

• 数据挖掘与循证医学 •

基于 STAT3-CASP4/5 通路诱导银屑病细胞焦亡基因调控网络的构建及潜在药物预测

王家悦, 陈朝霞, 王 燕, 赵京霞, 底婷婷, 胡雪晴, 曲保全, 李 萍*

首都医科大学附属北京中医医院, 银屑病中医临床基础研究北京市重点实验室, 北京市中医药研究所, 北京 100010

摘要: **目的** 基于基因调控网络分析银屑病中细胞焦亡相关基因的表达模式, 并探讨其在银屑病的发生和发展中的作用, 以寻找可能的治疗方案。**方法** 使用 NCBI 基因表达 Omnibus 数据库获取银屑病患者皮损区和非皮损区样本的基因表达数据集。利用 limma 算法筛选出差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs), 并运用 WebGestalt 对 DEGs 进行富集分析。收集与细胞焦亡和银屑病相关的共有基因, 并利用 GENIE3 构建共有基因的上游转录调节网络。使用 HERB 和 COREMINE 数据库预测可能干预细胞焦亡和银屑病相互作用机制的中药和化学药。**结果** 在银屑病的发病过程中, 包括半胱氨酸蛋白酶 4/5/8 (cysteine aspartate protease 4/5/8, CASP4/5/8) 在内的 13 个细胞焦亡基因参与了程序性细胞死亡的调节、蛋白酶活性的调控、内肽酶活性的调节以及白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 的产生等过程。通过识别共享基因, 发现这些基因的转录过程受到包括信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 和维生素 D 受体 (vitamin D receptor, VDR) 在内的 54 个转录因子的调控, 共涉及 64 个转录调控关系。其中, 转录因子 VDR、钙调蛋白结合转录激活因子 2 (calmodulin binding transcription activator 2, CAMTA2) 和锌指 E 盒结合同源蛋白 2 (zinc finger E-box binding homeobox 2, ZEB2) 可能直接调节 CASP8 的转录过程, 而转录因子 STAT3、碱性亮氨酸拉链 ATF 样转录因子 2 (basic leucine zipper ATF-like transcription factor 2, BATF2) 和催乳素调节元件结合蛋白 (prolactin regulatory element binding, PREB) 可能直接调节 CASP4、CASP5 的转录过程。此外, 发现环孢素、甲氨蝶呤和异维 A 酸可能通过影响 CASP4 和 CASP8 基因的表达来逆转银屑病症状。基于银屑病细胞焦亡基因靶点预测得到 99 味核心中药, 药味以苦、辛、甘为主, 药性以寒、温、平为主, 归经以肝、肺、脾经为主。**结论** 进一步丰富了以 STAT3 为中心的细胞焦亡调控银屑病发生机制的模型。发现 VDR 和 ZEB2 转录调节的 STAT3-焦亡素 E (gasdermin-E, GSDMEC)-CASP8 通路以及 STAT3-GSDMD-CASP4/5 通路共同参与了细胞焦亡过程, 并对角质形成细胞的分化和增殖产生影响。基于此通路寻找出作用于细胞焦亡过程的化学药和中药, 为治疗银屑病提供新的解决方案。

关键词: 细胞焦亡; STAT3-CASP4/5 通路; 银屑病; 中医药; 生物信息学; 中药新药开发**中图分类号:** R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2023)24-8142-11**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.24.019

Construction of regulatory network of psoriasis cell pyroptosis gene induced by STAT3-CASP4/5 pathway and prediction of potential drugs

WANG Jia-yue, CHEN Zhao-xia, WANG Yan, ZHAO Jing-xia, DI Ting-ting, HU Xue-qing, QU Bao-quan, LI Ping

Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing Key Laboratory of TCM Clinical Basic Research on Psoriasis, Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100010, China

Abstract: **Objective** To analyze the expression patterns of pyroptosis-related genes in psoriasis based on the gene regulatory network (GRN) inference, and identify gene functions in the occurrence and development of psoriasis, so as to find potential therapeutic medicine candidates. **METHODS** NCBI Gene Expression Omnibus database was used to obtain a gene expression dataset of lesional and non-lesional samples from psoriasis patients. Subsequently, differentially expressed genes (DEGs) were screened out using the limma algorithm, and enrichment analysis was performed on the DEGs using WebGestalt. We collected the shared genes related to pyroptosis and psoriasis, and used GENIE3 to construct the upstream transcriptional regulation network of these shared genes. The HERB and

收稿日期: 2023-08-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82074435); 2022 年青年岐黄学者培养项目

作者简介: 王家悦 (1995—), 女, 在读博士研究生, 研究方向为中西医结合皮肤病学。E-mail: 2420335440@qq.com

*通信作者: 李 萍 (1965—), 女, 博士生导师, 研究员, 研究方向为银屑病的中医药治疗机制。E-mail: liping411@126.com

COREMINE databases was used to predict the western and traditional Chinese medicines (TCMs) that might interfere with the interaction mechanism of pyroptosis and psoriasis. **Results** The research findings indicate the involvement of 13 cell death genes, including cysteinase protease 4/5/8 (*CASP4/5/8*), in the intricate processes of programmed cell death regulation, protease activity modulation, endopeptidase activity regulation, and interleukin-1 β (IL-1 β) production during the pathogenesis of psoriasis. By identifying shared genes, we found that the transcription process of these genes was regulated by 54 transcription factors (TFs) including signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) and vitamin D receptor (VDR), involving a total of 64 transcriptional regulatory relationships. Among them, transcription factors VDR, calmodulin binding transcription activator 2 (CAMTA2) and zinc finger E-box binding homeobox 2 (ZEB2) may directly regulate the transcription process of *CASP8*, while transcription factors STAT3, basic leucine zipper ATF-like transcription factor 2 (BATF2) and prolactin regulatory element binding (PREB) may directly regulate the transcription process of *CASP4*, *CASP5*. In addition, we found that cyclosporine, methotrexate, and isotretinoin may reverse psoriasis symptoms by affecting the expression of *CASP4* and *CASP8* genes. Through the above studies, we have a deeper understanding of the expression patterns of pyroptosis-related genes in psoriasis, and revealed their role in the occurrence and development of psoriasis. In addition, we have proposed potential therapeutic approaches based on the prediction of pyroptosis gene targets in psoriasis. A total of 99 TCMs were identified, characterized by bitter, sweet, and pungent tastes. The medicinal properties primarily included cold, warm, and neutral attributes, while the liver, spleen and lung meridians were the main channels affected. These findings hold promise in providing novel insights and directions for the treatment of psoriasis. **Conclusion** We enriched the model of psoriasis pathogenesis, focusing on the pyroptosis regulation centered around STAT3. We identified that the STAT3-GSDMEC-CASP8 pathway regulated by VDR and ZEB2 transcription factors, as well as the STAT3-GSDMD-CASP4/5 pathway, collectively participate in the process of cell death. These pathways have an impact on the differentiation and proliferation of keratinocytes, and the pharmaceutical and herbal components targeting cell death provide new therapeutic solutions for treating psoriasis.

