

超声神经调控的研究进展

沈雪莲(综述) 严 飞 赵 云 周 军(审校)

摘 要 目前脑刺激在基础科研和临床中应用广泛,但是脑刺激技术如电刺激法、光遗传技术及磁刺激法等都有一定的局限性。跨颅超声神经调控以其高空间分辨率和非侵入的特点,为精确掌握神经回路活动及探索正常人脑功能带来了强有力的新手段。本文就超声神经调控的研究进展作一综述。

关键词 超声;神经调控;PIEZO 蛋白;声遗传

[中图法分类号] R741;R445.1

[文献标识码] A

Research progress of neuromodulation with ultrasound

SHEN Xuelian, YAN Fei, ZHAO Yun, ZHOU Jun

Medical Science College of China Three Gorges University, Hubei 443002, China

ABSTRACT Brain stimulation techniques have been used widely in research and clinical practices at present. But the main methods used for neuro-stimulation including electrical-, optical-, and magnetic-mediated approaches have some limitations. Interestingly, neuromodulation with ultrasound has brought powerful new tools to precisely grasp the neural circuits and to explore the normal function of the human brain for high spatial resolution and its non-invasive characteristics. In this review, we summarize the research progress in neuromodulation with ultrasound.

KEY WORDS Ultrasound; Neuromodulation; PIEZO; Sonogenetics

在神经科学领域,神经刺激不仅可用于神经和精神疾病的治疗,还为脑功能的研究提供了强有力的手段。在现有的刺激方法中,电刺激法有更高的靶向性,但是需要手术植入长期刺激电极^[1];经颅磁刺激不需要手术,但是空间分辨率较低^[2];基于光遗传的方法可以以毫秒级分辨率激活或抑制单个突触和神经元,空间时间分辨率高,但是光遗传需要光敏感离子通道或光敏感转运蛋白基因修饰,且需要手术植入光纤^[3]。因此,神经科学迫切需要开发一种新的刺激效果好、侵入程度低的脑刺激方法。通过磁共振引导并使用相控阵换能器,超声可以非侵入性跨过颅骨在脑内聚焦,且空间分辨率高。跨颅超声神经调控为脑科学研究提供了一种无创性的脑刺激新技术和研究工具^[4]。

一、生物医学超声的基本特性

超声是频率大于人耳听觉探测水平(>20 kHz)的声波,是由声源振动产生,通过压缩和膨胀媒质传播的一种机械波。由于超声可以在特定的介质中远距离传播而能量衰减却很少,因此广泛应用于医学诊断和物理治疗。其声学效应如波动效应、力

学效应及热效应等,在生物医学中广泛应用^[5];波动效应可用于医学超声成像;力学效应可用于声操控和定点给药;热效应可用于肿瘤的热消融。研究^[6]显示超声力学效应在神经科学领域也具有重大应用潜力。超声遇到颅骨时发生反射、折射和吸收,由于颅骨厚度不均导致超声焦点漂移。超声相控阵技术和 MRI 技术使得超声穿透颅骨后可以形成精准、稳定的焦点,非侵入性刺激深部和相对表浅的神经组织^[4]。

二、超声神经调控的发展

1. 超声神经调控的早期研究成果:超声波以脉冲波或者连续波的形式在组织中传播,进而通过热效应或机械效应影响组织的生理活性。通过改变超声频率、脉冲重复频率、脉冲宽度、持续时间及超声强度,使刺激部位的中枢神经产生刺激或抑制效应,从而逆性双向调节神经功能^[7]。科学家已陆续探索了超声对周围神经和中枢神经纤维的刺激效应。Foster 等^[8]应用超声通过颅窗刺激猫听神经引起其动作电位发放,刺激猫脑侧面的膝状体神经核能可逆性抑制猫视觉皮层的感觉诱发电位。

基金项目:国家自然科学基金项目(81371563)

作者单位:443002 湖北省宜昌市,三峡大学医学院(沈雪莲、赵云);中科院深圳先进技术研究院(严飞);三峡大学第一临床医学院 宜昌市中心人民医院超声科(周军)

通信作者:周军,Email:zjsts8@163.com

Tsirulnikov 等^[9]应用超声刺激人耳蜗引起了听力感知。Fry 等^[10]应用高强度聚焦超声不可逆地切除帕金森病相关运动障碍患者的局部脑区取得了初步成功。Koroleva 等^[11]用持续时间为 50~100 ms 的脉冲超声重复刺激兔的大脑皮层、丘脑、海马及尾状核,引起电位负向增大。

