

• 数据挖掘与循证医学 •

基于生物信息学分析活动期溃疡性结肠炎铜死亡相关基因及调控中药预测

高松林¹, 覃 雁¹, 张 鹏², 谢兰芳¹, 徐 哲¹, 梁 菲¹, 黄贵华^{3*}

1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530000

2. 柳州市中医医院, 广西 柳州 545000

3. 广西中医药大学第一附属医院, 广西 南宁 530000

摘要: **目的** 基于生物信息学探究铜死亡相关基因在活动期溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 中的表达及作用机制, 并筛选可对铜死亡相关基因起调控作用的中药。**方法** 从 GEO 数据库中获取活动期 UC 相关数据集; 以 GSE11223 数据集作为训练集提取差异表达的铜死亡相关基因 (differentially expressed cuproptosis-related genes, DECRGs), 分析 DECRGs 之间的相关性及 DECRGs 相关的免疫浸润和生物学功能。根据 DECRGs 的表达量对活动期 UC 患者进行共识聚类分型, 基于分型进行加权基因共表达网络分析 (weighted gene co-expression network analysis, WGCNA) 来识别核心基因。构建机器学习模型筛选活动期 UC 特征基因并验证其对活动期 UC 患病风险的预测能力。最后进行中药预测并通过中医传承计算平台 (V3.5) 统计中药的出现频次、性味归经和药物分类。**结果** 共获得 11 个 DECRGs, DECRGs 具有相互调控和免疫调节作用。共识聚类将活动期 UC 分为 2 个亚型, WGCNA 获得核心基因 234 个。机器学习模型预测人中胚层特异性转录基因 (mesoderm-specific transcript, *MEST*)、跨膜蛋白 98 (transmembrane protein 98, *TMEM98*)、晶状体蛋白 λ1 (crystallin lambda 1, *CRYL1*)、染色体 14 开放阅读框 (chromosome 14 open reading frame 147, *C14orf147*) 和跨膜蛋白 141 (transmembrane protein 141, *TMEM141*) 是活动性 UC 的特征基因。预测得到的中药四气以温、寒、平为主; 五味以苦、甘、辛为主; 归经以肝、脾经居多; 高频中药为白术、丹参、莪术、紫草等; 以清热药、补虚药和活血化痰药为主。**结论** 铜死亡在活动期 UC 的发生、发展和诊断中起重要作用。白术、丹参、莪术、紫草等高频中药可能通过调节铜死亡相关基因治疗活动期 UC, 可为活动期 UC 的临床治疗提供参考依据。

关键词: 溃疡性结肠炎; 铜死亡相关基因; 生物信息学; 免疫浸润; 中药预测; 白术; 丹参; 莪术; 紫草

中图分类号: Q811.4; R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)05-1627-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.05.021

Analysis of cuproptosis-related genes in active ulcerative colitis based on bioinformatics and prediction of regulatory traditional Chinese medicine

GAO Songlin¹, QIN Yan¹, ZHANG Peng², XIE Lanfang¹, XU Zhe¹, LIANG Fei¹, HUANG Guihua³

1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, China

2. Liuzhou Traditional Chinese Medicine Hospital, Liuzhou 545000, China

3. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, China

Abstract: Objective To explore the expression and mechanism of cuproptosis-related genes in active ulcerative colitis (UC) based on bioinformatics, and to screen traditional Chinese medicine with function of regulateing cuproptosis-related genes. **Methods** Data sets related to active UC were obtained from Gene Expression Omnibus (GEO) database. Using GSE11223 datasets set as training set, differentially expressed cuproptosis-related genes (DECRGs) were extracted. The correlation between DECRGs and the immune infiltration and biological function of DECRGs were analyzed. According to the expression of DECRGs, active UC patients were

收稿日期: 2023-10-17

基金项目: 广西科技基地和人才专项 (桂科 AD19245168); 广西研究生教育创新计划项目 (YCBZ2023148); 国医大师黄瑾明学术思想与临床诊疗传承发展研究中心建设项目 (桂中医大党 [2022] 24 号); 国家中医药管理局第七批全国老中医药专家学术经验继承工作项目 (国中医药人教函 [2022] 76 号); 黄贵华桂派中医大师培养项目 (桂中医药科教发 [2022] 6 号); 黄贵华广西名中医传承工作室项目 (桂卫中医发 [2017] 2 号)

作者简介: 高松林 (1998—), 博士研究生, 研究方向为中医药治疗脾胃病的研究。E-mail: 1115308402@qq.com

***通信作者:** 黄贵华, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为中医药治疗脾胃病的研究。E-mail: hgh8828@163.com

classified by consensus clusters, and the core genes were identified by weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) based on the classification. Machine-learning models were constructed to screen genes most related to the characteristics of active UC. Then, the predictive ability of these genes for the risk of active UC was tested. Finally, the prediction of traditional Chinese medicine was carried out and the frequency, nature, flavors and channel entry and function classification of traditional Chinese medicine were counted through the Traditional Chinese Medicine Inheritance Computer System (V3.5). **Results** A total of 11 DECRGs were obtained, and DECRGs had the function of mutual regulation and immune regulation. Consensus clusters divided active UC patients into two isoforms. A total of 234 core genes were obtained by WGCNA. The machine-learning model predicted that mesoderm-specific transcript (*MEST*), transmembrane protein 98 (*TMEM98*), crystallin lambda 1 (*CRYL1*), chromosome 14 open reading frame 147 (*C14orf147*) and transmembrane protein 141 (*TMEM141*) were the most relevant genes for active UC. The prediction results of traditional Chinese medicine showed that the nature and flavors were mainly warm, cold, peaceful, bitter, sweet and pungent, and channel entry was mostly liver and spleen. The high-frequency traditional Chinese medicines are Baizhu (*Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*), Danshen (*Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*), Ezhu (*Curcumae Rhizoma*) and Zicao (*Arnebiae Radix*). The categories were mainly clearing heat herbs, deficiency supplementing herbs, and blood invigorating and stasis dissolving herbs. **Conclusion** Cuproptosis plays an important role in the occurrence, development and diagnosis of active UC. *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, *Curcumae Rhizoma*, *Arnebiae Radix* and other high-frequency traditional Chinese medicines may treat active UC by regulating cuproptosis-associated genes, which can provide reference for the clinical treatment of active UC.

Key words: ulcerative colitis; cuproptosis-related genes; bioinformatics; immune infiltration; traditional Chinese medicine prediction; *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*; *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*; *Curcumae Rhizoma*; *Arnebiae Radix*

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种以结肠、直肠炎症为特征的慢性非特异性炎症性疾病^[1]。UC 是炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 的一种, 在过去的 30 年里, IBD 在我国的年发病率逐渐上升, 达到 3.01/10 万, 年患病率为 47.06/10 万^[2]。2023 年全世界 UC 的患病率估计为 500 万例, 并且发病率呈上升趋势^[3]。UC 根据内镜下表现和临床症状可分为活动期和缓解期, 活动期 UC 患者常有腹痛、腹泻、黏液脓血便等典型临床症状, 是临床治疗的重点和难点^[4]。UC 是结直肠癌的高风险致病因素之一, UC 患者发生结直肠癌的风险是普通人群的 2~3 倍^[5-6]。目前, 活动期 UC 的治疗方案旨在调节免疫系统和肠道炎症以缓解症状, 主要使用柳氮磺吡啶、糖皮质激素、免疫抑制剂和其他生物制剂进行治疗, 但是疗效有限、副作用明显、复发率高或价格昂贵^[7-10]。因此, 迫切需要发现新的、更安全的和更有效的药物。

铜是维持人体健康的重要微量元素, 细胞内铜浓度保持在一个相对较低的范围内, 适度增加可引起细胞毒性, 甚至导致细胞死亡^[11-12]。铜死亡是一种由铜过量引发的新型细胞死亡方式, 在这个过程中铜离子直接与线粒体呼吸中三羧酸循环中的脂肪酰化组分结合, 导致脂肪酰化蛋白聚集和铁硫簇蛋白丢失, 引起蛋白质毒性应激, 最终导致细胞死亡^[13]。UC 患者中血清铜较正常人明显升高^[14]。铜代谢中含结构域 Murr1 蛋白 (copper metabolism

Murr1 domain, COMMD) 1 是 COMMD 蛋白家族中第 1 个确定的成员, 对铜稳态起着重要的作用, COMMD1 的缺失会导致肝细胞铜累积^[15-16]。COMMD1 的表达或功能降低可能与 UC 的发病机制有关^[17]。COMMD1 是核因子- κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 的负性调节因子, 在控制肠道炎症和抑制结肠炎相关癌症的进展方面具有重要作用^[18]。多篇研究报道铜死亡在类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、银屑病等多种免疫系统疾病中发挥着重要的作用, UC 与这些疾病具有类似的发病机制^[19-22]。目前尚缺乏活动期 UC 中铜死亡相关的研究, 本研究通过生物信息学方法探讨活动期 UC 中铜死亡相关基因的潜在调控机制和诊断生物标志物, 并预测可以通过调节铜死亡治疗活动期 UC 的中药, 旨在为活动期 UC 的诊断和个性化治疗提供新思路。

1 方法

1.1 数据来源和预处理

从 GEO 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>) 下载活动期 UC 的表达数据集 (GSE11223、GSE87466、GSE87473 和 GSE92415)。GSE11223 数据集有 132 个结肠样本, 包括 63 例活动期 UC 患者样本和 69 例健康受试者样本 (对照), 作为训练集。GSE87466 和 GSE92415 数据集均有 87 例活动期 UC 患者样本和 21 例健康受试者样本, GSE87473 有 106 例活动期 UC 患者样本和 21 例健康受试者

