

儿童系统性红斑狼疮关键生物标志物的鉴定

王晓楠^{1,2}, 杜玮¹, 郁春艳¹, 邓为民¹

(1.天津医科大学基础医学院免疫学系, 国家教育部免疫微环境与疾病重点实验室, 天津 300070; 2.天津市儿童医院检验科, 天津 300134)

摘要 目的: 基于生物信息数据库进行数据挖掘, 探究儿童系统性红斑狼疮(cSLE)发生的关键基因并构建风险评分模型。方法: 从基因数据库中提取 cSLE 数据, 通过多种机器学习识别与 cSLE 发病相关的基因并构建风险评分模型。通过 ELISA 验证基因表达, 并利用流式细胞术分析 *TNFAIP6* 对细胞凋亡和周期的影响。结果: *TNFAIP6*、*B4GALT5*、*HLX*、*ANXA3* 和 *DYSF* 与 cSLE 发病相关, 且对 cSLE 具有较强的诊断价值, 其曲线下面积分别为: *TNFAIP6*: 0.866、*B4GALT5*: 0.891、*HLX*: 0.914、*ANXA3*: 0.878、*DYSF*: 0.929。利用 *TNFAIP6* 和 *DYSF* 构建的风险评分模型能够有效诊断 cSLE (曲线下面积: 0.969)。与低风险组相比, 中性粒细胞在高风险组中显著增加 ($t=268.5, P=0.009$)。实验结果表明 *TNFAIP6* 在 cSLE 患者血清中高表达, 且沉默其表达能够促进 THP-1 细胞凋亡和阻滞细胞周期。结论: 利用 *TNFAIP6* 和 *DYSF* 构建的 cSLE 风险评分模型可有效识别 cSLE; *TNFAIP6* 可能是 cSLE 潜在的生物标志物。

关键词 儿童系统性红斑狼疮; 风险评分模型; *TNFAIP6*; 细胞凋亡; 细胞周期

中图分类号 Q939.91

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2025)01-0010-09

Identification of key biomarkers for childhood systemic lupus erythematosus

WANG Xiaonan^{1,2}, DU Wei¹, YU Chunyan¹, DENG Weimin¹

(1. Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Key Laboratory of Diseases and Microenvironment of Ministry of Education of China, Tianjin 300070, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300134, China)

Abstract Objective: To conduct data mining based on bioinformatics databases to explore key genes related to the occurrence of childhood systemic lupus erythematosus (cSLEs) and build a risk score model. **Methods:** cSLE-related data were obtained from the Gene Expression Comprehensive Database. Genes related to the onset of cSLE were identified through various machine learning methods and a risk score model was constructed. *TNFAIP6* expression was verified by ELISA, and the effect of *TNFAIP6* on cell apoptosis and cell cycle was analyzed by flow cytometry. **Results:** *TNFAIP6*, *B4GALT5*, *HLX*, *ANXA3* and *DYSF* were related to the onset of cSLE and had strong diagnostic value for cSLE. Their areas under the curve were *TNFAIP6*: 0.866, *B4GALT5*: 0.891, *HLX*: 0.914, *ANXA3*: 0.878, *DYSF*: 0.929. The risk score model constructed using *TNFAIP6* and *DYSF* could effectively diagnose cSLE (areas under the curve was 0.969). Neutrophil levels were significantly elevated in the high-risk group compared to the low-risk group ($t=268.5, P=0.009$). Experimental results showed that *TNFAIP6* was highly expressed in the serum of cSLE patients, and its silencing might promote THP-1 cell apoptosis and arrest the cell cycle. **Conclusion:** The cSLE risk score model constructed using *TNFAIP6* and *DYSF* can effectively identify cSLE; *TNFAIP6* may be a potential biomarker for cSLE.

Key words childhood systemic lupus erythematosus; risk score model; *TNFAIP6*; apoptosis; cell cycle

儿童系统性红斑狼疮(cSLE)是一种自身免疫性疾病, 占有系统性红斑狼疮(SLE)病例的 15%~20%^[1]。成人 SLE 和 cSLE 的发病机制类似, 但 cSLE 病情更严重, 损伤更重, 致残和死亡率更高^[2-4]。因此, 筛选准确有效的生物标志物并探究分子机制对于 cSLE 的诊断和治疗具有十分重要的意义。

WGCNA 常用于识别共表达基因模块, 探索基因模块与相关表型之间的关联, 并识别网络中的核

心基因^[5]。最近, 机器学习大大提高了基于微阵列和新一代测序数据识别关键基因的预测价值和准确性^[6]。因此, 本研究整合基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus database, GEO)中 cSLE 和对照样本的表达数据, 通过多种机器学习方法识别潜在的 cSLE 生物标志物并构建风险评分模型。

1 材料和方法

1.1 数据获取 通过 R 包 GEOquery(version 2.69.0)

基金项目 国家重点研发计划(2021YFC2009300)

作者简介 王晓楠(1988-), 女, 技师, 硕士, 研究方向: 免疫学; 通信作者: 邓为民, E-mail: dengweimin@tmu.edu.cn。

从 GEO 数据库下载了两个 cSLE 患者数据集,包括 GSE8650 (GPL96) 和 GSE65391_visit1 (GPL10558)。GSE8650 包含 38 例 cSLE 样本和 21 个健康样本, GSE65391_visit1 包含 924 例 cSLE 全血样本和 72 个健康样本。

1.2 WGCNA 分析 通过 WGCNA 包(version 1.72-1)构建加权基因共表达网络。使用“hclust”函数对 cSLE 样本表达量数据进行层次聚类分析,排除离群样本。使用“pickSoftThreshold”函数筛选最佳软阈值 β 。通过 Pearson 相关性分析计算所有基因对之间的相关性矩阵,并构建邻接矩阵。从邻接矩阵转换得到拓扑重叠矩阵(TOM)和相应的相似性。进一步构建层次聚类树状图,将表达相似的基因分为不同模块。通过模块特征基因总结每个模块的表达谱,并计算模块特征基因与临床特征之间的相关性,识别和鉴定出模块基因。

1.3 差异表达分析 使用“limma”R 软件包(version 3.57.7)鉴定 cSLE 样本与健康对照样本之间的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)。以 $|\log_2(\text{Foldchange})| \geq 1$ 和 $P < 0.05$ 为标准,筛选 DEGs 并绘制热图和火山图。

1.4 功能富集分析 使用“clusterProfiler”R 包(version 4.9.2)进行基因本体(gene ontology, GO)和京都基因和基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析,检测与关键模块基因相关的生物功能和潜在信号途径。显著富集的 GO 和 KEGG 通路分别以 $P < 0.05$ 和 $\text{FDR} < 0.05$ 为标准进行筛选。

