

基于生物信息学筛选肠易激综合征 免疫浸润下的染色质调节因子

彭剑岚, 朱永苹, 林寿宁, 廖冬燕, 姜俊玲, 吴月霞

(广西中医药大学附属瑞康医院消化科, 广西 南宁 530001)

[摘要] 目的: 通过生物信息学分析, 筛选出肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS) 免疫浸润下的潜在染色质调控因子(chromatin regulators, CRs), 并阐述其与免疫细胞、免疫功能之间的联系。方法: 整合 CRs 文件和 IBS 基因表达矩阵, 进行加权基因共表达分析和差异性分析, 取其交集 CRs; 基于交集 CRs, 进行蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI) 分析并构建网络图; 利用基因表达矩阵进行免疫浸润的提取和量化, 分析免疫细胞之间和免疫功能之间的相关性和差异性, 并与 PPI 网络图中的 CRs 进行相关性分析; 构建风险模型, 分析与免疫浸润密切相关的 CRs 的风险概率, 从而筛选出潜在的 CRs。结果: PPI 分析共确定 13 个 IBS 中存在相互作用的 CRs; 免疫细胞中, B 细胞与滤泡辅助性 T 细胞的相关系数值最高, 呈正相关($r=0.90$); 免疫功能中, 检查点与 T 细胞共抑制的相关系数值最高, 呈正相关($r=0.89$); 与健康受试者相比, IBS 患者树突状细胞、未成熟树突状细胞、Th1 细胞和抗原呈递共刺激显著增高(P 均 <0.05); CRs 与免疫浸润相关性分析结果显示, SIN3 转录调节因子家族成员 B(SIN3B) 与自然杀伤细胞呈正相关, 丝氨酸/精氨酸重复基质蛋白 2(SRRM2) 与 Th1 细胞、抗原呈递共刺激呈正相关, 而 DPY30 与辅助性 T 细胞、Th1 细胞呈负相关; 风险模型结果显示, SIN3B、SRRM2 可能是 IBS 的独立风险因素。结论: SIN3B、SRRM2 为 IBS 免疫浸润的潜在 CRs, 其可能通过调控自然杀伤细胞、Th1 细胞和抗原呈递共刺激, 从而调节 IBS 的发生发展。

[关键词] 肠易激综合征; 免疫浸润; 染色质调控因子; 生物信息学; SIN3B; SRRM2

[中图分类号] R574 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-7783(2024)02-0166-10

DOI: 10.13312/j.issn.1671-7783.y220205

[引用格式] 彭剑岚, 朱永苹, 林寿宁, 等. 基于生物信息学筛选肠易激综合征免疫浸润下的染色质调节因子[J]. 江苏大学学报(医学版), 2024, 34(2): 166-175.

Screening of potential chromatin regulators under immune infiltration in irritable bowel syndrome based on bioinformatics

PENG Jianlan, ZHU Yongping, LIN Shouning, LIAO Dongyan, JIANG Junling, WU Yuexia

(Department of Gastroenterology, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning Guangxi 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To screen out potential chromatin regulators (CRs) under immune infiltration in irritable bowel syndrome (IBS) by bioinformatics analysis and to evaluate their links with immune cells and immune functions. **Methods:** The CRs file and IBS gene expression matrix were integrated, and weighted gene co-expression analysis and differential analysis were performed to take the intersection CRs; based on the CRs obtained from the intersection, protein-protein interaction (PPI) analysis was performed and the network diagram was constructed. Immune infiltration was extracted and quantified using a gene expression matrix to analyze the correlation and variability between immune cells and between immune functions; and the correlation with CRs in the PPI network diagram was analysed. By constructing a risk model, we analyzed the risk probability of CRs closely related to immune infiltration,

[基金项目] 全国名老中医药专家传承工作室建设项目[国中医药人教函(2022)75号]; 桂派中医大师培养项目[桂中医药科教发(2022)6号]; 广西壮族自治区中医药管理局自筹课题(Z20210250)

[作者简介] 彭剑岚(1995—), 女, 硕士, 住院医师, 主要从事消化系统疾病的中西医结合诊治研究; 朱永苹(通讯作者), 主任医师, 硕士生导师, E-mail: 529090217@qq.com

and thus screened out the potential CRs. **Results:** PPI analysis identified a total of 13 interacting CRs in IBS. Among immune cells, the correlation ship between B cells and follicular T helper cells was the strongest and positively correlated ($r=0.90$). In immune function, the correlation ship between checkpoint and T cell co-inhibition was the strongest and positively correlated ($r=0.89$). Compared with healthy subjects, IBS patients showed a significant increase in co-stimulation of dendritic cells, immature dendritic cells, Th1 cells, and antigen presentation (all $P<0.05$). The correlation analysis between CRs and immune infiltration showed that SIN3 transcription regulator family member B gene (SIN3B) was positively correlated with natural killer cells, serine/arginine repetitive matrix protein 2 (SRRM2) was positively correlated with Th1 cells and antigen-presenting cells co-stimulation, while DPY30 was negatively correlated with helper T cells and Th1 cells. Risk model results showed that SIN3B and SRRM2 may be independent risk factors for IBS. **Conclusion:** SIN3B and SRRM2 are potential CRs for immune infiltration in IBS, which may regulate the occurrence and development of IBS by regulating natural killer cells, Th1 cells and antigen presentation co-stimulation.

[Key words] irritable bowel syndrome; immune infiltration; chromatin regulators; bioinformatics; SIN3B; SRRM2

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以腹痛和排便习惯改变为特征的功能性肠道疾病,主要表现为便秘、腹泻或两者兼有^[1]。目前,IBS影响着全球约11%的人口^[2],其中大约1/3的IBS患者以便秘为主要肠道症状^[3]。IBS患病率高、症状反复,致患者、卫生医疗系统和社会承受着巨大的经济负担^[4-5]。IBS是一种多因素导致的疾病,但目前其病理生理机制尚不完全清楚。近期,IBS被重新定义为肠-脑相互作用的疾病^[6],而作为肠-脑互动的关键纽带,免疫系统的平衡在IBS中起重要作用^[7]。此外,相关研究表明,遗传因素对IBS具有一定的影响^[8]。越来越多的研究表明,在IBS发病机制中,应激和早期不良生活事件等环境因素可能通过表观遗传编码对IBS进行调控^[9-11]。

表观遗传学是指在不改变DNA序列的前提下,改变染色体、基因表达和遗传表型的一种机制^[12],其中,染色质调控因子(chromatin regulators, CRs)是其不可或缺的上游调控元件^[13]。根据CRs在表观遗传学中的作用,主要分为组蛋白修饰物、染色质重塑因子和DNA甲基化因子三类^[14]。研究表明,在新生炎症大鼠中,组蛋白去乙酰化酶3与L型钙离子通道 $\alpha1C$ 亚基(CACNA1C)之间相互作用减弱可增加启动子区组蛋白H3赖氨酸9乙酰化,从而导致肠道运动障碍和腹泻^[15]。目前关于CRs在IBS免疫方面的调控机制尚不清楚。基于此,本研究首先通过加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)和差异分析,筛选CRs在IBS中的候选关键基因,并通过蛋白质-蛋白质相互作用

