

本文引用: 张桢淳, 李永唯, 吴亚婷, 等. 空间与加权基因共表达分析揭示跨种属的缺血性心力衰竭机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(4): 310-318. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.04.005.

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2024)32-04-0310-09

空间与加权基因共表达分析揭示跨种属的缺血性心力衰竭机制

张桢淳, 李永唯, 吴亚婷, 张来海, 吴海燕, 谢佳丽, 朱鸿明

同济大学附属东方医院转化医学中心, 上海市 200120

[摘要] [目的] 从空间与基因共表达网络的角度揭示跨种属的缺血性心力衰竭机制。[方法] 从美国国立生物技术信息中心基因表达数据库(NCBI-GEO)中检索获得 GSE210374 和 GSE57338 高通量测序数据, 利用 R 语言软件程序包分析筛选在心肌梗死大鼠不同心肌区域中差异表达基因(DEG)以及缺血性心力衰竭患者与健康对照者的心肌样本间的 DEG, 分析共同基因的分区域表达情况。利用加权基因共表达网络分析(WGCNA)筛选心肌梗死相关的基因并进行富集分析, 构建蛋白质-蛋白质相互作用网络(PPI)筛选核心基因(HG)。[结果] 在心肌梗死大鼠和正常对照组中共筛选出 4 835 个差异基因, 在缺血性心力衰竭患者和正常对照样本共筛选出 51 个差异基因, 揭示心肌梗死后左室心肌梗死区(I区)、边缘区(BZ区)及远端区(R区)的代表性基因集。空间表达分析发现两个种属样本: 在每个心肌分区均有 20 个共表达基因, 其中 16 个在 3 个分区均有表达, 在 I 区、BZ 区和 R 区特异表达的基因数分别为 2、0 和 2 个。富集分析显示: 各分区的共表达基因功能各异, I、BZ 区与胶原纤维组装、应激诱导的心肌细胞肥大、下调 c-Jun 氨基末端激酶(JNK 信号)与细胞增殖等功能以及补体信号通路相关; 而 I、R 区则富集于 Wnt 和胶原结合; 作为非缺血的远端 R 区, 共表达基因显著富集于细胞外基质的抗压性、细胞溶解以及抑制 T 细胞增殖等功能。此外值得注意的是: 3 个分区的共表达基因的产物大部分位于细胞外空间和细胞外基质当中, 提示可能存在活化的细胞分泌与互作调控。进一步 PPI 分析提示无胞蛋白(ASPEN)、骨诱导因子(OGN)和 X IV 型胶原蛋白 α 链(COL14A1)基因可能是前述机制的核心基因。[结论] 大鼠和人类缺血性心力衰竭的共性机制涉及补体与凝血级联信号、Wnt 等多种信号通路; 可能与细胞外基质、外泌体介导的细胞凋亡密切相关; ASPEN、OGN 和 COL14A1 可能是其中的核心基因。本工作有望为缺血性心力衰竭相关转化研究中的干预靶点与路径选择提供空间与通路参考。

[关键词] 心肌梗死; 心功能衰竭; 生物信息学; 差异表达基因; 加权基因共表达网络分析

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Spatial and weighted gene co-expression analysis revealed the mechanism of cross-species ischemic heart failure

ZHANG Zhenchun, LI Yongwei, WU Yating, ZHANG Laihai, WU Haiyan, XIE Jiali, ZHU Hongming

Research Center for Translational Medicine, East Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200120, China

[ABSTRACT] **Aim** To reveal the mechanism of cross-species ischemic heart failure from the perspective of spatial and gene co-expression networks. **Methods** GSE210374 and GSE57338 high-throughput sequencing datas were retrieved from the national center for biotechnology information gene expression database (NCBI-GEO), and R language software packages was used to analyze and screen differentially expressed genes (DEG) in different myocardial regions of myocardial infarction rats, as well as DEG of myocardial samples from patients with ischemic heart failure and healthy controls, and the regional expression of common genes was analyzed. Weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) was used to screen the genes related to myocardial infarction and to carry out enrichment analysis, protein-protein interaction network (PPI) was constructed to screen core genes (HG). **Results** A total of 4 835 differentially expressed genes were screened out in myocardial infarction rats and normal controls, and 51 differentially expressed genes were

[收稿日期] 2023-11-13

[修回日期] 2023-12-13

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82070365)

[作者简介] 张桢淳, 硕士研究生, 研究方向为干细胞与心肌损伤修复, E-mail: zzc1605245543@163.com. 通信作者朱鸿明, 博士, 研究员, 研究方向为干细胞与心肌损伤修复, E-mail: zhm@tongji.edu.cn.

screened out in ischemic heart failure patients and normal control samples, which revealed representative gene sets in the left ventricular myocardial infarction area (I area), border area (BZ area), and remote area (R area) after myocardial infarction. Spatial expression analysis revealed that there were 20 co-expressed genes in each myocardial region, 16 of which were expressed in all three regions, the number of genes specifically expressed in I, BZ and R regions were 2, 0 and 2, respectively. Enrichment analysis showed that the functions of co-expressed genes were different in different region. The I and BZ regions were related to collagen fiber assembly, stress-induced cardiomyocyte hypertrophy, down-regulation of c-Jun amino terminal kinase (JNK signal) and cell proliferation, and complement signaling pathways; The I and R regions were enriched in the binding of Wnt and collagen; As a non-ischemic distal R region, the co-expressed genes were significantly enriched in the extracellular matrix for functions such as compressive resistance, cytolysis and inhibition of T cell proliferation. Furthermore, it was worth noting that the products of co-expressed genes in the three regions were mostly located in the extracellular space and extracellular matrix, suggesting that there may be active cellular secretion and interaction regulation. Further PPI analysis suggested that asporin (ASP), osteoglycin (OGN) and collagen type XIV alpha chain (COL14A1) gene might be the core genes of the mechanism mentioned above.

Conclusions The common mechanism of ischemic heart failure in rats and human involves multiple signaling pathways such as complement and coagulation cascade signaling and Wnt; which may be closely related to cell apoptosis mediated by extracellular matrix and exosomes; ASP, OGN, and COL14A1 may be the core genes. This work is expected to provide spatial and pathway reference for the selection of intervention targets and pathway in the transformation research related to ischemic heart failure.

