

· 论著 ·

# 基于机器学习和实验验证筛选肾移植缺血-再灌注损伤中程序性细胞死亡的核心基因

何贵柠 朱丽容 杨洁 何真 李明虎 李海滨 文宁 孙煦勇

**【摘要】** 目的 探讨肾移植缺血-再灌注损伤 (IRI) 的关键程序性细胞死亡 (PCD) 模式及核心基因。方法 从基因表达综合数据库获取肾移植相关数据集, 筛选 PCD 相关差异基因, 并基于非负矩阵分解算法对患者进行分型, 阐明不同亚型的生物学功能及关键 PCD 模式。构建机器学习模型, 结合单因素 Cox 回归分析与 Kaplan-Meier 生存曲线筛选肾移植 IRI 的 PCD 核心基因, 并分析其与关键 PCD 模式的相关性。构建大鼠肾移植模型, 采用苏木素-伊红染色、血清肌酐 (Scr) 和血尿素氮 (BUN) 评估肾移植 IRI 的严重程度, 采用蛋白质免疫印迹法检测核心基因蛋白表达。结果 共筛选出 14 个 PCD 相关差异基因, 将患者分为代谢型 (亚型 1) 和炎症型 (亚型 2), 其中亚型 2 激活细胞焦亡、坏死性凋亡、细胞凋亡以及免疫原性细胞死亡 4 种关键 PCD 模式。最优模型 (XGBoost-CV:10 fold+Lasso-CV:10 fold) 以及生存分析筛选出 MCL1、BAG3 和 RHOB 为肾移植 IRI 的 PCD 核心基因, 其与关键 PCD 模式广泛相关。动物实验结果显示, 与假手术组相比, 模型组大鼠肾小管损伤加重; Scr 和 BUN 水平显著升高, BAG3、RHOB 和 MCL1 蛋白表达增多 (均为  $P<0.001$ )。结论 细胞焦亡、坏死性凋亡、细胞凋亡以及免疫原性细胞死亡作为关键 PCD 模式参与肾移植 IRI 的病理进程, MCL1、BAG3 和 RHOB 可能作为其核心基因, 成为肾移植 IRI 的潜在生物标志物及治疗靶点。

**【关键词】** 肾移植; 缺血-再灌注损伤; 机器学习; 程序性细胞死亡; 炎症反应; 细胞焦亡; 细胞凋亡; 免疫原性细胞死亡

**【中图分类号】** R617, R392.25 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2025) 05-0008-09

**Identification of core genes in programmed cell death during ischemia-reperfusion injury in kidney transplantation based on machine learning and experimental validation** He Guining\*, Zhu Lirong, Yang Jie, He Zhen, Li Minghu, Li Haibin, Wen Ning, Sun Xuyong. \*Institute of Transplant Medicine of the Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Guangxi Clinical Research Center for Organ Transplantation, Guangxi Key Laboratory of Research on Organ Donation and Transplantation, Nanning 530007, China

Corresponding author: Sun Xuyong, Email: sunxuyong@gxmu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To identify key patterns of programmed cell death (PCD) and core genes during ischemia-reperfusion injury (IRI) in kidney transplantation. **Methods** Kidney transplant datasets were obtained from gene expression database, and PCD-related differentially expressed genes were screened. The non-negative matrix factorization algorithm was used to classify patients and analyze subtype-specific biological functions and key PCD patterns. Machine learning models combined with univariate Cox regression and Kaplan-Meier survival analysis were employed to identify

DOI: 10.12464/j.issn.1674-7445.2025134

基金项目: 广西重点研发计划项目 (桂科 AB24010059); 广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目 (S2023078)

作者单位: 530007 南宁, 广西医科大学第二附属医院移植医学研究所 广西器官移植临床医学研究中心 广西器官捐献与移植研究重点实验室 (何贵柠、朱丽容、何真、李明虎、李海滨、文宁、孙煦勇), 临床医学研究中心 (杨洁)

作者简介: 何贵柠 (ORCID 0009-0006-4359-9166), 硕士研究生, 研究方向为肾移植, Email: heguining2022@163.com

通信作者: 孙煦勇 (ORCID 0000-0002-2098-2510), 博士, 主任医师, 研究方向为器官移植基础与临床研究, Email: sunxuyong@gxmu.edu.cn

core PCD genes during IRI in kidney transplantation and explore their correlation with key PCD patterns. A rat kidney transplant model was used to assess IRI severity through hematoxylin-eosin staining, serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), and Western blotting for key gene protein expression. **Results** Fourteen PCD-related genes were identified. Patients were classified into metabolic (subtype 1) and inflammatory (subtype 2) subtypes. Subtype 2 activated four key PCD patterns: pyroptosis, necroptosis, apoptosis and immunogenic cell death. The optimal model (XGBoost-CV:10 fold+Lasso-CV:10 fold) and survival analysis identified MCL1, BAG3, and RHOB as core PCD genes during IRI in kidney transplantation, which were broadly correlated with key PCD patterns. Experimental results showed that compared to the sham group, rats in the model group had more severe tubular injury, higher Scr and BUN levels, and increased BAG3, RHOB and MCL1 protein expression (all  $P < 0.001$ ). **Conclusions** These four PCD patterns are crucial in the pathogenesis of IRI in kidney transplantation. MCL1, BAG3 and RHOB may serve as potential biomarkers and therapeutic targets for IRI in kidney transplantation.

