

RNA-seq 探究 rTMS 对 SCI 和 NP 的影响

2023-12-25

LiChuang Huang



@ 立效研究院

Contents

1 摘要	1
2 前言	1
3 材料和方法	1
3.1 材料	1
3.2 方法	1
4 分析结果	2
4.1 不完全性脊髓损伤 (Incomplete spinal cord injury, iSCI) 和神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP)	2
4.2 SCI 和 NP 关联分析	3
4.3 重复经颅磁刺激治疗 (rTMS)	3
4.4 rTMS 和 SCI、NP 的关联	4
5 结论	5
6 附：分析流程	5
6.1 不完全性脊髓损伤 (Incomplete spinal cord injury, iSCI) (Human)	5
6.1.1 元数据	5
6.1.2 差异分析	6
6.2 神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP) (Human)	8
6.2.1 元数据	8
6.2.2 差异分析	9
6.3 SCI 和 NP 关联分析	10
6.3.1 共同差异基因 coDEGs	10
6.3.2 SCI 的 coDEGs 的关联性分析	11
6.3.3 NP 的 coDEGs 的关联性分析	13
6.3.4 SCI 和 NP 数据集共同显著关联的基因集 sigCoDEGs	14
6.4 重复经颅磁刺激治疗 (repeat transcranial magnetic stimulation, rTMS) (Rat)	15
6.4.1 元数据	15
6.4.2 差异分析	15
6.5 rTMS 和 SCI、NP 的关联	16
6.5.1 rTMS 数据的差异基因与 sig.coDEGs 的关联性	16
6.5.2 富集分析	19
Reference	20

List of Figures

1	MAIN fig 1	2
2	MAIN fig 2	3

3	MAIN fig 3	4
4	MAIN fig 4	5
5	SCI sci vs control DEGs	8
6	NP NL 1 vs Control DEGs	10
7	SCI NP coDEGs	11
8	SCI genes correlation heatmap	12
9	NP genes correlation heatmap	13
10	RTMS All DEGs of contrasts	16
11	NP sigCoDEGs with rTMS DEGs correlation heatmap	17
12	SCI sigCoDEGs with rTMS DEGs correlation heatmap	18
13	RTMS SCI NP correlated sci GO enrichment	20

List of Tables

1	SCI used sample metadata	6
2	SCI data DEGs	7
3	NP metadata	8
4	NP data NL 1 vs Control DEGs	9
5	SCI data significant genes of correlation	12
6	NP data significant genes of correlation	14
7	RTMS used sample metadata	15
8	NP sigCoDEGs with rTMS DEGs significant correlation	17
9	SCI sigCoDEGs with rTMS DEGs significant correlation	19

1 摘要

为探究 rTMS 缓解 iSCI 所致 NP 的潜在机理，利用多组 RNA-seq 数据寻找潜在关联基因。结果见 5

2 前言

脊髓损伤 (SCI) 是一种使人衰弱的疾病，经常伴有神经性疼痛。尽管 SCI 后神经性疼痛的发病率很高，但其确切的潜在机制仍不完全清楚¹。经颅磁刺激 (TMS) 是一种无创、无痛的刺激人脑的方法。单脉冲和成对脉冲 TMS 范式是研究神经退行性疾病病理生理机制的有力方法²。已有研究发现，重复经颅磁刺激治疗 (repeat transcranial magnetic stimulation, rTMS) 刺激脑卒中患者病灶侧大脑半球运动区，发现其能减轻患者脑卒中后神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP)^{3,4}。然而，目前未有研究阐述 rTMS 缓解 SCI 所致 NP 的机理。本研究借助分析公共不完全性脊髓损伤 (Incomplete spinal cord injury, iSCI)、神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP) 和重复经颅磁刺激治疗 (repeat transcranial magnetic stimulation, rTMS) RNA-seq 数据集，探究 rTMS 缓解 iSCI 所致 NP 的潜在机理。

3 材料和方法

3.1 材料

All used GEO expression data and their design:

- **GSE126611:** We investigated n=14 samples, no replicates, comparison between two patient groups, and patient group with healthy controls. (NL-1) is with nerve lesion and (NL-0) is without neuropathic pain.
- **GSE230149:** Gene expression microarray analysis of 48 mouse brain samples, consisting of matched sets of hippocampus (HIP, N=24) and parietal cortex (PCTX, N=24) from young sham (Y_Sh, N=4), young iTBS (Y_iTBS, N=4).
- **GSE226238:** RNAsequencing from whole blood taken from participants with SCI within 3 days of injury, at 3 MPI, 6 MPI and 12 MPI. Data was compared to un-injured participants as controls. Inclusion and exclusion criteria...

3.2 方法

Mainly used method:

- ClusterProfiler used for gene enrichment analysis.⁵
- GEO <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/> used for expression dataset acquisition.
- Limma and edgeR used for differential expression analysis.^{6,7}
- R package Limma and edgeR used for differential expression analysis.^{6,7}
- Other R packages (eg., dplyr and ggplot2) used for statistic analysis or data visualization.

4 分析结果

4.1 不完全性脊髓损伤 (Incomplete spinal cord injury, iSCI) 和神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP)

筛选 GEO 数据库, 获取 SCI (GSE226238) 和 NP (GSE126611) 数据集 (来源 Homo sapiens, 即, 人类的 RNA-seq 数据集), 进行差异表达分析。SCI 数据集 (SCI vs control, Fig. 1a) 和 NP 数据集 (NP vs control, Fig. 1b) 的差异基因 (DEGs, p-value 或 adjust p-value < 0.05 , $|\log_2(FC)| > 0.3$) 交集如图 Fig. 1c 所示 (具体基因见 Fig. 7)。

Figure 1 (下方图) 为图 MAIN fig 1 概览。

(对应文件为 ./Figure+Table/fig1.pdf)

