

微管异常与肌萎缩侧索硬化症

宋彬彬, 陈峥, 贾炳泉, 李凤因, 朱文艺, 杨璇, 陈艳清, 于佳

摘要 微管是组成神经元细胞骨架的主要结构,也是胞内运输重要轨道,对于维持神经元存活和功能至关重要。微管可不断解聚/聚合,使其具有生长/收缩的动力学特性,微管结构和功能受到多种微管组成和调控蛋白的协调作用。研究发现微管异常与肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)中运动神经元变性死亡相关。本文总结了神经元中微管组成和调控蛋白的结构和功能,并探讨ALS中微管异常的可能原因和结果,为深入了解微管与ALS的关系提供参考。

关键词 微管;微管蛋白;运动神经元;肌萎缩侧索硬化症

中图分类号 R741;R741.02;R744 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.2020.04.011

宋彬彬, 陈峥, 贾炳泉, 等. 微管异常与肌萎缩侧索硬化症[J]. 神经损伤与功能重建, 2020, 15(4): 217-220, 226.

微管是由13条原纤维构成的直径约25 nm的空心管状结构,每条原纤维由 α -和 β -微管蛋白(tubulin)二聚体线性排列而成。微管两端具有极性,正端最末端是 β -tubulin,聚合速度快,处于动态的聚合和解聚的转换状态,使微管正端快速伸长或缩短,即微管的动态不稳定性;负端集中于近核区的微管组织中心,最末端是 α -tubulin,聚合速度慢,较稳定^[1]。微管散布于胞质中,起到细胞骨架的支撑和轴突运输的轨道作用。神经元具有轴突和树突分支,其中运动神经元体积较大,轴突较长,对微管依赖的蛋白质、亚细胞器和营养因子等长距离运输需求尤甚。肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是最常见的运动神经元病,微管结构和功能的异常变化与疾病发生发展紧密相关^[2]。本文就微管组成和调控相关蛋白的结构和功能、ALS中微管异常的原因及微管异常引起运动神经元变性死亡的可能机制进行综述。

1 微管组成和调控蛋白的结构和功能

1.1 微管正端示踪蛋白(plus-end tracking proteins, +TIPs)

末端结合蛋白(end-binding proteins, EBs)是位于微管正端重要的结合蛋白,哺乳动物细胞中主要有EB1、EB2和EB3亚型。EBs蛋白N端的CH(calponin homology)结构域具有微管亲和能力,介导其与微管的结合;C端的卷曲螺旋区域负责EBs单体的二聚化,也可与其他具有CAP-Gly和SxIP(serine/threonine any amino acid isoleucine/leucine proline)修饰的+TIPs相互作用;保守的EB同源结构域(end binding homology domain, EBH)与卷曲螺旋结构域部分重叠;C端最末区域为高度保守的EEY/F基序。EBs主要作为微管正端的支架蛋白位于+TIPs的中心,为蛋白质的结合提供平台,有效形成和维持微管正端的完整性和功能^[1,3]。

根据+TIPs与EBs的结合,可将+TIPs分为3类:CAP-Gly蛋白、SxIP蛋白及EBs非依赖型蛋白。

CAP-Gly蛋白主要包括细胞质连接蛋白(cytoplasmic linker protein, CLIPs)和p150glued:①CLIP170是神经元中主要的+TIPs,其N端具有CAP-Gly结构域,可与EB1和 α -tubulin的C端EEY/F基序结合;C端具有锌结合域和EEY/F基序,可与具有CAP-Gly结构域的+TIPs相结合^[4];②p150glued是由DCTN1基因编码的,动力蛋白激活蛋白dynactin最大亚基。p150glued的N端具有CAP-Gly结构域,可与含有EEY/F基序的 α -tubulin以及EB1和CLIP170直接结合;CC1结构域可与动力蛋白dynein的中链结合。EB1、CLIP170与p150glued相互作用可以抑制微管正端崩解^[5]。

SxIP蛋白是+TIPs最多的类型。CLASP1/2、APC2、MACF1/2等具有SxIP修饰的蛋白与EBs结合定位在微管正端,可以捕获动态的微管末端,调控微管运动或静止,从而调节神经元分化、发育和轴突运输功能^[1]。

+TIPs中也有dynein、kinesin、XMAP215/DIS1和LIS1等EBs非依赖型蛋白:①动力蛋白dynein的重链和部分驱动蛋白kinesin的重链具有微管结合区域,与微管直接结合,调节微管结构和货物沿微管的运输^[6];②XMAP215/DIS1家族蛋白为微管聚合酶,通过其N端的TOG结构域定位于微管正端,可招募tubulin二聚体到微管的生长端,提高微管组装和聚合速度;③LIS1蛋白N端具有LIS同源蛋白结构域,C端具有WD40重复序列,通过WD40主要与dynein相互作用定位在微管正端,活化dynein^[4]。

