

DOI:10.19296/j.cnki.1008-2409.2023-02-015

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

## 基于 GEO 数据库的银屑病 lncRNA 筛选与 ceRNA 网络构建<sup>①</sup>

范晓美<sup>ab②</sup>, 栗铭钊<sup>ab</sup>, 牛牧田<sup>ab</sup>, 高进涛<sup>ab③</sup>

(桂林医学院 a. 智能医学与生物技术学院, b. 生物化学与分子生物学重点实验室,  
广西 桂林 541199)

**摘要** 目的:构建银屑病竞争性内源性 RNA (ceRNA) 调控网络,为银屑病发病机制提供生物信息学参考。方法:基于基因表达综合数据库(GEO)筛选差异表达的 lncRNA 并通过相关性分析找到与其相关的编码基因,进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。使用 lncBase 数据库预测 lncRNA 的靶向微小 RNA(microRNA, miRNA);使用 TargetScan 数据库预测编码基因靶向 miRNA;利用 Cytoscape 构建 ceRNA 网络。结果:本研究基于差异表达的 lncRNA 构建出 6 个 lncRNA(LIN01094、LINC01215、KLF-AS1、TINCR、EMX2OS、C14orf132)介导的 lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA 网络,显示这些 lncRNA 可能通过影响细胞周期、蛋白酶体、DNA 复制、细胞因子-细胞因子受体的相互作用、FoxO 信号通路等发挥作用。结论:差异表达的(lncRNA LIN01094、LINC01215、KLF-AS1、TINCR、EMX2OS、C14orf132)可能作为 ceRNA 发挥调控功能,参与银屑病发病。

**关键词:**银屑病;长链非编码 RNA;竞争性内源 RNA 网络

中图分类号:R758.63

文献标志码:A

文章编号:1008-2409(2023)02-0085-08

## lncRNA screening and ceRNA network construction in psoriasis based on GEO databases<sup>①</sup>

FAN Xiaomei<sup>ab②</sup>, LI Mingzhao<sup>ab</sup>, NIU Mutian<sup>ab</sup>, GAO Jintao<sup>ab③</sup>

(a. College of Intelligent Medicine and Biotechnology, b. Key Laboratory of Biochemistry  
and Molecular Biology, Guilin Medical University, Guilin 541199, China)

**Abstract** Objective: To construct a competing endogenous RNA (ceRNA) regulatory network in psoriasis and provide bioinformatics references for the pathogenesis of psoriasis. Methods: The differentially expressed lncRNA were screened based on Gene Expression Omnibus (GEO) database, and their related

① 基金项目:国家自然科学基金项目(31860314);广西自然科学基金项目(2018GXNSFAA28104,2016GXNSFBA380146);桂林医学院硕士研究生科研项目(GYYK2021003)。

② 第一作者简介:范晓美,硕士研究生在读,研究方向为系统生物学。

③ 通信作者:高进涛,E-mail:jintao\_gao@glmc.edu.cn。

coding genes were found through correlation analysis. And the enrichment analysis was carried out by using Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). The lncBase database was used to predict the targeting microRNA (miRNA) of lncRNA, and the TargetScan database was used to predict the genes sponging miRNA. And Cytoscape was used to construct ceRNA network. Results: The lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA network mediated by 6 lncRNA (LIN01094, LINC01215, KLF-AS1, TINCR, EMX2OS and C14orf132) were constructed based on differentially expressed lncRNA in this study, suggesting these lncRNA might be involved in regulating cell cycle, proteasome, viral protein and cytokine, the interactions of cytokine receptors, and FoxO signaling pathway. Conclusion: The differentially expressed lncRNA (LIN01094, LINC01215, KLF-AS1, TINCR, EMX2OS and C14orf132) may play a regulatory role as ceRNAs, and participate in the pathogenesis of psoriasis.

