

DOI:10.12113/202203007

抑郁症易感基因和抗抑郁药物靶点相关 神经细胞类型及相互作用网络分析

赵弘毅, 丁伟健, 冯飞翔, 宋文正, 刘书齐, 高蕾*

(山东第一医科大学(山东省医学科学院)生命科学学院 生物信息系, 山东 泰安 271099)

摘要:基于抑郁症的全基因组关联分析研究(GWAS),对于获得的单核苷酸多态性位点(SNP)使用 Haploreg 软件进行基因注释,得到 SNP 注释的 102 个易感基因。使用 MAGMA 软件对 GWAS 的汇总统计数据做基因水平的分析,获得了 270 个校正之后显著的基因,两者合并共得到 320 个抑郁症易感基因。通过药物数据库 Drugbank 获取 133 个抗抑郁药物靶点基因。使用 EWCE 包对抑郁症易感基因和抗抑郁药物靶点在三个脑组织单细胞测序数据中,分别进行神经细胞类型富集分析。结果发现大脑皮质的 GABA 神经元(抑制性神经元)和谷氨酸能神经元(兴奋性神经元)是抑郁症易感基因和抗抑郁药物靶点共同的神经元。这两种类型的神经细胞可能是抗抑郁药物与抑郁症易感基因相互作用的神经细胞,另外少突胶质前体细胞可能是抑郁症特有的易感神经细胞。使用 Network Calculator 软件构建网络并进行网络拓扑学参数分析。结果表明抑郁症易感基因与抗抑郁药物靶点组成了一个具有显著的相互连接的网络。本研究从单细胞层面揭示抑郁症的遗传机制,在网络层面为寻找新的抗抑郁药物靶点提供了一定的启示。

关键词:单细胞测序;抑郁症易感基因;抗抑郁药物靶点,神经细胞;相互作用网络

中图分类号:Q3;R74 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-5565(2024)02-124-10

Identification of neuronal cell types and interaction network of susceptibility genes of depressive disorder and antidepressant drug targets

ZHAO Hongyi, DING Weijian, FENG Feixiang, SONG Wenzheng, LIU Shuqi, GAO Lei*

(Department of Bioinformatics, School of Life Sciences, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Tai'an 271099, Shandong, China)

Abstract: Our study is based on the genome-wide association analysis (GWAS) of depressive disorder, of which single nucleotide polymorphisms (SNPs) are retrieved and annotated by Haploreg software and 102 susceptibility genes are obtained by annotation of SNPs. Then gene-level analysis is performed on the summary statistics of GWAS by MAGMA software, and 270 significant genes are obtained after correction. Finally, a total of 320 susceptibility genes are obtained. Besides, 133 antidepressant drug target genes are obtained from Drugbank. Then EWCE package is used to analyze cell type enrichment of susceptibility genes of depressive disorder and antidepressant drug targets in three dataset of brain tissue single-cell sequencing data respectively, and the results show that GABA neurons (inhibitory neurons) and glutamatergic neurons (excitatory neurons) in the cerebral cortex are the common neurons for susceptibility genes of depressive disorder and antidepressant drug targets, antidepressant drugs may be interacted with susceptibility genes of depressive disorder in these two types of neurons, besides, oligodendrocyte precursor cells may be specific susceptible nerve cells for depressive disorder. Network Calculator software is used to construct the network and conduct network topology parameter analysis and the results show that susceptibility genes of depressive disorder and antidepressant drug targets form a network with significant

收稿日期:2022-03-12;修回日期:2023-03-06;网络首发日期:2023-06-02.

网络首发地址:<https://kns.cnki.net/kcms2/detail/23.1513.Q.20230601.1320.004.html>

基金项目:山东省大学生创新创业训练计划项目(No.S202010439097);山东省医药卫生科技发展计划项目(No.2019WS391);山东省自然科学基金项目(No.ZR2020MC061).

通信作者:高蕾,女,博士,研究方向:生物信息学.E-mail:gaolei_tsmu@163.com.

引用格式:赵弘毅,丁伟健,冯飞翔,等.抑郁症易感基因和抗抑郁药物靶点相关神经细胞类型及相互作用网络分析[J].生物信息学,2024,22(2):124-133.

ZHAO Hongyi, DING Weijian, FENG Feixiang, et al. Identification of neuronal cell types and interaction network of susceptibility genes of depressive disorder and antidepressant drug targets[J].Chinese Journal of Bioinformatics, 2024, 22(2): 124-133.

interactions. Our study provides insights for understanding the genetic mechanism of depressive disorder on the single-cell level, as well as investigation of new drug targets by network biology.

Keywords: Single-cell RNA sequencing; Susceptibility genes of depressive disorder; Antidepressant drug targets; Neuronal cell; Interaction network

抑郁症是一种严重的情感障碍,遗传因素对疾病发生具有重要作用,但其发病机制仍未被透彻研究^[1]。抑郁症发病机制复杂,病因存在显著的多样性,揭示抑郁症的遗传决定因素必然成为抑郁症的有效预防及临床治疗途径。全基因组关联分析(Genome-wide association study, GWAS)目前已经成为研究复杂性状和疾病遗传变异的有效方法。自2008年以来,欧美国家率先发起的抑郁症GWAS研究在世界范围内展开,目前基于欧美人群的数十万样本的GWAS分析已经找到了近百个抑郁症显著关联的位点^[2]。另外,目前抗抑郁药物已有几十种,但是目前发现的抑郁症易感基因,与抗抑郁药物之间没有发现显著的关联,说明目前发现的位点,其功能性的调控作用有待于进一步的探究^[3]。虽然抑郁症GWAS研究发现了很多疾病相关的遗传位点和易感基因,但是这些易感基因是如何影响大脑中神经细胞的功能及其具体的致病机制,目前仍未得到透彻的研究^[4]。而近年来,随着单细胞测序技术的发展,我们对于大脑细胞的研究有了更为深入的理解,通过单细胞测序,可以获得单个细胞水平的基因表达情况,并且可以对细胞进行进一步的分类^[5]。而目前大量积累的脑组织单细胞测序的数据,则为探究抑郁症的易感基因在何种类型的神经细胞中表达来影响细胞功能以及治病机制的研究提供了可靠的数据来源。为了探究抑郁症易感基因和抗抑郁药物靶点可能发挥作用的神经细胞,本研究通过整合抑郁症GWAS数据、抗抑郁药物靶点基因数据和脑组织单细胞测序数据进行分析,获得了抑郁症易感基因和抗抑郁药物靶点基因显著富集的神经细胞类型。同时,为了探究抑郁症易感基因与抗抑郁药物之间可能的作用机制,通过网络生物学的方法分析了抑郁症易感基因与抗抑郁药物靶点之间的相互作用网络,本研究从单细胞层面揭示抑郁症的易感神经细胞类型和抗抑郁药物靶点相关神经细胞类型,在蛋白-蛋白相互作用网络的角度探讨了抗抑郁药物与抑郁症基因之间的作用机制,为寻找新的抗抑郁药物靶点提供了一定的启示。

