

· 论著 ·

基于加权基因共表达网络分析和机器学习算法探究葡萄糖代谢参与缺血性脑卒中的机制及其关键基因

扫描二维码
查看更多王曼曼^{1,2}, 宁文华¹, 王海明¹, 刘伊滢¹, 李思颖^{1,2}, 高京^{1,2}, 魏向阳¹

作者单位: 1.450052河南省郑州市, 郑州大学第一附属医院康复医学科 2.450052河南省郑州市, 郑州大学医学科学院

通信作者: 魏向阳, E-mail: weixiangyang1022@126.com

【摘要】 目的 基于加权基因共表达网络分析(WGCNA)和机器学习算法探究葡萄糖代谢参与缺血性脑卒中(IS)的机制及其关键基因。**方法** 本实验时间为2022年11月—2023年6月。从GEO数据库GPL6883平台下载IS芯片数据集GSE16561, 其包括39例IS患者(IS组)和24例健康受试者(对照组)外周血的总RNA表达谱数据, 对其进行预处理, 基于WGCNA筛选与IS组相关性最强的模块内基因, 将其与在GeneCards数据库选取的相关性得分>5分的基因取交集, 得到IS葡萄糖代谢相关基因并对其进行基因本体论(GO)功能富集分析。基于蛋白质相互作用(PPI)网络分析, 采用机器学习算法[随机森林(RF)、支持向量机递归特征消除(SVM-RFE)算法]筛选IS葡萄糖代谢关键基因。比较GSE16561中IS组和对照组IS葡萄糖代谢关键基因表达量, 同时绘制IS葡萄糖代谢关键基因诊断IS的ROC曲线, 通过曲线下面积(AUC)评估其诊断效能。**结果** WGCNA共得到了11个基因共表达模块, 其中棕色模块与IS组相关性最强($r=0.56$, $P=2 \times 10^{-6}$), 其共包含461个基因。GeneCards数据库中相关性得分>5分的基因共2 386个, 将其与棕色模块基因取交集, 共得到85个IS葡萄糖代谢相关基因。GO功能富集分析结果显示, IS葡萄糖代谢相关基因主要涉及的生物学过程(BP)为对肽的反应、对肽激素的反应、细胞碳水化合物代谢过程, 主要涉及的细胞成分(CC)为富含纤维胶凝蛋白1的颗粒、分泌颗粒腔、细胞质囊泡腔, 主要涉及的分子功能(MF)为类泛素蛋白连接酶结合、磷蛋白结合、蛋白酶结合。PPI网络分析结果显示, 得到了1个包含12个基因的核心模块。将RF算法以及SVM-RFE算法得到的关键基因取交集, 最终得到4个IS葡萄糖代谢关键基因, 分别为MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2。IS组MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2表达量高于对照组($P<0.05$)。ROC曲线分析结果显示, MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2诊断IS的AUC分别为0.855 [95%CI (0.762 ~ 0.948)]、0.872 [95%CI (0.784 ~ 0.960)]、0.842 [95%CI (0.747 ~ 0.936)]、0.829 [95%CI (0.727 ~ 0.931)]。**结论** IS葡萄糖代谢相关基因主要通过影响炎症反应及氧化应激等而参与IS的发生发展, 且MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2为IS葡萄糖代谢关键基因, 这可为葡萄糖代谢参与IS的相关研究提供新思路。

【关键词】 缺血性卒中; 葡萄糖代谢; 加权基因共表达网络分析; 机器学习; 关键基因**【中图分类号】** R 743.3 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2024.00.077

Mechanism and Key Genes Involved in Glucose Metabolism in Ischemic Stroke Based on Weighted Gene Co-expression Network Analysis and Machine Learning

WANG Manman^{1,2}, NING Wenhua¹, WANG Haiming¹, LIU Yiyang¹, LI Siying^{1,2}, GAO Jing^{1,2}, WEI Xiangyang¹

1.Department of Rehabilitation Medicine, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

2.Academy of Medical Science, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Corresponding author: WEI Xiangyang, E-mail: weixiangyang1022@126.com

【Abstract】 Objective To explore the mechanism and key genes involved in glucose metabolism in ischemic stroke (IS) based on weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) and machine learning. **Methods** The experiment was conducted from November 2022 to June 2023. The IS chip dataset GSE16561 was downloaded from the GEO database GPL6883 platform, which included the total RNA expression profile data of peripheral blood of 39 IS patients (IS group) and 24 healthy subjects (control group). The total RNA expression profile data were preprocessed, and the genes in the module with the strongest correlation with the IS group were screened based on WGCNA. These genes were intersected with genes with correlation scores > 5 in the GeneCards database to obtain the genes related to glucose metabolism of IS and gene ontology (GO) functional enrichment analysis was performed on them. Based on protein-protein interaction (PPI) network analysis, machine learning methods [random forest (RF) and support vector machine-recursive feature elimination (SVM-RFE) algorithm] were used to screen key genes in

