

ZHANG Yan, YANG Qing, DU Xiaohui, ZHAO Lei, SUN Yeqing. Mining of Multi-omics Molecular Interaction Patterns and Identification of Key Genes in Multiple Mouse Tissues under Spaceflight Conditions (in Chinese). *Chinese Journal of Space Science*, 2025, 45(2): 529–555. CSTR:32142.14.cjss.2024-0137. DOI:10.11728/cjss2025.02.2024-0137

空间飞行条件下小鼠不同组织中多组学分子 互作模式挖掘及关键基因识别*

张彦 杨青 杜晓辉
赵磊 孙野青

(大连海事大学环境科学与工程学院 环境系统生物学研究所 大连 116026)

摘要 为了从系统生物学的角度探究空间生物学效应, 本文基于单样本网络 (Single-Sample Network, SSN) 开发了一种生物信息学分析方法. 首先, 为来自空间飞行小鼠不同组织的每个样本分别构建了转录组、DNA 甲基化、蛋白质组层面的 SSN. 然后, 提取每个 SSN 中所有节点的拓扑特征, 并使用 T 检验识别出不同组学层面的差异互作分子. 结果表明, 虽然不同组学层面互作模式改变的分子交集有限, 但其调控的生物过程和通路具有相似性, 主要包括代谢过程、DNA 损伤响应、细胞周期、氧化应激、昼夜节律等. 本文还分别构建了不同组学层面的共互作网络, 并识别了枢纽 (Hub) 基因. 此外, 空间飞行改变的分子互作模式可能与一系列疾病发生和病毒重激活有关.

关键词 空间环境, 单样本网络, 分子互作模式, 多组学

中图分类号 V524

Mining of Multi-omics Molecular Interaction Patterns and Identification of Key Genes in Multiple Mouse Tissues under Spaceflight Conditions

ZHANG Yan YANG Qing DU Xiaohui
ZHAO Lei SUN Yeqing

(Institute of Environmental Systems Biology, College of Environmental Science and Engineering,
Dalian Maritime University, Dalian 116026)

Abstract To explore the space biological effects from a systems biology perspective, a bioinformatics analysis pipeline was developed based on Single-Sample Network (SSN) and was used to mine multi-

* 空间站工程空间应用系统第二批、第三批科学实验项目 (SCP-03-01-02, SCP-03-01-03, YYWT-0801-EXP-17), 国家自然科学基金面上项目 (32071244) 和中国博士后科学基金面上项目 (2020M670720) 共同资助

2024-10-26 收到原稿, 2025-02-20 收到修定稿

©The Author(s) 2025. This is an open access article under the CC-BY 4.0 License
(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

omics molecular interaction patterns and key genes in multiple mouse tissues under spaceflight conditions. First, we collected four spaceflight mouse datasets from the GeneLab platform, which included transcriptome, DNA methylation, and proteome sequencing results from the adrenal gland, kidney, liver, and quadriceps. For each sample, four SSNs (mRNA-SSN, meth-promoter-SSN, meth-body-SSN, protein-SSN) were constructed. Next, the topological features of the nodes in each SSN were extracted, and a T-test was performed to identify the molecules with altered interaction patterns across different omics levels under spaceflight conditions. The results indicated that, although the overlap of molecules with altered interaction patterns across different omics levels was limited, the biological processes and pathways they regulated exhibited similarities, which primarily included metabolic processes, DNA damage response, cell cycle, oxidative stress, and circadian rhythms. Notably, the protein/amino acid metabolic process and nucleic acid (DNA/RNA) metabolic process appeared in multiple tissues and showed high significance. The key genes involved in multi-omics regulation were identified, including *Park7*, *Tmed3*, *Rbbp7*, *Hunk*, *Rad23a*, *Cd36*, *etc.* Furthermore, we constructed co-interaction networks for the transcriptome and DNA methylation, transcriptome and proteome, as well as for all three omics layers, and identified the Hub genes (such as *Rbbp7*, *Egfr*, *Rpl4*, *Srms*, *Cabp4*) from them. Functional analysis revealed that several key/Hub genes were involved in regulating the aforementioned biological processes. To gain further insight into the expression patterns of key/Hub genes, additional datasets from the same tissue in the GeneLab database were analyzed using DESeq2. The results revealed that several genes were also differentially expressed under spaceflight conditions in other datasets. The molecular interaction patterns altered by spaceflight might be associated with the occurrence of various diseases (such as cancer, neurological disorders, neurodegenerative diseases, cardiovascular diseases, and diabetes) and the reactivation of viruses (such as Epstein-Barr virus, herpes simplex virus, and human cytomegalovirus).

Key words Space environment, Single-sample network, Molecular interaction pattern, Multi-omics

0 引言

随着中国空间站进入常态化运营阶段,航天员在空间环境中可能的健康风险受到了广泛关注^[1].在空间飞行过程中,空间辐射和微重力被认为是最重要的两个胁迫因素,长期暴露于其中可能导致人体出现一系列生理和病理变化^[2].研究表明,航天员在国际空间站(International Space Station, ISS)上进行几个月或更长时间的单次航天任务会导致细胞中染色体损伤的明显增加^[3].空间环境会影响DNA修复过程,导致严重的DNA损伤积累,最终这些损伤会增加发生癌症等不良健康影响的风险^[4].除此之外,从ISS返回的航天员还面临着心血管失调、中枢神经系统功能障碍、骨质流失、肝脏疾病以及昼夜节律失调等一系列健康问题^[5].因此,需要开发先进的生物信息学方法进一步研究空间飞行可能造成的健康风险.

随着组学数据的不断积累,空间生物学领域有望从多组学方法中获得更多有用的知识^[5].美国国家航空航天局(National Aeronautics and Space Admini-

stration, NASA)对大量空间飞行样本的转录组、蛋白质组、代谢组和表观遗传组的高通量数据进行联合分析,发现线粒体过程、先天免疫、慢性炎症、细胞周期、昼夜节律和嗅觉功能被显著富集,而且结合尿液和血液代谢数据发现了线粒体应激是空间飞行的一致表型^[6].Li等使用机器学习方法分析了多个空间飞行小鼠的多组学(转录组学、蛋白质组学和DNA甲基化)数据,并通过高度可解释模型发现Acyp1和Rps7蛋白是与胫骨前肌在太空中的弹性相关的生物标志物^[7].Beheshti等对ISS上的小鼠肝脏进行了转录组和蛋白质组分析,结果表明空间胁迫会导致脂毒性途径的激活,且这种激活发生在多种遗传背景下,可能导致肝病的发展^[8].因此,多组学分析方法已被广泛用于揭示空间环境中的生物学效应、生物标志物以及可能的健康风险,并产生了良好的效果.然而传统分析方法无法揭示空间飞行条件下复杂的分子互作机制,也无法从网络调控的角度观察空间环境产生的生物效应.而分子互作机制的研究可以进一步阐明空间飞行可能导致的各种健康风险.

在系统生物学的视角下, 生物功能的变化及疾病的发生通常是由个体特定的分子网络驱动, 而非单个基因所致^[9,10]. 通常, 基因网络是通过多个样本构建的, 忽略了特定于个体的信息^[11]. 因此, 近年来单样本网络 (Single-Sample Network, SSN) 技术在组学分析中得到了广泛应用. 简单来说, SSN 方法即为每个样本构建一个分子网络, 其中节点代表分子 (基因或蛋白质), 而边代表分子之间的关系. 当与蛋白质-蛋白质互作 (Protein-Protein Interaction, PPI) 网络结合后, SSN 可以刻画不同组学层面的分子互作模式^[12]. 最近, 本研究将 SSN 技术引入空间生物学领域, 整合了来自 NASA 的 GeneLab 平台多个转录组数据集, 并为每个空间飞行和地面对照样本构建了 SSN^[12]. 由此发现空间飞行会扰乱小鼠的基因互作模式, 且这种扰动表现出辐射剂量依赖效应^[12]. 在另一项研究中, 利用 SSN 中基因的拓扑特征作为输入, 基于遗传算法和机器学习构建模型, 准确估算了空间飞行中个体吸收的辐射剂量当量^[13]. 以上研究表明, SSN 算法可很好地揭示空间环境中基因互作模式的变化. 然而, 目前的研究多从转录组层面构建 SSN, 忽略了其他组学层面分子互作模式的变化, 以及不同组学层面分子互作模式的联系.

为了从系统生物学的角度探究空间飞行条件下多组学分子互作模式的变化规律, 本文基于 SSN 技术开发了一种生物信息学分析流程, 并使用该方法揭示空间飞行条件下小鼠不同组织中多组学分子互作模式的变化规律. 在之前的研究中^[12], 全面解析了空间飞行条件下小鼠 10 个组织中基因互作模式的变化 (转录组层面), 发现空间飞行扰乱了小鼠的肝、肾上腺、肾和肌肉中基因的互作模式, 并诱导了一系列生物过程的显著富集. 因此, 这里进一步探究空间飞行

条件下这 4 个组织中多组学分子互作模式的变化, 并搜集了来自 GeneLab 平台的 4 个空间飞行小鼠数据集, 包括肾上腺、肾、肝、股四头肌 4 个组织的 53 个转录组样本、41 个 DNA 甲基化样本、44 个蛋白质组样本. 对上述多组学数据进行了必要的预处理, 以符合构建 SSN 的要求; 使用基于线性插值的单样本网络估计 (Linear Interpolation to Obtain Network Estimates for Single Samples, LIONESS) 为每个样本构建了 4 个 SSN (转录组、甲基化-启动子、甲基化-基因体、蛋白质组层面的各一个 SSN); 提取每个 SSN 中节点的拓扑特征, 并使用 T 检验识别出空间飞行条件下不同组学层面互作模式发生改变的分子, 然后使用富集分析探究这些分子参与的生物功能和通路; 识别出多组学共互作网络, 研究不同组学层面分子互作模式的联系, 并挖掘出一些关键/枢纽 (Hub) 基因. 据知, 这是已知的首次在转录组、DNA 甲基化、蛋白质组层面上联合分析空间环境下机体互作模式变化规律的研究.

1 材料与方法

1.1 多组学数据的收集与预处理

从 GeneLab 数据库^{*}里获得了 5 个经过空间飞行的小鼠数据集, 包括肾上腺、肾、肝、股四头肌 5 个组织. 这些经过空间飞行的组织及其地面对照组分别进行了转录组、甲基化及蛋白质组的高通量测序, 共包括 53 个转录组样本 (27 个空间飞行+26 个地面对照)、41 个甲基化样本 (21 个空间飞行+20 个地面对照)、44 个蛋白质组 (22 个空间飞行+22 个地面对照) 样本, 样本的具体情况见表 1. 其中, 数字代表样本个数, GC 代表地面对照组, SF 代表空间飞行组,

表 1 本文使用的 GeneLab 数据集的样本个数
Table 1 Number of samples in the GeneLab dataset used in this article

数据集编号	组织	转录组 (GC/SF)	甲基化 (GC/SF)	蛋白质组 (GC/SF)
OSD-47	肝	3/3	3/3	—
OSD-98	肾上腺	5/6	5/6	4/4
OSD-102	肾	6/6	6/6	6/6
OSD-103	股四头肌	6/6	6/6	6/6
OSD-137	肝	6/6	—	6/6

^{*} www.nasa.gov/osdr/

“-”表示不包含该组学的数据. 本文研究中的所有源数据均可在 GeneLab 数据库中公开获取.

对于转录组, 将所有样本的原始计数 (count) 整合成一个矩阵, 去除在 20% 以上样本中 count 值为零的基因, 然后使用 R 语言程序包 DESeq2 中的 `rlogTransformation()` 函数将 count 数据转换为 lb 尺度 (即数据归一化).

对于甲基化, 计算了每个位点的甲基化水平 (H_{ML}).

$$H_{ML} = N_{mC} / (N_{mC} + N_{umC}). \quad (1)$$

其中, N_{mC} 为支持甲基化的 read 数目, N_{umC} 为支持非甲基化的 read 数目. 通过与小鼠的基因注释文件进行比对, 分别获得了每个基因的基因区及启动子 (基因上游 2000 bp) 的平均甲基化水平. 小鼠的基因注释文件来自 Ensembl 数据库*. 将所有样本的甲基化水平合并, 即得到一个启动子甲基化水平的矩阵和一个基因区甲基化水平的矩阵.

对于蛋白质组, 首先获得了每个蛋白质的相对丰度, 然后利用 uniprot 数据库将蛋白质 ID 对应到基因名, 最后得到 4 个蛋白质表达矩阵 (一个数据集对应一个矩阵).

1.2 多组学层面单样本网络的构建

得到所有样本的 mRNA/蛋白质表达水平以及基因的甲基化水平后, 利用 LIONESS 为每个样本分别构建 4 个不同尺度的 SSN (mRNA-SSN, meth-promoter-SSN, meth-body-SSN, protein-SSN). LIONESS 通过计算所有样本与去除某一特定样本后的边统计显著性来构建状态转移网络^[14]. 特定于一个样本 s 的网络按下式计算:

$$e_{ij}^s = N(e_{ij}^N - e_{ij}^{N-s}) + e_{ij}^{N-s}. \quad (2)$$

其中, e_{ij}^s 是样本 s 中分子 i 和 j 的相关性, e_{ij}^N 是 N 个样本中分子 i 和 j 的皮尔森相关系数 (Pearson Correlation Coefficient, PCC), e_{ij}^{N-s} 是去除样本 s 后分子 i 和 j 的 PCC, N 为样本总数.

对于 mRNA 和蛋白质层面, 使用表达量计算 PCC; 对于甲基化层面, 分别使用启动子和基因区的甲基化水平计算 PCC. 值得注意的是, 对于转录组和甲基化层面, 由于每个样本包含的基因数量相差

大, 因此首先将所有样本包含的基因取交集, 然后将所有样本的表达量均输入算法进行计算; 对于蛋白质组层面, 每个数据集测出的蛋白质都不一样, 合并计算会丢失大量的蛋白质, 故将每个数据集 (组织) 的样本矩阵单独输入进行计算.

对于每个尺度, 在获得所有分子对的 e_{ij}^s (绝对值) 分布 D 后, 需要选择一个阈值来确定 SSN 中的边. 参考文献 [15] 将阈值统一设定为

$$w = \mu(D) + 2\delta(D). \quad (3)$$

其中, $\mu(D)$ 和 $\delta(D)$ 是样本 s 中所有 $|e_{ij}^s|$ 的分布 D 的平均值和标准差. 即在样本 s 中, 若两个分子的 $|e_{ij}^s|$ 大于 w , 则这两个分子在 SSN 中存在一条边, 反之亦然.

