

多发性硬化症和肌萎缩侧索硬化症间潜在关键基因及生物学途径*

李筱荷¹ 孙维震¹ 牛双阳² 罗美玲¹ 王永慧^{1,3}

摘要

目的:联合多种生物信息学分析方法筛选多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)与肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)之间的枢纽基因,从遗传学角度探索以上两种疾病的潜在联系并辅以诊断、治疗。

方法:利用GEO数据库筛选基因表达数据集,利用R软件中的Limma包筛选差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),对差异基因进行GO术语分析、KEGG通路分析、蛋白相互作用网络分析(protein-protein interaction, PPI)、ROC分析以及qRT-PCR分析等。

结果:共纳入2个GEO数据集(GSE108000和GSE68605),与正常组相比,MS存在681个DEGs,ALS存在1365个DEGs,MS与ALS之间存在66个共同DEGs,其中前10个枢纽基因被证明与MS和ALS存在密切联系。此外,为更好的辅以临床诊断与治疗,本研究使用Enrichr平台检测前10个枢纽基因的标志性药物分子。同时根据ROC分析,以及qRT-PCR分析确定前四个枢纽基因的诊断效能。

结论:通过生物信息学方法有效地筛选出MS和ALS间的枢纽基因,为开发临床诊断与治疗靶点提供新思路。

关键词 多发性硬化症;肌萎缩侧索硬化症;生物信息学;差异表达基因

中图分类号:R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2026)-07-1089-10

Potential key genes and biological pathways between multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis/
LI Xiaohu, SUN Weizhen, NIU Shuangyang, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2026, 41
(7):1089—1098

Abstract

Objective: Combining multiple bioinformatics analyses to screen for hub genes between multiple sclerosis (MS) and amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and to explore the potential relationship between the two diseases from a genetic perspective.

Method: Gene expression datasets were downloaded from the GEO database, differentially expressed genes (DEGs) were screened using the Limma package in the R software, and GO terminology analysis, KEGG pathway analysis, protein-protein interaction (PPI), ROC analysis, and qRT-PCR analysis were performed on the differentially expressed genes.

Result: A total of 2 GEO datasets (GSE108000 and GSE68605) were included, 681 DEGs were present in MS and 1365 DEGs were available in ALS compared to the normal group, and 66 common DEGs were observed both in MS and ALS, among which the top 10 hub genes were identified to be significantly associated with MS and ALS. In addition, in order to better supplement clinical diagnosis and treatment, the Enrichr platform was used to detect signature drug molecules for the top 10 hub genes. The diagnostic efficacy of the first four hub genes was also determined based on ROC analysis as well as qRT-PCR analysis.

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2026.07.010

*基金项目:国家自然科学基金项目(81672249,81972154,82172536)

1 山东大学齐鲁医院康复科,山东省济南市,250012; 2 山东大学护理与康复学院; 3 通讯作者

第一作者简介:李筱荷,女,硕士研究生; 收稿日期:2023-12-04

Conclusion: A bioinformatics approach was applied to effectively screen out the hub genes between MS and ALS, which provided new thoughts for the clinical diagnostic and therapeutic target development.

Author's address Rehabilitation Center, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan, Shandong, 250012

Key word multiple sclerosis; amyotrophic lateral sclerosis; bioinformatics; differentially expressed genes

神经系统退行性疾病(neurodegenerative diseases, NDD)因其严重的致残率和高死亡率而备受关注^[1-2]。作为全球年轻成年人中最常见的神经系统疾病——多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)又称播散性硬化症,是一种以慢性脱髓鞘和神经元变性为特征的自身免疫性疾病^[3],影响超过250万人,遗传易感性占总体疾病风险的30%以上。其难以诊断和治疗的困难在于患者之间存在多样化的临床表现和不可预测的临床过程^[4]。肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)又称卢·格里克氏症是一种致命的神经退行性疾病,影响运动神经元并最终破坏其功能^[5-6]。ALS在全球范围内发生,每10万人中有6—9人患病,寿命风险约为1/350,有证据表明该病的发病率正在上升^[7]。尽管进行了密集的研究,但目前肌萎缩侧索硬化症的管理从诊断到预后仍然不尽如人意^[8]。

从神经退行性疾病的角度考虑,多发性硬化和肌萎缩侧索硬化在临床、影像学和病理学方面呈现出一些相似的特征^[9-10]。多个病例报道患者中存在MS和ALS的重叠^[11-13]。多项证据表明,对它们共同发生和相似之处进行进一步的分子研究可以揭示潜在的原因和病理学,从而促进诊断和治疗的进步^[14-16]。

随着表观遗传学研究的不断深入,从基因水平探究疾病的相关机制受到关注。GEO数据库通过提供基因表达测量数据信息平台,使更多的研究者能够进行更深入的数据挖掘^[17]。这使得能够生成基于与疾病机制相关的差异调控生物分子的新假设,这些假设可以通过实验证明,以改进神经退行性疾病的诊断和治疗靶向^[18]。

本研究旨在筛选MS与ALS之间的枢纽基因,并从遗传学角度探索以上两种疾病的潜在联系并辅以诊断、治疗。为解决该问题,本研究从GEO数据库筛选了差异表达基因,利用生物信息学的富集分析程序对MS和ALS枢纽基因进行聚类。通过GO^[19]术语富集、KEGG^[20]通路分析和PPI^[21]网络分析

鉴定了基因表达。值得注意的是,本研究进一步确定了候选药物并预测了前4个枢纽基因的诊断效能值,这能为疾病的致病途径、诊断方法以及治疗方案提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 微阵列数据收集

从国家生物技术信息中心(NCBI)免费开放数据库GEO服务器(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)中提取MS(GSE108000)和ALS(GSE68605)的基因表达数据。基于GLP13497平台的GSE108000数据集由30例MS患者和10例对照样本的基因表达谱组成。此外,GLP570平台中的GSE68605数据集包含3个对照和8个ALS患者的基因表达谱。数据集GSE108000和GSE68605分别由Hendrickx等^[22]和Cooper-Knock等^[23]贡献。本研究通过使用两个不同的数据集来验证本研究的受试者工作特征的发现。例如,Jernao等^[24]基于GLP570平台的MS疾病数据集GSE43591包含16个复发-缓解型MS和20个对照样本,Cooper-Knock等^[23]基于GLP20149平台的ALS数据集GSE68607包含15个对照和54个ALS样本,用于验证本研究的基因表达结果。本研究的研究数据来自一个开放获取的在线数据库,因此不需要伦理委员会审批。

