



电子、语音版

·论著·

颅内动脉瘤环状 RNA 差异表达鉴定 及生物信息学分析

余文珍^{1,2}, 陈实^{3,4}, 陈建松⁴, 詹梦熊⁴, 林健⁴, 郑毅⁵, 涂春香¹, 陈玲¹

1. 福建中医药大学中西医结合学院, 福建 福州 350122
2. 福建中医药大学中西医结合研究院, 福建 福州 350122
3. 福建医科大学研究生院, 福建 福州 350122
4. 福州市第二总医院神经外科, 福建 福州 350007
5. 安徽医科大学临床医学院, 安徽 合肥 230031

摘要:目的 拟筛选颅内动脉瘤(IA)差异表达的环状RNA(DECs),并分析其生物学意义。方法 纳入16例临床样本(IA组织10例,颞浅动脉对照6例),利用illumina高通量测序技术筛选DECs来源基因;结合火山图及热图可视化表达差异,应用基因本体论(GO)功能注释及京都基因和基因组数据库(KEGG)联合富集分析挖掘DECs的功能关联;采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)验证候选circRNA的表达水平。结果 共鉴定28 850个DECs(上调10 081个,下调18 769个);KEGG分析表明,IA相关DECs富集于昼夜节律、AMPK及Hedgehog信号通路($P<0.001$);qRT-PCR验证显示,hsa_circ_0003967、hsa_circ_0063305在IA组织中表达上调($P<0.01$);而hsa_circ_0003091、hsa_circ_0001742表达下调($P<0.01$)。结论 circRNA差异表达是IA发生的重要分子特征,hsa_circ_0003967等候选分子可能通过干预昼夜节律、Hedgehog信号通路等信号通路驱动IA形成,这为IA的机制研究与靶向治疗提供新线索。

关键词:颅内动脉瘤;环状RNA;差异表达;昼夜节律;Hedgehog信号通路

中图分类号:R743

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2026.02.001

Identification of differentially expressed circular RNA in intracranial aneurysm and bioinformatics analysis

YU Wenzhen^{1,2}, CHEN Shi^{3,4}, CHEN Jiansong⁴, ZHAN Mengxiong⁴, LIN Jian⁴, ZHENG Yi⁵, TU Chunxiang¹, CHEN Ling¹

1. College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China
2. Institute of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China
3. Graduate School of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350122, China
4. Department of Neurosurgery, Fuzhou Second General Hospital, Fuzhou, Fujian 350007, China
5. School of Clinical Medicine, Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230031, China

Corresponding author: CHEN Shi, Email: cs007528@163.com

Abstract: **Objective** The development of intracranial aneurysm (IA) is closely associated with genetic factors; however, studies have shown that circular RNA (circRNA) is involved in vascular remodeling and inflammatory response

基金项目:福建省卫生计生科研人才培养项目(2018-CXB-17);福建省自然科学基金资助项目(2022J011323)。

收稿日期:2025-06-28;修回日期:2025-11-16

作者简介:余文珍(1977—),女,副教授,硕士,主要研究方向为神经系统疾病的基础研究。

通信作者:陈实(1974—),男,主任医师,博士,主要研究方向为神经系统疾病的基础与临床研究。Email:cs007528@163.com。

regulation, and its role in the pathogenesis of IA remains unclear. Therefore, this study aims to identify differentially expressed circRNAs (DECs) in IA and analyze their biological significance. **Methods** A total of 16 clinical samples (10 IA tissue samples and 6 superficial temporal artery samples as controls) were included, and Illumina high-throughput sequencing was used to identify DECs. Volcano plots and heat maps were used to visualize expression differences; the gene ontology (GO) functional annotation and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analyses were used to explore the functional associations of DECs; qRT-PCR was used to further validate the expression levels of candidate circRNAs. **Results** A total of 28 850 DECs were identified, among which 10 081 were upregulated and 18 769 were downregulated. The KEGG analysis showed that IA-related DECs were significantly enriched in the circadian rhythm, AMPK, and Hedgehog signaling pathways ($P < 0.001$). The results of qRT-PCR validation showed that hsa_circ_0003967 and hsa_circ_0063305 were significantly upregulated in IA tissue ($P < 0.01$), while hsa_circ_0003091 and hsa_circ_0001742 were significantly downregulated ($P < 0.01$). **Conclusions** Differential expression of circRNAs is an important molecular feature in the pathogenesis of IA, and candidate molecules such as hsa_circ_0003967 may drive the formation of IA by intervening in the signaling pathways such as circadian rhythm and Hedgehog, which provides new clues for the mechanism research and targeted therapy for IA.