1.5 单因素 Logistic 回归、多因素 Logistic 回归和 LASSO 回归分析 使用“glm”函数进行单因素和多因素 Logistic 回归分析,根据 $P < 0.05$ 进行筛选。使用“glmnet”包(version: 4.1-7, <https://doi.org/10.18637/jss.v033.i01>)进行 LASSO 分析。

1.6 受试者工作特征(ROC)分析 使用 R 包“multipleROC”(version 0.1.1, <https://github.com/cardiomoon/multipleROC>)进行关键基因的 ROC 分析及绘图。

1.7 免疫浸润分析 采用 CIBERSORT 方法分析 cSLE 患者的免疫细胞浸润。CIBERSORT 采用反卷积算法,通过具有 22 种免疫细胞类型的参考集(LM22),估计免疫细胞的组成和相对丰度。Wilcoxon 秩和检验用于比较组间免疫细胞浸润比例的差异。R 包“ggplot2”用于结果可视化。

1.8 患者血液样本和细胞系 于 2022 年 11 月至 2023 年 10 月从天津市儿童医院获得 10 例 cSLE 患者[平均年龄(12.30 ± 0.48)岁]、10 例其他免疫系统疾病患

者[平均年龄(11.80 ± 1.40)岁]和 10 名健康儿童[平均年龄(11.00 ± 1.76)岁]的血清样本。所有研究均经国家重点研发计划课题组伦理委员会批准(编号: 2022001)。人单核细胞白血病细胞系 THP-1 购自普诺赛生命科技有限公司(CL-0233, 武汉, 中国),采用 THP-1 细胞专用培养基(CM-0233, 普诺赛生命科技有限公司, 武汉, 中国),置于 37°C 、 CO_2 浓度为 5% 的细胞孵育箱中培养。

1.9 ELISA 实验 将全血收集至不含抗凝剂的试管内, 4°C 下约 $1\,000\times g$ 离心 10 min, 取黄色上清即为血清。根据生产商的说明,使用 TNFAIP6 酶联免疫吸附测定试剂盒(酶联生物, m1061137, 上海)特异性检测血清中 TNFAIP6 的浓度。用酶标仪在 450 nm 波长处测定 OD 值。

1.10 细胞转染 靶向 TNFAIP6 的小干扰 RNA (siRNA: si-TNFAIP6#1, si-TNFAIP6#2, si-TNFAIP6#3) 及其相应的对照组 (si-NC) 购自生工生物工程股份有限公司(上海, 中国), 见表 1。根据 Lipofectamine™ 3000 (2343152, Thermo Fisher Scientific, USA) 的实验要求进行转染。

表 1 si-TNFAIP6 引物序列
Tab.1 Primer sequences of si-TNFAIP6

名称		序列(5'→3')
si-TNFAIP6#1	F	UGGCACAUUAGACUCAAGUAUTT
	R	AUACUUGAGUCUAAUGUGCCATT
si-TNFAIP6#2	F	UGGCUGAUUUGUUGAAAUAUTT
	R	AUAUUCAACAUAAUCAGCCATT
si-TNFAIP6#2	F	UGGAAGAUUUAGCCACUUAUATT
	R	UAUAAGUGGCUAAAUCUCCATT

1.11 qRT-PCR 实验 使用 TRNzolUniversal 总 RNA 提取试剂[天根生化科技(北京)有限公司, DP424, 中国, 上海]从细胞中提取总 RNA。采用 RevertAid 第一链 cDNA 合成试剂盒(Thermo Fisher Scientific, K1622, USA)进行逆转录。使用 $2\times$ SYBR Green qPCR Master Mix (Selleck, B21203, USA) 在 PCR 系统 (ABI, Veriti, USA) 上进行 qRT-PCR。程序如下: 94°C , 30 s 预变性; 40 个循环如下: 94°C , 5 s, 60°C , 30 s, 反应体积为 $20\,\mu\text{L}$, 内参基因使用 β -actin, 引物序列见表 2, 每个样本 3 个重复。mRNA 表达水平用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 公式计算。

1.12 蛋白质印迹实验 使用 RIPA 裂解液和 PMSF 提取蛋白。蛋白应激实验和前人方法一致^[7]。实验中使用的一抗是重组 Anti-TSG6 抗体 (1:1 000, Abcam, ab267469, 英国) 和重组 anti-GADPH 抗体 (1:

表 2 基因引物序列
Tab.2 The sequences of primer

引物名称		序列(5'→3')	大小(bp)
<i>TNFAIP6</i>	F	GGATTTCGAAAACTGGCATTATTG	94
	R	ACTCCTTTGCGTGTGGGTGTAG	
β -actin	F	TGGCACCCAGCACAAATGAA	167
	R	GAAGCATTTCGCGTGGACG	

2 000,天津优抗生物技术有限公司,UM4002,天津,中国),二抗是羊抗兔 IgG-HRP(1:4 000, Affinity, S0001,美国)和羊抗小鼠 IgG-HRP(1:4 000, Affinity, S0002,美国)。最后使用软件 Image J 对条带进行灰度值分析。

1.13 细胞活力实验 在 96 孔板中加入 100 μ L 细胞悬液,在 37℃含有 5% CO₂ 的培养箱过夜培养。在培养板中加入 10 μ L 不同浓度的待测物质,置于培养箱中培养。在培养 24、48 和 72 h 后分别加入 10 μ L CCK-8 溶液,孵育 2 h(37℃,5% CO₂),用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度。

1.14 细胞凋亡和周期实验收集 取对数期细胞,用 0.25%胰蛋白酶消化各组细胞,取适量重悬细胞离心后取上清。随后,按照生产商的说明使用细胞凋亡和周期试剂盒(C1052,碧云天,上海,中国)处理细胞。使用流式细胞仪(ACEA NovoCyte,安捷伦,美国)检测细胞凋亡率和细胞周期,利用流式分析软件对实验结果进行分析。

1.15 统计学处理 均使用 R 语言(版本 4.3.1)进行。采用 Pearson 方法进行相关性分析,当 $P<0.05$ 且相关性系数的绝对值 ≥ 0.3 时,两者之间具有显著相关性。Wilcoxon 秩和检验用于比较组间差异。

符合正态分布的数据以 $\bar{x}\pm s$ 。所有实验数据均使用 SPSS 26 统计软件进行分析,并使用 GraphPad Prism 软件(版本 6)进行绘图。采用单因素 ANOVA 检验比较多组样本均值之间的差异,并使用 t 检验比较两组样本均值之间的差异。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 WGCNA 鉴定 cSLE 疾病活动相关基因 在 GSE8650 数据集中,笔者收集了 38 个 cSLE 样本的转录组数据进行 WGCNA 分析。通过聚类分析,删除 6 个离群样本(图 1A),并计算软阈值。

