

· 临床研究 ·

儿童难治性癫痫的临床特征及与 CYP3A4 * 1G 的相关性*

李艳梅¹, 黄志^{2△}, 吴惧¹, 王刚³

(1. 成都市妇女儿童中心医院神经内科 610091; 2. 重庆医科大学附属儿童医院神经内科/儿童发育疾病研究省部共建教育部重点实验室/儿科学重庆市重点实验室/重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地 400014; 3. 重庆医科大学附属儿童医院药剂科 400014)

摘要:目的 探讨西南地区儿童难治性癫痫的临床特点及与 CYP3A4 * 1G 基因多态性相关性。方法 收集重庆医科大学附属儿童医院神经专科门诊诊断为药物难治性患儿(耐药组)83 例, 药物治疗有效患儿(有效组)87 例, 并应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性技术检测两组患儿 CYP3A4 * 1G 基因多态性。结果 耐药组与有效组相比, 1 岁前发病率、局灶性和不确定的发作、结构性和代谢性病因、影像学异常及脑电图异常改变概率明显增高。在遗传性或者未知病因患儿中, 耐药组突变纯合子及突变等位基因频率明显高于有效组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 在遗传性或者未知病因患儿中, 筛查 CYP3A4 * 1G 基因型是指导抗癫痫药物选择, 并判断、预测抗癫痫治疗效果的重要方法之一。

关键词: 药物难治性癫痫; CYP3A4; 多态性; 单核苷酸; 儿童

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2013.03.009

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)03-0263-03

Relationship between clinical features of intractable epilepsy in children and the single nucleotide polymorphisms of CYP3A4 * 1G*

Li Yanmei¹, Huang Zhi^{2△}, Wu Ju¹, Wang Gang³

(1. Department of Neurology, Chengdu Women's and Children's Central Hospital, Chengdu, Sichuan 610091, China; 2. Department of Neurology, Children's Hospital Affiliated to Chongqing Medical University/ Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders/ Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing/ Chongqing International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders, Chongqing 400014, China; 3. Department of Clinical Pharmacy, Children's Hospital Affiliated to Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China)

Abstract: Objective To analyze the clinical features of drug resistance epilepsy of children in southwest China, and the single nucleotide polymorphisms of CYP3A4 * 1G. **Methods** 83 out-patients children with drug resistant epilepsy (resistance group) and 87 children with drug effective epilepsy (effective group) were enrolled from department of neurology in Chongqing children's hospital. Then we analyzed and compared them between two groups. CYP3A4 * 1G genotypes were detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method in two groups. **Results** The incidence rate was significantly higher in resistance group than in effective group, especially in patients with onset before age 1, proportion of focal and uncertain seizures, structural and metabolic etiology, radiographic abnormalities and abnormal EEG. In the patients with hereditary or unknown etiology, the distribution of genotypes and allele frequencies of CYP3A4 * 1G polymorphism in the resistance group were significant difference from the effective group ($P < 0.05$). **Conclusion** In the patients with hereditary or unknown etiology, detecting CYP3A4 * 1G genotypes could be one of effective methods to choose antiepileptic drugs, to judge and predict treatment outcomes.

Key words: medically intractable epilepsy; CYP3A4; polymorphism; single nucleotide; children

癫痫(epilepsy)是由多种病因引起的脑功能障碍综合征,是脑细胞群异常的超同步化放电而引起的具有发作性、突然性和暂时性特征的脑功能紊乱,有 10%~20% 的患者不能得到有效控制,称为药物难治性癫痫(medically intractable epilepsy, IE/RE)或称耐药性癫痫(drug resistance epilepsy)^[1]。这些研究的对象多涉及成人难治性癫痫^[2]。本研究在进行西南地区汉族儿童癫痫耐药机制研究的同时,对耐药组和有效组癫痫儿童的临床资料进行全面的比较、分析,并进行回顾性研究,以探讨儿童 IE 的临床特点、发生、发展规律,从而为早期发现、认识 IE,及时调整治疗方案提供相关依据,从而达到改善患儿的预后,提高其生存质量的目的。金瑞峰等^[3]研究发现多药耐药基因 MDR1 C1236T 位点多态性中 CC 基因型和 C 等位基因频率高可能与局限性癫痫患儿发生耐药相关,有效组的细胞色素 P450 3A4 * 1G (cytochrome P450 3A4 * 1G, CYP3A4 * 1G) 基因型频率及等位基因频率差异均无统计学意义^[4]。因

