

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20233198

论著·临床微生物与感染监测专题

基于基因测序和 GEO 数据挖掘探讨结核性溃疡的发病机制

高贝贝, 黄子慧, 陈思琪, 曹丽敏, 翁嘉晨, 郭丹丹, 陈悦

(南京中医药大学附属南京市中西医结合医院, 江苏 南京 210014)

[摘要] **目的** 通过生物信息学途径, 挖掘结核性溃疡发生发展过程中的关键基因, 为结核性溃疡的研究提供新思路。**方法** 选择课题组前期基因测序的数据集及基因表达综合数据库(GEO)下载的数据集 GSE83456, 利用 R 软件筛选出共同的差异表达基因, 再对共同的差异基因进行基因本体论(GO)以及京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析。利用 STRING 及 Cytoscape 软件构建蛋白质与蛋白质相互作用(PPI)网络并进行可视性, 使用 cytoHubba 插件进一步筛选出关键基因, 用基因组富集分析(GSEA)进行验证。选取 2021 年 7 月—2022 年 3 月某院住院的 60 例结核性溃疡患者及同期 60 例健康体检人员, 利用逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)对血清中的关键基因进行验证。**结果** 筛选出共同的差异表达基因 19 个, 主要富集在抗病毒免疫反应、单核细胞趋化性调节、干扰素- β 等功能以及 NOD 样受体信号通路、感染性疾病等方面。分析 PPI 后筛选出 GBP1 作为关键基因, GSEA 证实 GBP1 与结核性溃疡高度相关。qRT-PCR 证实 GBP1 在结核性溃疡患者的血清中高表达, 并在治疗 2 周后明显下降(均 $P < 0.001$)。**结论** GBP1 可能成为结核性溃疡诊断的生物学标志物以及治疗的潜在靶点。

[关键词] 结核性溃疡; 生物信息学; 基因; 发病机制; GBP1

[中图分类号] R529.8

Exploring the pathogenesis of tuberculous ulcer based on gene sequencing and GEO data mining

GAO Bei-bei, HUANG Zi-hui, CHEN Si-qi, CAO Li-min, WENG Jia-chen, GUO Dan-dan, CHEN Yue (Nanjing Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210014, China)

[Abstract] **Objective** To explore the key genes in the occurrence and development of tuberculous ulcer (TU) through bioinformatics, and provide new ideas for the study of TU. **Methods** Datasets of previous acquired gene sequencing and GSE83456 downloaded from gene expression omnibus (GEO) were selected. Common differentially expressed genes were screened by R software and performed enrichment analysis via gene ontology (GO) as well as Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG). Protein-protein interaction (PPI) network was constructed and visualized by STRING and Cytoscape software. Key genes were screened out by cytoHubba plug-in, then verified by gene set enrichment analysis (GSEA). 60 patients with TU in a hospital from July 2021 to March 2022 and 60 healthy physical examination persons during the same period were selected. Key genes in serum were verified by quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR). **Results** 19 common differentially expressed genes were screened out, mainly enriched in antiviral immune response, monocyte chemotaxis regulation, interferon- β function, NOD-like receptor signaling pathway, and infectious diseases, etc. GBP1 was screened out as a key gene after PPI analysis, and verified to be highly correlated with TU by GSEA. qRT-PCR confirmed that GBP1 expression was high in the serum of TU patients, and decreased significantly after 2 weeks treatment (both P

[收稿日期] 2022-08-03

[基金项目] 江苏省中医药科技发展计划重点项目(ZD202105); 许芝银全国名中医专家工作室(宁卫财务[2019]26号); 南京市卫健委重点科技项目(ZKX20049)

[作者简介] 高贝贝(1997-), 女(汉族), 湖北省宜昌市人, 硕士研究生, 主要从事普通外科疾病研究。

[通信作者] 黄子慧 E-mail: candy73zihui@sina.com

<0.001). **Conclusion** GBP1 may be a biomarker for TU diagnosis and potential target for treatment.

[Key words] tuberculous ulcer; bioinformatics; gene; pathogenesis; GBP1

结核病是在世界范围内流行的传染病,是单一传染源导致死亡的主要原因之一,仅次于新型冠状病毒肺炎(COVID-19)。根据世界卫生组织(WHO)^[1]估计,我国 2020 年新发结核病患者数为 84.2 万,发病率为 8.5%,居结核病高负担国家的第二位;同时,受 COVID-19 的影响,基本结核病服务中断,全球因结核病死亡的患者约增加 10 万例。近年来,在 COVID-19 肆虐、结核分枝杆菌变异以及耐药菌种增多等多种因素影响下,结核病发病率上升,治疗难度加大,结核病的防治显得尤为重要。

结核性溃疡(tuberculous ulcer, TU),又称皮肤结核,是指结核分枝杆菌、牛分枝杆菌以及卡介苗侵犯机体局部组织,引起病灶周围软组织、皮下及皮肤坏死,最终液化破溃形成的创面,是临床上最常见的一类特异感染性疾病。临床主要表现为创周皮色暗红,肉芽苍白水肿,脓液稀薄,形成窦道或慢性溃疡^[2]。虽破溃口一般较小,但深层次多有潜行空腔,迁延难愈。目前 TU 的病因及发病机制不清,早期诊断困难,缺乏敏感和特异性高的诊断标志物,常与其他慢性创面混淆,发病周期长,缠绵难愈,严重影响患者日常生活,给 TU 的防治带来极大的负担。迄今为止,国内外文献对结核病的研究以肺结核为主, TU 属于肺外结核,其发病机制研究较少,以个案报道较为多见。因此,寻找 TU 病变发生的机制,找到精确的治疗靶点,获得良好预后,从根本上解决 TU 的问题已成为当务之急。