1.2 微管负端示踪蛋白

大部分 γ -tubulin可在微管负端形成 γ -tubulin环状复合体,具有微管成核活性,调控微管的组装^[7]。哺乳动物中发现CAMSAPs(calmodulin-regulated spectrin-associated proteins)家族蛋白CAMSAP1、

作者单位

北京中医药大学附属
北京老年医院老年病
临床与康复研究所
北京 100095

基金项目

国家自然科学基金
(No. 81601117);
北京市自然科学基金
资助项目(No. 72020
77);
北京市百千万人才工
程资助项目(No. 201
7A14);
北京市科技新星计划
资助项目(No. Z1811
00006218045);
北京市医管局临床医
学发展专项(No. ZY
LX201833);
北京老年医院科研专
项(No. 2019bjlmyy-青
-4)

收稿日期

2019-09-17

通讯作者

陈峥
bghigr@163.com
于佳
jyu319@163.com

CAMSAP2 和 CAMSAP3 是独立于 γ -tubulin 的微管负端蛋白。不同亚型的 CAMSAPs 可特异性抑制微管负端的聚合或崩解,调节微管负端生长速度^[8]。

1.3 微管结合蛋白 (microtubule-associated proteins, MAPs)

MAPs 是附着在微管多聚体上,参与微管组装,决定微管网络三维结构,并可作为微管与其他蛋白质相连的桥梁。MAPs 主要分为 3 类:①MAP1A/MAP1B。MAP1 与微管结合能力较弱,其 C 端与 tubulin 结合,N 端可与其他细胞骨架或质膜连接,调控微管的空间分布。②tau、MAP2 和 MAP4。tau 和 MAP2 主要定位于微管不稳定区域(易被秋水仙素解聚的区域)的微管晶格内,增强微管蛋白间连接,抑制微管解聚,促进微管成束^[9]。MAP4 可正调节微管的动态不稳定性^[10];③其他类型如 MAP6。MAP6 与微管结合可以抵抗低温引起的微管解聚^[11]。

1.4 微管切割蛋白

细胞中最常见的微管切割蛋白是 katanin 和 spastin,二者为微管剪切 ATP 酶,可结合在微管稳定区,在微管表面形成六聚体,从微管晶格中快速提取 tubulin,使微管断裂,调节微管长度和数量。大鼠海马神经元中 katanin 或 spastin 表达水平提高可增加较短微管数量,微管正端组装活跃,轴突分支增多^[12]。

1.5 tubulin 翻译后修饰

最初发现 tubulin 乙酰化发生于 α -tubulin 的第 40 位赖氨酸,即 K40 位点。tubulin 乙酰化水平由乙酰转移酶和去乙酰化酶 HDAC6 (histone deacetylase 6) 和 SIR2 (sirtuin2) 活性调节。Kiesin-1 或 dynein 主要与乙酰化的 α -tubulin 结合,促进双向运输^[13]。PC-12 细胞中微管稳定性与乙酰化微管蛋白水平呈正相关^[14]。

大部分细胞中 α -tubulin 发生酪氨酸化/去酪氨酸化循环。微管蛋白羧肽酶可以特异性去除 α -tubulin C 端尾部 EEY/F 基序中酪氨酸 (Tyr),暴露出相邻氨基酸残基谷氨酸 (Glu) 残基,形成 Glu-MT,即去酪氨酸化。TTL (tubulin-tyrosine ligase) 可以催化其逆反应,减少 Glu-MT 的形成^[15]。CLIP170 与 Glu-MT 结合能力较弱,酪氨酸化 α -tubulin 富集于微管不稳定区,可招募 p150Glued 和 CLIP170 等具有 CAP-Gly 结构域的蛋白质与微管正端结合^[16]。

tubulin 具有磷酸化位点。周期蛋白依赖性激酶 1 (cyclin-dependent kinases, CDK1) 可使 β -tubulin 的 S172 位点磷酸化,在细胞分裂过程中调节微管动力学。脾酪氨酸激酶 (spleen tyrosine kinase, Syk) 可使 α -tubulin 羧基端磷酸化,具体位点仍未明确。磷酸化的 tubulin 与 MAPs 结合能力改变^[17]。

