

本文引用: 金玥, 王爱华, 樊一桦, 等. 基于转录组学数据分析痛风合并动脉粥样硬化的发病机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(10): 855-864. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.10.005.

[文章编号] 1007-3949(2023)31-10-0855-10

· 实验研究 ·

基于转录组学数据分析痛风合并动脉粥样硬化的发病机制

金玥^{1,2,3}, 王爱华^{1,2,3}, 樊一桦⁴, 刘维^{1,2,3}

(1. 天津中医药大学第一附属医院, 2. 天津市中药方剂与证候重点实验室, 3. 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津市 300193; 4. 成都中医药大学附属医院, 四川省成都市 610075)

[摘要] [目的] 采用 GEO 数据库探讨痛风合并动脉粥样硬化(As)的共同发病机制。[方法] 从 GEO 数据库中下载痛风(GSE160170)和 As(GSE100927)的基因表达矩阵,分析痛风和 As 的差异表达基因(DEG),并分别进行富集分析。在分析共同差异表达基因(CDEG)后,对其进行功能富集分析、蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络分析和核心基因(HG)鉴定,并对 HG 进行共表达分析及验证。最后,分析痛风、As 的免疫细胞浸润,同时探索 HG 与浸润免疫细胞(IIC)之间的相关性。[结果] GSE160170 数据集中获得了 1 606 个 DEG, GSE100927 数据集中获得了 481 个 DEG。其中的 22 个 CDEG 富集分析结果表明,细胞因子的调控作用可能是痛风合并 As 的关键机制。通过使用 CytoHubba 插件识别了 6 个 HG(CCR2、CD2、FCGR3A、FGD3、IL10RA、SIGLEC1),结果显示这些 HG 尚且可靠。共表达网络显示这些 HG 可以影响肿瘤坏死因子超家族细胞因子产生的调节作用。免疫细胞浸润分析表明,痛风中的 NK 细胞表达显著增加,且与 CCR2 基因呈显著相关;As 中的活化肥大细胞表达显著增加,且与 CD2 基因呈显著相关。[结论] 肿瘤坏死因子超家族细胞因子产生的调节作用很可能是痛风合并 As 的核心因素。

[关键词] 痛风; 动脉粥样硬化; 差异表达基因; 核心基因; 免疫细胞浸润

[中图分类号] Q811.4;R5

[文献标识码] A

Analysis of the pathogenesis of gout complicated with atherosclerosis based on transcriptome data

JIN Yue^{1,2,3}, WANG Aihua^{1,2,3}, FAN Yihua⁴, LIU Wei^{1,2,3}

(1. First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2. Tianjin Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Prescription and Syndrome, 3. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Tianjin 300193, China; 4. Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan 610075, China)

[ABSTRACT] **Aim** GEO database was used to explore the common pathogenesis of gout complicated with atherosclerosis (As). **Methods** The gene expression matrices of gout (GSE160170) and As (GSE100927) were downloaded from the GEO database, the differentially expressed genes (DEG) of gout and As were analyzed, and enrichment analysis was performed separately. After analyzing the common differentially expressed genes (CDEG), functional enrichment analysis, protein-protein interaction (PPI) network analysis, and hub genes (HG) identification were performed on them, and co-expression analysis and validation were performed on hub genes. Finally, the immune cell infiltration of gout and As was analyzed, and the correlation between hub genes and infiltrating immune cells (IIC) was explored.

Results The GSE160170 dataset obtained 1 606 differentially expressed genes, while the GSE100927 dataset obtained 481 differentially expressed genes. The enrichment analysis of 22 differentially expressed genes showed that the regulation of cytokines may be the key mechanism of gout complicated with As. Six hub genes (CCR2, CD2, FCGR3A, FGD3, IL10RA, SIGLEC1) were identified using the CytoHubba plugin, and the validation results of these hub genes showed that

[收稿日期] 2023-01-18

[修回日期] 2023-05-04

[基金项目] 中国科学技术协会青年人才托举工程(YES20210352);国家自然科学基金面上项目(82074377);天津市科委重大科技成果科普化项目(22KPxMRC00180)

[作者简介] 金玥, 硕士, 主治医师, 研究方向为中西医结合治疗风湿免疫病, E-mail: 18002012581@163.com。通信作者刘维, 博士, 主任医师, 教授, 研究方向为中西医结合治疗风湿免疫病, E-mail: fengshiliuwei@163.com。

they were still reliable. The co-expression network showed that these hub genes could affect the regulation of tumor necrosis factor superfamily cytokines. Immune cell infiltration analysis showed that the expression of NK cells in gout was significantly increased, and was significantly related to CCR2 gene. The expression of living fertilizer large cells in As was significantly increased, and was significantly related to CD2 gene. **Conclusion** The regulatory effect of tumor necrosis factor superfamily cytokines may be the core factor of gout complicated with As.

[**KEY WORDS**] gout; atherosclerosis; differentially expressed genes; hub genes; immune cell infiltration

痛风是由于机体嘌呤代谢异常和(或)尿酸排泄减少,血尿酸升高、单钠尿酸盐沉积于关节的晶体相关性关节病,血尿酸升高(高尿酸血症)是痛风发展的最重要危险因素^[1]。近年来临床队列研究证实,高尿酸血症是导致冠状动脉疾病相关事件的危险因素,Zuo等^[2]纳入14项前瞻性队列研究、涉及341 389名成年人的荟萃分析显示,高尿酸血症与冠心病死亡率、全因死亡率的风险增加有关,血尿酸每增加10 mg/L,冠心病和全因死亡的总体风险分别增加20%和9%。越来越多的流行病学和临床数据支持两者之间存在病因学联系,然而这种联系十分复杂,可能与氧化应激反应、ERK/p38 MAPK信号通路、PI3K/Akt信号通路、炎症小体等炎症反应有关^[3-4]。目前来看,痛风合并动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的发病机制依旧不明确,分析两者的发病机制,对寻找关键治疗靶点具有重要意义。

本研究旨在根据痛风和As的共同转录特征探索这两种疾病的共同发病机制。通过分析GSE160170和GSE100927两个数据集的差异表达基因(differentially expressed genes, DEG)获得两者的共同差异表达基因(common differentially expressed genes, CDEG),并对CDEG进行功能富集分析、蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络分析和核心基因(hub genes, HG)鉴定。然后,对HG进行共表达分析并验证其表达。最后,为了进一步探讨HG与浸润免疫细胞(infiltrating immune cells, IIC)之间的关联性,本研究进行了痛风、As及对照组的免疫细胞浸润分析,并分析其相关性。本研究结果拟为痛风合并As的发病机制提供了见解。

1 材料和方法

1.1 GEO数据集的获取

从GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)下载痛风及As的相关数据集,GSE160170包含来自6名原发性痛风患者和6名健康者的外周血单个核细胞样本,GSE100927包含来自69个As

