

癫痫分子病理机制的研究进展:来自中国的报道

刘晓娅 王学峰

【摘要】 癫痫是一种临床常见的中枢神经系统疾病。近年来,随着科学技术的发展,癫痫发病机制的研究已逐步转向分子水平,本文对过去 5 年 PubMed 所收录的中国癫痫研究者有关癫痫分子病理机制研究的学术论文的主要内容进行复习,并结合部分非中国学者的研究内容进行分析讨论,旨在让读者了解中国研究者在癫痫研究中的作用。

【关键词】 癫痫; 分子生物学; 病理学; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1672-6731.2012.05.002

Research progress in molecular pathologic mechanism of epileptogenesis: from Chinese reports

LIU Xiao-ya, WANG Xue-feng

Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Corresponding author: WANG Xue-feng (Email: xfyp@163.com)

【Abstract】 Epilepsy is a common neurological disease. In recent years, the mechanism of epilepsy research has gradually developed to the molecular level with the development of technology. Actually, Chinese experts have made considerable contributions in the study of epilepsy. To facilitate more Chinese researchers to understand domestic achievements in epilepsy, we summarize academic papers on molecular pathologic mechanism of epilepsy written by Chinese specialists which have been recorded by PubMed in the past 5 years.

【Key words】 Epilepsy; Molecular biology; Pathology; Review

癫痫是一种临床常见的中枢神经系统疾病,其特点是脑神经元反复高度同步化异常放电引起的短暂性脑功能失调,并出现相应的神经生物学、心理学,以及社会学方面的后果。流行病学调查显示,癫痫在一般人群中的发病率为(50~70)/10万,患病率为4%~10%^[1],其中80%的患者经合理治疗后发作可得到控制,约20%患者转归较差。用目前国际上通行的有效抗癫痫药物不能阻止其继续发作的癫痫或癫痫综合征称为难治性癫痫。尽管临床工作者及研究人员对各种癫痫动物模型和患者脑组织进行了包括组织病理学、细胞分子学、神经电生理学等多个方面的广泛研究,但是,到目前为止,对癫痫的发病机制了解的仍不十分清楚,对耐药性癫痫的发生发展机制亦处于探索中。随着中国医学科学技术的不断进步,越来越多的中国学者开始加入到癫痫发病机制研究的领域中,了解近年

来中国学者在癫痫发病机制领域中所取得的进步,将加深对癫痫防治的理解。

一、癫痫差异表达 cDNA 文库的建立

癫痫发病机制尚不清楚,没有任何单一因素能够反映癫痫复杂的发病机制。基因芯片、蛋白质芯片、甲基化基因芯片、微小核糖核酸(miRNA)芯片等高通量基因和蛋白质检测技术为了解癫痫的复杂发病机制提供了最为重要的研究手段。Xi等^[2]利用这种高通量检测技术对癫痫患者脑组织中差异表达的基因进行研究,并于杏仁核点燃动物模型中进行验证,发现在耐药性癫痫患者的脑组织中共有364条差异表达的基因,通过生物信息学理论分析,其中有142条差异表达基因可能具有生物学意义,包括表达增强的104条基因和表达降低的38条基因(表1),作用范围包括细胞能量代谢、神经电生理学、免疫应答反应等多个环节。该研究者还利用免疫组织化学染色、免疫荧光染色、蛋白印迹等研究方法对其中与癫痫发作机制有关的蛋白质进一步验证,其结果显示,癫痫患者脑组织或脑脊液中

作者单位:400016 重庆医科大学附属第一医院神经内科

通讯作者:王学峰(Email:xfyp@163.com)

表 1 耐药性癫痫患者脑组织中的差异表达 cDNA^[2]

Table 1. Altered expression of cDNA in brain tissue of patients with drug-tolerant epilepsy^[2]

cDNA 功能	基因库命名	变化倍数(病例组/对照组)	cDNA 功能	基因库命名	变化倍数(病例组/对照组)
离子通道	CR749820	2.124	免疫反应	AK130697	0.483
	BC043423	2.583		BC01750	2.223
	AK027855	2.227		AL832245	2.616
癌基因	NM_003902	2.189	发育	AL833316	3.338
	NM_005973	2.548		BC036648	0.144
	BC043565	2.563		NM_004476	0.185
细胞骨架蛋白	NM_002291	4.650	AF041210	0.257	
	NM_001839	2.195	NM_003887	0.445	
	NM_183387	3.427	NM_016261	0.453	
	NM_002373	6.380	NM_005772	2.147	
	NM_031846	2.466	U68382	2.255	
	NM_005909	0.194	AK026669	2.369	
	NM_021143	2.052	AF111852	5.835	
	NM_006031	2.009	信号转导	NM_006998	2.957
	NM_003419	0.446		NM_016819	2.957
	BC017503	0.289		AJ238243	2.904
NM_198893	0.415	AK095221		2.879	
细胞凋亡	NM_003844	0.393		BX648462	2.872
	AK096705	4.845		AF035582	2.771
	AF082283	0.477		NM_177559	2.589
	AB029551	2.228		BC008767	2.488
	AF335324	2.604		NM_015270	2.311
	AK096705	4.845		BC035874	2.205
	AF335324	2.604	NM_003718	2.159	
	NM_006784	3.201	NM_006556	2.060	
	BU570769	7.170	NM_012096	0.487	
	细胞受体	NM_001423	2.365	BC023567	0.471
AK124685		2.007	BC050008	0.464	
代谢	AF059681	5.531	BC006286	0.452	
	BC047756	2.297	BX648811	0.446	
	AK125926	2.269	BC005115	2.536	
	BX648475	2.116	BC012760	3.105	
	BC044792	2.005	BC005115	2.312	
	BX648281	0.461	AK126930	0.126	