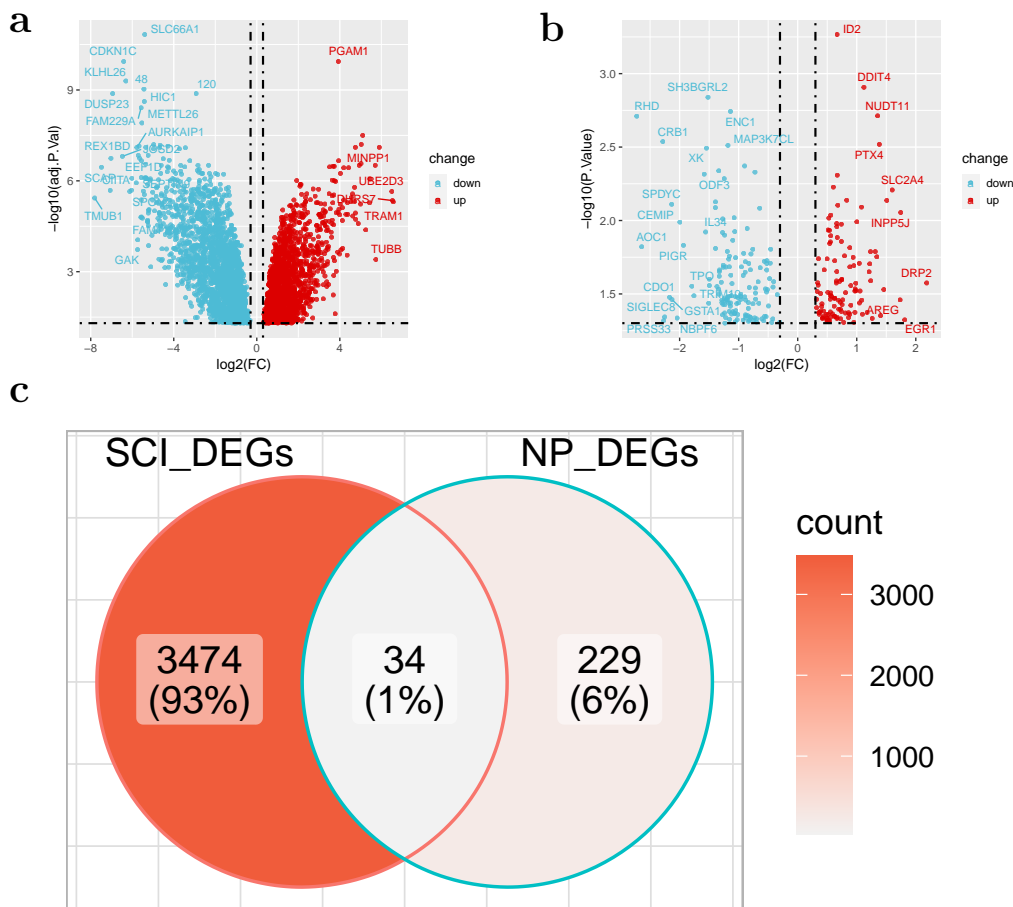


Figure 1: MAIN fig 1

4.2 SCI 和 NP 关联分析

将上述交集基因 (记为 coDEGs) 在 SCI 和 NP 各自的数据集进行关联分析 (Fig. 2a、b)，筛选显著关联基因 ($p\text{-value} < 0.05$)，并将之合并 (sig-coDEGs, 见 6.3.4)。我们发现，所有的 coDEGs 都属于 sig-coDEGs，即，在 SCI 和 NP 数据集中，这些基因彼此都至少有一个显著关联的基因。

Figure 2 (下方图) 为图 MAIN fig 2 概览。

(对应文件为 ./Figure+Table/fig2.pdf)

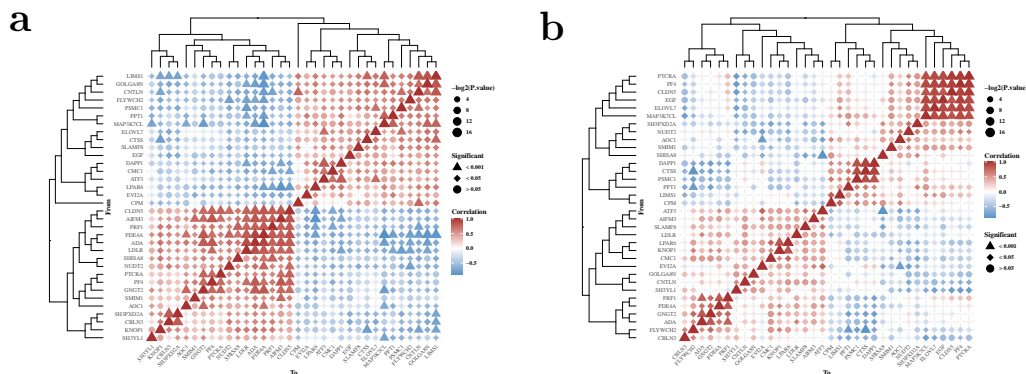


Figure 2: MAIN fig 2

4.3 重复经颅磁刺激治疗 (rTMS)

为了探究 rTMS 刺激所致的大脑转录变化，本研究选用了 GEO 的 rTMS 数据集 (GSE230149) (来源 Rattus norvegicus)。该数据集包含多种因素分组：

- Young, Y (age)
- Aged, A (age)
- Impaired, I (cognitive status)
- Unimpaired, U (cognitive status)
- Hippocampus, H (tissue region)
- Parietal cortex, P (tissue, region)

控制变量以差异分析 (Fig. 3)。海马是中枢痛觉感知、认知形成的关键核团，NP 可能诱发和促进海马神经元退行性病变，而海马神经元的改变又是 NP 产生的关键病理环节之一^{8,9}。因此，随后分析取 Fig. 3 中 Hippocampus 的合集 (记为 rTMS-DEGs)。

Figure 3 (下方图) 为图 MAIN fig 3 概览。

(对应文件为 ./Figure+Table/fig3.pdf)

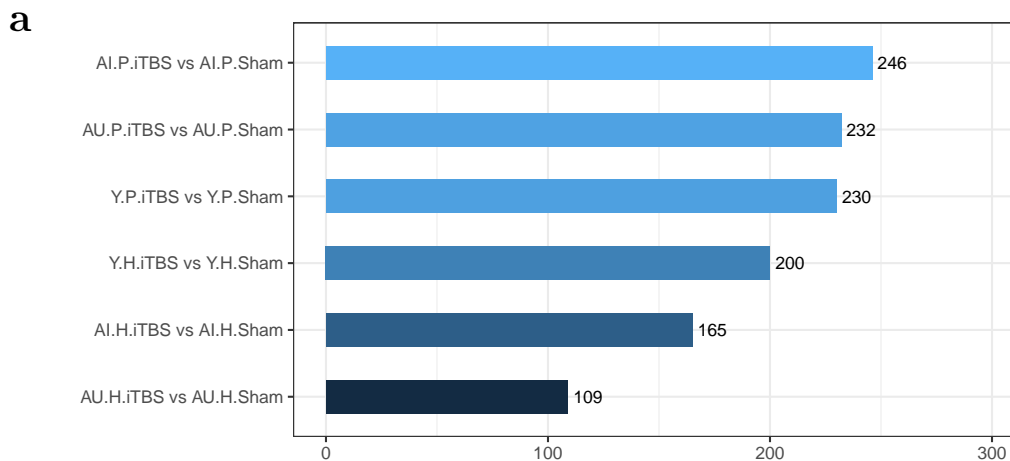


Figure 3: MAIN fig 3

4.4 rTMS 和 SCI、NP 的关联

假设 rTMS 对人类和对大鼠大脑的影响是相似的，则我们可以把 4.3 的差异基因 (rTMS-DEGs) 对应到 SCI 和 NP 的数据集中 (见 6.5.1)。随后，分别以 SCI 和 NP 数据集，对 sig-coDeps 基因集和 rTMS-DEGs 基因集进行关联分析 (Fig. 4a、b)。取显著关联的基因 (见 Tab. 8 和 Tab. 9)。为了挖掘这些关联基因对于 rTMS 于 SCI 和 NP 的潜在功能，我们对这些基因进行了 GO 富集分析。NP 中的关联基因没有富集到通路，而 SCI 的富集结果如图 Fig. 4c 所示。可以发现，这些基因主要与免疫细胞 (lymphocyte、leukocyte、B cell、T cell) 的行为相关，涉及免疫反应。可以推测，rTMS 对于 SCI 所致的 NP 的缓解作用可能与调节免疫反应相关。

注：The Cellular Component (CC), the Molecular Function (MF) and the Biological Process (BP).

Figure 4 (下方图) 为图 MAIN fig 4 概览。

(对应文件为 ./Figure+Table/fig4.pdf)