[**KEY WORDS**] myocardial infarction; heart failure; bioinformatics; differentially expressed gene; weighted gene co-expression network analysis

缺血性心力衰竭是由于冠状动脉疾病导致心肌缺血和缺氧引起的一种心脏功能不全^[1-2]。随着冠状动脉疾病的进展,心肌组织的血液供应受到限制,导致心肌细胞损伤和纤维化,最终导致心脏收缩功能下降和心血管系统的整体代偿能力丧失^[3]。缺血性心力衰竭在全球范围内具有较高的患病率和死亡率,给患者的生活质量和预后带来了严重影响^[4]。目前,临床治疗缺血性心力衰竭的方法主要包括药物治疗、介入治疗和心脏移植等。然而,这些治疗手段存在一定的局限性。药物治疗虽能改善心功能和延缓疾病进展,但并不能逆转心肌纤维化和修复受损组织^[5]。介入治疗可以改善冠状动脉供血,但对心肌纤维化和心肌细胞损伤的修复能力有限。心脏移植作为最后的治疗手段,由于供体短缺和移植排斥等问题,仍然面临许多挑战。深入了解缺血性心力衰竭的发病机制,有助于发展新的治疗方法和药物,提高患者的生活质量和预后^[6-8]。

缺血性心力衰竭的病理机制非常复杂,主要包括心肌缺血、心肌细胞凋亡和坏死、炎症反应、纤维化及心肌重塑等。虽然过往针对啮齿类心力衰竭动物模型的研究已经揭示了大量的治疗靶点,但在临床转化,甚至临床前大动物研究中常难以获得满意的疗效。造成上述转化障碍的主要原因在种属间差异的病理生理结构和过程,探索跨种属的核心基因和通路对于基础研究成果的临床转化至关重要。高通量测序是探索基因分子通路改变的主要

手段,过往的转录组测序主要侧重于基因表达量的检测,缺乏关键的基因表达位置信息,从而限制了对基因作用机制进行更深入探索的可能性。新近出现的空间转录组技术虽然可以较好地回答基因表达的位置信息,但仍受限于高昂的检测成本而难以全面铺开。本研究聚焦缺血性心力衰竭,结合大鼠与珍贵的人类样本数据,对跨种属的调控缺血性心力衰竭的关键基因进行初步的空间位置与加权基因共表达分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA),以期对缺血性心力衰竭治疗靶点的探索和干预提供新的思路和方向。

1 资料和方法

1.1 数据下载及获取

本研究中所分析的高通量测序数据检索自美国国立生物技术信息中心基因表达数据库(national center for biotechnology information gene expression omnibus, NCBI-GEO)数据库。大鼠来源的心肌梗死标本检索条件:①关键词:“心肌梗死”(myocardial infarction, MI)。②条目类型:系列(series)。③研究类型:高通量测序基因表达谱分析。④物种:大鼠。最终获得由 Pedroza 等提供的基于 GPL25947 Illumina NovaSeq 6000 平台的 GSE210374 高通量测序数据。该数据集以心肌梗死作为研究样本,8 周龄雌性无胸腺大鼠进行假手术或完全近端左前降支动脉结

扎术(心肌梗死),手术1周后,取出心脏,并从左心室的梗死区(I)、边缘区(BZ)和远端区(R)收集单独的组织样本,用于RNA提取和测序,共54个样本。

人类心力衰竭的临床样本检索条件:①关键词:“心力衰竭”(heart failure, HF)。②条目类型:系列(series)。③研究类型:高通量测序基因表达谱分析。④物种:人类。得到由Liu等提供的基于GPL11532 Affymetrix Human Gene 1.1 ST Array转录组平台的GSE57338高通量测序数据。该研究以331例有或无心力衰竭的临床病例作为研究样本,使用Affymetrix基因芯片基于RNA-seq鉴定来自6个心力衰竭和健康个体的临床特征。利用R语言软件对表达谱数据进行对数转换和归一化处理,根据平台注释信息将探针ID转换基因名,数据中多个基因探针ID对应单个基因名,将数据进行求和取最大值处理。

1.2 差异表达基因筛选

利用R语言软件“DESeq2”包对GSE210374数据的大鼠心肌梗死样本与其正常对照样本进行差异性分析后,将心肌梗死大鼠不同区域之间的差异基因进行筛选。对GSE57338数据的人类心力衰竭临床样本分别与其正常对照样本进行差异性分析,将 $P < 0.01$, \log_2 |差异表达倍数(fold change, FC)|的绝对值 > 2 作为筛选差异表达基因(differential expression gene, DEG)的条件,以筛选DEG,使用R语言中的ggplot2包进行差异miRNA的火山图绘制。使用sangerbox在线网络工具平台(<http://vip.sangerbox.com>)将大鼠样本中梗死区、边缘区与远端区的基因分别与人类心力衰竭基因取共同交集基因,并绘制维恩图。

1.3 WGCNA 相关基因共表达

通过R语言“WGCNA”包^[9]对大鼠DEG构建加权基因共表达网络,选择适当的软阈值使得构建的网络更符合无标度网络的标准;一步法构建基因网络,将邻接矩阵转化为拓扑重叠矩阵,层次聚类采用动态剪切枝法;计算基因显著性(gene significance, GS)以及模块显著性(module significance, MS)用以衡量基因与生物模块和临床信息的相关性、显著性。

1.4 关键基因模块的功能富集分析

为了进一步分析与心肌梗死最相关的基因模块的功能分析,使用metascape在线工具([\[metascape.org/\]\(https://metascape.org/\)\)^{\[10\]},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。利用David数据库^{\[11\]}进行京都基因与基因组百科全书\(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG\)和基因本体\(gene ontology, GO\)信号通路富集分析,以 \$P < 0.05\$ 为条件,筛选信号通路使用R语言软件进行可视化。](https://</p></div><div data-bbox=)