高通量测序技术迅速发展,生物信息学分析逐步成为科研领域中重要的研究方法。该方法在识别可靠的功能差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)及筛选疾病候选生物标志物方面显示出了巨大的优势。本文通过对基因表达综合数据库及课题组前期基因测序数据集进行筛选,应用多种生物信息技术进行基因分析,采用临床试验进行验证,以期发现与 TU 高度相关的特异性指标,为 TU 的靶向研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 数据采集 选取课题组前期基因测序的相关数据集^[3],纳入 3 例 TU 组织标本和 3 例 TU 旁正常组织标本,所有标本均经过病理切片鉴定。研究

从公共数据库 GEO(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)下载肺外结核(extrapulmonary tuberculosis, EPTB)相关数据集 GSE83456,其平台为 GPL10558(Illumina HumanHT-12 V4.0 Expression BeadChip)。其中纳入 GSE83456 数据集 47 例 EPTB 血标本和 61 例健康人体对照(healthy controls, HC)的血标本。GEO 芯片样本数据均下载以供进一步分析。

1.2 差异基因的筛选和京都基因与基因组百科全书(KEGG)/基因本体论(GO)富集分析 用 R 语言(版本:4.1.2)对基因测序及 GSE83456 的数据列进行处理。采用 LIMMA 软件包比较试验组和正常对照组之间的差异,识别 DEGs,对于具有重复基因符号的探针,使用平均值作为唯一表达值。两组设定 P 值 < 0.05 和 $|\log_2 fc| > 1$ 为筛选条件,筛选获得 DEGs。用维恩图将基因测序的 DEGs 和 GSE83456 的 DEGs 相交,筛选与该病相关的靶基因。通过使用 R 语言中的‘clusterProfiler’包对交集基因进行富集分析,然后使用“ggplot2”包进行可视化。设定 P 值 < 0.05 为筛选条件,分别筛选出明显富集的 GO 分析,以及 KEGG 相关富集通路分析。

1.3 PPI 网络的构建 使用检索工具检索相互作用基因(String)在线数据库(<http://string-db.org;version11.5>)构建蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络。PPI 可以揭示疾病发生发展的机制。在此项研究中,使用 STRING 数据库构建相交基因的 PPI 网络,得分 > 0.4 的交互作用被认为具有统计学意义。Cytoscape(版本:3.9.0)是一个开源软件平台,用于可视化复杂网络并将其与任何类型的属性数据集成。CytoHubba 是一个用于发现 PPI 网络中枢基因的 Cytoscape 插件。使用 CytoHubba 插件中的最大相关准则(MCC)对相交基因进行 MCC 评分,并将评分按照从高到低的顺序排列,顺序越高,基因的红色越深。

1.4 基因组富集分析(GSEA) GSEA 是一种计算方法,用于确定一组先验定义的基因是否在两种生物状态(如表型)之间存在差异。使用 GSEA (4.2.1)确定 GBP1 参与淋巴结结核病潜在的生物学机制。通过进行 1 000 次基因组排列获得标准化的富集分数(NES)。在当前的研究中探索特征

[h, all, v7. 5. 1. symbols, gmt(Hallmarks)]基因组。设定 P 值 < 0.05 , 错误发现率 (FDR) < 0.05 为筛选条件, 以量化统计上的显著富集。

1.5 临床试验验证

1.5.1 试验材料及仪器 包括 TRIzol™ LS Reagent(美国 Thermo Fisher Scientific 公司), DEPC 水, 500 mL BR 0.1%(上海源叶生物科技有限公司), PrimScript RT Master Mix(日本 TaKaRa 公司), ChamQ SYBR qPCR Master Mix(南京 Vazyme 公司), 引物(上海生工生物公司), 高速低温离心机(德国 Hettich 公司), IMS-25 全自动雪花制冰机(常熟雪科公司), 超微量分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司), T100 梯度 PCR 仪(购自美国 BIORAD 公司), 全自动荧光 PCR 分析仪(瑞士 Roche 公司)。

1.5.2 纳入及排除标准 纳入标准:(1)符合 TU 中西医诊断标准的患者;(2)溃疡面积 $4 \sim 25 \text{ cm}^2$;(3)患者未接受抗结核及免疫学治疗;(4)患者一般临床资料完整且同意参加本次研究并签署知情同意书。排除标准:(1)合并有造血系统、肝、肾及心脑血管等严重原发性疾病及继发疾病者;(2)免疫功能受损者, 如人类免疫缺陷病毒(HIV)感染、白血病、淋巴瘤或全身性恶性疾病等;(3)正在接受免疫抑制治疗的患者, 如使用糖皮质激素、烷化剂、抗代谢药物以及放射治疗等;(4)活动性肺结核患者^[4]。

