

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.19.002

垂体瘤微环境免疫细胞浸润与肿瘤侵袭性的相关性研究*

张安可 林绍坚 徐远志 王振林 毕云科 侯典奇 刘耀华 楼美清[△]

(上海交通大学附属第一人民医院 上海 200080)

摘要 目的:探讨垂体瘤免疫微环境中免疫细胞浸润情况及其与垂体瘤侵袭性的相关性。**方法:**选取 35 例垂体瘤病理组织切片,通过免疫组化染色分析巨噬细胞、T 细胞以及中性粒细胞的特异性标记蛋白 CD68、CD4、CD8 和 MPO 的表达情况。结合临床和影像学数据分析,分析生长激素腺瘤、泌乳素腺瘤和无功能腺瘤的侵袭性与免疫细胞浸润数量的相关性。**结果:**在 15 例生长激素腺瘤,10 例泌乳素腺瘤和 10 例无功能性腺瘤患者中,侵袭性垂体瘤中有更多的巨噬细胞浸润(P 分别为 0.014, 0.032 和 0.032)。侵袭性促生长激素腺瘤、泌乳素腺瘤和无功能性腺瘤巨噬细胞浸润数量均明显多于非侵袭性促生长激素腺瘤、泌乳素腺瘤和无功能性腺瘤($P<0.05$)。**结论:**在垂体腺瘤中,巨噬细胞是肿瘤免疫微环境的主体。巨噬细胞浸润可能促进垂体瘤的进展。

关键词:垂体瘤;免疫微环境;巨噬细胞

中图分类号:R-33;R736.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)19-3606-05

Correlation of the Immune Cell Infiltration in Immune Microenvironment with the Tumor Invasiveness of Pituitary Adenomas*

ZHANG An-ke, LIN Shao-jian, XU Yuan-zhi, WANG Zhen-lin, BI Yun-ke, HOU Dian-qi, LIU Yao-hua, LOU Mei-qing[△]

(Department of neurosurgery, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200080, China)

ABSTRACT Objective: To explore the correlation between immune cell infiltration and tumor invasiveness in immune microenvironment of pituitary adenomas. **Methods:** Tissues of 35 patients with pituitary adenomas were collected after surgical resection and were analyzed by IHC staining for CD68, CD4, CD8 and MPO. Clinical and imaging data were combined to evaluate the correlation between immune cells infiltration and three subtype of pituitary adenomas(somatotroph adenomas, prolactinoma and non-functional pituitary adenomas). **Results:** Among 15 patients with pituitary somatotroph adenoma, 10 with prolactinomas and 10 with non-functional pituitary adenomas, there were more macrophages in invasive pituitary adenomas compared with non-invasive group (P value is 0.014, 0.032 and 0.032 respectively). **Conclusion:** Macrophages are the main component of tumor immune microenvironment in pituitary adenomas. Macrophages promote the progression of pituitary adenomas.

Key words: Pituitary adenomas; Immune microenvironment; Macrophages

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R736.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)19-3606-05

前言

垂体腺瘤约占颅内肿瘤的 10%^[1],大多数垂体腺瘤是非侵袭性的。然而,也有部分垂体腺瘤(Pituitary adenoma, PA)表现出侵袭性(临床上通过 Knosp 分级分为 III 和 IV 级),侵袭临近硬膜、包绕颈内动脉等重要脑组织,手术全切率低且易复发^[2],是神经外科治疗中面临的一大难题。

近年来,研究显示各类肿瘤的发生发展与其免疫微环境密切相关。在肿瘤发生过程中,免疫细胞产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)和活性氮中间产物(reactive nitrogen intermediates, RNI)从基因层面及表观遗传学水平促进肿瘤发生;而在肿瘤发展过程中,浸润肿瘤的免疫细胞,包括 T 细胞、巨噬细胞、树突状细胞等可分泌多种细胞因子作用于癌前病变细胞,

