

文章编号 1006-8147(2023)03-0235-08

论 著

# 哮喘中 miRNA、lncRNA、circRNA、转录因子和靶基因的调控网络

李昱剑, 阚璇

(天津医科大学总医院儿科, 天津 300070)

**摘要** 目的: 筛选支气管哮喘的差异表达基因(DEGs)并构建相应的 ceRNA 调控网络。方法: 从 GEO 数据库中筛选出两个数据集: GSE43696 和 GSE64913。用 R 软件的 Limma 包筛选 DEGs 并用 ClusterProfiler 包完成富集分析。利用 Cytoscape、Tarbase、ENCORI、LncBase、Circad、AnimalTFDB、DGIdb 等数据库构建 miRNA、lncRNA、circRNA、转录因子和靶向药物与靶基因的调控网络。结果: 共得到 76 个 DEGs, 其中 44 个基因上调, 32 个基因下调。富集分析显示, DEGs 的功能和通路主要富集在宿主免疫系统和炎症方面, 如组织特异性免疫反应、细胞杀伤、白细胞介素(IL)-17 信号通路、抑制一氧化氮产生等。最后, 预测并筛选出了 2 个 miRNA、7 个 lncRNA、1 个 circRNA、8 个转录因子和 91 种靶向药物, 并构建了相应的调控网络。结论: 在哮喘中, *SNX13* 和 7 个 lncRNA 通过 *hsa-miR-19b-3p* 和 *hsa-miR-218-5p* 参与 *CLCA1* 等基因的表达调控。此外, *SPI1* 等转录因子和他尼氟酯等药物也可能干预哮喘相关基因的表达和调控。

**关键词** 哮喘; ceRNA 调控网络; lncRNA; circRNA; 转录因子; 靶向药物

中图分类号 R562.2+5

文献标志码 A

## Regulatory networks of miRNA, lncRNA, circRNA, transcription factors and target genes in asthma

LI Yu-jian, KAN Xuan

(Department of Pediatrics, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

**Abstract** **Objective:** Screening for differentially expressed genes (DEGs) in bronchial asthma and construction of the corresponding ceRNA regulatory network. **Methods:** Two data sets from the Gene Expression Omnibus (GEO) database: GSE43696 and GSE64913 were screened. The DEGs were studied by Limma package of R software, and enrichment analysis was completed by ClusterProfiler package of R software. Subsequently, Cytoscape, Tarbase, ENCORI, LncBase, Circad, AnimalTFDB, DGIdb and other databases were used to construct regulatory networks of miRNA, lncRNA, circRNA, transcription factors (TFs), targeted drugs and target genes. **Results:** A total of 76 DEGs were obtained, among which 44 genes were up-regulated and 32 genes were down-regulated. Enrichment analysis showed that the functions and pathways of DEGs were mainly concentrated in the host immune system and inflammatory response, such as tissue specific immune response, cell killing, IL-17 signaling pathway, inhibition of nitric oxide production, etc. Finally, two miRNAs, seven lncRNAs, one circRNA, eight TFs and ninety-one targeted drugs were predicted and screened out, and the corresponding regulatory networks were constructed. **Conclusion:** In asthma, *SNX13* and 7 lncRNAs were involved in gene expression and regulation through *hsa-miR-19b-3p* and *hsa-miR-218-5p*. In addition, transcription factors such as *SPI1* and drugs such as talniflumate may also interfere with the expression and regulation of asthma-related genes.

**Key words** asthma; ceRNA regulatory network; lncRNA; circRNA; transcription factor; targeted drug

支气管哮喘简称哮喘,是临床最常见的慢性气道炎症性疾病之一。哮喘复杂的发病机制和多样化的临床表现既增加了临床医生的诊治难度,也使患者在日常生活中饱受痛苦<sup>[1]</sup>。目前全球至少有 3 亿哮喘患者,且哮喘的发病率在全球范围内仍呈上升趋势<sup>[2]</sup>。虽然随着医学进步,既往统计的哮喘死亡率已经有所下降,但从 2006 年开始其下降趋势就出现了急刹车,表明现有治疗手段已经遇到了瓶颈<sup>[3]</sup>。

越来越多疾病的诊治从蛋白质水平进入到了转录和调控水平,其中非编码 RNA 发挥着不可替代的作用<sup>[4]</sup>。研究表明,与健康人相比,哮喘患者外周血样本中 lncRNA 的数量和表达存在差异<sup>[5]</sup>。与传统的线性 RNA 不同, circRNA 呈现封闭的环状结构,使其表达更加稳定。 circRNA 可以通过与哮喘等疾病相关的 miRNA 相互作用,从而对哮喘等疾病的发生、发展起到重要作用<sup>[6]</sup>。转录因子是一组蛋白质分子,能使目标基因在特定的时间和空间上以特定的强度进行表达。一些研究也指出,转录因子可以参与哮喘的气道炎症、气道重塑和免疫调节<sup>[7]</sup>。

基金项目 天津市医学重点学科(专科)建设项目(TJYX2DXK-068C)

作者简介 李昱剑(1997-),男,硕士在读,研究方向:呼吸、消化方向;

通信作者: 阚璇, E-mail: ashelykx@126.com。

近年来,有关 miRNA 与哮喘关系的研究层出不穷,对哮喘的诊治起到了积极的推动作用,但关于 lncRNA、circRNA、转录因子等非编码 RNA 与哮喘关系的研究仍有较多空白。本研究将使用上述方法筛选哮喘的 DEGs,并构建 miRNA、lncRNA、circRNA、转录因子和靶向药物与哮喘靶基因之间的调控网络。对哮喘相关的遗传物质、功能、通路和靶向药物的探索,可以为哮喘生物标志物挖掘和精准医疗提供参考。