斑块组织样本和35个对照样本。

1.2 数据处理和DEG筛选

用R语言(版本4.1.2)中的“GEOquery”包下载GSE160170及GSE100927芯片表达数据。根据探针注释文件,通过“idmap3”包将每个数据集中的探针名称转换为基因名称,用“limma”包进行差异表达分析,调整后的假阳性率 $P < 0.05$ 和 \log_2FC 绝对值 > 1 的样本作为DEG的阈值,用“ggplot2”包绘制DEG的火山图,将痛风及As获得的DEG相交以获得CDEG。

1.3 功能富集分析

通过使用Metascape在线分析平台(<https://metascape.org/gp/index.html>)对DEG进行功能富集分析。将 $P < 0.01$ 、最小计数为3且富集因子 > 1.5 的项分组到聚类中,相似性 > 0.3 的项由边连接,并呈现为网络图。

1.4 HG的选择及分析

将CDEG导入String(<http://string-db.org>)数据库中建立PPI网络图,于Cytoscape(版本3.9.1)中进行可视化,并通过Cytoscape中的CytoHubba插件随机选择5种算法取交叉结果来确定HG,使用GeneMANIA(<http://www.genemania.org/>)构建HG的共表达网络图。

1.5 特征基因的诊断价值

由于GEO数据库中符合条件的痛风数据集仅有GSE160170,因此只下载As相关GSE43292数据集用于HG基因在As中的诊断价值验证(包括32个As斑块组织样本和32个对照样本的表达数据)。

1.6 免疫细胞浸润分析

将痛风及As基因表达矩阵数据分别上传至CIBERSORT,筛选出 $P < 0.05$ 的样本,得到免疫细胞浸润矩阵。并通过R软件中“ggplot2”包绘制小提琴图,“corrplot”包绘制相关性热图。

1.7 HG与免疫细胞浸润水平的相关性

使用痛风和As基因表达矩阵及CIBERSORT矩阵,通过T软件中的“ggplot2”包及“patchwork”包绘制相关性棒棒糖图。

2 结果

2.1 DGE

从 GSE160170 数据集中共获得 915 个上调基

因及 691 个下调基因(图 1A),从 GSE100927 数据集中共获得 385 个上调基因及 96 个下调基因(图 1B),将两个数据集中的上调基因及下调 DGE 分别取交集(图 1C 和 1D),共获得 22 个 CDEG。

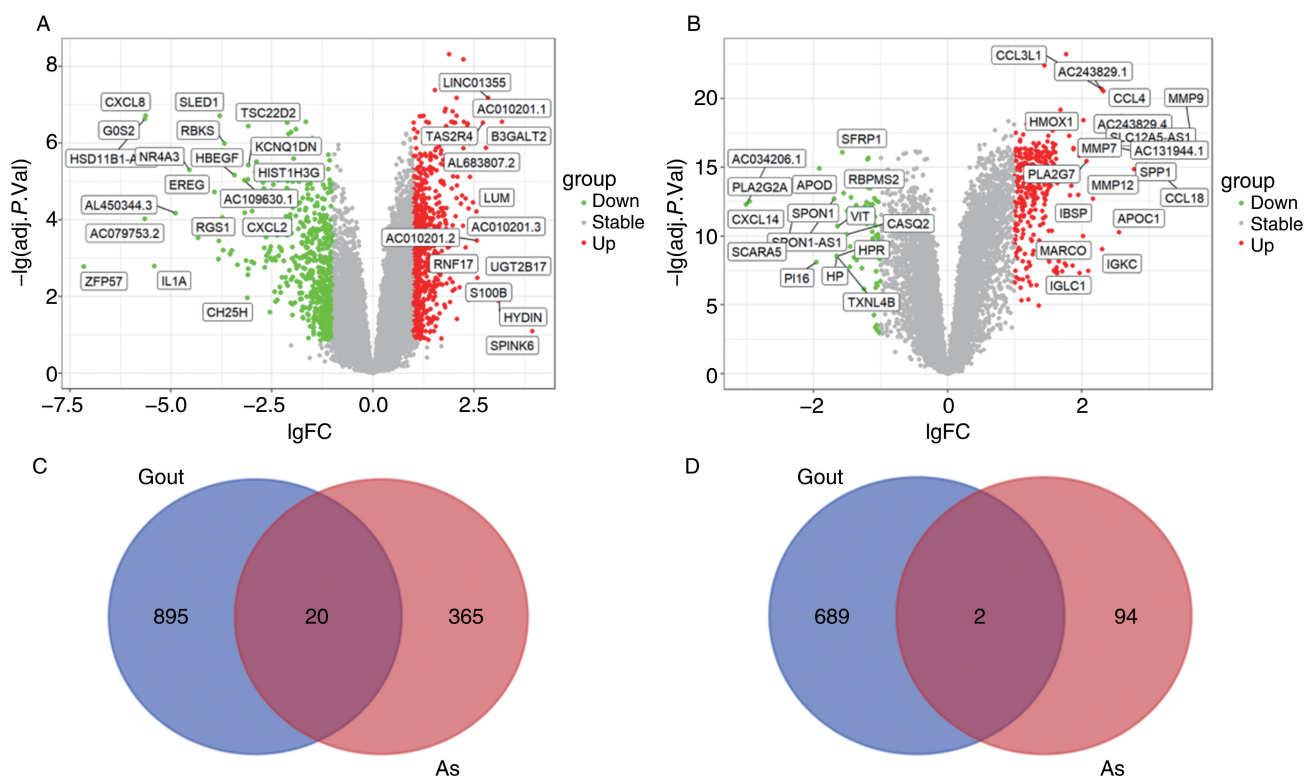


图 1. 数据集 GSE160170、GSE100927 中 DEG 的火山图和韦恩图

A 为 GSE160170 中 DEG 的火山图,共获得 1 606 个 DEG,其中 915 个上调,691 个下调;B 为 GSE100927 中 DEG 的火山图,共获得 481 个 DEG,其中 385 个上调,96 个下调;C 为 GSE160170 和 GSE100927 中下调基因的 Venn 图,并获得 20 个具有相同下调表达趋势的 DEG;D 为 GSE160170 和 GSE100927 中上调基因的 Venn 图,并获得 2 个具有相同上调表达趋势的 DEG。上调的基因用红色标记,下调的基因用绿色标记,没有显著变化的基因用灰色标记。

Figure 1. Volcano plot and Venn diagram of DEG in GSE160170 and GSE100927 datasets

2.2 DEG 的功能富集分析

使用 Metascape 分析平台对 GSE160170 和 GSE100927 中的 DEG 进行富集分析,结果显示细胞活化调节、适应性免疫反应、炎症反应、细胞因子产生的正向调控、免疫系统中的细胞因子信号传导、细胞活化在痛风中显著富集(图 2A 和 2B),还发现 IL-10 信号通路、免疫系统中的细胞因子信号传导、细胞活化、细胞群增殖的负调控、细胞因子产生的正向调节在 As 中显著富集(图 2C 和 2D)。从而可见细胞因子的调控作用在痛风及 As 中均发挥重要作用。

