

# 基于 GEO 数据库线粒体脑肌病伴高乳酸血症和卒中样发作芯片数据的生物信息学分析

许谦 高阳 李蕾 严峻 王礼玲 任桃杰

**【摘要】** 目的 从分子水平探讨线粒体脑肌病伴高乳酸血症和卒中样发作(MELAS)的可能发病机制和临床表现。方法 自 GEO 数据库中获取野生型细胞系和高表达 mtDNA A3243G 位点突变细胞系的芯片信息,采用 R 语言程序分析获得差异表达基因,行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析并通过多组芯片的两两比较筛选出共同的差异表达基因,蛋白质相互作用网络分析关键调控基因与 MELAS 发病机制和临床症状之间可能的关联。结果 自 GEO 数据库中筛选获得 563 个差异表达基因,250 个基因表达上调、313 个基因表达下调;GO 富集分析显示,差异表达基因的主要功能是细胞外基质(ECM)粘附的生物学过程;KEGG 通路富集分析包括磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)-丝氨酸/苏氨酸激酶(AKT)信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用通路、转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )信号通路、ECM 受体相互作用通路等。STRING 数据库筛选出 *GNG2*、*SDC2*、*ANXA1*、*FNI*、*TNC*、*CYR61*、*IGFBP3*、*LTBP1*、*SERPIND1* 共 9 个关键基因。3 组芯片进行两两比较筛选出 *PAMR1*、*GLRX5*、*SNCA* 等共同的差异表达基因。结论 ECM 粘附的生物学过程以及 PI3K-AKT 信号通路、TGF- $\beta$  信号通路、ECM 受体相互作用通路均参与线粒体能量代谢过程,可能与 MELAS 的发病机制有关;*GNG2*、*TNC*、*LTBP1*、*PAMR1*、*GLRX5*、*SNCA* 等作为关键基因可能与 MELAS 的临床表现有关。

**【关键词】** MELAS 综合征; 基因; 蛋白质阵列分析; 计算生物学

## Bioinformatics analysis of mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidemia and stroke-like episodes genome microarray based on GEO database

XU Qian<sup>1</sup>, GAO Yang<sup>1</sup>, LI Lei<sup>2</sup>, YAN Jun<sup>1</sup>, WANG Li-ling<sup>1</sup>, REN Tao-jie<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurology, <sup>2</sup>Center for Translational Medicine, Yancheng Clinical College of Xuzhou Medical University, Yancheng 224000, Jiangsu, China

Corresponding author: GAO Yang (Email: gyxyc@163.com)

**【Abstract】 Objective** To investigate the possible pathogenesis and clinical feature of mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidemia and stroke-like episodes (MELAS) on the molecular level by bioinformatics analysis of differential expression genes. **Methods** The microarray information of the wild-type cell lines and the mutant cell line with high expression of mtDNA A3243G locus was downloaded from the GEO database, and the differential expression genes were obtained by the R platform. Then Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed, and paired comparison of gene microarray analysis to screen out the same differently expressed genes, and the protein-protein interaction (PPI) network was used to find the relation of key genes between MELAS and clinical symptoms. **Results** A total of 563 differential expression genes were obtained, of which 250 genes were up-regulated and 313 genes were down-regulated. GO enrichment analysis showed that the differential expression genes were mainly involved in the extracellular matrix (ECM) binding biological process, and KEGG pathway involved in phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-serine/threonine kinase (AKT) signaling pathway, transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) signaling pathway, ECM receptor interaction pathway. Using the STRING platform, 9 hubs genes including *GNG2*, *SDC2*, *ANXA1*, *FNI*, *TNC*, *CYR61*, *IGFBP3*, *LTBP1*, *SERPIND1* had been found. *PAMR1*, *GLRX5*, *SNCA* and

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2020.04.015

基金项目:江苏省盐城市第一人民医院科研培育基金资助项目(项目编号:QN2018006)

作者单位:224000 徐州医科大学盐城临床学院神经内科(许谦、高阳、严峻、王礼玲、任桃杰),转化医学中心(李蕾)

通讯作者:高阳,Email:gyxyc@163.com

other common differential genes were obtained by paired comparison of 3 groups of gene microarrays.

**Conclusions** According to the above results, the PI3K-AKT signaling pathway, TGF- $\beta$  signaling pathway, ECM receptor interaction pathway and the biological processes of ECM binding were involved in the process of the mitochondrial energy metabolism, which might be related to the pathogenesis of MELAS. *GNG2*, *TNC*, *LTBP1*, *PAMR1*, *GLRX5*, *SNCA* and other hubs genes might be related to the clinical manifestations of MELAS.

**【Key words】** MELAS syndrome; Genes; Protein array analysis; Computational biology

This study was supported by Yancheng First People's Hospital Scientific Research Cultivating Fund Program (No. QN2018006).