用(protein-protein interaction, PPI)分析它们之间的相互作用情况;其次基于PPI网络图中的CRs,分析它们与免疫浸润之间的相关性,并构建风险模型。

1 材料与方法

1.1 基因数据来源及预处理

采用GEO数据库(www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/)进行搜索和筛选,以“irritable bowel syndrome”为检索词。筛选条件设置:(1)微阵列分析或高通量测序得到的mRNA表达谱;(2)数据集的组织样本需来自人体,且包含健康组和IBS患者组;(3)健康组和IBS组样本总量需70例及以上。基于此,本研究检索到数据集GSE36701,共72例样本(46例IBS患者和26例健康者),均来源于人体直肠。

采用仙桃学术平台(<https://www.xiantao.love/>)对GSE36701数据集的原始和系列矩阵文件进行转化,从而得到基因表达矩阵。另外,本研究通过整合IBS基因表达矩阵和CRs文件,从而得到CRs表达矩阵,CRs来源于文献[16]。

1.2 CRs差异表达分析

采用“Limma”R包分析CRs在健康者和IBS患者中的表达差异。其中,差异倍数(fold change, FC)代表两组样本的表达水平之比, P 值则为差异显著性阈值。筛选差异表达基因的阈值设置为 $P<0.05$ 和 $|\log_2FC|>0.1$ 。同时,采用“pheatmap”和“ggplot2”R包分别绘制热图和火山图,将差异情况可视化。

1.3 基因共表达分析

通过R语言中的“WGCNA”包,构建46例IBS

患者和26例健康者共表达网络。主要包括以下几个步骤:(1)定义相似矩阵;(2)选取权重系数 β ,从而将相似性矩阵转化为邻接矩阵;(3)将邻接矩阵转化为拓扑重叠矩阵;(4)对dissTOM进行分层聚类,从而得到分层聚类树;(5)通过动态剪切树切割方法来识别模块,每个共表达模块至少有30个基因;(6)计算各基因模块的特征值及各模块特征值之间的Pearson相关系数。组合相似度高的模块进而获得基因共表达网络。选取模块特征向量和性状之间相关系数值最大且模块显著性 $P<0.05$ 的核心模块。

1.4 候选关键基因的富集分析

基于差异表达基因分析结果和WGCNA核心模块基因结果绘制韦恩图,取二者交集基因,即为与IBS相关的候选CRs。将其作为输入文件,利用DAVID数据库(<http://david.ncifcrf.gov>)进行基因本体论(gene ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析,并通过仙桃学术平台绘制富集分析和弦图。

1.5 PPI分析

通过String数据库(<http://string-db.org/cgi/input.pl>)对候选CRs进行PPI分析,置信度得分设置为 >0.4 ,并隐藏游离蛋白,最后将其结果及PPI网络图导出。

1.6 浸润免疫的提取和量化

通过MsigDB(<https://www.gsea-msigdb.org/gsea/msigdb/>)数据库检索关键词“IMMUNITY”,得到相应gmt文件。接着通过“GSVA”R包对转化后的表达矩阵进行单样本基因集富集分析(single-sample gene set enrichment analysis, ssGSEA)评分,从而估算每个样本的免疫浸润程度,并通过“reshape2”, “ggplot2”和“RColorBrewer”R包绘制免疫浸润占比热图。

1.7 免疫细胞之间和免疫功能之间相关性及其差异性分析

基于ssGSEA评分结果,通过“corrplot”R包进行免疫浸润相关性分析,并绘制热图;此外,为比较免疫浸润在IBS患者和健康者中的差异,对ssGSEA评分结果和样本分组情况进行整合,通过“vioplot”R包进行秩和检验并绘制小提琴图。

1.8 PPI网络图中的候选CRs与免疫浸润之间的相关性分析

采用“psych”R包整合分析PPI网络图中的候选CRs和ssGSEA评分结果两个文件,构建相关性

热图,并将其中与免疫浸润相关性较强的CRs作为风险模型的纳入因素。

1.9 风险模型构建与验证

将上述纳入的CRs表达矩阵和样本分组情况作为输入文件,并基于二分类逻辑回归分析,构建列线图模型,计算中位值,大于中位值为高表达,反之则为低表达,以计算总评分来分析IBS患者的风险概率。通过“rms”R包构建风险预测列线图,从而分别计算出所纳入CRs的风险得分,并通过校准曲线和受试者工作特征(ROC)曲线进行验证,以衡量列线图模型的识别能力。

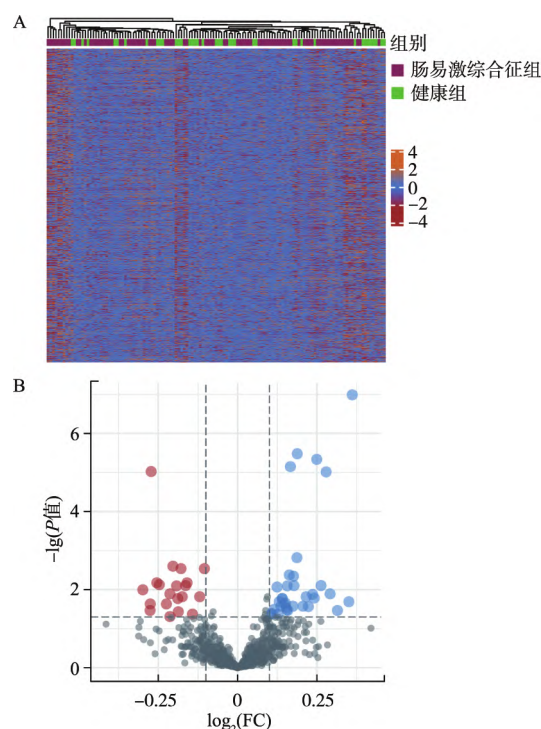
1.10 统计学分析

所有数据均采用R语言软件(v4.0.2)进行分析;采用 t 检验分析不同组别免疫浸润的差异性,相关性分析则采用Pearson检验,风险模型构建采用二分类逻辑回归分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CRs差异表达分析结果

根据CRs表达矩阵,共筛选出差异基因54个(34个上调基因,20个下调基因),并通过热图和火山图将结果进行可视化(图1A和图1B)。



A: 差异表达热图 图上方横轴表示样本集群,样本之间的基因表达水平越相同,在图中越接近;颜色表示基因表达的丰富程度,黄色表示上调,红色表示下调; B: 火山图,红点表示下调的差异基因,蓝点表示上调的差异基因,灰点表示没有差异表达的基因

