

. 综 述 .

DNA 甲基化在癫痫演变和进展中的作用

汪智华 综述 林志国 审校

【关键词】 癫痫;发病机制;DNA 甲基化

【文章编号】 1009-153X(2021)06-0479-03

【文献标志码】 A

【中国图书资料分类号】 R 742.1

癫痫是一种常见的神经系统疾病,具有发作性、短暂性、重复性和刻板性的特点。癫痫的发病机制至今不明,对癫痫发病机制的研究可以提高对癫痫的认识,并更好地指导临床诊断和治疗。表观遗传机制是调节基因表达的一种方式,其中 DNA 甲基化是一种主要的表观遗传修饰。本文就近年来 DNA 甲基化在癫痫演变和进展中的作用进行综述。

1 DNA 甲基化概述

DNA 甲基化是指在 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的作用下,以 S-腺苷甲硫氨酸为甲基供体,在胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤(cytosine-phosphate-guanine, CpG)二核苷酸的胞嘧啶 5'碳位由共价键结合一个甲基基团。DNA 甲基化通过 DNMT 实现。DNMT 包括在发育早期阶段负责基因重新甲基化的 DNMT-3a、DNMT-3b,以及维持既定甲基化模式的 DNMT-1^[1]。DNA 甲基化位点通常集中在基因的启动子区域内,但也可以在基因的其他位点,可以根据位点和募集的因子促进或抑制基因表达^[2]。DNA 甲基化改变了 DNA 的表观和结构,可直接阻碍 DNA 的识别及与转录因子的结合,或者吸引其他因子优先与 DNA 结合干扰转录因子的结合,从而使基因的转录抑制或沉默。DNA 甲基化是动态的,可通过某些酶的作用对 DNA 残基中甲基进行修饰或去除^[3]。DNA 甲基化的可逆性为使用去甲基化制剂治疗人类疾病提供了理论基础。

2 DNA 甲基化与癫痫

近年的研究为异常 DNA 甲基化和癫痫之间的

关系提供了一些证据。Belhedi 等^[4]研究表明在局灶性癫痫和热性惊厥(febrile seizures, FS)中 CPA6 启动子甲基化增加。动物实验研究发现癫痫持续 1 d 后,近 300 个基因出现低甲基化^[5]。Li 等^[6]使用荧光素酶测定和 CpG 甲基化,发现丙戊酸(valproic acid, VPA)可通过诱导钠通道 Scn3a 基因启动子-39C 位点甲基化,降低启动子活性,产生抗癫痫作用,表明 CpG 甲基化在癫痫中的重要作用。更有研究表明, DNA 甲基化失调是癫痫的原因,而不是癫痫的结果^[7]。

3 与癫痫相关常见的基因甲基化

3.1 RASgrf1 基因甲基化与癫痫 RASgrf1,即 Ras-鸟嘌呤核苷酸释放因子 1,是一种父系印记基因,其启动子具有差异甲基化区域,可以使基因表达沉默。Chen 等^[8]使用红藻氨酸(kainate, KA)致病小鼠的动物模型研究 RASgrf1 启动子甲基化水平随癫痫进展的动态变化,发现 RASgrf1 启动子甲基化在急性发作期后逐渐增加,并在潜伏期达到最大值,随后抑制 RASgrf1 mRNA 和蛋白表达,在慢性期达到最低水平。RG108,一种 DNMT 抑制剂,可抑制 RASgrf1 基因甲基化的增加,使 RASgrf1 基因甲基化在潜伏期被显著抑制,并在慢性期恢复正常表达水平。RG108 可能通过调节神经元兴奋性,抑制 KA 致病小鼠的急性癫痫发作,而且心室注射 RG108 干扰潜伏期,可观察到慢性期自发性复发性癫痫发作小鼠数量显著减少,表明 RG108 可以改变癫痫的进展并防止 KA 诱导的癫痫小鼠发展成慢性癫痫^[9]。这提示对 RASgrf1 基因甲基化的进一步研究有望阐明癫痫急性发作,急性期向慢性期转变或癫痫复发性特点的机制,并有望发现新的基因治疗靶点,终止癫痫急性发作及其复发。

