

## . 综 述 .

## 癫痫生物标志物的研究进展

扶 宇 李经纶 综述 王本瀚 姚安会 审校

【关键词】癫痫;生物标志物;研究进展;基因;miRNA;炎症反应

【文章编号】1009-153X(2018)05-0376-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 742.1

当前,大部分癫痫采用抗癫痫药物治疗能有效控制,但仍有部分癫痫经正规服药后仍不能完全控制,主要因素之一是癫痫的病因复杂性及其异质性。有效的生物标志物有助于对癫痫作出正确诊断和分类,为开发癫痫靶向治疗提供机会。Engel 等<sup>[1]</sup>将癫痫的生物标志物定义为客观可测量的生物学特征,可识别癫痫发作的发展、存在、严重性、进展或定位。癫痫生物标志物能够快速地对疾病进行诊断,如癫痫发生部位或严重程度,还可预测未来临床表现,如癫痫发展的速度、预后以及治愈的情况,具有较高的潜在临床意义。本文就近年来癫痫生物标志物的研究进展进行综述。

## 1 基因生物标志物

基因突变可能是原发性癫痫发生的根本原因,不仅使大脑在获得性脑损伤(例如缺血性卒中或颅脑损伤)后更容易发生癫痫,还能影响病人对特定治疗的反应。新一代测序结果揭示同一基因的突变如何引起一系列癫痫表型,强调一些相对明确的癫痫表型的遗传异质性。随着癫痫基因组和外显子组测序分析成为主流,癫痫遗传学的诊断方法越来越成为一种从基因型向表型转变的方法。

1.1  $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)受体基因 GABA 受体亚单位的基因突变与多种遗传性癫痫综合症相关。GABA 是中枢神经系统内抑制性递质,当脑内 GABA 的含量降低或异常会导致兴奋性递质含量相对升高,神经元异常兴奋,诱发癫痫。GABA 主要作用于 GABA<sub>A</sub>受体和 GABA<sub>B</sub>受体,前者通过调控氯离子通道,产生抑制性突触后电位,当其功能失调就会诱发癫痫发作;后者是一种代谢

通道,与 G 蛋白结合后发挥作用。GABA 受体基因的突变可诱发不同类型癫痫,可作为癫痫发病的潜在生物标志物。GABA<sub>A</sub>受体亚基基因有 GABRB1、GABRB2、GABRB3 和 GABRG2,基因 GABRB1 和 GABRB2 主要位于突触前末端,能产生慢且延长的抑制性信号,对神经递质的释放起重要作用。Merlo 等<sup>[2]</sup>在 Wag/rij 大鼠的失神发作模型研究中,发现 GABA<sub>B</sub>受体低表达。Engel 等<sup>[3]</sup>在 GABRB1 和 GABRB2 亚单位基因敲除的失神发作的癫痫模型小鼠研究中发现脑部出现棘慢波放电。Özlem 等<sup>[4]</sup>在失神发作病人 GABA<sub>A</sub>受体研究中发现,基因的突变引起  $\gamma 2$  亚单位 43 号位点的精氨酸转变成谷氧酰胺,引起受体到膜通路的损伤,进而导致通过受体的电流减小。

1.2 5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)受体基因 癫痫的敏感性可能与 5-HT 受体基因的多态性有关。5-HT 是一种中枢神经系统递质,与其受体相结合后发挥生物活性,参与多种精神活动调节。当在传导过程出现异常时,会导致神经元的高度同步化异常放电,与癫痫发生关系密切。5-HTR2A 受体是 5-HT 的受体亚型之一,其基因多态性可能作为癫痫诊断及治疗的靶点。研究发现 5-HTR2A 基因-1438T/C 的多态性与特发性癫痫发生有显著相关性<sup>[5]</sup>。刀筱芳等<sup>[6]</sup>研究发现 5-HTR2A 基因第 1 个外显子第 102T/C SNP 位点的单核苷酸多态性与特发性癫痫有关。基因多态位点及基因型频率的差异,导致基因转录异常,可能会使 5-HTR2A 受体的水平降低引起癫痫。