活化 NF- κ B、STAT3 等关键信号通路,促进恶性细胞的生存、增殖、血管新生以及浸润转移。

目前,极少有文献研究报道垂体瘤这类良性肿瘤与免疫微环境的关系,而且免疫微环境与侵袭性垂体瘤的关联和作用机制目前并没有深入的基础研究支持。为了探究免疫细胞与垂体腺瘤侵袭性的相关性,本研究采用免疫组化法检测三大类垂体腺瘤中各类免疫细胞的浸润分布,并统计分析免疫细胞对垂体瘤侵袭性的影响,探讨其临床意义。

1 对象与方法

1.1 临床资料

选取 2017 年 1 月-2018 年 12 月上海交通大学附属第一人民医院神经外科接受内镜下经鼻蝶垂体瘤切除术且术后病

* 基金项目:上海市自然科学基金项目(18ZR1430400)

作者简介:张安可,硕士研究生,电话:15988767789, E-mail: theanke@163.com

[△] 通讯作者:楼美清,主任医师,教授,博士生导师,电话:13818893135, E-mail: loumq68128@sina.com

(收稿日期:2019-02-24 接受日期:2019-03-18)

理证实为垂体腺瘤的患者标本 35 例,包括 15 男性患者,20 名女性患者,平均年龄为 46.17 ± 2.33 岁;促生长激素腺瘤 15 例,泌乳素腺瘤 10 例,无功能型腺瘤 10 例(见表 1)。

入选标准:① 行垂体腺瘤手术;② 术后病理检查结果证实是垂体腺瘤;③ 术前具有垂体腺瘤相关内分泌激素水平测定、CT 或 MRI 结果等;④ 有免疫组化染色检查及结果;⑤ 未曾应用过激素、药物、放疗和手术等治疗垂体腺瘤的患者;⑥ 不伴有重大疾病和其他内分泌疾病。排除标准:上述指标缺乏任何一项者。本研究共入组 35 例患者。

表 1 患者的基线数据
Table 1 Basal data of patients

	Total
Age(year), $\bar{x} \pm s$	46.17 ± 2.33
M:F	3:4
SA	15(42.9%)
PRL	10(28.6%)
NFPA	10(28.6%)

1.2 检测方法

采用 Leica Bond m 型免疫组织化学仪按标准程序进行免疫组织化学染色,切片经脱水、透明后,封片镜下观察。通过

Knosp 分级,将患者分为侵袭性(3、4 级)和非侵袭性(0-2 级)两组。CD68 代表巨噬细胞,CD4 代表 CD4⁺T 细胞,CD8 代表 CD8⁺T 细胞,MPO 代表中性粒细胞。CD68、CD4、CD8 和 MPO 兔抗人单克隆抗体为 Abcam 公司产品。

1.3 结果分析

在 400 倍光学显微镜下随机取 3 个不同视野,应用 ImageJ 软件分析 CD68、CD4、CD8 和 MPO 相对表达的面积,并取平均值作为该切片的表达率。

1.4 统计学分析

所有数据采用 SPSS 20.0 (IBM SPSS statistics 20, Chicago, USA)进行分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验;研究巨噬细胞浸润与肿瘤大小的影响,通过 Log-rank 检验考察相关变量差异,是否具有统计学意义。分析垂体瘤侵袭性与各因素的影响,采用非参数检验进行处理,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 垂体腺瘤免疫细胞浸润分布情况

