

基于孟德尔随机化及生物信息学方法探究癫痫与 1 型糖尿病的相关性



曾佳威¹, 连璐¹, 谭雅匀¹, 范晶晶¹, 刁丽梅^{1, 2}

1. 广西中医药大学第一临床医学院 (南宁 530001)

2. 广西壮族自治区脑科医院神经内科 (广西柳州 545005)

【摘要】目的 基于孟德尔随机化 (Mendelian randomization, MR) 方法探究癫痫 (epilepsy, EP) 与 1 型糖尿病 (type 1 diabetes mellitus, T1DM) 的因果关系, 并应用生物信息学方法筛选 EP 与 T1DM 的关键基因。**方法** 从 IEU Open GWAS Project 数据库中获取 EP 和 T1DM 相关的数据, 选择与暴露因素显著相关的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 作为工具变量, 以逆方差加权法 (inverse variance weighted, IVW) 作为 MR 分析的主要方法, 并采用比值比 (odds ratio, OR) 分析 EP 与 T1DM 的因果关系。通过基因表达综合数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO) 下载 EP 与 T1DM 的基因芯片数据集, 提取共同差异基因并进行富集分析, 利用 Cytoscape 软件的 Cytohubba 工具包获取 Degree 值排名前 10 的基因并筛选关键基因, 最终探究 EP 与 T1DM 的共同作用机制。**结果** MR 分析结果显示, 全面性癫痫 (generalized epilepsy, GE) 是 T1DM 的危险因素 (OR=1.173, 95%CI: 1.007~1.367, $P=0.040$); 生物信息学分析结果显示, EP 与 T1DM 存在 12 个共同差异基因, 分别为 *CD69*、*CXCL1*、*DACHI*、*ELANE*、*FOLR3*、*HBB*、*HIST2H2BE*、*HP*、*PMP22*、*PTGDS*、*SKAP1* 和 *TAGAP*。基因本体论 (Gene Ontology, GO) 分析结果显示, 共同差异基因生物学过程 (biological process, BP) 主要富集在抗菌肽介导的抗菌体液免疫应答、急性炎症反应和髓系白细胞介导的免疫等; 细胞组分 (cellular component, CC) 主要富集在特定颗粒腔、三级颗粒腔、特定颗粒、分泌颗粒腔、细胞质囊泡腔、囊泡腔、三级颗粒等; 分子功能 (molecular function, MF) 主要富集在有机酸结合、丝氨酸型内肽酶活性、丝氨酸型肽酶活性、丝氨酸水解酶活性等。京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路分析结果显示, 共同差异基因富集在抗叶酸耐药性、叶酸的运输和代谢、非洲锥虫病、疟疾、军团菌病、花生四烯酸代谢、幽门螺旋杆菌感染中的上皮细胞信号传导通路。关键基因 *HBB*、*PMP22*、*HP*、*FOLR3*、*CD69*、*DACHI*、*ELANE* 和 *PTGDS* 可能是 EP 与 T1DM 的生物标志物或治疗靶点。**结论** GE 是引发 T1DM 的危险因素之一, *HBB*、*PMP22*、*HP*、*FOLR3*、*CD69*、*DACHI*、*ELANE* 与 *PTGDS* 可能是治疗 EP 与 T1DM 的关键靶点。

【关键词】 癫痫; 1 型糖尿病; 孟德尔随机化; 生物信息学

【中图分类号】 R 742.1; R 587.1 **【文献标识码】** A

Exploring the correlation between epilepsy and type 1 diabetes mellitus based on Mendelian randomization and bioinformatics methods

ZENG Jiawei¹, LIAN Lu¹, TAN Yayun¹, FAN Jingjing¹, DIAO Limei^{1,2}

DOI: 10.12173/j.issn.1004-4337.202505019

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目 (82360875)

通信作者: 刁丽梅, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, Email: dlm721226@163.com

<https://slyyx.whuznhmedj.com/>

1. The First Clinical Faculty of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China

2. Department of Neurology, The Guangxi Zhuang Autonomous Region Brain Hospital, Liuzhou 545005, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Corresponding author: DIAO Limei, Email: dlm721226@163.com

【Abstract】Objective To explore the causal relationship between epilepsy (EP) and type 1 diabetes mellitus (T1DM) based on Mendelian randomization (MR) method, and to apply bioinformatics analysis to screen the key genes of EP and T1DM. **Methods** Relevant data of EP and T1DM was obtained from the IEU Open GWAS Project database. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) significantly associated with exposure factors were selected as instrumental variables. The inverse variance weighted (IVW) method was the main method of MR analysis, and odds ratio (OR) was adopted to analyze the causal relationship between EP and T1DM. The gene chip dataset of EP and T1DM were downloaded through the Gene Expression Omnibus (GEO) database, and common differentially genes were taken for enrichment analysis. The Cytoscape toolkit of Cytoscape software was used to obtain the genes with the top 10 Degree values and screen the key genes to explore the common mechanism of EP and T1DM. **Results** The results of MR analysis showed that generalized epilepsy (GE) was a risk factor for T1DM (OR=1.173, 95%CI: 1.007-1.367, $P=0.040$). The results of bioinformatic analysis showed that there were 12 common differential genes between EP and T1DM, namely *CD69*, *CXCL1*, *DACH1*, *ELANE*, *FOLR3*, *HBB*, *HIST2H2BE*, *HP*, *PMP22*, *PTGDS*, *SKAP1* and *TAGAP*. The results of Gene Ontology (GO) analysis showed that the biological process (BP) of common differential gene was mainly enriched in antimicrobial humoral immune response mediated by antimicrobial peptide, acute inflammatory response, myeloid leukocyte mediated immunity, etc.; cellular component (CC) was mainly enriched in specific granule lumen, tertiary granule lumen, specific granule, secretory granule lumen, cytoplasmic vesicle lumen, vesicle lumen, tertiary granule, etc.; molecular function (MF) was mainly enriched in organic acid binding, serine-type endopeptidase activity, serine-type peptidase activity, serine hydrolase activity, etc. The results of Kyoto Encyclopedia of Gene and Genomes (KEGG) pathway analysis showed that the common differential genes were enriched in antifolate resistance, folate transport and metabolism, African trypanosomiasis, malaria, legionellosis, arachidonic acid metabolism, epithelial cell signaling in *Helicobacter pylori* infection. The key genes *HBB*, *PMP22*, *HP*, *FOLR3*, *CD69*, *DACH1*, *ELANE*, and *PTGDS* may be biomarkers or therapeutic targets for EP and T1DM. **Conclusion** GE was one of the risk factors for T1DM and *HBB*, *PMP22*, *HP*, *FOLR3*, *CD69*, *DACH1*, *ELANE*, and *PTGDS* may be the key argets for the treatment of EP and T1DM.

