

GRIN2B 基因多态性与闽南地区汉族人群癫痫的相关性研究[△]

连霞*,郑丽群,钱小容,赵佳丽,费燕[#](中国人民解放军联勤保障部队第九〇九医院/厦门大学附属东南医院药学科,福建漳州 363000)

中图分类号 Q343.1²;R742.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)03-0348-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.03.19

摘要 目的:探讨N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体亚基基因GRIN2B多态性与闽南地区汉族人群癫痫的相关性。方法:采用回顾性研究方法,选取2017年1月—2018年5月在厦门大学附属东南医院进行体检的167例健康人员为对照组,监测过丙戊酸钠血药浓度的163例癫痫患者为癫痫组,采集两组受试者的临床资料及外周血。对受试者GRIN2B基因rs11055514、rs11055515、rs12814951、rs74816802、rs2160517、rs2193149、rs966664、rs1805476、rs1806201、rs1805522、rs3764030、rs1019385等12个位点进行基因分型。采用Haploview 4.2软件进行连锁不平衡(LD)分析;采用Pearson相关性分析进行单倍型分析;采用基因型检验(GE-NO)、趋势 χ^2 检验(TREND)、显性基因检验(DOM)和隐性基因检验(REC)统计两组受试者GRIN2B基因12个位点的野生纯合子(AA)、突变杂合子(Aa)及突变纯合子(aa)基因型的分布差异;采用Logistic回归模型分析GRIN2B基因12个位点的致癫痫相关性。结果:两组受试者GRIN2B基因12个位点均符合Hardy-Weinberg平衡定律($P>0.05$);由rs11055514、rs11055515、rs12814951、rs74816802、rs2160517、rs2193149、rs966664组成的结构域1(Block1)和由rs3764030、rs1019385组成的Block2各位点之间存在明显LD现象($D'>0.9, r^2>1/3$);block1中的CGGACAG单倍体与癫痫的发生存在相关性($P<0.05$);rs74816802、rs2193149位点在两组间分布的差异具有统计学意义($P<0.05$);rs2193149位点突变可能有致癫痫作用(等位基因的加和作用:OR=1.529, L95=1.017, P=0.041)。结论:GRIN2B基因rs2193149位点突变可能是闽南地区汉族人群癫痫致病的相关危险因素之一。

关键词 N-甲基-D-天冬氨酸;GRIN2B;基因多态性;癫痫;相关性

- 价[J].中国药房,2007,18(23):1839-1840.
- [8] SHAIKH AS, LIU H, LI Y, et al. Therapeutic drug monitoring of valproic acid[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2018, 31(4): 1773-1776.
- [9] 潘雯,左成淳,潘坤明,等.影响住院患者丙戊酸钠血药浓度达标因素的回顾性研究[J].中国医院药学杂志,2018,38(21):2213-2217.
- [10] HE XS, LIAO WP, DENG YH, et al. Comparison of the valproate plasma levels and clinical efficacy in patients with epilepsy between conventional preparation sand sustained-release preparations of sodium valproate[J]. *Chin J Pract Intern Med*, 2003, 23(7):415-416.
- [11] LIU LL, ZENG Y. Clinical analysis on blood concentration of sodium valproate[J]. *Pract Pharm Clin Remed*, 2013, 16(5):429-432.
- [12] WU DL, CHEN ZG, DOU WQ, et al. Influence of nasal feeding on serum concentration of valproic acid[J]. *Herald Med*, 2013, 32(2):258-260.
- [13] 彭敏,邓楠.丙戊酸钠的血药浓度及其影响因素分析[J].中国药房,2013,24(26):2422-2426.
- [14] JANKOVIC SM, MILOVANOVIC JR, JANKOVIC S. Factors influencing valproate pharmacokinetics in children and adults[J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2010, 48(11):767-775.
- [15] CARVALHO IV, CARNEVALE RC, VISACRI MB, et al. Drug interaction between phenytoin and valproic acid in a child with refractory epilepsy: a case report[J]. *J Pharm Pract*, 2014, 27(2):214-216.
- [16] 万昆,张奕奕,周成合,等.抗真菌药物氟康唑研究新进展[J].中国抗生素杂志,2012,37(1):8-15,20.
- [17] TAHA FA, HAMMOND DN, SHETH RD. Seizures from valproate carbapenem interaction[J]. *Pediatr Neurol*, 2013, 49(4):279-281.
- [18] MIRANDA HERRERO MC, ALCARAZ ROMERO AI, ESCUDERO VILAPLANA V, et al. Pharmacological interaction between valproic acid and carbapenem: what about levels in pediatrics[J]. *Eur J Paediatr Neurol*, 2015, 19(2):155-161.
- [19] VÉLEZ DÍAZ-PALLARÉS M, DELGADO SILVEIRA E, ALVAREZ DÍAZ AM, et al. Analysis of the valproic acid-meropenem interaction in hospitalized patients[J]. *Neurologia*, 2012, 27(1):34-38.
- [20] 杨杰,张伟群.碳青霉烯类抗生素与丙戊酸钠相互作用的特点、机制及临床意义[J].现代诊断与治疗,2014,25(9):1973-1975.
- [21] 刘瑞丽,韩伟.兔体内美罗培南对丙戊酸钠稳态血药浓度及药动学的影响[J].中国医院药学杂志,2012,32(18):1459-1462.