1.3 电压闸门钠通道蛋白 I 型  $\alpha$  亚单位(sodium channel voltage-gated type I alpha, SCN1A)基因 SCN1A 主要表达在中枢神经系统,其基因突变与全面性癫痫伴热性惊厥、Dravet 综合症、共济失调等神经系统疾病有关。Clancy 和 Kass<sup>[7]</sup>研究表明 SCN1A 基因突变,神经元异常兴奋,从而引起癫痫。Zuberi

等<sup>[8]</sup>在比较婴儿期重症肌阵挛型癫痫与热性惊厥时发现,婴儿期重症肌阵挛型癫痫 SCN1A 基因多在电压感受区和孔区发生突变,同时氨基酸极性也多发生改变。Singh 等<sup>[9]</sup>在婴儿期重症肌阵挛型癫痫中发现 SCN9A 的变异可能加剧 SCN1A 基因突变,从而影响神经元兴奋性,引发癫痫。郭嘉诚和赵武<sup>[10]</sup>研究发现 SCN1A 电压感受器及离子通道孔外区的基因突变可能是引起表型相对较轻的癫痫综合症重要因素。总之,SCN1A 基因的位点、类型的突变都可能会引起钠离子通道功能的失衡,使离子通道兴奋性失调,从而导致各种不同类型癫痫发生。

1.4 水通道蛋白 4(aquaporin-4, AQP4)和内向整流性钾离子通道(inwardly rectifying potassium channel, Kir4.1) AQP4 在介导水分子跨膜转运时伴有 Kir4.1 对 K<sup>+</sup>的调控,共同维持着细胞内微环境的稳定。Amiry-Moghaddam 等<sup>[11]</sup>研究发现敲除 $\alpha$ -syntrophin 基因小鼠惊厥易感性增加,海马区域 PAST-ef 存在 AQP4 和 Kir4.1 缺失,细胞外 K<sup>+</sup>清除时间延长,说明 AQP4 和 Kir4.1 极性分布可能参与癫痫发生。神经元兴奋性主要依靠细胞膜动作电位发放的频率及幅度,而它又取决于细胞内外的 K<sup>+</sup>的浓度。Kir4.1 通路在维持细胞内外 K<sup>+</sup>的浓度处在至关重要的作用。星形胶质细胞 Kir4.1 通路失控,会导致细胞内外 K<sup>+</sup>浓度平衡失调,造成神经元的异常兴奋,引起癫痫的发作。Hcuscr 等<sup>[12]</sup>对耐药性颞叶癫痫研究发现, kir4.1 在星形胶质细胞表达异常可能与其耐药性有关。Hcuscr 等<sup>[13]</sup>在研究 AQP4 基因和编码 Kir4.1 时,通过比较分析 218 颞叶癫痫和健康人群 KCNJ10 基因 SNP 位点多态性,发现 KCNJ10 基因上 7 个 SNP 位点与颞叶癫痫伴热性惊厥有关,可能提示 Kir4.1 对癫痫的易感性存在重要影响。

2 miRNA

miRNA 能够影响多种蛋白质的合成途径及分子结构,改变 miRNA 的表达水平及活性可能影响到细胞的功能;而且 miRNA 在寡核苷酸上的表达易导致基因表达的广泛化。这些特性使 miRNA 可以作为癫痫生物标志物和新型治疗的靶点。研究表明,在急性或复发性癫痫中,miRNA 的表达是有差异的<sup>[14]</sup>。Roncon 等<sup>[15]</sup>使用毛果芸香碱诱导的癫痫动物模型中,对癫痫发生期间收集的血浆样品进行 miRNA 分析,发现对照组与实验组有 27 个 miRNA 的浓度不同;把第一次癫痫发作之前(如 rno-miR-9a-3p)出现 miRNA 的浓度变化作为癫痫发生的潜在生物标

