

· 数据挖掘 ·

哮喘相关基因与治疗药物的生物信息学分析

黄秀芳¹, 廖钢², 高运吉², 詹少锋³, 黄慧婷³, 赖艳妮¹, 刘小虹^{3*}

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广州 510405;

2. 广州中医药大学深圳医院, 广东深圳 518000;

3. 广州中医药大学第一附属医院 刘小虹广东省名中医传承工作室, 广州 510405)

[摘要] 目的:通过生物信息学技术比较哮喘患者与健康人的基因芯片数据,初步鉴定与哮喘相关的基因以及治疗哮喘的潜在药物。方法:从基因表达数据库下载 GSE74986 基因芯片,使用 GEO2R 分析得出差异表达基因,采用 Morpheus 制作差异表达基因的热图;通过 DAVID 6.8 对差异表达基因进行基因本体及京都基因与基因组百科全书分析,使用 String 10.5 构建蛋白质-蛋白质相互作用网络,筛选核心基因。进一步使用 Cytoscape 3.6.1 的插件 MCODE 对差异表达基因进行模块分析。通过医学本体信息检索平台筛选治疗哮喘的小分子药物。结果:筛选出 510 个差异表达基因,包括 29 个上调基因和 481 个下调基因。差异表达基因生物过程与通路主要富集在染色质沉默、核糖核酸聚合酶 II 启动子的转录调节、蛋白质转运、信使核糖核酸加工、核糖核酸剪接以及泛素介导的蛋白水解、内质网中的蛋白质加工、核糖核酸转运、髓样分化因子依赖性 Toll 样受体信号通路、血小板激活、核苷酸结合寡聚化结构域样受体信号通路等。共得出 9 个核心基因,包括 T-复合蛋白 1 θ 亚基 (CCT8),T 复合物蛋白 1 α 亚单位 (TCP1),26S 蛋白酶调节亚单位 S10B (PSMC6),热休克蛋白 90 α (HSP90A) A1,细胞周期蛋白 C (CCNC),HSP90AB1,26S 蛋白酶体非 ATP 酶调节亚基 6 (PSMD6),泛素特异性蛋白酶 14 (USP14),真核细胞翻译起始因子 4E (EIF4E)。得出 2 个重要模块,模块里的基因主要涉及剪接体和泛素介导的蛋白水解、蛋白修饰以及核糖核酸修饰等生物过程。治疗哮喘的潜在小分子药物有茴香霉素和金雀异黄素等。结论:差异表达基因和核心基因促进了对哮喘发病分子机制的理解,为哮喘的诊治提供了潜在的基因靶标与治疗药物。

[关键词] 哮喘; 差异表达基因; 核心基因; 基因本体; 京都基因与基因组百科全书; 蛋白质-蛋白质相互作用; 小分子药物

[中图分类号] R22;R256.12;R28;R318.04;R96 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)02-0155-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191458

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190402.1050.006.html>

[网络出版时间] 2019-04-04 10:11

Bioinformatic Analysis of Related Genes and Therapeutic Drugs of Asthma

HUANG Xiu-fang¹, LIAO Gang², GAO Yun-ji², ZHAN Shao-feng³, HUANG Hui-ting³,
LAI Yan-ni¹, LIU Xiao-hong^{3*}

(1. The First Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

2. Shenzhen Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Shenzhen 518000, China;

3. Guangdong Provincial Inheritance Studio of Famous Traditional Chinese Medicine of LIU Xiao-hong,
The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** Bioinformatic analysis was used to compare the gene expression profile between asthma patients and healthy people, and the gene characteristics of asthma were preliminarily identified and the

[收稿日期] 20190113(002)

[基金项目] 广东省自然科学基金项目(2018A030310520);广州市科技计划项目(201904010235);广东省中医药局名优中成药二次开发项目(20174007)

