·论著·

口腔-神经疾病研究中的秀丽隐杆线虫阿尔茨海默病模型转录组特征分析

丁天宇 白新娜 王雅丽 申婷 张剑英
口腔健康研究湖南省重点实验室,中南大学湘雅口腔医学院,湘雅口腔医院,长沙 410080
通信作者:张剑英,Email:zhjianying@csu.edu.cn

【摘要】 **目的** 利用秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)阿尔茨海默病(AD)模型,通过转录组测序分析探究其早期分子病理机制,为口腔-神经疾病研究提供实验平台。**方法** 采用Illumina HiSeq平台对野生型N2和泛神经元表达人源$A\beta_{1-42}$的AD模型(CL2355)线虫进行转录组测序。通过差异表达分析、基因本体(GO)功能富集分析、京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析和基因集富集分析(GSEA),系统研究基因表达谱的改变。**结果** 与野生型相比,AD模型中鉴定出1 899个上调基因和2 018个下调基因。GO分析显示,上调基因显著富集于神经突起导向和细胞分化等过程,下调基因主要涉及mRNA剪接和DNA修复。KEGG分析发现,药物代谢和异物代谢通路显著上调,而RNA监控和内吞作用通路下调。GSEA分析揭示,细胞凋亡通路显著下调(经归一化的富集分数NES=-1.775,P=0.008 1),其关键基因*ced-9*、*ced-3*等表达降低。**结论** 本研究通过转录组分析揭示了AD线虫模型中基因表达的系统性变化,为探索口腔感染因素在AD发病中的作用提供了理想的实验模型。

【关键词】 阿尔茨海默病; 秀丽隐杆线虫; 转录组分析; 差异基因表达; 细胞凋亡通路
基金项目:湖南省卫生健康委国家临床重点专科重大科研专项(20230146)
引用著录格式:丁天宇,白新娜,王雅丽,等. 口腔-神经疾病研究中的秀丽隐杆线虫阿尔茨海默病模型转录组特征分析[J/OL]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2025,19(3):160-169.
DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2025.03.003

Transcriptomic analysis of *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease for oral-neural disease research

Ding Tianyu, Bai Xinna, Wang Yali, Shen Ting, Zhang Jianying
Hunan Key Laboratory of Oral Health Research, Central South University, Xiangya School of Stomatology, Xiangya Stomatological Hospital, Changsha 410080, China
Corresponding author: Zhang Jianying, Email: zhjianying@csu.edu.cn

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the molecular pathological mechanisms of Alzheimer's disease (AD) through transcriptome analysis using *Caenorhabditis elegans* as a model organism, aiming to provide an *in vivo* experimental platform for oral-neural disease research. **Methods** Transcriptome sequencing was performed on wild-type N2 and AD model worms (CL2355) expressing pan-neuronal human $A\beta_{1-42}$ using Illumina HiSeq platform. Differential expression analysis, gene ontology (GO) enrichment analysis, Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway analysis, and gene set enrich analysis (GSEA) were conducted to systematically detect changes in gene expression. **Results** Compared to wild-type, 1 899 upregulated and 2 018 downregulated genes were identified in the AD model. GO analysis revealed significant enrichment of upregulated genes in neurite guidance and cell differentiation, while downregulated genes were enriched in mRNA splicing and DNA repair. KEGG analysis showed significant upregulation of drug and xenobiotic metabolism pathways, and downregulation of RNA surveillance and endocytosis pathways. GSEA revealed significant downregulation of the apoptosis pathway [normalized enrichment score (NES) = -1.775, P = 0.008 1] with decreased expression of key genes including *ced-9* and *ced-3*. **Conclusions** This study revealed systematic changes in gene expression in the

C.elegans AD model, providing an ideal experimental model for investigating the role of oral infection factors in AD pathogenesis.

【Key words】 Alzheimer's disease; *Caenorhabditis elegans*; Transcriptome; Differential gene expression; Apoptosis pathway

Fund program: Major Scientific Research Project of National Key Clinical Specialty by the Health Commission of Hunan Province (20230146)

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2025.03.003

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)是一种进行性神经退行性疾病,已成为全球重要的公共卫生问题。据世界卫生组织报道,截至2023年全球约有超过5 500万AD患者,受人口老龄化影响,预计到2050年患病人数将激增至1.52亿[1-2]。我国60岁及以上人群中AD患者约为983万,预计到2050年中国AD患者数量将显著增加,相关治疗总费用将超1.8万亿美元[3]。AD的主要临床表现为进行性认知功能障碍,特别是记忆力减退和智力衰退。其病理特征包括β淀粉样蛋白(amyloid β-protein,Aβ)的细胞内沉积[4-5]、微管相关蛋白(microtubule-associated protein Tau,Tau蛋白)的异常磷酸化及胆碱能神经元的进行性丧失[4,6-7]。秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)作为模式生物,在神经退行性疾病研究中具有独特优势。其基因组已完成全序列测序,拥有超过2 000个位点的精确遗传图谱,并且约60%~80%的人类疾病相关基因在线虫中具有同源基因[8]。与哺乳动物模型相比,秀丽隐杆线虫虽然不会自发形成Aβ沉积和Tau蛋白异常聚集(与异常磷酸化密切相关),但可通过基因编辑方式引入人源性基因,构建特异性表达Aβ病理[9-10]及Tau病理的AD模型[11-12]。近年来,口腔-神经轴(oral-neural axis)的概念逐渐获得关注。研究发现,口腔健康状况与多种神经退行性疾病的发生、发展密切相关[13]。在AD患者中,慢性牙周炎的发生率显著升高,提示口腔感染可能是AD发病的重要危险因素[14]。然而,口腔微生物及其代谢产物如何影响神经系统功能、加速神经退行性病变的分子机制尚未完全阐明。这在很大程度上受限于缺乏合适研究口腔-神经相互作用的实验模型。

本研究采用的CL2355转基因线虫模型具有独特优势。首先,通过温控启动子snb-1调控人源$A\beta_{1-42}$在泛神经元中表达[9-10],可以精确控制疾病模型的建立时间;其次,该模型在温度上升至23 ℃时会诱导Aβ的表达,表现出显著的行为缺陷,包括趋化行为异常、运动协调能力下降等神经功能紊乱表型,与AD早期症状相似[9-10]。最重要的是,线虫简单透明的身体和遗传背景使其特别适合研究外源性因素(如口腔微生物及其代谢产物)对神经系统的影响。本研究通过转录组测序分析该模型,旨在筛选和鉴定与AD相关的差异表达基因(differentially expressed gene,DEG)及其调控通路,为研究口腔-神经疾病的分子机制奠定基础。