通过 Metascape 分析平台对 CDEG 进行富集分析,结果发现免疫受体活性、小分子的运输、细胞因子产生的负调控显著富集(图 3)。综上可显示细胞因子的调控作用可能是痛风合并 As 的关键机制。

2.3 PPI 网络构建及 HG 的选择与分析

将 CDEG 导入 String 数据库并建立 PPI 网络图,使用 Cytoscape 中的 CytoHubba 插件中的 5 种算法(Degree、DMNC、EcCentricity、Radiality、Stress)确定 HG。表 1 列出了这 5 种算法的前 10 个基因,并将这 5 种算法的筛选结果相交,得出 6 个 HG,分别为 CCR2、CD2、FCGR3A、FGD3、IL10RA、SIGLEC1(图 4A),图 4B 显示了 PPI 网络中 6 个 HG 的位置。基于 GeneMANIA 平台构建并分析了 HG 及其共表达基因的网络图(图 5),HG 的生物学功能与免疫及细胞因子调控过程相关,例如白细胞分化的调节、循环免疫球蛋白介导的体液免疫反应、免疫系统过程的负调控、肿瘤坏死因子家族细胞因子产生的正调控等。

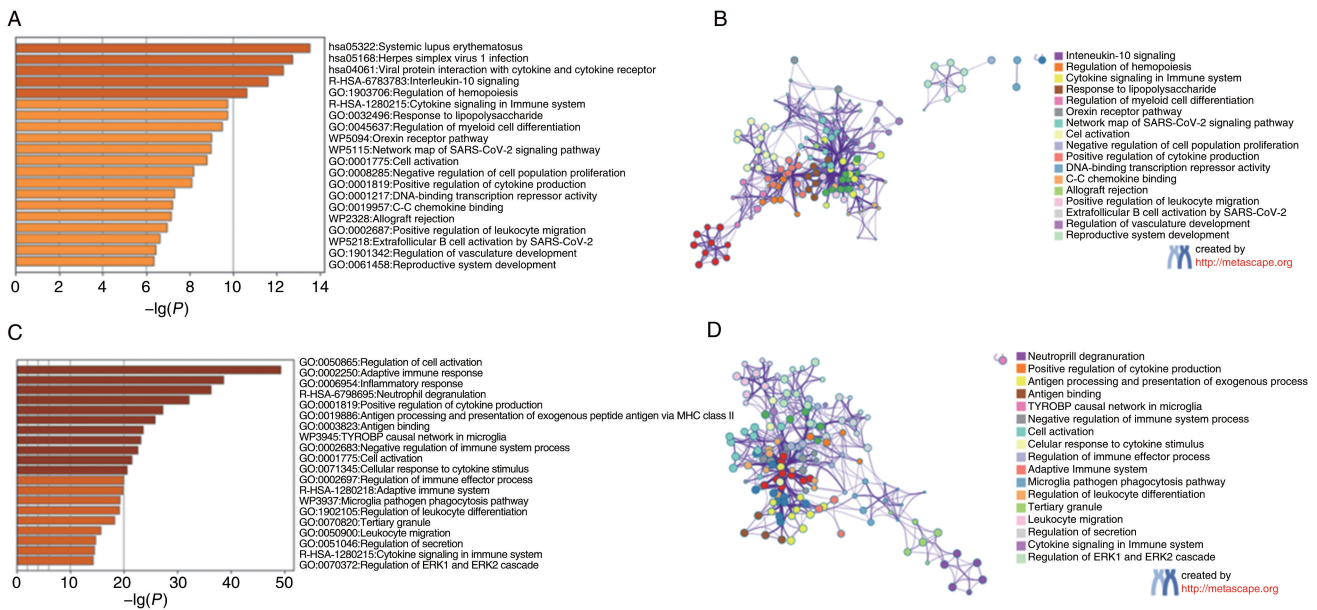


图 2. 数据集 GSE160170、GSE100927 中 DEG 的功能富集分析

A 为 GSE160170 功能富集分析中 DEG 的条形图,用 P 值着色;B 为 GSE160170 功能富集分析中 DEG 的网络图,用集群 ID 着色,其中共享相同集群 ID 的节点通常彼此接近;C 为 GSE100927 功能富集分析中 DEG 的条形图,用 P 值着色;D 为 GSE100927 功能富集分析中 DEG 的网络图,按集群 ID 着色,其中共享相同集群 ID 的节点通常彼此接近。

Figure 2. Analysis of functional characteristics of DEG in GSE160170 and GSE100927 datasets

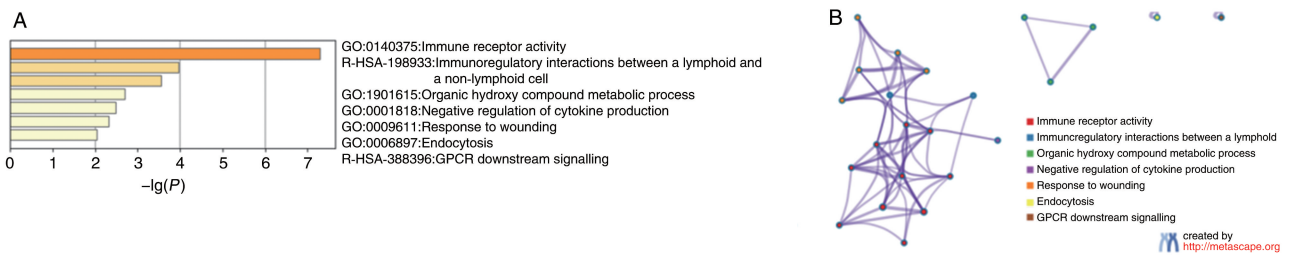


图 3. CDEG 的功能富集分析

A 为 CDEG 功能富集分析的条形图,用 P 值着色;B 为 CDEG 功能富集分析的网络图,由集群 ID 着色,其中共享相同集群 ID 的节点通常彼此接近。

Figure 3. Analysis of functional characteristics of CDEG

表 1. CytoHubba 中排名前 10 位的 HG

Table 1. The top 10 hub genes as ranked in CytoHubba

节点连接度	最大邻居组件的密度	偏心度	发散性	应力
FCGR3A	SLA	CCR2	FCGR3A	FCGR3A
IL10RA	LILRA4	FCGR3A	CCR2	CCR2
CCR2	ADORA3	SCARB1	IL10RA	IL10RA
SIGLEC1	IL7R	GNPMB	SIGLEC1	SIGLEC1
CD2	SIGLEC1	IL10RA	CD2	CD2
SLA	CD2	LILRA4	SLA	SLA
FGD3	FGD3	FGD3	ADORA3	ADORA3
ADORA3	IL10RA	SIGLEC1	SCARB1	SCARB1
SCARB1	CCR2	SLC40A1	FGD3	FGD3
LILRA4	FCGR3A	CD2	LILRA4	LILRA4

