

本文引用: 裴吉翔, 周宏稷, 安毅. 基于生物信息学分析类风湿关节炎与动脉粥样硬化相互作用的分子机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(3): 194-202. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.03.002.

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2024)32-03-0194-09

基于生物信息学分析类风湿关节炎与动脉粥样硬化相互作用的分子机制

裴吉翔¹, 周宏稷², 安毅¹

1. 青岛大学附属医院心血管内科, 山东省青岛市 266000; 2. 抚顺市中心医院心血管内科, 辽宁省抚顺市 113000

[摘要] **[目的]** 基于生物信息学分析探寻类风湿关节炎(RA)和动脉粥样硬化(As)相互影响及作用的分子机制。**[方法]** 从GEO数据库下载RA和As的基因表达谱,通过测试集发现RA和As之间的差异表达基因,通过富集分析探讨常见差异表达基因的生物学作用。利用Cytoscape软件构建差异表达基因蛋白质-蛋白质相互作用网络并筛选核心基因。TRRUST数据库揭示的转录调控关系预测转录因子。转录因子在测试集中验证,核心基因通过验证集和血液样本验证。**[结果]** 本研究共鉴定出198个差异表达基因。差异表达基因功能富集分析主要在细胞因子调控的信号通路、白细胞迁移、白细胞正向调控以及细胞因子与细胞因子受体相互作用中。Cytoscape展示了差异表达基因和基因聚类模块,得到核心基因CCL5、CCR1、CCR2、CCR5、IRF8、ITGAM、ITGB2、LCP2、NCF2和PTPRC,验证集结果显示基因尚且可靠。通过TRRUST预测出可调控CCR1和IRF8的转录调控因子STAT1,且验证结果可靠。qPCR验证结果显示,As合并RA的患者CCR1和IRF8的表达水平显著高于健康者。**[结论]** CCR1和IRF8产生的调节作用很可能是RA合并As的核心因素。

[关键词] 动脉粥样硬化; 类风湿关节炎; STAT1; CCR1; IRF8

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Molecular mechanism of interaction between rheumatoid arthritis and atherosclerosis based on bioinformatics

PEI Jixiang¹, ZHOU Hongji², AN Yi¹

1. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong 266000, China; 2. Department of Cardiology, Fushun Central Hospital, Fushun, Liaoning 113000, China

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the molecular mechanism of interaction between rheumatoid arthritis (RA) and atherosclerosis (As) based on bioinformatics analysis. **Methods** The gene expression profiles of As and RA were downloaded from GEO database, differentially expressed genes between RA and As were identified through the test sets, the biological function of common differentially expressed genes was studied by enrichment analysis. Cytoscape software was used to construct the differentially expressed gene protein-protein interaction network and screen the hub genes. Transcriptional regulatory relationship revealed by the TRRUST database predicts transcription factors. Transcription factors were validated by test sets, and hub genes were validated by validation sets and blood samples. **Results** A total of 198 differentially expressed genes were identified. Functional enrichment analysis showed that differentially expressed genes were mainly concentrated in signaling pathways regulated by cytokines, leukocyte migration, positive regulation of leukocytes, and interaction between cytokines and cytokine receptors. Cytoscape demonstrated the differentially expressed genes and gene clustering modules, obtained the hub genes CCL5, CCR1, CCR2, CCR5, IRF8, ITGAM, ITGB2, LCP2, NCF2 and PTPRC, and the results of validation sets showed that the genes were reliable. qPCR results showed that the expression levels of CCR1 and IRF8 in patients with As combined with RA were significantly higher than those in healthy people. **Conclusion** The regulatory effect of CCR1 and IRF8 is likely to be the hub factor of RA merging with As.

[KEY WORDS] atherosclerosis; rheumatoid arthritis; STAT1; CCR1; IRF8

[收稿日期] 2023-06-20

[修回日期] 2023-12-12

[基金项目] 青岛市高血压病重点实验室科研基金项目(1016);国家自然科学基金项目(81071246)

[作者简介] 裴吉翔, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制及治疗, E-mail: 18772703670@139.com。

据统计,类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)在全球的患病率为1%~3%,且可损伤关节以及关节外组织(包括心脏、肾脏、肺、消化系统、眼睛、皮肤和神经系统)^[1]。在一项包含5 638例RA患者的随访研究中,总计70%的心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)事件可归因于CVD危险因素和RA特征的结合^[2]。与普通入相比,RA患者发生动脉粥样硬化性CVD、中风、心力衰竭和心房纤颤的风险是普通人的两倍^[3]。即便没有CVD临床病史,RA患者发生无症状心肌梗死的风险也会大大增加^[4]。

有研究表明,动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的发生发展可增加RA患者的心血管死亡风险^[5]。同样,RA也会促进As斑块形成^[6]。研究显示RA和As具有许多共同的分子途径,并表现出类似的机制^[7-8]。As斑块与RA滑膜有许多相似之处,如招募血源性单个核细胞、上调细胞因子和复合物免疫细胞与驻留细胞类型的相互作用^[9]。这些共同的

病理生理机制可能为了解RA和As的共同发病机制提供了思路,但RA与As的相互作用机制仍需要进一步研究。

随着微阵列技术的不断发展和进步,可通过研究差异表达基因(differentially expressed gene, DEG)来筛选疾病的候选生物标志物,为未来制定个性化医疗指明方向^[10]。因此,本研究通过结合生物信息学分析和微阵列技术,研究GEO数据库中RA与As相关的数据集,基于不同的工具探索RA与As发病机制相关的潜在生物标志物以及信号通路,为预测、治疗这两种疾病提供新的思路和见解。

