



## 经颅超声在帕金森病治疗中的应用\*

李春婵<sup>1,2)</sup> 杨佳佳<sup>1,4)\*\*</sup> 刘近贞<sup>1,3)</sup> 郑晨光<sup>1,4)</sup> 田裕涛<sup>1)</sup> 何峰<sup>1,4)\*\*</sup> 明东<sup>1,4)</sup><sup>(1)</sup> 天津大学医学工程与转化医学研究院, 天津 300072; <sup>(2)</sup> 天津工业大学生命科学院, 天津 300387;<sup>(3)</sup> 天津工业大学控制科学与工程学院, 天津 300387; <sup>(4)</sup> 天津大学精密仪器与光电子工程研究院, 天津 300072)

**摘要** 帕金森病是仅次于阿尔茨海默病的第二大常见神经退行性疾病, 临床常用的治疗方法为药物治疗和神经外科手术。然而, 目前尚无确切的方法阻止疾病的发展, 新的治疗方案亟待探索。超声波因其具有非侵入性、高空间分辨率和高穿透性的特点, 现已被广泛关注并用于帕金森病的治疗之中。近些年兴起的磁共振成像 (MRI) 引导聚焦超声消融技术、MRI 引导聚焦超声开放血脑屏障给药技术、低强度聚焦超声调控技术和声遗传技术都已经在临床研究或临床前动物模型中取得可喜的成果。本文从以上4个方面综述近5年经颅超声技术在帕金森病治疗中的主要进展, 并对其中的一些科学问题进行了探讨, 以期研究帕金森病发病机制和治疗方案的同行提供参考。

**关键词** 帕金森病, 超声消融, 超声给药, 超声调控, 声遗传

**中图分类号** R318, Q426

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2022.0144

超声波是指频率为 20 kHz 或者更高频率的声波, 其特点是波长短、方向性强, 主要用于工业探测、医学成像和超声治疗等领域。超声根据频率不同具有不同用途: 高频超声波 (1~20 MHz) 用于医学诊断, 中频 (0.7~3 MHz) 用于超声治疗, 低频 (20~200 kHz) 用于工业和治疗<sup>[1]</sup>。超声频率大小决定了其穿透深度和空间分辨率, 频率越大, 波长越短, 分辨率越高; 相反, 随着超声频率增加, 超声波衰减增加, 穿透深度降低。治疗性超声可大致分为“低强度”和“高强度”, “低强度”应用包括物理治疗、骨折修复、基因转染、神经调控等, 而“高强度”超声波在医学中最常见的应用是高强度聚焦超声波消融术<sup>[2]</sup>。在 Ahmadi 等<sup>[1]</sup>的一篇综述文章中, 将低强度定义为空间时间强度为 0.125~3 W/cm<sup>2</sup>、高强度为 5 W/cm<sup>2</sup> 至几千 W/cm<sup>2</sup> 的能量范围。超声波兼具力学效应、热效应和波动效应。在低强度下, 力学效应可能是主要的生物效应; 在高强度下, 热效应和声空化占主导地位<sup>[3]</sup>, 波动效应主要用于医学诊断成像。

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是仅次于阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 的第二种常见神经退行性疾病, 它影响着全球大约 1%

的 60 岁以上人口<sup>[4]</sup>。PD 是一种进行性多因素神经退行性疾病, 主要症状表现为震颤、运动迟缓和僵硬, 还伴有其他运动性或者非运动性症状, 如情绪和睡眠障碍<sup>[4]</sup>。PD 的平均发病年龄约为 56 岁, 但也存在早发性 PD 患者 (21~40 岁) 和青少年期 PD 患者 (21 岁之前)<sup>[5]</sup>, 预计到 2040 年, PD 将会影响超过 1 200 万人的生活质量<sup>[6]</sup>。帕金森病的两个主要病理特征是黑质致密部中多巴胺神经元的丧失和  $\alpha$  突触核蛋白 ( $\alpha$ -synuclein,  $\alpha$ -syn) 的异常聚集<sup>[7]</sup>。

PD 的治疗方式主要包括药物治疗、植入脑深部刺激器 (deep brain stimulation, DBS) 和损伤手术<sup>[8]</sup>。药物治疗包括多巴胺前体、多巴胺激动剂、单胺氧化酶 B 抑制剂, 药物治疗的主要目的是提高多巴胺 (dopamine, DA) 水平、抑制多巴胺氧化代谢, 缓解 PD 症状<sup>[8]</sup>。在众多药物中, 左旋多巴

\* 国家自然科学基金 (81871517, 81870847, 32071103) 资助项目。

\*\* 通讯联系人。

杨佳佳 Tel: 13002239369, E-mail: jiajia.yang@tju.edu.cn

何峰 Tel: 18522722391, E-mail: heaven@tju.edu.cn

收稿日期: 2022-04-07, 接受日期: 2022-06-24

是治疗PD初期运动障碍的最有效药物,但是用药5~10年后会引起相关并发症,如左旋多巴相关的运动障碍、步态冻结、姿势不稳、抑郁和运动波动等<sup>[9]</sup>。当出现药物疗效下降时可考虑植入DBS, DBS具有可逆、可调节的优势,是一种改善PD运动障碍的有效疗法。但是DBS手术具有侵入性,存在一定手术风险。20世纪50年代到60年代以基底神经节为靶点的外科消融手术颇为盛行,后来随着立体定位技术的发展,阵列聚焦超声在磁共振成像(MRI)引导下,可以在不打开颅骨的情况下,对靶点进行消融,最近FDA已经批准磁共振引导聚焦超声(MRI-guided focused ultrasound, MRgFUS)消融手术用于治疗震颤为主的PD<sup>[8, 10]</sup>。超声波因其具有无创、空间分辨率高、穿透性强的特点,受到广泛关注,现在又发展了MRgFUS开放血脑屏障给药、低强度聚焦超声神经调控和声遗传技术。本文主要综述经颅超声在PD治疗中的研究进展,涵盖MRgFUS消融技术、MRgFUS开放血脑屏障(blood brain barrier, BBB)给药技术、低强度聚焦超声调控(low-intensity focused ultrasound stimulation, LIFUS)技术和声遗传技术,以期研究PD发病机制、探究PD治疗方案的同行提供一定的参考和帮助。

## 1 MRgFUS消融技术治疗PD

数十年来,消融手术成功应用于PD、特发性震颤等运动障碍疾病的治疗之中<sup>[11]</sup>。20世纪90年代随着DBS技术出现,电刺激丘脑底核(subthalamic nucleus, STN)或者内侧苍白球(globus pallidus internus, GPi)可改善帕金森病和左旋多巴相关并发症,由于DBS具有可逆性,损伤疗法逐渐失去热度。然而,DBS在取得疗效的同时也展现出一些缺点,比如手术风险、并发症、手术禁忌症和高昂的手术费用,这使得许多患者拒绝接受DBS植入手术。最近新兴的MRI引导的高强度聚焦超声技术再次唤起了人们对消融功能性神经外科手术的热度。MRgFUS可以在不打开颅骨的情况下,对大脑深部组织消融,避免了传统射频消融、DBS打开颅骨和植入电极带来的风险<sup>[12]</sup>。

Fry等<sup>[13]</sup>首次提出使用聚焦超声治疗运动障碍。1959年他们首次尝试人体实验,使用4个超声探头产生聚焦声束穿过颅窗靶向苍白球/黑质治疗帕金森病<sup>[14]</sup>。颅骨相对于脑组织对超声波具有较高的吸收系数,当时受技术限制,需要开颅骨窗以

精准实施超声治疗。如今,相控阵技术、MRI技术的进步允许通过完整的人体头颅进行超声消融<sup>[5]</sup>。MRI热成像技术允许对治疗位置和强度进行精确定位和实时监测,从而提供有效消融所需热剂量的准确定位和控制,高强度超声波束通过完整的颅骨聚焦于治疗靶点,而无需切口,一般术后症状可得到立刻缓解。

### 1.1 MRgFUS消融术治疗机制

基底神经节功能异常被认为是PD的主要病理机制,其与运动皮层之间有着广泛的纤维联系,以协调运动功能。基底神经节与运动皮层之间的环路可分为直接通路(纹状体-内侧苍白球/黑质网状部)和间接通路(纹状体-苍白球外侧-丘脑底核-内侧苍白球/黑质网状部)<sup>[4]</sup>。直接通路的激活减少基底节的输出,减少对丘脑的抑制,促进运动;间接通路的激活增加基底神经节的输出,抑制丘脑和运动。在健康人中这两条通路的活动处于平衡状态,而黑质中DA可以通过直接与间接通路促进运动。在PD患者中,多巴胺神经元的丢失导致纹状体水平上两条通路的不平衡,间接通路过度激活,STN兴奋性增加,导致GPi对丘脑的抑制作用增加,同时直接通路活动减弱,进一步抑制了丘脑和皮层的活动,表现出运动减少等症状。另外,小脑回路的改变以及小脑和基底节之间的相互作用在PD的病理机制中也很重要,尤其是在PD震颤病理中,PD震颤似乎与丘脑的小脑接收区-腹侧中间核(ventrointermedial nucleus of the thalamus, Vim)的异常振荡活动密切相关<sup>[8]</sup>。基于以上神经机制诞生消融手术,其目的是损毁脑内异常兴奋神经核团,从而控制PD运动症状。目前MRgFUS治疗PD靶点主要有Vim、GPi、苍白球丘脑束(pallidothalamic tract, PTT)和STN。电生理实验表明,Vim接收外周神经投射,Vim核团消融可持久缓解震颤<sup>[15-16]</sup>。GPi消融术可阻断GPi对于丘脑的过度抑制,用于治疗僵直、运动迟缓,对异动症和运动波动具有明显改善作用<sup>[12]</sup>。Vim和GPi核团靠近内囊和视束,患者可因毁损面积过大而影响内囊或视束功能,毁损面积过小而导致症状复发<sup>[17]</sup>。PTT消融相当于一种优化的苍白球消融术,在有限的组织消融情况下,将丘脑皮质动力从苍白球过度抑制中释放出来,降低术中视束和内囊损伤风险,同时保持丘脑的完整<sup>[17-18]</sup>,PTT消融治疗效果与GPi消融相似,可减少症状复发<sup>[12]</sup>。STN消融术机制是减小GPi的过度兴奋,减弱GPi对丘脑和皮层

