

综合临床分析和转录组分析揭示脓毒症中凝血过程的潜在关键基因及其调控机制

吴静澜^{1,2}, 赵晶晶^{1,2*}, 詹圆²

¹安徽医科大学, 安徽 合肥

²合肥市第二人民医院重症医学科, 安徽 合肥

收稿日期: 2026年4月28日; 录用日期: 2026年5月22日; 发布日期: 2026年5月29日

摘要

背景: 通过临床分析, 我们发现血液凝固与败血症密切相关。然而, 凝血与败血症之间的具体机制尚不明确。因此, 本研究的目的是探究与败血症相关的凝血的潜在靶点及调控机制。方法: 脓毒症的临床数据来自MIMIC-IV数据库和我们医院的数据库。脓毒症的测序数据来自GEO数据库(GSE57065、GSE134347和GSE167363)。通过limma算法的差异分析获得差异基因。凝血相关基因来自MSigDB数据库。使用维恩分析获得与脓毒症和凝血相关的交集基因。使用机器学习算法筛选关键靶点。使用逻辑回归分析构建诊断模型。使用免疫浸润分析获取与脓毒症相关的免疫细胞。使用单细胞测序分析进一步研究脓毒症中免疫细胞之间的联系, 并评估关键基因的表达模式。结果: 我们筛选出了58个与脓毒症凝血相关的交集基因。通过一系列生物信息学分析, 构建了与脓毒症凝血相关的诊断模型。该模型包含两个核心基因, 其中DGKA在脓毒症中表达, 而GP9在脓毒症中的表达水平较高。该模型对脓毒症的诊断效果极佳(AUC > 0.8)。单基因富集分析表明, DGKA和GP9都与T细胞受体信号通路密切相关。免疫浸润分析表明, 脓毒症与免疫细胞密切相关。单细胞结果表明, 中性粒细胞与其他细胞的连接最为活跃。结论: DGKA和GP9与脓毒症凝血密切相关, 并且已经构建出了出色的诊断模型, 这些模型可用于未来的诊断和治疗研究。

关键词

脓毒症, MIMIC-IV数据库, Bulk RNA-Seq Data, Single-Cell RNA-Seq Data, 凝血

Combined Clinical Analysis and Transcriptomic Analysis Reveals the Potential Hub Genes and Regulatory Mechanisms of Coagulation in Sepsis

*通讯作者。

文章引用: 吴静澜, 赵晶晶, 詹圆. 综合临床分析和转录组分析揭示脓毒症中凝血过程的潜在关键基因及其调控机制[J]. 临床医学进展, 2026, 16(5): 3333-3350. DOI: 10.12677/acm.2026.1652155

Jinglan Wu^{1,2}, Jingjing Zhao^{1,2*}, Yuan Zhan²¹Anhui Medical University, Hefei Anhui²Department of Critical Care Medicine, The Second People's Hospital of Hefei, Hefei Anhui

Received: April 28, 2026; accepted: May 22, 2026; published: May 29, 2026

Abstract

Background: Through clinical analysis, we have found that blood coagulation is closely related to sepsis. However, the specific mechanism between coagulation and sepsis remains unclear. Therefore, the aim of this study was to investigate the potential targets and regulatory mechanisms of coagulation related to sepsis. **Methods:** Clinical data of sepsis were obtained from the MIMIC-IV database and the database of our hospital. The sequencing data of sepsis were obtained from the GEO (GSE57065, GSE134347, and GSE167363) dataset. Differential genes were obtained using limma differential analysis. Coagulation-related genes were obtained from the MSigDB database. Venn analysis was used to obtain the intersection genes related to sepsis and coagulation. Machine learning algorithms were used to screen hub targets. Logistic regression analysis was used to construct the diagnostic model. Immune infiltration analysis was used to obtain immune cells associated with sepsis. Single-cell sequencing analysis was used to further study the connections between immune cells in sepsis and evaluate the expression patterns of hub genes. **Results:** We screened out 58 intersection genes related to sepsis coagulation. Through a series of bioinformatics analyses, a diagnostic model related to sepsis coagulation was constructed. The model contains two hub genes, among which DGKA was expressed in sepsis and GP9 was highly expressed in sepsis. The model had an excellent diagnostic effect on sepsis (AUC > 0.8). Single-gene enrichment analysis indicated that both DGKA and GP9 were closely related to the T cell receptor signaling pathway (TCR). Immune infiltration analysis indicates that sepsis was closely related to immune cells. Single-cell results indicated that Neutrophils had the most active connections with other cells. **Conclusions:** DGKA and GP9 were closely related to sepsis coagulation, and excellent diagnostic model had been constructed, which can be used for future diagnostic and therapeutic research.

Keywords

Sepsis, MIMIC-IV Database, Bulk RNA-Seq Data, Single-Cell RNA-Seq Data, Coagulation

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Open Access

1. 引言

脓毒症是一种常见的疾病，其特征是由于感染引发的全身性炎症反应紊乱，可能导致急性器官功能障碍，并且死亡率相对较高[1]。据统计，每年有 530 万人死于败血症，死亡率高达 30%。重症监护病房中的死亡率甚至更高[2]。败血症的诊断定义为由感染引起的生理、病理和生化异常综合征，伴有宿主反应失调，可能导致危及生命的器官功能障碍[3]。2017 年，世界卫生大会和世界卫生组织将 2016 年新定义的“Sepsis-3”（定义为器官功能障碍的感染）列为全球卫生重点，以改善败血症的预防、诊断和管理[4]。然而，实际发病率甚至更高[2]。目前，针对败血症的有效药物和治疗方法有限。大多数治疗方法包括抗炎治疗、侵入性通气和侵入性机械通气等[5]。为了治疗败血症并降低死亡率，探索治疗败血症的新方法

是非常必要的。

因此, 通过将 MIMIC-IV (3.0)数据库中脓毒症患者的临床数据与我们医院脓毒症患者的临床数据相结合, 我们发现凝血酶原时间(prothrombin time, PT)和国际标准化比值(international normalized ratio, INR)与脓症患者住院期间是否死亡密切相关。PT 测定是一种评估凝血功能的有效临床检测方法, 其结果以 INR 表示[6]。大量文献表明, PT 和 INR 可用作脓毒症及预后预测的诊断工具[7]-[9]。因此, 进一步探究凝血在脓毒症进展过程中的作用机制对于促进脓毒症的诊断和治疗具有至关重要的意义。

自 21 世纪初以来, 随着测序技术的迅速发展以及计算机的广泛应用, 生物信息学分析技术已逐渐被应用于脓毒症的研究中。它不仅能够从宏观层面到分子层面来研究脓毒症的发展过程, 还能探索早期标志物、免疫特征、筛选机制以及发现治疗靶点[5] [10]。

在本研究中, 我们利用脓毒症的全基因组 RNA 测序数据来揭示凝血在脓毒症中的作用及其所涉及的机制。通过一系列机器学习算法, 我们旨在发现有价值的诊断标志物, 并进一步探究它们可能涉及的生物学机制。最终, 通过整合免疫浸润分析和单细胞测序数据, 我们探讨了脓毒症与免疫细胞之间的联系, 以及关键靶点与免疫细胞之间的关系。

2. 方法

2.1. 数据收集

本研究使用了 MIMIC-IV (3.0)数据库(<https://physionet.org/content/mimiciv/3.1/>), 该数据库收集了贝斯以色列德克森医学中心(Beth Israel Deaconess Medical Center, BIDMC)在 2008 年至 2022 年期间所有入住 ICU 和急诊科的患者资料。该数据库包含了丰富的信息, 如诊断、生命体征、实验室结果和治疗等。此数据中的所有个人信息均使用随机数进行了匿名处理, 以保护患者隐私。数据提取工作由本作者独立完成, 符合访问要求。MIMIC-IV 数据库包含了超过 63,000 名入住 ICU 的患者和超过 200,000 名入住急诊科的患者资料。其次, 根据脓毒症的 3.0 诊断标准, 本研究共收集了 34,900 名患者。排除标准: 1) 年龄小于 18 岁或大于 80 岁。2) 非首次住院。3) 临床信息不完整。最终, 本研究纳入了 14,811 名患者, 并根据他们在医院是否死亡将其分为两组。

然而, 本研究还收集了我院脓毒症患者的临床数据, 这些数据是在 2024 年至 2025 年期间收集的。所有患者的个人信息均已匿名处理, 以保护其隐私。基于上述两组数据指标, 本研究最终纳入了人口统计信息(年龄和性别)、生命体征数据(PH、PaO₂、总二氧化碳、白细胞、氯化物、肌酐、国际标准化比值、血小板、凝血酶原时间、红细胞、尿量和血红蛋白浓度)、临床评分(格拉斯哥昏迷评分、序贯器官衰竭评估评分和急性肾损伤评分)以及合并症(冠心病、高血压和糖尿病)。最终, 使用 compareGroups 包对临床信息进行了统计分析。

使用 GEOquery 软件包从 GEO 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)下载了与脓毒症大规模 RNA 测序数据相关的数据(GSE57065 和 GSE134347)。GSE57065 数据集包含 82 个脓毒症样本、25 个正常样本以及丰富的临床信息, 该数据集由 GLP570 平台提供。GSE134347 数据集包含 156 例脓症患者和 83 个正常样本, 由 GPL17586 平台提供。此外, 我们还从 GEO 数据库下载了 scRNA-seq 数据集(GSE167363), 其中包含 4 个脓毒症样本和 2 个正常样本。

