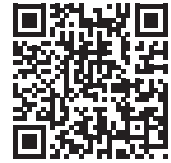


溃疡性结肠炎内质网应激相关基因的综合分析



刘 鹏¹, 赵 林¹, 李志远¹, 白洋洋¹, 高素亚², 郭伟胜¹

1. 河南省中医院 (河南中医药大学第二附属医院) 普外科 (郑州 450002)

2. 新郑华信民生医院 (原新郑市人民医院) 消化内科 (河南新郑 451100)

【摘要】目的 基于生物信息学和孟德尔随机化分析研究溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 具有诊断和治疗潜力的内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 相关基因, 并进行相关基因的基因集富集分析 (Gene Set Enrichment Analysis, GSEA)、基因本体论 (Gene Ontology, GO) 和京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 分析, 构建 ceRNA 调控网络。**方法** 从高通量基因表达数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO) 获取 UC 患者和健康对照者的结肠组织基因表达谱及临床信息, 采用差异表达分析法筛选与 UC 相关的差异基因, 从 GeneCards 数据库下载 ERS 相关基因集, 差异基因和 ERS 相关基因取交集得到差异 ERS 相关基因, 利用 GO 和 KEGG 对差异 ERS 相关基因进行分析。采用 Lasso 回归、支持向量机 (support vector machine, SVM)、随机森林树三种方法筛选并取交集得到 UC 疾病特征基因, 利用表达数量性状位点 (expression quantitative trait locus, eQTL) 暴露数据和 UC 结局数据进行孟德尔随机化分析, 得到具有诊断和治疗潜力的目标基因。采用 GSEA、基因集变异分析 (Gene Set Variation Analysis, GSVA) 和 CIBERSORT 免疫细胞浸润分析探索目标基因与免疫细胞组成之间的相关性。预测与目标基因表达相关的 miRNA 和 lncRNA, 并构建 ceRNA 调控网络。**结果** 孟德尔随机化结果显示, 基因 *ANX45* 增加 UC 发病风险。GSEA 结果显示, 目标基因主要富集通路包括趋化因子信号通路、细胞因子受体相互作用通路、造血细胞调控信号通路、JAK/STAT 信号通路、利什曼原虫感染等。GSVA 结果显示, 补体和凝血级联等通路上调, 缬氨酸亮氨酸和异亮氨酸降解等通路下调。免疫细胞浸润分析结果显示, 基因 *ANX45* 正调控中性白细胞、活化肥大细胞等, 负调控静止树突状细胞、巨噬细胞 M2 等。鉴定出 3 个关键 miRNA 和 15 个 lncRNA, 并绘制出 ceRNA 调控网络。**结论** 本研究预测了 ERS 相关基因 *ANX45* 增加 UC 发病风险, 鉴定出的 miRNA、lncRNA 或可作为 UC 的生物标志物。

【关键词】 溃疡性结肠炎; 内质网应激相关基因; miRNA; 基因调控网络; 生物信息学

【中图分类号】 R 574.62 **【文献标识码】** A

Comprehensive analysis of endoplasmic reticulum stress-associated genes of ulcerative colitis

LIU Peng¹, ZHAO Lin¹, LI Zhiyuan¹, BAI Yangyang¹, GAO Suya², GUO Weisheng¹

1. Department of General Surgery, Henan Province Hospital of TCM (The Second Affiliated Hospital

DOI: 10.12173/j.issn.1004-4337.202406093

通信作者: 郭伟胜, 副主任医师, 硕士研究生导师, Email: 18737121263@163.com

<https://slyyx.whuznhmedj.com/>

of Henan University of Chinese Medicine), Zhengzhou 450002, China

2. Department of Gastroenterology, Xinzheng Huaxin Minsheng Hospital (formerly Xinzheng People's Hospital), Xinzheng 451100, Henan Province, China

Corresponding author: GUO Weisheng, Email: 18737121263@163.com

【Abstract】Objective To study the endoplasmic reticulum stress (ERS)-associated genes with diagnostic and therapeutic potential for ulcerative colitis (UC) based on bioinformatics and Mendelian randomization analysis. Gene Set Enrichment Analysis (GSEA), Gene Ontology (GO), and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analysis were performed on relevant genes, and a ceRNA regulatory network was constructed. **Methods** Gene expression profiles and clinical information of colon tissues from UC patients and healthy controls were obtained from Gene Expression Omnibus (GEO) database. Heteroexpression analysis was used to screen for differentially expressed genes related to UC. The ERS-associated gene set was downloaded from GeneCards database for analysis. The intersection of differentially expressed genes and ERS-associated genes was used to obtain differentially expressed ERS-associated genes. GO and KEGG were used to analyze differentially expressed ERS-associated genes. Three methods including Lasso regression, support vector machine (SVM) and random forest tree were used to screen UC disease characteristic genes, the intersection of the results obtained from the three methods was used to obtain UC disease characteristic genes. Mendelian randomization analysis was performed using expression quantitative trait locus (eQTL) exposure data and UC outcome data to obtain target genes with diagnostic and therapeutic potential. GSEA, Gene Set Variation Analysis (GSVA) and CIBERSORT immune cell infiltration analysis were used to explore the correlation between target genes and immune cell composition. MiRNAs and lncRNAs related to target genes were identified to construct a ceRNA regulatory network. **Results** Results of Mendelian randomization analysis showed that the gene *ANXA5* increased the risk of developing UC. Results of GSEA showed that the main enriched pathways of target genes were chemokine signaling, cytokine receptor interaction, hematopoietic cell lineage, JAK/STAT signaling pathway, Leishmania infection. Results of GSVA showed the upregulation of complement and coagulation cascades pathway, etc, and the downregulation of valine leucine and isoleucine degradation pathway, etc. Results of immune cell infiltration analysis showed that neutrophils, activated mast cells, etc. were positively regulated by the gene *ANXA5*, while stationary dendritic cells, macrophages M2, etc. were negatively regulated by the gene *ANXA5*. Three key miRNAs and 15 lncRNAs were identified, and the ceRNA regulatory network was mapped. **Conclusion** This study predicted that the ERS-associated gene *ANXA5* increased the risk of UC. The miRNA and lncRNA identified might be potential biomarkers for UC.

【Keywords】 Ulcerative colitis; Endoplasmic reticulum stress-associated genes; miRNA; Gene regulatory network; Bioinformatics

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种以交替复发和缓解为特点的炎症性肠病, 其病变部位局限于大肠黏膜及黏膜下层, 临床主要表现为腹泻、腹痛及黏液脓血便^[1], 对患者的健康状况和和生活质量造成严重影响。UC 的发病涉及多个因素, 包括宿主遗传易感性、肠道微生物群、环境

因素和免疫异常^[2]。研究表明, 肠上皮细胞 (intestinal epithelial cell, IEC) 的内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 失衡加速了 UC 的进展^[3]。适度的 ERS 可以保持肠道环境的平衡, 但过量的 ERS 会通过调节 ERS 易感性基因导致 IEC 凋亡与肠道粘膜屏障功能障碍, 并产生促炎细胞因子,

导致 UC 的发生^[4]。然而,目前对 UC 发病过程中 ERS 相关的分子机制研究较少,特别是 ERS 相关基因与 UC 发病间的关系相关研究相对较少。本研究以 ERS 相关基因与疾病间关系为切入点,选择关键的 ERS 相关基因与 UC 发病机制中的生物关系作为研究方向,进行功能富集分析、免疫细胞浸润分析,以确定 ERS 相关基因对 UC 的影响,以期为 UC 的诊断和治疗策略提供新的视角。

