

帕金森病和抑郁症转录组生物信息学分析

曹慧¹, 黄卫², 杨栋¹, 傅锦华¹, 彭红莉¹, 魏宏萍¹, 刘丽妮¹, 熊中杰³, 董轩冀¹

1. 湖南省脑科医院, 湖南省长沙市 410007

2. 中南大学湘雅医院, 湖南省长沙市 410008

3. 益阳市第四人民医院, 湖南省益阳市 413000

摘要:目的 抑郁症状(MDD)是帕金森病(PD)常见的非运动症状,探讨帕金森病和抑郁症可能具有的共同致病机制。

方法 通过文本挖掘及转录组数据分析帕金森病与抑郁症共同的致病机制。**结果** 文本挖掘发现63.8%的MDD基因和32%的PD基因有共有基因及438个共有的生物学过程;转录组筛选出有统计学意义的10个共同差异基因:I类肌球蛋白(MYO1F)、活化免疫球蛋白样受体(LILRA2)、垂体腺苷酸环化酶激活多肽(ADCYAP1)、骨骼肌肌球蛋白轻链激酶(MYLK2)、钙结合蛋白2(CLSTN2)、钙调蛋白依赖性蛋白激酶4(CAMK4)、前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶1(PCSK1)、瞬时受体电位阳离子通道5(TRPC5)、钠离子葡萄糖联合转运子(SLC5A1)、酪氨酸酶相关蛋白1(TYPR1) ($P < 0.01$);基因功能富集分析发现PD和MDD具有相同的14个生物学过程,6个细胞组成,10个分子功能,并且有3个相同的京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路 ($P < 0.05$);通过蛋白质网络构建,筛选出4个共同的关键基因(MYO1F、CAMK4、PCSK1、TRPC5);通过对蛋白质网络模块分析后发现关键模块具有共同的生物学过程。**结论** 帕金森病和抑郁症具有共同的致病基因及通路,这为帕金森病和抑郁症伴存现象提供了理论基础。

关键词: 帕金森病;抑郁症;转录组学;富集聚类

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2019.01.009

A bioinformatic analysis of the transcriptomes of Parkinson's disease and major depressive disorder

CAO Hui, HUANG Wei, YANG Dong, FU Jin-Hua, PENG Hong-Li, WEI Hong-Ping, LIU Li-Ni, XIONG Zhong-Jie, DONG Xuan-Qi. Brain Hospital of Hunan Province, Changsha 410007, China

Corresponding author: DONG Xuan-Qi, E-mail: 1029482857@qq.com

Abstract: Objective To investigate the potential pathogenic mechanisms shared by Parkinson's disease (PD) and major depressive disorder (MDD) due to the fact that depressive symptoms are common non-motor symptoms of PD. **Methods** Text mining and transcriptomic data analysis were used to find the pathogenic mechanisms shared by PD and MDD. **Results** Text mining found that 63.8% of MDD genes and 32% of PD genes were shared genes, and the two had 438 shared biological processes; the transcriptomic data analysis screened out 10 significantly differential genes [myosin IF (MYO1F), leukocyte immunoglobulin-like receptor A2 (LILRA2), adenylate cyclase-activating polypeptide 1 (ADCYAP1), myosin light chain kinase 2 (MYLK2), calsynenin 2 (CLSTN2), calcium/calmodulin-dependent protein kinase type IV (CAMK4), proprotein convertase subtilisin/kexin type 1 (PCSK1), transient receptor potential cation channel, subfamily C, member 5 (TRPC5), sodium/glucose cotransporter 1 (SLC5A1), tyrosinase-related protein 1 (TYPR1)] ($P < 0.01$); the gene set enrichment analysis revealed 14 biological processes, 6 cell components, 10 molecular functions, and 3 identical Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) signaling pathways ($P < 0.05$), all of which were shared by PD and MDD. Four key genes (MYO1F, CAMK4, PCSK1, and TRPC5) shared by PD and MDD were screened out by constructing protein-protein interaction networks (PPINs), and the analysis of the modules from the PPINs suggested that the key modules

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81774281);湖南省中医药科研计划项目(2015109);湖南省卫生健康委科研计划课题项目(C2019039)
收稿日期:2018-09-19;**修回日期:**2019-01-03

作者简介:曹慧(1985-),女,主治医师,神经内科硕士研究生,主要从事抑郁症的研究。

通信作者:董轩冀(1982-),女,副主任医师,神经内科硕士研究生,主要从事神经精神交叉疾病研究。E-mail:1029482857@qq.com。

shared common biological processes. **Conclusions** PD and MDD share common pathogenic genes and pathways, which provides a theoretical basis for coincidence of PD with MDD.

