

抑制IRE1 α /NF- κ B通路减轻蛛网膜下腔出血后炎症反应

朱超, 代林志, 赵冬*

石河子大学第一附属医院神经外科, 新疆 石河子

收稿日期: 2023年5月21日; 录用日期: 2023年6月14日; 发布日期: 2023年6月21日

摘要

目的: 探讨肌醇激酶-1 (IRE1 α)/核因子 κ B (NF- κ B)通路与蛛网膜下腔出血(SAH)炎症反应的关系。方法: 通过血管内穿刺法建立SAH模型。所有实验动物随机分为Sham组、SAH组、SAH + DMSO组、SAH + STF-083010 (IRE1 α 抑制剂)组、SAH + BAY11-7082 (NF- κ B抑制剂)组。使用改良加西亚评分评估神经功能。蛋白免疫印迹法(Western blot)检测IRE1 α 、葡萄糖调节蛋白78 (GRP78)、NF- κ B的表达。采用酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒检测炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 和IL-6)的浓度。结果: SAH后改良加西亚评分降低, IRE1 α 、GRP78、NF- κ B蛋白表达和炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)表达均增加, 抑制IRE1 α /NF- κ B通路后所有结果正好相反。皮尔森相关分析显示炎症因子表达与改良加西亚评分呈负相关。结论: 抑制IRE1 α /NF- κ B通路可以减轻SAH后炎症, 发挥神经保护作用。

关键词

蛛网膜下腔出血, 炎症, 肌醇激酶-1 (IRE1 α), 核因子 κ B (NF- κ B)

Inhibition of IRE1 α /NF- κ B Pathway Alleviates Inflammatory Response after Subarachnoid Hemorrhage

Chao Zhu, Linzhi Dai, Dong Zhao*

Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital to Shihezi University, Shihezi Xinjiang

Received: May 21st, 2023; accepted: Jun. 14th, 2023; published: Jun. 21st, 2023

*通讯作者。

文章引用: 朱超, 代林志, 赵冬. 抑制 IRE1 α /NF- κ B 通路减轻蛛网膜下腔出血后炎症反应[J]. 临床医学进展, 2023, 13(6): 9799-9806. DOI: 10.12677/acm.2023.1361371

Abstract

Objective: To investigate the role of IRE1 α /NF- κ B pathway in promoting the inflammatory response of subarachnoid hemorrhage (SAH); To investigate the relationship between Inositol Requiring Enzyme1 α (IRE1 α)/nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathway and inflammatory response in subarachnoid hemorrhage (SAH). **Methods:** The model of SAH was established by intravascular puncture. All the animals were randomly divided into Sham group, SAH group, SAH + DMSO group, SAH + STF-083010 (IRE1 α inhibitor) group, and SAH + BAY11-7082 (NF- κ B inhibitor) group. Neurological function was assessed using the modified Garcia score. The expressions of IRE1 α , GRP78 and NF- κ B were detected by Western blot. The concentrations of inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β and IL-6) were determined by ELISA kit. **Results:** The modified Garcia score decreased, the expression of GRP78, IRE1 α , NF- κ B and inflammatory cytokines increased after SAH, whereas their results were reversed since the inhibition of IRE1 α /NF- κ B pathway. Correlation analysis showed that the expressions of inflammatory cytokines were negatively correlated with the modified Garcia score. **Conclusion:** Inhibition of IRE1 α /NF- κ B pathway can reduce inflammation and provide neuroprotection after SAH.