1.5 蛋白质-蛋白质相互作用网络分析和关键基因的筛选

通过metascape在线工具分析构建与心肌梗死相关的基因模块的蛋白质-蛋白质相互作用网络(protein-protein interaction network, PPI)关系,以识别蛋白质之间的相互作用,最低互动分数为1.16,并进行PPI可视化网络,利用MCODE插件分析出最重要的功能模块。将CDEG导入String(<http://string-db.org>)数据库中以建立PPI网络图,于Cytoscape(版本3.9.1)中进行可视化,并通过Cytoscape中的CytoHubba插件来确定核心基因。

2 结果

2.1 DEG 的筛选

通过R语言软件包分析GSE210374数据集^[12-13],发现在心肌梗死大鼠与正常对照组中共筛选出4835个差异基因,其中上调基因4697个,下调基因138个。通过R语言软件包分析GSE57338数据集,绘制DEG火山图,发现在心力衰竭患者与正常对照样本共筛选出51个差异基因,其中上调基因25个,下调基因26个。将心脏的三个部位的基因进行交集分析,梗死区与远端区对比,有990个上调基因,有1039个下调基因;远端区与边缘区对比,有852个上调基因,有569个下调基因;梗死区与边缘区无明显差异基因(图1)。将大鼠不同区域的样本与人类心力衰竭患者进行交集,结果显示在人类中由缺血引起的心力衰竭所对应在大鼠的不同梗死部位各自具有20个共表达基因(图2和图3),这三个部位共表达基因在不同部位的差异表达量详见表1。同时将大鼠中三个区域共表达基因进行交集,发现共有16个共表达基因,即FND1C1、LUM、FRZB、C6、SFRP4、ADAMTS4、PTN、SFRP1、IL1RL1、ASP、LYVE1、COL14A1、PI16、MYH6、NPPA和VSIG4,说明这些基因在三个部位同时表达。

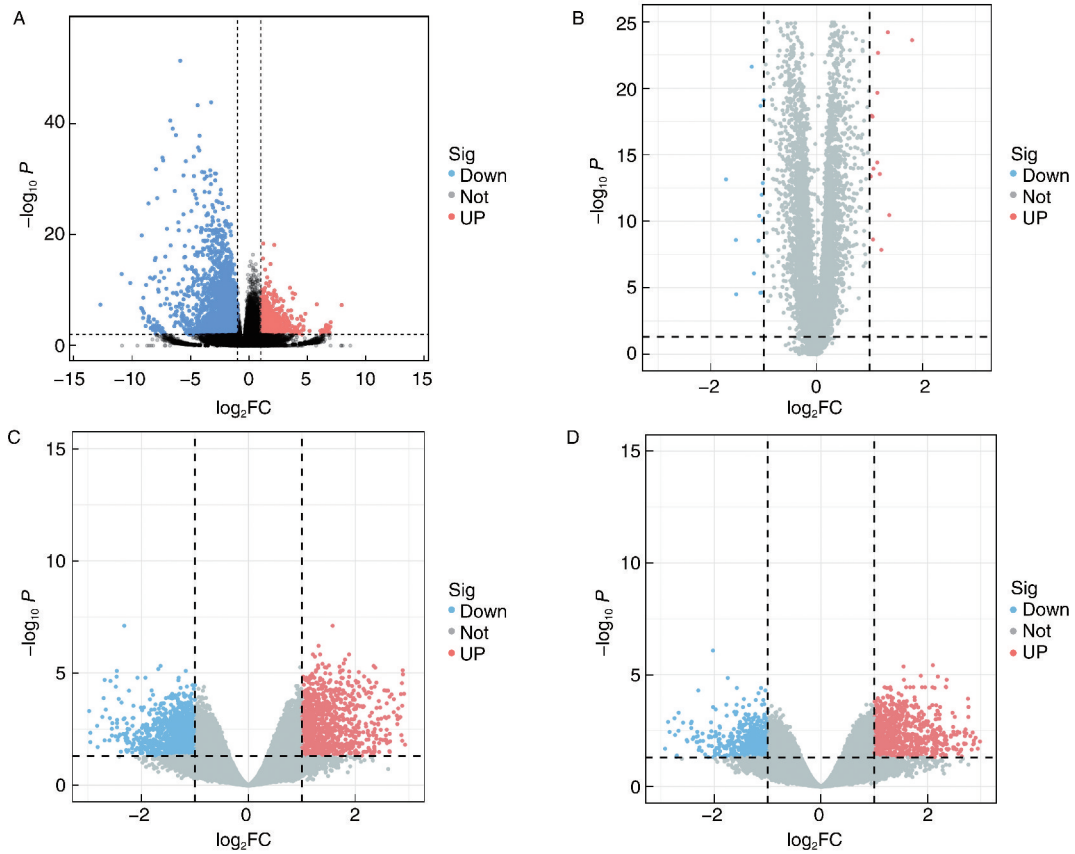


图 1. 差异基因可视化

A 为大鼠心肌梗死样本 DEG 火山图; B 为心力衰竭患者 DEG 火山图; C 为大鼠心肌梗死样本中梗死区与远端区对比的 DEG 火山图; D 为大鼠心肌梗死样本中远端区与边缘区对比的 DEG 火山图。红色圆点为上调基因, 蓝色圆点为下调基因, 没有显著变化的基因用灰色标记。

Figure 1. Visualization of differential expression genes

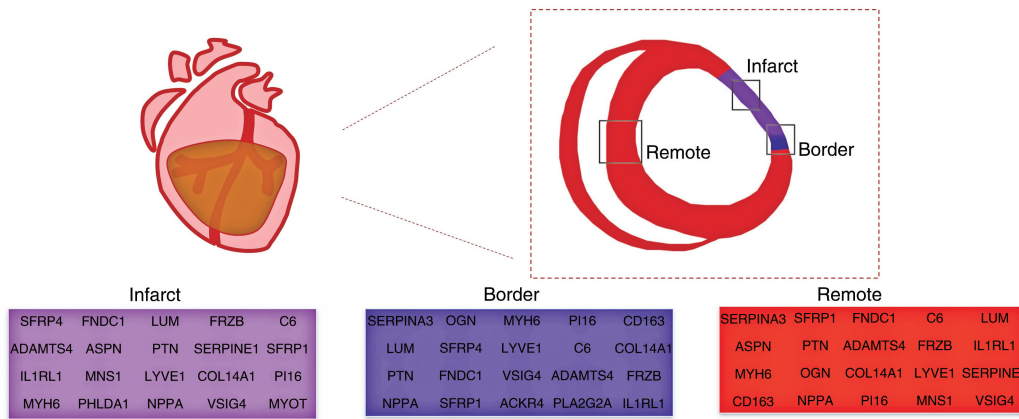


图 2. 心肌梗死后心肌分区及代表性基因

Figure 2. Myocardial segmentation and representative genes after myocardial infarction

