doi:10.11659/jjssx.04E025099

·基础研究·

基于机器学习和转录组学分析创伤性凝血功能障碍生物标志物

幸熙尧,佘 汉,吴银雨,毛庆祥,闫 红,胡 弋 (陆军军医大学大坪医院麻醉科,重庆400042)

[摘 要] **目的** 深入探究创伤性凝血功能障碍(TIC)的发病机制,明确其具体的致病因素和病理生理过程,以寻找有效的诊断指标和治疗靶点。**方法** 从基因表达综合数据库(GEO)获取创伤失血性休克患者的转录组数据,筛选差异表达基因(DEGs)。从京都基因与基因组百科全书(KEGG)获取凝血相关基因(CRGs),并与DEGs进行交集分析。采用最小绝对收缩和选择算子(LASSO)及随机森林(RF)两种机器学习算法识别关键基因。采用CIBERSORT算法分析关键基因与免疫细胞浸润的相关性。通过共识聚类,将创伤患者进行亚型分析,以比较免疫细胞浸润情况。构建创伤失血性休克大鼠模型,验证凝血功能及关键基因的表达。**结果** 数据集包含17例健康对照者和478例创伤失血性休克患者的样本。在校正$P<0.05$的筛选标准下,共鉴定出6 315个DEGs。基因集富集分析(GSEA)显示,上调的DEGs显著富集于葡萄糖代谢通路,而下调的DEGs则富集于免疫反应相关通路。通过交叉分析DEGs与CRGs,共筛选出65个差异表达的凝血相关基因(DE-CRGs),GO功能富集显示,这些基因主要定位于分泌颗粒膜和血小板α颗粒,并参与血液凝固、体液水平调节及伤口愈合等生理过程。KEGG通路分析显示,这些基因显著富集于血小板激活、补体和凝血级联反应、Rap1信号通路及人巨细胞病毒感染等途径。通过机器学习鉴定出6个关键DE-CRGs,受试者工作特征(*ROC*)曲线分析表明这些基因具有良好的诊断效能。CIBERSORT分析显示,关键基因与免疫细胞浸润之间存在显著相关性。基于6个关键基因将患者分为两类:亚型A富含$CD8^+$ T细胞与活化NK细胞,表现为免疫活跃状态;亚型B以单核细胞和静息NK细胞为主,免疫通路激活不足。大鼠动物实验表明,失血性休克可导致凝血功能障碍,qRT-PCR结果进一步证实关键基因的表达趋势与生物信息学分析结果一致。**结论** 本研究通过转录组学与机器学习方法,系统性筛选出了6个与TIC密切相关的关键基因,即GNA13、PIK3R3、ITGAM、MAPK14、PPP1CC和LYN,并揭示了其与凝血功能、免疫浸润的紧密联系。动物实验验证进一步支持了这些基因作为潜在诊断与治疗靶点的价值。

[关键词] 创伤性凝血功能障碍;凝血相关基因;转录组学分析;机器学习;免疫细胞浸润

[中图分类号] R641 [文献标志码] A [收稿日期] 2025-04-18

Analyze the biomarkers of trauma-induced coagulopathy based on machine learning and transcriptomics

XING Xi-yao, SHE Han, WU Yin-yu, MAO Qing-xiang, YAN Hong, HU Yi (Department of Anesthesiology, Daping Hospital, Army Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To elucidate the mechanisms of trauma-induced coagulopathy (TIC), clarify the specific pathogenic factors and pathophysiological processes, and discover the effective diagnostic indicators and therapeutic targets. **Methods** Transcriptomic data of traumatic hemorrhagic shock patients were obtained from the Gene Expression Omnibus (GEO) to identify differentially expressed genes (DEGs). Coagulation-related genes (CRGs) from the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) were intersected with DEGs. Machine learning algorithms, including least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) and random forest (RF), were applied to identify key genes. The CIBERSORT algorithm was used to analyze the correlation between key genes and immune cell infiltration. Through consensus clustering, subtype analysis was conducted on trauma patients to compare the infiltration of immune cells. A rat model of traumatic hemorrhagic shock was established to validate coagulation function and the expression of key genes. **Results** The dataset included samples from 17 healthy controls and 478 patients with traumatic hemorrhagic shock. A total of 6 315 DEGs were identified under the screening criterion of corrected $P<0.05$. Gene set enrichment analysis (GSEA) showed that the up-regulated DEGs were significantly enriched in the glucose metabolism pathway, while the down-regulated DEGs were enriched in the immune reaction-related pathways. Through cross-analysis of DEGs and CRGs, a total of 65 differentially expressed coagulation-related genes (DE-CRGs) were screened out. GO functional enrichment showed that these genes were mainly located in secreting granular membranes and platelet α-granules, and were involved in physiological processes such as blood coagulation, regulation of body fluid levels, and wound healing. KEGG pathway analysis revealed that these genes were significantly enriched in pathways such as platelet activation, complement and coagulation cascade reactions, Rap1 signaling pathway, and human cytomegalovirus infection. Six key DE-CRGs were identified through machine learning. *Receiver operating characteristic* (*ROC*) curve analysis indicated that these genes had good diagnostic efficacy. CIBERSORT analysis revealed a significant correlation between key

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学项目(82300561);重庆市自然科学基金面上项目(CSTB2023NSCQ-MSX0713);重庆市科卫联合青年项目(2025QNXM038);重庆英才创新领军人才项目(CSTC2024YCJH-BGZXM0011);陆军军医大学科技创新能力提升专项项目(2023XLC11)

[通信作者] 胡 弋,E-mail:huyi921@sina.com

genes and immune cell infiltration. Patients were classified into two subtypes based on the six key genes: subtype A was rich in $CD8^+$ T cells and activated NK cells, presented an immune-active state; subtype B was mainly composed of monocytes and resting NK cells, with insufficient activation of immune pathways. Animal experiments on rats showed that hemorrhagic shock can lead to coagulation dysfunction. The results of qRT-PCR further confirmed that the expression trend of key genes was consistent with the results of bioinformatics analysis. **Conclusion** In this study, through transcriptomics and machine learning methods, six key genes closely related to TIC were systematically screened out, namely GNA13, PIK3R3, ITGAM, MAPK14, PPP1CC and LYN, and their close connections with coagulation function and immune infiltration were revealed. Animal experiments have further verified the value of these genes as potential diagnostic and therapeutic targets.