多聚甘氨酸化和多聚谷氨酸化发生于 tubulin 羧基端。多聚甘氨酸化是在 tubulin 羧基端谷氨酸位点在甘氨酸连接酶的作用下与长链甘氨酸修饰相连。而多聚谷氨酸化是在 tubulin 羧基端谷氨酸位点在 tubulin 酪氨酸连接酶的作用下与长链谷氨酸修饰相连,发生于神经元的大部分微管。多聚谷氨酸胺化 tubulin 更易与 MAPs 相结合^[18]。

2 ALS 中的微管异常

ALS 是主要累及大脑、皮质和脊髓运动神经元的神经退行

性疾病,分为家族性 ALS (familial ALS, fALS) 和散发性 ALS (sporadic ALS, sALS)。其受损运动神经元中发生微管组成和调控相关蛋白表达水平改变、轴突形态或运输障碍,提示微管结构和功能异常。

2.1 超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase1, SOD1)

fALS 患者中约 20% 为 SOD1 突变。SOD1G93A ALS 小鼠模型中运动神经元中微管动态不稳定性增强,tau 和 MAP2 积累^[19];SOD1G93A 小鼠出生后 120 d 脊髓中去 HDAC6 蛋白及其 mRNA 水平显著下降^[20]。SOD1G93AALS 小鼠出生早期 (50~70 d),运动神经元轴突完整性出现损伤,而提高乙酰化 tubulin 水平可以在 ALS 早期维持运动神经元轴突的完整性,减少轴突变性^[21],增加 NMJ 对腓肠肌的神经支配功能,神经元数目有所提高,延长 ALS 小鼠生存期^[22]。Tateno 等^[23] 研究发现 SOD1G93A 小鼠模型脊髓运动神经元和过表达 SOD1G85R NG108-15 细胞中,SOD1 错误积聚招募货物接头蛋白 kinesin 亚基 KAP3,使 KAP3 功能受损,引起货物蛋白 ChAT 运输障碍;过表达 SOD1G85R 的 NG108-15 细胞中,加入秋水仙素处理可加剧 ChAT 运输障碍。SOD1G37RALS 小鼠模型脊髓组织中,CDK5 活性增强,使 tau 高度磷酸化^[24]。且乙酰化 tubulin 水平增龄性改变;4 月龄 SOD1G37R 小鼠模型的脊髓中 SIRT1 (SIR2 同源蛋白) 水平轻微增加;10-12 月龄 ALS 小鼠脊髓中 SIRT1 水平显著上调^[25]。果蝇中过表达 SOD1A4V 和 tau 可使磷酸化 tau 水平显著增加,毒性增强。COS-7 细胞中过表达 SOD1A4V 可提高不溶性 tubulin 水平。体外研究发现突变的 SOD1 可抑制 tubulin 的聚合^[26]。

2.2 TAR DNA 结合蛋白 43 (transactivating response DNA binding protein 43, TDP-43) 和肉瘤融合蛋白 (fused in sarcoma, FUS)

TDP-43 和 FUS 是 fALS 致病基因,可参与调控 RNA 剪切、稳定性、运输和表达等。ALS 中突变型 TDP-43 和 FUS 核输入信号受损,可错位形成胞质不溶性包涵体^[27]。TDP-43 突变或表达下降会损伤其调控 RNA 结合和剪切功能,可能改变 MAPs 表达水平,从而影响微管结构和功能^[2]。果蝇神经元中敲减 TDP-43 会上调 Map205 (哺乳动物 MAP4 同源蛋白) 水平^[28];减弱线粒体双向轴突运输^[29]。HEK293 细胞中敲减 TDP-43 使 HDAC6 mRNA 和蛋白水平下降^[30]。果蝇运动神经元中过表达 TDP-43WT 和 TDP-43G298S 可以改变 Futsch mRNA 的运输和翻译,NMJ 中 Futsch 蛋白水平显著下降;NMJ 突触终扣数量明显减少,突触终扣中 Futsch 阳性的环状微管减少,乙酰化 tubulin 水平显著下降;过表达 Futsch 增加微管稳定性可提高终扣数量^[31]。NIH/3T3 细胞中过表达 TDP-43A315T 可减少去酪氨酸化 tubulin 水平^[15]。

NIH/3T3 细胞中过表达 ALS 致病型 FUS 突变产生的 FUS 包涵体也可使去酪氨酸化 tubulin 水平下降。过表达 kinesin-1 或抑制 FUS 包涵体的产生会缓解 FUS 突变引起的去酪氨酸化 tubulin 水平的下降^[15]。Guo 等^[32] 研究发现,FUSR521H 和 FUSP525L 患者多能干细胞衍生的运动神经元中线粒体、内质

