

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220693

· 综 述 ·

低强度脉冲超声在骨骼肌肉及运动神经系统中的生物学效应研究进展

李满平, 陈绍丰, 程亚军, 白玉树, 李 明, 魏显招, 周潇逸*

海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院骨科脊柱外科, 上海 200433

〔摘要〕 低强度脉冲超声(LIPUS)是一种成本低、非侵袭性且安全性高的治疗方式,主要应用于骨骼肌肉系统疾病的治疗,尤其是骨折与骨不连的治疗。本文综述了LIPUS在多种骨骼肌肉及运动神经系统疾病中的治疗作用,并分析其可能的内在机制和潜在靶点,发现除了骨折与骨不连之外,LIPUS在治疗骨质疏松、肌肉损伤及运动神经系统疾病中同样具有临床应用前景。

〔关键词〕 低强度脉冲超声;骨折;骨不连;骨质疏松;肌肉损伤;脊髓损伤;运动神经元病

〔引用本文〕 李满平,陈绍丰,程亚军,等.低强度脉冲超声在骨骼肌肉及运动神经系统中的生物学效应研究进展[J].海军军医大学学报,2024,45(8):1030-1035. DOI:10.16781/j.CN31-2187/R.20220693.

Biological effects of low-intensity pulsed ultrasound on musculoskeletal and motor nervous systems: research progress

LI Manping, CHEN Shaofeng, CHENG Yajun, BAI Yushu, LI Ming, WEI Xianzhao, ZHOU Xiaoyi*

Department of Spinal Surgery, The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

〔Abstract〕 Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) is a low-cost, non-invasive and safe treatment method mainly used for musculoskeletal diseases, especially for fractures and nonunion. This article reviews the therapeutic effects of LIPUS on various musculoskeletal and nervous system diseases and analyzes its mechanism and potential targets. It is found that besides fracture and nonunion, LIPUS also has clinical application prospect in treating osteoporosis, muscle injury, and motor nervous system diseases.

〔Key words〕 low-intensity pulsed ultrasound; fracture; nonunion; osteoporosis; muscle injury; spinal cord injury; motor neuron disease

〔Citation〕 LI M, CHEN S, CHENG Y, et al. Biological effects of low-intensity pulsed ultrasound on musculoskeletal and motor nervous systems: research progress[J]. Acad J Naval Med Univ, 2024, 45(8): 1030-1035. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220693.

超声波是一种机械振波,频率高于可听范围,通常从十分之几千赫兹到十分之几兆赫兹,以横波或纵波的方式在弹性介质内传播,具有方向性好、穿透力强、易于获得较集中的声能等特点^[1]。而低强度脉冲超声(low-intensity pulsed ultrasound, LIPUS)作为超声波的一种形式,比传统超声能量强度低,且以脉冲波形式输出,具有成本低、非侵袭性和安全性高等特点^[2]。

LIPUS的生物物理效应主要分为热效应和非热效应^[3]。由于LIPUS的低强度和脉冲输出模式,其具有最小的热效应。最小的热效应除可能会影响一些酶如基质金属蛋白酶1外,其他情况下可以忽略不计^[4]。LIPUS主要通过非热效应来发挥作用,而非热效应通常被认为是空化^[5]、声流^[6]和传质强化^[1]的组合。LIPUS在人体很多系统中都有积极效应,尤其是骨骼肌肉系统^[7-11]。现将LIPUS在

〔收稿日期〕 2022-08-27 〔接受日期〕 2022-11-14

〔基金项目〕 上海市卫生健康委员会卫生行业临床研究专项(20194Y0232),军队高层次科技创新人才工程自主科研项目(2020QN06125),上海市曙光人才计划,海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院基础医学研究专项(2023PY17),海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院院长虹人才计划。Supported by Clinical Research Project of Health Industry of Shanghai Municipal Health Commission (20194Y0232), Independent Scientific Research Project of Military High-Level Science and Technology Innovative Talent Program (2020QN06125), Shanghai Shuguang Talent Project, Fundamental Medical Research Project of The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University) (2023PY17), and Changhong Talent Project of The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University).