2.2 WGCNA 相关基因共表达

我们选取相关系数为 0.63 时对应的软阈值为 16 构建无尺度网络进行 WGCNA 分析(图 4A)。通过 WGCNA 分析将 DEG 构建了 8 个不同的基因模块, 分别是黄绿色基因模块、蓝色基因模块、棕色基因模块、黑色基因模块、蓝绿色基因模块、绿色基因

模块、紫色基因模块及灰色基因模块。基因模块与心肌梗死相关性分析表明, 这些基因模块都与心肌梗死的发生发展相关。图 4D 显示了棕色模块基因与心肌梗死相关的显著性, 因此将棕色基因模块作为关键基因模块。

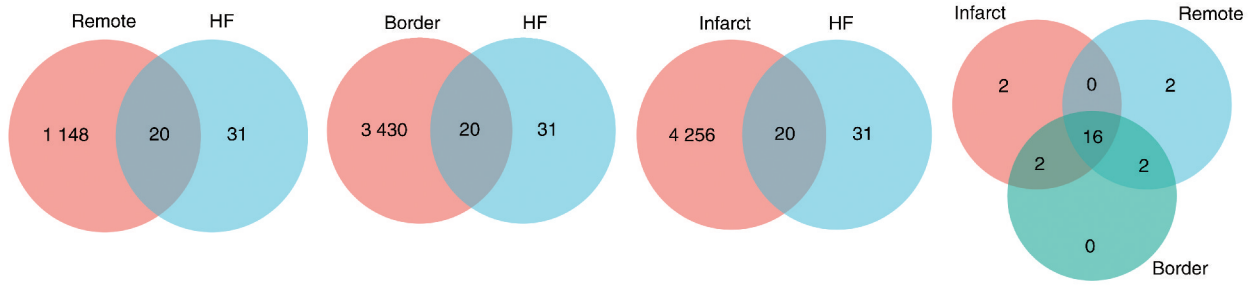


图 3. 跨种属共表达基因的筛选与空间位置

从左至右依次为远端区、边缘区、梗死区共表达基因的维恩图及三个部位共表达基因的维恩图可视化分析。

Figure 3. Screening and spatial location of cross-species coexpression genes

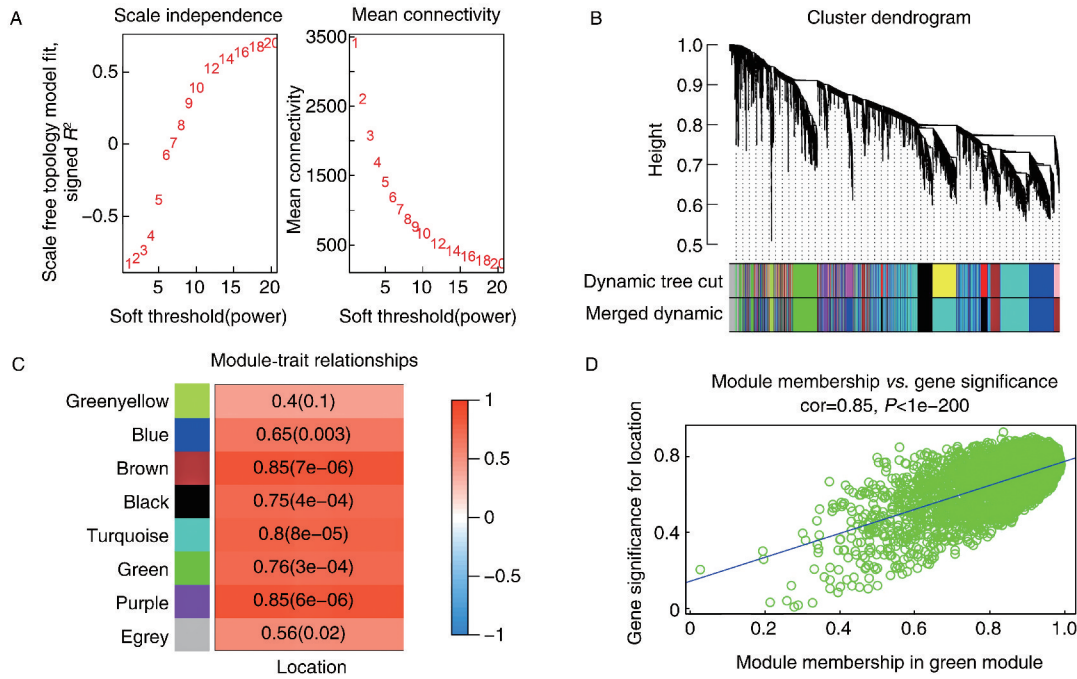


图 4. 共表达基因模块与心肌梗死的相关性及相关基因筛选

A 为不同软阈值的无标度拟合指数分析和各个软阈值的平均连接性分析;B 为 WGCNA 分析将差异表达基因分为 8 个不同的基因模块及聚类结果;C 为每个基因模块与心肌梗死的相关关系;D 为关键基因模块(棕色基因模块)与心肌梗死的相关显著性。

Figure 4. The correlation between coexpressed gene modules and myocardial infarction and related gene screening

表 1. 跨种属共表达基因的空间表达量

Table 1. Spatial expression of cross-species coexpressed genes

基因名	边缘区	梗死区	远端区
FRZB	3.520743534	3.792620248	1.923745571
PTN	2.59442306	2.56663924	1.674868511
IL1RL1	2.156497331	2.56234136	1.222733995
SERPINE1	1.860911747	2.543444072	0
COL14A1	1.093557153	1.126695785	1.03704485
FNDCl	1.993522967	2.360469186	1.484439623
ADAMTS4	2.698210252	2.336805233	1.503134896
SFRP1	2.273654059	1.979869094	1.201068085
LUM	2.088675722	1.933333724	1.520587152
C6	4.378887192	3.452126759	2.452258381
SFRP4	6.117114428	5.093892041	4.059740283