2.2. 差异分析

利用 limma 软件包在脓毒症数据集中筛选脓毒症组与正常组之间存在差异表达的基因。差异表达基因的筛选标准设定为: $|\log_2\text{FoldChangeFC}| > 1$ 且 $P < 0.05$ 。其次, 为了更好地展示差异基因, 使用了 ggplot2 软件包来可视化差异分析的结果。

2.3. 获取交集基因

在 MSigDB 数据库中, 以“凝血”作为关键词进行搜索, 以获取与凝血相关的机制。其次, 从该数据库中下载了与凝血相关机制相对应的基因。然后, 使用 Venn 包获取与脓毒症和凝血相关的共同基因, 并使用 ggplot2 包将 Venn 分析的结果进行可视化展示。

2.4. 富集分析

使用了 Clusterprofiler 软件包分别进行了基因本体(gene ontology, GO)分析和 KEGG 富集分析。基因本体分析是一种常见的功能富集方法, 包括生物过程(biological processes, BP)、细胞成分(cellular components, CC)和分子功能(molecular functions, MF)。其次, 使用 KEGG 分析来预测交集基因可能涉及的机制和疾病进程。KEGG 是一个广泛使用的数据库, 存储了与基因组、生物途径、疾病和药物等相关的信息。P 值小于 0.05 被认为具有统计学意义。

2.5. 鉴定与败血症相关的核心基因

使用了 glmnet 包进行 LASSO 分析, 该分析能够有效减少交集基因之间的过拟合现象, 从而提取出关键基因[11]。使用了 XGBoost 包和 LightGBM 包进行机器学习分析。它们能够优化分布式梯度提升算法, 将弱变量转化为强变量, 最终实现令人满意的预测性能[12]。本研究将样本类型视为响应变量, 将交集基因视为解释变量。在构建机器学习模型之前, 将数据集随机分为训练集(70%)和验证集(30%)。其次, 使用 Shapviz 包来可视化影响脓毒症进展的特征, 从而展示每个特征对机器学习模型的影响。最终, 通过对结果的综合分析筛选出了与脓毒症相关的关键基因。

2.6. 脓毒症诊断模型的构建与验证

采用单变量和多变量逻辑回归分析来筛选能够独立预测脓毒症的枢纽基因。其次, 基于多因素逻辑回归分析的结果构建了与脓毒症相关的诊断模型。然后, 使用 pROC 包进行受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic, ROC)分析, 以评估该诊断模型对脓毒症患者的预测效果。其次, 依次采用单变量和多变量逻辑回归分析, 共同分析诊断模型与临床特征及脓毒症之间的关系。

2.7. 基因集富集分析

GSEA 是一种基于 MSigDB 数据库中各类基因集来解读基因表达数据的分析方法。该分析是通过使用 GSEA 官方网站(<https://www.gsea-msigdb.org/gsea/downloads.jsp>)下载 GSEA 4.4.0(v)软件实现版本来进行的[13]。通过对脓毒症样本和正常样本进行 GSEA 分析, 我们分析了枢纽基因可能参与脓毒症发病机制的生物学途径。通过分析被替换 1000 次的基因, 我们获得了标准化富集分数(enrichment score, ES), 并据此估计了 ES 的显著性水平。c2.cp.kegg.v7.4.符号。GMT “基因集被用于进行 GSEA 分析。如果该基因集的 P 值小于 0.05, 则认为该基因具有显著富集性。假阳性检测率(false detection rate, FDR)小于 0.05 被视为具有统计学意义。

2.8. 免疫浸润分析

在 IOBR 软件包中, 采用了 cibersort 方法来计算基因表达图谱中 22 种免疫细胞的丰度。这种方法是获取基因表达图谱中细胞成分的常用算法。其次, 使用 ESTIMATE 方法来计算免疫和矩阵得分, 以进一步探究肿瘤微环境。使用了 Wilcoxon 秩和检验来分析脓症患者样本与正常样本之间免疫浸润水平和 TME 的差异。其次, 本研究还探讨了免疫细胞丰度与脓毒症相关基因之间的相关性。

2.9. 单细胞数据处理与分析

本研究包含了 4 例败血症病例和来自 GSE167363 的 2 个正常样本。使用 Seurat 软件包对单细胞 RNA 测序数据进行预处理。首先,使用 Object()函数构建 Seurat 对象。其次,使用 merge()函数合并多个 Seurat 对象。为了确保每个细胞中基因表达的丰富度和充足性,本研究设置了以下三个标准:1) 每个细胞中的转录本数量必须少于 25000 个。2) 每个细胞中的基因数量应大于 200 个且少于 5000 个。3) 线粒体基因的比例小于 10%。

其次,使用了 NormalizeData()函数对单细胞数据进行了标准化处理。接着,使用了 FindVariableFeatures()函数来计算高度变异性基因。其次,使用了 RunPCA()函数进行主成分分析,并使用前 50 个主成分进行聚类分析。然后,使用了 FindNeighbors()函数和 FindClusters()函数进行聚类分析。其次,使用常见的标记基因来测试细胞。还使用了来自 CellMarker (<http://xteam.xbio.top/CellMarker/index.jsp>)和 CellMarker2.0 (<http://bio-bigdata.hrbmu.edu.cn/CellMarker/index.html>)的细胞标记基因的主要参考数据库进行评论。使用 AUCell 算法计算单细胞 RNA 测序中与凝血相关的基因表达的富集分数,并使用个人相关性测试分析凝血评分与枢纽靶点之间的相关性。其次,使用 monocle 包进行单细胞轨迹分析[14]。最后,使用 CellChat 包进行单细胞通信分析。CellChat 软件包用于细胞通讯分析,它能够基于单细胞 RNA 测序数据定量推断并分析细胞间的通讯网络[15]。

2.10. 实时定量逆转录聚合酶链反应分析

对模型基因进行了实时定量逆转录聚合酶链反应检测。使用 RNA 提取试剂盒(Dakewe, China)提取总 RNA。使用 TaKaRa 逆转录聚合酶链反应试剂盒(TaKaRa, Japan)进行反转录。使用 Vazyme 的 SYBR Green 逆转录聚合酶链反应试剂盒(Vazyme, China)进行定量逆转录聚合酶链反应。实验重复进行三次。序列如下: DGKA: 5'-CGGACCTACCACAGCCTAAC 和 3'-CCCACAGTCACACTCAGGAC; GP9: 5'-TGCGACCACAGATACTCAGG 和 3'-CTGAACGCAGGCTATTGTTGG; β -肌动蛋白: 5'-CTTCGCGGGCGACGAT 和 3'-ATAGGAATCCTTCTGACCCATGC。

2.11. 统计分析

所有的生物信息学和统计分析均使用 R4.3.2 版本进行。测量数据以均值 \pm 标准差(SD)的形式呈现,并通过威尔科克森秩和检验进行比较。采用皮尔逊相关性检验进行相关性分析。最后,单变量和多变量逻辑回归分析确定了诊断脓毒症的独立预测因子。P 值 < 0.05 被认为具有统计学意义。

3. 结果

3.1. 基线特征

为了探究与脓毒症相关的临床指标,本研究使用了 MIMIC-IV 数据库中 14,811 名脓毒症患者的资料。如表 1 所示,住院期间死亡的脓毒症患者的国际标准化比值(NR)和凝血酶原时间(PT)较高,而格拉斯哥昏迷评分(GCS)较低。如表 2 所示,在脓症患者中,住院期间的死亡率在女性、患有冠心病、高血压和糖尿病的患者中较低。住院期间死亡的脓症患者具有更高的序贯器官衰竭评估(SOFA)、急性肾损伤(AKI)、白细胞计数(WBC)、肌酐、INR 和 PT,但更低的 pH 值、动脉血氧分压(PAO₂)、总二氧化碳、氯化物、红细胞、尿量和红细胞比容。为了进一步验证上述结果,本研究还收集了我院 111 名脓毒症患者的数据。基于上述结果,INR 和 PT 是判断脓症患者住院期间是否死亡的重要临床指标。因此,我们推断脓毒症的发生和发展与血液凝固密切相关。

Table 1. Demographic and baseline characteristics of sepsis patients in our hospital**表 1.** 本院脓毒症患者的人口学特征