〔作者简介〕 李满平,博士生。E-mail: lmp18721868308@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-31161697, E-mail: 13818909826@163.com

骨骼肌肉系统及运动神经系统中的生物学效应研究进展进行综述。

1 LIPUS对骨折与骨不连的生物学效应

复杂骨折的最佳治疗方法是骨科和相关专业中一个未解决的重要问题。美国一项研究显示,每年发生骨折的患者中5%~10%的骨折发生延迟或无法愈合^[12]。LIPUS在骨折修复的每一个阶段都有积极的效应,美国FDA分别在1994年和2000年批准LIPUS作为治疗新鲜骨折和骨不连的非侵入性方法^[13]。此后LIPUS被推荐为独立的治疗方案,而不仅仅是骨折与骨不连的辅助治疗手段^[7]。LIPUS可以促使间充质干细胞迁移至骨折部位^[14-15],增强成骨细胞和间充质干细胞的分化和成熟^[16-17],促进基质钙化、血管生成及血管生成相关细胞因子和生长因子的表达和传递,从而加速骨折愈合^[18]。

动物实验表明,LIPUS对促进骨折与骨不连的愈合有积极效应。通过对LIPUS干预的闭合性股骨骨折大鼠进行小动物CT检查,结果显示LIPUS干预第1周,骨折间隙中的骨形成和旧皮质骨的再吸收均增强,第2周外部骨痂处的新骨开始转化为新的皮质骨,到第3周软骨内骨化形成的新骨将骨折部位的骨膜骨连接起来^[19]。LIPUS对骨折修复的最显著影响是软骨内骨化,即将软质软骨骨痂转化为硬质矿化骨痂,从而提高骨折愈合的机械稳定性。对于有效的软骨内骨化过程,骨折部位需要血管化。Coords等^[20]通过LIPUS干预1型糖尿病病合并股骨骨折大鼠模型,结果显示与正常对照组相比,1型糖尿病组骨折部位的血管密度显著降低;使用LIPUS后,与未使用LIPUS干预的1型糖尿病大鼠相比,使用LIPUS干预的1型糖尿病大鼠血管密度增加了77.6%,而这种效应与LIPUS治疗的骨折组织中血管内皮生长因子生成显著增加有关。

Bawale等^[21]研究发现LIPUS治疗骨折的成功率和手术治疗的成功率相似,都在70%左右,然而LIPUS疗法相对手术治疗更安全、费用更低甚至耗时更短。Jingushi等^[22]研究认为,骨折愈合率与手术后LIPUS的治疗时机有关,对于所有术后未愈合和延迟愈合病例,均应在最近一次手术后6个月内开始LIPUS治疗。德国一项多中心、随机、对照试验对LIPUS治疗胫骨延迟愈合病例进行研究,与没有进行LIPUS治疗的患者相比,经过16周

LIPUS治疗的患者骨折愈合进展显著^[23]。Leighton等^[24]的一篇meta分析表明,LIPUS可能对手术风险高的患者最为有效,包括有谵妄风险的老年患者,以及有痴呆、高血压、广泛软组织创伤、机械通气、代谢性酸中毒、多器官功能衰竭或昏迷的患者。

Puts等^[25]通过PubMed和Web of Science数据库检索分析骨折、LIPUS相关研究发现,大多数临床研究中LIPUS治疗采用Exogen®或类似Exogen®的刺激装置,临床声学参数为频率1.5 MHz、重复频率1 kHz、脉冲持续时间200 μs、空间强度30 mW/cm²、干预时长20 min/d。

