• 174 •

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2025.01.025

## ・生物信息学・

# 阿尔茨海默病患者海马中与学习记忆相关的枢纽基因鉴定 及机制分析

苏 燕 朱蓓蓓 王子沫 陈 欣 顾小萍△

(南京大学医学院附属南京鼓楼医院麻醉科 江苏 南京 210008)

摘要目的:阿尔茨海默病(Alzheimer's Disease, AD)是一种以学习和记忆能力逐渐下降为显著特征的神经退行性疾病,我们通过生物信息学分析识别其相关枢纽基因,以探索潜在的靶向治疗方法。方法:本研究从 Gene Expression Omnibus(GEO)数据库中提取了 AD 患者的基因表达数据,包括 GSE5281 和 GSE36980,并通过 GSEA 数据库检索了学习与记忆相关的基因集。在 GSE5281 与 GSE36980 差异表达基因的重叠部分,我们共鉴定出 158 个与海马区 AD 相关的基因。这些基因随后被用于基因本体论(Gene Ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)途径富集分析,进而构建了蛋白 - 蛋白相 互作用(Protein-Protein Interaction, PPI)网络。在识别出 PPI 网络中的 20 个枢纽基因后,我们再次进行 GO 和 KEGG 通路的富集分析,最终鉴定出 3 个关键的学习与记忆基因。结果:本研究发现,PPI 网络中的 20 个枢纽基因在 GO 和 KEGG 通路的突触变化中显著富集,提示这些基因可能在突触功能的调控中发挥重要作用。此外,这些基因的富集分析结果与 158 个 AD 相关基因的分析结果呈现出相似的趋势,进一步支持其在 AD 病理机制中的潜在关键作用。随后,我们通过深入分析 PPI 网络中最为紧密连接的 20 个枢纽基因(SNAP25、SYT4 和 GABRG2)。结论:SNAP25、SYT4 和 GABRG2 可能作为 AD 的生物标志物和治疗靶点,为改善学习与记忆能力的逐渐下降提供了新的治疗思路。

关键词:阿尔茨海默病;学习与记忆;生物信息学分析;枢纽基因 中图分类号:R338 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2025)01-174-10

## Identification and Mechanism Analysis of Learning and Memory Related Hub Genes in the Hippocampus of Alzheimer's Disease

SU Yan, ZHU Bei-bei, WANG Zi-mo, CHEN Xin, GU Xiao-ping

(Department of Anesthesiology, Nanjing Drum Tower Hospital, Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing, Jiangsu, 210008, China)

**ABSTRACT Objective:** Alzheimer's Disease (AD) is a neurodegenerative disorder characterized by a progressive decline in learning and memory abilities. Using bioinformatics analysis, we aim to identify its related hub genes to explore potential targeted therapeutic strategies. **Methods:** The study extracted gene expression data from AD patients from the Gene Expression Omnibus (GEO) database, including GSE5281 and GSE36980, and retrieved learning and memory-related gene sets through the GSEA database. From the overlapping differentially expressed

作者简介:苏燕(1998-),女,硕士,医师,研究方向:麻醉学,E-mail: suyantian1998@163.com

<sup>△</sup> 通讯作者:顾小萍(1970-),女,博士,主任医师,研究方向:麻醉学,E-mail: xiaopinggu@nju.edu.cn

<sup>(</sup>收稿日期:2024-10-28)

genes in GSE5281 and GSE36980, we identified a total of 158 genes associated with the hippocampus in AD. These genes were then subjected to Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analyses, leading to the construction of a Protein-Protein Interaction (PPI) network. After identifying 20 hub genes in the PPI network, we conducted further GO and KEGG pathway enrichment analyses, ultimately identifying three key genes related to learning and memory. **Results:** This study found that the 20 hub genes in the PPI network were significantly enriched in synaptic changes within GO and KEGG pathways, suggesting their critical role in regulating synaptic function. Additionally, the enrichment analysis results of these genes showed a similar trend to those of 158 AD-related genes, further supporting their potential key roles in the PPI network, combined with results from MCODE and cytoHubba, we ultimately identified three core hub genes. SNAP25, SYT4, and GABRG2-closely associated with learning and memory. **Conclusion:** SNAP25, SYT4, and GABRG2 may serve as biomarkers and therapeutic targets for AD, offering new strategies for improving the progressive decline in learning and memory abilities.

