DOI: 10.14188/j.1671-8852.2022.0724

文章编号 1671-8852(2025)07-0857-06

基于生物信息学方法识别银屑病特征基因及关键通路

胡振学[1] 倪安红[1] 张 召[2] 杨权明[3]

[1]武汉市皮肤病防治院 湖北 武汉 430030；

[2]武汉美都医疗美容门诊 湖北 武汉 430061；

[3]武汉欧若拉医疗美容门诊部 湖北 武汉 430021

摘要 目的：对银屑病转录谱芯片数据进行生物信息学分析，识别银屑病特征基因及关键通路，以期更深入了解银屑病的发病机制。方法：从基因芯片数据库（GEO）下载GSE6710数据集数据，利用R语言的limma包，对矫正后的芯片表达谱进行差异分析。随后GO/KEGG分析识别差异表达基因参与的生物学过程及通路。差异表达基因导入STRING数据库进行蛋白互作分析。通过CytoNCA插件对蛋白互作网络进行拓扑分析，识别特征基因，并进行功能注释。结果：本研究共筛选出90个银屑病差异表达基因（64个上调表达基因，26个下调表达基因）和6个特征基因（CXCL2、CXCL1、CCL4、CCL20、CXCL8和LCN2）。这些特征基因在银屑病病变组织中均呈高表达状态，主要参与了趋化因子介导的信号通路、病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体的相互作用、IL-17信号通路、中性白细胞移行等生物学过程及通路。结论：CXCL2、CXCL1、CCL4、CCL20、CXCL8和LCN2是银屑病发生、发展相关的关键特征基因，这些基因主要涉及机体的免疫炎症反应过程。

关键词 银屑病；特征基因；关键通路；生物信息学

中图分类号 R758.29

文献标识码 A

开放科学（资源服务）标识码（OSID）：

Identification of psoriasis signature genes and key pathways based on bioinformatics methods

HU Zhenxue[1], NI Anhong[1], ZHANG Zhao[2], YANG Quanming[3]

[1]Wuhan Institute of Dermatology and Venereology, Wuhan 430030, Hubei, China;

[2]Wuhan Meidu Medical Aesthetic Clinic, Wuhan 430061, Hubei, China;

[3]Wuhan Aurora Medical Aesthetic Clinic, Wuhan 430021, Hubei, China

Abstract

Objective: To identify the psoriasis characteristic genes and key pathways for a deeper understanding of the pathogenesis of psoriasis by using bioinformatics methods. **Methods:** GSE6710 data was obtained from gene expression omnibus (GEO), and different expression analysis was performed for the corrected chip expression profile by using the limma package in R. GO/KEGG analysis was performed to identify the biological processes and pathways involved by the differentially expressed genes, subsequently. These genes were imported into the STRING database for protein interaction analysis. Topological analysis of the protein interaction network was performed by the CytoNCA plugin to identify signature genes and perform functional annotation. **Results:** A total of 90 differentially expressed genes (64 up-regulated genes, 26 down-regulated genes) and 6 signature genes (CXCL2,

作者简介：胡振学，男，1978—，副主任医师，主要从事皮肤病相关基础及整形美容临床研究，E-mail：85552546@qq.com

通信作者：杨权明，男，1979—，副主任医师，主要从事皮肤性病学及医疗美容相关基础及临床研究，E-mail：1004090726@qq.com

CXCL1, CCL4, CCL20, CXCL8, and LCN2) were selected. These genes were highly expressed in psoriatic lesion tissues, mainly involved in chemokines-mediated signaling pathway, viral protein and cytokine and cytokine receptor interaction, IL-17 signaling pathway, neutral leukocyte migration, and other biological processes and pathways. **Conclusion:** CXCL2, CXCL1, CCL4, CCL20, CXCL8, and LCN2 were the key genes related to the occurrence and development of psoriasis, which were mainly involved in the inflammatory response process of the body.

