

## 基于生物信息学方法筛选及验证慢性阻塞性肺疾病中的焦亡相关基因\*

周 舟<sup>1</sup>, 周 广<sup>1</sup>, 梁彩霞<sup>1</sup>, 钟小宁<sup>1,2Δ</sup>

(1. 广西医科大学, 南宁 530021; 2. 广西医科大学第一附属医院, 南宁 530021)

**摘要 目的:**利用生物信息学方法筛选并分析慢性阻塞性肺疾病(慢阻肺)与焦亡相关的关键基因。**方法:**首先对慢阻肺数据集 GSE38974 进行差异分析, 得到差异基因后与焦亡相关基因取交集, 最终获取焦亡相关的差异基因 (DEprGs); 对 DEprGs 进行 GO 和 KEGG 功能富集分析以及 PPI 分析; 应用 Cytoscape 软件及其插件 cytohubba 的 4 种算法分析 PPI 的结果并取交集得出关键基因; 用 GSE38974、GSE47460 数据集再次验证关键基因后筛选出最有意义的核心基因; 12 只 C57BL/6 小鼠分别于空气和烟草烟雾暴露 24 周后采用 HE 染色观察小鼠肺组织病理改变, 并运用实时荧光定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 在动物模型中验证最关键基因的差异性表达。**结果:**GSE38974 与焦亡相关基因取交集共得到 32 个 DEprGs, PPI 进一步分析后得到 7 个关键基因; 使用 GSE38974 及 GSE47460 两个数据集再次验证 7 个关键基因, 在两个数据集中同时表达且有显著差异 ( $P < 0.01$ ) 的核心基因仅有 2 个, 即 *NAIP*、*HDAC6*, 其中 *NAIP* 上调, *HDAC6* 下调; HE 染色可见烟草烟雾暴露组 (烟熏组) 小鼠较空气暴露组 (空气组) 肺泡变薄且断裂融合, 肺泡腔明显扩大, 炎症细胞浸润明显, 烟熏组小鼠平均肺泡间距明显大于空气组 ( $P < 0.05$ ); 生物信息学分析的结果与核心基因实验验证结果一致, 且相关性分析显示 *NAIP*、*HDAC6* 与小鼠的平均肺泡间距相关 ( $P < 0.05$ )。**结论:**在慢阻肺中, 细胞焦亡相关基因 *NAIP* 高表达, 可能参与慢阻肺的发生和发展; 而 *HDAC6* 低表达, 可能是潜在的保护因素。

**关键词** 慢性阻塞性肺疾病; 细胞焦亡; *NAIP*; *HDAC6*

中图分类号: R563.9 文献标志码: A 文章编号: 1005-930X(2023)03-0362-07

DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2023.03.004

### Screening and validation of pyroptosis-related genes in COPD based on bioinformatics methods\*

Zhou Zhou<sup>1</sup>, Zhou Guang<sup>1</sup>, Liang Caixia<sup>1</sup>, Zhong Xiaoning<sup>1,2Δ</sup>. (1. Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**Abstract Objective:** To screen and analyze the key genes related to pyroptosis in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) by bioinformatics. **Methods:** Firstly, differential analysis was performed on chronic obstructive pulmonary disease data set GSE38974, and intersection of the obtained differential genes and pyroptosis related genes was used to obtain the differentially expressed pyroptosis-related genes (DEprGs). GO and KEGG functional enrichment analysis and PPI analysis were performed for DEprGs. Four algorithms of Cytoscape software and cytohubba were applied to analyze PPI results and intersection of key genes were obtained. GSE38974 and GSE47460 data sets were used to verify key genes again and select the most significant core genes. Twelve C57BL/6 mice were exposed respectively to air and tobacco smoke for 24 weeks, and the pathological changes of mouse lung tissues were observed by HE staining. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) was used to verify the differential expressions of the most critical genes in the animal model. **Results:** A total of 32 DEprGs were obtained by the intersection of GSE38974 and pyroptosis genes, and 7 key genes were obtained by further analysis of PPI. Seven key genes were verified again with GSE38974 and GSE47460 data sets. Only two core genes, *NAIP* and *HDAC6*, were expressed with significant differences ( $P < 0.01$ ) in the two

\*基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (No. 82070044)

Δ通信作者, E-mail: xnzhang101@sina.com

收稿日期: 2022-09-07

data sets. *NAIP* was up-regulated, *HDAC6* was down-regulated. HE staining showed that compared with the air exposure group, the alveolar wall in the tobac-

co smoke exposure group was thinner, fractured and fused; the alveolar cavity was significantly enlarged and the inflammatory cell infiltration was obvious. The mean linear intercept in the smoking group was significantly higher than that in the air group ( $P < 0.05$ ). The results of bioinformatics analysis were consistent with the results of core gene test, and correlation analysis showed that *NAIP* and *HDAC6* were correlated with the mean alveolar spacing of mice ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** In COPD, *NAIP* is highly expressed in COPD, which may be involved in the occurrence and development of COPD. The low expression of *HDAC6* may be a potential protective factor.