样本，三者作为验证集。使用“limma”R 包对 GSE11223、GSE87466、GSE87473 和 GSE92415 数据集中的数据进行标准化处理，包括注释和校正。从已发表的文献中获取与铜死亡相关的基因 (cuproptosis-related genes, CRG)，获得了 19 个基因^[23-25]。技术路线流程如图 1 所示。

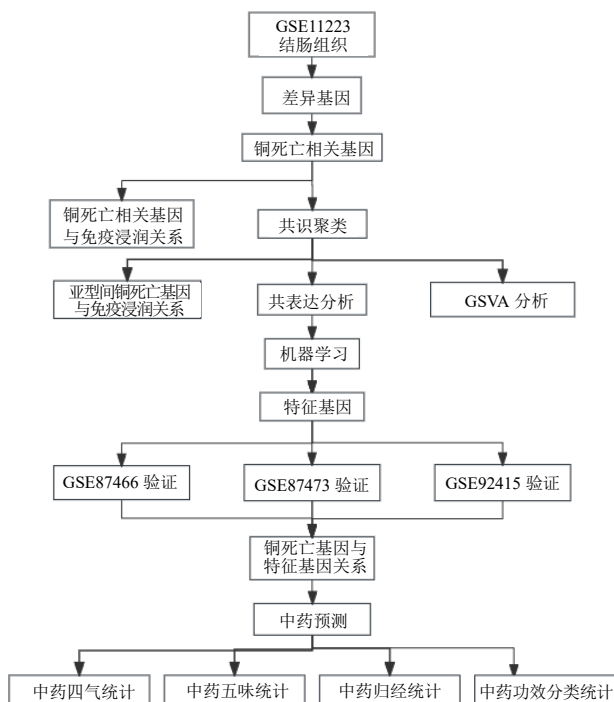


图 1 技术路线流程

Fig. 1 Technical route flow

1.2 铜死亡基因的表达分析

以 $P < 0.05$ 为筛选条件，运用“limma”R 包和 Wilcoxon 检验分析 GSE11223 数据集中活动期 UC 和对照组中差异表达的铜死亡相关基因 (differentially expressed cuproptosis-related genes, DECRGs)。运用“pheatmap”和“ggpubr”R 包对结果进行可视化。为了解铜死亡基因调节因子之间的相关性，运用“corrplot”和“circlize”R 包对 DECRGs 进行相关性分析并展示。

1.3 DECRGs 的免疫细胞浸润分析

运用 CIBERSORT 算法计算活动期 UC 组和对照组中的免疫细胞浸润程度， $P < 0.05$ 表示具有统计学意义，应用“ggpubr”R 包构建箱线图。应用“limma”和“corrplot”R 包分析 DECRGs 和免疫细胞之间的相关性，并运用“ggplot2”R 包绘制相关性热图。

1.4 共识聚类

“ConsensusClusterPlus”软件包用于计算无监督聚类的数量及其稳定性^[26]。为了分析活动期 UC 患者中与 DECRGs 相关的潜在亚型，根据 DECRGs 的表达量运用“ConsensusClusterPlus”R 包进行无监督共识聚类分析，使用 k-means 算法将 63 个活动期 UC 样本分类为集群， k 值定义为从 1 到 9 以生成不同的子类型。通过判断不同 k 值下的共识聚类、矩阵累积分布函数 (uniform clustering cumulative distribution function, CDF) 曲线和一致性聚类得分，得到最可靠的聚类分析结果。使用主成分分析 (principal component analysis, PCA) 对分型的结果进行评估，使用 R 包“ggpubr”比较不同亚型中 DECRGs 的基因表达谱， $P < 0.05$ 代表具有显著性，运用 R 包作图进行可视化。

1.5 亚型间 DECRGs 相关免疫浸润分析和基因集变异分析 (gene set variation analysis, GSVA)

应用 CIBERSORT 算法和“limma”“reshape2”“ggpubr”等 R 包对不同亚型进行免疫浸润分析，比较不同亚型之间免疫细胞浸润的差异，并以热图和箱型图进行展示。

GSVA 是一种通过表达谱计算基因集富集的非参数、无监督方法，用于识别各种样本群体中生物过程和途径之间的差异^[27]。运用“GSVA”和“GSEABase”R 包进行 GSVA 富集分析，以阐明不同亚型之间基因富集集的差异。从 MSigDB 数据库下载“c2.cp.kegg.v7.4.symbols”文件，运用“limma”包比较不同亚型之间的 GSVA 评分来识别基因差异表达的途径， $P < 0.05$ 作为判断差异有统计学意义的标准。

1.6 加权基因共表达网络分析 (weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)

基于 DECRGs 分型后的基因表达文件，使用“WGCNA”R 包对活动期 UC 疾病基因表达矩阵中波动最大的前 25% 的基因进行 WGCNA，筛选分型后 GSE11223 数据集的核心模块和基因。使用 pickSoftThreshold 函数获得相邻函数中加权参数的最佳值，并用作后续网络构建的软阈值。随后建立加权邻接矩阵，并将其转换为拓扑重叠矩阵 (topological overlap matrix, TOM)，并通过基于 1-TOM 相异矩阵的分层聚类创建基因模块，找出模块间的相似性，将相关检验 P 值最小的模块确定为活动性 UC 分型基因的关键基因模块。

1.7 机器学习模型的构建和验证

结合“caret”“randomForest”“kernlab”“ggplot2”和“xgboost”R 包构建随机森林 (random forest, RF)、支持向量机 (support vector machine, SVM)、极限梯度上升 (eXtreme gradient boosting, XGB) 模型和广义线性模型 (generalized linear models, GLM) 4 种机器学习模型。提取了 WGCNA 中核心基因的表达量, 并用 4 种模型对结果进行了预测。通过绘制残差箱线图、累积残差分布图和接收器工作特性 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线来评价模型的准确性, 以确定最佳机器学习模型。对每个模型基因进行重要性评分, 筛选重要性排名前 5 的基因作为活动期 UC 疾病的特征基因。

提取最佳机器学习模型中 5 个疾病特征基因的表达量, 使用“rms”和“rmda”R 包构建列线图对每个特征基因进行评分, 最后基于综合评分评估患者患病的概率。通过校准曲线评估预期概率和实际结果之间的一致程度, 使用决策曲线评估列线图的临床实用性和优势。根据最佳机器学习模型中疾病特征基因的表达量, 在 GSE87466、GSE87473 和 GSE92415 3 个数据集上进行验证, 绘制 ROC 曲线验证预测结果。

1.8 DECRGs 与疾病特征基因的相关性分析

运用“limma”“corrplot”和“circlize”R 包分析疾病特征基因和 DECRGs 之间的表达相关性。

1.9 中药预测

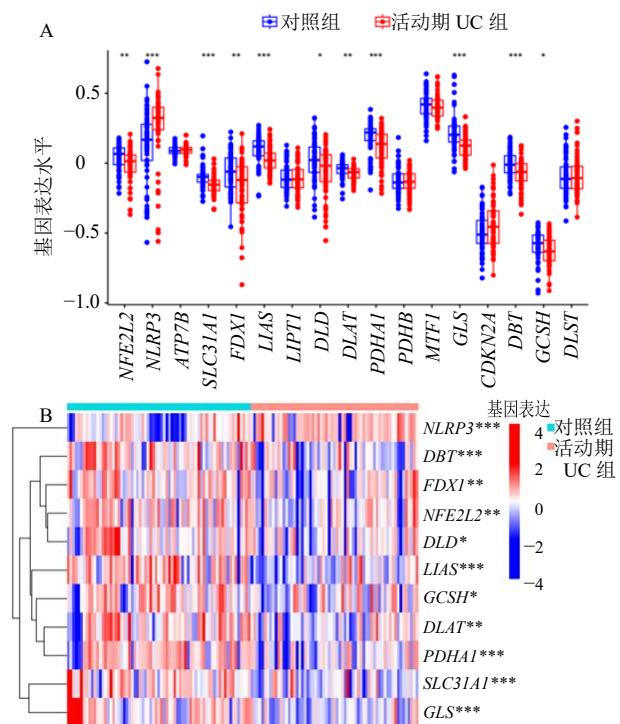
将 DECRGs 和活动期 UC 特征基因输入 Coremine Medical 数据库 (<https://www.coremine.com/>), 以 $P < 0.05$ 为阈值检索对应的中药。将检索到的中药根据《中国药典》2020 年版对中药名称进行规范化, 未收录的中药不进行统计, 再导入中医传承计算平台 (V3.5) 中进行分析。

