

• 论 著 •

# GRIN1 基因单核苷酸多态性与粤西地区汉族人群癫痫的相关性研究\*

梁 维, 廖志敏<sup>△</sup>

(广东医科大学附属第一医院神经内科, 广东 湛江 524001)

**[摘要]** 目的 探讨粤西地区汉族人群谷氨酸受体离子化 NMDA1 受体基因 (GRIN1) 多态性与癫痫易感性及耐药性的相关性。方法 纳入癫痫患者 200 例 (病例组) 和健康成人 200 例 (对照组), 抽取外周静脉血提取全基因组 DNA, 检测 GRIN1 基因的 rs2301363 和 rs11146020 位点基因多态性, 其中病例组进一步分为耐药组 (52 例) 和非耐药组 (148 例), 比较各组间 GRIN1 基因 rs2301363 和 rs11146020 位点基因型及等位基因频率分布的差异。结果 病例组与对照组的 GRIN1 基因 rs2301363、rs11146020 的基因型及等位基因频率分布均存在显著差异, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 病例组 GRIN1 基因 rs2301363 位点 TT 和 CT 基因型频率明显高于对照组, 相比 CC 基因型, TT、CT 基因型增加癫痫发病的风险性 ( $OR > 1$ )。病例组 GRIN1 基因 rs11146020 位点 AG 和 AA 基因型频率明显高于对照组, 相比 GG 基因型, AG 和 AA 基因型增加癫痫发病的风险性 ( $OR > 1$ )。耐药组与非耐药组 GRIN1 基因 2 个位点基因型和等位基因频率分布比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结论 GRIN1 基因 rs2301363 和 rs11146020 位点多态性与癫痫的易感性有关, 而与癫痫耐药性无关。

**[关键词]** GRIN1 基因; 单核苷酸多态性; 癫痫; 易感性; 耐药性

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2024.14.004

中图法分类号: R742.1

文章编号: 1009-5519(2024)14-2353-04

文献标识码: A

## Correlation between single nucleotide polymorphism of GRIN1 gene and epilepsy in Han population in western Guangdong\*

LIANG Wei, LIAO Zhimin<sup>△</sup>

(Department of Neurology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524001, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the correlation between the polymorphism of glutamate receptor ionized NMDA1 receptor gene (GRIN1) and the susceptibility and drug resistance of epilepsy in Han population in western Guangdong. **Methods** A total of 200 with epilepsy patients (case group) and 200 healthy adults (control group) were included. Peripheral venous blood was extracted to extract whole genome DNA, and the gene polymorphisms of rs2301363 and rs11146020 loci of GRIN1 gene were detected. The case group was further divided into the drug resistant group (52 cases) and the non-drug resistant group (148 cases). The differences in genotype and allele frequency distribution of rs2301363 and rs11146020 loci of GRIN1 gene were compared among the groups. **Results** There were significant differences in the genotype and allele frequency distribution of GRIN1 gene rs2301363 and rs11146020 between the case group and the control group ( $P < 0.05$ ). The frequency of TT and CT genotypes of GRIN1 gene rs2301363 locus in the case group was significantly higher than that in the control group. Compared with CC genotype, TT and CT genotypes increased the risk of epilepsy ( $OR > 1$ ). The frequencies of AG and AA genotypes at rs11146020 locus of GRIN1 gene in the case group were significantly higher than those in the control group. Compared with GG genotype, AG and AA genotypes increased the the risk of epilepsy ( $OR > 1$ ). There were no significant difference in the distribution of genotypes and allele frequencies of GRIN1 gene between the drug resistant and the non-drug resistant groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The polymorphisms of rs2301363 and rs11146020 in GRIN1 gene are related to the susceptibility to epilepsy, but not to the drug resistance of epilepsy.

