

引用本文: 马一凡, 陈燕, 樊青俐. 癫痫潜在相关生物学标志物研究进展[J]. 安徽医药, 2023, 27(1): 10-12. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2023.01.003.



◇ 综述 ◇

癫痫潜在相关生物学标志物研究进展

马一凡, 陈燕, 樊青俐

作者单位: 青海大学研究生院, 青海 西宁 810000

通信作者: 樊青俐, 女, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向为癫痫, Email: 1628018509@qq.com

摘要: 癫痫发病机制复杂, 病理改变呈多样化, 随着分子生物学及细胞水平研究技术的进步, 癫痫的病生机制将逐步明朗。微小RNA(miRNAs)、淋巴细胞、凋亡蛋白、炎症因子等在癫痫发生发展过程中变化显著, 表现出对疾病潜在的诊治价值。明确这些潜在生物学标志物与癫痫的确切联系, 有望在临床开展应用, 并助力治疗策略的制定。

关键词: 癫痫; 微小RNA; 淋巴细胞; 凋亡蛋白; 炎症因子

Research advances in the potential relevant biomarkers of epilepsy

MA Yifan, CHEN Yan, FAN Qingli

Author Affiliation: Graduate School of Qinghai University, Xining, Qinghai 810000, China

Abstract: The pathogenesis of epilepsy is complex and the pathological changes are diversified. With the progress in the researches on molecular biology and research technologies at cellular level, the pathogenic mechanism of epilepsy will gradually become clear. MiRNAs (microRNA), leukomonocyte, apoptotic proteins, and inflammatory factors change significantly during the development of epilepsy, and show a potential value for the diagnosis and treatment of the disease. Clarifying the exact link of these potential biomarkers to epilepsy is expected to apply them clinically and contributes to working out therapeutic strategies.

Key words: Epilepsy; miRNAs; Leukomonocyte; Apoptosis proteins; Inflammatory factors

癫痫是一类由多种原因导致的脑部神经元高度同步化异常放电的神经系统综合征。全球约有7 000万活动性癫痫病人, 其中30%的病人药物较难控制^[1], 且近1/3的病人在常规抗癫痫药物治疗下仍不能控制发作^[2]。因此, 探索癫痫的发病机制来预测疾病进展及新的治疗靶点具有实际意义。研究发现, 在癫痫病变最为明显的海马区, 有神经元脱失及胶质细胞增生等现象, 炎症免疫介质在其中发挥重要作用, 与疾病的发生发展互为因果关系^[3-4]。同时, 在各种类型的癫痫病人体内均观察到一些生物学因子及细胞有不同水平地增高, 如微小RNA(miRNAs)、淋巴细胞、凋亡蛋白和炎症因子等, 或可作为癫痫相关的生物学标志物。对癫痫相关潜在标志物的不断研究, 有助于为癫痫诊治及病程评估提供新的辅助。

1 相关标志物

1.1 miRNAs MiRNAs是一组结合编码mRNA 3'UTR的互补序列, 在人类基因组已发现2 500种miRNAs。MiRNAs具有对mRNA转录翻译的调控作用, 参与机体神经系统兴奋时神经元和星形胶质细胞结构与功能改变的病理生理过程^[5]。研究发现神经元中miRNAs或经转化生长因子 β (TGF- β)信号通路调控影响大脑兴奋性, 影响癫痫的发作频率及

程度, 囊泡中的miRNAs在受到癫痫发作刺激后可通过旁分泌途径透过血脑屏障释放至外周血液中^[6-7]。同时, 相比于编码mRNA, miRNAs具有在血液中取样便捷, 易于保存和检测的特性。Venø等^[8]在小鼠癫痫模型的海马中观察到miR-10a-5p、miR-21a-5p和miR-142a-5p等miRNAs表达升高, 其中miR-142a-5p相比另外两种miRNAs的升高幅度更大, 给予癫痫小鼠靶向miR-10a-5p、miR-21a-5p和miR-142a-5p三种miRNAs拮抗剂联合抗癫痫药物治疗后小鼠癫痫发作显著减轻, 反映上述三种miRNAs对癫痫发作的正面促进作用, 也为靶向抗癫痫药物治疗提供了新思路。

Brennan等^[9]发现癫痫大鼠血浆中的miR-93-5p, miR-142-5p, miR-182-5p, miR-199a-3p和miR-574-3p表达均有明显增加。在颞叶癫痫(TLE)病人血浆中miR-93-5p、miR-199a-3p和miR-574-3p表达水平上升, 在使用抗癫痫药物后取样测序实验结果基本同前, 表明上述miRNAs的水平表达稳定较少受到药物影响。研究在癫痫大鼠海马齿状回的组织切片观察到, miR-132、miR-21和miR-212在癫痫发作过程中及发作间期表达均增加, 在癫痫持续状态(SE)24 h后血浆中miR-142-5p升高, 7 d后miR-215p显著升