glucose metabolism of IS. The expression levels of key genes in glucose metabolism of IS were compared between the IS group and the control group in GSE16561. ROC curve of key genes in glucose metabolism of IS in diagnosing IS was drawn, and area under the curve (AUC) was used to evaluate their diagnostic efficacy. **Results** A total of 11 gene co-expression modules were obtained by WGCNA, among which the brown module had the strongest correlation with the IS group ($r=0.56$, $P=2 \times 10^{-6}$), containing a total of 461 genes. There were 2 386 genes with correlation score > 5 in GeneCards database, and 85 genes related to glucose metabolism of IS were obtained by intersected with brown module genes. The results of GO functional enrichment analysis showed that the genes related to glucose metabolism of IS were mainly involved in biological processes (BP), such as peptide response, peptide hormone response and cellular carbohydrate metabolism, cell components (CC), such as granules rich in ficolin-1, secretory granules and cytoplasmic vesicle cavities, and molecular functions (MF), such as ubiquitin-like protein ligase binding, phosphoprotein binding and protease binding. PPI network analysis results showed that a core module containing 12 genes was obtained. The intersection of key genes obtained by RF algorithm and SVM-RFE algorithm was used to obtain 4 key genes of glucose metabolism of IS, namely MMP9, STAT3, ITGAM and TLR2. The expressions of MMP9, STAT3, ITGAM and TLR2 in IS group were higher than those in control group ($P < 0.05$). The ROC curve analysis results showed that the AUC of MMP9, STAT3, ITGAM, and TLR2 for diagnosing IS was 0.855 [95%CI (0.762–0.948)], 0.872 [95%CI (0.784–0.960)], 0.842 [95%CI (0.747–0.936)], and 0.829 [95%CI (0.727–0.931)], respectively. **Conclusion** Genes related glucose metabolism of IS are mainly involved in the occurrence and development of IS by influencing inflammation and oxidative stress, and MMP9, STAT3, ITGAM, TLR2 are key genes for glucose metabolism of IS, which can provide new ideas for the research on glucose metabolism involved in IS.

【Key words】 Ischemic stroke; Glucose metabolism; Weighted gene co-expression network analysis; Machine learning; Key genes

脑卒中具有高发病率、高致残率、高死亡率、高复发率、高经济负担的特点,是全球性的公共卫生问题^[1]。缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)占脑卒中的70%以上,是主要的脑卒中类型^[2]。血管再通和神经保护是目前治疗IS的两种策略,但诸多因素的限制导致多数患者难以采取血管再通策略^[3];此外,由于IS的发生发展涉及多个病理环节,缺血引起神经元损伤的相关生物学过程尚未完全阐明,导致神经保护策略的应用也受到了极大限制^[4]。因而继续探索IS的潜在机制和分子靶标以寻找更为安全有效的治疗手段仍是脑卒中领域的重点研究课题。

葡萄糖是大脑的主要能量来源,其代谢产生的ATP可用于传递神经元信号、维持静息电位等复杂的神经功能^[5]。而脑缺血可导致葡萄糖供应减少、葡萄糖摄入障碍以及葡萄糖代谢方式发生改变^[6-7],进而影响能量生成、内质网应激、氧化应激等病理过程^[8-9]。多项研究表明,调节葡萄糖代谢可以减轻缺血性脑损伤^[5, 10],提示靶向葡萄糖代谢是防治IS的一种思路,但目前葡萄糖代谢参与IS的机制和关键基因尚不清楚。

加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)是一种系统筛选基因的方法,该方法可将协同表达的基因划分为一个模块,并将模块与表型相关联,这种方式更符合生物学过程,因此其被广泛应用于多种疾病的生物信息学研究^[11-12]。机器学习作为统计学与计算机科学的交叉学科,也被广泛应用于IS的诊断模型构建、生物标志物筛选^[13-14]。基于此,本研究基于基因表达综合(Gene

Expression Omnibus, GEO)数据库中的IS芯片数据与GeneCards数据库中的葡萄糖代谢数据及WGCNA和机器学习算法探究葡萄糖代谢参与IS的机制及其关键基因。

1 资料与方法

1.1 实验时间

本实验时间为2022年11月—2023年6月。

1.2 基于WGCNA探究葡萄糖代谢参与IS的机制

1.2.1 数据下载及预处理

从GEO数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)GPL6883平台下载IS芯片数据集GSE16561,其包括39例IS患者(IS组)和24例健康受试者(对照组)外周血的总RNA表达谱数据。基于R语言(版本4.1.2)的GEOquery包提取该数据集的样本表达矩阵和样本临床信息,并基于R语言的limma包将样本表达矩阵标准化,之后根据平台注释信息将样本表达矩阵的探针名转换为对应的基因名,若多个探针对应同一基因则取探针表达量均值作为该基因的表达量,再使用K最近邻(K-nearest neighbor, KNN)算法填充样本表达矩阵的缺失值,最后根据中位数绝对偏差(median absolute deviation, MAD)筛选出排序前5 000的基因进行WGCNA。

1.2.2 WGCNA

首先,使用hclust函数进行聚类以剔除离群样本,并基于WGCNA包的pickSoftThreshold函数筛选最佳软阈值以使基因之间的调控关系符合无尺度网络分布;然后,构建基因表达谱间的邻接矩阵,将其转换为拓扑重叠矩阵(topological overlap matrix, TOM)后构建基因