共计 36 种蛋白质存在差异表达,表达增强的蛋白质包括与凋亡相关的蛋白质(2 种)、神经递质相关蛋白质(2 种)、微管相关蛋白(15 种)、突触囊泡类蛋白质(7 种)、胶质增生相关蛋白质(3 种)、免疫反应相关蛋白质(3 种)、离子通道蛋白(2 种)和信号通道蛋白(2 种),另外还有 2 种表达降低的蛋白质,均与神经轴突功能有关(表 2)^[3-42]。同期,国外文献也有类似发现(表 3,4)^[43]。

二、癫痫分子病理机制

1. 癫痫与 tau 蛋白 Tau 蛋白是一类存在于中枢神经系统神经元轴突和胶质细胞中的蛋白质,其有助于维持细胞特有的形态,促使轴突伸长、细胞极性形成和微管稳定,参与神经元形态的建立与维持,以及神经纤维芽生等。按照病理表现的不同,神经变性疾病可分为 tau 蛋白阳性和阴性两大类。Xi 等^[27]经过对耐药性癫痫患者脑组织基因和蛋白

表 2 耐药性癫痫患者脑组织、脑脊液、血清中表达异常的蛋白质种类^[3-42]

Table 2. Abnormal expressions of proteins in brain tissue of patients with drug-tolerant epilepsy^[3-42]

变化趋势	功能分类	命名
表达上调	细胞凋亡	腺苷酸激酶 2
		热休克蛋白 27 相关蛋白 1
	细胞骨架相关蛋白	tau 蛋白
		轴突诱导因子 g2
		胰岛素受体
		ras 基因家族 A 蛋白
		甲基化转移酶 1 及 3a
		Wiskott-Aldrich 综合征蛋白
		组蛋白去乙酰化酶 2
		音猬因子
		Mical 蛋白-1
		唐氏综合征细胞黏附分子
	整合素系统	整合素 α 2
		层黏连蛋白- β 1
		层黏连蛋白
		神经细胞黏附分子-1
	神经递质	血清和糖皮质激素诱导蛋白激酶-1
		甲状腺激素受体相关蛋白-220
	胶质增生	神经巢蛋白
		上皮细胞膜蛋白 1
生长转化因子 β 受体		
突触囊泡类蛋白	突触结合蛋白 I	
	网格蛋白	
	突触后致密物-93	
	肌萎缩连接蛋白-1	
	踝蛋白 2	
	桥尾蛋白	
	N-甲基-D-天冬氨酸受体 2B 亚基	
免疫反应类	单核细胞化学诱导蛋白-1	
	T 细胞死亡相关因子-51	
	胎盘生长因子	
离子通道类	水通道蛋白 1	
	膜联蛋白 A7	
信号分子类	细胞外信号激酶	
	孤立 G 蛋白耦联受体-血管紧张素样受体内源性配体	
表达下调	细胞骨架类蛋白	脑衰蛋白反应调节蛋白-1
		凝溶胶蛋白

质表达的研究发现,tau 蛋白表达明显增强,尤其是其中具有活性磷酸化 tau 蛋白表达水平显著升高,而同步进行的组织病理学检查则发现难治性癫痫患者脑组织中存在与 tau 蛋白相关的神经纤维损

伤。通过双相凝胶电泳及液相色谱-电喷雾串联质谱的进一步观察,发现在颞叶癫痫患者的脑脊液中,与 tau 蛋白形成密切相关的载脂蛋白 E(ApoE)表达异常^[28]。与此同时,调控 tau 蛋白表达的信号系统基因和蛋白质表达亦均明显增强,如参与 tau 蛋白磷酸化过程的糖原合成酶激酶 3 β (GSK-3 β)、细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5)、有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPK)、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)、LAMB1 基因、CSNK2A1 基因、TUBD1 基因在难治性癫痫患者及点燃动物模型脑组织中均呈高表达。在癫痫患者的脑组织中,tau 蛋白通过其特异性磷酸化位点即丝氨酸 202 位点及 404 位点异常磷酸化,并从神经元胞体运输至苔藓纤维,诱导苔藓纤维芽生,构建新的突触联系,放大并增强神经元兴奋信号,提高癫痫发作的敏感性。同时,异常磷酸化的 tau 蛋白还可以改变胶质细胞形态(病理性突起延伸及胞体增生),改变其与邻近神经元的电荷差,诱导神经元放电。因此,Xi 等^[27]提出癫痫是由于 tau 蛋白异常磷酸化、连接、表达增多或增强,以及 tau 蛋白基因突变等病理反应所导致的一组器质障碍性疾病即 tau 蛋白病,为癫痫发病机制的研究开辟了一条新的途径。