为了使 SSN 能够刻画个体中的分子互作模式, 将 LIONESS 构建的 mRNA-SSN, meth-promoter-SSN, meth-body-SSN, protein-SSN 分别与 PPI 网络取交集 (即只保留每个 SSN 和 PPI 网络中共有的节点和边). 其中 PPI 网络来自 STRING 数据库**, 且只保留经过实验验证的互作关系. 经此操作, 既保证了 SSN 中关系的可靠性, 又使得每个 SSN 都可以反映个体内独特的分子互作模式.

1.3 差异互作分子的识别

为了识别差异分子互作模式, 首先应对 SSN 中节点的特征进行提取. 这里使用一个节点的度作为特征. 给定一个节点 v , $N(v)$ 代表其邻居的集合, 则节点的度定义如下:

$$D(v) = |N(v)|. \quad (4)$$

其中, $|\cdot|$ 代表集合中元素的数量.

分别将所有 mRNA-SSN, meth-promoter-SSN, meth-body-SSN, protein-SSN 中包含的分子取并集, 并为每个分子构建一个度向量, 即

$$\mathbf{d} = (d_1, d_2, \dots, d_n). \quad (5)$$

其中, n 为样本数量, d_i 为第 i 个 SSN 中该分子的度 (若第 i 个 SSN 中不包含该分子, 则 $d_i = 0$). 最后, 分别从 mRNA-SSN, meth-promoter-SSN, meth-body-SSN, protein-SSN 中识别出每个组织中的差异互作基因 (Differentially Interacted Gene, DIG)、差异甲基化互作基因 (Differentially Meth-Interacted Gene, DMIG) 以及差异互作蛋白质 (Differentially Inter-

* <https://asia.ensembl.org/index.html>

** <https://cn.string-db.org>

acted Protein, DIP). 其中 DMIG 指的是启动子或基因区的甲基化交互模式 (meth-promoter-SSN 或 meth-body-SSN 中的度) 发生显著变化的基因. 具体地, 在转录组和甲基化层面, 对一个基因在地面对照组中的度序列 d_{GC} 和空间飞行组中的度序列 d_{SF} 进行 T 检验, 并将 $P < 0.05$ 的分子定义为 DIG 或 DMIG. 首先, 使用 python 程序包 scipy 中的 levene() 检验方差齐性, 然后使用 scipy 包中的 ttest_ind() 进行 T 检验. 而在蛋白质组层面, 由于数据集中包含的蛋白质数量较少, 使用 T 检验无法得到充足的具有显著性的蛋白质. 使用随机森林进行特征选择, 即将特征重要性评分大于 0 的蛋白质识别为 DIP. 在实际操作中, 使用 python 程序包 sklearn 中的 RandomForestClassifier() 执行随机森林.

1.4 生物信息学分析

使用 Metascape^{*} 进行 GO/KEGG 富集分析, 并进一步研究 $Q\text{-value} < 0.05$ 的生物过程和通路 (若某个组织中 $Q\text{-value} < 0.05$ 的生物过程/通路太少或不存在, 则研究该组织中 $P < 0.05$ 的生物过程/通路). 此外, 还利用 Cytoscape 中的 ClueGO 查询差异互作基

因参与的 KEGG 通路. 研究的总体分析流程如图 1 所示.

2 结果

2.1 三个组学层面的差异互作分子

共计构建 53 个 mRNA-SSN, 41 个 meth-promoter-SSN, 41 个 meth-body-SSNs 和 44 个 protein-SSN. 通过 T 检验, 分别识别出 4 个组织在转录组、甲基化和蛋白质组层面的差异互作分子 (见图 2a~d). 其中股四头肌的 DIG 数量最多, 为 626 个; 肾上腺的 DMIG 数量最多, 在启动子识别出 223 个 DMIG, 在基因区识别出 376 个 DMIG; 肾的 DIP 数量最多, 为 166 个. 不同组织之间的差异互作分子交集较少 (见图 2e~h), 表明各组织均具有独特的差异互作模式. 在转录组中, 股四头肌和肾上腺、股四头肌和肾具有相对较多的交集, 分别为 15 个和 25 个 (见图 2e).

2.2 分子交互模式改变诱导的生物过程和通路

分别对 4 个组织中的 DIG, DMIG (启动子和基

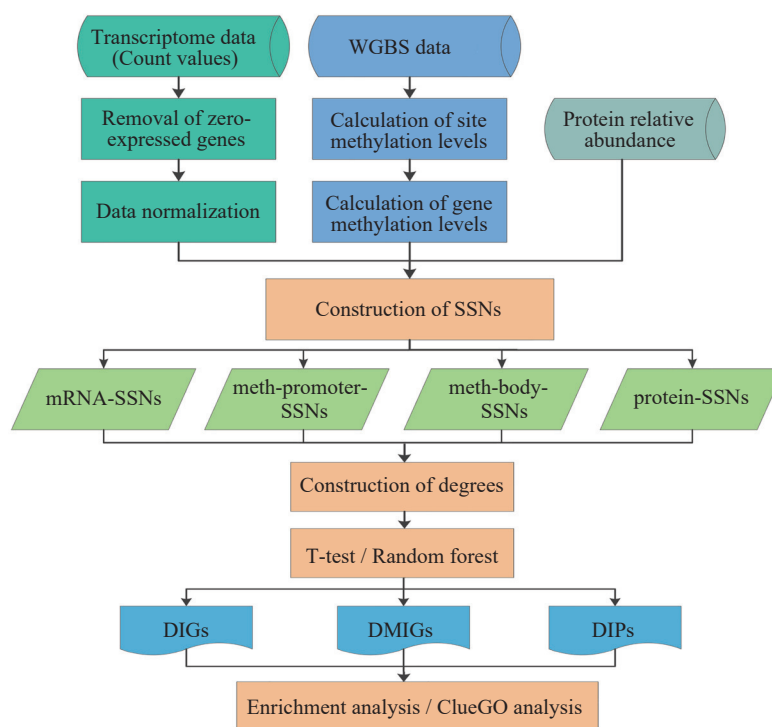


图 1 总体分析流程

Fig. 1 Schematic representation of the analysis workflow

* metascape.org

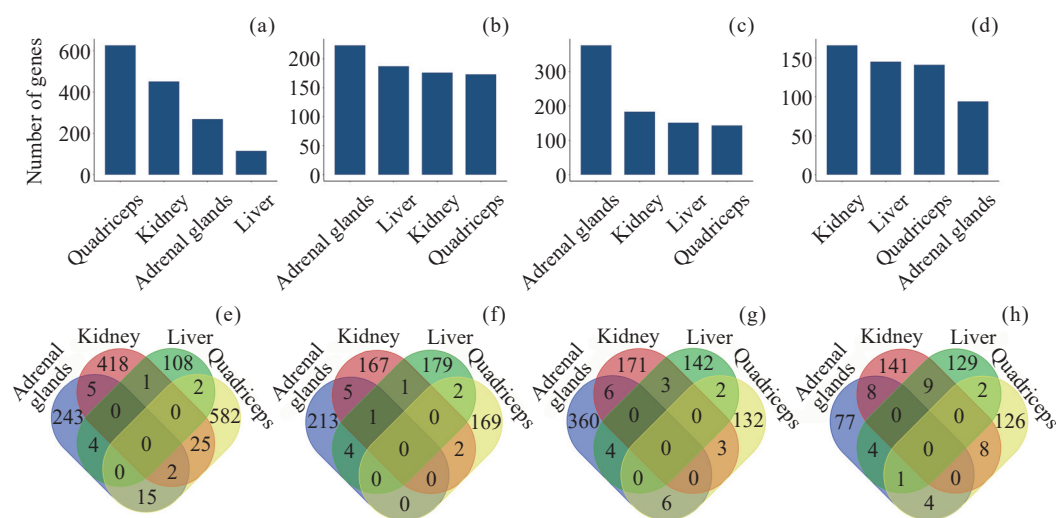


图2 差异互作分子的数量及交集. (a) DIG 数量, (b) 启动子中 DMIG 数量, (c) 基因区中 DMIG 数量, (d) DIP 数量, (e)~(h) 转录组、甲基化 (启动子)、甲基化 (基因体) 和蛋白质组中不同组织差异互作分子的交集

Fig. 2 Number and intersection of differentially interacted molecules. (a) Number of DIGs, (b) number of DMIGs in promoters, (c) number of DMIGs in gene bodies, (d) number of DIPs, (e)~(h) intersection of differentially interacted molecules among transcriptome, methylation (promoter), methylation (gene body), and proteome in various tissues

因体) 以及 DIP 进行 GO 富集分析, 得到空间飞行条件下各组学层面发生显著改变的生物过程 (见图 3 和图 4)。根据 GO 树将相似的生物过程整合到一个类别, 并将每个类别中最小的 P 值取负对数后定义为该类别的显著性。由此可知, 不同组学层面改变的生物过程具有相似性, 主要包括一系列代谢过程、对刺激的响应、DNA 损伤响应、细胞周期、氧化应激、免疫系统过程、节律过程等。其中代谢过程中的蛋白质代谢过程、RNA 代谢过程、氨基酸代谢过程、含核碱基化合物代谢过程在多个组织中出现, 并具有较高的显著性。此外, 代谢过程还包含 DNA 代谢过程、能量代谢过程、初级代谢过程、活性氮物质代谢过程、含磷酸盐化合物代谢过程等。

通过 KEGG 富集分析 (见图 5 和图 6) 可知, 分子互作模式的改变还导致了一系列通路的变化, 包括代谢通路 (如碳代谢、脂肪酸代谢、胆固醇代谢、嘌呤代谢、糖酵解/糖异生、氨基酸代谢), 信号传导通路 (例如 MAPK 信号通路、FoxO 信号通路、PI3 K-Akt 信号通路、AMPK 信号通路、磷脂酰肌醇信号系统), 昼夜节律, ABC 转运蛋白, 氧化磷酸化, 铁死亡, 内质网中的蛋白质加工等。值得注意的是, 不同组织之间激活的通路具有差异性。

2.3 分子互作模式改变诱导的疾病

在对 DIG、DMIG 和 DIP 进行 KEGG 富集分析时, 发现一系列疾病通路被显著富集, 主要包括癌症 (如急性髓系白血病、慢性髓系白血病、前列腺癌、胃癌、非小细胞肺癌), 神经系统疾病和神经退行性疾病 (如帕金森病、肌萎缩侧索硬化症、阿尔茨海默病、脊髓小脑共济失调、亨廷顿舞蹈症), 心血管疾病 (如肥厚型心肌病、扩张型心肌病、致心律失常型右室心肌病、糖尿病性心肌病), 糖尿病以及遗传病 (例如范可尼贫血) 等 (见表 2)。

此外, 还富集出多条病毒相关通路, 包括单纯疱疹病毒 1 型感染、爱泼斯坦-巴尔病毒 (Epstein-Barr Virus, EBV) 感染、人巨细胞病毒感染、人乳头瘤病毒感染、与卡波西肉瘤相关的疱疹病毒感染、人类免疫缺陷病毒 1 型感染、人类 T 细胞白血病病毒 1 型感染、乙型肝炎、丙型肝炎、甲型流感等 (见表 2)。

上述结果表明, 空间飞行导致的分子互作模式改变可能与一系列疾病的发生和发展有关。

2.4 不同组学层面互作分子的交集

在转录组和甲基化 (启动子) 层面, 肾上腺中有 6 个 DIG 和 DMIG 重叠: Prkar1 b, Fam98 b, Pkdcc, Thoc7, Tmed3, Zfr2 (见图 7a); 肾有 6 个 DIG 和 DMIG 重叠: Rbbp7, Atp2 a3, Flt4, Hunk, Polr3 e,

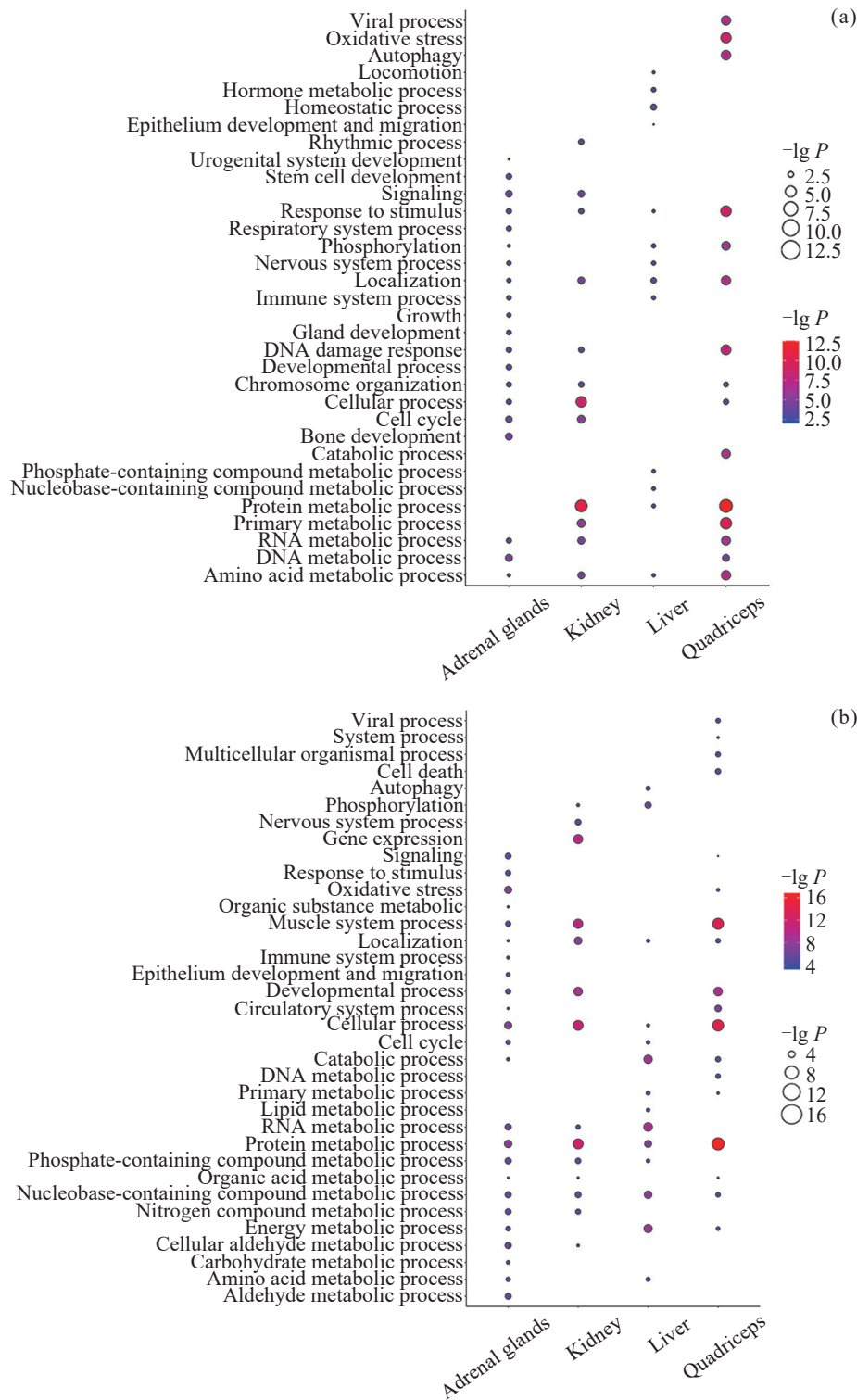


图 3 差异互作基因/蛋白质参与的生物过程. (a) DIG 参与的生物过程, (b) DIP 参与的生物过程

Fig. 3 Biological processes of differentially interacted genes/proteins. (a) Biological processes of DIGs, (b) biological processes of DIPs