Keywords

Subarachnoid Hemorrhage, Inflammation, Inositol Requiring Enzyme1 (IRE1 α), Nuclear Factor- κ B (NF- κ B)

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

蛛网膜下腔出血(SAH)是一种致死性高、预后差的出血性脑血管病,是较为常见的中风亚型,通常与动脉瘤破裂有关,平均发病年龄在 55 岁左右[1] [2]。目前,动脉瘤破裂后的潜在病理机制仍不十分清楚,这可能包括神经炎症、氧化应激、凋亡等[3]。动脉瘤破裂后,释放入脑脊液中的红细胞降解产物会激活炎症途径,促进免疫细胞如巨噬细胞等释放炎症因子进而损伤神经元及神经胶质细胞。这种炎症反应与 SAH 不良预后密切相关[4]。此外,损伤的神经元亦会向细胞外环境分泌高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1),其可以作为炎性调控因子,通过 HMGB1/TLR4 等通路进一步加重细胞损伤[5] [6]。因此,寻找新的炎症靶点至关重要。本研究通过建立 SAH 模型,探讨 IRE1 α /NF- κ B 通路在 SAH 后炎症反应中的作用,以期提供新的理论基础,为临床诊治提供新的治疗靶点。

2. 材料与方法

2.1. 动物与分组

本实验采用健康成年雄性 SD 大鼠(250~320 g) 74 只,由新疆医科大学动物中心提供,饲养于石河子大学动物中心。所有实验流程均由石河子大学动物伦理委员会审批。所有动物随机分为以下组: Sham 组、SAH 组、SAH + Vehicle (10% DMSO)组、SAH + STF-083010 (IRE1 α 抑制剂)组、SAH + BAY11-7082 (NF- κ B 抑制剂)组。

2.2. 脑室药物注射及建模

用 2%戊巴比妥(40 mg/kg 体重)腹腔注射麻醉大鼠, 俯卧位固定于立体定位仪上, 备皮, 消毒。行右侧侧脑室注射[7], 注射坐标为: Y: -0.80 mm; X: 1.5 mm; Z: 4.0 mm。注射完毕后骨蜡封闭。以血管内穿刺法建立 SAH 模型[8]。取仰卧位, 备皮, 消毒, 正中那个切口, 分离迷走神经及颈总、颈外、颈内动脉, 以 4-0 锐化尼龙线自颈外动脉穿刺入颈内动脉, 约 22 mm 后建模成功, 撤离穿刺线, 电凝烧灼颈外动脉破口, 关闭切口并消毒。Sham 组接受钻孔及穿刺但不刺破操作, SAH 组接受钻孔及建模操作。其余各组均接受上述各项操作。

2.3. 改良加西亚评分

建模 24 小时后进行动物神经行为学观察。采用改良加西亚评分来评估 SAH 后大鼠的神经功能缺损[9], 该评分内容包括自主活动(0~3 分), 身体运动对称性(0~3 分), 前肢伸展能力(0~3 分), 攀爬能力(1~3 分), 身体反射(1~3 分), 胡须触碰反应(1~3 分)六个方面。总分为 3~18 分, 得分越高, 神经功能越好。为避免主观因素带来的误差, 该评分由两名对本实验不知情的研究人员完成。

2.4. Western blot 技术检测相关蛋白表达

取右侧大脑半球, 将部分脑组织置入含 PMSF 的 RIPA 蛋白裂解液中, 冰上裂解, 提取上清液, BCA 法测定蛋白浓度, 根据目标蛋白分子量配置合适浓度 SDS-PAGE 凝胶, 上样, 电泳, 转膜, 以 5% BSA 封闭 2 小时, 使用以下一抗孵育 4℃过夜: anti-RELA (货号: BM3994), anti-IRE1 (货号: A00683-1), anti-HSPA5 (货号: BA2042), 以上所有一抗稀释浓度均为 1:1000, 内参为 anti- β -Actin (货号: BM0627), 稀释浓度为 1:2000。TBST 洗三次, 以二抗孵育两小时: HRP-羊抗兔(货号: BA1054)、HRP-羊抗小鼠(货号: BA1050), 稀释浓度为 1:5000。以上所有抗体均购自武汉博士德公司。以目的蛋白与内参蛋白灰度值之比计算蛋白相对表达量。

2.5. ELISA 技术检测炎症因子表达

如 1.4 所述提取蛋白, 参照 ELISA 试剂盒说明书分别测量 TNF- α (货号: EK382), IL-1 β (货号: EK301B) 和 IL-6 (货号 EK306)浓度。所有试剂盒均购自上海联科生物。