**Keywords** chronic obstructive pulmonary disease; pyroptosis; *NAIP*; *HDAC6*

慢性阻塞性肺疾病(简称慢阻肺)是一种常见的以持续不可逆性气流受限为特征的疾病,气道和肺对细菌、病毒和其他有害物质的慢性炎性反应愈强,气流受限愈严重。近10年慢阻肺的患病率依旧处于高位状态,慢阻肺患者肺功能损害,呼吸通气困难,大大降低了患者的生活质量,已经成为影响公共健康的重要问题之一<sup>[1]</sup>。细胞焦亡是由细胞内或细胞外刺激激活的一种程序性细胞死亡方式,常伴随一系列的炎症反应<sup>[2]</sup>。细胞焦亡大量释放的炎症因子与慢阻肺持续存在的气道损伤和气道重塑存在关联,提示其可能参与慢阻肺气道炎症的激活<sup>[3]</sup>。

近年来,高通量基因数据库(gene expression omnibus, GEO)和人类基因数据库(GeneCards)等公共数据库被广泛用于探索包括慢阻肺在内的各类疾病<sup>[4]</sup>。本研究利用公共数据库对慢阻肺和细胞焦亡相关基因进行挖掘和分析,以了解和探索细胞焦亡是否参与慢阻肺炎症过程的激活,为深入研究细胞焦亡在慢阻肺中的相关作用及机制提供新的思路。

## 1 材料与方法

**1.1 筛选差异基因** 从GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>, 截止2022年4月25日)下载慢阻肺相关数据集。将数据集均来源于芯片数据、均有对照组及慢阻肺疾病组,且以每组例数 $\geq 9$ 例作为纳入标准。将该数据集进行差异分析,得到DEGs,筛选条件为 $\log_2|\text{fold-change(FC)}| > 0.5$ ,  $\text{adj. } P < 0.01$ ,同时利用Gene Card网站获取焦亡相关基因。DEGs和焦亡相关基因取交集获得焦亡相关的差异基因(DEprGs)。

**1.2 功能富集分析** 利用R语言对焦亡相关的差异基因进行基因本体(gene ontology, GO)和通路富集分析(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)。运用“org.Hs.eg.db”软件包进行注释转换,用clusterProfiler包进行富集分析,最后通过R软件

包“ggplot2”绘制气泡图。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

**1.3 蛋白互作(protein-protein interaction, PPI)网络的构建和Hub基因的选取**

利用PPI数据库(<https://cn.string-db.org/>, 截止2022年4月25日)对DEprGs进行分析得到PPI网络。使用Cytoscape软件中的cytohubba插件识别PPI调控网络中的关键基因,应用Degree、最大集团中心度(maximum clique centrality, MCC)、最大邻居组件(maximum neighborhood component, MNC)、最大邻域分量密度(density of maximum neighborhood component, DMNC)4种算法来获取关键节点,每种算法取前10个节点基因并取交集,得出关键基因。

**1.4 关键基因的验证** 将筛选得到的关键基因在不同的数据集中进行再次验证,选取差异有统计学意义( $P < 0.01$ )的基因作为核心基因,进行动物实验的验证。

**1.5 主要试剂及仪器** 真龙牌香烟制造商为广西中烟工业有限责任公司,4%多聚甲醛购自Biosharp公司,总RNA提取试剂Trizol及基因引物均购自生工生物工程(上海)股份有限公司,cDNA反转录试剂盒以及2×ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix均购自南京诺唯赞(Vazyme)生物科技公司。荧光定量PCR仪(Step One Plus)购自Thermo Fisher(美国),光学显微镜为奥林巴斯BX53(日本)。

**1.6 动物模型及病理切片** 将12只4~6周龄雄性C57BL/6小鼠分为空气暴露组(空气组)及烟草烟雾暴露组(烟熏组),每组6只。实验小鼠均购于广西医科大学实验动物中心,所有动物实验均在广西医科大学进行,并通过广西医科大学动物伦理委员会批准。将烟熏组小鼠放置于自制烟熏玻璃缸内烟熏24周,每周5d,每天4次,每次点燃5支香烟并关闭玻璃缸1h,烟熏结束后打开玻璃缸通风30min后继续下一次烟熏。空气组小鼠放置于正常空气暴露24周进行对照。24周后,麻醉小鼠并处死,取左上肺,使用4%多聚甲醛固定24h后进行石蜡包埋、

切片,随后进行苏木精-伊红染色(HE染色)。光学显微镜下( $\times 200$ )随机选取3~4个不同视野观察每张切片肺部病理情况并拍照,使用平均肺泡间距(LM)评估肺气肿程度。

