

· 神经病学专题 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2026.01.001

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20251113.1346.012\(2025-11-13\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20251113.1346.012(2025-11-13))

基于 mSOD1 转基因小鼠模型对肌萎缩侧索硬化症特征蛋白的鉴定及验证*

吴虹辰¹ 周子豪² 张洪兰² 胡俊^{2△}

(1. 重庆松山医院神经内科, 重庆 401121; 2. 陆军军医大学第一附属医院神经内科, 重庆 400038)

[摘要] **目的** 基于突变型超氧化物歧化酶 1(mSOD1)转基因小鼠模型鉴定及验证肌萎缩侧索硬化症(ALS)发展过程中的特征蛋白。**方法** 构建 mSOD1 转基因小鼠模型(ALS 组),采用蛋白质组学检测 ALS 组小鼠脑组织和肌肉组织与野生型小鼠(WT 组)蛋白表达谱差异,进行富集分析、加权基因共表达网络分析(WGCNA)和蛋白质相互作用(PPI)网络构建,并利用 RT-qPCR、Western blot 和免疫组化进行验证。**结果** 成功构建了 mSOD1 转基因小鼠 ALS 模型。差异分析显示,ALS 组与 WT 组小鼠脑组织、肌肉组织蛋白表达有明显差异。WGCNA 显示,Turquoise 蛋白模块与 ALS 发生有关;PPI 分析结果显示,伴侣蛋白含 TCP1 亚基 2(CCT2)、应激诱导磷酸化蛋白 1(STIP1)和热休克蛋白家族 A 成员 1A(HSPA1A)可能是 ALS 进展过程中的特征蛋白。RT-qPCR 结果显示,ALS 组 CCT2、STIP1 和 HSPA1A mRNA 相对表达水平高于 WT 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** CCT2、STIP1 和 HSPA1A 可能是 mSOD1 突变 ALS 进展过程中的特征蛋白。

[关键词] 肌萎缩侧索硬化症;突变型超氧化物歧化酶 1;伴侣蛋白含 TCP1 亚基 2;应激诱导磷酸化蛋白 1;热休克蛋白家族 A 成员 1A

[中图分类号] R742

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2026)01-0001-08

Identification and validation of characteristic proteins of amyotrophic lateral sclerosis based on mSOD1 transgenic mouse model*

WU Hongchen¹, ZHOU Zihao², ZHANG Honglan², HU Jun^{2△}

(1. Department of Neurology, Chongqing Songshan Hospital, Chongqing 401121, China;

2. Department of Neurology, First Affiliated Hospital of Army Military Medical University, Chongqing 400038, China)

[Abstract] **Objective** To identify and validate the characteristic proteins in the development progression of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) based on the mutant superoxide dismutase 1 (mSOD1) transgenic mouse model. **Methods** The mSOD1 transgenic mouse model was constructed, and the proteomics was used to detect the protein expression profile differences in the brain tissues and muscle tissues between the ALS group and wild-type mice (WT group). The enrichment analysis, WGCNA analysis and PPI network construction were conducted. RT-qPCR, Western blot and immunohistochemistry were used to conduct the verification. **Results** The mSOD1 transgenic mouse ALS model was successfully established. The differential analysis showed that there was significantly difference in protein expression in the brain and muscle tissues between the ALS group and Wt group. WGCNA showed that the Turquoise protein module was associated with ALS occurrence, and the PPI analysis results showed that chaperonin containing TCP1-subunit 2 (CCT2), recombinant human phospho-stress-inducible protein 1 (STIP1) and heat shock protein 70kDa protein 1A (HSPA1A) might be the characteristic proteins in ALS development process. The RT-qPCR results showed that CCT2, STIP1 and HSPA1A in the ALS group were higher than those in the WT group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** CCT2, STIP1 and HSPA1A may be the characteristic proteins in the developing process of ALS caused by mSOD1 mutation.

[Key words] amyotrophic lateral sclerosis; mutant superoxide dismutase 1; chaperonin containing TCP1-

* 基金项目: 重庆市自然科学基金项目(2021-cstc2021jcyj-msxmX0685); 重庆市自然科学基金创新发展联合基金重点项目(CSTB 2023NSCQ-LZX0139)。△ 通信作者, E-mail: hujun@TMMU.edu.cn。

subunit 2; recombinant human phospho-stress-inducible protein 1; heat shock protein 70kDa protein 1A

肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种以运动神经元变性为特征的进行性神经退行性疾病,通常导致肌肉无力、萎缩和最终的呼吸衰竭^[1-3]。尽管 ALS 的发病机制尚未完全阐明,但近年来的研究表明其发生可能与多种遗传和环境因素有关^[4]。ALS 的病理特征包括上、下运动神经元退变和胶质细胞活化,而这些细胞的损伤和异常活性会导致炎症反应和氧化应激的进一步增强^[5-6]。在多种遗传突变中,超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase 1, SOD1) 基因的突变被广泛认为是 ALS 发生的关键因素之一^[7-8]。SOD1 基因突变导致的毒性作用可能通过促进蛋白质错误折叠、聚集和氧化应激等途径加剧神经元损伤,因此,基于 SOD1 基因突变小鼠模型的研究在 ALS 的分子机制探索和潜在治疗靶标筛选中具有重要价值^[9-10]。