1 材料和方法

1.1 分析流程

为充分展示本研究所采用的思路,通过流程图对其进行详细阐述。如图1所示,流程图中包含具体研究方法及细节说明。

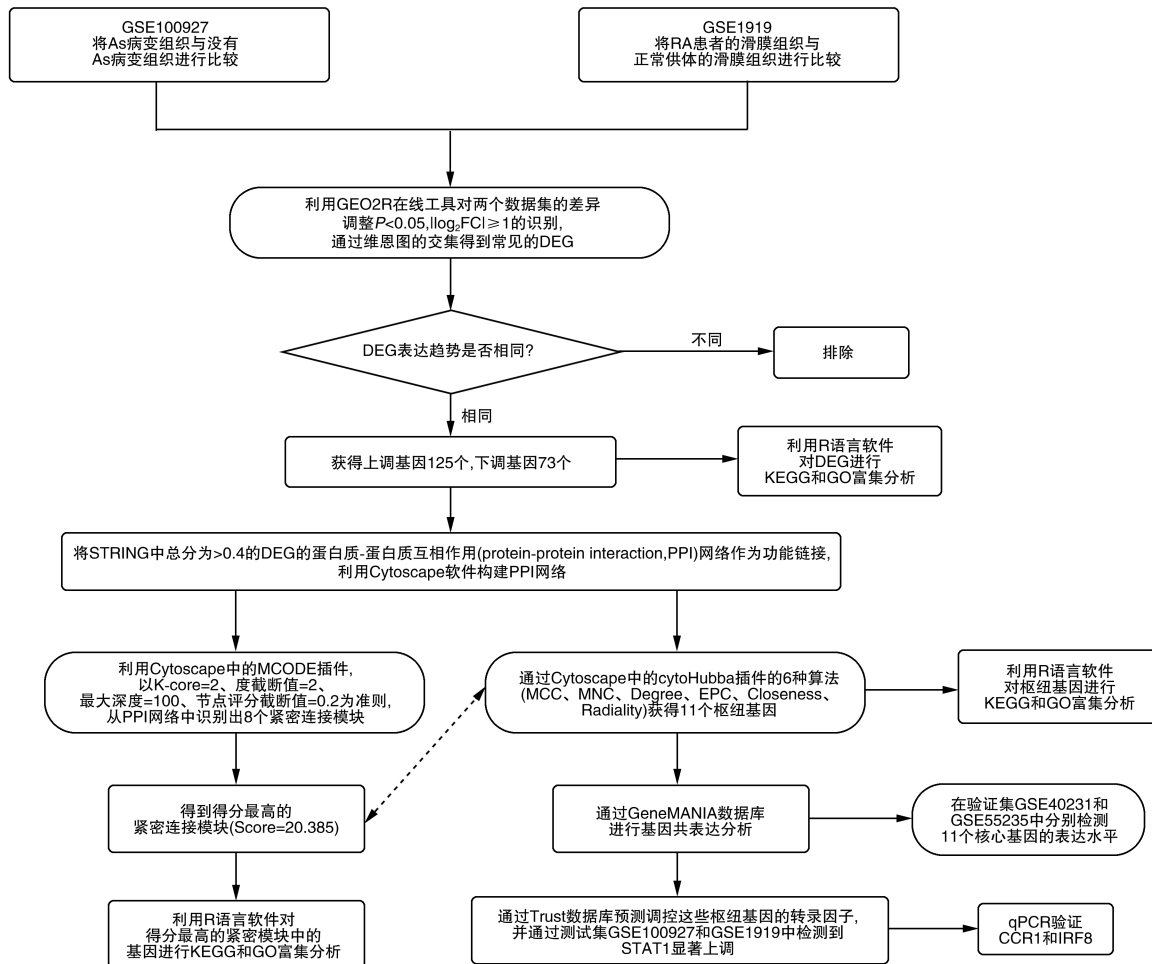


图 1. 分析流程图

Figure 1. Analysis flow chart

1.2 数据来源

在 GEO 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)^[11] 中以“Rheumatoid arthritis”和“Atherosclerosis”作为 RA 或 As 表达的关键词,寻找相关数据集。选取 GSE100927(29 例颈动脉 As 组织与 12 例颈动脉

正常组织)和 GSE40231(40 例正常与 40 例 As 动脉组织)为 As 的测试集和验证集,另外选取 GSE1919(5 例正常者与 RA 患者的滑膜组织)和 GSE55235(10 例正常者与 RA 患者的滑膜组织)为 RA 的测试集和验证集(表 1)。

表 1. 数据集的详细信息
Table 1. Details of the dataset

样本编号	年限	探针	平台编号	疾病	样本数量/例	
					对照组	疾病组
GSE100927	2018	Array	GPL17077	Atherosclerosis	12	29
GSE40231	2019	Array	GPL570	Atherosclerosis	40	40
GSE55235	2018	Array	GPL96	Rheumatoid arthritis	10	10
GSE1919	2016	Array	GPL91	Rheumatoid arthritis	5	5

1.3 鉴别差异表达基因

利用 R 语言中的 limma 和 pheatmap 软件包对 GSE1919 和 GSE100927 数据集进行标准化处理,只有调整后的 $P < 0.05$ 和 $|\log_2 FC| \geq 1$ 的基因被鉴定为 DEG。使用在线维恩图工具获取共同的 DEG。

1.4 富集分析 DEG

利用 R 语言中的 Cluster Profiler 软件包^[12]对 DEG 进行注释,分别在 GO 和 KEGG 两个方面对 DEG 进行富集分析,以调整后的 $P < 0.05$ 为筛选条件,并可视化富集结果。