Key words: Alzheimer's disease; Learning and memory; Bioinformatics analysis; Hub genes Chinese Library Classification(CLC): R338 Document code: A Article ID: 1673-6273(2025)01-174-10

## 前言

根据世界卫生组织的统计,2010年全球约 有 3560 万人患有痴呆症,预计到 2030 年这一数 字将翻一番,到2050年将增加两倍[1]。随着人 口老龄化,老年性痴呆给社会带来了巨大的经 济和医疗负担,将成为未来几十年全球公共卫 生面临的重大挑战<sup>[2]</sup>。AD 是痴呆症最常见的病 因,是一种进行性、不可逆的神经退行性疾病, 与认知、功能和行为障碍相关,通常始于轻度记 忆功能损伤,慢慢发展为严重的认知丧失,直至 完全丧失日常活动能力和死亡<sup>[3]</sup>。AD 患者脑组 织的两个潜在病理特征是细胞外淀粉样蛋白-β (Aβ) 斑块的沉积增多和细胞内由过度磷酸化 的 tau 蛋白形成的神经原纤维缠结<sup>[4]</sup>。越来越多 的证据表明,阿尔茨海默病的神经病理改变早 于临床症状出现数年,并且随着病理性 Aβ 和 tau 负担的增加,导致认知能力下降日益严重<sup>[5,6]</sup>。 这些病变在特定的、脆弱的大脑区域很明显,海 马体是一个对学习和记忆至关重要的大脑区 域,是最早受到影响的区域之一<sup>[7,8]</sup>。因此,我 们的研究重点是阿尔茨海默病的学习和记忆 障碍。

基因治疗干预旨在从疾病的源头(通常是 有缺陷的 DNA、RNA 或蛋白质)着手修复疾病, 并使细胞自行解决问题,这为靶向治疗开辟了 广阔的道路。随着高通量基因组技术的最新进 展,对成千上万受试者中数百万个多态性的快 速分析显著增强了我们对阿尔茨海默病易感性的基因组基础的理解。在公开可用的数据库中, 我们可以访问 AD 患者和正常人死后脑组织中的基因表达。通过全面的生物信息学分析,我们 首先在两个数据库中寻找 AD 患者与非 AD 患 者个体之间海马体的差异表达基因(differential expressed genes, DEGs),确认准确的 AD 相关基 因,并进一步明确其潜在功能。随后,我们在 AD 患者的海马体中发现了与学习和记忆相关 的枢纽基因,并讨论了其潜在的分子机制,这些 基因也可以作为疾病的生物标志物和治疗靶 点。数据库分析的工作流程如图 1 所示。



## 1 材料和方法

#### 1.1 数据获取

从 NCBI 基因表达综合公共数据库(GEO) 下载两个基因表达数据库(GEE5281 和 GSE36980)。由 GPL570 注释的 GSE5281 数据库 包含在海马、内嗅皮层、内侧颞回、后扣带、额上 回和初级视觉皮层等 6 个脑区的基因表达数据。本研究采用其中海马区基因表达数据,共包括 10 例 AD 样本和 13 例非 AD 样本(Non-AD patients, ND)。基于 GPL6244 注释的基因表达谱 GSE36980,共包含 8 例 AD 患者和 10 例 ND 患者的海马区数据。从 GSEA 数据库中共提取了 625 个学习记忆基因,基因集列于表 1。

| 表 1 人 | GSEA | 数据库中 | Ⅰ提取的学 | 习记忆相 | 关 基 因 集 |
|-------|------|------|-------|------|---------|
|-------|------|------|-------|------|---------|

Table 1 Gene sets extracted from the GSEA database

| Pathways | Gene sets                       |  |
|----------|---------------------------------|--|
| HP       | HP_SHORT_TERM_MEMORY_IMPAIRMENT |  |
|          | HP_MEMORY_IMPAIRMENT            |  |
|          | HP_SPECIFIC_LEARNING_DISABILITY |  |
| GOBP     | GOBP_SHORT_TERM_MEMORY          |  |
|          | GOBP_MEMORY                     |  |
|          | GOBP_LONG_TERM_MEMORY           |  |
|          | GOBP_ASSOCIATIVE_LEARNING       |  |
|          | GOBP_OBSERVATIONAL_LEARNING     |  |
|          | GOBP_OPERANT_CONDITIONING       |  |
| KEGG     | KEGG_LONG_TERM_POTENTIATION     |  |
|          |                                 |  |

### 1.2 统计学分析

我们比较了 GSE5281 和 GSE36980 数据集的 样本基线特征,包括年龄和性别。采用 Wilk-Shapiro 检验评估数据分布的正态性,正态 分布数据以均数±标准差(SD)表示。分类变量 以计数和百分比(n,%)表示。正态分布连续变 量的分析使用 t 检验。分类变量采用卡方检验。 P 值小于 0.05 被认为具有统计学意义。所有统 计分析均采用 SPSS 26.0 进行

### 1.3 差异表达基因和重叠基因的鉴定

在我们的研究中使用的 R 包 "limma"(version 3.40.6)<sup>[9]</sup>进行差异分析,以获得 AD 组和 ND 组之间的差异表达基因.首先,根据平台的 标注将探针 ID 转换为基因名称。然后对所有数 据进行 log2 变换,并使用 lmFit 函数进行多元线 性回归。通过对标准误差进行经验贝叶斯调节 以趋向于一个共同值,应用 eBayes 函数计算了 调节的 t 统计量、调节的 F 统计量和差异表达 的对数几率。最终,获得了每个基因的差异显著 性。P 值 < 0.05 和 [Fold Change] > 1.5 的基因被 认为是差异基因。使用 "pheatmap" 和 "ggplot2" 软件包制作差异基因的热图和火山图。为了确 定两个数据库中差异基因的重叠基因以及与学 习和记忆相关的枢纽基因,我们使用 Veen 图进 行分析<sup>[10]</sup>。