Key words: pyroptosis; STAT3-CASP4/5 pathway; psoriasis; traditional Chinese medicine; bioinformatics; development of new Chinese materia medica

银屑病是一种常见的自身免疫性疾病，其发病机制尚不完全清楚^[1]。目前普遍认为，银屑病的发病是由表皮角质形成细胞（keratinocyte, KC）与免疫细胞互作异常引起的自身炎症反应，导致皮肤受累。近年来，研究发现半胱氨酸蛋白酶-11（cysteine aspartate-specific proteinase-11, Caspase-11, *CASP-11*）促进了与细胞焦亡相关的银屑病的发展。对缺乏 *CASP-11* 的小鼠进行组织学和基因表达研究表明，*CASP-11* 的表达可以通过促进 KC 增殖、免疫细胞浸润和新血管生成来增强咪喹莫特诱导的银屑病症状，以支持该过程中异常增殖的 KC 的代谢需求^[2]。又有研究证实，*CASP-11* 可激活银屑病小鼠骨髓源性巨噬细胞中的炎症小体，焦孔素 D（gasdermin-D, *GSDMD*）作为炎性 *CASP* 的共同底物蛋白被切割释放其 N 端结构域，破坏细胞膜的功能，导致膜上孔隙形成，致使促炎细胞因子白细胞介素-1 β （interleukin-1 β , IL-1 β ）和 IL-18 的成熟和分泌并启动细胞焦亡^[3]。虽然这些证据表明，细胞焦亡过程是银屑病发病的途径之一，它们之间的联系是通过抑制 *CASP* 驱动细胞焦亡干预诱导的银屑病小鼠的病理症状来建立的，但是调控 *CASP* 基因表达进而诱发细胞焦亡过程转录机制尚不清晰。

因此，本研究采用基于基因调控网络的方法来识别与银屑病病理过程中细胞焦亡相关的基因进而揭示在银屑病的病理学中 *CASP* 诱发细胞焦亡上游调控机制。

在银屑病的西医治疗方法中，环孢素 A（cyclosporine A, CysA）作为一种高选择性免疫抑制剂用于控制严重的斑块型、脓疱型银屑病，效果明显^[4]。最近的研究表明，CysA 可以通过抑制线粒体渗透性过渡孔的开放来减少细胞焦亡的发生，提示 CysA 可能通过调控异常的细胞焦亡过程来治疗银屑病^[5]。此外，中药治疗银屑病的疗效确切，经临床实践及动物研究证明，中药在抑制炎症细胞浸润、抑制 KC 异常的增殖分化过程等方面具有明显优势^[6-8]，并有研究表明中药还可干预细胞焦亡的进程^[9-10]。本研究通过分析银屑病病患的基因表达数据构建 *CASP* 基因上游转录调控网络，通过整合临床知识和生物医疗数据库预测在银屑病发病过程中调节细胞焦亡基因表达的中西药物（研究流程见图 1），为银屑病的治疗提供新的研究方向。

1 材料与方法

1.1 数据收集

利用 NCBI 的基因表达 Omnibus 数据库(GEO)

获得银屑病患者皮损区和非皮损区样本的基因表达数据 (GSE109248)。使用 GEOquery 包 (2.66.0 版本) 从 GEO 数据库中下载 17 例银屑病样本 (GSM2935867~GSM2935883) 和 14 例健康皮肤对

照组样本 (GSM2935853~GSM2935866), 样本分布信息见图 2-a, 样本标准化情况见图 2-b。此外, 通过检索细胞焦亡相关文献报道^[11-14], 收集前期研究已鉴定出的 52 个细胞焦亡相关基因。

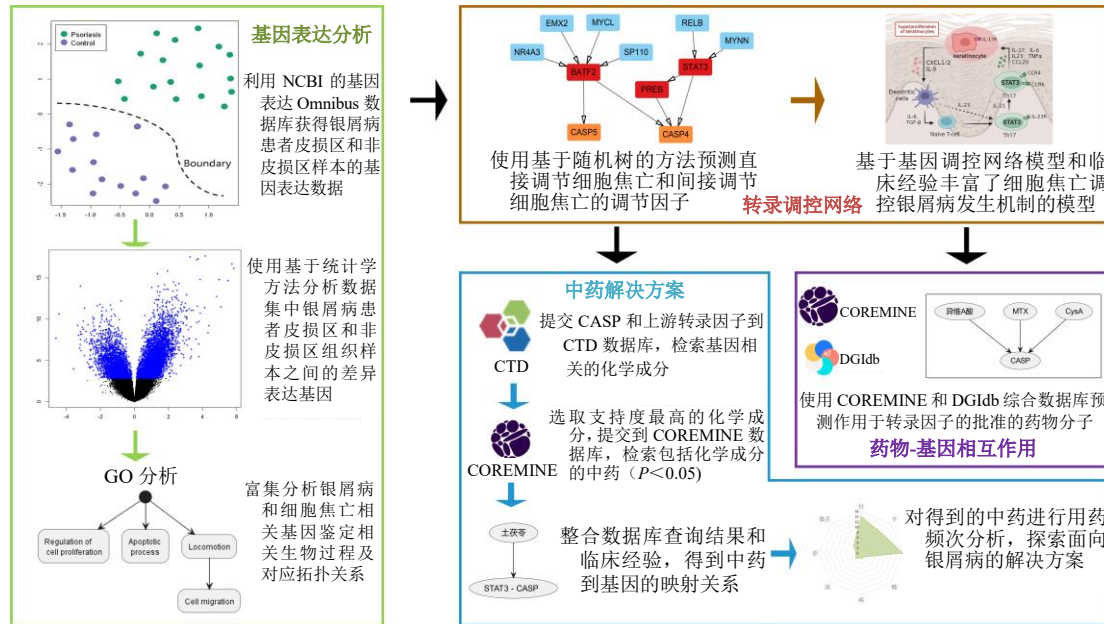
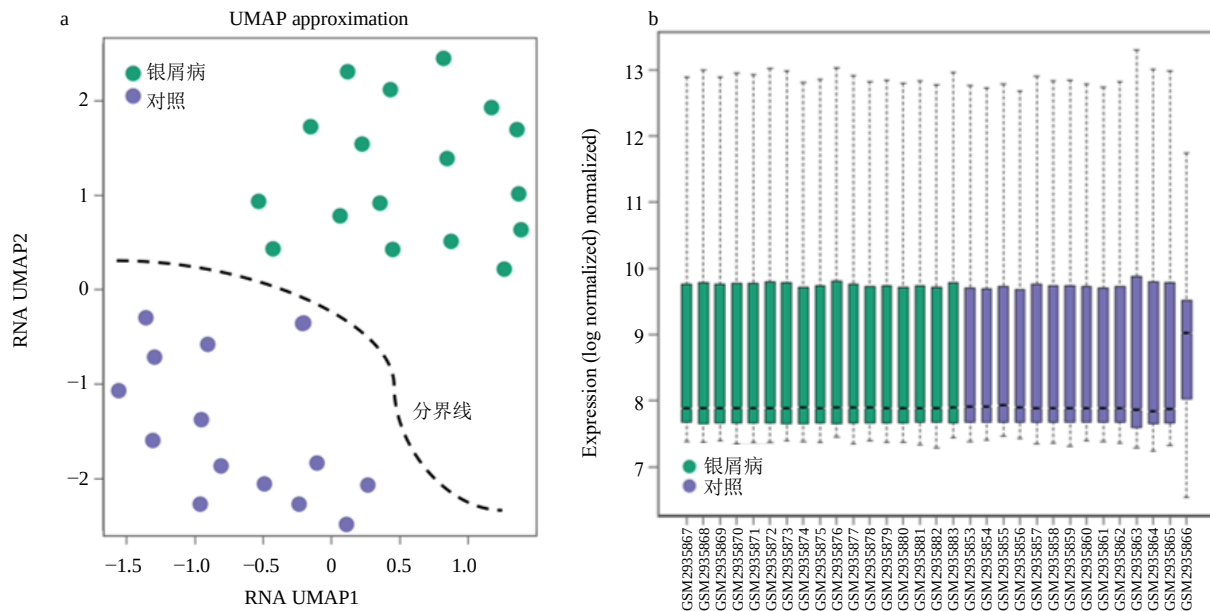


