

เครือข่ายควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบ  
จากข้อมูลไมโครอาร์เรย์  
Gene regulatory network of inflammatory response from microarray data

พศิกา ไบยา, วิลัยพร ศรีตะบุตร และ พิทักษ์ สูตรอนันต์\*  
Pasika Baiya, Wilaipon Sritaboot and Pitak Sootanan\*  
ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

การอักเสบเป็นกระบวนการที่ร่างกายตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นภายนอกทำให้เกิดโรคในสิ่งมีชีวิต การศึกษากระบวนการควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ จะช่วยให้เราสามารถเข้าใจกลไกที่เกี่ยวข้องได้ดียิ่งขึ้น การศึกษานี้ผู้วิจัยได้นำข้อมูลไมโครอาร์เรย์ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบของเซลล์แมคโครฟาจหนู RAW 264.7 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย LPS จากฐานข้อมูลสาธารณะไปตรวจหากลุ่มยีนและทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบ โดยอาศัยการสร้างเครือข่ายการควบคุมการแสดงออกของยีนและการคัดกรองข้อมูลที่เกี่ยวข้องโดยการสืบค้นวารสารวิจัย ผลที่ได้คือเครือข่ายที่มียีนจำนวน 5 ยีน คือ *MEF2A*, *NFKB1*, *NFKB2*, *NFATC1* และ *NFATC3* ที่สร้างทรานสคริปชันแฟคเตอร์ MEF2, NF-KB และ NFAT ซึ่งควบคุมยีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบจำนวน 64 ยีน ซึ่งมีการแสดงออกมากกว่า 1.4 เท่า และพบ 6 ยีนที่เป็นยีนตอบสนองการอักเสบ ซึ่งถูกควบคุมด้วยกลุ่มของทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่แตกต่างกันไปตามแต่ละช่วงของเวลา โดยมีทรานสคริปชันแฟคเตอร์ MEF2 ศูนย์กลางการควบคุมที่สำคัญของการแสดงออกของยีนตอบสนองการอักเสบ 4 ชนิด ในช่วงเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเราสามารถนำข้อมูลไมโครอาร์เรย์มาใช้เพื่อตรวจสอบกลไกการควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้อง ซึ่งจะทำให้เราสามารถเรียนรู้และทำความเข้าใจกลไกการอักเสบในระดับโมเลกุลได้ดียิ่งขึ้น

คำสำคัญ : เครือข่ายควบคุมการแสดงออกของยีน / ไมโครอาร์เรย์ / การอักเสบ / ทรานสคริปชันแฟคเตอร์

Abstract

Inflammation is a process of vascular tissues that response to harmful stimuli such as injury, pathogens or irritants. Study of gene expression regulatory network of inflammation leads to more understand of involved mechanisms. The use of microarray datasets of LPS-stimulated mouse macrophage RAW 256.7 and TF-TG (transcription factors and their target genes) data were used to search for the responsive TFs and their TGs by constructing of gene regulatory network and data filtering with literatures. The results found 5 genes such as *MEF2A*, *NFKB1*, *NFKB2*, *NFATC1* and *NFATC3* that encoded 3 TF proteins such as MEF2, NF-KB and NFAT. These regulated 64 target genes with more than 1.4 fold change. There were 6 inflammatory responsive genes regulated by various TFs according to time-series. TF protein MEF2 is the important hub to regulate the expression of four inflammatory genes at 3 and 6 hr. In addition, public microarray and TF-TG data can be used to discovered gene regulatory network to more understand inflammatory mechanisms.

Keywords : Gene regulatory network / Microarray / Inflammation / Transcription factor

\*Corresponding author. E-mail: pitak@buu.ac.th

## 1. บทนำ

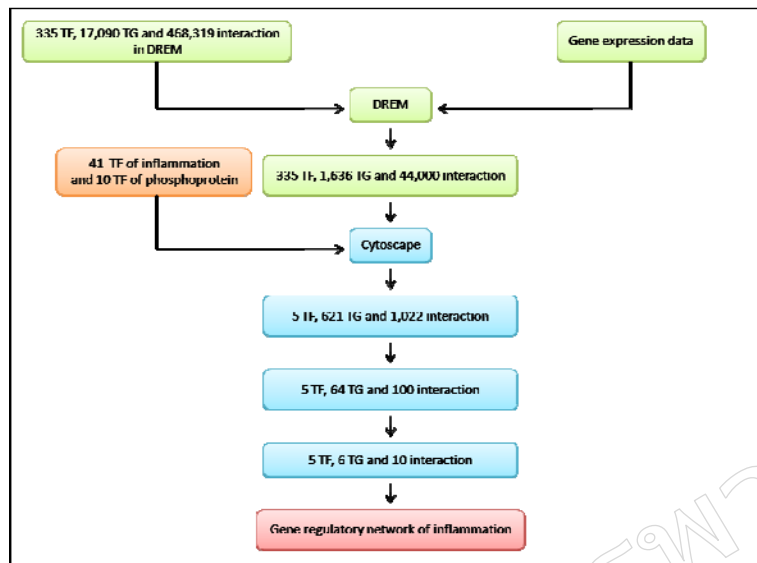
การอักเสบ (inflammation) เป็นกระบวนการที่ร่างกายตอบสนองต่อสิ่งที่ทำให้เนื้อเยื่อของร่างกายได้รับบาดเจ็บจากสิ่งกระตุ้นภายนอก เซลล์ที่มีบทบาทต่อกระบวนการตอบสนองการอักเสบคือเซลล์แมคโครฟาจ (macrophage) ซึ่งเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่สำคัญในระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิด โดยมีโปรตีนตัวรับจดจำรูปแบบ (pattern recognition receptors, PRRs) ที่จะคอยจดจำโครงสร้างของโมเลกุลสิ่งแปลกปลอม (pathogen-associated molecular pattern, PAMPs) ซึ่ง PRRs ที่สำคัญคือ โปรตีนตัวรับชนิดทอลล์ (toll-like receptors, TLRs) ซึ่งเป็นโปรตีนตัวรับที่ทำหน้าที่จับไลโปพอลิแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide; LPS) (Nilsson *et al.*, 2006) การอักเสบเป็นส่วนสำคัญของกระตุ้นและการแสดงออกของยีน ตัวอย่างเช่น กลไกการส่งสัญญาณของตัวรับชนิดทอลล์ในเซลล์แมคโครฟาจ ที่ประกอบด้วยชุดควบคุมการแสดงออกที่หลากหลายของยีน ซึ่งถูกควบคุมได้โดยการทำงานของทรานสคริปชันแฟคเตอร์ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโครมาติน และการเกิดเมทิลเลชันบนสายดีเอ็นเอ (Medzhitov and Homg, 2009) ถ้าหากไม่มีกระบวนการอักเสบเกิดขึ้น ร่างกายจะไม่สามารถกำจัดสิ่งแปลกปลอมนั้นออกไปได้ เนื้อเยื่อจะเกิดการบาดเจ็บโดยที่ไม่มีการซ่อมแซมและทำให้การทำงานของเนื้อเยื่อเหล่านั้นเกิดความผิดปกติที่อาจจะพัฒนาต่อไปเป็นโรคที่เกิดจากการอักเสบเรื้อรังได้ (Hoesel and Schmid, 2013)

การทำความเข้าใจกลไกที่เกี่ยวข้องจากการตอบสนองการอักเสบที่เกิดขึ้น สามารถช่วยลดปัญหาที่เกิดขึ้นจากการอักเสบได้จากเหตุผลข้างต้น เทคโนโลยีไมโครอาร์เรย์ได้ถูกนำมาใช้ในการตรวจสอบการแสดงออกของยีนจำนวนมากที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการตอบสนองการอักเสบ โดยเฉพาะการตอบสนองของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่มีต่อไลโปพอลิแซคคาไรด์ (Comer *et al.*, 2006 และ Hammer *et al.*, 2010) ซึ่งมักนิยมใช้เป็นต้นแบบของการศึกษาการตอบสนองการอักเสบที่เกิดขึ้น และจากการพัฒนาข้อมูลระดับจีโนมของทรานสคริปชันแฟคเตอร์และยีนเป้าหมายที่ถูกควบคุมการแสดงออก (Kanamori *et al.*, 2004 และ Schulz *et al.*, 2012) ทำให้สามารถนำข้อมูลข้างต้นมาใช้ในการสร้างเครือข่ายการควบคุมการแสดงออกของยีนระดับทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบ เพื่อเรียนรู้และทำความเข้าใจกลไกการควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องได้ การตรวจสอบกลไกดังกล่าวขึ้นอยู่กับรูปแบบการศึกษาของข้อมูลไมโครอาร์เรย์ที่เลือกใช้ ทำให้สามารถตรวจสอบการแสดงออกของยีนตามช่วงเวลาหรือตรวจสอบตามโดสของยาที่สนใจศึกษาได้ นอกจากนี้ผลการแสดงออกของยีนที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงสามารถนำมาสร้างเครือข่ายการควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ และสามารถอธิบายกลไกการควบคุมการอักเสบเพื่อช่วยลดกระบวนการอักเสบของเซลล์ได้