## 1 材料与方法

**1.1 微阵列数据** 本研究使用检索式:('asthma'[MeSH Terms] OR 'asthma'[All Fields])AND('Homo sapiens'[Organism]AND'Expression profiling by array'[Filter])从 GEO<sup>[8]</sup>(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)数据库中筛选出了 GSE43696 和 GSE64913 这两个数据集,并从中提取了相应的临床信息。GSE43696 来源于 GPL6480 平台(*Agilent-014850 Whole Human Genome Microarray 4x44K G4112F*),包含 88 例哮喘患者的支气管上皮细胞样本和 20 名健康人体样本<sup>[9]</sup>。GSE64913 来源于 GPL570 平台(*HG-U133 Plus\_2 Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array*),包含 15 例哮喘患者的支气管上皮细胞样本和 19 名健康人体样本<sup>[10]</sup>。

**1.2 识别差异表达基因** 通过核对两个数据集的信息来平均或删除没有相应基因符号的探针组和有多个探针组的基因。使用 R 软件的 Limma 包(版本:3.40.2)去除批次效应并识别 DEGs。以 " $P < 0.05$  and  $Fold\ Change > 1.5$ " 作为筛选 DEGs 的阈值。

**1.3 GO 和 KEGG 富集分析** R 软件中的 ClusterProfiler 包(版本:4.0)被用于 GO 和 KEGG 富集分析。箱式图由 ggplot2 包绘制;PCA 图由 ggor 包绘制;热图由 pheatmap 包绘制。上述所有分析方法和 R 软件包均由 R 软件(2020)4.0.3 版完成。

**1.4 Metascape** 使用 Metascape<sup>[11]</sup>(<http://metascape.org/>)对得到的 DEGs 再次进行 GO 和 KEGG 富集分析,与 ClusterProfiler 包分析得到的结果进行对比验证和互相补充,使最终结果更加真实可靠。筛选条件:  $Min\ Enrichment = 1.5$ ,  $P < 0.01$  and  $Min\ overlap = 3$ 。

**1.5 WEB-based GEneSeTAnaLysis Toolkit (WebGestalt)** 数据库和 Reactome Pathway 数据库 使用 WebGestalt<sup>[12]</sup>(<http://www.webgestalt.org/>)和 Reactome<sup>[13]</sup>(<https://reactome.org/>)数据库对 DEGs 从另一种算法角度进行 GO 和 KEGG 富集分析,从而补充单一算法的不足。WebGestalt 数据库的筛选标准是  $Number\ of\ IDs\ in\ the\ category: 5-2000$ ,  $FDR\ Method:$

$BH$ , and  $Significance\ Level: FDR < 0.05$ 。Analysis Tools 是 Reactome 数据库中的一个分析工具,被用于通路研究。

**1.6 蛋白-蛋白交互网络构建与靶基因筛选** 使用 STRING<sup>[14]</sup>(<https://string-db.org/>)数据库构建 DEGs 的蛋白-蛋白交互网络,  $minimum\ required\ interaction\ score = 0.4$  被认为具有统计学意义。使用 Cytoscape 对蛋白-蛋白交互网络进行可视化<sup>[15]</sup>,并使用 Cytoscape 的插件 Cytohubba 筛选出最重要的 9 个核心基因。

**1.7 lncRNA-miRNA-靶基因相互作用网络分析** 在 Tarbase<sup>[16]</sup>([http://carolina.imis.athena-innovation.gr/diana\\_tools/web/index.php?r=tarbasev8%2Findex](http://carolina.imis.athena-innovation.gr/diana_tools/web/index.php?r=tarbasev8%2Findex))和 TargetScan<sup>[17]</sup>([http://www.targetscan.org/vert\\_80/](http://www.targetscan.org/vert_80/))数据库中,使用评分最高的 4 个核心基因预测可能的 miRNA,并通过取交集的方法降低结果的偶然性,从而得到可靠性最高的 miRNA。使用 ENCORI<sup>[18]</sup>(<https://starbase.sysu.edu.cn/>)预测与 miRNA 相匹配的 lncRNA,并使用 LncBase<sup>[19]</sup>([http://carolina.imis.athena-innovation.gr/diana\\_tools/web/index.php?r=lncbasev2%2Findex-experimental](http://carolina.imis.athena-innovation.gr/diana_tools/web/index.php?r=lncbasev2%2Findex-experimental))进行验证,从而构建出最可靠的 lncRNA-miRNA-靶基因相互作用网络。

**1.8 circRNA-miRNA-靶基因相互作用网络分析** 使用与 1.7 相同的方法预测筛选可以与 9 个靶基因相匹配的 miRNA。使用 ENCORI 数据库预测与 miRNA 匹配的 circRNA,并使用 circad 数据库<sup>[20]</sup>(<https://clingen.igib.res.in/circad/>)进行临床验证。

**1.9 转录因子-miRNA-靶基因相互作用网络分析** 使用 AnimalTFDB<sup>[21]</sup>(<http://bioinfo.life.hust.edu.cn/AnimalTFDB/>)预测得分最高的 4 个基因所对应的转录因子,并使用 JASPAR<sup>[22]</sup>(<https://jaspar.genereg.net/>)对得到的转录因子进行二次验证,以提高结果的可靠性。最终,每个靶基因筛选出了 2 个评分最高的转录因子,筛选标准:  $Strand: +$ ,  $P-value < 0.05$  and  $Q-value < 0.05$ 。

**1.10 The Drug Gene Interaction(DGIdb)数据库** DGIdb<sup>[23]</sup>(<https://www.dgidb.org/>)被用于预测 9 个靶基因的潜在靶向药物。筛选标准:  $Source\ Databases = 22$ ,  $Gene\ Categories = 43$ ,  $Interaction\ Types = 31$ 。