[△]基金项目:漳州市自然科学基金课题(No.ZZ2017J41);解放军第一七五医院青年苗圃基金资助项目(No.17Y023)

*主管药师,硕士。研究方向:临床药学。电话:0596-2975685。E-mail: xialian2014@163.com

[#]通信作者:主管药师,硕士。研究方向:临床药学。电话:0596-2975795。E-mail: feiyanfy@126.com

(收稿日期:2019-05-17 修回日期:2019-11-18)
(编辑:邹丽娟)

Study on the Correlation between *GRIN2B* Gene Polymorphism and Han Population with Epilepsy in South Fujian

LIAN Xia, ZHENG Liqun, QIAN Xiaorong, ZHAO Jiali, FEI Yan (Dept. of Pharmacy, No. 909 Hospital of Joint Logistics Support Force of PLA & the Affiliated Dongnan Hospital of Xiamen University, Fujian Zhangzhou 363000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the correlation between *N*-methyl-*D*-aspartate (NMDA) receptor subunit gene *GRIN2B* polymorphism and Han population with epilepsy in south Fujian. METHODS: In retrospective study, 167 healthy people who had physical examination in the Affiliated Dongnan Hospital of Xiamen University were selected from Jan. 2017 to May 2018 as control group; 163 epileptic patients who were monitored the blood concentration of sodium valproate were selected as epilepsy group. The clinical data and peripheral blood of 2 groups were collected. 12 loci of *GRIN2B* genotype (rs11055514, rs11055515, rs12814951, rs74816802, rs2160517, rs2193149, rs966664, rs1805476, rs1806201, rs1805522, rs3764030, rs1019385) in subjects were genotyped. Haploview 4.2 software was used to perform linkage disequilibrium (LD) analysis, and Pearson correlation was used to analyze haplotype. Distribution differences of wild homozygote (AA), mutant heterozygote (Aa) and mutant homozygote (aa) genotypes at 12 loci of *GRIN2B* gene between 2 groups were analyzed statistically by using GENO, TREND, DOM and REC. Logistic regression model was used to analyze the correlation of epilepsy induction among 12 loci of *GRIN2B* gene. RESULTS: Totally 12 loci of *GRIN2B* gene were all in line with Hardy-Weinberg equilibrium in 2 groups ($P > 0.05$). There was an obvious LD phenomenon between the block1 composed of rs11055514, rs11055515, rs12814951, rs74816802, rs2160517, rs2193149 and rs966664 and the block2 composed of rs3764030 and rs1019385 ($D' > 0.9$, $r^2 > 1/3$). There was a correlation between CGGACAG monoploid in block1 and the occurrence of epilepsy ($P < 0.05$). There was statistical significance in the distribution difference of rs74816802 and rs2193149 between 2 groups ($P < 0.05$). The mutation of rs2193149 locus may cause epilepsy (addition and effect of alleles: OR=1.529, L95=1.017, $P=0.041$). CONCLUSIONS: The mutation of *GRIN2B* gene rs2193149 locus may be one of the risk factors of epilepsy in Han population from south Fujian.

KEYWORDS *N*-methyl-*D*-aspartate; *GRIN2B*; Gene polymorphism; Epilepsy; Correlation

癫痫是神经细胞异常放电导致中枢神经系统功能失常的一种神经系统疾病^[1]。*N*-甲基-*D*-天冬氨酸(*N*-methyl-*D*-aspartate, NMDA)受体是广泛存在于大脑神经元细胞中的兴奋性谷氨酸受体,参与调节兴奋性突触传递,在脑发育、回路形成、细胞迁移和分化、突触重塑等方面发挥重要作用^[2]。有研究表明, NMDA受体 *GRIN2B* 亚基过度激活是癫痫发作的一个重要原因^[3-4]。但经检索未发现 NMDA受体 *GRIN2B* 亚基基因与癫痫相关性的报道。本研究拟采用病例对照研究探讨 NMDA受体 *GRIN2B* 亚基的 12 个位点基因多态性与癫痫的遗传易感相关性。

1 研究对象

采用回顾性研究方法,选取来厦门大学附属东南医院就诊的闽南地区汉族人,年龄 18~60 岁,其中进行体检的 167 例健康人员为对照组,监测过丙戊酸钠血药浓度的 163 例癫痫患者为癫痫组。癫痫患者入选标准:(1)按照国际抗癫痫联盟(ILAE)对癫痫发作及癫痫综合征的分类标准^[5]诊断为癫痫;(2)经脑电图证实为癫痫;(3)病程 ≥ 6 个月。排除标准:(1)外伤性癫痫;(2)有精神障碍或情感障碍等依从性差的患者;(3)有严重心、肺、肝、肾等功能障碍;(4)有中枢神经系统恶性肿瘤或变性疾病;(5)脑卒中或者颅内感染所致癫痫;(6)有药物滥用和酒精依赖患者。对照组的 167 例受试者中,男性 83 例、女性 84 例,年龄(38.6 ± 19.2)岁,体质指数(23.58 ± 1.26) kg/m^2 ;癫痫组的 163 例受试者中,男性 89

