

基于生物信息分析焦亡在脑出血发病机制中的作用及临床意义

迪丽努尔·萨迪克, 谢敏杰, 方永康

摘要 目的:使用生物信息学对脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)患者的血肿周围组织及对照样本的基因芯片数据进行分析,确定与ICH后细胞焦亡相关的关键分子,进一步探讨ICH的病理机制及潜在的治疗靶点。**方法:**GEO数据库中选取4例ICH患者血肿周围组织和对侧相应部位(白质与灰质)正常脑组织样本中差异表达基因谱数据,对差异表达基因(differentially expressed genes, DRGs)和焦亡相关基因(pyroptosis-related genes, PRGs)进行合并分析,确定差异表达的焦亡相关基因(differentially expressed-PRGs, DE-PRGs)。对筛选出的DE-PRGs进行聚类,并进行GO、KEGG和蛋白相互作用网络分析。**结果:**与对照组织相比,在血肿周围组织中,共发现44个DE-PRGs。GO和KEGG分析表明,这44个DE-PRGs主要富含在细胞凋亡过程、炎症反应的正调控、核因子 κ B通路正调控、NOD-样受体信号通路及细胞焦亡过程中。对44个DE-PRGs进行蛋白质网络分析,筛选出10个关键基因:IL-1 β 、CXCL8、STAT3、TLR2、CASP1、ICAM1、IRF1、PTGS2、NLRP3和IL1RN;GO富集功能分析显示,这些关键基因在炎症反应、焦亡、信号通路等方面显著丰富。**结论:**本研究采用生物信息学分析发现了与ICH后焦亡相关的DE-PRGs 44个,进一步通过蛋白质网络分析筛选出10个关键基因,功能分析显示均与ICH后焦亡机制相关,可能是ICH的潜在治疗靶点。

关键词 脑出血;生物信息;差异表达基因;焦亡

中图分类号 R741;R741.02;R743.34 文献标识码 A DOI 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20230038

本文引用格式:迪丽努尔·萨迪克, 谢敏杰, 方永康. 基于生物信息分析焦亡在脑出血发病机制中的作用及临床意义[J]. 神经损伤与功能重建, 2024, 19(2): 63-68.

Analyze the Role and Clinical Significance of Pyroptosis in the Pathogenesis of Intracerebral Hemorrhage through Bioinformatics Analysis DILINUER Sadike, XIE Minjie, FANG Yongkang. Department of Neurology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Abstract Objective: To use bioinformatics to analyze the gene chip data of the tissue surrounding the hematoma and control samples from patients with intracerebral hemorrhage (ICH), identify key molecules related to cell pyroptosis after ICH, and further explore the pathological mechanisms and potential therapeutic targets of ICH. **Methods:** Differentially expressed gene profiles were selected from the GEO database for the tissue surrounding the hematoma of four ICH patients and the corresponding normal brain tissue samples (white and gray matter) from the contralateral side. The differentially expressed genes (DEGs) and pyroptosis-related genes (PRGs) were merged and analyzed to identify differentially expressed PRGs (DE-PRGs). GO, KEGG enrichment analyses, and protein-protein interaction (PPI) analyses were performed on the identified DE-PRGs. **Results:** Compared with control tissue, a total of 44 DE-PRGs were found in the tissue surrounding the hematoma. GO and KEGG analyses indicated that these 44 DE-PRGs were mainly enriched in processes such as apoptosis, positive regulation of inflammatory response, positive regulation of the NF- κ B pathway, NOD-like receptor signaling pathway, and pyroptosis. PPI analysis of the 44 DE-PRGs identified 10 key genes: IL-1 β , CXCL8, STAT3, TLR2, CASP1, ICAM1, IRF1, PTGS2, NLRP3, and IL1RN. GO enrichment functional analysis showed that these key genes were significantly enriched in inflammatory response, pyroptosis, and signaling pathways. **Conclusion:** This study identified 44 DE-PRGs related to pyroptosis after ICH through bioinformatics analysis and further screened out 10 key genes through PPI analysis. Functional analysis showed that all were related to the mechanism of pyroptosis after ICH and may be potential therapeutic targets for ICH.

