

RNA-Seq 技术筛选 APP/PS1 阿尔茨海默病模型小鼠差异表达基因及功能分析

史长华, 张 玲, 陈 巍, 付信靖, 秦 川*

(北京协和医学院比较医学中心, 中国医学科学院医学实验动物研究所,
卫生部人类疾病比较医学重点实验室, 北京 100021)

【摘要】 目的 分析阿尔茨海默病(AD)模型小鼠前额叶皮层的差异表达基因,从转录组水平揭示AD的发病机制。**方法** 本研究随机选取9月龄雌性APP^{swe}/PS1^{ΔE9}(PAP)的模型小鼠和野生型C57BL/6J小鼠各5只,提取前额叶皮层组织RNA,用Illumina HiSeq 3000测序。采用edgeR软件进行表达差异显著性分析。分析AD组和对照组基因表达变化,并采用qRT-PCR对其中6个关键差异表达基因进行验证。然后对差异表达基因进行聚类分析、GO功能富集分析、KEGG通路富集分析。**结果** 在AD组与对照组之间发现224个差异表达基因($P < 0.05$, $|\log FC| > 1.0$),其中205个基因上调,19个基因下调。6个关键基因qRT-PCR验证结果与RNA-Seq趋势一致。GO功能富集分析结果表明,这些差异表达基因与免疫反应、炎症反应、趋化因子活动以及IgG结合等有关;KEGG通路富集分析结果表明,这些基因参与吞噬、溶酶体、Toll样受体信号通路、细胞因子受体相互作用、NF- κ B信号通路等重要生物学通路。**结论** 得到AD相关差异表达基因,为利用模型小鼠进行AD相关机制和治疗研究提供了实验依据。

【关键词】 阿尔茨海默症;小鼠模型;转录组测序技术;差异表达基因

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 10-0001-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.10.001

Analysis of differential gene expression and function of APP/PS1 in prefrontal cortex of AD mice by RNA-seq

SHI Changhua, ZHANG Ling, CHEN Wei, FU Xinjing, QIN Chuan*

(Comparative Medicine Center, Peking Union Medical College (PUMC); Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Science (CAMS); Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine, Ministry of Health, Beijing 100021, China)

【Abstract】 Objective To determine the transcriptomic profile of AD mice and controls by RNA-Seq, in order to identify differentially expressed genes and reveal the molecular mechanism of AD. **Methods** Nine-month-old APP/PS1 mice and age-matched wild-type C57BL/6J mice were selected, with five female mice included in each group. Genome-wide analysis of mRNA expression in the prefrontal cortex of AD mice and controls was performed by RNA-Seq. qRT-PCR was used to verify the six key genes. Then, cluster analysis, Gene Ontology (GO) function enrichment analysis, and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were used to analyze gene function. **Results**

【基金项目】 国家自然科学基金(81500938);科技部国合项目(2015DFG32230)。

【作者简介】 史长华,女,博士研究生,研究方向:病理学与病理生理学,神经退行性疾病的机制研究。E-mail: shichanghua520@163.com

【通信作者】 秦川,女,研究员,教授,博士生导师,研究方向:病理学与病理生理学。E-mail: qinchuan@pumc.edu.cn

The result showed that a total of 224 genes were differentially expressed in the two groups ($P < 0.05$, $|\log FC| > 1.0$): 205 genes were upregulated and 19 genes were downregulated. When qRT-PCR was used to validate the six key genes, the result were consistent with the RNA-Seq. GO enrichment analysis result showed that the differentially expressed genes are involved in immune response, inflammatory response, chemokine activity, and IgG binding. KEGG pathway enrichment analysis revealed that these genes participate in phagosome, lysosome, toll-like receptor signaling pathway, cytokine-cytokine receptor interactions, and the NF- κ B signaling pathway. **Conclusions** Differentially expressed genes related to AD were obtained, which provides an important experimental basis for the usage of a double-transgenic mouse model to study AD-related mechanisms and pharmacological intervention.