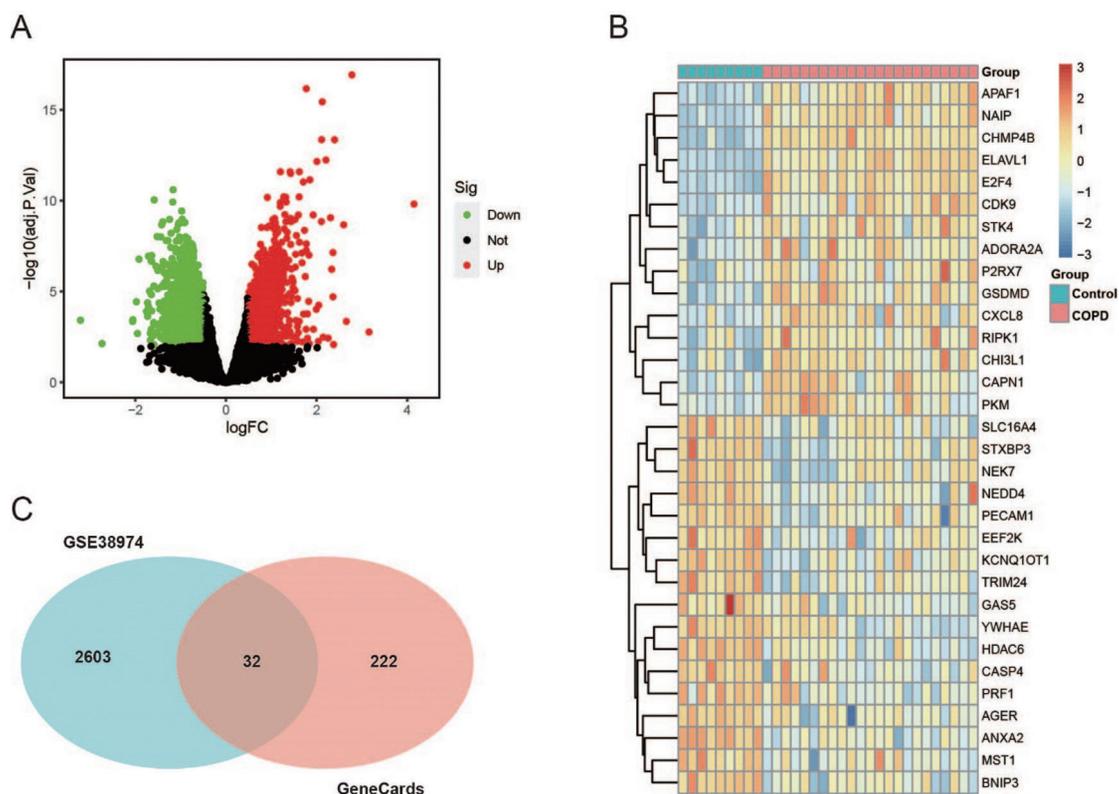
1.7 实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)法检测 *NAIP* 和 *HDAC6* 基因的表达 用 Trizol 试剂从小鼠右肺中提取总 RNA,逆转录成 cDNA,采用  $2\times$  ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 及神经元凋亡抑制蛋白(*NAIP*)、组蛋白去乙酰化酶 6(*HDAC6*)的引物进行 RT-qPCR 反应。以 *GAPDH* 基因作为内参基因,使用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  方法对基因表达进行归一化,计算出每个基因相对表达水平,并将得出的基因相对表达水平与 HE 染色所得的 LM 进行相关性分析。PCR 反应条件为:预变性  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,进行  $30\text{ s}$ ;  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性  $10\text{ s}$ ,  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  退火、延伸进行  $30\text{ s}$ ,共 40 个循环。引物序列如下:*NAIP* 上游:  $5'-\text{CGTTT-AAGGACTGGCCCAT}-3'$ , 下游:  $5'-\text{AATGTCC-CTTTTGCCTGTGT}-3'$ ; *HDAC6* 上游:  $5'-\text{GGCGG-ACTAGAAAGAGCCT}-3'$ , 下游:  $5'-\text{AGAAGAAT-CTTG-GCCGGTGG}-3'$ ; *GAPDH* 上游:  $5'-\text{GGTT-}$

$\text{GTCTCCTGCGACTTCA}-3'$ , 下游:  $5'-\text{TGGTCCA-GGGTTTCTTACTCC}-3'$ 。

1.8 统计学方法 采用 IBM SPSS Statistics 25.0 软件对实验数据进行统计分析,计量资料采用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。使用 Pearson 相关性分析法分析 *NAIP*、*HDAC6* 的相对表达量与 LM 的关系,以  $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 筛选差异基因结果 利用 GEO 数据库分析后得到 GSE38974 数据集,该数据集是一个含有 2 635 个基因的数据集。利用得到该数据集进行差异分析 ( $\log_2|\text{FC}|>0.5$  和  $P<0.01$ ) 并绘制火山图,见图 1A。利用 Gene Card 筛选焦亡基因,获得 254 个焦亡相关基因<sup>[9]</sup>。用 GSE38974 数据集和 254 个焦亡相关基因取交集获得 32 个焦亡相关的差异基因,见图 1B。差异分析同时绘制了 32 个焦亡相关的差异基因的热图,见图 1C。