在促生长激素腺瘤、泌乳素腺瘤和无功能型腺瘤中,巨噬细胞是浸润的免疫细胞的主体,巨噬细胞的数量显著多于 CD4、CD8 淋巴细胞和中性粒细胞。

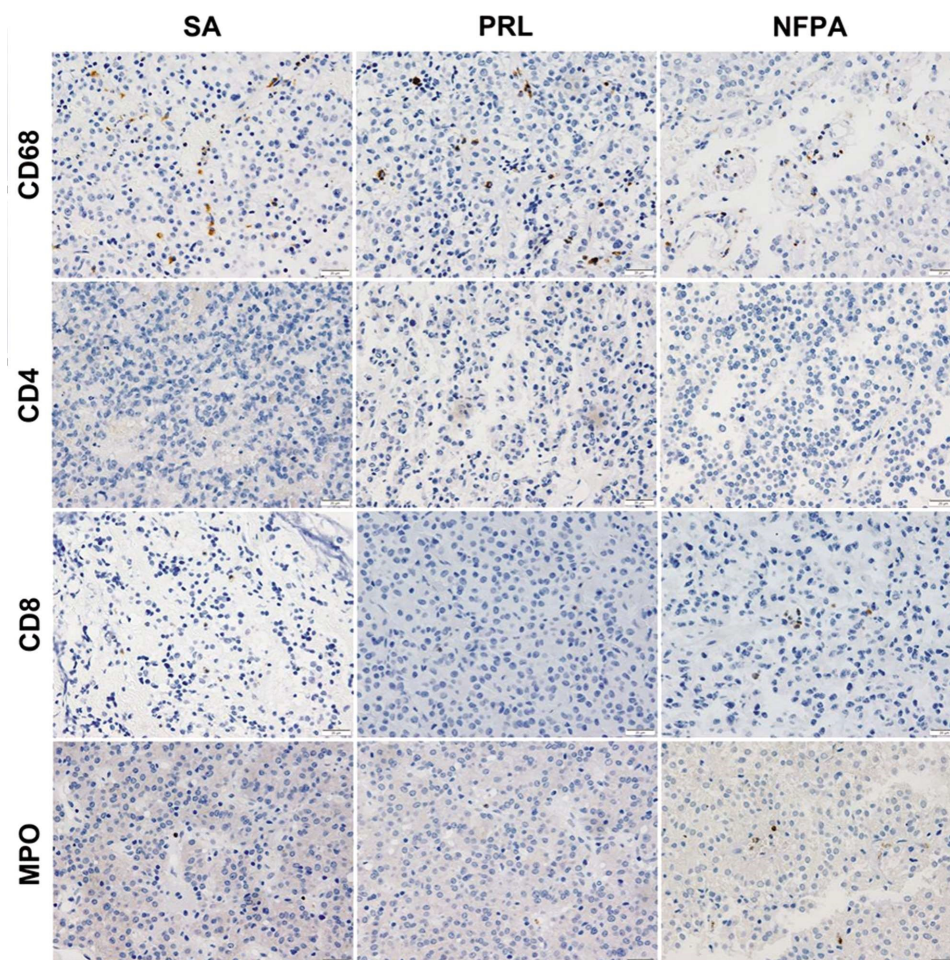


图 1 免疫细胞在各类垂体瘤中 IHC 染色

Fig.1 IHC staining of immune cells infiltration in pituitary adenomas

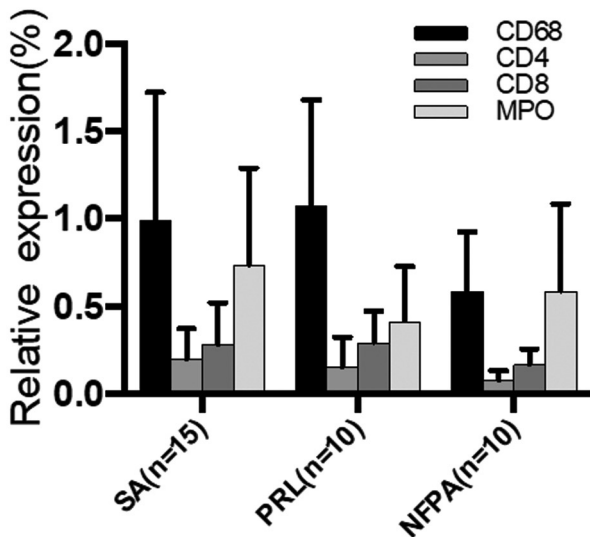


图 2 免疫细胞在各类垂体瘤中的浸润情况

Fig.2 Characteristics of immune cells infiltration in pituitary adenomas

2.2 促生长激素腺瘤的侵袭性与免疫细胞浸润的相关性

侵袭性促生长激素腺瘤巨噬细胞浸润明显多于非侵袭性垂体瘤,两组比较差异显著的统计学意义($P<0.01$)(见表 2)。而两组肿瘤中其他三类免疫细胞浸润情况比较均没有统计学差异($P>0.05$)。