选取 power=5 为最优的软阈值(图 1B)构建基因网络,共获得 14 个基因模块(图 1C)。基因模块和样本性状相关性分析结果显示,棕色基因模块与 SLE 疾病活动指数(SLEDAI)显著相关(图 1D、1E),共得到 386 个 cSLE 疾病活动相关基因。

3.2 鉴定 cSLE 疾病活动和发生相关的基因 对 GSE8650 数据集的分析发现,在 cSLE 样本和正常样本中共鉴定出 329 个 DEGs,即为 cSLE 相关基因(图 2A)。此外,交叉分析表明 64 个基因可能在 cSLE 疾病活动和进展中起作用(图 2B)。

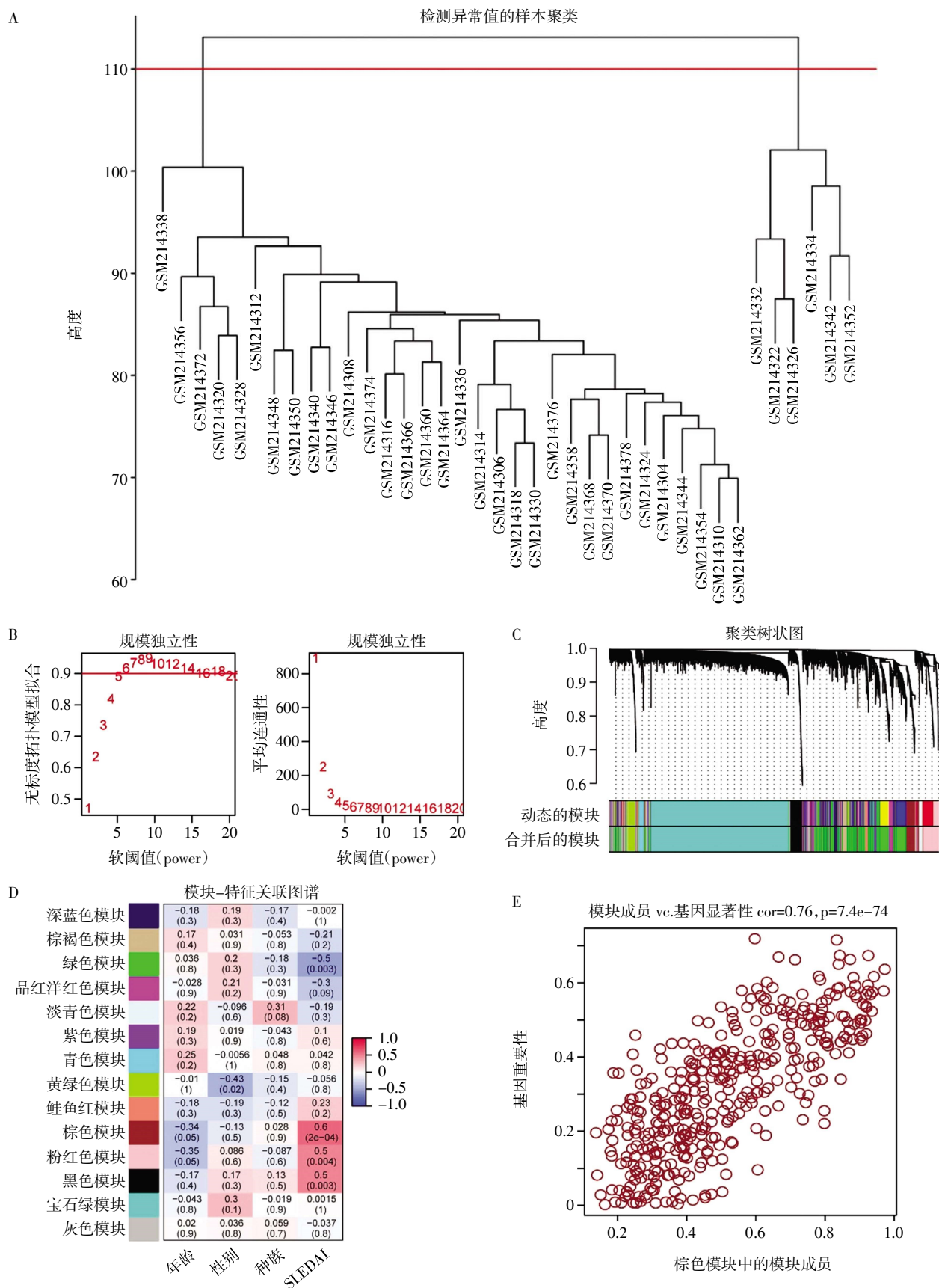
在 64 个基因中,有 52 个为疾病发生的危险因素,10 个为保护因素。根据 WGCNA 结果,笔者在 52 个基因中筛选了 7 个与 SLEDAI 显著相关的基因。通过回归分析,确定了 *TNFAIP6*、*B4GALT5*、*HLX*、*ANXA3*、*DYSF* 5 个基因与 cSLE 的发生密切相关($\lambda=0.032$),见图 2C、2D。

如图 3A、3B 所示,在 GSE8650 和 GSE65391_visit1 数据集中,与健康个体相比,*TNFAIP6*、*B4GALT5*、*HLX*、*ANXA3*、*DYSF* 在 cSLE 患者中显著上调(均 $P<0.001$)。

在 GSE8650 数据集中,5 个基因的曲线下面积(AUC) (*TNFAIP6*:0.866、*B4GALT5*:0.891、*HLX*:0.914、*ANXA3*:0.878、*DYSF*:0.929)均大于 0.8(图 3C)。同样地,在 GSE65391_visit1 数据集中,5 个基因的 AUC (*TNFAIP6*:0.926、*B4GALT5*:0.8、*HLX*:0.733、*ANXA3*:0.818、*DYSF*:0.81)均大于 0.7(图 3D)。

3.3 构建 cSLE 相关诊断模型 为了降低用于构建模型基因的多重共线性,笔者分析了以上 5 个基因的表达量相关性(图 4A)。基于相关性结果,纳入 *TNFAIP6*、*HLX*、*ANXA3*、*DYSF* 用于构建诊断模型,并根据模型因子显著性大小,最终排除 *HLX* 和 *ANXA3*。因此,用 *TNFAIP6* 和 *DYSF* 构建 cSLE 风险评分模型;风险评分= $-60.759\ 444+2.195\ 246\times TNFAIP6+4.839\ 523\times DYSF$ 。在数据集 GSE8650 中,风险评分模型 ROC 的 AUC 为 0.969(95% CI: 0.934~1),见图 4B,校准曲线证明预测结果与实际值较为一致(图 4C)。在数据集 GSE65391_visit1 中 ROC 的 AUC 为 0.852(95% CI: 0.778~0.927),见图 4D。