在机制研究中,Zhang等^[26]研究表明LIPUS通过刺激压电型机械敏感离子通道组件1将相关的机械信号转导到细胞引起Ca²⁺内流,而Ca²⁺作为第二信使使ERK1/2磷酸化并与核周纤维型肌动蛋白聚合,从而调节小鼠胚胎前成骨细胞增殖。为了使超声波产生生物学效应,机械波必须在细胞内转化为生化信号,而机械受体整合素参与了这一过程。Tang等^[27]研究发现,LIPUS通过整合素/黏附斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)/PI3K/Akt信号通路上调成骨细胞中的环氧合酶2(cyclooxygenase-2, COX-2),这提示长期超声刺激可能使COX-2表达增加,从而促进成骨细胞分化和骨结节形成。LIPUS还可以通过ERK和p38或RhoA/Rho相关激酶途径加速巨噬细胞吞噬,促进骨折修复或炎症期成纤维细胞增殖^[28-29]。Wei等^[15]和Otsuru等^[30]研究发现,LIPUS通过基质细胞衍生因子-1/CXC趋化因子受体4途径促进干细胞向骨折部位募集。Kusuyama等^[31]发现LIPUS的机械刺激能够通过调节Rho相关激酶-Cot原癌基因/MAPK激酶激酶8-MAPK激酶-ERK信号通路和过氧化物酶体增殖物激活受体2活性,抑制脂肪生成,并促进间充质干细胞和祖细胞系的成骨分化。

2 LIPUS对骨质疏松的生物学效应

根据全国性调查报告,在中国骨质疏松症总体患病率为6.6%~19.3%,平均患病率为13.0%^[32]。目前骨质疏松治疗以药物治疗为主,但不良反应较多。动物实验表明,LIPUS对骨质疏松有一定的治疗效果。通过LIPUS干预去卵巢骨质疏松大鼠后,小动物CT检查结果显示LIPUS组的骨小梁厚度高

于对照组 ($P<0.01$), 骨小梁分离度小于对照组 ($P<0.05$), 表明 LIPUS 能有效改善去卵巢大鼠受损的骨微结构^[33]。另一项研究中小动物 CT 检查结果显示, 相较于对照组, LIPUS 对去卵巢大鼠有更好的骨痂桥接和骨重建作用; 机械实验结果显示, 治疗组极限荷载、刚度和能量衰竭均优于对照组^[34]。

肌生成抑制蛋白 (myostatin, MSTN) 是肌肉生长的负调节剂, 其减少将促进骨骼生长。Tang 等^[33]将小鼠胚胎成骨细胞分别用野生型小鼠和 MSTN 敲除小鼠的血清 (1% 浓度) 培养 7 d, 发现用 MSTN 敲除小鼠血清培养的小鼠胚胎成骨细胞生长状态优于野生型小鼠血清培养的细胞, 并且动物实验也发现 LIPUS 有效降低了后肢悬吊大鼠股四头肌和血清中的 MSTN 含量。这表明 MSTN 是 LIPUS 预防骨质流失的关键物质。进一步的机制研究发现, LIPUS 处理抑制了 MSTN 受体 II B 型人激活素受体 (activin receptor II B, ActR II B) 及其下游信号分子 SMAD 家族成员 (SMAD family member, Smad) 2、磷酸化 Smad2、Smad3 和磷酸化 Smad3 的蛋白质表达, 并促进了 Wnt1 和连环蛋白的蛋白质表达, 同时也抑制了糖原合成酶激酶 3 的表达。

骨质疏松治疗中 LIPUS 的设备及参数设置与在骨折中基本一致。Sun 等^[35]发现在 LIPUS 对骨质疏松的治疗中, 150 mW/cm² LIPUS 比 30 mW/cm² LIPUS 更能成功地缓解小梁骨微结构的变化。