例、女性 74 例,年龄(40.3 ± 15.9)岁,体质指数(22.68 ± 1.53) kg/m^2 。两组受试者的性别、年龄、体质指数差异均无统计学意义($P > 0.05$)。本研究符合《赫尔辛基宣言》要求,患者本人或监护人均签署知情同意书。

2 方法

2.1 患者 DNA 提取

收集两组受试者的静脉血 2 mL,一周内采用美国 Omega 核酸提取试剂盒进行 DNA 提取与纯化,光密度(OD 值)检测及 1.25% 琼脂糖凝胶电泳检测合格后将 DNA 转移至 96 孔板, $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用,用于后面的基因分型等检测。

2.2 基因位点的选择及引物设计

在国家生物技术信息中心网站(The National Center for Biotechnology Information, NCBI; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中查找基因,在 GeneView (<http://bc3.informatik.hu-berlin.de/>)中选择该基因可能对蛋白质水平产生影响的单核苷酸多态性(SNP)位点,依据 hapmap 数据库或 1000 Genomes 数据库 (<http://www.international-genome.org/>),选取在中国汉族人群中最小等位基因频率(MAF)大于 0.05,且等位基因对等分布的 SNP 位点,综合 PubMed (PubMed.cn)和 Google (<http://www.google.cn>)文献检索,所选位点通过美国国立卫生研究院网站 (<http://snpinfo.niehs.nih.gov/>)上的相关功能进行预测,信息核实后筛选出易感性的 SNP 位点。结果筛选出与

GRIN2B 基因相关的 12 个 SNP 位点,包括 rs11055514、rs11055515、rs12814951、rs74816802、rs2160517、rs2193149、rs966664、rs1805476、rs1806201、rs1805522、rs3764030、rs1019385。采用 Assay Designer 3.1 软件进行引物设计,包括上游引物、下游引物及延伸引物。*GRIN2B* 基因 12 个位点的引物序列见表 1。

表 1 *GRIN2B* 基因 12 个 SNP 位点的引物序列

Tab 1 Primer sequence of 12 SNP loci of *GRIN2B* gene

SNP 位点	引物	引物序列(5'→3')	片段长度, bp
rs11055514	上游引物	ACGTTGGATGCTTACCAAGATAGCTAAGGG	97
	下游引物	ACGTTGGATGGATCTCTCTTCTATACCTTG	
	延伸引物	TCTCTTCTATACCTTGATTGCTAA	
rs11055515	上游引物	ACGTTGGATGAAAACCCCTTGCCAGTTG	100
	下游引物	ACGTTGGATGAAAACAGATCCCAACCCAAG	
	延伸引物	CCTCTCCAGTCCAAGACTCCT	
rs12814951	上游引物	ACGTTGGATGGGATGAAAAGAGCTGCTTC	94
	下游引物	ACGTTGGATGTAATTGGCCTAGGAGATGGG	
	延伸引物	AGGTGAGTTTGTCTTGGTCTTA	
rs74816802	上游引物	ACGTTGGATGATCTGGTAAACAGCTGGTGG	107
	下游引物	ACGTTGGATGGGTCCATTTAATGGCCAAA	
	延伸引物	CCCCCAAATGAGATTCATGAAC	
rs2160517	上游引物	ACGTTGGATGGACTGTGCACTGCCTGTAAC	117
	下游引物	ACGTTGGATGATTATCCCTTTGGGAGGC	
	延伸引物	CCCCTGTGCTAATTTAAAGCATACT	
rs2193149	上游引物	ACGTTGGATGCAACAGGACCTGTATTTC	106
	下游引物	ACGTTGGATGAAAGACAAGGTGGTACCAG	
	延伸引物	GGGATGCCACAATGTGGAAGTAGC	
rs966664	上游引物	ACGTTGGATGGTATGATTATACATGCAAG	119
	下游引物	ACGTTGGATGGAAGCTGAATCTCTGCAATG	
	延伸引物	CATCTCTTGGACTCCTACCTGAA	
rs1805476	上游引物	ACGTTGGATGAAGTGTACAGAGCAGACAG	114
	下游引物	ACGTTGGATGCTCTTTCGTACTCCAGAGC	
	延伸引物	TGCAGCTCAATTTCTCTAAA	
rs1806201	上游引物	ACGTTGGATGGGATGTTGGAGTGTGTGTG	119
	下游引物	ACGTTGGATGAGGGTATCTACAGCTGCATC	
	延伸引物	CCCCTAATGAACCTCCCCAC	
rs1805522	上游引物	ACGTTGGATGTTAAACACCAGACCCAGAG	100
	下游引物	ACGTTGGATGCTTTTGTGATGCCAGAGCC	
	延伸引物	GACCTCTTTCACCAT	
rs3764030	上游引物	ACGTTGGATGGGAATGCATTTTCTCACCC	115
	下游引物	ACGTTGGATGATGGTCAATCCCAAAGCGTC	
	延伸引物	GGGCTTATTGCGGTGT	
rs1019385	上游引物	ACGTTGGATGTCACACTCAAAAACGTGCCG	118
	下游引物	ACGTTGGATGCAAGCTCGTGGGTTCTCCT	
	延伸引物	TGTGTGCGAGGTAGGG	

