



原发性干燥综合征小鼠唾液腺组织及唾液的转录组和蛋白质组分析

邱筱婷, 巩红校, 朱玲, 霍星星

引用本文:

邱筱婷, 巩红校, 朱玲, 霍星星. 原发性干燥综合征小鼠唾液腺组织及唾液的转录组和蛋白质组分析[J]. 蚌埠医学院学报, 2023, 48(6): 711-716.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2023.06.002>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

原发性干燥综合征合并感染的临床特点及危险因素分析

Analysis of clinical characteristics and risk factors in primary Sjgren's syndrome with infection

蚌埠医学院学报. 2021, 46(6): 760-766 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.06.014>

基于生物信息学分析的骨肉瘤关键生物标记物的筛选

Screening of key biomarkers of osteosarcoma based on bioinformatics analysis

蚌埠医学院学报. 2022, 47(3): 386-389,393 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2022.03.028>

RIP1-RIP3-MLKL信号通路在急性冠状动脉综合征病人外周血单核细胞中的表达

Expression of RIP1-RIP3-MLKL signaling pathway in peripheral blood monocytes of patients with acute coronary syndrome

蚌埠医学院学报. 2022, 47(4): 447-451 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2022.04.006>

CLEC4M对脑星形胶质母细胞瘤的增殖和迁移的影响

Study on CLEC4M in promoting the proliferation and migration of brain astroblastoma

蚌埠医学院学报. 2022, 47(6): 701-706 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2022.06.001>

利拉鲁肽通过AMPK/mTOR信号通路诱导自噬改善肝脂肪变性

Liraglutide induces autophagy through AMPK / mTOR signaling pathway and improves hepatocyte steatosis

蚌埠医学院学报. 2022, 47(10): 1336-1341 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2022.10.002>

原发性干燥综合征小鼠唾液腺组织及唾液的转录组和蛋白质组分析

邱筱婷¹, 巩红校¹, 朱玲¹, 霍星星²

[摘要] **目的:**通过对实验性干燥综合征(ESS)小鼠的唾液腺组织和唾液进行转录组学和蛋白质组学分析,探讨原发性干燥综合征(pSS)的发生机制。**方法:**建立 ESS 模型,留取唾液腺组织和唾液,分别通过高通量转录组测序和基于 LC-MS/MS 的蛋白质组学分析,了解唾液腺组织和唾液中相关 mRNA 和蛋白表达,通路富集分析用于识别异常的调控路径,并进一步进行 RNA 和蛋白质关联分析。**结果:**通过唾液腺病理检查与唾液量测定成功验证 ESS 模型,并鉴定出 3 221 个差异表达基因和 253 个差异表达蛋白。通过对转录组学和蛋白质组学数据的整合分析,发现 61 个蛋白质重叠。对异常调控的基因和蛋白的富集通路分析显示,与肾素-血管紧张素系统(RAS)、溶酶体和细胞凋亡的信号通路显著相关,其中 AGT、Fn1、Klk1b26、Klk1、Klk1b5、Klk1b3 在转录和蛋白水平上具有一致的调控趋势,可能是 pSS 的潜在诊断生物标志物。**结论:**pSS 致病机制可能与 RAS、溶酶体和细胞凋亡信号通路相关,AGT、Fn1、K1ks 可能是 pSS 发病过程的关键分子。

[关键词] 原发性干燥综合征;转录组;蛋白质;唾液腺;小鼠

[中图分类号] R 593.2

[文献标志码] A

DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2023.06.002

Analysis of transcriptome and proteome of salivary gland tissue and saliva in primary Sjogren's syndrome mice

QIU Xiao-ting¹, GONG Hong-xiao¹, ZHU Ling¹, HUO Xing-xing²

(1. Department of Otolaryngology, 2. Clinical Experimental Center, The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei Anhui 230031, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the transcriptome and proteome of salivary gland tissue and saliva in experimental Sjögren's syndrome(ESS) mice for further exploring the pathogenesis of primary Sjogren's syndrome(pSS). **Methods:** The ESS mice model was established, the salivary gland tissue and saliva were harvested, and the relevant mRNA and protein expressions in salivary gland tissue and saliva were detected using high-throughput transcriptome sequencing and proteomic analysis based on LC-MS/MS, respectively. The pathway enrichment analysis was used to identify the abnormal regulatory pathways, and the further association analysis of RNA and protein was conducted. **Results:** The ESS model was successfully verified by pathological examination of salivary glands and saliva volume measurement, and 3 221 differentially expressed genes and 253 differentially expressed proteins were identified. The results of integrated analysis of transcriptomic and proteomic data showed that 61 proteins overlapped. The results of the enrichment pathways of abnormally regulated genes and proteins analysis showed that the renin-angiotensin system(RAS) and lysosome were significantly related to the apoptosis signaling pathways. The transcription and protein levels of AGT, Fn1, Klk1b26, Klk1, Klk1b5 and Klk1b3 were

