

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2024.06.0535

论著

基于生信分析对强直性脊柱炎关键基因及药物靶点的预测

修占杰¹, 刘佳琦², 王誉童³, 踪宇阳⁴, 郑子馨⁵, 施佳维⁶, 李津^{1,7}, 孟歆悻⁷

(1.天津医科大学基础医学院生物信息学系, 天津 300070; 2.天津市实验中学滨海学校, 天津 300459; 3.天津市第二十中学, 天津 300050; 4.天津市南开中学, 天津 300199; 5.天津市耀华中学, 天津 300040; 6.天津市第四中学, 天津 300211; 7.天津医科大学基础医学院细胞生物学系, 天津 300070)

摘要 目的: 基于强直性脊柱炎(AS)基因芯片数据, 应用生物信息学分析方法识别免疫细胞亚型相关的关键基因及药物靶点预测。方法: GEO数据库下载AS基因表达数据, 筛选差异表达基因(DEGs); 运用R软件包进行基因本体论(GO)和京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集分析; 应用CIBERSORT反卷积算法和加权基因共表达网络分析(WGCNA)建立免疫细胞亚型与基因表达的关联性, 结合蛋白质互作(PPI)网络筛选的枢纽基因进而确定AS关键基因, 药物优先指数(Pi)数据库预测关键基因药物靶点指标。结果: 共筛选出126个DEGs, 通路富集分析显示DEGs主要富集于淋巴及自然杀伤(NK)细胞免疫调节和毒性信号通路。WGCNA确定了3个模块与AS的中性粒细胞、CD8⁺T细胞和激活型NK细胞亚型相关性较强: 棕色模块与中性粒细胞、绿色模块与中性粒细胞、蓝绿色模块与CD8⁺T细胞、蓝绿色模块与激活型NK细胞($cor=0.83, 0.68, 0.52, 0.28$, 均 $P<0.05$)。PPI与模块基因结合筛选出5个关键基因, 分别为*CXCR1*、*IKZF1*、*RUNX3*、*ID2*和*ITGB3*, 基因Pi分析*IKZF1*和*ITGB3*在AS中排名较高。结论: *CXCR1*、*IKZF1*、*RUNX3*、*ID2*和*ITGB3*在AS中发挥重要作用, *IKZF1*和*ITGB3*可作为潜在药物治疗靶点。

关键词 强直性脊柱炎; 差异表达基因; 加权基因共表达网络分析; CIBERSORT; 免疫细胞; 药物靶点

中图分类号 R593.23

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2024)06-0535-08

Key genes and drug targets prediction of ankylosing spondylitis based on bioinformatics analysis

XIU Zhanjie¹, LIU Jiayu², WANG Yutong³, ZONG Yuyang⁴, ZHENG Zixin⁵, SHI Jiawei⁶, LI Jin^{1,7}, MENG Xinyi⁷

(1.Department of Bioinformatics, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2.Tianjin Experimental Binhai High School, Tianjin 300459, China; 3.Tianjin No.20 High School, Tianjin 300050, China; 4.Tianjin Nankai High School, Tianjin 300199, China; 5.Tianjin Yaohua High School, Tianjin 300040, China; 6.Tianjin No.4 High School, Tianjin 300211, China; 7.Department of Cell Biology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: Based on ankylosing spondylitis(AS) microarray data, bioinformatics analysis was used to identify key genes and drug targets related to immune cell subtypes. **Methods:** AS gene expression data were downloaded from GEO database, and differentially expressed genes (DEGs) were screened. Enrichment analysis of gene ontology(GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) were performed using R software package; CIBERSORT deconvolution algorithm and weighted gene co-expression network analysis(WGCNA) were used to establish the association between immune cell subtypes and gene expression, and key AS genes were identified by combining hub genes screened by protein-protein interaction(PPI) network. Key genes were predicted as drug targets in priority index(Pi) database. **Results:** A total of 126 DEGs were screened. Pathway enrichment analysis showed that they were mainly enriched in immune regulation and toxicity signaling pathways of lymphocytes and NK cells. WGCNA identified 3 modules were strongly correlated with neutrophils, CD8⁺T cells and activated NK cells of AS: brown module with neutrophils, green module with neutrophils, turquoise module with CD8⁺T cells, turquoise module with activated NK cells($cor=0.83, 0.68, 0.52, 0.28$, all $P<0.05$). Five key genes were screened by combining PPI with module genes, namely *CXCR1*, *IKZF1*, *RUNX3*, *ID2* and *ITGB3*. *IKZF1* and *ITGB3* rank top in AS by Priority index analysis. **Conclusion:** *CXCR1*, *IKZF1*, *RUNX3*, *ID2* and *ITGB3* play important roles in AS; *IKZF1* and *ITGB3* can be used as potential drug therapeutic targets.