Keywords: trauma-induced coagulopathy; coagulation-related genes; transcriptomic analysis; machine learning; immune cell infiltration

创伤性凝血功能障碍(trauma-induced coagulopathy, TIC)是创伤后的一种常见并发症,对患者预后有深远影响[1]。流行病学数据显示,TIC在严重受伤的患者中发生率为25%~35%,其中超过30%的患者因TIC导致严重出血而死亡[2]。TIC与炎症反应、内皮损伤和免疫系统失调密切相关[3]。然而,现有治疗方法效果不佳,创伤患者仍有较高的出血和不良预后风险[4]。

严重创伤会引发由受损或缺血组织释放的损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)触发的全身性无菌性炎症[5]。在创伤早期,血小板与白细胞相互作用,激活后释放免疫调节因子,影响免疫反应,且这种相互作用与创伤严重程度相关,在出现器官功能障碍的患者中更为显著[6]。研究表明,抑制炎症途径和调节免疫细胞功能可以缓解凝血功能障碍,提高患者生存率[7]。

近年来,生物信息学分析在生物标志物筛选和患者预后分析中发挥了重要作用。然而,关于创伤相关的凝血相关基因(coagulation-related genes, CRGs)的研究相对不足。机器学习能够处理和分析大规模的基因表达数据,识别与疾病相关的基因和通路,为早期诊断和精准治疗提供见解[6]。因此,本研究通过对创伤患者全血样本的转录组进行机器学习分析,以期识别出与创伤相关的凝血相关基因,为创伤患者的早期诊断和精准治疗提供新的见解和可能的靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

60只健康成年SD大鼠由大坪医院实验动物中心提供,体质量(220±20)g,性别比例均衡,实验前禁食12 h,自由饮水。所有动物实验均符合《动物研究:体内实验报告》的指导方针,并获得了陆军军医大学实验动物福利和伦理委员会的批准(批准号:AMUWEC20237118)。

1.2 基因表达综合数据库中数据集的下载与预处理

从https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)[8]下载GSE64711数据集[9]用于后续分析。GSE64711数据集包括478例创伤失血性休克患者(HS组)和17例健康对照者(HC组)的样本。该数据集中的创伤患者均遭受了严重的钝器伤并伴有失血性休克,损伤严重程度评分均为15分以上。使用R包"SVA"(版本4.1.2)对基因表达矩阵进行标准化处理并去除批次效应。根据数据集的探针注释文件,使用Perl脚本将所有数据集探针转换为相应的基因符号。

1.3 差异基因筛选与基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)

数据预处理完成后,以校正$P<0.05$为标准筛选差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)。使用GSEA软件(版本4.1.0)[10]验证这些DEGs的生物学功能。通过设定错误发现率(false discovery rate, FDR)<0.25和$P<0.05$的截止标准,筛选出与凝血机制和创伤反应相关的基因集。

1.4 基因富集分析

从京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)数据库中筛选出203个已确认的CRGs。通过将CRGs与DEGs进行交集分析,识别出差异表达的凝血相关基因(differentially expressed coagulation-related genes, DE-CRGs)。随后,使用clusterProfiler R包(版本4.6.0)对DE-CRGs进行基因本体论(gene ontology, GO)和KEGG富集分析。以$P<0.05$为阈值筛选显著富集的功能和通路。

1.5 机器学习算法筛选关键基因

采用最小绝对收缩和选择算子(least absolute shrinkage and selection operator, LASSO)逻辑回归及随机森林(random forest, RF)两种机器学习算法识别与凝血相关的关键基因。LASSO系数最小的变量被选为特征变量,RF选择关键变量时设定了1的阈值。为了进一步分析,使用韦恩图来识别LASSO和RF筛选的关键基因。为了评估这些关键基因的诊断能力,绘制受试者工作特征(*receiver operating characteristic*, *ROC*)曲线,并计算曲线下面积(*area under the curve*, *AUC*)。

1.6 免疫浸润分析

采用CIBERSORT算法对GSE64711数据集进行免疫浸润分析。通过计算免疫细胞的标志基因,确定

这些细胞的相对比例。为了进一步探讨免疫细胞浸润与关键基因表达之间的潜在关系,相关性分析和可视化由ggplot2 R包(版本3.4.0)完成。

1.7 基于关键CRGs的创伤患者亚型分析

本研究采用ConsensusClusterPlus R包(版本1.62.0)进行一致性聚类分析。在具体操作中,我们将6个关键基因的表达矩阵作为输入,设置聚类数k在2~9之间进行迭代,并计算每个k值对应的一致性累积分布函数(consensus cumulative distribution function curve,CDF)曲线。随后利用主成分分析(principal component analysis,PCA)对聚类结果进行降维可视化。同时对亚型之间的免疫细胞浸润模式进行比较,仍采用CIBERSORT算法计算每个亚型的免疫细胞构成,并使用*Wilcoxon*秩和检验比较2组之间的差异。同时运用ESTIMATE算法对不同亚型进行免疫评分,最后对亚型间筛选得到的差异表达基因进行功能和通路富集分析。

1.8 创伤失血性休克大鼠模型的制备

60只SD大鼠中7只因建模过程中死亡未能进入分析,为保证各组动物数量均衡一致,5只大鼠虽建模成功但未纳入分析,最终本研究共纳入48只大鼠,其中创伤组和假手术组各24只。

将大鼠通过腹腔注射30 mg/kg戊巴比妥钠(30g/L)进行麻醉,留置左侧股动脉导管用于放血,连续监测平均动脉压(mean arterial pressure,MAP)并进行血液采集;自耻骨联合至剑突下缘处开腹,于左侧肝下缘施加钳夹损伤(深度1 cm,持续2 s,重复4次,每次钳夹位置间隔0.5 cm),关闭腹腔,经左侧股动脉抽血,使大鼠失血量为全身血量的30%(全血量按体质量的7%计算,失血量=体质量×7%×30%);再行双侧胫腓骨上段闭合性骨折,并使MAP维持在40~50 mmHg,构建创伤失血性休克大鼠模型(创伤组)。假手术组大鼠仅行麻醉和动脉置管,相较创伤组不做后续处理。

1.9 创伤失血性休克大鼠模型凝血功能检测

为进一步评估创伤失血性休克大鼠模型中的凝血功能变化,采用纤维蛋白原、血栓弹力图(thrombo-elastograph,TEG)和尾部出血时间测试来检测大鼠的凝血功能。

纤维蛋白原检测:分别从创伤组和假手术组随机取6只SD大鼠,在创伤组大鼠胫腓骨骨折后180 min(假手术组在创伤组对应时间点),取大鼠股动脉血2 mL置于枸橼酸钠抗凝管中,立即送至检验科进行检测。

TEG检测:分别从创伤组和假手术组随机取6只SD大鼠,在创伤组大鼠胫腓骨骨折后180 min(假手术组在创伤组对应时间点),取大鼠股动脉血2 mL置于枸橼酸钠抗凝管中,立即进行TEG检测。

尾部出血时间测试:分别从创伤组和假手术组随机取6只SD大鼠,在创伤组大鼠胫腓骨骨折后180 min(假手术组在创伤组对应时间点),在大鼠尾部距尖端约5 mm处做好标记,浸泡于37 ℃生理盐水2 min后,置于平台,以非惯用手夹住标记区域两侧,用新手术刀片在此处做垂直切口,将切口放入盛有37 ℃生理盐水的试管,记录止血时间,实验20 min后结束。之后缝合伤口并烧灼切口以防进一步出血[11]。

