

酒精使用障碍的潜在关键基因生物信息学分析

赵容,朱有为,谢斌*

(上海交通大学医学院附属精神卫生中心,上海 200030)

*通信作者:谢斌,E-mail:xiebin@smhc.org.cn)

【摘要】 背景 酒精使用障碍(AUD)是一类慢性复发性脑病,遗传因素在AUD的发病过程中起重要作用。明确AUD的关键分子标志物对于进一步阐明疾病的发病机制,探索新的治疗靶点和预防复发具有重要意义。目的 应用生物信息学方法,筛选AUD的核心基因和信号通路,为AUD的防治提供新的方向。方法 从基因表达综合数据库(GEO)下载基因表达数据集GSE161986。应用R软件的limma包筛选差异表达基因(DEGs)。使用DAVID数据库进行基因富集分析(GSEA)。使用STRING数据库和Cytoscape软件构建蛋白-蛋白互作网络(PPI)并寻找网络核心基因。使用GSE44456验证筛选潜在核心基因。结果 共筛选出114个DEGs。富集分析表明,差异基因主要参与信号转导、蛋白结合、细胞膜以及MAPK信号通路等功能的调控。PPI及验证分析显示,GAD1、TIMP1和CD44可能是AUD发病的潜在关键基因。结论 GAD1和TIMP1表达异常以及MAPK信号通路可能在AUD的发病过程中起关键作用,并可能作为AUD诊断和治疗的潜在分子靶点。

【关键词】 酒精使用障碍;GEO;差异表达基因;核心基因

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



微信扫描二维码

听独家语音释文

与作者在线交流

中图分类号:R749

文献标识码:A

doi:10.11886/scjsws20230331001

Identification of potential hub genes involved in alcohol use disorder via bioinformatics analysis

Zhao Rong, Zhu Youwei, Xie Bin*

(Shanghai Mental Health Center, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200030, China)

*Corresponding author: Xie Bin, E-mail: xiebin@smhc.org.cn)

【Abstract】 **Background** Alcohol use disorder (AUD) is a type of chronic relapsing brain disorder. Genetic factors play an important role in the pathogenesis of AUD. And screening for molecular markers of AUD is of great significance for further elucidating the pathogenesis of the disease, discovering novel therapeutic targets and preventing relapse. **Objective** To explore relevant hub genes and potential signal pathways associated with the development of AUD through bioinformatics analysis, and to provide a new direction for the prevention and treatment of AUD. **Methods** The GSE161986 dataset was acquired from the Gene Expression Omnibus (GEO) database. The limma package in R was utilized to identify differentially expressed genes (DEGs). Gene set enrichment analysis (GSEA) was carried out using the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID). A protein-protein interaction (PPI) network of DEGs was assessed using the STRING database and visualized by Cytoscape software. Finally, hub genes were validated in GSE44456 dataset. **Results** A total of 114 DEGs were identified. GSEA revealed that these genes were mainly involved in the regulation of signal transduction, protein binding, membrane trafficking and MAPK signaling pathway. PPI network and validation study indicated that GAD1, TIMP1 and CD44 were potential hub genes involved in AUD. **Conclusion** Aberrant expression of GAD1 and TIMP1 as well as MAPK signaling pathway may play a key role in the pathogenesis of AUD, and may serve as potential molecular targets for the diagnosis and treatment of AUD. [Funded by "Flying Project" of Shanghai Mental Health Center (number, 2022-FX-01)]

【Keywords】 Alcohol use disorder; GEO; Differentially expressed genes; Hub genes

酒精使用障碍(alcohol use disorder, AUD)是一类常见的物质使用障碍,具有流行率高、共病率高、治疗率低等特点,已成为世界范围内严重的公共卫

生问题。世界卫生组织全球酒精与健康报告显示,全球每年约有300万人死于酒精滥用^[1]。美国的一项研究显示,AUD终生患病率高达29.1%,但仅有19.8%的患者接受过治疗^[2]。在我国,AUD的问题同样不容忽视:一项山东地区的研究显示,AUD的12个月患病率为4.4%,且男性患病率高于女性^[3]。

基金项目:上海市精神卫生中心“飞翔计划”项目(项目名称:人际交互模式对酒精成瘾者脑功能机制的影响研究,项目编号:2022-FX-01)