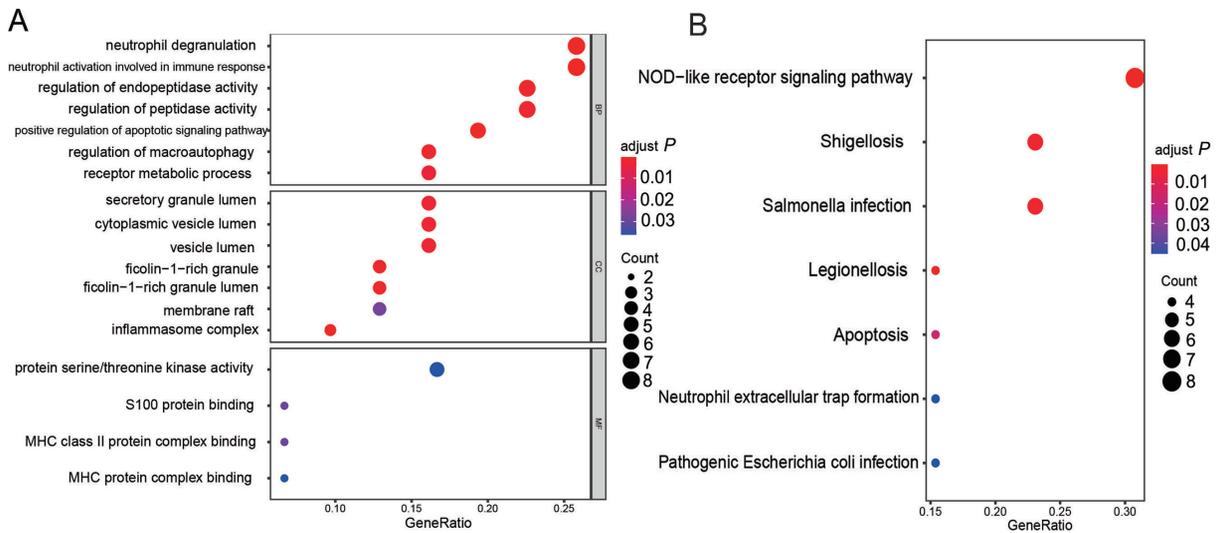


A: 差异分析火山图,上调差异基因用红色表示,下调差异基因用绿色表示,黑色代表不具有显著差异性的基因;B:慢阻肺数据集 GSE38974 与 Gene Card 筛选到的焦亡基因交集韦恩图,浅蓝色为 GSE38974,红色为所获得的焦亡基因;C: 32 个焦亡相关的差异基因 DEprGs 的热图,分组颜色绿色为慢阻肺组,分组颜色红色为对照组;表达颜色越接近红色,代表表达水平越高,越接近蓝色,代表表达水平越低。

图1 数据合并及差异基因筛选

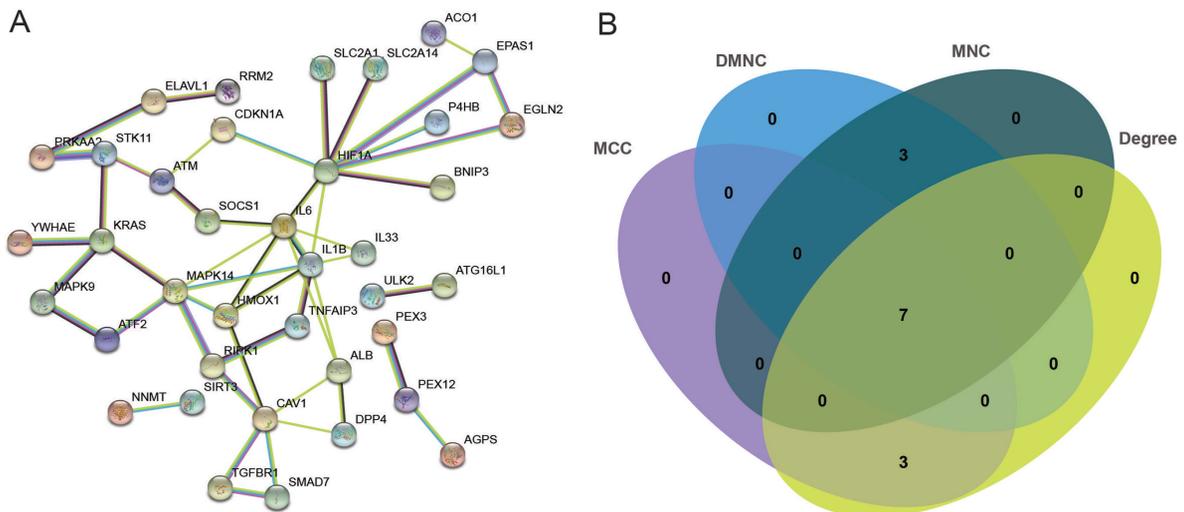
2.2 富集分析结果 将得到的32个焦亡相关的差异基因进行GO和KEGG富集分析。GO分析结果如图2A所示,其中生物过程(biological process, BP)最显著富集的是中性粒细胞脱颗粒(neutrophil degranulation),细胞组成(cellular component, CC)最显著富集的是分泌颗粒腔(secretory granule lumen),分子功能(molecular function, MF)最显著富集的是蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性(protein serine/threonine kinase activity)。KEGG富集分析结果表明最显著的是NOD-LIKE受体信号通路,见图2B。

