DOI: 10.14188/j.1671-8852.2023.0697　　**文章编号** 1671-8852(2025)01-0027-09

基于生物信息学分析预测和验证实验性自身免疫性心肌炎的关键基因

刘　鑫　朱浩彦　吴嘉贺　鲁志兵
武汉大学中南医院心血管内科/武汉大学心肌损伤与修复研究所　湖北　武汉　430071

摘要　目的：研究实验性自身免疫性心肌炎（EAM）的分子机制，确定EAM的新生物标记物和靶点，为心肌炎的诊断和治疗提供新的见解。方法：通过差异表达分析GEO数据库中EAM相关数据集GSE155423，筛选出差异表达基因（DEGs）。利用STRING数据库构建蛋白相互作用（PPI）网络。利用Cytohubba筛选出枢纽基因。利用支持向量机-递归特征消除（SVM-RFE）和随机森林（RF）机器学习算法筛选枢纽基因中的关键基因。最后，这些枢纽基因在脂多糖（LPS）诱导的心肌损伤模型中得到了进一步验证。结果：在GSE155423中确定9个枢纽基因。进一步发现了两个关键基因：*Cxcl9*和*Cxcl10*。通过实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应和蛋白质印迹分析验证了*Cxcl10*在LPS诱导的心肌损伤模型中的高表达。结论：*Itgax*、*Ccl5*、*Cxcl10*、*Ifng*、*Csf2*、*Cxcl9*、*Il6*、*Foxp3*和*Il1b*与EAM的发生发展密切相关。*Cxcl10*基因可能是EAM发生机制中的一个关键靶点。

关键词　实验性自身免疫性心肌炎；枢纽基因；生物标志物；机器学习
中图分类号　R54
文献标识码　A　　**开放科学（资源服务）标识码（OSID）：**

Identification and validation of crucial genes in experimental autoimmune myocarditis using bioinformatics analysis

LIU Xin, ZHU Haoyan, WU Jiahe, LU Zhibing
Dept. of Cardiovascular Medicine, Zhongnan Hospital of Wuhan University & Institute of Myocardial Injury and Repair, Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei, China

Abstract

Objective: To investigate the molecular mechanisms of experimental autoimmune myocarditis (EAM), identify new biomarkers and targets for EAM, and provide new insights into myocarditis diagnosis and treatment. **Methods:** Through differential expression analysis of the EAM-related dataset GSE155423 from the gene expression omnibus (GEO) database, we identified differentially expressed genes (DEGs). A protein-protein interaction (PPI) network was constructed using the STRING database. Hub genes were selected using Cytohubba. Feature genes within the Hub genes were further screened using the support vector machine-recursive feature elimination (SVM-RFE) and random forest (RF) machine learning algorithms. Finally, these hub genes were validated in an lipopolysaccharide-induced myocardial injury model. **Results:** A total of nine hub genes were identified in GSE155423. Furthermore, the feature genes *Cxcl9* and *Cxcl10* were discovered. The high ex-

课题来源：国家自然科学基金资助项目（编号：82070425）
作者简介：刘鑫，女，1996—，医学硕士，主要从事心肌炎与心律失常的研究，E-mail: liuxin_lll@whu.edu.cn
通信作者：鲁志兵，男，1981—，医学博士，教授，博士生导师，主要从事心脏电生理与心律失常的研究，E-mail:luzhibing222@163.com

pression of *Cxcl*10 in the LPS-induced myocardial injury model was validated through qPCR and Western Blot. **Conclusion:** *Itgax*, *Ccl*5, *Cxcl*10, *Ifng*, *Csf*2, *Cxcl*9, *Il*6, *Foxp*3, and *Il*1b are closely associated with the occurrence and development of EAM. The gene *Cxcl10* may serve as a key target in the underlying mechanisms of EAM development.

Key Words Experimental Autoimmune Myocarditis; Hub Genes; Biomarker; Machine Learning

据世界心脏联盟估计,全世界每年约有40万人死于炎症性心脏病[1]。流行病学尸检调查发现,心肌炎是导致意外和猝死的一个重要因素[2]。心肌炎由多种原因引起,包括病毒和细菌感染、接触毒素、药物反应和自身免疫性疾病。心肌炎的病理生理机制既包括病原体造成的直接损害,也包括随后的免疫反应造成的组织损伤。最近的研究强调了自身免疫介导的心脏损伤在心肌炎发病中的重要作用[3]。因此,有必要探索自身免疫异常引起心肌炎的机制,并在支持性治疗的同时开发有效的治疗方法。

实验性自身免疫性心肌炎(experimental autoimmune myocarditis,EAM)模型通常用于探索心肌炎和炎症性心肌病的病理生理机制。皮下注射心肌球蛋白重链后,易感小鼠会出现由$CD4^+$ T细胞介导的心肌炎症[4]。体外细胞实验也可通过LPS刺激来产生EAM细胞模型[5]。EAM和心肌炎的发病机制涉及先天性免疫反应和适应性免疫反应的多个方面,然而,EAM的发病机制仍不清楚。

在本研究中,我们对EAM相关数据集GSE155423进行挖掘,从高维的转录组基因表达数据中提取相关信息,找到差异表达基因(differentially expressed genes,DEGs),利用Cytoscape软件的Cytohubba插件构建了DEGs的蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction,PPI)网络,并进一步确定了枢纽基因。利用在线miRNA预测网站构建了枢纽基因的miRNA-mRNA网络。然后采用机器学习算法来识别枢纽基因中的关键基因。最后,在脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)诱导的HL-1小鼠心肌细胞炎症模型中验证了这些关键基因的表达。

1 资料与方法

1.1 数据来源 EAM相关数据集GSE155423来自基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus,GEO)(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)。GSE155423数据集基于GPL21103平台,包括12个EAM小鼠的心脏组织样本和12个对照组小鼠的心脏组织样本。EAM组小鼠分别在0 d和7 d时注射200 μL短链脂肪酸(SCFA)和100 μL α-MyHc肽;对照组小鼠分别在0 d和7 d时注射200 μL SCFA和100 μL PBS。