3.2 青少年肌阵挛性癫痫(juvenile myoclonic epilepsy, JME)相关基因甲基化 JME 是以肌阵挛、全身强直-阵挛发作、失神发作为特征的遗传性全身性癫痫

综合征, 占所有癫痫的 5%~10%, 占特发性全身性癫痫的 18%^[10]。最近, Santos 等^[11]借助 PRISMA 指南对 JME 遗传关联进行系统评价, 认为编码含溴结构域蛋白 2 (bromodomain-containing protein 2, BRD2) 的基因是 JME 一种重要的致病基因。随后, Pathak 等^[12]研究表明 BRD2 基因启动子甲基化与高加索人的 JME 有关。Schulz 等^[13]基于相同的 JME 诊断标准和实验对象招募计划, 却得出完全相反的结论, 认为目前的研究结果不支持先前研究中强调的 BRD2 基因是 JME 的致病基因。

γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 是中枢神经系统的主要抑制性神经递质, 使膜电位超极化, 降低神经元的兴奋性, 有助于维持正常脑功能并防止癫痫发作。研究指出, GABA 能系统在介导神经元可塑性以及调节神经元兴奋性方面发挥重要作用^[14]。由 GABA-A 型受体 (GABA A receptor, GABAAR) 活化介导的突触后抑制, 通过阳离子-氯化物协同转运蛋白 (cation-Cl-cotransporter, CCC) 实现, 包括钠-钾-氯协同转运蛋白 1 (Na-K-Cl-cotransporter 1, NKCC1) 和钾-氯协同转运蛋白 2 (K-Cl-cotransporter 2, KCC2), 通过调节细胞内 Cl⁻ 浓度, 维持神经元 Cl⁻ 稳态, 调控神经元功能^[15]。最新的研究^[16]通过比较 JME 与健康对照组的 DNA 甲基化状态, 研究 NKCC1 和 KCC2 在 JME 中的潜在作用, 结果显示 JME 病人 NKCC1 基因甲基化水平显著降低, 而 KCC2 基因甲基化水平显著升高。这提示 JME 病人 NKCC1 呈高表达, KCC2 则呈低表达。由于 NKCC1 和 KCC2 表达失调引起的神经元内外 Cl⁻ 浓度差, 可能弱化 GABAAR 介导的神经元兴奋性抑制作用, 到一定程度后, 又可能引起神经元过度兴奋, 即从超极化效应向去极化效应的转变, 导致癫痫发作。

3.3 RELN 基因甲基化与癫痫 RELN 基因位于 7 号染色体长臂区域, 蛋白产物 Reelin 在中枢神经系统的发育过程中发挥着重要作用。Reelin 是由 Cajal-Retzius 细胞合成的细胞外基质蛋白, 在哺乳动物大脑的早期发育中, 可作为神经细胞迁移终止信号调节神经元的迁移和定位, 诱导大脑层状结构形成。而在成熟的脑组织中, Reelin 蛋白可以调节神经元突触的功能, 以及参与大脑层状结构的维持。记忆主要存储在大脑皮层, 并与海马结构及脑内化学成分的变化有关。FS 是幼儿癫痫发作的最常见类型。Dai 等^[17]研究发现, RELN 基因的高甲基化与 FS 记忆缺陷有关, 并且这种记忆缺陷具有以下特点: ①可跨代遗传, 幼鼠长时间 FS 发作可导致成年后记忆