的抑制, STN 消融用于缓解 PD 核心运动症状, 减少药物用量<sup>[12, 19]</sup>。不同靶点的治疗情况如表 1 所示。

### 1.2 丘脑腹中间核消融术

2016 年 MRgFUS 批准 Vim 消融手术用于治疗特发性震颤<sup>[20]</sup>。Bond 等<sup>[21]</sup>的一项双中心双盲实验表明, Vim 消融手术同样适用于以震颤为主的 PD 患者。该研究队列招募 27 名患者, 分为假治疗组 ( $n=7$ ) 和超声治疗组 ( $n=20$ ) 组, 术后 3 个月随访, 假治疗组中位数震颤临床评定量表 (Clinical Rating Scale for Tremor, CRST) 的评分下降 22%, 平均统一帕金森病评定量表 (Unified Parkinson Disease Rating Scale, UPDRS) 运动部分 (UPDRS III) 评分下降 4%; 治疗组 CRST 下降 62%, UPDRS III 评分下降 34.7%。2018 年, Zaaroor 等<sup>[22]</sup>发表了一项关于 MRgFUS 单侧 Vim 消融手术治疗 PD 和特发性震颤的文章, 研究纳入 9 名震颤为主的 PD 患者。术后 6 个月随访, UPDRS III 的平均分数从 24.9 下降到 13.4, PD 患者的生活质量问卷 (PD questionnaire, PDQ-39) 平均得分从 38.6 下降至 20.6。2018 年, 美国 FDA 批准 MRgFUS 丘脑消融手术用于治疗震颤为主的 PD 患者<sup>[10]</sup>。

### 1.3 苍白球消融术

自从 1992 年 Laitinen 团队确立了损毁苍白球腹后部的有益效果以来, 苍白球消融手术已经被应用于治疗 PD 和左旋多巴诱发运动障碍的主要运动症状的有效方法<sup>[23-24]</sup>。Jung 等<sup>[23]</sup>报道了第一项 MRgFUS 单侧 GPi 消融手术的研究, 8 名 PD 患者成功接受治疗。术后随访 6 个月和 12 个月时, 药物关期 MDS-UPDRS III 评分分别改善 32.2% 和 39.1%, 统一运动障碍评定量表 (Unified Dyskinesia Rating Scale, UDysRS) 分别改善 52.7% 和 42.7%。2021 年发表的一项 MRgFUS 单侧 GPi 消融手术, 纳入 20 名患者, 随后 3 个月随访, UDysRS 改善了 59%, 药物关期运动障碍学会版联合帕金森病评定量表 (Movement Disorder Society version of the United Parkinson's Disease Rating Scale, MDS-UPDRS) 第三部分 (MDS-UPDRS III) 改善了 44.5%, 除 1 名患者外, 术后 1 年随访, 患者运动症状和生活质量展现出了持续的改善<sup>[25]</sup>。

### 1.4 苍白球丘脑束消融术

Magara 等<sup>[26]</sup>报道了第一项 MRgFUS 消融 PTT 的前瞻性研究, 纳入 13 名慢性和难治性 PD 患者。

其中 4 名患者接受 1 次超声脉冲治疗, 术后 3 个月随访, UPDRS 得分下降 7.6%, 平均整体症状缓解自评 (patient estimation of global symptom relief, GSR) 下降 22.5%, MRI T2w 未显示热损伤迹象。其他 9 名患者进行了重复 4~5 次的超声治疗, 3 个月时, 患者的平均 UPDRS 降低了 60.9%, GSR 降低了 56.7%, T2w 图像上可见病灶。随后该课题组对手术方案进行优化, 于 2017~2018 年间进行了一项前瞻性单中心研究<sup>[18]</sup>, 招募 51 例 PD 患者, 术后中位数随访时间为 12 个月。治疗后平均总 UPDRS 评分在 3 个月时降低 38%, 1 年后与术前药物开期相比降低 46%, 与术前药物关期相比降低 51%, 震颤、强直、远端运动迟缓分别平均减少 84%、70%、73%, 认知功能无明显变化, 平均左旋多巴摄入量减少了 55%, 轴向项目 (语音、躯干和步态) 没有显著改善, 认知功能无明显变化, 疼痛、肌张力障碍、快速眼动、睡眠障碍等减少。在绝大多数晚期和难治性病例中, PD 是一种双侧疾病。Gallay 等<sup>[27]</sup>开展了一项双侧 MRgFUS PTT 治疗的研究, 纳入 10 例 PD 患者。术后 1 年随访显示, 术后药物关期与术前药物开期相比 UPDRS 总分平均降低 52%, 震颤、远端僵直、远端运动迟缓分别降低 91%、67%、54%, 多巴胺用量减少, 步态和平衡功能无明显改变, 客观评分言语困难恶化了 58%, 运动障碍抑制以及疼痛、肌张力障碍、快速眼动睡眠障碍的减少。长期以来人们存在对双边消融手术的警示态度<sup>[28]</sup>, 在这项研究展中患者治疗后双侧症状得到缓解, 因为研究的样本量小, 目前还无法判断双边消融手术否适合广泛开展, 不过本研究也为后面的临床研究提供重要参考。

### 1.5 丘脑底核消融术

STN 是 DBS 治疗 PD 主要运动特征的首选靶点, STN 是否可以作为 MRgFUS 消融的靶点? Martínez-Fernández 等<sup>[11]</sup>进行了 MRgFUS 单侧 STN 消融手术的前瞻性研究, 课题组于 2016 年间招募 10 名药物治疗不明显的不对称 PD 患者, 术后 6 个月随访, 治疗侧 MDS-UPDRS III 平均评分药物关期改善了 53%, 药物开期改善了 47%。除 1 名患者外, 左旋多巴胺用量减少了。术后 12 个月评估中, 所有患者的 PD 运动特征都表现出持续的改善。最近有一项 MRgFUS 单侧 STN 消融手术的随机对照研究, 入队 40 名 PD 患者<sup>[29]</sup>。术后 4 个月随访, 治疗组和假治疗组 MDS-UPDRS III 评分分别从基线时的 19.9 下降到 9.9 和 18.7 下降至 17.1, 展现出明



显的差异,由此可见STN可以作为MRgFUS消融治疗PD的备选靶点。

如上所述,MRgFUS消融手术治疗PD已经成为临床上的重要选择之一,其优势是可以根据患者头骨厚度、形状和颅骨密度比,个性化进行相位校正,实现精准治疗<sup>[20]</sup>。术中也可对目标区域进行1 mm以内微调,这在射频消融或者DBS治疗中难以实现<sup>[20]</sup>。但也存在不良反应,包括步态共济失调<sup>[11, 21-22, 29]</sup>、感觉异常<sup>[18]</sup>、运动无力<sup>[22-23, 29]</sup>、运动障碍<sup>[11, 23, 29]</sup>、言语障碍<sup>[18, 25, 27, 29]</sup>、面部异常<sup>[11, 21, 25, 29]</sup>、视野缺损<sup>[25]</sup>、精神问题<sup>[11, 25]</sup>、头痛<sup>[11, 23, 25, 29]</sup>、头晕<sup>[22, 29]</sup>、恶心<sup>[22, 25]</sup>等,大部分不良反应症状较轻,在3个月之内逐渐消失,也有

少数一些不良反应持续存在<sup>[23, 25, 27]</sup>,还有少数病例运动症状没有改善或者复发<sup>[21-22]</sup>。这些临床疗效和不良反应也与医生经验和定位精确度直接相关。另外MRgFUS消融手术主要用于单侧核团损伤,双侧手术风险较大,未来还需要大量样本的深入研究去优化手术方案,探究新的手术策略,寻找精准的治疗靶点,提高治疗效果,减少副作用的发生。总体而言,MRgFUS作为一种新型的非侵入性治疗手段治疗效果理想,技术相对成熟,手术损伤小,见效快,在PD的治疗中展现出较好的应用前景,同时,也为晚期DBS禁忌型患者带来了希望。

