

文章编号 1006-8147(2023)06-0599-05

论 著

中老年人结构相似网络与脑基因表达的关联研究

杜鑫,刘巧慧,张扬,王紫蕊,张权

(天津医科大学总医院医学影像科,天津 300052)

摘要 目的:从全基因组脑表达的角度揭示人脑结构相似网络(MSN)的生物学基础。方法:基于194名正常中老年受试者[男88名,女106名,平均年龄(57.56 ± 7.76 岁)]的高分辨率三维T1加权成像(3D-T1WI)和弥散张量成像(DTI)数据,提取7个影像学特征指标,包括:皮层表面积、皮层厚度、灰质体积、高斯曲度、平均曲度、各向异性分数和平均扩散系数,构建MSN。同时借助艾伦人脑图谱(Allen Human Brain Atlas, AHBA)全基因组脑基因表达数据进行基因表达与MSN的空间关联分析。然后,对与MSN显著相关的基因进行富集分析。结果:所有连接密度阈值下194名受试者的平均MSN图与无阈值的MSN图均存在显著相关性($P_{\text{adj}} < 0.05$)。基因表达-MSN的空间关联分析发现了770个与中老年MSN显著相关的基因(bonferroni, $P_{\text{adj}} < 0.05$),这些基因主要富集于突触信号转导和中枢神经系统发育等生物学过程,并且与自闭症、精神分裂症和重度抑郁等神经精神疾病的发生有关。其中,194名受试者的平均MSN与SLC26A4($r=0.619, P=3.311 \times 10^{-17}$)和SEMA4F($r=0.624, P=1.559 \times 10^{-16}$)的基因表达量呈正相关,与TRAPPC2B($r=-0.625, P=1.337 \times 10^{-17}$)和KCNA3($r=-0.617, P=4.349 \times 10^{-17}$)基因表达量呈负相关。结论:中老年人MSN受突触信号转导和中枢神经系统发育等通路基因的调控,是MSN用于神经精神疾病脑改变研究的生物学基础。

关键词 脑结构;磁共振成像;结构相似网络;基因表达

中图分类号 R394

文献标志码 A

A study on the correlation between morphometric similarity network and brain gene expression in the middle-aged and elderly people

DU Xin, LIU Qiao-hui, ZHANG Yang, WANG Zi-rui, ZHANG Quan

(Department of Medical Imaging, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

Abstract Objective: To investigate the biological basis of human brain morphometric similarity network (MSN) from the perspective of whole genome brain expression. **Methods:** The MSN of seven features derived from images of high-resolution three-dimensional T1 weighted imaging (3D-T1WI) and diffusion tensor imaging (DTI), including cortical area, cortical thickness, gray matter volume, gaussian curvature, mean curvature, fractional anisotropy and mean diffusivity, acquired from the 194 middle-aged and elderly subjects [88 males and 106 females, average age (57.56 ± 7.76) years] was calculated. Then, spatial association analysis of gene expression with MSN was conducted using the Allen Human Brain Atlas (AHBA) genome-wide brain gene expression data. Finally, enrichment analysis was performed on the gene list associated with MSN. **Results:** At all connection densities, there was a significant correlation between the mean MSN map of 194 subjects and the MSN map with no thresholding ($P_{\text{adj}} < 0.05$). A total of 770 MSN-related genes significantly associated with middle-aged and elderly MSN were found by the spatial association analysis of gene expression MSN (bonferroni, $P_{\text{adj}} < 0.05$), which were mainly enriched in biological process of the synaptic signaling and the central nervous system development etc. In addition, these genes were known to be involved in autistic disorder, schizophrenia, major depressive disorder and neurodevelopmental disorders etc. Among them, the mean MSN of 194 subjects was positively correlated with the gene expression of SLC26A4 ($r=0.619, P=3.311 \times 10^{-17}$) and SEMA4F ($r=0.624, P=1.559 \times 10^{-16}$), while negatively correlated with the gene expression of TRAPPC2B ($r=-0.625, P=1.337 \times 10^{-17}$) and KCNA3 ($r=-0.617, P=4.349 \times 10^{-17}$). **Conclusion:** MSN in middle-aged and elderly people is regulated by genes in the synaptic signal transduction and central nervous system development pathways, which is the biological basis of MSN used in the study of brain changes in neuropsychiatric diseases.

