

本文引用: 李见, 王玉涛, 王世信. 下肢动脉硬化闭塞症膝下病变潜在机制的加权基因共表达网络和免疫浸润分析[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(8): 677-686. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.08.005.

[文章编号] 1007-3949(2023)31-08-0677-10

· 临床研究 ·

下肢动脉硬化闭塞症膝下病变潜在机制的加权基因共表达网络和免疫浸润分析

李见¹, 王玉涛², 王世信¹

(1. 徐州市中心医院检验科, 江苏省徐州市 221009; 2. 济南市中医医院周围血管病科, 山东省济南市 250012)

[摘要] **[目的]** 探讨下肢动脉硬化闭塞症膝下病变的潜在机制和免疫相关性。**[方法]** 从高通量基因表达数据库下载 GSE100927 数据集, 利用 R 语言软件 Limma 数据包和加权基因共表达网络分析筛选与下肢动脉硬化闭塞症膝下病变相关的基因并进行信号通路富集分析; 构建蛋白-蛋白相互作用网络并筛选下肢动脉硬化闭塞症膝下病变相关的核心基因, 分析核心基因在下肢动脉硬化闭塞症膝下病变样本与对照样本间的差异, 利用受试者工作特征曲线下面积评价核心基因的诊断效能。采用反卷积分法(CIBERSORT)评估各样本中免疫细胞分布并计算不同免疫细胞在下肢动脉硬化闭塞症膝下病变样本与对照样本间的差异。**[结果]** 筛选获得下肢动脉硬化闭塞症膝下病变差异表达上调基因 153 个, 差异表达下调基因 63 个, 加权基因共表达网络分析结果表明下肢动脉硬化闭塞症膝下病变基因差异表达以上调为主, 涉及胆固醇代谢、血小板活化等信号通路; 蛋白酪氨酸磷酸酶受体 C 型(PTPRC)、Spi-1 原癌基因(SPI1)、集落刺激因子 1 受体(CSF1R)和 Fcγ 受体 IIIa(FCGR3A)可能是下肢动脉硬化闭塞症膝下病变的核心基因, 且诊断效能较好。下肢动脉硬化闭塞症膝下病变与单核细胞的浸润程度呈正相关($r=0.419, P=0.037$), 与 M2 型巨噬细胞的浸润程度呈负相关($r=-0.491, P=0.013$)。**[结论]** 下肢动脉硬化闭塞症膝下病变涉及胆固醇代谢、血小板活化等多种信号通路; 与单核细胞、巨噬细胞介导的免疫反应密切相关; PTPRC、SPI1、CSF1R 和 FCGR3A 可能是下肢动脉硬化闭塞症膝下病变的核心基因。

[关键词] 下肢动脉硬化闭塞症; 膝下病变; 免疫浸润; 加权基因共表达网络分析

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Analysis of potential mechanisms of below-the-knee atherosclerosis obliteran based on weighted correlation network analysis and immune infiltration

LI Jian¹, WANG Yutao², WANG Shixin¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Xuzhou Central Hospital, Xuzhou, Jiangsu 221009, China; 2. Department of Peripheral Vascular Disease, Jinan Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250012, China)

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the potential mechanisms and immunological correlation of below-the-knee atherosclerosis obliteran (BTK). **Methods** The GSE100927 dataset was downloaded from the Gene Expression Omnibus. Differentially expressed genes of BTK were screened by using “limma” package of the R and weighted correlation network analysis (WGCNA). Signaling pathway enrichment analysis was performed by “clusterProfiler” package of the R. The protein-protein interaction network was constructed, and the core genes associated with BTK were screened. The differences of the core genes’ expression between the BTK samples and normal samples were analyzed, and the area under the receiver operating characteristic curve was used to evaluate the diagnostic efficacy of the core genes. The CIBERSORT was used to evaluate the distribution of immune cells in each sample and to calculate the differences between the BTK samples and normal samples. **Results** 153 genes were up-regulated and 63 genes were down-regulated in BTK.

WGCNA results indicated that the differential expression genes in BTK were mainly up-regulated, involving signaling path-

[收稿日期] 2022-11-09

[修回日期] 2023-05-04

[基金项目] 山东省自然科学基金项目(ZR2017MH038); 山东省医药卫生科技发展计划(2018WS478); 济南市临床医学科技创新计划(202134013)

[作者简介] 李见, 硕士研究生, 检验师, 主要从事临床检验工作, E-mail: li_jian_400428@163.com。通信作者王世信, 检验师, 主要从事临床检验工作, E-mail: qq5557015@126.com。

ways such as cholesterol metabolism and platelet activation; protein tyrosine phosphatase receptor type C (PTPRC), Spi-1 proto-oncogene (SPI1), colony stimulating factor 1 receptor (CSF1R), and Fc gamma receptor IIIa (FCGR3A) were probably the core genes in BTK, which have good diagnostic efficacy. BTK was positively correlated with the degree of infiltration of monocytes ($r=0.419$, $P=0.037$) and negatively correlated with the degree of infiltration of M2 macrophages ($r=-0.491$, $P=0.013$). **Conclusion** The BTK involved various signaling pathways such as cholesterol metabolism and platelet activation and was closely related to monocyte- and macrophage-mediated immune responses. PTPRC, SPI1, CSF1R, and FCGR3A may be the core genes of BTK.

[**KEY WORDS**] atherosclerosis obliterans; below-the-knee; immune infiltration; weighted correlation network analysis

下肢动脉硬化闭塞症(atherosclerosis obliterans, ASO)是常见的血管外科疾病,好发于老年人。据统计,我国2020年ASO发病人数高达4 113万,约有70%的ASO患者生活在农村地区^[1]。腔内手术是目前ASO主要的治疗方案^[2],随着Angiosome理念的提出和应用,越来越多的研究证实,干预ASO膝下病变(below-the-knee, BTK)可有效提高ASO患者缺血性创面的愈合率和保肢率^[3-4]。但由于膝下动脉管径小、钙化程度重等特点,远期通畅率远低于髂、股、腘动脉^[5-6], BTK病变是目前腔内治疗的难点,及早诊断和预防BTK病变具有重要意义。既往研究发现,ASO与免疫调节紊乱和慢性炎症密切相关^[7],但其具体机制尚未完全明确。本研究拟通过生物信息学技术和加权基因共表达网络分析(weighted correlation network analysis, WGCNA),探讨BTK发生的潜在机制以及与免疫细胞浸润的相关性,为BTK病变的基础研究提供参考。

