

基于 DGIdb 与 Finn 数据库的系统性可成药全基因组预测睡眠障碍靶基因及治疗药物[△]

朱艳宁^{1*}, 杨敬言¹, 陈晓瑶¹, 刘慧萱¹, 陈实¹, 张淇范¹, 罗斌^{2#} (1. 北京中医药大学第三临床医学院, 北京 100029; 2. 北京中医药大学第三附属医院老年病科, 北京 100029)

中图分类号 R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2025)11-1296-07

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2025.11.004



摘要 目的: 基于可成药全基因组的孟德尔随机化(MR)分析探讨睡眠障碍的潜在治疗靶点与治疗药物。方法: 采用系统生物学策略分3个阶段展开, 首先, 通过双样本MR筛选与睡眠障碍存在因果关联的候选基因; 随后, 构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络, 通过富集分析解析靶点生物学功能, 揭示核心信号通路, 并以此为基础通过药物富集分析探讨新的治疗药物; 最后, 基于分子对接手段评估潜在药物分子与靶点的结合亲和力。结果: 基于MR分析, 研究筛选出43个与睡眠障碍显著相关的靶点。其中丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)3和CDC42经PPI分析显示出与睡眠障碍表型的显著关联性。基因本体富集分析表明, 睡眠障碍相关的显著可成药基因主要参与肽反应、丝氨酸家族氨基酸生物合成以及应激激活的MAPK级联调节等生物过程; 京都基因与基因组百科全书通路富集提示, 差异基因在催产素信号通路、Apelin信号通路等功能通路上显著富集。药物富集与分子对接结果进一步揭示, 罗米地辛和5-碘结核菌素与5个靶点的结合能优异, 提示上述2种药物为潜在治疗药物。结论: MAPK3与CDC42为干预睡眠障碍的显著靶点, 罗米地辛和5-碘结核菌素为睡眠障碍治疗的极具潜力与价值药物。本研究模式整合遗传学证据与计算模拟, 有望为解析睡眠障碍的机制提供新视角, 对于开发新型靶向药物、优化现有药物适应证及阐明病理机制具有重要科学价值, 并可为后续的实验验证提供参考。

关键词 孟德尔随机化; 可成药基因; 睡眠障碍; DGIdb数据库; Finn数据库

Systematic Druggable Genome-Wide Prediction of Target Genes and Therapeutic Drugs for Sleep Disorder Based on DGIdb and Finn Databases[△]

ZHU Yanning¹, YANG Jingyan¹, CHEN Xiaoyao¹, LIU Huixuan¹, CHEN Shi¹, ZHANG Qifan¹, LUO Bin² (1. The Third Clinical Medical College, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. Dept. of Geriatrics, the Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To explore the potential therapeutic targets and drugs for sleep disorders based on Mendelian randomization (MR) analysis of the druggable genome. **METHODS:** The research was carried out in three stages by using systems biology strategy. The candidate genes causally associated with sleep disorder were screened by two-sample MR, then the protein-protein interaction (PPI) network was constructed, the biological function of targets was analyzed by enrichment analysis to reveal the core signaling pathway, on that basis, the new therapeutic drugs were explored by drug enrichment analysis. The binding affinity between potential drug molecules and targets was evaluated based on molecular docking methods. **RESULTS:** Based on MR analysis, 43 targets significantly associated with sleep disorder were screened out, among which mitogen-activated protein kinase (MAPK) 3 and CDC42 showed significant association with sleep disorder phenotypes through PPI analysis. Gene ontology enrichment analysis showed that the significant druggable genes related to sleep disorder were mainly involved in the biological processes of peptide reaction, serine family amino acid biosynthesis and stress-activated MAPK cascade regulation. The Kyoto encyclopedia of genes and genomes pathway enrichment analysis indicated that differential genes were significantly enriched in functional pathways of oxytocin signaling pathway and Apelin signaling pathway. Results of drug enrichment and molecular docking further revealed that romidepsin and 5-iodo-tuberculin had excellent binding energy with five targets, which suggested that the two drugs were potential therapeutic drugs. **CONCLUSIONS:** MAPK3 and CDC42 are significant targets for the intervention of sleep disorder, romidepsin and 5-iodotuberculosistin are highly potential and

△ 基金项目: 国家中医药管理局中医药传承与创新“百千万”人才工程·第四批全国中医(临床、基础)优秀人才培养项目(No. J20184832009)

* 硕士研究生。研究方向: 中西医结合防治老年病。E-mail: bucmyanning@163.com

通信作者: 主任医师, 博士, 教授。研究方向: 中西医结合防治老年病。E-mail: 13901387438@163.com

valuable drugs for the treatment of sleep disorder. The model of this study integrates genetic evidence with computational simulation, which is expected to provide a new perspective for analyzing the mechanism of sleep disorder, with significant scientific value for the development of new targeted drugs, the optimization of present drug indications and the elucidation of pathological mechanisms, as well as provide reference for subsequent experimental verification.

KEYWORDS Mendelian randomization; Druggable gene; Sleep disorder; DGIdb database; Finn database

睡眠障碍是指睡眠到觉醒过程中出现的各类功能障碍,涵盖入睡困难、睡眠维持障碍、昼夜节律紊乱及异常睡眠行为等。根据《国际睡眠障碍分类(第三版)》(ICSD-3),睡眠障碍分为失眠症、睡眠呼吸障碍、昼夜节律紊乱等8大类^[1]。我国老年人群的睡眠障碍患病率已达46%,且随着社会人口老龄化的不断发展,老年人群的睡眠障碍与心脑血管疾病共病率高达60%,对社会经济与公共卫生造成了较大负担^[2-3]。目前,临床治疗睡眠障碍的策略主要包括苯二氮䓬类药物治疗和认知行为疗法等非药物治疗,但现有药物仍存在依赖风险、个体响应差异等局限性。近年来,靶向睡眠障碍的药物不断被研究开发,以苏沃雷生为代表的食欲素受体拮抗剂可有效改善睡眠维持困难,然而该药对于入睡困难的治疗效果仍有限,无法涵盖睡眠障碍的多方面症状,其分子调控网络也有待进一步解析^[4]。因此,探索睡眠障碍的潜在治疗靶点,不仅能够更为全面深入地理解其病理机制,还能为研发更为积极有效的临床治疗药物提供新思路,具有较大的科学意义和临床价值。