续表

基因名	边缘区	梗死区	远端区
NPPA	1.789020382	1.163281538	2.084884533
PHLDA1	0	-1.020722462	0
MYOT	0	-1.103108054	0
ASPN	2.223825077	2.045194793	2.261170364
CD163	1.285045101	0	1.467845682
OGN	1.101306396	0	1.259113311
LYVE1	1.592744476	1.366957651	1.550853899
VSIG4	1.926448109	1.662978038	2.738007036
MYH6	-2.465808121	-2.663490777	-1.69251037
MNS1	-1.183895924	-1.995582489	0
ACKR4	0	0	1.122373784
PLA2G2A	0	0	1.099401782
PII6	1.070722522	1.236479678	1.314717987

2.3 关键基因模块的功能富集分析

通过 metascape 在线分析工具对该模块中的大鼠样本中 WGCNA 共表达的 top100 棕色基因进行 GO 生物学富集分析,发现其生物学进程 (biological process, BP) 主要富集在高尔基体囊泡运输、细胞器定位、对神经生长因子刺激的反应;细胞组分 (cell component, CC) 主要富集在内质网腔、包被囊泡和核斑;分子功能 (molecular function, MF) 主要富集在蛋白质自聚集、可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感因子附着蛋白受体 (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor, SNARE) 结合, KEGG 通路富集分析发现主要参与内质网的蛋白质加工。对人类临床样本 DEG 基因进行 GO 生物学富集分析,结果表明其生物学进程主要富集在一氧

化氮运输、细胞死亡的正向调节、心肌组织发育;细胞组分主要富集在含胶原的细胞外基质、血小板 α 颗粒管腔、液泡腔;分子功能主要富集在货物受体活性和内肽酶活性(图 5)。大鼠 WGCNA 基因和人类临床样本 DEG 基因高水平显著富集的生物学进程主要在细胞定位和代谢过程(图 6)。利用 David 数据库将心肌梗死大鼠心脏不同部位与心力衰竭患者取交集的三组基因进行 KEGG 分析发现,三组显著富集的生物学进程在补体与凝血级联信号通路和 Wnt 信号通路。GO 分析生物学进程主要富集在细胞凋亡的调节过程,细胞组分主要富集在细胞外区域和外泌体,分子功能主要富集在细胞外基质能够抵抗压缩力的蛋白多糖成分和 Wnt 结合蛋白(图 7)。

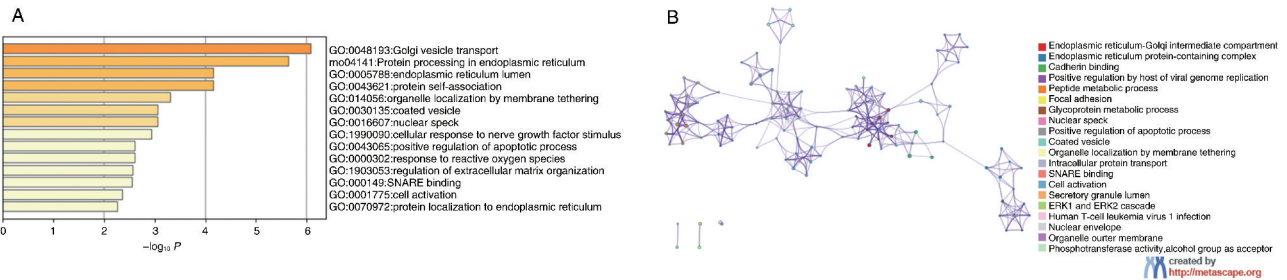


图 5. 大鼠 DEG 的功能富集分析

A 为小鼠样本功能富集分析中 DEG 的条形图,用 P 值着色;B 为小鼠样本功能富集分析中 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。

Figure 5. Functional enrichment analysis of rat DEG

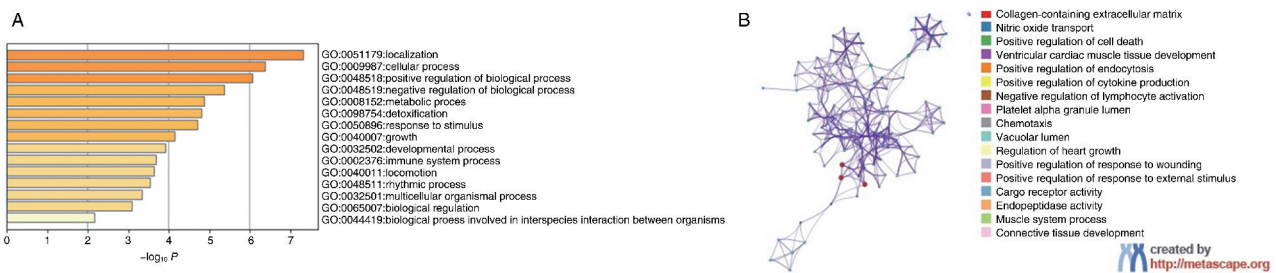


图 6. 人类 DEG 的功能富集分析

A 为人类样本功能富集分析中 DEG 的条形图,用 P 值着色;B 为人类样本功能富集分析中 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。

Figure 6. Functional enrichment analysis of human DEG

2.4 PPI 分析和关键基因的筛选

采用 String 在线数据库,构建与小鼠心肌梗死最相关的基因模块的蛋白质-蛋白质相互作用网络关系,以识别蛋白质之间的相互作用,最低互动分数为 0.4。利用 CytoHubba 插件的 degree 算法筛选出小鼠 WGCNA 分析后 PPI 前 10 个基因,并通过

