

网络出版时间: 2023-05-30 17:09:38 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms2/detail/34.1065.R.20230529.1632.010.html>

维生素 D 通过影响 PBMC 炎症相关基因对 IBD 的机制研究

徐艳秋 陈卫刚

摘要 目的 通过研究外周血单个核细胞(PBMC)中炎症相关基因的变化,探讨维生素D对炎症性肠病(IBD)发病的作用机制。方法 在GEO数据库中的GSE50012下载24个样本量,分为服用维生素D患者组和未服用维生素D患者组,每组12例,寻找2组患者PBMC中mRNA的差异化表达,同时对差异化表达的基因进行GO/KEGG和GSEA富集分析,寻找可能参与的通路或分子功能,对差异基因进行分子互作网络分析,寻找关键基因Hub。收集处于活动期的128例溃疡性结肠炎(UC)和62例克罗恩病(CD)患者,通过是否服用维生素D分为4组,分别测定每组PBMC中的候选关键基因表达,评价维生素D对IBD的作用。结果 GEO数据库筛选出差异表达基因(DEGs)共计128个,其中高表达53个,低表达75个,GO分析结果显示DEGs主要参与细胞因子活性、趋化因子与受体结合、调节炎症反应、参与免疫效应过程、介导淋巴细胞免疫等过程,KEGG分析得出细胞因子-细胞因子受体相互作用、IBD、IgA介导的肠道免疫网络等信号通路;GSEA分析结果表明差异化表达的分子主要参与了维生素D受体途径、KEGG趋化因子信号通路等,蛋白互作网络分析筛选出IL-6、MMP9、CXCL9、CXCL10、TREM1、IL1R2、C1QB这7个关键基因,加用维生素D后HLA-DMA、HLA-DMB、IL-6、MMP9、CXCL9、CXCL10呈现低表达,而NOD2呈现高表达。结论 维生素D通过影响PBMC炎症相关基因进而抑制炎症、调节免疫功能,可能对IBD起到保护作用,为后期IBD的基础与临床研究提供思路。

关键词 炎症性肠病; 单个核细胞; 维生素D; 溃疡性结肠炎; 克罗恩病

中图分类号 R 574.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)06-0941-07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.06.011

炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)是一种与克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)相关,发生在人体胃肠道的一种慢性炎症性溃疡性疾病^[1]。IBD的主要

临床表现是腹泻、夜间排便、腹痛、体质量减轻和疲劳等。UC通常只影响结肠,而CD则影响从口腔到肛门的整个胃肠道。IBD的发病率在欧美国家大约在0.3%^[2],其发病机制尚不清楚,但关键因素包括遗传、环境、免疫、肠道微生物等。

随着研究的进展,人们逐渐认识到维生素D在调节肠道黏膜免疫方面发挥了重要的作用;研究表明维生素D可能影响肠道上皮完整性、天然免疫屏障功能以及T细胞的发育和功能。在遗传易感人群中,维生素D缺乏可能是导致IBD发病的一个因素,其含量的变化可能会影响疾病活跃度^[3]。在IBD患者经过抗炎治疗后,与未治疗患者具有较低比例的外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC),且PBMC中炎症因子显著下降^[4]。但目前对于维生素D是如何通过影响炎症反应及免疫系统对IBD的作用机制尚未表明,因此,该课题通过研究维生素D对PBMC的影响,探讨其在IBD中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 病例资料及分组 收集石河子大学医学院第一附属医院2018年10月—2021年10月消化内科门诊确诊但未进行系统治疗的成年IBD活动期患者共190例,以活动期症状及肠镜结果为准,其中UC患者128例,CD患者62例。对UC患者和CD患者平均随机各分为2组,一组为常规治疗组(美沙拉嗪1g,每6h服用1次),一组为常规治疗+维生素D组(美沙拉嗪1g,每6h服用1次+维生素D 400 U 每日1次),共计4组。该研究通过伦理委员会批准,入组患者均签署相关知情同意书,临床资料从门诊和住院病历资料中获取。

1.2 差异化表达基因的筛选 通过检索GEO数据库中下载关于维生素D对单个核细胞中mRNA的表达矩阵,确定数据库为GSE50012,其中mRNA平台为GPL10558,包括24个病例,12个对照组病例(GSM8321138-GSM832184)和12个服用维生素D病例(GSM1212354-GSM1212376)。使用R语言(3.6.3版本)中Limma包^[5]用于分析差异化表达

2023-03-21 接收

基金项目: 国家重点研发计划课题(编号: 2016YFC1303601)

作者单位: 石河子大学医学院第一附属医院消化内科, 石河子 832000

作者简介: 徐艳秋,女,硕士研究生;