Key Words Psoriasis; Signature Genes; Key Pathways; Bioinformatics

银屑病(psoriasis)是一种丘疹鳞状皮肤病,最初被认为是一种主要由表皮角质形成细胞引起的疾病,但现在被认为是最常见的免疫介导疾病之一[1]。作为一种反复发作的慢性皮肤炎性疾病,它的特征在于免疫机制紊乱以及表皮角质细胞的过度增殖和异常分化,累及全身多系统和器官[2]。银屑病的发病因素众多且复杂,与遗传易感性、感染、免疫代谢障碍、内分泌紊乱和环境影响等具有密切的关系[3]。

近年来,基于高通量数据的生物信息学发展迅猛,在揭示人类疾病的发病机制中发挥了关键作用。本研究应用基因芯片数据库(gene expression omnibus,GEO)中银屑病患者的病变样本和配对的正常对照样本的转录组数据进行相关生物信息学分析。基于严格的筛选标准,鉴定银屑病差异表达基因。随后对差异表达基因进行了深度筛选,识别在银屑病发生发展过程中可能扮演重要作用的关键特征基因,并对特征基因的功能进行注释。本研究基于生物信息学技术初步识别了银屑病的特征基因及关键通路,为揭示银屑病发病机制及潜在治疗靶点提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 数据来源 本研究中分析的基因表达数据从GEO(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/)数据库下载。经仔细分析,选择了数据集GSE6710。该芯片基于GPL96[HG-U133A]Affymetrix Human Genome U133A Array平台,共包括13例银屑病患者的病变样本和配对的正常对照样本,共计26例[4]。

1.2 差异表达基因筛选 利用R语言的limma包,采用贝叶斯方法多重检验矫正,对矫正后的芯片表达谱进行差异分析。差异表达基因筛选条件为$|\log_2 FC|>2$且调整后P值(adj. P)<0.001,其中FC(fold change)代表二者差异表达基因的差值倍数。将前50个差异表达基因在病例组与对照组的表达情况以热图形式进行可视化。

1.3 差异表达基因的GO/KEGG富集分析 GO(gene ontology)分析是大规模功能研究常用的分析方法,其对基因功能的研究可分为3个方面,即生物过程(BP)、分子功能(MF)和细胞组分(CC)。KEGG通路分析被用于将差异表达基因分配给特定的途径,从而分析出疾病状态下显著改变的代谢通路。以$P<0.05$为差异具有统计学意义。基因功能注释数据由差异表达基因输入在线工具(https://www.xiantao.love/)获取。

1.4 蛋白互作网络(PPI)及Hub基因的筛选 将银屑病病例组与对照组差异表达基因输入STRING(search tool for the retrieval of interacting genes)数据库(http://string-db.org/)。在设置中选取蛋白间最低互作得分>0.4作为蛋白间相互作用的信度依据,并隐藏网络联结外的节点,最终得到了蛋白相互作用的结果。之后利用Cytoscape软件(www.cytoscape.org/)将PPI网络可视化。通过CytoNCA插件对PPI网络进行拓扑分析,以"Betweenness""Closeness""Degree""Eigenvector""LAC"和"Network"为参考标准,选取6个标准分值均大于其对应标准平均值的基因作为候选基因,随后再次将这些候选靶点进行上述拓扑分析,共两次,最终得到的基因即为Key Pathways基因。

1.5 Hub基因功能注释及通路分析 我们对筛选的Hub基因进行GO/KEGG富集分析,将Hub基因输入在线工具(http://www.bioinformatics.com.cn/),获取基因功能注释数据。adj. $P<0.05$时具有统计学意义。

2 结果

2.1 差异表达基因的筛选 本研究选择的数据集为GSE6710。该芯片包括13例银屑病患者的病变样本和配对的正常对照样本,共计26例样本。基于严格的筛选标准,共筛选出90个差异表达基因,包括64个上调表达基因,26个下调表达基因。其中,