图1 差异基因表达分析图

2.2 基因共表达分析结果

为了使构建的网络更符合无标度网络的特点,选择软阈值 $\beta = 4$ ($R^2 = 0.85$) 进行后续分析(图2A)。共获得5个共表达模块,每个模块中至少有30个基因,结果显示在一个层次聚类图中(图2B)。其中,共有283个基因未聚类到任何模块中,用灰色标记。另外,通过对模块与IBS的性状相关分析,提取相关性最为显著的棕色模块($r = -0.38$, $P < 0.05$)来作为关键模块,该模块共包含57个基因(图2C)。

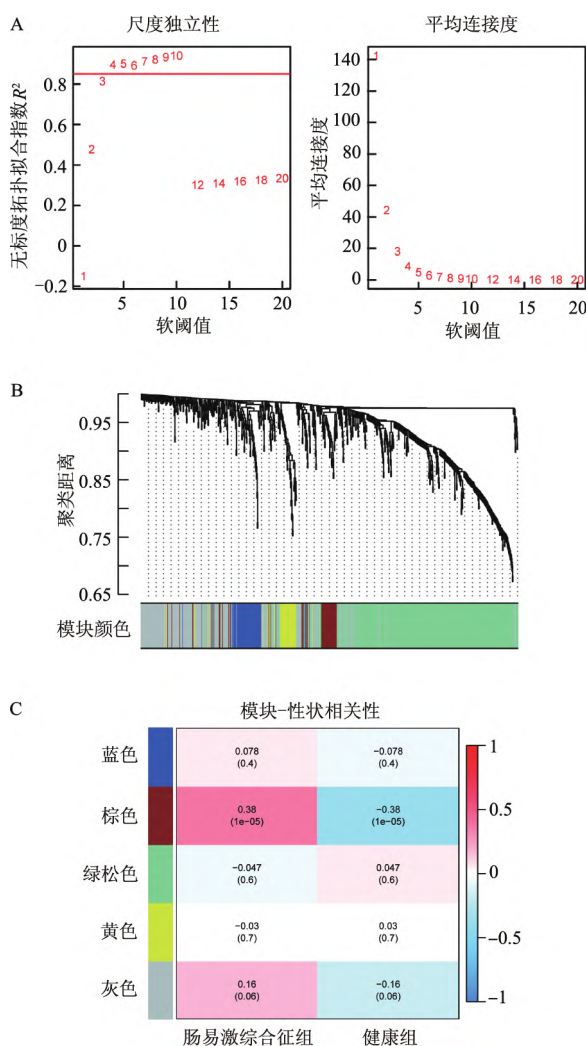


图2 基因共表达分析情况

2.3 候选 CRs 的富集分析结果

基于差异基因表达分析结果和 WGCNA 核心模块基因结果绘制韦恩图(图3),将重叠的19个基因

作为 IBS 相关的候选 CRs。通过 DAVID 网站对其进行富集分析,结果显示,它们主要富集在组蛋白修饰、共价染色质修饰、肽基赖氨酸修饰、MLL3/4 复合物、核染色质、性染色体、蛋白质赖氨酸 N-甲基转移酶、赖氨酸 N-甲基转移酶活性、蛋白质甲基转移酶活性以及细胞周期相关通路等(图4)。

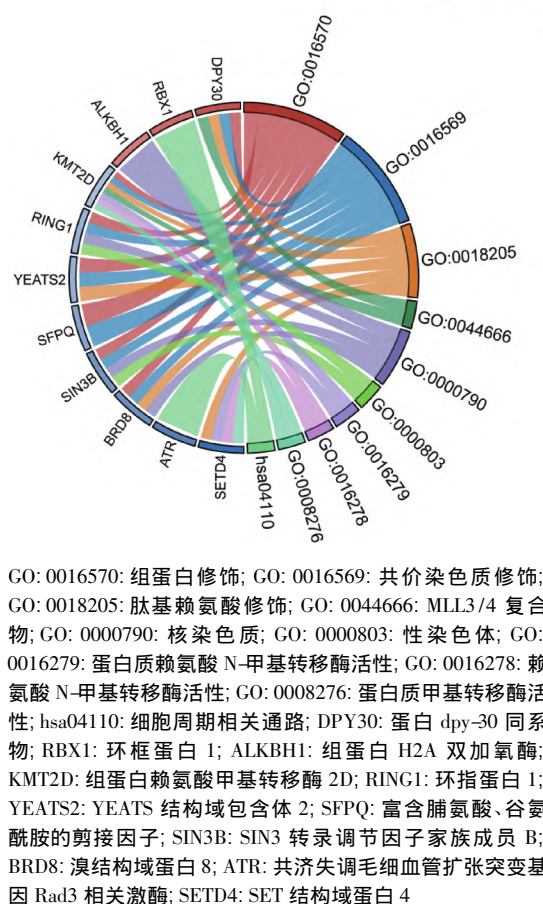
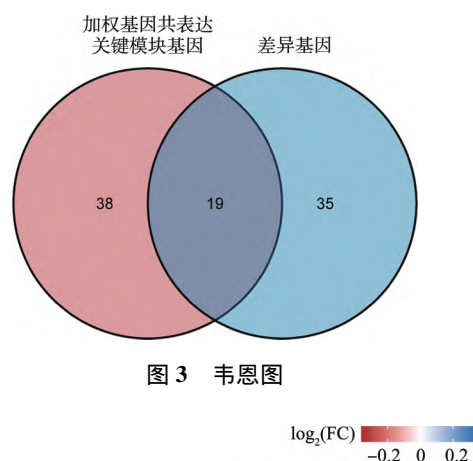


图4 富集分析和弦图

2.4 PPI 分析

基于上述得到的19个候选 CRs,将其输入至 String 数据库进行分析,并将 PPI 网络图(图5)

和分析结果导出,从而得到13个在IBS中存在相互作用的CRs,即溴结构域蛋白8(BRD8)、蛋白dpy-30同系物(DPY30)、序列相似家族175成员A(FAM175A)、组蛋白赖氨酸甲基转移酶2D(KMT2D)、环框蛋白1(RBX1)、环指蛋白1(RING1)、Sin3A相关蛋白18 kD(SAP18)、植物同源锌指蛋白14(PHF14)、YEATS结构域包含体2(YEATS2)、泛素结合酶E2D1(UBE2D1)、丝氨酸/精氨酸重复基质蛋白2(SRRM2)和富含脯氨酸、谷氨酰胺的剪接因子(SFPQ)以及SIN3转录调节因子家族成员B(SIN3B)。