**【Key words】** Kidney transplantation; Ischemia-reperfusion injury; Machine learning; Programmed cell death; Inflammatory response; Pyroptosis; Apoptosis; Immunogenic cell death

肾移植是终末期肾病的首选治疗方法，能够显著提高患者的生活质量和生存率。然而，移植过程中的缺血-再灌注损伤（ischemia-reperfusion injury, IRI）是导致移植物功能延迟恢复（delayed graft function, DGF）、急性排斥反应和慢性移植物失功等术后并发症的重要因素<sup>[1]</sup>。IRI 的病理生理过程复杂，目前认为与氧化应激、程序性细胞死亡（programmed cell death, PCD）以及免疫细胞浸润等机制相关<sup>[2]</sup>。其中，PCD 通过释放损伤相关分子模式（damage associated molecular pattern, DAMP）激活免疫系统以及炎症反应，持续加重组织损伤<sup>[3-4]</sup>。目前研究已鉴定出多种 PCD 模式<sup>[5]</sup>，但某些新型模式（如失巢凋亡）在肾 IRI 中的作用机制仍需阐明<sup>[6]</sup>。值得注意的是，不同 PCD 模式可以形成复杂的调控网络<sup>[7]</sup>。抑制某种 PCD 模式可能导致另一种死亡模式增强<sup>[8]</sup>，这种“代偿性转换”现象使得针对单一 PCD 模式的干预策略效果有限。因此深入探讨参与肾移植 IRI 病理进程的关键 PCD 模式及其核心调控基因，对开发新型诊疗策略具有重要意义。

近年来，机器学习在生物医学领域的应用广泛，

通过算法模型筛选关键基因，可更高效地揭示疾病机制并预测临床结局<sup>[9]</sup>。然而，目前对肾移植 IRI 的关键基因筛选的多聚焦于单一 PCD 模式，缺乏对多种 PCD 模式交叉调控网络的整合分析<sup>[10]</sup>。因此，本研究基于机器学习，鉴定参与肾移植 IRI 的关键 PCD 模式及其核心调控基因，为阐明 IRI 的分子机制并为治疗靶点开发提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据来源

数据集来自基因表达综合数据库（Gene Expression Omnibus, GEO）。本研究所使用的 4 个数据集信息见表 1。

### 1.2 基因表达差异分析

使用“limma”包分别对 GSE43974、GSE126805 和 GSE90861 数据集再灌注前、后样本进行差异表达分析，筛选  $|\log FC| > 1$  且  $P < 0.05$  的差异表达基因（differentially expressed gene, DEG）。通过文献 [11] 整理的 1 548 个 PCD 相关基因（PCD-relative gene, PCDRG），与上述 3 个数据集的 DEG 交集，得出差

表 1 数据集详细信息

Table 1 Dataset details

GEO登录号	平台	类型	种属	再灌注前 (n)	再灌注后 (n)	DGF (n)		移植结局 (n)	
						是	否	失败	未失败
GSE43974	GPL10558	基因芯片数据	人类	188	202	112	90	—	—
GSE126805	GPL21290	高通量测序数据	人类	41	42	—	—	—	—
GSE90861	GPL18573	高通量测序数据	人类	23	23	12	11	—	—
GSE21374	GPL570	基因芯片数据	人类	—	—	—	—	51	231

异表达的 PCD 相关基因 (DE-PCDRG)。

### 1.3 非负矩阵分解分析

基于 DE-PCDRG, 采用非负矩阵分解 (non-negative matrix factorization, NMF) 算法对肾移植受者进行分型, 依据同构相关系数确定最佳聚类数。此外, 采用主成分分析 (principal component analysis, PCA) 来可视化样本的聚类模式, 并结合热图可视化不同亚型患者 DE-PCDRG 的表达情况及临床特征。

### 1.4 功能富集分析及关键的 PCD 模式筛选

使用 “limma” 包筛选不同亚型样本的 DEG ( $|\log FC| > 0.5$  且  $P < 0.05$ )。对 DEG 进行基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA), 并利用基因集变异分析 (gene set variation analysis, GSVA) 计算 PCD 模式评分, 筛选出参与肾移植 IRI 的关键 PCD 模式。

### 1.5 肾移植 IRI 的 PCD 关键基因筛选及相关性分析

基于 DE-PCDRG, 采用 15 种机器学习算法进行建模分析, 包括: 神经网络集成 (neural network ensemble, NNE)、逻辑回归 (logistic regression, LR)、线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA)、二次判别分析 (quadratic discriminant analysis, QDA)、K 最近邻 (K-nearest neighbor, KNN)、决策树 (decision tree, DT)、随机森林 (random forest, RF)、极端梯度提升 (eXtreme gradient boosting, XGBoost)、岭回归 (ridge regression, RR)、最小绝对收缩和选择算子逻辑回归 (least absolute shrinkage and selection operator regression, LASSO)、弹性网络回归 (elastic net regression, ENR)、支持向量机 (support vector machine, SVM)、梯度提升机 (gradient boosting machine, GBM)、逐步逻辑回归 (stepwise logistic regression, SLR)、朴素贝叶斯 (Naïve Bayes, NB)。通过 caret 包对模型超参数进行优化, 结合定制的参数组合、LASSO 特征选择以及交叉验证方法, 共构建 207 种机器学习模型。将 GSE43974 数据集按照 8:2 的比例随机分割为训练集和内部验证集, GSE90861 数据集作为外部验证集。计算各个算法的受试者工作特征曲线下面积 (area under the curve, AUC), 并选择验证集中 AUC 平均值最高的模型进行后续分析。最终, 设置 gain 值  $> 0.1$  的基因作为肾移植 IRI 的 PCD 关键基因, 并分析关键基因与 PCD 模式的相关性。

### 1.6 筛选肾移植 IRI 的 PCD 核心基因

基于筛选的肾移植 IRI 的 PCD 关键基因及 GSE21374 数据集, 通过单因素 Cox 回归分析筛选肾移植 IRI 的 PCD 核心基因, 筛选标准为风险比 (hazard ratio, HR)  $\neq 1$  且  $P < 0.05$ 。随后, 利用 Kaplan-Meier 生存曲线分析进一步验证。

### 1.7 核心基因验证

1.7.1 构建大鼠肾移植模型 8~12 周龄雄性 SD 大鼠 12 只, 体质量 260~280 g, 购于维通利华有限公司。将大鼠随机分为假手术组和模型组, 每组 6 只。假手术组开腹及结扎右肾, 模型组进行大鼠肾移植<sup>[12]</sup>。术后 24 h, 对两组大鼠实施安乐死, 收集血清和肾组织进行后续分析。本研究已获得广西医科大学第二附属医院医学伦理委员会批准 [批号: 伦审 2023 第 (KY-0377)]。

1.7.2 评估肾损伤以及肾功能 肾组织标本经 4% 多聚甲醛溶液固定后, 常规石蜡包埋, 制备 2  $\mu\text{m}$  厚度的切片进行苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色。血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、血清肌酐 (serum creatinine, Scr) 水平检测按照试剂盒 (南京建成生物工程研究所有限公司) 说明书操作。