1.10 qRT-PCR分析验证关键基因的表达

分别从创伤组和假手术组随机取6只SD大鼠,在创伤组大鼠胫腓骨骨折后180 min(假手术组在创伤组对应时间点),取大鼠股动脉血0.5 mL,对全血样本进行qRT-PCR分析。使用PureLink™全血总RNA提取试剂盒从大鼠全血中提取总RNA,将提取的RNA逆转录生成互补DNA文库,然后使用Bestar® SYBR Green qPCR Master Mix进行定量聚合酶链式反应检测。基因相对表达水平的定量分析采用效率校正的$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法,以β-肌动蛋白作为内参基因进行标准化[11]。

1.11 统计分析

所有数据分析和预处理均在R包(版本4.2.2)中进行。为了分析不同组之间的差异,使用limma R包(版本3.54.0)进行数据处理,并对*P*值进行多重比较调整以减少假阳性率。2组间的比较采用*Wilcoxon*检验;多组间的比较使用方差分析。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

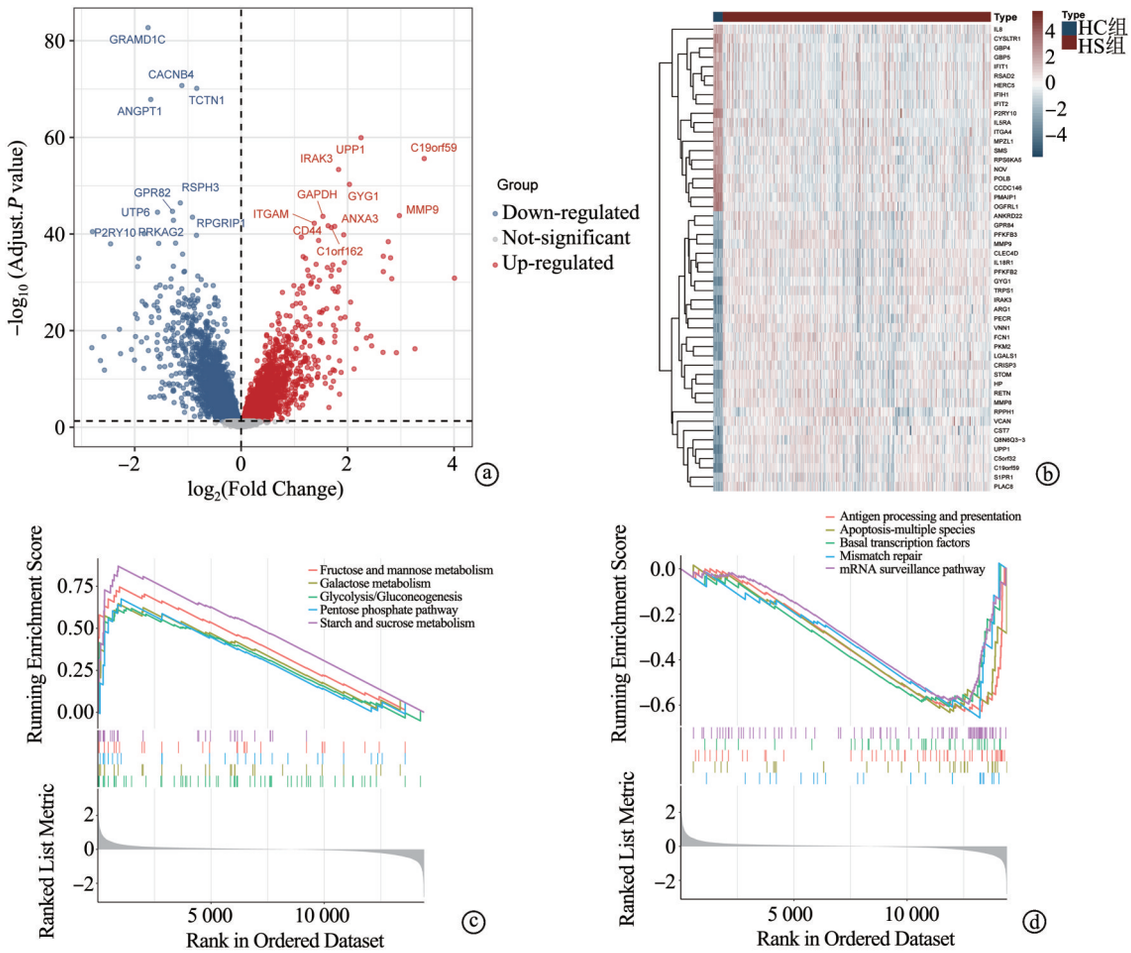
2 结果

2.1 创伤患者转录组学中差异基因表达分析

本研究选取了17例健康对照者和478例创伤失血性休克患者作为研究对象。通过RNA测序技术,成功鉴定出6 315个DEGs,其中3 316个DEGs在HS组患者中表达上调,2 999个DEGs表达下调(图1a)。HC组与HS组前25个上调和下调的DEGs的表达水平见图1b。随后,对这些DEGs进行GSEA,结果显示,上调的DEGs显著富集于果糖和甘露糖代谢、半乳糖代谢、糖酵解/糖异生、戊糖磷酸途径以及淀粉和蔗糖代谢等代谢相关通路;下调的DEGs则显著富集于抗原加工和呈递、细胞凋亡、基础转录因子、错配修复以及mRNA监测途径等免疫反应相关通路(图1c、d)。这些结果表明,严重创伤可能导致患者葡萄糖代谢激活和免疫功能抑制。

2.2 DE-CRGs的差异表达筛选与富集分析

通过韦恩图分析,将CRGs与DEGs进行交叉,识别出65个DE-CRGs(图2)。进一步GO功能富集分析表明,这些DE-CRGs主要定位于分泌颗粒膜、血小板α颗粒以及膜的外源成分,并且主要与血液凝固、体液



a:差异表达基因火山图(蓝色点代表下调基因,红色点代表上调基因);b:排名前25的差异表达基因的热图;c、d:差异表达基因的GSEA

图1 DEGs的鉴定及GSEA

水平调节和伤口愈合等生理过程相关(图3a)。KEGG通路分析提示,这些基因参与了血小板激活、Rap1信号通路、人巨细胞病毒感染及补体和凝血级联反应(图3b)。以上结果表明,DE-CRGs主要参与患者体内凝血和免疫功能的调控。