Key words brain structure; magnetic resonance imaging; morphometric similarity network; gene expression

基金项目 天津市自然科学基金多元投入基金项目面上项目(21JCYBJC01280);天津市自然科学基金重点项目(17JCZDJC36300);天津市教委科研计划(2022KJ241);天津市医学重点学科(专科)建设项目(TJYXZDXK-001A)

作者简介 杜鑫(1990-),女,讲师,博士,研究方向:影像遗传学;通信作者:张权, E-mail: quanzhang@tmu.edu.cn。

结构相似网络(MSN)分析是近几年提出的,在个体水平评估脑区间的组织相似度和解剖连通性的一种新方法^[1-3]。与基于单个磁共振成像(MRI)特征的组水平脑区间相关性研究不同,MSN是基于个体水平的多模态MRI特征进行的脑区间相关性分析,可以更准确地反映个体人脑皮层特性,并且可能与细胞结构类别及基因表达水平存在更加密切的联系^[1,3-4]。本研究拟通过构建正常中老年人的MSN,同时借助艾伦人脑图谱(AHBA)全基因组脑基因表达数据进行基因表达-MSN空间关联分析,从全基因组脑表达的角度揭示人脑MSN的生物学基础。

1 对象与方法

1.1 研究对象 招募正常中老年志愿者194名,其中男性88人,女性106人,年龄40~74岁,平均年龄(57.56 ± 7.76)岁。纳入标准:(1)年龄 ≥ 40 岁。(2)无MRI检查禁忌证。(3)无精神及神经疾病。(4)无痴呆家族史。(5)无酒精依赖史。(6)MRI检查未发现脑器质性病变。(7)右利手。(8)简易智力状态检查量表(MMSE)评分 ≥ 27 分。本研究经天津医科大学总医院医学伦理委员会批准(IRB2020-YX-009-01),所有受试者均签署知情同意书,自愿参加。

1.2 研究方法

1.2.1 MRI采集 使用GE Discovery MR750 3.0T磁共振扫描设备及8通道头部相控阵线圈,采用颅脑容积成像序列和自旋回波单次激发回波平面成像序列进行3D-T1WI高分辨率结构像和弥散张量成像(DTI)的数据采集,扫描参数如下:

3D-T1WI:TR/TE=8.15/3.17 ms, TI=450 ms, FA=12°,层厚=1.0 mm,矩阵=256×256,FOV=256 mm×256 mm,体素大小=1.0 mm×1.0 mm×1.0 mm。

DTI:TR/TE=7 100/61 ms, FA=90°,层厚=2.0 mm,间隔=0 mm,层数=70,FOV=256 mm×256 mm,矩阵=128×128。在64个方向上施加弥散敏感梯度,b值为1 000 s/mm²。

1.2.2 图像预处理使用FreeSurfer(v6.0, <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>)软件包中的标准处理流程对3D-T1WI高分辨率结构像进行预处理,基本流程主要包括头动校正、剥脑、白质分割、皮层表面重建。具体步骤如下:首先,将3D-T1WI高分辨率结构像线性配准到Talairach空间,对白质信号进行均一化处理校正脑白质因B1场不均匀导致的信号差异;之后,使用混合近似法剥离脑组织以外的头皮及面颅结构;然后,使用信号强度和邻域参数信息对白质进行分割,并根据灰/白质交界信息进行拓扑

学校正,构建灰/白质面使其到达灰质和脑脊液的交界处。最后,对重建后的大脑表面进行三角形网格标记,从而得到大脑灰/白质的各形态学参数。包括皮层表面积(surface area, SA)、皮层厚度(cortical thickness, CT)、灰质体积(gray matter volume, GMV)、高斯曲度(Gaussian curvature, GC)、平均曲度(mean curvature, MC)5个特征。SA指大脑皮层软脑膜面的表面积,反映了皮层表面切向膨胀的程度;CT指灰/白质两个表面之间的最短距离;GMV指皮层灰质的体积;GC、MC在数学上分别被定义为相互正交的最小曲率和最大曲率的乘积以及均值,皮层曲度越大,皮层内的短距离连接的占比越多,单位体积的神经元数目越少,反映皮层差异性膨胀的程度。

