

## 生物信息学筛选骨关节炎相关长链非编码 RNA

靖慧敏, 鲍美华

长沙医学院 湖南长沙

**【摘要】目的** 利用生物信息学手段, 分析筛选骨关节炎 (Osteoarthritis, OA) 的相关的长链非编码 (long non-coding RNA, lncRNA), 为 OA 治疗提供新靶点。**方法** 利用高通量基因信息表达 (gene expression omnibus, GEO) 数据库中的 GEO2R 工具, 筛选数据集 GSE175962 中与 OA 相关的差异表达 lncRNA。结果 经分析后, 筛选出 3 个在 OA 患者中显著差异的 lncRNA。这 3 种 lncRNA 主要影响丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路及四氢生物蝶呤 (tetrahydrobiopterin, BH4) 的表达, 与炎症反应密切相关。**结论** 本研究揭示了 OA 患者 lncRNA 的表达特征, 结果将为 OA 的精准治疗提供新靶点。

**【关键词】** 骨关节炎; 长链非编码 RNA; 生物信息学分析

**【基金项目】** 湖南省教育厅科学研究项目, mTORC1 抑制剂对于不同雌激素水平下和咬合紊乱下的髌突软骨细胞增殖抑制作用的影响 (20C0193)

### Bioinformatics screening of long chain non coding RNA associated with osteoarthritis

Huimin Jing, Meihua Bao

Changsha Medical University

**【Abstract】 Objective** To analyze and screen long non coding RNA (lncRNA) related to osteoarthritis (OA) by bioinformatics, and provide a new target for OA treatment. **Methods** Using the GEO2R tool in the high-throughput gene expression omnibus (GEO) database, we screened the differentially expressed lncRNAs related to OA in the dataset GSE175962. **Results** After analysis, three lncRNAs with significant difference in OA patients were screened. These three kinds of lncRNAs mainly affect the mitogen activated protein kinase (MAPK) signal pathway and the expression of tetrahydrobiopterin (BH4), which is closely related to inflammation. **Conclusion** This study reveals the expression characteristics of lncRNA in patients with OA, and the results will provide a new target for precise treatment of OA.

**【Keywords】** osteoarthritis; Long strand non coding RNA; Bioinformatics Analysis

骨关节炎 (Osteoarthritis, OA) 是临床上常见的关节退行性疾病, 主要表现为软骨的侵蚀, 从而引起疼痛及关节运动障碍。其发病危险因素多与年龄, 遗传, 机械应力, 代谢, 创伤, 以及关节发育不良有关<sup>[1]</sup>。OA 可发生在全身大小关节, 如膝, 手及颞下颌关节。软骨细胞是关节中唯一存在的细胞类型, 因此在应激态下, 该疾病通过各种细胞外和细胞内信号转导导致软骨及外基质的破坏, 从而引起关节的退行性改变<sup>[2]</sup>。然而, 目前此病的分子机制尚不明确, 深入研究 OA 的分子机制, 有助于找到药物作用靶点, 对此病的治疗及预后具有重要意

义。随着生物技术与遗传学的发展, 长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 被大量研究发现其在表观遗传学的调控中扮演着越来越重要的位置。有研究表明其通过对成骨和破骨相关基因转录的调控来平衡内部稳态, 通过软骨成骨的方式来调控关节软骨, 有助于骨基质的合成与软骨细胞的修复<sup>[3]</sup>。

目前, 基因芯片和基因测序技术的发展, 对各种疾病进行生物信息学分析成为新的热点, 为疾病筛选更多可靠的生物标志物, 对疾病的基因表达提供更多线索。本研究使用生物信息学技术, 利用高

通量基因信息表达 (gene expression omnibus, GEO) 数据库中的已知芯片数据进行分析, 筛选出与 OA 密切相关的 lncRNA, 分析其中关键基因, 为 OA 的精准治疗提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据下载及预处理

利用 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 平台下的 GEO 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 下载 Affymetrix 芯片数据集 GSE175962, 此数据集共包含 6 个样本, 其中 3 例为膝 OA 样本, 3 例为对照组样本。基本信息如下: 两组均为汉族男性, 年龄在 40-60 岁之间。

### 1.2 差异基因筛选

利用 GEO 数据库中的 GEO2R 工具, 对数据集 GSE175962 的 lncRNA 进行分析筛选。筛选标准:  $\text{LogFC} > 2.0$ ,  $\text{adj.P} < 0.05$ 。