1.5 构建 PPI 网络

本研究通过 STRING 数据库 (<http://string-db.org>)^[13] 搜索蛋白质与蛋白质之间的关系,构建复杂调控关系的 PPI 网络。以综合得分超过 0.4 作为互作的筛选条件。Cytoscape (<http://www.cytoscape.org>)^[14] 用于可视化 PPI 网络。利用 Cytoscape 的 MCODE 分析关键聚类模块。选择条件设置为:K-core = 2, Degree cutoff = 2, Max depth = 100, Node score cutoff = 0.2。选择得分最高的聚类模块,并用 Cluster Profiler 软件包进行富集分析,以调整后的 $P < 0.05$ 为筛选条件。

1.6 筛选和分析核心基因

利用 Cytoscape 中的 cytoHubba 插件对核心基因进行鉴定。采用 MCC、MNC、Degree、EPC、Closeness 以及 Radiality 六种常用算法。通过 GeneMANIA (<http://www.genemania.org/>)^[15] 构建核心基因的共表达网络。

1.7 在其他数据库中验证核心基因

筛选出的核心基因在样本 GSE40231 和 GSE55235

中进行表达验证。两组数据的比较采用 Benjamini-Hochberg 检验,以调整后的 $P < 0.05$ 为筛选条件。运用 ggplot 和 ggpubr 软件包进行可视化处理。

1.8 预测以及验证转录因子

TRRUST 数据库 (<https://www.grnpedia.org/trrust/>)^[16] 是一个用于预测转录调控网络的数据库。通过 TRRUST 数据库获取调控核心基因的转录因子(transcription factor, TF),以调整后的 $P < 0.05$ 为筛选条件。然后在验证集中检验转录因子的表达水平,并进行可视化处理。

1.9 血液样本收集及处理

所有健康志愿者和 As 合并 RA 的患者都是在青岛大学附属青岛市中心医院招募的。收集了 5 名无任何基础疾病的健康志愿者和 5 名 As 合并 RA 患者的血液样本。本研究纳入的患者是在 2023 年 7 月—2023 年 12 月随机选择和招募的。采集的血液在室温下凝固于 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

1.10 RNA 提取和实时定量 PCR 检测

使用 Trizol 法从血液样本中提取总 RNA,并使用 Nanodrop 2000 检测 RNA 浓度及纯度。根据制造商说明,使用 SweScript RT I First Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒(G3330)进行反转录合成 cDNA。根据制造商说明,使用 Universal Blue SYBR Green qPCR Master Mix(G3326)进行定量 PCR 检测。基因相对表达水平由 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 确定,以 GAPDH 为对照。

1.11 统计学分析

使用 GraphPAD Prism 9.0 进行分析。两组间比较采用 Benjamini-Hochberg 检验。所有的检测都进行 3 次及以上。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 识别 DEG

微阵列序列经标准化后,从样本 GSE100927 与 GSE1919 中分别得到 958 个与 1 251 个 DEG(图 2A

和 2B)。在取维恩图交集后,得到 207 个共同的 DEG(图 2C)。随后,剔除在 GSE100927 中表达趋势与 GSE1919 相反的基因,从而获得 198 个 DEG,其中上调 DEG 125 个,下调 DEG 73 个。

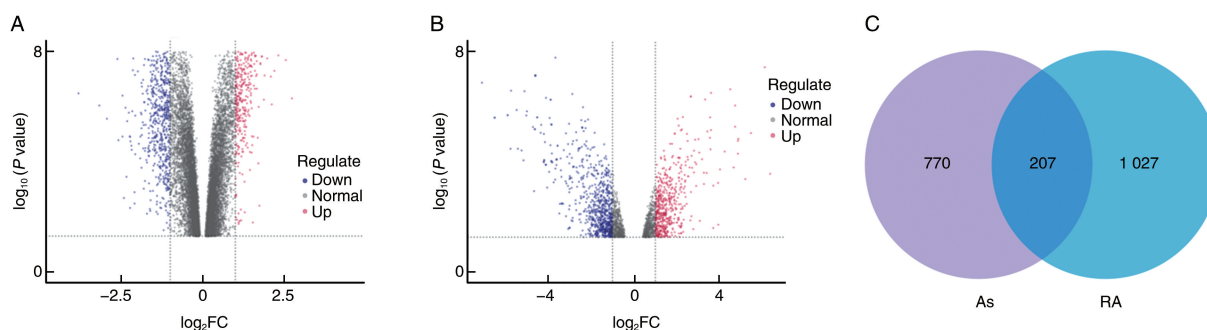


图 2. 火山图和维恩图

A 为 GSE100927 火山图,B 为 GSE1919 火山图,C 为两样本重叠的 DEG 为 207 个。上调基因和下调基因分别标记为蓝色与红色。

Figure 2. Volcano plot and Venn diagram

2.2 对共同 DEG 的特征性功能分析

为了分析 198 个共同的 DEG 的生物学功能和途径,通过 GO 和 KEGG 对其进行富集分析。GO 分析结果表明,这些基因主要富集于白细胞-细胞黏

附、白细胞活化的正调控、细胞活化的正调控、细胞黏附的正调控(图 3A)。KEGG 通路中 5 个显著富集的通路分别是肺结核、吞噬体、黑热病利什曼病、金黄色葡萄球菌感染、破骨细胞分化(图 3B)。