1 资料和方法

1.1 基因芯片及差异分析

通过美国国家生物技术信息中心高通量基因表达数据库(gene expression omnibus, GEO)平台^[8]下载基因芯片数据集GSE100927,利用R语言软件Limma数据包^[9]对数据进行质量控制和归一化处理,并对基因表达量进行差异分析,以校正后的 $P<0.05$ 且 $|\log_2FC|$ 值 ≥ 1.5 为筛选条件获取差异表达基因,绘制火山图和热图进行可视化。

1.2 WGCNA 筛选 BTK 病变相关基因模块

利用R语言软件WGCNA数据包构建共表达网络^[10]。利用pickSoft Threshold函数估算软阈值,根据软阈值计算拓扑重叠矩阵(topological overlap matrix, TOM)。最后利用数据包中的“hclust”函数进行层次聚类,并根据拓扑重叠异度(1-TOM)对基因进行分组,利用剪切树状图“Dynamic Tree Cut”算

法划分基因模块,并利用“Module Membership”法筛选与BTK病变相关的基因模块。

1.3 KEGG 信号通路富集分析

将WGCNA筛选获得的BTK病变相关的基因模块与差异表达基因取交集,筛选BTK病变相关基因。利用R语言软件clusterProfiler数据包^[11]对与BTK病变相关的基因进行KEGG信号通路富集分析。以 $P<0.05$ 为条件,筛选与BTK病变相关的信号通路并进行可视化。

1.4 蛋白-蛋白相互作用网络构建

将与BTK病变相关的基因导入STRING平台^[12],隐藏离散的基因,构建蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络。将PPI网络导入Cytoscape 3.9.1软件中可视化,依照cytoHubba插件^[13]中的最大集团中心度(maximal clique centrality, MCC)、亲密度(closeness)、中介中心度(betweenness)和节点度值(degree)筛选PPI网络中的核心基因。

1.5 核心基因表达量与诊断效能分析

提取核心基因表达量,分析其在BTK样本与对照样本间的差异,利用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线下面积(area under the ROC curve, AUC)评价核心基因的诊断效能。

1.6 免疫浸润分析

利用R语言软件通过反卷积算法(CIBERSORT)^[14]对数据集中各样本的免疫细胞丰度进行计算,绘制堆叠柱状图展示各样本中免疫细胞分布情况,利用箱线图对比对照样本与BTK患者间免疫细胞差异。

2 结果

2.1 差异基因筛选

GSE100927数据集中包含BTK病变样本14个,对照样本11个。经R语言软件Limma数据包

质量控制、归一化处理及差异分析,获得 BTK 相关差异表达上调基因 153 个,差异表达下调基因 63

个,绘制相对对数表达 (relative log expression, RLE) 箱线图、火山图和热图进行可视化(图 1)。

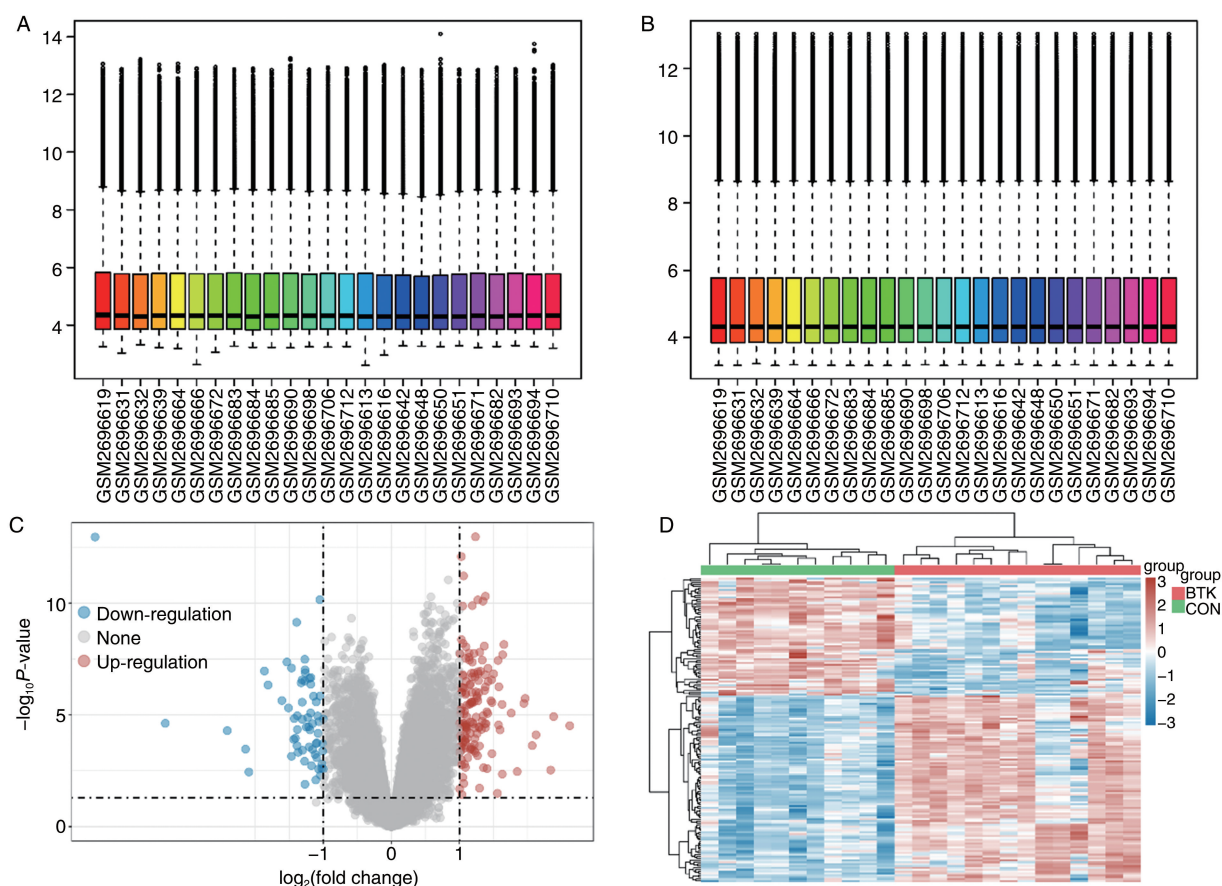


图 1. GSE100927 数据集差异基因可视化

A 为归一化处理前的 RLE 箱线图;B 为归一化处理后的 RLE 箱线图;C 为差异基因火山图;D 为差异基因热图。

Figure 1. Visualization of differentially expressed genes in the GSE100927 dataset