## 1.4 重叠基因和枢纽基因的富集分析

为了预测这些显著基因的潜在功能及其对 应的通路,我们使用 DAVID 功能注释工具 (https://david.ncifcrf.gov)展示基因本体论(GO) 和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路<sup>[11]</sup>. GO 包含生物过程(biological processes, BPs)、细 胞组分 (cell components, CCs) 和分子功能 (molecular functions, MFs),而 KEGG 通路的识 别则基于 P 值和基因数量。

## 1.5 枢纽基因蛋白间的相互作用网络的建立与 鉴定

通过 String 数据库分析基因翻译过程中蛋白间的相互作用(https://cn.string-db.org/)。蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)对通过置信度评分(>0.40)进行筛选,并使用 Cytoscape V3.9.0 软件对 PPI 网络进行了可视化<sup>[12]</sup>。在该软件中的CytoHubba 插件使用 MCC 算法计算三个指标

(度数、紧密度和介数)来评估每个节点的重要性,并选择了排名前 20 的节点。这些枢纽基因是它们的共同节点。另一个插件 Molecular Complex Detection(MCODE)用于识别并聚类了 PPI 网络中最紧密连接的基因,其中 MCODE 1 具有最高得分,被认为是 PPI 网络中的主导子 网络。

## 2 结果

#### 2.1 GSE5281 和 GSE36980 的基本特征

本研究包括来自 GSE5281 和 GSE36980 数 据集的共 41 个人类海马组织样本。在 GSE5281 和 GSE36980 数据集之间,基本特征中 没有观察到统计学上显著的差异(见表 2)。

表 2 GSE5281 和 GSE36980 数据库的样本特征 Table 2 Sample information for the GSE5281 and GSE36980 database analyses

|                       | GSE5281 (n=23) | GSE36980 (n=18) | Р     |
|-----------------------|----------------|-----------------|-------|
| Age, mean ± SD, years | 78.83± 1.65    | 83.56± 2.55     | 0.113 |
| Male n (%)            | 16(69.57)      | 8(44.44)        | 0.125 |

#### 2.2 AD 相关的基因鉴定

GSE5281 数据集包含了 10 例 AD 样本和 13 例 ND 样本海马中的基因表达谱,在其中我 们共鉴定出 5,055 个差异表达基因(DEGs),包 括 2,922 个上调基因和 2,133 个下调基因。在 GSE36980 数据集中,鉴定出了 449 个差异表达 基因,其中包括 38 个上调基因和 411 个下调 基因。使用火山图(图 2a,2b)对结果进行了可 视化,而热图(图 2c,2d)展示了两个数据集中 AD 和 ND 中表达显著高的前 30 个基因。随 后,通过 Venn 图(图 3),我们识别出 158 个明 显与 AD 相关的重叠基因。

## 2.3 重叠基因的基因本体(GO)和京都基因与 基因组百科全书(KEGG)富集分析

为了确定与 AD 相关的基因功能,我们使 用了重叠基因进行 GO 和 KEGG 通路富集分 析。在 BP 类别中,富集的基因涉及化学突触传 递、胞吐作用以及突触后神经递质受体活性的 调节(图 4a)。在 CC 类别中,富集的基因涉及 谷氨酸能突触、突触囊泡膜和神经元投射(图 4b)。 在 MF 类别中,富集的基因涉及突触素 -1 结 合、SNARE 结合以及抑制性细胞外配体门控离 子通道活性(图 4c)。在 KEGG 通路中,富集的 基因涉及突触囊泡循环、逆行性内源性大麻素 信号传导和 GABA 能性突触(图 4d)。

## 2.4 蛋白质 - 蛋白质相互作用建立及关键基因 的鉴定

在从 PPI 网络中去除孤立蛋白后,从 STRING数据库中鉴定出 120个蛋白质。与 AD 相关基因编码的蛋白质之间的相互作用网络, 包括 120 个节点和 378 条边,使用 Cytoscape 进行 可视化(图 5a)。使用 CytoHubba 插件中的MCC 算法识别出 20 个关键基因(图 5b),包括 SYN2、 SLC17A7、RAB3A、SNAP91、VAMP2、STX1A、SV2A、 CPLX1、UNC13A、SV2B、SYT7、SNCB、ATP2B2、 SH3GL2、GABRB2、NSF 和 ATP2B3。MCODE 插 件中得分最高的 MCODE 1 被认为是 PPI 网络 中的主导基因集,其中包含 SV2B、SYT4、 SLC17A7、GABRB2、SNAP25、ATP2B2、GABRG2、 SYN2、ATP2B3、STMN2、SNCB 和 SH3GL2(图 5c)。 2.5 枢纽基因的富集分析及与学习和记忆相关 的枢纽基因鉴定