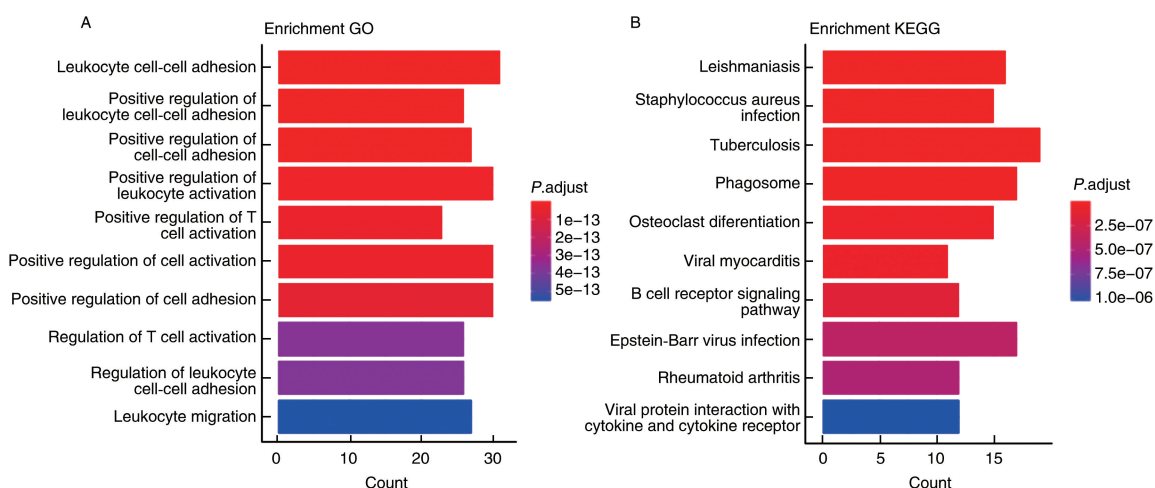


图 3. 共同的 DEG 富集分析

A 为 GO 富集分析结果,B 为 KEGG 通路富集分析结果。调整后的 $P < 0.05$ 被认为是显著的。

Figure 3. Common DEG enrichment analysis

2.3 建立 PPI 网络及其聚类模块富集分析

使用 Cytoscape 构建综合得分大于 0.4 的 DEG 的 PPI 网络,其中包含 176 个共同的 DEG 和 2 136 对交互作用(图 4A)。通过 Cytoscape 中的 MCODE 插件获得 8 个聚类模块,选出其中得分最高的聚类

模块(Score = 20.385,图 4D)。对得分最高聚类模块中的 27 个共同 DEG 进行富集分析。GO 分析表明,这些基因主要参与细胞因子调控的信号通路和骨髓白细胞激活(图 4B)。KEGG 通路分析显示,这些基因在细胞因子信号通路等方面富集(图 4C)。

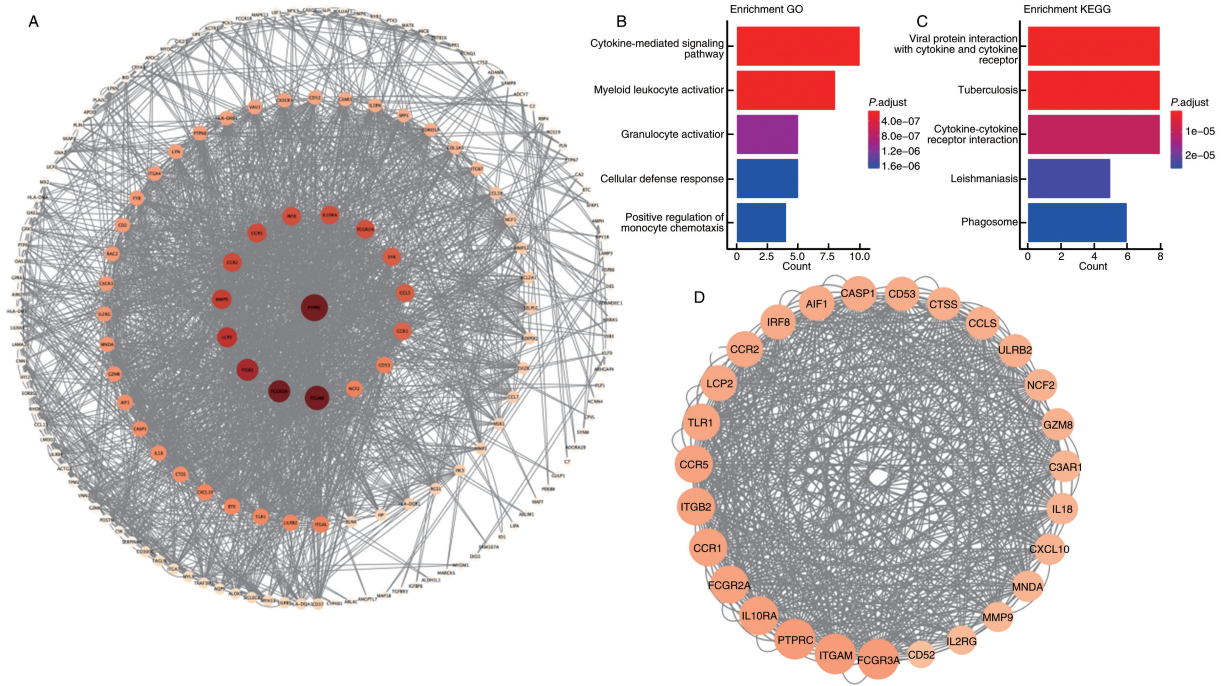


图 4. PPI 网络及其聚类模块富集分析

A 为 PPI 网络,基因中所在圆圈的大小以及颜色深浅代表其基因的重要性;B、C 为模块中 DEG 富集分析;D 为 Cytoscape 中的 MCODE 插件中得分最高的模块。

Figure 4. Enrichment analysis of PPI network and its clustering module

2.4 筛选和分析核心基因

在 cytoHubba 软件中的 6 个算法中,计算出各算法前 20 个核心基因(表 2),并通过维恩图确认了 11 个共同核心基因,包括 ITGAM、PTPRC、FCGR3A、ITGB2、LCP2、TLR1、CCR1、CCR5、IRF8、CCR2、CCL5(图 5A)。这些核心基因也包含于得分最高的聚类模块中。基于 GeneMANIA 数据库,分析了这些核心基因的共表达网络及相关功能基因,共表达率为 54.20%,物理相互作用为 39.36%,共定位为 2.98%,蛋白质域共享为 3.30%,预测率为 0.16%(图 5B)。GO 富集分析显示,生物学过程(biological process, BP)集中在骨髓白细胞激活等方面(图 5C),细胞成分(cellular component, CC)集中在质膜外侧等方面(图 5D),分子功能(molecular function, MF)集中在免疫受体活性等方面(图 5E)。KEGG 通路分析显示,核心基因主要参与病毒蛋白与细胞因子及细胞因子受体相互作用等信号通路(图 5F)。