材料与方法

一、秀丽隐杆线虫的培养

实验所用野生型N2[基因型:*C. elegans* wild isolate]和AD模型CL2355[基因型:smg-1(cc546) dvIs50 I][9-10]线虫均购自线虫遗传中心(Caenorhabditis Genetics Center, CGC; https://cgc.umn.edu/)。线虫在20 ℃培养于线虫生长培养基(Nematode Growth Medium,NGM)的平板上,以大肠杆菌OP50为食物源。CL2355转基因株系在23 ℃培养以诱导$A\beta_{1-42}$的表达。收集同步化的第3天成年线虫用于后续实验,每组各有5个生物学重复。

二、转录组测序

使用TRIzol试剂(Invitrogen, Life technologies, California,美国)提取线虫总RNA。首先使用NanoDrop、Qubit 2.0和Agilent 2100生物分析仪分别检测RNA样品的纯度、浓度和完整性[RNA完整值(RNA integrity number,RIN)>8.0]。合格RNA样品的文库构建按以下步骤进行:(1)利用Oligo(dT)磁珠富集mRNA;(2)在片段化缓冲液中将mRNA随机打断;(3)以片段化的mRNA为模板,使用随机六聚体引物合成cDNA第一链,随后加入聚合酶链反应(PCR)缓冲液、dNTPs、RNase H和DNA聚合酶Ⅰ合成第二链,使用AMPure XP磁珠纯化cDNA;(4)对双链cDNA进行末端修复,加A尾并连接测序接头,使用AMPure XP磁珠选择300~400 bp大小的片段;(5)对获得的cDNA片段进行PCR扩增,构建最终的cDNA文库。文库质控采用Qubit 2.0测定cDNA浓度,Agilent 2100检测插入片段大小,并通过

定量PCR获得准确的文库浓度(>2 nmol/L)。合格的文库使用Illumina NovaSeq 6000平台进行PE150双端测序。

三、生物信息学分析

1. 数据处理与基因表达分析:原始测序数据经质控和过滤后,使用HISAT2将高质量读段(clean reads)比对至秀丽隐杆线虫参考基因组(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_000002985.6/, WBcel235/ce11)。使用StringTie定量基因和转录本表达水平,以每百万个转录本千碱基的片段数(fragments per kilobase of transcript per million, FPKM)为表达量单位[15]。差异表达分析采用DESeq2 R包进行[16],以倍数变化(FoldChange)>1.5且调整后P值(P-adj)<0.05为标准筛选DEG,通过Benjamini-Hochberg校正用于控制错误发现率(false discovery rate, FDR),确保在多重假设检验中显著结果的可靠性。计算Spearman′s变异系数,评估基因表达在重复样本间的一致性。

2. 功能富集分析:使用clusterProfiler R包进行功能富集分析:

(1)基因本体(gene ontology, GO)功能富集分析:基于Gene Ontology数据库,从分子功能(molecular function, MF)、细胞组分(cellular component, CC)和生物过程(biological process, BP)3个层面注释DEG功能[17]。

(2)京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析:利用KEGG数据库对差异表达基因进行通路映射和富集[18]。

(3)基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA):使用fgsea R包进行GSEA,评估预定义基因集在基因表达谱中的分布特征[19]。

四、统计学处理方法

实验分为野生型组(对照组)和AD模型组(实验组)两组进行比较。采用GraphPad Prism10对目标基因的FPKM值进行组间比较,使用独立样本t检验计算统计学差异,检验水准双侧$\alpha=0.05$。

结　果

一、阿尔茨海默病模型中基因表达谱的整体变化

DEG分析表明,与野生型相比,AD模型中共有1 899个基因表达上调,2 018个基因表达下调。展示差异分析的散点图MA图(minus- versus-add,图1A)和相关性分析(图1B)显示样本间数据质量良好,具有较高的可重复性。聚类热图进一步证实了差异基因在野生型和AD模型样本中具有显著的表达模式差异(图1C)。

二、差异表达基因的功能分类

GO功能富集分析揭示DEG在3个主要维度均表现出显著差异(图2)。在生物过程方面,差异基因主要富集于细胞过程、代谢过程和生物调节等功能类别,其中上调基因数量在细胞过程中最为显著(约650个)。细胞组分方面,差异基因主要富集于细胞解剖实体、细胞内结构和蛋白质复合物等,其中细胞解剖实体相关基因数量最多(约950个)。分子功能方面,结合活性、催化活性和转运体活性是主要富集类别,其中结合活性相关基因数量最多(约650个)。

三、差异表达基因的基因本体功能富集分析

进一步对富集基因的生物过程进行详细分析发现,上调基因主要富集于神经突起导向、铁离子稳态、P颗粒组装、细胞分化和细胞质翻译起始复合物形成等生物过程(图3A);下调基因主要富集于mRNA加工剪接、碱基切除修复、RNA聚合酶Ⅱ转录延伸和胚胎发育形成等过程(图3B)。这些结果提示,AD模型中基因表达调控、RNA加工和DNA修复等基本细胞功能发生显著改变。

四、京都基因与基因组百科全书通路注释及分类

KEGG通路分析结果显示,差异基因主要富集于细胞过程、环境信息处理、遗传信息处理、代谢和生物系统5大类(图4)。通路总体分析表明,溶酶体(6.70%)、内吞作用(3.89%)和自噬(3.67%)在细胞过程类中占比最高;丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路(3.46%)和Wnt信号通路(3.13%)在环境信息处理类中突出;蛋白质加工和剪切体(3.89%和3.78%)在遗传信息处理类中显著;药物代谢(3.67%)和脂肪酸代谢等在代谢类中占主导;轴突再生(3.56%)和长寿调节通路(3.35%)在生物系统类中最为显著。

五、差异基因的京都基因与基因组百科全书通路富集分析

进一步富集分析发现,上调基因主要富集于以下通路:过氧化物酶体、药物代谢、脂肪酸代谢和视黄醇代谢等代谢相关通路(图5A)。下调基因显著富集于mRNA监控通路、内吞作用和剪切体等通