[第一作者] 黄秀芳,在读博士,从事中医防治呼吸系统疾病研究,E-mail:m15989187236_1@163.com

[通信作者] *刘小虹,主任医师,教授,博士生导师,从事中医防治呼吸系统疾病研究,E-mail:rsclxh@gzucm.edu.cn

potential mechanism and drugs were revealed. **Method:** The GSE74986 gene expression profile was downloaded from the gene expression omnibus (GEO) and the differentially expressed genes (DEGs) were analyzed by GEO2R. Then the gene heat map of DEGs was made by Morpheus, and their gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) analysis were performed by DAVID 6.8. Moreover, the protein-protein interaction (PPI) network and hub genes were constructed by String 10.5. Finally, the significant modules were analyzed by MCODE in Cytoscape 3.6.1, small molecule drugs related to asthma were screened through Coremine Medical. **Result:** A total of 510 DEGs were screened, including 29 up-regulated genes and 481 down-regulated genes. DEGs were mainly involved in these biological processes and pathways, including chromatin silencing, transcriptional regulation of RNA polymerase II promoter, protein transport, messenger RNA (mRNA) processing, RNA splicing, ubiquitin-mediated proteolysis, protein processing in the endoplasmic reticulum, RNA transport, and myeloid differentiation factor (MyD)-dependent Toll-like receptor signaling pathway, platelet activation, nucleotide binding oligomerization domain (NOD)-like receptor signaling pathway and so on. A total of 9 hub genes were obtained, including T-complex protein 1 subunit theta (CCT8), T-complex protein 1 subunit alpha (TCPI), 26S protease regulatory subunit S10B (PSMC6), heat shock protein 90 alpha (HSP90A) A1, cell cycle protein C (CCNC), HSP90AB1, 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 6 (PSMD6), ubiquitin-specific protease 14 (USP14) and eukaryotic translation initiation factor 4E (EIF4E). Two important modules were obtained. The genes in two modules mainly involved these biological process, such as splice, ubiquitin-mediated proteolysis, protein modification, RNA modification and so on. Some potential molecular drugs for the treatment of asthma, such as anisomycin and genistein, have been developed. **Conclusion:** DEGs and hub genes can contribute to understanding the molecular mechanism of asthma and providing potential therapeutic targets and drugs for the diagnosis and treatment of asthma.

[**Key words**] asthma; differentially expressed genes; hub genes; gene ontology; Kyoto encyclopedia of genes and genomes; protein-protein interaction; small molecule drugs

哮喘是一种常见的呼吸系统疾病,临床主要表现为咳嗽、喘息、胸闷和气促,其特点是反复发作性的气道阻塞和支气管痉挛。每年因哮喘而死亡的人数大约有 25 万,带来了较大的社会和经济负担,哮喘的发病原因较为复杂,主要由遗传和环境因素共同引起^[1]。目前,治疗哮喘常采用抗炎、缓解支气管痉挛和舒张平滑肌等方案,虽然可以有效控制哮喘症状,但受禁忌症以及治疗后副作用的限制,大部分哮喘患者治疗后仍有哮喘症状且生活质量较差^[2]。随着现代医学的进步,治疗哮喘的方案一直在完善,但哮喘的发病机制仍不明确。因此,寻找哮喘的新治疗靶点和潜在药物具有重要意义。

哮喘的发病与遗传因素相关,特别是与哮喘发病相关的关键基因,其可能在哮喘的发病过程中具有重要作用^[3]。有研究表明,CD4⁺ T 细胞亚群失衡是导致哮喘的主要因素,辅助性 T 细胞(Th)2 细胞分化失常,过敏性哮喘患者鼻上皮细胞中的基因表达出现甲基化与哮喘的发病有关^[4]。但是差异表达基因与哮喘发病的关系尚未明确阐释,因此,探索正常人与哮喘患者的差异表达基因可能对寻找治疗哮喘的新靶点具有重要作用。微阵列和高通量测

序可同时提供人类基因组中数千个基因的表达水平,适用于获取哮喘基因分子水平信息。本研究拟利用生物信息学工具对正常人和哮喘患者的基因表达谱数据进行解析,筛查哮喘相关的差异表达基因,并通过医学本体信息检索平台(Coremine Medical, <http://www.coremine.com/medical/>)分析具有潜力治疗哮喘的小分子药物,为哮喘的发病机制研究及潜在治疗药物研制提供参考。

1 材料

从基因表达数据库(gene expression omnibus, GEO)下载与哮喘相关的 GSE74986 的基因表达谱。由 Mark McCrear 等提交,实验平台基于 Agilent 的 GPL6480 平台。GSE74986 数据集包含 86 个样本,样本取自 86 个参与者的支气管肺泡灌洗液的细胞 RNA,包括 74 个哮喘患者样本和 12 个正常人样本。

2 方法

2.1 差异表达基因的分析 使用 GEO 在线软件 GEO2R 进行差异表达基因的分析,将样本分为哮喘组和健康组。使用调整后的 P 及差异倍数(fold change, FC)进行差异基因的质量控制。当调整后的 $P < 0.01$ 和 $|\log_2 FC| \geq 1$ 则认为差异具有统计学

意义。使用 Morpheus 在线工具 (<https://software.broadinstitute.org/morpheus/>) 得出差异表达基因热图。

2.2 差异表达基因的基因本体(GO)分析 GO 分析是一种用于注释基因和基因产物的常用方法,可用于鉴定高通量基因组或转录组数据的特征生物学属性。GO 分析主要含 3 个方面:细胞组分(cell component, CC),分子功能(molecular function, MF)和生物过程(biological process, BP)^[5]。将差异表达基因列表导入 DAVID 6.8 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 进行 GO 分析,从而得到基因的功能水平分析结果。 $P < 0.05$ 表示具有统计学意义。

2.3 差异表达基因的京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析 KEGG 是基因功能系统分析的知识库,将基因组信息与高阶功能信息联系起来,用于基因与生物学通路的关系分析,将差异表达基因列表导入 DAVID 6.8 数据库进行 KEGG 分析,从而得到基因富集生物学通路的分析结果^[5]。 $P < 0.05$ 表示具有统计学意义。

