

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.06.013  
文章编号: 1005-8982(2019)06-0057-04

## GABAARG2 基因单核苷酸多态性 与儿童癫痫易感性的关系

尹明姬, 李香丹, 崔允美, 池永学, 李今子  
(延边大学附属医院 儿科, 吉林 延边 133002)

**摘要: 目的** 对我国北方地区汉族儿童 GABAARG2 基因 C588T 单核苷酸多态性与癫痫易感性的关系进行研究。**方法** 选取 2013 年 3 月—2018 年 6 月于延边大学附属医院儿科门诊和 / 或住院治疗的 189 例癫痫患儿作为研究对象。根据癫痫发作类型分为部分性发作组和全面性发作组, 同时选择 113 例非癫痫儿童作为对照组。收集研究对象一般临床资料, 提取外周血基因组 DNA, 采用 PCR 扩增后基因测序鉴定 GABAARG2 基因 C588T 多态性, 测定该位点基因型频率和等位基因频率, 并进行统计学分析。**结果** 3 组患儿平均病程、24 h 脑电图中度以上异常比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。3 组患者 CC、CT 和 TT 基因型比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 3 组患者等位基因 C、T 频率比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。相比与 CC 基因型, CT 基因型引发癫痫的风险是其 2.127 倍, TT 基因型则为 3.926 倍; 相比 C 等位基因, T 等位基因引发癫痫的风险是其 2.191 倍。**结论** GABAARG2 基因 C588T 单核苷酸多态性与儿童癫痫的易感性有关。

**关键词:** 癫痫; 儿童; GABAARG2 基因 / 基因; 多态性, 单核苷酸

**中图分类号:** R34

**文献标识码:** A

## Association between single nucleotide polymorphisms of GABAARG2 gene and susceptibility to epilepsy in children

Ming-ji Yin, Xiang-dan Li, Yun-mei Cui, Yong-xue Chi, Jin-zi Li

(Department of Paediatrics, the Affiliated Hospital of Yanbian University, Yanbian, Jilin 133002, China)

**Abstract: Objective** To investigate the association between the C588T single nucleotide polymorphism of GABAARG2 gene and epilepsy susceptibility in Han children in northern China. **Methods** A total of 189 children with epilepsy who came to our pediatric clinic and/or hospitalization from March 2013 to June 2018 were selected as subjects. According to the types of epileptic seizures, subjects were divided into partial seizure group ( $n = 107$ ) and generalized seizure group ( $n = 82$ ). At the same time, 113 non-epileptic children were selected as control group. General clinical data of all patients were collected. Genomic DNA was extracted from peripheral blood of all subjects, and the C588T polymorphism of GABAARG2 gene was identified by PCR amplification. Genotype and allele frequencies of this locus were determined and analyzed statistically. **Results** There were significant differences in the average course of disease and abnormal EEG at 24 hours in three groups ( $P < 0.05$ ). There were significant differences in genotypes of CC, CT and TT and allele C and T frequencies in three groups ( $P < 0.05$ ). Compared with CC genotype, the risk of epilepsy induced by CT genotype was 2.127 times (95% CI: 1.23, 3.615,  $P < 0.05$ ) and TT

收稿日期: 2018-10-06

\* 基金项目: 吉林省卫生技术创新项目 (NO: 2017J097)

[ 通信作者 ] 李今子, E-mail: yzjli329@163.com

genotype was 3.926 times (95% CI: 2.019, 7.51,  $P < 0.05$ ). Compared with the C allele, the risk of epilepsy induced by T allele was 2.191 times (95% CI: 1.554, 3.094,  $P < 0.05$ ). **Conclusions** The single nucleotide polymorphism of GABAARG2 gene C588T is associated with susceptibility to epilepsy in children.