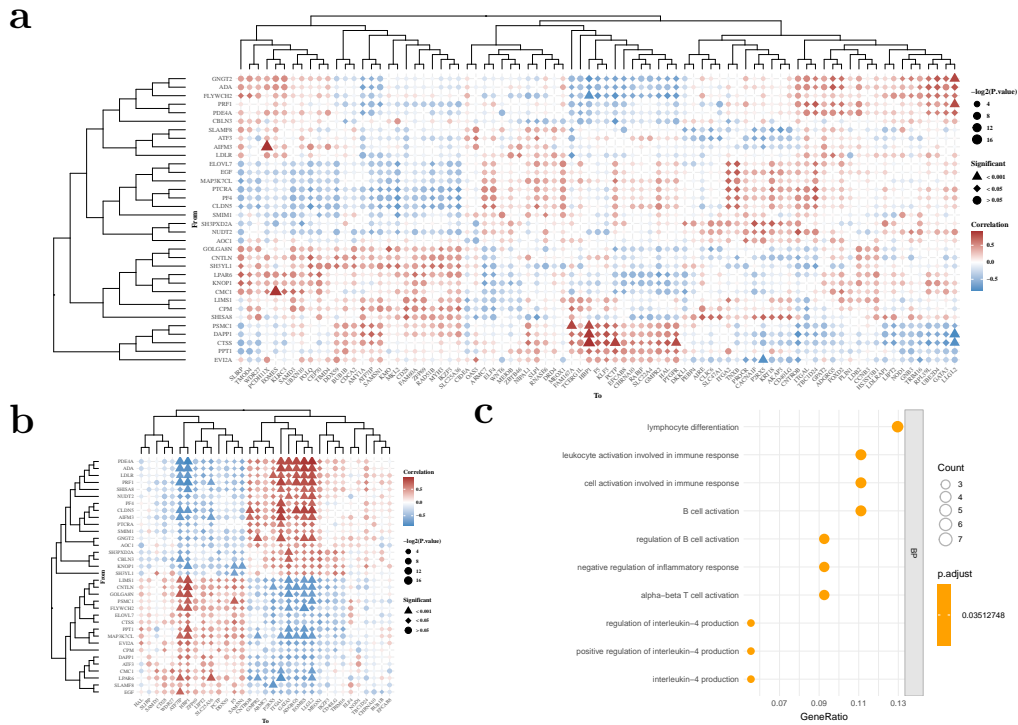


Figure 4: MAIN fig 4

5 结论

- 本研究发现了一组 SCI 和 NP 中共同存在的 DEGs, 并且这些基因相互显著关联。
- rTMS 对大脑刺激会带来 Hippocampus 的转录变化, 影响上述基因的转录; 通路富集表明, 影响的基因主要涉及免疫细胞行为和免疫反应 (Fig. 4c)。

6 附：分析流程

6.1 不完全性脊髓损伤 (Incomplete spinal cord injury, iSCI) (Human)

6.1.1 元数据

- GSE226238

根据文献提供的数据整理信息¹⁰:

Complete: AIS A-B Incomplete: AIS C-D

使用的样本的信息:

Table 1 (下方表格) 为表格 SCI used sample metadata 概览。

(对应文件为 Figure+Table/SCI-used-sample-metadata.xlsx)

注：表格共有 19 行 12 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 19 个唯一‘sample’。

1. sample: 样品名称
2. group: 分组名称

Table 1: SCI used sample metadata

sample	rownames	title	group.ch1	tissue...	treatm...	group	id	status	AIS
ID13	GSM706...	ID13, ...	CTL	Whole ...	NA	control	NA	NA	NA
ID16	GSM706...	ID16, ...	CTL	Whole ...	NA	control	NA	NA	NA
ID14	GSM706...	ID14, ...	CTL	Whole ...	NA	control	NA	NA	NA
ID15	GSM706...	ID15, ...	CTL	Whole ...	NA	control	NA	NA	NA
ID17	GSM706...	ID17, ...	CTL	Whole ...	NA	control	NA	NA	NA
ID1V0	GSM706...	ID1v0,...	SCI	Whole ...	Acute	sci	1	0	D
ID18	GSM706...	ID18, ...	CTL	Whole ...	NA	control	NA	NA	NA
ID19	GSM706...	ID19, ...	CTL	Whole ...	NA	control	NA	NA	NA
ID1V12	GSM706...	ID1v12...	SCI	Whole ...	12mpi	sci	1	12	D
ID20	GSM706...	ID20, ...	CTL	Whole ...	NA	control	NA	NA	NA
ID1V3	GSM706...	ID1v3,...	SCI	Whole ...	3mpi	sci	1	3	D
ID1V6	GSM706...	ID1v6,...	SCI	Whole ...	6mpi	sci	1	6	D
ID21	GSM706...	ID21, ...	CTL	Whole ...	NA	control	NA	NA	NA
ID2V3	GSM706...	ID2v3,...	SCI	Whole ...	3mpi	sci	2	3	D
ID2V0	GSM706...	ID2v0,...	SCI	Whole ...	Acute	sci	2	0	D
...

6.1.2 差异分析

Table 2 (下方表格) 为表格 SCI data DEGs 概览。

(对应文件为 Figure+Table/SCI-data-DEGs.csv)

注：表格共有 3508 行 7 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 3508 个唯一‘rownames’。

1. logFC: estimate of the log2-fold-changes corresponding to the effect or contrasts (for ‘topTableF’ there may be several columns of log-fold-changes)
2. AveExpr: average log2-expression for the probes over all arrays and channels, same as ‘Amean’ in the ‘MarrayLM’ object
3. t: moderated t-statistic (omitted for ‘topTableF’)
4. P.Value: raw p-value
5. B: log-odds that the gene is differentially expressed (omitted for ‘topTreat’)

Table 2: SCI data DEGs

rownames	logFC	AveExpr	t	P.Value	adj.P.Val	B
SLC66A1	-5.3985318...	-2.8574726...	-22.211843...	2.05919519...	1.47232456...	24.6914363...
CDKN1C	-6.4116063...	-2.3451973...	-18.884709...	4.38737275...	1.14693897...	22.0223243...
PGAM1	3.931229	4.39159789...	18.7916191...	4.81233135...	1.14693897...	21.9396078...
KLHL26	-6.3060655...	-2.3125193...	-17.087291...	2.82330652...	5.04666040...	20.3361194...
48	-5.4354855...	-2.3299163...	-16.327301...	6.53810955...	9.34949665...	19.5624017...
120	-2.9235652...	1.65380258...	-15.788203...	1.21118622...	1.31385918...	18.9895854...
DUSP23	-6.9434252...	-1.6984921...	-15.736427...	1.28629570...	1.31385918...	18.9334793...
HIC1	-5.417897	-2.4574677...	-15.114200...	2.68695492...	2.40146596...	18.2436942...
FAM229A	-5.5729105...	-2.1258822...	-14.626022...	4.87741832...	3.87483788...	17.6817026...
METTL26	-5.5332784...	-2.1951593...	-13.639833...	1.71439162...	1.22579001...	16.4867721...
CLTB	5.10489364...	-0.3518483...	12.8635600...	4.86472129...	3.16206884...	15.4859145...
LSP1	5.033352	3.10275063...	12.3121841...	1.05255843...	6.27149402...	14.7403014...
HADH	-4.9657345...	-2.8300059...	-12.247863...	1.15375141...	6.34563279...	14.6513584...
METTL21A	4.6597681...	-2.8250994...	-12.164725...	1.29982020...	6.63836746...	14.5357743...
LRRC24	-4.2782732...	-2.4806355...	-12.046955...	1.54061013...	7.12568004...	14.3708323...
...

Figure 5 (下方图) 为图 SCI sci vs control DEGs 概览。

(对应文件为 **Figure+Table/SCI-sci-vs-control-DEGs.pdf**)

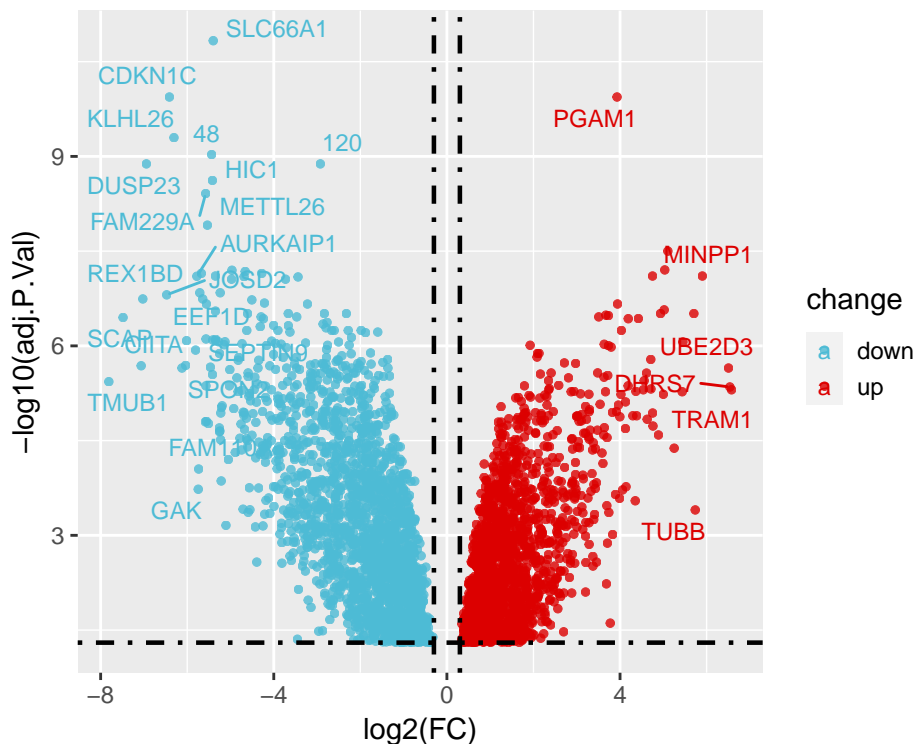


Figure 5: SCI sci vs control DEGs

6.2 神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP) (Human)