1.2 MS和ALS的DEGs鉴定

利用Limma R包^[25]从ALS和MS患者及相应对照样本中分离DEGs。数据集的选择参数限定为MS的 P 值 <0.05 和 $|\log_2 FC|>1$;ALS的 P 值 <0.05 和 $|\log_2 FC|>1.5$ 。利用Venn图^[26]从上述数据集中识别出相交的共同DEGs。

随后,本研究对相交的共同DEGs进行功能富集分析,根据GO术语分类对生物过程(BP)、细胞组分(CC)、分子功能(MF)和KEGG通路进行富集分析。气泡图通过“cluster profiler”R程序包v3.6.3^[27]显示共同DEGs的经典功能。差异具有显著性意义($P<0.05$)。

1.3 PPI网络的构建及枢纽基因的鉴定

利用交互基因检索工具 (STRING) 版本 11.5 (<http://string-db.org/>) 数据库^[28], 鉴定共同基因之间的 PPI 网络。将最小交互得分设定为 0.400 被认为具有显著性意义。此外, 使用 Cytoscape v3.9.0 (<https://cytoscape.org>)^[29] 及其插件 “CytoHubba” (<http://hub.iis.sinica.edu.tw/cytohubba/>)^[30]来筛选 PPI 网络系统中的前 10 个枢纽基因。PPI 网络的节点代表蛋白质, 边代表蛋白质之间相互作用的结果。

1.4 候选药物的鉴定

本研究使用药物签名数据库 (DSigDB)^[31]基于 MS 和 ALS 的共同 DEGs 确定候选药物。使用 Enrichr 平台^[32] (<https://amp.pharm.mssm.edu/Enrichr/>) 来访问 DSigDB 服务器。

1.5 ROC 分析

使用 R 包中的 “pROC” 分析基因的预测诊断效能, 绘制 ROC 曲线, 计算并比较枢纽基因的曲线下面积。差异具有显著性意义 ($P < 0.05$)。

1.6 实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 分析

为了从白细胞中提取总 RNA, 本研究使用了血液总 RNA 试剂盒 (杭州思明基因试剂开发有限公司, 中国杭州)。实验方案按照制造商的说明设计。在逆转录之后, 本研究进行了 qRT-PCR 实验。qRT-PCR 的组分为: cDNA 2 μ l, 1 $\times$ SYBR 10 μ l 和 8 μ l 超纯水。PCR 实验策略如下: 在 95 $^{\circ}$ C 进行 5min 的预变性, 95 $^{\circ}$ C 变性 10s, 58 $^{\circ}$ C 退火 20s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 25s, 总共 40 个循环。引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列 (5' to 3')	引物序列 (3' to 5')
CIQC	CAACCCGACGGGAGATTATG	CCACAGAAGGTGACCACTTTGAC
CD44	TGGGTTCATAGAAGGGCACG	CCTTTCTGGACATAGCGGGTG
PTPRC	CTTAAACTCTTGGCATTGGCTT	CTTGGATTGGCTTCCTTGCTC
TIMP1	CAATTCCGACCTCGTCATCAG	GGTTGTGGGACCTGTGGAAGTA
GAPDH	GGAAGCTTGTCAATGGAATC	TGATGACCCTTTTGGCTCCC

2 结果

2.1 MS 和 ALS 的 DEGs 分析

GSE108000 数据集存在 681 个 MS 的 DEGs。相比之下, GSE68605 数据集存在 1365 个 ALS 的 DEGs。两个数据集均包含疾病样本 (30 例 MS, 8 例 ALS) 和对照样本 (10 例 MS, 3 例 ALS)。热图显示了两种疾病的基因表达情况。使用 R 包中的 'heatmap', 对收集到的 681 例 MS 和 1365 例 ALS 样本进行比较。Venn 图显示了两个数据集之间的比较结果, 并确定了 66 个相交的共同基因 (图 1)。此外, 图 2 展示了整个研究过程, 并详细提供了共同基因的信息 (表 2)。

2.2 GO 和 KEGG 富集通路分析

本研究使用 R 程序对所有 66 个共同基因进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路分析。对所有三个子领域 (生物过程、细胞组分、分子功能) 进行了 GO 术语的分析 (图 3), 其中选择了排名前五的 GO 术语进行研究。在生物过程中, 共同的 DEGs 在细胞外结构组织、免疫系统过程的负调控以及造血的调控方面显著富集。此外, 在细胞组分中, 共同的 DEGs

表达在细胞膜外侧和胶原结合中, 而在分子功能中表达在细胞外基质结构成分方面显著富集。最后, KEGG 通路中发现的共同 DEGs 表达量最大的是补体和凝血级联反应 (表 3)。

