

文章编号 1006-8147(2023)03-0243-09

论著

基于生物信息学方法筛选系统性红斑狼疮疾病进展中与先天免疫细胞相关的关键基因

左旭,李津

(天津医科大学基础医学院生物信息学系,天津 300070)

摘要 目的:通过生物信息学方法识别系统性红斑狼疮(SLE)疾病进展中与先天免疫细胞相关的的关键基因。方法:在 GEO 数据库中下载了 GSE50772、GSE81622、GSE99967 数据集的表达谱,并对其进行整合。应用 CIBERSORT 工具对疾病进行免疫细胞组成和丰度的分析,利用加权基因共表达网络分析(WGCNA)来构建基因共表达网络,对关键模块进行基因本体论(GO)和京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集分析,并与差异表达基因相结合,识别先天免疫反应相关的关键基因。结果:通过加权共表达网络分析(WGCNA),确定了与 SLE 相关的 13 个模块。其中绿色模块与中性粒细胞显著相关,棕褐色模块与 NK 细胞显著相关。在绿色模块中筛选出 15 个枢纽基因,棕褐色模块中筛选出 8 个枢纽基因。结合差异表达基因进一步筛选出 2 个 hub 基因,分别为 CXCL1 和 MME。使用 GSE122459 数据集对其进行验证,在 SLE 患者中,CXCL1 与 MME 基因的表达升高,AUC 值分别为 0.86 和 0.81,且其表达均与中性粒细胞的比例显著相关。结论: CXCL1 和 MME 基因可能在 SLE 发展过程中在先天免疫细胞中发挥重要作用。

关键词 系统性红斑狼疮;加权基因共表达网络分析;先天免疫细胞;枢纽基因

中图分类号 R593.24

文献标志码 A

Bioinformatics-based approach to screen key genes associated with innate immune cells in the development of systemic lupus erythematosus

ZUO Xu, LI Jin

(Department of Cell Biology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To identify key genes associated with innate immune cells in the development of systemic lupus erythematosus (SLE) by bioinformatics approaches. **Methods:** The expression profiles of three datasets, GSE50772, GSE81622, and GSE99967, were downloaded from the GEO database and integrated. The CIBERSORT was applied to analyze immune cell composition and abundance for disease, and weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) was used to construct gene co-expression networks, and key modules were analyzed for gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment, and combined with differentially expressed genes to identify key genes associated with the innate immune response. **Results:** By WGCNA analysis, 13 modules associated with SLE were identified. Among them, the green module was significantly associated with neutrophils and the tan module was significantly associated with NK cells. Fifteen hub genes were screened in the green module, and 8 hub genes were screened in the tan module. Two hub genes, CXCL1 and MME, were further screened in combination with differentially expressed genes. They were validated using the GSE122459 dataset, and the expression of CXCL1 and MME genes were elevated in SLE patients with AUC values of 0.86 and 0.81, respectively, and their expressions were both significantly correlated with the proportion of neutrophils. **Conclusion:** CXCL1 and MME genes may play important roles in innate immune cells during the development of SLE.

Key words systemic lupus erythematosus; weighted correlation network analysis; innate immune cells; key genes

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种最为常见的自身免疫性疾病。成年女性的发病率约为男性的 8 倍,其发病累及全身多种器官,对患者的身心健康造成了巨大的危害^[1]。SLE 的发病和进展是遗传和环境因素共同作用的结果,并且受到雌激素水平的影响。有研究报道 SLE 患者的一级亲属患病风险比健康人群高 20 倍^[2];环境因素,如紫外线和阳光照射会导致细胞凋亡增加,进而释

放富含自身抗原的细胞外囊泡,从而对 SLE 的发病有一定的影响^[3];性别和激素影响也是 SLE 的危险因素之一,已有研究发现,雌激素会通过刺激 B 细胞增殖和随后的自身抗体产生来促进体液免疫反应。

目前,对 SLE 发病机制的主要研究集中于致病性自身抗体及免疫复合物、T 细胞和自然杀伤(NK)细胞功能失调等方面^[4]。总的来说,SLE 的发展主要是在各种病因的影响下导致致病性自身抗体的产生;另一方面部分 SLE 患者由于 CD8⁺T 细胞和 NK 细胞的功能失调,不能抑制 CD4⁺T 细胞的持续作用,

作者简介 左旭(1996-),女,硕士在读,研究方向:自身免疫病的转录组学;通信作者:李津, E-mail: jli01@tmu.edu.cn。

导致 B 细胞持续活化产生自身抗体,继而与细胞组织或循环中的抗原结合,形成免疫复合物通过沉积在各器官的组织中或直接引起组织和器官的损伤。先天性和适应性免疫系统在 SLE 的发病机制中都发挥作用^[5-6]。异常的先天免疫反应在 SLE 的发病机制中起重要作用,其通过释放炎性细胞因子导致组织损伤以及自身反应性 T 和 B 细胞的异常激活,进而导致致病性自身抗体的产生和终末器官伤害。而 SLE 患者中先天免疫细胞在狼疮发病进展中的作用和机制还缺乏深入研究^[7-8]。探索 SLE 发生、发展的分子特征和机制,鉴定出与 SLE 相关的遗传学特征,为 SLE 的有效预防、诊断和治疗提供新的策略显得非常重要。

微阵列数据(microarray data)以及 RNA 高通量测序(RNA-sequencing, RNA-seq)数据已广泛用于在基因组水平上探索和鉴定用于疾病早期诊断和预后的生物标志物^[9]。有遗传学研究表明,先天免疫过程在 SLE 发病机制中也发挥重要作用^[10]。例如,中性粒细胞溶解因子 1(NCF1)和 NCF2 基因中的错义单核苷酸多态性(SNPs)与 SLE 疾病相关^[11];单核细胞上 Fc γ RI/CD64 的表达增加与 SLE 的持续炎症和肾炎相关^[12]。但对于 SLE 的先天免疫过程中的关键基因了解还不够充分。因此在本研究中,基于微阵列数据以及 RNA-Seq 数据,在转录水平分析出先天免疫细胞的异常与 SLE 的发病高度相关,并通过加权共表达网络分析(Weighted Gene Co-expression Network Analysis, WGCNA)构建了共表达网络,结合免疫细胞组成和丰度分析,筛选出与 SLE 先天免疫相关的枢纽基因,为 SLE 的早期诊断及治疗提供一定的帮助。