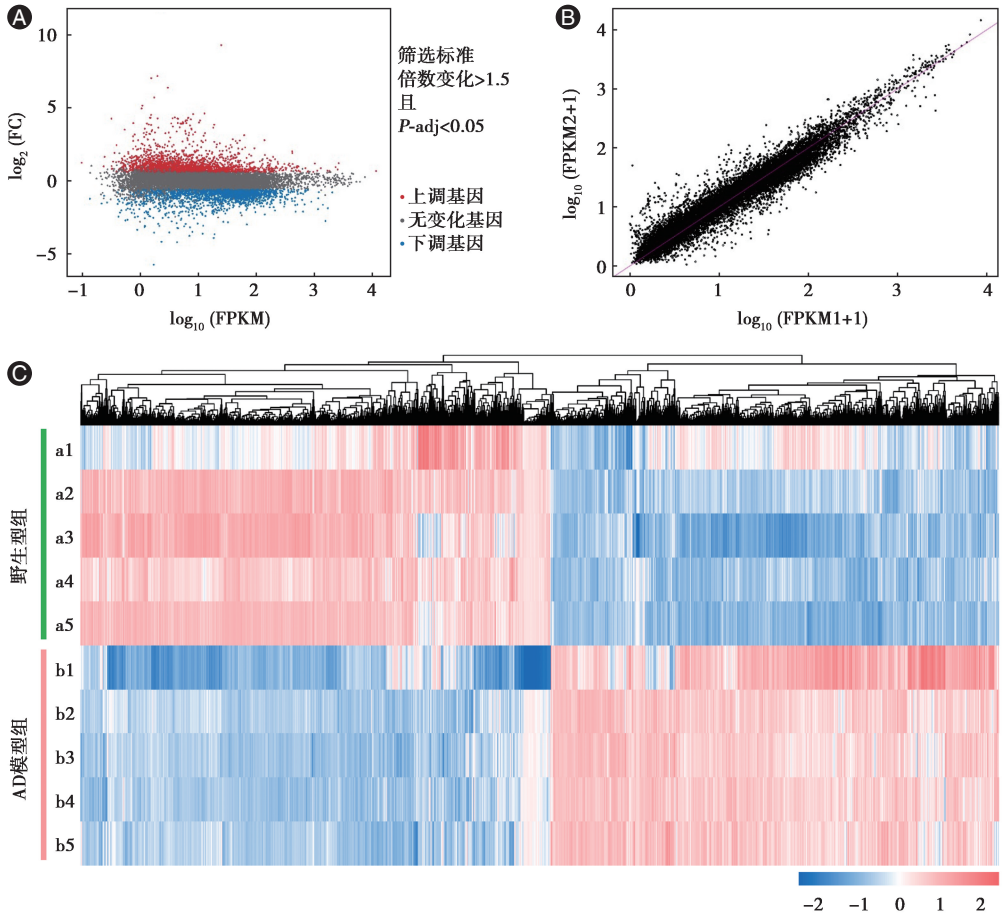

图1 野生型与阿尔茨海默病(AD)模型秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)的转录组分析 A:MA图显示差异表达基因(DEG)的分布,红点表示上调基因(1 899个基因),蓝点表示下调基因(2 018个基因),灰点表示无显著变化的基因(筛选标准:倍数变化>1.5且*P*-adj<0.05);B:样本间基因表达水平的组内相关性分析,每个点代表1个基因,其*x*轴和*y*轴坐标分别对应实验组和对照组中经过转换后的表达水平,点聚集在对角线附近表明组间相关性较高,而偏离对角线的点代表DEG;C:DEG的层次聚类热图,a1~a5:野生型样本,b1~b5:AD模型样本,红色表示高表达,蓝色表示低表达。

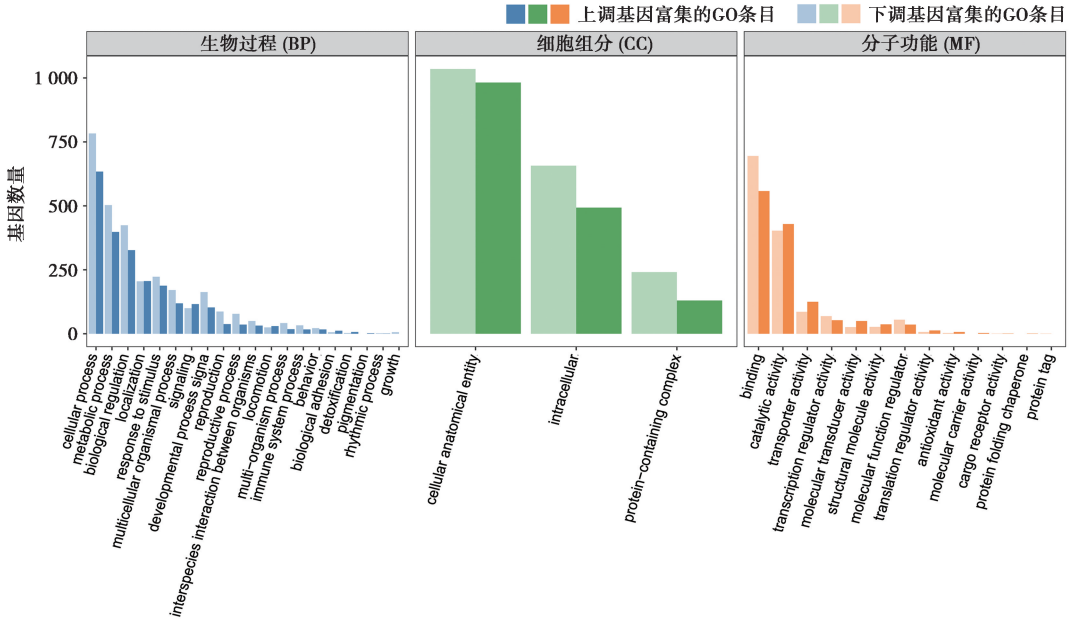

图2 差异表达基因(DEG)的基因本体(GO)功能分类 柱状图显示DEG在BP、CC和MF 3个GO维度的分布;深色和浅色分别代表上调和下调基因;其中BP主要涉及细胞过程和代谢过程,CC主要涉及细胞解剖实体和细胞内结构,MF主要涉及结合和催化活性。