**Keywords:** psoriasis; long-chain non-coding RNA; competing endogenous RNA network

银屑病,是临床上常见的受多因素诱导的免疫细胞异常引起的慢性炎症性皮肤病。目前,银屑病的发病机制主要包括遗传、免疫、环境、代谢等原因<sup>[1]</sup>。银屑病主要表现为免疫系统激活引起的细胞炎症反应和角质形成细胞的异常增殖分化<sup>[2]</sup>。该病长期反复发作,对患者的生活、身体以及心理造成了很大的影响。当前对于银屑病的发病机制尚未完全阐明,银屑病研究一直是皮肤病领域的研究重点和难点。

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是一类长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA,其不具备编码蛋白的能力<sup>[3]</sup>。已有研究表明,lncRNA 可作为竞争性结合微小 RNA (microRNA, miRNA) 在银屑病发病过程中起调节作用<sup>[4]</sup>。目前,在编码基因的转录本上信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 存在多种 miRNA 的应答元件 MRE。miRNA 可通过 MRE 与 mRNA 结合,导致 mRNA 降解或者抑制其翻译<sup>[5-6]</sup>。Salmena 等<sup>[7]</sup> 提出竞争性内源性 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 假说,揭示一种新的 RNA 分子机制。lncRNA 被称为 miRNA 海绵,可通过 miRNA 靶向下游 mRNA 发挥作用,即 lncRNA 可作为 ceRNA 与 mRNA 竞争性结合 miRNA,从而调控编码基因 mRNA 的表达。

基因表达综合数据库 (gene expression omnibus,

GEO) 是一个国际公共数据库,由美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 基因表达数据库创建和维护,收录由世界各地的研究机构提交的高通量基因表达数据,包括测序和其他形式的高通量功能基因组数据。本研究基于 GEO 数据库的转录组数据,筛选出银屑病中差异表达的 lncRNA,构建基于 lncRNA 介导的 ceRNA 网络,并预测这些差异表达的 lncRNA 可能涉及的信号通路和生物学功能,为深入研究 lncRNA 影响银屑病发生、发展的机制提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 基因芯片数据下载

GEO 数据库中 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 以 “psoriasis” 和 “lncRNA” 为关键词,以 “Expression profiling by array” 为研究类型,以 “Homo sapiens” 为物种,检索数据集,最终获得 GSE13355、GSE14905 和 GSE50790 共 3 套芯片数据集。该研究是基于 GPL570 平台的芯片,其中 GSE13355 数据集包括 180 个样本,分别来自于 58 名银屑病患者和 64 名正常健康对照组活检标本。GSE14905 数据集包括 82 个样本,分别来自于 28 名与病变和未受累 (非病变) 组织相匹配的 28 名银屑病患者和 21 名正常健康对照组活检标本,以及来自仅提供病变皮肤活检的银屑患者的 5 份样本。GSE50790 数据集包括

6 mm 穿刺活检,来自 4 名有慢性斑块型银屑病的患者。

## 1.2 差异 lncRNA 分析与 lncRNA 筛选

利用 R 软件 (Version 3.6.3) 中“limma”包筛选差异表达的 lncRNA。lncRNA 筛选标准为:  $|\log_2 FC| > 0.5$ ,  $FDR < 0.05$ , 并以热图的形式展现 lncRNA 在正常组织和银屑病患者皮损组织中的表达情况。

## 1.3 相关性分析筛选编码基因与 KEGG 富集分析

为进一步推测筛选出来的 lncRNA 可能涉及的信号通路和生物学功能,分别对 3 个数据集差异表达的 lncRNA 运用 R 软件进行相关性分析找到与之相关的且存在差异的编码基因,筛选标准为  $|R| > 0.3$ ,  $P < 0.05$ 。随后利用 clusterProfiler R 包对编码基因进行 KEGG 通路富集分析,进一步预测这些差异表达的编码基因可能涉及的信号通路和生物学功能,以  $P < 0.05$  为标准进行可视化富集分析。

