

• 论 著 •

微小病变性肾病与局灶节段性肾小球硬化患者 肾组织 mRNA 表达谱差异研究*

寇 敏, 吴 芳, 王 惠, 郭琇婷, 杨园园, 赵丽君[△]

(山西省儿童医院肾内科, 山西 太原 030013)

[摘 要] **目的** 分析微小病变性肾病(MCD)与局灶节段性肾小球硬化(FSGS)患者肾组织 mRNA 表达谱的差异, 筛选出二者的鉴别诊断基因。**方法** 分析来自 GEO 数据库 MCD 和 FSGS 的表达谱数据集, 并将其分为测试集和验证集, 同时分为 MCD 组(54 例)和 FSGS 组(91 例)。使用 R 软件鉴定差异表达基因, 并进行富集分析, 通过测试集和验证集对诊断标志物进行筛选和验证, 绘制受试者工作特征曲线, 并通过曲线下面积(AUC)评估其预测价值。**结果** 相对于 MCD 组, FSGS 组有 4 个差异基因, 包括 3 个上调基因(COLEC12、SFRP2、MOXD1)和 1 个下调基因(ENPP6)。在验证集中, FSGS 组 COLEC12、SFRP2、MOXD1 相对表达水平高于 MCD 组, FSGS 组 ENPP6 相对表达水平低于 MCD 组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。COLEC12、SFRP2、MOXD1、ENPP6 表达水平预测测试集患者发生 FSGS 的 AUC 分别为 0.794、0.825、0.800、0.768; COLEC12、SFRP2、MOXD1、ENPP6 表达水平预测验证集患者发生 FSGS 的 AUC 分别为 0.668、0.635、0.638、0.733。**结论** COLEC12、SFRP2、MOXD1、ENPP6 可作为鉴别 MCD 与 FSGS 的关键诊断标志物。

[关键词] 微小病变性肾病; 局灶节段性肾小球硬化; 诊断基因

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2025.06.002

中图法分类号: R926.6

文章编号: 1009-5519(2025)06-1302-05

文献标识码: A

Study on the differential expression profile of renal tissue mRNA between patients with minimal change disease and focal segmental glomerulosclerosis*

KOU Min, WU Fang, WANG Hui, GUO Xiuting, YANG Yuanyuan, ZHAO Lijun[△]

(Department of Nephrology, Shanxi Province Children's Hospital,

Taiyuan, Shanxi 030013, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the differences of renal mRNA expression profiles between patients with minimal change disease(MCD) and focal segmental glomerulosclerosis(FSGS), and screen the differential diagnostic genes between MCD and FSGS. **Methods** The expression profile data sets of MCD and FSGS from GEO database were collected and divided into test set and validation set. At the same time, they were divided into MCD group(54 cases) and FSGS group(91 cases). The differentially expressed genes were identified by R software, and the enrichment analysis was performed. The diagnostic markers were screened and verified through the test set and validation set. The receiver operating characteristic curve was drawn, and the predictive value was evaluated by the area under the curve(AUC). **Results** Compared with the MCD group, the FSGS group had four different genes, including three up-regulated genes(COLEC12, SFRP2, MOXD1) and one down regulated gene(ENPP6). In the validation set, the relative expression levels of COLEC12, SFRP2 and MOXD1 in the FSGS group were higher than those in the MCD group, and the relative expression level of ENPP6 in the FSGS group was lower than that in the MCD group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The AUC values for predicting FSGS in patients of the test set with COLEC12, SFRP2, MOXD1 and ENPP6 expression levels were 0.794, 0.825, 0.800 and 0.768, respectively. The AUC values for predicting FSGS in patients of the validation set with COLEC12, SFRP2, MOXD1 and ENPP6 expression levels were 0.668, 0.635, 0.638 and 0.733, respectively. **Conclusion** COLEC12, SFRP2, MOXD1 and ENPP6 can be used

* 基金项目: 山西省基础研究计划(自由探索类)项目(202203021212084)。

作者简介: 寇敏(1983—), 硕士研究生, 副主任医师, 主要从事儿童肾脏疾病临床与基础方面研究。 [△] 通信作者, E-mail: zljczm@163.com。

as the key diagnostic markers to distinguish MCD and FSGS.

