

系统性红斑狼疮受DNA甲基化影响的关键基因分析

董斐雅¹, 侯甜甜¹, 董佳琪¹, 张晓炜^{2*}, 刘 暘², 樊国梁^{1*}

¹内蒙古大学物理科学与技术学院, 内蒙古 呼和浩特

²内蒙古医科大学第一附属医院风湿免疫科, 内蒙古 呼和浩特

收稿日期: 2023年11月21日; 录用日期: 2024年2月19日; 发布日期: 2024年2月23日

摘 要

系统性红斑狼疮(SLE)是一种自身免疫性疾病, 表观遗传变异在SLE的发病机制中起重要作用。已有研究证明, 异常DNA甲基化发生在SLE发展的各个过程中, 调控相关基因表达水平。因此, 寻找受影响的关键基因有助于SLE的诊断和治疗。首先, 本文从Gene Expression Omnibus (GEO)数据库中下载了基因表达数据和DNA甲基化数据, 利用生物信息学的方法, 对在外周血单核细胞(PBMC)的基因表达和DNA甲基化数据进行差异分析, 甲基化差异表达的基因被记录为差异甲基化基因(DMG)与差异表达基因(DEG)之间的重叠基因。使用DAVID数据库对受甲基化影响基因(mDEG)的功能富集分析。然后使用STRING数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络以获得参与SLE的关键基因。之后, 本研究利用受试者工作特征(ROC)曲线评估hub基因, 以验证其区分SLE与健康对照组的能力。最后, 我们构建了一个hub基因-miRNA网络, 并对共享基因进行了功能富集。

关键词

生物信息学, DNA甲基化, 基因表达, 关键基因

Analysis for Key Genes Affected by DNA Methylation in Systemic Lupus Erythematosus

Feiya Dong¹, Tiantian Hou¹, Jiaqi Dong¹, Xiaowei Zhang^{2*}, Yang Liu², Guoliang Fan^{1*}

¹School of Physical Sciences and Technology, Inner Mongolia University, Hohhot Inner Mongolia

²Department of Rheumatology, the First Affiliated Hospital, Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia

*通讯作者。

文章引用: 董斐雅, 侯甜甜, 董佳琪, 张晓炜, 刘暘, 樊国梁. 系统性红斑狼疮受 DNA 甲基化影响的关键基因分析[J]. 生物物理学, 2024, 12(1): 9-21. DOI: 10.12677/biph.2024.121002

Abstract

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease. Epigenetic variation plays an important role in the pathogenesis of SLE. Studies have shown that abnormal DNA methylation occurs in various processes of SLE development, regulating the expression level of related genes. Therefore, the search for the key genes affected can help in the diagnosis and treatment of SLE. Firstly, this paper downloaded Gene Expression data and DNA methylation data from Gene Expression Omnibus (GEO) database, and used bioinformatics methods to conduct differential analysis of gene expression and DNA methylation data in peripheral blood mononuclear cells (PBMC). The differentially expressed methylated genes were recorded as overlapping genes between differentially methylated genes (DMG) and differentially expressed genes (DEG). Functional enrichment analysis of methylation-affected genes (mDEG) using DAVID database. The STRING database was then used to construct a protein-protein interaction (PPI) network to obtain key genes involved in SLE. The hub gene was then evaluated using receiver operating characteristics (ROC) curves to verify its ability to distinguish SLE from healthy controls. Finally, we constructed a hub gene-mirNA network and functionally enriched the shared genes.

Keywords

Bioinformatics, DNA Methylation, Gene Expression, Hub Gene

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

系统性红斑狼疮(SLE)是一种复杂的、多系统的、慢性复发性免疫疾病,具有多种临床表现和显著的发病率和死亡率[1]。2022年SLE发病率和流行率的报告显示,全球SLE发病率为0.0051%,新确诊人群每年大约在40万人;全球患病率是4.37%,而受影响人群每年在341万人[2]。因此,有必要寻找有效的生物标志物进行早期检测和预防治疗。

目前,许多研究表明表观遗传修饰在包括SLE在内的一些自身免疫性/炎症疾病的发病机制中起重要作用[3]。DNA甲基化最主要的功能是调节附近的基因表达[4][5]。SLE中异常的DNA甲基化导致免疫失调[6]。本研究基于GEO数据库,使用统计软件R对基因表达数据、DNA甲基化数据进行差异分析,寻找被DNA甲基化影响的基因,进一步分析异常甲基化差异表达基因的生物功能,并通过蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络分析,此外,我们用其他GEO数据集对hub基因的表达和甲基化水平进行验证。

2. 材料与方法

2.1. 数据来源

基因表达综合数据库(GEO, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)是一个在线数据库,提供全面的基因谱和测序数据。在GEO数据库中,我们检索了外周血单核细胞的基因表达谱数据集GSE81622和DNA甲基化谱数据集GSE82218,其中包含30名中国系统性红斑狼疮患者(其中有15名患有狼疮肾炎,15名不

患有狼疮肾炎)和 25 名健康对照组, DNA 甲基化谱数据集 GSE82218 基于 GPL13534 平台(Illumina HumanMethylation450 BeadChip); 基因表达谱数据集 GSE81622 基于 GPL10588 平台(Illumina HumanHT-12 V4.0 expression beadchip)。

2.2. 差异甲基化和表达基因

对于多组学数据进行差异分析鉴定 SLE 相关基因。使用 R 软件中的 limma 包分析 SLE 的基因表达数据, limma 是一种基于广义线性模型的差异表达筛选方法。设置 $\log_2|\text{FoldChang}| > 0.2$, $p < 0.01$ 为差异有显著意义。ChAMP 包适用于 450 K 和 850 K 的甲基化数据分析, 则使用 ChAMP 包识别差异甲基化基因, $|\Delta\beta| < 0.1$, $p < 0.01$ 被认为是“差异标准”。

2.3. 功能富集分析

GO 通路富集分析包括细胞成分(cellular components, CC)、生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)。京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)是一个数据库资源, 用于从通过高通量实验技术生成的大规模分子数据集中了解高级功能和生物系统。DAVID 是一种在线功能注释工具, 用于大型基因的富集分析[7], 本文使用 DAVID 在线分析, 富集分析的显著性用 $p < 0.05$ 的标准。

2.4. PPI 网络的构建

蛋白质-蛋白质相互作用网络(Protein-Protein Interaction Networks, PPI)是由蛋白通过彼此之间相互作用构成, 可以用来识别关键基因和重要模块[8]。检索相互作用基因的搜索工具(String, <https://string-db.org>)数据库是一个全球资源, 提供了 PPI 的验证和预测信息。本文基于 STRING 数据库构建了受 DNA 甲基化影响的差异基因(mDEG)的 PPI 网络, 使用 Cytoscape 中的 CytoHubba 插件确定关键基因。