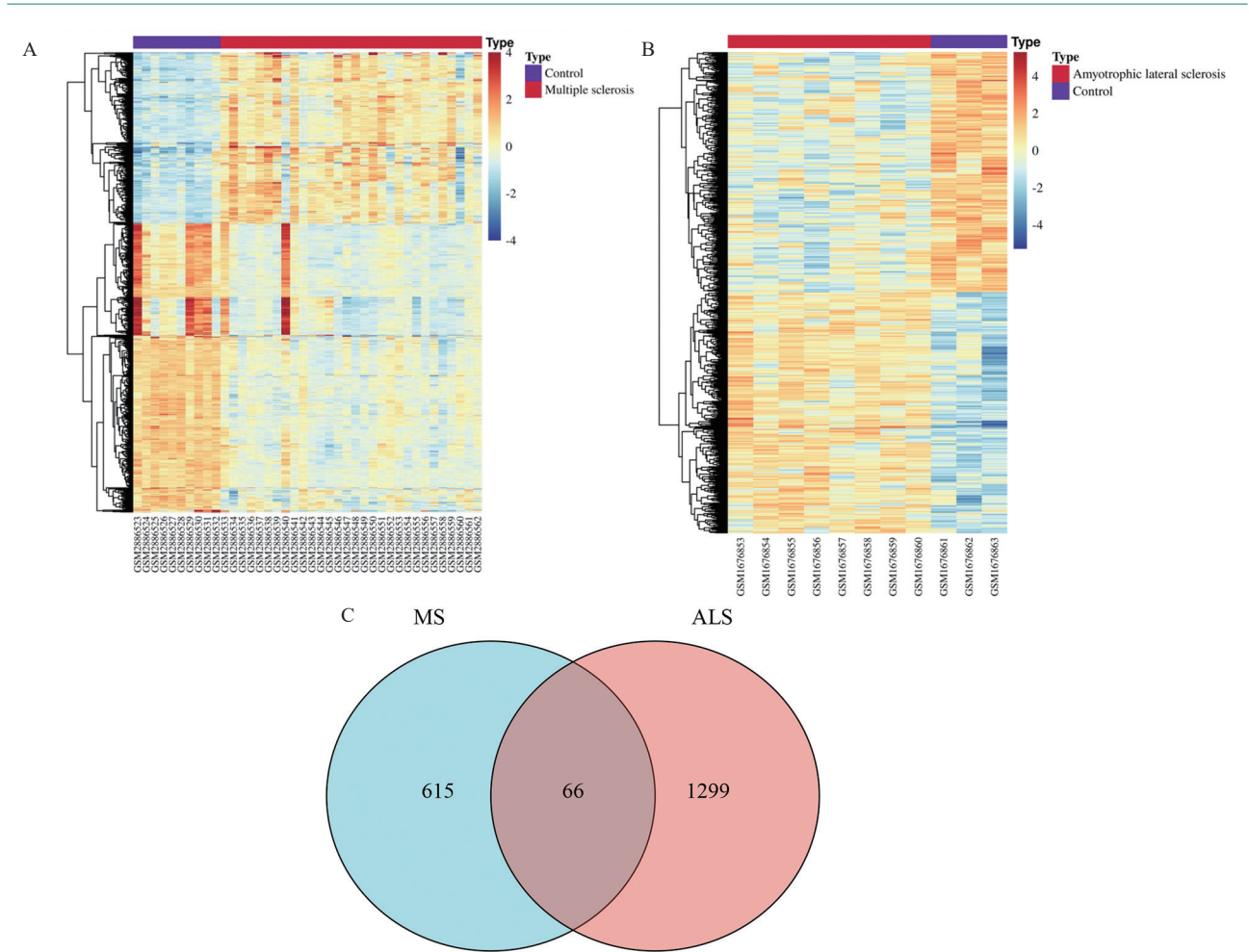
2.3 PPI 网络分析及枢纽基因筛选

所有共同的 DEGs 都输入到 STRING 网络工具^[33]中, 并通过 Cytoscape 软件的插件 “cytoHubba” 分析结果, 以分离和可视化前 10 个枢纽基因。鉴定到的前 10 个枢纽基因分别是群集分化 44 (CD44)、蛋白酪氨酸磷酸酶受体 C 型 (PTPRC)、基质金属蛋白酶抑制物 1

表 2 鉴定出的 66 个共同差异表达基因的名称

ABCA1	ADA	ADAMTS14	ANTXR1	APOC1	AQP4
CIQC	CAMKK2	CBLN2	CCR1	CD14	CD44
CD82	CELF3	CFI	CHI3L1	CHI3L2	CP
DTNA	EMP1	FAM107A	FAM129A	FBRSL1	FCHO1
GBP2	IFI16	IKZF1	KIF1C	LGALS3	MAN2A1
MAN2C1	MASP1	MAST3	MS4A7	MSR1	NDRG2
NEK1	NOTCH2	PDIA2	PLA2G7	PPP1R3C	PRRC2A
PTPRC	RBP1	SAMSN1	SBF1	SCIN	SERPINA3
SLAMF8	SMC1A	SORBS1	SPARC	SPIRE2	SUGP2
TGFBI	TIMP1	TNC	TNFRSF25	TNS3	TTN
TUBA8	UNC13C	VIM	VSIG4	YAP1	ZFP36L1

图1 DEGs的两个数据集的热图和 Venn 图



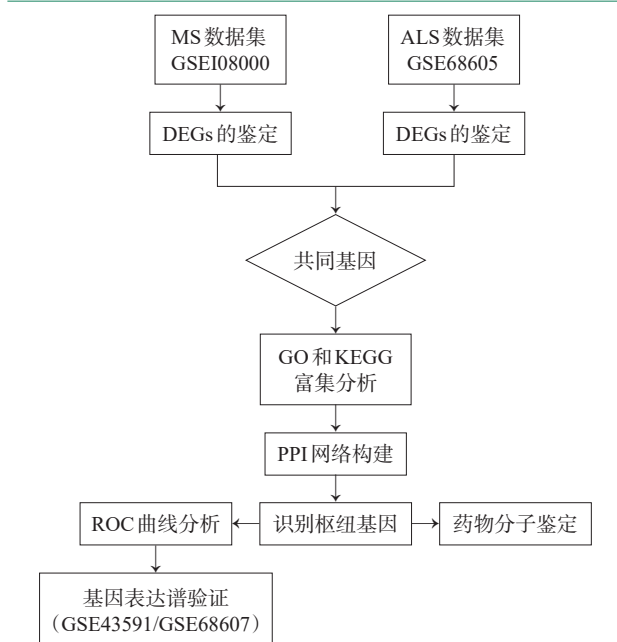
注:A MS数据集中基因表达的热图,显示对照组(紫色条)和疾病组(红色条)的样本。B ALS数据集中基因表达的热图,显示对照组(紫色条)和疾病组(红色条)的样本。C Venn图显示了两个数据集之间的66个DEGs。

(TIMP1)、补体C1q亚单位C链(C1QC)、V-set和含免疫球蛋白结构域的蛋白4(VSIG4)、波形蛋白(VIM)、半乳糖结合可溶3(LGALS3)、群集分化14(CD14)、C-C基序化学因子受体1(CCR1)和巨噬细胞清道夫受体I型(MSR1)。本研究开发了一个PPI网络来识别包含27个节点和55条边的枢纽基因。枢纽基因的模式颜色代表基因间的相互作用强度,由红色到黄色依次降低,最高到最低(图4)。该网络具有55条边和27个节点。在红色高亮显示的两个基因(CD44、PTPRC)的度值为11,高于其他8个基因(TIMP1、C1QC度值为8;VSIG4、VIM度值为7;LGALS3、CD14度值为6;CCR1、MSR1度值为5)。

2.4 候选药物的鉴定

研究使用 Enrichr 平台检测 10 个枢纽基因 (CD44、PTPRC、TIMP1、C1QC、VSIG4、VIM、LGALS3、CD14、CCR1、MSR1) 的药物分子。考虑来自 DSigDB 数据库的 *P* 值数据。本研究的分析表明,与枢纽基因相互作用的药物分子主要有他米巴罗汀 CTD 00002527、佛波脂 CTD 00006852、硫酸长春新碱 BOSS、UNII- 768N7Q04KH BOSS、33258 Hoechst BOSS、甲苯咪唑 HL60 UP、替米利芬 CTD 00001953、甲孕酮 CTD 00006623、N-亚硝基二乙胺 CTD 00005817 和吡咯啉二硫代氨基甲酸酯 CTD 00001021。这些标志性药物是最常见的,由于它们与枢纽基因的相互作用,因此可用于 MS 和 ALS 治疗(表4)。