Keywords intracerebral hemorrhage; bioinformatics; differentially expressed genes; pyroptosis

作者单位

华中科技大学同济医学院附属同济医院神经内科
武汉 430030

基金项目

国家自然科学基金(TREK-1调控脑出血炎性微环境减轻继发性脑损伤的机制研究, No. 82001272; 调节性T细胞在慢性低灌注脑白质缺血后结构与功能重塑中的作用及其机制研究, No. 81974180)

收稿日期

2023-08-29

通讯作者

方永康

fangyongkang1213

@163.com

脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)约占全部脑卒中的20%~30%,是致死率和致残率最高的脑卒中类型^[1]。炎性微环境是

影响ICH后神经损伤与修复的关键因素^[2]。调控炎性微环境,使其从神经损害表型向神经保护表型转化,可以为ICH提供有针对性

的治疗方法。既往有研究证明程序性细胞死亡在 ICH 中起重要作用^[3]。焦亡是一种炎症性的调节性细胞死亡,发生在炎症小体激活的下游。研究表明,焦亡与多种神经系统疾病的发病机制有关^[4]。目前,还没有基于生物信息学的关于 ICH 后焦亡基因相关机制的研究。因此,本研究使用数据挖掘和数据分析技术筛选 ICH 患者血肿周围组织和对侧正常组织中的差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs),并将这些 DEGs 与焦亡相关基因 (pyroptosis-related genes, PRGs) 数据集合并分析,得到 DE-PRGs。确定与焦亡相关的关键分子,进一步探讨 ICH 的机制及潜在的治疗靶点。

1 资料与方法

1.1 研究设计

研究流程图如图 1 所示。在 GEO 数据库中检索 ICH 患者血肿周围组织和对侧相应部位正常脑组织样本中 DEGs 数据,对 DEGs 和 PRGs 进行合并分析,确定差异表达的焦亡相关基因 (DE-PRGs)。对筛选出的 DE-PRGs 进行聚类,并进行 GO (Gene Ontology)、KEGG 和蛋白相互作用网络 (protein-protein interaction, PPI) 分析,最终对作用于关键基因的相关药物进行讨论。

1.2 研究资料

1.2.1 ICH 相关 DEGs 使用检索词“hemorrhagic stroke、cerebral hemorrhage、ICH”检索基因表达谱公共数据库 GEO (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)。纳入标准如下:①关于生物体的研究:Homo sapiens;②研究类型:阵列表达谱分析;③属性:组织。对检索到的结果进行筛选,选取并下载了 Rosell 存储的数据集 GSE24265^[5]进行进一步分析。该数据集包括 4 例 ICH 患者的血肿周围组织和对侧相应部位(白质和灰质)的微阵列数据^[6]。

1.2.2 PRGs 来自 genecard 网站 (<https://www.genecards.org/>)和在关于焦亡的综述中普遍接受并被广泛提到的 403 个 PRGs 被纳入分析^[4,7,8]。

1.3 数据分析

1.3.1 DEGs 筛选 使用在线分析工具 GEO2R^[9]对差异表达进行分析。筛选条件为: $|\log_2(\text{fold-change})| > 1$,且 $P < 0.05$;对数据集 GSE24265 中的差异基因进行重叠分析,选取共 DEGs,并绘制 Venn 图和聚类热图。

1.3.2 DEGs 功能富集及信号通路分析 GO 富集分析包括 3 个方面:①细胞组分,细胞的每个部分和细胞外环境;②分子功能,分子水平的活性,如催化等;③生物过程,是指由 1 个或多个分子功能有序组合而产生的

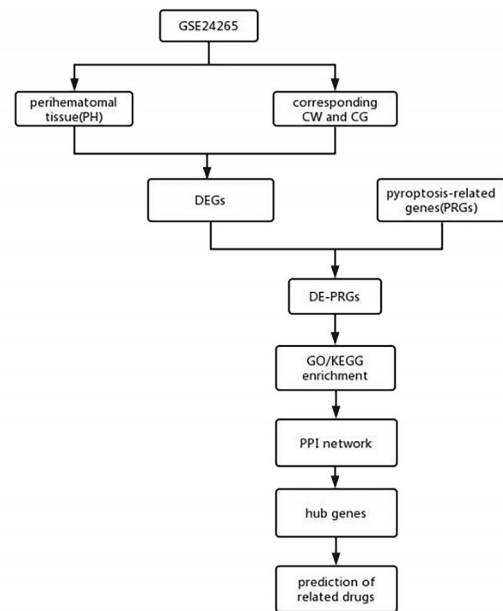


图 1 本课题研究流程图

系列事件,一般一个过程是由多个不同的步骤组成。KEGG 是从分子水平了解生物系统的高层次功能。运用在线工具 DAVID 对 DEGs 进行 GO 和 KEGG 富集分析。