缺陷, 这种记忆缺陷可由曾在幼年时期经历过长时间 FS 的母鼠通过基因传递给子代; ②可逆性, DNMT 活性是这种记忆缺陷所必需的, DNA 甲基化有助于 FS 诱导的记忆缺陷的跨代传递, DNMT 抑制剂可抑制 DNMT-1 的高表达和 RELN 基因的高甲基化, 并逆转跨代记忆缺陷; ③可挽救性, 早期丰富环境治疗可以挽救年幼时 FS 引起的成年期记忆缺陷, 由于 DNMT 抑制剂对婴幼儿有不可预测的副作用, 此时环境治疗更能体现出其安全性和有效性。

3.4 脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 基因甲基化与癫痫 BDNF 是在脑内合成的一种蛋白质, 广泛分布于中枢神经系统, 对神经细胞有着广泛的营养和保护作用。BDNF 能促进苔藓纤维出芽, 建立新的突触连接, 其高表达能导致癫痫发作^[18]。颞叶癫痫 (temporal lobe epilepsy, TLE) 是成人和青少年最常见的难治性癫痫, 通常伴有不同程度的记忆障碍, 潜在分子机制尚不清楚。研究指出, 海马注射 BDNF 可增加癫痫发作^[19], 在记忆形成期间, 海马 BDNF 基因转录受 DNA 甲基化机制调控^[20], 并且 BDNF 甲基化在癫痫模型海马中受到异常调节^[21]。这提示 BDNF 过表达可能通过增加皮质活动和癫痫易感性而导致记忆缺陷。近期的研究还指出发作间期棘波活动和 θ 频率振荡是导致癫痫记忆障碍的原因^[22]。Parrish 等^[23]使用 KA 诱导的 TLE 小鼠, 通过亚硫酸氢盐测序的方法, 证实在记忆巩固期 BDNF 基因甲基化水平降低与癫痫海马异常高水平的 BDNF mRNA 强烈相关; 用甲硫氨酸 (Met) 补充甲基, 可增加 BDNF 基因甲基化, 在记忆巩固过程中降低海马 BDNF mRNA 的水平; 同时, 脑电图显示, 发作间期棘波活动减少, θ 节律能力增加。这表明异常 DNA 甲基化介导基因转录与 TLE 相关的记忆缺陷密切相关, 通过 Met 补充甲基可能逆转海马依赖性记忆缺陷。但是 Met 以何种更安全有效的方式补充以及量的确定仍有待进一步研究。

综上所述, 癫痫演变和进展的一个主要假设是基因转录和蛋白质表达的大规模变化导致异常的网络重组和过度兴奋, 导致癫痫发作反复发生。DNA 甲基化引起的基因转录和蛋白质表达的异常改变, 可能在癫痫异常网络形成或重组中起作用, 癫痫相关基因甲基化的研究作为一个新的领域具有广泛前景, 有助于了解癫痫机制, 并根据特定基因位点的甲基化改变定制特定的甲基化调节剂, 以抑制或增强癫痫相关基因的甲基化, 从而更好地治疗癫痫, 使手术作为一个补充应用于极少数药物难治性癫痫。