采用FSL(v6.0, <https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki>)软件包对DTI图像进行预处理,基本流程主要包括头动校正、剥脑、弥散张量指标的计算。具体步骤如下:首先,对每一个研究对象的DTI图像进行头动校正及涡流校正;然后,在b0图像基础上对DTI数据去除非脑组织,创建脑蒙片;最后,利用校正后的图像以及蒙片计算各向异性分数(fractional anisotropy, FA)和平均扩散系数(mean diffusivity, MD)图像。FA值表示的是弥散运动方向的一致性,MD值则表示弥散运动的大小,这些参数可以用来分析组织结构的完整性。

1.2.3 MSN构建 本研究基于个体水平3D-T1WI和DTI的7个影像学特征指标,包括SA、CT、GMV、GC、MC、FA、MD,构建中老年大脑皮层不同连接密度下的MSN,并对其进行阈值效应的验证。首先将蒙特利尔神经研究所(MNI)标准空间的大脑皮层模板(300个脑区)^[5]反配准到个体空间。然后,基于个体空间提取每一位受试者300个脑区的7个影像学特征指标^[6],并进行Z变换。对每一名受试者每一对脑区间Z变换后的7个影像学特征指标进行pearson相关分析,得到一个矩阵为300×300的MSN,并计算不同连接密度(不同百分位数下的脑区间相关系数)下的MSN,验证阈值效应对MSN构建的影响(阈值分别为百分位数0~90%,步长10%下的相关系数,0表示无阈值)。最后,将某一脑区与其他脑区间相关系数的均值定义为该脑区的MSN值,得到194名受试者不同阈值下300个脑区的MSN图。

1.2.4 全基因组脑表达数据预处理 AHBA数据库(<http://human.brainmap.org>)中包含2个全脑、4个左半脑的基因表达数据,本研究采用其中6个左半脑的基因表达数据用于基因表达-MSN关联分析。

针对 AHBA 提供的 6 个左半脑的基因表达数据,笔者采用了最新的处理流程^[6]对其进行预处理,具体步骤如下:(1)更新探针到基因的注释。(2)去除采样点基因表达值未超过背景值 50%的、未使用 RNA-seq 方法检测基因表达值的以及芯片与 RNA-seq 方法测得基因表达值相关性较低的(*Spearman rho*<0.2)探针。(3)最后将这 6 个左半脑的皮层采样点映射到大脑皮层模板左侧的 150 个脑区。经上述预处理,得到了基于 6 个左半脑的“150 个脑区×15 633 个基因”的表达矩阵。

1.3 统计学处理

1.3.1 MSN 阈值效应验证 为了验证不同连接密度对 MSN 构建的影响,本研究将不同连接密度(百分位数为 10%~90%,步长 10%下的相关系数)下 194 名受试者的平均 MSN 图分别与无阈值下的平均 MSN 图进行 *pearson* 相关分析,并采用 BrainSMASH^[7]进行空间自相关校正。

1.3.2 基因表达-MSN 关联分析 将“150 个脑区×15 633 个基因”的表达矩阵和左侧大脑皮层 150 个脑区的 194 名受试者无阈值的平均 MSN 图进行跨脑区 *pearson*相关分析,并进行 Bonferroni 多重比较校正,采用 BrainSMASH^[7]进行空间自相关校正 (Bonferroni, *P*<0.05)。

1.3.3 基因富集分析 采用 Toppogene (<https://toppgene.cchmc.org>)对中老年人 MSN 相关基因进行富集分析(包括分子功能、生物过程、细胞成分、通路和疾病)。采用 Bonferroni(*P*<0.05)进行多重比较校正。