2.3 PPI网络的构建和Hub基因的识别 利用STRING数据库分析32个焦亡相关的差异基因得到PPI网络信息,见图3A。为了更准确地定位潜在靶基因,利用Cytoscape软件中的cytohubba插件识别PPI调控网络中的关键基因。使用Degree、MCC、MNC、DMNC 4种算法来探索关键节点,选取前10个基因,这10个基因进行交集,最终得到7个关键基因,即 *P2RX7*、*NAIP*、*APAF1*、*GSDMD*、*PKM*、*CASP4*、*HDAC6*,见图3B。



A: 差异基因GO富集分析; B: 差异基因KEGG富集分析(气泡大小代表基因富集数量,气泡越大代表富集的数量越多,Count显示代表对应气泡数量参考;气泡颜色代表P.adjusted的值,气泡颜色越红代表P.adjust值越小)。

图2 差异基因富集分析结果



A: 32个DEprGs的PPI网络图; B: 4种算法获得的7个核心基因。

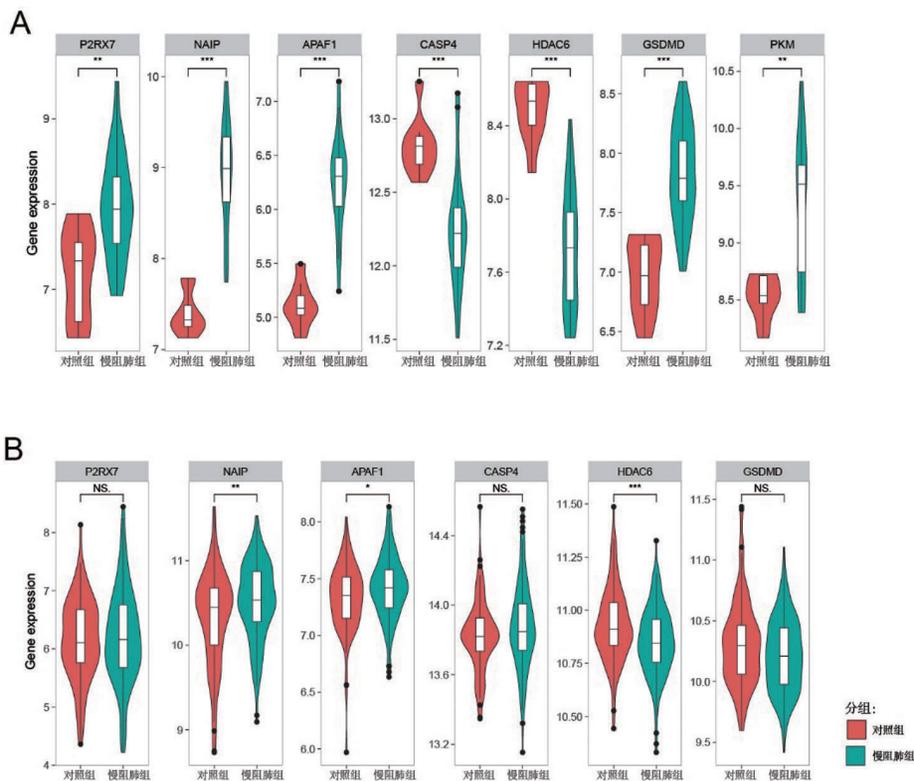
图3 PPI网络以及核心基因结果

2.4 关键基因的验证 将筛选得到的7个关键基因在GSE38974数据集中进行再次验证,验证结果表明,*P2RX7*、*NAIP*、*APAF1*、*GSDMD*、*PKM*上调,*CASP4*、*HDAC6*下调,见图4A。在GSE47460数据集中验证结果表明,仅*NAIP*、*APAF1*、*HDAC6*的差异有统计学意义( $P<0.05$ ),其中*NAIP*、*APAF1*上调,*HDAC6*下调,见图4B。最终选取了在两个验证数据集均有显著差异的两个基因*NAIP*、*HDAC6*作为核心基因进行实验验证( $P<0.01$ )。