陈卫刚,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: 13579456959@126.com

的 mRNA 确定不同表达的 mRNA 和差异表达的基因(differentially expressed genes, DEGs)。使用“ggplot2”包绘制火山图。

1.3 基因本体论(gene ontology, GO)和 KEGG 富集分析 通过使用在线数据库 DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/>)将上述 DEGs 进行筛选,筛选条件为 $|\log_2 FC| > 1$, $\text{adj } P < 0.05$,作为候选基因进行 GO 和 KEGG 分析,GO 分析按照分子功能、细胞定位、生物途径对候选基因进行注释。使用“ggplot2”包绘制气泡图。

1.4 蛋白质互作网络(protein-protein interaction, PPI)的构建以及 Hub 基因的筛选 对上述筛选后的 DEGs 进行 PPI 网络构建,使用在线软件 STRING(<https://string-db.org/>)进行分析,通过该网站进一步寻找 DEGs 之间潜在的联系。对于输出后数据使用 Cytoscape 软件中 cytoHubba 插件寻找互作网络中关键基因,用于后续实验分析。

1.5 血液样本中单个核细胞的获取 对所有纳入人群分为 4 组,住院后获取患者血液样本,出院后对患者进行随访规律用药 2 个月后前往门诊再次抽血获取血液样本,使用 EDTA 抗凝管保存。收集后的血液样本进行梯度离心法获取到单个核细胞,对获取到的细胞使用细胞裂解液 Takara RNAiso plus 裂解细胞,后将沉淀静置 5 min 后于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

1.6 总 RNA 的提取 按照总 RNA 提取试剂盒的方法提取血液中单个核细胞中总 RNA,利用 Taqman mRNA Reverse Transcription Kit 试剂盒和普通反转录试剂盒反转录得到 cDNA,按照 Taqman mRNA kit 试剂盒和 SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒进行 qRT-PCR 反应,得到数据用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行处理,计算表达量。引物序列见表 1。

1.7 研究流程 对收治患者填写量表,采用改良 Truelove 和 Witts 疾病严重程度分型及蒙特利尔分类表对患者进行病情判断,对于活动期,进行规范化治疗 3 个月后再评估患者的活动期及缓解期。活动期肠镜判断标准:可见病变黏膜弥漫性充血、水肿,质脆,脓性分泌物附着,并发糜烂、浅小溃疡。静止期:黏膜炎症减轻,苍白,出血少,正常结构消失,黏膜干燥粗糙。

1.8 统计学处理 统计学分析使用 SPSS 22.0 软件,GraphPad Prism 5.0 软件作图。计量资料进行正态性检验,正态分布资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;非正态分布资料以 $M(Q_{25}, Q_{75})$ 表示。正态分布且方差齐的组

表 1 7 个关键基因引物序列

基因名称	引物序列(5'-3')
HLA-DMA	F: CCTGCACACAGTCTACTGC R: CACCCGAGTCTTCTGGGAA
HLA-DMB	F: ACCTGTCTGTTGGATGATGCT R: CGCAAGGGCCATCTTATTCT
IL-6	F: ACTCACCTCTTCAGAACGAATTG R: CCATCTTTGGAAGGTTTCAGTTG
MMP9	F: AGACCTGGGCAGATTCCAAAC R: CGGCAAGTCTTCCGAGTAGT
CXCL9	F: CCACTAGTGAGAAAGGGTCGC R: AGGGCTTGGGGCAAATTGTT
CXCL10	F: GTGGCATTCAAGGAGTACCTC R: TGATGGCCTTCGATTCTGGATT
NOD2	F: TGGTTCAGCCTCTCAGCATGA R: CAGGACACTCTCGAAGCCTT

间比较采用 Student's t 检验;非正态分布采用秩和检验。计数资料组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 mRNA 的差异性表达情况 通过 R 语言分析可以得到两组不同表达的基因,在 GSE50012 中共计获得差异性表达基因 128 个,其中与对照组比较,高表达基因数为 53 个,低表达基因数为 75 个($\log_2 FC > 1$, $P < 0.05$),见图 1A、B;进一步分析数据获得火山图和 PCA 图,其中低表达为蓝色,高表达为红色,见图 1C、D。

2.2 DEGs 富集分析 为了进一步分析差异性表达基因所参与的通路及可能发挥的功能,采用 DAVID 数据库对筛选出的所有基因进行富集分析,通过 KEGG 分析主要参与细胞因子-细胞因子受体相互作用、IBD、用于 IgA 的肠道免疫网络、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)信号通路等,见图 2A。通过 GO 分析所得,筛选与该研究高度相关的通路及功能,细胞成分(cellular component, CC)分析显示含胶原细胞外基质、质膜外侧、富含 ficolin-1 颗粒、液泡膜、囊泡腔、溶酶体膜等,见图 2B;分子功能(molecular function, MF)结果显示 DEGs 参与趋化因子受体结合、细胞因子活性、趋化因子活性、细胞因子结合、CXCR 趋化因子受体结合等,见图 2C;在生物学过程(biological process, BP)中,主要参与调节炎症反应、调节免疫效应过程、对细菌来源分子的反应、中性粒细胞活化、中性粒细胞介导的免疫、参与免疫反应的中性粒细胞活化、淋巴细胞介导的免疫、T 细胞活化、淋巴细胞活化的调节、细胞因子产生的正向调节等,见图 2D。

