

· 数据挖掘 ·

# 颅内动脉瘤的相关信号通路基因集富集及免疫浸润分析

古龙, 周华, 彭建华, 庞金伟, 谢雨珂, 郭科成, 张丽芳, 陈礼刚, 江涌\*  
(西南医科大学附属医院 四川省神经外科临床医学研究中心, 四川 泸州 646000)

**[摘要]** **目的:** 基于基因芯片技术,对颅内动脉瘤(IA) mRNA 表达谱芯片数据进行基因集富集分析(GSEA)和免疫浸润分析,为深入了解 IA 的形成机制提供理论依据。**方法:** 从基因表达数据库(GEO)中获取 GSE75436 芯片数据,利用 R 软件对基因表达谱进行基因本体论(GO)中生物学过程(BP)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路的 GSEA;采用 CIBERSORT 反卷积方法对表达谱中 22 种免疫细胞浸润比例进行分析;应用 COREMINE 数据库对显著富集过程进行中药预测。**结果:** GSEA 结果显示,IA 样本的基因表达改变主要涉及细胞因子的调节、白细胞激活及分化、炎症免疫应答等过程。对免疫细胞的浸润矩阵分析结果表明,静息肥大细胞和中性粒细胞在 IA 样本中显著减少。配对样本的分析结果显示,同一个体的 IA 样本中肥大细胞和自然杀伤细胞(NK 细胞)呈明显活化趋势,而中性粒细胞和初始 CD4<sup>+</sup> T 细胞明显减少。通过 COREMINE 预测发现,防己与粒细胞激活相关,黄连木、无患子与中性粒细胞激活相关,瓜蒌子、白芍和女贞子与 NK 细胞介导的细胞毒性相关。**结论:** 肥大细胞活化和 NK 细胞活化与 IA 发生发展密切相关,筛选出的核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)样受体(NLR)信号通路以及 NK 细胞介导的细胞毒性等炎症免疫相关通路可能作为 IA 形成机制中的重要影响因素,而防己等中药可能作为其潜在的分子药物来源。

**[关键词]** 颅内动脉瘤; 基因表达谱; 基因集富集分析; 免疫浸润; 炎症细胞; 蛛网膜下腔出血; 中药

**[中图分类号]** R22;R543;R28;C37;Q34 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)07-0178-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20192347

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190812.1409.002.html>

**[网络出版时间]** 2019-08-12 15:49

## Analysis on Gene Set Enrichment of Related Signaling Pathways and Immune Infiltration in Intracranial Aneurysm

GU Long, ZHOU Jian, PENG Jian-hua, PANG Jin-wei, XIE Yu-ke, GUO Ke-cheng, ZHANG Li-fang,  
CHEN Li-gang, JIANG Yong\*

(Neurosurgery Clinical Medical Research Center of Sichuan Province, The Affiliated Hospital of  
Southwest Medical University, Luzhou 646000, China)

**[Abstract]** **Objective:** Based on gene array technology, gene set enrichment analysis (GSEA) and immune infiltration analysis were performed on chip data of intracranial aneurysm (IA) mRNA expression profile, in order to provide theoretical basis for understanding the formation mechanism of IA. **Method:** The GSE75436 raw data were obtained from the gene expression omnibus (GEO). GSEA of biological process (BP) in gene ontology (GO) and Kyoto gene and genome encyclopedia (KEGG) signaling pathways were analyzed for gene expression profile by R software. The CIBERSORT deconvolution method was used to analyze the infiltration ratio of 22 types of immune cells in the expression profile. And COREMINE database was used to predict traditional Chinese medicines (TCMs), which were significant correlation with the enrichment result. **Result:** The GSEA

**[收稿日期]** 20190803(009)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81771278,81801176);四川省科技厅项目(19CXTD0008,2018RZ0090);四川省卫计委重点项目(18ZD021)

**[第一作者]** 古龙,在读硕士,从事脑血管疾病研究,Tel:0830-3165491,E-mail:354792937@qq.com

**[通信作者]** \*江涌,主任医师,教授,博士生导师,从事脑血管疾病与颅脑创伤研究,Tel:0830-3165461,E-mail:jiangyong@swmu.edu.cn

results showed that the changes in gene expression of IA samples mainly involved in the regulation of cytokines, activation and differentiation of leukocyte, inflammatory immune response and other processes. The infiltration matrix analysis of immune cells showed that mast cells resting and neutrophils were significantly reduced in IA samples. The comparison of paired samples showed that mast cells and natural killer cells (NK cells) were significantly activated in the IA samples of the same individual, while neutrophils and T cells CD4 naive were significantly reduced. Through COREMINE prediction, it was found that *Stephaniae Tetrandrae Radix* was correlated with the activation of granulocytes, *Sapindi Mukorossi Semen* and *Pistaciae Chinensis Cortex* were correlated with the activation of neutrophils, *Trichosanthis Semen*, *Paeoniae Radix Alba* and *Ligustri Lucidi Fructus* were correlated with the cytotoxicity mediated by NK cells. **Conclusion:** Activation of mast cells and NK cells are closely associated with the occurrence and development of IA. The inflammatory immune processes and pathways such as nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) -like receptor (NLR) signaling pathway and cytotoxicity mediated by NK cells may be important factors in the pathogenesis of IA, and TCMs such as *Stephaniae Tetrandrae Radix* may be the potential molecular drug sources.