1 材料和方法

1.1 数据获取

1.1.1 抑郁症GWAS数据

获取目前样本量最大的抑郁症全基因组关联分

析研究的汇总统计数据(Summary statistics); UKBiobank公布的抑郁症GWAS,包括246 363病例和561 190对照^[2]。

1.1.2 抗抑郁药物靶点基因

抗抑郁药物靶点基因来自药物数据库Drugbank(<https://go.drugbank.com/>)^[6],按照药物的ATC编码选择药物类型及,抗抑郁药物的ATC编码为N06A(Antidepressants),包括五类抗抑郁药物:N06AA(Non-selective monoamine reuptake inhibitors)非选择性单胺再吸收抑制药;N06AB(Selective serotonin reuptake inhibitors)选择性5-羟色胺再吸收抑制药;N06AF(Monoamine oxidase inhibitors, non-selective)非选择性单胺氧化酶抑制药;N06AG(Monoamine oxidase A inhibitors)单胺氧化酶A抑制药;N06AX(Other antidepressants)其它抗抑郁药。收集了数据库中公布的所有类型抗抑郁药物靶点(包括target, carrier, enzyme)。

1.1.3 脑组织单细胞测序数据

使用以下三套脑组织的单细胞测序数据进行数据分析。

1) KI数据集^[7]:该数据集来自Karolinska Institutet卡罗林斯卡研究所收集的大脑scRNA-seq数据集,包括小鼠新皮质、海马、下丘脑、纹状体和中脑,以及富含少突胶质细胞、多巴胺能神经元和皮质小白蛋白能中间神经元的样本(共24种细胞类型,9 970个细胞)。

2) AIBS数据集^[7]:该数据集收集了人类大脑皮层scRNA-seq数据,包括GABA能神经元、谷氨酸能神经元、少突胶质细胞前体细胞、少突胶质细胞、星形胶质细胞、小胶质细胞(共6种细胞类型,4 401个细胞)。

3) DEONC_human数据集^[8]:该数据集收集了人类大脑皮层和海马区scRNA-seq数据,包括GABA能神经元(GABA)、前额叶皮质抑制性神经元(exPFC)、少突胶质细胞前体细胞(OPC)、锥体CA区抑制性神经元(exCA)、齿状回抑制性神经元(exDG)、少突胶质细胞(ODC)、星形胶质细胞(ASC)、小胶质细胞(MG)、神经干细胞(NSC)、脑血管上皮细胞(END)(共10种细胞类型,13 313个细胞)。

1.1.4 蛋白-蛋白相互作用网络数据

整合了来自CORUM^[9], BioPlex^[10], CCSB^[11],

IntAct^[12], BioGRID^[13] 和 GeneMANIA^[14] 六个蛋白-蛋白相互作用数据库的蛋白-蛋白相互作用网络, 形成一个包括 17 252 个基因和 471 448 个蛋白-蛋白相互作用的总网络。

1.2 数据分析

文中用到的所有软件均在 Windows 环境下运行。

1.2.1 抑郁症易感基因分析

对抑郁症易感基因进行了两个方面的分析。

1) 基于 GWAS 获得的易感 SNP (GWAS P-value < 5.0×10^{-8}), 通过 Haploreg (v4.1) 软件 (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>) 进行相关分析^[15], Haploreg 是一个对 SNP 进行注释的在线分析工具, 输入数据为 SNP 的 ID 号, 使用 RefSeq 版本的基因组注释作为参考, 根据 SNP 在染色体上的位置, 直接注释到所属的基因, 易感 SNP 直接注释到的基因极为相关易感基因。

2) 基于 GWAS 的汇总统计数据 (Summary statistics) 进行基因层面的分析 (Gene-based analysis), 获得每个基因与疾病相关的关联显著性 P 值。使用 MAGMA (v1.10) 软件 (<https://ctg.cncr.nl/software/magma>) 进行相关分析^[16], 首先通过 MAGMA 的 SNP-based analysis 功能, 输入文件为 SNP 及其在染色体上的位置信息, 然后得到每个基因上所注释到的所有 SNP 信息, 然后通过 gene-based analysis 功能, 输入文件为 SNP 及 GWAS P-value 和样本量, 参数选择为基因上游 35 kb-下游 10 kb, 参考基因组版本 (NCBI37.3), 人种为欧美人群, 基于多元线性主成分回归模型以及 SNP 的连锁不平衡关系, 将某个基因上代表主成分的 SNP 及其 P 值通过 F 检验, 计算得到该基因与疾病关联的显著性 P 值, 将全基因组的基因都进行如此步骤的计算, 得到每一个基因的 P 值, 经过 Bonferroni 校正之后 P 值 < 0.05 的基因即为易感基因。

将两种分析得到的基因合并在一起即为抑郁症的易感基因。使用 R 语言 (v4.2.0) 的 qqman 包进行可视化展示全基因组的曼哈顿图。

1.2.2 神经细胞类型富集分析

使用基于 R 语言 (v4.2.0) 的 EWCE (Expression weighted cell-type enrichment) 包 (<https://github.com/NathanSkene/EWCE>)^[17] 进行细胞类型的富集分析。EWCE 的输入数据为: 1) 单细胞测序数据的 count 矩阵以及相应的细胞类型注释; 2) 目标基因 list。相关参数主要有: 1) 数据的物种为人类; 2) 随机抽样次数 100 000 次; 3) P 值的校正方法为 FDR (False discovery rate)。主要原理如下, 在 count 矩阵中, 根据细胞的类型注释, 计算出每种细胞类型中