1.5.3 研究对象 选择 2021 年 7 月—2022 年 3

月在南京中医药大学附属南京市中西医结合医院瘰疬科就诊的 60 例 TU 患者为研究对象, 所有患者均经过病理诊断确诊, 其中男性 23 例, 女性 37 例, 年龄 $23 \sim 72$ 岁, 平均年龄 (39.2 ± 8.9) 岁。同期选取本院健康体检者 60 例作为对照组, 其中男性 26 例, 女性 34 例, 年龄 $25 \sim 67$ 岁, 平均年龄 (41.7 ± 11.4) 岁。受试者自愿参加此项研究并已签署同意书, 本研究已获得南京中医药大学附属南京市中西医结合医院伦理科的批准, 符合世界医学会赫尔辛基宣言。

1.5.4 血标本采集 采集所有 HC 及 TU 患者治疗前和治疗 2 周后清晨空腹静脉血 3 mL, 置于离心管中, 4°C $3\,000 \times g$, 离心 10 min, 之后转移上清至新离心管中, 保存在 -80°C 冰箱备用。

1.5.5 RNA 提取及逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测 按照试剂说明书对血清进行提取, 并逆转录为 cDNA, 随后将 cDNA 产物进行 10 倍稀释, 并使用 qPCR 试剂盒进行实时荧光定量 qRT-PCR 分析。每个样品设 1 个复孔, 重复三次试验。qRT-PCR 对所有受试者 TU 及 HC 血清中 GBP1 的表达水平进行检测。qRT-PCR 反应条件为: 95°C 预变性 30 s, 95°C 变性 10 s, 60°C 退火与延伸 30 s, 共计 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 对检测数据进行相对定量分析, 通过内参基因 GAPDH 的 C_t 值对靶基因 GBP1 的相对表达水平进行归一化处理, 并利用 GraphPad Prism(8.0.1)对试验结果进行处理。引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences of qRT-PCR

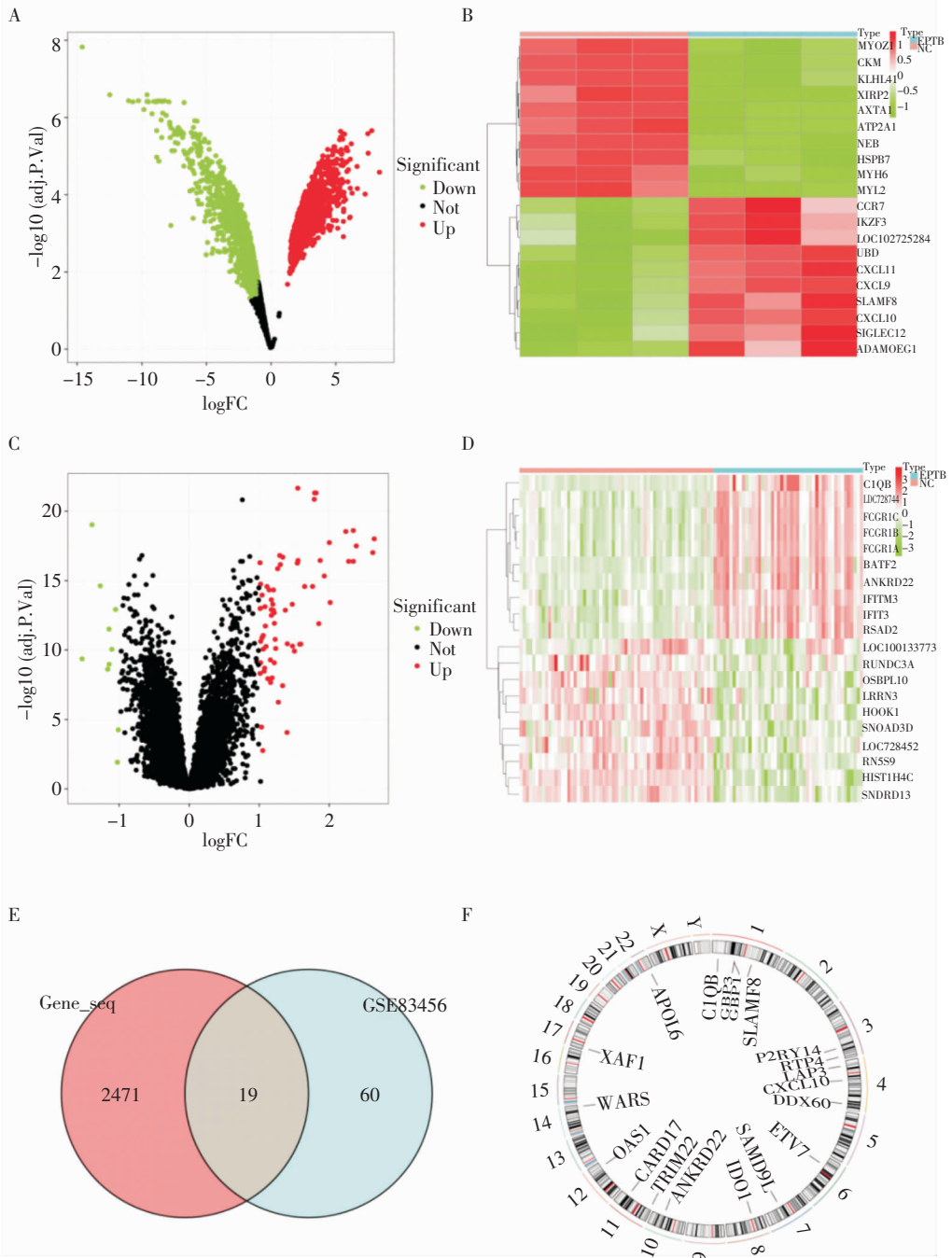
| 名称 | 正向引物序列(5' - 3') | 反向引物序列(5' - 3') |
|-------|-------------------------|-------------------------|
| GBP1 | AGGAGTTCCTTCAAAGATGTGGA | GCAACTGGACCCTGTCTT |
| GAPDH | GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT | GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG |

1.6 统计分析 统计分析均由 R 语言(版本: 4.1.2)软件及 GraphPad Prism(8.0.1)软件进行。t 检验用于检验两组之间的差异, P 值为双侧, $P \leq 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 EPTB 中 DEGs 的鉴定 从 TU 患者组织的基因表达序列中筛选出 2 490 个差异基因, 其中 1 276 个基因上调, 1 214 个基因下调, 绘制相应的火

山图(见图 1A)和热图(见图 1B)。此外, 从 EPTB 患者血液基因表达序列中筛选出 79 个差异基因, 其中 69 个基因上调, 10 个下调, 绘制相应的火山图(见图 1C)和热图(见图 1D)。设置 $P < 0.05$ 和 $|\log_{2}FC| > 1$ 为选择标准。基因测序序列与 GSE83456 的交叉点分别为: CXCL10、SLAMF8、C1QB、WARS、IDO1、ANKRD22、CARD17、LAP3、GBP1、ETV7、APOL6、GBP3、TRIM22、RTP4、OAS1、SAMD9L、P2RY14、DDX60、XAF1(见表 2), 绘制相应的韦恩图(见图 1E)和圈图(见图 1F)。



注:A为基因测序中 DEGs 的火山图;B为基因测序中 DEGs 的热图;C为 GSE83456 中 DEGs 的火山图;D为 GSE83456 中 DEGs 的热图;E为显示基因测序和 GSE83456 中差异基因交集的韦恩图;F为显示交集基因在染色体上相应位置的圈图。

图 1 EPTB 和 HC 之间基因的差异表达

Figure 1 Differential expression of genes between extrapulmonary tuberculosis and health control

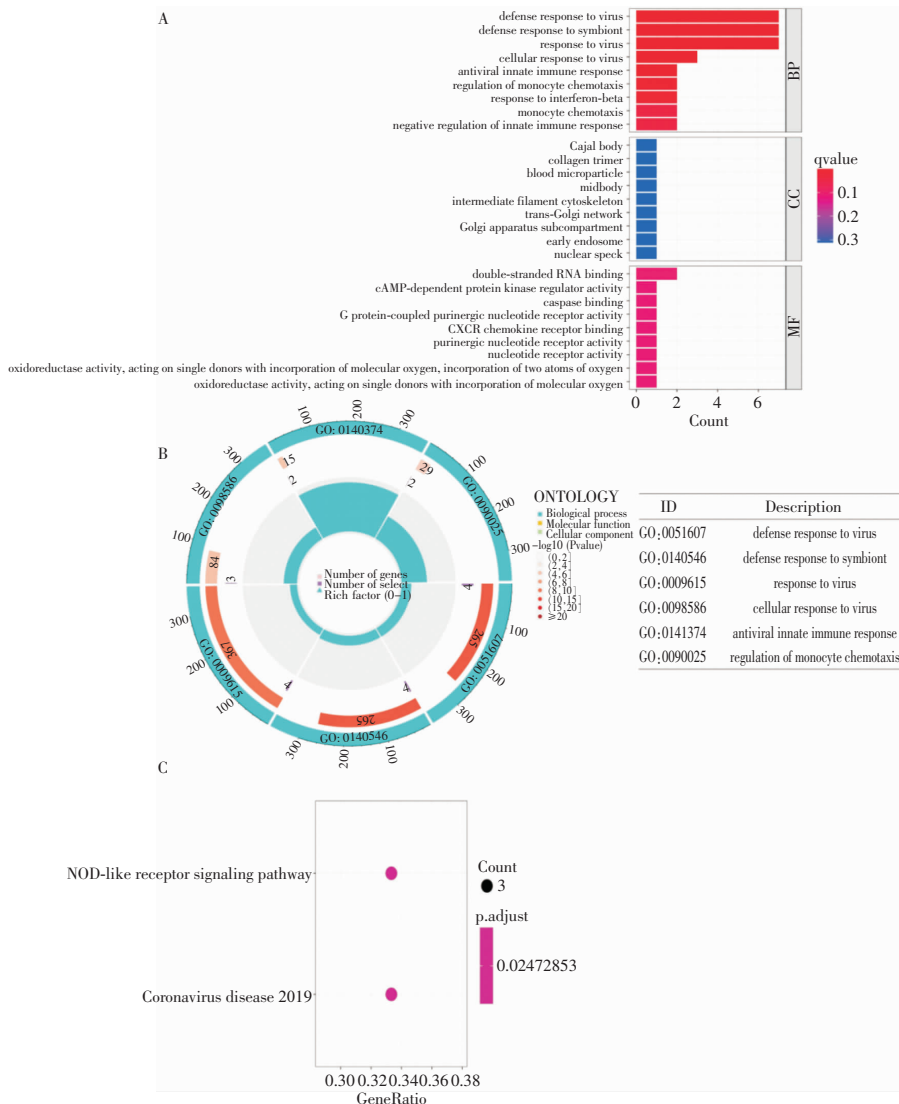
2.2 差异基因的富集分析 富集分析用于分析 DEGs 的生物学功能,对 19 个交集 DEGs 进行 GO 和 KEGG 途径富集分析(见图 2)。GO 分析结果表明,DEGs 在抗病毒免疫反应、单核细胞趋化性调