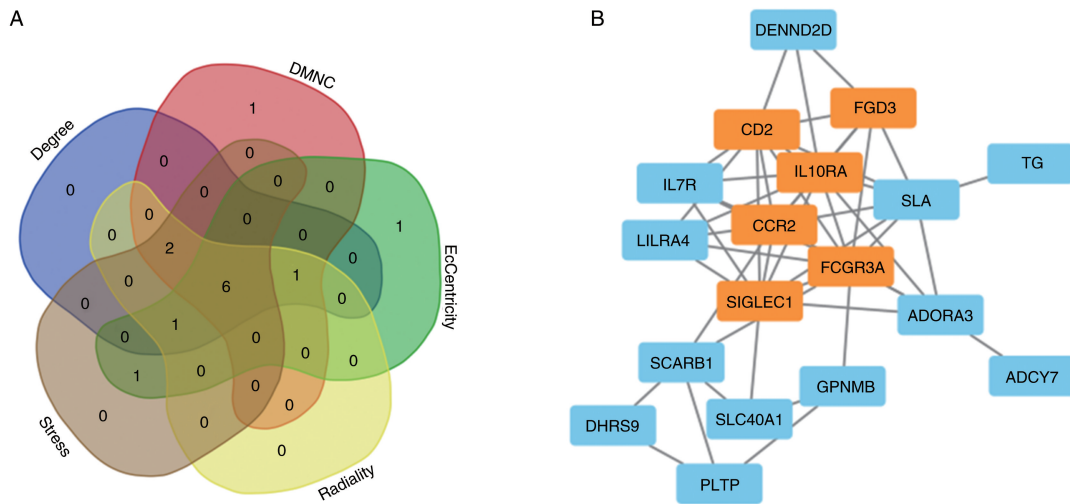


图 4. HG 基因的选择

A 为 CytoHubba 5 种算法筛选结果的 Venn 图, 鉴定出 6 个 HG (CCR2、CD2、FCGR3A、FGD3、IL10RA、SIGLEC1);
B 为 PPI 网络中 5 个 HG 的位置, 显示了 HG 的生物学特征。

Figure 4. Selection of HG

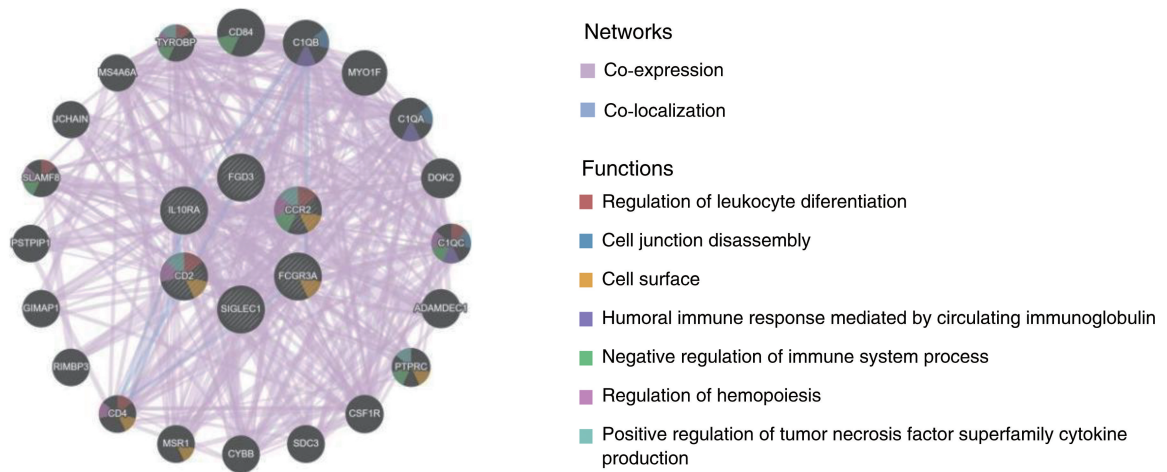


图 5. 使用 GeneMANIA 分析 6 个 HG 及其共表达基因

Figure 5. Six hub genes and their co-expression genes analyzed using GeneMANIA

2.4 HG 的表达验证

为了证明所得到 HG 的可靠性, 使用 GSE43292 数据集验证 6 个 HG 的表达。结果显示, 在 As 中 6 个 HG 的表达均显著高于对照组, 这表明筛选出的 HG 尚且可靠 (图 6)。

2.5 免疫细胞浸润分析

痛风组活化 NK 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、M2 巨噬细胞、活化肥大细胞显著高于对照组 ($P < 0.05$), 而静息 CD4 记忆 T 细胞、静息 NK 细胞显著低于对照组 ($P < 0.05$; 图 7A)。巨噬细胞 M0 与 Treg 细胞呈显著正相关 ($r = 0.99; P < 0.05$), 活化的 CD4 记忆 T 细胞与激活的树突状细胞呈高度正相关 ($r = 0.93; P < 0.05$), 肥大细胞与嗜酸性粒细胞 ($r = 0.9; P < 0.05$)

呈高度正相关 (图 7B)。

As 组活化肥大细胞、B 细胞、浆细胞、CD4 幼稚 T 细胞、滤泡辅助性 T 细胞、Treg 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞显著高于对照组 ($P < 0.05$), 而 CD4 记忆 T 细胞、静息 CD4 记忆 T 细胞、活化 CD4 记忆 T 细胞、活化 NK 细胞、单核细胞、巨噬细胞 M0、巨噬细胞 M1、巨噬细胞 M2、静息肥大细胞显著低于对照组 ($P < 0.05$; 图 8A)。原始 B 细胞与活化 CD4 记忆 T 细胞呈中度正相关 ($r = 0.76, P < 0.05$), 静息 CD4 记忆 T 细胞与巨噬细胞 M0 呈中度负相关 ($r = -0.64, P < 0.05$), 单核细胞与巨噬细胞 M0 呈中度负相关 ($r = -0.63, P < 0.05$; 图 8B)。