Keywords: intracranial aneurysm; circular RNA; differential expression; circadian rhythm; Hedgehog signaling pathway

颅内动脉瘤(intracranial aneurysm, IA)是颅内动脉壁异常膨出,其典型特征为Willis环及其主要分支动脉的管壁病理性扩张,形成囊状或梭形瘤样突起。此类血管壁具有显著的结构脆弱性,易破裂导致自发性蛛网膜下腔出血(spontaneous subarachnoid hemorrhage, SAH)。由于动脉瘤破裂引发的SAH常伴随严重的神经功能损伤,IA已被公认为全球范围内致死/致残率最高的脑血管危急重症之一,其防治研究已成为脑血管病领域的重要挑战^[1]。IA机制尚未完全阐明,但越来越多的研究证实基因表达调控在其中发挥着重要的作用。环状RNA(circular RNA, circRNA)是一类具有进化保守性的内源性非编码RNA分子,其特征性共价闭环环状拓扑结构(由3',5'-磷酸二酯键介导)赋予其核酸外切酶抗性。该RNA家族在真核生物转录组中呈现显著的表达特异性^[2];它们通过与miRNA或其他分子结合而介导转录,起到调节基因表达的作用,参与了血管重构及炎症反应调控^[3],并在多种疾病的发展中起作用,如动脉粥样硬化性疾病、神经性疾病等^[4-5]。本研究旨在探讨circRNA在IA组织中的表达情况,并研究其对动脉瘤的形成、发展的相关机制,以期帮助IA的早期筛查与诊断,降低动脉瘤的发病率及破裂风险。

1 材料与方法

1.1 标本的收集和处理

动脉瘤组织均选取福州市第二总医院神经外科2018年5月—2021年6月经术前CT血管成像(computed tomography angiography, CTA)和(或)数字减影血管造影证实为IA,并予动脉瘤夹闭术后切除的动脉组织;对照组组织选取颅脑创伤患者已损伤的颞浅动脉(术后CTA复查排除IA)。其中,动脉瘤组(IA组)10例,对照组6例,手

术收集标本经福州市第二总医院医学伦理委员会批准(SQ2018-004),并签署知情同意书。术中收集标本后1h内放入已标记的冻存管中,置于液氮罐中速冻,后转存于-80℃冰箱中。

1.2 circRNA的预测和注释

本研究由华大基因公司运用illumina的高通量测序技术进行测序。使用CIRI(circular RNA identifier)、find_circ 2款软件预测circRNA,并且依据circRNA起始、终止位置来整合2个软件的结果(要求被2款软件都预测到)。数据质控软件采用SOAPnuke,具体过滤步骤如下:①剔除含接头的序列;②去除N的比例大于1%的序列;③去除低质量的序列。同时采用RPB(RNA聚合酶B基因组)进行样品的均一化处理。

1.3 差异表达的circRNA筛选及功能分析

本研究基于Wang等^[6]建立的高通量差异表达的环状RNA(differentially expressed circRNAs, DECs)分析框架,采用DEGseq算法中基于MA-plot^[7]的归一化模型进行差异表达谱分析。对DECs靶基因进行基因本体论(gene ontology, GO)功能注释及京都基因和基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析。circRNA-miRNA结合分析,利用miRanda软件进行circRNA-miRNA结合位点筛选,先在两者间进行动态规划的局部比对、评分,并估算miRNA与circRNA形成RNA双链的热动力稳定性,自由能越小,两者结合越稳定,用于构建circRNA-miRNA调控网络。

1.4 实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)

引物设计采用Primer 5.0软件进行设计,动脉瘤和颞浅动脉组织使用TRIzol法提取总RNA,进行逆转录合成cDNA,逆转录反应采用逆转录试剂盒进行。接着采用

SYBR Green I 荧光染料,进行扩增反应,扩增反应体系总体积为 20 μL ,包含 10 μL SYBR Green I 预混液(2 \times)、0.4 μL 上游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)、0.4 μL 下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)、2 μL cDNA 模板,其余用无酶无菌超纯水补足。扩增反应在 PCR 仪上进行,反应条件为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min,随后进行 40 个循环的 PCR 扩增,每个循环包括 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 退火延伸 30 s;循环结束后进行熔解曲线分析,参数设置为 65~95 $^{\circ}\text{C}$ 梯度升温,每 0.5 $^{\circ}\text{C}$ 采集 1 次荧光信号,以验证引物特异性。以 GAPDH 为内参基因,每个样品设置 3 个技术重复,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算靶基因的相对表达量。

