秦瑜玲, 隋娟, 侯梓桐, 等. 基于生物信息学探讨复发性流产与系统性红斑狼疮的关系[J]. 中南医学科学杂志, 2022, 50(3): 354-357.

·临床医学·

DOI:10.15972/j.cnki.43-1509/r.2022.03.010

基于生物信息学探讨复发性流产与系统性红斑狼疮的关系

秦瑜玲[1], 隋娟[1], 侯梓桐[1], 孟云霄[2], 周天一[2], 陈瑞雪[1]

(1. 中国中医科学院广安门医院,北京市 100053;2. 北京中医药大学,北京市 100029)

[关键词] 复发性流产; 系统性红斑狼疮; 生物信息学; 相互关系

[摘 要] **目的** 基于生物信息学方法探讨复发性流产与系统性红斑狼疮之间的相互关系。**方法** 在相关人类疾病数据库(GeneCards、OMIM、Durgbank)中分别以复发性流产及系统性红斑狼疮筛选靶基因,整合后映射两组疾病靶点得到交集靶点,利用 Cytoscape 软件按照 Degree 值大小筛选出核心交集靶点,并利用 DAVID 数据库进行 KEGG 通路及 GO 分析。**结果** 复发性流产与系统性红斑狼疮的核心交集靶点为信号传导与转录激活因子 3(STAT3)、白细胞介素-1β(IL-1β)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF)、血管内皮生长因子 A(VEGFA)、Janus 激酶 2(JAK2)等,相关通路集中在 PI3K-Akt 信号通路、JAK/STAT 信号通路、HIF-1 信号通路。**结论** 复发性流产与系统性红斑狼疮在基因靶点与信号通路方面存在大量重合,提示两种疾病的分子机制存在密切联系,同时也给临床发掘诊断标志物以及药物治疗提供新思路。

[中图分类号] R271.9 [文献标识码] A

Relationship between recurrent spontaneous abortion and systemic lupus erythematosus based on bioinformatics

QIN Yuling[1], SUI Juan[1], HOU Zitong[1], MENG Yunxiao[2], ZHOU Tianyi[2], CHEN Ruixue[1]

(1. *Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing* 100053, *China*; 2. *Beijing University of Chinese Medicine, Beijing* 100029, *China*)

[**KEY WORDS**] recurrent spontaneous abortion; systemiclupus erythematosus; bioinformatics; relationship

[**ABSTRACT**] **Aim** To investigate the relationship between recurrent spontaneous abortion and systemic lupus erythematosus based on bioinformatics method. **Methods** The target genes were screened for recurrent spontaneous abortion and systemic lupus erythematosus in the relevant human disease databases (GeneCards, OMIM, Durgbank), respectively. After integration, the two groups of disease targets were mapped to obtain the intersection targets. Cytoscape software was used to screen out according to the degree value. Core intersection targets, and KEGG pathway and GO analysis were performed using the DAVID database. **Results** The core intersection targets of recurrent spontaneous abortion and systemic lupus erythematosus were: signal transduction and activator of transcription 3 (STAT3), interleukin-1β (IL-1β), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor (TNF), vascular endothelial growth factor A (VEGFA), Janus kinase 2 (JAK2), etc. The related pathways are concentrated in the PI3K-Akt signaling pathway, the JAK/STAT signaling pathway, and the HIF-1 signaling pathway. **Conclusions** Recurrent abortion and systemic lupus erythematosus have a lot of overlap in gene targets and signal pathways, suggesting that there is a close relationship between the molecular mechanisms of the two diseases. At the same time, it also provides new ideas for clinical exploration of diagnostic markers and drug treatment.

