

## ·论著·

## 电针百会和大椎穴对癫痫大鼠海马CA3和DG区 ephrinA5 表达的影响

高东升<sup>1</sup>, 杨晓燕<sup>2</sup>, 马临庆<sup>2</sup>, 龙莉莉<sup>3</sup>, 肖波<sup>3</sup>

1. 苏州高新区人民医院耳鼻喉科, 江苏 苏州 215000

2. 苏州高新区人民医院神经内科, 江苏 苏州 215000

3. 中南大学湘雅医院神经内科, 湖南 长沙 410008

**摘要:**目的 探讨电针百会和大椎穴对颞叶癫痫大鼠海马组织中CA3和DG区 ephrinA5的调控作用。方法 将30只 Sprague-Dawley (SD) 大鼠随机分为对照组、癫痫组和电针+癫痫组, 每组各10只。建立氯化锂-匹罗卡品颞叶癫痫大鼠模型。造模成功的大鼠电针百会和大椎穴治疗8周后, 分别取3组大鼠海马组织, 采用实时荧光定量PCR (qRT-PCR) 检测各组大鼠海马CA3和DG区 ephrinA5 mRNA水平表达变化; 采用Western blotting和免疫组织化学(免疫组化)法检测各组大鼠海马CA3和DG区 ephrinA5蛋白水平表达变化。结果 qRT-PCR结果显示: 与对照组相比, 癫痫组大鼠海马组织中 ephrinA5 mRNA表达下调( $P < 0.05$ )。通过8周电针百会和大椎穴连续治疗后, ephrinA5 mRNA水平上调( $P < 0.05$ )。Western blotting结果显示: ephrinA5蛋白水平变化趋势与mRNA水平相一致。免疫组化结果显示: 在CA3区, 癫痫组 ephrinA5蛋白水平下调; 电针后 ephrinA5蛋白水平上调。而在DG区与对照组相比, 癫痫组和电针+癫痫组, ephrinA5蛋白水平变化不明显。结论 电针百会和大椎穴的抗癫痫作用机制很可能与 ephrinA5在海马CA3区中的调控机制密切相关。 [国际神经病学神经外科学杂志, 2021, 48(1): 50-54]

关键词: 癫痫; 电针; ephrinA5; 海马; CA3区; DG区; 大鼠

中图分类号: R742.1

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2021.01.012

## Effect of electroacupuncture at Baihui and Dazhui points on the expression of ephrinA5 in the CA3 and DG regions of the hippocampus in epileptic rats

GAO Dong-Sheng<sup>1</sup>, YANG Xiao-Yan<sup>2</sup>, MA Lin-Qing<sup>2</sup>, LONG Li-Li<sup>3</sup>, XIAO Bo<sup>3</sup>

1. Department of Otorhinolaryngology, People's Hospital of Suzhou High-Tech Zone, Suzhou, Jiangsu 215000, China

2. Department of Neurology, People's Hospital of Suzhou High-Tech Zone, Suzhou, Jiangsu 215000, China

3. Department of Neurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, China

Corresponding author: YANG Xiao-Yan, Email: 3093813624@qq.com

**Abstract:** **Objective** To investigate the regulatory effect of electroacupuncture at Baihui and Dazhui points on ephrinA5 in the CA3 and DG regions of the hippocampal tissue in rats with temporal lobe epilepsy (TLE). **Methods** A total of 30 Sprague-Dawley rats were randomly divided into control group, TLE group, and electroacupuncture+TLE group, with 10 rats in each group. A rat model of TLE was established through lithium chloride-pilocarpine treatment. After successful modeling, the rats were subjected to electroacupuncture at Baihui and Dazhui points for 8 weeks; then, hippocampal tissue was collected from the rats in the three groups, and quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was used to detect the changes in mRNA expression of ephrinA5 in the CA3 and DG regions of the hippocampus in the rats in each group; western blotting and immunohistochemistry were used to detect the changes in protein expression of ephrinA5 in the CA3 and DG regions of the hippocampus in the rats in each group. **Results** The results of qRT-PCR showed that the mRNA expression of ephrinA5 in the hippocampus tissue of rats in the TLE group was significantly down-regulated