每个基因的表达量, 得到 rda 文件。对于目标基因 list, 计算目标基因集在各种细胞类型的平均表达量, 然后做 n 次与目标基因集数目相同的随机抽样, 并计算每次抽样的基因集在各种细胞类型的平均表达量, 最后比较目标基因集的平均表达量在抽样中的分布。将获得的抑郁症易感基因和抗抑郁药物靶点基因, 使用该方法分别在三套脑组织单细胞测序中进行富集分析, 计算显著富集的细胞类型。

1.2.3 抑郁症易感基因与抗抑郁药物靶点相互作用网络分析

使用前期开发的网络分析软件 Network Calculator (<https://github.com/Haoxiang-Qi/Network-Calculator.git>)^[18] 中的 Network localization analysis 功能模块进行蛋白-蛋白相互作用网络分析, 输入数据为抑郁症易感基因和抗抑郁药物靶点基因的基因 list。使用 1.1.4 所示总蛋白-蛋白相互作用网络文件构建抑郁症易感基因和抗抑郁药物靶点基因参与的相互作用网络, 然后对该网络的七个网络拓扑学参数 (总边数 (All edges), 平均度 (Mean degree), 最大子网络 (Largest subnetwork), 平均最短路径 (Mean shortest distance), 接近中心度 (Closeness centrality), 聚类系数 (Clustering coefficient), 中介中心度 (Betweenness centrality)) 进行计算, 同时, 从总网络中随机抽取与目标网络节点数相同的节点生成随机网络, 进行 1 000 次随机抽样, 生成 1 000 个随机网络, 每一次都计算上述七个网络拓扑学参数, 1 000 次随机抽样后, 得到七个网络拓扑学参数的分布, 然后计算目标网络的七个参数在分布中的位置既为显著性。

2 结果与分析

2.1 抑郁症易感基因分析

首先获取了目前样本量最大的抑郁症 GWAS 研究的汇总统计数据 (Summary statistics)——UKBiobank 抑郁症 GWAS^[2], 通过两个方面的分析得到易感基因: 1) 基于 GWAS 获得的易感 SNP (GWAS P-value < 5.0×10^{-8}), 根据其在染色体上的位置, 直接注释到所属的基因, 作为易感基因。通过 Haploreg 软件^[15] 的注释, 对 102 个 P-value 小于 5.0×10^{-8} 的 SNP 进行注释, 共得到 102 个基因。2) 基于 GWAS 的数据进行基因层面的分析 (Gene-based analysis), 根据 SNP 在染色体上的位置信息, 注释到其所属的基因, 根据每个基因上的 SNP 与疾病关联的 GWAS P 值, 考虑 SNP 之间的连锁不平衡关系, 通过多元线性主成分回归模型, 最终计算出该基因的与疾病的关联性

0.03)、胚胎 GABA 能神经元 (Embryonic GABAergic neuron) (P -value = 0.04), 5-羟色胺能神经元 (Serotonergic neuron) (P -value = 0.04) 和锥体 SS 区神经元 (Pyramidal SS) (P -value = 0.04), 但是校正之后 P 值不显著。如图3(a)所示, 在 AIBS 数据集中, 抑郁症易感基因显著富集在大脑皮质的 GABA 能神经元 (GABAergic neuron) (P -value = 0.004)、谷氨酸能神经元 (Glutamatergic neuron) (P -value =

0.016) 和少突胶质前体细胞 (Oligodendrocyte precursor cells) (P -value = 0.04), 校正后仍显著。如图4(a)所示, 在 DEONC_human 数据集中, 抑郁症易感基因显著富集在大脑皮质的 GABA 能神经元 (GABA) (P -value = 0.0004)、大脑皮质的谷氨酸能神经元 (exPFC) (P -value = 0.001) 和少突胶质前体细胞 (OPC) (P -value = 0.0107), 校正后均显著。总的结果见表2。

表1 抑郁症易感基因和抗抑郁药物靶点

Table 1 Susceptibility genes of depressive disorder and antidepressant drug targets