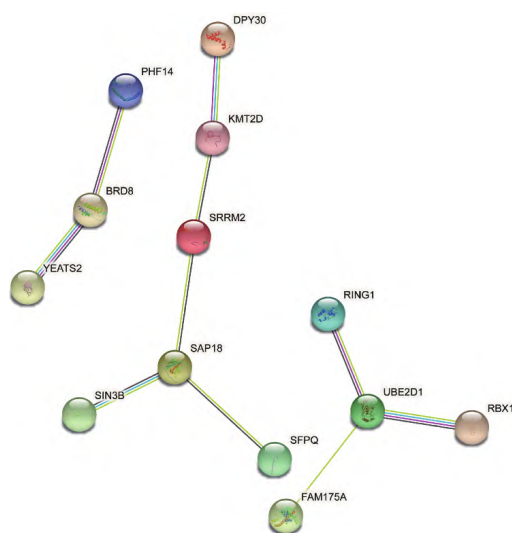


图5 PPI分析图

2.5 免疫细胞和功能浸润程度

ssGSEA分析得到GSE36701数据集中29个免疫细胞及功能的占比热图(图6)。其中,包括树突状细胞、活化树突状细胞(activated dendritic cells, aDCs)、浆细胞样树突状细胞、未成熟树突状细胞、B

细胞、Th1细胞、Th2细胞、辅助性T细胞、滤泡辅助性T细胞(T follicular helper cells, Tfh)、调节性T细胞、CD8⁺T细胞、自然杀伤细胞、肥大细胞、巨噬细胞、中性粒细胞以及肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL);免疫功能则包括抗原呈递共刺激、抗原呈递共抑制、T细胞共刺激、T细胞共抑制、I型干扰素反应、II型干扰素反应、低度炎症、炎症促进、人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)、检查点、细胞活化因子、趋化因子C-C-基序受体(C-C-Motif receptor, CCR)以及主要组织相容性复合体I类分子。

2.6 免疫浸润相关性及差异性分析

免疫细胞相关性热图(图7A)显示,aDCs与B细胞、Tfh、TIL呈正相关(r 分别为0.86, 0.81, 0.82),B细胞与Tfh、TIL呈正相关(r 分别为0.90, 0.88),TIL与CD8⁺T细胞、中性粒细胞、Tfh呈正相关(r 分别为0.73, 0.77, 0.77);免疫功能相关性热图(图7B)显示,CCR与检查点、炎症促进、T细胞共刺激呈正相关(r 分别为0.81, 0.84, 0.80),CCR与低度炎症呈正相关($r=0.74$),检查点与T细胞共刺激、T细胞共抑制呈正相关(r 分别为0.88, 0.89),检查点与炎症促进呈正相关($r=0.73$),HLA与T细胞共抑制呈正相关($r=0.74$),炎症促进与低度炎症呈正相关($r=0.81$),炎症促进与T细胞共刺激呈正相关($r=0.75$),低度炎症与I型干扰素反应呈正相关($r=0.80$),T细胞共抑制与T细胞共刺激呈正相关($r=0.79$)。

免疫浸润差异性小提琴图结果显示(图8),与健康者相比,IBS患者中树突状细胞、未成熟树突状细胞、Th1细胞和抗原呈递共刺激表现均显著增高(P 分别为0.02, 0.04, 0.01, 0.02)。