在 PPI 网络中,20 个关键基因处于最重要的位置,因此我们对这些基因进行了富集分析。 在 BP 类别中,富集的基因涉及钙离子调节的 胞吐作用、胞吐作用的调节和胞吐作用(图 6a)。在 CC 类别中,富集的基因涉及突触囊泡 膜、突触囊泡和谷氨酸能突触(图 6b)。在 MF 类别中,富集的基因涉及 SNARE 结合、突触素 -1 结合和钙调蛋白结合(图 6c)。在 KEGG 通 路中,富集的基因涉及突触囊泡循环(图 6d)。 在这些关键基因中,三个基因(SNAP25、SYT4 和 GABRG2)在 MCODE 1 中共存,并在 GSEA 数据库中与学习和记忆相关(图 7)。

## 3 讨论

AD 是一种全球范围内的、进行性、退行性 且不可逆的中枢神经系统(CNS)疾病,其表现 为记忆丧失、行为改变和认知衰退,目前尚无有 效治疗方法。随着高通量测序技术的发展,我们 可以获取 AD 患者尸检脑组织中的基因表达





a)GSE5281 数据集的 DEGs 火山图。b)GSE36980 数据集的 DEGs 火山图。红色表示差异表达基因的上调,蓝色 表示下调,灰色表示无显著差异。c)GSE5281 数据集的热图。d)GSE36980 数据集的热图。热图展示了在 AD 和 ND 中表达显著高的前 30 个基因,高表达用红色表示,低表达用紫色表示。

Fig.2 Volcano plots and heatmaps of DEGs

a) Volcano plot of DEGs from GSE5281. b) Volcano plot of DEGs from GSE36980. Red represents upregulation of differentially expressed genes, blue represents downregulation of DEGs, and gray represents no difference. c) Heatmap of GSE5281. d) Heatmap of GSE36980. The top 30 genes significantly highly expressed in AD and ND are shown in the heatmap, which is colored red to indicate high expression and purple to represent low expression.

谱,并识别潜在的基因治疗方法。以往的研究广 泛显示,海马功能障碍在 AD 中对学习和记忆 的损害发挥了关键作用<sup>[8,13,14]</sup>。在本研究中,我 们分别分析了 GSE5281 和 GSE36980 数据集中 来自 AD 和 ND 人群的海马基因表达数据,这 两个数据集都包含了具有适用性别和年龄分布 的老年样本。提取了这两个数据集中 AD 和 ND 之间的差异表达基因(DEGs),以更精确地 识别与 AD 相关的基因。通过生物信息学分析, 我们识别出 158 个与 AD 相关的基因,这些基 因在富集分析中显示出与突触的高度连接(图 5)。 突触是前突触神经元和后突触细胞之间的专门 非对称连接结构,由三个专门的部分组成:前突 触末端,负责协调释放含有神经递质的囊泡;突 触间隙,位于前突触和后突触之间;以及后突触 部分,通过神经递质受体转导传入信号,这些结 构是所有神经处理的前提,包括学习和记忆等 高级认知功能<sup>[15,16]</sup>。电子显微镜技术表明,在早 期 AD 的海马区首先检测到突触丧失<sup>[17]</sup>。病理性 Aβ 和磷酸化 tau 物质被认为是 AD 形成和进



图 3 Venn 图用于识别 GSE36980 和 GSE5281 数据库 中与 AD 相关的 158 个重叠基因 Fig.3 Venn diagram for the identification of 158 overlapping genes associated with AD between the GSE36980 and GSE5281 databases

展中的核心因素,它们通过损害突触囊泡循环和 受体活性,进而影响突触传递和突触可塑性<sup>[18]</sup>。 抑制 Aβ 和 tau 聚集可以拯救小鼠脑中的突触 丧失,从而显著改善认知功能<sup>[19]</sup>。多项研究表 明,AD 和 Aβ 暴露的小鼠海马中的长期增强 (LTP)受损,并伴有认知缺陷。与 LTP 相对的 是,Aβ 应用增强了长期抑制(LTD),这与 Aβ 造成突触抑制的观点一致<sup>[20-22]</sup>。长时程增强 (LTP)和长 s 时程抑制(LTD)是两种对立的突 触可塑性形式,已经在海马神经元中进行了广 泛的研究,并与学习和记忆过程相关联<sup>[23,24]</sup>。 LTP 和 LTD 在突触前表现为神经递质释放概率 的变化,在突触后表现为谷氨酸受体(如 NM-DAR 和 AMPA 受体)、GABA 受体以及多巴胺