2.4 差异表达基因和核心基因的蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)分析 为了进一步探索差异表达基因之

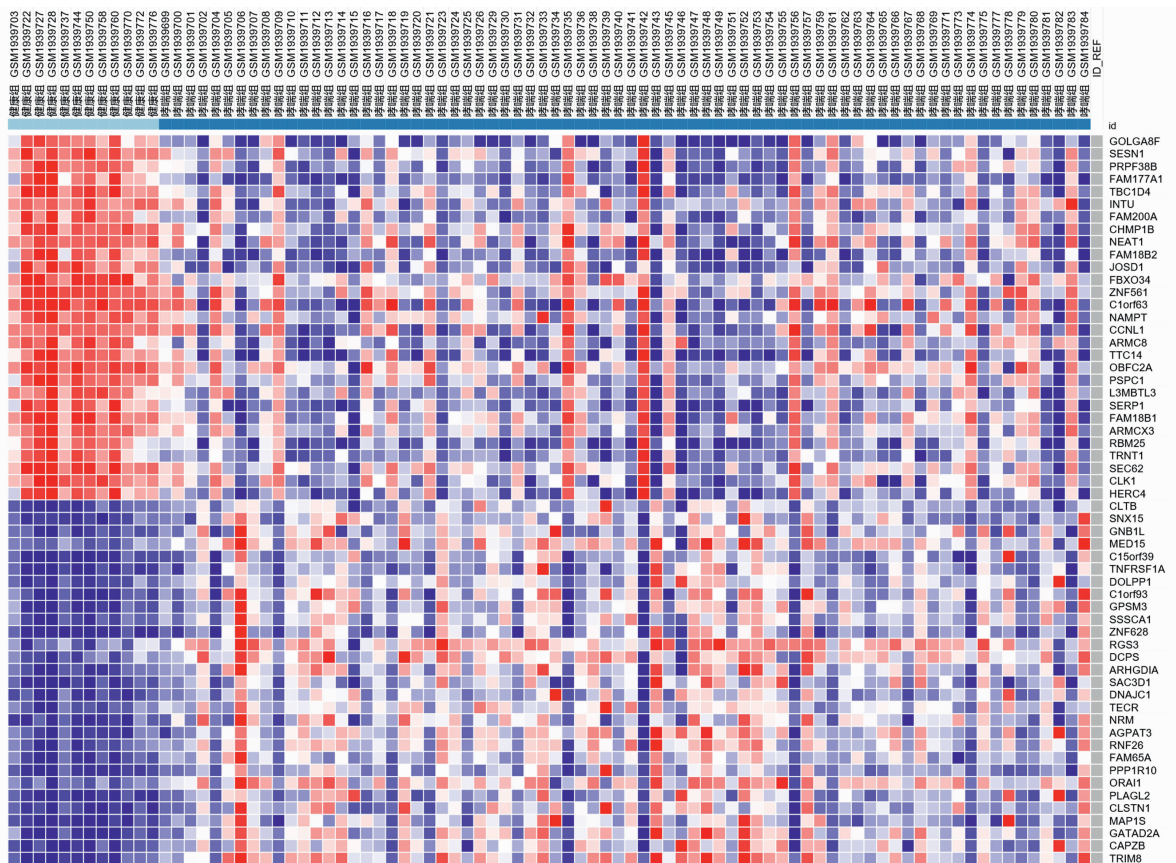
间的相互作用关系和进一步筛选出核心基因,将差异表达基因和筛选出的核心基因列表导入 String 10.5 数据库进行分析,以综合分数(combined score) > 0.4 为筛选标准^[6]。

2.5 差异表达基因的模块分析 使用 Cytoscape 3.6.1 自带的插件 MCODE 筛选差异表达基因中 PPI 网络的模块。筛选标准为 degree cutoff = 2, node score cutoff = 0.2, K-score = 2, max depth = 100。此外,对模块中的差异表达基因进行 GO 和 KEGG 分析, $P < 0.05$ 表示具有统计学意义^[7]。

2.6 治疗哮喘的相关药物筛选 Coremine Medical 可用于发掘治疗某种疾病的潜在药物,将核心基因输入 Coremine Medical 搜索框,根据 P 大小筛选出前十的小分子药物, $P < 0.05$ 表示具有统计学意义^[8]。

3 结果

3.1 差异表达基因 根据筛选条件,发现哮喘组和健康组之间的 510 个差异基因,其中上调基因共有 29 个,下调基因共有 481 个。图 1 中只展现了前 29 个上调基因及前 29 个下调基因。



红色. 上调;紫色. 下调

图 1 前 58 个哮喘差异表达基因的热图分析

Fig.1 Heat map analysis of the first 58 differentially expressed genes in asthma

3.2 差异表达基因的 GO 分析 上调的差异表达基因在细胞组分中显著富集,包括核小体、核染色质等;生物过程主要富集在染色质沉默、调节 RNA 聚合酶 II 启动子响应缺氧的转录,髓样分化因子 88 (MyD88) 依赖性 Toll 样受体信号通路等;分子功能主要富集在蛋白质异二聚化活性和 DNA 结合