1.5 统计学分析

差异 circRNA 筛选应用 Buzdugan^[8]策略,首先对基因组中潜在可产生 circRNA 的区域进行层级聚类分析,构建系统的聚类结构;随后基于对照组与动脉瘤组的测序数据,采用自上而下的检验方式,逐一分析不同聚类层级中 circRNA 的表达关联显著性,最终筛选出整体呈现差异表达特征的 circRNA 聚类群。该策略可有效规避单一检验

导致的假阳性结果,提升筛选准确性。差异 circRNA 的具体筛选标准设定为: $|\log_2(\text{倍数变化, Fold Change})| \geq 1$ 且校正后 P 值(q 值) <0.001 。GO 和 KEGG 分析采用超几何分布检验评估功能条目富集显著性,检验水准设定为 $P<0.01$;qRT-PCR 实验结果采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间差异采用独立样本 t 检验进行分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

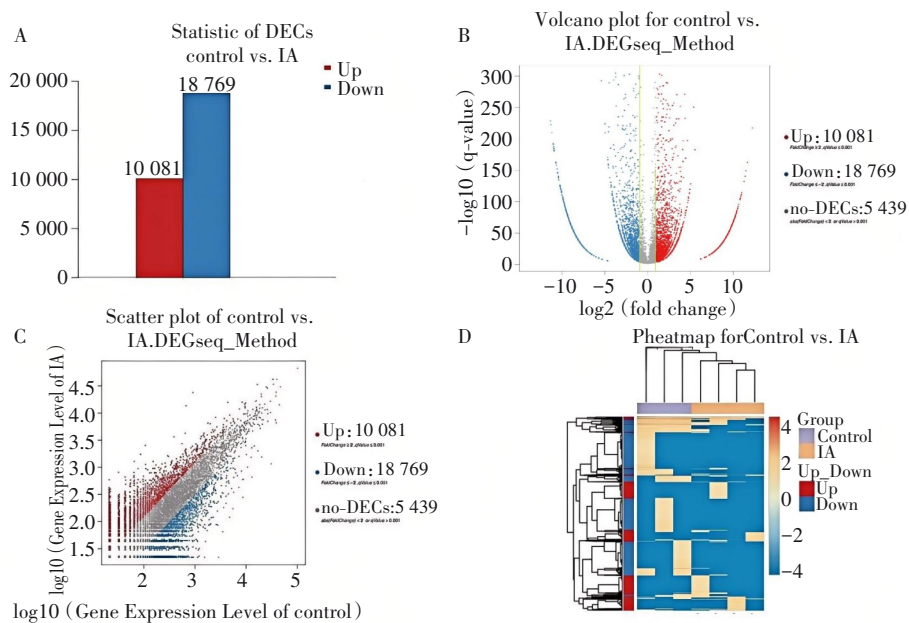
2 结果

2.1 临床资料

最终纳入 16 例样本。其中,动脉瘤组 10 例:男性 6 例,女性 4 例;平均年龄(61.21 \pm 7.92)岁;破裂 6 例,未破裂 4 例。对照组 6 例:男性 4 例,女性 2 例;平均年龄(58.83 \pm 8.22)岁;两组的性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

2.2 DECs 检测结果

结果发现共有 28 850 个 DECs。其中,上调表达基因有 10 081 个,下调的有 18 769 个。具体见图 1。



A: DECs 的数量统计图;B: DECs 的 Volcano-plot 分布图,2 条绿线之间为非差异的 circRNA,绿线左边为下调的 circRNA,右边为上调的 circRNA;C: DECs 的 Scatter-plot 分布图;D: DECs 的热点图。“Control vs.IA”中 control 表示对照组,IA 表示动脉瘤组,如果 1 个 circRNA 被标记为上调,指该基因在 IA 组中的表达量是上调的。从散点图和火山图中可反映出动脉瘤组和对照组的 DECs 具有显著性,热点图可以很清楚地分出 IA 组和对照组。