1 资料与方法

1.1 数据获取和预处理

以“ulcerative colitis”为关键词在基因表达数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)进行检索,限制“Entry type”为“Series”,限制“study type”为“Expression profiling by array”,限制“Top Organisms”为“Homo sapiens”,通过筛选样本量及对照组数据,获得 GSE105074、GSE92415、GSE206285、GSE87466、GSE53306 基因芯片数据作为研究对象,所在平台分别为 GPL10558、GPL13158、GPL13158、GPL13158、GPL14951。利用 perl 语言对数据进行处理,完成数据注释,通过 R 4.4.0 软件对所有数据进行矫正。选择 GSE105074 为验证组,其余为训练组,通过 R 软件的 limma 包和 sva 包对 4 组训练组数据进行合并和批量矫正,对矫正前后数据进行主成分分析(principal component analysis, PCA)。最终纳入 899 个样本,其中 UC 组 827 个样本,对照组 72 个样本。

1.2 筛选差异表达基因

采用 R 4.4.0 软件进行差异基因筛选,筛选标准为 $\text{fold change} > 1.5$ 、 $P < 0.05$ ^[5],同时绘制差异基因的热图及火山图。

1.3 ERS 相关基因的 GO 和 KEGG 分析

从 GeneCards 下载 ERS 相关基因集,差异基因和 ERS 相关基因取交集得到差异 ERS 相关基因,并绘制差异 ERS 相关基因热图。采用 R 4.4.0 软件对交集基因进行功能富集分析,包括基因本体论(Gene Ontology, GO)、京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Gnomes, KEGG)分析,设定 $P < 0.05$ 作为筛选标准,用于确定显著富集的基因集条目。

1.4 筛选特征基因

分别采用 Lasso 回归、支持向量机(support

vector machine, SVM)、随机森林树三种方法筛选出疾病特征基因,三种方法所得结果取交集得到疾病特征基因。采用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)对特征基因进行验证。

1.5 孟德尔随机化分析

从全基因组关联分析数据库(Genome-wide association study, GWAS)(<https://gwas.mrcieu.ac.uk/>)下载 UC 表达数量性状位点(expression quantitative trait locus, eQTL)暴露数据,并从 FinnGen 数据库(https://www.finnngen.fi/en/access_results)下载 UC 结局数据,随后进行孟德尔随机化分析,得到具有诊断和治疗潜力的目标基因,孟德尔随机化分析的暴露因素为基因 ANX45,结局为 UC,选用逆方差加权法(inverse variance weighted)、加权中位数估计(weighted median)、MR-Egger 法、简单模式(simple mode)、加权模式(weighted mode)五种方法进行分析,其中逆方差加权法以 $P < 0.05$ 作为筛选标准。

1.6 基因集和免疫细胞分析

通过基因集富集分析(Gene Set Enrichment Analysis, GSEA)来分析观察目标基因高低表达组功能通路活跃情况,采用基因集变异分析(Gene Set Variation Analysis, GSVA)来分析目标基因高低表达组功能通路表达差异情况。采用 CIBERSORT 免疫细胞浸润分析探索潜在的生物学机制,分析目标基因与免疫细胞组成之间的相关性。

1.7 构建 ceRNA 调控网络

分别利用经典的 miRNA 靶基因数据库(miRanda、TargetsCan、miRDB)预测与目标基因表达相关的 miRNA,三个数据库预测结果取交集得到目标基因表达相关的 miRNA。利用 Spongescan 数据库预测与目标基因表达相关的 lncRNA,并使用 Cytoscape 3.10.2 软件构建 ceRNA 调控网络。

2 结果

2.1 数据处理结果

主成分分析矫正前图形显示,不同实验组数据是分开的,来自不同实验组数据存在批次效应,见图 1-A;矫正后图形显示,不同实验组数据是随机打乱的,说明已经消除批次效应,见图 1-B。

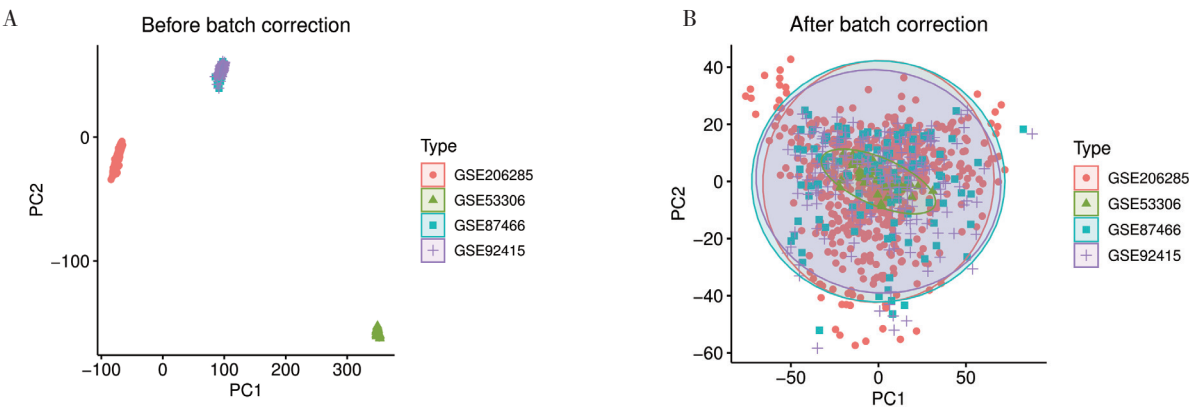


图1 主成分分析矫正前后图形对比

Figure 1. Comparison of figures before and after principal component analysis correction