Eepd1(见图 7b); 股四头肌也有 6 个 DIG 和 DMIG 重叠: Zc3 h8, Rtca, Rad23 a, Usp22, Larp1, Tnni2

(见图 7d). 通过 ClueGO 分析可知, 上述基因主要参与核苷酸切除修复、胰岛素信号通路、核质运输、钙

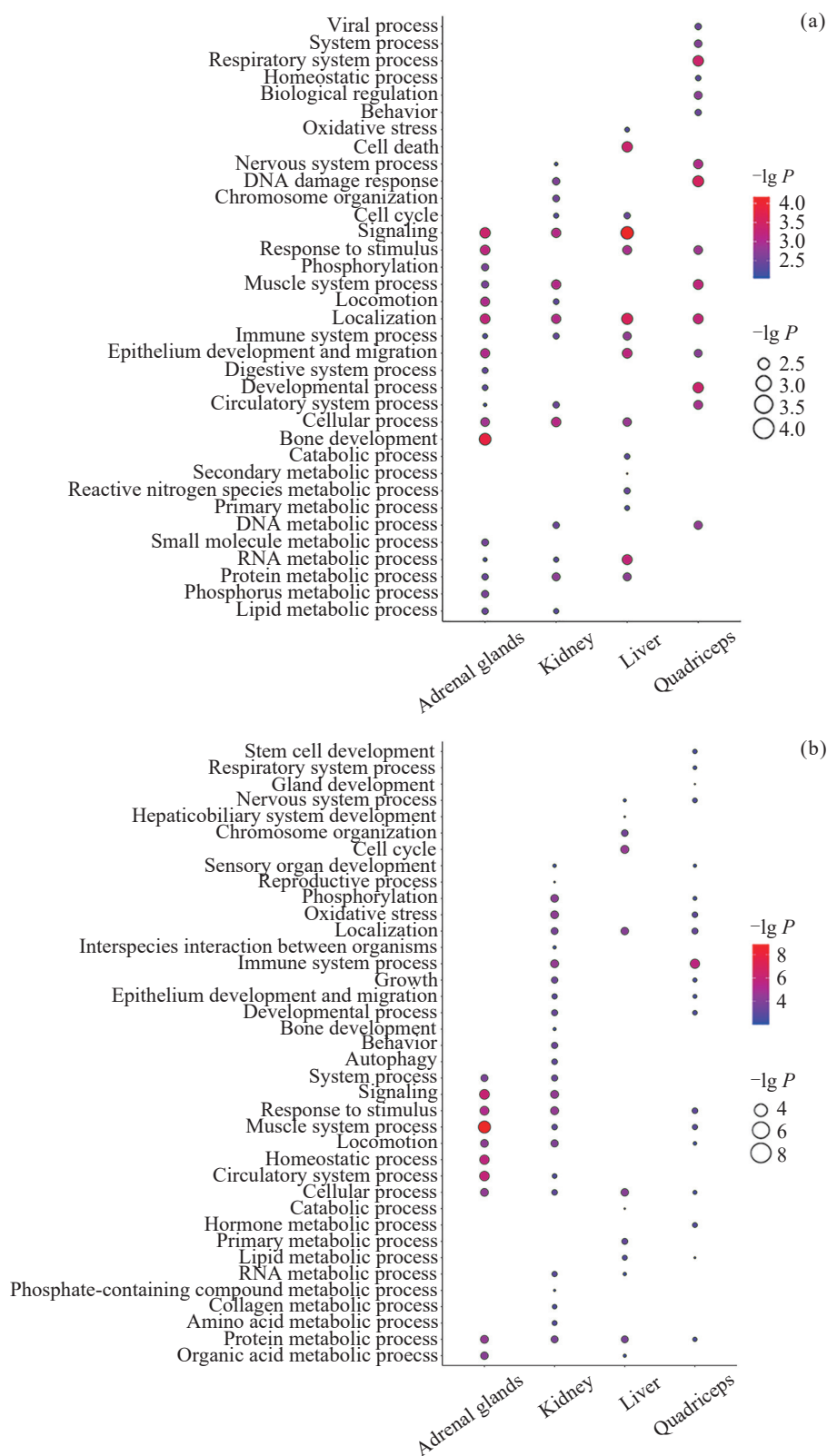


图 4 差异甲基化交互基因参与的生物过程. (a) 启动子中 DMIG 参与的生物过程, (b) 基因区中 DMIG 参与的生物过程

Fig. 4 Biological processes of differentially meth-interacted genes. (a) Biological processes of DMIGs in promoters, (b) biological processes of DMIGs in gene bodies

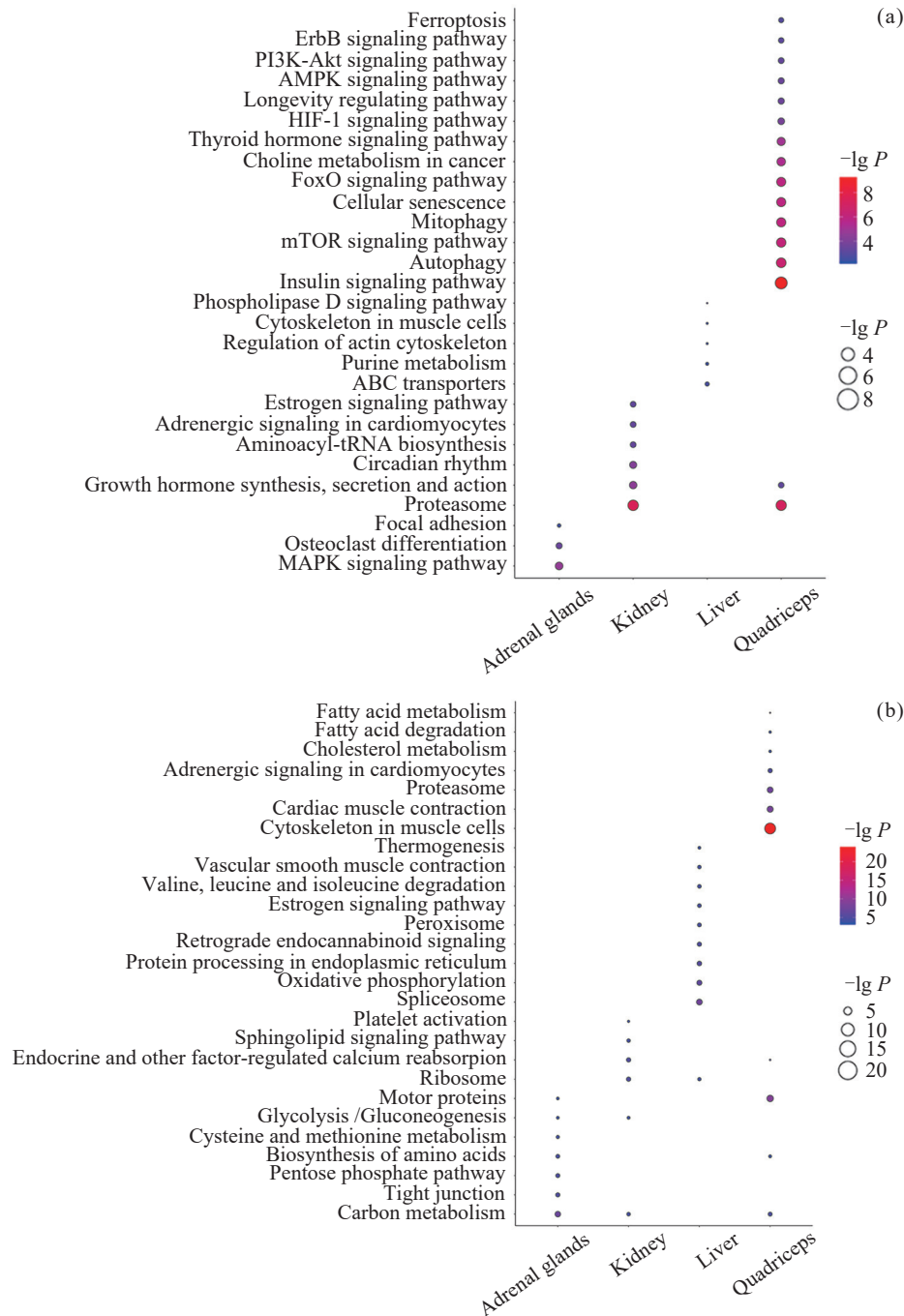


图 5 差异互作基因/蛋白质参与的通路. (a) DIG 参与的通路, (b) DIP 参与的通路

Fig. 5 Pathways of differentially interacted genes/proteins. (a) Pathways of DIGs, (b) pathways of DIPs

信号通路、RNA 聚合酶等通路 (见图 7i).

在转录组和甲基化 (基因区) 层面, 肾上腺中有 6 个 DIG 和 DMIG 重叠: Chm, Dnmt1, Fndc3 b, Mcee, Cd36, Map4 k4 (见图 7e); 肾有 2 个 DIG 和 DMIG 重叠: Rnf8, Cttdspl (见图 7f); 肝也有 2 个 DIG 和 DMIG 重叠: Mmp16, Snrnp48 (见图 7g); 股

四头肌有 7 个 DIG 和 DMIG 重叠: Ubl7, Asb3, Map3 k9, Dmwd, Rbp1, Park7, Abhd17 c (见图 7h). 通过 ClueGO 分析可知, 上述基因主要参与脂肪消化和吸收、乙醛酸和二羧酸代谢、MAPK 信号通路、神经退行性疾病等通路 (见图 7j).

在转录组和蛋白质组层面, 肾上腺中有 4 个

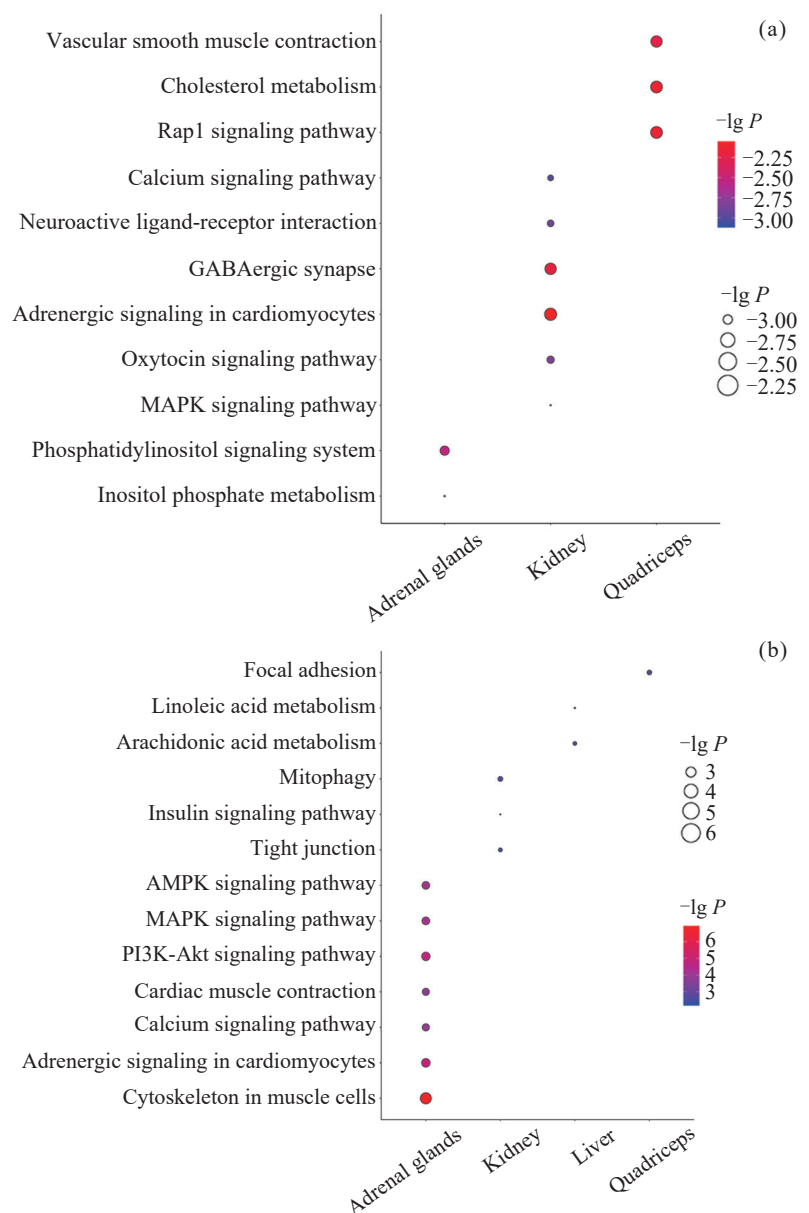


图 6 差异甲基化互作基因参与的通路. (a) 启动子中 DMIG 参与的通路, (b) 基因区中 DMIG 参与的通路
Fig. 6 Pathways of differentially meth-interacted genes. (a) Pathways of DMIGs in promoters, (b) pathways of DMIGs in gene bodies

