



(扫描二维码查看原文)

· 论著 ·

## 基于倾向性评分匹配探讨 miR-145-5p 表达水平与小儿难治性癫痫的关系

龙苹苹<sup>1</sup>, 范嘉佳<sup>2</sup>, 樊军<sup>1</sup>, 舒怡<sup>3</sup>, 刘丽娟<sup>3</sup>

**【摘要】** 背景 难治性癫痫患者例数占癫痫患者总数的 20%~30%，其病因复杂多样，故临床诊治困难。随着相关研究的进一步深入，发现大脑在癫痫条件下，可以表达特定的微小核糖核酸（miRNAs），而 miRNAs 通过调控神经元凋亡、胶质细胞增生等参与癫痫的发生发展，这为难治性癫痫的靶向治疗提供了新的方向。目的 通过倾向性评分匹配探讨 miR-145-5p 表达水平与小儿难治性癫痫的关系。方法 前瞻性选取 2019 年 1 月至 2021 年 4 月四川省妇幼保健院收治的癫痫患儿 291 例为研究对象。根据患儿是否为难治性癫痫，将其分为难治组（难治性癫痫，72 例）和可控组（非难治性癫痫，219 例）。收集患儿基线资料、临床资料〔包括发病年龄、每次发作持续时间、初次治疗前发作次数、初始脑电图情况、病因、是否存在影像学改变、首次抗癫痫药物（AEDs）治疗反应、实验室检查指标〔神经节脂抗体（GM1-A）、谷氨酸脱羧酶抗体（GADA）、miR-145-5p 表达水平〕〕。对基线资料进行倾向性评分匹配后，采用多因素 Logistic 回归分析探讨难治性癫痫的影响因素。结果 匹配前，两组患儿性别、病程、癫痫家族史比较，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。经倾向性评分匹配后，共有 61 对患儿配对成功。匹配后，两组患儿年龄、性别、病程、体质指数、癫痫家族史、癫痫发作类型、热性惊厥史、脑炎史、新生儿缺氧缺血性脑病史比较，差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。匹配后，难治组患儿发病年龄小于可控组，每次发作持续时间长于可控组，首次 AEDs 治疗反应佳者所占比例、miR-145-5p 表达水平低于可控组（ $P < 0.05$ ）。多因素 Logistic 回归分析结果显示，发病年龄〔 $OR=0.492$ , 95% $CI$  (0.338, 0.717)〕、每次发作持续时间〔 $OR=1.229$ , 95% $CI$  (1.060, 1.424)〕、首次 AEDs 治疗反应〔 $OR=0.293$ , 95% $CI$  (0.119, 0.724)〕、miR-145-5p 表达水平〔 $OR=0.032$ , 95% $CI$  (0.005, 0.193)〕是难治性癫痫的影响因素（ $P < 0.05$ ）。结论 miR-145-5p 表达水平升高是小儿难治性癫痫的保护因素，其可作为难治性癫痫患儿潜在的治疗靶点和诊断及病情评估的生物标志物。

**【关键词】** 癫痫；难治性癫痫；miR-145-5p；倾向性评分匹配

**【中图分类号】** R 742.1 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2022.00.004

龙苹苹, 范嘉佳, 樊军, 等. 基于倾向性评分匹配探讨 miR-145-5p 表达水平与小儿难治性癫痫的关系 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2022, 30 (1): 64-69. [www.syxnf.net]

LONG P P, FAN J J, FAN J, et al. Relationship between miR-145-5p expression level and refractory epilepsy in children based on propensity score matching [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2022, 30 (1): 64-69.

### Relationship between miR-145-5p Expression Level and Refractory Epilepsy in Children Based on Propensity Score Matching

LONG Pingping<sup>1</sup>, FAN Jijia<sup>2</sup>, FAN Jun<sup>1</sup>, SHU Yi<sup>3</sup>, LIU Lijuan<sup>3</sup>

1. Department of Function Check, Sichuan Provincial Maternity and Child Health Care Hospital/Sichuan Provincial Women and Children's Hospital, Chengdu 610000, China

2. Department of Ear-nose-throat, Sichuan Provincial Maternity and Child Health Care Hospital/Sichuan Provincial Women and Children's Hospital, Chengdu 610000, China

3. Department of Two Wards of Internal Medicine Pediatric, Sichuan Provincial Maternity and Child Health Care Hospital/Sichuan Provincial Women and Children's Hospital, Chengdu 610000, China

Corresponding author: LONG Pingping, E-mail: longiov626@126.com

**【Abstract】** **Background** The number of patients with refractory epilepsy accounts for 20%~30% of the total number of patients with epilepsy. Its etiology is complex and diverse, so it is difficult to make clinical diagnosis and treatment. With the further deepening of relevant research, it is found that the brain can express specific microRNAs (miRNAs) under the condition

