

血脑屏障与癫痫的相互作用及机制研究进展

范真 陈程 综述 孙红斌 审校

四川省人民医院神经内科 四川省成都市 610072

摘要: 既往研究普遍认为血脑屏障的损害可由中枢神经系统的疾病(包括癫痫)造成。然而随着对癫痫发病机制研究的深入,越来越多的研究表明,血脑屏障的破坏也是诱发癫痫发作的重要致病因素。本文就血脑屏障在癫痫发生发展中的作用及机制进行综述。

关键词: 血脑屏障; 癫痫; 葡萄糖转运蛋白 1; 基质金属蛋白酶-9

既往研究表明血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)的损害可由中枢神经系统的疾病(包括癫痫)造成。然而,随着对癫痫发病机制研究的深入,越来越多的研究证实,血脑屏障的破坏也是促使癫痫发作的重要致病因素^[1-9]。本文就血脑屏障破坏参与癫痫发生发展的作用及机制进行综述。

1 癫痫对血脑屏障的影响

Ehrlich^[10]在1885年通过向血管内注射染色剂第一次阐明了脑血管相对不通透性,其他研究者也使用此方法测定了血脑屏障的渗透性,由于使用了染色剂或标记物,血脑屏障的渗透情况能通过电子显微镜、光学显微镜或体内成像检测。癫痫能影响血脑屏障自1960年就为人所知^[11]。用伊文氏蓝、辣根过氧化物酶或荧光素检测血脑屏障受损情况后发现,以上示踪剂在药物诱发癫痫急性发作5~30 min后,即可出现在动物大脑的一些区域。动物的血脑屏障渗漏普遍出现在癫痫发作数分钟后,并可持续数小时至数天^[6, 12-14]。在颞叶癫痫动物模型中,血脑屏障渗透发生在许多大脑区域,包括海马、内嗅皮质、梨状皮质、丘脑、杏仁体、隔膜、梨状核和黑质等部位,这些区域在癫痫发作急性期采用fMRI可监测到代谢增高^[15-17]。在临床研究中也得到了相似的结论,将血浆清蛋白作为血脑屏障渗透性的指标, van Vliet等^[18]用免疫组化技术对示踪标记的血浆清蛋白进行观察,发现癫痫持续状态和颞叶癫痫患者海马区有大量清蛋白在血管外沉积。

研究通常关注于癫痫持续状态后的血脑屏障破坏情况,而对自发性癫痫研究较少。

由于癫痫持续状态模型的自发性抽搐发生在

数天至数周的潜伏期后,故对于癫痫发作对血脑屏障渗透性影响的研究应在癫痫慢性期进行,以最大程度降低癫痫持续状态对血脑屏障的影响。磁共振及放射自显影法显示癫痫持续状态后早期出现的血脑屏障破坏情况,但无法检测到慢性期自发性癫痫较少的渗漏^[18, 19]。van Vliet^[6]等利用荧光素结合高分辨率共聚焦显微镜表明,大鼠癫痫持续状态后的慢性期自发性发作后亦可出现血脑屏障渗漏,且在大鼠的梨状皮质区,血脑屏障渗漏还与自发性癫痫的频率相关。这些资料显示,癫痫的反复发作造成了病灶血脑屏障破坏,其可能是癫痫病情持续的原因。

2 血脑屏障受损对癫痫的影响

既往研究表明,在癫痫发作急性期以及自发性发作的慢性期均可出现血脑屏障通透性改变。但在脑外伤癫痫模型中,尚未出现癫痫发作的潜伏期也可检测到血脑屏障的破坏,而癫痫在随后的某个时间点才出现^[20]。Seiffert^[7, 21]等用胆汁盐作用于小鼠大脑皮质层以及给予颈动脉内注射高渗甘露醇来破坏小鼠的血脑屏障,胆汁盐作用于正常小鼠大脑皮质层并没有立即引起癫痫,注射高渗甘露醇的小鼠也没有立即表现出癫痫发作,但脑部荧光素渗出表明,以上实验小鼠血脑屏障均被破坏。同样,在临床研究中, Tomkins等^[8]在对32例颅脑外伤患者(17例为外伤后癫痫)研究发现,76.9%的外伤后癫痫患者出现了血脑屏障通透性增高,而非癫痫患者只有33.3%有血脑屏障通透性增高,其中70%癫痫患者异常慢波活动来源与血脑屏障受损区域一致。以上结果表明,血脑屏障受损不会总