ในการศึกษานี้ผู้วิจัยได้นำข้อมูลไมโครอาร์เรย์จากฐานข้อมูลสาธารณะ GEO (Gene Expression Omnibus) (Edgar *et al.*, 2002) ได้แก่ ชุดข้อมูลไมโครอาร์เรย์ GSE4712 (Comer *et al.*, 2006) และ GSE21841 (Hammer *et al.*, 2010) โดยจะทำการคัดเลือกเฉพาะข้อมูลของกลุ่มตัวอย่างที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาการตอบสนองการอักเสบของเซลล์แมคโครฟาจที่มีต่อสารกระตุ้นด้วย LPS ผ่านกระบวนการเตรียมและปรับเทียบมาตรฐาน และการตรวจวัดค่าระดับการแสดงออกแบบฟลัดเชนจ์ (flow change) แล้วนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการคัดเลือกทรานสคริปชันแฟคเตอร์และยีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องโดยการตรวจสอบร่วมกับข้อมูลระดับจีโนมของทรานสคริปชันแฟคเตอร์และยีนเป้าหมายในโปรแกรม Dynamic Regulatory Events Miner (DREM) (Schulz *et al.*, 2012) จากนั้นทำการสร้างเครือข่ายการควบคุมการแสดงออกของยีนของกลุ่มยีนที่มีระดับการแสดงออกมากกว่า 1.4 เท่า ในแต่ละช่วงเวลาที่เปรียบเทียบ และคัดเลือกเฉพาะทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบโดยอาศัยข้อมูลจากบทความวิจัยที่กล่าวถึงการตรวจวัดระดับฟอสโฟโปรตีนที่บ่งบอกถึง การส่งผ่านสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบ (Weintz *et al.*, 2010) เพื่อนำมาใช้ในการอธิบายกลไกการตอบสนองการอักเสบที่เกิดขึ้นตามช่วงเวลาการศึกษา

## 2. วิธีการ

การสร้างเครือข่ายการควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบ เพื่อตรวจสอบกลไกการควบคุมการอักเสบในระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยไลโปพอลิแซคคาไรด์ โดยมีขั้นตอนดังแสดงในภาพที่ 1 ซึ่งประกอบด้วยการคัดเลือกทรานสคริปชันแฟคเตอร์และยีนเป้าหมายร่วมกับข้อมูลการแสดงออกของยีนโดย DREM (Schulz *et al.*, 2012) แล้วทำการคัดกรองทรานสคริปชันแฟคเตอร์จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ และคัดกรองร่วมกับทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่เป็นฟอสโฟโปรตีน จากนั้นทำการสร้างเครือข่ายการควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบโดย Cytoscape (Cline *et al.*, 2007) ซึ่งมีรายละเอียดวิธีการในแต่ละขั้นตอนดังต่อไปนี้



ภาพที่ 1 แผนภาพแสดงขั้นตอนการคัดกรองทรานสคริปชันแฟคเตอร์

## 2.1 ข้อมูลไมโครอาร์เรย์และการเตรียมข้อมูล

ดาวน์โหลดชุดข้อมูลไมโครอาร์เรย์จากฐานข้อมูลสาธารณะ GEO (Gene Expression Omnibus, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>, Edgar *et al.*, 2002) ได้แก่ ชุดข้อมูลไมโครอาร์เรย์ GSE4712 (Comer *et al.*, 2006) และ GSE21841 (Hammer *et al.*, 2010) ซึ่งใช้ Affymetrix Mouse Genome 430 2.0 Array (GPL1261) เป็นแพลตฟอร์มของชิปไมโครอาร์เรย์เหมือนกัน โดยทำการคัดเลือกเฉพาะตัวอย่างที่เกี่ยวข้อง จากชุดข้อมูลไมโครอาร์เรย์ GSE4712 มีจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 21 ตัวอย่าง ซึ่งนำมาใช้จำนวน 9 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วยตัวอย่างที่ไม่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปพอลิแซคคาไรด์ 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปพอลิแซคคาไรด์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง มีอยู่ 3 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปพอลิแซคคาไรด์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีอยู่ 3 ตัวอย่าง ส่วนชุดข้อมูลไมโครอาร์เรย์ GSE21841 มีจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 18 ตัวอย่าง นำมาใช้จำนวน 6 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างที่ไม่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปพอลิแซคคาไรด์ 3 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปพอลิแซคคาไรด์เป็นเวลา 8 ชั่วโมง 3 ตัวอย่าง แล้วทำการคัดเลือกโปรตีนที่มีการแสดงออกของยีนเฉลี่ยมากที่สุดเป็นตัวแทนของระดับการแสดงออกของยีน จะได้ยีนจำนวน 21,678 ยีน จากนั้นนำมาตรวจวัดระดับการแสดงออกของยีน โดยอาศัยวิธีการเปรียบเทียบกับค่าโพลด์เซนจ์ ซึ่งเป็นการตรวจวัดค่าจำนวนเท่าของการแสดงออกระหว่างสภาวะที่มีไลโปพอลิแซคคาไรด์ในแต่ละช่วงเวลา กับสภาวะที่ไม่มี ก่อนนำค่าที่ได้มาปรับมาตรฐานด้วยการคำนวณค่าลอการิทึมฐานสอง เพื่อแสดงทิศทางการแสดงออกของยีนในทางบวกและลบ (up- และ down-regulation) เพื่อนำไปใช้สำหรับคัดเลือกยีนที่สร้างทรานสคริปชันแฟคเตอร์และยีนเป้าหมายต่อไป

## 2.2 การคัดเลือกปฏิสัมพันธ์ระหว่างทรานสคริปชันแฟคเตอร์และยีนเป้าหมาย

จากข้อมูลไมโครอาร์เรย์ที่เตรียมไว้ข้างต้น และข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของการควบคุมระหว่างทรานสคริปชันแฟคเตอร์กับยีนเป้าหมาย (TF-TG interaction) ซึ่งในที่นี้จะใช้ข้อมูลของหนูเมาส์ (Mouse; *Mus musculus*) (Ernst *et al.*, 2010) เนื่องจากเป็นสิ่งมีชีวิตต้นกำเนิดของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 โดยข้อมูลนี้จะประกอบด้วยทรานสคริปชันแฟคเตอร์จำนวน 335 ชนิด และยีนเป้าหมายจำนวน 17,090 ยีน และมีปฏิสัมพันธ์ของการควบคุมระหว่างทรานสคริปชันแฟคเตอร์กับยีนเป้าหมายจำนวน 468,319 ปฏิสัมพันธ์ ข้อมูลนี้จะถูกบรรจุอยู่ในฐานข้อมูลของโปรแกรม DREM (Schulz *et al.*, 2012) มาผ่านกระบวนการคัดเลือกทรานสคริปชันแฟคเตอร์และยีนเป้าหมายโดย DREM จากนั้นทำการคัดกรองทรานสคริปชันแฟคเตอร์จากบทความวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาการตอบสนองของการอักเสบ โดยพบทรานสคริปชันแฟคเตอร์จำนวน 41 ชนิด (Medzhitov and Horng, 2009., Nilsson *et al.*, 2006. และ Ravasi *et al.*, 2007) และทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่เป็นฟอสโฟโปรตีนจำนวน 10 ชนิด (Weintz *et al.*, 2010) เพื่อให้ง่ายต่อการวิเคราะห์และแปลความหมายทางชีวภาพมากขึ้น แล้วทำการเลือกยีนเป้าหมายที่มีค่าโพลด์เซนจ์มากกว่า 1.4 ก่อนนำมาแสดงผลร่วมกันระหว่างเครือข่ายของปฏิสัมพันธ์ของการควบคุมระหว่างทรานสคริปชันแฟคเตอร์กับยีนเป้าหมาย และค่าระดับการแสดงออกของยีนแต่ละชนิด

