

• 综 述 •

阿尔茨海默病的 DNA 甲基化特征研究进展*

唐思雨 综述, 张叶欣, 谭 敏, 戴思博, 戴雨轩, 张臻昊[△] 审校

(西安医学院/基础与转化医学研究所, 陕西 西安 710000)

[摘要] 阿尔茨海默病(AD)是一种最常见的神经退行性疾病,目前仍缺乏有效治疗方法。识别分子生物标志物成为 AD 诊断和预防的关键。该文重点综述了 DNA 甲基化对 AD 病理的影响,并讨论了甲基化调节 AD 发生和发展的潜在作用。最后,通过检测 AD 患者血液样本中的 DNA 甲基化特征,为 AD 的早期筛查提供新的思路和策略。

[关键词] 阿尔茨海默病; DNA 甲基化; 临床特征; 早期诊断; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2024.18.025

中图分类号:R592;G353.11

文章编号:1009-5519(2024)18-3186-06

文献标识码:A

Research progress on DNA methylation characteristics in Alzheimer's disease*

TANG Siyu, ZHANG Yexin, TAN Min, DAI Sibao, DAI Yuxuan, ZHANG Zhenhao[△]

(Xi'an Medical University/Institute of Basic and Translational Medicine,

Xi'an, Shaanxi 710000, China)

[Abstract] Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disorder, and effective treatments are still lacking. Identifying molecular biomarkers has become crucial for AD diagnosis and prevention. This article focuses on reviewing the impact of DNA methylation on AD pathology and discusses the potential role of methylation in regulating the onset and progression of AD. Finally, by examining characteristics of DNA methylation in blood samples from AD patients, aiming to provide new insights and strategies for early screening of AD.

[Key words] Alzheimer's disease; DNA methylation; Clinical characteristics; Early diagnosis; Review

阿尔茨海默病(AD)是一种神经退行性疾病,其临床定义为逐渐出现的认知障碍和执行功能退化。在痴呆症病例中,AD 占据了高达 60%~80% 的比例,影响全世界 65 岁以上 10% 的人群。近年来,AD 发病率不断上涨,预计到 2050 年,全世界 AD 患者将达到惊人的 1.4 亿人,成为威胁人类健康的主要疾病之一^[1]。

细胞外 β 淀粉样蛋白(A β)的沉积和神经元内神经原纤维缠结是 AD 的两大核心病理特征。然而,除了这两者,其他病理特征如基因突变、炎症反应、钙、胆固醇和磷脂代谢常发生在 A β 沉积和缠结之前的病程早期。对于早发性 AD,遗传率甚至高达 90% 以上,而晚发性 AD 的遗传率也达到了 58%~79%,其中基因突变成为最主要的遗传因素。目前,已鉴定出与 AD 遗传风险相关的位点区域/基因座数目高达 75 个,它们涉及免疫、内吞作用、胆固醇转运、组蛋白修

饰,以及 A β 和 Tau 处理等多个复杂的生物途径^[2]。这些遗传学研究揭示了与 AD 相关基因网络的框架及用于家族性 AD 遗传筛查的经典面板。但每个基因座的常见变异遗传力比例相对较低,仅为 3%~4%,即使在家族性 AD 中,也仅有不到 5% 的病例归因于基因突变^[2]。因此,尽管基因突变可以部分解释 AD 的家族性发病,但对于散发性 AD 的影响相对有限。近年来,研究工作已经开始关注表观遗传因素在 AD 中的变化,并强调了其在散发性 AD 中的重要作用。表观遗传学是一种在不改变 DNA 序列的情况下调控基因表达水平的机制。这种变化被认为是对环境变化和疾病状态的一种敏感且可逆的响应,其可能导致潜在致病基因表达的改变。这些转化将环境、基因和 AD 的发病机制紧密地联系在一起,为研究者提供了一个全新的视角来理解这一复杂疾病的本质^[3]。