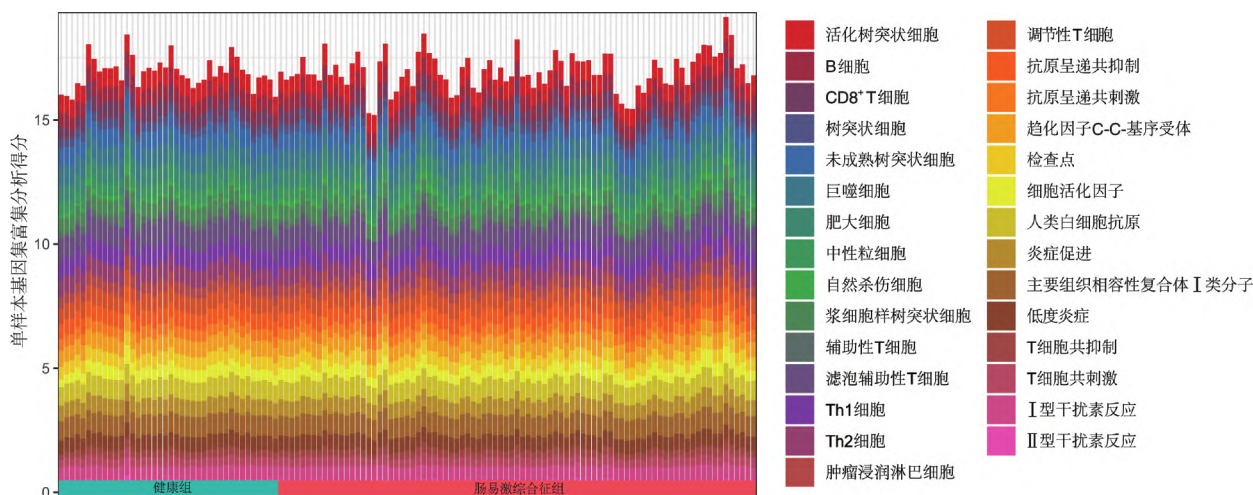


图6 IBS和健康者样本中免疫浸润的占比热图

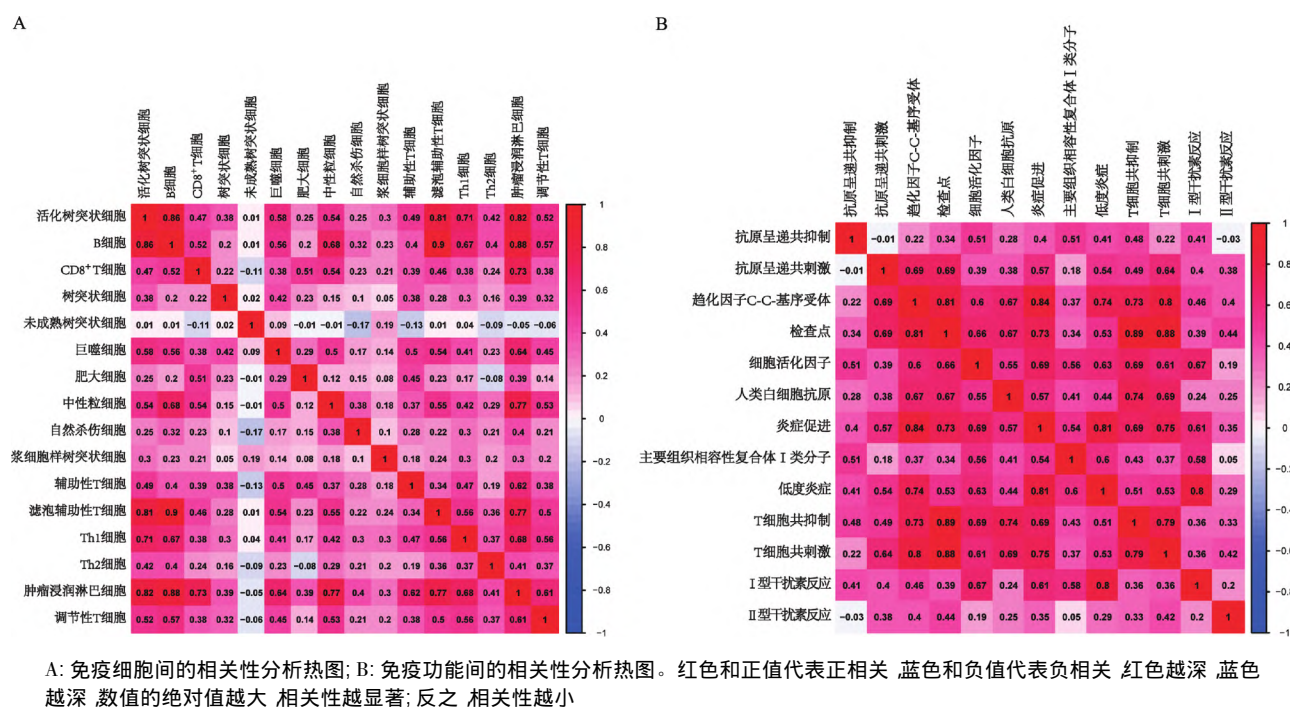


图7 免疫浸润相关性分析结果

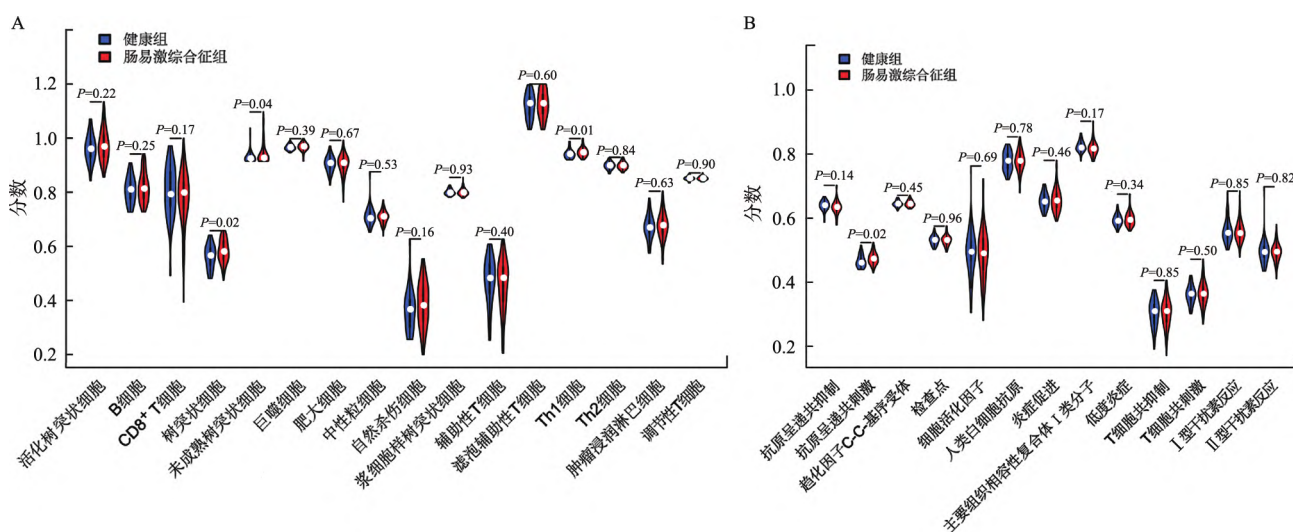


图8 免疫浸润差异性分析结果

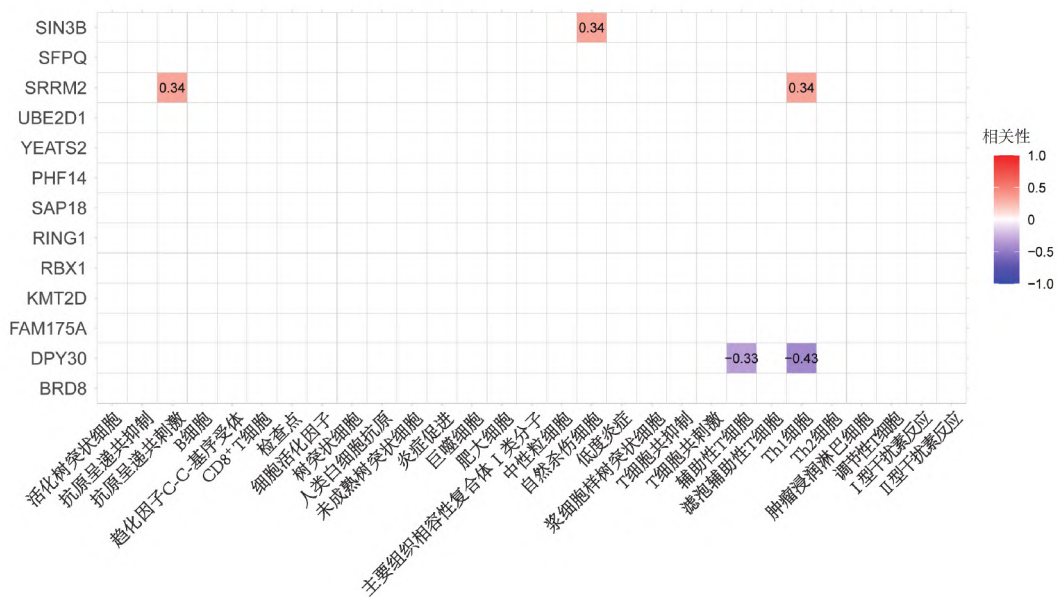
2.7 PPI网络图中的候选CRs与免疫浸润之间相关性分析

基于ssGSEA及PPI分析结果,得到PPI网络图中的候选CRs与免疫浸润之间的相关性热图(图9),结果显示,SIN3B与自然杀伤细胞呈弱正相关($r=0.34$),SRRM2与Th1细胞、抗原呈递共刺激呈弱正相关(r 均为0.34),而DPY30与辅助性T细胞、Th1细胞呈弱负相关(r 分别为-0.33,-0.43)。