Key words ankylosing spondylitis; differentially expressed gene; weighted gene co-expression network analysis; CIBERSORT; immune cells; drug target

基金项目 天津市教委科研计划项目(2020KJ196)

作者简介 修占杰(1995-), 男, 硕士在读, 研究方向: 生物信息学与计算生物学; 通信作者: 李津, E-mail: jli01@tmu.edu.cn; 孟歆悻, E-mail: mengxy@tmu.edu.cn。

强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)是一种慢性炎症性关节炎, 属于自身免疫性疾病^[1], 早期表现为脊柱附着点和骶髂关节炎症, 反复刺激后引

起骨侵蚀,导致患者活动能力丧失甚至致残,严重影响患者的生活质量^[2]。AS 常伴有关节外特征,包括前葡萄膜炎、银屑病、炎症性肠病等免疫疾病^[3]。目前全球发病率为 0.1%~1.4%,汉族人群为 0.20%~0.54%,男女比例差异明显,好发于中青年男性^[4-5]。AS 的病因和发病机制研究主要集中在遗传、免疫、环境和肠道微生物等方面^[3]。主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I 类等位基因 HLA-B27 是 AS 强遗传危险因素,90%~95% 的 AS 患者为 HLA-B27 阳性^[6]。研究表明,白细胞介素(IL)-17-IL-23 轴和辅助性 T 细胞 17(Th17)在 AS 中产生异常应答,Th17 和 Th22 细胞分泌促炎因子 IL-17、IL-22、肿瘤坏死因子(TNF)- α 和 IL-23, IL-23 促进 Th17 的分化和维持以及 IL-17 的产生,进而促进 AS 的发生^[7],但其确切发病机制尚不完全清楚。临床上 AS 的治疗药物包括环氧化酶抑制剂等非甾体抗炎药(NSAIDs)、TNF 抑制剂、IL-17 单克隆抗体以及抗风湿病药物、镇痛药等^[8-10],这些药物仅可控制炎症、防止渐进性结构损伤,改善疾病活动性,部分缓解 AS 临床症状,提高患者生活质量,但无法治愈。因此深入探索 AS 的发病机制和疾病发生、发展中的关键基因对 AS 的诊疗至关重要。

近年来,随着高通量测序技术的发展,基因组(如多基因风险评分)、微生物组、转录组、蛋白质组和代谢组等组学技术和统计方法不断进步,综合利用多组学和新兴统计方法丰富 AS 的临床诊断和治疗数据,能够为 AS 的精准医疗提供有价值的参考。本研究整合公共数据库中 AS 基因表达芯片数据,结合 CIBERSORT、加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)和蛋白质互作网络(protein-protein interaction, PPI)分析等多种生物信息学分析方法,筛选与免疫细胞亚型相关的关键基因,为进一步揭示 AS 的发病机制,也为研发潜在药物治疗靶点提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 数据来源 从基因表达数据库(gene expression omnibus, GEO)获得 AS 和健康对照外周血的微阵列数据。本研究共纳入 3 个数据集:GSE25101、GSE73754 和 GSE18781,包括 86 例 AS 样本和 61 名健康对照样本,见表 1。

1.2 方法

1.2.1 差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)分析 GSE73754 和 GSE18781 使用 R 软件 tinyarray 包获取数据;GSE18781 使用 R 软件中 affy 包的 RMA(robust multi-array average)方法进行背

表 1 GEO 微阵列数据信息

Tab.1 GEO microarray dataset information

GEO 微阵列数据	探针平台	样本		组织来源
		AS	CTRL	
GSE25101	GPL6947	16	16	PBMC
GSE73754	GPL10558	52	20	PBMC
GSE18781	GPL570	18	25	PBMC

注:AS:强直性脊柱炎;CTRL:对照组;PBMC:外周血单个核细胞

景校正和归一化处理,多个探针基因取平均值,提取 3 个数据集共有基因 11 791 个;使用 sva 包的 ComBat 方法去除批次效应;使用 limma 包计算 AS 组和健康对照组的 DEGs,设定筛选阈值 $P < 0.05$ 和 $|\log_2 FC| > 0.2$;使用 ggplot2 包对筛选出的 DEGs 进行火山图展示。

1.2.2 DEGs 的功能富集分析 使用 R 软件的 clusterProfiler 包对 DEGs 进行基因本体论(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,以人类基因组为参考背景,检测 DEGs 相关的生物功能和潜在信号通路途径。GO 分析生物过程(biological process, BP)设定筛选阈值 $P < 0.05$, KEGG 分析富集信号通路,设定筛选阈值 $P < 0.05$,使用 ggplot2 包对富集信号途径进行气泡图展示。

1.2.3 CIBERSORT 免疫细胞组成分析 CIBERSORT(<http://cibersort.stanford.edu/>)运算方法是以基因表达为基础的反卷积算法,通常被用来评估样本中细胞亚型的相对比例,本研究通过 CIBERSORT 与 22 种免疫细胞亚型的参考集(LM22)估计样本中免疫细胞组成,采用 Wilcoxon 检验比较免疫细胞各亚型在 AS 组和健康对照组间差异,设定筛选阈值 $P < 0.05$,使用 ggplot2 包以箱线图进行可视化。

1.2.4 WGCNA 按照 DEGs P 值由小到大的顺序选取前 5 000 个基因,利用欧式距离对样本进行层次聚类,剔除离群样本后共 142 个样本纳入后续分析。使用 R 中的 WGCNA 包构建共表达网络,筛选出最佳软阈值参数 β ,构建无尺度拓扑分布网络,根据基因间的 Pearson 相关系数将相关矩阵转换为邻接矩阵,进而转换为拓扑重叠矩阵(topological overlap matrix, TOM)。利用层次聚类函数,将表达谱相似的基因归类于同一个基因模块。以 AS 与健康对照组具有显著差异的免疫细胞亚型作为临床特征,与模块进行关联分析,采用 Pearson 检验计算各模块与免疫细胞亚型之间的相关性,选取相关系数较高的模块定义为中心模块进行后续研究。

1.2.5 PPI 筛选出的 DEGs 导入至 NetworkAnalyst 网站(<https://www.networkanalyst.ca/NetworkAnalyst/>),

选取 STRING 数据库分析蛋白质的功能联系和蛋白质的相互作用,绘制 PPI,以 DEGREE、BETWEENNESS 算法得分进行排序,筛选排名前 30 位基因作为 hub 基因。