6.2.1 元数据

Table 3 (下方表格) 为表格 NP metadata 概览。

(对应文件为 `Figure+Table/NP-metadata.csv`)

注：表格共有 14 行 7 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 14 个唯一 ‘rownames’。

1. sample: 样品名称
2. group: 分组名称

Table 3: NP metadata

rownames	group	lib.size	norm.factors	sample	title	tissue.ch1
Control_Rep1	Control	37694075.5...	0.99341849...	Control_Rep1	Control_Rep1	white bloo...
Control_Rep2	Control	35123400.4...	0.98433148...	Control_Rep2	Control_Rep2	white bloo...
Control_Rep3	Control	40623787.2...	1.03883062...	Control_Rep3	Control_Rep3	white bloo...
Control_Rep4	Control	31254712.0...	0.90039899...	Control_Rep4	Control_Rep4	white bloo...
Control_Rep5	Control	36785783.3...	1.09239376...	Control_Rep5	Control_Rep5	white bloo...

rownames	group	lib.size	norm.factors	sample	title	tissue.ch1
NL.0_Rep1	NL.0	39063868.2...	0.99869084...	NL.0_Rep1	NL-0_Rep1	white bloo...
NL.0_Rep2	NL.0	30209440.6...	0.83816556...	NL.0_Rep2	NL-0_Rep2	white bloo...
NL.0_Rep3	NL.0	33541489.3...	0.87392250...	NL.0_Rep3	NL-0_Rep3	white bloo...
NL.0_Rep4	NL.0	43997974.4...	1.10515311...	NL.0_Rep4	NL-0_Rep4	white bloo...
NL.1_Rep1	NL.1	35856170.7...	0.94729121...	NL.1_Rep1	NL-1_Rep1	white bloo...
NL.1_Rep2	NL.1	47176469.2...	1.21729671...	NL.1_Rep2	NL-1_Rep2	white bloo...
NL.1_Rep3	NL.1	33852268.1...	0.94708847...	NL.1_Rep3	NL-1_Rep3	white bloo...
NL.1_Rep4	NL.1	37527290.3...	0.99176588...	NL.1_Rep4	NL-1_Rep4	white bloo...
NL.1_Rep5	NL.1	45702943.0...	1.14296121...	NL.1_Rep5	NL-1_Rep5	white bloo...

6.2.2 差异分析

Table 4 (下方表格) 为表格 NP data NL 1 vs Control DEGs 概览。

(对应文件为 **Figure+Table/NP-data-NL-1-vs-Control-DEGs.xlsx**)

注：表格共有 263 行 17 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 263 个唯一 ‘rownames’。

1. Chr: 染色体
2. Start: 起始点
3. End: 结束点
4. symbol: 基因或蛋白符号。
5. logFC: estimate of the log2-fold-changes corresponding to the effect or contrasts (for ‘topTableF’ there may be several columns of log-fold-changes)
6. AveExpr: average log2-expression for the probes over all arrays and channels, same as ‘Amean’ in the ‘MarrayLM’ object
7. t: moderated t-statistic (omitted for ‘topTableF’)
8. P.Value: raw p-value
9. B: log-odds that the gene is differentially expressed (omitted for ‘topTreat’)

Table 4: NP data NL 1 vs Control DEGs

rownames	symbol	Chr	Source	Feature	Start	End	Frame	Strand	V8
1992	ID2	chr2	HAVANA	gene	8678845	8684453	0	+	0
9282	DDIT4	chr10	HAVANA	gene	72273920	72276036	0	+	0
17418	MAP3K7CL	chr21	HAVANA	gene	29077471	29175889	0	+	0
5167	ENC1	chr5	HAVANA	gene	74627406	74641424	0	-	0
14324	PER1	chr17	HAVANA	gene	8140472	8156506	0	-	0
6603	TNFAIP3	chr6	HAVANA	gene	137867188	137883312	0	+	0
15786	PDE4A	chr19	HAVANA	gene	10416773	10469631	0	+	0

rownames	symbol	Chr	Source	Feature	Start	End	Frame	Strand	V8
14577	CCL4	chr17	HAVANA	gene	36103590	36105621	0	+	0
4463	HOPX	chr4	HAVANA	gene	56647988	56681899	0	-	0
10202	MS4A14	chr11	HAVANA	gene	60378530	60417756	0	+	0
12419	PTGDR	chr14	HAVANA	gene	52267713	52276724	0	+	0
6372	SH3BGRL2	chr6	HAVANA	gene	79631283	79703659	0	+	0
5266	PAM	chr5	HAVANA	gene	102753981	103031105	0	+	0
4533	PPBP	chr4	HAVANA	gene	73987038	73988197	0	-	0
6909	MTURN	chr7	HAVANA	gene	30134810	30162762	0	+	0
...

Figure 6 (下方图) 为图 NP NL 1 vs Control DEGs 概览。

(对应文件为 Figure+Table/NP-NL-1-vs-Control-DEGs.pdf)

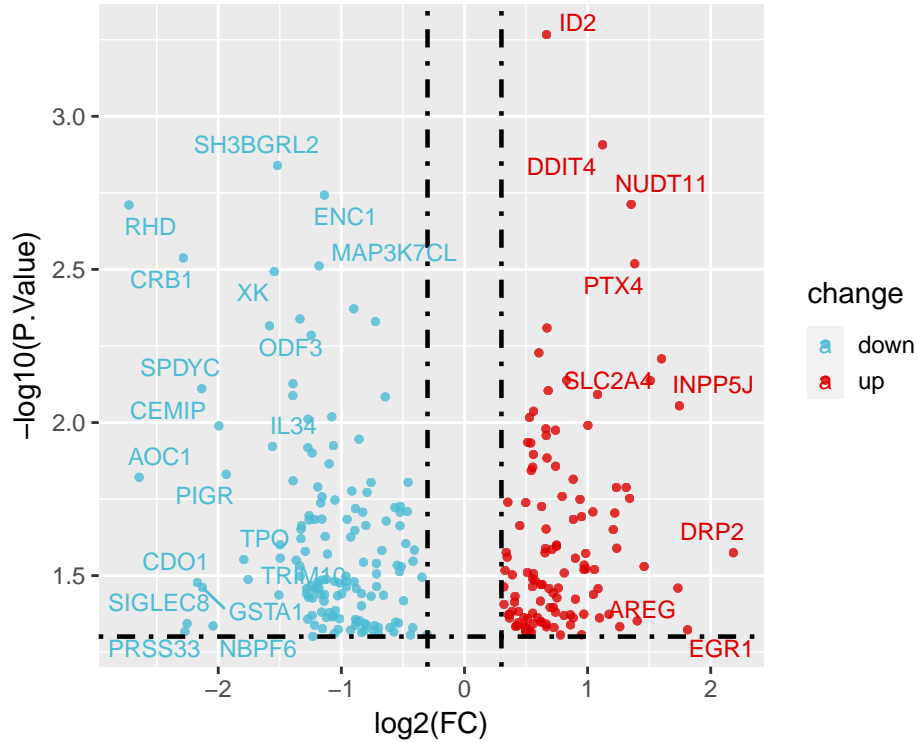


Figure 6: NP NL 1 vs Control DEGs

6.3 SCI 和 NP 关联分析

6.3.1 共同差异基因 coDEGs

Figure 7 (下方图) 为图 SCI NP coDEGs 概览。

(对应文件为 Figure+Table/SCI-NP-coDEGs.pdf)