图 1 STAT3-CASP4/5 通路诱导银屑病细胞焦亡基因调控网络构建及潜在药物预测的研究流程

Fig. 1 Research process of constructing regulatory network for psoriatic cell pyroptosis gene induced by STAT3-CASP4/5 pathway and potential drug prediction



a-样本分布图 b-样本标准化情况箱式图

a-sample distribution diagram b-box diagram of sample standardization situation

图 2 银屑病皮损区和正常区皮肤组织样本分布

Fig. 2 Distribution of skin tissue samples from psoriasis lesions and normal areas

1.2 方法

1.2.1 银屑病差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs) 的分析和筛选 使用 R 语言 (4.2.2 版本) 在 Ubuntu 平台 (22.04 版本) 上进行数据分析。使用 Limma 包 (3.54.2 版本) 分析 GSE109248 数据集中银屑病患者皮损区和非皮损区组织样本之间的差异表达基因 (银屑病 DEGs), 筛选条件为 $P \leq 0.01$ 。使用 DrawVennDiagram (<http://bioinformatics.psb.ugent.be>) 工具绘制韦恩图鉴定比较银屑病 DEGs 和 52 个细胞凋亡 DEGs 相关基因的交集。

1.2.2 细胞焦亡银屑病 DEGs 基因本体 (gene ontology, GO) 富集分析 使用 WEB-based GENE SeT AnaLysis Toolkit (WebGestalt 2019) [15] 对银屑病和细胞焦亡相关基因进行富集分析, 筛选条件为 $P \leq 0.01$, 鉴定相关生物过程及对应拓扑关系。

1.2.3 构建转录调节网络 基于 Python (3.8.16 版本) 在 Ubuntu 平台 (22.04 版本) 上预测银屑病 DEGs 的转录调节关系网络。使用基于随机树基因相关性算法 GENIE3 [16] 预测银屑病 DEGs 的上游转录因子, 并提取相关性最高的 0.5% 调节关系。从预测的调节关系中, 分别提取直接调节细胞焦亡和间接调节细胞焦亡的调节因子并使用 Cytoscape 软件 (3.8.0 版本) 绘制预测的调节网络。

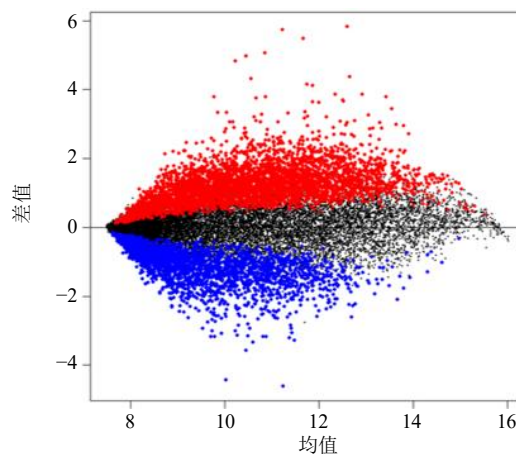
1.2.4 化学药筛选 使用 Coremine 综合数据库 (<https://coremine.com/medical/>) 和 DGIdb 综合数据库 (<https://www.DGIdb.org>) [17] 预测作用在核心基因 (Hub) 转录因子的批准的药物分子, 数据库包含 NCBIEntrez、DrugBank、PharmGKB 等临床试验数据及 PubMed 发表的工作内容。

1.2.5 中药筛选 将细胞焦亡过程和银屑病发病过程的交集基因及调节这些基因的转录因子提交至 CTD 综合数据库 (<https://ctdbase.org/>), 查找能够调控这些基因的化学成分, 选取 CTD 数据库中文献支持数较高的化学成分, 在 COREMINE 数据库 (<https://coremine.com/medical/>) 中寻找包含对应化学成分的中药。参考《中国药典》《中药大辞典》《中华本草》《中药学》等对这些中药进行性味归经和药物分类的统计分析。

2 结果

2.1 银屑病患者皮损区和非皮损区样本的基因表达分析

根据筛选结果显示, 共有 6408 个探针样本表现出差异表达, 且差异显著 (P 值为 0.01)。银屑病 DEGs 总计为 5172 个。结果见图 3。



红色-表达上调 黑色-表达不具备统计学差异 蓝色-表达下调
Red-up-regulated expression black-nostatistical difference in expression blue-down-regulated expression

图 3 银屑病 DEGs 均值-差异图

Fig. 3 Mean-difference plot of psoriasis DEGs

对银屑病 DEGs 进行富集分析, 发现其涉及多个生物过程, 具体见图 4。研究结果表明, 在皮肤病变区域中, 银屑病 DEGs 与细胞凋亡、细胞增殖、细胞迁移等生物过程密切相关, 这些过程异常状态下涉及 T 细胞、B 细胞、树突状细胞、巨噬细胞等免疫细胞的活化和功能异常。这些异常的免疫细胞活动往往伴随着银屑病的发生, 并导致病变区域出现角化不良、表皮屏障功能紊乱、炎症细胞浸润和鳞屑形成等病理特征。因此, 研究结果显示银屑病 DEGs 的差异表达与银屑病病程的发展密切相关。

2.2 银屑病相关细胞焦亡基因的筛选及其富集分析

为进一步探究细胞焦亡基因在银屑病发病过程中的作用, 比较 2 个生物过程涉及的表达基因, 发现了 13 个共同的 DEGs (图 5-a)。这些基因包括与细胞凋亡途径相关的半胱氨酸蛋白酶 5 (cysteine aspartate protease 5, *CASP5*)、*CASP4*、*CASP3*、*CASP9* 和 *CASP8* 基因; 与调节细胞内分泌途径和蛋白质分解途径相关的带电多囊体蛋白 6 (charged multivesicular body protein 6, *CHMP6*)、*CHMP2A* 和 *CHMP7* 基因; 与炎症途径相关的 *IL-1 β* 基因; 参与核苷酸结合寡聚化结构域 (nucleotide binding oligomerization domain containing, NOD) 样受体途径的 *NOD1* 和 *PYD* 和 *CARD* 结构域包含蛋白 (*PYD* and *CARD* domain containing, *PYCARD*) 基因; 与 B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 家族凋亡相关的 Bcl-2 相关 X 蛋白 (B-cell lymphoma-2