注：A. 主成分分析矫正前图形；B. 主成分分析矫正后图形。

2.2 差异基因筛选结果

共筛选出 1 571 个差异基因，其中 940 个基

因上调，631 个基因下调。同时得到差异基因的热图（图 2-A）及火山图（图 2-B）。

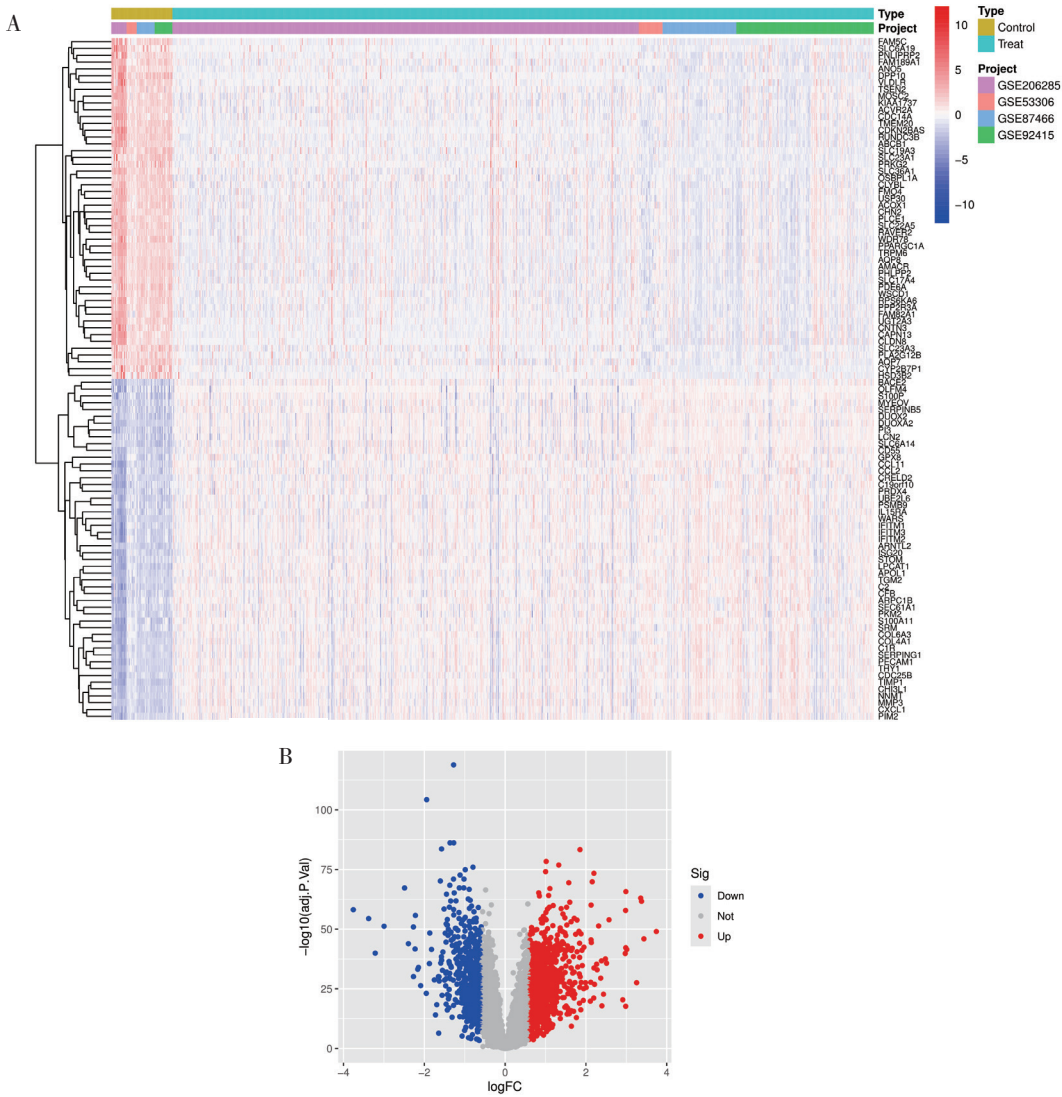


图2 差异基因表达热图和火山图

Figure 2. Heat map and volcano diagram of differential gene expression

注：A. 差异基因表达热图；B. 差异基因表达火山图。

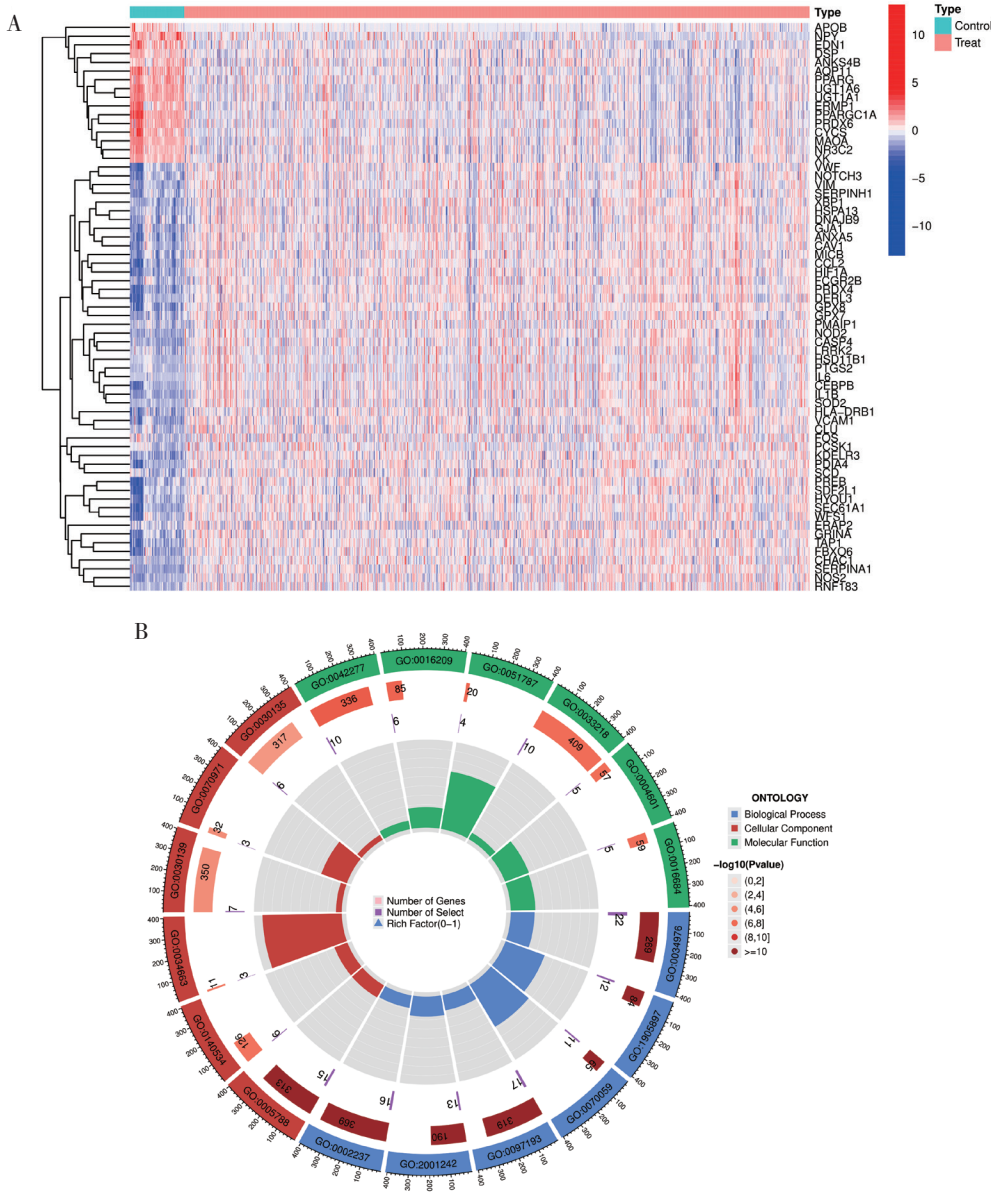
2.3 差异ERS相关基因的GO和KEGG分析

差异 ERS 相关基因热图见图 3-A。GO 分析结果显示, ERS 相关基因主要参与的生化过程包括对 ERS 的反应、对 ERS 反应的调控、ERS 反应中的内在凋亡信号通路、内在凋亡信号通路、内源性凋亡信号通路的调控、对细菌源性分子的反应、ERS 诱导的内源性凋亡信号通路的调控、对脂多糖的反应、ERS 反应的负调控、凋亡信号通路的调控; ERS 相关基因主要参与的分子组成包括内质网腔、内质网蛋白复合物、内质网伴侣复合体、内吞囊泡、内质网出口位点、包被囊泡、分泌颗粒腔等; ERS 相关基因主要参与的分子功能为肽结合、抗氧化活动、错误折叠蛋白的结合、酰胺结合、过氧化物酶活动、作用于过氧化物作为受体的氧化还原酶活动、谷胱甘肽过氧化物酶

活动、蛋白质折叠伴侣结合等,见图 3-B 至图 3-D。KEGG 分析结果显示, ERS 相关基因主要富集条目为肿瘤坏死因子信号通路、脂质与动脉粥样硬化、内质网中的蛋白质加工通路、肺结核、IL-17 信号通路、利什曼病、流体剪切应力与动脉粥样硬化、疟疾、类风湿性关节炎、非酒精性脂肪肝、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用、恰加斯病、谷胱甘肽代谢、Th17 细胞分化、炎症性肠病、化学致癌作用-DNA 加合物、疱疹病毒感染相关卡波西肉瘤、百日咳、麻疹、非洲锥虫病、神经退行性病变、移植物抗宿主病、人巨细胞病毒感染等,见图 3-E、图 3-F。

