

迷走神经刺激在癫痫治疗中的抗炎作用机制

钟倩¹ 戚仁莉² 赵璐¹ 魏景宽^{1*}

(¹昆明理工大学灵长类转化医学研究院, 省部共建非人灵长类生物医学国家重点实验室, 昆明 650500;

²昆明医科大学临床医学院, 昆明 650051)

摘要 癫痫是一种由大脑神经元过度兴奋或异常同步放电引起脑部功能障碍的慢性神经疾病, 具有反复性、发作性和短暂中枢神经系统功能失常等特征。近年来, 研究发现炎症反应的异常激活在癫痫发生和发展过程中起到重要作用, 炎症信号分子成为抗癫痫治疗的新靶点。迷走神经刺激(vagus nerve stimulation, VNS)作为辅助疗法通过与抗癫痫药物治疗相结合, 可以减少癫痫发作, 大量的临床应用表明VNS治疗具有较高的安全性和有效性, 然而VNS的作用机制尚不清楚。近年来, 人们已经在动物疾病模型和病人中开展了VNS抗炎作用机制的研究, 该文对VNS在抗癫痫治疗中外周和中枢神经系统的免疫调节作用机制进行综述。

关键词 癫痫; 迷走神经刺激; 炎症反应; 外周和中枢免疫调节

Anti-Inflammatory Mechanisms of Vagus Nerve Stimulation in Epilepsy Treatment

ZHONG Qian¹, QI Renli², ZHAO Lu¹, WEI Jingkuan^{1*}

(¹State Key Laboratory of Primate Biomedical Research, Institute of Primate Translational Medicine, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China; ²Department of Clinical Medicine, Kunming Medical University, Kunming 650051, China)

Abstract Epilepsy is a chronic neurological disorder caused by excessive excitation or abnormal synchronous discharge of neurons in the brain. It has the characteristics of recurrent, episodic and transient central nervous system dysfunction. Accumulating evidences show that excessive activation of inflammatory response plays an important role in the occurrence and development of epilepsy, and inflammatory signaling molecules have become a new target for antiepileptic therapy. VNS (vagus nerve stimulation) as an adjunctive therapy, can reduce seizures by combining with antiepileptic drugs. A large number of clinical applications have shown that VNS has high safety and effectiveness, but the mechanism of VNS is unclear. In recent years, studies have been carried out on the anti-inflammatory mechanism of VNS in animal disease models and patients. In this paper, the potential immunomodulatory mechanism of VNS in peripheral and central system was reviewed.

Keywords epilepsy; vagus nerve stimulation; inflammatory response; peripheral and central immune regulation

癫痫是最常见的神经系统疾病之一, 可引起神经、认知以及心理损伤, 严重影响患者的生活质量^[1-2]。2021年流行病学调查显示, 我国癫痫发病率较高, 总

体患病率为0.7%, 全国约有1 000万癫痫患者, 约占全球癫痫患者的七分之一^[3]。目前, 由于缺乏对癫痫的正确认识和经济条件的限制, 约三分之二的患者

收稿日期: 2022-03-11

接受日期: 2022-05-14

国家重点研发计划干细胞专项(批准号: 2018YFA0108503)和云南省基础研究计划面上项目(批准号: 202101AT070278)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13619665373, E-mail: weijk@lpbr.cn

Received: March 11, 2022

Accepted: May 14, 2022

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2018YFA0108503) and the Natural Science Foundation of Yunnan Province (Grant No.202101AT070278)

*Corresponding author. Tel: +86-13619665373, E-mail: weijk@lpbr.cn

未得到有效治疗^[4]。其中能够耐受两种及以上抗癫痫药物的耐药性癫痫(drug resistant epilepsy, DRE)占所有癫痫患者的比例约为三分之一^[5]。手术切除癫痫病灶是治疗DRE非常重要的手段,但也存在一定的局限性,例如对病灶区不能精准定位、病灶位于关键功能区不能被切除、术后出现并发症(神经功能障碍、颅内感染、脑脊液泄露、精神障碍)和术后癫痫复发等^[6-8]。在实际应用中,人们常将神经调控疗法作为治疗DRE的辅助方法,例如迷走神经刺激(vagus nerve stimulation, VNS)。

多种因素可引起癫痫发作,例如脑结构异常、遗传突变、病原感染、代谢异常和免疫调节紊乱等^[9],然而近年一些研究发现,与免疫调节相关的炎症反应在促进癫痫发作和共病发生方面发挥关键作用^[10]。因此,靶向这些炎症分子和炎症途径的抗炎治疗在癫痫和共病的研究和治疗中具有重要意义。

1 炎症反应不仅伴随癫痫发生也参与癫痫的发展及耐药

越来越多的证据表明炎症与癫痫发生相关,比如:(1)类固醇和其他抗炎治疗在婴儿及儿童期癫痫中显示出抗惊厥活性^[11];(2)在自身免疫性脑炎和系统性自身免疫性疾病(如系统性红斑狼疮、桥本氏甲状腺炎和类风湿性关节炎等)中癫痫发生风险增加^[12-13],可能与靶向参与突触传递神经元细胞表面抗原(如谷氨酸受体)的抗体诱导神经元兴奋毒性和神经炎症有关^[14];(3)创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)可诱发炎症反应和星形胶质细胞增生,其中炎症介质和功能障碍的星形胶质细胞是导致创伤后癫痫发生的主要因素^[15];这些证据表明炎症是一个导致癫痫发生的重要诱因,也可能参与癫痫的发展过程。

1.1 癫痫发展引起炎症激活

炎症可以促进癫痫发生,同时临床和实验结果表明癫痫发展过程也会诱发神经炎症。主要表现在以下几个方面。(1)癫痫病灶区血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)障碍和单核细胞的浸润。在颞叶癫痫患者的海马中观察到微血管密度增加和紧密连接破裂,提示BBB受损,在啮齿类动物癫痫模型中也观察到癫痫发作频率与BBB功能障碍程度呈正相关^[16]。BBB通透性改变会促进巨噬细胞和其他免疫细胞以及血清白蛋白进入大脑,通过流式分选在癫痫大脑

中也检测到浸润的单核细胞^[17]。(2)小胶质细胞和星形胶质细胞异常活化并释放促炎因子。在化学惊厥药物诱导的癫痫模型中,小胶质细胞在癫痫发作后立即被激活并产生具有神经调节特性的促炎因子白介素-6(interleukin-6, IL-6)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等,这些促炎因子会损害神经元功能,并且小胶质细胞激活程度与人类耐药性癫痫的发作频率相关^[18]。星形胶质细胞活化也是癫痫常见的病理特征,在癫痫患者海马CA1和CA3区发现胶质增生,并观察到癫痫患者血清中的S100 β 蛋白在经历癫痫发作后含量升高^[19]。(4)炎症介质表达水平上调。临床数据显示细胞因子如IL-6、IL-1 β 和TNF- α 等在癫痫患者的血液、脑脊液和大脑组织中表达增加并且与癫痫的严重程度存在相关性^[20]。此外,其他炎症分子如HMGB1、TLR、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)和前列腺素类化合物(prostaglandins, PG)以及基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase, MMP-9)等也被证明在癫痫发作后上调^[21]。癫痫患者和实验动物的数据表明,癫痫可引起炎症相关细胞、相关分子和相关通路被激活,并且伴随整个发展过程。

1.2 炎症激活加重癫痫并增强对抗癫痫药物的耐受性

慢性神经炎症诱导的促炎信号持续刺激会促进癫痫的发生和发展,主要涉及的致病机制如下。

1.2.1 BBB损伤促进炎症和神经兴奋性毒性 炎症介质如白介素和TNF- α 可作用于BBB血管内皮细胞上相应受体,促使MMP-2/MMP-9过量表达进而破坏BBB的紧密连接,随后血清白蛋白进入中枢,与星形胶质细胞上的受体结合并影响其对谷氨酸的再摄取能力,同时激活TGF- β 1受体信号以此诱导星形胶质细胞中各种促炎基因的转录,促进神经元兴奋性毒性和TGF β 、IL-6的产生^[21]。此外,外周白细胞和其他炎性细胞在BBB通透性改变后浸润大脑并分别通过表达MMP-9和释放促炎因子进一步损伤BBB和扩大脑内炎症,最终导致癫痫反复发作^[22-24]。由于BBB功能障碍仅在癫痫病灶中出现,并且是癫痫主要的病理表型之一,因此提示BBB障碍在癫痫发生和发展中发挥重要作用。