2.2 WGCNA 分析

WGCNA 分析结果表明,软阈值为 26 时,构建的网络最接近无尺度网络分布,且能保证基因的连接度较大(图 2A)。以最小模块值为 25 来定义邻接矩阵(图 2B),利用剪切树状图“Dynamic Tree Cut”算法划分基因模块,绘制基因树状图(图 2C)。通过“Module Membership”法分析,发现 5 个基因模块与 BTK 病变呈显著正相关($P < 0.05$),分别为黑色 (MEblack) (相关系数 = 0.652, $P < 0.001$)、黄绿色 (MEgreenyellow) (相关系数 = 0.559, $P = 0.004$)、青色 (MEcyan) (相关系数 = 0.493, $P = 0.012$)、蓝色 (MEblue) (相关系数 = 0.845, $P < 0.001$) 和紫色 (MEpurple) (相关系数 = 0.614, $P = 0.001$),共 706 个基因(图 3A)。将 WGCNA 筛选获得的 BTK 病变相关的基因模块与差异表达基因取交集,结果表明,共有 150 个差异表达上调基因与 BTK 病变密切相关,是 BTK 病变相关基因(表 1 和图 3B)。

2.3 KEGG 信号通路富集分析

富集结果表明,以 $P < 0.05$ 为条件,BTK 病变相关基因富集在 147 条信号通路上,涉及胆固醇代谢、血小板活化、Toll 样受体、细胞黏附分子等信号通路,以富集强度为条件,筛选前 10 条进行可视化(图 4)。

2.4 PPI 网络构建

将筛选获得的 150 个与 BTK 病变密切相关的基因导入 STRING 平台,物种设定为“Homo sapiens”,并设置置信分数 > 0.4 ,构建 PPI 网络,以 MCC、Closeness、Betweenness 和 Degree 值为条件筛选 PPI 网络中的核心基因(图 5A)。结果表明,蛋白酪氨酸磷酸酶受体 C 型 (protein tyrosine phosphatase receptor type C, PTPRC)、Spi-1 原癌基因 (Spi-1 proto-oncogene, SPI1)、集落刺激因子 1 受体 (colony stimulating factor 1 receptor, CSF1R) 和 Fc γ 受体 III a (Fc gamma receptor III a, FCGR3A) 可能是 BTK 发病的核

心基因(图 5B)。

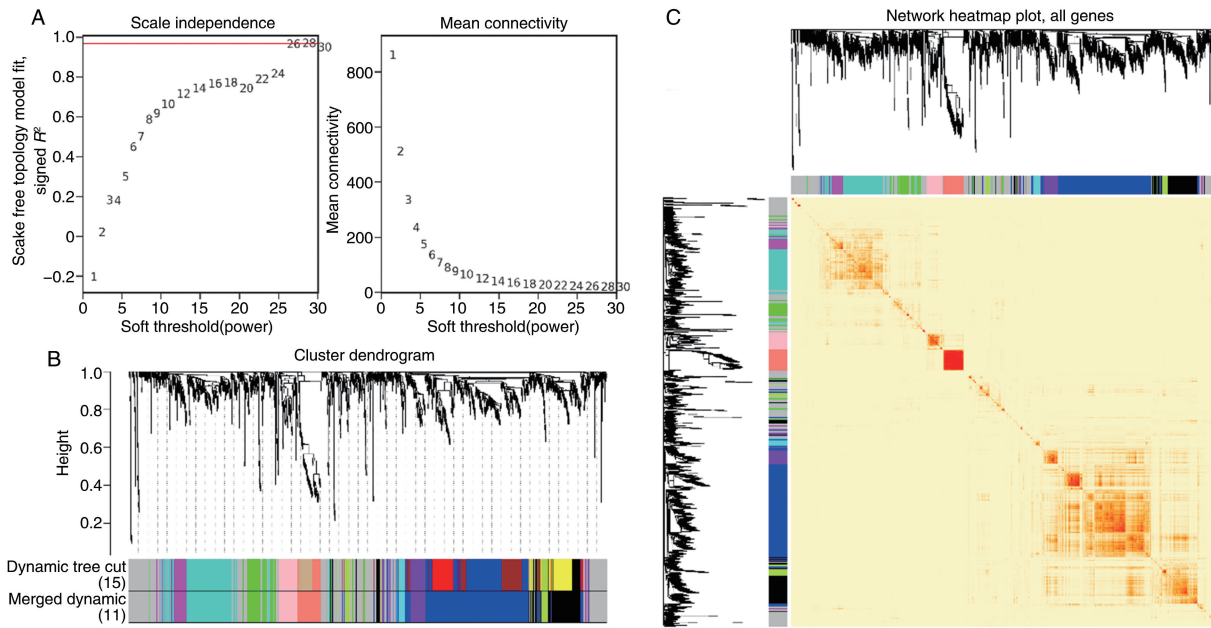


图 2. WGCNA 软阈值筛选和邻接矩阵构建

A 为不同软阈值对应的基因邻接系数;B 为拓扑重叠矩阵;C 为基因树状图。

Figure 2. WGCNA soft threshold screening and adjacency matrix construction

表 1. BTK 病变相关基因

Table 1. Associated genes of BTK

BTK 病变相关基因					
FAM78A	NFAM1	MDK	COL1A1	COL1A2	KAT2A
MARCKS	CEBPA	STAC3	PLCB2	JAK3	IFI30
MILR1	INPP5D	LGALS9C	GBP5	IL7R	EGFL7
PRAG1	HCLS1	IRF7	PDGFB	TLR7	SLCO2B1
MPEG1	C16ORF54	PTPRC	SLAMF7	ROBO4	BCL6B
ARHGAP25	STAB1	DENND2D	CD68	SHANK3	C1QA
GMFG	RHPN1	ANPEP	STMN2	LY6H	CPNE7
LRMP	TSPAN18	CCL3	TLE2	CCR1	CX3CR1
PYCARD	TNFAIP8L2	IGLL1	FAM43A	CD52	RNASE1
TRPM2	SPI1	ARHGAP9	MT1F	CCL5	CPXM1
TBC1D10C	PCOLCE	FABP5	MS4A7	CHI3L1	C4B
LTB	MYO1F	CCR5	HLA-DMA	TPSAB1	PNOC
STK10	MAFB	IL10RA	FCGR2A	CD84	FNDC1
C1QC	CD53	CD36	MDF1	HLA-DRB1	CSF3R
PCDH12	ITGAL	VAV1	CCL4	FCGR3A	GZMA
SIGLEC1	SYK	GPIHBP1	THY1	PLTP	C1QB
GMIP	CD163L1	NCF1	LCP2	VSIG4	ADAM8
ADAP2	SLAMF8	DDIT4L	APOBR	HDC	APOE
TNFRSF25	ADA2	SAP25	JCHAIN	LAPTM5	MMP9
ARHGAP27	EVI2A	HCST	DPP4	GZMK	CCL18
FGD3	RNF125	HLA-B	ACP5	FOLR2	IL4I1
TRAF3IP3	VAMP8	SECTM1	LILRB3	IBSP	MMP1
RASAL3	FSCN1	ARAP3	RHBDF2	MS4A4A	APOC1
PLXND1	EVI2B	ATG16L2	SH2D3C	PDE2A	HLA-DQA1
ARHGAP45	GIMAP1	CSF1R	LPL	DLX5	SPP1