收稿日期: 2020-10-16; 修回日期: 2021-01-11

作者简介: 高东升(1978-), 男, 主治医师, 硕士, 主要从事中西医结合研究。

通信作者: 杨晓燕(1980-), 女, 副主任医师, 博士, 主要从事癫痫的研究。Email: 3093813624@qq.com。

compared with that in the control group ( $P < 0.05$ ); after 8 consecutive weeks of electroacupuncture at Baihui and Dazhui points, the mRNA expression of ephrinA5 was significantly up-regulated ( $P < 0.05$ ). The results of western blotting showed that the changing trend of ephrinA5 protein was consistent with that of its mRNA. The results of immunohistochemistry indicated that the protein expression of ephrinA5 was significantly down-regulated in the CA3 region of rats in the TLE group; the ephrinA5 protein was significantly up-regulated after electroacupuncture. However, the protein expression of ephrinA5 in the DG region did not change obviously in the TLE group and electroacupuncture+TLE group compared with that in the control group. **Conclusions** The antiepileptic mechanism of electroacupuncture at Baihui and Dazhui points may be closely associated with the regulatory mechanism of ephrinA5 in the CA3 region of the hippocampus. [Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2021, 48(1): 50-54]

**Keywords:** epilepsy; electroacupuncture; ephrinA5; hippocampus; CA3 region; DG region; rat

颞叶癫痫(temporal lobe epilepsy, TLE)患者常有意识障碍、广泛的神经认知功能障碍和生活质量下降,是临床环境中最常见的部分复杂癫痫发作类型<sup>[1-3]</sup>。20%~30%的颞叶癫痫患者使用抗癫痫药物效果不佳<sup>[4]</sup>;同时,颞叶癫痫也是最常见的难治性局灶性癫痫,在癫痫患者中发生率为40%<sup>[5]</sup>,其发病机制一直是癫痫研究的热点。颞叶癫痫存在神经发生和血管生成,其病理表现主要为海马齿状回(DG)、CA1及CA3区的神经元丢失、代偿的胶质增生、新生颗粒细胞的形成及突触的重建和异常神经环路的形成<sup>[6]</sup>。癫痫后海马DG新生神经元可出现树突的延长并伸入至CA3区内分子层与锥体细胞树突形成新的突触联系,从而形成新的异常的神经环路,成为自发性痫性发作的爆发点<sup>[6]</sup>。

研究表明,在脊椎动物中枢神经系统的正常发育中,Eph受体及其配体ephrins发挥着轴突导向的重要作用,并在海马内有着广泛的表达<sup>[6]</sup>,它们是受体酪氨酸激酶的最大成员,通过细胞间接触的相互作用参与细胞增殖、分化、迁移和组织重塑<sup>[7-9]</sup>。EphA5及其配体ephrinA5相互作用引起N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR)和突触后密度蛋白95(PSD-95)的协同表达,可能诱导 $\alpha$ -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor, AMPAR)及其相互作用蛋白表达以及向突触调节过渡的发育转换,可以在海马早期发育过程中触发突触形成<sup>[10-11]</sup>。TLE小鼠模型在持续癫痫发作后的第3天,将ephrinA5-Fc注入海马,连续处理7d后,小鼠的自发性、复发性癫痫发作频率和强度均减弱,双皮质层阳性的神经元祖细胞在颗粒下区域减少,而微血管的密度在门静脉减少,这些均表明体外注射ephrinA5-Fc融合蛋白可有效抑制癫痫的发作<sup>[12]</sup>。Liu等<sup>[13]</sup>应用氯化锂-匹罗卡品颞叶癫痫大鼠模型发现配体ephrinA5协同受体EphA5在海马CA3区的表达下调,认为ephrinA5与EphA5可能共同参与了CA3区的苔藓纤维出芽作用机制,并与癫痫的发生、发展关系密切。