受体在突触密度中的数量或单次导电性变化<sup>[25]</sup>。 LTP 的维持可能是记忆保持的基础,而 LTD 在 记忆丧失中扮演了重要角色,并通过与 LTP 的 功能性相互作用促进学习<sup>[26,27]</sup>,这些机制已被 发现与 AD 中的渐进性记忆障碍相关<sup>[28]</sup>。接下 来,我们进行了 PPI 分析,以可视化这些蛋白质 之间的关系,并将得分最高的前 20 个基因(约 占重叠基因的前 10%)视为 AD 海马中的枢纽 基因。值得注意的是,这些枢纽基因的富集分析 结果与重叠基因类似,例如 BP 中的胞吐作用 和突触囊泡胞吐作用、CC 中的谷氨酸能突触、 突触囊泡膜和突触囊泡、MF 中的突触素 -1 结 合和 SNARE 结合、以及 KEGG 中的突触囊泡 循环和尼古丁成瘾,这些都与突触结构有很强 的相关性。为了确认与 AD 中学习和记忆相关 的关键 基因, 通过 GSEA 数据集识别出 SANP25、SYT4 和 GABRG2,这些基因均存在于 MCODE 1 中。因此,我们建议基于这三种基因 对 AD 海马中的学习和记忆调控进行进一步 研究。



图 5 AD 中的 PPI 网络和关键基因

a)整个 PPI 网络。b)使用 CytoHubba 插件的 MCC 算法从 PPI 网络中筛选出的 20 个关键基因。c)MCODE 显示集群 MCODE 1 包含 12 个基因节点和 59 条边,具有最高的集群得分(10.727)。

Fig.5 PPI network and hub genes in AD

a) The whole PPI network. b) Twenty hub genes were screened from the PPI network using the MCC algorithm of the cytoHubba plugin. c) MCODE showed that cluster MCODE 1 contained 12 gene nodes and 59 edges with the highest cluster score (10.727).



(a) BP, (b) CC, (c) MF, (d) KEGG pathways.

SNAP25(突触体相关蛋白 25)是一个编码 蛋白的基因,其产物是一个位于突触前膜的蛋 白,组成 SNARE 复合体(可溶性 N-乙基马来 酰亚胺敏感因子附着蛋白受体),参与突触囊泡膜的定位和融合以及神经递质释放的调节。对AD 患者的尸检研究发现,与对照组相比,AD





Fig.7 Venn diagram for the identification of genes connected with learning and memory

Three genes (SANP25, SYT4 and GABRG2) were related to learning and memory according to the GSEA database.

或 MCI 患者的脑脊液(CSF)中 SNAP25 的水平 升高<sup>[29]</sup>。对不同年龄组脑脊液中 SNAP25 定量 研究的结果显示,与认知正常的 Αβ-个体和认 知受损的 AB- 个体相比, 认知受损的 AB+ 个 体的脑脊液 SNAP25 水平显著升高。这些研究 表明, 脑脊液 SNAP25 的增加与 AD 连续体中 的淀粉样蛋白病理相关<sup>[30]</sup>。值得注意的是,在 ADNI 队列的一项研究中, AD 组认知缺陷患者 的脑脊液 SNAP25 水平在纵向观察中(平均随 访时间为4年)有所下降[31]。目前尚无研究在 AD 动物模型的脑组织、脑脊液或血液样本中 测量 SNAP25。AD 转基因小鼠模型中的突触丧 失主要基于组织学研究<sup>[32]</sup>。对 SNAP25 亚型的 研究表明, SNAP25 对海马 Schaffer 侧支 -CA1 突触的 LTP 诱导和维持、短期突触可塑性以及 基础突触传递有显著影响。此外,在 SNAP25b 缺失的小鼠中,不同的亚型表达与性别和年龄 相关,这些小鼠在学习能力上存在缺陷[33]。我们 猜想, 在 GSE5281 数据集中, AD 患者的 SNAP25 表达水平高于 ND 患者, 而在 GSE36980 数据集中, AD 患者的 SNAP25 表达 水平低于 ND 患者。这可能是由于样本的性别 和年龄分布差异以及疾病持续时间不同,这些 因素可能影响了 SNAP25 的表达。SYT4 编码突 触素-4, 它是神经元致密核心囊泡膜的组成部 分,参与神经元致密核心囊泡的运动,并预计在 轴突、胞吐囊泡和谷氨酸能突触中发挥作用。在 SYT4-KO 小鼠中, 依赖于海马的情境恐惧条件 反射学习任务被干扰,表明 SYT4 是海马依赖 性学习和记忆形成中的一个重要因素[34]。在对 帕金森病脑研究中发现,SYT4 与帕金森病的关 键基因密切相关。帕金森病与 AD 类似,也是一 个神经退行性疾病[35]。此外,星形胶质细胞中 SYT4 的减少可以降低谷氨酸的释放,而谷氨 酸的释放可以激活海马锥体神经元的突触外 NMDAR,这可能诱导 LTP<sup>[36]</sup>。有趣的是,临床用 于治疗 AD 的药物多奈哌齐<sup>[37]</sup>可以抑制与谷氨 酸能神经传递相关的癫痫中大鼠脑内 SYT4 mRNA 水平的显著上调<sup>[38,39]</sup>。SYT4 与 AD 的关 系需要进一步探索。海马神经元主要释放谷氨 酸或 γ- 氨基丁酸(GABA)。在 APP/PS1 转基因 小鼠中,早期发现谷氨酸能和 GABA 能突触前 末梢均有所增加,但在不同 AD 小鼠模型的晚 期则有所下降<sup>[40]</sup>。携带谷氨酸(大脑的主要兴奋 性神经递质和 GABA 前体)的突触囊泡在谷氨 酸能突触中聚集在突触前膜的活跃区附近,在 那里它们与 SNARE 复合体和钙离子通道相互 作用,触发胞吐作用。随后,谷氨酸激活突触后 谷氨酸受体,如 NMDAR 和 AMPAR,来调节多 个神经功能,如神经元的兴奋性和可塑性[4]。病 理性 tau 的侵入突触后部位可以通过损害 NM-DAR 和 AMPAR 的运输以及在树突棘和突触后 部位的突触锚定,导致突触后兴奋性毒性和记 忆丧失[16]。突触组分的失调导致谷氨酸能功能 障碍,表现为学习和记忆能力的下降<sup>[42]</sup>。相反, GABA 是中枢神经系统中的主要抑制性神经递 质,其抑制效应通过三种不同的受体亚家族实 现,分别是 GABAA、GABAB 和 GABAC 受体, 其中 GABAA 受体介导了大脑中大多数快速抑 制作用<sup>[40]</sup>。GABRG2 编码 GABA 受体 -GABAA 受体亚基 γ2,在形成功能性抑制性 GABA 能突 触中扮演重要角色,除了作为 GABA 门控离子 通道介导突触抑制外,它还是由突触前囊泡释 放的 GABA 短暂或相位性激活的 GABA 受体 引发的相位性抑制的主要介质<sup>[43]</sup>。从 AD 大脑 的颞皮层移植的 GABA 受体显示,γ2 亚基在 AD 中显著减少<sup>[41]</sup>,这与我们在两个数据集中 的分析结果一致,GABA 能突触介导的抑制功 能增加可能会干扰齿状回中的 LTP 缺陷[45]。在 小鼠早期 AD 阶段,海马突触中 GABAA y2 亚 基的密度减少,而 GABAA 受体激动剂 gaboxadol 能够逆转海马过度活动,并改善学习和记忆表现<sup>[46]</sup>。因此,加强 GABA 能系统可能是一种有前景的早期 AD 治疗方法。