复发性流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)是指女性与同一性伴侣发生 3 次或 3 次以上在妊娠 28 周之前的胎儿丢失[1]。RSA 病因复杂,有学者发现 RSA 可能由免疫因素导致[2]。系统性

[收稿日期] 2021-06-17 [修回日期] 2021-12-20

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82074484);中央本级重大增减支项目(2060302);中国中医科学院基本科研业务费自主选题项目(ZZ070843)

[作者简介] 秦瑜玲,硕士研究生,研究方向为中医药治疗不孕不育、月经失调、盆腔炎、妇科肿瘤等疾病,E-mail 为 xiaohan199777@126.com。通信作者陈瑞雪,博士,主任医师,教授,博士研究生导师,研究方向为中医药治疗不孕不育、月经失调、盆腔炎、妇科肿瘤等疾病,E-mail 为 chenruixue@gamyy.cn。

红斑狼疮(systemic lupus erythematosus,SLE)是一种自身免疫性疾病,好发于育龄期女性,近年来临床发现,SLE 患者妊娠期间 RSA 发病率大大增高,而 RSA 合并 SLE 出现不良妊娠结局的风险也同样升高[3],由此可见两病之间关系密切。研究表明,SLE 患者妊娠期间会出现蜕膜绒毛上 C3、IgG、IgM 等免疫复合物沉积,影响绒毛的物质交换功能,从而导致 RSA 等不良妊娠结局的发生[4]。本文应用生物信息学整合复发性流产与系统性红斑狼疮的基因信息,从分子层面阐述二者间的相关作用机制,为临床治疗提供理论依据与研究思路。

1　资料和方法

1.1　靶点基因预测

检索三大人类疾病数据库(GeneCards、OMIM、Drugbank),分别以“recurrent spontaneous abortion”“systemic lupus erthymatosus”为关键词筛选复发性流产与系统性红斑狼疮的相关靶点基因。其中 GeneCards 数据库(https://www.genecards.org/)所得 Relevance Score 值的高低与该靶点-疾病联系的密切程度呈正相关,为提高准确性,仅选择 GeneCards 数据库中 Score 值排名前 300 的靶点基因。在 OMIM 数据库(https://omim.org/)Gene Map 高级搜索中筛选疾病相关靶点基因。在 Drugbank 数据库仅选用经食品药品管理局批准且为人类基因/蛋白的药物对应靶点。为了提高准确性,随后将两组基因分别通过 Uniprot 数据库(https://www.uniprot.org)转换成 Uniprot ID 筛选已认证靶点同时合并去重,获得已明确认证的复发性流产与系统性红斑狼疮的疾病靶点基因。

1.2　核心靶点基因筛选

将上述得到的两组疾病相关靶点基因相互映射,然后将交集靶点基因借助 String 数据库进行相互作用网络(即 PPI 网络),然后导入 Cytoscape3.7.1 软件中,根据 Degree 算法计算出节点连接度(Degree 值),再于数据面板(table panel)中选取 Degree 值排名前 15 的靶点制作核心靶点基因图。这些基因可能用来解释复发性流产与系统性红斑狼疮之间相互影响的作用机制。

1.3　生物通路及富集分析

DAVID 数据库(https://david.ncifcrf.gov/)可用于基因富集分析及信息的可视化,将 RSA 和 SLE 疾病靶点基因信息分别导入 DAVID 数据库,物种限定为“Homo sapiens”,分别进行 KEGG 通路分析,按照 P 值大小选取排名前 50 的通路,筛选并取两组的交集,利用 Cytoscape 软件构建两种疾病的 KEGG 交互通路图。然后再对两种疾病进行生物学过程(BP)层面的 GO 分析,根据 P 值大小取排名前 10,分别绘制富集气泡图。

2　结　果

2.1　靶点基因预测及核心靶点基因筛选结果

经过筛选合并去重后,得到复发性流产相关有效靶点基因 327 个,系统性红斑狼疮相关有效靶点基因 352 个,两组疾病相关基因靶点相互映射,获得交集靶点基因 118 个。将 118 个交集靶点基因导入 Cytoscape3.7.1 软件计算,得到排名前 15 的核心交集靶点基因(图 1),其中 STAT3 是最核心的交集靶点基因。