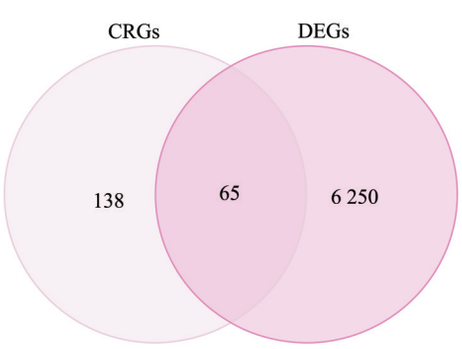


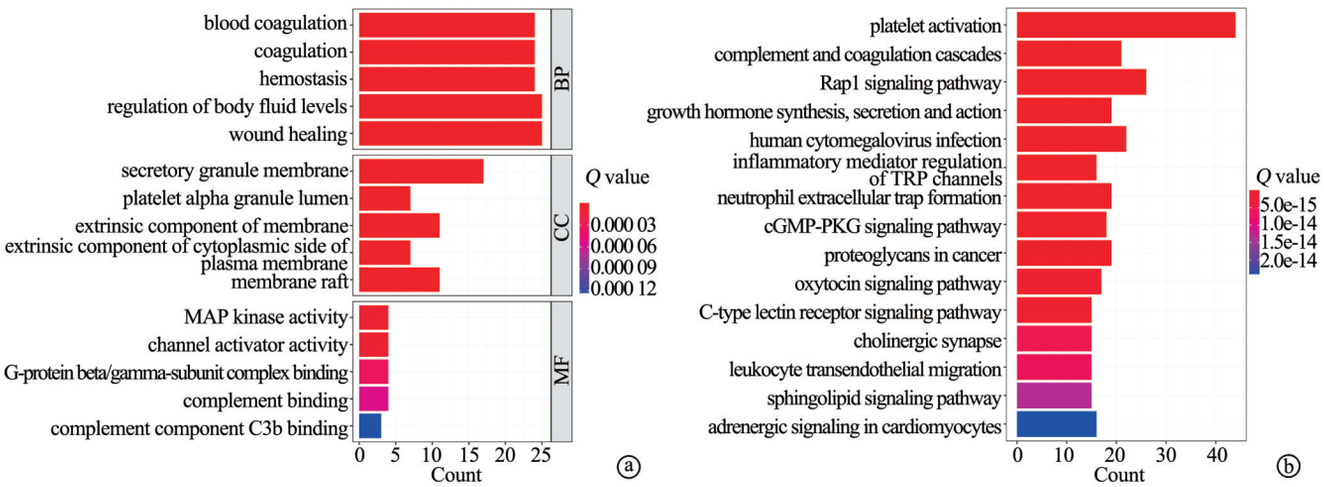
图2 通过韦恩图分析鉴定DE-CRGs

2.3 机器学习算法筛选与凝血相关的关键基因

为进一步筛选与凝血密切相关的关键基因,采用LASSO和RF进行特征选择。LASSO算法通过L1正则化筛选出14个具有显著预测价值的特征变量(图4a、b),而RF确定了9个特征DE-CRGs(图4c)。通过整合两种算法的结果,最终识别出6个关键基因作为特征生物标志物:ITGAM、GNA13、PPP1CC、LYN、PIK3R3和MAPK14(图4d)。相关性分析显示,这6个关键基因之间存在显著相关性。ITGAM与GNA13、LYN和MAPK14呈正相关,而与PPP1CC和PIK3R3呈负相关;GNA13与PPP1CC、LYN和MAPK14呈正相关;PPP1CC与PIK3R3呈正相关,而与MAPK14呈负相关;LYN与MAPK14呈正相关;PIK3R3与MAPK14呈负相关(图4e)。

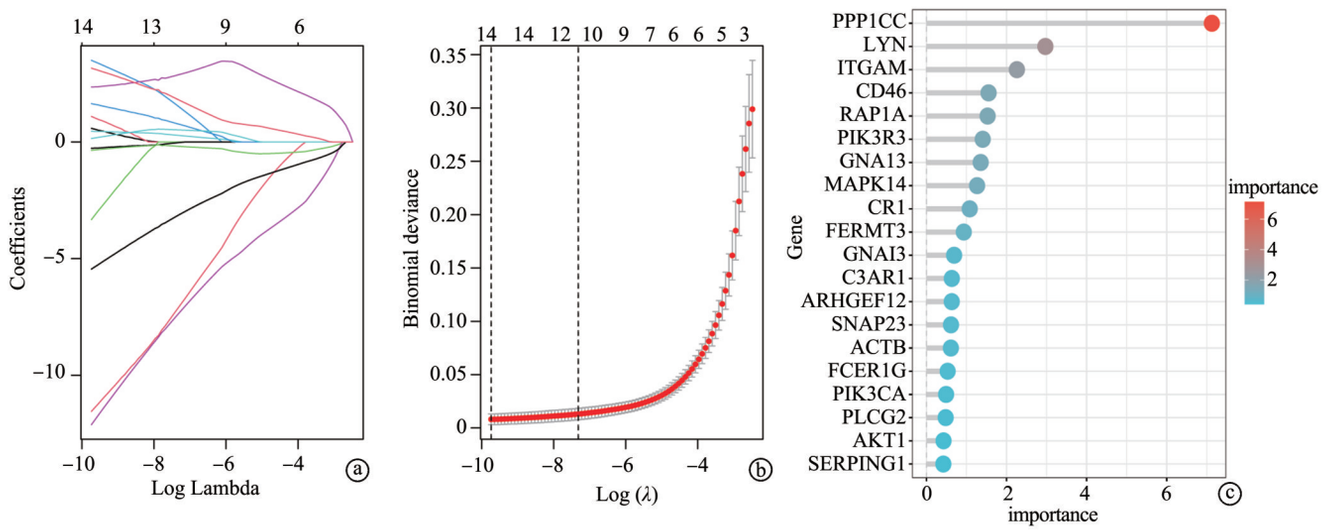
2.4 创伤患者凝血相关生物标志物诊断性能评估

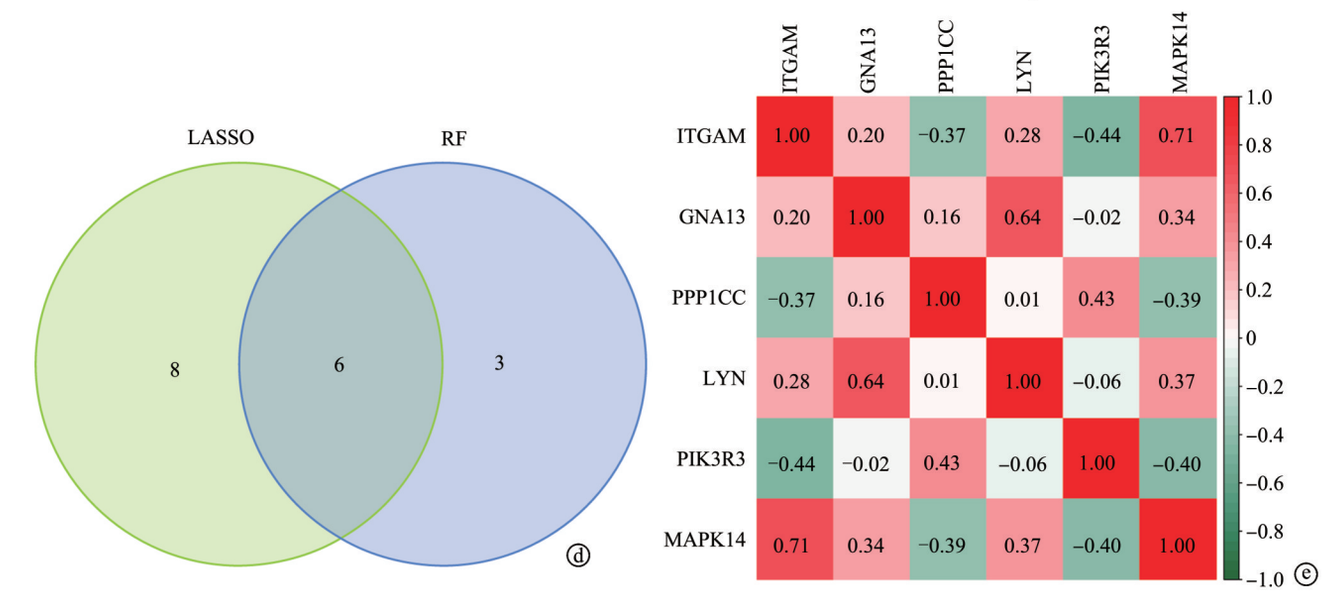
本研究分析了6个凝血相关关键基因的表达水平。其中,ITGAM和MAPK14在严重创伤后升高,而GNA13、LYN、PIK3R3和PPP1CC则降低(图5a~f)。进一步使用*ROC*曲线评估这6个关键基因的诊断性能,结果表明,6个基因均表现出强大的诊断性能,*AUC*如下:ITGAM(0.981)、GNA13(0.928)、PPP1CC(1.000)、LYN(0.936)、PIK3R3(0.911)、MAPK14(0.962),见图5g。