### 2.3 การสร้างเครือข่ายการควบคุมการแสดงออกของยีนและการแปลผลทางชีวภาพ

จากข้อมูลปฏิสัมพันธ์ระหว่างทรานสคริปชันแฟคเตอร์และยีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว และข้อมูลซึ่งแสดงระดับการแสดงออกของยีนแบบโพลีเซนจ์ นำมาสร้างเครือข่ายการควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบ โดยใช้โปรแกรม Cytoscape (<http://www.cytoscape.org>; Cline *et al.*, 2007) โดยข้อมูลการแสดงออกของยีนที่แสดงผลแบบโพลีเซนจ์ หากมีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นในสภาวะที่มีไลโปพอลิแซคคาไรด์จะแสดงผลของยีนเป็นสีแดง (fold change > 1.4) และหากมีการแสดงออกที่ลดลงในสภาวะที่มีไลโปพอลิแซคคาไรด์จะแสดงผลของยีนเป็นสีเขียว (fold change < -1.4) และใช้การทดสอบทางสถิติ one-sample-t-test ในการคัดเลือกยีนที่มีระดับการแสดงออกที่เปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลาอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ , fold change > 1.4) หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์ยีนเป้าหมายด้วยบิงโก (BiNGO, Maere *et al.*, 2005) โดยเลือกการจัดกลุ่มยีนตามโมเลกุลาร์ฟังก์ชัน (Ashburner *et al.*, 2000) เพื่อตรวจสอบหน้าที่การทำงานเชิงชีวภาพของยีนเป้าหมาย และจะได้เครือข่ายการควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบในเซลล์แมคโครฟาจ ซึ่งเครือข่ายที่ได้นี้จะแสดงให้เห็นถึงกิจกรรมของทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่มีต่อยีนเป้าหมาย และระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบในแต่ละช่วงเวลาที่น่าสนใจ

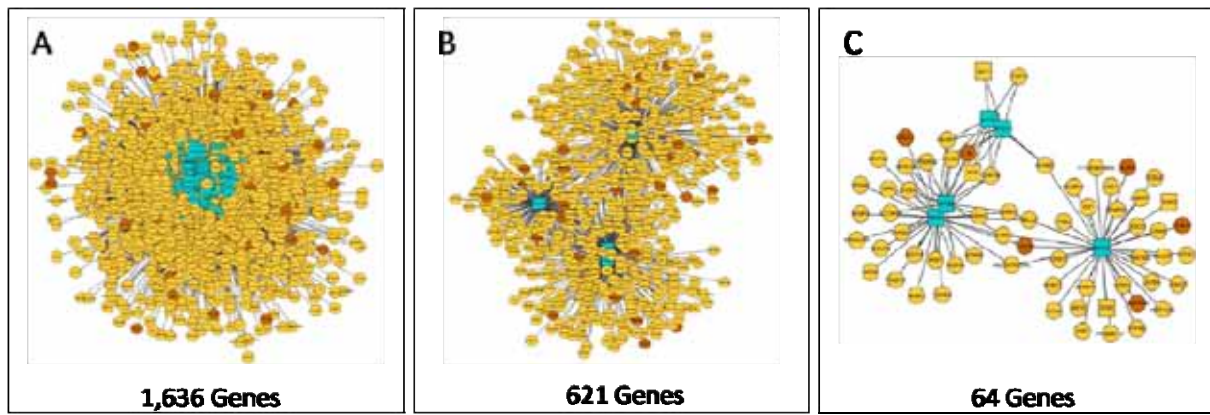
### 3. ผลและอภิปราย

ในงานวิจัยนี้ได้เริ่มต้นโดยการใช้ข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของทรานสคริปชันแฟคเตอร์กับยีนเป้าหมาย ซึ่งเป็นข้อมูลที่บรรจุอยู่ในโปรแกรม DREM (Schulz *et al.*, 2012) ของหนูเมาส์ (*Mus musculus*) (Ernst *et al.*, 2010) ซึ่งประกอบไปด้วยทรานสคริปชันแฟคเตอร์จำนวน 335 ชนิด ยีนเป้าหมายจำนวน 17,090 ยีน และปฏิสัมพันธ์ของการควบคุมระหว่างทรานสคริปชันแฟคเตอร์กับยีนเป้าหมายจำนวน 468,319 ปฏิสัมพันธ์ (ตารางที่ 1) เมื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาตรวจสอบกับข้อมูลไมโครอาร์เรย์ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองของเซลล์แมคโครฟาจที่มีต่อไลโปพอลิแซคคาไรด์ในระยะเวลา 3, 6 และ 8 ชั่วโมง (Comer *et al.*, 2006 และ Hammer *et al.*, 2010) จะได้ทรานสคริปชันแฟคเตอร์จำนวน 335 ชนิด ยีนเป้าหมายจำนวน 1,636 ยีน และปฏิสัมพันธ์จำนวน 44,000 ปฏิสัมพันธ์ (ตารางที่ 1) จากผลการทดลองจะเห็นว่ากลไกที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบของกลุ่มยีนที่ถูกคัดเลือกโดย DREM นั้นจะถูกควบคุมโดยทรานสคริปชันแฟคเตอร์เป็นจำนวนมาก คือจำนวนทั้งหมดที่มีจากฐานข้อมูล แต่ยีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบจะมีจำนวนลดลงมาเหลือเพียงร้อยละ 15.27 ภายหลังจากคัดกรองทรานสคริปชันแฟคเตอร์จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Medzhitov *et al.*, 2009., Nilsson *et al.*, 2006., Ravasi *et al.*, 2007 และ Weintz *et al.*, 2010) จะได้ทรานสคริปชันแฟคเตอร์จำนวน 5 ชนิด ยีนเป้าหมายจำนวน 621 ยีน และปฏิสัมพันธ์จำนวน 1,022 ปฏิสัมพันธ์ และเมื่อคัดเลือกยีนเป้าหมายที่มีค่าโพลีเซนจ์มากกว่า 1.4 ทั้งในทิศทางบวกและลบ คือมีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นและลดลงตามลำดับ จะทำให้ได้ทรานสคริปชันแฟคเตอร์จำนวน 5 ชนิด ยีนเป้าหมายจำนวน 64 ยีน และปฏิสัมพันธ์จำนวน 100 ปฏิสัมพันธ์ (ตารางที่ 1) การเลือกใช้ข้อมูล ทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่ได้จากการตรวจวัดระดับฟอสโฟโปรตีน เพื่อเป็นการยืนยันว่าทรานสคริปชันแฟคเตอร์ชนิดนั้นมีการทำงานเกิดขึ้นจริง (Weintz *et al.*, 2010) ทำให้เราสามารถลดจำนวนของยีนเป้าหมายลงได้มากเพื่อให้ง่ายต่อการแปลผล และไม่ใช่ว่าทุกยีนที่มีการเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกหรือปริมาณ mRNA ดังนั้นเมื่อคัดกรองจากค่าโพลีเซนจ์ของยีน จึงสามารถลดจำนวนยีนเป้าหมายลงเหลือเฉพาะยีนที่มีการเปลี่ยนแปลงชัดเจนอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ , fold change > 1.4) และเมื่อพิจารณาเฉพาะยีนที่เคยรายงานมาก่อนว่าเกี่ยวข้องกับการอักเสบจะเหลือยีนเป้าหมายจำนวน 6 ยีน และปฏิสัมพันธ์จำนวน 10 ปฏิสัมพันธ์ ในขณะที่จำนวนทรานสคริปชันแฟคเตอร์ยังคงเดิม ก็จะทำให้การแปลผลที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองตามช่วงเวลาตรวจสอบได้ง่ายขึ้น

**ตารางที่ 1** จำนวนทรานสคริปชันแฟคเตอร์ ยีนเป้าหมาย และปฏิสัมพันธ์ของการควบคุมระหว่างทรานสคริปชันแฟคเตอร์กับยีนเป้าหมายภายหลังการวิเคราะห์ผลในแต่ละขั้นตอน