1.2 差异表达分析 使用网络分析工具GEO2R(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/)对GSE155423数据集进行差异表达分析。DEGs的鉴定基于以下筛选标准:调整后的$P<0.05$且$|\log_2(\text{Fold Change, FC})|>4$。DEGs的火山图和热图由在线生物信息学分析平台Sanger Box 3.0(http://www.sangerbox.com)生成。

1.3 功能和通路富集分析 通过基因本体(gene ontology,GO)注释[6]和京都基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)通路富集分析[7],使用R软件包"clusterProfiler"评估与DEGs相关的功能和通路。$P<0.05$的通路被认为具有显著性。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用网络和DEGs的枢纽基因 利用在线网站STRING(https://www.string-db.org,11.5版)构建了DEGs的PPI网络,并使用Cytoscape软件(3.9.1版)将PPI网络可视化。采用Cytoscape软件Cytohubba插件中的MCC、MNC和Degree三种算法筛选DEGs中的关键基因;从这三种算法结果的交集中得到的基因被确定为枢纽基因。

1.5 EAM中枢纽基因的表达模式 EAM相关数据集GSE155423中枢纽基因的表达趋势通过箱图显示;利用STRING网站构建了枢纽基因间的PPI网络。此外,还对GSE155423中的枢纽基因进行了Pearson相关分析。最后,为了探索枢纽基因的生物学功能,还进行了GO注释和KEGG通路分析。

1.6 构建枢纽基因的miRNA-mRNA网络 在线网站TargetScan[8](version 8.0;http://targetscan.org)和miRDB[9](http://mirdb.org)被用来预测靶向和调控枢纽基因的miRNA。这两个网站共同预测的miRNA被认为是靶向枢纽基因。最后,使用

Cytoscape 软件将 miRNA-mRNA 网络可视化。

1.7　利用机器学习算法识别关键基因　采用随机森林（random forest，RF）[10]、支持向量机-递归特征消除（support vector machine-recursive feature elimination，SVM-RFE）[11]等两种机器学习算法筛选枢纽基因中的关键基因。利用 R 软件包“randomForest”构建了 GES155423 数据集的随机森林模型，以进一步筛选枢纽基因中的关键基因。在该模型中，选择误差率最小的分支，然后将该分支中重要度大于 2 的基因确定为关键基因。接下来，使用 R 软件包“e1071”在 GSE155423 数据集中执行 SVM-RFE 算法。该算法通过构建 SVM 模型并去除冗余特征，在枢纽基因中选择关键基因。最后，关键基因由两种机器学习算法筛选出的基因相交所得。

1.8　心肌细胞系的培养和处理　小鼠 HL-1 心肌细胞系购自 BeNa Culture Collection（中国北京）。HL-1 细胞系在含有 Dulbecco′s Modified Eagle Medium（DMEM，Gibco，美国）、10% 胎牛血清（FBS，Gibco，美国）和 1% 青霉素-链霉素（Sigma，美国）的完全培养基中培养，培养条件为 37 ℃、5% CO_2。当 HL-1 细胞在 T25 细胞培养瓶中达到 80% 的融合度时进行传代。为了在体外模拟 EAM，在完全培养基中分别加入 1、2.5、5、7.5 和 10 μg/mL 浓度的脂多糖（LPS，Sigma，美国），培养 24 h 以诱导炎症。对照组用等体积的 PBS 培养 24 h。

1.9　细胞活力检测　细胞活力通过细胞计数试剂盒-8（CCK-8，中国碧云天公司）进行评估。在 96 孔板中以每孔 10^5 个细胞的密度接种细胞，每孔含 100 μL 完全培养基。用不同梯度浓度（1、2.5、5、7.5、10 μg/mL）的 LPS 处理细胞 24 h。然后，在每个孔中加入 10 μL CCK-8 溶液，再培养 2 h。最后，使用微孔板酶标仪（PerkinElmer，芬兰）在 450 nm 波长下测量各孔的光密度（optical density，*OD*）值，根据 *OD* 值绘制细胞活性直方图。

1.10　实时定量聚合酶链反应　使用 FastPure 细胞/组织总 RNA 分离试剂盒 V2（Vazyme，中国南京）提取总 RNA。使用 Bio-Rad CFX96 Real-time PCR 检测系统和 Hieff UNICON Universal Blue qPCR SYBR Green Master Mix（上海翌圣生物科技有限公司）进行 qRT-PCR 检测。以 β-肌动蛋白为参考基因。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法处理获得的 Ct 值，计算相对表达变化。附表 S1 包括所有引物的详细信息（手机扫描本文 OSID 二维码可见）。每组数据以 3 次独立实验的均数表示。使用独立样本 *t* 检验比较对照组和 LPS 诱导组基因表达的差异。$P<0.05$ 的基因被认为具有统计学意义。

1.11　Western Blot 蛋白定量检测　用 PBS 洗涤细胞，然后在冰上用裂解缓冲液孵育 30 min，将细胞刮下并收获。离心后，收集含有裂解物的上清液并储存在 −80 ℃。通过 BCA 检测试剂盒（美国 Bio-Rad 公司）测定蛋白质浓度。将蛋白质样品变性，随后通过 SDS-PAGE 分离，并转移到 PVDF 膜（瑞士 Roche Life Sciences 公司）上。在 5% 脱脂牛奶中孵育 2 h 后，使用 CXCL10（中国武汉爱博泰克生物科技有限公司）、GAPDH（中国武汉爱博泰克生物科技有限公司）抗体均以 1∶2 000 稀释度使用。洗涤 3 次后，将膜与山羊抗小鼠或抗兔 HRP 偶联二抗（美国 Cell Signaling Technology 公司）一起孵育。通过 ECL 检测试剂盒（美国 Pierce Biotechnology 公司）检测信号。每组数据以 3 次独立实验的平均值表示。使用独立样本 *t* 检验比较对照组和 LPS 诱导组基因表达的差异，$P<0.05$ 的基因被认为具有统计学意义。