a:DE-CRGs的GO功能富集分析;b:DE-CRGs的KEGG通路分析

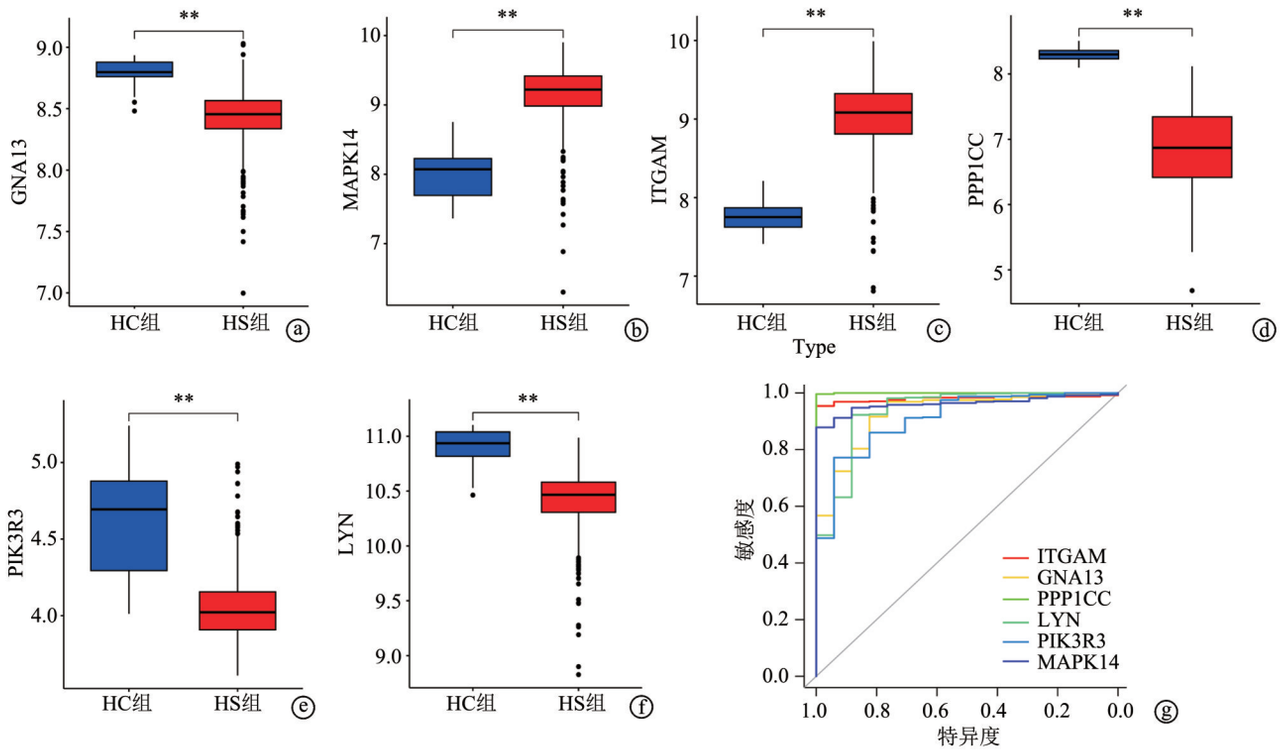
图3 DE-CRGs的筛选及功能富集分析





a、b:利用LASSO筛选DE-CRGs;c:通过RF选择特征变量;d:通过韦恩图分析筛选特征性生物标志物;e:ITGAM、GNA13、PPP1CC、LYN、PIK3R3和MAPK14的相关性分析热图(绿色表示负相关,红色表示正相关)

图4 利用机器学习算法筛选特征性生物标志物



a~f:关键基因的差异表达分析;g:关键基因诊断性能评价的*ROC*曲线 **:$P<0.01$

图5 关键基因的表达分析及诊断性能评估

2.5 创伤患者免疫细胞图谱分析

进一步检测HC组和HS组患者的免疫细胞浸润情况,使用CIBERSORT算法计算22种免疫细胞的相对百分比(图6a)。小提琴图显示,在10种免疫细胞类型中存在显著的创伤后变化,其中静息NK细胞、单核细胞、初始$CD4^+$ T细胞、静息记忆$CD4^+$ T细胞、γδ T细胞、静息树突状细胞和M0巨噬细胞在HS组中显著增加,而活化NK细胞、嗜酸性粒细胞和中性粒细胞在HS组中显著减少(图6b)。进一步分析显示,关键基因PPP1CC、PIK3R3与活化NK细胞和嗜酸性粒细胞呈正相关,与静息NK细胞、单核细胞和M0巨噬细胞呈负相关;关键基因GNA13和LYN与中性粒细胞呈正相关,与静息记忆$CD4^+$ T细胞呈负相关;关键基因ITGAM和MAPK14与静息NK细胞、单核细胞和M0巨噬细胞呈正相关,与活化NK细胞呈负相关(图6c)。