2. 癫痫的异常网络机制 癫痫的异常神经网络机制越来越受到广泛关注。目前发现,电刺激带有不同颜色荧光的转基因鼠杏仁核,其神经突触末端可以与下级和邻近神经元形成新的突触联系,并随着癫痫的反复发作,这些初期可逆性异常突触连接逐渐固定,而病理学研究发现其主要成分是苔藓纤维“芽生”并突入齿状回的分子层中与多种细胞构建联系,组成循环通路,在这些新的连接网络内记录到异常电流,通过抑制苔藓纤维芽生的形成可以提高癫痫发作阈值,因此异常神经网络的建立业已成为解释癫痫成因的一种科学假说^[44]。(1)神经元坏死与凋亡:神经元坏死是癫痫异常网络形成的基础,而凋亡是神经元的一种死亡方式,为生物体内普遍存在的基本现象。腺苷酸激酶 2(AK2)是在神经元凋亡的过程中从线粒体内膜释放出的一种重要激酶。Peng 等^[4]对匹罗卡品点燃大鼠模型的观察发现,腺苷酸激酶 2 的信使 RNA(mRNA)表达水平于癫痫发作 6 h 后开始升高,72 h 达高峰,其表达量为正常大鼠的 3 倍,免疫组织化学染色还发现腺苷酸激酶 2 阳性细胞在点燃大鼠海马组织的各个区域中均可见,通过原位末端标记法可发现腺苷酸激

表 3 癫痫持续状态及颅脑创伤动物模型脑组织基因改变^[43]

Table 3. Genetic change in brain tissue of status epilepticus and craniocerebral injury animal model^[43]

观察项目	癫痫持续状态(化学点燃模型)				癫痫持续状态(电点燃模型)			颅脑创伤	
	大鼠	大鼠	大鼠	幼年大鼠	大鼠	大鼠	大鼠	小鼠	ApoE4 过表达小鼠
点燃方法	匹罗卡品	匹罗卡品	匹罗卡品	海人酸	海马刺激	海马刺激	杏仁核刺激	可控制的皮质冲击	可控制的皮质冲击
视频脑电图引导	是	否	否	否	是	是	是	否	否
芯片公司	Code Link	Affymetrix	Affymetrix	illumina	Affymetrix	SAGE	Research Genetics	Incyte Genomics	Affymetrix
癫痫持续状态时间(d)	7	14	14	7	7	8	14	14	28
脑组织结构区域	海马	齿状回或 CA1 区	齿状回	CA1 区	CA3 区或内嗅皮质	海马	海马或颞叶	大脑皮质	海马或皮质
基因变化数目(条)	328	齿状回:50; CA1 区:400	129	1592	CA3 区:1400; 内嗅皮质:2240	79	海马:13; 颞叶:24	10	海马:281; 皮质:152
免疫应答反应	有	无	有	无	有	无	无	有	有
炎症反应	有	无	无	有	有	无	无	无	有
细胞死亡	有	有	无	有	有	有	有	无	无
信号转导	有	有	有	有	有	有	有	有	有
脂质代谢相关	有	有	有	有	无	有	有	有	有
蛋白质转运	无	无	有	有	有	有	有	有	无
转录相关	无	无	无	有	有	有	无	有	无
翻译	无	无	无	有	有	有	无	无	有
细胞生长、增殖、分化	有	无	有	无	有	有	无	无	有
细胞运动	有	无	无	无	无	无	无	无	有
能量代谢	无	无	无	无	无	无	有	无	无
突触传导与重塑	无	有	有	有	有	无	无	无	有
细胞结构重塑	无	有	有	无	无	有	无	无	无
神经递质合成与释放	无	有	无	无	有	无	无	无	有
离子转运	无	无	无	无	有	无	无	无	有
蛋白磷酸化	无	无	无	无	有	无	无	无	无
细胞骨架调整	无	无	有	有	无	无	无	无	有

酶 2 表达变化与神经元凋亡的发展呈一致性,提示腺苷酸激酶 2 参与了癫痫的发生与发展。热休克蛋白 27 相关蛋白 1(HSPBP1)可通过抑制大脑保护性热休克蛋白 27(Hsp27)引起神经元凋亡,Xi 等^[24]在耐药性癫痫患者的颞叶皮质中发现其 mRNA 及蛋白质表达水平上调,虽然未进行相应的功能研究,但这种现象仍然提示其可能参与了癫痫的发生与发展,支持神经元凋亡可能是癫痫患者神经元异常网络形成的重要条件。T 细胞死亡相关因子-51(TDAG-51)是一类凋亡相关蛋白,Xi 等^[25]通过观察 33 例难治性癫痫患者和 9 例正常对照者发现,癫痫患者 T 细胞死亡相关因子-51 表达水平升高且主要集中在神经元及神经胶质细胞。Wu 等^[22]利用基因芯片、蛋白印迹法及免疫组织化学染色等方法研究难治性癫痫患者脑组织病理改变,其结果表明,单核细胞化学诱导蛋白-1(MCP-1)mRNA 及蛋白质表