高, 3~4个月 miR-146a-5p 表达升高^[10], 由于癫痫发作的不同时间阶段, 对应的 miRNAs 水平相应升高, 因此可考虑应用特异 miRNAs 升高种类判断临床癫痫发展的不同阶段。miRNAs 种类繁多, 特定类型与癫痫的特异度联系仍需更多实验证实。

1.2 淋巴细胞 CD4+ 与 CD8+ CD4+ 与 CD8+ 细胞主要在人类和动物各类炎症性疾病中高表达^[11]。Élmvieira 等^[12]在 TLE 病人中观察到, 早期免疫激活标志物 CD69 及 CD4+T 淋巴细胞中 HLA-DR 抗原的表达增加, 说明机体存在持续的免疫反应。因为癫痫的发病机制与炎症关系密切, 所以淋巴细胞或许参与癫痫的疾病进展, 在获得更多实验支持后, 亦可将 CD4+ T 淋巴细胞定量及 CD4+/CD8+ 的比值用于反映癫痫发展的严重程度。Rosa 等^[13]的实验发现, 在耐药性颞叶癫痫病人手术切除的海马组织中, 存在大量 CD4+ 和 CD8+T 淋巴细胞浸润, 且 CD8+T 细胞数量远高于前者。Xu 等^[14]在癫痫病儿切除的病变脑组织中, 同样发现 CD4+ 和 CD8+ T 淋巴细胞的显著浸润, 其机制可能为大脑中神经元和胶质细胞大量表达主要组织相容性复合体(MHC) I 类和 II 类分子, 以为免疫细胞提供抗原, 诱导更多淋巴细胞向病变最明显的组织区域浸润。

1.3 胱天蛋白酶 3(caspase-3) 癫痫发作时神经细胞因受到损伤而启动凋亡程序, 并激活相关信号通路, 表达凋亡蛋白。caspase-3 是一种半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶, 凋亡小体和肿瘤坏死因子的生成可促进 caspase-3 上游蛋白的生成^[15]。caspase-3 在其活性位点利用半胱氨酸作为催化剂, 激活天冬氨酸残基上的靶蛋白发挥作用, 是神经细胞凋亡程序进程中的关键酶原, 靶向抑制 caspase-3 可用于治疗某些神经系统疾病引起的细胞损伤。Liu 等^[16]对难治性癫痫病人切除的海马组织研究发现 caspase-4 及下游效应 caspase-3 水平较高。林若庭等^[17]报道, 相比于脑外伤病人的颞叶组织神经细胞, TLE 病人颞叶组织内 caspase-3 及其上游分子 caspase-4 表现出更高的表达。可见, caspase-3 作为多种凋亡途径的共同终末蛋白, 参与 TLE 病人组织中神经细胞的病理生理反应, 与癫痫发作过程密切相关。

1.4 白细胞介素(interleukin, IL)家族

1.4.1 IL-1 β IL-1 β 在中枢神经系统中参与诱导 n-甲基-d-天冬氨酸(NMDA)受体 NR2B 亚基的酪氨酸磷酸化^[18], NMDA 受体作为一种突触后谷氨酸快速兴奋性受体, 激活后可增加钠离子、钾离子、钙离子的通透性, 使得神经元突触后膜发生同步性去极化, 进而提高神经元的兴奋性, 引发癫痫^[19-20]。癫痫发作过程中星形胶质细胞增生不断释放 IL-1 β , 而 IL-1 β 可进一步诱发发作, 其参与癫痫发作的过程

呈现正反馈效应。胡瑞红等^[21]测得 IL-1 β 于脑电图正常组表达量为 2.6, 在脑电图异常程度高的癫痫病人血清中 1 h 表达量为 3.66, 24 h 后为 3.43, 随着时间延长增高幅度有所回落但仍高于对照组, 因此可考虑将其应用于癫痫进展时间的评估。韩永凯等^[22]在癫痫病人血浆中发现 IL-1 β 等炎症因子表达量随着癫痫轻、中、重严重程度递增分别为 81.49、100.43、109.95, 远高于对照组 47.65。Shi 等^[23]发现癫痫组脑脊液中 IL-1 β 的表达量为 68.42, 相比对照组表达量 8.95 有显著增加; 此外作为反映大脑神经元及胶质细胞炎症损害程度相关的标志物之一——神经元特异性烯醇化酶(NSE)在实验组表达为 12.5 高于对照组 3.94, 可见 IL-1 β 表达量与 NSE 水平呈正相关。