遗传因素在 AUD 的发病过程中起重要作用^[4],酒精可以改变脑部与奖赏环路密切相关的神经递质受体基因表达^[5],下丘脑中 Alpha 2a-肾上腺素能受体基因低表达与早期生活应激事件导致的饮酒行为易感性呈正相关^[6]。Clarke 等^[7]针对成年人和青少年人群的研究显示, *KCNJ6* 是酒精依赖发病的重要基因,其基因多态性可能参与社会心理应激因素诱发的青少年危险性饮酒行为。Brückmann 等^[8]对 49 例酒精依赖患者的流行病学研究显示, *GDAP1* 甲基化与酒精成瘾的病程呈负相关, *GDAP1* 是预测 AUD 严重程度及其治疗预后的潜在生物标志物。

目前,针对 AUD 的治疗方式以戒酒治疗、对症治疗和社会心理干预等为主。因此,深入研究与 AUD 发病相关的关键基因和信号通路,对于揭示 AUD 的生物学机制以及开发新的治疗方法具有重要意义。本研究应用生物信息学方法,分析基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)中 AUD 相关基因芯片数据,筛选 AUD 发病的潜在关键基因,分析与关键基因密切相关的生物学功能和信号通路,以期在分子生物学水平上为 AUD 发病机制的研究及治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 GEO 芯片数据获取

从 GEO 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)中下载 AUD 芯片数据集(GSE161986)。该芯片数据集基于 GPL571 平台,数据来源于 18 例 AUD 患者以及与之年龄和性别相匹配的 17 例健康对照者的大脑前额叶和伏隔核组织。

1.2 共同差异表达基因筛选

采用 R 软件处理基因芯片数据集中的原始数据,通过 limma 包^[9]对数据进行标准化处理,分析芯片数据集中 AUD 组和健康对照组之间的差异表达基因(differential expression genes, DEGs)。DEGs 的筛选标准:① $P < 0.05$;②基因差异倍数的绝对值(|fold change (FC)|) > 1.5 。

1.3 差异基因功能富集分析

使用 DAVID 6.8(Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery, DAVID)^[10]对筛选出的 DEGs 进行基因本体论(Gene Ontology, GO)、京都基因和基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)分析。以 $P < 0.05$ 为标准。

1.4 蛋白-蛋白相互作用网络构建及核心基因模块筛选

首先,将筛选出 DEGs 导入 STRING 11.5 数据库^[11],以结合分数 > 0.4 作为构建标准,绘制蛋白-蛋白互作(protein-protein interaction, PPI)网络。使用 Cytoscape 3.7.2 对 PPI 网络进行可视化处理。使用 Cytohubba 插件的 MCC 算法,计算所有节点的分数,选取得分前 10 位的节点,构建核心基因网络 1,计算 PPI 网络中每个基因节点的连接度(degree)、紧密度(closeness)和边界数(edge betweenness),选择 PPI 网络中三项指标均大于中位数的基因节点构建核心基因网络 2。对核心基因网络 1 和 2 取交集,将交集基因作为 PPI 网络中的核心基因。

1.5 核心基因生物信息学验证

从 GEO 数据库下载酒精成瘾芯片数据集 GSE44456 对筛选出的核心基因进行验证。该芯片数据集基于 GPL6244 平台,数据来源于 20 例酒精成瘾患者以及与之年龄和性别相匹配的 19 例健康对照者的海马组织。采用 limma 包对芯片数据进行预处理和注释,采用独立样本 *t* 检验比较 GSE161986 芯片中筛选到的核心基因与 GSE44456 芯片中筛选到的核心基因的表达差异。

2 结果

2.1 DEGs 筛选

从基因表达芯片 GSE161986 中共筛选出 114 个 DEGs,其中表达上调的基因 92 个,表达下调的基因 22 个。排名前 10 位的表达上调和表达下调的差异基因见表 1。

2.2 DEGs 富集分析

利用 DAVID 数据库网站进行富集分析,结果显示,在生物学过程方面,DEGs 主要参与信号转导(GO: 0007165-signal transduction, $P < 0.01$)、RNA 聚合酶 II 启动子的转录正向调控(GO: 0045944-positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter, $P = 0.01$)和凋亡的负性调控(GO: 0043066-negative regulation of apoptotic process, $P < 0.01$)等。

在细胞成分方面,DEGs 主要富集在细胞膜(GO: 0005886-plasma membrane, $P < 0.01$)、细胞质(GO: 0005737-cytoplasm, $P < 0.01$)和细胞核(GO: 0005634-nucleus, $P = 0.01$)中。

在分子功能方面,DEGs 主要参与蛋白结合(GO:0005515-protein binding)、同类蛋白结合(GO:0042802-identical protein binding)及钙离子结合(GO:0005509-calcium ion binding)等(P 均 <0.01)。