2.6. 统计学方法

所有数据均采用均数 \pm 标准差表示($\bar{X} \pm S$)。采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据处理, 使用 Bonferroni 的多重比较检验, 组间比较采用单因素方差分析, 相关性采用皮尔森相关分析方法。所得结果 $P < 0.05$ 被认为具有统计学差异。

3. 结果

3.1. 各组死亡率及改良加西亚评分结果

Table 1. SAH mortality statistics in each group

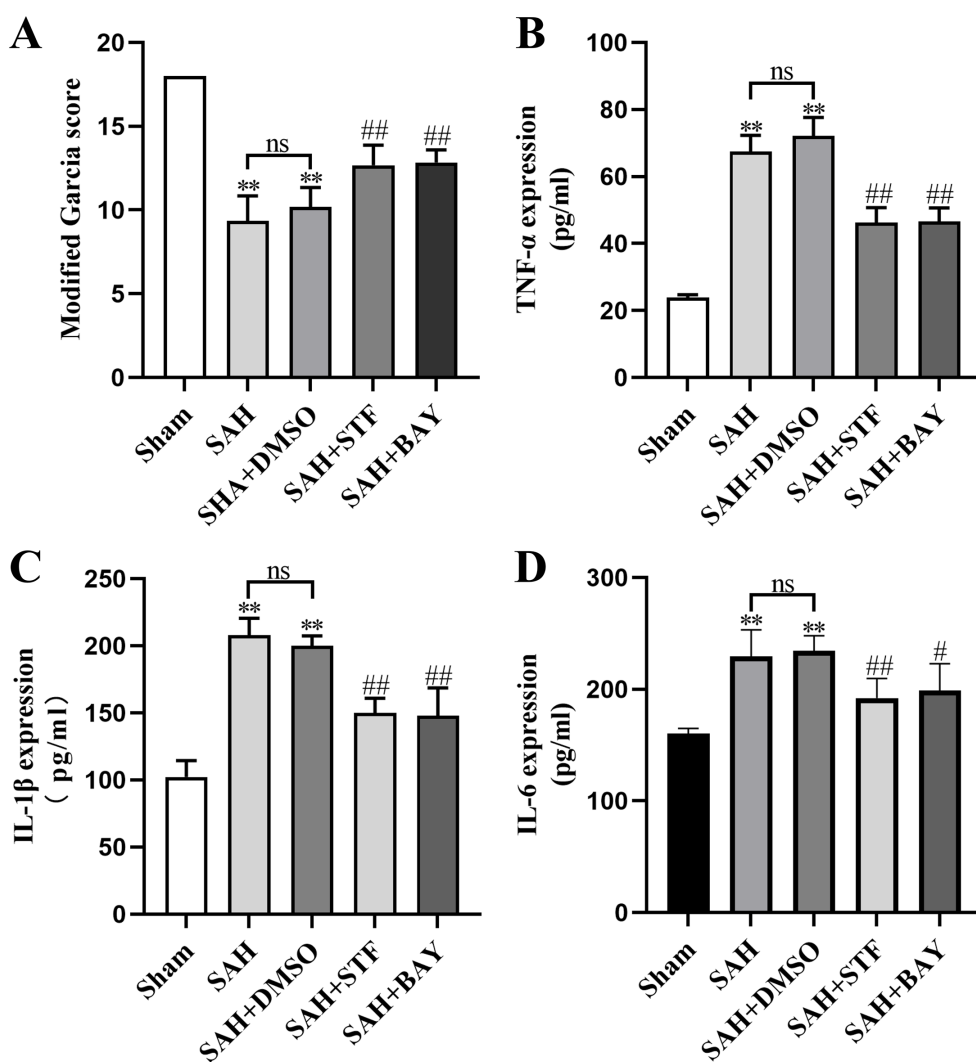
表 1. 各组 SAH 死亡率统计

分组	死亡率
Sham	0 (0/12)
SAH	25.0% (4/16)