通过构建突变型 SOD1 (mutant SOD1, mSOD1) 转基因小鼠模型来模拟 ALS 的疾病过程是目前研究 ALS 致病机制的主要方法之一^[11-12]。蛋白质组学技术则已被证明是揭示疾病特征蛋白的重要工具,可通过检测不同组织中蛋白的表达谱,筛选出与疾病进展相关的关键蛋白^[13-15]。因此,本研究利用蛋白质组学技术对 ALS 转基因小鼠的脑组织和肌肉组织的蛋白表达进行分析,结合生物信息学分析的方法,系统评估 mSOD1 转基因小鼠的蛋白表达变化,筛选出了 ALS 疾病进展过程中可能的核心蛋白分子。

为了进一步确定特征蛋白在 ALS 中的潜在功能,本研究采用加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)和蛋白质相互作用(protein-protein interactions, PPI)网络构建来识别与 ALS 进展密切相关的核心蛋白模块。通过 WGCNA 分析,能够将表达相似的蛋白分为不同的模块,从而识别出与 ALS 表型相关的蛋白模块。同时,利用 Cytoscape 软件的 cytohubba 插件对特征蛋白模块进行 PPI 网络分析,筛选出伴侣蛋白含 TCP1 亚基 2 (chaperonin containing TCP1-subunit 2, CCT2)、应激诱导磷酸化蛋白 1 (recombinant human phospho-stress-inducible protein 1, STIP1) 和热休克蛋白家族 A 成员 1A (heat shock protein 70kDa protein 1A, HSPA1A) 等与 ALS 进展相关的候选特征蛋白。最后,本研究通过 RT-qPCR、Western blot 和免疫组织化学等方法对这些候选蛋白的表达进行了验证,以确认它们在 ALS 进展中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

选取 80 只无特定病原体 (specific pathogen free,

SPF) 级 6~7 周龄 C57BL/6J 雌性小鼠作为研究对象,体重 17~19 g,购于陆军军医大学实验动物中心 [生产许可证号:SCXK(渝)20170002]。实验动物购买后均在陆军军医大学动物实验中心适应性饲养 1 周 [使用许可证号:SYXK(渝)20170002],分笼饲养,动物可自由摄食和饮水,实验室温度确保在 (20±5)℃,相对湿度在 (55±5)% ,换气频率 8~10 次/h, 12 h 明暗照明循环。按照“3R”原则对实验动物耳标进行编号并开展实验操作。本研究已通过陆军军医大学实验动物福利伦理委员会批准 (审批号:AMU-WEC20211659)。

1.2 方法

1.2.1 构建 mSOD1 转基因小鼠模型

构建 SOD1 基因突变小鼠模型以模拟 ALS 的发病过程。选用 C57BL/6J 小鼠 40 只,通过基因编辑技术导入 SOD1 突变体基因,使其在小鼠体内特异性表达。突变小鼠在出生后定期进行神经行为评分,以观察 ALS 相关症状的出现及进展情况。

1.2.2 组织标本分离

在小鼠表现出明显的 ALS 症状后,将小鼠分为 mSOD1 突变组 (ALS 组) 和野生型对照组 (WT 组)。解剖小鼠,在无菌条件下分别采集脑组织和肌肉组织标本。取样后,立即在液氮中冷冻保存,以保持标本的完整性和稳定性,为后续的蛋白质组学检测提供可靠的标本来源。

1.2.3 蛋白质组学检测

利用蛋白质组学技术进行脑组织和肌肉组织的差异蛋白表达分析。首先,通过蛋白提取试剂提取脑组织和肌肉组织标本中的总蛋白,并采用 BCA 法进行蛋白浓度测定。随后,使用液相色谱串联质谱技术对蛋白样品进行高通量检测,并采用串联质量标签 (tandem mass tags, TMT) 标记技术对样品进行多重标记,以确保检测的灵敏度和准确度。数据采集采用双向质谱模式,对获得的蛋白质谱数据进行定量和定性分析。

1.2.4 生物信息学分析

对蛋白质组学检测所得数据进行生物信息学分析,采用 R 语言中的 Limma 包进行差异表达分析,以筛选出 ALS 组小鼠与 WT 组小鼠之间的显著差异表达的蛋白质。随后,通过基因本体 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析,识别出与差异表达的蛋白质相关的生物学过程和信号通路。同时,利用 WGCNA 将差异表达的蛋白质分为不同的模块,从而识别出与 ALS 进展密切相关的核心蛋白

模块。最后,使用 Cytoscape 软件的 cytohubba 插件构建 PPI,以确定 ALS 进展中的关键特征蛋白。

1.2.5 特征蛋白验证

通过 RT-qPCR、Western blot 和免疫组化对特征蛋白在小鼠脑组织和肌肉组织中的表达进行验证。

1.2.5.1 RT-qPCR

采用 TRIzol 法提取标本总 RNA,经微量分光光度计与电泳检测质量合格后,使用逆转录试剂盒将 1 μ g 总 RNA 合成 cDNA。以 cDNA 为模板,SYBR Green 法进行 RT-qPCR 扩增,反应体系包含针对目的基因及内参基因(如 GAPDH)的特异性引物,每个标本设置 3 个技术重复及无模板对照。扩增程序如下:95 $^{\circ}$ C 30 s 预变性,继以 40 个循环的 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s。最终采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因相对表达水平,并进行统计学分析。

