

DOI: <https://doi.org/10.59294/HIUJS.KHTT.2024.032>

DẤU ẮN GEN CỦA LICHEN PHẪNG MIỆNG QUA PHÂN TÍCH DỮ LIỆU PHIÊN MÃ

Võ Thị Duy Phúc^{1,*} và Choi Youngnim²

¹Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng,

²Đại học Quốc gia Seoul

TÓM TẮT

Lichen phẳng miệng (LPM) là một trong những bệnh lý niêm mạc miệng phổ biến nhất, nhưng vẫn chưa có cách chữa. Nghiên cứu này nhằm hiểu rõ hơn về dấu ấn gen trong sinh bệnh học LPM thông qua phân tích các bộ dữ liệu phiên mã có sẵn trong cơ sở dữ liệu công cộng. Hai tập dữ liệu phiên mã được tải xuống và phân tích theo hai hướng: toàn bộ hoặc một phần dữ liệu sau khi loại bỏ các ngoại lai. Các gen biểu hiện khác biệt (DEG) tăng điều hoà trong bộ dữ liệu biểu mô LPM so với người khỏe mạnh về phát triển biểu bì, biệt hóa tế bào sừng, sừng hóa, phản ứng với nhiễm khuẩn và phản ứng miễn dịch bẩm sinh. Ngược lại, DEG tăng điều hoà trong bộ dữ liệu của toàn bộ lớp niêm mạc LPM chủ yếu phản ánh hoá ứng động của tế bào miễn dịch và phản ứng viêm/miễn dịch. 43 DEG trùng lặp trong hai tập dữ liệu được xác định sau khi loại bỏ các ngoại lai khỏi mỗi tập dữ liệu. Các DEG chung liên quan đến tăng sừng, lành thương, khiếm khuyết hàng rào biểu mô và phản ứng với nhiễm khuẩn. Tóm lại, chúng tôi xác định được các dấu ấn gen liên quan đến sự tăng sừng, lành thương, khiếm khuyết hàng rào biểu mô và phản ứng với nhiễm trùng trong LPM.

Từ khóa: lichen phẳng miệng, dữ liệu phiên mã, khiếm khuyết hàng rào biểu mô, nhiễm trùng

GENE SIGNATURES IN ORAL LICHEN PLANUS BY TRANSCRIPTOMIC DATA ANALYSIS

Vo Thi Duy Phuc and Choi Youngnim

ABSTRACT

Oral lichen planus (OLP) is one of the most common oral mucosal diseases, but there is still no cure. This study aimed to investigate the gene signatures of OLP through analysis of transcriptomic datasets available in public databases. Two transcriptomic datasets were downloaded and analyzed in two ways: the entire set or subset of data after removing outliers. Differentially expressed genes (DEGs) upregulated in OLP epithelial dataset compared to healthy individuals involved in keratinocyte differentiation, keratinization, epidermal development, response to infection, and innate immune response. In contrast, the upregulated DEGs in the dataset of the OLP mucosa mainly reflected immune cell chemotaxis and inflammatory/immune responses. 43 overlapping DEGs in the two datasets were identified after removing outliers from each dataset. Common DEGs were involved in hyperkeratosis, wound healing, barrier defects, and response to infection. In summary, we identified gene signatures associated with hyperkeratosis, wound healing, epithelial barrier defects, and response to infection in OLP.

Keywords: oral lichen planus, transcriptomic data, barrier dysfunction, infection

1. GIỚI THIỆU

Lichen phẳng miệng (LPM), một biến thể của bệnh lichen phẳng, là bệnh viêm mãn tính qua trung gian tế bào T với nguyên nhân chưa rõ. Tỷ lệ lưu hành toàn cầu ước tính của LPM trong dân số tổng