1.3.3 PPI 的构建 在 STRING 数据库中对筛选出的共 DEGs 进行 PPI 拓拓扑网络构建,构建条件为:数据来源 Textmining、co-expression、gene function 和 co-occurrence;相互作用关系系数 ≥ 0.4 。

1.4 实验验证部分

1.4.1 实验动物及试剂 实验动物是 C57BL/6J 小鼠,均由华中科技大学附属同济医院实验动物中心提供。8~10 周,雄性,体质量 24~28 g,健康清洁 SPF 级小鼠。小鼠随机分为假手术组和 ICH 组,每组 4 只。胶原酶 VII 购于美国 Sigma-Aldrich 公司。PCR 引物由上海生工生物工程有限公司设计合成。

1.4.2 ICH 模型的建立 参照文献方法,通过胶原酶 VII 诱导 ICH 模型^[10]:小鼠完全麻醉后,将小鼠俯卧位固定在立体定位仪并且暴露颅骨,以前囟为原点,水平右开 2 mm、前进 0.5 mm 为进针点,进针深度 3.8 mm。将 0.5 U/ μ L 胶原酶 VII 0.5 μ L 以 0.1 μ L/min 的速度注射,注射完成后停针 7 min 以防回流。

1.4.3 关键基因 mRNA 的转录水平检测 Trizol 法提取鼠脑组织总 RNA,使用 TAKARA 试剂盒对 2 μ g RNA 样本进行反转录,并在 CFX96 实时系统 (Bio-Rad) 上使用 SYBR Green PCR Master Mix 进行 RT-q PCR 扩增。关键基因的转录水平标准化为 β -actin。

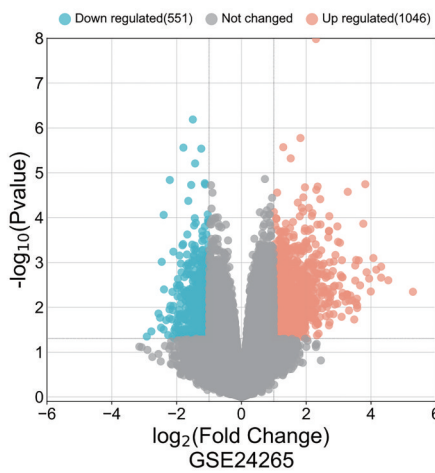
1.5 统计学处理

采用SPSS 20.0软件处理数据。符合正态分布以及方差齐性的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本均数 *t* 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ICH 相关 DEGs 分析结果

通过比较数据集 GSE24265 中血肿周围和相应的灰质和对侧白质获得 DEGs。通过 GEO2R 对 GSE24265 进行 DEGs 分析。经过前处理后,与 ICH 相关的基因有 1597 个,其中 1046 个基因高表达,551 个基因低表达,见图 2。



注:GSE24265 数据集中 ICH 队列与正常对照队列之间的差异的火山图,红色为高表达基因,蓝色为低表达基因。

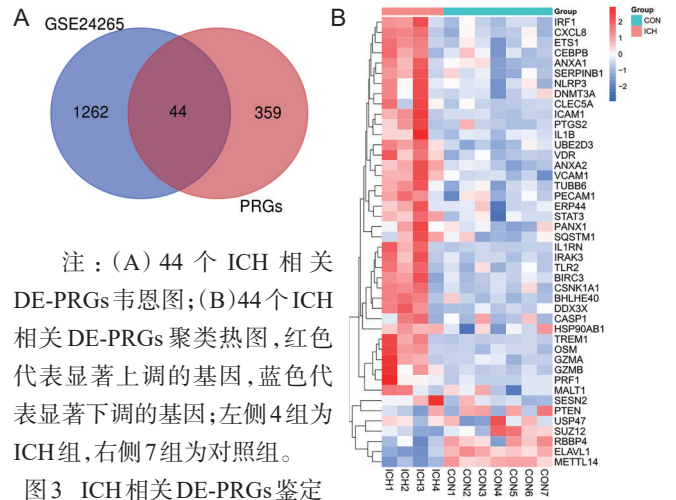
图 2 ICH 相关 DEGs 筛选

2.2 ICH 相关 DE-PRGs 的鉴定

将从既往文献或 genecard 获得的 403 个 PRGs 与 GSE24265 的表达谱合并相交,获得 ICH 相关的 44 个 DE-PRGs,见图 3A。对这 44 个基因进行聚类分析且绘制热图,见图 3B。