【Keywords】 Alzheimer's disease; mouse model; RNA-Seq; differentially expressed gene

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种老年人中常见的以进行性认知功能障碍和行为损害为特征的神经退行性疾病。AD 的病理改变与大脑内老年斑和神经原纤维缠结形成有关。可能的机制包括 β 淀粉样肽 (amyloid beta, A β) 沉积、炎症损伤、氧化应激等。主要累及部位为皮层和海马。在对 118 例 AD 患者神经影像学的观察中发现, AD 患者常出现的妄想, 淡漠, 抑郁等精神症状与前额叶皮层紧密相关^[1]。然而目前在 AD 的研究中, 差异基因表达及其功能研究主要集中于全脑或海马区, 尚无前额叶皮层差异分析的系统阐述。RNA 深度测序 (RNA-Seq) 是近年来快速发展的高通量测序技术, 具有信噪比高、分辨率高、应用范围广等优势。本研究拟利用 APP/PS1 双转基因动物模型, 采用 RNA-Seq 技术研究 AD 模型小鼠和野生型小鼠前额叶皮层的基因表达变化, 筛选出 AD 相关特异性的基因, 为利用模型小鼠进行 AD 相关机制和治疗研究提供一些思路。

1 材料和方法

1.1 实验动物

清洁级雌性 APP^{swe}/PS1 Δ E9 (PAP) 双转基因模型小鼠和野生型 C57BL/6 J 小鼠各 5 只, 9 月龄, 体重约 26 ~ 30 g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司 [SCXK - (京) 2014 - 0004], 实验在中国医学科学院医学实验动物研究所开展 [SYXK - (京) 2015 - 0035]。动物实验方案获实验动物使用与管理委员会 (IACUC) 的批准 [ILAS-QC-2016-001]。

1.2 主要试剂与仪器

Trizol 购自美国 Invitrogen 公司; DEPC 水购自美国 QIAGEN 公司; PrimeScriptTM RT Master Mix 试剂盒购自日本 Takara 公司; Ethovision XT 动物轨迹跟踪与行为观察记录分析系统购自荷兰 Noldus 公司; UltraSYBR mixture (with ROX) 购自日本

Takara 公司。HiSeq 3000 测序仪购自美国 Illumina 公司; 引物购自中国 Invitrogen 公司; Qubit 2.0 定量仪购自美国 Invitrogen 公司; Agilent 2100 购自美国 Agilent 公司; PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司; ABI stepone 荧光定量 PCR 仪购自美国 Thermo 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 转基因动物的鉴定

PCR 鉴定小鼠的基因型, 针对人 APP、PS1 基因合成的 hAPP 正向引物为: 5'-GACTG ACCACTC GACCAGGTTCTG-3', 反向引物: 5'-CTTGTAAG TTGGATTCTCATATCCG-3', 产物长度 344 bp; hPS1 正向引物为: 5'-AATAGAGAACGGCAGGAGCA-3', 反向引物: 5'-GCCATGAGGGCACTAATCAT-3', 产物长度 608 bp。

1.3.2 Morris 水迷宫实验

参考文献^[2]用 Morris 水迷宫实验检测 AD 模型和野生型小鼠的空间学习记忆能力。Morris 水迷宫隐藏平台实验中潜伏期数据使用重复测量数据的多因素方差分析进行统计, 其余结果采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

1.3.3 脑组织总 RNA 提取

Trizol 法提取前额叶皮层总 RNA, 分别采用 Nanodrop、Qubit 2.0、Agilent 2200 检测 RNA 样品的纯度、浓度和完整系数 (RNA integrity number, RIN) 等, 以保证使用合格的样品进行测序。

1.3.4 文库构建、质检与测序

提取样本 RNA 后, 将 rRNA 去除, 并将 RNA 片段化 (平均长度为 200 nt 左右), 逆转录合成 cDNA 并进行粘性末端修复, cDNA 的 3' 末端加上 poly (A) 尾并连接测序接头, 利用琼脂糖凝胶电泳选出大于 200 nt 的片段进行 PCR 扩增, 从而得到测序用的 cDNA 文库。构建好的文库用 Agilent 2100 分析仪和 ABI StepOne Plus 实时 PCR 系统质检, 质检选出片段大小为 260 bp 左右的文库加入流动槽的各

通道中,以 Paired-End 方式进行测序。

1.3.5 基因组比对及差异表达基因分析

经软件 Tophat2 将测序数据比对到小鼠参考基因组 GRCm38,此时可得到一个 bam 文件,记录了每条 reads 对应的染色体位置。使用 DESeq 软件对基因进行定量分析。采用 edgeR 软件 (3.12.1) 进行表达差异显著性分析 ($P < 0.05$, $|\log_{FC}| > 1.0$),并对 AD 样本的表达值 (RPKM) 进行聚类分析。