类型	数量	基因
Antidepressant drug targets	133	<i>ABCB1, ABCB11, ABCG2, ACHE, ADRA1A, ADRA1B, ADRA1D, ADRA2A, ADRA2B, ADRA2C, ADRB1, ADRB2, ADRB3, ALB, AOC3, CHRM1, CHRM2, CHRM3, CHRM4, CHRM5, CHRNA2, CHRNA3, CHRNB4, CKS1B, COMT, CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP2B, CYP2B6, CYP2C18, CYP2C19, CYP2C8, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4, CYP3A43, CYP3A5, CYP3A7, DDC, DRD1, DRD2, DRD3, DRD4, DRD5, GABRA1, GABRA2, GABRA3, GABRA4, GABRA5, GABRA6, GABRB1, GABRB2, GABRB3, GABRD, GABRE, GABRG1, GABRG2, GABRG3, GABRP, GABRQ, GAD65, GPT, GPT2, GRIA1, GRIN1, GRIN2A, GRIN2B, GRIN2C, GRIN2D, GRIN3A, GRIN3B, GSTP1, HRH1, HRH2, HRH3, HRH4, HTR1A, HTR1B, HTR1D, HTR1F, HTR2A, HTR2B, HTR2C, HTR3A, HTR6, HTR7, IDO1, KCNA1, KCND2, KCND3, KCNHI, KCNHI2, KCNQ2, KCNQ3, MAOA, MAOB, MPO, MTNR1A, MTNR1B, NTRK1, NTRK2, OPRD1, OPRK1, OPRM1, ORM1, ORM2, PGRMC1, PTGS1, SIGMAR1, SLC16A10, SLC16A2, SLC18A2, SLC22A1, SLC22A2, SLC22A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC6A2, SLC6A3, SLC6A4, SLCO1B3, SLCO2B1, SMPD1, TDO2, TPH1, TPH2, trpS, trpS2, UGT1A1, WARS, WARS2</i>
Susceptibility genes of depressive disorder	320	<i>RERE, GRIK3, MIR4255, ELAVL4, NRD1, SGIP1, NEGR1, LRRIQ3, ELTD1, RFWD2, FAM5B, CACNA1E, DENND1B, LOC645949, VRK2, RNF103-VPS24, NR4A2, KLF7, ZNF502, KLHDC8B, TKT, FHIT, LSAMP-AS1, RSRC1, HTT, BEND4, KIAA1109, C4orf33, SPCS3, KIF2A, TMEM161B, FAM172A, RAB9BP1, MAT2B, HIST1H1B, MCART3P, ASCC3, LIN28B, LOC153910, SAMD5, C6orf118, MAD1L1, TMEM106B, PCLO, SEMA3E, EIF3IP1, CTTNBP2, CYP7B1, NCOA2, KIAA0020, PTPRD, CNTLN, ELAVL2, TUSC1, ACO1, PAX5, ASTN2, TLR4, DENND1A, ADARB2, SORCS3, DCDC5, TMX2-CTNND1, DAGLA, LTPB3, SHANK2, GRM5, DRD2, CXCR5, NCRNA00288, SOX5, SLC6A15, ATP2A2, SPPL3, B3GALT1, OLFM4, PCDH9, SPRY2, STK24, LRFN5, RTN1, ESR2, KIAA0317, BAG5, MEIS2, SEMA6D, RBFOX1, SHISA9, ERCC4, METTL9, PIPOX, CELF4, DCC, RAB27B, CCDC68, TCF4, KCNG2, ZNF536, EMILIN3, SLC12A5, MIR1281, HIST1H2BN, HIST1H3J, TENM2, PGBD1, ZKSCAN4, ERBB4, ZKSCAN8, BTN3A2, ZSCAN16, ZSCAN9, MEF2C, GRM8, ZNF165, OR2B2, HIST1H2BL, ZCCHC7, BTN2A1, ZSCAN26, CDH13, HIST1H2AL, HLA-B, HIST1H4L, ZSCAN12, CHD6, CTNNA3, MEGF11, ZSCAN31, ZNF197, KLC1, ZNF660, YLPM1, ZNF445, ZKSCAN7, HIST1H3I, PROX2, DLST, NRG1, SGCZ, ORI2D3, IGSF6, GPC6, PAX6, KDM3A, C16orf45, LRP1B, TRMT61A, XRCC3, CNTNAP5, ANKK1, ZFH34, LST1, PRSS16, TYR, PQLC2L, BTN1A1, DCDC1, ZDHHC21, TTC12, SDK1, APOPT1, CABP1, ZKSCAN3, ADCK3, TAOK3, HS6ST3, MYRF, PSORS1C1, CKB, SF3B1, FADS2, GTF2IRD1, ZC3H7B, AREL1, RANGAP1, ZNF184, ZDHHC5, HIST1H2BF, FAM120A, KIF15, NKAPL, FCF1, SORBS3, PCDHA2, PCDHA1, PRR34, SCYL1, MR1, BTN3A3, TCTEX1D1, CELF2, CTNND1, HSPA1A, HIST1H2BO, RPS6KL1, PCDHA3, TRMT10C, ABT1, SCAI, FADS1, KMT2A, ESRRG, BAZ2B, GPC5, IQCJ-SCHIP1, TCAIM, TMX2, SLC17A3, MED19, ZNF638, CDH22, GRIK5, HARS, HSPE1-MOB4, EP300, HLA-DQB1, PCNP, ZHX3, BCHE, CRB1, C3orf84, MICB, SLC30A9, MARK3, 10-Mar, CDK14, PLCG1, PSORS1C2, AP3B1, POGZ, TRAF3, CSMD1, TMEM67, PCDHA4, TOPAZ1, PMFBP1, CNTN5, INPP4B, ZNF322, ASIC2, PLA2R1, CHMP3, SOX6, PCDHA5, FANCL, ZNF35, TMEM42, KIAA1143, C11orf31, ACVR1B, ZNF501, RFTN2, TMEM258, TAL1, NICN1, HLA-DQA1, ACTL8, MOB4, CCDC36, PCDHA6, STK19, RHOA, MAP9, FNIP2, RBMS3, PLCL1, SLC44A4, C7orf72, UBE2M, OTX2, CDH9, LPIN3, EPHB2, HMGNA4, PPP6C, NOX4, PRR16, EXT1, MGAT4C, EYS, STAU1, HARS2, BAD, MYBPC3, ETFDH, SIM1, FH, ANKS1B, ITPR3, RABEPK, RHOBTB1, BSN, RAB3B, TOP1, CAMKK2, MANEA, ARHGEF25, VPS41, ATP1A3, ITGB6, ASXL3, ANKHD1, PCDHA7, PTPRS, CCS, PHF2, IK, KYNU, PPID, FAM120AOS, ZMAT2, SERPING1, USP3, CACNA2D1, ANKHD1-EIF4EBP3, GINM1, C1QTNF7, MIER1, SLC4A9, PSEN2</i>

2.3.2 抗抑郁药物靶点相关神经细胞

将抗抑郁药物靶点基因同样进行 EWCE 分析,如图2(b)所示,在 KI 数据集中,抗抑郁药物靶点基因显著富集在成年多巴胺能神经元(Dopaminergic adult) (P-value = 1.44×10^{-3})、大脑皮质中间神经元 (Interneurons) (P-value = 1.0×10^{-5})、中间棘神经元 (Medium spiny neuron) (P-value = 1.0×10^{-6})、锥体 CA1 区神经元(Pyramidal CA1) (P-value = 8.0×10^{-8})、5-羟色胺能神经元 (Serotonergic neuron) (P-value = 1.0×10^{-6})、下丘脑多巴胺能神经元 (Hypothalamic dopaminergic neurons) (P-value = 9.0×10^{-9})和纹状体中间神经元(Striatal interneuron) (P-value = 5.6×10^{-4}),且