	生存 N = 61	死亡 N = 50	OR	现患比	总体 P 值
年龄	77.0 [69.0; 84.0]	71.5 [56.5; 84.0]	0.97 [0.95; 1.00]	0.049	0.173
性别					0.670
女	23 (37.7%)	16 (32.0%)	Ref.	Ref.	
男	38 (62.3%)	34 (68.0%)	1.28 [0.58; 2.87]	0.540	
格拉斯哥昏迷量表	9.93 (3.43)	7.78 (4.09)	0.86 [0.78; 0.95]	0.005	0.004
序贯器官衰竭评估	9.07 (0.65)	8.90 (0.95)	0.76 [0.46; 1.27]	0.293	0.300
急性肾损伤	0.89 (1.36)	1.16 (1.53)	1.14 [0.88; 1.49]	0.317	0.324
冠状动脉心脏病					1.000
No	51 (83.6%)	41 (82.0%)	Ref.	Ref.	
Yes	10 (16.4%)	9 (18.0%)	1.12 [0.40; 3.07]	0.825	
急性肾损伤					1.000
No	28 (45.9%)	23 (46.0%)	Ref.	Ref.	
Yes	33 (54.1%)	27 (54.0%)	1.00 [0.47; 2.13]	0.992	
糖尿病					0.533
No	47 (77.0%)	35 (70.0%)	Ref.	Ref.	
Yes	14 (23.0%)	15 (30.0%)	1.43 [0.61; 3.41]	0.411	
氢离子指数	7.34 (0.14)	7.29 (0.17)	0.12 [0.01; 1.42]	0.092	0.097
动脉血氧分压	101 (43.6)	89.4 (53.6)	0.99 [0.99; 1.00]	0.205	0.214
二氧化碳总量	23.3 (6.84)	22.2 (7.56)	0.98 [0.93; 1.03]	0.449	0.458
白细胞	15.1 (6.84)	15.9 (10.6)	1.01 [0.97; 1.06]	0.636	0.653
氯化物	104 (8.32)	105 (11.9)	1.02 [0.98; 1.06]	0.346	0.365
肌酐	183 (162)	202 (165)	1.00 [1.00; 1.00]	0.541	0.544
国际标准化比值	1.23 (0.29)	1.43 (0.59)	3.18 [1.07; 9.46]	0.037	0.029
血小板	222 (149)	195 (134)	1.00 [1.00; 1.00]	0.327	0.322
凝血酶原时间	15.3 (2.71)	17.0 (5.14)	1.13 [1.01; 1.27]	0.035	0.029
红细胞	3.75 (0.90)	3.85 (0.94)	1.13 [0.75; 1.71]	0.550	0.555
尿量	27.6 (64.2)	25.5 (60.8)	1.00 [0.99; 1.01]	0.860	0.861
红细胞比容	35.2 (8.42)	35.9 (9.14)	1.01 [0.97; 1.06]	0.637	0.643

Table 2. Demographic and baseline characteristics of sepsis patients from the MIMIC-IV database**表 2.** 来自 MIMIC-IV 数据库的脓毒症患者的人口学特征

	生存 N = 13103	死亡 N = 1708	OR	现患比	总体 P 值
年龄	65.0 [55.0; 76.0]	71.0 [60.0; 81.0]	1.02 [1.02; 1.03]	<0.001	<0.001
性别					<0.001
女	5174 (39.5%)	758 (44.4%)	Ref.	Ref.	
男	7929 (60.5%)	950 (55.6%)	0.82 [0.74; 0.91]	<0.001	

续表

格拉斯哥昏迷量表	14.1 (2.56)	14.1 (2.26)	1.00 [0.98; 1.01]	0.628	0.595
序贯器官衰竭评估	3.51 (1.80)	4.10 (2.22)	1.16 [1.13; 1.18]	<0.001	<0.001
急性肾损伤	1.38 (1.02)	2.02 (0.98)	1.94 [1.83; 2.05]	<0.001	<0.001
冠状动脉心脏病					<0.001
No	8756 (66.8%)	1328 (77.8%)	Ref.	Ref.	
Yes	4347 (33.2%)	380 (22.2%)	0.58 [0.51; 0.65]	0.000	
高血压					<0.001
No	7878 (60.1%)	1195 (70.0%)	Ref.	Ref.	
Yes	5225 (39.9%)	513 (30.0%)	0.65 [0.58; 0.72]	<0.001	
糖尿病					0.137
No	8922 (68.1%)	1194 (69.9%)	Ref.	Ref.	
Yes	4181 (31.9%)	514 (30.1%)	0.92 [0.82; 1.02]	0.129	
氢离子指数	7.32 (0.09)	7.29 (0.13)	0.09 [0.06; 0.15]	<0.001	<0.001
动脉血氧分压	88.8 (58.6)	73.3 (60.3)	0.99 [0.99; 1.00]	<0.001	<0.001
二氧化碳总量	23.0 (5.17)	22.1 (6.58)	0.97 [0.96; 0.98]	<0.001	<0.001
白细胞	10.8 (6.59)	12.5 (10.7)	1.03 [1.02; 1.03]	<0.001	<0.001
氯化物	103 (6.31)	101 (7.56)	0.97 [0.96; 0.97]	<0.001	<0.001
肌酐	1.13 (1.00)	1.37 (1.10)	1.19 [1.14; 1.23]	<0.001	<0.001
国际标准化比值	1.31 (0.50)	1.52 (0.77)	1.63 [1.52; 1.76]	<0.001	<0.001
血小板	174 (96.4)	179 (114)	1.00 [1.00; 1.00]	0.068	0.109
凝血酶原时间	14.4 (5.12)	16.6 (8.13)	1.05 [1.04; 1.06]	<0.001	<0.001
红细胞	2.93 (0.61)	2.81 (0.73)	0.75 [0.69; 0.81]	<0.001	<0.001
尿量	35.8 (57.8)	24.3 (47.2)	0.99 [0.99; 0.99]	<0.001	<0.001
红细胞比容	26.0 (6.26)	25.5 (7.32)	0.99 [0.98; 1.00]	0.003	0.009

3.2. 脓毒症中凝血相关基因的获取

为了获取与凝血相关的基因,我们在MSigDB数据库(<https://www.gsea-msigdb.org/gsea/msigdb/index.jsp>)中搜索“凝血”条目,获得了两个与凝血相关的通路(“血液凝固”和“补体与凝血途径”)。其次,我们从该数据库中下载了与这些通路相对应的基因文件,最终获得了281个与血液凝固相关的基因。为了获取与脓毒症相关的基因,我们在脓毒症数据集中对脓毒症样本和正常样本进行了差异分析,设定阈值为 $P < 0.05$ 和 $FC > 1.5$ 。最终,确定了2819个与脓毒症相关的基因(1523个上调基因和1296个下调基因)(图1(A))。为了获取脓毒症中的凝血相关基因,我们使用维恩图分析来获取58个交集基因(图1(B))。

3.3. 交集基因富集分析

为了探究交集基因可能参与脓毒症的潜在机制,我们对交集基因进行了富集分析。在生物过程方面,这些基因与血液凝固、止血、凝血调节、体液水平调节、伤口愈合、创伤反应、血小板激活、细胞激活、

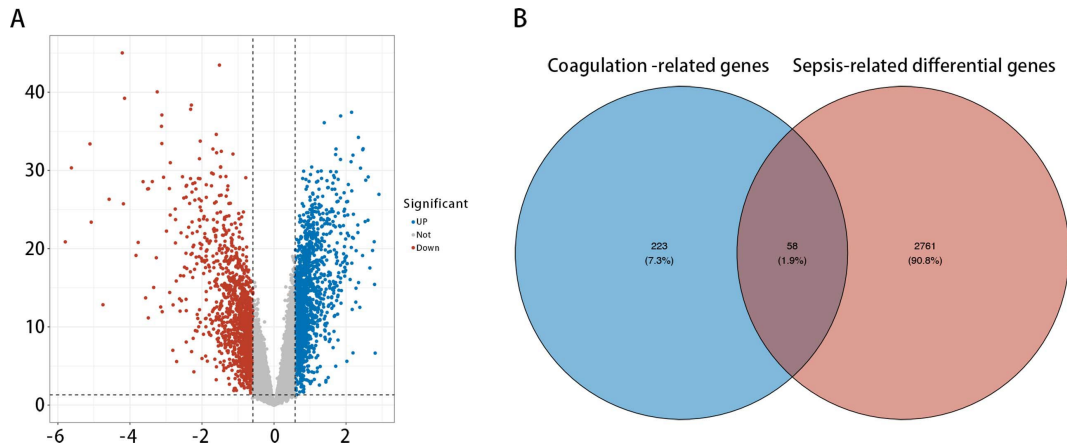


Figure 1. Acquisition of coagulation genes in sepsis. (A) Volcano plot of sepsis-related differential genes in GSE57065; (B) Venn diagrams related to sepsis-associated differential genes and coagulation

图 1. 脓毒症中凝血基因的获取情况。(A) GSE57065 数据集中与脓毒症相关的差异基因的火山图; (B) 与脓毒症相关差异基因及凝血相关的维恩图

应激反应以及生物质量调节等过程相关(图 2(A))。在细胞成分方面, 这些基因主要与囊泡系统、分泌颗粒和细胞外区域(分泌颗粒、分泌囊泡、血小板 α 颗粒、囊泡、细胞质囊泡)部分、细胞质囊泡、细胞内囊泡、细胞外区域、细胞外区域部分以及与腔隙相关的分泌颗粒有关(图 2(B))。与分子功能相关的结果表明, 这些基因具有补体受体活性、胰岛素受体底物结合、补体结合和病毒受体活性、劫持分子功能、补体成分 C3b 结合、碳水化合物衍生物结合、CD4 受体结合、二酰甘油激酶活性以及生长因子受体结合等特征(图 2(C))。KEGG 结果显示, 这些基因主要参与免疫系统途径、凝血和血小板功能途径(补体和凝血级联反应、血小板活化、造血细胞谱系、Fc 伊普西 RI 信号通路、利什曼病、细胞外基质受体相互作用、C 型凝集素受体信号通路、T 细胞受体信号通路和 VEGF 信号通路发挥了重要作用(图 2(D))。