1 材料与方法

1.1 数据来源及预处理 从高通量基因表达数据库(Gene Expression Omnibus data base, GEO)中共收集来自 GSE50772、GSE81622 和 GSE99967 的 89 例 SLE 患者血液样本和 62 名健康对照血液样本的基因表达微阵列数据,作为本研究的发现队列。分别使用 R(版本 3.5.2)中 Affy 包的 rma(Robust Multiarray Average)行归一化,并且对于有多个探针或探针组的基因取中位数的值。然后,采用 K-Nearest Neighbors 的方法来处理 3 个数据集中的缺失值。之后,首先使用 R 软件包的 inSilicoMerging 来合并数据集,然后,使用 sva 包的 combat 功能去除批次效应。选取 GPL169791 Illumina HiSeq 2500 (Homo sapiens)和 GPL18573 Illumina NextSeq 500 (Homo sapiens)平台的 GSE122459 数据集作为验证

队列,其包括 20 例 SLE 患者血液样本和 6 名健康对照血液样本。

1.2 免疫细胞组成和丰度分析 采用 CIBERSORT 和 xCELL 方法对这 89 例 SLE 患者数据进行分析, CIBERSORT 采用反卷积算法通过具有 22 种免疫细胞亚型的参考集(LM22)估计免疫细胞组成和丰度, xCELL 采用 ssGSEA 算法通过计算样本在每种细胞类型标记的富集分数并将其转换为细胞类型分数,最后进行校正得到各细胞类型的 xCELL 评分^[13]。之后,筛选出先天免疫细胞并采用秩和检验来比较 SLE 组和对照组之间的免疫细胞组成差异,使用 R 中的 ggplot2 包来进行可视化。

1.3 加权基因共表达网络的构建 通过利用 89 例 SLE 样本的基因表达谱,剔除方差最小的前 70% 的基因,得到 3 689 个基因,然后,使用 R 中的 WGCNA 包来构建共表达网络。首先,基于配对基因之间的 Pearson 相关值,将单个转录本的表达水平转换为相似矩阵。接下来,将相似度矩阵转换为邻接矩阵,计算公式为 $am_n = |cm_n|^\beta$ (cm_n =配对基因之间的 Pearson 相关性; am_n =配对基因之间的邻接)。参数 β 可以提高基因间的强相关性,降低基因间的弱相关性。选择 $\beta=9$ 的幂时,邻接矩阵转换为拓扑重叠矩阵(Topological overlap matrix, TOM)。用基于 TOM 不同性测量的平均连杆分层聚类对显示相似表达谱的基因进行分类,这些基因模块由簇树的分支和不同颜色表示^[14]。计算模块特征基因与先天免疫细胞组成和丰度水平之间的相关性,通过 Pearson 检验确定模块的显著性。

1.4 富集分析 使用 R 软件的 clusterprofile 包进行 GO(Gene Ontology)和 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, 京都基因与基因组百科全书)途径富集分析,以检测与关键模块基因相关的生物功能和潜在信号通途径。GO 分析确定生物过程(biological process, BP)、细胞组分(Cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF), $P<0.05$ 为筛选标准。KEGG 分析确定潜在信号通途径, $FDR<0.05$ 作为统计显著性标准。

1.5 差异表达基因分析及关键基因的筛选 健康样本和 SLE 样本间的差异表达基因(differentially expressed gene, DEG)是通过 R 软件包 limma 来识别的,以 $|\log_2 \text{FoldChange}| \geq 1$ 和 $FDR<0.05$ 作为有统计学意义的差异标准进行筛选。计算与基因的表达相关性以获得基因显著性(gene significance, GS),同时计算模块特征向量与基因的表达相关性以获得模块成员关系(module membership, MM),选取了

MM>0.8,且GS<0.6的基因作为枢纽基因。此外,在关键模块和DEG中的基因之间重叠了基因以进一步确定关键基因。

1.6 基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA) 根据关键基因的表达水平的中位数将样本分成高表达组和低表达组,以MSigDB数据库的c2.cp.kegg.v7.4.symbols.gmt为参考基因集,用以评估相关途径和分子机制,基于基因表达谱分组,设定最小基因集为5,最大基因集为5 000,经1 000次重抽样,以 $|\text{NES}|>1, P<0.05, \text{FDR}<0.25$ 为明显富集基因集的标准。

1.7 受试者工作特征(ROC)分析 利用R软件的pROC包进行SLE诊断中具有高灵敏度和特异性的关键基因的鉴定。并在GSE122459数据集中计算了

关键基因的表达与疾病中性粒细胞比例的斯皮尔曼相关系数。

2 结果

2.1 去批次效应以及免疫细胞组成和丰度分析 将数据集进行整合,并进行去除批次效应(图1),然后通过CIBERSORT和xCELL进行免疫细胞组成和丰度分析,将先天免疫细胞的结果进行可视化。CIBERSORT的分析发现SLE组与对照组相比,静息的NK细胞和静息的肥大细胞的比例减少,而单核细胞、巨噬细胞M0、活化的树突状细胞和中性粒细胞的比例增加(图2A);xCELL的分析显示,SLE组中同样是NK细胞和肥大细胞的比例较对照组少,而单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞和中性粒细胞的比例更多(图2B)。