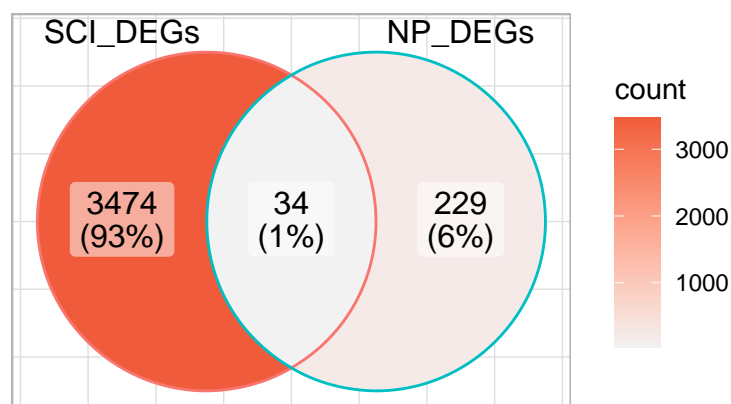


Figure 7: SCI NP coDEGs

Intersection :

PDE4A, ADA, LIMS1, FLYWCH2, LDLR, GOLGA8N, NUDT2, CNTLN, CTSS, KNOP1, PRF1, MAP3K7CL, CLDN5, SHISA8, CMC1, SLAMF8, ELOVL7, AIFM3, GNGT2, PPT1, DAPP1, AOC1, PSMC1, PF4, CBLN3, LPAR6, CPM, EGF, SH3PXD2A, SH3YL1, ATF3, PTCRA, SMIM1, EVI2A

(上述信息框内容已保存至 `Figure+Table/SCI-NP-coDEGs-content`)

6.3.2 SCI 的 coDEGs 的关联性分析

Figure 8 (下方图) 为图 SCI genes correlation heatmap 概览。

(对应文件为 `Figure+Table/SCI-genes-correlation-heatmap.pdf`)

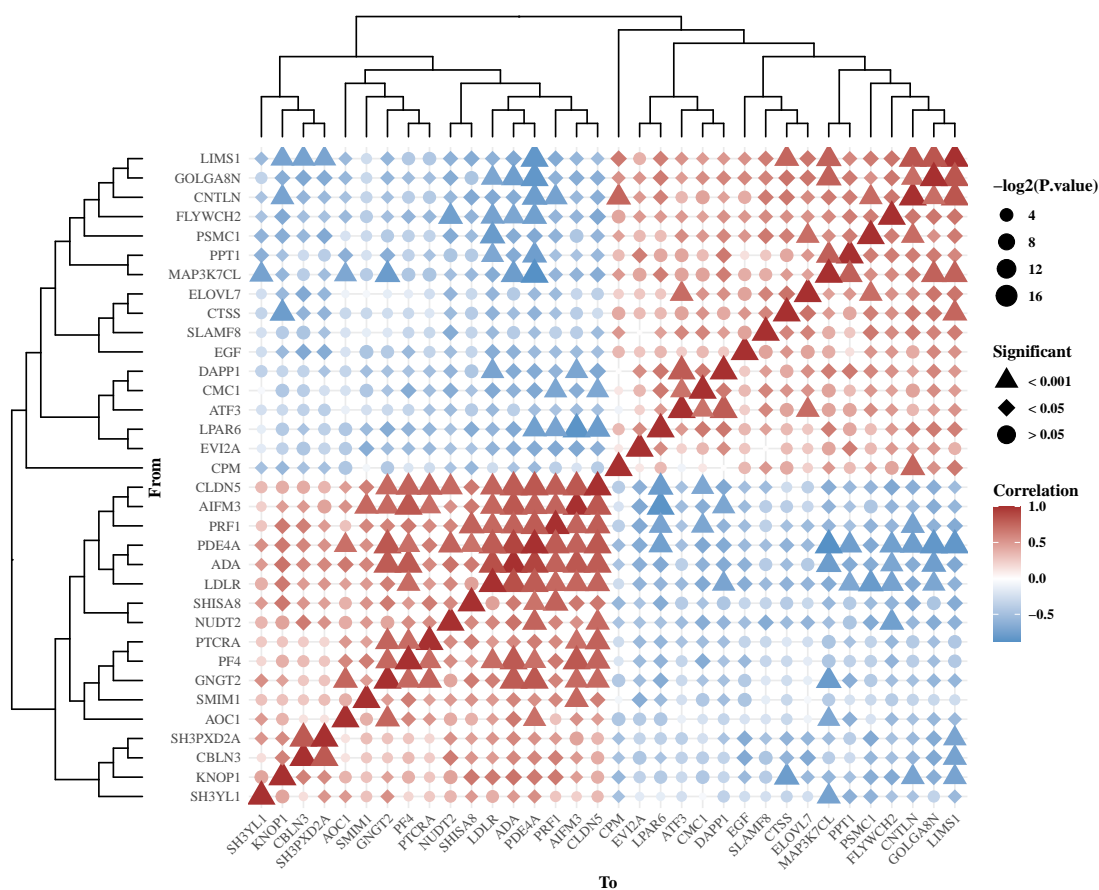


Figure 8: SCI genes correlation heatmap

Table 5 (下方表格) 为表格 SCI data significant genes of correlation 概览。

(对应文件为 Figure+Table/SCI-data-significant-genes-of-correlation.csv)

注：表格共有 796 行 7 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 34 个唯一 ‘From’。

1. cor: 皮尔逊关联系数，正关联或负关联。
2. pvalue: 显著性 P。
3. -log2(P.value): P 的对数转化。
4. significant: 显著性。
5. sign: 人为赋予的符号，参考 significant。

Table 5: SCI data significant genes of correlation

From	To	cor	pvalue	-log2(P.va...	significant	sign
ADA	ADA	1	0	16.6096404...	< 0.001	**
PPT1	ADA	-0.66	0.0022	8.82828076...	< 0.05	*
LDLR	ADA	0.86	0	16.6096404...	< 0.001	**
EVI2A	ADA	-0.63	0.0036	8.11778737...	< 0.05	*

From	To	cor	pvalue	-log2(P.va...	significant	sign
CPM	ADA	-0.46	0.0452	4.46753341...	< 0.05	*
KNOP1	ADA	0.69	0.0012	9.70274987...	< 0.05	*
AIFM3	ADA	0.82	0	16.6096404...	< 0.001	**
CBLN3	ADA	0.59	0.0077	7.02092583...	< 0.05	*
PRF1	ADA	0.77	1e-04	13.2877123...	< 0.001	**
AOC1	ADA	0.66	0.0019	9.03978486...	< 0.05	*
PDE4A	ADA	0.91	0	16.6096404...	< 0.001	**
CNTLN	ADA	-0.65	0.0027	8.53282487...	< 0.05	*
FLYWCH2	ADA	-0.7	8e-04	10.2877123...	< 0.001	**
SH3YL1	ADA	0.5	0.0301	5.05409270...	< 0.05	*
NUDT2	ADA	0.69	0.0011	9.82828076...	< 0.05	*
...