**1.11 临床意义验证** 提取 GSE41649 数据集中的临床信息后,分别借助 pROC 包和 ggplot2 分析评分最高的 4 个核心基因对哮喘的疾病预测能力和差异表达情况。

## 2 结果

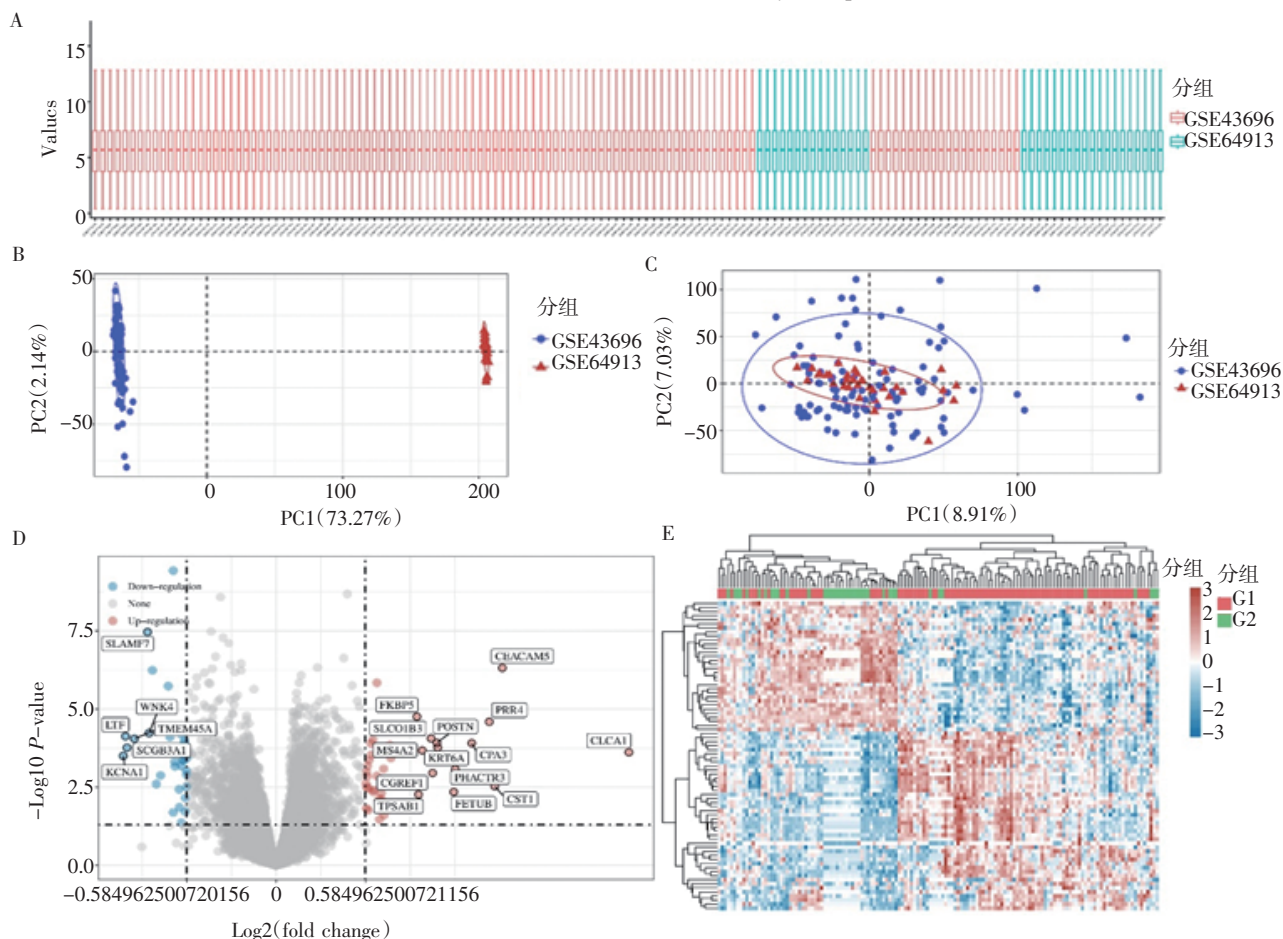
**2.1 哮喘差异表达基因的识别** 使用 R 软件的 Limma 包 (版本:3.40.2) 对 GSE43696 和 GSE64913 数据集的信息进行标准化和去批次效应后,共得到 76 个 DEGs, 其中 44 个基因上调,32 个基因下调 ( $P < 0.05$  &  $|\text{Fold Change}| > 1.5$ )。数据标准化后的箱式图、去批次前/后的 PCA 图、DEGs 的火山图、热图及 DEGs 中的特定基因如图 1 所示。

**2.2 GO 和 KEGG 富集分析** 使用 R 软件的 ClusterProfiler 包 (版本:4.0) 以及 Metascape、WebGestalt 和 Reactome 对 DEGs 进行 GO 和 KEGG 富集分析并可视化(图 2、3)。GO 富集分析显示,DEGs 在淋巴细胞趋化、器官或组织特异性免疫反应、有机羟基化合物运输、细胞杀伤、黏膜免疫反应、抗菌体液反应、内吞调节等方面明显富集。KEGG 富集分析表明,DEGs 主要参与白细胞介素-17 信号通路、抑制一氧化氮产生、激活 C3 和 C5、果糖和甘露糖代谢等方面。

**2.3 蛋白-蛋白交互网络构建与靶基因筛选** 使用

Cytoscape 对 STRING 构建的蛋白-蛋白交互网络进行可视化,共有 43 个节点和 54 条边(图 4A)。通过 Cytohubba 使用 11 种方法来识别 DEGs 中的核心基因,MCC 展现出了更好的比较性能。最终得到了 9 个评分最高的 DEGs, 它们分别是 *CLCA1*、*POSTN*、*CPA3*、*LTF*、*PIP*、*FKBP5*、*CCL26*、*SERPINB2* 和 *KIT* (图 4B)。在这 9 个核心基因中,*LTF* 和 *PIP* 在哮喘患者中低表达,其余基因均为高表达。

