

应用基因芯片筛选七氟醚和丙泊酚的诱导下胃黏膜表达差异基因

李月鹏, 高彩燕

李月鹏, 中国石油天然气集团公司中心医院麻醉科 河北省廊坊市 065000

高彩燕, 哈尔滨医科大学附属第一医院麻醉科 黑龙江省哈尔滨市 150001

李月鹏, 主治医师, 主要从事临床麻醉的研究.

作者贡献分布: 李月鹏负责论文研究的设计、资料收集与撰写; 高彩燕负责资料收集.

通讯作者: 李月鹏, 主治医师, 065000, 河北省廊坊市新开路51号, 中国石油天然气集团公司中心医院麻醉科.

bingqiang193@126.com

电话: 0316-2075450

收稿日期: 2014-06-01 修回日期: 2014-06-19

接受日期: 2014-07-15 在线出版日期: 2014-08-28

Identification of sevoflurane and propofol induced differentially expressed genes in gastric mucosa with DNA microarray

Yue-Peng Li, Cai-Yan Gao

Yue-Peng Li, Department of Anesthesiology, Central Hospital of China National Petroleum Corporation, Langfang 065000, Hebei Province, China

Cai-Yan Gao, Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Yue-Peng Li, Attending Physician, Department of Anesthesiology, Central Hospital of China National Petroleum Corporation, 51 Xinkai Road, Langfang 065000, Hebei Province, China. bingqiang193@126.com

Received: 2014-06-01 Revised: 2014-06-19

Accepted: 2014-07-15 Published online: 2014-08-28

Abstract

AIM: To identify differentially expressed genes (DEGs) induced by sevoflurane and propofol with DNA microarray.

METHODS: The expression data of GSE4386 which contained atrial samples collected from patients receiving anesthetic gas sevoflurane or intravenous anesthetic propofol in gastrointestinal endoscopy were downloaded from Gene Expression Omnibus (GEO). The DEGs in the sevoflurane group and propofol group were identified and compared. Then, the functions significantly related to the DEGs were enriched.

The interactive functional modules for common, sevoflurane specific and propofol specific DEGs were constructed to perform analysis of biological processes.

RESULTS: The percentages of DEGs were 31.3% (275/879) and 94.8% (275/290) in the sevoflurane group and propofol group, respectively. Functional categories for the common, sevoflurane specific and propofol specific DEGs were very similar. Function modules, such as regulation of transcription and regulation of cellular process, for the common, propofol specific and sevoflurane specific DEGs were identified.

CONCLUSION: Sevoflurane and propofol may synergistically reduce gastric mucosal tissue injury in patients undergoing gastrointestinal endoscopy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Sevoflurane; Propofol; Gastrointestinal endoscopy; Functional categories; Function modules

Li YP, Gao CY. Identification of sevoflurane and propofol induced differentially expressed genes in gastric mucosa with DNA microarray. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(24): 3649-3653 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3649.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i24.3649>

摘要

目的: 本文对行无痛胃镜检查的患者胃黏膜组织芯片表达谱进行分析, 分别利用吸入性麻醉剂七氟醚和静脉麻醉剂丙泊酚麻醉, 比较分析两种不同种类的麻醉剂诱导下表达发生显著改变的基因, 从功能方向筛选麻醉剂保护胃黏膜细胞的分子靶标以及保护机制.

方法: 从基因表达数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)数据库中下载编号为GSE4386的基因芯片, 数据为无痛胃镜检查的患者胃黏膜组织芯片表达谱数据, 共40个样本, 平均分

■背景资料

胃镜检查是诊断上消化道疾病的重要手段, 但是有许多患者会有恐惧感, 而拒绝胃镜检查导致耽误病情, 还有许多患者在胃镜检查过程中感到各种不适、呛咳等而诱发高血压、心率加快, 严重者甚至会出现心律失常等. 而无痛胃镜则明显减少了胃镜检查的不良反应, 能够消除患者的紧张情绪, 让受检者在无痛苦、舒适状态中完成检查.

