

# 基于生物信息学分析鉴定哮喘潜在的 关键自噬和铁死亡相关基因

张秋萍<sup>1,2</sup>, 朱慧志<sup>3</sup>, 吕川<sup>1</sup>, 夏咏琪<sup>1</sup>, 张秀<sup>1</sup>

(1.安徽中医药大学第一临床医学院,安徽合肥 230031;

2.上海中医药大学附属曙光医院安徽医院呼吸(老年病)科,安徽合肥 230031;

3.安徽中医药大学第一附属医院呼吸内科,安徽合肥 230031)

**摘要:**目的 利用生物信息学分析方法,鉴定自噬和铁死亡过程的共同哮喘基因。方法 从基因表达综合(Gene Expression Omnibus, GEO)数据库中获取哮喘相关的GSE74986数据集,利用GEO2R在线工具进行分析,通过设定 $|\log_2 FC| \geq 1$ 和 $P_{校正} < 0.05$ 的标准,筛选出差异表达基因(differential expression genes, DEGs)。使用韦恩图获得重叠的铁死亡和自噬相关DEGs。进行功能和通路富集分析、蛋白质-蛋白质相互作用网络分析和Cytoscape软件算法鉴定枢纽基因。构建转录因子(transcription factor, TF)、miRNA与枢纽基因之间的相互作用网络。分析枢纽基因在哮喘组织中免疫细胞浸润情况。通过受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析来验证枢纽基因的诊断价值。动物实验验证枢纽基因。结果 共鉴定出105个自噬相关的DEGs和37个铁死亡相关的DEGs。这些DEGs分别参与自噬、PI3K-Akt、铁死亡、PPAR等信号通路。筛选出10个枢纽基因(*HSPA8*、*NPM1*、*HNRNPA2B1*、*HNRNPA1*、*HSPA5*、*EEF1A1*、*G3BP1*、*TFRC*、*GABARAPL1*和*XBP1*),其可靶向61种miRNAs和17种TFs。免疫浸润分析表明,枢纽基因与M0型巨噬细胞、活化的NK细胞及M1型巨噬细胞之间存在相关性。ROC曲线分析结果表明,枢纽基因在哮喘诊断中具有较高价值。动物实验证实,模型组肺组织中*HSPA8*、*NPM1*、*HNRNPA2B1*、*HNRNPA1*、*HSPA5*的蛋白表达水平低于正常组。结论 筛选的枢纽基因*HSPA8*、*NPM1*、*HNRNPA2B1*、*HNRNPA1*、*HSPA5*、*EEF1A1*、*G3BP1*、*TFRC*、*GABARAPL1*和*XBP1*可能是哮喘患者的潜在治疗靶点。

**关键词:**哮喘;基因表达综合数据库;铁死亡;自噬;生物信息学

中图分类号:R574

文献标志码:A

## Identification of potential key autophagy- and ferroptosis-related genes in asthma based on bioinformatics analysis

ZHANG Qiuping<sup>1,2</sup>, ZHU Huizhi<sup>3</sup>, LYU Chuan<sup>1</sup>, XIA Yongqi<sup>1</sup>, ZHANG Xiu<sup>1</sup>

(1. The First Clinical Medical College of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, Anhui, China;

2. Department of Respiratory (Geriatrics), Shuguang Anhui Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, Anhui, China; 3. Department of Respiratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, Anhui, China)

**Abstract: Objective** To identify the common asthma genes involved in autophagy and ferroptosis processes using bioinformatics analysis methods. **Methods** The asthma-related GSE74986 dataset were obtained from the Gene Expression Omnibus (GEO) database and analyzed using the GEO2R web tool. The differentially expressed genes (DEGs) were screened by setting the criteria of  $|\log_2 FC| \geq 1$  and a corrected  $P$ -value  $< 0.05$ . Ferroptosis- and autophagy-related

DEGs were intersected with Venn diagrams. Hub genes were further identified with functional and pathway enrichment analysis, protein-protein interaction network analysis, and algorithms in Cytoscape software, followed by the construction of a transcription factor-miRNA-hub gene interaction network. Hub genes were subjected to immune cell infiltration analysis in asthmatic patients. In addition, the diagnostic value of hub genes was assessed with receiver operating characteristic (ROC) curves analyses. Animal experiments were conducted to validate hub genes. **Results** A total of 105 autophagy-related DEGs and 37 ferroptosis-related DEGs were identified, which were involved in autophagy-animal, PI3K-Akt pathway, ferroptosis, and PPAR pathway. Ten hub genes were yielded, including *HSPA8*, *NPM1*, *HNRNPA2B1*, *HNRNPA1*, *HSPA5*, *EEF1A1*, *G3BP1*, *TFRC*, *GABARAPL1*, and *XBP1* targeting a total of 61 miRNAs and 17 TFs. Immune cell infiltration analysis showed that these hub genes were closely related to macrophages M0, activated NK cells, and macrophages M1. ROC curve analyses indicated the high diagnostic value of the hub genes for asthma. Animal experiments confirmed that the protein expression levels of *HSPA8*, *NPM1*, *HNRNPA2B1*, *HNRNPA1*, and *HSPA5* in the lung tissue of the model group were significantly lower than those in the normal group. **Conclusion** The screened hub genes, including *HSPA8*, *NPM1*, *HNRNPA2B1*, *HNRNPA1*, *HSPA5*, *EEF1A1*, *G3BP1*, *TFRC*, *GABARAPL1*, and *XBP1*, may be potential therapeutic targets for asthma.

**Key words:** Asthma; Gene Expression Omnibus database; Ferroptosis; Autophagy; Bioinformatics

哮喘是一种慢性气道炎症性疾病,涉及多种细胞及其组分,其临床表现主要包括反复发作的喘息、呼吸急促,可能伴或不伴随胸闷和咳嗽等症状。哮喘发病率呈逐年上升趋势,全球受影响的人数已超3亿<sup>[1]</sup>。尽管哮喘靶向治疗取得一定进展,但目前具体分子机制尚不完全清楚,因此,深入了解哮喘的分子机制,可为新药物治疗靶点的发现和丰富哮喘的治疗方式提供有效途径。

自噬和铁死亡在哮喘的发病机制中扮演着关键角色<sup>[2]</sup>,并可能成为未来哮喘治疗的新靶点。自噬参与并调节哮喘的遗传和免疫机制,调节先天免疫反应,并促进程序性细胞死亡。在病原体感染的过程中,自噬可通过清除宿主内的病原体,保护机体免受病毒的侵害。此外,自噬是哮喘气道纤维化发展过程中的关键调节剂<sup>[3]</sup>。铁死亡是一种与细胞内铁积累和脂质过氧化相关的细胞死亡机制。研究表明,铁死亡与哮喘有关,是治疗哮喘的重要靶点<sup>[4-5]</sup>。

自噬和铁死亡在哮喘疾病中存在交叉关联<sup>[6]</sup>。自噬在铁死亡过程中发挥着至关重要的作用<sup>[7-9]</sup>,甚至有助于铁死亡的进程<sup>[10]</sup>。但对其交叉关联的共同靶点尚不完全清楚,目前缺乏系统性地整合自噬和铁死亡的基因特征及其潜在调控网络的研究。因此,深入研究自噬和铁死亡两种程序性细胞死亡方式在哮喘中的交叉作用,对于完善哮喘的发病机制具有重要意义。本研究利用生物信息学方法,分析哮喘中自噬和铁死亡的共同

关键基因,并构建其相互作用网络,以揭示两者在哮喘中的潜在协同作用机制。此外,本研究还结合免疫浸润分析、ROC曲线与动物实验验证,评估枢纽基因的生物学功能与临床价值,筛选共同关键基因,以期为哮喘的分子靶向治疗提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据库分析

#### 1.1.1 基因表达综合(Gene Expression Omnibus, GEO)数据库数据集

本研究的流程图如图1所示。哮喘相关数据集来自美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)的GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)。搜索关键词为“asthma”,物种为“homo sapiens”,研究类型为“expression profiling by array”,样本类型为“human bronchial alveolar lavage cell”。数据集必须包含对照组和哮喘组,每组样本量>10。本研究最终选取哮喘相关数据集GSE74986<sup>[11]</sup>,其使用GPL6480 [Agilent-014850 Whole Human Genome Microarray 4x44K G4112F (Probe Name Version)]测序平台,共包含86个样本,其中12个为正常样本,74个为哮喘样本。GEO数据库为面向学术研究的公共数据库,不需要额外的知情同意或伦理批准。

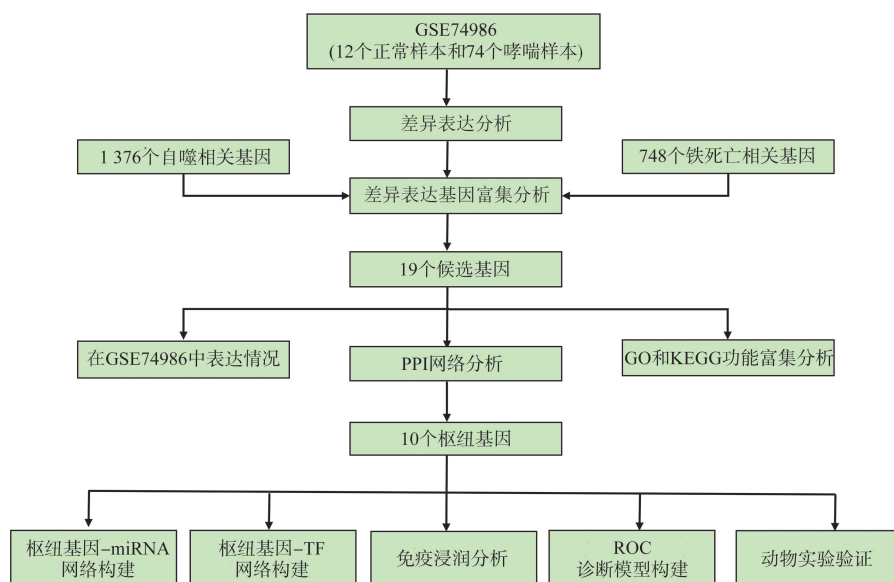


图1 本研究的流程图

Figure 1 Flowchart of the study

### 1.1.2 差异表达基因(differential expression genes, DEGs)识别

根据 GSE74986 样本的标注信息,样本被分为对照组和哮喘组。采用 sva 包消除批次效应,通过插补法补充缺失表达值,应用 limma 包 normalize-BetweenArrays 函数进行标准化处理。使用在线分析工具 GEO2R (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>)来识别 DEGs<sup>[12]</sup>,筛选标准为  $|\log_2 FC| \geq 1$  且  $P_{校正} < 0.05$ 。为了获取自噬相关基因,本研究以“autophagy”为关键词,分别检索 GeneCards (<https://www.genecards.org>,访问时间为2024年6月25日)<sup>[13]</sup>、MSigDB (<https://www.gsea-msigdb.org/gsea/msigdb>,访问时间为2024年6月25日)<sup>[14]</sup>和人类自噬数据库(Human Autophagy Database, HADb) (<http://www.autophagy.lu/index.html>,访问时间为:2024年6月25日)。为了获取铁死亡相关基因,以“ferroptosis”为关键词,分别检索 GeneCards、MSigDB 和 FerrDB V2 (<http://www.zhounan.org/ferrdb/index.html>,访问时间为:2024年06月25日)<sup>[15]</sup>数据库。将获得的自噬相关基因和铁死亡相关基因分别与 GSE74986 数据集中 DEGs 绘制韦恩图,筛选出铁死亡和自噬相关的 DEGs。随后,通过对铁死亡和自噬相关的 DEGs 进行韦恩图交集分析,得到候选基因。