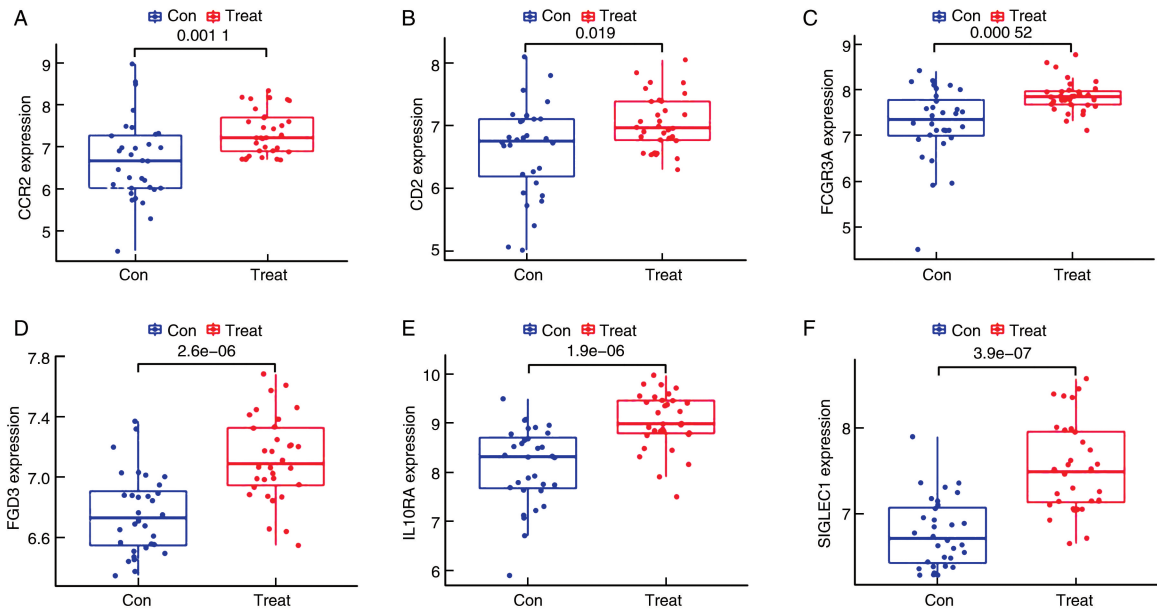


图 6. 使用 GSE43292 数据集验证 6 个 HG 的表达

Figure 6. Expression of the six hub genes verified in GSE43292

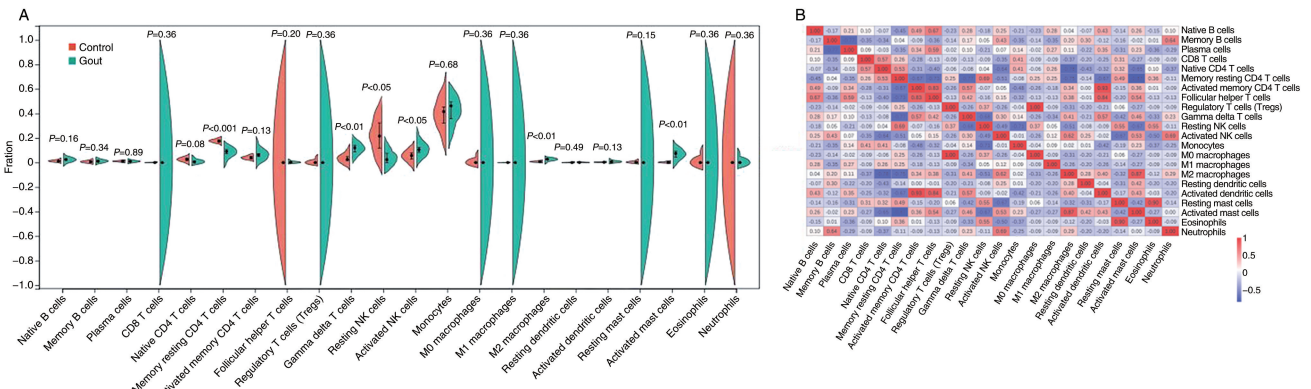


图 7. 痛风组和对照组的浸润免疫细胞景观图

A 为 Violin 图显示了痛风组和对照组之间免疫细胞浸润的差异,痛风组显示绿色,对照组显示红色,P<0.05 为差异具有统计学意义;

B 为 IIC 之间的相关热图,红色表示正相关,蓝色表示负相关,正方形中的数字表示相关性,数字越高,相关性越强。

Figure 7. Landscape map of infiltrating immune cells in the gout group and control group

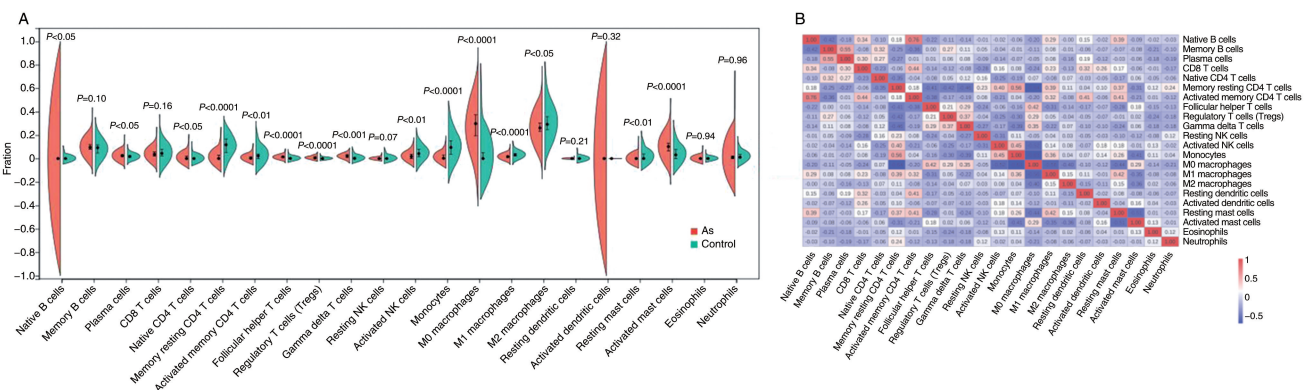


图 8. As 组和对照组的浸润免疫细胞景观图

A 为小提琴图显示了 As 组和对照组之间免疫细胞浸润的差异,As 组显示红色,对照组显示绿色,P<0.05 为差异具有统计学意义;

B 为 IIC 之间的相关热图,红色表示正相关,蓝色表示负相关,正方形中的数字表示相关性,数字越高,相关性越强。

Figure 8. Landscape map of infiltrating immune cells in the As group and control group

2.6 HG 与 IIC 之间的相关性分析

CCR2、FGD3、IL10RA1 与静息 CD4 记忆 T 细胞显著相关, CCR2 与活化 NK 细胞显著相关 ($P < 0.05$), CD2、FCGR3A 与静息 NK 细胞相关, SIGLEC1 与静息树突细胞相关, IL10RA1 与 $\gamma\delta$ T 细胞相关 (图 9)。

6 个 HG 均与静息 CD4 记忆 T 细胞显著相关,

CD2 还与活化肥大细胞显著相关 ($P < 0.05$)。CCR2、CD2、FCGR3A、IL10RA1 与 $\gamma\delta$ T 细胞、滤泡辅助性 T 细胞、Treg 细胞、单核细胞相关, CCR2 与原始 B 细胞、活化 NK 细胞显著相关, FCGR3A 与巨噬细胞 M0、巨噬细胞 M1、原始 B 细胞显著相关, SIGLEC1 与巨噬细胞 M0、巨噬细胞 M1 显著相关 (图 10)。