分层聚类树, 并利用动态剪枝法识别基因共表达模块; 最后, 计算各基因共表达模块与临床组别间的相关性, 选择与IS组相关性最强的模块内基因进行后续分析。

1.2.3 筛选IS葡萄糖代谢相关基因

在GeneCards数据库 (<https://www.genecards.org/>) 中以“glucose metabolism”为检索词进行检索, 选取相关性得分>5分的基因, 将其与WGCNA获得的模块内基因取交集, 得到IS葡萄糖代谢相关基因。

1.2.4 基因本体论 (Gene Ontology, GO) 功能富集分析

利用R语言的clusterProfiler包对IS葡萄糖代谢相关基因进行GO功能富集分析, 分别从生物学过程 (biological process, BP)、细胞成分 (cellular component, CC) 以及分子功能 (molecular function, MF) 三个方面探讨葡萄糖代谢参与IS的可能机制。

1.3 基于机器学习算法筛选IS葡萄糖代谢关键基因

1.3.1 蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络分析

使用String在线平台 (<https://cn.string-db.org/>) 构建IS葡萄糖代谢相关基因的PPI网络, 并使用Cytoscape软件的MCODE插件筛选PPI网络中的核心模块。

1.3.2 采用随机森林 (random forest, RF) 算法筛选关键基因

使用RF算法进一步筛选PPI网络中核心模块内的关键基因, 具体方法如下: 首先计算不同变量个数下的袋外错误率, 选择袋外错误率最小时的变量个数作为最优变量个数; 基于最优变量个数继续构建RF模型以确定袋外错误率最小的决策树数目; 确定好上述模型参数后, 重新构建RF模型, 并基于平均减少基尼指数对基因重要性进行排序, 选取排名前12位的关键基因。

1.3.3 采用支持向量机递归特征消除 (support vector machine-recursive feature elimination, SVM-RFE) 算法筛选关键基因

使用SVM-RFE算法进一步筛选PPI网络中核心模块内的关键基因, 具体方法如下: 通过十折交叉验证确定最佳核函数类型, 随后基于最佳核函数类型使用rfe函数筛选关键基因。

1.3.4 确定IS葡萄糖代谢关键基因

对RF算法及SVM-RFE算法获得的关键基因取交集, 得到IS葡萄糖代谢关键基因。

1.4 验证IS葡萄糖代谢关键基因

比较GSE16561中IS组和对照组IS葡萄糖代谢关键基因表达量, 同时采用R预言的pROC包绘制IS葡萄糖代谢关键基因诊断IS的ROC曲线, 通过曲线下面积 (area under the curve, AUC) 评估其诊断效能。

1.5 统计学方法

采用R 4.1.2以及GraphPad Prism 9.5.0软件进行数据

分析。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用两独立样本 t 检验; 两变量间的相关性分析采用Pearson相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IS葡萄糖代谢相关基因

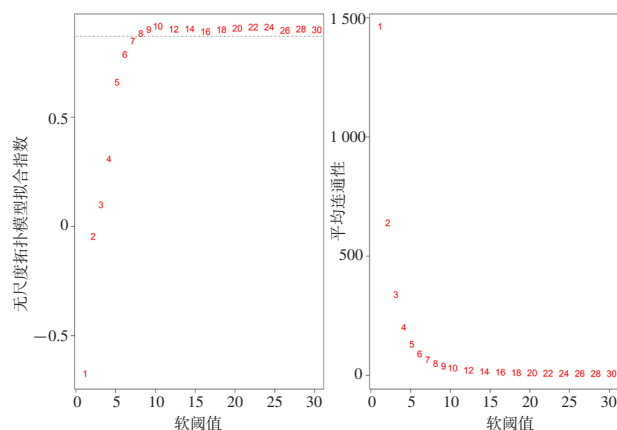
WGCNA结果显示, 样本聚类分析未发现明显离群样本, 因此将63个样本均纳入后续分析; 当软阈值为8时基因之间的调控关系符合无尺度网络分布, 见图1; 共得到11个基因共表达模块, 其中棕色模块与IS组相关性最强 ($r=0.56$, $P=2 \times 10^{-6}$), 其共包含461个基因, 见图2。在GeneCards数据库中检索到10 242个基因, 其中相关性得分>5分的基因共2 386个, 将其与棕色模块基因取交集, 共得到85个IS葡萄糖代谢相关基因, 见图3。

2.2 GO功能富集分析

GO功能富集分析结果显示, IS葡萄糖代谢相关基因主要涉及的BP为对肽的反应、对肽激素的反应、细胞碳水化合物代谢过程、脂多糖反应、对细菌来源分子的反应、细胞对生物刺激的反应、单糖代谢过程、细胞对外界刺激的反应、活性氧代谢过程的调控、参与炎症递质的产生, 主要涉及的CC为富含纤维胶凝蛋白1的颗粒、分泌颗粒腔、细胞质囊泡腔、囊泡腔、分泌颗粒膜、富含纤维胶凝蛋白1的颗粒腔、特异性颗粒、初级溶酶体、嗜天青颗粒、液泡腔, 主要涉及的MF为类泛素蛋白连接酶结合、磷蛋白结合、蛋白酶结合、作用于糖基键的水解酶活性、水解N-糖基化合物的水解酶活性、单羧酸结合、NAD⁺核苷酸酶活性、糖脂结合、Toll样受体 (Toll-like receptors, TLR) 结合、碳水化合物激活酶活性。