通过对全基因组表观遗传关联分析所获得的基

* 基金项目:国家大学生创新创业训练计划项目(202211840015);陕西省教育厅重点科学研究计划项目(21JJS037);陕西省自然科学基金研究计划资助项目(2023-JC-QN-0137);陕西省自然科学基金研究计划面上项目(S2024-JC-YB-1890);陕西省科学技术协会青年人才托举计划资助项目(20220610);西安医学院博士启动基金项目(2021DOC06)。

[△] 通信作者, E-mail: zhangzhenhao@xiyi.edu.cn。

因集和疾病通路进行深入探究,研究提出了表观遗传学涉及脑免疫功能、脂质相关过程、Tau 蛋白磷酸化和 A β 沉积等多方面结合的 AD 发病生物学机制。表观遗传学证据还表明,痴呆不是突然发生且轮廓分明的状态,而是关键细胞途径的逐渐变化,其由于神经退行性变而将原本健康的状态转变为功能失调的状态。越来越多的证据强调了表观遗传变异在 AD 中扮演着不可忽视的作用^[4]。

DNA 甲基化是表观遗传学研究最广泛的 DNA 修饰,其在大脑正常发育中起着关键作用。DNA 甲基化是由 DNA 甲基转移酶(DNMT)催化完成,其将 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)的甲基通过共价键转移到嘧啶环的五碳位点,进而形成 5-甲基胞嘧啶(5mC)。这些甲基化位点主要位于胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤(CpG)二核苷位点,CpG 序列在基因启动子区密集分布,称为 CpG 岛,在健康人体基因组中大部分表现为未甲基化状态。5mC 可以干扰转录因子与启动子上识别位点的结合,或者募集 5mCpG 结合蛋白这类转录抑制因子,通过改变染色质结构来抑制转录,从而影响基因表达。甲基化在哺乳动物中高度保守,但某些特定位点处的 DNA 甲基化,可能通过改变生存环境和饮食而改变,也可随疾病的发生和发展而变化。随着细胞的老化,DNA 甲基化的分布也会发生变化,这些改变会调控基因转录过程,破坏 DNA 双链结构,从而影响基因组稳定导致衰老及神经退行性疾病的发生。一项 AD 的研究发现,与同卵双胞胎中健康个体相比,患有 AD 的个体在颞叶皮层神经元细胞核中 DNA 甲基化明显偏低^[5]。该研究在具有相似甚至相同遗传和生活背景的个体中,发现了甲基化水平的差异,为 AD 分子层面的发病机制提供了新的线索。

1 DNA 甲基化与记忆相关

记忆的形成、维持和储存与 DNA 甲基化和去甲基化的调节紧密相连,记忆力衰退是 AD 早期的一个临床表现。在成人的中枢神经系统中,DNMT 是海马长时程增强早期诱导所必需的,随后,某些基因的甲基化可以介导记忆形成,但其作用是可逆的,这导致了与突触可塑性和记忆相关基因的 DNA 甲基化状态是高度动态可逆的,成为细胞记忆机制形成的关键步骤。在突触可塑性、学习和长期记忆形成过程中,CREB 调控转录辅激活因子 1(CRTC1)发挥关键作用,在大脑特别是海马神经元中高表达,有证据表明,在患有 AD 的个体中,CRTC1 基因启动子 DNA 甲基化水平降低,导致基因表达明显下调^[6-7]。这表明,在 AD 患者中,DNA 甲基化在调节 CRTC1 表达方面的功能可能会受到干扰。此外,A β 能通过破坏 DNA 完整性而损害神经元细胞中的突触可塑性,从而导致记忆障碍,此过程中 DNA 损伤使乳腺癌 1(BRCA1)启动子区域去甲基化,进而使基因表达上调,但 Tau 的