睡眠障碍的大规模遗传机制研究对其药物靶点的发现有重要意义,有遗传学证据的显著靶点有望提高药物研发成功率。全基因组关联研究(GWAS)在疾病发病机制的研究方面已得到广泛应用。目前识别出多个与睡眠障碍相关的风险基因位点,如昼夜运动输出周期蛋白(CLOCK)基因 *rs10462028* 和 *rs11932595* 位点的特定等位基因可分别增加34.2%和52.3%的睡眠障碍风险^[5]。然而,GWAS主要揭示统计学关联,难以直接阐明致病基因与药物靶点的生物学联系,而孟德尔随机化(MR)方法则可利用遗传变异作为工具变量有效克服传统观察性研究的混杂偏倚。例如,张亦舒等^[6]通过两样本MR分析发现睡眠障碍与卒中风险存在因果关联($OR=1.264$),为临床干预策略提供了方向。表达数量性状位点(eQTL)是基因组中的特定位点,揭示了遗传变异如何通过调控基因表达影响表型,更为深入地解析了基因调控的复杂性,结合其分析可进一步将遗传变异与基因表达动态关联^[7]。本研究采用整合策略筛选药物靶点,以期对遗传驱动药物研发及睡眠障碍的精准干预提供有价值的指导。

1 材料与方法

1.1 实验设计

首先整合可靶向基因组数据集与睡眠障碍GWAS汇总统计数据,并采用逆方差加权法实施两样本MR,通过MR-Egger回归、留一法等验证确保因果推断稳健性;然后对筛选基因进行基因本体(GO)、京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析识别关键生物学过程,借助STRING数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络并实施模块化拓扑分析;通过数据库预测靶点与药物相互作用后,利用AutoDock Vina完成配体-

受体结合构象优化与结合自由能验证。

1.2 材料

1.2.1 生物信息数据库及分析工具:(1)数据库。芬兰FinnGen数据库11版(<https://www.finnngen.fi/en>);eQTLGen联盟(<https://www.eqtlgen.org/>);DSigDB数据库(版本号DSigDBv1.0 Detailed.txt;<https://www.dsigdb.tanlab.org/>);DGIdb数据库(<https://www.dgldb.org/>);STRING数据库(<https://cn.string-db.org/>);PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>);PDB数据库(<https://www.rcsb.org/>)。(2)分析工具。R包4.4.1版;TwoSample MR 0.5.6软件包;Mendelian Randomization 0.7.0软件包;clusterProfiler 4.10.1软件包;Cytoscape 3.7.2软件包;PyMOL 2.3.0软件包;AutoDockTools 1.5.6软件包;AutoDock Vina软件包。

1.2.2 可成药基因数据:通过DGIdb数据库(2025年4月更新)与Finan等^[8]公布的可成药基因列表来获取可成药基因组数据。将二者取交集之后用于后续的eQTL数据下载。

1.2.3 暴露数据:选择顺式eQTL作为暴露数据,具有三重优势,(1)其基因组定位通常位于靶基因启动子或调控元件1 Mb范围内,通过直接调控基因表达降低表型关联的混杂偏倚;(2)相较于跨染色体作用的反式eQTL,顺式eQTL与表型的因果关联具有更高的组织特异性和机制可解释性,可显著提升药物靶点预测的生物学合理性;(3)基于连锁不平衡原理的强遗传效应特征使其在MR中具有更强的统计效力,能有效规避弱工具变量偏倚^[9]。故本研究获取eQTLGen Consortium发布的跨组织整合数据,该数据集涵盖31 684例欧洲健康个体的全血转录组信息,筛选距转录起始位点 $\pm 1\ 000$ kb范围内的显著cis-eQTL[错误发现率(FDR) <0.05],共捕获16 987个蛋白编码基因的调控变异。经连锁不平衡校正后,保留独立工具变量($r^2<0.001$,窗口大小=10 000 kb)用于MR。

1.2.4 结局数据:睡眠障碍的遗传数据来源于芬兰FinnGen数据库,该资源整合了52.3万芬兰人群的基因组数据与电子健康档案信息。研究纳入44.9万欧洲血统样本(病例组57 251例;对照组391 891例),原始基因型数据通过Illumina Global Screening Array v3.0平台采集,经MAF >0.01 、HWE $P>1\times 10^{-6}$ 、call rate $>98\%$ 质控后保留16 380 458个SNP。所有参与者均签署基于欧盟《通用数据保护条例》的知情同意书,且研究方案已通过美国人类研究保护办公室审查批准,符合赫尔辛基宣言关于使用匿名化公共数据的研究伦理规范,不要求额外伦理审查。

1.2.5 药物与基因关系的基因集:本研究从DSigDB数据库获取药物-基因互作数据集文本文件,通过筛选与候选靶标显著相关的药物分子信息,结合分子对接技术评估潜在化合物的结合活性与成药性。

1.3 方法

1.3.1 MR分析:本研究采用规范化两样本MR流程,首先以可成药基因组顺式eQTL为暴露因素,设定全基因组显著性阈值($P < 5 \times 10^{-8}$)筛选工具变量,在 ± 10 Mb物理距离窗口内按 $r^2 < 0.001$ 进行连锁不平衡校正。以逆方差加权法为主分析模型,计算暴露与睡眠障碍的因果关联效应值。通过Cochran's Q检验($P > 0.05$)评估工具变量异质性,运用MR-Egger截距检验($P > 0.05$)排除潜在多效性干扰,结合留一法进行敏感性分析。对满足以下条件的靶基因进行后续分析,(1)逆方差加权法显示显著因果关联($P < 0.05$);(2)主要补充分析方法效应方向一致;(3)无异质性和多效性证据。

1.3.2 生物信息富集分析:对显著关联靶点($P < 0.05$)采用clusterProfiler进行功能注释,控制FDR < 0.05 并设置富集条目至少包含5个基因,确保结果的生物学意义。

1.3.3 PPI网络的构建:基于STRING数据库(v11.5)构建关键靶点的PPI网络,设定最小相关分数为0.15,并进行拓扑分析。计算网络节点的降序加权度中心性与每个节点的Degree值后利用Cytoscape 3.7.2可视化。

1.3.4 药物富集分析:基于DSigDB数据库的药物-基因关联数据,筛选与显著靶点(矫正 $P < 0.05$)关联的小分子化合物,按富集显著性(P值升序)提取前30个候选药物进行后续分析。