2 结果

2.1 活动期 UC 铜死亡基因的表达分析

通过 Wilcoxon 检验确定活动期 UC 组中有 11 个 CRG 的表达与对照组中的表达差异显著。NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, *NLRP3*) 在活动期 UC 患者样本中显著上调, 而核转录因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-like-2, *NFE2L2*)、溶质载体家族 31 成员 1 (solute carrier family 31 member 1, *SLC31A1*)、铁氧还蛋白 1 (ferredoxin 1, *FDX1*)、硫辛酸合成酶 (lipoic acid

synthase, *LIAS*)、二氢硫辛酰胺脱氢酶 (dihydrolipoil dehydrogenase, *DLD*)、二氢硫辛酰转乙酰基酶 (dihydrolipoil acetyltransferase, *DLAT*)、丙酮酸脱氢酶 E1 $\alpha 1$ 亚基 (pyruvate dehydrogenase E1 subunit alpha 1, *PDHA1*)、谷氨酰胺酶 (glutaminase, *GLS*)、二氢硫辛胺支链转酰基酶 E2 (dihydrolipoamide branched chain transacylase E2, *DBT*) 和甘氨酸裂解系统 H 蛋白 (glycine cleavage system protein H, *GCSH*) 在活动期 UC 患者样本中显著下调 ($P < 0.05$) (图 2-A、B)。随后, 对这些基因进行了相关性分析发现 *PDHA1* 与 *LIAS*、*DLAT*、*DBT* 与 *PDHA1*、*DLD* 与 *GCSH*、*DLAT*、*PDHA1*、*DBT*、*NFE2L2* 与 *PDHA1*、*DBT*、*DLD*、*FDX1* 与 *DLAT*、*PDHA1*、*SLC31A1*、*DBT*、*DLD*、*NFE2L2* 呈显著的正相关 (图 3)。*NLRP3* 与其他基因呈负相关, 其中与 *DBT* 负相关性最显著。



A-活动期 UC 组和对照组之间 CRG 表达的差异; B-DECRGs 的表达热图, 红色和蓝色分别代表 CRG 的高表达和低表达, 颜色程度代表表达量的水平; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

A-difference of CRG expression between active UC group and control group; B-heat map of DECRGs, red and blue represent high and low expression of CRGs respectively, the degree of color represents the level of expression.; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

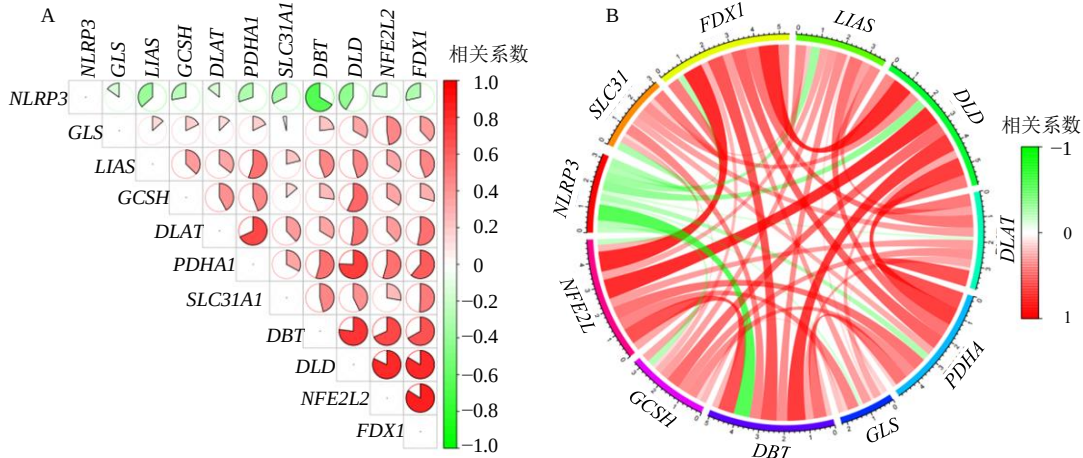
图 2 活动期 UC 中的 DECRGs

Fig. 2 DECRGs in active UC

2.2 免疫浸润分析

为了研究活动期 UC 的免疫微环境，使用

CIBERSORT 算法评估活动期 UC 组与对照组之间的免疫细胞浸润水平（图 4-A）。与对照组相比，活

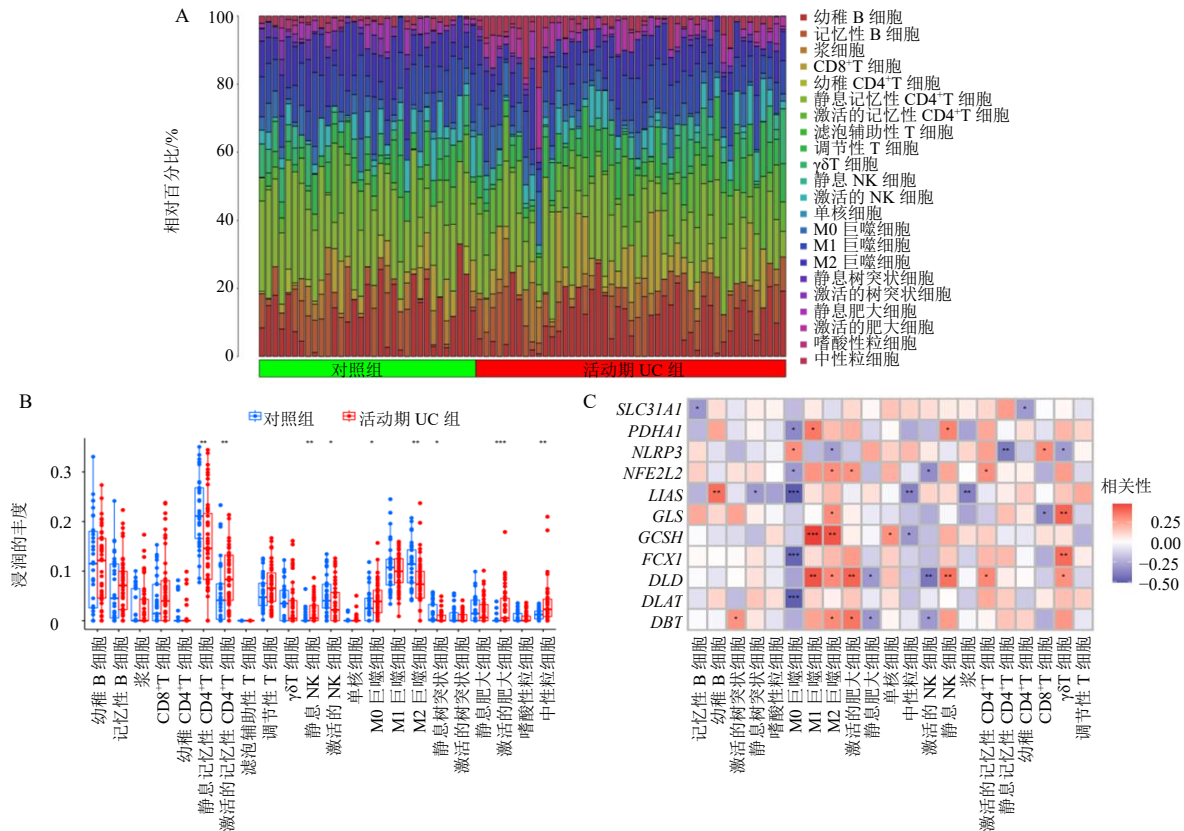


A-相关性扇形图；B-相关性圈图；红色和绿色分别表示正相关性和负相关性，颜色程度代表相关性的强弱。

A-sector chart of correlation analysis; B-circle chart of correlation analysis. Positive and negative correlations are represented by the colors red and green, respectively; The degree of color represents the strength of correlation.

图 3 DECRGs 间的相关性分析

Fig. 3 Correlation analysis of DECRGs



A-活动期 UC 组和对照组中 22 个免疫细胞的相对百分比；B-活动期 UC 组和对照组的免疫浸润差异性箱线图；C-DECRGs 与免疫细胞的相关性热图；* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

A-relative percentage of 22 immune cells in active UC group and normal group; B-box diagram of the difference of immune infiltration between active UC group and normal group; C-heat map of correlation of DECRGs and immune cells; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