## 2 结果

共筛选出 57 个 DEGs, 经上调与下调共选取差异前三 lncRNA 如表 1。进一步进行差异分析, 结果显示对比 OA 组与对照组筛选得到的 57 个基因, 其中高表达组 43 个, 低表达组 14 个, 对差异基因绘制火山图 (图 1), 基于  $\text{LogFC} > 2.0$ ,  $\text{adj.P} < 0.05$  标准, 其中每一个代表一个基因, 红色点为高表达, 蓝色点为低表达, 黑色点为无明显差异表达。

表 1 3 个显著上调与显著下调的差异基因表

ID	adj.P.Val	logFC	ACC	GENE.DESCRPTION
ASHG19LNC1A100016050V5	0.00437	2.71963367	ENST00000579045	novel transcript
ASHG19LNC1A100048564V5	0.00759	2.6327888	ENST00000608721	novel transcript, antisense to MAP3K4 testis expressed 41 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:48667]
ASHG19LNC1A107565805V5	0.00268	2.62166733	ENST00000596034	GTP cyclohydrolase 1 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:4193]
ASHG19LNC1A106179998V5	0.03473	-3.3126674	ENST00000395521	GTP cyclohydrolase 1 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:4193]
ASHG19LNC1A105032222V5	0.02953	-3.43174043	ENST00000254299	GTP cyclohydrolase 1 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:4193]
ASHG19LNC1A100011710V5	0.03278	-3.89040857	ENST00000478808	USP30 antisense RNA 1 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:40909]

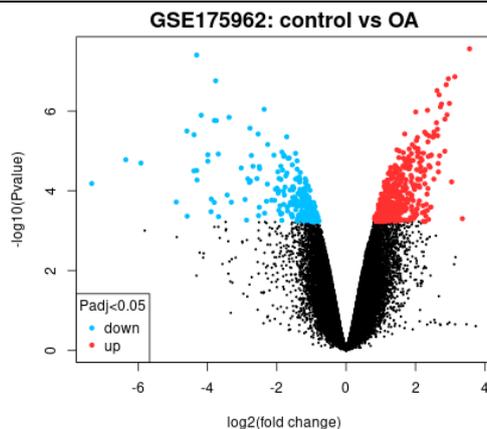


图 1 基因表达火山图

图标: 横轴:  $\text{Log}_2\text{FC}$ , 纵轴:  $\text{log}_{10}\text{adj.p.Val}$ , 每个点代表一个基因, 蓝色为低表达基因, 红色为高表达基因, 黑色为没有差异表达的基因

## 3 讨论

本次实验从 GEO 数据库提取基因数据, 利用生物信息技术对其进行分析, 挖掘出 OA 组与对照组有表达差异的基因, 对这些基因进行分析, 筛选出有显著表达差异的 lncRNA 如下: ENST0000060872

1, 为促分裂原活化蛋白激酶激酶 4 (mitogen-activated protein kinase kinase kinase 4, MP3KA) 的反义链, 激活 MPKAA; 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路参与调控炎症反应, 细胞分化和凋亡等<sup>[4]</sup>。已有研究

表明, MAPK 信号通路与 OA 有着密切关系<sup>[5]</sup>, 激活 MAPK 信号通路, 可以增加基质降解酶如基质金属蛋白酶 (MMPs) 的表达, 而 OA 发生的中心环节是关节软骨进行性缺损。动物研究和临床资料表明 MMP13 在软骨退变过程中起着关键作用<sup>[6]</sup>。在本实验中, 发现 OA 组中 MP3KA 反义链高表达, 也正是说明了 MPKA 信号通路与 OA 的关键联系。