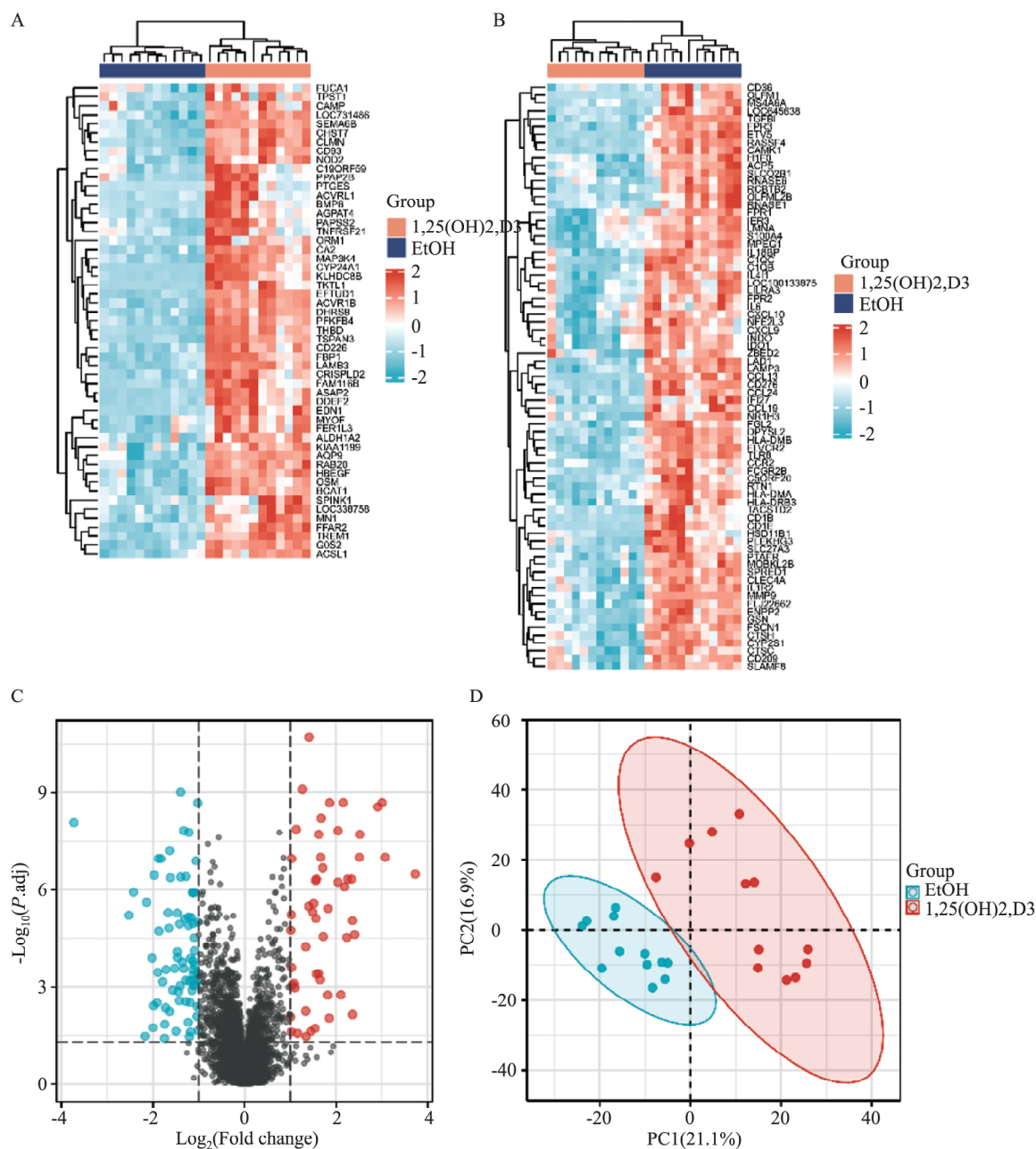


图1 服用与未服用维生素D外周血单个核细胞中差异性基因表达

A: 高表达热图; B: 低表达热图; C: 火山图; D: PCA图

2.3 差异性表达 mRNA 的 GSEA 分析情况 对所有差异性表达的基因进行筛选,取 $\text{Log}_2\text{FC} > 1.5$, $P < 0.05$ 后,再次对所筛选后分子进行 GSEA 分析,结果表明差异性表达的分子主要参与了 Vitamin D 受体途径 [$P < 0.01$,校正后的富集分数 (NES) = 2.479]、反应肽配体结合受体 ($P < 0.01$, NES = -2.132)、KEGG 趋化因子信号通路 ($P < 0.01$, NES = -2.020)。见图 3。

