

• 临床研究 •

不停跳冠脉搭桥术后差异基因的生信分析

福建医科大学省立临床医学院 福建省立医院心血管外科 (福州 350001) 陈远翔 林 斌 陈东杰 林先东 翁国星¹

【摘 要】 目的 通过生信分析探讨不停跳冠脉搭桥 (OPCAB) 术后基因变化, 并筛选关键 (Hub) 基因。**方法** 通过纳入数据集 GSE12485 (心肌) 和 GSE4386 (心房), 使用 R 包对 OPCAB 术前术后心脏组织进行差异分析, 筛选差异基因 (DEGs)。两组 DEGs 交集得到共同 DEGs 进一步分析, 然后进行 GO 和 KEGG 功能富集分析。最后使用 STRING 进行蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 分析, 通过 Cytoscape 软件中 cytoHubba 的 Degree 算法筛选 Hub 基因。**结果** 共获得 36 个共同上调 DEGs。GO 和 KEGG 分析结果显示, OPCAB 术后主要与炎症反应相关。PPI 网络分析, 并得到 4 个 Hub 基因。**结论** 炎症反应在 OPCAB 术后起重要作用, 而 4 个 Hub 基因均具有重要的价值, 将为后续研究提供依据。

【关键词】 不停跳冠脉搭桥; 生信分析; 差异基因

【中图分类号】 R541.4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2022)06-0006-03

Bioinformatics analysis of differential expression genes after off-pump coronary artery bypass grafting

CHEN Yuanxiang, LIN Bin, CHEN Dongjie, LIN Xiandong, WENG Guoxing. Department of Cardiovascular Surgery, Fujian Provincial Hospital, Shengli Clinical Medical College of Fujian Medical University, Fujian provincial hospital, Fuzhou, Fujian, 350001, China

【Abstract】 Objective To investigate gene changes after off-pump coronary artery bypass grafting (OPCAB) by bioinformatics analysis, and to screen Hub genes. **Methods** By including the datasets GSE12485 (myocardium) and GSE4386 (atrium), the R package was used to analyze the differences in the preoperative and postoperative cardiac tissues of OPCAB to screen for differential genes (DEGs). The intersection of the two groups of DEGs was obtained with the common DEGs for further analysis. Then GO and KEGG functional enrichment analysis was performed. Finally, STRING was used for protein-protein interaction (PPI) analysis, and Hub genes were screened by Degree algorithm of cytoHubba with Cytoscape software. **Results** A total of 36 co-upregulated DEGs were obtained. GO and KEGG analysis showed that OPCAB was mainly associated with inflammation. PPI network analysis was performed, and four Hub genes with the highest score were obtained. **Conclusion** Inflammation plays an important role after OPCAB. All the four Hub genes are of great value, which will provide a basis for subsequent research.

【Key words】 off-pump coronary artery bypass grafting; bioinformatics analysis; differential expression genes

随着人口老年化, 冠心病已成为我国最重要的死亡原因之一。根据《中国卫生健康统计年鉴 2020》, 2019 年城市和农村居民冠心病死亡率总和为 251.73/10 万, 且呈上升趋势。不停跳冠脉搭桥 (off-pump coronary arterial bypass grafting, OPCAB) 是目前治疗冠心病最主要的方法之一。OPCAB 与体外循环下冠脉搭桥 (on-pump coronary arterial bypass grafting, ONCAB) 相比, 理论上避免了体外循环, 能减少输血和体外循环相关并发症, 但是术后相关死亡率、并发症发生率、移植物通畅率和长期结果是否优于 ONCAB 尚有争议^[1-3],

因此我们需要在基因水平对 OPCAB 进行深入的探讨。本研究采用生信分析技术, 探讨 OPCAB 术后基因变化, 并筛选关键 (Hub) 基因。

1 材料与方法

1.1 数据收集和处理: 在 GEO 数据库中下载两个数据集 GSE12485 和 GSE4386。GSE12485 包含 5 例 OPCAB 术前及术后心室组织, GSE4386 包含 20 例 OPCAB 术前及术后心房组织 (表 1)。

1.2 差异表达分析: 采用 R 包 “edgeR” 分别对两个数据集进行差异分析, 筛选 DEGs 的设置条件为 $P < 0.05$ 和 $|\log FC| > 1$ 。通过取交集获得两组

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (2022J05066)

1 通信作者, Email: gxw001@139.com

共同 DEGs。

表 1 GEO 数据集样本信息

数据集	平台	样本	术前/例	术后/例
GSE12485	GPL570	心肌	5	5
GSE4386	GPL570	心房	20	20

1.3 功能富集分析：使用 R 包“clusterProfiler”对所得到的共同 DEGs 进行基因本体 (gene ontology analysis, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 功能富集分析。GO 包括生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 等, 并使用“ggplot2”及“GOplot”进行可视化分析。其中纳入标准为 $P < 0.05$ 。