而不同发作类型及不同病因的癫痫患儿 CYP3A4 * 1G 与耐药性癫痫的关系是本次研究的重点之一,目的是探讨其在耐药性癫痫发生中的可能作用机制,以指导临床抗癫痫药(AEDs)的选择。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 5 月至 2011 年 8 月在重庆儿童医院神经专科门诊确诊为癫痫的患者分为耐药组与有效组。耐药组患者采用一线抗癫痫药(2 种及以上)正规治疗 6 个月至 1 年,癫痫样发作频率未能减少 50% 及以上^[5];排除标准:有进行性神经系统疾病,遗传代谢病或颅内占位性疾病,肝、肾功能不全,未规则服药等病史的患者。纳入耐药组观察随访的患者共 83 例,其中,男 55 例,女 28 例;年龄 2 个月至 15 岁,平均(6.9±4.0)岁。用 2 种 AEDs 52 例,3 种 AEDs 26 例,4 种

* 基金项目:重庆市卫生局医学科学技术研究项目(2009-2-254)。

作者简介:李艳梅(1984~),医师,主要从事小儿神经内科疾病的研究。

△ 通讯作者, Tel: (023)63634527; E-mail: lyymm66@163.com。

AEDs 5 例。有效组患者采用一种 AED 治疗大于 1 年未出现癫痫样发作;排除标准同耐药组。纳入有效组观察随访的患者共 87 例,其中,男 51 例,女 36 例;年龄 1~17 岁,平均(6.8±3.9)岁。其中服用卡马西平 48 例,丙戊酸 29 例,奥卡西平 3 例,拉莫三嗪 6 例,苯巴比妥 1 例。以上两组均为汉族儿童,性别、年龄构成等基础生理情况差异无统计学意义($P>0.05$),来自云、贵、川、渝等西南地区(家长均知情同意)。

1.2 方法

1.2.1 分析方法 现场调查方式收集患儿性别、年龄、首次发病年龄、发作形式、发作次数、治疗情况,神经系统发育情况,脑电图、影像学结果等临床资料,采用回顾性病例对照分析方法对耐药组和有效组临床资料进行比较分析,并应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性技术(PCR-RFLP)检测两组患儿 CYP3A4 * 1G 基因多态性。参照国际抗癫痫联盟(ILAE)最新指南^[6-7]对癫痫发作及病因进行分类。

1.2.2 随访方法 以门诊随访为主,少部分电话随访。首次用药患儿 1~2 个月门诊随访 1 次,以后每 3 个月随访,随访期限定为至少 6 个月。随访患儿发作、用药情况等,每 6 个月复查血药浓度及肝、肾功能,每 1 年查脑电图。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析。计数资料以率表示,采用 χ^2 检验。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,方差不齐时采用 Mann-Whitney 秩检验,多组数据比较采用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 儿童耐药性癫痫临床特点 将两组患儿发病年龄、发作类型、病因分类及影像学 and 脑电图异常改变作为对比因素进行单因素分析,耐药组与有效组相比,1 岁之前发病率、局灶性和不确定的发作、结构性和代谢性病因、影像学异常及脑电图异常改变概率明显增高。见表 1。

表 1 耐药组与有效组的临床资料比较[n(%)]

项目	耐药组(n=83)	有效组(n=87)
发病年龄(岁)		
<1	37(44) ^c	19(22)
1~5	25(30)	24(28)
5~10	21(26)	31(35)
>10	0(0)	13(15)
发作类型		
全面性发作	38(46)	57(66)
局灶性发作	42(50) ^b	30(34)
不确定的发作	3(4) ^b	0(0)
病因分类		
遗传性或者未知病因	27(33)	74(85)
结构性或者代谢性	56(67) ^c	13(15)
耐药性癫痫综合征		
婴儿痉挛	5(6)	0(0)
Lennox-Gastaut 综合征	2(2)	0(0)
Dravet 综合征	1(1)	0(0)
脑电图异常	79(95) ^c	61(70)
影像学异常变化	46(55) ^c	11(13)