网囊泡轴突运输受损,运动的线粒体和内质网囊泡数量进行性下降;线粒体结合内质网膜(mitochondria-associated ER membranes, MAMs)结构域受损,提示细胞骨架发生变化。抑制HDAC6的表达提高乙酰化 tubulin 水平会缓解 FUS 突变引起的轴突运输障碍。

2.3 动力蛋白激活蛋白1(dynactin1, DCTN1)

ALS 中 p150glued CAP-Gly 结构域突变或缺失使 p150glued 与微管蛋白结合能力显著下降;与 EB1、CLIP170 相互作用减弱。而且 p150glued G59S 突变会阻碍 CAP-Gly 结构域的折叠,使 p150glued 在胞质异常积聚,微管重新聚合能力下降^[33]。本课题组最新研究发现,9 月龄运动神经元中 p150glued 缺失小鼠模型的脊髓组织中乙酰化 α -tubulin 水平显著增加,18 月龄时小鼠腓肠肌神经肌肉接头碎裂,去神经支配^[34]。Hela 细胞中敲减 p150glued 后溶酶体定位分散,自噬体与溶酶体共定位减少,提示 p150glued 水平下降可能引起溶酶体或自噬体运输障碍,使二者融合受阻^[35]。p150glued G59S 小鼠模型的脊髓运动神经元胞体和轴突肿胀,部分有髓鞘的轴突发生沃勒变性^[36]。果蝇神经元中过表达 p150glued G59S 可使轴突远端突触终扣数量和体积增加,致密核心囊泡(dense core vesicle, DCV)和内体积累^[37]。

2.4 囊泡相关膜蛋白相关蛋白 B (vesicle associated membrane protein associated protein B, VAPB)

VAPB 突变可以引起 fALS,也称 ALS8。小鼠海马神经元中发现 VAPB 与微管存在相互作用,其可在单根微管上出现聚集^[38]。果蝇神经元中过表达 DVAPV260I(人中 ALS 致病突变 VAPBV234I)可使神经肌肉接头突触终扣数量增加,体积减小,形态改变,且突触终扣中 Futsh (MAP1B 同源蛋白)阳性的环状微管比例增加^[39]。HEK293 细胞中过表达 VAPBP56S 可使 tubulin 与线粒体外膜蛋白 Miro-1 的结合减少,破坏线粒体正向运输^[40]。

2.5 肌萎缩侧索硬化蛋白 2(ALS2)

ALS2 基因突变或功能缺失与青少年型 ALS 发生有关。Gros-Louis 等^[41]研究发现 ALS2 缺失小鼠模型 130 d 时,坐骨神经中 tubulin 水平增龄性显著增加,且 tubulin 相关的轴突运输受阻。Devon 等^[42]发现 ALS2 缺失小鼠 12 月龄时,皮质运动神经元胞体和轴突直径变小,内体融合和神经营养因子受体 TrkB 运输受损,提示微管的细胞骨架功能和运输功能发生异常。

2.6 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)

VEGF 为神经营养因子,可以促进神经元存活和突起延伸,而 ALS 患者和 SOD1G93A 小鼠模型中 VEGF 蛋白和 mRNA 水平下降^[43]。VEGF delta/delta 小鼠模型神经元中 VEGF 表达水平下降,5 月龄时出现运动功能障碍等 ALS 症状,且脊髓运动神经元中 tubulin、tau、MAP1b 和 MAP6 等基因水平下降^[44]。ALS 小鼠运动神经元中过表达 VEGF

可通过激活 PI3K/Akt 通路减轻 SOD1G93A 的神经毒性^[45],提示 VEGF 突变可能通过 PI3K/Akt 通路调节 tubulin 或 MAPs 表达,但其具体机制有待深入研究。

2.7 微管蛋白 4 α (TUBA4A)

TUBA4A (α -tubulin 亚型)广泛表达于所有细胞类型,且在神经系统中表达最高,TUBA4A 可与 β -tubulin、kinesin 和 MAPs 相互作用,调节微管结构和功能。fALS 患者中存在 TUBA4A 突变,造成运动神经元损伤^[46]。COS7 细胞中过表达 TUBA4AR320C 会减弱微管重组能力。原代运动神经元中过表达突变型 TUBA4A 引起乙酰化 α -tubulin 水平显著下降;TUBA4A 突变型与 β -tubulin 共定位减弱,提示 TUBA4A 突变型可能由于功能缺失引起微管异常^[47]。