2.5. 相关性分析

疾病的发生和发展是极其复杂的, 它是由多种调节因子共同作用的, 所以, 有必要探究 DNA 甲基化与基因表达之间的关联程度。相关系数能够反映变量之间相关关系程度的统计指标, 它的取值范围是 $[-1, 1]$, 当取值为 0 时表示不相关, 当取值为 $[-1, 0]$ 时表示负相关, 取值为 $[0, 1]$ 时, 则表示正相关。

2.6. 使用其他 GEO 数据集验证 hub 基因

我们用其他数据集验证了枢纽基因的表达和甲基化水平。基因表达数据集 GSE45291 包含有 292 个 SLE 和 20 个对照样品, 用于验证枢纽基因的表达水平。用 DNA 甲基化数据集 GSE96879 验证枢纽基因的基因甲基化水平, 包括 57 个 SLE 和 33 个对照组。当比较两组时, 使用 Student t 检验进行统计学显著性, 并且 $p < 0.05$ 被认为是统计学显著的。并利用 pROC 包绘制 ROC 曲线, 曲线下面积 AUC 值越大表示诊断效果越好。

2.7. 关键基因-miRNA 网络的构建

我们使用 NetworkAnalyst (PMID: 30931480)数据库来预测关键基因的 miRNA。将 hub 基因及其 miRNA 整合到调控网络中, 并使用 Cytoscape 软件进行可视化。使用 mirPath v3.0 工具 (<https://dianalab.e-ce.uth.gr/html/mirpathv3/index.php?r=mirpath>)的基因本体(GO)分析, 我们研究了 miRNA 的作用, 选择 p 值 < 0.05 的显著项。

3. 结果

3.1. DNA 甲基化分析

在甲基化数据集 GSE82218 中, 在 SLE 和对照组之间筛选出 820 个差异甲基化位点(DMP), 包括 496 个高甲基化位点和 324 个低甲基化位点, 火山图如图 1(a)。CpG 位点分布在 TSS1500、TSS200、5'UTR、1stExon、body 和 3'UTR 等不同基因区域。如图 1(b)所示, 在 1stExon 区域有 29 个 CpG 位点的差异甲基化基因(DMGs), 在 3'UTR 区域有 36 个 CpG 位点的 DMGs, 在 5'UTR 区域有 91 个 CpG 位点的 DMGs, 在 TSS1500 区域有 102 个 CpG 位点的 DMGs, 在 TSS200 区域有 53 个 CpG 位点的 DMGs, 在 Body 区域有 363 个 CpG 位点的 DMGs。高甲基化基因和低甲基化基因不同区域的 CpG 位点分布相似, 近 50% 的甲基化改变发生在 Body 区域。

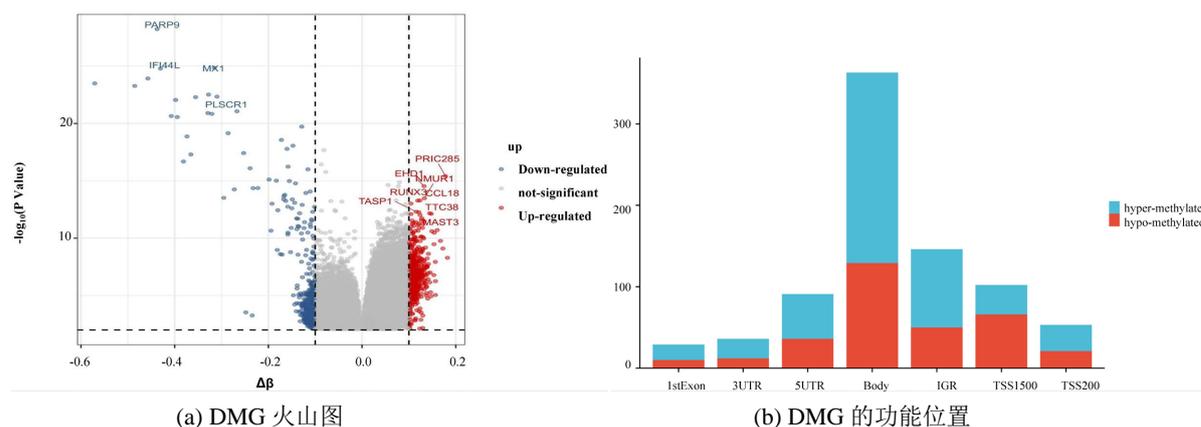


Figure 1. DNA methylation analysis of SLE and control samples

图 1. SLE 与对照组 DNA 甲基化分析

3.2. 基因表达分析

在基因表达数据集 GSE81622 中, 使用 Limma 包根据阈值 $\log_2|\text{FoldChang}| > 0.2$ 和 $p < 0.05$ 筛选差异表达基因, 共鉴定出了 916 个差异基因(DEG), 其中 342 个上调, 574 个下调(图 2(a)和图 2(b)) [9]。将 DEG 和 DMG 取交集, 我们发现 29 个基因是高甲基化低表达(Hyper-down) (图 2(c)), 19 个基因是低甲基化高表达(Hypo-up) (图 2(d))。Hyper-down 基因的 CpG 位点按基因区域分布为: 1stExon (4 个基因)、5'UTR (2 个基因)、Body (21 个基因)、TSS1500 (4 个基因)、TSS200(9 个基因) (图 3(a))。CpG 位点分布在 Hypo-up 基因的不同区域, 包括 1stExon (3 个基因)、3'UTR (1 个基因)、5'UTR (5 个基因)、body(8 个基因)、TSS1500 (7 个基因)和 TSS200 (1 个基因) (图 3(b))。结果表明, 异常甲基化表达基因的 CpG 位点主要分布在 Body 区域, 特别是在 Hyper-down 基因中。Hyper-down 的 CpG 位点在 3'UTR 区域没有且在 5'UTR 区域数量最少, Hypo-up 基因的 CpG 位点在 3'UTR 区域数量最少。

3.3. 功能富集分析

将 29 个 hyper-down 和 19 个 hypo-up 基因导入 DAVID 数据库进行分析, hyper-down 基因在 GO-生物过程(图 4(a)), 主要富集到免疫相关的通路和 T 细胞相关的通路, 例如免疫反应调节细胞表面受体信号通路、免疫反应 - 激活细胞表面受体信号通路、T 细胞活化、T 细胞受体信号通路等; KEGG 通路富集结果显示(图 4(b)), 大多数高甲基低表达基因参与自然杀伤细胞介导的细胞毒性, 少数高甲基低表达基因与 I 型糖尿病、移植物抗宿主病和自身免疫性甲状腺疾病有关。

