

• 论 著 •

# 脆弱拟杆菌 (BF839) 辅助治疗难治性癫痫有效性的初步临床研究

邓宇虹<sup>1,2,3</sup>, 林楚慧<sup>3</sup>, 操德智<sup>4</sup>

1. 广州医科大学附属第二医院 神经科学研究所 神经内科 (广州 510260)
2. 中国广东省和卫生部神经遗传和离子通道病重点实验室 (广州 510260)
3. 广州医科大学附属第二医院 临床营养科 (广州 510260)
4. 广东省深圳市儿童医院 神经内科 (深圳 5180038)

**【摘要】** 目的 研究脆弱拟杆菌 (BF839) 辅助治疗难治性癫痫的有效性和安全性以及共患病的改善情况, 以寻找新方法治疗难治性癫痫。方法 纳入 2019 年 4 月–2019 年 10 月在广州医科大学附属第二医院神经内科癫痫专病门诊就诊的 47 例难治性癫痫患者, 辅助添加 BF839 治疗。比较 1~4 个月治疗期间每月 (28 天) 癫痫发作频率相对于干预前基线中位降低百分比; 反应率 (癫痫发作减少  $\geq 50\%$  的患者比例); 干预 12 个月的无发作率和保留率, 并初步观察不良反应与共患病变化。**结果** 干预后 1~4 个月包括所有类型的总发作频率月均中位降低百分比为  $-53.5\%$  ( $P=0.002$ ), 反应率为  $61.1\%$  (22/36); 12 个月无发作率是  $8.5\%$  (4/47); 12 个月的保留率是  $57.4\%$  (27/47); 不良反应为腹泻  $4.3\%$  (2/47)、便秘  $4.3\%$  (2/47),  $48.9\%$  (23/47) 患者报告共患病好转, 其中认知改善  $21.2\%$  (10/47)。**结论** 脆弱拟杆菌 (BF839) 可安全、有效辅助治疗难治性癫痫, 还有利于改善共患病, 这是世界首次报道口服单一肠道菌株可能有效治疗难治性癫痫的研究, 具有重要意义。

**【关键词】** 癫痫; 脆弱拟杆菌 (BF839); 微生物群; 自身免疫相关性癫痫; 难治性癫痫

## The beneficial effect of *Bacteroides Fragilis* (BF839) as a supplementary treatment in drug-resistant epilepsy: a pilot study

DENG Yuhong<sup>1,2,3</sup>, LIN Chuhui<sup>3</sup>, CAO Dezhi<sup>4</sup>

1. Institute of Neuroscience and Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510260, China
2. Key Laboratory of Neurogenetics and Channelopathies of Guangdong Province and the Ministry of Education of China, Guangzhou 510260, China
3. Department of Clinical Nutrition, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong Province, 510260, China
4. Department of Neurology, Shenzhen Children's Hospital, Shenzhen 5180038, China

Corresponding author: DENG Yuhong, Email: 1376708863@qq.com

**【Abstract】 Objective** The purpose of this study was to find a new method for the treatment of drug-resistant epilepsy, and to study the efficacy and safety of *Bacteroides fragilis* (BF839) in the adjunctive treatment of refractory epilepsy, as well as the improvement of comorbidity. **Methods** A prospective, single-arm, open pilot clinical study was designed for the additive treatment of drug-resistant epilepsy using *Bacteroides fragilis* 839 (BF839). 47 patients with refractory epilepsy, who were admitted to the epilepsy outpatient clinic of the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University from April 2019 to October 2019, were enrolled and treated with BF839 adjunct treatment. The primary efficacy endpoint was median percent reduction from baseline in monthly (28-day) seizure frequency for the 16-week treatment period. Other efficacy analysis included response rate (proportion of patients with  $\geq 50\%$  seizure reduction) in the 16 weeks period, the proportion of patients seizure free and the retention rate after 12 months intervention, and the observance of the side effects and comorbidities. **Results** The median reduction percent of all seizure types was  $-53.5\%$  ( $P=0.002$ ). The response rate was  $61.1\%$  (22/36).  $8.5\%$  (4/47) patients seizure free at 12 months.

DOI: 10.7507/2096-0247.20210046

通信作者: 邓宇虹, Email: 1376708863@qq.com



The retention rate at 12 months was 57.4% (27/47). The side effects were diarrhea 4.3% (2/47) and constipation 4.3% (2/47). 48.9% (23/47) of the patients reported improvement in comorbidities, with cognitive improvement of 21.2% (10/47). **Conclusion** BF839 can be used as an effective additive therapy to treat drug-resistant epilepsy. It is safe and beneficial to the improvement of comorbidities. This is the first time in the world that a single intestinal strain has been reported to be effective in treating drug-resistant epilepsy. This research has important implications.