2.4 差异性表达基因 PPI 网络构建 对所有差异性表达的基因进行筛选,设置条件为 $\text{Log}_2\text{FC} > 1.5$,

$P < 0.05$ 筛选后分子通过在线网站 String 得到 35 个节点蛋白分子的互作网络关系 ($P < 0.001$),下载相关数据后导入 Cytoscape 软件,根据 Degree 和 Log_2FC 值得到差异性基因的互作网络图,见图 4A。再次通过 Cytoscape 软件中 CytoHubba 插件筛选出关键位置的 7 个基因,分别为 IL-6、MMP9、CXCL9、CXCL10、TREM1、IL1R2、C1QB 这 7 个关键基因,见图 4B。

2.5 纳入患者的一般资料 在该院门诊就诊的患者进行一般资料的比较,其中 UC 患者共 128 例,CD 患者 62 例,两种疾病患者在性别上无显著差异 ($P =$

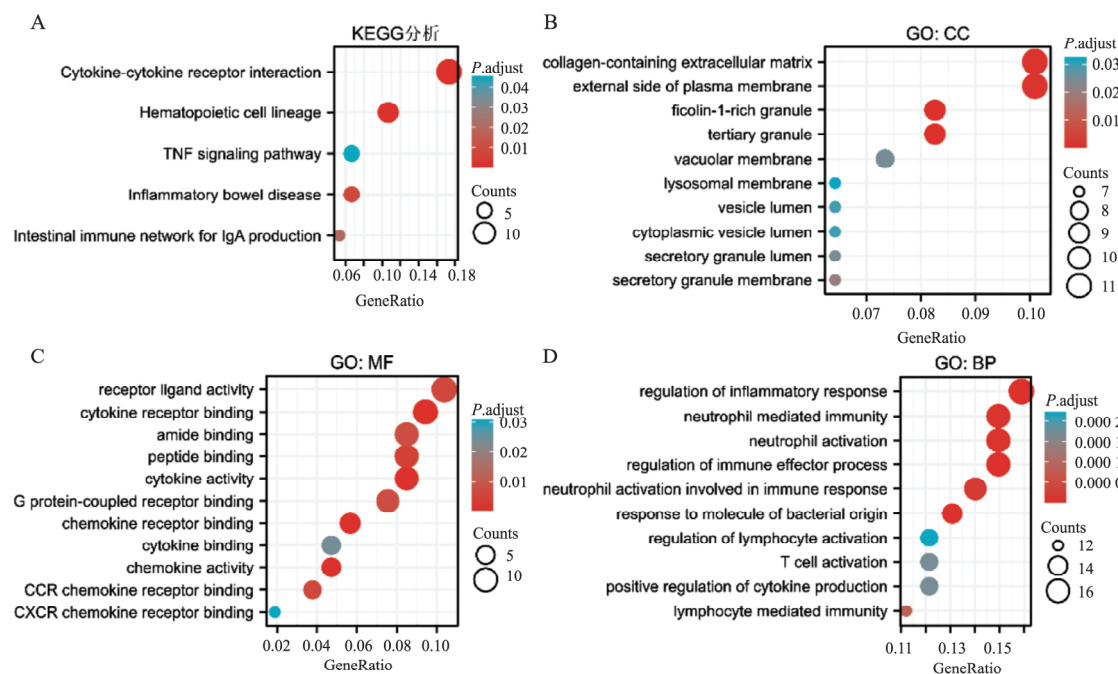


图2 差异性表达基因富集分析结果

A: KEGG 分析; B: GO: CC 分析; C: GO: MF 分析; D: GO: BP 分析

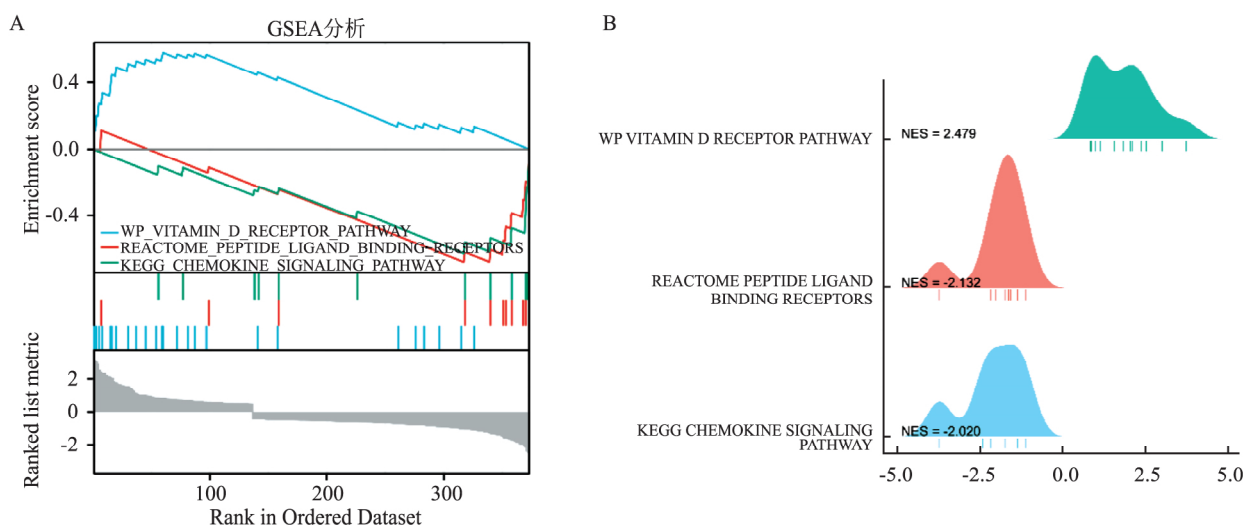


图3 差异性表达基因的 GSEA 分析结果

A: GSEA 分析; B: 山脊图

0.718), 在年龄分布上 UC 患者要高于 CD 患者 ($P=0.016$), 两组在发病中位时间上无显著差异 ($P=0.632$)。见表 2。

表2 纳入患者的一般资料

资料	UC($n=128$)	CD($n=62$)
性别[$n(\%)$]		
男	90(70)	42(68)
女	38(30)	20(32)
年龄(岁 $\bar{x} \pm s$)	46.46 $\pm$ 13.42	36.18 $\pm$ 12.61
发病时间[年 $M(Q_{25} Q_{75})$]	4(1.18 8.00)	4(1.42 9.00)

