

低强度聚焦超声对中枢神经调控作用研究进展*

杨雪宁¹⁾ 杨佳佳^{1)**} 万柏坤¹⁾ 明 东^{1,2)**}

(¹⁾ 天津大学精密仪器与光电子工程学院, 天津 300072; (²⁾ 天津大学医学工程与转化医学研究院, 天津 300072)

摘要 利用导入神经回路内电、磁、光、声等物理因子作用来激发神经系统功能活性, 进而改善神经疾病症状、提高生命质量的神经调控技术(neural control technology)在生命科学研究和医学临床诊疗中得到广泛应用。其中尤以低强度聚焦超声(low intensity focused ultrasound, LIFU)具有非损伤性、高穿透能力与时空分辨等优势, 更适合用作安全的神经调控物理刺激因子。目前 LIFU 用于神经调控研究已受到科学界高度关注, 进行了大量动物与人类神经调控实验研究并取得可喜成果。本文分别从 LIFU 用于动物与人类中枢神经调控研究进展、神经调控机制、安全性问题和未来应用前景等方面介绍评述, 以期对神经调控研究与应用提供参考。

关键词 低强度聚焦超声, 中枢神经调控, 机制, 安全性
学科分类号 R318, Q426

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0344

神经调控技术(neural control technology)是利用导入神经回路内电、磁、光、声等物理刺激作用或药物化学反应来改变神经系统功能活性, 进而改善神经疾病症状、提高生命质量的生物医学工程技术。借助物理因子作用于神经回路的激活效应, 还可以观察神经系统功能结构变化和研究干预与治疗相关神经疾病方法, 因而神经调控技术在生命科学研究和医学临床诊疗中皆得到广泛应用与迅速发展。目前常用的物理因子神经调控手段有深部脑刺激(deep brain stimulation, DBS)、经颅直流电刺激(transcranial direct current stimulation, tDCS)、重复经颅磁刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS)和光遗传学(optogenetics)或光控基因技术等。DBS 需利用立体定向技术向病灶所在深部脑区植入刺激电极, 通过引入适当强度的脉冲电场刺激该脑区神经组织、激发细胞电活动以实现神经系统生理功能活性的调控。其工作原理类似于心电起搏器, 故又称为脑起搏器, 在脑神经疾病急性发作时能起到关键救护作用。DBS 具靶向性高、可调节性和时间及空间分辨率好等优点并有治疗帕金森病、癫痫、阿尔茨海默病等疾病的极大潜力优势, 故常为脑神经科临床采用。但 DBS 必须

借助较复杂手术植入脑皮层深部电极, 难免伤口感染或免疫反应危险, 又令大夫慎用^[1]。tDCS 和 rTMS 皆为非侵害性脑内物理刺激手段, 分别利用电与磁的物理因子作用调节大脑皮层神经元活性, 但是在聚焦范围和穿透深度方面则相对局限, 两种刺激技术的聚焦性和刺激深度均与刺激线圈或电极的尺寸相关。rTMS 线圈直径越大、刺激深度越深、聚焦性也就越差^[2]。通常情况下, rTMS 的空间分辨率在 0.5~1 cm, 刺激深度局限于大脑皮质下 2~3 cm^[3]。而 tDCS 的空间分辨率相比于 rTMS 则更差^[4]。前述因素使得电与磁治疗深层脑区神经疾病(癫痫、帕金森)疗效受到极大限制。光控基因技术通过基因工程方法使受体神经元产生光敏蛋白而起到治疗作用, 但也须手术植入光纤才能引进敏感光束使受体神经元兴奋, 难免手术侵害以致临床

* 国家自然科学基金(3100865, 8630051)和天津市自然科学基金青年项目(17JCQNJC10500)资助。

** 通讯联系人。

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

明 东. Tel: 13820222616, E-mail: richardming@tju.edu.cn

收稿日期: 2017-11-08, 接受日期: 2017-12-19

应用受限. 综上考虑, 鉴于现有神经调控技术弊端和临床应用短板皆涉及敏感的安全性因素, 促使人们寻求利用新的物理因子刺激神经调控方法. 经不懈努力, 最终锁定于低强度聚焦超声(low intensity focused ultrasound, LIFU).

超声波因其振动频率超过人耳可闻声波上限(频率 >20 kHz)而得名, 具有传播方向性好、穿透能力强、聚焦效果佳等优势, 且低强度超声在生物体内传播无伤害组织次生效应, 故已广泛用于医学临床无损诊断(超声扫描成像仪、彩色多普勒超声心动图仪等). 高强度超声可以使聚焦点的功率瞬间达到 $1\,000\text{ W/cm}^2$ ^[5], 利用其聚焦所产生高热、空化和机械力等作用效应可促使生物组织、细胞结构和功能变化. 目前医学临床已应用高强度超声切除实体肿瘤^[6], 促进移植肝细胞的增殖^[7], 甚至用于治疗神经性疾病(如帕金森^[8-9]、特发性震颤^[10-11])等方面. 低强度超声通常频率和强度都较低, 一般认为其强度不大于临床诊断检查所用超声^[12]. 后来研究发现: 低强度超声照射生物体组织也会诱发较弱生物效应. 例如, 低强度超声照射会引起大鼠膀胱平滑肌收缩($\text{Isppa} = 2\text{ W/cm}^2$)^[13]或缩短骨折愈合时间($\text{Isppa} = 30\text{ mW/cm}^2$)^[14], 而对于中枢神经系统, Fry 等^[15]在 20 世纪 50 年代最早发现低强度超声具有神经调控作用, 并且不会诱发组织损伤. 这一条正符合前述寻找其他可用于安全神经调控物理刺激因子要求(既能无损伤作用于神经组织诱发生物效应, 又不会对生物体产生意外侵害). 在此基础上, 人们研究发现 LIFU 不仅能够对大脑皮层脑区进行神经调控, 还能非侵入性地刺激深部脑区, 如海马^[16]、丘脑^[17-19]等, 实现对大脑深部组织的功能调节, 对于治疗神经系统疾病^[20-21]具有重要的应用价值. 不仅如此, LIFU 的时间分辨率和空间分辨率都很高. 有研究指出, LIFU 刺激小鼠的运动皮层, 尾巴运动的潜伏期可小于 50 ms ^[22], 而 LIFU 的空间分辨率能够达到 mm 量级^[23]. 这种高效的分辨率有助于 LIFU 实现实时精确的神经调控^[24]. 因此, LIFU 具有非侵害性、高穿透能力, 高时间和高空间分辨率等优势, 适合用作新型高效神经调控的物理刺激因子. 目前 LIFU 用于神经调控研究已受到科学界的广泛关注, 进行了大量动物与人类神经调控实验研究并取得可喜进展, 应适时梳理、以利将来发展. 下文分别从 LIFU 用于动物与人类中枢神经调控研究进展、可能的神经调控机制、安全性问题和未来应用展望等方面做介绍评述.