**2.4 lncRNA-miRNA-靶基因相互作用网络分析** 评分最高的 4 个核心基因分别是 *CLCA1*、*POSTN*、*CPA3* 和 *LTF*。Tarbase 和 TargetScan 数据库预测到了 67 个 miRNA, 其中 *hsa-miR-19b-3p* 是两个数据库取交集后的公共结果。使用 ENCORI 预测可能与 *hsa-miR-19b-3p* 相互作用的 lncRNA, 并通过 LncBase 验证结果。最终共得到 7 个最可靠的 lncRNA (*ENSG00000272264*、*ENSG00000270087*、*ENSG00000245532*、*ENSG00000275764*、*ENSG00000263753*、*ENSG00000229807* 和 *ENSG00000230590*), 并通过 Cytoscape 对结果进行了可视化(图 5A)。



注:A:数据标准化后的箱式图;B:2个数据集去批次效应前的PCA图;C:去批次效应后的PCA图;D:差异表达基因的火山图;E:差异表达基因的热图

图1 哮喘差异表达基因的识别

Fig 1 Identification of differentially expressed genes in asthma





图 2 上调和下调的差异表达基因的 GO 和 KEGG 富集分析

Fig 2 Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis of up-regulated genes and down-regulated genes

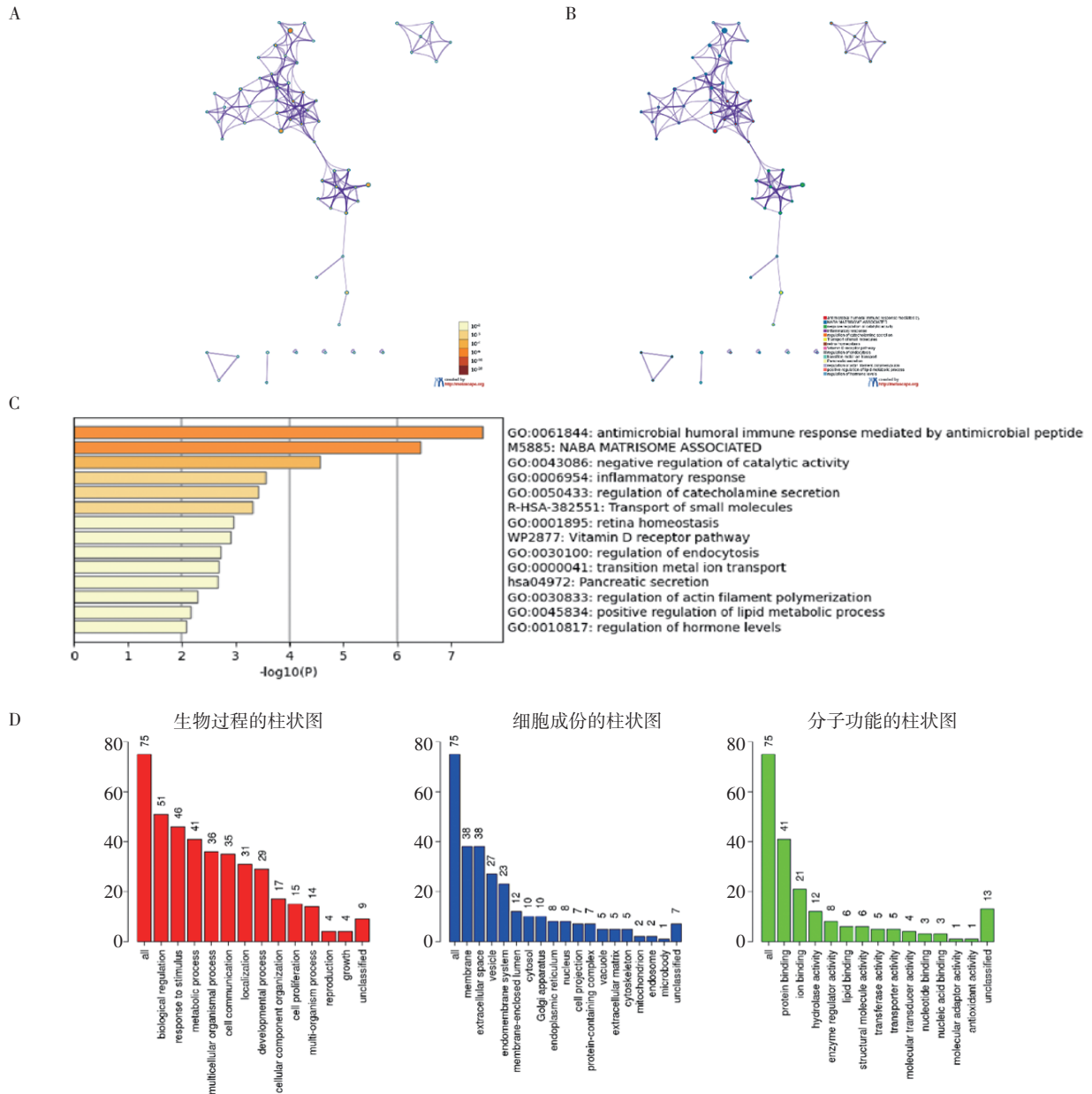
2.5 circRNA-miRNA-靶基因相互作用网络分析 共有 158 个 miRNA 被预测到,最终筛选保留了 2 个最可靠的 miRNA(*hsa-miR-19b-3p* 和 *hsa-miR-218-5p*)。使用 ENCORI 预测可能与以上 2 个 miRNA 相互作用的 circRNA,共得到 1 314 个 circRNA。借助 Circad 数据库验证预测得到的 circRNA 的临床信息,最终确认 *SNX13* 是与哮喘相关的 circRNA(图 5B)。

2.6 转录因子-miRNA-靶基因相互作用网络分析 用 AnimalTFDB 预测评分最高的 4 个核心基因所对应的转录因子,用 JASPAR 对结果进行验证。最终,每个核心基因筛选出了 2 个最可靠的转录因子。它们分别是 *SP1*、*RREB1*、*AR*、*BCL6*、*IRF5*、*ZNF143*、*MAZ* 和 *PAX5*。转录因子-miRNA-靶基因相互作用网络见图 6A。