2.6 维生素 D 对 IBD 的病情影响 将处于活动期的 UC 患者及 CD 患者随机分为常规治疗组、常规治疗 + 维生素 D 组, 按疗程规范治疗 3 个月后再次对所有纳入患者进行评分, 结果显示在 UC 患者中加服用维生素 D 缓解率为 93.75%, 进行常规治疗患者缓解率为 81.25%, 且两者差异有统计学意义 ($P < 0.05$); CD 患者加服用维生素 D 后缓解率为 90.32%, 行规范化治疗患者缓解率为 67.74%, 且两组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表3 UC和CD患者临床缓解情况

组别	UC				CD			
	活动期	缓解期	χ^2 值	P值	活动期	缓解期	χ^2 值	P值
常规治疗+维生素D	4	60	4.571	0.033	3	28	4.769	0.029
常规治疗	12	52			10	21		

2.7 候选 mRNA 在患者中的表达情况 为了进一步分析差异性表达基因在常规治疗组、常规治疗+维生素D组中的表达 结合 Hub 基因和参与维生素D通路的基因成功筛选出7个,分别为 HLA-DMA、

HLA-DMB、IL-6、NOD2、MMP9、CXCL9、CXCL10。通过 qRT-PCR 的方法测定在 UC 和 CD 患者中常规治疗组、常规治疗+维生素D组的表达情况 结果表明:与常规治疗组比较,常规治疗+维生素D组中 HLA-DMA、HLA-DMB、IL-6、MMP9、CXCL9、CXCL10 呈低表达 而 NOD2 呈高表达,且差异有统计学意义($P < 0.01$);与常规治疗组比较,常规治疗+维生素D组中 HLA-DMA、HLA-DMB、IL-6、MMP9、CXCL9、CXCL10 呈低表达,而 NOD2 呈高表达,且差异有统计学意义($P < 0.01$) 与 UC 患者的表达结果一致。见图5。