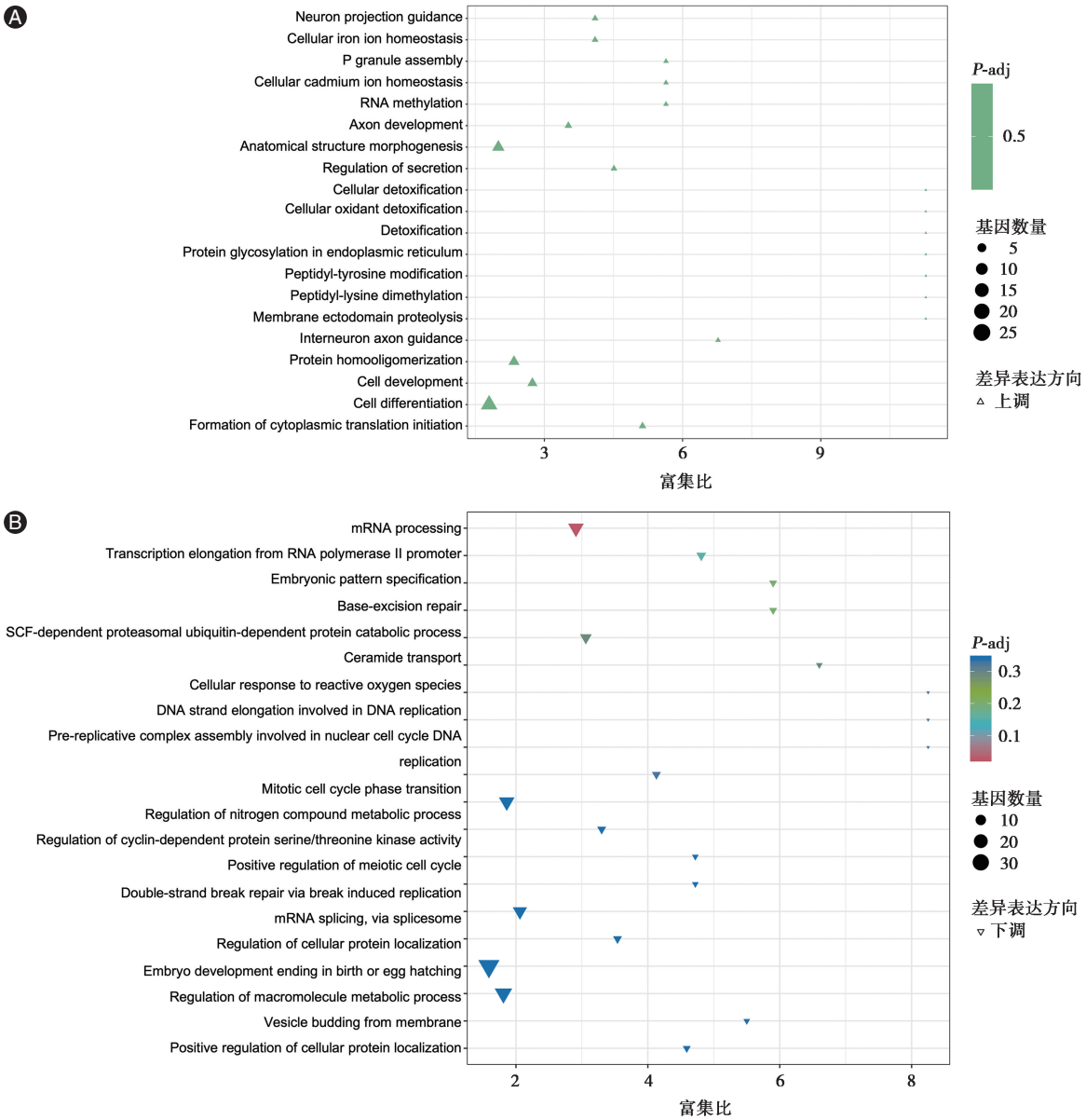

图3 差异表达基因(DEG)的生物过程(BP)富集分析 A:上调基因富集的前20个BP;B:下调基因富集的前20个BP。气泡大小表示基因数量,颜色深浅表示富集显著性。

路。此外,多个与AD相关的信号通路如Wnt、MAPK和转化生长因子β(transforming growth factor-β,TGF-β)通路也呈现显著改变。这些结果揭示了AD模型中代谢网络和信号转导的系统性变化(图5B)。

六、细胞凋亡通路的基因表达特征

GSEA富集分析发现多物种共有的细胞凋亡通路在AD模型中显著下调(经归一化的富集分数NES=-1.775,P=0.008 1,图6A)。蛋白互作网络分析进一步验证了关键基因间存在显著相互作用(PPI富集,P=5.81e-14,图6B)。细胞凋亡通路中的4个关键基因(*ced-9*、*ced-3*、*bir-1*和*bir-2*)在AD模型中的表达水平均显著低于野生型,*csp-1*的表达水平无差异(图6C),提示细胞凋亡通路的功能发生异常。

讨 论

一、CL2355转基因线虫作为阿尔茨海默病模型的特点与优势

本研究通过转录组测序分析揭示了泛神经元表达人源$A\beta_{1-42}$的线虫模型中的基因表达改变。CL2355是一个独特的AD模型,其通过温度诱导在神经元中表达人源$A\beta_{1-42}$。该模型的特点是可以控制$A\beta_{1-42}$的表达时间[10,20],能够研究$A\beta_{1-42}$介导的早期毒性效应。本课题组选择第3天成虫进行转录组测序,这个时间点反映了$A\beta_{1-42}$表达后神经系统的早