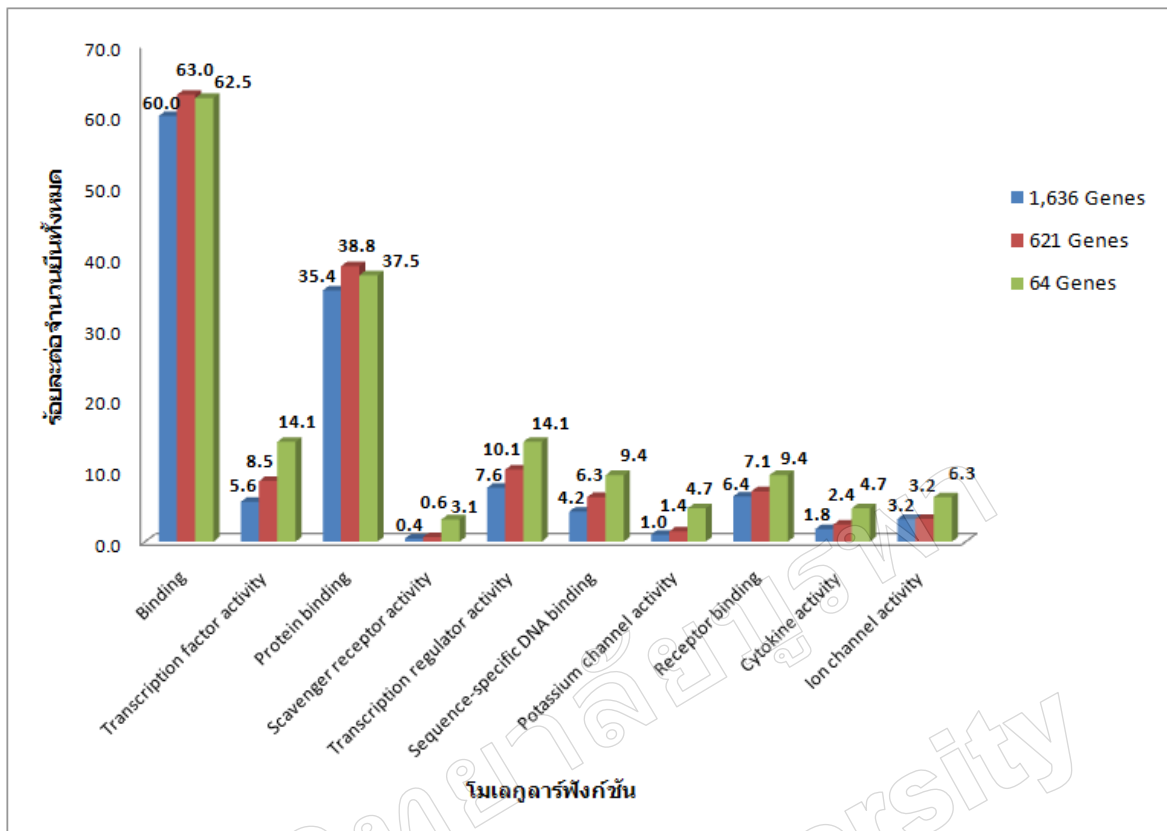
ผลการวิเคราะห์	ทรานสคริปชันแฟคเตอร์ (ชนิด)	ยีนเป้าหมาย (ยีน)	ปฏิสัมพันธ์ของการควบคุม (ปฏิสัมพันธ์)
ข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของการควบคุมระหว่างทรานสคริปชันแฟคเตอร์กับยีนเป้าหมายหนูเมาส์	335	17,090	468,319
ผลจากการวิเคราะห์ข้อมูลการแสดงออกของยีนในชุดข้อมูลไมโครอาร์เรย์	335	1,636	44,000
ผลจากการคัดเลือกทรานสคริปชันแฟคเตอร์จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและฟอสโฟโปรตีน	5	621	1,022
ผลจากการคัดเลือกยีนที่มีค่าโพลดีเซนจ์มากกว่า 1.4 ซึ่งถือเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ	5	64	100
ผลจากการคัดเลือกยีนที่ตอบสนองการอักเสบจากการแบ่งกลุ่มฟังก์ชันของยีน	5	6	10

จากผลการคัดเลือกทรานสคริปชันแฟคเตอร์ ยีนเป้าหมาย และปฏิสัมพันธ์ของการควบคุมระหว่างทรานสคริปชันแฟคเตอร์กับยีนเป้าหมาย จะสามารถแสดงผลเครือข่ายได้ดังภาพที่ 2 ซึ่งภาพ 2A เป็นเครือข่ายที่มาจากผลการวิเคราะห์ข้อมูลการแสดงออกของยีนในชุดข้อมูลไมโครอาร์เรย์ ภาพ 2B เป็นเครือข่ายที่มาจากผลการคัดเลือกจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ และภาพ 2C เป็นเครือข่ายที่มาจากผลการคัดเลือกยีนเป้าหมายที่มีค่าโพลดีเซนจ์มากกว่า 1.4 ซึ่งถือว่าเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ โดยสีเหลี่ยมสีฟ้าแสดงทรานสคริปชันแฟคเตอร์ วงกลมสีน้ำตาลแสดงยีนเป้าหมายซึ่งเป็นยีนที่ตอบสนองการอักเสบ (inflammatory response genes) จากการแบ่งกลุ่มฟังก์ชันของยีน (Ashburner *et al.*, 2000) สำหรับวงกลมสีส้มจะแสดงยีนเป้าหมายอื่น จากภาพที่ 2C แสดงให้เห็นถึงเครือข่ายที่มีการแสดงภาพกลุ่มยีนที่ตรวจสอบแล้วว่าเกี่ยวข้องกับการอักเสบในวงกลมสีน้ำตาลจำนวนทั้งสิ้น 6 ยีน ซึ่งประกอบไปด้วย *ANKRD42*, *CXCL11*, *IL5RA*, *LTA*, *PLA2G7* และ *TYRO3* (Ashburner *et al.*, 2000) ซึ่งจะถูกนำไปอธิบายลักษณะการแสดงออกในแต่ละช่วงเวลาอีกครั้งดังภาพที่ 4 จากภาพแสดงให้เห็นว่าการคัดกรองข้อมูลทั้งจากทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่เกี่ยวข้องและยีนเป้าหมายที่แสดงออกสอดคล้องกับการตอบสนองการอักเสบ ช่วยลดความซับซ้อนและปริมาณของข้อมูล เพื่อให้เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการแปลผลทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องต่อไปได้ ซึ่งยีนเป้าหมายที่เป็นยีนที่ตอบสนองการอักเสบจะถูกลดจำนวนลงจากการคัดกรองข้อมูล และการแสดงผลภาพเครือข่ายจากข้อมูลปฏิสัมพันธ์โดยอาศัยโปรแกรม Cytoscape (Cline *et al.*, 2007) ก็ช่วยทำให้การตรวจสอบผลทำได้ง่ายขึ้น



**ภาพที่ 2** เครือข่ายและจำนวนยีนที่ได้จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลการแสดงออกของยีนในชุดข้อมูลไมโครอาร์เรย์จำนวน 1,636 ยีน (A) เครือข่ายที่มาจากผลการคัดเลือกจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบจำนวน 621 ยีน (B) และเครือข่ายที่มาจากผลการคัดเลือก ยีนเป้าหมายที่มีค่าโพลด์เซนจ์มากกว่า 1.4 จำนวน 64 ยีน (C)