2.3 泌乳素腺瘤的侵袭性与免疫细胞浸润的相关性

侵袭性泌乳素腺瘤巨噬细胞浸润明显多于非侵袭性垂体瘤,两组比较差异有显著的统计学意义($P<0.01$),两组其他三类免疫细胞浸润情况比较没有统计学差异,见表 3。

2.4 无功能型腺瘤的侵袭性与免疫细胞浸润的相关性

侵袭性泌无功能型腺瘤巨噬细胞浸润明显多于非侵袭性垂体瘤,两组比较差异有显著的统计学意义($P<0.01$),而两组其他三类免疫细胞的浸润情况比较没有统计学差异,见表 4。

3 讨论

垂体腺瘤大多数为非侵袭性的肿瘤,生长缓慢局限于在蝶

表 2 促生长激素腺瘤侵袭性与免疫细胞浸润的相关性

Table 2 Correlation of the immune cell infiltration with the invasiveness of SAs

	Invasive(%) n=8	Non-invasive(%) n=7	P value
Age, mean($\bar{x} \pm SD$), y	35.6 (± 12.8)	50.1 (± 11.9)	0.054 ^a
Male	2 (28.6)	2 (25)	1.000 ^b
Size	13.2 (± 6.7)	5.1 (± 1.5)	0.014 ^a
CD68	1.4 (± 0.8)	0.6 (± 0.3)	0.014 ^a
CD4	0.2 (± 0.2)	0.4 (± 0.8)	0.397 ^a
MPO	0.9 (± 0.6)	0.9 (± 0.6)	1.000 ^a
CD8	0.2 (± 0.2)	0.3 (± 0.2)	0.694 ^a

^a Mann-Whitney 检验

^b Fisher 检验

表 3 泌乳素腺瘤的侵袭性与免疫细胞浸润的相关性分析

Table 3 Correlation of the immune cell infiltration with the invasiveness of prolactinomas

	Invasive(%) n=5	Non-invasive(%) n=5	P value
Age, mean($\bar{x} \pm SD$), y	48.4 (± 15.8)	43.2 (± 12.9)	0.841 ^a
Male	2 (40)	3 (60)	1.000 ^b
Size	29.8 (± 12.3)	13.4 (± 2.0)	0.008 ^a
CD68	1.5 (± 0.5)	0.7 (± 0.2)	0.032 ^a
CD4	0.2 (± 0.2)	0.2 (± 0.2)	0.857 ^a
MPO	0.8 (± 0.8)	0.4 (± 0.3)	0.286 ^a
CD8	0.9 (± 0.9)	0.2 (± 0.1)	0.190 ^a

鞍内和 / 或浸润部分周围组织。然而,侵袭性垂体瘤会侵袭周围结构,包括海绵窦、骨、蝶窦以及较少见的神经鞘^[1]。侵袭性垂体瘤因为治疗(包括手术,放疗和药物治疗)有限^[2],往往预后效果不佳。与非侵袭性垂体瘤相比,侵袭性垂体瘤有以下的特点:
① 多见于青年患者;② 常累及颅神经,侵蚀邻近硬膜并包绕颈内动脉,发生垂体卒中概率高,达 30%^[3];③ 临床症状进展快,特

别是视力视野改变迅速;④ 手术全切率低,术后需要结合放疗化疗,术后复发率高;⑤ 影像学检查多见骨质破坏。

关于垂体瘤形成的机制仍未完全清楚,目前已有的研究表明垂体瘤形成与以下几个方面有关:① 原癌基因的激活:垂体瘤细胞内可见到非整倍体的染色、基因突变、等位基因的缺失等,这说明垂体腺瘤是在突变的基础上,由不同调节因子调控

发生发展的^[4]。① 基因突变: Gsp 和 Ras 基因的突变。α-Gs 突变的阳性率在 GH 垂体瘤中大约为 40%, 无功能腺瘤中为 10%, ACTH 腺瘤中为 5%^[5,6]。Ras 原癌基因可以通过点突变的方式转变为癌基因。发生 Ras 突变的 PRL 腺瘤具有很高的有丝分