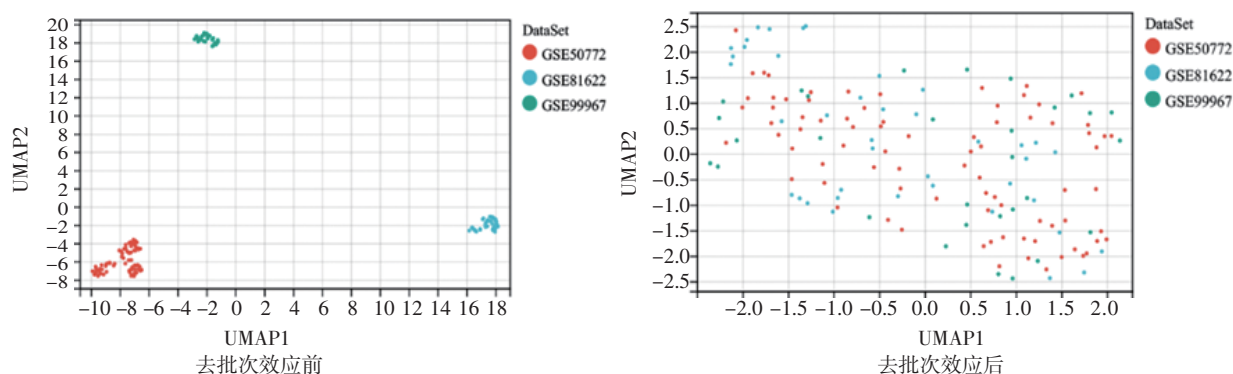
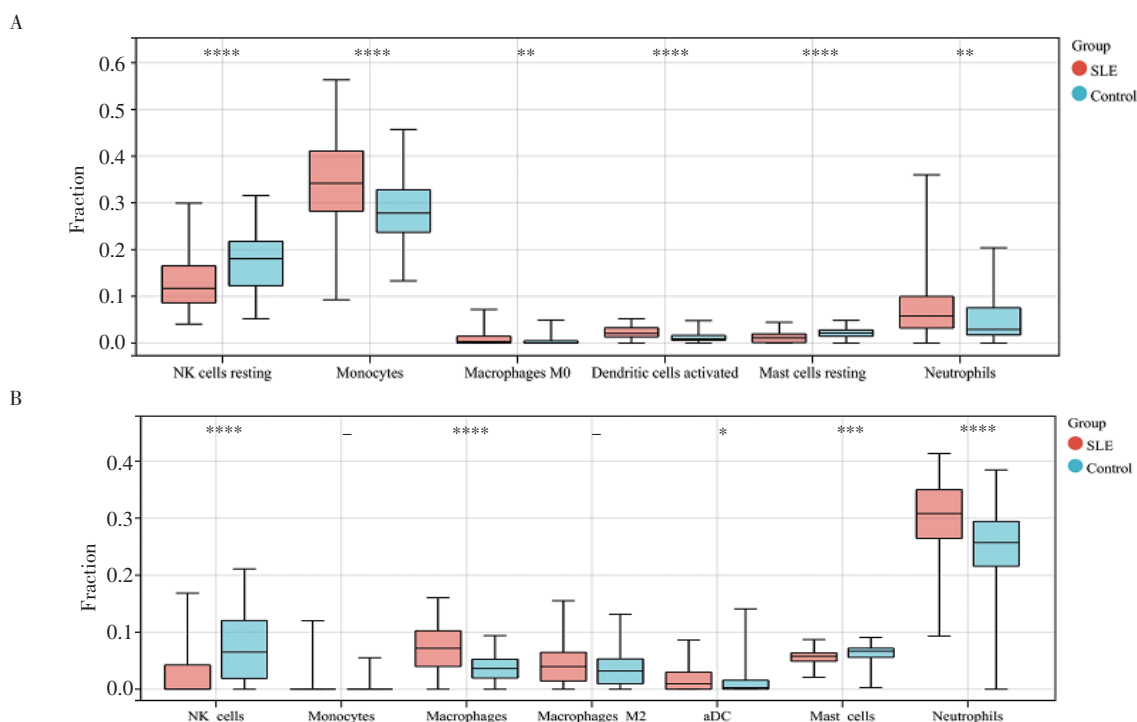


图1 去批次效应 UMAP 图

Fig 1 UMAP diagram before and after removing batch effect



注:A:基于CIBERSORT免疫细胞组成分析;B:基于xCELL的免疫细胞组成分析;* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$,**** $P<0.0001$

图2 免疫细胞组成和丰度分析

Fig 2 Immune cell composition and abundance analysis

2.2 WGCNA 构建共表达网络 选取拟合指数 R^2 为 0.86 时的软阈值 $\beta=9$ (图 3A), 基于选择的软阈值构建共表达网络, 共识别到 13 个模块, 并通过层次聚类树来展示所构建的 13 个模块(图 3B)。

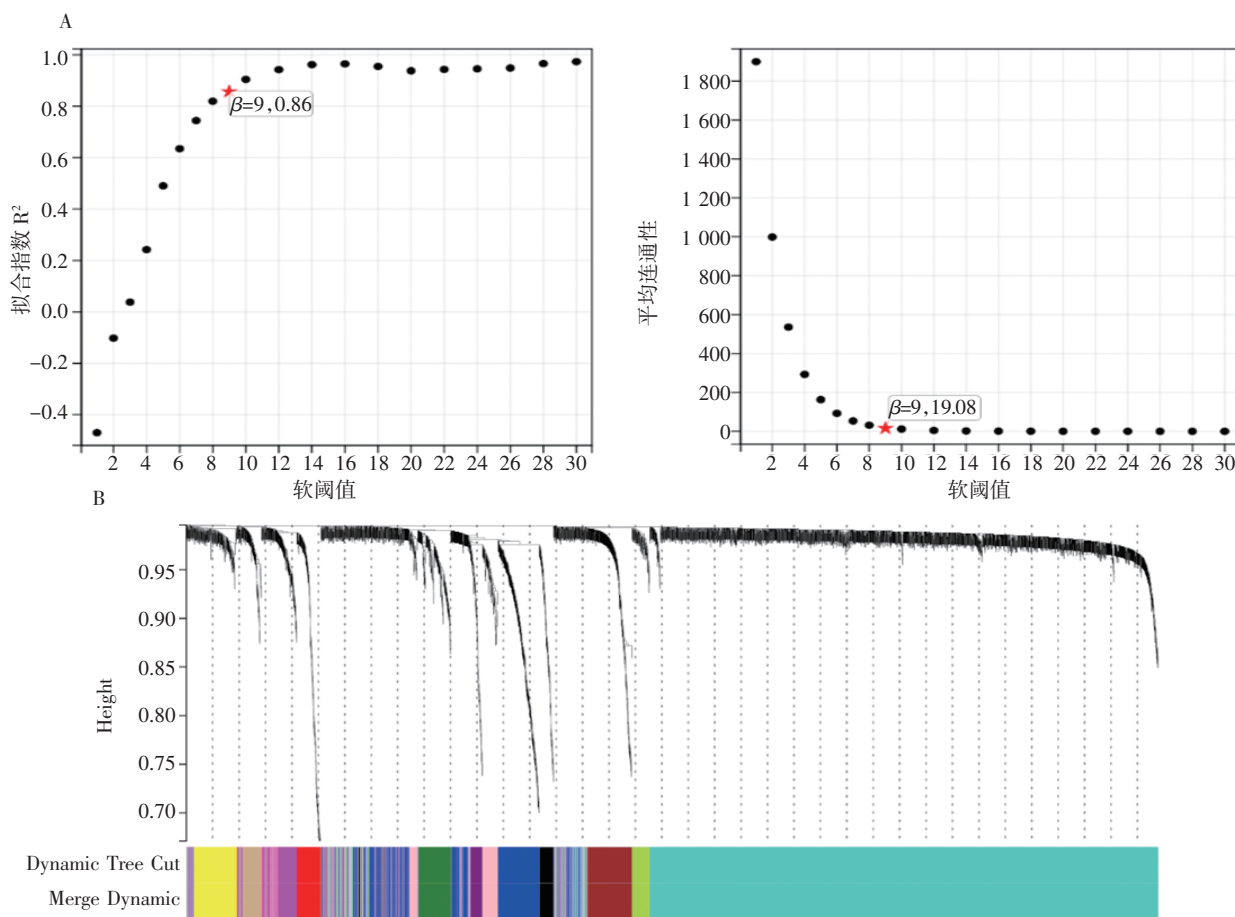
2.3 免疫细胞相关模块的确定及其 KEGG 通路分析 将免疫细胞组成和丰度分析中均具有统计学意义的结果作为性状与模块内的基因相关联, 结果显示棕褐色模块与静息的 NK 细胞($\text{cor}=0.80, P<0.05$)和绿色模块与中性粒细胞($\text{cor}=0.85, P<0.05$)具有显著相关性(图 4), 故将绿色模块和棕褐色模块作为关键模块进行后续分析。