1.4 蛋白相互作用、Hub 基因筛选：使用 SRTING (<https://cn.string-db.org/>) 在线软件进行蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 分析, 筛选条件: 最低要求的交互置信度 > 0.4 。通过 Cytoscape 软件^[4]中 cytoHubba 的 Degree 方法筛选出 PPI 网络中得分最高 Hub 基因。

2 结果

2.1 差异表达基因：分别在 GSE12485 中筛选到 38 个上调的 DEGs 及 4 个下调的 DEGs, 在 GSE4386 筛选到 519 个上调的 DEGs 及 337 个下调的 DEGs。对表达上调及下调的 DEGs 进行取交集, 得到 36 个共同表达上调的 DEGs, 及 1 个共同表达下调的 DEG。

2.2 共同 DEGs 功能富集分析：取共同上调的 36 个 DEGs 进行 GO 和 KEGG 功能富集分析 (图 1)。

结果显示, BP 与细胞趋化 (cell chemo-taxis)、髓系白细胞迁移 (myeloid leukocyte migration)、白细胞趋化 (leukocyte chemotaxis) 等有关。MF 与趋化因子活性 (chemokine activity)、趋化因子受体结合 (chemokine receptor binding)、细胞因子活性 (cytokine activity) 等有关。KEGG 主要富集的通路为 IL-17 信号通路 (IL-17 signaling pathway)、TNF 信号通路 (TNF signaling pathway) 等。结果显示 OPACB 术后心脏的变化与炎症反应密切相关。

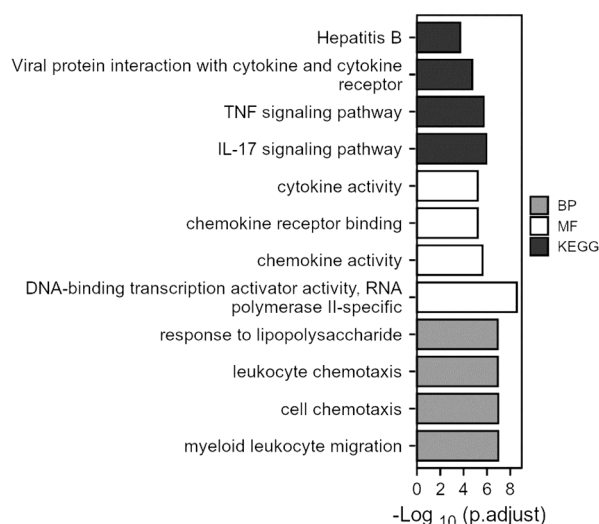


图 1 共同 DEGs 的 GO 和 KEGG 功能富集图

2.3 Hub 基因的识别：通过 STRING 数据库对共同 DEGs 进行分析, 确定了 36 个节点和 161 条变。使用 Cytoscape 绘制 PPI 网络图 (图 2 左), 随后根据 cytoHubba 中 Degree 算法对 Hub 基因进行筛选, 最终将前 4 的基因确定为 Hub 基因, 分别是 ATF3、FOS、IL6、EGR1 (图 2 右)。