Table 1 Summary of MRI guided focused ultrasound ablation in treatment of PD

表1 MRgFUS消融手术治疗PD情况

发表年份	患者特点	治疗靶点	改善情况 治疗效果(随访时间)	参考文献
2017	震颤为主PD	Vim	治疗组: CRST下降62%, UPDRSIII下降34.7%; 假治疗组: CRST下降22%, UPDRSIII下降4% (药物开期, 3个月)	[21]
2018	震颤为主PD	Vim	UPDRS III评分下降46.2%, PDQ-39评分下降44.6% (药物开期, 6个月)	[22]
2018	异动症为主PD	GPI	MDS-UPDRS III评分下降32.2%, UDysRS评分下降52.7% (药物关期, 6个月); MDS-UPDRS III评分下降39.1%, UDysRS评分下降42.7% (药物关期, 12个月)	[23]
2021	非对称运动和运动波动PD	GPI	MDS-UPDRS III评分下降44.5%, UDysRS评分下降59% (药物关期, 3个月); MDS-UPDRS III评分下降43%, UDysRS评分下降45.2% (药物关期, 12个月)	[25]
2014	慢性和难治性PD	PTT	4人UPDRS评分下降7.6%, 9人UPDRS评分下降60.9% (3个月)	[26]
2020	慢性和难治性PD	PTT	UPDRS评分下降46% (药物开期, 12个月); UPDRS评分下降51% (药物关期, 12个月)	[18]
2021	慢性和难治性PD	PTT	UPDRS评分下降52%, 语言障碍改善58% (术后药物关期对比术前药物开期, 12个月)	[27]
2018	显著不对称PD	STN	MDS-UPDRS III评分下降53% (药物关期, 6个月); MDS-UPDRS III评分下降47% (药物开期, 6个月)	[11]
2020	显著不对称PD	STN	治疗组: MDS-UPDRS III评分下降49.2%; 假治疗组: MDS-UPDRS III评分下降9% (药物关期, 4个月)	[29]

## 2 MRgFUS开放BBB辅助给药治疗PD

MRgFUS的另一种有前景的应用是结合超声造影剂-微泡(microbubbles, MBs),实现BBB的短暂开放,靶向递送药物、基因、干细胞、抗体等达到治疗疾病的目的。BBB由内皮细胞通过各种紧密连接蛋白、星形胶质细胞和基底膜组成<sup>[30-31]</sup>。BBB保护脑组织免受外来毒素的侵害,同时也阻断许多治疗或诊断性药物大分子的输送<sup>[32]</sup>。当MBs通过血液循环到达超声靶点时,在超声波的作用下膨胀和收缩,从而导致内皮细胞紧密连接的

短暂分离(1~24 h),允许药物/基因穿过BBB,进入脑实质<sup>[30, 33-34]</sup>。MRgFUS联合MBs开放BBB所需的超声强度远低于热消融所需的强度,因此这种方法不会对颅骨产生明显的加热,也不会对脑组织造成显著损伤,目前这种疗法在神经退行性疾病、胶质母细胞瘤、肌萎缩性侧索硬化等脑部疾病治疗中均有应用<sup>[35]</sup>。

### 2.1 动物模型研究

超声开放BBB在PD动物模型中的应用主要是基因治疗,其中一种治疗策略是靶向 $\alpha$ -syn的聚集。PD的主要病理特征之一是 $\alpha$ -syn错误折叠形成路易病理学,路易病理学的传播与 $\alpha$ -syn以类似于朊病

毒的方式自我模板化有关, 下调  $\alpha$ -syn 表达可能是延迟或阻断 PD 扩散病理的可行方法<sup>[36]</sup>。Xhima 等<sup>[36]</sup> 结合 MRgFUS 技术和 MBs, 将携带靶向  $\alpha$ -syn 基因的 shRNA 序列 AAV9 载体静脉注射到表达人  $\alpha$ -syn 转基因小鼠中, 用于阻止该蛋白质的表达。聚焦超声靶向治疗 4 个脑区 (海马、黑质、嗅球和背侧运动核)。1 个月后, 靶区  $\alpha$ -syn 免疫反应降低, 未检测到神经元毒性, 也未检测到细胞死亡或者炎症诱导的胶质细胞活化。结果表明, MRgFUS 介导的针对  $\alpha$ -syn 的 shRNA 递送可能是预防路易体形成的潜在治疗方案。

另一种基因治疗策略是靶向 DA 系统递送神经营养因子。神经营养因子, 如胶质细胞源性神经营养因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF) 及其家族成员 neurturin (NTN) 和脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), 被认为具有神经保护和修复功能, 对多巴胺神经元的发育和维持非常重要<sup>[37-38]</sup>。前期动物模型和临床研究已经表明<sup>[39-40]</sup>, 神经营养因子疗法是有效的, 但是由于 BBB 的存在, 全身给药治疗效果不佳。Wang 等<sup>[41]</sup> 和 Samiotaki 等<sup>[42]</sup> 等使用 MRgFUS 结合 MBs 治疗增强了静脉注射 GDNF 和 NTN 后向靶区的递送。Fan 等<sup>[43]</sup> 开发了一种新型阳离子微泡系统用作 GDNF 基因质粒载体, 超声治疗后, 增加了靶区 GDNF 表达。这是首次将 BBB 开放和药物释放应用于 PD 治疗的研究报告, 成功修复了 6-OHDA 诱导 PD 大鼠黑质纹状体多巴胺通路的损伤, 改善了大鼠的运动障碍。另一项研究中, 研究人员使用高渗透的纳米颗粒作为载体, 在 MRgFUS 作用下开放大鼠纹状体 BBB, 靶向增强 GDNF 表达。该研究中, 12 周内恢复了大鼠多巴胺水平和多巴胺能神经元密度, 显著改善了运动障碍<sup>[38]</sup>。在 Yue 等<sup>[44]</sup> 的研究中, PD 大鼠静脉注射 GDNF 质粒, 靶向纹状体的超声治疗增加了 GDNF 和核受体相关因子 1 的表达, 改善了大鼠运动障碍。另外一种递送神经营养因子的方法是使用病毒载体, Karakatsani 等<sup>[45]</sup> 以腺相关病毒为载体, 向 MPTP 诱导的亚急性 PD 小鼠模型纹状体和中脑传递 GDNF, 改善了黑质纹状体多巴胺能通路的损伤。Ji 等<sup>[46]</sup> 采用了一种新颖的治疗方式, MPTP 小鼠接受鼻腔 BDNF 治疗, 多次超声开放基底神经节 BBB 后, 发现接受超声治疗的小鼠酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) 染色免疫反应显著增强, 行为学得到改善。以上研究表明聚焦超声介

导的 BBB 开放可以与药物治疗方法相结合, 无创地提高脑内药物递送的效率。

## 2.2 临床研究

以上针对动物模型的研究均取得了可喜的成果, MRgFUS 开放 BBB 在人体实验方面也有一定探索。针对 AD 患者<sup>[47]</sup> 和肌萎缩侧索硬化患者<sup>[48]</sup> MRgFUS 开放 BBB I 期临床实验, 初步证明了 MRgFUS 开放 BBB 的安全性和有效性。最近 Gasca-Salas 等<sup>[49]</sup> 报道了一项 MRgFUS 治疗 PD 痴呆症 (Parkinson's disease dementia, PDD) 的 I 期临床试验结果, 研究招募了 5 名 PDD 患者, 治疗靶点为右侧顶枕颞叶皮质。治疗后患者认知功能轻度改善, 但淀粉样蛋白或氟脱氧葡萄糖正电子发射计算机断层扫描无明显改变, 治疗过程中未见明显不良反应。该研究初步表明, MRgFUS 开放 BBB 是一种安全、可逆、可行的治疗 PDD 的方法。

综上所述, MRgFUS 开放 BBB 促进药物/基因的递送作为一种非侵入性、靶向性强的治疗手段, 解决了目前药物大分子无法穿过 BBB 到达靶区的难题, 在动物实验中展现出良好的治疗效果, 在 PD 的治疗中前景广阔。然而该技术在临床应用前尚需解决若干问题。在 BBB 开放人体实验中, 不同受试者所用超声能量和 BBB 开放体积存在差异<sup>[49]</sup>, 研究中是否存在安慰剂效应, 治疗中最优的 BBB 开放体积; 未来联合药物治疗, 人体血管、超声和药物动力学之间的相互作用关系<sup>[50]</sup>, 仍然未知。值得高兴的是, 来源于人的诱导多能干细胞体外 BBB 模型被证明能准确反映体内药物在人脑中的渗透性<sup>[51]</sup>。来源于 PD 患者的诱导多能干细胞体外 BBB 模型或许可以用于临床前研究, 助力 MRgFUS 开放 BBB 治疗 PD 的转化进程。虽然多项研究表明, MRgFUS 开放 BBB 是安全的, 没有发现出血和脑水肿, 但也有研究发现 BBB 开放引发无菌炎症, 早期神经元和星形胶质细胞损伤, 小胶质细胞和星形胶质细胞活化<sup>[52]</sup>。目前临床实验聚焦在验证 BBB 开放的安全性和可逆性的问题上, 对于 BBB 开放联合药物治疗在 PD 中的研究报道未见报道。总之, MRgFUS 介导 BBB 开放仍然是一门新兴的技术, 未来还需要大量的动物实验和大规模的临床实验, 来研究 MRgFUS 联合 MBs 开放 BBB 的深入机制, 解决最优的超声治疗参数、微泡体积剂量以及给药剂量等关键性问题, 最终将这项技术转化为临床应用, 使更多患者受益。