1.3.5 分子对接:基于AlphaFold Protein数据库获取蛋白结构,经PyMOL优化后通过AutoDockTools预处理受体(剔除水分子、加氢、电荷处理)和配体(电荷配置与柔性键设置),保存为pdbqt格式后,运用AutoDock Vina按活性位点参数进行分子对接与结合能分析。

2 结果

2.1 MR分析及有效基因的筛选

本研究共筛选出来43个显著潜在基因,见表1;并使用R将其进行可视化,见图1。

2.2 显著基因功能分析

对43个潜在靶点进行GO富集分析可见,这些靶点共参与了201项生物过程(BP),涉及23个细胞组分(CC),包括45个主要分子功能(MF)。其中主要参与的BP包括肽反应(GO:1901652)、丝氨酸家族氨基酸生物合成过程(GO:0009070)、应激激活的丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)级联调节(GO:0032872)等;主要的CC包括黏着斑(GO:0005925)、细胞-基质连接(GO:0030055)、内吞囊泡膜(GO:0030666)等;主要的MF包括蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性(GO:0004674)、G蛋白 β/γ 亚基复合物结合(GO:0031683)、蛋白磷酸化氨基酸结合(GO:0045309)等,见图2。通过KEGG通路富集可见睡眠障碍相关显著可用药基因的51条潜在治疗通路,根据富集在每个药物上的基因数目及显著性,排序居前5位的为催产素(OT)信号通路、Apelin信号通路、间隙连接、促性腺激素释放激素信号通路、黑色素生成,见图2。

2.3 PPI网络分析

将43个靶点构建PPI网络,隐藏网络中断开的网络节点后得到43个节点和130个边缘,平均节点度为6.05,预期边数为94,PPI富集P值为0.000283,网络互动量显著高于预期。经计算得出Degree值排序居前2位的靶点为MAPK3和

表1 可成药基因对睡眠障碍的MR结果与水平

多效性及异质性检验结果						
暴露(有效潜在基因)	结局(疾病)	MR分析方法	P	效应值	水平多效性检验	异质性检验
SMDT1	睡眠障碍	逆方差加权法	0.015	0.022	0.778	0.943
ATRAID	睡眠障碍	逆方差加权法	0.019	0.142	0.603	0.788
SSRI	睡眠障碍	逆方差加权法	0.020	0.076	0.782	0.696
NOTCH4	睡眠障碍	逆方差加权法	0.021	0.060	0.883	0.364
PRKAG2	睡眠障碍	逆方差加权法	0.022	0.048	0.549	0.691
CACNA2D3	睡眠障碍	逆方差加权法	0.025	-0.047	0.577	0.928
NEDD4	睡眠障碍	逆方差加权法	0.027	-0.027	0.832	0.600
CBS	睡眠障碍	逆方差加权法	0.027	0.030	0.653	0.794
NFKBIA	睡眠障碍	逆方差加权法	0.029	-0.041	0.935	0.983
MVD	睡眠障碍	逆方差加权法	0.030	0.068	0.897	0.470
PTGFR	睡眠障碍	逆方差加权法	0.030	0.055	0.790	0.780
ABCB1	睡眠障碍	逆方差加权法	0.031	0.079	0.260	0.853
MAP3K2	睡眠障碍	逆方差加权法	0.032	0.055	0.535	0.601
ITGA5	睡眠障碍	逆方差加权法	0.033	-0.128	0.825	0.744
GNAI1	睡眠障碍	逆方差加权法	0.033	0.080	0.922	0.998
RPS9	睡眠障碍	逆方差加权法	0.033	0.028	0.984	0.928
ADAMTS17	睡眠障碍	逆方差加权法	0.034	-0.061	0.834	0.960
SLC7A8	睡眠障碍	逆方差加权法	0.036	0.028	0.667	0.688
HLA-H	睡眠障碍	逆方差加权法	0.037	0.042	0.576	0.732
MAST4	睡眠障碍	逆方差加权法	0.037	-0.129	0.067	0.520
QDPR	睡眠障碍	逆方差加权法	0.037	0.020	0.359	0.830
CDC42	睡眠障碍	逆方差加权法	0.038	-0.030	0.627	0.471
FZD2	睡眠障碍	逆方差加权法	0.040	-0.031	0.791	0.778
MAPK3	睡眠障碍	逆方差加权法	0.040	-0.022	0.714	0.610
CDKAL1	睡眠障碍	逆方差加权法	0.040	0.036	0.723	0.468
EBPL	睡眠障碍	逆方差加权法	0.041	-0.027	0.916	0.991
CD33	睡眠障碍	逆方差加权法	0.042	0.030	0.953	0.817
PLIN3	睡眠障碍	逆方差加权法	0.042	-0.068	0.593	0.950
PHKG1	睡眠障碍	逆方差加权法	0.044	-0.055	0.298	0.639
SRR	睡眠障碍	逆方差加权法	0.044	0.034	0.753	0.323
SETD4	睡眠障碍	逆方差加权法	0.044	-0.033	0.907	0.770
ULK4	睡眠障碍	逆方差加权法	0.045	0.028	0.817	0.822
DPEP2	睡眠障碍	逆方差加权法	0.047	-0.038	0.770	0.850
PZP	睡眠障碍	逆方差加权法	0.047	-0.030	0.600	0.541
CD300E	睡眠障碍	逆方差加权法	0.047	0.043	0.578	0.411
PMS2	睡眠障碍	逆方差加权法	0.047	0.049	0.750	0.902
SLC12A1	睡眠障碍	逆方差加权法	0.047	-0.015	0.915	0.719
GNAQ	睡眠障碍	逆方差加权法	0.048	-0.060	0.840	0.781
ATP6V0B	睡眠障碍	逆方差加权法	0.048	-0.034	0.679	0.702
MYLK4	睡眠障碍	逆方差加权法	0.049	0.035	0.999	0.989
SERPIN2	睡眠障碍	逆方差加权法	0.049	-0.046	0.721	0.479
DOCK8	睡眠障碍	逆方差加权法	0.049	0.028	0.666	0.693
GLPIR	睡眠障碍	逆方差加权法	0.050	-0.091	0.676	0.708