收稿日期:2015-03-26; 修回日期:2015-06-08

作者简介:范真(1988-),男,硕士研究生,主要从事癫痫疾病研究。

通讯作者:孙红斌,主任医师,硕士研究生导师,主要从事癫痫基础和临床研究。Email:2332289243@qq.com。

是立即引起癫痫,但其可能在癫痫发作中起到了一定作用^[8,9]。

血脑屏障渗漏持续到癫痫模型的慢性期,虽然定量检测显示,癫痫发作间期,多数脑区域脑屏障渗漏逐渐减少,渗漏程度较急性期相比减轻,但能持续数周至数月^[6,13]。耐药性癫痫患者病灶切除组织用白蛋白免疫组化法检测显示其血脑屏障受损^[22,23]。血脑屏障损伤与癫痫发生及癫痫慢性期严重程度呈正相关^[6,24]。van Vliet等^[6]用甘露醇破坏慢性癫痫小鼠的血脑屏障,能进一步增加癫痫发作频率,但癫痫频率的改变不是立即而是于血脑屏障损伤后数天逐渐出现,提示血脑屏障破坏会降低癫痫发作阈值,从而增加发作频率。一项对创伤后癫痫的研究证实了以上观点,该群患者的血脑屏障渗透性呈持续性升高,并出现异常脑电波活动增加的现象^[9]。切除血脑屏障损伤的癫痫病灶进行研究,发现该病灶相比白蛋白渗出较少的组织有更多的活动性棘波^[25]。以上资料表明,血脑屏障渗漏与癫痫发生相关,且对病变脑组织来说,血脑屏障受损会恶化癫痫病情。

3 血脑屏障破坏参与癫痫发生的机制

3.1 血脑屏障破坏与白蛋白

血脑屏障破坏后血清白蛋白的外溢可能是癫痫发生的重要因素。既往研究表明创伤性脑损伤和癫痫持续状态后出现自发性癫痫的风险极高,而临床实验证实创伤性脑损伤和癫痫持续状态后,血液中丰富的白蛋白可透过血脑屏障出现在脑实质中^[7,26]。同时在人类及癫痫动物模型的慢性癫痫发作期也可检测到白蛋白渗漏^[6,14],该蛋白可能导致癫痫发作阈值降低从而诱导受影响区域的痫样放电^[27,28]。该结论在Frigerio等^[29]的研究中也得到了证实,该学者将白蛋白注入大鼠侧脑室,该群大鼠还表现出低剂量致病剂海仁酸即诱发癫痫样发作的倾向。其主要机制可能为:①白蛋白能与星型胶质细胞上的转化生长因子受体(transforming growth factor- β receptor, TGF- β R)相结合,导致内向整流钾通道和水通道蛋白等离子通道表达下调,对细胞外钾离子的缓冲减少,导致兴奋性氨基酸NMDA受体介导的神经元过度兴奋并最终出现癫痫发作^[30]。②白蛋白可致星型胶质细胞活化,可通过直接释放谷氨酸和调节谷氨酸的代谢及重摄取增加细胞外谷氨酸的浓度,进一步激活NMDA受体,导致神经元同步去极化放电及痫性发作^[31]。

