

星形胶质细胞在癫痫发病机制中的研究进展

张菲菲¹ 综述 石向群² 审校

1. 兰州大学第二医院, 甘肃省兰州市 730000

2. 兰州军区兰州总医院神经内科, 甘肃省兰州市 730000

摘要: 癫痫是一种以具有持久的致病倾向和相应的神经生物、认知、社会心理等方面改变为特征的脑部疾病。近年来越来越多的实验与临床研究显示,星形胶质细胞在癫痫的病理过程中起重要作用,可能成为药物干预癫痫的新靶点。本文通过综合国内外最新研究进展,对星形胶质细胞介导的离子通道、递质转运及细胞因子信号转导等在癫痫发病过程中的具体作用机制进行详细的阐述,以期对癫痫的治疗提供新策略。

关键词: 癫痫; 星形胶质细胞; 发病机制

癫痫是一种影响所有年龄人群的非传染性脑部慢性疾患。世界上约有 5000 万癫痫患者,发达国家年新发病例 40 ~ 70 人/10 万,发展中国家通常是这一数字的两倍。已知星形胶质细胞 (astrocyte, AST) 在维持内环境的稳定、血脑屏障形成和神经兴奋传递等方面有重要作用。近年来许多研究将星形胶质细胞活化作为癫痫病理标志,主要涉及离子通道及水通道、细胞内外兴奋性氨基酸和抑制性氨基酸代谢、细胞因子及缝隙连接等,现就不同因素在癫痫发病过程中的具体作用机制的研究进展作逐一概述。

1 离子通道和水通道

K⁺ 通道参与调节细胞膜静息电位及动作电位的复极化过程,决定动作电位的发放频率和幅度。生理条件下,细胞外大量 K⁺ 由 AST 膜上 Na⁺, K⁺ - ATP 酶转运体和 Na-K-Cl⁻ 同向转运体转运,空间 K⁺ 的缓冲主要依靠 K⁺ 通道、水通道、缝隙连接^[1],尤其是 Kir4.1,大约 50% AST 表达 Kir4.1,该通道表达下调常伴随 AST 摄取胞外 K⁺ 能力的下降。

研究发现,在癫痫活动病灶中,细胞外 K⁺ 的浓度 ([K⁺]) 可从 3 mM 上升到 10 ~ 12 mM,而 Na⁺, K⁺ - ATP 酶反应性却显著下降,在癫痫放电高峰时亦如此^[2];脑外伤致血脑屏障 (blood-cerebrospinal fluid barrier, BBB) 破坏,白蛋白外渗,触发癫痫, Kir4.1、Kir2.3 表达明显下调^[3];颞叶癫痫患者 Kir4.1 较对照组减少 50%, [K⁺] 显著升高,使神经元处于高度兴奋状态^[4]。这些均说明在癫痫发作时,AST 失去

清除 K⁺ 的能力。

研究用 BaCl₂ 抑制 AST 上高渗透性内向整流钾通道 KIR,发现癫痫组与对照组均表达完整 KIR 电流^[5],提示 KIR 可能是 AST 固有特性。而在非海马硬化组织, [K⁺] 明显升高,但这些效应在海马硬化 (hippocampal sclerosis, HS) 组织却阴性,表明 HS 组织 Kir 通道功能障碍,这或许正是 HS 常伴有难治性颞叶癫痫的原因。

AST 胞体伸出许多放射状突起,突起末端膨大形成脚板,覆盖超过 90% 的脑毛细血管,参与维持 BBB 功能^[6]。在哺乳动物脑内,水通道蛋白-4 (aquaporin-4, AQP4) 主要表达在血管周围 AST 足突膜上,这种分布特点使 AQP4 更适合于调节血液与细胞之间的双向水分流动,维持细胞体积和离子梯度。研究证实, Kir4.1 和 AQP4 在 AST 足突聚集^[6],且定位于同一亚细胞区域,并且 K⁺ 的摄取伴随水分子流入 AST。表明 Kir4.1 与 AQP4 可能以复合物的形式一起调节 [K⁺] 和膜电位水平^[4]。AQP4 基因敲除老鼠, K⁺ 缓冲受损,癫痫发作时程延长^[7]。说明癫痫发作可能与 AQP4 和 Kir4.1 极性分布变化有关。