2.3 DE-PRGs 的 GO 及 KEGG 通路富集分析

GO 富集分析表明,DE-PRGs 的生物过程变化显著富集在对细胞增殖的负调控、细胞凋亡过程、炎症反应的正调控、核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 通路正调控、免疫应答、白细胞介素 (interleukin, IL)-1 β



注:(A) 44 个 ICH 相关 DE-PRGs 韦恩图;(B)44 个 ICH 相关 DE-PRGs 聚类热图,红色代表显著上调的基因,蓝色代表显著下调的基因;左侧 4 组为 ICH 组,右侧 7 组为对照组。

图 3 ICH 相关 DE-PRGs 鉴定

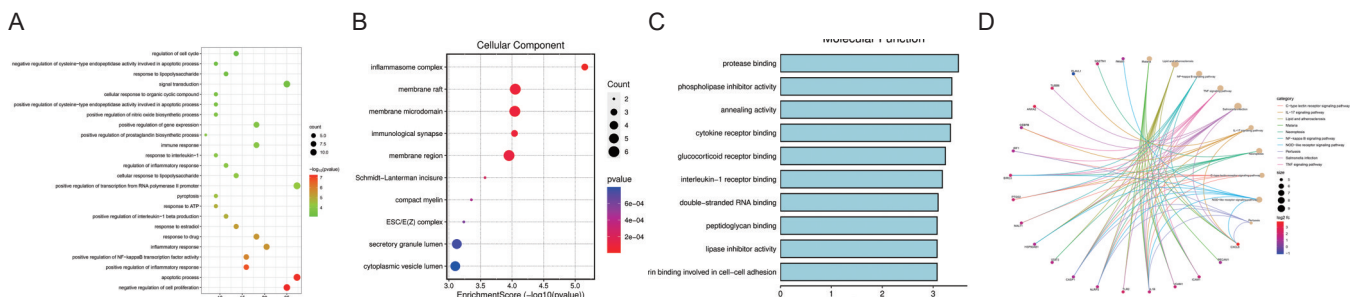
的正调控、焦亡、RNA 聚合酶 II 启动子对转录的正调控等,图 4A 显示变化显著 ($P < 0.001$) 的生物过程通路。细胞组分主要有炎症小体复合体、膜微域、免疫突触、膜区、膜筏等,见图 4B。分子功能主要有蛋白酶结合、磷脂酶抑制剂活性、退火活性、细胞因子受体结合、糖皮质激素受体结合、IL-1 受体结合、双链 RNA 结合、肽多糖结合、脂肪酶抑制因子活性、细胞黏附等,见图 4C。

KEGG 通路富集分析结果显示,富集的通路主要是 NF- κ B 信号通路、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 信号通路、脂质和动脉粥样硬化、沙门氏菌感染、NOD-样受体信号通路、疟疾、百日咳、凋亡、IL-17 信号通路等,见图 4D。

2.4 PPI 分析

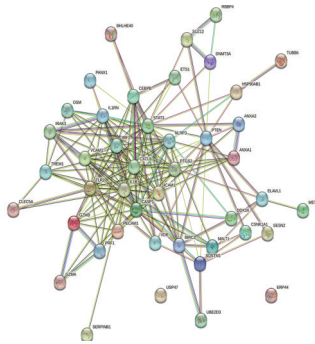
通过在线数据库 STRING^[11]进行 PPI 网络分析,结果得到包含 44 个节点和 186 条边的 PPI 网络。这 44 个基因中有 2 个与其他分子没有关联,也没有形成分子网络,见图 5。