【Keywords】 Epilepsy; Type 1 diabetes mellitus; Mendelian randomization; Bioinformatics

癫痫 (epilepsy, EP) 是多种原因导致的脑部神经元高度同步化异常放电, 以反复发作致短暂脑功能失调为特征的一种慢性神经系统疾病^[1]。EP 反复发作可致神经元不可逆性损伤, 既可能表现为偶尔、轻微的震颤, 也可能为频繁、剧烈的抽搐。EP 其发作不确定性严重威胁着患者的日常安全, 增加了其致残和死亡风险^[2]。

1 型糖尿病 (type 1 diabetes mellitus, T1DM) 是一种以胰岛 β 细胞被大量破坏, 患者体内胰岛素水平严重降低并导致高血糖状态, 日常需要胰岛素治疗为特征的自身免疫疾病^[3]。其典型临床

表现为多饮、多食、多尿和体重下降, 以及可能的酮症酸中毒症状。患者长期处于高血糖状态可能引发冠心病、高血压和神经系统病变等并发症, 不仅严重威胁其生命安全, 而且给其家庭造成了巨大的经济负担。

尽管 EP 和 T1DM 属于不同系统的疾病, 但有研究显示, 二者可能存在密切关联^[4]。一项针对亚洲人群的队列研究发现, T1DM 患者的 EP 发病风险约为对照组的 3 倍^[5]。一项 Meta 分析结果也显示, 与血糖正常者相比, T1DM 患者的 EP 发病风险显著增加 [相对风险 (relative risk, RR) =2.41, 95%

置信区间 (confidence interval, CI): 1.69~3.44, $P < 0.001$]^[6]。Li 等的研究发现, EP 患者的糖尿病发病率高于非 EP 患者群体, 且有 EP 病史的糖尿病患者患肺炎、尿路感染和败血症的风险显著增加^[7]。上述研究提示, 两种疾病间可能存在共同易感因素或病理机制, 但目前探讨 EP 与 T1DM 的因果关系及潜在的分子机制的研究较少。与传统观察性研究相比, 孟德尔随机化 (Mendelian randomization, MR) 分析法以遗传变异的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 作为工具变量, 可以有效减少偏倚和混杂因素影响, 能够更准确地推断暴露因素与疾病之间的因果关系^[8]。此外, 生物信息学方法可以从分子基因层面发掘疾病相关基因。本研究利用 MR 和生物信息学分析方法, 旨在从因果关系和分子基因层面探讨 EP 与 T1DM 的相关关系, 以期对两种疾病的预防和临床诊治提供参考。

1 资料与方法

1.1 基于孟德尔随机化分析方法对疾病因果关系的研究

1.1.1 MR 研究设计与数据来源

运用双样本双向 MR 方法, 以 EP 与 T1DM 分别互为暴露因素与结局因素进行 MR 双向分析, 并通过敏感性分析检验结果的可靠性。EP 和 T1DM 相关遗传变异的暴露变量数据均来自 IEU Open GWAS Project 数据库^[9] (<https://gwas.mrcieu.ac.uk/>)。

EP 的 GWAS 统计数据来自国际抗癫痫联盟复杂性癫痫联合会 (The International League Against Epilepsy Consortium on Complex Epilepsies,

ILAE)。EP 的发病人群为混合型, 其中约 86% 为欧洲血统。涵盖的 EP 分型包括所有癫痫、全面性癫痫 (generalized epilepsy, GE)、局灶性癫痫、病变阴性的局灶性癫痫、青少年失神性癫痫、儿童失神性癫痫、海马硬化型局灶性癫痫、除海马硬化型局灶性癫痫、伴强直阵挛性发作的全面性癫痫、青少年肌阵挛性癫痫。T1DM 患者均为欧洲人种。详细信息见表 1。

1.1.2 筛选工具变量

为确保工具变量的有效性, 筛选的单核苷酸多态性 (SNPs) 应遵循 MR 研究的三大基本假设^[10]: ①关联性假设, 即工具变量与暴露因素强相关, 筛选与 EP 和 T1DM 具有强相关性的 SNPs ($P < 5 \times 10^{-8}$); ②独立性假设, 即工具变量只能通过影响暴露因素进而影响结局, 通过去除连锁不平衡的 SNPs ($r^2 < 0.001$ 且物理遗传宽度 kb=10 000), 并选取 $F > 10$ [$F=R^2 \times (N-2)/(1-R^2)$] 的 SNPs, 以最大程度去除弱工具变量, 从而减少误差; ③排他性假设, 即工具变量与任何潜在的混杂因素不相关, 通过 LDtrait 网站的在线工具 (<https://ldlink.nih.gov/?tab=ldtrait>) 检索可能存在的混杂因素相关 SNPs, 以免引起潜在的多效性效应影响。此外, MR 分析过程中自动删除具有回文结构的 SNPs。

1.1.3 统计分析

利用 R 4.3.2 软件的 TwoSample MR 包进行统计分析, 以探究 EP 与 T1DM 的因果关系, 并采用五种 MR 分析方法: 逆方差加权法 (inverse variance weighted, IVW)、MR-Egger、加权中值法、简单模型和加权模型。其中, IVW 为主

表1 孟德尔随机化分析研究数据汇总

Table 1. Summary of data from Mendelian randomization analysis studies

暴露或结局	数据来源	GWAS ID号	样本种族来源	样本量	SNPs数量	数据公布年份
1型糖尿病	NA	ebi-a-GCST90014023	欧洲	520 580	59 999 551	2021
所有癫痫	ILAE	ieu-b-8	混合人种	44 889	4 880 492	2018
全面性癫痫	ILAE	ieu-b-9	混合人种	33 446	4 867 068	2018
局灶性癫痫	ILAE	ieu-b-10	混合人种	39 348	4 862 782	2018
海马硬化型局灶性癫痫	ILAE	ieu-b-14	混合人种	30 480	4 948 714	2018
伴强直阵挛性发作的全面性癫痫	ILAE	ieu-b-16	混合人种	29 905	4 988 035	2018
儿童失神性癫痫	ILAE	ieu-b-13	混合人种	30 470	4 979 765	2018
青少年失神性癫痫	ILAE	ieu-b-12	混合人种	30 092	4 986 340	2018
青少年肌阵挛性癫痫	ILAE	ieu-b-17	混合人种	30 858	4 983 225	2018
病变阴性的局灶性癫痫	ILAE	ieu-b-11	混合人种	32 393	4 988 872	2018
除海马硬化型局灶性癫痫	ILAE	ieu-b-15	混合人种	32 747	4 987 264	2018

注: SNPs为单核苷酸多态性; NA为未特定命名国际合作组织; ILAE为国际抗癫痫联盟复杂性癫痫联合会。

要分析方法,其余方法作为辅助分析验证的 MR 分析方法^[11]。

1.1.4 敏感性分析

采用敏感性分析对 MR 分析结果进行检验,包括异质性检验 (IVW 和 MR-Egger)、多效性检验 (MR-Egger 回归截距) 和留一法分析 (leave-one-out)。采用 Cochran's Q 统计中的 IVW 和 MR-Egger 方法进行异质性检验,检验相关 SNPs 间的统计学异质性, $P > 0.05$ 表明 SNPs 间无显著统计学异质性,反之则提示有统计学异质性^[12]。MR-Egger 回归截距 (MR-Egger intercept) 用于评估 SNPs 的水平多效性, $P > 0.05$ 提示 SNPs 间无统计学多效性^[13]。采用留一法检测单个 SNPs 对 MR 结果的影响。此外,利用 MR 多态性残差和异常值 (MR-PRESSO) 检验全局多态性残差和异质性,检测是否存在离群 SNPs, $P < 0.05$ 表明存在离群 SNPs^[14],通过剔除离群 SNPs 消除水平多效性。