1 LIFU 对动物中枢神经调控的研究进展

最早将低强度聚焦超声(LIFU)用于动物神经调控的实验研究始于 1929 年, Harvey 等^[25]发现超声照射蛙坐骨神经可以引起腓肠肌的微小抽搐. 系统性应用 LIFU 进行动物神经调控研究则始于 20 世纪 50 年代. 在这段时期, 具开创性和最有影响力的研究大部分都出自于前述 Fry 实验室^[15]. 而近几十年, 随着超声聚焦和成像技术的飞速进步, LIFU 在中枢神经调控领域的应用价值受到普遍关注, 调控目标明确的针对性系统研究也不断涌现. 本节重点介绍 LIFU 对动物中枢神经调控的主要研究成果(归纳见表 1).

1.1 基于动物离体组织研究

低强度聚焦超声用于动物离体组织神经调控研究, 具有里程碑意义的成果是 Tyler 等^[5]采用 LIFU ($\text{Isppa} = 2.9\text{ W/cm}^2$)照射小鼠海马切片 CA1 区, 诱发椎体细胞产生动作电位, 该过程伴随着椎体细胞内 Na^+ 和 Ca^{2+} 浓度升高. 同时, 在 CA1 区放射层观察到突触囊泡的增加和突触前膜内明显的 Ca^{2+} 浓度升高. 令人关注的是, LIFU 诱发的动作电位变化与传统采用单电极刺激 shaffer 侧枝后在 CA1 区记录到的动作电位变化类似. 并且还发现当 LIFU 照射成年小鼠的完整离体大脑腹侧表面时, 大脑背侧神经元会发生 Ca^{2+} 瞬变. Tufail 等^[16]实验证明了 LIFU 具有很强穿透性(可以透过整个成年小鼠离体大脑), 发现 LIFU 实现神经调控的过程可能与其能改变电压门控钠离子和钙离子通道活性有关^[5]. Muratore 等^[26]在随后的研究中也证明了该结论的可靠性.

视网膜是视觉神经系统的重要组成部分, Menz 等^[27]以蝶螈离体视网膜作为研究对象, 证明 LIFU 能够诱发其放电频率随强度的增加而提高, 但在超声强度为 $10\sim 30\text{ W/cm}^2$ (Ispta)时达到饱和. LIFU 诱发出的动作电位频率和持续时间与正常的光刺激相比基本一致, 但超声诱发放电的潜伏期更短, 且该过程与钙离子通道活性改变有关.

小结以上研究可以发现, LIFU 可以在动物离体神经组织上诱发相应的神经元兴奋, 并且其特征与传统的适宜电、光刺激后产生的兴奋类似, 其作用机制也与激活相应的离子通道活性变化有关.

1.2 基于整体动物研究

超声波穿过骨组织(如头骨)会因声波被多孔结构的骨骼严重吸收引起能量急剧衰减导致声能数据

失真, 因此超声波透过颅骨用于治疗大脑疾病时存在明显使用限制. 但随着超声相控阵传感器的出现, 它和高性能计算机结合能有效地纠正超声波穿过骨骼时造成的数据失真^[28], 实现在人类大脑内的聚焦区域小于 1 mm. 当然, 这个过程仍然会伴随超声能量一定程度的衰减^[29-30]. 因此, 研究人员在对离体组织研究基础上, 进一步观察了 LIFU 直接照射动物大脑皮层或深部组织时所产生的生物效应.

1.2.1 基于正常动物研究

Fry 等^[15]研究首次发现, 当 LIFU ($I_{\text{sppa}} = 1.35 \text{ W/cm}^2$) 照射猫初级视觉皮层的外侧膝状核后, 可逆地抑制了视觉诱发电位 (visual evoked potential, VEP) 的幅值, 并且未出现组织学损伤. Adrianov 等^[31]随后也验证了这一结果的可靠性. 类似的还有一些对视觉皮层更为深入研究, 例如 2015 年, Kim 等^[32]采用占空比为 5%、峰值强度为 3 W/cm^2 (I_{sppa}) 的 LIFU 照射大鼠的视觉皮层, 发现在超声照射期间的 VEP 幅值降低, 而当增加强度到 5 W/cm^2 (I_{sppa}) 后, VEP 的幅值升高. Yoo 等^[33]采用 LIFU ($I_{\text{sppa}} = 6.4 \text{ W/cm}^2$) 照射兔子视觉皮层后发现 VEP 的幅值降低, 大约 7 min 后恢复到原来水平. 这些结果显示, LIFU 照射麻醉动物大脑视觉皮层后对 VEP 既有增强也有减弱作用. 即说明, LIFU 的神经调控既有激发也有抑制作用, 其效果可能受到实验对象、超声参数、刺激时间等因素的影响. 其中麻醉水平可能也是一个重要影响因素. King 等^[34]指出超声神经调控效果与麻醉水平有关, 麻醉水平越低效果越明显. Younan 等^[35]也证明深度麻醉比轻度麻醉产生生物行为的声压阈值要高.

