

·专题·

基于网络生物信息学筛选精神分裂症关键基因

吴亚娟,赵楠,钱科佳,惠涛,潘继英

(张家港市第四人民医院精神科,江苏 张家港 215600)

摘要:目的 利用生物信息学方法筛选参与精神分裂症发病机制的关键基因。方法 以“schizophrenia”为关键词,在大鼠基因组数据库(RGD)检索人精神分裂症相关编码基因,从生物学过程、细胞组成、分子功能三个方面分别对其进行富集分析和京都基因与基因组百科全书信号通路富集分析,然后通过构建蛋白-蛋白互作网络找到联系程度紧密的基因,通过 cytoscape 软件筛选核心关键基因。结果 共检索到 391 个人源精神分裂症相关编码基因;这些基因主要参与 STAT 蛋白磷酸化、细胞和体液免疫反应、B 细胞分化和增殖等生物学过程,分布于细胞连接处、神经元上、突触小泡、胞质膜的锚定成分,并主要富集于胞质 DNA 传感途径、RLR 信号通路、自然杀伤细胞介导的细胞毒性、TOLL 样受体信号通路;蛋白互作网络分析共筛选出 DTNBP1、DAO、DRD2、DISC1、NRG1、ZDHHC8 等 6 个关键基因。结论 免疫炎症反应和精神分裂症的病理机制密切相关,后续研究值得关注的通路包括 TOLL 样受体信号通路和 NRG1 信号通路,而 DTNBP1 和 ZDHHC8 与精神分裂症的直接关系还有待进一步研究。

关键词:精神分裂症;关键基因;信号通路;免疫反应

中图分类号:R749.3

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2021.16.001

文章编号:1006-1959(2021)16-0001-05

Screening Key Genes of Schizophrenia Based on Network Bioinformatics

WU Ya-juan,ZHAO Nan,QIAN Ke-jia,HUI Tao,PAN Ji-ying

(Department of Psychiatry,Zhangjiagang Fourth People's Hospital,Zhangjiagang 215600,Jiangsu,China)

Abstract: Objective To screen the key genes involved in the pathogenesis of schizophrenia using bioinformatics methods. **Methods** Using "schizophrenia" as the key word, the human schizophrenia-related coding genes were searched in the Rat Genome Database (RGD). Enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome Encyclopedia signal pathway enrichment analysis were carried out from the three aspects of biological process, cell composition, and molecular function. Then, the closely-connected genes are found by constructing a protein-protein interaction network, and the core key genes are screened by cytoscape software. **Results** A total of 391 human-derived schizophrenia-related coding genes were retrieved; These genes were mainly involved in STAT protein phosphorylation, cellular and humoral immune response, B cell differentiation and proliferation and other biological processes. They were distributed in cell junctions, neurons, synaptic vesicles, and anchoring components of cytoplasmic membranes. Enriched in cytoplasmic DNA sensing pathway, RLR signaling pathway, natural killer cell-mediated cytotoxicity, TOLL-like receptor signaling pathway; protein interaction network analysis screened out 6 key genes including DTNBP1, DAO, DRD2, DISC1, NRG1, ZDHHC8. **Conclusion** The immune inflammatory response is closely related to the pathological mechanism of schizophrenia. The pathways worthy of follow-up research include TOLL-like receptor signaling pathway and NRG1 signaling pathway. The direct relationship between DTNBP1 and ZDHHC8 and schizophrenia needs further study.

Key words: Schizophrenia; Key genes; Signaling pathways; Immune response

目前精神分裂症(schizophrenia)病因尚不清楚,通过现象学方法无法辨别因果关系,而有关基因功能和遗传变异的研究对阐明精神分裂症的病因机制和了解环境因素对精神分裂症的影响都具有重大意义^[1]。近十年来精神分裂症的全基因关联研究改变了精神病学的研究领域,表明了分子水平上精神分裂症具有潜在的生物学基础^[2]。用人类多能干细胞和含有风险相关变体的基因组细胞建立精神分裂症患者的神经元模型正在开展^[3]。以基因为切入点,研究精神分裂症风险相关的基因或可构建观察和治疗目标的系统模块。然而,目前有文献报道的精神分裂症风险基因很多,彼此缺乏系统联系。基于此,本研究采用生物信息学方法对精神分裂症编码基因进行分析,以期寻找更为精准的候选基因。