### 1.1.3 功能富集分析

基因本体论(gene ontology, GO)注释分析是富集研究的常用方法。GO 富集分析包括生物过程、细胞成分和分子功能。京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes,

KEGG)分析包含有关基因组和生物学途径的信息。将铁死亡和自噬相关的 DEGs 使用仙桃学术网站(<https://www.xiantaozi.com>)进行 GO 和 KEGG 分析。

### 1.1.4 蛋白质-蛋白质相互作用网络分析

将铁死亡和自噬相关的候选基因上传到在线数据库 STRING (<https://cn.string-db.org>)<sup>[16]</sup>来预测 PPI 网络,网络节点代表蛋白质,设置中等置信度的最低所需交互分数为 0.400,并将网络中断开连接的节点进行隐藏。采用 Cytoscape v3.8.2 软件<sup>[17]</sup>对 PPI 网络进行可视化,并使用 cytoHubba 插件筛选出排名前 10 的枢纽基因。

### 1.1.5 枢纽基因的基因-miRNA、基因-TF 的调控网络

利用 miRWalk 数据库 (<http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de>,访问时间为:2024年7月3日)<sup>[18]</sup>建立基因-miRNA 相互作用网络,预测枢纽基因与 miRNA 的关系。基于以下标准构建基因-miRNA 相互作用网络:score > 0.9、3'非翻译区(UTR)作为靶基因结合区,并且在 miRDB 和 miRTarBase 也有相应 miRNA。利用 TRRUST version2 数据库(<http://www.grnpedia.org/trust>,访问时间为:2024年7月3日)<sup>[19]</sup>预测哮喘中枢纽基因的靶 TF,物种选择“human”。利用 Cytoscape v3.8.2 软件进行可视化,构建了 mRNA-miRNA 和 mRNA-TF 相互作用网络。

### 1.1.6 免疫浸润分析

利用 CIBERSORTx (<https://cibersortx.stanford.edu/runcibersortx.php>,访问时间为:2024年7月3日)<sup>[20]</sup>,根据基因表达数据分析不同免疫细胞类型

的比例。再利用仙桃学术网站进行可视化展示出 22 种免疫细胞类型的浸润情况。

### 1.1.7 枢纽基因诊断模型构建

利用仙桃学术网站构建枢纽基因的受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,并计算曲线下面积(area under the curve, AUC)值,以评估枢纽基因的诊断性能。

## 1.2 动物实验

### 1.2.1 材料

SPF 级健康雄性 SD 大鼠 6 只,体质量 180~220 g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司,生产许可证号:SCXK(疗)2020-0001。大鼠饲养于安徽中医药大学第一附属医院实验动物中心;实验环境为光照与黑暗周期各 12 h,室内温度(22±2)℃,湿度(55±5)%。所有实验均通过安徽中医药大学第一附属医院实验动物伦理委员会批准(批准号:AZYFY-2024-1007),符合动物实验伦理规范。

### 1.2.2 动物分组、造模与给药

本实验采用随机数字表法将 SD 大鼠分为正常组与模型组,每组 3 只,通过致敏与激发两阶段建立哮喘动物模型。致敏阶段于第 1、8 天腹腔注射 10% OVA 致敏液 1 mL;激发阶段自第 15 天起,每日按照 1 mL/100 g 进行灌胃生理盐水 30 min 后,模型组给予 1% OVA 雾化液雾化吸入,持续 30 min,每天 1 次,共 4 周,期间放置于不完全封闭的玻璃雾化箱内以模拟哮喘环境;正常组则在相同条件下用生理盐水替代 OVA 激发液进行雾化吸入。大鼠出现明显的点头呼吸、呼吸急促、烦躁不安、毛色枯黄、抓耳挠腮等呼吸道及全身症状,则表明哮喘模型成功复制。每组大鼠于末次激发 24 h 后,给予戊巴比妥腹腔注射麻醉后取材。

### 1.2.3 HE 染色

取大鼠右肺组织,置于 10% 甲醛溶液中固定 24 h,随后脱水、石蜡包埋,制作厚度为 3~4 μm 的连续切片。切片经苏木精染色 2~5 min,流水冲洗至组织蓝化,再浸入伊红染液染色 1 min,随后乙醇脱水,二甲苯透明处理后,中性树胶封片,显微镜下观察肺组织病理变化。

### 1.2.4 Western blotting 检测

收取右肺组织样本约 0.1 g,使用 RIPA 裂解液提取总蛋白。经 BCA 法定量后,取 30 μg 蛋白经 95℃变性 5 min,与预染蛋白 Marker 共同上样至 10% SDS-PAGE 凝胶,80V 恒压电泳 30 min 后切换至 120 V 继续电泳 60 min。采用湿转法(300 mA,

60 min)转移蛋白至 PVDF 膜。膜经 5% 脱脂牛奶封闭 1 h 后,4℃孵育一抗过夜:HSPA8(1:2 000,bioss,AD19201125),HSPA5(1:1 000,bioss,AH19278105),GAPDH(1:5 000,Zsbio,240040922),HNRNPA2B1(1:1 000,bioss,AJ10269981),HNRNPA1(1:1 000,bioss,AD19210078),NPM1(1:2 000,bioss,AH10410478),TBST 漂洗后,室温孵育对应 HRP 标记二抗 1 h,ECL 发光试剂盒显影。

### 1.3 统计学处理

本文的生信作图统计分析使用仙桃学术平台,这是一个基于 R 语言开发的在线生物信息学分析工具。连续数值以  $\bar{x}\pm s$  表示,采用 R(4.2.1)软件,使用 ggplot2[3.4.4] R 包,采用 Spearman 统计方法对数据中变量进行两两相关性分析,使用 pROC[1.18.0] R 包对数据进行 ROC 分析。实验数据分析采用 SPSS 21.0 软件,数据符合正态分布和方差齐性采用两独立样本 *t* 检验,对不符合正态分布或方差不齐,使用 Mann-Whitney *U* 检验进行比较。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 在 GSE74986 数据集中 DEGs 的识别

在进行数据分析之前,对数据集 GSE74986 进行校正处理。使用在线分析工具 GEO2R 进行哮喘组和对照组之间的差异表达分析,GSE74986 中得到 589 个 DEGs,其中有 508 个下调基因和 81 个上调基因。生成火山图进行可视化展示。在 GeneCards 数据库中,以“protein coding”且“relevance score 大于 2”为筛选条件,获得 1 067 个自噬相关基因,同时分别从 MSigDB 数据库和 HADb 数据库中获得 670 和 232 个自噬相关基因,删除重复值后获取自噬相关基因 1 376 个。在 GeneCards 数据库中,以“protein coding”且“relevance score 大于 1”为筛选条件,获得 634 个铁死亡相关基因;从 MSigDB 数据库获得 66 个铁死亡相关基因;在 FerrDB V2 数据库中,下载 Driver、Suppressor 和 Marker 三个部分的基因列表,testin 中选择“human”、confidence 选择“validated”进行筛选,得到 250 个铁死亡相关基因。以上基因删除重复值后获取 748 个铁死亡相关基因。再分别与来自 GSE74986 数据集的 DEGs 作韦恩图,鉴定出 105 个自噬相关 DEGs 和 37 个铁死亡相关 DEGs。见图 2。