SNAP25、SYT4 和 GABRG2 都是突触组分, 在突触的可塑性中发挥关键作用,这些组分随 着疾病进程逐渐变化,并与学习和记忆功能的 下降相关。有趣的是,它们都位于同一个 PPI 聚 类中(见图 7b),这是整个网络中主导的聚类, 表明它们之间有紧密的相互作用。我们注意到, 它们在 GO 分析的 CC 类别中都富集于谷氨酸 能突触。谷氨酸能神经传递在 LTP 中发挥重要 作用。在 AD 的早期阶段,由于依赖于突触组分 的谷氨酸再摄取抑制引起的 AB 相关神经毒 性<sup>[47]</sup>是 AD 的警示标志,而谷氨酸再摄取的破 坏可能间接减少 GABA 能合成,进一步促进神 经元的过度兴奋性[48]。随着疾病的进展,高水平 的 Aβ 导致突触后抑制和树突棘丧失,损害了 LTP 并增强了 LTD<sup>[49]</sup>,从而使大脑在 AD 的晚 期表现出低兴奋性<sup>[50]</sup>。AD 患者学习和记忆功 能的逐步丧失与这些过程密切相关。

基于之前的研究和我们的发现,我们推测 随着病理进展,SNAP25、SYT4 和 GABRG2 作为 枢纽基因参与了 AD,其下调可能导致学习和 记忆的损害。研究的局限性在于尚未进行进一 步的验证,因此我们希望我们的研究能够激发 研究人员对这三个关键基因在 AD 患者或 AD 小鼠中调控学习和记忆的验证工作。

#### 参考文献(References)

- [1] Chaib F. Dementia cases set to triple by 2050 but still largely ignored. In. https://www.who.int/news/item/ 11-04-2012-dementia-cases-set-to-triple-by-2050-but-stilllargely-ignored; 2019.
- [2] Zhang E, Dai F, Chen T, et al. Diagnostic models and predictive drugs associated with cuproptosis hub genes in Alzheimer's disease [J]. Front Neurol, 2022, 13: 1064639.
- [3] Reitz C. Genetic diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease: challenges and opportunities [J].
   Expert Rev Mol Diagn, 2015, 15(3): 339-348.
- [4] Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment [J]. Molecules, 2020, 25(24): 5789.
- [5] Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on

Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease [J]. Alzheimer's & Dementia: the Journal of the Alzheimer's Association, 2011, 7(3): 280-292.