2.8 spastin 突变

Tremolizzo 等^[48]研究发现了 ALS 新型致病突变:50 岁意大利女患者出现进行性肢体力量缺陷,重复跌倒的 ALS 临床症状,脊髓运动神经元数量减少。基因检测发现该患者存在微管切割蛋白 spastin c.194G>A 突变,可能破坏 spastin 功能而引起微管异常。

2.9 sALS

sALS 患者皮质神经元中发现高度磷酸化和不溶性 tau 蛋白沉积,且活化的糖原合成激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3, GSK3 β)与 tau 共定位,提示 tau 蛋白的磷酸化可能是由 GSK3 β 活性增强引起^[49];脊髓运动神经元中发现 α -tubulin 基因水平下降^[50]。

3 微管异常参与运动神经元变性死亡的可能机制

微管是神经元调节细胞形态和轴突运输主要结构,运动神经元对微管损伤更为敏感^[51]。研究发现,轴突运输受损是 ALS 的早期症状^[23],可能参与运动神经元变性死亡。

3.1 线粒体运输障碍

线粒体可经双向轴突运输分布于神经元胞体和突起,是细胞产生能量的主要场所,而轴突远端的生长锥和突触区域对能量需求更明显。ALS 中线粒体运输异常导致其错误定位可引起神经元局部能量缺陷或钙离子水平异常,产生损伤^[52]。

3.2 蛋白质降解障碍

自噬是细胞降解错误积聚蛋白质的主要途径。ALS 中微管异常会减弱自噬体的逆向轴突运输,阻碍错误折叠蛋白质的降解,产生毒性引起细胞变性死亡。研究发现,原代大鼠皮质神经元中诱导自噬会明显抑制 TDP-43 突变积聚体引起的细胞死亡^[53]。线虫运动神经元中使用 HDAC 抑制剂 TSA 可以提高微管稳定性,恢复轴突运输受损引起的自噬障碍^[54]。

3.3 神经营养因子运输障碍

神经营养因子通常是由神经所支配的组织或胶质细胞产生的,进入神经末梢后与其受体(TrkA、TrkB、TrkC 和

p75NTR)结合,被信号内体包裹后经逆向轴突运输到胞体和轴突,促进胞体合成蛋白质,调控神经元生长、增殖和存活等。ALS中微管异常可能通过影响神经营养因子的定位及其与受体的结合,调节下游信号分子如pERK1/2、B-Raf和p-p38的表达,进而引起运动神经元变性死亡^[55]。

4 结论和展望

微管是重要的细胞骨架,参与调控神经元的形态、结构和轴突运输等过程。微管结构和功能的维护需要微管末端蛋白、MAPs、微管剪切蛋白以及翻译后修饰的tubulin等相互协调,可形成复杂的相互作用网络。而ALS早期出现微管异常可能通过神经营养因子运输障碍、自噬障碍、线粒体功能障碍等引起运动神经元变性死亡。目前研究发现微管调节药物对治疗ALS有潜在作用,这为ALS临床治疗提供新思路 and 参考,有待深入研究开发。

参考文献

- [1] van de Willige D, Hoogenraad CC, Akhmanova A. Microtubule plus-end tracking proteins in neuronal development[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73: 2053-2077.
- [2] Clark JA, Yeaman EJ, Blizzard CA, et al. A Case for Microtubule Vulnerability in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Altered Dynamics During Disease[J]. *Front Cell Neurosci*, 2016, 10: 204.
- [3] Morrison EE, Moncur PM, Askham JM. EB1 identifies sites of microtubule polymerisation during neurite development[J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 2002, 9: 145-152.
- [4] Ferreira JG, Pereira AL, Maiato H. Microtubule plus-end tracking proteins and their roles in cell division[J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2014, 309: 59-140.
- [5] Duellberg C, Trokter M, Jha R, et al. Reconstitution of a hierarchical +TIP interaction network controlling microtubule end tracking of dynein[J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16: 804-811.
- [6] Imai H, Shima T, Sutoh K, et al. Direct observation shows superposition and large scale flexibility within cytoplasmic dynein motors moving along microtubules[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8179.
- [7] Oakley BR, Paolillo V, Zheng Y. gamma-Tubulin complexes in microtubule nucleation and beyond[J]. *Mol Biol Cell*, 2015, 26: 2957-2962.
- [8] Jiang K, Hua S, Mohan R, et al. Microtubule minus-end stabilization by polymerization-driven CAMSAP deposition[J]. *Dev Cell*, 2014, 28: 295-309.
- [9] Kadavath H, Hofele RV, Biernat J, et al. Tau stabilizes microtubules by binding at the interface between tubulin heterodimers[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112: 7501-7506.
- [10] Permana S, Hisanaga S, Nagatomo Y, et al. Truncation of the projection domain of MAP4 (microtubule-associated protein 4) leads to attenuation of microtubule dynamic instability[J]. *Cell Struct Funct*, 2005, 29: 147-157.
- [11] Delphin C, Bouvier D, Seggio M, et al. MAP6-F is a temperature sensor that directly binds to and protects microtubules from cold-induced depolymerization[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287: 35127-35138.
- [12] Baas PW, Rao AN, Matamoros AJ, et al. Stability properties of neuronal microtubules[J]. *Cytoskeleton (Hoboken)*, 2016, 73: 442-460.
- [13] Millicamps S, Julien JP. Axonal transport deficits and neurodegenerative diseases[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2013, 14: 161-176.
- [14] Lim SS, Sammak PJ, Borisy GG. Progressive and spatially differentiated stability of microtubules in developing neuronal cells[J]. *J Cell Biol*, 1989, 109: 253-263.
- [15] Yasuda K, Clatterbuck-Soper SF, Jackrel ME, et al. FUS inclusions disrupt RNA localization by sequestering kinesin-1 and inhibiting microtubule dytyrosination[J]. *J Cell Biol*, 2017, 216: 1015-1034.

- [16] Andrieux A, Aubry L, Boscheron C. CAP-Gly proteins contribute to microtubule-dependent trafficking via interactions with the C-terminal aromatic residue of alpha-tubulin[J]. *Small GTPases*, 2019, 10: 138-145..
- [17] Magiera MM, Janke C. Post-translational modifications of tubulin[J]. *Curr Biol*, 2014, 24: R351-354.
- [18] Bonnet C, Boucher D, Lazereg S, et al. Differential binding regulation of microtubule-associated proteins MAP1A, MAP1B, and MAP2 by tubulin polyglutamylation[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 12839-12848.
- [19] Maximino JR, de Oliveira GP, Alves CJ, et al. Deregulated expression of cytoskeleton related genes in the spinal cord and sciatic nerve of presymptomatic SOD1(G93A) Amyotrophic Lateral Sclerosis mouse model[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 148.
- [20] Chen S, Zhang XJ, Li LX, et al. Histone deacetylase 6 delays motor neuron degeneration by ameliorating the autophagic flux defect in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Neurosci Bull*, 2015, 31: 459-468.
- [21] Clark JA, Blizzard CA, Breslin MC, et al. Epothilone D accelerates disease progression in the SOD1(G93A) mouse model of amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2018, 44: 590-605.
- [22] Taes I, Timmers M, Hersmus N, et al. Hdac6 deletion delays disease progression in the SOD1G93A mouse model of ALS[J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22: 1783-1790.
- [23] Tateno M, Kato S, Sakurai T, et al. Mutant SOD1 impairs axonal transport of choline acetyltransferase and acetylcholine release by sequestering KAP3[J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18: 942-955.
- [24] Nguyen MD, Lariviere RC, Julien JP. Deregulation of Cdk5 in a mouse model of ALS: toxicity alleviated by perikaryal neurofilament inclusions[J]. *Neuron*, 2001, 3: 135-147.
- [25] Kim D, Nguyen MD, Dobbin MM, et al. SIRT1 deacetylase protects against neurodegeneration in models for Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis[J]. *EMBO J*, 2007, 26: 3169-3179.
- [26] Huang Y, Wu Z, Zhou B. hSOD1 promotes tau phosphorylation and toxicity in the Drosophila model[J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 45: 235-244.
- [27] Alami NH, Smith RB, Carrasco MA, et al. Axonal transport of TDP-43 mRNA granules is impaired by ALS-causing mutations[J]. *Neuron*, 2014, 81: 536-543.
- [28] Vanden Broeck L, Naval-Sanchez M, Adachi Y, et al. TDP-43 loss-of-function causes neuronal loss due to defective steroid receptor-mediated gene program switching in Drosophila[J]. *Cell Rep*, 2013, 3: 160-172.
- [29] Oberstadt M, Classen J, Arendt T, et al. TDP-43 and Cytoskeletal Proteins in ALS[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55: 3143-3151.
- [30] Xia Q, Wang H, Zhang Y, et al. Loss of TDP-43 Inhibits Amyotrophic Lateral Sclerosis-Linked Mutant SOD1 Aggresome Formation in an HDAC6-Dependent Manner[J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 45: 373-386.
- [31] Coyne AN, Siddegowda BB, Estes PS, et al. Futsch/MAP1B mRNA is a translational target of TDP-43 and is neuroprotective in a Drosophila model of amyotrophic lateral sclerosis[J]. *J Neurosci*, 2014, 34: 15962-15974.
- [32] Guo W, Naujock M, Fumagalli L, et al. HDAC6 inhibition reverses axonal transport defects in motor neurons derived from FUS-ALS patients[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 861.
- [33] Levy JR, Sumner CJ, Caviston JP, et al. A motor neuron disease-associated mutation in p150Glued perturbs dynactin function and induces protein aggregation[J]. *J Cell Biol*, 2006, 172: 733-745.
- [34] Yu J, Lai C, Shim H, et al. Genetic ablation of dynactin p150(Glued) in postnatal neurons causes preferential degeneration of spinal motor neurons in aged mice[J]. *Mol Neurodegener*, 2018, 13: 10.
- [35] Xia Q, Wang H, Hao Z, et al. TDP-43 loss of function increases TFEB activity and blocks autophagosome-lysosome fusion[J]. *EMBO J*, 2016, 35: 121-142.
- [36] Laird FM, Farah MH, Ackerley S, et al. Motor neuron disease occurring in a mutant dynactin mouse model is characterized by defects in vesicular trafficking[J]. *J Neurosci*, 2008, 28: 1997-2005.
- [37] Lloyd TE, Machamer J, O'Hara K, et al. The p150(Glued) CAP-Gly domain regulates initiation of retrograde transport at synaptic termini[J]. *Neuron*, 2012, 74: 344-360.