1.2.6 关键基因的筛选 整合 WGCNA 分析得出的中心模块候选基因与 PPI 分析得到的 hub 基因,通过绘制韦恩图,取交集内包含的基因作为本研究的候选关键基因。

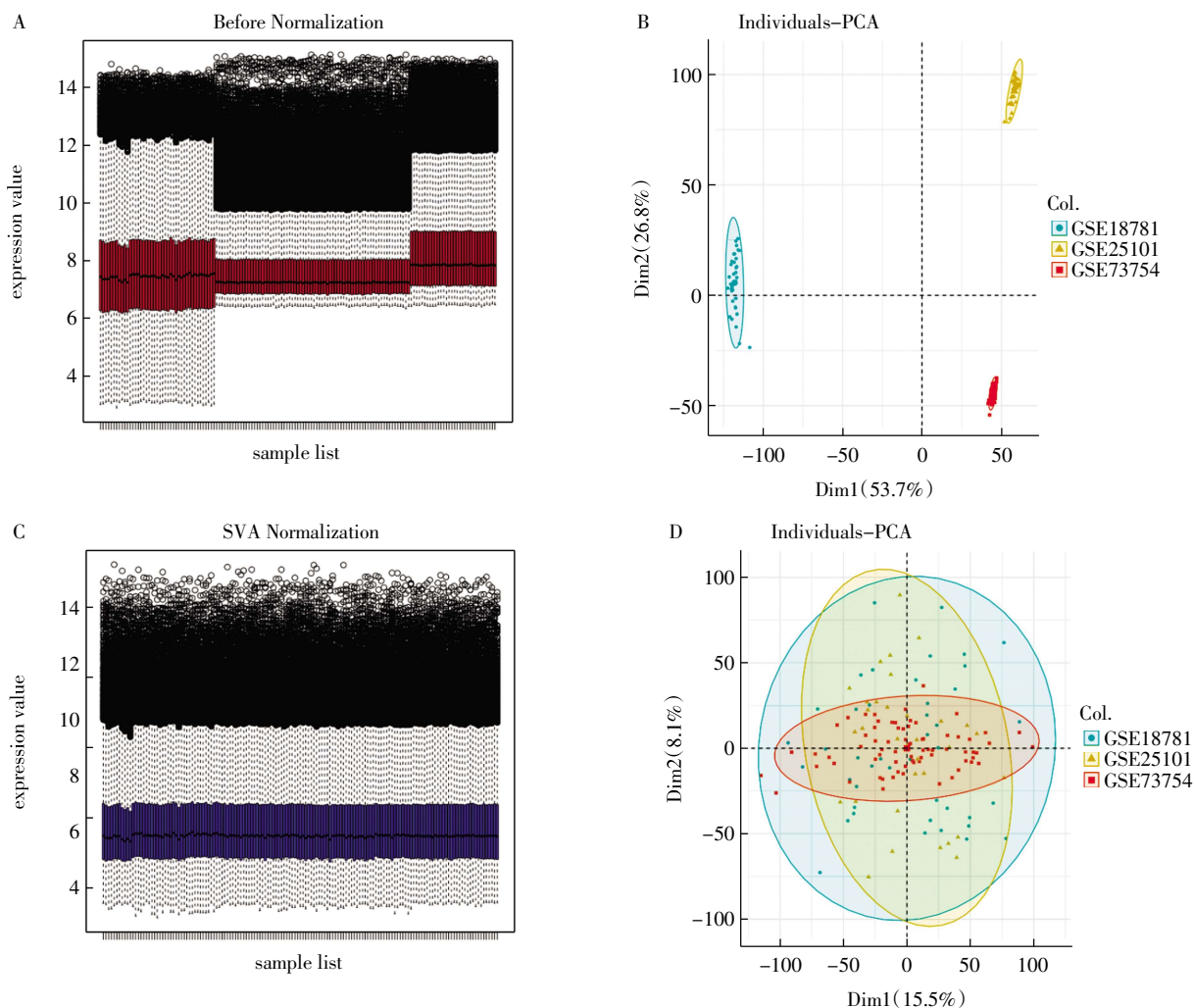
1.2.7 候选关键基因药物靶点优先指数分析 候选关键基因导入“优先索引”药物靶点分析数据库 (Priority index, Pi, <http://pi.well.ox.ac.uk>),数据库将依据基因在各方面特性进行打分,综合评分预测其作为治疗 AS 药物靶点的排名以及已应用于其他免疫疾病中药物靶点的情况。

1.3 统计学处理 实验数据用 R 语言 R-4.3.2 进

行数据整理和统计学分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验进行组间比较。采用 Wilcoxon 检验比较免疫细胞各亚型在 AS 组和健康对照组间差异。采用 Pearson 相关性分析计算 WGCNA 模块与免疫细胞亚型间的联系。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 去批次效应 将 GSE25101、GSE73754 和 GSE18781 数据集进行整合,并进行去除批次效应处理。3 组数据集去除批次效应前的箱形图具有明显的批次效应 (图 1A),PCA 主成分分析图显示不同数据集各自聚在一起 (图 1B),去除批次效应后,箱形图显示数据表达趋于一致 (图 1C),PCA 图表明样本互相交织在一起 (图 1D),提示各数据集样本之间较好的去除了批次效应。