节、干扰素-β 相关信号通路中显著富集,主要集中在生物学功能(BP)上。KEGG 途径分析表明,交集 GEGs 在 NOD 样受体信号通路、感染性疾病方面显著富集。

表 2 基因测序和 GSE83456 中 DEGs 的交集候选靶基因

Table 2 Gene sequencing and overlapping candidate genes of differentially expressed genes in GSE83456

| 基因 | 基因测序(组织标本) | | GSE83456(血液标本) | | 基因 | 基因测序(组织标本) | | GSE83456(血液标本) | |
|---------|------------|--------|----------------|--------|--------|------------|--------|----------------|--------|
| | logFC | P | logFC | P | | logFC | P | logFC | P |
| GBP1 | 4.179 | <0.001 | 1.792 | <0.001 | APOL6 | 2.534 | <0.001 | 1.078 | <0.001 |
| CXCL10 | 7.513 | <0.001 | 1.476 | <0.001 | GBP3 | 3.618 | <0.001 | 1.071 | <0.001 |
| SLAMF8 | 6.649 | <0.001 | 1.098 | <0.001 | TRIM22 | 2.971 | <0.001 | 1.019 | <0.001 |
| C1QB | 5.235 | <0.001 | 2.344 | <0.001 | RTP4 | 2.365 | <0.001 | 1.554 | <0.001 |
| WARS | 3.633 | <0.001 | 1.083 | <0.001 | OAS1 | 3.828 | <0.001 | 1.175 | <0.001 |
| IDO1 | 5.259 | <0.001 | 1.402 | <0.001 | SAMD9L | 3.006 | <0.001 | 1.041 | <0.001 |
| ANKRD22 | 4.875 | <0.001 | 2.642 | <0.001 | P2RY14 | 2.049 | <0.001 | 1.545 | <0.001 |
| CARD17 | 3.634 | <0.001 | 1.871 | <0.001 | DDX60 | 2.371 | <0.001 | 1.058 | <0.001 |
| LAP3 | 2.462 | <0.001 | 1.194 | <0.001 | XAF1 | 1.744 | <0.001 | 1.173 | <0.001 |
| ETV7 | 4.510 | <0.001 | 1.472 | <0.001 | | | | | |



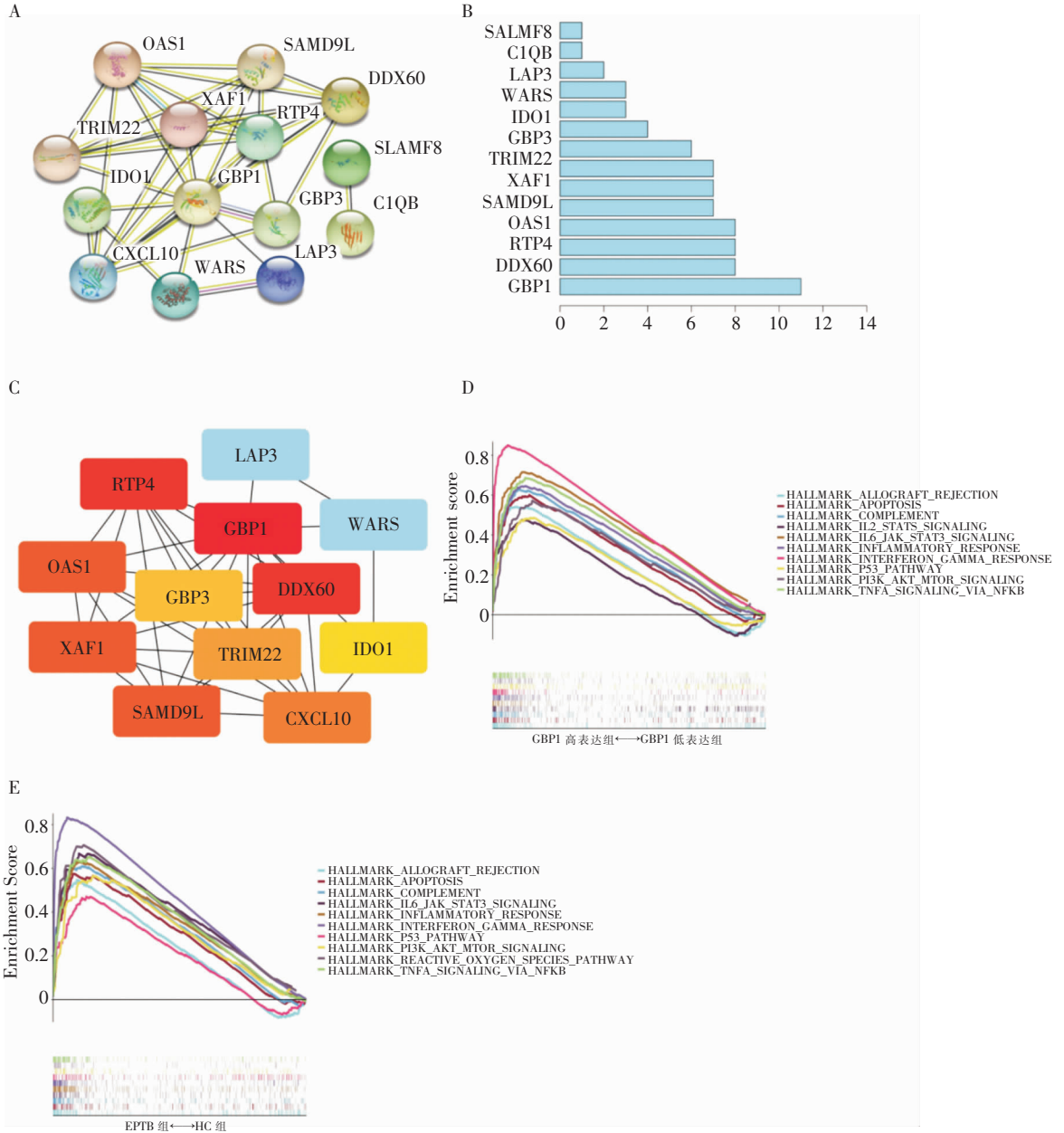
注:A为GO功能富集柱形图;B为GO功能富集圈图;C为KEGG的通路富集分析气泡图。