脑梗死面积是降低PSE最重要的方法。

本研究的不足之处如下:①虽然本研究排除肿瘤、脑外伤、代谢紊乱等其他原因引起的癫痫,但考虑到患者年龄偏大,完全排除的可能性较小;②由于随访时间较长,较大一部分患者因失访或死亡而未能完成研究,对数据的完成者构成较大影响;③年龄>75岁高龄人群惊厥性癫痫发作的频率较低,且由于其发作特征不典型极易造成误诊,后期可选择低年龄层患者进行随访以进一步明确发病率。

综上所述,缺血性脑卒中患者PSE发病率较高,入院时MESSS、入院时MESSS<30分是PSE的独立危险因素。

参考文献

[1] Zelano J. Poststroke epilepsy: update and future directions[J]. Ther Adv Neurol Disord, 2016, 9: 424-435.
[2] Hansen J, Åsberg S, Kumlien E, et al. Cause of death in patients with poststroke epilepsy: Results from a nationwide cohort study[J]. PLoS One, 2017, 12: e0174659.
[3] Bentes C, Martins H, Peralta AR, et al. Early EEG predicts poststroke epilepsy[J]. Epilepsia Open, 2018, 3: 203-212.
[4] Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy[J]. Epilepsia, 2014, 55: 475-482.
[5] Hsu CJ, Weng WC, Peng SS, et al. Early-onset seizures are correlated with late-onset seizures in children with arterial ischemic stroke[J]. Stroke, 2014, 45: 1161-1163.
[6] Song GF, Wang HY, Wu CJ, et al. A retrospective study of

transcutaneous vagus nerve stimulation for poststroke epilepsy[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97: e11625.
[7] Lahti AM, Saloheimo P, Huhtakangas J, et al. Poststroke epilepsy in long-term survivors of primary intracerebral hemorrhage[J]. Neurology, 2017, 88: 2169-2175.
[8] Chou CC, Yen DJ, Lin YY, et al. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors and Poststroke Epilepsy: A Population-Based Nationwide Study [J]. Mayo Clin Proc, 2017, 92: 193-199.
[9] Zelano J, Lundberg RG, Baars L, et al. Clinical course of poststroke epilepsy: a retrospective nested case-control study[J]. Brain Behav, 2015, 5: e00366.
[10] Naylor J, Churilov L, Johnstone B, et al. The Association Between Atrial Fibrillation and Poststroke Seizures is Influenced by Ethnicity and Environmental Factors[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2018, 27: 2755-2760.
[11] Thevathasan A, Naylor J, Churilov L, et al. Association between hemorrhagic transformation after endovascular therapy and poststroke seizures[J]. Epilepsia, 2018, 59: 403-409.
[12] Lee CC, Lin JJ, Lin KL, et al. Clinical Manifestations, Outcomes, and Etiologies of Perinatal Stroke in Taiwan: Comparisons between Ischemic, and Hemorrhagic Stroke Based on 10-year Experience in A Single Institute [J]. Pediatr Neonatol, 2017, 58: 270-277.
[13] Guo J, Guo J, Li J, et al. Statin treatment reduces the risk of poststroke seizures[J]. Neurology, 2015, 85: 701-707.
[14] Wood H. Epilepsy: New insights into the treatment and consequences of poststroke epilepsy[J]. Nat Rev Neurol, 2015, 11: 425.
[15] Arntz RM, Rutten-Jacobs LC, et al. Poststroke Epilepsy Is Associated With a High Mortality After a Stroke at Young Age: Follow-Up of Transient Ischemic Attack and Stroke Patients and Unelucidated Risk Factor Evaluation Study[J]. Stroke, 2015, 46: 2309-2011.