存在会引起 BRCA1 的错误定位和不溶性,这意味着即使基因表达上调,依然无法充分修复 DNA 损伤^[8]。

2 DNA 甲基化与 AD 病理相关

2.1 甲基化与 A β 产生和消除相关 WEST 等^[9]通过 Southern blot 分析,首次显示了 AD 患者死后人脑中 APP 基因位点存在去甲基化现象。APP 基因去甲基化促进了 APP 和 MAPT 表达的增强,导致 A β 沉积加剧和老年斑的产生。此外,在 AD 神经元中, β 分泌酶 1(BACE1)和唐氏综合征细胞黏附分子样 1(DSCAML1)基因也存在大量显著的低甲基化位点^[10]。AD 中这些增强子的低甲基化会导致淀粉样蛋白斑块、神经原纤维缠结和认知能力下降。载脂蛋白 E(APOE)和分拣蛋白相关受体(SORL1)基因作用于相同的代谢途径,可降低 A β 水平,并与以海马损伤为特征的 AD 相关。该基因已被证明在大脑区域高度甲基化^[11]。这些研究证明异常甲基化细胞可能损害神经回路和(或)充当异常蛋白质传播的“种子细胞”^[12-13]。

2.2 甲基化与 Tau 蛋白磷酸化相关 Tau 蛋白磷酸化主要由糖原合酶激酶 3B(GSK-3B)负责,而 Tau 蛋白的去磷酸化主要由蛋白磷酸酶 2A(PP2A)负责。对 AD 患者前额叶皮层组织的 GSK-3 β 基因启动子区域的 DNA 甲基化的分析表明,在 AD 早期发展阶段,GSK-3B 启动子区域的 CpG 和非 CpG 胞嘧啶残基甲基化水平总体较低,这导致 GSK-3B 过表达而 Tau 蛋白磷酸化加速^[14]。而 AD 患者中 PP2A 基因去甲基化使 PP2A 蛋白活性降低,导致 Tau 蛋白过度磷酸化和神经变性。

2.3 甲基化与风险基因相关 通过应用 450K 测序技术,对 34 个迟发性 AD 患者的颞上回进行深入研究,在常染色体上确定了 479 个 DNA 甲基化差异区域(DMR),这些 DMR 涵盖了总计 4 565 个 CpG,其中大多数出现高甲基化偏倚。DMR 间隔与 475 个 RefSeq 数据库基因重叠,这些基因主要涉及神经元功能和发育及细胞代谢,其中有 15 个落在先前报道的 SNP 位点的附近^[15]。对已知的 28 个 AD 风险基因 SNP 位点进行 DNA 甲基化关联分析发现,有 5 个位点的 DNA 甲基化与病理性 AD 相关,包括 SORL1、ABCA7、HLA-DRB5、SLC24A4 和 BIN1。其中 BIN1 的表达与 A β 负载信号相关,而 ABCA7 和 SORL1 转录物的 RNA 表达与 Tau 缠结密度相关。这些整合风险基因的 DMR 能更好地将表观遗传学与 AD 病理联系起来,进一步发掘潜在的功能途径^[16]。

2.4 甲基化与神经炎症相关 近期有研究结果显示,A β 积累本身并不足以导致失智,是神经炎症和淀粉样蛋白病理之间的相互作用使 Tau 蛋白引发广泛的脑损伤和认知障碍^[11]。因此,神经炎症是疾病发展不可或缺的关键上游机制^[17]。在退行性疾病中,白细

胞介素-1 β (IL-1 β)基因表达受到 DNA 甲基化的调节,在 AD 早期,IL-1 β 启动子出现低甲基化,而在晚期甲基化水平则又恢复,其基因表达也显示出与甲基化水平变化形同的模式^[18]。ZHANG 等^[19]对超过 1 000 个前额叶皮层脑样本进行了荟萃分析,确定了 3 751 个与 AD Braak 阶段显著相关的 CpG 位点和 119 个 DMR,观察到一些具有 PU.1 结合位点的免疫相关基因在甲基化水平上呈现出显著差异。进一步的富集分析强调了免疫系统和 TREM2 在病理性 AD 中的潜在作用。这些研究结果不仅为研究者提供了关于 AD 发病机制的新见解,还可能有助于 AD 生物标志物的发现研究^[20]。