1 资料与方法

1.1 资料来源 于大鼠基因组数据库(<https://rgd.mcw.edu/wg/>, RGD)中搜集人源精神分裂症编码基因。

作者简介:吴亚娟(1987.2-),女,江苏张家港人,硕士,主治医师,主要从事精神疾病研究

1.2 方法

1.2.1 精神分裂症编码基因的获取 在 RGD 数据库检索“schizophrenia”,在 Results Matrix 中选择 human 下的 gene 及 protein-coding,即获取人源精神分裂症的编码基因,检索获得 391 条基因信息。

1.2.2 基因本体功能注释(GO) 使用在线基因注释软件(<https://david.ncifcrf.gov/>)对精神分裂症相关编码的 391 个基因进行 GO 功能富集分析,以 $P < 0.05$ 为筛选条件,从生物过程(biological process, BP)、细胞组成(cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF)三方面对 391 个基因最可能涉及到的功能进行筛选,将结果以 txt 文本格式保存,后利用 R 软件作图。

1.2.3 京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 使用在线基因注释软件(<https://david.ncifcrf.gov/>)对 391 个基因进行 KEGG 通路富集分析,以

$P < 0.05$ 为筛选条件,筛选最可能涉及到的通路,将结果以 txt 文本格式保存,后利用 R 软件作图。

1.2.4 蛋白相互作用网络分析 使用在线软件(<https://string-db.org/>)对 391 个基因构建蛋白质相互作用网络图,预测编码蛋白间的相互作用,将 391 个基因以基因列表的形式上传网站,后点击左栏 multiple proteins 按钮,将筛选条件设置为 combined score 即相互作用分数大于 0.7,导出结果以 TSV 格式保存。

1.2.5 关键基因的筛选 将 String 网站下载的结果 TSV 文件导入到 cytoscape 软件(3.6 版本),利用插件 Mcode 筛选关键模块,以 cytohubba 插件筛选热点基因,为提高筛选的可靠性,取用 cytohubba 中的 degree、mcc、mnc3 种算法分别计算排名前 10 位的热点基因,然后取交集,结合这些候选基因是否处在关键模块中,最终筛选出关键基因。

2 结果

2.1 GO 分析结果 BP 生物学过程功能富集分析结果显示,GO:0033141~富集于 STAT 蛋白磷酸化修饰的基因数量有 10 个,GO:0002323~富集于免疫反应中自然杀伤细胞活化的基因数量有 10 个,GO:0002286~富集于免疫反应中 T 细胞活化的基因数量有 10 个,见图 1。MF 分子功能富集分析结果显

示,GO:0005132~参与 I 型干扰素受体结合的基因数量有 10 个,GO:0005125~参与细胞因子活化的基因数量有 12 个,GO:0005234~参与谷氨酸门控离子通道活化的基因数量有 5 个,见图 2。CC 细胞组分功能富集分析结果显示,GO:0030054~富集于细胞连接处的基因数量有 23 个,GO:0045211~富集于突触后膜上的基因数量有 15 个,GO:0030424~富集于轴突的基因数量有 14 个,见图 3。

2.2 KEGG 通路富集分析结果 391 个基因主要富集通路包括:hsa04623:细胞质 DNA 感觉通路,富集于其上的基因数量有 12 个;hsa04622:RLR 信号通路,富集于其上的基因数量有 10 个;hsa05320:自身免疫甲状腺疾病,富集于其上的基因数量有 9 个,见图 4。

2.3 蛋白互作网络分析结果 364 个蛋白发生相互作用,平均节点分数 0.852,删除联系较少的节点,其中 156 蛋白之间联系程度紧密,见图 5。

2.4 关键模块及关键基因 关键模块中包含 11 个基因,分别为 TAAR6、DRD2、DRD4、CHRNA7、ZNF804A、DTNBP1、POX2、NRG1、DAO、DISC1、ZDHHC8,其中 ZDHHC8 为种子基因,见图 6。结合 cytohubba 的三种算法,最终获取 6 个关键基因,分别为 DTNBP1、DAO、DRD2、DISC1、NRG1、ZDHHC8。