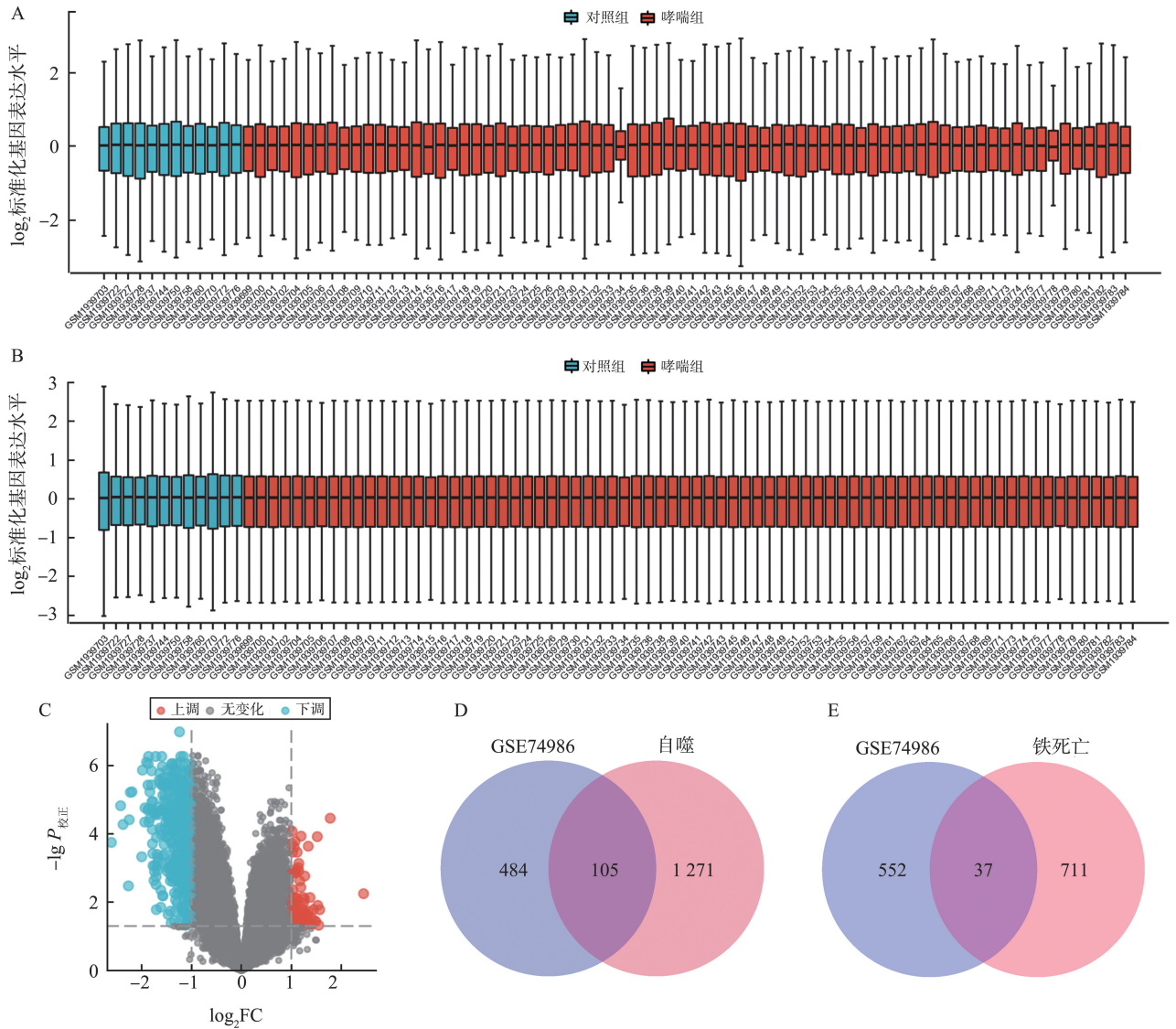


图 2 在 GSE74986 数据集对 DEGs 的识别

A: GSE74986 数据集样本校准前的箱线图; B: GSE74986 数据集样本校准后的箱线图; C: 火山图; D: GSE74986 DEGs 与自噬相关基因的韦恩图; E: GSE74986 DEGs 与铁死亡相关基因的韦恩图。

Figure 2 Identification of DEGs in GSE74986 dataset

A: Boxplot of samples in GSE74986 dataset before calibration; B: Boxplot of samples in GSE74986 dataset after calibration; C: Volcano plot; D: Venn diagram of autophagy-related genes and DEGs from GSE74986; E: Venn diagram of ferroptosis-related genes and DEGs from GSE74986.

### 2.2 自噬相关 DEGs 的富集分析

共识别出 105 个与自噬相关的 DEGs, 其中 8 个上调、97 个下调。丰富的生物过程包括自噬的调节、大自噬、细胞对外部刺激的反应、对营养水平的反应等。主要富集的细胞成分包括液泡膜、溶酶体膜、细胞质应激和自噬体等。主要富集的分子功能包括钙黏蛋白结合、GTP 酶活性、泛素样蛋白连接酶结合以及鸟苷核苷酸结合等。KEGG 富集分析结果显示, 自噬相关 DEGs 主要富集到自噬、脂质和动脉粥样硬化、细胞凋亡、内质网中的蛋白质加工、PI3K-Akt 信号通路和 NOD 样受体信号通路等。见图 3。

### 2.3 铁死亡相关 DEGs 的富集分析

共识别出 37 个与铁死亡相关的 DEGs, 其中 3 个上调、34 个下调。GO 富集的生物过程包括对营养水平的反应、对细胞外刺激的反应、细胞对外部刺激的反应以及对饥饿状态的反应等多个方面。主要富集的细胞成分包括细胞器外膜、外膜、细胞基底结合、液泡膜和自噬体等。主要富集的分子功能包括 miRNA 结合、调节性 RNA 结合、Tat 蛋白结合和花生四烯酸辅酶 A 连接酶活性等。KEGG 富集分析到铁死亡、PPAR 信号通路、脂肪酸代谢、内质网中的蛋白质加工、脂肪酸生物合成和脂肪细胞因子信号通路等。见图 4。

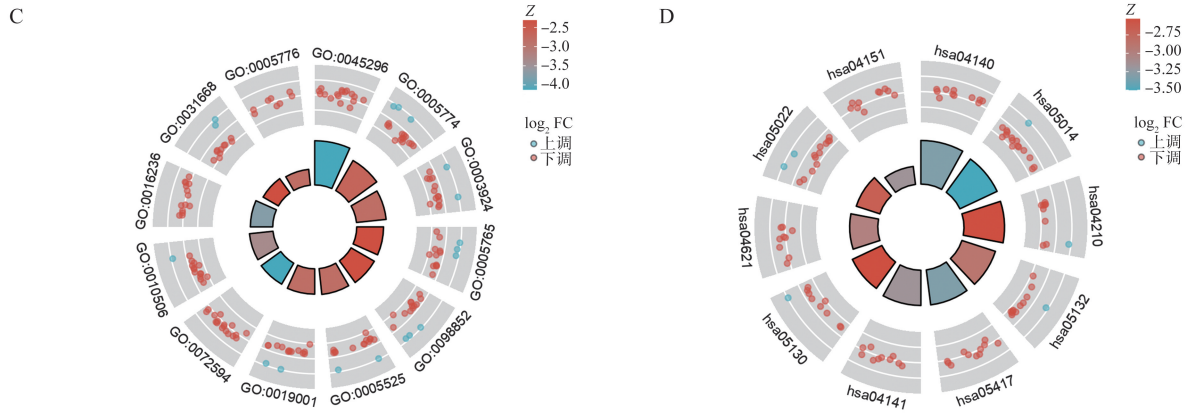
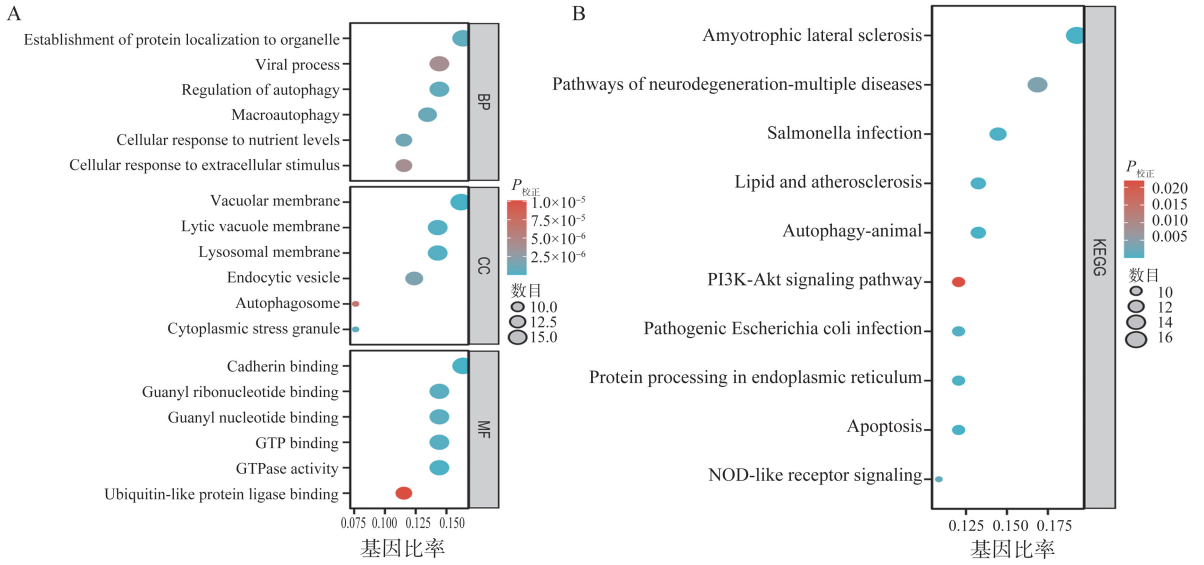
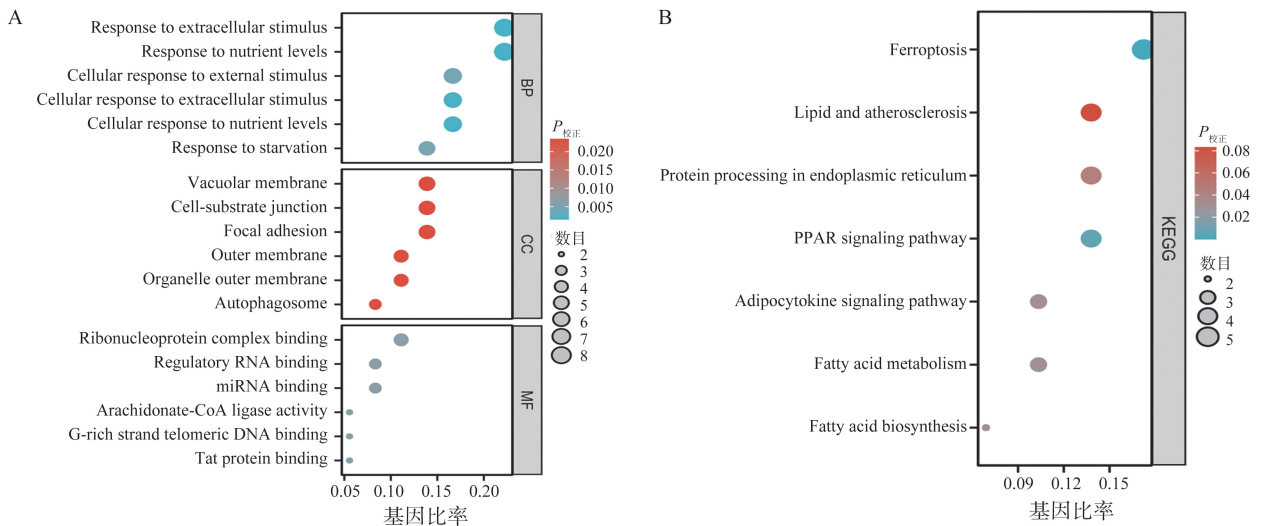