1.610000 四川省成都市, 四川省妇幼保健院 四川省妇女儿童医院功能检查 2.610000 四川省成都市, 四川省妇幼保健院 四川省妇女儿童医院耳鼻喉科 3.610000 四川省成都市, 四川省妇幼保健院 四川省妇女儿童医院小儿内科二病区

通信作者: 龙苹苹, E-mail: longiov626@126.com

of epilepsy, and miRNAs participate in the occurrence and development of epilepsy by regulating neuronal apoptosis and glial cell proliferation, which provides a new direction for the targeted treatment of refractory epilepsy. **Objective** To explore the relationship between the expression level of miR-145-5p and refractory epilepsy in children by propensity score matching. **Methods** A total of 291 children with epilepsy treated in Sichuan Provincial Maternity and Child Health Care Hospital from January 2019 to April 2021 were prospectively selected as the research objects. According to whether the children had refractory epilepsy, they were divided into refractory group (refractory epilepsy, 72 cases) and controllable group (non-refractory epilepsy, 219 cases). The baseline data and clinical data (including age of onset, duration of each seizure, number of seizures before initial treatment, initial EEG status, etiology, whether there are imaging changes, response to the first antiepileptic drugs (AEDs) treatment, laboratory examination indexes [antibodies to GM1 ganglioside (GM1-A), glutamic acid decarboxylase antibody (GADA), miR-145-5p expression level]) of children were collected. After propensity score matching of baseline data, multivariate Logistic regression analysis was used to explore the influencing factors of refractory epilepsy. **Results** Before matching, there was statistically significant difference in gender, course of disease, and family history of epilepsy between the two groups ( $P < 0.05$ ). After propensity score matching, a total of 61 pairs of children were successfully matched. After matching, there was no statistically significant difference in age, gender, course of disease, body mass index, family history of epilepsy, type of seizure, history of febrile seizures, history of encephalitis, and history of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy between the two groups ( $P > 0.05$ ). After matching, the age of onset of children in the refractory group was younger than that in the controllable group, the duration of each episode was longer than that in the controllable group, the proportion of patients with good response to the first AEDs treatment and the expression level of miR-145-5p were lower than those in the controllable group ( $P < 0.05$ ). Multivariate Logistic regression analysis showed that age of onset [ $OR=0.492$ , 95% $CI$  (0.338, 0.717)], duration of each episode [ $OR=1.229$ , 95% $CI$  (1.060, 1.424)], response to the first AEDs treatment [ $OR=0.293$ , 95% $CI$  (0.119, 0.724)], miR-145-5p expression level [ $OR=0.032$ , 95% $CI$  (0.005, 0.193)] were the influencing factors of refractory epilepsy ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The elevated expression level of miR-145-5p is a protective factor for children with refractory epilepsy, which can be used as a potential therapeutic target and a biomarker for diagnosis and disease evaluation.

**【Key words】** Epilepsy; Refractory epilepsy; miR-145-5p; Propensity score matching

全世界有 5 000 多万人受到癫痫的影响, 抗癫痫药物 (antiepileptics, AEDs) 虽然可控制癫痫发作, 但仍有 1/3 患儿出现耐药性, 即发生难治性癫痫<sup>[1]</sup>。难治性癫痫通常需要几年的长期治疗后才能最终诊断, 在此期间, 反复发作不仅可能加重患儿的脑功能损伤程度, 还可能导致延误包括手术在内的综合治疗的最佳时机。关于难治性癫痫的发生机制, 目前转运蛋白假说是被最广泛接受和研究的理论之一, 难治性癫痫的发生与多态转运蛋白如 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) [由多药耐药基因 1 (multidrug resistant 1, MDR1) 及其 ATP 结合盒式表达蛋白 B1 (ATP-binding cassette transporter B1, ABCB1) 编码]、乳腺癌耐药蛋白 (breast cancer resistance protein, BCRP) [由 ATP 结合盒转运蛋白 C2 (ATP-binding cassette transporter C2, ABCC2) 编码] 和多药耐药蛋白 2 (multidrug resistance-associated protein 2, MRP2) (由 ABCC2 编码) 有关<sup>[2]</sup>。

近年来, 微小核糖核酸 (microRNAs, miRNAs) 在神经系统疾病发生发展中的作用成为一个快速扩展的研究领域<sup>[3]</sup>。此前已有研究观察到, 癫痫患儿血浆 miRNA-137、miRNA-181a 水平等发生了变化; 作为一个单链、小的非编码 RNA 家族, miRNAs 可能会通过降低 mRNA 分子的稳定性和抑制翻译两种方式参与靶基因表达的调控, 从而抑制多种蛋白质的表达, 这一过程可

#### 本研究价值:

难治性癫痫的形成过程十分复杂, 涉及多种基因和不同转录因子的表达, 而 miR-145-5p 在此过程中占据重要地位。随着对 miR-145-5p 的深入研究, miR-145-5p 作用靶点以及信号通路会更加明确, 作用于这些靶点的药物或可从根本上控制难治性癫痫的发作, 减轻难治性癫痫引起的一系列病理生理变化, 这将更好地造福癫痫患儿。