*Tác giả liên hệ: TS. Võ Thị Duy Phúc, Email: phucvtd@hiu.vn

(Ngày nhận bài: 20/03/2024; Ngày nhận bản sửa: 15/04/2024; Ngày duyệt đăng: 24/04/2024)

quát là 1101%, dao động từ 0.47% đến 1.74% với sự khác biệt về địa lý. LPM thường gặp hơn ở độ tuổi trên 40, với tỷ lệ nữ chiếm ưu thế là 1.5:1. Ngoài ra, LPM được Tổ chức Y tế Thế giới định nghĩa là một rối loạn có nguy cơ ác tính ở miệng, với tỷ lệ hoá ác là 2.28%. Sang thương LPM được phân thành sáu dạng trên lâm sàng, gồm dạng lưới, dạng nhú, dạng mảng, dạng teo đỏ, dạng loét, và dạng bóng nước. LPM thường hiện diện ở niêm mạc má, lưỡi và nướu [1]. Đặc điểm mô học của LPM bao gồm dày sừng, thâm nhiễm tế bào lympho dạng dải và thoái hóa lỏng lớp tế bào đáy. Đặc biệt, thoái hóa lỏng phản ánh sự lão hóa của các tế bào đáy bị tổn thương và giống với sự thay đổi chuyển tiếp biểu mô-trung mô điển hình, do đó, có thể liên quan đến sự biến đổi ác tính của LPM [2].

Mặc dù một số tác nhân tiềm tàng bao gồm yếu tố di truyền và tâm lý, thuốc điều trị toàn thân, chấn thương và nhiễm trùng được đề xuất, nhưng sinh bệnh học của LPM vẫn còn mơ hồ. Baek và cộng sự trước đây đã đề xuất một vòng tròn luẩn quẩn của rối loạn chức năng hàng rào biểu mô và nhiễm trùng nội bào của các tế bào đáy biểu mô như là một mô hình tiềm năng cho quá trình sinh bệnh của LPM [3]. Thay đổi biểu hiện của một số yếu tố liên quan đến sự biệt hóa biểu mô và chức năng hàng rào bảo vệ trong LPM, cũng như gợi ý tình trạng nhiễm khuẩn đã được báo cáo trước đây [4]. Trong số các cytokine liên quan đến phản ứng viêm được phát hiện trong các tổn thương LPM, yếu tố hoại tử khối u (TNF α), interferon- γ (IFN- γ) và interleukin 1- β (IL-1 β) phá huỷ các mối nối biểu mô của hàng rào bảo vệ, nhưng interleukin-17 (IL-17) duy trì tính toàn vẹn của hàng rào này thông qua sự điều hòa của protein occludin của mối nối [5].

Ngược lại, với các nghiên cứu chỉ kiểm tra một vài thành phần phân tử riêng lẻ, việc lập hồ sơ phiên mã cung cấp một bức tranh tổng thể về cơ sở phân tử của một bệnh. Cho đến nay, có 5 nhóm đã báo cáo các gen biểu hiện khác biệt (DEG) liên quan đến LPM với kết quả khác nhau thông qua việc phân tích phiên mã [6–10]. Tuy nhiên, mỗi nhóm có mục tiêu khác nhau và chỉ báo cáo một số DEG mà họ quan tâm. Nhằm hiểu sâu hơn về vai trò của rối loạn chức năng hàng rào biểu mô và nhiễm trùng trong sinh bệnh học LPM, chúng tôi tiến hành phân tích hai tập dữ liệu phiên mã có sẵn trong cơ sở dữ liệu công cộng và xác định các DEG liên quan đến sự biệt hóa tế bào sừng bất thường và sự nhiễm trùng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU

2.1 Biểu hiện gen của dữ liệu phiên mã

Trong số năm nghiên cứu trước đó, hai tập dữ liệu phiên mã được gửi vào cơ sở dữ liệu công cộng là GSE52130 [7] và GSE38616 [8] được đưa vào nghiên cứu hiện tại. Các tập dữ liệu được tải xuống từ kho lưu trữ công cộng Gene Expression Omnibus (GEO) của Trung tâm thông tin công nghệ sinh học quốc gia (National Center of Biotechnology Information, NCBI, www.ncbi.nlm.nih.gov/geo). Tập dữ liệu GSE52130 chứa bảy mẫu biểu mô LPM và bảy mẫu khỏe mạnh dựa trên nền tảng GPL10558 (Illumina HumanHT-12 V4.0 expression BeadChip), trong khi tập dữ liệu GSE38616 dựa trên nền tảng GPL6244 (Affymetrix Human Gene 1.0 ST Array) và bao gồm 7 mẫu niêm mạc LPM và 7 mẫu niêm mạc khỏe mạnh.