1.2.2 异常激活的小胶质细胞介导星形胶质细胞产生促惊厥表型驱动癫痫发生 使用米诺环素和CSF1R拮抗剂(PLX5622)抑制小胶质细胞的活化,不

仅显著抑制了星形胶质细胞活化还降低了癫痫持续状态后的发作阈值^[18]。在腹腔注射脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的研究中, LPS可作用于小胶质细胞上的Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4), 然后诱导ATP释放并激活星形胶质细胞P2Y1受体, 通过释放谷氨酸增加神经元兴奋性突触后电流(excitatory post-synaptic current, EPSC)并激活突触前神经元代谢型谷氨酸受体(mGluR5), 从而增强癫痫发作的易感性。此外, 小胶质细胞mTOR信号上调引起的非炎性变化会导致小鼠出现自发性癫痫反复发作^[25-26]。这些结果表明癫痫早期小胶质细胞活化和促炎因子的释放可能是星形胶质细胞增生, 加重癫痫发作的基础。

1.2.3 星形胶质细胞稳态失衡和神经元兴奋性毒性死亡 反应性星形胶质细胞会表现出生理和分子变化, 包括向内整流钾电流减少(如敲除或突变向内整流钾通道*Kir4.1*基因)、转运蛋白变化(如缺乏谷氨酸转运蛋白GLT-1)或间隙连接解耦(间隙连接蛋白如连接蛋白功能障碍)^[15], 这些可能是引起神经兴奋毒性的基础。而且星形胶质细胞被激活后还释放转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)和其他促炎细胞因子, 随后广泛的炎症信号转导可通过调节神经生理活动和神经网络连接来加重癫痫。此外, 星形胶质细胞异常活化导致谷氨酸-谷氨酰胺循环障碍, 细胞外谷氨酸浓度过高可促进神经兴奋性毒性并增加癫痫发作的易感性^[27]。

1.2.4 炎症相关通路上调导致脑内兴奋和抑制稳态失衡 脑内胶质细胞和巨噬细胞释放的IL-1 β 、TNF- α 和其他炎症介质参与各种炎症途径(如IL-1 β -IL-1R1、HMGB1-TLR4、TNF-p55和PGE2-EP1), 这些信号通路参与调节神经元细胞钙内流以增加神经元的兴奋性或减少皮质中 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)神经元抑制性神经递质的传递, 这种联合作用打破了兴奋和抑制平衡导致癫痫发作阈值降低和癫痫易感性增加^[28-29]。因此, 阻断这些炎症信号通路可有效降低癫痫发作频率。相关研究也对此进行了验证, 例如敲除白介素1受体(interleukin 1 receptor type I, IL-1R1)、脑内注射IL-1R1拮抗剂(IL-1RA)或利用IL-1 β 转换酶/半胱天冬酶-1抑制剂来抑制IL-1 β 的生物合成, 这些研究结果均表现出较好的抗惊厥作用, 这些研究还可显著延迟癫痫发作时间和降低癫痫发作频率^[30-31]。

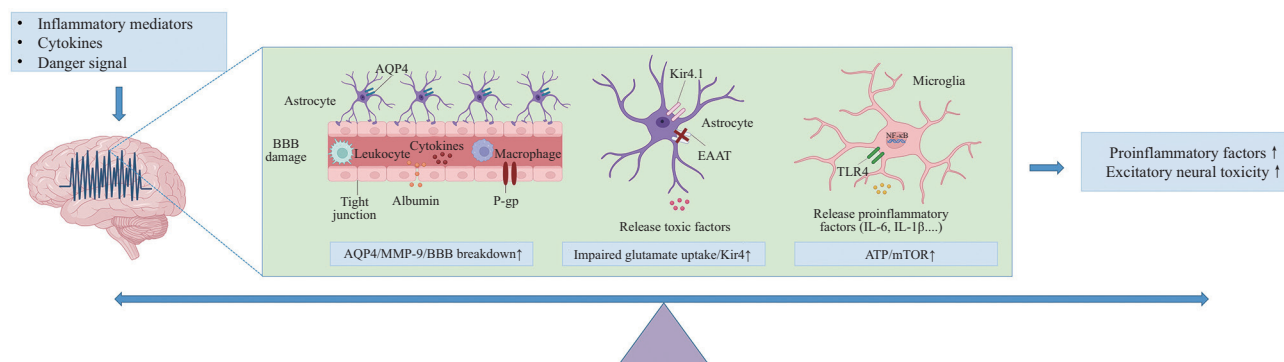
1.2.5 炎症信号激活氧化应激反应并降低癫痫发作阈值 炎症信号还能调节活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成, 而ROS促进神经元、神经胶质细胞和内皮细胞释放高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1), 导致神经元内HMGB1-TLR4轴激活, 从而产生神经兴奋性毒性和促进癫痫发作^[32]。

1.2.6 神经炎症和BBB功能障碍是DRE发生的潜在机制 神经炎症和BBB功能障碍已成为各种形式DRE病灶中的主要标志, 因此LÖESCHER等^[33]提出炎症介质可以通过三种方式诱导DRE发作。(1) 通过直接破坏内皮细胞之间的紧密连接和促进异常血管生成, 导致“泄漏”血管的形成和氧化应激来诱导BBB功能障碍。该过程主要由星形胶质细胞的炎症表型介导, 同时, BBB通透性改变促进星形胶质细胞分泌炎症因子, 这种恶性循环可加重癫痫病理损伤。此外, BBB功能障碍还可促进血清白蛋白进入大脑, 导致血清白蛋白与药物的结合作用增加, 从而降低药物与作用靶点的结合水平。(2) 通过COX2-PGE2-EP1R和IL-1 β -IL-1R1轴相关炎症途径诱导BBB外排蛋白P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)表达上调, 从而限制抗癫痫药物进入大脑与靶点结合。(3) 炎症介质还可以对电压依赖性离子通道进行翻译后修饰, 导致这些受体对抗癫痫药物的敏感性降低, 从而降低药物靶标反应。总之, 炎症和BBB障碍相互影响, 它们诱发的一系列后果不仅促进癫痫发作还能降低抗癫痫药物治疗的靶向性, 所以, 抗炎治疗和BBB的损伤修复有助于癫痫治疗。

综上, 癫痫发生和发展伴随着炎症反应, 炎症信号的持续刺激不仅加快癫痫发展进程还可能参与耐药性机制(图1), 导致抗癫痫药物的敏感性降低。这种恶性循环会加重癫痫病理, 比如BBB障碍、神经元变性、神经兴奋性增强、胶质细胞异常激活和炎症介质上调等, 最终增强癫痫发作易感性和促进癫痫反复发作。因此, 明确炎症反应与癫痫之间的相互作用机制有助于研发以关键炎症信号分子为靶点的抗癫痫药物, 并且抗炎治疗可作为一种重要的干预手段来减少癫痫发作和抑制耐药性产生。

2 迷走神经的神经解剖学基础及VNS的应用

迷走神经起源于延髓, 是12对颅神经中最长、



外界危险信号的刺激可诱发癫痫产生, 癫痫发展过程中也伴随着脑内一系列炎症信号被激活, 比如BBB损伤、星形胶质细胞和小胶质细胞活化并释放促炎因子、脑内炎症介质上调、神经兴奋性毒性增强、脑内稳态失衡, 这些炎症信号上调会加重癫痫的病理程度以及介导耐药机制的产生, 两者相互促进并呈现级联放大的效果, 从而增加癫痫的易感性并促进其反复发作。

The stimulation of external danger signals can induce epilepsy. During the development of epilepsy, a series of inflammatory signals in the brain are activated, such as BBB injury, activation and release of proinflammatory factors by astrocytes and microglia, upregulation of inflammatory mediators in the brain, enhancement of neuro excitotoxicity, and imbalance of brain homeostasis. The upregulation of these inflammatory signals will aggravate the pathological degree of epilepsy and mediate the generation of drug resistance mechanism, which promote each other and show a cascade of amplification effect, thereby increasing the susceptibility of epilepsy and promoting its recurrent seizures.