1.3.6 GO 和 KEGG 分析

利用 DAVID 软件对差异表达的基因进行 GO (Gene Ontology) 功能 (生物学过程, BP) 及 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 分析通路富集分析,帮助了解差异表基因的功能。统计方法为 Fisher's exact test, Benjamini 算法校正,以校正后 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

1.3.7 qRT-PCR 实验验证

选取 6 个关键基因进行 qRT-PCR 验证,其中包括 3 个上调基因: *Trem2*、*Lyz2*、*Ctse*, 3 个下调基因: *S100a8*、*S100a9*、*Ttr*。AD 模型小鼠和野生型小鼠前额叶皮层总 RNA 进行反转录,使用 UltraSYBR mixture 试剂盒进行检测。以 β -actin 为参考基因,每个 mRNA 的相对表达值通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算。差异基因引物序列见表 1。

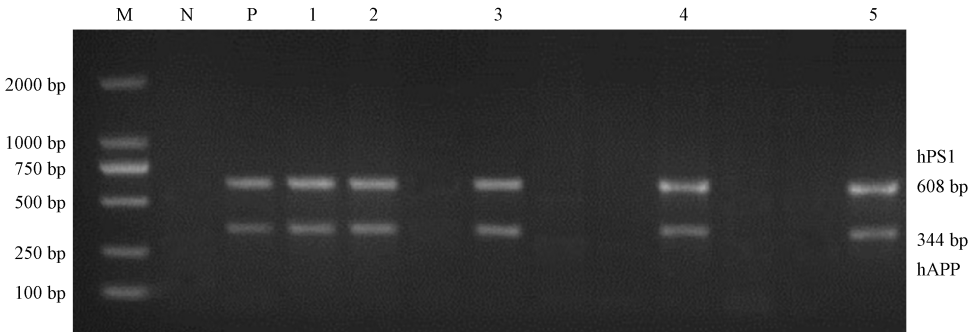
2 结果

2.1 APP swe /PS1 Δ E9 (PAP) 双转基因 AD 模型小鼠基因型鉴定

目的基因经 PCR 扩增后可分别在 344 bp 和 608 bp 附近位置出现明显的两条条带,即可确定为携带 APP/PS1 基因的阳性小鼠。如图 1 所示,两条带即为目的基因片段。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 Primers used for qRT-PCR

基因名 Gene name	引物序列 Primer sequence (5' - 3')	产物长度 Product size
<i>S100a9</i>	F1:CTGTGACTCTTTAGCCTTGAGCA R1:LGGTTATGCTGCGCTCCATCT	71 bp
<i>S100a8</i>	F1:TTCAAGACATCGTTTGAAAGGAAA R1:AGGTTGCTCAAGGCCTTCTC	71 bp
<i>Ttr</i>	F1:ATTCGCGGATGTGTTTTCAC R1:AATTCTGGGGGTTGCTGACG	116 bp
<i>Trem2</i>	F1:CAGTGTCAGAGTCTCCGAGG R1:CACAGGATGAAACCTGCCTGG	175 bp
<i>Lyz2</i>	F1:CATTCGAGCATGGGTGGC R1:AGAGGGGAAATCGAGGGAATG	169 bp
<i>Ctse</i>	F1:ACTACATCCTGCCGGACTTG R1:GGCCCAATCCCACCTTGCTTA	165 bp
β -actin	F1:GCCCATCTACGAGGGCTAT R1:ATGTCACGCACGATTCC	147 bp



注:M:Marker,N:阴性对照,P:阳性对照,1~5 为阳性小鼠。
图 1 APP swe /PS1 Δ E9 双转基因 AD 模型小鼠 DNA 鉴定结果
Note. M:Marker, N: negative control, P: positive control, 1-5 represent APP/PS1 mice.
Figure 1 Genotypic analysis of APP Swe/PS1 Δ E9 transgenic mice

2.2 Morris 水迷宫实验

结果如图 2 A 所示,在小鼠水迷宫空间探索阶段,AD 组相对于野生型小鼠自第三天起寻找平台所用的潜伏期即开始增加 ($P < 0.05$,第 3 ~ 6 天);如图 2B,2C 所示,AD 模型小鼠在水迷宫空间探索的穿越平台象限和穿越平台次数有明显下降 ($P < 0.05$)。