- [6] Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, et al. Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade [J]. Lancet Neurol, 2010, 9(1): 119-128.
- [7] Braak H, Braak E, Bohl J. Staging of Alzheimer-related cortical destruction [J]. Eur Neurol, 1993, 33(6): 403-408.
- [8] Mu Y, Gage FH. Adult hippocampal neurogenesis and its role in Alzheimer's disease [J]. Mol Neurodegener, 2011, 6: 85.
- [9] Ritchie ME, 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] Bardou P, Mariette J, Escudié F, et al. jvenn: an interactive Venn diagram viewer [J]. BMC Bioinformatics, 2014, 15(1): 293.
- [11] Huang da W, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources [J]. Nat Protoc, 2009, 4(1): 44-57.
- [12] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. Genome Res, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [13] Jun H, Bramian A, Soma S, et al. Disrupted Place Cell Remapping and Impaired Grid Cells in a Knockin Model of Alzheimer's Disease [J]. Neuron, 2020, 107 (6): 1095-1112 e1096.
- [14] Xiao MF, Xu D, Craig MT, et al. NPTX2 and cognitive dysfunction in Alzheimer's Disease [J]. Elife, 2017, 6: e23798.
- [15] Petzoldt AG, Sigrist SJ. Synaptogenesis [J]. Current Biology, 2014, 24(22): R1076-R1080.
- [16] Wu M, Zhang M, Yin X, et al. The role of pathological tau in synaptic dysfunction in Alzheimer's diseases[J]. Transl Neurodegener, 2021, 10(1): 45.
- [17] Scheff SW, Price DA, Schmitt FA, et al. Hippocampal synaptic loss in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment [J]. Neurobiology of Aging, 2006, 27(10): 1372-1384.
- [18] Griffiths J, Grant SGN. Synapse pathology in Alzheimer's disease [J]. Semin Cell Dev Biol, 2023, 139: 13-23.
- [19] Sun X-Y, Li L-J, Dong Q-X, et al. Rutin prevents

tau pathology and neuroinflammation in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. J Neuroinflammation, 2021, 18(1): 131.

- [20] Li S, Hong S, Shepardson NE, et al. Soluble oligomers of amyloid Beta protein facilitate hippocampal long-term depression by disrupting neuronal glutamate uptake [J]. Neuron, 2009, 62 (6): 788-801.
- [21] Chen QS, Kagan BL, Hirakura Y, et al. Impairment of hippocampal long-term potentiation by Alzheimer amyloid beta-peptides [J]. J Neurosci Res, 2000, 60 (1): 65-72.
- [22] Stéphan A, Laroche S, Davis S. Generation of aggregated beta-amyloid in the rat hippocampus impairs synaptic transmission and plasticity and causes memory deficits[J]. J Neurosci, 2001, 21(15): 5703-5714.
- [23] Stampanoni Bassi M, Iezzi E, Gilio L, et al. Synaptic Plasticity Shapes Brain Connectivity: Implications for Network Topology [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(24): 6193.
- [24] Ma S, Zuo Y. Synaptic modifications in learning and memory - A dendritic spine story [J]. Semin Cell Dev Biol, 2022, 125: 84-90.
- [25] Kim SJ, Linden DJ. Ubiquitous plasticity and memory storage[J]. Neuron, 2007, 56(4): 582-592.
- [26] Stuchlik A. Dynamic learning and memory, synaptic plasticity and neurogenesis: an update [J]. Front Behav Neurosci, 2014, 8: 106.
- [27] Stacho M, Manahan-Vaughan D. The Intriguing Contribution of Hippocampal Long-Term Depression to Spatial Learning and Long-Term Me mory [J]. Front Behav Neurosci, 2022, 16: 806356.
- [28] Ju Y, Tam KY. Pathological mechanisms and therapeutic strategies for Alzheimer's disease [J]. Neural Regen Res, 2022, 17(3): 543-549.
- [29] Molinuevo JL, Ayton S, Batrla R, et al. Current state of Alzheimer's fluid biomarkers [J]. Acta Neuropathol, 2018, 136(6): 821-853.
- [30] Nilsson J, Ashton NJ, Benedet AL, et al. Quantification of SNAP-25 with mass spectrometry and Simoa: a method comparison in Alzheimer's disease [J]. Alzheimers Res Ther, 2022, 14(1): 78.
- [31] Sutphen CL, McCue L, Herries EM, et al. Longitudinal decreases in multiple cerebrospinal fluid biomarkers of neuronal injury in symptomatic late onset Alzheimer's disease [J]. Alzheimers Dement, 2018, 14 (7): 869-879.
- [32] Qin T, Prins S, Groeneveld GJ, et al. Utility of Animal Models to Understand Human Al zheimer's Disease, Using the Mastermind Research Approach to

Avoid Unnecessary Further Sacrifices of Animals [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(9): 3158.