校正后均显著。如图 3(b)所示,在 AIBS 数据集中,抗抑郁药物靶点基因显著富集在大脑皮质的 GABA 能神经元(GABAergic neuron) (P-value = 1.0×10^{-6})、谷氨酸能神经元 (Glutamatergic neuron) (P-value = 1.0×10^{-6}),两者校正后仍显著。如图4(b)所示,在 DEONC_human 数据集中,抗抑郁药物靶点基因显著富集在齿状回谷氨酸能神经元 (exDG) (P-value = 1.0×10^{-6}),大脑皮质的 GABA 能神经元 (GABA) (P-value = 1.0×10^{-6}),大脑皮质的谷氨酸能神经元 (exPFC) (P-value = 1.0×10^{-4})和锥体 CA 区谷氨酸能神经元 (exCA) (P-value = 0.008 3),校正后均显著。总的结果见表 2。

表 2 神经细胞类型富集分析结果总结

Table2. Summary of neuronal cell type enrichment analysis results

基因类型	KI 数据集	AIBS 数据集	DEONC 数据集
Susceptibility genes of depressive disorder	Embryonic GABAergic Neuron;	GABAergic Neuron;	GABAergic Neuron;
	Serotonergic Neuron;	Glutamatergic Neuron;	Glutamatergic Neuron (exPFC);
	pyramidal SS	Oligodendrocyte Precursor Cells	Oligodendrocyte Precursor Cells
Antidepressant drug targets	Dopaminergic Adult;		GABAergic Neuron;
	Interneurons;		Glutamatergic Neuron (exDG);
	Medium Spiny Neuron;	GABAergic Neuron;	Glutamatergic Neuron (exPFC);
	pyramidal CA1;	Glutamatergic Neuron	Glutamatergic Neuron (exCA)
	Serotonergic Neuron;		
	Hypothalamic Dopaminergic Neurons;		
	Striatal Interneuron		
Common cell types	GABAergic Neuron; Glutamatergic Neuron		