1.4.2 IL-6 IL-6 表达水平可调控神经递质的释放, 通常在中枢神经系统中低水平表达, 当发生神经细胞损伤或炎症时表达增强, 降低神经元兴奋阈值, 可能的机制为 A2B 受体激活及 NF κ B 的转录作用影响^[24]。Alapirtti 等^[25]对 49 例难治性癫痫病人的血清分析后发现 IL-6 表达中位数为明显升高, 强直-阵挛性发作病人体内的 IL-6 表达中位数为 2.8, 高于单纯部分性和复杂部分性发作。Wang 等^[26]在 TLE、颞叶外癫痫和特发性全身性癫痫的病人中运用统计学方法计算得出 IL-6 与三种癫痫发作严重程度均呈正相关。此外, IL-6 活性与癫痫发作类型和频率有明显联系^[27], 因此 IL-6 有助于反映癫痫严重程度及预后。

1.5 TNF- α TNF- α 由活化的单核巨噬细胞产生, 可促进兴奋性神经递质谷氨酸及炎症因子的释放, 并联合单核巨噬细胞释放的自由基破坏血脑屏障, 损伤大脑诱发癫痫^[28]。另外, TNF- α 可激活大脑肿瘤坏死因子受体 P55(p55)受体和肿瘤坏死因子受体 P75(p75)受体, 其中 p55 信号通路会引起神经元过度兴奋^[29]。Kim 等^[30]对癫痫动物实验研究发现外源性 p55 受体可中和 TNF- α 的致痫作用, 病理切片显示神经细胞的损伤坏死减少, 大鼠癫痫发作减轻。Kamaşak 等^[31]将 57 名癫痫病人分为重度癫痫组, 轻度癫痫组, 并设置 27 名健康对照组儿童, 血清学结果表明重度癫痫组 TNF- α 表达值为 15.07, 轻度癫痫组 TNF- α 为 10.39, 对照组则为 8.96。上述结果表明标记 TNF- α 的表达密度对疾病病程评估有重要意义。

2 总结

生物学标志物作为一种客观可测变量, 有利于对疾病发病早期及其进展做出更精准的判断, 且对临床个体化诊疗有指导意义。同时也为新一代抗癫痫药物靶点的研发提供新的思路。目前有关于癫痫有关的潜在生物学标志物研究证据还不够充分, 需更多临床及基础实验证据支持。此外, 由于