2　结果

2.1　实验性自身免疫性心肌炎中 DEGs 和关键通路的识别　在 EAM 相关数据集 GSE155423 中，根据 adjust. $P<0.05$ 和 $|\log_2 FC|>4$ 的标准共筛选出 225 个 DEGs，这些 DEGs 在 EAM 组中全部上调。DEGs 的表达模式分别用火山图和热图表示；热图显示了前 100 个 DEGs（图 1A、1B）。KEGG 通路分析表明，这些 DEGs 主要参与了“细胞因子-细胞因子受体相互作用”“类风湿性关节炎”“病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体相互作用”“阿米巴病”和“造血细胞系”（图 1C）。GO 注释分别显示了每个类别的前 5 个通路（图 1D）。在生物过程（BP）中，这些 DEGs 主要富集在“免疫反应”“免疫系统过程”“中性粒细胞趋化”和“细胞对脂多糖的反应”中。在细胞成分（CC）中，它们富集于“细胞外区域”“质膜外侧”“细胞表面”和“质膜”。在分子功能（molecular function，MF）中，它们富集于“细胞因子活性”“趋化因子活性”“碳水化合物结合”“CXCR 趋化因子受体结合”和“信号受体活性”。有关 DEGs 相关途径的信息见附表 S2（手机扫描本文 OSID 二维码可见）。

2.2　构建 PPI 网络和识别枢纽基因　利用 STRING 网站构建了 DEGs 的 PPI 网络。剔除与其

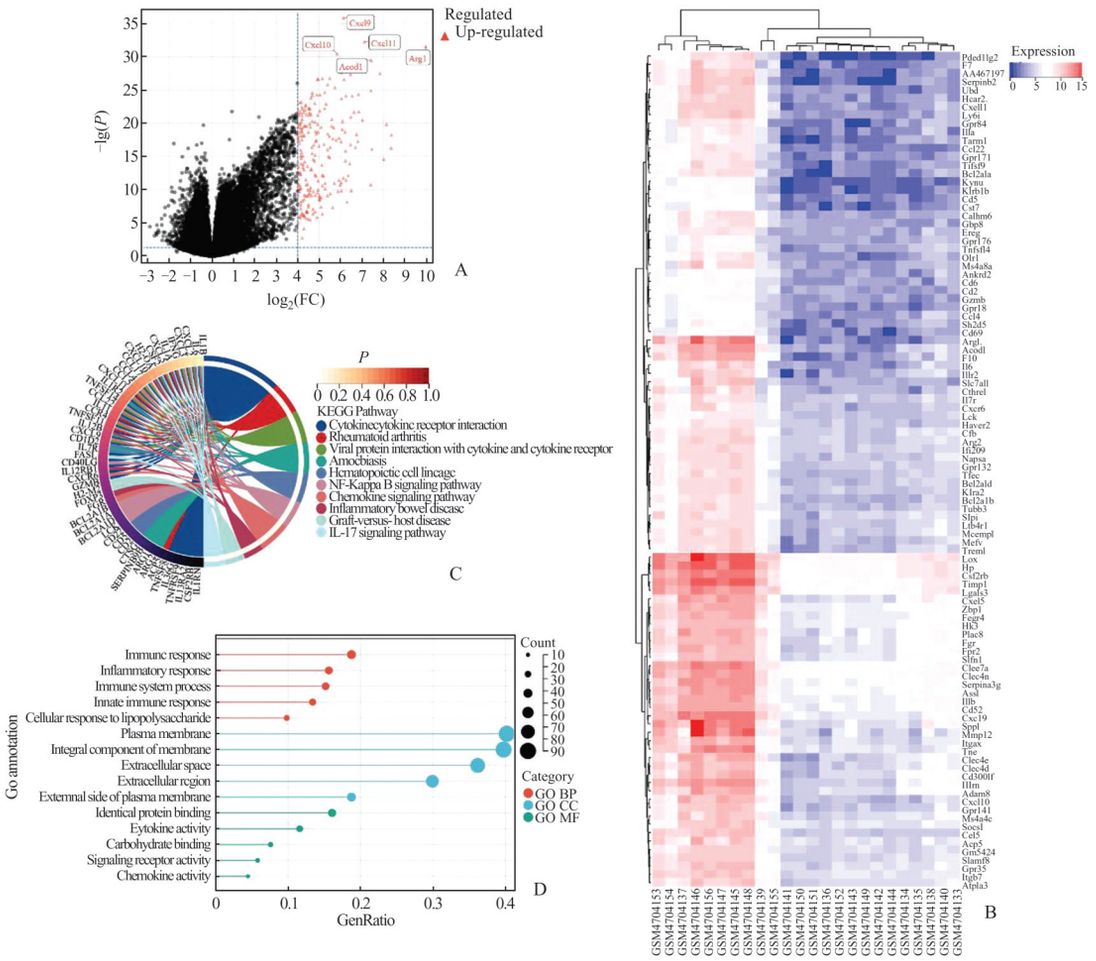


图1 EAM中的DEGs和关键通路的确定

A. GSE155423的火山图;B. GSE155423中DEGs的热图;C. DEGs的KEGG通路富集分析圆图(TOP10);D. DEGs的GO注释气泡图(BP、CC和MF;TOP10)

他基因没有相互作用的基因后,生成了一个有161个节点和1 205条边的PPI网络(图2A)。在PPI网络中,离中心越近的基因代表与其他基因的相互作用程度越高,颜色越深的基因代表在EAM组中的表达水平越高。通过Cytohubba插件中的MCC、MNC和Degree算法的联合选择确定的基因被认定为枢纽基因(图2B~2D)。枢纽基因包括*Itgax*、*Ccl5*、*Cxcl10*、*Ifng*、*Csf2*、*Cxcl9*、*Il6*、*Foxp3*和*Il1b*。