2.4 特征基因筛选结果

采用 Lasso 回归筛选出 36 个疾病特征基因, 采用 SVM 筛选出 16 个疾病特征基因, 采用随



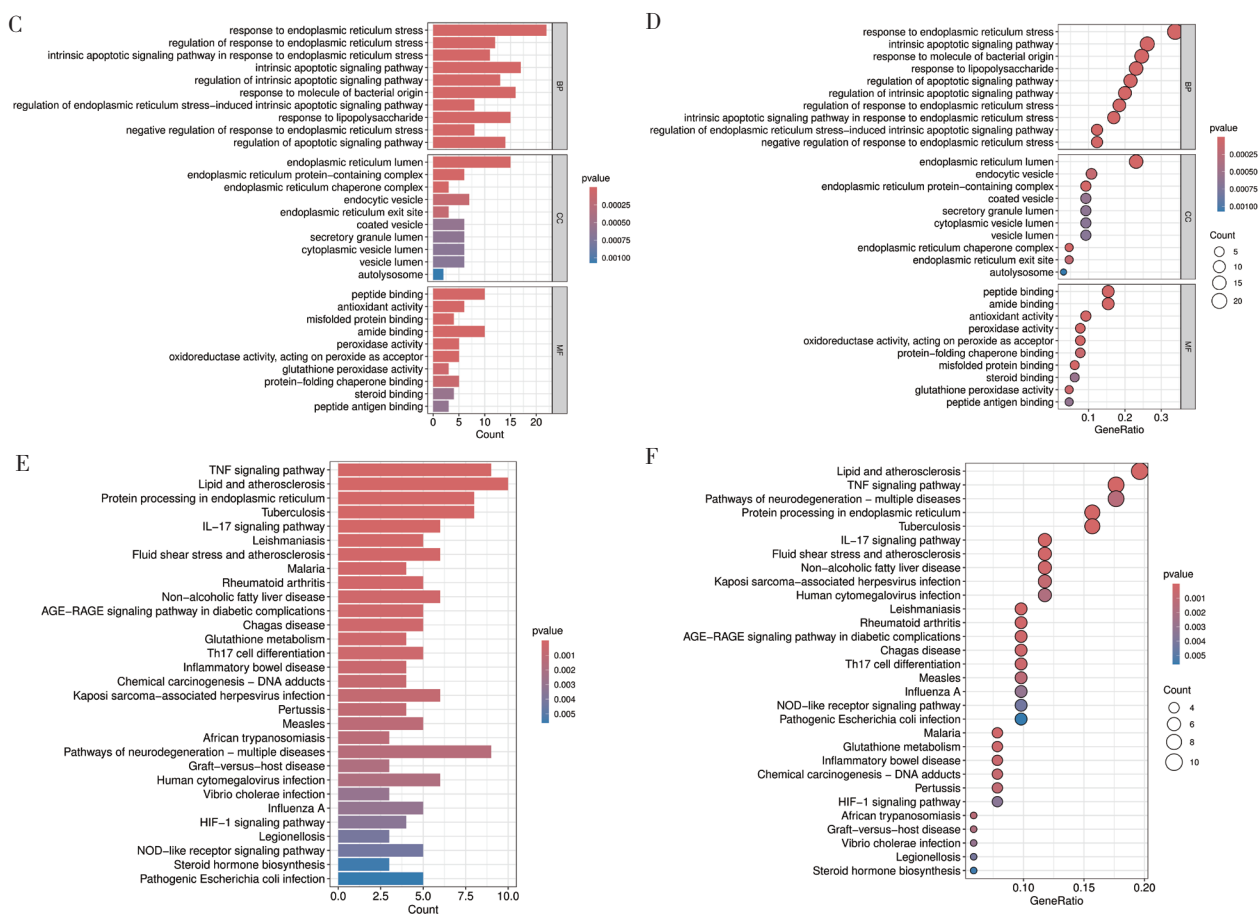


图3 差异ERS相关基因热图、GO分析及KEGG分析结果

Figure 3. Heatmap of differential ERS-associated genes and results of GO and KEGG analysis

注：A. 差异ERS相关基因热图；B~D. 差异ERS相关基因GO分析；E~F. 差异ERS相关基因KEGG分析。

机森林树方法筛选出 46 个疾病特征基因，取交集得到 11 个 UC 疾病特征基因，分别为 *CCL2*、*UGT1A6*、*PDIA4*、*ANXA5*、*KDEL3*、*VCAM1*、

HYOU1、*VIM*、*NOD2*、*DNAJB9*、*PCSK1*。如图 4 所示，11 个 UC 疾病特征基因的 ROC 曲线下面积为 0.990 (95%CI: 0.982~0.996)。

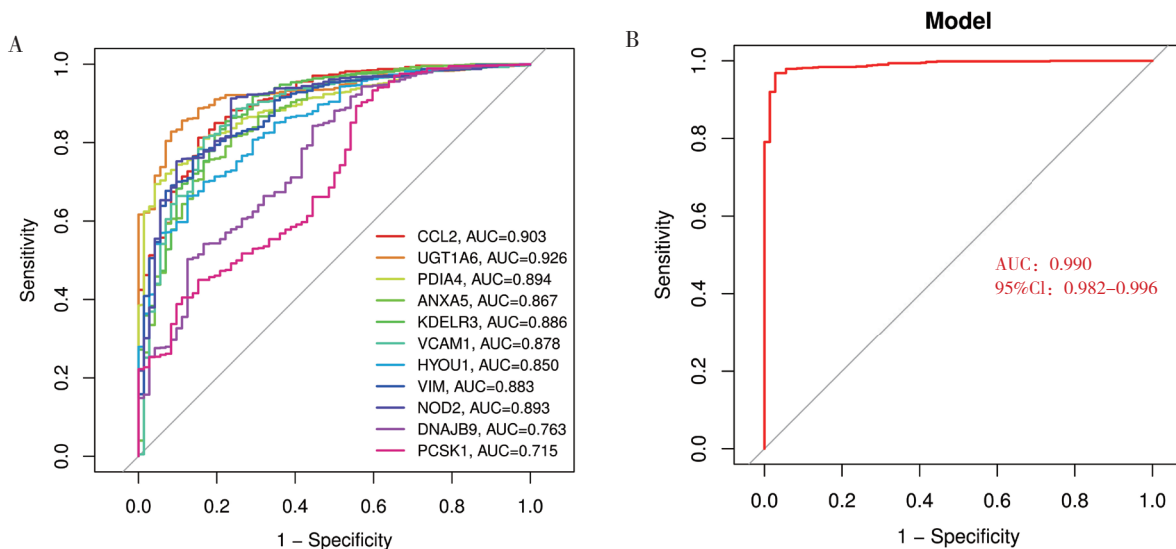


图4 溃疡性结肠炎特征基因的ROC曲线

Figure 4. ROC curves of ulcerative colitis characteristic genes

2.5 孟德尔随机化分析

孟德尔随机化分析的暴露因素为 *ANXA5* 基因，结局变量为 UC，逆方差加权法的 *P* 值为 0.028，OR 值为 1.077，单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 的数量为 15，逆方差加权法和 MR Egger 法异质性检验 *P* 值均大于 0.05，多效性检验 *P* 值大于 0.05，同时得到散点图 (图 5-A)、森林图 (图 5-B)、漏斗图 (图 5-C)、留一法敏感性分析结果 (图 5-D)，结果显示，随着 *ANXA5* 基因表达水平升高，UC 发病风险相应增加。

2.6 基因集和免疫细胞分析

GSEA 结果显示，*ANXA5* 基因高表达组功能通路活跃的是化学动力学信号通路、细胞因子受体相互作用、造血细胞调控信号通路、杰纳斯激酶 - 信号转导子和转录激活子 (Janus kinase-signal transducer

and activator of transcription, JAK-STAT) 通路、利什曼原虫感染，*ANXA5* 基因低表达组功能或通路活跃的是丁酸酯代谢、药物代谢细胞色素 P450、通过细胞色素 P450 外源性代谢、近端肾小管管壁碳酸化、视黄醇代谢，见图 6-A、图 6-B。GSVA 结果显示，*ANXA5* 基因高表达组中补体和凝血级联、JAK-STAT 通路、细胞因子受体相互作用、朊病毒疾病、利什曼原虫感染、系统性红斑狼疮、细胞外基质受体相互作用、蛋白质分泌、Toll 样受体 (toll-like receptors, TLRs) 信号通路、糖胺聚糖生物合成硫酸软骨素这些功能或通路表达明显上调，而缬氨酸亮氨酸和异亮氨酸降解、过氧化物酶体、甘油磷脂代谢、丙酮酸代谢、近端肾小管管壁碳酸化、肌醇磷酸代谢、年青的成年发病型糖尿病、味觉转导、丁酸酯代谢、萜类主链生物合成这些功或能通路在 *ANXA5* 高表达组明显下调，具有明显差异，见图 6-C。CIBERSORT