表 2. cytoHubba 各算法下前 20 个核心基因

Table 2. Top 20 hub genes under cytoHubba algorithms

最大团中心性	最大邻域分量	连接度	边缘过滤组件	紧密性	辐射力
IRF8	IRF8	IRF8	IRF8	IRF8	IRF8

续表

最大团中心性	最大邻域分量	连接度	边缘过滤组件	紧密性	辐射力
IL10RA	IL10RA	IL10RA	IL10RA	IL18	IL2RG
FCGR3A	FCGR3A	FCGR3A	GZMB	IL10RA	IL18
FCGR2A	FCGR2A	FCGR2A	FCGR3A	FCGR3A	FCGR3A
CTSS	CD53	CD53	FCGR2A	FCGR2A	CTSS
CD53	CCR5	CCR5	CD53	CD53	CCR5
CCR5	CCR2	CCR2	CCR5	CCR5	CCR2
CCR2	CCR1	CCR1	CCR2	CCR2	CCR1
CCR1	CCL5	CCL5	CCR1	CCR1	CCL5
CCL5	BTK	BTK	CCL5	CCL5	AIF1
C3AR1	TLR1	TLR1	BTK	AIF1	TLR1
TLR1	SYK	SYK	AIF1	TLR1	SYK
PTPRC	PTPRC	PTPRC	TLR1	SYK	SPP1
NCF2	NCF2	NCF2	SYK	PTPRC	PTPRC
MNDA	MMP9	MMP9	PTPRC	NCF2	NCF2
LILRB2	LILRB2	LILRB2	MMP9	MMP9	MMP9
LCP2	LCP2	LCP2	LCP2	LCP2	LCP2
ITGB2	ITGB2	ITGB2	ITGB2	ITGB2	ITGB2
ITGAM	ITGAM	ITGAM	ITGAM	ITGAM	ITGAM
ITGAL	ITGAL	ITGAL	ITGAL	ITGAL	ITGA4

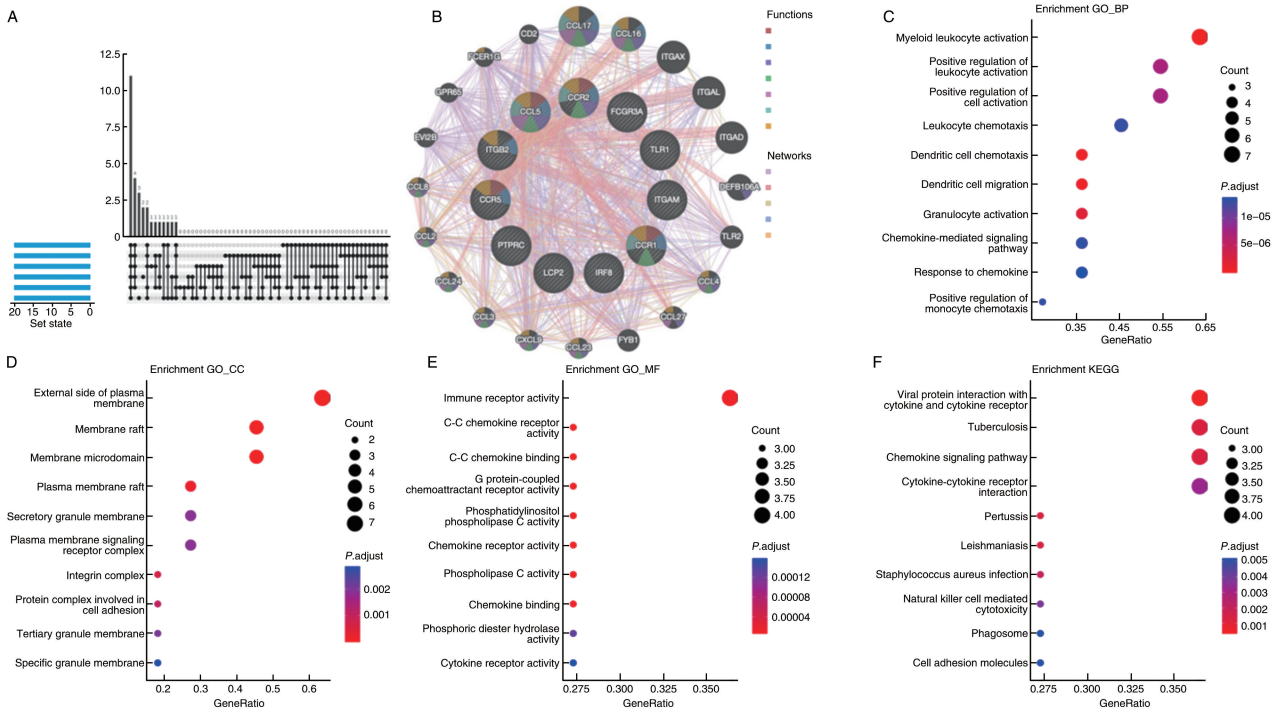


图 5. 核心基因的维恩图、共表达网络和富集分析

A 为维恩图表示 6 种算法下筛选的 11 个核心基因; B 为通过 GeneMANIA 数据库对核心基因及其共表达基因进行分析; C-E 为核心基因 GO 富集分析中三类富集结果, 包括 BP、MF 和 CC; F 为核心基因 KEGG 通路富集分析。圆的大小表示涉及基因的数量, 横坐标表示涉及基因在术语所有基因中的频率。