治疗癫痫的方法目前主要包括药理学和非药理学方法,其中药理学中许多抗癫痫药物的作用源于 $\gamma$ -氨基丁

酸(gamma-aminobutyric acid, GABA)介导的抑制作用增强, $\gamma$ -氨基丁酸是成人中枢神经系统的主要抑制性神经递质, $\gamma$ -氨基丁酸受体功能的改变与颞叶癫痫有关<sup>[14]</sup>。然而,研究发现将近20%~40%的癫痫患者可能患有耐药性癫痫(drug resistant epilepsy, DRE)。在这些患者中,抗癫痫药物不能有效地控制癫痫发作<sup>[15]</sup>。近些年来,非药理学方法在治疗癫痫中越来越受到关注。非药理学方法主要有饮食疗法和神经调节疗法<sup>[15]</sup>。其中,神经调节技术包括迷走神经刺激、脑深部刺激和经颅磁刺激<sup>[15]</sup>。研究表明,耳针电针可以有效降低晚期创伤性癫痫的发生<sup>[16]</sup>;低频率的电针刺激风池穴对改善癫痫和癫痫引起的睡眠障碍有好处<sup>[17]</sup>;针刺足三里(St36)、大椎(Du14)、百会(Du20)等特定穴位,能够有效治疗癫痫<sup>[18-19]</sup>。尽管非药理学在癫痫的临床治疗方面有明确的疗效,但其内在机制却缺乏深入的研究,鉴于非药理学及癫痫发作和治疗机制的研究结果,电针的抗癫痫作用和抗癫痫机制是否与已知的ephrinA5调控机制有关,目前尚未有报道。

本研究将大鼠致癫痫后的海马CA3及DG区作为主要的研究区域,应用与人颞叶癫痫临床及病理特征相似的氯化锂-匹罗卡品颞叶大鼠作为模型,通过行电针百会和大椎穴治疗处理,测定ephrinA5 mRNA及蛋白在海马CA3及DG区表达的变化特点,分析电针百会和大椎穴对ephrinA5在颞叶癫痫中表达的影响,进而探讨针灸对癫痫治疗的内在机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

30只SD雄性大鼠均来自北京维通利华动物实验中心,体质量220~250 g,温度(22±3)℃、12 h明暗循环的饲养环境中,给予自由饮食和饮水。适应性喂养1周后随机选取10只作为对照组,20只用于癫痫造模。取10只造模成功后的大鼠用于电针治疗。所有实验内容经苏州高新区人民医院动物伦理委员会同意。

### 1.2 仪器和试剂

戊巴比妥钠(1507002-200MG);脑立体定位仪(51600,美国stoelting);G6805-2电针治疗仪(中国青岛鑫升实业有限公司);LiCl(美国Boehringer Mannheim公司);

PILO (美国 Sigma 公司); ephrinA5 抗体 (ab70114, Abcam)。

### 1.3 大鼠癫痫模型的制备

大鼠腹腔注射 3 mEq/kg (约 125 mg/kg) 的 LiCl; 18 h 后腹腔注射 PILO, 每次 10 mg/kg, 每 30 min 1 次, 直至大鼠出现癫痫持续状态 (SE) 30 min, 则可用 10% 水合氯醛终止发作。发作程度按 Racine 制定的标准进行分级。

### 1.4 电针治疗

大鼠吸入乙醚进行麻醉, 然后将大鼠头部固定于脑立体定位仪上。选用 1 寸毫针针刺百会穴和斜刺大椎穴, 约 7 mm。用 G6805-2 电针治疗仪进行电针。电针采用疏密波, 密波: 6.25 Hz, 强度: 1.0 mA, 时间: 2.08 s; 疏波: 3.85 Hz, 强度: 1.0 mA, 时间: 1.28 s; 持续 30 min。