等。下调的差异表达基因也在细胞组分中显著富集,包括细胞溶质、细胞外分泌体、细胞核等;生物学过程主要富集在蛋白质转运、细胞-细胞黏附等;分子功能主要富集在蛋白质结合、三磷酸腺苷 (ATP) 结合、三磷酸鸟苷 (GTP) 酶活性等。见表 1。

表 1 哮喘差异表达基因的 GO 分析

Table 1 Gene ontology analysis of differentially expressed genes in asthma

差异表达基因	分类	生物功能	P
上调	BP	染色质沉默 (chromatin silencing)	3.97×10^{-5}
	BP	调节 RNA 聚合酶 II 启动子响应缺氧的转录 (regulation of transcription from RNA polymerase II promoter in response to hypoxia)	4.09×10^{-2}
	BP	MyD88 依赖性 Toll 样受体信号通路 (MyD88-dependent toll-like receptor signaling pathway)	4.80×10^{-2}
	CC	核小体 (nucleosome)	2.93×10^{-7}
	CC	核染色质 (nuclear chromatin)	2.05×10^{-4}
	CC	细胞外分泌体 (extracellular exosome)	6.81×10^{-4}
	CC	肌动蛋白细胞骨架 (actin cytoskeleton)	4.39×10^{-2}
	MF	蛋白质异二聚化活性 (protein heterodimerization activity)	4.54×10^{-3}
	MF	DNA 结合 (DNA binding)	9.01×10^{-3}
	下调	BP	蛋白质转运 (protein transport)
BP		细胞-细胞黏附 (cell-cell adhesion)	8.66×10^{-6}
BP		mRNA 加工 (mRNA processing)	2.47×10^{-4}
BP		小 GTP 酶介导的信号转导 (small GTPase mediated signal transduction)	2.48×10^{-4}
BP		RNA 剪接 (RNA splicing)	1.34×10^{-3}
BP		应激反应 (response to stress)	9.87×10^{-4}
CC		细胞溶质 (cytosol)	1.85×10^{-17}
CC		extracellular exosome	2.61×10^{-11}
CC		膜 (membrane)	3.99×10^{-8}
CC		核质 (nucleoplasm)	8.25×10^{-7}
CC		细胞核 (nucleus)	5.35×10^{-3}
CC		细胞-细胞黏附连接 (cell-cell adherens junction)	1.70×10^{-5}
CC		细胞内核糖核蛋白复合物 (intracellular ribonucleoprotein complex)	3.06×10^{-5}
CC		高尔基膜 (Golgi membrane)	6.42×10^{-5}
CC		高尔基体 (Golgi apparatus)	8.89×10^{-5}
CC		线粒体 (mitochondrion)	3.20×10^{-4}
MF		蛋白质结合 (protein binding)	6.90×10^{-14}
MF		聚 (A) RNA 结合 (poly(A) RNA binding)	2.11×10^{-6}
MF		ATP 结合 (ATP binding)	2.73×10^{-6}
MF		未折叠的蛋白质结合 (unfolded protein binding)	4.14×10^{-6}
MF		钙黏蛋白结合参与细胞-细胞黏附 (cadherin binding involved in cell-cell adhesion)	4.94×10^{-6}
MF		二磷酸鸟苷 (GDP) 结合 (GDP binding)	7.56×10^{-6}
MF		GTP 酶活性 (GTPase activity)	2.97×10^{-5}

3.3 差异表达基因的 KEGG 分析 分析差异表达基因的上调基因后,未得到有效的涉及哮喘的通路。

下调基因被保留的信号通路主要富集在 MyD88 依赖性 Toll 样受体信号通路、血小板激活等,见表 2。

表 2 哮喘差异表达基因的 KEGG 分析

Table 2 KEGG pathway analysis of differentially expressed genes in asthma

通路	P	富集基因
MyD88-dependent Toll-like receptor signaling pathway	1.67×10^{-2}	HSP90AB1, CARD8, HSP90AA1, MAPK9, BIRC2, CHUK, PLD1, RAB8A, USP8, CAPZA2, VPS45, CHMP1B, TFRC, ZFYVE16, IST1, RAB11A, PDGCD61P, HSPA8
血小板激活 (platelet activation)	2.19×10^{-2}	ROCK1, PPP1R12A, RAP1A, PIK3CA, SNAP23, PPP1CC, ITGB1, PPP1CB, BTK, ITPR2
核苷酸结合寡聚化结构域样受体信号通路 (NOD-like receptor signaling pathway)	2.94×10^{-2}	HSP90AB1, CARD8, HSP90AA1, MAPK9, BIRC2, CHUK
泛素介导的蛋白水解 (ubiquitin mediated proteolysis)	2.96×10^{-2}	UBE2D3, UBR5, MAP3K1, ANAPC4, UBE2W, HERC4, RCHY1, UBE2Q2, BIRC2, TRIP12
内质网中的蛋白质加工 (protein processing in endoplasmic reticulum)	4.19×10^{-2}	HSP90AB1, SEC23A, UBE2D3, HSP90AA1, XBP1, EIF2S1, MAPK9, HSPA5, SEC62, HSPA8, ERLEC1
RNA transport	4.63×10^{-2}	EIF4G2, XPO1, EEF1A1, EIF4E, RAN, PAIP1, EIF2S1, EIF4A2, NUP93, THOC1, NMD3
转化生长因子-β 信号通路 (TGF-β signaling pathway)	4.97×10^{-2}	ROCK1, ZFYVE16, PPP2CA, PPP2CB, BMPR2, SMAD4, THBS1