**[Key words]** GRIN1 gene; Single nucleotide polymorphism; Epilepsy; Susceptibility; Drug resistance

\* 基金项目: 广东省湛江市科技计划项目 (2020B01129)。

作者简介: 梁维 (1985—), 硕士研究生, 副主任医师, 主要从事癫痫及认知障碍的临床与基础研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: docu5678@

癫痫是一种由不同原因引起的大脑神经元异常放电中枢神经功能失调综合征。目前,癫痫的发病大多与遗传因素、离子通道、神经递质平衡紊乱、神经胶质细胞增生变化、突触重塑、免疫炎症等有关。有研究表明,癫痫的易感性及耐药性与相关基因的单核苷酸多态性(SNPs)有关<sup>[1-2]</sup>。谷氨酸 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体是谷氨酸门控离子通道,是中枢神经系统中兴奋性突触传递、可塑性和兴奋性毒性的重要调节结构。目前,研究证明 NMDA1 受体基因 GRIN1 主要与抑郁症、精神分裂症和双相情感障碍等精神疾病的发生有关,临床上可见癫痫患者中共患精神疾病<sup>[3-4]</sup>,癫痫共患双相情感障碍在基因方面可能有共同的调控基因<sup>[5]</sup>。本研究以粤西地区汉族人群为研究对象,探讨 GRIN1 基因 rs2301363、rs11146020 位点多态性与癫痫易感性及耐药的相关性,为癫痫防治提供理论依据。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 本研究纳入在广东医科大学附属第一医院就诊的癫痫患者 200 例为病例组。入选标准:(1)粤西地区汉族人;(2)临床上有 2 次以上,时间相隔 24 h 以上非诱发性癫痫发作患者;(3)根据发作类型,正确合理用药的癫痫患者。排除标准:(1)有颅脑手术史、颅脑外伤史、颅内肿瘤、脑卒中、脑炎、神经系统变性疾病;(2)长期酗酒、吸毒史、熬夜、睡眠障碍;(3)有精神病史或家族史;(4)妊娠或者哺乳期妇女。病例组均行 24 h 动态脑电图、头颅 CT 或磁共振成像(MRI)检查、癫痫严重程度量表(NHS3)评分、血常规、生化 36 项等实验室检查。同时选取同期 200 例健康成人作为对照组。病例组中男 116 例,女 84 例;平均年龄(27.16±12.74)岁。对照组中男 112 例,女 88 例;平均年龄(26.85±11.63)岁,病例组和对照组年龄、性别比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。病例组根据是否耐药分为耐药组(52 例)和非耐药组(148 例)。耐药组中男 36 例,女 16 例;平均年龄(37.23±10.31)岁。非耐药组中男 101 例,女 47 例;平均年龄(26.85±11.63)岁。耐药组和非耐药组的性别、年龄比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。所有研究对象之间均无亲缘关系。本研究研究对象均已签订知情同意书。

**1.2 方法** 研究对象均于早晨空腹取肘部静脉血 3 mL 至含有乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K<sub>2</sub>)的抗凝试管,用血液基因组 DNA 快速提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司)按照操作说明进行血液基因组 DNA 提取,提取的 DNA 于 -20 °C 保存用于基因型检测。基因型检测根据 GRIN1 基因的 rs2301363 序列单核苷酸位点 SNP 设计引物,用于扩增 941 bp 片段,引物序列如下:上游 5'-CCCCTTCCTCCCTGTA-AGAC-3',下游 5'-GTGTGACCATGCAGGTGTTTC-3'。根据 GRIN1 基因的 rs11146020 序列单核苷酸位点 SNP 设计引物,用于扩增 920 bp 片段,引物序列如下:上游 5'-AGGAGCTTGTCAAACACCACAGC-3',下游 5'-GGACAGGGGCCTGTGCTGTC-3'。引物设计和合成均由上海天昊生物科技有限公司完成。PCR 扩增反应体系总体积 25 μL,包括 PCRmix 12.5 μL,基因组 DNA 3 μL,上、下游引物各 1 μL,去离子水 7.5 μL,反应条件为 94 °C 预变性 2 min,94 °C 变性 30 s,55 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,各循环 30 次,72 °C 延伸 2 min,终止反应。1%的琼脂糖凝胶电泳检测,溴化乙锭染色,紫外灯下观察结果,对所有标本的聚合酶链反应(PCR)扩增产物行基因测序。