**【Key words】** Epilepsy; Bacteroides Fragilis; Microbiota; Autoimmune-associated epilepsy; Drug-resistant epilepsy

癫痫是神经系统常见病,约 1/3 的患者对药物无反应,被认为是难治性癫痫(或耐药性癫痫)<sup>[1]</sup>,需要寻找更多有效疗法。在过去的二十年中,微生物组研究以惊人的速度发展,菌群-肠-脑-轴的概念得到人们的重视,大量的动物和临床证据表明肠道微生物群与多种精神病、神经病和神经退行性疾病有关<sup>[2]</sup>,使得干预肠道微生物来治疗这些疾病成为了战略方向。

2017 年我国学者报道粪菌移植治疗一例克罗恩病患者的同时治愈了其难治性癫痫<sup>[3]</sup>。2018 年有研究发现,肠道菌群介导了生酮饮食的抗癫痫作用<sup>[4]</sup>,使用阿克曼菌(*Akkermansia muciniphila*)和副拟杆菌(*Parabacteroides*)灌胃,能恢复经抗生素处理和无菌小鼠的生酮饮食的抗癫痫疗效,这提示我们补充拟杆菌有益于癫痫治疗,目前国内外均未见使用任何包括拟杆菌在内的单一菌株治疗癫痫的临床报道。拟杆菌是人肠道中主要的优势菌群,脆弱拟杆菌 839 (*Bacteroides Fragilis*, BF839) 是拟杆菌门中的一株无毒菌株<sup>[5]</sup>,它是我国微生物学家张季阶 1983 年 9 月从健康新生儿粪便中分离培养并产业化的肠道共生菌,具有调节免疫等功效<sup>[6]</sup>,由其制成的“图腾益生液”于 1997 年被批为中国新资源食品,已在中国上市超过 20 年。本研究设计了用 BF839 辅助治疗一组难治性癫痫患者的单臂、开放、前瞻性、自身前后对照的探索性临床研究,观察干预前后的癫痫发作次数、不良反应以及患者自我报告的共患病改变,初步了解其治疗难治性癫痫的有效性和安全性。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

**1.1.1 研究对象** 来自 2019 年 4 月—2019 年 10 月在广州医科大学附属第二医院神经内科癫痫专病门诊就诊的患者。本研究通过广州医科大学附属第二医院伦理委员会审批,获得了患者的知情同意书(中国临床试验注册中心网上进行注册,注册号 CHICTR1900022323)。

**1.1.2 纳入标准** 符合药物难治性癫痫(Drug-

resistant epilepsy, DRE) 的诊断。难治性癫痫的定义为<sup>[1]</sup>: 根据发作类型,合理选择并正确使用至少两种耐受性良好的抗癫痫药物,单用或联合进行治疗后,患者无发作的持续时间未达到治疗前最长发作间隔的 3 倍或者 1 年(以时间较长者为准)。在入组前 1 个月至少有一次发作。

**1.1.3 研究排除标准** ① 入组前 1 个月增加新的抗癫痫药物或调整剂量; ② 入组前 1 个月使用过其它益生菌或抗生素或接受粪菌移植; ③ 严重心肝肾功能障碍; ④ 妊娠和哺乳。

**1.1.4 退出标准** ① I 类退出: 在试验阶段停止服用 BF839 或少服 >20%; ② II 类退出: 在试验阶段增加新抗癫痫药物或原有药物剂量增加,但仍持续服用 BF839 或少服 <20%。

**1.1.5 癫痫发作分类标准** 由于癫痫的发作分类较为繁琐,在长期随访中,患者往往不能准确描述每次发作的特征,为了现实记录和统计需要,以 2017 年国际抗癫痫联盟(ILAE)癫痫发作分类为基础<sup>[7]</sup>,我们把发作分为 3 类: ① A 类(重度发作): 伴意识障碍的强直-阵挛发作,包括局灶发作继发双侧强直阵挛发作、全面性起源的强直阵挛发作,起源不明的强直阵挛发作,其对患者的影响较大,常导致外伤,患者通常记载为严重的“大”发作; ② B 类(中度发作): 局灶起源、有意识受损的运动或非运动发作,全面性起源中除强直阵挛发作和肌阵挛发作之外的其它发作,包括失神发作、痉挛发作、强直发作、失张力发作、未知起源的除强直阵挛发作外的其它发作和不能分类的发作,患者通常记录为“中等强度发作”; ③ C 类(轻度发作): 无意识受损的发作,包括局灶起源的意识清醒的运动及非运动发作,全面性起源发作中的肌阵挛发作,通常对患者生活影响小,患者通常记录为“小”发作。

### 1.2 方法

**1.2.1 患者招募** 因之前尚无关于 BF839 治疗难治性癫痫的研究发表,样本量计算: 若估计超过 20% 的患者减少 >50% 的发作,退出率为 20%,统计效力为 80% 的时候,采用双侧独立两样本 *t* 检验,至少需要 46 例患者样本。



试验分为二阶段。患者在入组前 1 个月进行评估,记录其每月发作次数。第二阶段:在不改变原有治疗的基础上,患者添加服用 BF839(粉剂,一包 10 g,菌落数 $>10^6/g$ ),从每日一包开始,若疗效不满意且没有不可耐受的不良反应,可在 1~3 个月内增加到 2 包,在此后的 12 个月维持期内剂量不变,共随访 12~15 个月。

**1.2.2 疗效观察** 研究者每月对患者进行随访,详细记录患者干预前后的每月发作次数。入组前的发作次数取入组前 1 年的月平均值,若发作次数较多,不能准确回忆,则取入组前 3 或 1 个月的平均值。参考 Patrick Kwan 等<sup>[1]</sup>关于癫痫治疗的疗效判断分类,以干预前后患者每月(28 天)发作频率是否减少作为主要疗效指标,将结局分为 4 级,1 级:无癫痫发作;2 级:发作减少 $>90\%$ ;3 级:发作减少 50%~90%;4 级:发作减少 $<50\%$ ;反应率(有效率):定义为发作减少 $\geq 50\%$ 的患者比例。在有可分析的癫痫发作数据的意向治疗(Intent-to-treat, ITT)人群中,比较干预后 1~4 个月的总发作(包括所有类型的癫痫发作)及三种不同类型(A, B, C)的发作频率相对于基线的中位降低百分比;观察干预后 1~4 个月总发作及 A、B、C 三类发作频率降低的患者疗效指标结局分级的比例,计算反应率;计算 4、12 个月的完成率和保留率,完成率定义为无任何类型的退出,完成率=[入组人数-(I 类+II 类退出人数)]/入组人数,保留率定义为在治疗期结束时仍服用 BF839 及漏服 $<20\%$ 的患者比例,保留率=[入组人数-(I 类退出人数)]/入组人数。在根据病因分类的亚型中进一步观察上述指标。