Figure 5. Venn diagram, co-expression network and enrichment analysis of hub genes

2.5 核心基因的表达验证

为了验证核心基因表达水平的可靠性, 通过 GSE40231 和 GSE55235 数据集对核心基因进行表

达验证。结果显示, 与正常者相比, RA 患者和 As 患者中所有核心基因表达均明显上调 (图 6A 和 6B)。

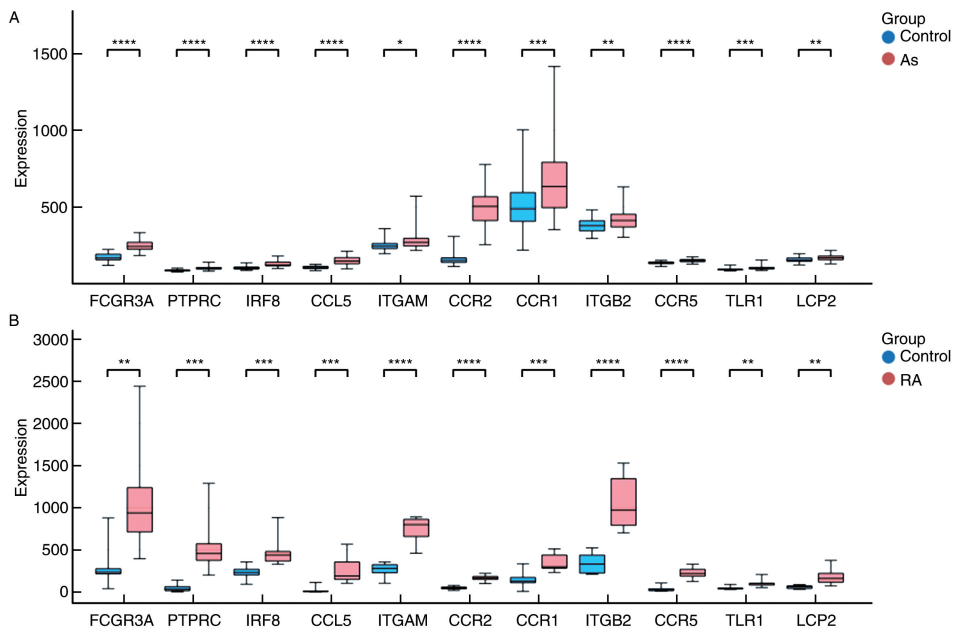


图 6. 核心基因在验证样本中的表达水平

A 为在 GSE40231 中验证核心基因的表达水平, B 为在 GSE55235 中验证核心基因的表达水平。两组数据之间的比较均使用 Benjamini-Hochberg 检验。调整后的 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

为 $P < 0.01$, *为 $P < 0.001$, ****为 $P < 0.0001$ 。

Figure 6. Expression levels of hub genes in validated samples

2.6 预测并验证转录因子

基于 TRRUST 数据库,发现 5 个转录因子可能调控这些核心基因的表达(图 7A)。进一步验证发

现,STAT1 在 RA 滑膜和 As 斑块中均高表达(图 7B 和 7C),并协同参与上述两个核心基因(CCR1、IRF8)的调控(表 3)。

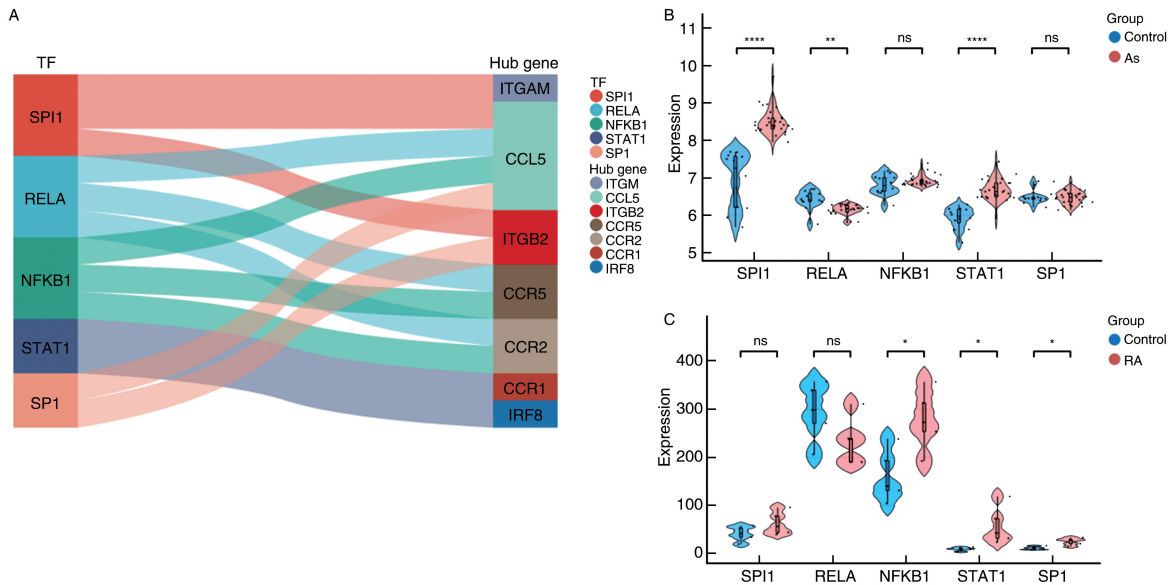


图 7. 转录因子调节网络及其在 GSE100927 和 GSE1919 中的表达水平

A 为转录因子与核心因子的调控网络,B、C 为转录因子在 GSE100927 和 GSE1919 中的表达水平。两组数据之间的比较均使用 Benjamini-Hochberg 检验。调整后的 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。ns 为无显著性,* 为 $P < 0.05$, ** 为 $P < 0.01$, *** 为 $P < 0.001$, **** 为 $P < 0.0001$ 。