1.2 基于生物信息学方法对疾病关键基因的筛选

1.2.1 生物信息学研究设计与数据来源

利用基因表达综合数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 获取 EP 与 T1DM 测序数据,以 “Entry type: Series” “Organism: Homo Sapiens” “Study type: Expression profiling by array” 为筛选条件,筛选同时满足包含疾病组和对照组的基因数据集。最终选择 EP 数据集 (GSE143272, 实验组 34 例、对照组 51 例) 与 T1DM 数据集 (GSE156035, 实验组 20 例、对照组 20 例)。分别对两个数据集进行差异基因分析,再进一步取共同差异基因并进行富集分析,随后构建蛋白质互作 (protein-protein interaction, PPI) 网络,从中筛选两种疾病相关的关键基因。

1.2.2 筛选差异基因

对下载的数据集基因表达谱进行 $\log_2$ 转换,并根据相应平台的注释文档将探针与其基因符号进行匹配,最终得到以行名称为样本名称、列名称为基因符号的基因矩阵。使用 R 4.3.2 软件的 limma 包进行差异基因筛选,筛选标准为 $P < 0.05$ 、 $|\log_2 \text{FC}| > 0.379$ ^[15]。

1.2.3 筛选共同差异基因及富集分析

分别将 EP 与 T1DM 的差异基因导入 Venny

tools/venny/), 利用其可视化功能构建韦恩图,取交集部分为共同差异基因。利用 R 4.3.2 软件的 clusterProfiler 包对共同差异基因进行系统性功能注释分析,包括基因本体论 (Gene Ontology, GO) 功能注释和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Gene and Genomes, KEGG) 通路分析,以明确共同差异基因的潜在生物学功能及相关信号通路机制。最后,利用 ggplot2 包对具有统计学意义的富集条目进行可视化展示。

1.2.4 构建PPI网络图并筛选关键基因

通过 GeneMANIA 在线分析平台 (<http://www.genemania.org>) 生成 PPI 网络图,下载 Interactions data 并导入 Cytoscape 3.10.3 软件进行可视化处理,使用 cytohubba 插件筛选关键基因。

2 结果

2.1 孟德尔随机化分析

2.1.1 阳性结果SNPs筛选

从 GE 和 T1DM 相关的 SNPs 中筛选,选出 GE 与 T1DM 具有相同位点的 SNPs (rs4665630、rs68082256、rs10060382、rs13200150、rs11890028、rs887696、rs11943905、rs1402398、rs1044352、rs2833098、rs4794333)。所有 SNPs 的 F 统计值均大于 10 (78.833~118.073),为强工具变量,均予以保留;其次,剔除混杂因素相关 SNPs (rs4794333),最终纳入 10 个 SNPs 作为工具变量进行 MR 分析。MR 分析步骤及过程均符合三大假设,因果关联未受到弱工具变量及混杂因素影响,偏倚风险较低。详见表 2。

2.1.2 MR分析结果

IVW 结果显示,GE 是 T1DM 的危险因素 [比值比 (odds ratio, OR)=1.173, 95%CI: 1.007~1.367, $P=0.040$]。以 EP 作为暴露因素分析时,除所有癫痫和全面性癫痫外,其余癫痫及亚型数据均因与暴露因素具有显著相关性的 SNPs 少于 3 个,未达到 MR 分析要求,未纳入数据分析。相关结果见图 1。

2.1.3 敏感性分析

Cochran's Q 检验结果显示,纳入的 SNPs 之间无显著异质性 ($P_{\text{IVW}}=0.170$, $P_{\text{MR-Egger}}=0.336$)。MR-Egger 回归截距结果的 $P=0.106$,表明纳入的 SNPs 之间无显著水平多效性;留一法通过逐

表2 纳入孟德尔随机化分析的10个SNPs具体信息
Table 2. Specific information on the 10 SNPs included in the Mendelian randomization analysis

SNPs	效应等位基因	非效应等位基因	eaf	β	se	P值	F值
rs10060382	T	C	0.496 8	-0.072 527 1	0.012 550 1	7.50E-09	88.189 066
rs1044352	T	G	0.421 3	0.075 176 3	0.012 562 9	2.17E-09	92.417 346
rs11890028	G	T	0.278 9	-0.075 659 2	0.013 849 4	4.68E-08	77.182 140
rs11943905	T	C	0.273 6	0.077 543 4	0.014 111 6	3.90E-08	80.125 187
rs13200150	G	A	0.307 6	-0.078 175 5	0.013 434 5	5.92E-09	87.290 098
rs1402398	A	G	0.624 7	-0.086 618 6	0.012 766 2	1.16E-11	118.073 154
rs2833098	A	G	0.629 9	0.073 068	0.012 955 3	1.70E-08	83.459 499
rs4665630	T	C	0.888 6	-0.108 987	0.019 895 4	4.30E-08	78.833 646
rs68082256	A	G	0.205 9	-0.093 404 1	0.015 505 3	1.70E-09	95.686 886
rs887696	T	C	0.666 2	-0.072 680 6	0.013 114 5	3.00E-08	78.758 550

注：SNPs为单核苷酸多态性；eaf为效应等位基因频率； β 为效应等位基因的效应值；se为 β 的标准误。

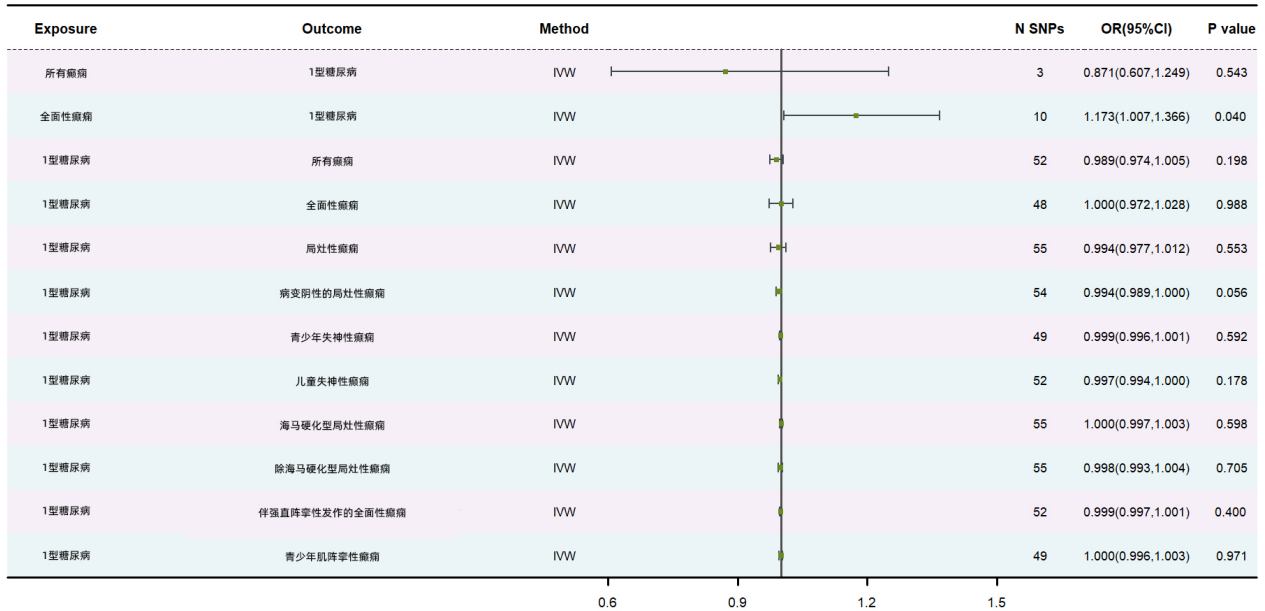


图1 孟德尔随机化分析结果
Figure 1. Results of Mendelian randomization analysis

个剔除 SNPs 发现，剩余的 SNPs 分析结果均位于无效线右侧，未见对整体因果关系有显著影响的 SNPs；MR-PRESSO 分析结果的 $P=0.199$ ，表明 MR 全局分析结果无显著水平多效性，且无离群值干扰，见图 2。

