

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2022. 22. 018

基于 GEO 数据库的产后抑郁症关键差异表达基因分析

贾 颖,卓 频,赵 爽,胡文燕

天津倍科为医学检验实验室,天津 301799

摘 要:**目的** 利用生物信息学分析方法筛选产后抑郁症与免疫相关的关键差异表达基因及相关信号通路。**方法** 从 GEO 数据库中下载 GSE45603 数据集矩阵数据,应用 R 软件 limma 包筛选差异表达基因,应用 plot 包对差异表达基因绘制火山图。运用 metaspase 软件构建差异表达基因的蛋白质-蛋白质互作网络。**结果** 获得了 714 个差异表达基因,包括 149 个上调基因及 565 个下调基因,形成 4 个与免疫相关的关键 MCODE 模块,鉴定出与产后抑郁症免疫相关通路的 11 个关键差异表达基因。其中,CD3G、CD8A、CD8B、ABL1、CCR7、CXCR6 表达显著上调($P<0.05$, $\log FC>0.5$),而 HLA-G、HLA-C、CCR1、SSTR2、LPAR2 表达显著下调($P<0.05$, $\log FC<-0.5$),具有较高的诊断价值。**结论** 4 个与免疫相关的关键 MCODE 模块可能在产后抑郁症中起关键作用,其中的 11 个关键差异表达基因可能是产后抑郁症潜在的生物标志物。

关键词:GEO 数据库; 产后抑郁症; 生物信息学; 差异表达基因

中图法分类号:R271.43 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2022)22-3094-04

Key differentially expressed genes of postpartum depression based on GEO database

JIA Ying, ZHUO Pin, ZHAO Shuang, HU Wenyan

Tianjin Beikeway Medical Laboratory, Tianjin 301799, China

Abstract: Objective To screen the key differentially expressed genes and signal pathways related to immunity in postpartum depression by bioinformatics analysis. **Methods** Firstly, the GSE45603 data set was downloaded from the GEO database. Secondly, the R software limma package was used to screen differentially expressed genes, the plot packages was used to draw volcano maps for differentially expressed genes. Then the metaspase software was used to construct a protein-protein interaction network of differentially expressed genes. **Results** A total of 714 differentially expressed genes were obtained, including 149 up-regulated genes and 565 down-regulated genes, and finally 4 key MCODE modules related to immune were formed, and 11 key differentially expressed genes of immune-related pathways related to postpartum depression were identified. Among them, the expression of CD3G, CD8A, CD8B, ABL1, CCR7, and CXCR6 was significantly up-regulated ($P<0.05$, $\log FC>0.5$), while the expression of HLA-G, HLA-C, CCR1, SSTR2, and LPAR2 was significantly down-regulated ($P<0.05$, $\log FC<-0.5$), which had high diagnostic value. **Conclusion** 4 key MCODE modules related to immune may play a key role in postpartum depression and the 11 key differentially expressed genes may be potential biomarkers of postpartum depression.

Key words:GEO database; postpartum depression; bioinformatics; differentially expressed genes

产后抑郁症(PPD)是指女性在产褥期发生的一种严重的情绪障碍疾病,其临床发病率为 10%~15%^[1-2]。其症状包括负面情绪(如悲伤、焦虑、绝望等),思维迟缓,睡眠障碍,精力不足,迫害妄想,甚至出现伤害婴儿或自杀行为等^[1]。PPD 不仅严重影响产褥期女性的健康,同时还会损害正常的母婴关系,影响到后代的正常生长发育^[2]。

研究表明,免疫系统参与了重性情绪障碍疾病的发生发展。对于产褥期女性而言,从妊娠期到产褥期的过渡伴随着复杂的免疫适应性调节反应^[3],产后阶段的特征是细胞因子水平升高,免疫细胞浸润增多^[4-5],与妊娠晚期相比,产褥期 T 调节细胞(Treg 细

胞)亚群显著增加^[5]。PPD 的病理生理机制复杂,免疫调节功能障碍可能与 PPD 的发生发展有关。尽管有研究表明,抗/促炎细胞因子白细胞介素(IL)-1、IL-6、IL-8、IL-10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素- γ (IFN- γ)、C 反应蛋白和皮质醇等可以作为 PPD 外周血生物标志物^[6],还有研究表明,PPD 的发生与雌激素受体 α 基因(ESR1)、5-羟色胺转运蛋白(5-HTT)等基因表达有关^[4],但 PPD 与免疫相关的病理生理机制仍不清楚,还需要进行更多深入的系统研究。