DIG 与 DIP 重叠: *Tubb6*, *Fhl2*, *Prpf31*, *Prkar2a* (见图 8a). 肾有 6 个 DIG 与 DIP 重叠: *Scrn2*, *Fxr1*, *Kank2*, *Clic1*, *Ddx42*, *Eif3m* (见图 8b). 肝有 2 个 DIG 与 DIP 重叠: *Pfas*, *Egfr* (见图 8c). 股四头肌有 18 个 DIG 与 DIP 重叠: *Huwei1*, *Rap1*, *gds1*, *Actc1*, *Acta1*, *Psmd7*, *Syne1*, *Ap2 a1*, *Vapa*, *Park7*, *Psmd11*, *Cnbp*, *Psmd6*, *Ddt*, *Dusp23*, *Mecr*, *Usp24*, *Eno1*, *Ywhaz* (见图 8d). 通过 ClueGO 分析可知, 上述基因主要参与泛素介导的蛋白水解、嘌呤代谢、胆

固醇代谢、脂肪酸生物合成、破骨细胞分化、蛋白酶体、间隙连接、剪接体、心肌收缩、胰岛素信号通路等 (见图 8e).
值得注意的是, 在股四头肌中, *Park7* 在转录组、甲基化 (基因区) 和蛋白质组层面的互作模式均发生了显著变化 (即 DIG, DMIG, DIP 的交集).
将在多个组学层面的互作模式均发生变化的基因 (即上述重叠基因) 定义为多组学调控中的关键基因, 为进一步了解这些基因的表达情况, 使用 DE-

表 2 疾病/病毒相关的 KEGG 通路
Table 2 Disease/virus-related KEGG pathways

通路	<i>P</i>	组织	组学
单纯疱疹病毒 1 型感染	2.21×10^{-4}	肾上腺	转录组
朊病毒病	3.40×10^{-7}	肾	转录组
帕金森病	3.61×10^{-7}	肾	转录组
肌萎缩侧索硬化症	4.76×10^{-6}	肾	转录组
神经退行性病变的途径	1.12×10^{-5}	肾	转录组
阿尔茨海默病	2.68×10^{-5}	肾	转录组
亨廷顿病	2.93×10^{-5}	肾	转录组
脊髓小脑共济失调	4.23×10^{-5}	肾	转录组
爱泼斯坦-巴尔病毒感染	2.2×10^{-9}	股四头肌	转录组
脊髓小脑共济失调	3.85×10^{-9}	股四头肌	转录组
亨廷顿病	8.24×10^{-8}	股四头肌	转录组
癌症中的通路	5.42×10^{-7}	股四头肌	转录组
麻疹	9.20×10^{-7}	股四头肌	转录组
神经退行性病变的途径	1.41×10^{-6}	股四头肌	转录组
肌萎缩侧索硬化症	4.27×10^{-6}	股四头肌	转录组
急性髓系白血病	4.54×10^{-6}	股四头肌	转录组
阿尔茨海默病	8.52×10^{-6}	股四头肌	转录组
慢性髓系白血病	1.03×10^{-5}	股四头肌	转录组
乙型肝炎	2.06×10^{-5}	股四头肌	转录组
丙型肝炎	2.58×10^{-5}	股四头肌	转录组
化学致癌作用	1.08×10^{-4}	股四头肌	转录组
前列腺癌	1.37×10^{-4}	股四头肌	转录组
甲型流感	1.52×10^{-4}	股四头肌	转录组
胰腺癌	3.15×10^{-4}	股四头肌	转录组
朊病毒病	3.56×10^{-4}	股四头肌	转录组
帕金森病	3.73×10^{-4}	股四头肌	转录组
胃癌	3.90×10^{-4}	股四头肌	转录组
人类巨细胞病毒感染	4.07×10^{-4}	股四头肌	转录组
耶尔森菌感染	5.49×10^{-4}	股四头肌	转录组
人乳头瘤病毒感染	7.28×10^{-4}	股四头肌	转录组
卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染	7.33×10^{-4}	股四头肌	转录组
病毒致癌作用	9.29×10^{-4}	股四头肌	转录组
非小细胞肺癌	1.03×10^{-3}	股四头肌	转录组
肌萎缩侧索硬化症	7.87×10^{-7}	肾上腺	蛋白质组
沙门氏菌感染	1.25×10^{-4}	肾上腺	蛋白质组
神经退化途径	2.69×10^{-4}	肾上腺	蛋白质组
亨廷顿病	4.23×10^{-4}	肾上腺	蛋白质组
神经退化途径	5.53×10^{-6}	肾	蛋白质组

续表 2

通路	<i>P</i>	组织	组学
亨廷顿病	3.03×10^{-5}	肾	蛋白质组
肌萎缩侧索硬化症	3.86×10^{-5}	肾	蛋白质组
沙门氏菌感染	1.62×10^{-4}	肾	蛋白质组
肌萎缩侧索硬化症	1.98×10^{-7}	股四头肌	蛋白质组
朊病毒病	2.74×10^{-7}	股四头肌	蛋白质组
帕金森病	2.85×10^{-7}	股四头肌	蛋白质组
神经退化途径	7.08×10^{-7}	股四头肌	蛋白质组
亨廷顿病	9.85×10^{-7}	股四头肌	蛋白质组
脊髓小脑共济失调	4.45×10^{-6}	股四头肌	蛋白质组
阿尔茨海默病	1.08×10^{-4}	股四头肌	蛋白质组
沙门氏菌感染	2.75×10^{-4}	股四头肌	蛋白质组
肥厚性心肌病	5.30×10^{-4}	股四头肌	蛋白质组
扩张型心肌病	6.07×10^{-4}	股四头肌	蛋白质组
神经退化途径	9.85×10^{-11}	肝	蛋白质组
肌萎缩侧索硬化症	4.19×10^{-8}	肝	蛋白质组
化学致癌作用	5.54×10^{-8}	肝	蛋白质组
帕金森病	3.86×10^{-7}	肝	蛋白质组
阿尔茨海默病	4.37×10^{-7}	肝	蛋白质组
非酒精性脂肪肝病	1.52×10^{-5}	肝	蛋白质组
亨廷顿病	4.96×10^{-5}	肝	蛋白质组
朊病毒病	1.06×10^{-4}	肝	蛋白质组
糖尿病性心肌病	1.20×10^{-4}	肝	蛋白质组
亨廷顿病	1.09×10^{-3}	肾上腺	启动子
肌萎缩侧索硬化症	4.54×10^{-3}	肾上腺	启动子
帕金森病	6.37×10^{-3}	肾上腺	启动子
神经退化途径	9.12×10^{-3}	肾上腺	启动子
致心律失常性右心室心肌病	5.26×10^{-3}	肾	启动子
肥厚性心肌病	8.90×10^{-3}	肾	启动子
扩张型心肌病	9.85×10^{-3}	肾	启动子
尼古丁成瘾	3.02×10^{-4}	肾	启动子
吗啡成瘾	9.14×10^{-4}	肾	启动子
范康尼贫血途径	8.62×10^{-3}	肾	启动子
甲状腺癌	3.70×10^{-3}	肝	启动子
查加斯病	1.80×10^{-3}	肝	启动子
肥厚性心肌病	8.46×10^{-6}	肾上腺	基因区
扩张型心肌病	1.10×10^{-5}	肾上腺	基因区
人乳头瘤病毒感染	1.68×10^{-4}	肾上腺	基因区
糖尿病性心肌病	4.84×10^{-4}	肾	基因区
胰岛素抵抗	2.29×10^{-3}	肾	基因区

续表 2

通路	<i>P</i>	组织	组学
II 型糖尿病	7.46×10^{-3}	肾	基因区
人类免疫缺陷病毒 1 型感染	4.34×10^{-3}	股四头肌	基因区
肾细胞癌	9.91×10^{-3}	股四头肌	基因区
阿米巴病	6.18×10^{-4}	股四头肌	基因区
人类 T 细胞白血病病毒 1 型感染	4.88×10^{-3}	股四头肌	基因区

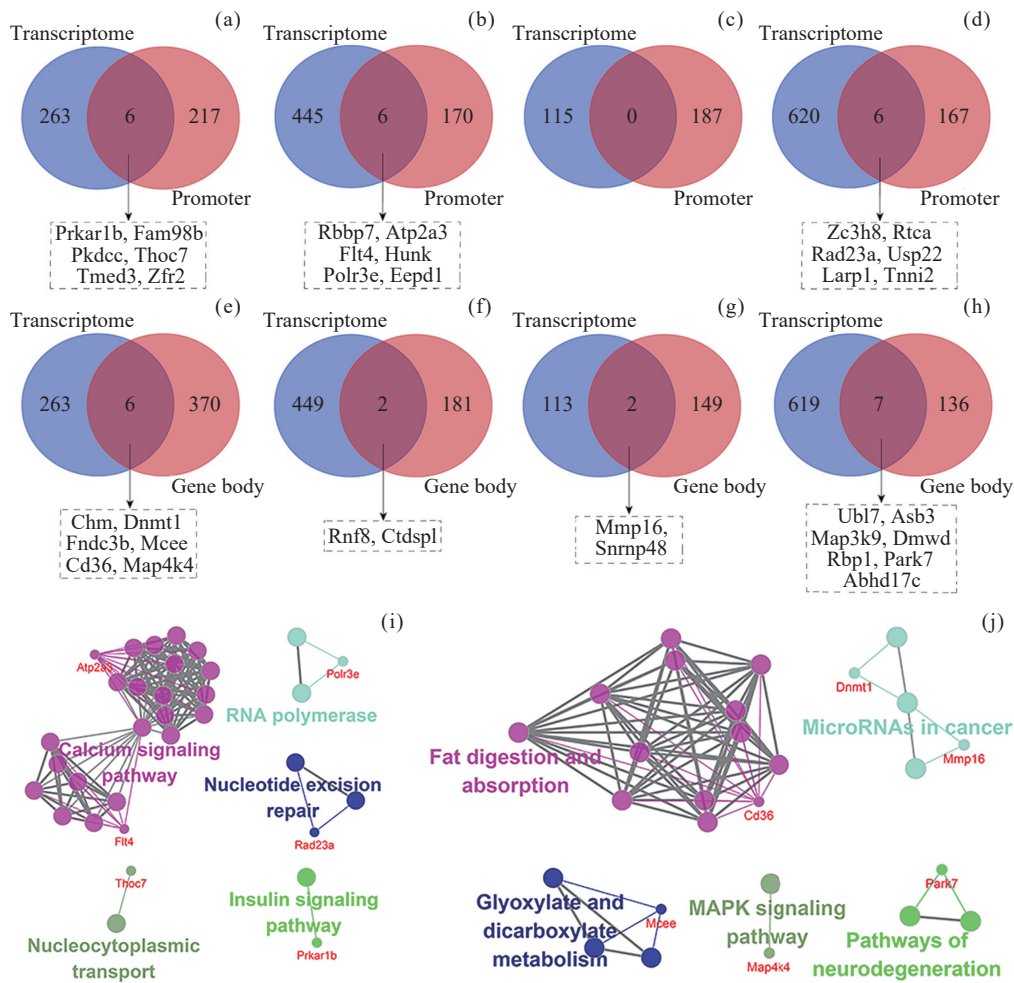


图 7 不同组织中 DIG 与 DMIG 的交集. (a)~(d) 为 DIG 与启动子中 DMIG 的韦恩图, (e)~(h) 为 DIG 与基因区中 DMIG 的韦恩图. (a)(e) 肾上腺, (b)(f) 肾, (c)(g) 肝, (d)(h) 股四头肌. (i) DIG 与启动子中 DMIG 的交集基因参与的通路. (j) DIG 与基因区中 DMIG 的交集基因参与的通路. 参与通路的基因以红色字体表示, 仅显示了 ClueGO 标注的 overview pathway 的名称

Fig. 7 Intersection of DIGs and DMIGs in different tissues. (a)~(d) Venn diagrams of DIGs and DMIGs in the promoters, (e)~(h) Venn diagrams of DIGs and DMIGs in the gene bodies.

(a)(e) Adrenal glands, (b)(f) Kidney, (c)(g) Liver, (d)(h) Quadriceps. (i) The pathways involving genes in the intersection of DIGs and DMIGs in the promoters, (j) the pathways involving genes in the intersection of DIGs and DMIGs in the gene bodies. Genes participating in the pathway were indicated in red font.