Cytoscape 软件 v3.10.1 版本进行可视化 PPI 网络,颜色越深的基因在模块中的作用越关键(图 8),分别是核糖体蛋白 L19 (ribosomal protein L19)、核糖体蛋白 L5 (ribosomal protein L5)、核糖体蛋白 S9 (ribosomal protein S9)、核糖体蛋白 S16 (ribosomal protein S16)、核糖体蛋白 L8 (ribosomal protein L8)、

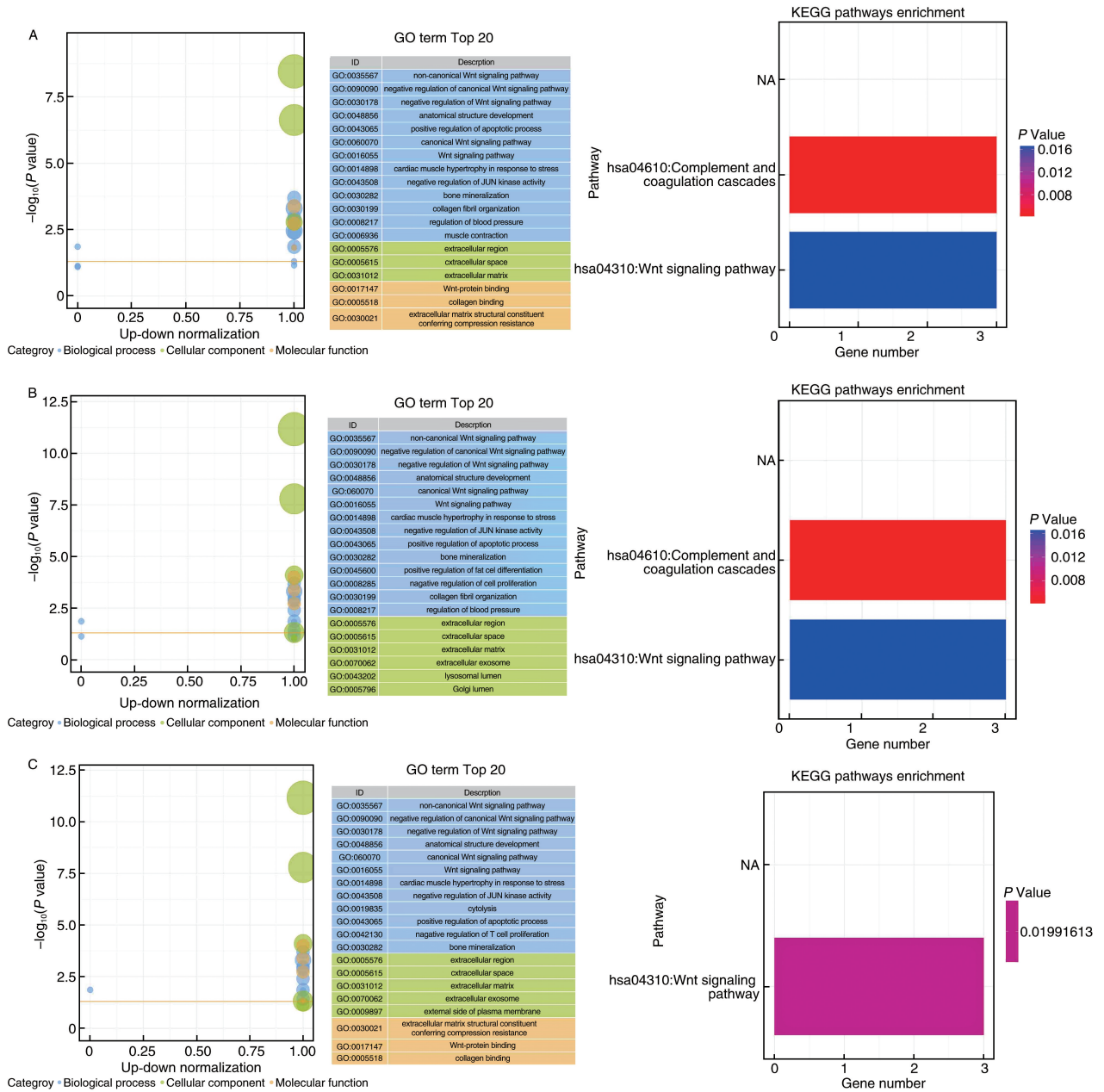


图 7. 心肌各区域共表达基因的 KEGG 与 GO 分析

A 为梗死区交集基因 GO 和 KEGG 富集分析;B 为边缘区交集基因 GO 和 KEGG 富集分析;C 为远端区交集基因 GO 和 KEGG 富集分析。

Figure 7. KEGG and GO analysis of coexpressed genes in muscle regions

泛素样和核糖体蛋白 S30 融合 (FAU) 基因、核糖体蛋白 S8 (ribosomal protein S8)、核糖体蛋白 L14 (ribosomal protein L14)、核糖体蛋白 L13a (ribosomal protein L13a)、核糖体蛋白 L15 (ribosomal protein L15)。将编码大鼠心肌各区域与人心力衰竭的共表达基因进行整合,分析蛋白质间的相互作用关系,结果显示主要影响的基因是无孢蛋白 (asporin, ASPN)、骨诱导因子 (osteoglycin, OGN) 和 X IV 型胶原蛋白 α1 链 (collagen type X IV alpha1, COL14A1) (图 8C),最终对三组交集基因进行热图分析(图 8D)。

3 讨论

本研究通过从 GEO 数据库中提取心肌梗死大鼠和心力衰竭人类临床样本的高通量测序数据,利用 R 语言软件分别筛选出 4 835 个和 51 个差异基因,WGCNA 分析心肌梗死大鼠心室肌的不同部位 [梗死区(I)、边缘区(BZ)和远端区(R)]间的差异基因,使用 metaspice 在线工具行 GO 和 KEGG 富集分析,发现大鼠 WGCNA 基因主要富集在内质网的蛋白质加工通路,GO 富集分析提示这些 DEG 大多