近年来,基因测序技术与生物信息学分析相结合的研究策略为从分子水平识别生物标志物和理解精神障碍疾病的病理生理学基础提供了强有力的工

作者简介:贾颖,女,主管技师,主要从事精神科生物标志物相关研究。

具^[7],本研究旨在利用生物信息学分析方法从 PPD 患者的转录本表达层面来探明产褥期女性体内可能发生的与 PPD 相关的免疫相关基因网络与生物学变化,并寻找外周血中 PPD 潜在的生物标志物,以期为阐明 PPD 的疾病生理机制提供新的线索。

1 材料与方法

1.1 材料来源 登录 NCBI 的 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>),选择 GEO Data Sets,输入“postpartum depression”检索相关数据,根据研究样本及类别筛选出符合条件的芯片。选取编号为 GSE45603 的芯片数据及其注释文件进行下载(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE45603>)。数据来自 GPL10558 Illumina Human HT-12V4.0 expression bead chip。选取 GSE45603 中的 16 例产褥期 PPD 患者样本以及 5 例健康对照样本进行分析。

1.2 筛选差异表达基因 利用 R 语言(V3.6.2)对原始基因进行二次分析,选取 limma 包对芯片数据的差异表达基因进行分析,为了得到更多的差异表达基因,将显著差异表达基因的筛选条件设定为 $P < 0.05$,差异倍数 $|\log FC| > 0.5$,其中, $\log FC > 0.5$ 的基因作为上调基因, $\log FC < -0.5$ 的基因作为下调基因,得到差异表达基因文件后运用 plot 包绘制火山图。

1.3 差异表达基因的功能富集分析 利用 meta-space 软件对筛选出的差异表达基因进行基因注释,并进行基因本体论(GO)中的生物学过程和代谢通路的功能富集分析。选取注释到 GO 功能富集的前 10 位进行柱状图展示,选取注释到代谢通路富集的前 10 位进行气泡图展示。

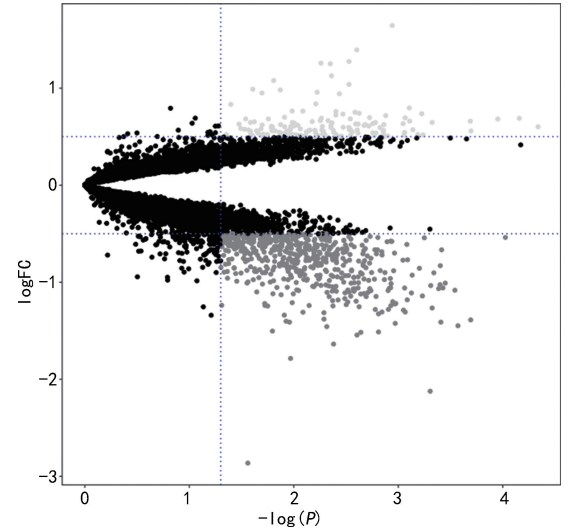
1.4 构建差异表达基因编码的蛋白质-蛋白质互作(PPI)网络及筛选关键基因 通过 metaspace 软件对差异表达基因进行 PPI 网络图分析,按照默认参数值(physical score > 0.132 , STRING)筛选出互作蛋白对。先将所有的差异表达基因进行相互作用网络分析,之后采用 MCODE 算法识别蛋白质紧密相连的邻近区域,将网络进行聚类,对得到的差异表达基因进行注释,并选取校正后 P 值最小的前 3 位代谢通路放入列表进行展示。根据 PPI 网络聚类中差异表达基因的得分值(Cluster-Score > 1)筛选参与免疫相关生物学过程及代谢通路的核心关键基因。

2 结果

2.1 差异表达基因的筛选 获得了 714 个差异表达基因(图 1),包括 149 个上调基因及 565 个下调基因。

2.2 差异表达基因的 GO 功能富集分析和代谢通路富集分析 应用 metaspace 软件对得到的差异表达基因进行 GO 功能富集分析(图 2)和代谢通路富集分析(图 3)。GO 功能富集分析结果表明,差异表达基因主要集中在细胞因子产生的正向调节、树突状细胞分

化的调节、树突状细胞分化、适应性免疫反应的调节、前体代谢物和能量的产生、免疫效应过程、参与免疫反应的白细胞激活、白细胞介导的免疫调节、白细胞分化、T 细胞活化等生物学过程中。代谢通路分析结果表明,差异表达基因在中性粒细胞脱粒、适应性免疫系统、淋巴细胞和非淋巴细胞之间的免疫调节相互作用、抗原加工和呈递等通路中显著富集。