能为难治性癫痫提供一个关键的调节机制和治疗靶点<sup>[4]</sup>。KONG 等<sup>[5]</sup>揭示了 miR-145-5p 可上调 P-gp 的表达。也有证据表明, 经双荧光素酶报告基因检测和方差分析显示, MDR1/ABCB1 与 miR-145-5p 间存在相互作用<sup>[6]</sup>。鉴于 miR-145-5p 可能通过转运蛋白参与难治性癫痫的发生发展, 本研究通过倾向性评分匹配探讨 miR-145-5p 表达水平与小儿难治性癫痫间的关系, 旨在为难治性癫痫患儿的临床治疗提供理论依据。

#### 1 对象与方法

1.1 纳入与排除标准 纳入标准: (1) 符合《临床诊疗指南: 癫痫病分册 (2015 修订版)》<sup>[7]</sup> 中的癫痫诊断标准, 难治性癫痫则为经两种及以上 AEDs 的足量、足疗程的合理治疗后, 癫痫发作仍未能得到完全控制;

(2) 年龄1个月~12岁; (3) 临床资料完整。排除标准: (1) 继发性癫痫发作者; (2) 合并严重的器质性病变者; (3) 存在先天性代谢异常者; (4) 合并其他脑神经系统疾病者。

1.2 研究对象 前瞻性选取2019年1月至2021年4月四川省妇幼保健院收治的癫痫患儿291例为研究对象。根据患儿是否为难治性癫痫, 将其分为难治组(难治性癫痫, 72例)和可控组(非难治性癫痫, 219例)。本研究经四川省妇幼保健院伦理委员会批准, 患儿家属均签订了知情同意书。

### 1.3 研究方法

1.3.1 基线资料收集 收集患儿基线资料, 包括年龄、性别、病程、体质指数、癫痫家族史、癫痫发作类型(局灶性发作、全身性发作)、既往史(热性惊厥史、脑炎史、新生儿缺氧缺血性脑病史)。

1.3.2 临床资料收集 收集患儿临床资料, 包括发病年龄、每次发作持续时间、初次治疗前发作次数、初始脑电图情况(正常、慢波活动、癫痫波、其他)、病因(特发性癫痫、隐源性癫痫、症状性癫痫)、是否存在影像学改变[包括发育畸形(脑回发育不良、灰质异位症、脑裂畸形、结节性硬化症、胼胝体发育不良)、海马硬化(海马信号增高、海马萎缩或颞角扩大)、软化灶(有中中枢神经系统疾病史, 如中枢神经系统感染、创伤、脑血管疾病及手术史)、肿瘤、脑血管畸形(海绵状血管瘤、动静脉畸形)和其他异常(如脑萎缩、缺血灶、囊肿、脑室形态异常/脑积水、散在脱髓鞘、鞍区病变等)]、首次AEDs治疗反应、实验室检查指标[神经节苷脂抗体(antibodies to GM1 ganglioside, GM1-A)、谷氨酸脱羧酶抗体(glutamic acid decarboxylase antibody, GADA)、miR-145-5p表达水平]。GM1-A、GADA表达水平检测方法: 抽取患儿晨起空腹静脉血4 ml, 3 000 r/min离心5 min(离心半径30 cm), 取血清, 于-80℃冰箱保存待测; 利用全自动酶联免疫分析仪(型号: BIO-RAD), 采用ELISA检测GM1-A、GADA表达水平。miR-145-5p表达水平检测方法: 抽取患儿空腹静脉血6 ml, 以3 000 r/min离心5 min(离心半径30 cm), 取血清, 于-80℃冰箱保存待测; 利用Biomics公司设计提供的人外周血DNA提取试剂盒, 采用NanoDrop检测基因组DNA浓度, 进行PCR。PCR反应体系: 2.5 μl模板DNA、2.00 μl缓冲剂、0.25 μl脱氧核苷三磷酸、1.6 μl荧光定量PCR参比染料50×ROX Reference Dye(北京金百特生物技术有限公司生产)、0.25 μl Taq DNA聚合酶和上、下游引物各0.25 μl, 最后加入焦碳酸二乙酯(diethyl oxydiformate, DEPC) H<sub>2</sub>O将整个反应体系补充至12.5 μl; PCR条件: 95℃

预变性6 min、95℃变性10 s、55℃退火10 s、72℃延伸30 s, 共50个循环。合成PCR引物由生工生物工程(上海)股份有限公司提供, miR-145-5p正向引物为5'-GTCCAGTTTTCC AGGAAT-3'、反向引物为5'-TGCGTGTCTGGAGTCC-3', 内参U6的正向引物为5'-GTAGCTGTAGCTGTGACTC-3'、反向引物为5'-ATGCTGATGCTGAGCTGAC-3'。采用2<sup>-ΔΔCt</sup>法计算miR-145-5p表达水平。