图 2 差异基因 GO 及 KEGG 的富集情况

Figure 2 Enrichment of differentially expressed genes via GO and KEGG

2.3 PPI 网络构建及相应生物标志物的选择 使用 String Online 数据库对 19 个交叉基因进行分析,获得 19 个交叉基因的相互作用数据,构建 PPI 网络(见图 3A)。统计基因的连接节点数并进行可视化(见图 3B),将数据作为节点导出供进一步分析。导出的数据采用 Cytoscape 软件进行可视化处理,并使用 cytoHubba 插件分析 MCC 的 HUB 基因(见图 3C),其中 GBP1 的连接节点数及 MCC 评分均处于核心地位。根据 GBP1 的表达量,将

GSE83456 的样本分为两组:GBP1 低表达组和 GBP1 高表达组,然后采用 GSEA 对两组数据进行分析(见图 3D)。再对 GSE83456 样本中的 EPTB 组和 HC 组进行 GSEA 分析(见图 3E)。GSEA 结果显示,高表达 GBP1 组血标本中显著富集的途径与 EPTB 组基本一致。免疫系统相关途径如白细胞介素(IL)-6/JAK/STAT3 和干扰素- γ (INF- γ)反应等与 EPTB 高度相关。

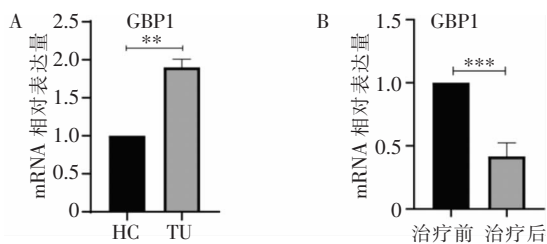


注:A为19个交集基因的相互作用;B为PPI网络核心基因的连接节点数;C为19个交集基因中HUB基因的相互作用,颜色越红,MCC评分越高;D为GSE83456中GBP1高表达组和低表达组中Hallmarks基因集的GSEA;E为GSE83456中EPTB组和HC组中Hallmarks基因集的GSEA。

图3 EPTB的PPI网络及GSEA富集分析

Figure 3 PPI network and GSEA enrichment analysis of extrapulmonary tuberculosis

2.4 qRT-PCR 检测血清中 GBP1 的 mRNA 表达水平 qRT-PCR 检测 TU 患者及 HC 血清中 GBP1 的表达水平,结果发现 TU 患者血清内 GBP1 的表达水平较 HC 中高,差异具有统计学意义($P = 0.007$,见图 4A)。治疗 2 周后,TU 患者血清内 GBP1 的表达水平较治疗前明显下降,差异具有统计学意义($P < 0.001$,见图 4B)。



注:A为qRT-PCR方法检测GBP1在TU患者及HC血清中mRNA的相对表达量;B为qRT-PCR方法检测GBP1在TU患者治疗前及治疗2周后血清中mRNA的相对表达量。

图4 血清中GBP1的mRNA表达水平

Figure 4 mRNA expression level of serum GBP1

3 讨论

目前临床上报道的结核病以肺结核为主,TU属于EPTB,较为少见。加上临床上多药耐受性结核分枝杆菌层出不穷,TU又常易与其他慢性创面混淆导致误诊漏诊,给TU的防治带来极大的负担,探索其潜在的发病机制和治疗指标是当务之急。