**1.2.3 不良反应** 记录患者自我报告的不良反应,如益生菌常见的不良反应包括胃肠道反应(恶心、呕吐、腹泻、便秘、排气增加),过敏(皮疹等),医生认为其他可能与试验相关的不良反应。

**1.2.4 共患病** 记录患者自我报告的共患病改善情况,包括认知、情绪、睡眠、体重异常、月经紊乱,再次入院次数也作为观察指标之一。

### 1.3 统计学分析

数据使用意向性分析(Intention to treat, ITT),计量资料用( $\bar{x}\pm s$ )、中位数(25%~75%四分位数)M、标准差 SD 表示,计数资料用率(%)表示,用 SPSS 17.0 统计软件分析。根据数据的正态性和方差齐性,治疗前后组内比较采用双侧配对样本 *t* 检验或非参数 Wilcoxon 符号秩和检验。以 *P* 值 $<0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 基本特征

研究共纳入 47 例患者,基线特征见表 1。

### 2.2 总体结果

**2.2.1 1~4 个月结果** 在第 4 个月时,有 11 例患者退出,其中 I 类退出 9 例,II 类退出的 2 例,4 个月的完成率是 75%(36/47),保留率是 81%(38/47)。退出原因:7 例为家属要求(其中 4 例在退出前发作已减少 50%,但未达到无发作,家属仍决定退出),1 例发作轻微增多,2 例由于感冒和发作较多而入院终止,1 例腹泻退出。与干预前比较,1、2、3、4 每月总发作频率的中位降低百分比为-27.8%、-61.1%、-67.5%、-67.2%( $P=0.016$ 、0.001、0.000、0.002),1~4 个月期间的总发作频率的中位降低百分比为-53.5%( $P=0.002$ );其中 A 类(重度发作)1~4 个月期间的中位降低百分比为-74.8%( $P=0.018$ )(表 2)。总发作反应率(发作减少 $\geq 50\%$ 的患者比例)为 61.1%(22/36)(表 3)。分析有效组和无效两组的基线特征,有效组的总用药数量少于无效组( $P=0.013$ ),干预前发作次数、性别、年龄、病程无显著性差异(表 4)。

**2.2.2 12 个月结果** 12 个月时共有 20 例患者 I 类退出,10 例患者 II 类退出,12 个月的完成率是 36.1%(17/47),12 个月的保留率是 57.4%(27/47),8.5%(4/47)的患者达到 12 个月无发作。

表 1 患者的基线特征 ( $n=47$ )

Tab.1 Baseline characteristics of the patients ( $n=47$ )

患者特征 Characteristics	<i>n</i> (%)
男性比例 (%)	24 (51.1%)
平均年龄 ( $\pm$ SD)	14.5 (13.1)
平均病程 ( $\pm$ SD)	5.52 (6.12)
癫痫病因分类 (%)	
免疫性	17 (36.2)
不明原因	20 (42.6)
结构性	5 (10.6)
遗传性	5 (10.6)
既往及目前使用的平均药物种类 ( $\pm$ SD)	3.81 (1.73)
既往其它治疗 (%)	
手术	1 (2.1)
生酮	4 (8.5)
每月发作频率中位数	18.6 (5.0~90.0)
头颅磁共振异常 (%)	21 (44.7)

**2.2.3 不良反应** 4.3% (2/47) 腹泻, 其中 1 例在减量后好转, 2 周后自行缓解, 另 1 例由于腹泻而退出,

**表 2 BF839 干预难治性癫痫 (与基线比较) 每月发作频率中位降低百分比 (n=36)**

**Tab.2 The median reduction percentage for seizures frequency after Bacteroides Fragilis (BF839) intervention of drug-resistant epilepsy (compared to baseline) (n=36)**

时间 Time	中位降低百分比 (%) Median reduction percentage	Z 值	P 值
1 个月总发作	-27.8*	2.10	0.016
A 类发作	-75.0	1.605	0.108
B 类发作	-50.0	1.186	0.236
C 类发作	-16.7	1.185	0.236
2 个月总发作	-61.1*	3.32	0.001
A 类发作	-75.0	1.635	0.102
B 类发作	-73.4*	2.423	0.015
C 类发作	-100.0	1.682	0.092
3 个月总发作	-67.5*	3.65	0.000
A 类发作	-100.0*	2.538	0.011
B 类发作	-78.4*	2.139	0.032
C 类发作	-100.0	1.838	0.066
4 个月总发作	-67.2*	3.16	0.002
A 类发作	-100.0*	2.559	0.01
B 类发作	-58.0	1.656	0.098
C 类发作	-90.0	0.663	0.507
1~4 个月总发作	-53.5*	3.17	0.002
A 类发作	-74.8*	2.369	0.018
B 类发作	-51.4	1.795	0.073
C 类发作	-45.8	0.764	0.445

注: \*与干预前对比, P<0.05 有统计学差异

**表 3 BF839 干预难治性癫痫后 1~4 个月总发作及三类发作频率降低的患者疗效结局分级比例**

**Tab.3 The efficacy result were graded by the proportion of patients with total seizures and reduced frequency of three types of seizures in 1 to 4 months after intervention with BacteroidesFragilis (BF839)**