**[Key words]** intracranial aneurysm; gene expression profile; gene set enrichment analysis; immune infiltration; inflammatory cells; subarachnoid hemorrhage; traditional Chinese medicine

蛛网膜下腔出血(SAH)是神经科常见的急症之一,多由颅内动脉瘤(IA)破裂引起,发病率占脑卒中的6%~10%。IA在病程起始阶段及发展过程中多无明显症状,其随着IA持续进展,最终可能发生破裂。动脉瘤性SAH患者的死亡率高达27%~42%<sup>[1]</sup>,并且约50%~60%的幸存者在接受手术治疗后仍会有后遗症,日常生活受到严重影响,进而造成巨大的社会及家庭负担<sup>[2]</sup>。随着对IA研究的不断深入,其发生发展机制得到了进一步揭示,但是依然没有找到明确有效的治疗靶点及预防措施。因此,对IA发生发展机制探究具有积极意义。

既往研究发现,IA中存在着多种基因差异表达,提示基因表达改变可能与IA发生发展密切相关<sup>[3]</sup>。与此同时,有研究者发现巨噬细胞及T淋巴细胞在动脉瘤组织中明显浸润,提示免疫细胞浸润可能促进IA持续发展并导致其最终破裂<sup>[4]</sup>。但是,传统的差异基因研究方法着重于单个基因表达差异筛选,并未将功能相关的基因作为一个整体进行分析。而对于动脉瘤壁的免疫细胞浸润也仅限于少数细胞种类,未考虑多种免疫细胞间的动态调节过程及其相对变化。

在本研究中,笔者应用基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)对公开数据库中仅有的配对IA样本进行生物过程信号分析,从而避免了只对单个基因的差异分析,有效保留表达改变不显著但具有重要生物学意义的基因<sup>[5]</sup>;同时,使用CIBERSORT对其进行22种免疫细胞浸润分析,旨在更深入地了解IA的发生发展机制,为寻找其治疗

靶点和新预防方案提供突破方向。

## 1 材料

从基因表达数据库(gene expression omnibus, GEO, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)下载编号为GSE75436<sup>[6]</sup>的基因芯片原始数据,该芯片平台为GPL570(HG-U133 Plus 2.0, Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array)。本次纳入30例样本,来自于15名患者配对的IA及颞浅动脉(superficial temporal artery, STA)组织总RNA。芯片探针的注释信息来自Affymetrix公司,含54 675条探针信息。

## 2 方法

**2.1 芯片数据预处理** 使用R软件(<https://www.r-project.org/>) Affy包中的RMA(robust multichip averaging)函数将CEL格式的原始数据进行背景矫正、数据归一化处理并计算基因表达值并转换为表达矩阵,对于多个探针对应相同基因者予以取最大值处理,并应用GPL570平台对应的注释信息进行基因注释。

**2.2 GSEA** 利用R软件中clusterProfiler包<sup>[7]</sup>将获得的表达矩阵分别进行基于基因本体论(GO)中生物学过程(BP)和基于京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路的GSEA,从而获得IA血管壁在GO功能注释和KEGG通路的富集结果。基因排序依照IA相对于STA的基因表达倍数改变(fold change, FC)降序排列,统计学方法为Fisher精确概率检验,应用错误发现率(false discovery rate, FDR)进行校正,筛选条件为 $P < 0.05$ 。

**2.3 获取免疫浸润矩阵** 在 R 软件中利用 CIBERSORT (<https://cibersort.stanford.edu/>) 反卷积计算方法<sup>[8]</sup>及其提供的 22 种免疫细胞转录特征矩阵,对表达谱矩阵进行 1 000 次模拟计算,从而获得 22 种免疫细胞浸润分布。筛选  $P < 0.05$  的样本作为可信样本进行后续分析。

**2.4 免疫细胞间相关性分析及组间差异分析** 在所有可信样本中,计算各种免疫细胞之间的 Pearson 相关系数,对免疫细胞间相互作用关系进行分析。同时,使用秩和检验 (Wilcoxon signed rank test) 分析 IA 组与 STA 组免疫细胞浸润的组间差异,  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

**2.5 配对样本的免疫细胞特征** 选择可信样本中同一患者来源的 IA 及 STA 样本,对其进行多种免疫细胞浸润趋势比较,分析免疫细胞在相同个体中不同疾病状态下血管壁的特征变化。

**2.6 免疫细胞相关过程的潜在药物预测** 通过将 GSEA 中明显富集的免疫相关过程输入 COREMINE 数据库 (<https://www.coremine.com>) 进行具有治疗潜力的中药预测,  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 芯片原始数据的预处理** 芯片原始数据经过预处理后具有良好的整齐性,可行进一步分析,其中红色为处理前数据,蓝色为处理后数据,见图 1。