1.2.5.2 Western blot

取适量组织或细胞标本,加入预冷的 RIPA 裂解液(含蛋白酶抑制剂)于冰上裂解 30 min,随后在 4 $^{\circ}$ C 条件下以 12 000 \times g 离心 15 min,收集上清液即为总蛋白样品。采用二辛可酸法(bicinchoninic acid assay,BCA)测定蛋白浓度,以 5 \times 上样缓冲液调整样品浓度,100 $^{\circ}$ C 煮沸 10 min 使蛋白变性。取等量蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,浓缩胶与分离胶浓度根据目标蛋白相对分子量选择。电泳结束后,于冰浴条件下以恒流 200 mA 将蛋白转至聚偏二氟乙烯膜上。转膜完成后,将膜置于按说明书配置的抗体封闭液中室温封闭 1 h。随后加入按说明书稀释的一抗工作液,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。次日,使用 TBST 洗涤膜 3 次,每次 10 min,加入相应种属来源的辣根过氧化物酶标记二抗,室温孵育 1 h。再次洗涤后,使用电致化学发光试剂均匀覆盖膜表面,于化学发光成像系统中显影并采集图像。最后采用 ImageJ 软件分析目标条带与内参的灰度值,计算相对表达水平并进行统计学分析。

1.2.5.3 免疫组化

组织标本经 4%多聚甲醛固定 24 h 后,进行石蜡包埋并制备 4 μ m 切片。切片经脱蜡、水化后,置于枸橼酸钠缓冲液(pH=6.0)中进行抗原热修复。自然冷却后,使用 3%过氧化氢溶液室温孵育 10 min 以阻断内源性过氧化物酶活性,继而以 5%牛血清白蛋白室温封闭 30 min。弃去封闭液,滴加适当稀释的一抗工作液,4 $^{\circ}$ C 湿盒中孵育过夜。PBS 洗涤后,滴加相应种属的辣根过氧化物酶标记二抗,室温孵育 1 h。再次洗涤后,使用二氨基联苯胺显色试剂盒进行显色,于显微镜下控制反应时间。苏木素复染细胞核,经脱水、透明后,以中性树胶封片。最后于光学显微镜下观察并采集图像,采用 Image-Pro Plus 对目标蛋白的

表达水平进行半定量分析。

1.3 统计学处理

采用 GraphPad Prism8.0 软件对数据进行分析。计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 mSOD1 突变小鼠脑组织中特征蛋白的鉴定

主成分分析结果显示,ALS 组小鼠与 WT 组小鼠脑组织蛋白表达谱有明显差异,见图 1A。ALS 组小鼠脑组织高表达 RABL3、PDK1、EIF4G3 等蛋白,见图 1B。GO 富集分析显示,差异表达蛋白明显富集于宿主对病毒防御反应的调节(regulation of defense response to virus by host)、主动跨膜转运蛋白活性(active transmembrane transporter activity)等,见图 1C。KEGG 富集分析显示差异表达蛋白主要富集于 Ras 等信号通路,见图 1D。

2.2 mSOD1 突变小鼠肌肉组织中特征蛋白的鉴定

主成分分析结果显示,ALS 组与 WT 组小鼠肌肉组织蛋白表达谱存在明显差异,见图 2A。ALS 组小鼠脑组织高表达 ACADS、UQCRC10 等蛋白,见图 2B。GO 富集分析显示,差异蛋白富集于脂肪酸代谢过程(fatty acid metabolic process)等通路,见图 2C。KEGG 富集分析显示差异蛋白富集于 AMPK 信号等通路,见图 2D。

2.3 mSOD1 突变小鼠脑组织和肌肉组织特征蛋白的联合分析

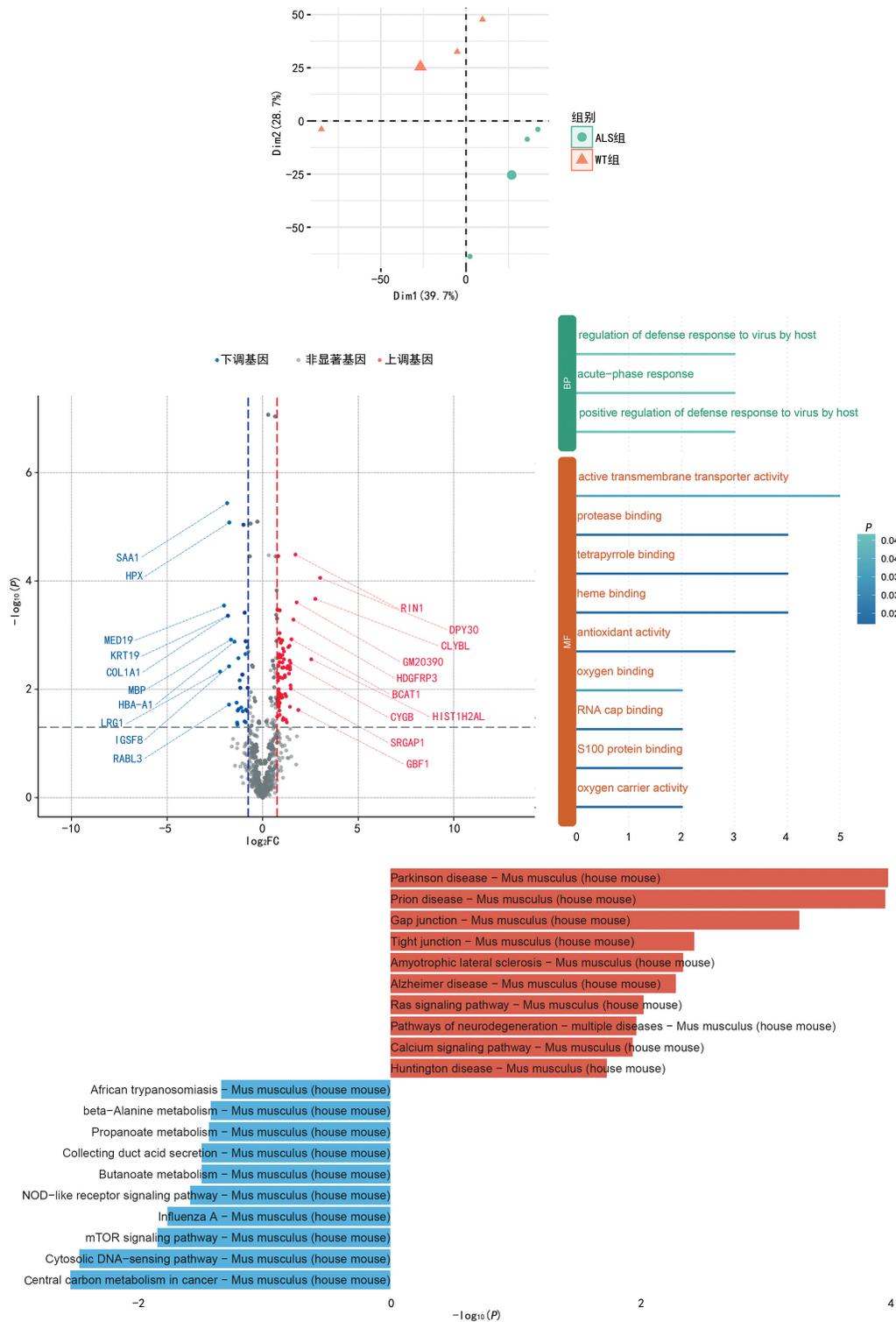
利用 WGCNA 对 mSOD1 突变小鼠脑组织和肌肉组织特征蛋白进行联合分析。聚类发现蛋白质被分为各个模块,且各模块之间、各模块蛋白之间均有相关性,见图 3A~C。Turquoise 模块蛋白与 ALS 的发生具有明显相关性,见图 3D。