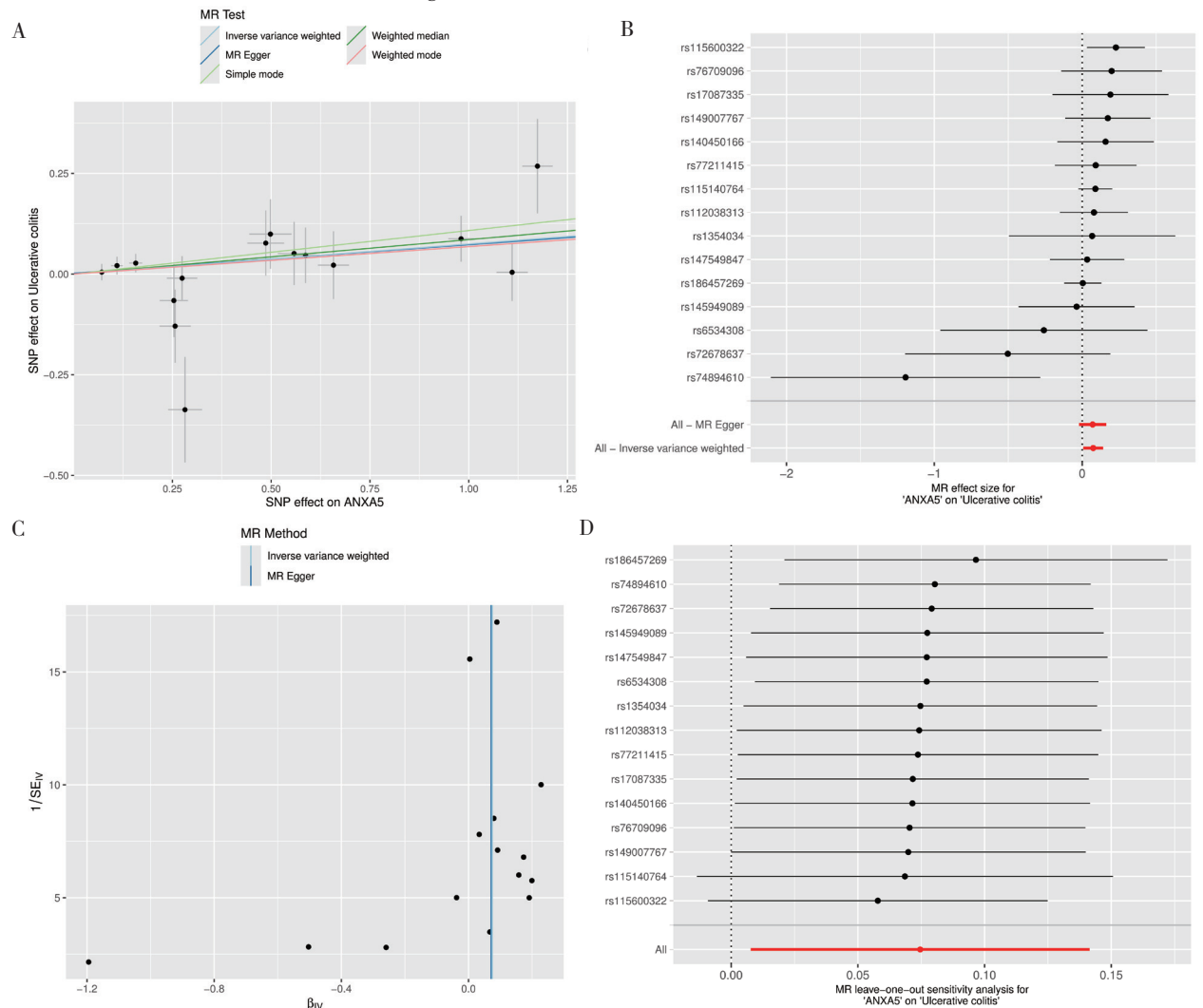


图5 孟德尔随机化分析结果

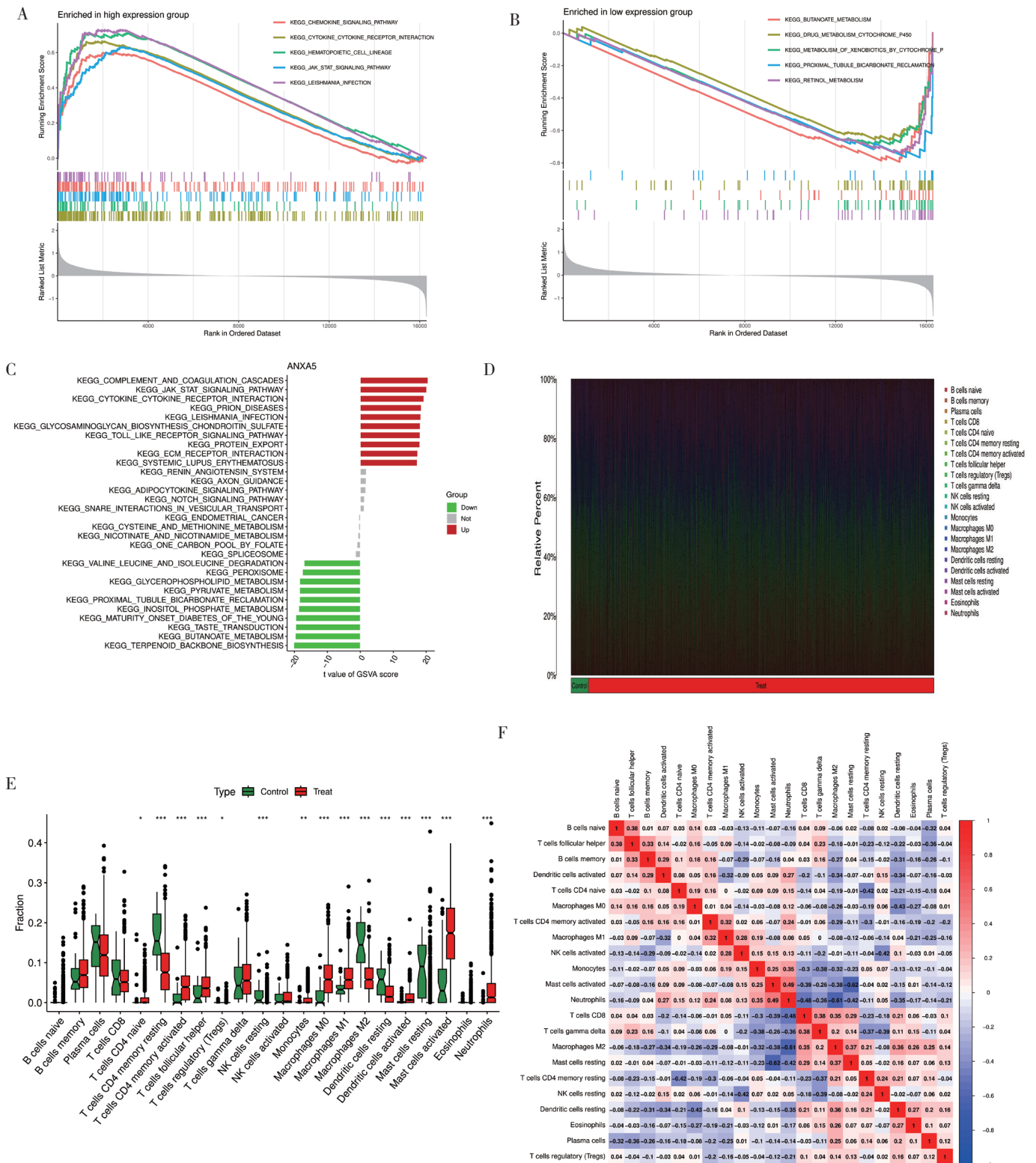
Figure 5. Results of Mendelian randomization analysis