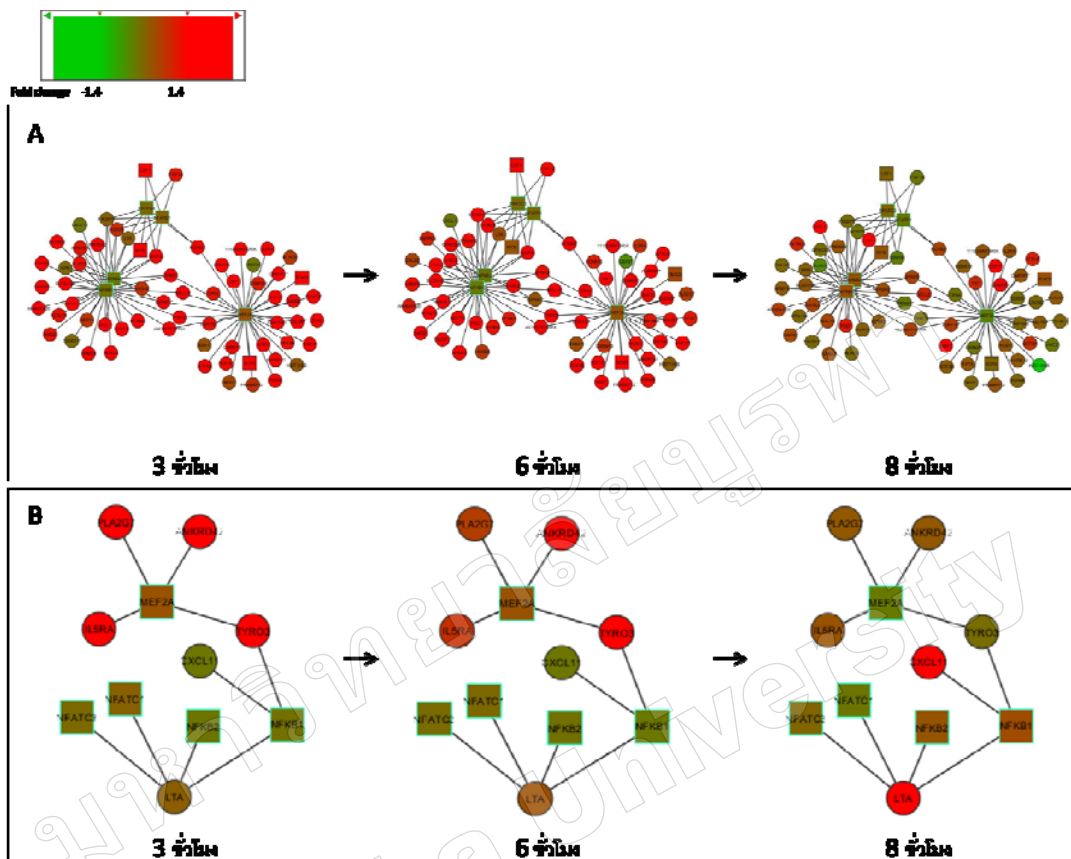
จากภาพที่ 2A จะเห็นว่าเครือข่ายมีขนาดใหญ่ซึ่งประกอบด้วยยีนจำนวนมากที่ถูกควบคุมโดยทรานสคริปชันแฟกเตอร์ โดยจะพบยีนเหล่านี้อยู่ในโมเลกุลาร์ฟังก์ชันต่างๆ ดังภาพที่ 3 ซึ่งแสดงถึงร้อยละของจำนวนยีนที่พบในโมเลกุลาร์ฟังก์ชันแต่ละชนิด เมื่อเทียบกับจำนวนยีนทั้งหมดของเครือข่าย 3 ชนิด ที่มีจำนวน 1,636 ยีน, 621 ยีน และ 64 ยีน ซึ่งโมเลกุลาร์ฟังก์ชันที่พบมีความเกี่ยวข้องกับกลไกการตอบสนองการอักเสบที่ประกอบไปด้วยกิจกรรมของ ทรานสคริปชันแฟกเตอร์ (Transcription factor activity, Transcription regulator activity และ Sequence-specific DNA binding) กิจกรรมของไซโตไคน์ (Cytokine activity) การจับกันของโปรตีน (Protein binding) โปรตีนตัวรับ (Receptor binding และ Scavenger receptor activity) โปรตีนขนส่งอิออนและเกลือแร่ (Potassium channel activity และ Ion channel activity) และเมื่อมีการลดขนาดของเครือข่ายที่วิเคราะห์ให้เล็กลงดังภาพที่ 2B และ 2C ก็ยังคงพบยีนสมาชิกในแต่ละกลุ่มข้างต้นที่ยังคงสัดส่วนของร้อยละของจำนวนยีนที่พบคงเดิมก็แสดงว่ากลุ่มโมเลกุลาร์ฟังก์ชันเหล่านี้มีความสำคัญต่อกลไกการตอบสนองการอักเสบ ที่เกิดขึ้นของเซลล์แมคโครฟาจหนู RAW 264.7 ที่มีต่อการกระตุ้นโดย LPS เนื่องมาจากกระบวนการตอบสนองการอักเสบเกิดจากการทำงานร่วมกันจากการแสดงออกของยีน เพื่อควบคุมกระบวนการอักเสบและช่วยลดการอักเสบของเซลล์ได้ (Ashburner *et al.*, 2000) ซึ่งให้ผลในทิศทางเดียวกับที่มีการศึกษาการตอบสนองการอักเสบของมนุษย์ (Chen *et al.*, 2008)



ภาพที่ 3 ร้อยละของจำนวนยีนที่ปรากฏในแต่ละกลุ่มโมเลกุลาร์ฟังก์ชันที่ถูกคัดเลือกจากเครือข่ายเมื่อเทียบกับยีนทั้งหมดจำนวน 1,636 ยีน, 621 ยีน และ 64 ยีน ซึ่งแกน X แสดงถึงโมเลกุลาร์ฟังก์ชัน และแกน Y แสดงร้อยละต่อจำนวนยีนทั้งหมด ที่ถูกพบในแต่ละโมเลกุลาร์ฟังก์ชัน

จากภาพที่ 4A เป็นเครือข่ายการควบคุมการแสดงออกของยีนในเวลา 3, 6 และ 8 ชั่วโมง ซึ่งมาจากผลการคัดเลือกยีนที่มีค่าโพลดีเซนจ์มากกว่า 1.4 จะเห็นว่ายีนมีระดับการแสดงออกในเวลา 3 และ 6 มากที่สุด และในเวลา 8 ชั่วโมง ยีนนั้นมีระดับการแสดงออกที่ลดลงที่มีการควบคุม โดยทรานสคริปชันแฟกเตอร์ในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปพอลิแซคคาไรด์ จากเครือข่ายนี้จะมียีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบดังแสดงในภาพที่ 4B ซึ่งเป็นเครือข่ายการควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบที่มีการแสดงออกเวลา 3, 6 และ 8 ชั่วโมง ซึ่งเครือข่ายนี้ประกอบด้วยทรานสคริปชันแฟกเตอร์จำนวน 5 ชนิด ยีนเป้าหมายจำนวน 6 ยีน และปฏิสัมพันธ์ของการควบคุมระหว่างทรานสคริปชันแฟกเตอร์กับยีนเป้าหมายจำนวน 10 ปฏิสัมพันธ์ เมื่อพิจารณาในระดับการแสดงออกที่เปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลา 3, 6 และ 8 ชั่วโมง ของกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบ (ภาพที่ 4B) จะพบว่ายีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบจะถูกควบคุมการแสดงออกโดยทรานสคริปชันแฟกเตอร์ที่แตกต่างกัน โดยที่ยีน *LTA* จะถูกควบคุมการแสดงออก โดยทรานสคริปชันแฟกเตอร์ *NFAT* (*NFATC1* และ *NFATC3*) และ *NF- $\kappa$ B* (*NFKB1* และ *NFKB2*) จะมีการแสดงออกที่เวลา 8 ชั่วโมง ยีน *TYRO3* จะถูกควบคุมการแสดงออกโดย *MEF2* (*MEF2A*) และ *NF- $\kappa$ B* (*NFKB1*) จะมีการแสดงออกที่เวลา 3 และ 6 ชั่วโมง ยีน *ANKRD42*, *IL5RA* และ *PLA2G7* จะถูกควบคุมการแสดงออกโดย *MEF2* (*MEF2A*) โดยที่ยีน *ANKRD42* จะมีการแสดงออกที่เวลา 3 และ 6 ชั่วโมง ส่วนยีน *IL5RA* และ *PLA2G7* จะมีการแสดงออกที่เวลา 3 ชั่วโมงเท่านั้น และยีน *CXCL11* จะถูกควบคุมการแสดงออกโดย *NF- $\kappa$ B* (*NFKB1*) จะมีการแสดงออกที่เวลา 8 ชั่วโมง และหากพิจารณาที่ศูนย์กลางการควบคุมการแสดงออกของยีนจากภาพที่ 4B พบว่าทรานสคริปชันแฟกเตอร์ *MEF2* (*MEF2A*) เป็นศูนย์กลางการควบคุมการแสดงออกของยีนในช่วงเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง โดยควบคุมให้เกิดการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้นของยีน *TYRO3*, *ANKRD42*, *IL5RA* และ *PLA2G7* ในเวลา 3 ชั่วโมง และจะเหลือการควบคุมเพียงยีน *TYRO3* และ *ANKRD42* ในช่วงเวลา 6 ชั่วโมง ส่วนในช่วงเวลา 8 ชั่วโมง *NF- $\kappa$ B* (*NFKB1* และ *NFKB2*) จะกลับมามีบทบาทในการควบคุมการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้นของยีน *CXCL11* และ *LTA* ซึ่งยีน *LTA*