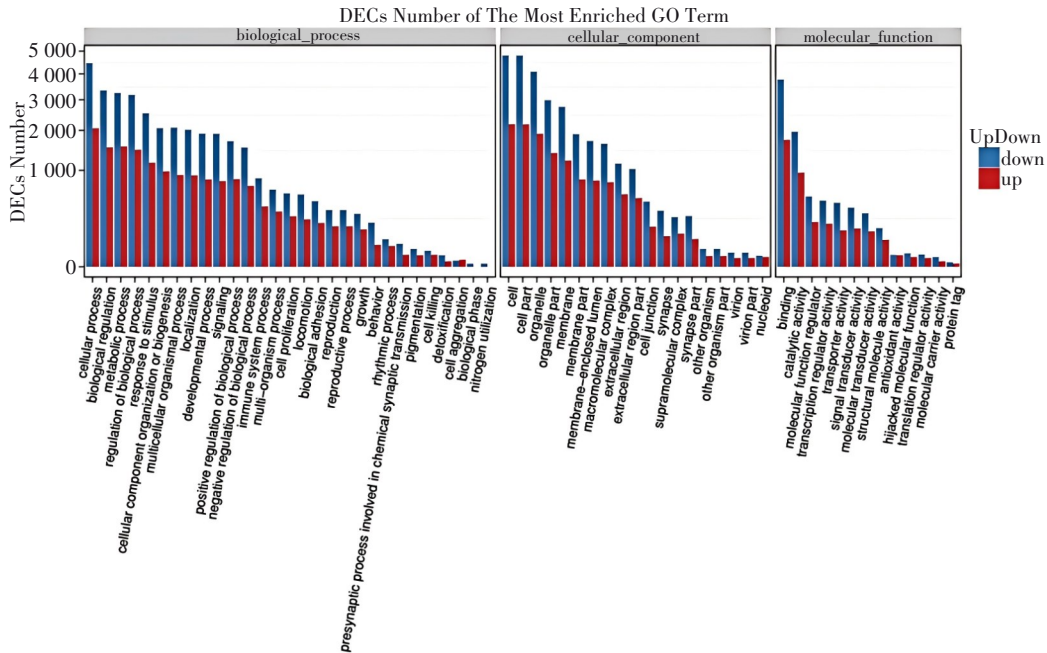
图 1 DECs 分析结果图

2.3 DECs 来源基因的功能注释分析

本研究针对内含子源性环状 RNA(intronic circRNA) 的母基因进行 GO 功能注释分析。GO 数据库涵盖分子功能(molecular function)、细胞组分(cellular component)及生物过程(biological process)三大类,通过富集分析以揭示 DECs 来源基因的潜在功能特征。结果显示三类功能

类的来源基因分别有:50 171 个、41 063 个、11 699 个,其中上、下调 circRNA 的来源基因 GO 功能分类统计见图 2。

从上述结果中选取每个分类富集程度排名前 2 的 GO Term,并通过包含关系,计算其集群频率。结果见表 1。



横坐标表示GO功能分类层级(分子功能 / 细胞组分 / 生物过程),纵坐标表示各GO Term中DECs的富集分布;上调:红色;下调:蓝色。

图2 DECs的GO功能分类统计图

表1 与IA相关的GO Term

GO Term	分类	集群频率	P值
细胞黏附分子结合	分子功能	4.3%	3.33×10^{-14}
ATP结合		13.8%	3.37×10^{-47}
黏附连接	细胞组分	4.0%	1.70×10^{-16}
细胞骨架		14.2%	5.54×10^{-17}
高分子修饰	生物过程	22.4%	7.14×10^{-31}
细胞周期过程		8.1%	3.97×10^{-15}

2.4 KEGG 通路分析

基于DECs母基因的注释结果,构建KEGG代谢通路多层次解析体系(图3)。功能模块化分析显示,差异基因主要分布在七大功能类:细胞过程(cellular processes)、环境信息处理(environmental information processing)、遗传信息处理(genetic information processing)、代谢(metabolism)、人类疾病(human diseases)、有机系统(organismal systems)及药物开发(drug development),其中细胞过程分支中涉及细胞转运674个、涉及生长与凋亡430个;环境信息处理分支中信号传导1286个,占据主导地位;遗传信息分子主要集中在遗传信息的修饰,其中折叠占433个;人类疾病主要包括感染性疾病822个,肿瘤1370个,免疫性疾病95个;代谢主要集中在肌醇磷酸和丙酸代谢761个;有机系统主要集中在免疫系统688个,

内分泌系统619个,神经系统346个。

回顾性分析及试验数据统计分析,筛选出与动脉瘤相关性最显著的5组信号通路,其中遗传信息相关通路(如泛素介导的蛋白水解)富集最显著($P < 0.001$),共涉及126个差异基因;生物系统相关(如FcγR介导的吞噬作用、昼夜节律)富集显著($P < 0.001$),共涉及69个差异基因;环境信息处理相关通路[如促分裂原活化的蛋白质激酶(MAPK)信号通路,Hedgehog信号通路]富集显著($P < 0.001$),共涉及116个差异基因。详见表2。