**Conflicts of interest:** none declared

线粒体脑肌病伴高乳酸血症和卒中样发作(MELAS)是线粒体脑肌病(ME)的重要亚型,系线粒体DNA(mtDNA)、核基因(nuclear gene)或核DNA(nDNA)突变导致的线粒体呼吸链功能障碍性疾病。患者临床表现多样,但以癫痫发作、脑卒中样发作、高乳酸血症等最为常见,血清乳酸水平升高,磁共振波谱(MRS)呈现乳酸(Lac)峰显著升高、N-乙酰天冬氨酸(NAA)峰显著降低,明确诊断主要依靠肌肉组织活检术和基因检测。GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)系美国国立生物技术信息中心(NCBI)创建并维护的基因表达数据库,其内收录全世界各研究机构提交的高通量基因表达数据,包含所有已发表论文中涉及的基因表达数据。本研究采用生物信息学方法对GEO数据库中的MELAS表达谱芯片数据进行分析,以探寻MELAS发病机制中可能的关键基因及其发病机制。

## 对象与方法

### 一、研究对象

MELAS表达谱芯片(ID:GSE129091)数据来源NCBI GEO数据库中MELAS数据集,由McMillan等<sup>[1]</sup>于2019年4月11日上传至GEO数据库。该芯片为含有12个人骨肉瘤细胞样本的基因表达谱数据集,分别包含野生型骨肉瘤细胞系(4个样本)、低表达(<45%)mtDNA A3243G位点突变的骨肉瘤细胞系(4个样本)和高表达(>85%)mtDNA A3243G位点突变的骨肉瘤细胞系(4个样本)。本研究选择4个野生型细胞系样本(对照组)和4个高表达mtDNA A3243G位点突变的细胞系样本(实验组),比较二者突变基因差异。

### 二、研究方法

1. 突变基因差异分析 采用GEO2R(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r>)在线分析工具进行

突变基因差异分析。GEO2R是GEO数据库中的一项在线分析工具,利用R语言程序(R3.4.1, <https://www.r-project.org>)对基因进行方差分析和 $t$ 检验,通过统计分析方法鉴定差异基因,差异倍数>1.50且 $P < 0.05$ 的基因为差异表达基因。

2. GO富集分析和KEGG通路富集分析 采用R语言程序对差异表达基因进行GO富集分析和KEGG富集分析。(1)GO富集分析:从生物过程(biological process)、细胞组成(cellular component)、分子功能(molecular function)三方面对基因产物进行标准化描述,了解差异基因对细胞生物功能的主要影响。首先,对全基因和目标基因进行归类和功能注释,即从全转录本中筛选出目标转录本作为候选,在生物过程、细胞组成、分子功能3个层次通过超几何分布检验(hypergeometric test)获得对应差异转录本的 $P$ 值,再采用Benjamini-Hochberg法对 $P$ 值多重检验纠正后获得错误发现率(FDR)和富集评分(-log $P$ 值),富集评分越高、差异基因在此项生物学功能的富集程度越高。(2)KEGG通路富集分析:KEGG全称为京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes),通过图形表达差异基因所参与的代谢途径及各途径之间的关系,从而更直观地了解差异基因的代谢途径。对KEGG数据库(<https://www.genome.jp/kegg/kegg2.html>)中通路上的差异表达基因数目进行统计分析,其统计分析原理和方法与GO富集分析基本相同,获得 $P$ 值、FDR值和富集评分,基于差异表达基因的KEGG通路富集分析,进一步构建通路分子的交叉网络,寻找各通路之间交叉的关键分子。

3. 多组基因芯片分析 采用R语言程序下载、转换、构建和管理基因表达谱数据库,通过edgeR软件包(<https://bioconductor.org/biocLite.R>)筛选符合要求的mRNAs,即 $|\log FC| > 2$ 且 $FDR < 0.01$ ,其中

差异倍数(FC)为两组基因芯片表达量的比值。

4. 差异基因编码蛋白的相互作用网络构建 采用 STRING 数据库 (<http://string-db.org/cgi/input.pl>) 进行差异基因编码蛋白的相互作用网络(PPI)的构建。STRING 数据库是迄今覆盖物种最多、相互作用信息最全面的蛋白质相互作用数据库,通过 STRING 数据库研究差异基因编码蛋白之间的相互作用网络、Cytoscape 软件[美国国立普通医学科学研究所(NIGMS)]进行可视化分析,探寻 MELAS 的关键调控基因,最后通过人类基因数据库 Genecards (<http://www.genecards.org>)分析这些关键调控基因与 MELAS 发病机制或临床症状之间可能的关联性。

## 结 果

### 一、检索获得的差异基因

针对 MELAS 表达谱芯片数据的分析,共获得 563 个差异表达基因(差异倍数  $> 1.50$  且  $P < 0.05$ ),其中 250 个基因表达上调、313 个基因表达下调。通过差异表达基因绘制聚类图(图 1)和火山图(图 2),可见表达下调的基因比例较高,与 GEO2R 在线分析获得的表达上调和下调的基因数目相一致。