1.4 统计学方法 采用EpiData软件对数据进行平行双录入, 保证数据输入准确无误。使用SPSS 22.0统计学软件进行数据分析。计数资料以相对数表示, 组间比较采用χ<sup>2</sup>检验; 计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示, 组间比较采用两独立样本t检验。利用倾向性评分匹配扩展程序对基线资料进行倾向性评分匹配: 以是否为难治性癫痫为因变量, 各基线资料为自变量, 通过多因素Logistic回归分析估计各变量的倾向性评分, 卡钳值设置为0.02以保证匹配结果的优良性, 采用1:1临近匹配法对可控组与难治组进行匹配, 并使用R软件绘制倾向性评分分布图, 然后比较两组间各变量的标准差异在匹配前后的改变, 匹配后的标准差异越接近于0, 匹配结果越满意, 当标准差异绝对值<0.1时, 认为组间变量的均衡性较好。采用多因素Logistic回归分析探讨难治性癫痫的影响因素。以P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 匹配前两组患儿基线资料比较 匹配前, 两组患儿年龄、体质指数、癫痫发作类型及有热性惊厥史、脑炎史、新生儿缺氧缺血性脑病史者占比比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 匹配前, 两组患儿性别、病程、癫痫家族史比较, 差异有统计学意义(P<0.05), 见表1。

2.2 匹配后两组患儿基线资料比较 经倾向性评分匹配后, 共有61对患儿配对成功, 匹配前后两组患儿倾向性评分分布见图1。匹配后, 两组患儿年龄、性别、病程、体质指数、癫痫家族史、癫痫发作类型、热性惊厥史、脑炎史、新生儿缺氧缺血性脑病史比较, 差异无统计学意义(P>0.05), 见表2。

2.3 匹配后两组患儿临床资料比较 匹配后, 难治组患儿发病年龄小于可控组, 每次发作持续时间长于可控组, 首次AEDs治疗反应佳者所占比例、miR-145-5p表达水平低于可控组, 差异有统计学意义(P<0.05); 匹配后, 两组患儿初次治疗前发作次数、初始脑电图、病因、影像学改变情况及GM1-A、GADA表达水平比较, 差异无统计学意义(P>0.05), 见表3。

2.4 难治性癫痫影响因素的多因素Logistic回归分析 以是否为难治性癫痫为因变量(是=1, 否=0), 发病年龄(赋值: 实测值)、每次发作持续时间(赋值: 实测



值)、首次 AEDs 治疗反应(赋值:不佳=1,佳=0)、miR-145-5p 表达水平(赋值:实测值)为自变量,进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,发病年龄、每次发作持续时间、首次 AEDs 治疗反应、miR-145-5p 表达水平是难治性癫痫的影响因素( $P < 0.05$ ),见表4。

表1 匹配前两组患儿基线资料比较

**Table 1** Comparison of baseline data between the two groups before matching

项目	难治组 (n=72)	可控组 (n=219)	$\chi^2$ (t) 值	P 值
年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	9.6 ± 3.0	9.7 ± 3.1	0.317 <sup>a</sup>	0.752
性别 (男/女)	48/24	175/44	5.306	0.021
病程 ( $\bar{x} \pm s$ , 年)	3.6 ± 1.0	3.3 ± 1.0	2.466 <sup>a</sup>	0.015
体质指数 ( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> )	15.7 ± 0.4	15.8 ± 0.4	1.610 <sup>a</sup>	0.110
癫痫家族史 [n (%)]	32 (44.4)	67 (30.6)	4.631	0.031
癫痫发作类型 [n (%)]			1.451	0.147
局灶性发作	44 (61.1)	154 (70.3)		
全身性发作	28 (38.9)	65 (29.7)		
既往史 [n (%)]				
热性惊厥史	35 (48.6)	98 (44.7)	0.326	0.568
脑炎史	27 (37.5)	62 (28.3)	2.155	0.412
新生儿缺氧缺血性脑病史	22 (30.6)	48 (21.9)	2.213	0.137