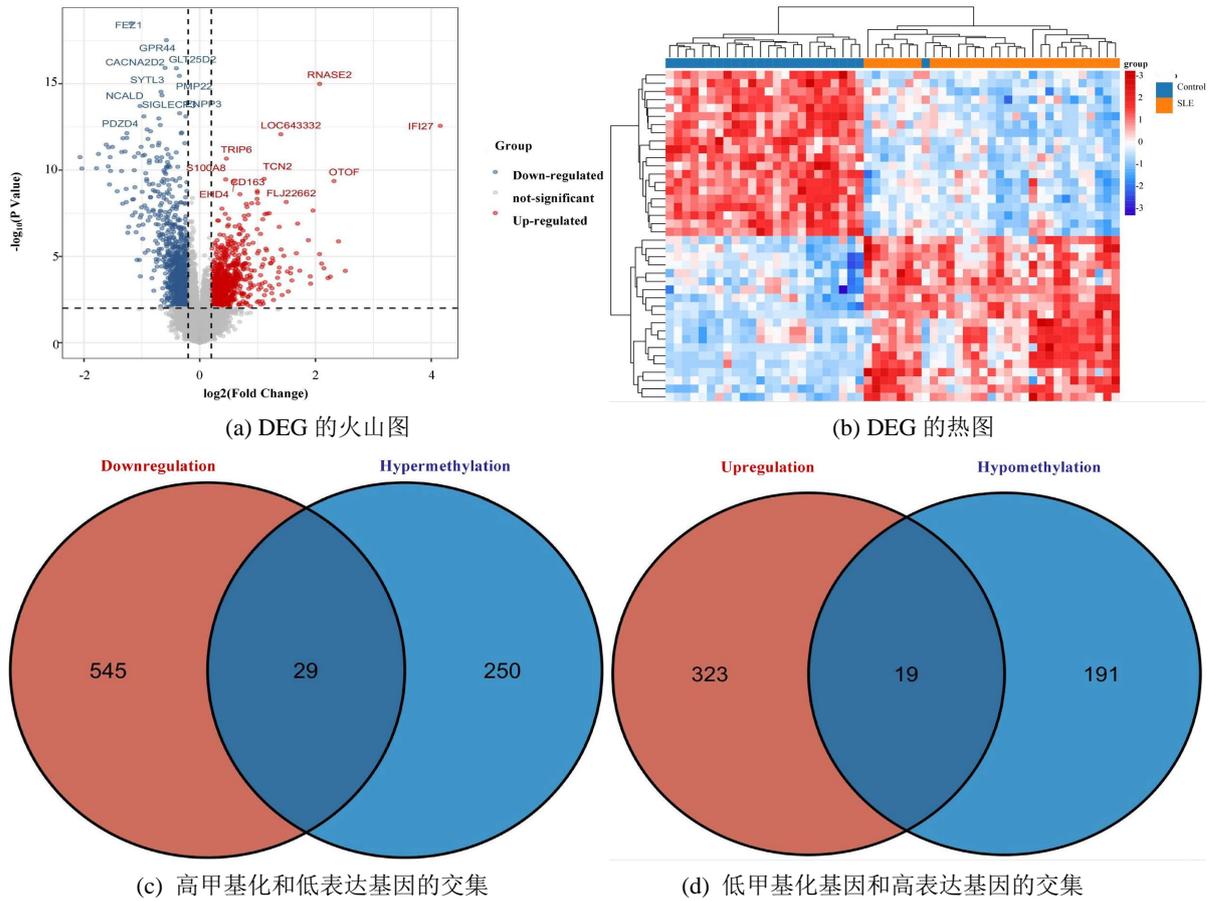


Figure 2. Gene expression analysis of SLE and control samples
图 2. SLE 和对照样品的基因表达分析

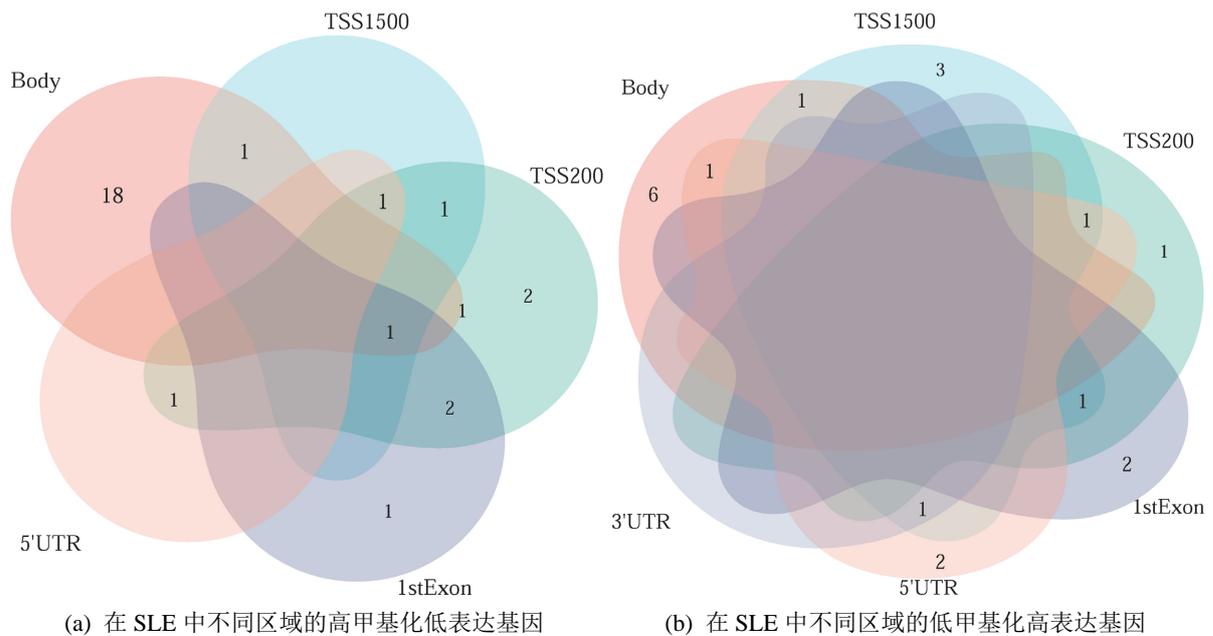


Figure 3. Abnormal methylation of differentially expressed genes based on CpG in different regions
图 3. 基于不同区域 CpG 的异常甲基化差异表达基因

此外, hypo-up 基因的 GO-生物过程(图 4(c)), 主要与对病毒的反应、对共生体的防御反应、I 型干扰素的反应等有关; KEGG 分析表明(图 4(d)), hypo-up 主要涉及丙型肝炎、甲型流感、癌症中的转录失调、麻疹和冠状病毒病(COVID-19)。