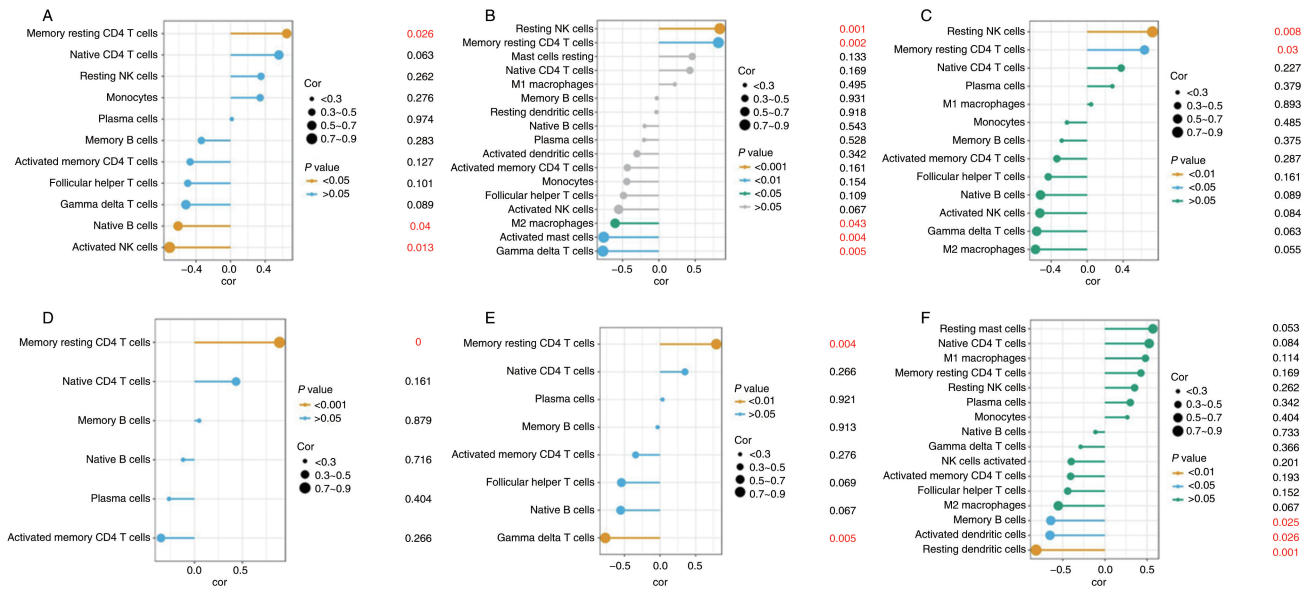


图 9. 痛风中 6 个 HG 与 IIC 之间的相关性

A 为 CCR2 和 IIC 之间的相关性, 显示 CCR2 与静息 CD4 记忆 T 细胞、活化 NK 细胞和幼稚 B 细胞之间的显著相关性; B 为 CD2 和 IIC 之间的相关性, 显示 CD2 和静息 NK 细胞之间的显著相关性; C 为 FCGR3A 和 IIC 之间的相关性, 显示 FCGR3A 与静息 NK 细胞之间的显著相关性; D 为 FGD3 和 IIC 之间的相关性, 显示 FGD3 和静息 CD4 记忆 T 细胞之间的显著相关性;

E 为 IL10RA1 和 IIC 之间的相关性, 显示 IL10RA1 和静息 CD4 记忆 T 细胞和 $\gamma\delta$ T 细胞之间的显著相关性;

F 为 SIGLEC1 和 IIC 之间的相关性, 显示 SIGLEC1 与静息树突细胞之间的显著相关性。

Figure 9. Correlation between six hub genes and infiltrating immune cells in gout

3 讨论

本研究通过分析痛风数据集、As 数据集中的 DEG, 并进行富集分析, 结果表明, 这两种疾病之间存在许多相似的免疫相关过程。进一步筛选了痛风及 As 中重叠的 20 个上调基因和 2 个下调基因, 显示细胞因子的调控作用可能是痛风合并 As 的关键机制。随后, 在 PPI 网络中识别出 6 个 HG (CCR2、CD2、FCGR3A、FGD3、IL10RA、SIGLEC1), 构建了这 6 个 HG 的共表达网络, 并验证了 HG 在其他数据集中的表达。最后, 对免疫细胞浸润进行了评估, 并对 HG 和 IIC 之间的相关性进行了分析, 结果显示痛风中的 NK 细胞表达显著增加, 且与 CCR2 基因显著相关, As 中的活化肥大细胞表达显著增加, 且与 CD2 基因显著相关。

近年来研究显示, CCR2、CD2、FCGR3A、IL10RA、SIGLEC1 与痛风、As 发病存在相关性。Han 等^[5] 研究表明单核细胞中 CCR2 的表达与血浆低密度脂蛋白之间存在显著相关性, MCP-1/CCR2 通路的激活会诱导黏附分子、促炎细胞因子、趋化因子的高表达, 从而加速高胆固醇血症形成 As 的进程^[6]。Schober 等^[7] 发现 CCR2 缺乏的动物具有更稳定的表型, 说明 CCR2 在 As 中具有重要作用。Jeong 等^[8] 研究表明痛风患者关节滑液中 CD14⁺ CD3- CD19- CD56- 单核细胞/巨噬细胞的数量和频率显著增加, CD14⁺ 细胞表现出浸润的单核细胞而非组织驻留巨噬细胞的表型, 其特征是 CCR2、MRP8 和 MRP14 的高表达。CD2 是一种主要在 T 细胞和 NK 细胞上表达的共刺激受体, 在 T 细胞和抗原呈递细胞间免疫突触的形成中具有重要意义^[9]。