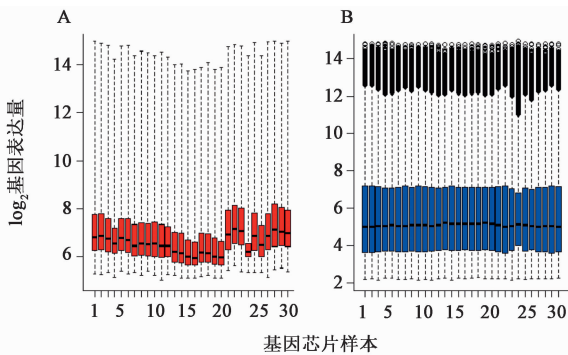
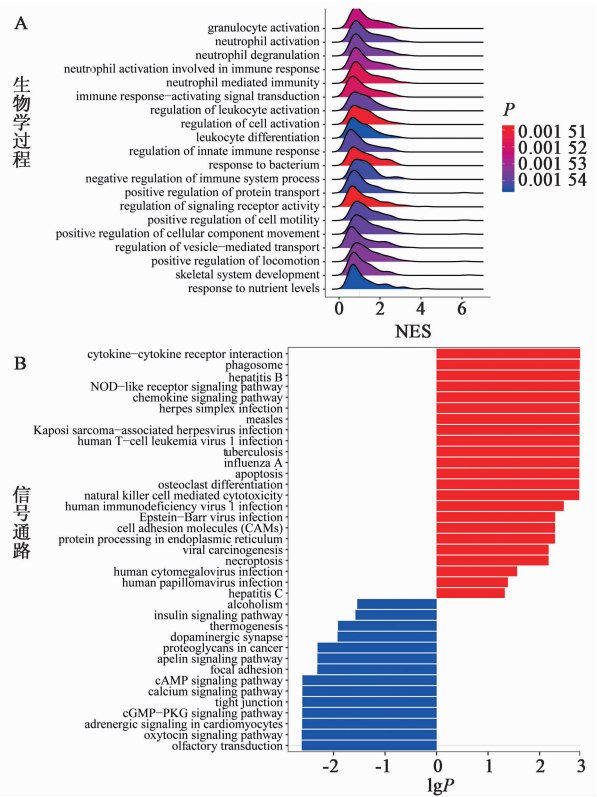


图 1 mRNA 芯片基因表达谱的原始数据预处理前后对比

Fig.1 Comparison of raw data of mRNA microarray expression profile before and after preprocessing

**3.2 GSEA** GSEA 主要包括 GO 中 BP 及 KEGG 通路分析两部分。在 GO 中,最显著的 BP 均显示为上调,且主要富集于粒细胞激活 (granulocyte activation),中性粒细胞介导免疫 (neutrophil mediated immunity),免疫反应-激活信号转导 (immune response-activating signal transduction) 等炎症免疫过程。图 2(A)展示了  $P$  最小的前 20 个 BP,

横坐标轴表示标准富集分数 (normalized enrichment score, NES)。在 KEGG 通路富集结果中,上调的信号通路主要富集于细胞因子-细胞因子受体间相互作用 (cytokine-cytokine receptor interaction),趋化因子信号通路 (chemokine signaling pathway),核苷酸结合寡聚化结构域 (NOD) 样受体信号通路 [nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor signaling pathway],自然杀伤细胞 (NK 细胞) 介导的细胞毒性 (natural killer cell mediated cytotoxicity) 以及多种病毒感染等炎症免疫相关通路;而下调的通路主要富集于心肌细胞中的肾上腺素能信号传导 (adrenergic signaling in cardiomyocytes),环鸟苷酸-蛋白激酶 G 信号通路 (cGMP-PKG signaling pathway),紧密连接 (tight junction) 等,见图 2(B)。



A. GO 生物学过程分析; B. KEGG 信号通路分析

图 2 IA 基因表达矩阵的 GSEA

Fig.2 GSEA of IA gene expression matrix

**3.3 免疫细胞浸润分布** 通过 CIBERSORT 反卷积方法计算并最终获得 16 个可信样本,图 3(A)中横坐标轴左边 3 个为 STA 样本,其余 13 个为 IA 样本。免疫细胞浸润结果发现,与 STA 组相比,IA 组的 M2 型巨噬细胞 (macrophages M2) 显著增加,中性粒细胞 (neutrophils) 明显减少。图 3(B)进一步