Only the names of overview pathways selected by ClueGO were annotated

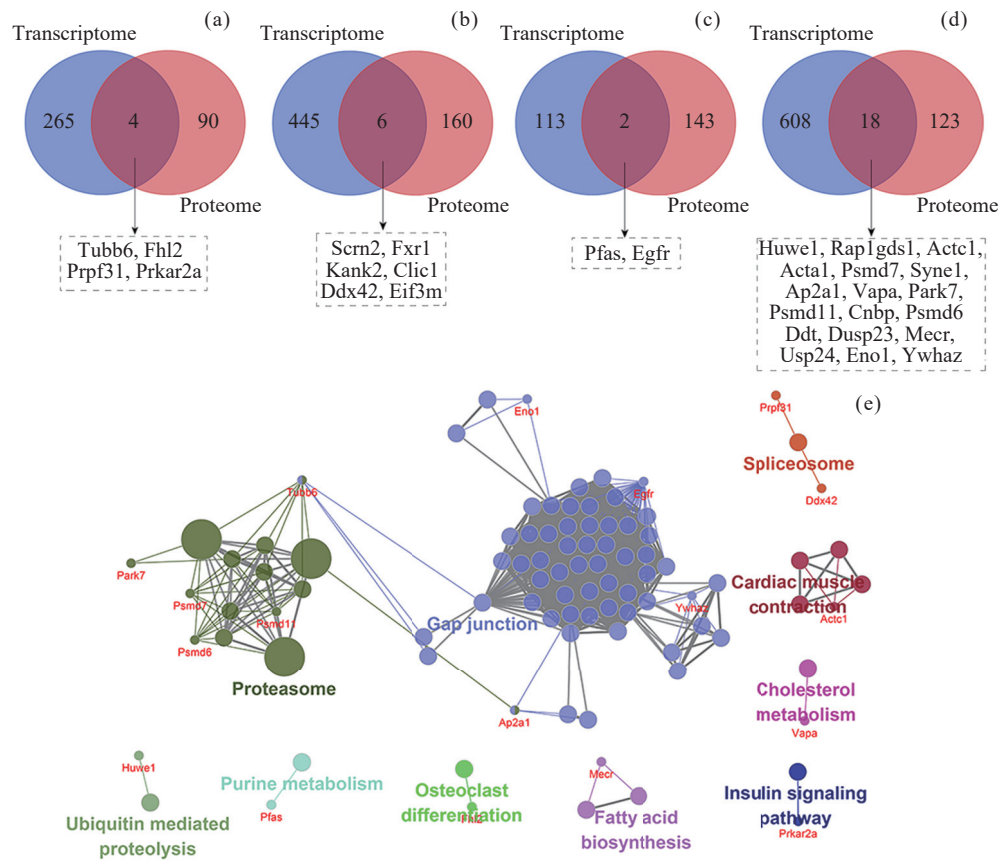


图 8 不同组织中 DIG 与 DIP 的交集. (a) 肾上腺, (b) 肾, (c) 肝, (d) 股四头肌, (e) DIG 与 DIP 的交集基因参与的通路

Fig. 8 Intersection of DIGs and DIPs in different tissues. (a) Adrenal glands, (b) kidney, (c) liver, (d) quadriceps, (e) pathways of genes in the intersection of DIGs and DIPs

表 3 关键基因的表达情况
Table 3 Expression of key genes

基因	组织	<i>P</i> -value	数据集
Rbbp7	肾	0.0228	OSD-163
Polr3e	肾	0.0081	OSD-163
Ctdspl	肾	0.0164	OSD-163
Eif3 m	肾	0.0008	OSD-163
Kank2	肾	0.0444	OSD-163
Hunk	肾	0.0458	OSD-253
Surnp48	肝	0.0064	OSD-168
Egfr	肝	0.0237	OSD-168
Egfr	肝	0.0072	OSD-173
Rad23a	肌肉	0.0003	OSD-99
Asb3	肌肉	0.0003	OSD-99
Map3k9	肌肉	0.0001	OSD-99
Park7	肌肉	0.0005	OSD-99

续表 3

基因	组织	<i>P</i> -value	数据集
Abhd17c	肌肉	0.03597	OSD-99
Acta1	肌肉	0.0315	OSD-99
Psmc7	肌肉	0.0357	OSD-99
Syne1	肌肉	0.0060	OSD-99
Vapa	肌肉	0.0413	OSD-99
Psmc11	肌肉	0.0033	OSD-99
Cnbp	肌肉	4.80×10^{-5}	OSD-99
Ddt	肌肉	0.0206	OSD-99
Dusp23	肌肉	1.29×10^{-5}	OSD-99
Mecr	肌肉	3.43×10^{-6}	OSD-99
Eno1	肌肉	3.70×10^{-5}	OSD-99
Ywhaz	肌肉	1.25×10^{-8}	OSD-99
Usp22	肌肉	0.0422	OSD-101
Dmwd	肌肉	0.0129	OSD-101
Cnbp	肌肉	0.0236	OSD-101
Ywhaz	肌肉	0.0014	OSD-101
Zc3h8	肌肉	0.0231	OSD-104
Tnfr2	肌肉	1.90×10^{-13}	OSD-104
Dmwd	肌肉	2.03×10^{-14}	OSD-104
Park7	肌肉	0.0041	OSD-104
Rap1gds1	肌肉	0.0295	OSD-104
Acta1	肌肉	0.0326	OSD-104
Psmc7	肌肉	9.03×10^{-22}	OSD-104
Psmc11	肌肉	1.61×10^{-5}	OSD-104
Cnbp	肌肉	1.11×10^{-6}	OSD-104
Ddt	肌肉	0.0002	OSD-104
Dusp23	肌肉	0.0017	OSD-104
Mecr	肌肉	0.0216	OSD-104
Usp24	肌肉	1.85×10^{-5}	OSD-104
Eno1	肌肉	3.01×10^{-9}	OSD-104
Ywhaz	肌肉	0.0166	OSD-104
Usp22	肌肉	0.0056	OSD-105
Larp1	肌肉	0.0276	OSD-105
Map3k9	肌肉	0.0364	OSD-105
Syne1	肌肉	0.0088	OSD-105
Cnbp	肌肉	9.57×10^{-6}	OSD-105
Ddt	肌肉	0.0011	OSD-105
Dusp23	肌肉	0.0020	OSD-105
Eno1	肌肉	5.66×10^{-5}	OSD-105

续表 3

基因	组织	P-value	数据集
Ywhaz	肌肉	9.27×10^{-5}	OSD-105
Acta1	肌肉	0.0063	OSD-401
Syne1	肌肉	4.63×10^{-5}	OSD-401
Cnbp	肌肉	0.0039	OSD-401
Ddt	肌肉	0.0135	OSD-401
Usp24	肌肉	0.0456	OSD-401

Seq2^[16] 对 GeneLab 数据库中相同组织的其他数据集进行分析, 在空间飞行组和地面对照组中具有显著差异的基因见表 3. 其中, P-value 来自 DESeq2 差异表达分析, 肌肉包括腓肠肌、比目鱼肌、胫骨前肌、伸趾长肌. 值得注意的是, 由于数据库中没有其他肾上腺数据集, 这里不对其进行分析. 在肾中, 6 个关键基因 (Rbbp7, Polr3 e, Ctdspl, Eif3 m, Kank2, Hunk) 在验证数据集中差异表达; 在肝中, 2 个关键基因 (Snrnp48, Egfr) 在验证数据集中差异表达; 在肌肉中, 23 个关键基因 (Rad23 a, Asb3, Map3 k9, Park7, Abhd17 c, Acta1 等) 在验证数据集中差异表达.

2.5 转录组和甲基化层面的共互作网络

分别将每个组织的 mRNA-SSN 和 meth-promoter-SSN, meth-body-SSN 取交集, 操作如下: 只保留每个样本在转录组和甲基化层面同时存在的基因和互作关系, 然后将一个组织中所有样本的交集合

并, 即得到转录组和甲基化层面的共互作网络. 图 9(a) (b) 分别为肾上腺中转录组和启动子 (mRNA-promoter) 的共互作网络, 以及转录组和基因区 (mRNA-body) 的共互作网络.

为了研究各组织中共互作网络调控的信号通路, 分别对肾上腺、肾、肝、股四头肌中的 mRNA-promoter 和 mRNA-body 共互作网络进行 KEGG 富集分析 (见图 10), 发现这些基因主要参与细胞周期, DNA 修复 (核苷酸切除修复), 信号传导通路 (如 FoxO 信号通路、MAPK 信号通路、PI3 K-Akt 信号通路、Hippo 信号通路、Wnt 信号通路), 免疫相关通路 (如 T 细胞受体信号通路、趋化因子信号通路、Toll 样受体信号通路、NF-kB 信号通路), 以及代谢相关通路 (如自噬、内吞作用、核糖体、剪接体、泛素介导的蛋白质降解) 等.

此外, 将每个共互作网络中度最高的 5 个基因识

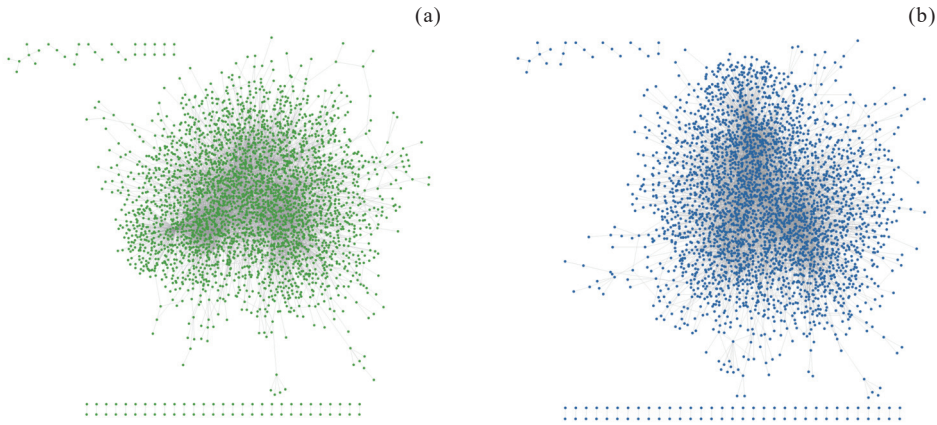


图 9 肾上腺中转录组和甲基化层面的共互作网络. (a) 肾上腺中 mRNA-promoter 共互作网络, (b) 肾上腺中 mRNA-body 共互作网络

Fig. 9 Co-interaction networks at the transcriptome and methylation levels in adrenal glands. (a) mRNA-promoter co-interaction network of adrenal glands, (b) mRNA-body co-interaction network of adrenal glands

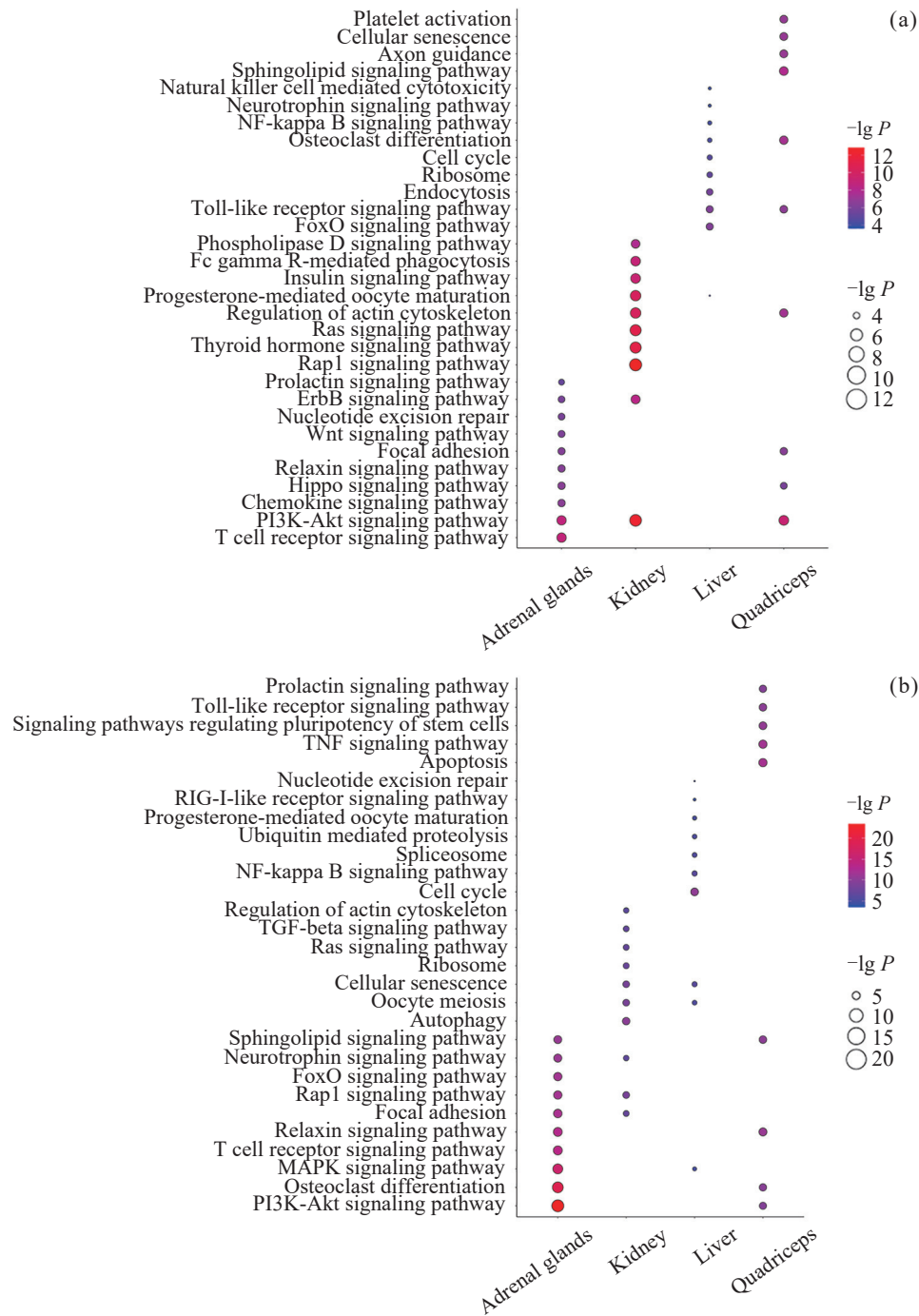


图 10 共交互网络参与的通路. (a) mRNA-promoter 共交互网络参与的通路, (b) mRNA-body 共交互网络参与的通路
Fig. 10 Pathways of the co-interaction networks. (a) Pathways of the co-interaction networks (mRNA-promoter).
(b) pathways of the co-interaction networks (mRNA-body)

别为 Hub 基因 (见表 4). 值得注意的是, 若几个基因具有相同的度, 则这几个基因均被识别为 Hub 基因, 因此有的组织对应的 Hub 基因多于 5 个.

