菌酶活性等功能相关(图 9B)。在细胞组成方面,共获得 7 个 Terms, 与高尔基体顺面内胞浆网、质膜外侧固有成分、膜微区、膜筏等功能相关(图 9C)。此外特征基因参与了急性髓系白血病、Fc γ R-介导吞噬作用、利什曼病、中性粒细胞外陷形成、系统性红斑狼疮、肺结核等疾病相关通路(图 9D)。

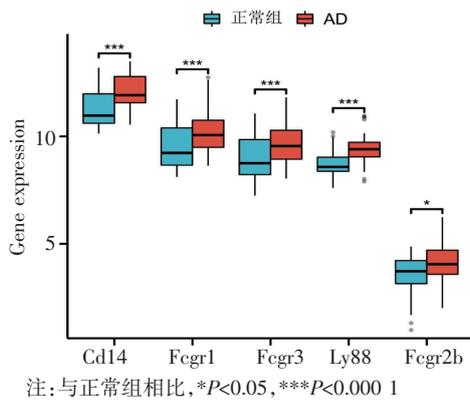
2.7 特征基因的表达验证 如图 10 所示,8 个特征基因中的 5 个基因(*Fcgr2b*、*Cd14*、*Fcgr1*、*Fcgr3*、*Ly86*)在 AD 脑组织中表达上调且有统计学意义。因此可作为 AD 发展过程中与炎症相关的关键基因。



注:A:特征基因 GO-BP 功能网络;B:特征基因 GO-MF 功能网络;C:特征基因 GO-CC 功能网络;D:特征基因 KEGG 通路网络

图 9 特征基因功能网络

Fig 9 Characteristic gene function network



注:与正常组相比,* $P < 0.05$,*** $P < 0.0001$

图10 5个特征基因在相关的GSE122063数据集的脑组织样本中的表达

Fig 10 Expression of five characteristic genes in brain tissue samples from the associated GSE122063 dataset

3 讨论

AD是最常见且发病率最高的痴呆类型,严重影响着人们的生活质量,已经被世界卫生组织列为全球公共卫生重点之一,同时也是造成老年人死亡的第三主要病因^[2]。目前尚未找到有效治愈的药物或方法。临床上被诊断具有轻度认知障碍的AD患者其病情往往已经进展到了较晚的阶段,此时发生了不可逆转的脑损伤,不能通过保护神经或清除A β 沉积来治愈,这也是目前AD治疗效果不理想的重要原因^[15]。因此,早期诊断以及寻找有效的治疗靶点对AD的防治具有重要的意义。大量研究表明,神经炎症在AD发生、发展中起着重要作用。本研究通过生物信息学分析方法鉴定出*Fcgr2b*、*Cd14*、*Fcgr1*、*Fcgr3*、*Ly86*为AD神经炎症过程中的关键基因,为AD的机制研究及诊断治疗提供新的思路。

神经炎症在AD发生中涉及A β 的生成、神经元丢失、氧化应激等多方面病理过程。作为脑内固有免疫细胞的小胶质细胞在神经炎症的发生、发展过程中起着至关重要的作用。AD发病早期,在炎症因子和A β 等病理产物的作用下,小胶质细胞发挥趋化和吞噬作用对病理物质进行清除,并减轻炎症。然而随着疾病的逐渐加重,小胶质细胞被持续刺激导致过度激活,其趋化和吞噬能力严重受损,对病理产物的清除能力下降,使得A β 大量积聚,此时促炎因子白细胞介素-1 β 、白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- α 等产生持续增多,抑炎因子分泌减少,神经炎症不断加重,产生神经毒性,进一步加重神经损伤^[16]。AD发病初期神经炎症的原因目前尚未完全阐明。在本研究中,KEGG富集分析结果提示AD神经炎症的发生与金黄色葡萄球菌感染、中性粒细胞外陷形成、细胞因子与细胞因子受体相互作用、Fc γ R介导吞噬作用、Toll样受体等信号通路相关。

GO富集分析结果提示AD的发生与白细胞迁移、炎症的调节、白细胞增殖、对细菌源性分子的反应、对外部刺激反应的积极调节、细胞因子产生的正调节等生物学功能相关。因此研究神经炎症机制对AD的诊断及防治具有至关重要的意义。