2.3 基因分型

取“2.1”项下提取的 DNA,通过聚合酶链式反应(PCR)扩增出含有待检 SNP 位点的目的片段,然后用虾碱性磷酸酶(SAP)去除 PCR 体系中剩余的脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP)和引物,再加入单碱基延伸引物,其 3' 末端碱基紧挨 SNP 位点,且与目的片段上的碱基完全互补,采用 4 种 ddNTP 替代 dNTP,这样,探针在 SNP 位点处仅延伸一个碱基,连接上的 ddNTP 与 SNP 位点的等位基因对应。用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱检测延伸产物与未延伸引物间的分子量差异,确定该点

处碱基,进而进行 SNP 分型。参考文献[6]设置单碱基延伸反应条件:94 ℃ 预变性 30 s;94 ℃ 变性 5 s,52 ℃ 退火 5 s,80 ℃ 延伸 5 s,40 个循环,其中每个循环中 52 ℃ 退火和 80 ℃ 延伸再进行 5 个循环;最后 72 ℃ 延伸 3 min。

2.4 数据处理

采用 Sequenom MassArray 飞行时间质谱生物芯片系统,以 χ^2 检验将对照组和癫痫组受试者 *GRIN2B* 基因 12 个 SNP 位点进行 Hardy-Weinberg 平衡检验,比较观察值与预测值的差异, $P>0.05$ 表示符合 Hardy-Weinberg 平衡。采用 Haploview 4.2 软件对 12 个 SNP 位点进行连锁不平衡(LD)分析,即在某一群体中,不同座位上某两个等位基因出现在同一条单体型上的频率与预期的随机频率之间存在明显差异的现象。当 $D' > 0.9$ 且 $r^2 > 1/3$,则视为存在 LD 现象。采用 Pearson 相关性分析进行单倍体分析,用假阳性发现率(FDR)法进行多位点数据分析校正多重检验。采用 SPSS 21.0 和 Plink 1.07 软件进行统计,组间基线数据中的连续变量符合正态分布,采用 t 检验,有序分类变量分析和两组间基因频率的比较采用 χ^2 检验。采用基因型检验(GENO)、趋势 χ^2 检验(TREND)、显性基因检验(DOM)和隐性基因检验(REC)分析两组受试者 *GRIN2B* 基因的 12 个 SNP 位点野生纯合子(AA)、突变杂合子(Aa)及突变纯合子(aa)的基因型分布。校正年龄和性别后,构建携带 *GRIN2B* 等位基因与病例对照的 Logistic 回归模型,采用 t 检验,检测项目包括基因的加性效应(ADD)和基因显性效应(DOMDEV)。L95、U95 代表预测值 95% 置信区间(CI),当优势比(OR) >1 且 L95 >1 时,表示该等位基因确实有致病作用;当 OR <1 且 U95 <1 时,表示该等位基因有保护作用;当 OR=1 时,表示该位点与疾病无任何关系。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 Hardy-Weinberg 平衡检验结果

本研究中 *GRIN2B* 基因的 12 个 SNP 位点基因型观察值与预测值比较,差异无统计学意义($P>0.05$),各位点均符合 Hardy-Weinberg 平衡,表明该研究具有群体代表性。*GRIN2B* 基因 12 个 SNP 位点的 Hardy-Weinberg 平衡情况见表 2。

3.2 LD 和单倍体分析结果

由 rs11055514、rs11055515、rs12814951、rs74816802、rs2160517、rs2193149、rs966664 组成的区块 1(Block1)和由 rs3764030、rs1019385 组成的 Block2 各位点之间存在明显 LD 现象,其 $D' > 0.9$ 且 $r^2 > 1/3$ 。进一步比较发现,对照组与癫痫组比较 $P>0.05$,提示 LD 与癫痫发病不相关。*GRIN2B* 基因 12 个 SNP 位点的 LD 分析结果见图 1。