Kusumbe 等^[36]从骨质疏松骨组织中成功分离出一种新的血管亚型 (H 型血管), 而 H 型血管可介导骨骼血管系统的生长, 产生独特的代谢和分子微环境, 维持血管周围骨祖细胞并将血管生成与成骨相结合; 进一步实验发现, 在老年小鼠和绝经后骨质疏松的去卵巢小鼠中, H 型血管的数量显著减少, 同时伴有骨祖细胞的减少。在老年和骨质疏松患者的骨组织中也存在类似变化, 这提示 H 型血管也存在于人类骨骼中, 并且人类 H 型血管的丰富程度对衰老和骨量有一定影响^[37]。Xu 等^[38]在脊柱融合模型大鼠中研究了 LIPUS 对 H 型血管形成的影响, 发现 LIPUS 治疗后成骨细胞增殖和 H 型血管增生明显增加, 但 LIPUS 作用于 H 型血管对于骨质疏松的影响还需要进一步的动物实验及临床研究。

骨质疏松性骨折作为当前一个重要的公共卫生问题, 可用的治疗方法并不令人满意。值得一提的是, Mansjur 等^[39]的一项动物实验发现, 人甲状旁腺激素和 LIPUS 联合治疗骨质疏松性骨折可以加速骨折愈合并增强骨骼特性, 可以考虑将其作为骨质疏松性骨折愈合的治疗补救措施。

3 LIPUS 对肌肉损伤的生物学效应

肌肉损伤是职业和休闲运动中经常遇到的问题, 其最佳治疗方法尚未明确。多项研究表明, LIPUS 对治疗肌肉损伤有一定的积极效应^[33,40]。对左腿腓肠肌撕裂伤小鼠模型进行 LIPUS 干预, 结果显示 LIPUS 组的再生肌纤维数量较对照组增多^[40]。Chongsatienam 和 Yimlamai^[41]分析了腓肠肌在不同时间点的等长收缩和强直收缩, 结果显示 LIPUS 加速了挫伤后肌肉功能恢复, 并且发现血管内皮生长因子 mRNA 表达增加, 提示 LIPUS 通过上调血管生成加速肌肉恢复。

体外研究发现, LIPUS 对成肌细胞内肌生成素和肌动蛋白表达有影响, 而且 80 mW/cm² LIPUS 组肌生成素和肌动蛋白的增加较 30 mW/cm² LIPUS 组更明显^[40]。Sun 等^[42]通过构建肌肉萎缩大鼠模型并用 LIPUS 照射大鼠的双腿腓肠肌 (超声强度为 30 mW/cm² 或 80 mW/cm², 20 min/d, 持续 28 d) 进行研究, 结果显示, LIPUS 阻止了模型大鼠肌纤维横截面积和腓肠肌质量的减少, 同时 80 mW/cm² LIPUS 干预后快肌纤维横截面积显著增大, 30 mW/cm² 和 80 mW/cm² LIPUS 干预后慢肌纤维横截面积均显著增大。进一步机制研究发现, LIPUS 显著降低了 MSTN 及其受体 ActR II B 的表达, 并上调了实验组大鼠腓肠肌中 Akt 和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 的表达及促进了丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢途径的稳定性。以上结果表明, LIPUS 可能通过 MSTN/Akt/mTOR 信号通路促进蛋白质合成和稳定丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢, 从而预防肌肉萎缩。

4 LIPUS 对脊髓损伤的生物学效应

目前脊髓损伤预后不尽如人意, 不过今人兴奋的是 LIPUS 联合干细胞治疗为脊髓损伤患者带来了新的希望。Xu 等^[43]研究证明 LIPUS 刺激可促进造血干/祖细胞增殖和分化。Ning 等^[44]通过 LIPUS

干预脊髓损伤大鼠并进行Basso-Beattie Bresnahan评分,发现LIPUS联合骨髓间充质干细胞移植治疗的大鼠较对照组表现出更好的运动功能恢复。Wu等^[11]通过体外实验表明LIPUS促进了神经干细胞增殖、神经干细胞营养因子表达及神经元分化,抑制了胶质细胞分化。这些结果表明,LIPUS可能会促进神经干细胞增殖并调节其向神经谱系分化,或许能用于脊髓损伤的治疗。