### 1.5 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 ephrinA5 mRNA 水平表达

检测大鼠脑组织 ephrinA5 mRNA 表达。将脑组织于冰上匀浆, 提取脑膜组织中总 RNA, 利用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA, 应用 Primer 5.0 软件设计 ephrinA5 和 GAPDH mRNA 的特异性引物, GAPDH 作为内参照。引物序列分别为: 大鼠 GAPDH 正向 5'-ACTCCATTCTTCCACCTTTG-3'; 反向 5'-CCCTGTTGCTGTAGCCATATT-3'; ephrinA5 正向 5'-AGTCGTCGCCGACCGCTACGCCGT-3'; 反向 5'-TCTGGGACAGAGTCCTCATAGTGA-3'; 每个样本做 3 个复孔检测, PCR 反应体系总体积为 20  $\mu$ L, 反应条件: 42 $^{\circ}$ C 孵育 2 min; 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 34 s, 40 个循环; 用 ABI7500 系统软件进行数据采集、分析。利用 qRT-PCR 测定对照基因和目的基因的 Ct 值, 将 Ct 值转化为相对倍数。从而计算目的基因的表达式: 采用实验组/对照组 =  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  进行计算; 其中 Ct = (Ct 目的 - Ct 参照) 实验 - (Ct 目的 - Ct 参照) 对照。

### 1.6 Western blotting 检测 ephrinA5 蛋白表达

取大鼠脑组织, 液氮磨成粉末, 加入 100  $\mu$ L PBS, 50  $\mu$ L 收集的蛋白中, 加入 150  $\mu$ L 4 $\times$ loading buffer, 混匀后, 100 度水浴 5 min, 冰上冷却。

配置好分离胶和浓缩胶, 每孔上样 40  $\mu$ L, 电泳 90 min。转移结束后关掉电源, 取出 PVDF 膜放入容器 (培养皿) 中, 加适量的封闭缓冲液 (含 5% (w/v) 脱脂奶粉的 PBS 缓冲液), 室温轻轻摇动温育 1~2 h。换新的培养皿, 加入 10 ml 上述封闭缓冲液, 并按 1:1000 的量加入兔抗大鼠 ephrinA5 多克隆抗体 (一抗), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。PBS 缓冲液洗涤 3 次, 每次 10 min。将 PVDF 膜转移至另一培养皿中, 加入含有 5% 脱脂奶粉的二抗缓冲液, 并以 1:5000 量加入 HRP 标记羊抗兔 IgG (二抗), 室温摇动温育 1 h。再将 PVDF 膜转移至另一培养皿中, 加适量二抗缓冲液

(150 mmol/L NaCl, 50 mmol/L Tris-Cl pH 7.5), 室温洗涤 3 次, 每次 10 min。ECL 加底物显色液, 拍照。

### 1.7 免疫组织化学检测 ephrinA5 蛋白表达

3 组大鼠进行灌注取材, 腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉大鼠, 迅速取出脑组织, 4 $^{\circ}$ C 4% 多聚甲醛固定 12 h。取出脑组织后常规梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 在石蜡中浸泡并进行包埋。以切片厚度 4  $\mu$ m 进行连续冠状切片。石蜡切片常规二甲苯脱蜡, 梯度酒精至水; 加入含 1% Triton 和 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的 PBS 溶液, 于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中孵育 30 min, 以去除内源性过氧化物酶, PBS 漂洗 3 次, 每次 5 min; 滴加含有 10% BSA 的封闭液封闭约 2 h; 加入 1:100 稀释的兔抗大鼠 ephrinA5 多克隆抗体 (一抗), 于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中孵育过夜, PBS 漂洗 3 次, 每次 5 min; 然后滴加生物素标记羊抗兔 IgG (二抗) 工作液, 室温下孵育约 1 h, PBS 漂洗 3 次, 每次 5 min; DAB 显色液显色, 显微镜下观察显色情况并予 PBS 终止显色反应。