## 1.4 ceRNA 网络构建

利用 lncBase 数据库对 GEO 数据库中筛选到的差异表达的 lncRNA 进行 miRNA 预测,得到初始 lncRNA-miRNA 关系对。同时利用差异表达的 lncRNA 分别在 3 个数据集里运用 R 软件做相关性分析,得到相关的编码基因,筛选标准为  $|R| > 0.3$ ,  $P < 0.05$ , 并从中提取与筛选到的 lncRNA 共表达的编码基因,随后利用 TargetScan 基因预测数据库对共表达的编码基因分别进行 miRNA 预测,得到初始 mRNA-miRNA 关系对。之后将这两个数据库预测的 miRNA 取交集,得到新 lncRNA-miRNA 关系对和新 mRNA-miRNA 关系对,最终得到 lncRNA-miRNA-mRNA 关系对。最后,将上述得到的关系对导入 Cytoscape (Version 3.7.2) 软件,构建出基于 ceRNA 机制的 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络。具体技术路线见图 1。

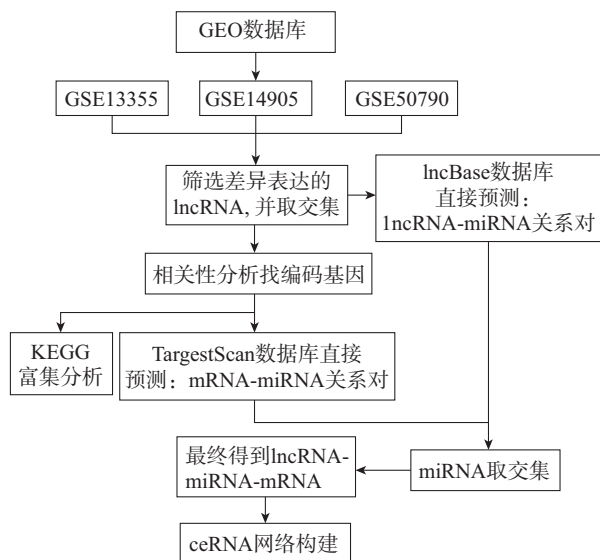
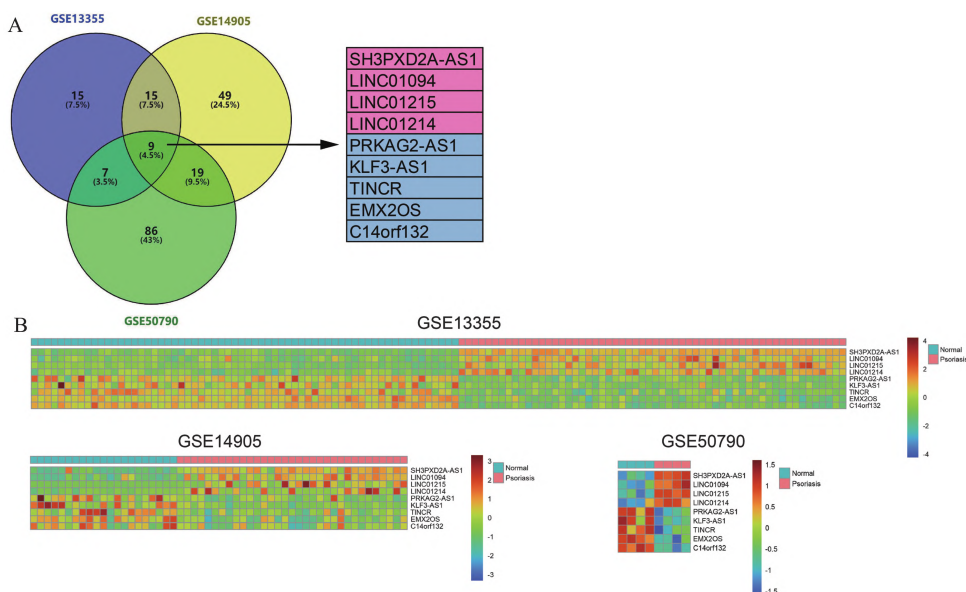