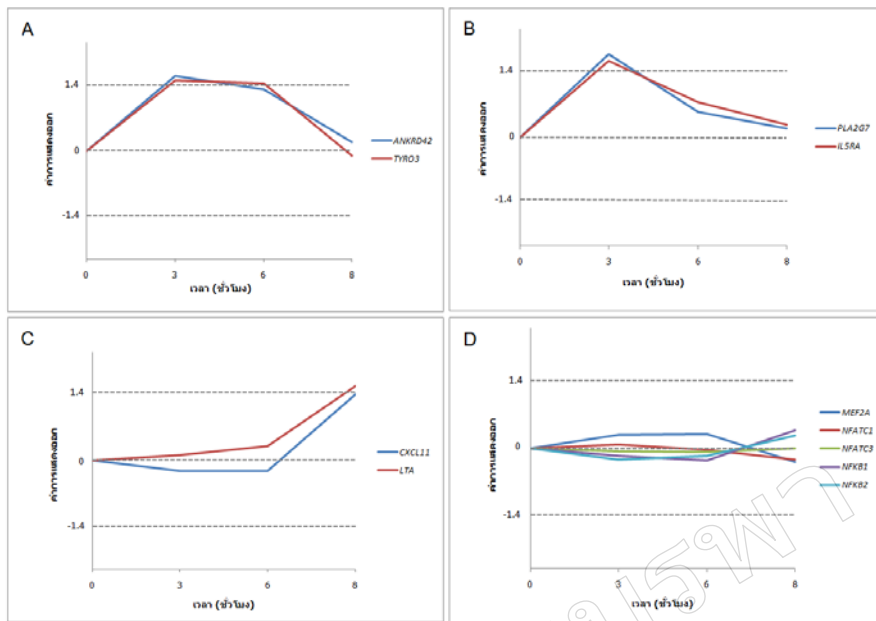
ก็จะถูกควบคุมได้ด้วยทรานสคริปชันแฟคเตอร์ NFAT (*NFATC1* และ *NFATC3*) เช่นกัน ซึ่งแสดงให้เห็นถึงแบบแผนของการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบที่ถูกควบคุมด้วยกลุ่มของทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่แตกต่างกันไปตามแต่ละช่วงของเวลา



**ภาพที่ 4** เครือข่ายการควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบ ที่มาจากผลการคัดเลือกยีนเป้าหมายที่มีค่าโพลด์เซนจ์มากกว่า 1.4 (A) และเมื่อคัดเลือกเฉพาะกลุ่มยีนเป้าหมายที่เป็นยีนตอบสนองการอักเสบจำนวน 6 ยีน (B) ซึ่งจะแสดงระดับการแสดงออกของยีนตามค่าโพลด์เซนจ์จากการแสดงออกที่ลดลง (สีเขียว) ไปยังค่าการแสดงออกที่เพิ่มขึ้น (สีแดง) สีเหลี่ยมแสดงทรานสคริปชันแฟคเตอร์ วงกลมแสดงยีนเป้าหมาย

จากเครือข่ายการควบคุมยีนที่เป็นยีนตอบสนองการอักเสบจำนวน 6 ยีน (ภาพที่ 4B) จะพบยีนเป้าหมายที่มีการแสดงออกตามช่วงเวลาที่แตกต่างกันไป โดยที่ยีน *ANKRD42* และ *TYRO3* จะมีการแสดงออกไปในทิศทางเดียวกันและมีการแสดงออกมากในเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง (ภาพที่ 5A) ยีน *PLA2G7* และ *IL5RA* จะมีการแสดงออกมากในเวลา 3 ชั่วโมง และมีการแสดงออกที่ลดลงในเวลา 6 และ 8 ชั่วโมง (ภาพที่ 5B) ยีน *CXCL11* และ *LTA* จะมีการแสดงออกมากในเวลา 8 ชั่วโมง (ภาพที่ 5C) สำหรับยีน *MEF2A*, *NFATC1*, *NFATC3*, *NFKB1* และ *NFKB2* ซึ่งเป็นยีนที่สร้างโปรตีนทรานสคริปชันแฟคเตอร์ MEF2, NFAT และ NF-κB ซึ่งควบคุมการแสดงออกของยีนเป้าหมาย (ภาพที่ 5D) แสดงให้เห็นว่ายีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบจะมีระดับการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกันไปตามช่วงเวลาการศึกษา โดยระดับการแสดงออกของยีนที่สร้างทรานสคริปชันแฟคเตอร์จะมีการแสดงออกที่ต่ำ ภายใต้สภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปพอลิแซคคาไรด์ เนื่องจากการทำงานของทรานสคริปชันแฟคเตอร์จะเกิดขึ้นในระดับการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนหรือการเกิดกระบวนการฟอสฟอริเลชันที่ส่งผลต่อการเกิดฟอสโฟโปรตีน ที่ทำให้เกิดกระบวนการส่งผ่านข้อมูลหรือสัญญาณในระดับโมเลกุล (Weintz et al., 2010)



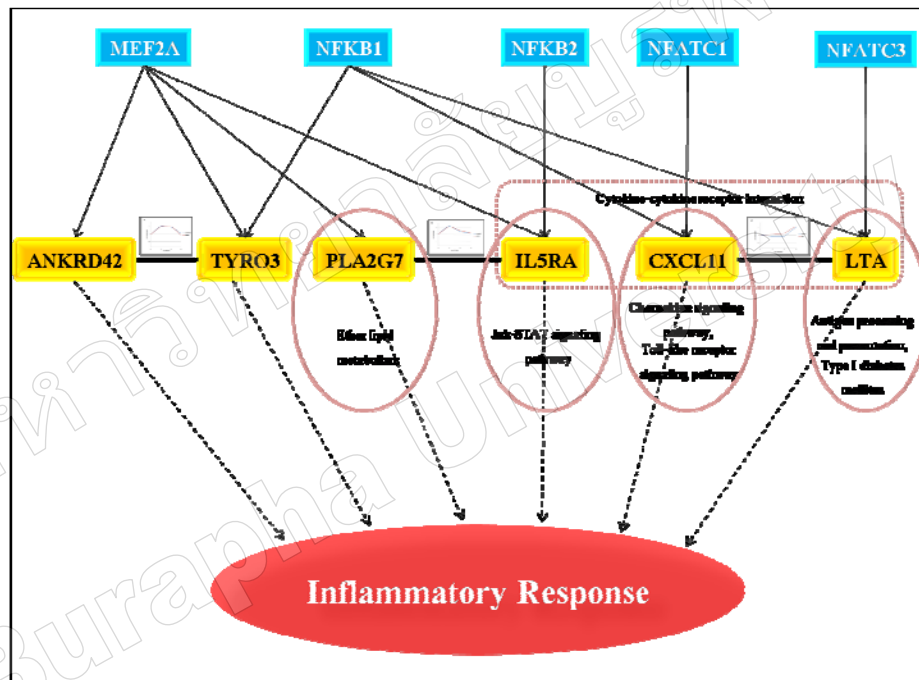


ภาพที่ 5 กราฟการแสดงออกของยีนเป้าหมายที่เป็นยีนตอบสนองการอักเสบจำนวน 6 ยีน (A, B และ C) และยีนที่สร้างโปรตีนทรานสคริปชันแฟคเตอร์ (D) ซึ่งแกน X แสดงถึงเวลาที่ทรานสคริปชันแฟคเตอร์และยีนเป้าหมายนั้นมีการแสดงออก แกน Y แสดงระดับการแสดงออกของยีนแบบค่าโฟลด์เซนจ์จากการแสดงออกที่ลดลง (fold change < -1.4) ไปยังค่าการแสดงออกที่เพิ่มขึ้น (fold change > 1.4)