CDC42。将结果利用Cytoscape 3.7.2进行可视化,见图3。

2.4 药物富集结果

将43个靶点与DSigDB下载的数据进行富集分析后,得到31个药物,将以上结果进行可视化,见图4。查阅文献,排除已经验证可对睡眠障碍起到干预作用的美沙酮(methadone)和盐酸多塞平(doxepin hydrochloride)后,选取罗米地辛(romidepsin)、5-碘结核菌素(5-iodotubercidin)用于后续分子对接,见表2。

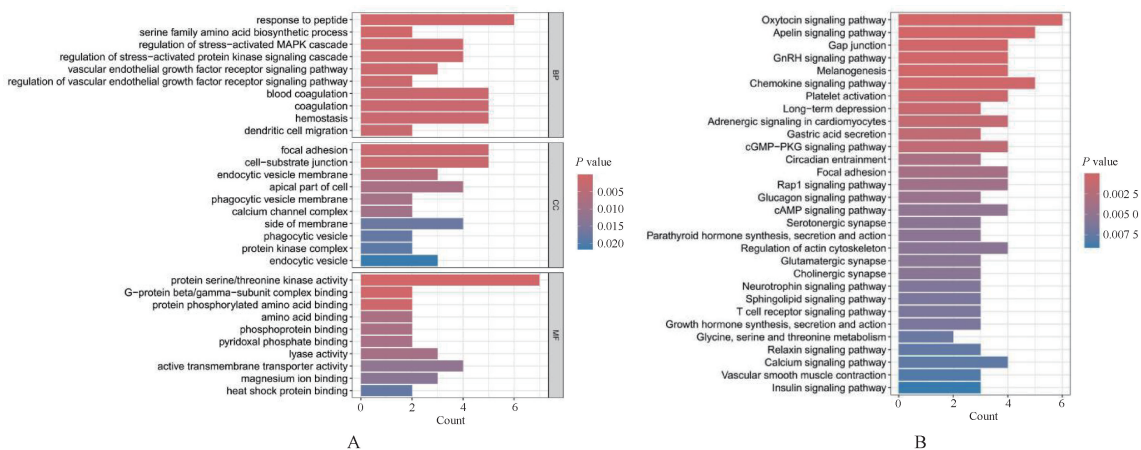
2.5 分子对接结果

分子对接后首先针对评分较高的候选化合物实施结构可视化解析。考察配体分子与受体蛋白的三维结合构象,特别是其与活性口袋关键残基的分子间作用特征,包括但不限于极性键合(氢键网络)、芳香环堆积效应($\pi-\pi$ 共轭)以及疏水区域的空间适配等关键结合参数。结合能 ≤ -20.92 kJ/mol

exposure	nsnp	method	<i>P</i> val		OR (95% CI)
SMDT1	6	Inverse variance weighted	0.015		1.022 (1.004 to 1.041)
ATRAID	2	Inverse variance weighted	0.019		1.152 (1.024 to 1.297)
SSR1	2	Inverse variance weighted	0.021		1.079 (1.012 to 1.151)
NOTCH4	2	Inverse variance weighted	0.022		1.062 (1.009 to 1.118)
PRKAG2	3	Inverse variance weighted	0.022		1.049 (1.007 to 1.093)
CACNA2D3	2	Inverse variance weighted	0.025		0.954 (0.916 to 0.994)
NEDD4	6	Inverse variance weighted	0.027		0.974 (0.951 to 0.997)
CBS	3	Inverse variance weighted	0.027		1.031 (1.003 to 1.059)
NFKBIA	3	Inverse variance weighted	0.029		0.959 (0.924 to 0.996)
MVD	2	Inverse variance weighted	0.030		1.070 (1.007 to 1.137)
PTGFR	3	Inverse variance weighted	0.030		1.057 (1.005 to 1.111)
ABCB1	2	Inverse variance weighted	0.031		1.082 (1.007 to 1.162)
MAP3K2	4	Inverse variance weighted	0.032		1.056 (1.005 to 1.110)
ITGA5	2	Inverse variance weighted	0.033		0.880 (0.782 to 0.990)
GNAI1	2	Inverse variance weighted	0.033		1.083 (1.006 to 1.166)
RPS9	3	Inverse variance weighted	0.033		1.028 (1.002 to 1.055)
ADAMTS17	4	Inverse variance weighted	0.034		0.941 (0.889 to 0.995)
SLC7A8	3	Inverse variance weighted	0.036		1.028 (1.002 to 1.056)
HLA-H	3	Inverse variance weighted	0.037		1.043 (1.003 to 1.084)
MAST4	2	Inverse variance weighted	0.037		0.879 (0.778 to 0.992)
QDPR	5	Inverse variance weighted	0.037		1.021 (1.001 to 1.040)
CDC42	3	Inverse variance weighted	0.038		0.970 (0.943 to 0.998)
FZD2	3	Inverse variance weighted	0.040		0.969 (0.941 to 0.999)
MAPK3	5	Inverse variance weighted	0.040		0.979 (0.959 to 0.999)
CDKAL1	3	Inverse variance weighted	0.040		1.037 (1.002 to 1.074)
EBPL	3	Inverse variance weighted	0.041		0.973 (0.948 to 0.999)
CD33	3	Inverse variance weighted	0.042		1.031 (1.001 to 1.061)
PLIN3	2	Inverse variance weighted	0.042		0.934 (0.875 to 0.998)
PHKG1	2	Inverse variance weighted	0.044		0.947 (0.898 to 0.998)
SRR	4	Inverse variance weighted	0.044		1.034 (1.001 to 1.068)
SETD4	2	Inverse variance weighted	0.044		0.968 (0.938 to 0.999)
ULK4	3	Inverse variance weighted	0.045		1.028 (1.001 to 1.056)
DPEP2	3	Inverse variance weighted	0.047		0.963 (0.927 to 0.999)
PZP	4	Inverse variance weighted	0.047		0.970 (0.941 to 1.000)
CD300E	4	Inverse variance weighted	0.047		1.044 (1.001 to 1.089)
PMS2	3	Inverse variance weighted	0.047		1.050 (1.001 to 1.101)
SLC12A1	3	Inverse variance weighted	0.047		0.985 (0.970 to 1.000)
GNAQ	2	Inverse variance weighted	0.048		0.942 (0.887 to 0.999)
ATP6V0B	2	Inverse variance weighted	0.048		0.966 (0.934 to 1.000)
MYLK4	3	Inverse variance weighted	0.049		1.036 (1.000 to 1.073)
SERPINB2	3	Inverse variance weighted	0.049		0.955 (0.913 to 1.000)
DOCK8	4	Inverse variance weighted	0.049		1.029 (1.000 to 1.058)
GLP1R	2	Inverse variance weighted	0.050		0.913 (0.833 to 1.000)