■同行评议者

莫发荣, 副教授, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室

■研发前沿

基因芯片技术在筛选麻醉剂保护胃黏膜细胞的分子靶标以及保护机制方面具有明显的优势。

成了两个组:吸入性七氟醚麻醉和静脉麻醉剂丙泊酚,每组20个样本,分别为手术麻醉剂处理之前和经过麻醉剂手术后的胃黏膜组织表达谱。采用R软件包对表达谱做数据预处理和差异表达基因的筛选。筛选到的差异基因将进一步生物信息分析。首先比较两个组中筛选得到的麻醉剂处理前后的差异表达基因,得到两种麻醉剂刺激下诱导表达变化的基因,并做各组间的表达值比较;然后通过BLASTX对差异表达基因产物蛋白进行比对后进行COG功能分类注释;再用WebGestalt寻找差异表达基因所在的相互作用功能模块;最后利用DAVID搜索模块中差异基因参与的生物学过程。

结果:共同表达的差异基因在七氟醚组和异丙酚组中分别占差异基因数目的百分比为31.3%(275/879)和94.8%(275/290)。且从功能注释分类及同在一个模块中差异基因的功能结果,两种麻醉剂诱导影响的表达变异基因倾向于一致。共同表达差异基因,异丙酚诱导的差异基因和七氟醚诱导的差异基因主要参与的细胞转录和分化的过程。

结论:吸入性麻醉剂七氟醚和静脉麻醉剂丙泊酚在保护胃黏膜作用中具有协同的作用,因此,我们推测,吸入性麻醉剂七氟醚和静脉麻醉剂丙泊酚两种方式的静吸复合麻醉方式,在无痛胃镜检查术中可能会具有更好保护胃黏膜细胞作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:七氟醚; 丙泊酚; 无痛胃镜检查术; 功能注释; 功能模块

核心提示:吸入性麻醉剂七氟醚和静脉麻醉剂丙泊酚两种方式的静吸复合麻醉方式,在无痛胃镜检查术中可能会具有更好保护胃黏膜细胞作用。

李月鹏, 高彩燕. 应用基因芯片筛选七氟醚和丙泊酚的诱导下胃黏膜表达差异基因. 世界华人消化杂志 2014; 22(24): 3649-3653 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3649>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i24.3649>

■相关报道

七氟醚是一种新型的吸入麻醉药,广泛应用于临床。大量的离体和在大体动物实验都证实其对胃黏膜具保护作用。丙泊酚是一种常用全身麻醉药,对多种器官组织具有保护作用。

0 引言

胃镜检查是诊断上消化道疾病的重要手段,但是有许多患者会有恐惧感,而拒绝胃镜检查导致耽误病情,还有许多患者在胃镜检查过程中感到各种不适、呛咳等而诱发高血压、心率加快,严重者甚至会出现心律失常等^[1]。而无痛胃镜则明显减少了胃镜检查的不良反应,能够消

除患者的紧张情绪,让受检者在无痛苦、舒适状态中完成检查^[2]。本研究利用吸入性麻醉剂七氟醚和静脉麻醉剂丙泊酚处理后的行无痛胃镜检查的患者胃黏膜组织芯片表达谱,比较分析两种不同种类的麻醉剂诱导下表达发生显著改变的基因,从功能方向筛选麻醉剂保护胃黏膜细胞的分子靶标以及保护机制。

1 材料和方法

1.1 材料 Affymetrix芯片数据:从基因表达数据库基因表达数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)数据库中下载编号为GSE4386的基因芯片^[3],数据为无痛胃镜检查的患者胃黏膜组织芯片表达谱数据,共160个样本,随机分成了两个组:吸入性七氟醚麻醉(sevoflurane)和静脉麻醉剂丙泊酚(propofol),每组80个样本,分别为手术麻醉剂处理之前和经过麻醉剂手术后的胃黏膜组织表达谱各40个。