5 LIPUS对运动神经元病的生物学效应

Tramontin等^[45]通过LIPUS干预阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)大鼠模型,发现LIPUS治疗可预防AD模型大鼠后期学习记忆过程的损害,并促进大脑中神经营养因子的表达。Lin等^[46]通过LIPUS干预铝致脑损伤AD大鼠模型,发现LIPUS刺激显著降低了氯化铝处理大鼠体内的铝浓度及乙酰胆碱酯酶活性、 β -淀粉样蛋白沉积和核固缩。Eguchi等^[47]通过LIPUS干预5XFAD转基因小鼠,并对小鼠进行Y迷宫测试和被动回避测试,发现LIPUS治疗显著改善了小鼠脑血流相关的认知障碍,同时减少了离子钙结合适配分子1阳性小胶质细胞和 β -淀粉样蛋白斑块;而在内皮型一氧化氮合酶基因敲除小鼠中LIPUS无治疗效果,提示LIPUS可能通过作用于eNOS发挥作用。同时有研究发现,LIPUS对帕金森病也有一定的治疗效应^[48]。

6 小结

LIPUS作为一项极具发展前景的治疗技术,其成本低、无创、安全性高、应用广泛和疗效较佳等优点引起了人们的关注,尤其是在骨骼肌肉系统中。目前LIPUS已经被证明在骨折修复的每个阶段都有积极效应,也被广泛推荐为独立的治疗方案,较为公认的临床声学参数为频率1.5 MHz、重复频率1 kHz、脉冲持续时间200 μ s、空间强度30 mW/cm²、治疗时长20 min/d。LIPUS在骨骼肌肉及运动神经系统中的研究也在逐步完善,不过目前还没有应用到临床,其临床声学参数大多和LIPUS在骨折治疗中一致,但有研究表明对于骨质疏松150 mW/cm²较30 mW/cm²效果更好^[35],对于肌肉损伤80 mW/cm²较30 mW/cm²更有优势^[40]。有关LIPUS在骨骼肌肉系统的作用机制研

究也越来越多。LIPUS可以刺激间充质干细胞迁移至骨折部位,增强成骨细胞和间充质干细胞的分化与成熟,从而促进基质钙化、血管生成和血管生成相关细胞因子、生长因子的表达和传递,进而发挥治疗作用。

参考文献

- [1] 郭霜,李选鹏,王华彬,等.低强度脉冲超声治疗的应用进展[J].中国医学物理学杂志,2018,35(8):927-931. DOI: 10.3969/j.issn.1005-202X.2018.08.012.
- [2] JIANG X, SAVCHENKO O, LI Y, et al. A review of low-intensity pulsed ultrasound for therapeutic applications[J]. IEEE Trans Biomed Eng, 2019, 66(10): 2704-2718. DOI: 10.1109/TBME.2018.2889669.
- [3] XIN Z, LIN G, LEI H, et al. Clinical applications of low-intensity pulsed ultrasound and its potential role in urology[J]. Transl Androl Urol, 2016, 5(2): 255-266. DOI: 10.21037/tau.2016.02.04.
- [4] CLAES L, WILLIE B. The enhancement of bone regeneration by ultrasound[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2007, 93(1/2/3): 384-398. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2006.07.021.
- [5] AZAGURY A, KHOURY L, ENDEN G, et al. Ultrasound mediated transdermal drug delivery[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2014, 72: 127-143. DOI: 10.1016/j.addr.2014.01.007.
- [6] WATSON T. Ultrasound in contemporary physiotherapy practice[J]. Ultrasonics, 2008, 48(4): 321-329. DOI: 10.1016/j.ultras.2008.02.004.
- [7] AZUMA Y, ITO M, HARADA Y, et al. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates rat femoral fracture healing by acting on the various cellular reactions in the fracture callus[J]. J Bone Miner Res, 2001, 16(4): 671-680. DOI: 10.1359/jbmr.2001.16.4.671.
- [8] 张子程,胡建辉,杨依林,等.低强度脉冲超声在肌肉骨骼疾病中的研究进展[J].第二军医大学学报,2020,41(2):194-199. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2020.02.0194.
- [9] ZHANG Z C, HU J H, YANG Y L, et al. Research progress of low-intensity pulsed ultrasound in the treatment of musculoskeletal diseases[J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2020, 41(2): 194-199. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2020.02.0194.
- [9] YING S, TAN M, FENG G, et al. Low-intensity pulsed ultrasound regulates alveolar bone homeostasis in experimental periodontitis by diminishing oxidative stress[J]. Theranostics, 2020, 10(21): 9789-9807. DOI: 10.7150/thno.42508.
- [10] 段煜东,张子程,李博,等.低强度脉冲超声在脊髓损伤神经修复中的研究进展[J].第二军医大学学