### 二、GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析

1. GO 富集分析 对 563 个差异表达基因进行 GO 富集分析(ID 号:0050840),共筛选出 8 个基因,主要功能是参与细胞外基质(ECM)粘附的生物学过程( $P = 0.000$ )。

2. KEGG 通路富集分析 563 个差异表达基因中共筛选出 10 个信号通路(图 3),包括 I 型单纯疱疹病毒(HSV-1)感染信号通路(ID 号:hsa05168)、磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)-丝氨酸/苏氨酸激酶(AKT)信号通路(ID 号:hsa04151)、细胞因子-细胞因子受体相互作用(cytokine-cytokine receptor interaction)通路(ID 号:hsa04060)、转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )信号通路(ID 号:hsa04350)、炎症性肠病(IBD, ID 号:hsa05321)、ECM 受体相互作用通路(ID 号:hsa04512)、疟疾(ID 号:hsa05144)、军团病(ID 号:hsa05134)、糖胺聚糖生物合成-硫酸软骨素/硫酸皮肤素(ID 号:hsa00532)、酮体合成与降解(ID 号:hsa00072),参与上述信号通路的基因数目分别为 16 个( $P = 0.019$ )、13 个( $P = 0.014$ )、12 个( $P = 0.008$ )、6 个( $P = 0.007$ )、5 个( $P = 0.007$ )、5 个( $P = 0.018$ )、4 个( $P = 0.012$ )、4 个( $P = 0.018$ )、3 个( $P = 0.006$ )和 2 个( $P = 0.014$ )。

### 三、多组基因芯片分析

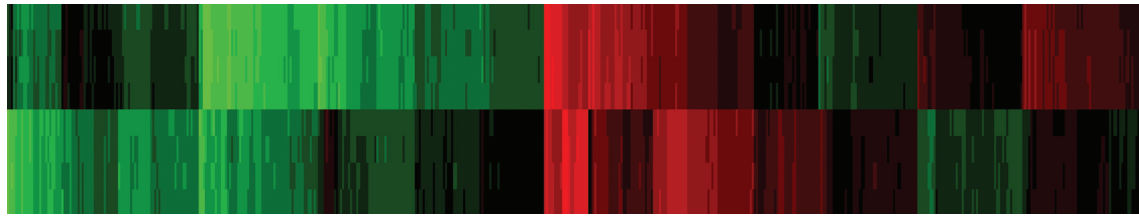
由于所检索的基因表达谱芯片(ID: GSE129091)样本量较少,为了使数据更具说服力,进一步扩大样本量并进行分析,以期寻找其中共同的差异表达基因,增加检索的另两组 MELAS 表达谱芯片分别为 GSE1462 和 GSE14882,其中芯片 GSE1462 由 Crimi 等<sup>[2]</sup>于 2004 年 6 月 8 日上传至 GEO 数据库,该芯片是包含 15 个人肌肉组织细胞样本的基因表达谱数据集,选取其中对本研究有意义的 7 个样本,包括 MELAS 患者 4 例(实验组)和正常对照者 3 例(对照组);芯片 GSE14882 由 Mende 等<sup>[3]</sup>于 2009 年 2 月 18 日上传至 GEO 数据库,其为包含 16 个人血液样本的基因表达谱数据集,包括 MELAS 患者 10 例(实验组)和正常对照者 6 例(对照组)。GEO 数据库中仅 GSE129091、GSE1462 和 GSE14882 共 3 组芯片为 MELAS 表达谱芯片,其两两比较结果参见表 1。

### 四、编码蛋白相互作用网络分析

基于 STRING 数据库共筛选获得与  $\geq 6$  种蛋白质有相互作用的关键基因,包括 *GNG2*、*SDC2*、*ANXA1*、*FNI*、*TNC*、*CYR61*、*IGFBP3*、*LTBP1*、*SERPIND1* 共 9 个,其中 4 个基因(*GNG2*、*FNI*、*LTBP1*、*SERPIND1*)表达上调、5 个基因(*SDC2*、*ANXA1*、*TNC*、*CYR61*、*IGFBP3*)表达下调(图 4)。*GNG2* 基因主要参与偏瘫和偏头痛的发生;*TNC* 基因与神经元和神经突触的生长和再生过程有关,主要参与耳聋的发生;*LTBP1* 基因与 TGF- $\beta$  分泌调节有关;*ANXA1*、*CYR61*、*IGFBP3*、*SDC2* 基因参与调节细胞增殖、分化和凋亡过程;*FNI* 基因参与细胞粘附和迁移过程;*SERPIND1* 基因主要与炎症反应有关。