2 结果

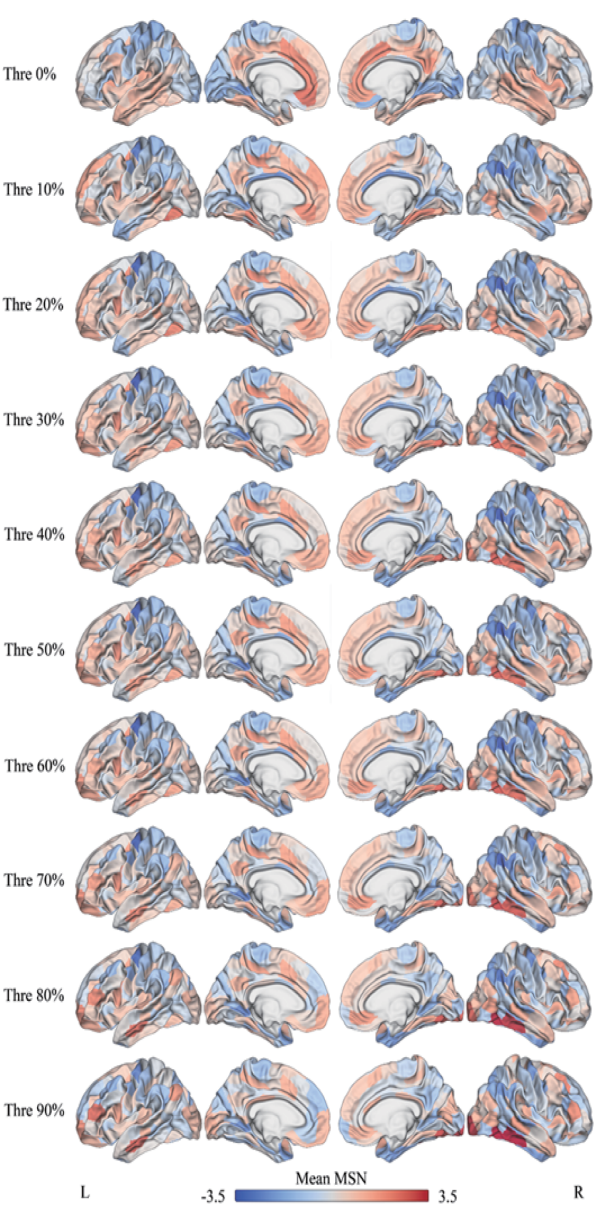
2.1 MSN 阈值效应验证 所有连接密度阈值下 194 名受试者的平均 MSN 图与无阈值的 MSN 图均存在显著相关性(*P*<0.05)(表 1),并且不同阈值下中老年人的 MSN 分布模式高度相似(图 1)。

表 1 MSN 阈值效应验证结果

Tab 1 Verification results of MSN threshold effect

阈值(%)	<i>r</i>	<i>P</i> _{autocorr}
10	0.517	<0.000 1
20	0.477	<0.000 1
30	0.477	<0.000 1
40	0.488	<0.000 1
50	0.500	<0.000 1
60	0.489	<0.000 1
70	0.424	<0.000 1
80	0.314	<0.000 1
90	0.165	<0.000 1

注:*r* 为不同阈值下的 MSN 与无阈值 MSN 之间的相关系数,空间自相关校正 *P*_{autocorr}<0.05



注:不同阈值下中老年人的 MSN 分布模式高度相似;0%代表无阈值
图 1 194 名受试者不同阈值下的平均 MSN 图

Fig 1 Mean MSN maps of the 194 subjects across a series of threshold

2.2 基因表达-MSN 关联分析 本研究的跨脑区基因表达-MSN *pearson* 相关分析发现 770 个基因与中老年人 MSN 显著相关 (Bonferroni, *P*_{autocorr}<0.05)。为了更好地理解基因表达-MSN 关联模式,分别将正相关和负相关系数最显著的两个基因作为代表基因进行结果可视化:194 名受试者的平均 MSN 与 *SLC26A4*(*r*=0.619, *P*=3.311e-17)和 *SEMA4F* (*r*= 0.624, *P*=1.559e-16)的基因表达量呈正相关,与 *TRAPPC2B* (*r*=-0.625, *P*=1.337e-17)和 *KCNA3* (*r*=-0.617, *P*=4.349e-17) 基因表达量呈负相关 (图 2)。