3 AD 患者脑组织甲基化水平变化

应用不同的方法检测 AD 脑组织全基因组的 5mC 水平时,研究结果并不一致。这可能源于不同方法的灵敏度和处理方法的差异性。此外,相同的方法也出现了矛盾的检测结果,可能是由于有限的样本数量和异质组织的使用。因此,对于 AD 脑部甲基化水平变化的检测应该基于灵敏度高的方法和特定的细胞类型^[21]。为此,已有研究对 AD 患者不同大脑区域中的 DNA 甲基化改变进行了详细的表征,结果显示,受 AD 病理学影响的大脑区域在 AD 的早期阶段表现出 5mC 的整体变化^[22]。

应用测序技术对 AD 进行基因组表观关联(EWAS)研究,揭示了 DNA 甲基化与 AD 之间的复杂关系。2014 年,应用甲基化 450K 芯片技术检测了 708 个大脑样本,深入评估 DNA 甲基化状态与 AD 的关系。在 415 848 个 CpG 位点中发现 71 个与 AD 病理显著负相关的甲基化位点,其中包括 ANK1、ABCA7 和 BIN1 区域的 CpG,这些区域都包含已知的 AD 易感变异^[23]。随后,LUNNON 等^[24]在 4 个不同的大脑区域进行了 EWAS 分析,首次鉴定出 ANK1 基因的差异甲基化区域,这一发现尤为重要,因为 ANK1 基因与内嗅皮层的神经病理密切相关,而内嗅皮层正是 AD 的主要表现部位。通过对多个大脑区域的分析,研究者进一步指出,皮层 ANK1 基因特异性高甲基化在 AD 相关的神经病理学中发挥着关键作用。值得一提的是,2 个独立的研究中均发现了 4 个甲基化位点的变化,这些位点在 ANK1、RHBDF2、RPL13、CDH23 这 4 个基因附近,且与 AD 病理相关。更引人瞩目的是,这些甲基化变化甚至在临床前的受试者中就已经显现,这强烈表明这些 DNA 甲基化变化可能在 AD 的发病过程中扮演着至关重要的角色^[25]。为了更全面地揭示 AD 中的表观遗传变化,研究者巧妙地结合了氧化亚硫酸氢盐焦磷酸测序技术和 Illumina Infinium 人类甲基化 450K 微阵列,首次在 AD 的内嗅皮层进行了 DNA 甲基化和羟甲基化的表观基因组关联研究。在这项开创性的研究中,

研究者不仅验证了 LUNNON 等^[24]先前报道的 ANK1 基因与疾病相关的高甲基化现象,还意外地发现了低羟甲基化的新模式^[26]。

FETAHU 等^[27]使用氧化亚硫酸氢盐深度测序(OXBS-seq)和甲基化酶辅助的亚硫酸氢盐深度测序(MAB-seq)单碱基分辨率作图和分析技术,首次完整描述了 AD 发病和进展过程中的 5mC、5-羟甲基胞嘧啶(5hmC)、5-醛基胞嘧啶(5fC)和 5-羧基胞嘧啶(5caC)的表观遗传变化图谱。精准地鉴定出 27 个 AD 特异性区域和 39 个特异性 CpG 位点,其中包含 27 个 5mC,4 个 5hmC 和 8 个 5fC/5caC 特异性位点。该研究显示 5mC、5hmC 和 5fC/5caC 这几种表观遗传学修饰状态的动态和协调变化均是神经分化过程或与 AD 特别相关的重要表观遗传特征。

LI 等^[28]应用亚硫酸氢盐挂锁探针技术绘制了前额叶神经元中增强子的全基因组 DNA 甲基化图谱,旨在识别与 AD 相关的神经元增强子。他们成功鉴定出 1 224 个差异甲基化增强区域,其中大多数表现为在 AD 神经元中 CpH 位点的低甲基化。CpH 甲基化损失发生在正常的衰老神经元中,但在 AD 中进程明显加速。DSCAML1 内含子在 AD 神经元中展现出最为显著的 DNA 甲基化异常,共影响 16 个增强子。这些异常去甲基化的增强子导致 ABCE1 过表达,从而诱导 A β 斑块增加。在 ROSMAP 数据中,发现 DSCAML1 内含子 3 中一个特定的增强子 CpG 位点(cg07533617)的低甲基化与淀粉样斑块负荷增加、神经原纤维缠结密度上升和认知症状恶化密切相关。这些研究表明,AD 中增强子的低甲基化与 BACE1 转录上调、淀粉样斑块增加、神经纤维缠结增加和认知能力下降有关^[28-29]。