前50个差异表达基因在病例组与对照组的表达情况如热图所示(图1)。

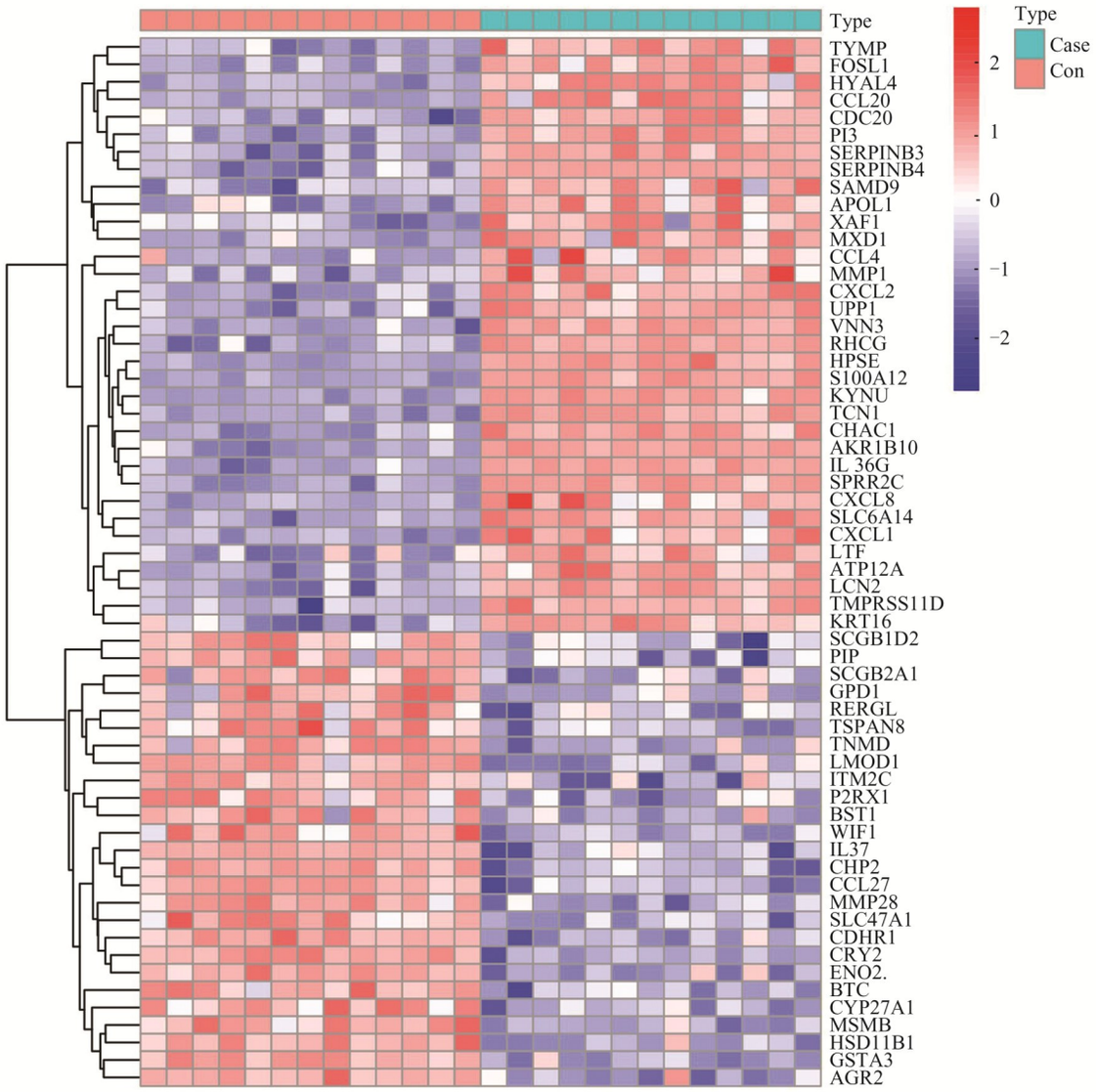


图1　热图展示了银屑病前50个差异表达基因在病例组与对照组的表达情况

2.2　差异基因的功能富集分析　将筛选得到的90个差异表达基因进行GO功能注释和KEGG富集分析。GO分析结果表明差异表达基因生物学过程主要与中性粒细胞趋化性、中性白细胞移行、粒细胞趋化性有关；细胞组分主要与特异性颗粒、特异性颗粒管腔、分泌颗粒腔有关；而分子功能主要与趋化因子活性、趋化因子受体结合、细胞因子活性有关。KEGG富集在病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体的相互作用、IL-17信号通路、阿米巴病或变形虫病(尤指原虫寄生肠内引起的阿米巴痢疾)等相关通路(图2)。