2.4 mSOD1 突变小鼠特异性 PPI 构建

利用 Cytoscape 软件的 cytohubba 插件对 Turquoise 蛋白模块进行 PPI 网络分析。分析发现 CCT2、STIP1 和 HSPA1A 可能是 ALS 发展过程中的核心蛋白。

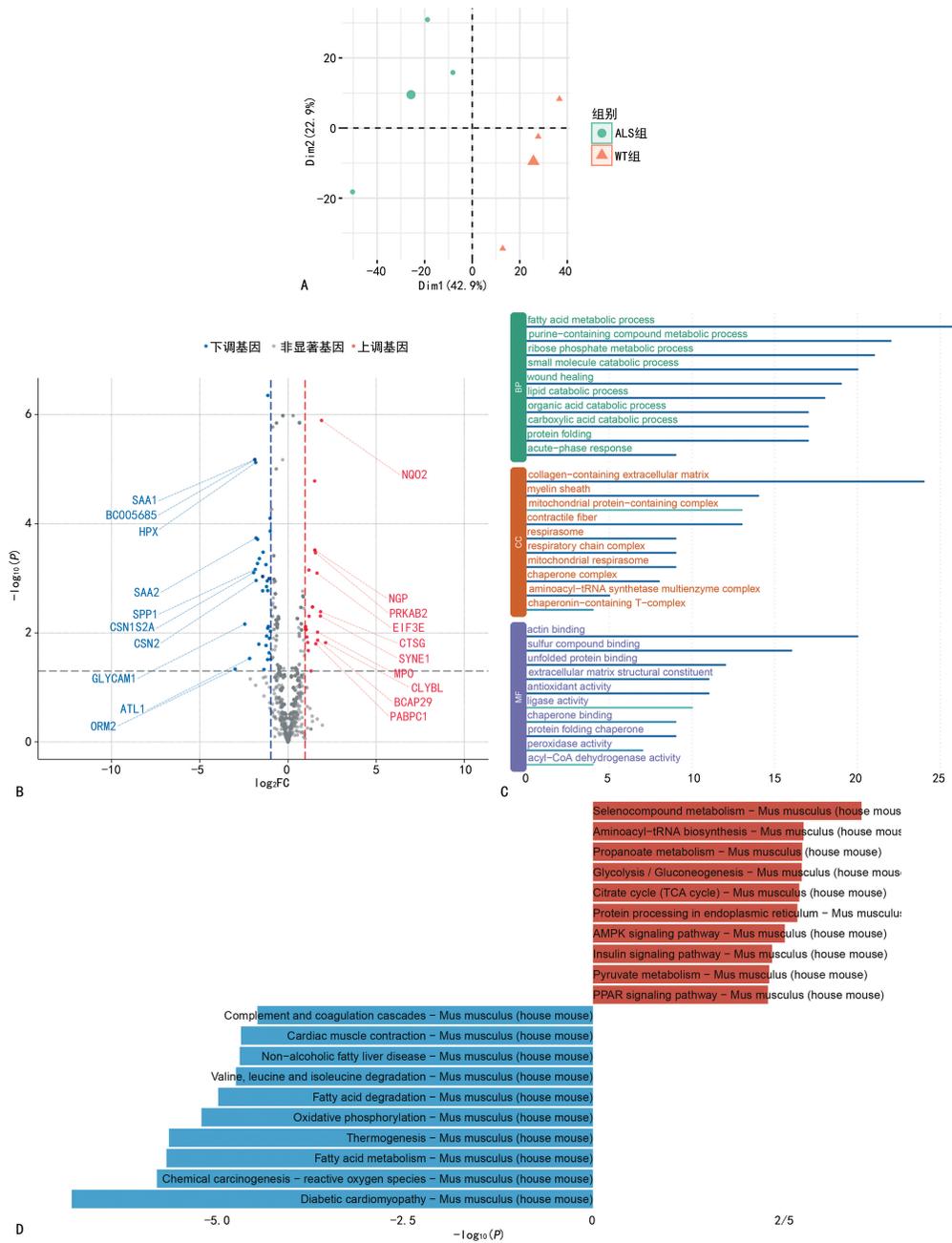
2.5 RT-qPCR、免疫组化和 Western blot 验证 CCT2、STIP1 和 HSPA1A 相对表达水平在小鼠中的表达情况