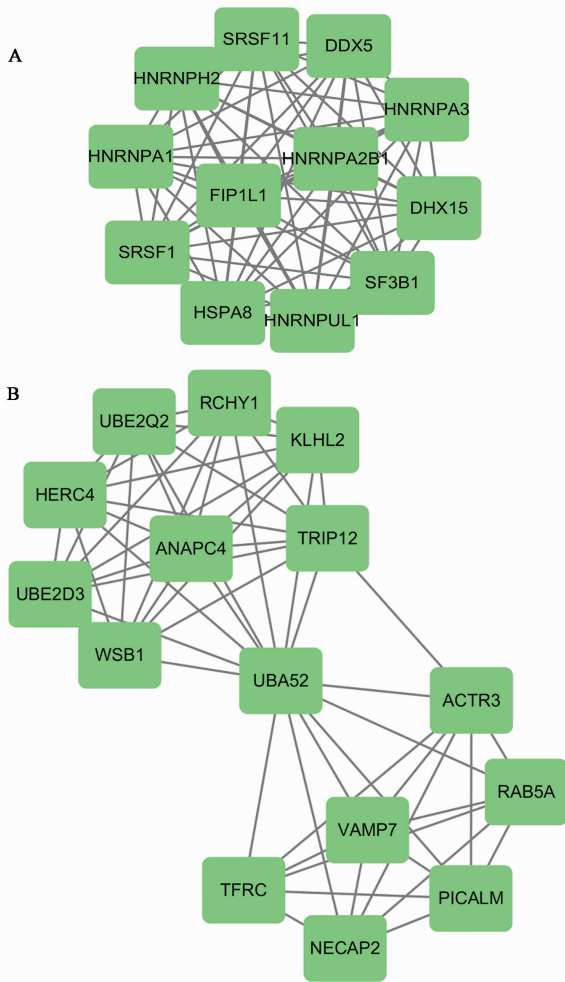
3.4 差异表达基因和核心基因的 PPI 分析 PPI 网络分析共含有 495 个节点和 1 781 条具有相互作用关系的边,见图 2。结果 T-复合蛋白 1θ 亚基 (CCT8), T 复合物蛋白 1α 亚单位 (TCP1), 26S 蛋白酶调节亚单位 S10B (PSMC6), 热休克蛋白 90α (HSP90A) A1, 细胞周期蛋白 C (CCNC), HSP90AB1, 26S 蛋白酶体非 ATP 酶调节亚基 6 (PSMD6), 泛素特异性蛋白酶 14 (USP14), 真核细胞翻译起始因子 4E (EIF4E) 蛋白的互作数分别为 71, 69, 52, 43, 39, 39, 39, 38, 35 次, 互作数均 ≥ 35 次, 为核心基因。

基因与药物之间的关联程度越大。将核心基因映射到 Coremine Medical 数据库筛选出 P 最小的前 10 个分子化合物, 其中格尔德霉素 ($P = 4.470 \times 10^{-7}$), 坦螺旋霉素 ($P = 6.430 \times 10^{-7}$), 根赤壳菌素 ($P = 1.620 \times 10^{-6}$), 阿螺旋霉素 ($P = 1.820 \times 10^{-6}$) 与 HSP90AA1 关系密切; 金雀异黄素 ($P = 3.100 \times 10^{-4}$), L-苏氨酸 ($P = 1.050 \times 10^{-6}$), 茴香毒素 ($P = 1.060 \times 10^{-3}$), L-丝氨酸 ($P = 1.260 \times 10^{-3}$) 是通过 PSMC6 映射得出; 金合欢醇 ($P = 1.220 \times 10^{-2}$) 通过 TCP1 映射得出; 头孢噻肟 ($P = 1.350 \times 10^{-2}$) 与 CCT8 具有密切联系。