注:A:去批次效应前箱形图;B:去批次效应前 PCA 主成分图;C:去批次效应后箱形图;D:去批次效应后 PCA 主成分图

图 1 数据去批次效应箱形图和 PCA 图

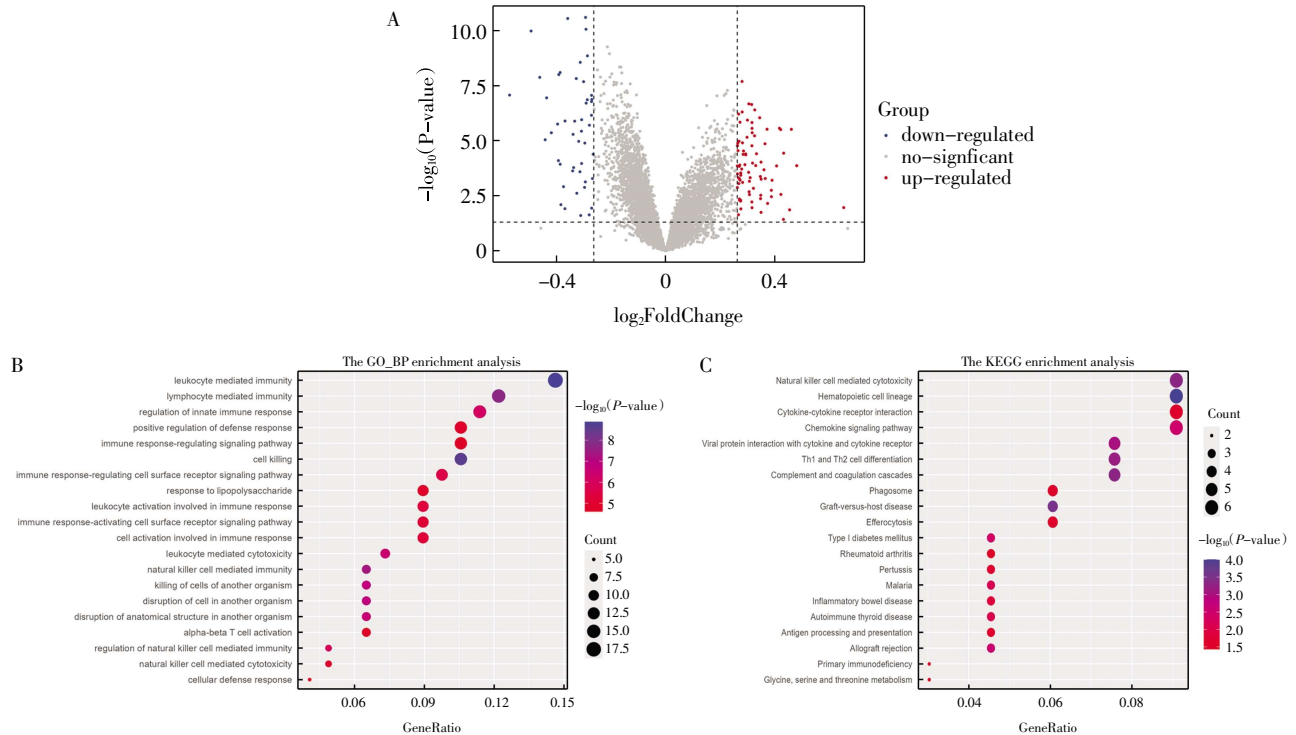
Fig.1 Boxplot and PCA diagram of data before and after batch effect correction

2.2 DEGs 及相关通路富集分析 对合并的数据集进行基因表达分析,结果显示共有 126 个基因出现

显著性差异 (DEGs),其中上调基因 79 个,下调基因 47 个 (图 2A)。对 DEGs 进行 GO 生物过程富集分

析,根据 P 值对前 20 个通路进行可视化,结果显示基因富集在淋巴细胞调节的免疫、自然杀伤细胞调节的免疫、淋巴细胞调节的细胞毒性,免疫应答调节的细胞表面受体信号等通路(图 2B)。KEGG 信号

通路富集分析显示,基因富集在自然杀伤细胞调节的细胞毒性、Th1 和 Th2 细胞分化、趋化因子信号通路以及 1 型糖尿病、自身免疫性甲状腺疾病和炎症性肠炎等免疫性疾病(图 2C)。



注:A:DEGs 火山图;B:GO 生物过程富集分析;C:KEGG 富集分析

图 2 DEGs 和通路富集分析

Fig.2 Differentially expressed genes and pathway enrichment analysis

2.3 AS 组与健康对照组免疫细胞组成分析 基因表达数据以 22 种免疫细胞为参考经过 CIBERSORT 分析。与健康对照组相比,AS 组在中性粒细胞、单核细胞中的比例显著升高,差异具有统计学意义 ($W=3\ 353, 3\ 237$, 均 $P<0.05$);在 CD8⁺T 细胞 ($W=1\ 806$)、 $\gamma\delta$ T 细胞 ($W=2\ 021$)、激活型 NK 细胞 ($W=2\ 107.5$) 和 M2 型巨噬细胞 ($W=1\ 947.5$) 中比例显著降低(均 $P<0.05$),见图 3。