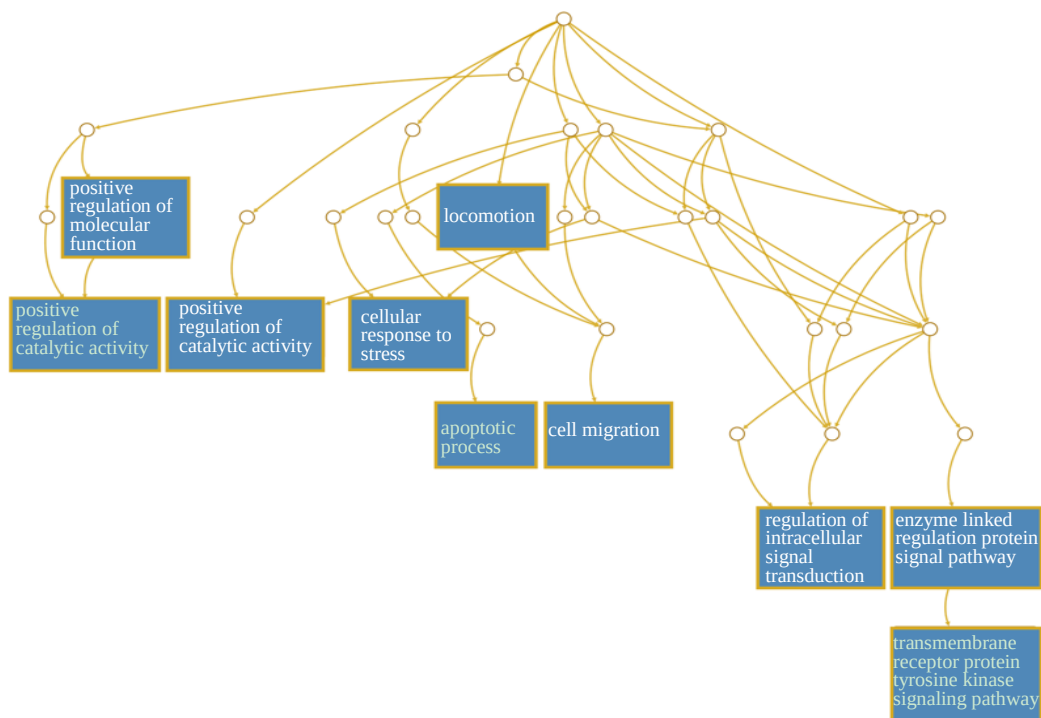
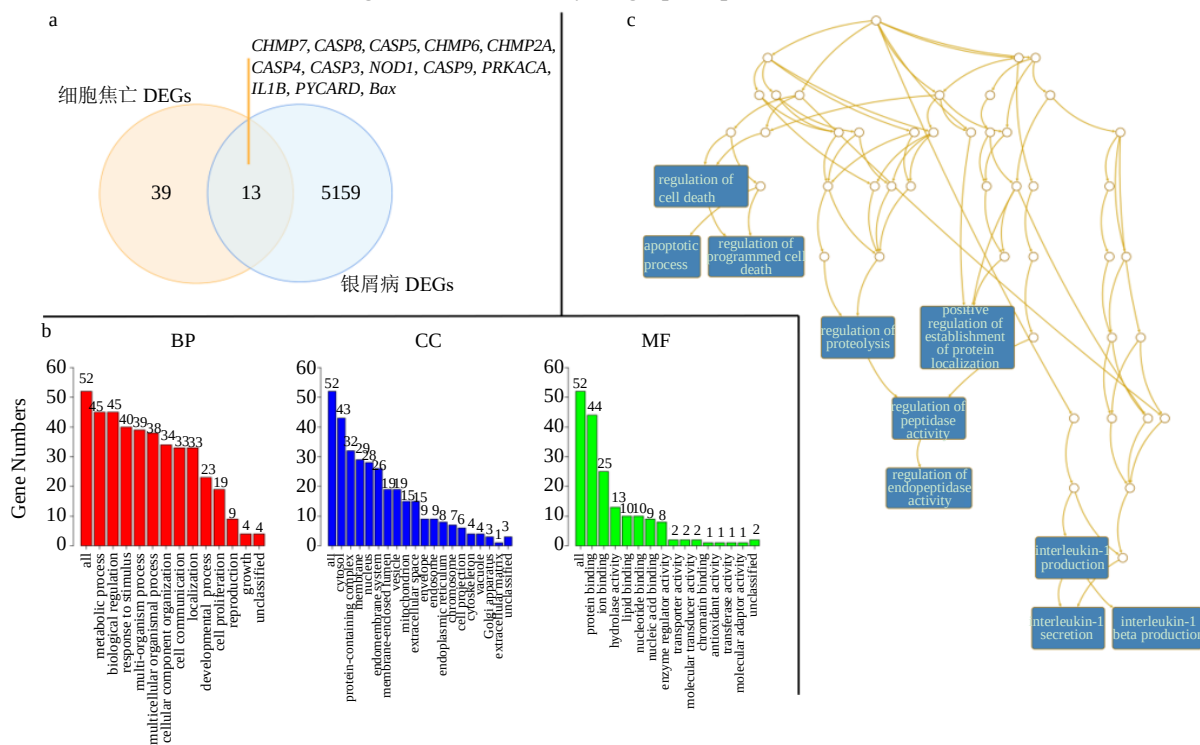


图 4 银屑病 DEGs 的有向无环图

Fig. 4 GO directed acyclic graph of psoriasis DEGs



a-细胞焦亡与银屑病 DEGs 的韦恩图 b-13 个基因涉及的生物过程 (BP)、细胞成分 (CC) 和分子功能 (MF) 条目 c-GO 分析有向无环结构图
a-venn diagram of pyroptosis DEGs and psoriasis DEGs b-13 genes involved in biological processes (BP), cell components (CC) and molecular functions (MF) item c-directed acyclic structure graph of GO analysis

图 5 银屑病相关细胞焦亡基因的筛选及其富集分析

Fig. 5 Screening and enrichment analysis of psoriasis related pyroptosis genes

associated X protein, Bax) 基因; 以及编码蛋白激酶 A 家族的 cAMP 依赖性蛋白激酶 α 催化亚基 (protein

kinase cAMP-activated catalytic subunit alpha, PRKACA) 基因, 基因名称如表 1 所示。

表 1 银屑病与细胞焦亡共同差异表达基因

Table 1 Differential expression genes of psoriasis and pyroptosis

序号	基因符号	基因名称
1	<i>CASP5</i>	半胱氨酸蛋白酶-5 (Caspase-5)
2	<i>CASP4</i>	半胱氨酸蛋白酶-4 (Caspase-4)
3	<i>CASP3</i>	半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3)
4	<i>CASP9</i>	半胱氨酸蛋白酶-9 (Caspase-9)
5	<i>CASP8</i>	半胱氨酸蛋白酶-8 (Caspase-8)
6	<i>CHMP6</i>	带电多泡体蛋白 6 (charged multivesicular body protein 6)
7	<i>CHMP2A</i>	带电多泡体蛋白 2a (charged multivesicular body protein 2a)
8	<i>CHMP7</i>	带电多泡体蛋白 7 (charged multivesicular body protein 7)
9	<i>IL1B</i>	白细胞介素 1β (interleukin-1 beta)
10	<i>NOD1</i>	核苷酸结合寡聚化结构域蛋白 1 (nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 1)
11	<i>PYCARD</i>	含有 CARD 的凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD)
12	<i>BAX</i>	Bcl-2 相关蛋白 X (Bcl-2-associated X protein)
13	<i>PRKACA</i>	cAMP 依赖性蛋白激酶催化亚基 α (cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit alpha)

进一步对筛选出来的 13 个共同的 DEGs 进行富集分析, GO 分析结果见图 5-b, GO 有向无环图结构见图 5-c。结果显示, 包括 *CASP4*、*CASP5*、*CASP8* 在内的细胞焦亡基因在银屑病中参与程序性细胞死亡的调节、蛋白酶活性的调节、内肽酶活性的调节、IL-1β 的产生等过程。进一步预测这些共同 DEGs 的上游转录调节机制, 以识别调控细胞焦亡生物过程和银屑病病理过程的关键转录因子, 进

而描绘 2 个生物过程交互的可能基因调控网络。

2.3 银屑病与细胞焦亡共同 DEGs 的上游转录调控网络

通过基因相关性分析, 筛选出 54 个转录因子调控 7 个细胞焦亡和银屑病共同 DEGs (*CHMP7*、*CASP8*、*CASP5*、*CHMP2A*、*CASP4*、*IL1B*、*BAX*), 共对应 64 个转录调控关系 (图 6)。预测的转录调控网络模型并不完全联通, 而是划分为 *CASP8* 调控