相邻 SNP 的等位位点倾向于以一个整体遗传给后代,位于染色体上某一区域的一组相关联的 SNP 等位点被称作单体型。本研究的两个区块共构建出 9 个单体

表2 *GRIN2B* 基因 12 个 SNP 位点的 Hardy-Weinberg 平衡情况

Tab 2 Hardy-Weinberg equilibrium of 12 SNP loci of *GRIN2B* gene

SNP 位点	癫痫组(n=163)			对照组(n=167)		
	观察值	预测值	P	观察值	预测值	P
rs1105514	0.516	0.500	0.748	0.485	0.499	0.754
rs1105515	0.522	0.500	0.636	0.497	0.499	1.000
rs12814951	0.369	0.332	0.228	0.400	0.385	0.84
rs74816802	0.500	0.466	0.399	0.412	0.418	0.853
rs2160517	0.525	0.499	0.632	0.503	0.499	1.000
rs2193149	0.487	0.459	0.493	0.384	0.384	1.000
rs966664	0.544	0.497	0.322	0.500	0.499	1.000
rs1805476	0.390	0.358	0.370	0.385	0.361	0.513
rs1806201	0.509	0.500	0.875	0.485	0.499	0.755
rs1805522	0.226	0.247	0.328	0.267	0.261	1.000
rs3764030	0.472	0.438	0.371	0.466	0.451	0.731
rs1019385	0.535	0.495	0.420	0.509	0.499	0.876

型,癫痫组与对照组比较,Block1 中的 CGGACAG 单体型差异有统计学意义($P<0.05$),表明该单体型与癫痫的发生存在相关性。单倍体分析结果见表3。

表3 单倍体分析结果

Tab 3 Results of haplotype analysis

区域	单体型	基因频率		
		癫痫组	对照组	P
block 1	CGGACAG	0.358	0.260	0.008
	TAGGTGA	0.265	0.251	0.685
	TATGTGA	0.202	0.255	0.114
	CGGGCGG	0.136	0.176	0.164
	CGGACGG	0.013	0.033	0.079
	TAGGTGG	0.013	0.009	0.610
block 2	TT	0.447	0.465	0.634
	CA	0.315	0.332	0.653
	TA	0.229	0.191	0.234

3.3 基因型统计结果

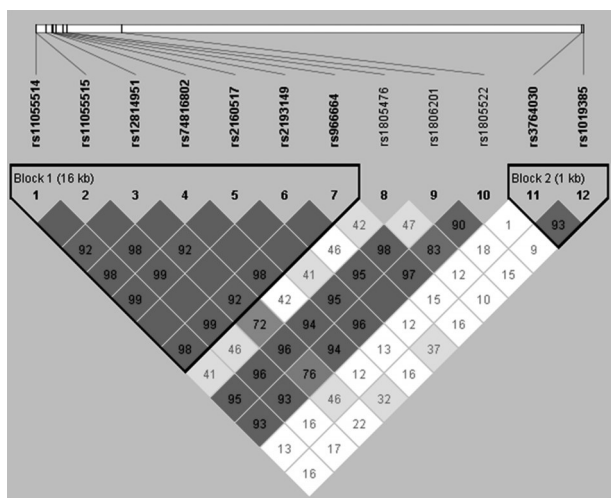
TREND、DOM 结果显示,rs74816802 位点在两组受试者间的基因分布的差异有统计学意义($P<0.05$);GENO、TREND、DOM 结果显示,rs2193149 位点在两组受试者间的基因分布的差异有统计学意义($P<0.05$);其余 SNP 位点的组间基因分布的差异无统计学意义。两组受试者 *GRIN2B* 基因 12 个 SNP 位点基因型分布差异统计结果见表4。

3.4 Logistic 回归分析结果

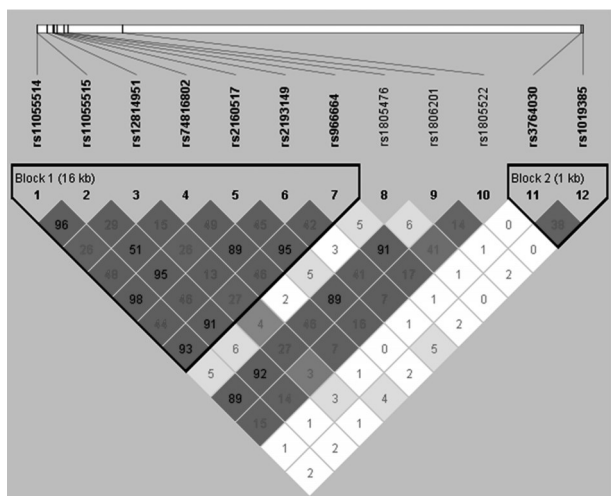
统计结果显示, *GRIN2B* 基因 rs2193149 位点 ADD 项目的 OR=1.529, L95=1.017, P=0.041, 提示 rs2193149 位点突变可能有致癫痫作用。 *GRIN2B* 基因 12 个 SNP 位点的 Logistic 回归分析结果见表5。