此外还发现, LIFU 作用于动物中枢神经系统后可以对其相应行为产生影响. 例如照射兔子^[33]、小鼠^[34]和大鼠的相应脑区可以观察到动物眼球运动^[35-36]、瞳孔扩张^[36]、前爪、尾巴^[35]、胡须^[16]等部位运动行为, 并在相应的运动区域记录到肌电 (electromyography, EMG) 信号的变化. 在在体动物研究中, 比较著名的研究是 Tufail 等^[16]采用经颅超声 ($I_{\text{sppa}} = 0.26 \text{ W/cm}^2$) 照射小鼠大脑皮层以下深部区域, 发现局部场电位 (local field potential, LFP) 和复合电位 (multiunit activity, MUA) 的幅值升高, 同时诱发频带振荡. 这些实验结果证明了 LIFU 可以影响大脑皮层以及某些深部脑区神经组织的电学特征, 即神经元或神经网络的放电模式. 同时, 生物化学方面的研究发现, LIFU ($I_{\text{sppa}} = 3.5 \text{ W/cm}^2$) 照射大鼠的丘脑区还可引起脑内多种神经递质的浓度

发生变化, 例如增加多巴胺 (dopamine, DA)、5-羟色胺 (serotonin, 5-HT) 的浓度^[19]和降低 γ 氨基丁酸 (GABA) 的浓度^[37], 这些神经递质的改变可能隐含着上述神经元放电模式改变的内在分子机制.

以上基于小动物的神经调控实验为研究 LIFU 作用神经机制提供了很好的证据, 而对大动物 (猪) 或灵长类动物 (猴子) 等的研究将对未来应用有很大参考价值. 目前这方面研究还处于起步阶段, Deffieux 等^[38]将清醒猕猴作为实验对象, 进行反向眼动实验证明 LIFU ($I_{\text{sppa}} = 2.9 \sim 5.1 \text{ W/cm}^2$) 照射猕猴的前额眼区后可以调节其反向眼动的潜伏期. 2016 年, Lee 等^[39]发现, LIFU ($I_{\text{sppa}} = 3.4 \sim 11.8 \text{ W/cm}^2$) 照射羊的初级感觉运动皮层后会诱发对侧后腿产生明显的 EMG 信号, 在大脑皮层也记录到相应的运动诱发电位 (motor evoked potentials, MEPs), 不仅如此, 研究人员还使用 LIFU 照射了 ($I_{\text{sppa}} = 1.7 \sim 14.3 \text{ W/cm}^2$) 羊的视觉皮层记录到了 VEP, 并且 LIFU 诱发的 EMG 和 VEP 信号幅值会随着超声照射强度的增加而变大.

小结以上研究结果可以发现, LIFU 能够透过小动物头骨实现其大脑皮层或深部大脑区域的精确聚焦, 并能调控刺激区域的神经电活动及其生物化学反应. LIFU 对大动物的神经调控效果与小动物的类似, 但这方面的研究还相当匮乏, 仍有待进一步扩展研究、深入验证.

1.2.2 基于疾病动物模型研究

随着超声与现代成像技术 (如功能磁共振成像、正电子发射断层成像等) 的联合应用, LIFU 在神经调控领域的研究发展迅速, 并逐渐用于动物疾病模型的研究中, 探究 LIFU 的神经调控机制是否有助于神经系统疾病的治疗. 研究人员在磁共振成像技术的引导下以癫痫模型大鼠为实验对象, 使用 LIFU ($I_{\text{sppa}} = 50 \text{ W/cm}^2$) 多次照射大鼠海马区, 发现照射脑区的癫痫放电频率明显降低, 说明 LIFU 对癫痫样放电具有抑制作用^[20]. 癫痫是由大脑皮层神经元集群异常放电和神经回路同步放电活动引发的, 已有研究证实脑电 θ 波段与癫痫呈正相关^[40]. Min 等^[41]则发现 LIFU ($I_{\text{sppa}} = 2.6 \text{ W/cm}^2$) 照射大鼠丘脑后 θ 波段的活动被明显抑制. 因此, LIFU 抑制癫痫放电可能与其抑制神经元同步电活动相关^[15, 32-33], 另一方面也可能是由于其激活了 GABA 能抑制神经元活性^[34]. 为证明 LIFU 治疗癫痫的有效性, 未来需要以更多不同种类动物做实验对象并深入阐明其作用机制, LIFU 对于癫痫的长期抑制

效果仍有待进一步研究。

临床研究已揭示, 血脑屏障是使用传统药物治疗神经系统疾病的主要困难之一, LIFU 为突破这一屏障带来了希望。研究发现, LIFU 照射能够提高血脑屏障的通透性, 从而允许目标药物进入大脑发挥作用^[42-44]。例如对阿尔茨海默病(Alzheimer

disease, AD)模型鼠的研究发现, LIFU 帮助了 β -淀粉样蛋白斑块(amyloid- β , $A\beta$)的抗体进入大脑, 降低了大脑内 $A\beta$ 的水平^[45-46]。LIFU 不仅能够通过无创打开血脑屏障提高药物治疗 AD 的有效性, 还能直接实现对 AD 的物理治疗。2015 年, Lin 等^[21]研究了 LIFU 对铝致 AD 大鼠脑损伤的保护作用。