图2 研究方案呈现数据归因和分析过程



注:MS:多发性硬化症;ALS:肌萎缩侧索硬化症;DEGs:差异表达基因;GO:基因本体论;KEGG:京都基因与基因组百科全书。

2.5 枢纽基因的诊断价值

从上述列表中分析前4个枢纽基因(CD44、PTPRC、TIMP1和C1QC)的诊断有效性。根据MS和ALS数据集的ROC和AUC计算基因表达量。CD44、PTPRC、TIMP1和C1QC基因在MS数据集集中的AUC估计得分分别为0.620、0.580、0.540和0.740。在ALS数据集中,CD44、PTPRC、TIMP1和C1QC基因的AUC得分分别为0.725、0.625、0.550和0.653(图5)。

2.6 对筛选出的枢纽基因进行qRT-PCR验证

本研究收集了MS患者、ALS患者和健康人的血液以验证生物分析结果。本研究进行了qRT-PCR分析,以检测前4个枢纽基因(CD44、PTPRC、TIMP1、C1QC)的表达。结果显示,PTPRC在ALS患者中的表达水平显著升高,CD44在MS血液

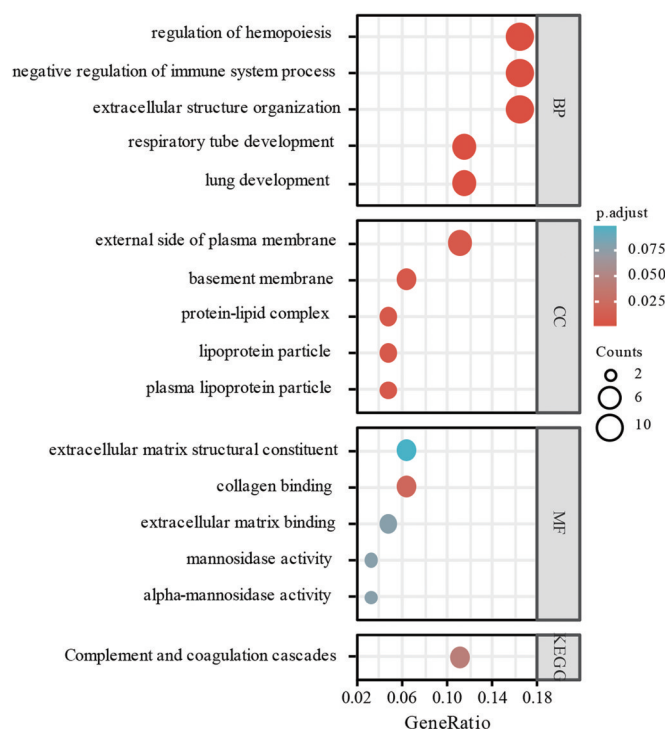
样本中的表达水平显著高于健康血液样本。此外,C1QC和TIMP1在MS和ALS血液样本中的表达水平显著低于健康血液样本(图6)。

3 讨论

尽管研究表明MS和ALS具有相同的病理特征为大脑灰质损伤^[34]。全基因组遗传变异分析发现ALS和MS在内的10种自身免疫性疾病之间存在遗传相关性^[35]。在一项MS与ALS同时发病研究中发现,MS与ALS可能具有相同的致病机制,在免疫层面,人类白细胞抗原(HLA)起着关键作用^[3]。然而,目前瑞典的流行病学研究表明仍缺乏大量实验证明MS和ALS之间机制^[36]。此外,疾病的诊断取决于仔细的病史和神经学检查以及MRI的使用,这被认为具有挑战性,并且取决于个体当前的疾病状态,很大程度上会造成误诊^[37]。因此,基于先前研究基础,从遗传学角度挖掘MS与ALS是否也存在相应的联系,并通过筛选枢纽基因来增加临床诊断的准确性。

本研究首次利用生物信息学方法挖掘MS与

图3 66个DEGs的GO术语和KEGG术语在气泡图中的富集情况



注:BP,生物过程;CC,细胞组分;MF,分子功能;KEGG,京都基因与基因组百科全书。

表3 带有详细信息的GO和KEGG术语

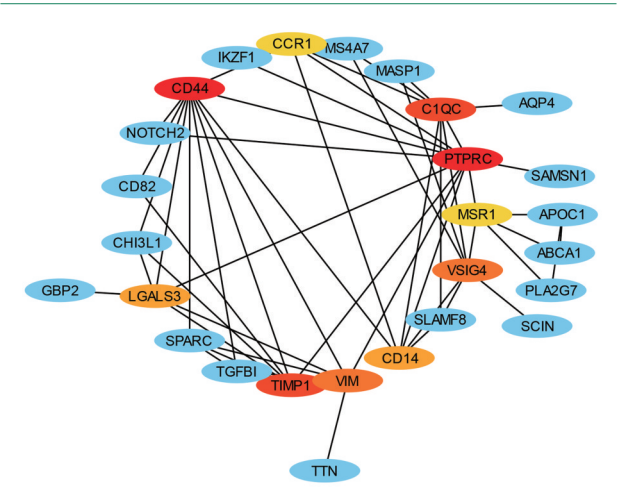
本体	名称	描述	P值	基因
BP	GO:0043062	细胞外结构组织	1.01×10^{-06}	ABCA1, APOC1, CD44, TNC, SPARC, TGFBI, TIMP1, PLA2G7, ANTXR1, ADAMTS14
BP	GO:0030324	肺部发育	1.43×10^{-06}	ADA, CHI3L1, TNC, MAN2A1, SPARC, YAP1, TNS3
BP	GO:0030323	呼吸管发育	1.67×10^{-06}	ADA, CHI3L1, TNC, MAN2A1, SPARC, YAP1, TNS3
BP	GO:0002683	负调节免疫系统过程	2.32×10^{-06}	ADA, ZFP36L1, C1QC, CD14, IFI16, LGALS3, PTPRC, VSIG4, SLAMF8, SAMSN1
BP	GO:1903706	造血调节	2.92×10^{-06}	ADA, ZFP36L1, C1QC, CCR1, LGALS3, NOTCH2, PTPRC, YAP1, SLAMF8, SCIN
CC	GO:0034358	血浆脂蛋白颗粒	2.24×10^{-04}	APOC1, MSR1, PLA2G7
CC	GO:1990777	脂蛋白颗粒	2.24×10^{-04}	APOC1, MSR1, PLA2G7
CC	GO:0005604	基底膜	2.42×10^{-04}	TNC, SPARC, TGFBI, TIMP1
CC	GO:0009897	细胞膜外侧	2.51×10^{-04}	ABCA1, ADA, AQP4, CD14, CCR1, PTPRC, ANTXR1
CC	GO:0032994	蛋白脂复合物	2.62×10^{-04}	APOC1, MSR1, PLA2G7
MF	GO:0005518	胶原结合	9.45×10^{-05}	CD44, SPARC, TGFBI, ANTXR1
MF	GO:0050840	胞外基质结合	1×10^{-03}	LGALS3, SPARC, TGFBI
MF	GO:0004559	α 甘露糖苷酶活性	1×10^{-03}	MAN2C1, MAN2A1
MF	GO:0015923	甘露糖苷酶活性	1×10^{-03}	MAN2C1, MAN2A1
MF	GO:0005201	胞外基质结构成分	3×10^{-03}	CHI3L1, TNC, SPARC, TGFBI
KEGG	hsa04610	补体和凝血级联反应	5.21×10^{-04}	C1QC, CFI, MASP1, VSIG4