3.5 差异表达基因的网络模块 Cytoscape 3.6.1 的插件 MCODE 分析出了 2 个重要模块, 见图 3。对模块中基因的功能进行分析, 结果发现模块 1 的基因主要与剪接体信号通路相关, GO 主要富集在通过剪接体进行 mRNA 剪接, mRNA 加工, RNA 从细胞核输出, 细胞内核糖核蛋白复合物, 剪接体催化步骤 2, 聚 (A) RNA 结合, 核苷酸结合等。模块 2 的基因主要与泛素介导的蛋白水解信号通路相关, GO 主要富集蛋白质多泛素化、蛋白质泛素化、蛋白质 K11 连接的泛素化、网格蛋白涂层坑、细胞质、遍在蛋白-蛋白质转移酶活性、蛋白质结合等。

4 讨论
4.1 哮喘患者和健康人之间存在差异表达基因 哮喘的发病因素复杂, 受遗传和环境因素之间相互作用的影响, 虽然大多数哮喘患者可以通过长时间吸入皮质类固醇实现疾病控制, 但仍有一部分有严重哮喘的患者可能会对长期的激素维持治疗产生耐药性^[9]。微阵列和高通量测序已被广泛用于预测哮喘的潜在治疗靶点。在本研究中, 所提取数据来自 GSE74986, 并使用生物信息学分析了哮喘患者和健康人之间的差异表达基因, 结果表明哮喘患者和健康人之间存在差异表达基因, 其中含有 29 个上调和 481 个下调的基因。而这些差异表达的基因有可能跟哮喘的发病有关系, 为了更好地理解差异表达

3.6 治疗哮喘相关的药物筛选 使用 Coremine Medical 进行治疗哮喘潜在药物的筛选, P 越小表示



A. 模块 1; B. 模块 2

图 3 MCODE 分析得到的蛋白相互作用模块

Fig. 3 Top 2 modules from protein-protein interaction network by MCODE analysis

GO 与 KEGG 分析表明, 差异表达基因与血小板激活, NOD 样受体信号通路, TGF- β 信号通路, MyD88 依赖性 Toll 样受体信号通路等有关。有研究表明血小板激活因子可引起支气管明显的收缩, 且哮喘患者的血小板激活因子的浓度明显增加^[12]。NOD 样受体是细胞内模式识别受体家族, 包含核苷酸结合富含亮氨酸重复序列和含 pyrin 结构域蛋白 (NLRP), NLRP 可形成炎性体的复合物, 激活白细胞介素 (IL)-1 β 和 IL-18 等炎性细胞因子, 和多类急性或者慢性肺部疾病相关, 例如哮喘^[13]。TGF- β 水平高低与哮喘发病的严重程度呈正相关, 且哮喘患者的气道上皮细胞、支气管黏膜下及聚集的炎性细胞中的 TGF- β 水平明显升高, 研究证明 TGF- β 通过诱导支气管上皮细胞凋亡促进哮喘的发展^[14]。大多数 Toll 样受体 (TLRs) 已被证明可触发依赖于 MyD88 的信号级联反应, 活化的 TLRs 随后调节炎

症相关的核转录因子- κ B (NF- κ B), 从而招募一组衔接蛋白, 说明 TLRs 可促进炎症性疾病, 并且 MyD88 依赖性 Toll 样受体信号通路在哮喘发病机制和导致急性、慢性炎症的机制中起重要作用^[15]。哮喘是一种复杂的炎症性疾病, 其特征在于气道炎症和重塑, 哮喘患者的气道处于慢性炎症状态, 慢性炎症刺激引起气道重塑, 形成恶性循环^[15]。与本研究结果相一致的是差异表达基因主要涉及的信号通路集中于炎症反应, 其次为血小板激活。说明检测这些信号传导途径可以帮助预测哮喘的进展, 并可能成为治疗哮喘的重要途径。

4.3 核心基因可能成为治疗哮喘的潜在靶点 为了进一步研究差异表达基因与哮喘间的关系, 笔者还通过 PPI 网络进一步得出了核心基因, 其中 CCT8 被确定为具有最高连接程度的核心基因。据报道, CCT8 是 CCT 复合物伴侣蛋白的亚基, 参与了微管蛋白、肌动蛋白等参与细胞生长和生存的蛋白质的折叠, 说明 CCT8 在基因表达修饰方面有一定的作用, 可能与哮喘的表观遗传调控途径相关^[16]。研究证明 PSMC6 在男性哮喘患者中的表达显著高于对照组的男性患者, PSMC6 蛋白酶体基因多态性会引起炎症的水平升高, 与哮喘的发病具有密切关系, 调节 PSMC6 可改善哮喘气道的慢性炎症状态^[17]。气道上皮细胞释放损伤相关分子模式在哮喘的发生和发展中起着至关重要的作用, 细胞外 HSP90AA1 通过 Toll 样受体 2 和/或 Toll 样受体 4 进行组织重塑效应, 从而介导免疫调节反应, 参与气道上皮细胞释放损伤相关分子模式, 提示 HSP90AA1 基因与哮喘的发病密切相关^[18]。