Table 1 Summary of LIFU studies on animal central nervous system regulation

表 1 LIFU 对动物中枢神经调控的研究归纳

实验对象	超声参数	主要结果
离体: 正常小鼠海马 ^[5]	Isppa=2.9 W/cm ² Ispta=23m W/cm ² 频率=0.44~0.67 MHz	诱发 CA1 区椎体细胞动作电位 Na ⁺ 和 Ca ²⁺ 瞬变 促进突触囊泡的释放
离体: 正常小鼠大脑 ^[5]	Isppa=2.9 W/cm ² 频率=0.44 MHz	离体大脑背侧细胞 Ca ²⁺ 瞬变
离体: 正常蝾螈视网膜 ^[27]	Ispta=0.03~30 W/cm ² 频率=43 MHz	视网膜的放电频率随强度增加而增加, 在强度为 10~30W/cm ² 时达到最大
正常小鼠: 初级运动皮层 ^[16]	Isppa=0.075~0.229 W/cm ² Ispta=21~163m W/cm ² 频率=0.25~0.5 MHz	LFP 和 MUA 的增加 诱发尾巴、前爪、胡须的运动, 并记录到 EMG
正常小鼠: 海马 ^[16]	Ispta=36.2~84.32m W/cm ² 频率=0.25~0.35 MHz	LFP 和 MUA 的增加 诱发频带振荡和提高 BDNF 在 CA1 区的密度
正常小鼠: 运动皮层 ^[34]	Isppa=0.26~16.8 W/cm ² 频率=0.25~0.6 MHz	诱发前肢的肌电信号, 且成功率与麻醉水平负相关
正常小鼠: 大脑皮层和深层核 ^[36]	频率=0.76~2.25 MHz	左后肢和尾巴的运动 眼球运动和瞳孔扩张
正常大鼠: 运动皮层 ^[18]	Ispta=3~4.5 W/cm ² 频率=0.35 MHz	诱发大鼠尾巴的 EMG
正常大鼠: 视觉皮层 ^[32]	Isppa=3&5 W/cm ² 频率=0.35 MHz	占空比为 5%, 强度为 3W/cm ² VEP 幅值降低, 强度 5W/cm ² 时 VEP 幅值增加
正常大鼠: 运动皮层 ^[35]	Isppa=7.5 W/cm ² 频率=0.32 MHz	诱发前后肢、尾巴和眼球的运动
正常猕猴: 前额叶眼区 ^[38]	Isppa=2.9~5.1 W/cm ² 频率=0.32 MHz	反向眼动的潜伏期变长
正常羊: 初级感觉运动皮层 ^[39]	Isppa=11.8 W/cm ² 频率=0.25 MHz	刺激脑区对侧的后腿记录到明显的 EMG, 且随强度的增加而增加
正常羊: 初级视觉皮层 ^[39]	Isppa=14.3 W/cm ² 频率=0.25 MHz	诱发 VEP, 且随强度的增加而增加
癫痫大鼠: 海马 ^[20]	Isppa=50 W/cm ² 频率=0.69 MHz	降低癫痫放电频率, 没有组织学损伤
癫痫大鼠: 丘脑 ^[41]	Isppa=2.6 W/cm ² Ispta=130m W/cm ² 频率=0.69 MHz	降低癫痫放电频率和抑制 θ 频段的活动, 没有组织学损伤
AD 大鼠: 海马 ^[21]	Ispta=528m W/cm ² 频率=1 MHz	脑源性神经影响因子(BDNF)、胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)、血管内皮生长因子(VEGF)的水平增加。 乙酰胆碱酶和 $A\beta$ 的水平明显降低。

空间峰值平均时间声强(spatial peak-temporal average intensity, Ispta); 空间峰值平均脉冲声强(spatial peak-pulse average intensity, Isppa)。

他们采用强度为 528mW/cm^2 (Ispta) 超声照射 AD 大鼠 (口服 AlCl_3 建立模型) 海马区后, 发现海马区的脑源性神经影响因子、胶质细胞源性神经营养因子、血管内皮生长因子的水平增加, 并且乙酰胆碱酶和 $\text{A}\beta$ 的水平明显降低. 同时, 在行为学水平上也证明了 AD 模型大鼠的空间记忆能力得到了提高, 并且进行组织学分析指出该实验过程不会对大鼠的神经组织造成损伤. 除了 AD, 也有人提出由于 LIFU 会调节大脑内脑源性神经影响因子的浓度, 而它与抑郁症密切相关^[47], 因此 LIFU 可能会成为一个治疗抑郁症的有效因子^[46]. 当然, 这还需要未来研究进一步验证.

上述研究结果表明, LIFU 不仅有助于提高药物治疗神经系统疾病的有效性, 而且对神经系统疾病也具有直接治疗效果或潜在实力, 其作用机制可能是通过调节脑区中某些生物化学分子活性来实现的.

2 LIFU 对人类中枢神经调控的研究进展

随着上述基于 LIFU 的动物神经调控研究逐步深入, LIFU 对人类神经系统的调控研究也逐渐开展起来. 人们关注这种调控技术是否能够在人类神经系统实现类似于对动物的神经调控作用? 更重要的是, 能否对人类神经系统性疾病产生治疗作用?

2014 年, Legon 团队^[30]研究证明 LIFU (Isppa = 5.9 W/cm^2) 照射受试者初级躯体感觉皮层 (primary somatosensory cortex, S1), 记录被试脑电 (EEG) 发现体感诱发电位的幅值降低, C3 和 P3 导联 EEG 信号中 α 波和 β 波振荡频率也明显降低. 行为学

测试发现, 与对照组相比, LIFU 照射会提高受试者的感觉辨识能力且不影响做任务时的注意力和反应偏差. 不仅如此, LIFU 照射 S1 后, 受试者还会在手掌、手腕、手臂、肩膀等位置感觉到触觉和温度变化^[48], 甚至会引起肢体的抽搐或移动^[49]. 研究人员也观察了 LIFU 对初级视觉皮层的影响, 发现 LIFU (Isppa = 16.6 W/cm^2) 照射后, 部分受试者会出现光幻视 (大约 1 s), 并且能够诱发类似于光刺激的 VEP 信号^[29].

先前的研究结果证明, LIFU 能够无损伤地实现对人类部分脑区神经调控作用, 由此引发对 LIFU 治疗神经系统疾病效果研究的关注. 2013 年, Hameroff 等^[50]使用 LIFU (Ispta = 152 mW/cm^2) 照射患有慢性头痛的被试前额叶皮层 15 s, 刺激后患者填写有关情绪和疼痛的主观量表, 证明 LIFU 刺激提高了患者的主观情绪和降低了疼痛感. Monti 等^[51]则首次应用 LIFU 照射创伤后有意识障碍患者的丘脑, 患者在接受超声治疗后可以进行口腔的运动、实现简单的应答反应等行为, 证明 LIFU 刺激可为唤醒创伤后有意识障碍患者提供治疗方案.

归纳以上研究结果 (表 2) 可知, LIFU 调控人类大脑中枢神经的效果与动物实验的结果一致, 对人类神经系统疾病同样具有一定的治疗效果. 同时也提醒, LIFU 对人类中枢神经系统调控的研究还很不足, 达到预期疗效的 LIFU 调控参数还很不清楚^[29]. 因此未来仍需要大量实验研究来确定 LIFU 是否能够成为新的神经调控方法.