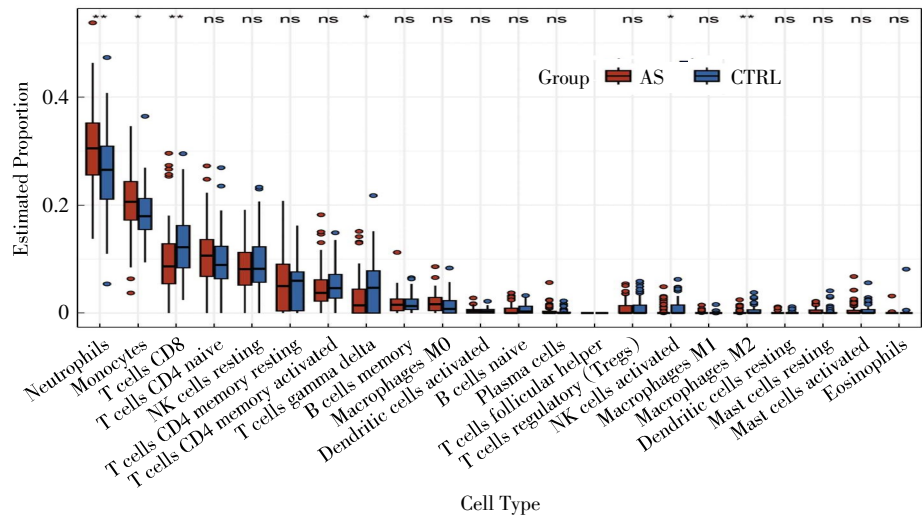
2.4 WGCNA 构建共表达网络 选取拟合指数 R^2 为 0.85 且平均连通性接近零时的软阈值 $\beta=10$ (图 4A、B),基于选择的软阈值构建共表达网络,共识别到 10 个模块,并通过层次聚类树来展示所构建的 10 个模块(图 4C)。

2.5 免疫细胞相关模块分析 提取 CIBERSORT 分析中 AS 和健康对照组间具有统计学差异的细胞亚型作为性状与模块内的基因进行关联性分析,结果显示棕色模块与中性粒细胞呈正相关($cor=0.83$, $P<0.05$),绿色模块与中性粒细胞也呈正相关($cor=0.68$, $P<0.05$),蓝绿色模块与 CD8⁺T 细胞及激活型 NK 细胞均呈正相关($cor=0.52, 0.28$, 均 $P<0.05$)(图

5),故将棕色模块、绿色模块和蓝绿色模块作为关键模块进行后续分析。

2.6 关键基因筛选 126 个 DEGs 应用 STRING 数据库绘制 PPI,利用 DEGREE、BETWEENNESS 两种 hub 基因算法进行基因筛选(图 6A),排名前 30 位的基因作为 hub 基因分别与棕色模块、绿色模块和蓝绿色模块中基因取交集,共筛选到 5 个关键基因,其中棕色模块为 *CXCR1* (C-X-C motif chemokine receptor 1),绿色模块为 *IKZF1* (IKAROS family zinc finger 1),蓝绿色模块为 *RUNX3* (runt related transcription factor 3)、*ID2* (inhibitor of DNA binding 2)、*ITGB3* (integrin subunit beta 3),见图 6B,表 2。

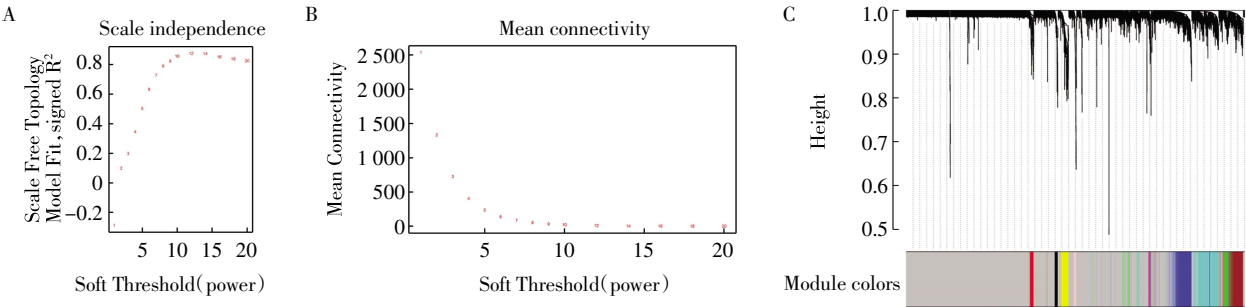
2.7 关键基因 Pi 预测 Pi 预测关键基因在 AS 潜在治疗靶点中的优先评分,发现 *IKZF1* 排名第 31 位,作为该基因调节剂的药物 reparixin 和 ladarixin 在免疫相关的 1 型糖尿病中已进入了临床试验阶段,*ITGB3* 排名第 386 位,作为该基因拮抗药物的 etaracizumab 在类风湿关节炎(RA)以及银屑病中也已进入了临床试验阶段(表 3、4)。



注:AS:强直性脊柱炎

图 3 AS 组与健康对照组间的免疫细胞亚型比例分析

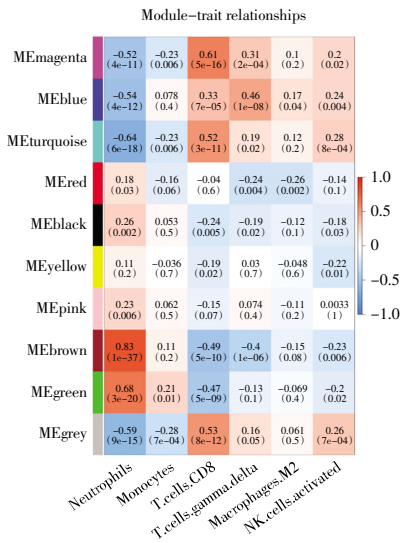
Fig.3 Proportions comparison of immune cell subtypes between AS group and control group