使用 Cytoscape 的 MCODE 插件,根据筛选标准从 PPI 网络获得 2 个重要的集群模块。模块 1 的最高聚类分数为 10,包括 78 条边、14 个节点和 1 个名为 VCAM1 的种子基因,见图 6A;模块 2 的聚类分数为 4.76,由 3 条边、3 个节点和 1 个名为 PTEN 的种子基因组成,见图 6B。



注:(A)GO-生物过程分析($P < 0.001$);(B)GO-细胞组分分析;(C)GO-分子功能分析;(D)KEGG 通路富集分析。

图 4 44 个 DE-PRGs 的 GO 及 KEGG 通路富集分析



注:在字符串在线数据库中,网络设置为默认值(交互分数>0.4);基因用节点表示,基因间的相互作用用边表示。

图5 DE-PRGs的PPI网络分析

再使用Cytoscape的cytoHubba插件对基因网络按MCC算法排序计算筛选出了10个关键基因:IL-1 β 、CXCL8、STAT3、TLR2、CASP1、ICAM1、IRF1、PTGS2、NLRP3和IL1RN,见图7A;其次,对这些关键基因的功能进行了分析,发现它们在包括炎症反应、焦亡、信号通路等GO方面显著丰富,进一步验证了ICH与焦亡之间的联系,见图7B。

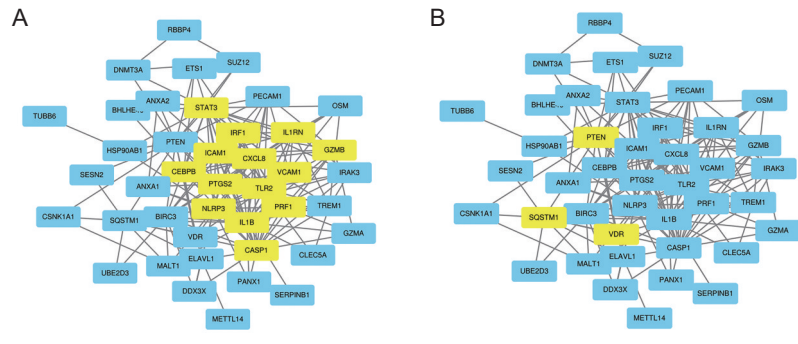
2.5 关键基因 mRNA 表达水平比较

实时荧光定量PCR检测显示,假手术组IL-1 β 、CXCL8、STAT3、TLR2、CASP1、IRF1、PTGS2和IL1RN的mRNA的转录水平均低于ICH组(均 $P < 0.05$),NLRP3和ICAM1有降低趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$),见图8。

3 讨论

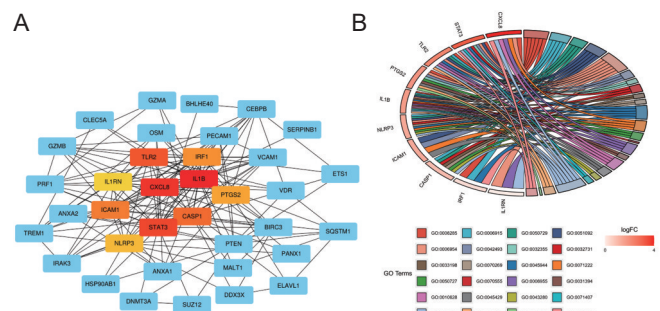
全基因组表达的生物信息学分析可以在分子水平上提供对生物途径的洞察。本研究使用一套全面的生物信息学分析,通过利用公开可用的转录组数据,描述了分析ICH发病机制中焦亡的多个分子机制。通过应用聚类方法,确定了焦亡相关基因及其在ICH中的关键功能作用。本研究首先从GSE24265正常与出血组织的DEGs和genecard数据库中的PRGs的交集中获得了44个DE-PRGs。GO和KEGG分析表明,这44个与焦亡相关的DEGs主要在细胞凋亡过程、炎症反应的正调控、NF- κ B通路正调控、NOD-样受体信号通路、焦亡等途径富集。因此,这44个与焦亡相关的DEGs也可能通过这些途径在ICH中发挥重要作用。

ICH后神经元、小胶质细胞和内皮细胞的焦亡与神经功能受损、免疫炎症的激活和血脑屏障的破坏密切相关。NLRP3/caspase-1/GSDMD通路可诱导ICH后焦亡。具体来说,ICH后脑微环境的变化激活了NLRP3