2.3 EAM中枢纽基因的表达模式 图3A显示了EAM组和对照组枢纽基因的表达差异,所有枢纽基因在EAM组中都高表达。构建了一个有9个节点和36条边的枢纽基因PPI网络(图3B)。相关性分析表明,枢纽基因之间存在很强的正相关性,其中*Itgax*、*Ccl5*、*Cxcl10*和*Cxcl9*的相关性最强(r=0.98)(图3C)。KEGG通路分析表明,枢纽基因主要富集在"细胞因子-细胞因子受体相互作用""IL-17信号通路""Toll样受体信号通路"和"TNF信号通路"中(图3D)。GO注释表明,枢纽基因主要参与"免疫反应""基因表达的正向调控""炎症反应""细胞增殖的正向调控"等(图3E)。

2.4 构建枢纽基因的miRNA-mRNA网络 构建了一个有261个节点和267条边的miRNA-mRNA网络(图4)。在这个网络中,有12个miRNA靶向两个以上的枢纽基因。在这个网络中,mmu-miR-7016-5p、mmu-miR-1943-5p、mmu-miR-503-5p、mmu-miR-149-3p和mmu-miR-6967-5p同时靶向*Cxcl9*和*Cxcl10*,mmu-miR-223-3p同时针对*Il6*和*Cxcl10*,mmu-miR-7215-3p同时针对*Cxcl9*和*Ifng*,mmu-miR-6995-3p同时针对*Il6*和*Itgax*,mmu-miR-4661-3p同时针对*Il6*、*Il1b*和*Ifng*,mmu-miR-3473f同时靶向*Il1b*、*Ifng*和*Csf2*,而mmu-miR-7048-5p和mmu-miR-185-3p则共同靶向*Itgax*和*Foxp3*。