2.4 富集分析 对棕褐色模块的基因和绿色模块的基因进行 KEGG 富集分析, 绿色模块基因富集在白细胞介素(IL)-17 信号通路、核因子(NF)- κ B 信号转导途径、肿瘤坏死因子(TNF)信号转导通路等(图 5A), 棕褐色模块基因富集在抗原处理和呈现、NK 细胞的细胞毒性等免疫系统相关的通路上(图 5C)。对棕褐色模块和绿色模块的基因进行 GO 通路富集分析, 绿色模块基因主要参与免疫反应、趋化作用和炎

症等生物途径; 在细胞组分(CC)中主要富集到分泌颗粒膜、分泌囊泡等; 在分子功能(MF)中主要富集在细胞因子活性、信号受体结合等活动上(图 5B)。棕褐色模块基因在生物过程(BP)中主要富集到免疫反应、细胞杀伤等; CC 分析表明, 这些基因产物的位置主要富集在细胞溶解颗粒; MF 富集显示, 它们的分子功能(MF)主要富集到 MHC I 类受体活性等(图 5D)。

2.5 枢纽基因的筛选 计算绿色模块和棕褐色模块内基因的 GS 和 MM 值并绘制散点图, 筛选了 $\text{MM}>0.8, \text{GS}>0.6$ 的基因作为枢纽基因, 其中绿色模块中有 15 个枢纽基因(图 6A), 棕褐色模块中有 8 个枢纽基因(表 1 和图 6)。

2.6 差异表达基因分析及关键基因的筛选 对合并的数据集进行差异表达基因分析, 得到上调差异基因 45 个, 下调差异基因 5 个(图 7A)。将这些差异表达基因与筛选得到的枢纽基因整合, 在绿色模块中得到两个关键基因, 分别是 CXCL1(C-X-C Motif Chemokine Ligand 1)和 MME(Membrane Metalloendopeptidase)(图 7B)。



注: A: 软阈值的选取; B: 构建共表达网络

图3 软阈值的确定及共表达网络构建

Fig 3 Determination of soft thresholds and co-expression network construction

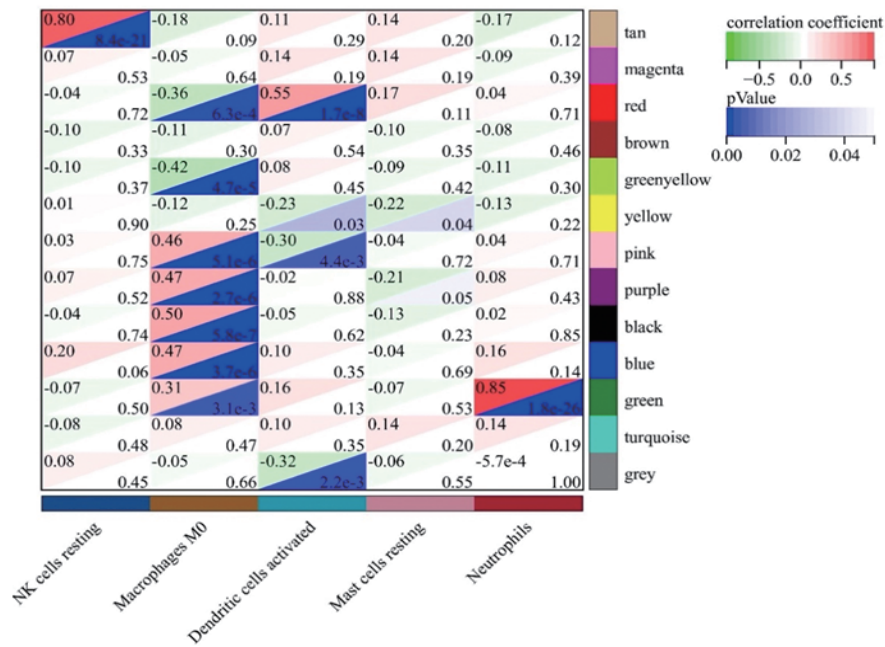
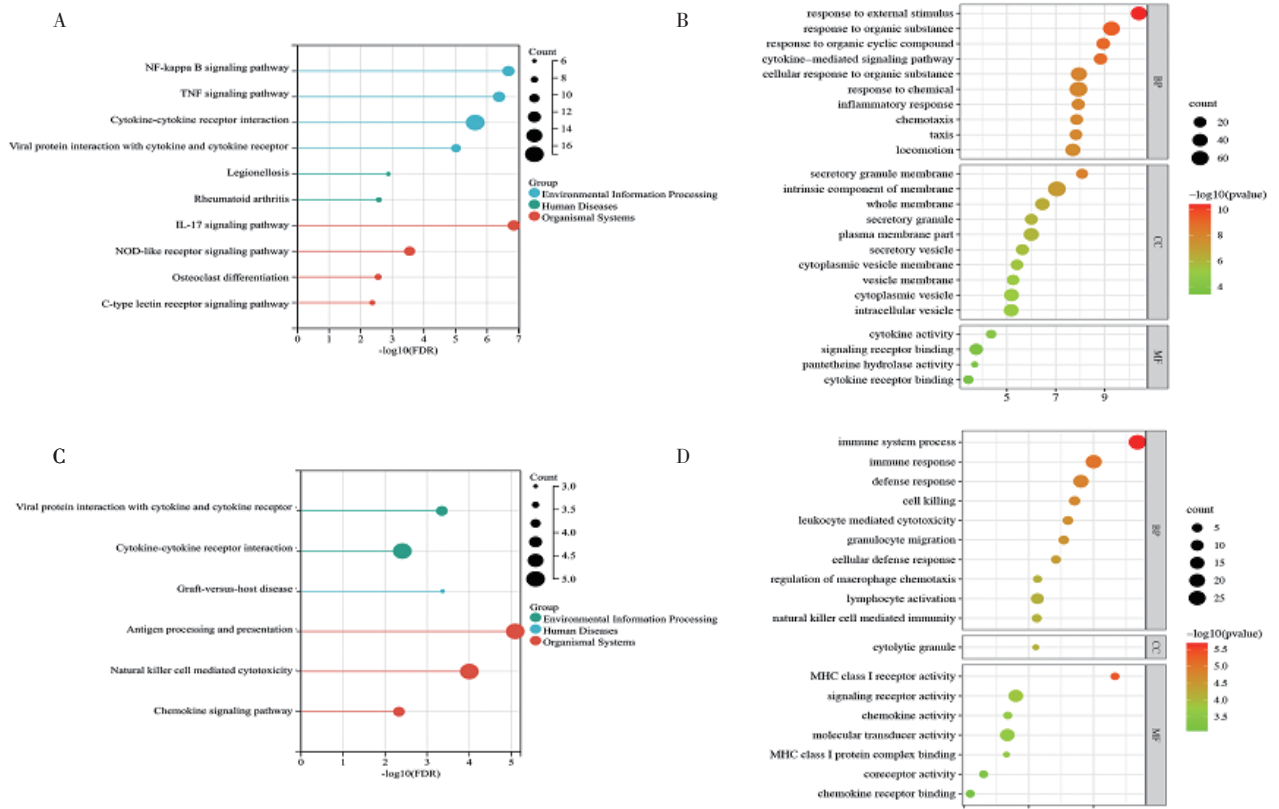