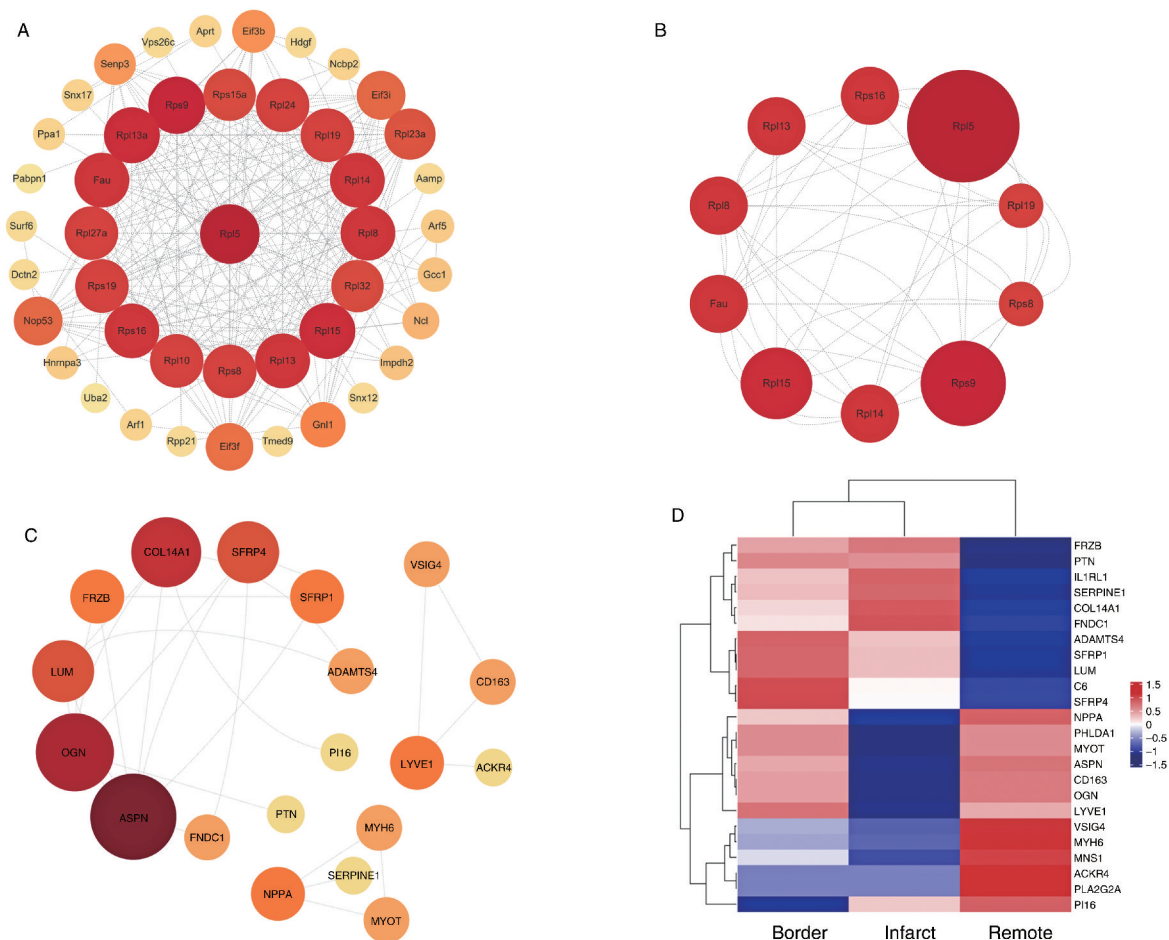


图 8. PPI 网络构建与核心基因筛选

A 为心肌梗死大鼠 WGCNA 基因 MCODE 核心组分分析 PPI 网络;B 为 PPI 前 10 个关键基因;C 为心肌梗死大鼠心脏不同部位与心力衰竭患者交集基因的 PPI;D 为三组交集基因的热图。

Figure 8. PPI network construction and core gene screening

富集在蛋白质加工的生物学过程,如蛋白质自聚集、SNARE 结合。人类心力衰竭 DEG 主要富集在一氧化氮运输、细胞死亡的正向调节、心室肌组织发育,提示筛选出的 DEG 可通过调节蛋白质合成和心室肌的发育影响心肌梗死的进展。

将大鼠不同区域的样本之间做差异性分析,发现梗死区与远端区、边缘区与远端区有显著差异性基因,梗死区与边缘区无显著差异性基因,因此确定出三个区域。将大鼠不同区域的样本与人类心力衰竭患者做交集,结果显示在人类中由缺血引起的心力衰竭所对应在大鼠的不同梗死部位各自具有 20 个共表达基因,进行热图分析,表示这三组共表达基因在不同部位的差异表达量。富集分析结果表明,三组交集基因主要参与的生物学进程在补体与凝血级联信号通路和 Wnt 信号通路。补体与血小板相互作用刺激中性粒细胞和内皮细胞组织因子的表达以及内皮细胞血管性假血友病因子的

分泌,进而激活凝血级联反应,导致凝血酶生成,并进一步增强血小板的活化以及黏附、聚集能力,参与血管炎症和心肌梗死中血栓形成^[14-16]。GO 分析生物学进程主要富集在细胞凋亡的调节过程,细胞组分主要富集在细胞外区域和外泌体,分子功能主要富集在细胞外基质能够抵抗压缩力的蛋白多糖成分和 Wnt 结合蛋白。这些结果提示,聚焦细胞凋亡、细胞外基质成分、补体与凝血级联信号、Wnt 信号通路,可能是在大鼠和人类缺血性心力衰竭中共有的病理生理过程和机制,围绕上述分子开展的治疗靶点与策略可能具有更好的临床转化潜力。

我们还将心肌三个区域的共表达基因进行交集,发现共有 16 个共表达基因,说明这些基因在心肌的三个部位均有表达。值得注意的是,在梗死区,有两个特异性表达的基因,分别是参与细胞增殖分化的普列克底物蛋白同源结构域家族 A 成员 1 蛋白 PHLDA1、肌收缩蛋白 MYOT,远端区有两个特