2.8 风险模型构建与验证

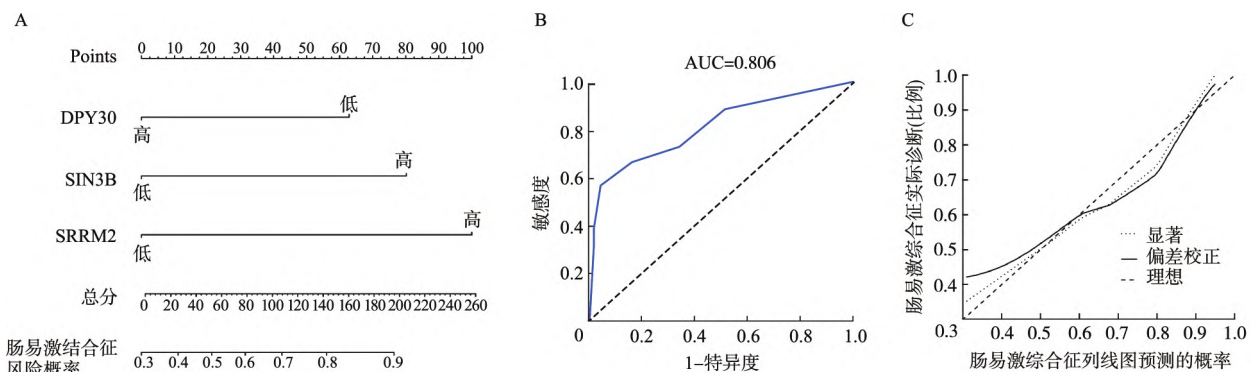
将上述结果中的3个CRs(SIN3B、SRRM2和DPY30)纳入风险研究,如图10A所示,以1例

DPY30、SIN3B和SRRM2均高表达的患者为例,从DPY30(高)向上画垂直线对应分数为0分,同理SIN3B(高)和SRRM2(高)对应分数分别为80分和100分,则该患者总得分为 $0+80+100=180$ 分,对应下面风险概率标尺约为0.84,故该患者IBS的风险概率约为84%。另外,计算结果还显示,SIN3B($P=0.009$)、SRRM2($P=0.002$)可能是IBS的风险因子(图10A和表1)。ROC曲线($AUC=0.806$)显示列线图模型对IBS患者风险因素的评估具有良好的预测能力(图10B)。C指数校准曲线图显示,列线图模型结果与实际结果一致性较高(图10C)。



红色和正数代表正相关,蓝色和负数代表负相关,红色越深,蓝色越深,数值的绝对值越大,相关性越显著;反之,相关性越小。SIN3B: SIN3 转录调节因子家族成员 B; SFPQ: 富含脯氨酸-谷氨酰胺的剪接因子; SRRM2: 丝氨酸/精氨酸重复基质蛋白 2; UBE2D1: 泛素结合酶 E2D1; YEATS2: YEATS 结构域包含体 2; PHF14: 植物同源锌指蛋白 14; SAP18: Sin3A 相关蛋白 18 kD; RING1: 环指蛋白 1; RBX1: 环框蛋白 1; KMT2D: 组蛋白赖氨酸甲基转移酶 2D; FAM175A: 序列相似家族 175 成员 A; DPY30: 蛋白 dpy-30 同系物; BRD8: 溴结构域蛋白 8

图 9 关键基因与免疫浸润相关性分析热图



A: 列线图; B: ROC 曲线图; C: 校准曲线图

图 10 风险模型的建立和验证

表 1 风险模型中各风险因子的具体情况表

风险因素	估值	Z 值	P 值
SIN3B	1.227	2.604	0.009
SRRM2	1.531	3.143	0.002
DYP30	-0.962	-1.949	0.051

3 讨论

本研究通过对 CRs 表达矩阵进行差异分析和 WGCNA 筛选出 19 个候选 CRs,GO 富集分析结果显示,其主要富集在组蛋白修饰和共价染色质修饰等生物过程。染色质的共价修饰主要为组蛋白修饰,而组蛋白修饰在基因表达的调控中发挥重要作用。

用组蛋白尾部可发生各种共价修饰,包括赖氨酸乙酰化、甲基化和泛素化等^[17]。研究表明,组蛋白乙酰转移酶 EP300 表达增加后,诱导 IBS 慢性应激模型大鼠中瞬时感受器电位香草醛受体 1 (TRPV1) 基因启动子组蛋白 H3 乙酰化,从而加重内脏痛觉过敏^[18]。

在分子功能方面,本研究结果显示,候选关键基因主要富集在蛋白质赖氨酸 N-甲基转移酶活性、赖氨酸 N-甲基转移酶活性等方面。SET 结构域蛋白 3 (SET-domain-containing protein 3, SETD3) 作为蛋白质赖氨酸甲基转移酶家族成员之一,可富集于血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 启动子,从而负调节 VEGF 表达^[19]。

而 Theoharides 等^[20] 研究表示,针对调控肥大细胞分泌 VEGF 研发的 药物新配方可在一定程度上改善应激诱导的炎症,如 IBS。近期一项关于赖氨酸 N-甲基转移酶在 IBS 中的研究显示,3 型天然淋巴细胞(ILC3s)中组蛋白 H3K36 甲基转移酶 SETD2 缺失可增强细胞的毒性特征,造成肠道炎症紊乱^[21]。由此可见,本研究富集结果在一定程度上为进一步了解 IBS 表观遗传修饰的相关机制指明了方向。

在通路富集方面,本研究发现,这些基因主要富集在细胞周期和泛素介导的蛋白水解等相关通路。肠道干细胞的衰老影响肠道稳态和寿命。生长阻滞和 DNA 损伤基因 45 α (growth arrest and DNA damage inducible 45 α , Gadd45 α) 介导的 DNA 去甲基化,可通过 Gadd45 α /人源脱嘌呤/脱嘧啶核酸内切酶 1 信号轴抑制,从而延缓肠道干细胞衰老,改善肠道稳态^[22]。因此,表观遗传修饰所介导的细胞周期改变对于维持 IBS 患者肠道稳态具有重要意义。泛素介导的蛋白水解是指靶蛋白在泛素激活酶的作用下,共价连接泛素分子,然后进入细胞内被蛋白酶复合体识别并降解成氨基酸的过程。目前已发现去甲基波定可通过调节烟酰胺腺嘌呤二核苷酸所介导的信号通路,促进色斑 3-9 抑制因子同源物 1 蛋白的泛素-蛋白酶体降解,以改善肠道的炎症反应^[23]。尽管泛素介导的蛋白水解机制目前在 IBS 领域尚不清楚,但由上述可知,该机制可能在 IBS 中起重要作用。

基于候选的 CRs,本研究通过进一步的相关性分析和风险模型构建,得到 2 个独立风险因子,即 SIN3B 和 SRRM2。其中, SIN3B 与自然杀伤细胞呈正相关, SRRM2 与 Th1 细胞、抗原呈递共刺激呈正相关。SIN3B 是 SIN3 家族的成员之一,是组蛋白去乙酰化酶抑制复合物的组成部分,对基因表达起抑制作用^[24-25]。虽然目前没有相关研究明确表明 SIN3B 与 IBS 的相关性,但有证据显示,在外界因素刺激下, SIN3B 表达上调,并且与 p53 的相互作用增强,其复合体可选择性地对 p53 靶基因的启动子进行组蛋白修饰,从而抑制基因表达^[26]。而在另外一项研究中, p53 激活可选择性地限制有丝分裂进而抑制细胞死亡,从而对抗急性放射诱导的胃肠道综合征^[27]。除此之外,相关研究表明, SIN3B 可被诱导成长亚型和短亚型,其中长亚型 SIN3B 的敲低可增强骨形态发生蛋白依赖性转录^[28]。而在另外一项研究中,已证实骨形态发生蛋白信号传导可促进