	总发作 n=36 (%) Total seizures	A 类发作 n=17 (%) A type	B 类发作 n=24 (%) B type	C 类发作 n=9 (%) C type
1 级	3 (8.3)	6 (35.3)	3 (12.5)	2 (22.2)
2 级	3 (8.3)	1 (5.9)	3 (12.5)	1 (11.1)
3 级	16 (44.4)	3 (17.7)	10 (41.7)	1 (11.1)
4 级	14 (38.9)	7 (41.2)	8 (33.3)	5 (55.6)
发作减少 ≥ 50%	22 (61.1)	10 (58.8)	16 (66.7)	4 (44.4)

注: 1 级: 无发作; 2 级: 发作减少 >90%; 3 级: 发作减少 50%~90%; 4 级: 发作减少 <50%

Grade 1: no seizures; Grade 2: seizure reduction >90%; Grade 3: 50%~90% seizure reduction; Grade 4: seizure reduction <50%

出, 因此由于不良事件 (腹泻) 而终止治疗的患者比例为 2.1% (1/47)。4.3% (2/47) 便秘, 其中 1 例多饮水后好转, 1 例不严重, 未处理。

**2.2.4 共患病** 48.9% (23/47) 患者自我报告共患病好转。其中认知改善 21.2% (10/47), 食欲好转、体重增加 6.3% (3/47), 情绪改善 6.3% (3/47) (包括抑郁症 1 例和躁狂症 2 例), 4.3% 睡眠改善 (2/47), 4.3% (1/23) 月经恢复正常, 8.5% 减少入院次数 (4/47)。

**2.3 根据病因分类的各亚型结果**

**2.3.1 免疫性癫痫** 17 例, 包括抗体阴性的自身免疫性脑炎癫痫 12 例, Rasmussen 脑炎 1 例, GAD 抗体癫痫 3 例, LGI1 抗体癫痫 1 例。男性 8 例, 女性 9 例; 年龄 (20.07±14.92) 岁; 平均病程 (4.14±5.18) 年; 既往及目前使用的药物平均种类 (4.00±1.46) 种, 既往手术 1 例。干预前每月发作频率中位数为 11 (4.5~68.0) 次。64.7% (11/17) 头部核磁共振成像 (MRI) 异常, 其中局灶额叶异常信号 2 例, 局灶枕叶信号异常 1 例, 双顶叶异常信号 1 例, 一侧海马硬化 2 例, 一侧颞叶萎缩 1 例, 双侧多灶异常信号 2 例, 弥漫性脑萎缩 2 例。

① 1~4 个月结果: 14 例患者完成了 4 个月试验。I 类退出 2 例, II 类退出 1 例。4 个月的完成率是 82% (14/17), 保留率是 88% (15/17)。与干预前基线比较, 第 3 月发作中位降低百分比为 -67.5% (P=0.016) (表 5)。总发作反应率 (发作减少 ≥ 50% 的患者比例) 为 57.1% (表 6)。

② 12 个月结果: 有 1 例抗体阴性自身免疫性脑炎患者达到了 12 个月无发作, 另 1 例 LGI1 抗体脑炎的患者达到 6 个月无发作, 该患者认为已“治愈”而 I 类退出, 但在随后的 2 个月内复发。其余 12 例患者均未达到无发作, 仅有 3 例患者未更改治



疗方案完成试验, 12 个月的完成率是 17.6% (3/17), I 类退出 9 例, II 类退出 5 例, 12 个月的保留率是 47.1% (8 /17)。

**2.3.2 不明原因癫痫 20 例。**男性 10 例, 女性 10

表 4 有效和无效两组的基线特征比较

Tab.4 Comparison of baseline characteristics between effective and ineffective groups

变量 Variables	有效 Effective	无效 Ineffective	P 值
年龄 (SD)	15.27 (16.16)	15.50 (7.86)	0.955
性别 (%)			0.342
男	9 (53)	8 (47)	
女	13 (68)	6 (32)	
病程 (SD)	5.12 (6.41)	6.59 (6.06)	0.497
既往用药 (SD)	3.23 (1.51) *	4.79 (2.04)	0.013
每月发作频率中位数	40.5 (4.65-90.12)	8.5 (4.0-15.75)	0.101

注: \*与干预前对比, P<0.05 有统计学差异, SD: 标准差

例; 年龄 (10.69±10.10) 岁, 平均病程 (5.58±5.89) 年, 既往及目前使用的药物平均种类 (3.65±2.11) 个; 干预前每月总发作频率中位数为 18.5 (4.25 ~ 107.37) 次; 既往生酮饮食 4 例。基因检测发现异常的患者 7 例 (SCN1B 突变 1 例, SCN1A 突变 2 例, SUCO、TSC2、ANK3、WNT10A 突变 1 例, KCND2、TRIO、KCNV2 突变 1 例, CACNB4、GABBR2、MBD5 突变 1 例, SLC2A1、ADGRV1 突变 1 例)。20% (4/20) 头部 MRI 异常, 右海马硬化 1 例, 颞叶萎缩 1 例, 轻度脑萎缩和脑白质脱髓鞘 1 例, 多病灶信号异常 1 例。

① 1~4 个月结果: 共有 18 例患者完成了 4 个月试验。2 例 I 类退出。4 个月完成率 90% (18/20), 保留率 90% (18/20)。与干预前基线对比, 第 2、3、4 个月及 1~4 个月总发作频率中位降低百分比为 -61.1%、-55.1%、-61.3%、-51.4% (P=0.02、0.023、0.039、0.035) (表 5)。总发作反应率 (癫痫发作减