注: <sup>a</sup> 表示 t 值

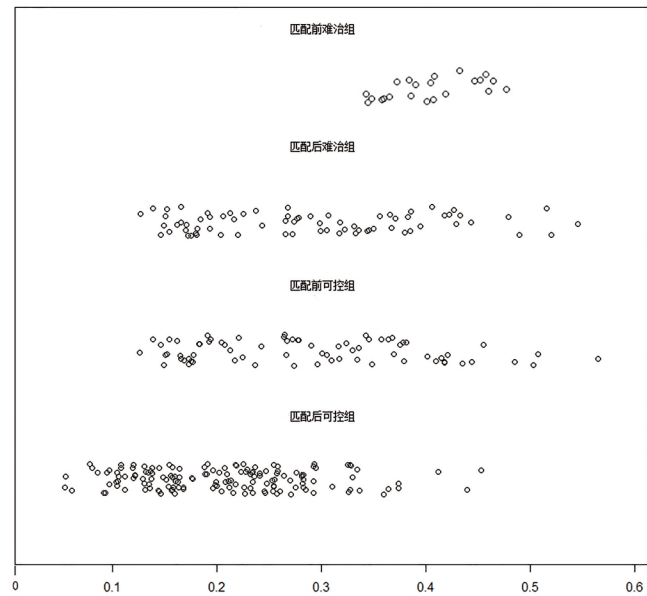


图1 匹配前后两组患儿倾向性评分分布图

Figure 1 Distribution of propensity scores of the two groups before and after matching

### 3 讨论

小儿难治性癫痫是一个世界性的难题,以癫痫长期反复发作、不能被 AEDs 有效控制为主要特征,与成年人不同的是,小儿大脑处于生长发育阶段,癫痫反复发作所致脑损伤可通过释放多种细胞递质,导致一系列复杂的免疫反应、炎性反应的激活,这些过程诱导趋化因

表2 匹配后两组患儿基线资料比较

**Table 2** Comparison of baseline data between the two groups after matching

项目	难治组 (n=61)	可控组 (n=61)	$\chi^2$ (t) 值	P 值
年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	9.6 ± 3.1	9.8 ± 3.1	0.248 <sup>a</sup>	0.805
性别 (男/女)	40/21	42/19	0.149	0.670
病程 ( $\bar{x} \pm s$ , 年)	3.7 ± 1.1	3.6 ± 1.1	0.400 <sup>a</sup>	0.690
体质指数 ( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> )	15.8 ± 0.4	15.8 ± 0.4	0.681 <sup>a</sup>	0.498
癫痫家族史 [n (%)]	30 (49.2)	28 (45.9)	0.132	0.717
癫痫发作类型 [n (%)]			0.323	0.570
局灶性发作	38 (62.3)	41 (67.2)		
全身性发作	23 (37.7)	20 (32.8)		
既往史 [n (%)]				
热性惊厥史	30 (49.2)	28 (45.9)	0.132	0.717
脑炎史	25 (41.0)	24 (39.3)	0.034	0.853
新生儿缺氧缺血性脑病史	20 (32.8)	22 (30.6)	0.145	0.703

注: <sup>a</sup> 表示 t 值

表3 匹配后两组患儿临床资料比较

**Table 3** Comparison of clinical data between the two groups after matching

项目	难治组 (n=61)	可控组 (n=61)	$\chi^2$ (t) 值	P 值
发病年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	5.0 ± 1.2	6.0 ± 1.4	4.230 <sup>a</sup>	< 0.001
每次发作持续时间 ( $\bar{x} \pm s$ , min)	12.4 ± 3.5	11.0 ± 2.9	2.445 <sup>a</sup>	0.016
初次治疗前发作次数 ( $\bar{x} \pm s$ , 次)	62.2 ± 22.3	60.8 ± 21.9	0.345 <sup>a</sup>	0.731
初始脑电图 [n (%)]			2.529	0.470
正常	16 (26.2)	12 (19.7)		
慢波活动	22 (36.1)	30 (49.2)		
癫痫波	15 (24.6)	14 (22.9)		
其他	8 (13.1)	5 (8.2)		
病因 [n (%)]			0.565	0.572
特发性癫痫	26 (42.63)	20 (32.79)		
隐源性癫痫	25 (40.98)	34 (55.74)		
症状性癫痫	10 (16.39)	7 (11.47)		
影像学改变 [n (%)]			0.532	0.466
有	25 (40.98)	29 (47.54)		
无	36 (59.02)	32 (52.46)		
首次 AEDs 治疗反应 [n (%)]			6.470	0.011
佳	26 (42.62)	40 (65.57)		
不佳	35 (57.38)	21 (34.43)		
实验室检查指标 ( $\bar{x} \pm s$ )				
GM1-A (mmol/L)	4.26 ± 1.01	4.03 ± 0.98	1.276 <sup>a</sup>	0.204
GADA (mmol/L)	0.95 ± 0.22	0.91 ± 0.15	1.173 <sup>a</sup>	0.243
miR-145-5p	1.41 ± 0.25	1.60 ± 0.27	4.033 <sup>a</sup>	< 0.001

注: <sup>a</sup> 表示 t 值; AEDs= 抗癫痫药物, GM1-A= 神经节苷脂抗体, GADA= 谷氨酸脱羧酶抗体

子和黏附小分子,进而动员免疫细胞和神经胶质细胞,可加重疾病进展<sup>[8]</sup>。癫痫患儿脑内基因表达有所改变,但其具体机制尚不明确,近年来有研究表明,miRNAs 作为多种疾病的新型生物标志物,在炎性反应、神经元死亡、