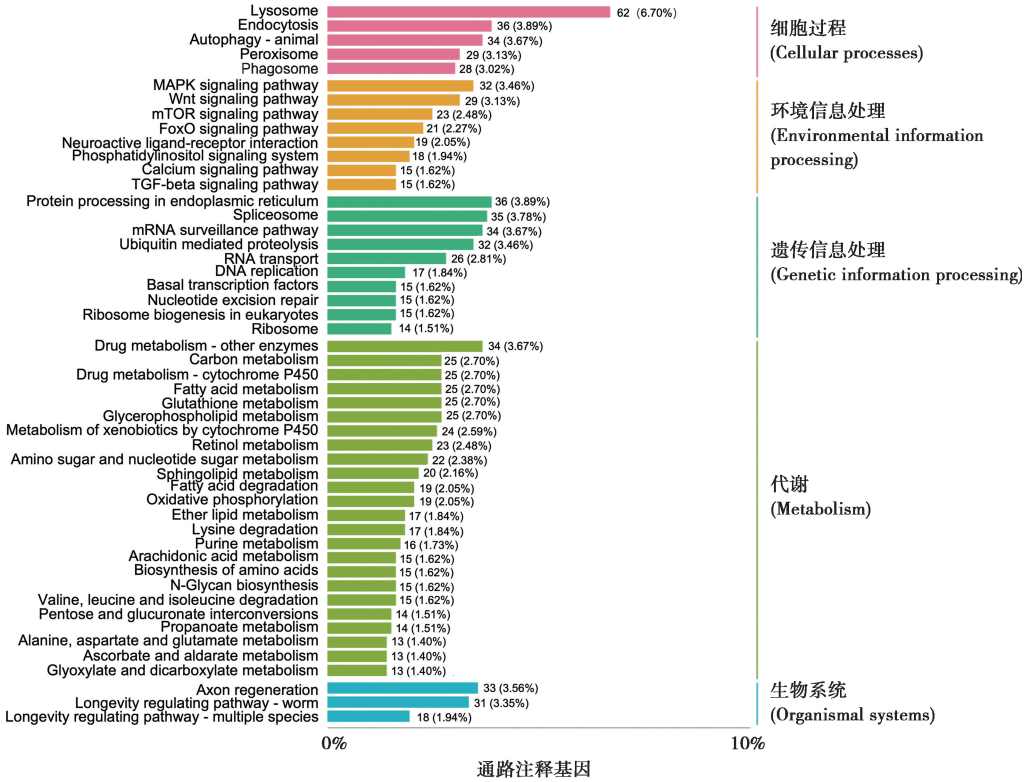

图4 差异表达基因(DEG)的京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分类 柱状图显示DEG在细胞过程、环境信息处理、遗传信息处理、代谢和生物系统5大类KEGG通路中的分布。数字表示注释到相应通路的基因数量、括号内数字表示占总DEG百分比。

期反应[21],也为后续研究口腔因素对神经系统的影响提供了合适的时间窗口。

二、转录组分析揭示的Aβ_{1-42}诱导神经元反应的两阶段模型

转录组分析结果揭示的差异基因表达模式提示,神经元对Aβ_{1-42}的反应可能经历了2个阶段:防御期和功能障碍期。在防御期,细胞通过上调药物代谢和异物代谢等解毒通路来应对Aβ_{1-42}的毒性。这种防御反应与其他神经退行性疾病模型中观察到的相似[22],表明这可能是神经元面对蛋白质毒性的共同防御机制。然而,持续的Aβ_{1-42}表达最终导致功能障碍期的出现,表现为关键信号通路(如Wnt、MAPK和TGF-β)的下调,而这些通路在调节神经元存活和突触可塑性中发挥重要作用[23-26],这些分子水平的改变与CL2355模型表现出的行为学缺陷相一致。

三、基因表达改变揭示的神经元功能障碍机制

这些基因表达的变化不仅揭示了Aβ_{1-42}对神经元的直接影响,还可能反映了更广泛的细胞功能障碍,包括代谢紊乱和信号传导异常。药物和异物代谢通路的上调可能通过增加细胞对Aβ_{1-42}的解毒能力,缓解其诱导的蛋白毒性应激,反映了细胞的一种代偿性防御机制[22]。药物和异物代谢通路的上调还可能导致细胞能量代谢的重新分配,进而影响神经元的正常功能。例如,能量代谢的改变可能影响神经元的突触可塑性和信号传导,导致行为缺陷,如趋化行为异常和运动协调能力下降。然而,伴随mRNA监控和DNA修复通路的下调可能导致异常RNA和DNA损伤的积累,进而影响蛋白合成和基因组稳定性,加剧神经元功能障碍[23]。这些转录改变可能与CL2355模型中观察到的趋化行为缺陷和神经元功能障碍有关,进一步支持了Aβ_{1-42}介导的神经毒性机制。从而导致该模型存在趋化行为缺陷和对5-羟色胺(5-HT)超敏感性[27],提示神经元中Aβ_{1-42}的表达可能通过影响这些关键信号通路来干扰神经系统功能。

四、细胞凋亡通路下调与阿尔茨海默病早期病理特征的关系

值得注意的是,GSEA分析发现细胞凋亡通路的显著下调,可能反映了AD早期神经元的功能障碍,而非直接的细胞死亡。这与AD早期突触功能障碍的观点一致,即神经元在死亡之前经历了功能退化[28-29]。此外,通过比较药物代谢和异物代谢通路的上调,以及mRNA监控、DNA修复和转录调控相关通路的下调,推测CL2355模型中可能存在“代