表 5 BF839 干预免疫性及不明原因癫痫 (与基线比较) 每月总发作频率中位降低百分比

Tab.5 The median decrease percentage of monthly total seizure frequency of immune and unknow etiology drug-resistant epilepsy (compared with baseline) after intervention of Bacteroides Fragilis (BF839)

	免疫性癫痫 (n=14) Immune epilepsy			不明原因癫痫 (n=18) Unknown etiology epilepsy		
	中位降低百分比 (%) The median decrease percentage	Z 值	P 值	中位降低百分比 (%) The median decrease percentage	Z 值	P 值
1 个月	-24.1	1.294	0.196	-24.8	1.449	0.147
2 个月	-53.0	1.664	0.096	-61.1 *	2.320	0.020
3 个月	-67.5 *	2.419	0.016	-55.1 *	2.274	0.023
4 个月	-57.3	1.852	0.064	-61.3 *	2.060	0.039
1~4 个月	-52.1	1.643	0.100	-51.4 *	2.112	0.035

注: \*与干预前对比, P<0.05 有统计学差异

表 6 BF839 干预免疫性癫痫及不明原因癫痫 1~4 个月总发作及三类发作频率降低的患者疗效结局分级比例

Tab.6 The efficacy result were graded by the total seizures and three types of seizure reduction frequency in 1~4 months for patients with immune and unknow etiology drug-resistant epilepsy treated by Bacteroides Fragilis (BF839) intervention

	免疫性癫痫 Immune epilepsy				不明原因癫痫 Unknown etiology epilepsy			
	总发作 Total seizures n=14 (%)	A 类发作 A type n=11 (%)	B 类发作 B type n=10 (%)	C 类发作 C type n=3 (%)	总发作 Total seizures n=18 (%)	A 类发作 A type n=6 (%)	B 类发作 B type n=12 (%)	C 类发作 C type n=4 (%)
1 级	2 (14.3)	4 (36.4)	2 (12.5)	1 (22.2)	1 (5.6)	2 (33.3)	1 (8.3)	0 (0)
2 级	0 (0)	0 (5.9)	1 (12.5)	0 (11.1)	1 (5.6)	1 (16.7)	1 (8.3)	0 (0)
3 级	6 (42.9)	2 (17.7)	4 (41.7)	0 (11.1)	8 (44.4)	2 (33.3)	6 (50)	1 (25)
4 级	6 (42.9)	5 (41.2)	3 (33.3)	2 (55.6)	8 (44.4)	1 (33.3)	4 (33.3)	3 (75)
发作减少 ≥ 50%	8 (57.1)	6 (58.8)	16 (66.7)	4 (44.4)	10 (55.6)	4 (66.7)	10 (66.7)	1 (25)

注: 1 级: 无癫痫发作; 2 级: 发作减少 >90%; 3 级: 发作减少 50% ~ 90%; 4 级: 发作减少 <50%

Grade 1: no seizures; Grade 2: seizure reduction >90%; Grade 3: 50% ~ 90% seizure reduction; Grade 4: seizure reduction <50%

少 $\geq 50\%$ 的患者比例)为55.6%(表6)。

② 12个月结果: 2例患者在入组后的第1、3个月开始无发作持续12个月; 1例在入组后的第2个月开始无发作持续8个月, 患者认为已治愈, I类退出, 但在随后的第4个月复发。其余14例患者均未达到无发作, 12个月的完成率是60%(12/20), 保留率是70%(14/20)。

**2.3.3 遗传性癫痫** 5例, 2例结节性硬化、1例婴儿严重肌阵挛性癫痫(Dravet综合征), 2例雷特(Rett)综合征。

4例患者完成了4个月的试验, 1例结节性硬化患者在第2月时决定加药导致II类退出。4个月的完成率是80%(4/5), 4个月的保留率是100%。1例Rett综合征患者无发作9个月, 认为已“治愈”I类退出, 继续随访至15个月无复发。另1例Rett综合征患者降低90%的发作, 在第10月I类退出, 原因是家属认为已“治愈”, 在第12个月随访时仍保持减少 $>90\%$ 的发作。1例结节性硬化患者降低了50%的发作, 在12个月随访时仍能保持原有疗效, 且没有任何类型的退出; 另1例结节性硬化患者, 在第1个月没有明显减少的情况下, 第2月自行加药(原来无效的丙戊酸钠), 第3个月发作减少50%, 此后未规律吃菌, 但在第7个月重新开始规律吃菌, 在以后5个月的发作减少 $>90\%$ 。Dravet综合征的患者在1~4个月内发作减少了50%, 但9个月后发作增加(感冒诱发), 12个月的总发作次数降低 $<50\%$ 。

**2.3.4 结构性病因** 5例, 脑外伤1例、脑发育不良3例、缺血缺氧性脑病2例。头部MRI均为异常。

无患者能完成4个月的试验。1例患者在第1个月时发作减少 $>50\%$ , 家属仍决定在第2个月添加药物, 与BF839同服, 在第3个月时无发作, 此后维持无发作12个月。12个月的完成率为0, 12个月的保留率为20%(1/5)。