- 报, 2021, 42(9): 1037-1043. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2021.09.1037.
- DUAN Y D, ZHANG Z C, LI B, et al. Low-intensity pulsed ultrasound in nerve repair of spinal cord injury: research progress[J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2021, 42(9): 1037-1043. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2021.09.1037.
- [11] WU Y, GAO Q, ZHU S, et al. Low-intensity pulsed ultrasound regulates proliferation and differentiation of neural stem cells through notch signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 526(3): 793-798. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.03.142.
- [12] ZURA R, XIONG Z, EINHORN T, et al. Epidemiology of fracture nonunion in 18 human bones[J]. JAMA Surg, 2016, 151(11): e162775. DOI: 10.1001/jamasurg.2016.2775.
- [13] NOLTE P A, VAN DER KRANS A, PATKA P, et al. Low-intensity pulsed ultrasound in the treatment of nonunions[J]. J Trauma, 2001, 51(4): 693-702; discussion 702-703. DOI: 10.1097/00005373-200110000-00012.
- [14] WEI F Y, LEUNG K S, LI G, et al. Low intensity pulsed ultrasound enhanced mesenchymal stem cell recruitment through stromal derived factor-1 signaling in fracture healing[J]. PLoS One, 2014, 9(9): e106722. DOI: 10.1371/journal.pone.0106722.
- [15] WEI F Y, CHOW S K, LEUNG K S, et al. Low-magnitude high-frequency vibration enhanced mesenchymal stem cell recruitment in osteoporotic fracture healing through the SDF-1/CXCR4 pathway[J]. Eur Cell Mater, 2016, 31: 341-354. DOI: 10.22203/ecm.v031a22.
- [16] MATSUMOTO K, SHIMO T, KURIO N, et al. Low-intensity pulsed ultrasound stimulation promotes osteoblast differentiation through hedgehog signaling[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(6): 4352-4360. DOI: 10.1002/jcb.26418.
- [17] HARRISON A, LIN S, POUNDER N, et al. Mode & mechanism of low intensity pulsed ultrasound (LIPUS) in fracture repair[J]. Ultrasonics, 2016, 70: 45-52. DOI: 10.1016/j.ultras.2016.03.016.
- [18] LI L, YANG Z, ZHANG H, et al. Low-intensity pulsed ultrasound regulates proliferation and differentiation of osteoblasts through osteocytes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 418(2): 296-300. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.01.014.
- [19] FREEMAN T A, PATEL P, PARVIZI J, et al. Micro-CT analysis with multiple thresholds allows detection of bone formation and resorption during ultrasound-treated fracture healing[J]. J Orthop Res, 2009, 27(5): 673-679. DOI: 10.1002/jor.20771.