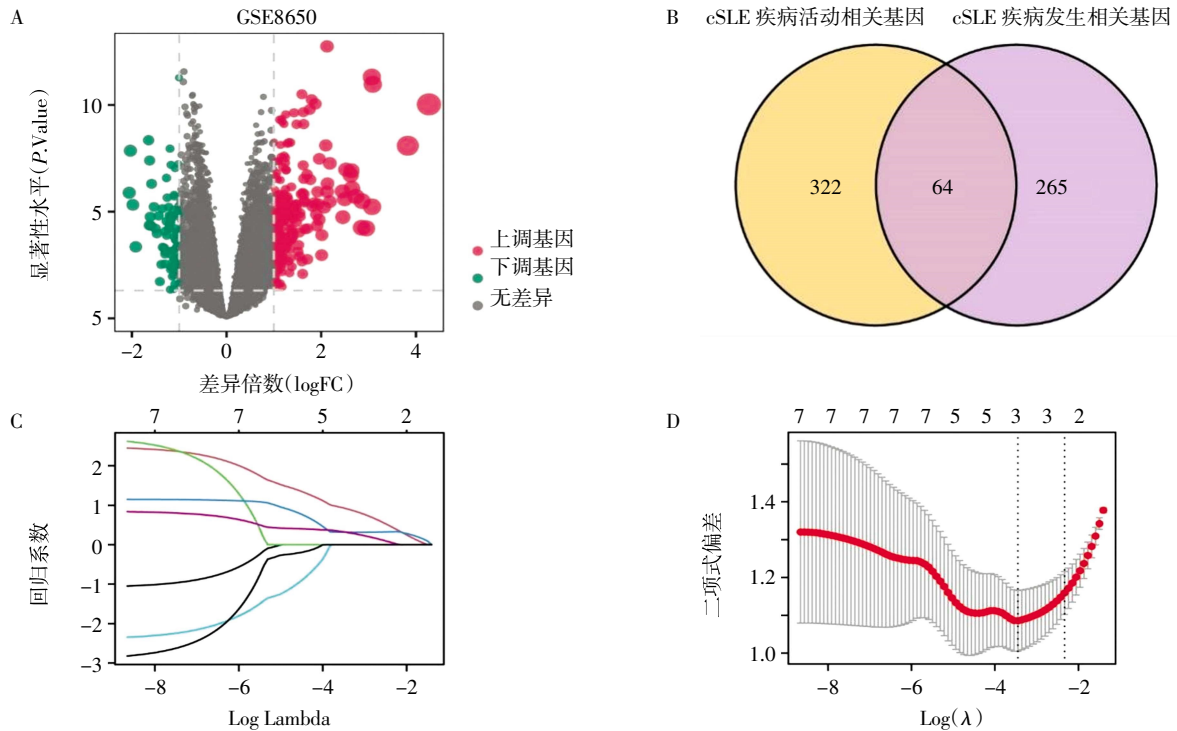
3.4 风险评分与免疫细胞浸润比例的相关性 使用 CIBERSORT 分析高和低风险评分患者免疫细胞的比例发现,在数据集 GSE8650 和 GSE65391_visit1 中,cSLE 患者的免疫细胞存在个体差异(图 5A、5B)。在数据集 GSE8650 中,与低风险评分组相比,激活的树突状细胞($t=253$, $P=0.035$)和中性粒细胞($t=268.5$, $P=0.009$)比例在高风险评分组中显著增加,而 CD8⁺T 细胞($t=81$, $P=0.003$)比例显著降低(图 5C)。在数据集 GSE65391_visit1 中,与低风险评分组相比,中性粒细胞($t=2135$, $P<0.000\ 1$)和 M0 型巨噬细胞($t=1\ 989$, $P<0.000\ 1$)的比例在高风险评分组中显著增加,而初始 B 细胞($t=911.5$, $P=0.008$)、静息



注: A: 样本聚类分析; B: 软阈值变化与平均连通性; C: 基因动态剪切聚类树; D: 基因模块与 cSLE 特征之间的相关性; E: Brown 模块基因与 SLEDAI 相关性散点图; SLEDAI: 系统性红斑狼疮疾病活动指数; cSLE: 儿童系统性红斑狼疮

图1 WGCNA 鉴定 cSLE 疾病活动相关基因

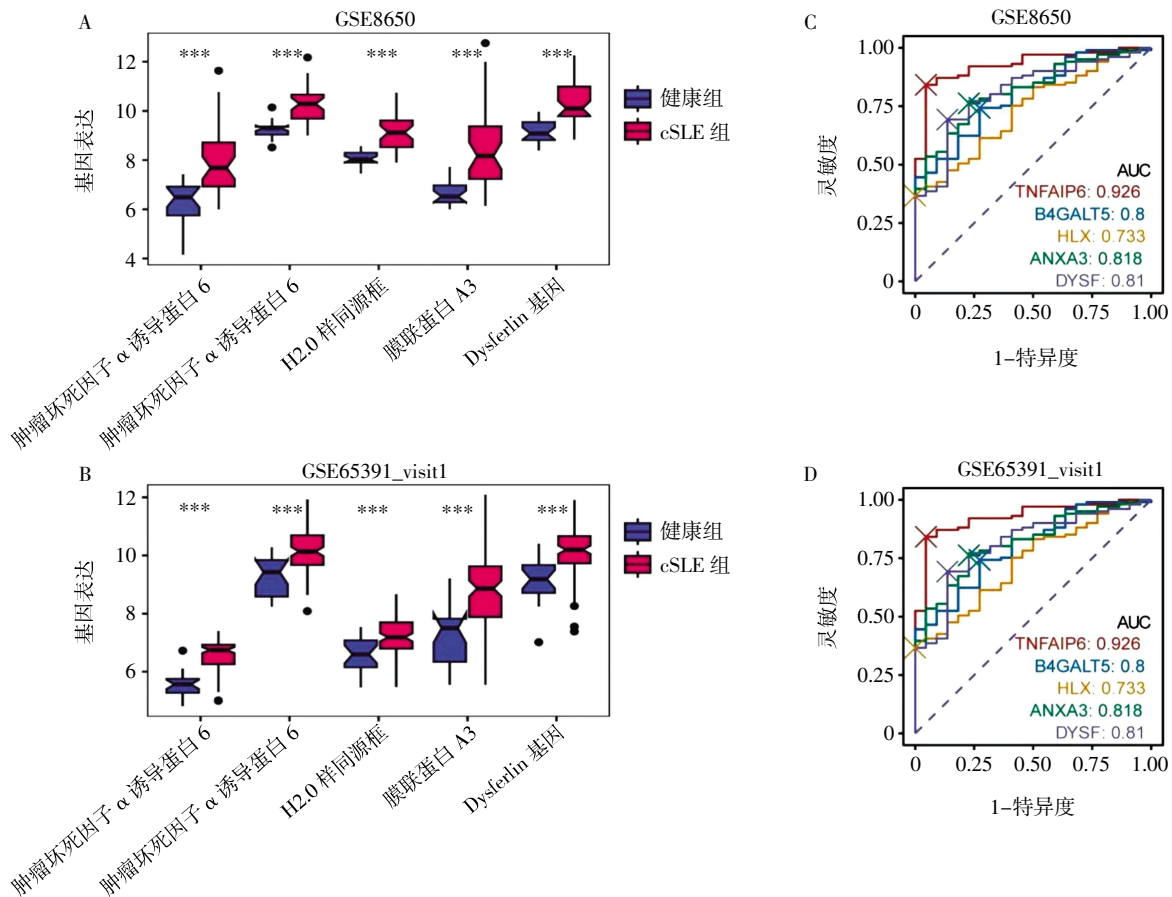
Fig.1 Identification of cSLE activity-related genes via WGCNA