- [33] Irfan M, Gopaul KR, Miry O, et al. SNAP-25 isoforms differentially regulate synaptic transmission and long-term synaptic plasticity at central synapses [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 6403.
- [34] Ferguson GD, Anagnostaras SG, Silva AJ, et al. Deficits in memory and motor performance in synaptotagmin IV mutant mice [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(10): 5598-5603.
- [35] Patel S, Howard D, French L. A pH-eQTL Interaction at the RIT2-SYT4 Parkinson's Disease Risk Locus in the Substantia Nigra [J]. Front Aging Neurosci, 2021, 13: 690632.
- [36] Zhang Q, Fukuda M, Van Bockstaele E, et al. Synaptotagmin IV regulates glial glutamate release [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101 (25): 9441-9446.
- Μ, D, [37] Knapp King Romeo R. et al. Cost-effectiveness of donepezil and memantine in moderate to severe Alzheimer's disease (the DOMINO-AD trial)[J]. Int J Geriatr Psychiatry, 2017, 32(12): 1205-1216.
- [38] Barker-Haliski M, White HS. Glutamatergic Mechanisms Associated with Seizures and Epilepsy [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2015, 5 (8): a022863.
- [39] Saghafi MM, Pregelj P, Zivin M. Donepezil inhibits diisopropylfluorophosphate-induced seizures and upregulation of synaptotagmin 4 mRNA [J]. Folia Biol (Praha), 2010, 56(6): 256-262.
- [40] Li Y, Sun H, Chen Z, et al. Implications of GABAergic Neurotransmission in Alzheimer's Disease [J]. Front Aging Neurosci, 2016, 8: 31.
- [41] Temido-Ferreira M, Coelho JE, Pousinha PA, et al. Novel Players in the Aging Synapse: Impact on Cognition [J]. J Caffeine Adenosine Res, 2019, 9(3): 104-127.
- [42] Findley CA, Bartke A, Hascup KN, et al. Amyloid Beta-Related Alterations to Glutamate Signaling Dynamics During Alzheimer's Disease Progression [J]. ASN Neuro, 2019, 11: 1759091419855541.
- [43] Xu Y, Zhao M, Han Y, et al. GABAergic Inhibitory Interneuron Deficits in Alzheimer's Disease: Implications for Treatment [J]. Front Neurosci, 2020, 14: 660.
- [44] Limon A, Reyes-Ruiz JM, Miledi R. Loss of functional GABA (A) receptors in the Alzheimer diseased brain [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(25): 10071-10076. (下转第 192 页)

miRNAs in bone tissue correlate to bone mineral density and circulating miRNAs are gender independent in osteoporotic patients [J]. Scientific reports, 2017, 7 (1): 15861.

- [103] Demura S, Hinoi E, Kawakami N, et al. The L-type amino acid transporter (LAT1) expression in patients with scoliosis [J]. Spine Surgery and Related Research, 2022, 6(4): 402-407.
- [104] Handa M, Demura S, Yokogawa N, et al. Characteristics of Scoliosis in Mice Induced by Chondrocyte-specific Inactivation of L-type Amino Acid Transporter 1 [J]. Spine, 2024, 49 (4): 285-293.
- [105] Iwahashi S, Lyu J, Tokumura K, et al. Conditional inactivation of the L-type amino acid transporter LAT1 in chondrocytes models idiopathic scoliosis in mice [J]. Journal of Cellular Physiology, 2022, 237 (11): 4292-4302.
- [106] Matsuhashi Y, Horiuchi K, Nakagawa T, et al.

Abrogation of LBX1 in skeletal muscle results in hypoplastic limbs and progressive kyphosis in mice [J]. Journal of Orthopaedic Research, 2023, 41 (4): 884-890.

- [107] Wu C, Liu H, Zhong D, et al. Mapk7 deletion in chondrocytes causes vertebral defects by reducing MEF2C/PTEN/AKT signaling [J]. Genes & Diseases, 2024, 11(2): 964-977.
- [108] Silva C A, Guirro R R J, Delfino G B, et al. Proposal of non-invasive experimental model to induce scoliosis in rats [J]. Brazilian Journal of Physical Therapy, 2012, 16: 254-260.
- [109] Banala R R, Vemuri S K, Penkulinti M, et al. Development of novel animal model for studying scoliosis using a noninvasive method and its validation through gene-expression analysis [J]. Asian Spine Journal, 2019, 13(1): 126.

### (上接第 183 页)

- [45] Palop JJ, Chin J, Roberson ED, et al. Aberrant excitatory neuronal activity and compensatory remodeling of inhibitory hippocampal circuits in mouse models of Alzheimer's disease [J]. Neuron, 2007, 55 (5): 697-711.
- [46] Li Y, Zhu K, Li N, et al. Reversible GABAergic dysfunction involved in hippocampal hyperactivity predicts early-stage Alzheimer disease in a mouse model[J]. Alzheimers Res Ther, 2021, 13(1): 114.
- [47] Zott B, Simon MM, Hong W, et al. A vicious cycle of  $\beta$  amyloid-dependent neuronal hyperactivation [J]. Science, 2019, 365(6453): 559-565.

- [48] Vico Varela E, Etter G, Williams S. Excitatory-inhibitory imbalance in Alzheimer's disease and therapeutic significance [J]. Neurobiol Dis, 2019, 127: 605-615.
- [49] Sciaccaluga M, Megaro A, Bellomo G, et al. An Unbalanced Synaptic Transmission: Cause or Consequence of the Amyloid Oligomers Neurotoxicity?
  [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(11): 5991.
- [50] Harris SS, Wolf F, De Strooper B, et al. Tipping the Scales: Peptide-Dependent Dysregulation of Neural Circuit Dynamics in Alzheimer's Disease [J]. Neuron, 2020, 107(3): 417-435.