2. 超声神经调控的近期研究成果

(1) 基于小动物的超声神经调控研究

Tyler 等^[12]应用低强度、0.44~0.67 MHz 的超声刺激小鼠脑海马切片和离体小鼠脑,发现其可以促发神经元动作电位,还可以引起突触囊泡的释放,介导突触传导。这是超声神经调控发展历程中自划时代转折点之后的重要发现,包括哺乳动物中枢神经系统超声神经刺激和抑制效应的首次成功实现,刺激强度、动物麻醉水平、超声频率和其他相关参数与动物反应强度和反应潜伏期之间的关系等。

随后研究^[7,13-16]应用超声刺激麻醉的啮齿类动物和兔大脑的不同脑区域,通过诱导的肌肉活动、促发的动作电位、微电极记录、和功能 MRI 检测兴奋或抑制效应。应用连续波和脉冲波刺激小鼠^[13,15]、兔子^[14]和大鼠^[7]的躯体运动皮层可以诱发其运动反应。刺激强度、持续时间、占空比与反应强度和刺激成功率成正比,即更强的刺激强度和更长的作用时间不会增加运动反应的强度和持续时间^[15]。低频超声(250~350 kHz)较高频超声(500~650 kHz)刺激效果更好^[7,13,15]。MRI 引导的低强度脉冲聚焦超声还可以调节兔感觉皮层和视觉皮层的功能^[14]。超声波刺激猫脑侧面的膝状体核以及兔的大脑皮层可以抑制脑电波、减少癫痫发作^[14,16]。

(2) 基于大动物、人和非人灵长类动物的超声神经调控研究

基于活体啮齿类动物的超声神经调控的研究受到技术上的限制,超声神经调控研究的最终目的促进了其基于非人灵长类动物和人的实验研究的快速发展^[15]。Deffieux 等^[17]首次证明跨颅聚焦超声可以调节非人灵长类动物的行为。Legon 等^[18]发现低强度、跨颅聚焦超声波可以定点调控人脑皮层功能;500 kHz 的聚焦超声(23.87 W/cm²)刺激人脑主要感觉皮层显著降低了感觉诱发电位幅值,增强了人感觉分辨能力且并未影响人的工作注意力和反应偏差。Lee 等^[19]研究实现了羊主要感觉运动皮层和视觉皮层的神经调控。刺激动物物种不一样,声强和运动诱发电位幅值之间的关系变化也较大,超声代表新型非侵入神经调控的主要手段之一,有着美好的发展前景。

三、超声神经调控的生物物理机制

(1) 超声神经抑制效应的机制

目前对超声神经调控的生物物理机制已有初步成果,证实超声可以调控周围和中枢神经回路的电活动。Wahab 等^[20]发现高强度脉冲聚焦超声刺激蚯蚓巨轴突引起动作电位幅值和传导速度降低。高强度超声通过破坏中枢突触的超微结构和神经元突触间的联系进而抑制神经元电活动^[21]。Colucci 等^[22]发现聚焦超声的热效应可以暂时或永久性地阻断神经传导;而 Kubanek 等^[23]认为超声辐射力是潜在的生物物理机制。

(2) 超声神经激活效应的机制

声辐射力效应:神经元上表达的电压门控钠通道、电压门控

钙通道和电压门控钾通道及神经递质受体拥有机械敏感特性,即这些离子通道和受体的门控动力是脂质双分子层张力的瞬时变化,超声的声辐射力作用于细胞磷脂双分子层可能会导致电压门控通道的开放^[24]。研究^[6]发现超声可以引起神经元内钙离子浓度可逆性增加。Tyler 等^[12]通过活细胞钙成像技术发现超声可以调控神经元上的钠通道和钙通道,促发神经元动作电位。Kubanek 等^[23]应用聚焦超声(10 MHz,0.3~4.9 W/cm²)刺激细胞,膜片钳检测到 Nav1.5 机械敏感钠通道和双孔道钾通道 K2P 的电流平均增加了约 23%;雷诺嗪阻断 Nav1.5,BaCl₂ 阻断 K2P 通道后该效应随之消失。