KEGG 生物学通路富集分析显示,DEGs 主要参

与 MAPK 信号通路 [hsa04010-mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway, $P=0.01$]、吞噬体(hsa04145-Phagosome, $P<0.01$)以及细胞黏附分子(hsa04514-Cell adhesion molecules, $P<0.01$)等信号通路的调控。见图 1。

表 1 排名前 10 位的表达上调和表达下调的 DEGs
Table 1 Top 10 up-regulated and down-regulated DEGs

基因名	表达趋势	logFC	基因注释
<i>SERPINA3</i>	Up	1.98	serpin family A member 3
<i>S100A8</i>	Up	1.88	S100 calcium binding protein A8
<i>IFITM3</i>	Up	1.41	interferon induced transmembrane protein 3
<i>IFITM2</i>	Up	1.37	interferon induced transmembrane protein 2
<i>SLC14A1</i>	Up	1.24	solute carrier family 14 member 1 (Kidd blood group)
<i>TXNIP</i>	Up	1.21	thioredoxin interacting protein
<i>SRGN</i>	Up	1.17	serglycin
<i>IFITM1</i>	Up	1.16	interferon induced transmembrane protein 1
<i>C1QB</i>	Up	1.12	complement C1q B chain
<i>HLA-DRA</i>	Up	1.10	major histocompatibility complex, class II, DR alpha
<i>CRH</i>	Down	-1.09	corticotropin releasing hormone
<i>NR4A2</i>	Down	-1.01	nuclear receptor subfamily 4 group A member 2
<i>TAC1</i>	Down	-0.91	tachykinin precursor 1
<i>PVALB</i>	Down	-0.87	parvalbumin
<i>PPEF1</i>	Down	-0.77	protein phosphatase with EF-hand domain 1
<i>STYK1</i>	Down	-0.76	serine/threonine/tyrosine kinase 1
<i>TYRP1</i>	Down	-0.74	tyrosinase related protein 1
<i>EPHA3</i>	Down	-0.69	EPH receptor A3
<i>RELN</i>	Down	-0.68	reelin
<i>ELOVL4</i>	Down	-0.65	ELOVL fatty acid elongase 4