2.5 EDCs富集因子

富集因子是指DECs母基因在特定KEGG通路中的注释数量与该通路基准注释总量的比值,比值越大提示富集结果越明显。筛选富集因子值>0.5和 $q < 0.005$ 值的前20个信号通路,并与 q 值综合对比分析,发现细胞黏附、泛素介导的水解通路、AMPK信号通路、Hedgehog信号通路、昼夜节律等密切相关,尤其是Hedgehog信号通路($q = 0.002$,富集因子>0.75)、昼夜节律($q = 0.003$,富集因子>0.75)。见图4。

2.6 circRNA结合miRNA结果的分析

通过miRanda的计算,图5提供了注释上circBase circRNA结合miRBase中miRNA的网络互作图。

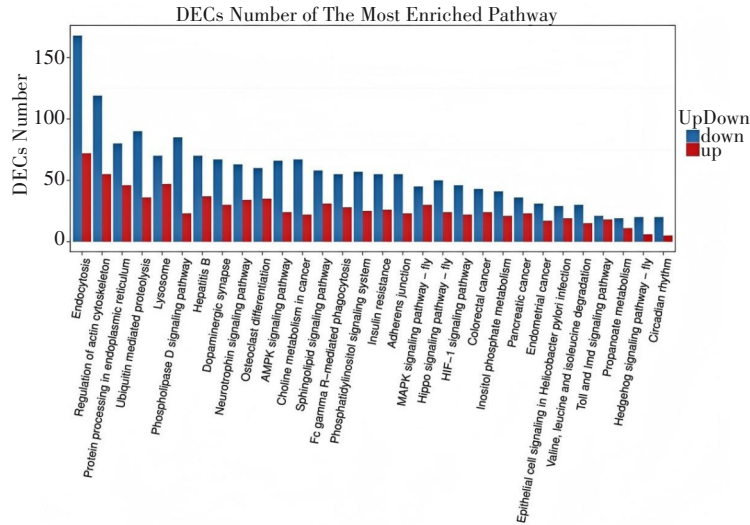
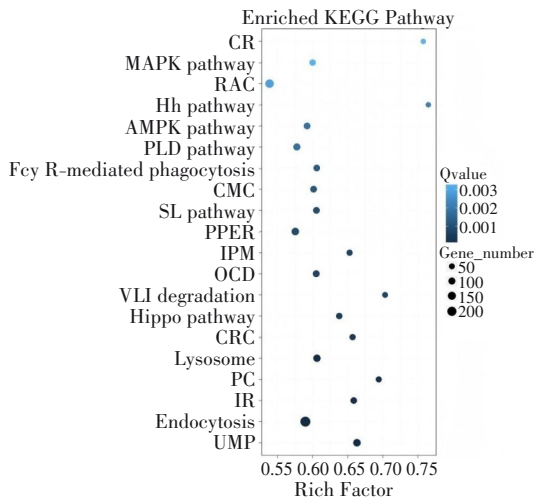


图3 上调、下调circRNA来源基因的富集通路统计图

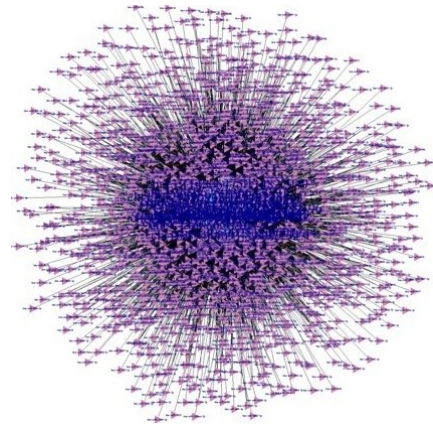
表2 与动脉瘤显著相关的5组信号通路

路径编号	通路	P值	Q值	差异基因来源ID个数	分类
Ko04120	泛素介导的蛋白水解	2.72 ⁻¹⁰	6.18 ⁻⁰⁸	126	遗传信息
Ko04666	FcγR介导的吞噬作用	5.38 ⁻⁰⁵	1.31 ⁻⁰³	43	生物系统
Ko04152	AMPK信号通路	8.92 ⁻⁰⁵	1.91 ⁻⁰³	90	环境信息处理
Ko04341	Hedgehog信号通路	1.09 ⁻⁰⁴	2.19 ⁻⁰³	26	环境信息处理
Ko04710	昼夜节律	1.92 ⁻⁰⁴	3.29 ⁻⁰³	26	生物系统