研究表明,Fc片段结合受体(fcreceptors, FcRs)能够与IgG的Fc部分相结合。根据其不同的亲和力,FcRs可分为激活型受体和抑制型受体。其中*Fcgr1*、*Fcgr3*为激活型受体,*Fcgr2b*是唯一的抑制型受体^[17]。激活型受体在与免疫复合物(immune complex, IC)交联后,Src家族激酶(src family kinase, SFK)使免疫受体酪氨酸激活基序(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)上的酪氨酸残基磷酸化,募集脾酪氨酸激酶(spleen tyrosine kinase, SYK),介导信号的激活从而调控下游分子表达^[18]。*Fcgr1*、*Fcgr3*广泛存在于人和小鼠的小胶质细胞中。AD状态下,两者在小胶质细胞中表达量增加。小胶质细胞在激活型受体的作用下,对A β 的吞噬能力增强^[19]。*Fcgr2b*虽然不含ITAM基序,但其含有免疫受体酪氨酸抑制基序(Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif, ITIM),能够通过其携带的ITIM基序来拮抗激活型受体所引起的促进吞噬、释放炎性介质等信号,转导抑制型信号^[20]。有研究提出*Fcgr2b*可能通过调控吞噬作用来参与心肌缺血再灌注损伤的病理过程^[21]。此外,*Fcgr2b*是寡聚体A β 的受体,寡聚体A β 会导致在原代培养的小胶质细胞中*Fcgr2b*聚集增多^[22]。*Fcgr2b*过表达则会介导A β 对神经细胞的损伤作用,导致小胶质细胞凋亡^[19]。总之,*Fcgr1*、*Fcgr3*、*Fcgr2b*在神经炎症AD中的具体机制仍需要进一步研究。本研究通过对GSE135999和GSE144459数据集差异表达的IRGs分析表明,在AD小鼠海马中,*Fcgr1*、*Fcgr3*、*Fcgr2b*均为上调基因,在外部数据集GSE122063中人脑组织中得以验证,并且有较高的诊断效能,因此可能成为AD发病过程中神经炎症相关的关键基因。

*Cd14*作为白细胞分化抗原的一种,主要分布在单核细胞、巨噬细胞等细胞表面^[23],其生物学活性主要表现在识别并结合脂多糖复合物。*Cd14*作为脂多糖受体,可以参与并调控脂多糖性细胞反应^[24]。据报道,多种损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)可以作用于*Cd14*,促进炎性细胞分泌促炎因子^[25]。*Cd14*还作用于RNA剪接、转运,参与蛋白酶体蛋白质的分解过程。*Cd14*也被证实与AD的发病相关,其作用机制可能是小胶质细胞表面激活的*Cd14*促进细胞摄取A β ,同时调节

免疫应答,改变脑内的炎症,影响AD的发生、发展^[25]。本研究结果表明*Cd14*在AD小鼠的海马以及人脑组织中均表现为上调基因,与之前学者研究一致^[25]。

*Ly86*基因所编码的蛋白质为MD-1,它与RP105(Toll样受体家族蛋白)相结合形成免疫复合物RP105/MD-1,在B细胞、巨噬细胞和树突细胞等免疫细胞中表达^[26]。有研究猜测*Ly86*可能参与免疫功能异常相关疾病的调节过程^[27]。已证实*Ly86*基因的DNA甲基化在肥胖、胰岛素抵抗和炎症中发挥重要作用^[28]。有研究发现,与野生型相比,MD-1基因敲除可有效缓解高脂饮食诱导的小鼠脂肪组织炎症及胰岛素抵抗。感染等内质网应激触发因素可诱导血清和尿液中MD-1的产生^[29]。本研究结果发现*Ly86*在AD小鼠的海马和人脑组织中均为上调基因,其机制还有待研究。

综上所述,本研究基于生物信息学分析筛选出与AD炎症相关的8个特征基因,其中5个关键基因(*Fcgr2b*、*Cd14*、*Fcgr1*、*Fcgr3*、*Ly86*)可能成为AD潜在的诊断和治疗靶点,其作用机制有待进一步探究。本文为探索AD神经炎症发生、发展的分子机制、诊断和治疗提供了依据。

参考文献:

- [1] SH Y, LIU B, ZHANG J, et al. Application of artificial intelligence modeling technology based on fluid biopsy to diagnose Alzheimer's disease[J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13: 768229.
- [2] CUMMINGS J, LEE G, RITTER A, et al. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2018[J]. *Alzheimers Dement (N Y)*, 2018, 4: 195-214.
- [3] 赵娜, 夏杰, 张晨斐, 等. 运动裨益AD的机制: 大脑糖代谢紊乱和特征性病理症状的协同改善[J]. *中国体育科技*, 2023, 59(2): 43-49.
- [4] AKIYAMA H, BARGER S, BARNUM S, et al. Inflammation and Alzheimer's disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2000, 21(3): 383-421.
- [5] WILSON C J, FINCH C E, COHEN H J. Cytokines and cognition--the case for a head-to-toe inflammatory paradigm[J]. *J Am Geriatr Soc*, 2002, 50(12): 2041-2056.
- [6] OCHI S, IGA J I, FUNAHASHI Y, et al. Identifying blood transcriptome biomarkers of Alzheimer's disease using transgenic mice[J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57(12): 4941-4951.
- [7] UENO M, YOSHINO Y, MORI H, et al. Association study and meta-analysis of polymorphisms and blood mRNA expression of the *aldh2* gene in patients with Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2022, 87(2): 863-871.
- [8] HOU Y, WEI Y, LAUTRUP S, et al. NAD⁺ supplementation reduces neuroinflammation and cell senescence in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease via cgas-sting[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(37): e2011226118.
- [9] RITCHIE M E, PHIPSON B, WU D, et al. Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies[J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(7): e47.
- [10] WICKHAM H. Ggplot2 elegant graphics for data analysis introduction[M]. New York, NY: Springer, 2009: 1-7.
- [11] YU G, WANG L G, HAN Y, et al. ClusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters[J]. *OMICS*, 2012, 16(5): 284-287.
- [12] ENGBRELTSEN S, BOHLIN J. Statistical predictions with glmnet[J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11(1): 123.
- [13] ROBIN X, TURCK N, HAINARD A, et al. pROC: an open-source package for r and s+ to analyze and compare ROC curves[J]. *BMC Bioinformatics*, 2011, 12: 77.
- [14] CONWAY J R, LEX A, GEHLENBORG N. UpSetR: an R package for the visualization of intersecting sets and their properties[J]. *Bioinformatics*, 2017, 33(18): 2938-2940.
- [15] GU X, ZHOU J, ZHOU Y, et al. Huanglian jiedu decoction remodels the periphery microenvironment to inhibit Alzheimer's disease progression based on the "brain-gut" axis through multiple integrated omics[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2021, 13(1): 44.
- [16] 黄丽萍, 卢龙辉, 杨喜洋, 等. 基于TLR4/NF-κB/NLRP3通路探讨二精丸减轻AD大鼠神经炎症的作用及机制[J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(3): 770-777.
- [17] NAGELKERKE S Q, SCHMIDT D E, DE HAAS M, et al. Genetic variation in low-to-medium-affinity Fcγ receptors: functional consequences, disease associations, and opportunities for personalized medicine[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2237.
- [18] 孙健茹. 激活型Fc-γ受体参与阿尔兹海默病的机制研究[D]. 北京协和医学院, 2022.
- [19] 黄嵘希. 过表达FcγRIIB对寡聚体Aβ刺激下的小胶质细胞的影响[D]. 华中科技大学, 2016.
- [20] 孙杨杨. FcγR II b在小鼠抗病毒免疫中的作用[D]. 河南农业大学, 2021.
- [21] DEBERGE M, YEAP X Y, DEHN S, et al. Merck cleavage on resident cardiac macrophages compromises repair after myocardial ischemia reperfusion injury[J]. *Circ Res*, 2017, 121(8): 930-940.
- [22] 陆丽红, 丁喆, 简苗苗, 等. CD14/TLR1-TLR2/p38 MAPK信号通路在莱姆病发病机制中的作用[J]. *生命科学研究*, 2020, 24(1): 81-86.
- [23] 凌杰兵, 马斌. 可溶性sCD14-ST及CD14~+单核细胞在老年ICU脓毒症患者早期诊断和评估中的价值[J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(20): 5042-5045.
- [24] 金肇权, 张文彬, 陈欣, 等. CD14-TLR4-NF-κB信号传导通路在脂多糖诱导ALI/ARDS中的作用及机制研究[J]. *安徽医药*, 2022, 26(4): 643-647.
- [25] 李汉颖, 李汉宇, 李增祥. CD14 mRNA、SORL1 mRNA在AD病人中的表达及与认知功能的相关性[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2021, 19(19): 3406-3410.
- [26] NAGAI Y, SHIMAZU R, OGATA H, et al. Requirement for MD-1 in cell surface expression of RP105/CD180 and B-cell responsiveness to lipopolysaccharide[J]. *Blood*, 2002, 99(5): 1699-1705.
- [27] SASAKI S, NAGAI Y, YANAGIBASHI T, et al. Serum soluble MD-1 levels increase with disease progression in autoimmune prone MRL(lpr/lpr) mice[J]. *Mol Immunol*, 2012, 49(4): 611-620.
- [28] SU S, ZHU H, XU X, et al. DNA methylation of the *Ly86* gene is associated with obesity, insulin resistance, and inflammation[J]. *Twin Res Hum Genet*, 2014, 17(3): 183-191.
- [29] THOMAS JENNINGS R, ODKHUU E, NAKASHIMA A, et al. Inflammatory responses increase secretion of MD-1 protein[J]. *Int Immunol*, 2016, 28(10): 503-512.