### 1.8 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件包对数据进行统计学分析。计量资料用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 两两比较采用 LSD-*t* 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 癫痫大鼠电针治疗后海马组织 ephrinA5 mRNA 表达变化

qRT-PCR 结果显示: 与对照组比较, ephrinA5 mRNA 在癫痫组大鼠海马组织中的表达下调, 差异有统计学意义 (P < 0.05); 连续 8 周电针百会和大椎穴治疗后, 大鼠海马组织中 ephrinA5 mRNA 表达水平与癫痫组相比有上调, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。见表 1。

表 1 qRT-PCR 检测 3 组大鼠海马组织 ephrinA5 mRNA 表达变化

组别	例数	ephrinA5 mRNA 相对表达量
对照组	6	1.0204 $\pm$ 0.2264
癫痫组	6	0.5262 $\pm$ 0.1189 <sup>①</sup>
癫痫+电针组	6	0.8322 $\pm$ 0.0801 <sup>②</sup>

注: ①与对照组比较, P < 0.05; ②与癫痫组比较, P < 0.05

### 2.2 癫痫大鼠电针治疗后海马 CA3 和 DG 区 ephrinA5 蛋白水平表达变化

Western blotting 结果显示, 与对照组比较, 癫痫组大鼠海马组织中 ephrinA5 蛋白表达有下调; 连续 8 周电针百会和大椎穴治疗后, 与癫痫组相比, 大鼠海马组织中 ephrinA5 蛋白表达水平上调 (图 2)。这个结果和 qRT-PCR 结果相一致。

免疫组化实验结果显示, ephrinA5 在对照组大鼠海马 CA3 和 DG 区锥体细胞层均有广泛表达 (图 3A 和



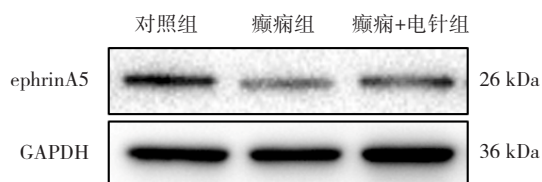
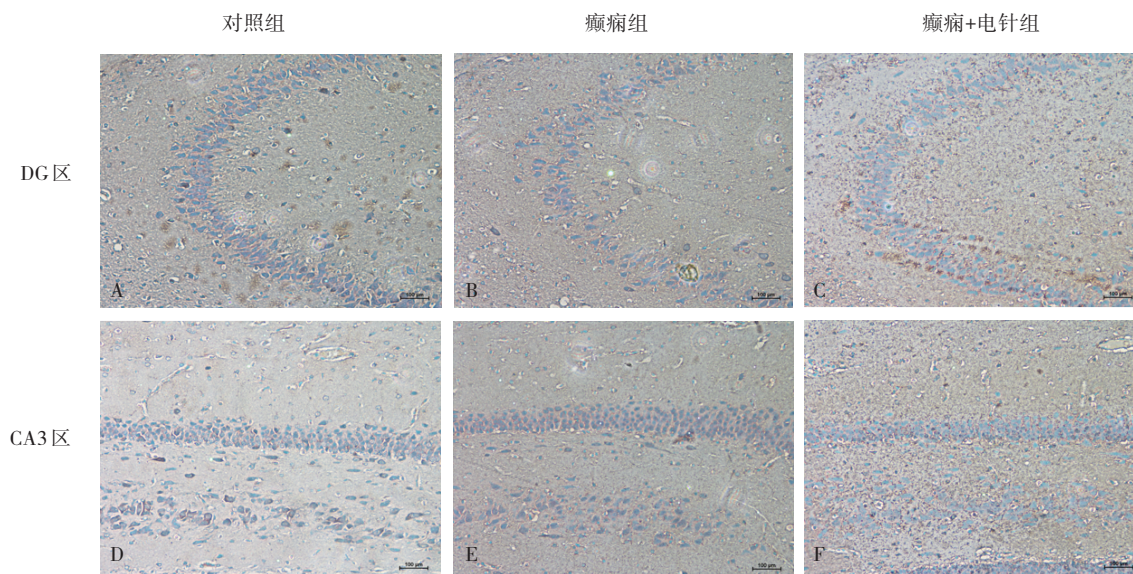