2.2 生物信息学分析结果

2.2.1 差异基因筛选

通过 EP 数据集 GSE143272 筛选得到 10 561 个基因，其中下调表达基因 67 个、上调表达基因 47 个，见图 3；通过 T1DM 数据集 GSE156035 筛选得到 28 652 个基因，其中下调表达基因 1 251 个、上调表达基因 1 240 个，见图 4。

2.2.2 共同差异基因筛选及富集分析

韦恩图图 5 显示 EP 与 T1DM 存在 12 个共同

差异基因：*CD69*、*CXCL1*、*DACHI*、*ELANE*、*FOLR3*、*HBB*、*HIST2H2BE*、*HP*、*PMP22*、*PTGDS*、*SKAPI*、*TAGAP*。对以上 12 个共同差异基因进行富集分析，GO 分析结果显示，共同差异基因的生物学过程（biological process，BP）主要富集在抗菌肽介导的抗菌体液免疫应答（antimicrobial humoral immune response mediated by antimicrobial peptide）、急性炎症反应（acute inflammatory response）、髓系白细胞介导的免疫（myeloid leukocyte mediated immunity）等；细胞组分（cellular component，CC）主要富集在特定颗粒腔（specific granule lumen）、三级颗粒腔（tertiary granule lumen）、特定颗粒（specific granule）、分泌颗粒腔（secretory

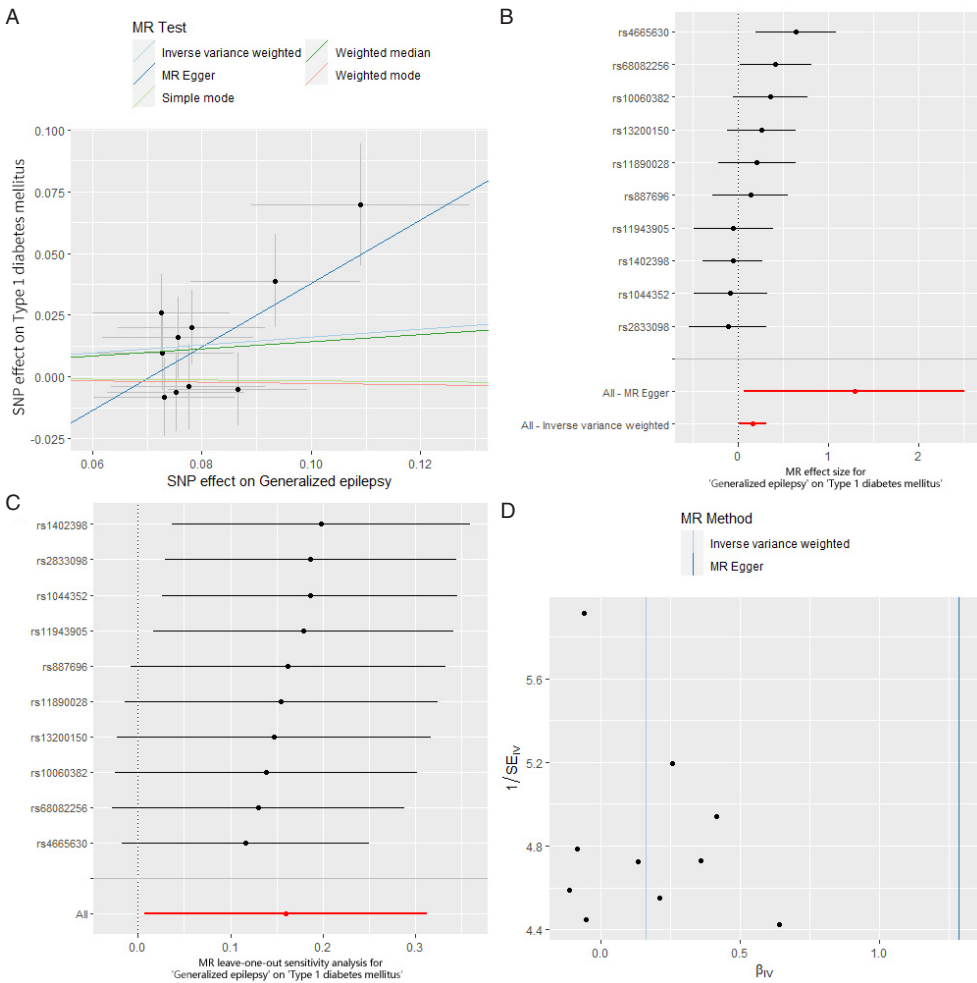


图2 敏感性分析结果

Figure 2. Results of sensitivity analysis

注：A. 散点图；B. 森林图；C. 留一法分析结果；D. 漏斗图。

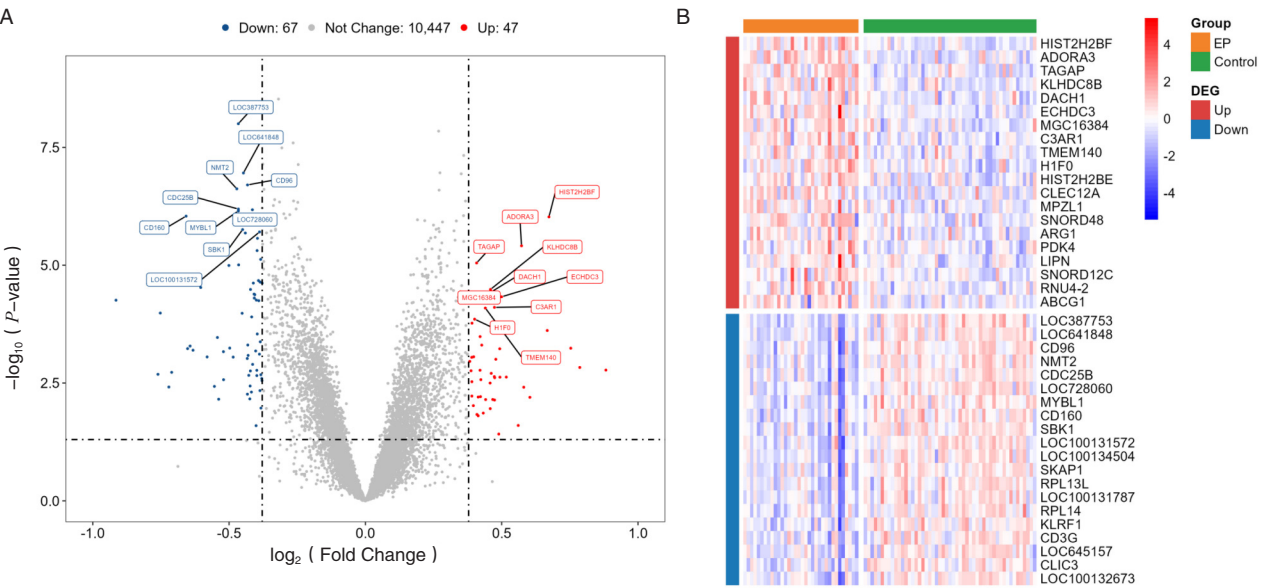


图3 癫痫差异基因筛选

Figure 3. Screening of differential genes of epilepsy

注：A. 火山图，其中蓝色圆点代表下调表达基因，红色圆点代表上调表达基因，灰色圆点代表无显著差异表达基因；B. 基因热图，EP为癫痫实验组，Control为正常对照组，DEG为差异表达基因，蓝色代表基因表达下调，红色代表基因表达上调，颜色越深代表基因表达量越高。