表4 难治性癫痫影响因素的多因素 Logistic 回归分析

Table 4 Multivariate Logistic regression analysis on influencing factors of refractory epilepsy

自变量	$\beta$	SE	Wald $\chi^2$ 值	P值	OR值	95%CI
发病年龄	-0.709	0.192	13.627	< 0.001	0.492	(0.338, 0.717)
每次发作持续时间	0.206	0.075	7.473	0.006	1.229	(1.060, 1.424)
首次 AEDs 治疗反应	-1.227	0.461	7.074	0.008	0.293	(0.119, 0.724)
miR-145-5p 表达水平	-3.435	0.912	14.178	< 0.001	0.032	(0.005, 0.193)
常量	7.331	1.943	14.234	< 0.001	1526.63	-

注: - 表示无此数据

胶质细胞增生、突触重塑等方面发挥着重要作用<sup>[9]</sup>, 且全基因组 miRNAs 表达谱研究已经确定了癫痫与动物模型中 100 多种不同 miRNAs 表达水平变化有关<sup>[10]</sup>。另有研究显示, miR-145-5p 直接靶向丝裂原活化蛋白激酶 4, 并且广泛抑制肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ ) 触发的基质降解酶的产生, 进而参与炎症反应过程<sup>[11]</sup>。这一点让 miR-145-5p 的作用逐步受到重视。本研究通过倾向性评分匹配探讨 miR-145-5p 表达水平与小儿难治性癫痫间的关系, 旨在为难治性癫痫患儿的临床治疗提供理论依据。

关于难治性癫痫与发病年龄的关系, 目前的研究持不同意见, 其中 CAMFIELD 等<sup>[12]</sup>指出, 2 岁以内发病患儿较多见, 1 岁以前为发病高峰期, 认为 1 岁前发病患儿多为先天性脑发育异常及围生期脑损伤引起, 且部分患儿存在影像学异常表现。但 GIMÉNEZ DEGEORGE 等<sup>[13]</sup>研究显示, 发病年龄在进入回归方程时被排除在外, 认为发病年龄 < 1 岁仅为儿童癫痫的混杂危险因素, 并不具备独立参考性, HUNTER 等<sup>[14]</sup>的研究也支持该结论。而本研究结果显示, 难治组患儿发病年龄小于可控组, 且多因素 Logistic 回归分析结果显示, 发病年龄大是难治性癫痫的保护因素, 但本研究所选患儿的发病年龄为 1 个月 ~12 岁, 并未按照生理发育特点进行分层研究, 故发病年龄与难治性癫痫的关系仍需进一步研究。

在难治性癫痫病情进展的高危因素中, 癫痫发作持续时间被认为是重要的影响因素, 既往研究显示, 病初即存在癫痫持续状态或丛集性发作者易发展为难治性癫痫<sup>[15]</sup>, 随后的研究也显示, 疾病发作越频繁, 癫痫患儿预后越差<sup>[16]</sup>; PADIYAR 等<sup>[17]</sup>亦表示, 病初发作频繁很大程度上预示了癫痫的难控性。本研究结果显示, 难治组患儿每次发作持续时间长于可控组, 且多因素 Logistic 回归分析结果显示, 每次发作持续时间是难治性癫痫的影响因素, 与 PADIYAR 等<sup>[17]</sup>的研究结果一致。

本研究结果亦显示, 难治组患儿首次 AEDs 治疗反应佳者所占比例低于可控组, 且多因素 Logistic 回归分析结果显示, 首次 AEDs 治疗反应是难治性癫痫的影响因素。在 AEDs 的疗效上, AEDs 通过与相应

靶点结合来发挥抗癫痫作用, 但并非所有患儿在应用第 1 种 AEDs 后可控制癫痫发作, 部分患儿需换用第 2 种、第 3 种 AEDs, 甚至多种 AEDs 仍不能达到良好预后。ARFMAN 等<sup>[18]</sup>研究显示, 60.9% 的患儿应用第 1 种 AEDs 即可控制癫痫发作, 11.7% 的患儿需换用第 2 种 AEDs, 9.8% 的患儿则需要应用第 3 种 AEDs, 甚至 17.6% 的患儿连续换 3 种及以上 AEDs 才能控制癫痫发作, 至随访结束, 4 组患儿中癫痫发作得到良好控制者分别占 95.5%、53.3%、32% 和 4.4%。由此可见, 首次 AEDs 治疗即可控制癫痫发作的患儿预后最好, 随无效药物数量的增多, 癫痫有效控制率逐渐降低, AEDs 尤其是首次治疗药物的疗效与癫痫患儿预后相关。