WANG 等^[30]首次分析了与 AD 神经病理相关的全基因组甲基化改变,揭示了与 AD 神经病理学相关的甲基组学变化,并开发了一种新的指标即总甲基化评分,以量化甲基化对每个基因和每种蛋白质的影响。该研究为分析 DNA 甲基化与基因/蛋白质表达之间的关系提供了一种新方法。

4 血液甲基化与 AD 诊断

以往 AD 的确诊只能通过尸检脑组织进行病理学检查。随着科学技术尤其是分子成像技术的发展,如正电子发射断层成像技术(PET)为明确 AD 诊断提供了极大可能性。进行 PET 检查时,通过注射一种能与脑内病理蛋白相结合的放射性配体进行脑部成像,若观察到与病理蛋白相结合的特殊成像特征,则提示脑内存在病理改变,从而进行 AD 的诊断。尽管 PET 扫描在 AD 诊断中具有重要价值,但其价格高昂、分析时间长,最重要的是只适用于中晚期患者,无法满足 AD 的早期诊断需求。脑脊液蛋白标志物的检测能够提供关于 AD 早期病理过程的信息,因此

在早期诊断中具有较高的准确性,然而脑脊液的收集涉及腰椎穿刺,侵入性强,普及性差。相较于脑脊液检测,血液样本的提取更为迅速且简便,同时其不良反应极小,患者接受度也更高。因此,寻找并确认具有潜力的血液生物标志物,无疑将为 AD 的筛查工作带来极大的便利与推动。多项研究正聚焦于外周血甲基化检测,期望通过这一途径揭示外周血中表观遗传层面的改变,从而为 AD 等疾病的早期诊断提供新的线索。

4.1 外周全血 DNA 甲基化与 AD 诊断 LARDE-NOIJE 等^[31]研究了大脑和血样样本中催产素(OXT)与 AD 相关的 DMR。在临床前期发现血液与脑中颞上回的 OXT DMR 几乎一致,表明在 AD 中,涉及 OXT 的系统性表观遗传失调是一个重要现象,且 OXT DMR 可以作为一种潜在的新型生物标志物。在一项集中了 48 项外周血 DNA 甲基化研究的综述中,67%的研究认为 AD 患者与健康人之间在外周血 DNA 甲基化方面存在统计学意义的差异^[32]。最近许多研究发现,AD 患者的血液与健康对照相比,DNA 甲基化存在明显差异,特别是在 COASY、HOXB6 和 APP 等基因上的候选甲基化位点^[18]。2 个基于 AD 血液 DNA 甲基化的荟萃分析更是鉴定出 SPIDR、CDH6 基因和基因间区的 5 个与 AD 诊断显著相关 CpGs 位点。通过 AD 脑组织与血液 DNA 甲基化数据交联分析,发现两者存在 97 个 CpG 甲基化差异位点和 10 个甲基化差异基因组区域,这些甲基化差异与 AD 神经病理学和 AD 诊断均呈现出显著关联^[33]。更令人振奋的是,在轻微认知障碍患者的外周血中也检测到了可识别的 DNA 甲基化特征位点。甚至在临床症状出现之前的 3 年,血液样本中可以检测到区别于临床前的特征甲基化位点^[34]。这些研究均证明 AD 患者血液 DNA 甲基化作为 AD 预测性生物标志物的可行性。但是,在这些 AD 研究中,很少有研究对这些 DNA 甲基化位点进行深入的分析和从表观基因组关联分析中鉴定出的基因座在不同研究中并未得到重复验证,即使是应用相同检测技术的结果也存在差异。为了更准确地评估 DNA 甲基化作为 AD 生物标志物的潜力,未来研究需要对大量样本的检测方法进行规范性和统一性要求。同时,增加无症状个体中的表观遗传模式测量,结合基因组和表观基因组的联合分析,可能会为我们提供更全面、更准确的答案。