Key words: Parkinson's disease; major depressive disorder; transcriptomics; enrichment clustering

帕金森病 (Parkinson disease, PD) 是一种慢性神经系统退行性疾病。抑郁症 (Major depressive disorder, MDD) 是一类情绪低落、快感缺失、意志活动减退等为主要症状的情绪障碍。PD 的临床症状主要表现在运动症状和非运动症状,运动症状如震颤、运动迟缓、肌强直等;非运动症状主要包括抑郁、便秘、睡眠障碍、自主神经功能异常以及认知障碍等。研究显示超过 90% 的 PD 患者都会表现出非运动症状。这些症状可以早于运动症状多年出现^[1],对于诊断前驱期 PD 更有意义。抑郁是 PD 患者最常出现的一种非运动性神经精神症状^[2],PD 患者抑郁发病率达 40%^[3],但临床识别率低,临床治疗率不足 35%^[4]。

有研究发现,PD 患者除了多巴胺 (DA) 大量降解这一典型特征外,中脑黑质 GABA 受体也逐渐减少,而抑郁症患者额叶、枕叶皮质区 GABA 浓度与健康人相比也明显减少^[5],试推测 PD 和 MDD 可能有共同致病机制。Tong 等^[6]对 82 名 PD 患者和 64 名非 PD 患者研究发现,PD 患者的血浆 5-HT 及其代谢产物 5-羟基吲哚乙酸 (5-HIAA) 较非 PD 患者明显下降,且降低程度与抑郁程度显著相关,认为 5-HT 和 5-HIAA 的血浆水平可以作为 PD 伴 MDD 的外周标志物,但其具体机制仍不明确。随着大数据及芯片测序技术的发展,通过文本挖掘及转录组数据探索疾病之间的相关机制是有效手段,其中基因富集聚类主要通过 GO 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路分析。GO (gene ontology) 数据库的产生是为了使对各种数据库中基因产物功能描述相一致,也就是将所有的蛋白功能进行分类。整体来说 GO 分为 3 个不同的类别,分别是分子功能 (molecular function, MF)、生物学途径 (biological process, BP) 和细胞组份 (cellular component, CC)。KEGG 的 PATHWAY 数据库是一个分子互动网络,可以对蛋白质交互网络在各种细胞活动起的作用作出预测。本研究拟通过文本挖掘及转录组数据探讨 PD 与 MDD 可能的共同致病机制。

1 材料和方法

1.1 文本挖掘

本研究采用 COREMINE^[7] ([http://www.](http://www.coremine.com/medical/)

[coremine.com/medical/](http://www.coremine.com/medical/)) 信息检索平台,用于检索 PD 和 MDD 相关的文献、基因、化学药品、BP、CC、MF 和 KEGG pathway。

1.2 数据和数据预处理

通过在线数据库 GEO (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds/>) 选取帕金森转录组数据 GSE68719 (GPL11154),其为 29 例帕金森患者和 44 例正常对照组脑组织样本测序数据;MDD 转录组数据 GSE44593 (GPL570),其为 14 例 MDD 患者和 14 例正常对照组脑组织样本芯片数据,并对数据进行了标准化处理。

1.3 差异表达分析

本研究使用 R 语言 limma 包分析和筛选两种疾病的差异表达基因 (DEGs),由于这两种疾病不属于同一类型的疾病,因此差异表达基因的筛选标准使用不同的阈值。PD 差异表达基因筛选标准为 P 值小于 0.01,且 logFC 大于 1,MDD 差异表达基因筛选标准为 P 值小于 0.05。

1.4 功能富集分析

通过 R 语言中的 clusterprofiler 包对显著差异表达的基因进行功能富集分析,并选择基因数大于或等于 2 且 P 值小于 0.05 作为富集数据。同时,KEGG pathway 分析选择 P 值小于 0.05 作为进入富集生物途径的标准。