研究证明抑制 EIF4E 可以下调趋化因子的分泌以及抑制平滑肌细胞的增殖, 说明 EIF4E 可作为哮喘治疗的新潜在靶点^[19]。含有伴侣蛋白的 TCP1 是一种进化上保守的大分子复合物, 参与约 10% 细胞蛋白质组的折叠^[20]。CCNC 主要参与细胞周期的调控, 并与 RNA 聚合酶全酶结合以调节转录^[21]。HSP90AB1 是一大类伴侣蛋白, 在暴露于各种细胞应激后, 有助于蛋白质折叠, 稳定蛋白质并帮助重新折叠变性蛋白质^[22]。PSMD6 负责蛋白质识别和降解, 涉及许多生物过程, 例如蛋白质质量控制、细胞周期调节、基因表达和寿命调节等^[23]。USP14 可控制细胞内蛋白质降解, 包括底物识别、泛素缀合和蛋白酶体降解的泛素化底物, 是对蛋白质组稳态至关重要的主要蛋白酶体相关的去泛素化酶之一^[24]。综上所述, 核心基因主要与哮喘的表观遗传调控、

免疫反应、炎症反应、平滑肌细胞的增殖相关,通过调控或者监控核心基因,可能是治疗哮喘的潜在靶点或可能成为哮喘的新生物标志物。

4.4 小分子药物可能成为治疗哮喘的潜在药物

本研究通过 Coremine Medical 分析了治疗哮喘的潜在小分子药物,金雀异黄素是射干的主要成分之一,具有抗癌效果、神经保护作用,并可预防动脉粥样硬化,更重要的是具有抑制 IL-1 β 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等炎症因子表达的作用,可抑制丝裂原活化蛋白激酶通路激活,从而减少气道的炎性损伤,还可通过维持 Th1/Th2 的平衡发挥调节免疫的作用,从而明显改善哮喘模型小鼠的气道炎症^[25]。茴香霉素是从链霉菌中获取的细菌组分,常用于诱导癌细胞凋亡,或抑制调节蛋白激酶和 IL-2, IL-4 的表达,还具有免疫调节作用^[26]。L-苏氨酸是必须氨基酸,L-丝氨酸是非必需氨基酸,但二者都是半夏主要的成分之一,具有促进生长发育和调节免疫反应的作用^[27]。研究表明 PSMC6 是调控免疫和炎症反应的重要因素,说明金雀异黄素,茴香霉素,L-苏氨酸以及 L-丝氨酸可能通过调控 PSMC6 发挥其药理作用^[17]。金合欢醇是麻黄、桂枝的主要成分之一,具有抑制 TNF- α , IL-1 β 和诱导型一氧化氮合酶的分泌和减少氧化应激反应的作用,TCPI 是 CCT 伴侣蛋白的成员,可通过调节 NF- κ B 的活性来调控 TNF- α , IL-1 β 等炎症因子的分泌和氧化应激反应,说明金合欢醇的抗炎、抗氧化作用可能与调控 TCPI 有关^[20,28]。格尔德霉素、阿螺旋霉素都具有抑制热休克蛋白表达的作用,HSP90AA1 是热休克蛋白的其中一种类型,可抑制参与气道上皮细胞释放损伤相关分子模式,与哮喘的发病密切相关,说明格尔德霉素、阿螺旋霉素具有通过调节 HSP90AA1 干预哮喘的潜在作用^[29-30]。上述小分子药物均有可能成为通过干预核心基因发挥治疗哮喘的潜在药物。

本研究提示差异表达基因主要参与表观遗传调控和炎症反应等生物学过程;主要与血小板激活, NOD 样受体信号通路, MyD88 依赖性 Toll 样受体信号通路等有关;其中核心基因 CCT8, TCPI, PSMC6 等可能是与哮喘发病相关的关键因素。金雀异黄素、茴香霉素等可能成为治疗哮喘的新药物,为后续哮喘分子机制及其治疗药物的研究提供了一系列潜在目标,但仍需进一步的实验来证实差异表达基因和小分子药物的功能。

[参考文献]