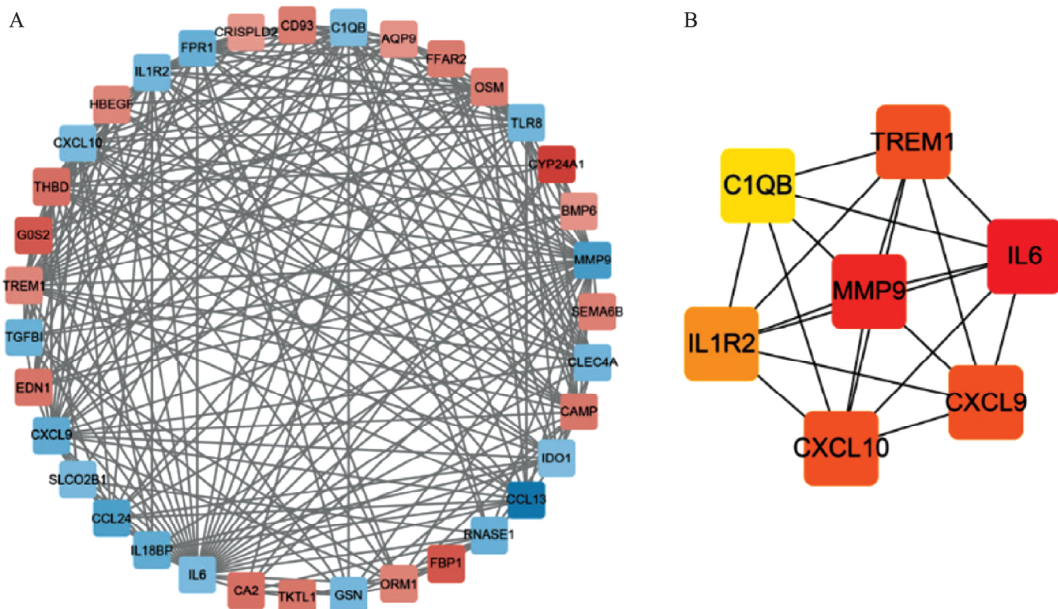


图4 PPI网络分析结果

A: PPI网络图; B: Hubba 基因

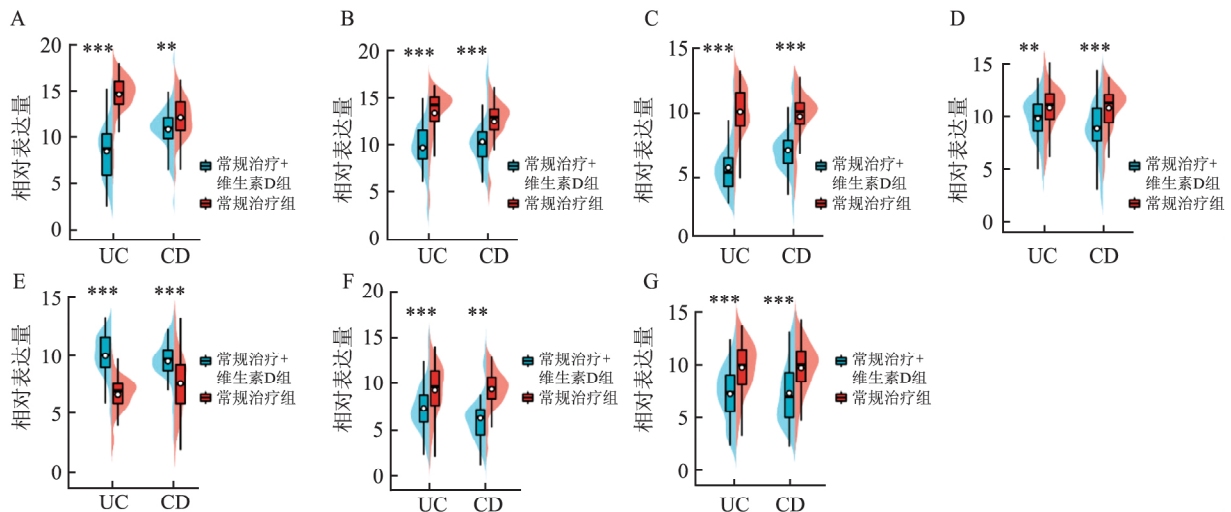


图5 临床患者中关键基因的差异性表达

A - G: HLA-DMA、HLA-DMB、IL-6、MMP9、CXCL9、CXCL10、NOD2 差异性表达;与常规治疗组比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

3 讨论

IBD 主要是由炎症和免疫系统紊乱介导的疾病,而维生素 D 在维持胃肠道屏障完整、监测肠道微生物群和炎症免疫反应等方面发挥着重要作用。前期研究^[6]显示,维生素 D 缺乏在 IBD 患者中很常见,其患病率高于一般人群,且 CD 略高于 UC。造成这种情况的原因主要包括免疫抑制、饮食限制和营养吸收障碍等。但既往研究无法确定两者之间的因果关系,该研究通过了解两者的作用机制,寻找新证据,探究维生素 D 缺乏、补充与疾病严重程度的关系,对于 IBD 的治疗提供更有利的方案。