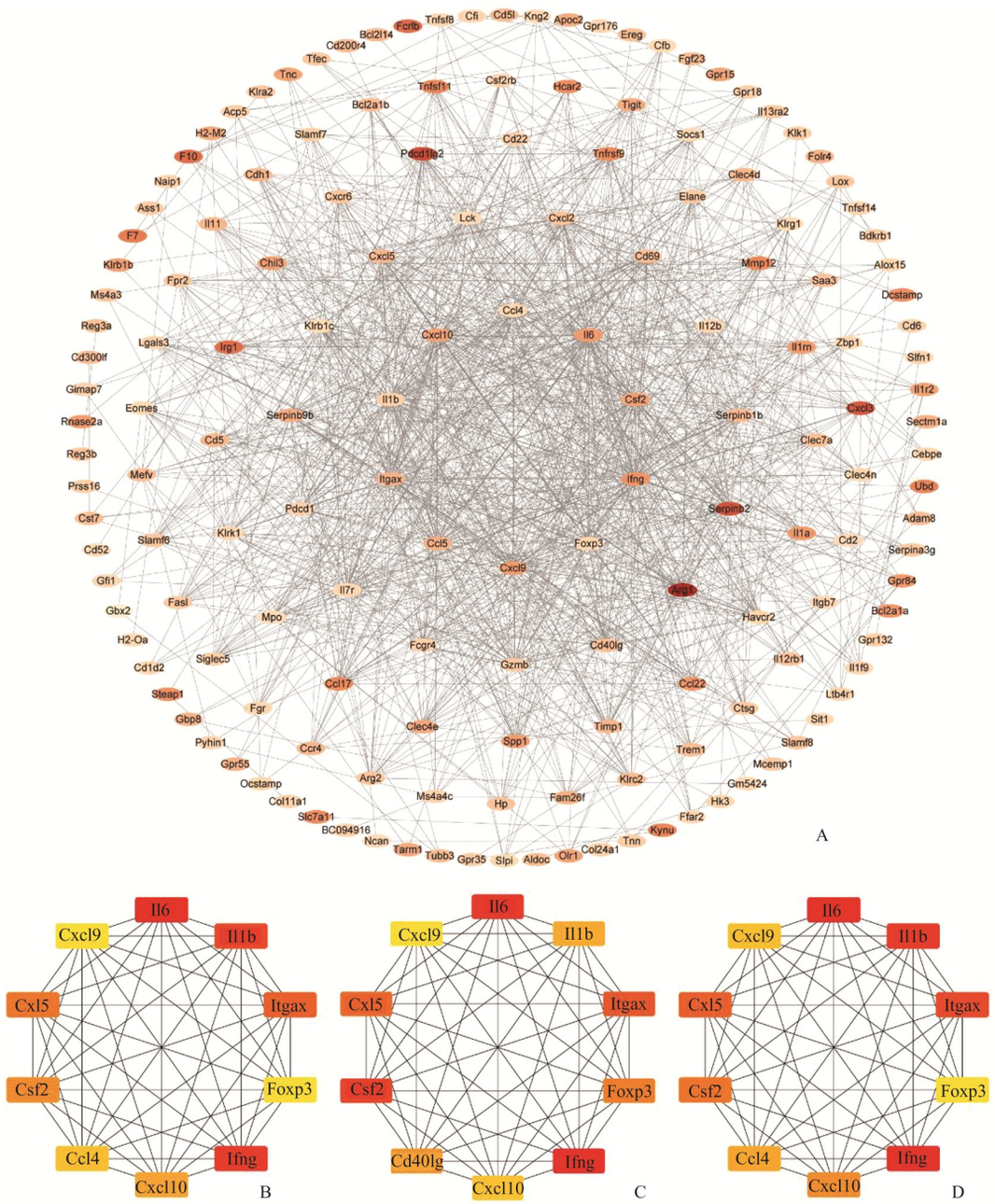


图 2　构建 DEGs 的 PPI 网络并确定枢纽基因

A. DEGs 的 PPI 网络；B. Degree 算法选择的枢纽基因；C. MCC 算法选择的枢纽基因；D. MNC 算法选择的枢纽基因

2.5　利用机器学习算法识别关键基因　采用两种机器学习算法，识别枢纽基因中的关键基因。首先，使用 RF 算法确定了三个重要性大于 2 的基因，即 *Cxcl9*、*Cxcl10* 和 *Itgax*（图 5A、5B）。接着，在 SVM-RFE 模型中，通过去除冗余特征，选择关键基因，避免过拟合，筛选出两个基因，即 *Cxcl9* 和 *Cxcl10*（图 5C）。最后，通过交叉验证 RF 算法和 SVM-RFE 算法的结果，确定 *Cxcl9* 和 *Cxcl10* 为特征基因（图 5D）。

2.6　细胞活力和枢纽基因的 qRT-PCR 验证　使用 CCK-8 对受到不同浓度 LPS 刺激的 HL-1 细胞进行细胞活力评估。表明，在 10 μg/mL LPS 刺激下，HL-1 细胞活力明显下降（图 6A）。因此，10 μg/mL 被认为是使用 LPS 诱导炎症的有效浓度。通过 qRT-PCR 评估了 LPS 诱导 HL-1 细胞炎症模型枢纽基因的表达趋势。结果表明，在 LPS 诱导组中 *Csf2*、*Cxcl10*、*Il6* 和 *Itgax* 的表达明显上调（图 6B～6J）。

2.7　关键基因 *Cxcl10* 在蛋白水平的验证　使用 Western Blot 对筛选出的关键基因 *Cxcl10* 在 LPS 诱导细胞损伤模型中进行验证。结果表明，HL-1 细胞在 10 μg/mL LPS 的刺激下，*Cxcl10* 在蛋白水平的

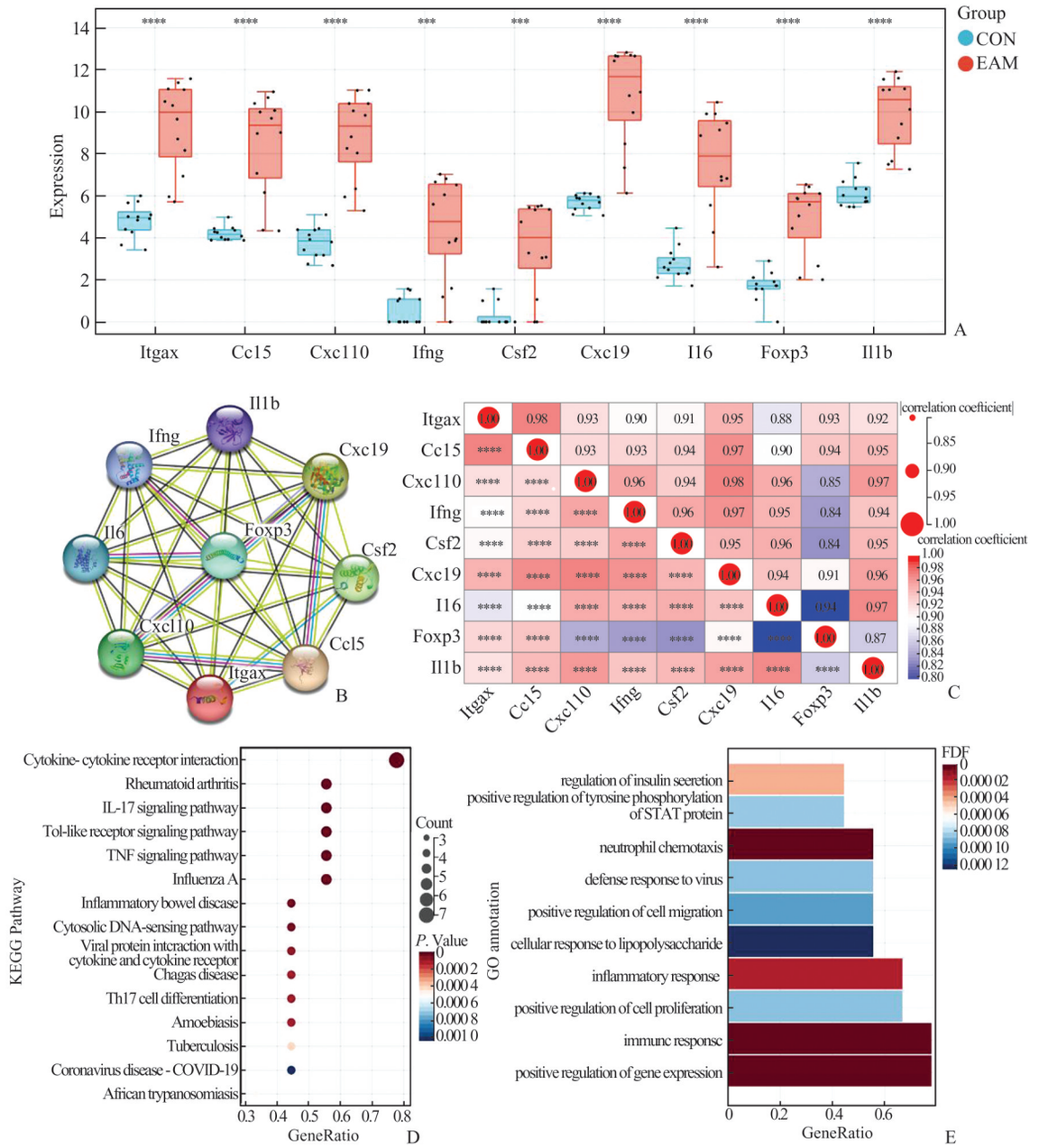


图 3　EAM 中 Hub 基因的表达模式

A. GSE155423 中枢纽基因的基因表达箱图，$^{***}P<0.001$；$^{****}P<0.000\ 1$；B. 枢纽基因的 PPI 网络；C. GSE155423 中枢纽基因的相关热图；D. 枢纽基因的 KEGG 通路富集分析柱状图；E. 枢纽基因的 GO 注释柱状图