图 3 自噬相关 DEGs 的功能富集分析

A: 自噬相关 DEGs 的 GO 富集气泡图; B: 自噬相关 DEGs 的 KEGG 富集气泡图; C: 自噬相关 DEGs 的 GO 富集圈图 (结合 log<sub>2</sub>FC); D: 自噬相关 DEGs 的 KEGG 富集圈图 (结合 log<sub>2</sub>FC)。

Figure 3 Functional enrichment analysis of autophagy-related DEGs

A: Bubble maps of GO enrichment analysis of autophagy-related DEGs; B: Bubble maps of KEGG enrichment analysis of autophagy-related DEGs; C: Circos maps of GO enrichment analysis of autophagy-related DEGs (incorporating log<sub>2</sub>FC); D: Circos maps of KEGG enrichment analysis of autophagy-related DEGs (incorporating log<sub>2</sub>FC)。



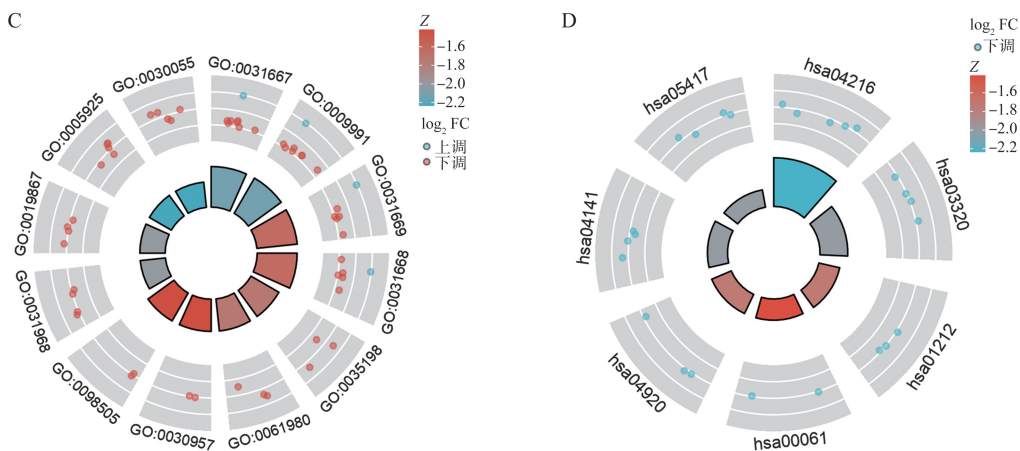


图4 铁死亡相关 DEGs 的功能富集分析

A: 铁死亡相关 DEGs 的 GO 富集气泡图; B: 铁死亡相关 DEGs 的 KEGG 富集气泡图; C: 铁死亡相关 DEGs 的 GO 富集圈图(结合  $\log_2 FC$ ); D: 铁死亡相关 DEGs 的 KEGG 富集圈图(结合  $\log_2 FC$ )。

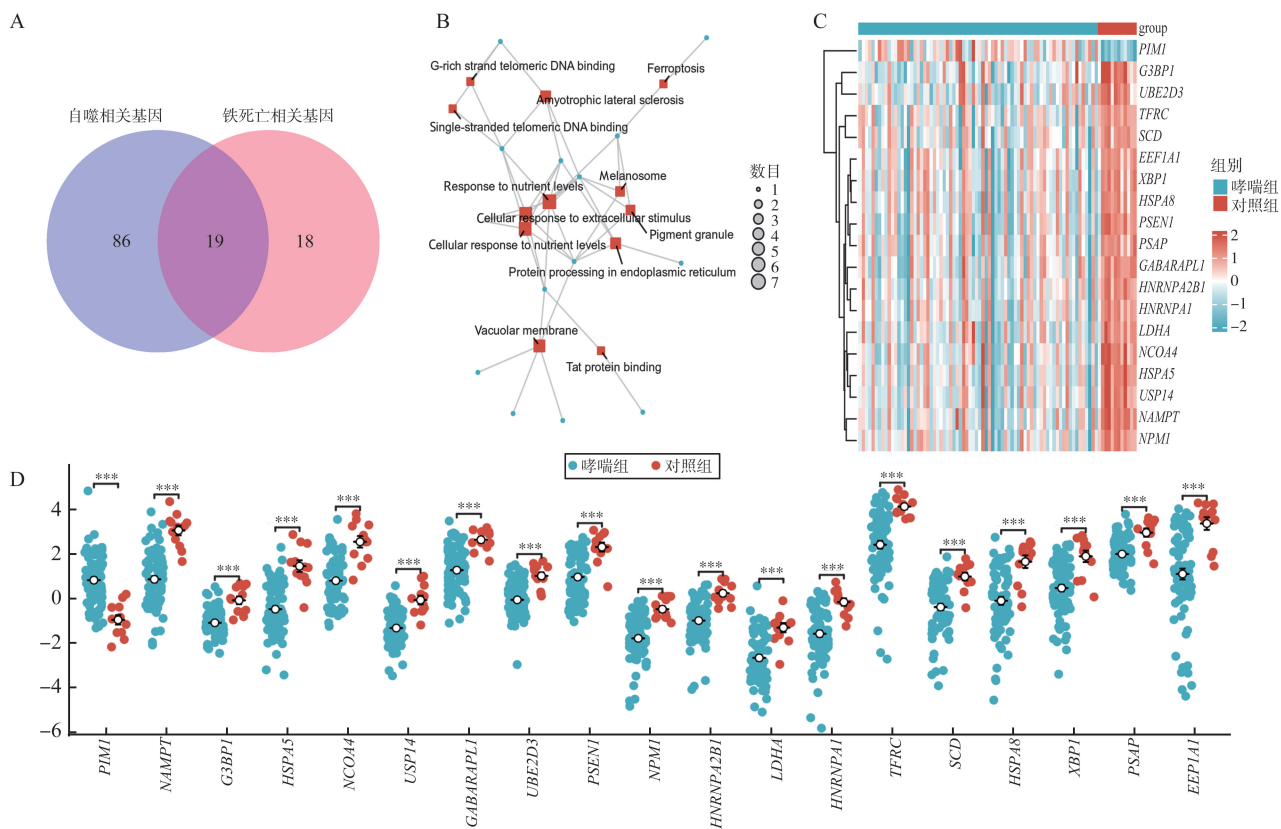
Figure 4 Functional enrichment analysis of ferroptosis-related DEGs

A: Bubble maps of GO enrichment analysis of ferroptosis-related DEGs; B: Bubble maps of KEGG enrichment analysis of ferroptosis-related DEGs; C: Circos maps of GO enrichment analysis of ferroptosis-related DEGs (incorporating  $\log_2 FC$ ); D: Circos maps of KEGG enrichment analysis of ferroptosis-related DEGs (incorporating  $\log_2 FC$ ).

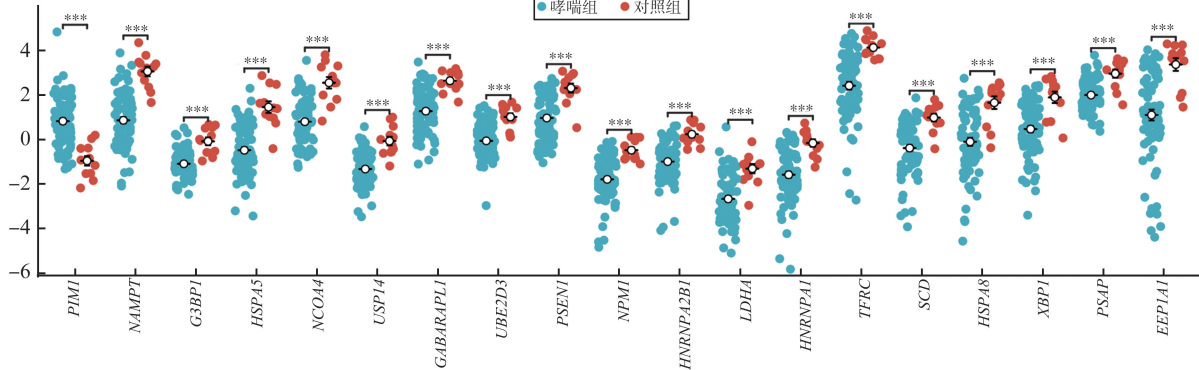
### 2.4 候选基因的表达和功能富集分析

将铁死亡相关的 DEGs (37 个) 和自噬相关的 DEGs (105 个) 进行韦恩图交集分析, 得到 19 个候选基因。GO 和 KEGG 分析显示, 候选基因富集于细胞对营养水平的反应及对细胞外刺激的反应等生物过程, 细胞成分的液泡膜、自噬体和 Tat 蛋白结合、富含 G 链的端粒 DNA 结合的分子功能以及

KEGG 的铁死亡信号通路等。在 GSE74986 数据集中, 只有 PIM1 这 1 个基因在哮喘患者中表达上调, 18 个基因 (*NAMPT*、*G3BP1*、*HSPA5*、*NCOA4*、*USP14*、*GABARAPL1*、*UBE2D3*、*PSEN1*、*NPM1*、*HNRNPA2B1*、*LDHA*、*HNRNPA1*、*TFRC*、*SCD*、*HSPA8*、*XBP1*、*PSAP* 和 *EEF1A1*) 表达下调。见图 5。