6.3.3 NP 的 coDEGs 的关联性分析

Figure 9 (下方图) 为图 NP genes correlation heatmap 概览。

(对应文件为 Figure+Table/NP-genes-correlation-heatmap.pdf)

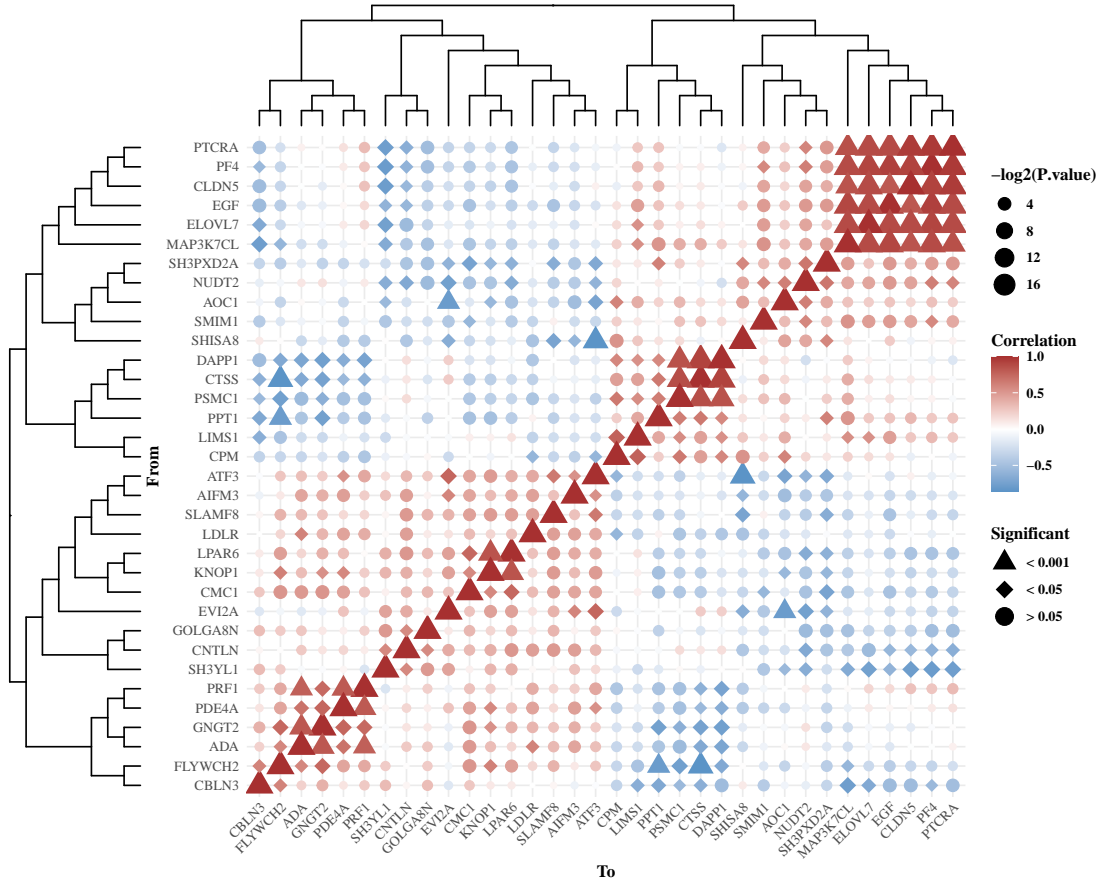


Figure 9: NP genes correlation heatmap

Table 6 (下方表格) 为表格 NP data significant genes of correlation 概览。

(对应文件为 **Figure+Table/NP-data-significant-genes-of-correlation.csv**)

注：表格共有 262 行 7 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 34 个唯一 ‘From’。

1. cor: 皮尔逊关联系数，正关联或负关联。
2. pvalue: 显著性 P。
3. -log2(P.value): P 的对数转化。
4. significant: 显著性。
5. sign: 人为赋予的符号，参考 significant。

Table 6: NP data significant genes of correlation

From	To	cor	pvalue	-log2(P.va...	significant	sign
SMIM1	SMIM1	1	0	16.6096404...	< 0.001	**
CMC1	SMIM1	-0.56	0.0377	4.72929166...	< 0.05	*
PF4	SMIM1	0.58	0.0302	5.04930764...	< 0.05	*
NUDT2	SMIM1	0.59	0.0264	5.24331826...	< 0.05	*
PPT1	PPT1	1	0	16.6096404...	< 0.001	**
CTSS	PPT1	0.66	0.01	6.64385618...	< 0.05	*
DAPP1	PPT1	0.58	0.028	5.15842936...	< 0.05	*
SH3PXD2A	PPT1	0.62	0.0173	5.85308415...	< 0.05	*
CBLN3	PPT1	-0.68	0.0069	7.17918792...	< 0.05	*
PSMC1	PPT1	0.64	0.0135	6.21089678...	< 0.05	*
FLYWCH2	PPT1	-0.78	9e-04	10.1177873...	< 0.001	**
GNGT2	PPT1	-0.74	0.0026	8.58727266...	< 0.05	*
PPT1	CTSS	0.66	0.01	6.64385618...	< 0.05	*
CTSS	CTSS	1	0	16.6096404...	< 0.001	**
DAPP1	CTSS	0.92	0	16.6096404...	< 0.001	**
...

6.3.4 SCI 和 NP 数据集共同显著关联的基因集 sigCoDEGs

sig-coDEGs :

ADA, AIFM3, AOC1, ATF3, CBLN3, CLDN5, CMC1, CNTLN, CPM, CTSS, DAPP1, EGF, ELOVL7, EVI2A, FLYWCH2, GNGT2, GOLGA8N, KNOP1, LDLR, LIMS1, LPAR6, MAP3K7CL, NUDT2, PDE4A, PF4, PPT1, PRF1, PSMC1, PTCRA, SH3PXD2A, SH3YL1, SHISA8, SLAMF8, SMIM1

6.4 重复经颅磁刺激治疗 (repeat transcranial magnetic stimulation, rTMS) (Rat)

6.4.1 元数据

Table 7 (下方表格) 为表格 rTMS used sample metadata 概览。

(对应文件为 `Figure+Table/rTMS-used-sample-metadata.csv`)

注：表格共有 56 行 11 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 12 个唯一 ‘group’。

- 1. sample: 样品名称
- 2. group: 分组名称

Table 7: RTMS used sample metadata

sample	group	title	age.ch1	cognit...	post.t...	Sex.ch1	strain...	tissue.....9	tissue.....10	...
GSM718...	Y.H.Sham	Y_Sham...	Young;...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	Y.H.Sham	Y_Sham...	Young;...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	Y.H.Sham	Y_Sham...	Young;...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	Y.H.Sham	Y_Sham...	Young;...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	Y.H.iTBS	Y_iTBS...	Young;...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	Y.H.iTBS	Y_iTBS...	Young;...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	Y.H.iTBS	Y_iTBS...	Young;...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	Y.H.iTBS	Y_iTBS...	Young;...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	AU.H.Sham	AU_Sha...	Aged;2...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	AU.H.Sham	AU_Sha...	Aged;2...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	AU.H.Sham	AU_Sha...	Aged;2...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	AU.H.Sham	AU_Sha...	Aged;2...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	AU.H.iTBS	AU_iTB...	Aged;2...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	AU.H.iTBS	AU_iTB...	Aged;2...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
GSM718...	AU.H.iTBS	AU_iTB...	Aged;2...	unimpa...	48	Male	Long-E...	Hippoc...	Brain	...
...

6.4.2 差异分析

Figure 10 (下方图) 为图 rTMS All DEGs of contrasts 概览。

(对应文件为 `Figure+Table/rTMS-All-DEGs-of-contrasts.pdf`)

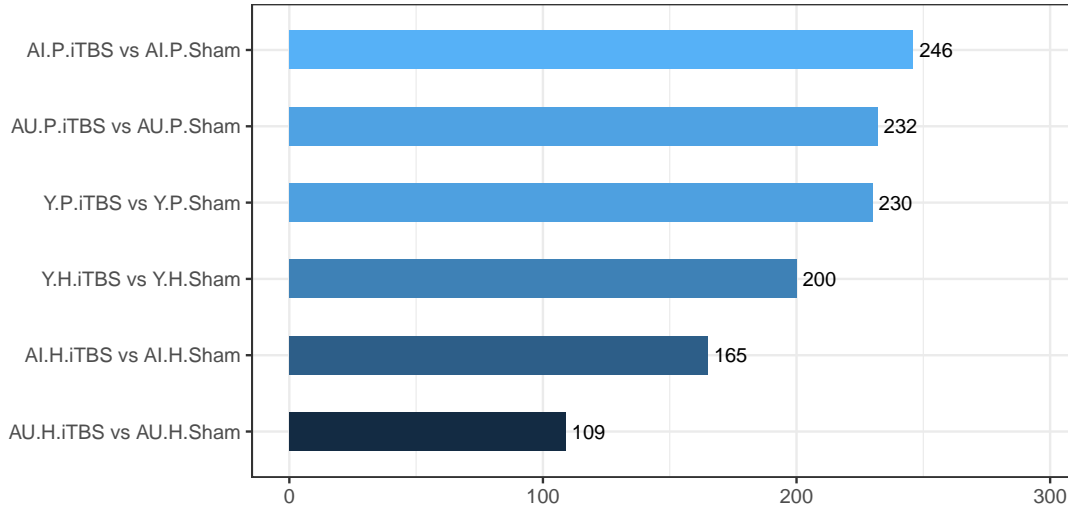


Figure 10: RTMS All DEGs of contrasts

‘RTMS data DEGs’ 数据已全部提供。

(对应文件为 **Figure+Table/rTMS-data-DEGs**)