自然杀伤细胞增殖并增强其效应功能,从而杀死肿瘤细胞^[29]。由此可见,探讨 IBS 中 SIN3B 调控 p53 靶基因启动子的表观遗传修饰,可能是防治 IBS 以及调节其免疫浸润的一种新思路。SRRM2 是一种大型的蛋白质编码基因,可连接剪接体,然后迅速定位于核斑点^[30-31]; SRRM2 耗尽可导致核斑点溶解^[32]。核斑点作为一种高度动态的结构,可积累蛋白质家族,并调控 pre-mRNA 剪接^[32]。事实上,许多炎症介质如肿瘤坏死因子、IL-1 β 和脂多糖均可引起众多基因可变剪接模式的改变,这是炎症反应的一部分^[33]。既往研究证实,核斑点聚集可将肠上皮细胞中相关生理刺激和 pre-mRNA 剪接机制相联系。另外, SRRM2 似乎对免疫细胞十分重要^[34]。Liu 等^[35] 研究发现, SRRM2 在人原代巨噬细胞分化过程中显著下调。SRRM2 耗竭可改变免疫细胞中的细胞因子分泌^[36]。因此,靶向调控 SRRM2,从而影响核斑点所介导的剪接机制以及改变免疫细胞相关因子分泌,可作为 IBS 表观遗传研究的一种思路。

此外,相较于健康受试者, IBS 患者中 Th1 细胞和抗原呈递共刺激显著增高,且均与 SRRM2 呈正相关。抗原呈递细胞是体内的一种辅助细胞,可以诱导 T 细胞和 B 细胞的免疫反应。既往研究表明,共刺激分子程序性细胞死亡蛋白-1(programmed cell death protein 1, PD-1) 与其配体,在炎症性肠病患者和结肠炎小鼠的 T 细胞中均呈高表达,且 PD-1 参与肠黏膜炎症反应^[37]。Th1 细胞参与细胞介导的炎症和延迟型超敏反应,影响细胞内病原体的免疫力^[38]。研究表明,感染后 IBS 患者肠黏膜中 γ -干扰素水平升高, IL-10 水平降低,提示感染可能通过影响 Th1/Th2 平衡,从而导致患者病情加重^[39]。由此可见, SRRM2 介导 IBS 患者体内 Th1 细胞和抗原呈递共刺激的表达。

本研究通过生物信息学技术,对 CRs 表达矩阵进行分析,这些相关 CRs 参与调控细胞周期和泛素介导的蛋白水解等途径,并涉及组蛋白修饰、共价染色质修饰、蛋白质赖氨酸 N-甲基转移酶活性、赖氨酸 N-甲基转移酶活性等生物过程和分子功能,从而在 IBS 病程发展过程中发挥重要作用。通过综合分析筛选出 SIN3B 和 SRRM2 可作为 IBS 表观遗传潜在的调控靶点。此外, SIN3B 调控 p53 靶基因启动子的表观遗传修饰机制,以及 SRRM2 所介导的核斑点剪接机制和调控 Th1 细胞、抗原呈递共刺激的表达机制,有待后续进一步研究。此外,本研究仍存在一些不足:研究结果未通过动物、细胞实验进行验

证,其可靠性有待商榷;风险模型分析结果未通过临床研究进行验证;尽管本研究采用芯片中的样本总量为72例,符合研究分析所需总量,但样本量仍不足,可能在一定程度上导致分析结果的偏差;因此,后续仍需更多的实验和临床研究进行相关验证。

[参考文献]

- [1] Biesiekierski JR, Manning LP, Murray HB, et al. Review article: exclude or expose? The paradox of conceptually opposite treatments for irritable bowel syndrome[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2022, 56(4): 592-605.
- [2] Quigley EMM, Fried M, Gwee KA, et al. World gastroenterology organisation global guidelines irritable bowel syndrome: a global perspective update September 2015[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2016, 50(9): 704-713.
- [3] Lovell RM, Ford AC. Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2012, 10(7): 712-721.e4.
- [4] Wang YT, Lim HY, Tai D, et al. The impact of irritable bowel syndrome on health-related quality of life: a Singapore perspective[J]. *BMC Gastroenterol*, 2012, 12: 104.
- [5] Canavan C, West J, Card T. Review article: the economic impact of the irritable bowel syndrome[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2014, 40(9): 1023-1034.
- [6] Mahurkar JS, Chang L. Epigenetic mechanisms in irritable bowel syndrome[J]. *Front Psychiatry*, 2020, 11: 805.
- [7] 柴玉娜,唐洪梅,黄育生,等. 腹泻型肠易激综合征大鼠 SCF/C-kit 信号的变化及其与免疫功能的关系[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(1): 68-72.
- [8] Saito YA, Mitra N, Mayer EA. Genetic approaches to functional gastrointestinal disorders[J]. *Gastroenterology*, 2010, 138(4): 1276-1285.
- [9] Park SH, Videlock EJ, Shih W, et al. Adverse childhood experiences are associated with irritable bowel syndrome and gastrointestinal symptom severity[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2016, 28(8): 1252-1260.
- [10] Parker CH, Naliboff BD, Shih W, et al. Negative events during adulthood are associated with symptom severity and altered stress response in patients with irritable bowel syndrome[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2019, 17(11): 2245-2252.
- [11] Meaney MJ, Szyf M. Environmental programming of stress responses through DNA methylation: life at the interface between a dynamic environment and a fixed genome[J]. *Dialogues Clin Neurosci*, 2005, 7(2): 103-123.
- [12] Feinberg AP. Epigenetics at the epicenter of modern medicine[J]. *JAMA*, 2008, 299(11): 1345-1350.
- [13] Hussain S, Tulsyan S, Dar SA, et al. Role of epigenetics in carcinogenesis: Recent advancements in anticancer therapy[J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 83: 441-451.
- [14] Van Wijnen AJ, Westendorf JJ. Epigenetics as a new frontier in orthopedic regenerative medicine and oncology[J]. *J Orthop Res*, 2019, 37(7): 1465-1474.
- [15] Li Q, Winston JH, Sarna SK. Developmental origins of colon smooth muscle dysfunction in IBS-like rats[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2013, 305(7): G503-G512.
- [16] Lu J, Xu J, Li J, et al. FACER: comprehensive molecular and functional characterization of epigenetic chromatin regulators[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(19): 10019-10033.
- [17] Hake SB, Xiao A, Allis CD. Linking the epigenetic 'language' of covalent histone modifications to cancer[J]. *Br J Cancer*, 2004, 90(4): 761-769.
- [18] Hong S, Zheng G, Wiley JW. Epigenetic regulation of genes that modulate chronic stress-induced visceral pain in the peripheral nervous system[J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(1): 148-157.e7.
- [19] Cohn O, Feldman M, Weil L, et al. Chromatin associated SETD3 negatively regulates VEGF expression[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 37115.
- [20] Theoharides TC, Kavalioti M. Stress, inflammation and natural treatments[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2018, 32(6): 1345-1347.
- [21] Chang J, Ji X, Deng T, et al. Setd2 determines distinct properties of intestinal ILC3 subsets to regulate intestinal immunity[J]. *Cell Rep*, 2022, 38(11): 110530.
- [22] Diao D, Wang H, Li T, et al. Telomeric epigenetic response mediated by Gadd45a regulates stem cell aging and lifespan[J]. *EMBO Rep*, 2018, 19(10): e45494.
- [23] Lv Q, Wang K, Qiao S, et al. Norisoboldine, a natural AhR agonist, promotes Treg differentiation and attenuates colitis via targeting glycolysis and subsequent NAD⁺/SIRT1/SUV39H1/H3K9me3 signaling pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 258.
- [24] Silverstein RA, Ekwall K. Sin3: a flexible regulator of global gene expression and genome stability[J]. *Curr Genet*, 2005, 47(1): 1-17.
- [25] Kuo MH, Allis CD. Roles of histone acetyltransferases and deacetylases in gene regulation[J]. *Bioessays*, 1998, 20(8): 615-626.