4.2 循环游离 DNA(cfDNA)与 AD 诊断 cfDNA 的甲基化标记作为非侵入性生物标志物,在包括脑疾病在内的多种疾病检测中发挥着日益重要的作用^[35]。cfDNA 来源于凋亡或坏死细胞,其浓度的增加可以反映病理过程,携带特征甲基化模式的 cfDNA 已被用于定位细胞来源和区分患病类别^[36-37]。

在 AD 发病早期,神经元组织出现明显的萎缩,同时伴随明显的血-脑屏障分解。多项研究在 AD 患者血浆、AD 转基因小鼠模型血浆及用 A β 处理的细胞培养基中,均发现循环核酸水平升高^[38-39]。为验证 cfDNA 及其甲基化作为 AD 早期检测标志物的可行性,PAI 等^[40]进行了深入探索。他们排除了可能导致 cfDNA 水平变化的并发症的干扰,发现 AD 患者的 cfDNA 水平显著高于健康对照患者,且血浆 cfDNA 的浓度与痴呆的严重程度之间存在密切相关性。尤为重要,在血浆 cfDNA 中发现了神经元组织特异性高度甲基化的 LHX2 基因,证明了 AD 患者升高的 cfDNA 主要来源于神经元细胞凋亡。因此,检测 cfDNA 中神经元特异性基因的甲基化程度为 AD 的早期诊断提供了一种全新的方法。最近的研究将纳米孔测序与亚硫酸氢盐转化相结合应用于神经元衍生的 cfDNA 甲基化的识别和分析。该研究通过分析皮层神经元与血浆样本间的甲基化差异模式,发现了一些显著的甲基化差异位点,这些位点可以作为区分血浆中神经源性 cfDNA 的重要标志物。在临床样本中发现从轻微认知障碍发展为 AD,其神经源性 cfDNA 水平均有所上升,这表明神经元衍生的 cfDNA 可作为神经退行性疾病的可靠预测因子^[41]。最近,cfDNA 甲基化分析与人工智能算法相结合被用于 AD 诊断,在独立的测试组中都达到了很高的预测精度(曲线下面积为 0.949~0.998),分析 cfDNA 甲基化信息有望成为非侵入性 AD 早期诊断的有力工具^[42]。因此通过系统分析 AD 相关 cfDNA 甲基化图谱,寻找 AD 特有的甲基化位点,鉴定 AD 高度相关的特征 cfDNA 甲基化靶点,可为 AD 非侵入性检测提供新的生物标志物和新思路。

综上所述,DNA 甲基化在 AD 发生和发展过程中扮演着举足轻重的角色。DNA 甲基化的异常能导致 AD 相关基因的表达失衡,从而触发一系列的病理反应。然而,关于其具体的病理性机制,还有待进一步深入研究。DNA 甲基化的高保守性和稳定性,使其成为疾病检测上极具潜力的生物标志物,血液样本 DNA 甲基化特征检测也为 AD 早期诊断开辟了新的道路。然而,DNA 甲基化标志物应用于临床还需更深入的研究和更多先进的检测技术支撑,对科研工作者仍是极大的挑战。

参考文献

- [1] ANON. 2023 Alzheimer's disease facts and figures[J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(4): 1598-1695.
- [2] SIMS R, HILL M, WILLIAMS J. The multiplex model of the genetics of Alzheimer's disease[J]. *Nat Neurosci*, 2020, 23(3): 311-322.