**1.3 统计学处理** 应用 SPSS26.0 软件统计对数据进行分析,基因型和等位基因频率计算采用直接计数法,基因型和等位基因频率分布比较、Hardy-Weinberg 平衡检测采用  $\chi^2$  检验,计量资料采用两样本  $t$  检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 病例、对照组 GRIN1 基因位点基因型与等位基因频率分布比较** 病例、对照组的 GRIN1 基因 rs2301363 和 rs11146020 位点基因型频率分布经  $\chi^2$  检验均符合 Hardy-Weinberg 平衡,具有群体代表性。病例、对照组 GRIN1 基因的 2 个 SNP 位点的基因型和等位基因频率比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );病例组 GRIN1 基因 rs2301363 位点 TT 和 CT 基因型频率明显高于对照组,相比 CC 基因型,TT、CT 基因型增加癫痫发病的风险性( $OR>1$ )。病例组 GRIN1 基因 rs11146020 位点 AG 和 AA 基因型频率明显高于对照组,相比 GG 基因型,AG 和 AA 基因型增加癫痫发病的风险性( $OR>1$ )。见表 1。

表 1 病例、对照组 GRIN1 基因型和等位基因频率分布比较[n(%)]

位点	病例组(n=200)	对照组(n=200)	$\chi^2$	P	OR(95%CI)
rs2301363					
CC	75(37.5)	104(52.0)	12.923	0.002	1
TT	26(13.0)	10(5.0)	—	—	2.092(1.217~3.594)
CT	99(49.5)	86(43.0)	—	—	1.250(1.025~1.524)
T	151(37.8)	106(26.5)	11.609	<0.001	—
C	249(62.2)	294(73.5)	—	—	—
rs11146020					

续表 1 病例、对照组 GIN1 基因型和等位基因频率分布比较[n(%)]

位点	病例组(n=200)	对照组(n=200)	$\chi^2$	P	OR(95%CI)
GG	60(30.0)	144(72.0)	71.911	<0.001	1
AG	104(52.0)	46(23.0)	—	—	2.302(1.781~2.975)
AA	36(18.0)	10(5.0)	—	—	3.247(1.863~5.659)
G	224(56.0)	334(83.5)	71.685	<0.001	—
A	176(44.0)	66(16.5)	—	—	—

注:—表示无此项。

**2.2 病例、对照组一般资料比较** 与非耐药组比较,耐药组发病年龄早,病程较长,发作频率高,脑电图异常程度高,且耐药组有热性惊厥史和曾有癫痫持续状态的比例明显高于非耐药组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 病例、对照组一般资料比较

项目	耐药组(n=52)	非耐药组(n=148)	P
发病年龄( $\bar{x}\pm s$ ,岁)	15.16 $\pm$ 5.42	30.28 $\pm$ 10.57	<0.001
总病程( $\bar{x}\pm s$ ,年)	8.16 $\pm$ 5.24	2.15 $\pm$ 1.47	<0.001
发作频率 $\geq 4$ 次/月[n(%)]	12(23.1)	7(4.7)	0.004
热性惊厥史[n(%)]	11(21.2)	10(6.8)	0.012
曾有癫痫持续状态[n(%)]	17(32.7)	6(4.1)	0.014
中度以上异常脑电图[n(%)]	28(53.8)	31(20.9)	0.035

**2.3 病例、对照组 GRIN1 基因位点基因型与等位基因频率分布比较** 2 组的 GRIN1 基因 rs2301363 和 rs11146020 位点基因型频率分布经  $\chi^2$  检验均符合 Hardy-Weinberg 平衡,具有群体代表性。GRIN1 基因 2 个位点在耐药组与非耐药组中的基因型和等位基因频率分布情况比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 3。

表 3 病例、对照组 GIN1 基因型和等位基因频率分布比较[n(%)]

位点	耐药组(n=52)	非耐药组(n=148)	$\chi^2$	P
rs2301363				
TT	6(11.5)	19(12.8)	0.059	0.971
CT	25(48.1)	70(47.3)	—	—
CC	21(40.4)	59(39.9)	—	—
T	37(35.6)	108(36.5)	0.028	0.868
C	67(64.4)	188(63.5)	—	—
rs11146020				
GG	15(28.8)	40(27.0)	0.075	0.963
GC	24(46.2)	69(46.6)	—	—
CC	13(25.0)	39(26.4)	—	—
G	54(52.8)	149(50.3)	0.077	0.781
C	50(47.2)	147(49.7)	—	—