空化效应:其在超声神经刺激的作用机制中起着主导作用^[25],可能超过热效应和声辐射力效应^[15]。Krasovitski 等^[25]建立了超声生物组织相互作用模型,预测超声非热生物效应可能源于几乎所有活细胞细胞膜磷脂双分子层内产生的纳米泡。这些纳米泡在磷脂双分子层内出现和波动,导致膜内空化和磷脂局部的空化效应,最终导致细胞膜纳米孔的形成和细胞膜渗透性增加。Plaksin 等^[26]强调膜内空化是超声神经刺激引起生物压电效应的机制,通过改变膜电容引起复杂的压电相互作用,进而引起细胞动作电位产生。Plaksin 等^[27]建立神经元细胞膜内空化兴奋模型预测细胞膜可以吸收声场机械能量,并将其转换成细胞膜双分子层的膨胀和压缩。

神经调控可能由不止一种机制介导,多种机制可能共存。但是这些结果并不能完全阐明超声是如何引起这些效应的,一些基础性的研究有待开展。

四、Piezo 机械敏感离子通道与超声波

目前超声神经调控大部分依赖于相对低频(≤ 1 MHz)和高端的设备实现毫米级空间分辨率,与电刺激分辨率相似,但是与细胞特异性光神经调控相比仍旧是较低的。声遗传学方法使超声波精确刺激单个神经元得以实现,其是利用基因修饰来操纵单个神经元的一种非创伤性方法。Ibsen 等^[6]研究发现未经过基因修饰的野生线虫对低压超声波不敏感;当将瞬时受体势离子通道 4(TRP-4)添加到线虫的神经元后,这种经过基因修饰的神经元对于超声波的刺激变得敏感,导致线虫的运动方式发生变化。TRP-4 通道是神经元细胞的力传导通道的亚基,可使神经元敏化,从而实现超声波精确刺激单个神经元。此前光遗传学方法一般用来抑制或激活神经元的光遗传学方法需要进行创伤性的外科手术,限制了其在深脑刺激中的应用。超声波能到达深层组织和穿过骨头,声遗传学方法将以更小的创伤实现对深层组织中神经元的刺激。

分子水平特异性神经调控是现代神经科学和技术的标志。未来发现新的超声机械敏感离子通道以实现分子水平特异性超声敏感神经调控具有重大科学意义。Piezo 通道是 2010 年由 Coste 等^[28]在小鼠神经瘤细胞细胞中发现的一类机械敏感离子通道。其将活细胞表面的机械刺激转化为细胞内电信号或化学信号的主要机械感受器。Piezo 通道家族目前含有 Piezo 1 和 Piezo 2 两个成员。压电离子通道被认为是细胞对于力学的响应中必不可少的,躯体一些基本的生理功能如触觉、听觉、本体感受及血压感受等是通过不同的机械感受器完成的。非机械敏感

细胞经过 Piezo 基因修饰可使其具备机械敏感性^[29]。超声具有机械效应,可以引起细胞膜张力的改变,且其声辐射力作用于细胞磷脂双分子层可能会导致 Piezo 通道的开放。

五、小结

综上所述,超声可以非侵入性地激活和抑制神经元。为了确定超声神经调控的参数对于探索其机制至关重要;发现超声敏感离子通道或受体,实现分子水平特异性神经调控也具有重大科学意义。超声神经调控可能用来治疗神经疾病比如慢性疼痛、肥胖、帕金森病、癫痫、强迫症及精神或活动障碍性疾病,为神经科学家和临床科研工作者提供了令人兴奋的研究方向。