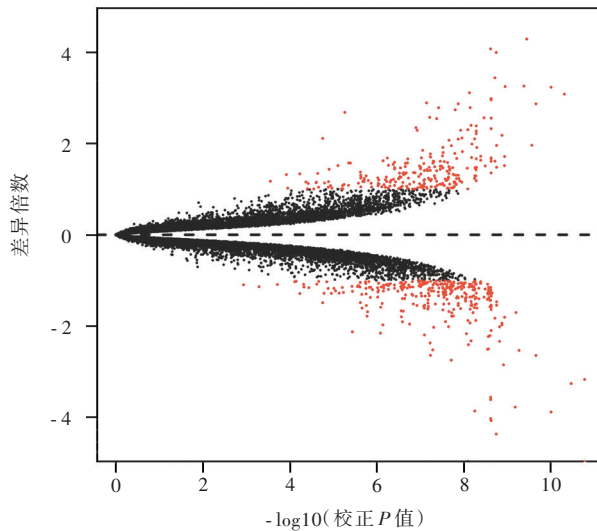
## 讨 论

MELAS 临床表现多样,包括急性脑卒中样发作、急性病毒性脑炎样发作、癫痫发作、智力障碍、高乳酸血症、视觉和听觉障碍、糖尿病、身材矮小等,临床易被误诊为脑卒中、病毒性脑炎等,明确诊断需基因检测或肌肉组织活检术。1984 年, Pavlakis 等<sup>[4]</sup>定义 MELAS,并明确为 X 染色体遗传性线粒体疾病,以身材矮小、癫痫发作、偏瘫、偏盲或皮质盲为特征性临床表现,实验室检查呈高乳酸血症,肌肉组织活检可见破碎红纤维(RRF)。自 1990 年 Goto 等<sup>[5]</sup>首次明确 MELAS 患者存在 mtDNA A3243G 位点突变以来,迄今已发现 mtDNA A3243G、T3271C、



**图 1** 差异表达基因的聚类图显示,大多数基因(55.60%, 313/563)表达下调(绿色所示),少数基因(44.40%, 250/563)表达上调(红色所示)

**Figure 1** The clustering of differentially expressed genes showed most genes (55.60%, 313/563) were down-regulated (green areas indicate) and a few genes (44.40%, 250/563) were up-regulated (red areas indicate).



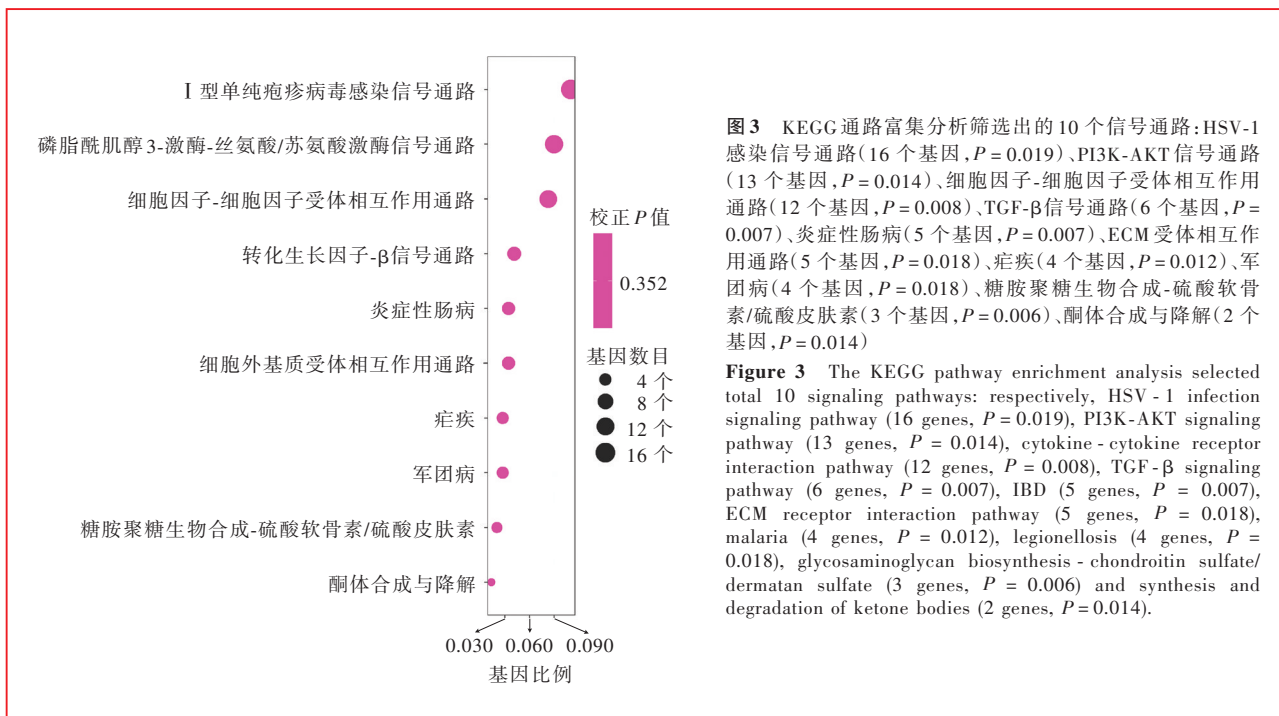
**图 2** 差异表达基因的火山图显示,表达下调的基因数目多于表达上调的基因数目(中间黑点:差异表达不显著的基因;横轴以上红点:表达上调的基因;横轴以下红点:表达下调的基因)

**Figure 2** The volcano map of differentially expressed genes showed more genes were down-regulated than up-regulated (the black dots in the middle represented genes that were not significantly differentially expressed, the red dots above the horizontal axis represented up-regulated genes, and the red dots below the horizontal axis represented down-regulated genes).