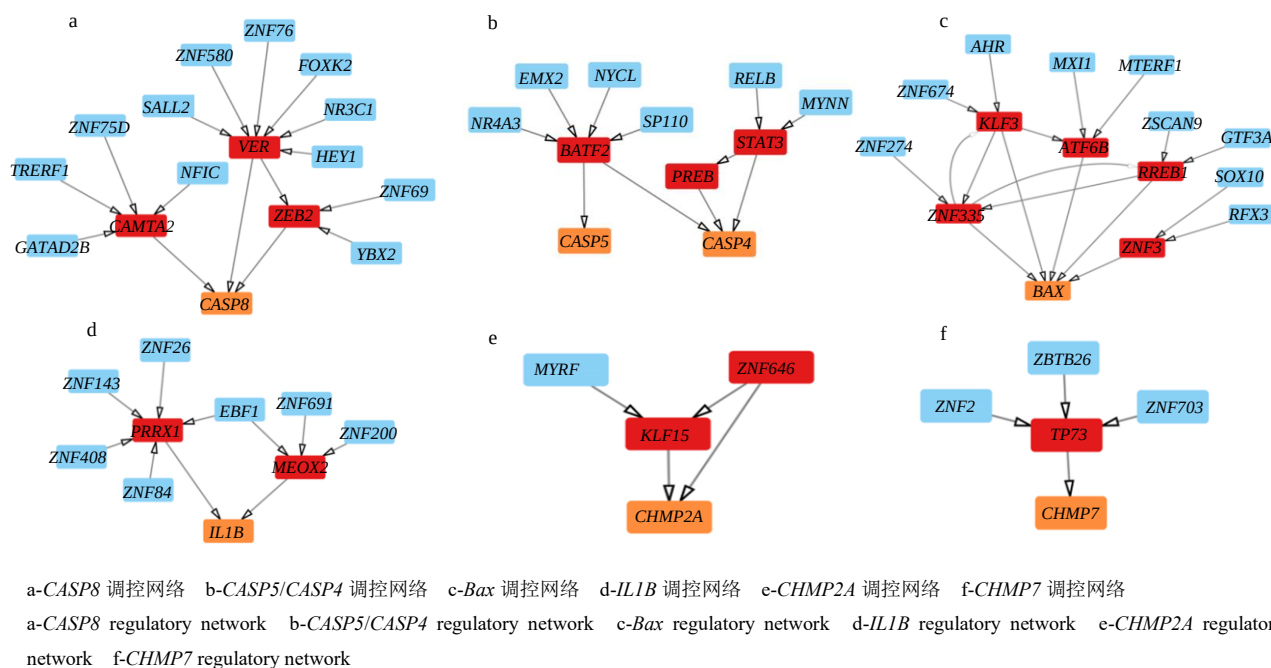


图 6 银屑病-细胞焦亡基因调控网络模型

Fig. 6 Regulatory network model of psoriasis-pyroptosis gene

网络(图 6-a)、*CASP5/CASP4* 调控网络(图 6-b)、*Bax* 调控网络(图 6-c)、*IL1B* 调控网络(图 6-d)、*CHMP2A* 调控网络(图 6-e)、*CHMP7* 调控网络(图 6-f) 6 个独立的上游转录调控网络。这可能意味着这些基因的表达机制在银屑病的发病过程中呈现出相互独立的模式。

研究发现与细胞焦亡过程和银屑病发病过程共同 DEGs(图 6 中以橘黄色标记)直接调节的转录因子(以红色标记)比间接调节的转录因子(以蓝色标记)具有更多的输入调节和输出调节关系,表明直接调节因子在调控网络中可能具有重要的功能。更具体地,对于在细胞焦亡过程中发挥重要作用的 *CASP* 基因,发现转录调节因子维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR)、钙调蛋白结合转录激活因子 2(calmodulin binding transcription activator 2, CAMTA2)和锌指 E 盒结合同源盒蛋白 2(zinc finger E-box binding homeobox 2, ZEB2)可能直接调节 *CASP8* 的转录过程;转录因子转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、碱性亮氨酸拉链 ATF 样转录因子 2(basic leucine zipper ATF-like transcription factor 2, BATF2)和催乳素调节元件结合蛋白(prolactin regulatory element binding, PREB)直接调节 *CASP4*、*CASP5* 的转录过程。根据以往研究,银屑病的发病机制之一涉及通过抑制 *CASP* 驱动力的细胞焦亡来干预诱导银屑病小鼠的病理症状^[2-3]。寻找的上游转录因子可能是通过调节细胞焦亡过程逆转银屑病症状的关键基因节点。此前本团队研究表明,在咪喹莫特诱导的银屑病样小鼠模型的皮损中,pSTAT3 表达明显上调。K5. STAT3C 转基因小鼠也表现出典型的银屑病样皮损改变。通过 STAT3 抑制剂或沉默干扰 RNA 阻断 STAT3 的激活,可以抑制模型的皮损发生。这些研究证明了 STAT3 在银屑病中的调节功能,并验证了本研究预测的包括 STAT3 在内的 *CASP* 基因上游转录调节因子,可能被用于寻找逆转银屑病病症的药物分子。随后将系统筛选作用于这些重要转录因子的药物分子,旨在寻找可能逆转异常细胞焦亡过程的治疗银屑病的方案。

2.4 药物-基因相互作用

为进一步探索寻找逆转银屑病病症的药物分子,在 COREMINE 数据库中搜索了作用于 *CASP* 基因的关键转录因子(包括 STAT3)的治疗药物。结果显示,与 STAT3 相互作用的药物有 151 个,与

VDR 相互作用的有 52 个,与 ZEB2 相互作用的有 31 个,与 BATF2 相互作用的有 11 个,与 PREB 相互作用的有 6 个,与 CAMTA2 相互作用的有 4 个($P=0.01$)。其中,CysA、MTX 和异维 A 酸与 VDR 和 STAT3 均有作用,表明这 3 种药物可能通过作用于包括 VDR 和 STAT3 在内的多个基因靶点来逆转银屑病症状。这些药物的银屑病调节功能可以通过 DGIdb 数据库得到验证。

进一步探索多靶向药物分子是否作用于其他 *CASP* 通路基因,发现这 3 种药物均调节 *CASP4* 和 *CASP8* 基因,而 CysA 还作用于 ZEB2 转录调节因子。在银屑病-细胞焦亡网络药物筛选结果中,CysA、MTX 和异维 A 酸这 3 种药物已被广泛应用于治疗银屑病和其他自身免疫性疾病。研究结果表明,这 3 种药物可能通过调节细胞焦亡过程中的 *CASP* 活性,在银屑病的治疗中发挥一定的作用。此外,本研究还进一步探索可能作用于 *CASP* 家族基因及其上游基因调节网络的中药。