图 4 DECRGs 免疫浸润相关性分析

Fig. 4 Correlation analysis of immune infiltration in DECRGs

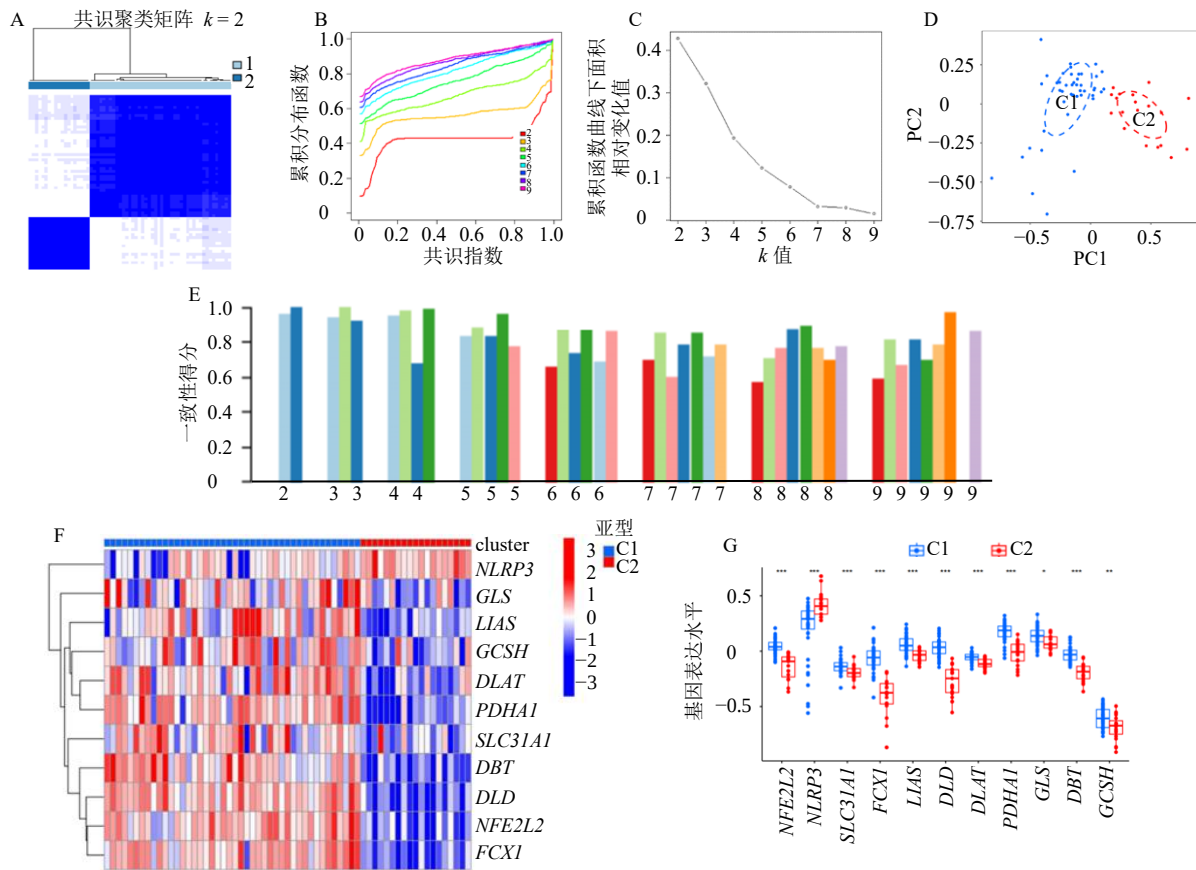
动期 UC 组激活的记忆性 CD4⁺T 细胞 (T cells CD4 memory activated)、静息 NK 细胞 (NK cells resting)、M0 巨噬细胞 (macrophages M0)、激活的肥大细胞 (dendritic cells activated) 和中性粒细胞 (neutrophils) 上调; 静息记忆性 CD4⁺T 细胞 (T cells CD4 memory resting)、激活的 NK 细胞 (NK cells activated)、M2 巨噬细胞 (macrophages M2)、激活的树突状细胞 (dendritic cells activated) 下调 (图 4-B)。

对免疫细胞与 *NLRP3*、*NFE2L2*、*SLC31A1*、*FDX1*、*LIAS*、*DLD*、*DLAT*、*PDHA1*、*GLS*、*DBT* 和 *GCSH* 进行相关性分析, 发现初始 B 细胞 (B cells naive) 与 *LIAS*, M1 巨噬细胞 (macrophages M1) 与 *DLD*、*GCSH*, M2 巨噬细胞与 *GCSH*, 激活的肥大细胞、静息 NK 细胞与 *DLD*, $\gamma\delta$ T 细胞 (T cells gamma delta) 与 *FDX1*、*GLS* 呈正相关; M0 巨噬细胞与 *DLAT*、*FDX1*、*LIAS*, 中性粒细胞与 *LIAS*, 激

活的 NK 细胞与 *DLD*, 浆细胞 (plasma cells) 与 *LIAS*, 静息记忆性 CD4⁺T 细胞与 *NLRP3* 呈负相关 ($P < 0.01$) (图 4-C)。

2.3 共识聚类分析

根据 DECRGs 的表达量对活动期 UC 患者进行共识聚类分型, 通过综合分析共识聚类、CDF 曲线和一致性聚类得分的结果发现, $k=2$ 时分类最佳 (图 5-A、B、C、E)。因此, 活动期 UC 组的 63 例患者被分为 C1 和 C2 2 个亚组。PCA 显示 C1 和 C2 样本之间具有明显的差异, 分类效果较好 (图 5-D)。图 5-F 显示了活动期 UC 组中 2 种亚型中 DECRGs 表达水平的热图。在 C1 和 C2 之间观察到不同的 CRG 表达谱, *NFE2L2*、*SLC31A1*、*FDX1*、*LIAS*、*DLD*、*DLAT*、*PDHA1*、*GLS*、*DBT* 和 *GCSH* 在 C1 中的表达高于 C2, *NLRP3* 在 C2 中的表达高于 C1 (图 5-G)。



A-当 $k=2$ 时, 共识聚类矩阵区分度最明显; B- $k=2\sim 9$ 时的 CDF 曲线; C- $k=2\sim 9$ 时 CDF 曲线的面积; D- $k=2$ 时, PCA 散点图; E-一致性聚类的得分; F-DECRGs 在各亚型表达热图; G-DECRGs 在各亚型表达箱线图; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

A-when $k=2$, the discrimination of consensus clustering matrix is the most obvious; B-CDF curve when $k=2\sim 9$; C-area of CDF curve when $k=2\sim 9$; D-when $k=2$, PCA scatter diagram; E-score of consistency clustering; F-heat map of expression of DECRGs in different subtypes; G-box diagram of DECRGs expression in each subtype; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$.

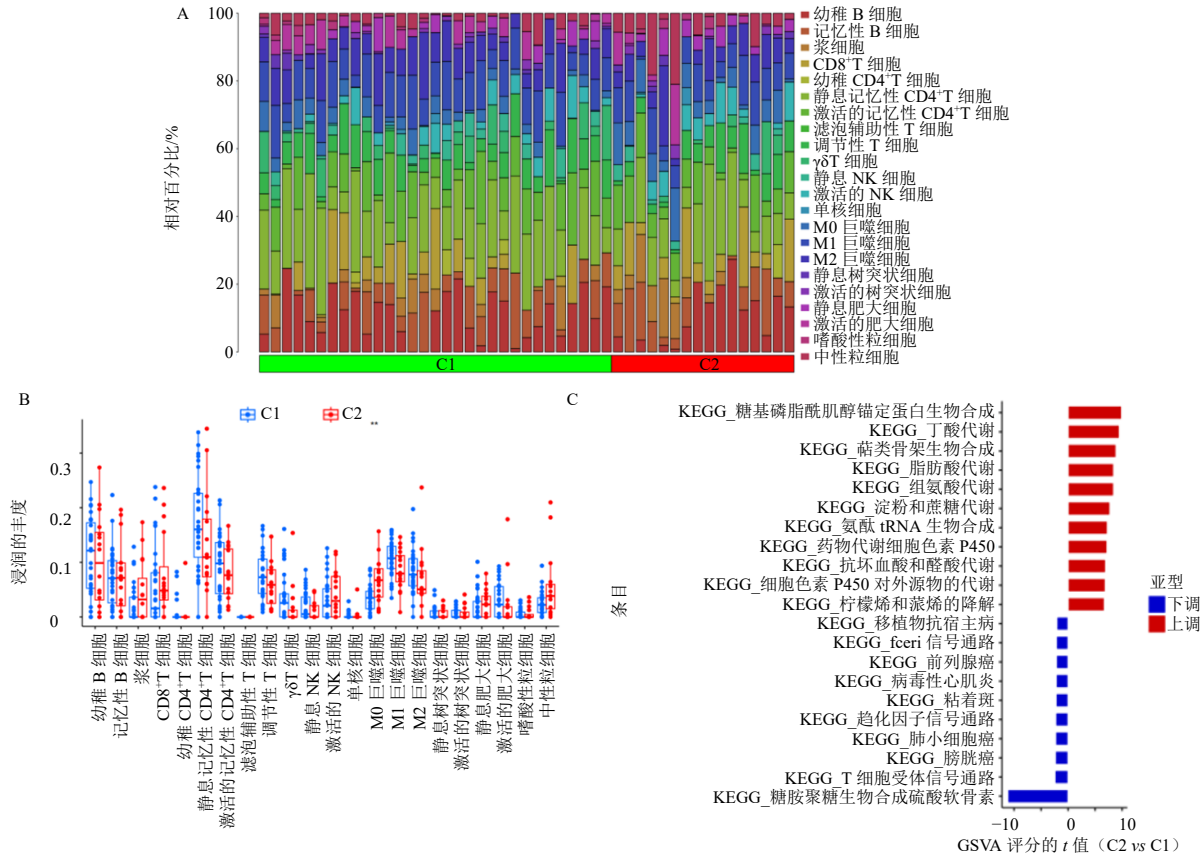
图 5 共识聚类分型情况

Fig. 5 Consensus clustering classification

2.4 亚型间 DECRGs 相关免疫浸润和 GSVA 分析

22 种免疫细胞在不同亚组之间的相对百分比见图 6-A。与 C1 相比，C2 中 M0 巨噬细胞数量更高（图 6-B）。GSVA 用于评估不同亚组之间的生物学功能差异，高亲和性免疫球蛋白 E 受体（high-

affinity immunoglobulin E receptor, FcεRI）信号通路、趋化因子信号通路、T 细胞受体信号通路等通路在 C1 亚组中上调。此外，丁酸代谢、萜类骨架的生物合成、脂肪酸代谢和组氨酸代谢等途径在 C2 亚组中上调（图 6-C）。



A-各亚型免疫浸润分析热图；B-各亚型免疫浸润分析箱线图（** $P < 0.01$ ）；C-GSVA 富集分析柱状图。

A-heat map of immuno infiltration analysis of each subtype; B-box diagram of immune infiltration analysis of each subtype (** $P < 0.01$); C-histogram of GSVA enrichment analysis.