记物,但在癫痫持续状态时 miRNA 浓度变化无差异,所以需要进一步研究来确认 miR-9a-3p 是否可以作为癫痫的生物标记物。另一方面,我们在癫痫病人致痫灶和血液中也观察到 miRNA 的改变。Zucchini 等<sup>[16]</sup>证实在难治性颞叶内侧癫痫手术标本的海马颗粒细胞中存在具有差异表达的 12 种 miRNA,其中一个 hsa-miR-487a 已经在 7 个难治性颞叶内侧癫痫和 7 个对照病人的扩展队列中得到验证。Wang 等<sup>[17]</sup>测量 30 例癫痫和 30 例对照组的血清 miRNA 浓度,发现癫痫组与对照组相比有 6 个 miRNA 具有差异性表达,而且 hsa-miR-106b-5p 具有高度敏感性和特异性。这些研究表明 miRNA 是癫痫发病机制中的基因调控关键因子,其表达差异有望作为癫痫的生物标志物;不仅可用于识别癫痫分子结构和细胞途径的变化,还可以作为癫痫诊断、治疗的靶点。

3 炎症反应性生物标志物

炎症反应与癫痫的发生、发展密切相关。炎症反应可诱导血脑屏障通透性增加、白细胞浸润、胶质细胞的活化、增生,也可诱导分泌大量的炎症细胞因子并上调相关的受体。这些炎症反应促使神经元兴奋性增高,加剧能量的消耗,进一步诱导癫痫发作。研究表明,癫痫患儿脑组织以及惊厥发作患儿血清和脑脊液白细胞介素(interleukin, IL)-2、IL-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- $\alpha$ 表达水平平均高于对照组,且与惊厥成正相关<sup>[18]</sup>。Sinha 等<sup>[19]</sup>在对 100 例癫痫发作期病人血清进行 TNF- $\alpha$ 、干扰素- $\gamma$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-4 和 IL-6 水平检测,发现炎症细胞因子含量显著升高,其中 16 例在发作间期虽比癫痫发作期低,但仍比对照组高。Zhu 等<sup>[20]</sup>研究发现在戊四唑诱导的癫痫动物模型中,海马组织星形胶质细胞明显活化且其细胞数量及分支增多,活化的星形胶质细胞通过分泌多种因子保护神经元,维持细胞膜上多种离子酶活性促使细胞内微环境电解质平衡来维持神经元的兴奋性;此外,活化的星形胶质细胞异常增生可能导致摄取 K<sup>+</sup>功能丧失,造成神经元异常兴奋及癫痫反复发作。

分子成像技术在癫痫的诊断方面起着不可或缺的作用,不仅可用于观察炎症细胞,还可以测量血液中炎症介质。Choy 等<sup>[21]</sup>在长时间发热性癫痫的大鼠模型中研究发现持续发热 2 h 后杏仁体和内侧丘脑 MRI T<sub>2</sub> 松弛时间的减少预示癫痫发生;松弛时间的减少与氧气使用、静脉血脱氧血红蛋白浓度增加、杏

仁核上的神经元释放炎症蛋白高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group protein B1, HMGB1) 有关。癫痫发生期间 HMGB1 易位的时间演变与 MRI T<sub>2</sub> 信号的减少一致。虽然 T<sub>2</sub> 作为认知衰退的生物标志物的敏感性和特异性未被评估,但在发热性癫痫发作后 2~3 个月,杏仁核和背部海马的 MRI T<sub>2</sub> 信号早期减少与学习障碍发展有关。

综上所述,通过对基因、miRNA、炎性反应检测可能为临床癫痫诊断提供依据,能早期对癫痫做出预警作用。癫痫生物标志物检测可对癫痫首次发作或初始受伤病人进行全面的评估,还可获得更详细的临床病理资料。癫痫生物标志物的发现是医学个体化的进步,虽然未来的挑战不容低估,但生物标志物将是治疗癫痫病人的重要手段及治疗靶点。