^b: $P<0.05$; ^c: $P<0.01$,与有效组比较。

2.2 不同临床特点的癫痫儿童中 CYP3A4 * 1G 基因型分布

2.2.1 不同病因的癫痫患儿 CYP3A4 * 1G 基因型分布 在遗传性或者未知病因患儿中,耐药组突变纯合子及突变等位基因频率均明显高于有效组,差异均有统计学意义($P<0.05$),在以结构性或者代谢性异常为病因的患儿中,两组比较差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

2.2.2 不同发作类型的癫痫患儿 CYP3A4 * 1G 基因型分布 无论是全面性发作还是局灶性发作,两组患儿 CYP3A4 * 1G 基因型分布比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 2 不同病因的癫痫患儿 CYP3A4 * 1G 基因型和等位基因频率分布

病因分组	n	基因型频率[n(%)]		等位基因频率(%)		
		野生纯合子	突变杂合子	突变纯合子	野生型	突变型
遗传性或者未知病因						
有效组	74	31(42)	39(53)	5	68	32
耐药组	27	7(26)	15(55) ^b	18 ^c	54	46 ^b
结构性或者代谢性						
有效组	13	8(62)	4(31)	7	77	23
耐药组	56	32(57)	23(41)	2	78	22

^b: $P<0.05$; ^c: $P<0.01$,与有效组比较。

表 3 不同发作类型的癫痫患儿 CYP3A4 * 1G 基因型和等位基因频率分布

发作类型分组	n	基因型频率[n(%)]		等位基因频率(%)		
		野生纯合子	突变杂合子	突变纯合子	野生型	突变型
全面性发作						
有效组	57	28(49)	27(47)	4	73	27
耐药组	38	25(66)	12(32)	2	82	18
局灶性发作						
有效组	30	11(37)	16(53)	10	63	37
耐药组	42	14(33)	24(57)	10	62	38

3 讨 论

3.1 西南地区儿童癫痫的临床特点

3.1.1 西南地区儿童癫痫的定义及本研究的诊断标准 国际抗癫痫联盟(international league against epilepsy, ILAE)对癫痫的最新定义是:癫痫患者在经过正确使用两种可耐受的治疗方案(单药或联合 AEDS),具有足够的疗程及剂量治疗的情况下,仍未能达到无发作的情形(即:癫痫无发作期少于 3 倍治疗前最长发作间隔期或无发作短于 12 个月)^[8]。本研究参照国内拟定的儿童癫痫诊断标准^[5],具有与同类研究的可比性。

3.1.2 西南地区儿童癫痫患病特点及治疗措施 探讨儿童癫痫的临床特点,对其早期诊断及治疗方法的选择具有较高的临床实用价值^[9]。本研究发现癫痫有如下特点:(1)发病年龄早。本研究发现耐药组 1 岁前发病者为 44%,明显高于有效组(22%),与国内报道^[10]一致。(2)局灶性发作为主。2010 年 ILAE 将局灶性发作分为无意识或知觉损伤、有意识或知觉损伤、演变为双侧的惊厥性发作^[6-7]。本研究发现耐药组局灶性发作发病者占 50%,明显高于有效组(34%)。(3)病因以结构性或者代谢性异常为主。2010 年 ILAE 已经用遗传性、结构性或者代谢性、未知病因来取代特发性、症状性及隐源性的概念^[6-7]。本研究发现耐药组结构性或者代谢性异常为病因者占 67%,明显高于有效组(15%),与高萱等^[11]研究报道一致(77.1%)。(4)对常规 AEDs 治疗疗效差,多数 IE 患儿仍需要以药物治疗为主,辅以其他治疗方法,如:生酮饮食、迷走神经刺激术、立体定向放射治疗等,最新研究还发现病毒载体的基因治疗或细胞移植也能抑制癫痫的发生,为 IE 的治疗开辟了新的途径,带来了新的希望^[12]。

