

NRG1 基因多态性与颞叶癫痫的关系

黄薇隗, 彭伟, 江蓉, 徐内卫, 邓飞

摘要 目的:探讨神经调节因子1(NRG1)基因多态性与颞叶癫痫的关系。**方法:**选取我院治疗的颞叶癫痫患者124例为病例组,同时选取124例健康志愿者作为对照组,采用PCR-LDR技术检测2组NRG1基因的单核苷酸多态性(SNP)位点。**结果:**本次研究共检测到NRG1基因的3个SNP位点,包括rs35753505、rs6994992和rs62510682;SNP rs35753505基因型和等位基因分布差异有统计学意义($P<0.05$),其中突变纯合子CC基因型者患颞叶癫痫的OR值为3.941(1.806~8.599),等位基因C的OR值为1.977(1.378~2.837);SNP rs6994992等位基因分布差异有统计学意义($P<0.05$),其中杂合子CT基因型者患颞叶癫痫的OR值为1.018(1.378~2.837),等位基因T的OR值为1.475(1.027~2.118);SNP rs62510682基因型和等位基因分布差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**NRG1基因多态性可能与颞叶癫痫发病有一定联系,值得进一步研究。

关键词 神经调节因子1;颞叶癫痫;基因多态性

中图分类号 R741;R741.02;R742.1 文献标识码 A DOI 10.16780/j.cnki.sjssgncj.2018.10.013

作者单位

湖北省宜昌市第二人民医院·三峡大学第二人民医院急诊科

湖北宜昌 443000

收稿日期

2017-12-03

通讯作者

邓飞

16559043@qq.com

癫痫是常见的中枢神经系统疾病,发病率可达0.006%以上^[1]。基因多态性可以通过影响特定基因的转录或蛋白翻译,影响相关靶物质的表达,从而影响神经电冲动的传递。神经调节因子-1(neural regulatory factor, NRG-1)基因多态性可通过影响神经原鞘膜跳跃式传递的方式,影响局部神经元的异常放电,促进癫痫的发生发展^[2-4]。本研究选取我院就诊的癫痫患者,探讨rs35753505、rs6994992和rs62510682基因型和等位基因位点的基因型分布,为揭示基因多态性对于癫痫发生的影响提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2014年2月至2016年3月我院治疗的颞叶癫痫患者124例为病例组,其中男73例,女51例;年龄19~29岁,平均年龄(25.13±7.81)岁。纳入标准:符合1989年ILEA公布的癫痫诊断标准;均为汉族;患者及家属知情同意并签署同意书。排除标准:有脑部外伤、皮质发育不良、精神发育迟缓等神经精神病变。同时选取汉族健康志愿者124例为对照组,其中男80例,女44例;年龄19~29岁,平均年龄(25.02±8.22)岁,2组性别、年龄差异无统计学意义($\chi^2=0.836$, $t=0.108$, 均 $P>0.05$)。

1.2 方法

基因多态性检测:取冻存的血清保存液体,10000 r/min离心5 min,TRIZOL法提取总RNA。70℃干浴3 min,取出后立即冰水浴至管内外温度一致,然后加逆转录酶0.5 μL,37℃水浴60 min,室温放置5 min使其完全溶解,逆转录为cDNA。以β-actin为模版,在反应体系中加入SYBR Green 1染料、上游引物、下游引物、dNTP,使得总体积达20 μL。反应条件为:93℃2 min、93℃1 min、55℃2 min,

共40个循环。

PCR产物扩增后进行基因多态性检测:参考multiplexkit试剂盒(南京凯基生物科技有限公司)使用说明,加入各位点对应延伸引物进行单碱基测序反应。并在ABI1310(Life Technologies,美国)进行电泳,结果用GENEMAPPER软件(Life Technologies,美国)进行分析。

1.3 统计学处理

采用SPSS 19.0软件处理数据。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用独立样本均数t检验;计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验;遗传代表性采用Hardy-Weinberg平衡检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组Hardy-Weinberg平衡检验

本次研究共检测到NRG1基因的3个单核苷酸多态性(SNP)位点,包括rs35753505、rs6994992和rs62510682,2组各位点基因型分布符合Hardy-Weinberg平衡,表明2组受试者的人群代表性较好,见表1。

2.2 NRG1基因多态性与颞叶癫痫易感性的关系

SNP rs35753505基因型和等位基因分布差异有统计学意义($P<0.05$),其中CC基因型者患颞叶癫痫的OR值为3.941(1.806~8.599),等位基因C的OR值为1.977(1.378~2.837);SNP rs6994992等位基因分布差异有统计学意义($P<0.05$),其中CT基因型者患颞叶癫痫的OR值为1.018(1.378~2.837),等位基因T的OR值为1.475(1.027~2.118);SNP rs62510682基因型和等位基因分布差异无统计学意义($P>0.05$),见表2。

3 讨论

表1 2组受试者 Hardy-Weinberg 平衡检验

SNP	病例组(n=124)			对照组(n=124)		
	基因型	实际频数	预计频数	基因型	实际频数	预计频数
rs35753505	TT	15	14.91	TT	29	32.52
	TC	56	56.18	TC	69	61.96
	CC	53	52.91	CC	26	29.52
	χ^2 值	0.001		χ^2 值	1.599	
	P值	0.972		P值	0.206	
rs6994992	CC	18	15.26	CC	23	24.40
	CT	51	56.48	CT	64	61.21
	TT	55	52.26	TT	37	39.40
	χ^2 值	1.167		χ^2 值	0.258	
	P值	0.280		P值	0.612	
rs62510682	GG	106	106.65	GG	114	114.20
	GT	18	16.69	GT	10	9.60
	TT	0	0.65	TT	0	0.20
	χ^2 值	0.759		χ^2 值	0.219	
	P值	0.383		P值	0.640	

表2 NRG1 基因多态性与颞叶癫痫易感性的关系

SNP	基因型和等位基因	病例组(n=124)	对照组(n=124)	χ^2 值	P值	OR(95%CI)
rs35753505	TT	15	29			1
	TC	56	69	15.034	0.001	1.569(0.767 ~ 3.211)
	CC	53	26			3.941(1.806 ~ 8.599)
	T	86	127	13.832	0.000	1
rs6994992	C	162	121			1.977(1.378 ~ 2.837)
	CC	18	23			1
	CT	51	64	5.601	0.061	1.018(1.378 ~ 2.837)
	TT	55	37			1.899(0.902 ~ 3.998)
rs62510682	C	87	110	4.455	0.035	1
	T	161	138			1.475(1.027 ~ 2.118)
	GG	106	114			1
	GT	18	10	2.577	0.108	1.936(0.855 ~ 4.382)
	TT	0	0			1
	G	230	238	2.422	0.120	1
	T	18	10			1.863(0.842 ~ 4.120)

基因水平的改变可以通过影响转录或蛋白翻译等环节,影响神经元电冲动的传递^[5,6]。基因多态性是靶基因的部分位点发生的基因突变,进而导致基因或基因型的改变,影响中枢神经系统神经元鞘膜的跳跃式电传递^[7-9]。对于相关基因多态性的研究,可以为临床上癫痫的生物学治疗提供新的作用靶点。

NRG1 基因是编码多巴胺末端修饰蛋白的重要基因,其 rs35753505、rs6994992 和 rs62510682 位点的多态性变化,可影响其蛋白活性,多巴胺的末端磷酸化或羟基化修饰的不足,导致多巴胺在中枢神经系统内的降解加快,浓度相对不足,通过负反馈促进神经元间的信号传递或电传递,导致患者出现癫痫大发作或部分性发作等症状^[5,10]。研究显示,NRG1 基因可激活海马神经元细胞的兴奋性电传导,加重病情^[11,12]。

本研究发现,rs35753505、rs6994992 和 rs62510682 这 3 个研究节点的人群分别符合 Hardy-Weinberg 平衡,提示本研究所选择的样本具有较为理想的代表性,统计结果较为可靠。SNP rs35753505 基因型和等位基因分布差异,提示 SNP rs35753505 的分布异常可能参与了癫痫的发生发展,其中等位基因 C 的比例明显高于等位基因 T,差异有统计学意义($P < 0.05$)。等位基因 C 的比例上升,可通过促进下游转录蛋白的翻译,进而促进神经元鞘膜组织的新生,并增加神经元细胞膜间的电传导联系,促进局部神经元的异常同步放电。有研究者通过回顾性收集分析了 92 例样本量的临床资料,发现等位基因 C 在 NRG1 基因的多态性表达中具有显著的差异性分布趋势,其中 SNP rs35753505 的表达异常可以增加 5% 左右的癫痫的发作的出现^[13,14],这与本

研究的结论较为一致。SNP rs6994992 等位基因分布差异有统计学意义,且等位基因 T 的表达也明显高于等位基因 C。考虑到 SNP rs6994992 等位基因分别的差异,可以通过接触抑制性神经递质谷氨酰胺或磷酸腺苷等的释放,进而促进神经元轴突末梢间神经递质的传递,导致神经元同步放电的发生,促进病情的进展。本研究并未发现 SNP rs62510682 基因型和等位基因分布异常,考虑可能与样本量的选择、癫痫多态性问题的地区性差异及检测试剂盒等不统一有关。

综上所述,rs35753505、rs6994992 可通过影响等位基因的多态性表达,可能在促进癫痫的发生发展过程中发挥了一定的作用。但鉴于本次研究的样本量较小,后续研究将增加样本量,采用多中心的临床研究探讨其内在关系。

参考文献

- [1] Wu Y, Yang H, Ding X, et al. Association between methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and epilepsy susceptibility: A meta-analysis[J]. *Seizure*, 2014, 23: 411-416.
- [2] 解媛媛,肖波. 中国汉族人群 SLC6A11 基因多态性与耐药性癫痫的相关性研究[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2016, 22: 219-223.
- [3] 江天丽,马烈,徐常清. 左乙拉西坦对癫痫患儿的症状改善效果及免疫调节作用研究[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2016, 23: 23-24.

- [4] 陈娟,王雪丁,周列民,等. 转运体基因多态性对癫痫患者丙戊酸血药浓度及临床疗效的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2016, 24: 215-217.
- [5] Manna I, Gambardella A, Labate A, et al. Polymorphism of the multidrug resistance 1 gene MDR1/ABCB1 C3435T and response to antiepileptic drug treatment in temporal lobe epilepsy[J]. *Seizure*, 2015, 24: 124-126.
- [6] Chen ZH, Wang C, Wang LG, et al. Analysis of the CHRNA7 gene mutation and polymorphism in Southern Han Chinese patients with nocturnal frontal epilepsy[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2015, 8: 330-333.
- [7] 王利军,王建平,蒋超,等. GABABR1 基因(G1465A)多态性与脑梗死继发癫痫关联研究[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2012, 25: 527-529.
- [8] 李艳梅,黄志,吴惧,等. 儿童难治性癫痫的临床特征及与 CYP3A4*1G 的相关性[J]. *重庆医学*, 2013, 22: 263-265.
- [9] 李瑞瑞,盛晓燕,赵侠,等. 新型抗癫痫药物针对儿童个体化治疗的进展[J]. *中国医院药学杂志*, 2014, 34: 2072-2076.
- [10] Manna I, Labate A, Borzi G, et al. An SNP site in pri-miR-124, a brain expressed miRNA gene, no contribution to mesial temporal lobe epilepsy in an Italian sample[J]. *Neurol Sci*, 2016, 37: 1335-1339.
- [11] 朱孔江,李松,徐广振,等. 颞叶内侧癫痫患者颞叶皮层致痫灶中 Nogo-A 信号通路的表达[J]. *第三军医大学学报*, 2013, 20: 1076-1079.
- [12] 袁红英,张辉,刘卫. 抗癫痫药的相关代谢酶基因多态性研究进展[J]. *中国医院用药评价与分析*, 2016, 30: 136-138.
- [13] Zhang N, Ouyang T, Zhou Q, et al. Prodynorphin gene promoter polymorphism and temporal lobe epilepsy: A meta-analysis[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2015, 35: 635-639.
- [14] 朱文叶,江沛,李焕德,等. NRG1 基因多态性与部分性癫痫易感性关系的研究[J]. *中南药学*, 2015, 32: 464-468.

(本文编辑:唐颖馨)

(上接第 494 页)

参考文献

- [1] Cassella CR, Jagoda A. Ischemic Stroke: Advances in diagnosis and management [J]. *Emerg Med Clin North Am*, 2017, 35: 911-930.
- [2] Tsvigoulis G, Safouris A, Kim DE, et al. Recent Advances in Primary and Secondary Prevention of Atherosclerotic Stroke[J]. *J Stroke*, 2018, 20: 145-166.
- [3] Huebbe P, Rimbach G. Evolution of human apolipoprotein E (APOE) isoforms: Gene structure, protein function and interaction with dietary factors[J]. *Ageing Res Rev*, 2017, 37: 146-161.
- [4] Shafagoj YA, Naffa RG, El-Khateeb MS, et al. APOE Gene polymorphism among Jordanian Alzheimer's patients with relation to lipid profile[J]. *Neurosciences*, 2018, 23: 29-34.
- [5] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014[J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48: 246-257.
- [6] Adams HP Jr, Biller J. Classification of subtypes of ischemic stroke: history of the trial of org 10172 in acute stroke treatment classification[J]. *Stroke*, 2015, 46: e114-117.
- [7] Ban C, Zhang Q, Feng J, et al. Low prevalence of lipid metabolism abnormalities in APOE ε2-genotype and male patients 60 years or older with schizophrenia[J]. *BMC Psychiatry*, 2017, 17: 399-403.
- [8] Niimi M, Yang D, Kitajima S, et al. ApoE knockout rabbits: A novel model for the study of human hyperlipidemia[J]. *Atherosclerosis*, 2016, 245: 187-193.
- [9] Zhao Y, Yang Y, Xing R, et al. Hyperlipidemia induces typical atherosclerosis development in Ldlr and Apoe deficient rats[J]. *Atherosclerosis*, 2018, 271: 26-35.

- [10] Meena K, Misra A, Vikram N, et al. Cholesterol ester transfer protein and apolipoprotein E gene polymorphisms in hyperlipidemic Asian Indians in North India[J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 352: 189-196.
- [11] Zeljko HM, Škarić-Jurić T, Narančić NS, et al. E2 allele of the apolipoprotein E gene polymorphism is predictive for obesity status in Roma minority population of Croatia[J]. *Lipids Health Dis*, 2011, 18: 9-10.
- [12] 周正艳,符喜南,苏庆杰,等. 海南黎族 ApoE 基因多态性与脑梗死的关系[J]. *重庆医学*, 2009, 38: 2822-2824.
- [13] 兰翠霞,李惠勉,贾贺,等. ApoE 基因多态性对老年脑梗死患者颅内血管狭窄病理变化的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 12: 2918-2920.
- [14] 李英,唐英琪. 载脂蛋白 E (ApoE) 基因多态性与 2 型糖尿病 (T2DM) 血脂及其脑梗死并发症的关系研究[J]. *中外医疗*, 2014, 31: 37-38, 41.
- [15] 蒙兰青,黄俊芳,简崇东,等. 桂西壮族人群 ACE、ApoE 和 MTFHR 基因多态性与缺血性脑卒中的相关性[J]. *实用医学杂志*, 2016, 13: 2083-2086.
- [16] 陈颖聪,钱安民,张建军,等. 高血压患者 RYR-3 基因多态性与大动脉粥样硬化性卒中的相关性研究[J]. *神经损伤与功能重建*, 2018, 13: 9-12.
- [17] Wu H, Weng Y, Zheng L, et al. Polymorphism of the complement 5 gene is associated with large artery atherosclerosis stroke in Chinese patients[J]. *Arq Neuropsiquiatr*, 2016, 74: 881-886.
- [18] Wei WM, Wu XY, Li ST, et al. PPARG gene C161T CT/TT associated with lower blood lipid levels and ischemic stroke from large-artery atherosclerosis in a Han population in Guangdong[J]. *Neurol Res*, 2016, 38: 620-624.

(本文编辑:唐颖馨)