- [20] COORDS M, BREITBART E, PAGLIA D, et al. The effects of low-intensity pulsed ultrasound upon diabetic fracture healing[J]. J Orthop Res, 2011, 29(2): 181-188. DOI: 10.1002/jor.21223.
- [21] BAWALE R, SEGMEISTER M, SINHA S, et al. Experience of an isolated use of low-intensity pulsed ultrasound therapy on fracture healing in established non-unions: a prospective case series[J]. J Ultrasound, 2021, 24(3): 249-252. DOI: 10.1007/s40477-020-00464-9.
- [22] JINGUSHI S, MIZUNO K, MATSUSHITA T, et al. Low-intensity pulsed ultrasound treatment for postoperative delayed union or nonunion of long bone fractures[J]. J Orthop Sci, 2007, 12(1): 35-41. DOI: 10.1007/s00776-006-1080-3.
- [23] SCHOFFER M D, BLOCK J E, AIGNER J, et al. Improved healing response in delayed unions of the tibia with low-intensity pulsed ultrasound: results of a randomized sham-controlled trial[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2010, 11: 229. DOI: 10.1186/1471-2474-11-229.
- [24] LEIGHTON R, WATSON J T, GIANNODIS P, et al. Healing of fracture nonunions treated with low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS): a systematic review and meta-analysis[J]. Injury, 2017, 48(7): 1339-1347. DOI: 10.1016/j.injury.2017.05.016.
- [25] PUTS R, VICO R, BEILFÜß N, et al. Pulsed ultrasound for bone regeneration—outcomes and hurdles in the clinical application: a systematic review[J]. Eur Cell Mater, 2021, 42: 281-311. DOI: 10.22203/ecm.v042a20.
- [26] ZHANG G, LI X, WU L, et al. Piezo1 channel activation in response to mechanobiological acoustic radiation force in osteoblastic cells[J]. Bone Res, 2021, 9(1): 16. DOI: 10.1038/s41413-020-00124-y.
- [27] TANG C H, YANG R S, HUANG T H, et al. Ultrasound stimulates cyclooxygenase-2 expression and increases bone formation through integrin, focal adhesion kinase, phosphatidylinositol 3-kinase, and Akt pathway in osteoblasts[J]. Mol Pharmacol, 2006, 69(6): 2047-2057. DOI: 10.1124/mol.105.022160.
- [28] ZHOU S, BACHEM M G, SEUFFERLEIN T, et al. Low intensity pulsed ultrasound accelerates macrophage phagocytosis by a pathway that requires actin polymerization, Rho, and Src/MAPKs activity[J]. Cell Signal, 2008, 20(4): 695-704. DOI: 10.1016/j.cellsig.2007.12.005.
- [29] ZHOU S, SCHMELZ A, SEUFFERLEIN T, et al. Molecular mechanisms of low intensity pulsed ultrasound in human skin fibroblasts[J]. J Biol Chem, 2004, 279(52): 54463-54469. DOI: 10.1074/jbc.M404786200.