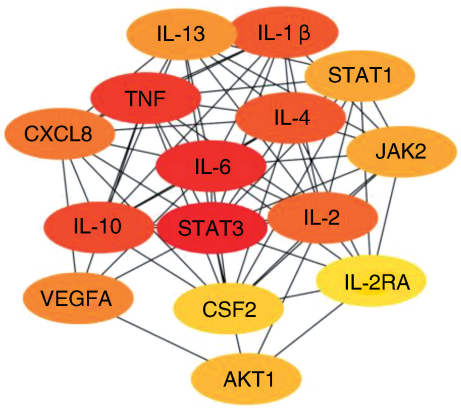


图 1　核心靶点基因图

颜色深浅代表 Degree 值大小,颜色越深,Degree 值越大

2.2　生物通路及富集分析结果

KEGG 通路分析发现,RSA 和 SLE 大量通路是重合的,如 PI3K-Akt 信号通路、JAK/STAT 信号通路等(图 2)。生物学过程(BP)层面 GO 分析发现,RSA 富集过程数量为 801 个,SLE 富集过程数量为 404 个,根据 P 值大小取排名前 10 分别绘制生物富集气泡图(图 3)。GO 分析发现,RSA 和 SLE 的疾病基因在生物学过程(BP)层面都主要与炎症反应、免疫反应、脂多糖介导的信号通路等有关。

3　讨　论

复发性流产的病因多样,大多与免疫因素有关。而系统性红斑狼疮作为育龄期女性常见的免

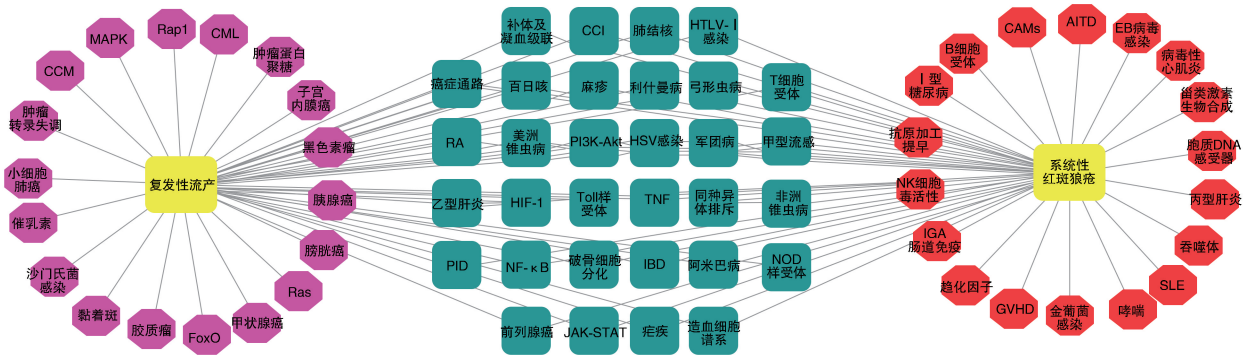


图 2　RSA 与 SLE 的交互通路

图中 Signaling pathway 已被省略；蓝色代表交互通路，紫色代表复发性流产相关通路，红色代表系统性红斑狼疮相关

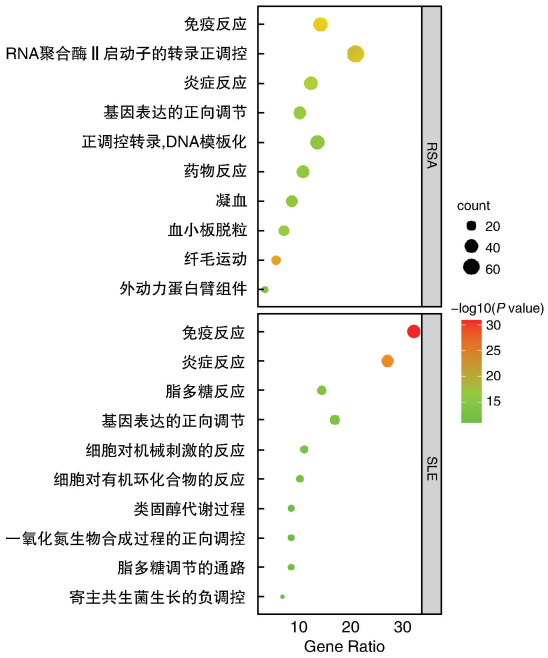


图 3　SLE 和 RSA GO 分析 BP 层面气泡图

疫系统疾病，以往一般是妊娠的禁忌证，随着 RSA 合并 SLE 的患者数量不断增加以及医学的进步，有些患者在 SLE 控制期可以进行妊娠生育，那么，如何更好地改善其妊娠结局也成为了医学界关注的热点。本文通过生物信息学技术，发现诸多靶点基因及信号通路与二者相关，这或许揭示了 RSA 与 SLE 之间的相互作用机制。