**Keywords:** epilepsy; child; GABAARG2 gene/ genes; polymorphism, single nucleotide

癫痫是神经系统常见疾病, 其发病率与年龄有关, <1 岁发病率最高, 其次为 1 ~ 10 岁。癫痫的发病类型众多, 病因非常复杂, 其发生、发展及易感的倾向性尚不十分明确<sup>[1]</sup>。相关研究显示, 全面性癫痫伴热性惊厥叠加综合征的形成可能与 GABAARG2 基因变异或表达下调有关, 而热性惊厥的易感因素有可能是 GABAARG2 基因 C588T 单核苷酸多态性<sup>[2-3]</sup>。GABAARG2 是  $\gamma 2$  的编码基因, 包括 9 个外显子和 8 个内含子<sup>[4]</sup>。癫痫是一种存在遗传倾向的疾病, 但是目前国内鲜有研究报道 GABAARG2 基因多态性与癫痫关系。因此, 本研究首次通过分析我国北方儿童 GABAARG2 基因 C588T 多态性与癫痫的关系, 为防治癫痫提供科学依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2013 年 3 月—2018 年 6 月于延边大学附属医院儿科门诊和 / 或住院部收治的 189 例年龄  $\leq 12$  岁的癫痫患儿作为癫痫组。纳入标准: ①符合国际抗癫痫联盟 (International League Against Epilepsy, ILAE) 关于癫痫的诊断标准<sup>[5]</sup>; ②头颅 MRI 检查 (型号: 1.5T Multiva, 荷兰皇家飞利浦电子公司)、神经系统体格检查、癫痫病史等临床资料完整。排除标准: ①由颅脑外伤、脑出血及肿瘤等颅内病变导致癫痫; ②合并恶性肿瘤或其他肝肾、精神性严重疾病。根据 ILAE 关于癫痫发作分类标准, 将癫痫组患者分为全面性发作组和部分性发作组, 分别为 82 和 107 例。选取同期于本院儿科门诊治疗的年龄  $\leq 12$  岁非癫痫儿童 113 例作为对照组, 纳入儿童均无癫痫病史、家族史及严重疾病。本研究符合相关伦理学标准, 所有儿童是我国北方地区的汉族人, 本研究已获得本院医学伦理委员会批准通过, 儿童家长均已签署知情同意书。

### 1.2 基因组 DNA 提取

抽取儿童静脉血 5 ml, 置于 EDTA 抗凝管, 提取外周血白细胞的基因组 DNA (中国上海赛默飞世尔科技有限公司), 于  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存备用。

### 1.3 单核苷酸多态性检测

依据 GABAARG2 基因 C588T 位点上下游序列进行正反向引物的设计, 正向引物: 5' -GTGTTCAATC

AGAATGTG-3', 反向引物: 5' -CAATCAGAAAGACTGCG-3', 引物均由上海生工生物工程股份有限公司合成。采用  $25\ \mu\text{l}$  PCR 反应体系, 反应如下:  $95^{\circ}\text{C}$  预变性 2 min,  $95^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,  $60^{\circ}\text{C}$  退火 30 s,  $72^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s, 共 37 个循环。所有经过琼脂糖凝胶电泳检测后的 PCR 产物送深圳华大基因科技有限公司进行基因测序。

## 1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 21.0 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用方差分析; 计数资料以率 (%) 或构成比表示, 比较用  $\chi^2$  检验; 对各组的基因型频率和等位基因频率分布进行  $\chi^2$  检验, 分析是否符合 Hardy-Weinberg 平衡,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3 组患者一般资料比较

部分性发作组男性 58 例, 女性 49 例; 平均年龄 ( $8.0 \pm 2.6$ ) 岁; 平均病程 ( $2.0 \pm 1.6$ ) 年。全面性发作组男性 49 例, 女性 33 例; 平均年龄 ( $8.2 \pm 3.1$ ) 岁; 平均病程 ( $3.5 \pm 1.1$ ) 年。对照组男性 61 例, 女性 52 例; 平均年龄 ( $7.8 \pm 3.4$ ) 岁。3 组患者的性别、年龄比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。3 组患者病程、24 h 脑电图中度以上异常比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 全面性发作组高于部分性发作组。见表 1。

### 2.2 GABAARG2 基因 C588T 位点测序结果

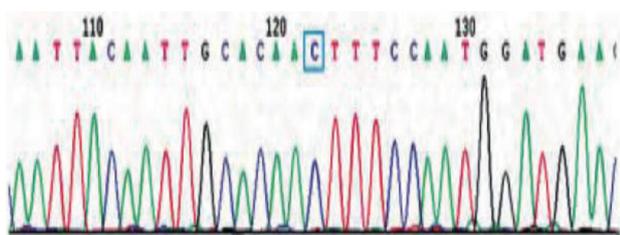
以儿童血液基因组 DNA 为模板, PCR 特异性扩增含有 GABAARG2 基因 C588T 位点的产物, PCR 产物片段长度为 296 bp, 并对各组的 PCR 扩增产物进行测序。见附图。

### 2.3 3 组患者 C588T 位点基因型频率、等位基因频率比较

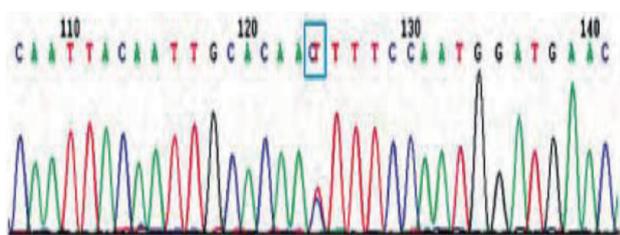
研究对象 GABAARG2 外显子 5 的 C588T 多态位点基因型和等位基因频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡。3 组患者 CC、CT 和 TT 基因型频率比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 3 组患者的等位基因 C、T 频率比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 部分性