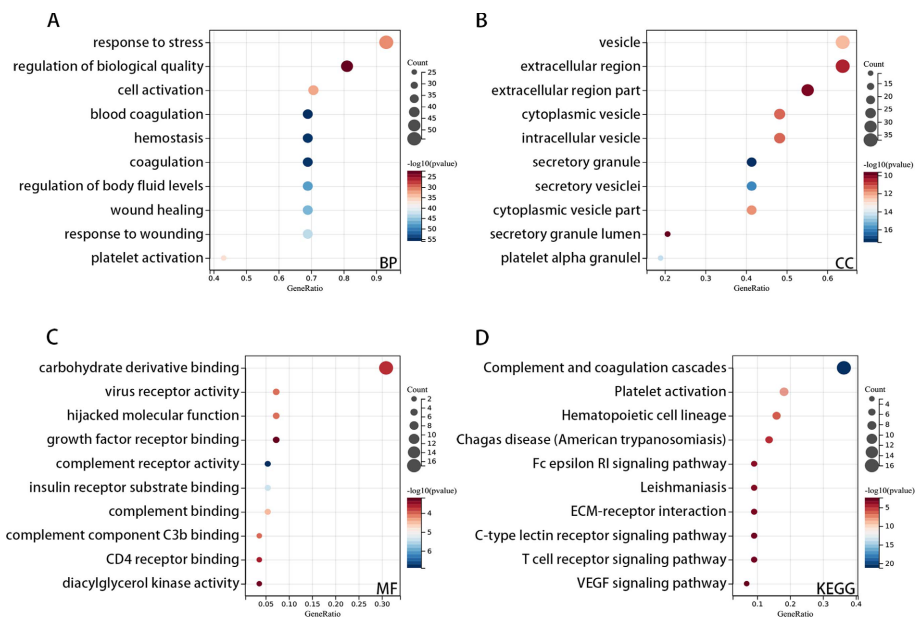


Figure 2. Enrichment analysis of intersection genes. (A)~(C) The GO results were presented in a bubble chart; (D) Bubble charts related to KEGG results

图 2. 交集基因富集分析。(A)~(C) GO 结果以气泡图形式呈现; (D) 与 KEGG 结果相关的气泡图

3.4. 构建诊断模型

为了找出在败血症中起关键作用的凝血基因,我们依次使用 LASSO 分析和重要性排序分析(XGBoost 和 LightGBM)来筛选交集基因。图 3(A), 图 3(B)显示, 通过 LASSO 分析筛选出了 12 个基因。重要性排序分析表明, MAPK14、DGKA 和 GP9 可能是预测败血症的重要基因(图 3(C), 图 3(D))。为了构建一个预测败血症相关问题的模型, 我们依次进行了单变量和多变量逻辑回归分析。表 3 显示, DGKA 和 GP9 在败血症中发挥了重要作用。其次, 根据多变量逻辑回归分析的结果, 我们构建了一个与败血症预测相关的诊断模型(诊断模型 = $3.836*GP9 - 8.422*DGKA + 41.763$)。为了进一步探究诊断模型与临床特征和败血症之间的关系, 我们对临床特征和诊断模型进行了联合的单变量逻辑回归分析。表 4 显示, 年龄和诊断模型是败血症的重要预测因素。其次, 多元逻辑回归分析表明, 年龄和诊断模型可以作为脓毒症

Table 3. Connection between important genes and sepsis

表 3. 关键基因与脓毒症之间的关系

特征	总数	单变量分析		多变量分析	
		比值比	P 值	比值比	P 值
MAPK14	107	2544877.450 (0.147~43931396978163.400)	0.083		
DGKA	107	0.001 (0.000~0.019)	<0.001	0 (0.000~0.020)	<0.001
GP9	107	21.405 (5.271~86.922)	<0.001	46.363 (2.986~719.772)	0.006

Table 4. Connection between Diagnostic model and clinical features and sepsis

表 4. 诊断模型与临床特征及脓毒症之间的关联

特征	总数	单变量分析		多变量分析	
		比值比	P 值	比值比	P 值
收集时间	107	0.927 (0.543~1.581)	0.780		
性别	107	1.500 (0.594~3.788)	0.391		
年龄	107	3.343 (1.351~8.270)	0.009	3.734 (1.440~9.660)	0.007
诊断模型	107	1.144 (1.005~1.302)	0.042	1.168 (1.015~1.344)	0.031

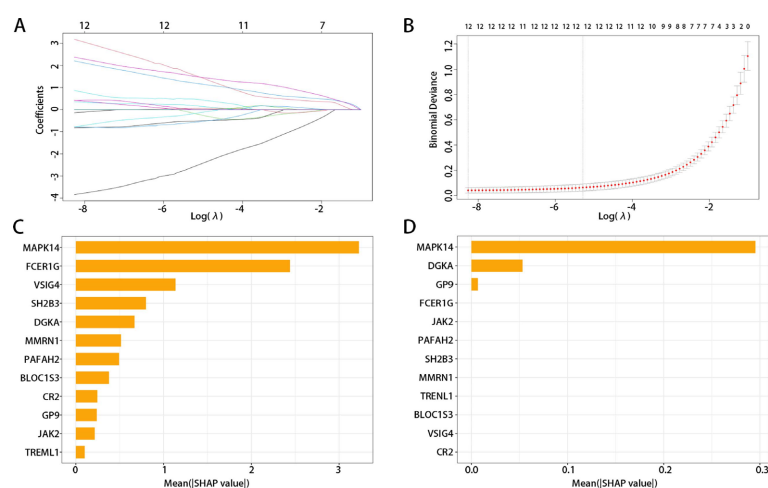


Figure 3. Machine learning was used to screen important genes. (A) (B) LASSO regression algorithm; (C) (D) Bar charts showing the importance exclusion analysis results of the XGBoost algorithm and the LightGBM algorithm in sequence

图 3. 采用机器学习技术筛选出重要基因。(A) (B) LASSO 回归算法; (C) (D) 柱状图依次展示了 XGBoost 算法和 LightGBM 算法的重要性排除分析结果

3.5. 诊断模型的预测价值

为了探究该诊断模型对脓毒症患者的诊断价值,我们进行了 ROC 分析。GP9 在脓毒症样本中表达量较高,而 DGKA 在脓毒症样本中的表达量较低(图 4(A)、图 4(C))。ROC 分析结果表明,该诊断模型对脓毒症具有良好的预测效果(AUC: 0.984)(图 4(B))。其次,GSE134347 数据集的 ROC 分析结果也表明,该诊断模型对脓毒症具有良好的预测效果(AUC: 0.988)(图 4(D))。

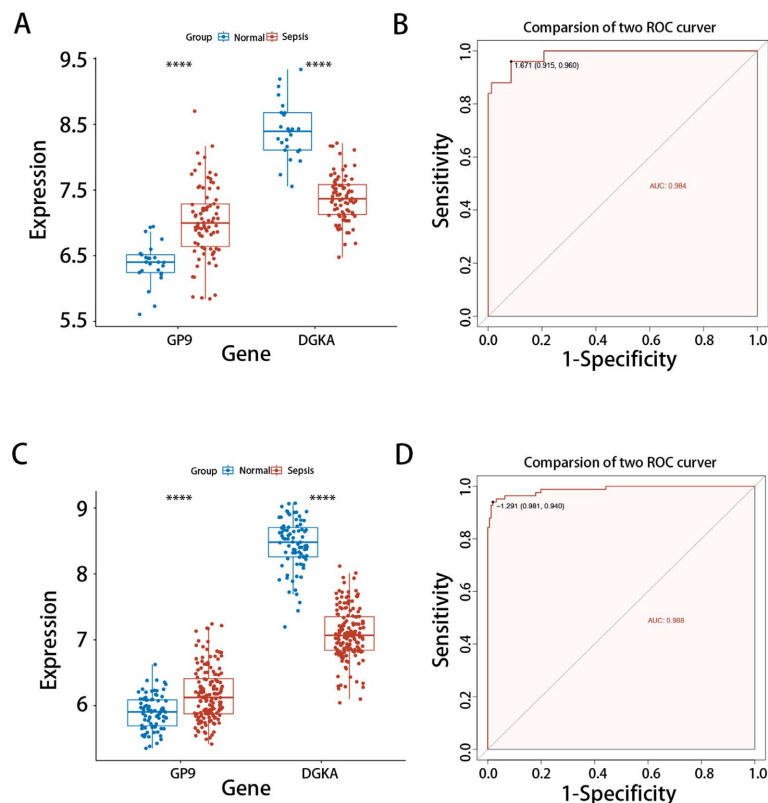


Figure 4. The diagnostic value of the model. (A)~(C) In GSE57065, the expression status of key genes, the ROC curve analysis result graph and the DCA result graph are respectively presented; (D)~(F) In GSE134347, the expression status of key genes, the ROC curve analysis result graph and the DCA result graph are respectively presented

图 4. 模型的诊断价值。(A)~(C) 在 GSE57065 数据集中,分别展示了关键基因的表达状态及 ROC 曲线分析结果; (D)~(F) 在 GSE134347 数据集中,分别展示了关键基因的表达状态及 ROC 曲线分析结果

3.6. Gene Set Enrichment Analysis (GSEA)

为了进一步确定枢纽基因在脓毒症中的作用途径及潜在功能,我们进行了 GSEA 分析。GSEA 结果表明,DGKA 在脓毒症中促进了血细胞分化通路和 T 细胞受体信号通路(图 5(A),图 5(B))。如图 5(C)~(F)所示,GP9 在脓毒症中促进了药物代谢细胞色素 p450 通路。其次,GP9 对 T 细胞受体信号通路(抗原加工)以及在此数据集中的 B 细胞受体信号通路具有抑制作用。

3.7. 肿瘤免疫浸润分析

现有的报告表明,免疫细胞在脓毒症的发生和发展过程中起着重要作用[16]。因此,通过 CIBERSORT 和 ESTIMATE 方法,我们研究了脓毒症与免疫细胞之间的关系,以及枢纽基因与免疫细胞之间的关系。图 6(A)显示,将脓毒症患者的样本与正常样本进行比较,浆细胞、CD4 记忆活化 T 细胞、单核细胞、M0