2.7 哮喘的靶向药物 使用 DGIdb 预测 9 个靶基因的潜在靶向药物,共得到了 91 种药物,这些药物

有可能干预哮喘 DEGs 的表达(图 6B)。评分最高的 4 个核心基因中有 2 个预测到了潜在的靶向药物或分子化合物。*CLCA1* 的靶向药物是他尼氟酯,*LTF* 的潜在靶向药物或分子化合物分别是  $\alpha$ -苯丙氨酸转铁蛋白、帕瑞昔布、巴比妥珠和雷瑟平。此外,相互作用评分最高的药物——尿激酶被发现与 *SERPINB2* 存在相互作用。预测到靶向药物或分子化合物最多的靶基因是 *KIT*,它共有 72 种靶向药物或分子化合物。

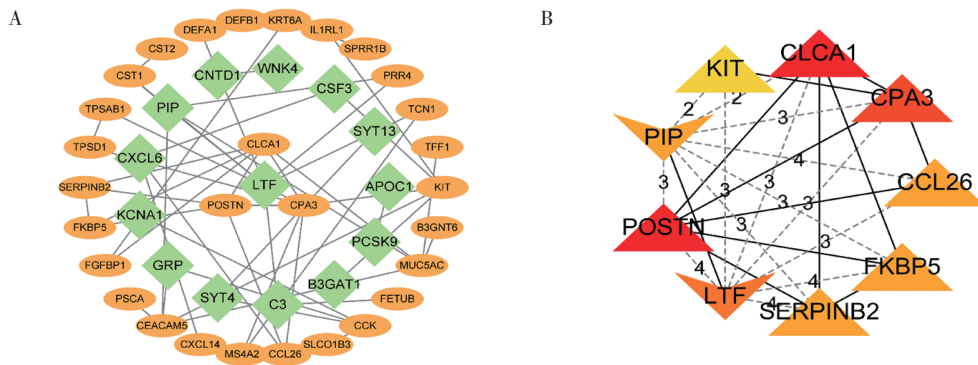
2.8 临床意义验证 ROC 曲线显示,评分最高的 4 个 hub 基因中,*CLCA1*、*POSTN* 和 *LTF* 对哮喘均具有较高的疾病预测能力,而 *CPA3* 同样具有中等的疾病预测能力(图 7A~7D)。分组比较图显示 *CLCA1*、*POSTN* 和 *LTF* 在新的临床数据中同样存在表达差异,其中 *CLCA1* 和 *POSTN* 在哮喘中高表达,*LTF* 在哮喘中低表达(图 7E~7H)。



注:A:差异表达基因富集网络,  $P$  值用颜色区分 (Metascape); B:差异表达基因富集网络, 聚类 ID 用颜色区分 (Metascape); C:差异表达基因富集分析的柱状图,  $P$  值用颜色区分 (Metascape); D:差异表达基因富集的生物过程、细胞成分和分子功能条形图 (WebGestalt)

图3 差异表达基因的 GO 和 KEGG 富集分析

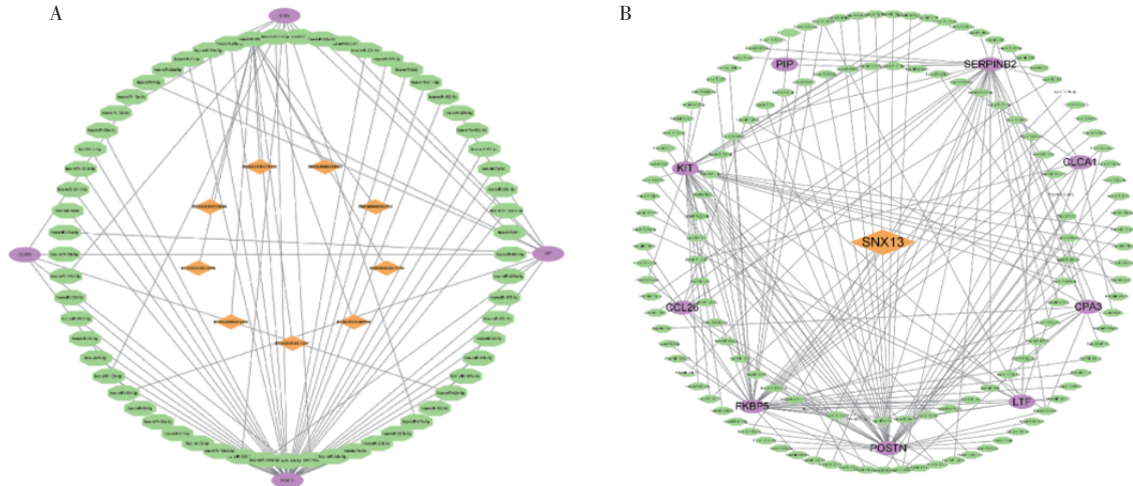
Fig 3 Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis of differentially expressed genes



注:A:差异表达基因的蛋白-蛋白交互网络;上调基因用橙色表示,下调基因用绿色表示;B:蛋白-蛋白交互网络前9个核心基因的交互网络;向上的三角形表示上调基因,向下的三角形表示下调基因