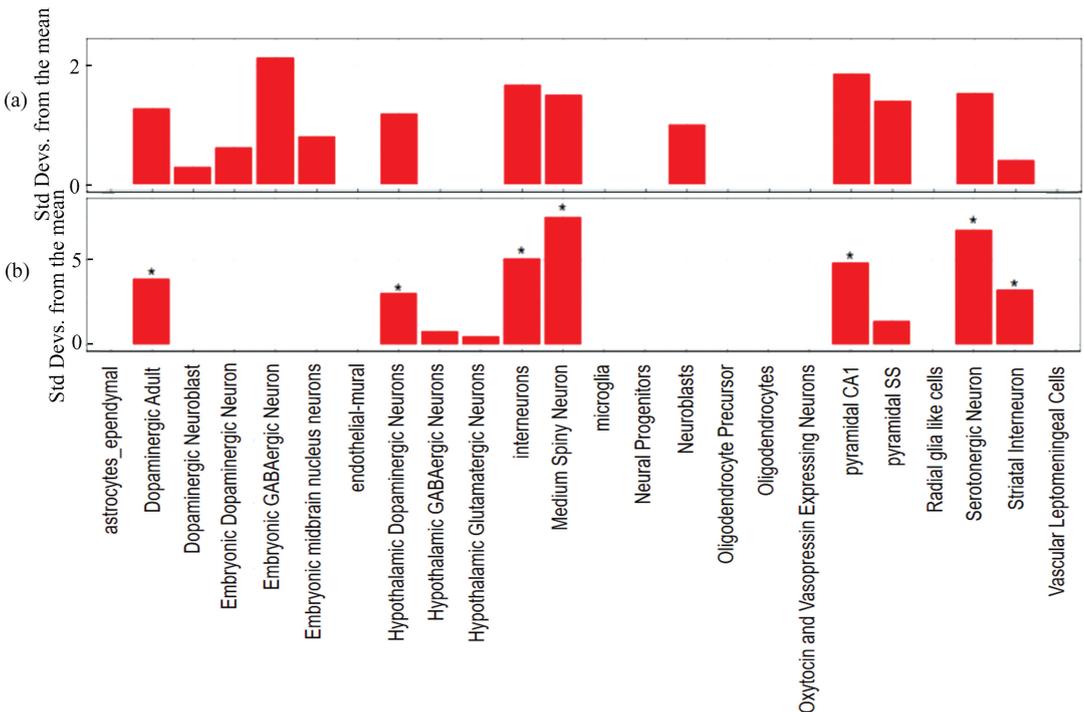


图 2 KI 数据集富集结果

Fig. 2 Enrichment analysis in KI dataset

注:(a)抑郁症易感基因富集结果;(b)抗抑郁药物靶点富集结果,校正后显著结果用*表示。

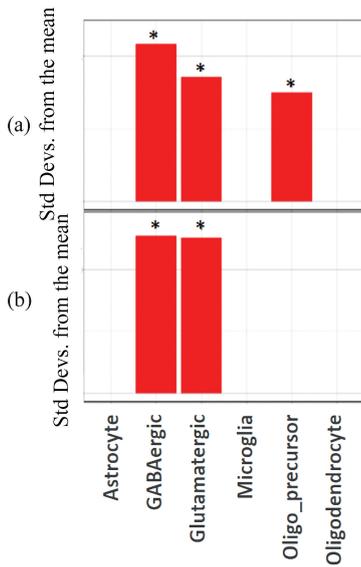


图3 ABIS数据集富集结果

Fig.3 Enrichment analysis in ABIS dataset

注：(a)抑郁症易感基因富集结果；(b)抗抑郁药物靶点富集结果，校正后显著结果用*表示。

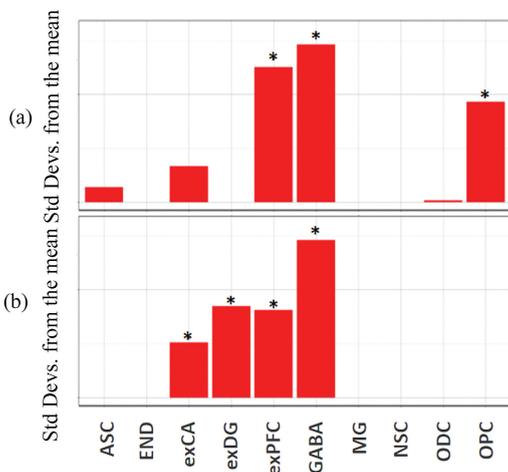


图4 DEONC_human数据集富集结果

Fig.4 Enrichment analysis in DEONC_human dataset

注：(a)抑郁症易感基因富集结果；(b)抗抑郁药物靶点富集结果，校正后显著结果用*表示。

2.4 抑郁症易感基因与抗抑郁药物靶点相互作用网络分析

通过 Network Calculator^[18]分析,得到了一个包含 203 个基因(166 个抑郁症易感基因,85 个抗抑郁药物靶点基因(*DRD2* 既为易感基因又为药物靶点))和 319 条蛋白-蛋白相互作用的网络(图 5)。如表 3 所示,经过网络特征的分析,结果发现在 7 个网络拓扑学参数中,与同等基因数目的随机网络相比,6 个参数具有显著的结果($P\text{-value} < 0.05$),其中总边数(All edges)、平均度(Mean degree)、最大子网络(Largest subnetwork),接近中心度(Closeness

centrality)和聚类系数(Clustering coefficient)显著大于随机网络,平均最短路径(Mean shortest distance)显著小于随机网络,说明抑郁症易感基因与抗抑郁药物靶点组成了一个具有显著的相互作用的网络。其中 *DRD2* 即为易感基因又为药物靶点,说明某些抗抑郁药物可能直接作用于抑郁症的风险基因来发挥抗抑郁作用。另外,虽然基于本研究未发现其他既为易感基因又为药物靶点的基因,但是通过网络分析发现了一些抗抑郁药物靶点可以与多个抑郁症的易感基因存在相互作用,如抗抑郁药 Amitriptyline 的药物靶点基因 *NTRK1* 可与 30 个抑郁症风险基因相互作用;有的抑郁症易感基因可与多个药物靶点基因相互作用,如 *PLCG1* 与多个抗抑郁药物靶点基因相互作用(*GRIN2A*、*GRIN1*、*GRIN2B*、*NTRK1*、*NTRK2*),从网络生物学的角度分析抗抑郁药物与抑郁症之前的关系。

表3 网络特征分析

Table 3 Analysis of network characteristics

网络参数	观察值	随机抽样均值	P 值
All edges	319	196	0.031
Largest subnetwork	171	126	0.014
Mean degree	0.90	0.55	0.024
Closeness centrality	0.04	0.03	0.032
Clustering coefficient	0.13	0.04	0.026
Betweenness centrality	0.003	0.04	1.000
Mean shortest distance	1.43	1.56	0.019

3 讨论

抑郁症作为一种严重的情绪障碍,双生子和家系的研究表明,其发病机制中,遗传因素的影响大约占 40%^[1]。尽管已有多篇大样本的 GWAS 研究鉴定出上百个抑郁症的风险位点和基因,但是这些位点和基因在大脑的神经细胞中发挥的具体作用和机制仍不清楚^[2]。近年来,随着单细胞测序技术的发展,使得我们对于大脑中的各种类型的细胞可以在分子层面做进一步的分型和分类,从而可以从单细胞的水平上研究不同类型的细胞的表达情况和分子机制^[19]。同时,将 GWAS 的数据与单细胞测序的数据整合分析,则可以有效的鉴定疾病的“易感细胞类型”,从而从单细胞的层面探究疾病的遗传机制,如已有的研究通过整合老年痴呆症的大样本 GWAS 数据和单细胞测序数据,鉴定出老年痴呆症的易感基因显著富集在小胶质细胞中^[20-21]。