consistent regulatory trends, which might be a potential diagnostic biomarker of pSS. **Conclusions:** The pathogenesis of pSS may be related to the RAS, lysosome and apoptosis signaling pathway, and the AGT, Fn1 and K1ks may be the key molecules of the pathogenesis of pSS.

[Key words] primary Sjogren's syndrome; transcriptomics; proteomics; salivary gland; mice

[收稿日期] 2022-11-22 [修回日期] 2023-05-16

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(81803938)

[作者单位] 安徽中医药大学第一附属医院 1. 耳鼻喉科, 2. 临床实验中心, 安徽 合肥 230031

[作者简介] 邱筱婷(1997-), 女, 硕士研究生。

[通信作者] 霍星星, 主管检验技师。E-mail: hxx0520@ahcm.edu.cn; 朱玲, 硕士研究生导师, 副主任医师。E-mail: 12168788@qq.com

[27] ALWHAIBI A, VERMA A, ARTHAM S, *et al.* Nodal pathway activation due to Akt1 suppression is a molecular switch for prostate cancer cell epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis[J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 168:1.

[28] ZHANG H, PAN Y, ZHENG L, *et al.* FOXO1 inhibits Runx2 transcriptional activity and prostate cancer cell migration and invasion[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(9):3257.

[29] JAZUREK-CIESIOLKA M, JANIKIEWICZ J, DOBRZYŃ P, *et al.* Oleic acid increases the transcriptional activity of FoxO1 by promoting its nuclear translocation and β -catenin binding in pancreatic β -cells [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(10):2753.

(本文编辑 刘梦楠)

原发性干燥综合征 (primary Sjogren's syndrome, pSS) 是一种慢性系统性自身免疫性疾病, 主要靶器官是泪腺和唾液腺等外分泌腺^[1]。其病理表现为淋巴细胞浸润和自身抗体的产生, 临床主要表现为口干和眼干。部分病人可后期发展为冷球蛋白血症和弥漫性大 B 细胞淋巴瘤^[2]。目前尚无系统的理论来解释 pSS 的发生、发展, 其受遗传、环境和性激素等多因素影响致病。先天性免疫和适应性免疫途径的异常调节在 pSS 的免疫和炎症反应中起重要作用^[3]。B 细胞、效应 T 细胞、辅助性 T 细胞包括 Th17 和 Th22 细胞可能是免疫系统失调和疾病发展中的重要影响因子^[1], 参与这一系统性疾病的发展。本研究对实验性干燥综合征 (ESS) 小鼠的唾液腺组织和唾液进行转录组测序和蛋白质组学关联分析, 鉴定 pSS 的差异基因和蛋白及相关的生物过程和信号通路, 分析 RNA 转录水平和蛋白质丰度之间的相关性, 以期增加对 pSS 潜在分子途径的认识。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂 清洁 C57BL/6 小鼠, 雌性, 6~8 周龄, 体质量 (18 ± 2) g, 购于安徽医科大学动物实验中心, 饲养于动物房, 恒温恒湿环境, 自由进食。弗氏完全佐剂 (F5881, Sigma 公司), 弗氏不完全佐剂 (F5506, Sigma 公司); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (P0012, 碧云天生物技术); 毛果芸香碱 (p6503, Sigma 公司)。

1.2 ESS 小鼠模型建立 适应性饲养 1 周后, 将小鼠随机分为对照组和模型组, 对照组不作处理, 模型组通过小鼠唾液腺蛋白诱导建立 ESS 模型^[4]。具体方法为: 取模型组小鼠颌下腺, 低温研磨仪将组织研磨打碎, 离心后取上清液, BCA 试剂盒检测蛋白浓度。将蛋白分别与弗氏完全佐剂和弗氏不完全佐剂等体积混合乳化至浓度 2.0 mg/mL。于第 0、7、14 天, 腹背部皮内多点注射弗氏完全佐剂乳化的蛋白抗原, 0.1 mL/20 g。免疫第 4 周, 注射弗氏不完全佐剂乳化的蛋白抗原。免疫完成及 2 周后, 棉花差量法收集测量小鼠唾液, 通过唾液量的变化及病理组织评估小鼠 ESS 模型^[5-6]。