A3252G、tRNA<sup>Val</sup>、tRNA<sup>Phe</sup>、tRNA<sup>Ala</sup>、tRNA<sup>His</sup> 等位点突变<sup>[6]</sup>。

本研究基于 GEO 数据库中 MELAS 基因表达谱芯片数据,采用生物信息学分析方法筛选 MELAS 相关基因,结果显示,差异表达基因参与细胞外基质粘附的生物学过程,主要富集信号通路包括 HSV-1 感染信号通路、PI3K-AKT 信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用通路、TGF- $\beta$  信号通路、炎症性肠病、ECM 受体相互作用通路。线粒体是细胞凋亡的参与者,线粒体跨膜电位的消耗可直接导致细胞进入不可逆性凋亡过程,其凋亡过程受到 Bcl-2 家族成员的严格调控。Bcl-2 家族成员包括促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白,在 Bcl-xL、Bcl-w 等多种亚型的共同作用下,调节细胞凋亡<sup>[7-9]</sup>。PI3K-AKT 信号通路具有调节细胞增殖、分化和代谢等多种作用<sup>[10]</sup>,该通路与线粒体途径中 Bcl-2 家族成员的活性密切相关,可增加线粒体通透性,使线粒体释放凋亡因子,最终激活细胞凋亡过程最主要的终末剪切酶 Caspase-3,导致细胞凋亡,据此推测, MELAS 相关缺陷基因表

达可使 PI3K-AKT 信号通路异常、加速神经细胞凋亡,进而促进 MELAS 的发生发展;此外, PI3K-AKT 通路还与己糖激酶亚型 HK2 的活性有关联<sup>[11]</sup>,己糖激酶作为细胞有氧氧化过程的首个限速酶, HK2 附着于线粒体外膜,与电压依赖性阴离子通道蛋白(VDAC)相结合,并最终促进线粒体介导的细胞凋亡<sup>[12]</sup>。HK2 与 VDAC 的结合受 PI3K-AKT 通路的调节, HK2 与 AKT 存在共同序列,可被 AKT 磷酸化, VDAC 对磷酸化的 HK2 十分敏感<sup>[13]</sup>,故 PI3K-AKT 通路通过增强 HK2 活性或促进与线粒体的结合以调节细胞有氧氧化和凋亡过程。因此, MELAS 通过 PI3K-AKT 通路影响神经细胞有氧氧化过程,从而导致神经细胞能量代谢异常甚至凋亡。活性氧(ROS)是一类由氧形成、在分子组成上含氧但化学性质比氧活泼的物质总称<sup>[14]</sup>,线粒体是细胞有氧氧化过程的主要场所, MELAS 的发病与线粒体功能障碍相关,线粒体通过有氧氧化产生 ATP 的过程中产生活性氧,当细胞内抗氧化功能下降或线粒体功能障碍时,活性氧即可直接损伤线粒体,最终促进细胞凋



**图3** KEGG通路富集分析筛选出的10个信号通路: HSV-1感染信号通路(16个基因,  $P = 0.019$ )、PI3K-AKT信号通路(13个基因,  $P = 0.014$ )、细胞因子-细胞因子受体相互作用通路(12个基因,  $P = 0.008$ )、TGF-β信号通路(6个基因,  $P = 0.007$ )、炎症性肠病(5个基因,  $P = 0.007$ )、ECM受体相互作用通路(5个基因,  $P = 0.018$ )、疟疾(4个基因,  $P = 0.012$ )、军团病(4个基因,  $P = 0.018$ )、糖胺聚糖生物合成-硫酸软骨素/硫酸皮肤素(3个基因,  $P = 0.006$ )、酮体合成与降解(2个基因,  $P = 0.014$ )

**Figure 3** The KEGG pathway enrichment analysis selected total 10 signaling pathways: respectively, HSV-1 infection signaling pathway (16 genes,  $P = 0.019$ ), PI3K-AKT signaling pathway (13 genes,  $P = 0.014$ ), cytokine-cytokine receptor interaction pathway (12 genes,  $P = 0.008$ ), TGF-β signaling pathway (6 genes,  $P = 0.007$ ), IBD (5 genes,  $P = 0.007$ ), ECM receptor interaction pathway (5 genes,  $P = 0.018$ ), malaria (4 genes,  $P = 0.012$ ), legionellosis (4 genes,  $P = 0.018$ ), glycosaminoglycan biosynthesis - chondroitin sulfate/dermatan sulfate (3 genes,  $P = 0.006$ ) and synthesis and degradation of ketone bodies (2 genes,  $P = 0.014$ ).

亡<sup>[15-17]</sup>。张佳欣等<sup>[18]</sup>等研究发现,在TGF-β1诱导细胞上皮间质的转化过程中线粒体功能障碍可致活性氧水平升高,反之亦使线粒体功能障碍加重,TGF-β1还具有抑制线粒体生成的作用,最终可导致细胞有氧氧化功能障碍。本研究对KEGG通路富集的分析显示,差异表达基因参与TGF-β信号通路,这可能是MELAS的重要发病机制。ECM是由胶原蛋白、糖蛋白和蛋白多糖组成的动态复杂组合<sup>[19-20]</sup>,为骨骼、软骨和基底膜提供结构支持,而且细胞与ECM的特异性结合尚与细胞分化、增殖或凋亡等生物过程有关联<sup>[21]</sup>。此外,ECM还可以通过结合、提呈和释放多种信号分子(如TGF-β等)来调节其活性<sup>[22-23]</sup>,一方面,ECM是TGF-β启动和停止的关键调节因子<sup>[24]</sup>;另一方面,TGF-β可直接刺激ECM蛋白如胶原蛋白、纤连蛋白和蛋白多糖的表达<sup>[25-27]</sup>,故ECM与TGF-β相互作用既可直接调节细胞凋亡,又可通过调节TGF-β活性而影响细胞功能,最终导致细胞凋亡。本研究对GO富集分析和KEGG通路富集分析结果均显示,差异表达基因参与ECM粘附的生物学过程和ECM受体相互作用信号通路,也是MELAS的重要发病机制之一。