横坐标表示富集因子值,纵坐标解析KEGG通路层级结构,色度梯度:采用蓝-白渐变色,其中深蓝色节点(*q*值越小)指示高度显著富集通路,气泡直径与EDCs母基因数量成正比,越大代表数目越大。CR: circadian rhythm; RAC: regulation of actin cytoskeleton; Hh pathway: hedgehog signal pathway; PLD pathway: phospholipase D signal pathway; CMC: choline metabolism in cancer; SL pathway: sphingolipid signaling pathway; PPER: protein processing in endoplasmic reticulum; IPM: inositol phosphate metabolism; OCD: osteoclast differentiation; VLI degradation: valine leucine and isoleucine degradation; CRC: colorectal cancer; PC: pancreatic cancer; IR: insulin resistance; UMP: ubiquitin mediated proteolysis。

图4 EDCs富集显著程度的富集因子



蓝色表示circRNA,红色表示miRNA。

图5 关系最多的top 20 circRNA与miRNA互作网络图

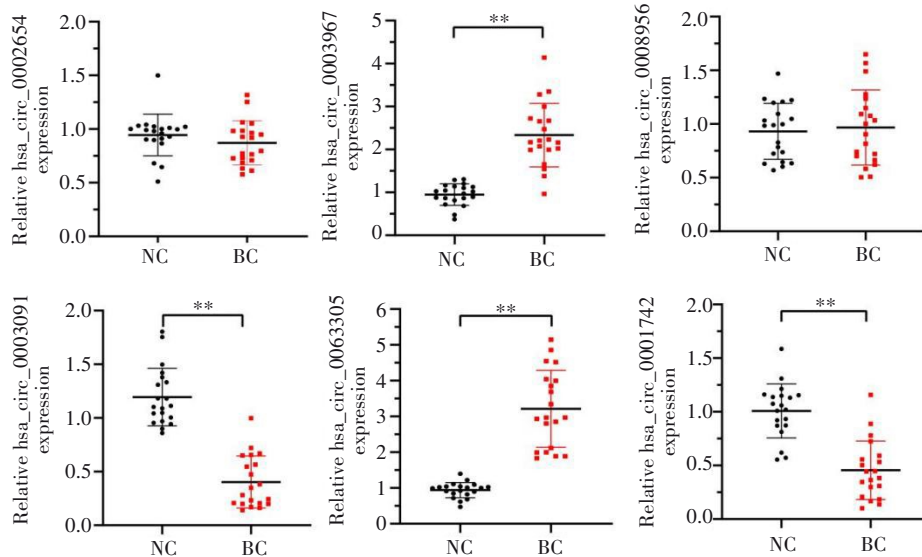
2.7 DECs筛选及验证结果

本研究从相关性最高的GO Term和通路中筛选出7种circRNA进行组织qRT-PCR验证。筛选情况见表3。验证结果见图6。

从验证结果可以看出,hsa_circ_0003967和hsa_circ_0063305上调,hsa_circ_0003091和hsa_circ_0001742下调,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表3 筛选 circRNA 特异性引物列表

关联通路 / 功能	circRNA	引物序列(5'-3')
细胞黏附	hsa_circ_0002654	正向:5'-CTAGTCTCATTATGGCCAATTC-3' 反向:5'-AAGGAAGATGTGTTATGGCTC-3'
	hsa_circ_0003967	正向:5'-GCTGATAAAGATCCAGTTTCTC-3' 反向:5'-AGATGATCCCCATGCTAAAGC-3'
泛介素水解通路	hsa_circ_0008956	正向:5'-CCTTGGTGATTTGTACTACTTC-3' 反向:5'-CCTGGCCTGAATGTCTTATTG-3'
AMPK 信号通路	hsa_circ_0003091	正向:5'-GTTCAAGGCGAGGGTGATCTCATG-3' 反向:5'-CCGTGGGTGTCAGATGTTT-3'
昼夜节律	hsa_circ_0063305	正向:5'-CAAGAGCAGCACCGTCTTGAG-3' 反向:5'-GATCCCGTCCATCAAGTGGTG-3'
Hedgehog 信号通路	hsa_circ_0001742	正向:5'-CAGAACATCAAGTTCAACAGTTC-3' 反向:5'-GATGTAGCTGTGCATGTCCTG-3'
内参	GAPDH	正向:5'-GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG-3' 反向:5'-ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA-3'