1.3 转录组测序样品准备和分析 使用 TRIzol 试剂 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 提取和纯化总 RNA。NanoDropND-1000 (NanoDrop, Wilmington, DE, USA) 测定每个样品中 RNA 数量和纯度。生物分析仪 (Agilent 2100, CA, USA) 测定 RNA 完整性,

并通过变性琼脂糖凝胶电泳进行验证。fastq 格式的下行原始数据使用 Cutadapt 程序进行处理, 使用 HISAT2 程序绘制基因组读数, StringTie 与默认参数一起使用来编译每个示例的映射读数。所有样本的转录组使用“gffcompare”组合, 创建一个完整的转录组。采用 StringTie 和 ballgown 检测所有转录本的表达水平, 并通过计算 FPKM 检测 mRNA 的表达水平。使用“edgeR”或“DESeq2”R 包, 通过 $FC > 2$ 或 < 0.5 和 $P < 0.05$ 选择差异表达的 mRNA, 用于通路分析。

1.4 蛋白样本准备和 LC-MS/MS 分析 将样品放入裂解缓冲液 (2% SDS, 7 mol/L 尿素, 1 mg/mL 蛋白酶抑制剂) 中, 用超声匀浆器在冰上匀浆 3 min。离心机中 14 000 r/min 于 4 °C 下离心 30 min, 收集上清液。采用 BCA 蛋白含量测定试剂盒测定上清液中的蛋白含量。然后将 50 μg 蛋白悬浮于 50 μL 溶液中, 用 1 mol/L 二硫苏糖醇在 55 °C 下还原 1 h, 用 5 μL 1 mol/L 碘乙酰胺在黑暗中烷基化 1 h, 然后用 300 μL 预冷丙酮沉淀该材料, 胰蛋白酶用于过夜消化沉淀。然后进行高 pH 反相分离, 利用 Ultimate 3000 系统 (ThermoFisher Scientific, MA, USA) 连接到反相柱 (XBridge C18 柱, 4.6 mm × 250 mm, 25 mm, 5 m) (Waters Corporation, MA, USA), 采用线性梯度从 5% ~ 45% B 在 40 min 内进行高 pH 分离 (B: 20 mmol/L 甲酸铵, 80% ACN, pH 10.0, 氢氧化铵调节)。

将肽重新溶解在 30 μL 溶剂 A (0.1% 甲酸水溶液) 中, 并使用在线纳米喷雾 LC-MS/MS (ThermoFisher Scientific, MA, USA) 连接到 EASY nLC 1200 系统的 Orbitrap Fusion Lumos 上进行分析。质谱仪设置为依赖数据的采集模式, 并在 MS 和 MS/MS 模式之间自动转换。原始 DDA 数据通过 Spectronaut X (Biognosys AG, Switzerland) 处理, 以构建初始目标列表。q 值 (FDR) 极限设为 1%。将 DIA 数据与 DDA 参考数据库进行比较, 以鉴定蛋白质。差异表达蛋白用 $FC > 1.2$ 和 $P < 0.5$ 检测。

1.5 功能富集分析 Gene Ontology (GO) 和 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) 基因富集分析用于通路分析, 识别失调通路^[7]。基因之间通过相互作用促进生物过程, 基于通路的分析可以更好地了解基因的生物活性。通过与整个基因组背景的比较, 检测到高度富集的代谢或信号传递途径。

1.6 转录组和蛋白组相关度分析 相关性分析采用 R (v. 3.5.1) 方法进行。基于转录组和蛋白质组

中基因表达的变化,创建九象限图,并对图谱的九个象限的基因进行定量和富集分析。利用转录组和蛋白质组的 KEGG 通路信息评估其相关性,比较 2 组代谢途径的异同。

1.7 蛋白质互作网络(PPI)分析 STRING 数据库具有大量的蛋白质相互作用数据,用于分析差异表达基因(DEGs)的相互作用^[8]。

1.8 统计学方法 采用 *t* 检验、方差分析和 *q* 检验。

2 结果

2.1 ESS 模型评价 通过唾液量和组织学评估 ESS 模型建立情况,病理结果显示,对照组小鼠颌下腺在实验期间无明显变化,模型组小鼠颌下腺第 6 周开始出现淋巴细胞浸润,第 8 周浸润进一步加深,伴见腺泡细胞破坏(见图 1);模型组小鼠唾液量亦出现明显改变,第 0 周 2 组唾液量差异无统计学意义($P > 0.05$),第 6、8 周模型组小鼠唾液量均明显少于对照组($P < 0.01$)(见表 1),提示 ESS 小鼠模型建立成功。