达水平上调,胎盘生长因子(PGF)可促进血管生长并调节血-脑脊液屏障。此外 Xu 等^[31]还发现,难治性癫痫患者脑组织中的胎盘生长因子表达水平明显高于正常对照组。同时,动物模型点燃 6 h 后,胎盘生长因子表达水平逐渐升高并维持高水平至点燃后 60 d。(2)细胞骨架蛋白的异常表达:研究表明,细胞骨架运动类 mRNA 编码的蛋白质可以维持中枢神经系统神经元正常微管蛋白结构及活性,从而保证正常突触及神经电通路的构建,当此类蛋白质表达异常时,可影响轴突生长及导向,促使树突重建,从而影响轴突分支,形成新生突触,建立病理性神经电生理环路,成为神经元异常网络形成的重要条件^[45]。轴突诱导因子 g2 是一类常表达于中枢神经系统的轴突膜引导分子,参与突触形成及功能维持。Pan 等^[13]观察 35 例耐药性癫痫患者及 15 例正常对照受试者,发现轴突诱导因子 g2 在癫痫患者脑

表 4 表达异常的基因功能分类^[43]

Table 4. Classification of the function of genes with altered expression^[43]

功 能	数 目	基 因 库 命 名
细胞信号	12	C1QA、GABRD、NPY、GRIA2、SLC6A1、SYT4、NPTX2、ApoE、GRIN2C、CAMK2G、GABRA5、GABARAP
离子转运	12	KCNC2、GABRD、NPY、GRIA2、SCN3B、GRIN2C、CAMK2G、SCN2A、GABRA5、CAMK2B、CACNG2、KCNK1
突触传导	10	GABRD、NPY、GRIA2、SLC6A1、SYT4、NPTX2、ApoE、GRIN2C、GABRA5、GABARAP
细胞增殖调节	9	PTPN6、PPP1R9B、PTGS2、ApoE、GRN、CLU、CD81、IL6R、SPARC
损伤反应	8	C1QA、PTPN6、C1QB、GRIN2C、CLU、IL6R、CTSB、C1QC
免疫反应	8	C1QA、C1QB、CLU、IL6R、CTSS、C1QC、CD74、B2M
行为	7	PTGS2、NPY、SLC6A1、S100B、GABRA5、IL6R、CALB1
细胞凋亡调节	7	PTGS2、ApoE、CLU、DNAJC5、IL6R、CTSB、CD74
白细胞介导的免疫反应	6	C1QA、C1QB、CLU、IL6R、C1QC、CD74
突触传导调节	6	PTGS2、GRIA2、SLC6A1、ApoE、GRIN2C、CALB1
适应性免疫反应	5	C1QA、C1QB、CLU、C1QC、CD74
学习或记忆	5	PTGS2、SLC6A1、S100B、GABRA5、CALB1
炎症反应	5	C1QA、C1QB、CLU、IL6R、C1QC
细胞增殖	5	RPS27、NPY、S100B、CD81、CD74
磷酸化调节	5	PPP1R9B、ApoE、CD81、IL6R、CD74
补体激活	4	C1QA、C1QB、CLU、C1QC
细胞重塑调节	4	PTGS2、ApoE、GRIN2C、CALB1
甾体类激素刺激反应	4	C1QB、PTGS2、SLC6A1、IL6R
脂质转运	3	NPC2、ApoE、CLU
氧化应激反应	3	PTGS2、ApoE、CLU

注：表内基因为至少被表 3 中 2 种试验方法所同时证明的基因

组织中的表达明显增强,在随后进行的动物实验中他们还发现匹罗卡品点燃 6 h 后大鼠脑组织中的轴突诱导因子 g2 表达水平逐渐升高,于第 2 天达高峰、60 d 后恢复至正常值水平。胰岛素受体(IR)是一类酪氨酸激酶受体,在能量平衡、神经生长、突触可塑性及认知功能中发挥重要作用。据 Wang 等^[17]报告,在难治性癫痫患者的脑组织中胰岛素受体表达水平升高,并与神经元特异性烯醇化酶(NSE)表达变化相关。Yuan 等^[33]于难治性癫痫患者的脑组织中检测到 ras 基因家族 A 蛋白(RhoA)呈过表达,而表达异常升高的 RhoA 与其效应分子 Rho 激酶相结合,活化 RhoA,促使收缩性蛋白质对神经元内钙离子敏感性增加,细胞增生和细胞骨架重排,从而改变神经轴突投射和延伸。此外,甲基化转移酶-1 和 3a,以及 Wiskott-Aldrich 综合征蛋白在难治性癫痫患者脑组织及动物点燃模型中亦呈高表达^[21,29,39]。同时,脑衰蛋白反应调节蛋白-1(CRMP-1)作为臂板蛋白-3A 信号分子,可以引导中枢神经系统轴突生长。Luo 等^[12]发现,脑衰蛋白反应调节蛋白-1 主要