### 3 低强度聚焦超声神经调控治疗PD

对于 LIFUS 的研究可追溯到 1958 年, Fry 等<sup>[53]</sup>证实超声波调控猫外侧膝状体区域,可逆性地抑制了视觉诱发电位。随后, Tyler 等<sup>[54]</sup>通过离体实验证明了 LIFUS 能够触发动作电位和突触传递,从而影响神经网络活动。他们采用 LIFUS ( $2.9 \text{ W/cm}^2$ ,  $0.44 \text{ MHz}$ 、 $0.67 \text{ MHz}$ ) 刺激小鼠海马切片 CA1 区,引起电压门控钠离子和钙离子通道活性的改变,诱发锥体细胞产生动作电位,观察到突触囊泡的增加,实验中未发现超声刺激引起神经元损伤。在体实验方面, Tufail 等<sup>[55]</sup>发现 LIFUS ( $21\sim 163 \text{ mW/cm}^2$ ,  $0.25\sim 0.5 \text{ MHz}$ ) 可以穿透小鼠颅骨到达靶区,调控小鼠运动皮层,引起 M1 区局部场电位 (local field potentials, LFP) 幅度增加,肌肉收缩;调控小鼠海马区引起同步活动的增加和 BDNF 表达升高,意味着 LIFUS 可促进大脑内源性可塑,超声调控没有引起神经元死亡。之后,许多研究课题组在体外和体内实验中证实 LIFUS 的神经保护作用 and 神经调控功能<sup>[56]</sup>。

#### 3.1 LIFUS治疗参数

LIFUS 的主要参数有超声换能器基频 (fundamental frequency, FF)、脉冲重复频率 (pulse repetition frequency, PRF)、占空比 (duty cycle, DC)、声脉冲群持续时间 (sonication duration, SD)、刺激间隔时间 (inter-stimulus interval, ISI)、脉冲持续时间 (tone burst duration, TBD)、空间峰值脉冲平均强度 (spatial peak-pulse average intensity,  $I_{\text{sppa}}$ ) 或者空间峰值时间平均强度 (spatial peak-temporal average intensity,  $I_{\text{spta}}$ )。DC 是指脉冲持续时间占整个脉冲周期的比例,即  $\text{TBD} \times \text{PRF}$ 。各种参数代表的涵义见图 1。不同超声参数产生的调控效果不同,有的表现为抑制性作用,有些表现为兴奋性作用,具体参数参见 Wang 等<sup>[57]</sup>的综述。大脑组织对温度非常敏感,研究表明温度升高  $4^\circ\text{C}$ , 5 min 内将会造成不可逆的损伤<sup>[58]</sup>。FDA 诊断性超声指南建议头部超声最大  $I_{\text{spta}}$  为  $94 \text{ mW/cm}^2$ , 最大  $I_{\text{sppa}}$  为  $190 \text{ W/cm}^2$ ,  $\text{MI} < 1.9$ , 以避免空化和加热<sup>[59]</sup>。因此为了确保 LIFUS 的安全性,在保证调控效果的前提下,应尽可能降低超声强度避免产生热效应和机械损伤。

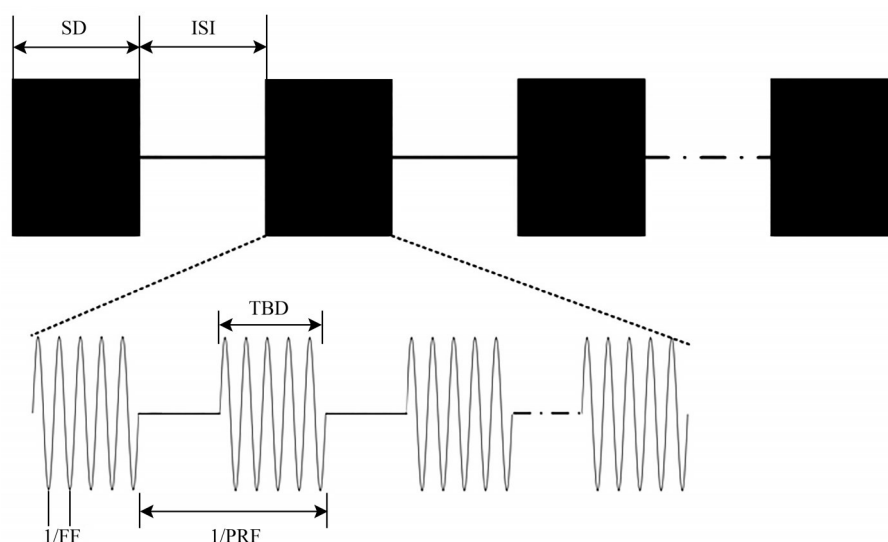


Fig. 1 Ultrasound stimulation waveforms commonly used in LIFUS

图1 常见LIFUS波形

#### 3.2 LIFUS治疗PD进展

前期研究已经证明 LIFUS 对 AD<sup>[60]</sup>、脑卒中<sup>[61]</sup>、癫痫<sup>[62]</sup>等啮齿类动物模型,具有神经保护

作用。Zhao 等<sup>[63]</sup>开展的一项体外研究表明, LIFUS 可以抑制 1-甲基-4-苯基吡啶 (MPP+) 诱导的神经毒性和线粒体功能障碍,展现出 LIFUS 治



疗PD神经元变性的潜力。PD的典型特征是大脑黑质和纹状体区域DA产生和释放减少。Xu等<sup>[64]</sup>的一项研究证明, 超声调控可以增加DA的释放。他们同时进行了体外(PC12细胞)和体内(MPTP诱导的PD小鼠模型)实验, 发现经超声调控后细胞释放的DA增加, 小鼠纹状体DA含量恢复到对照组81.07%水平(0.3 W/cm<sup>2</sup>, 5 min/d, 10 d)。同年, Zhou等<sup>[65]</sup>通过在体实验验证了LIFUS可以改善PD小鼠运动障碍和氧化应激水平。研究人员用神经毒素MPTP诱导急性PD小鼠模型, 每天超声刺激运动皮层40 min, 共7 d, 改善了小鼠的行为学表现, 增强了纹状体中总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)的活性, 长期的超声刺激未发现神经元损伤, 表明LIFUS具有临床应用价值。随后课题组采用3.8 MHz自制超声探头分别调控小鼠STN和GPi脑区, 每天30 min, 共7 d, 改善了PD小鼠在旋转棒测试和杆测试中的行为学表现, 上调Bcl-2/Bax比例, 显著抑制了黑质多巴胺细胞凋亡<sup>[66]</sup>。在此基础上对MPTP诱导的PD小鼠模型进行更为深入的研究。

在一项急性实验中<sup>[67]</sup>, 超声调控STN脑区5 min, M1区LFP信号中beta波段的平均功率显著降低, beta和高gamma波段之间以及beta和ripple之间的相位幅度耦合强度明显变弱。在长期调控实验中, 研究人员发现, 从第4天起小鼠运动障碍得到逐渐改善<sup>[68]</sup>。随后Zhou等<sup>[69]</sup>验证STN-LIFUS早期调控可以减轻MPTP带来的神经损伤, 这与早期STN-DBS较晚期STN-DBS对PD患者运动功能的改善结果刚好一致。在Sung等<sup>[70]</sup>的一项研究中, 15 min/d, 5 d/周, 共6周的LIFUS干预, 改善了6-OHDA诱导的PD大鼠模型的行为学表现, 增加了黑质和纹状体神经营养因子的表达, 抑制了神经炎症, 显著增加了TH染色密度。Chen等<sup>[71]</sup>的研究进一步印证了超声调控可以抑制MPP+引起的线粒体功能障碍, 改善小鼠的运动和平衡能力。最近的一项研究从影像学的角度说明了低强度超声能减轻6-OHDA对大鼠的神经毒性损伤。以上研究均未发现LIFUS带来的神经元和组织损伤, 表明LIFUS是一种潜在的PD治疗方案<sup>[72]</sup>, 动物实验的LIFUS调控参数及效果详见表2。

Table 2 Summary of neuromodulation research on PD pathological models by LIFUS  
表2 LIFUS对PD病理模型的神经调控研究归纳