注:A: GSE8650 数据集中差异表达基因的火山图;B:交叉分析;C:单因素 Logistic 回归分析;D:LASSO 回归分析;cSLE:儿童系统性红斑狼疮

图 2 鉴定 cSLE 疾病活动和发生相关的基因

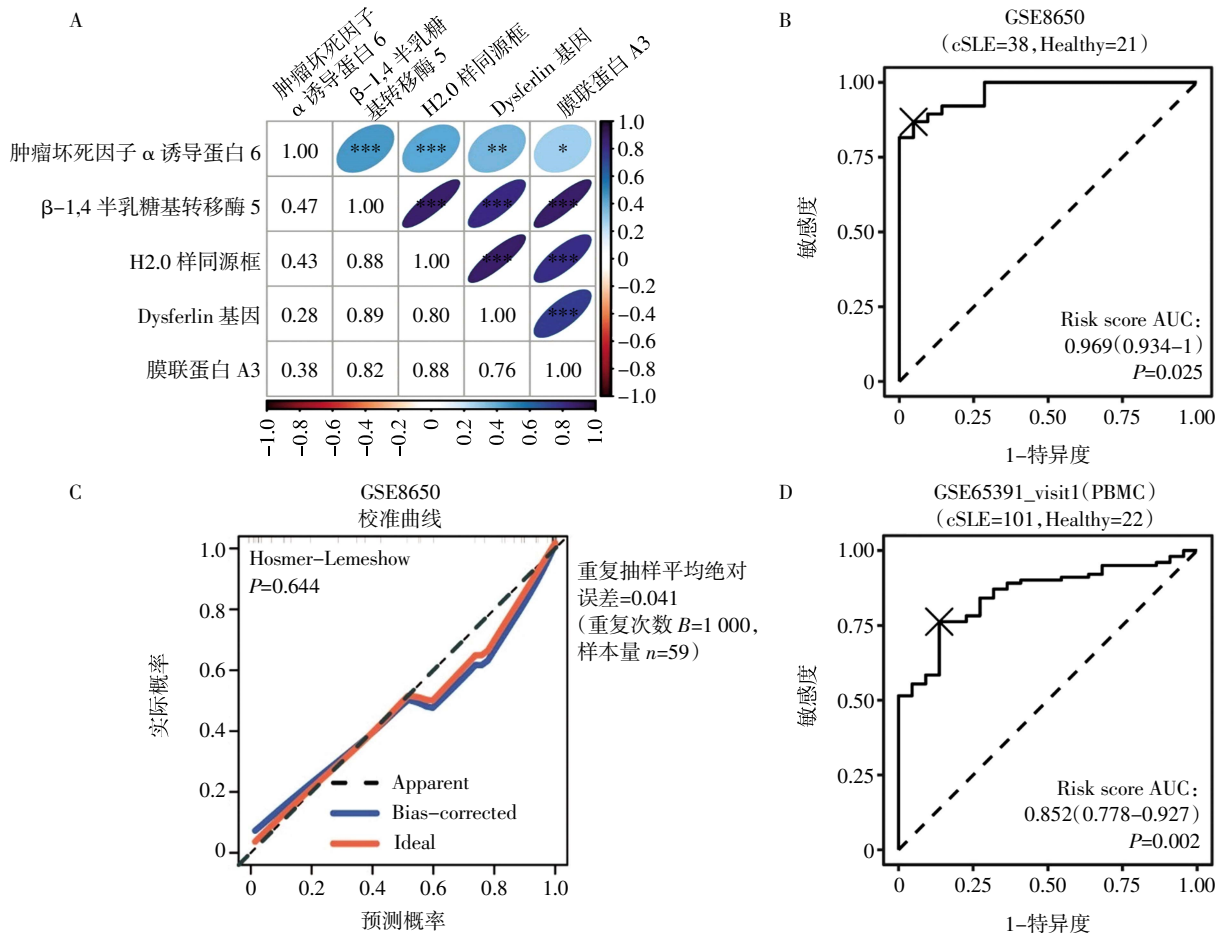
Fig.2 Identification of cSLE activity and occurrence-related genes



注:5个基因在 GSE8650 数据集(A)和 GSE65391_visit1 数据集(B)中 cSLE 样本和正常样本中的表达;5个基因在 GSE8650 数据集(C)和 GSE65391_visit1 数据集(D)中的受试者工作特征曲线的曲线下面积;cSLE:儿童系统性红斑狼疮;AUC:曲线下面积;*** $P < 0.001$