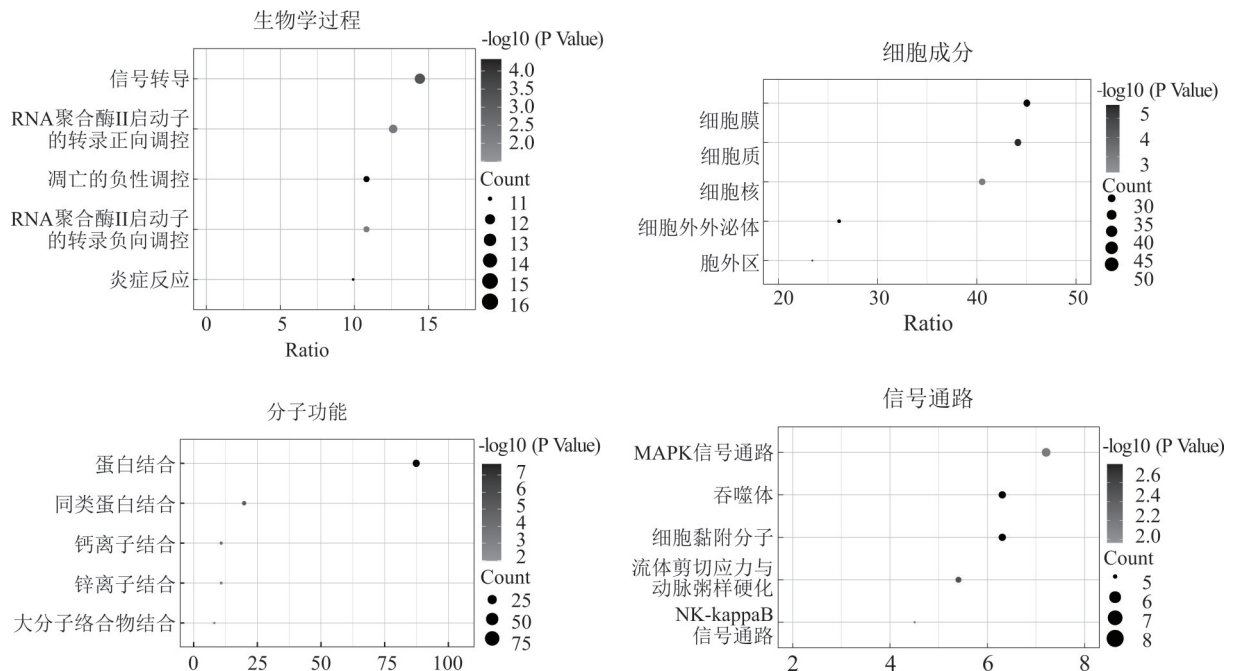


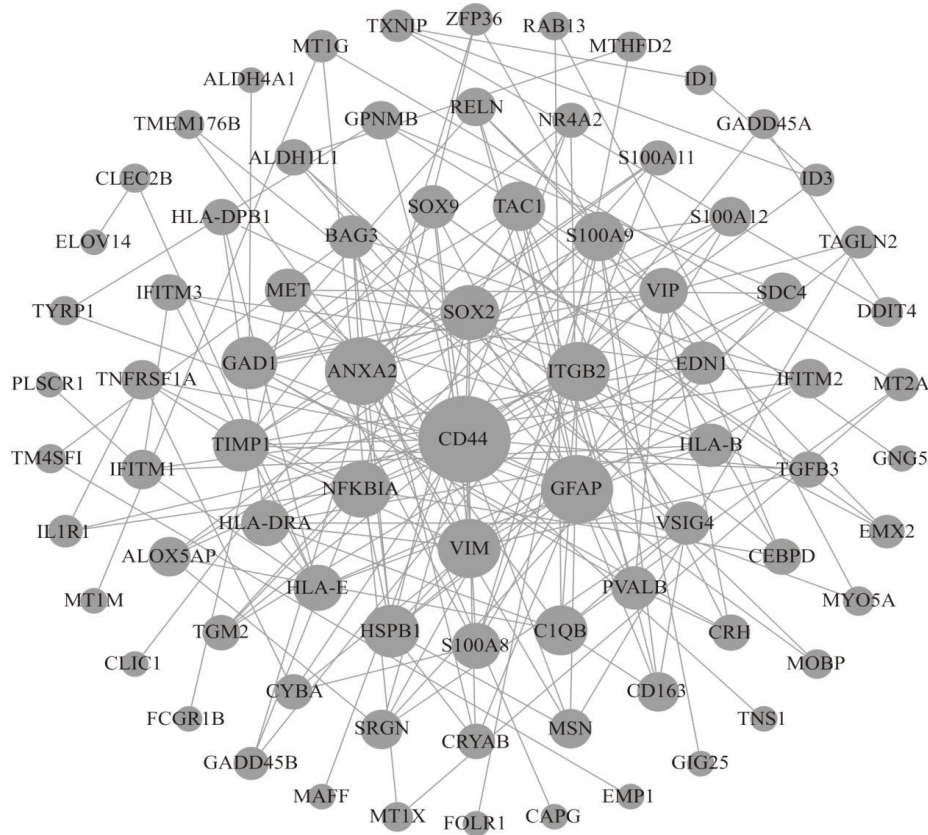
图 1 DEGs 富集分析结果

Figure 1 Enrichment analysis of DEGs

2.3 PPI 网络构建及核心基因筛选

将 DEGs 上传至 STRING 数据库得到 PPI 网络, 并通过 Cytoscape 3.7.2 进行 PPI 网络可视化处理。PPI 网络共包含 80 个蛋白节点和 186 个蛋白相互作用关系, 见图 2。应用 Cytohubba 筛选 PPI 网络中的关键基因。Cytohubba 插件分析共筛选出得分最高的基因节点 10 个, 节点图形的大小与节点的连接度

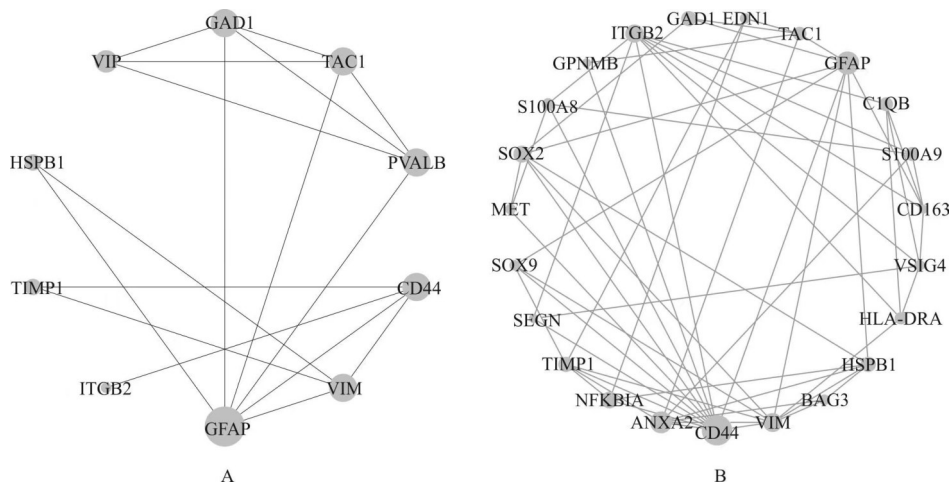
成正比(核心基因网络 1), 见图 3A; CytoNCA 插件分析共筛选出得分最高的关键节点 23 个, 节点图形的大小与节点的连接度成正比(核心基因网络 2), 见图 3B。将核心基因网络 1 和 2 中的节点取交集, 获得核心基因集, 包含 8 个基因: *GAD1*、*CD44*、*VIM*、*TIMP1*、*ITGB2*、*HSPB1*、*TAC1* 和 *GFAP*, 其中 *GAD1* 和 *TAC1* 表达下调, *CD44*、*VIM*、*TIMP1*、*ITGB2*、*HSPB1* 和 *GFAP* 表达上调。