2.3　银屑病特征基因的识别　将筛选得到的90个差异表达基因输入至STRING数据库。在设置中选取蛋白间最低互作得分＞0.4作为蛋白间相互作用的信度依据，隐藏网络联结外的节点得到了蛋白相互作用的结果。之后利用Cytoscape软件(www. cytoscape. org/)将PPI网络可视化。通过CytoNCA插件对PPI网络进行拓扑分析，以“Betweenness”“Closeness”“Degree”“Eigenvector”“LAC”和“Network”为参考标准，选取6个标准分值均大于其对应标准平均值的基因作为候选基因，共获得47个节点，105个蛋白互作对，47个候选基因(图3A)。候选基因在6种算法中的评分见表1。随后再次将这些候选基因进行上述拓扑分析，共2次，最终得到6个Hub基因(图3B、3C)，Hub基因在6种算法中的评分见表2。这6个基因在银屑病病例组与对照组的表达差异如图3D示。6个特征基因在银屑病病变样本中均呈高表达状态。

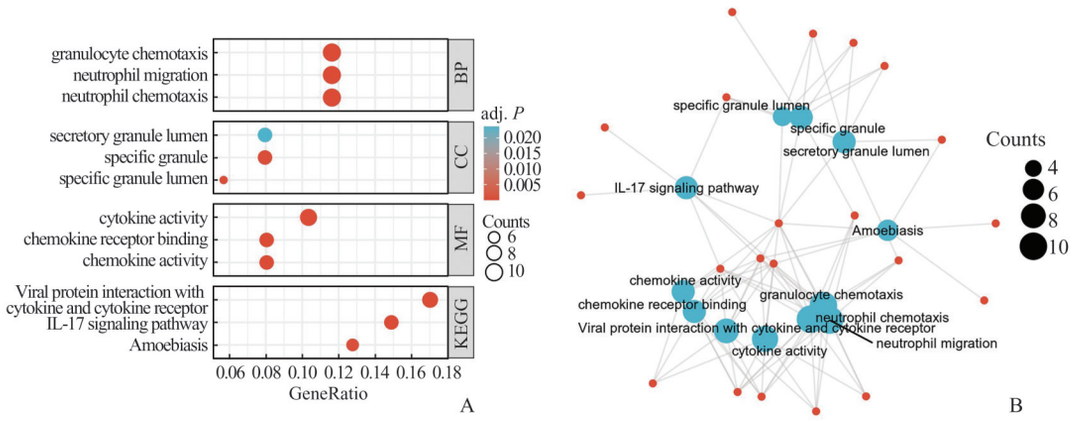


图 2　差异表达基因的 GO/KEGG 富集分析

BP 为生物学过程；CC 为细胞成分；MF 为分子功能；A.GO 功能注释；B.KEGG 富集分析

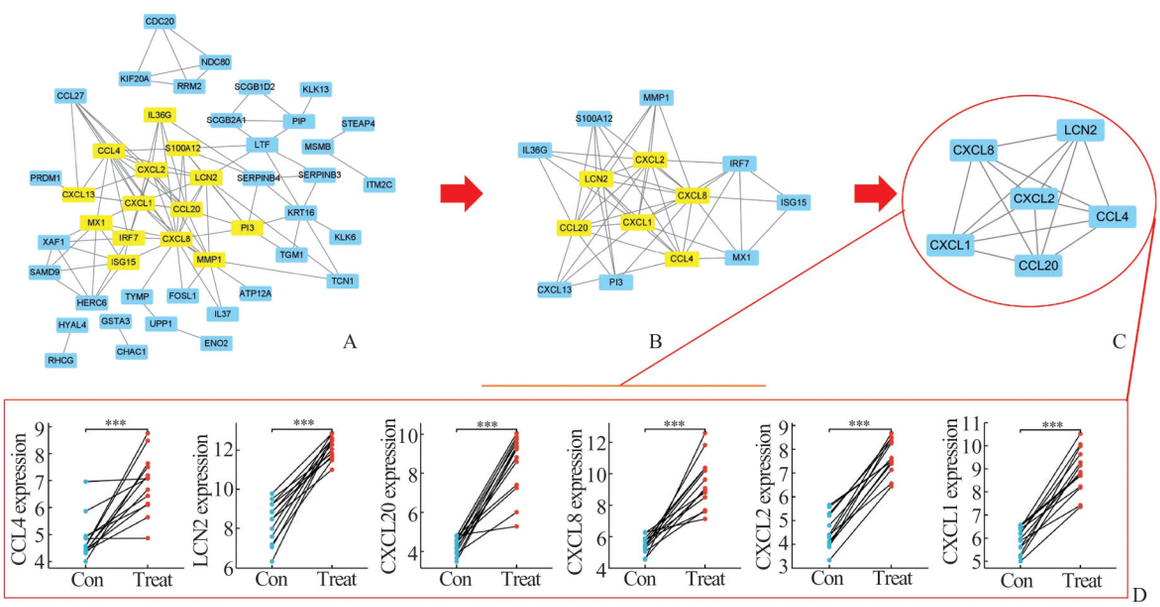


图 3　PPI 网络的拓扑分析及 Hub 基因的表达差异

A～C. 基于 Cytoscape 软件中的 CytoNCA 插件对 PPI 网络进行拓扑分析；D. Hub 基因的表达差异。$^{***}P<0.001$

2.4　银屑病特征基因参与的生物学过程及通路

基于上述分析，我们确定了银屑病的 6 个特征基因（CXCL2、CXCL1、CCL4、CCL20、CXCL8 和 LCN2）。进一步探索这些基因参与的具体的生物学过程及通路，我们进行 GO/KEGG 富集分析。这些特征基因主要参与了趋化因子介导的信号通路、病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体的相互作用、IL-17 信号通路、中性白细胞移行等生物学过程及通路，具体基因参与的过程可见图 4。例如，CCL4 参与了 IL-17 信号通路、病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体的相互作用、趋化因子信号通路、细胞因子与细胞因子受体的相互作用、细胞因子与细胞因子受体的相互作用等。