2.6 基于关键CRGs的创伤患者亚型分析

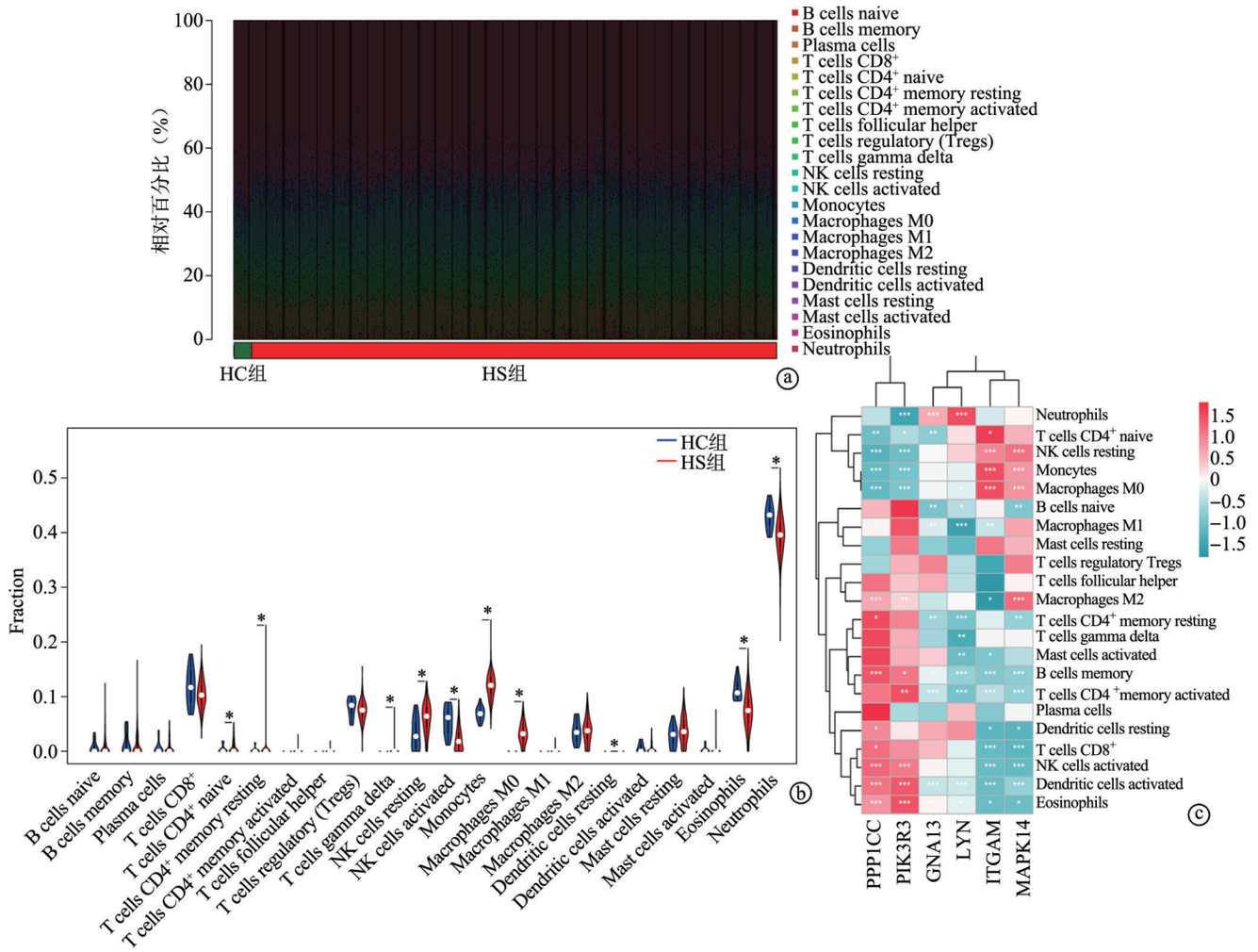
对创伤样本进行全面分析,通过检测6个关键CRGs的表达特征,确定了2种不同的创伤亚型:亚型A和亚型B(图7a、b)。进一步比较这2种创伤亚型的免疫微环境发现,与亚型B相比,亚型A的记忆B细胞、浆细胞、$CD8^+$ T细胞、静息记忆$CD4^+$ T细胞、活化NK细胞和嗜酸性粒细胞水平显著升高;相反,亚型A的初始$CD4^+$ T细胞、静息NK细胞和单核细胞水平显著降低(图7c)。ESTIMATE免疫评分结果显示,亚型A免疫得分显著高于亚型B(图7d)。随后对差异表达基因进行通路富集分析发现,这些基因主要定位于胶原三聚体,且与蛋白质消化和吸收以及氧化磷酸化过程显著相关(图7e、f)。

2.7 创伤失血性休克大鼠模型中关键基因的验证

TEG检测和纤维蛋白原检测结果显示,创伤后大鼠的凝血功能显著降低,表现为活动时间和反应时间延长,最大振幅和血栓形成角度(α角)减小,纤维蛋白原水平显著升高(图8a~e)。尾部出血时间测试显示,创伤后出血时间显著延长(图8f)。qRT-PCR分析结果显示,创伤后MAPK14和ITGAM表达显著上调,而GNA13、PPP1CC、PIK3R3和LYN表达显著下调(图8g),与转录组学数据一致。

3 讨论

本研究利用机器学习算法分析了创伤失血性休克患者的转录组学数据,发现了6个与创伤密切相关的关键基因:GNA13、PIK3R3、ITGAM、MAPK14、PPP1CC和LYN。这些基因在创伤后表达水平显著变化,且与凝血过程及免疫细胞浸润密切相关。动物模型验证表明,这些基因具有作为创伤诊断生物标志物的潜力,为创伤治疗提供了新思路。本研究结果显示,GNA13、LYN、PIK3R3和PPP1CC的表达在创伤后显著降低。GNA13编码G蛋白α亚基13,参与调节细



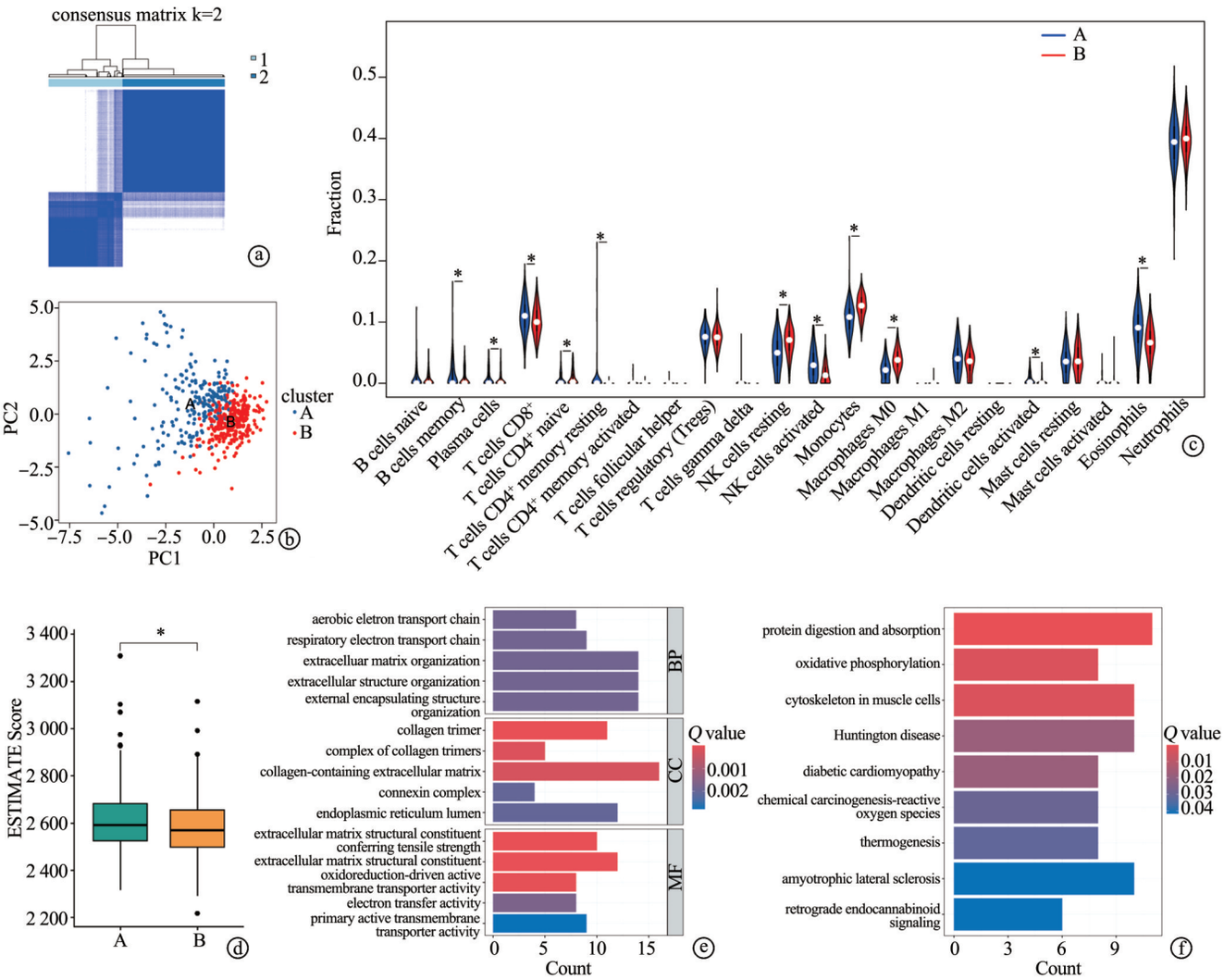
a:不同患者中免疫细胞比例的评估;b:创伤后22种免疫细胞比例比较的小提琴图;c:免疫细胞与DE-CRGs的相关性分析(红色节点表示正相关,绿色节点表示负相关) *:P<0.05;**:P<0.01;***:P<0.001