2.5 基于银屑病-细胞焦亡基因网络的中药预测

为探索治疗银屑病的中医药解决方案,希望预测中药及其化学成分通过干扰细胞焦亡与银屑病的互作通路表达实现诊疗效果。为此,提交 *CASP* 及其直接的上游转录因子至 CTD 数据库,并检索对这些基因具有调控作用的化学成分。选择 CTD 数据库中文献支持度高的化学成分,将这些化学成分提交至 COREMINE 数据库检索含有这些化学成分的中药,选择具有显著统计学差异($P<0.05$)的中药。结果显示,99 味中药作用于 *CASP* 基因及其上游调节因子,其中 61 味中药作用于细胞焦亡与银屑病重叠基因 *CASP4*、*CASP5*、*CASP8*,66 味中药作用于转录调节因子 STAT3、VDR、ZEB2、CAMTA2、PREB 和 BATF2(表 2)。其中土茯苓、甘草、白花蛇舌草、白术、当归、茯苓、赤芍、地黄、牡丹皮、防风、茜草、黄芩、丹参、川芎、苍术、菟丝子、桂枝 17 味中药在本课题组的临床实践中得到广泛应用^[18]。这 17 味中药有 11 味归肝经,8 味归脾经,意味着肝经和脾经在银屑病和细胞焦亡过程中可能发挥重要作用。这与本课题组之前的研究结果相一致,研究发现通过咪喹莫特诱导的银屑病样小鼠在肝郁状态^[19]或脾虚状态^[20]下皮损严重程度尤为显著。这些发现不仅验证了基于基因网络模型寻找到的中药治疗方案,也为中医归经论治提供了新的思路。基于此,对发现的 99 味中药进行

表 2 作用于细胞焦亡与银屑病重叠互作的直接调节因子

Table 2 Direct regulator of overlapping interactions between pyroptosis and psoriasis

基因	化学成分（相互作用数）	代表中药（ $P<0.05$ ）
CASP4	arsenic trioxide（10）	附子、白花蛇舌草、姜黄、郁金、丹参、乳香
	bisphenol A（7）	菟丝子、石决明、芦根、马齿苋、莱菔子
CASP5	doxorubicin（3）	篇蓄、三七、姜黄、郁金、白及、旋覆花、黄芪、黄芩、丹参、豨莶草、麦冬、细辛、白花蛇舌草、天南星、火麻仁、防己、前胡
	lipopolysaccharides（3）	黄芩、人参、丹参、连翘、旋覆花、苏木、白术、五味子、桔梗、甘草、鱼腥草、桂枝、生姜、赤芍、防风、远志、桑枝、干姜、厚朴、紫苏叶、黄连、三七、木香、黄精、苦参、桑叶、栀子、红花、郁金、木通、姜黄、苍术、大黄、补骨脂、当归、仙鹤草、款冬花、山茱萸、秦皮、桑白皮、牡丹皮、淡竹叶
CASP8	arsenic trioxide（75）	附子、白花蛇舌草、姜黄、郁金、丹参、乳香
	doxorubicin（68）	篇蓄、黄芪、三七、莪术、郁金、白及、姜黄、旋覆花、黄芩、丹参、豨莶草、麦冬、细辛、木香、白花蛇舌草、天南星、火麻仁、防己、前胡、苏木
STAT3	resveratrol（86）	何首乌、虎杖、大黄、白果、牡丹皮、桑白皮、生姜、干姜、姜黄、桑叶、郁金、人参、红花、枸杞子、首乌藤、肉桂、射干、补骨脂、赤芍、黄连、石斛、半枝莲、茯苓、玳玳花、莪术、泽兰、川芎、黄芪、淫羊藿、薄荷、藁本、天花粉、土茯苓、厚朴、白及、当归、乌药
	tyrphostin B42（58）	茜草、高良姜、茵陈、柴胡、麻黄、白术、人参、地黄、葛根、五味子、西洋参
VDR	calcitriol（255）	女贞子、竹茹、竹叶
	lithocholic acid（90）	五味子、龙骨、牛黄、乳香
ZEB2	tetrachlorodibenzodioxin（8）	大青叶、板蓝根
	valproic acid（7）	钩藤、天麻
CAMTA2	bisphenol A（6）	菟丝子、石决明、芦根、马齿苋、莱菔子
	valproic acid（6）	钩藤、天麻
PREB	bisphenol A（5）	菟丝子、石决明、芦根、马齿苋、莱菔子
	tetrachlorodibenzodioxin（5）	大青叶、板蓝根
BATF2	pirinixic acid（3）	绞股蓝、红花
	1,2-dimethylhydrazine（2）	石斛、红花、枳实、生姜、干姜、菟丝子、薏苡仁、吴茱萸

性味归经统计，旨在进一步探索经络和细胞焦亡调节的银屑病发病过程的关系。

2.6 用药频次分析

为探索细胞焦亡调节的银屑病发病过程中的经络特点，根据《中国药典》《中药大辞典》《中华本草》《中药学》等药典书籍对被筛选出的中药进行统计，发现中药功能以清热药（20 次）、补虚药（16 次）为主；药味以苦（55 次）、辛（44 次）、甘（41 次）为主；药性以寒/微寒（38 次）、温/微温（32 次）、平（17 次）为主；归经以肝经（48 次）、肺经（43 次）为主，较多涉及脾经（38 次）、心经（37 次）、胃经（31 次），见图 7。用药频次结果与本课题组临床用药习惯一致，意味着肝经用药可能通过调节细

胞焦亡影响银屑病发病过程。同时，本研究结果也与近年来针对银屑病作为心身疾病的属性所提出的“从肝论治银屑病”的理论相一致。首都医科大学附属北京中医医院皮肤科采用清肝凉血解毒方作为从肝经论治银屑病的基础方，相关研究表明从肝经论治银屑病在治疗过程中表现出良好的疗效。此外，《素问·五脏生成篇》中提到“肺之合皮也，其荣毛也”的理论，说明肺在银屑病治疗中的重要地位。因此，归经属肝、肺和脾经的中药可能通过影响细胞焦亡过程影响银屑病病程。