เครือข่ายการควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบ (ภาพที่ 4B) ซึ่ง *MEF2A* เป็นยีนที่สร้างโปรตีน MEF2 มีความสัมพันธ์กับ NF- $\kappa$ B ที่พบในเครือข่ายของยีนที่เกี่ยวข้องกับไซโตไคน์ ที่กระตุ้นให้เกิดการอักเสบ (Chen *et al.*, 2008) ยีน *NFKB1* จะสร้างโปรตีน NF- $\kappa$ B ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับวิถี MAPK ที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบทำให้เกิดโรคมะเร็ง นอกจากนี้ *NFKB1* ยังมีความสัมพันธ์กับ *NFKB2* ในการควบคุมการถอดรหัสที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและโรคมะเร็ง (Nair *et al.*, 2008) ยีน *NFATC1* และ *NFATC3* จะสร้างโปรตีน NFAT ที่สามารถทำให้เกิดการอักเสบในกล้ามเนื้อของหนู ซึ่งการแสดงออกที่สูงของ *NFATC1* สามารถพบในเซลล์แมคโครฟาจของผู้ป่วยโรคไขข้ออักเสบ (Yarilina *et al.*, 2011) และมีความสามารถที่จะกระตุ้นทริปซิโนเจนแล้วก่อให้เกิดการอักเสบในเนื้อเยื่อของตับอ่อนที่ระยะตัวอ่อนของหนู (Awla *et al.*, 2012) นอกจากนี้ยังมีเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบ โดยยีน *ANKRD42* จะสร้างโปรตีน 8 ANK-containing protein ที่มีความคล้ายคลึงกับ *IKB $\beta$*  ซึ่งโปรตีนที่ยีน *ANKRD42* สร้างขึ้นมาจะอาศัยอยู่ในนิวเคลียสและจับกับ p50 ของ NF- $\kappa$ B (Chiba *et al.*, 2013) สำหรับยีน *CXCL11* สามารถแสดงออกในเซลล์แมคโครฟาจจากการถูกกระตุ้นด้วยแบคทีเรีย (Liu *et al.*, 2011) ส่วนยีน *IL5RA* มีบทบาทสำคัญในการผลิตอีโอซิโนฟิล (Eosinophil) และ IgE ต่อแอนติเจนที่นำไปสู่การอักเสบของผิวหนังและโรคหอบหืด (Cheong *et al.*, 2005) ยีน *LTA* มีผลต่อระดับของการอักเสบและทำให้เกิดโรคหัวใจขาดเลือด (Tanaka and Ozaki, 2006) เป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้เกิดการอักเสบโดยตรง *PLA2G7* เป็นทั้งยีนที่ก่อให้เกิดและต้านการอักเสบ (Pro- and Anti-inflammatory) ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบที่ก่อให้เกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจ (Sutton *et al.*, 2009) และยีน *TYRO3* มีผลกระทบต่อ Gas6 ในกระบวนการฟาโกไซโทซิสและการตอบสนองการอักเสบที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการทำงานของโปรตีน Mer และ Axl (Zheng *et al.*, 2012)

การวิเคราะห์เป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบด้วย DAVID (Huang *et al.*, 2007) โดยอาศัยฐานข้อมูลของ KEGG pathway (Kanehisa *et al.*, 2010) ดังแสดงในภาพที่ 6 จะตรวจพบกลไกควบคุมการแสดงออกของยีน *ANKRD42*, *TYRO3*, *PLA2G7*, *IL5RA*, *CXCL11* และ *LTA* ซึ่งเป็นเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบที่ถูกควบคุมการแสดงออกโดยยีน *MEF2A*, *NFKB1*, *NFKB2*, *NFATC1* และ *NFATC3* ซึ่งเป็นยีนที่สร้างโปรตีนทรานสคริปชันแฟคเตอร์ MEF2, NF- $\kappa$ B และ NFAT ที่ควบคุมการแสดงออกของยีนเป้าหมาย โดยที่ยีน *ANKRD42* มีการแสดงออกที่สัมพันธ์กันหรือมีการแสดงออกไปในทิศทางเดียวกันกับยีน *TYRO3* สำหรับยีน *PLA2G7* จะมีการแสดงออกที่สัมพันธ์กับยีน *IL5RA* ซึ่งยีน

PLA2G7 เป็นยีนที่มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างและสลายลิพิด และยีน *IL5RA* มีความเกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณผ่านวิถี Jak-STAT ยีน *CXCL11* จะมีการแสดงออกที่สัมพันธ์กับยีน *LTA* ซึ่งยีน *CXCL11* มีความเกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณผ่านวิถีเคโมไคน์ (Chemokine) และการส่งสัญญาณผ่านวิถี Toll-like receptor และยีน *LTA* มีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในการผลิตและนำเสนอแอนติเจนให้กับ T-lymphocytes และเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวานชนิดที่ 1 นอกจากนี้ยีน *IL5RA*, *CXCL11* และ *LTA* ยังมีความเกี่ยวข้องกับการปฏิสัมพันธ์การจับกันระหว่างไซโตไคน์ โดยที่ไซโตไคน์เป็นสารละลายโปรตีนที่อยู่ภายนอกเซลล์หรือเป็นไกลโคโปรตีน ซึ่งอยู่ระหว่างเซลล์มีหน้าที่ควบคุมการทำงานของเซลล์ในภูมิคุ้มกันแต่กำเนิด เช่น การป้องกันการอักเสบของเซลล์เจ้าบ้าน การเจริญของเซลล์ และการตายของเซลล์ เป็นต้น จากภาพแสดงให้เห็นว่ายีน *ANKRD42*, *TYRO3*, *PLA2G7*, *IL5RA*, *CXCL11* และ *LTA* เป็นยีนที่มีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบที่ถูกควบคุมการแสดงออก โดยทรานสคริปชันแฟกเตอร์ซึ่งยีนทั้ง 6 ยีน ไม่มีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) ของการเปลี่ยนแปลงที่ระดับการแสดงออก ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องมีการยืนยันผลเพิ่มเติมโดยการเพิ่มจำนวนชุดข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาและเพิ่มจำนวนข้อมูล TF-TG จากฐานข้อมูลเพื่อใช้ในการคัดเลือกปฏิสัมพันธ์และกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้อง ก่อนที่จะทำการตรวจสอบในระดับห้องปฏิบัติการต่อไป



**ภาพที่ 6** กลไกการควบคุมการแสดงออกของยีนเป้าหมาย ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบที่ถูกควบคุมโดยทรานสคริปชันแฟกเตอร์ ซึ่งกล่องสี่เหลี่ยมสีฟ้าแทนทรานสคริปชันแฟกเตอร์ กล่องสี่เหลี่ยมสีเหลืองแทนยีนเป้าหมาย เส้นสีดำหนาแทนยีนเป้าหมายที่มีรูปแบบการแสดงออกที่ทิศทางเดียวกัน ลูกศรสีดำแทนปฏิสัมพันธ์ของการควบคุมระหว่างทรานสคริปชันแฟกเตอร์และยีนเป้าหมาย ลูกศรสีดำที่เป็นเส้นประแทนยีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบ วงรีและกล่องสี่เหลี่ยมสีชมพูแทนวิถีที่พบในแต่ละยีนหมาย

#### 4. บทสรุป

ผลจากการตรวจสอบเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของการควบคุมระหว่างทรานสคริปชันแฟกเตอร์กับยีนเป้าหมาย จะได้เครือข่ายที่มาจากผลการวิเคราะห์ข้อมูลการแสดงออกของยีนในชุดข้อมูลไมโครอาร์เรย์ เครือข่ายที่มาจากผลการคัดเลือกทรานสคริปชันแฟกเตอร์จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เครือข่ายที่มาจากผลการคัดเลือกยีนเป้าหมายที่มีค่าโพลีเซนจ์มากกว่า 1.4 และเครือข่ายที่มาจากผลการคัดเลือกยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ซึ่งเครือข่ายนี้ประกอบด้วยยีน *ANKRD42*, *CXCL11*, *IL5RA*, *LTA*, *PLA2G7* และ *TYRO3* ที่มีการควบคุมการแสดงออกโดยทรานสคริปชันแฟกเตอร์ MEF2 (*MEF2A*), NFAT (*NFATC1* และ *NFATC3*) และ NF- $\kappa$ B (*NFKB1* และ *NFKB2*) จะเห็นว่า ในเวลาที่ 3, 6 และ 8 ชั่วโมง จะมีระดับการแสดงออกของยีนที่