3.2 血脑屏障破坏与炎症反应

既往研究表明,血脑屏障的破坏可使脑组织暴露于免疫系统,产生一系列抗脑组织抗体,破坏脑组织,激活胶质细胞,产生了明显的炎症反应,使神经元兴奋性增高,从而导致癫痫发作^[2]。同时,癫痫发作也可导致白介素家族、肿瘤坏死因子、高迁移率族蛋白B1、环氧合酶、黏附分子等不同程度的增高,而这些因子都可对血脑屏障造成损害^[4-6]。近年来癫痫相关的细胞炎症因子研究较多的有白细胞介素(IL)、肿瘤坏死因子(TNF- α)及转化生长因子(TGF- β)等。Haspolat等^[32]通过对小儿癫痫病患者外周血和脑脊液检测后发现IL-1的水平有所增加,提示IL-1的增高与癫痫的发作有关。有学者对癫痫模型动物造模前使用IL-1受体拮抗剂抑制了血液中白细胞活化和IL-1水平升高,使血脑屏障免于破坏,阻止匹罗卡品所致的癫痫持续状态发生^[33]。Tian等^[34]研究发现IL-1、TNF- α 可以通过促进NMDA受体的激活,介导神经元内Ca²⁺升高,从而使神经元兴奋性提高,导致癫痫发生。外周血白细胞通过细胞间黏附分子1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM1)和血管细胞黏附分子1(vascular cell adhesion molecule 1, VCAM1)作用渗透入脑,此机制也与血脑屏障破坏和癫痫发生相关。Fabene等^[35]用特异性抗体和遗传学方法封闭颞叶癫痫模型小鼠P选择糖蛋白配体1(P selectin glycoprotein in ligand 1, PSGL1)后,阻止了白细胞与血管内皮黏附,降低了BBB通透性,显著减少了小鼠癫痫形成和发作次数。

3.3 血脑屏障破坏与葡萄糖转运蛋白1

葡萄糖通过位于血脑屏障上的毛细血管内皮细胞膜上的葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter protein-1, GLUT-1)转运入脑,以保证大脑的能量代谢。葡萄糖转运蛋白1缺乏综合征,GLUT-1基因突变导致了表达在血脑屏障上的葡萄糖转运体数量减少或部分丧失功能,葡萄糖不能有效地通过血脑屏障,使得脑组织长期缺乏能量供给,脑发育出现障碍,最终导致癫痫发生^[36]。给予酮体可作为供应脑细胞代谢的燃料,可改善癫痫的发作情况。Cornford等^[37]研究通过示踪剂PET显像发现,葡萄糖转运蛋白1在癫痫灶及周边区域的血管内皮细胞中表达下调,提示癫痫的发生与可能与血脑屏障上GLUT-1表达减少有关。

3.4 血脑屏障破坏与基质金属蛋白酶-9

血脑屏障的主要结构为毛细血管内皮细胞及其紧密连接,紧密连接由各种跨膜蛋白通过 ZO-1 (zonula occludens-1) 将它们连接于细胞骨架上,所以 ZO-1 在紧密连接的组成中居于核心地位。基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinases 9, MMP-9) 其定位于神经元、血管内皮细胞及胶质细胞,可通过降解 ZO-1 破坏 BBB 结构^[38]。Li 等^[39] 对癫痫发作后 24 h 内患者的脑脊液进行了采集,并测定了 MMP-9 以及白蛋白的浓度,结果表明癫痫患者的 MMP-9 表达明显高于非癫痫患者,且其浓度与白蛋白的渗出量相关,提示 MMP-9 对血脑屏障的破坏作用,研究还发现 MMP-9 可促进脑源性神经营养因子的过度表达,而过量脑源性神经营养因子可诱发癫痫。Xu 等^[40] 进一步对癫痫持续状态后患者血清 MMP-9 的浓度也进行了测定,结果表明其浓度也高于非癫痫患者。Ranaivo 等^[41] 研究表明,渗出的白蛋白可通过丝裂原激活蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 等途径,诱导了胶质细胞以及内皮细胞中 MMP-9 表达,而过度表达 MMP-9 会进一步破坏血脑屏障,导致中枢神经系统疾病的急性期和长期损害。

4 展望

癫痫可导致血脑屏障受损,而多种致病因素均可造成血脑屏障的破坏引起癫痫发作或加重癫痫患者病情。对血脑屏障破坏参与癫痫发病机制的进一步深入研究,尤其在临床方面,可为研究及制定新的防治癫痫策略提供新的依据。