注：文件夹 Figure+Table/rTMS-data-DEGs 共包含 9 个文件。

1. 1_AU.H.iTBS - AU.H.Sham.csv
2. 2_AU.P.iTBS - AU.P.iTBS.csv
3. 2_AU.P.iTBS - AU.P.Sham.csv
4. 3_AI.H.iTBS - AI.H.Sham.csv
5. 4_AI.P.iTBS - AI.P.iTBS.csv
6. ...

6.5 rTMS 和 SCI、NP 的关联

6.5.1 rTMS 数据的差异基因与 sig.coDegs 的关联性

这里，首先将 rTMS 的差异基因（取 Hippocampus 的差异基因）对应到 SCI、NP 中的基因（假设 rTMS 对大鼠和对人的基因转录的影响是相同的，改变相同的基因）：

‘Mapping rTMS DEGs to SCI and NP dataset’ 数据已全部提供。

(对应文件为 **Figure+Table/Mapping-rTMS-DEGs-to-SCI-and-NP-dataset**)

注：文件夹 Figure+Table/Mapping-rTMS-DEGs-to-SCI-and-NP-dataset 共包含 2 个文件。

1. 1_gene.np.csv
2. 2_gene.sci.csv

随后，进行关联分析：

Figure 11 (下方图) 为图 NP sigCoDEGs with rTMS DEGs correlation heatmap 概览。

(对应文件为 Figure+Table/NP-sigCoDEGs-with-rTMS-DEGs-correlation-heatmap.pdf)

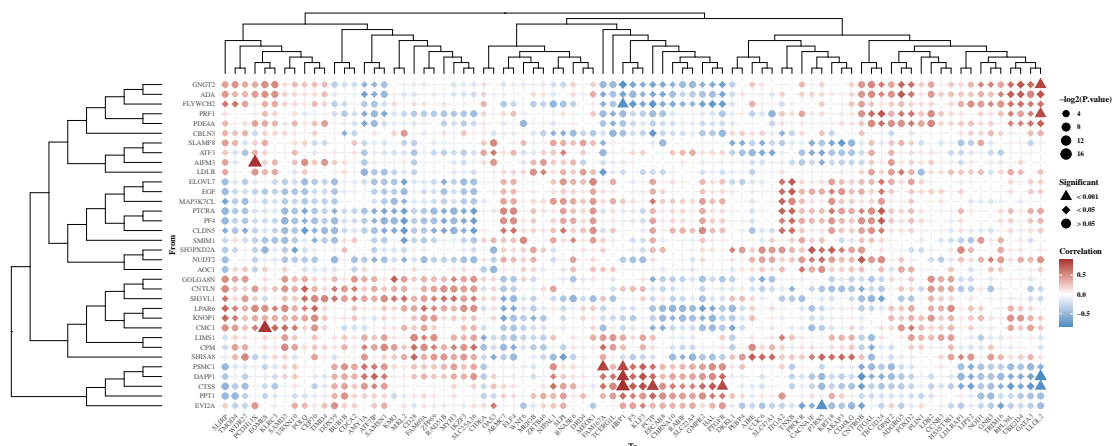


Figure 11: NP sigCoDEGs with rTMS DEGs correlation heatmap

Table 8 (下方表格) 为表格 NP sigCoDEGs with rTMS DEGs significant correlation 概览。

(对应文件为 Figure+Table/NP-sigCoDEGs-with-rTMS-DEGs-significant-correlation.csv)

注：表格共有 297 行 7 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 34 个唯一 ‘From’。

1. cor: 皮尔逊关联系数，正关联或负关联。
2. pvalue: 显著性 P。
3. -log2(P.value): P 的对数转化。
4. significant: 显著性。
5. sign: 人为赋予的符号，参考 significant。

Table 8: NP sigCoDEGs with rTMS DEGs significant correlation

From	To	cor	pvalue	-log2(P.va...	significant	sign
CMC1	UBXN10	0.58	0.0311	5.00694160...	< 0.05	*
SH3PXD2A	UBXN10	-0.64	0.0142	6.13796526...	< 0.05	*
CTSS	LDLRAP1	-0.61	0.0202	5.62950089...	< 0.05	*
SHISA8	LDLRAP1	0.54	0.047	4.41119543...	< 0.05	*
SH3YL1	ZFP69	0.55	0.0417	4.58380880...	< 0.05	*
CPM	ZFP69	0.56	0.0381	4.71406519...	< 0.05	*
LPAR6	ZFP69	0.54	0.0451	4.47072875...	< 0.05	*
CLDN5	ZFP69	-0.57	0.0332	4.91267294...	< 0.05	*
CMC1	FOXD2	0.58	0.0305	5.03504694...	< 0.05	*
PRF1	FOXD2	0.6	0.0222	5.49329651...	< 0.05	*
GNGT2	FOXD2	0.62	0.0186	5.74855356...	< 0.05	*
PDE4A	FOXD2	0.58	0.0299	5.06371070...	< 0.05	*
ADA	FOXD2	0.61	0.02	5.64385618...	< 0.05	*

From	To	cor	pvalue	-log2(P.va...	significant	sign
PPT1	PTGFR	0.59	0.0254	5.29902769...	< 0.05	*
CTSS	PTGFR	0.79	7e-04	10.4803574...	< 0.001	**
...

Figure 12 (下方图) 为图 SCI sigCoDEGs with rTMS DEGs correlation heatmap 概览。

(对应文件为 [Figure+Table/SCI-sigCoDEGs-with-rTMS-DEGs-correlation-heatmap.pdf](#))