型巨噬细胞、激活的肥大细胞、嗜酸性粒细胞和中性粒细胞的浸润水平更高。然而，记忆 B 细胞、CD8 T 细胞、CD4 未成熟 T 细胞、调节性 T 细胞(Tregs)、静止的 NK 细胞、M2 型巨噬细胞、树突状细胞的浸润水平在静止状态下更低。脓毒症与基质评分和免疫评分相关(图 6(B))。诊断模型与免疫评分相关(图 6(C))。

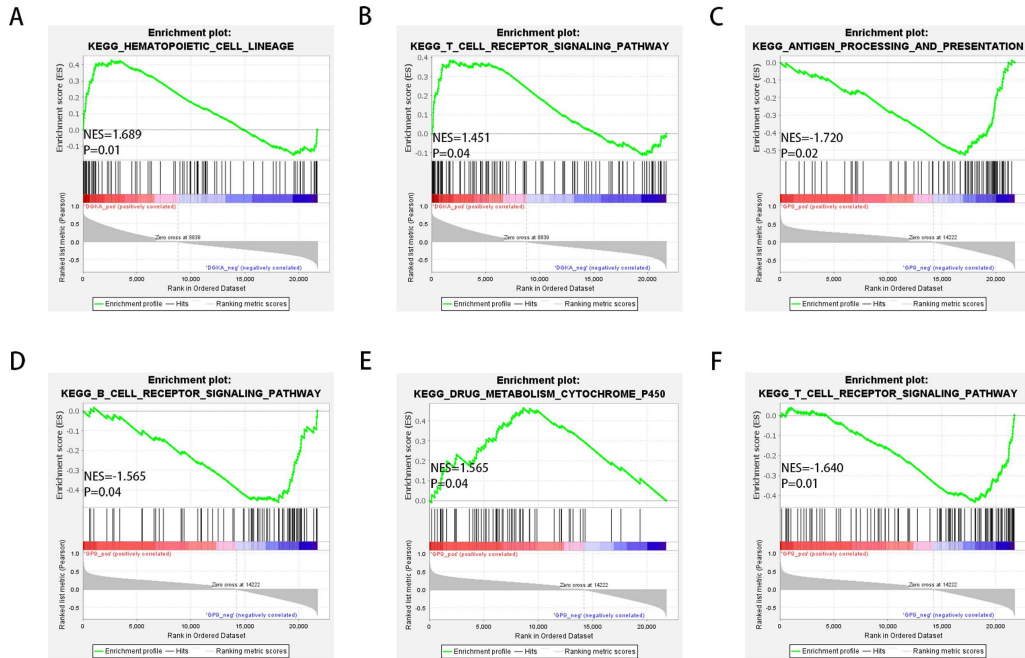


Figure 5. GSEA of the hub gene. (A) (B) GSEA of DGKA; (C)~(F) GSEA of GP9
图 5. 关键基因的 GSEA 分析。(A) (B) DGKA 的 GSEA 分析; (C)~(F) GP9 的 GSEA 分析

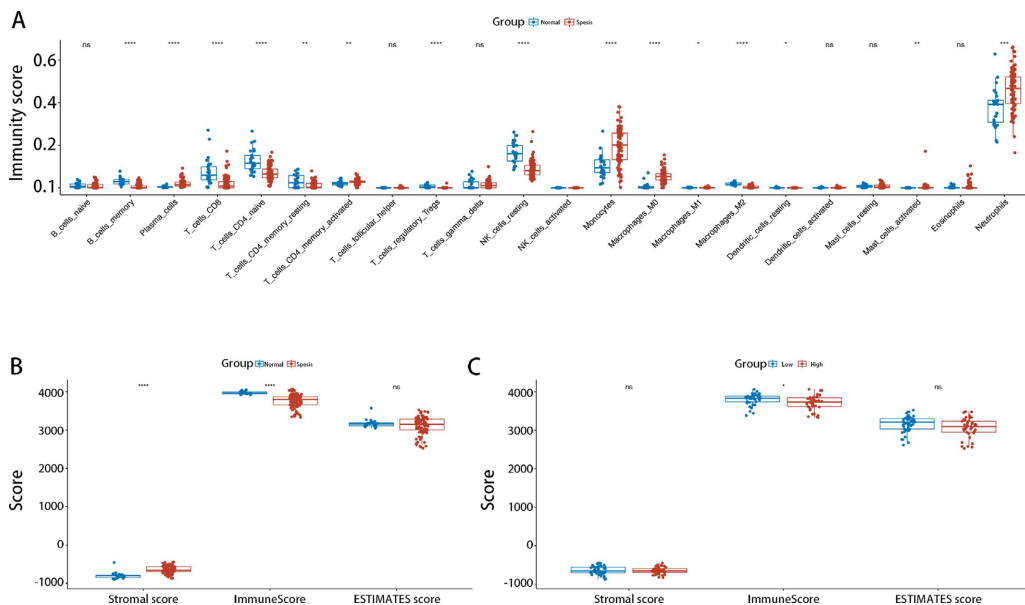


Figure 6. Immune infiltration analysis and immune-related score analysis. (A) 22 immune cells from normal and sepsis samples in GSE5706; (B) The relationship between sepsis and stromal score, immune score, and estimates score; (C) The relationship between the diagnostic model and stromal score, immune score, and estimates score

图 6. 免疫浸润分析及免疫相关评分分析。(A) GSE57065 数据集中来自正常样本和脓毒症样本的 22 种免疫细胞; (B) 脓毒症与基质评分、免疫评分和估计评分之间的关系; (C) 诊断模型与基质评分、免疫评分和估计评分之间的关系

3.8. 单细胞数据处理

为了探究脓毒症与免疫细胞之间的关系,我们从 GEO 数据库中获取了 4 个脓毒症样本和 2 个正常样本的单细胞 RNA 测序(scRNA-seq)数据。根据上述选择标准,我们最终获得了 21,568 个细胞,其中包括 13,425 个来自脓毒症样本的细胞和 8143 个来自正常样本的细胞。六维的主成分分析(PCA)是最合适的分析方法。

单细胞聚类的结果显示,所有细胞被分为 36 个组,并被分为 5 种类型的细胞(T 细胞、NK 细胞、T 细胞、单核细胞和树突状细胞)(图 7(A), 图 7(B))。图 7(C)表明,脓毒症样本和正常样本都包含这 4 种类型的细胞,但每种类型的比例差异很大,这表明脓毒症样本和正常样本之间存在异质性。图 7(D)展示了与细胞相关的标志基因的气泡图。图 8(A), 图 8(B)表明, DGKA 主要集中在 T 细胞中。GP9 主要分布在单核细胞中(图 8(C), 图 8(D))。

细胞通讯分析表明,中性粒细胞与自然杀伤细胞之间、中性粒细胞与 T 细胞之间以及中性粒细胞与浆细胞之间的相互作用频率和强度均非常高(图 9(A), 图 9(B))。图 9(C)展示了细胞间已标注连接的受体-配体对。采用 Moncle2 算法进行伪时间分析,以探索已标注细胞的分化方向。图 9(D), 图 9(E)显示,这些细胞将按照三个连续的方向进行分化。T 细胞和自然杀伤细胞的分化时间早于其他细胞。其中一种包括自然杀伤细胞和单核细胞,而另一种主要由树突状细胞和单核细胞组成。