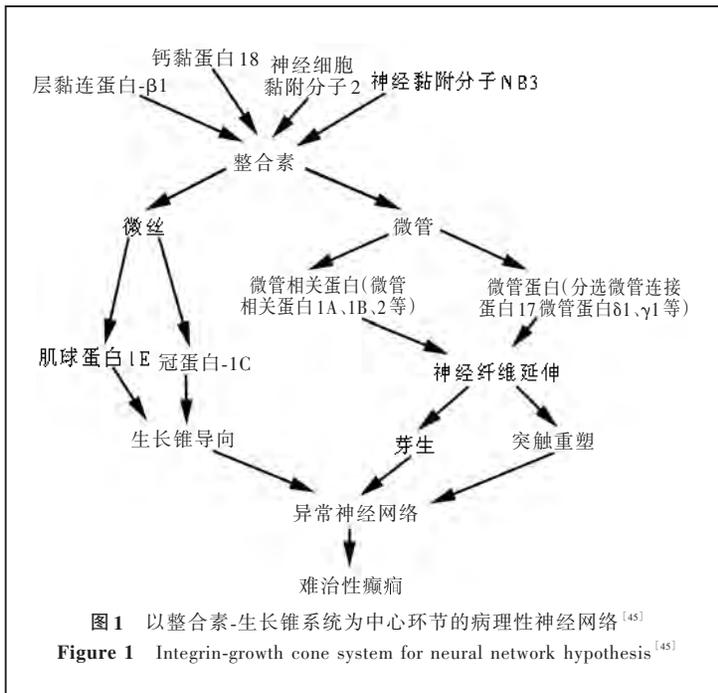
集中于难治性癫痫患者神经元胞质内且表达水平下调;点燃动物模型 2 个月内,脑衰蛋白反应调节蛋白-1 始终处于下调状态,而且可调节微管活动的凝溶胶蛋白也被检测到表达水平下调^[14]。(3)整合素系统:整合素是层黏连蛋白-整合素跨膜系统的关键环节,其胞外结构区域与相应的信号配体结合并密集于生长锥丝足尖,通过胞内区域激活细胞骨架结构,促使神经元细胞黏附、增殖、分化等。Wu 等^[21]的一项临床研究中共计纳入 30 例难治性癫痫患者、46 例非难治性癫痫患者及 20 例正常对照者,癫痫患者血清中的层黏连蛋白表达水平明显升高,而其中难治性癫痫组患者显著高于非难治性癫痫组。在此基础上,他们通过荧光定量聚合酶链反应、免疫组织化学染色、免疫荧光染色等方法对 40 例难治性癫痫患者进行深入观察,结果这些患者的脑组织(颞叶 32 例、海马 8 例)中均检测到层黏连蛋白-β1 和整合素 α2 的 mRNA,其蛋白质表达水平均显著升高^[23]。神经细胞黏附分子-1(NCAM-1)、钙调蛋白-3(CaM3)也可通过与整合素结合参与异常神经元网

络的建立。Wang 等^[20]对 76 例难治性癫痫患者和正常对照者进行脑脊液检测,结果显示难治性癫痫患者脑脊液中的神经细胞黏附分子-1 表达水平明显低于正常对照者,但二者血清神经细胞黏附分子-1 表达水平无明显差异。Han 等^[40]在难治性癫痫患者的脑脊液、脑组织及匹罗卡品点燃模型中均观察到 *CaM3* 基因及蛋白质表达水平升高,甚至在点燃动物模型的脑组织中可维持 2 个月高表达。(4) 神经异常网络信号通路基因和蛋白质改变:血清和糖皮质激素诱导蛋白激酶-1(SGK-1)可以调节谷氨酸受体和谷氨酸转运,参与病理性神经元兴奋的形成。Wang 等^[19]对 30 例难治性癫痫的研究发现,此类患者的脑组织中 *SGK-1* 基因表达增强 2 倍以上,而且通过免疫荧光染色、反转录聚合酶链反应、蛋白印迹法可以检测到 *SGK-1* 在点燃大鼠癫痫模型发作的各个时期表达水平均升高,随着 *SGK-1* 表达的被抑制,其兴奋性谷氨酸转运蛋白表达水平也趋于下降,提示 *SGK-1* 可能参与癫痫的发生与发展,并与神经元兴奋活动相关。甲状腺激素受体相关蛋白-220 (TRAP-220)是一类可以提高如甲状腺激素及雌激素的甲状腺/类固醇激素受体功能的核受体,Li 等^[7]研究发现,甲状腺激素受体相关蛋白-220 mRNA 及其蛋白质的表达水平在难治性癫痫患者的脑组织中呈下调趋势。水通道蛋白 1(AQP1)位于脉络丛水通道,参与中枢神经系统脑脊液的形成,并维持神经元内外水平衡。Zhou 等^[37]发现,水通道蛋白 1 在难治性癫痫患者的脑组织星形胶质细胞中呈高表达,但在神经元胞体及少突胶质细胞中无明显改变。而双抗体标记的免疫荧光染色及共聚焦显微镜观察显示,星形胶质细胞胞膜表面存在水通道蛋白 1 免疫反应,并与胶质纤维酸性蛋白(GFAP)同时大量表达于胶质形成血管周围;而作为细胞内外钙调节通道的膜联蛋白 A7 表达水平也增加^[38]。细胞外信号激酶(EPK)是一类在诸如缺血、癫痫发作等中枢神经系统病理条件下可被异常激活的蛋白质,主要包括细胞外信号激酶-1 及细胞外信号激酶-2 两类亚型。Xi 等^[26]研究显示,细胞外信号激酶-1、2 及磷酸化细胞外信号激酶的表达水平在难治性癫痫患者神经元及神经胶质细胞中上调。而 Zhang 等^[35]的研究发现,点燃动物模型脑组织中孤立 G 蛋白耦联受体-血管紧张素样受体内源性配体表达水平升高,而在难治性癫痫患者中亦获得同样检测结果,且该蛋白主要表达于神经元胞内,提示其通过不同