图1 癫痫与炎症的相互作用(根据参考文献[27]修改)

Fig.1 Interaction between epilepsy and inflammatory (modified from reference [27])

分布最广的脑神经, 从大脑延伸至腹部, 支配颈部、胸部内部器官以及腹腔内大部分内脏^[34]。迷走神经是自主神经系统的主要组成部分, 也是一种混合神经, 由80%感觉传入和20%运动传出神经纤维组成^[35]。传入纤维主要负责向中枢神经系统传递感觉信息, 当接收到外周信息后, 传入纤维将其投射到孤束核, 孤束核又直接或间接投射到大脑的各个区域, 包括蓝斑核、下丘脑、杏仁核、丘脑、边缘系统、大脑皮层等^[36]。这条通路中含有可释放不同递质的神经元及大量不同类型的受体, 包括GABA、谷氨酸、儿茶酚胺和甘氨酸以及大量的神经肽等, 这些神经递质广泛参与神经网络的调节^[37]。传出神经纤维起源于疑核和迷走神经背核, 主要支配咽喉的横纹肌和胸腹的大部分内脏器官^[38]。在疾病发生过程中, 传出神经纤维可与靶向器官中神经节后的神经元形成突触连接, 释放神经递质乙酰胆碱, 参与外周抗炎作用^[36]。因此, 迷走神经是实现中枢神经系统和周围器官进行双向信号传递的重要桥梁。

VNS发展始于19世纪, 美国神经学家CORNING^[39]首先使用VNS治疗癫痫, 但由于缺少对其治疗癫痫机制的了解, 所以VNS相关研究和应用进展十分缓慢。20世纪90年代, 随着在动物模型中的研究取得成功^[40], VNS的应用逐渐被转用到人类身上, 临床试验结果显示顽固性癫痫患者经VNS治疗后癫痫发作显著减少^[41]。1997年, VNS被美国FDA

批准用于治疗年龄大于12岁的DRE患者和抑郁患者^[42]。迄今为止, 全球已有超过10万例癫痫患者接受过VNS治疗, 约40%患者使用VNS治疗2~3年后癫痫发作次数减少超过50%^[43]。经过不断的开发和探索, VNS的安全性和有效性已经得到验证, 并且该技术在医学上取得了重大进步。此外, VNS治疗在症状控制和认知改善方面均有良好效果, 能够显著提高病人生活质量^[44], 且随着治疗时间的延长, VNS治疗效果也逐渐增强^[45]。经过30年左右的应用, 虽然VNS治疗癫痫在临床上已取得了较好的疗效, 但该方法对一部分癫痫患者无效或者治疗效果不佳, 所以明确VNS抗癫痫的机制和作用靶点是十分有必要的。

3 VNS在抗癫痫治疗中的抗炎作用机制

近年来, VNS在降低慢性炎症中的作用受到越来越多的关注。目前, 依靠其在炎症调节中的作用, VNS作为一种辅助治疗手段在TBI、中风、慢性疼痛、肺损伤和关节炎等慢性炎症疾病中已取得良好的改善效果^[46]。迷走神经作为连接外周和中枢的重要媒介, VNS可能通过调节外周和中枢的免疫信号通路发挥抗炎作用。目前研究表明VNS可通过下丘脑-垂体-肾上腺轴(the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA轴)和胆碱能抗炎通路减少促炎因子的释放, 从而减少外周的炎症反应^[47]。但关于VNS在中

枢系统内的抗炎机制目前所知甚少,可能与细胞因子释放、小胶质细胞激活和BBB通透性改变等有关^[34]。因此,本文主要对VNS在外周和中枢的抗炎作用机制进行了阐述和总结。

3.1 外周抗炎机制

3.1.1 下丘脑-垂体-肾上腺轴(the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA轴) HPA轴障碍是许多动物模型和人类炎症性疾病和自身免疫性疾病(包括关节炎、炎症性肠病、多发性硬化症、哮喘和皮炎)易感性和严重程度的风险因素^[48]。迷走神经与HPA轴密切相关,外周促炎信号可以激活迷走神经传入纤维,然后向HPA轴发出信号,下丘脑室旁核神经元可以合成并分泌促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH), CRH通过垂体门脉系统传递作用于垂体,促进垂体释放促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH), ACTH刺激肾上腺合成分泌糖皮质激素。糖皮质激素还可以负反馈作用于下丘脑和垂体调节自身的分泌^[49-50]。糖皮质激素与糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)结合,一方面从转录水平上促进抗炎蛋白生成,另外一方面通过直接抑制促炎转录因子(AP-1、NF- κ B等)减少炎症反应,从而抑制IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、干扰素等促炎因子的表达,切断迷走神经可以阻止HPA抗炎通路的激活^[51-52]。GR在生理上可以介导HPA轴的负反馈调节,但GR在颞叶癫痫患者海马体样本中的表达水平降低^[53],并且在慢性癫痫患者中HPA轴的负反馈调节受损,以上实验结果表明GR功能障碍可能导致HPA轴的负反馈受损,反过来又可能诱导HPA轴的前馈激活。HPA过度激活导致糖皮质激素持续升高,已知癫痫患者中皮质醇含量高于健康对照组^[54],HPA轴和糖皮质激素的失调会影响局部和全身炎症,增强癫痫发作易感性和促进共病抑郁症的发生^[55-56]。与之矛盾的是,糖皮质激素药物治疗如地塞米松在癫痫患者和癫痫动物模型中被证明可以减少癫痫发作,其中地塞米松棕榈酸酯,已被用于治疗儿童顽固性癫痫发作^[57]。此外,一些研究表明,靶向HPA轴治疗在改善癫痫发作和癫痫精神共病治疗方面也具有极大的潜力^[58-59]。上述研究表明,迷走神经可通过HPA轴实现免疫调控,VNS可激活HPA轴减少炎症反应,从而减少癫痫发作频率。

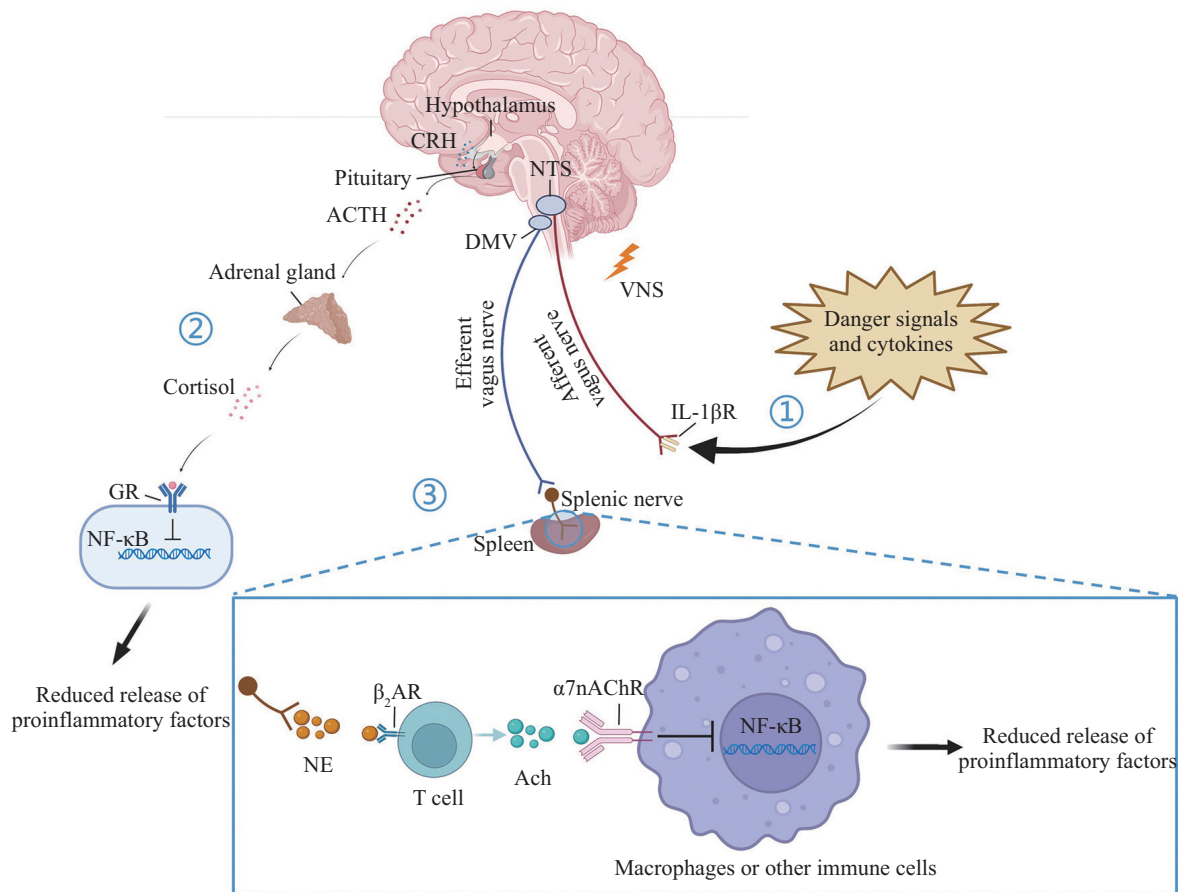
3.1.2 胆碱能抗炎通路(cholinergic anti-inflammatory