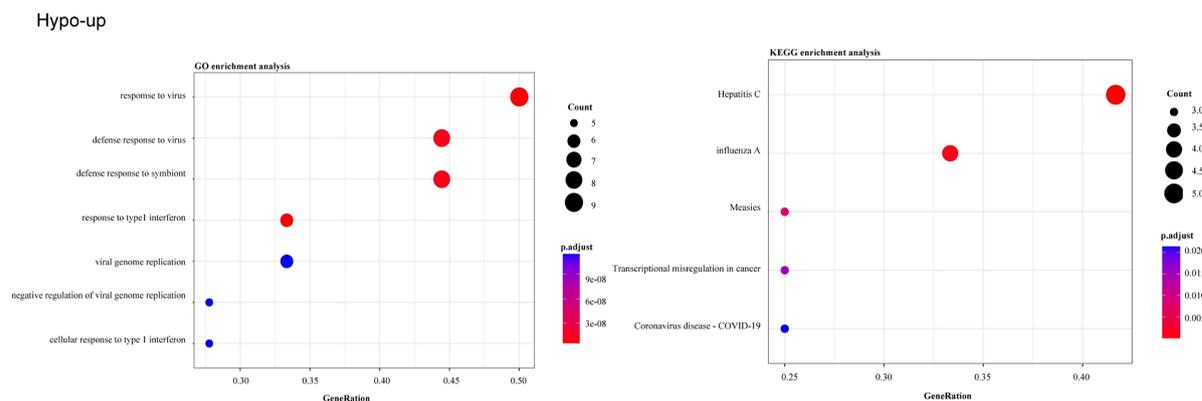
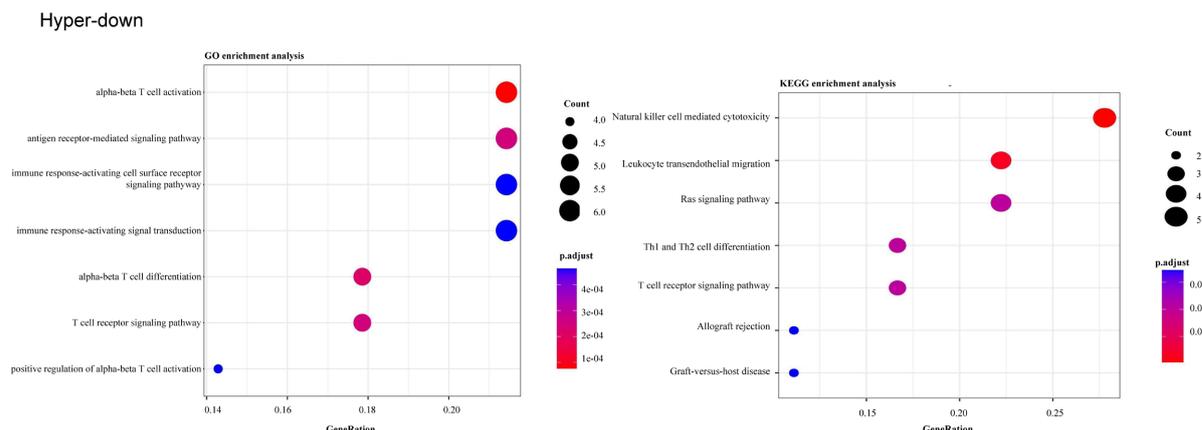


Figure 4. Functional enrichment analysis of the mDEGs

图 4. mDEGs 的功能富集分析

3.4. PPI 网络分析和关键基因鉴定

使用 STRING 数据库分析受甲基化影响的差异基因(mDEG)的 PPI 网络,并用 Cytoscape 软件可视化,并识别关键基因。总共 29 个节点和 29 个边涉及在 hyper-down 的 PPI 网络(图 5(a)), 同时将连接度最高的前 5 个 hyper-down 确定为 hub 基因, 从黄色变为红色的颜色表示蛋白质的等级, 并且更深红色表示更高等级的蛋白质。结果显示, PRF1 是具有最大连接度的显著基因, 其次分别是 ITGAL、ITK、CD247、FASLG、ZAP70、CD7、RUNX3、CD160、BCL11B (图 5(b))。hypo-up 基因的 PPI 网络包含 19 个节点和 70 个边(图 5(c)), 其中 USP18、IFIT1、OAS3、RSAD2、OAS2 都被鉴定为具有最大连接度的显著基因, 其次是 CMPK2、MX1、HERC5、IFI44L、IFI44 (图 5(d)), 最后我们将最大连接度的 6 个基因作为关键基因。

3.5. 甲基化特征与基因表达特征的相关性分析

Spearman 相关系数的方法对甲基化数据和基因表达数据进行计算, 根据相关系数大小筛选出显著相关的甲基化特征与基因表达特征, 确定甲基化特征与基因表达特征的差异情况(图 6)。