图 6 亚型间 DECRGs 相关免疫浸润分析和 GSVA 分析

Fig. 6 Analysis of DECRGs related immune infiltration and GSVA among subtypes

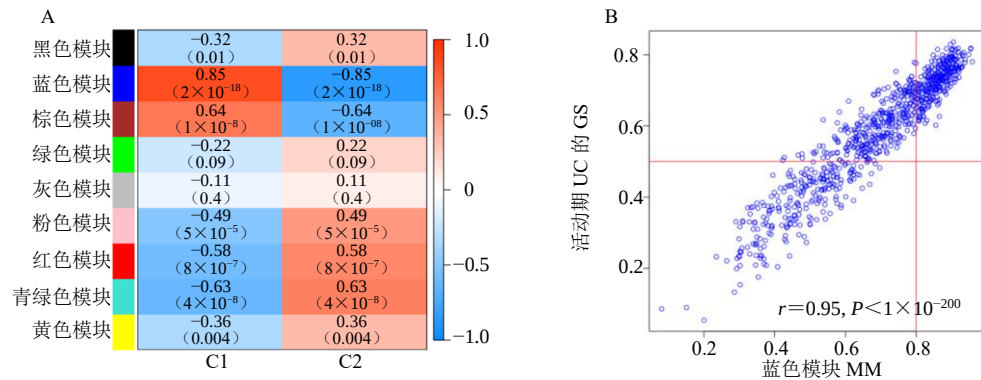
2.5 WGCNA

应用 WGCNA 算法根据活动期 UC 分型基因建立加权基因共表达网络，以识别与 DECRGs 聚类密切相关的关键基因模块。共有 9 个重要的共表达模块，蓝色模块与 C1 呈最强的正相关（相关系数 $r = 0.85$, $P = 2 \times 10^{-18}$ ），与 C2 呈最强的负相关（ $r = -0.85$, $P = 2 \times 10^{-18}$ ），见图 7。以“geneSig Filter = 0.5, moduleSig Filter = 0.8”为条件，经 Wilcoxon 检验且 $P < 0.05$ 表示有统计学意义，从蓝色模块筛选出 234 个核心基因。

2.6 机器学习模型的构建

为了进一步识别具有高诊断价值的关键标志物，

基于蓝色模块 234 个核心基因，建立了 4 个机器学习模型进行训练。从残差箱线图可以看出 GLM、XGB 和 SVM 的残差在 0~0.125，RF 的残差在 0.125~0.250（图 8-A）。从累积残差分布图得出的结论与上述结果一致（图 8-B）。ROC 曲线中 XGB 模型的曲线下面积为 0.911（图 8-C），大于 GLM、RF 和 SVM，故 XGB 模型是最佳机器学习模型。中胚层特异性转录基因（mesoderm-specific transcript, *MEST*）、跨膜蛋白 98（transmembrane protein 98, *TMEM98*）、晶状体蛋白 λ1（crystallin lambda 1, *CRYL1*）、染色体 14 开放阅读框（chromosome 14 open reading frame 147, *C14orf147*）和跨膜蛋白 141（transmembrane protein

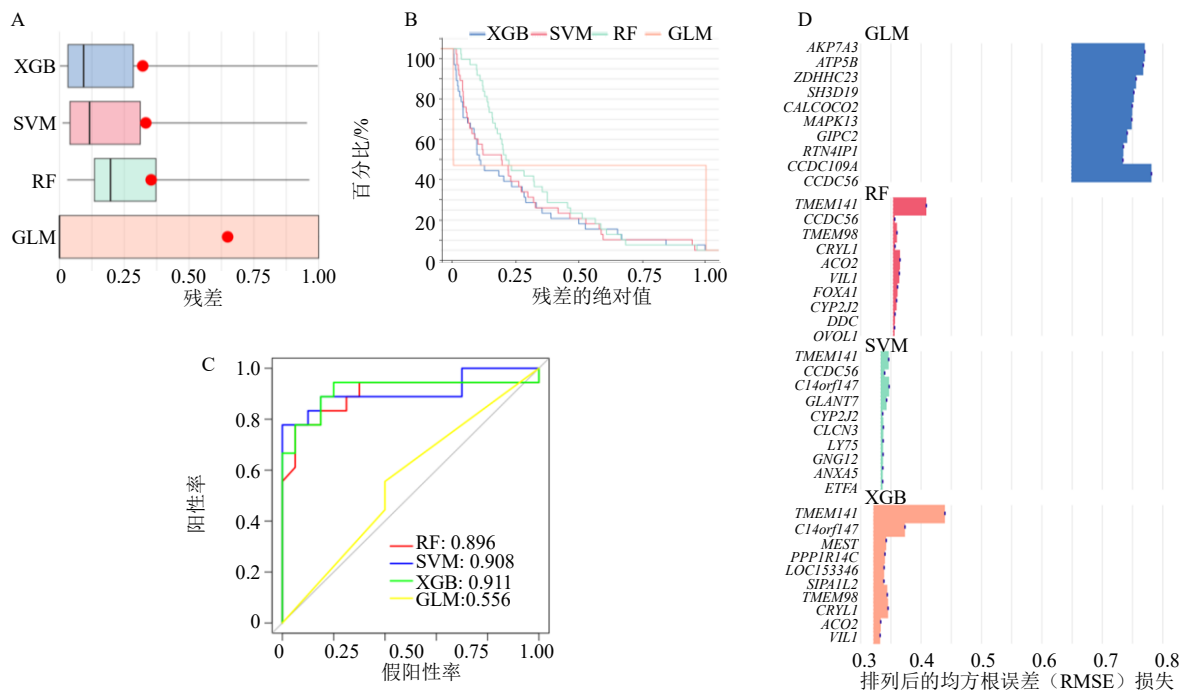


A-模块特征基因与活动期 UC 临床特征之间相关性的热图，每列表示临床状态，每行表示模块；B-蓝色模块的基因显著性 (GS) 与模块成员关系 (MM) 图。

A-heat map of correlation between modular characteristic genes and clinical features of active UC, each column denotes a clinical status, whereas each row denotes a module; B-gene significance (GS) and module membership (MM) of blue module.

图 7 分型 WGCNA 确定活动期 UC 相关模块和核心基因

Fig. 7 WGCNA of genotyping to determine active UC related modules and core genes



A-残差箱线图，红点表示残差的均方根误差；B-累积残差分布图；C-ROC 曲线；D-重要性得分最高的前 5 位基因。

A-box diagram of residuals, the root mean square error of the residuals is represented by the red dots; B-distribution of cumulative residuals; C-ROC curve;

D-the top five genes with the highest importance score.

图 8 活动期 UC 机器学习模型的构建

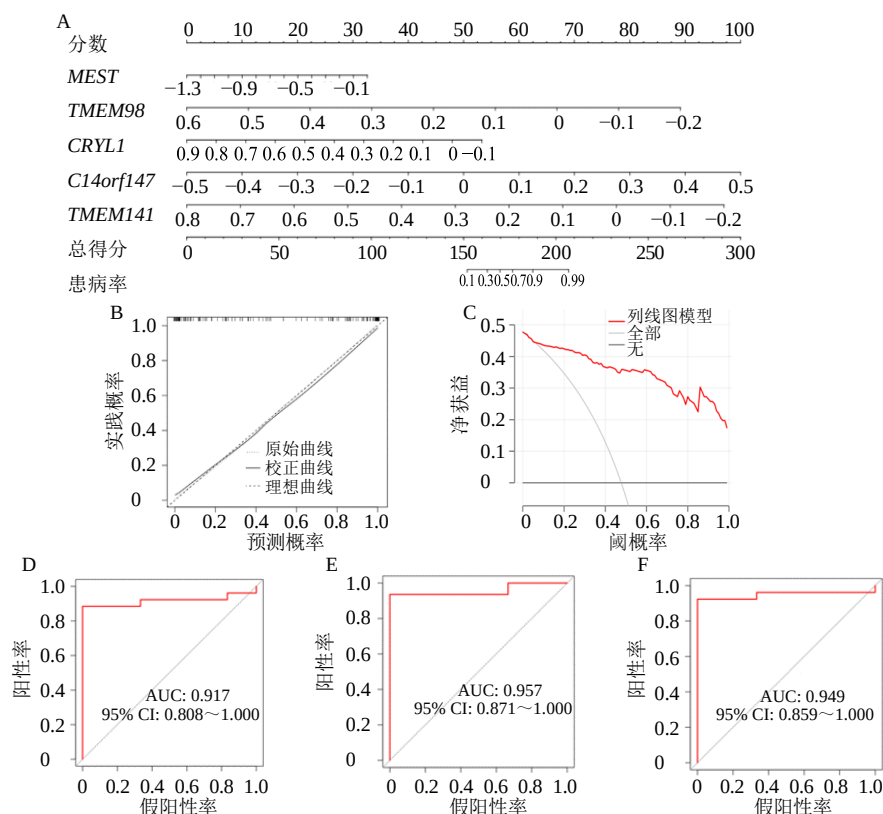
Fig. 8 Construction of active UC machine learning model

141, *TMEM141*) 是 XGB 模型中重要性得分最高的前 5 位基因 (图 8-D)。

2.7 机器学习模型的验证

选择 XGB 模型重要性得分最高的前 5 位基因作为疾病特征基因，并构建列线图以预测活动期

UC 的发病风险 (图 9-A)。校准曲线显示实线和虚线在图中彼此很接近，表明模型预测能力较好 (图 9-B)。决策曲线红线表示的模型远离全部 (all) 曲线，再次表明模型效果较好 (图 9-C)。以 3 个验证数据集 GSE87466、GSE87473 和 GSE92415 从外部



A-列线图模型; B-验证列线图精度的校正曲线图; C-验证列线图准确性的决策曲线图; D-GSE87466 数据集验证模型准确性; E-GSE87473 数据集验证模型准确性; F-GSE92415 数据集验证模型准确性。
A-nomograph model; B-calibration curve for verifying the accuracy of nomogram; C-decision curve for verifying the accuracy of nomogram; D-GSE87466 data set for validation of model accuracy; E-GSE87473 data set for validation of model accuracy; F-GSE92415 data set for validation of model accuracy.