注：BP,生物过程;CC,细胞组分;MF,分子功能;KEGG,京都基因与基因组百科全书。

表4 由DSigDB鉴定出的顶级药物化合物

本体	P值	基因
他米巴罗汀 CTD 00002527	8.86×10^{-08}	CCR1; MSR1; PTPRC; TIMP1; VIM; CD44
佛波酯 CTD 00006852	1.83×10^{-06}	MSR1; TIMP1; VIM; CD14; CD44
硫酸长春酸盐 BOSS	9.01×10^{-06}	PTPRC; VIM; CD44
UNII-768N7QO4KH BOSS	1.22×10^{-05}	PTPRC; VIM; CD44
33258 Hoechst BOSS	1.38×10^{-05}	PTPRC; VIM; CD44
甲苯咪唑 HL60 UP	1.70×10^{-05}	PTPRC; TIMP1; CD14; CD44
替米利芬 CTD 00001953	1.75×10^{-05}	PTPRC; CD14
甲孕酮 CTD 00006623	2.70×10^{-05}	LGALS3; VSIG4; VIM; C1QC
N-亚硝基二乙胺 CTD 00005817	5.47×10^{-05}	TIMP1; VIM; CD44
吡咯喹二硫代氨基甲酸酯 CTD 00001021	5.68×10^{-05}	VIM; CD14; CD44

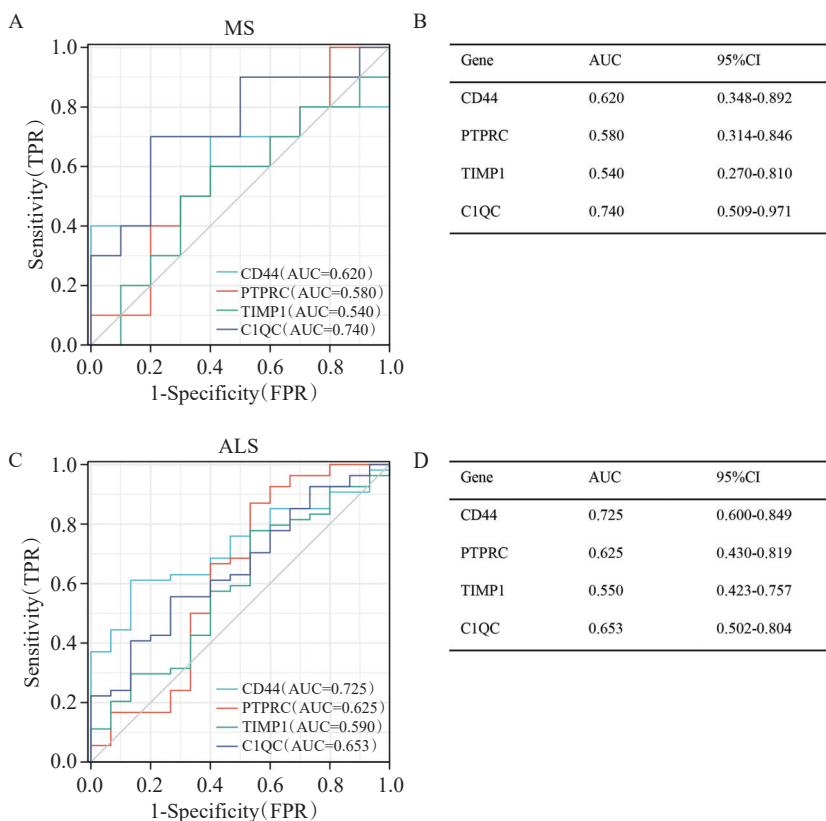
图4 前十个关键基因在PPI网络构建中显示出的共同DEGs



ALS 的遗传相关性。通过筛选并对 MS (GSE108000)和ALS(GSE68605)两个数据集分析,我们发现MS存在681个DGEs,ALS存在1365个DGEs,其中存在66个共同DGEs和10个枢纽基因(CD44、PTPRC、TIMP1、C1QC、VSIG4、VIM、LGALS3、CD14、CCR1、MSR)。

基于以上共同基因,我们利用GO术语进行3次富集分析。在生物过程中,其主要参与细胞外结构组织、免疫系统过程的负调控和造血调控,脱髓鞘MS中细胞外基质的过度沉积可引起轴突变性,加速疾病进展^[38]。细胞膜外侧和蛋白质-脂质复合物在细胞生物学途径中呈现高表达。Radikova等^[39]也在一项有关高密度脂蛋白-C亚组分和细胞因子的研究中发现神经退行性疾病中脂质和系统性炎症之