3 讨论

抑制 CASP 驱动的角质形成细胞过度增殖是细胞焦亡过程调节银屑病发病的机制之一，但是对于

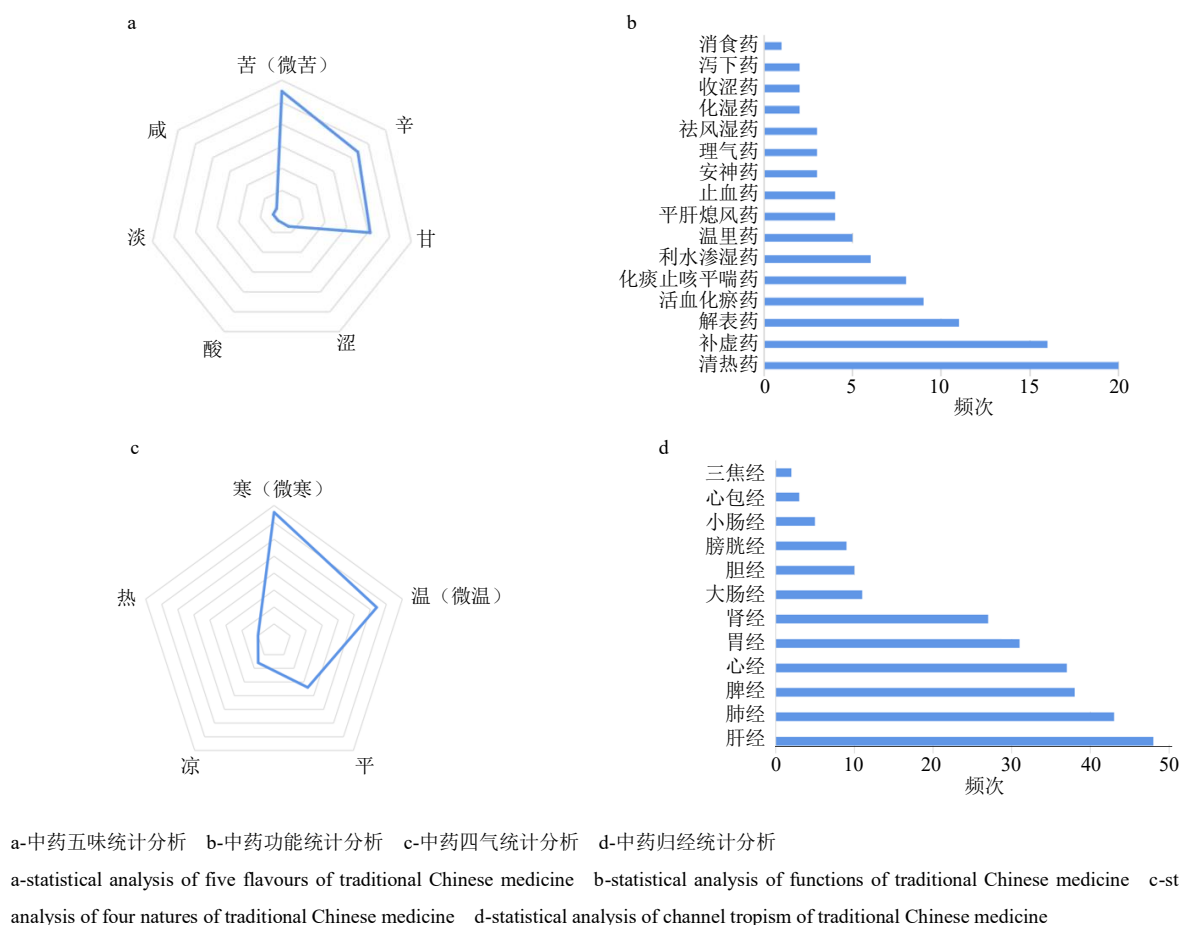


图 7 用药频次分析

Fig. 7 Analysis of medication frequency

发病过程中的 *CASP* 基因表达的上游转录调节研究尚且缺乏。通过对银屑病皮损组织和对照组织进行基因表达谱分析,发现包括 *CASP4*、*CASP5*、*CASP8*、*Bax*、*IL1B*、*CHMP2A* 以及 *CHMP7* 在内的 13 个基因参与细胞焦亡调节的银屑病发病过程,其中一些基因已被现有研究证实与细胞焦亡及银屑病相关。临床研究表明,细胞焦亡的特征是 KC 产生 *IL-1β*^[21],其在皮肤组织中的表达升高导致银屑病患者皮损区域脓疱和水肿现象增多^[22-23],并且在咪喹莫特诱导的小鼠体内也能观察到 *IL-1β* mRNA 表达增强^[24]。银屑病慢性期表皮 *CASP8* 的表达下调可介导 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) /核因子-κB (nuclear factor kappa B subunit, NF-κB) /aspase-1/*IL-1α* 信号通路,导致 S100 钙结合蛋白 A7 (S100 calcium binding protein A7, S100A7) 和 *IL-1α* 分泌增加;银屑病急性期 *CASP8* 表达下调可导致银屑病患者皮肤中抗菌肽 (antimicrobial peptides, AMPs) 的持续释放增加,有助于防御皮肤

感染^[25]。*CASP4*、*CASP5* 联合 *CASP11*、细菌脂多糖形成非经典炎症小体复合物,参与细胞膜破裂和裂解以及炎症因子如 *IL-18* 和 *IL-1β* 的释放过程,导致银屑病的发生和发展^[26]。此外,细胞焦亡相关的 *Bax* 基因高表达可抵抗银屑病皮损组织 KC 凋亡^[27],从而减轻银屑病的症状。这些研究验证了细胞焦亡可通过基因表达异常、多种细胞因子失衡和信号转导异常方面调控银屑病的发病进程。

基于计算重构的细胞焦亡过程和银屑病发生过程共同基因的上游转录调节网络,探索了可能的靶点基因。发现包括 *STAT3*、*VDR*、*KLF3*、*RREB1*、*ATF6B*、*ZEB2* 和 *KLF15* 等转录调节因子通过调控细胞焦亡过程影响银屑病的发生和发展。其中已有研究证实, *STAT3* 转录因子通过多个通路参与银屑病。具体而言, KC 增殖和激活过程中分泌的 C-X-C 模体趋化因子配体 (C-X-C motif chemokine ligand 1/2, CXCL1/2) 和 *IL-8* 对树突状细胞、T 细胞和巨噬细胞等免疫细胞的活

性产生刺激作用，并调节 IL-6、IL-8、IL-21、CCL20、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α) 等细胞因子的表达。本研究预测发现，STAT3 可能作为上游转录因子调节 *CASP4* 基因的表达进而影响细胞焦亡过程参与银屑病病程。此前的研究发现，*CASP4* 和 *CSAP5* 共同参与非经典炎症小体复合物的形成，通过激活 *GSDMD* 介导的细胞焦亡过程最终导致炎症因子的释放，促进 KC 增殖和角化异常^[13]。本研究不仅预测了 STAT3 参与了 *GSDMD* 相关信号通路，还发现 BATF2 和 PREB 以及 STAT3 3 个转录因子共同调节 *CASP4* 和 *CSAP5*，这意味着这些转录因子可能共同参与调控 *GSDMD* 的上游基因调控网络。本研究预测了一个崭新的机制，即 STAT3 通过调节 *CASP4* 和

CSAP5 下游通路参与调控 KC 的增殖和角化过程。另外，转录调节因子 VDR 通过降低细胞焦亡相关蛋白的表达来调节细胞焦亡的发生。VDR 激动剂可以显著减轻银屑病的症状和促进皮肤愈合，VDR 水平越低，银屑病的面积和严重程度指数 (PASI 评分) 越高。研究发现，在银屑病中 VDR 可以通过转录调节 *CASP8* 的表达，从而可能调节 STAT3-GSDMEC-CASP8 通路，进而影响角质形成细胞的分化和增殖。利用 COREMINE 综合数据库筛选了以 STAT3-CASP 通路为中心的化学药和中药的相关信息，发现 CysA、MTX 以及异维 A 酸可以作用于包括 STAT3、VDR 和 ZEB2 在内的转录调节因子，以及包括 *CASP4* 和 *CASP8* 在内的 Caspase 基因家族 (图 8)。

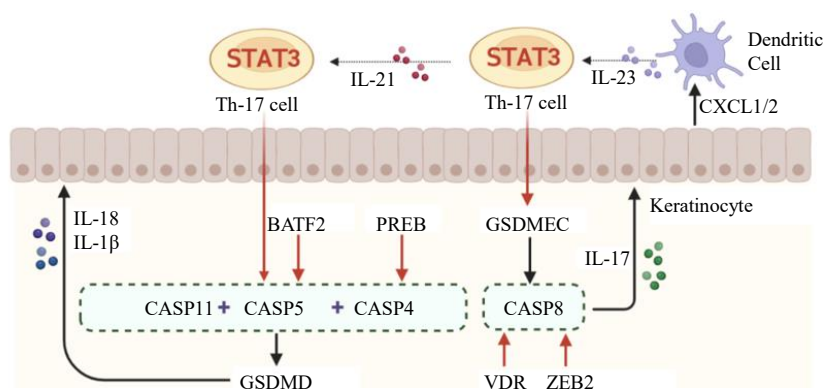


图 8 STAT3-CASP4/5 通路诱导银屑病细胞焦亡基因调控网络 (由 BioRender 网站绘制)

Fig. 8 Induction of psoriasis cell apoptosis gene regulatory network through STAT3-CASP4/5 pathway (created with BioRender.com)