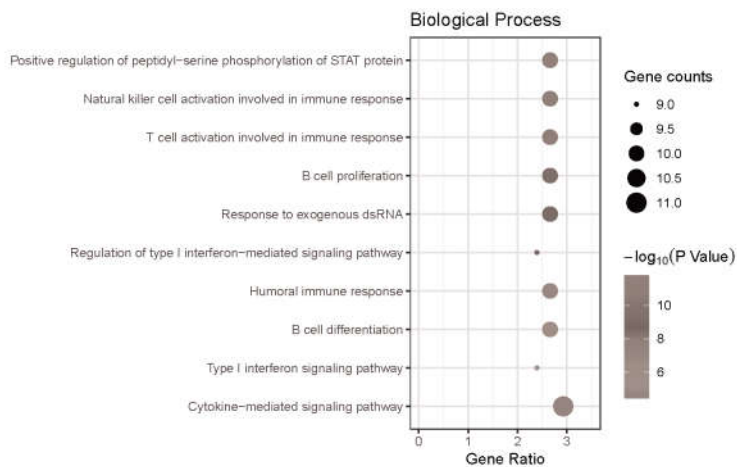


图 1 生物学过程功能富集结果

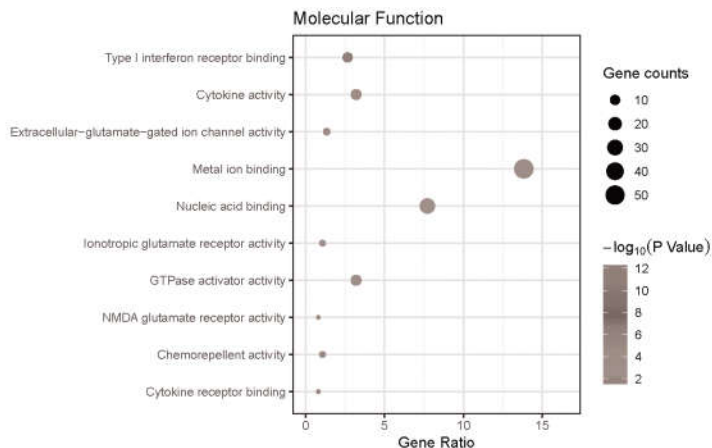


图 2 分子功能富集结果

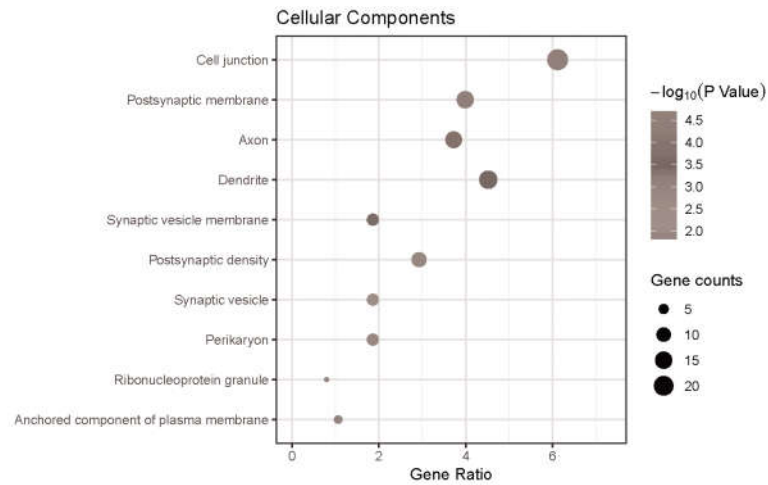


图 3 细胞组成富集结果

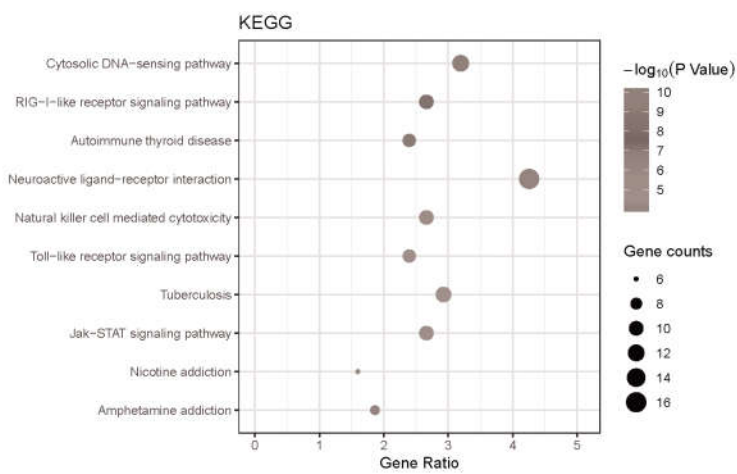


图 4 KEGG 功能富集结果

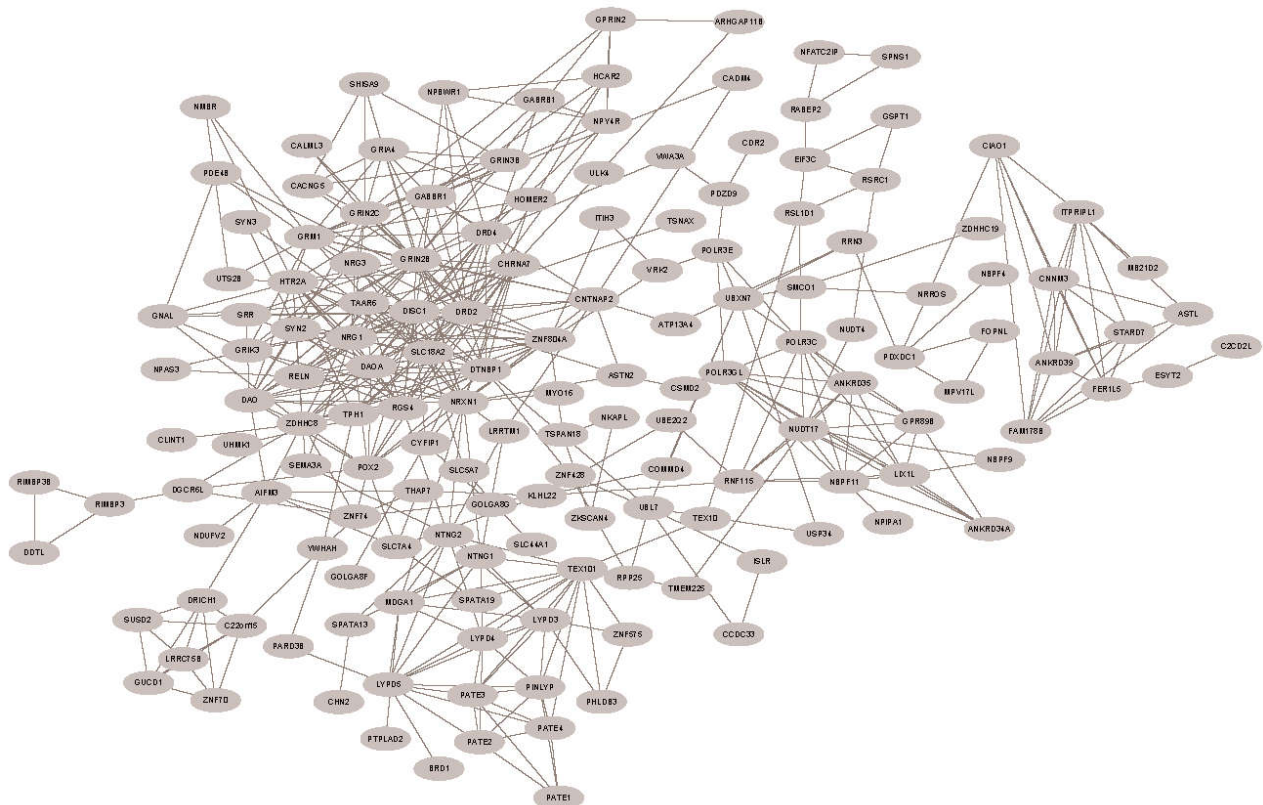


图 5 蛋白互作网络图

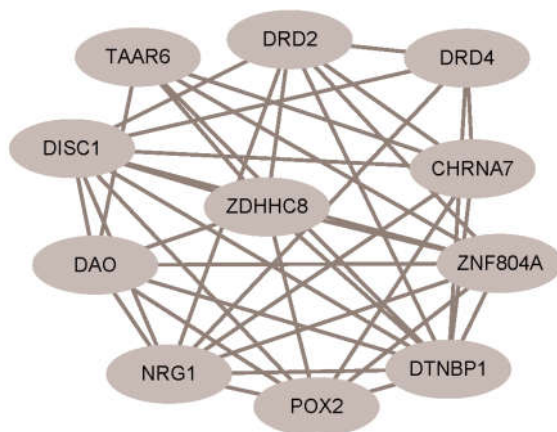


图6 关键基因模块图

3 讨论

目前认为与精神分裂症发生密切相关的各种因素中,遗传因素是最具影响力的,得到较多生物学证据支持^[4]。此外,在精神分裂症的成因中有一些经典假说,包括多巴胺假说、谷氨酸生化假说、神经发育假说。对精神分裂症生物标志物的研究也大都围绕这些假说开展。本研究发现精神分裂症的病理过程或有免疫因素参与,对精神分裂症编码基因的GO分析发现,大部分基因与免疫反应密切相关,包括以自然杀伤细胞为代表的先天免疫和以T细胞为代表的适应性免疫。最近有研究指出,精神分裂症的病因与免疫系统调节紊乱密切相关,免疫过程在中枢神经系统的稳态、恢复力和脑储备中起着至关重要的作用^[5]。