注：A. 散点图；B. 森林图；C. 漏斗图；D. 留一法敏感性分析。

<https://slyyx.whuznhmedj.com/>

免疫细胞浸润分析得出免疫细胞表达柱状图(图 6-D),可以观察各样本免疫细胞的组成;得到箱线图(图 6-E),可以看出中性粒细胞、激活的肥大细胞、静止肥大细胞、静止树突状细胞、M2 巨噬细胞等在实验组和对照组中表达存在差异;得到免疫细胞相关性图(图 6-F),可观察到各免疫细胞

与其他免疫细胞的正负相关性。同时进行目标基因 *ANXA5* 与各免疫细胞间的相关性分析,发现目标基因 *ANXA5* 对中性粒细胞、活化肥大细胞等具有正调控作用,对 M2 巨噬细胞、静止树突状细胞等具有负调控作用,见图 6-G;并得出各免疫细胞间关系及与目标基因 *ANXA5* 间的调控关系,见图 6-H。



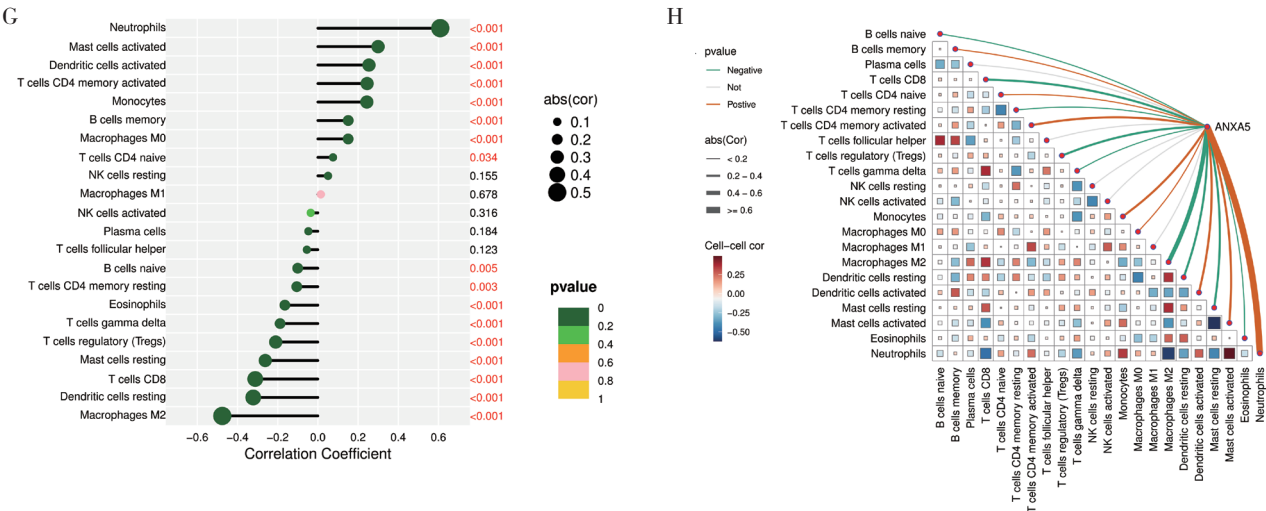


图6 基因集分析和免疫细胞相关分析

Figure 6. Gene set analysis and immune cell correlation analysis

注: A. *ANXA5*高表达组基因富集分析; B. *ANXA5*低表达组基因富集分析; C. *ANXA5*基因集变异分析; D. 免疫细胞表达柱状图; E. 免疫细胞表达箱线图; F. 免疫细胞表达相关性; G. *ANXA5*与各免疫细胞间相关性; H. *ANXA5*与各免疫细胞的调控关系。

2.7 ceRNA调控网络

预测与目标基因表达相关的 miRNA 为 miR-802、miR-335-3p、miR-590-3p, 与 miRNA 表达相关的 lncRNA 是 CTA-414D7.1、SLC8A1-AS1、LINC00240、CTA-392E5.1、AC005614.3、RP11-146D12.2、RP11-335L23.4、RP11-762H8.4、AC006548.28、LINC01122、AC093639.1、RP11-96K19.4、CTD-2561J22.5、LA16c-60D12.2、RP11-638L3.1, 并构建 ceRNA 调控网络, 见图 7。

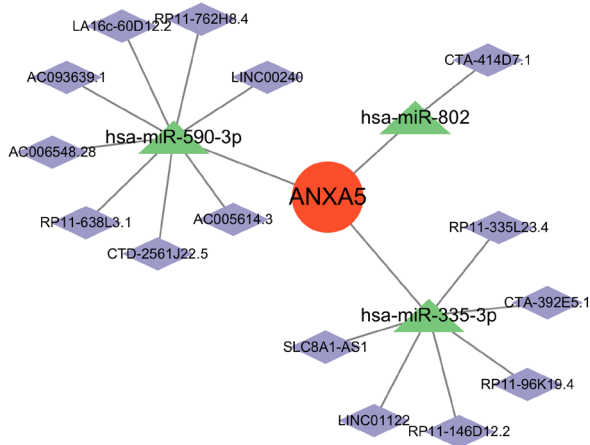


图7 ceRNA调控网络图

Figure 7. Diagram of ceRNA regulatory network

3 讨论

IEC 作为肠粘膜屏障的主要成分, 其损伤可能在 UC 发病过程中起决定性作用^[6]。IEC 包括微折叠 M 细胞、肠内分泌细胞、肠上皮吸收细胞、杯状细胞和帕内斯细胞, 可对各种类型的免疫细胞作出反应, 并调节上皮屏障功能和肠道微生物群^[7]。持续和严重的 ERS 通过 IEC 中的未折叠蛋白反应引发自噬而导致肠道炎症反应, 过量的 ERS 也会破坏肠道粘膜屏障并最终导致 UC^[8]。因此, 探究 UC 发病过程中潜在的生物标志物, 为治疗过程中提供新的靶点极为重要, 对后续临床诊断及治疗 UC 意义深远。

本研究差异基因 GO 分析结果显示, ERS 相关基因主要参与的生化过程包括对 ERS 的反应、对 ERS 反应的调控、ERS 反应中的内在凋亡信号通路等, ERS 相关基因可能通过这些生化过程参与肠道炎症反应过程。ERS 相关基因主要参与的分子组成包括内质网腔、内质网蛋白复合物、内质网伴侣复合体、内吞囊泡等, ERS 相关基因主要参与的分子功能为肽结合、抗氧化活动、错误折叠蛋白的结合、酰胺结合、过氧化物酶活动等; ERS 是由 ER 中未折叠和错误折叠蛋白质的积累驱动的^[9], 因而 ERS 相关基因参与的分子组成和功能可能与未折叠和错误折叠蛋白质的生成或降解相关。ERS 除了与心肌缺血再灌注损伤、衰老、

骨质疏松、肝硬化、肿瘤相关外,还与阿尔兹海默病、糖尿病、感染性疾病、动脉粥样硬化等多种疾病相关^[10-11]。本研究 KEGG 结果中 ERS 相关基因主要富集条目为脂质与动脉粥样硬化、流体剪切应力与动脉粥样硬化、疟疾、类风湿性关节炎、非酒精性脂肪肝、炎症性肠病、疱疹病毒感染相关卡波西肉瘤、百日咳、麻疹、神经退行性病变等,与既往研究结果一致^[12-13],并为上述疾病治疗提供新的思路。