- [26] Kadamb R , Mittal S , Bansal N , et al. Stress-mediated Sin3B activation leads to negative regulation of subset of p53 target genes [J]. *Biosci Rep* , 2015 , 35 (4) : e00234.
- [27] Gurley KE , Ashley AK , Moser RD , et al. Synergy between Prkdc and Trp53 regulates stem cell proliferation and GI-ARS after irradiation [J]. *Cell Death Differ* , 2017 , 24 (11) : 1853–1860.
- [28] Faherty N , Benson M , Sharma E , et al. Negative autoregulation of BMP dependent transcription by SIN3B splicing reveals a role for RBM39 [J]. *Sci Rep* , 2016 , 6 : 28210.
- [29] Robson NC , Hidalgo L , Mc Alpine T , et al. Optimal effector functions in human natural killer cells rely upon autocrine bone morphogenetic protein signaling [J]. *Cancer Res* , 2014 , 74 (18) : 5019–5031.
- [30] Jia X , Sun C. Structural dynamics of the N-terminal domain and the Switch loop of Prp8 during spliceosome assembly and activation [J]. *Nucleic Acids Res* , 2018 , 46 (8) : 3833–3840.
- [31] Blencowe BJ , Nickerson JA , Issner R , et al. Association of nuclear matrix antigens with exon-containing splicing complexes [J]. *J Cell Biol* , 1994 , 127 (3) : 593–607.
- [32] Ilik ĀA , Malszycki M , Lübke AK , et al. SON and SRRM2 are essential for nuclear speckle formation [J]. *Elife* , 2020 , 9 : e60579.
- [33] Stamm S. Signals and their transduction pathways regulating alternative splicing: a new dimension of the human genome [J]. *Hum Mol Genet* , 2002 , 11 (20) : 2409–2416.
- [34] Zhu YQ , Lu Y , Tan XD. Monochloramine induces reorganization of nuclear speckles and phosphorylation of SRp30 in human colonic epithelial cells: role of protein kinase C [J]. *Am J Physiol Cell Physiol* , 2003 , 285 (5) : C1294–C1303.
- [35] Liu H , Lorenzini PA , Zhang F , et al. Alternative splicing analysis in human monocytes and macrophages reveals MBNL1 as major regulator [J]. *Nucleic Acids Res* , 2018 , 46 (12) : 6069–6086.
- [36] Whisenant TC , Peralta ER , Aarreberg LD , et al. The activation-induced assembly of an RNA/protein interactome centered on the splicing factor U2AF2 regulates gene expression in human CD4 T cells [J]. *PLoS One* , 2015 , 10 (12) : e0144409.
- [37] Kanai T , Totsuka T , Uraushihara K , et al. Blockade of B7-H1 suppresses the development of chronic intestinal inflammation [J]. *J Immunol* , 2003 , 171 (8) : 4156–4163.
- [38] Shaw LA , Deng TZ , Omilusik KD , et al. Id3 expression identifies CD4⁺ memory Th1 cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 2022 , 119 (29) : e2204254119.
- [39] Chen J , Zhang Y , Deng Z. Imbalanced shift of cytokine expression between T helper 1 and T helper 2 (Th1/Th2) in intestinal mucosa of patients with post-infectious irritable bowel syndrome [J]. *BMC Gastroenterol* , 2012 , 12 : 91.
- [收稿日期] 2022-10-06 [编辑] 刘星星

(上接第165页)

- [22] Sharma S , Verma S , Kapoor M , et al. Alzheimer's disease like pathology induced six weeks after aggregated amyloid-beta injection in rats: increased oxidative stress and impaired long-term memory with anxiety-like behavior [J]. *Neurol Res* , 2016 , 38 (9) : 838–850.
- [23] Kanamaru T , Kamimura N , Yokota T , et al. Oxidative stress accelerates amyloid deposition and memory impairment in a double-transgenic mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Neurosci Lett* , 2015 , 587 : 126–131.
- [24] Perrotte M , Gougeon V , Fournet M , et al. Protein carbonyl , total antioxidant capacity and reduced thiols in plasma from Alzheimer's patients is inversely associated with cognitive performance [J]. *Free Radic Biol Med* , 2015 , 87 : S132.
- [25] Yadav J , Verma AK , Garg RK , et al. Sialic acid associated with oxidative stress and total antioxidant capacity (TAC) expression level as a predictive indicator in moderate to severe Alzheimer's disease [J]. *Exp Gerontol* , 2020 , 141 (3) : 111092–111101.
- [26] Peng M , Liu Y , Jia X , et al. Dietary total antioxidant capacity and cognitive function in older adults in the United States: The NHANES 2011–2014 [J]. *J Nutr Health Aging* , 2023 , 27 (6) : 479–486.
- [27] 李道麟 , 董平栓 , 赵江峰 , 等. 冠心病患者血清 Lp-PLA2、sdLDL-C 水平变化及临床意义 [J]. *中国循证心血管医学杂志* , 2019 , 11 (3) : 316–319.
- [28] 姜晓峰 , 王雅杰 , 温洁. 脑梗死患者的血脂与抗氧化能力的变化 [J]. *中华检验医学杂志* , 2001 , 24 (1) : 45–46.
- [收稿日期] 2023-01-10 [编辑] 刘星星