2.3 总 RNA 质量检测

AD 模型小鼠组与对照组前额叶皮层组织信息见表 2。脑组织 RNA 浓度符合测序要求(≥ 350 ng/ μ L)(表 2)。结果显示,所有 RNA 样品的 RIN 值均在 7.1~8.6 之间,证明这些 RNA 样品纯度和完整性可用于后续的文库构建及测序。

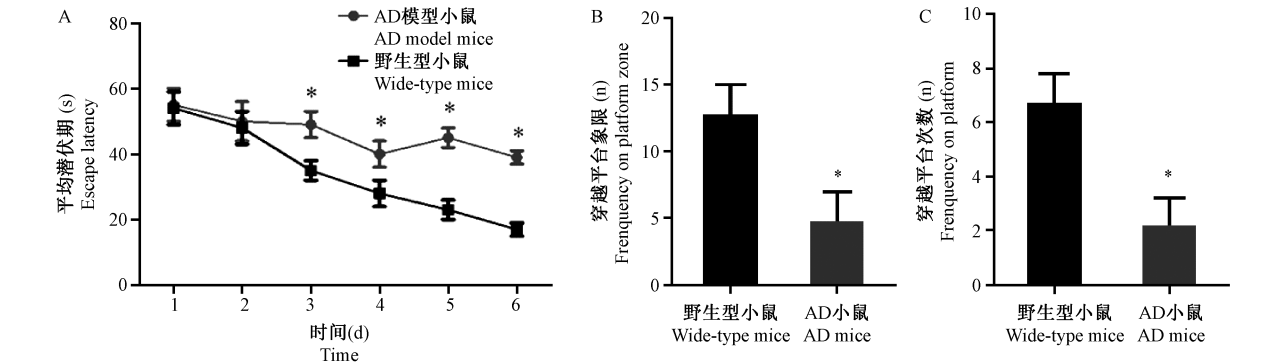
2.4 差异表达基因

在 AD 模型小鼠与野生型小鼠之间发现 224 个差异基因($P < 0.05$, $|\log FC| > 1.0$),其中 205 个

基因上调,19 个基因下调。前 20 个差异表达基因见表 3。绘制火山图(图 3 A)以展示差异显著性基因的整体分布情况。使用层次聚类对样本的表达值 RPKM 进行聚类分析(图 3B)。

2.5 GO 功能富集分析、KEGG 通路富集分析

为了揭示差异表达基因在 AD 模型小鼠中参与的生物学过程,对差异基因集进行 GO 功能富集分析、KEGG 通路富集分析。差异表达基因 GO 富集的生物过程(图 4A)主要有免疫反应、炎症反应等,富集的分子功能(图 4B)主要包括细胞膜、粗面内质网等,富集的细胞成分(图 4C)主要包括趋化因子活动以及 IgG 结合等。KEGG 富集分析结果(图 4D)显示差异基因参与了吞噬、溶酶体、Toll 样受体信号通路、细胞因子受体相互作用、NOD 样受体信号通路、肌蛋白病、NF- κ B 信号通路等。



注:A:隐藏平台实验中小鼠寻找平台所用的潜伏期;B和C分别是空间探索实验中小鼠穿越平台象限及平台的次数; * $P < 0.05$ 。

图 2 Morris 水迷宫实验

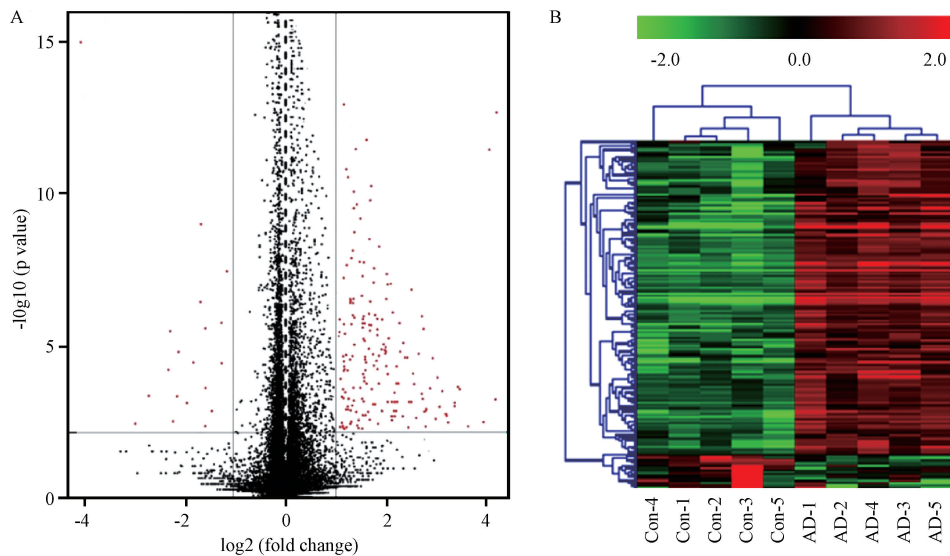
Note. A: Latency of mice among the groups during the 6-day learning trial in the hidden platform test. B and C: Frequency of crossing the platform zone as well as the platform itself in the probe trial, * $P < 0.05$.