抗肌萎缩蛋白和 α -互养蛋白是 AQP4 膜锚着点所必须的。而癫痫患者海马这两种蛋白表达均下降,且 AQP4 锚着位点发生改变,但表达量却增加^[4];用氯化锂-匹罗卡品致病大鼠模型也证实 AQP4 mRNA 表达增加^[8]。另外,膨胀的 AST 通过一种体积敏感的有机体阴离子通道释放谷氨酸

收稿日期: 2015-03-23; 修回日期: 2015-06-08

作者简介: 张菲菲 (1990-), 女, 在读硕士, 主要从事脑血管病和癫痫方面的研究。

通讯作者: 石向群, 主任医师, 硕士生导师, 教授, 主要从事脑血管介入和癫痫方面的研究。E-mail: shixq_2003@163.com。

(glutamic acid, Glu)^[9]。总之,AST 上 AQP4 质膜转位同 Kir 通道表达下降一致,使得 K⁺ 缓冲受损,癫痫易感性增加。

2 谷氨酸与 γ -氨基丁酸

2.1 谷氨酸

越来越多的证据表明 Glu 能代谢异常参与并放大癫痫发生发展过程,即“谷氨酸假说”,如脑兴奋区细胞外 Glu 浓度升高及受体上调等。

超过 90% 胞外 Glu 由 AST 膜上谷氨酸转运体摄取,维持突触间隙 Glu 浓度^[10]。已知谷氨酸转运体有 5 个亚型: EAAT1 ~ EAAT5,其中 EAAT1 和 EAAT2 主要表达在 AST^[11]。动物实验证实,EAAT2 表达增加具有潜在的抑制兴奋毒性作用^[12];在癫痫发作时,EAAT2 表达下降^[10]。临床报道,伴有 HS 的癫痫患者,EAAT1 和 EAAT2 表达下调,在海马区重新分布^[13],抑制癫痫发作区谷氨酸转运体活性,可使突触传递时程延长,癫痫发作阈值降低^[14]。另外,EAAT1 缺失与 AST 膜上 CD44(透明质酸和硫酸软骨素蛋白多糖受体)分子表达增加相关,而 AxD 模型鼠胶原纤维酸性蛋白异常聚集常伴随 CD44 分子增加,推断 CD44 表达增加的 AST 可能失去缓冲 Glu 的能力^[15]。对于转运体的改变是癫痫发作诱因还是其代偿反应仍有待继续研究。

Glu 经过谷氨酰胺合酶(glutamine synthase, GS)作用、磷酸活化谷氨酰胺酶(phosphate activated glutaminase, PAG)反应重新合成 Glu。若 GS 缺损,则 Glu 蓄积,神经递质合成减少。Perez 等^[9]将蛋氨酸亚砷灌入老鼠海马成功诱导 GS 缺损及反复癫痫发作,免疫电镜证实 Glu 含量增加。先前研究也证实,伴有 HS 癫痫患者海马区 GS 减少甚至缺失^[17]。目前对于 GS 功能下降促进癫痫发作可能的潜在机制包括: Glu 在 AST 内蓄积,使其跨膜浓度梯度降低,胞外 Glu 清除障碍^[9];谷氨酰胺水平降低, γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)含量降低,神经抑制功能减弱^[11]。然而,逆转 GS 功能能否逆转癫痫进程等问题仍待研究。

已知膜型谷氨酸受体-5(membrane type glutamate receptor-5, mGluR-5)位于 AST 突触后膜,通过三磷酸肌醇调节胞内 Ca²⁺,加强兴奋性传递。mGluR2/3 位于 AST 突触前膜,通过改变胞内环一磷酸腺苷水平负向调节神经元兴奋性。研究证实, mGluR2/3/5 在癫痫海马组织表达均升高。推测, mGluR2/3 表达升高可能是为了减少病理性神经元

活动的代偿反应,而 mGluR-5 表达升高则可能是为了加强兴奋性传递^[4]。应用 mGluR-5 和 NR2B NM-DA 受体拮抗剂,可抑制 Glu 释放和 NMDA 受体的活性,逆转癫痫造成的神经元死亡。另外, mGluR2 AMPA 受体表达下降,而 AMPA 受体主要针对 Ca²⁺ 渗透起作用,表明癫痫发作时 AST 处理胞内 Ca²⁺ 的能力减弱。