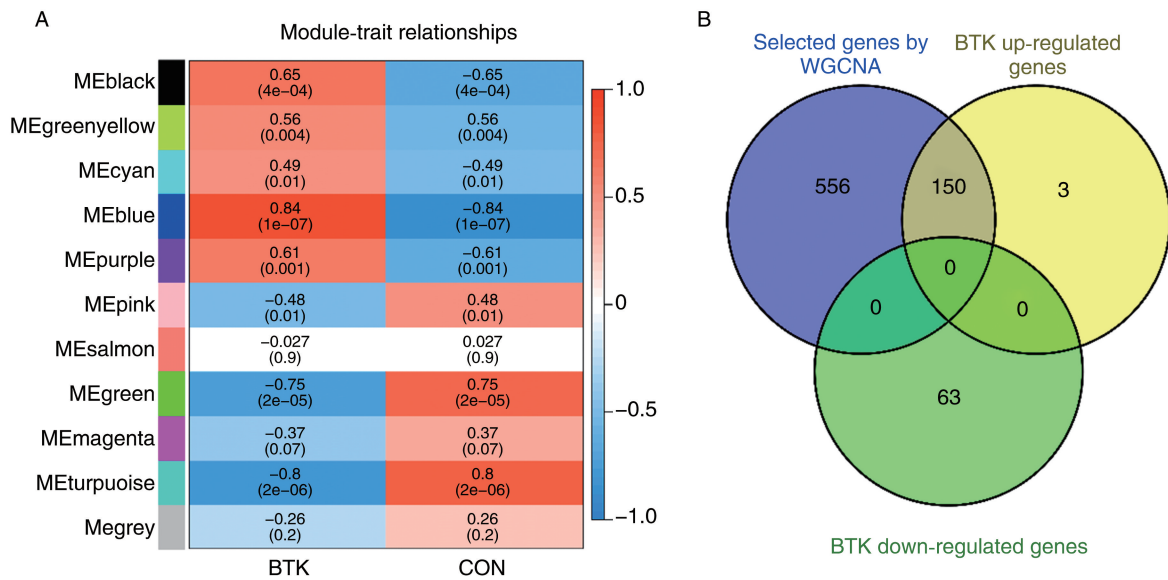


图 3. 共表达基因模块与 BTK 发病的相关性及相关基因筛选

A 为相关性热图; B 为相关基因筛选韦恩图。

Figure 3. Correlation of co-expressed gene modules with BTK pathogenesis and screening of BTK related genes

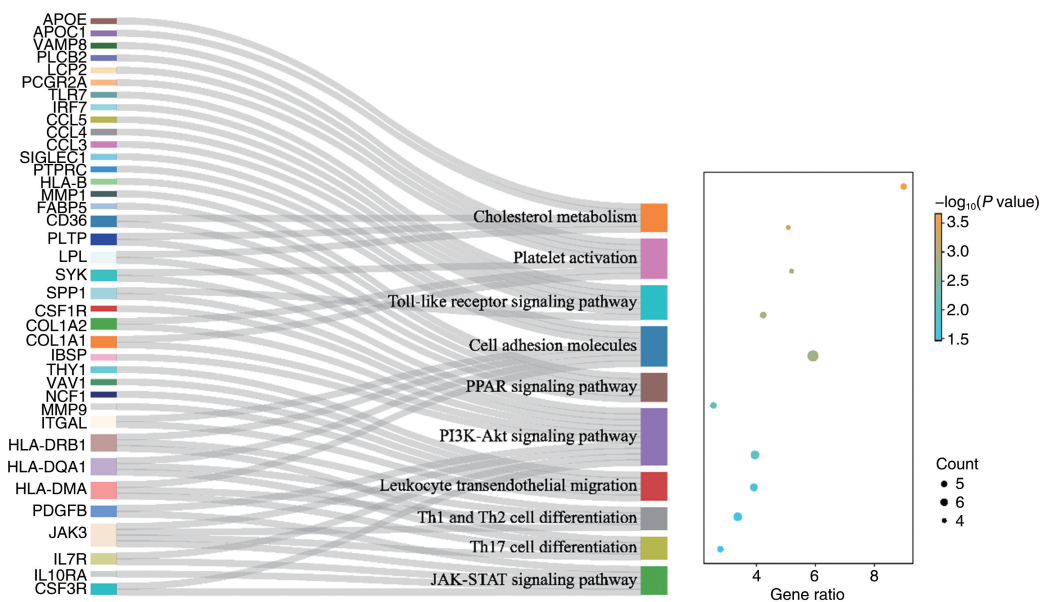


图 4. KEGG 信号通路富集

Figure 4. KEGG signaling pathway enrichment

2.5 核心基因表达量和诊断效能评价

结果表明, PTPRC、SPI1、CSF1R 和 FCGR3A 在 BTK 样本中的表达量分别为对照样本的 1.16 倍、1.20 倍、1.17 倍和 1.15 倍 (t 分别为 5.970、6.669、5.298 和 4.308, P 均 < 0.001) (表 2), PTPRC、SPI1、CSF1R 和 FCGR3A 的 AUC 分别为 0.955、0.955、0.935 和 0.857 (图 6), 具有较好的诊断效能, 提示上述基因可能作为 BTK 病变诊断的潜在指标。

表 2. 核心基因表达量

Table 2. Expression of core genes

基因	对照样本	BTK 样本	t	P
PTPRC	6.56±0.48	7.64±0.43	5.970	<0.001
SPI1	6.05±0.43	7.24±0.45	6.669	<0.001
CSF1R	8.33±0.57	9.73±0.71	5.298	<0.001
FCGR3A	7.33±0.57	8.45±0.69	4.308	<0.001