图2 Western blotting检测3组大鼠海马组织 ephrinA5 蛋白表达变化



A: 对照组 DG 区; B: 癫痫组 DG 区; C: 癫痫+电针组; D: 对照组 CA3 区; E: 癫痫组 CA3 区; F: 癫痫+电针组 CA3 区

图3 ephrinA5在海马 DG 区的表达变化(免疫组化, ×200)

### 3 讨论

颞叶癫痫是一种临床上常见的复杂癫痫类型,其发病机制是癫痫研究中的重点。通过氯化锂-匹罗卡品颞叶癫痫大鼠模型与人类颞叶癫痫相似<sup>[20]</sup>,是研究颞叶癫痫发生机制的重要途径。研究表明,颞叶癫痫病理主要表现为海马 DG、CA1 及 CA3 区的神经元丢失、代偿的胶质增生、新生颗粒细胞的形成及突触的重建和异常神经环路的形成<sup>[6]</sup>。癫痫发生时,海马 DG 新生神经元出现树突的延长,并伸入至 CA3 区内分子层与锥体细胞树突形成新的突触联系,从而形成自发性<sup>[6]</sup>。海马 CA3 和 DG 区是颞叶癫痫的重要参与者<sup>[21]</sup>。最近的研究表明,脑中 ephrinA5 及其受体 EphA5 有很高的表达<sup>[22]</sup>,而氯化锂-匹罗卡品致痫后, ephrinA5 mRNA 在 CA3 区的表达明显下调<sup>[13]</sup>。本研究中 RT-PCR 和 Western blotting 结果也证实了 ephrinA5 mRNA 和蛋白表达水平在癫痫组大鼠海马组织中均下调。鉴于 Eph 受体及其配体 ephrins 在调节神经元突触结构及其生理特性中的关键作用<sup>[23-26]</sup>,而且 ephrinA5 在海马发育的突触连接和重建上发挥着重要作用<sup>[27]</sup>,可以说明 ephrinA5 在海马区表达量下调和功能缺失对颞叶癫痫发作至关重要。

与对照组比较, ephrinA5 蛋白在癫痫组大鼠海马 CA3 区的表达也减少(图 3E);与癫痫组相比,癫痫+电针组大鼠海马 CA3 区 ephrin A5 的表达增加(图 3F)。在 DG 区,癫痫组和电针+癫痫组中 ephrinA5 蛋白水平与对照组相比变化不明显(图 3A、图 3B 和图 3C)。因此, ephrinA5 蛋白在癫痫组和癫痫+电针组中大鼠海马组织 CA3 区的表达结果与 ephrinA5 mRNA 的表达变化相一致。

作为一种代表性的非药理学治疗方法,电针目前已经应用于癫痫患者临床治疗。Dos 等<sup>[28]</sup>研究表明,电针足三里穴可防止一些边缘结构的萎缩,并且能够改善毛果芸香碱引起的癫痫模型大鼠的认知缺陷。电针治疗后,一氧化氮合酶的减少<sup>[29]</sup>和褪黑素的增加<sup>[30]</sup>,有助于抗癫痫作用。研究还发现电针能提高癫痫大鼠中枢神经系统  $\gamma$ -氨基丁酸水平,说明电针抗癫痫作用可能部分归因于其调节中枢神经系统  $\gamma$ -氨基丁酸水平的作用<sup>[31]</sup>。然而,电针治疗癫痫是否还存在其他可能的原因尚待进一步的研究,其中深入分析电针与癫痫发生密切相关的 ephrinA5 基因表达尤为重要。本研究结果表明,在氯化锂-匹罗卡品诱导的癫痫大鼠中,电针百会和大椎穴可以有效提高 ephrinA5 的 mRNA 和蛋白表达水平,从而起到一定的抗癫痫作用。在 TLE 小鼠模型中,体外注射 ephrinA5-Fc 至海马区,小鼠的自发性复发癫痫发作频率和强度在接下来的 2 周中明显减弱<sup>[10]</sup>。结合本研究结果,说明电针治疗癫痫的机制可能与其促使大鼠海马中 ephrinA5 表达的升高直接相关。免疫组化结果显示,持续的电针治疗可以提高 ephrinA5 在海马 CA3 区中的表达;而 DG 区无论是癫痫组还是癫痫+电针组,变化均不明显。