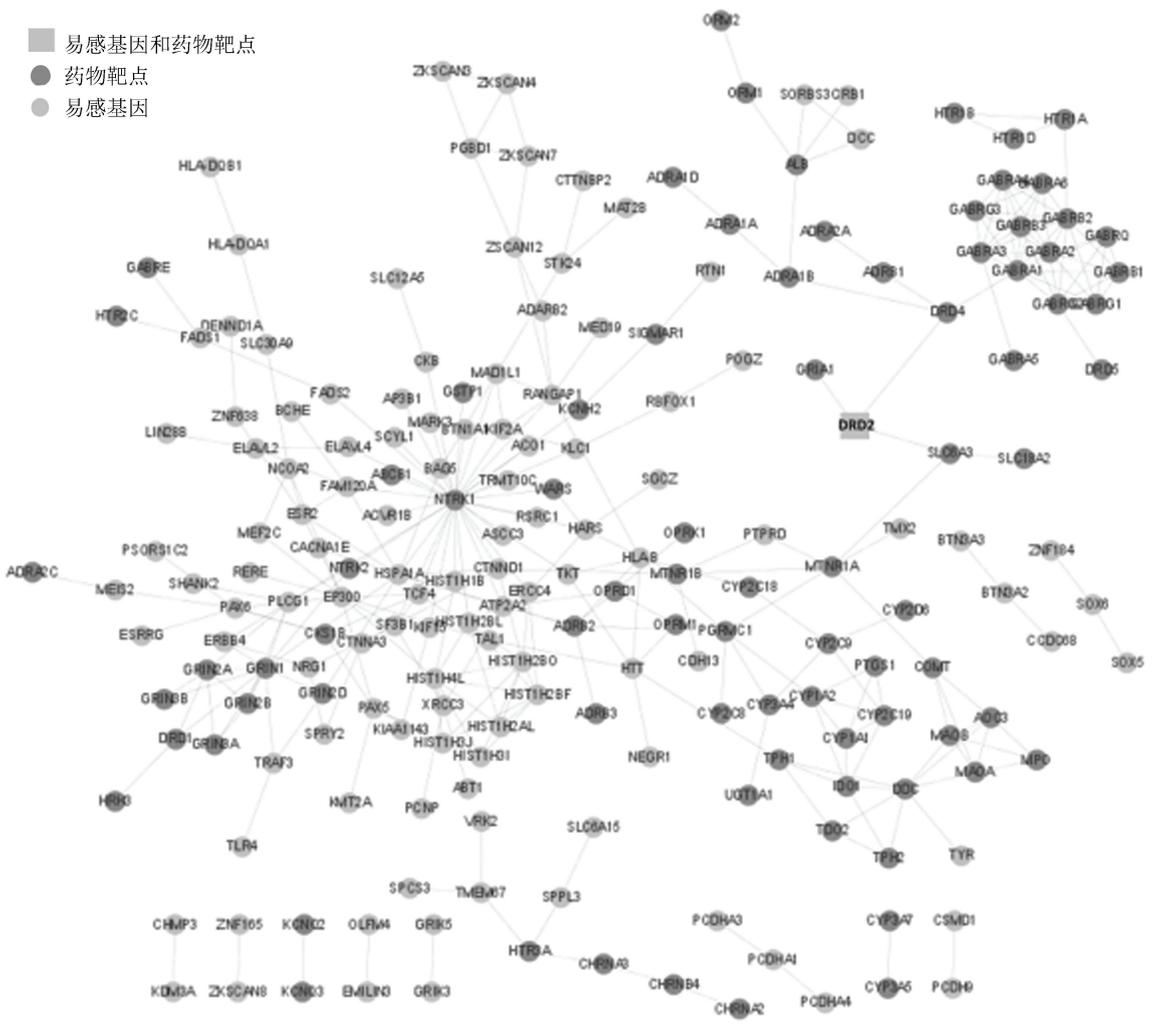


图 5 抑郁症易感基因与抗抑郁药物靶点相互作用网络
Fig.5 Interaction network of susceptibility genes of depressive disorder and antidepressant drug targets

注:抗抑郁药物靶点基因在网络中用黑色表示,抑郁症易感基因在网络中用灰色表示。

本研究整合目前样本量最大的抑郁症 GWAS 研究的数据和脑组织的单细胞测序数据,鉴定出抑郁症的易感基因显著富集在大脑皮质的 GABA 能神经元、大脑皮质谷氨酸能神经元和少突胶质前体细胞中。已有研究表明,在患有重度抑郁症的患者中,兴奋性和/或抑制性神经传递和神经元可塑性的异常可能导致大型大脑网络内的功能连接模式异常。在对抑郁症的动物和人的研究中都发现了与大脑谷氨酸和 γ -氨基丁酸水平改变相关的网络功能障碍^[22], γ -氨基丁酸 (GABA) 功能的缺陷与重度抑郁症 (MDD) 的病理生理学有关,皮质抑制的研究强调了这一点,这与 GABA 能中间神经元选择性减弱锥体神经元的过程有关^[23-24],另外,谷氨酸能神经元通过伏隔核中的 D2 中等棘神经元 (MSN) 调节动物

的抑郁样行为^[22]。结果为已有的动物行为学、影像学等研究提供了生物信息学层面的证据,从遗传学的角度探究了抑郁症相关的易感神经细胞类型。另外,抗抑郁药物的靶点基因也显著富集在大脑皮质的 GABA 能神经元和谷氨酸能神经元,说明这两种类型的神经细胞可能是抗抑郁药物与抑郁症易感基因相互作用的神经细胞。虽然抑郁症易感基因与抗抑郁药物靶点,在基因层面只有一个共同的基因 (*DRD2*),但是结果发现在神经细胞水平上,抑郁症易感基因与抗抑郁药物靶点基因存在共同的神经细胞类型,为探究抗抑郁药物的靶点与抑郁症易感基因的调控作用提供了可能的方向。另外,对于抑郁症的易感基因,分析结果还发现显著富集到了少突胶质前体细胞,已有研究表明重度抑郁障碍患者的

在前额叶皮层的深层兴奋性神经元和未成熟少突胶质前体细胞中存在表达的严重失调,其中包括成纤维细胞生长因子信号、类固醇激素受体循环、免疫功能相关的通路^[25]。说明少突胶质前体细胞可能是抑郁症的一种易感神经细胞

另外,基于网络生物学构建了抑郁症易感基因与抗抑郁药物靶点的相互作用网络,经过网络特征的分析,结果发现在7个网络拓扑学参数中,总边数,平均度,最大子网络、接近中心度和聚类系数显著大于随机网络,平均最短路径显著小于随机网络,说明抑郁症易感基因与抗抑郁药物靶点组成了一个具有显著的相互作用的网络。另外,对于中介中心度(Betweenness centrality),这个参数越大,表示节点*i*对节点*j*与网络中的其它节点进行相互作用的控制能力越强,抑郁症易感基因与抗抑郁药物靶点组成的相互作用网络的中介中心度(Betweenness centrality)与随机网络相比,结果并不显著,表明该网络中,没有对网络中所有节点有特别关键的核心调控地位的基因,原因可能是该网络为所有已知抗抑郁药物的靶点基因和抑郁症易感基因形成的“综合网络”,不同药物的不同靶点在网络中起着各自的相互作用。同时,基于网络分析,发现了一些抗抑郁药物靶点(如 *NTRK1*)与多个抑郁症易感基因存在相互作用,有的易感基因(如 *PLCG1*)与多个抗抑郁药物靶点相互作用,说明抗抑郁药物可能通过调控这些易感基因发挥其抗抑郁的药物机制,这些与抗抑郁药物靶点相互作用的易感基因可能成为药物开发的“潜在靶点”。已有研究发现在蛋白-蛋白相互作用层面精神分裂症易感基因与抗精神药物之间存在显著的相互作用^[26],结果亦从网络生物学的角度证明了抑郁症易感基因与抗抑郁药物靶点之间的联系。

4 结 论

1)整合 GWAS 数据与大脑单细胞测序数据,鉴定了抑郁症易感基因及抗抑郁药物靶点所富集的神经细胞类型。

2)基于网络生物学的分析发现抑郁症易感基因与抗抑郁药物靶点组成了一个具有显著的相互连接的网络。

参考文献(References)

[1] FLINT J, KENDLER K S. The genetics of major depression [J]. *Neuron*, 2014, 81 (3): 484–503. DOI: 10.1016/j.neuron.2014.01.027.

[2] HOWARD D M, ADAMS M J, CLARKE T K, et al. Genome-wide meta-analysis of depression identifies 102 independent variants and highlights the importance of the prefrontal brain regions [J]. *Nature Neuroscience*, 2019, 22 (3): 343–52. DOI: 10.1038/s41593-018-0326-7.