图 4 模块基因与性状相关性图

Fig 4 Correlation between module genes and traits



注:A:绿色模块基因的 KEGG 富集分析;B:绿色模块基因的 GO 富集分析;C:棕褐色模块基因的 KEGG 富集分析;D:棕褐色模块基因的 GO 富集分析

图 5 KEGG 和 GO 富集分析

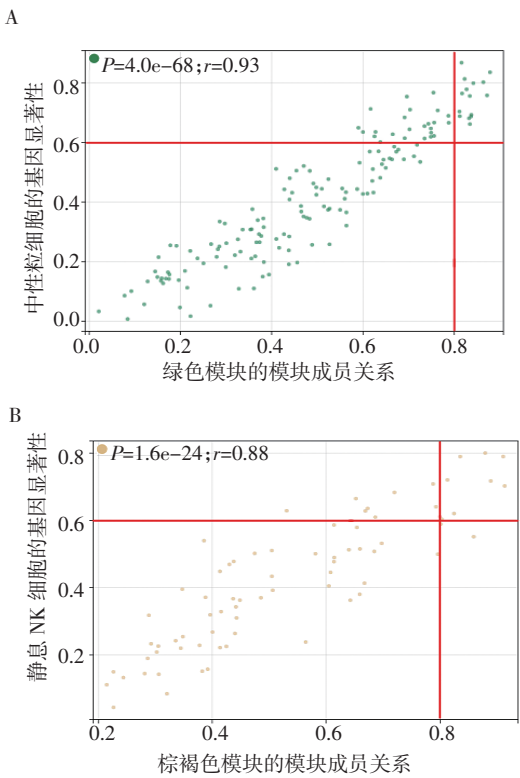
Fig 5 KEGG and GO enrichment analysis

2.7 GSEA 分析 结果表明,CXCL1 富集到 NOD 样受体信号通路($NES=1.97, P=0.002$)、利什曼病的感染通路($NES=1.87, P=0.004$)且均与其表达正相关,而硒胺酸的代谢通路($NES=-1.83, P=0.006$)与

其负相关(图 8A)。MME 富集到叶酸的代谢($NES=1.79, P=0.002$)、Toll 样受体信号通路($NES=1.82, P=0.002$)和 NOD 样受体通路($NES=1.82, P=0.002$)且均与 MME 的表达呈正相关(图 8B)。

表 1 绿色模块和棕褐色模块中的枢纽基因
Tab 1 Hub genes in green module and tan module

基因	模块	全称	基因显著性	模块身份
<i>ADM</i>	green	adrenomedullin	0.688	0.812
<i>ALPL</i>	green	alkaline phosphatase, biomineralization associated	0.756	0.834
<i>AQP9</i>	green	aquaporin 9	0.835	0.878
<i>BASP1</i>	green	brain acid-soluble protein 1	0.802	0.864
<i>C5AR1</i>	green	complement C5a receptor 1	0.681	0.832
<i>CXCL1</i>	green	C-X-C motif chemokine ligand 1	0.692	0.837
<i>CXCR1</i>	green	C-X-C motif chemokine receptor 1	0.813	0.823
<i>MANSC1</i>	green	MANSC domain containing 1	0.764	0.817
<i>MME</i>	green	membrane metalloendopeptidase	0.867	0.816
<i>MMP25</i>	green	matrix metalloproteinase 25	0.661	0.834
<i>NAMPT</i>	green	nicotinamide phosphoribosyltransferase	0.758	0.872
<i>NFIL3</i>	green	nuclear factor, Interleukin 3 regulated	0.687	0.837
<i>PROK2</i>	green	prokineticin 2	0.799	0.842
<i>STX3</i>	green	syntaxin 3	0.778	0.827
<i>VNN3</i>	green	vanin 3	0.703	0.811
<i>CLIC3</i>	tan	chloride intracellular channel 3	0.790	0.835
<i>FGFBP2</i>	tan	fibroblast growth factor binding protein 2	0.702	0.913
<i>GNLY</i>	tan	granulysin	0.800	0.879
<i>GZMH</i>	tan	granzyme H	0.603	0.803
<i>IL2RB</i>	tan	interleukin 2 receptor subunit beta	0.620	0.825
<i>NKG7</i>	tan	natural killer cell granule protein 7	0.717	0.889
<i>PRF1</i>	tan	perforin 1	0.790	0.911
<i>PTGDR</i>	tan	prostaglandin D2 receptor	0.720	0.813