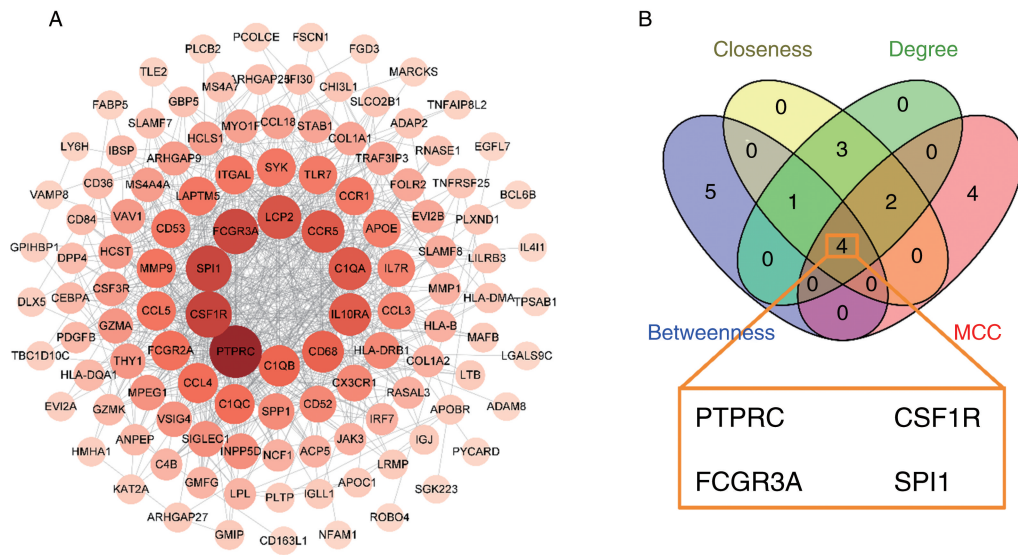


图 5. PPI 网络构建和核心基因筛选

A 为 PPI 网络; B 为 PPI 网络中核心基因筛选。

Figure 5. PPI network construction and core gene screening

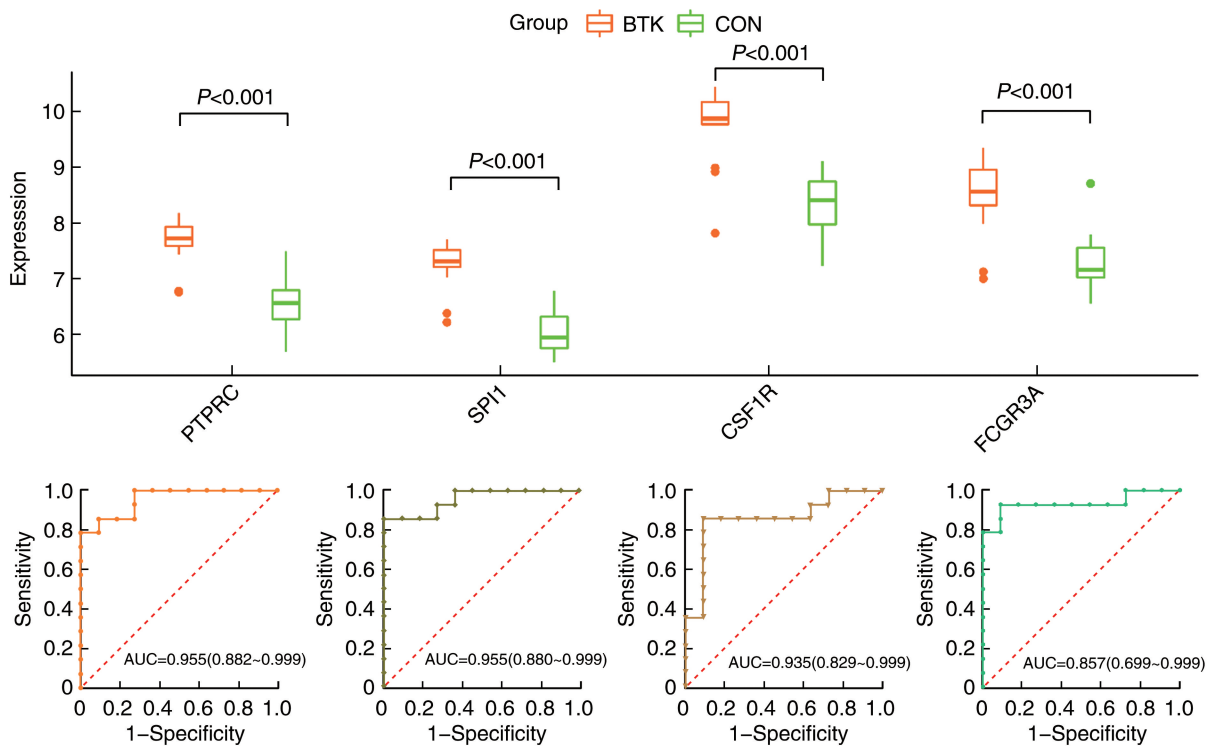


图 6. 核心基因表达量和诊断效能评价

Figure 6. Evaluation of core gene expression and diagnostic efficacy

2.6 免疫浸润分析

利用 CIBERSORT 算法对数据集进行免疫微环境分析,绘制 BTK 样本和对照样本的 22 种免疫细胞比例分布图(图 7A)。进一步分析比较 BTK 样本和对照样本免疫细胞差异分布,结果表明,BTK 样本中单核细胞占比高于对照样本[(0.16±0.06)比

(0.10±0.06), $P=0.013$],BTK 样本中 M2 型巨噬细胞占比低于对照样本[(0.22±0.04)比(0.25±0.04), $P=0.038$],两组样本 M1 型巨噬细胞占比差异无显著统计学意义[(0.05±0.01)比(0.05±0.02), $P=0.334$](图 7B)。提示 BTK 与单核细胞免疫浸润呈正相关($r=0.419,P=0.037$),与 M2 型巨