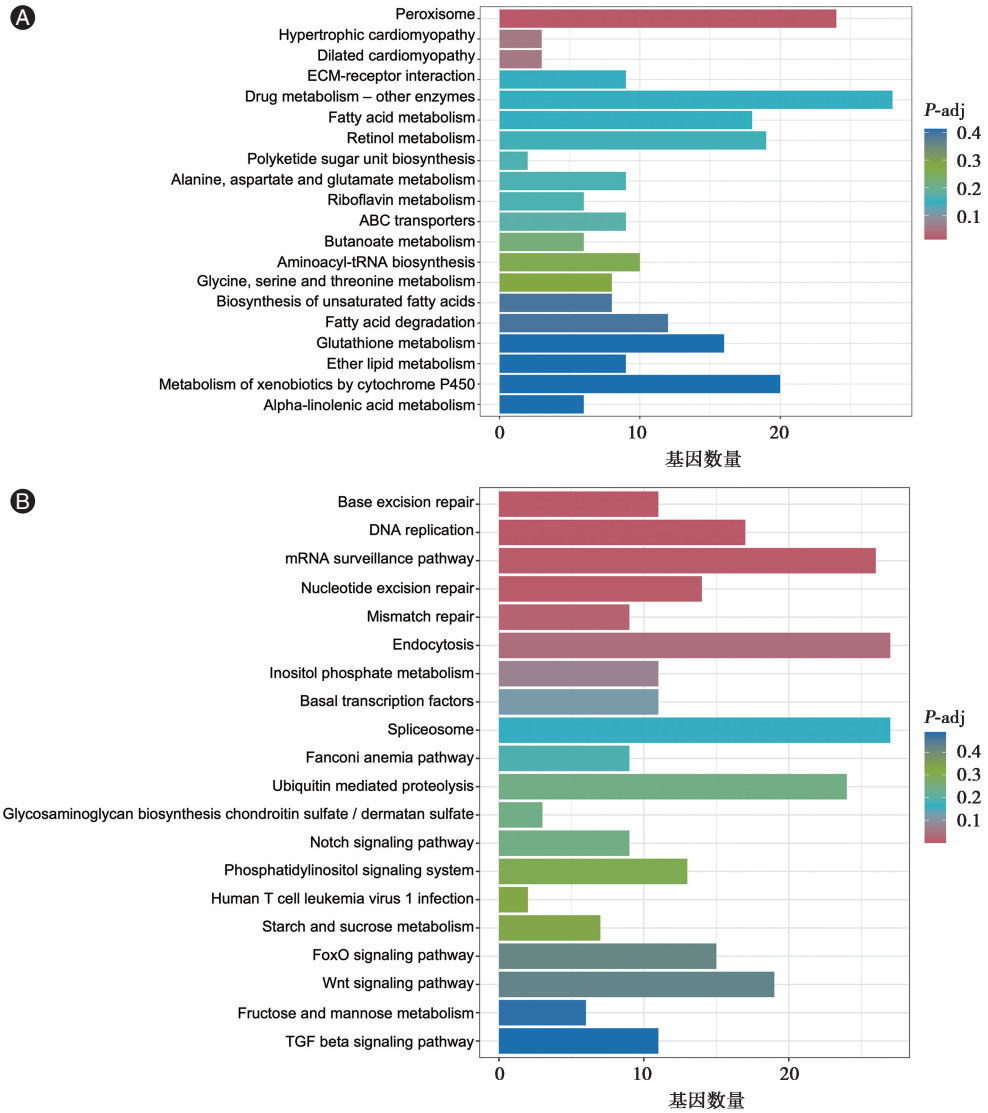

图5 差异表达基因(DEG)的京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 A:上调基因富集的前20个KEGG通路;B:下调基因富集的前20个KEGG通路。柱长表示基因数量,颜色深浅表示富集显著性。

偿-损伤"的双重效应:一方面细胞通过激活代谢通路来应对 $A\beta_{1-42}$ 毒性,另一方面基因表达调控和DNA修复等基本细胞功能受到抑制。这种分子水平的改变模式为理解AD早期病理机制提供了新的视角。

五、研究局限性与未来展望

本研究存在一些局限性需要在未来工作中进一步完善。首先,对于转录组测序发现的DEG,尤其是细胞凋亡通路相关基因(如*ced-9*、*ced-3*等),需要通过定量PCR进行验证。此外,对于发现的显著变化的信号通路,如Wnt和MAPK通路,可以通过特异性激活剂或抑制剂等来验证其在 $A\beta_{42}$ 介导的神经毒性中的作用。这些验证实验将使研究者更准确地理解转录组变化与表型之间的因果关系。

六、秀丽隐杆线虫模型在口腔-神经轴研究中的应用前景

CL2355模型的独特优势在于可以研究神经元早期对 $A\beta_{1-42}$ 的反应,这使其成为研究口腔-神经系统相互作用的理想工具[30]。随着人口老龄化加剧,老年性痴呆与口腔健康的关系,口腔-神经轴在神经退行性疾病发病中的作用日益受到关注[31]。利用CL2355模型研究口腔致病菌与 $A\beta_{1-42}$ 病理之间相互作用,是基于日益认识到口腔-神经轴在AD中的作用[14]。流行病学研究已将牙周病确定为AD的潜在危险因素[13],临床前证据表明,口腔致病菌来源的毒力因子(如脂多糖、牙龈素和外膜囊泡)可加重神经炎症和Aβ累积[31-34]。秀丽隐杆线虫模型提供了一个独特平台,可直接评估这些毒力因子对暴露