2.3 IS葡萄糖代谢关键基因

PPI网络分析结果显示, 得到了1个包含12个基因



注: 左侧为无尺度拓扑模型拟合指数与软阈值分析, 右侧为平均连通性与软阈值分析。

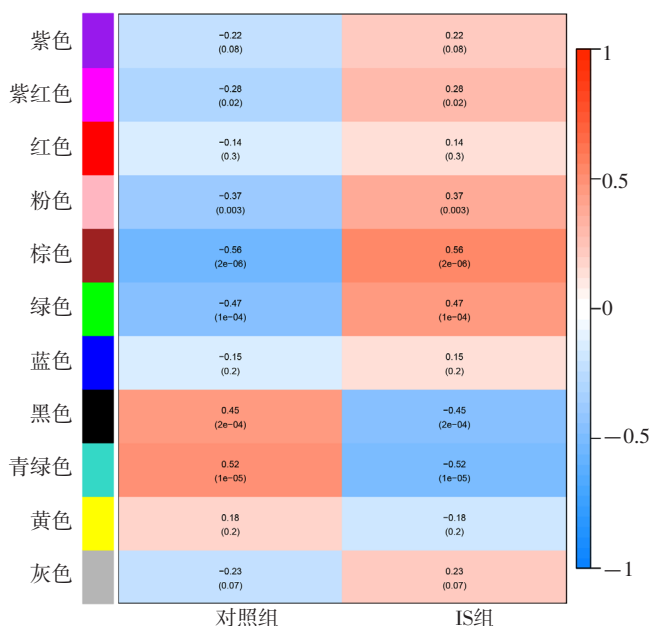
图1 软阈值选择

Figure 1 Soft threshold selection

的核心模块,见图4。RF算法分析结果显示,当变量个数为6、决策树数目为71时,袋外错误率最小,基于上述参数构建RF模型,重要性排名前12位的基因分别为MMP9、STAT3、ITGAM、NFKB1、TLR2、MYD88、STAT5A、TLR4、SYK、LYN、CEBPB、MAPK3,见图5。SVM-RFE算法分析结果显示,最佳核函数类型为多项式核函数,得到4个关键基因,分别为MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2。将RF算法以及SVM-RFE算法得到的关键基因取交集,最终得到4个IS葡萄糖代谢关键基因,分别为MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2。

2.4 验证IS葡萄糖代谢关键基因

IS组MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2表达量高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表1。ROC



注: IS=缺血性脑卒中。

图2 基因共表达模块与临床组别相关性的热图

Figure 2 Heat map of correlation between gene co-expression modules and clinical groups

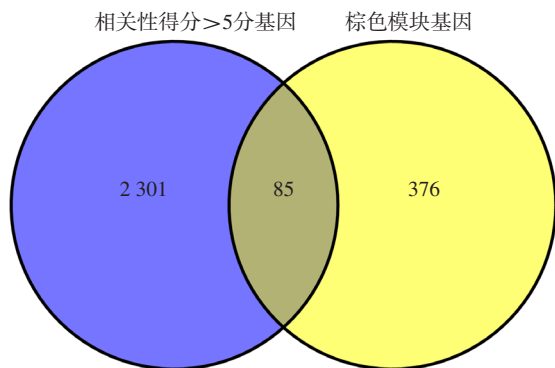


图3 棕色模块基因与相关性得分>5分基因交集的韦恩图

Figure 3 Venn diagram of the intersection between brown module genes and genes with correlation scores > 5 points

曲线分析结果显示, MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2诊断IS的AUC分别为0.855 [95%CI (0.762 ~ 0.948)]、0.872 [95%CI (0.784 ~ 0.960)]、0.842 [95%CI (0.747 ~ 0.936)]、0.829 [95%CI (0.727 ~ 0.931)],见图6。

3 讨论

葡萄糖是大脑的主要能量底物,脑缺血发生时局部脑血流量的急剧减少可导致氧气和葡萄糖被剥夺,造成葡萄糖代谢紊乱^[6]。细胞葡萄糖代谢紊乱可影响ATP的产生,也可激活炎症反应或促进氧化应激,从而导致神经元损伤^[5]。葡萄糖代谢在肿瘤疾病中的作用已被广泛研究^[15-16],但其在IS中的作用机制尚不清楚,而靶向葡萄糖代谢或许能成为防治IS的新方法。本研究基于WGCNA和机器学习算法探究葡萄糖代谢参与IS的机制及其关键基因。