1.5 蛋白-蛋白相关网络

在该研究中,STRING (在线获取:<http://string-db.org/>) 数据库用于构建由差异表达基因的蛋白间相互作用网络 (Protein-Protein Interaction, PPI)。将从在线 STRING 数据库获得的蛋白质相互作用数据导入 Cytoscape 软件,使用其 cytohubba 插件工具获得 Degree 大于 2 且 Betweenness 大于 100 的节点,该节点作为网络中心节点 (Hub),由中心节点代表的蛋白质通常是具有重要生理功能的关键蛋白质 (Hub 基因)^[8]。然后,使用 Cytoscape 中的 MCODE 插件工具进一步聚类分析,以找到蛋白质相互作用网络中的核心基因模块,并挖掘与疾病显著相关的生物学功能或通路。

2 结果

2.1 通过文本挖掘共同基因

通过 COREMINE 平台文本挖掘工具,PD 与

4157 基因相关,MDD 与 2089 基因相关,PD 基因中的 32% 和 MDD 基因中的 63.8% 为共同基因,共为 1332 个基因(表 1)。此外,两者共有相同的 98 个 CC,438 个 BP,以及 82 个 MF。因此,我们推测 PD 和 MDD 可能有共同的基因改变和生物学途径。

表 1 COREMINE 网站文本挖掘结果

疾病	相关文章	基因/蛋白	化学药物	CC	BP	MF
PD	87011	4157	9190	289	1049	285
MDD	46210	2089	3900	115	538	117
PD ∩ MDD	475	1332	3049	98	438	82

2.2 差异基因表达

通过 limma 包,PD 共得到 616 个差异基因,其中上调基因 365 个,下调基因 251 个;MDD 共得到 560 个差异基因,其中上调基因 253 个,下调基因 307 个。对 DEGs 的简单统计分析表明,共有 10 个基因不仅与 MDD 显著相关,而且与 PD 密切相关。其中 MYO1F 和 LILRA2 为表达上调基因,其余 ADCYAP1、MYLK2、CLSTN2、CAMK4、PCSK1、TRPC5、SLC5A1、TYPR1 为表达下调基因。通过文献挖掘发现统计数据,在 616 PD DEGs 中,有 185 个基因与 PD 有关;在 560 个 MDD DEGs 中,有 71 个基因与 MDD 有关;PD 和 MDD 的 DEGs 共同表达的 10 个基因中,据报道有 5 个基因与 PD 有关,有 3 个基因与 MDD 有关,并且 ADCYAP1 和 PCSK1 这 2 个基因与 PD 和 MDD 均相关。以上表明我们已筛选出可靠的差异表达基因,我们可以进行功能分析的下一步。

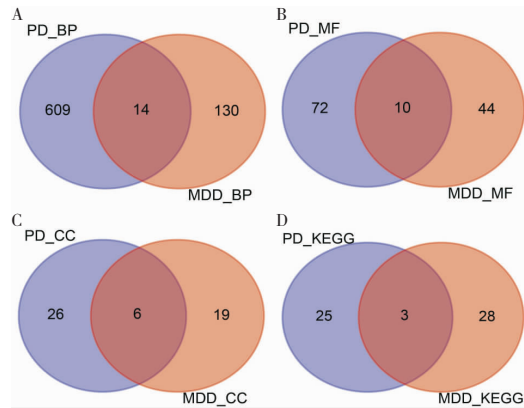
2.3 DEGs 的功能富集

PD 中的 DEGs 显著富集 765 个条目,涉及 623 个 BP,32 个 CC,82 个 MF 和 28 条 KEGG 通路。MDD 中的 DEGs 显著富集 254 个条目(计数≥2 且 P 值<0.05),包括 144 个 BP,25 个 CC,54 个 MF 和 31 条 KEGG 通路。结果表明 PD 和 MDD 在 GO 中具有共同的 14 个 BP,10 个 MF,6 个 CC,并且有 3 条共同的 KEGG 信号通路。图 1 显示了在这两种疾病中的功能富集结果及其比例。总结了 765 个 PD 基因富集结果和 254 个 MDD 基因富集结果,PD 和 MDD 有 33 个共同数据。即使这两种疾病 DEGs 中只有 10 个共同基因,几乎完全不同的差异表达基因情况,但在基因富集数据中也存在极高的相关性,表明 PD 也可能与 MDD 的潜在发病机制有一定关联。