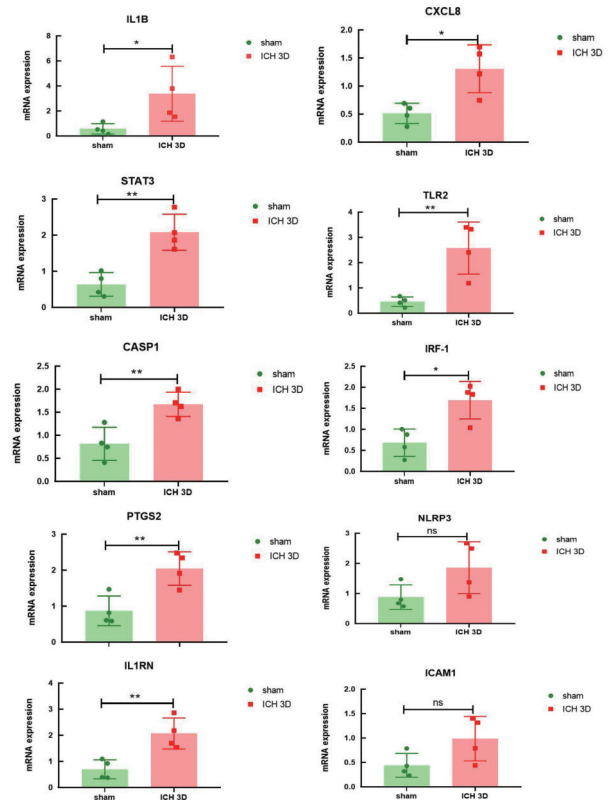
注:(A)模块1,最高聚类分数为10,包括78条边、14个节点和1个名为VCAM1的种子基因;(B)模块2,最高聚类分数为4.76,由3条边、3个节点和1个名为PTEN的种子基因组成。

图6 DE-PRGs的PPI网络分析中的重要集群模块



注:(A)10个关键基因;(B)关键基因的GO富集分析

图7 DE-PRGs的关键基因及其GO富集分析



注:2组的关键基因IL-1 β 、CXCL8、STAT3、TLR2、CASP1、IRF1、PTGS2、IL1RN、NLRP3和ICAM1的mRNA的转录水平;每组4只,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$,**** $P < 0.0001$ 。

图8 关键基因的mRNA的转录水平比较

上游的各种分子,包括NMDAR1、TXNIP等。它诱导NLRP3,促进炎性小体的组装,从而激活caspase-1。Caspase-1除了增加IL-1 β 、IL-18、TNF- α 等炎症因子的释放外,还能裂解GSDMD释放GSDMD-N,从而在细胞膜上形成孔道,促进炎症因子的释放。一方面,释放的炎症因子通过免疫反应损伤正常组织;另一方面,也可以重新激活上述焦亡反应,形成正反馈效应,进一步加重脑损伤。

炎性小体的激活启动了经典的焦亡信号通路。到目前为止,最具特征的炎症体是由NLRP3组装的。NLRP3在小胶质细胞和其他类型的脑细胞中表达。目前的观点认为,小胶质细胞的激活和极化是ICH后继发性脑损伤的重要原因。ICH激活NLRP3炎性小体,NLRP3的产生呈双相增加,在ICH后24h和72h达到高峰^[12]。NLRP3基因敲除可减少ICH后24h的脑水肿,降低髓过氧化物酶水平,并改善ICH后24~72h的神经功能^[13]。Caspase-1的表达随着NLRP3表达的增加而增加。减弱ICH后NLRP3的过度产生导致caspase-1和IL-1 β 表达下降,提示NLRP3/caspase-1信号轴可能参与ICH后IL-1 β 的过度产生。同样,NLRP3炎性小体通过释放IL-1 β 和促进ICH后中性粒细胞的浸润来放大炎症反应。

Caspase-1激活是经典的焦亡途径中的关键因素。Caspase-1在ICH后焦亡和继发性免疫性炎症中的重要作用已有文献记载。多项动物研究证实,小鼠ICH后至少6h,caspase-1水平升高,一般在24~72h(35~37h)达到高峰。此外,通过抑制caspase-1,IL-1 β 的表达和基质金属蛋白酶-9的活性降低,从而减少血脑屏障损伤,改善神经功能,减轻脑水肿。