实验对象 (靶点)	超声参数	主要结果	参考 文献
PC12细胞	FF=1 MHz, PRF=100 Hz, DC=20%, Ispta=50 mW/cm <sup>2</sup>	抑制了MPP+诱导的线粒体功能障碍和凋亡; 减弱MPP+诱导的细胞内氧化应激	[63]
PC12细胞	FF=1 MHz, I= 0.1~0.3 W/cm <sup>2</sup>	PC12细胞中的DA释放增加; 小鼠模型纹状体中DA含量增加, 运动障碍改善	[64]
PD小鼠			
PD小鼠	FF=0.8 MHz, PRF=100 Hz, DC=10%, 运动皮层 SD=6 s, ISI=10 s, Isppa=760 mW/cm <sup>2</sup>	LIPUS 1周改善小鼠运动障碍, 增加纹状体T-SOD和GSH-PX活性	[65]
PD小鼠	FF=3.8 MHz, PRF=1 kHz, DC=50%, STN、GPi SD=1 s, ISI=4 s, Isppa=180 mW/cm <sup>2</sup>	改善了PD小鼠的运动功能; 提高Bcl-2/Bax比例, 抑制线粒体释放CytC, 对多巴胺细胞具有保护作用	[66]
PD小鼠	FF=0.5 MHz, PRF=1 kHz, DC=5%, STN SD=50 ms, ISI=1 s, Isppa=5.1 W/cm <sup>2</sup>	LIPUS 5min后, M1区LFP信号中beta波段的平均功率显著降低, beta和高gamma波段之间以及beta和ripple之间的相位幅度耦合强度明显变弱	[67]
PD小鼠	FF=0.5 MHz, PRF=1 kHz, DC=5%, STN SD=50 ms, ISI=1 s, Ispta=255 mW/cm <sup>2</sup>	LIPUS从第4天到第14天逐渐改善PD小鼠悬挂实验、旷场实验和强迫游泳实验的行为学表现	[68]
PD小鼠	FF=3.8 MHz, PRF=1 kHz, DC=50%, STN SD=1 s, ISI=4 s, Ispta=430 mW/cm <sup>2</sup>	改善了旋转棒试验和杆试验的行为学表现; 降低了神经炎症反应; 较少aSyn积累, 具有神经保护功能	[69]
PD大鼠 纹状体	FF=1 MHz, PRF=1 Hz, DC=5%, Ispta=528 mW/cm <sup>2</sup>	增强大鼠的运动功能; 阻止6-OHDA诱导大鼠纹状体和SNpc中TH水平的降低; 增加GDNF蛋白水平; 降低SNpc中LCN2和IL-1β的水平	[70]

续表2

实验对象 (靶点)	超声参数	主要结果	参考 文献
PD小鼠 全脑	FF=1 MHz, PRF=1 kHz, DC=20%, I=(123±2.781)~(110.667±3.138) mW/cm <sup>2</sup> ; (在体)	减轻MPTP对小鼠的中枢神经毒性, 减少SNpc中TH阳性神经元的丢失, 减少神经元凋亡, 改善了小鼠运动功能; 抑制MPP+引起的多巴胺能神经 元活性降低和凋亡增加, 抑制MPP+引起的活性氧积累和线粒体膜电位 下降	[71]
N2a细胞 (细胞)	I=(40.5±1.857)~(40.3±0.919) mW/cm <sup>2</sup> (细胞)		
PD大鼠 右侧大脑	FF=0.5 MHz, PRF=1 kHz, DC=50%, SD=400 ms, ISI=2.6 s I <sub>sppa</sub> =2.6 W/cm <sup>2</sup>	6-OHDA注射一周后, MRI扫描黑质区, 治疗组的FA值显著大于对照组; 在第5周和第6周, 治疗组的FA值显著小于对照组, 治疗组T2 *值显著高 于对照组	[72]

Isata: 空间平均时间平均声强 (spatial average temporal average); Ispta: 空间峰值平均时间声强 (spatial peak-temporal average intensity);  
I<sub>sppa</sub>: 空间峰值平均脉冲声强 (spatial peak-pulse average intensity); SNpc: 黑质致密部 (substantia nigra pars compacta)。

### 3.3 LIFUS治疗PD机制

LIFUS 治疗 PD 的机制为调节目标脑区的神经活动和提供神经保护作用。黑质多巴胺神经元的丢失导致纹状体水平上直接通路和间接通路的不平衡, STN 和 GPi 过度激活, 对运动皮层的抑制性增加。LIFUS 可能通过抑制 STN<sup>[66-67]</sup>、GPi<sup>[66]</sup> 的过度活动, 改善运动皮层兴奋性<sup>[65]</sup>, 逆转 PD 小鼠的运动障碍。LIFUS 治疗 PD 的另外一种作用机制可能是通过改善细胞内氧化应激和线粒体功能障碍, 提供神经保护作用, 减少 DA 神经元死亡<sup>[64, 71]</sup>。LIFUS 的深层机制可能涉及离子通道动力学的变化, 已有研究发现 LIFUS 调控作用依赖于 TRPA1 通道的开启<sup>[73]</sup>, 超声刺激增加了 TRAAK 通道钾电导<sup>[74]</sup>, 具体哪些离子通道在 PD 的治疗中起关键作用, 未来仍需要大量的深入研究, 为实施精准医疗奠定基础。

综上所述, LIFUS 可以逆转 PD 动物模型运动障碍, 提供神经保护作用, 而且具有无创和靶向性强的优点, 在 PD 的治疗方面前景可观。然而 LIFUS 的治疗参数没有统一定论, 参数不同调控效果不同<sup>[57]</sup>。对于 PD 动物模型的治疗参数筛选, 可以借鉴 Wang 等<sup>[67]</sup> 的实验方案, 逐个改变参数, 以生物标志物作为评估治疗效果的标准。另外, 可借助计算机建模, 预测超声参数的有效性, 提高实验效率。此外, 超声治疗的远期效果也有待于进一步研究。未来在伦理允许的情况下, 需要临床实验验证 LIFUS 的治疗效果。如果治疗方案可行, 将造福更多 PD 患者。

## 4 声遗传学在PD治疗中的应用

声遗传学的概念于 2015 年由 Chalasani 提出,

声遗传技术是指利用基因工程技术将机械敏感离子通道蛋白特异性的转入细胞, 通过超声波非侵入性地打开离子通道, 从而实现调控细胞功能的技术<sup>[75]</sup>。机械敏感通道蛋白可以感受超声波产生的机械力从而打开通道, 使 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup> 等离子通过, 离子的流动即可调控相应的细胞活动。目前已经发现的机械敏感通道蛋白的种类很多, 但只有少数被发现可用于声遗传, 主要包括瞬时受体电位 (transient receptor potential, TRP) 离子通道、大电导机械敏感离子通道 (mechanosensitive channel of large conductance, MscL)、Piezo 离子通道、双孔钾通道家族 (channels of the two-pore-domain potassium family, K2P) 等<sup>[57, 76]</sup>。

TRP 通道几乎在所有真核生物中都有发现。Ibsen 等<sup>[77]</sup> 首次将超声波与遗传学结合, 把 TRP 通道家族成员之一 TRP-4 异常表达于秀丽隐杆线虫。他们发现野生型线虫对低压超声波不敏感 (峰值负压 0.4~0.6 MPa, 2.25 MHz), 当在特定神经元中表达 TRP-4 机械敏感离子通道时, 神经元对超声波刺激敏感, 在超声波和 MBs 作用下可特异性激活神经元, 从而改变线虫的行为。这项研究为通过超声实现高空间分辨率靶向单个细胞的应用奠定基础。

MscL 离子通道是细菌上的一种机械敏感通道。在 Ye 等<sup>[78]</sup> 的一项研究中, 他们在原代培养的大鼠海马神经元中成功地表达 MscL, 并证明在施加低压超声脉冲时可激活神经元。为了增加神经元的机械敏感性, 他们制作 MscL 变体 I92L, I92L MscL 在峰值负压 0.25 MPa (29.92 MHz) 的作用下可以触发神经元动作电位, 此外, I92L 突变体可精确地响应超声脉冲序列, 具有毫秒的时间精度和高达 5 Hz 的保真度, 这项工作拓展了声遗传学的基础,



表明基于 MscL 的工具可用于神经元活动的无创超声调控。

Piezo 离子通道包括 Piezo1 和 Piezo2, 是在哺乳动物细胞中鉴定出的机械敏感通道, 当感受到机械刺激时, 离子通道打开, 允许阳离子流入细胞。Qiu 等<sup>[79]</sup> 将 Piezo1 通道表达在小鼠原代皮层神经元中, 低强度超声 (FF=500 kHz, PRF=1 kHz, DC=40%, SD=0.2 s, 0.3 MPa) 在没有 MBs 介导的情况下可激活神经元, 并观察到 Piezo1 通道依赖的  $\text{Ca}^{2+}$  电流。这项研究为在体内应用 Piezo1 通道进行神经调控奠定基础, 进一步推动了声遗传学的发展。

K2P 通道在稳定静息膜电位, 调节中枢和外周躯体神经系统细胞兴奋性方面起着关键作用, 在所有 K2P 家族中, TREK1、TREK2 和 TRAAK 被认为具有极弱的电压依赖性和开放概率<sup>[80]</sup>。Kubaneck 等<sup>[81]</sup> 在非洲爪蟾卵母细胞中表达 TREK1、TREK2、TRAAK 三种离子通道, 当超声 (10 MHz, 0.3~4.9 W/cm<sup>2</sup>) 刺激时, 细胞离子电流最大可变化 23%, 当添加 K2P 家族离子通道阻断剂 BaCl<sub>2</sub> 时, 超声引起的电流变化消失。Sorum 等<sup>[74]</sup> 通过电生理实验进一步证明超声 (5 MHz, 0.2~1.2 W/cm<sup>2</sup>) 作用到 TRAAK 通道可以引起与机械压力刺激相似的激活, 研究人员还发现在神经元中表达 TRAAK 通道, 超声刺激 (5 MHz, 3.6 W/cm<sup>2</sup>) 引起了明显的电流变化。这些结果表明机械敏感通道是对超声波生理反应的基础, 可以作为基因靶向细胞的声学神经调节工具。