注:A:软阈值筛选;B:平均连接度;C:WGCNA模块

图 4 软阈值与共表达网络构建

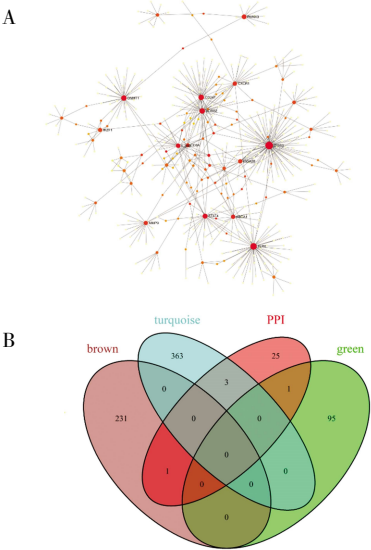
Fig.4 Soft thresholds and co-expression network construction



注:Neutrophils:中性粒细胞;Monocytes:单核细胞;T.cells.CD8:CD8 T 细胞;T.cells.gamma.delta: $\gamma\delta$ T 细胞;Macrophages.M2:M2 巨噬细胞;NK.cells.activated:激活型 NK 细胞

图 5 模块基因与免疫细胞亚型相关性图

Fig.5 Correlations between module genes and immune cell subtypes



注:PPI:蛋白质相互作用

图 6 蛋白质互作网路图和 hub 基因与模块基因交集韦恩图

Fig.6 PPI diagram and Venn diagram between hub genes and module genes

表 2 关键基因差异表达与 hub 基因算法得分
Tab.2 Differential expression and hub scores of key genes

基因	logFC	P	adj.P	Degree	Betweenness
<i>ITGB3</i>	0.29	4.01E-05	1.25E-03	89	44 410
<i>CXCR1</i>	0.26	1.35E-03	1.15E-02	19	8 406
<i>ID2</i>	-0.31	2.77E-09	3.74E-06	8	2 831
<i>RUNX3</i>	-0.29	1.41E-09	2.17E-06	11	9 055
<i>IKZF1</i>	-0.27	1.17E-02	4.88E-02	7	4 690

注:degree:节点度;betweenness:计算介数中心度

表 3 关键基因在 AS 中的优先指数排名
Tab.3 Priority index of key genes in AS

基因	描述	排名	等级	nGene	cGene	eGene	seed	fGene	pGene	dGene
<i>IKZF1</i>	IKAROS family zinc finger 1	31	4.307	0	11	0	Y	0	1	1
<i>ITGB3</i>	integrin subunit beta 3	386	2.995	1	0	0	Y	0	1	1
<i>RUNX3</i>	runt related transcription factor 3	691	2.650	1	0	0	Y	0	0	0
<i>CXCR1</i>	C-X-C motif chemokine receptor 1	953	2.465	1	2	0	Y	1	0	1
<i>ID2</i>	inhibitor of DNA binding 2	3 068	1.482	0	0	0	N	0	0	0

注:nGene:基因组附近基因;cGene:染色质构象捕获基因;eGene:表达数量性状基因;seed:基因组种子基因;fGene:功能基因;pGene:表型基因;dGene:疾病基因

表 4 关键基因在其他免疫疾病中的已知药物靶点
Tab.4 Known drug targets of key genes in other immune diseases

疾病	基因	治疗药物	作用类型	来源
type 1 diabetes mellitus	<i>IKZF1</i>	reparixin	modulator	ClinicalTrials
type 1 diabetes mellitus	<i>IKZF1</i>	ladarixin	modulator	ClinicalTrials
rheumatoid arthritis	<i>ITGB3</i>	etaracizumab	antagonist	ClinicalTrials
psoriasis	<i>ITGB3</i>	etaracizumab	antagonist	ClinicalTrials

3 讨论

AS 是一种由免疫介导的慢性炎症性风湿病,具有高度复杂性和异质性,以骶髂关节炎和其他中轴关节炎引发的炎性背痛,骨关节结构损伤和病理性新骨形成为特征^[11]。严重的关节和关节外病变给患者的身心都造成了极大的伤害,同时也给社会带来了相当大的负担,因此其发病机制以及药物治疗靶点的研究显得尤为重要。本研究选用 GEO 公共数据库中 3 组 AS 基因表达芯片数据,扩大了 AS 的样本数量,通过生物信息学分析方法鉴定出 *CXCR1*、*IKZF1*、*RUNX3*、*ID2* 和 *ITGB3* 5 个与 AS 免疫细胞亚型高度相关的关键基因,为 AS 的诊断与治疗提供了新的思路。

本研究在对 DEGs 进行功能富集分析时发现,除免疫相关信号通路外,基因还富集于 1 型糖尿病、RA、炎症性肠病等免疫疾病。研究发现它们多与 Th1/Th2 比例失衡、TNF- α 、IL-2、IL-6 等细胞因子分泌异常有关^[12]。并且,新型 Th17 T 细胞亚群也被证实 AS 和 RA 患者外周血中比例升高^[13],因此深入挖掘免疫细胞和细胞因子在 AS 中的作用至关

重要。本研究对免疫细胞亚型相对比例统计结果发现 CD8⁺T 细胞比例减少,与 AS 单细胞组学数据存在差异,这可能是由于样本量大小以及 T 细胞亚群多样性导致的,而中性粒细胞、单核细胞比例在 AS 患者中显著升高,与 AS 单细胞组学数据分析结果一致^[14]。已知 3 型免疫细胞如单核细胞也是 IL-17 的重要来源^[15],这提示本研究发现的中性粒细胞及单核细胞可能在 AS 中同样发挥重要作用。