信号传导与转录激活因子 3（signal transducer and activator of transcription 3，STAT3）作为两病最核心的交集靶点基因，FINAN 等[5]研究发现其 rs1053004 位点的多态性改变与复发性流产相关。Liu 等[6]研究发现，RSA 患者蜕膜 CD4+T 细胞的 STAT3 磷酸化水平明显高于正常孕妇，说明 RSA 患者母胎界面 T 细胞中的 STAT3 是被过度激活，而这种过度磷酸化会影响妊娠结局，造成反复自然流产。有研究表明系统性红斑狼疮的发生与 Th17/Treg 平衡失调密切相关，而 Th17 细胞分化、增殖信号转导通路的关键靶点也是 STAT3，Th17 分化增强会加速 SLE 的进展。

白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）、IL-10、IL-4、IL-1β、IL-2、IL-13 等都参与免疫反应，正常妊娠需要母体免疫系统对母胎抗原产生免疫识别和免疫耐受，这能避免不良妊娠结局的发生。而白细胞介素可以诱导肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）的产生，早有研究表明高表达的 TNF-α 会打破母胎界面 Th1/Th2 免疫平衡，促进 Th1 型细胞因子水平升高，产生排斥胚胎的细胞免疫反应，进而引起流产[7-8]。研究同样发现 Th1/Th2 细胞也参与了系统性红斑狼疮的产生机制[9]。

血管内皮生长因子 A（vascular endothelial growth factor A，VEGFA）是 VEGF 主要的形式，有证据表明 VEGF 在胎儿和胎盘血管生成中影响很大，RSA 病例胎盘样本中早期滋养细胞 VEGF 表达较胎龄匹配的正常胎盘弱[10]，Xu 等[11] Meta 分析显示 VEGF 基因 rs1570360、rs3025039 等的多态性与 RSA 风险升高相关。Wei 等[12]分析则表明 VEGF 基因多态性与慢性免疫介导炎性疾病易感性密切相关，而 SLE 就包含其中。

JAK/STAT 信号通路是 RSA 与 SLE 的交互通路之一，其中，JAK2 是 JAK 基因家族的一员，其对 IL-12 信号通路发挥着重要作用，从而影响 T 细胞的分化，同时，JAK/STAT 蛋白可以抑制多种细胞因子，细胞因子的失调是系统性红斑狼疮的一个标志[13]。同样，JAK/STAT 信号转导通路负责介导 50 多种细胞因子、生长因子和激素的信号，如干扰素（IFN）Ⅰ型（α/β）和Ⅱ型（γ）已经在 SLE 病理生理

学中得到证实[14]。基因富集的通路分析也表明 RSA 的发生与细胞因子、细胞-细胞相互作用等细胞信号通路密切相关,JAK/STAT 通路是多种细胞因子和生长因子的主要信号机制,受到 IL-6 细胞因子的主要调节。比如文献[15]研究发现通过沉默或敲低 JAK 或 STAT 的 RNA 可阻断 IL-6 的生物学效应。

PI3K/Akt 通路由磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3 kinase,PI3K)及 Akt 组成,主要是调控细胞增殖和分化[16]。梁卫桃[17]研究发现流产患者可能是 PI3K/Akt 通路被抑制,滋养细胞凋亡数目增多,分泌的 β-HCG 和孕酮减少,继而导致流产。研究还显示 PI3K/Akt 通路在血管形成过程中起到重要作用[18],夏妍芬等[19]发现使用 PI3K 抑制剂 LY294002 可以逆转低氧对 VEGF 的上调表达作用,得出阻断 PI3K/Akt 通路可以减少 VEGF 合成的结论。

综上所述,本研究利用生物信息学研究分别筛选得到了复发性流产与系统性红斑狼疮致病相关的靶点基因、核心交集靶点基因与生物富集信号通路,同时用可视化图表清晰地表示出二者的相互作用关系,既从分子机制为探索两种疾病的联系提供了参考,同时也给临床发掘疾病诊断标志物及药物治疗提供了新思路。当然,本研究均是基于数据库信息,仍需要进一步完善相关临床及动物实验进行验证。

[参考文献]

[1] 李琪雁, 王轶英, 汪田田, 等. 复发性流产免疫相关发病因素及研究进展[J]. 国际生殖健康计划生育杂志, 2020, 39(6): 499-503.