แตกต่างกันในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปพอลิแซคคาไรด์ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงแบบแผนของการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบ ที่ถูกควบคุมด้วยกลุ่มของทรานสคริปชันแฟกเตอร์ที่แตกต่างกันไปตามแต่ละช่วงของเวลาการวิเคราะห์หน้าที่ของยีนเป้าหมายในโมเดลลูอาร์ฟิงก์ชัน พบว่ามีความเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีนในกระบวนการตอบสนองการอักเสบ การสร้างเครือข่ายควบคุมการแสดงออกของยีนจากข้อมูลไมโครอาร์เรย์โดยอาศัยข้อมูลปฏิสัมพันธ์ การควบคุมของทรานสคริปชันแฟกเตอร์ที่มีต่อยีนเป้าหมาย สามารถนำมาช่วยในการแปลผลเชิงชีวภาพของสภาวะที่สนใจได้ดีมากยิ่งขึ้น และการเพิ่มจำนวนชุดข้อมูลไมโครอาร์เรย์ที่ประกอบไปด้วยช่วงเวลาการศึกษาที่เพิ่มขึ้น การเพิ่มขนาดของฐานข้อมูล TF-TG และการปรับปรุงกระบวนการในขั้นตอนการเตรียมและการปรับมาตรฐานข้อมูล รวมถึงวิธีการคัดกรองกลุ่มยีนจากบทความวิจัย ก็อาจทำให้ได้เครือข่ายการควบคุมการแสดงออกที่มีความชัดเจนมากยิ่งขึ้น ที่พร้อมจะนำไปตรวจสอบในระดับห้องปฏิบัติการต่อไป ซึ่งจะทำให้ได้เครือข่ายควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองการอักเสบของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่มีต่อการกระตุ้นของ LPS ที่สามารถใช้พัฒนาเป็นเครือข่ายต้นแบบสำหรับใช้ในการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ต้านทานการตอบสนองการอักเสบของสารสกัดชีวภาพหรือสารสังเคราะห์ต่อไปในอนาคต

## 5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ทุนสนับสนุนสำหรับการนำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการระดับชาติ “วิทยาศาสตร์วิจัย” ครั้งที่ 6 และงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ 2557 สัญญาเลขที่ 87/2557

## 6. เอกสารอ้างอิง

- Ashburner, M., Ball, C.A., Blake, J.A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J.M., *et al.* (2000). Gene Ontology: tool for the unification of biology. *Nature Genetics*, 25(1), 25-29.
- Awla, D., Zetterqvist, A.V., Abdulla, A., Camello, C., Berglund, L.M., Spegel, P., *et al.* (2012). NFATc3 regulates trypsinogen activation, neutrophil recruitment and tissue damage in acute pancreatitis in mice. *Gastroenterology*, 143(5), 1352-1360.
- Chen, B.-S., Yang, S.-K., Lan, C.-Y. and Chuang, Y.-J. (2008). A systems biology approach to construct the gene regulatory network of systemic inflammation via microarray and databases mining. *BMC Medical Genomics*, 1, 46.
- Cheong, H.S., Kim, L. H., Park, B.L., Choi, Y.H., Park, H.-S., Hong, S.-J., *et al.* (2005). Association analysis of interleukin 5 receptor alpha subunit (IL5RA ) polymorphisms and asthma. *Journal of Human Genetics*, 50(12), 628-634.
- Chiba, T., Inoko, H., Kimura, M. and Sato, T. (2013). Role of nuclear iKBs in inflammation regulation. *Biomolecular Concepts*, 4(2), 187-196.
- Cline, M.S., Smoot, M., Cerami, E., Kuchinsky, A., Landys, N., Workman, C., *et al.* (2007). Integration of biological networks and gene expression data using Cytoscape. *Nature Protocols*, 2(10), 2366-2382.
- Comer, J.E., Galindo, C.L., Zhang, F., Wenglikowski, A.M., Bush, K.L., Garner, H.R., *et al.* (2006). Murine macrophage transcriptional and functional responses to *Bacillus anthracis* edema toxin. *Microbial Pathogenesis*, 41(2-3), 96-110.
- Edgar, R., Domrachev, M. and Lash, A.E. (2002). Gene Expression Omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository. *Nucleic Acids Research*, 30(1), 207-210.
- Ernst, J., Plasterer, H.L., Simon, I. and Bar-Joseph, Z. (2010). Integrating multiple evidence sources to predict transcription factor binding in the human genome. *Genome Research*, 20, 526-536.
- Hammer, K.D.P., Yum, M.-Y., Dixon, P.M. and Birt, D.F. (2010). Identification of JAK-STAT pathways as important for the anti-inflammatory activity of a *Hypericum perforatum* fraction and bioactive constituents in RAW 264.7 mouse macrophages. *Phytochemistry*, 71(7), 716-725.

- Hoesel, B. and Schmid, J.A. (2013). The complexity of NF- $\kappa$ B signaling in inflammation and cancer. *Molecular Cancer*, 12, 86.
- Huang, D.W, Sherman, B.T., Tan, Q., Kir, J, Liu, D., Bryant, D., Guo, Y., Stephens, R., Baseler, M.W., Lane, H.C. and Lempicki, R.A. (2007). DAVID Bioinformatics Resources: expanded annotation database and novel algorithms to better extract biology from large gene lists. *Nucleic Acids Research*. 35: W169-W175.
- Kanamori, M., Konno, H., Osato, N., Kawai, J., Hayashizaki, Y. and Suzuki, H. (2004). A genome-wide and nonredundant mouse transcription factor database. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 322(3), 787-793.
- Kanehisa, M., Goto, S., Furumichi, M., Tanabe, M. and Hirakawa, M. (2010). KEGG for representation and analysis of molecular networks involving diseases and drugs. *Nucleic Acids Research*. 38: D355-D360.
- Liu, z., Chen, X., Wang, X., Chen, X., Song, C.-H., Du, Y., et al. (2011). Chemokine CXCL11 links microbial stimuli to intestinal inflammation. *Clinical & Experimental Immunology*, 164(3), 396-406.
- Maere, S., Heymans, K. and Kuiper M. (2005). BiNGO: a Cytoscape plugin to assess overrepresentation of Gene Ontology categories in Biological Networks. *Bioinformatics*, 21(16), 3448-3449.
- Medzhitov R. and Horng T. (2009). Transcriptional control of the inflammatory response. *Nature Reviews Immunology*, 9(10), 692-703.
- Nair, S., Doh, S.T., Chan, J.Y., Kong, A-N. and Cai, L. (2008). Regulatory potential for concerted modulation of Nrf2- and Nfka1-mediated gene expression in inflammation and carcinogenesis. *British Journal of Cancer*, 99, 2070-2082.
- Nilsson, R., Bajic, V.B., Suzuki, H., Bernardo, D.D., Björkegren, J., Katayama, S., et al. (2006). Transcriptional network dynamics in macrophage activation. *Genomics*, 88(2), 133-142.
- Ravasi, T., Wells, C.A. and Hume D.A. (2007). Systems biology of transcription control in macrophages. *Bioessays*, 29(12), 1215-1226.
- Schulz, M.H., Devanny, W.E., Gitter, A., Zhong, S., Ernst, J. and Bar-Joseph, Z. (2012). DREM 2.0: Improved reconstruction of dynamic regulatory networks from time-series expression data. *BMC Systems Biology*, 6, 104.
- Sutton, B.S., Crosslin, D.R., Shah, S.H., Nelson, S.C., Bassil, A., Hale A.B., et al. (2009). Comprehensive genetic analysis of the platelet activating factor acetylhydrolase (PLA2G7) gene and cardiovascular disease in case-control and family datasets. *Human Molecular Genetics*, 17(9), 1318-1328.
- Tanaka, T. and Ozaki, K. (2006). Inflammation as a risk factor for myocardial infarction. *Journal of Human Genetics*, 51, 595-604.
- Weintz, G., Olsen, J.V., Fruhauf, K., Niedzielska, M., Amit, I., Jantsch, J., et al. (2010). The phosphoproteome of toll-like receptor-activated macrophage. *Molecular System Biology*, 6, 371.
- Yarilina, A., Xu, K., Chen, J. and Ivashikiv, L.B. (2011). TNF activates calcium-nuclear factor of activated T cells (NFAT)c1 signaling pathways in human macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(4), 1573-1578.
- Zheng, Y., Wang, Q., Xiao, B., Lu, Q., Wang, Y. and Wang, X. (2012). Involvement of receptor tyrosine kinase Tyro3 in amyloidogenic APP processing and  $\beta$ -amyloid deposition in Alzheimer's disease models. *PLoS ONE*, 7(6), e39035.