D



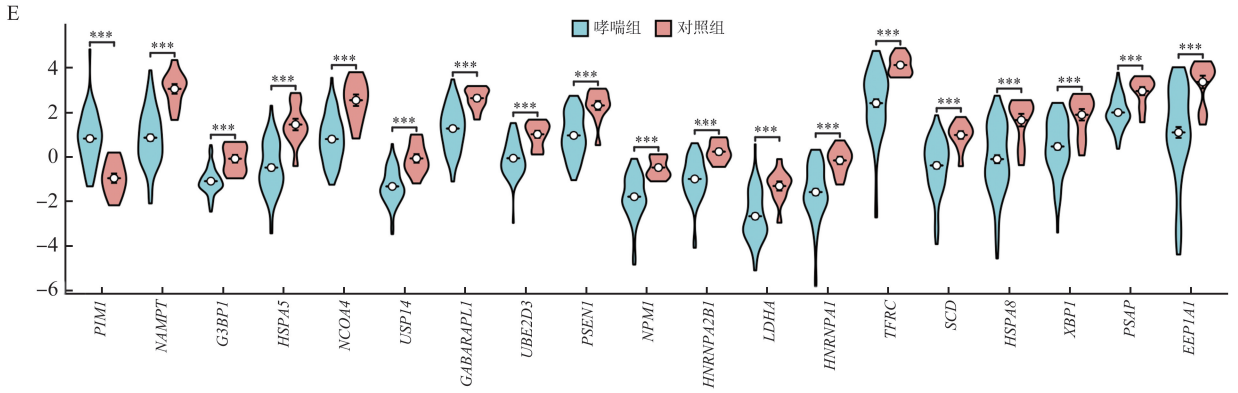


图5 候选基因的表达和功能富集分析

A: 铁死亡相关的 DEGs 和自噬相关的 DEGs 的韦恩图; B: 候选基因的 GO 和 KEGG 网络图; C: 候选基因在 GSE74986 数据集的热图。上调基因标记为红色, 下调基因标记为蓝色; D: 候选基因在 GSE74986 数据集表达情况的散点图; E: 候选基因在 GSE74986 数据集表达情况的小提琴图。\*\*\* $P < 0.001$ 。

Figure 5 Expression and functional enrichment analysis of candidate genes

A: Venn diagram of ferroptosis- and autophagy-related DEGs; B: Network diagram of GO and KEGG analyses of the candidate genes; C: Heatmap of candidate genes in GSE74986 dataset. Upregulated and downregulated genes were marked in red and blue, respectively; D: Scatterplot of candidate gene expression in GSE74986 dataset; E: Violin plot of candidate gene expression in GSE74986 dataset. \*\*\* $P < 0.001$ .

## 2.5 PPI 网络分析

候选基因网络共包含 19 个节点、35 个边、平均节点度为 3.68。使用 Cytoscape v3.8.2 将获得的 PPI 网络可视化, 并使用 cytoHubba 插件通过 MCC 算法鉴定出前 10 个枢纽基因, 分别为 *HSPA8*、*NPM1*、*HNRNPA2B1*、*HNRNPA1*、*HSPA5*、*EEF1A1*、*G3BP1*、*TFRC*、*GABARAPL1* 和 *XBP1*, 其中 *HSPA8*、*NPM1*、*HNRNPA2B1*、*HNRNPA1* 和 *HSPA5* 具有较强的蛋白质相互作用, 见图 6。

## 2.6 枢纽基因-miRNA 和枢纽基因-TF 网络的构建

mRNA-miRNA 网络预测, 哮喘中 10 个枢纽基因可靶向 61 种 miRNAs, 且 10 个基因均能靶向到 miRNAs。mRNA-TF 网络图表明, 哮喘中有 6 个 (*HNRNPA1*、*HNRNPA2B1*、*HSPA5*、*HSPA8*、*TFRC*、*XBP1*) 枢纽基因可靶向 17 种 TFs; 预计 *NPM1*、*EEF1A1*、*G3BP1* 和 *GABARAPL1* 基因不会靶向任何 TFs。见图 6。

## 2.7 免疫浸润分析

GSE74986 数据集中哮喘组 22 种免疫浸润细胞的相关性和枢纽基因与免疫浸润细胞的相关性分析结果见图 7。在 GSE74986 数据集中, 基因 *TFRC* ( $r = 0.755$ ,  $P_{\text{校正}} = 7.99 \times 10^{-15}$ )、*G3BP1* ( $r = 0.528$ ,  $P_{\text{校正}} = 1.31 \times 10^{-6}$ )、*XBP1* ( $r = 0.718$ ,  $P_{\text{校正}} = 5.81 \times 10^{-13}$ )、*HSPA5* ( $r = 0.761$ ,  $P_{\text{校正}} = 3.53 \times 10^{-15}$ )、*HSPA8* ( $r = 0.685$ ,  $P_{\text{校正}} = 1.69 \times 10^{-11}$ )、*HNRNPA2B1*

( $r = 0.739$ ,  $P_{\text{校正}} = 5.66 \times 10^{-14}$ )、*GABARAPL1* ( $r = 0.848$ ,  $P_{\text{校正}} = 1.55 \times 10^{-21}$ )、*NPM1* ( $r = 0.613$ ,  $P_{\text{校正}} = 6.29 \times 10^{-9}$ )、*HNRNPA1* ( $r = 0.716$ ,  $P_{\text{校正}} = 7.17 \times 10^{-13}$ )、*EEF1A1* ( $r = 0.784$ ,  $P_{\text{校正}} = 1.47 \times 10^{-16}$ ) 与 M0 型巨噬细胞呈正相关。基因 *TFRC* ( $r = 0.446$ ,  $P_{\text{校正}} = 6.74 \times 10^{-5}$ )、*XBP1* ( $r = 0.447$ ,  $P_{\text{校正}} = 6.56 \times 10^{-5}$ )、*HSPA5* ( $r = 0.397$ ,  $P_{\text{校正}} = 4.63 \times 10^{-4}$ )、*HSPA8* ( $r = 0.447$ ,  $P_{\text{校正}} = 6.56 \times 10^{-5}$ )、*HNRNPA2B1* ( $r = 0.407$ ,  $P_{\text{校正}} = 3.15 \times 10^{-4}$ )、*GABARAPL1* ( $r = 0.444$ ,  $P_{\text{校正}} = 7.32 \times 10^{-5}$ )、*NPM1* ( $r = 0.352$ ,  $P_{\text{校正}} = 2.10 \times 10^{-3}$ )、*HNRNPA1* ( $r = 0.360$ ,  $P_{\text{校正}} = 1.61 \times 10^{-3}$ )、*EEF1A1* ( $r = 0.422$ ,  $P_{\text{校正}} = 1.78 \times 10^{-4}$ ) 与 M1 型巨噬细胞呈正相关。基因 *TFRC* ( $r = -0.558$ ,  $P_{\text{校正}} = 2.39 \times 10^{-7}$ )、*G3BP1* ( $r = -0.618$ ,  $P_{\text{校正}} = 4.56 \times 10^{-9}$ )、*XBP1* ( $r = -0.351$ ,  $P_{\text{校正}} = 2.18 \times 10^{-3}$ )、*HSPA5* ( $r = -0.482$ ,  $P_{\text{校正}} = 1.36 \times 10^{-5}$ )、*HSPA8* ( $r = -0.332$ ,  $P_{\text{校正}} = 3.88 \times 10^{-3}$ )、*HNRNPA2B1* ( $r = -0.521$ ,  $P_{\text{校正}} = 1.97 \times 10^{-6}$ )、*GABARAPL1* ( $r = -0.561$ ,  $P_{\text{校正}} = 2.04 \times 10^{-7}$ )、*NPM1* ( $r = -0.306$ ,  $P_{\text{校正}} = 7.94 \times 10^{-3}$ )、*HNRNPA1* ( $r = -0.426$ ,  $P_{\text{校正}} = 1.56 \times 10^{-4}$ )、*EEF1A1* ( $r = -0.425$ ,  $P_{\text{校正}} = 1.61 \times 10^{-4}$ ) 与激活的 NK 细胞呈负相关。CD8+ T 细胞、CD4 记忆 T 细胞激活以及调节性 T 细胞与多数的枢纽基因存在关联。

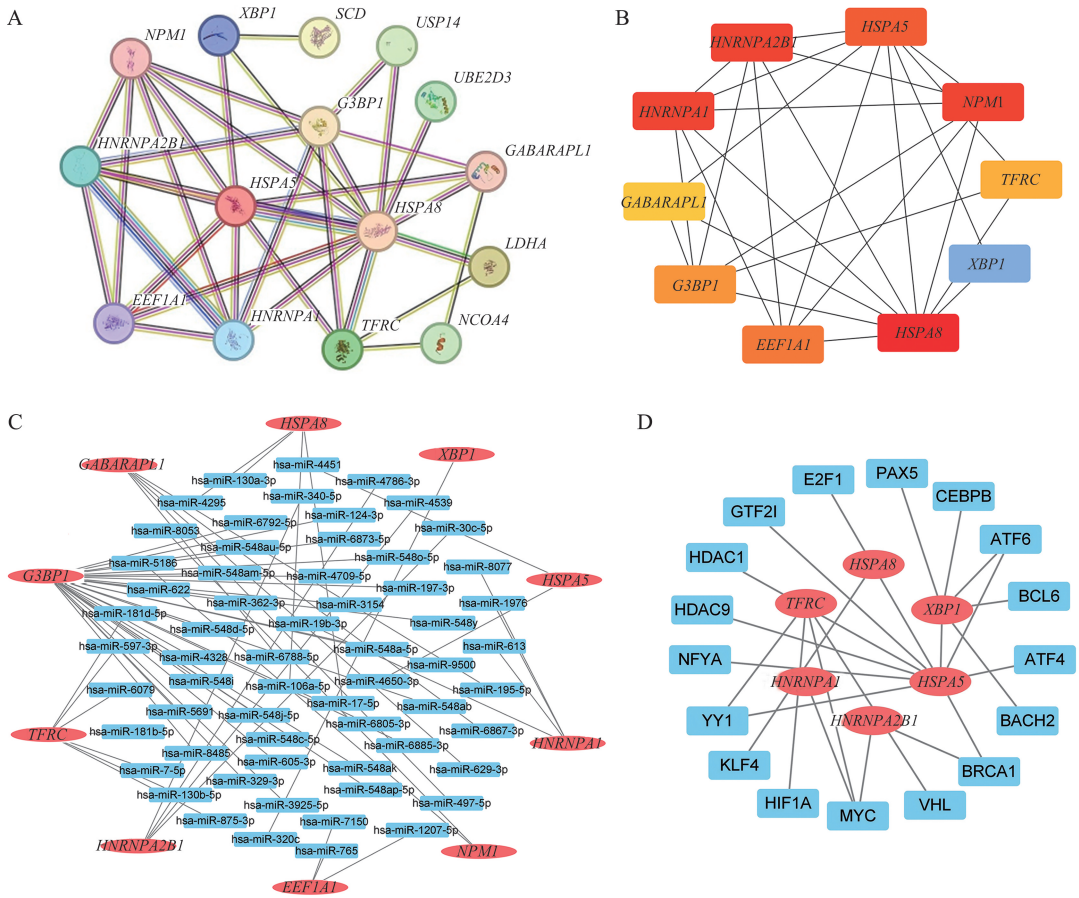


图 6 候选基因的 PPI 网络及 miRNAs、TFs 和枢纽基因之间的相互作用网络

A: 基于 STRING 数据库的候选基因的 PPI 网络; B: 通过 MCC 算法鉴定的 10 个枢纽基因的 PPI 网络。红色越深表示预测的准确性越高,范围从蓝色到红色; C: 枢纽基因和靶向 miRNAs 之间的相互作用网络。红色为枢纽基因;蓝色为 miRNA; D: TFs 和枢纽基因的相互作用网络。红色为枢纽基因;蓝色为 TFs。