**代表差异有统计学意义($P < 0.01$); NC 为对照组, BC 为动脉瘤组。

图6 qRT-PCR 验证结果

3 讨论

目前造成 IA 的病因学尚不清楚,一些全基因组连锁研究表明,遗传因素或基因变异与 IA 密切相关^[9-10]。因此,易感基因的鉴定有助于解释 IA 形成和破裂机制^[2]。已证实 circRNA 有“miRNA 海绵”、结合 RAN 结合蛋白、影响线性 RNA 剪接发挥调控基因的作用,近年来围绕 circRNA 对各种 IA 形成、发展调控的研究掀起了热潮^[11-12]。

本研究发现,IA 组织中存在显著的 circRNA 差异表达谱,共鉴定出 28 850 个 DECs,其中上调基因占 34.9% (10 081 个),下调基因占 65.1% (18 769 个)。这一广泛的表达差异提示 circRNA 可能通过多维度调控网络参与 IA 的发生发展。通过 KEGG 富集分析发现,DECs 显著富集

于昼夜节律 (circadian rhythm)、AMPK 信号通路及 Hedgehog 信号通路 ($P < 0.01$)。这一结果具有重要的生物学意义,昼夜节律通路可通过调控血管内皮细胞的氧化应激和炎症反应影响血管稳态^[13-14],而有研究表明昼夜节律通路通过干扰细胞代谢、改变基因表达和异常激活信号通路,诱导肿瘤微环境血管重塑^[15],因此推测昼夜节律失调可影响血管稳态,从而参与了动脉瘤血管重构的发生;Hedgehog 信号通路则参与血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMC) 的增殖与凋亡失衡^[16],VSMC 的生长,即增殖和凋亡之间的平衡,在血管稳态和血管壁的病理重塑过程中起着不可或缺的作用^[17],其表型转换异常可能参与了动脉瘤的发生^[18];而 AMPK 信号通路作为细胞能量代谢的关键调控者^[19],

可能通过调节自噬^[20]过程与炎症^[21]影响IA的病理进展。进一步通过qRT-PCR验证的hsa_circ_0003967、hsa_circ_0003091等候选分子,均与上述通路存在潜在关联。例如,hsa_circ_0003967、hsa_circ_0063305在IA组织中表达上调($P < 0.01$),它们分别与细胞黏附、昼夜节律信号通路相关,可能是通过充当细胞黏附、昼夜节律相关miRNA的海绵分子,打破血管稳态,进而调控血管壁细胞功能、炎症反应及基质重塑等关键病理过程,最终促进IA的发生发展;而hsa_circ_0003091和hsa_circ_0001742可能通过分别充当AMPK信号通路、Hedgehog信号通路抑制性miRNA的海绵分子,其下调会导致miRNA释放并抑制通路活性,使得能量代谢紊乱、组织修复障碍等机制破坏血管壁稳态,最终促进IA的发生发展。这为IA的分子靶向治疗提供了新的潜在靶点组合。

尽管本研究初步揭示了IA相关circRNAs的表达谱特征,但仍存在以下亟待完善之处,如当前研究样本量较小(10例IA vs 6例对照),可能影响DECs筛选的统计学效力,亟须扩大临床样本量并进行多中心验证,以提高候选分子筛选的可靠性;DECs与疾病病理表型的因果关联及调控机制尚未明确,后续需先经高通量测序筛选验证关键DECs,再通过siRNA介导靶向敲降与过表达载体构建,结合CCK-8、Annexin V/PI染色、Transwell等技术分析VSMC增殖、凋亡、迁移及侵袭表型变化,借助生物信息学预测与荧光素酶报告基因等实验验证其作用靶点,最终明确调控机制,为疾病诊断标志物开发与靶向治疗提供实验依据;部分候选circRNAs可能存在宿主基因共转录干扰,需通过RNase R消化实验验证其环化特性——真性circRNA因抗外切酶特性将保持稳定,而线性RNA则显著降解^[22-23];此外,通路富集分析虽提示昼夜节律、Hedgehog等通路的参与,但circRNA与这些通路的具体调控机制(如直接结合蛋白或间接ceRNA效应)仍需体内外实验深入解析。

综上所述,circRNA差异表达是IA发生的重要分子特征,其可能通过参与昼夜节律、Hedgehog信号通路等调控动脉瘤形成、发展,hsa_circ_0003967、hsa_circ_0003091、hsa_circ_0063305和hsa_circ_0001742等可能是与动脉瘤的形成有关的circRNA,这将为IA的机制研究与靶向治疗提供新线索。