路径参与了癫痫的发生与发展。(5) 突触功能异常与癫痫:单个神经元异常放电并不会引起癫痫发作,癫痫发作是成千上万个神经元高度同步化异常放电的结果,而将疾病信息传递到神经元则是大规模神经元异常放电的前提,神经元间的信号传递主要是通过突触进行的。① 沉默突触激活。根据有无 N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)的存在,突触可以分为活性突触及沉默突触两类。Liu 等^[9]采用 cDNA 芯片及反转录聚合酶链反应技术进行突触功能研究,结果显示,对照组受试者脑组织中的 NMDAR mRNA 相对表达率为 0.198,而难治性癫痫患者为 0.903,明显升高。② 突触传递功能异常。神经递质以囊泡为载体在突触间传递神经信号,而突触小泡位于突触前膜中,由其直接内凹并形成富含线粒体、微管蛋白等细胞器的囊状结构。在正常情况下,神经兴奋活动传导至突触前膜时,由于前膜各电压门控通道结构变形并打开,形成胞内外离子流,促使突触小泡与突触前膜融合,释放出小泡内各种神经递质,参与神经元的兴奋,而后神经递质可再次由突触回收进入下一个循环。突触结合蛋白 I 是一类参与胞吐及胞吞作用的突触蛋白,Xiao 等^[30]采用免疫组织化学染色、免疫荧光染色及蛋白印迹法对 30 例癫痫患者进行研究,发现其脑组织中的突触结合蛋白 I 表达水平显著升高。Liu 等^[9]还观察到,突触后致密物-93(PSD-93)mRNA 在癫痫患者的脑组织中上调 2 倍。而肌萎缩连接蛋白-1 参与突触囊泡胞吞、胞吐及神经递质的释放过程,亦可调节突触前谷氨酸的转运。Zhang 等^[36]发现,难治性癫痫患者及点燃动物模型脑组织中的肌萎缩连接蛋白-1 表达水平升高。桥尾蛋白作为突触后膜支架蛋白,可以聚集 γ -氨基丁酸(GABA),行使抑制性突触功能,Fang 等^[5]认为桥尾蛋白在点燃模型的急性发作期呈下降趋势,随后升高。

三、癫痫神经元异常网络假说

Fang 等^[45]提出,癫痫是异常神经元网络建立的假说。他们认为,在基因突变、细胞微环境改变,以及反复神经元过度兴奋等病理情况下,神经元可以变性死亡,引起胶质增生、神经纤维芽生、突触重塑和神经元网络改变。在各类错误信号的引导下,残留神经元逐步向正常区域延伸,与下级神经元形成异常连接,并因此而建立病理性神经网络,改变神经元放电通路。难治性癫痫的形成可能与癫痫放电避开了内源性抗癫痫系统的抑制作用及常用抗



癫痫药物作用靶点有关。整合素-生长锥系统是神经环路重建的关键环节之一(图 1)^[45]。

神经纤维的生长主要通过生长锥引导,生长锥呈扇形膨大结构称为板状伪足,其由各类微管蛋白构成。在癫痫患者脑组织及点燃动物模型中,层黏连蛋白-β1、轴突诱导因子等表达水平升高并与同样表达水平升高的整合素相结合,一方面引起微管蛋白改变,形成神经纤维新的生长方向,神经纤维芽生及突触重塑;另一方面,异常整合素-生长锥系统可通过胞外区域作用于生长锥内微丝纤维中的冠蛋白-1C(CORO1C)和肌球蛋白 1E(MYO1E),并使其不断延伸及回缩,将这种信号传递给后方神经元,以此调整胞体方向及改变生长锥方向,二者共同促使异常神经网络的建立。而癫痫发作多累及神经元胞体和近段轴突能量代谢,以及细胞毒性作用导致神经元死亡也可刺激其周围正常神经元中整合素-生长锥信号转导通路中的各类元件大量表达,参与原有正常神经兴奋网络的打破。此外,在神经元及星形胶质细胞中均可表达的神经巢蛋白、肿瘤生长因子-β1 受体既可通过改变神经元微环境,维持突触高兴奋性,也可形成胶质斑破坏正常神经纤维生长并阻碍抗癫痫药物发挥作用。

在神经电传导过程中,需以突触作为基本结构介导,保证生物信息在神经元间及神经元与效应细胞间传递,而突触小泡则位于突触前膜中,由其直接凹陷并形成富含线粒体、微管蛋白等细胞器的囊