注:按照连接度(degree)对所有节点的大小进行排序

图 2 PPI 网络构图

Figure 2 PPI network



注:A 为核心基因网络 1;B 为核心基因网络 2

图 3 cytohubba 及 cytoNCA 核心基因网络图

Figure 3 Hub gene network illustrated using modules of cytohubba and cytoNCA

2.4 生物信息学验证

使用数据芯片 GSE44456 对筛选出的核心基因进行验证。结果显示, *GADI* ($P=0.044$) 和 *TIMP1*

($P=0.002$) 在 AUD 患者和健康对照者之间存在表达差异。*CD44* 的表达差异接近 0.05 ($P=0.057$)。见图 4。

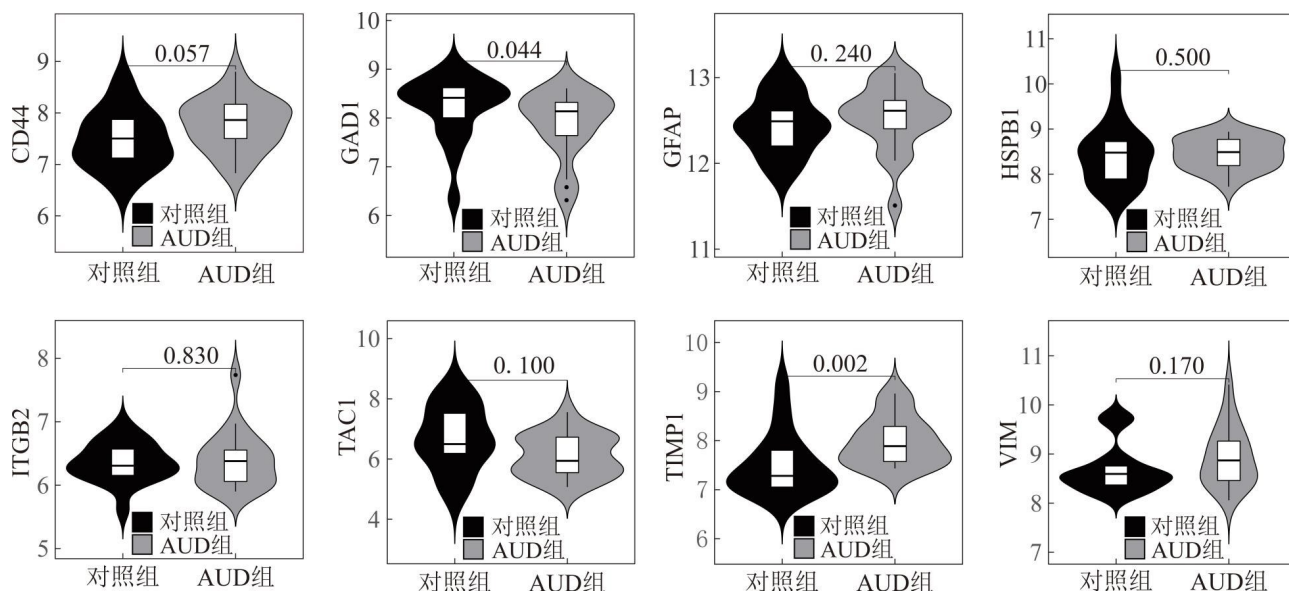


图4 GSE44456样本中核心基因差异表达图

Figure 4 Differential expression analysis of hub genes in GSE44456 dataset

3 讨 论

本研究分析 GEO 数据库中 GSE161986 数据集, 得到 114 个与 AUD 密切相关的 DEGs。富集分析显示, DEGs 主要参与信号转导、RNA 聚合酶 II 启动子的转录正向调控和凋亡的负性调控。KEGG 通路分析显示, MAPK 信号通路可能在 AUD 的发病过程中起重要作用。