已有研究表明, 利用工程化听觉感应蛋白 mPrestin (N7T, N308S) 进行基因修饰能够增强靶细胞对于超声的敏感性<sup>[82]</sup>。随后, Fan 等<sup>[83]</sup> 在 PD 小鼠黑质多巴胺能神经元中表达 mPrestin, 使用超声 (0.5 MHz, 68 mW/cm<sup>2</sup>) 重复刺激该脑区, 研究发现与未治疗组相比, 超声治疗改善了多巴胺能神经元的退行性变化 (TH 和 DOPA 的表达增加 7 倍), 减轻 PD 症状 (旷场实验中总运动距离增加为 PD 组的 3.5 倍), 而且治疗效果优于单独使用超声治疗组。mPrestin 可在小鼠神经元中持续表达至少 56 d, 为超声治疗提供了较长的窗口期, 这项在体实验表明声遗传学策略在治疗 PD 方面具有临床应用潜力。

声遗传学是一种基于聚焦超声发展起来的新技术, 在时空分辨率、细胞类型方面均具有可控性<sup>[84]</sup>。然而, 临床前研究中, 为了保证空间准确

性, 仍然是通过立体定向注射的方式向目标靶区注射病毒载体基因, 临床转化性差。未来或许可以通过 MRgFUS 打开 BBB 等无创方式, 将目标基因输送到特定类型的神经元。声遗传技术处于起步阶段, 在体动物实验有限, 尤其在 PD 的治疗方面, 仅检索到一项研究报告。动物实验中筛选出的机械敏感蛋白, 是否能在人体表达, 以及由此带来的安全性问题有待于验证。总之, 声遗传技术为应用非侵入性方法调控靶细胞治疗 PD 提供了新的策略, 前景可观。尽管现有研究还不完善, 但是随着广大科技工作者的努力攻关, 也许在不久的将来声遗传学可以真正意义上应用于临床, 比如取代 DBS 的功能治疗 PD。

## 5 总结与展望

本文较为全面地总结了 MRgFUS 消融技术、MRgFUS 开放 BBB 给药技术、LIFUS 技术和声遗传技术的概念、作用机制及其在 PD 治疗中的应用。由文献可见, 经颅超声技术在 PD 治疗中具有很大的应用价值。

临床实验中, 靶向 Vim、STN、GPi、PTT 的 MRgFUS 消融手术均可显著改善患者的运动障碍, 手术后不良反应大部分是短暂的。目前普遍认为 Vim 用于治疗震颤为主的 PD 患者, 而靶向 GPi、STN、PTT 对缓解 PD 患者核心运动症状、减少药物用量更为有效<sup>[12]</sup>。但目前纳入研究的样本量比较小, 手术后不同患者的改善程度存在差别, 在长期随访之中, 也有复发的情况发生, 对于手术的广泛推广还为时尚早。未来还需要大量样本的深入研究来优化手术方案, 精准定位治疗靶点, 稳定治疗效果, 减少副作用的发生。相比于消融手术, MRgFUS 开放 BBB 更具可逆性。使用聚焦超声以局部和暂时的方式开放 BBB, 促进神经营养因子、抗炎药或抗体等进入病变部位, 可能是治疗 PD 的一种较为有前景的选择。动物实验表明, 开放 BBB 增强了 GDNF 的表达, 逆转了大鼠 DA 水平, 显著改善了运动障碍<sup>[38]</sup>。人体实验中开放 BBB 改善了 PDD 患者的认知功能<sup>[49]</sup>。尽管动物实验显示 BBB 开放递送药物是安全的, 目前缺乏临床数据支撑。MRgFUS 开放 BBB 是一门新兴技术, 未来仍然需要大量的动物实验和临床实验, 来研究超声开放 BBB 开放的深入机制, 确定超声治疗参数、微泡大小和剂量、给药剂量等关键问题, 最终将这项技术转化为临床应用, 使更多患者受益。

目前的非侵入式神经调控技术如经颅磁刺激、经颅直流电刺激也可用于治疗神经系统疾病,但是受到空间分辨率的限制,无法刺激深部脑组织。相比较而言,聚焦超声具有穿透能力强,空间分辨率高的特点。在PD小鼠的实验中,超声刺激STN,引起M1区LFP beta波段的功率降低,beta和高gamma波段之间以及beta和ripple之间的相位幅度耦合强度变弱,达到DBS类似的治疗效果<sup>[67]</sup>。另外超声刺激促进了GDNF的表达,具有神经修复功能<sup>[70]</sup>。以上动物实验表明,LIFUS具有巨大的发展潜力。然而LIFUS距离临床应用还有很长的路要走,目前动物实验中的调控参数各不相同,有些参数表现为兴奋性,有些表现为抑制性。未来研究还应更多关注于优化刺激参数、调控机制、安全性、治疗效果的持续性,这些LIFUS技术临床应用前需要解决的关键问题。尽管声遗传学是近几年新兴起的研究领域,但目前取得的成绩令人兴奋。未来还需要大量工作筛选在人体可以安全表达、超声敏感的离子通道或其变体。目前离子通道蛋白基因通过病毒载体在线虫、小鼠等动物中表达,这种方式用于人脑,是否会产生不良反应还未知。总之,经颅超声技术在PD的治疗中展现出了巨大的潜力,未来需要神经科学、工程技术、超声等多学科研究人员的共同努力,将多项技术真正意义上转化为临床应用。

### 参 考 文 献

- [1] Ahmadi F, Mcloughlin I V, Chauhan S, *et al.* Bio-effects and safety of low-intensity, low-frequency ultrasonic exposure. *Prog Biophys Mol Biol*, 2012, **108**(3): 119-138
- [2] O'brien W D Jr. Ultrasound-biophysics mechanisms. *Prog Biophys Mol Biol*, 2007, **93**(1-3): 212-255
- [3] Ter Haar G. Therapeutic applications of ultrasound. *Prog Biophys Mol Biol*, 2007, **93**(1-3): 111-129
- [4] Mcgregor M M, Nelson A B. Circuit mechanisms of Parkinson's disease. *Neuron*, 2019, **101**(6): 1042-1056
- [5] Dobrakowski P P, Machowska-Majchrzak A K, Labuz-Roszak B, *et al.* MR-guided focused ultrasound: a new generation treatment of Parkinson's disease, essential tremor and neuropathic pain. *Interv Neuroradiol*, 2014, **20**(3): 275-282
- [6] Dorsey E R, Sherer T, Okun M S, *et al.* The Emerging evidence of the Parkinson pandemic. *J Parkinson Dis*, 2018, **8**:S3-S8
- [7] Hijaz B A, Volpicelli-Daley L A. Initiation and propagation of alpha-synuclein aggregation in the nervous system. *Mol Neurodegener*, 2020, **15**(1): 19
- [8] Obeso J A, Stamelou M, Goetz C G, *et al.* Past, present, and future of Parkinson's disease: a special essay on the 200th Anniversary of the Shaking Palsy. *Mov Disord*, 2017, **32**(9): 1264-1310
- [9] Gilron R, Little S, Perrone R, *et al.* Long-term wireless streaming of neural recordings for circuit discovery and adaptive stimulation in individuals with Parkinson's disease. *Nat Biotechnol*, 2021, **39**(9): 1078-1085
- [10] Walters H, Shah B B. Focused ultrasound and other lesioning therapies in movement disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2019, **19**(9): 66
- [11] Martínez-Fernández R, Rodríguez-Rojas R, Del Álamo M, *et al.* Focused ultrasound subthalamotomy in patients with asymmetric Parkinson's disease: a pilot study. *Lancet Neurol*, 2018, **17**(1): 54-63
- [12] 尹春宇,宗睿,潘隆盛,等. 立体定向脑损毁术治疗帕金森病的研究进展. *解放军医学杂志*, 2021, **46**(9): 946-953  
Yin C Y, Zong R, Pan L S, *et al.* *Med J Chin PLA*, 2021, **46**(9): 946-953
- [13] Fry W J, Mosberg W H Jr, Barnard J W, *et al.* Production of focal destructive lesions in the central nervous system with ultrasound. *J Neurosurg*, 1954, **11**(5): 471-478
- [14] Meyers R, Fry W J, Fry F J, *et al.* Early experiences with ultrasonic irradiation of the pallidofugal and nigral complexes in hyperkinetic and hypertonic disorders. *J Neurosurg*, 1959, **16**(1): 32-54
- [15] 刘伟杰. 立体定向核团损毁术在帕金森病中的应用与展望. *中国实验诊断学*, 2009, **13**(7): 992-994  
Liu W J. *Chin J Lab Diagn*, 2009, **13**(7): 992-994
- [16] Narabayashi H. Stereotaxic VIM thalamotomy for treatment of tremor. *Eur Neurol*, 1989, **29**:29-32
- [17] 赵光锐,程铁峰,尹绍雅. 帕金森病外科治疗进展. *中国现代神经疾病杂志*, 2022, **22**(4): 253-262  
Zhao G R, Cheng Y F, Yin S Y. *Chin J Contemp Neurol Neurosurg*, 2022, **22**(4):253-262
- [18] Gallay M N, Moser D, Rossi F, *et al.* MRgFUS pallidothalamic tractotomy for chronic therapy-resistant Parkinson's disease in 51 consecutive patients: single center experience. *Front Surg*, 2019, **6**:76
- [19] 王遣,魏新亭. 帕金森病外科治疗研究进展. *河南医学研究*, 2016, **25**(1): 86-88  
Wang Q, Wei X T. *Henan Medical Research*, 2016, **25**(1):86-88
- [20] Maesawa S, Nakatsubo D, Tsugawa T, *et al.* Techniques, indications, and outcomes in magnetic resonance-guided focused ultrasound thalamotomy for tremor. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 2021, **61**(11): 629-639
- [21] Bond A E, Shah B B, Huss D S, *et al.* Safety and efficacy of focused ultrasound thalamotomy for patients with medication-refractory, tremor-dominant Parkinson disease: a randomized clinical trial. *JAMA Neurol*, 2017, **74**(12): 1412-1418
- [22] Zaaroor M, Sinai A, Goldsher D, *et al.* Magnetic resonance-guided focused ultrasound thalamotomy for tremor: a report of 30 Parkinson's disease and essential tremor cases. *J Neurosurg*, 2018, **128**(1): 202-210
- [23] Jung N Y, Park C K, Kim M, *et al.* The efficacy and limits of