### 3 讨论

本研究结果显示, BF839作为添加治疗难治性癫痫具有一定的效果。在ITT分析中1~4个月的每月总发作频率的中位降低百分比为 $-53.5\%$ , 1~4个月的总反应率(每月发作频率减少 $\geq 50\%$ 的患者比例)为61.1%。这一结果远高于Gómez-Eguílaz等<sup>[8]</sup>报道的采用8种益生菌合剂添加治疗难治性癫痫4个月的28.9%的反应率。一般认为, 安慰剂在添加治疗难治性癫痫试验中的反应率为22.2%或33%<sup>[9, 10]</sup>, 降低百分比中位数为 $-28.7\%$ <sup>[11]</sup>, 因此即使这是一个

单臂试验, 这一相差较大的结果也支持它有确切的疗效。该结果接近甚至优于部分新型抗癫痫药物作为添加治疗难治性癫痫的3~4个月的短期疗效, 如拉莫三嗪的总反应率为50%<sup>[12]</sup>, 左乙拉西坦<sup>[13]</sup>的总反应率为45.1%, 降低百分比中位数为 $-46.5\%$ ; 拉科酰胺的部分性发作的反应率为52.9%<sup>[10]</sup>(儿童)或46.3%<sup>[14]</sup>(成人), 中位降低百分比为 $-51.7\%$ <sup>[10]</sup>(儿童)或 $-44.9\%$ <sup>[14]</sup>(成人); 奥卡西平<sup>11</sup>部分性发作的反应率为40.7%, 中位降低百分比为 $-42.9\%$ ; 托吡酯的部分性发作的反应率为47%<sup>[15]</sup>或37.5%<sup>[16]</sup>, 中位降低百分比为 $-46\%$ <sup>[15]</sup>或 $-39.5\%$ <sup>[16]</sup>。本研究8.5%的患者12个月无发作, 也远高于2种药物失败后, 第三种药物仅有4.4%的12个月无发作率<sup>[17]</sup>。无论在总体还是根据病因分类的各亚组, A类(重度发作)达到1级结局(无发作)的患者比例最多, 1~4个月中位降低百分比为 $-74.8\%$ , 这提示BF839还有减轻发作程度的可能。

在慢性难治性癫痫的长期治疗中, 保留率是反映安全性与疗效的较好指标。本研究结果显示, BF839的主要不良反应为腹泻与便秘, 总发生率为8%, 无严重不良反应, 由于不良事件(腹泻)而退出的发生率是2%(1/47), 低于由于不良事件退出的药物, 如拉莫三嗪<sup>[12]</sup>为7%、奥卡西平<sup>[11]</sup>为30.1%。其12个月的保留率是57.4%, 与新型抗癫痫药添加治疗13个月的保留率接近, 如左乙拉西坦为59.1%<sup>[18]</sup>, 托吡酯为56.6%<sup>[18]</sup>。该结果证明该疗法有较好的耐受性。本研究结果还提示, 发作减少及反应率在第2~3个月明显, 这符合益生菌治疗起效时间的一般特征。

脆弱拟杆菌作为哺乳动物肠道内正常定殖的共生菌, 对宿主免疫系统的发育有重要作用<sup>[19]</sup>。使用单一脆弱拟杆菌定植, 就能纠正无菌小鼠中的免疫发育缺陷, 使CD4+T细胞数量恢复正常<sup>[19]</sup>; 其细胞壁的多糖A(PSA)可以调节辅助T细胞(Th1/Th2细胞)的平衡<sup>[20]</sup>; 激活调节性T细胞(Regulatory cells, Tregs), 抑制炎症反应<sup>[21]</sup>, 在大量的动物实验中发现它在自身免疫, 炎症和传染病方面赋予宿主好处<sup>[22]</sup>, 有学者把这个菌的发现, 比喻为“大海捞针”<sup>[22]</sup>。1983年我国微生物学家张季阶发现的BF839这一菌株, 有调节免疫、预防肠道和呼吸道疾病、促进儿童身体生长发育等功效<sup>[6]</sup>。我们认为, BF839治疗难治性癫痫的机制可能与其突出的免疫调节功能有关。

尽管影像及基因等检查手段不断增加, 大部分癫痫的病因仍未知<sup>[23]</sup>。在2017年的ILAE定义和分

类指南中,引入了“免疫性病因”的类别,与结构、遗传、感染和代谢性病因并列<sup>[7]</sup>。“免疫性病因”确定了一组可能从病因治疗中获益的患者。2020年ILAE又提出了继发于自身免疫性脑炎的急性症状发作(Acute symptomatic seizures secondary to autoimmune encephalitis)及自身免疫相关癫痫(Autoimmune-associated epilepsy)这两个有诊断意义的概念术语<sup>[24]</sup>。前者通常是在急性自身免疫性脑炎背景下的癫痫发作,可通过检测特异性神经抗体(如NMDAR、LGI1、肿瘤神经元抗体、GAD65)等来确诊,免疫治疗有效,抗癫痫药物治疗虽然经常无效,但其癫痫发作通常随着脑炎的缓解而终止,因此不难诊断和治疗。然而,有学者认为<sup>[25]</sup>:在没有急性脑炎表现的情况下,越来越多的证据支持癫痫发作的自身免疫基础。“自身免疫相关癫痫(autoimmune-associated epilepsy)”被ILAE定义为继发于自身免疫性脑部疾病的慢性发作<sup>[24]</sup>。这部分患者表现<sup>[24, 26]</sup>为隐袭起病的慢性癫痫,起病前可能有病毒性感染史,多为难治性癫痫或早期出现癫痫持续状态,伴有认知功能减退,精神症状,自主神经功能障碍,脑脊液炎性改变,与肿瘤相关;脑电图为非特异性改变;头部MRI改变包括内侧颞叶、灰质或白质多灶的信号改变,类似于炎症或脱髓鞘,或者全脑和局灶的脑萎缩,如海马萎缩等,但也可能在早期完全正常;常规免疫治疗效果差。可见,其临床特征并不特异,以至于ILAE认为<sup>[24]</sup>:对缺乏明确脑炎特征的自身免疫相关癫痫的识别是一个具有挑战性的诊断困境。有学者<sup>[26]</sup>根据上述特征制定了评分量表[如Antibody Prevalence in Epilepsy and Encephalopathy (APE2) score]来选择患者进行神经特异性抗体检查(这些抗体与上述自身免疫性脑炎的抗体可能重叠)来进行诊断。然而,由于自身免疫相关癫痫通常认为是T细胞介导的免疫炎症反应<sup>[24]</sup>,而不是抗体介导的,因此更可能表现为细胞免疫异常,而不是体液免疫异常。我们认为:依赖特异性神经抗体阳性来确诊自身免疫性癫痫是不完整的,很大部分患者并没有得到诊断,自身免疫相关癫痫的真正发病率仍然未知。即使单纯依靠检测特异神经抗体阳性来诊断,Husari等<sup>[26]</sup>估计自身免疫相关癫痫也占成人的5%~7%。一项250万人群的流行病学研究发现,接近1/5的癫痫患者合并12种经典自身免疫病(包括1型糖尿病、牛皮癣、类风湿性关节炎、格雷夫斯病、桥本甲状腺炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮、抗磷脂综合征、干燥综合征、重症肌无力和