2.2 Phân tích gen biểu hiện khác biệt (differentially expressed gene, DEG)

Phần mềm R (phiên bản 3.5.1) (<http://www.r-project.org/>) với gói Bioconductor (phiên bản 3.8) được sử dụng để thực hiện tiền xử lý dữ liệu, tinh sạch trình tự đọc, ánh xạ trình tự đọc lên hệ gen tham chiếu và ước tính biểu hiện. Kiểm định T-test được sử dụng để xác định DEG giữa các mẫu LPM và mẫu đối chứng khỏe mạnh. Giá trị $p < 0.05$ và $|\text{độ sai khác}| \geq 2$ được chọn làm tiêu chí giới hạn để sàng lọc DEG. Phương pháp Benjamini-Hochberg được sử dụng để tính toán giá trị p được điều chỉnh theo tham số độ tin cậy FDR (False discovery rate) để báo cáo giá trị q . Giá trị $q < 0.05$ được xem là có ý nghĩa thống kê. Bản đồ nhiệt (heatmap) của các DEG kèm phân cụm thứ bậc được tạo bằng gói hclust stats trên R (<http://stat.ethz.ch/R-manual/R-patched/library/stats/html/hclust.html>) và biểu đồ phân tích thành phần chính (Principal components analysis, PCA) được tạo bằng gói FactoMineR (<http://factominer.free.fr>) và rgl (<http://r-forge.r-project.org/projects/rgl/>) trên R.

2.3. Phân tích Gene Ontology (GO)

Phần mềm trực tuyến Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery (DAVID; phiên bản 6.8; <http://david.abcc.ncifcrf.gov>) được sử dụng để phân tích các quá trình sinh học chức năng cho tất cả các bộ dữ liệu DEG dựa trên cơ sở dữ liệu GO (<http://www.geneontology.org/>). Giá trị $p < 0.05$ và số gen liên quan ≥ 4 được chọn làm tiêu chí giới hạn để sàng lọc.

2.4. Phương pháp thống kê

Kiểm định T-test được sử dụng để xác định các DEG giữa các mẫu LPM và mẫu đối chứng khỏe mạnh. Kiểm định T-test và Benjamin-Hochberg được thực hiện trên R. Mức ý nghĩa được đặt ở p hoặc $q < 0,05$.

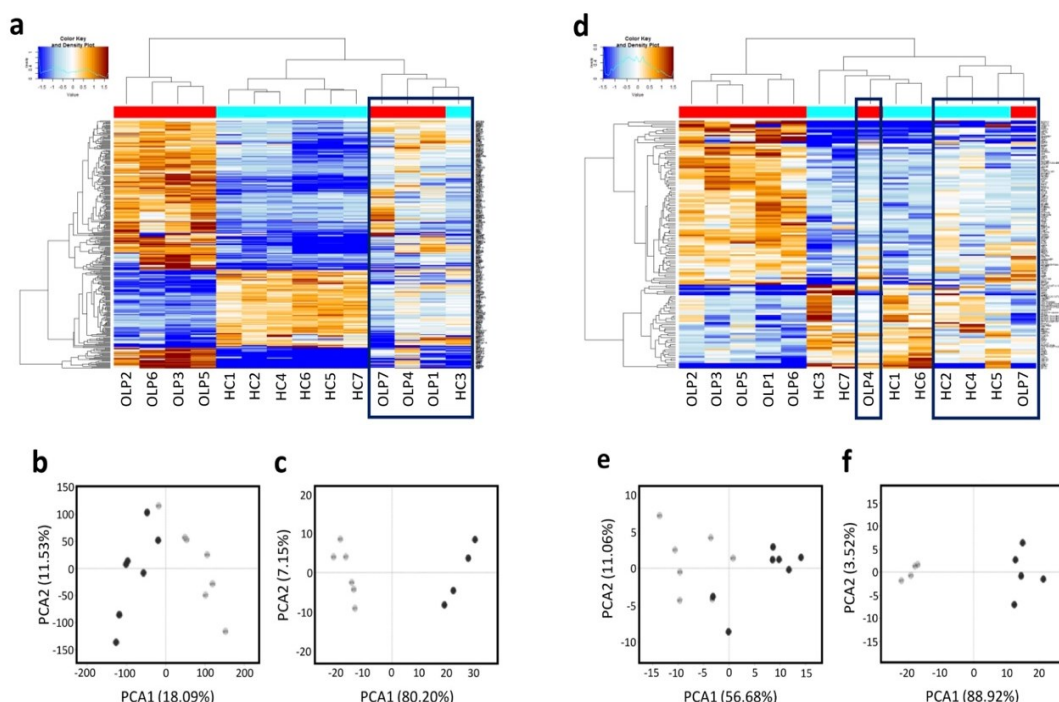
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