注:浅灰色部分为上调基因,黑色部分为下调基因。

图 1 差异表达基因火山图

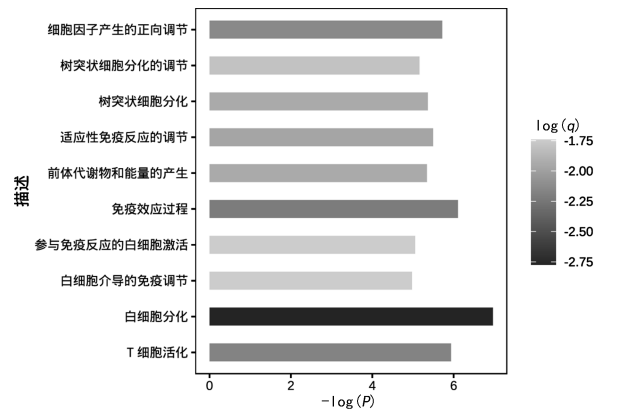


图 2 GO 功能富集(前 10 位)

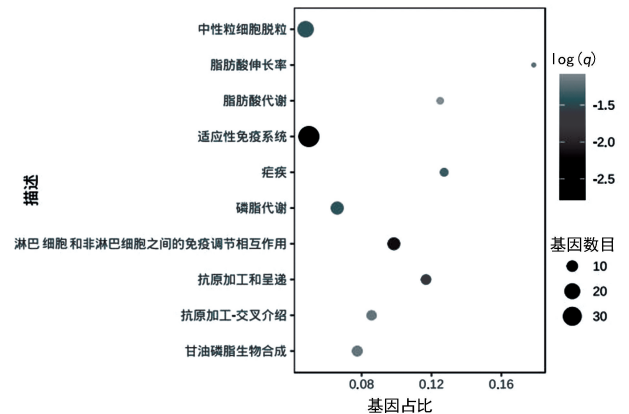


图 3 代谢通路富集(前 10 位)

2.3 差异表达基因的关键 MCODE 模块及关键差异表达基因筛选 分析得到 4 个关键 MCODE 模块及

其对应的功能与代谢通路信息(表 1)。根据 PPI 网络聚类中差异表达基因的得分值(Cluster-Score>1)筛选出 11 个参与免疫相关生物学过程及代谢通路的关键差异表达基因,其中,CD3G、CD8A、CD8B、ABL1、

CCR7、CXCR6 表达显著上调($P<0.05$,logFC>0.5),而 HLA-G、HLA-C、CCR1、SSTR2、LPAR2 表达显著下调($P<0.05$,logFC<-0.5)。

表 1 差异表达基因 PPI 网络图对应注释信息

MCODE	通路	描述	log(P)	关键基因
MCODE-1	R-HSA-8856828	网格蛋白介导的内吞	-12.6	CD8G
	R-HSA-1280218	适应性免疫系统	-11.1	CD8G、CD8A、CD8B、HLA-C、HLA-G
	R-HSA-983168	抗原加工;泛素化和蛋白酶体降解	-10.0	—
MCODE-2	ko04612	抗原加工和呈递	-7.6	CD8A、CD8B、HLA-C、HLA-G
	GO:0000375	RNA 剪接,通过酯交换反应	-6.8	—
	R-HSA-198933	淋巴细胞和非淋巴细胞之间的免疫调节相互作用	-6.6	CD8G、CD8A、CD8B、HLA-C、HLA-G
MCODE-3	ko01200	碳代谢	-7.8	—
	GO:0007173	表皮生长因子受体信号通路	-5.7	ABL1
	GO:0038127	ERBB 信号通路	-5.5	ABL1
MCODE-4	R-HSA-418594	G alpha(i) 信号事件	-9.9	CCR1、CCR7、SSTR2、LPAR2、CXCR6
	R-HSA-373076	A/1 类(视紫红质样受体)	-9.8	CCR1、CCR7、SSTR2、LPAR2、CXCR6
	WP24	G 蛋白偶联受体	-9.8	CCR1、CCR7、SSTR2、CXCR6

注:—表示无数据。

3 讨 论

PPD 是产褥期女性常见的精神系统疾病,其发病率呈现不断上升趋势。PPD 的发病因素多样,与产褥期女性的遗传、心理、社会、生理以及免疫等因素相关,会给个人、新生儿以及家庭和社会带来一系列不良后果^[2]。随着国家二孩、三孩政策的实行,妊娠期产褥期女性越来越多,为防止更多的产褥期女性发展成为 PPD,及时的诊断和干预十分重要。