2.5 小鼠肺组织病理形态学变化 显微镜下观察

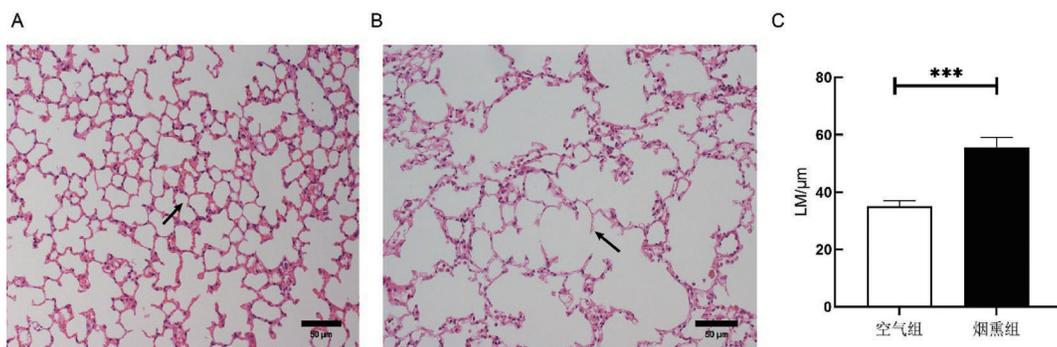
可见烟熏组较空气组肺泡壁变薄且断裂明显,有断裂肺泡壁的融合,肺泡腔明显扩大,有大量炎性细胞浸润,且烟熏组小鼠LM值高于空气组( $P<0.001$ ),见图5。

2.6 *NAIP*、*HDAC6*验证结果及与LM相关性分析结果 烟熏组*NAIP*的mRNA相对表达量高于空气组( $P<0.01$ ),*HDAC6*的mRNA相对表达量低于空气组( $P<0.001$ );*NAIP*的表达量与LM值呈正相关关系( $P<0.001$ ),而*HDAC6*与LM值呈负相关关系( $P<0.001$ ),见图6。



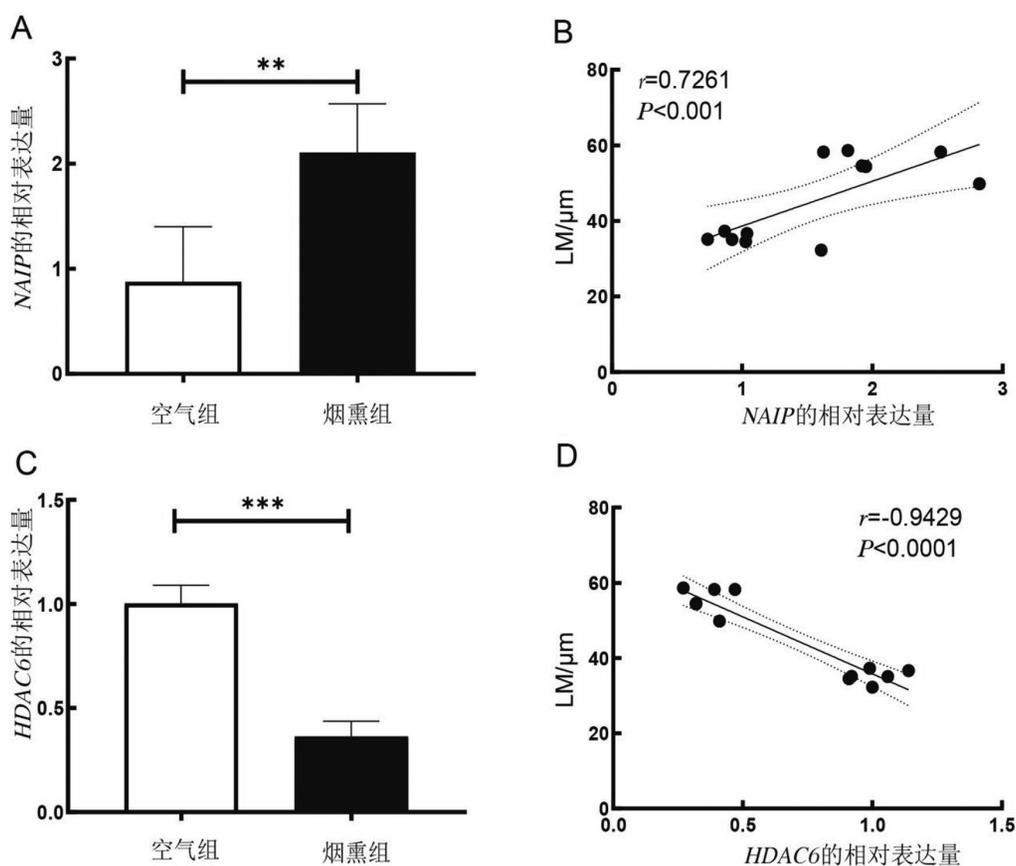
A: 关键基因在GSE38974数据集中的验证结果,*NAIP*上调,*HDAC6*下调,组间比较,\*\*\* $P<0.001$ ;B: 关键基因在GSE47460数据集中的验证结果,*NAIP*上调,组间比较,\*\* $P<0.01$ ;*HDAC6*下调,组间比较,\*\*\* $P<0.001$ 。