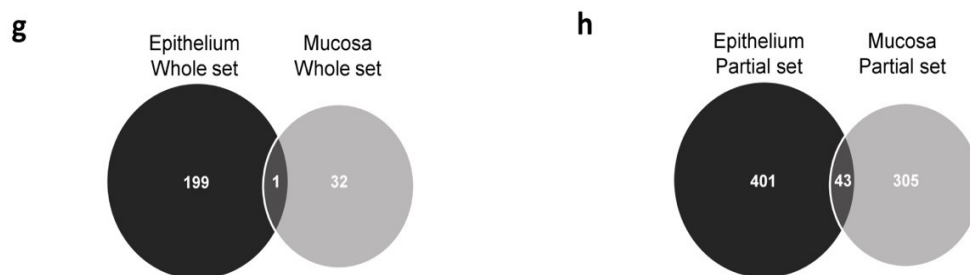
3.1. Kết quả phân tích các DEG trong mỗi bộ dữ liệu và các DEG trùng lặp giữa các tập dữ liệu

Vì phân tích hệ phiên mã thường thực hiện trên cỡ mẫu nhỏ nên chúng tôi đã tự hỏi liệu có DEG chung nào giữa hai tập dữ liệu nghiên cứu độc lập GSE52130 và GSE38616 có sẵn trong cơ sở dữ liệu NCBI GEO.

Trong tập dữ liệu GSE52130, tổng cộng có 200 DEG (137 tăng và 63 giảm) được xác định khi so sánh biểu mô từ bảy bệnh nhân LPM và bảy đối tượng khỏe mạnh với tiêu chí $p < 0,05$, $|\text{độ sai khác}| \geq 2$ và $q < 0,05$. Loại bỏ các dữ liệu ngoại lai là một phương pháp phổ biến để tăng cường độ mạnh của việc phát hiện các DEG. Áp dụng phương pháp phân tích cụm (cluster analysis) hệ phiên mã của 14 mẫu này, chúng tôi thấy ba mẫu LPM và một mẫu chứng không phân cụm với các mẫu khác trong mỗi nhóm tương ứng (Hình 1a và 1b). Sau khi loại bỏ bốn mẫu ngoại lai này, các mẫu LPM và mẫu khỏe mạnh phân cụm thành hai nhóm riêng biệt trong biểu đồ phân tích thành phần chính (PCA) (Hình 1c). Từ phân tích nhóm này, chúng tôi thu được 444 DEG (257 tăng và 187 giảm).

Tập dữ liệu GSE38616 thu được 33 DEG (22 tăng và 11 giảm) khi so sánh bảy mẫu niêm mạc LPM và bảy mẫu niêm mạc khỏe mạnh với tiêu chí $p < 0,05$ và $|\text{độ sai khác}| \geq 2$, nhưng không có gen nào thoả $q < 0.05$. Phân tích cụm của hệ phiên mã này chỉ ra hai mẫu LPM và ba mẫu khỏe mạnh không phân cụm với các mẫu khác trong mỗi nhóm tương ứng (Hình 1d và 1e). Phân tích nhóm sau loại trừ năm mẫu ngoại lai (Hình 1f) thu được 348 DEG (294 tăng và 54 giảm) với tiêu chí $p < 0,05$, $|\text{độ sai khác}| \geq 2$ và $q < 0.05$.





Hình 1. Phân tích gen biểu hiện khác biệt (DEG) của hai tập dữ liệu GSE52130 và GSE38616. (a-c) Tập GSE52130 của biểu mô và (d-f) tập GSE38616 của niêm mạc. (a, d) Bản đồ nhiệt của DEG kết hợp với phân cụm thứ bậc. Sự thay đổi màu từ nâu sang xanh tượng trưng cho sự thay đổi từ tăng điều hòa sang giảm điều hòa. Hình vuông đen đánh dấu các dữ liệu ngoại lai bị loại bỏ trong các tập dữ liệu một phần. (b, c, e, f) Biểu đồ phân tích thành phần chính của tập dữ liệu toàn bộ (b, e) và một phần (c, f). (g, h) Biểu đồ minh họa số lượng DEG trong hai tập dữ liệu toàn bộ (g) và một phần (h). Vòng tròn đen đại diện cho tập dữ liệu GSE52130 và vòng tròn màu xám đại diện cho tập dữ liệu GSE38616. Giao điểm của 2 vòng tròn biểu thị các DEG chung giữa hai tập dữ liệu

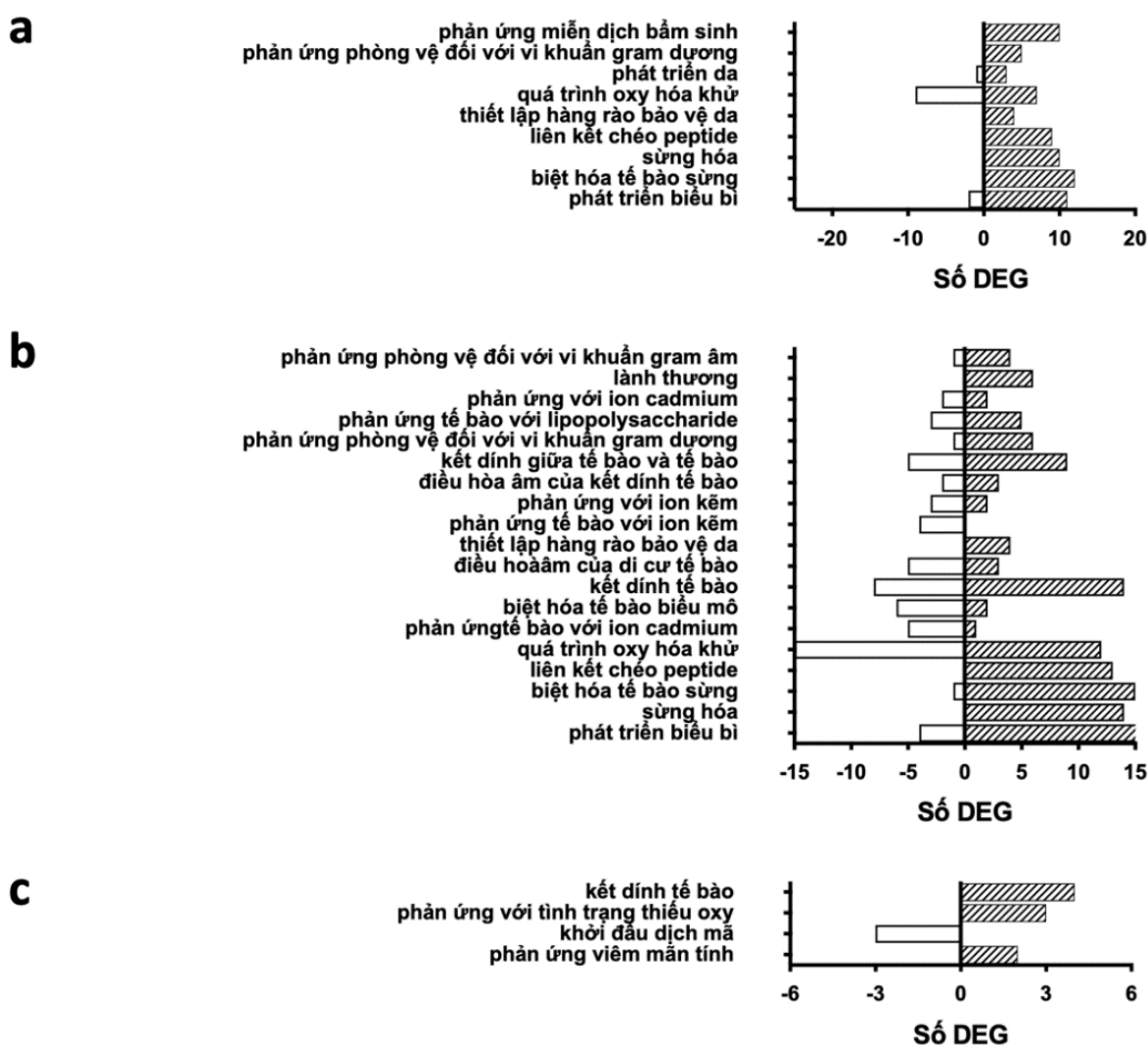
Để xác định các DEG chung của hai tập dữ liệu, danh sách các DEG được so sánh với nhau. Khi so sánh các DEG của toàn bộ tập dữ liệu của lớp biểu mô với toàn bộ tập dữ liệu của lớp niêm mạc, chỉ một DEG chung được tìm thấy (Hình 1g): *KLK12*, một gen mã hóa cho serine protease tham gia vào quá trình tạo mạch, được tăng điều hòa gấp 4.2 lần ở biểu mô ($p = 0.001$, $q = 0.018$) và gấp 2.6 lần ở niêm mạc của bệnh nhân LPM ($p = 0.028$, $q = 0.43$). Khi so sánh các DEG của 2 tập dữ liệu lớp biểu mô và lớp niêm mạc sau khi loại trừ các dữ liệu ngoại lai, 43 DEG chung (23 tăng và 20 giảm) được xác định (Hình 1h). Không có một DEG chung nào tăng điều hòa trong tập dữ liệu này mà giảm điều hòa trong tập khác. Các DEG chung tăng điều hòa nhiều nhất (độ sai khác > 10) bao gồm *LCE3E*, *KRT17*, *TMEM45A* và *IL-36G*, tương ứng mã hóa cho late cornified envelope protein 3E, keratin 17, protein xuyên màng 45A và interleukin-36 gamma (IL-36 γ , còn được gọi là IL-1F9).

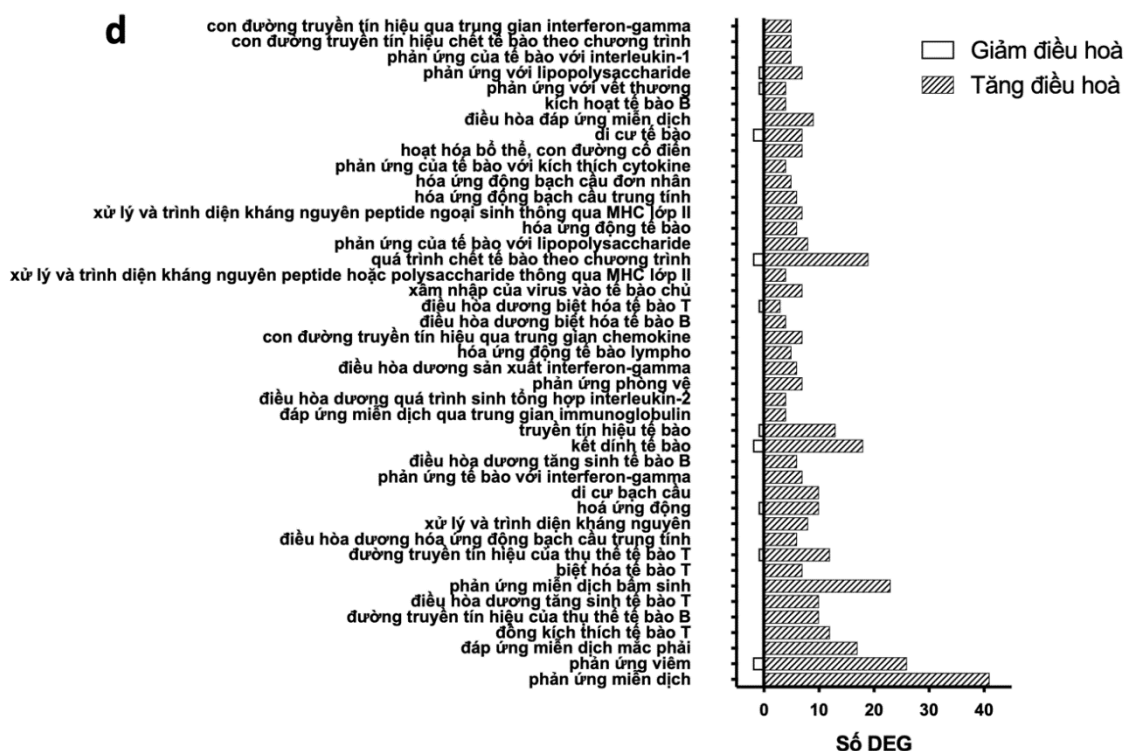
Những thay đổi trong hồ sơ phiên mã được phát hiện bằng phân tích cụm có thể là do sự khác biệt về các dạng sang thương trên lâm sàng của LPM, thành phần của các tế bào miễn dịch thâm nhiễm hoặc chất lượng của RNA. Các DEG chung trong hai tập dữ liệu một phần của cả biểu mô và niêm mạc có thể phản ánh những thay đổi thực sự xảy ra trong lớp biểu mô của LPM trong các trường hợp điển hình. Trong số 43 DEG chung, tăng biểu hiện của *LCE3E* và *TMEM45A* có liên quan đến quá trình sừng hóa biểu bì, và tăng điều hòa *IL36G*, *TNC*, *TGFBI* và *KRT17* đã được tìm thấy ở niêm mạc miệng hoặc da bị tổn thương [11]. Giảm điều hòa *FRAS1* và *BCL11A* có liên quan đến các khiếm khuyết hàng rào biểu mô. Protein FRAS1 là một trong ba loại protein liên quan đến hội chứng Fraser, tạo phức hợp protein ổn định tương hỗ ở màng đáy và neo màng đáy vào phần trung mô bên dưới. Sự thiếu hụt hoặc đột biến gen này dẫn đến sự hình thành bóng nước [12], do đó, sự giảm điều hòa *FRAS1* có thể phản ánh sự tách rời của biểu mô khỏi lớp đệm thường xảy ra trong LPM. BCL11A là yếu tố phiên mã điều hòa quá trình chuyển hóa lipid và giai đoạn cuối trong biệt hóa tế bào sừng và quan trọng đối với hàng rào thẩm thấu qua da [13]. Việc giảm điều hòa *BCL11A* có thể dẫn đến khiếm khuyết về hàng rào thẩm thấu, biểu hiện bằng tình trạng tăng sừng biểu mô quan sát được trong LPM. Do đó, dấu ấn gen trong hai bộ dữ liệu LPM gợi ý những thương tổn mãn tính và rối loạn chức năng hàng rào biểu mô.

3.2. Kết quả phân tích GO

Để tìm các quá trình sinh học chức năng trong LPM, các phân tích phong phú hoá (enrichment analysis) được thực hiện bằng DAVID. Các DEG tăng điều hòa của toàn bộ và một phần của tập dữ

liệu của biểu mô được tăng cường đáng kể về các quá trình phát triển biểu bì, biệt hóa tế bào sừng, sừng hóa, sự lành thương, phản ứng với nhiễm khuẩn và phản ứng miễn dịch bẩm sinh. Các quá trình sinh học này phản ánh sự bất thường hàng rào biểu mô như tình trạng tăng sừng quan sát được trên sang thương LPM và khả năng nhiễm khuẩn. Trong khi đó, các DEG giảm điều hòa chủ yếu liên quan đến quá trình oxy hóa-khử và phản ứng với một số ion (Hình 2a và 2b). Mặt khác, các DEG tăng điều hòa của toàn bộ và một phần dữ liệu của tập niêm mạc chủ yếu tăng lên ở các quá trình hóa ứng động của các tế bào miễn dịch, biệt hoá các tế bào miễn dịch, các phản ứng viêm, phản ứng miễn dịch bẩm sinh và mắc phải của các tế bào thâm nhiễm trong mô. Các quá trình sinh học ở tập dữ liệu một phần của niêm mạc cũng được phong phú hoá về các phản ứng với lipopolysaccharide (LPS) và trình diện kháng nguyên thông qua phức hợp tương thích mô chính (MHC) lớp II (Hình 2c và 2d), cũng như các quá trình về lành thương và phản ứng với vết thương. Các quá trình sinh học này cũng nhấn mạnh khả năng nhiễm khuẩn tiềm ẩn trong LPM, và gợi ý rằng quá trình lành thương đang diễn ra tại đây.





Hình 2. Thuật ngữ quá trình sinh học GO được phong phú hoá: (a) Tập dữ liệu biểu mô toàn bộ. (b) Tập dữ liệu biểu mô một phần. (c) Tập dữ liệu niêm mạc toàn bộ. (d) Tập dữ liệu niêm mạc một phần. Các quá trình được sắp xếp với p nhỏ nhất từ cuối mỗi biểu đồ