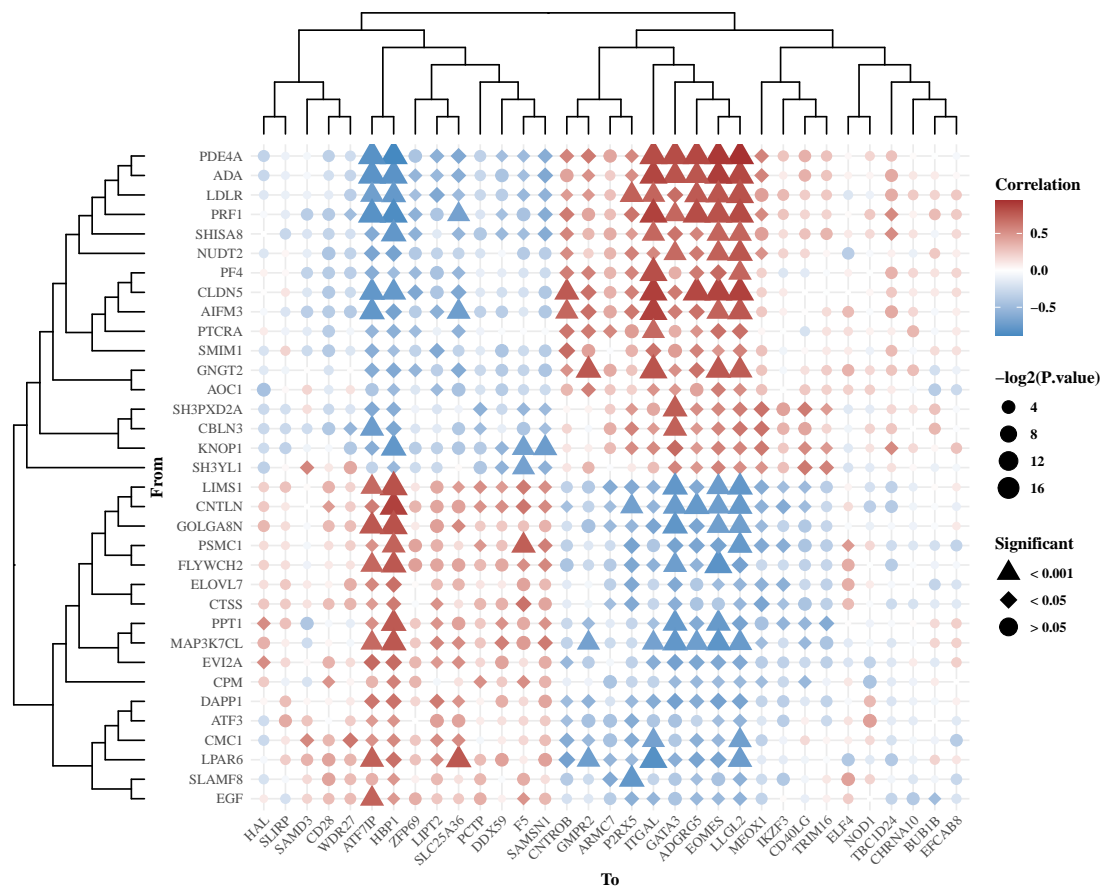


Figure 12: SCI sigCoDEGs with rTMS DEGs correlation heatmap

Table 9 (下方表格) 为表格 SCI sigCoDEGs with rTMS DEGs significant correlation 概览。

(对应文件为 [Figure+Table/SCI-sigCoDEGs-with-rTMS-DEGs-significant-correlation.csv](#))

注：表格共有 406 行 7 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 34 个唯一 ‘From’。

1. cor: 皮尔逊关联系数，正关联或负关联。
2. pvalue: 显著性 P。
3. -log2(P.value): P 的对数转化。
4. significant: 显著性。
5. sign: 人为赋予的符号，参考 significant。

Table 9: SCI sigCoDEGs with rTMS DEGs significant correlation

From	To	cor	pvalue	-log2(P.va...	significant	sign
PPT1	CD40LG	-0.54	0.0173	5.85308415...	< 0.05	*
CPM	CD40LG	-0.52	0.0214	5.54624539...	< 0.05	*
KNOP1	CD40LG	0.54	0.017	5.87832144...	< 0.05	*
CNTLN	CD40LG	-0.49	0.0331	4.91702497...	< 0.05	*
SH3YL1	CD40LG	0.62	0.0046	7.76415042...	< 0.05	*
LIMS1	CD40LG	-0.5	0.028	5.15842936...	< 0.05	*
MAP3K7CL	CD40LG	-0.52	0.0231	5.43596333...	< 0.05	*
SH3PXD2A	CD40LG	0.61	0.0052	7.58727266...	< 0.05	*
ADA	F5	-0.47	0.0425	4.55639334...	< 0.05	*
LDLR	F5	-0.52	0.0228	5.45482236...	< 0.05	*
CPM	F5	0.52	0.021	5.57346686...	< 0.05	*
KNOP1	F5	-0.7	8e-04	10.2877123...	< 0.001	**
PDE4A	F5	-0.5	0.0285	5.13289427...	< 0.05	*
CNTLN	F5	0.63	0.0036	8.11778737...	< 0.05	*
FLYWCH2	F5	0.52	0.0237	5.39896913...	< 0.05	*
...

6.5.2 富集分析

Figure 13 (下方图) 为图 RTMS SCI NP correlated sci GO enrichment 概览。

(对应文件为 `Figure+Table/RTMS-SCI-NP-correlated-sci-GO-enrichment.pdf`)

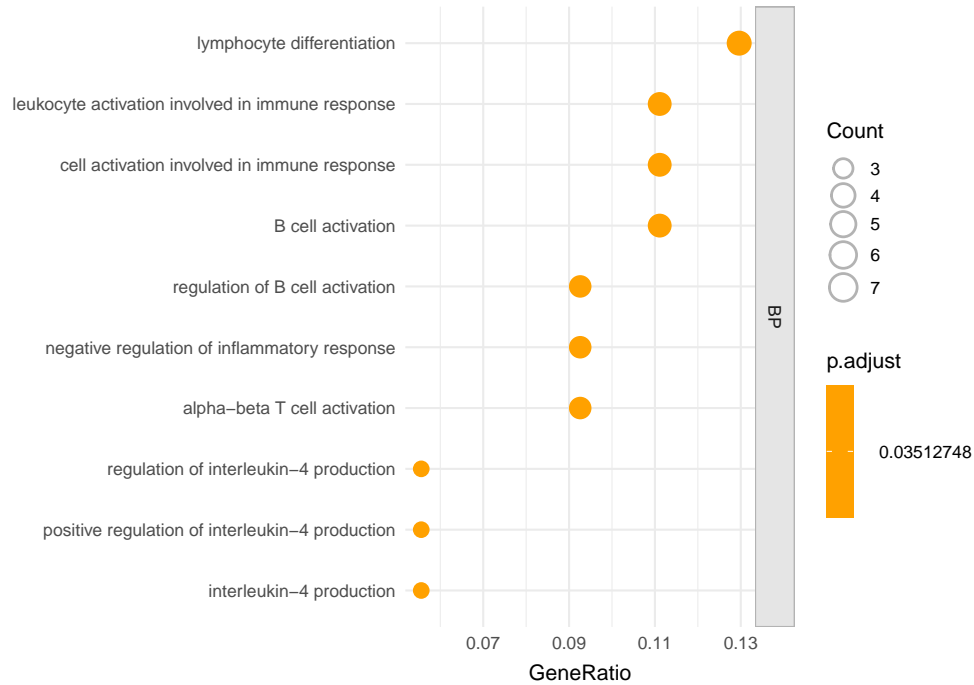


Figure 13: RTMS SCI NP correlated sci GO enrichment

Reference

1. Sun, C. *et al.* The dual role of microglia in neuropathic pain after spinal cord injury: Detrimental and protective effects. *Experimental neurology* **370**, (2023).
2. Ni, Z. & Chen, R. Transcranial magnetic stimulation to understand pathophysiology and as potential treatment for neurodegenerative diseases. *Translational neurodegeneration* **4**, (2015).
3. Ameli, M. *et al.* Differential effects of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation over ipsilesional primary motor cortex in cortical and subcortical middle cerebral artery stroke. *Annals of neurology* **66**, 298–309 (2009).
4. Hirayama, A. *et al.* Reduction of intractable deafferentation pain by navigation-guided repetitive transcranial magnetic stimulation of the primary motor cortex. *Pain* **122**, 22–27 (2006).
5. Wu, T. *et al.* ClusterProfiler 4.0: A universal enrichment tool for interpreting omics data. *The Innovation* **2**, (2021).
6. Ritchie, M. E. *et al.* Limma powers differential expression analyses for rna-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research* **43**, e47 (2015).
7. Chen, Y., McCarthy, D., Ritchie, M., Robinson, M. & Smyth, G. EdgeR: Differential analysis of sequence read count data user's guide. 119.
8. Magariños, A. M. *et al.* Effect of brain-derived neurotrophic factor haploinsufficiency on stress-induced remodeling of hippocampal neurons. *Hippocampus* **21**, 253–264 (2011).

9. Chaparro, L. E., Wiffen, P. J., Moore, R. A. & Gilron, I. Combination pharmacotherapy for the treatment of neuropathic pain in adults. *The Cochrane database of systematic reviews* **2012**, (2012).
10. Morrison, D. *et al.* Profiling immunological phenotypes in individuals during the first year after traumatic spinal cord injury: A longitudinal analysis. *Journal of Neurotrauma* **40**, 2621–2637 (2023).