离子型谷氨酸受体(ionotropic glutamate receptor, iGluR)通过促进阳离子进入细胞,尤其是 Ca²⁺ 和 Na⁺。实验证实 iGluR 在癫痫海马组织处于高水平^[4],说明其可能通过使阳离子进入细胞兴奋突触后通路。

2.2 γ -氨基丁酸

GABA 是重要的抑制性神经递质,当脑内 GABA 含量低于 40% 时可引起自发性癫痫。Glu 在 GABA 合酶和脱羧酶的作用下生成 GABA,通过 Cl⁻ 内流而导致突触后电位超级化,抑制癫痫发作^[17]。另外,维生素 B6 作为辅基参与 GABA 合成及代谢过程,因此,维生素 B6 缺乏可致兴奋性传导。

在动物实验中,用药物,如青霉素、茛菪己碱或荷包牡丹碱,阻滞 GABA 抑制功能可引起神经元病样放电及动物部分性发作。因此,凡能抑制脱羧酶活性、降低 GABA 及其受体数目,均可导致神经元的兴奋性增高而点燃癫痫。有报道,八肽胆囊收缩素(CCK-8)神经递质可抑制癫痫发作,其机制可能是 CCK-8 促使神经元释放 GABA 的作用。

3 腺苷

Glu 通过与 mGluR 结合,导致第二信使产生,如 Ca²⁺,当 Ca²⁺ 积聚到一定水平便会引起 AST 释放三磷酸腺苷(adenosine-triphosphate, ATP),引发突触后神经元活性改变。其中 ATP 通过 P2 受体直接兴奋神经元活动,一旦水解成腺苷则通过兴奋突触前 A1 受体引起突触前抑制^[18],防止神经元过度兴奋,若这种兴奋与抑制作用失调,则可引起神经元异常过度兴奋,触发癫痫发作。

腺苷在腺苷激酶(adenosine kinase, ADK)作用下磷酸化生成 AMP。研究发现癫痫老鼠海马区可见大量 ADK 阳性细胞,且 ADK 活性增加,给予少量 ADK 抑制剂则可显著减少病样放电,这说明 ADK 的过度表达与癫痫发作过程密切相关。大量实验证实: ADK 抑制剂可明显抑制癫痫发作;抑制海马脑区 ADK 可明显增加内源性腺苷浓度。因此推断,凡是能增加腺苷水平的物质,均具有抑制癫

痫活动作用。

生理条件下,AST释放至囊泡的ATP是突触腺苷的主要来源,并经腺苷平衡核转运体(ENT)重吸收。ENT有四种亚型:ENT1~ENT4,其中ENT1、ENT2主要表达在AST,且ENT1对ENT抑制剂NBMPR敏感性较ENT2强1000倍。研究证实ENT1表达与ADK表达呈正相关,抑制ENT1的转运可减少ADK对腺苷的代谢,从而起到抗癫痫的作用^[19]。也有报道ADK在癫痫发作时表达上调,负性调节脑内局灶腺苷水平,而敲除ADK基因则癫痫发作受抑^[20]。这为癫痫发病机制“ADK假说”提供了有力证据。

总之,ADK是腺苷水平的关键调节物,也是腺苷受体上调的控制点。目前,发展基因治疗,促使内源性腺苷恢复到神经保护水平成为癫痫新的治疗途径。

4 细胞因子

在中枢神经系统内,TNF- α 主要由AST产生,并且主要作用于AST,当与其受体(主要为p65,即TNFR1)结合,通过级联反应活化核转录因子- κ B(nuclear factor,NF- κ B),启动含有NF- κ B结合序列的基因转录。

已证实IL-1可通过降低Glu转运体的活性,减少谷氨酰胺的产生,间接导致Glu合成减少;IL-1 β 和高迁移率组蛋白1(high mobility group box-1 protein,HMGB1)主要通过使N-甲基-D-天冬氨酸2B(N-methyl-D-aspartate,NMDA2B)受体磷酸化而发挥促痫性作用^[2,10],IL-1 β 降低减少癫痫发作潜伏期,延长发作持续时间^[22],IL-1 β 受体拮抗剂则可抑制癫痫发作程度;某些细胞因子,参与炎症性癫痫的发生^[23]。总之,细胞因子参与癫痫不同发病过程。