WGCNA 关联分析发现:*CXCR1* 是与中性粒细胞关联性最高的棕色模块基因与 PPI 构建的枢纽基因的共同基因,且 *CXCR1* 在 AS 患者中表达上调。文献报道 AS 患者经典单核细胞和粒细胞之间通过 CXCL8/2-CXCR1/2 信号通路发生潜在相互作用,抗 TNF- α 治疗前后单细胞数据分析发现,治疗后 CXCL8-CXCR1/2 强度降低,CXCL2-CXCR1/2 消失^[14]。这些发现均提示 CXCR1 在抗 TNF- α 药物治疗 AS 的过程中起到了重要的调控作用。

IKZF1 基因表达产物是一种含有锌指结构域(ZFs),在造血功能中必不可少的转录因子^[16]。研究证实多个位于 ZFs 区域的杂合突变影响其与 DNA

结合或二聚化的能力,与多种人类免疫疾病相关^[17]。在小鼠模型中,*Ikzf1* 的 Lys164 位点高乳酸化会促进 *Runx1*、*IL-2* 等基因的表达,从而促进 Th17 的分化,而该位点的去乙酰化则会抑制 Th17 的分化^[18]。IL-17-IL-23 轴和更广泛的 Th17 型免疫反应与 AS 的发病机制明显相关^[19]。说明 *IKZF1* 基因可能作用于 Th17 类型 CD4⁺T 细胞参与 AS 的发生。本研究发现 CD4⁺ naive T 细胞占比在 AS 中有所升高,尽管差异未达到统计学意义,但 *IKZF1* 在 AS 患者中的表达显著下调,AS 药物优先指数 Pi 预测排名最高,治疗 1 型糖尿病药物已进入临床试验阶段,这些证据均提示 *IKZF1* 可作为自身免疫性疾病,尤其是 AS 的潜在治疗靶点。

此外,本研究还发现了与 CD8⁺T 细胞和激活型 NK 细胞性状高度相关的关键基因 *RUNX3*、*ID2* 和 *ITGB3*。*RUNX3* 作为转录因子,可调控多种谱系特异性免疫细胞发育^[20]。基于高密度免疫芯片数据的全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)发现,*RUNX3* 上游具有增强子特征的启动子区与 AS 呈现显著遗传关联^[21],此区域可通过单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)调控 *RUNX3* 基因的表达,进而调节 CD8⁺T 细胞的发育和分化,参与 AS 的发病机制^[22]。AS 遗传风险位点与免疫细胞表观基因组和转录组联合分析发现, NK 细胞特异性开放染色质区域在 AS 遗传风险位点上显著富集,并且转录组数据显示 AS 样本中的 *RUNX3* 基因在 NK 细胞中表达上调^[23]。另外,有研究发现 *RUNX3* 基因敲除小鼠 IL-15 依赖的激活型 NK 细胞数量减少^[24]。*ITGB3* 即 $\beta 3$ 整合素,也被称为 *CD61* 或 *GP3A*,其表达产物作为细胞表面黏附受体,参与肿瘤代谢重编程,塑造基质和免疫微环境等过程^[25]。研究者通过质谱流式收集 AS 与 RA 患者滑液样本,转录本分析发现了特异性存在于 AS 患者中整合素标记的新的 CD8⁺T 细胞亚群^[26]。这一发现使人们对 AS 发病机制中的转运分子有了更深入的了解,同时为基于整合素阻滞剂干预治疗 AS 患者疗效不一致的情况提供了理论依据。

综上所述,本研究通过对 AS 基因表达芯片数据与免疫细胞亚型的关联研究,鉴定出 5 个关键基因,药物优先指数分析 *IKZF1* 和 *ITGB3* 具有潜在应用价值,这些发现对 AS 发病机制及潜在药物创新具有重要意义。由于本研究选用公共数据库数据进行分析,缺少性别、年龄以及种族等全面信息,对预测的关键基因仍需进行进一步实验验证。

参考文献:

- [1] BRAUN J, SIEPER J. Ankylosing spondylitis[J]. Lancet, 2007, 369(9570): 1379-1390.
- [2] RUDWALEIT M, VAN DER HEIJDE D, LANDEWE R, et al. The development of assessment of spondyloarthritis international society classification criteria for axial spondyloarthritis (part ii): validation and final selection[J]. Ann Rheum Dis, 2009, 68(6): 777-783.
- [3] ZHU W, HE X, CHENG K, et al. Ankylosing spondylitis: etiology, pathogenesis, and treatments[J]. Bone Res, 2019, 7: 22.
- [4] ZHAI J, RONG J, LI Q, et al. Immunogenetic study in Chinese population with ankylosing spondylitis: are there specific genes recently disclosed?[J]. Clin Dev Immunol, 2013, 2013: 419357.
- [5] DEAN L E, JONES G T, MACDONALD A G, et al. Global prevalence of ankylosing spondylitis[J]. Rheumatology (Oxford), 2014, 53(4): 650-657.
- [6] JAAKKOLA E, HERZBERG I, LAIHO K, et al. Finnish HLA studies confirm the increased risk conferred by HLA-b27 homozygosity in ankylosing spondylitis[J]. Ann Rheum Dis, 2006, 65(6): 775-780.
- [7] VORUGANTI A, BOWNESS P. New developments in our understanding of ankylosing spondylitis pathogenesis[J]. Immunology, 2020, 161(2): 94-102.
- [8] SMOLEN J S, SCHOLS M, BRAUN J, et al. Treating axial spondyloarthritis and peripheral spondyloarthritis, especially psoriatic arthritis, to target: 2017 update of recommendations by an international task force[J]. Ann Rheum Dis, 2018, 77(1): 3-17.
- [9] DUBASH S, BRIDGEWOOD C, MCGONAGLE D, et al. The advent of IL-17a blockade in ankylosing spondylitis: secukinumab, ixekizumab and beyond[J]. Expert Rev Clin Immunol, 2019, 15(2): 123-134.
- [10] WARD M M, DEODHAR A, GENSLER L S, et al. 2019 update of the American college of rheumatology/spondylitis association of America/spondyloarthritis research and treatment network recommendations for the treatment of ankylosing spondylitis and nonradiographic axial spondyloarthritis[J]. Arthritis Rheumatol, 2019, 71(10): 1599-1613.
- [11] BROWN M A, KENNA T, WORDSWORTH B P. Genetics of ankylosing spondylitis—insights into pathogenesis[J]. Nat Rev Rheumatol, 2016, 12(2): 81-91.
- [12] LIEW F Y. T(h)1 and T(h)2 cells: a historical perspective[J]. Nat Rev Immunol, 2002, 2(1): 55-60.
- [13] SHEN H, GOODALL J C, HILL GASTON J S. Frequency and phenotype of peripheral blood Th17 cells in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2009, 60(6): 1647-1656.
- [14] ZHAO Z B, BIAN Z H, LIN Z M, et al. Single-cell analysis of patients with axial spondyloarthritis after anti-tnfalpha treatment: experimental data and review of the literature[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2023, 65(2): 136-147.
- [15] CICCIA F, GUGGINO G, RIZZO A, et al. Type 3 innate lymphoid cells producing IL-17 and IL-22 are expanded in the gut, in the peripheral blood, synovial fluid and bone marrow of patients with ankylosing spondylitis[J]. Ann Rheum Dis, 2015, 74(9): 1739-1747.
- [16] HEIZMANN B, KASTNER P, CHAN S. The ikaros family in lym-

phocyte development[J]. Curr Opin Immunol, 2018, 51: 14–23.

[17] HOSHINO A, BOUTBOUL D, ZHANG Y, et al. Gain-of-function ikzf1 variants in humans cause immune dysregulation associated with abnormal T/B cell late differentiation[J]. Sci Immunol, 2022, 7(69): eabi7160.

[18] FAN W, WANG X, ZENG S, et al. Global lactylome reveals lactylation-dependent mechanisms underlying t(h)17 differentiation in experimental autoimmune uveitis[J]. Sci Adv, 2023, 9(42): eadh4655.

[19] TAAMS L S, STEEL K J A, SRENATHAN U, et al. IL-17 in the immunopathogenesis of spondyloarthritis[J]. Nat Rev Rheumatol, 2018, 14(8): 453–466.

[20] SEO W, NOMURA A, TANIUCHI I. The roles of RUNX proteins in lymphocyte function and anti-tumor immunity[J]. Cells, 2022, 11(19): 3116.

[21] VECCELLIO M, ROBERTS A R, COHEN C J, et al. The genetic association of RUNX3 with ankylosing spondylitis can be explained by allele-specific effects on IRF4 recruitment that alter gene expression[J]. Ann Rheum Dis, 2016, 75(8): 1534–1540.

[22] VECCELLIO M, CHEN L, COHEN C J, et al. Functional genomic analysis of a RUNX3 polymorphism associated with ankylosing spondylitis[J]. Arthritis Rheumatol, 2021, 73(6): 980–990.

[23] CHINAS M, FERNANDEZ-SALINAS D, AGUIAR VRC, et al. Functional genomics implicates natural killer cells as potential key drivers in the pathogenesis of ankylosing spondylitis[J]. Med Rxiv, 2023: 23295912.

[24] LEVANON D, NEGREANU V, LOTEM J, et al. Transcription factor RUNX3 regulates interleukin-15-dependent natural killer cell activation[J]. Mol Cell Biol, 2014, 34(6): 1158–1169.

[25] ZHU C, KONG Z, WANG B, et al. ITGB3/cd61: a hub modulator and target in the tumor microenvironment[J]. Am J Transl Res, 2019, 11(12): 7195–7208.

[26] QAIYUM Z, GRACEY E, YAO Y, et al. Integrin and transcriptomic profiles identify a distinctive synovial CD8⁺ T cell subpopulation in spondyloarthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2019, 78(11): 1566–1575.

(2024-04-10 收稿)

·读者·作者·编者·

《天津医科大学学报》对缩略语的使用说明

文题原则上不能使用缩略语,文中应尽量减少缩略语。公认的缩略语在文中可以直接使用。未公布的名词术语,请按照如下规则进行缩写:原词过长且在文中出现 3 次以上者,可在第一次出现时写出全称,并在括号内写出缩略语。不超过 5 个汉字的名称不宜使用缩略语,以免影响文章的可读性。

缩略语	中文名称	缩略语	中文名称
ADA	美国糖尿病协会	MRI	磁共振成像
CT	电子计算机体层扫描	MtDNA	线粒体 DNA
ELISA	酶联免疫吸附试验	OR	优势比
HE	苏木素-伊红	PCR	聚合酶链反应
HIV	人类免疫缺陷病毒	PET	正电子发射断层摄影术
HbA1c	糖化血红蛋白	Real-time PCR	实时定量聚合酶链反应
HR	风险比	RT-PCR	反转录聚合酶链反应
ICU	重症监护治疗病房	WHO	世界卫生组织

本刊编辑部