- [30] OTSURU S, TAMAI K, YAMAZAKI T, et al. Circulating bone marrow-derived osteoblast progenitor cells are recruited to the bone-forming site by the CXCR4/stromal cell-derived factor-1 pathway[J]. Stem Cells, 2008, 26(1): 223-234. DOI: 10.1634/stemcells.2007-0515.
- [31] KUSUYAMA J, BANDOW K, SHAMOTO M, et al. Low intensity pulsed ultrasound (LIPUS) influences the multilineage differentiation of mesenchymal stem and progenitor cell lines through ROCK-Cot/Tpl2-MEK-ERK signaling pathway[J]. J Biol Chem, 2014, 289(15): 10330-10344. DOI: 10.1074/jbc.M113.546382.
- [32] WANG Y, TAO Y, HYMAN M E, et al. Osteoporosis in China[J]. Osteoporos Int, 2009, 20(10): 1651-1662. DOI: 10.1007/s00198-009-0925-y.
- [33] TANG L, KANG Y, SUN S, et al. Inhibition of MSTN signal pathway may participate in LIPUS preventing bone loss in ovariectomized rats[J]. J Bone Miner Metab, 2020, 38(1): 14-26. DOI: 10.1007/s00774-019-01029-5.
- [34] CHEUNG W H, CHIN W C, QIN L, et al. Low intensity pulsed ultrasound enhances fracture healing in both ovariectomy-induced osteoporotic and age-matched normal bones[J]. J Orthop Res, 2012, 30(1): 129-136. DOI: 10.1002/jor.21487.
- [35] SUN S, TANG L, ZHAO T, et al. Longitudinal effects of low-intensity pulsed ultrasound on osteoporosis and osteoporotic bone defect in ovariectomized rats[J]. Ultrasonics, 2021, 113: 106360. DOI: 10.1016/j.ultras.2021.106360.
- [36] KUSUMBE A P, RAMASAMY S K, ADAMS R H. Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone[J]. Nature, 2014, 507(7492): 323-328. DOI: 10.1038/nature13145.
- [37] DING W, XU C, ZHANG Y, et al. Advances in the understanding of the role of type-H vessels in the pathogenesis of osteoporosis[J]. Arch Osteoporos, 2020, 15(1): 5. DOI: 10.1007/s11657-019-0677-z.
- [38] XU X, WANG F, YANG Y, et al. LIPUS promotes spinal fusion coupling proliferation of type H microvessels in bone[J]. Sci Rep, 2016, 6: 20116. DOI: 10.1038/srep20116.
- [39] MANSJUR K Q, KURODA S, IZAWA T, et al. The effectiveness of human parathyroid hormone and low-intensity pulsed ultrasound on the fracture healing in osteoporotic bones[J]. Ann Biomed Eng, 2016, 44(8): 2480-2488. DOI: 10.1007/s10439-015-1533-y.
- [40] CHAN Y S, HSU K Y, KUO C H, et al. Using low-intensity pulsed ultrasound to improve muscle healing after laceration injury: an *in vitro* and *in vivo* study[J]. Ultrasound Med Biol, 2010, 36(5): 743-751. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.02.010.
- [41] CHONGSATIENTAM A, YIMLAMAI T. Therapeutic pulsed ultrasound promotes revascularization and functional recovery of rat skeletal muscle after contusion injury[J]. Ultrasound Med Biol, 2016, 42(12): 2938-2949. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2016.08.004.
- [42] SUN L, AN S, ZHANG Z, et al. Molecular and metabolic mechanism of low-intensity pulsed ultrasound improving muscle atrophy in hindlimb unloading rats[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(22): 12112. DOI: 10.3390/ijms222212112.
- [43] XU P, GUL-ULUDAG H, ANG W T, et al. Low-intensity pulsed ultrasound-mediated stimulation of hematopoietic stem/progenitor cell viability, proliferation and differentiation *in vitro*[J]. Biotechnol Lett, 2012, 34(10): 1965-1973. DOI: 10.1007/s10529-012-0984-6.
- [44] NING G Z, SONG W Y, XU H, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells stimulated with low-intensity pulsed ultrasound: better choice of transplantation treatment for spinal cord injury: treatment for SCI by LIPUS-BMSCs transplantation[J]. CNS Neurosci Ther, 2019, 25(4): 496-508. DOI: 10.1111/cns.13071.
- [45] TRAMONTIN N D S, SILVEIRA P C L, TIETBOHL L T W, et al. Effects of low-intensity transcranial pulsed ultrasound treatment in a model of Alzheimer's disease[J]. Ultrasound Med Biol, 2021, 47(9): 2646-2656. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2021.05.007.
- [46] 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[J]. Sci Rep, 2015, 5: 9671. DOI: 10.1038/srep09671.
- [47] EGUCHI K, SHINDO T, ITO K, et al. Whole-brain low-intensity pulsed ultrasound therapy markedly improves cognitive dysfunctions in mouse models of dementia—crucial roles of endothelial nitric oxide synthase[J]. Brain Stimul, 2018, 11(5): 959-973. DOI: 10.1016/j.brs.2018.05.012.
- [48] 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[J]. Cereb Cortex, 2021, 32(1): 176-185. DOI: 10.1093/cercor/bhab201.

[本文编辑] 杨亚红