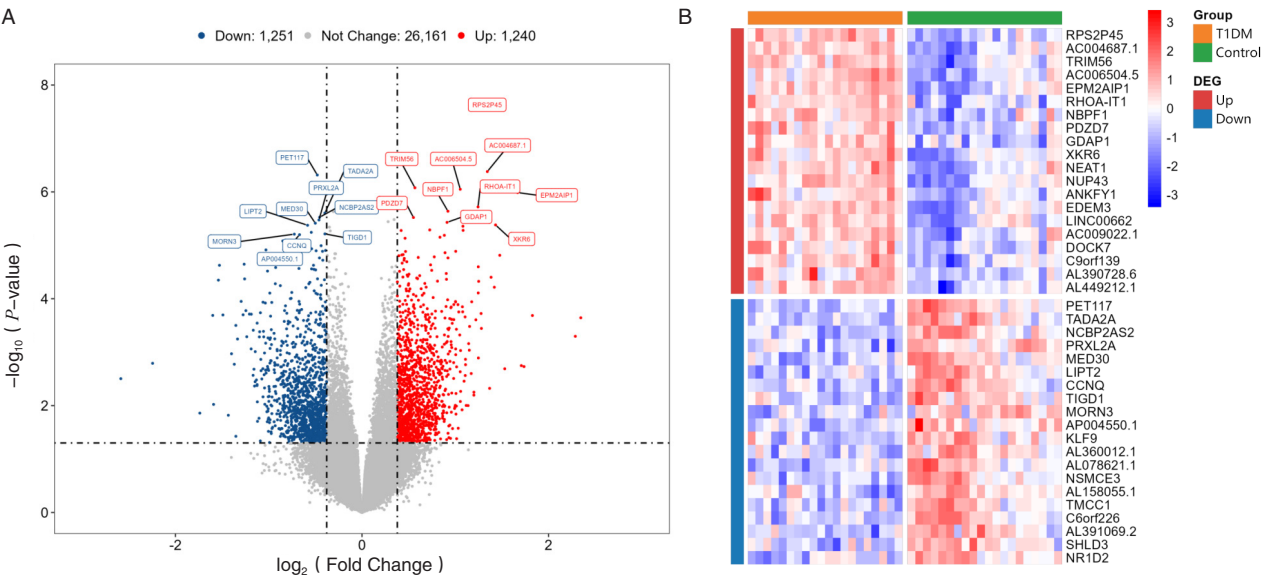


图4 1型糖尿病差异基因筛选

Figure 4. Screening of differential genes of type 1 diabetes mellitus

注：A. 火山图，其中蓝色圆点代表下调表达基因，红色圆点代表上调表达基因，灰色圆点代表无显著差异表达基因；B. 基因热图，T1DM为1型糖尿病实验组，Control为正常对照组，DEG为差异表达基因，蓝色代表基因表达下调，红色代表基因表达上调，颜色越深代表基因表达量越高。

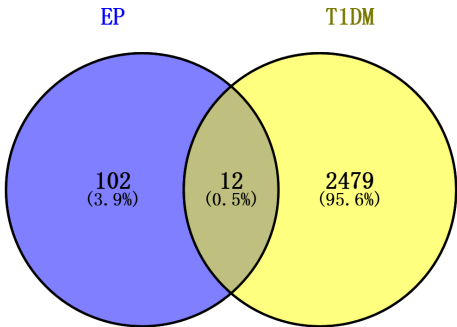


图5 癫痫与1型糖尿病共同差异基因韦恩图

Figure 5. Venn diagram of common differential genes between epilepsy and type 1 diabetes mellitus

注：EP, epilepsy, 癫痫；T1DM, type 1 diabetes mellitus, I型糖尿病。

granule lumen)、细胞质囊泡腔 (cytoplasmic vesicle lumen)、囊泡腔 (vesicle lumen)、三级颗粒 (tertiary granule) 等；分子功能 (molecular function, MF) 主要富集在有机酸结合 (organic acid binding)、丝氨酸型内肽酶活性 (serine-type endopeptidase activity)、丝氨酸型肽酶活性 (serine-type peptidase activity)、丝氨酸水解酶活性 (serine hydrolase activity) 等，见图 6。KEGG 通路富集分析结果显示，共同差异基因富集在抗叶酸耐药性 (antifolate resistance)、叶酸的运输和代谢 (folate transport and metabolism)、非洲锥虫病 (African trypanosomiasis)、疟疾 (malaria)、

军团菌病 (legionellosis)、花生四烯酸代谢 (arachidonic acid metabolism)、幽门螺旋杆菌感染中的上皮细胞信号传导 (epithelial cell signaling in Helicobacter pylori infection) 等，见图 7。

2.2.3 PPI网络图及关键基因筛选

通过 GeneMANIA 在线分析平台输入共同差异基因后生成 PPI 网络图 (图 8-A)，中间的节点为共同差异基因，外围的节点为数据库预测且与共同差异基因联系密切的基因；下载 Interactions data 导入 Cytoscape 软件进一步可视化处理 (图 8-B)，节点越大表示与之相互作用的蛋白质越多；最后利用 Cytoscape 软件中的 “Cytohubba” 插件，Analyze Network 选取 Degree 值排名前 10 的基因 (表 3)，与共同差异基因取交集得到 8 个关键基因，分别为 *HBB*、*PMP22*、*HP*、*FOLR3*、*CD69*、*DACH1*、*ELANE*、*PTGDS*。这些关键基因可能是 EP 和 T1DM 的相关生物标志物，也可能是疾病临床诊断和治疗的潜在靶点。

3 讨论

本研究通过两样本双向 MR 分析法探究 EP 与 T1DM 的因果关联。结果表明，GE 与 T1DM 之间可能存在显著的因果关系，敏感性分析验证了结果的可靠性。为进一步探究 EP 与 T1DM 的