MAPK 信号通路是介导生物细胞内外信号转导和细胞内反应的重要通路之一^[12], 可以被多种成瘾性物质激活^[13]。动物模型研究显示, MAPK 信号通路可能通过调控酒精暴露所致的神经元激活和神经递质受体的级联反应^[14], 诱导小鼠出现觅药行为^[15]。强迫性觅药行为的发生与 MAPK 信号通路存在关联^[16], 通过抑制小鼠体内 MAPK 激酶的表达, 可以降低相关生物学反应并减少小鼠觅药行为^[17]。

PPI 网络分析及基因芯片验证分析显示, *GADI*、*TIMP1* 和 *CD44* 可能在 AUD 的发病过程中起关键调控作用。*GADI* 通过与辅因子 5'-磷酸吡哆醛结合, 参与抑制性神经递质 γ -氨基丁酸 (GABA) 及其受体活性的调控^[18], GABA 及其受体的可塑性被认为是影响 AUD 以及其他多种物质使用障碍发病的重要因素。流行病学研究显示, *GADI* 可能是物质使用障碍的潜在调控基因。*GADI* 基因多态性与海洛因成瘾表型的形成相关, 基因多态性及表达水平与患

者的美沙酮使用情况以及记忆损伤情况存在关联^[19]。遗传学研究显示, *GADI* 单倍型与甲基苯丙胺成瘾及其相关精神障碍的发病相关, 特别是 rs769404-rs701492 单倍型与甲基苯丙胺所致精神障碍发病密切相关^[20]。AUD 的动物模型研究显示, 小鼠伏隔核和杏仁核的 *GADI* 表达水平降低^[21], 该结果与人群流行病学研究结果一致, 且这一改变与 AUD 的患病风险相关^[22]。

TIMP1 属于 *TIMP* 基因家族, 该基因家族的表达产物可通过影响基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 的活性, 参与细胞分化、迁移、死亡以及突触可塑性等生物学过程的调控^[24], 影响个体与成瘾相关的学习和记忆功能^[23]。针对阿片类药物成瘾的研究显示, 长期吸食海洛因后, 患者体内 *TIMP1* 和 *MMPs* 水平升高^[24], 与动物模型的研究结果一致^[25]。在酒精成瘾方面, 既往研究显示, 酒精依赖患者 *TIMP1* 和 *MMPs* 水平较高, *TIMP1* 水平增高与女性患者的抑郁和焦虑情绪以及记忆减退呈正相关^[26]。*TIMP1* 表达水平增高还与酒精所致的肝脏损伤有关^[27]。研究显示, *TIMP1* 在酒精所致的肝纤维化和门静脉高压患者中表达升高^[28]。通过抑制下调 *TIMP1* 和 *MMPs* 的表达, 可有效抑制肝纤维化和肝星状细胞活化^[29]。

免疫因素被认为在 AUD 的发病过程中起重要作用^[30]。*CD44* 属于免疫相关的蛋白编码基因, 其表

达产物通过跨膜信号受体活性和细胞因子受体活性的调控,参与细胞间的相互作用、细胞黏附和细胞迁移^[31]。长期的酒精暴露可以刺激T细胞活化,提升CD44表达水平,这一研究结果在动物模型和人体试验中均得到验证^[32]。免疫组化研究显示,与健康人群和戒酒后的AUD患者相比,酒精性肝损伤患者的CD44水平更高^[33],戒酒有助于改善患者体内CD44表达水平^[34]。

本研究的差异基因表达分析芯片GSE161986的组织样本为受试者的前额叶组织,验证芯片GSE44456的组织样本源于受试者的海马组织,上述两部分脑区均与记忆和学习功能密切相关^[35]。酒精可以诱导前额叶和海马等前脑区域的氧化应激、神经元凋亡以及表观遗传改变,进而影响个体的认知功能^[36]。动物模型研究提示,前额叶和海马区的去甲肾上腺素能和胆碱能反应存在相互联系,共同参与酒精成瘾相关记忆的形成^[37]。这些脑区可能存在相互联系的生物标志物表达和生物学过程改变,共同参与酒精毒性所致的大脑皮层损伤和成瘾行为的形成^[38]。

综上所述,本研究使用生物信息学方法比较了AUD患者和健康对照者相关基因的表达差异,发现TIMP1的表达异常及MAPK信号通路可能是AUD发病的关键核心基因和信号通路,为进一步研究AUD的发病机制和挖掘潜在的干预靶点提供了新的方向。