癫痫的发作类型多样,病程进展难以预料,所以其诊治应结合临床表现、神经电生理及神经影像学等多种维度以避免误诊漏诊。

参考文献

- [1] LÖSCHER W, POTSCHKA H, SISODIYA SM, et al. Drug resistance in epilepsy: clinical impact, potential mechanisms, and new innovative treatment options[J]. *Pharmacological Reviews*, 2020, 72(3):606-638.
- [2] 徐泽月, 郭宏丽, 胡雅慧, 等. 耐药癫痫的遗传机制研究现状[J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(17):2377-2380.
- [3] FRIEDMAN A, DINGLEDINE R. Molecular cascades that mediate the influence of inflammation on epilepsy [J]. *Epilepsia*, 2011, 52 Suppl 3:33-39.
- [4] 张伊佳, 秦炯. 免疫炎症因素在癫痫中的作用机制[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(8):1024-1026.
- [5] BRENNAN GP, HENSHALL DC. MicroRNAs as regulators of brain function and targets for treatment of epilepsy[J]. *Nature Reviews Neurology*, 2020, 16(9):506-519.
- [6] ZHANG ZG, BULLER B, CHOPP M. Exosomes — beyond stem cells for restorative therapy in stroke and neurological injury [J]. *Nature Reviews Neurology*, 2019, 15(4):193-203.
- [7] BATOOL A, HILL TDM, NGUYEN NT, et al. Altered biogenesis and microRNA content of hippocampal exosomes following experimental status epilepticus [J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2020, 13:01404.
- [8] VENØ MT, RESCHKE CR, MORRIS G, et al. A systems approach delivers a functional microRNA catalog and expanded targets for seizure suppression in temporal lobe epilepsy [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2020, 117(27):15977-15988.
- [9] BRENNAN GP, BAUER S, ENGEL T, et al. Genome-wide microRNA profiling of plasma from three different animal models identifies biomarkers of temporal lobe epilepsy [J]. *Neurobiology of Disease*, 2020, 144:105048.D0I:10.1016/j.nbd.2020.105048.
- [10] CAVA C, MANNA I, GAMBARDELLA A, et al. Potential role of miRNAs as theranostic biomarkers of epilepsy [J]. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 2018, 13:275-290.
- [11] GOSWAMI R, AWASTHI A. Editorial: T cell differentiation and function in tissue inflammation [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:289.
- [12] ÉLMVIEIRA, DE OLIVEIRA GNM, LESSA JMK, et al. Peripheral leukocyte profile in people with temporal lobe epilepsy reflects the associated proinflammatory state [J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2016, 53:123-130.
- [13] ROSA DV, REZENDE VB, COSTA BS, et al. Circulating CD4 and CD8 T cells expressing pro-inflammatory cytokines in a cohort of mesial temporal lobe epilepsy patients with hippocampal sclerosis[J]. *Epilepsy Research*, 2016, 120:1-6.
- [14] XU D, ROBINSON AP, ISHII T, et al. Peripherally derived T regulatory and $\gamma\delta$ T cells have opposing roles in the pathogenesis of intractable pediatric epilepsy[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2018, 215(4):1169-1186.
- [15] ASADI M, TAGHIZADEH S, KAVIANI E, et al. Caspase-3: Structure, function, and biotechnological aspects[J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2022, 69(4):1633-1645.
- [16] LIU G, GUO H, GUO C, et al. Involvement of IRE1 α signaling in the hippocampus in patients with mesial temporal lobe epilepsy [J]. *Brain Research Bulletin*, 2011, 84(1):94-102.
- [17] 林若庭, 蔡若蔚, 张鹏飞, 等. 人难治性颞叶癫痫神经细胞凋亡与 Caspase 3,4 的表达[J]. *中华医学杂志*, 2016, 96(7):522-525.
- [18] WANG N, HAN X, LIU H, et al. Myeloid differentiation factor 88 is up-regulated in epileptic brain and contributes to experimental seizures in rats[J]. *Experimental Neurology*, 2017, 295:23-35.
- [19] LYNCH DR, RATTELLE A, DONG YN, et al. Anti-NMDA receptor encephalitis: clinical features and basic mechanisms [J]. *Adv Pharmacol*, 2018, 82:235-260.
- [20] 孙丽丛, 张丹参, 景永帅. NMDA受体对中枢神经系统的影响[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2021, 35(9):641.
- [21] 胡瑞红, 江荣雷, 买吾拉江·阿木提, 等. 癫痫患者发作不同时间血清 IL-1 β 和 TNF- α 水平与脑电图异常的相关性研究[J]. *现代医学*, 2018, 46(7):796-799.
- [22] 韩永凯, 李斯娜, 张萍, 等. 环状 RNA CDR1as 与 miR-7 在癫痫患者血浆中的表达及与脑电图异常的关系分析[J]. *天津医药*, 2020, 48(9):871-875.
- [23] SHI L, CHEN R, ZHANG H, et al. Cerebrospinal fluid neuron specific enolase, interleukin-1 β and erythropoietin concentrations in children after seizures [J]. *Child's Nervous System*, 2017, 33(5):805-811.
- [24] DEDE F, KARADENIZLI S, OZSOY OD, et al. Antagonism of adenosinergic system decrease SWD occurrence via an increment in thalamic NF κ B and IL-6 in absence epilepsy[J]. *J Neuroimmunol*, 2019, 326:1-8.
- [25] ALAPIRTTI T, LEHTIMÄKI K, NIEMINEN R, et al. The production of IL-6 in acute epileptic seizure: a video-EEG study[J]. *J Neuroimmunol*, 2018, 316:50-55.
- [26] WANG Y, WANG DS, GUO D. Interictal cytokine levels were correlated to seizure severity of epileptic patients: a retrospective study on 1218 epileptic patients[J]. *J Transl Med*, 2015, 13:378.
- [27] SUERI C, GASPARINI S, BALESTRINI S, et al. Diagnostic biomarkers of epilepsy [J]. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2018, 19(6):440-450.
- [28] VAN VLIET EA, ARONICA E, VEZZANI A, et al. Review: Neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarker candidates in epilepsy: emerging evidence from preclinical and clinical studies [J]. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 2018, 44(1):91-111.
- [29] ARULSAM Y, SHAIKH MF. Tumor necrosis factor- α , the pathological key to post-traumatic epilepsy: a comprehensive systematic review [J]. *ACS Chemical Neuroscience*, 2020, 11(13):1900-1908.
- [30] KIM JE, RYU HJ, CHOI SY, et al. Tumor necrosis factor- α -mediated threonine 435 phosphorylation of p65 nuclear factor- κ B subunit in endothelial cells induces vasogenic edema and neutrophil infiltration in the rat piriform cortex following status epilepticus[J]. *J Neuroinflammation*, 2012, 9:6.
- [31] KAMAŞAK T, DILBER B, YAMAN SÖ, et al. HMGB-1, TLR4, IL-1R1, TNF- α , and IL-1 β : novel epilepsy markers?[J]. *Epileptic Disord*, 2020, 22(2):183-193.

(收稿日期:2021-10-15,修回日期:2021-11-19)