表1 3组患者一般资料比较

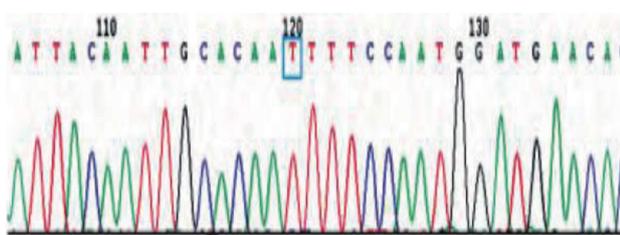
组别	n	男/女/例	平均年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$ )	平均病程/(年, $\bar{x} \pm s$ )	24h 脑电图中度以上异常例(%)
部分性发作组	107	58/49	8.0 ± 2.6	2.0 ± 1.6	21 (19.63)
全面性发作组	82	49/33	8.2 ± 3.1	3.5 ± 1.1	37 (45.12)
对照组	113	61/52	7.8 ± 3.4	0.0 ± 0.0	0 (0.00)
F/ $\chi^2$ 值		0.582	0.411	7.272	14.191
P 值		0.445	0.663	0.000	0.000



A



B



C

A: CC 纯合基因型; B: CT 杂合基因型; C: TT 纯合基因型

附图 GABAARG2 基因 C588T 位点测序图

发作组与对照组 CC、CT 和 TT 基因型频率比较, 差异有统计学意义 ( $\chi^2=13.602, P=0.001$ ); 部分性发作组与对照组等位基因 C、T 频率比较, 差异有统计学意义 ( $\chi^2=15.724, P=0.000$ ); 全面性发作组与对照组 CC、CT 和 TT 基因型频率比较, 差异有统计学意义 ( $\chi^2=12.517, P=0.002$ ); 全面性发作组与对照组等位基因 C、T 频率比较, 差异有统计学意义 ( $\chi^2=14.536, P=0.000$ ); 全面性发作组与部分性发作组 CC、CT 和 TT 基因型频率比较, 差异无统计学意义 ( $\chi^2=0.011, P=0.995$ ); 全面性发作组与部分性发作组等位基因 C、T 频率比较, 差异无统计学意义 ( $\chi^2=0.012, P=0.912$ )。见表 2。

#### 2.4 不同基因模型下 C588T 单核苷酸多态性与儿童癫痫的关系

癫痫患者中, 相比于 CC 基因型, CT 基因型引发癫痫的风险是其 2.127 倍 [(95%CI: 1.232, 3.615),  $P=0.000$ ]; 而 TT 基因型引发癫痫风险则更是 CC 基因型的 3.926 倍 [(95%CI: 2.019, 7.512),  $P=0.000$ ]; 对患者的等位基因进一步分析发现, 相比于 T 等位基因, 携带 C 等位基因其癫痫患病风险提高至 2.191 倍 [(95%CI: 1.554, 3.094),  $P=0.000$ ], 表明 GABAARG2 基因 C588T 多态性与癫痫的发生有关。

表2 3组患者 C588T 位点基因型频率、等位基因频率比较 例(%)

组别	n	基因型			等位基因	
		CC	CT	TT	C	T
部分性发作组	107	28 (26.17)	47 (43.93)	32 (29.90)	103 (48.13)	111 (51.87)
全面性发作组	82	21 (25.61)	36 (43.90)	25 (30.49)	78 (47.56)	86 (52.44)
对照组	113	54 (47.79)	43 (38.05)	16 (14.16)	151 (66.81)	75 (33.19)
$\chi^2$ 值			17.991		20.493	
P 值			0.001		0.000	

### 3 讨论

儿童和青少年是癫痫的高发人群,严重危害其身心健康和认知功能<sup>[6]</sup>。据流行病学调查显示,遗传因素是癫痫发病的重要影响因素之一,一些基因位点的变化可能提高癫痫发作的风险<sup>[7-8]</sup>。GABAAR 多态性在癫痫的用药指导中起着重要作用,其由 5 个亚基组成的多肽大分子配体门控离子通道受体,由苯二氮卓类药物识别点、GABA 识别点和氯离子门控通道组成,其亚基主要包括: $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 、 $\alpha 6$ 、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$ 、 $\beta 4$ 、 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 及 $\gamma 3$ 等<sup>[9]</sup>。

动物实验研究发现,GABAAR 亚基在抗癫痫药物敏感的大鼠与耐药组的大鼠中的表达存在差异,暗示 GABAAR 表达的变化可能与癫痫发生有关<sup>[10-11]</sup>。癫痫发作往往会改变 GABAAR 的转运及亚基表达,这些表达变化与 GABAAR 亚基类型及患者癫痫发生的状态密切相关<sup>[12-13]</sup>。