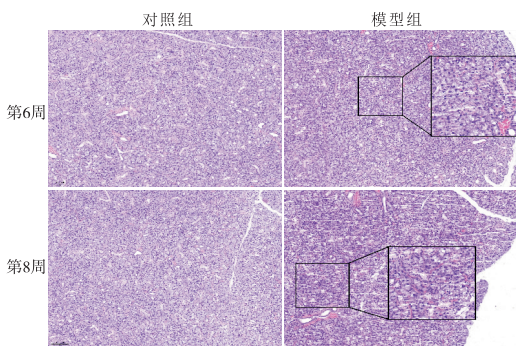


图1 小鼠唾液腺组织学图像

表 1 2 组小鼠唾液量比较($\bar{x} \pm s$;mg/min)

分组	<i>n</i>	第 0 周	第 6 周	第 8 周	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i> _{组内}
对照组	3	19.93 ± 4.07	12.70 ± 0.20*	13.43 ± 1.15*	7.95	<0.05	5.976
模型组	3	17.50 ± 1.92	9.20 ± 0.96*	6.43 ± 1.63**	41.11	<0.01	2.422
<i>t</i>	—	0.94	6.18	6.08	—	—	—
<i>P</i>	—	>0.05	<0.01	<0.01	—	—	—

q 检验:与第 0 周比较 * $P < 0.05$;与第 6 周比较# $P < 0.05$

2.2 差异表达基因(DEGs)识别和生物信息分析 高通量 RNA 测序后分析 pSS 唾液腺组织与正常样品的差异 mRNA 表达,在 26 575 个 RNA 转录本中鉴定出 3 221 个差异表达基因($FC > 2$, $FDR < 0.05$)。其中,在 pSS 唾液腺组织中 2 149 个基因上调,1 072 个基因下调(见图 2A、B)。GO 富集分析显示,差异表达基因按细胞成分(CC)、生物过程

(BP)和分子功能(MF)分类。在生物过程组分中,差异表达基因主要富集于细胞过程、生物过程调控及代谢过程;细胞成分主要集中在细胞、细胞部分和细胞器方面;分子功能分析发现差异表达基因的结合能力显著增强。KEGG 分析显示,在 340 条通路中明显富集,尤其是 TNF 信号通路、MAPK 信号通路、HTLV-I 感染和凋亡。前 20 个富含 GO 的术语和途径见图 2C、D。

2.3 差异表达蛋白(DEPs)识别和生物信息分析 通过实施基于 LC-MS 的无标记方法对唾液样品的蛋白质组进行分析, $FC > 1.2$ 和 $FDR < 0.05$ 的蛋白质被认为是显著的差异表达蛋白,共检测到 2 164 个蛋白质,其中 253 个蛋白质表现出差异表达(Benjamini-Hochberg 校正后 $P < 0.05$)。在差异表达蛋白中,116 种蛋白质上调,137 种下调(见图 3A、B)。类似地,GO 中生物过程失调的术语主要在细胞、代谢和免疫过程中丰富;细胞成分主要富集在细胞外区域、细胞和细胞部分;分子功能差异表达蛋白在结合和催化活性方面显著富集。KEGG 分析显示,金黄色葡萄球菌感染、补体和凝血级联反应、主要免疫缺陷、系统性红斑狼疮和 B 细胞受体信号通路丰富。前 20 个富含 GO 的术语和途径见图 3C、D。

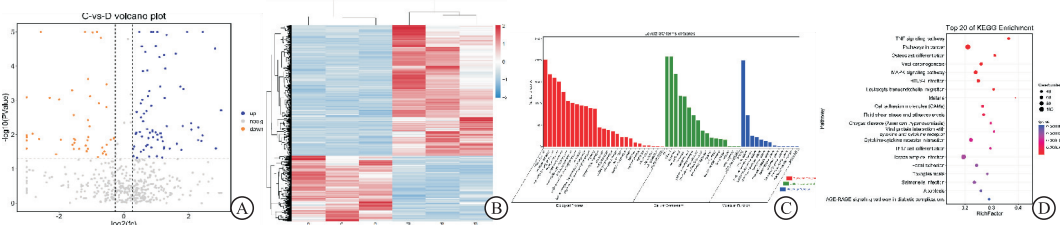
2.4 mRNA 和蛋白的相关分析 通过进一步分析 RNA 与蛋白质丰度之间的相关性,以全面评价 ESS 发生机制中的 RNA-蛋白质关系,结果显示,识别的所有蛋白与基因表达数据之间的相关性较低。相比之下,当仅应用差异表达基因和差异表达蛋白时,检测到了较高的关联。在蛋白质-RNA 丰度的相关分析中,检测到 50.93% 的阳性相关和 7.18% 的显著相关,mRNA/蛋白质比值的相关性具有统计学意义(中位数 = 0.029, $P < 0.05$)(见图 4A)。