本研究局限性在于:①药物治疗、性别、年龄以及死亡等混杂因素可能对AUD患者的DEGs产生影响;②本研究中DEGs筛选标准为 $P < 0.05$ 且 $|FC| > 1.5$,与精神疾病生物信息学研究中的筛选标准相比($P < 0.05$ 且 $\log_2|FC| \geq 2$)^[39],较为宽松;③未验证筛选到的关键DEGs在AUD发生发展过程中的具体作用,后续研究可进一步通过动物模型和临床研究,验证该结果。

参考文献

- [1] World Health Organization. Global status report on alcohol and health (2018) [EB/OL]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565639>, 2018-09-27.
- [2] 吕丽,黄佩佩,刘传新.酒精依赖基因遗传学研究进展[J].中国药物依赖性杂志,2020,29(5):321-329.
Lyu L, Huang PP, Liu CX. Research progress on genetics of alcohol dependence [J]. Chinese Journal of Drug Dependence, 2020, 29(5): 321-329.
- [3] 吕丽.山东汉族男性GABRA2和OPRM1基因多态性与酒精依赖关联研究[D].济宁:济宁医学院,2020.
- [4] Lyu L. Association study of gene polymorphisms in GABRA2 and OPRM1 with alcohol dependence in Shandong Province Han men [D]. Jining: Jining Medical University, 2020.
- [4] 吴菲,倪照军,高雪娇,等.酒精依赖成瘾的机制及治疗研究进展[J].中国医刊,2021,56(11):1165-1169.
Wu F, Ni ZJ, Gao XJ, et al. Research progress in the mechanism and treatment of alcohol dependence addiction [J]. Chinese Journal of Medicine, 2021, 56(11): 1165-1169.
- [5] McClintick JN, McBride WJ, Bell RL, et al. Gene expression changes in glutamate and GABA-A receptors, neuropeptides, ion channels, and cholesterol synthesis in the periaqueductal gray following binge-like alcohol drinking by adolescent alcohol-preferring (P) rats [J]. Alcohol Clin Exp Res, 2016, 40(5): 955-968.
- [6] Comasco E, Todkar A, Granholm L, et al. Alpha 2a-adrenoceptor gene expression and early life stress-mediated propensity to alcohol drinking in outbred rats [J]. Int J Environ Res Public Health, 2015, 12(7): 7154-7171.
- [7] Clarke TK, Laucht M, Ridinger M, et al. KCNJ6 is associated with adult alcohol dependence and involved in gene \times early life stress interactions in adolescent alcohol drinking [J]. Neuropsychopharmacology, 2011, 36(6): 1142-1148.
- [8] Brückmann C, Di Santo A, Karle KN, et al. Validation of differential GDAPI DNA methylation in alcohol dependence and its potential function as a biomarker for disease severity and therapy outcome [J]. Epigenetics, 2016, 11(6): 456-463.
- [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] 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.
- [11] Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(D1): D607-D613.
- [12] Ferguson LB, Patil S, Moskowitz BA, et al. A pathway-based genomic approach to identify medications: application to alcohol use disorder [J]. Brain Sci, 2019, 9(12): 381.
- [13] 朱有为,王文政,苏杭,等.基于GEO数据库的可卡因使用障碍潜在关键基因筛选及生物信息学验证[J].中国药物依赖性杂志,2022,31(5):395-400.
Zhu YW, Wang WZ, Su H, et al. Identification of potential core genes in cocaine use disorder: Insights from GEO database analysis and bioinformatics validation [J]. Chinese Journal of Drug Dependence, 2022, 31(5): 395-400.
- [14] Runegaard AH, Sørensen AT, Fitzpatrick CM, et al. Locomotor- and reward-enhancing effects of cocaine are differentially regulated by chemogenetic stimulation of Gi-signaling in dopaminergic neurons [J]. eNeuro, 2018, 5(3).
- [15] Colville AM, Iancu OD, Oberbeck DL, et al. Effects of selection for ethanol preference on gene expression in the nucleus accumbens of HS-CC mice [J]. Genes Brain Behav, 2017, 16