本研究从TU组织基因测序及GEO数据库提取EPTB的原始数据着手,使用生物信息学分析分别挖掘TU组织与TU旁正常组织的差异基因,以及EPTB血液与HC血液之间的DEGs。总共筛选出19个交集的DEGs,均为上调基因。对比这些DEGs在组织和血液中的表达水平,发现组织中的差异表达普遍较血液更为明显。据相关文献^[5]报道,超过半数的EPTB患者可引起病灶周围软组织、皮下及皮肤的损伤,最终导致TU的形成。TU形成后,结核分枝杆菌在病灶组织中聚集,通过直接蔓延的方式继续侵犯周围软组织,扩大感染范围,而血液是结核分枝杆菌传播的一个途径,并在全身扩散,推测可能是因为结核分枝杆菌在血液中相较于局部组织含量较低,故因感染引发的变化不明显。

GO分析结果显示,DEGs主要富集在抗病毒免疫反应、单核细胞趋化性调节、干扰素- β (IFN- β)等方面。单核细胞的趋化性是指单核细胞移行至炎症区域或其他趋化刺激物处执行功能,趋化因子在单核细胞趋化的过程中行使调节作用^[6]。在结核病

中,趋化因子可趋化单核细胞向被结核分枝杆菌感染的部位聚集,参与机体的慢性炎症反应及肉芽肿的形成^[7]。IFN- β 属于I型干扰素家族,常在临床上应用于调节免疫、抑制肿瘤生长和抗病毒等方面^[8-9]。I型干扰素会促进慢性细菌感染,据相关文献^[10-11]报道,IFN- β 在结核分枝杆菌感染期间会抑制宿主抗菌免疫反应并促进发病机制。

KEGG富集分析显示,DEGs主要富集在NOD样受体信号通路、感染性疾病等信号通路上。NOD样受体(Nucleotide binding oligomerization domain-like receptors,NLR)为模式识别受体,由介导配体蛋白的C端亮氨酸富集重复结构域(Leucine-rich repeat domain,LRRs)、具有ATP酶结构域的中心核酸结合结构域(Nucleotide-binding domain,NBD)和结合下游分子的N端结构域组成^[12]。NOD样受体是结核分枝杆菌激活机体促炎反应的微生物传感器。通过其LRR结构域感知细菌,从而激活NF- κ B和MAPK等信号通路,启动机体炎症反应。同时,NOD样受体会激活巨噬细胞及其他免疫细胞,将其招募到感染部位参与慢性炎症的形成。NOD1样受体可以促进趋化因子的产生和中性粒细胞的募集,NOD2样受体可以调节人类巨噬细胞中结核分枝杆菌的促炎反应和宿主反应^[13-15]。

对交集基因进行蛋白相互作用分析,筛选出关键基因GBP1。GBP1又称鸟苷酸结合蛋白,是一种在INF- γ 刺激下大量表达的基因,属于GTPase家族,在巨噬细胞等多种细胞类型中表达,并在炎症组织中上调^[16]。GBP1的高表达可增加结核分枝杆菌感染后细胞因子IL-1 β 的释放,保护结核分枝杆菌在细胞内存活。GBP1为脂多糖(LPS)的传感器,可作为一种模式识别受体与LPS直接相连,从而激活炎性小体,触发机体炎性反应^[17]。同时,GBP1具有抗血管生成活性,一方面通过抑制VEGF-A的表达直接抑制血管的生成,另一方面通过诱导血管抑制细胞因子/趋化因子的释放如CXCL9-11的表达间接抑制血管生成^[18-19]。而血管新生与创面的愈合息息相关,是愈合过程中的重要机制,更是创面修复愈合的关键环节。

通过GSEA富集分析对GSE83456芯片进行验证,发现高表达GBP1组血标本中显著富集的途径与EPTB组基本一致。随后,通过qRT-PCR验证人体血液中GBP1的表达水平,证实GBP1在TU患者的血清中高表达并在TU患者接受治疗2周后明显下降。据此推测,TU的创面久不愈合,与GBP1促进炎症反应的发生、结核分枝杆菌感染及抑制机体血管的形成密不可分。抑制GBP1可能加速TU创