图 3 基因在 cSLE 样本和正常样本中的表达和对 cSLE 患者的诊断价值

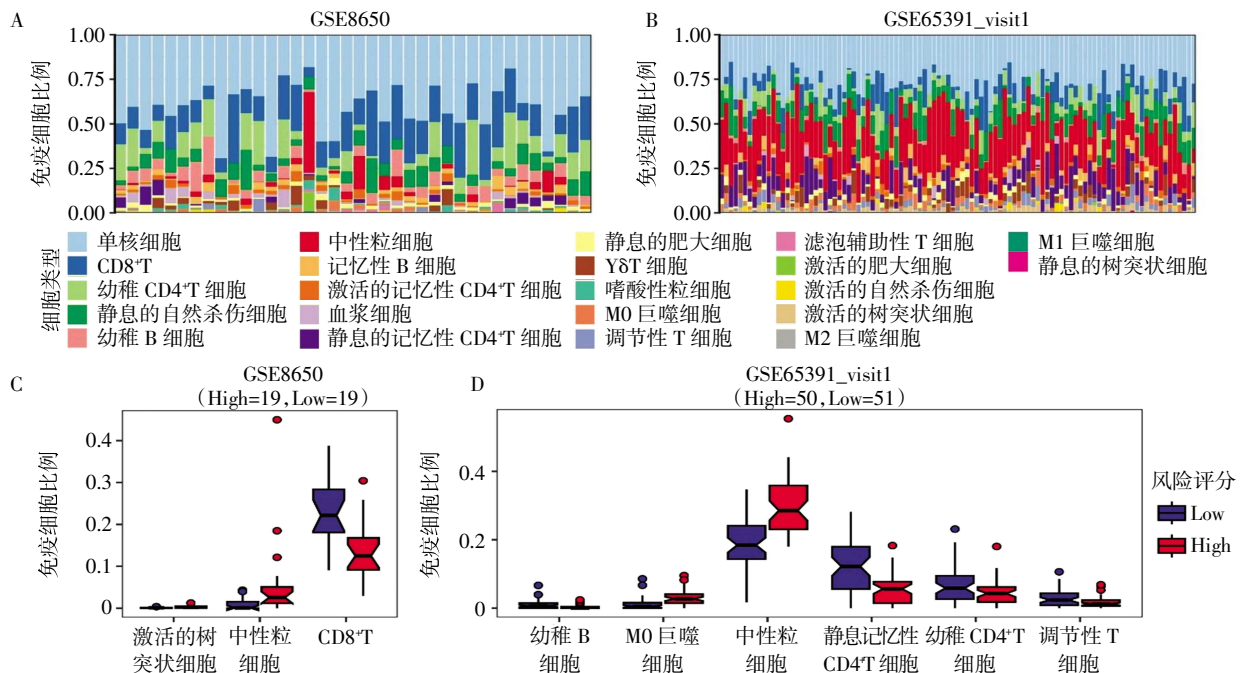
Fig.3 Expression of genes in cSLE samples and normal samples and diagnostic value for cSLE patients



注:A:5个基因之间的共表达;B:GSE8650数据集中风险评分模型的ROC曲线;C:GSE8650数据集中风险评分模型的校准曲线;D:GSE65391_visit1数据集中风险评分模型的ROC曲线;cSLE:儿童系统性红斑狼疮;ROC:受试者工作特征

图4 构建cSLE相关诊断模型

Fig.4 Construction of cSLE-related diagnostic models



注:在GSE8650(A)和GSE65391_visit1(B)数据集中分析不同免疫细胞的相对比例;数据集GSE8650(C)和GSE65391_visit1(D)中高和低风险评分组中的免疫细胞浸润

图5 免疫细胞浸润分析

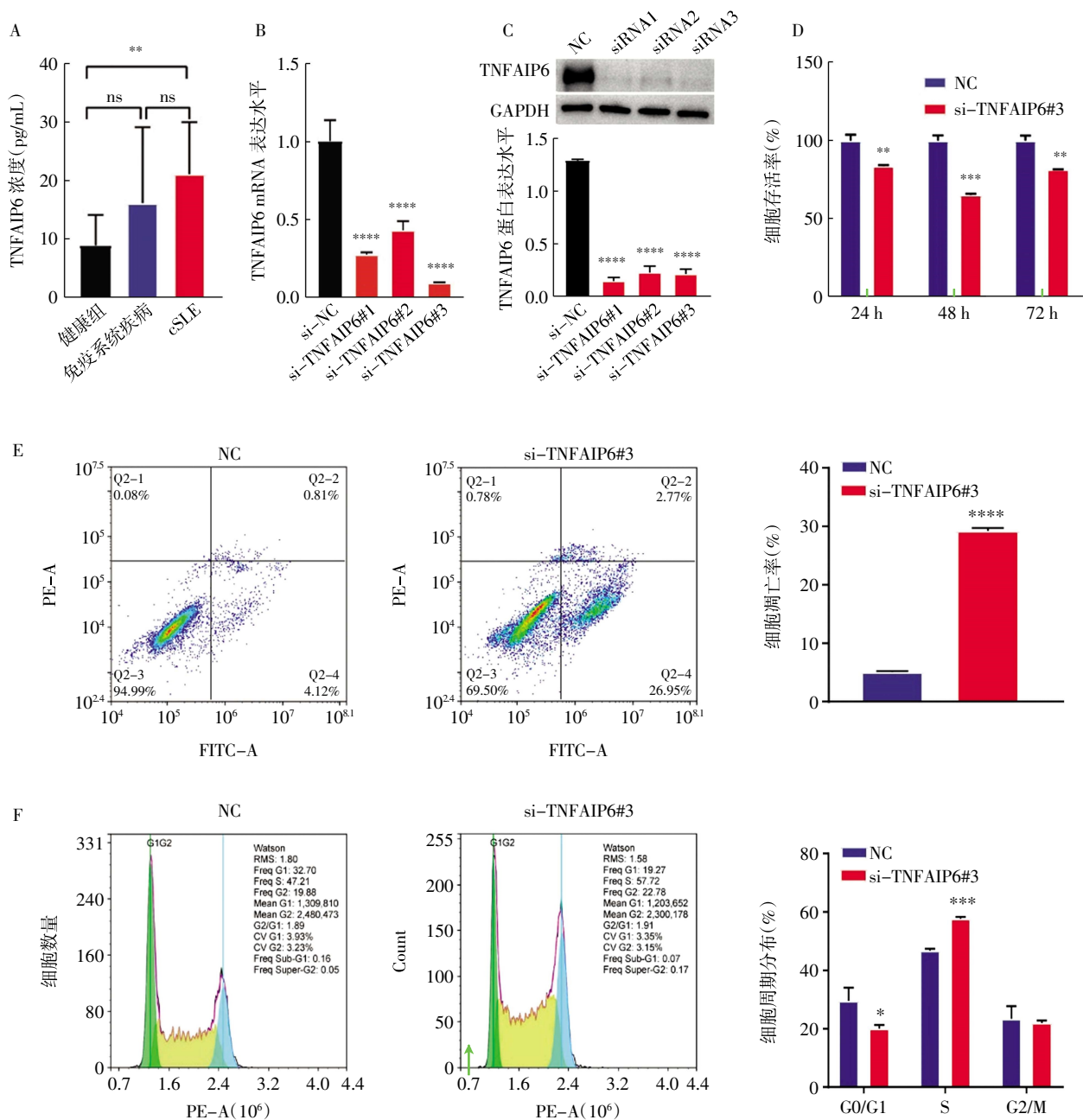
Fig.5 Analysis of immune cell infiltration

记忆性 CD4⁺T 细胞($t=614.5, P<0.0001$)、初始 CD4⁺T 细胞($t=962.5, P=0.033$)和调节性 T 细胞($t=929, P=0.019$)的比例显著减少(图 5D)。