状结构。正常情况下,神经兴奋活动传导至突触前膜时,由于前膜各电压门控通道结构变形并打开,形成细胞内外离子流,促使突触小泡与突触前膜融合,释放小泡内各种神经递质,参与神经兴奋,而后神经递质可再次经突触回收进入下一个循环。大量研究证实,癫痫患者突触囊泡蛋白 1、突触网格蛋白等突触小泡成分存在异常表达^[30,34],引起突触囊泡循环障碍,从而使得神经递质释放及重吸收失衡,诱发脑神经元异常兴奋,成为癫痫发作的基础。而反复癫痫发作可以改变突触结构,当γ-氨基丁酸释放减少、重吸收增加及突触后膜受体减少时,神经元抑制作用减弱,同时,癫痫发作亦可激发正常生理情况下不表达但具有潜在功能的突触小泡,形成兴奋性持续增高。临床研究也已证

实,左乙拉西坦等新一代抗癫痫药物可以通过改变突触小泡结构而发挥抗癫痫作用。

参 考 文 献

- [1] Wang XF, Wang LY, Peng X. Ten-year advance in the study on pathologic mechanism and treatment of epilepsy. Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi. 2010, 10:64-70.[王学峰, 王琳媛, 彭希. 癫痫药物治疗及发病机制研究:十年进展及展望. 中国现代神经疾病杂志, 2010, 10:64-70.]
- [2] Xi ZQ, Xiao F, Yuan J, et al. Gene expression analysis on anterior temporal neocortex of patients with intractable epilepsy. Synapse, 2009, 63:1017-1028.
- [3] Fang M, Lu Y, Chen GJ, et al. Increased expression of Sonic hedgehog in temporal lobe epileptic foci in humans and experimental rats. Neuroscience, 2011, 182:62-70.
- [4] Peng X, Wang L, Chen G, et al. Dynamic expression of adenylate kinase 2 in the hippocampus of pilocarpine model rats. J Mol Neurosci, 2012, 47:150-157.
- [5] Fang M, Shen L, Yin H, et al. Downregulation of gephyrin in temporal lobe epilepsy neurons in humans and a rat model. Synapse, 2011, 65:1006-1014.
- [6] Huang Y, Zhao F, Wang L, et al. Increased expression of histone deacetylases 2 in temporal lobe epilepsy: a study of epileptic patients and rat models. Synapse, 2012, 66:151-159.
- [7] Li JM, Wang XF, Xi ZQ, et al. Decreased expression of thyroid receptor-associated protein 220 in temporal lobe tissue of patients with refractory epilepsy. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 348:1389-1397.
- [8] Li YQ, Xue T, Wang L, et al. Up-regulation of epithelial membrane protein-1 in the temporal neocortex of patients with intractable epilepsy. Neurochem Res, 2009, 34:1594-1602.
- [9] Liu FY, Wang XF, Li MW, et al. Upregulated expression of postsynaptic density-93 and N-methyl-D-aspartate receptors subunits 2B mRNA in temporal lobe tissue of epilepsy. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 358:825-830.
- [10] Lu Y, Xue T, Yuan J, et al. Increased expression of TGFβ

type I receptor in brain tissues of patients with temporal lobe epilepsy. *Clin Sci (Lond)*, 2009, 117:17-22.

[11] Luo J, Xu Y, Zhu Q, et al. Expression pattern of Mical-1 in the temporal neocortex of patients with intractable temporal epilepsy and pilocarpine-induced rat model. *Synapse*, 2011, 65: 1213-1221.

[12] Luo J, Zeng K, Zhang C, et al. Down-regulation of CRMP-1 in patients with epilepsy and a rat model. *Neurochem Res*, 2012, 37:1381-1391.

[13] Pan Y, Liu G, Fang M, et al. Abnormal expression of netrin-G2 in temporal lobe epilepsy neurons in humans and a rat model. *Exp Neurol*, 2010, 224:340-346.

[14] Peng X, Zhang X, Wang L, et al. Gelsolin in cerebrospinal fluid as a potential biomarker of epilepsy. *Neurochem Res*, 2011, 36: 2250-2258.

[15] Shen L, Xiao Z, Pan Y, et al. Altered expression of Dscam in temporal lobe tissue from human and experimental animals. *Synapse*, 2011, 65:975-982.

[16] Wan QF, Zhou ZY, Thakur P, et al. SV2 acts via presynaptic calcium to regulate neurotransmitter release. *Neuron*, 2010, 66: 884-895.

[17] Wang L, Liu G, He M, et al. Increased insulin receptor expression in anterior temporal neocortex of patients with intractable epilepsy. *J Neurol Sci*, 2010, 296:64-68.

[18] Wang L, Wang X, Yuan J, et al. Nestin in the temporal neocortex of the intractable epilepsy patients. *Neurochem Res*, 2009, 34:574-580.

[19] Wang L, Zhou C, Zhu Q, et al. Up-regulation of serum- and glucocorticoid-induced protein kinase 1 in the brain tissue of human and experimental epilepsy. *Neurochem Int*, 2010, 57:899-905.

[20] Wang W, Wang L, Luo J, et al. Role of a neural cell adhesion molecule found in cerebrospinal fluid as a potential biomarker for epilepsy. *Neurochem Res*, 2012, 37:819-825.

[21] Wu Y, Feng Y, Pang JR, et al. Study on expression of laminin in patients with intractable epilepsy. *Int J Neurosci*, 2009, 119: 2219-2227.