Continued

SAH + DMSO	29.4% (5/17)
SAH + STF	25.0% (4/16)
SAH + BAY	29.4% (5/17)

Sham 组全部存活, SAH 模型组死亡 14 只, 总体死亡率为 22.6% (14/62), 具体结果如表 1 所示。SAH 模型 24 小时后行改良加西亚评分评估神经功能, 各组大鼠评分具体结果如图 1(A)所示。如图所示, SAH 组和 SAH + DMSO 组相比无统计学差异($P > 0.05$)。SAH 组和 SAH + DMSO 组与 Sham 组相比神经功能损害明显加重($P < 0.01$)。SAH + DMSO 组与 SAH + STF、SAH + BAY 组相比神经功能损害明显减轻($P < 0.01$)。

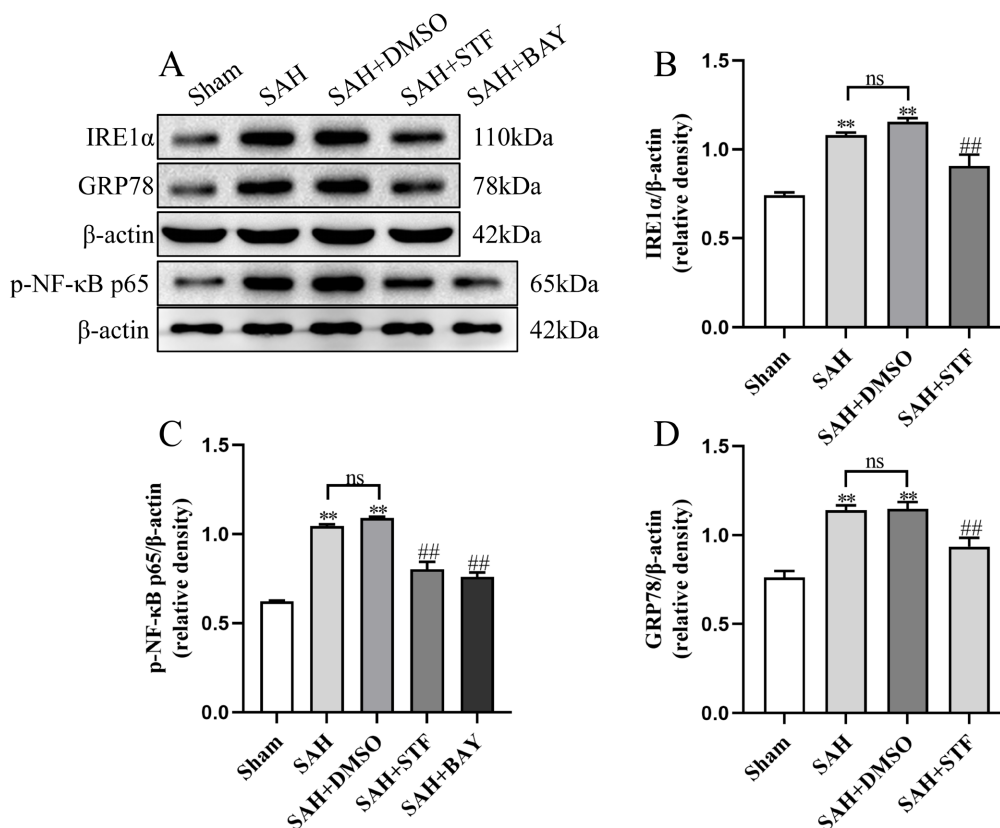


(A) SAH 24 h 后各组改良加西亚评分结果; (B) SAH 24 h 后脑组织 TNF- α 浓度; (C) SAH 24 h 后脑组织 IL-1 β 浓度; (D) SAH 24 h 后脑组织 IL-6 浓度; 数据均以均数 \pm 标准差来表示, $n = 6$, 与 Sham 组比较** $P < 0.01$, 与 SAH + DMSO 组比较## $P < 0.01$, # $P < 0.05$, ns, 无统计学差异。