2.4 DEGs 的蛋白-蛋白之间的网络

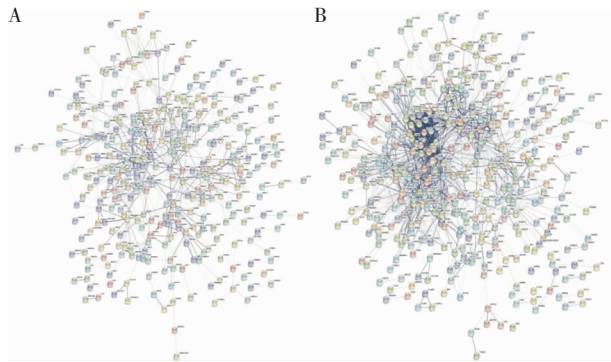
在本研究中,我们使用 STRING 在线工具构建

了 PD 的 377 个蛋白和 1373 个相互作用的蛋白-蛋白网络(PPI),以及构建了 MDD 的 323 个蛋白和 593 个相互作用的 PPI(图 2)。使用 cytohubba 插件在 PD 的 PPI 中得到 182 个 HUB 基因,MDD 的 PPI 中得到 129 个 HUB 基因。其中,有 4 个基因:MYO1F、CAMK4、PCSK1、TRPC5 在 PD 和 MDD 同为关键基因。



注:图(A-D)表示两种疾病的功能富集结果的相似性和差异。蓝色代表 PD 功能富集结果,红色代表 MDD 功能富集结果,中间重叠部分代表共同富集结果。BP:生物学过程,MF:分子功能,CC:细胞组成,KEGG:信号通路。

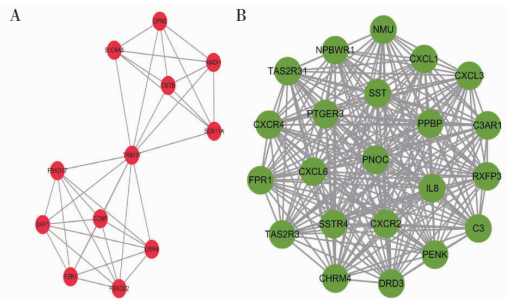
图 1 PD 和 MDD 差异基因功能富集韦恩图



注:A:MDD 的蛋白质-蛋白质相互作用(PPI);B:PD 的蛋白质-蛋白质相互作用网络。

图 2 MDD 和 PD 的蛋白质-蛋白质相互作用网络

PD 的 PPI 聚成 13 个模块,MDD 的 PPI 经过 MCODE 聚类聚成 9 个模块,其中两者的模块 1 系数比较高,可能与相应疾病关联性较强(图 3)。分别对两者的模块 1 进行聚类分析发现有一条共同的生物学途径:运动行为。



注: A: MDD 的核心模块 PPI; B: PD 的核心模块 PPI。

图 3 核心模块的 PPI

3 讨论

据最新的一项 Meta 分析^[9]全面回顾了 11 项相关研究,包括 5 项队列研究和 6 项病例对照研究,最终得出帕金森病与抑郁症的风险显著相关,相关系数为 2.2。以往的观点认为帕金森病患者出现抑郁症状是由于患者运动障碍、生活自理能力下降而产生的心理性反应,而新近的研究发现抑郁症并不是继发于帕金森病运动障碍,而是中枢神经系统损害的原发表现,其与神经生化的改变有关^[10]。

本研究实验结果显示,PD 和 MDD 有 10 个共同的表达基因: I 类肌球蛋白 (MYO1F)、活化免疫球蛋白样受体 (LILRA2)、垂体腺苷酸环化酶激活多肽 (ADCYAP1)、骨骼肌肌球蛋白轻链激酶 (MYLK2)、钙结合蛋白 2 (CLSTN2)、钙调蛋白依赖性蛋白激酶 4 (CAMK4)、前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶 1 (PCSK1)、瞬时受体电位阳离子通道 5 (TRPC5)、钠离子葡萄糖联合转运子 (SLC5A1)、酪氨酸酶相关蛋白 1 (TYPR1)。CLSTN2 是属于钙粘蛋白超家族的突触蛋白,在学习和记忆中起着重要作用,是与情景记忆表现和海马体积相关的候选基因。最新研究报道 CLSTN2 基因敲除小鼠 (Clstn2-KO) 缺乏 GABA 能中间神经元,伴有活动过度和空间记忆不足,且在 Clstn2-KO 雄性小鼠较雌性小鼠表现出更明显的抑郁焦虑情绪^[11]。另有研究发现在小鼠中靶向缺失 CLSTN2 导致功能性抑制性突触的减少,抑制性传递的减少与海马和皮质中的微清蛋白中间神经元的减少有关^[12],可能与帕金森病的认知功能相关。TRPC5 参与氧化应激,导致细胞内锌离子和钙离子水平增加,离子通道的改变引起神经元线粒体功能的下降,可能在帕金森病的病因机制中起重要作用^[13]。且 TRPC5 是在皮质和杏仁核区域中高度表达的非选择性阳离子通道,这些区域被认为在调节焦虑抑郁中是非常