2.6 转录组和蛋白质组层面的共交互网络

按照同样的方法得到了转录组和蛋白质组层面

的共交互网络, 并识别了每个网络中的 Hub 基因 (见图 11a~c). 由于股四头肌对应的共交互网络太小, 因此无法识别 Hub 基因 (图 11d). 值得注意的是, 由于肾上腺的数据集 (OSD-98) 中转录组和蛋白质组的样本无法一一对应, 所以在操作时首先将两个组学层面

表 4 转录组和甲基化的共相互作用网络中的 Hub 基因
Table 4 Hub genes in the co-interaction networks at the transcriptome and methylation levels

基因	度	组织	类型
Chd1	370	肾上腺	启动子
Rbbp7	110	肾上腺	启动子
Pparg	91	肾上腺	启动子
Kras	89	肾上腺	启动子
Egfr	87	肾上腺	启动子
Smarca4	87	肾上腺	启动子
Cul4a	99	肾	启动子
Nedd8	87	肾	启动子
Rpl8	82	肾	启动子
Rbbp7	77	肾	启动子
Rpl4	77	肾	启动子
Ranbp2	82	肝	启动子
Prkdc	78	肝	启动子
Srms	69	肝	启动子
Meph1	66	肝	启动子
Crebbp	58	肝	启动子
Rpl10	58	肝	启动子
Tnf	156	股四头肌	启动子
Cabp4	82	股四头肌	启动子
Syf2	58	股四头肌	启动子
Ankrd10	51	股四头肌	启动子
Pik3r1	50	股四头肌	启动子
Ywhaz	129	肾上腺	基因区
Ppp2ca	113	肾上腺	基因区
Egfr	113	肾上腺	基因区
Ywhah	102	肾上腺	基因区
Myc	94	肾上腺	基因区
Ubb	107	肾	基因区
Rpl4	73	肾	基因区
Ppp1ca	65	肾	基因区
Baz1b	59	肾	基因区
Vcp	52	肾	基因区
Srms	70	肝	基因区
Top2b	30	肝	基因区
Plk4	28	肝	基因区
Mib2	24	肝	基因区
Ube2a	22	肝	基因区
Bgn	40	股四头肌	基因区
Ddit3	39	股四头肌	基因区
Ripk3	39	股四头肌	基因区
Cabp4	38	股四头肌	基因区
Nras	32	股四头肌	基因区

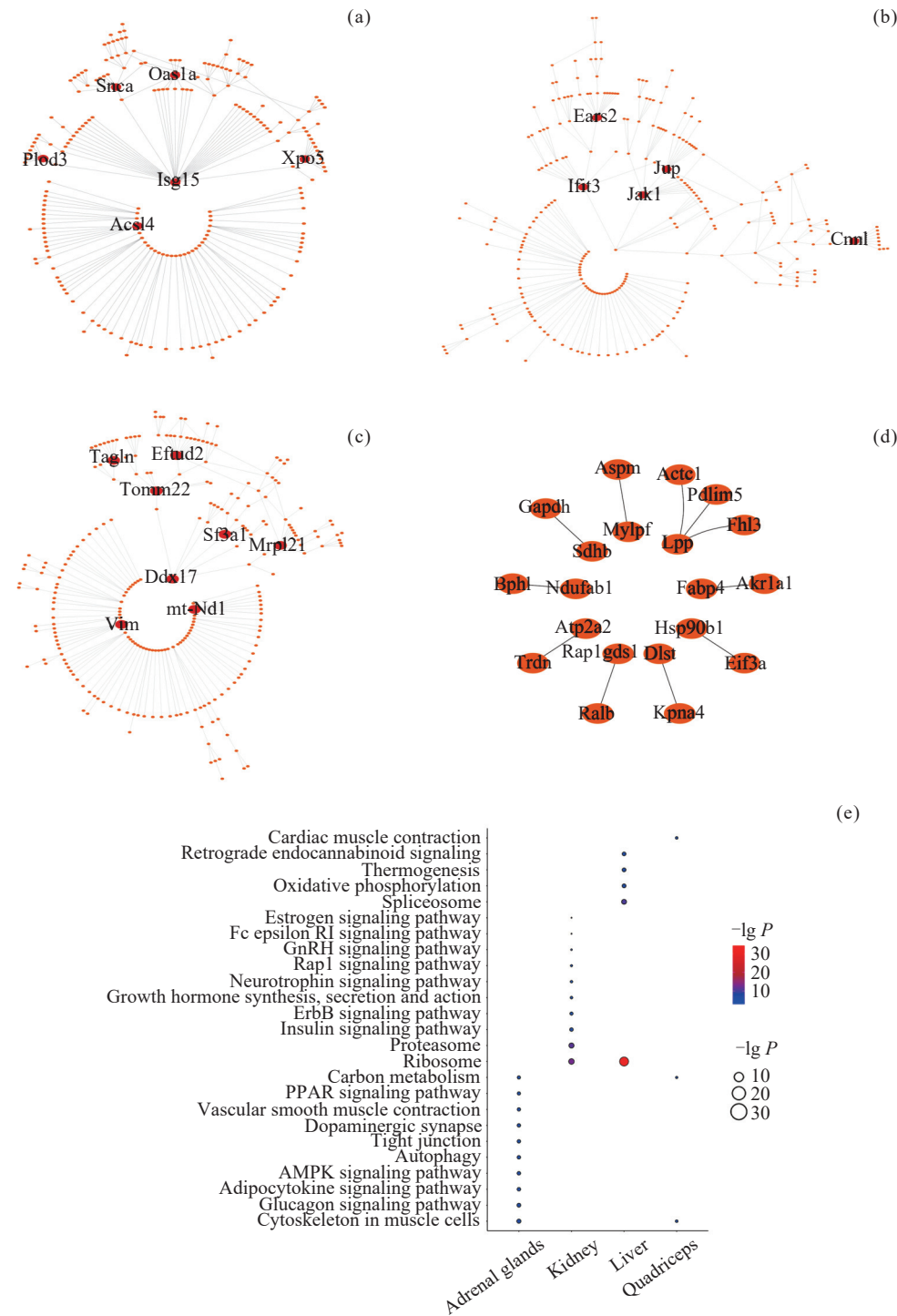


图 11 转录组和蛋白质组层面的共互作网络. (a) 肾上腺, (b) 肾, (c) 肝, (d) 股四头肌, (e) 上述 4 个共互作网络参与的通路. 红色节点代表 Hub 基因

Fig. 11 Co-interaction networks at the transcriptome and proteome levels. (a) Adrenal glands, (b) kidney, (c) liver, (d) quadriceps, (e) the pathways of above four co-interaction networks. The red nodes represent Hub genes

所有样本的边合并, 然后再取两个组学的交集.

由 KEGG 富集分析可知 (见图 11e), 这些共互作

网络中的基因主要参与信号传导通路 (如 AMPK 信号通路、PPAR 信号通路、ErbB 信号通路、Rap1 信

表 5 Hub 基因的表达情况
Table 5 Expression of Hub genes

基因	组织	<i>P</i> -value	数据集
Rbbp7	肾	0.0228	OSD-163
Rpl8	肾	0.0038	OSD-163
Ppp1ca	肾	0.0045	OSD-163
Baz1b	肾	0.0168	OSD-163
Jup	肾	0.0357	OSD-163
Rpl4	肾	0.0400	OSD-163
Jup	肾	0.0082	OSD-163
Ifit3	肾	0.0172	OSD-163
Ears2	肾	0.0290	OSD-163
Cnn1	肾	0.0017	OSD-163
Ranbp2	肝	0.0177	OSD-168
Prkdc	肝	3.14×10^{-5}	OSD-168
Mcph1	肝	0.0013	OSD-168
Rpl10	肝	3.67×10^{-6}	OSD-168
Tomm22	肝	0.0029	OSD-168
Ddx17	肝	0.0031	OSD-168
Srms	肝	0.0132	OSD-168
Ranbp2	肝	0.0037	OSD-173
Mib2	肝	0.0393	OSD-173
Ddx17	肝	0.0115	OSD-173
Tagln	肝	0.0125	OSD-242
Crebbp	肝	0.0088	OSD-245
Srms	肝	0.0400	OSD-245
Tomm22	肝	0.0052	OSD-245
Vim	肝	0.0268	OSD-245
Srms	肝	0.0038	OSD-245
Mcph1	肝	0.0476	OSD-245
Crebbp	肝	8.00×10^{-5}	OSD-245
Rpl10	肝	0.0024	OSD-245
Srms	肝	0.0038	OSD-245
Tomm22	肝	0.0029	OSD-245
Syf2	肌肉	9.29×10^{-5}	OSD-99
Ankrd10	肌肉	0.0004	OSD-99
Bgn	肌肉	9.13×10^{-11}	OSD-99
Ddit3	肌肉	0.0027	OSD-99
Ripk3	肌肉	0.0087	OSD-99
Tnf	肌肉	0.0324	OSD-101
Syf2	肌肉	0.0214	OSD-101

续表 5

基因	组织	<i>P</i> -value	数据集
Ankrd10	肌肉	0.0352	OSD-101
Tnf	肌肉	0.0069	OSD-104
Syf2	肌肉	0.0026	OSD-104
Ankrd10	肌肉	0.0009	OSD-104
Pik3 r1	肌肉	0.0032	OSD-104
Bgn	肌肉	3.30×10^{-5}	OSD-104
Ddit3	肌肉	0.0196	OSD-104
Ripk3	肌肉	0.0268	OSD-104
Syf2	肌肉	0.0491	OSD-105
Nras	肌肉	0.0320	OSD-105
Bgn	肌肉	0.0272	OSD-401

号通路), 代谢相关通路 (如碳代谢、产热作用、自噬、核糖体、剪接体)、肌肉相关通路, 神经系统相关通路等.

同样地, 使用 DESeq2 分析转录组和甲基化、转录组和蛋白质组层面的 Hub 基因在其他数据集中的表达情况 (见表 5, 其中, *P*-value 来自 DESeq2 差异表达分析, 肌肉包括腓肠肌、比目鱼肌、胫骨前肌、伸趾长肌). 在肾中, 9 个 Hub 基因 (Rbbp7, Rpl8, Ppp1 ca, Baz1 b, Jup, Rpl4, Ifit3, Ears2, Cnn1) 在验证数据集中差异表达; 在肝中, 11 个 Hub 基因 (Ranbp2, Prkdc, Mcph1, Rpl10, Tomm22, Ddx17 等) 在验证数据集中差异表达; 在肌肉中, 8 个 Hub 基因 (Syf2, Ankrd10, Bgn, Ddit3, Ripk3, Tnf, Pik3 r1, Nras) 在验证数据集中差异表达.

2.7 转录组、甲基化和蛋白质组层面的共互作网络

由于肾上腺和肝数据集中 3 个组学的样本无法一一对应, 而股四头肌对应的 SSN 在 3 个组学中的交集很少, 在此只分析肾中 3 个组学的共互作网络. 使用相同的方法可以得到肾脏中转录组、甲基化和蛋白质组的共互作网络 (图 12a, b). 经过 ClueGO 分析可知, 3 个组学的共互作网络主要参与调控核苷酸切除修复、胆固醇代谢、核糖体、VEGF 信号通路、细胞凋亡等通路 (图 12c, d).

3 分析与讨论

空间环境中持续存在微重力和辐射, 会产生复杂的生物学效应. 然而, 在空间飞行条件下小鼠中多组学分子互作模式的变化规律尚未见报道. 基于

SSN 的生物信息学方法可以从系统生物学的视角揭示空间飞行导致的一系列生物学效应, 并预测其可能导致的健康风险^[12]. 本文基于 SSN 技术开发了一种生物信息学分析流程, 并使用该方法揭示了空间飞行条件下小鼠不同组织中多组学分子互作模式的变化规律. 首先, 从 GeneLab 数据库中获得了空间飞行小鼠 4 个组织 (肾上腺、肾、肝、股四头肌) 的转录组、甲基化和蛋白质组数据, 然后为每个样本分别构建了 4 个 SSN (mRNA-SSN, meth-promoter-SSN, meth-body-SSN, protein-SSN), 并从节点和边两个角度分别对不同组学的 SSN 进行了分析: 从节点的角度, 识别了 DIG, DMIG 和 DIP, 并研究了其参与的生物过程和通路; 从边的角度, 分别构建了转录组和甲基化、转录组和蛋白质组以及 3 个组学的共互作网络, 并识别了 Hub 基因. 这两方面角度分析可以更全面了解空间飞行引起的分子互作模式变化的特征, 更精准地对网络结构进行刻画. 由分析结果可知, 本文的多组学 SSN 方法可以有效描绘空间飞行条件下的分子互作模式和生物学效应. 值得注意的是, 本研究使用的 5 个数据集均来自 ISS 飞行任务, 飞行轨道一致. 肾上腺、肾和股四头肌 (OSD-98, OSD-102, OSD-103) 来自同一批飞行任务, 飞行时间为 38 d; 肝 (OSD-47 和 OSD-137) 来自其他飞行任务, 其中 OSD-47 飞行时间为 23 d, OSD-137 飞行时间为 39~40 d. 可以看到, 除了 OSD-47 外, 其他数据集的飞行时间基本一致. 因此, 相对于空间飞行与地面的区别, 本研究中飞行时间的差别较小, 可以进行联合分析. 据知, 这是首次在转录组、甲基化和蛋白质组

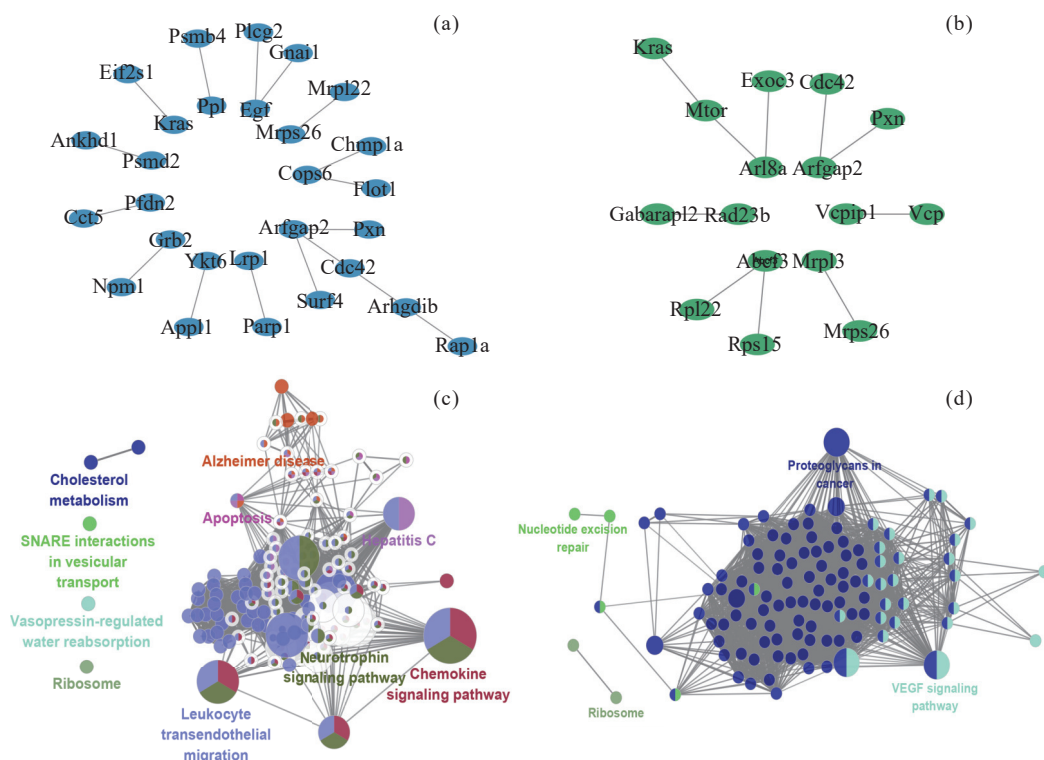


图 12 转录组、甲基化和蛋白质组层面的共互作网络. (a) 肾脏中转录组、甲基化 (启动子) 和蛋白质组层面的共互作网络, (b) 肾脏中转录组、甲基化 (基因区) 和蛋白质组层面的共互作网络, (c) A 网络参与的通路, (d) B 网络参与的通路