利用 RT-qPCR、免疫组化和 Western blot 验证 CCT2、STIP1 和 HSPA1A 在小鼠中的表达情况。RT-qPCR 结果显示,CCT2、STIP1 和 HSPA1A mRNA 相对表达水平在 ALS 组中高于 WT 组,差异有统计学意义($P<0.05$),提示 CCT2、STIP1 和 HSPA1A 可能是 mSOD1 突变 ALS 进展过程中的特征蛋白,见图 4~6。



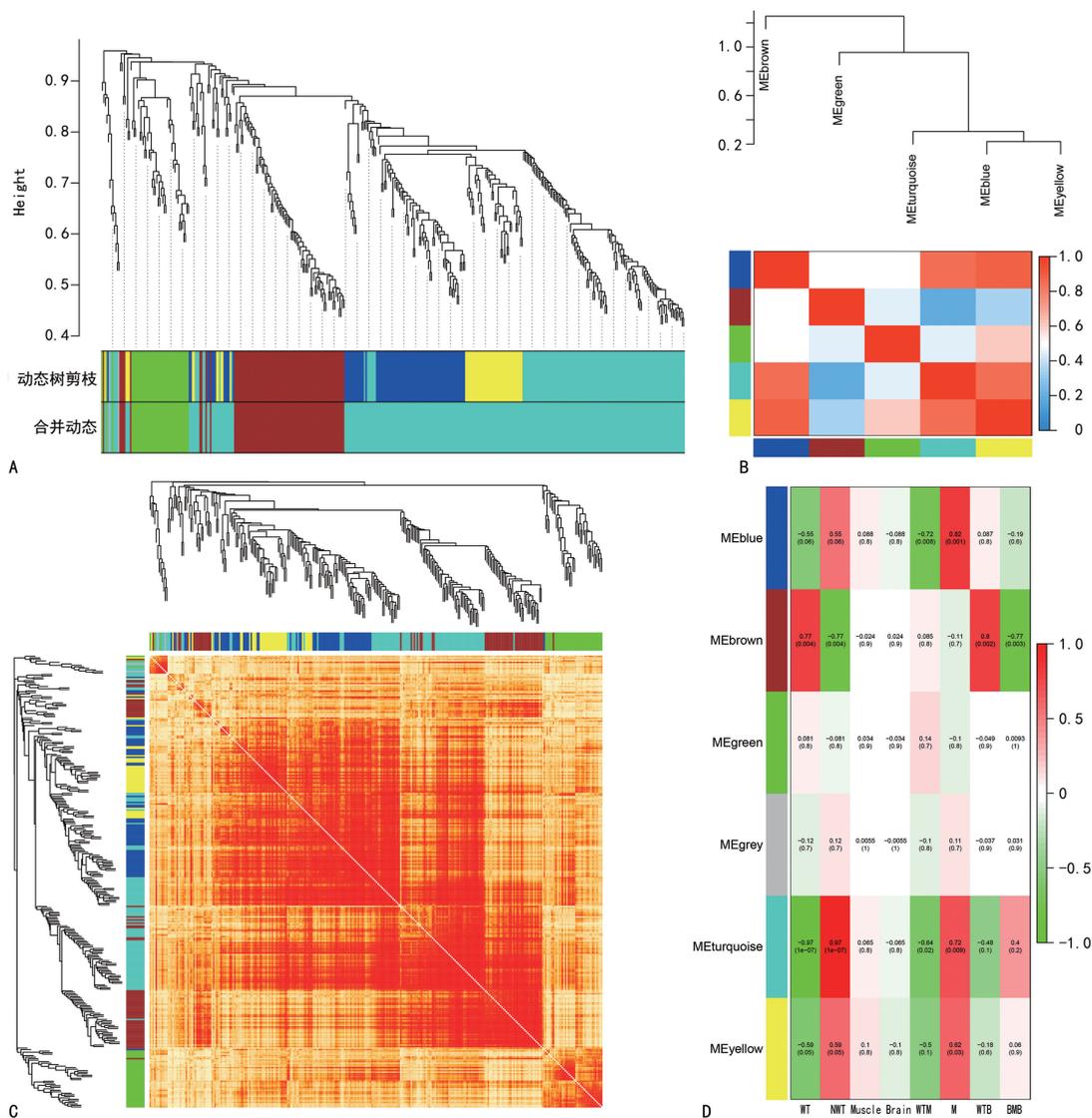
A: 主成分分析。B: 火山图展示差异表达基因。C: GO 分析; MF: 分子功能; BP: 生物过程; regulation of defense response to virus by host: 宿主对病毒防御反应的调节; acute-phase response: 急性期反应; positive regulation of defense response to virus by host: 宿主对病毒防御反应的正向调节; active transmembrane transporter activity: 主动跨膜转运蛋白活性; protease binding: 蛋白酶结合; tetrapyrrole binding: 四吡咯结合; heme binding: 血红素结合; antioxidant activity: 抗氧化活性; oxygen binding: 氧结合; RNA cap binding: RNA 帽结合; S100 protein binding: S100 蛋白结合; oxygen carrier activity: 氧载体活性。D: KEGG 富集分析; African trypanosomiasis: 非洲锥虫病; beta-Alanine metabolism: β -丙氨酸代谢; Propanoate metabolism: 丙酸代谢; Collecting duct acid secretion: 集合管酸分泌; Butanoate metabolism: 丁酸代谢; NOD-like receptor signaling pathway: NOD 样受体信号通路; Influenza A: 甲型流感; mTOR signaling pathway: mTOR 信号通路; Cytosolic DNA-sensing pathway: 细胞质 DNA 感知通路; Central carbon metabolism in cancer: 癌症中的中心碳代谢; Parkinson disease: 帕金森病; Prion disease: 朊病毒病; Gap junction: 间隙连接; Tight junction: 紧密连接; Amyotrophic lateral sclerosis: 肌萎缩侧索硬化症; Alzheimer disease: 阿尔茨海默病; Ras signaling pathway: Ras 信号通路; Pathways of neurodegeneration-multiple diseases: 神经退行性病变通路-多种疾病; Calcium signaling pathway: 钙信号通路; Huntington disease: 亨廷顿病; Mus musculus (house mouse): 小鼠(家鼠)。