孟德尔随机化分析结果显示, *ANXA5* 基因表达水平的升高增加了 UC 的发病风险。来自不同分析平台、不同实验、不同人群的工具变量可能存在异质性而影响随机化分析结果,但本研究异质性检验结果提示不存在异质性,结果较可靠。多效性检验 P 值大于 0.05,表明数据不存在明显多效性。有研究表明, *ANXA5* 为 UC 的诊断基因,其与免疫浸润密切相关^[14]。葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠炎小鼠实验证实, *ANXA5* 的表达主要在肠道巨噬细胞中增加,并与 M2 巨噬细胞呈强负相关,这表明其可能对 UC 患者巨噬细胞的极化产生影响^[15]。巨噬细胞是一种先天性免疫细胞,大部分来源于单核细胞^[16]。单核细胞可能不是巨噬细胞的唯一来源,肠道巨噬细胞来源于肠道内常驻的巨噬细胞。巨噬细胞能分泌细胞因子^[17]、清除细胞碎片^[18]、杀死病原体^[19],并参与炎症反应^[20]、组织修复^[21]、血管生成^[22]等。肠道炎症发生时,炎症单核细胞迁移至肠道并分化为树突状细胞和炎症巨噬细胞,可产生多种参与炎症反应的细胞因子^[23]。炎症巨噬细胞通常被激活为 M1 表型,而驻留巨噬细胞通常被激活为 M2 表型。这一过程受多种复杂因素影响,称为极化。巨噬细胞的极化是动态的,在一定条件下可以逆转。极化的巨噬细胞主要由经典的 M1 途径激活和 M2 旁路途径激活^[24]。在 UC 活动期,肠壁固有层内的巨噬细胞多为 M1 表型, M1 分解紧密连接蛋白,破坏上皮屏障,诱导上皮细胞凋亡,导致过度炎症^[25],其中 M1 在肠道炎症中起主要作用, M2 起拮抗作用,消除炎症,促进组织愈合。研究证实,增加 M2 的比例可减轻小鼠的结肠炎症状^[26]。而本研究免疫细胞浸润分析得出静止树突状细胞、 M2 巨噬细胞等在实验组和对照组中表达存在差异;目标基因 *ANXA5* 可以负调控 M2 巨噬细胞、静止树突状细胞等; *ANXA5* 可能通过下调 M2 巨

噬细胞增加 UC 发病风险。

GSVA 结果显示, *ANXA5* 基因高表达组中 JAK-STAT 通路表达明显上调。促炎细胞因子如白细胞介素-12、白细胞介素-23 和白细胞介素-6 通过激活 JAK-STAT 途径,在 UC 发病机制中发挥关键作用。白细胞介素-12 和白细胞介素-23 分别通过 JAK2 和酪氨酸激酶 2 激活 STAT3 和 STAT4,而白细胞介素-6 通过 JAK1/2 和酪氨酸激酶 2 激活 STAT3,从而加重肠道炎症反应^[27-28]。作用于 JAK/STAT 信号通路的药物已被研发,如托法替尼、培非替尼、巴里西替尼、阿布罗西替尼、依他西替尼、非戈替尼、乌帕西替尼等^[29]。与生物制剂不同,这些药物可以口服给药,不具备免疫原性^[30]。相关临床试验已着手评估托法替尼、佩非替尼、伊替替尼对活动性 UC 患者的诱导和维持治疗效果^[31-33],本研究也为 JAK/STAT 通路抑制剂治疗 UC 提供了理论依据。

早期诊断 UC 可更精准地进行药物治疗并预防并发症,目前结肠镜检查是诊断 UC 的金标准,然而,结肠镜检查具有侵入性,给患者带来较大的身体和经济负担,并伴有肠穿孔和死亡等严重并发症^[34-35]。研究发现, miRNA 在细胞外以微泡、外泌体或凋亡小泡的形式存在,具有较高的稳定性,有望成为 UC 新的诊断标志物^[36]。现已发现一些 miRNA 能够调控 UC 的致癌作用,如 miRNA-301a 通过靶向 SNIP1 和 BTG1 促进 Th17 分化,降低 cadherin-1 表达,破坏肠道屏障功能;而敲除 miRNA-301a 可减轻炎症,抑制肿瘤发生^[37]。本研究中预测与目标基因 *ANXA5* 表达相关的 miRNA 可能成为 UC 诊断的标志物,或作为 UC 治疗的靶点,对 UC 未来的诊断和治疗提供新的思路。

本研究利用生物信息学方法对溃疡性结肠炎 ERS 相关基因及其调控的免疫细胞进行分析,预测了 ERS 相关基因 *ANXA5* 增加 UC 发病风险,筛选出的 miRNA、lncRNA 或可作为 UC 的生物标志物,为 UC 的诊断、治疗干预手段提供新思路。由于数据选择和分析技术的局限性,未来有待实验进一步验证所预测基因和通路正确性。

参考文献

- 1 吴钟琪. 溃疡性结肠炎[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2022, 29(10): 14-15. [Wu ZQ. Ulcerative colitis[J]. Chinese Practical Journal of Rural Doctors, 2022, 29(10):

- 14–15.] DOI: [10.3969/j.issn.1672-7185.2022.10.07](https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-7185.2022.10.07).
- 2 罗瑞丽, 霍丽娟, 张婕, 等. 溃疡性结肠炎病因的 Meta 分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2015, 36(12): 1419–1423. [Luo RL, Huo LJ, Zhang J, et al. Meta-analysis on causes of ulcerative colitis[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2015, 36(12): 1419–1423.] DOI: [10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.12.023](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.12.023).
- 3 Grootjans J, Kaser A, Kaufman RJ, et al. The unfolded protein response in immunity and inflammation[J]. Nat Rev Immunol, 2016, 16(8): 469–484. DOI: [10.1038/nri.2016.62](https://doi.org/10.1038/nri.2016.62).
- 4 Qiao D, Zhang Z, Zhang Y, et al. Regulation of endoplasmic reticulum stress-autophagy: a potential therapeutic target for ulcerative colitis[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 697360. DOI: [10.3389/fphar.2021.697360](https://doi.org/10.3389/fphar.2021.697360).
- 5 Zhang Z, Qiao Y, Ji J, et al. The potential role of differentially expressed tRNA-derived fragments in high glucose-induced podocytes[J]. Ren Fail, 2024, 46(1): 2318413. DOI: [10.1080/0886022X.2024.2318413](https://doi.org/10.1080/0886022X.2024.2318413).
- 6 Ren MT, Gu ML, Zhou XX, et al. Sirtuin 1 alleviates endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis of intestinal epithelial cells in ulcerative colitis[J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(38): 5800–5813. DOI: [10.3748/wjg.v25.i38.5800](https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i38.5800).
- 7 Okumura R, Takeda K. Roles of intestinal epithelial cells in the maintenance of gut homeostasis[J]. Exp Mol Med, 2017, 49(5): e338. DOI: [10.1038/emm.2017.20](https://doi.org/10.1038/emm.2017.20).
- 8 Chen SL, Li CM, Li W, et al. How autophagy, a potential therapeutic target, regulates intestinal inflammation[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1087677. DOI: [10.3389/fimmu.2023.1087677](https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1087677).
- 9 Liu X, Green RM. Endoplasmic reticulum stress and liver diseases[J]. Liver Res, 2019, 3(1): 55–64. DOI: [10.1016/j.livres.2019.01.002](https://doi.org/10.1016/j.livres.2019.01.002).
- 10 刘馨君, 商迎辉, 黄汉昌, 等. 阿尔茨海默病神经元中内质网应激功能的研究进展 [J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(19): 4917–4922. [Liu XJ, Shang YH, Huang HC, et al. Research progress on endoplasmic reticulum stress function in Alzheimer's disease neurons[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2016, 36(19): 4917–4922.] DOI: [10.3969/j.issn.1005-9202.2016.19.117](https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-9202.2016.19.117).
- 11 叶勇, 赵海霞, 张长城. 内质网应激的信号通路及其与细胞凋亡相关疾病关系的研究进展 [J]. 山东医药, 2019, 59(17): 98–101. [Ye Y, Zhao HX, Zhang CC. Research progress on the signaling pathway of endoplasmic reticulum stress and its relationship with apoptosis related diseases[J]. Shandong Medical Journal, 2019, 59(17): 98–101.] DOI: [10.3969/j.issn.1002-266X.2019.17.028](https://doi.org/10.3969/j.issn.1002-266X.2019.17.028).
- 12 Oakes SA, Papa FR. The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology[J]. Annu Rev Pathol, 2015, 10: 173–194. DOI: [10.1146/annurev-pathol-012513-104649](https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-012513-104649).
- 13 Wang S, Kaufman RJ. The impact of the unfolded protein response on human disease[J]. J Cell Biol, 2012, 197(7): 857–867. DOI: [10.1083/jcb.201110131](https://doi.org/10.1083/jcb.201110131).
- 14 Deng B, Liao F, Liu Y, et al. Comprehensive analysis of endoplasmic reticulum stress-associated genes signature of ulcerative colitis[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1158648. DOI: [10.3389/fimmu.2023.1158648](https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1158648).
- 15 Hua R, Qiao G, Chen G, et al. Single-cell RNA-sequencing analysis of colonic lamina propria immune cells reveals the key immune cell-related genes of ulcerative colitis[J]. J Inflamm Res, 2023, 16: 5171–5188. DOI: [10.2147/JIR.S440076](https://doi.org/10.2147/JIR.S440076).
- 16 Güç E, Pollard JW. Redefining macrophage and neutrophil biology in the metastatic cascade[J]. Immunity, 2021, 54(5): 885–902. DOI: [10.1016/j.immuni.2021.03.022](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.03.022).
- 17 Park SH, Kang K, Giannopoulou E, et al. Type I interferons and the cytokine TNF cooperatively reprogram the macrophage epigenome to promote inflammatory activation[J]. Nat Immunol, 2017, 18(10): 1104–1116. DOI: [10.1038/ni.3818](https://doi.org/10.1038/ni.3818).
- 18 Wei Y, Wang M, Ma Y, et al. Classical dichotomy of macrophages and alternative activation models proposed with technological progress[J]. Biomed Res Int, 2021, 2021: 9910596. DOI: [10.1155/2021/9910596](https://doi.org/10.1155/2021/9910596).
- 19 Subramanian Vignesh K, Landero Figueroa JA, Porollo A, et al. Granulocyte macrophage-colony stimulating factor induced Zn sequestration enhances macrophage superoxide and limits intracellular pathogen survival[J]. Immunity, 2013, 39(4): 697–710. DOI: [10.1016/j.immuni.2013.09.006](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.09.006).
- 20 Virga F, Cappellesso F, Stijlemans B, et al. Macrophage miR-210 induction and metabolic reprogramming in response to pathogen interaction boost life-threatening inflammation[J]. Sci Adv, 2021, 7(19): eabf0466. DOI: [10.1126/sciadv.abf0466](https://doi.org/10.1126/sciadv.abf0466).