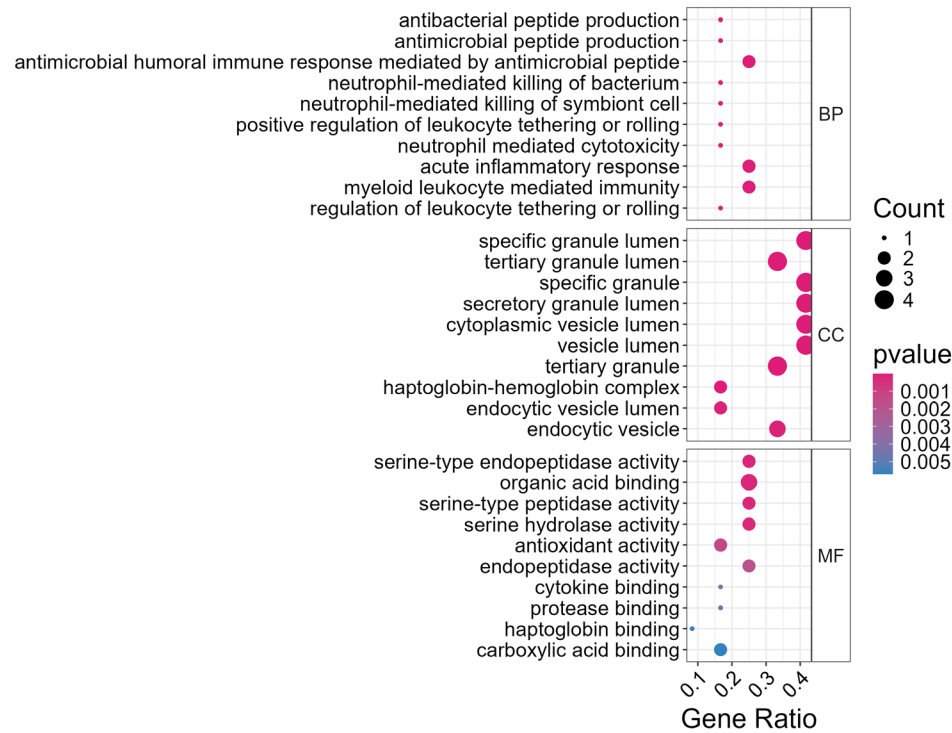


图6 共同差异基因的本体论富集结果

Figure 6. Results of Gene Ontology enrichment of common differential genes

注：BP，biological process，生物学过程；CC，cellular component，细胞组分；MF，molecular function，分子功能。

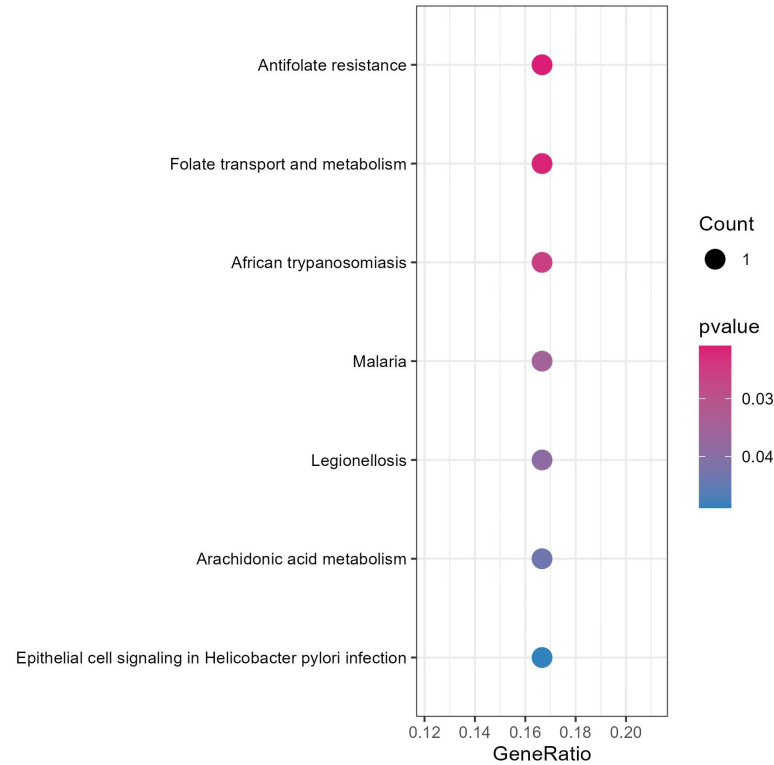


图7 共同差异基因的京都基因与基因组百科全书通路富集结果

Figure 7. Results of Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway enrichment of common differential genes

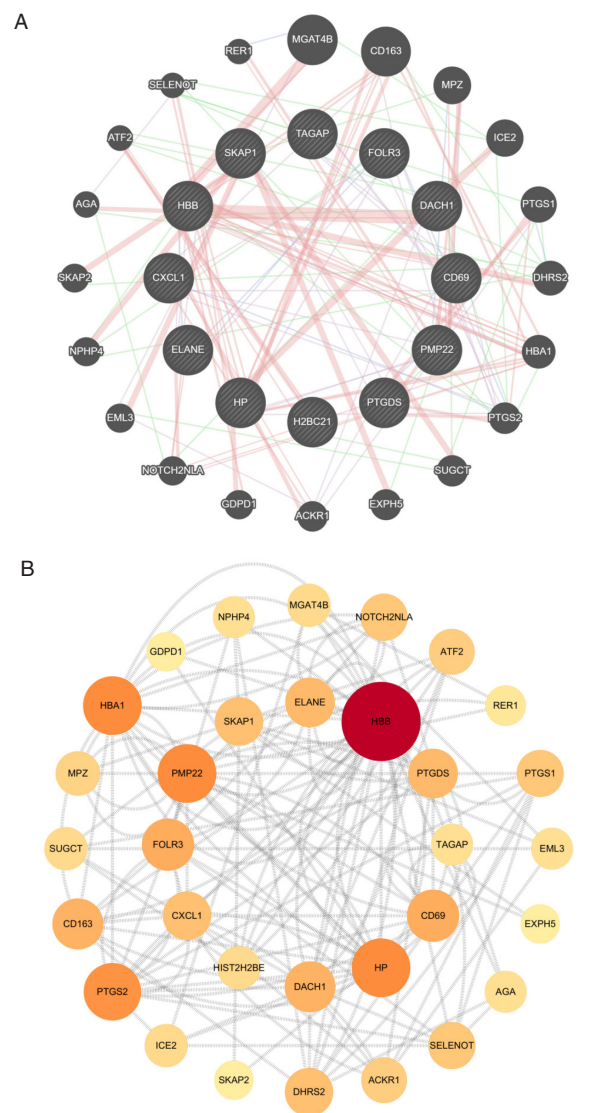


图8 蛋白质互作网络图

Figure 8. Protein-protein interaction network diagrams
注：A. GeneMANIA数据库分析图；B. Cytoscape软件进一步可视化图。

表3 Degree值排名前10的基因

Table 3. Top 10 degree values of genes

基因名	Degree值
HBB	33
PMP22	17
HP	17
HBA1	17
PTGS2	16
FOLR3	12
CD69	12
CD163	11
DACH1	11
ELANE	10
PTGDS	10

注：由于ELANE与PTGDS基因并列排名第10，故排名前10的基因包含11个基因。

相关机制及潜在生物标志物，本研究应用生物信息学方法，综合 EP 与 T1DM 相关表达数据集，共获得 12 个共同差异基因。通过富集分析确定了这些差异基因参与的生物学功能及共同调节通路。最后通过关键基因筛选，获得两种疾病的关键基因（HBB、PMP22、HP、FOLR3、CD69、DACH1、ELANE、PTGDS）。