[3] LI Zezhi, RUAN Meihua, CHEN Jun, et al. Major depressive disorder: advances in neuroscience research and translational applications [J]. *Neurosci Bull*, 2021, 37 (6): 863–880. DOI: 10.1007/s12264-021-00638-3.

[4] PITSILLOU E, BRESNEHAN S M, KAGARAKIS E A, et al. The cellular and molecular basis of major depressive disorder: towards a unified model for understanding clinical depression [J]. *Molecular Biology Reports*, 2020, 47 (1): 753–770. DOI: 10.1007/s11033-019-05129-3.

[5] LAGO S G, TOMASIK J, VAN REES G F, et al. Exploring the neuropsychiatric spectrum using high-content functional analysis of single-cell signaling networks [J]. *Molecular Psychiatry*, 2020, 25 (10): 2355–2372. DOI: 10.1038/s41380-018-0123-4.

[6] WISHART D S, FEUNANG Y D, GUO A C, et al. DrugBank 5.0: A major update to the DrugBank database for 2018 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46 (D1): D1074–D1082. DOI: 10.1093/nar/gkx1037.

[7] SKENE N G, BRYOIS J, BAKKEN T E, et al. Genetic identification of brain cell types underlying schizophrenia [J]. *Nature Genetics*, 2018, 50 (6): 825–833. DOI: 10.1038/s41588-018-0129-5.

[8] HABIB N, AVRAHAM-DAVIDI I, BASU A, et al. Massively parallel single-nucleus RNA-seq with DroNc-seq [J]. *Nature Methods*, 2017, 14 (10): 955–958. DOI: 10.1038/nmeth.4407.

[9] GIURGIU M, REINHARD J, BRAUNER B, et al. CORUM: the comprehensive resource of mammalian protein complexes – 2019 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47 (D1): D559–D563. DOI: 10.1093/nar/gky973.

[10] HUTTLIN E L, TING L, BRUCKNER R J, et al. The bio-plex network: A systematic exploration of the human interactome [J]. *Cell*, 2015, 162 (2): 425–440. DOI: 10.1016/j.cell.2015.06.043.

[11] ROLLAND T, TASAN M, CHARLOTEAUX B, et al. A proteome-scale map of the human interactome network [J]. *Cell*, 2014, 159 (5): 1212–1226. DOI: 10.1016/j.cell.2014.10.050.

[12] ORCHARD S, AMMARI M, ARANDA B, et al. The MIntAct project-IntAct as a common curation platform for 11 molecular interaction databases [J]. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42 (Database issue): D358–D363. DOI: 10.1093/nar/gkt1115.

[13] OUGHTRED R, STARK C, BREITKREUTZ B J, et al. The BioGRID interaction database: 2019 update [J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47 (D1): D529–D541.

DOI:10.1093/nar/gky1079.

- [14] FRANZ M, RODRIGUEZ H, LOPES C, et al. GeneMANIA update 2018[J]. *Nucleic Acids Research*, 2018,46(W1): W60–W64. DOI:10.1093/nar/gky311.
- [15] WARD L D, KELLIS M. HaploReg v4: Systematic mining of putative causal variants, cell types, regulators and target genes for human complex traits and disease [J]. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44 (D1) : D877 – D881. DOI: 10.1093/nar/gkv1340.
- [16] DE LEEUW C A, MOOIJ J M, HESKES T, et al. MAGMA: Generalized gene-set analysis of GWAS data [J]. *PLoS Comput Biology*, 2015, 11 (4) : e1004219. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1004219.
- [17] SKENE N G, GRANT S G. Identification of vulnerable cell types in major brain disorders using single cell transcriptomes and expression weighted cell type enrichment [J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2016, 10; 16. DOI: 10.3389/fnins.2016.00016.
- [18] QI Haoxiang, SHEN Qidong, ZHAO Hongyi, et al. Network-based analysis revealed significant interactions between risk genes of severe COVID-19 and host genes interacted with SARS-CoV-2 proteins [J]. *Brief Bioinformatics*, 2022, 23 (1) : 1–9. DOI: 10.1093/bib/bbab372.
- [19] HODGE R D, BAKKEN T E, MILLER J A, et al. Conserved cell types with divergent features in human versus mouse cortex [J]. *Nature*, 2019, 573 (7772) : 61–68. DOI: 10.1038/s41586-019-1506-7.
- [20] HANSEN D V, HANSEN, J E, SHENG M, et al. Microglia in Alzheimer's disease [J]. *Journal of Cell Biology*, 2018, 217, (2) : 459–472. DOI: 10.1083/jcb.201709069.
- [21] LIANG Xinyan, WUHaijian, COLT M, et al. Microglia and its genetics in alzheimer's disease [J]. *Current Alzheimer Research*, 2021, 18 (9) : 676 – 688. DOI: 10.2174/1567205018666211105140732.
- [22] LENER M S, NICIU M J, BALLARD E D, et al. Glutamate and gamma-aminobutyric acid systems in the pathophysiology of major depression and antidepressant response to ketamine [J]. *Biological Psychiatry*, 2017, 81 (10) : 886–897. DOI: 10.1016/j.biopsych.2016.05.005.
- [23] CROARKIN P E, LEVINSON A J, DASKALAKIS Z J. Evidence for GABAergic inhibitory deficits in major depressive disorder [J]. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2011, 35 (3) : 818 – 825. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2010.10.002.
- [24] MA K, XU A, CUI S, et al. Impaired GABA synthesis, uptake and release are associated with depression-like behaviors induced by chronic mild stress [J]. *Transl Psychiatry*, 2016, 6 (10) : e910. DOI: 10.1038/tp.2016.181.
- [25] NAGY C, MAITRA M, TANTI A, et al. Single-nucleus transcriptomics of the prefrontal cortex in major depressive disorder implicates oligodendrocyte precursor cells and excitatory neurons [J]. *Nature Neurosciences*, 2020, 23 (6) : 771–781. DOI: 10.1038/s41593-020-0621-y.
- [26] KAUPPI K, ROSENTHAL S B, LO M T, et al. Revisiting antipsychotic drug actions through gene networks associated with schizophrenia [J]. *The American Journal of Psychiatry*, 2018, 175 (7) : 674–682. DOI: 10.1176/appi.ajp.2017.17040410.