3　讨论

银屑病发病机制复杂，至今仍未完全明确，涉及许多相互交叉因素，包括多基因改变、特异性基因激活和复杂的病理改变，使该病难以治愈[5-7]。银屑病并不仅仅是一种皮肤疾病，它也可能影响许多其他器官并引起其他疾病。近年来，大量研究[6,8]表明，许多基因参与了银屑病的发病机制，其中一些基因在受影响的皮肤中异常表达，但每个基因的相对重要性尚不清楚。因此，迫切需要识别敏感和特异性的生物标志物，阐明相关的分子机制，以预测预后和开发新的靶向治疗策略。

GEO 数据库是一个大型而全面的公共基因表达数据资源，包含多种疾病基因表达谱数据集。本

表 1　候选基因在 6 种算法中的评分（第一次拓扑分析）

Genes	Betweenness	Closeness	Degree	Eigenvector	LAC	Network
CXCL13	0.000	0.565	4	0.1801	3.000	4.000
PI3	0.000	0.591	4	0.163	3.000	4.000
CXCL2	7.678	0.765	9	0.335	5.111	7.814
MX1	1.778	0.619	5	0.183	3.200	4.500
CXCL1	12.733	0.813	10	0.356	5.200	8.806
S100A12	0.500	0.619	5	0.202	3.600	4.750
CCL4	10.167	0.765	9	0.331	4.889	7.264
CCL20	13.622	0.813	10	0.351	5.200	9.292
IRF7	3.500	0.650	6	0.222	3.667	5.200
CXCL8	35.456	0.929	12	0.389	5.167	11.528
ISG15	0.000	0.542	3	0.104	2.000	3.000
LCN2	4.567	0.722	8	0.309	5.000	7.143
IL36G	0.000	0.591	4	0.188	3.000	4.000
MMP1	0.000	0.619	5	0.228	4.000	5.000