3.2 不同临床特点癫痫儿童中 CYP3A4 * 1G 基因型分布及相关性分析 有研究通过生物信息学分析癫痫相关基因芯片数据,提示癫痫发病是多种基因作用的结果,对相关基因的进一步分析有利于揭示癫痫的发病机制^[13],本研究也通过分子水平揭示癫痫的耐药机制,在不同发作类型中,2 组基因型及等位基因频率的分布差异无统计学意义。在遗传性或者未知病因患儿中,耐药组突变纯合子及突变等位基因频率均明显高于有效组,差异均有统计学意义,在以结构性或者代谢性异常为病因的患儿中,2 组基因型及等位基因频率差异均无统计学意义,提示 CYP3A4 * 1G 突变纯合子可能与遗传性或者未知病因癫痫患儿耐药具有一定的相关性。在遗传性或者未知病因患儿中,筛查 CYP3A4 * 1G 基因型也许是指导抗癫痫药物选择,并判断、预测抗癫痫治疗效果方法之一。脑皮质发育不良患儿大部分为药物难治性癫痫^[14],其次癫痫综合征患儿大部分为药物难治,由于癫痫综合征患儿例数不多,本研究不能明确它与癫痫综合征患儿耐药的关系,需进一步扩大样本量研究,最新研究发现儿童难治性癫痫外周血多药耐药相关蛋白 1(MRPI)的表达增强^[15],所以需进一步研究癫痫耐药与其他基因多态性的关系。

参考文献:

[1] 吴家骅. 难治性癫痫的诊断与治疗[J]. 中华儿科杂志,

2005,43(5):386-389.

- [2] Sinha S, Prashantha DK, Thennarasu K, et al. Refractory status epilepticus: a developing country perspective[J]. J Neurol Sci, 2010, 290(1/2): 60-65.
- [3] 金瑞峰, 王丽娜, 葛丽娟, 等. 多药耐药基因 MDR1 C1236T 多态性在癫痫患儿中的分布及其与癫痫耐药的关系[J]. 实用儿科临床杂志, 2010, 25(20): 1583-1585.
- [4] 李艳梅, 王刚, 黄志, 等. CYP3A4 基因多态性与汉族小儿耐药性癫痫的关系[J]. 中国新药与临床杂志, 2011, 30(10): 740-745.
- [5] 吴逊, 何英, 吴家骅, 等. 癫痫的诊断与治疗座谈会: 14 难治性癫痫的定义[J]. 中国实用儿科杂志, 2000, 15(9): 546-550.
- [6] Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009[J]. Epilepsia, 2010, 51(4): 676-685.
- [7] 邓劼, 张月华, 刘晓燕. 发作和癫痫分类框架相关术语和概念修订——国际抗癫痫联盟分类和术语委员会报告, 2005~2009 年[J]. 中国实用儿科杂志, 2011, 26(7): 505-511.
- [8] Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, et al. Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies[J]. Epilepsia, 2010, 51(6): 1069-1077.
- [9] Wu JY, Salamon N, Kirsch HE, et al. Noninvasive testing, early surgery, and seizure freedom in tuberous sclerosis complex[J]. Neurology, 2010, 74(5): 392-398.
- [10] 王广新, 杨作成. 儿童难治性癫痫的临床特点分析[J]. 湖南师范大学学报: 医学版, 2010, 7(4): 16-18.
- [11] 高萱, 周水珍. 难治性癫痫 83 例临床分析[J]. 中国实用儿科杂志, 2009, 24(11): 866-868.
- [12] Schuele SU, Lüders HO. Intractable epilepsy: management and therapeutic alternatives [J]. Lancet Neurol, 2008, 7(6): 514-524.
- [13] 周焯, 石嵘, 鲍勇, 等. 颞叶癫痫相关基因的生物信息学分析[J]. 南方医科大学学报, 2011, 31(1): 180-183.
- [14] 杨国帅, 宋延民, 周小艳, 等. 脑皮质发育不良所致癫痫的临床特点分析[J]. 海南医学院学报, 2011, 17(12): 1643-1645.
- [15] 岳璇, 刘晓鸣, 袁宝强, 等. 儿童难治性癫痫外周血多药耐药相关蛋白 1 表达研究[J]. 中国使用儿科杂志, 2012, 27(10): 774-776.

(收稿日期: 2012-10-17 修回日期: 2012-12-14)