4 讨论

NMDA 受体是在中枢神经系统广泛表达且参与神经传递的离子型谷氨酸受体^[7]。NMDA 受体由其亚基 GRIN1、GRIN2A、GRIN2B、GRIN2C、GRIN2D、GRIN3A、GRIN3B 组装为异四聚体结构,功能性 NMDA 受体则由 2 个 GRIN1 亚基和 2 个 GRIN2 亚基组成,或者由 2 个 GRIN1 亚基和 1 个 GRIN2 亚基、1 个 GRIN3 亚基组成^[8]。在哺乳动物大脑中 GRIN2B 充当谷氨酸受体激动剂结合位点和主要的兴奋性神经递质受体,NMDA 受体被激活后,引起 Ca²⁺内流,细胞内 Ca²⁺相关信号通路过度激活,导致神经元异常放电。癫痫的发生正是兴奋性神经元(NMDA 电流)和抑制性神经元[γ-氨基丁酸(GABA)电流]异常放电的结果^[9]。癫痫的致病因素复杂,癫痫的家族遗传性被认为是癫痫发病的一个重要原因,从遗传学角度考虑,已有研究发现 *GRIN2B* 基因 rs7301328 位点基因多态性与帕金森病的发生发展相关^[10];杨雅玲等^[11]研究发现在中国不伴痴呆的帕金森病人群中, *GRIN2B* 基因 rs7301328 位点的 GG 基因型可能是帕金森病相关幻觉的保护因素。由此可见,研究受体通道基因多态性对于癫痫的治疗具有重要的价值,可为癫痫患者的个体化治疗提供理论依据。



A. D'



B. r²

注:方格中数值为左右 2 个 SNP 位点的 D' 或者 r² 的百分比

Note: the value in the square is the percentage of D' or r² of left and right two SNP loci

图1 *GRIN2B* 基因 12 个 SNP 位点的 LD 分析结果

Fig 1 LD analysis results of 12 SNP loci of *GRIN2B* gene

表4 两组受试者 *GRIN2B* 基因 12 个 SNP 位点基因型分布差异

Tab 4 Distribution difference of 12 SNP loci of *GRIN2B* gene in 2 groups

SNP 位点	检验方法	癫痫组,例	对照组,例	χ^2	<i>P</i>
rs11055514	GENO(aa/Aa/AA)	34/80/41	45/79/39	1.388	0.500
	TREND(2aa+Aa/2AA+Aa)	148/162	169/157	1.068	0.302
	DOM(AA+Aa/aa)	114/41	124/39	0.269	0.604
rs11055515	REC(AA/Aa+aa)	34/121	45/118	1.369	0.242
	GENO(aa/Aa/AA)	39/83/37	37/82/46	0.924	0.630
	TREND(2aa+Aa/2AA+Aa)	161/157	156/174	0.744	0.388
rs12814951	DOM(AA+Aa/aa)	122/37	119/46	0.902	0.342
	REC(AA/Aa+aa)	39/120	37/128	0.199	0.655
	GENO(aa/Aa/AA)	4/58/95	10/66/89	3.086	0.214
rs74816802	TREND(2aa+Aa/2AA+Aa)	66/248	86/244	2.433	0.119
	DOM(AA+Aa/aa)	62/95	76/89	1.418	0.234
	REC(AA/Aa+aa)	4/153	10/155	2.387	0.122
rs2160517	GENO(aa/Aa/AA)	19/79/60	15/68/82	4.553	0.103
	TREND(2aa+Aa/2AA+Aa)	117/199	98/232	4.003	0.045
	DOM(AA+Aa/aa)	98/60	83/82	4.502	0.034
rs2193149	REC(AA/Aa+aa)	19/139	15/150	0.738	0.390
	GENO(aa/Aa/AA)	41/83/34	36/82/45	1.785	0.410
	TREND(2aa+Aa/2AA+Aa)	165/151	154/172	1.635	0.201
rs966664	DOM(AA+Aa/aa)	124/34	118/45	1.603	0.206
	REC(AA/Aa+aa)	41/117	36/127	0.657	0.418
	GENO(aa/Aa/AA)	18/77/63	11/63/90	7.745	0.021
rs1805476	TREND(2aa+Aa/2AA+Aa)	113/203	85/243	7.483	0.006
	DOM(AA+Aa/aa)	95/63	74/90	7.265	0.007
	REC(AA/Aa+aa)	18/140	11/153	2.155	0.142
rs1806201	GENO(aa/Aa/AA)	28/81/40	44/82/38	2.901	0.234
	TREND(2aa+Aa/2AA+Aa)	137/161	170/158	2.236	0.135
	DOM(AA+Aa/aa)	109/40	126/38	0.563	0.453
rs1805522	REC(AA/Aa+aa)	28/121	44/120	2.847	0.092
	GENO(aa/Aa/AA)	6/60/88	7/62/92	0.043	0.979
	TREND(2aa+Aa/2AA+Aa)	72/236	76/246	0.005	0.945
rs3764030	DOM(AA+Aa/aa)	66/88	69/92	0.189	1
	REC(AA/Aa+aa)	6/148	7/154	0.041	0.840
	GENO(aa/Aa/AA)	40/81/38	39/80/46	0.670	0.715
rs1019385	TREND(2aa+Aa/2AA+Aa)	161/157	158/172	0.487	0.485
	DOM(AA+Aa/aa)	121/38	119/46	0.668	0.414
	REC(AA/Aa+aa)	40/119	39/126	0.102	0.750
rs1805522	GENO(aa/Aa/AA)	5/36/118	4/43/118	0.620	0.733
	TREND(2aa+Aa/2AA+Aa)	46/272	51/279	0.119	0.730
	DOM(AA+Aa/aa)	41/118	47/118	0.298	0.585
rs1019385	REC(AA/Aa+aa)	5/154	4/161	0.156	0.693
	GENO(aa/Aa/AA)	14/75/70	18/76/69	0.464	0.793
	TREND(2aa+Aa/2AA+Aa)	103/215	112/214	0.296	0.587
rs1019385	DOM(AA+Aa/aa)	89/70	94/69	0.094	0.759
	REC(AA/Aa+aa)	14/145	18/145	0.450	0.502
	GENO(aa/Aa/AA)	29/84/44	36/83/44	0.648	0.723
rs1019385	TREND(2aa+Aa/2AA+Aa)	142/172	155/171	0.365	0.546
	DOM(AA+Aa/aa)	113/44	119/44	0.043	0.836
	REC(AA/Aa+aa)	29/128	36/127	0.646	0.422