图 1 mSOD1 转基因小鼠脑组织中特征蛋白的鉴定



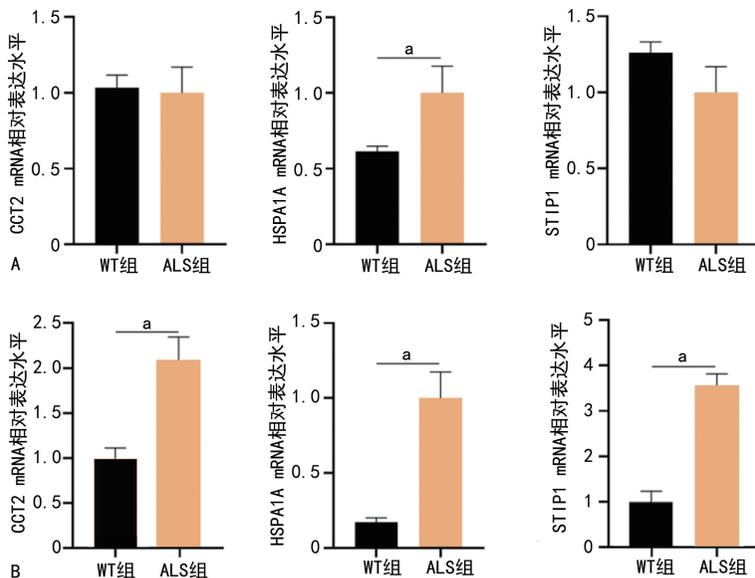
A: 主成分分析。B: 火山图展示差异基因。C: GO 分析; fatty acid metabolic process: 脂肪酸代谢过程; purine-containing compound metabolic process: 含嘌呤化合物代谢过程; ribose phosphate metabolic process: 核糖磷酸代谢过程; small molecule catabolic process: 小分子分解代谢过程; wound healing: 伤口愈合; lipid catabolic process: 脂质分解代谢过程; organic acid catabolic process: 有机酸分解代谢过程; carboxylic acid catabolic process: 羧酸分解代谢过程; protein folding: 蛋白质折叠; acute-phase response: 急性期反应; collagen-containing extracellular matrix: 含胶原蛋白的细胞外基质; myelin sheath: 髓鞘; mitochondrial protein-containing complex: 含线粒体蛋白的复合物; contractile fiber: 收缩纤维; respirasome: 呼吸体; respiratory chain complex: 呼吸链复合物; mitochondrial respirasome: 线粒体呼吸体; chaperone complex: 伴侣蛋白复合物; aminoacyl-tRNA synthetase multienzyme complex: 氨酰-tRNA 合成酶多酶复合物; chaperonin-containing T-complex: 含伴侣蛋白的 T 复合物; actin binding: 肌动蛋白结合; sulfur compound binding: 硫化物结合; unfolded protein binding: 未折叠蛋白结合; extracellular matrix structural constituent: 细胞外基质结构成分; antioxidant activity: 抗氧化活性; ligase activity: 连接酶活性; chaperone binding: 伴侣蛋白结合; protein folding chaperone: 蛋白折叠伴侣蛋白; peroxidase activity: 过氧化物酶活性; acyl-CoA dehydrogenase activity: 酰基-CoA 脱氢酶活性。D: KEGG 富集分析; Component and coagulation cascades: 补体和凝血级联反应; Cardiac muscle contraction: 心肌收缩; Non-alcoholic fatty liver disease: 非酒精性脂肪肝; Valine, leucine and isoleucine degradation: 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解; Fatty acid degradation: 脂肪酸降解; Oxidative phosphorylation: 氧化磷酸化; Thermogenesis: 产热; Fatty acid metabolism: 脂肪酸代谢; Chemical carcinogenesis-reactive oxygen species: 化学致癌作用-活性氧; Diabetic cardiomyopathy: 糖尿病性心脏病; Selenocompound metabolism: 硒化合物代谢; Aminoacyl-tRNA biosynthesis: 氨酰-tRNA 生物合成; Propanoate metabolism: 丙酸代谢; Glycolysis/Gluconeogenesis: 糖酵解/糖异生; Citrate cycle (TCA cycle): 柠檬酸循环(TCA 循环); Protein processing in endoplasmic reticulum: 内质网中的蛋白加工; AMPK signaling pathway: AMPK 信号通路; Insulin signaling pathway: 胰岛素信号通路; Pyruvate metabolism: 丙酮酸代谢; PPAR signaling pathway: 过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路; Mus musculus (house mouse): 小鼠(家鼠)。