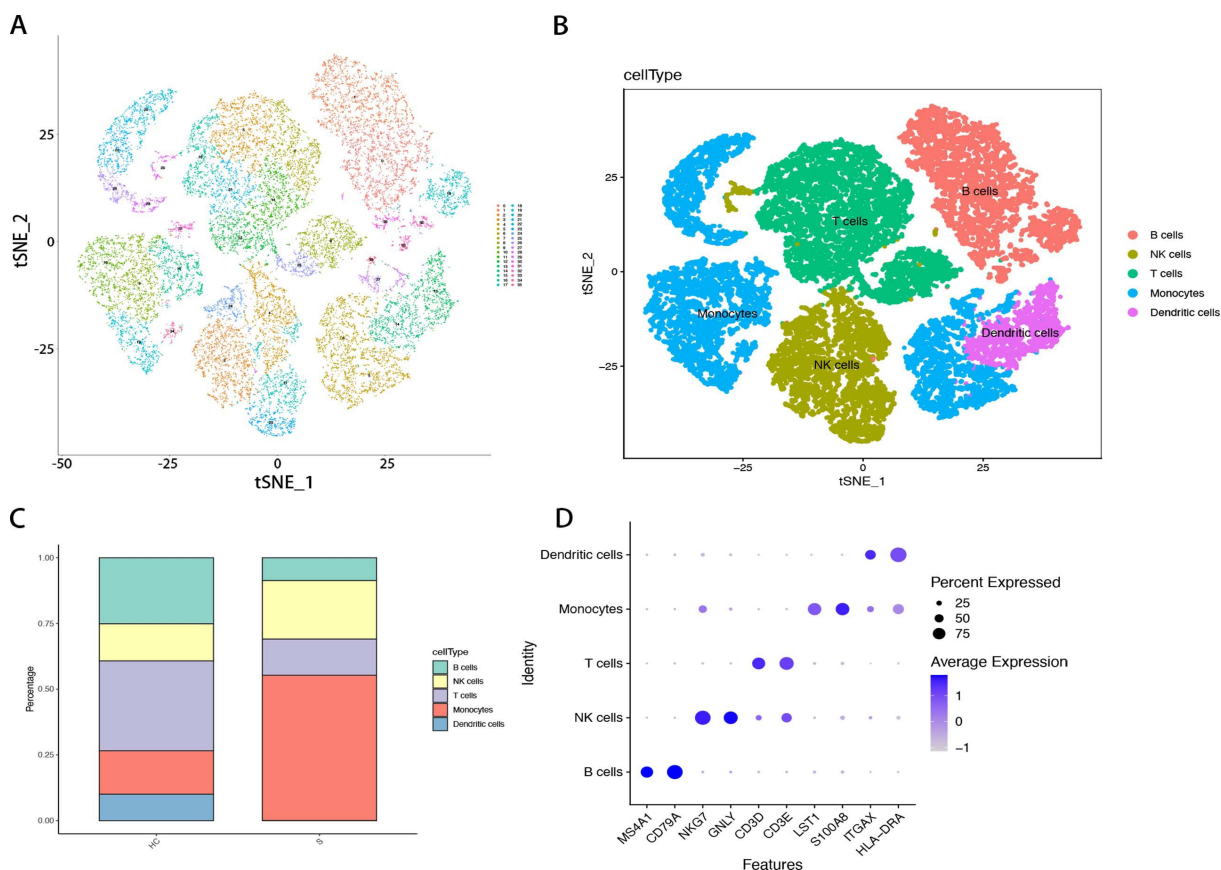


Figure 7. (A)~(C) They were respectively cell clustering, cell annotation results graphs, and bar graphs of the proportion of each cell type in normal and sepsis samples; (D) Bubble plot of cell-related marker genes

图 7. (A)~(C) 分别为细胞聚类图、细胞注释结果图以及正常样本和脓毒症样本中各细胞类型比例的柱状图; (D) 与细胞相关的标志基因的气泡图

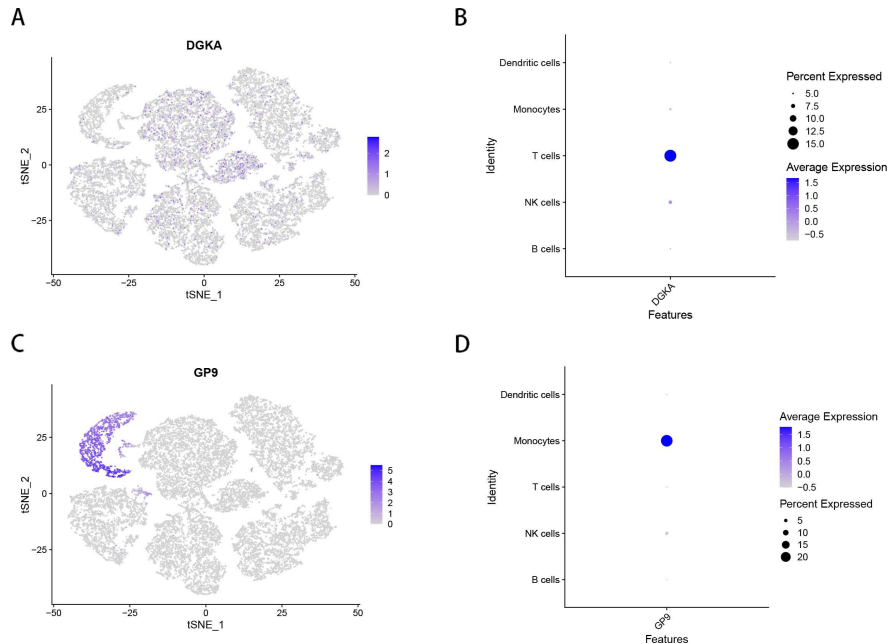


Figure 8. Distribution of key genes
图 8. 关键基因在各个细胞中的分布情况

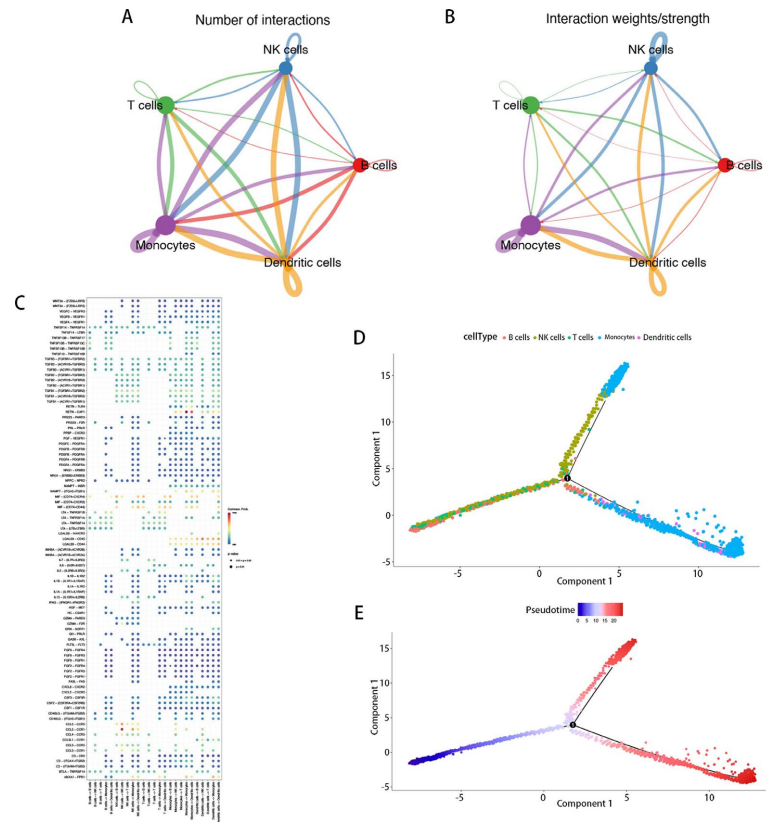


Figure 9. Cell communication analysis and quasi-temporal analysis. (A) (B) The connection between cells; (C) The receptor-embryo-body pairs involved in the connection between each type of cell; (D) (E) The differentiation status of cells
图 9. 细胞通讯分析及准时间分析。(A) (B) 细胞之间的连接情况；(C) 参与每种细胞类型之间连接的受体 - 胚胎 - 细胞体组合；(D) (E) 细胞的分化状态

3.9. 实验验证

为了验证 DGKA 和 GP9 在正常组织和脓毒症组织中的表达情况, 我们进行了实时定量逆转录聚合酶链反应分析。图 10(A)~(D)的结果显示, DGKA 在脓毒症组织中的表达水平较低, 而 GP9 在脓毒症组织中的表达水平较高。

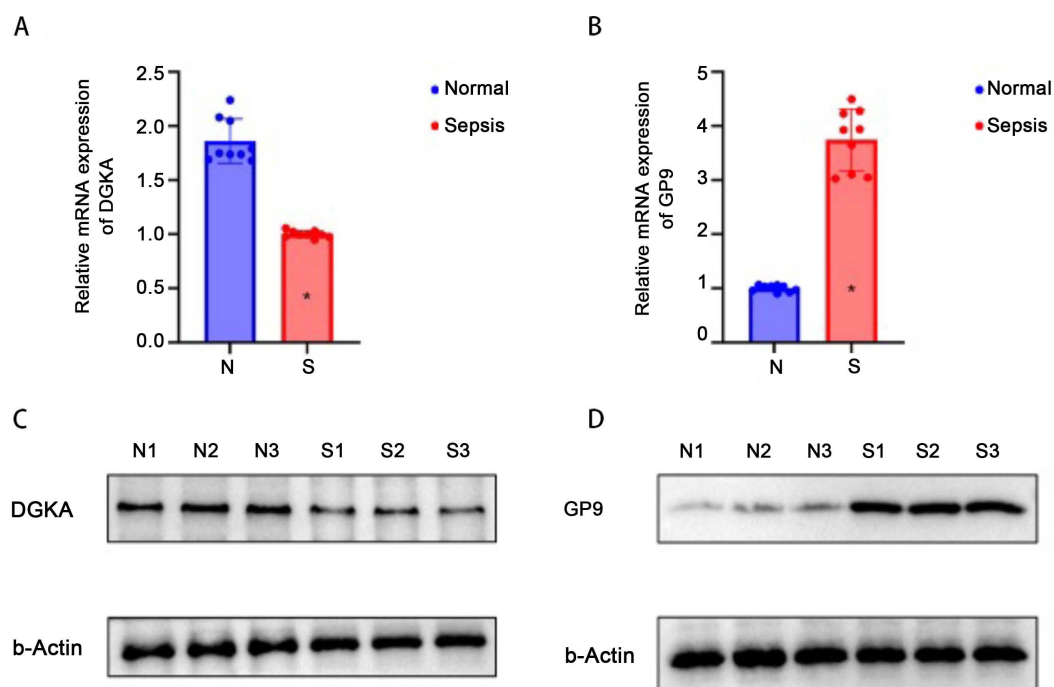


Figure 10. Experimental verification of the combination and role of DGKA and GP9 in normal tissues and septic tissues. (A) (B) The results of qRT-PCR analysis for DGKA and GP9 were respectively

图 10. 对 DGKA 和 GP9 在正常组织和感染组织中的作用及相互关系的实验验证。(A)(B) 分别展示了 DGKA 和 GP9 的 qRT-PCR 分析结果