重要的。有研究表明抑制 TRPC5 可能具有抗焦虑作用^[14]。另有研究提示,TRPC5 的表达与抑郁大鼠模型的认知变化之间存在相关性,其机制可能是 TRPC5 的不同表达可引起海马神经元的形态学改变,影响其空间认知能力和突触可塑性^[15]。LILRA2、ADCYAP1、CAMK4 参与炎症过程^[16-18],PCSK1、SLC5A1 与代谢有关^[19,20],炎症和代谢异常已被证实于在帕金森病和抑郁症的病理机制中起重要作用^[21]。

本研究实验结果显示,PD 和 MDD 有共同的生物学过程,氨基酸转运、细胞钙离子内稳态、脂质定位、调节脂质储存、细胞对营养的反应等。据文献报道这些通路在 PD、MDD 的发病机制发挥着重要的作用^[22-24]。从蛋白质相互作用的角度来看,PD 和 MDD 的关键聚类模块中发现一条共同的生物学通路,即运动行为。帕金森病为运动障碍疾病,主要运动症状表现为静止性震颤、运动迟缓、肌强直和姿势步态异常等。静止性震颤在兴奋、焦虑抑郁时表现明显,表明帕金森病和情绪本身有关联;运动迟缓可表现为多种动作的缓慢,随意运动减少,亦可表现为面部无表情、不眨眼、双眼凝视,被称为“面具脸”,这与抑郁症中患者表现为意志活动减退,行为缓慢,活动减少,愁眉苦脸,面无表情具有极其相似之处。本研究从基因的蛋白质相互作用角度,证实这两种疾病的临床表现有着共同的生物学途径,且与临床表现的高度相似性相符合。有研究证实,5-TH2A 拮抗剂与 5-HT1A/1B 激动剂联合使用明显减轻了帕金森病大鼠和灵长类动物中的运动障碍^[25,26]。另有研究报道,单用 5-HT1A 受体部分激动剂丁螺环酮在 PD 患者中显示出改善运动功能的作用^[27]。众所周知,抗抑郁焦虑药物主要为增强 5-TH 在突触内的浓度和激活功能,如 5-TH1A 受体部分激动剂丁螺环酮,起到改善患者的抑郁症状的作用,包括意志活动减退,行动缓慢等症状,证实 PD 和 MDD 的运动症状可能有着共同的生物学通路。

参 考 文 献

- [1] 王芳,刘彬,邢冬梅,等. 囊泡单胺转运蛋白 2 基因多态性与帕金森病患者抑郁状态相关性的研究[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2018, 45(4): 331-335.
- [2] 郭配,张晓韬,李秀华. 帕金森病睡眠障碍的研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2017, 44(3):