$P < 0.05$ 表明基因与睡眠障碍之间的关联的差异有统计学意义, P 值越低关联显著性越强。

图 1 可成药基因对睡眠障碍的 MR 结果森林图



A. GO 富集分析; B. KEGG 富集分析; 横坐标 Count 表示基因数目, 纵坐标为具体功能、组分或信号通路, 颜色代表 P 值, 颜色越红表示 P 值越小, 统计显著性越高。

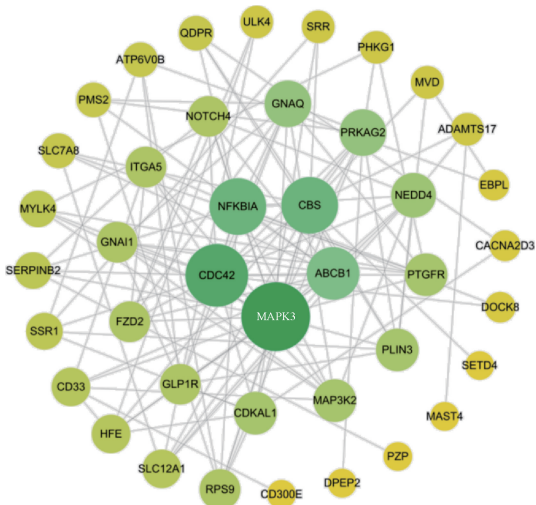
图 2 显著基因影响睡眠障碍的 GO 与 KEGG 富集分析结果柱状图

表明具有良好结合亲和力, 当结合能 ≤ -29.29 kJ/mol 时则显示极强的分子间结合力, 这通常对应于潜在的高效抑制剂特性。本研究获得了 5 个蛋白质与药物之间的有效对接结果, 由 A—E 编号, 见表 3; 使用 PyMOL 2.3.0 软件将对接结果进行

3D 可视化, 见图 5。

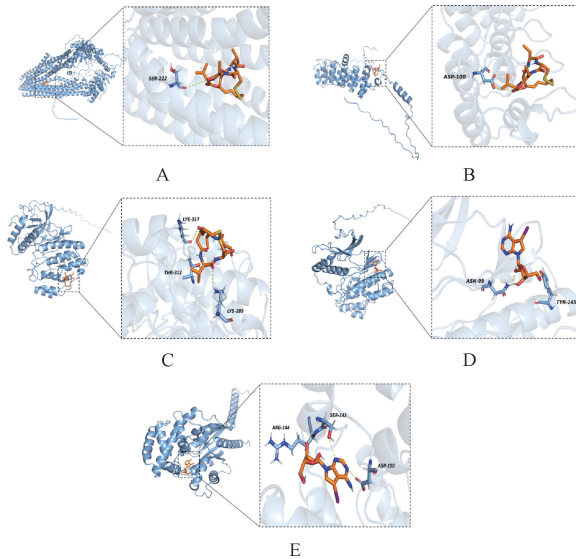
3 讨论

本研究的核心创新在于构建了一个整合研究框架。MR 分析具有遗传变异的随机分配特性, 有效规避了传统观察性研



圆的半径越大、颜色越深,说明此靶点的 Degree 值越大;连接的靶点越多,代表其越可能为关键靶点。

图 3 PPI 网络图



A. 罗米地辛与 ABCB1; B. 罗米地辛与 NFKBIA; C. 罗米地辛与 MAPK3; D. 5-碘结核菌素与 MAPK3; E. 5-碘结核菌素与 GNAI1。

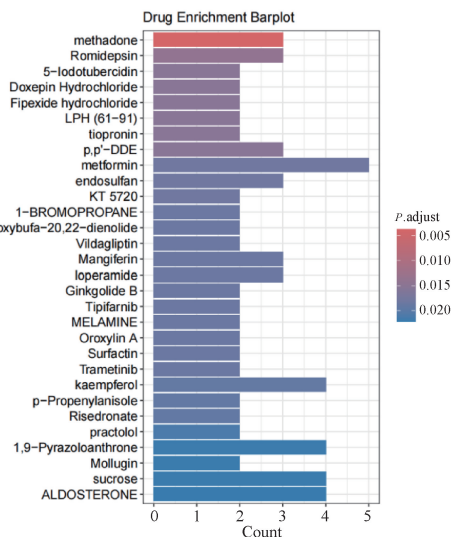
图 5 各靶点与成分分子对接结果可视化

数据,实现了对大量基因及变异的系统性筛查,这种高效经济的研究模式为基因与疾病关联的深度挖掘提供了方法论借鉴。多数据库整合策略进一步强化了研究结论的稳健性,其中功能富集分析和 PPI 网络构建清晰揭示了靶点的生物学功能及其调控网络,为药物开发指明了潜在作用通路;药物预测结合分子对接技术,不仅验证了靶点的成药潜力,其呈现的高结合活性还从结构生物学层面佐证了这些靶点作为药物靶点的可行性,整个研究为睡眠障碍治疗靶点的筛选提供了多层次证据支撑。