整合所有 DEGs 和 DEPs 显示,共 61 个基因重叠,其中 31 个变化趋势一致(cor-DEGs-DEPs),30 个趋势不一致(diff-DEGs-DEPs)。分析了相关的功能富集和途径,GO 富集分析表明,DEGs-DEPs 在 BP 中富集于代谢过程和生物调控(见图 4B);对于 CCs,细胞、细胞外相关区和部分主要富集(见图 4C)。KEGG 通路分析显示,肾素-血管紧张素系统(RAS)和溶酶体途径是主要富集的通路(见图 4D)。根据转录组和蛋白质组中基因表达变化构建九象限图(见图 5A),一些基因在 RNA 和蛋白质水平上显示相同的差异倍数。进一步探索一些基因 RNA 和蛋白质水平之间最显著的差异,如散点图所示,在唾液样本中, FN1、HPX、LCN2 和 SERPINC1

蛋白表达下调,而其 RNA 水平增加了近 2 倍,HPX 水平增加了 11 倍,此外,其他基因的 RNA 和蛋白质水平之间的差异更大,如 *Krt15*,在基因水平上有 3.5 倍的变化,但在蛋白质水平上增加了 15.6 倍,DEGs 与其相应 DEPs 之间存在相同的上升趋势,在 pSS 发病机制中可能发挥重要作用(见图 5B)。热图显示,九象限图的第 3 象限中的 *cor*-DEGs-DEPs 具有明显的组间差异(见图 5C);在基因功能方面, *cor*-DEGs-DEPs 主要富集在 RAS、细胞凋亡和 HTLV-I 路径中(见图 5D)。

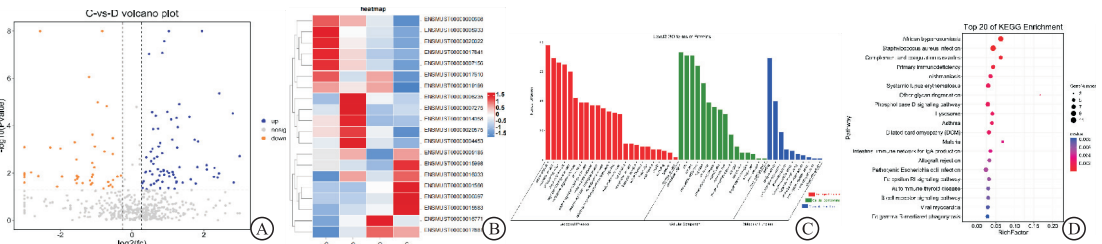
构建 DEGs 和 DEPs 共表达网络(见图 5E),由

于网络使用 degree 度值和 betweenness 值构建,因此中心节点与其他基因之间的联系更紧密,提示可能在 pSS 诊断中发挥不可替代的功能作用。将 DEP 作为 pSS 生物标志物汇集并用于 Cytoscape 构建 PPI 网络分析。“CytoNCA”插件用于计算 DEP 之间的连接分数。此外,具有 5 个以上节点($degree \geq 5$)被归类为核心蛋白,结果显示,PPI 网络包括 25 个节点和 48 个边缘,连接得分最高的前 8 个核心蛋白是 *Fn1*、*Klk1b26*、*Klk1*、*Klk1b5*、*Klk1b3*、*LCN2*、*HPX* 和 *AGT*(用更大的圆圈和更亮的颜色标志),这些核心蛋白可能在 pSS 致病过程中发挥重要作用。