表达明显增高(图 7A、7B)。

3　讨论

自身免疫性心肌炎是由于机体免疫功能失调导致产生各种自身抗体而引起的，免疫系统攻击心肌细胞，最终导致心肌细胞水肿和坏死等症状[12]。鉴定 EAM 小鼠的关键通路和枢纽基因可在一定程度上揭示自身免疫性心肌炎的分子机制。

最新研究表明，在 EAM 发病过程中，巨噬细胞是主要的免疫细胞群(超过 60%)，并发现了一个炎症相关巨噬细胞群；诱导 EAM 后，中性粒细胞数量增加，然后中性粒细胞释放 IL-1 参与 EAM 过程；在亚急性炎症阶段，T 细胞的比例最高[13]。

在我们的研究中，共发现了 225 个 DEGs，它们主要富集在“免疫反应”“细胞因子活性”“细胞因子-细胞因子受体相互作用”“NF-κB 信号通路”和“IL-17 信号通路”等通路中。NF-κB 信号通路是与炎症和免疫反应相关的经典通路[14]。NF-κB 通路

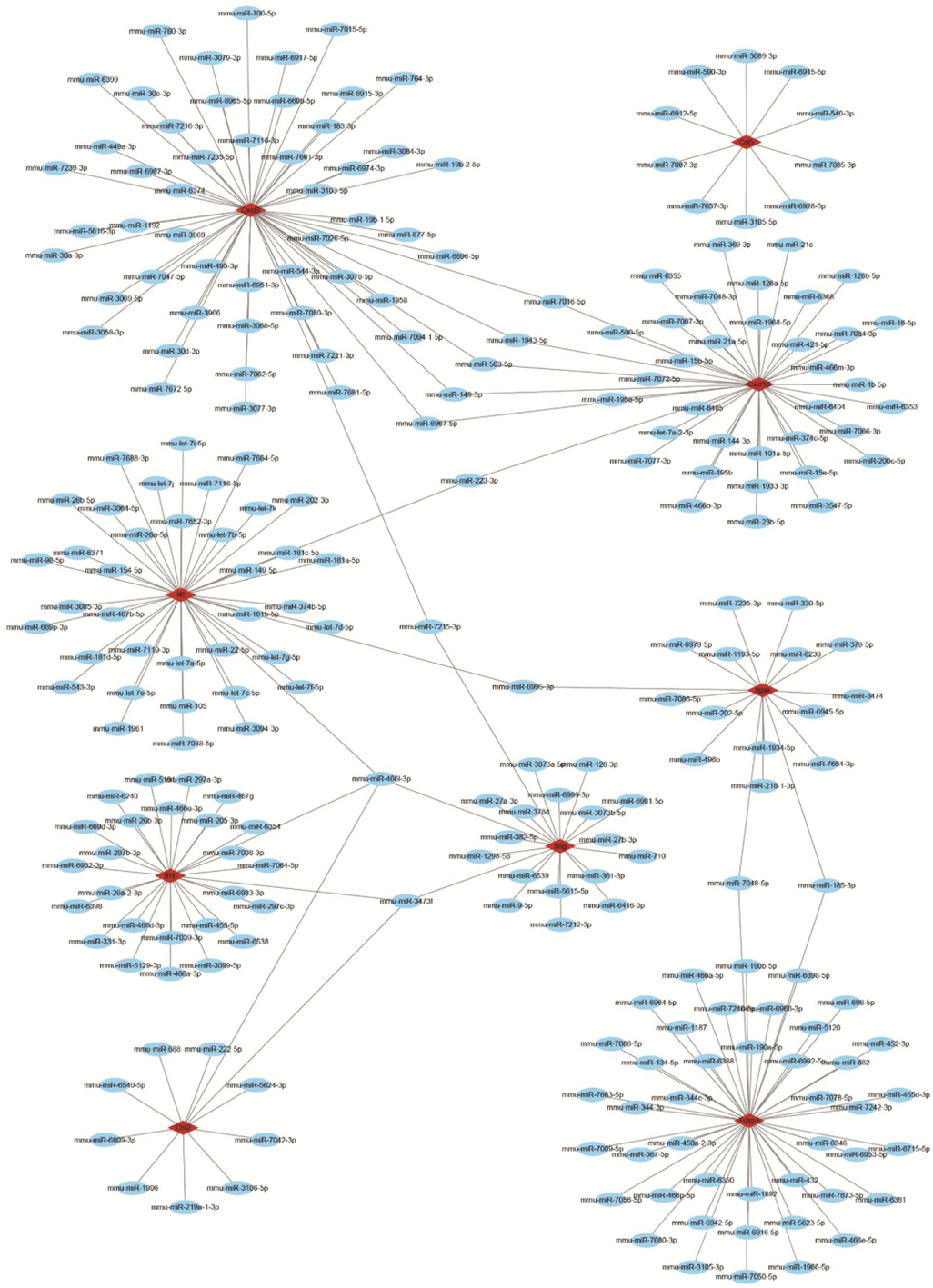


图 4　构建枢纽基因的 miRNA-mRNA 网络

中的信号异常会破坏正常的免疫功能，包括 $CD4^+$ T 细胞亚群的分化，而 $CD4^+$ T 细胞在诱导 EAM 的过程中起着核心作用。IL-17 细胞因子家族在免疫炎症中发挥作用，另一方面，IL-17 信号通路失调可驱动各种自身免疫性疾病[15]。