- magnetic resonance-guided focused ultrasound pallidotomy for Parkinson's disease: a phase I clinical trial. *J Neurosurg*, 2019, **130**:1853-1861
- [24] Laitinen L V, Bergenheim A T, Hariz M I. Leksell's posteroventral pallidotomy in the treatment of Parkinson's disease. *J Neurosurg*, 1992, **76**(1): 53-61
- [25] Eisenberg H M, Krishna V, Elias W J, *et al*. MR-guided focused ultrasound pallidotomy for Parkinson's disease: safety and feasibility. *J Neurosurg*, 2020: 192773
- [26] Magara A, Buhler R, Moser D, *et al*. First experience with MR-guided focused ultrasound in the treatment of Parkinson's disease. *J Ther Ultrasound*, 2014, **2**:11
- [27] Gallay M N, Moser D, Magara A E, *et al*. Bilateral MR-guided focused ultrasound pallidotomy tractotomy for Parkinson's disease with 1-year follow-up. *Front Neurol*, 2021, **12**:601153
- [28] Alshaikh J, Fishman P S. Revisiting bilateral thalamotomy for tremor. *Clin Neurol Neurosurg*, 2017, **158**:103-107
- [29] Martinez-Fernandez R, Manes-Miro J U, Rodriguez-Rojas R, *et al*. Randomized trial of focused ultrasound subthalamotomy for Parkinson's disease. *N Engl J Med*, 2020, **383**(26): 2501-2513
- [30] Fan C H, Lin C Y, Liu H L, *et al*. Ultrasound targeted CNS gene delivery for Parkinson's disease treatment. *J Control Release*, 2017, **261**:246-262
- [31] 杨佳佳, 巨荣芳, 王发顺, 等. 超声技术在抑郁症诊疗中的作用研究及应用进展. *生物化学与生物物理进展*, 2020, **47**(1): 24-32
- Yang J J, Ju R F, Wang F Q, *et al*. *Prog Biochem Biophys*, 2020, **47**(1): 24-32
- [32] Pardridge W M. Drug and gene delivery to the brain: the vascular route. *Neuron*, 2002, **36**(4): 555-558
- [33] Price R J, Fisher D G, Suk J S, *et al*. Parkinson's disease gene therapy: will focused ultrasound and nanovectors be the next frontier?. *Mov Disord*, 2019, **34**(9): 1279-1282
- [34] Fishman P S, Fischell J M. Focused ultrasound mediated opening of the blood-brain barrier for neurodegenerative diseases. *Front Neurol*, 2021, **12**: 749047
- [35] Ahmed N, Gandhi D, Melhem E R, *et al*. MRI guided focused ultrasound-mediated delivery of therapeutic cells to the brain: a review of the state-of-the-art methodology and future applications. *Front Neurol*, 2021, **12**: 669449
- [36] Xhima K, Nabbouh F, Hynynen K, *et al*. Noninvasive delivery of an alpha-synuclein gene silencing vector with magnetic resonance-guided focused ultrasound. *Mov Disord*, 2018, **33**(10): 1567-1579
- [37] Lin L F, Doherty D H, Lile J D, *et al*. GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons. *Science*, 1993, **260**(5111): 1130-1132
- [38] Mead B P, Kim N, Miller G W, *et al*. Novel focused ultrasound gene therapy approach noninvasively restores dopaminergic neuron function in a rat Parkinson's disease model. *Nano Lett*, 2017, **17**(6): 3533-3542
- [39] Gash D M, Zhang Z, Ovadia A, *et al*. Functional recovery in parkinsonian monkeys treated with GDNF. *Nature*, 1996, **380**(6571): 252-255
- [40] Gill S S, Patel N K, Hotton G R, *et al*. Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat Med*, 2003, **9**(5): 589-595
- [41] Wang F, Shi Y, Lu L, *et al*. Targeted delivery of GDNF through the blood-brain barrier by MRI-guided focused ultrasound. *PLoS One*, 2012, **7**(12): e52925
- [42] Samiotaki G, Acosta C, Wang S, *et al*. Enhanced delivery and bioactivity of the neurturin neurotrophic factor through focused ultrasound-mediated blood-brain barrier opening *in vivo*. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, **35**(4): 611-622
- [43] Fan C H, Ting C Y, Lin C Y, *et al*. Noninvasive, targeted, and non-viral ultrasound-mediated GDNF-plasmid delivery for treatment of Parkinson's disease. *Sci Rep*, 2016, **6**: 19579
- [44] Yue P, Miao W, Gao L, *et al*. Ultrasound-triggered effects of the microbubbles coupled to GDNF plasmid-loaded PEGylated liposomes in a rat model of Parkinson's disease. *Front Neurosci*, 2018, **12**: 222
- [45] Karakatsani M E, Wang S, Samiotaki G, *et al*. Amelioration of the nigrostriatal pathway facilitated by ultrasound-mediated neurotrophic delivery in early Parkinson's disease. *J Control Release*, 2019, **303**:289-301
- [46] Ji R, Smith M, Niimi Y, *et al*. Focused ultrasound enhanced intranasal delivery of brain derived neurotrophic factor produces neurorestorative effects in a Parkinson's disease mouse model. *Sci Rep*, 2019, **9**:19402
- [47] Lipsman N, Meng Y, Bethune A J, *et al*. Blood-brain barrier opening in Alzheimer's disease using MR-guided focused ultrasound. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 2336
- [48] Abrahao A, Meng Y, Llinas M, *et al*. First-in-human trial of blood-brain barrier opening in amyotrophic lateral sclerosis using MR-guided focused ultrasound. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 4373
- [49] Gasca-Salas C, Fernandez-Rodriguez B, Pineda-Pardo J A, *et al*. Blood-brain barrier opening with focused ultrasound in Parkinson's disease dementia. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 779
- [50] Wasielewska J M, White A R. Focused ultrasound-mediated drug delivery in humans - a path towards translation in neurodegenerative diseases. *Pharm Res*, 2022, **39**(3): 427-439
- [51] Le Roux G, Jarray R, Guyot A C, *et al*. Proof-of-concept study of drug brain permeability between *in vivo* human brain and an *in vitro* iPSCs-human blood-brain barrier model. *Sci Rep*, 2019, **9**: 16310
- [52] Kovacs Z I, Kim S, Jikaria N, *et al*. Disrupting the blood-brain barrier by focused ultrasound induces sterile inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(1): E75-E84
- [53] Fry F J, Ades H W, Fry W J. Production of reversible changes in the central nervous system by ultrasound. *Science*, 1958, **127**(3289): 83-84
- [54] Tyler W J, Tufail Y, Finsterwald M, *et al*. Remote excitation of neuronal circuits using low-intensity, low-frequency ultrasound. *PLoS One*, 2008, **3**(10): e3511