Figure 7. Transcription factor regulatory networks and their expression levels in GSE100927 and GSE1919

表 3. 核心转录因子 STAT1 及其调控的基因

Table 3. Hub transcription factor STAT1 and its regulated genes

核心转录因子	描述	P	调控基因
STAT1	signal transducer and activator of transcription 1, 91 kDa	0.00126	CCR1、IRF8

2.7 验证 IRF8 和 CCR1 表达

qPCR 检测结果显示,在疾病组中 CCR1 和 IRF8 的表达升高($P < 0.001$ 和 $P < 0.01$;图 8),与先前实验中测试集和验证集的结果一致。

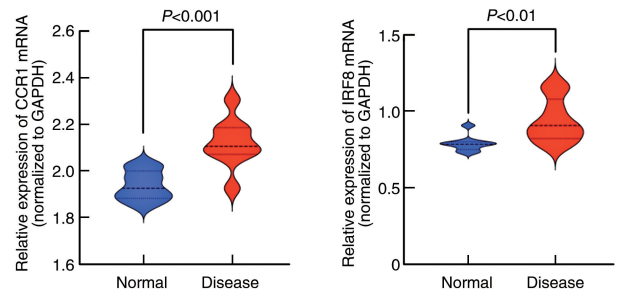


图 8. qPCR 验证 CCR1 和 IRF8 的表达水平($n = 5$)

Figure 8. Expression levels of CCR1 and IRF8 verified by qPCR($n = 5$)

3 讨论

RA 作为一种慢性系统性自身免疫性炎症性疾病,可增加患心血管疾病的风险。越来越多的证据表明,RA 疾病的炎症状态加速了 As 斑块的形成^[6]。将 RA 和 As 联系起来,可能解释了 RA 患者的高心血管事件发生率,但也可提出一种对 As 新的治疗方案^[17]。因此,本研究的主要目的是确定 RA

与 As 中常见的 DEG,并预测 As 合并 RA 的潜在机制。

本研究通过 GEO 数据库首先获得 GSE1919 和 GSE100927,并通过差异分析筛选出 198 个共同的 DEG(其中 125 个上调基因和 73 个下调基因)。同时进行 GO 和 KEGG 富集分析,发现相关基因主要集中于白细胞-细胞黏附、白细胞活化的正调控、细胞活化的正调控、细胞黏附的正调控。KEGG 通路中 5 个显著富集的通路分别是肺结核、吞噬体、黑热

病利什曼病、金黄色葡萄球菌感染、破骨细胞分化。为了进一步探究 DEG, 通过 Cytoscape 软件构建出 DEG 的 PPI 网络, 展现其复杂的互作网络关系图。其中, 由 27 个 DEG 构成的模块显示出不可或缺的作用机制。GO 分析表明, 这些基因主要参与细胞因子调控的信号通路和骨髓白细胞激活。KEGG 通路分析显示, 这些基因在细胞因子信号通路等方面富集。本研究表明, RA 与 As 的共同机制可能由这些基因行使主导作用。

但总体分析相对冗杂, 为了进一步探索两种疾病的核心机制, 本研究通过 cytoHubba 和维恩图筛选出 11 个发挥主要作用的核心基因, 分别为 ITGAM、PTPRC、FCGR3A、ITGB2、LCP2、TLR1、CCR1、CCR5、IRF8、CCR2 及 CCL5。富集分析显示, 核心基因的 BP 集中在骨髓白细胞激活等方面, CC 集中在质膜外侧等方面, MF 集中在免疫受体活性等方面; KEGG 分析则显示基因功能富集在病毒蛋白与细胞因子及细胞因子受体相互作用等信号通路方面。为了证明研究的准确性, 通过 RA 滑膜和 As 血管的验证集来验证核心基因的表达水平, 结果显示这 11 个核心基因在 RA 和 As 中显示出协同的表达水平的上调。进一步研究发现 STAT1 在两种疾病发病过程中起不可或缺的作用, 并可调控 CCR1 和 IRF8, 且同样在两测试集样本中高表达。为了验证结果的真实性, 测定了血液样本中 IRF8 和 CCR1 水平, 结果显示合并 RA 和 As 患者的 IRF8 和 CCR1 水平显著高于正常者。

巨噬细胞作为白细胞的一种, 不仅参与 As 斑块的形成^[18-20], 同样也与成骨和软骨的破坏密切相关^[21]。近年来研究显示, CCR1 和 IRF8 与 RA、As 发病存在相关性。Jehle 等^[22]发现激活 CCR1 可导致巨噬细胞迁移和血管炎症, 从而加重 As 的发生发展。然而, Chou 等^[23]研究表明 CCR1 的拮抗剂可通过阻止巨噬细胞的迁移, 减缓 RA 的疾病进程。Clément 等^[24]研究表明 IRF8 可影响 As 斑块的形成, 可能是炎症应答的结果^[25]。Yao 等^[26]研究发现抑制 IRF8 可减缓破骨细胞的形成, 从而影响 RA 疾病的进程。因此, 在长期慢性炎症的刺激下, 巨噬细胞分泌的 CCR1 和 IRF8 在两种疾病的发生发展中扮演着重要的角色。并且, 本研究显示 STAT1 可作为转录因子调控上述两种标志物, 进而在 RA 和 As 的发生发展中起到重要作用。Zafar 等^[27]研究发现巨噬细胞所分泌的 STAT1 可加重 As 的疾病进程, 且 STAT1 水平与 AMP 活化蛋白激酶(AMP-acti-

vated protein kinase, AMPK) 的激活相关^[28]。Lin 等^[29]研究表明 STAT1 的激活作用在 RA 滑膜巨噬细胞中扮演着重要的角色。