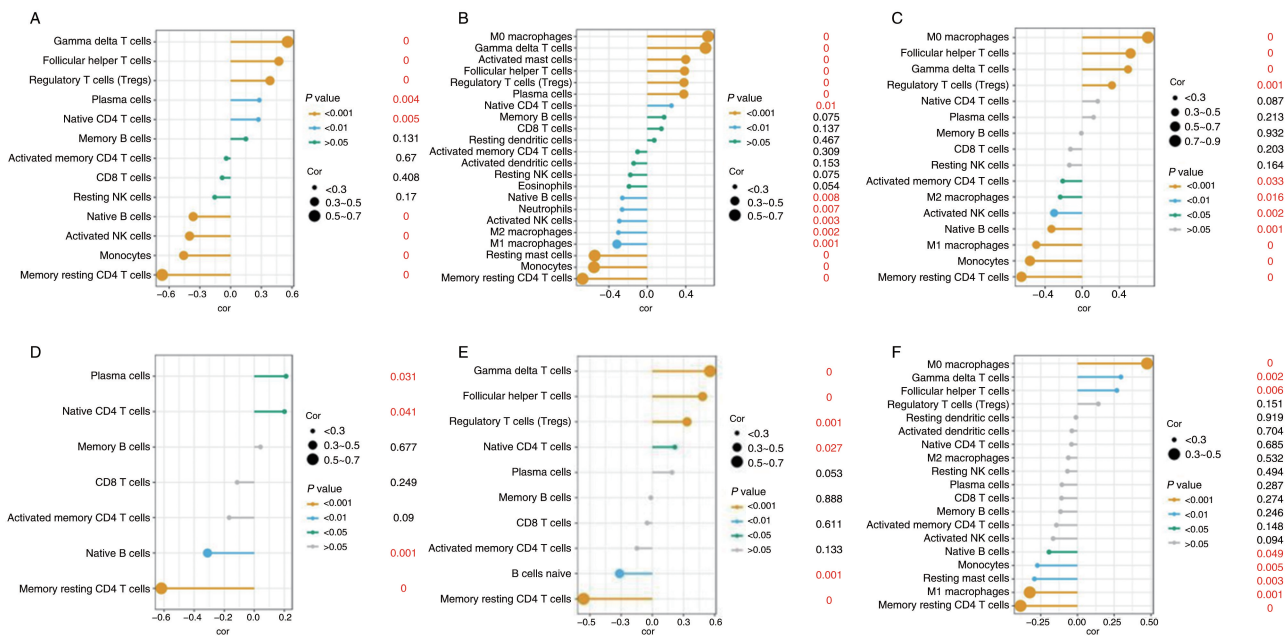


图 10. As 中 6 个 HG 与 IIC 之间的相关性

A 为 CCR2 和 IIC 之间的相关性,显示 CCR2 与 γ DT 细胞、滤泡辅助性 T 细胞、Treg 细胞、幼稚 B 细胞、活化 NK 细胞、单核细胞、静息 CD4 记忆 T 细胞之间的显著相关性;B 为 CD2 和 IIC 之间的相关性,显示 CD2 与巨噬细胞 M0、 γ DT 细胞之间的显著相关性;C 为 FCGR3A 和 IIC 之间的相关性,显示 FCGR3A 与巨噬细胞 M0、辅助性 T 细胞、 γ DT 细胞、Treg 细胞、幼稚 B 细胞、巨噬细胞 M1、单核细胞、静息 CD4 记忆 T 细胞之间的显著相关性;D 为 FGD3 和 IIC 之间的相关性,显示 FGD3 与静息 CD4 记忆 T 细胞之间的显著相关性;E 为 IL10RA1 和 IIC 之间的相关性;F 为 SIGLEC1 和 IIC 之间的相关性,显示 SIGLEC1 与巨噬细胞 M0、巨噬细胞 M1 之间的显著相关性。

Figure 10. Correlation between six hub genes and infiltrating immune cells in As

Ghazizadeh 等^[10]研究表明,在 CD2 与 LFA-3 的介导下,活化的 T 细胞与树突状细胞相互作用并进一步分泌有助于炎症环境的趋化因子和细胞因子,可导致 As 斑块形成。Nakayama 等^[11]首次发现并报道了 CD2-PTGFRN 的 rs146978188 基因间位点与痛风相关。FCGR3A 又名 CD16,已被确定为参与 As 恶化的致病因素,而 FCGR3A 也可能与缺血性脑卒中有关^[12]。Dong 等^[13]研究表明 FCGR3A 的拷贝数变异与痛风风险相关。Cagnin 等^[14]证实了 IL10RA 基因的上调可以激活 JAK/STAT 通路,从而参与 As 的发生。SIGLEC1 是一种唾液酸结合细胞表面蛋白,仅在单核细胞和巨噬细胞上表达^[15],被认为主要在介导巨噬细胞-病原体黏附和吞噬作用^[16]以及促进抗原呈递^[17]中发挥作用。抑制 SIGLEC1 可以抑制单核细胞-内皮细胞的黏附和巨噬细胞的聚集,从而防止 As 斑块的形成^[18]。而到目前为止,暂时没有关于 FGD3 基因与痛风及 As 的相关性研究。

痛风已被证实是心脑血管疾病的独立危险因素^[19],富集分析及 PPI 网络图结果均显示细胞因子的调控作用在痛风及 As 的发病中起到关键作用。研究表明,血清中尿酸的升高可能通过炎症和氧化

应激导致内皮功能障碍,并在动脉中形成不稳定的脂质斑块,最终导致粥样硬化的发生^[20]。例如高尿酸状态可以激活肾素-血管紧张素系统,抑制一氧化氮的产生,并诱导内皮细胞功能障碍,从而形成 As 斑块^[21]。另外,尿酸盐结晶通过结合炎症小体而产生的 IL-1 β 与 IL-1/IL-1R 通路相关的 As 之间具有一定的炎症联系^[22]。Kimura 等^[23]研究表明尿酸水平降低可促进丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, AMPK)的激活,从而抑制 As 斑块的形成。

根据免疫细胞浸润分析结果显示,痛风组活化 NK 细胞显著高于对照组,其中 CCR2 基因与其显著相关。As 组活化肥大细胞较多,其中 CD2 基因与其显著相关。NK 细胞是由造血干细胞发育分化而来的固有免疫细胞,主要分为 CD3-CD56^{bright} 及 CD3-CD56^{dim} 两种亚群^[24]。目前关于 NK 细胞与痛风关系的研究较少,但一些间接证据可以说明两者之间具有密切的关系。鼠模型研究发现,尿酸水平升高导致 Caspase-1 的生成,从而活化 NK 细胞^[25]。还有研究显示,痛风患者关节液内 CD56^{bright} NK 细胞比例明显升高,表明关节内的 CD56^{bright} NK 细胞处

于活化状态,而关节腔内的 CD56^{bright} NK 细胞受到白细胞介素的刺激后,分泌如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等炎症因子的能力亦明显增强^[26-27]。而 TNF- α 作为 As 的炎症标志物之一,可以代表 As 炎症活跃程度^[28], TNF- α 等促炎因子主要通过诱导内皮黏附及内皮损伤参与 As 的发生与发展,同时也可促进细胞外基质降解并抑制修复,增加斑块的不稳定性,继而诱导 As 的发生与发展。大量定植于血管周围及外膜的肥大细胞可通过活化及脱颗粒来诱发 As 斑块失稳定致突发破裂,其活化及脱颗粒产物包括组胺、蛋白酶及多种炎症因子如 TNF- α 等^[29]。由此可见肿瘤坏死因子超家族细胞因子产生的调节作用很可能是痛风合并 As 的核心因素,且目前已有多种肿瘤坏死因子超家族细胞因子被报道高表达于颈动脉斑块内,并促进不稳定性斑块增加、破裂和血栓形成^[30],而这亦与本研究的共表达基因网络图结果相符合,这也为后续研究提供了可能的方向。

本研究是基于对已发布数据集的二次挖掘,虽然在分析方法上有所创新,亦利用其他基因表达数据集验证筛选的 HG,但分析仍然是推测性的,需要进一步的实验研究来证明结果的可靠性。

总之,本研究基于生物信息学分析了痛风合并 As 的 CDEG,并对其进行了功能富集分析、PPI 网络分析和 HG 的确定。除此之外,还对免疫细胞浸润进行了评估,并对 HG 与 IIC 之间的相关性进行了分析。本研究发现肿瘤坏死因子超家族细胞因子产生的调节作用很可能是痛风合并 As 的核心因素,而该过程亦可能与 HG 相关。本研究为痛风合并 As 的发病机制提供了新见解。

[参考文献]

[1] DALBETH N, GOSLING A L, GAFFO A, et al. Gout[J]. *Lancet*, 2021, 397(10287): 1843-1855.

[2] ZUO T, LIU X, JIANG L, et al. Hyperuricemia and coronary heart disease mortality: a Meta-analysis of prospective cohort studies[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2016, 16: 207.