展示了 22 种免疫细胞的浸润比例(对应颜色模块 大小表示占总体免疫细胞比例)。

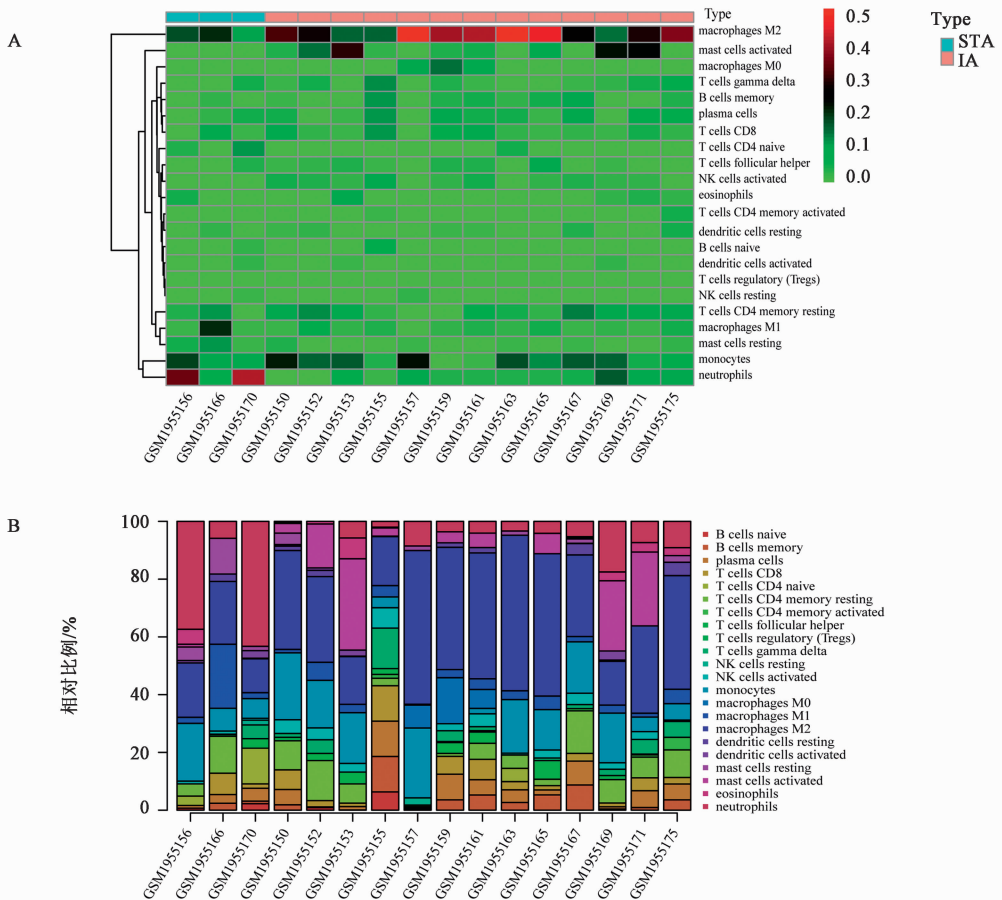


图 3 IA 及 STA 样本中免疫相关细胞的浸润组成  
Fig.3 Infiltration composition of immune-associated cells in IA and STA samples

**3.4 免疫细胞间相关性分析** 见图 4,蓝色代表负相关,红色代表正相关。结果发现  $\gamma\delta$ T 细胞(T cells gamma delta)与未活化 B 细胞(B cells naive)呈强烈正相关( $r = 0.85$ ),静息肥大细胞(mast cells resting)与 M1 型巨噬细胞呈强烈正相关( $r = 0.79$ ),初始  $CD4^+$  T 细胞(T cells CD4 naive)与中性粒细胞呈强烈正相关( $r = 0.77$ );此外,活化的树突状细胞(dendritic cells activated)与 M2 型巨噬细胞呈强负相关( $r = -0.68$ ),单核细胞(monocytes)与浆细胞(plasma cells)呈较强负相关( $r = -0.59$ )。

**3.5 IA 组与 STA 组的免疫浸润差异分析** 通过分析 IA 与 STA 组间免疫浸润细胞差异,发现静息肥大细胞( $P = 0.021$ )和中性粒细胞( $P = 0.039$ )在 IA 壁中显著减少;同时,在 IA 壁中活化的肥大细胞和 M2 型巨噬细胞具有明显增加的趋势。见图 5。

**3.6 配对样本的免疫细胞特征** 通过筛选可信样本中同一患者来源的样本,共获得 3 组可信配对样本(GSM1955155 与 GSM1955156; GSM1955165 与

GSM1955166; GSM1955169 与 GSM1955170)。对这 3 组样本中各种免疫细胞改变趋势进行分析的结果表明,相对于 STA 组织,IA 中静息肥大细胞与静息 NK 细胞减少,同时伴随肥大细胞及 NK 细胞活化增加,而中性粒细胞和初始  $CD4^+$  T 细胞呈降低趋势,见图 6,纵坐标轴为单种免疫细胞相对于总体免疫细胞的含量,线段端点表示同一个体的不同组织样本。

**3.7 免疫细胞相关过程的药物预测** 通过 COREMINE 预测具有潜在治疗作用的中药,结果发现了与粒细胞激活相关的防己( $P < 0.001$ ),与中性粒细胞激活相关的黄连木( $P = 0.005$ )和无患子( $P = 0.014$ ),以及与 NK 细胞介导的细胞毒性相关的瓜蒌子( $P < 0.001$ ),白芍( $P = 0.003$ ),女贞子( $P = 0.004$ )等可能作为分子治疗药物的潜在来源。