1.7.3 核心基因蛋白表达水平的检测 提取大鼠适量肾脏组织总蛋白后进行蛋白质印迹法检测。ImageJ 软件分析目的条带与  $\beta$ -actin 的灰度值, 计算目的蛋白的相对表达量。目的蛋白一抗均购于成都正能生物科技有限公司。

### 1.8 统计学方法

采用 R 软件 (版本 4.1.2) 和 Prism 9.5 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以均数  $\pm$  标准差表示, 组间差异使用独立样本  $t$  检验进行比较。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 DE-PCDRG 的鉴定

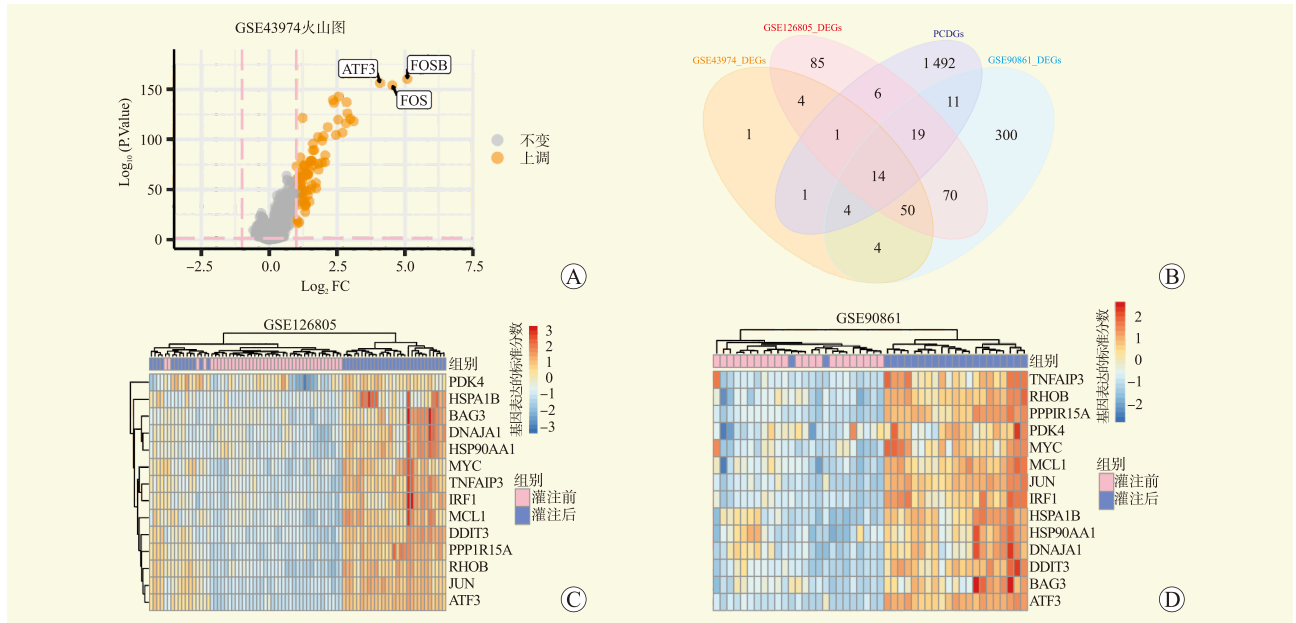
GSE43974、GSE126805 和 GSE90861 数据集的再灌注前、后样本分别鉴定出 79 个 (均上调)、279 个和 472 个 DEG, 与 PCDRG 进行交集分析, 最终筛选出 14 个 DE-PCDRG (图 1 A、B)。GSE126805 和 GSE90861 数据集中 14 个 DE-PCDRG 的表达热图见图 1C、D。

### 2.2 基于 DE-PCDRG 的肾移植受者亚型分析

基于 NMF 的聚类分析显示, 当聚类数  $k=2$  时,

一致性得分较高 (图 2A、B), 因此将所有肾移植受者分为 2 种亚型: 代谢型 (亚型 1, 59 例) 和炎症型 (亚型 2, 143 例)。PCA 结果表明, 这 14 个 DE-PCDRG 可以区分这两种亚型 (图 2C)。两种亚型

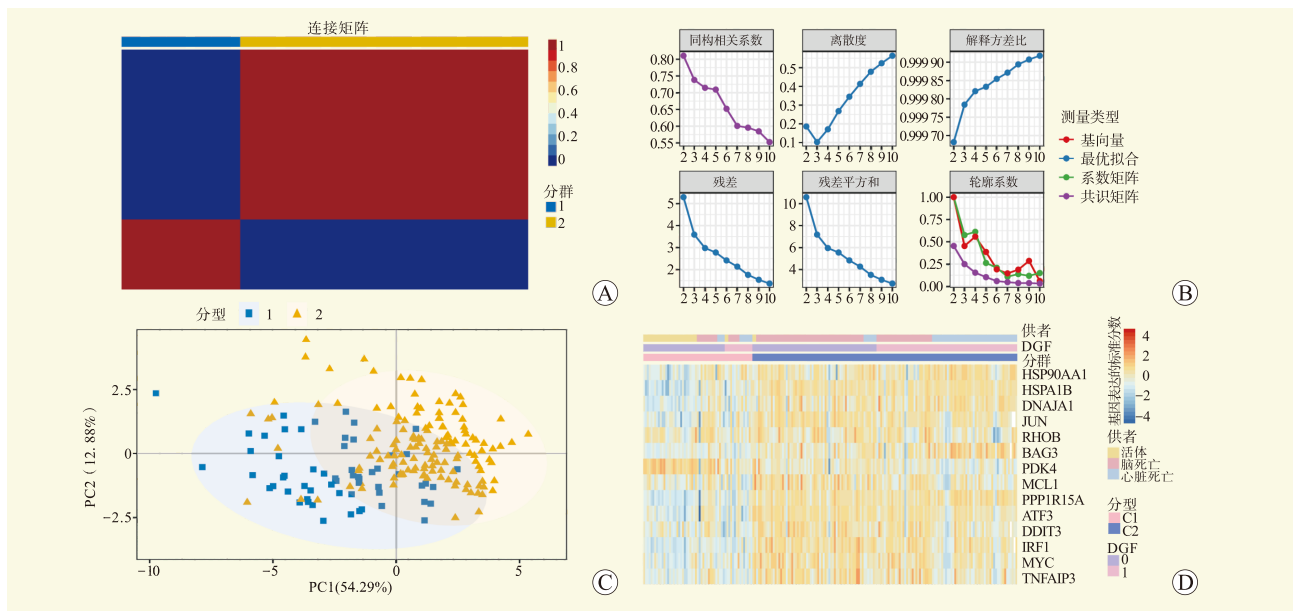
间 14 个 DE-PCDRG 的表达水平、供者和受者的临床特征信息见图 2D。其中, 亚型 1 高表达 PDK4, 亚型 2 高表达其余 DE-PCDRG, 亚型 2 的 DGF 发生率显著高于亚型 1。