图5 前4个关键基因与诊断效能值的ROC曲线分析



注: A、C为前4个枢纽基因的ROC曲线分析, B、D为诊断效能值。其中, A和B表示多发性硬化症样本, C和D表示肌萎缩侧索硬化症样本。

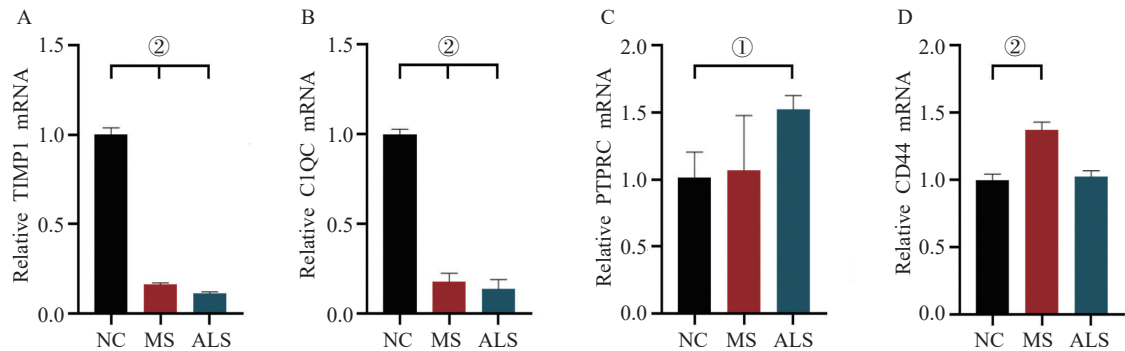
间存在联系,表明某些蛋白质-脂质复合物可能通过调节IL-7等细胞因子在神经退行性疾病中发挥抗炎或促炎的作用。胶原结合位点和细胞外基质结构成分对分子生物学功能十分重要。体外研究发现MS和ALS中存在类似的小胶质细胞特征,负责TGF β 的抑制和载脂蛋白E的启动^[40]。除此之外,补体和凝血级联在KEGG通路中显著富集。靶向补体抑制可以阻止MS患者的小胶质细胞突触吞噬和突触丢失,从而减弱促炎反应,减轻疾病严重程度^[41-42]。多项研究表明,细胞信号通路与ALS的发病机制有关,血清、脑脊液、中枢神经系统和骨骼肌组织中C1q和C4水平升高,TLR/RAGE信号通路激活,可进而导致炎症反应以及运动神经元选择性进行性死亡^[43-46]。因此,可通过探究ALS和MS中大量表达的补体在相关信号通路中的传导作用,为进一步确定其相关分子机制提供新思路。

为进一步预测共同DEGs之间的可能关系,本

研究通过PPI网络分析对以上基因进行关键基因筛选,其中PTPRC和CD44为主要枢纽基因。PTPRC(CD45)是一种几乎存在于所有造血细胞上的跨膜糖蛋白,是T细胞和B细胞抗原受体信号传导的重要调节因子^[47]。PTPRC(CD45)可能为改变MS外周血细胞之间的串扰提供新的见解^[48],并且发现其在ALS患者的脑液中大量存在,可影响ALS的发病机制^[49],这可能导致新的治疗靶点的发现。CD44是一种发现于细胞表面的糖蛋白,似乎具有广泛的生物学功能。研究表明,在小鼠模型中,CD44在星形胶质细胞和小胶质细胞中的表达与ALS的进展有关。在MS复发过程中,CD44在T细胞上表达上调^[50-52]。TIMP1是一种多效性细胞外蛋白,既可作为蛋白酶抑制剂,又可作为生长因子。先前的研究已将TIMP-1确定为由活化的星形胶质细胞产生的蛋白质^[53-54]。在成人中枢神经系统中,TIMP-1的表达水平低至检测不到。相比之下,TIMP-1星形胶质细胞表达升高与MS有关^[55-56]。除此之外,C1Q补体基因被证明在其他神经退行性疾病中发挥重要作用,如阿尔茨海默病和帕金森病^[57-58]。

在DSigDB注册表中提取以上枢纽基因相关药物化合物,进一步探索MS和ALS疾病的分子途径和治疗方法。我们发现他米巴罗汀(Am80)作为一种视黄酸受体激动剂,与其他类视黄醇相似,可减少 β -淀粉样蛋白斑块周围的星形胶质细胞和小胶质细胞促炎细胞因子以及趋化因子的分泌^[59]。在一项多发性硬化症小鼠模型的研究中,Am80可抑制Th17细胞,并改善实验性自身免疫性脑脊髓炎^[60-61]。佛波酯(phorbol-12-myristate-13-acetate, PMA)是一种佛波醇酯,根据细胞类型和周围环境的不同,佛波酯类化合物包括PMA可具有促增殖、抗增殖、促肿

图6 前4个枢纽基因的qRT-PCR分析结果



注:① $P<0.05$,② $P<0.01$ 。

瘤、抗肿瘤、炎症和抗菌等作用^[62]。针对候选药物分子潜在药物机制的探索有助于为MS和ALS的药物治疗提供新见解。此外,ROC分析和qRT-PCR来验证基因的诊断效能这一方法的发展已趋于成熟并在生物信息领域的应用更加广泛^[63-65]。本研究通过ROC分析和qRT-PCR对对枢纽基因的诊断效能进行分析及验证,其中CD44在MS和ALS中的诊断效能值分别为0.620、0.725。根据QRT-PCR结果发现,与正常组相比,TIMP1和C1QC在MS和ALS中的表达均显著降低。

迄今为止,虽然已有相应的药物用于治疗^[66-69],但药物的经验仍然非常有限。MS和ALS治疗方法只能减缓疾病进展,并非治愈。尽管如此,病程的延缓程度也并不稳定,ALS患者的平均预期寿命为诊断后2—5年。一些患者的病程进展较严重,预期寿命可能不到两年^[70]。如今,新疗法正在临床前和临床阶段进行研究。它们主要针对细胞凋亡、炎症、兴奋性毒性、抗氧化和神经保护。其中,基因治疗策略,包括反义寡核苷酸和RNA干扰方法,构成了一种可能的替代疗法,在控制疾病的进展和治疗方面具有巨大的前景^[71]。

本研究有待结合临床及动物实验进行更深层次的、多方面的验证,为该两种疾病之间的联系以及诊断与治疗做出更多的贡献,从遗传学角度提供诊断依据,做到早发现、早预防、早治疗,提高了临床效能。此外,对其枢纽基因诊断相关性的进一步探索可能对深入挖掘两者潜在关联产生积极影响。

参考文献

[1] Mackay DF, Russell ER, Stewart K, et al. Neurodegenerative disease mortality among former professional soccer players[J]. N Engl J Med, 2019,381(19): 1801—1808.

[2] Pinkerton LE, Hein MJ, Grajewski B, et al. Mortality from neurodegenerative diseases in a cohort of US flight attendants[J]. Am J Ind Med, 2016,59(7): 532—537.

[3] Ghasemi N, Razavi S, Nikzad E. Multiple sclerosis: pathogenesis, symptoms, diagnoses and cell- based therapy[J]. Cell J, 2017,19(1): 1—10.

[4] Attfield KE, Jensen LT, Kaufmann M, et al. The immunology of multiple sclerosis[J]. Nature Reviews Immunology, 2022, 22(12): 734—750.

[5] Hardiman O, Al-Chalabi A, Chio A, et al. Amyotrophic lateral sclerosis[J]. Nat Rev Dis Primers,2017,3:17071.