图 2 mSOD1 转基因小鼠肌肉组织中的特征蛋白质的鉴定



A: 树状图。B: 蛋白模块相关性。C: 各模块核心基因相关性热图。D: 蛋白模块与性状的相关性热图。MEbrown: 棕色模块; MEgreen: 绿色模块; MEturquoise: 青绿色模块; MEblue: 蓝色模块; MEyellow: 黄色模块; Muscle: 肌肉组织; Brain: 脑组织; WT: 野生型小鼠脑组织及肌肉组织; NWT: 突变型小鼠脑组织及肌肉组织; WTM: 野生型小鼠的肌肉组织; WTB: 野生型小鼠的脑组织; BMB: 突变型小鼠的脑组织。

图 3 mSOD1 转基因小鼠脑组织和肌肉组织特征蛋白 WGCNA 分析



A: 脑组织。B: 肌肉组织。^a: $P < 0.05$ 。

图 4 RT-qPCR 检测各组织中的基因表达

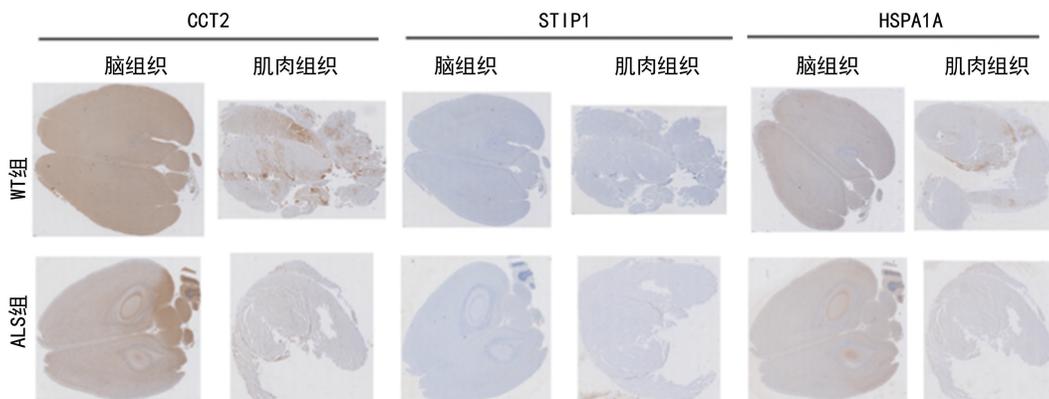


图 5 免疫组化检测各蛋白在组织切片中的定位和表达(10×)

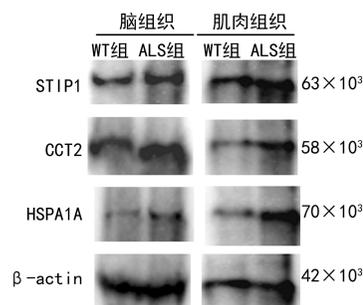


图 6 Western blot 检测各组织中蛋白表达

3 讨论

本研究通过构建 mSOD1 转基因小鼠模型,系统分析了 ALS 进展过程中脑组织和肌肉组织中差异蛋白的表达情况,发现了多个与 ALS 病理过程相关的特征蛋白,进而识别出 CCT2、STIP1 和 HSPA1A 等潜在的核心蛋白,为 ALS 的分子机制研究提供了新线索。

ALS 的发病机制复杂,涉及遗传、蛋白聚集、氧化应激、神经炎症等多重因素^[6]。其中 SOD1 突变已被认为是 ALS 的主要致病突变之一^[17]。SOD1 基因突变导致蛋白质错误折叠和聚集,从而产生氧化应激反应并引发神经元损伤^[18]。本研究使用 mSOD1 转基因小鼠模型,能较好地模拟 ALS 的发病过程。蛋白质组学分析的结果进一步揭示了 ALS 进展中的分子变化。研究结果显示,mSOD1 转基因小鼠的脑组织和肌肉组织中存在多个蛋白差异表达,这些蛋白涉及信号传导、代谢调节、应激反应等多个重要生物学过程。该发现支持 ALS 是一种系统性疾病,提示疾病的发展可能通过多个生物学通路的失调而得以加速。

CCT2 是一种分子伴侣蛋白,参与多种蛋白的折叠和装配过程^[19-20]。在 ALS 的背景下,CCT2 可能通过调节蛋白质折叠和防止错误折叠蛋白的积累,减缓神经元的损伤。STIP1 则是热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, HSP70) 和 HSP90 的共伴侣,参与蛋白稳态的维持,在 ALS 的病理发展中可能发挥抗

氧化应激和保护神经元的作用^[21-22]。HSPA1A 作为应激相关蛋白,也参与神经保护机制,可能通过抑制炎症和氧化应激,缓解 ALS 症状^[23-24]。这些发现不仅揭示了 ALS 进展过程中分子伴侣蛋白的重要作用,也提示这些蛋白可能作为潜在的治疗靶点,具有临床转化潜力。

蛋白质组学技术可揭示神经退行性疾病进程中蛋白表达的变化,有助于筛选出疾病的潜在分子机制。但蛋白质组学分析的结果复杂多样,还需借助生物信息学分析才能得出有效结论。因此,本研究利用高通量质谱技术对 SOD1 突变小鼠组织进行定量蛋白分析后,对得到的蛋白质组学分析结果用 GO 和 KEGG 富集分析来识别与 ALS 相关的信号通路,同时利用 WGCNA 来构建 PPI 网络,识别与 ALS 相关的蛋白模块,得到了与 ALS 疾病进程相关的 CCT2、STIP1 和 HSPA1A 等候选特征蛋白。