IL-1 β 是一种强有力的炎症信号分子,具有多种自分泌、旁分泌和全身功能。IL-1 β 前身的快速转录上调可由各种刺激触发,包括脂多糖、缺氧、TNF- α 、IL-18和IL-1 β 本身^[14]。翻译后,IL-1 β 前身与炎性小体复合体相互作用,经历蛋白分解形成生物活性细胞因子。焦亡在IL-18和IL-1 β 的释放中起关键作用。

除了主要相关基因NLRP3和CASP1外,DE-PRGs中的SQSTM1、METTL14、BHLHE40、TREM、GZMB等基因在焦亡中也起作用。SQSTM1/p6是一种众所周知的巨噬/自噬受体。脂多糖引发GSDMD依赖性焦亡,使巨噬细胞和单核细胞被动释放SQSTM1^[15]。METTL14-TINCR-NLRP3轴在焦亡中的作用也在研究中被证实^[16]。近年来,对BHLHE40(又称DEC1)的研究表明,它们在自噬和焦亡中起重要作用^[17]。还有

研究发现TREM1抑制剂通过降低GSDMD的N末端片段和IL-1 β 产生水平来改善小胶质细胞的焦亡^[18]。研究还表明,自然杀伤细胞中的颗粒酶B是一种丝氨酸蛋白酶,能裂解Gasdermin E以诱导焦亡继而诱导细胞外基质破坏和促炎细胞因子激活^[19]。

根据在上述分析中得出NLRP3和CASP1等与焦亡直接相关的基因与ICH的关系,以及与焦亡调控相关的NF- κ B信号通路与ICH之间的相关性。将这作为主要靶点列出了相关药物的预测分析。

炎性小体的激活,如NLRP3的激活,与焦亡的出现有关,从而导致炎症介质的释放。因此,针对炎性小体激活的方法是减轻ICH后焦亡和炎性损伤的有效治疗策略。MCC950是目前抑制NLRP3齐聚最有效的抑制剂。MCC950通过与NLRP3的Nacht功能区结合,有效地抑制了NLRP3的激活继而减少IL-1b的产生,减轻神经功能缺失和血肿周围脑水肿,改善血脑屏障完整性,减少注射自体血或胶原酶诱导ICH后的焦亡过程^[20]。Didymin是一种柑橘类黄酮,通过上调Raf激酶抑制蛋白的表达,下调与焦亡相关的分子NLRP3、caspase-1和GSDMD及炎性细胞因子TNF- α 和髓过氧化物酶的表达,从而减轻ICH后小胶质细胞的激活和中性粒细胞的浸润^[21]。穿心莲内酯通过抑制NF- κ B信号通路的激活和NLRP3炎性小体的组装,降低IL1b的水平,改善神经行为缺陷和脑水肿;穿心莲内酯还可以改善ICH诱导的小胶质细胞和神经元松弛。此外,穿心莲内酯通过抑制NF- κ B信号通路显著降低TNF- α 和IL-6水平^[22]。

针对caspase-1的各种抑制剂在中枢神经系统疾病中得到了广泛的研究,特别是VX-765。据报道,VX-765可以抑制脊髓损伤小鼠的神经炎症,改善神经功能^[23]。VX-765抑制炎性小体激活和GSDMD介导的焦亡,从而减轻小鼠认知功能障碍。已有研究表明,VX765可缓解AD小鼠的认知功能衰退,为临床防治AD提供了可能。Caspase-1的选择性抑制剂AC-YVAD-CMK可抑制caspase-1的激活,抑制IL-1b的产生和成熟,但对NLRP3的表达无影响。AC-YVAD-CMK可抑制焦亡,减少炎症因子的分泌或活化,影响小胶质细胞的极化和聚集,从而对ICH后的行为表现和脑水肿的改善起到一定的作用^[24]。

综上所述,目前的研究表明抑制焦亡可以减轻ICH后的组织损伤。焦亡可能是ICH治疗的潜在靶向,调控焦亡有望成为改善患者预后的有效策略。然而,大多数研究使用的是细胞和动物模型,有待于更多