注: A 图为 GSE43974 的 DEG 火山图; B 图为 GSE43974、GSE126805 及 GSE90861 的 DEG 和 PCDRG 韦恩图; C 图为 GSE126805 的 DE-PCDRG 热图; D 图为 GSE90861 的 DE-PCDRG 热图。

图 1 DEG 分析

Figure 1 Analysis of DEG



注: A 图为当 k=2 时的一致性聚类矩阵; B 图为当 k=2~10 时的累积分布函数曲线; C 图为 2 种亚型的主成分分析; D 图为 DE-PCDRG 的表达和 2 种亚型的临床特征热图, 0 表示未发生 DGF, 1 表示发生 DGF。

图 2 肾移植受者分型

Figure 2 Classification of kidney transplant recipients

### 2.3 两种亚型的生物学功能、PCD 模式分析

GSEA 结果显示, 亚型 1 富集于与代谢相关的过程, 如氧化磷酸化、胆汁酸代谢、异生物代谢和脂肪酸代谢等 (图 3A)。亚型 2 富集于与炎症反应相关的过程, 包括同种异体移植排斥反应、通过核因子 (nuclear factor, NF) - $\kappa$ B 传导的肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) - $\alpha$  信号通路、炎症反应及干扰素- $\gamma$  反应 (图 3B)。

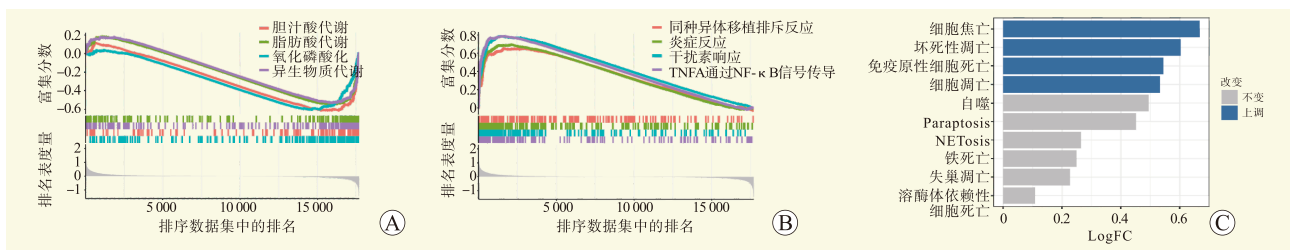
PCD 评分显示, 亚型 2 更显著富集于细胞焦亡、坏死性凋亡、免疫原性细胞死亡及细胞凋亡 (图 3C)。

### 2.4 PCD 关键基因筛选及其与 PCD 模式的相关性分析

选择 XGBoost-CV:10 fold+Lasso-CV:10 fold

(cutoff: 0.75) 模型进行后续分析, 其 AUC 分别为: 训练集 0.924、内部验证集 0.744、外部验证集 0.742

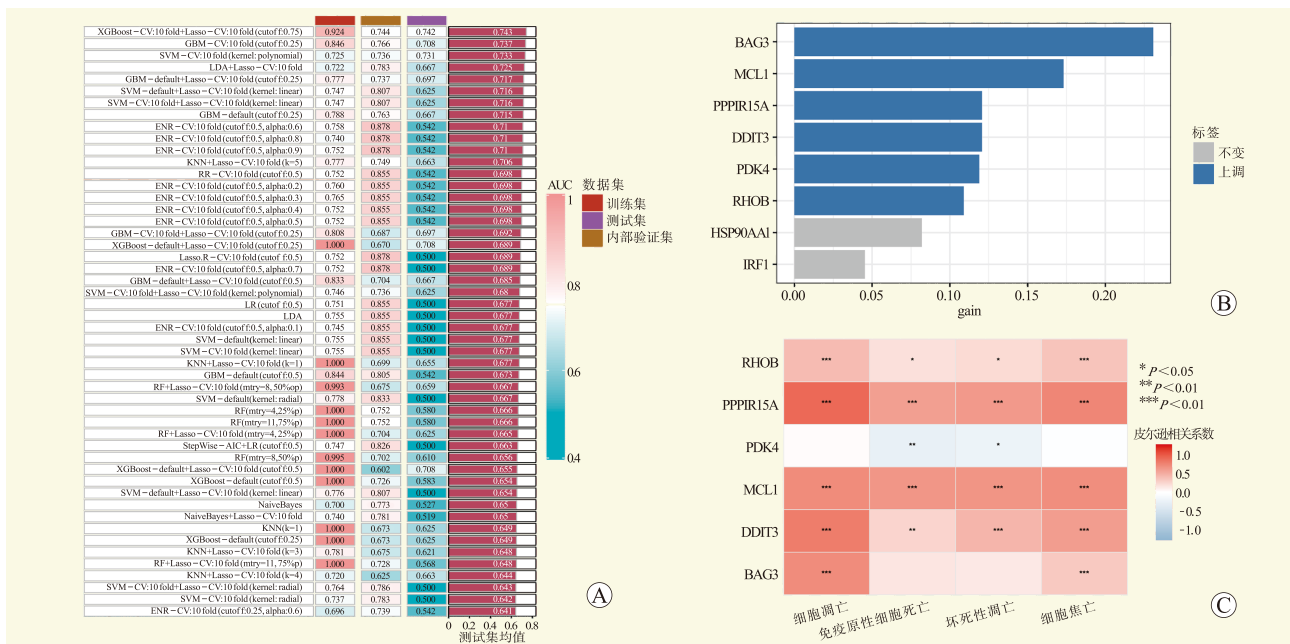
(图 4A)。筛选的关键基因为 BAG3、MCL1、PDK4、RHOB、PPP1R15A、DDIT3 (图 4B)。相关性分析结果显示, 除 PDK4 和 BAG3 外, 其余关键基因与 4 种 PCD 模式 (细胞凋亡、细胞焦亡、坏死性凋亡及免疫原性细胞死亡) 的富集评分基本存在相关性, 其中 MCL1 与这 4 种模式均呈现中等正相关关系 (细胞凋亡  $r=0.55$ 、细胞焦亡  $r=0.54$ 、坏死性凋亡  $r=0.51$ 、免疫原性细胞死亡  $r=0.50$ ) (图 4C)。