除此以外,有研究指出利用免疫系统治疗或可改善大脑健康,T细胞分泌IL-4,而IL-4能刺激星形胶质细胞因子释放,促进小胶质细胞和炎症巨噬细胞的转化,使神经炎症M1表型向保护性神经M2模式转换^[6]。本研究还发现这些基因的分子功能大多涉及到细胞因子的活化。Moriss G等^[7]研究表明,活化的细胞因子作为炎症反应的一部分,可以改变5-羟色胺、多巴胺、谷氨酸等神经递质的释放和重摄取。近年来,免疫炎症假说也持续受到关注,来自于临床及临床前研究等多项证据提示,精神分裂症患者血清白细胞介素家族中多种因子、 γ -干扰素(IFN- γ)、单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)等促炎性细胞因子水平发生改变^[8]。此外,本研究对这些基因的通路富集结果还发现TOLL样受体(TLRs)信号通路似乎在精神分裂症中扮演着重要作用。TLRs主要参与固有免疫的调节,研究发现在精神分裂症早期阶段即可出现TLR表达异常,并且TLRs可影响认知功能^[9,10]。最近关于抑郁和TLR的动物研究发现^[11],选择性地阻断TLR2/4在小胶质细胞中的表达,会抑制小鼠的抑郁行为。这些研究说明TOLL样受体信号通路参与精神疾病的病理过程,但其究竟

如何影响精神疾病的发展还需进一步研究验证。

本研究进一步对391个编码基因进行蛋白互作分析,筛选精神分裂症相关的关键基因,发现DTNBP1、DAO、DRD2、DISC1、NRG1、ZDHHC8与精神分裂症具有较高的相关性,其中DRD2和DISC1是目前公认的精神分裂症的易感基因^[12,13]。