- [3] MALONEY B, LAHIRI D K. Epigenetics of dementia: Understanding the disease as a transformation rather than a state[J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(7): 760-774.
- [4] BLANCO-LUQUIN I, ACHA B, URDÁNOZ-CASADO A, et al. Early epigenetic changes of Alzheimer's disease in the human hippocampus [J]. *Epigenetics*, 2020, 15(10): 1083-1092.
- [5] MASTROENI D, MCKEE A, GROVER A, et al. Epigenetic differences in cortical neurons from a pair of monozygotic twins discordant for Alzheimer's disease[J]. *PLoS One*, 2009, 4(8): e6617.
- [6] HWANG J Y, AROMOLARAN K A, ZUKIN R S. The emerging field of epigenetics in neurodegeneration and neuroprotection[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2017, 18(6): 347-361.
- [7] MENDIOROZ M, CELARAIN N, ALTUNA M, et al. CRTCL gene is differentially methylated in the human hippocampus in Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2016, 8(1): 15.
- [8] MANO T, NAGATA K N H, NONAKA T, et al. Neuron-specific methylome analysis reveals epigenetic regulation and tau-related dysfunction of BRCA1 in Alzheimer's disease [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(45): E9645-E9654.
- [9] WEST R L, LEE J M, MAROUN L E. Hypomethylation of the amyloid precursor protein gene in the brain of an Alzheimer's disease patient [J]. *J Mol Neurosci*, 1995, 6(2): 141-146.
- [10] SHEN J L, QIN W, XU Q, et al. Modulation of APOE and SORL1 genes on hippocampal functional connectivity in healthy young adults [J]. *Brain Struct Funct*, 2017, 222(6): 2877-2889.
- [11] WEI X L, ZHANG L, ZENG Y. DNA methylation in Alzheimer's disease: In brain and peripheral blood [J]. *Mech Ageing Dev*, 2020, 191: 111319.
- [12] BALMIK A A, CHINNATHAMBI S. Methylation as a key regulator of Tau aggregation and neuronal health in Alzheimer's disease [J]. *Cell Commun Signal*, 2021, 19(1): 51.
- [13] LI P P, MARSHALL L, OH G, et al. Epigenetic dysregulation of enhancers in neurons is associated with Alzheimer's disease pathology and cognitive symptoms [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2246.
- [14] YU C C, JIANG T, YANG A F, et al. Epigenetic modulation on Tau phosphorylation in Alzheimer's disease [J]. *Neural Plast*, 2019, 2019: 6856327.
- [15] WATSON C T, ROUSSOS P, GARG P, et al. Genome-wide DNA methylation profiling in the superior temporal gyrus reveals epigenetic signatures associated with Alzheimer's disease [J]. *Genome Med*, 2016, 8(1): 5.
- [16] YU L, CHIBNIK L B, SRIVASTAVA G P, et al. Association of brain DNA methylation in SORL1, ABCA7, HLA-DRB5, SLC24A4, and BIN1 with pathological diagnosis of Alzheimer disease [J]. *JAMA Neurol*, 2015, 72(1): 15-24.
- [17] PASCOAL T A, BENEDET A L, ASHTON N J, et al. Microglial activation and tau propagate jointly across Braak stages [J]. *Nat Med*, 2021, 27(9): 1592-1599.
- [18] NICOLIA V, CAVALLARO R A, LÓPEZ-GONZÁLEZ I, et al. DNA methylation profiles of selected pro-inflammatory cytokines in alzheimer disease [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2017, 76(1): 27-31.
- [19] ZHANG L Y, SILVA T C, YOUNG J I, et al. Epigenome-wide meta-analysis of DNA methylation differences in prefrontal cortex implicates the immune processes in Alzheimer's disease [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 6114.
- [20] RUSTENHOVEN J, SMITH A M, SMYTH L C, et al. PU. 1 regulates Alzheimer's disease-associated genes in primary human microglia [J]. *Mol Neurodegener*, 2018, 13(1): 44.
- [21] WANG S C, OELZE B, SCHUMACHER A. Age-specific epigenetic drift in late-onset Alzheimer's disease [J]. *PLoS One*, 2008, 3(7): e2698.
- [22] ROUBROEKS J, SMITH R G, VAN DEN HOVE D L A, et al. Epigenetics and DNA methylomic profiling in Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases [J]. *J Neurochem*, 2017, 143(2): 158-170.
- [23] DE JAGER P L, SRIVASTAVA G, LUNNON K, et al. Alzheimer's disease: Early alterations in brain DNA methylation at ANK1, BIN1, RHBDF2 and other loci [J]. *Nat Neurosci*, 2014, 17(9): 1156-1163.
- [24] LUNNON K, SMITH R, HANNON E, et al. Methylomic profiling implicates cortical dereg-