噬细胞免疫浸润呈负相关($r=-0.491, P=0.013$)。

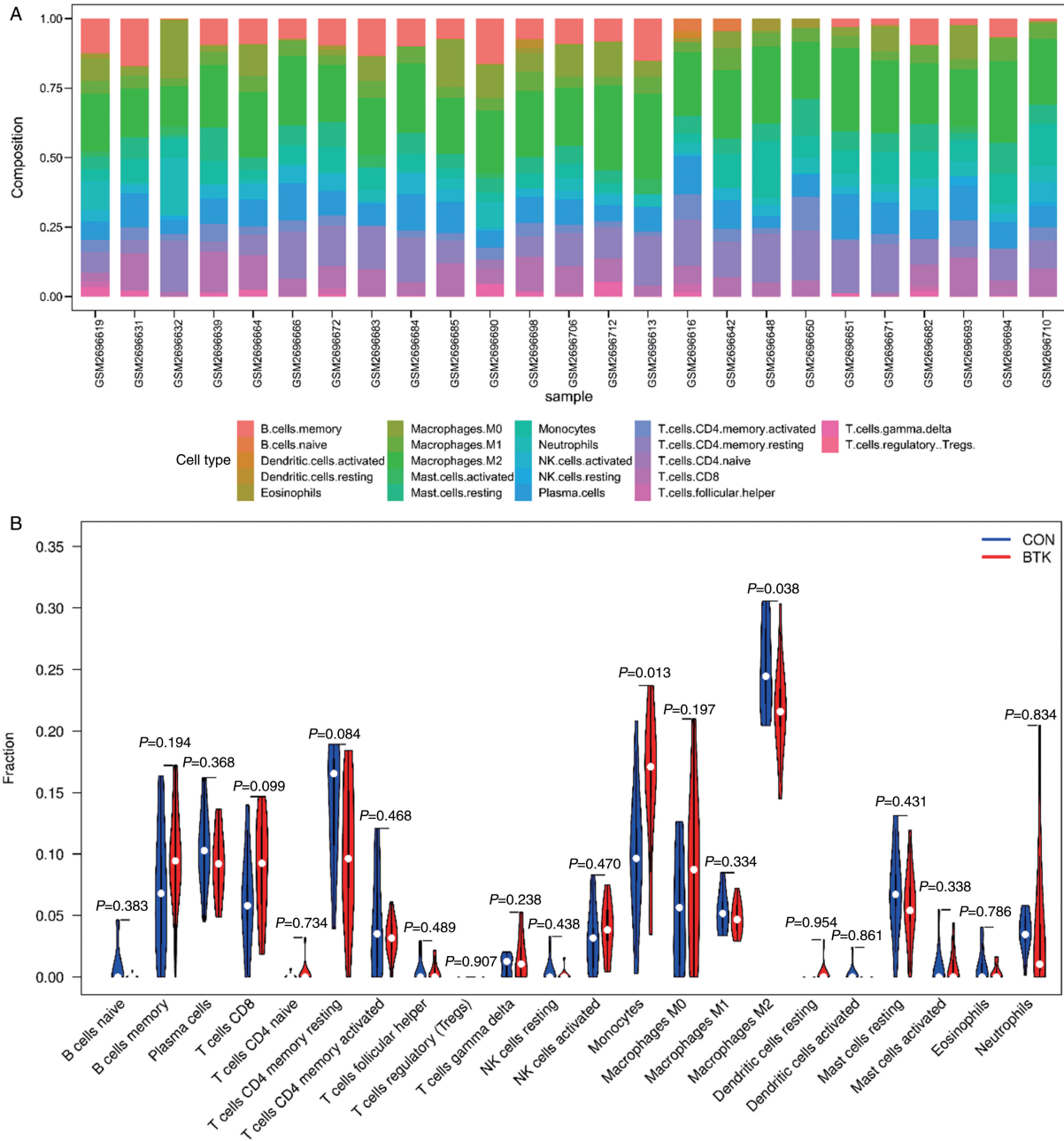


图 7. 免疫浸润分析

A 为免疫细胞比例分布图;B 为 BTK 样本和对照样本免疫细胞差异分布。

Figure 7. Immunological infiltration analysis

3 讨论

本研究利用生物信息学技术对 GSE100927 数据集进行了挖掘和分析,探讨了 BTK 病变发病的潜在机制。通过 WGCNA 筛选与 BTK 发病相关的基因模块后,与差异表达基因取交集,得到与 BTK 病变密切相关的基因 150 个,PPI 网络分析结果提示,PTPRC、SPI1、CSF1R 和 FCGR3A 可能是 BTK 病变

的核心基因,4 个核心基因在 BTK 样本中表达均显著高于对照样本,且有较好的诊断效能。

PTPRC 也称 CD45,是白细胞特异抗原分子,参与多种免疫过程^[15]。既往已有研究证实 CD45 表达水平与动脉粥样硬化的发生和发展密切相关。彭进^[16]通过尸检发现,冠心病和冠心病猝死患者冠状动脉组织中 CD45 表达均升高,而猝死患者冠状动脉组织 CD45 表达更高;CD45 在动脉粥样硬化小

鼠模型主动脉斑块中的炎症细胞胞膜也呈高表达。王玉等^[17]研究证实,CD45在冠状动脉粥样硬化斑块中呈高表达,合并血栓形成、斑块破裂、斑块内出血等继发病变的斑块内CD45水平显著高于稳定性斑块。上述研究表明,PTPRC可介导免疫炎症反应,影响斑块稳定性参与动脉粥样硬化发病过程。内皮细胞分泌的集落刺激因子1(colony-stimulating factor-1,CSF1)通过CSF1受体(CSF1R)调节巨噬细胞的存活、增殖和分化,从而促进动脉粥样硬化^[18]。研究证实,micoRNA-155可靶向CSF1R抑制巨噬细胞的增殖,延缓动脉粥样硬化进展^[19]。免疫球蛋白G的Fc受体Ⅲa(FcγRⅢA),又称FCGR3A、CD16。研究证实,ApoE基因敲除小鼠CD16⁺单核细胞数量增加,单核细胞CD16水平升高,且单核细胞表面CD16表达的增强与主动脉壁基质金属蛋白酶9含量升高及血清炎症细胞因子水平升高密切相关^[20]。本研究发现,SPI1与BTK发病显著相关,但目前SPI1与动脉粥样硬化疾病相关的研究较少,可能是潜在的干预靶点。

富集分析结果表明,BTK发病与胆固醇代谢及血小板活化等信号通路相关。胆固醇是动脉粥样硬化的重要致病因素。直径≤70 nm的脂蛋白可进入动脉内膜,被单核细胞摄取并在巨噬细胞中积聚,形成泡沫细胞^[21]。血小板活化及其诱导的炎症反应参与动脉粥样硬化^[22]。活化后的血小板可分泌血小板因子4,血小板因子4可促进单核细胞聚集,还可激活单核细胞的吞噬作用,加速动脉粥样硬化进展^[23]。Toll样受体信号通路参与机体免疫炎症反应,可介导动脉内膜脂质沉积和炎症细胞因子水平加速动脉粥样硬化进展^[24]。细胞黏附和跨内皮迁移参与动脉粥样硬化病理过程。在促炎细胞因子肿瘤坏死因子α的调控下,血管内皮细胞黏附分子可高表达,促使单核细胞黏附并迁移至内膜下,促进局部炎症与粥样硬化斑块发展^[25]。酪氨酸蛋白激酶/信号转导子和转录激活子信号通路具有促进炎症的作用并在动脉粥样硬化中发挥重要的调控作用^[26]。Th1、Th2是一组人体免疫调节细胞,可以分泌白细胞介素2和肿瘤坏死因子α等炎症细胞因子^[27]。Th17是调节免疫炎症的关键T细胞亚群,可以促进炎症发展,参与动脉粥样硬化的免疫炎症进程^[28]。磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B信号通路是细胞生存与自噬调控的关键信号通路,研究证实,中药复解毒活血方可能通过拮抗磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路,增强巨噬细胞自噬活性,发挥改善脂质