总之, 本研究基于生物信息学方法分析了 RA 与 As 两者的相互作用, 并对关键基因进行了功能富集分析、PPI 网络分析和标志物的筛选。除此之外, 本研究发现 CCR1 和 IRF8 可作为 RA 与 As 发生发展相互作用的潜在标志物, 而该过程可能与 AMPK 信号通路相关。本研究为 RA 合并 As 的发病机制提供了新见解。

[参考文献]

- [1] HANNAWI S M, HANNAWI H, AL SALMI I. Cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: literature review[J]. *Oman Med J*, 2021, 36(3): e262.
- [2] CARBONE F, BONAVENTURA A, LIBERALE L, et al. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis: promoters and opponents[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2020, 58(1): 1-14.
- [3] SEMB A G, IKDAHL E, WIBETOE G, et al. Atherosclerotic cardiovascular disease prevention in rheumatoid arthritis[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2020, 16(7): 361-379.
- [4] JAGPAL A, NAVARRO-MILLÁN I. Cardiovascular comorbidity in patients with rheumatoid arthritis: a narrative review of risk factors, cardiovascular risk assessment and treatment[J]. *BMC Rheumatol*, 2018, 2: 10.
- [5] SCHMIDT T, MANKAD R. Assessment of cardiac risk in women with autoimmune disease[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2022, 24(7): 775-784.
- [6] REISS A B, SILVERMAN A, KHALFAN M, et al. Accelerated atherosclerosis in rheumatoid arthritis: mechanisms and treatment[J]. *Curr Pharm Des*, 2019, 25(9): 969-986.
- [7] ARIDA A, LEGAKI A I, KRAVVARITI E, et al. PCSK9/LDLR system and rheumatoid arthritis-related atherosclerosis[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 738764.
- [8] BALDINI C, MORICONI F R, GALIMBERTI S, et al. The JAK-STAT pathway: an emerging target for cardiovascular disease in rheumatoid arthritis and myeloproliferative neoplasms[J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(42): 4389-4400.
- [9] FULL L E, RUISANCHEZ C, MONACO C. The inextricable link between atherosclerosis and prototypical inflammatory diseases rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Res Ther*, 2009, 11(2): 217.
- [10] KANG S, SONG J. Robust gene selection methods using weighting schemes for microarray data analysis[J]. *BMC Bioinformatics*, 2017, 18(1): 389.
- [11] BARRETT T, WILHITE S E, LEDOUX P, et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets-update

- [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41: D991-D995.
- [12] WU T Z, HU E Q, XU S B, et al. clusterProfiler 4.0: a universal enrichment tool for interpreting omics data[J]. *Innovation (Camb)*, 2021, 2(3): 100141.
- [13] SZKLARCZYK D, GABLE A L, LYON D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D607-D613.
- [14] OTASEK D, MORRIS J H, BOUÇAS J, et al. Cytoscape automation: empowering workflow-based network analysis[J]. *Genome Biol*, 2019, 20(1): 185.
- [15] WARDE-FARLEY D, DONALDSON S L, COMES O, et al. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: W214-W220.
- [16] HAN H, CHO J W, LEE S, et al. TRRUST v2: an expanded reference database of human and mouse transcriptional regulatory interactions[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D380-D386.
- [17] ADAWI M, FIRAS S, BLUM A. Rheumatoid arthritis and atherosclerosis[J]. *Isr Med Assoc J*, 2019, 21(7): 460-463.
- [18] SCHLOSS M J, SWIRSKI F K, NAHRENDORF M. Modifiable cardiovascular risk, hematopoiesis, and innate immunity[J]. *Circ Res*, 2020, 126(9): 1242-1259.
- [19] 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, 260.
- 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, 260.
- [20] 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.
- [21] CUTOLO M, CAMPITIELLO R, GOTELLI E, et al. The role of M1/M2 macrophage polarization in rheumatoid arthritis synovitis[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 867260.
- [22] JEHLE J, SCHÖNE B, BAGHERI S, et al. Elevated levels of 2-arachidonoylglycerol promote atherogenesis in ApoE^{-/-} mice[J]. *PLoS One*, 2018, 13(5): e0197751.
- [23] CHOU P H, CHEE A, SHI P, et al. Small molecule antagonist of C-C chemokine receptor 1 (CCR1) reduces disc inflammation in the rabbit model[J]. *Spine J*, 2020, 20(12): 2025-2036.
- [24] CLÉMENT M, HADDAD Y, RAFFORT J, et al. Deletion of IRF8 (interferon regulatory factor 8)-dependent dendritic cells abrogates proatherogenic adaptive immunity[J]. *Circ Res*, 2018, 122(6): 813-820.
- [25] UMAR S, PALASIEWICZ K, VOLIN M V, et al. Metabolic regulation of RA macrophages is distinct from RA fibroblasts and blockade of glycolysis alleviates inflammatory phenotype in both cell types[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(23): 7693-7707.
- [26] YAO Z Q, GETTING S J, LOCKE I C. Regulation of TNF-induced osteoclast differentiation[J]. *Cells*, 2021, 11(1): 132.
- [27] ZAFAR A, PONG NG H, DIAMOND-ZALUSKI R, et al. CITED2 inhibits STAT1-IRF1 signaling and atherogenesis[J]. *FASEB J*, 2021, 35(9): e21833.
- [28] CAI D C, LIU H X, WANG J, et al. Balasubramide derivative 3C attenuates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice: role of AMPK-STAT1-STING signaling pathway[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(8): 12160-12178.
- [29] LIN Y H, WANG Y H, PENG Y J, et al. Interleukin 26 skews macrophage polarization towards M1 phenotype by activating cJUN and the NF-κB pathway[J]. *Cells*, 2020, 9(4): 938.
- (此文编辑 文玉珊)