Figure 2 Morris water maze test

表 2 AD 模型小鼠和对照组 RNA 样本检测结果
Table 2 RNA results for the prefrontal cortex of AD mice and the control group

样本号 CaseID	浓度 (ng/ μ L) Concentration	OD260/OD280	OD260/OD230	RIN	28S/18S
Con-1	494.29	1.86	2.42	7.5	1.7
Con-2	706.47	1.9	2.15	7.6	1.4
Con-3	331.07	1.91	2.03	7.8	2.1
Con-4	586.62	1.8	2.16	8.6	1.8
Con-5	455.04	1.89	2.39	7.3	1.9
AD-1	697.79	1.91	1.83	7.2	2.2
AD-2	457.34	1.89	2.33	7.4	1.2
AD-3	619.53	1.88	1.67	8.2	2
AD-4	452.66	1.86	2.39	7.1	1.7
AD-5	802.96	1.9	2.17	8.6	1.4

注:Con-1 ~ Con-5 是野生型小鼠的前额叶皮层组织,AD-1 ~ AD-5 是 AD 模型小鼠前额叶皮层组织,每组各 5 例,RNA 指控标准是:RIN ≥ 6.5 , 28S/18S > 0.8 和 260/280 > 1.8 。
Note: Con-1-Con-5 present five prefrontal cortex tissues of wide mice, AD-1-AD-5 present five prefrontal cortex tissues of AD mice, The standard for RNA allegations is: RIN ≥ 6.5 , 28S/18S > 0.8 and 260/280 > 1.8 .