本研究发现NRG1也和精神分裂症密切相关,与文献结果相一致,最近研究发现NRG1基因表达水平与精神疾病患病风险有关^[14],李婷等^[15]则发现首发精神分裂症患者血清NRG1与认知功能相关。本研究发现DAO基因也是参与精神分裂症发生发展的关键基因,有文献报道DAO基因编码的D-氨基酸氧化酶在精神分裂症的病理机制中发挥作用^[16],并且其基因型与精神分裂症及神经认知缺陷相关^[17],而目前研究不足以突出DAO对精神分裂症的重要性,显然后续需要对DAO基因进行更深入的研究。目前对于本研究结果中的DTNBP1基因和精神分裂症关系文献报道还比较少,但已有文献支持DTNBP1与精神分裂症患者背外侧前额叶皮层树突形成有关,并且其基因多态性与持续注意和固定转移有关^[18,19]。另外本研究发现关键模块中的ZDHHC8是种子基因,与其他的编码蛋白都能产生相互作用。然而,现有对ZDHHC8的研究只能证实它与精神分裂症患者皮质体积有关^[20],针对巴西人的研究发现它与精神分裂症易感基因有关^[21]。早年有报道ZDHHC8单核苷酸多态性rs175174与22q11缺失综合征或精神分裂症的精神病学特征无关^[22],这或许导致后来研究未再对ZDHHC8引起重视。结合本研究结果,推测ZDHHC8可能是通过与精神分裂症其他易感基因发生作用,但对此推论需要后续更多的证据支持。

综上所述,免疫炎症反应和精神分裂症的病理机制密切相关,其中TOLL样受体信号通路和NRG1信号通路值得关注,而关键基因DTNBP1和ZDHHC8与精神分裂症的直接关系还有待进一步

研究。

参考文献:

- [1] Weinberger DR. Thinking About Schizophrenia in an Era of Genomic Medicine [J]. The American Journal of Psychiatry, 2019, 176(1): 12.
- [2] Tanya H, Katie L, Chen Y, et al. A decade in psychiatric GWAS research [J]. Molecular Psychiatry, 2019, 24(3): 378–389.
- [3] Brennand K, Marchetto M, Benvenisty N, et al. Creating Patient-Specific Neural Cells for the In Vitro Study of Brain Disorders [J]. Stem Cell Reports, 2015, 5(6): 933–945.
- [4] O'Donovan MC, Williams NM, Owen MJ. Recent advances in the genetics of schizophrenia [J]. Human Molecular Genetics, 2003(suppl_2): R125.
- [5] Malashenkova IK, Krynskiy SA, Ogurtsov DP, et al. A role of the immune system in the pathogenesis of schizophrenia [J]. Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova, 2018, 118(12): 72–80.
- [6] Felger JC, Miller AH. Neurotherapeutic implications of brain-immune interactions [J]. Neuropsychopharmacology, 2014, 39(1): 242–243.
- [7] Morris G, Berk M, Galecki P, et al. The Neuro-Immune Pathophysiology of Central and Peripheral Fatigue in Systemic Immune-Inflammatory and Neuro-Immune Diseases [J]. Molecular Neurobiology, 2016, 53(2): 1195–1219.
- [8] Frydecka D, Krzystek-Korpacka M, Lubeiro A, et al. Profiling inflammatory signatures of schizophrenia: a cross-sectional and meta-analysis study [J]. Brain Behavior & Immunity, 2018(71): 28–36.
- [9] Kéri S, Szabó C, Kelemen O. Antipsychotics influence Toll-like receptor (TLR) expression and its relationship with cognitive functions in schizophrenia [J]. Brain Behavior & Immunity, 2017(62): 256–264.
- [10] Kozłowska E, Agier J, Wysokiński A, et al. The expression of toll-like receptors in peripheral blood mononuclear cells is altered in schizophrenia [J]. Psychiatry Research, 2019(272): 540–550.
- [11] Xiang N, K Shiho, Kohei T, et al. The Innate Immune Receptors TLR2/4 Mediate Repeated Social Defeat Stress-Induced Social Avoidance through Prefrontal Microglial Activation [J]. Neuron, 2018(99): S0896627318305312.
- [12] Cohen OS, Weickert TW, Hess JL, et al. A splicing-regulatory polymorphism in DRD2 disrupts ZRANB2 binding, impairs cognitive functioning and increases risk for schizophrenia in six Han Chinese samples [J]. Molecular Psychiatry, 2016, 21(7): 975–982.
- [13] Wang HY, Liu Y, Yan JW, et al. Gene polymorphisms of DISC1 is associated with schizophrenia: Evidence from a meta-analysis [J]. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2018(81): 64–73.
- [14] Vinita J, Miriam G, Susanne W, et al. Neuregulin 1 (NRG1) gene expression predicts functional outcomes in individuals at clinical high-risk for psychosis [J]. Psychiatry Research, 2018(266): 143–146.
- [15] 李婷, 康敏敏, 黄正元, 等. 首发精神分裂症血清神经调节蛋白-1、脑电图 γ 活动及认知功能相关研究 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 2019, 45(7): 390–394.
- [16] Sacchi S. D-Serine metabolism: new insights into the modulation of D-amino acid oxidase activity [J]. Biochemical Society Transactions, 2013, 41(6): 1551–1556.
- [17] Liu YL, Wang SC, Hwu HG, et al. Haplotypes of the D-Amino Acid Oxidase Gene Are Significantly Associated with Schizophrenia and Its Neurocognitive Deficits [J]. Plos One, 2016, 11(3): e0150435.
- [18] Konopaske GT, Balu DT, Presti KT, et al. Dysbindin-1 contributes to prefrontal cortical dendritic arbor pathology in schizophrenia [J]. Schizophrenia Research, 2018: S0920996418302561.
- [19] Bakanidze G, Brandl EJ, Hutzler C, et al. Association of Dys-trobrexin-Binding Protein 1 Polymorphisms with Sustained Attention and Set-Shifting in Schizophrenia Patients [J]. Neuropsychobiology, 2016, 74(1): 41–47.
- [20] Ota VK, Gadelha A, Assuncao IB, et al. ZDHHC8 gene may play a role in cortical volumes of patients with schizophrenia [J]. Schizophrenia Research, 2013, 145(1–3): 33–35.
- [21] Moraes LS, Santos A, Ferreira-Fernandes H, et al. Lack of association between COMT Val158Met and ZDHHC8 rs175174 polymorphisms and susceptibility to schizophrenia in a Brazilian population [J]. Psychiatr Genet, 2017, 27(5): 197–198.
- [22] Demily C, Legallic S, Bou J, et al. ZDHHC8 single nucleotide polymorphism rs175174 is not associated with psychiatric features of the 22q11 deletion syndrome or schizophrenia [J]. Psychiatric Genetics, 2007, 17(5): 311–312.

收稿日期: 2021-02-06; 修回日期: 2021-02-17

编辑/成森