Table 2 Summary of LIFU studies on human central nervous system regulation

表 2 LIFU 对人类中枢神经系统的研究归纳

实验对象	超声参数	主要结果
健康人: 初级感觉皮层 ^[30]	Isppa = $0.12 \sim 50\text{ W/cm}^2$ 频率 = 0.5 MHz	EEG 信号的幅值降低, α 波和 β 波的振荡频率降低
健康人: 初级和次级感觉皮层 ^[48]	Isppa = 35 W/cm^2 频率 = 0.21 MHz	右手感受到触觉和温度 (暖 / 冷)
健康人: 初级感觉皮层 ^[49]	Ispta = 1.5 W/cm^2 频率 = 0.25 MHz	诱发 EEG 信号变化 刺激脑区对侧的肢体感受到 触觉, 移动或抽搐
健康人: 初级视觉皮层 ^[29]	Isppa = 16.6 W/cm^2 频率 = 0.27 MHz	受试者出现光幻视 诱发 VEP 信号
慢性疼痛患者: 前额叶皮层 ^[50]	Ispta = 152 mW/cm^2 频率 = 8 MHz	提高患者的主观情绪和降低疼痛
创伤后有意识障碍患者: 丘脑 ^[51]	Ispta = 720 mW/cm^2 频率 = 0.65 MHz	口腔的运动、实现简单的应答 反应等行为

3 可能的生物物理机制

超声作为一种物理刺激因子, 到底是如何作用于生物机体及其神经系统的呢? 人们提出了各种假设并进行了实验研究. 机械效应、热效应、空化效应是目前最被认可的三种生物物理机制, 本节简单介绍相关的实验研究结果.

3.1 机械效应机制

机械效应机制认为: LIFU 通过声波传播过程中激发受波作用媒质产生机械振动, 如作用于神经细胞时激发细胞膜产生机械振动拉伸脂质双分子层构成的薄膜, 从而实现对神经系统的调控. 由细胞生理学可知, 细胞膜特别是神经细胞膜上存在大量离子通道, 而其中很多通道对机械力敏感. 机械振动对细胞所产生力的作用必然导致这些机械力敏感离子通道激活或关闭, 使细胞发生去极化或超极化, 进而影响整个刺激区域的神经电活动. 例如, 有研究指出不同参数的 LIFU 会有选择性地激活机械力敏感性 Na^+ 通道和 K^+ 通道^[52], 这在一定程度上解释了 LIFU 会对神经系统产生刺激或是抑制效果现象^[32]. 同时, Tyler 等^[5]使用 LIFU 照射小鼠的海马切片, 证明 LIFU 可以激活电压门控 Na^+ 通道和 Ca^{2+} 通道, 引起离子的流动使细胞去极化, 进而影响突触传递过程, 增加突触囊泡的释放. 随后有研究发现, LIFU 照射秀丽隐杆线虫的头部神经元(与线虫的运动行为有关), 线虫的运动轨迹会发生改变, 进一步实验将机械力敏感性离子通道 TRP-4 转基因到线虫的头部神经元后, 发现线虫运动轨迹发生改变的比例明显增加, 说明机械力敏感性离子通道在 LIFU 神经调控的过程中发挥了重要的作用^[53].

以上研究文献均强调 LIFU 实现神经调控主要是通过机械效应机制, 并且与机械力敏感性离子通道有关. 机械效应机制假设在一定程度上解释了 LIFU 照射生物组织诱发的生理现象, 因此目前被普遍接受.

3.2 热效应机制

热效应是指受 LIFU 作用的生物组织细胞会吸收超声波能量而温度上升, 从而对细胞的兴奋性产生影响, 高强度超声波照射甚至会使组织细胞出现不可逆的凝固性坏死^[54], 因此人们猜测 LIFU 是否也能通过热效应来实现神经调控. Gavrilov 等^[55]认为 LIFU 降低了声能在组织细胞的平均时间功率沉积, 温升有限. 超声照射人的手掌所感受到触觉和

疼痛与 LIFU 频率有关而与其振幅无关, 说明其机械效应大于热效应. 另外还有多项研究证实无论在体或离体实验的温度分析皆显示被 LIFU 照射的组织平均温度变化均小于 1°C ^[16, 27, 33, 56].

目前认为, LIFU 在对神经调节过程中的温度变化并不足以诱发动物的神经电活动, 更不会使麻醉动物出现肢体抽搐现象. 因此, LIFU 实现神经调控可能不是通过热效应机制引起的.

3.3 空化效应机制

超声波的空化效应是指液体内气体在超声波振荡拉伸(正压相)和压缩(负压相)作用下会形成微小气泡, 而后它们会在合适的超声参数下出现稳态振荡或膨胀破裂现象, 从而对周围组织或细胞产生影响^[57]. Krasovitski 等^[58]认为 LIFU 可以克服细胞磷脂双分子层之间的分子力从而实现对细胞膜的机械拉伸和压缩, 在双分子层之间产生纳米气泡, 这些纳米气泡的存在和振荡会激活细胞膜上的机械敏感性蛋白增加细胞膜的兴奋性. 为证实该假设, 他们提出了 BLS(bilayer sonophore)模型, 并在活细胞中进行实验, 证实了该模型的可靠性和可能的空化效应机制. 随后 Plaksin 等^[59]也证明了该结论的可靠性. 这两项研究均认为空化效应是 LIFU 实现神经调控的主要机制, 并提出当超声的时间强度大于 100 mW/cm^2 时, 才会引起组织产生空化^[58]. 但在另一些实验研究中所用的超声强度小于该强度时, 仍有神经电的产生或改变^[16, 60].

目前一些实验研究表明, LIFU 实现神经调控可能通过空化效应机制对细胞的兴奋性产生影响. 但有些研究使用的超声参数并不会造成空化, 仍能够使组织的电位发生变化. 因此, 空化效应可能是低强度实现神经调控的机制之一, 但不会是唯一机制.

综上所述, LIFU 可以实现对神经系统的调控, 其可能调控机制中受到认可的主要是机械效应机制和空化效应机制, 并且许多研究者认为 LIFU 的神经调控作用不是单一机制, 而是通过多种机制共同介导实现. 同时其在细胞水平或分子水平上的机制仍没有明确的解释和论证, 有待进一步深入研究.