已有研究发现 NMDA 受体突变及罕见变异见于多种神经精神疾病^[12]。一项包含 258 个 NMDA 受体突变及罕见变异的研究结果显示,49% 的患者表现为癫痫;而 *GRIN2B/GluN2B* 变异患者主要表现为智力障碍(87%),其次是癫痫(29%)^[11]。本研究通过对比闽南地区汉族癫痫患者与健康人员 NMDA 受体 *GRIN2B* 亚基

表5 *GRIN2B* 基因 12 个 SNP 位点的 Logistic 回归分析结果

Tab 5 Logistic regression analysis results of 12 SNP loci of *GRIN2B* gene

SNP 位点	检测项目	偏回归系数	标准误	联合检验	OR	L95	U95	<i>P</i>
rs11055514	ADD	-1.036	0.159	42.455	0.849	0.620	1.159	0.300
	DOMDEV	0.568	0.225	6.372	1.136	0.731	1.766	0.570
rs11055515	ADD	0.849	0.159	28.512	1.145	0.838	1.564	0.396
	DOMDEV	0.425	0.223	3.632	1.099	0.710	1.701	0.678
rs12814951	ADD	-1.610	0.305	27.865	0.612	0.337	1.113	0.107
	DOMDEV	0.837	0.354	5.590	1.345	0.672	2.692	0.403
rs74816802	ADD	1.426	0.192	55.162	1.316	0.902	1.919	0.154
	DOMDEV	0.741	0.254	8.511	1.207	0.734	1.984	0.459
rs2160517	ADD	1.274	0.161	62.616	1.228	0.895	1.684	0.203
	DOMDEV	0.390	0.224	3.031	1.091	0.703	1.693	0.697
rs2193149	ADD	2.039	0.208	96.097	1.529	1.017	2.300	0.041
	DOMDEV	0.494	0.269	3.372	1.142	0.674	1.934	0.621
rs966664	ADD	-1.519	0.166	83.733	0.778	0.562	1.076	0.129
	DOMDEV	0.825	0.228	13.093	1.207	0.772	1.887	0.410
rs1805476	ADD	-0.191	0.288	0.663	0.947	0.538	1.665	0.849
	DOMDEV	0.195	0.340	0.329	1.069	0.549	2.082	0.845
rs1806201	ADD	0.689	0.157	19.259	1.114	0.819	1.516	0.491
	DOMDEV	0.428	0.223	3.684	1.100	0.711	1.701	0.669
rs1805522	ADD	0.327	0.342	0.914	1.118	0.572	2.184	0.744
	DOMDEV	-0.706	0.410	2.965	0.749	0.336	1.671	0.480
rs3764030	ADD	-0.673	0.197	11.671	0.876	0.595	1.289	0.501
	DOMDEV	0.411	0.256	2.578	1.111	0.673	1.834	0.681
rs1019385	ADD	-0.659	0.164	16.147	0.898	0.651	1.238	0.510
	DOMDEV	0.532	0.226	5.541	1.128	0.725	1.755	0.594

基因多态性,探讨 *GRIN2B* 基因多态性与癫痫的关联性。研究发现,癫痫患者与健康人员的 *GRIN2B* 亚基基因 rs74816802、rs2193149 位点基因型分布存在显著差异($P < 0.05$),且 Logistic 回归结果显示 rs2193149 位点 $OR > 1$ 、 $L95 > 1$,提示 *GRIN2B* 亚基基因 rs2193149 位点的突变可能与癫痫易感性相关。但由于本研究样本量有限,主要为闽南地区汉族人,对课题的研究具有一定局限性。此外,癫痫发作类型多,存在多种综合征,个体间临床差异大,不同年龄致病因素不同,故对于 *GRIN2B* 基因位点多态性影响癫痫发生发展的确切分子机制尚有待进一步研究。

参考文献

- [1] ORTEGA-MORENO L, GIRÁLDEZ BG, SOTO-INSU-GA V, et al. Molecular diagnosis of patients with epilepsy and developmental delay using a customized panel of epilepsy genes[J]. *PLoS One*, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0188978.
- [2] HU C, CHEN W, MYERS SJ, et al. Human *GRIN2B* variants in neurodevelopmental disorders[J]. *J Pharmacol Sci*, 2016, 132(2): 115-121.
- [3] SCHIDLITZKI A, TWELE F, KLEE R, et al. A combination of NMDA and AMPA receptor antagonists retards granule cell dispersion and epileptogenesis in a model of acquired epilepsy[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 12191-12210.
- [4] ADDIS L, VIRDEE JK, VIDLER LR, et al. Epilepsy-asso-