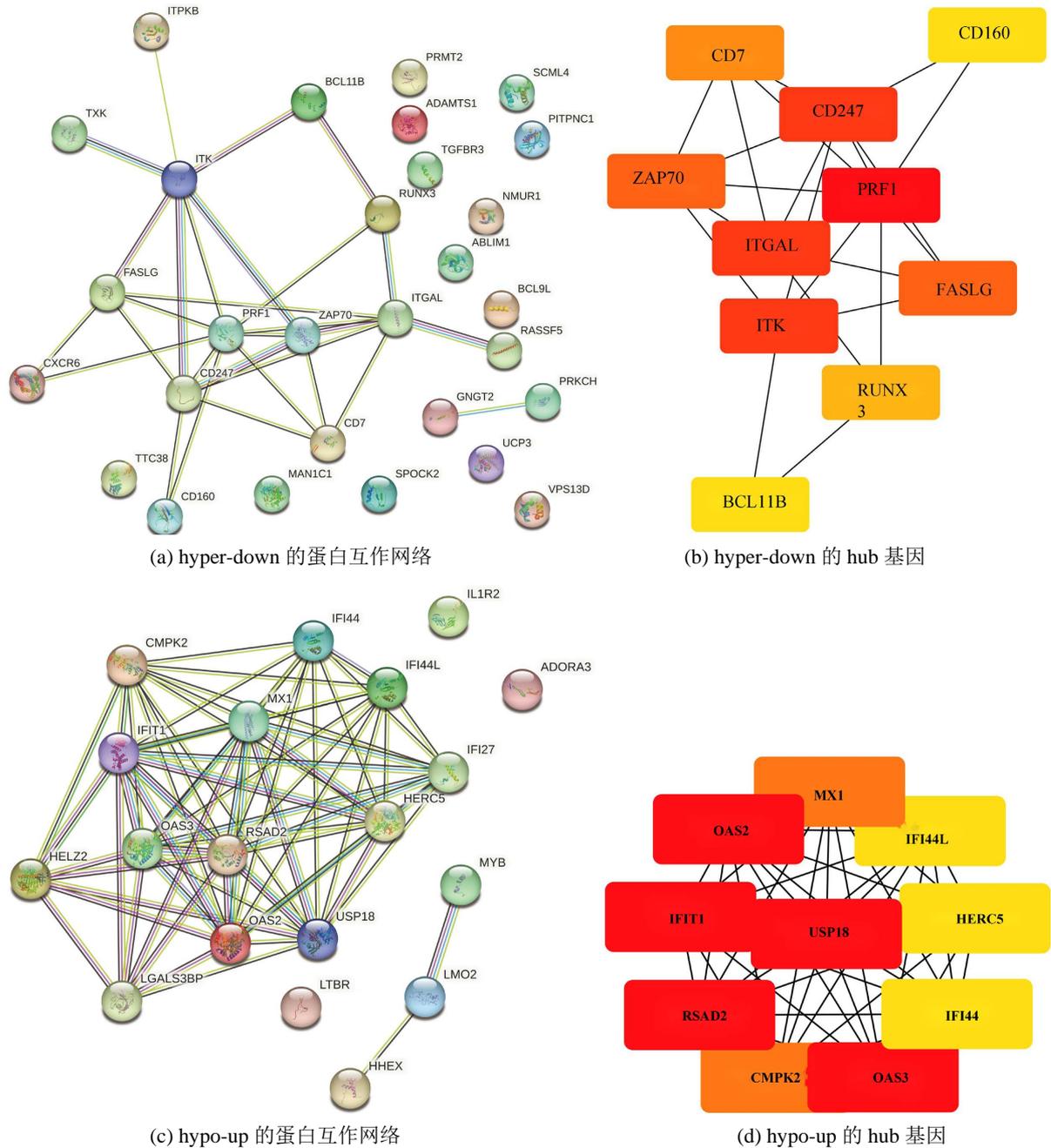


Figure 5. PPI network analysis and hub gene selection of hyper-down genes and hypo-up genes

图 5. PPI 网络分析和 hyper-down 基因和 hypo-up 基因选择 hub 基因

从表 1 中可以看出, 一个基因的表达异常并不仅仅和它自身的甲基化相关, 也可能是其他多个基因的甲基化共同作用的效果, 例如, 基因 USP18 的表达上调可能与 PRF1 高甲基化以及 IFIT1、OAS2、OAS3、RSAD2、USP18 的低甲基化有关, 这些基因的改变的很可能对 SLE 的发生有影响。

3.6. hub 基因的验证

为了确认 hub 基因的甲基化和表达水平, 我们分析了来自 GEO 数据库中的另外两个独立的数据集(GSE45291 和 GSE96879)。在 GSE96879 数据集中, SLE 组 PRF1 甲基化水平显著高于对照组。SLE

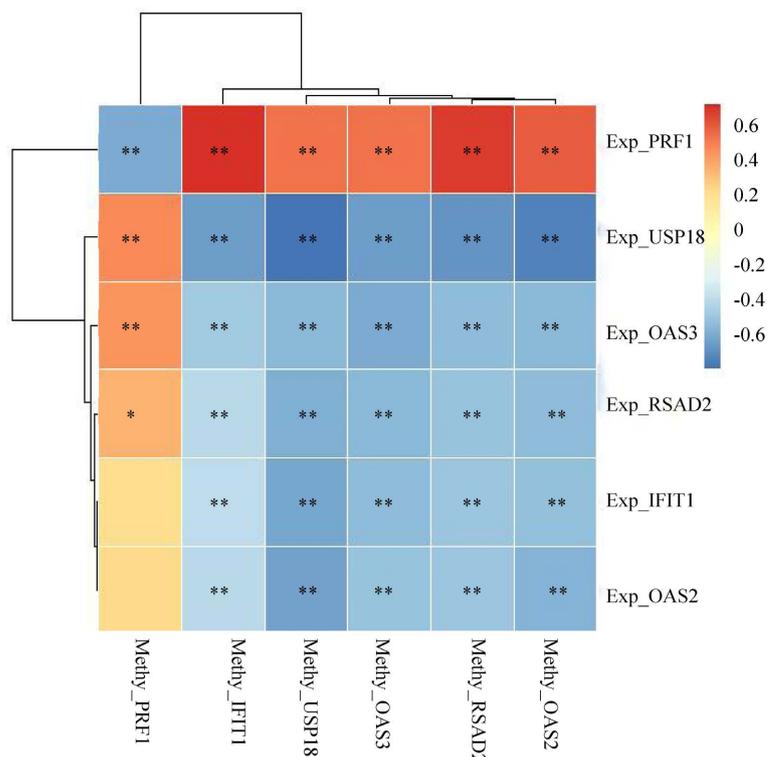


Figure 6. The spearman correlation between methylation characteristics and gene expression characteristics

图 6. 甲基化特征与基因表达特征的相关关系

Table 1. Highly the spearman correlation methylation characteristics and gene expression characteristics

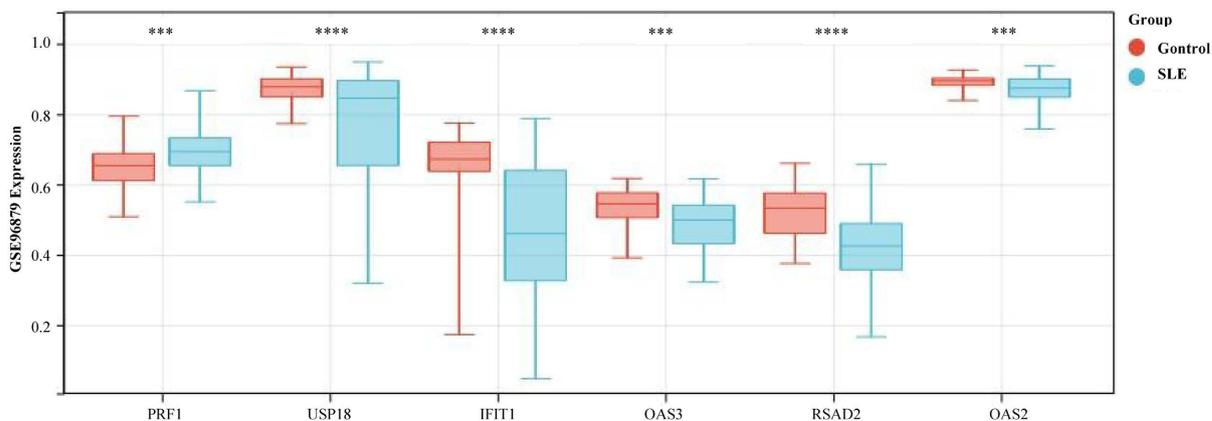
表 1. 相关性高的甲基化特征与基因表达特征

Expr	Methy	cor_r	cor_p
IFIT1	IFIT1	-0.402958152958153	0.00228660723089515
	OAS2	-0.532900432900433	0.0000280864389398166
	OAS3	-0.556782106782107	0.0000101237129920682
	RSAD2	-0.504689754689755	0.0000852354474283692
	USP18	-0.624819624819625	3.42069749423658E-07
OAS2	IFIT1	-0.425556477783335	0.00119945871933595
	OAS2	-0.58660124862301	2.52130209930062E-06
	OAS3	-0.518308741633874	0.0000504879942019649
	RSAD2	-0.514448573515629	0.0000586997427293386
OAS3	USP18	-0.646018976573938	0.0000001001336334157
	IFIT1	-0.500586229991788	0.0000993754008849136
	OAS2	-0.561698443425493	8.12480274848176E-06
	OAS3	-0.615234762631879	5.78765034442742E-07
	PRF1	0.409270235832589	0.00211949370567848
	RSAD2	-0.559317448096907	0.0000090420480466206
	USP18	-0.563718681886112	7.41506087022701E-06