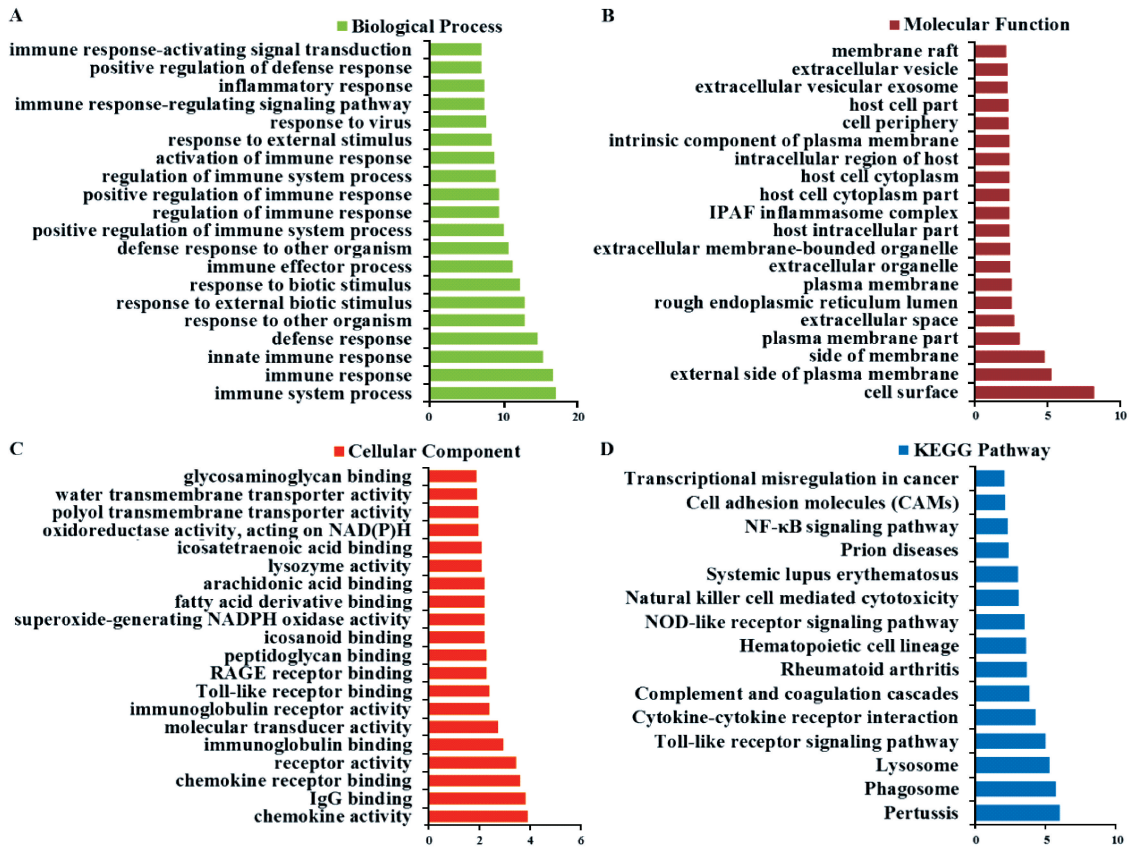


注: A: 横坐标表示基因在不同样本中的表达倍数变化 ($\log_2$ fold change), 纵坐标表示表达差异的显著性水平 ($-\log_{10} P\text{-value}$), 红色表示差异基因; B: 热图中红色表示高表达, 绿色表示低表达。

图 3 差异基因火山图和聚类热图

Note. A: The abscissa indicates the expression of multiple genes in different samples ($\log_2$ fold change) and the ordinate indicates the significance of the difference in expression ($-\log_{10} P\text{-value}$). The differentially expressed genes are indicated by red dots. B: High expression is shown in red, while low expression is shown in green.

Figure 3 Volcanic maps of differential expressed genes and Heat map



注: A: 生物过程; B: 分子功能; C: 细胞组成; D: KEGG 富集分析。

图 4 GO 和 KEGG 功能富集分析

Note. A: Biological process; B: Molecular function; C: Cellular component; D: KEGG enrichment analysis.

Figure 4 GO and KEGG enrichment analysis

表 3 AD 模型小鼠与对照组比较的差异基因
Table 3 Volcano maps of differentially expressed genes and heat map

基因 Gene	差异倍数 log2(FC)	P 值 P-value	描述 Description
<i>Ttr</i>	-5.53165	1.15E-16	甲状腺素运载蛋白,Transthyretin
<i>Tmem72</i>	-4.75904	3.66E-10	跨膜蛋白 72,transmembrane protein 72
<i>Cldn2</i>	-4.08108	6.12E-10	紧密连接蛋白 2,claudin 2
<i>Folr1</i>	-3.57971	1.68E-12	叶酸受体 1,folate receptor 1 (adult)
<i>Kcne2</i>	-3.29427	5.17E-11	钾离子门控通道亚家族成员 2,potassium voltage-gated channel subfamily E member 2
<i>Clic6</i>	-2.39222	6.8E-16	氯离子通道蛋白 6,chloride intracellular channel 6
<i>Slc4a5</i>	-2.22334	1.51E-06	溶质载体家族 4 成员 5,solute carrier family 4, member 5
<i>Aqp1</i>	-1.68066	9.29E-10	水通道蛋白 1,aquaporin 1
<i>S100a8</i>	-1.53256	1.31E-07	S100 钙结合蛋白 A8,S100 calcium binding protein A8
<i>S100a9</i>	-1.25226	4.71E-08	S100 钙结合蛋白 A9,S100 calcium binding protein A9
<i>Gpr65</i>	3.197633	2.95E-10	G 蛋白偶联受体 65,G-protein coupled receptor 65
<i>Trem2</i>	3.349059	3.74E-08	髓细胞激活受体 2,triggering receptor expressed on myeloid cells 2
<i>Niacr1</i>	3.645265	3.74E-10	烟酸受体 1,niacin receptor 1
<i>Lyz2</i>	3.667776	1.51E-07	溶酶体 2,lysozyme 2
<i>Cxcl10</i>	3.882138	1.14E-08	趋化因子配体 10,chemokine (C-X-C motif) ligand 10
<i>Ctse</i>	3.942664	2.22E-12	组织蛋白酶 E,cathepsin E
<i>Itgax</i>	4.674897	2.22E-05	整合素 X,integrin alpha X
<i>Clec7a</i>	4.774288	4.44E-11	C 型凝集素域 7 家族成员 A,C-type lectin domain family 7, member a
<i>Ccl3</i>	4.802679	4.44E-10	趋化因子配体 3,chemokine (C-C motif) ligand 3
<i>Cst7</i>	5.002011	4.44E-12	半胱氨酸蛋白酶抑制剂 3,cystatin F (leukocystatin)