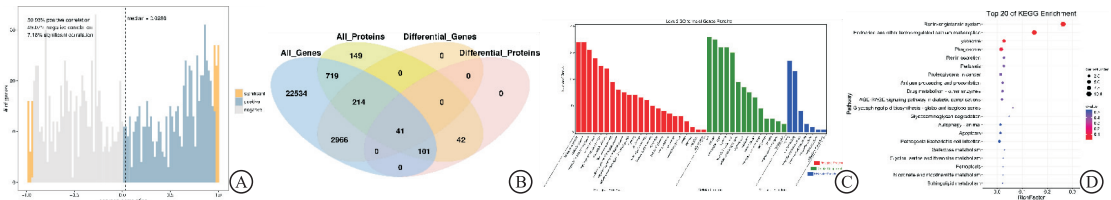
A、B: ESS小鼠唾液腺组织中DEGs火山图(A)和热图(B),蓝色表示下调,红色表示上调;C、D: 2级GO项(C)和KEGG气泡图(D)通路分析, *q*值最小的前20条路径显示,横坐标为富集因子,纵坐标为项或路径

图2 转录组学分析的差异表达分析



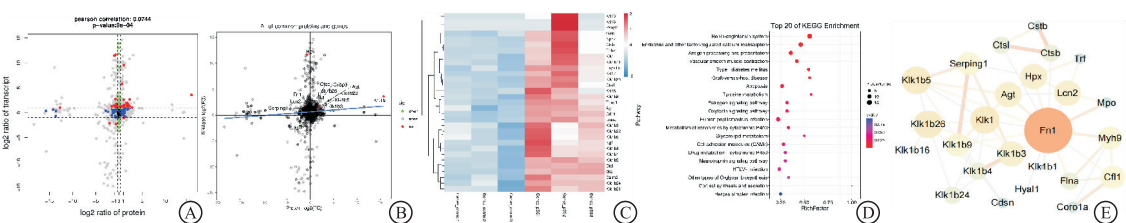
A、B: ESS小鼠唾液中DEPs火山图(A)和热图(B),蓝色表示下调,红色表示上调;C、D: 2级GO项(C)和KEGG通路分析气泡图(D)显示异常调控蛋白, *q*值最小的前20条路径显示,横坐标为富集因子,纵坐标为项或路径

图3 蛋白质组学分析的差异表达分析



A: RNA与蛋白质丰度之间的相关性,结果大多呈正相关(见蓝色所示),黑色虚线示皮尔曼相关系数的中位数;B: Venn图显示转录组和蛋白质组数量;C、D: 最丰富GO术语为DEGs-DEPs(C)和KEGG通路(D)

图4 蛋白-mRNA相关性分析



A: 九象限图,红点表示基因和蛋白表达的一致或相反趋势,绿点表示有差异表达基因但非差异表达蛋白,蓝点表示无差异表达基因但有差异表达蛋白;B: RNA和蛋白质表达的折叠变化的散点图,蓝线表示线性曲线拟合,绿点代表RNA表达有上调趋势的基因,绿点代表RNA和蛋白表达有下调趋势的基因;C: 热图显示第3象限中 *cor*-DEGs-DEPs 表达;D: *cor*-DEGs-DEPs 的KEGG富集分析;E: 具有差异表达基因和差异表达蛋白的PPI

图5 蛋白-mRNA的相关性分析

3 讨论

pSS 是一种多因素介导的自身免疫性疾病,其病理特征是淋巴细胞浸润、腺泡萎缩和涎腺纤维化改变,影响涉及大涎腺和小涎腺。T/B 淋巴细胞是淋巴细胞病灶的主要成分^[9]。ESS 是通过在小鼠身上诱导出类似人类 pSS 疾病从而用于疾病机制研究的模型方法,在 ESS 模型的唾液腺中可检测到淋巴细胞浸润和腺泡萎缩。小鼠诱导干燥模型虽因人鼠的物种差异及组织器官免疫的不同反应性等,尚未能在小鼠模型上诱导出人类 pSS 的全部疾病特征,与人 pSS 关系仍有不确定性,但小鼠与人的遗传性高度相似,实验诱导 ESS 小鼠可出现类似 pSS 病人表现,如口干的外分泌腺损害及淋巴细胞浸润导致腺泡萎缩,因此广泛用于 pSS 疾病机制的研究^[10-11]。