pathway, CAP) CAP是一种神经-免疫调节机制,主要由迷走神经、中枢神经系统(central nervous system, CNS)、脾神经和具有 α 7烟碱型乙酰胆碱受体(α 7 nicotinic acetylcholine receptor, α 7nAChR)的免疫细胞组成。当组织发生损伤时,迷走神经传入纤维上的受体可以识别外周炎症介质,然后将信息传递到孤束核,孤束核激活迷走神经背核起源的胆碱能传出纤维^[60],通过腹腔神经节和脾神经将输出的炎症信号传递到脾脏,脾脏是炎症反射的主要靶器官,脾神经释放去甲肾上腺素(norepinephrine, NE), NE可以和脾脏T淋巴细胞上的 β 2肾上腺素能受体结合,诱导胆碱乙酰转移酶(choline acetyltransferase, ChAT)的表达和乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)的生成^[61]。脾脏中ACh可与巨噬细胞上的 α 7nAChR结合,进而通过抑制NF- κ B和JAK2/STAT3炎症信号通路减少IL-1 β 和TNF- α 等促炎因子的合成,从而发挥抗炎作用^[62-63]。与对照组相比, α 7nAChR在癫痫患者和动物模型致痫灶中的表达水降低,使用 α 7nAChR激动剂治疗后,癫痫动物模型体内炎症反应减少,癫痫发作率降低^[64]。同样地,在 α 7nAChR基因敲除的小鼠中,VNS治疗则不能抑制促炎因子的合成,而在野生型同窝小鼠中却能显著抑制促炎因子的释放^[65]。上述实验表明,VNS可通过刺激ACh的产生并作用于免疫细胞表面受体 α 7nAChR来抑制促炎因子的转录,从而降低外周炎症反应,说明 α 7nAChR是VNS通过CAP发挥抗炎的关键作用靶点。此外,加入乙酰胆碱酯酶能降低大脑的胆碱能抗炎反应,促进癫痫的发生,但使用乙酰胆碱酯酶抑制剂后,可以减少胶质细胞激活和炎症细胞因子的产生,起到神经保护作用^[66]。 α 7nAChR在小胶质细胞和星形胶质细胞上广泛表达已被证明^[67],这些研究结果提示中枢神经系统也可能存在CAP,但VNS是否通过CAP在中枢发挥抗炎作用还有待进一步研究。

综上,VNS可通过HPA轴和CAP两种抗炎机制减少促炎因子的释放(图2),从而降低外周的炎症。

3.2 中枢抗炎机制

3.2.1 保护BBB BBB是维持大脑稳态和功能的重要结构, BBB的通透性变化通常和炎症反应相关^[68]。在脑损伤模型中,VNS可以通过降低星形胶质细胞上水通道蛋白AQP-4的表达和BBB的破坏来减少神经元的损伤^[69]。CHEN等^[70]在脑微梗死小鼠模型中发现,VNS治疗可以降低BBB的通透性、小



①外周危险刺激因子可通过与迷走神经传入纤维末梢上的受体结合,将信号传递至NTS,刺激迷走神经,NTS通过DMV和迷走神经传出纤维递送抗炎信号。②通过HPA轴分泌糖皮质激素实现促炎因子转录水平的调控,从而抑制外周炎症反应。③通过CAP释放乙酰胆碱,乙酰胆碱可和脾脏的免疫细胞上的受体结合,然后抑制免疫细胞释放促炎因子,从而降低外周炎症反应。

①Peripheral risk stimulators can bind to receptors on vagal afferent fiber terminals and transmit signals to the NTS to stimulate the vagus nerve. NTS delivers anti-inflammatory signals through DMV and vagal efferent fibers. ②Glucocorticoids are secreted through the HPA axis to regulate the transcription level of proinflammatory factors. ③Acetylcholine is released through CAP. Acetylcholine can bind to receptors on immune cells in the spleen, and then inhibit the release of proinflammatory factors from immune cells, thus reducing the peripheral inflammatory response.

图2 VNS在外周的抗炎作用机制(根据参考文献[51,60]修改)

Fig.2 Anti-inflammatory mechanism of VNS in the periphery (modified from references [51,61])

胶质细胞和星形胶质细胞的活化程度、促炎细胞因子的表达和氧化应激水平。同样地,在缺血性脑卒中大鼠模型中,无创VNS能显著减少BBB破坏,保护血管紧密连接蛋白,并减少反应性星形胶质细胞中MMP-2/MMP-9的表达^[71]。虽然动物模型研究表明,VNS可以减少BBB的损伤,但关于VNS保护BBB的具体机制仍缺乏实验数据证明。由于MMP-9可破坏紧密连接,导致BBB障碍,而VNS能抑制MMP-9的表达,所以VNS保护BBB可能是通过抑制MMP-9的表达介导的,但VNS如何调控MMP-9的表达还有待进一步研究。

3.2.2 小胶质细胞激活 小胶质细胞是大脑中固有的免疫细胞,它介导中枢神经系统内源性免疫反

应。当脑内发生炎症时,小胶质细胞首先对神经炎症刺激作出反应,并通过转换不同表型调节炎症反应^[72]。激活的M1型小胶质细胞释放炎症因子促进炎症级联反应,导致继发性细胞死亡,M2型小胶质细胞则释放抗炎介质下调炎症水平,从而减少继发性细胞死亡并增加神经系统修复^[73]。M1型小胶质细胞可释放炎症介质包括IL-1 β 、TNF- α 和一些趋化因子(CCL2、CXCL9和CXCL10),正常条件下,其可参与死亡或受损细胞的清除,但在病理条件下却可发展为慢性炎症,促进癫痫发生^[74]。相反,M2型小胶质细胞释放抗炎细胞因子白介素-4(interleukin-4, IL-4)、白介素-13(interleukin-13, IL-13)和白介素-10(interleukin-10, IL-10),减少M1样小胶质细胞

介导的炎症反应,从而减少癫痫发生^[75]。因此,调节小胶质细胞向M2型转变可降低中枢炎症反应以此抑制癫痫的发展。在AD模型小鼠中,非侵入VNS可以调节小胶质细胞从促炎M1型转变为抑炎M2型,但具体作用机制尚不清楚^[76]。在缺血性卒中模型大鼠研究中,VNS通过抑制TLR4/MyD88/NF- κ B通路上调来促进M2小胶质细胞极化和抑制M1小胶质细胞极化,从而减轻脑损伤^[77]。在脑缺血再灌注损伤模型大鼠研究中发现,VNS可以激活小胶质细胞上的 α 7nAChR,降低炎症细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 和IL-6)的水平,并恢复急性脑损伤后的神经功能^[78]。而在慢性阻塞性肺病模型小鼠中发现, α 7nAChR可通过激活腺苷酰环化酶-6和促进TLR4降解来抑制炎症^[79],由此说明 α 7nAChR可能是VNS介导小胶质细胞表型转变的关键位点。以上结果表明,VNS可以调控炎症介质的转录水平,从而降低中枢炎症因子的表达,炎症介质下调可以减轻大脑炎症反应,从而减少小胶质细胞异常激活。但在癫痫大脑中,VNS是直接调控小胶质细胞由促炎型转变为抑炎型还是通过调节炎症因子水平间接调控的目前还不清楚。