图 1 分析流程图

## 2 结果与分析

### 2.1 银屑病中 lncRNA 的差异分析

GEO 数据库下载关于银屑病的表达芯片数据集 GSE13355、GSE14905 和 GSE50790, 利用 R 软件将探针 ID 转换为基因名,“limma”包进行差异基因的筛选。随后用“韦恩图”取交集,得到 9 个差异表达的 lncRNA, 其中表达上调有 4 个, 包括 SH3PXD2A-AS1、LIN01094、LINC01215、LINCC01214, 表达下调有 5 个, 包括 PRKAG2-AS1、KLF-AS1、TINCR、EMX2OS、C14orf132, 筛选标准为  $|\log_2 FC| > 0.5$ ,  $P < 0.05$ , 见图 2A。热图结果直观显示, SH3PXD2A-AS1、LIN01094、LINC01215、LINCC01214 在数据集 GSE13355、GSE14905 和 GSE50790 中, 相较于正常人皮肤组织, 在银屑病患者皮损组织中高表达, 而 PRKAG2-AS1、KLF-AS1、TINCR、EMX2OS、C14orf132 则是低表达, 见图 2B。



A. 数据集 GSE13355、GSE14905 和 GSE50790 分别进行差异分析并用韦恩图取交集,得到差异表达的 lncRNA; B.热图显示差异表达 lncRNA 在银屑病皮损组织和正常人皮肤组织中的表达情况

图 2 GEO 数据库中差异表达 lncRNA

### 2.2 相关性分析筛选编码基因与 KEGG 富集分析

为进一步推测差异表达的 lncRNA 可能涉及的信号通路和生物学功能,运用 R 软件对这些 lncRNA 在 3 个数据集中分别进行相关性分析,得到相关性较高的 mRNA,筛选标准为  $|R| > 0.3, P < 0.05$ 。然后与筛选得到的差异表达的 mRNA 取交集,共得到 177 个 mRNA(其中上调的 mRNA 共 127 个,下调的 mRNA 共 50 个)。随后利用 clusterProfiler R 包对相

关性 mRNA 进行 KEGG 通路富集分析,进一步预测 lncRNA 可能涉及的信号通路和生物学功能,并以  $P < 0.05$  为标准进行可视化富集分析,见图 3。由图 3 可知,KEGG 通路富集分析结果显示,mRNA 可能与细胞周期、蛋白酶体、DNA 复制、细胞因子-细胞因子受体相互作用、FoxO 信号通路等( $P < 0.05$ )相关,推测这些 lncRNA 所涉及的信号通路和生物学功能可能也与此有关。