- (4): 462-471.
- [16] Logrip ML, Barak S, Warnault V, et al. Corticostriatal BDNF and alcohol addiction[J]. *Brain Res*, 2015, 1628(Pt A): 60-67.
- [17] Acquah-Mensah GK, Leslie SW, Kehrer JP. Acute exposure of cerebellar granule neurons to ethanol suppresses stress-activated protein kinase-1 and concomitantly induces AP-1 [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2001, 175(1): 10-18.
- [18] Huang D, Wang Y, Thompson JW, et al. Cancer-cell-derived GABA promotes β -catenin-mediated tumour growth and immunosuppression[J]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(2): 230-241.
- [19] Shi Y, Li Y, Zhang J, et al. GAD1 but not GAD2 polymorphisms are associated with heroin addiction phenotypes [J]. *Neurosci Lett*, 2020, 717: 134704.
- [20] Veerasakul S, Watiktinkorn P, Thanoi S, et al. Association of polymorphisms in GAD1 and GAD2 genes with methamphetamine dependence[J]. *Pharmacogenomics*, 2017, 18(1): 17-22.
- [21] Rodd ZA, Kimpel MW, Edenberg HJ, et al. Differential gene expression in the nucleus accumbens with ethanol self-administration in inbred alcohol-preferring rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2008, 89(4): 481-498.
- [22] Loh el-W, Lane HY, Chen CH, et al. Glutamate decarboxylase genes and alcoholism in Han Taiwanese men [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2006, 30(11): 1817-1823.
- [23] Beroun A, Mitra S, Michaluk P, et al. MMPs in learning and memory and neuropsychiatric disorders [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(16): 3207-3228.
- [24] Kovatsi L, Batzios S, Nikolaou K, et al. Alterations in serum MMP and TIMP concentrations following chronic heroin abuse [J]. *Toxicol Mech Methods*, 2013, 23(5): 377-381.
- [25] Conant K, Lonskaya I, Szklarczyk A, et al. Methamphetamine-associated cleavage of the synaptic adhesion molecule intercellular adhesion molecule-5 [J]. *J Neurochem*, 2011, 118(4): 521-32.
- [26] Wilhelm CJ, Fuller BE, Huckans M, et al. Peripheral immune factors are elevated in women with current or recent alcohol dependence and associated with altered mood and memory [J]. *Drug Alcohol Depend*, 2017, 176: 71-78.
- [27] Liu X, Rosenthal SB, Meshgin N, et al. Primary alcohol-activated human and mouse hepatic stellate cells share similarities in gene-expression profiles [J]. *Hepatol Commun*, 2020, 4(4): 606-626.
- [28] Chen J, Argemi J, Odena G, et al. Hepatic lipocalin 2 promotes liver fibrosis and portal hypertension [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 15558.
- [29] Fujimoto Y, Kaji K, Nishimura N, et al. Dual therapy with zinc acetate and rifaximin prevents from ethanol-induced liver fibrosis by maintaining intestinal barrier integrity [J]. *World J Gastroenterol*, 2021, 27(48): 8323-8342.
- [30] Adams C, Conigrave JH, Lewohl J, et al. Alcohol use disorder and circulating cytokines: a systematic review and meta-analysis [J]. *Brain Behav Immun*, 2020, 89: 501-512.
- [31] Bourguignon LY, Singleton PA, Diedrich F. Hyaluronan-CD44 interaction with Rac1-dependent protein kinase N-gamma promotes phospholipase cgamma1 activation, Ca(2+) signaling, and cortactin-cytoskeleton function leading to keratinocyte adhesion and differentiation [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(28): 29654-29669.
- [32] Song K, Coleman RA, Zhu X, et al. Chronic ethanol consumption by mice results in activated splenic T cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2002, 72(6): 1109-1116.
- [33] Urashima S, Tsutsumi M, Ozaki K, et al. Immunohistochemical study of hyaluronate receptor (CD44) in alcoholic liver disease [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2000, 24(4 Suppl): 34S-38S.
- [34] Marié C, Fouquet G, Courtois A, et al. Mechanisms of chronic alcohol exposure-induced aggressiveness in cellular model of HCC and recovery after alcohol withdrawal [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(7): 366.
- [35] Seemiller LR, Gould TJ. The effects of adolescent alcohol exposure on learning and related neurobiology in humans and rodents [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2020, 172: 107234.
- [36] Otero NK, Thomas JD, Sasaki CA, et al. Choline supplementation and DNA methylation in the hippocampus and prefrontal cortex of rats exposed to alcohol during development [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2012, 36(10): 1701-1709.
- [37] Yang FC, Liang KC. Interactions of the dorsal hippocampus, medial prefrontal cortex and nucleus accumbens in formation of fear memory: difference in inhibitory avoidance learning and contextual fear conditioning [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2014, 112: 186-194.
- [38] McClintick JN, McBride WJ, Bell RL, et al. Gene expression changes in the ventral hippocampus and medial prefrontal cortex of adolescent alcohol-preferring (P) rats following binge-like alcohol drinking [J]. *Alcohol*, 2018, 68: 37-47.

(收稿日期:2023-03-31)

(本文编辑:吴俊林)