(本文编辑:唐颖馨)

(上接第220页)

[38] Skehel PA, Fabian-Fine R, Kandel ER. Mouse VAP33 is associated with the endoplasmic reticulum and microtubules[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97: 1101-1106.
[39] Sanhueza M, Zechini L, Gillespie T, et al. Gain-of-function mutations in the ALS8 causative gene VAPB have detrimental effects on neurons and muscles[J]. Biol Open, 2014, 3: 59-71.
[40] Morotz GM, De Vos KJ, Vagnoni A, et al. Amyotrophic lateral sclerosis-associated mutant VAPBP56S perturbs calcium homeostasis to disrupt axonal transport of mitochondria[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21: 1979-1988.
[41] Gros-Louis F, Kriz J, Kabashi E, et al. Als2 mRNA splicing variants detected in KO mice rescue severe motor dysfunction phenotype in Als2 knock-down zebrafish[J]. Hum Mol Genet, 2008, 17: 2691-2702.
[42] Devon RS, Orban PC, Gerrow K, et al. Als2-deficient mice exhibit disturbances in endosome trafficking associated with motor behavioral abnormalities[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103: 9595-9600.
[43] Brockington A, Wharton SB, Fernando M, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in the central nervous system in amyotrophic lateral sclerosis[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2006, 65: 26-36.
[44] Brockington A, Heath PR, Holden H, et al. Downregulation of genes with a function in axon outgrowth and synapse formation in motor neurones of the VEGFdelta/delta mouse model of amyotrophic lateral sclerosis[J]. BMC Genomics, 2010, 11: 203.
[45] Wang Y, Duan W, Wang W, et al. scAAV9-VEGF prolongs the survival of transgenic ALS mice by promoting activation of M2 microglia and the PI3K/Akt pathway[J]. Brain Res, 2016, 1648: 1-10.
[46] Rademakers R, van Blitterswijk M. Excess of rare damaging TUBA4A variants suggests cytoskeletal defects in ALS[J]. Neuron, 2014,

84: 241-243.
[47] Smith BN, Ticozzi N, Fallini C, et al. Exome-wide rare variant analysis identifies TUBA4A mutations associated with familial ALS[J]. Neuron, 2014, 84: 324-331.
[48] Tremolizzo L, Sala G, Conti E, et al. Valproate Treatment in an ALS Patient Carrying a c.194G>A Spastin Mutation and SMN2 Homozygous Deletion[J]. Case Rep Neurol Med, 2014, 2014: 216094.
[49] Moszczynski AJ, Hintermayer MA, Strong MJ. Phosphorylation of Threonine 175 Tau in the Induction of Tau Pathology in Amyotrophic Lateral Sclerosis-Frontotemporal Spectrum Disorder (ALS-FTSD). A Review[J]. Front Neurosci, 2018, 12: 259.
[50] Jiang YM, Yamamoto M, Kobayashi Y, et al. Gene expression profile of spinal motor neurons in sporadic amyotrophic lateral sclerosis[J]. Ann Neurol, 2005, 57: 236-251.
[51] Spiller KJ, Cheung CJ, Restrepo CR, et al. Selective Motor Neuron Resistance and Recovery in a New Inducible Mouse Model of TDP-43 Proteinopathy[J]. J Neurosci, 2016, 36: 7707-7717.
[52] Park JY, Jang SY, Shin YK, et al. Mitochondrial swelling and microtubule depolymerization are associated with energy depletion in axon degeneration[J]. Neuroscience, 2013, 238: 258-269.
[53] Barmada SJ, Serio A, Arjun A, et al. Autophagy induction enhances TDP43 turnover and survival in neuronal ALS models[J]. Nat Chem Biol, 2014, 10: 677-685.
[54] Ikenaka K, Kawai K, Katsuno M, et al. dnc-1/dynactin 1 knockdown disrupts transport of autophagosomes and induces motor neuron degeneration[J]. PLoS One, 2013, 8: e54511.
[55] Perlson E, Maday S, Fu MM, et al. Retrograde axonal transport: pathways to cell death?[J]. Trends Neurosci, 2010, 33: 335-344.

(本文编辑:唐颖馨)