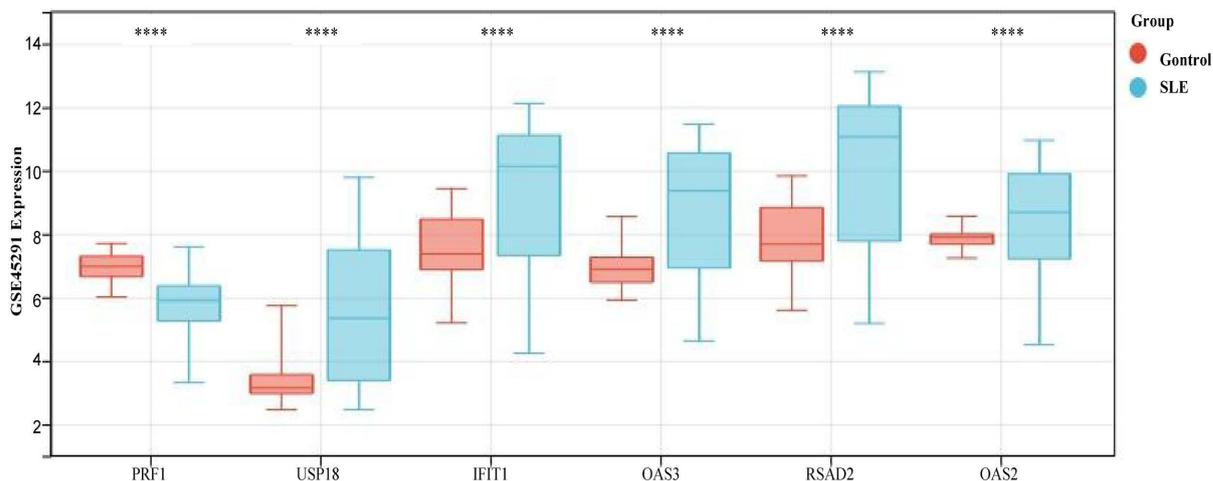
续表

PRF1	IFIT1	0.678740214735136	1.23308564933525E-08
	OAS2	0.552436956959665	0.0000122606610576225
	OAS3	0.496590786426552	0.000115178712065853
	PRF1	-0.615880155970809	7.15830445327736E-07
	RSAD2	-0.559317448096907	9.75561053189247E-08
	USP18	0.492153396907448	0.000135404416842304
RSAD2	IFIT1	-0.425324675324675	0.00120769805047523
	OAS2	-0.551587301587302	0.0000127245423259573
	OAS3	-0.56991341991342	5.58142085612585E-06
	PRF1	0.312902611015819	0.0212375678141027
	RSAD2	-0.524603174603175	0.0000393327895291452
	USP18	-0.600649350649351	0.0000012468951432932
USP18	IFIT1	-0.649350649350649	8.1838347409425E-08
	OAS2	-0.751010101010101	4.00094438875713E-11
	OAS3	-0.657431457431457	4.96498818827475E-08
	PRF1	0.430226796264532	0.00116599960868137
	RSAD2	-0.524603174603175	0.0000393327895291452
	USP18	-0.795743145743146	3.88749316210791E-13

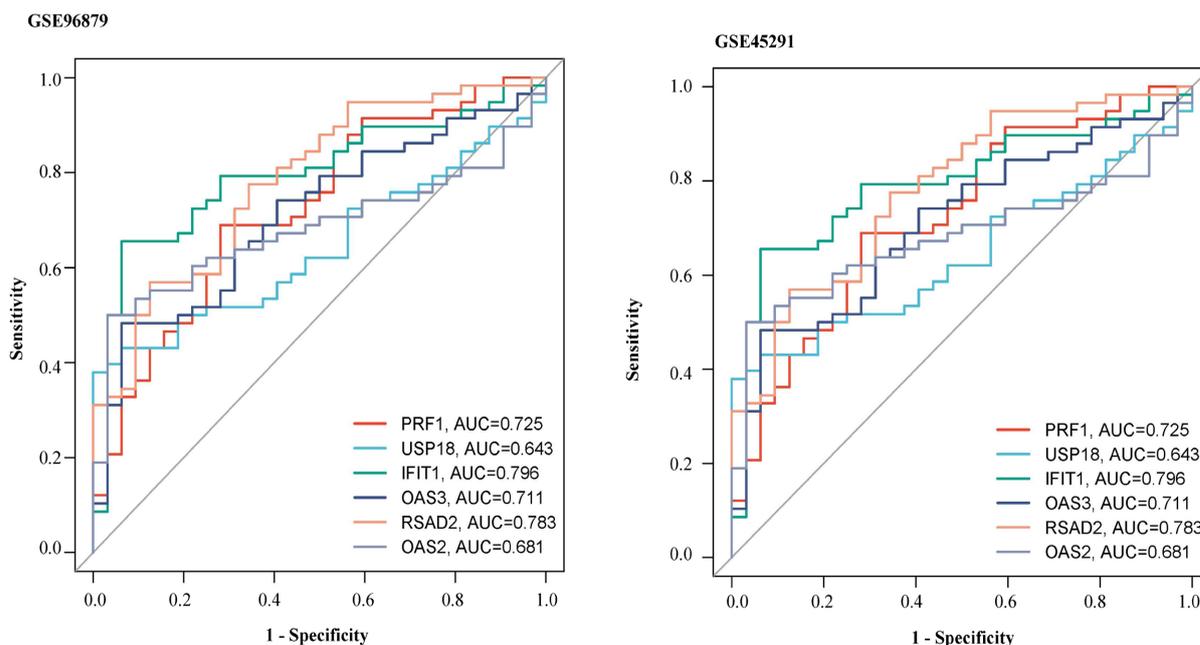
患者 IFIT1、OAS2、OAS3、RSAD2、USP18 基因甲基化水平显著低于正常对照组(图 7(a))。在 GSE 45291 数据集中的 mRNA 水平, 与对照组相比, SLE 组中的 PRF1 基因显著下调, IFIT1、OAS2、OAS3、RSAD2、USP18 均显著上调(图 7(b))。这些结果进一步证明了 PRF1 是高甲基化状态和下调表达, 以及 IFIT1、OAS2、OAS3、RSAD2、USP18 均是低甲基化状态上调表达。并利用 pROC 包绘制 ROC 曲线, 确定 hub 基因的诊断价值。根据 ROC 曲线显示, 6 个基因的 AUC 值均在 0.6 以上(图 8(a)和图 8(b))。说明这 6 个基因可以成为 SLE 的关键基因, 并具有良好的诊断价值, 可以确定它们在 SLE 中具有良好的诊断性能。