4 安全性问题

LIFU 能否作为一种新的神经调控技术应用于临床治疗中, 安全性问题将是其关键决定条件. 美国食品药品监督管理局和其他监管机构, 如美国超声医学研究所和美国电气制造商协会都规定了诊断

和治疗用超声的安全指南,而本文所引文献中的 LIFU 参数皆远低于该标准,说明 LIFU 实现中枢神经系统调控所需参数应能充分满足安全指南要求.其中部分文献对 LIFU 作用的安全性问题也进行了实验验证.

Tyler 等^[5]采用 LIFU(2.9 W/cm²)持续照射小鼠海马切片 36~48 h,未观察到组织细胞膜结构的变化.在活体小鼠上进行实验,LIFU 照射后小鼠的血脑屏障没有受到破坏,行为学实验证明超声照射后小鼠的行为没有受到影响^[16].Yoo 等^[33]采用 LIFU (23 W/cm²)连续照射兔子的运动皮层 27 s,聚焦区域的温度仅上升了 0.7℃,没有出现细胞凋亡和缺血现象.即使是在人体实验中,LIFU 也并不会损害到健康^[29-30].但是也有一项实验研究表明,LIFU (1 W/cm²)照射小鼠胚胎的大脑皮层 30 min,会影响胚胎皮层神经元的迁移,使其不能迁移到正确位置^[61].

目前很多研究都表明 LIFU 进行神经调控不存在安全风险问题,具有良好临床试验前景,但至今将 LIFU 应用于大型动物、灵长类动物或人类的实验还很少,对于其安全性问题的最终定论仍有待进一步研究、讨论后再确认.

5 研究前景及未来应用

归纳前文有关低强度聚焦超声(LIFU)用于动物与人类中枢神经调控研究进展、神经调控机制探索 and 安全性问题讨论等方面评述,可以达成以下重点共识:已有研究充分证明 LIFU 可以透过动物与人脑薄层头骨窗口对大脑皮层神经组织功能起到兴奋或抑制的有效调控作用,并且该过程不会造成细胞凋亡和组织损伤(无安全性风险).因此,LIFU 经下一步更深入研究开发后有可能也应该会成为新一代的安全中枢神经调控技术.可以预期,LIFU 不仅能发挥超声波所固有传播方向性好、穿透能力强、聚焦效果佳等本色优势,且其作用效应兼具机械和空化双重机制使之可能产生与现有常用的深部脑刺激(DBS)、经颅直流电刺激(tDCS)、重复经颅磁刺激(rTMS)和光控基因等技术不同的神经调控效应、取得更新的治疗效果,LIFU 甚至可以在需要更安全、无伤害的应用场合替代目前流行的神经调控方法(如有研究指出 LIFU 可以实现与 DBS 相同的治疗效果^[23]).此外,上述依赖于电、磁、光等物理因子的神经调控手段在与功能磁共振等成像技术结合使用时存在相互干扰难题限制了其应用,而

LIFU 则可避开干扰与现代成像技术相结合能将刺激焦点位置和治疗效果等信息实时反馈,为基于 LIFU 的神经调控技术展示出更为诱人的应用前景.

神经系统疾病是目前医学在治疗和康复中的一大难题,而基于 LIFU 的神经调控技术可以有效地避免或弥补药物治疗和有损伤性治疗方法的危害.不仅如此,LIFU 调控神经作用可能在疼痛神经的暂时性阻滞和实现非药物麻醉方面也具有很大的潜力效应^[62].此外,LIFU 不仅对中枢神经系统有调控作用,而且对外周神经系统^[63]和自主神经系统也有相近调控作用,有助于相关疾病治疗.但也应注意到,LIFU 调控神经回路的持续性和时效性还有待进一步研究.同时,未来研究还应更关注基于 LIFU 实现神经调控时的参数优化和作用机制,这是 LIFU 技术临床应用前需要解决的主要关键问题.

参 考 文 献

- [1] Bronstein J M, Tagliati M, Alterman R L, *et al.* Deep brain stimulation for Parkinson disease: an expert consensus and review of key issues. *Arch Neurol*, 2011, **68**(2): 165-171
- [2] 黄 蓓, 吴惠涓, 钱祺颖, 等. 诊断性经颅磁刺激研究进展. *中国现代神经疾病杂志*, 2017, **17**(4): 300-305
Huang B, Wu H J, Qian Z Y, *et al.* *Chinese Journal of Contemporary Neurology & Neurosurgery*, 2017, **17**(4): 300-305
- [3] Terao Y, Ugawa Y. Basic mechanisms of TMS. *Journal of Clinical Neurophysiology Official Publication of the American Electroencephalographic Society*, 2002, **19**(4): 322-343
- [4] Federico D A, Elena P, Alessandro C, *et al.* Cognitive and neurophysiological effects of non-invasive brain stimulation in stroke patients after motor rehabilitation. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 2016, **10**(688): 1-11
- [5] 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
- [6] Aubry J F, Pauly K B, Moonen C, *et al.* The road to clinical use of high-intensity focused ultrasound for liver cancer: technical and clinical consensus. *Journal of therapeutic ultrasound*, 2013, **1**(1): 13-19
- [7] Pakk K J, Mohammad G H, Malago M, *et al.* A novel approach to ultrasound-mediated tissue decellularization and intra-hepatic cell delivery in rats. *Ultrasound Med Biol*, 2016, **42**(8): 1958-1967
- [8] Magara A, Bühler R, Moser D, *et al.* First experience with MR-guided focused ultrasound in the treatment of Parkinson's disease. *Journal of Therapeutic Ultrasound*, 2014, **2**(1): 11-18
- [9] Na Y C, Chang W S, Jung H H, *et al.* Unilateral magnetic resonance-guided focused ultrasound pallidotomy for Parkinson disease. *Neurology*, 2015, **85**(6): 549-551
- [10] Hanson T L, Fuller A M, Lebedev M A, *et al.* Subcortical neuronal ensembles: an analysis of motor task association, tremor,