这些结果说明虽然海马 CA3 和 DG 区都是是颞叶癫

痫的重要参与者,但颞叶癫痫发生与海马CA3区中 ephrinA5 表达失控关系更为密切,海马CA3区中 ephrinA5 的表达对电针刺激也更为敏感。这为电针治疗癫痫提供了数据支持,同时,也为电针的抗癫痫作用和抗癫痫机制研究提供了一定的理论证据。

# 参 考 文 献

- [1] Englot DJ, Morgan VL, Chang C. Impaired vigilance networks in temporal lobe epilepsy: mechanisms and clinical implications[J]. *Epilepsia*, 2020, 61(2): 189-202.
- [2] Allone C, Lo Buono V, Corallo F, et al. Neuroimaging and cognitive functions in temporal lobe epilepsy: a review of the literature [J]. *J Neurol Sci*, 2017, 381: 7-15.
- [3] 王新军,杨胜,武跃辉,等. 影响难治性颞叶癫痫外科疗效的临床特征及相关因素分析[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2018, 45(1): 25-29.
- [4] Perry MS, Duchowny M. Surgical versus medical treatment for refractory epilepsy: outcomes beyond seizure control[J]. *Epilepsia*, 2013, 54(12): 2060-2070.
- [5] Engel J Jr, International League Against Epilepsy (ILAE). A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology[J]. *Epilepsia*, 2001, 42(6): 796-803.
- [6] Zhang YF, Xiong TQ, Tan BH, et al. Pilocarpine-induced epilepsy is associated with actin cytoskeleton reorganization in the mossy fiber-CA3 synapses[J]. *Epilepsy Res*, 2014, 108(3): 379-389.
- [7] Barquilla A, Pasquale EB. Eph receptors and ephrins: therapeutic opportunities[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2015, 55: 465-487.
- [8] Xavier GM, Miletich I, Cobourne MT. Ephrin ligands and Eph receptors show regionally restricted expression in the developing palate and tongue[J]. *Front Physiol*, 2016, 7: 60.
- [9] Arvanitis DN, Davy A. Regulation and misregulation of Eph/ephrin expression[J]. *Cell Adh Migr*, 2012, 6(2): 131-137.
- [10] Suo GH, Shen FF, Sun BL, et al. Abnormal expression of ephrin-A5 affects brain development of congenital hypothyroidism rats [J]. *Neuroreport*, 2018, 29(11): 877-882.
- [11] Akaneya Y, Sohya K, Kitamura A, et al. Ephrin-A5 and EphA5 interaction induces synaptogenesis during early hippocampal development[J]. *PLoS One*, 2010, 5(8): e12486.
- [12] Shu Y, Xiao B, Wu Q, et al. The Ephrin-A5/EphA4 interaction modulates neurogenesis and angiogenesis by the p-Akt and p-ERK pathways in a mouse model of TLE[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(1): 561-576.
- [13] 刘田田,肖波,李蜀渝,等. EphA5/ephrinA5在癫痫大鼠海马CA3区的表达变化及作用[J]. *中国当代儿科杂志*, 2017, 19(12): 1272-1277.
- [14] Martinello K, Sciacaluga M, Morace R, et al. Loss of constitutive functional  $\gamma$ -aminobutyric acid type A-B receptor crosstalk in layer 5 pyramidal neurons of human epileptic temporal cortex [J]. *Epilepsia*, 2018, 59(2): 449-459.
- [15] Sondhi V, Sharma S. Non-pharmacological and non-surgical treatment of refractory childhood epilepsy[J]. *Indian J Pediatr*, 2020, 87(12): 1062-1069.
- [16] Shen CC, Jiang JF. Auricular electroacupuncture for late post-traumatic epilepsy after severe brain injury: a retrospective study [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 5798912.