(a)在 GSE96879 数据集中 hub 基因的甲基化水平



(b)在 GSE45291 数据集中 hub 基因的表达水平

Figure 7. Validation expression levels and methylation levels hub genes**图 7.** 验证 hub 基因的表达水平和甲基化水平

(a)在 GSE96879 数据集中 hub 基因 ROC 曲线

(b)在 GSE45291 数据集中 hub 基因的 ROC 曲线

Figure 8. ROC curve verification of hub gene**图 8.** hub 基因的 ROC 曲线验证

3.7. 共享 miRNA 及其作用

利用 NetworkAnalyst 数据库, 通过 Cytoscape 软件构建了 miRNA-hub 基因网络, 该网络包括 6 个中心基因、37 个 miRNA (图 9(a)), 为了便于选择重要的 miRNA, 网络中选择了至少 5 个 hub 基因的 miRNA, 有 8 个与关键基因共享的 miRNA, 分别为 hsa-mir-26a-5p、hsa-mir-27a-5p、hsa-mir-129-2-3p、hsa-mir-210-3p、hsa-mir-212-3p、hsa-mir-221-3p、hsa-mir-452-5p 和 hsa-mir-449b-5p。最后使用 mirPath 对 8 个 miRNA 进行 GO 富集, 表明这些 miRNA 的功能参与免疫过程、toll 样受体通路(图 9(b))。

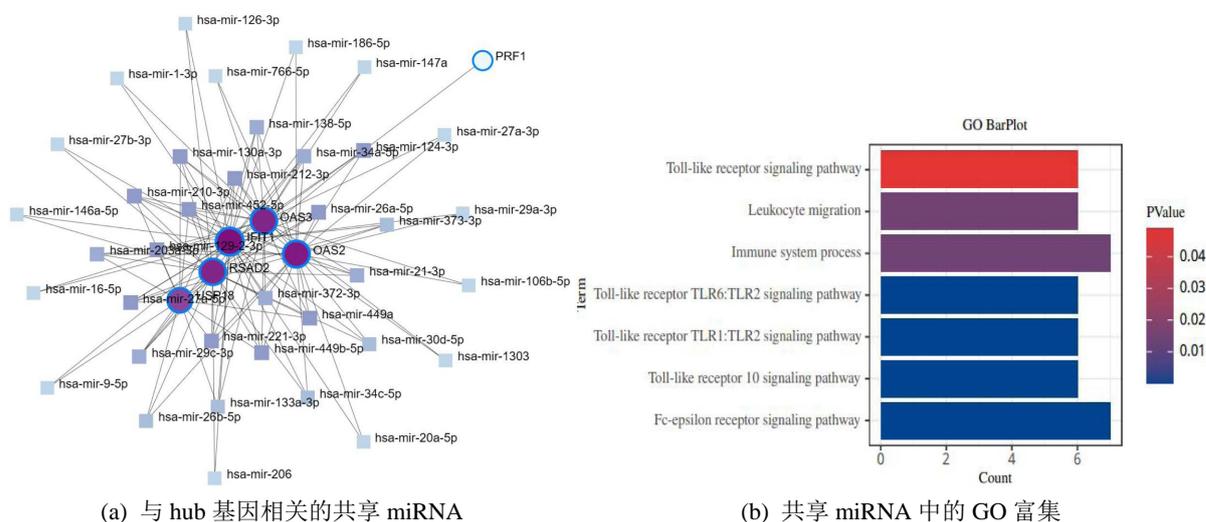


Figure 9. The hub genes-miRNAs network
图 9. hub 基因-miRNAs 网络

4. 讨论

系统性红斑狼疮是一种慢性自身免疫性疾病，临床表现复杂，导致多个系统性缺陷。据统计，10 万人就会有 150 人会发生红斑狼疮和 15% 患有系统性红斑狼疮患者 5 年内有肾功能衰竭或死亡[10]。SLE 的发生发展受很多因素的共同影响，如基因、环境，表观遗传学和激素，而表观遗传标记的可修饰性质将成为未来治疗的关键目标，DNA 甲基化是表观遗传学的一种研究充分且稳定的形式，这也引起了越来越多的关注 DNA 甲基化在 SLE 的病理性学的重要性[11] [12] [13]。

在这项研究中，使用表达阵列数据集 GSE81622 鉴别 SLE 的差异基因，再分析 DNA 甲基化谱数据集 GSE82218 中的差异甲基化基因，联合基因表达和 DNA 甲基化数据，揭示 DNA 甲基化相关的 48 个基因(mDEG)，并在我们的研究中，SLE 中的大多数 CpG 位点被发现是低甲基化。进一步 GO 富集分析显示，高甲基低表达基因主要富集到免疫应答调节信号通路、免疫反应激活信号传导通路；低甲基高表达基因主要涉及病毒防御反应、I 型干扰素的反应[14]。信号通路结果显示，高甲基低表达基因自然杀伤细胞介导的细胞毒性、白细胞跨内皮细胞迁移和 T 细胞受体信号通路；低甲基化高表达基因主要富集甲型流感、丙型肝炎等条目。再通过 PPI 互作网络分析确定上述 mDEG 编码蛋白的相互作用关系，并得到了 6 个 hub 基因：PRF1、IFIT1、OAS2、OAS3、RSAD2、USP18，在外周血中，它们有可能成为促进系统性红斑狼疮早期诊断的诊断标记物，并且我们 DNA 甲基化也参与了系统性红斑狼疮的发生。最后，共享的 miRNA，hsa-mir-26a-5p、hsa-mir-27a-5p、hsa-mir-129-2-3p、hsa-mir-210-3p、hsa-mir-212-3p、hsa-mir-221-3p、hsa-mir-452-5p 和 hsa-mir-449b-5p，也可以调节关键基因。

OAS2、OAS3、IFIT1 均为干扰素诱导蛋白，OAS3 可以降解病毒 RNA，有研究表明[15]，长链非编码 RNA-MALAT1 可通过上调 OAS2、OAS3 促进 SLE 病情。IFIT 家族成员通过多种机制调节免疫反应，限制病毒感染[16]，有文献表明，在狼疮肾炎中 IFIT1 的表达与足细胞损伤有关[17]。RSAD2 是 I 型 IFN 介导的与内质网的病毒抑制基因，且 Jang [18] 等人证实 RSAD2 与树突状细胞的成熟有关，当 RSAD2 高表达可能与树突状细胞的免疫失衡有关系，又有研究早期证明树突状细胞参与的免疫调控与 SLE 的发病密切相关[19]，并且本文研究出 RSAD2 的高表达可能受到 DNA 甲基化的调控。USP18 是一种干扰素信号通路抑制分子，有人研究显示[20] USP18 缺失可以影响小鼠体内调节 T 细胞分化，Li 等人研究表明[21]，SLE 体内 Treg 水平显著下调，所以 USP18 通过低甲基调节表达上调可能会对 SLE 起重要作用。(PRF1)