Figure 6 PPI networks of candidate genes and interaction networks of hub genes with miRNAs and TFs

A: PPI network for candidate genes based on the STRING database; B: PPI network of 10 hub genes identified by the MCC algorithm. A darker red color indicated a higher degree of prediction accuracy, ranging from blue to red; C: Network of interactions between hub genes and targeted miRNAs. Red represented hubgenes and blue represented miRNAs; D: Interaction network of TFs and hub genes. Red represented hub genes and blue represented TFs.

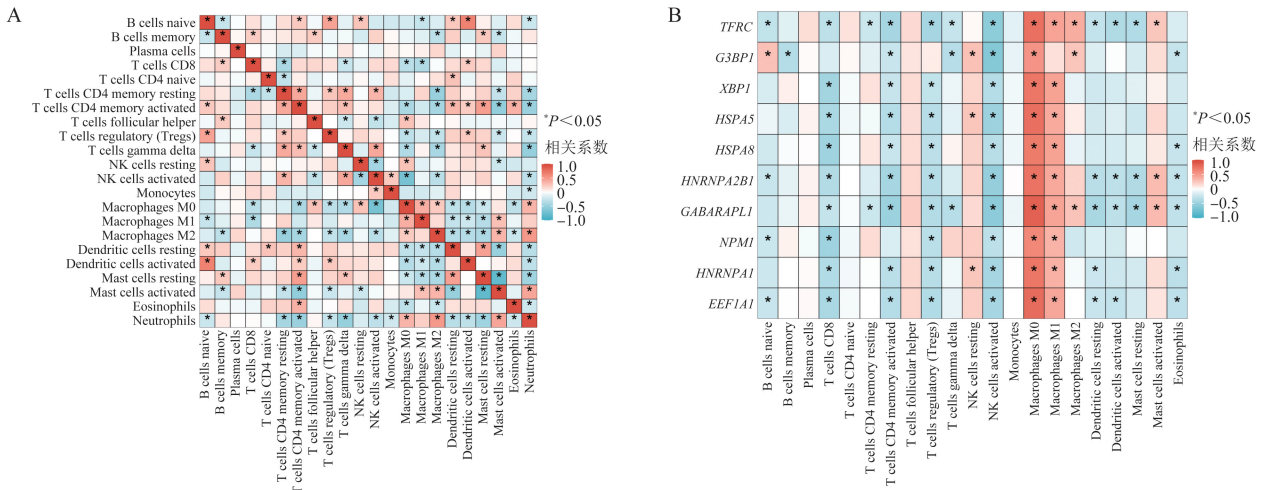


图 7 GSE74986 数据集中免疫细胞浸润分析

A: GSE74986 数据集中哮喘组患者免疫细胞的相关性分析; B: 10 个枢纽基因与 22 个免疫浸润细胞之间的关系。

Figure 7 Immune cell infiltration analysis in the asthma group in GSE74986 dataset

A: Correlation analysis of immune cells in the asthma group in GSE74986 dataset; B: The association between 10 hub genes and 22 types of immune-infiltrating cells.

## 2.8 诊断模型构建

*HSPA8*、*NPM1*、*HNRNPA2B1*、*HNRNPA1*、*HSPA5*、*EEF1A1*、*G3BP1*、*TFRC*、*GABARAPL1* 和

*XBP1* 的 AUC 分别为 0.859、0.896、0.887、0.858、0.921、0.876、0.895、0.893、0.891 和 0.845。见图 8。

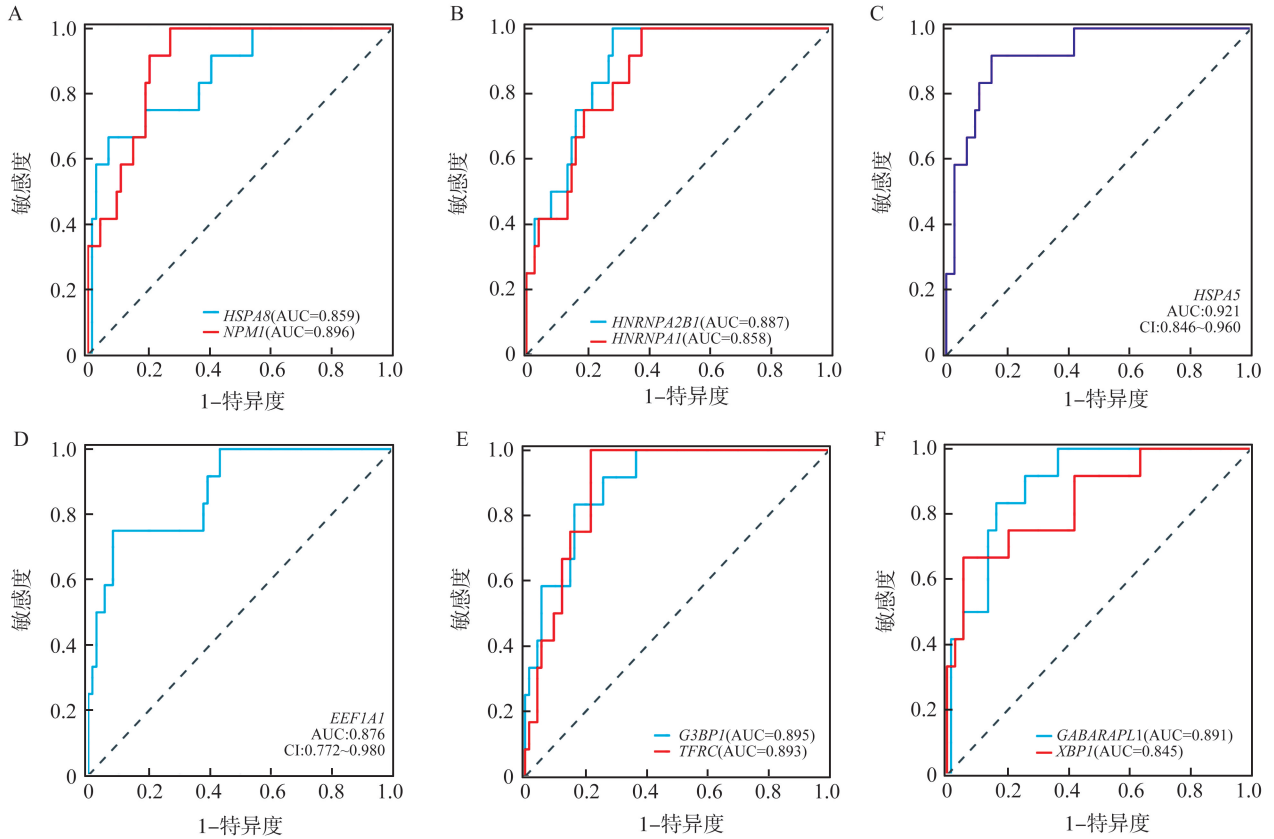


图 8 GSE74986 数据集中 10 个枢纽基因的 ROC 曲线

A: *HSPA8* 和 *NPM1* 基因的 ROC 曲线; B: *HNRNPA2B1* 和 *HNRNPA1* 基因的 ROC 曲线; C: *HSPA5* 基因的 ROC 曲线; D: *EEF1A1* 基因的 ROC 曲线; E: *G3BP1* 和 *TFRC* 基因的 ROC 曲线; F: *GABARAPL1* 和 *XBP1* 基因的 ROC 曲线。

Figure 8 ROC curves of 10 hub genes in GSE74986 dataset

A: ROC curves for *HSPA8* and *NPM1* genes; B: ROC curves for *HNRNPA2B1* and *HNRNPA1* genes; C: ROC curve for *HSPA5* gene; D: ROC curve for *EEF1A1* gene; E: ROC curves for *G3BP1* and *TFRC* genes; F: ROC curves for *GABARAPL1* and *XBP1*.