3.1 显著基因作用机制

PPI 分析提示,MAPK3 和 CDC42 在睡眠障碍的防治方面具有显著潜力。研究表明,MAPK3 的异常表达与多种疾病相关。MAPK3 也称为胞外信号调节激酶(ERK)1,是 MAPK/ERK 信号通路的核心成员之一,在神经退行性疾病中,MAPK3 参与阿尔茨海默病(AD)的 Tau 磷酸化和神经元凋亡^[10]。白藜芦醇可通过调控 MAPK3 相关凋亡通路发挥神经保护作用^[11]。MAPK3 与焦虑相关性睡眠障碍以及昼夜节律失调性睡眠障碍存在潜在关联机制。社交焦虑障碍患者血液转录组分析显示 MAPK3 显著上调,提示通过 ERK 信号可增强杏仁核神经可塑性,影响焦虑相关的睡眠障碍^[12]。同时,调节 MAPK3 活性可恢复海马区蛋白激酶 B(Akt)1 和白细胞介素(IL)-6 的节律性表达,从而改善焦虑相关性睡眠障碍^[12]。昼夜节律调控方面,加味归脾汤等中药复方可通过调节 MAPK3 及相关炎症因子改善昼夜节律失调性睡眠障碍^[13]。同时,心脏骤停后 MAPK3 介导的铁死亡可能通过影响脑干睡眠调节中枢,间接导致睡眠结构异常^[14]。综上所述,MAPK3 作为多效性激酶,在多种神经精神类疾病的进程中发挥着枢纽作用,可能成为睡眠障碍干预的极具潜力的新靶点,然而未来研究仍需进一步探索组织特异性调控手段以平衡疗效与不良反应。

CDC42 作为 Rho GTP 酶家族的核心成员,参与肿瘤侵袭、神经发育和心血管稳态等生理病理过程。CDC42 主要通过神经可塑性和代谢通路间接体现与睡眠障碍的关联。研究表明,



纵坐标为药物 ID,横坐标为富集在每个药物上的基因数目,颜色为富集的显著性;颜色越接近红色,说明睡眠障碍的显著基因在该药物上富集的越显著。

图 4 显著基因的富集柱状图

表 2 药物富集分析的结果(P 值排序居前 5 位的药物)

药物 ID	药物中文名称	富集显著性的 P 值	校正后的 P 值	靶点的 ID
methadone	美沙酮	6.05×10^{-6}	0.004	NFKBIA/ABCB1/MAPK3
romipidysin	罗米地辛	7.87×10^{-5}	0.014	NFKBIA/ABCB1/MAPK3
5-Iodotubercidin	5-碘结核菌素	1.99×10^{-4}	0.009	GNAI1/MAPK3
doxepin hydrochloride	盐酸多塞平	1.99×10^{-4}	0.009	ABCB1/GLP1R

表 3 候选药物与相应蛋白的分子对接结果

编号	靶点	PDB 编号	药物	PubChem 编号	结合能/(kJ/mol)
A	ABCB1	P08183	罗米地辛	5352062	-33.05
B	NFKBIA	P25963	罗米地辛	5352062	-24.27
C	MAPK3	P27361	罗米地辛	5352062	-27.61
D	MAPK3	P27361	5-碘结核菌素	97297	-24.27
E	GNAI1	P63096	5-碘结核菌素	97297	-30.12

究中混杂因素和反向因果关系的干扰,显著提升了基因与疾病因果推断的可靠性。研究纳入了目前规模最大的公开 GWAS

睡眠剥夺可导致海马区 CDC42 表达下降,伴随雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号抑制,而电针刺激可上调 CDC42 的表达,影响突触可塑性,进而影响睡眠相关脑区^[15]。分子层面,CDC42 与 mTOR 通路的交互影响突触蛋白合成,其活性变化可能介导睡眠剥夺引起的海马可塑性损伤^[16]。综上所述,CDC42 为睡眠障碍的机制解析和靶向治疗提供了新的突破口,未来研究需进一步解析其在睡眠-觉醒周期中的直接作用,以及与其他生物钟基因的互作网络。

GO 富集分析提示,睡眠障碍相关的显著可成药基因主要参与肽反应、丝氨酸家族氨基酸生物合成、应激激活的 MAPK 级联调节等 BP,发挥蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶激活、G 蛋白 β/γ 亚基复合物结合、蛋白磷酸化氨基酸结合等 MF。差异基因的产物在 CC 上主要构成黏着斑、细胞-基质连接、内吞囊泡膜等,这些 CC 的发现有助于医学研究者挖掘睡眠障碍的发病机制,并对其做出针对性干预。肽类物质通过复杂的信号网络调控睡眠-觉醒周期,神经肽表达异常与昼夜节律紊乱型睡眠障碍相关。在 AD 模型中, β 淀粉样蛋白(A β) 沉积引发下丘脑神经肽 S 神经元减少从而导致睡眠碎片化,神经肽 S 外源性补充可通过激活小胶质细胞清除 A β ,改善睡眠的连续性^[17]。丝氨酸家族氨基酸(如 D-丝氨酸)通过其生物合成途径影响睡眠调节,其中丝氨酸消旋酶在肠道中合成的 D-丝氨酸可调节睡眠行为,缺乏该合成途径会导致睡眠减少^[18]。应激激活的 MAPK 级联通过 MAPKKK-MAPKK-MAPK 三级磷酸化传递信号,调控基因表达、炎症反应和细胞凋亡。在睡眠障碍中,慢性应激或低氧激活 p38 MAPK 通路,促进促炎因子释放,破坏神经元的可塑性以及睡眠稳态^[19]。

KEGG 分析提示,基因在 OT 信号通路、Apelin 信号通路等功能通路上显著富集。近年来,OT 信号通路与睡眠障碍的关系在神经内分泌领域受到广泛关注。研究表明,OT 通过其受体 OXTR 调控社交、压力反应及睡眠觉醒周期^[20]。临床治疗潜力方面,OT 通过抑制杏仁核中央核的促肾上腺皮质激素释放激素神经元活性,降低过度觉醒状态,且对于焦虑相关睡眠障碍的治疗效果优于传统苯二氮草类药物^[21]。在睡眠障碍的发展过程中,小胶质细胞异常活化导致的神经炎症是核心病理机制之一,而 Apelin 通过激活 Apelin 受体可抑制小胶质细胞介导的神经炎症反应,其抗炎作用可改善睡眠碎片化和昼夜节律紊乱^[22]。研究表明,Apelin 通过激活脑源性神经营养因子/酪氨酸激酶 B 通路减少海马区神经元炎症损伤,并抑制促炎因子(如 IL-6、肿瘤坏死因子 α) 的释放^[23]。此外,在 AD 模型中,睡眠障碍加速 A β 沉积,而 Apelin 可通过抑制 A β 诱导的神经毒性间接改善睡眠质量^[24-25]。可见,Apelin 信号通路的干预是较有潜力的睡眠障碍治疗策略。