2.6 实时荧光定量 PCR 对结果进行验证

根据嗜神经相关差异基因筛选结果和文献复习,选取 6 个关键基因进行 qRT-PCR 验证,其中包括 3 个上调基因: *Trem2*、*Lyz2*、*Ctse*, 3 个下调基因: *S100a8*、*S100a9*、*Ttr*。qRT-PCR 结果显示 6 个关键基因上、下调趋势与 RNA-Seq 结果(图 5)相一致。

3 讨论

在目前 AD 的研究过程中,APP /PS1 双转基因小鼠是最常用的动物模型,本实验所采用的 APP /PS1 双转转基因小鼠由本所遗传中心构建培育。该模型以 C57BL/6 J 小鼠为背景,含有人 APP swedish 突变位点 (K595 N/M596 L) 和人 PS1ΔE9 突变位点,其在 3 月龄出现学习和记忆缺陷,4.5 月龄开始出现老年斑^[3],9~12 月龄出现大量老年斑^[4-5],具有和 AD 患者相似的病理表型,本研究中 AD 模型小鼠较对照组小鼠空间学习记忆能力下降。该过程涉及多种基因及其产物之间的相互作用、多种信号通路相互调节和拮抗^[6-7],故在整体水平上研究 AD 模型小鼠基因转录的情况及转录调控规律十分必要。随着高通量技术的快速发展,RNA-Seq 技术日趋成熟。该技术对特定组织或细胞在某个时期转录出来的所有 mRNA 进行测序,可研究已知基因并能发现新基因,并可在不同的疾病状态、不同的环境条件下对以前未检测到的变化提供可见性。

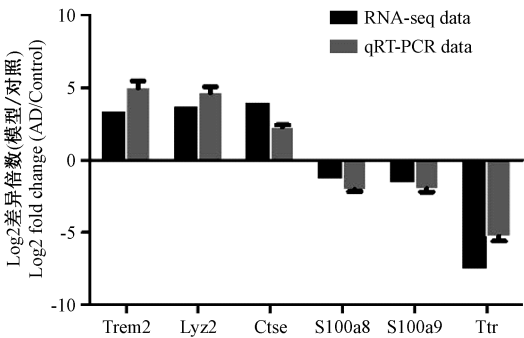


图 5 差异基因的 RNA-Seq 结果以及 qRT-PCR 的验证结果

Figure 5 Differentially expressed mRNAs as determined by RNA-Seq and the validation results through qRT-PCR

本研究针对 AD 模型小鼠和野生型小鼠前额叶皮层组织中基因表达水平变化,对差异表达基因进行功能分析;在这些差异的基因中选取 3 个上调的基因 (*Trem2*^[8], *Lyz2*^[9] 和 *Ctse*^[10]) 和 3 个下调的差异基因 (*Ttr*^[11], *s100a8* 和 *s100a9*^[12]),这 6 个基因在 AD 相关研究中均有异常表达,采用 qRT-PCR 做验证,结果显示,这些差异基因与测序结果表达一致,说明该技术重复性较好、可信度高。

本研究共发现 224 条差异表达基因,对差异表达基因进行 GO 功能和 KEGG 富集分析结果表明:差异表达基因主要参与了免疫反应和炎症反应、toll 样受体信号通路和细胞因子受体相互作用等重要