代谢、抑制动脉粥样硬化易损斑块炎症反应的作用^[29]。过氧化物酶体增殖物激活受体γ在内皮细胞、平滑肌细胞等血管细胞中含量丰富,对于血管细胞的稳定十分重要,且这些细胞在动脉粥样硬化斑块的发展中发挥作用^[30]。

动脉粥样硬化血管壁中异常累积的脂质可诱发慢性炎症,慢性炎症进一步激活机体的免疫过程,因此免疫慢性炎症反应贯穿动脉粥样硬化的发病过程^[31]。机体的固有免疫过程和适应性免疫过程均高度参与动脉粥样硬化的发生和发展^[32]。CIBERSORT反卷积算法是基于线性支持向量回归原理对人类免疫细胞亚型的表达矩阵进行去卷积的工具,该算法以已知的白细胞特征矩阵(LM22)^[33]为参考,计算芯片表达矩阵中22种免疫细胞的浸润丰度,结果可信。本研究免疫浸润分析结果表明,BTK样本中单核细胞占比高于对照样本[(0.16±0.06)比(0.10±0.06), $P=0.013$],M2型巨噬细胞占比低于对照样本[(0.22±0.04)比(0.25±0.04), $P=0.038$];两组样本M1型巨噬细胞占比差异无统计学意义[(0.05±0.01)比(0.05±0.02), $P=0.334$]。巨噬细胞与动脉粥样硬化发生发展的相关性已得到证实^[34]。刘继军等^[35]研究发现,沙格列汀可诱导动脉粥样硬化模型小鼠主动脉中的巨噬细胞向M2型极化,减轻动脉粥样硬化病变程度。免疫炎症是动脉粥样硬化重要的致病和加剧因素,与动脉粥样硬化斑块失稳甚至破裂密切相关^[36]。单细胞转录组研究发现,动脉粥样硬化斑块中巨噬细胞迁移抑制因子活化,加速了单核细胞募集,激活了免疫炎症相关的信号通路,诱导巨噬细胞转化为泡沫细胞^[37]。

综上所述,BTK病变涉及胆固醇代谢、血小板活化等多种信号通路;与单核细胞、巨噬细胞介导的免疫反应密切相关;PTPRC、SPI1、CSF1R和FCGR3A可能是BTK病变的核心基因。

[参考文献]

- [1] SONG P G, RUDAN D N, WANG M L, et al. National and subnational estimation of the prevalence of peripheral artery disease (PAD) in China: a systematic review and Meta-analysis[J]. J Glob Health, 2019, 9(1): 010601.
- [2] 包俊敏, 刘冰, 沈晨阳, 等. 股腘动脉闭塞症的诊断和治疗中国专家共识[J]. 中国循环杂志, 2022, 37(7): 669-676.
- BAO J M, LIU B, SHEN C Y, et al. Chinese expert consensus on the diagnosis and treatment of femoral-popliteal

- artery occlusive disease[J]. *Chin Circ J*, 2022, 37(7): 669-676.
- [3] FERRARESI R, CLERICI G, CASINI A, et al. Foot angiomas: instructions for use [J]. *Int J Low Extrem Wounds*, 2020, 19(4): 293-304.
- [4] FUKAGAWA T, MORI S, YAMAWAKI M, et al. Prediction of wound recurrence in patients with chronic limb-threatening ischemia undergoing endovascular treatment[J]. *J Endovasc Ther*, 2022. DOI: 10.1177/15266028221098702.
- [5] 刘文导, 冯柳迁, 孟凡喆, 等. 下肢动脉硬化闭塞症介入治疗效果及影响术后复发因素分析[J]. *介入放射学杂志*, 2017, 26(6): 514-517.
- LIU W D, FENG L Q, MENG F Z, et al. Curative effect of interventional therapy for arteriosclerosis obliterans of lower extremity and analysis of recurrence factors[J]. *J Interventional Radiol*, 2017, 26(6): 514-517.
- [6] 吴章, 马鲁波, 吴玉泉, 等. 双向入路治疗下肢动脉远端流出道闭塞性病变[J]. *介入放射学杂志*, 2020, 29(7): 707-710.
- WU Z, MA L B, WU Y Q, et al. The application of bidirectional approach technique in interventional treatment of occlusive lesion of distal outflow tract of lower extremity artery[J]. *J Interventional Radiol*, 2020, 29(7): 707-710.
- [7] 王子豪, 胡何节, 方征东, 等. 外周血免疫及炎症指标与下肢动脉硬化严重程度相关性分析[J]. *血管与腔内血管外科杂志*, 2020, 6(2): 103-107.
- WANG ZI H, HU H J, FANG Z D, et al. Correlation analysis of peripheral blood immune and inflammatory indexes with the severity of lower extremity atherosclerosis [J]. *J Vasc Endovasc Surg*, 2020, 6(2): 103-107.
- [8] CHICCO D. Gene expression from GEO: an R package to facilitate data reading from gene expression omnibus (GEO) [J]. *Methods Mol Biol*, 2022, 2401: 187-194.
- [9] LIU S, WANG Z, ZHU R, et al. Three differential expression analysis methods for RNA sequencing: limma, EdgeR, DESeq2[J]. *J Vis Exp*, 2021. DOI: 10.3791/62528.
- [10] LANGFELDER P, HORVATH S W. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis [J]. *BMC Bioinformatics*, 2008, 9:559.
- [11] YU G A, WANG L G, HAN Y Y, et al. Cluster profiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters[J]. *OMICS*, 2012, 16(5): 284-287.
- [12] 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.
- [13] CHIN C H, CHEN S H, WU H H, et al. cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome[J]. *BMC Syst Biol*, 2014, 8 Suppl 4(Suppl 4): S11.
- [14] CHEN B, KHODADOUST M S, LIU C L, et al. Profiling tumor infiltrating immune cells with CIBERSORT [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1711: 243-259.
- [15] NIE H, YAN C, ZHOU W, et al. Analysis of immune and inflammation characteristics of atherosclerosis from different sample sources [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 5491038.
- [16] 彭进. ATF3 在动脉粥样硬化病变演进中的作用及其机制研究[D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2021.
- PENG J. Research on the role and mechanism of ATF3 in the progression of atherosclerosis[D]. Guiyang: Guizhou Medical University, 2021.
- [17] 王玉, 孙晓宇, 罗亚, 等. 冠状动脉粥样斑块内 CD45 表达水平与病灶结构变化的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(2): 114-119.
- WANG Y, SUN X Y, LUO Y, et al. CD45 expression level in coronary atherosclerotic plaques and its relationship to lesion structure changes[J]. *Chin J Arterioscler*, 2019, 27(2): 114-119.
- [18] DI GREGOLI K, JOHNSON J L. Role of colony-stimulating factors in atherosclerosis [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2012, 23(5): 412-421.
- [19] WEI Y, ZHU M, CORBALÁN-CAMPOS J, et al. Regulation of CSF1R and Bcl6 in macrophages mediates the stage-specific effects of microRNA-155 on atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(4): 796-803.
- [20] HUANG Y, YIN H J, WANG J S, et al. Aberrant expression of FcγR IIIA (CD16) contributes to the development of atherosclerosis [J]. *Gene*, 2012, 498(1): 91-95.
- [21] DURAN E K, PRADHAN A D. Triglyceride-rich lipoprotein remnants and cardiovascular disease[J]. *Clin Chem*, 2021, 67(1): 183-196.
- [22] 何清清, 包宇实. 血小板受体信号在血栓炎症相关疾病中作用研究进展[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2021, 35(11): 1185-1188.
- HE Q Q, BAO Y S. Role of platelet receptor signaling in thromboinflammatory diseases[J]. *J Chin Pract Diagn Ther*, 2021, 35(11): 1185-1188.
- [23] MARTINOD K, DEPPERMAN C. Immunothrombosis and thromboinflammation in host defense and disease [J]. *Platelets*, 2021, 32(3): 314-324.
- [24] 王克华, 王金, 王磊, 等. circRNA SKA3 通过 miR-1303 调控 TLR4 轴在动脉粥样硬化中的作用[J/OL]. *中国动脉硬化杂志*, 2023: 1-23[2023-04-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/43.1262.R.20230411.1543.002.html>.