[22] Wu Y, Wang X, Mo X, et al. Expression of monocyte chemoattractant protein - 1 in brain tissue of patients with intractable epilepsy. *Clin Neuropathol*, 2008, 27:55-63.

[23] Wu Y, Wang XF, Mo XA, et al. Expression of laminin β 1 and integrin α 2 in the anterior temporal neocortex tissue of patients with intractable epilepsy. *Int J Neurosci*, 2011, 121:323-328.

[24] Xi ZQ, Sun JJ, Wang XF, et al. HSPBAP1 is found extensively in the anterior temporal neocortex of patients with intractable epilepsy. *Synapse*, 2007, 61:741-747.

[25] Xi ZQ, Wang LY, Sun JJ, et al. TDAG51 in the anterior temporal neocortex of patients with intractable epilepsy. *Neurosci Lett*, 2007, 425:53-58.

[26] Xi ZQ, Wang XF, He RQ, et al. Extracellular signal-regulated protein kinase in human intractable epilepsy. *Eur J Neurol*, 2007, 14:865-872.

[27] Xi ZQ, Wang XF, Shu XF, et al. Is intractable epilepsy a tauopathy? *Med Hypotheses*, 2011, 76:897-900.

[28] Xiao F, Chen D, Lu Y, et al. Proteomic analysis of cerebrospinal fluid from patients with idiopathic temporal lobe epilepsy. *Brain Res*, 2009, 1255:180-189.

[29] Xiao F, Wang XF, Li JM, et al. Overexpression of N-WASP in the brain of human epilepsy. *Brain Res*, 2008, 1233:168-175.

[30] Xiao Z, Gong Y, Wang XF, et al. Altered expression of synaptotagmin I in temporal lobe tissue of patients with refractory epilepsy. *J Mol Neurosci*, 2009, 38:193-200.

[31] Xu Y, Luo J, Yue Z, et al. Increased expression of placental growth factor in patients with temporal lobe epilepsy and a rat model. *Brain Res*, 2012, 1429:124-133.

[32] Yin H, Wang L, Xiao F, et al. Upregulation of liprin- α 1 protein in the temporal neocortex of intractable epileptic patients and experimental rats. *Synapse*, 2011, 65:742-750.

[33] Yuan J, Wang LY, Li JM, et al. Altered expression of the small guanosine triphosphatase RhoA in human temporal lobe epilepsy. *J Mol Neurosci*, 2010, 42:53-58.

[34] Zeng K, Wang X, Wang Y, et al. Enhanced synaptic vesicle traffic in hippocampus of phenytoin-resistant kindled rats. *Neurochem Res*, 2009, 34:899-904.

[35] Zhang X, Peng X, Fang M, et al. Up-regulation of apelin in brain tissue of patients with epilepsy and an epileptic rat model. *Peptides*, 2011, 32:1793-1799.

[36] Zhang Y, Xu Y, Zhu Q, et al. Upregulation of dysbindin in temporal lobe epileptic foci of human and experimental animals. *Synapse*, 2012, 66:622-629.

[37] Zhou S, Sun X, Liu L, et al. Increased expression of aquaporin-1 in the anterior temporal neocortex of patients with intractable epilepsy. *Neurol Res*, 2008, 30:400-405.

[38] Zhou SN, Li CS, Liu LQ, et al. Increased expression of annexin A7 in temporal lobe tissue of patients with refractory epilepsy. *Histol Histopathol*, 2011, 26:571-579.

[39] Zhu Q, Wang L, Zhang Y, et al. Increased expression of DNA methyltransferase 1 and 3a in human temporal lobe epilepsy. *J Mol Neurosci*, 2012, 46:420-426.

[40] Han Y, Yin H, Xu Y, et al. Increased expression of calponin-3 in epileptic patients and experimental rats. *Exp Neurol*, 2012, 233:430-437.

[41] Fang M, Liu GW, Pan YM, et al. Abnormal expression and spatiotemporal change of Slit2 in neurons and astrocytes in temporal lobe epileptic foci: a study of epileptic patients and experimental animals. *Brain Res*, 2010, 1324:14-23.

[42] Xiao Z, Shen L, Chen D, et al. Talin 2 concentrations in cerebrospinal fluid in patients with epilepsy. *Clin Biochem*, 2010, 43:1129-1132.

[43] Pitkänen A, Lukasiuk K. Mechanisms of epileptogenesis and potential treatment targets. *Lancet Neurol*, 2011, 10:173-186.

[44] Wang XF, Wang L. Synaptic mechanism in epileptogenesis. *Zhongguo Shen Jing Mian Yi Xue He Shen Jing Bing Xue Za Zhi*, 2010, 17:235-237. [王学峰, 王亮. 癫痫发病中的突触机制. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2010, 17:235-237.]

[45] Fang M, Xi ZQ, Wu Y, et al. A new hypothesis of drug refractory epilepsy: neural network hypothesis. *Med Hypotheses*, 2011, 76:871-876.

(收稿日期:2012-08-21)

本期广告目次

申捷(齐鲁制药有限公司)	封二
凯时(北京泰德制药股份有限公司)	前插1
必存(南京先声东元制药有限公司)	前插2
步长倍通(菏泽步长制药有限公司)	封三
赛捷康(珠海赛隆药业有限公司)	封四