ENST00000395521 和 ENST00000254299 表达三磷酸鸟苷环水解酶(GTP cyclohydrolase 1, CCH1), CCH1 是四氢生物蝶呤 (tetrahydrobiopterin, BH4) 合成途径的限速酶。有研究表明<sup>[7]</sup>, BH4 与内皮功能及炎症反应有着密切关系, 是调节炎症的关键分子, BH4 缺乏的小鼠体内会表现一系列的变化, 如以小胶质细胞增加为特征的炎症反应, 白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )的增加, IL-1 $\beta$ 是在 OA 发病及进展中高度关键的炎症因子。在 OA 中, 可以在软骨以及在滑液组织中观察到 IL-1 $\beta$  及 IL-1RI 的表达增加<sup>[8]</sup>, IL-1 $\beta$  作用于软骨细胞和滑膜细胞上的受体产生生物激活后, 可以诱导细胞生成 PGE2、胶原酶和基质溶素, 导致滑膜炎和软骨基质降解, 还可减少软骨细胞蛋白多糖和胶原的合成<sup>[9-10]</sup>。而在本实验中, 观察到 CCH1 的低表达, 这会影响 BH4 的合成, 从而导致炎症反应, 进而导致 OA 的产生。

通过本次研究, OA 组与对照组所筛选的 lncRNA 与 OA 有着密切的联系, 这也可以成为日后 OA 治疗的新靶点, 也为其病理生理机制提供了新方向。但是本次研究仅纳入 1 个芯片数据集 GSE175962, 所筛选出的 lncRNA 较少, 日后还需要采集更多的数据集进行验证, 这是本文的局限之处。综上所述, 本次实验利用生物信息技术分析 OA 患者与对照组的 lncRNA 的表达, 对其分子学机制做出研究与讨论, 期望为 OA 的治疗与预后提供新的靶点与理论支持。

### 参考文献

- [1] Abramoff B, Caldera Fe. Osteoarthritis: Pathology, Diagnosis, and Treatment Options[J].The Medical clinics of North America,2020, 104(2): 293-311.
- [2] Mcculloch K., Litherland G. J., Rai T. S. Cellular senescence in osteoarthritis pathology[J].Aging Cell,2017, 16(2): 210-218.
- [3] Alnajjar Fa, Sharma-Oates A, Wijesinghe Sn, et al. The Expression and Function of Metastases Associated Lung

- Adenocarcinoma Transcript-1 Long Non-Coding RNA in Subchondral Bone and Osteoblasts from Patients withOsteoarthritis[J].Cells,2021, 10(4).
- [4] Qin Z, Hua S, Chen H, et al. Parathyroid hormone promotes the osteogenesis of lipopolysaccharide-induced human bone marrow mesenchymal stem cells through the JNK MAPK pathway[J].Bioscience reports,2021, 41(8).
- [5] He-Yan, Kong-Zu, Zong-Sheng. Inhibition of the p38-MAPK signaling pathway suppresses the apoptosis and expression of proinflammatory cytokines in human osteoarthritis chondrocytes[J].
- [6] Leonardi R., Loreto C, Barbato E., et al MMP-13 (collagenase 3) localization in human temporomandibular joint discs with internal derangement[J].Acta Histochem,2008, 110(4): 314-318.
- [7] Rivera J. C, Noueihed B., Madaan A, et al. Tetrahydrobiopterin (BH4) deficiency is associated with augmented inflammation and microvascular degeneration in the retina [J].J Neuroinflammation,2017, 14(1): 181.
- [8] Ernberg M. The role of molecular pain biomarkers in temporomandibular joint internal derangement[J].Journal of oral rehabilitation,2017, 44(6): 481-491.
- [9] Tabeian H, Betti Bf, Dos Santos Cirqueira C, et al. IL-1 $\beta$  Damages Fibrocartilage and Upregulates MMP-13 Expression in Fibrochondrocytes in the Condyle of the Temporomandibular Joint[J].International journal of molecular sciences,2019, 20(9).
- [10] Liao W, Sun J, Liu W, et al. HDAC10 upregulation contributes to interleukin 1 $\beta$ -mediated inflammatory activation of synovium-derived mesenchymal stem cells in temporomandibular joint[J].Journal of cellular physiology,2019, 234(8): 12646-12662.

收稿日期: 2022 年 10 月 17 日

出刊日期: 2022 年 11 月 11 日

引用本文: 靖慧敏, 鲍美华, 生物信息学筛选骨关节炎相关长链非编码 RNA [J], 国际医学与数据杂志 2022, 6(6): 17-19.

DOI: 10.12208/j.ijmd.20220229

检索信息: RCCSE 权威核心学术期刊数据库、中国知网 (CNKI Scholar)、万方数据 (WANFANG DATA)、Google Scholar 等数据库收录期刊

版权声明: ©2022 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。 <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS