维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2007)01-0106-04

特发性癫痫离子通道基因的研究进展

向 林 综 述,柳 青 审 校

(重庆医科大学附属第一医院临床研究中心,重庆 400016)

【中国图书分类法分类号】R742.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-09-28

特发性癫痫(idiopathic epilepsies)又称原发性癫痫或隐原性癫痫,是指没有找到明确原因的、无脑部器质性或代谢性疾病、多与遗传因素有密切关系的一类癫痫。该病多发生在儿童期和青春期,发作类型表现为失神发作、肌阵挛发作和全身性强直阵挛发作等,少数患者甚至有明显的家族史。常见的特发性癫痫有良性家族性新生儿惊厥、儿童失神性癫痫、全面性癫痫重叠综合征伴热性发作、青少年肌阵挛型癫痫和常染色体显性遗传夜间额叶癫痫等等。大量的研究表明遗传因素在特发性癫痫中起着重要作用。遗传学及分子生物学研究显示:神经元细胞膜上编码离子通道的基因突变导致特定的跨膜蛋白和相关的分子结构或功能改变,这种改变与特发性癫痫密切相关,几乎涉及 K^+、Na^+、Cl^-、Ca^{2+} 等神经系统中所有的离子通道[1-2],其重要性不言而喻。现将特发性癫痫的相关研究进展综述如下。

1 全面性癫痫重叠综合征伴热性发作

(generalized epilepsy with febrile seizures plus,GEFS$^+$) GEFS$^+$ 是一种具有多种发作形式的特发性癫痫,除热性惊厥外,还可有失神、肌阵挛、肌强直等发作形式,为常染色体显性遗传。目前报道的相关基因有:SCN1A、SCN2A、SCN1B 和 GABRG2。Ⅰ型和Ⅱ型钠通道是 SCN1A、SCN2A 的基因的产物,它们产生的钠电流占中枢神经系统中钠电流的 70%。SCN1A 和 SCN2A 基因的突变可使钠通道延缓关闭,从而在静息状态下产生持续性的钠内流,使膜电位慢性去极化,细胞兴奋性增高,导致癫痫发作[3]。离体研究显示,SCN1B 基因的点突变导致钠通道 β1 亚基细胞外免疫球蛋白折叠结构域中的半胱氨酸残基被色氨酸残基取代,从而影响了 β 亚基对 α 亚基动力学的调节功能,导致 Na^+ 通道的反复开放,钠电流时程延长,最后引起神经元持久过度兴奋。

Baulac 等对 1 个家系连续三代均有 GEFS$^+$ 患者的所有成员进行了观察,发现在 GABAA 受体 γ2 亚单位(GABRG2)基因中存在一致病性突变,即第 289 位氨基酸上的赖氨酸被蛋氨酸所替代,导致受体活性受损[4]。Harkin 和 Carla Marini 相继用不同的方法发现 GABRG2 的突变也可导致受体活性受损,减弱了抑制突触的作用[5-6]。国内学者发现 γ2 基因外显子 5 的单核苷酸多态性 (SNP)C588T 在 GEFS$^+$ 病例组与正常对照组之间存在明显差异[7]。另外,2004 年 Dibbens 等在澳大利亚 1 个 GEFS+ 家系发现了 1 个编码 GABAA 受体 δ 亚单位的 GABRD 在第177 位的谷氨酸被丙氨酸替代(Glu177Ala)和第 220 位的精氨酸被组氨酸替代(Arg220His),该基因的突变也降低了 GABAA 受体的活性[8]。不同通道的基因突变导致了相同的表现型,这种异质性的发生机制目前还不清楚。

2 常染色体显性遗传夜间额叶癫痫

(antosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy, ADNFLE)ADNFLE 作为一种局限性癫痫综合症表现为夜间成串的运动发作,有时一夜可发作几次。局限性发作主要表现为运动功能兴奋过度或强烈的肌症挛,很少见到脑电图异常。第 20 号染色体 20q13.2 位点编码乙酰胆碱受体(AChR)α4 亚基的 CHRNA4 基因突变是诱发 ADNFLE 的突变通道基因。最早发现 CHRNA4 基因的点突变发生在内含子 5(C743T)上,即 C 被 T 替换,导致第 248 位的丝氨酸被苯丙氨酸替换(Ser248Fhe),其结果是加速了乙酰胆碱受体的脱敏速度,降低了 Ca^{2+} 的通透率。后来在 CHRNA4 上又发现了几处改变:一是第 776 或 778 位核苷酸上有 3 个核苷酸(GCT) 插入 (776ins3 或 778ins3) 突变[9];二是 C755T 或 C767T 突变都引起第 252 或 256 位上的丝氨酸被亮氨酸替换 (Ser252/256Leu)[10]。编码乙酰胆碱受体 β2 亚基的 CHRNB2 基因定位于 1q21。Phillips 发现在外显子 5 上第 860 位核苷酸被置换(G860C/A),即缬氨酸被亮氨酸 / 蛋氨酸替换(VaL287Leu/Met)两个不同的氨基酸替换,其结果是延缓了受体脱敏的速度,使受体恢复一定的功能[11]。这也从另一个侧面表明了乙酰胆碱对中枢神经系统有兴奋和抑制的双重作用。

Betrand 进一步研究发现在 4 个编码 AChRα4、β2 亚型的基因上有 5 种不同的突变,推测这些受体的改变可能是引起原发性癫痫神经网络紊乱的根源,突变的受体与正常受

作者介绍:向 林(1973-),男,硕士,主治医师
主要研究方向:遗传性疾病的基因诊断。

维普资讯 http://www.cqvip.com

体比较显示出对乙酰胆碱(ACh)的敏感性增加,与前者的研究结论相吻合[12]。

3 特发性全面性癫痫

(idiopthic generalized epilepsies,IGEs)Haug 等最先发现了由氯离子通道基因突变所致的 IGE 家系。部分 IGE 患者的致病基因被定位在 3q26,其中包括编码 CLC-2 蛋白的基因。他们运用细胞膜氯离子通道全细胞膜片箝技术和异常蛋白共聚焦显微镜定位检查发现了不同杂合子氯离子通道 CLCN2 基因的 3 种突变:(1)597insG 单核苷酸插入突变形成终止密码子 M200fsX231,导致了链终止突变;(2)IVS2-14del11 基因片段缺失导致了通道蛋白的第 74~117 位氨基酸被非典型的剪切掉;(3)G2144A 点突变导致了 G715E 单个氨基酸替换,异化了正常通道的门控特性[13]。这三种类型的基因突变引起的膜通道功能改变较好地解释了 IGEs 的某些临床表现。D'Agostino 等的研究也说明 CLCN2 突变可能是特发性癫痫的一个重要发病原因[14]。Lenzen 等人还发现 KCNJ10 基因也是 IGE 的遗传易感基因,尤其是青少年肌阵挛性癫痫(JME)[15]。

IGEs 发病机制复杂、症状多变、类型众多,包括几种亚型:良性家族性新生儿惊厥 (BFNC)、儿童失神性癫痫 (CAE)、青少年失神性癫痫 (JAE)、青少年肌阵挛性癫痫 (JME)、伴有全身强直阵挛性发作的特发性癫痫(EGMA)以及热惊厥(FS)等。由于亚型众多,现将其中三种重点介绍如下。

3.1 良性家族性新生儿惊厥

(benign familid neonatal convulsions,BFNC)BFNC 是一种较罕见的常染色体显性遗传性疾病,外显率为 85%,于出生后第 3 天发病,表现为阵挛或窒息发作、脑电图无特异性改变,约 14%的患儿成年后发展为癫痫。有学者发现 M 型钾通道突变与良性家族性新生儿癫痫有密切关系。M 型钾通道由 2 个 Q_2、2 个 Q_3 亚单位组成,KCNQ2 和 KCNQ3 基因分别定位于染色体 20q13.3 和 8q24 上。正常的 M 型钾通道电流是一种慢激活的外向性电流,膜电位的降低使其激活而产生持续性外向钾电流,从而维持正常静息状态下膜电位水平,并由其决定细胞的兴奋性水平和动作电位频率。一般认为 KCNQ2 的突变发生在 C 末端,5 个碱基的插入会造成移码突变而致通道上大约 300 个氨基酸的缺失。最近,Maria 的文章中提到 KCNQ2 的突变是因为缺失了 10 个碱基(c.761_770del10insA),KCNQ3 是由于 c.2687A>G 的碱基突变导致氨基酸(p.N821S)改变[16]。现已找到 13 个 KCNQ2 突变位点和 2 个 KCNQ3 突变位点,该基因有 5 种突变类型,包括缺失、插入、错义、移码和剪接位点突变。Q_2 和 Q_3 中任何一个亚单位的基因突变均可使钾离子通道功能受损,不能产生复极化电流,导致通道去极化开放时间延长,神经元兴奋活动增强,引起癫痫发作。

KCNQ2 和 KCNQ3 基因共同表达所产生的 Q_2 和 Q_3 亚单位组成的离子通道表现出与神经元 M2 通道相似的门控性质。原位杂交和 Northern 印迹杂交发现 KCNQ2 和 KCNQ3 的 mRNA 在脑内和交感神经节中具有重叠的表达模式,提示 Q_2 和 Q_3 在细胞内表达共同装配形成 M2 通道[17],其产生机制有待进一步研究。

3.2 儿童失神性癫痫

(childhood absence epilepsy,CAE)CAE 一般在 6~7 岁起病,女孩多见。临床表现为频繁的短暂失神,每天可发作数次至上百次,脑电图示正常背景活动呈双侧同步对称的每秒 3Hz 棘-慢波。Martha 等研究发现儿童失神性癫痫(CAE)与位于染色体 15q11 的 γ-氨基丁酸 A 型受体亚单位 β3 基因(GABRB3)有关联[18]。Huntsma 等观察到 β3 基因剔除小鼠的脑电图表现出高度的同步化和振荡,表明 β3 基因剔除鼠的丘脑网状系统的抑制功能下降,临床上表现为失神发作。此外,一些研究者还认为 γ2 亚基基因与 CAE 和高热惊厥以及家族性高热惊厥(FS)有关。Kananura 利用单核苷酸多态性(SNPs)进行关联分析发现,CAE 和高热惊厥与 GABAA 受体 γ2 亚基基因错义突变产生的无功能性的 GABA 受体 γ 亚单位相关联[19]。Colette K 等也发现 GABAA 受体 γ2 基因与 CAE 伴高热惊厥的易感性,但外显子 5 中 C588T 的多态性频率与先天性失神型癫痫(IAE)无关[20]。国内学者用 5 个微卫星标记 DNA 69CA、85CA、155CA1、155CA2 和 A55CA1 对 CAE 患者进行基因分型,应用病例对照研究进行关联分析,发现 GABRα5 和 GABRβ3 与儿童失神性癫痫(CAE)的发生可能相关[21]。最近,Wenli Gu 与 Sander 等人又对定位于 19q13.11 的 LGI4 基因进行了研究,在外显子 9 区域发现了一处新的突变位点 1914GC→AT,并认为它可能是 CAE 的又一易感基因[22]。

Yucai Chen 等对 T-型钙通道基因(CACNA1H)的 6 个外显子突变位点在 CAE 组和正常人组中进行对照研究,发现 CACNA1H 的错义突变都发生在基因的高度保守区域[23]。他们建议 CACNA1H 可能是 CAE 发病的重要易感基因。一些抗癫痫药物主要通过对 T-型钙通道的作用发挥抗癫痫作用,它们对失神型癫痫的良好疗效为临床上根据通道异常来选择抗癫痫药物提供了理论依据。

3.3 青少年肌阵挛性癫痫

(Junvenile myoclonic eoileosy,JME)JME 属于特发性全身发作性癫痫,常在晨起后发病,表现为双上肢不规则的抽动或弹跳,多合并全身性强直-阵挛发作和失神发作。编码 α1 亚基的基因(GABRA1)被认为与青少年肌阵挛性癫痫有关,是一种常染色体显性遗传。脑内抑制性神经递质 γ-氨基丁酸(GABA)与 GABA 受体结合后引起氯离子通道开放,氯离子内流,形成突触后抑制,与神经系统内兴奋性的机制相平衡。Cossette 等研究了一个以青少年肌阵挛癫痫(JME)为主的法裔加拿大家系中的所有癫痫成员,通过基因组扫描发现 α1 亚基基因与 15 号染色体上的 D5S414 位点相连锁,编码起始区

维普资讯 http://www.cqvip.com

第 322 位丙氨酸的基因发生了错义突变，将突变产生的 GABAA 受体与野生型 GABAA 受体相比较，在体外该型受体活化时只有低强度的电流活动，无法发挥正常的抑制作用，研究结果提示 GABAA 受体亚型 α1 亚基基因的突变可能与人类特发性癫痫综合征密切相关[24]。Elmslie 等对 34 个常染色体隐性遗传 JME 家系进行了连锁分析，发现其致病基因是与 D15S144 位点连锁的乙酰胆碱受体 α7 亚单位(CHRNA7)，并且定位在染色体 15q14 上。

Sander 等将有突变的 GABAB 受体基因作为特发性失神型癫痫(IAE)和肌阵挛型癫痫(JME)的候选基因，利用单核苷酸多态性(SNPs)进行关联分析，检测其在特发性癫痫中的易感性，研究结果显示 GABAB 受体基因突变只与 JME 有关联[25]。

Suzuke 等在 JME 的研究中发现，A 型钾通道可产生瞬间的外向钾电流，其作用很强，阻断 A 型钾通道可导致严重的癫痫发作，而 EFHC1，EFHC2 表达的钙感受器是 A 型钾通道的调节因素[26]。Wenli Gu 等发现定位于 Xp11.4 的 EFHC2 外显子 9 编码的氨基酸改变，即丝氨酸被脯氨酸替换(Ser430Tyr)与男性的关联有统计学意义，并得出在 JME 遗传中是母系遗传占优势的结论[27]。

4 婴儿重症肌阵挛性癫痫

(Severe inyoclonic epilepsy in fancy,SMEI)SMEI 是一种不常见的综合征，为一种复杂的多基因遗传疾病。3~8 月龄发病，以婴儿痉挛、脑电图示高峰节律失调和精神发育迟滞三联征为主要表现，发作形式为全身性阵挛发作形式，继之出现肌阵挛性跳动，并常有部分性发作。目前对本病尚无有效的治疗方法。有 33%~50% 的 SME 患者被发现有Ⅰ型钠通道 α 亚基的基因突变，包括缺失、插入、错义和无义突变，而编码 GABAA 受体 γ2 亚基(GABRG2)的突变也与 SMEI 有关系[28]。

综上所述，特发性癫痫可能由多个微效基因的累加作用所致。由基因突变所致的影响有三方面：一是引起神经系统离子通道本身的结构和功能改变；二是引起调控离子通道的蛋白质的结构和功能改变；三是引起神经递质兴奋－抑制的平衡机制发生改变。有的癫痫只受一方面影响，有的可能涉及三个方面。受累的基因和突变类型越多，临床发作的形式就可能越多样，病情也就越复杂。随着现代分子生物学技术的发展，对特发性癫痫的相关研究还有待进一步深入，如：根据 GABA 受体各亚基的具体功能寻找有针对性的激动剂；由于不同离子通道基因突变导致了相同临床表现的异质性发生机制；以及研究如何恢复受体对药物的敏感性等等。

由于 SNPs 数量多、分布广泛、相对稳定、易于筛查和基因分型等特点决定了它比其它多态性标记更适合对癫痫类型的遗传学分类，以及群体基因识别等方面的研究。近年来发展的基因敲除(gene knockout)技术为致病基因及蛋白质功能和作用的研究提供了新的研究方法，它可以帮助我们了解遗传性疾病的发病机制，对新药开发及临床治疗都有非常重要的现实意义。此外，随着单个细胞核酸分析、膜片箝等技术和基因芯片的逐步完善，将为遗传性疾病的发病机制研究和产前诊断提供更多可行的、新的研究手段。

(通讯作者：柳 青，重庆医科大学附属第一医院临床研究中心，邮编：400016)

参 考 文 献

[1] Chang BS,Lowenstein DH.Epilepsy[J].N Engl J Med,2003;349:1257-1266.

[2] Mulley JC,Scheffer IE,Harkin LA,et al.Susceptibility genes for complex epilepsy[J].Hum Mol Gene,2005;14:243-249.

[3] Lossin C,Wang DW,Rhodes TH,et al.Molecular basis of an inherited epilepsy[J].Neuron,2002;34:887-884.

[4] Blaulac S,Huberfeld G,Isabelle Gourfinkel-An,et al.First genetic Evidence of GABA (A)receptor dysfunction in epilepsy:amutation in the gamma2-subunit gene [J].Nature Genet,2001;28 (1):46-48.

[5] Louise A,Harkin,David N,et al.Truncation of the GABAA-Receptor -2 Subunit in a Family with Generalized Epilepsy with Febrile Seizures Plus[J].Am.J.Hum.Genet,2002;70:530-536.

[6] Carla Marini,Louise A,Harkin,et al.Childhood absence epilepsy and febrile eizures:a family with a GABAA receptor mutation Plus [J].Brain,2003;126:230-240.

[7] 孟海娇，洪 震，朱国行.GABRG2 基因多态性在 GEFS+ 中分布的研究[J].Nervous Diseases and Mental Hyiene,2003;3(6):414-416.

[8] Dibbens LM,Feng HJ,Richards MC,et al.GABRD encoding a protein for extra-or peri-synaptic GABAA receptors is a susceptibil-ity locus for generalized epilepsies [J].Hum Mol Genet,2004;13 (13):1315-1319.

[9] Phillips HA,Marini C,Scheffer IE,et al.A de novo mutation in sporadic nocturnal frontal lobe epilepsy [J].Ann Neurol,2000;43:231-234.

[10] Hirose S,Iwata H,Akiyoshi H,et al.A novel mutation of CHRNA4 responsible for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy[J].Hum Mol Genet,1997;6(6):943-947.

[11] Phillips HA,Favre I,Kirkpatrick M,et al.CHRNB2 is the second acetylcholine receptor subunit associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy [J].Am J Hum Genet,2001;68 (1):896-899.

[12] Betrand D,Picard F,Le Hellard S,et al.How mutations in the nAChRs can cause ADNFLE epilepsy [J].Epilepsi a,2002;4 (15):112-122.

[13] Haug K,Warnstedt M,Alekov AK,et al.Mutations in CLCN2 encoding a voltage-gated chloride channel are associated with idiopathic generalized epilepsies[J].Nat Genet,2003;33(4):527-532.

[14] D'Agostino D,Bertelli M,S.Gallo,et al.Mutations and polymor-

维普资讯 http://www.cqvip.com

phisms of the CLCN2 gene in idiopathic epilepsy[J].Neurology,2004;63:1500-1502.

[15] K.P.Lenzen,A.Heils,S.Lorenz.,et al.Supportive evidence for an allelic association of the human KCNJ10 potassium channel gene with idiopathic generalized epilepsy[J].Epilepsy Research,2005;(63):113-118.

[16] Maria T.Bassi.Umberto Balottin.et al.Functional analysis of novel KCNQ2 and KCNQ3 gene variants found in a large pedigree with benign familial neonatal convulsions (BFNC)[J].Neurogenetics,2005;6:185-193.

[17] WangHS,PanZ,ShiW,et al.KCNQ2 and KCNQ3 potassium channel subunit Molecularco rrelates of the M2 channel[J].Science,1998;282(5395):1890.

[18] Martha F,Karoline F,Ernest P,et al.Possible association between Childhood absence epilepsy and the gene encoding GABRB3[J].Bio Psychiatry,1999;46:997-1002.

[19] KananuraC,HaugK,SanderT,et al.A splice-site mutation In GABAG2 associated with childhood absence epilepsy and Febrile convulsions[J].ArchNeurol,2002;59(7):1137.

[20] Colette Kananura MS,Karsten Haug MD.A splice-site mutation in GABRG2 associated with Childhood Absence Epilepsy and Febrile Convulsions[J].Arch Neurol,2002;59:1137-1141.

[21] 吕建军,陈育才,潘 虹,等.五个微卫星 DNA 在儿童失神癫痫关联研究中的应用[J].中华医学杂志,2002;82(15):1029-1032.

[22] Wenli Gu,Thomas Sander,Tim Becker,et al.Genotypic association of exonic LGI4 polymorphisms and childhood absence epilepsy[J].Neurogenetics,2004;5:41-44.

[23] Chen Y,Lu I,Pan H,et al.Association between genetic variation of CACNA1H and childhood absence epilepsy [J].Ann Neurol,2003;54:239-243.

[24] Patrick Cossette,Lidong Liu,Kat é ri Brisebois1,et al.Mutation of GABRA1 in an autosomal dominant form of juvenile myoclonic epilepsy[J].nature genetics,2002;31(2):184.

[25] Sander T,Peters C,Kammer G,et al.Association analysis of exonic variants of the gene encoding the GABAB receptor and idiopathic generalized epilepsy[J].Am J Med Genet,1999;88(4):305.

[26] Suzuki T,Delgado-Escueta AV,Aguan K,et al.Mutations in EFHC1 cause juvenile myoclonic epilepsy [J].Nat Gne,2004;36:842-849.

[27] Wenli Gu,Thomas Sander,Armin Heils Kirsten P.Lenzen,Ortrud K.Steinlein A new EF-hand containing gene EFHC2 on Xp11.4:Tentative evidence for association with juvenile myoclonic epilepsy[J].Epilepsy Research,2005;(66):91-98.

[28] Ohmori I,Ouchida M,Ohtsuka Y,et al.Significant correlation of the SCN1A mutation and sever myoclonic epilepsy in infancy [J].Bilchem Biophys Res Commum,2002;295:17-23.

(上接第 105 页)

celastrus orbiculatus and their structure-activity relationship on the modulation of multidrug resistance[J].Nat Prod,1999;62(5):697-700.

[32] 陈鸿雁.常用抗肿瘤药物对 KBV200 耐药细胞株增殖抑制作用及苦参碱的耐药逆转研究[J]. 第三军医大学学报,2006;28(11):1231-1233.

[33] 陈鸿雁.苦参碱及 3 种抗肿瘤药物对 KBV200 耐药细胞株细胞周期的影响[J].中国药房,2006;17(7):500-501.

[34] 李宏建,李贵海.苦参碱对肿瘤细胞获得性多药耐药的逆转作用[J]. 中国医院药学杂志,2005;5(25):389-391.

[35] Berek L,Szabo D,Petri IB,et al.Effects of naturally occurring glucosides solasodline glucosides,ginsenosides and parishin derivatives on multidrug resistance of lymphoma cells and leukocyte functions[J].InVivo,2001;15(2):151-156.

[36] 徐洪君.人参皂苷 Rh_2 联合顺铂应用对人喉癌细胞 Hep-2 的作用[J].中国实验诊断学,2005;4(9):584-587.

[37] Wu WS,Hsu HY Involvement of P-15 (INK4b)and P-16 (INK4a) gene expression in saikosaponina and TPA-induced growth inhibition of HepG2 cells[J].Biohem Biophys Res Commun,2001;13:285(2):183-187.

[38] 高小平,李伯刚.雷公藤内酯醇体外抗肿瘤作用和诱导细胞调亡的研究[J].天然产物的研究与开发,2000;12(1):18-20.

[39] Hwang BY,Kim SE,Kim YH,et al.Pregnane glycoside multidrug resistance modulators from cynanchum wilfordii[J].Nat Prod,1999;62(4):640-643.

[40] 梁 蓉,杨平地,陈协群,等.川芎嗪对白血病 HL-60/VCR 细胞多药耐药的逆转及其机制研究[J]. 中华血液学杂志,1999;20(6):323-324.

[41] 韦长元,黎丹戎.板蓝根组酸对耐药人肝癌原位移植瘤的耐药逆转研究[J].肝胆外科杂志,2004;12(5):334-337.

[42] Kim SE,Kim YH,Kim YC,et al.Torilin,a sesquiterpene from Torilis japonica,reverses multidrug-resistance in cancer cells[J].Planta Med,1998;64(4):332-334.

[43] Kim SE,Hong YS,Kim YC,et al.Mode of action of torilin in multidrug resistant cancer cell lines [J].Planta Med,1998;64 (4):335~338.

[44] 范 青,范广俊.丹参酮微乳逆转肿瘤细胞多药耐药的研究[J].中国中药杂志,2004;11(29):1079-1081.

[45] Dorr R,Karanes C,Spier C,et al.Phase I/II study of the P-glycoprotein modulator PSC833 in patients with acute myelod leukemia[J].J Clin Oncol,2001;19(6):1589-1599.