#### 4 讨论

近年来,随着临床诊疗技术的不断进步,IA 破裂所致 SAH 的总体死残率得到了一定程度的降低,

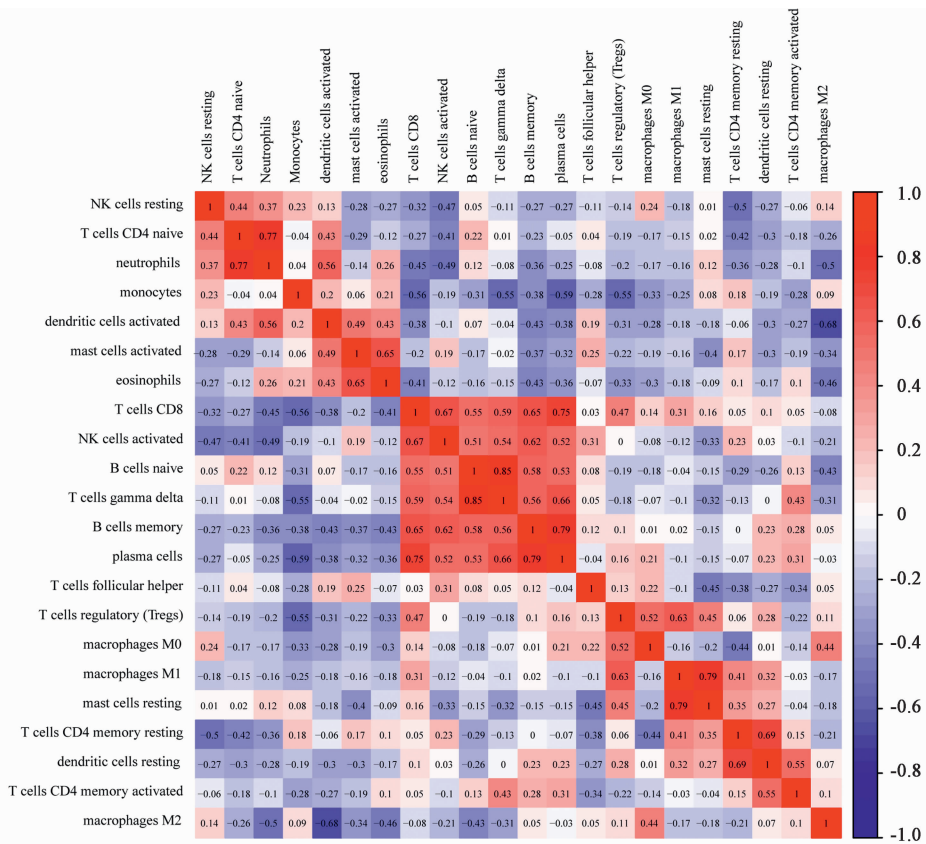


图 4 22 种免疫细胞间的相关性分析

Fig. 4 Correlation between 22 types of immune cells

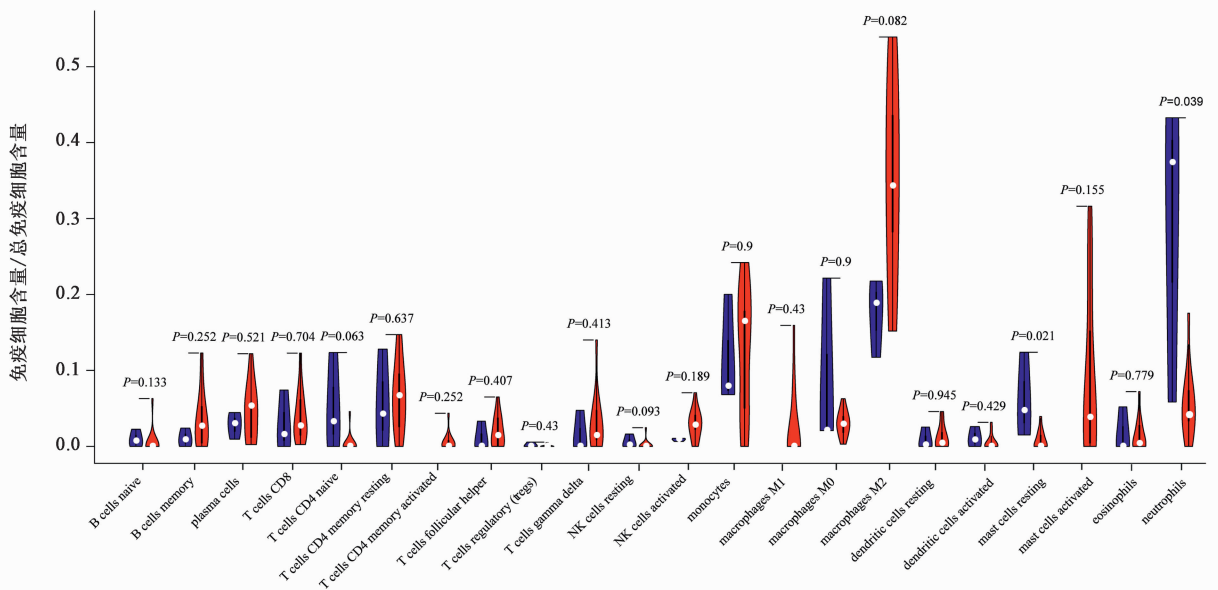


图 5 IA 组与 STA 组免疫细胞浸润分析

Fig. 5 Infiltration analysis of immune cells in IA group and STA group

但是临床预后仍不乐观<sup>[9]</sup>。目前,基础研究大都针对模拟 IA 破裂后所致 SAH 的炎症反应、基因调控及迟发性脑缺血等予以干预,取得了一些突破性的成果<sup>[10]</sup>。但是,在基础研究中显示出具有良好疗效的神经保护剂,在临床上均未被证实能有效改善

SAH 结局<sup>[11]</sup>。因此,针对 IA 形成机制及破裂影响因素的探索显得尤为重要。

4.1 IA 血管壁中多种炎症免疫相关信号通路明显增强 在本研究中,利用 GSEA 对 IA 血管壁表达谱的 BP 及 KEGG 富集分析结果表明,IA 壁中炎症性

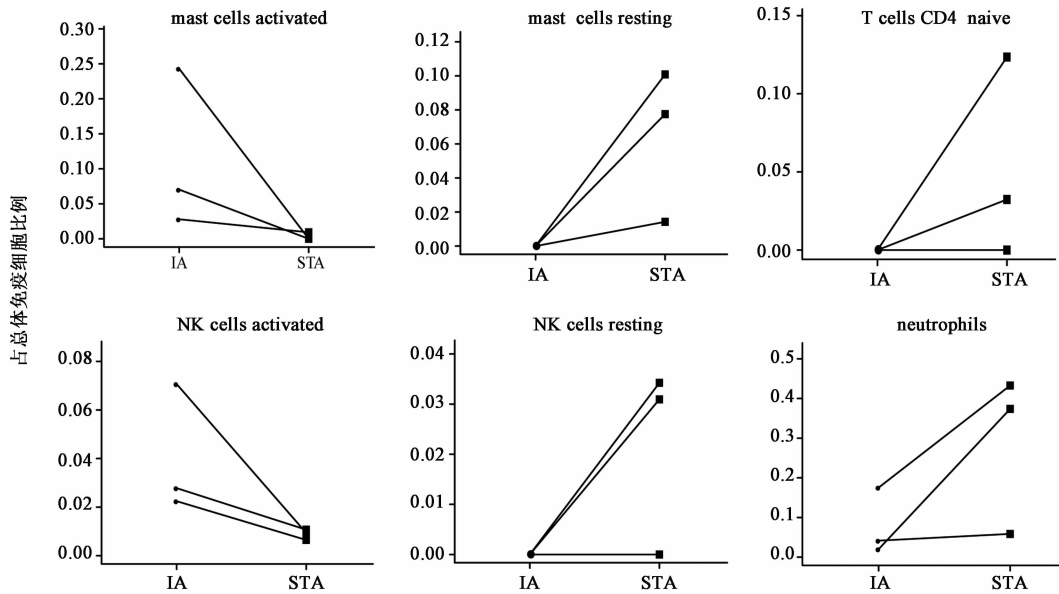


图 6 配对样本的免疫细胞特征  
Fig. 6 Characteristics of immune cells in paired samples

相关信号通路的激活、促炎因子的释放对 IA 形成起到了关键作用。既往研究报道, NOD 样受体 (NLRs) 家族成员与 IA 发生密切相关。其中, NOD 样受体家族 3 (NLRP3) 炎症小体表达量在破裂的人脑动脉瘤中高于未破裂的动脉瘤, 提示其可能参与 IA 发生<sup>[12]</sup>。与此同时, NOD1 和 NOD2 蛋白受体可以驱动核转录因子 (NF)- $\kappa$ B 磷酸化和丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路的激活, 促进细胞因子产生和细胞凋亡<sup>[13]</sup>。而 NF- $\kappa$ B<sup>[14]</sup> 作为 IA 发生发展过程中重要的转录因子, 在介导血管壁慢性炎症、促进炎症因子释放等方面起到了重要作用<sup>[15-16]</sup>。此外, 细胞因子-细胞因子受体间相互作用生物学过程包括了趋化因子, 白细胞介素家族 (ILs), 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 等在内的多种重要的 IA 相关因子, 其相互作用过程已被证实与家族性胸主动脉瘤和夹层等多种疾病密切相关<sup>[17]</sup>。有研究指出, IL-1, 人单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 和 TNF- $\alpha$  在 IA 患者外周血中表达增加, 提示可能与 IA 患病风险相关<sup>[18]</sup>。而趋化因子激活相关信号通路进一步促使血管壁的相关免疫细胞浸润<sup>[19]</sup>。与本研究结果一致的是 NOD 样受体、细胞因子相互作用等多种通路参与了 IA 形成, 说明多种信号通路的激活和细胞因子的释放共同介导了血管壁的慢性炎症及免疫细胞浸润过程, 导致血管壁结构与功能的持续性改变, 最终促进了 IA 的发生发展。这些增强的信号通路和参与调节的细胞因子可能作为未来 IA 预防及治疗的潜在靶点。