Fig. 12 Co-interaction networks at the transcriptome, methylation and proteome levels. (a) Co-interaction networks at the transcriptome, methylation (promoter) and proteome levels in the kidneys, (b) co-interaction networks at the transcriptome, methylation (gene body) and proteome levels in the kidneys, (c) pathways of network A, (d) pathways of network B

中利用 SSN 方法揭示空间飞行条件下分子互作模式变化规律的研究。

通过对转录组、甲基化、蛋白质组层面的差异互作分子进行分析可知, 虽然不同组学层面改变的分子交集有限, 但其调控的生物过程和通路具有相似性, 主要包括一系列代谢过程、DNA 损伤响应、细胞周期、氧化应激、昼夜节律、ABC 转运蛋白通路等 (见图 3~6). An 等发现空间飞行下调了 DNA 修复基因, 表明空间飞行会对基因组产生负面影响, 并且当基因组维护机制缺陷时这种影响可能加剧^[17]. 空间飞行还改变了小鼠心脏组织中调节氧化还原平衡、细胞周期和衰老的基因的表达^[18]. NASA 的双胞胎航天员的研究表明, 空间飞行可能导致免疫和氧化应激相关通路中 DNA 甲基化的变化^[19]. 空间飞行过程中 ABC 转运蛋白活性的改变可能导致严重的代谢紊乱^[20]. 此外, 很多研究表明, 空间飞行会导致昼夜节律紊乱, 并

造成睡眠时间缩短^[21]、肌肉骨骼萎缩^[22]、生理紊乱^[23]等。

进一步分析表明, 代谢包含多个生物过程, 其中蛋白质代谢过程、氨基酸代谢过程、核酸 (DNA/RNA) 代谢过程、含核碱基化合物代谢过程在多个组织中出现, 并具有较高的显著性 (见图 3 和图 4). Chakraborty 等研究表明, 空间飞行会抑制蛋白质代谢相关的分子网络^[24]. 此外, 观察到空间飞行小鼠中与氨基酸和碳水化合物代谢相关的生化物质发生了显著变化, 且这些变化可能是细胞抗氧化剂、活性氧产生和组织重塑增强的结果^[25]. DNA 损伤引起的代谢可能非常复杂, 涉及许多 DNA 代谢蛋白和通路^[26]. 因此, 空间飞行导致的核酸代谢过程的变化可能与 DNA 损伤有关. 综上所述, 研究发现的这些生物过程均在机体应对空间胁迫的过程中发挥了重要作用. 值得注意的是, 在最近的一项研究中, 通过对空间飞行

小鼠的 10 个组织的转录组样本进行 SSN 分析, 同样发现了类似的生物过程^[12], 而本研究从多组学的角度进一步证明了这些生物过程的分子互作机制。

KEGG 富集分析表明, 空间飞行会诱导出大量与病毒相关的疾病和通路 (见表 2)。已有研究发现, 53% 的航天飞机上的航天员和 61% 的 ISS 上的航天员, 其唾液和尿液样本中会排出一种或多种疱疹病毒^[27]。例如航天员的唾液中会排出 EBV、水痘带状疱疹病毒 (Varicella-Zoster Virus, VZV) 和单纯疱疹病毒 1 (Herpes Simplex Virus 1, HSV-1), 尿液中会排出巨细胞病毒 (Cytomegalovirus, CMV)^[27]。另一项研究表明, 辐射、微重力以及其他空间胁迫均可能造成 EBV 的重激活, 并且观察到空间飞行期间唾液中脱落的 EBV 会增加到飞行前后水平的 10 倍左右^[28]。空间飞行期间潜伏病毒的重激活通常被认为是免疫失调的表现^[29]。在本文的分析中, 也发现空间飞行导致了一系列免疫相关生物过程和通路的激活 (见图 3、图 4 和图 10)。因此, 对多组学分子互作网络的分析进一步证明了空间飞行可能导致病毒的重激活, 且这种重激活可能与免疫网络的失调有关, 而机体会通过改变分子互作模式响应病毒的重激活。

NASA 的研究表明, 空间飞行对航天员的健康具有显著的生理和系统性影响, 包括心血管失调、中枢神经系统功能障碍、癌症风险增加、骨质流失、肝脏疾病增加以及昼夜节律失调等^[5]。空间环境中存在的多种有害因素 (如辐射和微重力) 均已被证明会增加癌症发生的风险^[30,31]。空间辐射是导致癌症的一个重要因素。目前, 已发现重离子辐射可以导致 DNA 损伤和修复、基因组不稳定、染色体畸变和肿瘤转化^[32]。然而, 由于缺乏人类长期暴露于空间辐射的数据, 其导致的癌症风险仍然很难评估^[33, 34]。虽然空间飞行导致许多健康风险已得到证实, 但仍有许多问题有待发现。亟需建立多组学方法来进一步研究这些健康风险, 并推动个性化航空航天医学的发展^[35]。因此, 本文构建了多组学 SSN, 从分子互作模式改变的角度研究了空间飞行导致健康风险的机制, 并发现空间飞行导致的转录组、甲基化、蛋白质组层面的分子互作模式改变可能与癌症、神经系统疾病和神经退行性疾病、心血管疾病、糖尿病等疾病的发生发展有关 (见表 2)。

通过 3 个组学层面的 SSN 联合分析, 发现一些基因在多个组学层面的互作模式均发生了变化, 本文

将这些基因定义为多组学调控中的关键基因 (见图 7~8)。其中, Park7 在转录组、甲基化 (基因区) 和蛋白质组 3 个层面的互作模式均发生了显著变化。帕金森病蛋白 7 (Park7) 是肽酶 C56 家族的成员, 已知参与致癌作用^[36]。研究表明, Park7 在调节抗氧化应激和细胞存活中起关键作用^[37]。还有一些基因在 2 个组学层面表现出显著变化。TMED3 是一种致癌基因, 通过参与 Wnt/beta-catenin 信号传导促进乳腺癌细胞的增殖和迁移^[38]。Rbbp7 的减少使 HUWE1 稳定, 从而加速了其底物 MCL-1 和 BRCA1 的降解, 这两个分子分别在细胞凋亡和 DNA 损伤修复中起关键作用^[39]。Flt4 是保护皮肤免受紫外线 B (Ultraviolet B, UVB) 辐射的关键基因^[40]。Hunk 在 DNA 损伤诱导的 Akt 激活过程中起到关键作用^[41]。EEPD1 是 DNA 损伤反应蛋白^[42], 其消耗或基因缺失会降低氧化性 DNA 损伤后的克隆细胞存活率^[43]。Zc3 h8 编码 Fliz1, 已知 Fliz1 蛋白与细胞核中的 PML 小体共定位, 可调节细胞存活和 DNA 修复以预防癌变^[44]。RAD23 A 和 RAD23 B 以不同的功能参与 DNA 修复和细胞存活^[45]。USP22 是一种在多种癌症类型中高度过表达的去泛素化酶, 其通过 C 端 WD40 结构域与 PALB2 直接相互作用, 是同源重组修复必需的^[46]。DNMT1 可以调节基因组的完整性, 并作为 DNA 双链断裂的早期反应标志物^[47]。CD36 通过控制细胞周期参与骨骼肌细胞增殖^[48]。通过 RNA 干扰下调胃癌细胞中的 MAP4 K4 显著抑制了细胞增殖, 这可能是通过 G1 期的细胞周期停滞来介导的^[49]。非受体酪氨酸激酶 c-Abl 可以通过磷酸化 FHL2 来调节细胞周期进程^[50]。Egfr 是多种癌症的治疗靶点, 其在细胞增殖、肿瘤形成和抗癌药物耐药性中起着关键作用^[51, 52]。YWHAZ 诱导细胞周期停滞, 但不诱导细胞凋亡, 且其敲低可促进肿瘤生长^[53]。

此外, 通过多组学共互作网络, 还识别了一些 Hub 基因 (见表 4 和图 11)。其中, 一些基因在多个组织的共互作网络中均发挥着枢纽作用, 如 Rbbp7, Egfr, Rpl4, Srms, Cabp4 (Rbbp7 和 Egfr 是多组学调控中的关键基因)。研究表明, Rpl4 通过多种途径参与核糖体的生物合成, 其在信号通路中的富集直接或间接影响肿瘤的发展^[54]。Srms 是一种非受体酪氨酸激酶, 属于 BRK 激酶家族。Srms 的候选底物在多种生物过程中富集, 包括蛋白质泛素化、有丝分裂细

胞周期、能量代谢和 RNA 加工、Wnt 和 TNF 信号传导等^[55]。综上所述,通过多组学交互模式识别的关键基因和 Hub 基因在小鼠响应空间胁迫的关键生物过程和通路中发挥作用,包括 DNA 损伤响应、细胞周期、氧化应激、代谢过程等,并可能用作评估致癌风险的候选标志物(多个基因与癌症的发生和发展有关)。此外, Cabp4 是一种神经元 Ca^{2+} 结合蛋白,在视网膜和耳蜗中表达,对正常的光感受器突触功能至关重要^[56],这说明空间飞行可能会对视觉产生影响。

为进一步了解关键/Hub 基因的表达情况,使用传统的差异基因识别方法 (DESeq2) 对 GeneLab 数据库中相同组织的其他数据集进行分析,可以发现使用 SSN 方法识别的一部分关键/Hub 基因在表达层面也发生了显著变化,而还有一些关键/Hub 基因只在基因互作模式层面发生了显著变化(在表达层面未发生显著变化)。出现这种情况的主要原因是两种分析方法的设计原理不同,传统的差异基因识别方法在

表达量层面衡量基因的变化,而本文使用的 SSN 方法则在基因互作模式(基因网络)层面衡量基因的变化。在基因网络层面发生变化的基因并不一定在表达层面也发生变化,因而导致了部分结果的不一致。这里认为,两种分析方法是在不同的侧面对空间飞行条件下机体中的分子变化进行表征,而本研究提出的方法能够揭示传统方法中被忽视的分子机制,为当前的空间生物学研究提供有价值的补充。此外,某些基因在验证数据集中未观察到显著变化,这可能也与数据集本身有关,验证数据集和分析数据集的批次差异可能也会影响验证结果。

由于空间环境中持续存在辐射和微重力等多种胁迫因素,会对机体产生复杂的生物学效应,而地面实验条件难以完全模拟真实空间环境,因此很难区分每种胁迫因素单独对机体造成的影响,这也是本研究的一个局限性。在后续研究中,可以通过在空间站中使用离心机作为实验对照等手段对这一问题进一步

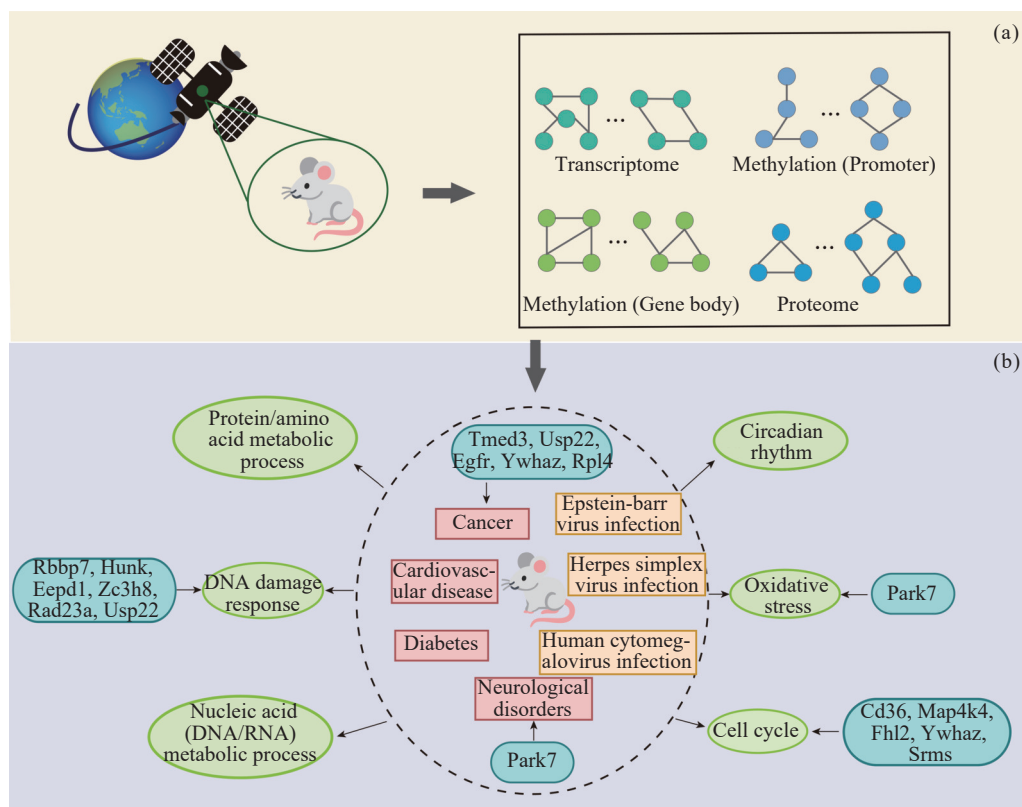


图 13 基于 SSN 的生物信息学分析流程及主要结果。浅绿色圆圈代表生物过程/通路,红色方框代表疾病,黄色方框代表病毒感染,深绿色圆角方框代表参与该过程的关键/Hub 基因

Fig. 13 Bioinformatics analysis workflow based on SSN and its main results. The light green circles represent biological processes/pathways, the red squares represent diseases, the yellow squares represent viral infections, and the dark green rounded squares represent the key/Hub genes involved in these processes

研究. 另外, 虽然使用本文构建的方法可以全面认识空间飞行条件导致的个体分子网络的变化, 并从系统生物学的角度探究空间飞行条件下机体中多组学分子互作模式的变化规律. 然而, SSN 方法的局限性在于无法直接观察基因/蛋白质表达层面的变化, 导致本方法识别出的关键分子验证困难. 因此, 需要将 SSN 方法与传统方法 (如本文使用的 DESeq2) 进行联合分析, 以更加全面地解析生物学变化.

