

网络分析鉴定了治疗肝疾病的肝特异性靶标

庄丽丽

2017-10-25

Background

- **NAFLD(nonalcoholic fatty liver disease):** 非酒精性脂肪性肝病
- **HCC(hepatocellular carcinoma):**肝细胞癌
- **FASN(fatty acid synthase):**脂肪酸合成酶
- **TRNs(transcriptional regulatory networks):**转录调控网络
- **PPINs(protein–protein interaction networks):**蛋白与蛋白互作网络
- **INs(integrated networks):**整合网络
- **HPA(Human Protein Atlas):**人类蛋白质图谱

Background

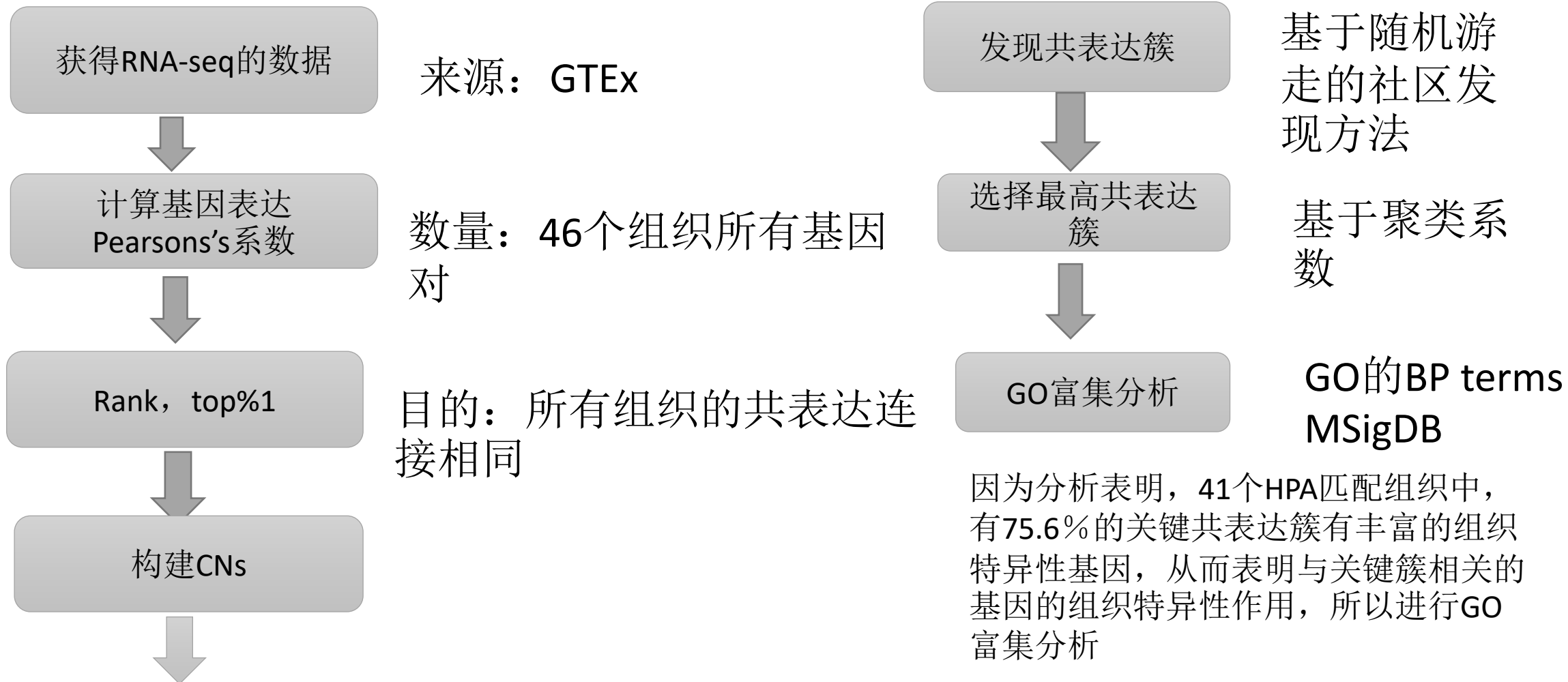
- 非酒精性脂肪性肝病（NAFLD）的特征在于肝脏中多余脂肪的积累，它是发达国家慢性肝病的最常见原因，到2030年，NAFLD预计将成为美国最常见的肝移植指征，在过去几十年间，与NAFLD的流行同时，美国HCC（肝癌）的发病率也有了显著的增长。因此，迫切需要制定预防和治疗这些慢性肝病的新策略。

Research content

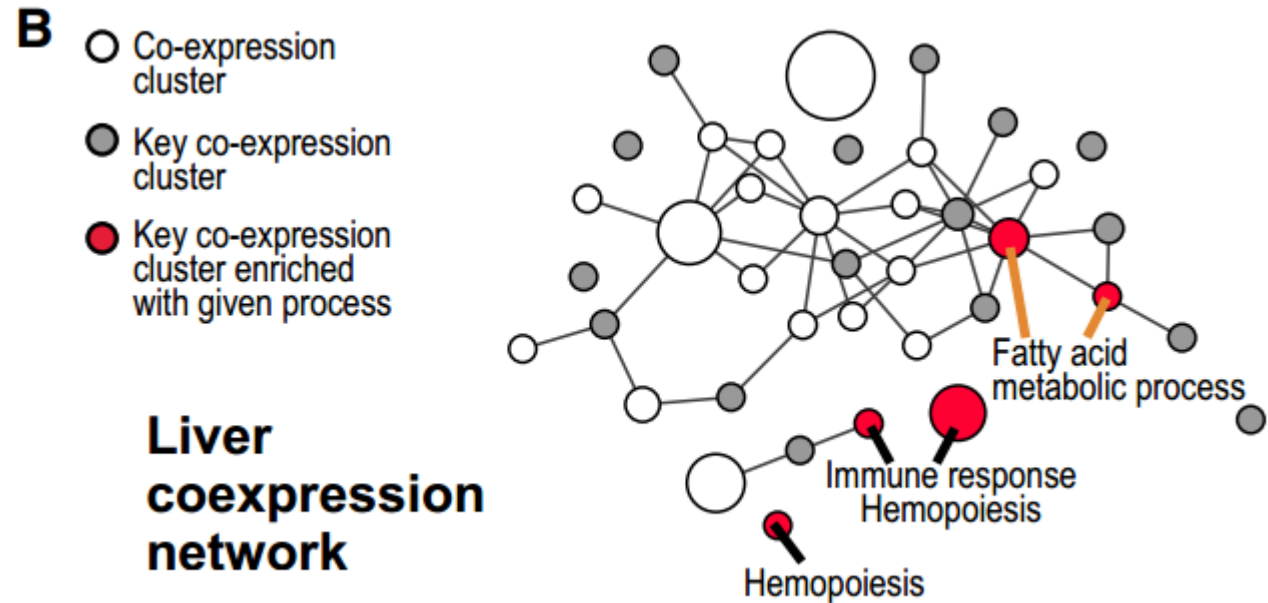
- 之前构建了肝脏，肌肉和脂肪组织的组织特异性整合网络（INs）
- 构建了包括肝，肌肉和脂肪组织在内的主要人体组织的CN，并分别研究了CNs和INs定义的功能连接和物理相互作用之间的重叠。
- 构建了HCC的CNs来调查基因之间的功能关系。
- 最后，我们使用这些综合生物网络来探索NAFLD和HCC中改变的生物学过程，并确定肝脏特异性基因靶标，可用于开发NAFLD和HCC的有效治疗策略。

Results -- 人类组织共表达网络的产生

方法:

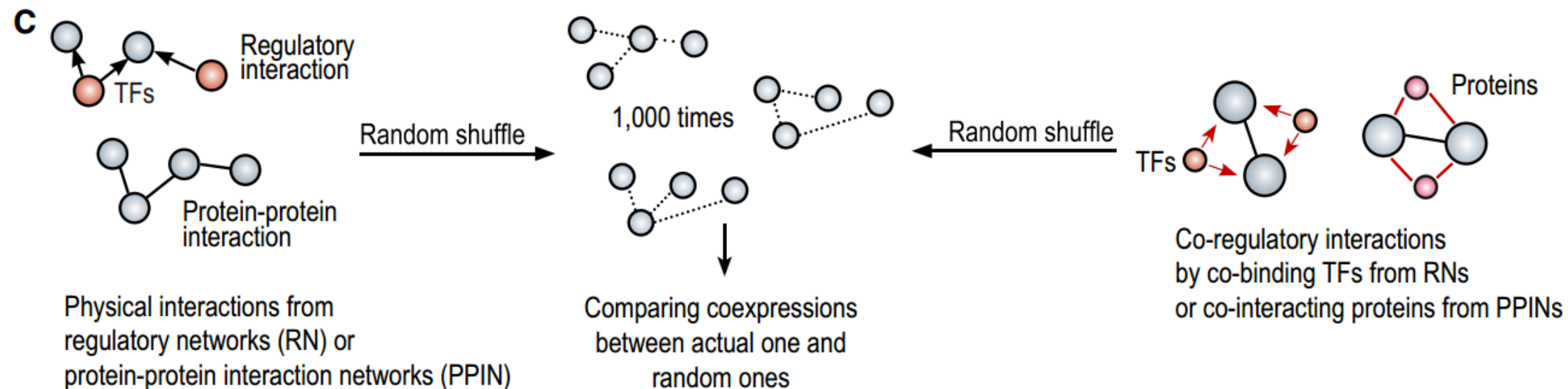


Results--人类组织共表达网络的产生 结果:

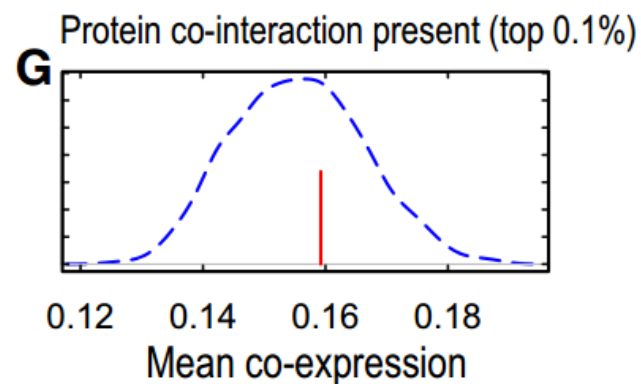
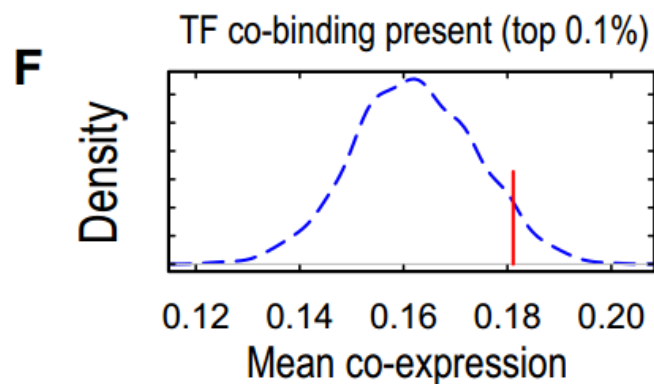
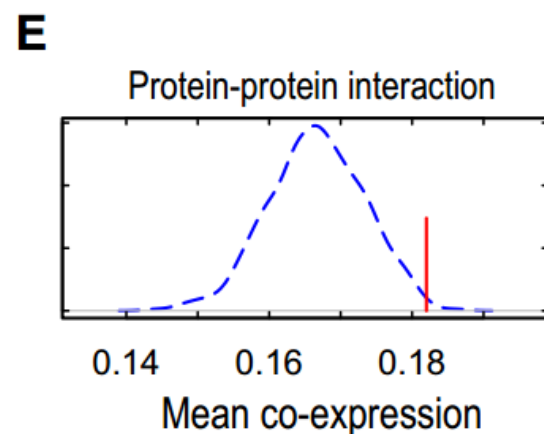
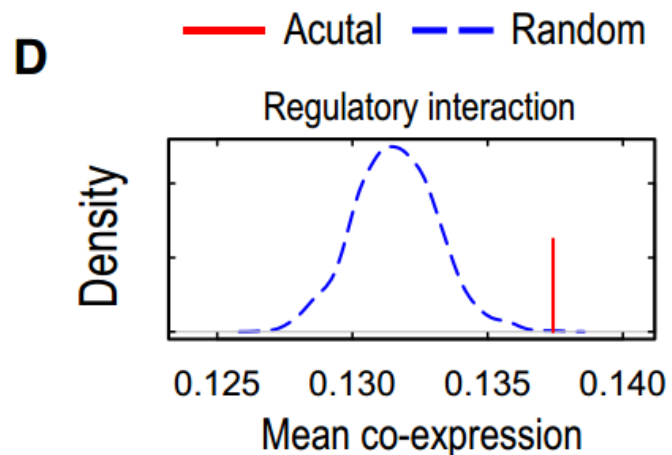


Conclusion: 在肝组织中，我们发现与关键共表达簇相关的基因富集的术语包括免疫反应，血细胞生成和脂肪酸代谢过程

Results--共同调控的增加导致共表达增加



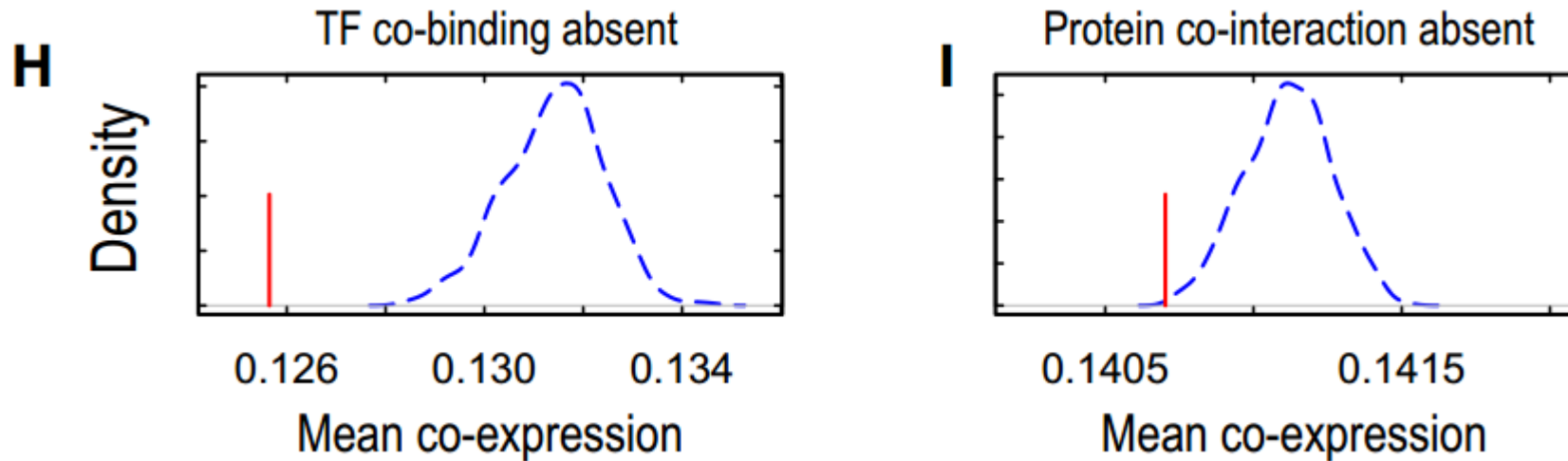
Results--共同调控的增加导致共表达增加



发现在肝脏 (D,E) 和其他代谢组织中 (附录) 大多数实际组织调控网络RNs 和PPIN显示出比随机置换网络更高的共表达

我们发现在肝脏 (F, G) 和其他代谢组织中 (附录), 在存在共调控基因对的情况下, 大多数实际组织调控网络RNs和PPIN显示出比随机置换网络更高的共表达

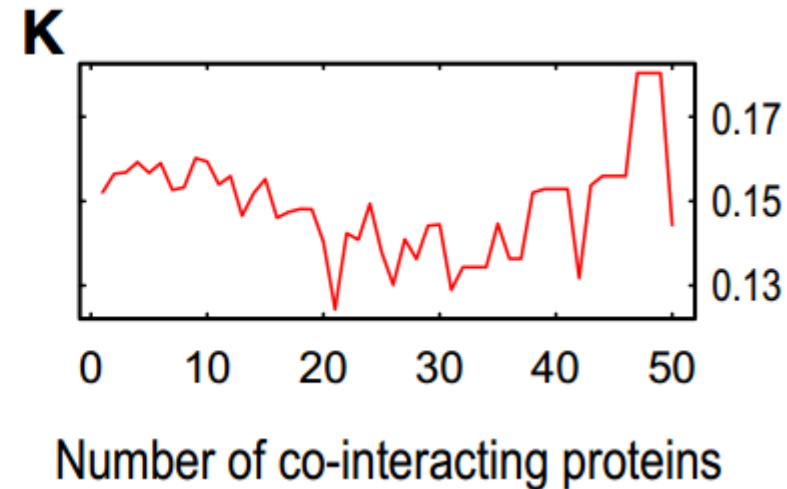
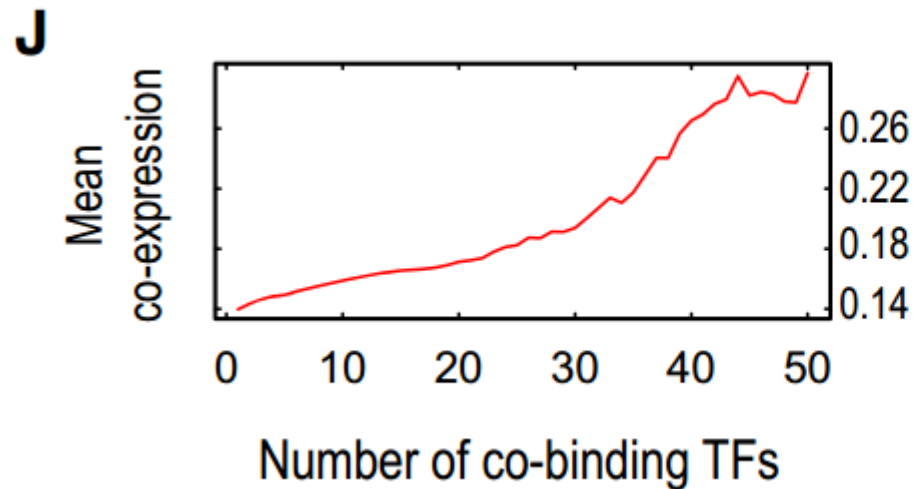
Results--共同调控的增加导致共表达增加



我们发现，没有共调控的基因对，在肝脏(H,I)和其他代谢组织中大多数实际组织调控网络（RNs）和PPIN显示出比随机置换网络更低的共表达。

结论：从D和E中，RN和PPIN定义的物理相互作用可用于解释蛋白质共表达。从F和G中，有相同的TF调控的两个靶蛋白具有相似的表达模式，而与相同蛋白质相互作用的两个靶蛋白可能具有较少的相似表达模式。

Results--共同调控的增加导致共表达增加



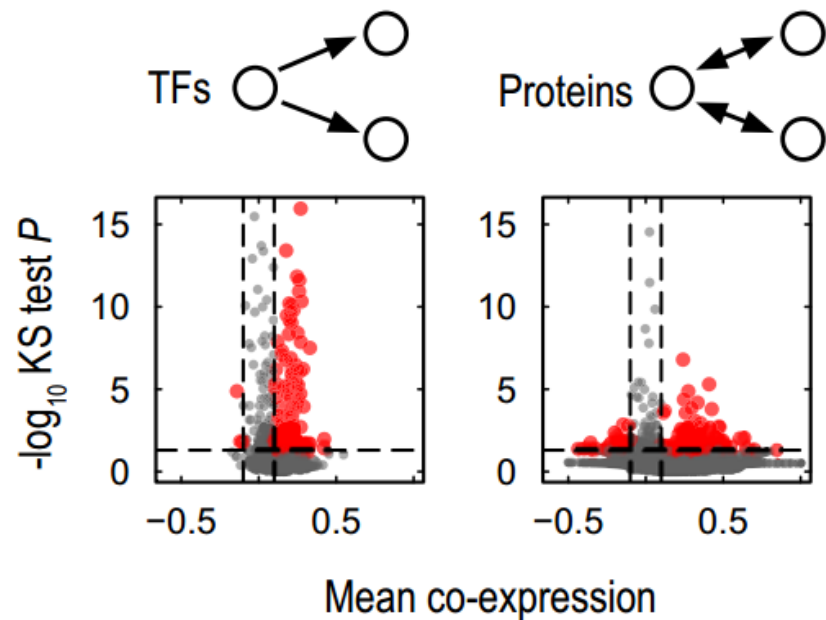
共结合的TF数量增加与肝脏中平均共表达水平的增加相关

共同相互作用的蛋白质数量的增加与平均共表达水平的增加没有直接的正比性。

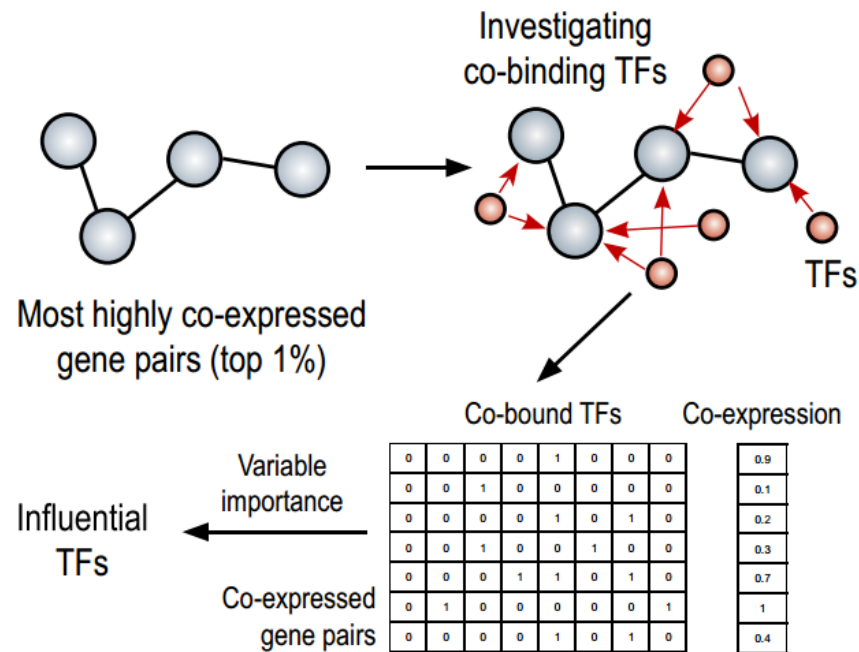
结论：RN对增加共表达具有更多的特异性，同时也通过比较代谢组织中的RN和PPIN，发现蛋白互作增加了RN中的共表达水平的提高

Results--共同调控的增加导致共表达增加

L



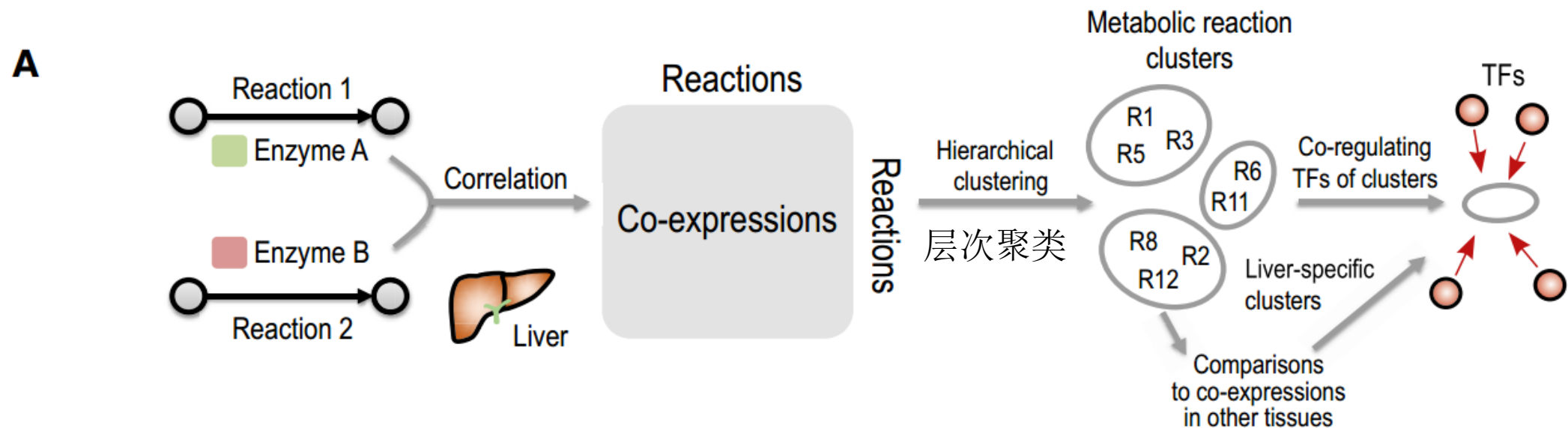
M



使用了DAVID调查了这些与TF和蛋白质相关的生物学功能，发现肝RN中的TFs，肝脏PPIN的蛋白质参与转录后调控。

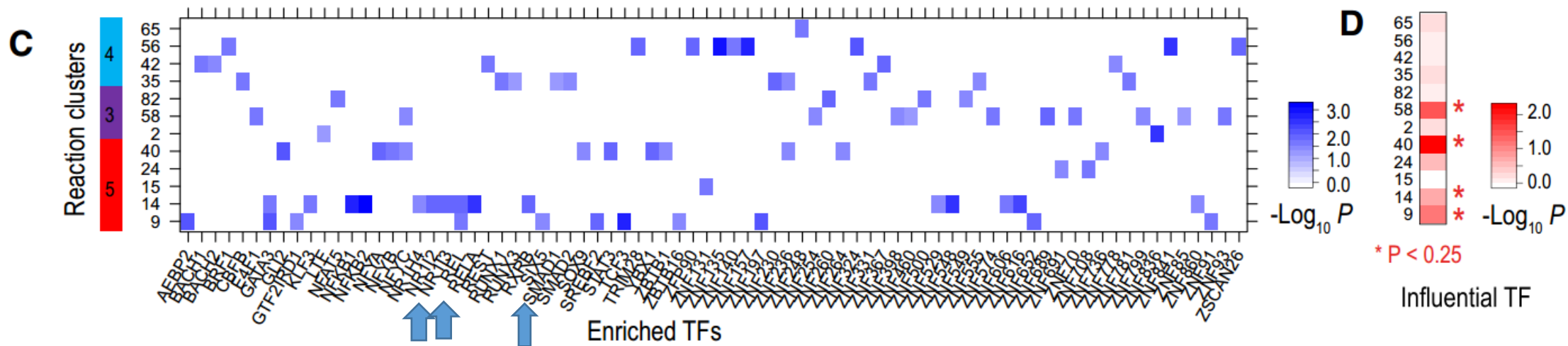
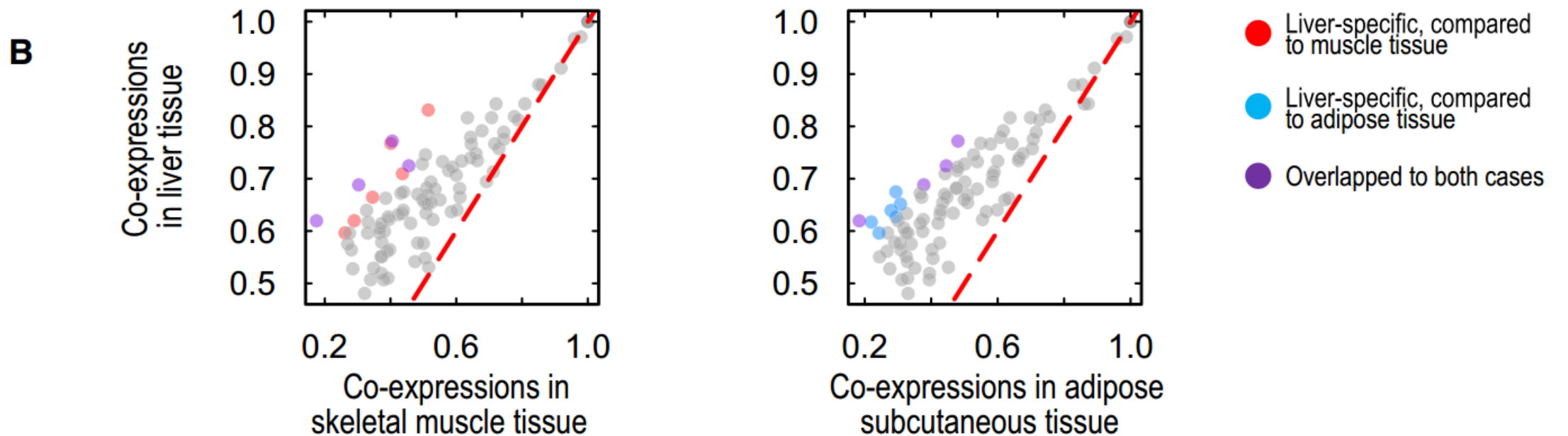
排名前1%的最有影响力的TFs（76 TF），我们发现TFs富集在肝脏发育的，有丝分裂细胞周期的间期和对脂质的反应（FDR < 0.001），因此表明许多有影响的TF涉及肝脏特异功能。

Results--在肝脏中高度共表达的代谢途径



通过使用人类代谢反应数据库（HMR2），确定了肝脏组织中共表达酶催化的代谢反应组，所以在所有反应中建立了反应共表达矩阵。从这个矩阵，我们通过使用层次聚类确定了上百个与酶高共表达的反应簇。

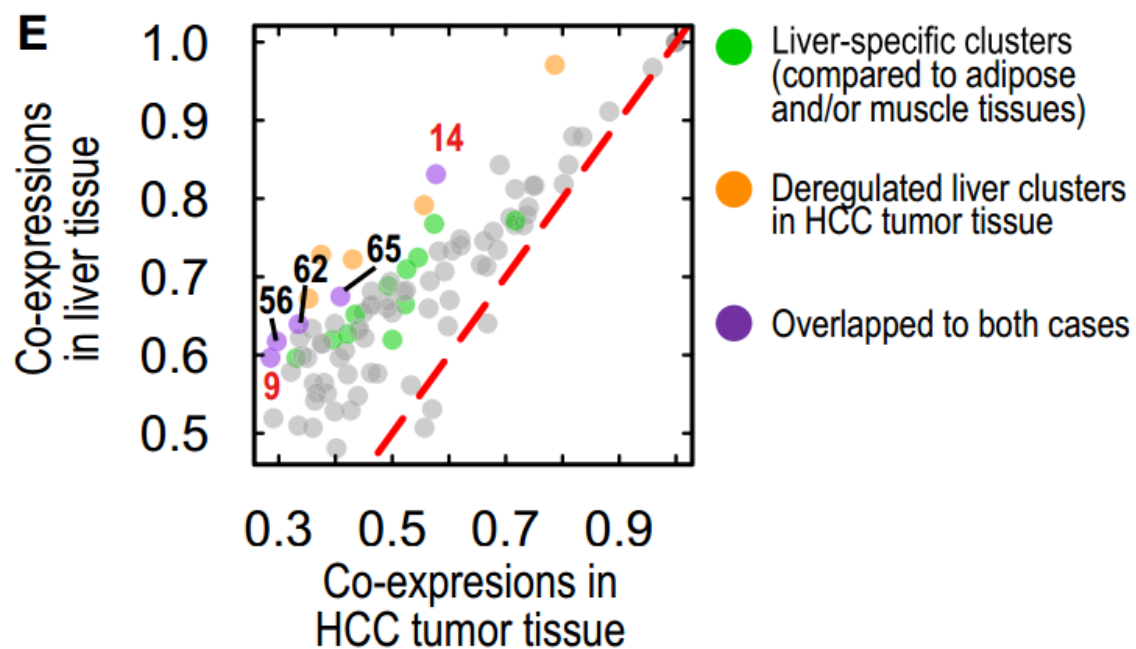
Results--在肝脏中高度共表达的代谢途径



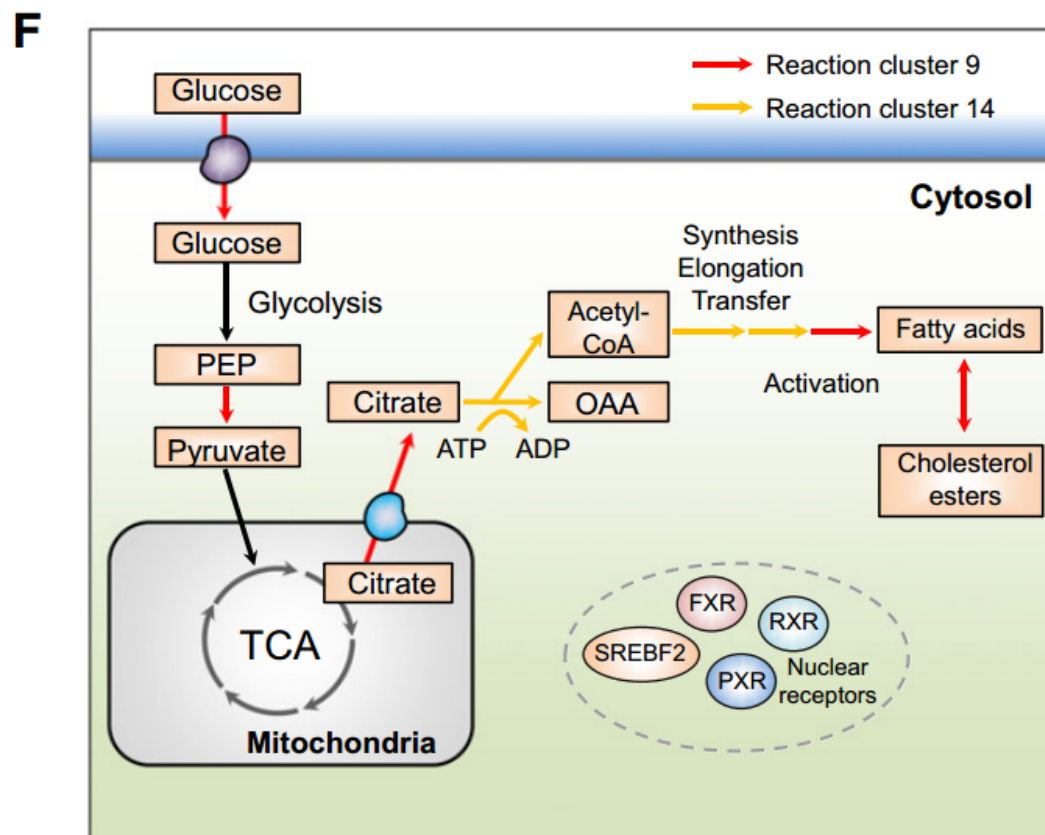
Results--在肝脏中高度共表达的代谢途径

- 通过HMR2的代谢子系统注释，我们观察到9号反应簇在线粒体转运处，丙酮酸代谢和脂质代谢处富集，反应簇14在脂肪酸合成处富集，反应簇40在胆固醇代谢处富集，反应簇58在氨基酸代谢处富集（超几何检验 $P < 0.01$ ），这些结果表明仅在肝脏中调节的途径中涉及的反应主要与脂质代谢有关。

Results--在肝脏中高度共表达的代谢途径



在这里，我们发现**反应簇9和14**以肝特异性方式以共表达（B）和共调控（D）的水平调节，但在**HCC肿瘤组织（E）中失调**。反应簇9和14参与脂肪酸合成相关的反应（F）。



在肝癌中，主要与脂肪酸合成相关的这些肝特异性反应簇的降解可能与HCC发病机制有关（图2F）。

Results -- 鉴定用于治疗NAFLD和HCC的肝脏特异性FASN抑制剂

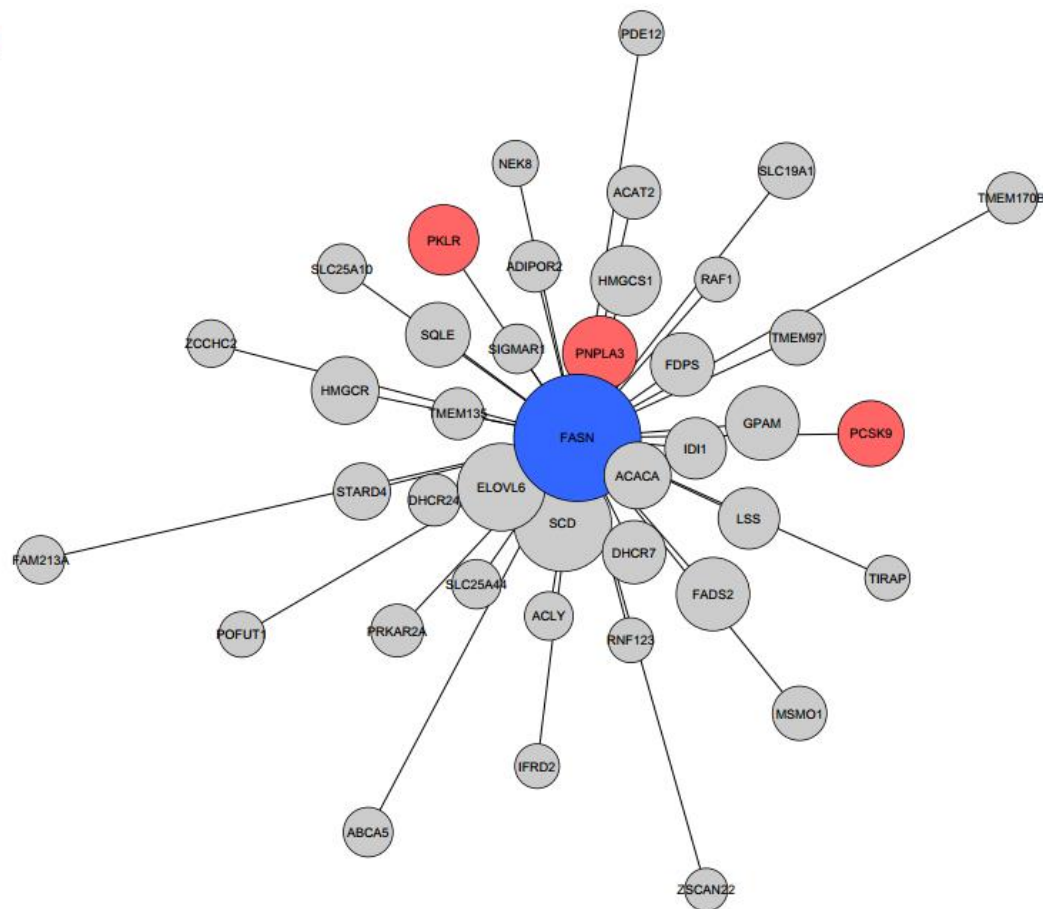
- 在NAFLD和HCC中，催化脂肪从头合成（DNL）的最后一步的脂肪酸合成酶（FASN）的表达显著上调。因此，DNL可能是针对NAFLD和其他慢性肝脏疾病(例如HCC)的有效治疗策略的发展的靶标。
- 市面上的小分子FASN抑制剂（例如C75，苏氨酸）具有比较大的副作用
- 因此，我们假设肝脏特异性FASN抑制剂的鉴定可能有助于开发NAFLD和HCC的有效治疗策略。

Results -- 鉴定用于治疗NAFLD和HCC的肝脏特异性FASN抑制剂

- 基于使用GTEX和TCGA数据生成的CN分析能够鉴定与肝脏和其他主要人体组织中FASN功能相关的基因。
- 使用DAVID，我们发现在肝CN中与FASN共表达的前100个基因的GO BP术语，将肝脏CN中前100个与FASN共表达基因与45个其他组织CN中的基因进行比较，并鉴定了丙酮酸激酶肝和红细胞（PKLR），一种从糖酵解中将丙酮酸磷酸化成TCA（柠檬酸）循环并参与脂肪酸合成中的酶

Results -- 鉴定用于治疗NAFLD和HCC的肝脏特异性FASN抑制剂

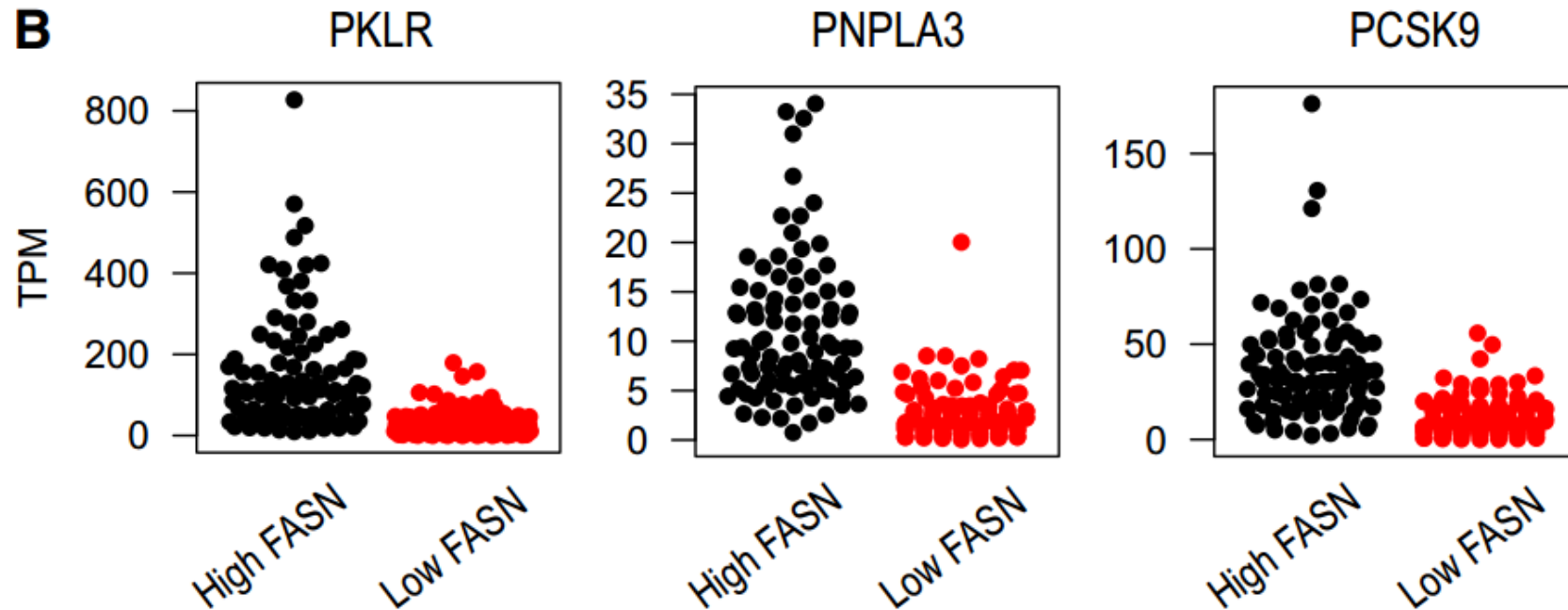
A



我们发现前100个共表达基因中的40个基因在对数转换之前和之后与FASN显著共表达。

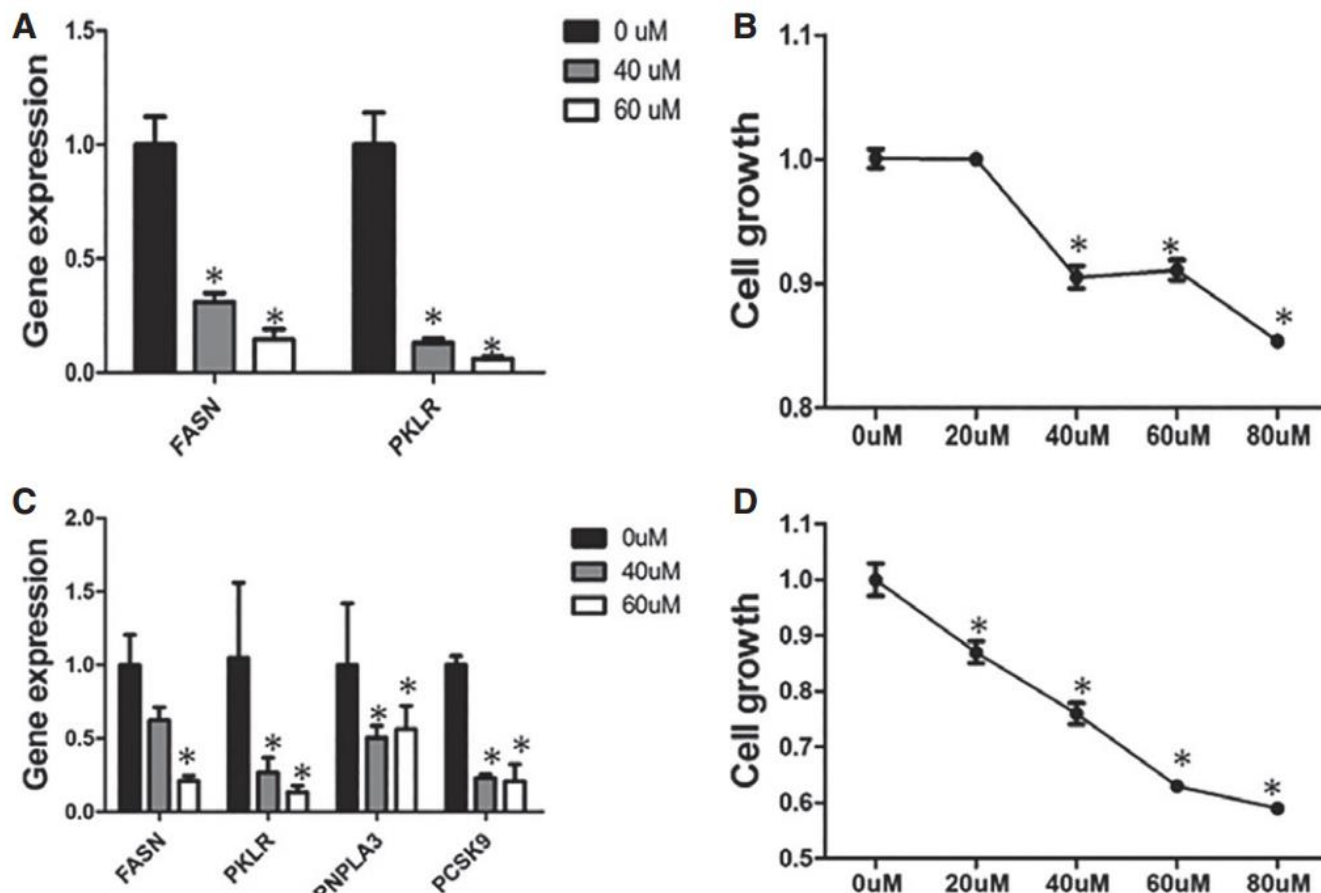
我们将在HCC中CN带有FASN的共表达基因与在46个人组织的CN的共表达基因进行比较后，发现PKLR，含有3（PNPLA3）的patatin样磷脂酶结构域和9型前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/ kexin（PCSK9），被称为肝特异性基因。（图3A）

Results -- 鉴定用于治疗NAFLD和HCC的肝脏特异性FASN抑制剂



我们使用DESeq包比较了FASN (n = 93) 最高表达的高四分位数和FASN (n = 93) 的最低表达低四分位数的HCC肿瘤的基因表达谱去分析肝脏特异性基因的表达谱及其在癌症进展中的关键作用。因此，这些肝特异性基因（包括PKLR，PNPLA3和PCSK9）可能潜在地靶向用于治疗HCC，并且PKLR可能潜在地用于治疗NAFLD。由于PKLR，PNPLA3和PCSK9直接参与脂质代谢，在接下来的研究中重点关注FASN与这三种肝脏特异性基因的关系。

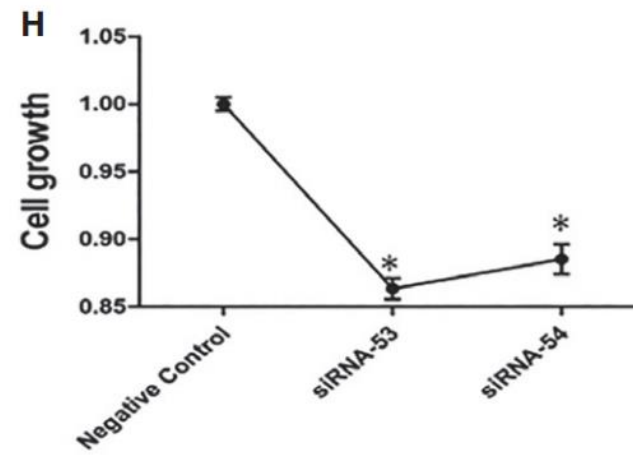
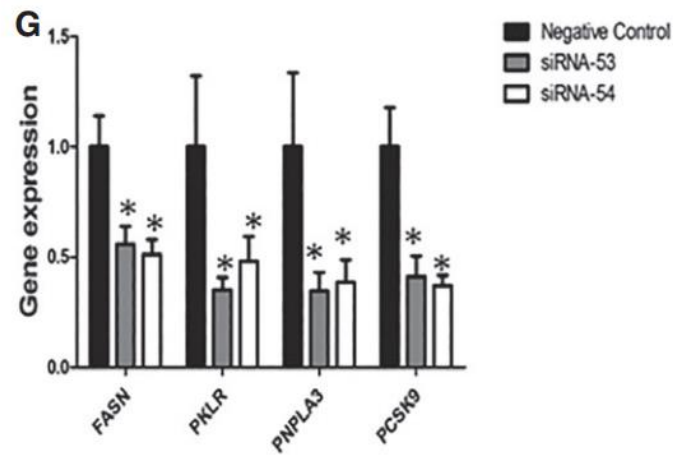
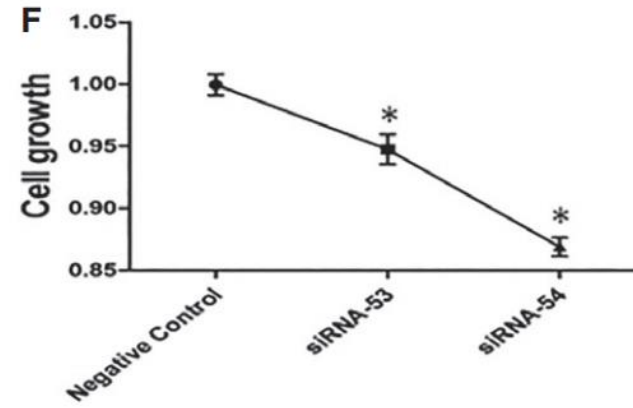
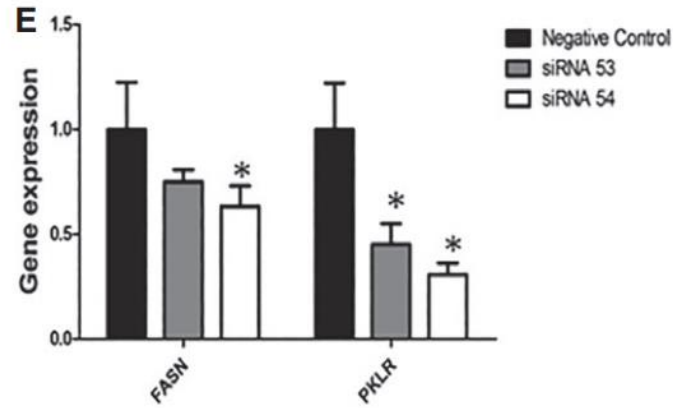
Results--通过使用人类癌细胞系验证物理相互作用



使用最近在Cell Atlas发表的数据，将K562白血病细胞系鉴定为具有最高PKLR表达，并用不同浓度的C75（FASN抑制剂）处理细胞系24小时。结果如A,B

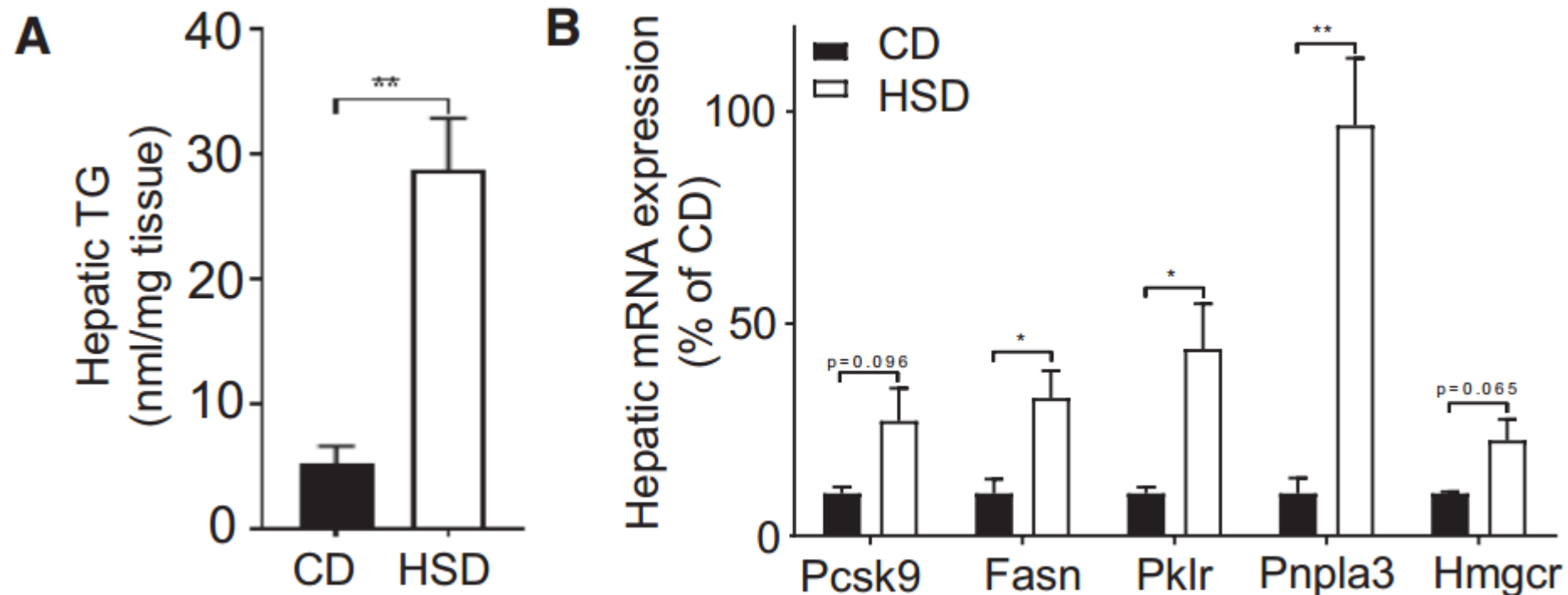
使用C75处理HepG2人类癌细胞系，结果如C,D

Results--通过使用人类癌细胞系验证物理相互作用

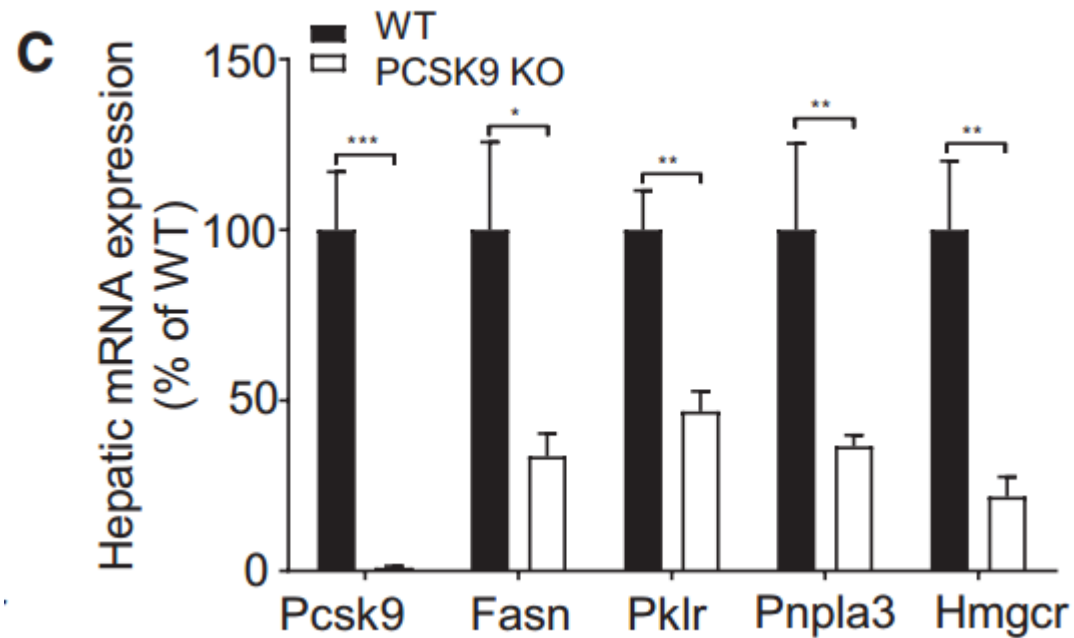


Results--验证小鼠和人类的相互作用

- 为了显示FASN与这里体内确定的肝脏特异性靶标之间的功能关系，我们将小鼠（C57B1 / 6N）喂给零脂肪高蔗糖饮食（HSD）2周，诱导小鼠脂肪肝的发育，而CD是指普通饮食。

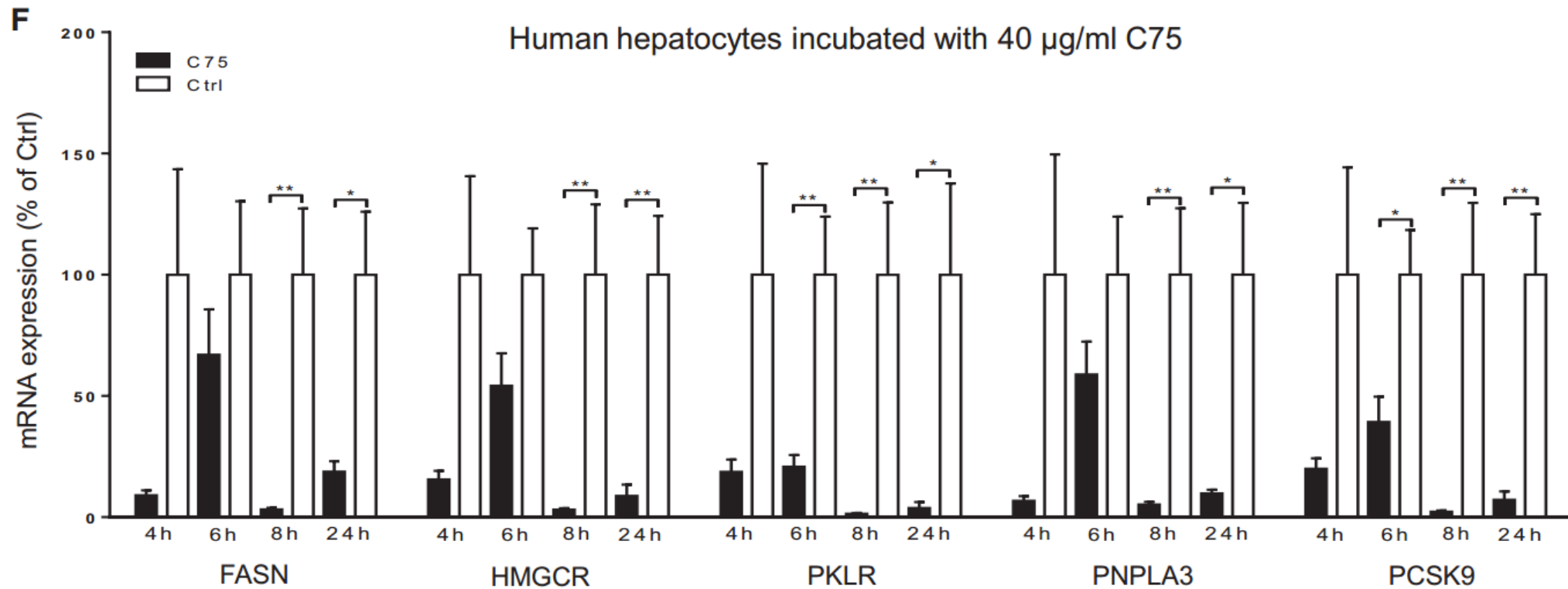


Results--验证小鼠和人类的相互作用



因此，我们的分析表明，靶向PCSK9可以为HCC患者开发有效的治疗策略

Results--验证小鼠和人类的相互作用



发现与FASN相关的肝脏疾病可以通过沉默PKLR，PCSK9或PNPLA3来治疗，而不用直接的FASN抑制剂，不会产生相关的副作用

(1) 用一句话概括此研究的主要结论或创新点。

确定了肝脏特异性药物靶点，可用于有效治疗包括NAFLD和HCC等肝脏疾病。

(2) 此研究对你有何启发。

组织特异性的共表达网络CN可用于鉴定在响应于疾病方面的生物学功能的失调，并揭示基因相关表达的影响。

(3) 此研究还存在哪些问题可以改进。

反应簇56,62,65也在HCC中失调，但是作者没有提到并解释该情况。文章最后提到可以通过沉默PKLR，PCSK9或PNPLA3治疗与FASN相关的疾病,但是没有提到如何沉默，所以文章可以进一步完善。

Thank you