注:—表示无此项。

### 3 讨论

NMDA 受体是由功能核心亚基 NR1 和调节亚基(NR2/NR3)所构成的多聚体结构。NR1 亚基是构成 NMDA 受体所必需的功能核心亚基,其编码基因 GRIN1 基因位于 9q34.3。共有 22 个外显子,全长 31 kb。研究表明,GRIN1 基因多态性与精神分裂症、双相情感障碍的发病显著相关<sup>[6-9]</sup>。2011 年 HAMDAN 等<sup>[10]</sup>首次报道 GRIN1 基因突变可能与癫痫发病有关,学者发现早发性癫痫脑病患者存在 GRIN1 基因突变,这些患者除了有顽固性癫痫外,还具有严重的发育迟缓、多动症和刻板运动障碍等特征<sup>[11-12]</sup>。

本研究以粤西地区汉族人群为对象,首次分析 GRIN1 基因 rs2301363、rs11146020 位点多态性与癫痫易感性及耐药性的关系。本研究发现,癫痫患者与健康对照组的 GRIN1 基因 rs2301363、rs11146020 的基因型及等位基因频率分布均存在显著差异( $P<0.05$ )。病例组 GRIN1 基因 rs2301363 位点 TT 和 CT 基因型频率明显高于对照组,相比 CC 基因型,TT、CT 基因型增加癫痫发病的风险性( $OR>1$ )。病例组 GRIN1 基因 rs11146020 位点 AG 和 AA 基因型频率明显高于对照组,相比 GG 基因型,AG 和 AA 基因型增加癫痫发病的风险性( $OR>1$ ),提示 GRIN1 基因 rs2301363 位点和 rs11146020 位点多态性与癫痫的易感性相关。GRIN1 基因是 NMDAR1 受体基因,其基因表达产物参与调控早期大脑发育神经元、突触的形成及神经网络等<sup>[13-14]</sup>,GRIN1 基因多态性很可能在一定程度上影响 NMDAR1 受体亚基的功能或者使 NMDAR1 受体亚基表达水平降低,导致 NMDAR 受体的整体功能受到抑制,导致中枢系统神经递质兴奋-抑制的失衡,从而更容易出现癫痫发作。

然而,本研究结果发现,GRIN1 基因 rs2301363、rs11146020 位点的基因型和等位基因频率在耐药组和非耐药组中分布情况比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),表明 GRIN1 基因 rs2301363、rs11146020 位点多态性与癫痫耐药性无关。张忠文等<sup>[15]</sup>发现,治疗前发作频率高、脑 MRI 阳性、脑电图癫痫样放电的患者易发展为耐药性癫痫。本研究中,耐药组癫痫患者较非耐药组发病年龄早,病程较长,发作频率高,脑电图异常程度高,且耐药组患者有热性惊厥史和曾有癫痫持续状态的比例明显高于非耐药组,这与国内外研究一致<sup>[16-18]</sup>。

综上所述, GRIN1 基因 rs2301363、rs11146020 位点多态性与癫痫的易感性有关, 而与癫痫的耐药风险无关。癫痫患者出现耐药可能与发作频率、病程、发病年龄、脑电图异常程度、抗癫痫药物浓度、基因多态性等多种因素<sup>[19-20]</sup>有关, 为了更加明确 GRIN1 基因多态性与癫痫的相关性, 需要进一步扩大研究样本数量, 以及开展 GRIN1 基因其他多态性位点与癫痫的相关性研究。