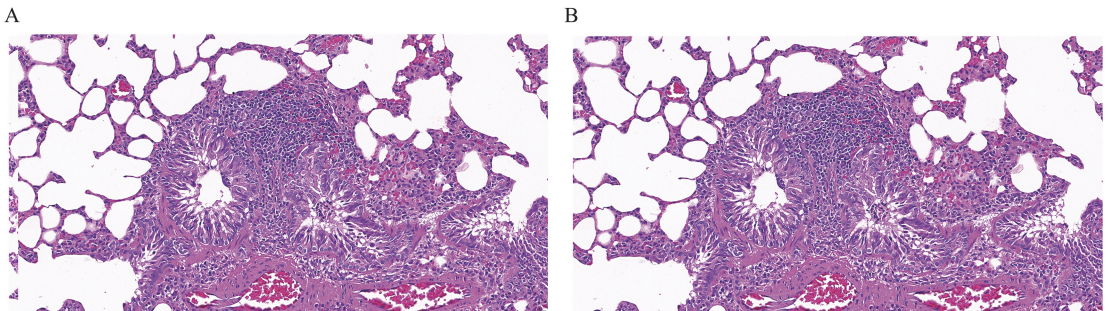
## 2.9 大鼠肺组织病理学

HE 染色结果显示,正常组大鼠的肺组织结构完整,肺泡腔清晰,肺泡壁薄且均匀,未见明显增厚或破坏。管壁各层及周围组织均未见炎症细胞浸润,肺泡结构清晰,无明显病理改变。模型组大鼠的肺组织则显示出显著的病理改变,气管壁结构受损,管壁显著增厚,伴有大量炎症细胞浸润,气道内可见

炎性渗出物,形成黏液栓,导致气道管腔明显狭窄。见图 9。

## 2.10 大鼠肺组织中核心靶点蛋白表达水平

与正常组相比,模型组肺组织中 *HNRNPA2B1*、*HNRNPA1*、*HSPA5*、*HSPA8*、*NPM1* 蛋白表达下降 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.001$ )。见图 9。



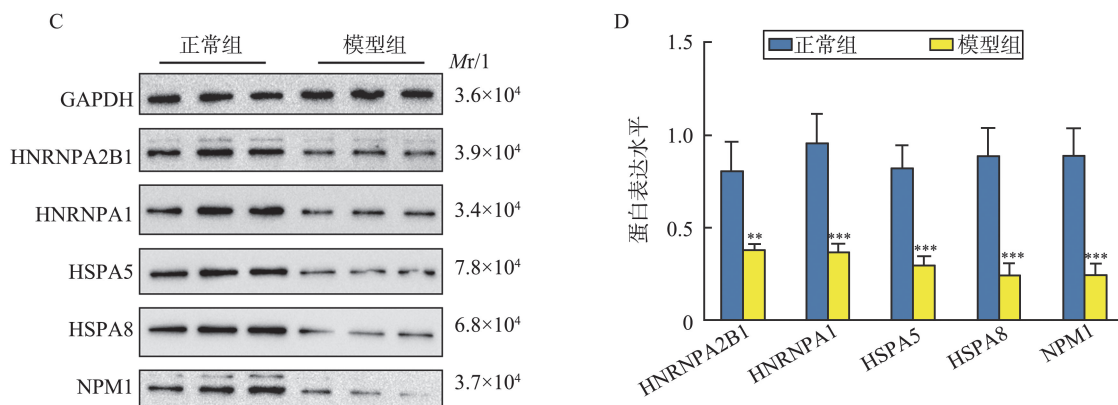


图9 各组肺组织的病理变化和核心靶点蛋白表达水平

A: 正常组大鼠肺组织的病理变化(HE染色, ×400); B: 模型组大鼠肺组织的病理变化(HE染色, ×400); C: 各组肺组织HNRNPA2B1、HNRNPA1、HSPA5、HSPA8、NPM1的代表性蛋白条带图; D: 各组肺组织HNRNPA2B1、HNRNPA1、HSPA5、HSPA8、NPM1的蛋白定量分析柱状图。\**P* < 0.01, \*\**P* < 0.001。

Figure 9 Pathological changes and core target protein expression levels in lung tissues of each group

A: Pathological changes of lung tissues of rats in normal group (HE staining, ×400); B: Pathological changes of lung tissues of rats in model group (HE staining, ×400); C: Representative protein banding plots of HNRNPA2B1, HNRNPA1, HSPA5, HSPA8, and NPM1 in lung tissues of each group; D: Bar charts for quantitative analyses of HNRNPA2B1, HNRNPA1, HSPA5, HSPA8, and NPM1 proteins in lung tissues of each group. \**P* < 0.01, \*\**P* < 0.001.

### 3 讨论

本研究通过生物信息学分析探讨自噬和铁死亡共同基因在哮喘中的潜在作用。在GSE74986数据集中鉴定出105个自噬相关的DEGs(8个上调、97个下调)和37个铁死亡相关的DEGs(3个上调、34个下调),这些基因在自噬和铁死亡过程中可能发挥重要作用。通过功能和通路富集分析,发现自噬相关DEGs参与自噬、脂质和动脉粥样硬化、细胞凋亡、PI3K-Akt信号通路等的调控。而铁死亡相关DEGs参与铁死亡、PPAR信号通路、脂肪酸代谢等的调控。为了进一步揭示这些基因在哮喘病理机制中的作用,本研究构建PPI网络,筛选出前10的枢纽基因(HSPA8、NPM1、HNRNPA2B1、HNRNPA1、HSPA5、EEF1A1、G3BP1、TFRC、GABARAPL1和XBP1)。

上述枢纽基因在自噬和铁死亡的调控中扮演重要角色。研究发现,利福平抑制HSPA8可增强自噬并促进铁死亡<sup>[21]</sup>;NPM1在慢性肾病中过表达可减轻铁死亡并加重肾纤维化<sup>[22]</sup>;HNRNPA2B1不仅介导了乳腺癌细胞的自噬和细胞增殖<sup>[23]</sup>,可通过调节LCN2促进子宫内膜癌耐药性并抑制铁死亡<sup>[24]</sup>,还通过抑制TFRC表达从而增强胰腺癌细胞对铁死亡的抵抗<sup>[25]</sup>;HNRNPA1通过调控SLC7A11/GPX4轴

抑制胃癌细胞的铁死亡<sup>[26]</sup>;HSPA5通过与GPX4形成复合物并抑制其降解,从而参与铁死亡的调控<sup>[27]</sup>;G3BP1通过抑制p53出核,促进肺癌细胞凋亡和铁死亡<sup>[28]</sup>,同时在椎间盘退变过程中影响髓核细胞铁死亡<sup>[29]</sup>;erastin诱导了T24人膀胱癌细胞的铁死亡,而下调TFRC的表达可抑制该细胞的铁死亡<sup>[30]</sup>;GABARAPL1的过表达可以触发小鼠睾丸间质细胞的自噬,而敲除GABARAPL1不仅可以抑制自噬,还可以减轻丙烯酰胺诱导的细胞自噬<sup>[31]</sup>;聚-L-精氨酸通过下调GABARAPL1促进哮喘气道上皮细胞铁死亡<sup>[32]</sup>。XBP1通过正向调控PI3K/AKT通路来抑制自噬<sup>[33]</sup>,其下调促进了铁蛋白自噬,并部分抵消了硒纳米颗粒对肾小管上皮细胞中铁死亡抑制的保护作用<sup>[34]</sup>。这些研究结果进一步支持枢纽基因在铁死亡和自噬的调控中的核心作用。本研究筛选出的部分枢纽基因在哮喘中的作用虽有一定报道<sup>[35-36]</sup>,但在自噬和铁死亡机制上研究不足。因此,这些基因可能是未来哮喘中自噬和铁死亡调控的关键靶点,值得进一步研究。

为了进一步阐明这些蛋白参与哮喘相关自噬和铁死亡中的作用,本研究进行了基因调控网络分析,结果显示基于PPI网络中筛选的前10个枢纽基因可与61种哮喘相关miRNAs和17种TFs形成靶向调控关系。其中,代表性miRNA包括hsa-miR-613、hsa-miR-1976、hsa-miR-19b-3p、hsa-miR-340-5p、hsa-

miR-30c-5p、hsa-miR-17-5p、hsa-miR-106a-5p、hsa-miR-130a-3p 等,涉及的 TFs 包括 MYC、ATF4、ATF6、BRCA1、E2F1、GTF2I、HDAC1、HDAC9、NFYA、YY1、KLF4、HIF1A、VHL、BACH2、BCL6、CEBPB、PAX5。此外,针对 PPI 网络中显示的 *HSPA8*、*NPM1*、*HNRNPA2B1*、*HNRNPA1* 和 *HSPA5* 这 5 个蛋白相互作用较强的枢纽基因,本研究进一步开展动物实验验证其表达水平,结果显示在哮喘模型大鼠肺组织中,上述 5 个枢纽基因的蛋白表达水平均显著低于正常组,与生物信息学预测的表达趋势一致。上述结果提示,这 5 个枢纽基因是哮喘发生发展过程中自噬与铁死亡通路的核心调控因子。结合 PPI 网络及基因调控网络分析结果可知,其表达异常可能通过蛋白间相互作用网络以及 miRNA/TF 介导的靶向调控通路,共同参与哮喘肺组织的炎症反应调控。此结果不仅证实了前期生物信息学预测的准确性与可靠性,为后续研究提供了经过实验验证的靶标基因集,也为深入解析自噬-铁死亡通路交叉调控哮喘炎症进程的分子机制提供参考,同时为哮喘的靶向治疗策略开发提供新的潜在干预靶点。

在哮喘的病理过程中,气道上皮的损伤会引发多种细胞因子和趋化因子的释放,这些因子在启动和调节固有免疫及适应性免疫反应中发挥重要作用。此过程导致嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、树突状细胞、淋巴细胞以及肥大细胞等免疫细胞在气道周围显著浸润并被激活<sup>[37-38]</sup>。而这些免疫细胞与邻近结构细胞之间也存在复杂的相互作用,并与气道高反应性、气道重塑等特征紧密相关<sup>[39-40]</sup>。本研究分析了枢纽基因与免疫浸润细胞中的表达水平,以探讨这些基因是否在哮喘患者的免疫调节中发挥关键作用,结果表明所筛选的枢纽基因与 M0 型巨噬细胞、M1 型巨噬细胞表达正相关,与激活的 NK 细胞表达负相关。这表明这些枢纽基因可能在巨噬细胞极化、炎症反应及免疫细胞功能调控中发挥重要作用,为开发新的免疫治疗策略提供潜在靶点。此外,还构建了哮喘疾病诊断模型,采用 ROC 曲线分析验证枢纽基因的诊断价值,结果显示 10 种枢纽基因都具有良好的诊断性能,其中 *HSPA5* 对哮喘患者具有最好的诊断效果,有望作为一种新的诊断标志物运用于临床。

综上所述,基于生物信息学分析,本研究鉴定了

自噬和铁死亡相关的哮喘关键基因 (*HSPA8*、*NPM1*、*HNRNPA2B1*、*HNRNPA1*、*HSPA5*、*EEF1A1*、*G3BP1*、*TFRC*、*GABARAPL1* 和 *XBP1*),这些基因在哮喘的发病机制中可能发挥重要调控作用。