参 考 文 献

- [1] Friedman A. Blood-brain barrier dysfunction, status epilepticus, seizures, and epilepsy: a puzzle of a chicken and egg? *Epilepsia*, 2011, 52 (Suppl. 8): 19-20.
- [2] 余年,狄晴. 炎症反应与癫痫. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2009, 36(4): 341-344.
- [3] Marchi N, Granata T, Ghosh C. Blood-brain barrier dysfunction and epilepsy: pathophysiologic role and therapeutic approaches. *Epilepsia*, 2012, 53: 1877-1886.
- [4] Fabene PF, Laudanna C, Constantin G. Leukocyte trafficking mechanisms in epilepsy. *Mol Immunol*, 2013, 55(1): 100-104.
- [5] Vezzani A, Maroso M, Balosso S, et al. IL-1 receptor/Toll-like receptor signaling in infection, inflammation, stress and neurodegeneration couples hyperexcitability and seizures. *Brain Behav Immun*, 2011, 25(7): 1281-1289.
- [6] Lorigados Pedre L, Morales Chacón LM, Orozco Suárez S, et al. Inflammatory mediators in epilepsy. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(38): 6766-6772.
- [7] Dubois LG, Campanati L, Righy C. Gliomas and the vascular fragility of the blood brain barrier. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 418.
- [8] Tomkins O, Shelef I, Kaizerman I, et al. blood-brain barrier disruption in post traumatic epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2008, 79(7): 774-777.
- [9] Tomkins O, Feintuch A, Benifla M, et al. Blood-brain barrier breakdown following traumatic brain injury: a possible role in post-traumatic epilepsy. *Cardiovasc Psychiatry Neurol*, 2011, 2011: 765923.
- [10] Ehrlich P. *Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Eine farbanalytische Studie.* Berlin: Hirschwald-Verlag; 1885.
- [11] Jasper HH. Physiopathological mechanisms of post-traumatic epilepsy. *Epilepsia*, 1970, 11: 73-80.
- [12] Michalak Z, Sano T, Engel T, et al. Spatio-temporally restricted blood-brain barrier disruption after intra-amygdala kainic acid-induced status epilepticus in mice. *Epilepsy Res*, 2013, 103: 167-179.
- [13] van Vliet EA, Otte WM, Gorter JA, et al. Longitudinal assessment of blood-brain barrier leakage during epileptogenesis in rats. A quantitative MRI study. *Neurobiol Dis*, 2014, 63: 74-84.
- [14] Marchi N, Granata T, Janigro D. Inflammatory pathways of seizure disorders. *Trends Neurosci*, 2014, 37(2): 55-65.
- [15] Pereira de Vasconcelos A, Mazarati AM, Wasterlain CG, et al. Self-sustaining status epilepticus after a brief electrical stimulation of the perforant path: a 2-deoxyglucose study. *Brain Res*, 1999, 838: 110-118.
- [16] Handforth A, Treiman DM. Functional mapping of the late stages of status epilepticus in the lithium-pilocarpine model in rat: a 14C-2-deoxyglucose study. *Neuroscience*, 1995, 64: 1075-1089.
- [17] Ding Y, Chen B, Glielmi C, et al. A pilot study in epilepsy patients using simultaneous PET/MR. *Am J Nucl Med Mol Imaging*, 2014, 4(5): 459-470.
- [18] van Vliet EA, da Costa Araújo S, Redeker S, et al. Blood-brain barrier leakage may lead to progression of temporal lobe epilepsy. *Brain*, 2007, 130 (Pt 2): 521-534.
- [19] Vaughan DN, Jackson GD. The piriform cortex and human focal epilepsy. *Front Neurol*, 2014, 5: 259.
- [20] Weissberg I, Wood L, Kamintsky L, et al. Albumin induces excitatory synaptogenesis through astrocytic TGF- β /ALK5 signaling in a model of acquired epilepsy following blood-brain barrier dysfunction. *Neurobiol Dis*, 2015, 78: 115-125