本研究采用STRING数据库对差异基因进行蛋白质相互作用网络分析,共筛选出9个关键基因,通过Genecards数据库查询其所编码的蛋白质功能,探究关键基因与MELAS病因和临床表现之间的关系,

结果显示,*GNG2*基因编码G蛋白,参与各种跨膜信号的传导过程,主要与偏瘫和偏头痛的发生相关。Murakami和Ono<sup>[28]</sup>对200例MELAS患者的临床表现和发作频率进行回顾分析,其中158例(79%)以头痛、呕吐症状为主,66例(33%)主要表现为偏瘫或偏身感觉障碍,推测*GNG2*基因可能是MELAS患者头痛和偏瘫的关键基因之一。*TNC*基因编码蛋白是具有时间和空间特异性分布的ECM蛋白,主要参与神经元和神经突触的生长和再生过程,与耳聋的发生相关。约有44%的MELAS患者表现有耳聋症状<sup>[28]</sup>,推测*TNC*基因可能是导致MELAS患者耳聋的关键基因之一。*LTBP1*基因编码蛋白属于潜在的TGF-β结合蛋白(LTBP)家族成员,而TGF-β的分泌和活化受潜在的LTBP的调节,结合上文所述,推测*LTBP1*基因通过调节TGF-β的分泌导致MELAS的发生。此外,*ANXA1*、*CYR61*、*IGFBP3*、*SDC2*基因主要调节细胞增殖、分化和凋亡过程;*FNI*基因参与细胞粘附和迁移过程;*SERPIND1*基因主要参与炎症反应过程。本研究通过对3组芯片进行两两比较筛选出数个共同差异表达基因,其中,*PAMR1*基因是蛋白编码基因,其编码蛋白可能在骨骼肌的再生中发挥作用,临床表现为肌营养不良,该基因可能是MELAS患者骨骼肌病理改变的关键基因;*GLRX5*基因编码线粒体蛋白,保护细胞免受活性氧和氧化应激导致的细胞凋亡,该基因表达下调可以导致痉

表 1 3 组基因芯片分析结果的两两比较

Table 1. Paired comparison of multiple gene microarray analysis results

| 两两比                    | 共同差异基因  | 表达上调基因                        | 表达下调基因  |
|------------------------|---|-------------------------------|---|
| GSE129091:<br>GSE14882 | ARHGEF3, WIP11,<br>BMP4, DRP2,<br>CHST11, BLVRB,<br>NUP62CL, DAP,<br>SNCA, TSPYL5 | NUP62CL, DAP,<br>SNCA, TSPYL5 | ARHGEF3, WIP11,<br>BMP4, DRP2,<br>CHST11, BLVRB |
| GSE129091:<br>GSE1462  | PAMR1   | PAMR1                         | —   |
| GSE14882:<br>GSE1462   | GRISPLD2, GLRX5   | —                             | GRISPLD2, GLRX5                                 |

—, no common differential genes, 无共同差异基因

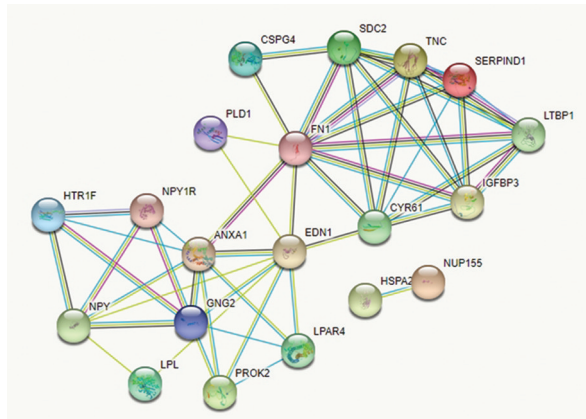


图 4 蛋白质相互作用网络图

Figure 4 Protein-protein interaction network.