是溶细胞颗粒的主要溶细胞蛋白之一。淋巴细胞介导的细胞溶解的主要途径之一是将 T 细胞或 NK 细胞型的溶细胞效应淋巴细胞中所含的溶细胞颗粒分泌到靶膜上, 该基因与噬血细胞性淋巴组织细胞增多症 (HLH) 有关, 但在系统红斑狼疮中没有报道。

总之, 本研究提供了系统性红斑狼疮患者 DNA 甲基化和基因表达之间相互作用的综合观点。结果表明, 所鉴定的 mDEG 与免疫及相关的生物学功能、甲型流感和丙型肝炎有关。PRF1、IFIT1、OAS2、OAS3、RSAD2 和 USP18 是 SLE 病理过程中涉及的核心基因, 同时共享 miRNA 也是关键基因的调节治疗靶点。这些结果为我们更好地了解 SLE 的发病机制提供了基础方向上的新启示, 并为 SLE 的诊断和治疗提供有价值的新生物标志物。

基金项目

本研究由国家自然科学基金资助项目(62063024, 61461038), 中央引导地方科技发展计划(RZ2300000684) 和内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJZY20005)提供资助。

参考文献

- [1] Kiriakidou, M. and Ching, C.L. (2020) Systemic Lupus Erythematosus. *Annals of Internal Medicine*, **172**, 81-94. <https://doi.org/10.7326/AITC202006020>
- [2] Tian, J., Zhang, D., Yao, X., et al. (2023) Global Epidemiology of Systemic Lupus Erythematosus: A Comprehensive Systematic Analysis and Modelling Study. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **82**, 351-356. <http://dx.doi.org/10.1136/ard-2022-223035>
- [3] Ballestare, E. (2011) Epigenetic Alterations in Autoimmune Rheumatic Diseases. *Nature Reviews Rheumatology*, **7**, 264-272. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2011.16>
- [4] Mo, X.B., Zhang, Y.H. and Lei, S.F. (2021) Integrative Analysis Identifies Potential Causal methylation-mRNA Regulation Chains for Rheumatoid Arthritis. *Molecular Immunology*, **131**, 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2020.12.021>
- [5] 谢茜茜, 张晓炜, 刘暘, 等. 急性髓系白血病中受组蛋白修饰和 DNA 甲基化影响的关键基因分析[J]. 内蒙古大学学报(自然科学版), 2022, 53(6): 611-620.
- [6] Hedrich, C.M., Maebert, K., Rauen, T., et al. (2017) DNA Methylation in Systemic Lupus Erythematosus. *Epigenomics*, **9**, 505-525. <https://doi.org/10.2217/epi-2016-0096>
- [7] Huang, D.W., Sherman, B.T. and Lempicki, R.A. (2009) Systematic and Integrative Analysis of Large Gene Lists Using DAVID Bioinformatics Resources. *Nature Protocols*, **4**, 44-57. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.211>
- [8] 于海青, 顾佳欣, 樊国梁. 宫颈癌分子调控机制的关键基因分析[J]. 内蒙古大学学报(自然科学版), 2021, 52(1): 49-58.
- [9] 顾佳欣, 于海青, 樊国梁. 头颈部鳞状细胞癌差异表达基因分析[J]. 内蒙古大学学报(自然科学版), 2021, 52(5): 477-486.
- [10] Wu, G., Jia, X., Gao, D., et al. (2014) Survival Rates and Risk Factors for Mortality in Systemic Lupus Erythematosus Patients in a Chinese Center. *Clinical Rheumatology*, **33**, 947-953. <https://doi.org/10.1007/s10067-014-2596-0>
- [11] Coit, P., Ortiz, F.L., Lewis, E.E., et al. (2020) A Longitudinal and Transancestral Analysis of DNA Methylation Patterns and Disease Activity in Lupus Patients. *JCI Insight*, **5**, e143654. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.143654>
- [12] Heikkinen, A., Bollepalli, B. and Ollikainen, M. (2022) The Potential of DNA Methylation as a Biomarker for Obesity and Smoking. *Journal of Internal Medicine*, **292**, 390-408. <https://doi.org/10.1111/joim.13496>
- [13] Martins, F.R., Leal, B.G. and Costa, P.P. (2022) The Potential of Circulating Cell-Free DNA Methylation as an Epilepsy Biomarker. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, **16**, Article 852151. <https://doi.org/10.3389/fncel.2022.852151>
- [14] Han, L., Zhang, Y., Wang, Q., et al. (2018) Epstein-Barr Virus Infection and Type I Interferon Signature in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Lupus*, **27**, 947-954. <https://doi.org/10.1177/0961203317753069>
- [15] Malhotra, S., Morcillo-Suárez, C., Nurdinov, R., et al. (2013) Roles of the Ubiquitin Peptidase USP18 in Multiple Sclerosis and the Response to Interferon- β Treatment. *European Journal of Neurology*, **20**, 1390-1397. <https://doi.org/10.1111/ene.12193>
- [16] Diamond, M.S. and Farzan, M. (2013) The Broad-Spectrum Antiviral Functions of IFIT and IFITM Proteins. *Nature*

Reviews Immunology, **13**, 46-57. <https://doi.org/10.1038/nri3344>

- [17] Habjan, M., Hubel, P., Lacerda, L., *et al.* (2013) Sequestration by IFIT1 Impairs Translation of 2'O-unmethylated Capped RNA. *Plos Pathogens*, **9**, e1003663. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003663>
- [18] Jang, J.S., Lee, J.H., Jung, N.C., *et al.* (2018) Rsd2 Is Necessary for Mouse Dendritic Cell Maturation via the IRF7-Mediated Signaling Pathway. *Cell Death & Disease*, **9**, Article 823. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0889-y>
- [19] 卿平英, 刘毅. 树突状细胞及中性粒细胞在狼疮发病中的研究进展[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(3): 245-248.
- [20] Yang, L., Jing, Y., Kang, D., *et al.* (2021) Ubiquitin-Specific Peptidase 18 Regulates the Differentiation and Function of Treg Cells. *Genes & Diseases*, **8**, 344-352. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2020.03.004>
- [21] Li, W.L., Deng, C.W., Yang, H.B., *et al.* (2019) The Regulatory T Cell in Active Systemic Lupus Erythematosus Patients: A Systemic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Immunology*, **10**, Article 159. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00159>