表 2　Hub 基因在 6 种算法中的评分（第二次拓扑分析）

Genes	Betweenness	Closeness	Degree	Eigenvector	LAC	Network
CXCL2	7.678	0.765	9	0.335	5.111	7.814
CXCL1	12.733	0.813	10	0.356	5.200	8.806
CCL4	10.167	0.765	9	0.331	4.889	7.264
CCL20	13.622	0.813	10	0.351	5.200	9.292
CXCL8	35.456	0.929	12	0.389	5.167	11.528
LCN2	4.567	0.722	8	0.309	5.000	7.143

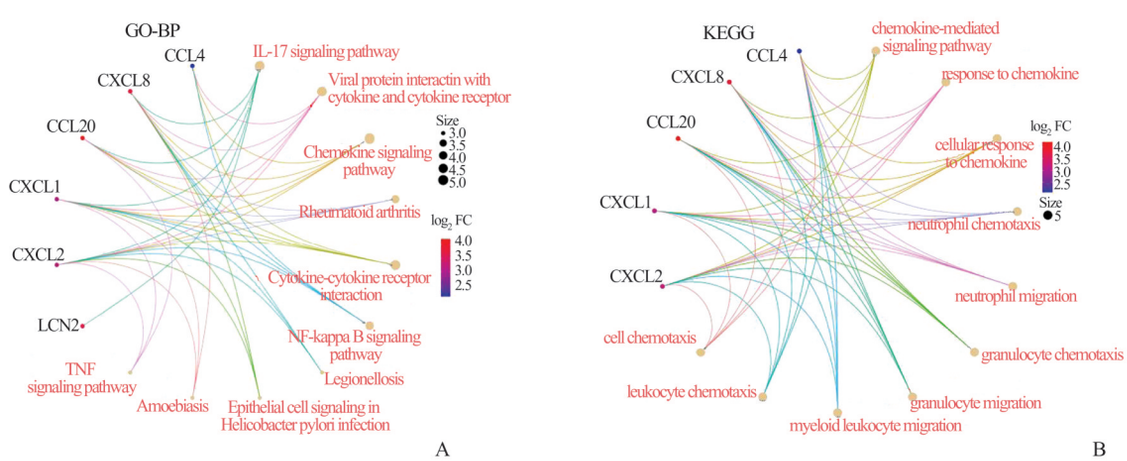


图 4　银屑病特征基因参与的生物学过程及通路

A. GO-BP 分析；B. KEGG 分析

研究基于芯片数据集 GSE6710，通过严格的筛选标准，共筛选出 90 个银屑病差异表达基因，包括 64 个上调表达基因，26 个下调表达基因。进一步的 GO/KEGG 富集分析揭示这些差异表达基因生物学过程主要和中性粒细胞趋化性、中性白细胞移行、粒细胞趋化性有关；细胞组分主要和特异性颗粒、特异性颗粒管腔、分泌颗粒管腔有关，而分子功能主要与趋化因子活性、趋化因子受体结合、细胞因子活性有关。而 KEGG 富集在病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体的相互作用、IL-17 信号通路、阿米巴病或变形虫病（尤指原虫寄生肠内引起的阿米巴痢疾）等相关通路。这一结果与 LUO 等[9]的发现一致。随后，我们将筛选得到的 90 个差异表达基因输入至 STRING 数据库。利用 Cytoscape 软件将 PPI 网络可视化，并通过 CytoNCA 插件对 PPI 网络进行两次拓扑分析，最终得到 6 个 Hub 基因（CXCL2、