挛发作和血糖异常等临床症状,与 MELAS 患者癫痫发作和糖尿病等有关;SNCA 基因编码α-突触核蛋白(α-Syn),是阿尔茨海默病(AD)患者脑组织中β-淀粉样蛋白(Aβ)沉积的主要成分,是导致阿尔茨海默病、路易体痴呆(LBD)和帕金森病痴呆(PDD)的关键基因,推测 SNCA 基因表达上调有促进脑组织 Aβ 沉积的作用,从而导致 MELAS。本研究仅对部分可能与 MELAS 临床表现和病理改变高度相关的基因进行分析,但这些基因与 MELAS 的关系尚待进一步深入研究。

本研究以细胞系比较差异基因为基础,分别与 MELAS 患者血液样本、组织样本进行比较,筛查出共同的差异表达基因,为后续研究 MELAS 的发生与发展机制提供了参考。通过 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析,发现 MELAS 发病机制的可能研究方向:(1)MELAS 相关缺陷基因表达使 PI3K-AKT 信号通路异常,加速神经细胞凋亡,从而促进 MELAS 的发生与发展。(2)MELAS 通过 PI3K-AKT 信号通路影响神经细胞有氧化过程,导致神经细胞能量代谢

异常甚至细胞凋亡。(3)MELAS 相关缺陷基因促进 TGF-β 通路、提高活性氧水平、降低线粒体功能,从而导致 MELAS 的发病。(4)差异基因的表达可影响 ECM 粘附的生物学过程,既可以直接调节细胞凋亡,也可以通过调节 TGF-β 活性影响细胞功能,最终导致细胞凋亡。筛选出的 GNG2、TNC、LTBP1、PAMR1、GLRX5、SNCA 等关键基因均可能与 MELAS 的临床表现有关,仍有待进一步研究加以证实。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] McMillan RP, Stewart S, Budnick JA, Caswell CC. Quantitative variation in m.3243A > G mutation produce discrete changes in energy metabolism[J]. Sci Rep, 2019, 9:5752.
- [2] Crimi M, Bordoni A, Menozzi G, Riva L, Fortunato F, Galbiati S, Del Bo R, Pozzoli U, Bresolin N, Comi GP. Skeletal muscle gene expression profiling in mitochondrial disorders[J]. FASEB J, 2005, 19:866-868.
- [3] Mende S, Royer L, Herr A, Schmiedel J, Deschauer M, Klopstock T, Kostic VS, Schroeder M, Reichmann H, Storch A. Whole blood genome-wide expression profiling and network analysis suggest MELAS master regulators [J]. Neurol Res, 2011, 33:638-655.
- [4] Pavlakis SG, Phillips PC, DiMauro S, De Vivo DC, Rowland LP. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes: a distinctive clinical syndrome[J]. Ann Neurol, 1984, 16:481-488.
- [5] Goto Y, Nonaka I, Horai S. A mutation in the tRNA (Leu) (UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies[J]. Nature, 1990, 348:651-653.
- [6] Zhang J, Guo JH, Fang WH, Jun Q, Shi K. Clinical features of MELAS and its relation with A3243G gene point mutation[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8:13411-13415.
- [7] Adams JM, Cory S. Bcl-2-regulated apoptosis mechanism and therapeutic potential[J]. Curr Opin Immunol, 2007, 19:488-496.
- [8] Ouyang YB, Giffard RG. MicroRNAs affect Bcl-2 family proteins in the setting of cerebral ischemia[J]. Neurochem Int, 2014, 77:2-8.
- [9] Kuwana T, Bouchier-Hayes L, Chipuk JE, Bonzon C, Sullivan B, Green DR, Newmeyer DD. BH3 domains of BH3-only proteins differentially regulate Bax-mediated mitochondrial membrane permeabilization both directly and indirectly[J]. Mol Cell, 2005, 17:525-535.
- [10] Zhang LS, Li JJ, Wu CY. Research progress on the mechanism of cerebral ischemia injury and related signaling pathways[J]. Shen Jing Jie Pou Xue Za Zhi, 2014, 30:729-732.[张茜珊,李娟娟,吴春云.脑缺血的损伤机制及相关信号通路的研究进展[J].神经解剖学杂志,2014,30:729-732.]
- [11] Zhuo B, Li Y, Li Z, Qin H, Sun Q, Zhang F, Shen Y, Shi Y, Wang R. PI3K/Akt signaling mediated hexokinase-2 expression inhibits cell apoptosis and promotes tumor growth in pediatric osteosarcoma[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 464:401-406.
- [12] Zhou H, Zhang Y, Hu S, Shi C, Zhu P, Ma Q, Jin Q, Cao F, Tian F, Chen Y. Melatonin protects cardiac microvasculature against ischemia/reperfusion injury via suppression of mitochondrial fission-VDAC1-HK2-mPTP-mitophagy axis[J]. J