Figure 1. Modified Garcia score and expression of TNF- α , IL-1 β and IL-6
图 1. 改良加西亚评分及 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达

3.2. IRE1 α /NF- κ B 轴及相关蛋白表达

建模 24 小时后行 Western blot 测定 IRE1 α 、GRP78、NF- κ B 表达, 各组表达情况具体结果如图 2(A)~(D) 所示。Western blot 结果显示, 与 Sham 组比较, SAH 组和 SAH + DMSO 组 IRE1 α 、GRP78 和 NF- κ B 表达均明显提高($P < 0.01$)。SAH 组与 SAH + DMSO 组蛋白表达未见明显差异($P > 0.05$)。与 SAH + DMSO 组相比, SAH + STF 组中 IRE1 α 、GRP78 和 NF- κ B 表达明显降低($P < 0.01$)。与 SAH + DMSO 组比较, SAH + BAY 组中 NF- κ B 表达明显下降($P < 0.01$)。



(A) SAH 24 h 后各组脑组织 IRE1 α 、GRP78 和 NF- κ B 蛋白表达; (B) 定量分析 IRE1 α 、GRP78 和 NF- κ B 含量。数据均以均值 \pm 标准差来表示, $n = 6$, 与 Sham 组比较** $P < 0.01$, 与 SAH + DMSO 组比较## $P < 0.01$, ns, 无统计学差异。

Figure 2. The expressions of IRE1 α , GRP78 and NF- κ B were determined by Western blot

图 2. Western blot 测定 IRE1 α 、GRP78 和 NF- κ B 表达

3.3. ELISA 检测 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达

建模 24 小时后行 ELISA 测定 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达, 各组表达情况具体结果如图 1(B)~(D) 所示。ELISA 结果显示, 与 Sham 组相比, SAH 组和 SAH + DMSO 组 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达均明显提高($P < 0.01$)。SAH 组与 SAH + DMSO 组炎症因子表达相比无统计学意义($P > 0.05$)。与 SAH + DMSO 组相比, SAH + STF 组和 SAH + BAY 组 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达量明显减少($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

3.4. 炎症因子与神经功能评分相关性分析

炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6)表达与改良加西亚功能评分行皮尔森相关性分析, 结果如表 2 所示。

呈负相关, 相关性较强, 有统计学意义($P < 0.05$)。

Table 2. Correlation analysis between inflammatory cytokines and modified Garcia score
表 2. 炎症因子与改良加西亚评分相关性分析

	改良加西亚评分	
	r^2	P
TNF- α	0.93	< 0.05
IL-1 β	0.94	< 0.05
IL-6	0.93	< 0.05

4. 讨论

SAH 是一种死亡率高、预后差的出血性脑卒中, 在非创伤性 SAH 中动脉瘤约占全部病因的 85%。影响 SAH 预后的病理基础有很多, 其中之一是炎症反应, 而炎症可以加剧脑损伤, 促进脑血管痉挛, 加重 SAH 后临床症状, 并导致不良预后。本研究发现 SAH 后 ERS 被激活, 并通过 IRE1 α /NF- κ B 通路促进神经炎症, 抑制该通路可以减轻神经炎症, 保护神经功能。

我们的前期研究已经发现 SAH 后 ERS 被激活[10]。ERS 包括三条信号通路, IRE1 是其中之一。在静息状态下, IRE1 与葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)结合而处于失活状态[11], 长期持续的 ERS 可以激活 IRE1 使其与 GRP78 解离。NF- κ B 是重要的炎症调控因子, 主要有 p50, p52, c-Rel, RelA 和 RelB 5 种亚基, 他们以各种组合形式形成同源或异源二聚体。在中枢神经系统 NF- κ B 主要由 RelA 和 p50 组成异源二聚体[12]。近年有研究发现 IRE1 α 可以促进胞质 NF- κ B 抑制剂 I κ B 降解, 加速 NF- κ B 转位至细胞核, 诱导多种炎症因子基因表达, 促进血管内皮炎症和功能障碍[13]。在本实验中, 我们观察到 ERS 标志蛋白 GRP78 升高, 同时还发现 IRE1 α 、NF- κ B 表达均升高, 表明 SAH 后 ERS 被触发, 并激活 IRE1 α /NF- κ B 通路。