- [21] van Vliet EA , Zibell G , Pekcec A , et al. COX-2 inhibition controls P-glycoprotein expression and promotes brain delivery of phenytoin in chronic epileptic rats. *Neuropharmacology* , 2010 , 58: 404-412.
- [22] Chassidim Y , Veksler R , Lublinsky S , et al. Quantitative imaging assessment of blood-brain barrier permeability in humans. *Fluids Barriers CNS* , 2013 , 10: 9.
- [23] Michalak Z , Lebrun A , Di Miceli M , et al. IgG leakage may contribute to neuronal dysfunction in drug-refractory epilepsies with blood-brain barrier disruption. *J Neuropathol Exp Neurol* , 2012 , 71: 826-838.
- [24] Marchi N , Fan Q , Ghosh C , et al. Antagonism of peripheral inflammation reduces the severity of status epilepticus. *Neurobiol Dis* , 2009 , 33: 171-181.
- [25] Cornford EM , Hyman S , Cornford ME , et al. Inter-ictal seizure resections show two configurations of endothelial Glut1 glucosetransporter in the human blood-brain barrier. *J Cereb Blood Flow Metab* , 1998 , 18: 26-42.
- [26] Bar-Klein G , Cacheaux LP , Kamintsky L , et al. Losartan prevents acquired epilepsy via TGF-beta signaling suppression. *Ann Neurol* , 2014 , 75: 864-875.
- [27] Cacheaux LP , Ivens S , David Y , et al. Transcriptome profiling reveals TGF-beta signaling involvement in epileptogenesis. *J Neurosci* , 2009 , 29: 8927-8935.
- [28] Lapilover EG , Lippmann K , Salar S , et al. Peri-infarct blood-brain barrier dysfunction facilitates induction of spreading depolarization associated with epileptiform discharges. *Neurobiol Dis* , 2012 , 48: 495-506.
- [29] Frigerio F , Frasca A , Weissberg I , et al. Long-lasting pro-ictogenic effects induced in vivo by rat brain exposure to serum albumin in the absence of concomitant pathology. *Epilepsia* , 2012 , 53: 1887-1897.
- [30] Benarroch EE. Astrocyte-neuron interactions: implications for epilepsy. *Neurology* , 2009 , 73(16) : 1323-1327
- [31] Eid T , Ghosh A , Wang Y , et al. Recurrent seizures and brain pathology after inhibition of glutamine synthetase in the hippocampus in rats. *Brain* , 2008 , 131: 2061-2070.
- [32] Haspolat S. Interleukin-1 beta , tumor necrosis factor-alpha , and nitrite levels in febrile seizures. *J Child Neurol* , 2002 , 17(10) : 749-751.
- [33] Marchi N , Fan QY , Ghosh C , et al. Antagonism of peripheral inflammation reduces the severity of status epilepticus. *Neurobiol Dis* , 2009 , 33(2) : 171-181.
- [34] Fabene PF , Navarro Mora G , Martinello M , et al. A role for leukocyte-endothelial adhesion mechanisms in epilepsy. *Nat Med* , 2008 , 14: 1377-1383.
- [35] Fabene PF. A Role For Leukocyte-Endothelial Adhesion Mechanisms In Epilepsy. *Nat Med* , 2008 , 14(12) : 1377-1383.
- [36] Cornford EM , Hyman S , Black KL , et al. High expression of the Glut1 glucose transporter in human brain hemangioblastoma endothelium. *J Neuropathol Exp Neurol* , 1995 , 54: 842-851
- [37] De Vivo DC , Leary L , Wang D. Glucose transporter 1 deficiency syndrome and other glycolytic defects. *J Child Neurol* , 2002 , 17: 3S15-3S23.
- [38] Min H , Hong J , Cho IH , et al. TLR2-induced astrocyte MMP9 activation compromises the blood brain barrier and exacerbates intracerebral hemorrhage in animal models. *Mol Brain* , 2015 , 8: 23.
- [39] Li YJ , Wang ZH , Bei Z , et al. Disruption of the blood-brain barrier after generalized tonic-clonic seizures correlates with cerebrospinal fluid MMP-9 levels. *Journal of Neuroinflammation* , 2013 , 10(28) : 151-160.
- [40] Xu B , Michalski B , Racine RJ , et al. The effects of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) administration on kindling induction , Trk expression and seizure-related morphological changes. *Neuroscience* , 2004 , 126: 521-531.
- [41] Ralay Ranaivo H , Hodge JN , Choi N , et al. Albumin induces upregulation of matrix metalloproteinase-9 in astrocytes via MAPK and reactive oxygen species-dependent pathways. *J Neuroinflammation* , 2012 , 9: 68.