- 332-335.
- [3] Gerber CS. Understanding and managing coma stimulation : are we doing everything we can? [J]. Crit Care Nurs Q , 2005 , 28 (2) : 94-108 ; quiz 9-10 .
 - [4] Shulman LM , Taback RL , Rabinstein AA , et al . Non-recognition of depression and other non-motor symptoms in Parkinson's disease [J]. Parkinsonism Relat Disord , 2002 , 8 (3) : 193-197 .
 - [5] Hasler G , van der Veen JW , Tumonis T , et al . Reduced prefrontal glutamate / glutamine and gamma-aminobutyric acid levels in major depression determined using proton magnetic resonance spectroscopy [J]. Arch Gen Psychiatry , 2007 , 64 (2) : 193-200 .
 - [6] Tong Q , Zhang L , Yuan Y , et al . Reduced plasma serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid levels in Parkinson's disease are associated with nonmotor symptoms [J]. Parkinsonism Relat Disord , 2015 , 21 (8) : 882-887 .
 - [7] Wu WJ , Wang Q , Zhang W , et al . Identification and prognostic value of differentially expressed proteins of patients with platinum resistance epithelial ovarian cancer in serum [J]. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi , 2016 , 51 (7) : 515-523 .
 - [8] Jeong H , Mason SP , Barabasi AL , et al . Lethality and centrality in protein networks [J]. Nature , 2001 , 411 (6833) : 41-42 .
 - [9] Wang S , Mao S , Xiang D , et al . Association between depression and the subsequent risk of Parkinson's disease : A meta-analysis [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry , 2018 , 86 (1) : 86-92 .
 - [10] Costa FH , Rosso AL , Maultasch H , et al . Depression in Parkinson's disease : diagnosis and treatment [J]. Arquivos De Neuro-psiquiatria , 2012 , 70 (8) : 617-620 .
 - [11] Boraxbekk CJ , Ames D , Kochan NA , et al . Investigating the influence of KIBRA and CLSTN2 genetic polymorphisms on cross-sectional and longitudinal measures of memory performance and hippocampal volume in older individuals [J]. Neuropsychologia , 2015 , 78 : 10-17 .
 - [12] Lipina TV , Prasad T , Yokomaku D , et al . Cognitive Deficits in Calsyntenin-2-deficient Mice Associated with Reduced GABAergic Transmission [J]. Neuropsychopharmacology , 2016 , 41 (3) : 802-810 .
 - [13] Naziroglu M . Molecular role of catalase on oxidative stress-induced Ca(2+) signaling and TRP cation channel activation in nervous system [J]. J Recept Signal Transduct Res , 2012 , 32 (3) : 134-141 .
 - [14] Just S , Chenard BL , Ceci A , et al . Treatment with HC-070 , a potent inhibitor of TRPC4 and TRPC5 , leads to anxiolytic and antidepressant effects in mice [J]. PLoS One , 2018 , 13 (1) : e0191225 .
 - [15] Qin X , Liu Y , Zhu M , et al . The possible relationship between expressions of TRPC3/5 channels and cognitive changes in rat model of chronic unpredictable stress [J]. Behavioural brain research , 2015 , 290 (1) : 80-86 .
 - [16] Hirayasu K , Saito F , Suenaga T , et al . Microbially cleaved immunoglobulins are sensed by the innate immune receptor LILRA2 [J]. Nat Microbiol , 2016 , 1 (6) : 16054 .
 - [17] Abad C , Tan YV . Immunomodulatory Roles of PACAP and VIP : Lessons from Knockout Mice [J]. J Mol Neurosci , 2018 , 66 (1) : 102-103 .
 - [18] Koga T , Kawakami A . The role of CaMK4 in immune responses [J]. Mod Rheumatol , 2018 , 28 (2) : 211-214 .
 - [19] Ramos-Molina B , Molina-Vega M , Fernandez-Garcia JC , et al . Hyperphagia and Obesity in Prader (-) Willi Syndrome : PCSK1 Deficiency and Beyond? [J]. Genes (Basel) , 2018 , 9 (6) : E288 .
 - [20] Vallaey L , van Biervliet S , de Bruyn G , et al . Congenital glucose-galactose malabsorption : a novel deletion within the SLC5A1 gene [J]. Eur J Pediatr , 2013 , 172 (3) : 409-411 .
 - [21] Rihmer Z , Gonda X , Dome P . Depression in Parkinson's disease [J]. Ideggyogy Sz , 2014 , 67 (7-8) : 229-236 .
 - [22] Sampson TR , Debelius JW , Thron T , et al . Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease [J]. Cell , 2016 , 167 (6) : 1469-1480 .
 - [23] Reus GZ , Titus SE , Abelaira HM , et al . Neurochemical correlation between major depressive disorder and neurodegenerative diseases [J]. Life Sci , 2016 , 158 (1) : 21-29 .
 - [24] Politis M , Wu K , Loane C , et al . Depressive symptoms in PD correlate with higher 5-HTT binding in raphe and limbic structures [J]. Neurology , 2010 , 75 (21) : 1920-1927 .
 - [25] Ko WK , Li Q , Cheng LY , et al . A preclinical study on the combined effects of repeated eltopazine and preladenant treatment for alleviating L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease [J]. Eur J Pharmacol , 2017 , 813 : 10-16 .
 - [26] Pinna A , Ko WK , Costa G , et al . Antidyskinetic effect of A2A and 5HT1A/1B receptor ligands in two animal models of Parkinson's disease [J]. Mov Disord , 2016 , 31 (4) : 501-511 .
 - [27] Politis M , Wu K , Loane C , et al . Serotonergic mechanisms responsible for levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease patients [J]. J Clin Invest , 2014 , 124 (3) : 1340-1349 .