4. 讨论

脓毒症是一种在感染后出现的免疫反应紊乱病症, 每年都会导致大量死亡病例[17]。尽管如今的医疗水平已经很高, 但脓毒症的发病率和死亡率并未显著降低[18][19]。因此, 通过结合临床数据和生物测序数据来全面研究脓毒症的发病机制, 对于脓毒症的诊断和治疗具有重要意义。本研究通过整合来自公共数据库的临床数据以及我院收集的数据, 发现凝血相关指标 PT 和 INR 与脓毒症患者在医院内的死亡情况有关。已发表的文献表明, 脓毒症病理生理过程中的凝血相关临床指标在诊断和治疗中起着重要作用, 被认为是推动脓毒症发展的关键因素[20][21]。因此, 进一步探索脓毒症中凝血机制和功能对于早期诊断和治疗脓毒症至关重要。

首先, 在本研究中, 利用了 GEO 数据库中脓毒症的全基因组 RNA 测序数据进行差异分析, 共获得了 2819 个与脓毒症相关的基因。其次, 从 MSigDB 数据库中获取了 281 个与凝血相关的基因。维恩图分析表明, 脓毒症和凝血之间存在 58 个交集基因。然后, 为了探究这些交集基因在脓毒症数据集中的作用机制, 我们对这些交集基因进行了富集分析。富集分析的结果表明, 这些交集基因主要参与免疫系统途径、凝血和血小板功能途径。

其次, 我们运用 LASSO 分析筛选出了 12 个与脓毒症相关的基因。此外, 通过重要性排序分析, 该

研究还获得了三个与脓毒症相关的基因。其次,我们通过单变量和多变量逻辑回归分析确定了两个与脓毒症相关的枢纽基因(DGKA 和 GP9),并基于多变量逻辑回归分析的结果,构建了一个与脓毒症诊断相关的模型。ROC 分析的结果均表明,该模型对脓毒症的诊断具有极佳的效能,另一组数据也证实了这一结果。

二酰甘油激酶 α (DGKA)是一种能将二酰甘油磷酸化为磷脂酸,从而调节脂质代谢的酶[22],它是 DGK 家族中首个被发现的成员。本研究的结果表明, DGKA 在脓毒症样本中的表达水平较低,实验结果也证实了这一结果。据报道,在肿瘤研究中对 DGKA 的研究显示,它能够抑制致癌生存途径,并在体外导致肿瘤细胞死亡[23]。DGKA 不仅能够诱导钙离子的构象变化,还能磷酸化 Lck,导致 DAG 的消耗和效应器活性的降低。因此,可以推断出 DGKA 是肿瘤免疫治疗的重要靶点。实验表明,通过删除或抑制 DGKA, T 细胞和 NK 细胞的活性能够得到增强,免疫无应答的发生也能得以预防[24]。DGKA 前体磷脂酸(PA)不仅与癌症、糖尿病、脓毒症和血栓性疾病密切相关,而且还能在促进人类红细胞的凝血和血栓激活方面发挥作用[25]。总之, DGKA 与凝血机制有关。

糖蛋白 IX 血小板(GP9)是一种存在于人类血小板表面的小型膜糖蛋白。本研究的分析结果表明, GP9 在脓毒症样本中表达量很高,实验结果也证实了这一结果。GP9、GP1BA 和 GP1BB 的突变可导致伯纳德·索利耶综合征(BSS),该综合征还负责编码 GPIb-IX-V 复合物的亚基,并且型 c BBS 可通过检测 GP9 突变来诊断[26]。GP9 可以作为血管性血友病因子(VWF)的受体,介导 VWF 依赖性的血小板与血管的黏附,并在与血小板减少相关的出血过程中发挥重要作用[27]。据报道, GP9 可以调节 GPIb-IX-V 的激活信号和造血干细胞的分化途径[28]。孟德尔随机化的结果表明, GP9 表达水平的升高不仅可能增加通过肺功能测试定义的慢性阻塞性肺疾病的风险,而且对血小板也有不利影响[29]。对斑马鱼的研究表明, GP9 缺失的斑马鱼会出现类似于人类 BBS 的出血性疾病,这可以证明 GP9 在血小板生成、血栓形成和止血过程中发挥了重要作用[30]。现有研究还表明, GP9 在败血症的诊断中具有重要作用[31]。因此,我们可以推断出 GP9 与败血症中的凝血过程密切相关。

对 DGKA 和 GP9 的 GSEA 分析表明, T 细胞受体信号通路与脓毒症的进展有关。相关研究表明, TCR 阴性细胞系中的凝血受体信号转导得到了增强[32]。TCR 还可能通过与蛋白水解激活的受体相互作用来影响止血机制[33]。总之 DGKA 和 GP9 可能通过调节 TCR 来调节脓毒症中的凝血相关机制。

免疫浸润分析的结果表明,败血症与浆细胞、T 细胞、B 细胞、嗜酸性粒细胞和中性粒细胞有关。这些细胞已被证实与败血症密切相关[34]-[38]。单细胞 RNA 测序的结果显示, DGKA 主要集中在浆细胞和 NK 细胞中,而 GP9 主要存在于中性粒细胞中。细胞通讯的结果表明,在败血症中, NK 细胞、T 细胞和浆细胞与中性粒细胞密切相关。此外,在败血症研究中,中性粒细胞与凝血的关联早已得到证实[39]。因此,免疫细胞与败血症的凝血机制密切相关。

然而,我们的研究存在一定的局限性。首先,我们医院的样本量有限,我们需要在更大的样本中验证我们的临床结论。其次,我们通过生物信息学分析获得了与脓毒症相关的关键基因,我们的结果需要通过进一步实验来验证。第三,由于我们医院的设备条件有限,本研究无法获取我们医院脓毒症患者的测序数据。尽管存在这些局限性,但本研究还是获得了与脓毒症相关的新的诊断模型、两个新的生物标志物以及一个与脓毒症相关的通路机制。未来的研究需要进一步证实这些发现,并深入探究脓毒症和凝血的潜在机制。

5. 结论

总之,基于临床数据分析和生物信息学分析,本研究构建了一个出色的脓毒症诊断模型,该模型包含两个生物标志物(DGKA 和 GP9)。实验结果证实了 DGKA 和 GP9 在脓毒症中的表达情况。

声 明

本研究中的数据已经通过了我院的伦理审查，患者均签署知情同意书。

基金项目

合肥市第二人民医院院级科研课题(编号：2023ylc004)。

参考文献

- [1] Li, H., Pan, X., Zhang, S., Shen, X., Li, W., Shang, W., *et al.* (2023) Association of Autoimmune Diseases with the Occurrence and 28-Day Mortality of Sepsis: An Observational and Mendelian Randomization Study. *Critical Care*, **27**, Article No. 476. <https://doi.org/10.1186/s13054-023-04763-5>
- [2] Fan, Z., Jiang, J., Xiao, C., Chen, Y., Xia, Q., Wang, J., *et al.* (2023) Construction and Validation of Prognostic Models in Critically Ill Patients with Sepsis-Associated Acute Kidney Injury: Interpretable Machine Learning Approach. *Journal of Translational Medicine*, **21**, Article No. 406. <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04205-4>
- [3] Hou, N., Li, M., He, L., Xie, B., Wang, L., Zhang, R., *et al.* (2020) Predicting 30-Days Mortality for MIMIC-III Patients with Sepsis-3: A Machine Learning Approach Using Xgboost. *Journal of Translational Medicine*, **18**, Article No. 462. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02620-5>
- [4] Cecconi, M., Evans, L., Levy, M. and Rhodes, A. (2018) Sepsis and Septic Shock. *The Lancet*, **392**, 75-87. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(18\)30696-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(18)30696-2)
- [5] Yang, Z., Kao, X., Huang, N., Yuan, K., Chen, J. and He, M. (2024) Identification and Analysis of Panoptosis-Related Genes in Sepsis-Induced Lung Injury by Bioinformatics and Experimental Verification. *Journal of Inflammation Research*, **17**, 1941-1956. <https://doi.org/10.2147/jir.s452608>
- [6] Favaloro, E. and Adcock, D. (2008) Standardization of the INR: How Good Is Your Laboratory's INR and Can It Be Improved? *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, **34**, 593-603. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1104538>
- [7] Schupp, T., Weidner, K., Rusnak, J., Jawhar, S., Forner, J., Dulatahu, F., *et al.* (2022) Diagnostic and Prognostic Significance of the Prothrombin Time/International Normalized Ratio in Sepsis and Septic Shock. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, **28**, 1-12 <https://doi.org/10.1177/10760296221137893>
- [8] Tsantes, A.G., Parastatidou, S., Tsantes, E.A., Bonova, E., Tsante, K.A., Mantzios, P.G., *et al.* (2023) Sepsis-Induced Coagulopathy: An Update on Pathophysiology, Biomarkers, and Current Guidelines. *Life*, **13**, Article 350. <https://doi.org/10.3390/life13020350>
- [9] Xiang, L., Ren, H., Wang, Y., Zhang, J., Qian, J., Li, B., *et al.* (2021) Clinical Value of Pediatric Sepsis-Induced Coagulopathy Score in Diagnosis of Sepsis-Induced Coagulopathy and Prognosis in Children. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **19**, 2930-2937. <https://doi.org/10.1111/jth.15500>
- [10] Gong, T., Liu, Y., Tian, Z., Zhang, M., Gao, H., Peng, Z., *et al.* (2022) Identification of Immune-Related Endoplasmic Reticulum Stress Genes in Sepsis Using Bioinformatics and Machine Learning. *Frontiers in Immunology*, **13**, Article ID: 995974. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.995974>
- [11] Islam, M.M., Rahman, M.J., Rabby, M.S., Alam, M.J., Pollob, S.M.A.I., Ahmed, N.A.M.F., *et al.* (2023) Predicting the Risk of Diabetic Retinopathy Using Explainable Machine Learning Algorithms. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, **17**, Article 102919. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2023.102919>
- [12] Lai, Y., Lin, P., Lin, F., Chen, M., Lin, C., Lin, X., *et al.* (2022) Identification of Immune Microenvironment Subtypes and Signature Genes for Alzheimer's Disease Diagnosis and Risk Prediction Based on Explainable Machine Learning. *Frontiers in Immunology*, **13**, Article ID: 1046410. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1046410>
- [13] Subramanian, A., Tamayo, P., Mootha, V.K., Mukherjee, S., Ebert, B.L., Gillette, M.A., *et al.* (2005) Gene Set Enrichment Analysis: A Knowledge-Based Approach for Interpreting Genome-Wide Expression Profiles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **102**, 15545-15550. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506580102>
- [14] Trapnell, C., Cacchiarelli, D., Grimsby, J., Pokharel, P., Li, S., Morse, M., *et al.* (2014) The Dynamics and Regulators of Cell Fate Decisions Are Revealed by Pseudotemporal Ordering of Single Cells. *Nature Biotechnology*, **32**, 381-386. <https://doi.org/10.1038/nbt.2859>
- [15] Fang, Z., Tian, Y., Sui, C., Guo, Y., Hu, X., Lai, Y., *et al.* (2022) Single-Cell Transcriptomics of Proliferative Phase Endometrium: Systems Analysis of Cell-Cell Communication Network Using Cellchat. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **10**, Article ID: 919731. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.919731>
- [16] Li, Y., Yu, J., Li, R., Zhou, H. and Chang, X. (2024) New Insights into the Role of Mitochondrial Metabolic Dysregulation and Immune Infiltration in Septic Cardiomyopathy by Integrated Bioinformatics Analysis and Experimental