本研究基于WGCNA共得到85个IS葡萄糖代谢相关基因,GO功能富集分析结果显示,其主要涉及的BP为

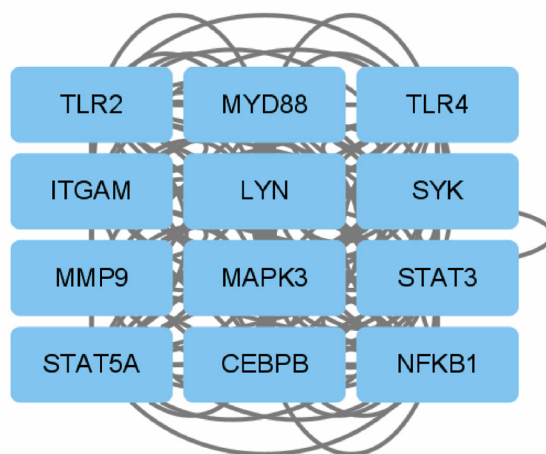


图4 PPI网络中的核心模块

Figure 4 The core module in the PPI network

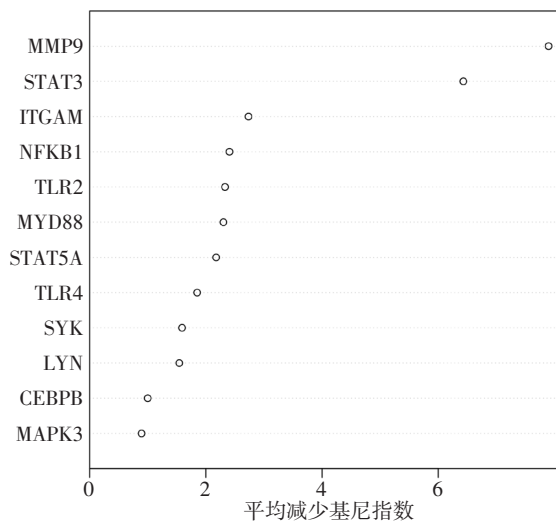


图5 基因重要性排序

Figure 5 Ranking of gene importance

表1 IS组和对照组MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of MMP9, STAT3, ITGAM, TLR2 expression levels between the IS group and the control group

组别	例数	MMP9	STAT3	ITGAM	TLR2
对照组	24	-0.686 ± 0.622	-0.236 ± 0.275	-0.349 ± 0.393	-0.230 ± 0.328
IS组	39	0.679 ± 1.075	0.273 ± 0.374	0.290 ± 0.475	0.328 ± 0.518
t值		6.385	6.198	5.524	5.242
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: IS=缺血性脑卒中。

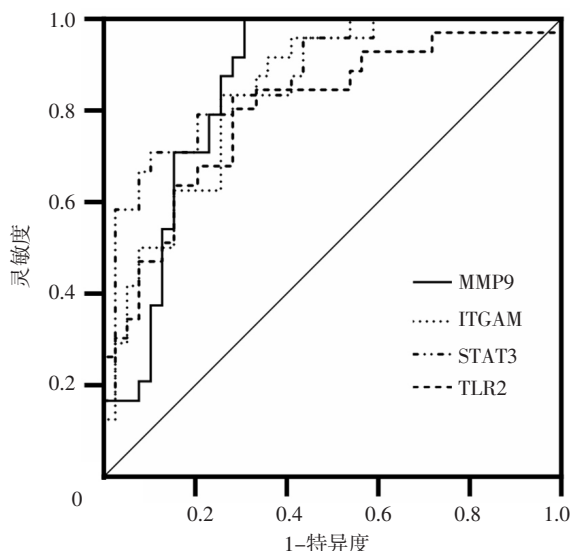


图6 MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2诊断IS的ROC曲线

Figure 6 ROC curve of MMP9, STAT3, ITGAM, TLR2 for diagnosing IS

对肽的反应、对肽激素的反应、细胞碳水化合物代谢过程、脂多糖反应、对细菌来源分子的反应、细胞对生物刺激的反应、单糖代谢过程、细胞对外界刺激的反应、活性氧代谢过程的调控、参与炎症递质的产生, 主要涉及的CC为富含纤维胶凝蛋白1的颗粒、分泌颗粒腔、细胞质囊泡腔、囊泡腔、分泌颗粒膜、富含纤维胶凝蛋白1的颗粒腔、特异性颗粒、初级溶酶体、嗜天青颗粒、液泡腔, 主要涉及的MF为类泛素蛋白连接酶结合、磷蛋白结合、蛋白酶结合、作用于糖基键的水解酶活性、水解N-糖基化合物的水解酶活性、单羧酸结合、NAD⁺核苷酸酶活性、糖脂结合、TLR结合、碳水化合物激酶活性, 提示IS葡萄糖代谢相关基因主要通过影响炎症反应及氧化应激等环节而参与IS的发生发展。脂多糖在诱发IS炎症反应中起关键作用, 其可特异性结合TLR以及NOD样受体, 激活NF- κ B等炎症信号通路, 进而通过促进TNF- α 等促炎细胞因子的释放来诱导炎症反应^[17]。TLR是参与天然免疫系统的一类蛋白质, IS发生后TLR的激活对缺血脑组织具有双重效应, 一方面, TLR能够特异性识别结合损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs) 与病原体相关分子模式 (pathogen associated molecular