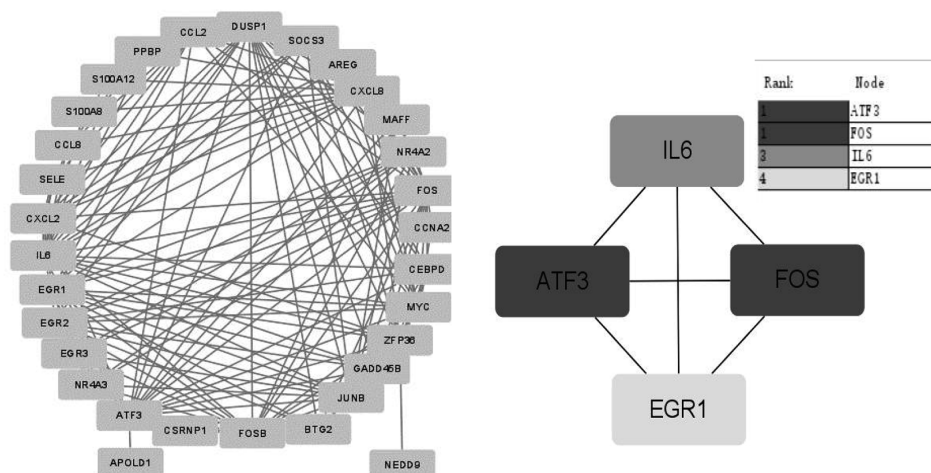


图 2 PPI 网络图及 4 个 Hub 基因排序

3 讨论

自从 1985 年 OPCAB 报道以来, OPCAB 被认为可能获得更好的手术结果。但是许多大型 RCT 结果显示, 两者术后并发症发生率、死亡率均无显著差异^[5-6]。因此, 我们选取 OPCAB 作为研究对象, 研究搭桥引起的心脏变化。本研究共获得 36 个心脏共同上调 DEGs, GO 和 KEGG 富集结果显示, OPCAB 术后主要与炎症反应相关。以往研究发现搭桥术就是导致心血管事件的危险因素, 将引起全身应激和炎症反应^[7], 而且相关炎症指标可以预测手术效果及术后并发症。最近的临床研究也已经表明术后患者的中性粒细胞与淋巴细胞比值高低与 OPCAB 术后死亡率存在相关性, 可作为一个影响预后的因素^[8-9]。术前、术后中性粒细胞-淋巴细胞比值与术后早期急性肾损伤的发生直接相关^[10]。

所筛选的 4 个 hub 基因均在心脏病理过程中发挥重要作用。有研究证明利用 STRT3 抑制 FOS 的表达, 可以预防心脏纤维化和炎症^[11]。而在 OPCAB 早期, IL6 可以通过 pSTAT3 途径诱导心肌细胞纤维化, 导致术后房颤的易感性增加^[12]。EGR1 则可以作为远端预处理的主调控因子, 通过 IL6 依赖的 JAK-STAT 信号通路诱导对心肌缺血再灌注损伤的保护作用^[13]。ATF3 在静脉桥血管再狭窄内皮功能失调过程中发挥重要作用^[14]。

总之, 本研究结果表明 OPCAB 术后主要发生炎症反应, 而相关炎症指标具有预测价值。共筛选出 4 个 Hub 基因, 均在心脏病理过程中发挥重要作用, 将为后续研究提供依据。

参考文献

- [1] Kuwahara G, Tashiro T. Current status of off-pump coronary artery bypass [J]. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2020, 26 (3): 125.
- [2] Ofoegbu C K, Manganyi R M. Off-pump coronary artery bypass grafting; is it still relevant? [J]. *Current Cardiology Reviews*, 2022, 18 (2): 64-77.
- [3] Shaefti S, Mittel A, Loberman D, et al. Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting—a systematic review and analysis of clinical outcomes [J]. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*, 2019, 33 (1): 232-244.
- [4] 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.
- [5] Gerola L R, Buffolo E, Jaskiw W, et al. Off-pump versus on-pump myocardial revascularization in low-risk patients with one or two vessel disease: perioperative results in a multicenter randomized controlled trial [J]. *The Annals of Thoracic Surgery*, 2004, 77 (2): 569-573.
- [6] Shroyer A L, Grover F L, Hattler B, et al. On-pump versus off-pump coronary-artery bypass surgery [J]. *New England Journal of Medicine*, 2009, 361 (19): 1827-1837.
- [7] Wan I Y, Arifi A A, Wan S, et al. Beating heart revascularization with or without cardiopulmonary bypass: evaluation of inflammatory response in a prospective randomized study [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2004, 127 (6): 1624-1631.
- [8] Urbanowicz T, Michalak M, Gasecka A, et al. Postoperative neutrophil to lymphocyte ratio as an overall mortality midterm prognostic factor following OPCAB Procedures [J]. *Clin Pract*, 2021, 11 (3): 587-597.
- [9] Urbanowicz T, Michalak M, Ołasińska-Wisniewska A, et al. Neutrophil counts, neutrophil-to-lymphocyte ratio, and systemic inflammatory response index (SIRI) predict mortality after off-pump coronary artery bypass surgery [J]. *Cells*, 2022, 11 (7): 1124.
- [10] Parlar H, Şaşkın H. Are pre and postoperative platelet to lymphocyte ratio and neutrophil to lymphocyte ratio associated with early postoperative AKI following CABG? [J]. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 2018, 33: 233-241.
- [11] Palomer X, Román-Azcona M S, Pizarro-Delgado J, et al. SIRT3-mediated inhibition of FOS through histone H3 deacetylation prevents cardiac fibrosis and inflammation [J]. *Signal transduction and targeted therapy*, 2020, 5 (1): 1-10.
- [12] Liu Y, Wu F, Wu Y, et al. Mechanism of IL-6-related spontaneous atrial fibrillation after coronary artery grafting surgery: IL-6 knockout mouse study and human observation [J]. *Translational Research*, 2021, 233: 16-31.
- [13] Billah M, Ridiandries A, Rayner B, et al. Egr-1 functions as a master switch regulator of remote ischemic preconditioning-induced cardioprotection [J]. *Basic Research in Cardiology*, 2020, 115 (1): 1-20.
- [14] 周宁, 张魁, 乔博康, 等. 活化转录因子 3 在再狭窄静脉桥血管中的表达 [J]. *中国医药*, 2018, 13 (5): 773-776.