本研究探讨 ESS 的潜在分子机制,发现了可能用于预测其疾病进展的生物标志物,报道了转录组和蛋白质组数据集,并将其整合以揭示 pSS 的致病途径,从而能够在 RNA 和蛋白质水平上识别潜在的生物标志物及相关生物过程和信号通路。通过整合转录组学和蛋白质组学数据,蛋白质和 mRNA 水平之间的关联提供了翻译和蛋白质降解结果的信息。通过对 pSS 病人小唾液腺的全面转录组学分析,发现了与免疫反应相关的生物过程及相关的 TAGAP 和 MCOLN2 基因^[12]。通过 LC-MS/MS 对 pSS 和非干燥对照受试者的全唾液、血浆和唇唾液腺组织样本进行分析,发现 3 种上调的唾液蛋白,能够将 pSS 病人与仅有 pSS 症状的病人区分开来,准确率为 97%^[13]。在本课题组前期研究^[5]中,将 ESS 小鼠的唾液蛋白质组与对照组进行比较,确定了 pSS 的潜在生物标志物包括 SERPING1、C3 和 CFH。这些发现可能有助于更早、更准确、更低成本地诊断 pSS。多组学被认为是推进精准医学的关键,而具有一致转录和蛋白质水平趋势的基因可能是潜在的治疗靶点。

本研究中,发现 27 个 DEGs-DEPs 上调,其中包括一些关键基因。AGT 作为 RAS 的前体分子,可在检测到局部 RAS 的颌下腺中表达^[14]。KLKs 是一种微小的血浆肽酶,也与 pSS 和实验性干眼症有关,然而尚不清楚哪种 KLK 亚型可以作为评估 pSS 严重程度和存在的标志物^[15]。本研究发现几种 KLK 亚型表达水平异常,包括 Klk1b26、Klk1、Klk1b5、Klk1b3 和 Klk1b22。Klk1b22 是一种分子抗原,可导

致诱导性 SS 样疾病,其中健康动物用唾液或泪腺提取物免疫,并发展为干燥性角膜结膜炎,然而还需要更确凿的证据来确定 Klk1b22 与人类 SS 的相关性^[16]。此外,根据 SLE/pSS 相关 SNP 的基因型,女性与男性相比,CTSB 的表达受到不同调节^[17]。有学者^[18]发现,SS 中 LAMP3 的过表达通过 LAMP1 降解抑制自噬,导致 CTSB 不当释放到细胞质中,最终导致细胞凋亡。这些发现支持 LAMP3 靶向治疗,以防止 pSS 中的细胞凋亡和炎症以及自身免疫的发展。

本研究还对一致的 DEGs 进行了 GO 和 KEGG 分析,其中 GO 分析显示主要富集在与细胞外相关部分。细胞外小泡已被确定为促炎介质,在感染和慢性炎症疾病期间促进炎症信号的释放。从全唾液和泪液中分离出的细胞外小泡可用于蛋白质组学分析,以筛选新的生物标志物,提高诊断准确性和跟踪疾病进展。这些结果为指导 pSS 的临床诊断和治疗干预提供了新的视角^[19]。KEGG 分析主要富集在 RAS、凋亡和 HTLV-I 感染通路中。在正常泪腺组织和培养的泪腺成纤维细胞中检测到 RAS 成分 ACE 和 AT1R,接受 AT1R 阻滞剂 (ARB) 后,泪液分泌增加。本研究中,在颌下腺中发现了局部 RAS。RAS 作用于稳态调节过程,血管紧张素 II 受体阻滞剂洛沙坦可减少唾液流量和蛋白质含量,同时,异丙肾上腺素治疗可提高颌下区 AGT 表达,主要影响位于腺泡^[14]。有研究^[20]进行 KEGG 分析显示,沙参麦冬汤可以改变 RAS 信号通路。研究^[21]表明,以 Fas/FasL 系统为中心的促凋亡信号,以 Bcl-2 家族成员和/或 EGF 为中心的抗凋亡信号紧密控制 SGEC 凋亡。病毒可能是 SS 发病的原因和环境因素。HTLV-1 是一种致癌逆转录病毒,可引发成人 T 细胞白血病或淋巴瘤,并与 SS 相关。最近发现了一种生物膜状结构,将 HTLV-1 转移到唾液腺上皮细胞 (SGEC) 并引起炎症,通过滤泡树突状细胞样细胞,HTLV-1 感染细胞并抑制 B 淋巴细胞激活因子或 C-X-C 基序趋化因子 13,表明 HTLV-1 对 SS 的直接影响^[22]。

本研究存在局限性,因个体有差异性而分析中所用样本数量较少;差异表达基因及蛋白应在病人样本中得到验证。总之,本研究整合了唾液腺转录组和唾液蛋白质组探索了 ESS 的分子致病机制,揭示了 ESS 相关基因和蛋白质之间的潜在关系,聚焦特定的途径,包括 RAS、细胞凋亡和 HTLV-1 感染,这有助于在未来研究中进一步探索 pSS 发病机制。

[参 考 文 献]