patterns, PAMPs), 进而激活下游信号通路, 引发炎症级联反应^[18]; 另一方面, 有研究发现, 在缺血发生前激活TLR信号通路可以增加脑组织对缺血的耐受性, 进而减轻脑损伤程度^[19]。炎症反应对IS也具有双向调节作用, 急性脑卒中后的神经炎症既可以加重脑损伤, 也可以促进大脑功能恢复, 故调节脑卒中后促炎因子与抗炎因子的动态平衡是治疗IS的关键^[20]。研究表明, 氧化应激在IS的病理进程中发挥重要作用, 脑缺血时活性氧的过度产生可导致机体氧化与抗氧化系统的失衡, 进而导致DNA损伤及脂质过氧化等^[21]。NAD⁺是细胞能量代谢以及抗氧化的辅助因子, 既往研究发现, 外源性给予NAD⁺可以通过抑制氧化应激来改善小鼠脑缺血再灌注损伤^[10], NAD⁺还可以通过影响糖酵解、三羧酸循环以及线粒体氧化磷酸化等过程而影响ATP的产生, 从而抑制氧化应激, 发挥神经保护作用^[22-23]。

本研究基于PPI网络分析, 采用RF算法、SVM-RFE算法得到4个IS葡萄糖代谢关键基因, 分别为MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2。进一步验证这些关键基因, 结果显示, IS组MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2表达量高于对照组; ROC曲线分析结果显示, MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2诊断IS的AUC分别为0.855、0.872、0.842、0.829, 提示MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2对IS均具有一定诊断价值。MMP9属于MMP家族的一员, MMP9的激活已被证明是脑缺血期间血脑屏障破坏、出血转化的主要原因^[24], 其可作为急性脑缺血的生物标志物^[25], 亦可用于预测急性IS后出血转化风险^[26], 但其是否参与调控IS患者的葡萄糖代谢仍需进一步实验探索。STAT3是STAT家族的一员, 其被激活后在调控脑缺血后神经炎症、氧化应激、细胞凋亡、血管生成等病理过程中发挥双刃剑作用^[27]。值得注意的是, 研究表明, STAT3丝氨酸磷酸化是TLR4诱导代谢重编程和IL-1 β 表达所必需的^[28], 且STAT3的激活可促进缺血后星形胶质细胞糖酵解代谢方式的转换^[29], 因此笔者推测STAT3可能参与调控IS患者的葡萄糖代谢。ITGAM是负责编码整合素Mac-1 α M亚基CD11b的基因, CD11b一方面可介导白细胞滚动、黏附等促炎生物学过程, 另一方面其可负向调控TLR依赖性信号通路, 进而发挥抗炎作用^[30-31]。研究发现, 脑缺血可引起CD11b表达增加、诱导M1型小胶质细胞的活化^[32]。但ITGAM是否参与调控IS患者的葡萄糖代谢仍需进一步实验探索。TLR2是TLR家族的成员, 其在脑卒中期间表达明显增加, 可促进神经胶质细胞分泌炎症因子, 参与脑卒中后的炎症反应^[19]。研究发现, TLR2可影响葡萄糖代谢稳态^[33], 同时其还可介导代谢重编程, 进而影响巨噬细胞表型及炎症反应^[34], 上述证据表明TLR2可能是改善IS患者葡萄糖代谢紊乱的关键靶点。

4 结论

综上所述,葡萄糖代谢相关基因主要通过影响炎症反应及氧化应激等环节而参与IS的发生发展,且MMP9、STAT3、ITGAM、TLR2为葡萄糖代谢关键基因,这可能为葡萄糖代谢参与IS的相关研究提供新思路。但本研究仅纳入了单个平台的单个数据集,可能存在一定偏倚,尚需要通过基础研究进一步验证本研究结论。