miRNAs 由于在血清中的稳定性好, 且可调节基因表达和蛋白质合成并参与基本的生物过程, 已被提议作为癌症<sup>[19]</sup>、衰老<sup>[20]</sup>、神经系统疾病<sup>[21]</sup>等的生物标志物。此外, 几项靶标研究和全基因组 miRNAs 表达谱研究表明, miRNAs 在癫痫中存在差异表达<sup>[22-23]</sup>; 一些功能性的研究已经表明, miRNAs 可以通过调节癫痫患者体内的炎症反应调控细胞分化、生长、凋亡、代谢等功能<sup>[24]</sup>。有研究已经确定视网膜内皮细胞中的 miR-145-5p 是凋亡、氧化应激和炎症细胞因子分泌的新调节因子, 其也被认为与癫痫有关<sup>[25]</sup>。同样, LIU 等<sup>[26]</sup>认为, miR-145-5p 参与细胞有丝分裂活动, 并随后在 TNF- $\alpha$  介导的炎症损伤的背景下影响神经母细胞瘤的存活。本研究结果显示, 难治组患儿 miR-145-5p 表达水平低于可控组, 且多因素 Logistic 回归分析结果显示, miR-145-5p 表达水平是难治性癫痫的影响因素, 这可能反映了 miR-145-5p 可通过其靶基因参与癫痫神经生物学相关的病理生理过程。

miR-145-5p 可参与调控神经元凋亡、胶质细胞增生、神经元微结构、炎症反应等过程, 而这些病理过程与难治性癫痫的发病机制密切相关, 故 miR-145-5p 表达水平或可为难治性癫痫患儿的诊断及治疗提供理论依据。然而, 本研究也存在一定不足: (1) 由于各种客观条件的限制, 未持续追踪患儿各生化指标和 miR-145-5p 表达水平, 且未能进一步分析病情发展过程中 miR-145-5p 表达水平的变化; (2) 本研究样本量较小且为单中心研究, 在一定程度上存在地域局限性; (3) 本研究对象为难治性癫痫患儿, 不能代表成年难治性癫痫患者。因而后续仍需更详细的研究来阐明 miR-145-5p 表达水平与难治性癫痫间关系的机制。