图4 关键基因验证结果



A: 空气组小鼠肺组织病理HE染色图( $\times 200$ ),黑色箭头标注处为正常连续肺泡结构,图中标尺为50  $\mu\text{m}$ ;B: 烟熏组小鼠肺组织病理HE染色图( $\times 200$ ),黑色箭头标注处为肺泡断裂,可见断端在肺泡腔中游离,肺泡腔明显扩大;C: LM统计分析图,组间比较,\*\*\* $P<0.001$ 。

图5 小鼠肺组织病理学变化(HE,  $\times 200$ )



A: 两组 *NAIP* 相对表达量比较, 组间比较,  $**P < 0.01$ ; B: *NAIP* 相对表达量与 LM 的相关性分析散点图; C: 两组 *HDAC6* 相对表达量比较, 组间比较,  $***P < 0.001$ ; D: *HDAC6* 相对表达量与 LM 的相关性分析散点图。

图6 核心基因差异表达验证与相关性分析

### 3 讨论

基于生物信息学的疾病相关基因和机制分析方法近年来成为医学领域研究的热门, 生物信息学分析也应用于慢阻肺<sup>[6]</sup>。利用生物信息学相关方法分析得知, 焦亡相关基因 *NAIP*、*HDAC6* 与慢阻肺的关系密切。本研究利用烟草烟雾暴露 24 周建立小鼠肺损伤模型<sup>[7]</sup>后使用 RT-qPCR 实验对生信分析结果进行验证。实验结果显示, 与空气组相比较, 烟熏组小鼠肺组织中 *NAIP* 的表达上调, 而 *HDAC6* 的表达下调。*NAIP*、*HDAC6* 分别与 LM 进行相关性分析, 结果提示 *NAIP* 的表达量与 LM 值呈明显正相关关系, 而 *HDAC6* 与 LM 值呈负相关关系。

细胞焦亡途径的激活主要由炎症小体介导, 炎症小体是由模式识别受体、特殊接头蛋白和半胱氨酸蛋白酶-1 前体组成的大分子蛋白质复合物<sup>[8]</sup>, 炎症小体收到刺激信号后诱导焦磷酸化而使细胞发生焦亡<sup>[9]</sup>。*NAIP* 也是一种炎症小体感受器, *NAIP* 通常与 *NLRC4* 结合形成 *NAIP-NLRC4* 炎症复合小

体, 该炎症小体的明显激活在人和小鼠中诱导全身炎症、脓毒症和死亡<sup>[10]</sup>, 全身激活后, *NAIP-NLRC4* 导致强烈的自身炎症反应, 肺部表现为 IL-18 等炎症因子的大量释放, 中性粒细胞浸润, 干扰素- $\gamma$ 、*Caspas-11* 的激活, 从而激活细胞焦亡非经典途径进一步介导细胞焦亡<sup>[11]</sup>。本研究使用生物信息学方法分析细胞焦亡与慢阻肺相关基因后, 发现细胞焦亡相关基因 *NAIP* 与慢阻肺关系密切, 动物实验也表明 *NAIP* 在烟熏小鼠肺组织中的表达明显上升, 且与小鼠 LM 值呈正相关关系。根据本研究初步验证结果, *NAIP* 在慢阻肺中如何介导细胞焦亡将成为本课题组进一步深入了解以及探讨的问题, 这也为慢阻肺炎症激活的机制提供新的方向。

*HDAC6* 是 HDAC 家族中最大的成员。*HDAC6* 通过微管运输和细胞运动, 从而调节细胞迁移、肿瘤发生、发展以及细胞的增殖和死亡<sup>[12]</sup>。慢阻肺的炎症反应与烟草烟雾提取物刺激气道上皮导致的上皮纤毛短缩增加有关<sup>[13]</sup>。有研究发现, *HDAC6* 基因敲除小鼠以及这些小鼠来源的支气管上皮细胞使用烟草烟雾以及烟草烟雾提取物刺激后其自噬