注: A 图为亚型 1 受者的 GSEA; B 图为亚型 2 受者的 GSEA; C 图为 PCD 评分。

图 3 生物学功能以及 PCD 模式分析

Figure 3 Biological functions and PCD pattern analysis



注: A 图为机器学习模型 AUC 热图 (平均 AUC 前 50); B 图为 XGBoost-CV:10 fold+Lasso-CV:10 fold (cutoff: 0.75) 筛选 DGF 的相关基因; C 图为关键基因与关键 PCD 模式相关性热图。

图 4 肾移植 IRI 的 PCD 关键基因筛选及其与 PCD 模式的相关性分析

Figure 4 Screening of PCD key genes in IRI during kidney transplantation and analysis of their correlation with PCD pattern

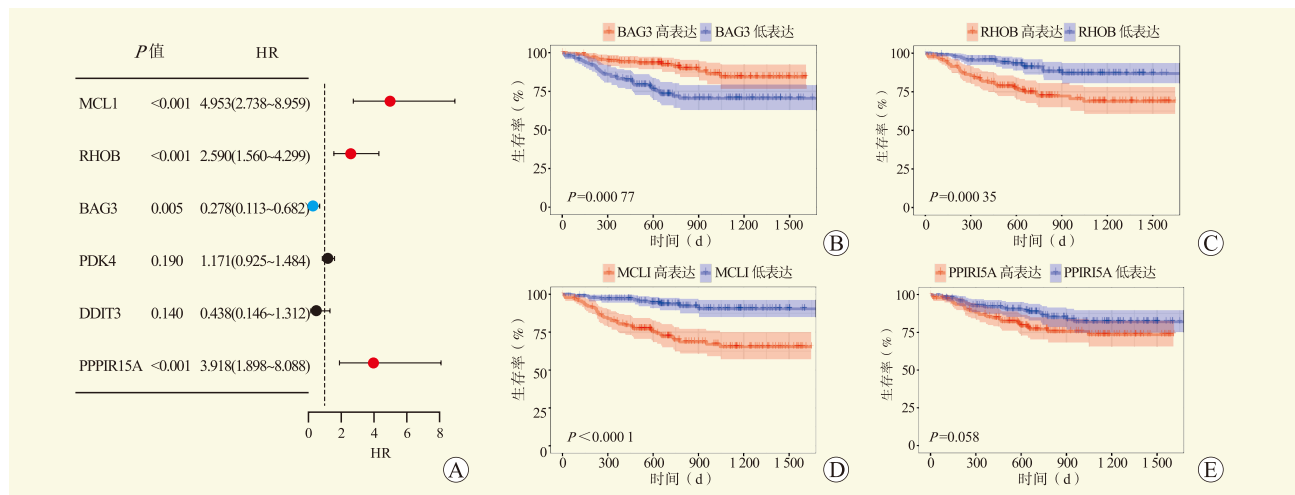
### 2.5 肾移植 IRI 的 PCD 核心基因

通过单因素 Cox 回归分析筛选出 4 个核心基因, MCL1、BAG3、RHOB、PPP1R15A 的  $P$  值均符合预设标准 ( $HR \neq 1$ , 均为  $P < 0.05$ , 图 5A)。进一步通过 Kaplan-Meier 生存分析验证, 最终筛选出 3 个肾移植 IRI 的 PCD 核心基因 (BAG3、MCL1、RHOB), 其中, 高表达 BAG3 及低表达 RHOB 和 MCL1 与更高的移植肾存活率相关 (图 5B~D), 而 PPP1R15A 与移植肾存活率无关 (图 5E)。

### 2.6 核心基因验证

与假手术组相比, 模型组大鼠移植肾组织病理学改变明显, 包括肾小管结构模糊, 管腔内可见嗜酸性物质沉积, 上皮细胞坏死脱落, 胞核固缩或溶解消失 (图 6A、B), Scr 和 BUN 水平均升高 (均为  $P < 0.001$ , 图 6C、D)。

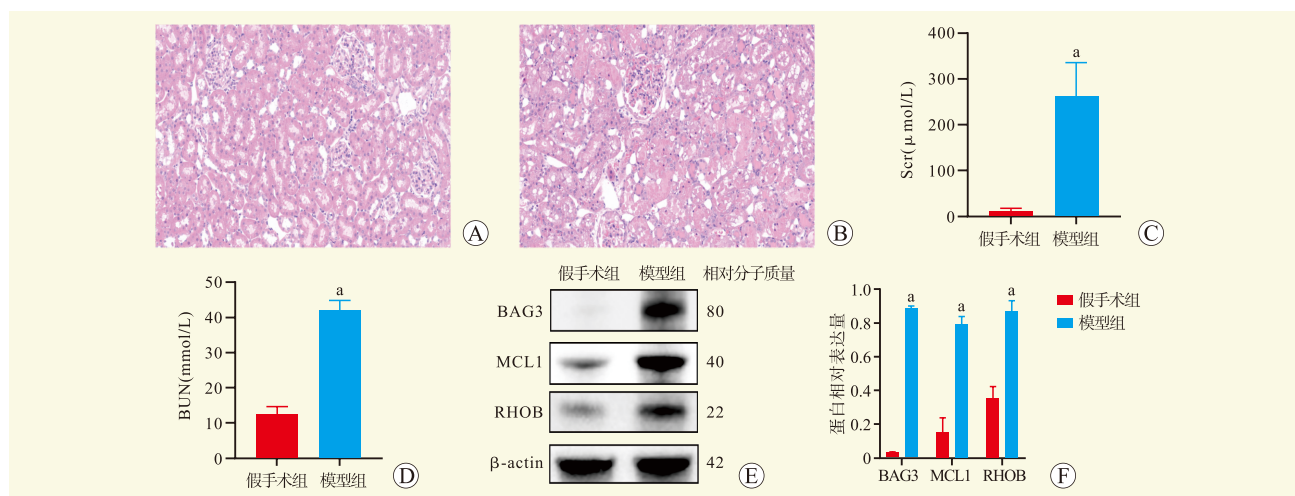
蛋白质印迹法结果显示, 模型组大鼠移植肾组织中 BAG3、RHOB 和 MCL1 蛋白表达水平较假手术组均升高 (均为  $P < 0.001$ , 图 6E、F)。