2.3 基因富集分析 对 770 个与中老年人 MSN 显著相关的基因进行富集分析发现,这些基因主要富集在突触、投射神经元、突触膜、树突小泡等细胞成分,配体门控阴离子通道活性、参与突触后膜电位调节的递质门控离子通道活性、突触后神经递质受

体活性、转运体门控通道活性等分子功能,中枢神经系统发育、突触的信号转导、突触的组织管理等生物过程,神经元系统、轴突导向、刺激神经组织配体-受体间的相互作用等通路,以及自闭症、精神分裂症、神经发育障碍等神经精神疾病中(图 3)。

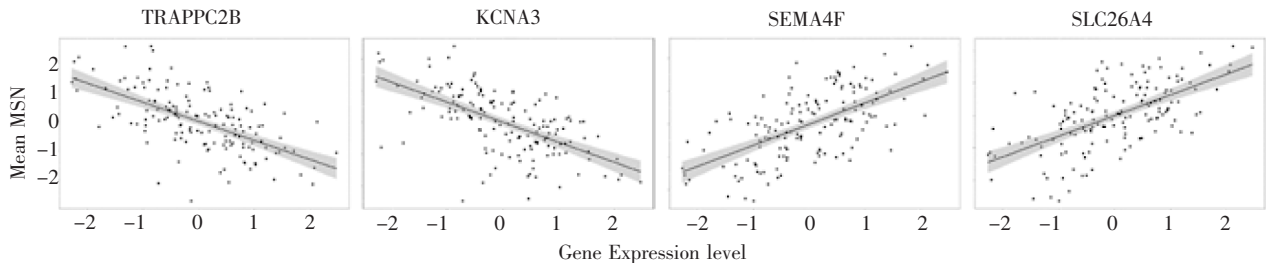
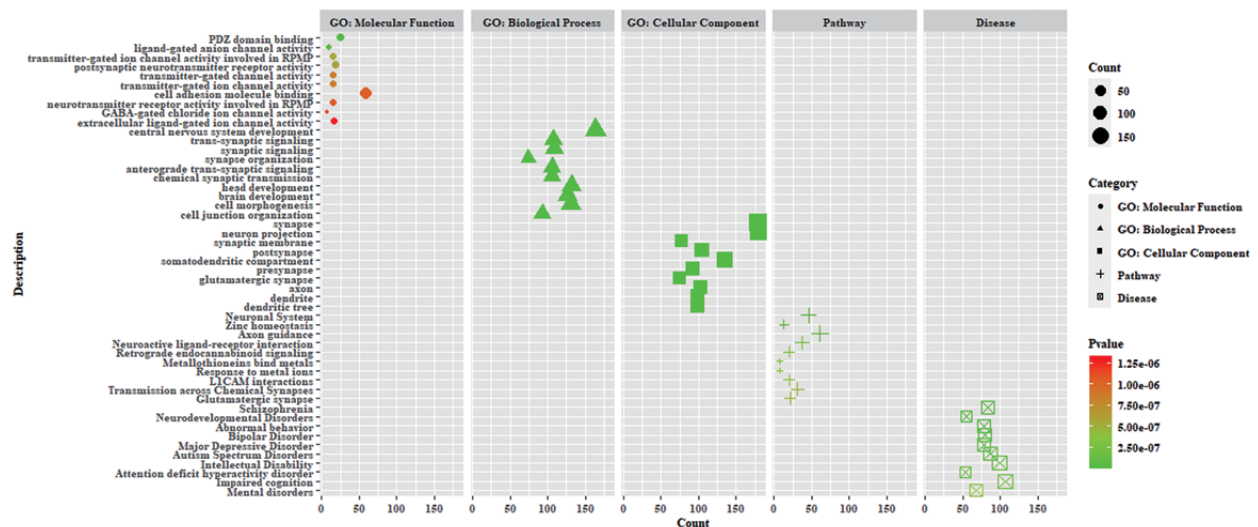