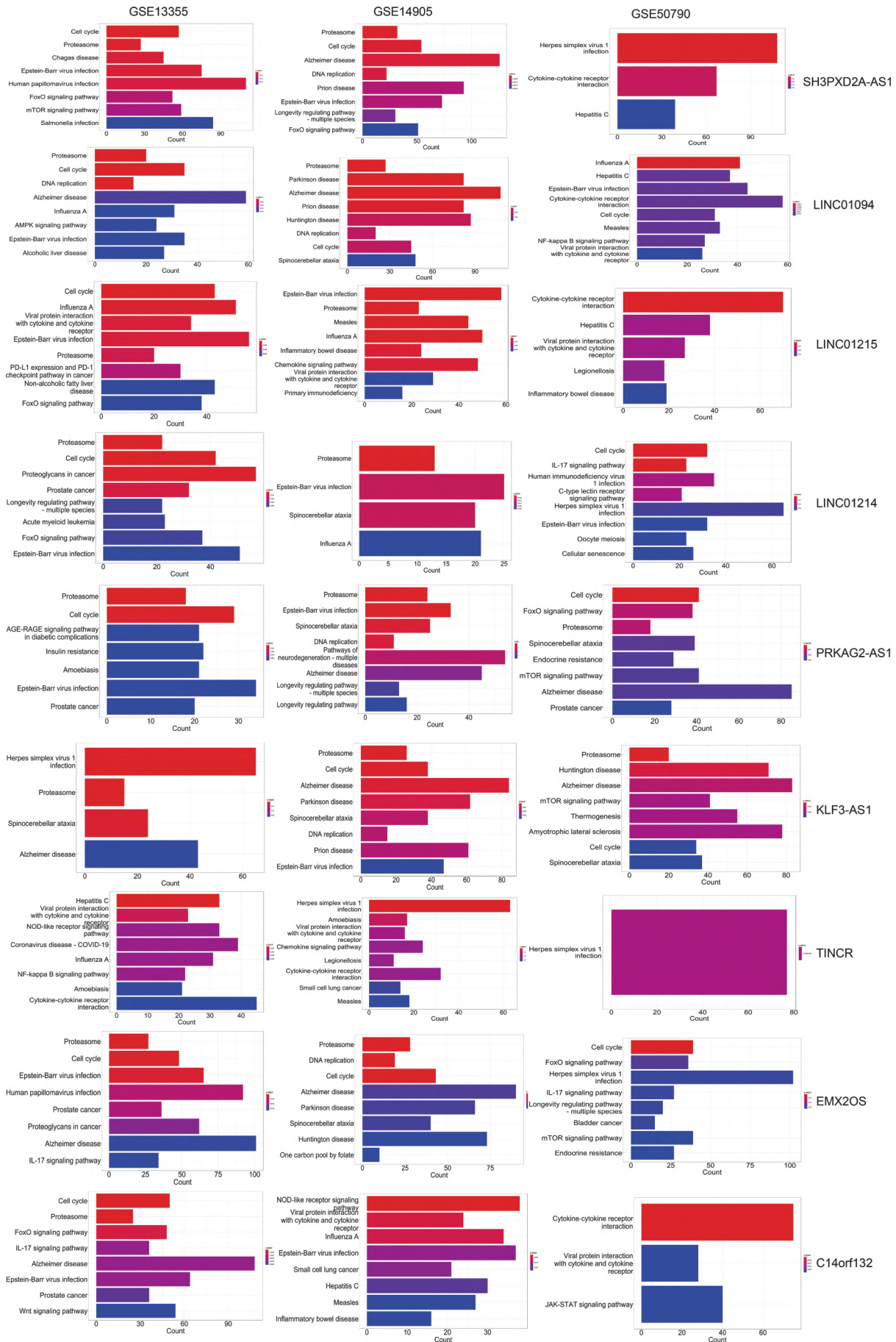
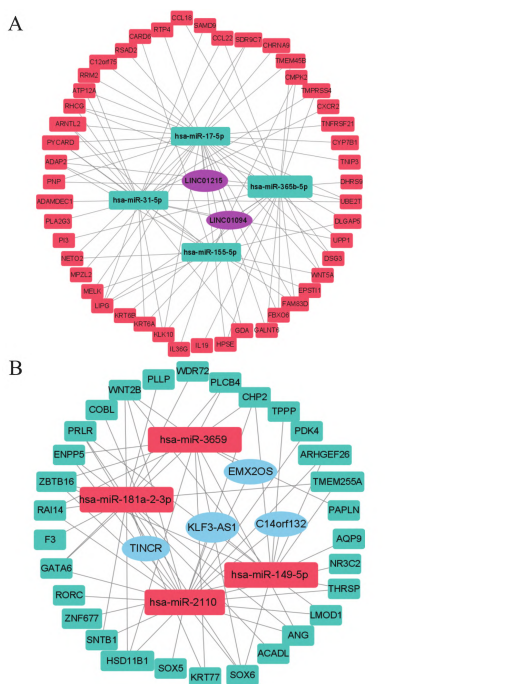