图6 创伤患者免疫细胞浸润特征分析

胞迁移和血小板功能,其减少可能抑制血小板功能,加剧凝血功能障碍,还可能影响T细胞介导的免疫反应[12-13]。LYN是一种非受体酪氨酸激酶,与免疫细胞活化密切相关[14],其下调可能抑制免疫细胞与凝血系统相互作用,引发凝血功能障碍[15-16]。PIK3R3作为PI3K信号通路的调节亚单位,调控细胞增殖、存活和代谢,其下调可能导致细胞增殖受抑制,还与肿瘤微环境中免疫调节相关[17-18]。PPP1CC参与细胞周期和DNA修复过程,其下调可能削弱凝血相关细胞的修复能力,影响凝血因子的正常表达和功能,还可能通过损害免疫系统间接加剧凝血系统紊乱[19-20]。创伤后,ITGAM和MAPK14显著上调。ITGAM编码整合素αM(CD11b),是免疫细胞表面的重要黏附分子,其上调可能导致单核细胞和巨噬细胞功能异常,加剧凝血系统紊乱[21-22]。MAPK14是应激反应和炎症途径中的关键调控分子,通过调节脂质代谢和铁死亡等影响凝血功能[23-24]。

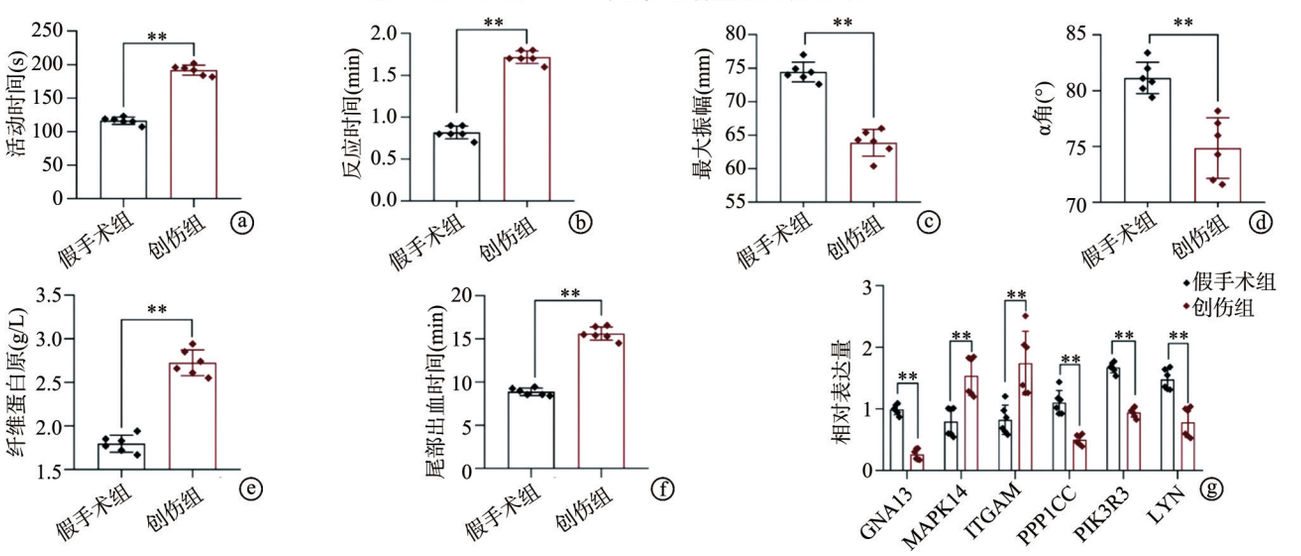
本研究还探讨了免疫微环境与创伤之间的关系,发现单核细胞和巨噬细胞M0亚型在创伤后表达显著上调,提示其在创伤的病理生理中起着关键作用。单核细胞通过释放组织因子促进凝血途径激活[25]。单核细胞还可通过与血小板及凝血因子的相互作用,参与血栓的形成过程[26]。M0巨噬细胞具有较高的增殖和分泌能力,其通过释放促凝因子和调节纤维蛋白生成促进局部凝血反应[27]。

综上,本研究通过转录组学与机器学习方法,系统性筛选出了6个与TIC密切相关的关键基因,即GNA13、PIK3R3、ITGAM、MAPK14、PPP1CC和LYN,并揭示了这6个关键基因在创伤中的潜在作用,还通过动物模型验证了这些发现,为TIC的早期识别和精准干预提供了新的分子依据。结果显示,ITGAM与MAPK14在创伤后显著上调,而GNA13、PPP1CC、PIK3R3和LYN下调,这些基因与血小板功能、免疫细胞活化及炎症信号密切相关,提示其在TIC的发生发展中发挥重要作用。免疫浸润分析揭示TIC伴随显著



a:聚焦于6个关键CRGs的创伤亚型分析;b:基于这6个关键CRGs的创伤亚型的主成分分析;c:免疫细胞浸润全景图;d:ESTIMATE免疫评分分析;e:基于CRGs亚型的差异表达基因的GO富集分析;f:基于CRGs亚型的差异表达基因的KEGG通路分析　*:$P<0.05$

图7　基于关键CRGs的创伤患者亚型免疫浸润分析



a:活动时间;b:反应时间;c:最大振幅;d:α角;e:纤维蛋白原水平;f:尾部出血时间;g:qRT-PCR检测大鼠全血样本中关键基因的表达　**:$P<0.05$