作者贡献:王曼曼、宁文华进行文章的构思与设计、论文的修订;宁文华进行研究的实施与可行性分析;李思颖进行数据收集;高京进行数据整理;刘伊滢进行统计学处理;王曼曼、刘伊滢进行结果的分析与解释;王曼曼撰写论文;王海明、魏向阳负责文章的质量控制及审校;魏向阳对文章整体负责,监督管理。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] 《中国脑卒中防治报告》编写组.《中国脑卒中防治报告2020》概要[J].中国脑血管病杂志, 2022, 19(2): 136-144.DOI: 10.3969/j.issn.1672-5921.2022.02.011.
- [2] TOYODA K, YOSHIMURA S, NAKAI M, et al. Twenty-year change in severity and outcome of ischemic and hemorrhagic strokes [J]. JAMA Neurol, 2022, 79(1): 61-69.DOI: 10.1001/jamaneurol.2021.4346.
- [3] 中国老年医学学会急诊医学分会, 中华医学会急诊医学分会卒中医学组, 中国卒中学会急救医学分会.急性缺血性脑卒中急诊急救中国专家共识2018版(上)[J].心脑血管病防治, 2019, 19(3): 201-204.DOI: 10.3969/j.issn.1009-816x.2019.03.001.
- [4] HAUPT M, GERNER S T, BÄHR M, et al. Neuroprotective strategies for ischemic stroke—future perspectives [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(5): 4334.DOI: 10.3390/ijms24054334.
- [5] ZHANG S, LACHANCE B B, MATTSON M P, et al. Glucose metabolic crosstalk and regulation in brain function and diseases [J]. Prog Neurobiol, 2021, 204: 102089.DOI: 10.1016/j.pneurobio.2021.102089.
- [6] LIANG J, HAN R R, ZHOU B. Metabolic reprogramming: strategy for ischemic stroke treatment by ischemic preconditioning [J]. Biology, 2021, 10(5): 424.DOI: 10.3390/biology10050424.
- [7] 俞坤强, 林如辉, 陈立典. 针刺改善脑缺血后葡萄糖代谢研究进展[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(10): 29-32.DOI: 10.11954/ytctty.201610013.
- [8] GUO S C, WEHBE A, SYED S, et al. Cerebral glucose metabolism and potential effects on endoplasmic reticulum stress in stroke [J]. Aging Dis, 2023, 14(2): 450-467.DOI: 10.14336/AD.2022.0905.
- [9] ROBBINS N M, SWANSON R A. Opposing effects of glucose on stroke and reperfusion injury: acidosis, oxidative stress, and energy metabolism [J]. Stroke, 2014, 45(6): 1881-1886. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.004889.
- [10] HUANG Q, SUN M L, LI M, et al. Combination of NAD⁺ and NADPH offers greater neuroprotection in ischemic stroke models by relieving metabolic stress [J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(7): 6063-6075.DOI: 10.1007/s12035-017-0809-7.
- [11] WANG M, WANG L J, PU L Y, et al. LncRNAs related key pathways and genes in ischemic stroke by weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) [J]. Genomics, 2020, 112(3): 2302-2308.DOI: 10.1016/j.ygeno.2020.01.001.
- [12] NIEMIRA M, COLLIN F, SZALKOWSKA A, et al. Molecular signature of subtypes of non-small-cell lung cancer by large-scale transcriptional profiling: identification of key modules and genes by weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) [J]. Cancers, 2019, 12(1): 37.DOI: 10.3390/cancers12010037.
- [13] YANG W X, WANG F F, PAN Y Y, et al. Comparison of ischemic stroke diagnosis models based on machine learning [J]. Front Neurol, 2022, 13: 1014346.DOI: 10.3389/fneur.2022.1014346.
- [14] ZHENG P F, CHEN L Z, LIU P, et al. Identification of immune-related key genes in the peripheral blood of ischaemic stroke patients using a weighted gene coexpression network analysis and machine learning [J]. J Transl Med, 2022, 20(1): 361.DOI: 10.1186/s12967-022-03562-w.
- [15] ZHU L F, ZHU X Y, WU Y. Effects of glucose metabolism, lipid metabolism, and glutamine metabolism on tumor microenvironment and clinical implications [J]. Biomolecules, 2022, 12(4): 580.DOI: 10.3390/biom12040580.
- [16] BOSE S, LE A. Glucose metabolism in cancer [J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1063: 3-12.DOI: 10.1007/978-3-319-77736-8_1.
- [17] KALYAN M, TOUSIF A H, SONALI S, et al. Role of endogenous lipopolysaccharides in neurological disorders [J]. Cells, 2022, 11(24): 4038.DOI: 10.3390/cells11244038.
- [18] ASHAYERI AHMADABAD R, MIRZAASGARI Z, GORJI A, et al. Toll-like receptor signaling pathways: novel therapeutic targets for cerebrovascular disorders [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(11): 6153.DOI: 10.3390/ijms22116153.
- [19] WANG P F, XIONG X Y, CHEN J, et al. Function and mechanism of toll-like receptors in cerebral ischemic tolerance: from preconditioning to treatment [J]. J Neuroinflammation, 2015, 12: 80.DOI: 10.1186/s12974-015-0301-0.
- [20] JIN R, LIU L, ZHANG S H, et al. Role of inflammation and its mediators in acute ischemic stroke [J]. J Cardiovasc Transl Res, 2013, 6(5): 834-851.DOI: 10.1007/s12265-013-9508-6.
- [21] 朱紫衣, 李毓龙, 李阳超, 等. 氧化应激在缺血性脑卒中中的作用研究进展[J]. 广西医学, 2021, 43(21): 2605-2608. DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2021.21.20.
- [22] NARNE P, PHANITHI P B. Role of NAD⁺ and FAD in ischemic stroke pathophysiology: an epigenetic nexus and expanding therapeutic repertoire [J]. Cell Mol Neurobiol, 2023, 43(5): 1719-1768.DOI: 10.1007/s10571-022-01287-4.
- [23] YING W, XIONG Z G. Oxidative stress and NAD⁺ in ischemic brain injury: current advances and future perspectives [J]. Curr Med Chem, 2010, 17(20): 2152-2158.DOI: 10.2174/092986710791299911.
- [24] TURNER R J, SHARP F R. Implications of MMP9 for blood brain barrier disruption and hemorrhagic transformation following ischemic stroke [J]. Front Cell Neurosci, 2016, 10: 56.DOI: 10.3389/fncel.2016.00056.