WGCNA 和 PPI 网络分析是本研究用于识别 ALS 特征蛋白的关键方法。WGCNA 通过聚类算法将表达量相似的蛋白分为不同模块,从而更有效地识别出与 ALS 相关的蛋白模块,解决了传统差异分析方法在处理高维度数据时的局限。PPI 网络分析则进一步整合了蛋白之间的相互作用信息,筛选出可能在 ALS 病程中发挥核心作用的蛋白节点。结合 WGCNA 和 PPI 网络分析,本研究成功筛选出 CCT2、STIP1 和 HSPA1A 等与 ALS 进展相关的候选特征蛋白,这些蛋白可能作为 ALS 的生物标志物,为今后治疗策略的制订提供了重要依据。

由于 mSOD1 转基因小鼠模型并不能完全反映人类 ALS 的复杂病理背景,因此还需要对筛选出的 CCT2、STIP1 和 HSPA1A 等特征蛋白在体内外试验中进一步验证其具体作用。蛋白质组学数据复杂多样,存在某些信息遗漏的可能,还需结合其他实验技术对关键蛋白进行更深入的功能验证。有必要将 ALS 模型扩展到其他基因突变型或利用诱导多能干

细胞模型,以进一步验证这些蛋白的生物学功能及其在疾病治疗中的潜力。

综上所述,本研究通过构建 mSOD1 转基因小鼠模型,系统分析了 ALS 进展过程中脑组织和肌肉组织的表达差异蛋白,鉴定出 CCT2、STIP1 和 HSPA1A 等与 ALS 相关的特征蛋白。蛋白质组学结合 WGCNA 和 PPI 网络分析的结果表明,这些蛋白可能在 ALS 的病程中发挥了重要作用,提示其具有潜在的诊断和治疗价值,为 ALS 的分子机制探索和新型治疗靶标的发现提供了重要参考。

利益冲突:所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] GOUTMAN S A, HARDIMAN O, AL-CHALABI A, et al. Recent advances in the diagnosis and prognosis of amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Lancet Neurol*, 2022, 21(5): 480-493.
- [2] ILIEVA H, VULLAGANTI M, KWAN J. Advances in molecular pathology, diagnosis, and treatment of amyotrophic lateral sclerosis [J]. *BMJ*, 2023, 383: e075037.
- [3] FELDMAN E L, GOUTMAN S A, PETRI S, et al. Amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Lancet*, 2022, 400(10360): 1363-1380.
- [4] RECHTMAN L, BRENNER S, WRIGHT M, et al. Impact of the National Amyotrophic Lateral Sclerosis Registry: analysis of registry-funded research [J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2022, 9(11): 1692-1701.
- [5] GOUTMAN S A, HARDIMAN O, AL-CHALABI A, et al. Emerging insights into the complex genetics and pathophysiology of amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Lancet Neurol*, 2022, 21(5): 465-479.
- [6] FELDMAN E L, GOUTMAN S A, PETRI S, et al. Amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Lancet*, 2022, 400(10360): 1363-1380.
- [7] KIM G, GAUTIER O, TASSONI-TSUCHIDA E, et al. ALS genetics: gains, losses, and implications for future therapies [J]. *Neuron*, 2020, 108(5): 822-842.
- [8] HABERKAMP M, AISLAITNER G, MARTÍNEZ-LAPISCINA E H, et al. Tofersen for SOD-1-associated amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Lancet Neurol*, 2024, 23(8): 772-773.
- [9] WANG L Q, MA Y, ZHANG M Y, et al. Amyloid fibril structures and ferroptosis activation induced by ALS-causing SOD1 mutations [J]. *Sci Adv*, 2024, 10(44): eado8499.
- [10] LIU X, ZHANG J, LI J, et al. Pharmacological inhibition of ALCAT1 mitigates amyotrophic lateral sclerosis by attenuating SOD1 protein aggregation [J]. *Mol Metab*, 2022, 63: 101536.
- [11] GENÇ B, GAUTAM M, GÖZÜTOK Ö, et al. Improving mitochondria and ER stability helps eliminate upper motor neuron degeneration that occurs due to mSOD1 toxicity and TDP-43 pathology [J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(2): e336.
- [12] TROLESE M C, MARIANI A, TERAIO M, et al. CXCL13/CXCR5 signalling is pivotal to preserve motor neurons in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *E Bio Medicine*, 2020, 62: 103097.
- [13] ZHOU Y, LIH T M, PAN J, et al. Proteomic signatures of 16 major types of human cancer reveal universal and cancer-type-specific proteins for the identification of potential therapeutic targets [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 170.
- [14] ABDI I Y, BARTL M, DAKNA M, et al. Cross-sectional proteomic expression in Parkinson's disease-related proteins in drug-naïve patients vs healthy controls with longitudinal clinical follow-up [J]. *Neurobiol Dis*, 2023, 177: 105997.
- [15] 赵东丽, 白济东, 段仙芝. 应用生物信息学分析筛选与鉴定宫颈癌的关键生物标志物 [J]. *重庆医学*, 2020, 49(23): 3997-4000.
- [16] ORIENTI I, ARMIDA M, DOBROWOLNY G, et al. Fenretinide beneficial effects on amyotrophic lateral sclerosis-associated SOD1^{G93A} mutant protein toxicity: in vitro and in vivo evidences [J]. *Neuroscience*, 2021, 473: 1-12.
- [17] WANG J, TIERNEY L, MANN R, et al. Bisperoxovanadium promotes motor neuron survival and neuromuscular innervation in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Mol Brain*, 2021, 14(1): 155.
- [18] TAK Y J, PARK J H, RHIM H, et al. ALS-related mutant SOD1 aggregates interfere with mitophagy by sequestering the autophagy receptor optineurin [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7525.