异性表达的基因分别是结合树突状细胞和 T 细胞激活的非典型趋化因子受体 ACKR4、磷脂 PLA2G2A。其中 PHLDA1 在细胞凋亡中发挥重要作用,缺乏 PHLDA1 可通过干预实验预防动脉粥样硬化,过表达该基因后会引引起内皮细胞的形态学变化,PHLDA1 与 Bax 结合后参与氧化应激下的心肌细胞损伤,减少细胞的黏附和程序性死亡,然而在心肌缺血模型中过表达 PHLDA1 会促进心肌细胞的凋亡^[17-18]。MYOT 结合 F-肌动蛋白,交联肌动蛋白丝,并防止乳糜素 A (latrunculin A, LAT-A) 诱导的丝解体,在肌肉收缩过程中对细丝的稳定性起着重要作用,该基因的突变与肢带型肌营养不良症和肌原纤维肌病有关^[19]。在先天免疫系统中免疫细胞表面 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 通过骨髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 依赖的途径发出信号,非典型趋化因子受体 ACKR4 又称 CCRL1,通过靶向降解 MyD88,诱导自噬,抑制核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路的激活,参与免疫调节^[20]。作为磷脂酶 A2 家族的成员之一,PLA2G2A 在血管炎症、免疫反应、细胞增殖等多个病理生理过程中发挥重要调控作用,可调控胃癌和结、直肠癌等肿瘤的进展^[21]。

综上所述,大鼠和人缺血性心力衰竭的共性机制涉及补体与凝血级联信号、Wnt 等多种信号通路;与细胞外基质、外泌体介导的细胞凋亡密切相关;ASPN、OGN 和 COL14A1 可能是其中的核心基因。

[参考文献]

- [1] LI X N, SUN M, WANG Z, et al. Recent advances in mechanistic studies of heart failure with preserved ejection fraction and its comorbidities-role of microRNAs[J]. *Eur J Clin Invest*, 2024, 54(3): e14130.
- [2] ZHANG W, ZHENG Y, YAN F, et al. Research progress of quercetin in cardiovascular disease[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2023, 10: 1203713.
- [3] SHI Y N, YUAN F, XU Y. Assessing the prognostic significance of mean pulmonary artery velocity in heart failure with slightly reduced ejection fraction[J]. *Curr Probl Cardiol*, 2024, 49(2): 102238.
- [4] CHOI H M, HWANG I C, CHOI H J, et al. Irreversible myocardial injury attenuates the benefits of sacubitril/valsartan in heart failure patients[J]. *Int J Cardiol*, 2024, 397: 131611.
- [5] HEIDENREICH P A, BOZKURT B, AGUILAR D, et al. 2022 AHA/ACC/HFSA guideline for the management of heart failure: executive summary: a report of the American college of cardiology/American heart association joint committee on clinical practice guidelines[J]. *Circulation*, 2022, 145(18): e876-e894.
- [6] 苗柳, 黄淡琪, 陈宁园. 心力衰竭靶向治疗的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2023, 31(6): 517-526.
MIAO L, HUANG Z Q, CHEN N Y. Research advances in targeted therapy for heart failure[J]. *Chin J Arterioscler*, 2023, 31(6): 517-526.
- [7] 马宗宾, 赵永辉, 刘倩玲. 心房颤动合并心力衰竭的治疗进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30(6): 535-540.
MA Z B, ZHAO Y H, LIU Q L. Progress in treatment of atrial fibrillation complicated with heart failure[J]. *Chin J Arterioscler*, 2022, 30(6): 535-540.
- [8] 董晓萍, 马娟, 邓紫薇, 等. β 受体阻滞剂治疗心力衰竭合并心房颤动的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30(2): 171-174.
DONG X P, MA J, DENG Z W, et al. Advances in beta-blockers in patients with heart failure and atrial fibrillation[J]. *Chin J Arterioscler*, 2022, 30(2): 171-174.
- [9] LANGFELDER P, HORVATH S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis[J]. *BMC Bioinformatics*, 2008, 9: 559.
- [10] ZHOU Y Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1523.
- [11] HUANG D W, SHERMAN B T, TAN Q N, et al. The David gene functional classification tool: a novel biological module-centric algorithm to functionally analyze large gene lists[J]. *Genome Biol*, 2007, 8(9): R183.
- [12] LOVE M I, HUBER W, ANDERS S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. *Genome Biol*, 2014, 15(12): 550.
- [13] LIU S Y, 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.
- [14] 吴嘉, 汪俊军. 补体系统在动脉粥样硬化性心血管疾病中的研究与应用[J]. *中华检验医学杂志*, 2020, 43(9): 855-859.
WU J, WANG J J. Research and application of complement system in atherosclerotic cardiovascular disease[J]. *Chin J Lab Med*, 2020, 43(09): 855-859.
- [15] MARTIN-VENTURA JL, MARTINEZ-LOPEZ D, ROLDAN-MONTERO R, et al. Role of complement system in pathological remodeling of the vascular wall[J]. *Mol Immunol*, 2019, 114: 207-215.
- [16] KERAGALA C B, DRAXLER D F, MCQUILTEN Z K, et al. Haemostasis and innate immunity-a complementary relationship: a review of the intricate relationship between coagulation and complement pathways[J]. *Br J Haematol*, 2018, 180(6): 782-798.
- [17] ZHAO P, LU Y L, LIU L. Correlation of decreased expression of PHLDA1 protein with malignant phenotype of gastric adenocarcinoma[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 5230-5235.
- [18] BASSERI S, LHOTÁK S, FULLERTON M D, et al. Loss of TDAG51 results in mature-onset obesity, hepatic steatosis, and insulin resistance by regulating lipogenesis[J]. *Diabetes*, 2013, 62(1): 158-169.
- [19] SELCEN D, ENGEL A G. Mutations in myotilin cause myofibrillar myopathy[J]. *Neurology*, 2004, 62(8): 1363-1371.
- [20] 陈亚. 鲑鱼 eIF3k 和 ackr4a 介导的自噬在调控 NF- κ B 信号通路中的机制研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2022.
CHEN Y. Regulation mechanisms of the Miichthys Miiuy eIF3k and ackr4a-mediated autophagy in NF- κ B signaling[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2022.
- [21] AKINKUOLIE AO, LAWLER PR, CHU AY, et al. Group IIA secretory phospholipase a2, vascular inflammation, and incident cardiovascular disease[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(6): 1182-1190.
(此文编辑 许雪梅)