4.2 IA 血管壁中存在免疫细胞浸润差异 为进一步探究炎症免疫细胞在 IA 形成中的贡献<sup>[20]</sup>, 本文使用 CIBERSORT 对 IA 样本中的 22 种免疫细胞进行浸润分析。CIBERSORT 被称为计算机流式细胞术, 作为一种新兴的基因表达谱分析方法, 其使用反卷积算法输入模式化的细胞转录表达矩阵 (细胞表面标志物的 RNA 转录在特定细胞中呈模式化表达), 可以有效重建组织测序中各种原始细胞的类型和数量<sup>[8]</sup>。该方法既往已成功应用于描绘癌症内部和癌症之间的预后基因和白细胞亚群, 揭示肿瘤异质性对癌症结果的影响等<sup>[21]</sup>。本研究首次将 CIBERSORT 应用于 IA 样本分析, 其免疫细胞浸润的结果表明, 相对于 STA, IA 血管壁存在明显增加的 M2 型巨噬细胞、活化肥大细胞, 明显减少的静息肥大细胞、初始 CD4<sup>+</sup> T 细胞和中性粒细胞。同时, 在独立的个体配对样本中, 发现在 IA 壁中肥大细胞及 NK 细胞存在着明显的活化趋势。此外, 防己、黄连木等影响粒细胞活化等过程, 可能作为潜在的分子治疗药物来源。

4.3 肥大细胞浸润可能对于 IA 发生具有关键作用 ISHIBASHI 等<sup>[22]</sup> 发现活化的肥大细胞可以通过释放细胞因子及激活基质金属蛋白酶家族 (MMPs) 参与 IA 的形成。活化后的肥大细胞通过脱颗粒反应释放包括 TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-3, IL-6 和 TGF- $\beta$  等在内的细胞因子, 诱导周围组织的慢性炎症<sup>[23]</sup>。同时, 活化的肥大细胞可以释放包括基质蛋白和生长因子在内的多种 IA 形成相关因子, 激活包括 MMPs 在内

的多种蛋白,促进细胞外基质变性和动脉重塑,引起动脉粥样硬化和其他动脉疾病<sup>[24]</sup>。此外,肥大细胞可能通过损伤内皮细胞和直接诱导患者巨噬细胞表达 MMP-9,动物实验也证实抑制肥大细胞激活可以防止 IA 破裂<sup>[25]</sup>。本研究同样揭示了活化肥大细胞在组间及个体 IA 血管壁中均呈现浸润增加的现象。说明动脉瘤壁中肥大细胞的激活可以导致胞外基质变性和诱导血管慢性炎症反应,从而促进 IA 血管壁的病理改变,并且可能作为潜在的预防及治疗靶点。

#### 4.4 NK 细胞浸润可能对于 IA 形成具有重要作用

作为先天免疫的重要组成部分,NK 细胞在本次分析的 IA 组织中呈现出活化增强的趋势。NK 细胞主要对感染病毒的细胞作出快速免疫应答,识别感染细胞表面呈现的主要组织相容性复合体(MHC),触发细胞因子释放并引起细胞溶解或凋亡<sup>[26]</sup>。GSEA 提示多种通路与病毒感染相关,如乙型肝炎、麻疹、单纯性疱疹感染等,并且 NK 细胞介导的细胞毒性通路也呈上调现象。同时,富集的多个病毒相关免疫反应过程与 NF- $\kappa$ B 密切相关<sup>[27]</sup>。目前关于 NK 细胞在 IA 中的作用报道较少,但其浸润改变及相关信号通路的富集提示其可能参与了 IA 发生与发展。因此,笔者推测病毒介导的活化 NK 细胞可能错误识别并导致了内皮细胞或血管平滑肌细胞的溶解或凋亡,最终造成血管壁的结构及功能改变。而针对 NK 细胞介导的细胞毒性通路,瓜蒌子、白芍等可作为潜在的分子治疗药物来源。

综上所述,本研究应用 GSEA 发现了 NOD 样受体信号通路和 NK 细胞介导的细胞毒性等炎症免疫相关通路在 IA 形成中具有重要作用。同时,CIBERSORT 免疫浸润分析提示肥大细胞及 NK 细胞在 IA 中呈现出活化增强的趋势,为深入了解 IA 的形成与发展提供了新的研究突破点。同时,筛选出的中药药物可能作为 IA 预防及治疗的潜在分子药物来源。

#### [参考文献]

[1] FRÖSEN J. Smooth muscle cells and the formation, degeneration, and rupture of saccular intracranial aneurysm wall—a review of current pathophysiological knowledge[J]. *Transl Stroke Res*, 2014, 5(3):347-356.  
[2] 张伟平,屈洪党.蛛网膜下腔出血的诊断与治疗[J]. *中华全科医学*, 2019, 17(3):345-346.  
[3] SHI C, AWAD I A, JAFARI N, et al. Genomics of human intracranial aneurysm wall [J]. *Stroke*, 2009, 40(4): 1252-1261.