- [1] Martinez F D. Genes, environments, development and asthma: a reappraisal [J]. *Eur Respir J*, 2007, 29(1): 179-184.
- [2] Hetherington K J, Heaney L G. Drug therapies in severe asthma—the era of stratified medicine [J]. *Clin Med (Lond)*, 2015, 15(5): 452-456.
- [3] van Beijsterveldt C E, Boomsma D I. Genetics of parentally reported asthma, eczema and rhinitis in 5-yr-old twins [J]. *Eur Respir J*, 2007, 29(3): 516-521.
- [4] Goetghebuer T, Isles K, Moore C, et al. Genetic predisposition to wheeze following respiratory syncytial virus bronchiolitis [J]. *Clin Exp Allergy*, 2004, 34(5): 801-803.
- [5] 关双, 苏苑苑, 刘琼, 等. 基于网络药理学预测银杏蜜环口服溶液治疗冠心病与焦虑症的分子机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(15): 182-189.
- [6] 刘志强, 王博龙. 基于网络药理学预测二妙丸“一方多效”的分子机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(18): 198-206.
- [7] LIANG B, LI C, ZHAO J. Identification of key pathways and genes in colorectal cancer using bioinformatics analysis [J]. *Med Oncol*, 2016, 33(10): 111-119.
- [8] KONG Q, MA Y, YU J, et al. Predicted molecular targets and pathways for germacrone, curdione, and furanodiene in the treatment of breast cancer using a bioinformatics approach [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 15543.
- [9] Barnes P J. New therapies for asthma: is there any progress? [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2010, 31(7): 335-343.
- [10] Miller R L, Lawrence J. Understanding root causes of asthma. Perinatal environmental exposures and epigenetic regulation [J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2018, 15 (Supplement2): S103-S108.
- [11] Gunawardhana L P, Gibson P G, Simpson J L, et al. Characteristic DNA methylation profiles in peripheral blood monocytes are associated with inflammatory phenotypes of asthma [J]. *Epigenetics*, 2014, 9(9): 1302-1316.
- [12] Rubin A H, Smith L J, Patterson R. The bronchoconstrictor properties of platelet-activating factor in humans [J]. *Am Rev Respir Dis*, 1987, 136(5): 1145-1151.
- [13] Pace E, Di Sano C, Ferraro M, et al. Budesonide increases TLR4 and TLR2 expression in treg lymphocytes of allergic asthmatics [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2015, 32: 93-100.

- [14] SHEN Z J, Esnault S, Rosenthal L A, et al. Pin1 regulates TGF- β_1 production by activated human and murine eosinophils and contributes to allergic lung fibrosis[J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(2): 479-490.
- [15] Mishra V, Banga J, Silveyra P. Oxidative stress and cellular pathways of asthma and inflammation; therapeutic strategies and pharmacological targets[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 181: 169-182.
- [16] WEI P L, HUANG C Y, TAI C J, et al. Glucose-regulated protein 94 mediates metastasis by CCT8 and the JNK pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(6): 8219-8227.
- [17] Zemeckiene Z, Sitkauskienė B, Gasiuniene E, et al. Evaluation of proteasomal gene polymorphisms in lithuanian patients with asthma[J]. *J Asthma*, 2015, 52(5): 447-452.
- [18] Wong S L, To J, Santos J, et al. Proteomic analysis of extracellular HMGB1 identifies binding partners and exposes its potential role in airway epithelial cell homeostasis[J]. *J Proteome Res*, 2018, 17(1): 33-45.
- [19] Seidel P, SUN Q, Costa L, et al. The MNK-1/eIF4E pathway as a new therapeutic pathway to target inflammation and remodelling in asthma [J]. *Cell Signal*, 2016, 28(10): 1555-1562.
- [20] Pejanovic N, Hochrainer K, LIU T, et al. Regulation of nuclear factor κ B (NF- κ B) transcriptional activity via p65 acetylation by the chaperonin containing TCP1 (CCT)[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e42020.
- [21] Strich R, Cooper K F. The dual role of cyclin C connects stress regulated gene expression to mitochondrial dynamics[J]. *Microb Cell*, 2014, 1(10): 318-324.
- [22] Haase M, Fitze G. HSP90A1: helping the good and the bad[J]. *Gene*, 2016, 575(1): 171-186.
- [23] CHEN M, HU C, ZHANG R, et al. A variant of PSMD6 is associated with the therapeutic efficacy of oral antidiabetic drugs in Chinese type 2 diabetes patients [J]. *Sci Rep*, 2015, doi:10. 1038/srep10701.
- [24] Glickman M H, Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction[J]. *Physiol Rev*, 2002, 82(2): 373-428.
- [25] WEI J, Bhatt S, CHANG L M, et al. Isoflavones, genistein and daidzein, regulate mucosal immune response by suppressing dendritic cell function[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47979.
- [26] 朱雁飞. 茴香霉素对小鼠 T 淋巴细胞活性的调节[J]. *牡丹江医学院学报*, 2010, 31(3): 15-17.
- [27] Singh R K, Najmi A K. Novel therapeutic potential of mitogen-activated protein kinase activated protein kinase 2 (MK2) in chronic airway inflammatory disorders[J]. *Curr Drug Targets*, 2019, 20(4): 367-379.
- [28] Santhanasabapathy R, Vasudevan S, Anupriya K, et al. Farnesol quells oxidative stress, reactive gliosis and inflammation during acrylamide-induced neurotoxicity: behavioral and biochemical evidence[J]. *Neuroscience*, 2015, 308: 212-227.
- [29] 吴琳, 汪芳裕, 路又可, 等. 阿螺旋霉素在急性小鼠溃疡性结肠炎模型中的保护性作用[J]. *世界华人消化杂志*, 2014, 22(7): 975-981.
- [30] 易凤炎, 周长林, 顾觉奋. 抗癌抗生素格尔德霉素衍生物 17AAG 的研究进展[J]. *药学进展*, 2015, 39(8): 598-602.

[责任编辑 刘德文]