乳糜泻)中的一种,儿童的比例较成人更高<sup>[27]</sup>。本研究发现BF839治疗不明原因的难治性癫痫总反应率55.6%,基于这些研究,我们推测:20%或以上的癫痫是自身免疫相关癫痫,50%或以上不明原因的难治性癫痫可能是自身免疫相关性癫痫。基于BF839是一个具有突出免疫调节功能的肠道微生物,70%的免疫细胞位于肠道内以及神经内分泌免疫系统的广泛联系,结合我们的结果,我们建议除了上述特征<sup>[24, 26]</sup>,以下特征也可能提示自身免疫相关性癫痫的诊断:如患者存在消化系统的慢性疾病(如长期便秘或腹泻或消化不良);除外上述典型的自身免疫病,患者可能还伴有其它非典型的自身免疫性相关性疾病,如过敏性鼻炎、湿疹、荨麻疹、颈部或腹腔淋巴结肿大等;起病前有压力、精神刺激史;细胞免疫的检查异常(如中性粒细胞百分比及绝对值、淋巴细胞百分比及绝对值、淋巴细胞亚群标记物CD3、CD4、CD8、CD19、NK比例及绝对值等)。即使我们在不明原因难治性癫痫患者亚组中发现有35%(7/20)的患者基因检测异常,55.6%的BF839治疗反应率仍提示免疫因素在其发病中有一定的贡献,一种可能的解释是这些基因突变影响了患者的免疫功能,使之更容易患上自身免疫性疾病。单基因遗传性疾病一般认为是难以治疗的,然而我们发现2例Rett综合征和2例结节性硬化患者均取得了较好的疗效,原因可能也同上,未来应进一步研究这些突变与免疫的相关性。

本研究结果显示,有效组患者的用药数量更少,原因是更多药物影响了患者的免疫功能,还是更多的用药反映了更严重的病情,尚不清楚。既往认为自身免疫相关性癫痫患者常规免疫治疗效果较差<sup>[24]</sup>,可能与早期诊断困难,没有及时纠正免疫紊乱,导致长期的免疫炎症反应造成脑部的持续损害有关。在难治性癫痫患者手术切除的脑组织中发现持续存在的炎症反应包括小胶质细胞和星形胶质细胞的激活及产生的炎性因子<sup>[28-30]</sup>证实了这一点,ILAE建议:对于抗体阴性或不能获得抗体检查的疑似自身免疫相关性癫痫患者,免疫疗法可被用于诊断和治疗的双重目的<sup>[24]</sup>。然而目前免疫疗法一线糖皮质激素、血浆置换、静脉丙种球蛋白,二线的利妥昔单抗、环磷酰胺、硫唑嘌呤等均存在不良反应大、价格昂贵、难以在慢性癫痫中常规使用的缺点,因此,BF839作为一种简单有效、耐受性高的疗法,可能适合诊断性治疗,有可能减少难治性癫痫的形成。

本研究还发现,48%的患者报告共患病(包括



认知改善、食欲好转、体重在增加、情绪好转、睡眠改善、月经恢复)好转,这不仅对患者有极大意义,也反映了BF839对患者的免疫调节机制并不仅限于针对单个的癫痫灶,可能是整体性的改善机制。

该研究的不足之处是样本量较小且缺乏随机的双盲结构,但该研究证明了使用单一菌株(BF839)干预微生物群可以作为难治性癫痫的治疗策略,具有较好的疗效和耐受性,为我们重新认识癫痫的病机,尤其是免疫相关性癫痫的诊断及治疗有所启迪,尚需进一步开展双盲随机试验及动物实验,进一步确定疗效和机理。