1.2 方法

1.2.1 数据预处理及差异基因分析:下载该芯片表达谱数据的注释平台,GPL570[HG-U133_Plus_2] Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array,对下载得到的txt格式的表达式数据进行基因名称的对应。并采用R语言中的Affy包中的中值法对数据进行标准化^[4],再用mult-test^[5]包对吸入性七氟醚麻醉和静脉麻醉剂丙泊酚组分别进行统计检验分析,然后用BH方法进行多重检验校正^[6]。选取FDR值<0.05及|logFC|>1作为显著性阈值。

1.2.2 每组中差异表达基因的比较:我们对从吸入性七氟醚麻醉和静脉麻醉剂丙泊酚组中筛选得到的差异表达基因进行比较,得到吸入性七氟醚麻醉和静脉麻醉剂丙泊酚刺激下特异性影响的基因以及两种麻醉剂共同诱导的差异表达基因,并用韦恩图表示^[7]。

1.2.3 组间差异表达基因的比较:根据基因表达在不同状态的同种生物中表达的特异性,相同的组织在不同疾病状态下,基因的表达是有显著的差别的。对于每个组中找到的差异表达基因,我们用组间t检验^[8]对每组对应的差异表达基因值进行比较,研究每一组的差异表达基因在三种不同处理下的样本中的表达情况。我们以t检验得到的 $P = 0.05$ 为阈值,检验差异表达基因在不同组间是否同样是差异有统计学意义。

1.2.4 差异表达基因功能分类:用BLASTX^[9]将所得的两个组中所得差异基因的序列与集群中

的同源蛋白组(clusters of orthologous groups of proteins, COG)^[10]直系同源簇数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/COG>)进行比对分析(比对相似阈值: $E\text{-value} < 1e-05$), 从cellular_component、molecular_function、biological_process三个方面获得差异表达基因的功能注释及其COG功能分类. 通过COG分类可以对不同集合中特异表达的基因所属的功能有直观和感性的认识. 差异表达基因互作功能模块搜索: 模块划分是人们理解复杂系统的一个重要的研究方法. 对于生物系统, 人们普遍认为各种实现相同功能的基因或蛋白质倾向于形成模块^[11-13], 对功能模块的分析可以让人们进一步理解各种生物过程、了解生物的构成与组织方式. 因此, 我们利用软件WebGestalt^[14,15]搜索差异表达基因所在的互作功能模块, 以FDR值0.05作为阈值.

1.2.5 模块中差异基因的功能分析: 同在一个模块中的基因通常除了结构上联系紧密, 而且在功能上也具有很强的关联性. 因此, 我们利用软件表达分析系统开发(Expression Analysis Systematic Explorer, EASE)^[16]对模块中的差异表达基因所参与的生物学过程进行分析, 选取 $P > 0.05$ 作为阈值.

统计学处理 用R统计软件包对实验数据进行统计学处理, 两样本均数之间的差异显著性用独立样本均值比较的 t 检验, 应用方差分析对变量之间的相互关系进行检验. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 差异基因的筛选 数据预处理后, 对标准化后的表达谱数据做差异比较分析, 我们从吸入性七氟醚麻醉和静脉麻醉剂丙泊酚组分别筛选得到了879个和290个满足差异阈值($FDR < 0.05$ 和 $|\log FC| > 1$)的差异表达基因.

2.2 差异表达基因的结果分析 我们对从吸入性七氟醚麻醉和静脉麻醉剂丙泊酚组中筛选得到的差异表达基因进行比较, 得到吸入性七氟醚麻醉和静脉麻醉剂丙泊酚刺激下特异性影响的基因以及两种麻醉剂共同诱导的差异表达基因. 分析结果显示, 吸入性七氟醚麻醉组中的差异表达基因数量明显多于丙泊酚麻醉剂组的, 两种麻醉剂刺激共同影响的基因共275个, 分别占两组中的31.3%(275/879)和94.8%(275/290).