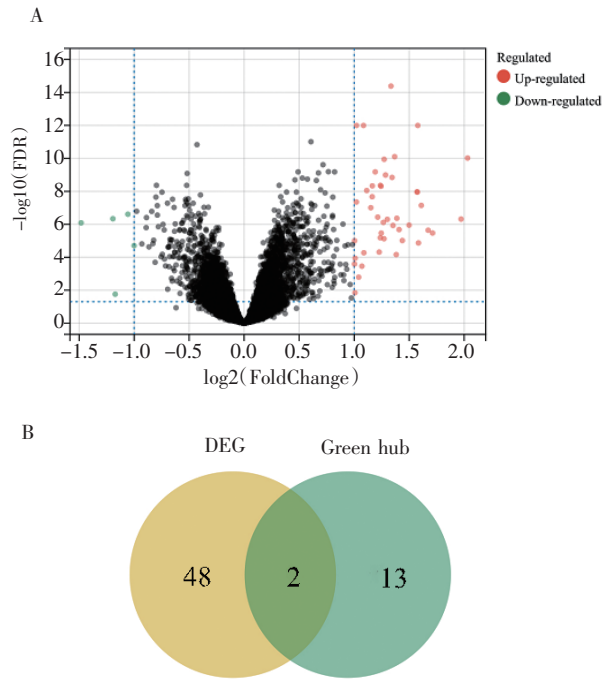
注:A:绿色模块基因相关性散点图;B:棕褐色模块基因相关性散点图

图 6 关键模块基因相关性散点图

Fig 6 Module eigengenes in the key module

2.8 GSE122459 数据集验证 使用 GSE122459 数据集对两个关键基因 CXCL1 与 MME 进行验证,在表达上,两个基因在 SLE 患者中表达量升高(图 9A),

CXCL1 基因的 AUC (Area under curve) 值为 0.86, MME 基因的 AUC 值为 0.81(图 9B)。对数据集进行免疫细胞比例分析后,计算其表达与中性粒细胞相关性,CXCL1 的表达与中性粒细胞的相关性为 0.79 (图 9C),MME 的表达与中性粒细胞的相关性为 0.87(图 9D)。