[Key words] Minimal change nephropathy; Focal segmental glomerulosclerosis; Diagnostic genes

微小病变性疾病(MCD)和局灶性节段性肾小球硬化(FSGS)是由足细胞病变定义的以肾病综合征为特征的肾小球疾病,是儿童和成人特发性肾病综合征的主要原因^[1]。二者临床表现均为肾病综合征,但预后截然不同,MCD对激素治疗敏感,而FSGS通常对激素耐药,且易进展至终末期肾病(ESRD),其诊断需要肾穿刺活检。在活检样本较少时,FSGS不能与MCD区分,MCD的光镜显示肾小球只有轻微的异常,免疫组织学方法显示无免疫球蛋白和补体沉积,电镜显示足细胞足突弥漫性丧失^[2]。FSGS的特征是当用光镜或电子显微镜检查时,肾活检标本中至少一个肾小球(局灶性)的部分(节段性)存在硬化^[3]。FSGS发病初期病理表现不典型,易误诊和漏诊。临床上部分对激素治疗反应差的MCD进行重复肾活检时会诊断为FSGS。MCD和FSGS患者出现大量蛋白尿时,临床仍广泛使用糖皮质激素和免疫抑制剂,但其会产生糖皮质激素抵抗,这可能与年龄、糖皮质激素受体异常表达、足细胞相关基因突变、病理类型、脂质代谢异常或免疫因素等相关^[4]。MCD和FSGS患者尿液的蛋白质组学特征是有大量蛋白尿,但这两种形式之间无显著差异^[5]。本研究旨在对公共数据库中有MCD和FSGS的数据集进行生物信息学分析,以确定可能作为鉴别二者的诊断基因,并评估其功能机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 从GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中下载MCD和FSGS表达谱数据集GSE69814、GSE200828、GSE200818,分为MCD组和FSGS组。使用R软件(版本4.1.2)将GSE69814和GSE200828数据集合并为测试集,同时将GSE200818数据集作为验证集。见表1。

表 1 纳入数据集特征					
GEO 数据集	平台注释文件	MCD 组 (n)	FSGS 组 (n)	组织标本	数据类型
GSE69814	GPL6244	5	6	肾穿刺活检	测试集
GSE200828	GPL19983	19	31	肾穿刺活检	测试集
GSE200818	GPL19983	30	54	肾穿刺活检	验证集

1.2 方法

1.2.1 筛选差异表达基因 使用R软件“limma”包筛选差异表达基因,以 $|\log_2FC| > 1$ 、 $P < 0.05$ 为标准,筛选测试集中2组差异表达基因。

1.2.2 差异表达基因富集分析 进行基因本体(GO)功能富集分析和京都基因和基因组百科全书

(KEGG)通路富集分析。对MCD、FSGS组差异基因表达谱进行基因集合富集分析(GSEA)。

1.2.3 关键基因筛选和验证 比较测试集中2组关键差异基因表达水平。绘制受试者工作特征(ROC)曲线,并通过曲线下面积(AUC)评估其预测价值,其中AUC范围为0.5~1.0, >0.7 表示模型分辨能力较好,其值越大提示关键基因的预测价值越高。

1.3 统计学处理 应用SPSS26.0和R4.0.3软件进行数据处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以率表示。计量资料采用t检验或非参数秩和检验,计数资料采用费希尔精确概率检验。以AUC评估区分度。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

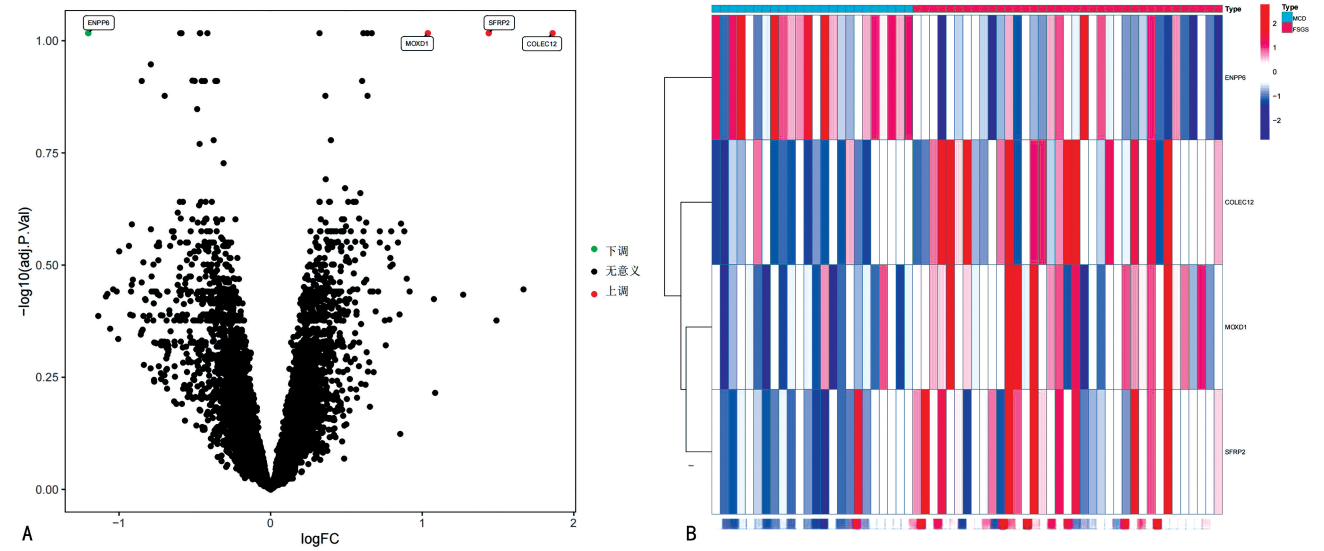
2 结果

2.1 差异基因分析结果 相对于MCD组,FSGS组有4个差异表达基因,包含3个上调基因(COLEC12、SFRP2、MOXD1)和1个下调基因(ENPP6)。差异表达基因可视化图见图1。

2.2 富集分析结果 GO功能富集分析结果:生物过程主要包括含邻苯二酚化合物的分解代谢过程、多巴胺能神经元分化的调控、儿茶酚胺分解代谢过程;细胞成分主要包括胶原三聚体、内吞囊泡膜、膜锚固构件;分子功能主要包括低密度脂蛋白颗粒结合、模式识别受体活性、纤连蛋白结合(图2A)。KEGG通路富集分析显示,这些基因主要富集于含邻苯二酚化合物的分解代谢过程、儿茶酚胺分解代谢过程、多巴胺能神经元分化的调控、中胚层形成的调控、干细胞分裂的调控等(图2B)。GSEA分析显示,FSGS组的富集途径主要与细胞黏附分子、受体相互作用、焦点附着有关(图2C)。

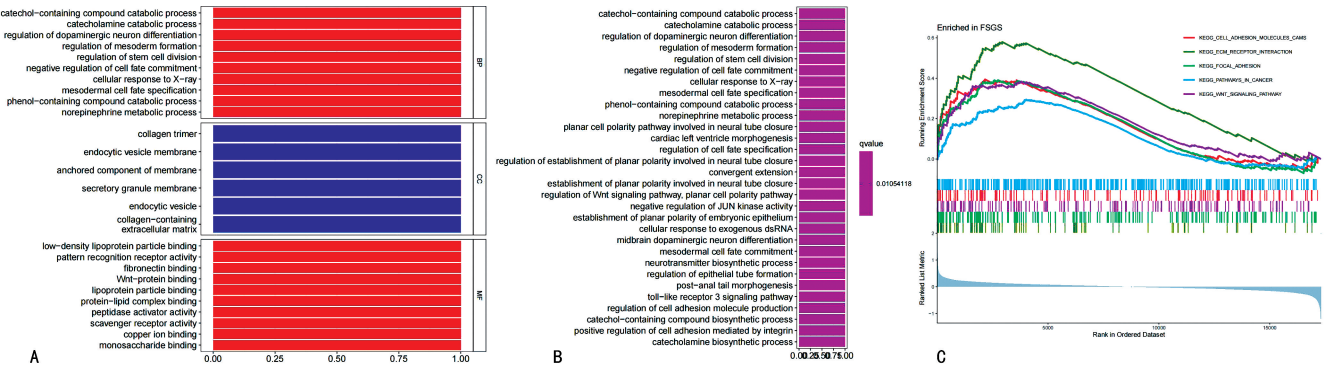
2.3 关键基因表达水平及其预测价值 在验证集中,FSGS组的COLEC12、SFRP2、MOXD1相对表达水平高于MCD组,FSGS组ENPP6相对表达水平低于MCD组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。ROC曲线分析结果显示,COLEC12、SFRP2、MOXD1、ENPP6表达水平预测测试集患者发生FSGS的AUC分别为0.794(95%CI 0.682~0.930),0.825(95%CI 0.716~0.926),0.800(95%CI 0.679~0.908),0.768(95%CI 0.628~0.884);COLEC12、SFRP2、MOXD1、ENPP6表达水平预测验证集患者发生FSGS的AUC分别为0.668(95%CI 0.557~0.781),0.635(95%CI 0.508~0.751),0.638(95%CI 0.520~0.759),0.733(95%CI 0.614~0.839)。见图3~5。基于基因表达水平和诊断性能,推测COLEC12、SFRP2、MOXD1、ENPP6可能是MCD和

FSGS 的鉴别诊断基因。



注：A. 火山图；B. 热图。

图 1 差异表达基因识别



注：A. GO 功能富集分析；B. KEGG 通路富集分析；C. GSEA 分析。

图 2 富集分析图

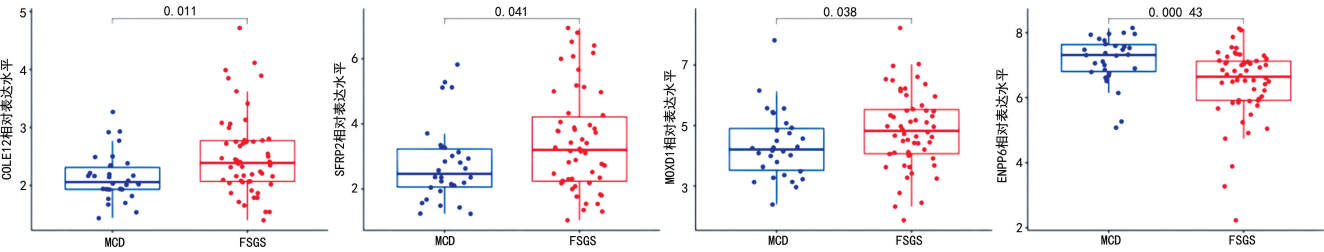


图 3 4 个差异表达基因在验证集 2 组中表达水平

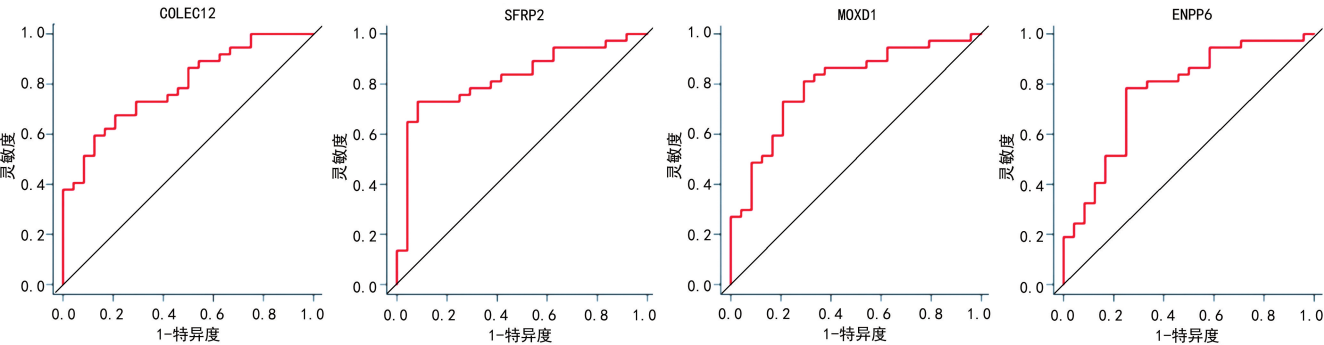


图 4 4 个差异表达基因表达水平预测测试集发生 FSGS 的 ROC 曲线

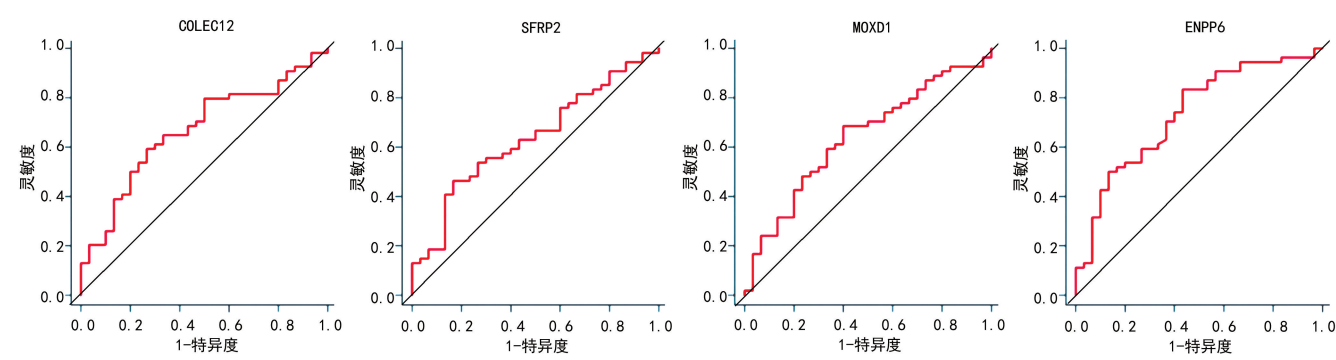


图 5 4 个差异表达基因表达水平预测验证集发生 FSGS 的 ROC 曲线

3 讨 论

原发性肾病综合征是儿童期常见的肾小球疾病之一,其中 MCD 及 FSGS 为 2 种最常见病理学类型,分别占 80%~90%与 5%~10%^[6]。MCD 多数对激素类药物敏感,而 FSGS 多数呈现激素抵抗,2 种疾病的临床表现、治疗及预后存在显著差异。因此,正确诊断肾病综合征的病理学类型,对其治疗至关重要。肾小球疾病的最终诊断是基于肾穿刺活检结果,其有助于确定预后和选择最合适的治疗方法,但可能会导致并发症^[7]。有研究报道,光镜显示 MCD 样本有正常肾小球,FSGS 样本部分肾小球有节段性瘢痕^[8]。因此,如果活检样本较少,FSGS 可能会被误诊为 MCD。正确的诊断对于有效的治疗至关重要。MCD 通常对类固醇治疗有反应性,长期预后良好,而 FSGS 通常对类固醇治疗有耐药性,并有进展至 ESRD 的风险^[9]。MAAS 等^[10]研究认为,MCD 和 FSGS 是同一种进展性疾病不同阶段的病理表现,其中 MCD 为疾病的早期阶段,FSGS 则为疾病的晚期表现,其治疗初期对类固醇敏感,但随着疾病进展,可能会出现耐药,而临床医生无法在治疗前预测类固醇耐药性。国内外在研究 MCD 及 FSGS 发病机制时发现多种其特有的生物因子,如膜抗原 CD80、脂质过氧化物、骨桥蛋白、血管内皮生长因子受体^[11-12],其中部分因子具有成为临床诊断 MCD 及 FSGS 生物标志物的潜能^[13],但目前还没有足够的证据支持在临床实践中使用这些生物标志物。因此,有必要寻找诊断性生物标志物。有研究发现,与 MCD 相比,FSGS 中尿-1 抗胰蛋白酶、转铁蛋白、组蛋白 3 和 39S 核糖体蛋白 L17 水平降低,钙维甲素水平升高^[5]。

本研究通过生物信息学分析发现,相对于 MCD 组,FSGS 组有 4 个差异表达基因,包含 3 个上调基因(COLEC12、SFRP2、MOXD1)和 1 个下调基因(ENPP6)。COLEC12 是 C 型凝集素受体家族的成员,可以通过碳水化合物识别域识别病原体的复杂聚糖结构,进而激活适应性免疫应答^[14-15]。LI 等^[15]研究显示,与正常组织相比,骨肉瘤组织中 COLEC12 表达水平更高,且在骨肉瘤患者中,COLEC12 的高表达与

预后更差有关。CHANG 等^[16]研究证实,在胃基质细胞中,COLEC12 的表达介导免疫抑制,促进胃癌的发生、发展。COLEC12 可能是细菌感染后引起免疫抑制的关键因素之一,这可以解释本研究结果。分泌型卷曲相关蛋白 2(SFRP2)是 SFRP 家族成员之一,是间充质干细胞产生的分泌蛋白,其在增强间充质干细胞抗凋亡能力和缺氧条件下的自我更新方面具有重要作用,参与一系列的细胞活动,如增殖、凋亡、迁移及细胞分化等。SFRP2 的相关研究主要集中在作为抑癌基因参与细胞癌变调控方面^[17-18],且已被证明在各种心血管疾病中发挥保护作用^[19]。MOXD1 是铜单加氧酶家族的一员,包括多巴胺单加氧酶(多巴胺 β 单加氧酶)和肽基甘氨酸 α 羟化单加氧酶,位于 6 号染色体,是一个蛋白质编码基因。MOXD1 表达最高的器官是唾液腺和卵巢,其次在大脑、垂体和心脏^[20]。MOXD1 水平与脑胶质母细胞瘤患者较高的复发率和总生存率相关,其可促进癌细胞的生长^[21]。MOXD1 主要位于内质网,与铜离子结合,其与免疫微环境有一定相关性^[21-22]。外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶 6 (ENPP6)是 ENPP 家族的一员,该家族与许多关键的生物学和病理生理过程有关,包括核苷酸和磷脂信号、骨矿化、纤维化疾病和肿瘤相关免疫细胞浸润^[23-24]。

本研究通过生物信息学分析发现 4 个关键基因(COLEC12、SFRP2、MOXD1、ENPP6),同时通过测试集与验证集的验证,发现 4 个基因对 MCD 与 FSGS 有一定的鉴别诊断效能。但本研究存在一定的局限性:(1)纳入的样本量较小,尚需多中心、扩大样本的外部验证;(2)尚未进行临床标本验证;(3)关键基因对疾病的具体作用机制或信号通路,尚需进一步探索;(4)关键基因是否对激素敏感或激素耐药有一定影响,需要进一步研究。

参考文献

[1] MCGROGAN A,FRANSSEN C F,DE VRIES C S. The incidence of primary glomerulonephritis worldwide:a systematic review of the literature[J]. Nephrol Dial Transplant,2011,26(2):414-430.

[2] SETHI S,ZAND L,NASR S H,et al. Focal and segmental glomerulosclerosis;clinical and kidney biopsy correlations[J]. Clin Kidney J,2014,7(6):531-537.

[3] VIVARELLI M, MASSELLA L, RUGGIERO B, et al. Minimal change disease[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2017,12(2):332-345.

[4] LI Y, HE Q, WANG Y, et al. A Systematic analysis of major susceptible genes in childhood-onset steroid-resistant nephrotic syndrome[J]. Ann Clin Lab Sci, 2019, 49 (3):330-337.

[5] CHEBOTAREVA N V,VINOGRADOV A,BRZHOZOVSKIY A G, et al. Potential urine proteomic biomarkers for focal segmental glomerulosclerosis and minimal change disease[J]. Int J Mol Sci,2022,23(20):12607.

[6] FILLER G, YOUNG E, GEIER P, et al. Is there really an increase in non-minimal change nephrotic syndrome in children? [J]. Am J Kidney Dis,2003,42(6):1107-1113.

[7] CORAPI K M, CHEN J L, BALK E M, et al. Bleeding complications of native kidney biopsy: a systematic review and meta-analysis[J]. Am J Kidney Dis, 2012, 60 (1):62-73.

[8] FOGO A B,LUSCO M A,NAJAFIAN B,et al. AJKD atlas of renal pathology:focal segmental glomerulosclerosis [J]. Am J Kidney Dis,2015,66(2):e1-2.

[9] WALDMAN M, CREW R J, VALERI A, et al. Adult minimal-change disease: clinical characteristics, treatment, and outcomes[J]. Clin J Am Soc Nephrol,2007,2 (3):445-453.

[10] MAAS R J, DEEGENS J K, SMEETS B, et al. Minimal change disease and idiopathic FSGS:manifestations of the same disease[J]. Nat Rev Nephrol, 2016, 12 (12): 768-776.

[11] GARIN E H, MU W, ARTHUR J M, et al. Urinary CD80 is elevated in minimal change disease but not in focal segmental glomerulosclerosis[J]. Kidney Int, 2010, 78(3):296-302.

[12] WORONIECKI R P, SHATAT I F, SUPE K, et al. Urinary cytokines and steroid responsiveness in idiopathic nephrotic syndrome of childhood [J]. Am J Nephrol, 2008,28(1):83-90.

[13] MACHADO J R, ROCHA L P, NEVES P D, et al. An overview of molecular mechanism of nephrotic syndrome [J]. Inter J Nephrol,2012,2012:937623.

[14] TOMA V A, TIGU A B, FARCAS A D, et al. New aspects towards a molecular understanding of the allicin immunostimulatory mechanism via Colec12, MARCO, and SCARB1 receptors[J]. Int J Mol Sci,2019,20(15):3627.

[15] LI G Z,DENG J F,QI Y Z,et al. COLEC12 regulates apoptosis of osteosarcoma through Toll-like receptor 4-activated inflammation[J]. J Clin Lab Anal, 2020, 34 (11): e23469.

[16] CHANG L L, HSU W H, KAO M C, et al. Stromal C-type lectin receptor COLEC12 integrates H. pylori, PGE2-EP2/4 axis and innate immunity in gastric diseases[J]. Sci Rep,2018,8(1):3821.

[17] CHARLES JACOB H K, SIGNORELLI R, CHARLES RICHARD J L, et al. Identification of novel early pancreatic cancer biomarkers KIF5B and SFRP2 from “first contact” interactions in the tumor microenvironment[J]. J Exp Clin Cancer Res,2022,41(1):258.

[18] LIN J, ZHANG L, CHEN M, et al. Evaluation of combined detection of multigene mutation and SDC2/SFRP2 methylation in stool specimens for colorectal cancer early diagnosis[J]. Int J Colorectal Dis, 2022, 37 (6): 1231-1238.

[19] MA T, HUANG X, ZHENG H, et al. SFRP2 improves mitochondrial dynamics and mitochondrial biogenesis, oxidative stress, and apoptosis in diabetic cardiomyopathy [J]. Oxid Med Cell Longev,2021,2021:9265016.

[20] HOERDER-SUABEDISSEN A, WANG W Z, LEE S, et al. Novel markers reveal subpopulations of subplate neurons in the murine cerebral cortex[J]. Cerebral Cortex, 2009,19(8):1738-1750.

[21] SHI P, XU J, XIA F, et al. MOXD1 knockdown suppresses the proliferation and tumor growth of glioblastoma cells via ER stress-inducing apoptosis[J]. Cell Death Discov,2022,8(1):174.

[22] WANG W, HUA S, LI J, et al. Tumour microenvironment landscape and immunotherapy response in bladder cancer decoded by stromal MOXD1 based on copper-related genes signature [J]. Front Oncol, 2022, 12: 1081091.

[23] MORITA J, KANO K, KATO K, et al. Structure and biological function of ENPP6, a choline-specific glycerophosphodiester-phosphodiesterase[J]. Sci Rep, 2016, 6: 20995.

[24] DILLON S, SUCHACKI K, HSU S N, et al. Ablation of enpp6 results in transient bone hypomineralization[J]. JBMR Plus,2021,5(2):e10439.

(收稿日期:2024-10-12 修回日期:2025-01-12)