图4 蛋白-蛋白交互网络

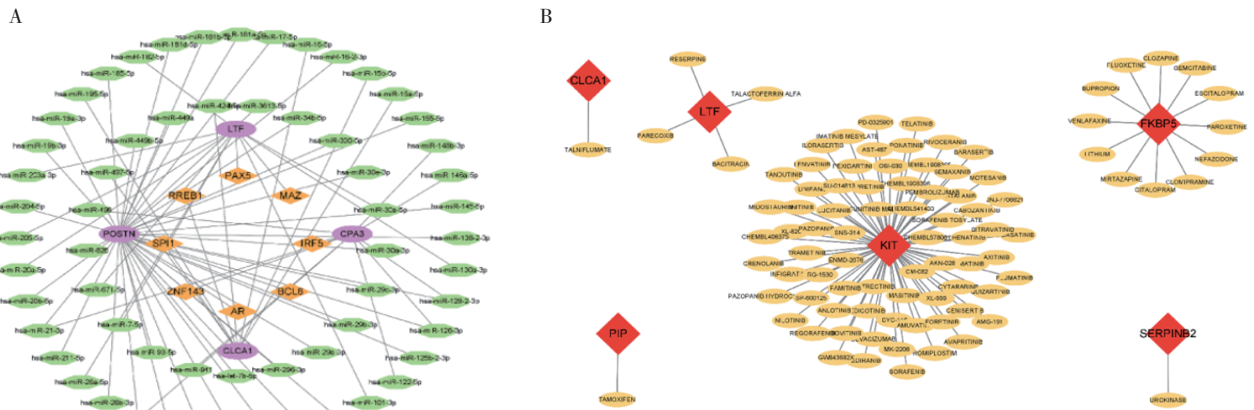
Fig 4 Protein-protein interaction network



注:A:lncRNA-miRNA-靶基因的相互作用网络;橙色菱形节点表示 lncRNA,绿色多边形节点表示 miRNA,紫色椭圆节点表示靶基因;B: circRNA-miRNA-靶基因的相互作用网络;橙色菱形节点表示 circRNA,绿色多边形节点表示 miRNA,紫色椭圆节点表示靶基因

图5 lncRNA/circRNA-miRNA-靶基因的相互作用网络

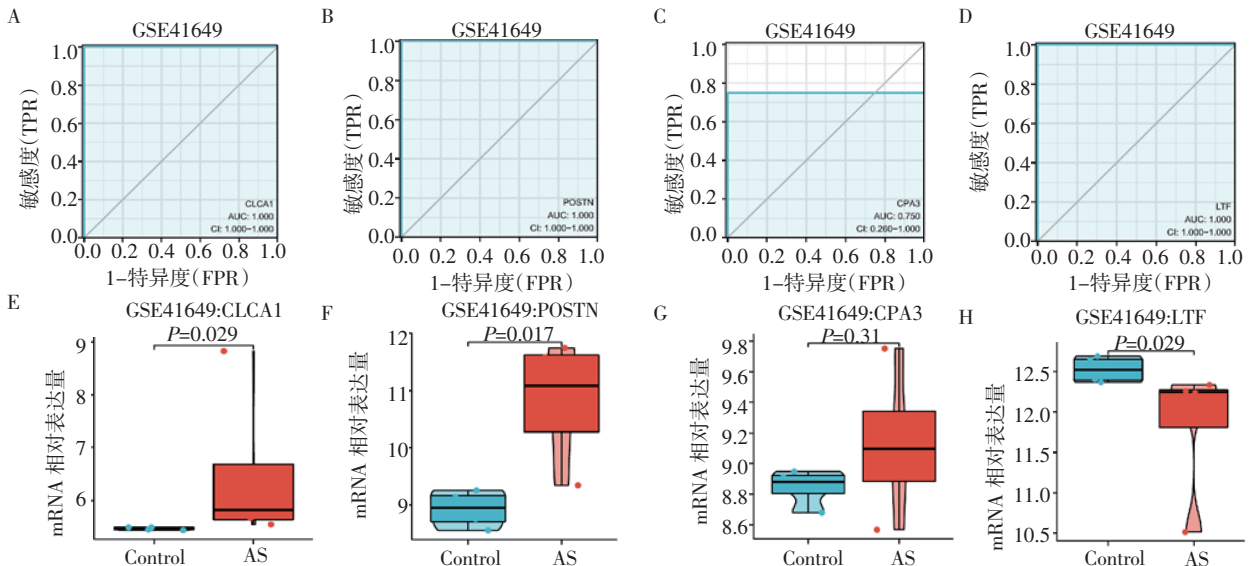
Fig 5 The lncRNA/circRNA-miRNA-mRNA interaction network



注:A:转录因子-靶基因-miRNA 的相互作用网络;橙色菱形节点表示转录因子,绿色多边形节点表示 miRNA,紫色椭圆节点表示靶基因; B:药物-靶基因的相互作用网络;红色菱形节点表示靶基因,黄色椭圆节点表示靶向药物

图6 转录因子-靶基因-miRNA 的相互作用网络与药物-靶基因的相互作用网络

Fig 6 Transcription factor-mRNA-miRNA interaction network and drug-mRNA interaction network



注:A~D:4 个得分最高的核心基因的 ROC 曲线;E~H:4 个得分最高的核心基因的分组比较图

图7 核心基因的 ROC 曲线和分组比较图

Fig 7 ROC curves and grouping comparison plots for hub genes



### 3 讨论

哮喘的发病机制复杂,在诊断和精准医疗方面仍存在诸多不足。传统治疗药物如糖皮质激素等的治疗周期长、依从性差,治疗效果并不足够理想,而奥马珠单抗克隆抗体等生物制剂的安全性和经济负担让很多患者及家属感到担忧<sup>[24]</sup>。本研究构建了 miRNA、lncRNA、circRNA、转录因子、靶向药物和靶基因的调控网络,从而为哮喘相关生物标志物的探索提供一定的参考依据,对哮喘患者和有潜在风险者的早期识别、早期诊断和早期治疗有一定的临床价值。

本研究通过对 GSE43696 和 GSE64913 这 2 个数据集的分析,得到了 44 个在哮喘中高表达的 DEGs 和 32 个低表达的 DEGs。GO 分析显示 DEGs 的功能主要富集在先天免疫、获得性免疫和炎症的发生、发展上,尤其是细胞杀伤、内吞作用的调节和淋巴细胞趋化作用等方面。既往研究表明,一些哮喘相关基因可以促进气道炎症,并在炎症体的帮助下诱发哮喘的发生。此外,既往感染引起过敏原特异性免疫功能的过早表达,对哮喘的发生、发展也有一定作用<sup>[25]</sup>,这与本研究的结论一致。通路富集的结果显示,趋化因子信号通路、激素和有机物代谢通路和免疫调节通路在 DEGs 中具有较好的富集结果,说明哮喘的发生发展与免疫、微生物、炎症以及有机物代谢密切相关,提示可以从这些角度对哮喘的诊断和治疗进行早期干预。