2.3 各组差异表达基因的组间比较 对于吸入性七氟醚麻醉(604个)和静脉麻醉剂丙泊酚刺激下

(15个)特异性影响的基因以及两种麻醉剂共同诱导的差异表达基因(275), 我们进行了组间的比较, 结果显示的差异结果与筛选得到的差异表达基因结果一致, 如七氟醚组中独有的差异表达基因仅在七氟醚组中显示出显著性差异, 同时在丙泊酚组中情况亦如此, 唯有两组中共有的差异表达基因在两组中均为显著性差异.

2.4 差异表达基因功能分类 利用BLASTX将三个集合中的差异表达基因的分别与COG直系同源簇数据库进行比对分析(比对相似阈值: $E\text{-value} < 1e-05$). 根据序列与Gene Ontology中记载的每个GO节点上的基因序列相似程度, 对差异表达的基因所在的GO功能节点分类, 我们可以看到, 每个基因集合中的差异表达基因在cellular_component、molecular_function、biological_process三个方面的分布是很相似的.

2.5 差异表达基因互作功能模块搜索 我们利用软件WebGestalt搜索差异表达基因所在的互作功能模块, 以FDR值0.05作为阈值. 我们分别筛选到两种麻醉剂共同诱导的、静脉麻醉剂丙泊酚刺激下特异性影响的和吸入性七氟醚麻醉组的差异表达基因的2个、1个、1个显著所在的功能模块.

2.6 模块中差异基因的功能分析 我们利用EASE软件得到了之前所得到的模块中包含的差异表达基因所参与的生物学过程, 如表1-3所示. 从表1-3我们能够看出, 与之前基因注释分类类似, 模块中的差异表达基因均与细胞过程, 如转录调控、大分子活动等等.

3 讨论

七氟醚是一种新型的吸入麻醉药, 与传统的吸入麻醉药相比它具有诱导迅速、刺激性小、苏醒快的优点, 并且无明显不良反应, 广泛应用于临床. 大量的离体和在体动物实验都证实其对胃黏膜具保护作用^[17,18]. 丙泊酚是一种常用全身麻醉药, 对多种器官组织具有保护作用. 研究发现, 丙泊酚能抑制胃黏膜细胞凋亡, 防止胃黏膜缺血与损伤^[19].

为了研究这两种麻醉剂刺激下胃黏膜组织基因表达特征以及保护胃黏膜细胞的机制, 本文利用吸入性麻醉剂七氟醚和静脉麻醉剂丙泊酚处理后的行无痛胃镜检查的患者胃黏膜组织芯片表达谱, 比较分析两种不同种类的麻醉剂诱导下表达发生显著改变的基因, 研究胃黏膜组织转录表达特征与麻醉剂诱导的关联性, 并

■创新盘点

本文比较分析两种不同种类的麻醉剂诱导下表达发生显著改变的基因, 研究胃黏膜组织转录表达特征与麻醉剂诱导的关联性, 并从功能方向筛选麻醉剂保护胃黏膜细胞的分子靶标以及保护机制.

■应用要点

研究胃黏膜组织转录表达特征与麻醉剂诱导的关联性, 并从功能方向筛选麻醉剂保护胃黏膜细胞的分子靶标以及保护机制. 为临床应用提供理论基础.