[4] ZHOU H F, YAN H, CANNON J L, et al. CD43-mediated IFN-gamma production by CD8<sup>+</sup> T cells promotes abdominal aortic aneurysm in mice [J]. *J Immunol*, 2013, 190(10):5078-5085.  
[5] BILD A, FEBBO P G. Application of a priori established gene sets to discover biologically important differential expression in microarray data [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(43):15278-15279.  
[6] LI H, YUE H Y, HAO Y J, et al. Expression profile of long noncoding RNAs in human cerebral aneurysms: a microarray analysis [J]. *J Neurosurg*, 2017, 127(5): 1055-1062.  
[7] YU G, WANG L G, HAN Y, et al. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters [J]. *OMICS*, 2012, 16(5):284-287.  
[8] NEWMAN A M, LIU C L, GREEN M R, et al. Robust enumeration of cell subsets from tissue expression profiles [J]. *Nat Methods*, 2015, 12(5):453-457.  
[9] 修位刚,张曼,李定君,等.大脑前动脉远端动脉瘤外科治疗 32 例临床分析 [J]. *第三军医大学学报*, 2015, 37(1):78-82.  
[10] SCHUBERT G A, SCHILLING L, THOMÉ C. Clazosentan, an endothelin receptor antagonist, prevents early hypoperfusion during the acute phase of massive experimental subarachnoid hemorrhage: a laser Doppler flowmetry study in rats [J]. *J Neurosurg*, 2008, 109(6): 1134-1140.  
[11] ADIBI A, SEN A, MITHA A P. Cell therapy for intracranial aneurysms: a review [J]. *World Neurosurg*, 2016, 86:390-398.  
[12] ZHANG D, YAN H, HU Y, et al. Increased expression of nlrp3 inflammasome in wall of ruptured and unruptured human cerebral aneurysms: preliminary results [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2015, 24(5):972-979.  
[13] CARUSO R, WARNER N, INOHARA N, et al. NOD1 and NOD2: signaling, host defense, and inflammatory disease [J]. *Immunity*, 2014, 41(6):898-908.  
[14] 苗雨露,张文智,张雯霞,等.基于 NF- $\kappa$ B 信号通路的中药治疗脓毒症研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(9):214-220.  
[15] LAI X L, DENG Z F, ZHU X G, et al. *Apc* gene suppresses intracranial aneurysm formation and rupture through inhibiting the NF- $\kappa$ B signaling pathway mediated inflammatory response [J]. *Biosci Rep*, 2019, doi: 10.1042/BSR20181909.  
[16] AOKI T, NISHIMURA M, MATSUOKA T, et al. PGE<sub>2</sub>-EP<sub>2</sub> signalling in endothelium is activated by haemodynamic stress and induces cerebral aneurysm

- through an amplifying loop via NF- $\kappa$ B [ J ]. Br J Pharmacol, 2011, 163 ( 6 ) : 1237-1249.
- [ 17 ] JONDEAU G, BOILEAU C. Familial thoracic aortic aneurysms [ J ]. Curr Opin Cardiol, 2014, 29 ( 6 ) : 492-498.
- [ 18 ] ZHANG H F, ZHAO M G, LIANG G B, et al. Expression of pro-inflammatory cytokines and the risk of intracranial aneurysm [ J ]. Inflammation, 2013, 36 ( 6 ) : 1195-1200.
- [ 19 ] STRIZ I, BRABCOVA E, KOLESAR L, et al. Cytokine networking of innate immunity cells: a potential target of therapy [ J ]. Clin Sci ( Lond ), 2014, 126 ( 9 ) : 593-612.
- [ 20 ] 马征, 孙雅菲, 康玲伶, 等. 醒脑静注射液治疗急性脑出血患者临床疗效及对血清炎症因子、氧化应激的影响 [ J ]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23 ( 19 ) : 186-190.
- [ 21 ] GENTLES A J, NEWMAN A M, LIU C L, et al. The prognostic landscape of genes and infiltrating immune cells across human cancers [ J ]. Nat Med, 2015, 21 ( 8 ) : 938-945.
- [ 22 ] ISHIBASHI R, AOKI T, NISHIMURA M, et al. Contribution of mast cells to cerebral aneurysm formation [ J ]. Curr Neurovasc Res, 2010, 7 ( 2 ) : 113-124.
- [ 23 ] FROSSI B, MION F, TRIPODO C, et al. Rheostatic functions of mast cells in the control of innate and adaptive immune responses [ J ]. Trends Immunol, 2017, 38 ( 9 ) : 648-656.
- [ 24 ] KOVANEN P T, BOT I. Mast cells in atherosclerotic cardiovascular disease-activators and actions [ J ]. Eur J Pharmacol, 2017, 816 : 37-46.
- [ 25 ] LIU J, KUWABARA A, KAMIO Y, et al. Human mesenchymal stem cell-derived microvesicles prevent the rupture of intracranial aneurysm in part by suppression of mast cell activation via a PGE2-dependent mechanism [ J ]. Stem Cells, 2016, 34 ( 12 ) : 2943-2955.
- [ 26 ] VIVIER E, RAULET D H, MORETTA A, et al. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells [ J ]. Science, 2011, 331 ( 6013 ) : 44-49.
- [ 27 ] SCHMITZ M L, KRACHT M, SAUL V V. The intricate interplay between RNA viruses and NF- $\kappa$ B [ J ]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1843 ( 11 ) : 2754-2764.

[ 责任编辑 刘德文 ]