- 21 Hoeffel G, Debroas G, Roger A, et al. Sensory neuron-derived TAFA4 promotes macrophage tissue repair functions[J]. *Nature*, 2021, 594(7861): 94–99. DOI: [10.1038/s41586-021-03563-7](https://doi.org/10.1038/s41586-021-03563-7).
- 22 Qiu S, Xie L, Lu C, et al. Gastric cancer-derived exosomal miR-519a-3p promotes liver metastasis by inducing intrahepatic M2-like macrophage-mediated angiogenesis[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 296. DOI: [10.1186/s13046-022-02499-8](https://doi.org/10.1186/s13046-022-02499-8).
- 23 Mowat AM, Bain CC. Mucosal macrophages in intestinal homeostasis and inflammation[J]. *J Innate Immun*, 2011, 3(6): 550–564. DOI: [10.1159/000329099](https://doi.org/10.1159/000329099).
- 24 Li B, Liu F, Ye J, et al. Regulation of macrophage polarization through periodic photo-thermal treatment to facilitate osteogenesis[J]. *Small*, 2022, 18(38): e2202691. DOI: [10.1002/smll.202202691](https://doi.org/10.1002/smll.202202691).
- 25 Lissner D, Schumann M, Batra A, et al. Monocyte and M1 macrophage-induced barrier defect contributes to chronic intestinal inflammation in IBD[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2015, 21(6): 1297–1305. DOI: [10.1097/MIB.0000000000000384](https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000384).
- 26 Kim W, Jang JH, Zhong X, et al. 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J2 promotes resolution of experimentally induced colitis[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 615803. DOI: [10.3389/fimmu.2021.615803](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.615803).
- 27 Mudter J, Neurath MF. IL-6 signaling in inflammatory bowel disease: pathophysiological role and clinical relevance[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2007, 13(8): 1016–1023. DOI: [10.1002/ibd.20148](https://doi.org/10.1002/ibd.20148).
- 28 Uhlig HH, McKenzie BS, Hue S, et al. Differential activity of IL-12 and IL-23 in mucosal and systemic innate immune pathology[J]. *Immunity*, 2006, 25(2): 309–318. DOI: [10.1016/j.immuni.2006.05.017](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2006.05.017).
- 29 Banerjee S, Biehl A, Gadina M, et al. JAK-STAT signaling as a target for inflammatory and autoimmune diseases: current and future prospects[J]. *Drugs*, 2017, 77(8): 939. DOI: [10.1007/s40265-017-0736-y](https://doi.org/10.1007/s40265-017-0736-y).
- 30 Ishizaki M, Muromoto R, Akimoto T, et al. Tyk2 is a therapeutic target for psoriasis-like skin inflammation[J]. *Int Immunol*, 2014, 26(5): 257–267. DOI: [10.1093/intimm/dxt062](https://doi.org/10.1093/intimm/dxt062).
- 31 Sandborn WJ, Ghosh S, Panes J, et al. Tofacitinib, an oral Janus kinase inhibitor, in active ulcerative colitis[J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(7): 616–624. DOI: [10.1056/NEJMoa1112168](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1112168).
- 32 Sands BE, Sandborn WJ, Feagan BG, et al. Peficitinib, an oral Janus kinase inhibitor, in moderate-to-severe ulcerative colitis: results from a randomised, phase 2 study[J]. *J Crohns Colitis*, 2018, 12(10): 1158–1169. DOI: [10.1093/ecco-jcc/jjy085](https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjy085).
- 33 Zeidan AM, Cook RJ, Bordoni R, et al. A phase 1/2 study of the oral Janus kinase 1 inhibitors INCB052793 and itacitinib alone or in combination with standard therapies for advanced hematologic malignancies[J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2022, 22(7): 523–534. DOI: [10.1016/j.clml.2022.01.012](https://doi.org/10.1016/j.clml.2022.01.012).
- 34 Borgaonkar MR, Pace D, Loughheed M, et al. Canadian association of gastroenterology indicators of safety compromise following colonoscopy in clinical practice[J]. *Can J Gastroenterol Hepatol*, 2016, 2016: 2729871. DOI: [10.1155/2016/2729871](https://doi.org/10.1155/2016/2729871).
- 35 Steinbrück I, Pohl J, Grothaus J, et al. Characteristics and endoscopic treatment of interventional and non-interventional iatrogenic colorectal perforations in centers with high endoscopic expertise: a retrospective multicenter study[J]. *Surg Endosc*, 2023, 37(6): 4370–4380. DOI: [10.1007/s00464-023-09920-z](https://doi.org/10.1007/s00464-023-09920-z).
- 36 Zhou J, Liu J, Gao Y, et al. miRNA-based potential biomarkers and new molecular insights in ulcerative colitis[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 707776. DOI: [10.3389/fphar.2021.707776](https://doi.org/10.3389/fphar.2021.707776).
- 37 Hou J, Hu X, Chen B, et al. miR-155 targets Est-1 and induces ulcerative colitis via the IL-23/17/6-mediated Th17 pathway[J]. *Pathol Res Pract*, 2017, 213(10): 1289–1295. DOI: [10.1016/j.prp.2017.08.001](https://doi.org/10.1016/j.prp.2017.08.001).

收稿日期: 2024 年 06 月 17 日 修回日期: 2024 年 10 月 06 日
本文编辑: 张 苗 黄 笛

引用本文: 刘鹏, 赵林, 李志远, 等. 溃疡性结肠炎内质网应激相关基因的综合分析[J]. 数理医药学杂志, 2024, 37(10): 722–733. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202406093](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202406093).
Liu P, Zhao L, Li ZY, et al. Comprehensive analysis of endoplasmic reticulum stress-associated genes of ulcerative colitis[J]. *Journal of Mathematical Medicine*, 2024, 37(10): 722–733. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202406093](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202406093).