[2] 汪希鹏. 复发性流产与反复种植失败的病因和治疗新观点[J]. 中华妇产科杂志, 2019, 54(12): 793-796.

[3] OSTENSEN M, CLOWSE M. Pathogenesis of pregnancy complications in systemic lupus erythematosus[J]. Curr Opin Rheumatol, 2013, 25(5): 591-596.

[4] 杨西超, 牛敏, 杜望磊, 等. 妊娠期系统性红斑狼疮不良妊娠结局影响因素分析[J]. 中国性科学, 2019, 28(11): 42-45.

[5] FINAN R R, MUSTAFA F E, AL-ZAMAN I, et al. STAT3 polymorphisms linked with idiopathic recurrent miscarriages[J]. Am J Rep Immunol, 2010, 63(1): 22-27.

[6] LIU B, WU H, HUANG Q, et al. Phosphorylated STAT3 inhibited the proliferation and suppression of decidual Treg cells in unexplained recurrent spontaneous abortion[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 82: 106337.

[7] 吴献青, 方小玲, 聂妹芳, 等. IL-1β 或 TNF-α 干预的子宫蜕膜细胞对母胎界面 Th1/Th2 及 Th17/Treg 平衡的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2017, 42(1): 66-71.

[8] 殷晓颖, 杨蓉, 肖梅. 稽留流产患者血浆 Hcy、TNF-α、叶酸水平及相关性[J]. 中国计划生育学杂志, 2020, 28(11): 1884-1886.

[9] 李淅萌. 细胞因子在系统性红斑狼疮中的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(11): 1174-1178.

[10] TORRY D S, HINRICHS M, TORRY R J. Determinants of placental vascularity[J]. Am J Rep Immun, 2004, 51(4): 257-268.

[11] XU X H, DU C G, LI H H, et al. Association of VEGF genetic polymorphisms with recurrent spontaneous abortion risk: a systematic review and meta-analysis[J]. PloS One, 2015, 10(4): e0123696.

[12] WEI N, CHEN Z, XUE Z, et al. Polymorphism of VEGF gene in susceptibility to chronic immune-mediated inflammatory diseases: a meta-analysis[J]. Rheumatolog Internation, 2015, 35(8): 1351-1360.

[13] ALUNNO A, PADJEN I, FANOURIAKIS A, et al. Pathogenic and therapeutic relevance of JAK/STAT signaling in systemic lupus erythematosus: integration of distinct inflammatory pathways and the prospect of their inhibition with an oral agent[J]. Cells, 2019, 8(8): 898.

[14] MOK C C. The jakinibs in systemic lupus erythematosus: progress and prospects[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2019, 28(1): 85-92.

[15] DONEGAN J J, PATTON M S, CHAVERA T S, et al. Interleukin-6 attenuates serotonin 2a receptor signaling by activating the JAK-STAT pathway[J]. Mol Pharmacol, 2015, 87(3): 492-500.

[16] LI Z, ZHOU G, JIANG L, et al. Effect of STOX1 on recurrent spontaneous abortion by regulating trophoblast cell proliferation and migration via the PI3K/Akt signaling pathway[J]. J Cell Biochem, 2018, 120(5): 8291-8299.

[17] 梁卫桃. PI3K/Akt 信号通路在 IGF-1 调控滋养层细胞分泌 β-hCG 和孕酮中的作用研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2020: 10-25.

[18] NEWTON H B. Molecular neuro-oncology and development of targeted therapeutic strategies for brain tumors: PI3K/Akt/PTEN, mTOR, SHH/PTCH and angiogenesis[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2004, 4(1): 105-128.

[19] 夏妍芬, 植枝福, 梁爽, 等. PI3K/Akt 通路在稽留流产发病中的作用研究[J]. 广西医科大学学报, 2020, 37(11): 2003-2008.

(此文编辑　朱雯霞)