图 9 活动期 UC 机器学习模型的验证

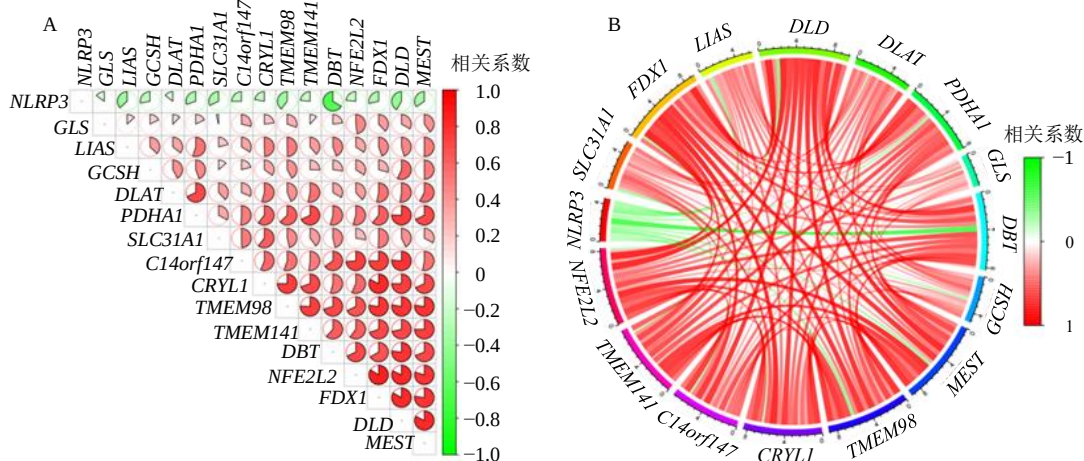
Fig. 9 Verification of machine learning model of active UC

来验证模型的预测能力, 结果发现模型的准确率可以达到 91.7%、95.7%和 94.9% (图 9-D~F)。

2.8 DECRGs 与疾病特征基因的相关性分析

相关性分析显示, *NLRP3* 与疾病特征基因

存在着较强的负相关性, 其他 DECRGs 中的 1 个或者多个基因与 5 个疾病特征基因有较强的正相关性, 它们之间可能存在着相互调控作用, 见图 10。



A-DECRGs 与疾病特征基因相关性分析扇形图; B-DECRGs 与疾病特征基因相关性分析圈图。
A-sector chart of correlation analysis between DECRGs and disease characteristic genes; B-circle chart of correlation analysis between DECRGs and disease characteristic genes.

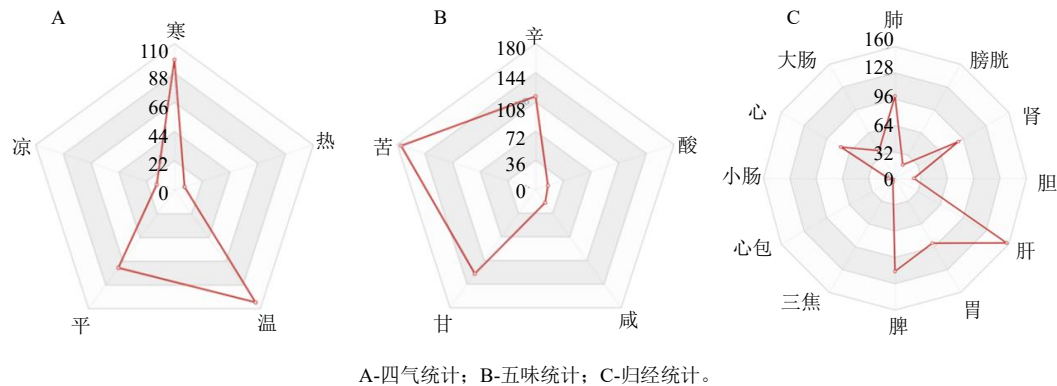
图 10 DECRGs 与 5 个疾病特征基因间的相关性分析

Fig. 10 Correlation analysis between DECRGs and five disease characteristic genes

2.9 中药预测结果

共筛选出 338 味中药，其中《中国药典》2020 年版收录 206 味药，根据中医传承计算平台（V3.5）对这 206 味药进行出现频次统计、四气五味、归经统计，根据第 10 版《中药学》进行功效类别统计。白术、丹参、莪术、紫草、桑叶、青风藤、桑枝均

出现在 3 个铜死亡基因中，可见其在调节铜死亡治疗活动期 UC 中发挥着重要的作用。四气以温、寒和平为主，五味以苦、甘、辛为主，主归肝、脾经、肺经和胃经次之（图 11）。中药功效以清热类、补虚类和活血化瘀类为主，清热类中以清热解毒药和清热燥湿最多（表 1）。



A-四气统计; B-五味统计; C-归经统计。
A-statistics of four *qi*; B-statistics of five flavor; C-statistics of meridian tropism.

图 11 中药的四气、五味和归经统计

Fig. 11 Statistics of four *qi*, five flavor and meridian tropism of traditional Chinese medicines

表 1 中药功效分类统计

Table 1 Classified statistics of efficacy of traditional Chinese medicines

序号	功效类别	药味数	频次	序号	功效类别	药味数	频次
1	清热类	37	55	10	止血类	9	13
2	补虚类	37	53	11	温里类	7	11
3	活血化瘀类	21	31	12	化湿类	5	8
4	解表类	13	21	13	平肝息风类	4	6
5	收涩类	13	20	14	安神类	4	6
6	化痰止咳平喘类	13	18	15	攻毒杀虫止痒类	4	5
7	利水渗湿类	11	14	16	泻下类	3	3
8	理气类	12	14	17	消食类	2	2
9	祛风湿类	9	14	18	驱虫类	2	2

3 讨论

UC 是一种炎症性肠病，近年来 UC 的发病率和患病率逐渐上升，给我国的医疗系统带来了重大的负担和挑战^[28-29]。然而，UC 确切的机制尚不清楚，多种因素参与了 UC 的发病机制，包括免疫反应紊乱、肠屏障损伤、遗传易感性、肠道生态失调和环境应激^[30-31]。UC 不易治愈，复发率高，与结肠癌的发生密切相关，虽然有许多药物可用于抑制结肠炎，但常规治疗具有一定的局限性和严重的不良反应^[32]。铜死亡参与多种免疫系统疾病的发生和进展^[33-34]，然而，目前尚缺乏铜死亡在活动期 UC 中

的研究。

本研究通过比较 CRG 在活动期 UC 组和对照组结肠中的表达，发现与正常人群相比，有 11 个 CRGs 在活动期 UC 结肠中的表达异常，活动期 UC 患者的 *NLRP3* 显著上调，其他的 DECRGs 均下调，表明 DECRGs 在活动期 UC 的发展中起重要作用。活动期 UC 患者和小鼠模型中均检测到 *NLRP3* 水平升高^[35-36]。Zhang 等^[37]通过对 56 例 UC 患者和 274 例对照组进行基因分型发现 rs10754558 和 rs10925019 在中国汉族人群中与 UC 的易感性显著相关，这表明 *NLRP3* 可能在 UC 的发病机制中起重

要作用。通过对这些基因进行了相关性分析发现活动期 UC 中 DECRGs 之间存在着显著的相关性, *NLRP3* 与其他 DECRGs 均呈负相关, 其中与 *DBT* 负相关性最显著。活动期 UC 和对照组之间的免疫细胞浸润结果显示, 活动期 UC 患者中激活的记忆性 CD4⁺T 细胞、静息 NK 细胞、M0 巨噬细胞、激活的肥大细胞和中性粒细胞上调, 与以往研究结果一致^[38-43]。同时, DECRGs 与免疫浸润细胞的相关性分析显示 M1 巨噬细胞与 *DLD*、*GCSH* 呈正相关, M0 巨噬细胞与 *DLAT*、*FDX1*、*LIAS* 呈显著的负相关, 这些结果表明 DECRGs 可能与活动期 UC 进展和免疫浸润有关。