## 参考文献

- [1] XIONG S J, WANG Y J, LI H J, et al. Interaction among GRIK2 gene on epilepsy susceptibility in Chinese children [J]. *Acta Neurol Scand*, 2019, 139(6): 540-545.
- [2] 殷小静, 李岩, 乔平云, 等. MDR1 基因多态性与癫痫性脑病耐药相关性研究[J]. *立体定向和功能性神经外科杂志*, 2021, 34(2): 79-85.
- [3] LIU X, SUN X, SUN C, et al. Prevalence of epilepsy in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis[J]. *Autism*, 2022, 26(1): 33-50.
- [4] 陈旭, 周娇娇, 王雪, 等. 癫痫共患双相情感障碍的影响因素分析[J]. *神经疾病与精神卫生*, 2018, 18(11): 772-774.
- [5] LOPEZ A Y, WANG X, XU M, et al. Ankyrin-G isoform imbalance and interneuronopathy link epilepsy and bipolar disorder[J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22(10): 1464-1472.
- [6] LEMKE J R, GEIDER K, HELBIG K L, et al. Delineating the GRIN1 phenotypic spectrum: a distinct genetic NMDA receptor encephalopathy [J]. *Neurology*, 2016, 86(23): 2171-2178.
- [7] LIU Y P, DING M, ZHANG X C, et al. Association between polymorphisms in the GRIN1 gene 5' regulatory region and schizophrenia in a northern Han Chinese population and haplotype effects on protein expression in vitro[J]. *BMC Med Genet*, 2019, 20(1): 26.
- [8] 杨雪梅, 刘芳, 齐红梅, 等. GRIN1 基因 rs2301363 SNP 位点与双相情感障碍的关联研究[J]. *实用医学杂志*, 2013, 29(19): 3154-3156.
- [9] BUNDO M, UEDA J, NAKACHI Y T A, et al. Decreased DNA methylation at promoters and gene-specific neuronal hypermethylation in the prefrontal cortex of patients with bipolar disorder[J]. *Mol Psychiatry*, 2021, 26(7): 3407-3418.
- [10] HAMDAN F F, GAUTHIER J, ARAKI Y, et al. Excess of de novo deleterious mutations in genes associated with glutamatergic systems in nonsyndromic intellectual disability [J]. *Am J Hum Genet*, 2011, 88(3): 306-316.
- [11] OHBA C, SHIINA M, TOHYAMA J, et al. GRIN1 mutations cause encephalopathy with infantile-onset epilepsy, and hyperkinetic and stereotyped movement disorders [J]. *Epilepsia*, 2015, 56(6): 841-848.
- [12] SCALA M, AMADORI E, FUSCO L, et al. Abnormal circadian rhythm in patients with GRIN1-related developmental epileptic encephalopathy [J]. *Eur J Paediatr Neurol*, 2019, 23(4): 657-661.
- [13] RAGNARSSON L, ZHANG Z H, DAS S S, et al. GRIN1 variants associated with neurodevelopmental disorders reveal channel gating pathomechanisms [J]. *Epilepsia*, 2023, 64(12): 3377-3388.
- [14] INTSON K, VAN EEDE M C, ISLAM R, et al. Progressive neuroanatomical changes caused by Grin1 loss-of-function mutation [J]. *Neurobiol Dis*, 2019, 132: 104527.
- [15] 张忠文, 邹蓉, 戴永萍, 等. 2010 国际抗癫痫联盟定义耐药性癫痫的相关危险因素分析[J]. *临床神经病学杂志*, 2016, 29(3): 168-171.
- [16] VESTERGAARD M, PEDERSEN C B, SIDENIUS P, et al. The long-term risk of epilepsy after febrile seizures in susceptible subgroups [J]. *Am J Epidemiol*, 2007, 165(8): 911-918.
- [17] 曹营. 耐药性部分性发作癫痫抗癫痫药物治疗观察及影响因素 [J]. *中国医药指南*, 2021, 19(3): 19-21.
- [18] LAGGER I, GARINO E, MARTINEZ O, et al. Risk factors for drug-resistant epilepsy in adult patients [J]. *Med Clin (Barc)*, 2023, 160(12): 547-550.
- [19] SHEN C, ZHANG B, LIU Z, et al. Effects of ABCB1, ABCC2, UGT2B7 and HNF4 $\alpha$  genetic polymorphisms on oxcarbazepine concentrations and therapeutic efficacy in patients with epilepsy [J]. *Seizure*, 2017(51): 102-106.
- [20] 陈海燕, 黄建敏, 李雪斌, 等. 癫痫患者耐药的影响因素 [J]. *山东医药*, 2018, 58(27): 5-9.

(收稿日期: 2023-12-19 修回日期: 2024-03-28)