图 3 共表达编码基因的 KEGG 富集分析图

### 2.3 ceRNA 调控网络的构建

将 lncBase 数据库和 TargetScan 基因预测数据库已经取交集后的新 lncRNA-miRNA 关系对和新 miRNA-mRNA 关系对导入 Cytoscape 软件,构建与银屑病相关的 lncRNA-miRNA-mRNA 竞争性内源 ceRNA 网络,见图 4。最终得到在银屑病中差异表达上调的 lncRNA(LINC01215、LIN01094) (图 4A),差异表达下调的 lncRNA (KLF-AS1、TINCR、EMX2OS、C14orf132)(图 4B)。由此我们推测在银屑病中, lncRNA (LINC01215、LIN01094) 可以靶向结合 hsa-miR-17-5p、hsa-miR-31-5p、hsa-miR-365b-5p 和 hsa-miR-155-5p,进而来调控相关 mRNA 表达。同时, lncRNA (KLF-AS1、TINCR、EMX2OS、C14orf132) 也可以靶向结合 hsa-miR-3659、hsa-miR-2110 和 hsa-miR-149-5p,进而来调控相关 mRNA 表达。



A.上调 lncRNA-miRNA-mRNA 的 ceRNA 网络图;B.下调 lncRNA-miRNA-mRNA 的 ceRNA 网络图

图 4 银屑病 lncRNA-miRNA-mRNA 的 ceRNA 网络图

### 3 讨论

银屑病是临床上由免疫介导的慢性炎症性疾病,病程长,易反复发作,影响全球约 1.25 亿人<sup>[8]</sup>。中国的流行病学调查显示,银屑病的发病率正在逐年上升<sup>[9]</sup>。根据不同人群所处环境以及各种因素影

响下的调查结果说明,银屑病会导致患者引发各种并发症或共病,常见如银屑病关节炎、心血管疾病、代谢疾病等,并且随着银屑病的严重程度的增加,并发症以及共病的概率也会随着增加<sup>[10]</sup>。此外,银屑病对患者的身体、经济和精神将造成巨大负担,导致患者的生活质量显著下降<sup>[11]</sup>。银屑病的发病机制复杂,迄今为止,其发病机制仍未完全阐明,推测与多基因遗传、环境、免疫、感染和精神应激等多种因素密切相关<sup>[12]</sup>。

lncRNA 是一类转录本长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA,也是一类具有调节功能的新型 RNA,调控着细胞生长、分化、细胞凋亡、发育以及免疫应答等各种生物过程<sup>[13]</sup>,并从基因水平、转录水平以及转录后水平上影响着病变的发生与进展<sup>[14]</sup>。近年来,越来越多的研究表明,lncRNA 与银屑病的发生发展存在很大联系。Danis 等<sup>[15]</sup>通过研究发现,在银屑病患者未受影响的表皮中,PRINS 表达的增加有助于控制细胞因子如 IL-6 的产生。上述研究结果表明,PRINS 可能通过减少细胞因子的产生,抑制银屑病角质形成细胞的增殖,从而降低炎症的发生。本研究通过芯片数据筛选出差表达的 9 个 lncRNA (SH3PXD2A-AS1、LIN01094、LINC01215、LINCC01214、PRKAG2-AS1、KLF-AS1、TINCR、EMX2OS、C14orf132)。相关性分析和聚类分析结果显示,这些 lncRNA 可能通过调控细胞周期、蛋白酶体、DNA 复制、细胞因子-细胞因子受体相互作用、FoxO 信号通路等参与银屑病发病。有报道显示, lncRNA TINCR 可能调控下游靶蛋白 KLF4 和 Cyclin D1 的表达,从而参与寻常型银屑病的发生发展<sup>[16]</sup>。以上研究提示,筛选得到的 lncRNA 将可能对银屑病发病机制研究提供可能的靶标。

ceRNA 调控网络是近年来提出的一种 RNA 之间相互作用的机制。ceRNA 中的 miRNA 可靶向结合不同的 RNA,从而导致不同的 RNA 之间形成对 miRNA 的竞争关系,进而由于之间产生的竞争性作用对不同 RNA 的表达起调控作用<sup>[17-19]</sup>。lncRNA 作为 ceRNA 通过吸附 miRNA 影响 mRNA,进而影响疾病发生发展,其是 lncRNA 发挥作用的一项重要机制。Qiao 等<sup>[20]</sup>将 HaCaT 细胞使用 IL-22 进行处理,