此外, 基于 DECRGs 使用无监督聚类分析将 63 例活动期 UC 患者分为 2 个亚型, 以更好地了解 CRG 的表达模式。在不同的亚型中 DECRGs 的表达存在差异, 其中在 C2 亚型中 *NLRP3* 的表达高于 C1 亚型, 其他 DECRGs 的表达均低于 C1 亚型。*NLRP3* 是核苷酸结合域样受体家族的一员, 被激活后与凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC) 和效应分子半胱氨酸蛋白酶-1 前体 (pro-caspase-1) 组成 *NLRP3* 炎症小体^[44]。*NLRP3* 炎症小体是炎症反应系统的重要组成部分和肠道内稳态的重要调节因子, 其异常激活后通过释放炎症细胞因子、损伤肠上皮细胞、破坏肠黏膜屏障, 诱导参与 UC 的发生发展的炎症级联反应^[45-46]。*NFE2L2* 是一种重要的传感器蛋白, 可能通过调节促炎细胞因子和诱导 II 期解毒酶在预防 UC 方面发挥潜在的重要作用^[47]。*FDX1* 是铜离子载体诱导细胞死亡的关键调节因子, 也是细胞蛋白脂酰化的上游调节因子, 通过结合 *LIAS* 促进其与脂酰载体蛋白 *GCSH* 的功能性结合来直接调节蛋白质脂酰化^[48]。*FDX1* 表达与肿瘤细胞静止和炎症呈正相关, 与肿瘤侵袭呈负相关, *FDX1* 的高表达在抑制结肠肿瘤中起着至关重要的作用^[49]。*PDHA1* 是葡萄糖代谢过程中必不可少的成分, 其失活被认为与肿瘤中的代谢重编程和乳酸过量产生有关^[50]。*NLRP3* 炎症小体的激活需要乳酸发酵^[51]。不同亚型的免疫学分析显示 C2 亚型中 M0 巨噬细胞数量更高。在不同诱导因子的作用下, 巨噬细胞可分为 M1 和 M2 极化型, 在 UC 患者中巨噬细胞极化表型以 M1 型为主, 诱导局部炎症反应, 加重肠道炎症和黏膜屏障损伤^[52]。可见, C2 亚型可能比 C1 亚型的预后更差。GSVA 分析表明, C1 亚

型在 *FcεRI* 信号通路、趋化因子信号通路、T 细胞受体信号通路等通路中富集。C2 亚型在丁酸代谢、萜类骨架的生物合成、脂肪酸代谢和组氨酸代谢等途径中显著富集。

近年来, WGCNA 算法和机器学习模型越来越多地用于 UC 相关基因的筛选和疾病患病率的预测^[53-56], 但均未涉及到活动期 UC。本研究运用 WGCNA 筛选出 234 个与 DECRGs 聚类密切相关的核心基因, 通过 4 种机器学习发现, XGB 模型是最佳机器学习模型, *MEST*、*TMEM98*、*CRYL1*、*C14orf147* 和 *TMEM141* 是活动期 UC 的特征基因。然后, 构建了列线图模型, 使用 *MEST*、*TMEM98*、*CRYL1*、*C14orf147* 和 *TMEM141* 诊断活动期 UC, GSE87466、GSE87473 和 GSE92415 数据集用于评价 5 个基因的预测效能, ROC 结果表明该模型具有良好的预测性能和一定的临床应用价值, 可作为活动期 UC 的诊断生物标志物。

通过预测疾病特征基因和 DECRGs 的中药, 总结发现调控 DECRGs 治疗活动期 UC 的中药功效以清热类、补虚类、活血化瘀类为主, 清热类中以清热解毒药和清热燥湿药最多, 体现了活动期 UC 以脾胃虚弱为本, 湿热毒瘀蕴结为标, 与活动期 UC 常见的大肠湿热、热毒炽盛等证型相符^[57-59]。四气以温、寒和平为主, 五味以苦、甘、辛为主, 甘温健脾能补益脾胃, 苦寒燥湿能清脾胃、大肠湿热, 辛能散能行, 可调气行血以通肠腑。归经方面主归肝、脾、肺、胃经, 与疾病的归经基本相同^[60], 体现了微观铜死亡基因调节活动期 UC 层面与宏观整体调节层面的方向相符。频次统计显示白术、丹参、莪术、紫草、桑叶、青风藤、桑枝在铜死亡基因预测中出现的频次最高, 可见它们在其中发挥着重要的作用。白术多糖和挥发油可以通过调节肠道菌群的组成和宿主代谢来治疗 UC^[61-63]。丹参提取物能够通过抑制 Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4)/磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路改善 UC 的炎症^[64]。莪术提取物中的姜黄素可以通过抑制炎症介质和细胞因子、清除氧自由基等过程发挥免疫调节和抗炎作用治疗 UC^[65]。紫草素及其衍生物通过抑制 *NLRP3* 炎症小体和 NF-κB 信号通路的激活, 减轻结肠上皮紧密连接的破坏, 从而改善 UC 的炎症和

黏膜屏障损伤^[66]。

综上所述,本研究通过生物信息学揭示了铜死亡相关基因在活动期 UC 中的表达模式。通过机器学习,确定了 *MEST*、*TMEM98*、*CRYL1*、*C14orf147* 和 *TMEM141* 是参与活动期 UC 发病机制的核心基因,可作为活动期 UC 的诊断生物标志物。本研究还建立了 1 个预测模型,可以准确评估活动期 UC 的患病风险。本研究系统地评估了活动期 UC 与铜死亡之间的关系,并预测了能够调节铜死亡治疗活动期 UC 的中药,这不仅有助于提高对活动期 UC 铜死亡的认识,也有利于活动期 UC 的诊断和治疗。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhang Y, Lei H Y, Wang P C, *et al.* Restoration of dysregulated intestinal barrier and inflammatory regulation through synergistically ameliorating hypoxia and scavenging reactive oxygen species using ceria nanozymes in ulcerative colitis [J]. *Biomater Res*, 2023, 27(1): 75.
- [2] Ma T, Wan M, Liu G Q, *et al.* Temporal trends of inflammatory bowel disease burden in China from 1990 to 2030 with comparisons to Japan, South Korea, the European union, the United States of America, and the world [J]. *Clin Epidemiol*, 2023, 15: 583-599.
- [3] Le Berre C, Honap S, Peyrin-Biroulet L. Ulcerative colitis [J]. *Lancet*, 2023, 402(10401): 571-584.
- [4] 梁笑楠, 尹凤荣, 张晓岚. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见 (2018 年, 北京) 溃疡性结肠炎部分解读 [J]. *临床荟萃*, 2018, 33(11): 987-990.
- [5] Shi X, Yu J, Lu C, *et al.* Screening of the shared pathogenic genes of ulcerative colitis and colorectal cancer by integrated bioinformatics analysis [J]. *J Cell Mol Med*, 2023, doi: 10.1111/jcmm.17878.
- [6] Li W Q, Zhao T T, Wu D C, *et al.* Colorectal cancer in ulcerative colitis: Mechanisms, surveillance and chemoprevention [J]. *Curr Oncol*, 2022, 29(9): 6091-6114.
- [7] Raine T, Bonovas S, Burisch J, *et al.* ECCO guidelines on therapeutics in ulcerative colitis: Medical treatment [J]. *J Crohns Colitis*, 2022, 16(1): 2-17.
- [8] Lu Z, Xiong W N, Xiao S M, *et al.* Huanglian Jiedu Decoction ameliorates DSS-induced colitis in mice via the JAK2/STAT3 signalling pathway [J]. *Chin Med*, 2020, 15: 45.
- [9] Stallmach A, Hagel S, Bruns T. Adverse effects of biologics used for treating IBD [J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2010, 24(2): 167-182.
- [10] Markiewicz-Łoskot G, Chlebowczyk W, Holecki T. Costs of healthcare for children with inflammatory bowel diseases (IBD) in Poland [J]. *Children*, 2023, 10(7): 1112.
- [11] Yang Y, Feng Q, Luan Y, *et al.* Exploring cuproptosis as a mechanism and potential intervention target in cardiovascular diseases [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1229297.
- [12] Chen L Y, Min J X, Wang F D. Copper homeostasis and cuproptosis in health and disease [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 378.
- [13] Tsvetkov P, Coy S, Petrova B, *et al.* Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins [J]. *Science*, 2022, 375(6586): 1254-1261.
- [14] Ringstad J, Kildebo S, Thomassen Y. Serum selenium, copper, and zinc concentrations in Crohn's disease and ulcerative colitis [J]. *Scand J Gastroenterol*, 1993, 28(7): 605-608.
- [15] Singla A, Chen Q, Suzuki K, *et al.* Regulation of murine copper homeostasis by members of the COMMD protein family [J]. *Dis Model Mech*, 2021, doi: 10.1242/DMM.045963.
- [16] Stewart D J, Short K K, Maniaci B N, *et al.* COMMD1 and PtdIns(4,5)P₂ interaction maintain ATP7B copper transporter trafficking fidelity in HepG2 cells [J]. *J Cell Sci*, 2019, doi: 10.1242/JCS.231753.
- [17] Li H Y, Chan L, Bartuzi P, *et al.* Copper metabolism domain-containing 1 represses genes that promote inflammation and protects mice from colitis and colitis-associated cancer [J]. *Gastroenterology*, 2014, 147(1): 184-195.
- [18] Li H Y, Burstein E. COMMD1 regulates inflammation and colitis-associated cancer progression [J]. *Oncoimmunology*, 2014, 3(7): e947891.
- [19] 杨会军, 郭响, 李伟青, 等. 靶向铜死亡相关基因治疗类风湿关节炎生物信息学分析及干预中药的预测 [J]. *中草药*, 2023, 54(13): 4253-4265.
- [20] Li W Q, Guan X R, Wang Y, *et al.* Cuproptosis-related gene identification and immune infiltration analysis in systemic lupus erythematosus [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1157196.
- [21] Lin Q Y, Zhu J C, Chen J, *et al.* Significance of cuproptosis-related genes in the diagnosis and classification of psoriasis [J]. *Front Mol Biosci*, 2023, 10: 1115091.
- [22] Ortega M A, García-Montero C, Fraile-Martinez O, *et al.* Immune-mediated diseases from the point of view of psychoneuroimmunocrinology [J]. *Biology*, 2022, 11(7): 973.
- [23] Zhang Y Y, Zhou J, Li H, *et al.* Prediction of risk and