- [55] Tufail Y, Matyushov A, Baldwin N, *et al.* Transcranial pulsed ultrasound stimulates intact brain circuits. *Neuron*, 2010, **66**(5): 681-694
- [56] 杨雪宁, 杨佳佳, 万柏坤, 等. 低强度聚焦超声对中枢神经调控作用研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2018, **45**(4): 422-431  
Yang X N, Yang J J, Wan B K, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2018, **45**(4): 422-431
- [57] Wang S, Meng W, Ren Z, *et al.* Ultrasonic neuromodulation and sonogenetics: a new era for neural modulation. *Front Physiol*, 2020, **11**:787
- [58] Horder M M, Barnett S B, Vella G J, *et al.* *In vivo* heating of the guinea-pig fetal brain by pulsed ultrasound and estimates of thermal index. *Ultrasound Med Biol*, 1998, **24**(9): 1467-1474
- [59] Fomenko A, Neudorfer C, Dallapiazza R F, *et al.* Low-intensity ultrasound neuromodulation: an overview of mechanisms and emerging human applications. *Brain Stimul*, 2018, **11**(6): 1209-1217
- [60] Lin W T, Chen R C, Lu W W, *et al.* Protective effects of low-intensity pulsed ultrasound on aluminum-induced cerebral damage in Alzheimer's disease rat model. *Sci Rep*, 2015, **5**: 9671
- [61] Liu L, Du J, Zheng T, *et al.* Protective effect of low-intensity transcranial ultrasound stimulation after differing delay following an acute ischemic stroke. *Brain Res Bull*, 2019, **146**: 22-27
- [62] Hakimova H, Kim S, Chu K, *et al.* Ultrasound stimulation inhibits recurrent seizures and improves behavioral outcome in an experimental model of mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav*, 2015, **49**: 26-32
- [63] Zhao L, Feng Y, Shi A, *et al.* Neuroprotective effect of low-intensity pulsed ultrasound against MPP(+)-induced neurotoxicity in PC12 cells: involvement of K2P channels and stretch-activated ion channels. *Ultrasound Med Biol*, 2017, **43**(9): 1986-1999
- [64] Xu T, Lu X, Peng D, *et al.* Ultrasonic stimulation of the brain to enhance the release of dopamine - a potential novel treatment for Parkinson's disease. *Ultrason Sonochem*, 2020, **63**: 104955
- [65] Zhou H, Niu L, Xia X, *et al.* Wearable ultrasound improves motor function in an MPTP mouse model of Parkinson's disease. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2019, **66**(11): 3006-3013
- [66] Zhou H, Niu L, Meng L, *et al.* Noninvasive ultrasound deep brain stimulation for the treatment of Parkinson's disease model mouse. *Research*, 2019, **2019**: 1748489
- [67] Wang Z, Yan J, Wang X, *et al.* Transcranial ultrasound stimulation directly influences the cortical excitability of the motor cortex in Parkinsonian mice. *Mov Disord*, 2020, **35**(4): 693-698
- [68] Yuan Y, Zhao Z, Wang Z, *et al.* The effect of low-intensity transcranial ultrasound stimulation on behavior in a mouse model of Parkinson's disease induced by MPTP. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng*, 2020, **28**(4): 1017-1021
- [69] Zhou H, Meng L, Xia X, *et al.* Transcranial ultrasound stimulation suppresses neuroinflammation in a chronic mouse model of Parkinson's disease. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2021, **68**(11): 3375-3387
- [70] Sung C Y, Chiang P K, Tsai C W, *et al.* Low-intensity pulsed ultrasound enhances neurotrophic factors and alleviates neuroinflammation in a rat model of Parkinson's disease. *Cereb Cortex*, 2022, **32**(1): 176-185
- [71] Chen X Y, Wang D, Zhang L, *et al.* Neuroprotective effect of low-intensity pulsed ultrasound on the mouse MPTP/MPP+ model of dopaminergic neuron injury. *Ultrasound Med Biol*, 2021, **47**(8): 2321-2330
- [72] Dong Y C, Liu D F, Zhao Y M, *et al.* Assessment of neuroprotective effects of low-intensity transcranial ultrasound stimulation in a Parkinson's disease rat model by fractional anisotropy and relaxation time T2\*value. *Front Neurosci*, 2021, **15**: 590354
- [73] Oh S J, Lee J M, Kim H B, *et al.* Ultrasonic neuromodulation via astrocytic TRPA1. *Curr Biol*, 2019, **29**(20): 3386-3401
- [74] Sorum B, Rietmeijer R A, Gopakumar K, *et al.* Ultrasound activates mechanosensitive TRAAK K(+) channels through the lipid membrane. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, **118**(6): e2006980118
- [75] Azadeh S S, Lordifard P, Soheilifar M H, *et al.* Ultrasound and sonogenetics: a new perspective for controlling cells with sound. *Iran J Pharm Res*, 2021, **20**(3): 151-160
- [76] 洪非凡, 李月舟. 超声遗传学技术中的机械敏感性离子通道. *浙江大学学报(医学版)*, 2019, **48**(1): 34-38.  
Hong F F, Li Y Z. *J Zhejiang Univ (Med Sci)*, 2019, **48**(1): 34-38
- [77] Ibsen S, Tong A, Schutt C, *et al.* Sonogenetics is a non-invasive approach to activating neurons in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Commun*, 2015, **6**: 8264
- [78] Ye J, Tang S, Meng L, *et al.* Ultrasonic control of neural activity through activation of the mechanosensitive channel MscL. *Nano Lett*, 2018, **18**(7): 4148-4155
- [79] Qiu Z, Guo J, Kala S, *et al.* The mechanosensitive ion channel piezo1 significantly mediates *in vitro* ultrasonic stimulation of neurons. *iScience*, 2019, **21**: 448-457
- [80] Cadaveira-Mosquera A, Ribeiro S J, Reboreda A, *et al.* Activation of TREK currents by the neuroprotective agent riluzole in mouse sympathetic neurons. *J Neurosci*, 2011, **31**(4): 1375-1385
- [81] Kubanek J, Shi J, Marsh J, *et al.* Ultrasound modulates ion channel currents. *Sci Rep*, 2016, **6**: 24170
- [82] Huang Y S, Fan C H, Hsu N, *et al.* Sonogenetic modulation of cellular activities using an engineered auditory-sensing protein. *Nano Lett*, 2020, **20**(2): 1089-1100
- [83] Fan C H, Wei K C, Chiu N H, *et al.* Sonogenetic-based neuromodulation for the amelioration of Parkinson's disease. *Nano Lett*, 2021, **21**(14): 5967-5976
- [84] Lee D J, Lozano A M. The future of surgical treatments for Parkinson's disease. *J Parkinson Dis*, 2018, **8**: S79-S83

## The Application of Transcranial Ultrasound in The Treatment of Parkinson's Disease\*

LI Chun-Chan<sup>1,2)</sup>, YANG Jia-Jia<sup>1,4)\*\*</sup>, LIU Jin-Zhen<sup>1,3)</sup>, ZHENG Chen-Guang<sup>1,4)</sup>,  
TIAN Yu-Tao<sup>1)</sup>, HE Feng<sup>1,4)\*\*</sup>, MING Dong<sup>1,4)</sup>

<sup>1)</sup>*Institute of Medical Engineering & Translational Medicine, Tianjin University, Tianjin 300072, China;*

<sup>2)</sup>*School of Life Sciences, Tiangong University, Tianjin 300387, China;*

<sup>3)</sup>*School of Control Science and Engineering, Tiangong University, Tianjin 300387, China;*

<sup>4)</sup>*School of Precision Instrument and Opto-Electronics Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China)*

**Abstract** Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease after Alzheimer's disease. The commonly used treatments for PD include drug therapy and neurosurgery. At present, there is no definite method to prevent the development of the disease and new treatment schemes need to be explored. Ultrasound has been widely concerned and used as one of the treatment methods for PD due to its non-invasive, high spatial resolution and high penetrability characteristics. In recent years, MRI-guided focused ultrasound (MRgFUS) ablation technology, MRgFUS open blood brain barrier drug delivery technology, low-intensity focused ultrasound stimulation technology and sonogenetics have all achieved promising results in clinical research or preclinical animal models. MRgFUS ablation surgery is generally used to ablate unilateral nuclei to treat PD motor symptoms. This surgery has the advantages of non-invasiveness, small damage and quick effect, which shows a good application prospect in the treatment of PD. The blood brain barrier is a major obstacle for the effective delivery of macromolecule drugs to the brain. MRgFUS coupled with microbubbles can temporarily open the blood brain barrier, allowing drugs to enter the target area. The MRgFUS open blood brain barrier drug delivery technology has shown good therapeutic effect in PD animal models, its safety and reversibility have been preliminarily proved in human experiments. However, several key problems, such as effective ultrasound parameters, optimal microbubble size and administration dose, need to be resolved before clinical application. Low-intensity focused ultrasound stimulation technology is an emerging treatment method in recent years. It has demonstrated neuromodulation and neuroprotection functions in PD animal model studies, which can reverse animal movement disorders. low-intensity focused ultrasound stimulation is a potential treatment option for PD, but it also faces the problem of unstandardized treatment parameters. Sonogenetics is a new technology developed based on focused ultrasound, which is controllable in terms of spatiotemporal resolution and cell type. Several ultrasound-sensitive ion channels have been discovered, but whether these ion channels can be expressed in the human body and the related safety issues remain to be verified. This technology is currently in the early research stage and has great potential for development. The main progress of transcranial ultrasound in the treatment of PD in recent five years from the above four aspects are reviewed and some scientific problems are discussed in this paper, hoping to provide certain reference and help for the study of the pathogenesis and treatment of PD.

**Key words** Parkinson's disease, ultrasound ablation, ultrasonic drug delivery, ultrasound stimulation, sonogenetics

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2022.0144

\* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81871517, 81870847, 32071103).

\*\* Corresponding author.

YANG Jia-Jia. Tel: 86-13002239369, E-mail: jiajia.yang@tju.edu.cn

HE Feng. Tel: 86-18522722391, E-mail: heaven@tju.edu.cn

Received: April 7, 2022 Accepted: June 24, 2022