- oscillations, and synchrony in human patients. *J Neurosci*, 2012, **32**(25): 8620–8632
- [11] Lipsman N, Schwartz M L, Huang Y, *et al.* MR-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor: a proof-of-concept study. *Lancet Neurol*, 2013, **12**(5): 462–468
- [12] Baek H, Pakk K J, Kim H. A review of low-intensity focused ultrasound for neuromodulation. *Biomedical Engineering Letters*, 2017, **7**(2): 135–142
- [13] Ren Y, Liu L, Tinghe Y U, *et al.* Effects of low-intensity pulsed ultrasound on contraction of rats bladder smooth muscle *in vitro*. *Chinese Journal of Medical Imaging Technology*, 2016,
- [14] Rutten S, Van Den Bekerom M P, Siersevelt I N, *et al.* Enhancement of bone-healing by low-intensity pulsed ultrasound: a systematic review. *JBJS Rev*, 2016, **4**(3): e6–e6
- [15] 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
- [16] Tufail Y, Matyushov A, Baldwin N, *et al.* Transcranial pulsed ultrasound stimulates intact brain circuits. *Neuron*, 2010, **66** (5): 681–694
- [17] Yoo S S, Kim H, Min B K, *et al.* Transcranial focused ultrasound to the thalamus alters anesthesia time in rats. *Neuroreport*, 2011, **22**(15): 783–787
- [18] Kim H, Lee S D, Chiu A, *et al.* Estimation of the spatial profile of neuromodulation and the temporal latency in motor responses induced by focused ultrasound brain stimulation. *Neuroreport*, 2014, **25**(7): 475–479
- [19] Min B K, Yang P S, Bohlke M, *et al.* Focused ultrasound modulates the level of cortical neurotransmitters: Potential as a new functional brain mapping technique. *International Journal of Imaging Systems and Technology*, 2011, **21**(2): 232–240
- [20] Yoo S S, Jung K, Zhang Y, *et al.* Non-invasive Suppression of Animal-model Chronic Epilepsy Using Image-guided Focused Ultrasound. *Proc Intl Soc Mag Reson Med*, 2018, **18**: 1797
- [21] 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
- [22] Li G F, Zhao H X, Zhou H, *et al.* Improved anatomical specificity of non-invasive neuro-stimulation by high frequency (5 MHz) ultrasound. *Sci Rep*, 2016, **6**: 24738
- [23] Bystritsky A, Korb A S, Douglas P K, *et al.* A review of low-intensity focused ultrasound pulsation. *Brain Stimul*, 2011, **4** (3): 125–136
- [24] 黎国锋, 邱维宝, 钱 明, 等. 超声神经调控技术与科学仪器. *生命科学仪器*, 2017, **1**: 3–8
- Li G F, Qiu W B, Qian M, *et al.* *Life Science Instruments*, 2017, **1**: 3–8
- [25] Harvey E N. The effect of high frequency sound waves on heart muscle and other irritable tissues. *American Journal of Physiology— Legacy Content*, 1929, **91**(1): 284–290
- [26] Muratore R, Lamanna J, Szulman E, *et al.* Bioeffective Ultrasound at Very Low Doses: Reversible Manipulation of neuronal Cell Morphology and Function *in vitro*; proceedings of the International Symposium on Therapeutic Ultr, F, 2009 [C]
- [27] Menz M D, Oralkan O, Khuriyakub P T, *et al.* Precise neural stimulation in the retina using focused ultrasound. *Journal of Neuroscience the Official Journal of the Society for Neuroscience*, 2013, **33**(10): 4550–4560
- [28] Hughes A, Hynynen K. Design of patient-specific focused ultrasound arrays for non-invasive brain therapy with increased trans-skull transmission and steering range. *Phys Med Biol*, 2017, **62**(17): L9–L19
- [29] Lee W, Kim H C, Jung Y, *et al.* Transcranial focused ultrasound stimulation of human primary visual cortex. *Sci Rep*, 2016, **6**: 1–8
- [30] Legon W, Sato T F, Opitz A, *et al.* Transcranial focused ultrasound modulates the activity of primary somatosensory cortex in humans. *Nat Neurosci*, 2014, **17**(2): 322–329
- [31] Adrianov O S, Vykhodtseva N I, Fokin V F, *et al.* Reversible functional blocking of the optic tract by focused ultrasound. *Bulletin of Experimental Biology & Medicine*, 1984, **97** (6): 844–847
- [32] Kim H, Park M Y, Lee S D, *et al.* Suppression of EEG visual-evoked potentials in rats through neuromodulatory focused ultrasound. *Neuroreport*, 2015, **26**(4): 211–215
- [33] Yoo S S, Bystritsky A, Lee J H, *et al.* Focused ultrasound modulates region-specific brain activity. *Neuroimage*, 2011, **56**(3): 1267–1275
- [34] King R L, Brown J R, Newsome W T, *et al.* Effective parameters for ultrasound-induced *in vivo* neurostimulation. *Ultrasound Med Biol*, 2013, **39**(2): 312–331
- [35] Younan Y, Deffieux T, Larrat B, *et al.* Influence of the pressure field distribution in transcranial ultrasonic neurostimulation. *Med Phys*, 2013, **40**(8): 1–10
- [36] Kamimura H, Wang S, Chen H, *et al.* Pupil dilation and motor response elicitation by ultrasound neuromodulation; proceedings of the Ultrasonics Symposium, F, 2015 [C]
- [37] Yang P S, Kim H, Lee W, *et al.* Transcranial focused ultrasound to the thalamus is associated with reduced extracellular GABA levels in rats. *Neuropsychobiology*, 2012, **65**(3): 153–160
- [38] Deffieux T, Younan Y, Wattiez N, *et al.* Low-intensity focused ultrasound modulates monkey visuomotor behavior. *Curr Biol*, 2013, **23**(23): 2430–2433
- [39] Lee W, Lee S D, Park M Y, *et al.* Image-guided focused ultrasound-mediated regional brain stimulation in sheep. *Ultrasound Med Biol*, 2016, **42**(2): 459–470
- [40] Konopacki J, Golebiewski H, Eckersdorf B, *et al.* *In vitro* recorded theta-like activity in the limbic cortex: comparison with spontaneous theta and epileptiform discharges. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 2000, **60**(1): 67–85
- [41] Min B K, Bystritsky A, Jung K I, *et al.* Focused ultrasound-mediated suppression of chemically-induced acute epileptic EEG activity. *BMC Neurosci*, 2011, **12**(1): 23–24
- [42] Burgess A, Aubert I, Hynynen K. Focused ultrasound: crossing barriers to treat Alzheimer's disease. *Therapeutic Delivery*, 2011, **2**(3): 281–286