参 考 文 献

- [1] HOH BL, KO NU, AMIN-HANJANI S, et al. 2023 guideline for the management of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association[J]. *Stroke*, 2023, 54(7): e314-e370.
- [2] MISIR S, WU N, YANG BB. Specific expression and functions of circular RNAs[J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(3): 481-491.
- [3] VARZIDEH F, MONE P, KANSAKAR U, et al. Functional role of circular RNA XYLT1 in vascular remodeling and oxidative stress in aging[J]. *Exp Gerontol*, 2025, 203: 112728.
- [4] CHEN WJ, XU JZ, WU YD, et al. The potential role and mechanism of circRNA/miRNA axis in cholesterol synthesis[J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(9): 2879-2896.
- [5] MALHOTRA S, MIRAS MCM, PAPPOLLA A, et al. Liquid biopsy in neurological diseases[J]. *Cells*, 2023, 12(14): 1911.
- [6] WANG LK, FENG ZX, WANG X, et al. DEGseq: an R package for identifying differentially expressed genes from RNA-seq data[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(1): 136-138.
- [7] YANG YH, DUDOIT S, LUU P, et al. Normalization for cDNA microarray data: a robust composite method addressing single and multiple slide systematic variation[J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(4): e15.
- [8] BUZDUGAN L, KALISCH M, NAVARRO A, et al. Assessing statistical significance in multivariable genome wide association analysis[J]. *Bioinformatics*, 2016, 32(13): 1990-2000.
- [9] HONG EP, KIM BJ, YOUN DH, et al. Updated genome-wide association study of intracranial aneurysms by genotype correction and imputation in Koreans[J]. *World Neurosurg*, 2022, 166: e109-e117.
- [10] BAKKER MK, COBYTE S, HENNEKAM FAM, et al. Genome-wide linkage analysis combined with genome sequencing in large families with intracranial aneurysms[J]. *Eur J Hum Genet*, 2022, 30(7): 833-840.
- [11] FERNÁNDEZ-PÉREZ I, MACIAS-GÓMEZ A, SUÁREZ-PÉREZ A, et al. The role of epigenetics in brain aneurysm and subarachnoid hemorrhage: a comprehensive review[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(6): 3433.
- [12] GAREEV I, BEYLERLI O, AHMAD A, et al. Comparative analysis of circular RNAs expression and function between aortic and intracranial aneurysms[J]. *Curr Drug Targets*, 2024, 25(13): 866-884.
- [13] XIN ML, BI FJ, WANG C, et al. The circadian rhythm: a new target of natural products that can protect against diseases of the metabolic system, cardiovascular system, and nervous system[J]. *J Adv Res*, 2025, 69: 495-514.
- [14] ZENG Q, OLIVA VM, MORO MÁ, et al. Circadian effects on vascular immunopathologies[J]. *Circ Res*, 2024, 134(6): 791-809.
- [15] MALLA RR, PADMARAJU V, AMAJALA KC, et al. Association between the circadian clock and the tumor microenvironment in breast cancer[J]. *Crit Rev Oncog*, 2021, 26(3): 43-51.
- [16] XIANG YL, LI LH, XIA S, et al. Cullin3 (CUL3) suppresses proliferation, migration and phenotypic transformation of PDGF-BB-stimulated vascular smooth muscle cells and mitigates inflammatory response by repressing Hedgehog signaling pathway[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(2): 9463-9472.
- [17] DAI JJ, CHEN HY, FANG JD, et al. Vascular remodeling: the multicellular mechanisms of pulmonary hypertension[J]. *Int J*

- Mol Sci, 2025, 26(9): 4265.
- [18] WANG ZY, MA J, YUE HY, et al. Vascular smooth muscle cells in intracranial aneurysms[J]. *Microvasc Res*, 2023, 149: 104554.
- [19] MURALEEDHARAN R, DASGUPTA B. AMPK in the brain: its roles in glucose and neural metabolism[J]. *FEBS J*, 2022, 289(8): 2247-2262.
- [20] LI T, TAN XJ, ZHU SW, et al. SPARC induces phenotypic modulation of human brain vascular smooth muscle cells via AMPK/mTOR-mediated autophagy[J]. *Neurosci Lett*, 2019, 712: 134485.
- [21] SUN B, LIU ZH, YU ZQ. miRNA-323a-3p promoted intracranial, aneurysm-induced inflammation via AMPK/NF- κ B signaling pathway by AdipoR1[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2022, 31(11): 1243-1254.
- [22] VO JN, CIESLIK M, ZHANG YJ, et al. The landscape of circular RNA in cancer[J]. *Cell*, 2019, 176(4): 869-881.e13.
- [23] ZHENG L, LIANG H, ZHANG QL, et al. circPTEN1, a circular RNA generated from PTEN, suppresses cancer progression through inhibition of TGF- β /Smad signaling[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 41.

责任编辑:王荣兵