已有相当多的研究发现 ERS 可以激活炎症反应[14] [15], NF- κ B 作为 IRE1 α 的下游信号, 可促进多种炎症因子的释放, 例如 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等[16]。释放的炎症因子进一步激活 ERS, 从而放大炎症反应[17], 这种炎症级联反应将严重影响 SAH 的预后[18]。有研究显示 IRE1 α /NF- κ B 可以诱导血管内皮炎症, 促进炎症因子表达进而导致内皮功能障碍[19]。SAH 作为一种脑血管疾病, 血管内皮功能完整性对其具有重要意义。TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 是与 NF- κ B 密切相关的炎症因子, 在 SAH 后均有高表达[20], 我们的结果与其他研究相一致。而应用 IRE1 α 和 NF- κ B 抑制剂后上述炎症因子表达均下降, 表明 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的释放至少部分依赖于 IRE1 α /NF- κ B 通路, 即 SAH 后 IRE1 α /NF- κ B 通路可以促进神经炎症反应。

神经炎症与 SAH 不良预后密切相关, 这一点已被相当多的文献所证实。临床发现 SAH 后 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 在血清及脑脊液中表达升高[21] [22] [23], 并与不良预后直接相关。相似的是, 基础研究同样发现抑制炎症反应可以减少 SAH 后神经行为功能障碍[24]。这可能与炎症因子促进神经元凋亡及促进脑水肿等相关。已有研究发现高 TNF- α 可以促进凋亡“开关”: Bax 与 Bcl-2 蛋白表达比值失衡, 触发 Caspase 凋亡级联反应。此外, 进一步研究发现抑制 NF- κ B 后 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达均减少, 而改良加西亚评分同样下降[25]。本研究发现炎症因子与改良加西亚评分呈负相关, 即炎症因子高表达可以损害 SAH 后神经功能, 我们还发现抑制 IRE1 α /NF- κ B 通路后促炎因子表达下降, 而改良加西亚评分同样下降, 证明抑制炎症可能改善神经功能。

5. 结论

综上所述,本研究通过建立 SAH 模型,发现抑制 IRE1 α /NF- κ B 通路可以减轻蛛网膜下腔出血后炎症反应,保护神经功能,具体可能机制如图 3 所示。这为 SAH 治疗提供了理论依据和潜在靶点。但激活 SAH 后炎症机制复杂,仍需要进一步的研究。