裂率和侵袭性,并对药物有抵抗性^[7]。② 抑癌基因的失活: 抑癌基因可以抑制细胞分裂。③ 蛋白激酶的异常激活和调节机制的改变。

表 4 无功能型腺瘤的侵袭性与免疫细胞浸润的相关性

Table 4 Correlation of the immune cell infiltration with the invasiveness of NFPA

	Invasive(%) n=5	Non-invasive(%) n=5	P value
Age, mean($\bar{x} \pm$ SD), y	49.4 ($\pm$ 10.4)	52.2 ($\pm$ 8.5)	1.000 ^a
Male	2 (40)	2 (40)	1.000 ^b
Size	23.5 ($\pm$ 10.1)	14.3 ($\pm$ 7.6)	0.222 ^a
CD68	0.7 ($\pm$ 0.3)	0.3 ($\pm$ 0.1)	0.032 ^a
CD4	0.1 ($\pm$ 0.0)	0.2 ($\pm$ 0.1)	0.151 ^a
MPO	0.8 ($\pm$ 0.5)	0.7 ($\pm$ 0.7)	1.000 ^a
CD8	0.2 ($\pm$ 0.1)	0.2 ($\pm$ 0.1)	1.000 ^a

肿瘤免疫微环境在肿瘤发展和进展中起重要作用^[8]。慢性炎症被认为是诱导肿瘤形成重要因素^[9],肿瘤进展被认为是由肿瘤微环境中形成适宜肿瘤发展的慢性炎症状态所支持的,其长期分泌各种炎性可溶性因子,如细胞因子和趋化因子,并且有巨噬细胞在内的炎性细胞浸润^[10,11]。其中,巨噬细胞是肿瘤微环境中引起慢性炎症的主要成员^[12],巨噬细胞已经被证实可以促进恶性肿瘤的发生和发展^[13,14]。巨噬细胞通常分为两大类: M1(经典激活)和 M2(激活)巨噬细胞。M1 巨噬细胞具有杀伤肿瘤细胞的能力,而肿瘤相关巨噬细胞(TAM)分化成的 M2 巨噬细胞是一类促肿瘤巨噬细胞,在肿瘤微环境中发挥促进肿瘤进展的作用。多类癌症研究报道,肿瘤中浸润更多的 M2 巨噬细胞会呈现更差的治疗预后和更严重的临床症状^[15]。肿瘤相关巨噬细胞对肿瘤进展呈现的不同功能和重要作用主要是通过分泌合成不同的细胞因子实现^[16,17]。除此之外,肿瘤需要肿瘤内生成血管来支持肿瘤的营养,而肿瘤相关巨噬细胞被报道会促进肿瘤内血管的生成促进肿瘤生长^[18]。然而,目前极少有文献研究报道巨噬细胞在垂体腺瘤中的功能和作用机理。所以我们研究探索了垂体瘤中免疫微环境中免疫细胞分布特点,并针对巨噬细胞对垂体瘤侵袭性的影响做了一定的研究分析。

本研究结果显示:① 巨噬细胞是垂体瘤免疫微环境中的主要免疫细胞;② 侵袭性垂体瘤中巨噬细胞浸润显著多于非侵袭性垂体腺瘤;③ 巨噬细胞浸润有利于垂体瘤的生长。因此我们得出结论,巨噬细胞作为垂体瘤免疫微环境中的主要免疫细胞,与垂体瘤的生长进展有关。巨噬细胞浸润促进了垂体瘤的侵袭性,并且形成适宜垂体瘤发展的微环境。垂体具有特殊的免疫特性,与大脑相连,但不受血脑屏障保护。目前,很少有文献报道垂体腺瘤中炎症或免疫细胞浸润的相关内容。通过检测 1400 例各亚型的垂体腺瘤的研究显示在催乳素(PRL)、生长激素(GH)、促肾上腺皮质激素(ACTH)和多激素腺瘤中,只有极少的淋巴细胞浸润^[19]。另一项关于垂体瘤的研究在所有类型中都检测到了少量巨噬细胞,以及数量更少的 CD8⁺ 和 CD4⁺ 淋巴细胞^[20]。最近有文献证明 CD68⁺ 巨噬细胞浸润与垂体腺瘤大小和侵袭性的增加有关,并且雌激素诱导的催乳素瘤大鼠模型中