的临床试验以测试其治疗ICH的有效性。

参考文献

- [1] Cordonnier C, Demchuk A, Ziai W, et al. Intracerebral haemorrhage: current approaches to acute management[J]. *Lancet*, 2018, 392(10154): 1257-1268.
- [2] Qureshi A I, Tuhim S, Broderick J P, et al. Spontaneous intracerebral hemorrhage[J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(19): 1450-1460.
- [3] Bobinger T, Burkardt P, B Huttner H, et al. Programmed cell death after intracerebral hemorrhage[J]. *Curr Neuroparmacol*, 2018, 16(9): 1267-1281.
- [4] McKenzie BA, Dixit VM, Power C. Fiery cell death: pyroptosis in the central nervous system[J]. *Trends Neurosci*, 2020, 43(1): 55-73.
- [5] Rosell A, Vilalta A, García-Berrosco T, et al. Brain perihematoma genomic profile following spontaneous human intracerebral hemorrhage[J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16750.
- [6] Liu Z, Zhang R, Chen X, et al. Identification of hub genes and small-molecule compounds related to intracerebral hemorrhage with bioinformatics analysis[J]. *PeerJ*, 2019, 7: e7782.
- [7] Jorgensen I, Rayamajhi M, Miao EA. Programmed cell death as a defence against infection[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(3): 151-164.
- [8] Man SM, Karki R, Kanneganti TD. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases[J]. *Immunol Rev*, 2017, 277(1): 61-75.
- [9] Barrett T, Wilhite SE, Ledoux P, et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets-update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 41(D1): D991-D995.
- [10] Wang J, Tsirka SE. Neuroprotection by inhibition of matrix metalloproteinases in a mouse model of intracerebral haemorrhage[J]. *Brain*, 2005, 128(7): 1622-1633.
- [11] Szklarczyk D, Gable AL, Nastou KC, et al. The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D605-D612.
- [12] Feng L, Chen Y, Ding R, et al. P2X7R blockade prevents NLRP3 inflammasome activation and brain injury in a rat model of intracerebral hemorrhage: involvement of peroxynitrite[J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12(1): 1-17.
- [13] Ma Q, Chen S, Hu Q, et al. NLRP3 inflammasome contributes to inflammation after intracerebral hemorrhage[J]. *Ann Neurol*, 2014, 75(2): 209-219.
- [14] Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity[J]. *Immunol Rev*, 2018, 281(1): 8-27.
- [15] Zhou B, Liu J, Zeng L, et al. Extracellular SQSTM1 mediates bacterial septic death in mice through insulin receptor signalling[J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5(12): 1576-1587.
- [16] Meng L, Lin H, Huang X, et al. METTL14 suppresses pyroptosis and diabetic cardiomyopathy by downregulating TINCR lncRNA[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(1): 38.
- [17] Wang X, Sato F, Tanimoto K, et al. The potential roles of Dec1 and Dec2 in Periodontal inflammation[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10349.
- [18] Xu P, Hong Y, Xie Y, et al. TREM-1 exacerbates neuroinflammatory injury via NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis in experimental subarachnoid hemorrhage[J]. *Transl Stroke Res*, 2021, 12: 643-659.
- [19] Zhang Z, Zhang Y, Xia S, et al. Gasdermin E suppresses tumour growth by activating anti-tumour immunity[J]. *Nature*, 2020, 579(7799): 415-420.
- [20] Ren H, Kong Y, Liu Z, et al. Selective NLRP3 (pyrin domain-containing protein 3) inflammasome inhibitor reduces brain injury after intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2018, 49(1): 184-192.
- [21] Gu L, Sun M, Li R, et al. Didymin suppresses microglia pyroptosis and neuroinflammation through the Asc/Caspase-1/GSDMD pathway following experimental intracerebral hemorrhage[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 810582.
- [22] Li X, Wang T, Zhang D, et al. Andrographolide ameliorates intracerebral hemorrhage induced secondary brain injury by inhibiting neuroinflammation induction[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 141: 305-315.
- [23] Chen J, Chen YQ, Shi YJ, et al. VX-765 reduces neuroinflammation after spinal cord injury in mice[J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(9): 1836.
- [24] Wu B, Ma Q, Khatibi N, et al. Ac-YVAD-CMK decreases blood-brain barrier degradation by inhibiting caspase-1 activation of interleukin-1 β in intracerebral hemorrhage mouse model[J]. *Transl Stroke Res*, 2010, 1: 57-64.

(本文编辑:唐颖馨)