[3] KIMURA Y, TSUKUI D, KONO H. Uric acid in inflammation and the pathogenesis of atherosclerosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(22): 12394.

[4] 王梦艳, 刘杰, 黄聿, 等. 非血管性疾病与动脉粥样硬化: 内皮炎症和氧化应激的关键作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2023, 31(4): 287-296.

WANG M Y, LIU J, HUANG Y, et al. Non-vascular diseases and atherosclerosis: the critical role of endothelial inflammation and oxidative stress[J]. *Chin J Arterioscler*,

2023, 31(4): 287-296.

[5] HAN K H, HAN K O, GREEN S R, et al. Expression of the monocyte chemoattractant protein-1 receptor CCR2 is increased in hypercholesterolemia. Differential effects of plasma lipoproteins on monocyte function[J]. *J Lipid Res*, 1999, 40(6): 1053-1063.

[6] INOUE S, EGASHIRA K, NI W, et al. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy limits progression and destabilization of established atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice[J]. *Circulation*, 2002, 106(21): 2700-2706.

[7] SCHOBER A, ZERNECKE A, LIEHN E A, et al. Crucial role of the CCL2/CCR2 axis in neointimal hyperplasia after arterial injury in hyperlipidemic mice involves early monocyte recruitment and CCL2 presentation on platelets[J]. *Circ Res*, 2004, 95(11): 1125-1133.

[8] JEONG J H, HONG S, KWON O C, et al. CD14⁺ cells with the phenotype of infiltrated monocytes consist of distinct populations characterized by anti-inflammatory as well as pro-inflammatory activity in gouty arthritis[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1260.

[9] BINDER C, CVETKOVSKI F, SELBERG F, et al. CD2 immunobiology[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1090.

[10] GHAZIZADEH R, SHIMIZU H, TOSA M, et al. Pathogenic mechanisms shared between psoriasis and cardiovascular disease[J]. *Int J Med Sci*, 2010, 7(5): 284-289.

[11] NAKAYAMA A, NAKATOCHI M, KAWAMURA Y, et al. Subtype-specific gout susceptibility loci and enrichment of selection pressure on ABCG2 and ALDH2 identified by subtype genome-wide meta-analyses of clinically defined gout patients[J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 79(5): 657-665.

[12] POITOU C, DALMAS E, RENOVATO M, et al. CD14^{dim} CD16⁺ and CD14⁺ CD16⁺ monocytes in obesity and during weight loss: relationships with fat mass and subclinical atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(10): 2322-2330.

[13] DONG Z, LI Y, ZHOU J, et al. Copy number variants of ABCF1, IL17REL, and FCGR3A are associated with the risk of gout[J]. *Protein Cell*, 2017, 8(6): 467-470.

[14] CAGNIN S, BISCUOLA M, PATUZZO C, et al. Reconstruction and functional analysis of altered molecular pathways in human atherosclerotic arteries[J]. *BMC Genomics*, 2009, 10: 13.

[15] OSTENDORF L, DITTERT P, BIESEN R, et al. SIGLEC1 (CD169): a marker of active neuroinflammation in the brain but not in the blood of multiple sclerosis patients[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 10299.

[16] ASANO K, NABEYAMA A, MIYAKE Y, et al. CD169-positive macrophages dominate antitumor immunity by

- crosspresenting dead cell-associated antigens[J]. *Immunity*, 2011, 34(1): 85-95.
- [17] DELPUTTE P L, VAN G H, FAVOREEL H W, et al. Porcine sialoadhesin (CD169/SIGLEC-1) is an endocytic receptor that allows targeted delivery of toxins and antigens to macrophages[J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16827.
- [18] XIONG Y S, WU A L, MU D, et al. Inhibition of SIGLEC-1 by lentivirus mediated small interfering RNA attenuates atherogenesis in apoE-deficient mice[J]. *Clin Immunol*, 2017, 174: 32-40.
- [19] CIPOLLETTA E, TATA L J, NAKAFERO G, et al. Association between gout flare and subsequent cardiovascular events among patients with gout[J]. *JAMA*, 2022, 328(5): 440-450.
- [20] YU W, CHENG J D. Uric acid and cardiovascular disease: an update from molecular mechanism to clinical perspective [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 582680.
- [21] PAPEŽÍKOVÁ I, PEKAROVÁ M, KOLÁŘOVÁ H, et al. Uric acid modulates vascular endothelial function through the down regulation of nitric oxide production [J]. *Free Radic Res*, 2013, 47(2): 82-88.
- [22] RUGGIERO C, CHERUBINI A, BLE A, et al. Uric acid and inflammatory markers [J]. *Eur Heart J*, 2006, 27: 1174-1181.
- [23] KIMURA Y, YANAGIDA T, ONDA A, et al. Soluble uric acid promotes atherosclerosis via AMPK (AMP-activated protein kinase)-mediated inflammation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(3): 570-582.
- [24] 高立超. 高尿酸状态下 NK 细胞、iNKT 细胞亚群及功能变化的研究[D]. 吉林大学, 2019.
GAO L C. The study about the subset and function alterations of NK cells, iNKT cells under hyperuricemic state [D]. Jilin University, 2019.
- [25] DALBETH N, GUNDLE R, DAVIES R J O, et al. CD56^{bright} NK cells are enriched at inflammatory sites and can engage with monocytes in a reciprocal program of activation [J]. *J Immunol*, 2004, 173(10): 6418-6426.
- [26] COOPER M A, FEHNIGER T A, TURNER S C, et al. Human natural killer cells; a unique innate immunoregulatory role for the CD56^{bright} subset [J]. *Blood*, 2001, 97(10): 3146-3151.
- [27] DALBETH N, CALLAN M. A subset of natural killer cells is greatly expanded within inflamed joints [J]. *Arthritis Rheum*, 2002, 46(7): 1763-1772.
- [28] 董亚兰, 胡德胜. 动脉粥样硬化的炎症应答特征及应用 [J]. *中国动脉硬化志*, 2022, 30(4): 304-312.
DONG Y L, HU D S. Characteristics and application of inflammatory response in atherosclerosis [J]. *Chin J Arterioscler*, 2022, 30(4): 304-312.
- [29] 赵馨娜, 刘学波, 吴宗贵. 瑞舒伐他汀对晚期糖基化终产物修饰的低密度脂蛋白诱导肥大细胞活化的影响及其机制 [J]. *疑难病杂志*, 2021, 20(11): 1146-1151.
ZHAO X N, LIU X B, WU Z G. Rosuvastatin's effect on mast cell activation induced by low-density lipoprotein modified by advanced glycation end products and its mechanism [J]. *Chin J Diff Complic Cas*, 2021, 20(11): 1146-1151.
- [30] 何洋, 刘广志. 肿瘤坏死因子超家族与脑梗死相关性的研究进展 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2015, 17(8): 889-891.
HE Y, LIU G Z. Research progress on the correlation between tumor necrosis factor superfamily and cerebral infarction [J]. *Chin J Geriatr Heart Brain Vessel Dis*, 2015, 17(8): 889-891.

(此文编辑 文玉珊)