苯妥英钠对癫痫患者体内3种心血管疾病相关因子水平影响的Meta分析[△]

张孟媛^{1*}, 吕媛¹, 洪秀琴^{1,2}, 易尚辉¹, 刘桃成^{1#}(1.湖南师范大学医学院分子流行病学湖南省重点实验室,长沙410013;2.湖南师范大学附属第一医院科研部,长沙410005)

中图分类号 R971^{·6} 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)03-0353-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.03.20

摘要 目的:系统评价苯妥英钠对癫痫患者体内3种心血管疾病相关因子(叶酸、维生素B₁₂、同型半胱氨酸)水平的影响,为临床治疗癫痫提供循证参考。方法:计算机检索PubMed、Google Scholar、中国期刊全文数据库、中文科技期刊数据库、万方数据库,检索时限为1991年1月—2019年1月,收集使用苯妥英钠(试验组)对比未使用抗癫痫药(对照组)的癫痫患者血清中叶酸、维生素B₁₂、同型半胱氨酸水平的观察性研究。对符合纳入标准的文献进行资料提取,并采用横断面研究评价标准(AHRQ)量表进行质量评价后,采用Rev Man 5.3软件和Stata 11软件进行Meta分析。结果:共纳入10项研究,合计745例患者。Meta分析结果显示,试验组患者叶酸水平显著低于对照组[SMD=-0.90,95%CI(-1.18,-0.62),P<0.001],同型半胱氨酸水平显著高于对照组[SMD=1.22,95%CI(0.73,1.71),P<0.001];两组患者维生素B₁₂水平比较,差异无统计学意义[SMD=-0.19,95%CI(-0.39,0.02),P>0.05]。结论:苯妥英钠可降低癫痫患者体内叶酸水平,升高其同型半胱氨酸水平。

关键词 苯妥英钠;癫痫;叶酸;维生素B₁₂;同型半胱氨酸;Meta分析

Effects of Phenytoin on 3 Kinds of Cardiovascular Disease-related Factor in Patients with Epilepsy: A Meta-analysis

ZHANG Mengyuan¹, LYU Yuan¹, HONG Xiuqin^{1,2}, YI Shanghui¹, LIU Taocheng¹(1.Key Laboratory of Molecular Epidemiology of Hunan Province, School of Medicine, Hunan Normal University, Changsha 410013, China;2. Dept. of Science Technology Research, the First Affiliated Hospital of Hunan Normal University, Changsha 410005, China)

ciated GRIN2A mutations reduce NMDA receptor trafficking and agonist potency-molecular profiling and functional rescue[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):66-80.

[5] BEGHI E, BERG A, CARPIO A, et al. Comment on epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE)[J]. *Epilepsia*, 2005, 46(10):1698-1699.

[6] 林雪玉,张燕青,林鹏锋,等. UGT1A6、UGT1A9基因多态性对汉族癫痫患者丙戊酸血药浓度的影响[J]. *中国药房*, 2017, 28(8):1013-1017.

[7] HESS S, DAGGETT L, CRONA J, et al. Cloning and functional characterization of human heteromeric N-methyl-D-aspartate receptors[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1996, 278(2):808-816.

[8] TRAYNELIS SF, WOLLMUTH LP, MCBAIN CJ, et al. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function[J]. *Pharmacol Rev*, 2010, 62(3):405-496.

[9] BERNARD-TRIFILO JA, KRAMAR EA, TORP R, et al. Integrin signaling cascades are operational in adult hippocampal synapses and modulate NMDA receptor physiology[J]. *J Neurochem*, 2005, 93(4):834-849.

[10] ZAINAL ABIDIN S, TAN EL, CHAN SC, et al. DRD and GRIN2B polymorphisms and their association with the development of impulse control behaviour among Malaysian Parkinson's disease patients[J]. *BMC Neurology*, 2015, 15(1):59-69.

[11] 杨雅玲,吴钢,胡志坚,等.中国人GRIN2B、SNCA基因多态性与帕金森病相关幻觉的关联分析[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2018, 35(3):205-210.

[12] XIANGWEI W, JIANG Y, YUAN H. De novo mutations and rare variants occurring in NMDA receptors[J]. *Current Opinion in Physiology*, 2018. DOI: 10.1016/j.cophys.2017.12.013.

△基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81773530);湖南省教育厅项目(No.湘教通[2017]451号, No.湘教通[2017]452号, No.湘教通[2018]505号)

* 硕士研究生。研究方向:流行病与卫生统计。E-mail: 54392680@qq.com

通信作者:副教授,硕士生导师,硕士。研究方向:流行病与卫生统计、循证医学。E-mail: 1509946865@qq.com

(收稿日期:2019-09-18 修回日期:2019-12-16)

(编辑:邹丽娟)