3.5 沉默 TNFAIP6 能够增加 THP-1 细胞凋亡和阻止细胞 S 期进程 如图 6A 所示,与健康组相比, *TNFAIP6* 的浓度在 cSLE 患者血清中显著增加($P=0.008$)。与 si-NC 组相比,在 si-TNFIP6#1、si-TNFIP6#2 和 si-TNFIP6#3 组中 *TNFIP6* 基因 mRNA 的表达显著降低($t=9.96, -7.39, -12.77$, 均 $P<0.0001$),见图 6B。同样地,与 si-NC 组相比, si-TNFIP6#1、si-TNFIP6#2

和 si-TNFIP6#3 组 *TNFIP6* 的蛋白表达水平也明显下降($t=-54.59, -29.87, -39.64$, 均 $P<0.0001$),见图 6C。CCK8 实验表明,与 NC 组相比,在 THP-1 细胞中沉默 *TNFIP6* 表达能够显著降低细胞的活力($t_{24h}=-6.92, t_{48h}=-17.21, t_{72h}=-9.66$, 均 $P<0.01$),见图 6D。

此外,与 NC 组相比,在 THP-1 细胞中敲低 *TNFIP6* 能够显著增加细胞凋亡(图 6E, $t=62.26, P<0.0001$)。细胞周期实验表明,与 NC 组相比,沉默 *TNFAIP6* 可降低 G0/G1 期细胞的比例(图 6F, $t=-9.55, P=0.024$),增加 S 期细胞的比例($t=22.19, P<0.0001$),见图 6F。



注: A: *TNFAIP6* 在 cSLE 患者血清中的表达; B、C: qRT-PCR 和蛋白质印迹实验验证 *TNFAIP6* 在 THP-1 细胞中的敲低效率; D: CCK8 实验结果; E: 细胞凋亡实验结果; F: 细胞周期实验结果; cSLE: 儿童系统性红斑狼疮; NC: 对照组; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; **** $P<0.0001$

图 6 沉默 *TNFAIP6* 能够增加 THP-1 细胞凋亡和阻止细胞 S 期进程

Fig.6 Silencing *TNFAIP6* increased THP-1 cell apoptosis and blocked cellular S-phase progression

3 讨论

cSLE 是一种涉及多个系统和器官的自身免疫性疾病,临床表现多样,首发症状各异。其病因和发病机制非常复杂,目前尚未完全阐明,可能与遗传易感性、感染、药物以及环境因素(如紫外线)等有关。因此,研究与 cSLE 发病相关的关键基因至关重要。在本研究中,通过 WGCNA 和差异表达分析在 GEO 公共数据库中鉴定出 52 个与 cSLE 发生和疾病活动相关的风险基因,其中 7 个基因与 SLEDAI 显著相关。通过 LASSO 分析进一步筛选出与 cSLE 发生和活动密切相关的 5 个关键基因(*TNFAIP6*、*B4GALT5*、*HLX*、*ANXA3*、*DYSF*)。随后,利用基因表达相关性分析,纳入 *TNFAIP6*、*DYSF* 构建了一个风险评分模型。

Lv 等^[8]利用 6 个基底膜相关基因(*AGRN*、*PHF13*、*SPOCK2*、*TGFBI*、*COL4A3* 和 *COLQ*)构建的诊断模型能够有效识别 SLE。利用自噬相关基因(*DDIT3*、*GNB2L1*、*CTSD*、*HSPA8*、*ULK1*、*DNAJB1*、*CANX*)构建的人工神经网络诊断模型能够有效预测 cSLE^[9]。然而,这些研究并没有揭示诊断模型与临床特征和免疫细胞之间的关系。cSLE 是一种累及多系统、多脏器的常见疾病,其中血液系统经常受到影响。研究指出,全血细胞计数亚群在 SLE 患者中的改变可以引发全身炎症,特别是淋巴细胞和中性粒细胞的减少^[10]。高达 41% 的 SLE 患者在病程中出现白细胞减少^[11]。其中,淋巴细胞减少是最常见的白细胞异常。Rivero 等^[12]发现 75% 患有活动性疾病的 SLE 患者存在淋巴细胞减少症,有 18% 的患者在疾病复发后出现淋巴细胞减少症。Jallouli 等^[13]对 146 例 SLE 患者进行了为期 11 年的随访后发现,47.3% 的患者出现了淋巴细胞减少。此外,有 40% 的 SLE 患者报告出现过中性粒细胞减少的症状^[10]。本研究发现与低风险组相比,在高风险组中中性粒细胞的比例显著增加。以上结果显示,利用 *TNFAIP6* 和 *DYSF* 构建的诊断模型可能有助于预测 cSLE 的血液系统状况。

研究表明,SLE 的病理过程与基因突变和异常表达相关^[14]。之前的一项研究表明,与对照组相比,在 cSLE 中 *TRAF6* 的表达显著升高,而 *NFKB1* 的表达显著下降^[15]。在人类 SLE 单核细胞中,*IFIT3* 的异常升高与环 GMP-AMP 合成酶/干扰素基因信号转导过度活跃有关^[16]。此外,有研究表明,在 *TREX1* 突变小鼠模型中,cGAS 激活会导致红斑狼疮样自身免疫性疾病^[17]。在本研究中,与正常样本相比,*TNFAIP6* 在 cSLE 患者血清中的表达显著增加,并且对 cSLE 具有良好的诊断效能。

TNFAIP6 由单核细胞/巨噬细胞和间充质干细胞产生,在炎症和组织重塑过程中发挥着重要作用^[18]。此外,作为间充质干细胞的标志物,高表达 *TNFAIP6* 的间充质干细胞亚群具有更强的免疫抑制能力^[19]。Gu 等^[20]研究表明,骨髓间充质干细胞分泌的 *TNFAIP6* 能够调节小鼠滤泡辅助性 T 细胞和滤泡调节性细胞的平衡,从而减轻 2,4,6-三硝基苯磺酸诱发的结肠炎。*TNFAIP6* 编码的蛋白质 TSG-6 可抑制趋化因子在内皮表面的表达,从而在炎症期间减少 T 细胞和树突状细胞的浸润^[21]。Saeed^[22]研究表明,*TNFAIP6* 的功能缺失变体可能会导致 SLE。本研究发现在 THP-1 细胞中敲低 *TNFAIP6* 能够显著增加细胞凋亡,并将 THP-1 细胞阻止在 S 期。这些发现表明,*TNFAIP6* 高表达可能是 cSLE 的危险因素。