- clinical outcome of cuproptosis in lung squamous carcinoma [J]. *BMC Pulm Med*, 2023, 23(1): 205.
- [24] Peng X Y, Zhu J F, Liu S C, *et al.* Signature construction and molecular subtype identification based on cuproptosis-related genes to predict the prognosis and immune activity of patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 990790.
- [25] 卓桂锋, 陈炜, 朱健敏, 等. 血管性痴呆铜死亡关键差异基因的生物信息学分析及防治中药筛选 [J]. *中草药*, 2023, 54(21): 7120-7129.
- [26] Wilkerson M D, Hayes D N. ConsensusClusterPlus: A class discovery tool with confidence assessments and item tracking [J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(12): 1572-1573.
- [27] Hänzelmann S, Castelo R, Guinney J. GSVA: Gene set variation analysis for microarray and RNA-seq data [J]. *BMC Bioinformatics*, 2013, 14: 7.
- [28] Yang H, Zhou R N, Bai X Y, *et al.* Trend and geographic variation in incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in regions across China: A nationwide employee study between 2013 and 2016 [J]. *Front Med*, 2022, 9: 900251.
- [29] He Y M, Mao R, Yuan G, *et al.* The hospitalization burden of inflammatory bowel disease in China: A nationwide study from 2013 to 2018 [J]. *Therap Adv Gastroenterol*, 2022, 15: 17562848221102307.
- [30] Chen H, Li Y, Wang J R, *et al.* Plant polyphenols attenuate DSS-induced ulcerative colitis in mice via antioxidation, anti-inflammation and microbiota regulation [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(13): 10828.
- [31] Niu Y T, Zhang J, Shi D H, *et al.* Glycosides as potential medicinal components for ulcerative colitis: A review [J]. *Molecules*, 2023, 28(13): 5210.
- [32] Lu Q, Xie Y H, Luo J B, *et al.* Natural flavones from edible and medicinal plants exhibit enormous potential to treat ulcerative colitis [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1168990.
- [33] Yuan Y F, Fu M Y, Li N, *et al.* Identification of immune infiltration and cuproptosis-related subgroups in Crohn's disease [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1074271.
- [34] Wang A H, Liu W, Jin Y, *et al.* Identification of immunological characteristics and cuproptosis-related molecular clusters in Rheumatoid arthritis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 123: 110804.
- [35] Chen J F, Lu P D, Liu J Y, *et al.* 20(S)-Protopanaxadiol saponins isolated from *Panax notoginseng* target the binding of HMGB1 to TLR4 against inflammation in experimental ulcerative colitis [J]. *Phytother Res*, 2023, 37(10): 4690-4705.
- [36] Ranson N, Veldhuis M, Mitchell B, *et al.* NLRP3-dependent and-independent processing of interleukin (IL)-1 β in active ulcerative colitis [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 20(1): 57.
- [37] Zhang H X, Wang Z T, Lu X X, *et al.* NLRP3 gene is associated with ulcerative colitis (UC), but not Crohn's disease (CD), in Chinese Han population [J]. *Inflamm Res*, 2014, 63(12): 979-985.
- [38] Pappa A, Mührer J, Gast P, *et al.* Pediatric IBD patients show medication and disease activity dependent changes in NK cell and CD4 memory T cell populations [J]. *Front Pediatr*, 2023, 11: 1123873.
- [39] Iwamuro M, Takahashi T, Watanabe N, *et al.* Enriched CD45RA⁺CD62L⁺ central memory T and decreased CD3⁺CD56⁺ natural killer T lymphocyte subsets in the rectum of ulcerative colitis patients [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2022, doi: 10.1177/20587384211051982.
- [40] Parihar N, Bhatt L K. Topotecan alleviates acetic acid-induced ulcerative colitis in rats via attenuation of the ROR γ T transcription factor [J]. *Life Sci*, 2023, 328: 121915.
- [41] Lyons D O, Pullen N A. Beyond IgE: Alternative mast cell activation across different disease states [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(4): 1498.
- [42] Huang X J, Pan Y, Liu Y, *et al.* Clinical utility of the neutrophil-to-bilirubin ratio in the detection of disease activity in ulcerative colitis [J]. *J Inflamm Res*, 2023, 16: 2549-2559.
- [43] Penrose H M, Iftikhar R, Collins M E, *et al.* Ulcerative colitis immune cell landscapes and differentially expressed gene signatures determine novel regulators and predict clinical response to biologic therapy [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 9010.
- [44] Shen H H, Yang Y X, Meng X, *et al.* NLRP3: A promising therapeutic target for autoimmune diseases [J]. *Autoimmun Rev*, 2018, 17(7): 694-702.
- [45] Sun H X, Zhu Y. Progress on regulation of NLRP3 inflammasome by Chinese medicine in treatment of ulcerative colitis [J]. *Chin J Integr Med*, 2023, 29(8): 750-760.
- [46] Huang J, Dai M M, He M X, *et al.* Treatment of ulcerative colitis by cationic liposome delivered NLRP3 siRNA [J]. *Int J Nanomed*, 2023, 18: 4647-4662.
- [47] Liu H, Johnston L J, Wang F L, *et al.* Triggers for the Nrf2/ARE signaling pathway and its nutritional regulation: Potential therapeutic applications of ulcerative colitis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11411.
- [48] Dreishpoon M B, Bick N R, Petrova B, *et al.* FDX1 regulates cellular protein lipoylation through direct

- binding to LIAS [J]. *bioRxiv*, 2023, 2023: 526472.
- [49] Wang L Z, Cao Y, Guo W, *et al.* High expression of cuproptosis-related gene *FDX1* in relation to good prognosis and immune cells infiltration in colon adenocarcinoma (COAD) [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, 149(1): 15-24.
- [50] An S, Yao Y, Hu H B, *et al.* PDHA1 hyperacetylation-mediated lactate overproduction promotes sepsis-induced acute kidney injury via Fis1 lactylation [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(7): 457.
- [51] Lin H C, Chen Y J, Wei Y H, *et al.* Lactic acid fermentation is required for NLRP3 inflammasome activation [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 630380.
- [52] Ruan S L, Xu L, Sheng Y J, *et al.* Th1 promotes M1 polarization of intestinal macrophages to regulate colitis-related mucosal barrier damage [J]. *Aging*, 2023, 15(14): 6721-6735.
- [53] Wang Y D, Huang J K, Zhang J Q, *et al.* Identifying biomarkers associated with the diagnosis of ulcerative colitis via bioinformatics and machine learning [J]. *Math Biosci Eng*, 2023, 20(6): 10741-10756.
- [54] Deng B Y, Liao F, Liu Y H, *et al.* Comprehensive analysis of endoplasmic reticulum stress-associated genes signature of ulcerative colitis [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1158648.
- [55] Li Y, Tang M Y, Zhang F J, *et al.* Screening of ulcerative colitis biomarkers and potential pathways based on weighted gene co-expression network, machine learning and ceRNA hypothesis [J]. *Hereditas*, 2022, 159(1): 42.
- [56] Chen K W, Shang S P, Yu S N, *et al.* Identification and exploration of pharmacological pyroptosis-related biomarkers of ulcerative colitis [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 998470.
- [57] 饶显俊, 曲天娇, 张曦丹, 等. 谢晶日教授辨治溃疡性结肠炎经验探析 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2024, 30(1): 127-130.
- [58] 赵鲁卿, 王典朋, 孙梦云, 等. 溃疡性结肠炎活动期大肠湿热证临床特点及其与血栓形成预测指标的相关性分析 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(7): 4258-4261.
- [59] 郑安锐, 顾园, 王品发, 等. 溃疡性结肠炎的中医证候与内镜分型及黏膜组织分期的相关性研究 [J]. 时珍国医国药, 2022, 33(9): 2209-2210.
- [60] 安玉秋, 王惠娟. 基于数据挖掘探讨溃疡性结肠炎活动期用药规律 [J]. 山东中医杂志, 2022, 41(7): 721-726.
- [61] Hu P, Yan X, Zeng Y J, *et al.* An UPLC-MS/MS method for targeted analysis of microbial and host tryptophan metabolism after administration of polysaccharides from *Atractylodes macrocephala* Koidz. in ulcerative colitis mice [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 235: 115585.
- [62] Cheng H, Zhang D D, Wu J, *et al.* *Atractylodes macrocephala* Koidz. volatile oil relieves acute ulcerative colitis via regulating gut microbiota and gut microbiota metabolism [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1127785.
- [63] Feng W W, Liu J, Tan Y Z, *et al.* Polysaccharides from *Atractylodes macrocephala* Koidz. Ameliorate ulcerative colitis via extensive modification of gut microbiota and host metabolism [J]. *Food Res Int*, 2020, 138: 109777.
- [64] Peng K Y, Gu J F, Su S L, *et al.* *Salvia miltiorrhiza* stems and leaves total phenolic acids combination with tanshinone protect against DSS-induced ulcerative colitis through inhibiting TLR4/PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 264: 113052.
- [65] 杨慧, 童雨, 廖正根. 姜黄素治疗溃疡性结肠炎及其微纳米粒传递系统研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(11): 3696-3705.
- [66] Han H, Sun W, Feng L, *et al.* Differential relieving effects of shikonin and its derivatives on inflammation and mucosal barrier damage caused by ulcerative colitis [J]. *Peer J*, 2021, 9: e10675.

[责任编辑 潘明佳]