- [1] FASANO S, MAURO D, MACALUSO F, *et al.* Pathogenesis of primary Sjögren's syndrome beyond B lymphocytes[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2020, 38 Suppl 126(4):315.
- [2] YE L, SHI H, WU S, *et al.* Dysregulated interleukin 11 in primary Sjögren's syndrome contributes to apoptosis of glandular epithelial cells[J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(1):327.
- [3] WANG J, ZHOU L, LIU B. Update on disease pathogenesis, diagnosis, and management of primary Sjögren's syndrome[J]. *Int J Rheum Dis*, 2020, 23(6):723.
- [4] 洪悦, 周惠敏, 田洁, 等. 小鼠实验性干燥综合征模型的建立[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2019, 29(5):390.
- [5] LI M, QI Y, WANG G, *et al.* Proteomic profiling of saliva reveals association of complement system with primary Sjögren's syndrome[J]. *Immun Inflamm Dis*, 2021, 9(4):1724.
- [6] GAO Y, CHEN Y, ZHANG Z, *et al.* Recent advances in mouse models of Sjögren's syndrome[J]. *Front Immunol*, 2020, 11:1158.
- [7] CHEN L, ZHANG YH, WANG S, *et al.* Prediction and analysis of essential genes using the enrichments of gene ontology and KEGG pathways[J]. *PLoS One*, 2017, 12(9):e184129.
- [8] 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.
- [9] KROESE F, HAACKE EA, BOMBARDIERI M. The role of salivary gland histopathology in primary Sjögren's syndrome: promises and pitfalls[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2018, 36 Suppl 112(3):222.
- [10] 袁斯远, 王新祥, 郝伟欣. 干燥综合征小鼠模型研究进展[J]. *中国医学科学院学报*, 2017, 39(1):156.
- [11] 刘瑞林, 李纪高, 周全, 等. 干燥综合征样动物模型的研究现状与思考[J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(2):257.
- [12] OYELAKIN A, HORETH E, SONG EC, *et al.* Transcriptomic and network analysis of minor salivary glands of patients with primary Sjögren's syndrome[J]. *Front Immunol*, 2020, 11:606268.
- [13] SEMBLER-MOLLER ML, BELSTROM D, LOCHT H, *et al.* Proteomics of saliva, plasma, and salivary gland tissue in Sjögren's syndrome and non-Sjögren patients identify novel biomarker candidates[J]. *J Proteomics*, 2020, 225:103877.
- [14] CANO IP, DIONISIO TJ, CESTARI TM, *et al.* Losartan and isoproterenol promote alterations in the local renin-angiotensin system of rat salivary glands[J]. *PLoS One*, 2019, 14(5):e217030.
- [15] TONG L, KOH V, THONG BY. Review of autoantigens in Sjögren's syndrome: an update[J]. *J Inflamm Res*, 2017, 10:97.
- [16] WU C, WANG Z, ZOURELIAS L, *et al.* IL-17 sequestration via salivary gland gene therapy in a mouse model of Sjögren's syndrome suppresses disease-associated expression of the putative autoantigen Kik1b22[J]. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17(1):198.
- [17] LINDEN M, RAMIREZ SJ, JAMES T, *et al.* Sex influences eQTL effects of SLE and Sjögren's syndrome-associated genetic polymorphisms[J]. *Biol Sex Differ*, 2017, 8(1):34.
- [18] TANAKA T, WARNER BM, MICHAEL DG, *et al.* LAMP3 inhibits autophagy and contributes to cell death by lysosomal membrane permeabilization[J]. *Autophagy*, 2022, 18(7):1629.
- [19] AQRAWI LA, GALTUNG HK, VESTAD B, *et al.* Identification of potential saliva and tear biomarkers in primary Sjögren's syndrome, utilising the extraction of extracellular vesicles and proteomics analysis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2017, 19(1):14.
- [20] JIANG Y, ZHAO X, YU J, *et al.* Deciphering potential pharmacological mechanism of Sha-Shen-Mai-Dong decoction on primary Sjögren's syndrome[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2021, 21(1):79.
- [21] NAKAMURA H, HORAI Y, SHIMIZU T, *et al.* Modulation of apoptosis by cytotoxic mediators and cell-survival molecules in Sjögren's syndrome[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8):2369.
- [22] NAKAMURA H, TSUKAMOTO M, NAGASAWA Y, *et al.* Does HTLV-1 infection show phenotypes found in Sjögren's syndrome? [J]. *Viruses*, 2022, 14(1):100.

(本文编辑 卢玉清)