■名词解释

基因表达谱(gene expression profile): 指通过构建处于某一特定状态下的细胞或组织的非偏性cDNA文库,大规模cDNA测序,收集cDNA序列片段、定性、定量分析其mRNA群体组成,从而描绘该特定细胞或组织在特定状态下的基因表达种类和丰度信息,这样编制成的数据表就称为基因表达谱。

表 1 七氟醚和丙泊酚诱导下的共同表达差异基因参与的生物学过程

生物学功能名称	校正P值	基因数目	生物学功能描述
6355	<0.05	10	Regulation of transcription, DNA-dependent
51252	<0.05	10	Regulation of RNA metabolic process
45449	<0.05	10	Regulation of transcription
10556	<0.05	10	Regulation of macromolecule biosynthetic process
10468	<0.05	10	Regulation of gene expression
19219	<0.05	10	Regulation of nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolic process
31326	<0.05	10	Regulation of cellular biosynthetic process
51171	<0.05	10	Regulation of nitrogen compound metabolic process
50794	<0.05	12	Regulation of cellular process
50789	<0.05	12	Regulation of biological process
65007	<0.05	12	Biological regulation
48518	<0.05	9	Positive regulation of biological process

表 2 丙泊酚诱导下的差异表达基因参与的生物学过程

生物学功能名称	校正P值	基因数目	生物学功能描述
42116	<0.05	1	Macrophage activation
2274	<0.05	1	Myeloid leukocyte activation
6909	<0.05	1	Phagocytosis

表 3 七氟醚诱导下的差异表达基因参与的生物学过程

生物学功能名称	校正P值	基因数目	生物学功能描述
23052	<0.05	12	Signaling
50794	<0.05	12	Regulation of cellular process
50789	<0.05	12	Regulation of biological process
65007	<0.05	12	Biological regulation
7165	<0.05	9	Signal transduction
23033	<0.05	9	Signaling pathway
23060	<0.05	9	Signal transmission
23046	<0.05	9	Signaling process

从功能方向筛选麻醉剂保护胃黏膜细胞的分子靶标以及保护机制。

从我们的分析结果来看,丙泊酚麻醉剂刺激下,94.8%(275/290)的诱导表达变异基因包括在七氟醚诱导变化基因中,且从功能注释分类及同在一个模块中差异极影的功能结果,两种麻醉剂诱导影响的表达变异基因倾向于一致。我们的结果说明,吸入性麻醉剂七氟醚和静脉麻醉剂丙泊酚在保护胃黏膜作用中具有协同的作用,因此,我们推测,吸入性麻醉剂七氟醚和静脉麻醉剂丙泊酚两种方式的静吸复合麻醉方式,在行无痛胃镜检查术中可能会具有更好保护胃

黏膜细胞作用。两种麻醉剂刺激诱导下表达发生显著改变的基因均为麻醉剂靶标基因,尤其是同在一个功能模块中共同产生作用的差异表达基因,如MAFF、FOSL2、ATF3等基因。

4 参考文献

- Ellett ML. A literature review of the safety and efficacy of using propofol for sedation in endoscopy. *Gastroenterol Nurs* 2010; 33: 111-117 [PMID: 20389224 DOI: 10.1097/SGA.0b013e3181d601fb]
- 陈立. 无痛内镜与普通胃镜检查的比较. *中国内镜杂志* 2012; 18: 220-222
- Lucchinetti E, Hofer C, Bestmann L, Hersberger M, Feng J, Zhu M, Furrer L, Schaub MC, Tavakoli R, Genoni M, Zollinger A, Zaugg M. Gene regulatory