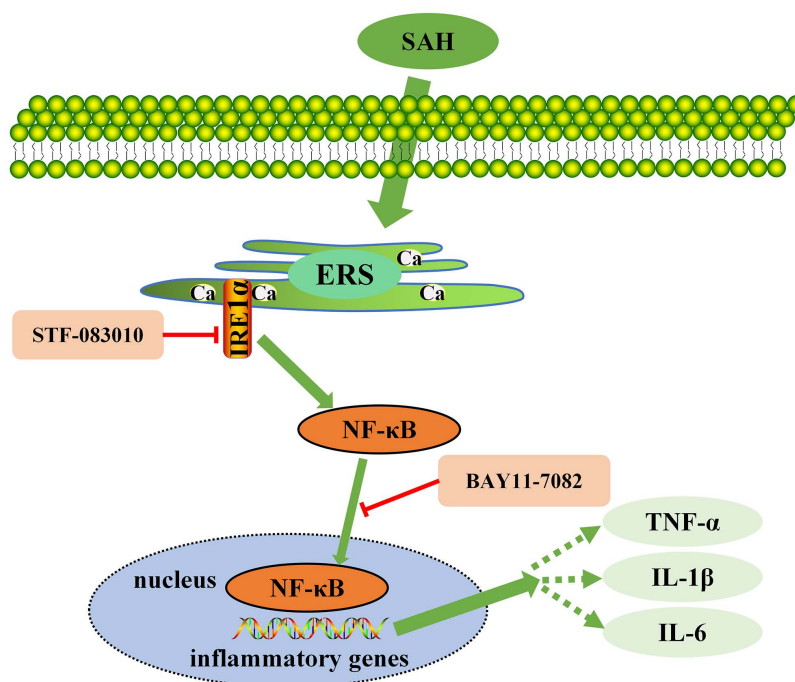


Figure 3. Possible mechanism of IRE1 α /NF- κ B pathway after SAH
图 3. SAH 后 IRE1 α /NF- κ B 通路可能机制图

基金项目

2020 年度石河子大学自主资助支持校级科研项目(ZZZC202064A)。

参考文献

- [1] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组, 中华医学会神经病学分会神经血管介入协作组. 中国蛛网膜下腔出血诊治指南 2019 [J]. 中华神经科杂志, 2019, 52(12): 1006-1021.
- [2] Claassen, J. and Park, S. (2022) Spontaneous Subarachnoid Haemorrhage. *The Lancet*, **400**, 846-862. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00938-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00938-2)
- [3] Tian, Q., Liu, S., Han, S.-M., et al. (2023) The Mechanism and Relevant Mediators Associated with Neuronal Apoptosis and Potential Therapeutic Targets in Subarachnoid Hemorrhage. *Neural Regeneration Research*, **18**, 244-252. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.346542>
- [4] Wu, F., Liu, Z., Li, G., et al. (2021) Inflammation and Oxidative Stress: Potential Targets for Improving Prognosis after Subarachnoid Hemorrhage. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, **15**, Article ID: 739506. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.739506>
- [5] Chen, R., Kang, R. and Tang, D. (2022) The Mechanism of HMGB1 Secretion and Release. *Experimental Molecular Medicine*, **54**, 91-102. <https://doi.org/10.1038/s12276-022-00736-w>
- [6] Guo, X., Shi, Y., Du, P., et al. (2019) HMGB1/TLR4 Promotes Apoptosis and Reduces Autophagy of Hippocampal Neurons in Diabetes Combined with OSA. *Life Sciences*, **239**, Article ID: 117020. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117020>