【参考文献】

- [1] Bhutani N, Burns DM, Blau HM. DNA demethylation dynamics [J]. *Cell*, 2011, 146(6): 866–872.
- [2] Zhu H, Wang G, Qian J. Transcription factors as readers and effectors of DNA methylation [J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17(9): 551–565.
- [3] Ma DK, Jang MH, Guo JU, *et al.* Neuronal activity-induced Gadd45b promotes epigenetic DNA demethylation and adult neurogenesis [J]. *Science*, 2009, 323(5917): 1074–1077.
- [4] Belhedi N, Perroud N, Karege F, *et al.* Increased CPA6 promoter methylation in focal epilepsy and febrile seizures [J]. *Epilepsy Res*, 2014, 108(1): 144–148.
- [5] Henshall DC. Epigenetic changes in status epilepticus [J]. *Epilepsia*, 2018, 59(S2): 82–86.
- [6] Li HJ, Wan RP, Tang LJ, *et al.* Alteration of Scn3a expression is mediated via CpG methylation and MBD2 in mouse hippocampus during postnatal development and seizure condition [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1849(1): 1–9.
- [7] Katarzyna ZB, Renata A, Magdalena AL, *et al.* Epigenetics of epileptogenesis—evoked upregulation of matrix metalloproteinase-9 in hippocampus [J]. *PLoS ONE*, 2016, 11(8): 15–20.
- [8] Chen X, Peng X, Wang L, *et al.* Association of RASgrf1 methylation with epileptic seizures [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(28): 46286–46297.
- [9] Bao Y, Chen XN, Wang L, *et al.* RASgrf1, a potential methylatic mediator of anti-epileptogenesis [J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(10): 2000–2007.
- [10] Dedei Daryan M, Guveli BT, Baslo SA, *et al.* Prevalence and clinical characteristics of headache in juvenile myoclonic epilepsy: experience from a tertiary epilepsy center [J]. *Neurol Sci*, 2018, 39(3): 519–525.
- [11] Santos BPD, Marinho CRM, Marques T, *et al.* Genetic susceptibility in juvenile myoclonic epilepsy: systematic review of genetic association studies [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): 15–20.
- [12] Pathak S, Miller J, Morris EC, *et al.* DNA methylation of the BRD2 promoter is associated with juvenile myoclonic epilepsy in Caucasians [J]. *Epilepsia*, 2018, 59(5): 1011–1019.
- [13] Schulz H, Ruppert AK, Zara F, *et al.* No evidence for a BRD2 promoter hypermethylation in blood leukocytes of Europeans with juvenile myoclonic epilepsy [J]. *Epilepsia*, 2019, 60(5): 1–6.
- [14] Craiu D. What is special about the adolescent (JME) brain [J]. *Epilepsy Behav*, 2013, 28(Suppl 1): S45–51.
- [15] Blaesse P, Airaksinen MS, Rivera C, *et al.* Cation–chloride cotransporters and neuronal function [J]. *Neuron*, 2009, 61(6): 820–838.
- [16] Genc F, Kara M, Unal Y, *et al.* Methylation of cation–chloride cotransporters NKCC1 and KCC2 in patients with juvenile myoclonic epilepsy [J]. *Neurol Sci*, 2019, 40(5): 1007–1013.
- [17] Dai YJ, Wu DC, Feng B, *et al.* Prolonged febrile seizures induce inheritable memory deficits in rats through DNA methylation [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25(5): 601–611.
- [18] Heinrich C, Lahtinen S, Suzuki F, *et al.* Increase in BDNF mediated TrkB signaling promotes epileptogenesis in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy [J]. *Neurobiol Dis*, 2011, 42(1): 35–47.
- [19] Scharfman HE, Goodman JH, Sollas AL, *et al.* Spontaneous limbic seizures after intrahippocampal infusion of brain-derived neurotrophic factor [J]. *Exp Neurol*, 2002, 174(2): 201–214.
- [20] Bekinschtein P, Cammarota M, Izquierdo I, *et al.* BDNF and memory formation and storage [J]. *Neuroscientist*, 2008, 14(2): 147–156.
- [21] Ryley Parrish R, Albertson AJ, Buckingham SC, *et al.* Status epilepticus triggers early and late alterations in brain-derived neurotrophic factor and NMDA glutamate receptor Grin2b DNA methylation levels in the hippocampus [J]. *Neuroscience*, 2013, 248(2): 602–619.
- [22] Matsumoto JY, Stead M, Kucewicz MT, *et al.* Network oscillations modulate interictal epileptiform spike rate during human memory [J]. *Brain*, 2013, 136(Pt 8): 2444–2456.
- [23] Parrish RR, Buckingham SC, Mascia KL, *et al.* Methionine increases BDNF DNA methylation and improves memory in epilepsy [J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2015, 2(4): 401–416.

(2019-05-30 收稿, 2019-09-16 修回)