我们利用 Cytohubba 插件中的三种算法，从这些 DEGs 中筛选出了 9 个枢纽基因（*Itgax*、*Ccl*5、*Cxcl*10、*Ifng*、*Csf*2、*Cxcl*9、*Il*6、*Foxp*3 和 *Il*1b），它们主要富集在“细胞因子-细胞因子受体相互作用”“IL-17 信号通路”和“免疫反应”等通路中，这进一步强调了 IL-17 信号通路在 EAM 发病机制中的关键作用。在这些枢纽基因中，*Cxcl*10、*Il*6、*Csf*2、*Ifng* 和 *Il*1b 主要富集在 IL-17 信号通路中。随后，我们使用 RF 和 SVM-RFE 两种机器学习算法进一步筛选了这些枢

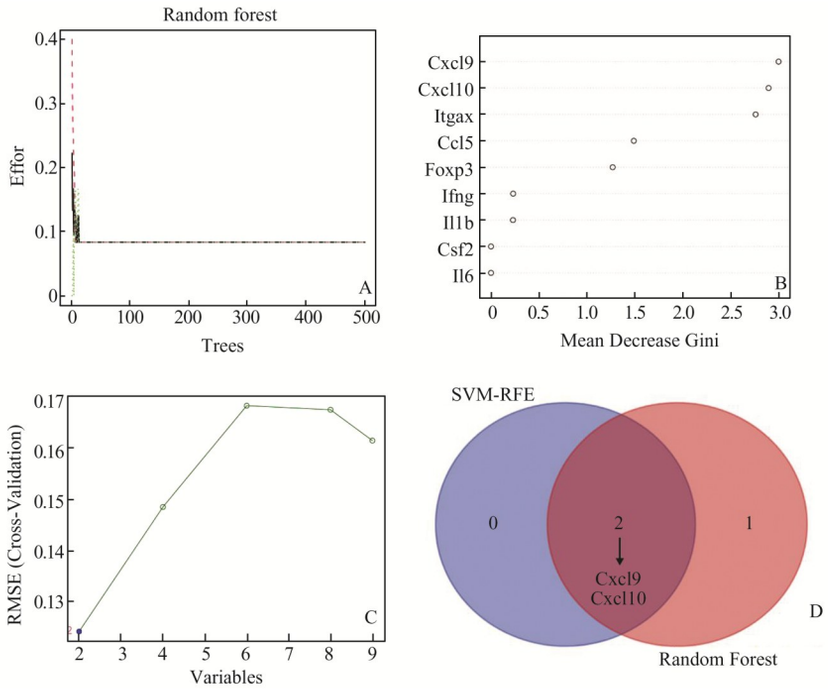


图 5 机器学习识别关键基因

A、B. RF 算法误差图和按重要性得分排序的关键基因；C. SVM-RFE 机器学习结果图；D. 识别关键基因的 Venn 图

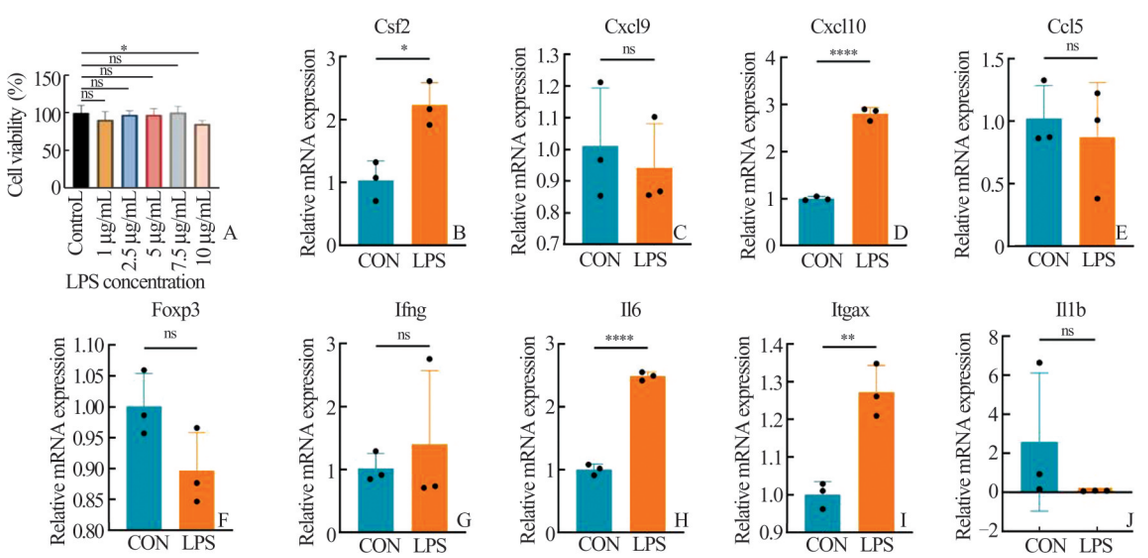


图 6 LPS 诱导细胞损伤模型枢纽基因的验证

A. 不同浓度 LPS 处理组的细胞活力；B～J. LPS 诱导的 HL-1 细胞损伤模型枢纽基因的验证。$^{*}P<0.05$；$^{**}P<0.01$；$^{****}P<0.0001$；ns：$P>0.05$

纽基因，最终确定 *Cxcl*9 和 *Cxcl*10 为 EAM 的关键基因。我们在 LPS 诱导的 HL-1 细胞损伤模型中使用 qPCR 验证了这些基因，发现 *Cxcl*10 在 LPS 诱导组中显著上调。因此，我们认为 *Cxcl*10 是诱导 EAM 的关键基因之一。我们的研究对 EAM 的相关基因以及其涉及的通路进行了广泛的筛选工作，为 EAM 的研究靶点由来提供了依据。