本研究对我国北方儿童人群中 *GABAARG2* 基因单核苷酸多态性进行分析,选取  $\leq 12$  岁的癫痫儿童 189 例,并选取同时期非癫痫患儿 113 例作为对照组,比较两组的一般资料发现,两组的年龄、性别无差异;全面性发作组患儿的平均病程高于部分性发作组;并且全面性发作组患儿 24 h 脑电图中度异常率高于部分性发作组;3 组患者 CC、CT 和 TT 基因型频率及等位基因 C、T 频率有差异;部分性发作组、全面性发作组与对照组 CC、CT 和 TT 基因型频率及等位基因 C、T 频率有差异;而部分性发作组与全面性发作组 CC、CT 和 TT 基因型频率及等位基因 C、T 频率无差异;对各组患者基因型进一步比较分析发现,在患儿中相比于 CC 基因型,CT 基因型引发癫痫风险是其 2.127 倍;而 TT 基因型引发癫痫风险则是 CC 基因型的 3.926 倍;对各组的等位基因进一步分析发现,相比于 T 等位基因,携带 C 等位基因其癫痫患病风险提高至 2.191 倍,这暗示着 *GABAARG2 C588T* 多态性与癫痫的发生相关,其中 C 等位基因是癫痫患病的高危因素,这与其他学者研究结果类似<sup>[14-16]</sup>。

综上所述,在我国北方儿童中 *GABAARG2* 基因 C588T 多态性与癫痫易感性相关,相比 CC 基因型,CT 和 TT 基因型均能显著提高患病风险,为理解癫痫的遗传性提供了实验依据,但 *GABAARG2* 基因

C588T 多态性的作用机制及与其他基因的相互作用还未十分清楚。

#### 参 考 文 献:

- [1] KULLMANN D M, SCHORGE S, WALKER M C, et al. Gene therapy in epilepsy-is it time for clinical trials[J]. *Nature Reviews Neurology*, 2014, 10(5): 300-304.
- [2] HAERIAN B S, BAUM L. GABRG2 rs211037 polymorphism and epilepsy: a systematic review and meta-analysis[J]. *Seizure*, 2013, 22(1): 53-58.
- [3] 张虎,杜欣娜,徐敏,等. GABAA 受体基因多态性与癫痫易感性的关系[J]. *中国老年学*, 2015(19): 5439-5441.
- [4] SALAM S M, RAHMAN H M, KARAM R A. GABRG2 gene polymorphisms in Egyptian children with simple febrile seizures[J]. *Indian Journal of Pediatrics*, 2012, 79(11): 1514-1516.
- [5] LISTED N. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures from the commission on classification and terminology of the international league against epilepsy[J]. *Epilepsia*, 1981, 22(4): 489-501.
- [6] 韦秀娟. 小儿癫痫的临床治疗与护理干预措施探讨[J]. *河北医学*, 2014(10): 1742-1744.
- [7] 陶哲,伊文霞,韩颖,等. 儿童癫痫发作的远期预后及相关因素[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2014, 46(2): 315-318.
- [8] 李国强,王剑,傅启华. 癫痫的遗传学研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2015(23): 3459-3462.
- [9] 徐敏,王菊莉,张虎. GABAA 受体亚基变异与癫痫易感性关系的研究进展[J]. *中国伤残医学*, 2014(20): 220-222.
- [10] 戚月凤,汤继宏,李岩,等. GABAA 受体  $\gamma 2$  亚单位在海人酸颞叶癫痫大鼠海马内的表达[J]. *神经损伤与功能重建*, 2015(2): 110-112.
- [11] 伍国锋,史静,洪震,等. 耐药性杏仁核点燃癫痫模型海马组织中  $\gamma$ -氨基丁酸受体表达变化[J]. *中华神经科杂志*, 2013, 46(10): 702-705.
- [12] TERUNUMA M, XU J, VITHLANI M, et al. Deficits in phosphorylation of GABA (A) receptors by intimately associated protein kinase C activity underlie compromised synaptic inhibition during status epilepticus[J]. *Journal of Neuroscience*, 2008, 28(2): 376-384.
- [13] 杜芳宇. 吡格列酮对哮喘小鼠肺组织 GABAAR $\alpha$  及 MUC5AC 表达的影响[D]. 郑州: 郑州大学, 2014(1): 33-36.
- [14] 刘昕,胡崇宇,高小平,等. 癫痫持续状态 NKCC1, GABAAR $\alpha 1$  蛋白在大鼠海马的表达及脑源性神经营养因子对其的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2015, 25(18): 1-7.
- [15] 梁维,许志恩,方洪明. GABAARG2 基因 C588T 多态性与癫痫的相关性研究[J]. *中风与神经疾病*, 2016, 33(2): 139-142.
- [16] 王加朋,梁彩艳. KCNJ10 基因 rs1890532 单核苷酸多态性与儿童癫痫易感性的相关性研究[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2017, 43(6): 336-340.

(李科 编辑)