目前，关于 EP 与 T1DM 的发病机制尚未完全阐明。本研究结果显示，GE 可能增加 T1DM 的发病风险，与 McCorry 等^[16]的研究结果一致。其中遗传易感性发挥了重要作用。HP 基因是编码结合珠蛋白（haptoglobin, Hp）的关键基因，其基因多态性与 EP 存在密切关联^[17]。研究发现，T1DM 患者体内 Hp 血清水平含量明显升高，且 HP 基因与 T1DM 患者的微血管和大血管并发症密切相关^[18-19]。通过生物信息学分析发现，HP 基因在 EP 与 T1DM 中差异表达且为关键基因，表明 HP 可能成为诊断和治疗 EP 合并 T1DM 的新靶点，但其具体作用机制和直接遗传关联证据有限，有待进一步研究加以验证。共同差异基因 GO 分析结果显示，急性炎症反应在 EP 与 T1DM 中显著富集。既往研究也表明，炎症导致的胰岛β细胞衰竭对 T1DM 的发生发展具有重要作用^[20]。在 EP 发作过程中，小胶质细胞更倾向于极化为 M1 型，其形态学上的变化表现为胞体增大、突起缩短变成圆形或杆状，具有吞噬功能，同时释放大量促炎因子，如白细胞介素-1β、肿瘤坏死因子-α、白细胞介素-6、干扰素-γ等^[21-22]。这些炎症因子可能浸润胰岛而诱发胰岛炎，或加剧患者全身性自身免疫反应，促进胰岛β细胞破坏，进一步诱导 T1DM 的发生。此外，ELANE 在两种疾病中差异表达且为关键基因，其表达水平与感染和炎症有关。研究表明，ELANE 在败血症中呈现高度表达^[23]。该基因能够影响中性粒细胞在机体中的免疫应答，其突变会引起严重先天性中性粒细胞减少症，从而加剧炎症及感染风险^[24]。此外，本研究还发现，HBB、PMP22、FOLR3、CD69、DACH1、PTGDS 为 EP 与 T1DM 共同关键基因。HBB 基因突变与典型的镰刀状红细胞贫血、溶血、炎症和微血管闭塞密切相关^[25]。PMP22 基因主要与周围神经病的发生有关^[26]。高表达的 FOLR3 在同型半胱氨酸的下调中发挥重要作用^[27]。CD69 作为淋巴细胞活化最早表达

的分子,调节 T 细胞、B 细胞和自然杀伤细胞等多种免疫细胞的功能,在免疫系统中发挥着重要的作用^[28]。*DACHI* 作为正常生理过程中调控血管重塑及上皮细胞迁移等的重要因子,也是乳腺癌、子宫内膜癌、卵巢癌和前列腺癌等肿瘤的抑制因子,可作为多种肿瘤预后的标志物^[29-31]。*PTGDS* 催化前列腺素 D2 生成并转运亲脂性物质,其表达水平与多种癌症细胞的增殖和侵袭密切相关^[32]。总体而言,EP 患者的 T1DM 发病风险增加可能是多基因-环境交互作用的结果。上述基因可能通过调控氧化应激、免疫失衡和代谢异常等共同通路,增加两种疾病的共病风险。尽管多数研究显示 T1DM 会增加 EP 的患病风险,但本研究的 MR 分析中并未发现反向因果关联。这可能是由于存在未被完全剔除的混杂因素,或与 T1DM 显著相关的 SNPs 较少,掩盖了真正潜在的因果效应。

此外,本研究存在一定局限性:一是 MR 分析双样本设计并未按年龄和性别进行分层,且 ILAE 联盟的 EP 数据研究对象基于混合人种,无法对不同性别、年龄及人种间的 MR 因果关系进行分析,研究结果是否适合亚洲人群有待进一步研究证实;二是转录组数据仅来自 GEO 数据库,且两种疾病的样本量有限,结果可能存在误差。未来研究应纳入来自不同种群的样本,并按性别、年龄等进行分层分析,以评估不同群体分析结果的适用性。

综上,MR 分析结果显示,GE 可能是 T1DM 的危险因素,结合生物信息学分析确定了参与 EP 和 T1DM 共同发病过程的 8 个关键基因。未来研究应完善相关基础实验和临床试验,进一步探讨与验证关键基因的功能和有效性。

参考文献

- 1 El Youssef N, Jegou A, Makhalova J, et al. Consciousness alteration in focal epilepsy is related to loss of signal complexity and information processing[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 22276. DOI: [10.1038/s41598-022-25861-4](https://doi.org/10.1038/s41598-022-25861-4).
- 2 Thijs RD, Rylvlin P, Surges R. Autonomic manifestations of epilepsy: emerging pathways to sudden death?[J]. *Nat Rev Neurol*, 2021, 17(12): 774-788. DOI: [10.1038/s41582-021-00574-w](https://doi.org/10.1038/s41582-021-00574-w).
- 3 Cloete L. Diabetes mellitus: an overview of the types, symptoms, complications and management[J]. *Nurs Stand*, 2022, 37(1): 61-66. DOI: [10.7748/ns.2021.e11709](https://doi.org/10.7748/ns.2021.e11709).
- 4 何敏,汪煜楠,赵琳琳,等.癫痫与糖尿病的相关性研究[J]. *自然杂志*, 2023, 45(6): 463-467. [He M, Wang YN, Zhao LL, et al. The relationship between epilepsy and diabetes mellitus[J]. *Chinese Journal of Nature*, 2023, 45(6): 463-467.] DOI: [10.3969/j.issn.0253-9608.2023.06.009](https://doi.org/10.3969/j.issn.0253-9608.2023.06.009).
- 5 Chou IC, Wang CH, Lin WD, et al. Risk of epilepsy in type 1 diabetes mellitus: a population-based cohort study[J]. *Diabetologia*, 2016, 59(6): 1196-1203. DOI: [10.1007/s00125-016-3929-0](https://doi.org/10.1007/s00125-016-3929-0).
- 6 Wu S, Ding Y. Type 1 diabetes and the risk of epilepsy: a meta-analysis[J]. *J Diabetes Investig*, 2024, 15(3): 364-373. DOI: [10.1111/jdi.14126](https://doi.org/10.1111/jdi.14126).
- 7 Li CC, Chang CC, Cherng YG, et al. Risk and outcomes of diabetes in patients with epilepsy[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 18888. DOI: [10.1038/s41598-021-98340-x](https://doi.org/10.1038/s41598-021-98340-x).
- 8 Sang N, Gao RC, Zhang MY, et al. Causal relationship between sleep traits and risk of systemic lupus erythematosus: a two-sample mendelian randomization study[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 918749. DOI: [10.3389/fimmu.2022.918749](https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.918749).
- 9 Hemani G, Zheng J, Elsworth B, et al. The MR-Base platform supports systematic causal inference across the human phenome[J]. *Elife*, 2018, 7: e34408. DOI: [10.7554/eLife.34408](https://doi.org/10.7554/eLife.34408).
- 10 Skrivankova VW, Richmond RC, Woolf BAR, et al. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology using mendelian randomization: The STROBE-MR statement[J]. *JAMA*, 2021, 326(16): 1614-1621. DOI: [10.1001/jama.2021.18236](https://doi.org/10.1001/jama.2021.18236).
- 11 Burgess S, Scott RA, Timpson NJ, et al. Using published data in Mendelian randomization: a blueprint for efficient identification of causal risk factors[J]. *Eur J Epidemiol*, 2015, 30(7): 543-552. DOI: [10.1007/s10654-015-0011-z](https://doi.org/10.1007/s10654-015-0011-z).
- 12 Greco MFD, Minelli C, Sheehan NA, et al. Detecting pleiotropy in Mendelian randomisation studies with summary data and a continuous outcome[J]. *Stat Med*, 2015, 34(21): 2926-2940. DOI: [10.1002/sim.6522](https://doi.org/10.1002/sim.6522).
- 13 Bowden J, Davey Smith G, Burgess S. Mendelian randomization with invalid instruments: effect estimation and bias detection through Egger regression[J]. *Int J Epidemiol*, 2015, 44(2): 512-525. DOI: [10.1093/ije/dyv080](https://doi.org/10.1093/ije/dyv080).
- 14 牛丁忍,李志翔,杨青,等.两样本孟德尔随机化分析乳腺癌与骨质疏松症的因果关系[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2025, 31(1): 55-61. [Niu DR, Li ZX, Yang Q, et al. Causality between breast cancer and osteoporosis: a two-sample Mendelian randomization study[J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2025, 31(1): 55-61.] DOI: [10.3969/j.issn.1006-7108.2025.01.010](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-7108.2025.01.010).
- 15 Gao H, Li J, Li Q, et al. Identification of hub genes significantly linked to subarachnoid hemorrhage and epilepsy via bioinformatics analysis[J]. *Front Neurol*, 2023, 14: 1061860. DOI: [10.3389/fneur.2023.1061860](https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1061860).
- 16 McCorry D, Nicolson A, Smith D, et al. An association between type 1 diabetes and idiopathic generalized epilepsy[J]. *Ann Neurol*, 2006, 59(1): 204-206. DOI: [10.1002/ana.20727](https://doi.org/10.1002/ana.20727).
- 17 Al-Balaghee S, Al-Balaghee Z, Shabani A, et al. Determination of haptoglobin genotype in an Iranian population with idiopathic