CXCL1、CCL4、CCL20、CXCL8和LCN2)。这6个特征基因在银屑病病变样本中均呈高表达状态,并多与趋化因子相关。例如,CXCL2属于CXC趋化因子家族成员之一,能够与其受体CXCR2相互作用参与多种免疫调节反应[10]。有研究[11]显示,中性粒细胞通过CXCL2自我调节免疫复合物介导的皮肤炎症。本研究结果也表明,这些银屑病特征基因参与了趋化因子介导的信号通路、趋化因子反应、细胞对趋化因子的反应以及中性粒细胞趋化性等生物学过程。这些数据再次提示银屑病是一种慢性皮肤炎症性疾病。这些炎症性通路介导了银屑病的发生与发展,可能是银屑病治疗的重要靶点。

本研究最有价值的发现是识别与银屑病发病机制相关的枢纽基因和通路。然而,本研究也存在一定的局限性。例如,银屑病微阵列数据来自公共数据库,基于GEO数据分析识别的银屑病特征基因仍需实验验证,它们是否可作为银屑病的治疗靶点值得深入研究。总的来说,本研究基于生物信息学技术初步识别了银屑病的特征基因及关键通路,为银屑病的治疗提供了可能的靶基因。

参考文献

[1] GRIFFITHS C E, BARKER J N. Pathogenesis and clinical features of psoriasis[J]. Lancet, 2007, 370(9583): 263-271.

[2] PARISI R, ISKANDAR I Y K, KONTOPANTELIS E, et al. National, regional, and worldwide epidemiology of psoriasis: Systematic analysis and modelling study[J]. BMJ, 2020, 369: m1590.

[3] 沈乐乐,沈浮,孙立新,等. 基于生物信息学方法探讨银屑病关键差异基因的免疫浸润机制及相关中药预测分析[J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(11): 1663-1674.
SHEN L L, SHEN F, SUN L X, et al. Bioinformatics based study on immune infiltration mechanism of psoriasis pivotal differential genes and prediction of related traditional Chinese medicine[J]. Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology, 2021, 32(11):1663-1674.

[4] REISCHL J, SCHWENKE S, BEEKMAN J M, et al. Increased expression of Wnt5a in psoriatic plaques [J]. J Invest Dermatol, 2007, 127(1): 163-169.

[5] SZLAVICZ E, OLAH P, SZABO K, et al. Analysis of psoriasis-relevant gene expression and exon usage alterations after silencing of SR-rich splicing regulators [J]. Exp Dermatol, 2018, 27(6): 656-662.

[6] QIAN H Y, WANG M, WANG Y, et al. Role of Galphaq in pathogenesis of psoriasis, a new mechanism about the immune regulation in psoriasis[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 68: 185-192.

[7] HOELT P, CONFAVREUX C, JULLIEN D, et al. Management of psoriatic arthritis among cutaneous psoriasis patients: From pathogenesis to therapy[J]. G Ital Dermatol Venereol, 2017, 152(5): 458-473.

[8] GAO L J, SHEN J, REN Y N, et al. Discovering novel hub genes and pathways associated with the pathogenesis of psoriasis[J]. Dermatol Ther, 2020, 33(6): e13993.

[9] LUO Y Q, LUO Y Y, CHANG J, et al. Identification of candidate biomarkers and pathways associated with psoriasis using bioinformatics analysis[J]. Hereditas, 2020, 157(1): 30.

[10] DEFTU A F, FILIPPI A, SHIBSAKI K, et al. Chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (CXCL1) and chemokine (C-X-C motif) ligand 2 (CXCL2) modulate the activity of $TRPV^{1+}/IB4^{+}$ cultured rat dorsal root Ganglia neurons upon short-term and acute application[J]. J Physiol Pharmacol, 2017, 68(3): 385-395.

[11] LI J L, LIM C H, TAY F W, et al. Neutrophils self-regulate immune complex-mediated cutaneous inflammation through CXCL2[J]. J Invest Dermatol, 2016, 136(2): 416-424.

(2022-09-23收稿)
编辑 张 峻