在构建 DEGs 的蛋白-蛋白交互网络后,共筛选出了 9 个靶基因,其中 *LTF* 和 *PIP* 在哮喘患者中低表达,其余为高表达。4 个核心基因,即 *CLCA1*、*POSTN*、*CPA3* 和 *LTF* 的筛选评分最高。*CLCA1* 的全称是氯通道附属物 1,可以调节钙激活的氯离子传导,产生分泌蛋白和膜相关蛋白,这些蛋白可以增加白细胞浸润和气道高反应性,从而增加哮喘的易感性<sup>[26]</sup>。*POSTN* 是骨膜蛋白,它在转化生长因子- $\beta$  和白细胞介素-13 的作用下产生。据报道,在哮喘患者的呼气冷凝物中可以检测到骨膜蛋白,且 *POSTN* 高表达的患者肺功能相应下降,表明 *POSTN* 有被用作生物标志物的可能性<sup>[27]</sup>。*CPA3* 的全称是羧肽酶 A3,有报道称该基因与哮喘、冠心病、COVID-19 等有关,原因可能是该酶可参与巨噬细胞的激活和促炎症细胞因子的上调,从而直接或间接参与炎症和免疫调节<sup>[28]</sup>。*LTF* (乳铁蛋白)是转铁蛋白家族基因的一员,其蛋白产物是免疫系统的重要组成部分,然而遗憾的是目前还没有发现这个基因与哮喘发生和发展之间的具体关系。本研究筛选得到的这些基因

具有作为哮喘诊治靶基因的巨大潜力。

*Has-miR-19b-3p* 和 *hsa-miR-218-5p* 是通过不同的数据库和算法最终筛选得到的 2 个 miRNA。既往研究显示,*hsa-miR-19b-3p* 可能在哮喘的发生和发展中发挥潜在作用<sup>[29]</sup>。*Hsa-miR-218-5p* 是由 *KIT* 预测得到的,同样有文献表明它可能在嗜酸性粒细胞气道炎症中起到保护作用<sup>[30]</sup>。在 miRNA 的基础上,共筛选得到了 7 个 lncRNA 和 1 个 circRNA,最终构建了 miRNA、lncRNA、circRNA 和靶基因的表达调控网络,为哮喘诊断的进一步研究和精准医疗提供了依据。

共筛选得到了 8 个转录因子,它们在炎症、细胞增殖和分化、免疫调节、生长发育等方面发挥着重要作用<sup>[31-32]</sup>,有被用作哮喘治疗标志物的可能性。此外,靶向药物的预测显示 *CLCA1* 的靶向药物他尼氟酯是一种非甾体类抗炎药,可用于纤维囊肿和哮喘的辅助治疗<sup>[33]</sup>。*LTF* 的潜在靶向药物或分子化合物分别是  $\alpha$ -苯丙氨酸转铁蛋白、帕瑞昔布、巴比妥珠和雷瑟平,它们在治疗哮喘方面的作用尚不清楚。交互得分最高的靶向药物尿激酶主要作用于内源性纤维蛋白溶解系统,它也可能与哮喘的治疗有关<sup>[34]</sup>。此外,靶基因 *KIT* 共预测到了 72 种靶向药物,这些药物同样可能为哮喘的治疗提供一个新的方向,所以值得进一步研究和探索。

本研究使用了 2 个去批次效应后的数据集来增加样本量,并使用了 1 个新的数据集验证最终的结果,从而使本文结论更加可靠。此外,本研究还预测了与哮喘有关的转录因子和药物,这使本研究比以往的研究更加全面和广泛。本研究同样存在一些局限性。首先,虽然使用了多个数据库和不同算法取交集的方法来提高结果的可靠性,但仍缺少体内体外实验对通路和机制进行进一步验证,后续可以从实验验证等方面对本文的研究结果进行更加深入的分析研究。此外,本研究的数据来自于公共数据库,缺少外部数据进行验证,因此存在假阳性的可能性,后续可以使用更高质量的外部数据进行前瞻性研究与本文结果进行互相佐证从而降低假阳性率。

综上所述,本研究共识别出了 76 个 DEGs,并从中筛选出了 9 个靶基因。细胞杀伤、调节内吞作用、淋巴细胞趋化等生物功能和趋化因子信号通路、免疫调节通路等通路都在哮喘的发生、发展中起到一定的作用。*SNX13* 和 7 个 lncRNA 通过 *hsa-miR-19b-3p* 和 *hsa-miR-218-5p* 参与哮喘相关基因的表达和调控。此外 *SPI1* 等转录因子和他尼氟酯等药物同样可能会干预哮喘相关基因的表达调控。