- WANG K H, WANG J, WANG L, et al. circRNA SKA3 regulates the role of TLR4 axis in atherosclerosis through miR-1303[J]. Chin J Arterioscler, 2023; 1-23[2023-04-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/43.1262.R.20230411.1543.002.html>.
- [25] 苏波, 杨咏梅, 刘政海, 等. Adiporedoxin 抑制 TNF- α 诱导的血管内皮细胞与单核细胞粘附[J]. 中国药理学通报, 2021, 37(2): 295-296.
- SU B, YANG Y M, LIU Z H, et al. Adiporedoxin inhibits adhesion of TNF- α induced vascular endothelial cells to monocytes[J]. Chin Pharmacol Bull, 2021, 37(2): 295-296.
- [26] YANG X L, JIA J, YU Z, et al. Inhibition of JAK2/STAT3/SOCS3 signaling attenuates atherosclerosis in rabbit[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2020, 20(1): 133.
- [27] 刘平, 崔公让. 不同程度颈动脉粥样硬化老年患者 T 淋巴细胞分化亚群、炎症水平与血管内皮功能关联性分析[J]. 免疫学杂志, 2020, 36(11): 976-983.
- LIU P, CUI G R. Association of T lymphocyte differentiation subgroups and inflammation levels with vascular endothelial function in elderly patients with different degrees of carotid atherosclerosis[J]. Immunol J, 2020, 36(11): 976-983.
- [28] HE X, LIANG B, GU N. Th17/Treg imbalance and atherosclerosis[J]. Dis Markers, 2020, 2020: 8821029.
- [29] 尹丽梅, 袁建, 陈楷, 等. 解毒活血方调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路对 ApoE^{-/-} 动脉粥样硬化小鼠斑块稳定性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(12): 112-120.
- YIN L M, YUAN J, CHEN K, et al. Jiedu Huoxue prescription modulating PI3K/Akt/mTOR signaling pathway on plaque stability in ApoE^{-/-} As mice[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2023, 29(12): 112-120.
- [30] 谭丽萍, 韩凤珍, 胥明霞. 马齿苋多糖调节 PPAR γ /NF- κ B 通路对大鼠动脉粥样硬化斑块形成的影响[J]. 河北医药, 2023, 45(3): 330-334.
- TAN L P, HAN F Z, XU M X. Effects of portulaca polysaccharide on atherosclerotic plaque in rats by regulating PPAR γ /NF κ B pathway[J]. Hebei Med J, 2023, 45(3): 330-334.
- [31] 何欣, 顾宁. 免疫细胞与动脉粥样硬化斑块研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(7): 629-634.
- HE X, GU N. The research progress between immune cells and atherosclerotic plaques[J]. Chin J Arterioscler, 2021, 29(7): 629-634.
- [32] 徐芳芷, 窦琳, 沈涛, 等. 免疫细胞在动脉粥样硬化中的代谢重编程现象[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(3): 218-224.
- XU F Z, DOU L, SHEN T, et al. Metabolic reprogramming of immune cells in atherosclerosis[J]. Chin J Arterioscler, 2023, 31(3): 218-224.
- [33] NEWMAN A M, LIU C L, GREEN M R, et al. Robust enumeration of cell subsets from tissue expression profiles[J]. Nat Methods, 2015, 12(5): 453-457.
- [34] BÄCK M, YURDAGUL A J, TABAS I, et al. Inflammation and its resolution in atherosclerosis: mediators and therapeutic opportunities[J]. Nat Rev Cardiol, 2019, 16(7): 389-406.
- [35] 刘继军, 于林君, 王博, 等. 沙格列汀激活 AMPK-PPAR α 途径促进巨噬细胞向 M2 型极化减轻动脉粥样硬化的作用研究[J]. 实用药物与临床, 2022, 25(4): 295-301.
- LIU J J, YU L J, WANG B, et al. Saxagliptin activating the AMPK-PPAR α pathway to promote M2 polarization of macrophages to reduce atherosclerosis[J]. Pract Pharm Clin Remed, 2022, 25(4): 295-301.
- [36] LIBBY P, HANSSON G K. From focal lipid storage to systemic inflammation: JACC review topic of the week[J]. J Am Coll Cardiol, 2019, 74(12): 1594-1607.
- [37] 姚海鹏, 钱勇江, 王中群. 基于单细胞转录组鉴定动脉粥样硬化自身免疫表征[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(10): 852-860.
- YAO H P, QIAN Y J, WANG Z Q. Identification of autoimmune characterization of atherosclerosis based on single cell transcriptome[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(10): 852-860.
- (此文编辑 许雪梅)