注:A:差异表达基因分析;B:差异表达基因与枢纽基因重叠分析

图 7 差异基因表达与关键基因筛选

Fig 7 Differential gene expression and key gene screening

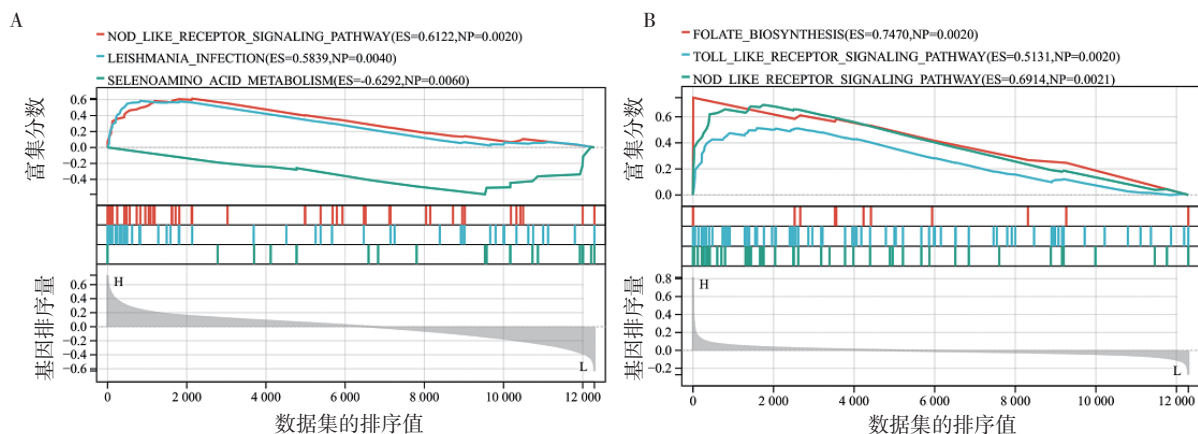


图8 基因集富集分析

Fig 8 Gene set enrichment analysis

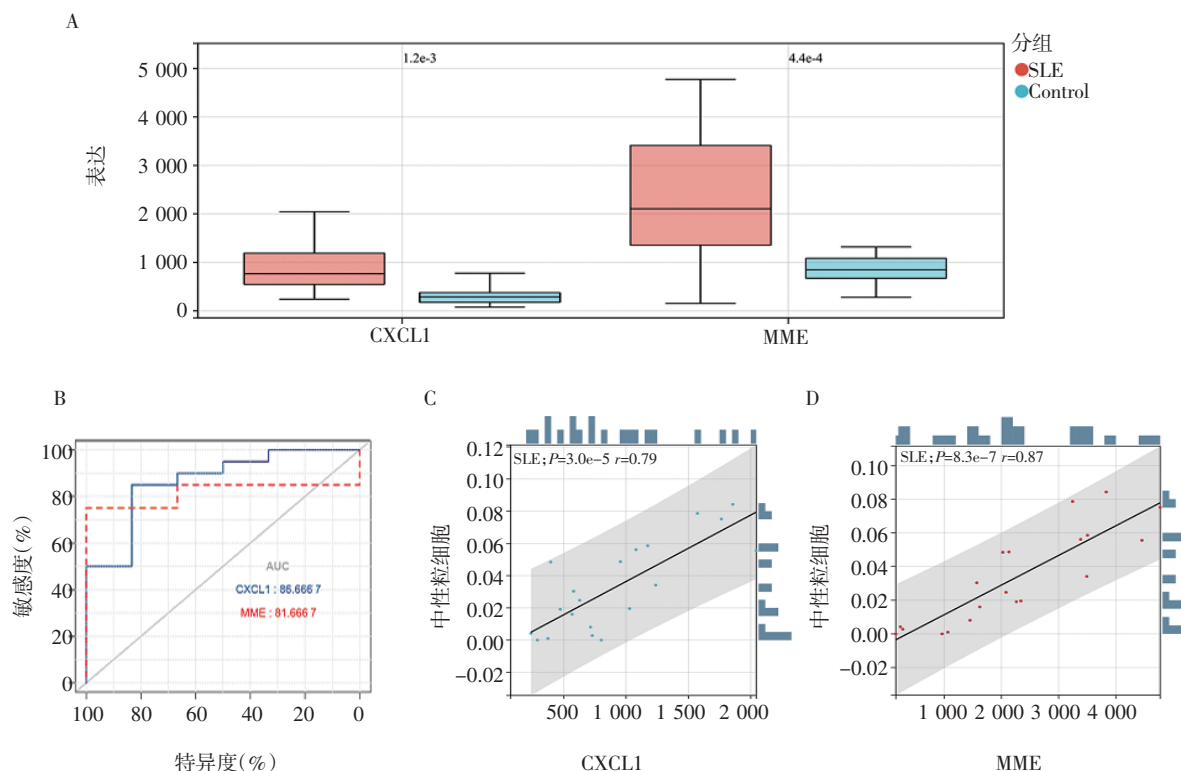


图9 CXCL1 和 MME 在 GSE122459 数据集验证

Fig 9 Validation of CXCL1 and MME in GSE122459 dataset

3 讨论

SLE 具有高度复杂性和异质性。患者免疫系统多组成部分出现明显的功能障碍,并且呈现临床异质性,所以对 SLE 的精准治疗面临着巨大的挑战。关于 SLE 发病过程中先天免疫系统的作用机制的报道较少,但最近有研究发现中性粒细胞铁死亡对于人自身免疫性疾病有着重要作用,证实了先天免疫细胞异常会导致系统性自身免疫性疾病^[15]。因此,开展对于 SLE 发病过程中先天免疫的作用机制的研究具有重要意义。

本研究整合了 GSE50772、GSE81622 和 GSE99967 数据集,进行了先天免疫细胞组成和丰度的全面评估,发现 NK 细胞和肥大细胞在 SLE 中的比例减少,而单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞和中性粒细胞在 SLE 中的比例较对照组增加,提示这些细胞类型在 SLE 的发生和发展中发挥重要作用。之前的研究表明,NK 细胞的细胞毒性功能在 SLE 患者中受损^[16];肥大细胞及其激活相关抗体参与了类风湿性关节炎和多发性硬化症等各种自身免疫性疾病的发生和发展^[17];低密度粒细胞(LDG, low-density

granulocytes)即中性粒细胞的一种促炎性中性粒细胞亚群与狼疮的特定临床特征的存在和严重程度相关等^[18]。

为了进一步鉴定与疾病相关的模板,对数据集进行了 WGCNA 分析,共得到 13 个基因共表达模块,并鉴定了 1 个与 NK 细胞高度相关的模块即棕褐色模块和 1 个与中性粒细胞高度相关的模块即绿色模块。与 NK 细胞相关的模块基因主要富集中在细胞溶解颗粒、细胞杀伤、抗原处理和呈现、NK 细胞的细胞毒性等通路中;与中性粒细胞相关的模块基因主要富集于细胞因子活性、IL-17 信号通路、NF- κ B 信号传导途径等。有研究证实,对细胞因子的监测能够提高确定 SLE 疾病活性的敏感性和特异性,如通过 IL-18 能够预测活动性肾脏 SLE 的风险,而 IL-6 和 IL-8 能够预测活动性非肾脏的风险^[19]。中性粒细胞在 SLE 中发挥至关重要的作用。狼疮相关免疫复合物在 Fc γ RIIA 依赖但非 TLR 的响应中激活人类中性粒细胞^[20],中性粒细胞外陷阱 NET 中的 mtDNA、抗 mtDNA 抗体与 SLE 中的 PDC IFN α 发病机制之间相关联^[21]。

之后,结合 DEG 分析选择 CXCL1 和 MME 作为与中性粒细胞相关的关键基因。GSEA 分析发现, CXCL1 和 MME 都有富集到 NOD 样受体信号通路。近期有研究报道 NOD 样受体信号通路及其通路相关基因在 SLE 中的重要作用, NOD 样受体含吡啶域蛋白 3(NLRP3)炎症体的失调在系统性红斑狼疮中起着重要作用,高水平的 let-7f-5p 可以通过靶向 NLRP3 来减轻 SLE 炎症^[22]。此外, CXCL1 的表达还可能与利什曼病的感染通路正相关并与硒氨酸的代谢呈负相关,内脏利什曼病(Visceral leishmaniasis, VL)与 SLE 的症状有很强的相似性^[23];体内的许多硒蛋白参与内源性抗氧化防御系统,硒蛋白的水平低与各种疾病的发展密切相关^[24]。MME 的表达还与叶酸的代谢和 Toll 样受体通路呈正相关。有研究表明,低水平的叶酸与高浓度的同型半胱氨酸相关,而高同型半胱氨酸血症是 SLE 患者亚临床动脉粥样硬化的独立风险因素之一^[25-26]。网状或凋亡中性粒细胞释放的核酸通过病毒核酸特异性 Toll 样受体激活先天和适应性免疫是狼疮肾炎的发病机制之一^[27]。

然后,基于 GSE122459 数据集进行了 ROC 分析以及基因的表达与中性粒细胞的相关性分析来评估基因与患者诊断之间的相关性。CXCL1(AUC=0.86)和 MME(AUC=0.81)均在 SLE 诊断中表现出较高的灵敏度和特异性,且其表达均与中性粒细胞

有较高的相关性。CXCL1 属于 CXC 趋化因子家族的一员,可作为多种免疫细胞的趋化剂,是一种有效的中性粒细胞趋化剂和激活剂^[28],同时, CXCL1 也能作为将活跃的白细胞招募到炎症组织的重要原因之一。已有研究报道, CXCL1 表达水平的变化可能是 SLE 活动的潜在标志^[29]。MME 编码膜金属内肽酶也称中性内肽酶,主要存在于肾脏、肺、大脑和肝脏细胞的血浆膜中。尽管目前没有其在 SLE 中的研究,但有研究表明在与 SLE 相关的膜性肾病中,中性内肽酶是重要的自身抗原之一,在调节炎症方面至关重要^[30]。因此,推测 CXCL1 和 MME 可能在 SLE 的疾病进展中发挥重要作用。本研究存在一定的局限性,由于使用公共数据进行分析,对于 SLE 的临床异质性无法获取全面的组织数据进行分析,从而选择了外周血的数据进行分析。外周血是 SLE 免疫系统的主要途径,外周血单核细胞(PBMC)是最先启动对目标器官的自身免疫过程的免疫细胞,因此, PBMC 的基因表达特征能够在一定程度上揭示目标器官中免疫细胞的分子特征。在本研究所揭示的关键基因还需要在更全面的组织样本队列中进一步验证^[31]。