图 2 194 名受试者无阈值的平均 MSN 与代表基因的表达水平相关分析

Fig 2 Correlations between mean MSN without threshold and expression level of the representative genes in 194 subjects



注: ●/▲/■/+ 分别代表分子功能/生物过程/细胞成分/通路/疾病(y 轴);符号大小代表富集的基因数量(x 轴);颜色代表富集的显著水平

图 3 基因富集分析(前 10 个显著条目)

Fig 3 Gene enrichment analysis (top 10 significant items)

3 讨论

既往研究表明,个体间基因脑表达模式高度保守^[8-9],因此可以用公共数据库的脑基因表达数据进行关联分析,以克服无法获得受试者脑基因表达数据的问题^[1]。本研究构建了中老年人大脑皮层 MSN,同时借助 AHBA 中 6 个左半脑的全基因组脑表达数据进行基因表达-MSN 空间关联分析,从全基因组脑表达水平揭示人脑 MSN 的生物学基础。本研究发现了 770 个与中老年人大脑皮层 MSN 显著相关的基因,这些基因主要参与中枢神经系统发育和神经递质传递等生物学过程,并且与自闭症、精神分裂症和神经发育障碍等神经精神疾病有关。

本研究中,所有连接密度阈值下 194 名受试者的平均 MSN 图与无阈值的 MSN 图均存在显著相关

性,说明不同阈值下中老年人的 MSN 分布模式高度相似,阈值的选择对 MSN 构建的影响较小。这与既往研究结果一致^[1],说明该方法用于评估脑结构属性的稳定性和可靠性。因此,在基因表达-MSN 关联分析中,本研究采用无阈值的平均 MSN 图进行基因表达-MSN 关联分析。

既往研究表明,高度复杂的人脑结构,包括体积、厚度和网络等,受遗传因素影响^[10-14];同样,遗传因素对人脑 MSN 也起着重要的调控作用^[15]。Seidlitz 等^[3]基于正常青年人脑 MSN、细胞结构以及基因共表达的研究发现,存在结构相似性的脑区其细胞结构相似度更高,并且参与特定神经元功能的基因共表达水平更高。本研究结果发现,中老年人大脑皮层 MSN 与参与中枢神经系统发育和神经递质传递

等生物学过程的基因脑表达水平存在显著相关性,从脑基因空间表达的角度进一步证明了 MSN 有其遗传学基础,这些神经系统发育和神经递质传递相关的基因对 MSN 具有调控作用,而疾病状态下 MSN 的改变也可能反映了这些生物学过程的变化。

本研究疾病富集分析发现,中老年人 MSN 相关的基因主要富集于自闭症、精神分裂症、双向控制障碍、重度抑郁和神经发育障碍等神经精神疾病。关于精神分裂症、重度抑郁和阿尔兹海默病等精神疾病的 MSN 相关研究表明,精神分裂症患者额叶、颞叶局部脑区与其他脑区的结构相似性降低,顶叶局部脑区与其他脑区的结构相似性增高^[16];重度抑郁患者感觉运动区与其他脑区的结构相似性降低,视觉相关脑区与其他脑区的结构相似性增高^[17];阿尔兹海默病患者颞叶局部脑区与其他脑区的结构相似性降低,额叶、枕叶局部脑区与其他脑区的结构相似性增高^[18];以上结果提示这些脑区与其他脑区解剖连接减少或增加,并且上述研究提示这些 MSN 变化与参与中枢神经系统发育和神经递质传递等生物学过程基因的脑表达高度相关。这些研究结果表明,MSN 具有其生物学基础,评估自闭症、精神分裂症、重度抑郁等精神疾病的 MSN,有助于加深理解这些神经精神疾病的病理生理机制。