- [43] Vykhodtseva N, McDannold N, Hynynen K. Progress and problems in the application of focused ultrasound for blood-brain disruption. *Ultrasonics*, 2008, **48**(4): 279–296
- [44] Yang F Y, Lin Y S, Kang K H, *et al.* Reversible blood-brain barrier disruption by repeated transcranial focused ultrasound allows enhanced extravasation. *J Control Release*, 2011, **150**(1): 111–116
- [45] Raymond S B, Treat L H, Dewey J D, *et al.* Ultrasound enhanced delivery of molecular imaging and therapeutic agents in Alzheimer's disease mouse models. *PLoS One*, 2008, **3**(5): e2175
- [46] Jordao J F, Ayala-Grosso C A, Markham K, *et al.* Antibodies targeted to the brain with image-guided focused ultrasound reduces amyloid-beta plaque load in the TgCRND8 mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS One*, 2010, **5**(5): e10549
- [47] Tsai S J. Transcranial focused ultrasound as a possible treatment for major depression. *Medical Hypotheses*, 2015, **84**(4): 381
- [48] Lee W, Chung Y A, Jung Y, *et al.* Simultaneous acoustic stimulation of human primary and secondary somatosensory cortices using transcranial focused ultrasound. *Bmc Neuroscience*, 2016, **17**(1): 68–79
- [49] Lee W, Kim H, Jung Y, *et al.* Image-Guided Transcranial Focused Ultrasound Stimulates Human Primary Somatosensory Cortex. *Sci Rep-Uk*, 2015, **5**: 1–10
- [50] Hameroff S, Trakas M, Duffield C, *et al.* Transcranial ultrasound (TUS) effects on mental states: A pilot study. *brain stimulation*, 2013, **6**(3): 409–415
- [51] Monti M M, Schnakers C, Korb A S, *et al.* Non-invasive ultrasonic thalamic stimulation in disorders of consciousness after severe brain injury: a first-in-man report. *Brain Stimulation*, 2016, **9**(6): 940–941
- [52] Kubanek J, Shi J Y, Marsh J, *et al.* Ultrasound modulates ion channel currents. *Sci Rep-Uk*, 2016, **6**: 1–14
- [53] Ibsen S, Tong A, Schutt C, *et al.* Sonogenetics is a non-invasive approach to activating neurons in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Commun*, 2015, **6**: 1–12
- [54] Chang W S, Chang J W. Focused ultrasound treatment for central nervous system disease: neurosurgeon's perspectives. *Biomedical Engineering Letters*, 2017, **7**(2): 1–8
- [55] Gavrilov L R, Tsurulnikov E M, Davies I A. Application of focused ultrasound for the stimulation of neural structures. *Ultrasound Med Biol*, 1996, **22**(2): 179–192
- [56] Kim H, Taghados S J, Fischer K, *et al.* Noninvasive transcranial stimulation of rat abducens nerve by focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol*, 2012, **38**(9): 1568–1575
- [57] Wu J, Nyborg W L. Ultrasound, cavitation bubbles and their interaction with cells. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2008, **60**(10): 1103–1116
- [58] Krasovitski B, Frenkel V, Shoham S, *et al.* Intramembrane cavitation as a unifying mechanism for ultrasound-induced bioeffects. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(8): 3258–3263
- [59] Plaksin M, Shoham S, Kimmel E. Intramembrane cavitation as a predictive bio-piezoelectric mechanism for ultrasonic brain stimulation. *J Mol Neurosci*, 2014, **53**: S103–S103
- [60] Naor O, Hertzberg Y, Zemel E, *et al.* Towards multifocal ultrasonic neural stimulation II : design considerations for an acoustic retinal prosthesis. *J Neural Eng*, 2012, **9**(2): 1–10
- [61] Ang E S B C, Gluncic V, Duque A, *et al.* Prenatal exposure to ultrasound waves impacts neuronal migration in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(34): 12903–12910
- [62] Naor O, Krupa S, Shoham S. Ultrasonic neuromodulation. *J Neural Eng*, 2016, **13**(3): 1–18
- [63] Ni X J, Wang X D, Zhao Y H, *et al.* The effect of low-intensity ultrasound on brain-derived neurotrophic factor expression in a rat sciatic nerve crushed injury model. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 2017, **43**(2): 461–468

The Progress of Low Intensity Focused Ultrasound on The Regulation of Central Nervous System*

YANG Xue-Ning¹⁾, YANG Jia-Jia^{1)**}, WAN Bai-Kun¹⁾, MING Dong^{1,2)**}

¹⁾ School of Precision Instrument and Opto-Electronics Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

²⁾ Institute of Medical Engineering & Translational Medicine, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract Neural control technology (NCT) could activate the function of the nervous system, alleviate neurological disease and improve the quality of life by importing electrical, magnetic, optical, acoustic and other physical factors to the neural circuits. The technology has been widely used in the research of life science and clinical diagnosis and treatment. Especially, low intensity focused ultrasound (LIFU) has the advantages of nondestructive, high penetration ability and spatial resolution, which is more suitable for the neural regulation as a safety physical stimulating factor. At the moment, research of LIFU in neural control has attracted much attention of scientific community. A large number of animal and human researches in neural control have been carried out and achieved gratifying results. In this paper, we review the progress of the LIFU regulation in central nervous system in the animals and human. Besides, the biophysical mechanism, security issues and future applications are also discussed. We hope this paper will provide a new insight to the research and application of neural regulation of LIFU.

Key words low intensity focused ultrasound, central nervous regulation, mechanism, safety

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0344

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (3100865, 8630051) and Tianjin Municipal Natural Science Foundation (17JCQNJC10500).

**Corresponding author.

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

MING Dong. Tel: 86-13820222616, E-mail: richardming@tju.edu.cn

Received: November 8, 2017 Accepted: December 19, 2017