3.2.3 对细胞因子的影响 细胞因子是调节炎症过程重要的信号分子,在神经炎症中主要由胶质细胞产生。正常情况下,促炎细胞因子在大脑中的表达水平较低,但一些促炎因子及其相关受体在慢性癫痫的大脑中表达上调^[80]。促炎细胞因子水平升高,可导致BBB分解、脑水肿、神经元坏死和细胞凋亡^[81]。先前报道表明,VNS治疗可以降低癫痫患者血浆中促炎因子IL-6的表达水平,同时增加抗炎因子IL-10的表达^[82]。然而在难治性癫痫儿童患者中,VNS治疗后血浆中细胞因子的水平没有发生变化,虽然VNS在改变血浆细胞因子水平方面存在争议,比如该实验不能排除VNS在不同时间点影响细胞因子表达变化的可能性,而且癫痫综合征类型不同也会导致实验结果存在差异^[83],但癫痫是一种脑部疾病,所以VNS可能对中枢神经系统细胞因子水平的影响较大。近期研究表明,在匹罗卡品诱导的癫痫大鼠模型中,VNS治疗能降低海马病灶区炎症因子的水平从而改善炎症反应^[84]。TANG等^[85]认为VNS可通过NF- κ B/NLRP3信号通路抑制氧化应激、炎症因子的释放和细胞凋亡,在脑损伤大鼠模型中发挥神经保护作用。其他证据也表明,VNS能通过调节小胶质

细胞活化来介导细胞因子的释放,从而降低中枢炎症反应^[76,78]。此外,VNS还能刺激神经营养因子如脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)和神经生长因子(nerve growth factor, NGF)的局部增加以及相关受体在神经胶质细胞中的表达,有助于调节脑内炎症反应^[47]。以上研究表明,一方面VNS降低大脑的炎症水平可能是通过下调炎症因子的转录水平和影响胶质细胞释放炎症因子实现的。另一方面,VNS还能增加神经营养因子的表达,为神经元提供营养支持,有助于减弱炎症反应。

3.2.4 对神经递质的影响 VNS增强了基底前脑胆碱能系统和去甲肾上腺素系统的活动,从而促进大脑皮层释放神经递质^[86]。CHACHU等^[87]报道NE可以减轻癫痫发作,认为去甲肾上腺素能系统是VNS抗癫痫机制的主要参与者。VNS对中枢神经系统作用是通过迷走神经传入纤维经孤束核(nucleus of the solitary tract, NTS)中继激活蓝斑核(locus coeruleus, LC)内神经元释放NE完成的。LC是一个脑干核团,尽管人脑中LC仅约5 000个神经元,但LC却是大脑中NE的主要来源。LC-NE神经元接受大多数皮质和皮质下大脑区域的输入并投射到整个前脑、脑干、小脑和脊髓^[88]。在1998年,KRAHL等^[89]证明了LC是VNS抗癫痫作用的关键结构,与正常对照组动物相比,损毁LC可逆转VNS对大鼠癫痫发作的抑制作用。一些研究表明,VNS可以激活LC,导致内源性去甲肾上腺素能活性的上调并增加大脑中NE的浓度^[90]。NE不仅是一种神经递质,还具有中枢神经免疫抗炎作用。早期研究发现,NE减少与中枢神经系统炎症严重程度之间存在直接相关性^[91]。小胶质细胞可以表达几种神经递质受体,包括肾上腺素能 α 和 β 类型^[92]。多项研究表明,NE的抗炎作用可能是通过小胶质细胞上的 β_2 肾上腺素能受体(β_2 AR)相互作用介导的,NE与 β_2 AR的结合导致促炎信号通路(如NF- κ B)被抑制,炎症介质TNF α 、IL-1 β 和诱导性一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)减少^[93]。此外,NE还诱导星形胶质细胞产生神经营养因子,以此减少病理损伤^[94]。尽管NE的抗炎机制在其他中枢疾病中已被提出并且得到验证,但在癫痫中的作用机制尚未被阐明。比较有趣的是,健康大鼠经VNS后海马区NE浓度呈强度依赖性增加,海马NE浓度增加至70%以上可防止匹罗卡品诱导的边缘系统癫痫发作^[95]。以上结果表明,NE是

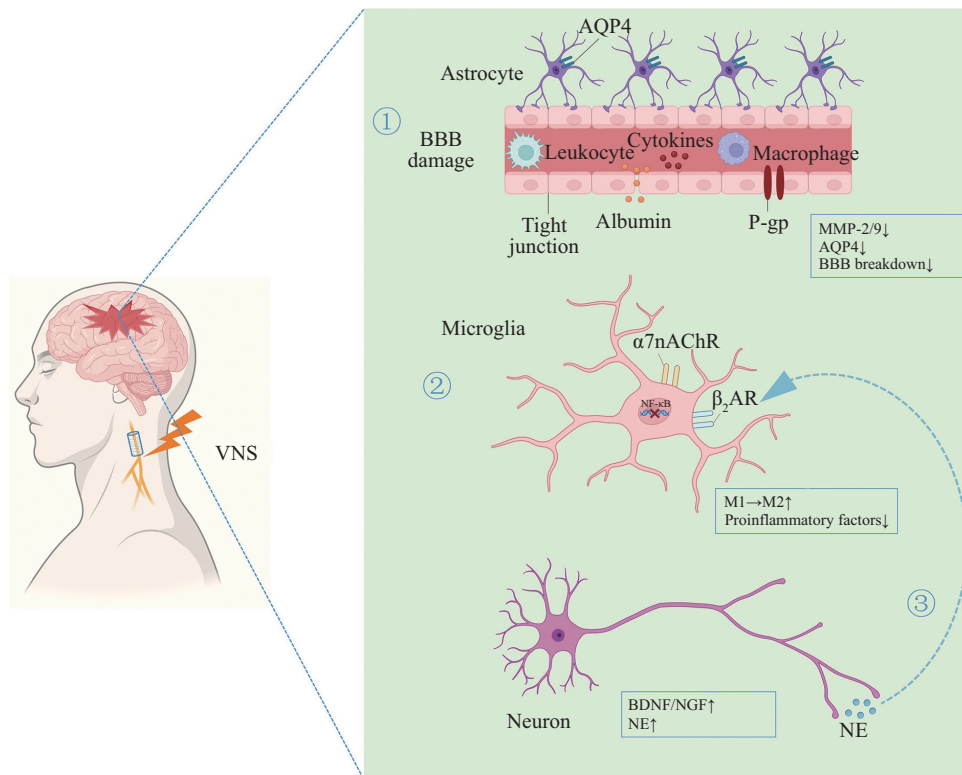
VNS激活LC释放的关键神经递质,同时具有神经抗炎作用,因此,NE可能是VNS在中枢抗炎作用的物质基础,但NE相关受体表达部位以及调控的具体神经网络仍需通过基础研究证明。

综上,VNS可能通过与BBB、小胶质细胞、细胞因子和神经元相互作用减少促炎因子的释放(图3),从而实现中枢抗炎的目的。

3.3 VNS抗癫痫治疗的其他机制

VNS被FDA批准用于癫痫治疗已经过去30多年,但VNS抗癫痫的机制尚不完全清楚,除了与炎症反应相关外,目前还提出了其他可能的机制。(1) 改变神经电生理活动,动物电生理学研究表明,VNS可通过对NTS直接作用改变大脑功能,而NTS又投射到其他脑干核团,如LC、下丘脑、丘脑、杏仁核、海马体和小脑等^[51]。此外,ALEXANDER等^[96]发现

VNS改变了杏仁核神经元的放电速率,并且VNS的强度与神经元的数量增加相关,分析杏仁核/海马神经元突触后致密区(PSD)的蛋白质组发现VNS可增加在兴奋性突触可塑性过程中起作用的蛋白质含量。因此,VNS可能会改变杏仁核和海马体的神经元活动,并改变中枢神经系统中兴奋性突触的组成。(2) 神经递质的变化,VNS刺激后脑脊液中5-羟基吲哚乙酸(5-HIAA:血清素活性的标志)和NE浓度升高,长期VNS还引起脑脊液中其他神经递质或氨基酸变化包括GABA(抑制性神经递质)增加和天冬氨酸(兴奋性氨基酸)浓度减少^[44],这些神经递质可通过调控大脑中神经元的活动减少癫痫发作频率和易感性。(3) 改变大脑血流量,一些研究人员使用功能神经成像来检测在VNS治疗期间或之后大脑区域血流量的变化^[97],发现丘脑、海马体、杏仁核、小脑和扣带



在中枢神经系统中,VNS治疗可降低癫痫病灶区的炎症反应,可能的调节机制如下。(1) 保护BBB,减少血清白蛋白和免疫细胞的浸润。(2) 抑制小胶质细胞的异常激活并促进小胶质细胞由促炎型向抑炎型转变。(3) 促进神经营养因子和NE的释放,NE可与小胶质细胞上相应受体结合,抑制促炎因子的转录,以此减少促炎因子的产生,改善癫痫病灶区的炎症反应,从而减少癫痫的发作。

In the central nervous system, VNS treatment can reduce the inflammatory response in the focal area of epilepsy, and the possible regulatory mechanisms are as follows: (1) protect BBB, reduce the infiltration of serum albumin and immune cells; (2) inhibit the abnormal activation of microglia and promote the transformation of microglia from proinflammatory type to anti-inflammatory type; (3) promote the release of neurotrophin and NE, NE can bind to the corresponding receptors on microglia, inhibit the transcription of proinflammatory factors, so as to reduce the production of proinflammatory factors, improve the inflammatory response in the focal area of epilepsy, so as to reduce the seizure.