从生物因素的角度,目前已有研究揭示了 PPD 与女性产褥期激素异常波动以及体内产生的应激反应导致的免疫系统功能障碍有关^[3],但是未阐明 PPD 的具体发病机制,还需要更多更深入的研究进行分析。

本研究对得到的差异表达基因进行 GO 功能富集分析并构建 PPI 网络,结果显示,PPD 患者体内免疫功能失调,白细胞、T 细胞活化,树突状细胞成熟,适应性免疫系统增强,但抗原呈递功能减弱。有研究指出,抑郁症患者体内免疫功能障碍的来源可能与感染、微生物组的改变、疾病、压力和其他因素相关^[6],本研究显示,PPD 患者体内细胞因子产生的正向调节活动增强,提示患者体内炎症反应增强,其可能来源于患者产褥期虚弱、经受病原微生物感染或其他压力性因素。

对于得到的 11 个关键的差异表达基因,研究表明,CD3G 是 CD3 分子的一种亚型,CD3 分子在转导 T 细胞受体(TCR)识别抗原所产生的活化信号中起

重要作用^[8];CD8⁺ T 细胞主要参与抗病毒免疫、抗肿瘤免疫及移植排斥反应。CD8 分子主要表达于细胞毒性 T 细胞表面,能与 MHC I 类抗原结合,增强 TCR 识别靶细胞(如病毒感染细胞、肿瘤细胞等)表面的 p-MHC I 类分子复合物。CD4 与 CD8 分子比例下降提示免疫系统受到损伤^[9]。邬贤凤等^[10]的研究结果显示,PPD 患者 CD3、CD4 表达水平显著下降,而 CD8 表达水平显著上升,同时相关性分析结果显示,PPD 与 CD3、CD4 表达水平及 CD4/CD8 呈负相关,而与 CD8 表达水平呈正相关。该结果与本研究 CD8 基因表达显著上调结果一致,提示 PPD 患者体内 T 细胞免疫功能下调。ABL1 蛋白主要参与细胞的分化、分裂与应激反应等,ABL1 蛋白的 SH3 结构域的缺失会使 ABL1 成为原癌基因,从而导致细胞发生癌变。HLA-G 与 HLA-C 均属于非经典 HLA-I 类分子,有研究报道 HLA 基因的下调可能导致抗原提呈减少,从而促进肿瘤免疫逃逸^[11]。也有研究表明,一些病毒,如 EB 病毒(EBV)可以通过抑制抗原提呈而有效避免免疫系统细胞毒性 T 细胞的识别,避免免疫系统的监视^[12]。CCR7 基因编码的蛋白质是 G 蛋白偶联受体家族的成员,该受体被认为是 EBV 感染 B 细胞的介质^[13],在各种淋巴组织中表达并激活 B 和 T 细胞,可以控制记忆 T 细胞向炎症组织的迁移,并刺激树突状细胞成熟。趋化因子 CCR1 及其受体介导的信号转导对于效应免疫细胞招募到炎症部位至关重要,与多种人类疾病有关,包括类风湿关节炎、

多发性硬化、多发性骨髓瘤和相关的溶骨性疾病^[14]。研究显示,CCR1 持续表达于嗜中性粒细胞、单核细胞、T 和 B 细胞等免疫细胞表面^[15]。CXCR6 主要在几个 T 细胞亚群和骨髓基质细胞中表达,参与调节 T 细胞向各种外周器官组织(肝、脾红髓、肠、肺和皮肤)迁移的信号通路,并促进细胞与树突状细胞和成纤维细胞网状细胞的相互作用^[16]。本研究中 CCR7 与 CXCR6 表达上调,而 CCR1 表达下调,提示 PPD 患者体内可能存在由于病毒感染引起的炎症反应。SSTR2 可介导生长抑素的释放,从而抑制内皮细胞增殖以及诱导细胞凋亡,此外,SSTR2 参与机体内抗肿瘤反应,其低表达有可能促进肿瘤细胞增殖、迁移作用^[17]。LPAR2 蛋白作为溶血磷脂酸(LPA)受体,可能在 LPA 促进肿瘤细胞迁移的过程中起主要作用^[18]。本研究中,SSTR2 和 LPAR2 显著下调,表明 PPD 患者体内免疫功能低下。鉴于 EBV 是一种人群易感病毒,感染率高达 90%,而在 PPD 患者体内可能存在 EBV 逃逸免疫识别,同时增殖活化 T 细胞,引起免疫系统损伤的路径,进而导致 PPD 的发生,但还需更多研究来证明该机制的可能性。