为探索治疗银屑病的中医药解决方案，本研究使用 CTD 和 COREMONE 数据库获得 99 味以 STAT3-CASP 通路为潜在靶点的中药。其中清热药物的应用最为广泛，涉及清热血毒药和清热凉血药，这体现了银屑病的主要病机是以“毒”为首要致病因素，而“血分有热”是其核心病理机制。此外，99 味预测药物中有 17 味中药在临床上被应用于治疗银屑病，且主要归于肝、脾经。进一步统计预测药物的中药性味和归经，发现预测的中药药性以寒、温、平为主，药味多为苦、辛、甘，归经多属于肝经和肺经。尽管寒与温、苦与甘看似是相对的属性，但在治疗银屑病时并不矛盾。这是因为银屑病的病机主要是血热，而苦味药物具有清热泻火、凉血解毒的功效，因此临床上常用苦寒药物，如黄连、黄芩等。然而，由于银屑病病程长久，为了避免久服苦寒药物对中焦阳气的伤害，通常会配合甘温之品

以制衡，如甘草、白术等。因此，尽管寒与温、苦与甘看似是相对的，但当它们在配伍应用时，能够协同作用，相互制约，共同发挥治疗作用。将中医传统的宏观整体辨证理论，包括识证、选方和遣药，与基于基因和蛋白质的微观辨证相结合，使中医辨证更加精准化。这种结合为中医药的“守正创新”提供了新的途径。

4 结论

本研究探讨了参与细胞焦亡的基因在银屑病发病机制中的共同调控作用，构建了细胞焦亡在银屑病中差异表达的基因所涉及的信号通路网络，以及与网络中心节点存在相互作用的潜在中药治疗药物。本研究为后续研究细胞焦亡基因在银屑病发病过程中发挥的作用提供了崭新的分析解决方案，但就目前的研究现状来看，细胞焦亡基因的表达情况及机制仍未完全阐明，细胞焦亡基因在银屑病发病

过程中的作用仍需要进一步探索, 中医药能否直接调控细胞焦亡通路, 仍需要进一步进行大规模的基础实验验证和临床观察。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wroński A, Wójcik P. Impact of ROS-dependent lipid metabolism on psoriasis pathophysiology [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(20): 12137.
- [2] Kenealy S, Manils J, Raverdeau M, et al. Caspase-11-mediated cell death contributes to the pathogenesis of imiquimod-induced psoriasis [J]. *J Invest Dermatol*, 2019, 139(11): 2389-2393.e3.
- [3] Abu Khweek A, Amer A O. Pyroptotic and non-pyroptotic effector functions of caspase-11 [J]. *Immunol Rev*, 2020, 297(1): 39-52.
- [4] Walunj M, Doppalapudi S, Bulbake U, et al. Preparation, characterization, and *in vivo* evaluation of cyclosporine cationic liposomes for the treatment of psoriasis [J]. *J Liposome Res*, 2020, 30(1): 68-79.
- [5] Zhang W F, Li G C, Luo R J, et al. Cytosolic escape of mitochondrial DNA triggers cGAS-STING-NLRP3 axis-dependent nucleus pulposus cell pyroptosis [J]. *Exp Mol Med*, 2022, 54(2): 129-142.
- [6] 赵宁, 底婷婷, 王燕, 等. 健脾养血解毒方抑制咪喹莫特诱导的银屑病样皮损模型的炎症细胞浸润 [J]. 中国病理生理杂志, 2022, 38(9): 1618-1624.
- [7] 郭肖瑶, 底婷婷, 赵京霞, 等. 搜风顺气丸对咪喹莫特诱导的银屑病样小鼠 $\gamma \delta$ T17 的抑制作用 [J]. 首都医科大学学报, 2019, 40(6): 881-888.
- [8] 刘宇, 赵京霞, 王燕, 等. 养血解毒方对银屑病角质形成细胞紧密连接的调节作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(3): 62-70.
- [9] 栾飞, 彭利霞, 雷紫琴, 等. NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡与心肌缺血再灌注损伤的关系及中医药干预策略 [J]. 中药药理与临床, 2022, 38(4): 216-228.
- [10] 张道平, 姚昆鹏, 刘起立, 等. 基于生物信息学探讨肝癌相关细胞焦亡基因及潜在中药预测 [J]. 中草药, 2022, 53(23): 7467-7476.
- [11] Xia X J, Wang X, Cheng Z, et al. The role of pyroptosis in cancer: Pro-cancer or pro-host? [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(9): 650.
- [12] Shao W, Yang Z C, Fu Y, et al. The pyroptosis-related signature predicts prognosis and indicates immune microenvironment infiltration in gastric cancer [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 676485.
- [13] Ye Y, Dai Q J, Qi H B. A novel defined pyroptosis-related gene signature for predicting the prognosis of ovarian cancer [J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 71.
- [14] Liberzon A, Birger C, Thorvaldsdóttir H, et al. The molecular signatures database hallmark gene set collection [J]. *Cell Syst*, 2015, 1(6): 417-425.
- [15] Liao Y X, Wang J, Jaehnig E J, et al. WebGestalt 2019: Gene set analysis toolkit with revamped UIs and APIs [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W199-W205.
- [16] Huynh-Thu V A, Irrthum A, Wehenkel L, et al. Inferring regulatory networks from expression data using tree-based methods [J]. *PLoS One*, 2010, 5(9): e12776.
- [17] Freshour S L, Kiwala S, Cotto K C, et al. Integration of the Drug-Gene Interaction Database (DGIdb 4.0) with open crowdsource efforts [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D1144-D1151.
- [18] 胡雪晴, 赵京霞, 王燕, 等. 基于数据挖掘技术的中药复方治疗银屑病用药规律研究 [J]. 北京中医药, 2023, 42(2): 223-227.
- [19] 刘正荣, 王燕, 赵京霞, 等. 清肝凉血解毒汤对咪喹莫特诱导小鼠银屑病样模型皮损的干预作用 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(2): 274-278.
- [20] 底婷婷, 王燕, 赵京霞, 等. 脾虚加重咪喹莫特诱导的银屑病样皮损模型的炎症反应机制研究 [J]. 北京中医药, 2021, 40(8): 814-820.
- [21] Wagner R D, Johnson S J, Danielsen Z Y, et al. Polyethylene glycol-functionalized poly (lactic acid-co-glycolic acid) and graphene oxide nanoparticles induce pro-inflammatory and apoptotic responses in *Candida albicans*-infected vaginal epithelial cells [J]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0175250.
- [22] Ikeda S, Takahashi H, Suga Y, et al. Therapeutic depletion of myeloid lineage leukocytes in patients with generalized pustular psoriasis indicates a major role for neutrophils in the immunopathogenesis of psoriasis [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2013, 68(4): 609-617.
- [23] Ciężżyńska M, Olejniczak-Staruch I, Sobolewska-Sztychny D, et al. The role of NLRP1, NLRP3, and AIM2 inflammasomes in psoriasis: Review [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 5898.
- [24] Shou Y H, Yang L, Yang Y S, et al. Inhibition of keratinocyte ferroptosis suppresses psoriatic inflammation [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(11): 1009.
- [25] Bhatt T, Bhosale A, Bajantri B, et al. Sustained secretion of the antimicrobial peptide S100A7 is dependent on the downregulation of caspase-8 [J]. *Cell Rep*, 2019, 29(9): 2546-2555.
- [26] Jia H, Zhang K, Lu W J, et al. LncRNA MEG3 influences the proliferation and apoptosis of psoriasis epidermal cells by targeting miR-21/caspase-8 [J]. *BMC Mole Cell Biol*, 2019, 20: 1-13.
- [27] Zeng X, Zhao J, Wu X, et al. PageRank analysis reveals topologically expressed genes correspond to psoriasis and their functions are associated with apoptosis resistance [J]. *Mole Med Rep*, 2016, 13(5): 3969-3976.

[责任编辑 潘明佳]