生物学通路。免疫反应相关的差异基因有 Toll 样受体 2 (toll-like receptor 2, TLR2)、Tlr、App、髓细胞激活受体 2 (triggering receptor expressed on myeloid cells 2, TREM2) 等。Trem2 基因在人类位于 6p21.1, 在 小鼠存在于 17 号染色体, 在多种髓系来源的细胞如树突状细胞, 破骨细胞, 组织巨噬细胞广泛表达^[8]。有证据表明, 过表达 AD 小鼠 TREM2 水平可改善小鼠认知功能^[13], 敲除 TREM2 基因出现明显的 A β 沉积和小胶质细胞功能障碍^[14], 从而加重小鼠的认知损害。总之, TREM2 对小胶质细胞发挥抗炎、吞噬和清除凋亡神经元以及 A β 具有重要作用。本研究中, AD 小鼠模型前额叶皮层组织 TREM2 基因表达上调, 可能提示其表达水平的增加是一种抵御过度沉积 A β 的良性代偿反应。本研究中 AD 脑中 Tlr 表达显著增多, Tlr 活化后可激活 NF- κ B, 促进各种炎性细胞因子的产生。伴随炎性因子及氧自由基的产生^[11], 致使炎性因子及氧自由基堆积, 可损伤蛋白质、DNA 和脂质过氧化物等生物大分子, 引起神经细胞发生凋亡, 加重 AD 的损伤作用。当然, 上述基因的差异表达是否参与 AD 相关的免疫炎症反应, toll 样信号通路还需要作进一步深入研究。

综上所述, 本研究通过 RNA-Seq 得到了 AD 模型小鼠前额叶皮层组织中高度相关差异基因, 为阐明 AD 的发病机制提供了重要实验依据。

参考文献:

- [1] Boublay N, Schott AM, Krolak-Salmon P. Neuroimaging correlates of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: a review of 20 years of research [J]. Eur J Neurol, 2016, 23 (10):1500 - 1509.
- [2] 龚梦鹃, 王立为, 刘新民. 大小鼠游泳实验方法的研究概况 [J]. 中国比较医学杂志, 2005, 15(5): 311 - 314.
- [3] Holcomb L, Gordon MN, McGowan E, et al. Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes [J]. Nat Med, 1998, 4(1): 97 - 100.
- [4] 宗园媛, 王晓映, 王海林, 等. APP/PS 双转基因阿尔茨海默病小鼠模型的老年斑及行为学动态分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(9): 8 - 12.
- [5] Zhou L, Liu J, Dong D, et al. Dynamic alteration of neprilysin and endothelin-converting enzyme in age-dependent APPswe/PS1dE9 mouse model of Alzheimer's disease [J]. Am J Transl Res, 2017, 9(1): 184 - 196.
- [6] Lee DY, Moon J, Lee ST, et al. Distinct Expression of Long Non-Coding RNAs in an Alzheimer's Disease Model [J]. J Alzheimers Dis, 2015, 45(3): 837 - 849.
- [7] Blalock EM, Geddes JW, Chen KC, et al. Incipient Alzheimer's disease: microarray correlation analyses reveal major transcriptional and tumor suppressor responses [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(7): 2173 - 2178.
- [8] Ito H, Hamerman JA. TREM-2, triggering receptor expressed on myeloid cell-2, negatively regulates TLR responses in dendritic cells [J]. Eur J Immunol, 2012, 42(1): 176 - 185.
- [9] Sassi C, Ridge PG, Nalls MA, et al. Influence of Coding Variability in APP-Abeta Metabolism Genes in Sporadic Alzheimer's Disease [J]. PloS one, 2016, 11(6): e0150079.
- [10] Mackay EA, Ehrhard A, Moniatte M, et al. A possible role for cathepsins D, E, and B in the processing of beta-amyloid precursor protein in Alzheimer's disease [J]. Eur J Biochem, 1997, 244(2):414 - 425.
- [11] Economou NJ, Giammona MJ, Do TD, et al. Amyloid beta-Protein Assembly and Alzheimer's Disease: Dodecamers of Abeta42, but Not of Abeta40, Seed Fibril Formation [J]. J Am Chem Soc, 2016, 138(6): 1772 - 1775.
- [12] Shepherd CE, Goyette J, Utter V, et al. Inflammatory S100A9 and S100A12 proteins in Alzheimer's disease [J]. Neurobiol Aging, 2006, 27(11):1554 - 1563.
- [13] Jiang T, Tan L, Zhu XC, et al. Upregulation of TREM2 ameliorates neuropathology and rescues spatial cognitive impairment in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease [J]. Neuropsychopharmacol, 2014, 39(13): 2949 - 2962.
- [14] Wang Y, Cella M, Mallinson K, et al. TREM2 lipid sensing sustains the microglial response in an Alzheimer's disease model [J]. Cell, 2015, 160(6): 1061 - 1071.

[收稿日期]2018 - 05 - 15