由淋巴细胞组成的外周血单个核细胞在介导免疫调节和长期的慢性炎症过程中发挥了重要的作用^[7]。该研究通过是否服用维生素 D 为变量,结果显示单个核细胞中差异性表达的基因共计 128 个,其中高表达基因数为 53 个,低表达基因数为 75 个,表明维生素 D 可以与单个核细胞表面的维生素 D 受体结合,影响下游基因的表达。Buczynski et al^[8]研究显示,在 IBD 患者的单个核细胞寻找差异性表达的基因,在 UC 和 CD 之间基因表达存在差异;在此基础上 Tom et al^[9]又通过检测 IBD 患者中外周血单个核细胞中的 Treg 细胞和 Th17 细胞的比例,较正常人均升高,侧面印证了外周血单个核细胞确实在 IBD 中介导了免疫调节。Mohammadi et al^[10]高通量测序检测了 CD 患者外周血单个核细胞中 miRNA 的变化,同样验证了下游靶分子参与了 BD 的免疫反应。

通过 GO 和 KEGG 富集分析显示差异性表达的大部分基因参与炎症反应、免疫效应、介导免疫等过程,从而参与了 IBD 的发生和发展。维生素 D 可能通过与外周血单个核细胞上 VDR 结合引起下游分子的变化,引起外周血中基因改变,参与 IBD 患者的炎症反应和免疫调节。KEGG 显示主要存在 IBD 和 IgA 的肠道免疫网络,可能是维生素 D 可以调节肠道中 IgA 的表达进而影响 IBD 的预后。Palm et al^[11]同样表明在 IBD 中 IgA 呈强阳性。Lucafò et al^[12]同样表明在 IBD 患者血清中 IL10 和 IgA 水平升高,IgA 水平的变化与肠道菌群失调有着密切关系,IgA 通过调节肠道黏膜发挥抑制炎症的作用。GSEA 结果表明差异性表达的分子主要参与 VDR 途径、KEGG 趋化因子信号通路等,大量的研究集中于趋化因子与 IBD 之间的关系,通过参与 IBD 细胞内信号转导、炎症细胞的激活和趋化,增加单核细胞

黏附分子的表达和游走能力。本文猜测维生素 D 可能也会影响外周血单个核细胞中趋化因子的变化,影响疾病的进展,通过蛋白互作网络分析筛选出 IL-6、MMP9、CXCL9、CXCL10、TREM1、IL1R2、C1QB 这 7 个关键基因。

为进一步验证差异性表达基因在 IBD 中的作用,在 UC 中加用维生素 D 后缓解率明显升高,说明维生素 D 可加速 UC 进入缓解期。Battistini et al^[13]的研究表明 30 ng/ml 的维生素 D 可以有效降低 IBD 的活动性,处于缓解期的 IBD 患者血清中存在高水平的维生素 D。该研究在对 CD 患者的研究中得到同样的结果。进一步检测 4 组患者 7 个基因的表达式,与未加用维生素 D 患者相比较,加用维生素 D 后 HLA-DMA、HLA-DMB、IL-6、MMP9、CXCL9、CXCL10 呈现低表达,而 NOD2 呈现高表达。HLA-DMA 和 HLA-DMB 均属于 HLA II 类旁系同源物,主要在抗原呈递细胞(APC、B 淋巴细胞、树突细胞、巨噬细胞)中表达,参与炎症因子的趋化。IL-6 是一种多效性细胞因子,能趋化白细胞定向移动的小分子分泌蛋白^[12],而 IBD 发病是由于促炎因子连续释放。MMP9 在 IBD 中的研究较少,但该研究表明 MMP9 作为趋化因子之一,在 IBD 患者的血清中呈现高表达,但具体机制并未阐明,需要进一步验证。CXCL 家族同样是趋化因子中重要的组成部分,其中 CXCL9、CXCL10 是 CXCR3 的配体,具有促进炎症的作用,既往 Carey et al^[14]研究表明与健康对照组相比较,IBD 患者结肠黏膜中上皮细胞 CXCL10 明显升高,其升高与 IL-17 的分泌增加有关。研究表明维生素 D 可以抑制病变部位的炎症反应,进而抑制趋化因子 CXCL9、CXCL10 的表达。

参考文献

- [1] Chang J T. Pathophysiology of inflammatory bowel diseases[J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(27): 2652-64.
- [2] Molodecky N A, Soon I S, Rabi D M, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(1): 46-54.
- [3] Olmedo-Martín R V, González-Molero I, Oliveira G, et al. Sunlight exposure in inflammatory bowel disease outpatients: predictive factors and correlation with serum Vitamin D[J]. *Gastroenterol Hepatol*, 2019, 42(10): 604-13.
- [4] Slebioda T J, Bojarska-Junak A, Cyman M, et al. Expression of death receptor 3 on peripheral blood mononuclear cells differs in adult IBD patients and children with newly diagnosed IBD[J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2017, 92(2): 165-9.
- [5] Smyth G K. Limma: linear models for microarray data[J].