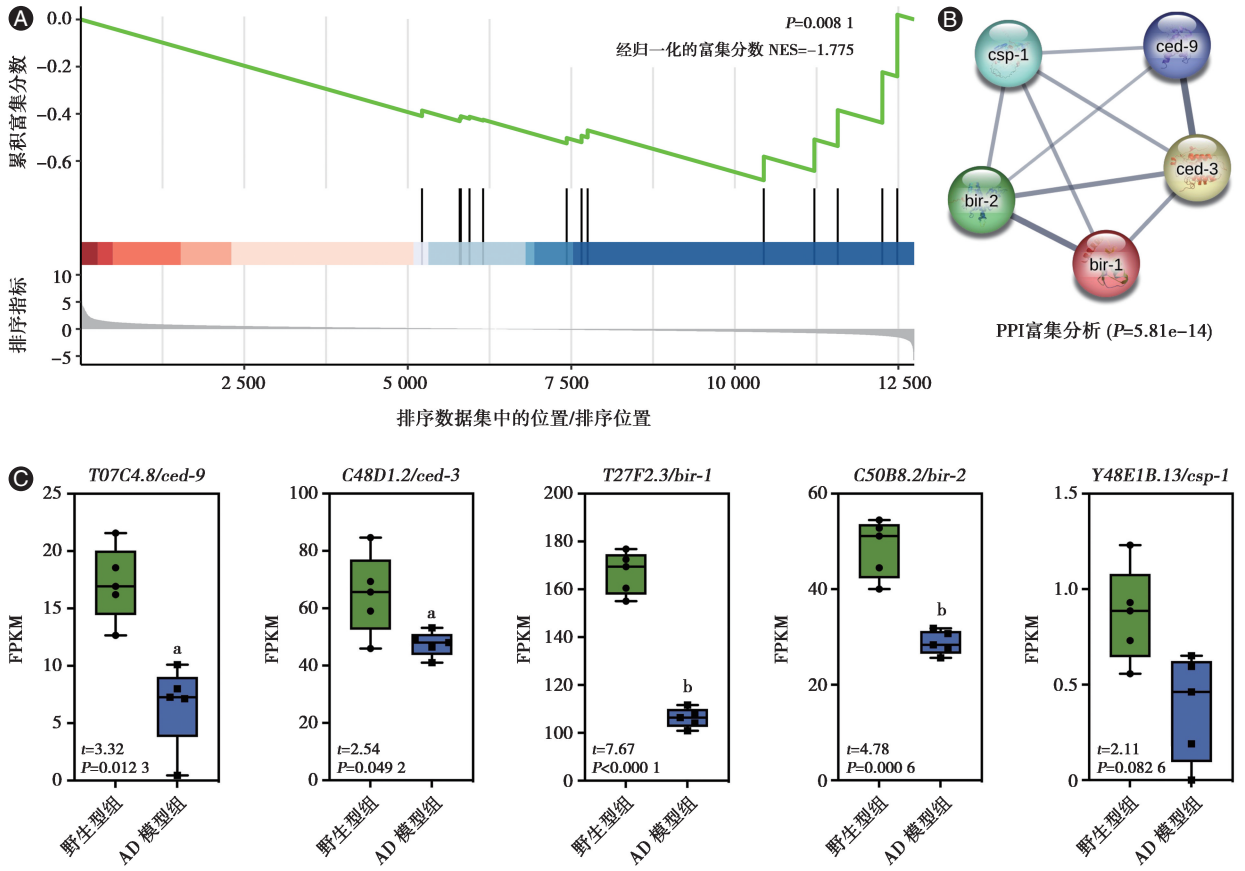

图6 基因集富集分析(GSEA)及凋亡通路关键基因的表达 A:GSEA显示阿尔茨海默病(AD)模型中多物种共有的细胞凋亡通路的显著下调;B:蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络分析凋亡通路中的关键基因(P=5.81e−14);C:关键基因表达水平的箱线图,细胞凋亡通路中5个关键基因(*T07C4.8/ced-9*、*C48D1.2/ced-3*、*T27F2.3/bir-1*、*C50B8.2/bir-2*和*Y48E1B.13/csp-1*)在野生型和AD模型秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)中的表达水平(FPKM为每百万个转录本千碱基的片段数);线条表示中位数,箱体表示四分位距,触须表示最大和最小值;[a]$P<0.05$,[b]$P<0.001$,每组$n=5$生物学重复。

于$A\beta_{1-42}$的神经元的影响。具体的实验方法可包括:在诱导$A\beta_{1-42}$表达的同时共同给予纯化的LPS或牙龈素,评估其对功能性神经元产生的影响及炎症信号通路的变化[35]。此外,与活的口腔致病菌进行共培养实验,可洞察细菌感染与$A\beta_{1-42}$病理之间的动态相互作用[36]。这些研究不仅有助于理解AD的复杂病理机制,还可能为开发新的预防和治疗策略提供重要线索。阐明口腔菌群失调与AD发病机制之间的联系可能具有重要的临床意义[37-38]。

七、总结与展望

综上所述,本研究通过转录组分析揭示了AD线虫模型中基因表达的系统性改变,特别是基因表达调控通路的下调和代谢防御通路的上调。这些分子水平的改变为理解$A\beta_{1-42}$介导的神经元功能障碍提供了新的机制见解。本研究建立的AD线虫模型(CL2355)为研究口腔-神经系统相互作用提供了理想平台,特别是在探究口腔致病菌毒力因子与AD发病关系方面具有独特优势。未来研究可以进一步验证这些转录改变与AD早期病理机制的因果关系,特别是通过基因敲除或过表达实验来验证关键基因和信号通路在特定神经元功能中的作用。此外,可以探索口腔感染因素(如牙周病原菌)如何通过影响这些转录改变来加剧AD的病理进程,为老年口腔医学与神经退行性疾病的关系研究提供新的思路,为开发新的预防和治疗策略提供重要线索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 丁天宇:酝酿和设计实验、实施研究、采集数据、分析/解释数据、起草文章、统计分析;白新娜、王雅丽、申婷:起草文章、对文章的知识性内容作批评性审阅;张剑英:酝酿和设计实验、实施研究、采集数据、分析/解释数据、起草文章、对文章的知识性内容作批评性审阅、统计分析、获取研究经费、行政、技术或材料支持、指导

参 考 文 献

[1] GBD 2019 Dementia Forecasting Collaborators. Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence

in 2050: An analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. Lancet Public Health, 2022, 7(2): e105-e125. DOI: 10.1016/S2468-2667(21)00249-8.

[2] Guzman-Martinez L, Maccioni RB, Farías GA, et al. Biomarkers for Alzheimer's disease[J]. Curr Alzheimer Res, 2019, 16(6): 518-528. DOI: 10.2174/1567205016666190517121140.

[3] 王刚,齐金蕾,刘馨雅,等. 中国阿尔茨海默病报告2024[J]. 诊断学理论与实践, 2024,23(3):219-256. DOI:10.16150/j.1671-2870.2024.03.001.

[4] Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease[J]. Lancet, 2006, 368(9533): 387-403. DOI: 10.1016/S0140-6736(06)69113-7.

[5] Zhang YW, Thompson R, Zhang H, et al. APP processing in Alzheimer's disease[J]. Mol Brain, 2011, 4: 3. DOI: 10.1186/1756-6606-4-3.

[6] Pichet Binette A, Gaiteri C, Wennström M, et al. Proteomic changes in Alzheimer's disease associated with progressive Aβ plaque and tau tangle pathologies[J]. Nat Neurosci, 2024, 27(10):1880-1891. DOI:10.1038/s41593-024-01737-w.

[7] Govindpani K, Turner C, Waldvogel HJ, et al. Impaired expression of GABA signaling components in the Alzheimer's disease middle temporal gyrus[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(22): 8704. DOI:10.3390/ijms21228704.

[8] Apostolakou AE, Sula XK, Nastou KC, et al. Exploring the conservation of Alzheimer-related pathways between *H. sapiens* and *C. elegans*: A network alignment approach [J]. Sci Rep, 2021, 11(1):4572. DOI:10.1038/s41598-021-83892-9.

[9] Wu Y, Wu Z, Butko P, et al. Amyloid-beta-induced pathological behaviors are suppressed by Ginkgo biloba extract EGb 761 and ginkgolides in transgenic *Caenorhabditis elegans* [J]. J Neurosci, 2006, 26(50): 13102-13113. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3448-06.2006.

[10] Dosanjh LE, Brown MK, Rao G, et al. Behavioral phenotyping of a transgenic *Caenorhabditis elegans* expressing neuronal amyloid-beta[J]. J Alzheimers Dis, 2010, 19(2):681-690. DOI: 10.3233/JAD-2010-1267.

[11] Laranjeiro R, Harinath G, Hewitt JE, et al. Swim exercise in *Caenorhabditis elegans* extends neuromuscular and gut healthspan, enhances learning ability, and protects against neurodegeneration [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116(47):23829-23839. DOI:10.1073/pnas.1909210116.