### 参考文献

- Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, *et al.* Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*, 2010, 51(6): 1069-1077.
- Cryan JF, O'Riordan KJ, Cowan CSM, *et al.* The Microbiota-Gut-Brain Axis. *Physiol Rev.*, 2019, 99(4): 1877-2013.
- Zhi He, Bo-Ta Cui, Ting Zhang, *et al.* Fecal microbiota transplantation cured epilepsy in a case with Crohn's disease: The first report. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(19): 3565-3568.
- Olson CA, Vuong HE, Yano JM, *et al.* The Gut Microbiota Mediates the Anti-Seizure Effects of the Ketogenic Diet. *Cell*, 2018, 173(7): 1728-1741.
- 张季阶, 于丽娟. 一株无毒脆弱拟杆菌的分离鉴定. *宁夏医学杂志*, 1991, 13(4): 216-218.
- 张季阶, 张洪梅, 张翼, 等. 脆弱拟杆菌(BF839)菌液的临床应用研究. *中国生物制品学杂志*, 1995, 8(2): 63-65.
- Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, *et al.* ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 2017, 58(4): 512-521.
- Gómez-Eguílaz M, Ramón-Traperó JL, Pérez-Martínez L, *et al.* The beneficial effect of probiotics as a supplementary treatment in drug-resistant epilepsy: a pilot study. *Benef Microbes*, 2018, 9(6): 875-881.
- Lim KS, Lotay N White R, *et al.* Efficacy and safety of retigabine/ezogabine as adjunctive therapy in adult Asian patients with drug-resistant partial-onset seizures: a randomized, placebo controlled Phase III study. *Epilepsy and Behavior*, 2016, 61: 224-230.
- Farkas V, Steinborn B, Flamini JR, *et al.* Efficacy and tolerability of adjunctive lacosamide in pediatric patients with focal seizures. *Neurology*, 2019, 93: e1212-e1226.
- French JA, Baroldi P, Brittain ST, *et al.* Efficacy and safety of extended-release oxcarbazepine (Oxtellar XR™) as adjunctive therapy in patients with refractory partial-onset seizures: a randomized controlled trial. *Acta Neurol Scand*, 2014, 129(3): 143-153.
- Jozwiak S, Terczynski A. Open study evaluating lamotrigine efficacy and safety in add-on treatment and consecutive monotherapy in patients with carbamazepine- or valproate-resistant epilepsy. *Seizure*, 2000, 9(7): 486-92.
- Steinhoff BJ, Trinka E, Wieser HG, *et al.* Levetiracetam in patients with refractory epilepsy: results of the SKATE trial in Austria, Germany and Switzerland. *Seizure*, 2005, 14(7): 490-6.
- Halász P, Kälviäinen R, Mazurkiewicz-Beldzinska M, *et al.* Adjunctive lacosamide for partial-onset seizures: Efficacy and safety results from a randomized controlled trial. *Epilepsia*, 2009, 50: 443-453.
- Tassinari CA, Michelucci R, Chauvel P, *et al.* Double-blind, placebo-controlled trial of topiramate (600 mg daily) for the treatment of refractory partial epilepsy. *Epilepsia*, 1996, 37(8): 763-8.
- Chung SS, Fakhoury TA, Hogan RE, *et al.* Once-daily USL255 as adjunctive treatment of partial-onset seizures: randomized phase III study. *Epilepsia*, 2014, 55(7): 1077-1087.
- Chen Z, Brodie MJ, Liew D, *et al.* Treatment outcomes in patients with newly diagnosed epilepsy treated with established and new antiepileptic drugs: A 30-year longitudinal cohort study. *JAMA Neurol*, 2018, 75: 279-286.
- Lee SK, Lee SA, Kim DW, *et al.* A randomized, open-label, multicenter comparative trial of levetiracetam and topiramate as adjunctive treatment for patients with focal epilepsy in Korea. *Epilepsy Behav*, 2019, Aug, 97: 67-74.
- Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, *et al.* An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*, 2005, 122(1): 107-118.
- Bowman LM, Holt PG. Selective Enhancement of Systemic Th1 Immunity in Immunologically Immature Rats with an Orally, Administered Bacterial Extract. *Infection & Immunity*, 2001, 69(6): 3719-27.
- Round JL, Mazmanian SK. Inducible Foxp3+ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(27): 12204-12209.
- Erturk-Hasdemir D, Kasper DL. Finding a needle in a haystack: Bacteroides fragilis polysaccharide A as the archetypical symbiosis factor. *Ann N Y Acad Sci*, 2018, 1417(1): 116-129.
- Brodie MJ, Zuberi SM, Scheffer IE, *et al.* The 2017 ILAE classification of seizure types and the epilepsies: what do people with epilepsy and their caregivers need to know? *Epileptic Disord*, 2018, 20(2): 77-87.
- Steriade C, Britton J, Dale RC, *et al.* Acute symptomatic seizures secondary to autoimmune encephalitis and autoimmune-associated epilepsy: Conceptual definitions. *Epilepsia*, 2020, 61(7): 1341-1351.
- Britton J. Autoimmune epilepsy. *Handb Clin Neurol*, 2016, 133: 219-45.
- Husari KS, Dubey D. Autoimmune Epilepsy. *Neurotherapeutics*, 2019, 16(3): 685-702.
- Ong MS, Kohane IS, Cai T, *et al.* Population-Level Evidence for an Autoimmune Etiology of Epilepsy. *JAMA Neurol*, 2014, 71(5): 569-574.
- Ravizza T, Gagliardi B, NoëF, *et al.* Innate and adaptive immunity during epileptogenesis and spontaneous seizures: evidence from experimental models and human temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis*, 2008, 29(1): 142-160.
- Aronica E, Crino PB. Inflammation in epilepsy: clinical observations. *Epilepsia*, 2011, 52(3): 26-32.
- Crespel A, Coubes P, Rousset MC, *et al.* Inflammatory reactions in human medial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Brain Res*, 2002, 952(2): 159-169.