- Springer New York ,2005: 397 – 420.
- [6] Hossein-Nezhad A , Holick M F. Vitamin D for health: a global perspective[J]. *Mayo Clin Proc* ,2013 , 88(7) : 720 – 55.
- [7] Grievink H W , Luisman T , Kluff C , et al. Comparison of three isolation techniques for human peripheral blood mononuclear cells: cell recovery and viability , population composition , and cell functionality[J]. *Biopreserv Biobank* ,2016 , 14(5) : 410 – 5.
- [8] Burczynski M E , Peterson R L , Twine N C , et al. Molecular classification of Crohn's disease and ulcerative colitis patients using transcriptional profiles in peripheral blood mononuclear cells[J]. *J Mol Diagn* ,2006 , 8(1) : 51 – 61.
- [9] Tom M R , Li J , Ueno A , et al. Novel CD8⁺ T-cell subsets demonstrating plasticity in patients with inflammatory bowel disease [J]. *Inflamm Bowel Dis* ,2016 , 22(7) : 1596 – 608.
- [10] Mohammadi A , Kelly O B , Filice M , et al. Differential expression of microRNAs in peripheral blood mononuclear cells identifies autophagy and TGF-Beta-related signatures aberrantly expressed in inflammatory bowel disease[J]. *J Crohns Colitis* ,2018 , 12(5) : 568 – 81.
- [11] Palm N W , De Zoete M R , Cullen T W , et al. Immunoglobulin A coating identifies colitogenic bacteria in inflammatory bowel disease [J]. *Cell* ,2014 , 158(5) : 1000 – 10.
- [12] Lucafò M , Pugnelli L , Bramuzzo M , et al. Long non-coding RNA GAS5 and intestinal MMP2 and MMP9 expression: a translational study in pediatric patients with IBD[J]. *Int J Mol Sci* ,2019 , 20(21) : 5280.
- [13] Battistini C , Ballan R , Herkenhoff M E , et al. Vitamin D modulates intestinal microbiota in inflammatory bowel diseases[J]. *Int J Mol Sci* 2020 22(1) : 362.
- [14] Carey R , Jurickova I , Ballard E , et al. Activation of an IL-6: STAT3-dependent transcriptome in pediatric-onset inflammatory bowel disease[J]. *Inflamm Bowel Dis* ,2008 , 14(4) : 446 – 57.

Mechanism of Vitamin D on IBD by affecting inflammation related genes of PBMC

Xu Yanqiu , Chen Weigang

(*Dept of Gastroenterology , The First Affiliated Hospital of Shihezi University Medical College , Shihezi 832000*)

Abstract Objective To investigate the role of Vitamin D in the pathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD) by studying the changes of inflammation related genes in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) .

Methods 24 sample sizes were downloaded from GSE50012 in the GEO database , and they were divided into two groups: patients taking Vitamin D and patients not taking Vitamin D , with 12 patients in each group. Find out the differential expression of mRNA in PBMC of two groups of patients. At the same time , we conducted GO/KEGG and GSEA enrichment analysis on the differentially expressed genes , searched for possible pathways or molecular functions , conducted molecular interaction network analysis on the differential genes , and searched for key genes (Hub genes) . A total of 128 patients with ulcerative colitis(UC) and 62 patients with Crohn's disease(CD) in the outpatient department of our hospital were collected and divided into 4 groups by whether to take Vitamin D or not. Candidate key gene expression in PBMC in each group was measured to evaluate the effect of Vitamin D on inflammatory bowel disease.

Results The GEO database screened a total of 128 differential expression genes (DEGs) , of which 53 were highly expressed and 75 were low expressed. GO analysis showed that DEGs were mainly involved in cytokine activity , chemokine receptor binding , regulating inflammatory reactions , participating in immune response processes , mediating lymphocyte immunity , and other processes. KEGG analysis showed that cytokine receptor interaction , inflammatory bowel disease IgA mediated signaling pathways such as intestinal immune networks; GSEA analysis showed that the differentially expressed molecules were mainly involved in the Vitamin D receptor pathway and the KEGG chemokine signaling pathway. Protein interaction network analysis screened seven key genes , IL-6 , MMP9 , CXCL9 , CXCL10 , TREM1 , IL1R2 , and C1QB. After adding Vitamin D , HLA-DMA , HLA-DMB , IL-6 , MMP9 , CXCL9 , and CXCL10 showed low expression , while NOD2 showed high expression.

Conclusion Vitamin D may play a protective role in IBD by influencing PBMC inflammation related genes , thereby inhibiting inflammation and regulating immune function , providing ideas for the basic and clinical research of late IBD.

Key words inflammatory bowel disease; mononuclear cells; Vitamin D; ulcerative colitis; Crohn's disease