水平下降、纤毛短缩减轻<sup>[4]</sup>, *HDAC6*在慢阻肺中的作用机制可能是通过去乙酰化作用, 进而促进自噬, 从而导致纤毛短缩。烟草烟雾刺激是慢阻肺重要的致病原因之一<sup>[5]</sup>, 使用不同浓度尼古丁干预巨噬细胞后, 发现 *HDAC6*、*Caspase1*、*NLRP3*、*IL-1 $\beta$* 、*IL-18* 的表达水平显著升高, 使用 *HDAC6* 抑制剂以及 siRNA 特异性沉默 *HDAC6* 后, *Caspase1*、*NLRP3*、*IL-1 $\beta$* 、*IL-18* 的表达明显降低, 该研究表明了尼古丁干预后 *HDAC6* 通过 *HDAC6/NF- $\kappa$ B/NLRP3* 途径在一定程度上介导巨噬细胞焦亡过程<sup>[6]</sup>。本研究利用生物信息学方法分析后, 发现焦亡相关基因 *HDAC6* 在慢阻肺中也呈现低表达状态, 这一发现与本研究的 RT-qPCR 验证结果一致, 且 *HDAC6* 的 mRNA 表达量也与小鼠 HE 染色的 LM 值呈负相关关系。然而, *HDAC6* 在慢阻肺的炎症反应中如何起到保护作用, 仍需要更深入的探讨研究。

综上所述, 本研究基于 GEO 和 Gene Card 数据库, 应用生物信息学分析方法, 发现 *NAIP*、*HDAC6* 这两个焦亡相关基因可能与慢阻肺的发生、发展有关。随着研究技术和实验方法的不断改进, 更好地了解细胞焦亡因子在慢阻肺发生过程中的作用, 可能为慢阻肺的具体发生机制的研究提供新的思路。

## 参考文献:

- [1] SINGH D, AGUSTI A, ANZUETO A, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive lung disease: the GOLD science committee report 2019 [J]. *European Respiratory Journal*, 2019, 53(5): 1900164.
- [2] YU P, ZHANG X, LIU N, et al. Pyroptosis: mechanisms and diseases [J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, 6(1): 128.
- [3] MO R, ZHANG J, CHEN Y, et al. Nicotine promotes chronic obstructive pulmonary disease via inducing pyroptosis activation in bronchial epithelial cells [J]. *Molecular Medicine Reports*, Spandidos Publications, 2022, 25(3): 1-8.
- [4] SUN S, SHEN Y, WANG J, et al. Identification and validation of autophagy-related genes in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 2021(16): 67-78.
- [5] YE Y, DAI Q, QI H. A novel defined pyroptosis-related gene signature for predicting the prognosis of ovarian cancer [J]. *Cell Death Discovery*, 2021, 7(1): 71.
- [6] CHEN L, ZHU D, HUANG J, et al. Identification of hub genes associated with COPD through integrated bioinformatics analysis [J]. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 2022(17): 439-456.
- [7] JONES B, DONOVAN C, LIU G, et al. Animal models of COPD: what do they tell us? [J]. *Respirology*, 2017, 22(1): 21-32.
- [8] SUN J, LI Y. Pyroptosis and respiratory diseases: a review of current knowledge [J]. *Frontiers in Immunology*, 2022(13): 920464.
- [9] MAN S M, KARKI R, KANNEGANTI T-D. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases [J]. *Immunological Reviews*, 2017, 277(1): 61-75.
- [10] KAY C, WANG R, KIRKBY M, et al. Molecular mechanisms activating the NAIP-NLRC4 inflammasome: Implications in infectious disease, autoinflammation, and cancer [J]. *Immunological Reviews*, 2020, 297(1): 67-82.
- [11] BAUER R, RAUCH I. The NAIP/NLRC4 inflammasome in infection and pathology [J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2020(76): 100863.
- [12] ZHENG K, JIANG Y, HE Z, et al. Cellular defence or viral assist: the dilemma of HDAC6 [J]. *Journal of General Virology*, Microbiology Society, 2017, 98(3): 322-337.
- [13] SHI J, LI H, YUAN C, et al. Cigarette smoke-induced acquired dysfunction of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018(2018): 1-13.
- [14] LAM H C, CLOONAN S M, BHASHYAM A R, et al. Histone deacetylase 6 - mediated selective autophagy regulates COPD-associated cilia dysfunction [J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2020, 130(11): 6189.
- [15] ROSENBERG S R, KALHAN R, MANNINO D M. Epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease: prevalence, morbidity, mortality, and risk factors [J]. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 2015, 36(4): 457-469.
- [16] XU S, CHEN H, NI H, et al. Targeting HDAC6 attenuates nicotine-induced macrophage pyroptosis via NF- $\kappa$ B/NLRP3 pathway [J]. *Atherosclerosis*, 2021(317): 1-9.

本文引用格式:

周舟, 周广, 梁彩霞, 等. 基于生物信息学方法筛选及验证慢性阻塞性肺疾病中的焦亡相关基因 [J]. *广西医科大学学报*, 2023, 40(3): 362-368. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2023.03.004

ZHOU Z, ZHOU G, LIANG C X, et al. Identification and validation of pyroptosis-related genes in COPD based on bioinformatics methods [J]. *Journal of Guangxi Medical University*, 2023, 40(3): 362-368. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2023.03.004