图3 VNS中枢抗炎的作用机制(根据参考文献[27]修改)

Fig.3 Anti-inflammatory mechanism of VNS in the CNS (modified from reference [27])

皮层的新陈代谢加快或血流量增加,但这个结果并不完全一致,癫痫患者大脑中VNS诱导的区域血流变化可能与成像获取时间以及VNS刺激强度有关。

4 总结及展望

关于VNS在抗癫痫治疗的几种作用机制已被提出,包括减少炎症反应、改变神经电生理活动、影响神经递质的释放和改变大脑血流量,这些机制可能共同参与抗癫痫作用。随着对癫痫致病机制的深入研究发现,炎症已成为癫痫发作的主要标志,鉴于VNS在慢性炎症疾病中良好的抗炎效果,因此,本文对VNS在癫痫治疗中的抗炎作用机制进行了总结和阐述。但该领域还存在一些未解决的问题。(1) VNS治疗可降低癫痫患者血浆和大脑病灶区炎症程度,那么血液和脑脊液中的炎症介质是否可作为VNS抗癫痫治疗预后的生物检测指标?(2) VNS可以调控小胶质细胞表型变化和减少BBB损伤,但具体调节机制和相关通路尚未被完全阐明。(3) VNS可以减少癫痫大脑的炎症反应,但在癫痫急性发作期和慢性发作期的抗炎作用机制是否存在差异目前不清楚。(4) 最近研究表明,低强度电针刺刺激腿部足三里穴(Zusanli point 36, ST36)时,会激活一组表达PROKR2蛋白的感觉神经元,它们可以将后肢的感觉信息通过脊髓传向大脑特定区域并激活迷走神经-肾上腺神经通路,通过驱动肾上腺释放儿茶酚胺类物质发挥全身抗炎作用,而高强度刺激腹部的天枢穴25(Tianshu point 25, ST25)则激活脊髓交感神经,反而未能激活迷走神经-肾上腺这条副交感神经通路^[98-99]。那么未来是否可以考虑将VNS与电针刺刺激穴位方法联用治疗癫痫,或者设计特定的刺激方法靶向具有特殊分子标记的神经元,以此精确地驱动不同的神经通路发挥对机体免疫-炎症的调节作用来治疗各种类型的癫痫。(5) 此外,KEVIN等^[100]发现,在某些条件下VNS可以提高脑脊液进入脑实质的外显率,脑实质中脑脊液含量增加可能会减少神经元之间的触觉耦合、内源性神经化学递质和其他分子的胞外浓度,从而改变大脑神经回路兴奋性和电路结构减少癫痫病理,但VNS是如何增加脑脊液的穿透性的以及该机制具体影响哪些神经环路和哪些分子还不清楚。(6) 利用影像学技术在癫痫患者体内对神经炎症细胞或组织进行靶向定位近年受到关注,未来是否可以将神经炎症分子影像技术与

手术或VNS相结合用于对病灶区精确定位和治疗效果的评估,也是一个值得思考的问题。

总之,VNS在癫痫治疗中的抗炎作用机制受到越来越多的关注,但具体的抗炎通路和关键分子尚不明确,而且VNS抗癫痫治疗有可能是多种机制相互作用的结果。因此,未来需要更多的基础科学研究来探索迷走神经在抗炎机制中的主要作用靶点和相关功能回路以了解VNS的作用基础机制,并选取更合适的生物标志物用于评估VNS的疗效。

参考文献 (References)

- [1] FISHER R S, ACEVEDO C, ARZIMANOGLU A, et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy [J]. *Epilepsia*, 2014, 55(4): 475-82.
- [2] DEVINSKY O, VEZZANI A, O'BRIEN T J, et al. *Epilepsy* [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4: 18024.
- [3] CENDES F. Epilepsy care in China and its relevance for other countries [J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(5): 333-4.
- [4] THIJS R D, SURGES R, O'BRIEN T J, et al. Epilepsy in adults [J]. *Lancet*, 2019, 393(10172): 689-701.
- [5] KWAN P, ARZIMANOGLU A, BERG A T, et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies [J]. *Epilepsia*, 2010, 51(6): 1069-77.
- [6] JETTE N, SANDER J W, KEEZER M R. Surgical treatment for epilepsy: the potential gap between evidence and practice [J]. *Lancet Neurology*, 2016, 15(9): 982-94.
- [7] SPENCER D D, GERRARD J L, ZAVERI H P. The roles of surgery and technology in understanding focal epilepsy and its comorbidities [J]. *Lancet Neurol*, 2018, 17(4): 373-82.
- [8] PHI J H, CHO B K. Epilepsy surgery in 2019: a time to change [J]. *J Korean Neurosurg S*, 2019, 62(3): 361-5.
- [9] SCHEFFER I E, BERKOVIC S, CAPOVILLA G, et al. ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology [J]. *Epilepsia*, 2017, 58(4): 512-21.
- [10] PAUDEL Y N, SHAIKH M F, SHAH S, et al. Role of inflammation in epilepsy and neurobehavioral comorbidities: implication for therapy [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 837: 145-55.
- [11] VERHELST H, BOON P, BUYSE G, et al. Steroids in intractable childhood epilepsy: clinical experience and review of the literature [J]. *Seizure*, 2005, 14(6): 412-21.
- [12] CHEN L, ZHU L, LU D, et al. Association between autoimmune encephalitis and epilepsy: systematic review and meta-analysis [J]. *Seizure-Eur J Epilep*, 2021, 91: 346-59.
- [13] ONG M S, KOHANE I S, CAI T, et al. Population-level evidence for an autoimmune etiology of epilepsy [J]. *JAMA Neurol*, 2014, 71(5): 569-74.
- [14] STERIADE C, TITULAER M J, VEZZANI A, et al. The association between systemic autoimmune disorders and epilepsy and its clinical implications [J]. *Brain*, 2021, 144: 372-90.
- [15] SHARMA S, TIARKS G, HAIGHT J, et al. Neuropathophysiological mechanisms and treatment strategies for post-traumatic