注: A 图为单因素 Cox 回归分析森林图; B 图为 BAG3 分组患者的 Kaplan-Meier 生存曲线; C 图为 RHOB 分组患者的 Kaplan-Meier 生存曲线; D 图为 MCL1 分组患者的 Kaplan-Meier 生存曲线; E 图为 PPP1R15A 分组患者的 Kaplan-Meier 生存曲线。

图 5 筛选肾移植 IRI 的 PCD 核心基因

Figure 5 Screening of PCD core genes for IRI during kidney transplantation



注: A 图为假手术组大鼠病理学结果 (HE,  $\times 200$ ); B 图为模型组大鼠病理学结果 (HE,  $\times 200$ ); C 图为 Scr 水平; D 图为 BUN 水平; E 图为蛋白质印迹法结果; F 图为 BAG3、MCL1、RHOB 的蛋白相对表达量。与假手术组比较,  $^a P < 0.001$ 。

图 6 核心基因的验证

Figure 6 Validation of core genes

### 3 讨 论

肾移植 IRI 是导致 DGF 和移植肾失功的关键因素,其核心机制涉及 PCD 及其触发的无菌性炎症反应。尽管 PCD 在肾移植 IRI 中的作用已被广泛关注,但其复杂调控机制尚未完全阐明<sup>[13-14]</sup>。本研究通过整合机器学习与实验验证,鉴定了肾移植 IRI 中 PCD 的核心基因。发现预后不良的亚型 2 中显著激活的 4 种 PCD 模式(细胞焦亡、坏死性凋亡、凋亡和免疫原性死亡)与其富集的炎症通路呈现高度一致性,并且核心基因的表达与关键 PCD 模式呈广泛相关,表明 MCL1、BAG3、RHOB 可能作为多 PCD 模式调控网络的靶点,影响移植肾预后。

在肾移植 IRI 中,这些关键的 PCD 模式通过独特机制驱动炎症反应。细胞焦亡通过焦孔素蛋白介导的质膜孔道形成,释放炎症因子和 DAMP,引发强烈的免疫原性反应<sup>[15]</sup>。坏死性凋亡在凋亡缺陷条件下通过特定的激酶级联反应导致细胞膜破裂,加剧组织损伤<sup>[16]</sup>。凋亡虽通常为免疫沉默性死亡,但在能量代谢障碍时可进展为继发性坏死,释放促炎信号<sup>[17]</sup>。本研究发现预后较差的亚型 2 表现出更显著的炎症通路和关键 PCD 模式激活,提示多模式 PCD 的协同效应可能通过正反馈循环放大炎症反应,最终导致移植肾功能进行性损害。因此,寻找关键靶点阻断这些细胞死亡-炎症回路对改善移植预后至关重要。

本研究发现 MCL1 的表达与关键 PCD 模式均显著相关。作为 BCL-2 蛋白家族中的核心成员,MCL1 在抑制细胞凋亡中的作用已被广泛研究<sup>[18]</sup>。近年研究表明,MCL1 缺失可激活炎症小体介导的细胞焦亡以及受体相互作用蛋白 3 介导的坏死性凋亡<sup>[19-20]</sup>。本研究动物实验显示,肾移植后 MCL1 的表达水平升高,提示可能通过调控不同死亡途径影响移植肾存活。值得注意的是,MCL1 在 B 细胞的发育过程也起着重要作用<sup>[21]</sup>。而 B 细胞浸润会限制 IRI 后肾脏修复,并与慢性移植肾失功密切相关<sup>[22-23]</sup>。这可能是本研究中移植后期 MCL1 高表达与不良预后关联的重要原因。此外,在糖尿病肾病患者尿液中也检测到 MCL1 信使 RNA<sup>[24]</sup>,这为开发无创监测方法提供了重要线索。尽管 MCL1 小分子抑制剂(如 S63845)在肿瘤临床试验中已显示潜力<sup>[25]</sup>,但其在移植领域的应用仍需要进一步探索。未来可以结合单细胞测序等技术进一步明确 MCL1 在肾脏不同细胞类型中的动态

作用。

除 MCL1 外,本研究还鉴定了 BAG3 和 RHOB 作为肾移植 IRI 中潜在的关键调控因子。BAG3 作为分子伴侣蛋白,在急性 IRI 阶段通过调节细胞凋亡、自噬和蛋白质稳态发挥重要作用<sup>[26]</sup>。在慢性肾病中,BAG3 的功能呈现出不同的调控作用:一方面,BAG3 可促进上皮间质转化,从而加速肾脏纤维化进程<sup>[27]</sup>;另一方面,BAG3 能够稳定足细胞骨架结构发挥保护作用<sup>[28]</sup>。本研究发现,高表达 BAG3 对移植肾功能具有保护效应,与先前研究结论一致<sup>[29]</sup>,但其具体机制仍需通过进一步验证。此外,BAG3 的血浆浓度已被确立为心力衰竭患者死亡风险的独立预测因子,且已有高灵敏度的试剂盒用于检测<sup>[30]</sup>。然而,目前尚无研究探讨肾移植受者血浆 BAG3 浓度的动态变化及其与移植肾功能的关联,未来可进一步明确其临床价值。