图8　动物模型中关键基因表达的验证

的免疫微环境重塑,而基于关键基因的分型进一步显示不同患者存在异质性免疫特征。动物实验结果与转录组学分析趋势一致,增强了结论的可靠性。本研究不仅明确了TIC的潜在分子机制,还提出了可作为早期诊断和分层干预候选靶点的关键基因,为创伤患者的风险评估和精准治疗提供了新的理论依据和实验支持。但本研究仍存在一些局限性。首先,本研究仅使用大鼠模型血液样本进行验证,缺乏临床患者血液样本数据的验证。其次,这些关键基因在创伤中调控凝血功能障碍的具体分子机制尚不清楚。未来需大规模临床试验确保其作为创伤诊断生物标志物的可靠性,并深入研究其调控机制,寻找潜在药物靶点以开发靶向疗法。

[参考文献]

[1] Moore EE, Moore HB, Kornblith LZ, et al. Trauma-induced coagulopathy [J]. Nat Rev Dis Primer, 2021, 7(1): 30. doi: 10.1038/s41572-021-00264-3.

[2] Kornblith LZ, Moore HB, Cohen MJ. Trauma-induced coagulopathy: the past, present, and future[J]. J Thromb Haemost, 2019, 17(6): 852-862. doi: 10.1111/jth.14450.

[3] Duque P, Calvo A, Lockie C, et al. Pathophysiology of trauma-induced coagulopathy [J]. Transfus Med Rev, 2021, 35(4): 80-86. doi: 10.1016/j.tmrv.2021.07.004.

[4] Hartmann J, Walsh M, Grisoli A, et al. Diagnosis and treatment of trauma-induced coagulopathy by viscoelastography[J]. Semin Thromb Hemost, 2020, 46(2): 134-146. doi: 10.1055/s-0040-1702171.

[5] Huber-Lang M, Lambris JD, Ward PA. Innate immune responses to trauma [J]. Nat Immunol, 2018, 19(4): 327-341. doi: 10.1038/s41590-018-0064-8.

[6] Vulliamy P, Armstrong PC. Platelets in hemostasis, thrombosis, and inflammation after major trauma[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2024, 44(3): 545-557. doi: 10.1161/atvbaha.123.318801.

[7] Gando S, Levi M, Toh CH. Trauma-induced innate immune activation and disseminated intravascular coagulation[J]. J Thromb Haemost, 2024, 22(2): 337-351. doi: 10.1016/j.jtha.2023.09.028.

[8] Barrett T, Wilhite SE, Ledoux P, et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets--update[J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(Database issue): D991-D995. doi: 10.1093/nar/gks1193.

[9] Vanzant EL, Hilton RE, Lopez CM, et al. Advanced age is associated with worsened outcomes and a unique genomic response in severely injured patients with hemorrhagic shock[J]. Crit Care, 2015, 19(1): 77. doi: 10.1186/s13054-015-0788-x.

[10] Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, et al. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(43): 15545-15550. doi: 10.1073/pnas.0506580102.

[11] Ran X, Zhang J, Wu Y, et al. Prognostic gene landscapes and therapeutic insights in sepsis-induced coagulopathy[J]. Thromb Res, 2024, 237: 1-13. doi: 10.1016/j.thromres.2024.03.011.

[12] Rasheed SA, Teo CR, Beillard EJ, et al. MicroRNA-31 controls G protein alpha-13 (GNA13) expression and cell invasion in breast cancer cells [J]. Mol Cancer, 2015, 14: 67. doi: 10.1186/s12943-015-0337-x.

[13] The Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong[J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(D1): D330-D338. doi: 10.1093/nar/gky1055.

[14] Xu X, Zhang Y, Lu Y, et al. CD58 alterations govern antitumor immune responses by inducing PDL1 and IDO in diffuse large B-cell lymphoma[J]. Cancer Res, 2024, 84(13): 2123-2140. doi: 10.1158/0008-5472.Can-23-2874.

[15] De Jesus AA, Chen G, Yang D, et al. Constitutively active Lyn kinase causes a cutaneous small vessel vasculitis and liver fibrosis syndrome [J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 1502. doi: 10.1038/s41467-023-36941-y.

[16] De Bont CM, Boelens WC, Pruijn GJM. NETosis, complement, and coagulation: a triangular relationship[J]. Cell Mol Immunol, 2019, 16(1): 19-27. doi: 10.1038/s41423-018-0024-0.

[17] Ibrahim S, Zhu X, Luo X, et al. PIK3R3 regulates ZO-1 expression through the NF-kB pathway in inflammatory bowel disease [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 85: 106610. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106610.

[18] Lee H, Zhuang L, Gan B. VHL governs m6A modification and PIK3R3 mRNA stability in clear cell renal cell carcinomas[J]. J Clin Invest, 2024, 134(8): e179560. doi: 10.1172/JCI179560.

[19] Feng P, Wang Y, Liu N, et al. High expression of PPP1CC promotes NHEJ-mediated DNA repair leading to radioresistance and poor prognosis in nasopharyngeal carcinoma[J]. Cell Death Differ, 2024, 31(5): 683-696. doi: 10.1038/s41418-024-01287-5.

[20] Zhao Z, Wang Q, Zhao F, et al. Single-cell and transcriptomic analyses reveal the influence of diabetes on ovarian cancer[J]. BMC Genomics, 2024, 25(1): 1. doi: 10.1186/s12864-023-09893-2.

[21] Cai W, Hu M, Li C, et al. FOXP3^{+} macrophage represses acute ischemic stroke-induced neural inflammation[J]. Autophagy, 2023, 19(4): 1144-1163. doi: 10.1080/15548627.2022.2116833.

[22] Liu X, Hogg GD, Zuo C, et al. Context-dependent activation of STING-interferon signaling by CD11b agonists enhances anti-tumor immunity [J]. Cancer Cell, 2023, 41(6): 1073-1090. e1012. doi: 10.1016/j.ccell.2023.04.018.

[23] Li Z, Zhang C, Liu Y, et al. Diagnostic and predictive values of ferroptosis-related genes in child sepsis[J]. Front Immunol, 2022, 13: 881914. doi: 10.3389/fimmu.2022.881914.

[24] She H, Tan L, Wang Y, et al. Integrative single-cell RNA sequencing and metabolomics decipher the imbalanced lipid-metabolism in maladaptive immune responses during sepsis [J]. Front Immunol, 2023, 14: 1181697. doi: 10.3389/fimmu.2023.1181697.

[25] Dean T, Mendiola AS, Yan Z, et al. Fibrin promotes oxidative stress and neuronal loss in traumatic brain injury via innate immune activation[J]. J Neuroinflammation, 2024, 21(1): 94. doi: 10.1186/s12974-024-03092-w.

[26] Mandel J, Casari M, Stepanyan M, et al. Beyond hemostasis: platelet innate immune interactions and thromboinflammation[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(7): 3868. doi: 10.3390/ijms23073868.

[27] Chen X, Liu Y, Gao Y, et al. The roles of macrophage polarization in the host immune response to sepsis[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 96: 107791. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107791.

(编辑:魏 源)