面的愈合,减轻患者痛苦,提高患者的生存质量。

综上所述,本研究揭示 GBP1 在 TU 的发病机制中发挥了重要作用,有可能成为 TU 的药物靶点和诊断标志物。但是,由于慢性创面久不愈合时,都有着类似的炎性过程,以 GBP1 能否作为区别 TU 与其他慢性创面的指标,尚待进一步验证。本研究对 TU 的分子生物学有了新的认识,也为将来研究 TU 新的生物标志物及作用机制提供了新思路。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2021 [EB/OL]. (2021-10-14)[2022-07-28]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021> #: ~: text = Each year%2C the WHO Global TB Report provides, context of global TB commitments%2C strategies and targets.
- [2] 刘万里, 黄子慧. 淋巴结核中西医结合诊疗学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2018.
Liu WL, Huang ZH. Diagnosis and treatment of lymph node tuberculosis with traditional Chinese and western medicine[M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2018.
- [3] Huang ZH, Qian JY, Jin QY, et al. Expression and analyses of CXCL9/10/11 and CXCR3 in ulcerative cutaneous tuberculosis[J]. J Interferon Cytokine Res, 2022, 42(4): 180-190.
- [4] 高璐珏. 基于 CXC 趋化因子的复方五凤草液外用干预结核性溃疡临床效应机制研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
Gao LJ. Study on the clinical effect mechanism of compound Wufengcao liquid for external use in intervention of tuberculous ulcer based on CXC chemokine[D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2021.
- [5] 贾赤字. 结核性创面——一个被忽视且值得重视的临床问题[J]. 中华损伤与修复杂志(电子版), 2014, 9(4): 9-11.
Jia CY. Tuberculous wound - a neglected and noteworthy clinical problem[J]. Chinese Journal of Injury Repair and Wound Healing(Electronic Edition), 2014, 9(4): 9-11.
- [6] 吕小迅. 单核细胞趋化性及其临床意义[J]. 广东医药学院学报, 1989, 5(2): 74-76, 34.
Lv XX. Monocyte chemotaxis and its clinical significance[J]. Academic Journal of Guangdong Medical and Pharmaceutical College, 1989, 5(2): 74-76, 34.
- [7] Domingo-Gonzalez R, Prince O, Cooper A, et al. Cytokines and chemokines in *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. Microbiol Spectr, 2016, 4(5): 4.5.23.
- [8] 王敏. IFN β 和 BMP 信号通路协同调控人源神经干细胞静息激活的研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2020.
Wang M. The synergy between IFN β and BMP signaling in regulating the proliferation and quiescence of human neural stem cells[D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2020.
- [9] 赵冀安, 聂文佳, 李卫, 等. β 干扰素联合全反式维甲酸通过抑制 JAK2/STAT 3 信号通路抑制 HepG2 人肝癌细胞增殖并促进

其凋亡[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(7): 901-905.
Zhao JA, Nie WJ, Li W, et al. Interferon- β combined with all-trans retinoic acid suppresses proliferation and promote apoptosis by inhibiting JAK2/STAT3 pathway in HepG2 human hepatocellular carcinoma cells[J]. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology, 2016, 32(7): 901-905.

- [10] Lei YY, Cao XJ, Xu WZ, et al. Rv3722c promotes *Mycobacterium tuberculosis* survival in macrophages by interacting with TRAF3[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 627798.
- [11] Boxx GM, Cheng GH. The roles of type I interferon in bacterial infection[J]. Cell Host Microbe, 2016, 19(6): 760-769.
- [12] 章旭之, 马毅. NOD 样受体在免疫耐受中的作用[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(6): 930-933.
Zhang XZ, Ma Y. Role of NOD-like receptors in immune tolerance[J]. Chinese Journal of Immunology, 2017, 33(6): 930-933.
- [13] Masumoto J, Yang KK, Varambally S, et al. Nod1 acts as an intracellular receptor to stimulate chemokine production and neutrophil recruitment in vivo[J]. J Exp Med, 2006, 203(1): 203-213.
- [14] Brooks MN, Rajaram MVS, Azad AK, et al. NOD2 controls the nature of the inflammatory response and subsequent fate of *Mycobacterium tuberculosis* and *M. bovis* BCG in human macrophages[J]. Cell Microbiol, 2011, 13(3): 402-418.
- [15] 邢志伟, 孙红梅, 于慧敏, 等. 固有免疫受体 NOD1 和 NOD2 在肺结核中的诊断价值[J]. 医学动物防制, 2020, 36(8): 735-738, 742.
Xing ZW, Sun HM, Yu HM, et al. Diagnostic value of innate immune receptor NOD1 and NOD2 in pulmonary tuberculosis[J]. Journal of Medical Pest Control, 2020, 36(8): 735-738, 742.
- [16] Fisch D, Bando H, Clough B, et al. Human GBP1 is a microbe-specific gatekeeper of macrophage apoptosis and pyroptosis[J]. EMBO J, 2019, 38(13): e100926.
- [17] Johns CE, Galam L. Guanylate binding protein 1 (GBP1); a key protein in inflammatory pyroptosis[J]. Cell Biochem Biophys, 2022, 80(2): 295-299.
- [18] Naschberger E, Croner RS, Merkel S, et al. Angiostatic immune reaction in colorectal carcinoma: impact on survival and perspectives for antiangiogenic therapy [J]. Int J Cancer, 2008, 123(9): 2120-2129.
- [19] Lipnik K, Naschberger E, Gonin-Laurent N, et al. Interferon gamma-induced human guanylate binding protein 1 inhibits mammary tumor growth in mice[J]. Mol Med, 2010, 16(5-6): 177-187.

(本文编辑:文细毛)

本文引用格式:高贝贝, 黄子慧, 陈思琪, 等. 基于基因测序和 GEO 数据挖掘探讨结核性溃疡的发病机制[J]. 中国感染控制杂志, 2023, 22(1): 23-30. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20233198.

Cite this article as: GAO Bei-bei, HUANG Zi-hui, CHEN Si-qi, et al. Exploring the pathogenesis of tuberculous ulcer based on gene sequencing and GEO data mining[J]. Chin J Infect Control, 2023, 22(1): 23-30. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20233198.