- ulation of ANK1 in Alzheimer's disease[J]. *Nat Neurosci*, 2014, 17(9):1164-1170.
- [25] LORD J, CRUCHAGA C. The epigenetic landscape of Alzheimer's disease[J]. *Nat Neurosci*, 2014, 17(9):1138-1140.
- [26] SMITH A R, SMITH R G, PISHVA E, et al. Parallel profiling of DNA methylation and hydroxymethylation highlights neuropathology-associated epigenetic variation in Alzheimer's disease[J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11(1):52.
- [27] FETAHU I S, MA D A U, RABIDOU K, et al. Epigenetic signatures of methylated DNA cytosine in Alzheimer's disease[J]. *Sci Adv*, 2019, 5(8):eaaw2880.
- [28] LI P P, MARSHALL L, OH G, et al. Epigenetic dysregulation of enhancers in neurons is associated with Alzheimer's disease pathology and cognitive symptoms [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):2246.
- [29] DOURLIN P, KILINC D, MALMANCHE N, et al. The new genetic landscape of Alzheimer's disease: From amyloid cascade to genetically driven synaptic failure hypothesis? [J]. *Acta Neuropathol*, 2019, 138(2):221-236.
- [30] WANG E M, WANG M H, GUO L, et al. Genome-wide methylomic regulation of multiscale gene networks in Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(8):3472-3495.
- [31] LARDENOIJE R, ROUBROEKS J A Y, PISHVA E, et al. Alzheimer's disease-associated (hydroxy)methylomic changes in the brain and blood[J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11(1):164.
- [32] FRANSQUET P D, LACAZE P, SAFFERY R, et al. Blood DNA methylation as a potential biomarker of dementia: A systematic review[J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(1):81-103.
- [33] CSILVA T, YOUNG J I, ZHANG L Y, et al. Cross-tissue analysis of blood and brain epigenome-wide association studies in Alzheimer's disease[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):4852.
- [34] FRANSQUET P D, LACAZE P, SAFFERY R, et al. Blood DNA methylation signatures to detect dementia prior to overt clinical symptoms [J]. *Alzheimers Dement*, 2020, 12(1):e12056.
- [35] SCHWARZENBACH H, HOON D S B, PANTEL K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(6):426-437.
- [36] CAPPER D, JONES D T W, SILL M, et al. DNA methylation-based classification of central nervous system tumours[J]. *Nature*, 2018, 555(7697):469-474.
- [37] LEHMANN-WERMAN R, NEIMAN D, ZEMMOUR H, et al. Identification of tissue-specific cell death using methylation patterns of circulating DNA [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(13):E1826-E1834.
- [38] GARCÍA-ROMERO N, CARRIÓN-NAVARRO J, ESTEBAN-RUBIO S, et al. DNA sequences within glioma-derived extracellular vesicles can cross the intact blood-brain barrier and be detected in peripheral blood of patients [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1):1416-1428.
- [39] SWEENEY M D, SAGARE A P, ZLOKOVIC B V. Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders[J]. *Nat Rev Neurol*, 2018, 14(3):133-150.
- [40] PAI M C, KUO Y M, WANG I F, et al. The role of methylated circulating nucleic acids as a potential biomarker in Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(4):2440-2449.
- [41] POLLARD C, ASTON K, EMERY B R, et al. Detection of neuron-derived cfDNA in blood plasma: A new diagnostic approach for neurodegenerative conditions [J]. *Front Neurol*, 2023, 14:1272960.
- [42] BAHADO-SINGH R O, RADHAKRISHNA U, GORDEVICIUS J, et al. Artificial intelligence and circulating cell-free DNA methylation profiling: Mechanism and detection of Alzheimer's disease[J]. *Cells*, 2022, 11(11):1744.

(收稿日期:2024-03-22 修回日期:2024-04-10)