对实验组以及对照组细胞使用微阵列分析检测寻找差异表达的 lncRNA 并探究可能的作用。结果发现,差异表达的 lncRNA MSX2P1 行使海绵作用直接结合 miR-6731-5p,间接激活了 S100A7 的表达,从而促进了角质形成细胞增殖,抑制角质形成细胞凋亡,加快了银屑病进程。Huang 等<sup>[21]</sup>发现 lncRNA KCNQ1OT1 通过调节 miR-200b-3p 进而上调 SERP1 的表达,从而调节角质形成细胞的分化。本研究基于生物信息学方法最终构建得到在银屑病中差异表达上调的 lncRNA (LINC01215、LIN01094) 及差异表达下调的 lncRNA (KLF-AS1、TINCR、EMX2OS、C14orf132) 介导的 lncRNA-miRNA-mRNA 的 ceRNA 网络。其中, hsa-miR-17-5p、hsa-miR-31-5p、hsa-miR-365b-5p、hsa-miR-155-5p、hsa-miR-3659、hsa-miR-2110 与 hsa-miR-149-5p 被认为可能是重要互作的 miRNA。lncRNA (KLF-AS1、EMX2OS) 已被发现能够作为 ceRNA 参与卵巢癌及肾细胞癌发生发展<sup>[22-23]</sup>。Delić 等<sup>[24]</sup>研究发现 hsa-miR-17-5p 在银屑病皮损中上调并可能与 SEMA-4G 表达下调相关。Abdallah 等<sup>[25]</sup>揭示 miR-31-5p 通过靶向 Pwp1 参与银屑病免疫调节。Soonthornchai 等<sup>[26]</sup>发现 miR-155 可以通过下调 CASP3 蛋白表达抑制 HaCaT 细胞凋亡。这些研究暗示本研究构建的 ceRNA 网络具有较好的参考价值。

综上所述,本研究基于 GEO 数据库,筛选得到银屑病患者皮损组织中差异表达的 9 个 lncRNA,同时对这些差异表达的 lncRNA 进行相关性分析并分别找到与之相关的编码基因进行 KEGG 通路富集分析,推测得到这些差异表达的 lncRNA 的生物学功能,最终成功构建了基于 6 个 lncRNA (LIN01094、LINC01215、KLF-AS1、TINCR、EMX2OS、C14orf132) 介导的 lncRNA-miRNA-mRNA 的 ceRNA 网络。以上研究结果为进一步深入研究 lncRNA 影响银屑病发生发展的机制提供了参考。

#### 参考文献:

[1] 李活桃,杨超,张娇,等.长链非编码 RNA 在银屑病中的研究进展[J].皮肤性病诊疗学杂志,2019,26(2):114-116.