M2 巨噬细胞的数量大大增加。

总的来说,肿瘤的侵袭和迁移过程有一定的步骤:包括上皮间质转化^[21]。在肿瘤细胞迁移转移过程中,肿瘤细胞会经历表型转型。这主要是来源于肿瘤相关巨噬细胞的分泌物刺激,使肿瘤细胞可以更好地适应不同的微环境^[22]。和这个概念一致,目前已经有大量的文献研究证明了肿瘤相关巨噬细胞与上皮间质转化的关联^[23]。但目前为止,关于肿瘤巨噬细胞是否促进了垂体瘤的侵袭和浸润仍需要进一步的研究验证。虽然人们越来越多地认识到巨噬细胞在肿瘤生长中的重要性,但是没有进一步的研究能够说明其在垂体腺瘤中的功能和临床意义。

巨噬细胞不仅仅在一些病理过程中发挥作用,比如感染、代谢疾病和肿瘤等^[24,25],而且巨噬细胞会影响放疗甚至免疫治疗等抗肿瘤治疗的效果^[26-28]。所以针对巨噬细胞的治疗可能会是一个很有潜力的靶点,如控制巨噬细胞的数量^[29]或者改变巨噬细胞的功能和表型^[30]。但是巨噬细胞对肿瘤细胞的影响是通过分泌慢性炎症因子或者是改变肿瘤微环境的综合影响从而促进了肿瘤的发展的机制仍需要做更多的研究以明确。

参 考 文 献 (References)

- [1] Lv L, Zhang B, Wang M, et al. Invasive pituitary adenomas with gross total resection: The wait-and-see policy during postoperative management[J]. J Clin Neurosci, 2018, 58: 49-55
- [2] Langlois F, McCartney S, Fleseriu M. Recent Progress in the Medical Therapy of Pituitary Tumors[J]. Endocrinol Metab (Seoul), 2017, 32 (2): 162-170
- [3] Theodros D, Patel M, Ruzevick J, et al. Pituitary adenomas: historical perspective, surgical management and future directions [J]. CNS Oncol, 2015, 4(6): 411-29
- [4] Bi WL, Horowitz P, Greenwald NF, et al. Landscape of Genomic Alterations in Pituitary Adenomas [J]. Clin Cancer Res, 2017, 23 (7): 1841-1851
- [5] Boggild MD, Jenkinson S, Pistorello M, et al. Molecular genetic studies of sporadic pituitary tumors[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1994, 78 (2): 387-392
- [6] Tordjman K, Stern N, Ouajnine G, et al. Activating mutations of the