3.2 药物预测价值

药物富集分析筛选出的药物中,美沙酮为 μ 阿片受体激动剂及 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体拮抗剂,目前在临床上主要用于阿片类药物的依赖替代治疗,其多靶点特性提示存在潜在睡眠调节作用。一方面,美沙酮的镇痛及抗焦虑作用可能通过缓解疼痛应激或情绪障碍间接改善睡眠质量;另一方面,其对 NMDA 受体的拮抗作用可能通过抑制谷氨酸能神经元过度激活调控睡眠-觉醒周期^[26],研究显示,NMDA 拮抗可

减少快速眼动睡眠并增强慢波睡眠^[27]。然而,这一药物的临床转化需审慎权衡风险与收益。美沙酮的成瘾性、呼吸抑制风险及耐受性使其难以作为普适性睡眠药物,但在共病慢性疼痛或阿片戒断相关睡眠障碍患者中可能具备一定的优势。未来需通过共定位分析排除遗传多效性干扰,并结合实验研究阐明 NMDA 通路在睡眠调节中的贡献,同时利用观察性数据验证低剂量美沙酮在非依赖人群中的安全性及有效性,以期为靶向谷氨酸能系统的非成瘾睡眠药物开发提供理论依据。盐酸多塞平作为选择性 H1 受体拮抗剂,被证实对慢性原发性失眠的睡眠维持障碍具有显著疗效,具体机制与多塞平增强组胺能抑制相关,适用于成人和老年患者,临床证据显示 3 mg 小剂量的多塞平可持续改善总睡眠时间和睡眠质量,且无记忆损害或抗胆碱能副作用,安全性良好^[28]。

分子对接结果可见,罗米地辛和 5-碘结核菌素分别与靶点中的氨基酸残基形成氢键作用,表明药物与靶点的结合位点的亲和力好,药物与靶点的结合很有可能发挥治疗睡眠障碍的药效作用。罗米地辛作为组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂,其临床应用主要集中于血液系统恶性肿瘤的治疗,其对 HDAC1/2 的高选择性抑制可能为探索表观遗传调控在睡眠障碍中的作用提供线索^[29-30]。例如,HDAC 抑制剂通过调节昼夜节律相关基因 *CLOCK*、*PER1* 来影响睡眠稳态的假说值得进一步验证^[31]。此外,慢性炎症是睡眠障碍的重要病理机制,罗米地辛在肺纤维化模型中通过抑制成纤维细胞增殖和细胞外基质合成表现出抗炎和抗纤维化活性,同时其降低赖氨酸氧化酶表达的作用可能减少组织重塑相关的炎症反应^[32],而此类机制可间接缓解炎症驱动的睡眠障碍^[33]。可见,罗米地辛对于睡眠障碍的潜在治疗机制主要基于 HDAC 抑制剂的表现遗传调控和抗炎作用的理论推测。未来需通过临床前模型明确其对睡眠相关通路的影响,并谨慎评估其安全性后,考虑开展针对性的临床试验。5-碘结核菌素为腺苷激酶(ADK)抑制剂,通过抑制 ADK 活性,减少腺苷转化为一磷酸腺苷,导致细胞外腺苷水平升高。而腺苷是内源性促睡眠物质,通过激活 A1 和 A2A 受体抑制神经元活动,促进非快速眼动睡眠。动物实验显示,ADK 抑制剂可延长睡眠时间并改善睡眠结构,但需注意剂量依赖性神经毒性风险^[34]。同时,5-碘结核菌素可干扰核因子 κ B 信号通路,抑制受体相互作用蛋白激酶 1 的依赖性坏死性凋亡,从而减轻神经炎症^[35]。可见,5-碘结核菌素可通过抗炎机制减少睡眠障碍的发生。综上所述,罗米地辛和 5-碘结核菌素展现出了在睡眠障碍中极具价值的治疗潜力,未来结合进一步临床研究,可期睡眠障碍治疗范式的持续优化和多元发展。

然而,本研究仍存在三方面待改进之处:(1) 研究队列局限于欧洲人群,尽管这一选择在控制种族混杂偏倚上具有优势,但显著制约了研究结论向其他种族群体的外推效力,后续需通过跨种族 GWAS 数据整合与独立队列验证,使结论更具普适性;(2) 功能富集分析依赖预先定义的基因集和通路数据库,这种基于现有知识的分析框架可能导致遗漏新型遗传变异和未被探究的机制,未来可以结合单细胞测序、空间转录组学等,开展无偏倚的机制探究;(3) 虽然分子对接初步筛选出了潜在药物靶点,但 MR 分析无法评估药物作用的多效性及脱靶效应,相关结论仍需通过基础药理实验、动物模型验证及临床