本研究通过分析 GEO 数据库中的 GSE45603 芯片数据,得到与免疫相关的 4 个关键 MCODE 模块以及 11 个关键差异表达基因,这 11 个关键差异表达基因可作为 PPD 早期检测的潜在分子标志物。此外,本研究从分子功能与生物过程及代谢通路的角度进一步阐述了 PPD 可能的发病机制,为 PPD 的发生发展寻找新的作用靶点提供了新的思路。但是 PPD 的病理生理机制复杂,本研究仅关注 PPD 与免疫相关的差异表达基因及其代谢通路,研究结果还需要进一步的临床试验进行验证。

参考文献

- [1] GOSSE V. Boston women's health book collective. In: the movements of the new left, 1950—1975, the bedford series in history and culture[M]. New York: Palgrave Macmillan, 2005: 172-174.
- [2] STEWART D E, VIGOD S. Postpartum depression[J]. N Engl J Med, 2016, 375: 2177-2186.
- [3] BRÄNN E, FRANSSON E, WHITE R A, et al. Inflammatory markers in women with postpartum depressive symptoms[J]. J Neurosci Res, 2020, 98(7): 1309-1321.
- [4] PAYNE J L, MAGUIRE J. Pathophysiological mechanisms implicated in postpartum depression [J]. Front Neuroendocrinol, 2019, 52: 165-180.
- [5] LIMA J, MARTINS C, NUNES G, et al. Regulatory T cells show dynamic behavior during late pregnancy, deliv-

- ery, and the postpartum period[J]. Reprod Sci, 2017, 24(7): 1025-1032.
- [6] BEUREL E, TOUPS M, NEMEROFF C B. The bidirectional relationship of depression and inflammation: double trouble[J]. Neuron, 2020, 107(2): 234-256.
- [7] 白雪, 贺平. 基于 TCGA 数据库筛选结直肠癌肿瘤 K-RAS 突变相关 lincRNA[J]. 天津医药, 2020, 48(7): 616-620.
- [8] FISCHER A, DE SAINT B G, LE DEIST F. CD3 deficiencies[J]. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2005, 5(6): 491-495.
- [9] FARHOOD B, NAJAFI M, MORTEZAEE K. CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunotherapy: a review [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(6): 8509-8521.
- [10] 郭贤凤, 余颖. 产后抑郁与 T 细胞免疫调节的相关性研究 [J]. 中国现代医生, 2011, 49(27): 49-50.
- [11] CHOWELL D, MORRIS L, GRIGG C M, et al. Patient HLA class I genotype influences cancer response to checkpoint blockade immunotherapy [J]. Science, 2017, 359(6375): 582-587.
- [12] SATOU A, NAKAMURA S. EBV-positive B-cell lymphomas and lymphoproliferative disorders: review from the perspective of immune escape and immunodeficiency [J]. Cancer Med, 2021, 10(19): 6777-6785.
- [13] ZACHOVA K, KOSZTYU P, ZADRAZIL J, et al. Multiparametric flow cytometry analysis of peripheral blood B cell trafficking differences among Epstein-Barr virus infected and uninfected subpopulations [J]. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2020, 164(3): 247-254.
- [14] ZHANG P, DAIRAGHI J D, JAEN C J, et al. Recent advances in the discovery and development of CCR1 antagonists[J]. Ann Rep Med Chem, 2013, 48: 133-147.
- [15] CHRISTIAN W, KIM S C W, CHRISTIANE K, et al. Specialized roles of the chemokine receptors CCR1 and CCR5 in the recruitment of monocytes and TH1-like/CD45RO⁺ T cells[J]. Blood, 2001, 97(4): 1144-1146.
- [16] KORBECKI J, BAJDAK-RUSINEK K, KUPNICKA P, et al. The role of CXCL16 in the pathogenesis of cancer and other diseases[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(7): 3490.
- [17] KASAJIMA A, PAPOTTI M, ITO W, et al. High inter-laboratory and interobserver agreement of so-matostatin receptor immunohistochemical determination and correlation with response to somato-statin analogs [J]. Hum Pathol, 2018, 72: 144-152.
- [18] 翟漫珏. 胃癌细胞的 LPAR2 在酸性环境中抗凋亡作用及其分子机理的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2017.

(收稿日期: 2021-12-16 修回日期: 2022-04-08)