- Validation. *Cellular & Molecular Biology Letters*, **29**, Article No. 21. <https://doi.org/10.1186/s11658-024-00536-2>
- [17] Fleischmann, C., Scherag, A., Adhikari, N.K.J., Hartog, C.S., Tsaganos, T., Schlattmann, P., *et al.* (2016) Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-Treated Sepsis: Current Estimates and Limitations. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **193**, 259-272. <https://doi.org/10.1164/rccm.201504-0781oc>
- [18] Rhee, C., Dantes, R., Epstein, L., Murphy, D.J., Seymour, C.W., Iwashyna, T.J., *et al.* (2017) Incidence and Trends of Sepsis in US Hospitals Using Clinical vs Claims Data, 2009-2014. *JAMA*, **318**, 1241-1249. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.13836>
- [19] Álvaro-Meca, A., Jiménez-Sousa, M.A., Micheloud, D., Sánchez-Lopez, A., Heredia-Rodríguez, M., Tamayo, E., *et al.* (2018) Epidemiological Trends of Sepsis in the Twenty-First Century (2000-2013): An Analysis of Incidence, Mortality, and Associated Costs in Spain. *Population Health Metrics*, **16**, Article No. 4. <https://doi.org/10.1186/s12963-018-0160-x>
- [20] Iba, T., Umemura, Y., Wada, H. and Levy, J.H. (2021) Roles of Coagulation Abnormalities and Microthrombosis in Sepsis: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. *Archives of Medical Research*, **52**, 788-797. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2021.07.003>
- [21] Giustozzi, M., Ehrlinder, H., Bongiovanni, D., Borovac, J.A., Guerreiro, R.A., Gąsecka, A., *et al.* (2021) Coagulopathy and Sepsis: Pathophysiology, Clinical Manifestations and Treatment. *Blood Reviews*, **50**, Article 100864. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2021.100864>
- [22] Fu, L., Deng, R., Huang, Y., Yang, X., Jiang, N., Zhou, J., *et al.* (2022) DGKA Interacts with SRC/FAK to Promote the Metastasis of Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Letters*, **532**, Article 215585. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2022.215585>
- [23] Noessner, E. (2017) DGK- α : A Checkpoint in Cancer-Mediated Immuno-Inhibition and Target for Immunotherapy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **5**, Article ID: 16. <https://doi.org/10.3389/fcell.2017.00016>
- [24] Yang, E., Singh, B.K., Paustian, A.M.S. and Kambayashi, T. (2016) Diacylglycerol Kinase Z Is a Target to Enhance NK Cell Function. *The Journal of Immunology*, **197**, 934-941. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600581>
- [25] Noh, J., Lim, K., Bae, O., Chung, S., Lee, S., Joo, K., *et al.* (2010) Procoagulant and Prothrombotic Activation of Human Erythrocytes by Phosphatidic Acid. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, **299**, H347-H355. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01144.2009>
- [26] Alasmari, B.G., Alqahtani, S.M., Alabbas, A., Saeed, M., Elzubair, L., Alqahtani, F.S., *et al.* (2024) A Novel Variant of GP9 Gene Resulting in Bernard-Soulier Syndrome: A Case Report. *Cureus*, **16**, e76363. <https://doi.org/10.7759/cureus.76363>
- [27] Li, J., Li, J., Li, X., Wang, W., Ding, Y., Zhou, J., *et al.* (2024) Identification of Coagulation Diagnostic Biomarkers Related to the Severity of Spinal Cord Injury. *International Immunopharmacology*, **137**, Article 112505. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112505>
- [28] Jiang, X., Zhong, R., Dai, W., Huang, H., Yu, Q., Zhang, J.A., *et al.* (2021) Exploring Diagnostic Biomarkers and Comorbid Pathogenesis for Osteoarthritis and Metabolic Syndrome via Bioinformatics Approach. *International Journal of General Medicine*, **14**, 6201-6213. <https://doi.org/10.2147/ijgm.s325561>
- [29] Wang, Z., Li, S., Cai, G., Gao, Y., Yang, H., Li, Y., *et al.* (2024) Mendelian Randomization Analysis Identifies Druggable Genes and Drugs Repurposing for Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **14**, Article ID: 1386506. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1386506>
- [30] Lin, Q., Zhou, R., Meng, P., Wu, L., Yang, L., Liu, W., *et al.* (2022) Establishment of a Bernard-Soulier Syndrome Model in Zebrafish. *Haematologica*, **107**, 1655-1668. <https://doi.org/10.3324/haematol.2021.278893>
- [31] Wang, H., Li, H., Guo, Z., Hou, H., Hou, H. and Chen, B. (2025) Immunoglobulin G N-Glycome as a Biomarker of Mortality Risk in Escherichia Coli Induced Sepsis. *Frontiers in Immunology*, **16**, Article ID: 1532145. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1532145>
- [32] Maulon, L., Guérin, S., Ricci, J., FarahiFar, D., Breitmayer, J. and Auberger, P. (1998) T-Cell Receptor Signaling Pathway Exerts a Negative Control on Thrombin-Mediated Increase in $[Ca^{2+}]_i$ and P38 MAPK Activation in Jurkat T Cells: Implication of the Tyrosine Kinase P56lck. *Blood*, **91**, 4232-4241. https://doi.org/10.1182/blood.v91.11.4232.411k32_4232_4241
- [33] Joyce, D.E., Chen, Y., Erger, R.A., Koretzky, G.A. and Lentz, S.R. (1997) Functional Interactions between the Thrombin Receptor and the T-Cell Antigen Receptor in Human T-Cell Lines. *Blood*, **90**, 1893-1901. <https://doi.org/10.1182/blood.v90.5.1893>
- [34] Krautz, C., Maier, S.L., Brunner, M., Langheinrich, M., Giamarellos-Bourboulis, E.J., Gogos, C., *et al.* (2018) Reduced Circulating B Cells and Plasma IGM Levels Are Associated with Decreased Survival in Sepsis—A Meta-Analysis. *Journal of Critical Care*, **45**, 71-75. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2018.01.013>

-
- [35] Wu, C., Yu, X., Gai, W., Liu, Y., Qi, Y., Zheng, Y., *et al.* (2023) Diagnostic Value of Plasma and Blood Cells Meta-genomic Next-Generation Sequencing in Patients with Sepsis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **683**, Article 149079. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2023.10.011>
- [36] Ma, C., Liu, H., Yang, S., Li, H., Liao, X. and Kang, Y. (2022) The Emerging Roles and Therapeutic Potential of B Cells in Sepsis. *Frontiers in Pharmacology*, **13**, Article ID: 1034667. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1034667>
- [37] Al Duhailib, Z., Farooqi, M., Piticar, J., Alhazzani, W. and Nair, P. (2021) The Role of Eosinophils in Sepsis and Acute Respiratory Distress Syndrome: A Scoping Review. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal Canadien d'anesthésie*, **68**, 715-726. <https://doi.org/10.1007/s12630-021-01920-8>
- [38] Zhang, H., Wang, Y., Qu, M., Li, W., Wu, D., Cata, J.P., *et al.* (2023) Neutrophil, Neutrophil Extracellular Traps and Endothelial Cell Dysfunction in Sepsis. *Clinical and Translational Medicine*, **13**, e1170. <https://doi.org/10.1002/ctm2.1170>
- [39] Iba, T., Levi, M. and Levy, J.H. (2020) Sepsis-Induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, **46**, 089-095. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1694995>