## 参考文献:

- [1] YE G, BALDWIN D S, HOU R. Anxiety in asthma: a systematic review and meta-analysis[J]. *Psychol Med*, 2021, 51(1): 11–20.
- [2] REDDEL H K, BACHARIER L B, BATEMAN E D, et al. Global initiative for asthma strategy 2021: executive summary and rationale for key changes[J]. *Eur Respir J*, 2021, 59(1): 2102730.
- [3] EBMEIER S, THAYABARAN D, BRAITHWAITE I, et al. Trends in international asthma mortality: analysis of data from the WHO Mortality Database from 46 countries (1993–2012)[J]. *Lancet*, 2017, 10098: 935–945.
- [4] SUN S, YAO M, YUAN L, et al. Long-chain non-coding RNA n337374 relieves symptoms of respiratory syncytial virus-induced asthma by inhibiting dendritic cell maturation via the CD86 and the ERK pathway[J]. *Allergol Immunopathol(Madr)*, 2021, 49(3): 100–107.
- [5] GYSENS F, MESTDAGH P, DE BONY DE LAVERGNE E, et al. Unlocking the secrets of long non-coding RNAs in asthma[J]. *Thorax*, 2022, 77(5): 514–522.
- [6] LIANG J, LIU X H, CHEN X M, et al. Emerging roles of non-coding RNAs in childhood asthma[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 17, 13: 856104.
- [7] QU S Y, HE Y L, ZHANG J, et al. Transcription factor RBP-J-mediated signalling regulates basophil immunoregulatory function in mouse asthma model[J]. *Immunology*, 2017, 152(1): 115–124.
- [8] BARRETT T, WILHITE S E, LEDOUX P, et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets—update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(Database issue): D991–995.
- [9] CAMIOLO M J, ZHOU X, WEI Q, et al. Machine learning implicates the IL-18 signaling axis in severe asthma[J]. *JCI Insight*, 2021, 6(21): e149945.
- [10] SINGHANIA A, RUPANI H, JAYASEKERA N, et al. Altered epithelial gene expression in peripheral airways of severe asthma[J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0168680.
- [11] ZHOU Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level data sets[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1523.
- [12] LIAO Y, WANG J, JAEHNIG E J, et al. WebGestalt 2019: gene set analysis toolkit with revamped UIs and APIs[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W199–W205.
- [13] JASSAL B, MATTHEWS L, VITERI G, et al. The reactome pathway knowledgebase[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(D1): D498–D503.
- [14] SZKLARCZYK D, GABLE A L, NASTOU K C, et al. The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D605–D612.
- [15] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498–2504.
- [16] KARAGKOUNI D, PARASKEVOPOULOU M D, CHATZOPOULOS S, et al. DIANA-TarBase v8: a decade-long collection of experimentally supported miRNA-gene interactions[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D239–D245.
- [17] MCGEARY S E, LIN K S, SHI C Y, et al. The biochemical basis of microRNA targeting efficacy[J]. *Science*, 2019, 366(6472): eaav1741.
- [18] LI J H, LIU S, ZHOU H, et al. starBase v2.0: decoding miRNA-ceRNA, miRNA-ncRNA and protein-RNA interaction networks from large-scale CLIP-Seq data[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(Database issue): D92–D97.
- [19] PARASKEVOPOULOU M D, VLACHOS I S, KARAGKOUNI D, et al. DIANA-LncBase v2: indexing microRNA targets on non-coding transcripts[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(D1): D231–D238.
- [20] ROPHINA M, SHARMA D, POOJARY M, et al. Circad: a comprehensive manually curated resource of circular RNA associated with diseases[J]. *Database(Oxford)*, 2020, 2020: baaa019.
- [21] HU H, MIAO Y R, JIA L H, et al. AnimalTFDB 3.0: a comprehensive resource for annotation and prediction of animal transcription factors[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D33–D38.
- [22] CASTRO-MONDRAGON J A, RIUDEVETS-PUIG R, RAULUSE-VICIUTE I, et al. JASPAR 2022: the 9th release of the open-access database of transcription factor binding profiles[J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D165–D173.
- [23] FRESHOUR S L, KIWALA S, COTTO K C, et al. Integration of the drug-gene interaction database (DGIdb 4.0) with open crowdsourcing efforts[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D1144–D1151.
- [24] RILEY I L, JACKSON B, CRABTREE D, et al. A scoping review of international barriers to asthma medication adherence mapped to the theoretical domains framework[J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2021, 9(1): 410–418.e4.
- [25] TANG H H, TEO S M, BELGRAVE D C, et al. Trajectories of childhood immune development and respiratory health relevant to asthma and allergy[J]. *Elife*, 2018, 7: e35856.
- [26] CHING JCH, LOBANOVA L, LOEWEN M E. Secreted hCLCA1 is a signaling molecule that activates airway macrophages[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83130.
- [27] CARPAGNANO G E, SOCCIO P, SCIOSCIA G, et al. The potential role of airways periostin in the clinical practice of patients affected by idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Rejuvenation Res*, 2021, 24(4): 302–306.
- [28] SORIA-CASTRO R, MENESES-PREZA Y G, RODRÍGUEZ-LÓPEZ G M, et al. Severe COVID-19 is marked by dysregulated serum levels of carboxypeptidase A3 and serotonin[J]. *J Leukoc Biol*, 2021, 110(3): 425–431.
- [29] ARIPOVA A, AKPAROVA A, BERSIMBAEV R. The potential role of miRNA-19b-3p and miRNA-320c in patients with moderate bronchial asthma[J]. *Microna*, 2020, 9(5): 373–377.
- [30] LIANG Y, FENG Y, WU W, et al. microRNA-218-5p plays a protective role in eosinophilic airway inflammation via targeting  $\delta$ -catenin, a novel catenin in asthma[J]. *Clin Exp Allergy*, 2020, 50(1): 29–40.
- [31] YASHIRO T, YAMAMOTO M, ARAUMI S, et al. PU.1 and IRF8 modulate activation of NLRP3 inflammasome via regulating its expression in human macrophages[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 649572.
- [32] QIN G, SUN Y, GUO Y, et al. PAX5 activates telomerase activity and proliferation in keloid fibroblasts by transcriptional regulation of SND1, thus promoting keloid growth in burn-injured skin[J]. *Inflamm Res*, 2021, 70(4): 459–472.
- [33] GUPTA R, LEON F, THOMPSON C M, et al. Global analysis of human glycosyltransferases reveals novel targets for pancreatic cancer pathogenesis[J]. *Br J Cancer*, 2020, 122(11): 1661–1672.
- [34] STEWART A G, XIA Y C, HARRIS T, et al. Plasminogen-stimulated airway smooth muscle cell proliferation is mediated by urokinase and annexin A2, involving plasmin-activated cell signalling[J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 170(7): 1421–1435.

(2022-11-02 收稿)