- control of myocardial energy metabolism predicts postoperative cardiac function in patients undergoing off-pump coronary artery bypass graft surgery: inhalational versus intravenous anesthetics. *Anesthesiology* 2007; 106: 444-457 [PMID: 17325502]
- 4 Zhao Y, Wang E, Liu H, Rotunno M, Koshiol J, Marincola FM, Landi MT, McShane LM. Evaluation of normalization methods for two-channel microRNA microarrays. *J Transl Med* 2010; 8: 69 [PMID: 20663154 DOI: 10.1186/1479-5876-8-69]
- 5 Wettenhall JM, Smyth GK. limmaGUI: a graphical user interface for linear modeling of microarray data. *Bioinformatics* 2004; 20: 3705-3706 [PMID: 15297296 DOI: 10.1093/bioinformatics/bth449]
- 6 Fernando RL, Nettleton D, Southey BR, Dekkers JC, Rothschild MF, Solter M. Controlling the proportion of false positives in multiple dependent tests. *Genetics* 2004; 166: 611-619 [PMID: 15020448 DOI: 10.1534/genetics.166.1.611]
- 7 Soriano JB, Davis KJ, Coleman B, Visick G, Mannino D, Pride NB. The proportional Venn diagram of obstructive lung disease: two approximations from the United States and the United Kingdom. *Chest* 2003; 124: 474-481 [PMID: 12907531]
- 8 Shuster JJ. Student t-tests for potentially abnormal data. *Stat Med* 2009; 28: 2170-2184 [PMID: 19326398 DOI: 10.1002/sim.3581]
- 9 Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 1990; 215: 403-410 [PMID: 2231712 DOI: 10.1006/jmbi.1990.9999]
- 10 Tatusov RL, Natale DA, Garkavtsev IV, Tatusova TA, Shankavaram UT, Rao BS, Kiryutin B, Galperin MY, Fedorova ND, Koonin EV. The COG database: new developments in phylogenetic classification of proteins from complete genomes. *Nucleic Acids Res* 2001; 29: 22-28 [PMID: 11125040 DOI: 10.1093/nar/29.1.22]
- 11 Ihmels J, Friedlander G, Bergmann S, Sarig O, Ziv Y, Barkai N. Revealing modular organization in the yeast transcriptional network. *Nat Genet* 2002; 31: 370-377 [PMID: 12134151]
- 12 Hwang W, Cho YR, Zhang A, Ramanathan M. A novel functional module detection algorithm for protein-protein interaction networks. *Algorithms Mol Biol* 2006; 1: 24 [PMID: 17147822 DOI: 10.1186/1748-7188-1-24]
- 13 Tanay A, Sharan R, Kupiec M, Shamir R. Revealing modularity and organization in the yeast molecular network by integrated analysis of highly heterogeneous genomewide data. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 2981-2986 [PMID: 14973197]
- 14 Zhang B, Kirov S, Snoddy J. WebGestalt: an integrated system for exploring gene sets in various biological contexts. *Nucleic Acids Res* 2005; 33: W741-W748 [PMID: 15980575 DOI: 10.1093/nar/gki475]
- 15 Qiao Y, Badduke C, Mercier E, Lewis SM, Pavlidis P, Rajcan-Separovic E. miRNA and miRNA target genes in copy number variations occurring in individuals with intellectual disability. *BMC Genomics* 2013; 14: 544 [PMID: 23937676]
- 16 Hosack DA, Dennis G, Sherman BT, Lane HC, Lempicki RA. Identifying biological themes within lists of genes with EASE. *Genome Biol* 2003; 4: R70 [PMID: 14519205 DOI: 10.1186/gb-2003-4-10-r70]
- 17 Bernard JM, Wouters PF, Doursout MF, Florence B, Chelly JE, Merin RG. Effects of sevoflurane and isoflurane on cardiac and coronary dynamics in chronically instrumented dogs. *Anesthesiology* 1990; 72: 659-662 [PMID: 2321783]
- 18 Harkin CP, Pagel PS, Kersten JR, Hettrick DA, Warltier DC. Direct negative inotropic and lusitropic effects of sevoflurane. *Anesthesiology* 1994; 81: 156-167 [PMID: 8042785]
- 19 van den Berg AA, Chitty DA, Jones RD, Sohel MS, Shahen A. Intravenous or inhaled induction of anesthesia in adults? An audit of preoperative patient preferences. *Anesth Analg* 2005; 100: 1422-1424, table of contents [PMID: 15845699 DOI: 10.1213/01.ANE.0000150609.82532.C5]

■同行评价

本文有一定的创新性 and 实验意义. 学术价值尚可, 对后续临床的治疗提供参考意见.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