综上所述,本研究通过构建中老年人大脑皮层 MSN,同时借助 AHBA 全基因组脑基因表达数据进行基因表达-MSN 空间关联分析,发现中老年人 MSN 相关基因主要参与中枢神经系统发育和神经递质传递等生物学过程,并且与自闭症、精神分裂症和神经发育障碍等神经精神疾病有关。本研究结果提示,中老年人 MSN 受突触信号转导和中枢神经系统发育等通路基因的调控,是 MSN 用于神经精神疾病脑改变研究的生物学基础。

参考文献:

- [1] LI J, SEIDLITZ J, SUCKLING J, et al. Cortical structural differences in major depressive disorder correlate with cell type-specific transcriptional signatures[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1647.
- [2] FENCHEL D, DIMITROVA R, ROBINSON E C, et al. Neonatal multi-modal cortical profiles predict 18-month developmental outcomes[J]. *Dev Cogn Neurosci*, 2022, 54: 101103.
- [3] SEIDLITZ J, VASA F, SHINN M, et al. Morphometric similarity networks detect microscale cortical organization and predict inter-individual cognitive variation[J]. *Neuron*, 2018, 97(1): 231-247, e237.
- [4] WEI Y, SCHOLTENS L H, TURK E, et al. Multiscale examination of cytoarchitectonic similarity and human brain connectivity[J]. *Netw Neurosci*, 2019, 3(1): 124-137.
- [5] SCHAEFER A, KONG R, GORDON E M, et al. Local-global parcellation of the human cerebral cortex from intrinsic functional connectivity MRI[J]. *Cereb Cortex*, 2018, 28(9): 3095-3114.
- [6] MARKELLO R D, ARNATKEVICIUTE A, POLINE J B, et al. Standardizing workflows in imaging transcriptomics with the abagen toolbox[J]. *Elife*, 2021, 10: e72129.
- [7] BURT J B, HELMER M, SHINN M, et al. Generative modeling of brain maps with spatial autocorrelation[J]. *Neuroimage*, 2020, 220: 117038.
- [8] ZENG H, SHEN E H, HOHMANN J G, et al. Large-scale cellular-resolution gene profiling in human neocortex reveals species-specific molecular signatures[J]. *Cell*, 2012, 149(2): 483-496.
- [9] HAWRYLYCZ M, MILLER J A, MENON V, et al. Canonical genetic signatures of the adult human brain[J]. *Nat Neurosci*, 2015, 18(12): 1832-1844.
- [10] RENTERIA M E, HANSELL N K, STRIKE L T, et al. Genetic architecture of subcortical brain regions: common and region-specific genetic contributions[J]. *Genes Brain Behav*, 2014, 13(8): 821-830.
- [11] HIBAR D P, STEIN J L, RENTERIA M E, et al. Common genetic variants influence human subcortical brain structures[J]. *Nature*, 2015, 520(7546): 224-229.
- [12] WEN W, THALAMUTHU A, MATHER K A, et al. Distinct genetic influences on cortical and subcortical brain structures[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 32760.
- [13] HIBAR D P, ADAMS HHH, JAHANSHAD N, et al. Novel genetic loci associated with hippocampal volume[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 13624.
- [14] SATIZABAL C L, ADAMS HHH, HIBAR D P, et al. Genetic architecture of subcortical brain structures in 38,851 individuals[J]. *Nat Genet*, 2019, 51(11): 1624-1636.
- [15] LI J, KELLER S S, SEIDLITZ J, et al. Cortical morphometric vulnerability to generalised epilepsy reflects chromosome- and cell type-specific transcriptomic signatures[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2023, 49(1): e12857.
- [16] MORGAN S E, SEIDLITZ J, WHITAKER K J, et al. Cortical patterning of abnormal morphometric similarity in psychosis is associated with brain expression of schizophrenia-related genes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(19): 9604-9609.
- [17] XUE K, GUO L, ZHU W, et al. Transcriptional signatures of the cortical morphometric similarity network gradient in first-episode, treatment-naïve major depressive disorder[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2023, 48(3): 518-528.
- [18] ZHANG Y, MA M, XIE Z, et al. Bridging the gap between morphometric similarity mapping and gene transcription in Alzheimer's disease[J]. *Front Neurosci*, 2021, 15: 731292.

(2023-04-27 收稿)