- Gs alpha-gene in nonfunctioning pituitary tumors [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1993, 77(3): 765-769
- [7] Karga HJ, Alenxander JM, Hedley-Whyte ET, et al. Ras mutations in human pituitary tumors [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992, 74(4): 914-919
- [8] Spill F, Reynolds DS, Kamm RD, et al. Impact of the physical microenvironment on tumor progression and metastasis [J]. *Current opinion in biotechnology*, 2016, 40: 41-48
- [9] Mantovani A, Marchesi F, Malesci A, et al. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(7): 399-416
- [10] Lu JQ, Adam B, Jack AS, et al. Immune Cell Infiltrates in Pituitary Adenomas: More Macrophages in Larger Adenomas and More T Cells in Growth Hormone Adenomas [J]. *Endocrine pathology*, 2015, 26(3): 263-272
- [11] Fujiwara K, Yatabe M, Tofrizal A, et al. Identification of M2 macrophages in anterior pituitary glands of normal rats and rats with estrogen-induced prolactinoma[J]. *Cell and tissue research*, 2017, 368(2): 371-378
- [12] Motwani MP, Gilroy DW. Macrophage development and polarization in chronic inflammation[J]. *Semin Immunol*, 2015, 27(4): 257-266
- [13] Qian BZ, Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis[J]. *Cell*, 2010, 141(1): 39-51
- [14] Noy R, Pollard JW. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy[J]. *Immunity*, 2014, 41(1): 49-61
- [15] Salmi M. Macrophages and cancer [J]. *Duodecim*, 2017, 133(9): 829-837
- [16] Alderton GK. Metastasis: Epithelial to mesenchymal and back again [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 13(1): 3
- [17] Suarez-Carmona M, Lesage J, Cataldo D, et al. EMT and inflammation: Inseparable actors of cancer progression[J]. *Mol Oncol*, 2017, 11(7): 805-823
- [18] Su S, Liu Q, Chen J, et al. A positive feedback loop between mesenchymal-like cancer cells and macrophages is essential to breast cancer metastasis[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(5): 605-620
- [19] Huang D, Song SJ, Wu ZZ, et al. Epstein-Barr virus-induced VEGF and GM-CSF drive nasopharyngeal carcinoma metastasis via recruitment and activation of macrophages [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(13): 3591-3604
- [20] Heshmati HM, Kujas M, Casanova S, et al. [J]. *Endocrine journal*, 1998, 45(3): 357-361
- [21] Rossi ML, Jones NR, Esiri MM, et al. Mononuclear cell infiltrate and HLA-Dr expression in 28 pituitary adenomas[J]. *Tumori*, 1990, 76(6): 543-547
- [22] Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow?[J]. *Lancet*, 2001, 357(9255): 539-545
- [23] Mantovani A, Sozzani S, Locati M, et al. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes[J]. *Trends Immunol*, 2002, 23(11): 549-555
- [24] Komohara Y, Jinushi M, Takeya M. Clinical significance of macrophage heterogeneity in human malignant tumors[J]. *Cancer Sci*, 2014, 105(1): 1-8
- [25] Gulcen Y, Alistair R, Armando RH. Chemoresistance and the self-maintaining tumor microenvironment [J]. *Cancers*, 2018, 10(12): E471
- [26] Colegio OR, Chu NQ, Szabo AL, et al. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid [J]. *Nature*, 2014, 513(7519): 559-563
- [27] Ries CH, Cannarile MA, Hoves S, et al. Targeting tumor-associated macrophages with anti-CSF-1R antibody reveals a strategy for cancer therapy[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(6): 846-859
- [28] Mantovani A, Allavena P. The interaction of anticancer therapies with tumor-associated macrophages [J]. *J Exp Med*, 2015, 212(4): 435-445
- [29] Engblom C, Pfirschke C, Pittet M J. The role of myeloid cells in cancer therapies[J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(7): 447-462
- [30] Schultze J L. Reprogramming of macrophages-new opportunities for therapeutic targeting[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2016, 26: 10-15

(上接第 3673 页)

- [26] Li XY, Su GH, Wang GX, et al. Switching from ticagrelor to clopidogrel in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing successful percutaneous coronary intervention in real-world China: Occurrences, reasons, and long-term clinical outcomes[J]. *Clin Cardiol*, 2018, 41(11): 1446-1454
- [27] Delgado F, Oteros R, Jimenez-Gomez E, et al. Half bolus dose of intravenous abciximab is safe and effective in the setting of acute stroke endovascular treatment[J]. *J Neurointerv Surg*, 2019, 11(2): 147-152
- [28] Saber H, Kherallah RY, Haded MO, et al. Antiplatelet therapy and the risk of ischemic and hemorrhagic complications associated with Pipeline embolization of cerebral aneurysms: a systematic review and pooled analysis[J]. *J Neurointerv Surg*, 2019, 11(4): 362-366
- [29] hiba T, Setta K, Shimada Y, et al. Comparison of Effects between Clopidogrel and Cilostazol on Cerebral Perfusion in Nonsurgical Adult Patients with Symptomatically Ischemic Moyamoya Disease: Subanalysis of a Prospective Cohort [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2018, 27(11): 3373-3379
- [30] Fathy S, Shahin MH, Langaee T, et al. Pharmacogenetic and clinical predictors of response to clopidogrel plus aspirin after acute coronary syndrome in Egyptians [J]. *Pharmacogenet Genomics*, 2018, 28(9): 207-213
- [31] Cheong E, Toner P, Dowie G, et al. Evaluation of a CTA-Triage Based Transient Ischemic Attack Service: A Retrospective Single Center Cohort Study [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2018, 27(12): 3436-3442