综上所述,本研究通过生物信息学工具,利用 *TNFAIP6* 和 *DYSF* 构建了一个 cSLE 风险评分模型。该模型能够有效识别 cSLE,并与免疫细胞浸润相关。此外,研究结果揭示了 *TNFAIP6* 在 cSLE 中的新作用,即其可能是潜在的分子生物标志物。*TNFAIP6* 可通过影响细胞活力、细胞凋亡和细胞周期等多方面促进了 cSLE 的进展。本研究结果为未来的研究指明了方向,可以在生物信息学的指导下,进一步设计相关细胞或动物实验,研究 *TNFAIP6* 在 cSLE 免疫微环境和病程进展中的作用,并发现新的靶向药物。

参考文献:

- [1] CHARRAS A, SMITHE, HEDRICH C M. Systemic lupus erythematosus in children and young people[J]. Curr Rheumatol Rep, 2021, 23(3):20.
- [2] SOLIMAN S A, HAQUE A, VANARSA K, et al. Urine ALCAM, PF4 and VCAM-1 surpass conventional metrics in identifying nephritis disease activity in childhood-onset systemic lupus erythematosus[J]. Front Immunol, 2022, 13:885307.
- [3] MASSIAS J S, SMITH EMD, AL-ABADI E, et al. Clinical and laboratory characteristics in juvenile-onset systemic lupus erythematosus across age groups[J]. Lupus, 2020, 29(5):474-481.
- [4] THORBINSON C, ONI L, SMITH E, et al. Pharmacological management of childhood-onset systemic lupus erythematosus[J]. Paediatr Drugs, 2016, 18(3):181-195.
- [5] RADULESCU E, JAFFE A E, STRAUB R E, et al. Identification and prioritization of gene sets associated with schizophrenia risk by co-expression network analysis in human brain[J]. Mol Psychiatry, 2020, 25(4):791-804.
- [6] CHEN R, LIU X, JIN S, et al. Machine learning for drug-target interaction prediction[J]. Molecules, 2018, 23(9):2208.
- [7] LI L, LI S. MiR-205-5p inhibits cell migration and invasion in prostatic carcinoma by targeting ZEB1[J]. Oncol Lett, 2018, 16(2):1715-1721.
- [8] LV R, DUAN L, GAO J, et al. Bioinformatics-based analysis of the

- roles of basement membrane-related gene AGRN in systemic lupus erythematosus and pan-cancer development[J]. Front Immunol, 2023, 14:1231611.
- [9] WU J, YANG W, LI H. An artificial neural network model based on autophagy-related genes in childhood systemic lupus erythematosus [J]. Hereditas, 2022, 159(1):34.
- [10] LI Z, XIAO Y, ZHANG L. Application of procalcitonin, white blood cell count and neutrophil-to-lymphocyte ratio in the diagnosis of systemic lupus erythematosus with a bacterial infection [J]. Ann Palliat Med, 2020, 9(6):3870-3876.
- [11] CARLI L, TANI C, VAGNANI S, et al. Leukopenia, lymphopenia, and neutropenia in systemic lupus erythematosus: prevalence and clinical impact—a systematic literature review[J]. Semin Arthritis Rheum, 2015, 45(2):190-194.
- [12] RIVERO S J, DIAZ-JOUANEN E, ALARCON-SEGOVIA D. Lymphopenia in systemic lupus erythematosus. Clinical, diagnostic, and prognostic significance[J]. Arthritis Rheum, 1978, 21(3):295-305.
- [13] JALLOULI M, FRIGUI M, MARZOUK S, et al. Infectious complications in systemic lupus erythematosus: a series of 146 patients[J]. Rev Med Interne, 2008, 29(8):626-631.
- [14] XU L, ZHAO J, SUN Q, et al. Loss-of-function variants in SAT1 cause X-linked childhood-onset systemic lupus erythematosus[J]. Ann Rheum Dis, 2022, 81(12):1712-1721.
- [15] NASCIMENTO D Q, DA SILVA I, LIMA C A D, et al. Expression of the miR-9-5p, miR-125b-5p and its target gene NFKB1 and TRAF6 in childhood-onset systemic lupus erythematosus (cSLE) [J]. Autoimmunity, 2022, 55(8):515-519.
- [16] WANG J, DAI M, CUI Y, et al. Association of abnormal elevations in IFIT3 with overactive cyclic GMP-AMP synthase/stimulator of interferon genes signaling in human systemic lupus erythematosus monocytes[J]. Arthritis Rheumatol, 2018, 70(12):2036-2045.
- [17] XIAO N, WEI J, XU S, et al. cGAS activation causes lupus-like autoimmune disorders in a TREX1 mutant mouse model[J]. J Autoimmun, 2019, 100:84-94.
- [18] ZHANG X, XUE J, YANG H, et al. TNFAIP6 promotes invasion and metastasis of gastric cancer and indicates poor prognosis of patients[J]. Tissue Cell, 2021, 68:101455.
- [19] LI L, YANG L, CHEN X, et al. TNFAIP6 defines the MSC subpopulation with enhanced immune suppression activities[J]. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1):479.
- [20] GU G, LV X, LIU G, et al. Tnfaip6 secreted by bone marrow-derived mesenchymal stem cells attenuates TNBS-induced colitis by modulating follicular helper T cells and follicular regulatory T cells balance in mice[J]. Front Pharmacol, 2021, 12:734040.
- [21] DYER D P, SALANGA C L, JOHNS S C, et al. The anti-inflammatory protein TSG-6 regulates chemokine function by inhibiting chemokine/glycosaminoglycan interactions[J]. J Biol Chem, 2016, 291(24):12627-12640.
- [22] SAEED M. Novel linkage disequilibrium clustering algorithm identifies new lupus genes on meta-analysis of GWAS datasets[J]. Immunogenetics, 2017, 69(5):295-302.

(2024-07-10 收稿)

·读者·作者·编者·

《天津医科大学学报》对运用统计学方法的有关要求

1. 统计学符号:按 GB/T 3558.1-2009《统计学词汇及符号》的有关规定,统计学符号一律采用斜体。

2. 研究设计:应告知研究设计的名称和主要方法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究),实验设计(应告知具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等),临床试验设计(应告知属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等);主要做法应围绕 4 个基本原则(重复、随机、对照、均衡)概要说明,尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

3. 资料的表达与描述:用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料,用 $M(QR)$ 表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于 20,要注意区分百分率与百分比。

4. 统计学分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选择合适的统计学分析方法,不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析;对具有重复实验数据检验回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

5. 统计结果的解释和表达:应写明所用统计学方法的具体名称(如:成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等),统计量的具体值(如 $t=3.45, \chi^2=4.68, F=6.79$ 等);在用不等式表示 P 值的情况下,一般情况下选用 $P>0.05, P<0.05$ 和 $P<0.01$ 3 种表达方式,无须再细分为 $P<0.001$ 或 $P<0.0001$ 。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,应再给出 95% 可信区间。

本刊编辑部