*Cxcl*10 是一种趋化因子，可将 T 细胞极化为 Th1 细胞，它能与 CXCR3 结合激活白细胞，从而调节免疫反应。目前，*Cxcl*10 已被证实与多种自身免疫性疾病高度相关，如类风湿性关节炎[16]、系统性红斑狼疮、斯约格伦综合征[17]等。一项研究表明，在结直肠癌中，IL-17 信号传导可抑制 *Cxcl*10 的产生[18]。然而，目前仍没有研究证实 IL-17 信号通路可通过调节 *Cxcl*10 影响心血管疾病的进展，但目前已有大量研究证实，在非感染性心脏炎症相关疾病

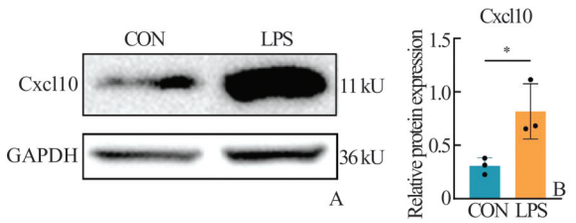


图 7　LPS 诱导细胞损伤模型中 *Cxcl10* 蛋白水平表达

A. Western Blot 实验蛋白印迹图；B. HL-1 细胞损伤模型中 *Cxcl10* 蛋白定量分析；$n=3$；$^{*}P<0.05$

中，*Cxcl10* 的表达增加，同时 Th1 细胞和细胞毒性 T 细胞向心脏组织的浸润增加。

本研究存在一定的局限性，因为我们只是通过 EAM 相关数据集筛选了关键基因，并利用 LPS 诱导的细胞损伤模型验证了这些基因，但并没有进一步研究这些基因对 EAM 表型的影响。今后，我们需要构建 EAM 动物模型，进一步探讨这些基因的分子生物学机制，并收集自身免疫性心肌炎患者的血液和临床资料，以验证这些基因的诊断作用，探讨这些基因与临床指标的相关性。

综上所述，本研究确定了参与 IL-17 信号通路的 9 个枢纽基因（*Itgax*、*Ccl5*、*Cxcl10*、*Ifng*、*Csf2*、*Cxcl9*、*Il6*、*Foxp3* 和 *Il1b*）。随后，利用机器学习从枢纽基因中选出了两个关键基因（*Cxcl9* 和 *Cxcl10*）。最后，qPCR 和 Western Blot 验证证实了 *Cxcl10* 在 LPS 诱导的 HL-1 心肌损伤模型中的高表达。

参考文献

[1] Błyszczuk P. Myocarditis in humans and in experimental animal models[J]. Front Cardiovasc Med, 2019, 6: 64.

[2] Ali-Ahmed F, Dalgaard F, Al-Khatib SM. Sudden cardiac death in patients with myocarditis: Evaluation, risk stratification, and management[J]. Am Heart J, 2020, 220: 29-40.

[3] Tschöpe C, Ammirati E, Bozkurt B, et al. Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: Current evidence and future directions[J]. Nat Rev Cardiol, 2021, 18(3): 169-193.

[4] Rinkūnaitė I, Šimoliūnas E, Alksnė M, et al. Genetic ablation of Ankrd1 mitigates cardiac damage during experimental autoimmune myocarditis in mice[J]. Biomolecules, 2022, 12(12): 1898.

[5] Mirna M, Paar V, Topf A, et al. A new player in the game: Treatment with antagomiR-21a-5p significantly attenuates histological and echocardiographic effects of experimental autoimmune myocarditis[J]. Cardiovasc Res, 2022, 118(2): 556-572.

[6] Gene Ontology Consortium. Gene Ontology Consortium: Going forward[J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43 (Database issue): D1049-D1056.

[7] Bhattacharya S, Dunn P, Thomas CG, et al. ImmPort, toward repurposing of open access immunological assay data for translational and clinical research [J]. Sci Data, 2018, 5: 180015.

[8] Agarwal V, Bell GW, Nam JW, et al. Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs [J]. eLife, 2015, 4: e05005.

[9] Chen YH, Wang XW. miRDB: An online database for prediction of functional microRNA targets[J]. Nucleic Acids Res, 2020, 48(D1): D127-D131.

[10] Chen YF, Shi JF, Pu J. Development and validation of a random forest diagnostic model of acute myocardial infarction based on ferroptosis-related genes in circulating endothelial cells[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 663509.

[11] Huang SJ, Cai NG, Pacheco PP, et al. Applications of support vector machine (SVM) learning in cancer genomics[J]. Cancer Genomics Proteomics, 2018, 15(1): 41-51.

[12] Ammirati E, Moslehi JJ. Diagnosis and treatment of acute myocarditis: A review[J]. JAMA, 2023, 329 (13): 1098-1113.

[13] Hua XM, Hu G, Hu QT, et al. Single-cell RNA sequencing to dissect the immunological network of autoimmune myocarditis[J]. Circulation, 2020, 142(4): 384-400.

[14] Liu PQ, Li Y, Wang WL, et al. Role and mechanisms of the NF-κB signaling pathway in various developmental processes[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 153: 113513.

[15] McGeachy MJ, Cua DJ, Gaffen SL. The IL-17 family of cytokines in health and disease[J]. Immunity, 2019, 50(4): 892-906.

[16] Protonotarios A, Marelli-Berg F. Towards precision disease-modelling in experimental myocarditis[J]. Cardiovasc Res, 2020, 116(10): 1656-1657.

[17] Wu YJ, Zheng ZZ, Cao XT, et al. RIP1/RIP3/MLKL mediates myocardial function through necroptosis in experimental autoimmune myocarditis[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 696362.

[18] Chen J, Ye XY, Pitmon E, et al. IL-17 inhibits CXCL9/10-mediated recruitment of $CD8^{+}$ cytotoxic T cells and regulatory T cells to colorectal tumors[J]. J Immunother Cancer, 2019, 7(1): 324.

（2023-12-25 收稿）
编辑　沈建国