[6] Fang F, Kamel F, Lichtenstein P, et al. Familial aggregation of amyotrophic lateral sclerosis[J]. Ann Neurol, 2009,66(1): 94—99.

[7] Mead RJ, Shan N, Reiser HJ, et al. Amyotrophic lateral sclerosis: a neurodegenerative disorder poised for successful therapeutic translation[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2023, 22(3): 185—212.

[8] Feldman EL, Goutman SA, Petri S, et al. Amyotrophic lateral sclerosis[J]. The Lancet, 2022,400(10360):1363—1380.

[9] Metz I, Lucchinetti CF, Openshaw H, et al. Autologous haematopoietic stem cell transplantation fails to stop demyelination and neurodegeneration in multiple sclerosis[J]. Brain, 2007,130(Pt5): 1254—1262.

[10] Ziemann U, Wahl M, Hattingen E, et al. Development of biomarkers for multiple sclerosis as a neurodegenerative disorder[J]. Progress in Neurobiology,2011,95(4):670—685.

[11] Confavreux C, Moreau T, Jouvet A, et al. Association of amyotrophic lateral sclerosis and multiple sclerosis[J]. Rev Neurol (Paris), 1993,149(5): 351—353.

[12] Li G, Esiri MM, Ansorge O, et al. Concurrent multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis: where inflamma-

- tion and neurodegeneration meet?[J]. *J Neuroinflammation*, 2012,9(1): 20.
- [13] Trojsi F, Sagnelli A, Cirillo G, et al. Amyotrophic lateral sclerosis and multiple sclerosis overlap: a case report[J]. *Case Reports in Medicine*, 2012,2012: 1—4.
- [14] Chen YP, Yu SH, Wei QQ, et al. Role of genetics in amyotrophic lateral sclerosis: a large cohort study in Chinese mainland population[J]. *J Med Genet*, 2022, 59 (9): 840—849.
- [15] Dash BP, Naumann M, Sternecker J, et al. Genome wide analysis points towards subtype-specific diseases in different genetic forms of amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2020,21(18):6938.
- [16] Shang Z, Sun W, Zhang M, et al. Identification of key genes associated with multiple sclerosis based on gene expression data from peripheral blood mononuclear cells[J]. *Peer J*, 2020(2): e8357.
- [17] 王潇,杨智勇. 基于GEO数据库的肥厚型心肌病差异表达基因分析[J]. *中国医科大学学报*, 2023,52(4):313—317.
- [18] O'Connor LM, O'Connor BA, Lim SB, et al. Integrative multi-omics and systems bioinformatics in translational neuroscience: A data mining perspective[J]. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2023,13(8):836—850.
- [19] Gene Ontology C. The gene ontology(GO) project in 2006 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2006,34(suppl-1): D322—D326.
- [20] Kanehisa M, Sato Y, Kawashima M, et al. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016,44(D1): D457—462.
- [21] Safari-Alighiarloo N, Taghizadeh M, Rezaei-Tavirani M, et al. Protein-protein interaction networks (PPI) and complex diseases[J]. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 2014,7 (1): 17—31.
- [22] Hendrickx DAE, van Scheppingen J, van der Poel M, et al. Gene expression profiling of multiple sclerosis pathology identifies early patterns of demyelination surrounding chronic active lesions[J]. *Front Immunol*, 2017,8: 1810.
- [23] Cooper-Knock J, Bury JJ, Heath PR, et al. C9ORF72 GGGGCC expanded repeats produce splicing dysregulation which correlates with disease severity in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *PLoS One*, 2015,10(5): e0127376.
- [24] Jernäs M, Malmström C, Axelsson M, et al. MicroRNA regulate immune pathways in T-cells in multiple sclerosis (MS)[J]. *BMC Immunol*, 2013,14(1): 32.
- [25] Smyth GK. limma: Linear Models for Microarray Data. In: Gentleman R, Carey VJ, Huber W, et al, editors. *Bioinformatics and Computational Biology Solutions Using R and Bioconductor*[M]. New York: Springer New York; 2005. 397420.
- [26] Jia A, Xu L, Wang Y. Venn diagrams in bioinformatics [J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2021(22): bbab108.
- [27] Yu G, Wang LG, Han Y, et al. ClusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters[J]. *OMICS*, 2012(16): 284—287.
- [28] 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):D607D613.
- [29] Su G, Morris JH, Demchak B, et al. Biological network exploration with Cytoscape 3[J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2014,47: 8.13.1—24.
- [30] Chin CH, Chen SH, Wu HH, et al. cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome [J]. *BMC Syst Biol*, 2014,8(Suppl 4): S11.
- [31] Yoo M, Shin J, Kim J, et al. DSigDB: drug signatures database for gene set analysis[J]. *Bioinformatics*, 2015,31 (18): 3069—3071.
- [32] Kuleshov MV, Jones MR, Rouillard AD, et al. Enrichr: a comprehensive gene set enrichment analysis web server 2016 update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016,44(W1): W90—W97.
- [33] Mering CV, Huynen M, Jaeggi D, et al STRING: a database of predicted functional associations between proteins [J]. *Nucleic Acids Research*, 2003,31(1): 258—261.
- [34] Tavazzi E, Laganà MM, Bergsland N, et al. Grey matter damage in progressive multiple sclerosis versus amyotrophic lateral sclerosis: a voxelbased morphometry MRI study[J]. *Neurol Sci*, 2015,36(3): 371—377.
- [35] Li CY, Yang TM, Ou RW, et al. Genome-wide genetic links between amyotrophic lateral sclerosis and autoimmune diseases[J]. *BMC Med*, 2021,19(1): 27.
- [36] Albert SM. Multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis: finding and then losing an association[J]. *Neuroepidemiology*, 2012,38(4): 250—251.
- [37] Deeb O, Nabulsi M. Exploring multiple sclerosis (MS) and amyotrophic lateral sclerosis (ALS) as neurodegenerative diseases and their treatments: a review study[J]. *Curr Top Med Chem*, 2020,20(26): 2391—2403.
- [38] van Horssen J, Dijkstra CD, de Vries HE. The extracellular matrix in multiple sclerosis pathology[J]. *J Neurochem*, 2007,103(4): 1293—1301.
- [39] Radikova Z, Penesova A, Vlcek M, et al. Lipoprotein profiling in early multiple sclerosis patients: effect of chronic inflammation?[J]. *Lipids Health Dis*, 2020,19(1): 49.
- [40] Krasemann S, Madore C, Cialic R, et al. The TREM2-APOE pathway drives the transcriptional phenotype of dysfunctional microglia in neurodegenerative diseases[J]. *Immunity*, 2017,47(3): 566—581.e9.
- [41] Aeinehband S, Lindblom RP, Al Nimer F, et al. Complement component C3 and butyrylcholinesterase activity are associated with neurodegeneration and clinical disability in multiple sclerosis[J]. *PLoS One*, 2015,10(4): e0122048.
- [42] Werneburg S, Jung J, Kunjamma RB, et al. Targeted complement inhibition at synapses prevents microglial synaptic engulfment and synapse loss in demyelinating disease[J].