- epilepsy [J]. *Front Mol Neurosci*, 2021, 14: 612073.
- [16] SWEENEY M D, ZHAO Z, MONTAGNE A, et al. Blood-brain barrier: from physiology to disease and back [J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(1): 21-78.
- [17] BOSCO D B, TIAN D S, WU L J. Neuroimmune interaction in seizures and epilepsy: focusing on monocyte infiltration [J]. *FEBS J*, 2020, 287(22): 4822-37.
- [18] SANO F, SHIGETOMI E, SHINOZAKI Y, et al. Reactive astrocyte-driven epileptogenesis is induced by microglia initially activated following status epilepticus [J]. *JCI Insight*, 2021, 6(9): e135391.
- [19] SANZ P, GARCIA-GIMENO M A. Reactive glia inflammatory signaling pathways and epilepsy [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 4096.
- [20] DE VRIES E E, VAN DEN MUNCKHOF B, BRAUN K P, et al. Inflammatory mediators in human epilepsy: a systematic review and meta-analysis [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2016, 63: 177-90.
- [21] RANA A, MUSTO A E. The role of inflammation in the development of epilepsy [J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 144.
- [22] LIBRIZZI L, VILA VERDE D, COLCIAGHI F, et al. Peripheral blood mononuclear cell activation sustains seizure activity [J]. *Epilepsia*, 2021, 62(7): 1715-28.
- [23] VARVEL N H, NEHER J J, BOSCH A, et al. Infiltrating monocytes promote brain inflammation and exacerbate neuronal damage after status epilepticus [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(38): E5665-E74.
- [24] BRONISZ E, KURKOWSKA-JASTRZEBSKA I. Matrix metalloproteinase 9 in epilepsy: the role of neuroinflammation in seizure development [J]. *Mediat Inflamm*, 2016, 6(9): e135391.
- [25] PASCUAL O, BEN ACHOUR S, ROSTAING P, et al. Microglia activation triggers astrocyte-mediated modulation of excitatory neurotransmission [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(4): E197-E205.
- [26] ZHAO X, LIAO Y, MORGAN S, et al. Noninflammatory changes of microglia are sufficient to cause epilepsy [J]. *Cell Rep*, 2018, 22(8): 2080-93.
- [27] PATEL D C, TEWARI B P, CHAUNSALI L, et al. Neuron-glia interactions in the pathophysiology of epilepsy [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20(5): 282-97.
- [28] PAUDEL Y N, SHAIKH M F, SHAH S, et al. Role of inflammation in epilepsy and neurobehavioral comorbidities: Implication for therapy [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 837: 145-55.
- [29] TERRONE G, BALOSSO S, PAULETTI A, et al. Inflammation and reactive oxygen species as disease modifiers in epilepsy [J]. *Neuropharmacology*, 2020, 167: 107742.
- [30] TAO A F, XU Z H. The pro-inflammatory cytokine interleukin-1 beta is a key regulatory factor for the postictal suppression in mice [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2015, 21(8): 642-50.
- [31] MAROSO M, BALOSSO S, RAVIZZA T, et al. Interleukin-1beta biosynthesis inhibition reduces acute seizures and drug resistant chronic epileptic activity in mice [J]. *Neurotherapeutics*, 2011, 8(2): 304-15.
- [32] EASTMAN C L, D'AMBROSIO R, GANESH T. Modulating neuroinflammation and oxidative stress to prevent epilepsy and improve outcomes after traumatic brain injury [J]. *Neuropharmacology*, 2020, 172: 107907.
- [33] LOSCHER W, POTSCHKA H, SISODIYA S M, et al. Drug resistance in epilepsy: clinical impact, potential mechanisms, and new innovative treatment options [J]. *Pharmacol Rev*, 2020, 72(3): 606-38.
- [34] WANG Y, ZHAN G, CAI Z, et al. Vagus nerve stimulation in brain diseases: therapeutic applications and biological mechanisms [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2021, 127: 37-53.
- [35] NOLLER C M, LEVINE Y A, URAKOV T M, et al. Vagus nerve stimulation in rodent models: an overview of technical considerations [J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 911.
- [36] KAKINUMA Y. Significance of vagus nerve function in terms of pathogenesis of psychosocial disorders [J]. *Neurochem Int*, 2021, 143: 104934.
- [37] TRAVAGLI R A, ANSELMINI L. Vagal neurocircuitry and its influence on gastric motility [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 13(7): 389-401.
- [38] THOMPSON N, MASTITSKAYA S, HOLDER D. Avoiding off-target effects in electrical stimulation of the cervical vagus nerve: neuroanatomical tracing techniques to study fascicular anatomy of the vagus nerve [J]. *J Neurosci Meth*, 2019, 325: 108325.
- [39] LANSKA D J. Corning and vagal nerve stimulation for seizures in the 1880s [J]. *Neurology*, 2002, 58(3): 452-9.
- [40] AALBERS M, VLES J, KLINKENBERG S, et al. Animal models for vagus nerve stimulation in epilepsy [J]. *Exp Neurol*, 2011, 230(2): 167-75.
- [41] FAN J J, SHAN W, WU J P, et al. Research progress of vagus nerve stimulation in the treatment of epilepsy [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25(11): 1222-8.
- [42] SCHACHTER S C, SAPER C B. Vagus nerve stimulation [J]. *Epilepsia*, 1998, 39(7): 677-86.
- [43] FISHER B, DESMARTEAU J A, KOONTZ E H, et al. Responsive vagus nerve stimulation for drug resistant epilepsy: a review of new features and practical guidance for advanced practice providers [J]. *Front Neurol*, 2020, 11: 610379.
- [44] PEREZ-CARBONELL L, FAULKNER H, HIGGINS S, et al. Vagus nerve stimulation for drug-resistant epilepsy [J]. *Pract Neurol*, 2020, 20(3): 189-98.
- [45] CHRASTINA J, NOVAK Z, ZEMAN T, et al. Single-center long-term results of vagus nerve stimulation for epilepsy: a 10-17 year follow-up study [J]. *Seizure*, 2018, 59: 41-7.
- [46] JOHNSON R L, WILSON C G. A review of vagus nerve stimulation as a therapeutic intervention [J]. *J Inflamm Res*, 2018, 11: 203-13.
- [47] ROSSO P, IANNITELLI A, PACITTI F, et al. Vagus nerve stimulation and neurotrophins: a biological psychiatric perspective [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2020, 113: 338-53.
- [48] SILVERMAN M N, STERNBERG E M. Glucocorticoid regulation of inflammation and its functional correlates: from HPA axis to glucocorticoid receptor dysfunction [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2012, 1261: 55-63.
- [49] WULSIN A C, SOLOMON M B, PRIVITERA M D, et al. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis dysfunction in epilepsy [J]. *Physiol Behav*, 2016, 166: 22-31.
- [50] WEDN A M, EL-BASSOSSY H M, EID A H, et al. Modulation of preeclampsia by the cholinergic anti-inflammatory pathway: therapeutic perspectives [J]. *Biochem Pharmacol*, 2021, 192: 114703.
- [51] ROSSO P, IANNITELLI A, PACITTI F, et al. Vagus nerve stimu-