4 结论

通过构建一种基于多组学 SSN 的生物信息学分析方法, 本研究全面揭示了空间飞行条件下小鼠的转录组、甲基化、蛋白质组层面的分子互作模式变化规律 (图 13). 虽然不同组学层面互作模式改变的分子交集有限, 但其调控的生物过程和通路具有相似性, 主要包括代谢过程、DNA 损伤响应、细胞周期、氧化应激、昼夜节律等. 其中, 蛋白质/氨基酸代谢过程、核酸 (DNA/RNA) 代谢过程在多个组织中出现, 并具有较高的显著性. 多个关键/Hub 基因参与了上述过程的调控. 此外, 空间飞行改变的分子互作模式可能与一系列疾病发生和病毒重激活有关.

医学伦理 研究不涉及人体或动物实验.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突.

参考文献

- [1] XUAN Yingying, YANG Yutian, SUN Yuehong, *et al.* Antagonistic effects of resveratrol on reproductive injury in hind-limb unloading male rats[J]. *Chinese Journal of Space Science*, 2024, **44**(1): 133-141 (轩莹莹, 杨玉田, 孙月红, 等. 白藜芦醇对后肢去负荷雄性大鼠生殖损伤的对抗作用 [J]. *空间科学学报*, 2024, **44**(1): 133-141)
- [2] ÖZELBAYKAL B, ÖĞRETMENOĞLU G, GEDIK Ş. The effects of space radiation and microgravity on ocular structures[J]. *Turkish Journal of Ophthalmology*, 2022, **52**(1): 57-63
- [3] GEORGE K, RHONE J, BEITMAN A, *et al.* Cytogenetic damage in the blood lymphocytes of astronauts: effects of repeat long-duration space missions[J]. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2013, **756**(1/2): 165-169
- [4] MORENO-VILLANUEVA M, WONG M, LU T, *et al.* Interplay of space radiation and microgravity in DNA damage and DNA damage response[J]. *npj Microgravity*, 2017, **3**(1): 14
- [5] AFSHINNEKOO E, SCOTT R T, MACKAY M J, *et al.* Fundamental biological features of spaceflight: advancing the field to enable deep-space exploration[J]. *Cell*, 2020, **183**(5): 1162-1184
- [6] DA SILVEIRA W A, FAZELINIA H, ROSENTHAL S B, *et al.* Comprehensive multi-omics analysis reveals mitochondrial stress as a central biological hub for spaceflight impact[J]. *Cell*, 2020, **183**(5): 1185-1201. e20
- [7] LI K, DESAI R, SCOTT R T, *et al.* Explainable machine learning identifies multi-omics signatures of muscle response to spaceflight in mice[J]. *npj Microgravity*, 2023, **9**(1): 90
- [8] BEHESHTI A, CHAKRAVARTY K, FOGLE H, *et al.* Multi-omics analysis of multiple missions to space reveal a theme of lipid dysregulation in mouse liver[J]. *Scientific Reports*, 2019, **9**(1): 19195
- [9] HOOD L, FLORES M. A personal view on systems medicine and the emergence of proactive P4 medicine: predictive, preventive, personalized and participatory[J]. *New Biotechnology*, 2012, **29**(6): 613-624
- [10] BARABÁSI A L, GULBAHCE N, LOSCALZO J. Network medicine: a network-based approach to human disease[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2011, **12**(1): 56-68
- [11] HUANG Y H, CHANG X, ZHANG Y, *et al.* Disease characterization using a partial correlation-based sample-specific network[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2021, **22**(3): bbaa062
- [12] ZHANG Y, ZHAO L, SUN Y Q. Using single-sample networks to identify the contrasting patterns of gene interactions and reveal the radiation dose-dependent effects in multiple tissues of spaceflight mice[J]. *npj Microgravity*, 2024, **10**(1): 45
- [13] ZHANG Y, DU X H, ZHAO L, *et al.* Construction of dose prediction model and identification of sensitive genes for space radiation based on single-sample networks under spaceflight conditions[J]. *International Journal of Radiation Biology*, 2024, **100**(5): 777-790
- [14] KUIJER M L, TUNG M G, YUAN G C, *et al.* Estimating sample-specific regulatory networks[J]. *iScience*, 2019, **14**: 226-240
- [15] GUO W F, YU X T, SHI Q Q, *et al.* Performance assessment of sample-specific network control methods for bulk and single-cell biological data analysis[J]. *PLoS Computational Biology*, 2021, **17**(5): e1008962
- [16] LOVE M I, HUBER W, ANDERS S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. *Genome Biology*, 2014, **15**(12): 550

- [17] AN L L, LI Y M, FAN Y J, *et al.* The trends in global gene expression in mouse embryonic stem cells during spaceflight[J]. *Frontiers in Genetics*, 2019, **10**: 768
- [18] KUMAR A, TAHIMIC C G T, ALMEIDA E A C, *et al.* Spaceflight modulates the expression of key oxidative stress and cell cycle related genes in heart[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, **22**(16): 9088
- [19] GARRETT-BAKELMAN F E, DARSHI M, GREEN S J, *et al.* The NASA twins study: a multidimensional analysis of a year-long human spaceflight[J]. *Science*, 2019, **364**(6436): eaau8650
- [20] VAQUER S, CUYÀS E, RABADÁN A, *et al.* Active transmembrane drug transport in microgravity: a validation study using an ABC transporter model[J]. *F1000Research*, 2014, **3**: 201
- [21] PANDI-PERUMAL S R, GONFALONE A A. Sleep in space as a new medical frontier: the challenge of preserving normal sleep in the abnormal environment of space missions[J]. *Sleep Science*, 2016, **9**(1): 1-4
- [22] MALHAN D, YALÇIN M, SCHOENROCK B, *et al.* Skeletal muscle gene expression dysregulation in long-term spaceflights and aging is clock-dependent[J]. *npj Microgravity*, 2023, **9**(1): 30
- [23] FLYNN-EVANS E E, BARGER L K, KUBEY A A, *et al.* Circadian misalignment affects sleep and medication use before and during spaceflight[J]. *npj Microgravity*, 2016, **2**(1): 15019
- [24] CHAKRABORTY N, WANING D L, GAUTAM A, *et al.* Gene-metabolite network linked to inhibited bioenergetics in association with spaceflight-induced loss of male mouse quadriceps muscle[J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2020, **35**(10): 2049-2057
- [25] MAO X W, PECAUT M J, STODIECK L S, *et al.* Biological and metabolic response in STS-135 space-flown mouse skin[J]. *Free Radical Research*, 2014, **48**(8): 890-897
- [26] CROUCH J D, BROSH JR R M. Mechanistic and biological considerations of oxidatively damaged DNA for helicase-dependent pathways of nucleic acid metabolism[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2017, **107**: 245-257
- [27] ROONEY B V, CRUCIAN B E, PIERSON D L, *et al.* Herpes virus reactivation in astronauts during spaceflight and its application on earth[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, **10**: 16
- [28] BRINLEY A A, THERIOT C A, NELMAN-GONZALEZ M, *et al.* Characterization of Epstein-Barr virus reactivation in a modeled spaceflight system[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2013, **114**(3): 616-624
- [29] AGHA N H, MEHTA S K, ROONEY B V, *et al.* Exercise as a countermeasure for latent viral reactivation during long duration space flight[J]. *The FASEB Journal*, 2020, **34**(2): 2869-2881
- [30] DRAGO-FERRANTE R, DI FIORE R, KAROUIA F, *et al.* Extraterrestrial gynecology: could spaceflight increase the risk of developing cancer in female astronauts? An updated review[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, **23**(13): 7465
- [31] MORENO-VILLANUEVA M, WU H L. Radiation and microgravity-associated stress factors and carcinogenesis[J]. *Reach*, 2019, **13**: 100027
- [32] BLAKELY E A, KRONENBERG A. Heavy-ion radiobiology: new approaches to delineate mechanisms underlying enhanced biological effectiveness[J]. *Radiation Research*, 1998, **150**(5): S126-S145
- [33] BARCELLOS-HOFF M H, BLAKELY E A, BURMA S, *et al.* Concepts and challenges in cancer risk prediction for the space radiation environment[J]. *Life Sciences in Space Research*, 2015, **6**: 92-103
- [34] CUCINOTTA F A, TO K, CACAO E. Predictions of space radiation fatality risk for exploration missions[J]. *Life Sciences in Space Research*, 2017, **13**: 1-11
- [35] NANGLE S N, WOLFSON M Y, HARTSOUGH L, *et al.* The case for biotech on Mars[J]. *Nature Biotechnology*, 2020, **38**(4): 401-407
- [36] LI Y Q, LIU X Y, LI Y L, *et al.* USP19 exerts a tumor-promoting role in diffuse large B cell lymphoma through stabilizing PARK7[J]. *The FEBS Journal*, 2024, **291**(21): 4757-4774
- [37] LI X, ARSLAN F, REN Y, *et al.* Metabolic adaptation to a disruption in oxygen supply during myocardial ischemia and reperfusion is underpinned by temporal and quantitative changes in the cardiac proteome[J]. *Journal of Proteome Research*, 2012, **11**(4): 2331-2346
- [38] ZHANG X M, LUO Y L, LI Q C. TMED3 promotes proliferation and migration in breast cancer cells by activating Wnt/ β -catenin signaling[J]. *OncoTargets and Therapy*, 2020, **13**: 5819-5830
- [39] LIU F, CAO L, ZHANG T, *et al.* CRL4B^{RBBP7} targets HUWE1 for ubiquitination and proteasomal degradation[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, **501**(2): 440-447
- [40] ARJMAND B, REZAEI TAVIRANI M, RAZZAGHI M, *et al.* Role of Flt4 in skin protection against UVB radiation: a system biology approach[J]. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 2020, **11**(S1): S30-S36
- [41] JUNG J J H. SNF1/AMPK-Related Kinase Hunk is Required for Colorectal Tumorigenesis and Inhibits PML-Mediated Suppression of AKT Following DNA Damage[D]. Philadelphia: University of Pennsylvania, 2013

- [42] SHARMA N, SPEED M C, ALLEN C P, *et al.* Distinct roles of structure-specific endonucleases EEPD1 and Metnase in replication stress responses[J]. *NAR Cancer*, 2020, **2**(2): zcaa008
- [43] JAISWAL A S, KIM H S, SCHÄRER O D, *et al.* EEPD1 promotes repair of oxidatively-stressed replication forks[J]. *NAR Cancer*, 2023, **5**(1): zcac044
- [44] SATO R. Characterizing the Role of Nuclear Body Protein ZC3H8 in Proliferation, Apoptosis, and DNA Repair of Mouse Mammary Tumor Cells[D]. Villanova: Villanova University, 2021
- [45] RENAUD E, MICCOLI L, ZACAL N, *et al.* Differential contribution of XPC, RAD23A, RAD23B and CENTRIN 2 to the UV-response in human cells[J]. *DNA Repair*, 2011, **10**(8): 835-847
- [46] NARDI I K, STARK J M, LARSEN A, *et al.* USP22 interacts with PALB2 and promotes chemotherapy resistance via homologous recombination of DNA double-strand breaks[J]. *Molecular Cancer Research*, 2020, **18**(3): 424-435
- [47] HA K, LEE G E, PALII S S, *et al.* Rapid and transient recruitment of DNMT1 to DNA double-strand breaks is mediated by its interaction with multiple components of the DNA damage response machinery[J]. *Human Molecular Genetics*, 2011, **20**(1): 126-140
- [48] SUN J Y, SU Y J, XU Y N, *et al.* CD36 deficiency inhibits proliferation by cell cycle control in skeletal muscle cells[J]. *Frontiers in Physiology*, 2022, **13**: 947325
- [49] LIU Y F, QU G Q, LU Y M, *et al.* Silencing of MAP4K4 by short hairpin RNA suppresses proliferation, induces G1 cell cycle arrest and induces apoptosis in gastric cancer cells[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2016, **13**(1): 41-48
- [50] WANG G F, NIU X Y, LIU H N, *et al.* c-Abl kinase regulates cell proliferation and ionizing radiation-induced G2/M arrest via phosphorylation of FHL2[J]. *FEBS Open Bio*, 2021, **11**(6): 1731-1738
- [51] KWON Y, KIM M, JUNG H S, *et al.* Targeting autophagy for overcoming resistance to anti-EGFR treatments[J]. *Cancers*, 2019, **11**(9): 1374
- [52] HRUSTANOVIC G, LEE B J, BIVONA T G. Mechanisms of resistance to EGFR targeted therapies[J]. *Cancer Biology & Therapy*, 2013, **14**(4): 304-314
- [53] LIU S H, JIANG H W, WEN H, *et al.* Knockdown of tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein zeta (YWHAZ) enhances tumorigenesis both *in vivo* and *in vitro* in bladder cancer[J]. *Oncology Reports*, 2018, **39**(5): 2127-2135
- [54] LIU Y, LI W, ZHOU S Y, *et al.* Pan-cancer analysis of the prognostic and immunological role of RPL4[J]. *Heliyon*, 2024, **10**(14): e34461
- [55] GOEL R K, PACZKOWSKA M, REIMAND J, *et al.* Phosphoproteomics analysis identifies novel candidate substrates of the nonreceptor tyrosine kinase, Src-related kinase lacking C-terminal regulatory tyrosine and N-terminal myristoylation sites (SRMS)[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2018, **17**(5): 925-947
- [56] HAESELEER F, SOKAL I, GREGORY F D, *et al.* Protein phosphatase 2A dephosphorylates CaBP4 and regulates CaBP4 function[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2013, **54**(2): 1214-1226

作者简介



张彦男, 1995年7月出生于山东省济宁市, 现为大连海事大学环境科学与工程学院博士研究生, 主要研究方向为空间辐射生物学、计算生物学、人工智能。
E-mail: jlmzy@126.com



赵磊(通信作者)男, 1987年9月出生于安徽省安庆市, 现为大连海事大学环境科学与工程学院教授, 博士生导师, 主要研究方向为空间辐射生物学效应及分子机制、空间辐射生物标志物及辐射生物计量、空间辐射健康风险评估与药物防护等。
E-mail: zhaol@dlmu.edu.cn



孙野青(通信作者)女, 1959年5月出生于黑龙江省鹤岗市, 现为大连海事大学环境系统生物学研究所所长, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为空间辐射生物学。
E-mail: yqsun@dlmu.edu.cn