[12] Yi J, Wang HL, Lu G, et al. Spautin-1 promotes PINK1-PRKN-dependent mitophagy and improves associative learning capability in an alzheimer disease animal model[J]. Autophagy, 2024, 20(12): 2655-2676. DOI: 10.1080/15548627.2024.2383145.

[13] Beydoun MA, Beydoun HA, Hedges DW, et al. Infection burden, periodontal pathogens, and their interactive association with incident all-cause and Alzheimer's disease dementia in a large national survey[J]. Alzheimers Dement, 2024, 20(9):6468-6485. DOI:10.1002/alz.14141.

[14] 李语晨,刘媛,陈峰,等. 口腔菌群与阿尔茨海默症的关系[J]. 四川大学学报(医学版), 2022, 53(2): 194-200. DOI: 10.12182/20220360304.

[15] Pertea M, Pertea GM, Antonescu CM, et al. StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads [J]. Nat Biotechnol, 2015, 33(3): 290-295. DOI: 10.1038/nbt.3122.

[16] Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 [J]. Genome Biol, 2014, 15(12): 550. DOI: 10.1186/s13059-014-0550-8.

[17] Ashburner M, Ball CA, Blake JA, et al. Gene ontology: Tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium[J]. Nat Genet, 2000, 25(1):25-29. DOI:10.1038/75556.

[18] Kanehisa M, Goto S, Kawashima S, et al. The KEGG resource for deciphering the genome [J]. Nucleic Acids Res, 2004, 32(Database issue):D277-D280. DOI:10.1093/nar/gkh063.

[19] Reimand J, Isserlin R, Voisin V, et al. Pathway enrichment analysis and visualization of omics data using g:Profiler, GSEA, Cytoscape and EnrichmentMap[J]. Nat Protoc, 2019, 14(2):482-517. DOI:10.1038/s41596-018-0103-9.

[20] 李鑫玉,李子航,邹志远,等. 秀丽隐杆线虫模型在阿尔茨海默病研究中的应用[J]. 生物资源, 2023, 45(2): 147-152. DOI: 10.14188/j.ajsh.2023.02.006.

[21] Link CD. Invertebrate models of Alzheimer's disease[J]. Genes Brain Behav, 2005, 4(3): 147-156. DOI: 10.1111/j.1601-183X.2004.00105.x.

[22] Chou SC, Aggarwal A, Dawson VL, et al. Recent advances in preventing neurodegenerative diseases[J]. Fac Rev, 2021, 10: 81. DOI:10.12703/r/10-81.

[23] Narvaes RF, Furini CRG. Role of Wnt signaling in synaptic plasticity and memory [J]. Neurobiol Learn Mem, 2022, 187: 107558. DOI:10.1016/j.nlm.2021.107558.

[24] Stephano F, Nolte S, Hoffmann J, et al. Impaired Wnt signaling in dopamine containing neurons is associated with pathogenesis in a rotenone triggered Drosophila Parkinson's disease model[J]. Sci Rep, 2018, 8(1):2372. DOI:10.1038/s41598-018-20836-w.

[25] Hiew LF, Poon CH, You HZ, et al. TGF-β/Smad signalling in neurogenesis: Implications for neuropsychiatric diseases [J]. Cells, 2021, 10(6):1382. DOI:10.3390/cells10061382.

[26] Heupel K, Sargsyan V, Plomp JJ, et al. Loss of transforming growth factor-beta 2 leads to impairment of central synapse function[J]. Neural Dev, 2008, 3:25. DOI:10.1186/1749-8104-3-25.

[27] Cai Shi D, Long C, Vardeman E, et al. Potential anti-Alzheimer properties of mogrosides in Vitamin B12-deficient *Caenorhabditis elegans* [J]. Molecules, 2023, 28(4): 1826. DOI: 10.3390/molecules28041826.

[28] Canter RG, Penney J, Tsai LH. The road to restoring neural circuits for the treatment of Alzheimer's disease [J]. Nature, 2016, 539(7628):187-196. DOI:10.1038/nature20412.

[29] Mattson MP. Apoptotic and anti-apoptotic synaptic signaling mechanisms[J]. Brain Pathol, 2000, 10(2): 300-312. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2000.tb00264.x.

[30] Kaletta T, Hengartner MO. Finding function in novel targets: *C.elegans* as a model organism[J]. Nat Rev Drug Discov, 2006, 5(5): 387-398. DOI: 10.1038/nrd2031.

[31] 白雪冰,周陆军,林文珍,等. 牙周病与神经系统疾病关系的研究进展[J]. 中华口腔医学杂志, 2022, 57(5): 529-534. DOI: 10.3760/cma.j.cn112144-20220312-00103.

[32] Li X, Kiprowska M, Kansara T, et al. Neuroinflammation: A distal consequence of periodontitis[J]. J Dent Res, 2022, 101(12): 1441-1449. DOI: 10.1177/00220345221102084.

[33] Verma A, Azhar G, Zhang X, et al. *P. gingivalis*-LPS induces mitochondrial dysfunction mediated by neuroinflammation through oxidative stress[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(2): 950. DOI: 10.3390/ijms24020950.

[34] 刘忠斌,龙伟,黄嘉玲,等. 牙龈卟啉单胞菌外膜囊泡与阿尔茨海默病的相关性研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(8): 3647-3658. DOI: 10.13344/j.microbiol.china.221087.

[35] Ayuda-Durán B, Garzón-García L, González-Manzano S, et al. Insights into the neuroprotective potential of epicatechin: Effects against Aβ-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans*[J]. Antioxidants (Basel), 2024, 13(1): 79. DOI: 10.3390/antiox13010079.

[36] Wang C, Zheng C. Using *Caenorhabditis elegans* to model therapeutic interventions of neurodegenerative diseases targeting microbe-host interactions[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 875349. DOI: 10.3389/fphar.2022.875349.

[37] Dominy SS, Lynch C, Ermini F, et al. *Porphyromonas gingivalis* in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors[J]. Sci Adv, 2019, 5(1): eaau3333. DOI: 10.1126/sciadv.aau3333.

[38] Liu XX, Jiao B, Liao XX, et al. Analysis of salivary microbiome in patients with Alzheimer's disease[J]. J Alzheimers Dis, 2019, 72(2): 633-640. DOI: 10.3233/JAD-190587.

(收稿日期:2024-12-06)

(本文编辑:王嫚)