- generalized epilepsy[J]. Rep Biochem Mol Biol, 2015, 3(2): 51–55. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26989737/>
- 18 de Paula Silva L, de Moraes Rego FG, Picheth G, et al. Prospection of plasma proteins as biomarkers for diabetes mellitus monitoring[J]. J Diabetes Metab Disord, 2021, 20(1): 611–620. DOI: [10.1007/s40200-021-00788-1](https://doi.org/10.1007/s40200-021-00788-1).
- 19 Dalan R, Liuh Ling G. The protean role of haptoglobin and haptoglobin genotypes on vascular complications in diabetes mellitus[J]. Eur J Prev Cardiol, 2018, 25(14): 1502–1519. DOI: [10.1177/2047487318776829](https://doi.org/10.1177/2047487318776829).
- 20 Horwitz E, Krogvold L, Zhitomirsky S, et al. β -Cell DNA damage response promotes islet inflammation in type 1 diabetes[J]. Diabetes, 2018, 67(11): 2305–2318. DOI: [10.2337/db17-1006](https://doi.org/10.2337/db17-1006).
- 21 Prinz M, Jung S, Priller J. Microglia biology: one century of evolving concepts[J]. Cell, 2019, 179(2): 292–311. DOI: [10.1016/j.cell.2019.08.053](https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.08.053).
- 22 Kinoshita S, Koyama R. Pro- and anti-epileptic roles of microglia[J]. Neural Regen Res, 2021, 16(7): 1369–1371. DOI: [10.4103/1673-5374.300976](https://doi.org/10.4103/1673-5374.300976).
- 23 Wang T, Han JG, Dong W, et al. LCN2 and ELANE overexpression induces sepsis[J]. Medicine (Baltimore), 2024, 103(7): e37255. DOI: [10.1097/MD.0000000000037255](https://doi.org/10.1097/MD.0000000000037255).
- 24 Nasri M, Ritter MU, Mir P, et al. CRISPR–Cas9n-mediated ELANE promoter editing for gene therapy of severe congenital neutropenia[J]. Mol Ther, 2024, 32(6): 1628–1642. DOI: [10.1016/j.ymthe.2024.03.037](https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2024.03.037).
- 25 Newby GA, Yen JS, Woodard KJ, et al. Base editing of haematopoietic stem cells rescues sickle cell disease in mice[J]. Nature, 2021, 595(7866): 295–302. DOI: [10.1038/s41586-021-03609-w](https://doi.org/10.1038/s41586-021-03609-w).
- 26 朱啸巍, 詹飞霞, 张超, 等. PMP22 基因相关性周围神经病的遗传学和临床特点分析[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2022, 42(5): 609–616. [Zhu XW, Zhan FX, Zhang C, et al. Analysis of genetic and clinical characteristics of PMP22-associated peripheral neuropathy[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University(Medical Science), 2022, 42(5): 609–616.] DOI: [10.3969/j.issn.1674-8115.2022.05.008](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-8115.2022.05.008).
- 27 Yoshitomi R, Nakayama K, Yamashita S, et al. Plasma homocysteine concentration is associated with the expression level of folate receptor 3[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 10283. DOI: [10.1038/s41598-020-67288-9](https://doi.org/10.1038/s41598-020-67288-9).
- 28 栗景蕊, 冯芝恩, 赵红, 等. 口腔鳞状细胞癌患者外周血淋巴细胞计数及 cd69 表达[J]. 北京口腔医学, 2024, 32(5): 320–323. [Li JR, Feng ZE, Zhao H, et al. Peripheral blood lymphocyte count and CD69 expression in patients with oral squamous cell carcinoma[J]. Beijing Journal of Stomatology, 2024, 32(5): 320–323.] DOI: [10.20049/j.bjkyx.1006-673X.2024.05.004](https://doi.org/10.20049/j.bjkyx.1006-673X.2024.05.004).
- 29 Chang AH, Raftrey BC, D'Amato G, et al. DACH1 stimulates shear stress-guided endothelial cell migration and coronary artery growth through the CXCL12–CXCR4 signaling axis[J]. Genes Dev, 2017, 31(13): 1308–1324. DOI: [10.1101/gad.301549.117](https://doi.org/10.1101/gad.301549.117).
- 30 Popov VM, Zhou J, Shirley LA, et al. The cell fate determination factor DACH1 is expressed in estrogen receptor–alpha–positive breast cancer and represses estrogen receptor–alpha signaling[J]. Cancer Res, 2009, 69(14): 5752–5760. DOI: [10.1158/0008-5472.CAN-08-3992](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-3992).
- 31 Lu GF, Geng F, Xiao Z, et al. MicroRNA–6807–3p promotes the tumorigenesis of glioma by targeting downstream DACH1[J]. Brain Res, 2019, 1708: 47–57. DOI: [10.1016/j.brainres.2018.12.008](https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.12.008).
- 32 Li J, Qu Z, Zhu D, et al. Pan cancer research reveals the role of ptgds in tumor suppression and immune regulation[J]. NPJ Precis Oncol, 2025, 9(1): 319. DOI: [10.1038/s41698-025-01097-z](https://doi.org/10.1038/s41698-025-01097-z).

收稿日期: 2025 年 05 月 09 日 修回日期: 2025 年 10 月 27 日
本文编辑: 张 苗 黄 笛

引用本文: 曾佳威, 连璐, 谭雅匀, 等. 基于孟德尔随机化及生物信息学方法探究癫痫与1型糖尿病的相关性[J]. 数理医药学杂志, 2025, 38(12): 883–893. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202505019](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202505019).
Zeng JW, Lian L, Tan YY, et al. Exploring the correlation between epilepsy and type 1 diabetes mellitus based on Mendelian randomization and bioinformatics methods[J]. Journal of Mathematical Medicine, 2025, 38(12): 883–893. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202505019](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202505019).