- Pineal Res, 2017, 63:12413.
- [13] Miyamoto S, Murphy AN, Brown JH. Akt mediates mitochondrial protection in cardiomyocytes through phosphorylation of mitochondrial hexokinase-II [J]. Cell Death Differ, 2008, 15:521-529.
- [14] Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS - induced ROS release [J]. Physiol Rev, 2014, 94:909-950.
- [15] Ristow M, Schmeisser K. Mitohormesis: promoting health and lifespan by increased levels of reactive oxygen species (ROS) [J]. Dose Response, 2014, 12:288-341.
- [16] Wei J, Zhang Y, Luo Y, Wang Z, Bi SL, Song D, Dai Y, Wang T, Qiu LX, Wen L, Yuan L, Yang JY. Aldose reductase regulates miR-200a-3p/141-3p to coordinate Keap1-Nrf2, TGF $\beta$  1/2, and Zeb1/2 signaling in renal mesangial cells and the renal cortex of diabetic mice [J]. Free Radic Biol Med, 2014, 67:91-102.
- [17] Giannoni E, Parri M, Chiarugi P. EMT and oxidative stress: a bidirectional interplay affecting tumor malignancy [J]. Antioxid Redox Signal, 2012, 16:1248-1263.
- [18] Zhang JX, Liu Y, Zhang W, Zhou QB, Kong DQ, Liu R, Hai CX. Alteration of mitochondrial synthesis and function in epithelial-mesenchymal transition by TGF- $\beta$ 1 [J]. Ai Bian·Ji Bian·Tu Bian, 2017, 29:411-417. [张佳欣, 刘颖, 张伟, 周庆彪, 孔德钦, 刘瑞, 海春旭. TGF- $\beta$ 1 诱导上皮间质转化过程中线粒体合成与功能的改变 [J]. 癌变·畸变·突变, 2017, 29:411-417.]
- [19] Filipe EC, Chitty JL, Cox TR. Charting the unexplored extracellular matrix in cancer [J]. Int J Exp Pathol, 2018, 99:58-76.
- [20] Kim SH, Turnbull J, Guimond S. Extracellular matrix and cell signalling: the dynamic cooperation of integrin, proteoglycan and growth factor receptor [J]. J Endocrinol, 2011, 209:139-151.
- [21] Radisky D, Muschler J, Bissell MJ. Order and disorder: the role of extracellular matrix in epithelial cancer [J]. Cancer Invest, 2002, 20:139-153.
- [22] Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment [J]. Cancer Cell, 2012, 21:309-322.
- [23] Hinz B. The extracellular matrix and transforming growth factor- $\beta$ 1: tale of a strained relationship [J]. Matrix Biol, 2015, 47:54-65.
- [24] Cichon MA, Radisky DC. Extracellular matrix as a contextual determinant of transforming growth factor- $\beta$  signaling in epithelial-mesenchymal transition and in cancer [J]. Cell Adh Migr, 2014, 8: 588-594.
- [25] Ungefroren H, Lenschow W, Chen WB, Faendrich F, Kalthoff H. Regulation of biglycan gene expression by transforming growth factor - beta requires MKK6 - p38 mitogen - activated protein kinase signaling downstream of Smad signaling [J]. J Biol Chem, 2003, 278:11041-11049.
- [26] Verrecchia F, Mauviel A. Transforming growth factor - beta signaling through the Smad pathway: role in extracellular matrix gene expression and regulation [J]. J Invest Dermatol, 2002, 118:211-215.
- [27] Wang N, Wang X, Sun B, Zeng M, Xing C, Zhao X, Yang J. Role of TGF- $\beta$ 1 in production of fibronectin in vascular smooth muscle cells cultured under high - phosphate conditions [J]. J Nephrol, 2013, 26:213-218.
- [28] Murakami H, Ono K. MELAS: mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes [J]. Brain Nerve, 2017, 69:111-117.

(收稿日期:2020-02-17)

(本文编辑:彭一帆)

## · 小词典 ·

## 中英文对照名词词汇(五)

- 药理缓解 pharmacologic remission(PR)
- N-乙酰天冬氨酸 N-acetyl-aspartate(NAA)
- 乙型肝炎病毒表面抗体 hepatitis B surface antibody(HbsAb)
- 乙型肝炎病毒表面抗原 hepatitis B surface antigen(HbsAg)
- 乙型肝炎核心抗体 hepatitis B c antibody(HBcAb)
- 乙型肝炎E抗体 hepatitis B e antibody(HBeAb)
- 乙型肝炎E抗原 hepatitis B e antigen(HBeAg)
- 异柠檬酸脱氢酶1 isocitrate dehydrogenase 1(IDH1)
- 荧光定量聚合酶链反应 fluorescent quantitative polymerase chain reaction(FQ-PCR)
- 游离T<sub>4</sub> free thyroxine(FT<sub>4</sub>)
- Glasgow 预后分级 Glasgow Outcome Scale(GOS)
- 原始神经外胚层肿瘤 primitive neuroectodermal tumor(PNET)
- 原位杂交 in situ hybridization(ISH)
- 运动诱发电位 motor-evoked potential(MEP)
- 直接口服抗凝药 direct oral anticoagulants(DOACs)
- 肿瘤干细胞 tumor stem cells(TSCs)
- 肿瘤坏死因子受体超家族成员 8 tumor necrosis factor receptor superfamily member 8 (TNFRSF8)
- 重型颅脑创伤 severe traumatic brain injury (sTBI)
- 蛛网膜下腔出血 subarachnoid hemorrhage(SAH)
- 主要组织相容性复合物 major histocompatibility complex(MHC)
- 转化生长因子- $\beta$  transforming growth factor- $\beta$ (TGF- $\beta$ )
- 总生存期 overall survival(OS)
- 阻力指数 resistance index(RI)
- 组蛋白甲基转移酶 histone methyltransferase(HMT)
- 组蛋白去乙酰化酶 histone deacetylases(HDACs)
- 组蛋白乙酰转移酶 histone acetyltransferases(HATs)
- 最小临床表现 minimal manifestation(MM)