研究,对候选药物的安全性和有效性进行全面评估,以推动研究成果向临床应用的转化。

参考文献

- [1] American Academy of Sleep Medicine. International classification of sleep disorders[M]. 3rd ed. Darien; American Academy of Sleep Medicine, 2014;312-316.
- [2] 王振杰, 赵蔓, 陈婷蔚, 等. 中国老年人睡眠障碍患病率的 Meta 分析[J]. 中国全科医学, 2022, 25(16): 2036-2043.
- [3] 秦宇, 唐诗, 刘蕊, 等. 睡眠障碍与心脑血管疾病的相关性研究进展[J]. 山东第一医科大学(山东省医学科学院)学报, 2022, 43(4): 311-315.
- [4] HAN A H, BURROUGHS C R, FALGOUST E P, et al. Suvorexant, a novel dual orexin receptor antagonist, for the management of insomnia[J]. Health Psychol Res, 2023, 10(5): 67898.
- [5] 李雪. 新疆脑/体力劳动者睡眠障碍环境遗传因素分析及共病模式的挖掘[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2023.
- [6] 张亦舒, 李晓宁, 苗晨欣. 睡眠障碍与卒中风险的因果关系: 孟德尔随机化研究[J]. 现代医学, 2023, 51(11): 1559-1565.
- [7] ZHANG J F, ZHAO H Y. eQTL studies: from bulk tissues to single cells[J]. J Genet Genomics, 2023, 50(12): 925-933.
- [8] FINAN C, GAULTON A, KRUGER F A, et al. The druggable genome and support for target identification and validation in drug development[J]. Sci Transl Med, 2017, 9(383): eaag1166.
- [9] VÖSA U, CLARINGBOULD A, WESTRA H J, et al. Large-scale cis- and trans-eQTL analyses identify thousands of genetic loci and polygenic scores that regulate blood gene expression [J]. Nat Genet, 2021, 53(9): 1300-1310.
- [10] LI S M, ROY E R, WANG Y Y, et al. Modeling Alzheimer's disease in primary neurons reveals DNA damage response coupled with MAPK-DLK signaling in wild-type tau-induced neurodegeneration [J/OL]. Res Sq. (2023-03-07) [2025-07-27]. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2617457/v1>.
- [11] WANG W J, WANG S Z, LIU T L, et al. Resveratrol: multi-targets mechanism on neurodegenerative diseases based on network pharmacology[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 694.
- [12] EDELMANN S, WIEGAND A, HENTRICH T, et al. Blood transcriptome analysis suggests an indirect molecular association of early life adversities and adult social anxiety disorder by immune-related signal transduction[J]. Front Psychiatry, 2023, 14: 1125553.
- [13] 刘飞祥, 林子璇, 张怀亮, 等. 基于网络药理学分析加味归脾汤治疗阴火失眠伴焦虑的机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(20): 161-168.
- [14] HOU H X, PANG L, ZHAO L, et al. Ferroptosis-related gene MAPK3 is associated with the neurological outcome after cardiac arrest[J]. PLoS One, 2024, 19(6): e0301647.
- [15] 吴毅明, 李潇, 郝莉, 等. 电针对睡眠剥夺大鼠学习记忆能力及海马区 Rac1、Cdc42 蛋白表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(9): 4372-4375.
- [16] KHAN M A, AL-JAHDALI H. The consequences of sleep deprivation on cognitive performance[J]. Neurosciences (Riyadh), 2023, 28(2): 91-99.
- [17] 周艳君. 神经肽 S 通过减少 A β 沉积改善 APP/PS1 小鼠睡眠障碍的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
- [18] DAI X, ZHOU E, YANG W, et al. D-Serine made by serine racemase in *Drosophila* intestine plays a physiological role in sleep [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1986.
- [19] 职玲云. P38 MAPK 通路在 CRS 诱导的 MCAO 大鼠抑郁样行为中作用机制的初步探究[D]. 新乡: 新乡医学院, 2022.
- [20] NERIO-MORALES L K, BOENDER A J, YOUNG L J, et al. Limbic oxytocin receptor expression alters molecular signaling and social avoidance behavior in female prairie voles (*Microtus ochrogaster*) [J]. Front Neurosci, 2024, 18: 1409316.
- [21] MACDONALD K, MACDONALD T M. The peptide that binds: a systematic review of oxytocin and its prosocial effects in humans [J]. Harv Rev Psychiatry, 2010, 18(1): 1-21.
- [22] 舒治钧, 张全怡, 徐义鹏, 等. 睡眠障碍后小胶质细胞活化相关信号通路的研究进展[J]. 生理学报, 2023, 75(4): 569-574.
- [23] SARAL S, TOPÇU A, ALKANAT M, et al. Apelin-13 activates the hippocampal BDNF/TrkB signaling pathway and suppresses neuroinflammation in male rats with cisplatin-induced cognitive dysfunction[J]. Behav Brain Res, 2021, 408: 113290.
- [24] 高雪, 周寿红. Apelin-13 与阿尔兹海默症的研究进展[J]. 华夏医学, 2022, 35(4): 146-151.
- [25] 王修, 唐伟, 谭丽阳, 等. 睡眠障碍与阿尔茨海默病相关性的研究进展[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2022, 25(6): 781-784.
- [26] LIN J J, HOU X H, LIU Y X, et al. Elevated peripheral glutamate and upregulated expression of NMDA receptor NR1 subunit in insomnia disorder[J]. Front Psychiatry, 2024, 15: 1436024.
- [27] RIBEIRO L, PSIMARAS D, VOLLHARDT R, et al. REM and NREM sleep parasomnia in anti-NMDA receptor encephalitis [J]. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm, 2024, 11(5): e200203.
- [28] KRYSTAL A D, DURRENCE H H, SCHARF M, et al. Efficacy and Safety of Doxepin 1 mg and 3 mg in a 12-week Sleep Laboratory and Outpatient Trial of Elderly Subjects with Chronic Primary Insomnia[J]. Sleep, 2010, 33(11): 1553-1561.
- [29] SAFARI M, LITMAN T, ROBEY R W, et al. R-Loop-Mediated ssDNA Breaks Accumulate Following Short-Term Exposure to the HDAC Inhibitor Romidepsin [J]. Mol Cancer Res, 2021, 19(8): 1361-1374.
- [30] RUZIC D, DJOKOVIĆ N, SRDIĆ-RAJIĆ T, et al. Targeting histone deacetylases: opportunities for cancer treatment and chemoprevention[J]. Pharmaceutics, 2022, 14(1): 209.
- [31] SHANG Q Q, ZHOU J, YAO J J, et al. Sleep duration and the risk of new-onset arthritis in middle-aged and older adult population: results from prospective cohort study in China [J]. Front Public Health, 2024, 12: 1321860.
- [32] CONFORTI F, DAVIES E R, CALDERWOOD C J, et al. The histone deacetylase inhibitor, romidepsin, as a potential treatment for pulmonary fibrosis[J]. Oncotarget, 2017, 8(30): 48737-48754.
- [33] KACZMARSKI P, SOCHAL M, STRZELECKI D, et al. Influence of glutamatergic and GABAergic neurotransmission on obstructive sleep apnea[J]. Front Neurosci, 2023, 17: 1213971.
- [34] 张晓敏, 李美宁, 王文卓, 等. 5-碘代杀结核菌素对小鼠神经管的影响其作用机制[J]. 中国生物制品学杂志, 2021, 34(6): 682-687.
- [35] CHAUHAN C, KRAEMER A, KNAPP S, et al. 5-Iodotubercidin sensitizes cells to RIPK1-dependent necroptosis by interfering with NF κ B signaling[J]. Cell Death Discov, 2023, 9(1): 262.

(收稿日期:2025-06-18 修回日期:2025-07-27)