RHOB 作为 RhoGTP 酶家族的重要成员,在细胞死亡调控中具有复杂功能。一方面,通过激活线粒体依赖性凋亡通路促进肿瘤细胞死亡<sup>[31]</sup>;另一方面,通过调节 NLRP3 炎症小体诱导细胞焦亡<sup>[32-33]</sup>。RHOB 在鼠肾脏 IRI 早期上调,并且在肾 IRI 后 12 个月内仍保持高于基线的表达水平<sup>[34]</sup>。此外,有研究表明,RhoGTP 酶的激活可促进肾间质纤维化<sup>[35]</sup>。伴有间质纤维化/肾小管萎缩的肾移植受者尿液中 RHOB 水平显著升高<sup>[36]</sup>,且其表达量与移植预后密切相关<sup>[37]</sup>。当前基于质谱分析的 RHOB 检测方法成本较高,限制了临床推广,亟需开发更经济的检测技术。同时,针对 RHOB 的特异性干预策略(如微小 RNA 疗法)的研发<sup>[38]</sup>,提示其可作为肾移植 IRI 的潜在生物标志物及治疗靶点。

综上所述,本研究揭示 MCL1、BAG3、RHOB 作为肾移植 IRI 中 PCD 的核心基因,可能通过协调关键 PCD 模式驱动炎症反应和移植肾损伤。未来应聚焦于具体作用机制研究、临床样本验证及无创检测方法优化,为开发阶段特异性生物标志物和靶向治疗策略提供新思路。

#### 参考文献:

- [1] SMITH S F, HOSGOOD S A, NICHOLSON M L. Ischemia-reperfusion injury in renal transplantation: 3 key signaling pathways in tubular epithelial cells[J]. *Kidney Int*, 2019, 95(1): 50-56. DOI: 10.1016/j.kint.2018.10.009.
  - [2] 张洁, 杨正飞. 单细胞测序在缺血再灌注领域的研究进展[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2025, 46(1): 1-10. DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2025.0101.
- ZHANG J, YANG Z F. Research progress in single-cell

- sequencing for ischemia-reperfusion injury[J]. *J Sun Yat Sen Univ (Med Sci)*, 2025, 46(1): 1-10. DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2025.0101.
- [3] TAMMARO A, KERS J, SCANTLEBERRY A M L, et al. Metabolic flexibility and innate immunity in renal ischemia reperfusion injury: the fine balance between adaptive repair and tissue degeneration[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1346. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01346.
- [4] LASORSA F, RUTIGLIANO M, MILELLA M, et al. Ischemia-reperfusion injury in kidney transplantation: mechanisms and potential therapeutic targets[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(8): 4332. DOI: 10.3390/ijms25084332.
- [5] PARK W, WEI S, KIM B S, et al. Diversity and complexity of cell death: a historical review[J]. *Exp Mol Med*, 2023, 55(8): 1573-1594. DOI: 10.1038/s12276-023-01078-x.
- [6] 刘昕蓓, 刘文静. 调控性细胞死亡在肾脏缺血再灌注损伤中的研究进展[J]. *生理学报*, 2022, 74(2): 320-332. DOI: 10.13294/j.aps.2022.0025.
- LIU X B, LIU W J. The role of regulated cell death in renal ischemia-reperfusion injury[J]. *Acta Physiol Sin*, 2022, 74(2): 320-332. DOI: 10.13294/j.aps.2022.0025.
- [7] JUN W, BENJANUWATTRA J, CHATTIPAKORN S C, et al. Necroptosis in renal ischemia/reperfusion injury: a major mode of cell death?[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2020, 689: 108433. DOI: 10.1016/j.abb.2020.108433.
- [8] PEFANIS A, BONGONI A K, MCRAE J L, et al. Dynamics of necroptosis in kidney ischemia-reperfusion injury[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1251452. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1251452.
- [9] WEI X, DENG W, DONG Z, et al. Identification of subtypes and a delayed graft function predictive signature based on ferroptosis in renal ischemia-reperfusion injury[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 800650. DOI: 10.3389/fcell.2022.800650.
- [10] WU J, ZHANG F, ZHENG X, et al. Identification of renal ischemia reperfusion injury subtypes and predictive strategies for delayed graft function and graft survival based on neutrophil extracellular trap-related genes[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1047367. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1047367.
- [11] QIN H, ABULAITI A, MAIMAITI A, et al. Integrated machine learning survival framework develops a prognostic model based on inter-crosstalk definition of mitochondrial function and cell death patterns in a large multicenter cohort for lower-grade glioma[J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 588. DOI: 10.1186/s12967-023-04468-x.
- [12] 陆兵, 李明虎, 何贵柠, 等. 京尼平对大鼠肾移植缺血再灌注损伤中的作用[J]. *中华实验外科杂志*, 2024, 41(9): 2041-2044. DOI: 10.3760/cma.j.cn421213-20230906-00133.
- LU B, LI M H, HE G N, et al. The role of genipin in ischemia-reperfusion injury in rat kidney transplantation[J]. *Chin J Exp Surg*, 2024, 41(9): 2041-2044. DOI: 10.3760/cma.j.cn421213-20230906-00133.
- [13] PRIANTE G, GIANESE L, CEOL M, et al. Cell death in the kidney[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(14): 3598. DOI: 10.3390/ijms20143598.
- [14] MA N, LU H, LI N, et al. CHOP-mediated Gasdermin E expression promotes pyroptosis, inflammation, and mitochondrial damage in renal ischemia-reperfusion injury[J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(2): 163. DOI: 10.1038/s41419-024-06525-9.
- [15] XIONG J, RAN L, ZHU Y, et al. DUSP2-mediated inhibition of tubular epithelial cell pyroptosis confers nephroprotection in acute kidney injury[J]. *Theranostics*, 2022, 12(11): 5069-5085. DOI: 10.7150/thno.72291.
- [16] DUGBARTEY G J. Cellular and molecular mechanisms of cell damage and cell death in ischemia-reperfusion injury in organ transplantation[J]. *Mol Biol Rep*, 2024, 51(1): 473. DOI: 10.1007/s11033-024-09261-7.
- [17] WAN Y, YANG L, JIANG S, et al. Excessive apoptosis in ulcerative colitis: crosstalk between apoptosis, ROS, ER stress, and intestinal homeostasis[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2022, 28(4): 639-648. DOI: 10.1093/ibd/izab277.
- [18] MA Y H, DENG W J, LUO Z Y, et al. Inhibition of microRNA-29b suppresses oxidative stress and reduces apoptosis in ischemic stroke[J]. *Neural Regen Res*, 2022, 17(2): 433-439. DOI: 10.4103/1673-5374.314319.
- [19] WANG Y, QIU Z, YUAN J, et al. Hypoxia-reoxygenation induces macrophage polarization and causes the release of exosomal miR-29a to mediate cardiomyocyte pyroptosis[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2021, 57(1): 30-41. DOI: 10.1007/s11626-020-00524-8.
- [20] LIU W, JIANG Z, WANG R, et al. Targeting EGFR-MCL-1 axis by piperlongumine as a novel strategy for non-small cell lung cancer therapy[J]. *Am J Chin Med*, 2025, 53(2): 597-619. DOI: 10.1142/S0192415X2500235.
- [21] WANG M Y, LI T, REN Y, et al. MCL-1 dependency as a novel vulnerability for aggressive B cell lymphomas[J]. *Blood Cancer J*, 2021, 11(1): 14. DOI: 10.1038/s41408-020-00402-2.
- [22] FAN H, LIU J, SUN J, et al. Advances in the study of B cells in renal ischemia-reperfusion injury[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1216094. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1216094.
- [23] MÖCKEL T, BOEGEL S, SCHWARTING A. Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice[J]. *PLoS One*, 2023, 18(9): e0291619. DOI: 10.1371/journal.pone.0291619.
- [24] ZHENG R, ZHANG W, SONG J, et al. Cordycepin from cordyceps militaris ameliorates diabetic nephropathy via the miR-193b-5p/MCL-1 axis[J]. *Chin Med*, 2023, 18(1): 134. DOI: 10.1186/s13020-023-00842-5.
- [25] TANTAWY S I, TIMOFEEVA N, SARKAR A, et al. Targeting MCL-1 protein to treat cancer: opportunities and challenges[J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 1226289. DOI: 10.3389/fonc.2023.1226289.
- [26] LIU X, YE Q, HUANG Z, et al. BAG3 overexpression attenuates ischemic stroke injury by activating autophagy and inhibiting apoptosis[J]. *Stroke*, 2023, 54(8): 2114-2125. DOI: 10.1161/STROKEAHA.123.041783.
- [27] DU F, LI S, WANG T, et al. Implication of Bcl-2-associated athanogene 3 in fibroblast growth factor-2-mediated epithelial-mesenchymal transition in renal