### 【参考文献】

- [1] Engel J Jr, Pitkänen A, Loeb JA, *et al.* Epilepsy biomarkers [J]. *Epilepsia*, 2013, 54 Suppl 4: 61-69.
- [2] Merlo D, Cuchillo-Ibañez I, Parlato R *et al.* DNA damage, neurodegeneration, and synaptic plasticity [J]. *Neural Plast*, 2016, 2016: 1206840.
- [3] Engle MP, Gassman M, Sykes KT, *et al.* Spinal nerve ligation does not alter the expression or function of GABA(B) receptors in spinal cord and dorsal root ganglia of the rat [J]. *Neuroscience*, 2006, 138(4): 1277-1287.
- [4] Özlem ÇG, Ali A, Fatma U, *et al.* Comparison of helmet and facial mask during noninvasive ventilation in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: a randomized controlled study [J]. *Turk J Med Sci*, 2015, 45(3): 600-606.
- [5] 段铭铭. 5-HTR2A 基因多态性与特发性癫痫相关性分析 [D]. 泸州医学院, 2013.
- [6] 刀筱芳,何进宇,伍学英,等. 人 5-羟色胺 2c 受体基因实时荧光定量 PCR 方法的建立 [J]. *四川医学*, 2008, 29(5): 503-505.
- [7] Clancy CE, Kass RS. Theoretical investigation of the neuronal Na<sup>+</sup> channel SCN1 A: abnormal gating and epilepsy [J]. *Biophys J*, 2004, 86(4): 2606-2014.
- [8] Zuberi SM, Brunklaus A, Birch R, *et al.* Genotype-phenotype associations in SCN1 A-related epilepsies [J]. *Neurology*, 2011, 76(7): 594-600.
- [9] Singh NA, Pappas C, Dahle EJ, *et al.* A role of SCN9A in human epilepsies, as a cause of febrile seizures and as a potential modifier of Dravet syndrome [J]. *PLoS Genet*, 2009, 5: e1000649.
- [10] 郭嘉诚,赵武. SCN1A 基因突变在家族热性惊厥发病中的作用 [J]. *临床儿科杂志*, 2017, 35(2): 133-137.
- [11] Amiry-Moghaddam M, Williamson A, Palomba M, *et al.* Delayed K<sup>+</sup> clearance associated with aquaporin-4 mislocalization: Phenotypic defects in brains of α-syntrophin-null mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(23): 13615-13620.
- [12] Heuser K, Eid T, Lauritzen F, *et al.* Loss of perivascular kir4.1 potassium channels in the sclerotic hippocampus of patients with mesial temporal lobe epilepsy [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2012, 71(9): 814-825.
- [13] Heuser K, Hoddevik EH, Taubøll E, *et al.* Temporal lobe epilepsy and matrix metalloproteinase 9: a tempting relation but negative genetic association [J]. *Seizure*, 2010, 19(6): 335-338.
- [14] 张永宁,肖素希,肖文,等. 癫痫动物模型的研究进展 [J]. *科教导刊*, 2017, 9(19): 157-158.
- [15] Roncon P, Soukupova M, Binaschi A, *et al.* MicroRNA profiles in hippocampal granule cells and plasma of rats with pilocarpine-induced epilepsy--comparison with human epileptic samples [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 14143.
- [16] Zucchini D, Caprini G, Pasterkamp RJ, *et al.* Kinetic and spectroscopic characterization of the putative monooxygenase domain of human MICAL-1 [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2011, 515(1-2): 1-13.
- [17] Wang J, Yu J T, Tan L, *et al.* Genome-wide circulating microRNA expression profiling indicates biomarkers for epilepsy [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 9522.
- [18] 王凌啸,郑锡铭. 缺血缺氧性脑病新生儿血清 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 水平变化及其临床意义 [J]. *中国实用医刊*, 2017, 44(2): 72-74.
- [19] Sinha S, Patil S A, Jayalekshmy V, *et al.* Do cytokines have any role in epilepsy [J]? *Epilepsy Res*, 2008, 82(2-3): 171-176.
- [20] Zhu X, Dong J, Shen K, *et al.* NMDA receptor NR2B subunit contribute to PTZ-kindling-induced hippocampal astrogliosis and oxidative stress [J]. *Brain Res Bull*, 2015, 114: 70-78.
- [21] Choy M, Dube C M, Patterson K, *et al.* A novel, noninvasive, predictive epilepsy biomarker with clinical potential [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(26): 8672-8684.

(2017-06-07 收稿, 2018-01-15 修回)