综上所述,本研究基于免疫细胞组成与 WGCNA 识别了 2 个与 SLE 先天免疫相关的关键模块,以及 2 个与中性粒细胞相关的关键基因即 CXCL1 和 MME,在 SLE 发生、发展的先天免疫中可能发挥着重要作用,值得深入研究。

参考文献:

- [1] DÖRNER T, FURIE R. Novel paradigms in systemic lupus erythematosus[J]. Lancet, 2019, 393(10188): 2344-2358.
- [2] NIEWOLD T B, HUA J, LEHMAN T J, et al. High serum IFN- α activity is a heritable risk factor for systemic lupus erythematosus[J]. Genes Immun, 2007, 8(6): 492-502.
- [3] CASCIOLA-ROSEN L A, ANHALT G, ROSEN A. Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes[J]. J Exp Med, 1994, 179(4): 1317-1330.
- [4] TSOKOS G C, LO M S, COSTA REIS P, et al. New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus[J]. Nat Rev Rheumatol, 2016, 12(12): 716-730.
- [5] TENBROCK K, RAUEN T. T cell dysregulation in SLE[J]. Clin Immunol, 2022, 239: 109031.
- [6] GIANCIECCHI E, DELFINO D V, FIERABRACCI A. Natural killer cells: potential biomarkers and therapeutic target in autoimmune diseases[J]. Front Immunol, 2021, 12: 616853.
- [7] HERRADA A A, ESCOBEDO N, IRURETAGOYENA M, et al. Innate Immune cells' contribution to systemic lupus erythematosus[J]. Front Immunol, 2019, 10: 772.
- [8] GUPTA S, KAPLAN M J. Bite of the wolf: innate immune responses

- propagate autoimmunity in lupus [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(3): e144918.
- [9] KUKSIN M, MOREL D, AGLAVE M, et al. Applications of single-cell and bulk RNA sequencing in onco-immunology[J]. *Eur J Cancer*, 2021, 149: 193–210.
- [10] MATTA B, BARNES B J. Coordination between innate immune cells, type I IFNs and IRF5 drives SLE pathogenesis[J]. *Cytokine*, 2020, 132: 154731.
- [11] OLSSON L M, JOHANSSON A C, GULLSTRAND B, et al. A single nucleotide polymorphism in the NCF1 gene leading to reduced oxidative burst is associated with systemic lupus erythematosus [J]. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76(9): 1607–1613.
- [12] LI Y, LEE P Y, SOBEL E S, et al. Increased expression of FcγRI/CD64 on circulating monocytes parallels ongoing inflammation and nephritis in lupus[J]. *Arthritis Res Ther*, 2009, 11(1): R6.
- [13] ARAN D, HU Z, BUTTE A J. xCell: digitally portraying the tissue cellular heterogeneity landscape[J]. *Genome Biol*, 2017, 18(1): 220.
- [14] LANGFELDER P, HORVATH S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis[J]. *BMC Bioinformatics*, 2008, 9: 559.
- [15] LI P, JIANG M, LI K, et al. Glutathione peroxidase 4-regulated neutrophil ferroptosis induces systemic autoimmunity[J]. *Nat Immunol*, 2021, 22(9): 1107–1117.
- [16] HUMBEL M, BELLANGER F, FLUDER N, et al. Restoration of NK cell cytotoxic function with elotuzumab and daratumumab promotes elimination of circulating plasma cells in patients with SLE[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 645478.
- [17] CARAFFA A, GALLENGA C E, KRITAS S K, et al. Impact of mast cells in systemic lupus erythematosus: can inflammation be inhibited? [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2019, 33(3): 669–673.
- [18] MISTRY P, NAKABO S, O'NEIL L, et al. Transcriptomic, epigenetic, and functional analyses implicate neutrophil diversity in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(50): 25222–25228.
- [19] RUCHAKORN N, NGAMJANYAPORN P, SUANGTAMAI T, et al. Performance of cytokine models in predicting SLE activity [J]. *Arthritis Res Ther*, 2019, 21(1): 287.
- [20] BONEGIO R G, LIN J D, BEAUDETTE-ZLATANOVA B, et al. Lupus-associated immune complexes activate human neutrophils in an fcgγRIIA-dependent but TLR-independent response[J]. *J Immunol*, 2019, 202(3): 675–683.
- [21] WANG H, LI T, CHEN S, et al. Neutrophil extracellular trap mitochondrial DNA and its autoantibody in systemic lupus erythematosus and a proof-of-concept trial of metformin[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(12): 3190–3200.
- [22] TAN W, GU Z, LENG J, et al. Let-7f-5p ameliorates inflammation by targeting NLRP3 in bone marrow-derived mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109313.
- [23] SAKKAS L I, BOULBOU M, KYRIAKOU D, et al. Immunological features of visceral leishmaniasis may mimic systemic lupus erythematosus[J]. *Clin Biochem*, 2008, 41(1/2): 65–68.
- [24] FAIRWEATHER-TAIT S J, BAO Y, BROADLEY M R, et al. Selenum in human health and disease [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(7): 1337–1383.
- [25] GIANNELLOU M, NEZOS A, FRAGKIOUDAKI S, et al. Contribution of MTHFR gene variants in lupus related subclinical atherosclerosis[J]. *Clin Immunol*, 2018, 193: 110–117.
- [26] REFAI T M, AL-FAHMI I H, NKANSA-DWAMENA D, et al. Hyperhomocysteinaemia and risk of thrombosis in systemic lupus erythematosus patients[J]. *Clin Rheumatol*, 2002, 21(6): 457–461.
- [27] LECH M, ANDERS H J. The pathogenesis of lupus nephritis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24(9): 1357–1366.
- [28] RAJARATHNAM K, SCHNOOR M, RICHARDSON R M, et al. How do chemokines navigate neutrophils to the target site: dissecting the structural mechanisms and signaling pathways[J]. *Cell Signal*, 2019, 54: 69–80.
- [29] ZENG Y, LIN Q, YU L, et al. Chemokine CXCL1 as a potential marker of disease activity in systemic lupus erythematosus[J]. *BMC Immunol*, 2021, 22(1): 82.
- [30] LIU W, HUANG G, RUI H, et al. Course monitoring of membranous nephropathy: both autoantibodies and podocytes require multidimensional attention[J]. *Autoimmun Rev*, 2022, 21(2): 102976.
- [31] TORO-DOMINGUEZ D, CARMONA-SAEZ P, ALARCON-RIQUELME M E. Shared signatures between rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome uncovered through gene expression meta-analysis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16(6): 489.

(2022-12-14 收稿)

欢迎投稿

欢迎订阅