- epithelial cells[J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2015, 240(5): 566-575. DOI: 10.1177/1535370214558023.
- [28] HÖHFELD J, BENZING T, BLOCH W, et al. Maintaining proteostasis under mechanical stress[J]. *EMBO Rep*, 2021, 22(8): e52507. DOI: 10.15252/embr.202152507.
- [29] MAO K, LIN F, PAN Y, et al. Identification of mitophagy-related gene signatures for predicting delayed graft function and renal allograft loss post-kidney transplantation[J]. *Transpl Immunol*, 2024, 87: 102148. DOI: 10.1016/j.trim.2024.102148.
- [30] 李丹, 陈建淑, 谢亚斐, 等. BAG3 蛋白在心脏疾病中的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(11): 2017-2021. DOI: 10.12360/CPB202205046.
- LI D, CHEN J S, XIE Y P, et al. Advances in study of BAG3 protein in cardiac diseases[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2023, 39(11): 2017-2021. DOI: 10.12360/CPB2022 05046.
- [31] LIU Y, LI W, LIU Y, et al. microRNA-223 attenuates stretch-injury-induced apoptosis in brain microvascular endothelial cells by regulating RhoB expression[J]. *Brain Sci*, 2022, 12(9): 1157. DOI: 10.3390/brainsci12091157.
- [32] YAN Y, LU K, YE T, et al. microRNA-223 attenuates LPS-induced inflammation in an acute lung injury model via the NLRP3 inflammasome and TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway via RHOB[J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(3): 1467-1477. DOI: 10.3892/ijmm.2019.4075.
- [33] DONG W, LIAO R, WENG J, et al. USF<sub>2</sub> activates RhoB/ROCK pathway by transcriptional inhibition of miR-206 to promote pyroptosis in septic cardiomyocytes [J]. *Mol Cell Biochem*, 2024, 479(5): 1093-1108. DOI: 10.1007/s11010-023-04781-5.
- [34] ZHANG D, WANG Y, ZENG S, et al. Integrated analysis of prognostic genes associated with ischemia-reperfusion injury in renal transplantation[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 747020. DOI: 10.3389/fimmu.2021.747020.
- [35] LI X Q, JIN B, LIU S X, et al. Neddylation of RhoA impairs its protein degradation and promotes renal interstitial fibrosis progression in diabetic nephropathy[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2025, 46(6): 1692-1705. DOI: 10.1038/s41401-024-01460-z.
- [36] MOHAMMED-ALI Z, TOKAR T, BATRUCH I, et al. Urine angiotensin II signature proteins as markers of fibrosis in kidney transplant recipients[J]. *Transplantation*, 2019, 103(6): e146-e158. DOI: 10.1097/TP.0000000000002676.
- [37] FARKONA S, KOTLYAR M, BURNS K, et al. Urine measurements of the renin-angiotensin system-regulated proteins predict death and graft loss in kidney transplant recipients enrolled in a ramipril versus placebo randomized controlled trial[J]. *J Proteome Res*, 2025, 24(4): 2040-2052. DOI: 10.1021/acs.jproteome.4c01100.
- [38] ANGEL C Z, STAFFORD M Y C, MCNALLY C J, et al. MiR-21 is induced by hypoxia and down-regulates RHOB in prostate cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(4): 1291. DOI: 10.3390/cancers15041291.

(收稿日期: 2025-04-03)

(本文编辑: 方引超 吴秋玲)