## 参考文献:

- [1] Huang K, Yang T, Xu J, et al. Prevalence, risk factors, and management of asthma in China: a national cross-sectional study[J]. *Lancet*, 2019, 394 (10196): 407-418.
- [2] Liu L, Zhou L, Wang LL, et al. Programmed cell death in asthma: apoptosis, autophagy, pyroptosis, ferroptosis, and necroptosis [J]. *J Inflamm Res*, 2023, 16: 2727-2754. doi: 10.2147/JIR.S417801
- [3] Li BB, Chen YL, Pang F. MicroRNA-30a targets ATG5 and attenuates airway fibrosis in asthma by suppressing autophagy[J]. *Inflammation*, 2020, 43(1): 44-53.
- [4] Xu W, Deng H, Hu S, et al. Role of ferroptosis in lung diseases[J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 2079-2090. doi: 10.2147/JIR.S307081
- [5] Li M, Li M, Hou Y, et al. Ferroptosis triggers airway inflammation in asthma[J]. *Ther Adv Respir Dis*, 2023, 17: 17534666231208628. doi: 10.1177/17534666231208628
- [6] Lv X, Tang W, Qin J, et al. The crosslinks between ferroptosis and autophagy in asthma [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1140791. doi: 10.3389/fimmu.2023.1140791
- [7] Park E, Chung SW. ROS-mediated autophagy increases intracellular iron levels and ferroptosis by ferritin and transferrin receptor regulation[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(11): 822. doi: 10.1038/s41419-019-2064-5
- [8] Hou W, Xie Y, Song X, et al. Autophagy promotes ferroptosis by degradation of ferritin[J]. *Autophagy*, 2016, 12(8): 1425-1428.
- [9] Ma S, Dielschneider RF, Henson ES, et al. Ferroptosis and autophagy induced cell death occur independently after siramesine and lapatinib treatment in breast cancer cells [J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182921. doi: 10.1371/journal.pone.0182921
- [10] Liu J, Kuang F, Kroemer G, et al. Autophagy-dependent ferroptosis: machinery and regulation [J]. *Cell Chem Biol*, 2020, 27(4): 420-435.
- [11] Sun Y, Peng I, Webster JD, et al. Inhibition of the kinase ITK in a mouse model of asthma reduces cell death and fails to inhibit the inflammatory response[J]. *Sci Signal*, 2015, 8(405): ra122. doi: 10.1126/scisignal.aab0949
- [12] Barrett T, Wilhite SE, Ledoux P, et al. NCBI GEO:

- archive for functional genomics data sets—update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(Database issue): D991-D995.
- [13] Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses[J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2016, 54: 1.30.1-1.30.33. doi: 10.1002/cpb.5
- [14] Liberzon A, Birger C, Thorvaldsdóttir H, et al. The Molecular Signatures Database (MSigDB) hallmark gene set collection[J]. *Cell Syst*, 2015, 1(6): 417-425.
- [15] Zhou N, Yuan X, Du Q, et al. FerrDb V2: update of the manually curated database of ferroptosis regulators and ferroptosis-disease associations[J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(D1): D571-D582.
- [16] Szklarczyk D, Gable AL, Nastou KC, et al. The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D605-D612.
- [17] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [18] Dweep H, Gretz N, Sticht C. miRWalk database for miRNA-target interactions[J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1182: 289-305. doi: 10.1007/978-1-4939-1062-5\_25
- [19] Han H, Cho JW, Lee S, et al. TRRUST v2: an expanded reference database of human and mouse transcriptional regulatory interactions[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D380-D386.
- [20] Chen B, Khodadoust MS, Liu CL, et al. Profiling tumor infiltrating immune cells with CIBERSORT[J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1711: 243-259. doi: 10.1007/978-1-4939-7493-1\_12
- [21] Zhou J, Tan Y, Hu L, et al. Inhibition of HSPA8 by rifampicin contributes to ferroptosis via enhancing autophagy[J]. *Liver Int*, 2022, 42(12): 2889-2899.
- [22] Fu W, Zhang M, Meng Y, et al. Increased NPM1 inhibit ferroptosis and aggravate renal fibrosis via Nrf2 pathway in chronic kidney disease[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2025, 1871(1): 167551. doi: 10.1016/j.bbadis.2024.167551
- [23] Zheng R, Yu Y, Lv L, et al. m6A reader HNRNPA2B1 destabilization of ATG4B regulates autophagic activity, proliferation and olaparib sensitivity in breast cancer[J]. *Exp Cell Res*, 2023, 424(1): 113487. doi: 10.1016/j.yexcr.2023.113487
- [24] Jiang J, Zhu J, Qiu P, et al. HNRNPA2B1-mediated m6A modification of FOXM1 promotes drug resistance and inhibits ferroptosis in endometrial cancer via regulation of LCN2[J]. *Funct Integr Genomics*, 2023, 24(1): 3. doi: 10.1007/s10142-023-01279-7
- [25] 李政, 刘雅雯, 陈家希, 等. hnrnpa2b1 通过抑制转铁蛋白受体增强胰腺癌细胞对铁死亡的抵抗[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2024, 34(1): 1-10.
- LI Zheng, LIU Yawen, CHEN Jiayi, et al. hnrnpa2b1 enhances the resistance of pancreatic cancer cells to ferroptosis by inhibiting transferrin receptor[J]. *Journal of Jiangsu University (Medicine Edition)*, 2024, 34(1): 1-10.
- [26] Duan Y, Yan Y, Fu H, et al. SNHG15-mediated feedback loop interplays with HNRNPA1/SLC7A11/GPX4 pathway to promote gastric cancer progression[J]. *Cancer Sci*, 2024, 115(7): 2269-2285.
- [27] Zhu S, Zhang Q, Sun X, et al. HSPA5 regulates ferroptotic cell death in cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(8): 2064-2077.
- [28] Mao C, Wang X, Liu Y, et al. A G3BP1-interacting lncRNA promotes ferroptosis and apoptosis in cancer via nuclear sequestration of p53[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(13): 3484-3496.
- [29] Li S, Liao Z, Yin H, et al. G3BP1 coordinates lysophagy activity to protect against compression-induced cell ferroptosis during intervertebral disc degeneration[J]. *Cell Prolif*, 2023, 56(3): e13368. doi: 10.1111/cpr.13368
- [30] Qin J, Li Z, Su L, et al. Expression of transferrin receptor/TFRC protein in bladder cancer cell T24 and its role in inducing iron death in bladder cancer[J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 274(Pt 1): 133323. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.133323
- [31] Meng J, Xu L, Ma B, et al. GABARAPL1 is essential for ACR-induced autophagic cell death of mouse Leydig cells[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2025, 289: 117426. doi: 10.1016/j.ecoenv.2024.117426
- [32] Pan M, Zhang L, Chang S, et al. Poly-l-arginine promotes ferroptosis in asthmatic airway epithelial cells by modulating PBX1/GABARAPL1 axis[J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 286: 138478. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.138478
- [33] Gao K, Zhao Y, Si M, et al. ERS regulates endometrial epithelial cell autophagy through XBP1s-mediated activation of the PI3K/AKT pathway[J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 5943. doi: 10.1038/s41598-024-84461-6
- [34] Zuo Z, Luo M, Liu Z, et al. Selenium nanoparticles

alleviate renal ischemia/reperfusion injury by inhibiting ferritinophagy via the XBPI/NCOA4 pathway [J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 376. doi: 10.1186/s12964-024-01751-2

- [35] 黄秀芳, 廖钢, 高运吉, 等. 哮喘相关基因与治疗药物的生物信息学分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(2): 155-163.

HUANG Xiufang, LIAO Gang, GAO Yunji, et al. Bioinformatic analysis of related genes and therapeutic drugs of asthma [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2020, 26(2): 155-163.

- [36] 臧凝子, 李品, 庞立健, 等. 基于网络药理学和生物信息学筛选小青龙汤治疗支气管哮喘的关键基因和通路 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(3): 171-183.

ZANG Ningzi, LI Pin, PANG Lijian, et al. Exploring key genes and signaling pathways in treatment of bronchial asthma with Xiao Qinglongtang based on network

pharmacology and bioinformatics [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2021, 27(3): 171-183.

- [37] Potaczek DP, Miethe S, Schindler V, et al. Role of airway epithelial cells in the development of different asthma phenotypes [J]. *Cell Signal*, 2020, 69: 109523. doi: 10.1016/j.cellsig.2019.109523

- [38] Hammad H, Lambrecht BN. The basic immunology of asthma [J]. *Cell*, 2021, 184(6): 1469-1485.

- [39] Murphy RC, Lai Y, Liu M, et al. Distinct epithelial-innate immune cell transcriptional circuits underlie airway hyperresponsiveness in asthma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2023, 207(12): 1565-1575.

- [40] Guida G, Riccio AM. Immune induction of airway remodeling [J]. *Semin Immunol*, 2019, 46: 101346. doi: 10.1016/j.smim.2019.101346

(编辑:相峰)

(上接第 73 页)

- [25] Guo YJ, Pan WW, Liu SB, et al. ERK/MAPK signaling pathway and tumorigenesis [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(3): 1997-2007.

- [26] Wang B, Wang Y, Zhang J, et al. ROS-induced lipid peroxidation modulates cell death outcome: mechanisms behind apoptosis, autophagy, and ferroptosis [J]. *Arch Toxicol*, 2023, 97(6): 1439-1451.

- [27] 蒋崇辉, 艾小红, 杨小红, 等. 活性氧生成在 8-硝基白杨素诱导人胃癌 SGC-7901 细胞凋亡中的作用 [J]. *山东大学学报(医学版)*, 2012, 50(2): 34-37.

JIANG Chonghui, AI Xiaohong, YANG Xiaohong, et al. Generation of reactive oxygen species in apoptosis of human gastric cancer SGC-7901 cells induced by 5,7-dihydroxy-8-nitrochrysin [J]. *Journal of Shandong University (Health Sciences)*, 2012, 50(2): 34-37.

- [28] Hou Y, Wang H, Wu J, et al. Dissecting the pleiotropic roles of reactive oxygen species (ROS) in lung cancer: from carcinogenesis toward therapy [J]. *Med Res Rev*, 2024, 44(4): 1566-1595.

(编辑:相峰)