4. KẾT LUẬN

Sau khi phân tích dữ liệu phiên mã từ hai tập dữ liệu có sẵn trên cơ sở dữ liệu công cộng, chúng tôi đã xác định các dẫn ấn gen chung liên quan đến sự tăng sừng, sự lành thương, khiếm khuyết hàng rào biểu mô, và phản ứng với nhiễm trùng trong LPM. Nghiên cứu này phản ánh những thay đổi chung diễn ra ở biểu mô của sang thương LPM điển hình trên các mẫu bệnh nhân khác nhau, đồng thời nhấn mạnh vai trò của rối loạn chức năng hàng rào biểu mô và nhiễm trùng trong sinh bệnh học OLP. Việc nhiễm trùng là kết quả của khiếm khuyết hoặc tổn thương của hàng rào biểu mô hay là nguyên nhân gây ra các vết thương mãn tính cần được quan tâm trong các nghiên cứu tiếp theo.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin gửi lời cảm ơn tới Trường Đại học Quốc Gia Seoul đã hỗ trợ cho bài nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] M.R. Roopashree, R.V. Gondhalekar, M.C. Shashikanth, ... and A. Shukla, “Pathogenesis of oral lichen planus—a review”, *Journal of Oral Pathology and Medicine*, Vol. 39, pp.729–734, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2010.00946.x>

[2] Y. Liu, G. Liu, Q. Liu, ... and X. Wang, “The cellular character of liquefaction degeneration in oral lichen planus and the role of interferon gamma”, *Journal of Oral Pathology and Medicine*, Vol. 46, pp.1015–1022, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/jop.12595>

[3] K. Baek and Y. Choi, “The microbiology of oral lichen planus: Is microbial infection the cause of oral lichen planus?”, *Molecular Oral Microbiology*, Vol. 33, pp.22–28, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/omi.12197>

[4] K. Danielsson, M. Ebrahimi, E. Nylander, Y.B. Wahlin and K. Nylander, “Alterations in Factors Involved in Differentiation and Barrier Function in the Epithelium in Oral and Genital Lichen

- Planus”, *Acta Dermato-Venereologica*, Vol. 97, pp.214–218, 2017. DOI: <https://doi.org/10.2340/00015555-2533>
- [5] R. Lu, J. Zhang, W. Sun, G. Du and G. Zhou, “Inflammation-related cytokines in oral lichen planus: an overview”, *Journal of Oral Pathology and Medicine*, Vol. 44, pp.1–14, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/jop.12142>
- [6] X.A. Tao, C.Y. Li, J. Xia, ... B. Cheng, “Differential gene expression profiles of whole lesions from patients with oral lichen planus”, *Journal of Oral Pathology and Medicine*, Vol. 38, pp.427–433, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2009.00764.x>
- [7] V. Gassling, J. Hampe, Y. Acil, ... and R. Hasler, “Disease-associated miRNA-mRNA networks in oral lichen planus”, *PLoS One*, Vol. 8, pp.e63015, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063015>
- [8] K. Danielsson, P.J. Coates, M. Ebrahimi, ... and K. Nylander, “Genes involved in epithelial differentiation and development are differentially expressed in oral and genital lichen planus epithelium compared to normal epithelium”, *Acta Dermato-Venereologica*.; Vol. 94, pp.526–530, 2014. DOI: <https://doi.org/10.2340/00015555-1803>
- [9] Q. Yang, B. Guo, H. Sun, ... and X. Wang, “Identification of the key genes implicated in the transformation of OLP to OSCC using RNA-sequencing”, *Oncology Reports*, Vol. 37, pp.2355–2365, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3892/or.2017.5487>
- [10] E.F. Zhong, A. Chang, A. Stucky, ... and P.P. Sedghizadeh, “Genomic Analysis of Oral Lichen Planus and Related Oral Microbiome Pathogens”, *Pathogens*, Vol. 9, pp/952, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens9110952>
- [11] R. Iglesias-Bartolome, A. Uchiyama, A.A. Molinolo, ... and M.I. Morasso, “Transcriptional signature primes human oral mucosa for rapid wound healing”, *Science Translational Medicine*, Vol. 10, pp.eaap8798, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aap8798>
- [12] S. Li, A. Teegarden, E.M. Bauer, ... and A.K. Indra, “Transcription Factor CTIP1/ BCL11A Regulates Epidermal Differentiation and Lipid Metabolism During Skin Development”, *Scientific Reports*, Vol. 7, pp.13427, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13347-7>
- [13] Q. Shu, N.J. Lennemann, S.N. Sarkar, Y. Sadovsky and C.B. Coyne, “ADAP2 Is an Interferon Stimulated Gene That Restricts RNA Virus Entry”, *PLoS Pathogen*, Vol. 11, pp.e1005150, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005150>