越来越多证据也证实转化生长因子- β (transforming growth factor- β ,TGF- β)参与癫痫的病理生理,TGF- β 与受体结合,激活TGF- β 信号通路,促使细胞合成p15与p21蛋白,而这两种蛋白会抑制细胞周期蛋白:CDK复合体。研究用蛋白印迹技术发现颞叶癫痫患者COX-2、NF- κ B及TGF- β 显著增加^[4]。

5 缝隙连接

缝隙连接(gap junction,GJ)是位于相邻细胞(同类或不同类)膜上的跨膜通道,便于葡萄糖交换和胞外K⁺缓冲。

在正常脑组织里,AST离散分布,很少重叠及

交错接合。动物实验证实,在癫痫发作时,AST失去原有的离散分布结构,广泛相互交错接合,且偶联程度加强,这为癫痫发作所需代谢底物提供方便。而抑制GJ却不会改变膜电流,说明GJ可能是AST固有特性^[5]。

近年来比较关注由Cx43和Cx30组成的GJ在癫痫中的作用。研究证实,敲除缝隙连接蛋白可使癫痫阈值下降,但GJ耦合过强同时也会激发痫样活动,促进全面性癫痫发生。用免疫印迹技术证实癫痫动物海马组织Cx43表达显著增加,而Cx30表达却轻微下降。同样,在脑缺血损伤及化学所致脑损伤的胶质瘢痕中,Cx43表达也增加^[5]。兰莉等^[24]证实致痫大鼠海马区Cx32、Cx43表达增加,用甘珀酸处理后,表达量下降。BBB破坏和白蛋白依赖的癫痫发作都会伴随缝隙连接蛋白的短暂下降,这与GJ在调节K⁺水平和减少痫样活动中的作用一致。然而,有研究用Cx43模拟肽抑制GJ,自发性癫痫发作却未明显减弱,对于具体机制仍待研究。

目前确定的GJ参与癫痫机制有:GJ允许细胞间离子直接交换,使神经元活动快速同步化,癫痫敏感性增强^[25];参与第二信使(Ca²⁺、cAMP、IP3等)、兴奋性氨基酸及自由基等代谢产物传递;在某些病理条件下,神经元与AST间GJ数目增多和偶联程度增强,促使AST和远隔神经元异常兴奋^[26]。

综上所述,AST在癫痫发病过程中具有重要的保护作用。但是,目前关于癫痫发病机制的研究大多数实验结果来自于实验动物模型或者离体组织,与人体真实情况还有很大差距。另外,对于一些发病机制仍处于假设阶段,还需进一步探索。相信随着神经生物学、分子生物学、分子遗传学等许多新生学科的发展及各种新技术、新方法的应用,人类对癫痫机制的了解将不断深入,并寻找出新的癫痫治疗药物及其他治疗方法,为癫痫患者送来福音。

参 考 文 献

- [1] Seifert G,Steinhauser C. Neuron-astrocyte signaling and epilepsy. *Exp Neurol*,2013,244:4-10.
- [2] Friedman A,Kaufer D,Heinemann U. Blood-brain barrier breakdown-inducing astrocytic transformation: Novel targets for the prevention of epilepsy. *Epilepsy Res*,2009,85(2-3):142-149.
- [3] Seifert G,Carmignoto G,Steinhauser C. Astrocyte dysfunction in epilepsy. *Brain Res Rev*,2010,63(1-2):212-221.