- [2] GARZORZ-STARK N, EYERICH K. Psoriasis pathogenesis: keratinocytes are back in the spotlight[J]. J Invest Dermatol, 2019,139(5):995-996.
- [3] 农雯雄,周宇,袁晨光.长链非编码 RNA 在肝细胞癌中的研究进展[J].华夏医学,2020,33(1):175-179.
- [4] 何月,段妍,李睿亚,等.银屑病相关非编码 RNA 及竞争性内源 RNA 调控网络的研究进展[J].皮肤病与性病,2022,44(4):301-307.
- [5] LI B, HUANG N N, WEI S N, et al. lncRNA TUG1 as aceRNA promotes PM exposure-induced airway hyper-reactivity[J]. J Hazard Mater,2021,416: 125878.
- [6] FERNANDES M, MARQUESH, TEIXEIRA A L, et al.ceRNA Network of lncRNA/miRNA as circulating prognostic biomarkers in non-Hodgkin lymphomas: bioinformatic analysis and assessment of their prognostic value in an NHL Cohort[J].Int J Mol Sci,2021,23(1):201.
- [7] SALMENA L, POLISENO L, TAY Y, et al. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language? [J]. Cell, 2011,146(3):353-358.
- [8] GRIFFITHS C E M, ARMSTRONG A W, GUDJONSSON J E, et al. Psoriasis[J]. Lancet, 2021,397(10281):1301-1315.
- [9] 黄丹,陈崑.银屑病相关流行病学调查进展[J].诊断学理论与实践,2021,20(1):48-52.
- [10] TAKESHITA J, GREWAL S, LANGAN S M, et al. Psoriasis and comorbid diseases: epidemiology[J]. J Am Acad Dermatol,2017,76(3):377-390.
- [11] 李曦芝,宋萌萌,骆志成.银屑病经济负担及其影响因素[J].中华临床免疫和变态反应杂志,2022,16(4):416-420.
- [12] GREB J E, GOLDMINZ A M, ELDER J T, et al. Psoriasis[J].Nat Rev Dis Primers,2016,2:16082.
- [13] MOWEL W K, KOTZIN J J, MCCRIGHT S J, et al. Control of immune cell homeostasis and function by lncRNA [J]. Trends Immunol,2018,39(1):55-69.
- [14] ENGREITZ J M, HAINES J E, PEREZ E M, et al. Local regulation of gene expression by lncRNA promoters, transcription and splicing [J]. Nature, 2016, 539(7629): 452-455.
- [15] DANIS J, GÖBLÖS A, BATA-CSÖRGÖ Z, et al. PRINS non-coding RNA regulates nucleic acid-induced innate immune responses of human keratinocytes [J]. Front Immunol,2017,8: 1053.

- [16] 谢敏欣. 长链非编码 RNA TINCR 在寻常型银屑病患者皮损中的表达研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2020.
- [17] WANG L Y, CHO K B, LI Y, et al. Long noncoding RNA (lncRNA)-mediated competing endogenous RNA networks provide novel potential biomarkers and therapeutic targets for colorectal cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(22): 5758.
- [18] QI X L, ZHANG D H, WU N, et al. ceRNA in cancer: possible functions and clinical implications[J]. *J Med Genet*, 2015, 52(10): 710-718.
- [19] 徐维宇. 炎症因子在胆囊癌预后中的作用和基于 ceRNA 调节网络分析研究非编码 RNA 在肝内胆管细胞癌发病机制中的作用[D]. 北京: 北京协和医学院, 2019.
- [20] QIAO M, LI R H, ZHAO X T, et al. Up-regulated lncRNA-MSX2P1 promotes the growth of IL-22-stimulated keratinocytes by inhibiting miR-6731-5p and activating S100A7[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 363(2): 243-254.
- [21] HUANG W P, CHEN J, XU E G, et al. KCNQ10T1 mediates keratinocyte migration to promote skin wound healing through the miR-200b-3p/SERP1 axis[J]. *Burns*, 2022, S0305-4179(22)00080-8.
- [22] DUAN M, FANG M Y, WANG C H, et al. lncRNA EMX2OS induces proliferation, invasion and sphere formation of ovarian cancer cells via regulating the miR-654-3p/AKT3/PD-L1 axis[J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 2141-2154.
- [23] XU H F, WANG X L, WU J C, et al. Long non-coding RNA LINC01094 promotes the development of clear cell renal cell carcinoma by upregulating SLC2A3 via microRNA-184[J]. *Front Genet*, 2020, 11: 562967.
- [24] DELIĆ D, WOLK K, SCHMID R, et al. Integrated microRNA/mRNA expression profiling of the skin of psoriasis patients[J]. *J Dermatol Sci*, 2020, 97(1): 9-20.
- [25] ABDALLAH F, PICHON C. Evidence on the direct correlation between miR-31 and IL-22 axis in IMQ-induced psoriasis[J]. *Exp Dermatol*, 2019, 28(11): 1336-1340.
- [26] SOONTHORNCHAI W, TANGTANATAKUL P, MEEP-HANSAN J, et al. Down-regulation of miR-155 after treatment with narrow-band UVB and methotrexate associates with apoptosis of keratinocytes in psoriasis[J]. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2021, 39(3): 206-213.

[收稿日期: 2022-12-20]

[责任编辑: 杨建香 英文编辑: 阳雨君]