综上所述, miR-145-5p 表达水平升高是小儿难治性癫痫的保护因素, 其可作为难治性癫痫患儿潜在的治疗靶点和诊断及病情评估的生物标志物。

作者贡献: 龙芊芊进行文章的构思与设计, 文章的可行性分析, 撰写论文, 负责文章的质量控制及审校,

并对文章整体负责、监督管理;龙芊芊、范嘉佳进行论文的修订;范嘉佳、樊军、舒怡、刘丽娟进行文献/资料收集、整理。

本文无利益冲突。

## 参考文献

- [1] SULTANA B, PANZINI M A, VEILLEUX CARPENTIER A, et al. Incidence and prevalence of drug-resistant epilepsy: a systematic review and meta-analysis [J]. *Neurology*, 2021, 96 (17): 805-817. DOI: 10.1212/wnl.00000000000011839.
- [2] WANG G X, WANG D W, LIU Y, et al. Intractable epilepsy and the P-glycoprotein hypothesis [J]. *Int J Neurosci*, 2016, 126 (5): 385-392. DOI: 10.3109/00207454.2015.1038710.
- [3] MA F F, ZHANG X J, YIN K J. MicroRNAs in central nervous system diseases: a prospective role in regulating blood-brain barrier integrity [J]. *Exp Neurol*, 2020, 323: 113094. DOI: 10.1016/j.expneurol.2019.113094.
- [4] ASADI-POOYA A A, TAJBAKSHI A, SAVARDASHTAKI A. MicroRNAs in temporal lobe epilepsy: a systematic review [J]. *Neurol Sci*, 2021, 42 (2): 571-578. DOI: 10.1007/s10072-020-05016-x.
- [5] KONG J H, QIU Y J, LI Y, et al. TGF- $\beta$  1 elevates P-gp and BCRP in hepatocellular carcinoma through HOTAIR/miR-145 axis [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2019, 40 (2): 70-80. DOI: 10.1002/bdd.2172.
- [6] CHEN F, LI X H, LIU C, et al. Circ-ABC10 accelerates the malignant progression of oral squamous cell carcinoma by absorbing miRNA-145-5p [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24 (2): 681-690. DOI: 10.26355/eurev\_202001\_20045.
- [7] 中国抗癫痫协会. 临床诊疗指南: 癫痫病分册(2015修订版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 5.
- [8] DUAN Z J, YAO K, ZHOU J, et al. Neuropathologic findings in intractable epilepsy: a clinicopathologic analysis of 822 cases [J]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 2017, 46 (10): 673-678. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2017.10.003.
- [9] GROSS C, TIWARI D. Regulation of ion channels by MicroRNAs and the implication for epilepsy [J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2018, 18 (9): 60. DOI: 10.1007/s11910-018-0870-2.
- [10] BRENNAN G P, BAUER S, ENGEL T, et al. Genome-wide microRNA profiling of plasma from three different animal models identifies biomarkers of temporal lobe epilepsy [J]. *Neurobiol Dis*, 2020, 144: 105048. DOI: 10.1016/j.nbd.2020.105048.
- [11] AMRI J, MOLAEI N, BAAZM M, et al. Targeting epidermal growth factor receptor by miRNA-145 inhibits cell growth and sensitizes NSCLC cells to erlotinib [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2019, 20 (9): 2781-2787. DOI: 10.31557/apjcp.2019.20.9.2781.
- [12] CAMFIELD P R, CAMFIELD C S. Intractable seizures after a lengthy remission in childhood-onset epilepsy [J]. *Epilepsia*, 2017, 58 (12): 2048-2052. DOI: 10.1111/epi.13916.
- [13] GIMÉNEZ DEGEORGE E, FULLEN C, GESS J, et al. Effects of age of onset and medication on cognitive performance and quality of life in patients with epilepsy [J]. *Epilepsy Behav*, 2021, 121 (Pt A): 108008. DOI: 10.1016/j.yebeh.2021.108008.
- [14] HUNTER M B, YOONG M, SUMPTER R E, et al. Incidence of early-onset epilepsy: a prospective population-based study [J]. *Seizure*, 2020, 75: 49-54. DOI: 10.1016/j.seizure.2019.12.020.
- [15] TASKER R C, GOODKIN H P, SÁNCHEZ FERNÁNDEZ I, et al. Refractory status epilepticus in children: intention to treat with continuous infusions of midazolam and pentobarbital [J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2016, 17 (10): 968-975. DOI: 10.1097/pcc.0000000000000900.
- [16] GUGGER J J, HUSARI K, PROBASCO J C, et al. New-onset refractory status epilepticus: a retrospective cohort study [J]. *Seizure*, 2020, 74: 41-48. DOI: 10.1016/j.seizure.2019.12.002.
- [17] PADIYAR S, NUSAIRAT L, KADRI A, et al. Neonatal seizures in the US national inpatient population: prevalence and outcomes [J]. *Pediatr Neonatol*, 2020, 61 (3): 300-305. DOI: 10.1016/j.pedneo.2019.12.006.
- [18] ARFMAN I J, WAMMES-VAN DER HEIJDEN E A, TER HORST P G J, et al. Therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs in women with epilepsy before, during, and after pregnancy [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2020, 59 (4): 427-445. DOI: 10.1007/s40262-019-00845-2.
- [19] RATTI M, LAMPIS A, GHIDINI M, et al. MicroRNAs (miRNAs) and long non-coding RNAs (lncRNAs) as new tools for cancer therapy: first steps from bench to bedside [J]. *Target Oncol*, 2020, 15 (3): 261-278. DOI: 10.1007/s11523-020-00717-x.
- [20] POTTER M L, HILL W D, ISALES C M, et al. MicroRNAs are critical regulators of senescence and aging in mesenchymal stem cells [J]. *Bone*, 2021, 142: 115679. DOI: 10.1016/j.bone.2020.115679.
- [21] XIA X, WANG Y, HUANG Y, et al. Exosomal miRNAs in central nervous system diseases: biomarkers, pathological mediators, protective factors and therapeutic agents [J]. *Prog Neurobiol*, 2019, 183: 101694. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2019.101694.
- [22] ANTÓNIO L G L, FREITAS-LIMA P, PEREIRA-DA-SILVA G, et al. Expression of MicroRNAs miR-145, miR-181c, miR-199a and miR-1183 in the blood and hippocampus of patients with mesial temporal lobe epilepsy [J]. *J Mol Neurosci*, 2019, 69 (4): 580-587. DOI: 10.1007/s12031-019-01386-w.
- [23] FENG Y, YANG H, YUE Y, et al. MicroRNAs and target genes in epileptogenesis [J]. *Epilepsia*, 2020, 61 (10): 2086-2096. DOI: 10.1111/epi.16687.
- [24] YU Q, ZHAO M W, YANG P. LncRNA UCA1 suppresses the inflammation via modulating miR-203-mediated regulation of MEF2C/NF- $\kappa$ B signaling pathway in epilepsy [J]. *Neurochem Res*, 2020, 45 (4): 783-795. DOI: 10.1007/s11064-019-02952-9.
- [25] WEI B, LIU Y S, GUAN H X. MicroRNA-145-5p attenuates high glucose-induced apoptosis by targeting the notch signaling pathway in podocytes [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19 (3): 1915-1924. DOI: 10.3892/etm.2020.8427.
- [26] LIU D, LI S, GONG L, et al. Suppression of microRNA-141 suppressed p53 to protect against neural apoptosis in epilepsy by SIRT1 expression [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120 (6): 9409-9420. DOI: 10.1002/jcb.28216.

(收稿日期: 2021-10-13; 修回日期: 2021-12-02)

(本文编辑: 崔丽红)