- Immunity, 2020, 52(1): 167—182.e7.
- [43] Apostolski S, Nikolic J, Bugarski-Prokopljevic C, et al. Serum and CSF immunological findings in ALS[J]. Acta Neurol Scand, 1991, 83(2): 96—98.
- [44] Bahia El Idrissi N, Bosch S, Ramaglia V, et al. Complement activation at the motor end-plates in amyotrophic lateral sclerosis[J]. J Neuroinflammation, 2016, 13(1): 72.
- [45] Casula M, Iyer AM, Spliet WG, et al. Toll-like receptor signaling in amyotrophic lateral sclerosis spinal cord tissue[J]. Neuroscience, 2011, 179: 233—243.
- [46] Trbojevic-Cepe M, Brinar V, Pauro M, et al. Cerebrospinal fluid complement activation in neurological diseases[J]. J Neurol Sci, 1998, 154(2): 173—181.
- [47] Al Barashdi MA, Ali A, McMullin MF, et al. Protein tyrosine phosphatase receptor type C (PTPRC or CD45)[J]. J Clin Pathol, 2021, 74(9): 548—552.
- [48] Groen K, Maltby VE, Scott RJ, et al. Concentrations of plasmaborne extracellular particles differ between multiple sclerosis disease courses and compared to healthy controls[J]. Mult Scler Relat Disord, 2020, 45: 102446.
- [49] Zachau AC, Landen M, Mobarrez F, et al. Leukocytederived microparticles and scanning electron microscopic structures in two fractions of fresh cerebrospinal fluid in amyotrophic lateral sclerosis: a case report[J]. J Med Case Rep, 2012, 6(1): 274.
- [50] Dzwonek J, Wilczynski GM. CD44: molecular interactions, signaling and functions in the nervous system[J]. Front Cell Neurosci, 2015, 9: 175.
- [51] Matsumoto T, Imagama S, Hirano K, et al. CD44 expression in astrocytes and microglia is associated with ALS progression in a mouse model[J]. Neurosci Lett, 2012, 520(1): 115—120.
- [52] Soilu-Hanninen M, Laaksonen M, Hanninen A. Hyaluronate receptor (CD44) and integrin alpha4 (CD49d) are up-regulated on T cells during MS relapses[J]. J Neuroimmunol, 2005, 166(1—2): 189—192.
- [53] Houben E, Janssens K, Hermans D, et al. Oncostatin M-induced astrocytic tissue inhibitor of metalloproteinases-1 drives remyelination[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(9): 5028—5038.
- [54] Zamanian JL, Xu L, Foo LC, et al. Genomic analysis of reactive astrogliosis[J]. J Neurosci, 2012, 32(18): 6391—6410.
- [55] Hasel P, Rose IVL, Sadick JS, et al. Neuroinflammatory astrocyte subtypes in the mouse brain[J]. Nat Neurosci, 2021, 24(10): 1475—1487.
- [56] Martin NA, Nawrocki A, Molnar V, et al. Orthologous proteins of experimental de- and remyelination are differentially regulated in the CSF proteome of multiple sclerosis subtypes[J]. PLoS One, 2018, 13(8): e0202530.
- [57] Benoit ME, Hernandez MX, Dinh ML, et al. C1q-induced LRP1B and GPR6 proteins expressed early in Alzheimer disease mouse models, are essential for the C1q-mediated protection against amyloid-beta neurotoxicity[J]. J Biol Chem, 2013, 288(1): 654—665.
- [58] Carbutt S, Duff J, Yarnall A, et al. Variation in complement protein C1q is not a major contributor to cognitive impairment in Parkinson's disease[J]. Neurosci Lett, 2015, 594: 66—69.
- [59] Fukasawa H, Nakagomi M, Yamagata N, et al. Tamibarotene: a candidate retinoid drug for Alzheimer's disease[J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2012, 35(8): 1206—1212.
- [60] Klemann C, Raveney BJ, Klemann AK, et al. Synthetic retinoid AM80 inhibits Th17 cells and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. Am J Pathol, 2009, 174(6): 2234—2245.
- [61] Matsushita H, Hijioka M, Hisatsune A, et al. A retinoic acid receptor agonist Am80 rescues neurons, attenuates inflammatory reactions, and improves behavioral recovery after intracerebral hemorrhage in mice[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2011, 31(1): 222—234.
- [62] Veh J, Mangold C, Felsen A, et al. Phorbol-12-myristate-13-acetate is a potent enhancer of B cells with a granulocyte B+ regulatory phenotype[J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14.
- [63] Metz CE. Basic principles of ROC analysis[C]//Seminars in nuclear medicine. WB Saunders, 1978, 8(4): 283—298.
- [64] Li S, Xiao J, Huang C, et al. Identification and validation of oxidative stress and immune-related hub genes in Alzheimer's disease through bioinformatics analysis[J]. Scientific Reports, 2023, 13(1): 657.
- [65] Gu J, Zhang LN, Gu X, et al. Identification of hub genes associated with oxidative stress in heart failure and their correlation with immune infiltration using bioinformatics analysis[J]. Peer J, 2023, 11: e15893.
- [66] Dharmadasa T, Kiernan MC. Riluzole, disease stage and survival in ALS[J]. Lancet Neurol, 2018, 17(5): 385—386.
- [67] Hauser SL, Bar-Or A, Comi G, et al. Ocrelizumab versus interferon Beta-1a in relapsing multiple sclerosis[J]. N Engl J Med, 2017, 376(3): 221—234.
- [68] Mulero P, Midaglia L, Montalban X. Ocrelizumab: a new milestone in multiple sclerosis therapy[J]. Ther Adv Neurol Disord, 2018, 11: 1756286418773025.
- [69] Bhandari R, Kuhad A, Kuhad A. Edaravone: a new hope for deadly amyotrophic lateral sclerosis[J]. Drugs Today (Barc), 2018, 54(6): 349—360.
- [70] Logroscino G, Traynor BJ, Hardiman O, et al. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in Europe[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2010, 81(4): 385—390.
- [71] Nowicka N, Juranek J, Juranek JK, et al. Risk factors and emerging therapies in amyotrophic lateral sclerosis[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(11): 2616.