参考文献

- [1] Brunoni AR, Nitsche MA, Bolognini N, et al. Clinical research with transcranial direct current stimulation (tDCS): challenges and future directions[J]. Brain Stimul, 2012, 5(3): 175–195.
- [2] van de Ruit M, Perenboom MJ, Grey MJ. TMS brain mapping in less than two minutes[J]. Brain Stimul, 2015, 8(2): 231–239.
- [3] Deisseroth K. Optogenetics: 10 years of microbial opsins in neuroscience[J]. Nat Neurosci, 2015, 18(9): 1213–1225.
- [4] Hynynen K, Jones RM. Image-guided ultrasound phased arrays are a disruptive technology for non-invasive therapy[J]. Phys Med Biol, 2016, 61(17): 206–248.
- [5] Hersh DS, Kim AJ, Winkles JA, et al. Emerging applications of therapeutic ultrasound in neuro-oncology: moving beyond tumor ablation[J]. Neurosurgery, 2016, 79(5): 643–654.
- [6] Ibsen S, Tong A, Schutt C, et al. Sonogenetics is a non-invasive approach to activating neurons in *Caenorhabditis elegans* [J]. Nat Commun, 2015, 15(6): 8264.
- [7] Kim H, Chiu A, Lee SD, et al. Focused ultrasound-mediated non-invasive brain stimulation: examination of sonication parameters [J]. Brain Stimul, 2014, 7(5): 748–756.
- [8] Foster KR, Wiederhold ML. Auditory responses in cats produced by pulsed ultrasound[J]. J Acoust Soc Am, 1978, 63(4): 1199–1205.
- [9] Tsirlunikov EM, Vartanyan IA, Gersuni GV, et al. Use of amplitude-modulated focused ultrasound for diagnosis of hearing disorders [J]. Ultrasound Med Biol, 1988, 14(4): 277–285.
- [10] Fry WJ. Use of intense ultrasound in neurological research [J]. Am J Phys Med, 1958, 37(3): 143–147.
- [11] Koroleva VI, Vykhodtseva NI, Elagin VA. Spreading depression in the cortex and subcortical structures of the brain of the rat induced by exposure to focused ultrasound [J]. Neirofiziologiya, 1986, 18(1): 55–61.
- [12] Tyler WJ, Tufail Y, Finsterwald M, et al. Remote excitation of neuronal circuits using low-intensity, low-frequency ultrasound [J]. PloS one, 2008, 3(10): 3511.
- [13] Tufail Y, Matyushov A, Baldwin N, et al. Transcranial pulsed ultrasound stimulates intact brain circuits [J]. Neuron, 2010, 66(5): 681–694.
- [14] Yoo SS, Bystritsky A, Lee JH, et al. Focused ultrasound modulates region-specific brain activity [J]. NeuroImage, 2011, 56(6): 1267–1275.
- [15] King RL, Brown JR, Newsome WT, et al. Effective parameters for ultrasound-induced in vivo neurostimulation [J]. Ultrasound Med Biol, 2013, 39(9): 312–331.
- [16] Kim H, Park MY, Lee SD, et al. Suppression of EEG visual-evoked potentials in rats through neuromodulatory focused ultrasound [J]. Neuroreport, 2015, 26(4): 211–215.
- [17] Deffieux T, Younan Y, Wattiez N, et al. Low-intensity focused ultrasound modulates monkey visuomotor behavior [J]. Curr Biol, 2013, 23(23): 2430–2433.
- [18] Legon W, Sato TF, Opitz A, et al. Transcranial focused ultrasound modulates the activity of primary somatosensory cortex in humans [J]. Nat Neurosci, 2014, 17(2): 322–329.
- [19] Lee W, Lee SD, Park MY, et al. Image-Guided Focused Ultrasound-Mediated Regional Brain Stimulation in Sheep [J]. Ultrasound Med Biol, 2016, 42(2): 459–470.
- [20] Wahab RA, Choi M, Liu Y, et al. Mechanical bioeffects of pulsed high intensity focused ultrasound on a simple neural model [J]. Med Phys, 2012, 39(7): 4274–4283.
- [21] Borrelli MJ, Bailey KI, Dunn F. Early ultrasonic effects upon mammalian CNS structures (chemical synapses) [J]. J Acoust Soc Am, 1981, 69(5): 1514–1516.
- [22] Colucci V, Strichartz G, Jolesz F, et al. Focused ultrasound effects on nerve action potential in vitro [J]. Ultrasound Med Biol, 2009, 35(10): 1737–1747.
- [23] Kubanek J, Shi J, Marsh J, et al. Ultrasound modulates ion channel currents [J]. Sci Rep, 2016, 26(6): 24170.
- [24] Morris CE. Voltage-gated channel mechanosensitivity: fact or friction [J]. Front Physiol, 2011, 2(1): 25.
- [25] Krasovitski B, Frenkel V, Shoham S, et al. Intramembrane cavitation as a unifying mechanism for ultrasound-induced bioeffects [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(8): 3258–3263.
- [26] Plaksin M, Shoham S, Kimmel E. Intramembrane cavitation as a predictive bio-piezoelectric mechanism for ultrasonic brain stimulation [J]. Physrevx, 2013, 4(1): 331–344.
- [27] Plaksin M, Kimmel E, Shoham S. Cell-Type-Selective effects of intramembrane cavitation as a unifying theoretical framework for ultrasonic neuromodulation [J]. eNeuro, 2016, 3(3). pii: ENEURO.0136–15.2016. doi: 10.1523/ENEURO.0136–15.2016.
- [28] Coste B, Mathur J, Schmidt M, et al. Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels [J]. Science, 2010, 330(6000): 55–60.
- [29] Ge J, Li W, Zhao Q, et al. Architecture of the mammalian mechanosensitive Piezo1 channel [J]. Nature, 2015, 527(7576): 64–69.

(修回日期: 2016-11-02)