- [7] Xu, P., Tao, C., Zhu, Y., *et al.* (2021) TAK1 Mediates Neuronal Pyroptosis in Early Brain Injury after Subarachnoid Hemorrhage. *Journal of Neuroinflammation*, **18**, Article No. 188. <https://doi.org/10.1186/s12974-021-02226-8>
- [8] Peng, J., Pang, J., Huang, L., *et al.* (2019) LRP1 Activation Attenuates White Matter Injury by Modulating Microglial Polarization through Shc1/PI3K/Akt Pathway after Subarachnoid Hemorrhage in Rats. *Redox Biology*, **21**, Article ID: 101121. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101121>
- [9] Hu, X., Yan, J., Huang, L., *et al.* (2021) INT-777 Attenuates NLRP3-ASC Inflammasome-Mediated Neuroinflammation via TGR5/cAMP/PKA Signaling Pathway after Subarachnoid Hemorrhage in Rats. *Brain, Behavior, Immunity*, **91**, 587-600. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.09.016>
- [10] Zhang, H., He, X., Wang, Y., *et al.* (2017) Neuritin Attenuates Early Brain Injury in Rats after Experimental Subarachnoid Hemorrhage. *The International Journal of Neuroscience*, **127**, 1087-1095. <https://doi.org/10.1080/00207454.2017.1337013>
- [11] Grootjans, J., Kaser, A., Kaufman, R.J., *et al.* (2016) The Unfolded Protein Response in Immunity and Inflammation. *Nature Reviews Immunology*, **16**, 469-484. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.62>
- [12] Dresselhaus, E.C. and Meffert, M.K. (2019) Cellular Specificity of NF- κ B Function in the Nervous System. *Frontiers in Immunology*, **10**, Article No. 1043. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01043>
- [13] Sun, S., Ji, Z., Fu, J., *et al.* (2020) Endosulfan Induces Endothelial Inflammation and Dysfunction via IRE1 α /NF- κ B Signaling Pathway. *Environmental Science Pollution Research International*, **27**, 26163-26171. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09023-5>
- [14] Cao, S.S., Luo, K.L. and Shi, L. (2016) Endoplasmic Reticulum Stress Interacts with Inflammation in Human Diseases. *Journal of Cellular Physiology*, **231**, 288-294. <https://doi.org/10.1002/jcp.25098>
- [15] Sprenkle, N.T., Sims, S.G., Sánchez, C.L., *et al.* (2017) Endoplasmic Reticulum Stress and Inflammation in the Central Nervous System. *Molecular Neurodegeneration*, **12**, Article No. 42. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0183-y>
- [16] Zhuang, Z., Sun, X.-J., Zhang, X., *et al.* (2013) Nuclear Factor- κ B/Bcl-XL Pathway Is Involved in the Protective Effect of Hydrogen-Rich Saline on the Brain Following Experimental Subarachnoid Hemorrhage in Rabbits. *Journal of Neuroscience Research*, **91**, 1599-1608. <https://doi.org/10.1002/jnr.23281>
- [17] Shang, J. and Zhao, Z. (2017) Emerging Role of HuR in Inflammatory Response in Kidney Diseases. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, **49**, 753-763. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmx071>
- [18] Manoel, A.L.O. and Macdonald, R.L. (2018) Neuroinflammation as a Target for Intervention in Subarachnoid Hemorrhage. *Frontiers in Neurology*, **9**, Article No. 292. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00292>
- [19] Chen, J., Zhang, M., Zhu, M., *et al.* (2018) Paeoniflorin Prevents Endoplasmic Reticulum Stress-Associated Inflammation in Lipopolysaccharide-Stimulated Human Umbilical Vein Endothelial Cells via the IRE1 α /NF- κ B Signaling Pathway. *Food & Function*, **9**, 2386-2397. <https://doi.org/10.1039/C7FO01406F>
- [20] Cao, Y., Li, Y., He, C., *et al.* (2021) Selective Ferroptosis Inhibitor Liproxstatin-1 Attenuates Neurological Deficits and Neuroinflammation after Subarachnoid Hemorrhage. *Neuroscience Bulletin*, **37**, 535-549. <https://doi.org/10.1007/s12264-020-00620-5>
- [21] Ahn, S.-H., Burkett, A., Paz, A., *et al.* (2022) Systemic Inflammatory Markers of Persistent Cerebral Edema after Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Journal of Neuroinflammation*, **19**, Article No. 199. <https://doi.org/10.1186/s12974-022-02564-1>
- [22] Rahmanian, A., Gholijani, N., Salehi, M., *et al.* (2022) Evaluation of Serum Interleukin-1 β (IL-1 β) Levels in Patients with Intracranial Aneurysms Compared to a Control Group. *Turkish Neurosurgery*, **32**, 773-778.
- [23] Wu, W., Guan, Y., Zhao, G., *et al.* (2016) Elevated IL-6 and TNF- α Levels in Cerebrospinal Fluid of Subarachnoid Hemorrhage Patients. *Molecular Neurobiology*, **53**, 3277-3285. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9268-1>
- [24] Wu, L.-Y., Ye, Z.-N., Zhuang, Z., *et al.* (2018) Biochanin A Reduces Inflammatory Injury and Neuronal Apoptosis Following Subarachnoid Hemorrhage via Suppression of the TLRs/TIRAP/MyD88/NF- κ B Pathway. *Behavioural Neurology*, **2018**, Article ID: 1960106. <https://doi.org/10.1155/2018/1960106>
- [25] Deng, H.-J., Deji, Q., Zhaba, W., *et al.* (2021) A20 Establishes Negative Feedback with TRAF6/NF- κ B and Attenuates Early Brain Injury after Experimental Subarachnoid Hemorrhage. *Frontiers in Immunology*, **12**, Article ID: 623256. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.623256>