- [4] Das A , Wallace IV GC , Holmes C , et al. Hippocampal tissue of patients with refractory temporal lobe epilepsy is associated with astrocyte activation , inflammation , and altered expression of channels and receptors. *Neuroscience* , 2012 , 220 : 237-246.
- [5] Takahashi DK , Vargas JR , Wilcox KS. Increased coupling and altered glutamate transport currents in astrocytes following kainic-acid-induced status epilepticus. *Neurobiol Dis* , 2010 , 40 (3) : 573-585.
- [6] Jukkola P , Gu C. Regulation of neurovascular coupling in autoimmunity to water and ion channels. *Autoimmun Rev* , 2015 , 14 (3) : 258-267.
- [7] Binde DK , Yao XM , Zador Z , et al. Increased seizure duration and slowed potassium kinetics in mice lacking aquaporin-4 water channels. *Glia* , 2006 , 53 (6) : 631-636.
- [8] 唐铁钊 , 肖波 , 李国良 , 等. 颞叶癫痫大鼠海马 AQP4 mRNA 和其蛋白的表达变化. *卒中与神经疾病* , 2006 , 13 (1) : 3-5; 29.
- [9] Perez EL , Lauritzen F , Wang Y , et al. Evidence for astrocytes as a potential source of the glutamate excess in temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis* , 2012 , 47 (3) : 331-337.
- [10] Karki P , Smith K , Johnson J , et al. Genetic Dys-regulation of Astrocytic Glutamate Transporter EAAT2 and its Implications in Neurological Disorders and Manganese Toxicity. *Neurochem Res* , 2015 , 40 (2) : 380-388.
- [11] 陈忠 , 孙红柳. 星形胶质细胞在癫痫发病中的作用. *浙江大学学报* , 2013 , 43 (3) : 245-252.
- [12] Kong Q , MChang LC , Takahashi K , et al. Small-molecule activator of glutamate transporter EAAT2 translation provides neuroprotection. *J Clin Invest* , 2014 , 124 (3) : 1255-1267.
- [13] 罗景华 , 任榕娜 , 杨朋范. 颞叶内侧癫痫患者胶质细胞中 GFAP、GLAST 和 GLT-1 的表达. *国际神经病学神经外科学杂志* , 2009 , 36 (6) : 475-478.
- [14] Campbell SL , Hablitz J. Decreased glutamate transport enhances excitability in a rat model of cortical dysplasia. *Neurobiol Dis* , 2008 , 32 (2) : 254-261.
- [15] Cotrina ML , Chen M , Han X , et al. Effects of traumatic brain injury on reactive astrogliosis and seizures in mouse models of Alexander disease. *Brain Res* , 2014 , 1582 : 211-219.
- [16] Eid T , Williamson A , Lee TSW , et al. Glutamate and astrocytes-Key players in human mesial temporal lobe epilepsy ? *Epilepsia* , 2008 , 49 : 42-52.
- [17] 唐于荔 , 王文敏 , 俞志鹏. 原发性全面性癫痫综合征与氯离子通道. *国际神经病学神经外科学志* , 2011 , 38 (3) : 295-299.
- [18] Amiri M , Bahrami F , Janahmadi M. On the role of astrocytes in epilepsy: a functional modeling approach. *Neurosci Res* , 2012 , 72 (2) : 172-180.
- [19] 谭利明 , 刘飞. 星形胶质细胞介导的 ENT1 及 ADK 在颞叶癫痫大鼠海马中的动态表达及相关性研究. *中国康复医学会脑血管病专业委员会换届暨第十五次全国脑血管病康复学术年会、湖南省康复医学会神经康复专业委员会 2012 学术年会论文集* , 2012 , 324.
- [20] Li T , Ren G , Lusardi T , et al. Adenosine kinase is a target for the prediction and prevention of epileptogenesis in mice. *J Clin Invest* , 2008 , 118 (2) : 571-582.
- [21] 邹雪梅 , 洪桢 , 周东. 抗炎性药物在癫痫治疗中的潜在作用. *国际神经病学神经外科学杂志* , 2012 , 39 (6) : 549-553.
- [22] Chiavegato A , Zurolo E , Losi G , et al. The inflammatory molecules IL-1 beta and HMGB1 can rapidly enhance focal seizure generation in a brain slice model of temporal lobe epilepsy. *Front Cell Neurosci* , 2014 , 8 : 155.
- [23] Aronica E , Crino PB. Inflammation in epilepsy: Clinical observations. *Epilepsia* , 2011 , 52 : 26-32.
- [24] 兰莉 , 兰怡 , 段丽 , 等. 戊四氮点燃癫痫大鼠海马 Cx32 和 Cx43 表达及甘珀酸对其表达的影响. *西安交通大学学报* , 2013 , 34 (4) : 470-473.
- [25] Xi HY , Cui Y , Deng F , et al. Connexin: a potential novel target for protecting the central nervous system? *Neural Regen Res* , 2015 , 10 (4) : 659-666.
- [26] Dere E , Zlomuzica A. The role of gap junctions in the brain health and disease. *Neurosci Biobehav Rev* , 2012 , 36 (1) : 206-217.