(下转第82页)

- [14] ZHANG J, WU J M. The potential roles of exosomal miR-214 in bone metastasis of lung adenocarcinoma [J]. *Front Oncol*, 2021, 10: 611054. DOI: 10.3389/fonc.2020.611054.
- [15] CHEN K, ZHANG Z Q, YU A J, et al. lncRNA DLGAP1-AS2 knockdown inhibits hepatocellular carcinoma cell migration and invasion by regulating miR-154-5p methylation [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 6575724. DOI: 10.1155/2020/6575724.
- [16] NAZARIZADEH A, MOHAMMADI F, ALIAN F, et al. MicroRNA-154: a novel candidate for diagnosis and therapy of human cancers [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 6603-6615. DOI: 10.2147/OTT.S249268.
- [17] FREDSE J, RASMUSSEN A K I, MOURITZEN P, et al. Profiling of circulating microRNAs in prostate cancer reveals diagnostic biomarker potential [J]. *Diagnostics*, 2020, 10 (4): 188. DOI: 10.3390/diagnostics10040188.
- [18] ZHOU C W, CHEN Z X, ZHAO L L, et al. A novel circulating miRNA-based signature for the early diagnosis and prognosis prediction of non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34 (11): e23505. DOI: 10.1002/jcla.23505.
- [19] WU J P, WANG C G, DING H Y. LncRNA MALAT1 promotes neuropathic pain progression through the miR-154-5p/AQP9 axis in CCI rat models [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21 (1): 291-303. DOI: 10.3892/mmr.2019.10829.
- [20] HONG S P, CHAN T E, LOMBARDO Y, et al. Single-cell transcriptomics reveals multi-step adaptations to endocrine therapy [J]. *Nat Commun*, 2019, 10 (1): 3840. DOI: 10.1038/s41467-019-11721-9.
- [21] WANG L, SONG L J, LI J, et al. Bone sialoprotein- α v β 3 integrin axis promotes breast cancer metastasis to the bone [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110 (10): 3157-3172. DOI: 10.1111/cas.14172.
- (收稿日期: 2023-11-12; 修回日期: 2024-03-28)
(本文编辑: 陈素芳)

(上接第77页)

- [25] RAMOS-FERNANDEZ M, BELLOLIO M F, STEAD L G. Matrix metalloproteinase-9 as a marker for acute ischemic stroke: a systematic review [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2011, 20 (1): 47-54. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2009.10.008.
- [26] WANG L, WEI C C, DENG L H, et al. The accuracy of serum matrix metalloproteinase-9 for predicting hemorrhagic transformation after acute ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2018, 27 (6): 1653-1665. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.01.023.
- [27] ZHONG Y, YIN B, YE Y Z, et al. The bidirectional role of the JAK2/STAT3 signaling pathway and related mechanisms in cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Exp Neurol*, 2021, 341: 113690. DOI: 10.1016/j.expneurol.2021.113690.
- [28] BALIC J J, ALBARGY H, LUU K, et al. STAT3 serine phosphorylation is required for TLR4 metabolic reprogramming and IL-1 β expression [J]. *Nat Commun*, 2020, 11 (1): 3816. DOI: 10.1038/s41467-020-17669-5.
- [29] BORBOR M, YIN D P, BROCKMEIER U, et al. Neurotoxicity of ischemic astrocytes involves STAT3-mediated metabolic switching and depends on glycogen usage [J]. *Glia*, 2023, 71 (6): 1553-1569. DOI: 10.1002/glia.24357.
- [30] FAGERHOLM S C, MACPHERSON M, JAMES M J, et al. The CD11b-integrin (ITGAM) and systemic lupus erythematosus [J]. *Lupus*, 2013, 22 (7): 657-663. DOI: 10.1177/0961203313491851.
- [31] KHAN S Q, KHAN I, GUPTA V. CD11b activity modulates pathogenesis of lupus nephritis [J]. *Front Med*, 2018, 5: 52. DOI: 10.3389/fmed.2018.00052.
- [32] LIU R, XU N G, YI W, et al. Electroacupuncture attenuates inflammation after ischemic stroke by inhibiting NF- κ B-mediated activation of microglia [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 8163052. DOI: 10.1155/2020/8163052.
- [33] HU W B, LIU L, FORN-CUNÍ G, et al. Transcriptomic and metabolomic studies reveal that toll-like receptor 2 has a role in glucose-related metabolism in unchallenged zebrafish larvae (*Danio rerio*) [J]. *Biology*, 2023, 12 (2): 323. DOI: 10.3390/biology12020323.
- [34] FENG T T, YANG X Y, HAO S S, et al. TLR-2-mediated metabolic reprogramming participates in polyene phosphatidylcholine-mediated inhibition of M1 macrophage polarization [J]. *Immunol Res*, 2020, 68 (1): 28-38. DOI: 10.1007/s12026-020-09125-9.
- (收稿日期: 2023-11-23; 修回日期: 2024-01-24)
(本文编辑: 崔丽红)