- [17] Yi PL, Lu CY, Jou SB, et al. Low-frequency electroacupuncture suppresses focal epilepsy and improves epilepsy-induced sleep disruptions[J]. *J Biomed Sci*, 2015, 22(1): 49.
- [18] Ren YX. Acupuncture treatment of Jacksonian epilepsy--a report of 98 cases[J]. *J Tradit Chin Med*, 2006, 26(3): 177-178.
- [19] Peng YS. Clinical study on treatment of infantile primary epilepsy with acupoint catgut-implantation therapy[J]. *World J Acupunct Moxibustion*, 2003, 13(1): 38-41.
- [20] He XH, Wang W, Ruan XZ, et al. Effects of antisense glutamic acid decarboxylase oligodeoxynucleotide on epileptic rats induced by pentylenetetrazol[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2002, 115(3): 425-429.
- [21] Houser CR. Morphological changes in the dentate gyrus in human temporal lobe epilepsy[J]. *Epilepsy Res Suppl*, 1992, 7: 223-234.
- [22] Teng T, Gaillard A, Muzerelle A, et al. EphrinA5 signaling is required for the distinctive targeting of raphe serotonin neurons in the forebrain[J]. *eNeuro*, 2017, 4(1): ENEURO.0327-16.2017.
- [23] Szepletowska B, Zhu WL, Czyzyk J, et al. EphA5-EphrinA5 interactions within the ventromedial hypothalamus influence counterregulatory hormone release and local glutamine/glutamate balance during hypoglycemia[J]. *Diabetes*, 2013, 62(4): 1282-1288.
- [24] Murai KK, Pasquale EB. Eph receptors, ephrins, and synaptic function[J]. *Neuroscientist*, 2004, 10(4): 304-314.
- [25] Noh H, Park E, Park S. In vivo expression of ephrinA5-Fc in mice results in cephalic neural crest agenesis and craniofacial abnormalities[J]. *Mol Cells*, 2014, 37(1): 59-65.
- [26] Murai KK, Van Meyel DJ. Neuron glial communication at synapses: insights from vertebrates and invertebrates[J]. *Neuroscientist*, 2007, 13(6): 657-666.
- [27] Szepletowska B, Horvath TL, Sherwin RS. Role of synaptic plasticity and EphA5-ephrinA5 interaction within the ventromedial hypothalamus in response to recurrent hypoglycemia[J]. *Diabetes*, 2014, 63(3): 1140-1147.
- [28] Dos Santos JG Jr, Tabosa A, do Monte FH, et al. Electroacupuncture prevents cognitive deficits in pilocarpine-epileptic rats [J]. *Neurosci Lett*, 2005, 384(3): 234-238.
- [29] Yang R, Huang ZN, Cheng JS. Anticonvulsion effect of acupuncture might be related to the decrease of neuronal and inducible nitric oxide synthases[J]. *Acupunct Electrother Res*, 2000, 25(3-4): 137-143.
- [30] Chao DM, Chen G, Cheng JS. Melatonin might be one possible medium of electroacupuncture anti-seizures[J]. *Acupunct Electrother Res*, 2001, 26(1-2): 39-48.
- [31] Shu J, Liu RY, Huang XF. The effects of ear-point stimulation on the contents of somatostatin and amino acid neurotransmitters in brain of rat with experimental seizure[J]. *Acupunct Electrother Res*, 2004, 29(1-2): 43-51.

责任编辑:龚学民