- lation and Neurotrophins: a biological psychiatric perspective [J]. *Neurosci Biobehav R*, 2020, 113: 338-53.
- [52] CAIN D W, CIDLOWSKI J A. Immune regulation by glucocorticoids [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(4): 233-47.
- [53] D'ALESSIO L, MESAROSOVA L, ANINK J J, et al. Reduced expression of the glucocorticoid receptor in the hippocampus of patients with drug-resistant temporal lobe epilepsy and comorbid depression [J]. *Epilepsia*, 2020, 61(8): 1595-605.
- [54] CANO-LOPEZ I, GONZALEZ-BONO E. Cortisol levels and seizures in adults with epilepsy: a systematic review [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2019, 103: 216-29.
- [55] SINGH T, GOEL R K. Epilepsy associated depression: an update on current scenario, suggested mechanisms, and opportunities [J]. *Neurochem Res*, 2021, 46(6): 1305-21.
- [56] KANDRATAVICIUS L, PEIXOTO-SANTOS J E, MONTEIRO M R, et al. Mesial temporal lobe epilepsy with psychiatric comorbidities: a place for differential neuroinflammatory interplay [J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12: 38.
- [57] VIZUETE A F K, HANSEN F, NEGRI E, et al. Effects of dexamethasone on the Li-pilocarpine model of epilepsy: protection against hippocampal inflammation and astrogliosis [J]. *J Neuroinflamm*, 2018, 15(1): 68.
- [58] PINEDA E, SHIN D, SANKAR R, et al. Comorbidity between epilepsy and depression: experimental evidence for the involvement of serotonergic, glucocorticoid, and neuroinflammatory mechanisms [J]. *Epilepsia*, 2010, 51: 110-4.
- [59] BASU T, MAGUIRE J, SALPEKAR J A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis targets for the treatment of epilepsy [J]. *Neurosci Lett*, 2021, 746.
- [60] PAVLOV V A, TRACEY K J. The vagus nerve and the inflammatory reflex-linking immunity and metabolism [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2012, 8(12): 743-54.
- [61] BENFANTE R, DI LASCIO S, CARDANI S, et al. Acetylcholinesterase inhibitors targeting the cholinergic anti-inflammatory pathway: a new therapeutic perspective in aging-related disorders [J]. *Aging Clin Exp Res*, 2021, 33(4): 823-34.
- [62] FOX D. The shock tactics set to shake up immunology [J]. *Nature*, 2017, 545(7652): 20-2.
- [63] WU Y J, WANG L, JI C F, et al. Therole of alpha 7nAChR-mediated cholinergic anti-inflammatory pathway in immune cells [J]. *Inflammation*, 2021, 44(3): 821-34.
- [64] RAMOS-MARTINEZ I E, RODRIGUEZ M C, CERBON M, et al. Role of the cholinergic anti-inflammatory reflex in central nervous system diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(24): 13427.
- [65] BONAZ B, PICQ C, SINNIGER V, et al. Vagus nerve stimulation: from epilepsy to the cholinergic anti-inflammatory pathway [J]. *Neurogastroent Motil*, 2013, 25(3): 208-21.
- [66] GNATEK Y, ZIMMERMAN G, GOLL Y, et al. Acetylcholinesterase loosens the brain's cholinergic anti-inflammatory response and promotes epileptogenesis [J]. *Front Mol Neurosci*, 2012, 5: 66.
- [67] KALKMAN H O, FEUERBACH D. Modulatory effects of alpha 7 nAChRs on the immune system and its relevance for CNS disorders [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(13): 2511-30.
- [68] VARATHARAJ A, GALEA I. The blood-brain barrier in systemic inflammation [J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 60: 1-12.
- [69] LOPEZ N E, KRZYZANIAK M J, COSTANTINI T W, et al. Vagal nerve stimulation decreases blood-brain barrier disruption after traumatic brain injury [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2012, 72(6): 1562-6.
- [70] CHEN X, HE X, LUO S, et al. Vagus Nerve stimulation attenuates cerebral microinfarct and colitis-induced cerebral microinfarct aggravation in mice [J]. *Front Neurol*, 2018, 9: 798.
- [71] YANG Y, YANG L Y, ORBAN L, et al. Non-invasive vagus nerve stimulation reduces blood-brain barrier disruption in a rat model of ischemic stroke [J]. *Brain Stimul*, 2018, 11(4): 689-98.
- [72] PRINZ M, JUNG S, PRILLER J. Microglia biology: one century of evolving concepts [J]. *Cell*, 2019, 179(2): 292-311.
- [73] HU X, LEAK R K, SHI Y, et al. Microglial and macrophage polarization-new prospects for brain repair [J]. *Nat Rev Neurol*, 2015, 11(1): 56-64.
- [74] THERAJARAN P, HAMILTON J A, O'BRIEN T J, et al. Microglial polarization in posttraumatic epilepsy: potential mechanism and treatment opportunity [J]. *Epilepsia*, 2020, 61(2): 203-15.
- [75] BENSON M J, MANZANERO S, BORGES K. Complex alterations in microglial M1/M2 markers during the development of epilepsy in two mouse models [J]. *Epilepsia*, 2015, 56(6): 895-905.
- [76] KACZMARCZYK R, TEJERA D, SIMON B J, et al. Microglia modulation through external vagus nerve stimulation in a murine model of Alzheimer's disease [J]. *J Neurochem*, 2018, 146(1): 76-85.
- [77] ZHANG L, LIU Y, WANG S, et al. Vagus nerve stimulation mediates microglia M1/2 polarization via inhibition of TLR4 pathway after ischemic stroke [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 577: 71-9.
- [78] JIANG Y, LI L, LIU B, et al. Vagus nerve stimulation attenuates cerebral ischemia and reperfusion injury via endogenous cholinergic pathway in rat [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102342.
- [79] ZHU S M, HUANG S Q, XIA G F, et al. Anti-inflammatory effects of alpha 7-nicotinic ACh receptors are exerted through interactions with adenylyl cyclase-6 [J]. *Brit J Pharmacol*, 2021, 178(11): 2324-38.
- [80] ALYU F, DIKMEN M. Inflammatory aspects of epileptogenesis: contribution of molecular inflammatory mechanisms [J]. *Acta Neuropsychiatr*, 2017, 29(1): 1-16.
- [81] RODNEY T, OSIER N, GILL J. Pro- and anti-inflammatory biomarkers and traumatic brain injury outcomes: a review [J]. *Cytokine*, 2018, 110: 248-56.
- [82] MAJOIE H J, RIJKERS K, BERFELO M W, et al. Vagus nerve stimulation in refractory epilepsy: effects on pro- and anti-inflammatory cytokines in peripheral blood [J]. *Neuroimmunomodulation*, 2011, 18(1): 52-6.
- [83] AALBERS M W, KLINKENBERG S, RIJKERS K, et al. The effects of vagus nerve stimulation on pro- and anti-inflammatory cytokines in children with refractory epilepsy: an exploratory study [J]. *Neuroimmunomodulation*, 2012, 19(6): 352-8.
- [84] QI R, WANG M, ZHONG Q, et al. Chronic vagus nerve stimulation (VNS) altered IL-6, IL-1beta, CXCL-1 and IL-13 levels in the hippocampus of rats with LiCl-pilocarpine-induced epilepsy [J]. *Brain Res*, 2022, 1780: 147800.
- [85] TANG Y, DONG X, CHEN G, et al. Vagus nerve stimulation attenuates early traumatic brain injury by regulating the NF-kap-

- paB/NLRP3 signaling pathway [J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2020, 34(9): 831-43.
- [86] SRIHAGULANG C, VONGSFAK J, VANİYAPONG T, et al. Potential roles of vagus nerve stimulation on traumatic brain injury: evidence from *in vivo* and clinical studies [J]. *Exp Neurol*, 2022, 347: 113887.
- [87] CHACHUA T, BILANISHVILI I, KHIZANISHVILI N, et al. Noradrenergic modulation of seizure activity [J]. *Georgian Med News*, 2010(183): 34-9.
- [88] BRETON-PROVENCHE V, DRUMMOND G T, SUR M. Locus coeruleus norepinephrine in learned behavior: anatomical modularity and spatiotemporal integration in targets [J]. *Front Neural Circuits*, 2021, 15: 638007.
- [89] KRAHL S E, CLARK K B, SMITH D C, et al. Locus coeruleus lesions suppress the seizure-attenuating effects of vagus nerve stimulation [J]. *Epilepsia*, 1998, 39(7): 709-14.
- [90] GROVES D A, BROWN V J. Vagal nerve stimulation: a review of its applications and potential mechanisms that mediate its clinical effects [J]. *Neurosci Biobehav R*, 2005, 29(3): 493-500.
- [91] SHARMA D, FARRAR J D. Adrenergic regulation of immune cell function and inflammation [J]. *Semin Immunopathol*, 2020, 42(6): 709-17.
- [92] LIU H, LEAK R K, HU X. Neurotransmitter receptors on microglia [J]. *Stroke Vasc Neurol*, 2016, 1(2): 52-8.
- [93] KOLMUS K, TAVERNIER J, GERLO S. beta(2)-Adrenergic receptors in immunity and inflammation: stressing NF-kappa B [J]. *Brain Behav Immun*, 2015, 45: 297-310.
- [94] O'DONNELL J, ZEPPENFELD D, MCCONNELL E, et al. Norepinephrine: a neuromodulator that boosts the function of multiple cell types to optimize CNS performance [J]. *Neurochem Res*, 2012, 37(11): 2496-512.
- [95] BERGER A, VESPA S, DRICOT L, et al. How is the norepinephrine system involved in the antiepileptic effects of vagus nerve stimulation [J]? *Front Neurosci-Switz*, 2021, 15: 790943.
- [96] ALEXANDER G M, HUANG Y Z, SODERBLOM E J, et al. Vagal nerve stimulation modifies neuronal activity and the proteome of excitatory synapses of amygdala/piriform cortex [J]. *J Neurochem*, 2017, 140(4): 629-44.
- [97] FAN J J, SHAN W, WU J P, et al. Research progress of vagus nerve stimulation in the treatment of epilepsy [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25(11): 1222-8.
- [98] LIU S B, WANG Z F, SU Y S, et al. A neuroanatomical basis for electroacupuncture to drive the vagal-adrenal axis [J]. *Nature*, 2021, 598(7882): 641.
- [99] LIU S B, WANG Z F, SU Y S, et al. Somatotopic organization and intensity dependence in driving distinct NPY-expressing sympathetic pathways by electroacupuncture [J]. *Neuron*, 2020, 108(3): 436.
- [100] CHENG K P, BRODNICK S K, BLANZ S L, et al. Clinically-derived vagus nerve stimulation enhances cerebrospinal fluid penetrance [J]. *Brain Stimulation*, 2020, 13(4): 1024-30.